

HYDROPEROXY-24 VINYL-24 CHOLESTEROL, NOUVEL HYDROPEROXYDE NATUREL
ISOLE DE DEUX TUNICIERS : *PHALLUSIA MAMILLATA* ET *CIONA INTESTINALIS*.

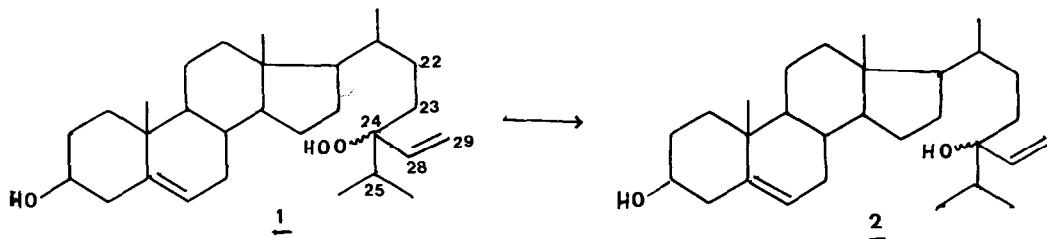
Michèle GUYOT[§] et Daniel DAVOUST

Laboratoire de Chimie, Muséum National d'Histoire Naturelle, 63 rue de Buffon, 75005 - PARIS.
et Chantal BELAUD

Laboratoire de Chimie organique II, Université de Nantes, 38 Bd Michelet, 44037 - NANTES.

Summary : The structure of 24-hydroperoxy-24-vinyl-cholesterol, isolated from two Tunicates, *Phallusia mamillata* and *Ciona intestinalis*, has been elucidated by spectroscopic analysis and confirmed by reduction to the known 24-hydroxy-24-vinyl-cholesterol (saringosterol).

Au cours d'une étude des constituants chimiques de *Phallusia mamillata* (Etang de Thau), nous avons isolé l'hydroperoxyde 1 grâce à des chromatographies successives sur gel de silice : hexane/AcOEt : 80/20, et CHCl₃/acétone : 95/5, F : 140-145°C, $[\alpha]_D^{23} : -28^{\circ}9$ (c : 1,33, CHCl₃), 12 mg à partir de 200 g d'animaux lyophilisés (0,006 %). Nous l'avons isolé également de *Ciona intestinalis* (Corse) (0,004 %).



RMN ¹H (δ ppm) : 7,02 (1H échangeable par D₂O), 5,77 (1H) dd (J=17-11 Hz) H-28, 5,35 (1H) d H-6, 5,25 (1H) dd (J=17-2 Hz) et 5,13 (1H) dd (J=11-2 Hz) H-29, 3,55 (1H) m H-3, 1,01 (3H) s H-19, 0,96 (3H) d (J=6,1 Hz) H-21, 0,88 (3H) d (J=6,7 Hz) et 0,87 (3H) d (J=7 Hz) H-26 et H-27, 0,68 (3H) s H-18.

SM : M⁺ 444 faible (plus intense à 10 eV), m/e 426 (M⁺ - H₂O), 384, 367, 314 (coupe C-22 - C-23 avec transfert d'un hydrogène), 299, 271 (M⁺ - SC + 2H), 213, 112.

Ces valeurs sont caractéristiques d'un stérol insaturé en 5, possédant une insaturation (ou une insaturation potentielle) en 24 (1) et indiquent la présence d'un groupement vinyle sur un carbone tétrasubstitué. La formule brute C₂₉H₄₈O₃ a été déduite de la masse exacte de l'ion m/e 426 (M⁺ - H₂O) : 426,3506, calculée C₂₉H₄₆O₂ : 426,3498.

Le produit 1 donne par acétylation à froid un diacétate F : 59-61°C, RMN 2,03 ppm (6H) s.

L'ensemble de ces données suggère la structure hydroperoxyde-24 vinyl-24 cholestérol pour 1.

La réduction par LiAlH₄ (éther anhydre) conduit effectivement à un produit dont les constantes physiques sont identiques à celles données par Ikekawa (2) pour le saringostérol 2, F : 159-160°C, $[\alpha]_D^{23} = -34^{\circ}$ (c:0,87, CHCl₃). M⁺ 428, m/e 410, 314, 271, 213. RMN ¹H (δ ppm) 5,82 (1H) dd (J=17-10 Hz) H-28 (3), 5,25 (1H) dd (J=10-2,2 Hz) et 5,17 (1H) dd (J=17-2,2 Hz) H-29.

Si les spectres de 1 et 2 en RMN ¹H sont peu différents, excepté le signal à δ 7,02 ppm

pour OOH , leurs spectres de RMN ^{13}C présentent des différences notables (Tableau I).

TABLEAU I : Déplacements chimiques en RMN ^{13}C des composés 1 et 2 et du cholestérol. (CDCl_3), δ ppm (TMS, référence interne), 20,115 MHz.

N° C	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29
<u>1</u>	36,34	18,95	28,84 ^a	28,67 ^a	89,18	32,04	16,76	17,73	137,90	116,32
<u>2</u>	36,17	18,83	29,18 ^a	31,82 ^a	77,79	34,89 ^b	16,53	17,62	142,77	113,00
Cholestérol	35,85	18,79	36,27	23,90	39,87	28,01	22,85	22,58		

^a : Ces valeurs peuvent être inversées.

^b : Signal dédoublé

Les signaux ont été attribués grâce à la séquence d'inversion décrite par Le Cocq et Lallemand (4) et par comparaison avec les valeurs données pour le cholestérol (5). Les différences de déplacement chimique observées, entre 2 et le cholestérol, et, entre 1 et 2, sont conformes qualitativement, à celles que l'on peut attendre en tenant compte des effets α , β et γ sur le déplacement chimique des carbones, induit par la présence d'un ou de deux oxygène en 24 (6).

Peu d'hydroperoxydes naturels ont été décrits jusqu'à présent et Fenical (7), dans une revue récente, estime que ceci est dû à leur instabilité, plutôt qu'à leur absence.

L'hydroperoxyde 1 apparaît comme un dérivé d'oxydation du fucostérol par $^{1}\text{O}_2$ et, de ce fait, est probablement très répandu parmi les organismes marins. Des produits d'oxydation du fucostérol ont été remarqués par Knights (8) dans une algue, mais il conclut à la présence de sa-ringostérol, d'oxo-24 cholestérol et de substances non identifiées.

La question de l'origine de 1 dans ces deux tuniciers reste posée : tous deux contiennent des traces de fucostérol (9). Les extractions étant toujours effectuées à l'obscurité et l'isolement de 1 réalisé très rapidement à partir d'animaux fraîchement récoltés, nous pouvons considérer que 1 n'est pas un artefact. De ces tuniciers, nous avions déjà isolé des peroxydes stéroliques (10) et on peut supposer que ces invertébrés sont capables d'effectuer l'oxydation de certains stérols, soit en générant $^{1}\text{O}_2$, soit enzymatiquement comme le suggère Djerassi (11). Remerciements - Nous remercions le Dr D.J. FAULKNER pour ses intéressantes discussions, J. MERCIER pour les mesures de masses exactes, J.P. BROUARD pour les spectres de masse et F. et C. MONNIOT pour la récolte de *Ciona intestinalis*.

Références

- 1) - I.J. MASSEY et C.DJERASSI, *J.org.Chem.*, 1979, 44, 2448.
- 2) - N. IKEKAWA, K. TSUDA et N. MORISAKI, *Chem. Ind. (London)*, 1966, p.1179.
- 3) - Le signal du proton H_{28} est dédoublé, différentes irradiations ont montré que ce dédoublement n'était pas dû à un couplage, mais plutôt à la présence de 2 isomères (1/1) que nous n'avons pas réussi à séparer. Notons que le proton H_{28} de 1 apparaît également dédoublé à 250 MHz.
- 4) - C.LE COCQ et J.Y.LALLEMAND, *J.C.S.Chem.Comm.*, 1981, p.150, voir également D.J.COONSON et B.E.SMITH, *Org.Magn.Reson.*, 1981, 16, 111.
- 5) - W.G.ANDERSON, C.Y.BYON, M.GUT et F.H.BISSET, *Tetrahedron Lett.*, 1976, p.2193.
- 6) - J.B. STOTHERS, *Carbon-13 NMR Spectroscopy*, Academic Press, New York, 1974.
- 7) - W.FENICAL in *Marine Natural Products*, Vol.II, P.J.Scheuer, Ed., Acad. Press, New York, 1978.
- 8) - B.A.KNIGHTS, *Phytochemistry*, 1970, 9, 903.
- 9) - Le fucostérol a été signalé dans *Ciona intestinalis* (P.A.VOOGT et J.W.A.VAN REENEN, *Ark.int.Physiol.Biochim.*, 1975, 83, 563) et nous avons pu constater, par CPG, qu'il est présent dans *Phallusia mamillata*.
- 10) - M.GUYOT et M.DURGEAT, *Tetrahedron Lett.*, 1981, 22, 1391.
- 11) - A.A.GUNATILAKA, Y.GOPICHAND, F.J.SCHMITZ et C.DJERASSI, *J.org.Chem.*, 1981, 46, 3860.