

Morphinanes isomères originaux isolés de *Stephania zippeliana*BRIGITTE CHARLES, HELENE GUINAUDEAU ET JEAN BRUNETON<sup>1</sup>Centre d'études des plantes médicinales, Unité de formation et de recherche des sciences médicales et pharmaceutiques,  
16, boulevard Daviers, 49000 Angers, France

et

PIERRE CABALION

Office de la recherche scientifique et technique d'outre-mer, B.P. 76, Port-Vila, Vanuatu

Reçu le 6 juin 1988<sup>2</sup>BRIGITTE CHARLES, HELENE GUINAUDEAU, JEAN BRUNETON et PIERRE CABALION. *Can. J. Chem.* 67, 1257 (1989).

À côté de huit aporphinoïdes, six alcaloïdes possédant une structure de morphinane ont été isolés des parties aériennes de *Stephania zippeliana* Miq. (Ménispermacées) : quatre d'entre eux sont nouveaux : la (+)-erromangine 2, la (+)-tannagine 3, la (+)-zippeline 5 et la (+)-zippelianine 6. La (+)-stephodeline 1, la (+)-isostephodeline 4 et les composés 2 et 3 sont isomères. La structure de la (+)-isostephodeline 4 a été corrigée.

Mots clés : *Stephania zippeliana*, morphinanes, alcaloïdes.

BRIGITTE CHARLES, HELENE GUINAUDEAU, JEAN BRUNETON, and PIERRE CABALION. *Can. J. Chem.* 67, 1257 (1989).

Eight aporphinoids and six morphinans have been isolated from aerial parts of *Stephania zippeliana* Miq. (Menispermaceae); four of them are new: (+)-erromangine 2, (+)-tannagine 3, (+)-zippeline 5, and (+)-zippelianine 6. The previously isolated alkaloids (+)-stephodeline 1, (+)-isostephodeline 4, and compounds 2 and 3 are isomeric. The structure of (+)-isostephodeline 4 has been revised.

Key words: *Stephania zippeliana*, morphinans, alkaloids.

L'analyse de l'extrait alcaloïdique total obtenu à partir de 3 kg des parties aériennes sèches de *Stephania zippeliana* a fourni 14 alcaloïdes dont huit aporphinoïdes; ces derniers sont quatre aporphines, la (+)-corydine, la (+)-dicentrine, la (+)-crebanine et la (+)-stesakine, deux oxoaporphines, la dicentrinone et l'oxocrebanine et deux hydroxy-4 aporphines, la (+)-épiglaufidine et la (+)-hydroxy-4 dicentrine (1). Les six autres alcaloïdes sont des morphinanes, la (+)-stephodeline 1, la (+)-erromangine 2, la (+)-tannagine 3, la (+)-isostephodeline 4, la (+)-zippeline 5 et la (+)-zippelianine 6. Les alcaloïdes 1 et 4 ont été isolés précédemment à partir de *Stephania delavayi*; les autres sont nouveaux.

Les alcaloïdes 1, 2, 3, 4 sont isomères. Leurs spectres de masse (impact électronique) sont qualitativement semblables mais diffèrent par l'abondance des ions. Le pic moléculaire à  $m/z$  373 correspond à la formule brute  $C_{21}H_{27}O_5N$ . Le spectre infrarouge de ces quatre composés présente deux bandes d'absorption vers 1615 et 1665  $cm^{-1}$  mettant en évidence une fonction carbonyle conjuguée.

Le premier morphinane nouveau isolé est la (+)-erromangine 2. Le spectre de rmn du proton (reporté autour de la formule 2) présente quatre singulets de trois protons chacun dus à quatre méthoxyles ( $\delta$  3,78, 3,83, 3,84 et 4,08 ppm). Un système de quatre signaux conjugués est présent dans la région des protons aliphatiques; ce système est dû à un groupement méthylène (doublet de doublet à  $\delta$  2,68 ppm, et doublet à  $\delta$  3,18 ppm,  $J_{gem} = 17,7$  Hz) conjugué à un groupement CH (doublet à  $\delta$  3,83 ppm,  $J_{ax} = 5,5$  Hz), lui-même couplé à un second groupe CH (singulet élargi à  $\delta$  2,42 ppm). La présence de cet enchaînement  $-CH_2-CH-CH-$  est en faveur d'un squelette morphinane et exclut une structure hasubanane qui est caractérisée par la présence d'un système  $-CH_2-CH_2-$ . Les constantes de couplages des signaux de la séquence  $CH_2-CH-CH$  sont du même ordre que celles observées pour la stephodeline 1

(reportées autour de la formule 1), et indiquent un enchaînement *trans* des cycles B et C de la (+)-erromangine comme pour la (+)-stephodeline (2). Dans la région des protons aromatiques, la présence de deux singulets de un proton à 6,59 et 6,60 ppm indique que le cycle A est substitué en 2,3. Deux doublets de un proton chacun à  $\delta$  2,83 et 2,88 ppm, présentant une constante de couplage de 16 Hz, sont dus à un groupement méthylène isolé. L'existence simultanée de la fonction carbonyle conjuguée et d'un groupement méthylène isolé dans la molécule impose que le groupement carbonyle soit en 6 ou 8. La différence des déplacements chimiques des protons en 14 et en 5, ainsi que celle d'un des méthoxyles du cycle C, indique une substitution différente de ce cycle C entre la stephodeline 1 et l'alcaloïde 2. Dans le cas de la stephodeline, l'étude des effets Overhauser indique que le groupement carbonyle est en 6; en effet, l'irradiation du proton en 14 provoque l'augmentation du signal dû au méthoxyle à 4,18 ppm et inversement. Par suite, pour la (+)-erromangine 2, la fonction carbonyle ne peut être qu'en 8.

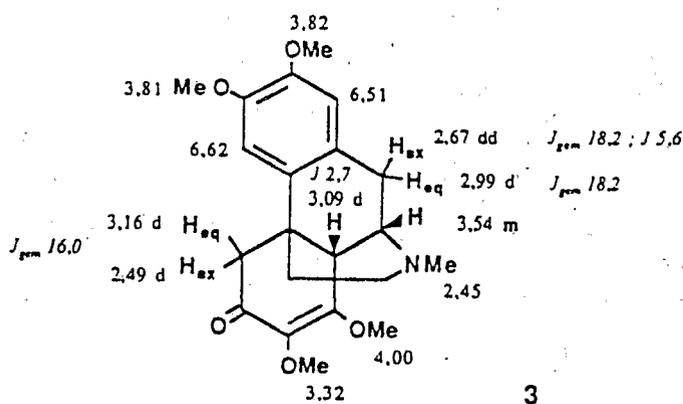
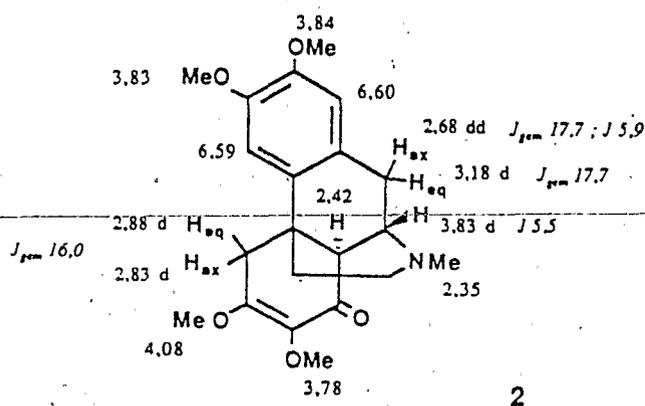
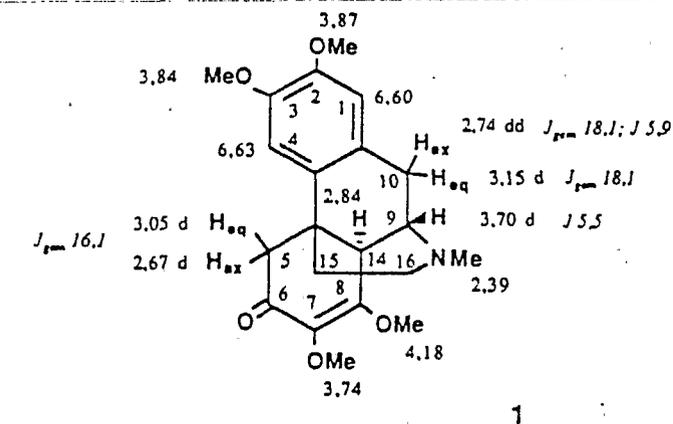
L'étude du spectre de rmn du  $^{13}C$  confirme cette attribution. Le déplacement chimique du carbone 5 est de 48,2 ppm dans le spectre de 1 et 39,1 ppm dans celui de 2. La valeur observée dans le spectre de 2 est à rapprocher de celle présentée par la (+)-tridictyophylline ( $\delta$  34,6 ppm) (3) ou de celle observée dans le cas de la (+)-stephaphylline ( $\delta$  37,2 ppm) (4).

Le deuxième alcaloïde isolé, la (+)-tannagine 3, présente, sur son spectre de masse, des fragmentations différentes de celles observées sur le spectre de masse de 1 et de 2. En particulier, le fragment à  $m/z$  59 a une abondance de 15% alors qu'il est pratiquement inexistant sur le spectre des alcaloïdes précédents; l'abondance de ce fragment est considérée comme indicative d'un enchaînement *cis* (5, 6).

Le spectre de rmn  $^1H$  de 3 diffère de celui de l'alcaloïde précédent par la présence du signal dû au méthoxyle en 7 dans les champs plus élevés ( $\delta$  3,32 ppm), par le déplacement vers les champs plus faibles du multiplet dû à un des protons en C-15 ( $\delta$  1,47 ppm) ainsi que par la modification des constantes de couplage des protons en C-9 et C-14. Le découplage sélectif

1. Auteur, à qui adresser toute correspondance.

2. Revision reçue le 22 mars 1989.



du spectre de rmn du proton ainsi qu'une étude des effets Overhauser confirment l'enchaînement *cis* des cycles B et C. En particulier, l'irradiation du doublet du proton en 14 ( $\delta$  3,09 ppm) entraîne une augmentation de l'intensité du multiplet à  $\delta$  1,92 ppm dû à H-15<sub>ax</sub>, l'effet inverse étant également observé. L'analyse du spectre de  $^{13}\text{C}$  permet de placer la fonction carbonyle en 6 étant donné le déplacement chimique du carbone 5 à 48,9 ppm; en effet, cette valeur est voisine de celle observée sur le spectre de la (+)-stephodeline 1. La (+)-tannagine est donc un céto-6 morphinane tétraméthoxylé en 2, 3, 7 et 8 avec une jonction *cis* des cycles B et C. Cette structure est celle qui a été attribuée à la (+)-isostephodeline (7). Cependant, les données spectrales de la (+)-tannagine 3 sont différentes de celles décrites pour la (+)-isostephodeline.

Le morphinane 4, isolé au cours de notre travail, présente en revanche des données spectrales identiques à celles indiquées pour la (+)-isostephodeline (7).

Le déplacement chimique à  $\delta$  39,2 ppm du carbone 5 sur le spectre de  $^{13}\text{C}$  de l'alcaloïde 4 permet de placer la fonction

carbonyle en 8 et non en 6 comme indiqué antérieurement pour l'isostephodeline. D'une part, les valeurs des constantes de couplage des signaux dus aux protons en 9 et 14 sont proches de celles observées dans le spectre de la (+)-tannagine; d'autre part, l'étude des effets Overhauser montre un effet réciproque entre les protons en 14 ( $\delta$  2,62 ppm) et celui en 15<sub>ax</sub> ( $\delta$  1,92 ppm). De plus, le fragment à  $m/z$  59 a une abondance de 12%. Ces données permettent de déterminer la stéréochimie *cis* de la jonction des cycles B et C. De même que pour les deux alcaloïdes précédents, le déplacement chimique du carbone 5 dans le spectre de  $^{13}\text{C}$  est indicatif de la position du carbonyle; ce carbone résonnant à  $\delta$  39,2 ppm, la cétone doit être en 8.

La (+)-isostephodeline 4 est donc un céto-8 morphinane d'enchaînement B/C *cis* et la (+)-stephaphylline de *Stephania suberosa* lui est identique (4).

Les deux autres morphinanes isolés appartiennent au même type structural. La (+)-zippeline 5 a pour formule brute  $\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{O}_4\text{N}$  et son spectre de masse présente un pic moléculaire décalé de 30 uma par rapport à celui de la (+)-stephodeline. Le spectre de rmn du proton de 5 est proche de celui de la (+)-stephodeline; cependant, il ne présente que trois singulets attribuables à des méthoxyles ( $\delta$  3,72, 3,84, 3,87 ppm) et comporte un doublet supplémentaire ( $\delta$  5,81 ppm,  $J = 2$  Hz) dû à un proton qui couple avec celui en 14 ( $\delta$  2,97 ppm) comme l'a indiqué le découplage systématique. Une étude partielle des effets Overhauser montre une augmentation réciproque des intensités des signaux entre les protons en 8 et 14. Le méthoxyle porté par le carbone 8 dans la (+)-stephodeline est remplacé dans la (+)-zippeline 5 par un hydrogène.

Le dernier alcaloïde isolé, la (+)-zippelianine 6, présente des données spectrales proches de celles de la (+)-stephodeline 1. Le spectre de masse de 6 présente un pic moléculaire à  $M^+$  359, c'est à dire inférieur de 14 uma à celui de la (+)-stephodeline; il correspond à la formule brute  $\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{O}_5\text{N}$ . Le spectre uv présente un effet bathochrome en milieu alcalin, ce qui indique la présence d'une fonction phénolique. Le spectre de rmn du proton montre l'absence du singulet dû au méthoxyle en 2 qui résonne sur le spectre de la (+)-stephodeline à  $\delta$  3,87 ppm. Une étude partielle des effets Overhauser montre la proximité du méthoxyle qui résonne à 3,85 ppm et du proton en 4 ( $\delta$  6,59 ppm). La (+)-zippelianine 6 est donc une (+)-déméthyl-2 stephodeline. La méthylation de l'alcaloïde 6 par le diazométhane conduit à la (+)-stephodeline 1.

Jusqu'alors, l'étude approfondie des spectres de rmn du proton des céto-6 ou céto-8 morphinanes (enregistrement des spectres à hauts champs, découplage, étude des effets Overhauser) ne permettait pas de déterminer avec certitude la stéréochimie de la jonction des cycles B et C. Seul le déplacement chimique du carbone 5 sur le spectre de  $^{13}\text{C}$  est indicatif de la position du carbonyle en position 6 ou 8. L'examen du spectre de masse en impact électronique n'est pas non plus concluant. En effet, l'abondance de l'ion fragment à  $m/z$  59 ne semble pas être un élément de diagnostic très sûr en ce qui concerne l'enchaînement des cycles B et C; cette abondance n'est en effet pas reproductible d'un spectre à l'autre, les conditions dans lesquelles sont enregistrées les spectres semblant intervenir de façon non négligeable.

Par contre, l'étude des spectres en ms/ms en ionisation chimique positive nous a donné des résultats dépourvus d'ambiguïté (8); dans le cas d'un céto-6 morphinane, l'ion fragment correspondant aux carbones 7 et 8 éliminé aux cours des fragmentations ( $m/z$  87 dans le cas d'une substitution diméthoxy-



342 (100), 330 (40), 222 (13), 201 (8), 192 (2), 59 (3). *Masse Exacte* calc. pour  $C_{21}H_{27}O_5N$ : 373,1894; trouvé (sm): 373,1889.

Principaux effets nOe observés: H-4 vers OMe-3 (11%) et réciproquement (10%); H-4 vers H-5<sub>eq</sub> (9%) et réciproquement (12%); H-14 vers H-15<sub>ax</sub> (6%) et réciproquement (7%).

(+)-Isostephodoline 4 (rendement 14,5%):  $[\alpha]_D +93^\circ$  (CHCl<sub>3</sub>, c 1.0); ir (KBr): 1645, 1605 cm<sup>-1</sup>; uv (EtOH): 273, 225, 211 nm; <sup>1</sup>H: H-15<sub>ax</sub>: 1,92 (m, H-15<sub>ax</sub>), 1,53 (m, H-15<sub>eq</sub>), 2,10 (m, H-16<sub>ax</sub>), 2,48 (m, H-16<sub>eq</sub>); <sup>13</sup>C: 110,7 (C-1), 147,5 (C-2), 147,3 (C-3), 106,4 (C-4), 39,2 (C-5), 160,8 (C-6), 136,1 (C-7), 193,2 (C-8), 52,6 (C-9), 23,1 (C-10), 130,4 (C-11), 129,2 (C-12), 27,0 (C-13), 53,3 (C-14), 39,4 (C-15), 46,2 (C-16); sm (IE) m/z: 373 (72) M<sup>+</sup>, 358 (100), 342 (17), 330 (8), 315 (42), 299 (23), 283 (48), 222 (14), 201 (8), 192 (2,2), 59 (12,5). *Masse Exacte* calc. pour  $C_{21}H_{27}O_5N$ : 373,1894; trouvé (sm): 373,1889.

Principaux effets nOe observés: H-4 vers OMe-3 (15%) et réciproquement (15%); H-4 vers H-5<sub>eq</sub> (12%) et réciproquement (16%); H-14 vers H-15<sub>ax</sub> (7%) et réciproquement (7%); H-14 vers H-9 (10%) et réciproquement (10%).

(+)-Zippeline 5 (rendement: 0,1%):  $[\alpha]_D +20^\circ$  (CHCl<sub>3</sub>, c 0,60); ir (KBr): 1660, 1625 cm<sup>-1</sup>; uv (EtOH): 272, 225, 210 nm; <sup>1</sup>H: 2,27 (m, H-15<sub>ax</sub>), 1,14 (m, H-15<sub>eq</sub>), 2,11 (m, H-16<sub>ax</sub>), 2,49 (m, H-16<sub>eq</sub>); <sup>13</sup>C: 110,5 (C-1), 147,6 (C-2), 147,6 (C-3), 106,4 (C-4), 48,9 (C-5), 193,2 (C-6), 119,3 (C-7), 151,0 (C-8), 57,8 (C-9), 23,9 (C-10), 133,4 (C-11), 128,1 (C-12), 36,7 (C-13), 41,2 (C-14), 31,6 (C-15), 46,3 (C-16); sm (IE) m/z: 343 (100) M<sup>+</sup>, 328 (7), 300 (20), 192 (23), 115 (6), 59 (0,9). *Masse Exacte* calc. pour  $C_{20}H_{25}O_4N$ : 343,1781; trouvé (sm): 343,1783.

Principaux effets nOe observés: H-4 vers H-5<sub>eq</sub> (14%) et réciproquement (14%); H-9 vers H-14 (5%) et réciproquement (5%); H-9 vers H-10<sub>ax</sub> (12%) et réciproquement (4%); H-8 vers H-14 (5%) et réciproquement (5%).

(+)-Zippelianine 6 (rendement: 0,2%):  $[\alpha]_D +25^\circ$  (CHCl<sub>3</sub>,

c 0,70); ir (KBr): 1660, 1605 cm<sup>-1</sup>; uv (EtOH): 268, 221, 212 nm (EtOH + KOH: 272, 248, 221 nm); <sup>1</sup>H: 2,32 (m, H-15<sub>ax</sub>), 1,13 (m, H-15<sub>eq</sub>), 2,11 (m, H-16<sub>ax</sub>), 2,37 (m, H-16<sub>eq</sub>); sm (IE) m/z: 359 (40) M<sup>+</sup>, 344 (42), 329 (45), 328 (100), 316 (39), 230 (40), 222 (20). *Masse Exacte* calc. pour  $C_{20}H_{25}O_5N$ : 359,1741; trouvé (sm): 359,1732.

Principaux effets nOe observés: H-4 vers H-5<sub>eq</sub> (14%) et réciproquement (14%); H-9 vers H-14 (5%) et réciproquement (5%); H-9 vers H-10<sub>ax</sub> (12%) et réciproquement (4%); H-4 vers OMe-3 (11%) et réciproquement (12%).

Méthylation de la zippelianine 6: 10 mg de 6 en solution dans 2 mL de méthanol ont été mis en contact avec 3 mL de diazométhane en solution étherée pendant 24 h; après évaporation du solvant, 6 mg de résidu présentent des caractéristiques spectrales identiques à celles de la stéphodéline 1 (ccm, ir, <sup>1</sup>H).

1. H. GUINAUDEAU, M. LEBOEUF et A. CAVÉ. *J. Nat. Prod.* 47, 565 (1984).
2. T. L. IL'INSKAYA, M. E. PERELSON, I. I. FADEEVA et O. N. TOLKACHEV. *Khim. Prir. Soedin.* 650 (1973).
3. A. I. SPIFF, V. ZABEL, H. WATSON, M. A. ZEMAITI, A. M. ATEYA, D. J. SLATKIN, J. E. KNAPP et P. L. SCHIFF. *J. Nat. Prod.* 44, 160 (1981).
4. A. PATRA. *Phytochemistry*, 26, 2391 (1987).
5. H-E. AUDIER, M. FETIZON, D. GINSBURG, A. MANDELBAUM et T. RULL. *Tetrahedron Lett.* 13 (1965).
6. A. MANDELBAUM et D. GINSBURG. *Tetrahedron Lett.* 2479 (1965).
7. M. E. PERELS'ON, I. I. FADEEVA et T. L. IL'INSKAYA. *Khim. Prir. Soedin.* 188 (1975).
8. B. CHARLES et J.-C. TABET. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2, 86 (1988).