



UN NOUVEAU BISTRAMIDE, K, ANTIPROLIFÉRATIVE, ISOLÉ DE *TRIDIDEMNUM SP.* (DIDEMNIDAE), UNE ASCIDIE DE MADAGASCAR

RALAMBONDRAHETY R.⁽¹⁾, ANDRIAMANANTOANINA H.⁽¹⁾,
MAHARAVO J.⁽¹⁾, RAVELONANDRO P.⁽¹⁾ MURPHY BRIAN T.⁽²⁾,
CAO SHUGENG.⁽²⁾, BRODIE P.⁽²⁾ , KINGSTON D. G. I.⁽²⁾

*(1) Centre National de Recherches sur l'Environnement (CNRE), BP 1739
Fiadanana – Tsimbazaza, 101 Antananarivo, Madagascar*

*(2) Department of Chemistry, M/C 0212, Virginia Polytechnic Institute and
State University, Blacksburg, VA 24061-0212,*

Plan

- I. Introduction
- II. Matériel et méthodes
 - ✓ Matériel d'étude
 - ✓ Méthodes
- III. Résultats
- IV. Discussions
- V. Conclusions



Introduction





Biodiversité marine
Animaux sans équivalences terrestre
(cnidaires, spongiaires, ascidies,...)



Intérêt des chercheurs



Recherche de molécules
bioactives d'origine
naturelle



Madagascar (5000 km de côte) :
potentialité source de biodiversité marine

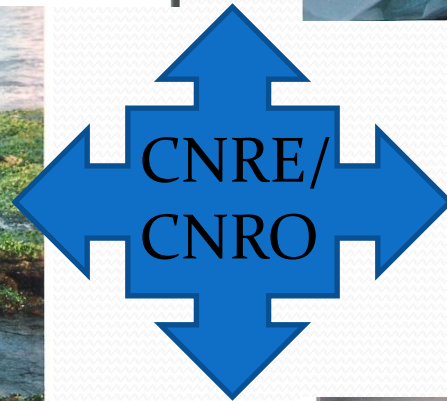
Dans le cadre d'un programme ICBG ou « International Cooperative Biodiversity Group », dont un des objectifs étant la **recherche des molécules d'origine marine biologiquement active**, le CNRE avec l'appui du CNRO, en collaboration avec « Virginia Polytechnic Institute and State University », entreprend, des travaux de recherche sur les organismes marins collectés aux alentours de Nosy-Be.

Photos illustrant :

1. Travaux sur terrain



Collectes



**Traitements
préliminaires**

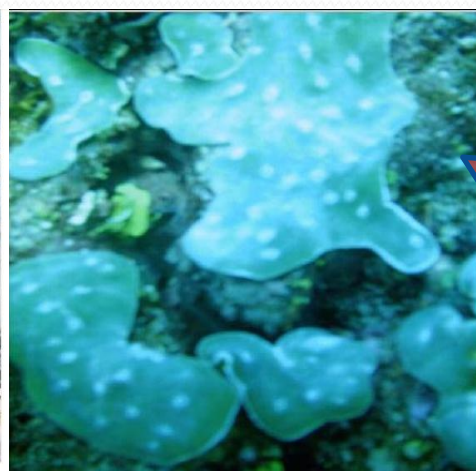


**2. Au labo : Préparations
avant extraction**



Matériels et méthodes

Matériels d'étude



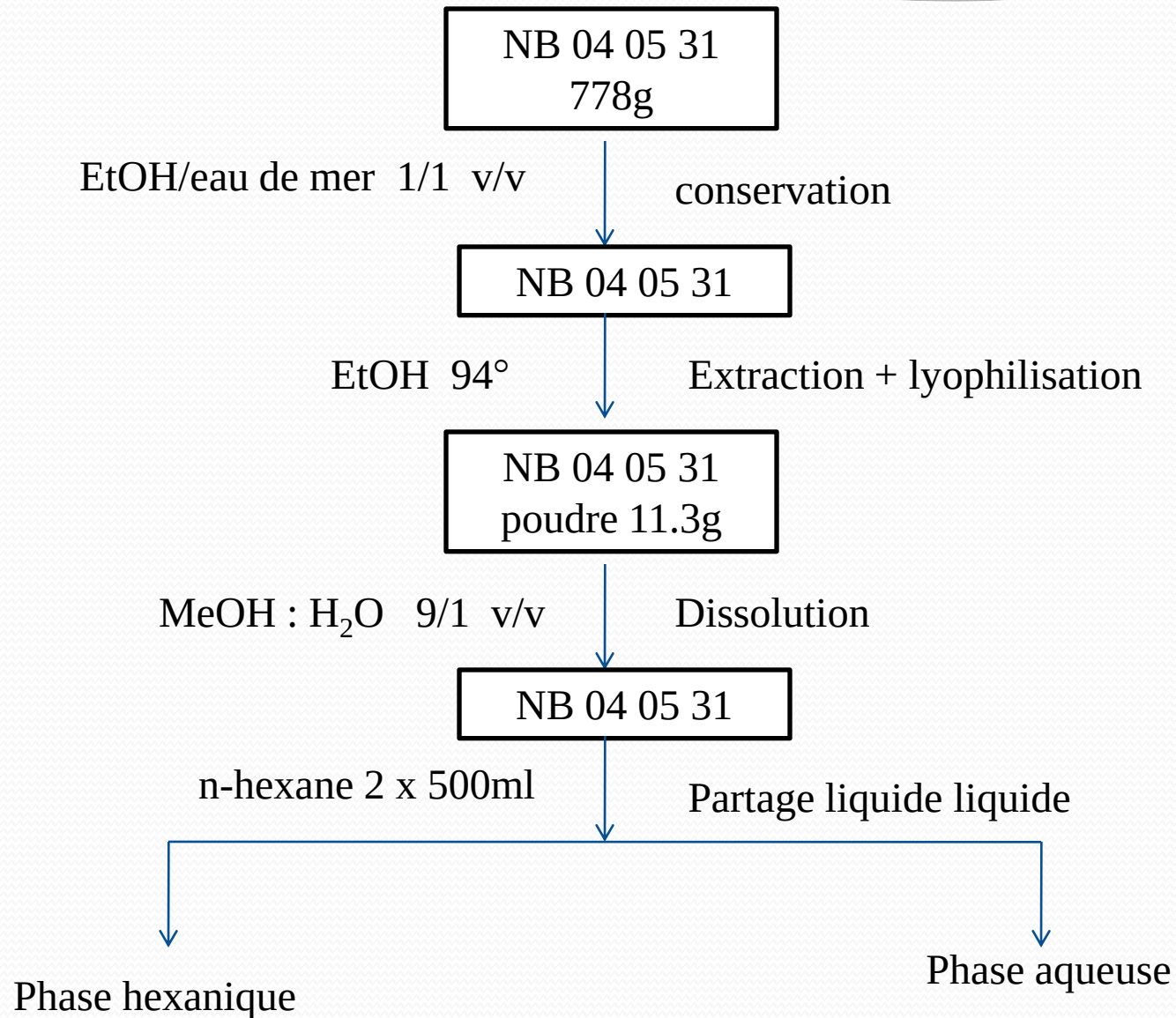
en colonies, est formé avec
une croûte mince de couleur
verte claire

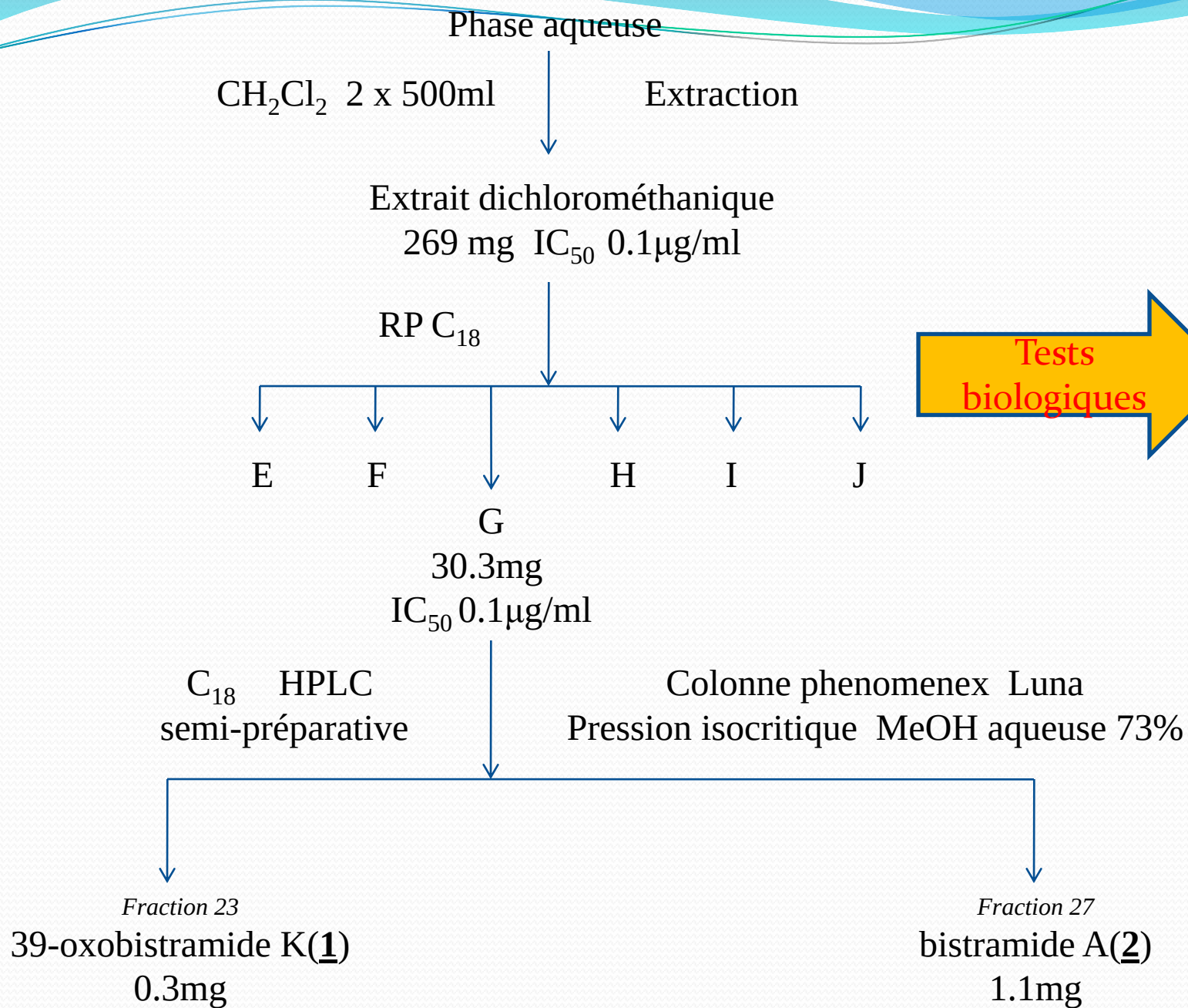
Trididemnum cyclops
Michaelson (DIDEMNIDAE)
NB 04 05 31

Collecte : avril 2005
Profondeur : 18 à 30 m
13°39 S 48°05 E

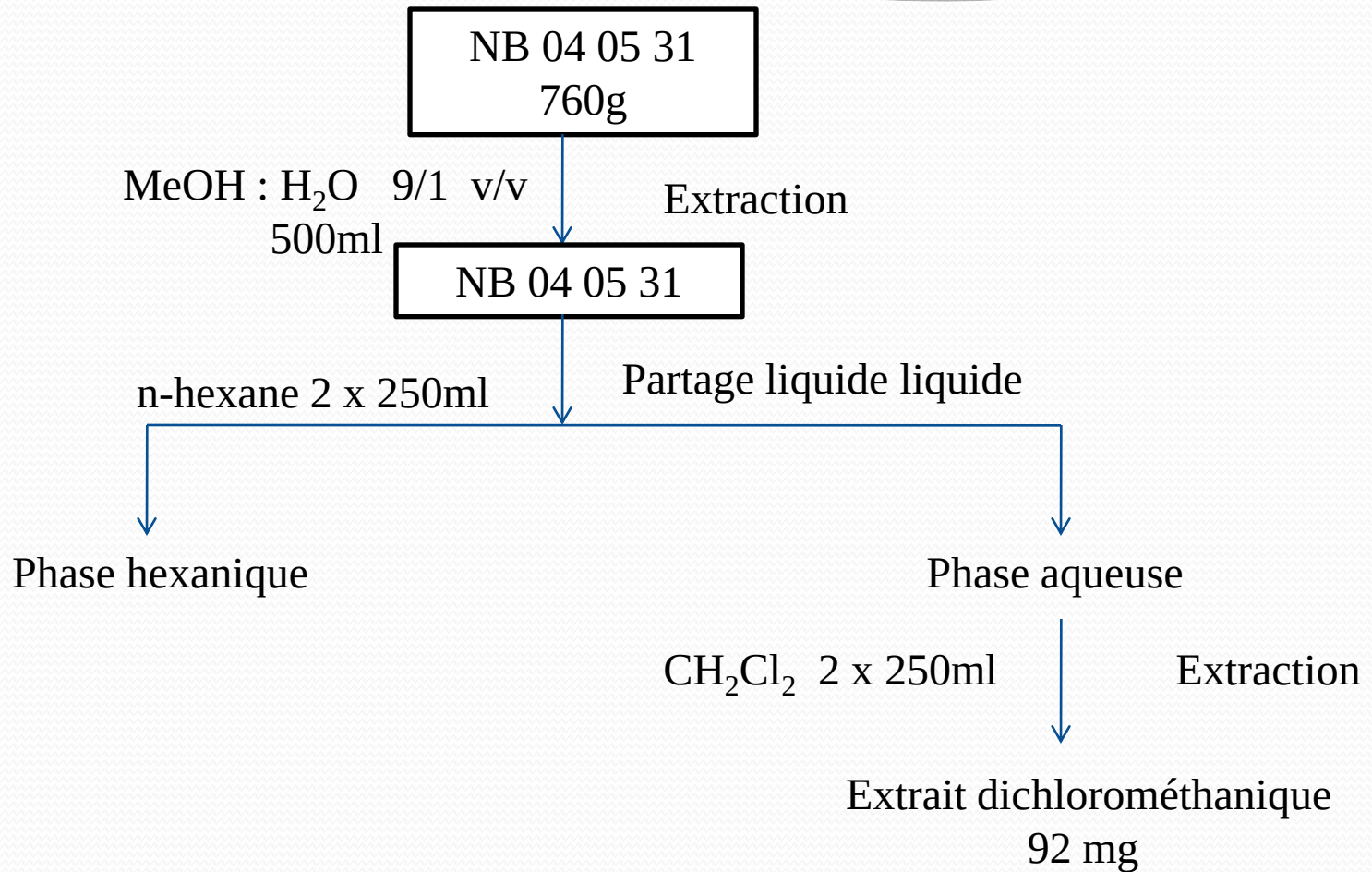


Protocole





Méthodologie



Extrait dichlorométhane

92 mg

RP C₁₈

I
II
III
IV

Tests
biologiques

50mg
IC₅₀ 0.2µm/ml

RP C₁₈ HPLC
semi-préparative

Colonne phenomenex Luna
Pression isocritique MeOH aqueuse 73%

Fraction 37
0.8mg

HPLC
semi-préparative

Phase diol
Pression isocritique CH₂Cl₂/MeOH 87%

bistramide D (3)
0.7mg

Détermination structurale

Spectres RNM ^1H et ^{13}C mono et bidimensionnelles

COSY, ROESY, HSQC, HMBC,
Dichroïsme Circulaire,
HRFABMS, LCEIMS

Tests biologiques

Lignée cellulaire du cancer ovarien humain

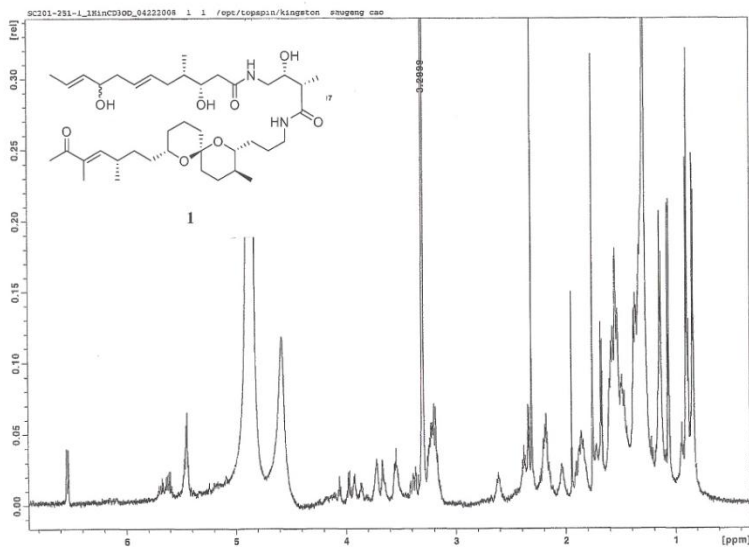
A2780



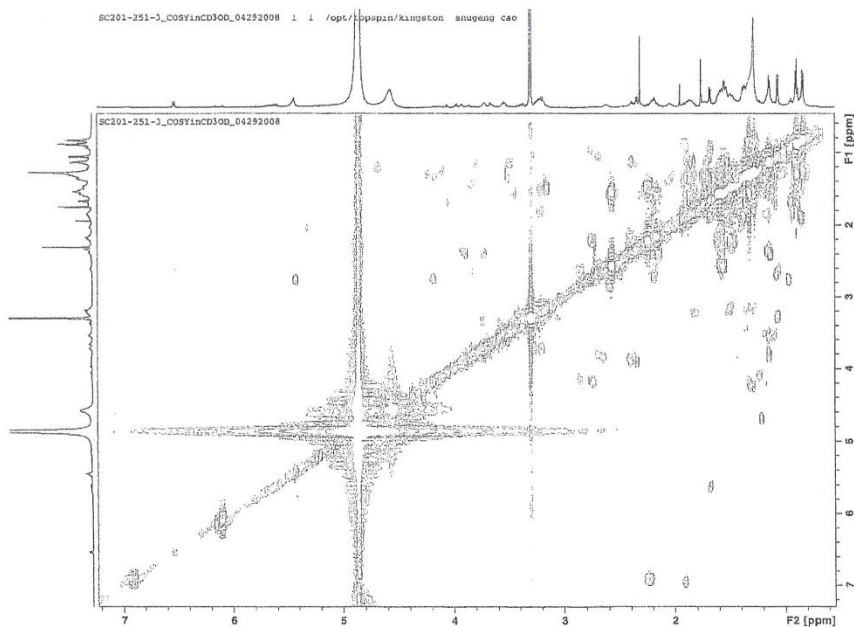
Résultats



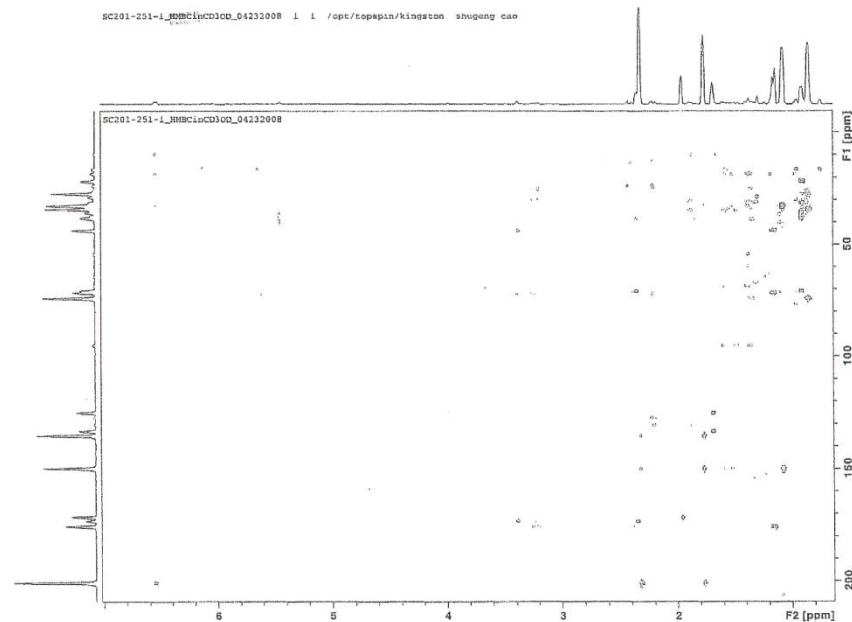
Produit 1



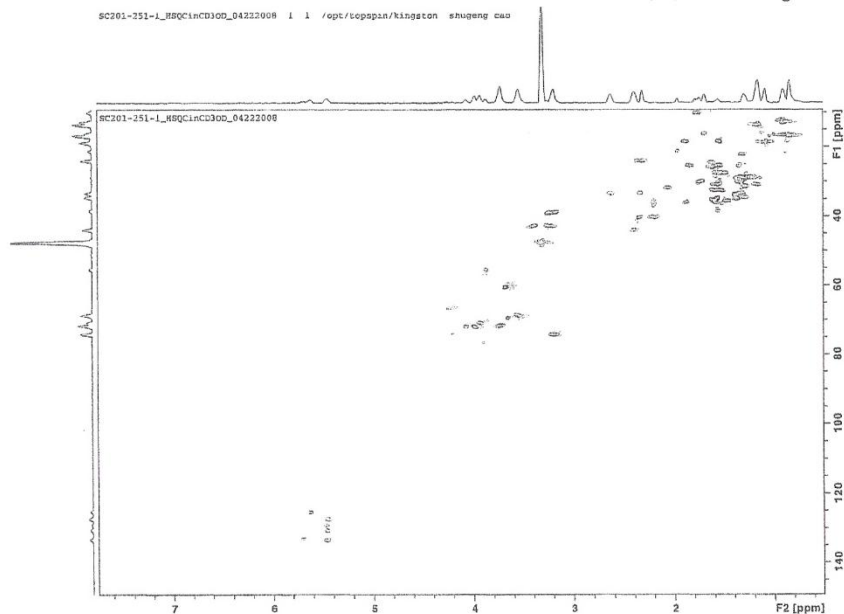
^1H NMR Spectrum of 39-Oxobistramide K (1) in CD_3OD



COSY Spectrum of 39-Oxobistramide K (1) in CD_3OD



HMBC Spectrum of 39-Oxobistramide K (1) in CD_3OD



HSQC Spectrum of 39-Oxobistramide K (1) in CD_3OD

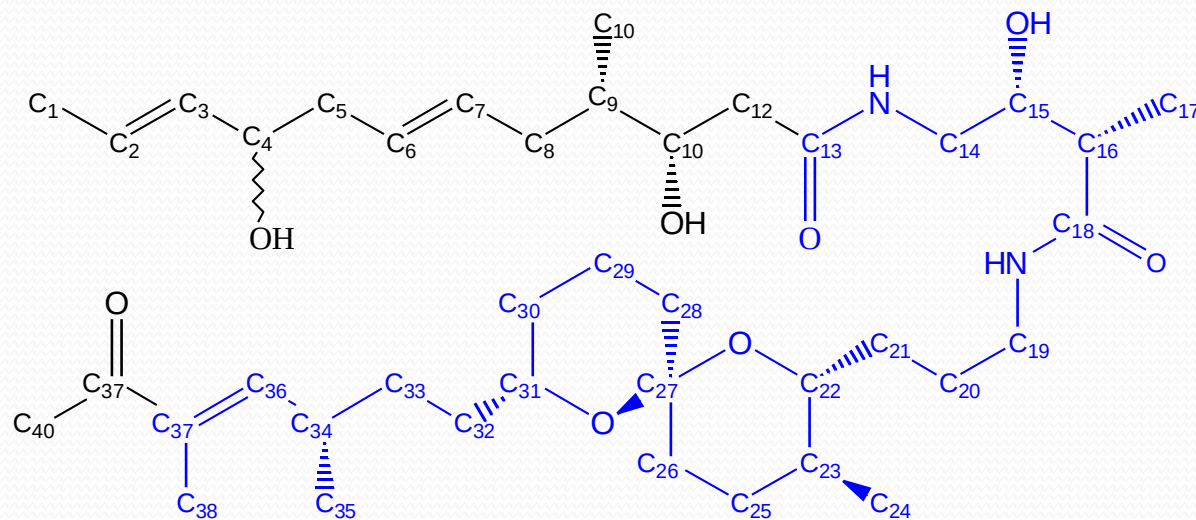
Dichroïsme circulaire

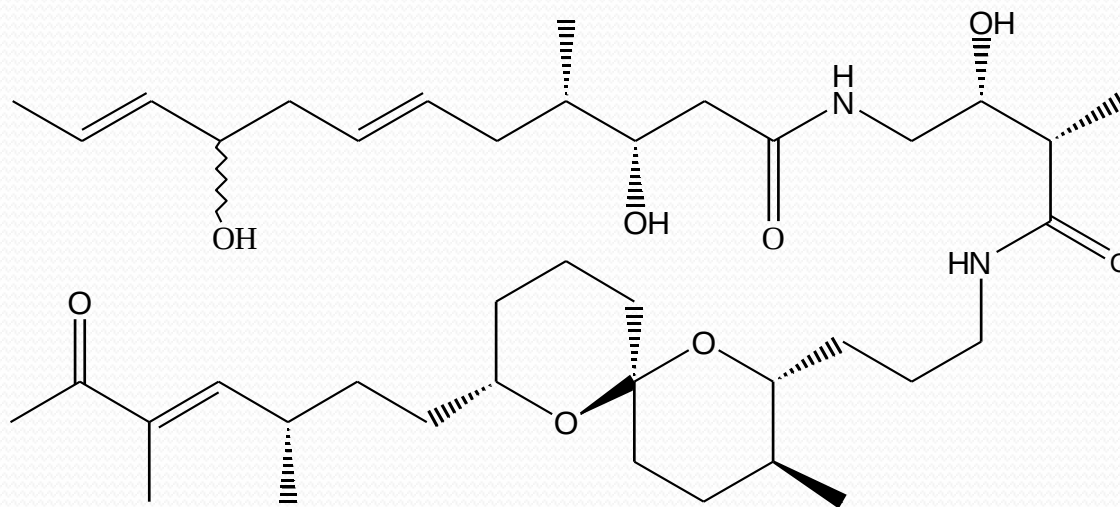
formule moléculaire de $C_{40}H_{68}N_2O_8$

Poudre amorphe

8 degrés d'insaturations et cycles :

- 3 doubles liaisons
- 3 groupements carbonyles
- 2 cycles





39-Oxobistramide K (1): amorphous powder;

$[\alpha]_{25}^D = -72$ (c 0.05, MeOH);

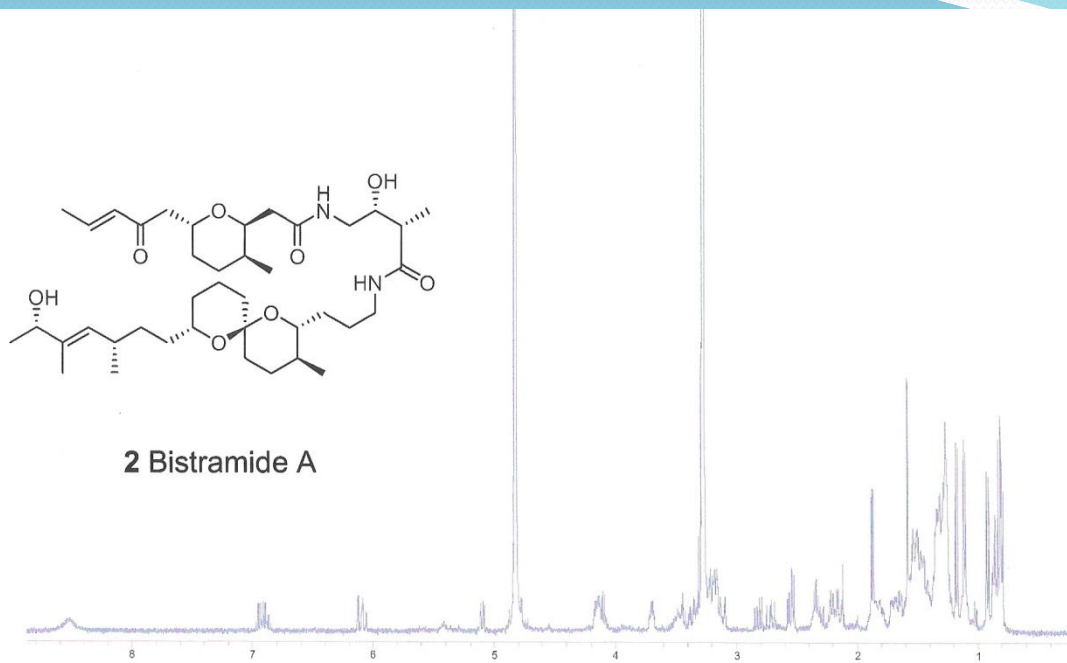
UV (MeOH) λ_{max} (log) 200 (4.1), 240 (3.9) nm;

1H NMR (600 MHz, CD_3OD) and ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD);

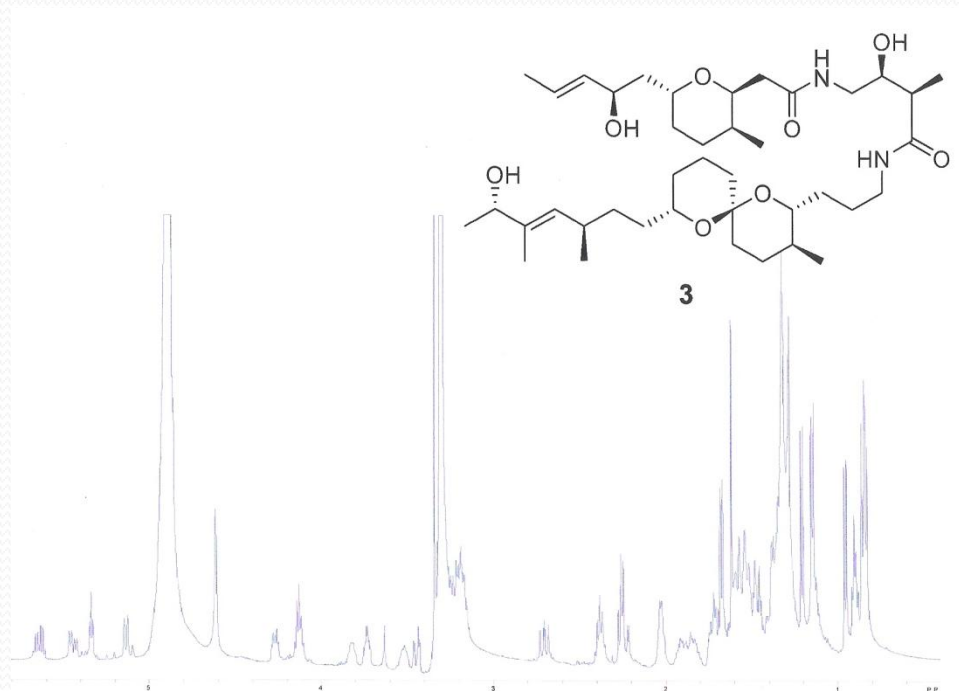
HRFABMS m/z 727.4864 (calcd for $C_{40}H_{68}N_2O_8Na$, 727.4873).



Produits 2 et 3



2 Bistramide A

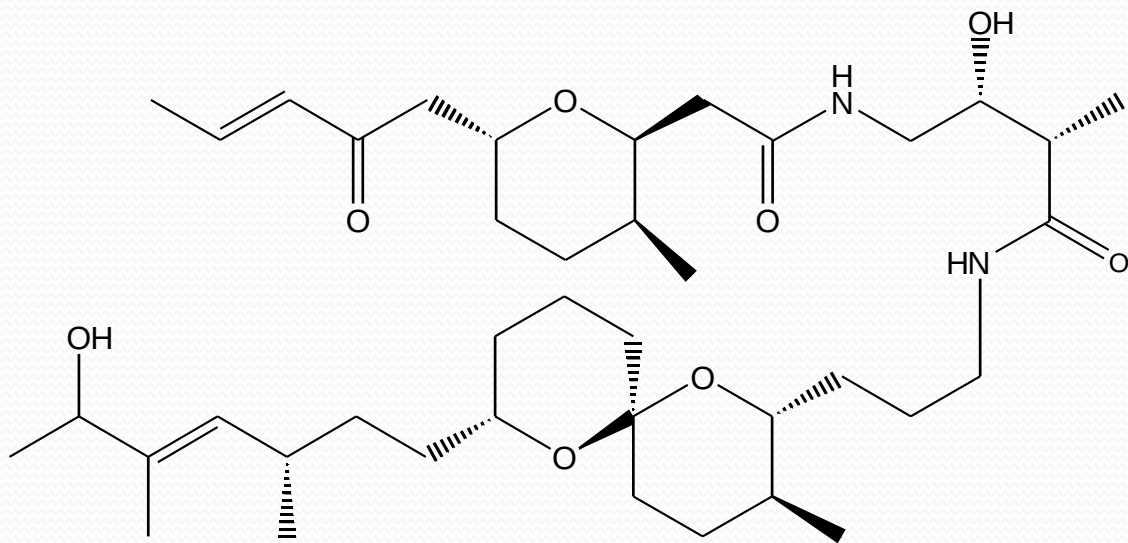


3

^1H NMR Spectra of
Bistramide A (2) and
Bistramide D (3) in CD_3OD

^1H NMR Data for Bistramide A (2): ^1H NMR (CDCl_3) δH 0.80 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-24), 0.86 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-10), 0.94 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-35), 1.24 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-17), 1.25 (3H, d, $J = 7.5$ Hz, H-40), 1.10 – 1.90 (24H, m, H-7, 8, 9, 20, 21, 23, 25, 26, 28, 29, 30, 32, 33), 1.91 (3H, dd, $J = 1.5, 6.5$ Hz, H-1), 2.19 (1H, m, Ha-12), 2.33 (1H, m, H-24), 2.37 (1H, m, H-16), 2.52 (1H, dd, $J = 3.0, 16.5$ Hz, Ha-5), 2.76 (1H, dd, $J = 11.5, 15.0$ Hz, Hb-12), 2.90 (1H, dd, $J = 9.0, 17.0$ Hz, Hb-5), 3.14 (1H, t, $J = 9.5$ Hz, H-22), 3.25 (1H, m, Ha-14), 3.30 (2H, m, H-19), 3.46 (1H, m, H-31), 3.51 (1H, m, Hb-14), 3.71 (1H, m, H-15), 4.06 (1H, dd, $J = 4.5, 11.0$ Hz, H-11), 4.19 (1H, m, H-6), 5.18 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-36), 6.12 (1H, dd, $J = 1.5, 16.0$ Hz, H-3), (1H, dd, $J = 6.5, 16.0$ Hz, H-2), 6.96 (1H, t, $J = 5.5$ Hz, NH-19), 7.32 (1H, t, $J = 5.5$ Hz, NH-14).

^1H NMR Data for Bistramide D (3): ^1H NMR (CD_3OD) δH 0.83 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-24), 0.85 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-10), 0.95 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-35), 1.14 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-17), 1.20 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-40), 1.25 – 1.95 (22H, m, H-7, 9, 20, 21, 23, 25, 26, 28, 29, 30, 32, 33), 1.35 (2H, m, H-8), 1.38 (2H, m, H-33), 1.43 and 1.65 (2H, m, H-5), 1.61 (3H, s, H-38), 1.67 (d, $J = 6.5$ Hz, H-1), 2.23 (1H, dd, $J = 4.0, 15.0$ Hz, Ha-12), 2.38 (2H, m, H-16, 34), 2.70 (1H, dd, $J = 11.0, 15.0$ Hz, Hb-12), 3.15-3.20 (2H, m, Ha-14, 22), 3.23 (2H, m, H-19), 3.44 (1H, dd, $J = 4.0, 14.0$ Hz, Hb-14), 3.52 (1H, m, H-31), 3.73 (1H, m, H-15), 3.81 (1H, m, H-6), 4.11 (1H, m, H-4), 4.14 (1H, m, H-39), 4.27 (1H, ddd, $J = 4.0, 6.5, 8.5$ Hz, H-11), 5.13 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-36), 5.45 (1H, ddd, $J = 1.5, 7.0, 15.5$ Hz, H-3), 5.64 (1H, dd, $J = 7.0, 15.5$ Hz, H-2).

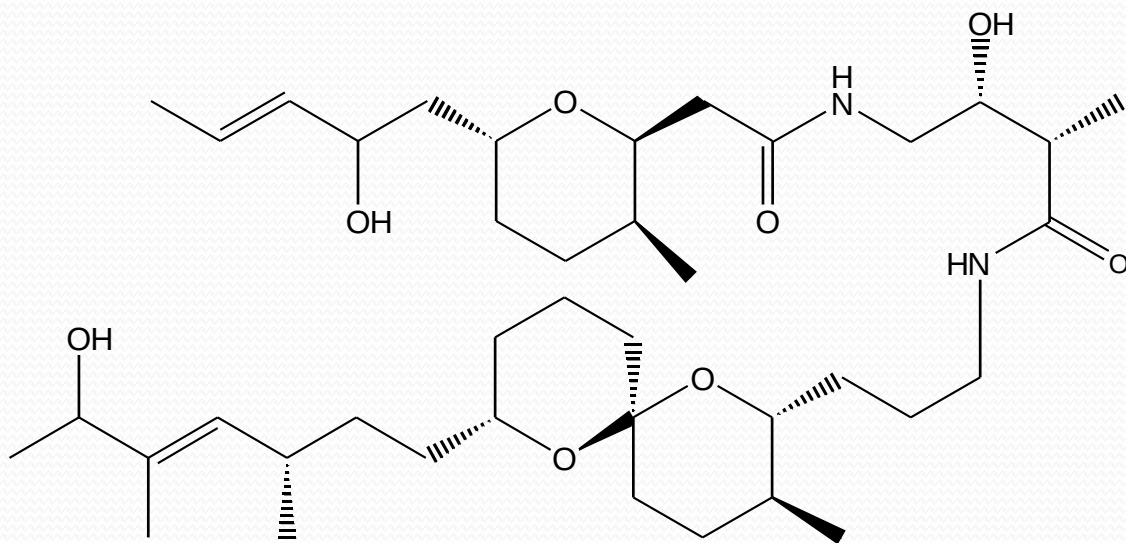


Bistramide A (2): amorphous powder;

CD (MeOH, *c* 0.0077)

*[θ]*₂₁₅ -5.44, *[θ]*₂₄₆ 1.87, *[θ]*₂₅₉ 2.68; ¹H NMR data, see Supporting Information;

LCEIMS *m/z* 705.5 [*M* + *H*]⁺ (calcd for C₄₀H₆₉N₂O₈, 705.5).



Bistramide D (3): amorphous powder;
 ^1H NMR data, see Supporting
 Information; LCEIMS m/z 707.6 $[M + H]^+$, 729.5
 $[M + Na]^+$ (calcd for $\text{C}_{40}\text{H}_{70}\text{N}_2\text{O}_8\text{Na}$, 729.5).

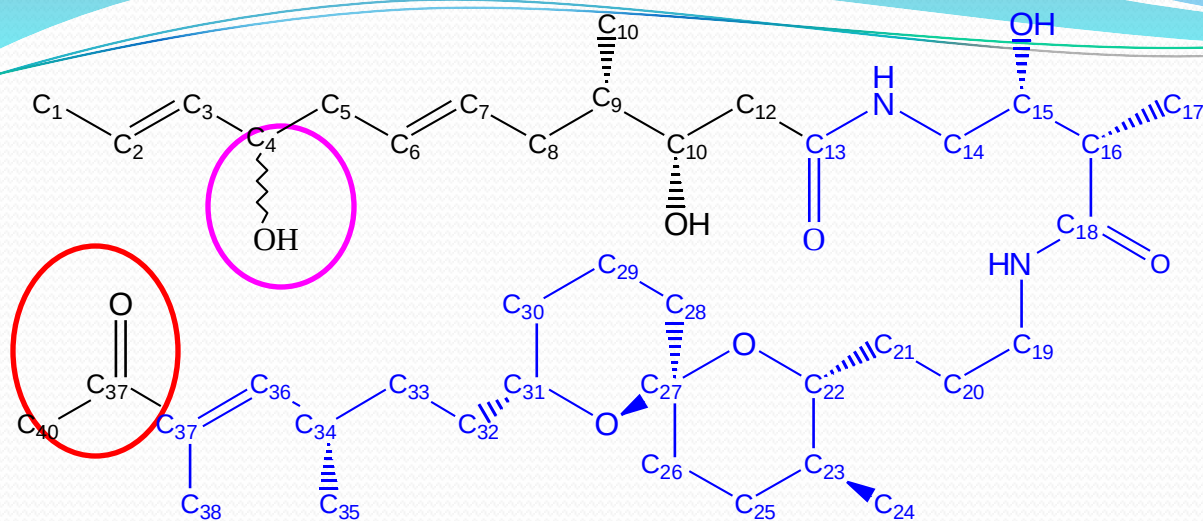
Résultats des tests biologiques

Composé	IC ₅₀ µM
Bistramide (1) = 39-oxobistramide K	0.34
Bistramide (2) = Bistramide A	0.26

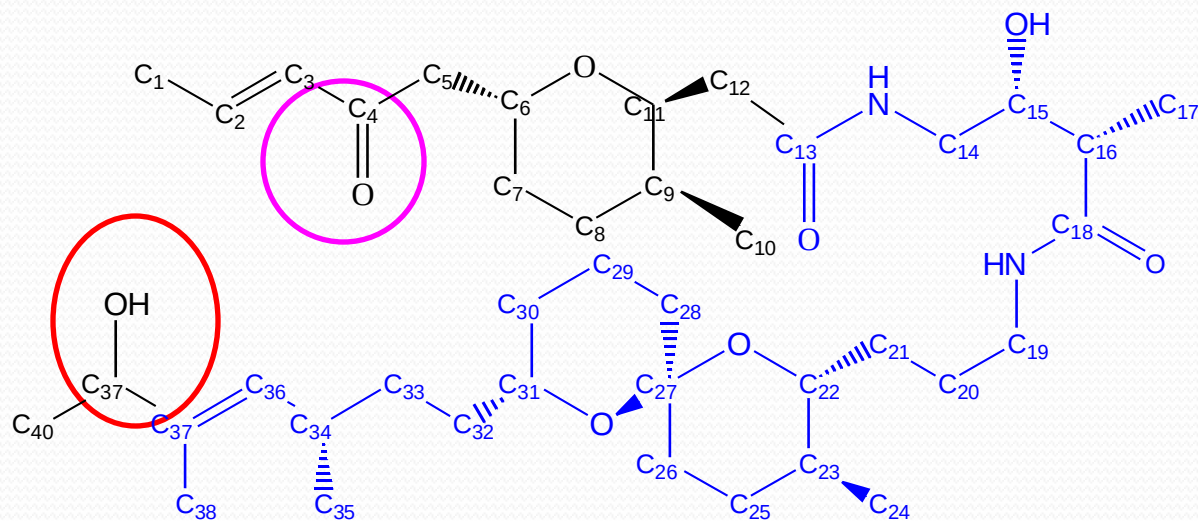


Discussions

Discussions



Bistramide K (1)



Bistramide A (2)

Conclusions

- ✓ 3 bistramides ont été isolés
 - ✓ Bistramides K(1)
 - ✓ Bistramides A (2) [Gouiffes et *al.*]
 - ✓ Bistramides D (3) [Biard et *al.*]
- ✓ L'IC₅₀ du bistramide K (1) est 10 dix fois plus grande comparée à d'autres lignées cellulaires. [Münchoff et *al.*]
- ✓ L'isolement de dérivé de bistramides supplémentaires augmenterait la chance de découvrir des analogues qui présenteraient une activité semblable avec un minimum de toxicité.
- ✓ *J. Nat. Prod.* **2009**, 72, 1338-1340

Remerciements

- International Cooperative Biodiversity Group
- Fogarty International Center,
- National Cancer Institute,
- The National Science Foundation,
- The National Heart,
- Lung and Blood Institute, the National Institute of Mental Health,
- The Office of Dietary Supplements, and the Office of the Director of NIH, under Cooperative Agreement U01 TW000313 from the National Institutes of Health,
- Mr. B. Bebout and Dr. M. Ashraf-Khorassani for obtaining mass spectra, and Mr. K. Harich for obtaining CD data.
- Le Ministère des Eaux et Forêts de Madagascar.
- L'équipe du CNRO Nosy Be.



Merci de votre aimable attention!