

Invertébrés marins du lagon néo-calédonien. I. Étude structurale d'une nouvelle sapogénine extraite d'une holothurie: *Bohadschia vitiensis* Semper

Marine invertebrates from New-Caledonian Lagoon. I. Structural study of a new sapogenin isolated from a sea-cucumber: *Bohadschia vitiensis* Semper

A. Clastres, A. Ahond, C. Poupat, P. Potier et A. Intès¹

Institut de Chimie des Substances Naturelles du C.N.R.S., F-91190 Gif-sur-Yvette (France), 30 janvier 1978

Summary. Acid hydrolysis of Cuvier's organs alcoholic extract of sea-cucumber, *Bohadschia vitiensis*, led to many sapogenins. The first 3 isolated compounds had already been isolated from another sea-cucumber species/ seychellogénine, 22,25-oxido-holothurinogénine and 24,25-dehydro holothurinogénine. The 4th product is a new sapogenin, formulated, 4, on the basis of spectroscopic data.

L'activité neurotoxique, hémolytique, parfois antitumorale de saponines² isolées d'holothuries ou concombres de mer (Echinodermes, Holothuridés) nous a incités à étudier une holothurie d'une espèce nouvelle récoltée sur la côte ouest de la Nouvelle-Calédonie.

Les organes de Cuvier de cette holothurie, *Bohadschia vitiensis* Semper, ont fourni, après extraction et hydrolyse acide, 4 sapogénines/ la désoxy-17 holothurinogénine 1 ou seychellogénine³, l'oxydo-22,25 holothurinogénine (2)⁴, la déhydro-24,25 holothurinogénine (3)⁵, déjà isolées, et un quatrième produit.

Ce composé (F 209–210 °C (MeOH), $[\alpha]_D^{25} -5^\circ$ (CHCl₃), a pour formule brute C₃₀H₄₈O₄ (microanalyse). Le spectre IR (nujol) montre une absorption à 1760 cm⁻¹ (δ lactone) et à 3200–3300 cm⁻¹ (hydroxyle). Dans le spectre UV(EtOH) aucune absorption au-delà de 210 nm n'est observé, ce qui exclut la présence d'un système diénique commun aux génines 1, 2 et 3. Le spectre de masse m/e 472 (6%), 454 (12%; M–H₂O) et 395 (100%) montre que ce composé possède le même type de squelette que la seychellogénine, (1) avec saturation d'une double liaison et un hydroxyle supplémentaire. Le spectre de RM¹H confirme la présence de 7 groupes méthyles (5 singulets et 1 doublet, J=6 Hz, CH (CH₃)₂), d'un proton éthylénique à 5,12 ppm (s large, W 1/2=6 Hz) et d'un proton à 4,38 ppm (s large, W 1/2=6 Hz) porté par un carbone hydroxylé.

Le spectre de RM¹³C permet de confirmer la présence d'une lactone (O=C₁₈, 176,2 ppm; C₂₀, 85,1 ppm; C₁₃, 65,8 ppm), d'une double liaison trisubstituée (>C= 153,1 ppm; –HC=, 117,8 ppm) et de 2 carbones «méthines» hydroxylés (HC–OH, 78,2 ppm et 71,6 ppm) (tableau 1).

Les positions de la double liaison et du deuxième hydroxyle sont confirmées à la fois: par RM¹³C: les déplacements chimiques des carbones de la double liaison correspondent à ceux des carbones C₉ et C₁₁⁶; par ailleurs le déblindage (~8 ppm) du C₁₃ (par rapport à C₁₃ de 1) indique la proximité du 2e groupe hydroxyle; par dichroïsme circulaire (DC): l'étude des courbes de DC (EtOH) montre une absorption à 205 nm $[\theta] = +18500$ qui correspond à celle d'une double liaison C₉–C₁₁⁷ et non à celle d'une double liaison C₅–C₆ ou C₇–C₈; par RM¹H: le proton éthylénique H–C₁₁ (s large) exclut le voisinage d'un méthylène en C₁₂ et permet de placer sur ce carbone la 2e fonction hydroxyle; la position β de l'hydroxyle est déduite de la largeur des signaux⁸ des protons H–C₁₁ et H–C₁₂ et du déblindage de ces 2 protons respectivement dans le C₆D₆ –0,30 et –0,47 ppm et dans le C₅D₅N –0,48 et –0,42 ppm.

Dans le spectre de RM¹H, la région des méthyles⁹ a été étudiée dans différents solvants (tableau 2). Il résulte de cette comparaison que le méthyle 21, fortement influencé par la présence de l'hydroxyle en 12 β , est situé en arrière du plan du cycle lactonique, donc 21 α ¹⁰. La génine isolée est donc le trihydroxy-3S, 12R, 20S oïque-18 lactone (18→20S) $\Delta^{9(11)}$ lanostène.

Matériels et méthodes. 945 g d'organes de Cuvier (16 kg d'holothurie) sont broyés dans 2,5 l d'éthanol à 50% et

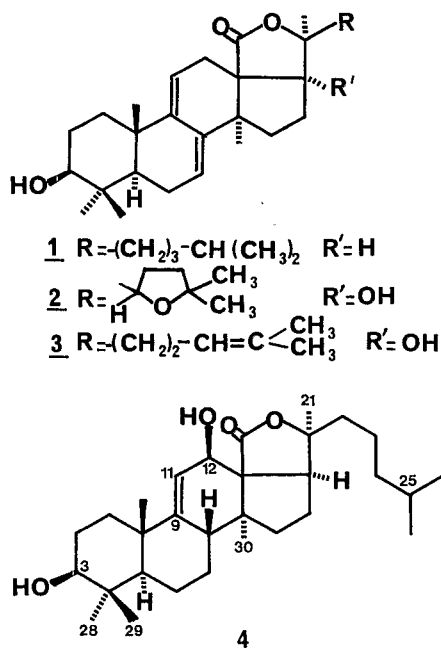


Tableau 1. Spectre de RM¹³C de 1 et 4

	1	4	1	4
C-1	39,2 t	39,4 t	C-16	26,7 t 26,1 t
C-2	23,0 t	27,9 t	C-17	50,1 d 51,4 t
C-3	78,9 d	78,2 d	C-18	177,5 s 176,3 s
C-4	37,5 s	39,3 s	C-19	21,9 q 21,5 q
C-5	49,3 s	50,6 s	C-20	84,1 s 85,1 s
C-6	24,2 d	21,6 t	C-21	23,0 q 21,5 q
C-7	120,9 d	28,2 t	C-22	35,9 t 36,2 t
C-8	139,9 d	40,0 d	C-23	26,6 t 26,1 t
C-9	147,8 d	153,1 s	C-24	39,2 t 39,3 t
C-10	38,7 s	39,3 s	C-25	28,2 d 27,9 d
C-11	111,8 d	117,8 d	C-26	22,5 q 22,6 q
C-12	33,3 t	71,6 d	C-27	22,5 q 22,6 q
C-13	57,6 s	65,8 s	C-28	26,1 q 27,9 q
C-14	48,6 s	49,7 s	C-29	15,8 q 15,7 q
C-15	33,3 t	36,4 t	C-30	22,5 q 22,3 q

Les spectres de découplage total (PND) et de découplage partiel (OR) sont enregistrés dans le CDCl₃ à 15,08 MHz sur spectromètre Bruker WP60. Les déplacements chimiques sont exprimés en ppm, Me₄Si servant d'étalon interne.

O. R. S. T. O. M. 24 OCT. 1978

Collection de Référence

n° 9361 Ocea

agités pendant 8 h. Après centrifugation ($2000 \times g$) et filtration, on recueille la solution éthanolique. Cette opération est répétée 2 fois (1,5 l et 1 l). Les solutions hydro-alcooliques sont concentrées à demi-volume et extraites par le benzène. La phase aqueuse est acidifiée par HCl jusqu'à concentration 4 N puis chauffée au bain-marie (100°C , 4 h).

Les génines, qui précipitent, sont recueillies par filtration (5,85 g). Ce précipité est repris par le benzène bouillant; la partie soluble (4,75 g) est chromatographiée sur Alumine Merck (activité II-III, 140 g). L'éluion (fractions de 50 ml) par benzène, benzène-éther et éther fournit 4 produits qui cristallisent du méthanol. Des fractions benzène on recueille le produit **1** (1,91 g, F $232-233^\circ\text{C}$, sublimé), des

fractions benzène-éther (90:10) les composés **2** (30 mg, F 295°C , sublimé) et **3** (15 mg, F $231-232^\circ\text{C}$) et des fractions éther le produit **4** (80 mg, F 200°C).

Tableau 2. Spectre de RM¹H de **4**

	H-11	H-12	H-19	H-21	H-26 et H-27	H-28	H-29	H-30
CDCl ₃	5,12	4,38	1,19	1,60	0,87	1,00	0,91	0,82
C ₆ D ₆	5,42	4,85	1,43	1,83	0,87	1,18	1,04	0,92
C ₃ D ₅ N	5,60	4,80	1,38	1,94	0,87	1,24	1,08	1,00

Les spectres sont enregistrés à 60 MHz sur spectromètre Varian T60. Les déplacements chimiques sont exprimés en ppm, le Me₄Si servant d'étalon interne.

- 1 Centre O.R.S.T.O.M. de Nouméa, B.P. A5, Nouméa-Cédex (Nouvelle-Calédonie).
- 2 G.R. Pettit, C.L. Herald et D.L. Herald, *J. Pharm. Sci.* **65**, 1558 (1976).
- 3 P. Roller, B. Tursch et C. Djerassi, *J. org. Chem.* **35**, 2585 (1970).
- 4 J.D. Chanley, T. Mezetti et H. Sobotka, *Tetrahedron* **22**, 1857 (1966).
- 5 J.D. Chanley et C. Rossi, *Tetrahedron* **25**, 1911 (1969).
- 6 Dans le cas du NN-diméthyle-3β-*A*⁹⁽¹¹⁾ conène-5α, les déplacements chimiques des carbones C₉ et C₁₁ sont respectivement 150,3 et 115,4 ppm. G. Lukacs, communication personnelle.
- 7 J. Hudec et D.N. Kirk, *Tetrahedron* **32**, 2475 (1976).
- 8 G.F.H. Green, J.E. Page et S.E. Staniforth, *J. chem. Soc. B*, 1966, 807.
- 9 L'addition d'Eu(fod)₃ à une solution chloroformique de **1**, a permis de confirmer l'attribution des méthyles 19, 28 et 29 de **4**, selon G. Romeo, P. Giannetto et M.C. Aversa, *Org. magn. Resonance* **9**, 29 (1977).
- 10 La stéréochimie du C₂₀ a été établie par R.X. dans 2 cas, la méthoxy-25 holotoxigénine (W.L. Tan, C. Djerassi, J. Fayos et J. Clardy, *J. org. Chem.* **40**, 466 (1975)) et l'acétyl-3 déoxy-17 oxydo-22,25 holothurinogénine (S.G. Ilin, B.L. Tarnopolskii, Z.I. Safina, A.N. Sobolev, A.K. Dzizenko et G.B. Elyakov, *Dokl. Akad. Nauk SSSR* **230**, 860 (1976)).