

ALCALOÏDES DE *GYROCARPUS AMERICANUS*¹

MARIE-CHRISTINE CHALANDRE, JEAN BRUNETON,

CEPM, Faculté de Pharmacie, 16 Boulevard Daviers, 49000 Angers, France

PIERRE CABALION,

Station ORSTOM, BP 76, Port Vila, Vanuatu

et HÉLÈNE GUINAUDEAU

Faculté de Pharmacie, 87025 Limoges et ERA 317 92190 Chatenay-Malabry, France

ABSTRACT.—Besides one aporphine, two benzyloquinolines, and four bisbenzyloquinolines previously known, *Gyrocarpus americanus* has furnished five new dimeric alkaloids: *O*-methyl limacine (1), gyrocarpine (3), gyroamericine (5), gyrolidine (7), and gyrocarpine (8). The interesting feature is the presence of 6'-hydroxy or 6'-hydroxybisbenzyltetrahydroisoquinoline alkaloids. Structures were ascertained by 360 MHz ¹H nmr.

L'étude des alcaloïdes de *Gyrocarpus americanus* Jacq. (Hernandiaceae) a été entreprise dans notre laboratoire dans le cadre d'une étude systématique du contenu alcaloïdique des espèces de la famille des Hernandiaceae (1). Le genre *Gyrocarpus* Jacq. forme avec le genre *Sparattanthelium* Mart. la tribu des Gyrocarpoïdées, laquelle diffère des Hernandioidées, tribu constituée des genres *Hernandia* Plum. et *Illigera* Bl. par quelques caractères morphologiques et anatomiques, notamment la présence de cystolithes dans l'épiderme foliaire absents dans la tribu des Hernandioidées ainsi que des stomates de type anomocytique, ceux observés dans la tribu des Hernandioidées étant de type paracytique (2). Les *Gyrocarpus* sont des arbres ou des arbustes des régions chaudes: des trois espèces qui constituent le genre, *G. americanus* est la plus largement répandue, croissant dans toutes les régions tropicales du globe. *Gyrocarpus hababensis* Chiov. est exclusivement africaine, *Gyrocarpus jatrophilus* Domin n'a été rencontrée qu'en Amérique centrale. L'extrême variabilité de *G. americanus* a contraint les botanistes à décrire huit sous-espèces, l'une d'entre elles étant plus répandue, *G. americanus* ssp. *americanus* Jacq. trois autres étant exclusivement malgaches, deux africaines et deux australiennes (3).

G. americanus ssp. *americanus* est un arbre de taille moyenne, à dimorphisme foliaire net, les jeunes feuilles étant trilobées, les feuilles âgées étant entières, de forme variable mais toujours à nervation pédatée; le fruit est une drupe ailée (3). L'échantillon étudié au cours de notre travail a été récolté dans l'île de Vaté (République du Vanuatu) où la plante est abondante mais ne semble pas avoir d'utilisation en médecine locale.

Des travaux antérieurs sur *G. americanus* ont permis l'isolement d'alcaloïdes benzyloquinoléiques [(+)-*N*-méthyl-coclaurine et (+)-magnocurarine] et bisbenzyloquinoléiques [(−)-phaeanthine et (−)-pyncamine]; la présence d'autres alcaloïdes a été décelée par chromatographie sur couche mince (4) (5). Au cours de l'étude des alcaloïdes des écorces de tiges de *G. americanus*, douze alcaloïdes ont été isolés et identifiés. Tous ont une structure dérivée du noyau isoquinoléine. Sept d'entre eux sont connus: deux benzyloquinoléines, la (+)-réticuline et la (+)-*N*-méthylcoclaurine; une aporphine, la (+)-domesticine; et quatre bisbenzyloquinoléines, la (−)-grisabine, la (−)-limacine (6), la (−)-phaeanthine (4) (qui constitue l'alcaloïde majoritaire), et la (−)-isotétrandrine (6,7). Les quatre alcaloïdes suivants sont des bisben-

¹Partie XIII dans la série "Etude des Hernandiaceae," pour partie XII, cf. Chalandre, *et al.* (1).

ORSTOM Fonds Documentaire

N° : 24214 ex. 1

Cote : B 12 M

Date : 87 09 01

zylisoquinoléines de structure nouvelle. Le dernier, la (+)-7-O-méthyllimacusine est obtenue pour la première fois à l'état naturel.

La (-)-gyroamericine (5) présente en sm un ion moléculaire M^+ 608 compatible avec la formule brute $C_{37}H_{40}N_2O_6$. Alcaloïde monophénolique, elle possède des caractéristiques spectrales très proches de celles de la (-)-phaeanthine (4) et de la (-)-limacine (6), indiquant que cet alcaloïde est également une bisbenzylisoquinoléine à deux ponts éther en 8-7' et 11-12'. En effet son spectre de masse présente un ion moléculaire M^+ à m/z 608 (29) et un ion de base à m/z 381 correspondant à la perte de cycles C et C' due à la rupture des liaisons benzyliques. Le spectre de rmn (Tableau) indique la présence de deux groupements N-méthyle et de trois substituants méthoxylés; ce spectre est également caractéristique dans la région des protons aromatiques d'une bisbenzylisoquinoléine à deux ponts éther 8-7', 11-12' de configuration 1R, 1'R ou 1S, 1'S.² L'ensemble de ces données permet de mettre en évidence la substitution du cycle C par un méthoxyle et celle des cycles A et A' par deux méthoxyles et une fonction phénolique. La comparaison des spectres de rmn du ¹H de 5 et de la limacine (6) permet une attribution complète des signaux dus aux protons aromatiques et aux deux groupements N-méthyle. Le singulet de trois protons à 3,94 ppm est attribuable au méthoxyle en C-12. L'absence de signal dû à un méthoxyle vers 3,75 ppm permet de penser que le carbone 6 est porteur de l'hydroxyle phénolique, et donc les deux autres singulets de trois protons chacun à 3,37 et 3,32 ppm sont attribuables respectivement aux méthoxyles en 7 et 6'. La O-méthylation de 5 par le CH_2N_2 conduit à la (-)-phaeanthine. La (-)-gyroamericine (5) possède donc la même configuration 1R, 1'R.

En ce qui concerne le spectre de rmn de la (-)-gyroamericine, une remarque doit être faite quant à la position du signal dû au méthoxyle en C-7. Dans ce groupe de bisbenzylisoquinoléines à deux ponts éther (8-7', 11-12') de configuration 1R, 1'R le méthoxyle apparaît sous forme d'un singulet vers 3,15-3,20 ppm et non vers 3,75 ppm comme dans le spectre de 5.² Le déplacement vers les champs faibles de ce signal s'explique par la position particulière de ce méthoxyle entre l'oxygène du pont éther et le carbone 8 et l'hydroxyle phénolique porté par le carbone 6.

La (+)-gyrocarpusine (3), $C_{37}H_{40}N_2O_6$, M^+ 608 est également une bisbenzylisoquinoléine monophénolique. Ses caractéristiques spectrales sont très proches de celles de la (+)-limacusine (2). Le spectre de masse présente un ion moléculaire M^+ à m/z 608 (43) ainsi qu'un ion de base à m/z 381, correspondant, comme pour la gyroamericine au dimère isoquinoléique résultant de la coupure des liaisons benzyliques. Une fragmentation de la molécule par perte du cycle C' est indiquée par la présence d'un ion à m/z 501, fragmentation qui est caractéristique des bisbenzylisoquinoléines du groupe de la (+)-limacusine (2) (dimère à deux ponts éther en 8-7' et 11-12'). Le spectre de rmn du ¹H est également très proche de celui de la limacusine. L'absence de singulet dû à un méthoxyle vers 3,75 ppm permet de penser que l'hydroxyle phénolique sur le carbone 6'. Le léger déplacement vers les champs faibles du signal donné par le méthoxyle en 7' (3,25 ppm) peut s'expliquer, comme dans le spectre de la (-)-gyroamericine, par la position particulière de ce méthoxyle entre l'oxygène du pont éther sur le carbone 8' et la fonction phénolique en 6'. Le pouvoir rotatoire de la (+)-gyrocarpusine (3), $[\alpha]_D + 66^\circ$, de par son signe et de par sa valeur absolue indique que cet alcaloïde possède la même configuration en 1 et 1' que celle de la limacusine: 1R, 1'R (6,7). La O-méthylation de 3 par le CH_2N_2 conduit à la (+)-méthyllimacusine (1) isolée également des écorces de *G. americanus*. La (-)-gyrocarpusine (7), dont le spectre de masse (M^+ 622) est compatible avec une formule

²H. Guinaudeau, A.J. Freyer, et M. Shamina, à paraître.

rnier, la (+)-7-O-méthyllimacusine est

am un ion moléculaire M⁺ 608 compatible
oïde monophénolique, elle possède des caracté-
elles de la (-)-phaeanthine (4) et de la (-)-
de est également une bisbenzylisoquinoléine à
En effet son spectre de masse présente un ion
ion de base à m/z 381 correspondant à la perte des
ions benzyles. Le spectre de rmn (Tableau 1)
pements N-méthyle et de trois substituants
nt caractéristique dans la région des protons
éine à deux ponts éther 8-7', 11-12' de configu-
le de ces données permet de mettre en évidence la
yle et celle des cycles A et A' par deux méthoxyles
raison des spectres de rmn du ¹H de 5 et de la
mpleète des signaux dus aux protons aromatiques
Le singulet de trois protons à 3,94 ppm est at-
ence de signal dû à un méthoxyle vers 3,75 ppm
porteur de l'hydroxyle phénolique, et donc que
ns chacun à 3,37 et 3,32 ppm sont attribuables
6'. La O-méthylation de 5 par le CH₂N₂ conduit
ricine (5) possède donc la même configuration

in de la (-)-gyroamericine, une remarque doit
à un méthoxyle en C-7. Dans ce groupe de bis-
r (8-7', 11-12') de configuration 1R, 1'R, ce
ngulet vers 3,15-3,20 ppm et non vers 3,30
acement vers les champs faibles de ce signal
ce méthoxyle entre l'oxygène du pont éther sur
orté par le carbone 6.

N₂O₆, M⁺ 608 est également une bisben-
caractéristiques spectrales sont très proches de
re de masse présente un ion moléculaire M⁺ à
m/z 381, correspondant, comme pour la (-)-
e résultant de la coupure des liaisons ben-
ule par perte du cycle C' est indiquée par la
ation qui est caractéristique des bisben-
acusine (2) (dimère à deux ponts éther en 7-8'
t également très proche de celui de la (+)-
méthoxyle vers 3,75 ppm permet de placer
Le léger déplacement vers les champs faibles
25 ppm) peut s'expliquer, comme dans le cas
rticulaire de ce méthoxyle entre l'oxygène du
phénolique en 6'. Le pouvoir rotatoire de la
son signe et de par sa valeur absolue indique
guration en 1 et 1' que celle de la (+)-
on de 3 par le CH₂N₂ conduit à la (+)-O-
écorses de *G. americanus*. La (-)-gyrolidine
est compatible avec une formule brute

TABLEAU 1. Spectre rmn des Alcaloïdes Dimères Isolés (CDCl₃, 360 MHz)

	2-N-Me	2'-N-Me	H-5	H-5'	H-8	H-8'	H-10	H-10'	H-13	H-13'	H-14	H-14'	OMe-6	OMe-6'	OMe-7	OMe-7'	OMe-12
(-)-phaeanthine (4)	2,34	2,63	6,30	6,51	5,99	6,54	6,54	6,29	6,85	7,13	6,88	7,33	3,74	3,37	3,19	3,93	
(-)-limacine (6)	2,33	2,64	6,28	6,51	6,05	6,56	6,53	6,32	6,83	7,13	6,80	7,33	3,77	3,35	OH	3,91	
(-)-gyroamericine (5)	2,30	2,64	6,39	6,56	5,99	6,53	6,53	6,35	6,87	7,17	6,84	7,37	3,37	3,37	3,32	3,94	
	2-N-Me	2'-N-Me	H-5	H-5'	H-8	H-10	H-10'	H-13	H-13'	H-14 <td>H-14'</td> <td>OMe-6 <td>OMe-6' <td>OMe-7</td> <td>OMe-7' <td>OMe-12</td> </td></td></td>	H-14'	OMe-6 <td>OMe-6' <td>OMe-7</td> <td>OMe-7' <td>OMe-12</td> </td></td>	OMe-6' <td>OMe-7</td> <td>OMe-7' <td>OMe-12</td> </td>	OMe-7	OMe-7' <td>OMe-12</td>	OMe-12	
(-)-O-méthyllimacusine (1)	2,55	2,57	6,40	6,40	6,45	6,65	6,81	6,96	6,99	7,13	6,81	7,36	3,43	3,77	3,02	3,96	
(+)-limacine (2)	2,49	2,55	6,37	6,41	6,45	6,60	6,85	6,89	6,95	7,08	6,85	7,26	3,35	3,76	OH	3,95	
(+)-gyrocarpine (3)	2,52	2,58	6,46	6,47	6,48	6,72	6,85	6,92	6,97	7,16	6,85	7,38	3,38	OH	3,25	3,96	
(-)-gyrolidine (7)	2,57	2,66	6,36	6,36	6,65	6,47	6,95	6,78	6,78	6,95	6,37	7,42	3,63	3,79	3,19	3,89	
(-)-Gyrocarpine (8)	2,56	2,66	6,35	6,35	6,71	5,48	6,90	6,77	6,77	6,95	6,44	7,39	3,59	OH	3,25	3,89	

TABLEAU 1. Spectre rnm des Alcaloïdes Dimères Isolés (CDCl₃, 360 MHz)

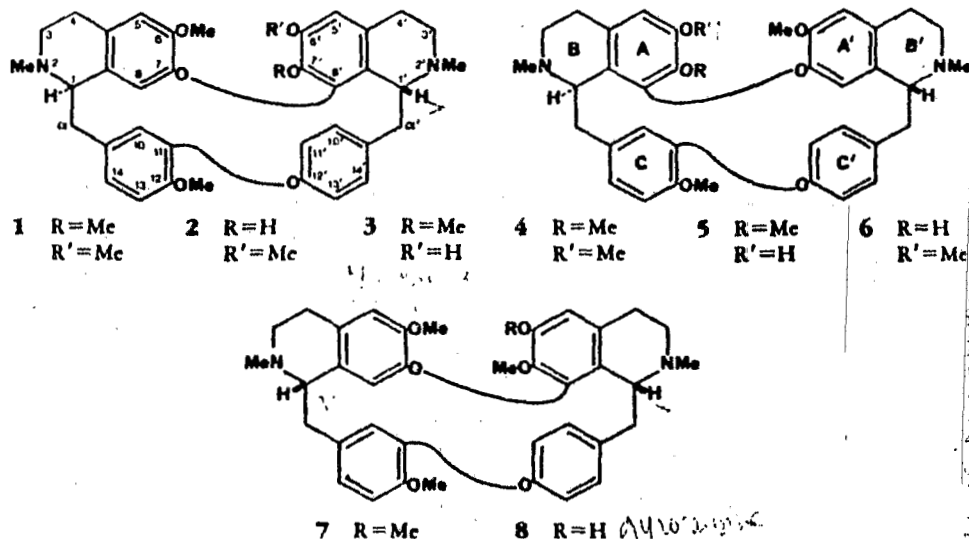
Alcaloïdes	2-N-Me	2'N-Me	H-5	H-5'	H-8'	H-10	H-13	H-14	H-10'	H-11'	H-13'	H-14'	OMe-6	OMe-6'	OMe-7	OMe-12
(-)-phaeanthine (4)	2,34	2,63	6,30	6,51	5,99	6,54	6,85	6,88	6,29	6,88	7,13	7,33	3,74	3,37	3,19	3,93
(-)-limacine (6)	2,33	2,64	6,28	6,51	6,05	6,56	6,83	6,86	6,32	6,80	7,13	7,33	3,77	3,35	OH	3,91
(-)-gyroamericine (5)	2,30	2,64	6,39	6,56	5,99	6,53	6,87	6,87	6,35	6,84	7,17	7,37	OH	3,37	3,32	3,94
Alcaloïdes	2-N-Me	2'N-Me	H-5	H-5'	H-8	H-10	H-13	H-14	H-10'	H-11'	H-13'	H-14'	OMe-6	OMe-6'	OMe-7	OMe-12
(-)-O-methylimacusine (1)	2,55	2,57	6,40	6,40	6,45	6,65	6,99	6,96	6,81	6,81	7,13	7,36	3,43	3,77	3,02	3,96
(+)-limacusine (2)	2,49	2,55	6,37	6,41	6,45	6,60	6,95	6,89	6,85	6,85	7,08	7,26	3,35	3,76	OH	3,95
(+)-gyrocarpusine (3)	2,52	2,58	6,46	6,47	6,48	6,72	6,97	6,92	6,85	6,85	7,16	7,38	3,38	OH	3,25	3,96
(-)-gyrolidine (7)	2,57	2,66	6,36	6,32	6,65	5,47	6,78	6,78	6,95	6,37	6,95	7,42	3,63	3,79	3,19	3,89
(-)-gyrocarpine (8)	2,56	2,66	6,35	6,35	6,71	5,48	6,77	6,77	6,90	6,44	6,95	7,39	3,59	OH	3,25	3,89

Jan-Feb 1986]

Chalandre *et al.*: Alcaloïdes de *Gyrocarpus*

$C_{38}H_{42}N_2O_6$, présente, à l'exception du signe de son pouvoir rotatoire, des caractéristiques physiques et spectrales en tout point identiques à celles de la (+)-obaberine, bisbenzylisoquinoléine à deux ponts éther en 7-8' et 11-12' de configuration 1R, 1'S (6,7). Les spectres de masse, de rmn du 1H et les spectres uv de ces deux alcaloïdes étant absolument superposables, la valeur absolue du pouvoir rotatoire étant similaire seul le signe de ce dernier étant différent, la (-)-gyrolidine est l'énantiomère de la (+)-obabérine; la configuration absolue de la (-)-gyrolidine est donc 1S, 1'R. La dernière bisbenzylisoquinoléine nouvelle isolée lors de cette étude est la (-)-gyrocarpine (8), alcaloïde monophénolique. Son spectre de masse est voisin de celui de la (-)-gyrolidine (7) chaque ion de fragmentation formé présentant 14 unités de masse de moins que dans le spectre de cette dernière indiquant le remplacement d'un méthoxyle par un hydroxyle phénolique. Les spectres de rmn du 1H de ces deux alcaloïdes sont très proches, la différence la plus marquée étant l'absence d'un singulet dû à un groupement méthoxyle vers 3,80 ppm; la fonction phénol est donc portée par le carbone 6.²

L'ensemble de ces données ainsi que le signe et la valeur absolue du pouvoir rotatoire [α]_D²⁰ -239° de la (-)-gyrocarpine qui sont de même nature que pour la (-)-gyrolidine, indiquent que la (-)-gyrocarpine (8) est la (-)-6-déméthylgyrolidine; 8 possède donc la configuration absolue 1S, 1'R. Cette structure est confirmée par O-méthylation de la (-)-gyrocarpine (8) par le CH_2N_2 qui conduit à la (-)-gyrolidine.



Le contenu alcaloïdique de *G. americanus* est donc essentiellement constitué de bisbenzylisoquinoléines appartenant aux types les plus couramment rencontrés (deux ponts éther en 7-8', 11-12' ou 8-7', 11-12') ~~contrairement au~~ cas de *Sparattanthelium unicigerum* (Meissn.) Kubitzki (8). Il semble exister une très nette différenciation du contenu alcaloïdique entre les genres de la tribu des Gyrocarpoïdées et ceux de la tribu des Hernandioïdées dans lesquels les alcaloïdes dimères sont dérivés essentiellement de la dimérisation de deux molécules de type réticuline au lieu de deux molécules du type coclaurine (1,9). Il est intéressant de noter également que *G. americanus* contient trois bisbenzylisoquinoléines monophénoliques en 6 (ou en 6'), alors que deux alcaloïdes de ce type seulement ont été décrits jusqu'alors (6,7).

PARTIE EXPÉRIMENTALE

L'échantillon étudié a été récolté à la pointe Samoa de l'île de Vaté (Vanuatu). Un échantillon est conservé dans l'herbier du Centre ORSTOM de Port-Vila.

Les pouvoirs rotatoires sont mesurés dans le CHCl_3 à l'aide d'un polarimètre Schmidt Haensch, les spectres uv sont enregistrés sur un appareil Beckman 530 et les ir sur Perkin-Elmer 580. Les spectres de rmn ont été réalisés sur Varian EM 360 et Bruker WB 360 (CDCl_3 , TMS=0 ppm); les spectres de masse sur AEI-MS 902.

EXTRACTION ET ISOLEMENT DES ALCALOÏDES.—Les écorces de tiges, (2,3 kg) broyées, dégraissées à l'hexane sont extraites par CHCl_3 en Soxhlet. L'extrait sec obtenu (95 g) est presque exclusivement alcaloïdique. Un premier fractionnement de ces A.T. est obtenu par filtration sur alumine Merck II-III, élue successivement par C_6H_6 , CHCl_3 , MeOH. Sur chacune des trois fractions obtenues on procède à une suite de chromatographies sur silice puis sur silice pour ccm (solvents= C_6H_6 -(Me) $_2$ CO-MeOH (40:40:20) et C_6H_6 -(C_2H_5) $_2$ NH (95:5) qui permet d'obtenir les douze alcaloïdes décrits avec les rendements suivants (exprimés par rapport à l'extrait CHCl_3): **3** (0,1), **5** (0,03), **4** (25), **7** (0,1), **8** (1) réticuline (4), N-Méthylcoclaurine (0,2), domesticine (0,05), isotétrandrine (0,15), limacine (0,2), grisabine (0,5), O-Méthyl-limacine (0,1).

IDENTIFICATION DES ALCALOÏDES.—Les produits connus sont identifiés par comparaison de leurs constantes physiques et données spectrales avec celles de la littérature. Quand cela a été possible [(+) domesticine, (+) réticuline, (+) N-méthylcoclaurine, (+) limacine, (+) isotétrandrine] il a été procédé à une comparaison avec des échantillons authentiques (ir, pf mélangés, Rf en ccm). Les constantes des produits connus ne sont pas reprises ici.

(-)-*Gyroaméricine* (**5**), F 210°, MeOH. $\text{C}_{37}\text{H}_{40}\text{N}_2\text{O}_6$, m/z 608 (M^+ , 28), 607 (18), 593 (4), 382 (28), 381 (100), 380 (31), 367 (18), 191 (17), 190,5 (68), 190 (5), 189,5 (31), 175 (8), 174 (10), 168 (23). uv [MeOH, λ max (log ϵ)] 241 (4.30), 282 (3.84). $[\alpha]_D^{25}$ - 238° (CHCl_3 , $c=1$).

(+)-*Gyrocarpusine* (**3**), amorphe. $\text{C}_{37}\text{H}_{40}\text{N}_2\text{O}_6$, m/z 608 (M^+ , 43), 607 (10) 593 (6), 502 (2), 501 (4), 382 (28), 381 (100), 379 (26), 367 (23), 192, (16), 191 (69), 190 (26), 174 (32), 168 (24). uv [MeOH, λ max (log ϵ)] 234 (4.42), 283 (3.85). $[\alpha]_D^{25}$ + 66° (CHCl_3 , $c=1$).

(-)-*Gyrolidine* (**7**), amorphe. $\text{C}_{30}\text{H}_{42}\text{N}_2\text{O}_6$, m/z 622 (M^+ , 86), 621 (72), 607 (14), 606 (14), 605 (20), 592 (4), 396 (28), 395 (100), 381 (55), 349 (22), 198 (71), 175 (25), 174 (64). uv [MeOH, λ max (log ϵ)] 261 (4.23), 282 (4.12). $[\alpha]_D^{25}$ - 115° (CHCl_3 , $c=1,1$).

(-)-*Gyrocarpine* (**8**), F 192° (MeOH/Et $_2$ O). $\text{C}_{37}\text{H}_{40}\text{N}_2\text{O}_6$, m/z 608 (M^+ , 47), 607 (30), 593 (5), 502 (1), 501 (4), 382 (26), 381 (100), 367 (21), 191 (21), 190 (82), 175 (11), 174 (36). uv [MeOH, λ max (log ϵ)] 239 sh (4.34) 284 (3.87). $[\alpha]_D^{25}$ - 239° (CHCl_3 , $c=1$).

Méthylation des alcaloïdes 3, 5, et 7: 50 mg de chacun des alcaloïdes sont dissous dans une solution de $\text{CH}_2\text{N}_2/\text{Et}_2\text{O}$ (50 ml). Après 48 h et élimination du CH_2N_2 les produits méthylés sont obtenus amorphes et purifiés—le cas échéant— par ccm préparative.

BIBLIOGRAPHIE

1. M.C. Chalandre, P. Cabalion, H. Guinaudeau, et J. Bruneton, *Can. J. Chem.* in press (1986).
2. H. Baillon, *Hist. Plant.*, **2**, 449 (1872).
3. K. Kubitzki, *Bot. Jahrb.*, **89**, 78 (1969).
4. I. Row Ramachandra et A.S.R. Anjaneyulu, *J. Sci. Ind. Res.*, **21B**, 581 (1962).
5. R. Pernet, *Planta Med.*, **20**, 314 (1971).
6. K.P. Guha, B. Mukherjee et R. Mukherjee, *J. Nat. Prod.*, **42**, 1 (1979).
7. P.L. Schiff, Jr., *J. Nat. Prod.*, **46**, 1 (1983).
8. M.C. Chalandre, H. Jacquemin, et J. Bruneton, *J. Nat. Prod.*, **48**, 333 (1985).
9. J. Bruneton, M. Shamma, R.D. Minard, A.J. Freyer, et H. Guinaudeau, *J. Org. Chem.*, **48**, 3957 (1983).

Received 30 May 1985