

**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. Intès<sup>1</sup>

*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 saponines<sup>2</sup> 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 seychellogénine<sup>3</sup>, l'oxydo-22,25 holothurinogénine (2)<sup>4</sup>, la déhydro-24,25 holothurinogénine (3)<sup>5</sup>, déjà isolées, et un quatrième produit.

Ce composé (F 209–210 °C (MeOH),  $[\alpha]_D^{25} -5^\circ$  (CHCl<sub>3</sub>), a pour formule brute C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>4</sub> (microanalyse). Le spectre IR (nujol) montre une absorption à 1760 cm<sup>-1</sup> (δ lactone) et à 3200–3300 cm<sup>-1</sup> (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–H<sub>2</sub>O) 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 RM<sup>1</sup>H confirme la présence de 7 groupes méthyles (5 singulets et 1 doublet, J=6 Hz, CH (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 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 RM<sup>13</sup>C permet de confirmer la présence d'une lactone (O=C<sub>18</sub>, 176,2 ppm; C<sub>20</sub>, 85,1 ppm; C<sub>13</sub>, 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 RM<sup>13</sup>C: les déplacements chimiques des carbones de la double liaison correspondent à ceux des carbones C<sub>9</sub> et C<sub>11</sub><sup>6</sup>; par ailleurs le déblindage (~8 ppm) du C<sub>13</sub> (par rapport à C<sub>13</sub> 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 C<sub>9</sub>–C<sub>11</sub><sup>7</sup> et non à celle d'une double liaison C<sub>5</sub>–C<sub>6</sub> ou C<sub>7</sub>–C<sub>8</sub>; par RM<sup>1</sup>H: le proton éthylénique H–C<sub>11</sub> (s large) exclut le voisinage d'un méthylène en C<sub>12</sub> et permet de placer sur ce carbone la 2e fonction hydroxyle; la position β de l'hydroxyle est déduite de la largeur des signaux<sup>8</sup> des protons H–C<sub>11</sub> et H–C<sub>12</sub> et du déblindage de ces 2 protons respectivement dans le C<sub>6</sub>D<sub>6</sub> –0,30 et –0,47 ppm et dans le C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N –0,48 et –0,42 ppm.

Dans le spectre de RM<sup>1</sup>H, la région des méthyles<sup>9</sup> 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 12β, est situé en arrière du plan du cycle lactonique, donc 21α<sup>10</sup>. La génine isolée est donc le trihydroxy-3S, 12R, 20S oïque-18 lactone (18→20S) Δ<sup>9(11)</sup> 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

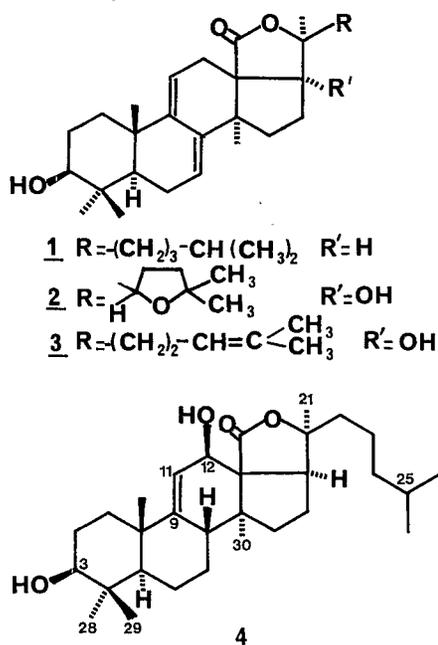


Tableau 1. Spectre de RM<sup>13</sup>C de 1 et 4

	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 CDCl<sub>3</sub> à 15,08 MHz sur spectromètre Bruker WP60. Les déplacements chimiques sont exprimés en ppm, Me<sub>4</sub>Si 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 ( $100^\circ\text{C}$ , 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  $295^\circ\text{C}$ , sublimé) et **3** (15 mg, F  $231-232^\circ\text{C}$ ) et des fractions éther le produit **4** (80 mg, F  $200^\circ\text{C}$ ).

Tableau 2. Spectre de RM<sup>1</sup>H de **4**

	H-11	H-12	H-19	H-21	H-26 et H-27	H-28	H-29	H-30
CDCl <sub>3</sub>	5,12	4,38	1,19	1,60	0,87	1,00	0,91	0,82
C <sub>6</sub> D <sub>6</sub>	5,42	4,85	1,43	1,83	0,87	1,18	1,04	0,92
C <sub>3</sub> D <sub>5</sub> 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 Me<sub>4</sub>Si servant d'étalon interne.

- Centre O.R.S.T.O.M. de Nouméa, B.P. A5, Nouméa-Cédex (Nouvelle-Calédonie).
- G.R. Pettit, C.L. Herald et D.L. Herald, *J. Pharm. Sci.* **65**, 1558 (1976).
- P. Roller, B. Tursch et C. Djerassi, *J. org. Chem.* **35**, 2585 (1970).
- J.D. Chanley, T. Mezetti et H. Sobotka, *Tetrahedron* **22**, 1857 (1966).
- J.D. Chanley et C. Rossi, *Tetrahedron* **25**, 1911 (1969).
- Dans le cas du NN-diméthyle-3β-*A*<sup>9(11)</sup> conène-5α, les déplacements chimiques des carbones C<sub>9</sub> et C<sub>11</sub> sont respectivement 150,3 et 115,4 ppm. G. Lukacs, communication personnelle.
- J. Hudec et D.N. Kirk, *Tetrahedron* **32**, 2475 (1976).
- G.F.H. Green, J.E. Page et S.E. Staniforth, *J. chem. Soc. B*, 1966, 807.
- L'addition d'Eu(fod)<sub>3</sub> 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).
- La stéréochimie du C<sub>20</sub> 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)).