

## ELEGANOLONE NOUVEAU CETOL DITERPENIQUE LINEAIRE DE LA PHEOPHYCEE *CYSTOSEIRA ELEGANS*

C. FRANCISCO\*, G. COMBAUT\*, J. TESTE\* et M. PROST†

\* Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles Marines, Centre Universitaire de Perpignan France;

† Laboratoire d'Application en Chromatographic Gazeuse et en Spectrométrie de Masse, Faculté de Médecine de Dijon, France

(Reçu le 22 Novembre 1977)

**Key Word Index**—*Cystoseira elegans*; Pheophyceae; brown alga; diterpene ketoalcohol; eleganolone.

### INTRODUCTION\*

Dans le cadre d'une étude sur les algues brunes du genre *Cystoseira*, nous avons récemment rendu compte des résultats d'analyse de composés majeurs [1] et de stérols [2]. Dans un lot de *Cystoseira elegans* récolté au début de sa croissance annuelle (avril 1976), nous avons mis en évidence des alcools diterpéniques.

Nous décrivons ici l'isolement de l'un d'entre eux dont la structure nouvelle est particulièrement intéressante. En effet peu de diterpènes d'origine marine sont connus à ce jour. Scheuer en a signalé quatre, extraits de gorgones [3]; Fattorusso *et al.* ont décrit le dictyol 1 et le crinitol 2 respectivement isolés des algues brunes *Dictyota dichotoma* [4] et *Cystoseira crinita* [5], Blackman *et al.* le caulerpol 3 extrait de l'algue *Caulerpa brownii* [6]; Sun *et al.* ont caractérisé les dictyoxépine 4 et dictyolène 5 dans l'algue brune *Dictyota acutiloba* [7].

### RESULTATS ET DISCUSSION

L'algue fraîche est broyée dans le méthanol; l'extrait hydrométhanolique est délipidé à -20°; la phase aqueuse, obtenue après évaporation du méthanol, est extraite à l'éther et le résidu est chromatographié sur couche mince. L'échantillon brut obtenu après une première opération de CCM représente 0.6% du poids évalué de l'algue sèche. Le spectre IR montrant la présence de cétoalcools, l'analyse en CGL est effectuée sur les dérivés MO-TMS [8]; dans ces conditions onze pics sont dénombrés, dont deux sont nettement majoritaires (50% environ de l'ensemble intégré). Une seconde opération de CCM permet d'isoler une huile correspondant à une tache unique de  $R_f$  0.6; cette huile, optiquement inactive, a été étudiée en UV, IR et RMN.

Le spectre UV  $\lambda_{\text{max}}^{\text{EOH}}$  240 nm ( $\epsilon$  21000) est caractéristique d'une cétone  $\alpha$ -éthylénique disubstituée [9]; le spectre IR présente deux bandes:  $\nu_{\text{C=C}}$  1615  $\text{cm}^{-1}$  plus intense que  $\nu_{\text{C=O}}$  1680  $\text{cm}^{-1}$ , ce qui suggère une cétone  $\alpha,\beta$ -éthylénique de même conformation que l'oxyde de mésityle 6 préférentiellement *s-cis* [10]. Contrairement à 6 l'échantillon naturel ne présente pas de bande à 1360  $\text{cm}^{-1}$ , le composé isolé n'est donc pas une méthyl-cétone.

Le spectre de RMN présente comme pour 6 des singulets à 1.88 ppm (3 H); 2.13 ppm (3 H seulement); 6.10 ppm (1 H) et comme le farnésol 7 des singulets à 1.66 ppm (3 H) et 1.60 ppm (6 H) mais aucun signal à 1.73 ppm ce qui est en accord avec les règles de Bates *et al.* [11]

pour une stéréochimie *tout trans*. On observe également un large signal à 2.04 ppm attribuable aux protons de quatre méthylènes.

Un signal complexe vers 5.2 ppm (3 H) correspond à trois protons oléfiniques; l'irradiation à 5.2 ppm transforme le signal  $=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{OH}$  à 4.15 ppm (2 H, *d*,  $J = 6.5$  Hz) en un singulet. Le signal à 3 ppm (2 H, *s*) est indicatif d'un méthylène en  $\alpha$  d'une double liaison et d'un groupement carbonyle.

En spectrométrie de masse l'ion moléculaire à  $m/e$  304 indique une formule brute  $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_2$ , compatible avec un enchainement diterpénique, mais les fragmentations ne permettent pas de placer sans équivoque les fonctions hydroxyle et carbonyle. Nous nous sommes donc adressés au dérivé MO-TMS qui a permis de résoudre le problème. En traitant l'échantillon par (MO, Cl) puis (BSA) et (TMCS), on obtient deux dérivés MO-TMS d'indices de méthylène ( $I_M$ ) 24.36 et 24.66. Ils sont analysés en CG-SM et donnent deux spectres de masse rigoureusement identiques. Comme par ailleurs le dérivé TMS (qui laisse la fonction carbonyle libre) ne donne qu'un seul pic en CGL ( $I_M = 24.95$ ), nous pensons qu'il s'agit des deux isomères syn et anti du dérivé *O*-méthylloxime comme cela a déjà été noté en série stéroïdique [12].

Pour le dérivé MO-TMS l'ion moléculaire à  $m/e$  405 ( $\text{M}^+$ ) et les fragments à  $m/e$  374 ( $\text{M}^+ - \text{OMe}$  de la fonction carbonyle sous forme de *O*-méthyl-oxime)  $m/e$  284 ( $\text{M}^+ - \text{OMe} - \text{OTMS}$  de la fonction hydroxyle TMS),  $m/e$  248 ( $\text{M}^+ - \text{a}$ ),  $m/e$  157 (a),  $m/e$  112 (b),  $m/e$  (b - OMe) permettent d'attribuer au dérivé MO-TMS la formule 8.

Le composé naturel, pour lequel nous proposons le nom d'éléganolone, aurait donc la structure diterpénique 9, compatible avec les résultats de l'analyse élémentaire ( $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_2$ ) et avec les spectres IR, UV et de RMN.

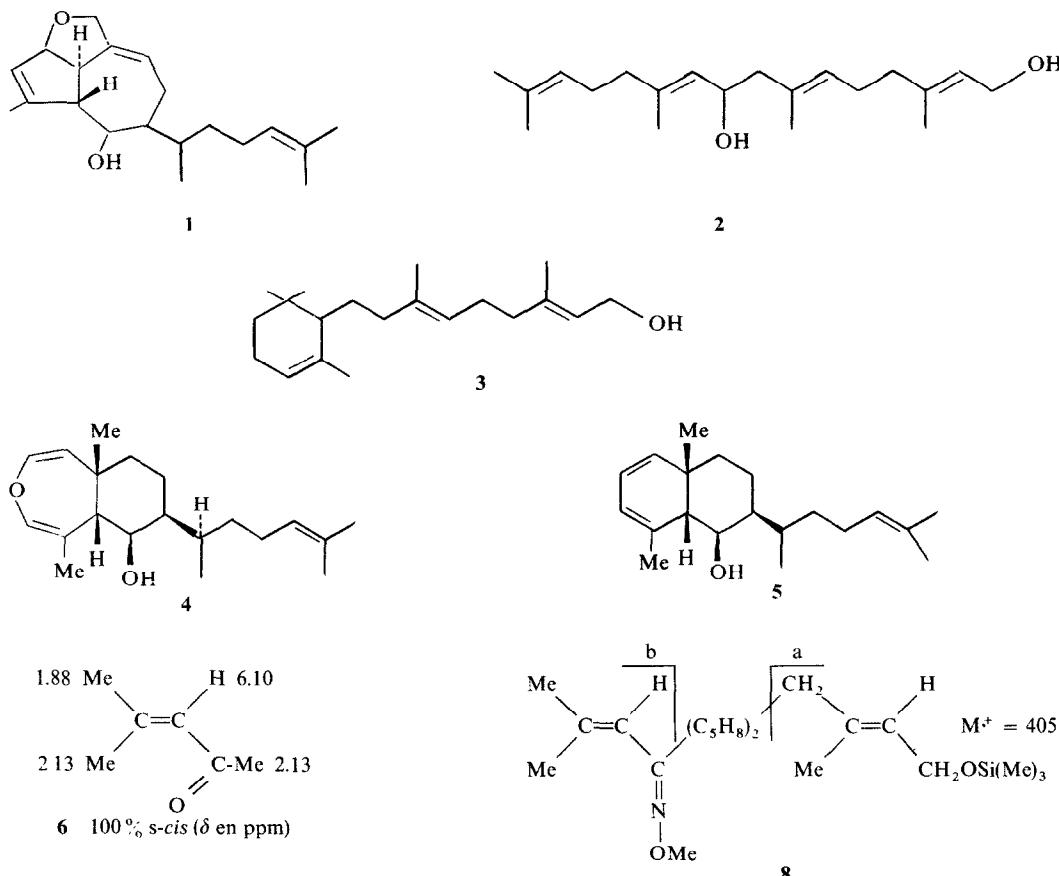
Nous avons isolé et identifié l'éléganolone 9, cétol diterpénique non encore décrit; hydroxylée en 1, elle présente en 16 une fonction carbonyle  $\alpha,\beta$ -éthylénique ce qui apparaît comme nouveau dans le monde végétal marin. Une structure voisine est celle proposée par Fattorusso [5] pour l'oxocrinol 10 extrait de *Cystoseira crinita*, qu'il pense pouvoir relier biogénétiquement au farnésol tandis que le crinitol 2 pourrait selon lui être relié au géranylgeraniol.

Le composé 9 isolé de *Cystoseira elegans* fait partie d'une série d'alcools diterpéniques, de structures voisines de celles du crinitol, qui pourrait procéder de la même séquence biogénétique.

### PARTIE EXPERIMENTALE

L'algue est récoltée sur la côte méditerranéenne à Banyuls-sur-mer.

\* Abréviations: dérivés MO-TMS = dérivés *O*-méthylloxime-éther de triméthylsilyle. (MO, Cl) = chlorhydrate d'*O*-méthyl-oxamine. (BSA) = bis (triméthyl) acétamide. (TMCS) = triméthylchlorosilane.



200 ml pour 100 g d'algue). On ramène le filtrat à la composition MeOH-H<sub>2</sub>O (7:3) pour délipidation à -20° pendant une nuit; le MeOH est chassé sous pression réduite et la solution aqueuse extraite à l'éther.

Isolation de l'éleganolone 9. La concentration de l'extrait éthétré donne une huile qui est chromatographiée sur plaque préparative de Si gel (Merck 2 mm F<sub>254</sub>). Une première migration par l'éther isopropylique sur 15 cm qui permet d'entraîner les lipides résiduels au front est suivie d'une deuxième migration par le mélange éther isopropylique-Me<sub>2</sub>CO (3:2) sur 13 cm [8]. On isole entre les *R*<sub>f</sub> 0,4 et 0,8 une zone fluorescente sous 254 nm. L'échantillon est redéposé sur plaque préparative de Si gel. une migration par CHCl<sub>3</sub>-NHEt<sub>2</sub> (9:1) permet de séparer 9, monotache après CCM répétée.

Dérivés *MO-TMS*. On les prépare sur **9** par action du chlorhydrate d'*O*-méthoxyamine (*MO*, Cl) suivi de la triméthyl-silylation par le mélange de *bis* (triméthyl) acétamide (BSA) et de triméthylchlorosilane [12].

CG-SM. Nous employons le chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse LKB 9000. Les séparations sont effectuées sur les dérivés MO-TMS en programmant la température de la colonne (OV-1 1% 3 m) à  $1^{\circ}/\text{mn}$  à partir de  $180^{\circ}$ . Débit du gaz vecteur (azote) 30 ml/min.

*Indices de méthylène.* Ils sont obtenus en ajoutant dans l'échantillon injecté en CGL une quantité connue (1 µg) de carbures saturés à 24, 26, 28, 30, 32 et 34 atomes de carbone.

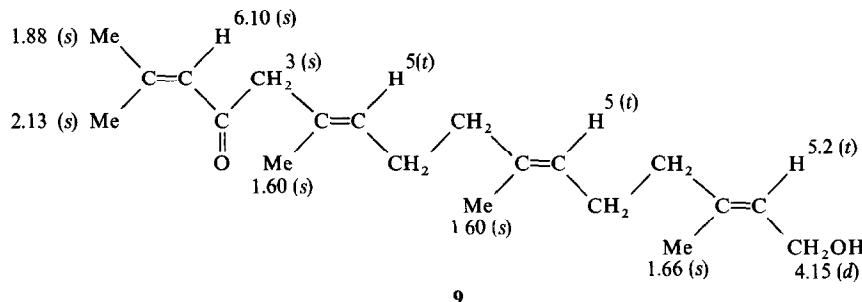
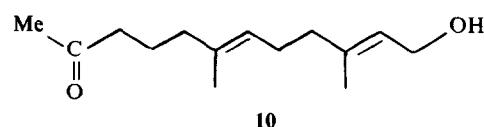
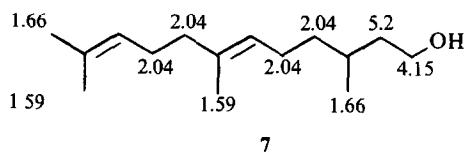
*Eleganolone* 9. Analyse élémentaire. Trouvé: C, 78.6, H, 10.5. C<sub>20</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub> calculé: C, 78.9; H, 10.6%.

*Remerciements*—Nous remercions le Dr Louis Codomier pour la chair et l'identification des larves (adultes et juvéniles).

du travail entrepris dans notre groupe de recherches en biologie et chimie végétales marines du Centre Universitaire de Perpignan, et le Professeur B. F. Maume, Laboratoire de biochimie des interactions cellulaires, Université de Dijon, pour ses conseils dans le domaine de la CG-SM.

## BIBLIOGRAPHIE

1. Combaut, G., Bruneau, Y., Francisco, C., Jeanty, G., Teste, J. et Codomier, L. (1976) *Phycologia* **15**, 275.
  2. Francisco, C., Combaut, G., Teste, J. et Maume, B. F. (1977) *Biochim. Biophys. Acta* **487**, 115.
  3. Scheuer, P. J. (1973) *Chemistry of Marine Natural Products* p. 79. Academic Press, New York.
  4. Fattorusso, E., Magno, S., Mayol, L., Santacroce, C., Sica, D., Amico, V., Oriente, G., Piattelli, M. et Tringali, C. (1976) *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 575
  5. Fattorusso, E., Magno, S., Mayol, L., Santacroce, C., Sica, D., Amico, V., Oriente, G., Piattelli, M. et Tringali, C. (1976) *Tetrahedron Letters* 937.
  6. Blackman, A. J. et Wells, R. J. (1976) *Tetrahedron Letters* 2729.
  7. Sun, H. H., Waraszkiewicz, S. M., Erickson, K. L., Fiwer, J. et Clardy, J. (1977) *J. Am. Chem. Soc.* **99**, 3616.
  8. Prost, M., Maume, B. F. et Padieu, P. (1974) *Biochim. Biophys. Acta* **360**, 230.
  9. Woodward, R. B. (1942) *J. Am. Chem. Soc.* **64**, 72.
  10. Winstersteiner, O. et Moore, M. (1956) *J. Am. Chem. Soc.* **78**, 6195.
  11. Bates, R. B., Gale, D. M. et Gruner, B. J. (1963) *J. Org. Chem.* **28**, 1086.
  12. Prost, M. et Maume, B. F. (1974) *J. Steroid Biochem.* **5**, 133.



## LUPA-20, 29-ENE-3-O- $\beta$ -D-MALTOSIDE FROM THE ROOTS OF *CORDIA OBLIQUA*

JAGDISH S. CHAUHAN and SANTOSH K. SRIVASTAVA

Chemical Laboratories, University of Allahabad, Allahabad-211002, India

(Received 10 November 1977)

**Key Word Index**—*Cordia obliqua*; Boraginaceae; triterpene glycoside; lupa-20,29-ene-3-O- $\beta$ -D-maltoside.

### INTRODUCTION

*Cordia obliqua* (Boraginaceae) is reputed for its medicinal importance [1, 2]. However little work appears to have been reported on the roots of this plant.

### RESULTS AND DISCUSSION

A new triterpene-glycoside, mp 186–187° (dec.) was isolated from the  $\text{CHCl}_3$  soluble fraction of the white crystalline deposit obtained from the EtOH extract of the roots of *Cordia obliqua*. The glycoside gave characteristic properties of the saponins. It gave a copious foam when shaken with water, haemolysed red blood cells and was toxic to fish. Hydrolysis (7% ethanolic  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) of the glycoside yielded a white aglycone  $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$ , mp 212–213°;  $[\alpha]_D^{25} + 28^\circ$ ; (in  $\text{CHCl}_3$ ) and a sugar which was identified as glucose by its cochromatography with an authentic sample.

From the detailed study of the MS, IR and NMR spectra the aglycone was shown to be lupeol which was confirmed by mp, mmp and cochromatography with an authentic sample.

Periodate oxidation consumed 3.12 moles of periodate with the production of 1.01 moles of formic acid per mole of the glycoside, suggesting the presence of two units of monosaccharide in the pyranose form of the sugar. Acid hydrolysis of the completely methylated glycoside afforded two products, which were identified as 2,3,6-tri-O-methyl-D-glucose and 2,3,4,6-tetra-O-

methyl-D-glucose by cochromatography with authentic samples. The sugar moiety was found to be present as maltose which was confirmed by cochromatography with an authentic sample.

The glycoside could be hydrolysed with emulsin to yield the aglycone and maltose thus indicating the linkage between maltose and the aglycone as  $\beta$ - and  $\alpha$ -linkage between the two units of glucose. Had the two units of glucose been joined by a  $\beta$ -linkage, emulsin hydrolysis would have given glucose and not maltose. With regard to the configuration of the saponin-glycoside linkage, it is a general observation that D-sugars occur with a  $\beta$ -linkage and L-sugars with an  $\alpha$ -linkage [3].

On the basis of this study structure 1 has been assigned to the glycoside.

### EXPERIMENTAL

**Isolation and purification.** The air dried, powdered roots of *Cordia obliqua*, procured from the United chemicals and allied products, Calcutta (India), were extracted with hot EtOH for 120 hr under reflux. The extract was filtered hot and while kept in a refrigerator for a few days deposited a white crystalline compound. The filtrate was concd to half vol. and again kept in a refrigerator for a few days. A similar white crystalline compound was obtained. These were combined and defatted with petrol (bp 40–60°). The petrol insoluble portion was then extracted with  $\text{C}_6\text{H}_6$  and  $\text{CHCl}_3$ . The  $\text{CHCl}_3$  soluble fraction gave the glycoside which was crystallized as a pure compound from  $\text{CHCl}_3$ -MeOH mixture. It was homogeneous on TLC ( $\text{CHCl}_3$ -MeOH, 9:1;  $\text{CHCl}_3$ -MeOH, 4:1). (Found C, 66.98;