

INVERTÉBRÉS MARINS DU LAGON NÉO-CALÉDONIEN, III.¹
ÉTUDE STRUCTURALE DE TROIS NOUVEAUX DITERPÈNES ISOLÉS
DU PENNATULAIRE, CAVERNULINA GRANDIFLORA

A. CLASTRES, P. LABOUE,

Centre ORSTOM, B.P. A5, Nouméa Cedex, Nouvelle-Calédonie

A. AHOND, C. POUPAT, et P. POTIER

Institut de Chimie des Substances Naturelles du CNRS, 91190, Gif-sur-Yvette, France

ABSTRACT.—Three new diterpenes, related to stylatulide but non-halogenated, have been isolated from a new species of sea-pen, *Cavernulina grandiflora*: cavernuline (1), *O*-deacetylpropionyl cavernuline (5), and cavernulinine (6). The structures are proposed on the basis of spectral evidence.

Après avoir étudié les diterpènes isolés du Pennatulaire, *Pteroides laboutei* (1), nous avons entrepris l'étude de ceux extraits d'un autre Pennatulaire, *Cavernulina grandiflora*. De ce dernier, récolté sur la côte ouest de Nouvelle-Calédonie, trois composés ont été séparés à partir de l'insoluble dans l'éther de pétrole d'un extrait chlorométhylénique de l'organisme lyophilisé. Ces trois produits sont des diterpènes du même type que ceux précédemment décrits (1).

Le composé **1** a pour formule brute $C_{30}H_{44}O_{10}$; sur son spectre ir, on note la présence de bandes à 3350, 1770 et 1730 cm^{-1} attribuables à des groupements hydroxyle, γ -lactone et ester: ceux-ci sont confirmés par l'examen des spectres rmn (Tableaux 1 et 2). Le spectre de rmn ^{13}C , qui confirme l'existence de 30 carbones, indique la présence de deux doubles liaisons, de six carbones sp^3 porteurs d'oxygène (entre 83 et 67 ppm) et de quatre carbones de carbonyles: en plus de deux acétates (deux singulets de trois protons chacun à 1,96 et 2,01 ppm sur le spectre de rmn 1H), la molécule porte donc un troisième groupement ester; celui-ci a été identifié à un hexanoate (caproate): un triplet de trois protons à 0,88 ppm, deux multiplets de quatre et deux protons à 1,33 et 1,55 ppm et un triplet de deux protons à 2,23 ppm ont été attribués à l'enchaînement $CH_3-(CH_2)_4COO-$. Quatre groupements méthyles sont également visibles sur le spectre de rmn 1H : trois sous forme de singulets à 1,29, 1,89 et 2,01 ppm et un sous forme de doublet ($J=7$ Hz) à 1,23 ppm; par analogie avec les autres composés déjà décrits de la série, le méthyle à 1,29 ppm a été localisé en 15 et celui à 1,23 ppm, qui couple avec un quadruplet à 3,16 ppm, en 18; l'affinement des signaux à 2,01 et 1,89 ppm lorsqu'on irradie les protons à 5,36 et 5,51 ppm nous a orientés vers des méthyles vinyliques. Ces mêmes irradiations ont mis en évidence le couplage de ces deux protons vinyliques avec deux protons résonnant respectivement à 5,47 et 5,18 ppm. Les déplacements chimiques des carbones des méthyles vinyliques (24,5 et 27,9 ppm) sont en faveur de doubles liaisons *Z* (2). Deux protons mobiles (OH), échangeables par l'eau lourde, résonnent sous forme d'un singulet à 1,65 ppm et d'un doublet à 2,93 ppm qui couple avec un doublet dédoublé de un proton à 4,54 ppm: le premier a donc été attribué à un alcool tertiaire, le second à un alcool secondaire; l'obtention d'un dérivé monoacétylé **2**, dont le spectre montre un déblindage (de 4,54 à 5,99 ppm) du proton géminale de l'ester, confirme cette attribution. Ce proton géminale, à 4,54 ppm, sur le spectre de l'alcool, couple aussi avec un singulet large à 2,64 ppm.

Ces données nous ont amenés à rapprocher **1** d'un composé isolé du *Stylatula* sp. (3) (**3**) qui possède également deux doubles liaisons ($\Delta 5$, $\Delta 11$), trois groupements esters

¹Partie II: A. Clastres, A. Ahond, C. Poupat, P. Potier et S. Kan, *J. Nat. Prod.*, **47**, 155 (1984).



TABLEAU 1. Spectres de rnmn ^1H de 1, 5, 6 comparés à celui de 3 (dans CDCl_3).

N° Protons	1	5	6	3(3)
2	4,83, d, $J_{2,3}=7$ Hz	4,84, d, $J_{2,3}=7$ Hz	4,83, d, $J_{2,3}=7$ Hz	5,03, d, $J=7$ Hz
3	2,93, dt, $J=15$ et 5 Hz	2,93, dt, $J=15$ et 5 Hz	2,92, dt, $J=15$ et 5 Hz	—
	1,55, m	1,55, m	1,57, m	—
4	2,48, d.ép., $J_{4,4}=15$ Hz	2,47, d.ép., $J_{4,4}=14$ Hz	2,47, d.ép., $J_{4,4}=14$ Hz	—
	1,95, m	1,95, m	1,95, m	—
6	5,36, d, $J_{6,7}=10$ Hz	5,36, d, $J_{6,7}=10$ Hz	5,36, d.ép., $J_{7,6}=10$ Hz	5,42, m
7	5,47, d, $J_{7,6}=10$ Hz	5,47, d, $J_{7,6}=10$ Hz	5,47, d, $J_{6,7}=10$ Hz	5,42, m
9	4,54, dd, $J_{9,\text{OH}}=7$ Hz $J_{9,10}=4$ Hz	4,53, dd, $J_{9,\text{OH}}=7$ Hz $J_{9,10}=4$ Hz	4,52, dd, $J_{9,\text{OH}}=7$ Hz $J_{9,10}=4$ Hz	5,99, s
10	2,64, s.ép., $W_{1/2}=9$ Hz	2,63, s.l., $W_{1/2}=10$ Hz	2,62, s.ép., $W_{1/2}=9$ Hz	2,97, s.ép.
12	5,51, s.ép., $W_{1/2}=10$ Hz	5,50, s.ép., $W_{1/2}=10$ Hz	5,51, s.ép., $W_{1/2}=10$ Hz	5,42, m
13	5,18, dd, $J_{13,14}=2$ Hz $J_{13,12}=3$ Hz	5,17, dd, $J_{13,14}=2$ Hz $J_{13,12}=3$ Hz	5,16, s.ép., $W_{1/2}=6$ Hz	—
14	5,30, s.ép., $W_{1/2}=6$ Hz	5,30, s.ép., $W_{1/2}=6$ Hz	5,26, s.ép., $W_{1/2}=5$ Hz	4,76, s.ép.
15	1,29, s	1,29, s	1,29, s	0,98, s
16	2,01, s	2,02, s	2,02, s	2,0, s.ép.
17	3,16, q, $J_{17,18}=7$ Hz	3,17, q, $J_{17,18}=7$ Hz	3,16, q, $J_{17,18}=7$ Hz	—
18	1,23, d, $J_{18,17}=7$ Hz	1,23, d, $J_{18,17}=7$ Hz	1,20, d, $J_{18,17}=7$ Hz	1,21, d, $J=7$ Hz
20	1,89, s	1,88, s	1,87, s	2,0, s.ép.
2'	2,23, t, $J_{2',3'}=7$ Hz	2,22, t, $J_{2',3'}=7$ Hz	—	—
3'	1,55, m	1,55, m	—	—
4'	1,33, m	1,30, m	—	—
5'	1,33, m	1,30, m	—	—
6'	0,88, t, $J_{6',5'}=7$ Hz	0,87, t, $J_{6',5'}=7$ Hz	—	—
OH(C-8)	1,63, s	1,63, s.ép.	1,63, m	3,67
OH(C-9)	2,93, d, $J_{\text{OH},9}=7$ Hz	2,88, d, $J_{\text{OH},9}=7$ Hz	3,13, d, $J_{\text{OH},9}=7$ Hz	—
Autres substituants	2 x CH_3CO_2 1,96, s 2,01, s	CH_3CO_2 : 1,96, s $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CO}_2$: 1,07, t, $J=7$ Hz 2,29, dq, $J=16$ et 7 Hz	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CO}_2$: 1,07, t, $J=7$ Hz 2,28, dq, $J=16$ et 7 Hz 2 x $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{CO}_2$: 0,90, t, $J=7$ Hz 0,97, t, $J=7$ Hz 1,57, m 2,18, t, $J=7$ Hz 2,20, t, $J=7$ Hz	3 x CH_3CO_2 1,96, s 2,03, s 2,17, s

TABLEAU 2. Spectres de ^{13}C comparés de **1** et **3** (dans CDCl_3) (entre parenthèses, multiplicité des signaux sur le spectre de découplage partiel hors résonance).

N° carbonés	1	3	N° carbonés	1	3
1	47,1 (s)	44,5	18	6,9 (q)	7,0
2	70,9 ^a (d)	73,5 ^a	19	173,7 (s)	176,6
3	31,6 ^b (t)	28,5	20	24,5 (q)	24,3
4	28,9 ^b (t)	26,7			
5	140,0 ^c (s)	134,7	1'	178,3 (s)	—
6	120,6 (d)	120,5 ^c	2'	34,3 (t)	—
7	78,4 ^a (d)	70,4 ^a	3'	31,2 ^b (t)	—
8	82,9 (s)	81,8	4'	24,4 (t)	—
9	68,2 (d)	79,1 ^a	5'	22,4 (t)	—
10	41,6 (d)	40,3	6'	13,9 (q)	—
11	147,6 ^c (s)	147,0			
12	117,5 (d)	117,7 ^c	CH_3CO_2 . .	21,4 (q)	21,4 x 2
13	74,9 ^a (d)	31,9		21,2 (q)	21,2
14	72,7 ^a (d)	74,8 ^a			
15	15,9 (q)	14,5	CH_3CO_2 . .	171,2 (s)	169,8
16	27,9 (q)	27,5		170,9 (s)	171,3
17	43,9 (d)	43,8			170,5

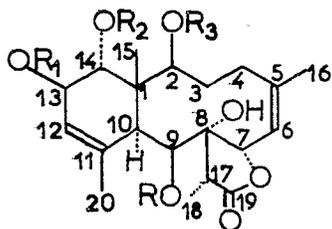
^aValeurs pouvant être inversées.^bValeurs pouvant être inversées.^cValeurs pouvant être inversées.

qui sont trois acétates et un alcool tertiaire. Cette analogie nous a fait attribuer les positions 20 et 16 aux méthyles à 1,89 et 2,01 ppm, les positions 6, 7, 12 et 13 aux protons à 5,36, 5,47, 5,51 et 5,18 ppm. L'oxydation, par MnO_2 , de l'alcool secondaire en cétone **4** se traduisant par un déplacement des signaux: de 5,47 à 5,13, de 2,64 à 4,40, de 3,16 à 3,66 ppm nous a fait situer la fonction alcool en position 9: le signal à 2,64 ppm est donc dû au H-10. L'acétylation confirme notre attribution puisqu'elle fait apparaître sur le spectre de ^{13}C un singulet de trois protons à 2,19 ppm présent dans toutes les molécules acétylées en cette position. Le déplacement chimique du H-13 (5,18 ppm) ne pouvant s'expliquer que par la présence sur le même carbone d'un des esters, il ne restait à définir que la position des deux autres esters, dont les protons géminaux résonnent à 4,83 (d, $J=7$ Hz) et 5,30 (s large) ppm. Une forte présomption pour les positions 2 et 14, toujours substituées dans tous les exemples décrits de diterpènes de ce type d'origine marine, a été en partie confirmée par les expériences de découplage: celles-ci ont, en effet, permis d'attribuer la position 14 au signal à 5,30 ppm ($J_{13,14}=2$ Hz; $J_{12,13}=3$ Hz). L'emploi d'euporium (fod)₃ a rendu plus facile l'attribution, non seulement de ces signaux vers 5 ppm mais encore de ceux vers 2 ppm. La mesure des constantes de couplage des protons géminaux a permis de préciser la configuration des carbones porteurs des groupements hydroxyle et esters (C-9, C-2, C-13 et C-14). Seule la position exacte du groupement caproate n'a pu être précisée. Nous proposons donc pour ce premier composé la structure **1** et le nom de cavernuline.

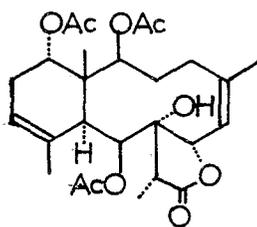
Le composé **5** a pour masse moléculaire M^+ 578. L'examen de ses spectres révèle qu'il ne diffère de **1** que par le remplacement d'un acétate par un propionate (un doublet de quadruplets de 2 protons à 2,29 ppm, $J=16$ et 7 Hz, et un triplet de trois protons à 1,07 ppm, $J=7$ Hz) (Tableau 1): c'est donc une *O*-désacétyl-propionyl cavernuline.

Le troisième composé, **6**, a même masse moléculaire que le **5** (m/z 578): l'examen de ses spectres montre qu'il ne diffère de **1** que par le remplacement des acétates et caproate par deux groupements butyrates (deux triplets de 2 protons à 2,18 et 2,20 ppm, $J=7$ Hz, un multiplet de quatre protons à 1,57 ppm et deux triplets de trois protons à 0,90 et 0,97 ppm, $J=7$ Hz) et un groupement propionate (un doublet de quadruplets de

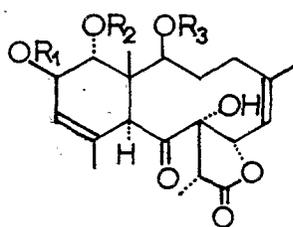
deux protons à 2,28 ppm, $J=16$ et 7 Hz, et un triplet de trois protons, $J=7$ Hz, à 1,07 ppm) (Tableau 1): la structure proposée est donc **6**: nous l'avons appelée cavernulinine.



- 1 R=H
R₁, R₂, R₃=Ac, Ac, CH₃CH₂CH₂CH₂CH₂CO
- 2 R=Ac
R₁, R₂, R₃=Ac, Ac, n-C₅H₁₁CO
- 5 R=H
R₁, R₂, R₃=Ac, n-C₂H₅CO, n-C₅H₁₁CO
- 6 R=H
R₁, R₂, R₃=n-C₂H₅CO, n-C₃H₇CO, n-C₃H₇CO



3

4 R₁, R₂, R₃=Ac, Ac, n-C₅H₁₁CO

PARTIE EXPÉRIMENTALE²

MATÉRIEL ANIMAL.—*Cavernulina grandiflora* n. sp. a été récolté sur la côte ouest de la Nouvelle-Calédonie; nouvelle espèce, décrite récemment (4), un holotype a été déposé dans les collections du Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris sous le n° Oct. A 1981-6.

EXTRACTION ET FRACTIONNEMENT.—Les 240 g de *C. grandiflora* lyophilisé, correspondant à 1,4 kg d'organisme congelé aussitôt après la récolte, sont extraits par CH₂Cl₂; en agitant trois fois, avec l'éther de pétrole, les 49 g d'extrait ainsi obtenus, on sépare une fraction soluble, riche en lipides et stérols (43,7 g) et 5,3 g d'insoluble. De cet insoluble on sépare, après chromatographie sur colonne (3 x 50 cm) de silice neutre (100 g) avec des mélanges de solvants de polarité croissante utilisant hexane, Et₂O et MeOH les trois composés qui cristallisent du mélange hexane-Me₂CO: **1** (394 mg), **5** (72 mg) et **6** (12 mg).

COMPOSÉ 1 (C₃₀H₄₄O₁₀).—F=251-253°; $[\alpha]_D -19,6^\circ$ (c=0,52, CHCl₃); ir (CHCl₃) γ max 3350, 1770, 1730 cm⁻¹; uv (MeOH) pas d'absorption au-dessus de 215 nm; Microanalyse [% (valeurs calculées)] C 63,6 (63,8) H 7,8 (7,8) O 28,4 (28,3); sm (m/z) 564 (M⁺), 546, 504, 476, 444, 390, 361, 346, 328, 221; rmn ¹H et ¹³C (CDCl₃) voir Tableaux 1 et 2.

ADDITION D'EU (FOD)₃.—À une solution de 20 mg de **1** dans 0,5 ml de CDCl₃ est ajoutée, goutte à goutte, une solution de 60 mg d'Eu (fod)₃ dans 0,5 ml de CDCl₃.

ACÉTYLATION DE 1.—Une solution de 26 mg de **1** dans 1 ml de pyridine est additionnée de 1 ml Ac₂O et agitée 24 h à température ambiante; un contrôle par c.c.m. [hexane-EtOAc (6:4)] ayant montré que la réaction était très incomplète, le mélange réactionnel a été chauffé à 60° puis à 100°. Après addition de 10 ml de CH₂Cl₂ et plusieurs lavages par HCl 1%, la phase organique a été séchée sur Na₂SO₄; le résidu d'évaporation, purifié par c.c.e. de gel de silice [hexane-EtOAc (6:4)] a conduit à 16 mg de **2**; ir (CHCl₃) γ max 1770, 1730 cm⁻¹; sm (m/z) 606 (M⁺), 588, 563, 546, 328; rmn ¹H (CDCl₃) δ 5,98 (d, $J=3$ Hz, C₉-H), 5,45 (s large, 1H, $W_{1/2}=9$ Hz, C₁₂-H), 5,35 (s large, 3H, $W_{1/2}=5$ Hz, C₆-H, C₇-H et C₁₄-H), 5,20

²Les points de fusion ont été mesurés sur microscope chauffant Reichert et les pouvoirs rotatoires au moyen du polarimètre électronique Perkin-Elmer 141 MC pour la raie D du sodium. Les spectres ir ont été enregistrés sur spectrophotomètre Perkin-Elmer type 297 et les spectres uv sur appareil Beckman Model 26. Les spectres de masse ont été exécutés sur spectrographe AEI, type MS 50, à 70 eV. Les spectres de rmn ¹H ont été enregistrés à 80 MHz sur appareil Brüker WP 80 ou à 400 MHz sur l'appareil expérimental de l'Institut d'Electronique Fondamentale d'Orsay (5,6) et les spectres de rmn ¹³C sur appareil Brüker HX 90.

1,07
nine.

(s ép., 1H, C₁₃-H), 4,87 (d, 1H, J=8 Hz, C₂-H), 2,84 (s large, 1H, W_{1/2}=8 Hz, C₁₀-H), 2,50 (m, 3H, C₃-H, C₄-H et C₁₇-H), 2,26 (t, 2H, J=7 Hz, C₂-H(2)), 2,19 (s, 3H, CH₃COO), 2,05 (s, 3H, C₂₀-H(3)), 2,03 (s, 3H), 2,02 (s, 3H), 1,96 (s, 3H, CH₃COO), 1,63 (s, OH), 1,57 (m, 3H, C₃-H(2) et C₃-H), 1,32 (m, 4H, C₄-H(2) et C₅-H(2)), 1,25 (d, 3H, J=7 Hz, C₁₈-H), 1,08 (s, 3H, C₁₅-H(3)), 0,90 (t, 3H, J=7 Hz, C₆-H(3)).

OXYDATION DE 1.—70 mg MnO₂ sont ajoutés à une solution de 12 mg de 1 dans 6 ml CHCl₃; après 48 h à température ambiante, le milieu réactionnel est filtré et le solvant distillé; après purification par c.c.e. de gel de silice [hexane-EtOAc (5:5)], on obtient 7 mg de 4; ir (CHCl₃) γ max 1770, 1730 cm⁻¹; sm (m/z 502, 442, 386, 326; uv (MeOH) pas d'absorption au-dessus de 215 nm; rmn ¹H (CDCl₃) δ 5,53 (s large, 1H, C₁₂-H), 5,45 (d large, 1H, J=10 Hz, C₆-H), 5,36 (s ép., 1H, C₁₃-H), 5,21 (d, 1H, J=4 Hz, C₁₄-H), 5,13 (d, 1H, J=10 Hz, C₇-H), 4,89 (d, 1H, 8 Hz, C₂-H), 4,40 (s, 1H, C₁₀-H), 3,66 (q, 1H, J=7 Hz, C₁₇-H), 2,45 (d, 1H, J=15 Hz, C₄-H), 2,30 (t, 2H, J=7 Hz, C₂-H(2)), 2,02 (s, 3H), 2,01 (s, 3H), 1,96 (s, 3H, CH₃CO₂), 1,89 (m, 1H, C₄-H), 1,70 (s, 3H), 1,63 (m, 3H, C₃-H(2) et C₃-H), 1,33 (m, 4H, C₄-H(2) et C₅-H(2)), 1,22 (d, 3H, J=7 Hz, C₁₈-H), 1,16 (s, 3H, C₁₅-H(3)), 0,90 (t, 3H, J=7 Hz, C₆-H(3)).

COMPOSÉ 5 (C₃₁H₄₆O₁₀).—F=262-264°; [α]_D-24° (c=0,5, CHCl₃); ir (CHCl₃) γ max 3375, 1770, 1710 cm⁻¹; uv (MeOH) pas d'absorption au-dessus de 215 nm; sm (m/z 578, 560, 518, 504, 476, 444; rmn ¹H voir Tableau 1.

COMPOSÉ 6 (C₃₁H₄₆O₁₀).—F=275-277°; [α]_D-24,3° (c=0,3, CHCl₃); ir (CHCl₃) γ max 3380, 1765, 1730 cm⁻¹; sm (m/z) 578 (M⁺), 560, 504, 416, 346, 328, 313; rmn ¹H (CDCl₃) voir Tableau 1.

REMERCIEMENTS

Nous remercions Mme M.-J. D'Hondt, du Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris, pour l'identification des échantillons et Mr. S. Kan, de l'Institut d'Électronique Fondamentale d'Orsay, pour nous avoir permis d'accéder à l'appareil expérimental de rmn à 400 MHz (5, 6).

BIBLIOGRAPHIE

1. A. Clastres, A. Ahond, C. Poupat, P. Potier et S.K. Kan, *J. Nat. Prod.*, **47**, 155 (1984).
2. P. Crews et E. Kho-Wiseman, *J. Org. Chem.*, **42**, 2812 (1977).
3. S.J. Wratten et D.J. Faulkner, *Tetrahedron*, **35**, 1907 (1979).
4. M. D'Hondt, *Bull. Mus. Nat. Hist. Nat., Paris*, à paraître.
5. P. Gonord, S.K. Kan et M.J. Sauzade, *J. Magn. Res.*, **24**, 457 (1976).
6. S.K. Kan, P. Gonord, M. Fan, M. Sauzade et J. Courtiou, *Rev. Sci. Instrum.*, **49**, 785 (1978).

Received 18 April 1983

ouvelle-
ions du

nt à 1,4
c l'éther
(43,7 g)
de silice
les trois

ix 3350,
[culées]
46, 328,

goutte à

de 1 ml
c montré
addition
le résidu
CHCl₃) γ
Hz, C₆-
H), 5,20

staires au
ir ont été
an Model
es de rmn
mental de
üker HX

