

HYDROXYLATION DU CEDROL PAR LE CHIEN

Elisabeth TRIFILIEFF, LUU Bang et Guy OURISSON

Laboratoire de Chimie Organique des Substances Naturelles,
associé au CNRS, Institut de Chimie, Université Louis Pasteur,
1 rue Blaise Pascal, 67008 STRASBOURG, France

(Received in UK 6 October 1975; accepted for publication 20 October 1975)

L'hydroxylation biologique du patchoulol, chez le lapin et chez le chien, a le même résultat: l'attaque du même méthyle secondaire non-activé¹. Cependant, dans de nombreux cas, la biotransformation d'une substance se fait de façon différente dans diverses espèces animales².

L'hydroxylation du cédrol par le lapin se produit sur un carbone secondaire non activé³. Par contre, les positions hydroxylées par le chien comprennent, outre le méthylène C-2, le méthylène C-3, le méthyle secondaire C-15 et le méthyle tertiaire C-14.

METHODES:

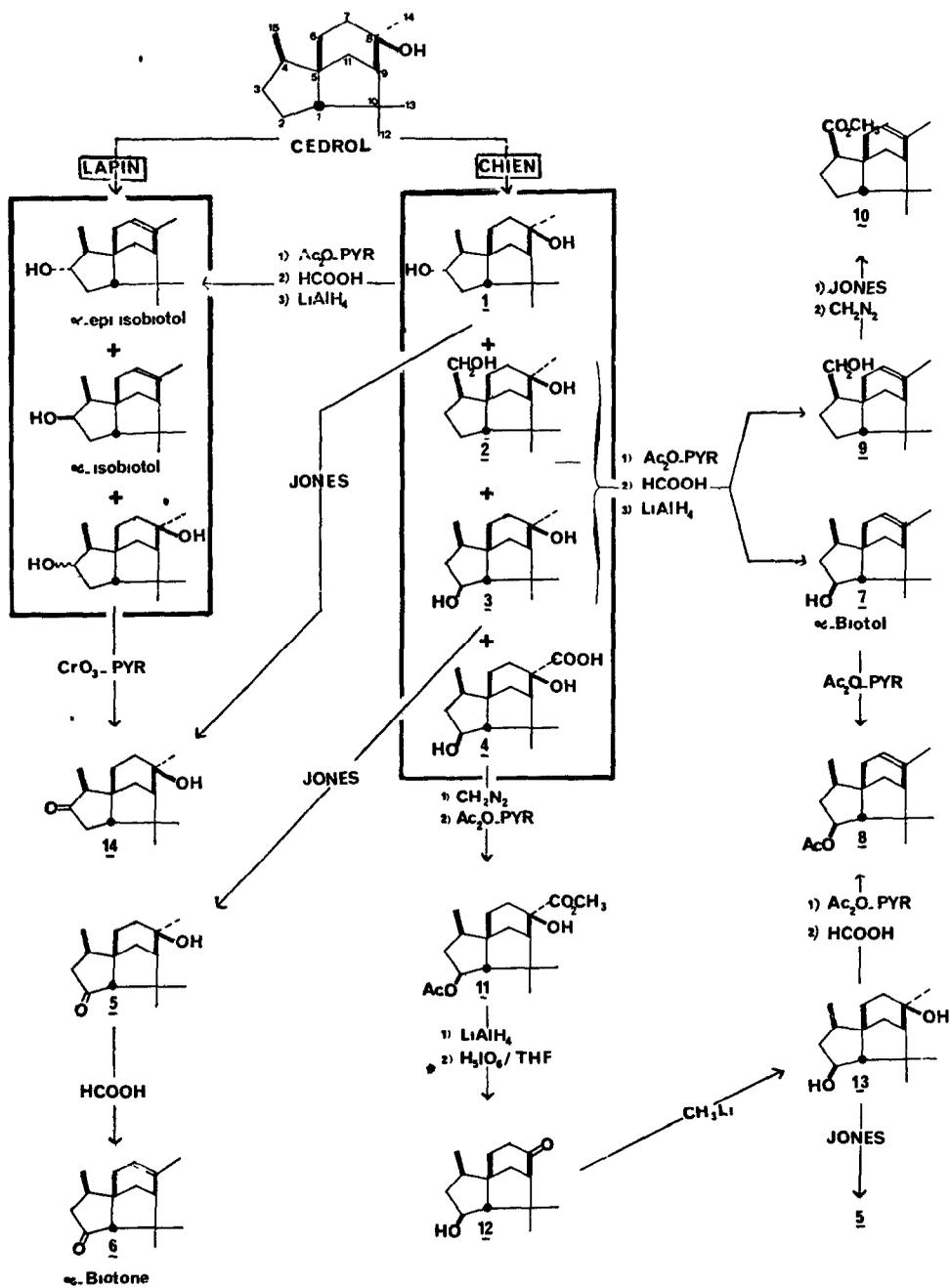
On administre au chien pendant 3 j des cachets de pentobarbital à raison de 6 mg/kg/j, afin d'induire les enzymes hépatiques responsables de la détoxification⁴. L'animal est à jeun le 3ème jour. Le cédrol (2 g) conditionné en gélules est administré par voie buccale^{*}. Seules les urines des 24 premières heures contiennent les métabolites décrits ci-dessous.

- Le pH des urines recueillies est amené à 4,5 par addition d'une solution aqueuse d'HCl à 10 %. On procède à une hydrolyse enzymatique à 37°C pendant 36 à 48 h avec de la β (D glucuronide) glucuronidase d'escargot (Suc d'Helix pomatia de l'Industrie Biologique Française).

- L'extrait éthéré est chromatographié sur colonne de silice. Les différentes fractions sont acétylées et rechromatographiées. Enfin, on réduit les acétates obtenus. On obtient ainsi, 130 mg de diol 1, 100 mg des diols 2 et 3 non séparables sur SiO₂, et 40 mg d'acide 4.

- La structure du métabolite 1 est déterminée par ses données spectrales et par corrélation avec l' α -épi-isobiotol (métabolite du cédrol isolé

^{*} On peut faire ingérer au même chien 2 g de cédrol chaque 24 h pendant 15 jours sans troubles extérieurs apparents pour l'animal.



chez le lapin) et avec la cétone 14. Contrairement au lapin¹, le chien ne donne que l'isomère 3S.

- Les métabolites 2 et 3 ne sont pas séparables par chromatographie sur silice, de même que leurs acétates. Mais leur déshydratation mène aux deux produits 7 et 9, aisément séparés. La structure de 2 est déterminée par corrélation avec l' α -biotol 7 d'une part et l' α -biotone 6 de l'autre, identifiés par comparaison de leurs données spectrales avec celles des mêmes produits décrits par Tomita et coll.⁵, et obtenus à partir de l'extrait du conifère, Biota orientalis.

La séquence des réactions 2 \rightarrow 9 \rightarrow 10 ainsi que les données spectrales de ces composés permettent de déduire qu'au cours de la biotransformation du cédrol chez le chien, le méthyle secondaire est hydroxylé.

- A côté de ces 3 métabolites monohydroxylés, nous avons identifié l'acide-diol 4 (caractérisé sous sa forme acétate ester méthylique). Le tableau donne la suite de réactions qui a permis d'identifier ce métabolite.

CONCLUSION.

Cette étude dégage à nouveau le parallélisme entre l'hydroxylation biologique du cédrol dans le cas d'une plante, d'un microorganisme et d'un animal (cf. 7) en effet l' α -biotol a été isolé à partir de Biota orientalis, dont un des constituants majeurs est le cédrol. On peut supposer que l'une des étapes de biotransformation du cédrol en α -biotol fait intervenir un système enzymatique d'hydroxylation. D'autre part, Wang et coll.⁶ ont montré que le cédrol est hydroxylé par Aspergillus niger et que le métabolite majeur a une structure identique à celle de 1.

Nous remercions le Pr. J. Schwartz et le Dr. F. Miesch (Institut de Pharmacologie et de Médecine Expérimentale, Faculté de Médecine, Université Louis Pasteur) pour leur aide dans la partie biologique de ce travail, et le Pr. B. Tomita (Faculté d'Agriculture, Université de Tokyo) pour l'envoi des spectres de référence. Ce travail a bénéficié d'une subvention de Hoffmann-La Roche, Bâle, et de Roure-Bertrand, Grasse.

Diol 1

RMN (CDCl₃) H₃C-15 0,93 (d, 8Hz); H₃C-12 et H₃C-13 1,02 (s) et 1,24 (s); H₃C-14 1,33 (s); HC-3 3,6 (m, 24Hz); IR ν OH 3600-3400; F 164-165°C; SM M⁺ = 238 (238, 220) (C₁₅H₂₆O₂), (α)_D²⁰ = +13°.

Alcool 9

RMN (CCl₄) H₃C-12 et H₃C-13 0,95 (s) et 1,02 (s); H₃C-14 1,67 (s); H₂C-15 3,43 (m, 2H, 18,7Hz); HC-7 5,2 (m, 13,3Hz); SM. M⁺ = 220 (C₁₅H₂₄O); (α)_D²⁰ = -66°.

Alcool 7

RMN (CCl₄): H₃C-15 0,93 (d; 6,7Hz); H₃C-12 et H₃C-13: 1,07 (s) et 1,11 (s), H₃C-14 1,66 (s); HC-7 5,2 (m); HC-2 3,99 (m), IR (Nujol) OH 3600-3400; 1460-1375-1030-1050; F 77-79°C; SM M⁺ = 220 (220,202) (C₁₅H₂₄O); (α)_D²⁰ = -33° (litt. (α)_D²⁰ = -27,3)⁵.

Acétate ester Me 11

RMN (CDCl₃): H₃C-15 0,94 (d; 6,7Hz); H₃C-12 et H₃C-13 1,1 (s) et 1,34 (s); ACOC-2: 2 (s), C-OCH₃ 3,72 (s); HC-2 5,02 (m), IR (CHCl₃) 1720; SM M⁺ = 324; (α)_D²⁰ = +30°.

Cétone 14

RMN H₃C-15 0,98 (d; J = 6,7Hz); H₃C-12, H₃C-13 et H₃C-14 1,1 (s), 1,31 (s) et 1,38 (s); H en α de C=O. 2,2 (s); IR (CCl₄) 3600-3400-1740; F 96-100°C; SM M⁺ = 236.

Cétone 5

RMN (CDCl₃): H₃C-15 0,86 (d; J = 8Hz); H₃C-12, H₃C-13 et H₃C-14 1,01 (s), 1,31 (s) et 1,38 (s); IR (CCl₄) 3600-3400-1730.

Cétone 6

RMN (CCl₄): H₃C-15. 0,91 (d; J = 8Hz); H₃C-12 et H₃C-13 0,97 (s) et 1,18 (s); H₃C-14. 1,69 (s); H en α C=O. 2,68 (m); HC-7 5,47 (m); IR (CCl₄) 1735; F 57-60°C; SM: M⁺ = 218; SM cétone D M⁺ = 271 (C₁₅H₂₂O).

Cétone 12

RMN (CDCl₃). H₃C-15 0,95 (d; J = 6Hz); H₃C-12 et H₃C-13 1,1 (s) et 1,18 (s); H en α C=O: 2,4; HC-2 4,2 (m); IR (CHCl₃) 3600-3400-1695-1040-1000; SM M⁺ = 222 (C₁₄H₂₂O₂).

Diol 13

RMN (CDCl₃). H₃C-15 0,91 (d; J = 6,7Hz); H₃C-12, H₃C-13 et H₃C-14 1,15 (s), 1,25 (s) et 1,51 (s); HC-2 4,17 (m); IR (CHCl₃). 3600-3400-1130-1040; F 134-137°C.

REFERENCES

- 1) LUU Bang et G. OURISSON, Tetrahedron Letters, 1975, 1881.
- 2) D.E. HATHWAY, S.S. BROWN, L.F. CHASSAND et D.H. HUTSON, "Foreign Compounds Metabolism in Mammals", Chem. Soc. Specialist Reports, London, 1970, 1, 396.
- 3) LUU Bang, G. OURISSON et P. TEISSEIRE, Tetrahedron Letters, 1975, 2211.
- 4) R. KUNTZMAN, Ann. Rev. Pharmacol., 1969, 9, 21 ; A.H. CONNEY, Pharm. Rev., 1967, 19, 317.
- 5) B. TOMITA, Y. HIROSE et T. NAKATSUKA, Tetrahedron Letters, 1968, 843.
- 6) K.C. WANG, L.Y. HO et Y.S. CHENG, J. Chin. Biochem. Soc., 1972, 1, 53.
- 7) R.V. SMITH et J.P. ROSOZZA, Biotechn. Bioengin., 1975, 17, 785.