

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 \rightarrow 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

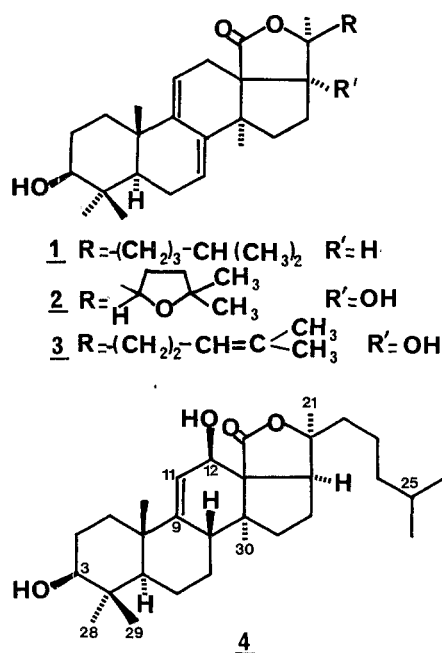


Tableau 1. Spectre de RM¹³C de **1** et **4**

| | 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.

U. K. S. I. O. M. Fonos Documentaire

No : 15707, ex 1

Cote : B

agités pendant 8 h. Après centrifugation (2000 × 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'élution (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 °C, sublimé), des

fractions benzène-éther (90:10) les composés 2 (30 mg, F 295 °C, sublimé) et 3 (15 mg, F 231-232 °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 ₅ 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-¹¹conène-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)).