

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR
☆□☆□
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES



**ETUDE STRUCTURALE, DEGRADATION ET
SYNTHESE BIOMIMETIQUE DE METABOLITES
SECONDAIRES ISOLES D'ORGANISMES DE LA
COTE SENEGALAISE. PROPOSITION DE
NOUVEAUX PROCESSUS BIOGENETIQUES**

THESE

POUR OBTENIR LE TITRE DE DOCTEUR D'ETAT ES SCIENCES PHYSIQUES
PRESENTEE ET SOUTENUE LE 15 DECEMBRE 1995 PAR :

IBRAHIMA NDIAYE

DOCTEUR DE 3EME CYCLE EN CHIMIE ORGANIQUE
(MAÎTRE ASSISTANT)

MEMBRES DU JURY

PRESIDENT :	M. L. DIOP	Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques
MEMBRES :	M. E. BASSENE	Professeur à la Faculté de Médecine et Pharmacie
	M. G. GUELLA	Chercheur à l'Université de Trento
	M. M. KONE	Rapporteur-Maître de Conférences à la Faculté des Sciences et Techniques
	M. F. PIETRA	Professeur à l'Université de Trento
	M. A. SAMB	Rapporteur-Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques
	M. F. SIE SIB	Rapporteur-Professeur à la Faculté des Sciences de Ouagadougou

A

*L'éternel, le tout puissant maître de l'univers
encore une manifestation de ta grâce.*

*Que la lumière continue de jaillir de nos cœurs
et de nos esprits.*

Dédicaces

*A mon père et ma mère,
pour avoir toujours été à mes côtés*

*A mon épouse et mes enfants,
pour leur patience durant mes longs séjours à
l'étranger*

*A mes frères et sœurs,
pour leurs encouragements*

*A mes amis et miens,
pour leurs sympathie*



Remerciements

Ce travail a été effectué à l'Institut de Chimie l'Université de Trento (Italie) sous la Direction du Professeur Francesco Pietra. Je lui exprime ma plus profonde gratitude. Ses conseils avisés et sa vaste compétence m'ont été extrêmement précieux. Sans son soutien, les séjours que j'ai effectués en Italie durant ces dernières années seraient un peu plus difficiles. Je lui exprime mes vifs remerciements.

Je tiens à exprimer ma plus vive reconnaissance au Docteur Graziano Guella, Chercheur à l'Institut de Chimie de Trento pour m'avoir guidé étroitement et avec compétence durant tout le long de ce travail. Je le remercie pour sa constante disponibilité et le soutien qu'il m'a apporté.

Au Professeur Libasse Diop, Doyen de la Faculté des Sciences et Techniques de Dakar, j'exprime mes sincères remerciements pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury de cette thèse et pour le soutien qu'il m'a toujours apporté.

Je tiens à exprimer mes vifs remerciements au Professeur Abdoulaye Samb, Directeur du Laboratoire des produits naturels de la Faculté des Sciences de Dakar pour avoir accepté d'être le correspondant du Directeur de thèse. Son soutien, sa constante disponibilité et les nombreux conseils qu'il m'a prodigués m'ont été très précieux.

J'exprime ma reconnaissance au Professeur Faustin Sie Sib de la Faculté des Sciences de Ouagadougou (Burkina Faso), au Professeur Emmanuel Bassène de la Faculté de Médecine et Pharmacie de Dakar et au Docteur Mamadou Koné, Maître de Conférences à la Faculté des Sciences de Dakar pour avoir aimablement accepté de juger ce travail.

Ma reconnaissance et mes remerciements vont également au Docteur Ines Mancinide l'Institut de Chimie de Trento pour le soutien déterminant apporté lors des réactions de dégradation oxydative et de synthèse et à l'ingénieur Docteur Giuseppe Chiasera pour la réalisation des calculs de modélisation moléculaire et des simulations de spectres.

Je remercie Monsieur Mario Rossi pour l'aide apportée lors de l'isolement de certains produits et Monsieur Adriano Sterni pour l'enregistrement des spectres de masse.

A madame Guella, la gracieuse Rosanna, je lui exprime mes remerciements pour avoir su garder patience et comprendre son mari qui restait souvent avec moi au laboratoire jusqu'à des heures très tardives.

Je tiens à remercier également le Docteur Moussoukhoye Diop, Arame Khaya, et Mamadou Diallo pour leur sympathie et leur aide.



**ETUDE STRUCTURALE, DEGRADATION ET SYNTHÈSE
BIOMIMÉTIQUE DE MÉTABOLITES SECONDAIRES
ISOLES D'ORGANISMES DE LA CÔTE SÉNÉGALAISE.
PROPOSITION DE NOUVEAUX PROCESSUS
BIOGÉNÉTIQUES**

SUMMARY

This thesis work has concerned the isolation, structural characterization up to the conformational level, total synthesis, and biological assay of secondary metabolites of two seaweeds and a sponge from the coasts of Senegal.

Of the 32 metabolites thus isolated, 15 are new compounds. Stereostructures have been assigned from NMR and MS spectral data with the aid of chemical degradation, total synthesis, and the preparation of derivatives.

Two new degradative routes of furanosesterterpenes have been clarified, leading to C₂₄ or C₂₀ products; in the latter case some mechanistic study has also been carried out with other sesterterpenes to generalize the observations.

Some metabolites showed up as mixtures conformers in slow equilibrium, which have been studied by dynamic NMR with the aid of simulation techniques.

Biogenetic routes to these metabolites are proposed on structural and reactive basis as far as the sponge furanoterpenes are concerned, or by analogy with biomimetic synthesis for the algal peptide alkaloids.

Biological assays concerned cytotoxic and antibacterial activities *in vitro*.

SOMMAIRE

<i>INTRODUCTION GENERALE</i>	1
<i>PREMIERE PARTIE</i>	
GENERALITES SUR LES EPONGES ET ALGUES	3
<i>INTRODUCTION</i>	4
<i>CHAPITRE I</i>	
GENERALITES SUR LES EPONGES	5
1.1. - Définition et caractères généraux des éponges	5
1.2. - Classification des éponges	5
1.3. - Les éponges de la côte sénégalaise	6
1.4. - Morphologie et lieu de récolte du matériel biologique : <i>Ircinia fasciculata</i>	9
<i>CHAPITRE II</i>	
GENERALITES SUR LES ALGUES	10
2.1. - Définition et caractères généraux des algues	10
2.2. - Classification des algues	10
2.3. - Aperçu sur les Chlorophycées	12
2.4. - Les Phaéophycées	12
2.4.1. - Caractères généraux et classification	
2.4.2. - Phaéophycées de la côte sénégalaise	
2.5. - Les Rhodophycées	14
2.5.1. - Caractères généraux et classification	
2.5.2. - Rhodophycées de la côte sénégalaise	
2.6.- Morphologie et lieux de récolte du matériel biologique	19
2.6.1. - <i>Dictyota ciliolata</i>	
2.6.2. - <i>Haraldiophyllum</i> sp.	

DEUXIEME PARTIE

ETUDE DES METABOLITES SECONDAIRES DE L'EPONGE *IRCINIA FASCICULATA* 22

INTRODUCTION 23

CHAPITRE I

ISOLEMENT ET IDENTIFICATION DES FURANOTERPENES 26

- 1.1. - Isolement 26
- 1.2. - Identification du sesterterpène fasciculatin (C₂₅) 26
- 1.3. - Identification du norsesterterpène konakhin (C₂₄) 33
 - 1.3.1.-Analyses spectroscopiques
 - 1.3.2.-Discussion sur la liaison hydrogène intramoléculaire
 - 1.3.3.-Proposition d'un schéma de biogénèse
- 1.4. - Identification de l'acide carboxylique furanoterpénique (C₂₁) 40
- 1.5. - Identification de l'aldéhyde furanoterpénique (C₂₀) 44

CHAPITRE II

HYPOTHESE BIOGENETIQUE PAR ANALOGIE AVEC LA DEGRADATION OXYDATIVE DE FURANOSESTERTERPENES (C₂₅) 48

- 2.1. - Introduction 48
- 2.2. - Dégradation oxydative de la fasciculatin (C₂₅) 49
- 2.3. - Extension de la réaction de dégradation oxydative à d'autres acides tétroniques furanosesterterpéniques (C₂₅) 51
 - 2.3.1. - Dégradation oxydative de l'ircinin-1 et ircinin-2
 - 2.3.1.1 - Isolement et identification de l'ircinin-1, ircinin-2 et de ses produits de dégradation naturelle
 - 2.3.1.2. - Dégradation de l'ircinin-1 et ircinin-2
 - 2.3.2. - Dégradation oxydative de la palinurin
 - 2.3.2.1. - Isolement et identification de la palinurin et de ses produits de dégradation naturelle
 - 2.3.2.2. - Dégradation de la palinurin

2.4. - Proposition de schémas de biogénèse de l'acide carboxylique furanoterpénique (C ₂₁) et de l'aldéhyde furanoterpénique (C ₂₀)	57
2.4.1. - Biogénèse de l'acide carboxylique furanoterpénique	
2.4.2. - Biogénèse de l'aldéhyde furanoterpénique	
CONCLUSION	63
 TROISIEME PARTIE	
ETUDE DES METABOLITES SECONDAIRES DE L'ALGUE <i>DICTYOTA CILIOATA</i>	65
 INTRODUCTION	66
CHAPITRE I	
ISOLEMENT ET IDENTIFICATION DES DITERPENES	70
1.1 - Isolement	70
1.2.- Identification du dictyolactone, de l'hydroxydictyolacton et d'autres xénicanes similaires	71
1.3 - Identification de la joalin (diterpène xénicanique azoté)	79
1.3.1.- Analyses spectroscopiques	
1.3.2.- Proposition d'un schéma de biogénèse	
1.3.3.- Activité cytotoxique de la joalin	
 CHAPITRE II	
ANALYSE CONFORMATIONNELLE DYNAMIQUE DES XENICANES ISOLES	88
2.1 - Introduction	88
2.2. -Etude conformationnelle du dictyolactone et de l'hydroxydictyolactone	89
2.2.1 - Mise en évidence d'une interconversion conformationnelle lente	
2.2.2 - Paramètres cinétiques de l'interconversion conformationnelle	
2.3 - Comportement conformationnel de l'hydroxyacétyldicyolal	97
CONCLUSION	99

QUATRIEME PARTIE

ETUDE DES METABOLITES SECONDAIRES DE L'ALGUE *HARALDIOPHYLLUM* SP. 100

INTRODUCTION 101

CHAPITRE I

ISOLEMENT ET IDENTIFICATION DES METABOLITES SECONDAIRES 102

- 1.1 - Isolement 102
- 1.2.- Identification de composés benzéniques et indoliques usuels 102
- 1.3 - Identification et détermination de la configuration absolue de la
N,N-diméthylphénylalaninamide 103
 - 1.3.1. - Analyses spectroscopiques
 - 1.3.2. - Synthèse et détermination de la configuration absolue
- 1.4. - Identification des alcaloïdes almazole A et almazole B 107
 - 1.4.1 - Analyses spectroscopiques
 - 1.4.2 - Etude de l'équilibre conformationnel de l'almazole A
- 1.5. - Identification de l'alcaloïde indolique almazole C et de son précurseur
préalmazone C 120
 - 1.5.1. - Analyses spectroscopiques
 - 1.5.2. - Synthèse de l'almazole C et du préalmazole C
- 1.6. - Identification des dipeptides 136
 - 1.6.1. - Analyses spectroscopiques
 - 1.6.2. - Synthèse et détermination de la configuration absolue des dipeptides
- 1.7. - Identification de l'alcaloïde indolique almazole D 143
- 1.8.- Recherches d'activités biologiques sur les nouveaux composés 149

CHAPITRE II

BIOGENESE DES METABOLITES SECONDAIRES ISOLES 151

- 2.1. - Biogénèse des almazole A, B ,C , du préalmazole C et des dipeptides 151
- 2.2. - Biogénèse de l'almazole D 152

CONCLUSION 154

CONCLUSION GENERALE 156

PARTIE EXPERIMENTALE 159

2^{ème} Partie

3^{ème} Partie

4^{ème} Partie

BIBLIOGRAPHIE

INTRODUCTION GENERALE

Il est généralement admis que les métabolites secondaires n'interviennent pas lors du développement cytoplasmique des organismes végétaux ou animaux à partir duquel ils sont synthétisés.

Leur rôle est surtout défensif ou écologique, se situant au niveau des interactions entre les espèces et leur biotope. La production par l'organisme de ces substances est stimulée par des conditions stressantes (climat, agression physique ou pathogénique, carence). Pour se défendre contre les agents pathogènes ou les prédateurs, l'organisme marin synthétise par voie enzymatique ces molécules, généralement dotées d'une activité biologique et parfois toxiques.

Ainsi les plus riches sources de métabolites secondaires sont les espèces molles donc dépourvues de système de défense physique, et les espèces sessiles qui sont inaptes à s'enfuir en cas d'attaque d'un prédateur. Ceci est le cas des algues et des éponges sans spicules. Par contre, les espèces dotées d'un système de défense physique (éponges avec spicules qui deviennent indigestes, échinodermes, crustacés) ou les espèces mobiles (calmars) sont très pauvres en métabolites secondaires.

L'activité biologique de ces métabolites est à l'origine du formidable développement de la recherche de nouvelles molécules thérapeutiques d'origine marine, souvent sans équivalents en milieu terrestre. Ces travaux ont été sanctionnés durant ces vingt dernières années par la découverte d'un très grand nombre de substances douées d'une forte activité biologique(1), (2). Ainsi, les groupes pharmaceutiques les plus sceptiques au départ, portent actuellement un intérêt particulier sur les produits naturels marins bioactifs.

Après avoir été considérée comme la source nutritionnelle d'avenir avec son potentiel halieutique et sa flore algale, nous pouvons considérer la mer comme la pharmacie du futur.

Avec une façade maritime de 700 km environ dont un plateau continental de 20 000 km² peuplé par une flore et une faune facilement accessibles, abondante et variées, l'étude des métabolites secondaires de ces espèces revêt une importance particulière pour le Sénégal compte tenu de l'impact économique et médical potentiel.

Le contexte motive le choix porté sur ce thème, d'autant plus que ces organismes n'ont jusqu'à présent fait l'objet que de peu d'études chimiques relatives aux métabolites secondaires (3), (4), (5).

Notre étude porte sur une éponge de l'ordre des Dictyocératides (*Ircinia fasciculata*) et deux algues : une Dictyotale (*Dictyota ciliolata*) et une Céramiale (*Haraldiophyllum* sp.).

Elle est présentée en quatre parties :

- La première partie essentiellement bibliographique est consacrée à la classification des algues et éponges, la morphologie et les lieux de récolte des espèces étudiées.

- Dans la deuxième partie, nous abordons l'étude des métabolites secondaires de l'éponge *Ircinia fasciculata*.

Après identification des principaux composés, des réactions de dégradations oxydatives confirmant par analogie le lien biogénétique entre la fasciculatin (C₂₅) et les furanoterpènes (C₂₁ et C₂₀) ont été faites. Des schémas de biogénèse seront ensuite proposés.

- Dans la troisième partie consacrée à l'algue *Dictyota ciliolata*, l'identification des métabolites secondaires sera suivie de l'analyse conformationnelle dynamique des xénicanes isolés de cette algue.

- L'identification et la recherche d'activités biologiques, des différents métabolites de l'algue *Haraldiophyllum* sp. seront faites à la quatrième partie.

Les structures des nouveaux composés seront confirmées par synthèse ou conversion chimique.

PREMIERE PARTIE

GENERALITES SUR LES EPONGES ET ALGUES

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES EPONGES

CHAPITRE II : GENERALITES SUR LES ALGUES

INTRODUCTION

Le plateau continental sénégalais est très riche en éponges et algues. Cette richesse pourrait être liée à la présence d'un écosystème marin favorable, et plus particulièrement à la combinaison de plusieurs facteurs d'ordre climatologiques, hydrologiques et géomorphologiques (6), (7) :

a) Les conditions climatiques font de la côte sénégalaise une zone de transition avec l'influence du climat subcanarien froid et sec et du climat subguinéen caractérisé par des courants d'air plus chaud.

b) Au point de vue hydrologique, le courant froid des canaries, un courant équatorial plus chaud et plus salé, et l'arrivée des eaux de pluies en provenance des embourchures guinéennes et casamançaises qui rendent l'eau encore plus chaude et beaucoup moins salée, influencent alternativement la circulation côtière tout au long de l'année.

c) Différents types de fonds meubles allant de la vase au sable grossier et débris coquillier peuvent être trouvés.

d) Les fonds rocheux se présentent sous différents types (Figure 1, 2)

- Les bancs d'origine sédimentaire,
- Les écueils côtiers,
- La zone d'origine volcanique entre Yoff et Bel-Air.

Les différents travaux relatifs à l'étude des algues et éponges de la côte sénégalaise, permettent de constater une présence très variée d'espèces tropicales, méditerranéennes et parfois nord atlantique (7).

CHAPITRE I

GENERALITES SUR LES EPONGES

1.1 - DEFINITION ET CARACTERES GENERAUX DES EPONGES

Les éponges sont des animaux aquatiques, essentiellement marins, de formes, dimensions et couleurs très variées.

Ce sont les invertébrés pluricellulaires les plus primitifs, ne possédant ni organe, ni système nerveux, ni tissu différencié.

Grâce aux nombreux pores répartis sur le corps, d'où le nom de porifère qui leur est donné, l'éponge pompe l'eau contenant l'oxygène et la nourriture nécessaire pour sa survie. L'eau est ensuite rejetée avec les déchets et éventuellement les substances nécessaires à la reproduction par un orifice plus large appelé oscule.

1.2. - CLASSIFICATION DES EPONGES

"La plupart des éponges possèdent un squelette interne composé soit d'éléments silicieux ou calcaires (les spicules), soit de fibres de spongine, soit des deux à la fois. Les spicules et les fibres de spongine occupent une position caractéristique dans l'éponge et leur arrangement spatial constitue la charpente squelettique différente pour chaque espèce d'éponge. Cette charpente squelettique, la forme, les dimensions des spicules ou des fibres de spongine sont les critères essentiels sur lesquels est basée la systématique. Les quelques espèces d'éponges, qui ne possèdent ni spicules, ni fibres, de spongine sont encroûtantes, ce qui prouve bien que les éléments squelettiques sont essentiels à l'éponge pour élever son corps dans la colonne d'eau" N. BOURY-ESNAULT (8).

Selon la nature et la forme des éléments du squelette les éponges peuvent être réparties en trois grandes classes :

1. Les Calcisponges : elles sont littorales et possèdent un squelette calcaire.
2. Les Hexactinellides : elles sont généralement abyssales donc très difficiles à récolter. Elles possèdent un squelette silicieux avec des spicules de symétrie 6.

3. Les Démosponges : elles sont de loin les plus nombreuses et les plus répandues (9). Elles peuvent être littorales ou abyssales. Leur squelette est formé soit de spicules silicieux de symétrie 1 ou 4 avec ou sans fibres de spongine, soit de fibres de spongine seules. Parfois elles n'ont pas de squelette (espèces encroûtantes).

En complément aux critères de classification liés à l'étude des éléments du squelette, C. LEVI (10) a proposé une méthode originale de classification basée sur le mode de reproduction. Ainsi les Démosponges sont divisées en deux groupes :

- Les ovipares, constituant la sous-classe: Tétractinomorphes
- Les vivipares, constitués de deux sousclasses: Homoscléromorphes, Céractinomorphes.

Selon la configuration de la charpente squelettique, chaque sous-classe est subdivisée en ordres suivant le Tableau I.

TABLEAU I

SOUS-CLASSE	ORDRE	SOUS-CLASSE	ORDRE
Homoscléromorphes	Homosclérophorides	Céractinomorphes	Haposclérides
Tétractinomorphes	Spirophorides		Poeciloscélides
	Choristides		Halichondrides
	Lithistides		Dictyocératides
	Hadromérides		Dendrocératides
	Axinellides		Vérongides

1.3. - LES EPONGES DE LA COTE SENEGALAISE

La plupart des éponges décrites ont été récoltées sur la zone littorale à partir des grandes expéditions scientifiques des années 1950. Cependant un certain nombre d'espèces nouvelles ont été récoltées durant ces dernières années, soit en marée basse, soit en plongée sous-marine.

Dans le Tableau II, nous présentons les différents Démosponges de la côte sénégalaise. Nous

signalons que l'essentiel de ces espèces ont été repertoriées par C. LEVI (11), (12), (13) et R. SOURIE (7). Cependant une mise à jour a été faite avec les nouvelles espèces identifiées récemment.

TABLEAU II
DEMOSPONGES DE LA COTE SENEGALAISE

ORDRE	GENRE	ESPECE	LOCALITE
Homosclérophorides	Oscarella	O. lobularis	Pte BERNARD, FANN
	Plakortis	P.simplex	YOFF
Spirophorides	Cinachyra	C. alloclada C. kukenthali C. sp	JOAL, FADIOUTH JOAL Baie de HANN
	Craniella	C. cranium	Large de SALOUM
Choristides	Chondrosia	C. reniformis	Pte de BERNARD
	Dercitus	D. plicxatus	Pte de BERNARD
	Jaspis	J. johnstoni	Pte de BERNARD
	Myriastr	M. paucistellata	FANN, Pte BERNARD
	Pachastrella	P. monolifera	--
	Sidonops	S. senegalensis	POPENGUINE, DAKAR
	Stellata	S. hispida	Large de SALOUM
	Goedia	G. megastrella	--
Lithistides	Taprobane	T. spirophora	JOAL
Hadromérides	Cliona	C.vastifica	--
	Ficulina	F.ficus	Baie de HANN
	Placospongia	P.décorticans	FANN
	Polymastia	P. agglutinans	Banc de SEMINOLE
	Subérites	S. domuncula	JOAL
	Terpios	T. fugax	Pte de BERNARD
	Tethya	T. aurantium	YOFF
	Timea	T. crassa	Baie de HANN

ORDRE	GENRE	ESPECE	LOCALITE
Axinellides	Axinella Higginsia Pseudaxinella Rabderemia Raphidectyon Trikenrion	A. polypoides H. tethyoides P. lunaecharta R. minutula R. spinosum T. loeve Carter	Cap de NAZE JOAL, FADIOUTH JOAL, FADIOUTH Pte de BERNARD Large de SALOUM DAKAR
Haposclérides	Foliolina Haliclona	F. pelata H.cineraa	Sud Baie de GOREE Pte de BERNARD, FANN
Poecilosclérides	Acanthacarnus Axociella Biemna Burtonanchora Clathria Desmacidon Dictyoclathria Hamacantha Hymedesmia Lissodendoryx Microciona Mycale Myxilla Plocamilla Pytheas Rotuloplocamia Tedania Tylodesma Heteroclathria	A. sourili A. pachyaxia B. fortis B. myxilloides C. compressa D.fruticosa D. morisca H. johnsoni H. pansa H. peachi H. senegalensis L. isodictyalis M. africana M. armata M. haplotoxa M. fusiformis M. M. massa M. syrinx M. senegalensis M. incrustans M. rosacea P. burtoni P. coriacea P. digitifera R. octoradiata T. anhelans T. digitata H. hallezi	YOFF MBOUR -- -- Fosse de KAYAR -- Cap MANUEL -- Pte de BERNARD FANN Pte de BERNARD YOFF Baie de HANN ANSE BERNARD FANN GOREE-CAP MANUEL -- Fosse de KAYAR Plage de HANN YOFF -- ANSE BERNARD -- -- Pte de BERNARD DAKAR, JOAL Banc de SEMINOLE Plage de YOFF

ORDRE	GENRE	ESPECE	LOCALITE
Halichondrides	Halichondria Hymerhabdia	H. sp H. topsenti	Pte de BERNARD ANSE BERNARD
Dictyocératides	Dysidea Ircinia	D. fragilis I. fasciculata I. dendroides	-- ANSE BERNARD NGOR
Dendrocératides	Aplysilla Chelonaplysilla Darwinella Halisarca Dendrilla	A. rosea A. sulfurea C. arenosa D. australienis H. dujardini D. acantha	YOFF YOFF Pte de BERNARD YOFF Baie de HANN JOAL
Vérongides	Verongia Aplysina	V. aerophoba A. sp	-- POPENGUINE

1.4. MORPHOLOGIE ET LIEU DE RECOLTE DU MATERIEL BIOLOGIQUE

Ircinia fasciculata (ESPER) (14) : elle a été récoltée en plongée sous-marine (-33m) à Konakhé (DAKAR).

C'est une éponge plate avec (1 à 2 cm) d'épaisseur; la couleur est rose, la consistance ferme et elle n'est pas très élastique.

CHAPITRE II

GENERALITES SUR LES ALGUES

2.1. - DEFINITION ET CARACTERES GENERAUX DES ALGUES

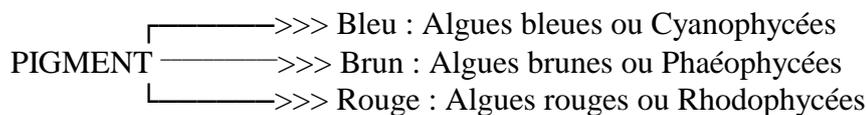
Les algues sont des végétaux, ne possédant ni feuilles, ni tiges, ni racines. Leur corps est un thalle, d'où leur nom de thallophytes. Elles se reproduisent sans jamais donner de fruits, graines ou fleurs d'où le terme de cryptogames. On connaît actuellement des milliers d'espèces, vivant principalement dans les eaux salées et douces et exceptionnellement en milieu terrestre.

Les algues réalisent toutes la photosynthèse et contiennent donc de la chlorophylle, cependant la couleur du thalle n'est pas toujours verte, car un pigment spécifique lié à la division de l'algue considérée peut s'ajouter au pigment photosynthétique fondamental.

Ainsi une première classification pourra être faite selon la couleur de l'algue.

- Absence de pigments surnuméraires : Algues vertes ou chlorophycées

- Présence de pigments surnuméraires :



2.2 - CLASSIFICATION DES ALGUES

La classification des algues repose sur cinq critères (15) :

- Trois critères biochimiques qui sont :

- * La nature des pigments photosynthétiques
- * La nature des polyholosides de réserve
- * La nature des polyholosides de soutien

- Deux critères morphocytologiques qui concernent :

- * Le type de flagelle
- * Certains détails de la structure cellulaire

A partir de ces critères, les algues sont réparties en plusieurs Divisions.

Cependant nous nous intéresserons qu'aux trois grandes Divisions d'algues marines macroscopiques qui sont :

- * Les Chlorophycées
- * Les Phaéophycées
- * Les Rhodophycées

Les spécificités de ces trois Divisions d'algues à l'égard des critères ci-dessus cités sont regroupées au Tableau III (15), (16)

TABLEAU III
CRITERES BIOCHIMIQUES ET MORPHOCYTOLOGIQUES
DE CLASSIFICATION DES ALGUES MARINES

CRITERES	CHLOROPHYCEES	PHAEOPHYCEES	RHODOPHYCEES
PIGMENTS PHOTOSYNTHETIQUES chlorophylles carotenoides biliprotéines	+ + -	+ + -	+ + +
SUBSTANCES DE RESERVE amidon floridane laminarane	+ - -	- - +	- + -
SUBSTANCES DE SOUTIEN cellulose carraghénanes acide alginique et fucinique	+ - -	+ - +	+ + -
FLAGELLES	+	+	-
ORGANISATION CELLULAIRE unicellulaire pluricellulaire	+++ +	- +++	+ +++

- = absence ; + = présence ; +++ = majoritaire

2.3. APERCU SUR LES CHLOROPHYCEES

Les Chlorophycées ou algues vertes constituent la classe la plus importante par le nombre. Environ 7.000 espèces sont actuellement recensées dont un millier qui vit en milieu marin. En raison de leur équipement photosynthétique, plusieurs espèces de Chlorophycées vivent à une profondeur inférieure à 5 mètres. Elles ne supportent pas le mode battu et vivent généralement dans les eaux calmes (baies, ports, estuaires). Les Chlorophycées présentent certaines analogies avec les autres végétaux : même composition en pigments photosynthétiques, présence d'amidon et de cellulose.

2.4. - LES PHAEOPHYCEES

2.4.1 - Caractères généraux et classification

Les Phaéophycées ou algues brunes sont essentiellement marines et regroupent environ 1.500 espèces. Elles sont des organismes pluricellulaires et macroscopiques. La classification est basée sur des critères de reproduction sans alternance de génération (cas des fucales) ou avec alternance de génération (autres Phaéophycées).

2.4.2 - Phaéophycées de la côte sénégalaise

Dans le Tableau IV, nous présentons, les phaéophycées sénégalaises. Nous signalons que l'essentiel de ces espèces ont été repertoriées par R. SOURIE (7), P. DANGEARD (17), M. BODARD et J. MOLLION (18), (19). Cependant une mise à jour a été faite avec les nouvelles espèces identifiées récemment.

TABLEAU IV
PHAEOPHYCEES DE LA COTE SENEGALAISE

ORDRE	FAMILLE	GENRE	ESPECES
Fucales	Cystoseiracées Sargassacées	Cystoseira Sargassum	C. senegalensis S. vulgare S. sp S. hystrix S. ramifolium
Ectocarpales	Ectocarpacées Ralpfsiacées	Feldmannia Bachelotia Giffordia Ralpsia	F. ralfsia F. irregularis B. fulverscens G. mitchelliae R. expansa
Sphacélariales	Sphacélariacées	Sphacelaria	S. tribuloïdes S. brachygona
Dictyotales	Dictyotacées	Dictyota Pockockiell Padina Spatoglossum Dictyopteris Taonia	D. ciliata D. pardalis D. divaricata D. crenulata D. dichotoma D. polycarpa D. variable D. naevosa D. ciliolata P. variegata P. vickersiae P. sp P. terastomatica S. solieri S. variable S. schroederi D. delicatula T. atomaria
Chordariales	Chordariacées	Levringia	L. atlantica L. brasiliensis
Scytosiphonales	Scytosiphonacées	Colpomenia	C. sinuosa
Laminariales Punctariales	Alariacées Punctariacées	Ecklonia Petalonia	E. muratii P. fascia

2.5. - LES RHODOPHYCEES

2.5.1 - Caractères généraux et classification

Les Rhodophycées ou algues rouges sont essentiellement marines et sont des organismes macroscopiques et pluricellulaires . Elles possèdent quelques caractères spécifiques comme la présence des agars et carraghénanes. Ces composés sont des polymères de diholosides sulfatés formés à partir de galactose et/ou d'anhydride 3,6 galactose. Ils ont beaucoup d'applications dans l'industrie alimentaire et cosmétique.

Les Rhodophycées regroupent environ 4 000 espèces réparties entre deux groupes:

- 1) les Bangiophycidées qui sont des formes primitives, microscopiques et unicellulaires avec comme exception le genre *Porphyra*, algue macroscopique;
- 2) les Floridéophycidées qui sont des formes macroscopiques et pluricellulaires donc plus évoluées.

La classification est basée sur des critères de biologie cellulaire et de reproduction.

2.5.2 - Rhodophycées de la côte sénégalaise

C'est la classe d'algues la plus représentée de la côte sénégalaise avec quelques espèces spécifiques. Dans le tableau V, nous présentons les Floridéophycidées Sénégalaises (7), (17), (18), (19). Une mise à jour a été faite avec les espèces identifiées récemment.

TABLEAU V
FLORIDEOPHYCIDÉES DE LA CÔTE SENÉGALAISE

ORDRE	FAMILLE	GENRE	ESPECES
Némaliales	Chaetangiaceés	Scinaia	S.canaliculata S. furcellata S. hormoides
	Acrochaetiaceés	Galaxaura Acrochaetium	G. sp A. streblocadiae A. macropoda
	Helminthocladaceés	Helminthocladia	H. senegalensis
Bonnemaisoniales	Bonnemaisoniaceés	Falkenbergia	F. rufolanosa F. hillebrandii
Gélidiales	Gélidaceés	Géliidiella Géliidium	G. tenuissima G. senegalensis G. reptans G. foliosum G. pusillum G.flaccidum G. crinale G. microterum G. sesquipedale G. pulchellum G. latifolium G. melanoideum G. arbuscula
		Pterocladia Gelidiocolax	P. capillacea G. hemisphaerica
Corallinales	Corallinaceés	Amphiroa Jania Lithophyllum Corallina	A. cryptarthrodia A.dilata A. fragillissima A. beauvoisii J. rubens J. adhaerens L. lobatum C. mediterranea C. sp

ORDRE	FAMILLE	GENRE	ESPECES
Céramiales	Delesseriacées	Haraldiophyllum Pseudobranchioglossum Polyneura Acrosorium Apoglossum	H. sp P. senegalensis P. denticulata A. uncinatum A. ruscifolium
	Rhodomélacées	Bryocladia Streblocladia Pycnothamnion Herposiphonia Polysiphonia Leptosiphonia Brongniartella Chondria Laurencia	B. thyrigera S. neglecta S. collabens P. crustaceum H. tenella H. densa H. sp H. secunda P. ferulacea P. souriei P. sp L. sp B. mucronata C. densa C. bernardii C. platyclada C. scintillans L. pinnatifida L. undulata L. obtusa L. obtusa L. lata L. intricata L. microcladia L. senegalensis L. scoparia L. poitei
	Dasyacées	Pterosiphonia Heterosiphonia Dasya Dictyurus	P. pennata H. wurdemannii D. sp D. occidentalis

2.6. MORPHOLOGIE ET LIEUX DE RECOLTE DU MATERIEL BIOLOGIQUE

2.6.1 *Dictyota ciliolata* Sonder (ex. Kützing)

Algue généralement solitaire de couleur jaune moutarde. Elle peut atteindre 10 à 20 cm de hauteur. Le thalle est régulièrement dichotomé. Elle a été récoltée en marée basse à la pointe de Senti (Joal).

L'algue a été identifiée par le Prof. A. Meinesz et R. Lemée de l'Université de Nice - Sophia Antipolis.

2.6.2 *Haraldiophyllum* sp.

Cette algue se présente sous forme d'un tapis formé par un enchevêtrement de petites unités de forme arrondie avec un diamètre d'1cm environ.

La couleur de l'algue varie en fonction de la profondeur où elle se trouve dans l'eau: rose vers un mètre et rouge près de la surface (0,2-0,3m). Elle a été récoltée en marée basse aux Almadies.

Cette algue a été identifiée partiellement par Dr. M. Verlaque de l'Université d'Aix-Marseille comme étant un *Haraldiophyllum*. Malheureusement, nous n'avons pas encore récolté une espèce en période de sporulation permettant d'identifier l'algue complètement.

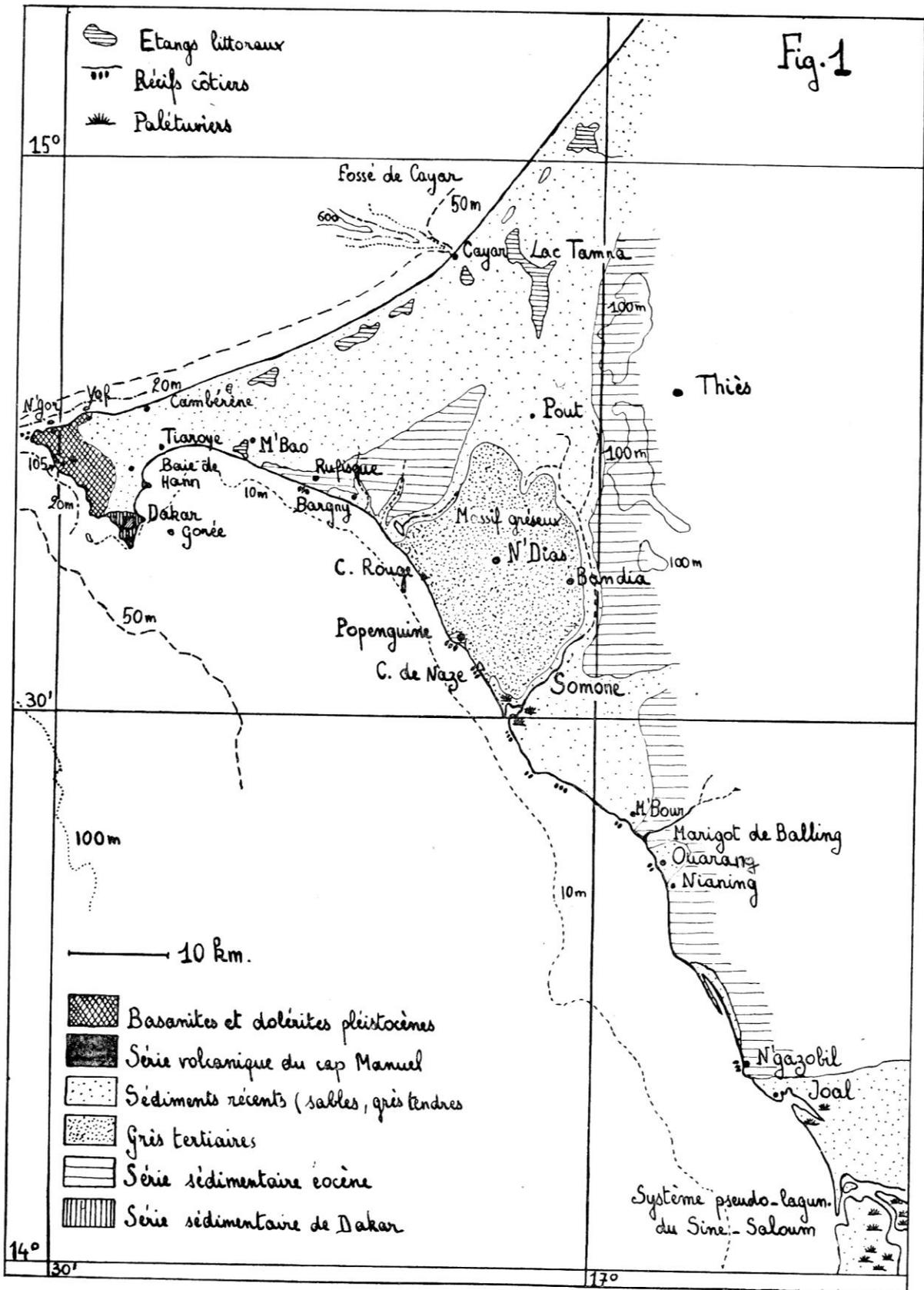


Figure 1

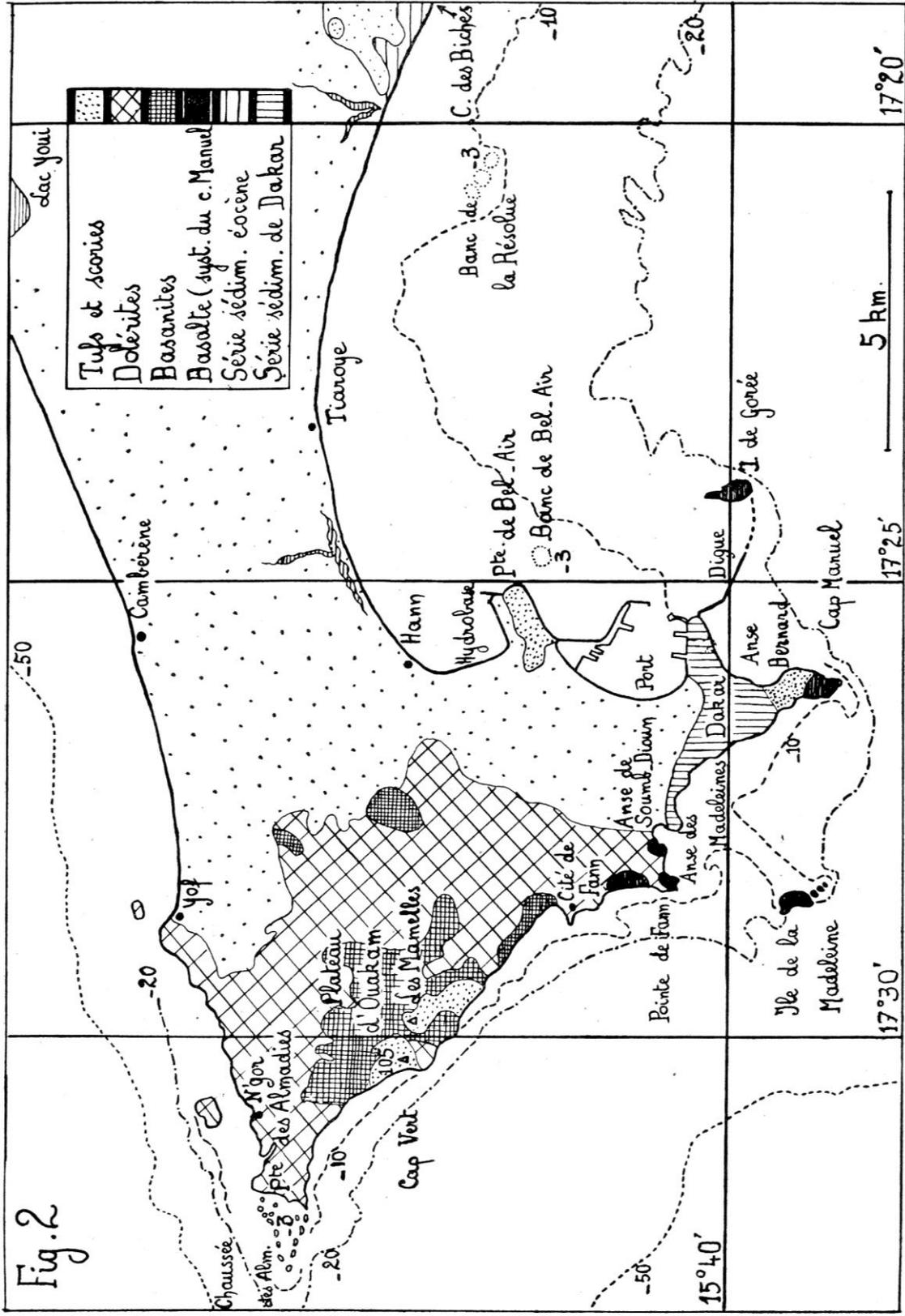


Figure 2

DEUXIEME PARTIE

ETUDE DES METABOLITES SECONDAIRES DE L'EPONGE *IRCINIA FASCICULATA*

CHAPITRE I : ISOLEMENT ET IDENTIFICATION DES FURANOTERPENES

CHAPITRE II : HYPOTHESE BIOGENETIQUE PAR ANALOGIE AVEC LA DEGRADATION OXYDATIVE DE FURANOSESTERPENES (C₂₅)

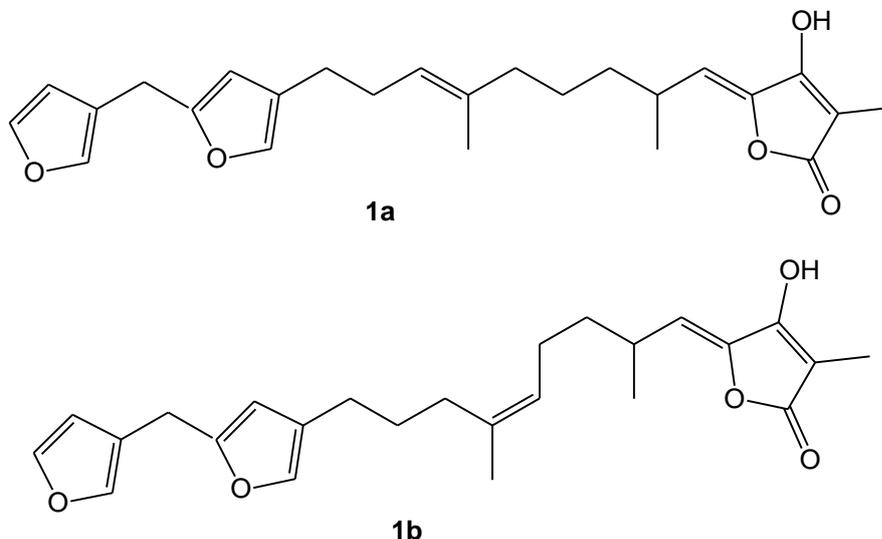
INTRODUCTION

Les éponges du genre *Ircinia* de l'ordre des Dictyocératides sont très répandues à travers le monde, ce qui explique les nombreuses études qui leur sont consacrées, parfois avec des espèces morphologiquement identiques mais biosynthétisant des métabolites variés.

Parmi les composés fréquemment rencontrés dans ce genre, nous pouvons distinguer:

- Les furanosesterpènes (C_{25}) linéaires : ces composés sont isolés essentiellement à partir d'espèces de l'ordre Dictyoceratida, et particulièrement à partir du genre *Ircinia* où ils sont généralement isolés comme métabolites secondaires majoritaires. Beaucoup d'entre eux possèdent une chaîne polyprényle entre un noyau furanne et un acide tétronique. Le tout constituant cinq unités isoprénique (20).

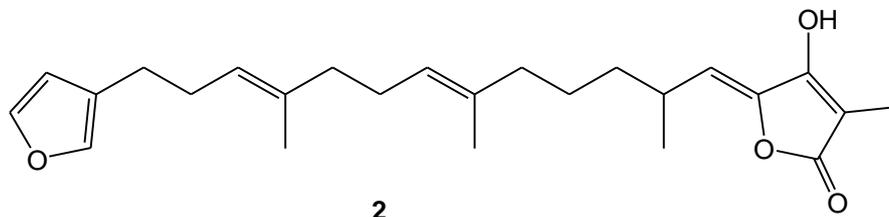
Les premiers furanosesterpènes linéaires ont été décrits au début des années 70 : ircinin-1 (**1a**) et ircinin-2 (**1b**) isolés de l'*Ircinia oros* par CIMINO *et al.*(21).



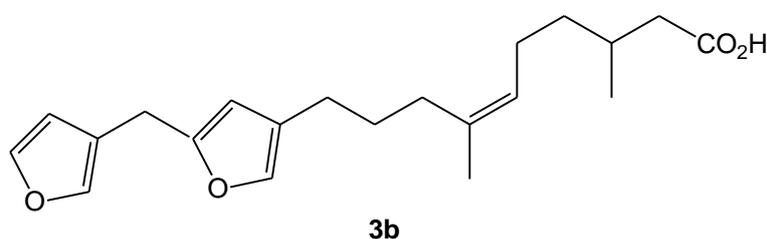
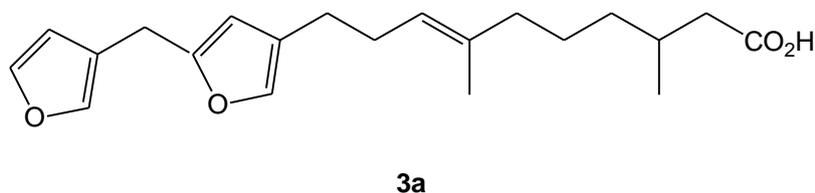
Par la suite, plusieurs composés de ce type ont été isolés dont la grande majorité à partir des éponges du genre *Ircinia*

Parmi ceux-ci on peut citer la variabilin (**2**) isolée pour la première fois de l'*Ircinia variabilis* (22), puis à partir du genre *Sarcotragus* et *Psammocinia* (23). Ce composé

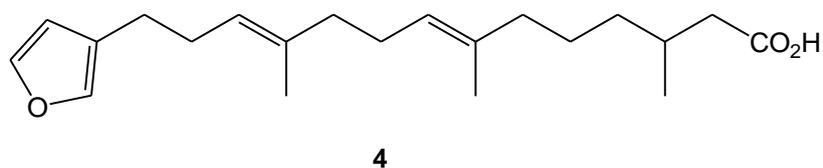
manifeste une activité antibiotique (22); son activité antivirale et antitumorale a été signalée par la suite (23b).



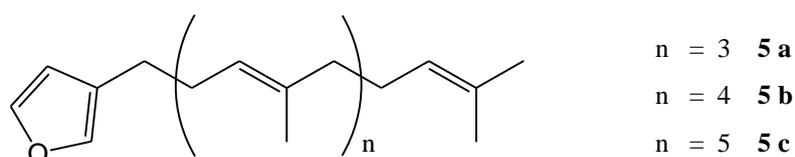
• Les furanoterpènes (C_{21}) linéaires : ces composés coexistent toujours avec les furanosesterterpènes (C_{25}) dont ils dérivent par dégradation et auxquels ils sont structuralement liés (24). Ainsi à partir de la même collection de l'*Ircinia oros*, CIMINO et al. ont isolé l'ircinin-3 (**3a**) et l'ircinin-4 (**3b**) (24a).



Le furanoterpène (C_{21}) **4** a été également isolé avec la variabilin de *Sacotragus* sp. (23b).



• Les furannes polyprénylés comme la furospinulosin-1 (**5a**) isolée de l'*Ircinia spinulosa* (25).



CHAPITRE I

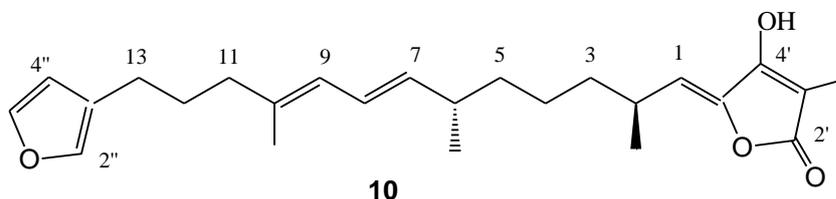
ISOLEMENT ET IDENTIFICATION DES FURANOTERPENES

1.1 ISOLEMENT

L'éponge *Ircinia fasciculata* a été récoltée en plongée sous-marine (-30m) à Dakar (Konakhé). Après homogénéisation dans le méthanol suivie d'une série d'extraction dans l'hexane puis l'acétate d'éthyle, le résidu est soumis à une "flash" chromatographie (FC) avec gradient d'éluion. Les différentes fractions soumises à une série de chromatographie préparatives, "flash" chromatographies et HPLC nous a permis d'isoler quatre composés : la fasciculatin (**10**) déjà connue (30) et qui représente le produit majoritaire de cette éponge, et les composés **12**, **14**, **15** qui sont nouveaux.

1.2 IDENTIFICATION DU SESTERTERPENE FASCICULATIN(C₂₅)

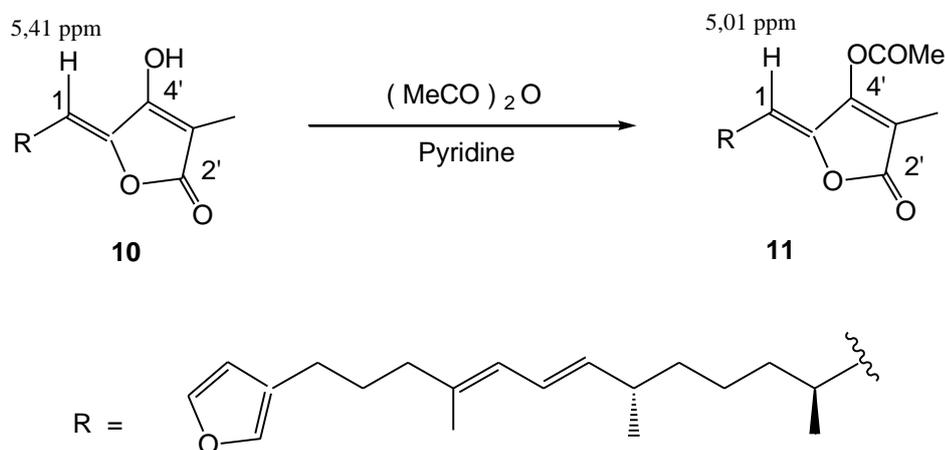
Après analyse des spectres de RMN et de masse, le composé **10** a été identifié comme correspondant à la fasciculatin qui est un sesterterpène (C₂₅) représentant une classe de produits naturels très rares jusqu'à l'étude des éponges de l'ordre Dictyoceratida et des mollusques (nudibranches) qui sont leurs prédateurs (1). Cette structure a été confirmée après étude des spectres RMN bidimensionnelle COSY (¹H-¹H) et HETCOR (¹H-¹³C).



La fasciculatin a été isolée pour la première fois par CAFIERI *et al.* à partir de *Ircinia fasciculata* de la Baie de Naples (30a). Ces auteurs avaient établi la structure sur la base des données spectroscopiques et des transformations chimiques. En ce qui concerne la stéréochimie, ils ont déterminé la configuration au niveau des carbones asymétriques C-2 et C-6 comme étant

S, après ozonolyse oxydative du produit. La configuration trans de la double liaison C(7)=C(8) a été déduite de la valeur de la constante de couplage ($J_{7,8} = 15$ Hz). Dans le cas du composé **10**, cette constante de couplage est de 15,0 Hz. La configuration *E* de la double liaison C(9)=C(10) a été déterminée quelques années plus tard par ALFANO *et al.* (30b). Leur argumentation repose sur la relation qui existe entre les déplacements chimiques en RMN du carbone 13, des groupements α (CH_3 et CH_2) du carbone quaternaire d'une double liaison isoprénique et la configuration de celle-ci. Il a été démontré qu'en RMN du carbone 13 le méthyle sur une double liaison trisubstituée d'une chaîne isoprénique apparaît plus vers les hauts champs avec une double liaison *E* qu'avec une double liaison *Z*(31). Ainsi pour le type de squelette qui nous intéresse, le déplacement chimique de $\text{CH}_3\text{-C-10}$ peut passer de 15-16 ppm environ pour une double liaison *E* à 23-24 ppm pour une double liaison *Z*. Dans le cas du composé **10**, $\text{CH}_3\text{-C-10}$ résonne à 16,44 ppm confirmant ainsi la configuration *E* de la double liaison C-9.

La stéréochimie de la double liaison C(1)=C(5') exocyclique au tétronique acide a été établie par MANES *et al.* (32) sur la base de l'étude de la résonance en RMN du proton de H-C-1 après acétylation de OH-C-4'. Pour la fasciculatin la configuration *Z* est supportée par un blindage de 0,59 ppm. Pour le composé **10**, la configuration *Z* de cette double liaison est confirmée par un blindage de 0,40 ppm.



L'acétylation a été faite selon le protocole utilisé par CAFIERI *et al.* (30a). En ce qui concerne les 2 carbones asymétriques C-2 et C-6, on pourrait leur attribuer la configuration *S* car nous observons un pouvoir rotatoire $[\alpha]_D^{20} = -23,7^0$ ($c = 2,25$; CHCl_3), qui est en accord avec celui de la fasciculatin publiée par CAFIERI *et al.* (30a). SM-IE ($m/z(\%)$): 398(16, M^+); 383(36, $\text{M}^+ - \text{Me}$); 203(15); 175(19); 149(20); 135(100); 109(21); 95(43); 81(67); 67(20).

Les données de la RMN sont présentées au Tableau VI. Nous signalons qu'il y a une parfaite identité entre ces données et celles publiées par CAFIERI *et al.* pour le proton (30a) et ALFANO *et al.* pour le carbone 13 (30b). Le Figure III, IV et V représentent respectivement le spectre de RMN du ^1H , ^{13}C et HETCOR de la fasciculatin.

TABLEAU VI
RMN DU PROTON ET CARBONE 13 DU COMPOSE 10

N°	¹ H δ(ppm)(mult.; J(Hz)) CDCl ₃	¹³ C δ(ppm)m CDCl ₃	¹³ C δ(ppm)m (30b) CDCl ₃
1	5,41 (d; J _{1,2} = 10,0)	117,14 d	116,6
2	2,75(m(l))	30,91 d	30,9
3	1,25-1,35(m(l))	37,05* t	37,1
4	1,25-1,35 (m(l))	25,05 t	25,1
5	1,25-1,35 (m(l))	37,03 * t	37,1
6	2,13 (m(l))	36,83 d	36,9
7	5,42 (dd; J _{7,6} = 7,9; J _{7,8} = 15,0)	138,36 d	138,2
8	6,17 (ddd; J _{8,6} = 1,1; J _{8,9} = 10,8; J _{8,7} =15,0)	124,75d	124,9
9	5,77(d(l); J _{9,8} =10,8)	125,03 d	125,3
10	--	136,00 s	135,7
11	2,04 (t; J _{11,12} = 7,8)	39,28 t	39,3
12	1,67 (quint; J = 7,8)	28,06 t	28,1
13	2,38 (t; J _{13,12} = 7,8)	24,33 t	24,4
2'	--	173,19 s	172,8**
3'	--	99,08 s	98,9
4'	--	162,95 s	162,9**
5'	--	142,79 s	143,1
2''	7,19 (m)	138,74 d	138,7
3''	--	124,98 s	124,9
4''	6,25 (m)	110,95 d	110,9
5''	7,32 (<i>pseudo</i> t; J _{5'',4''} = J _{5'',2''} =1,8)	142,57 d	142,5
CH ₃ -C(3')	1,82 (s)	6,03 q	6,1
CH ₃ -C(2)	1,03 (d, J _{Me,2} = 6,8)	20,53 q	20,6*
CH ₃ -C(6)	0,96 (d, J _{Me,6} = 6,8)	20,66 q	20,7*
CH ₃ -C(10)	1,71 (d, J _{Me,9} = 1,2)	16,44 q	16,

*, ** Ces attributions sont interchangeables; HO résonne à 9,1 ppm sous forme d'un signal très large.

Figure III
 Spectre de RMN du ^1H de la fasciculatin (CDCl_3)

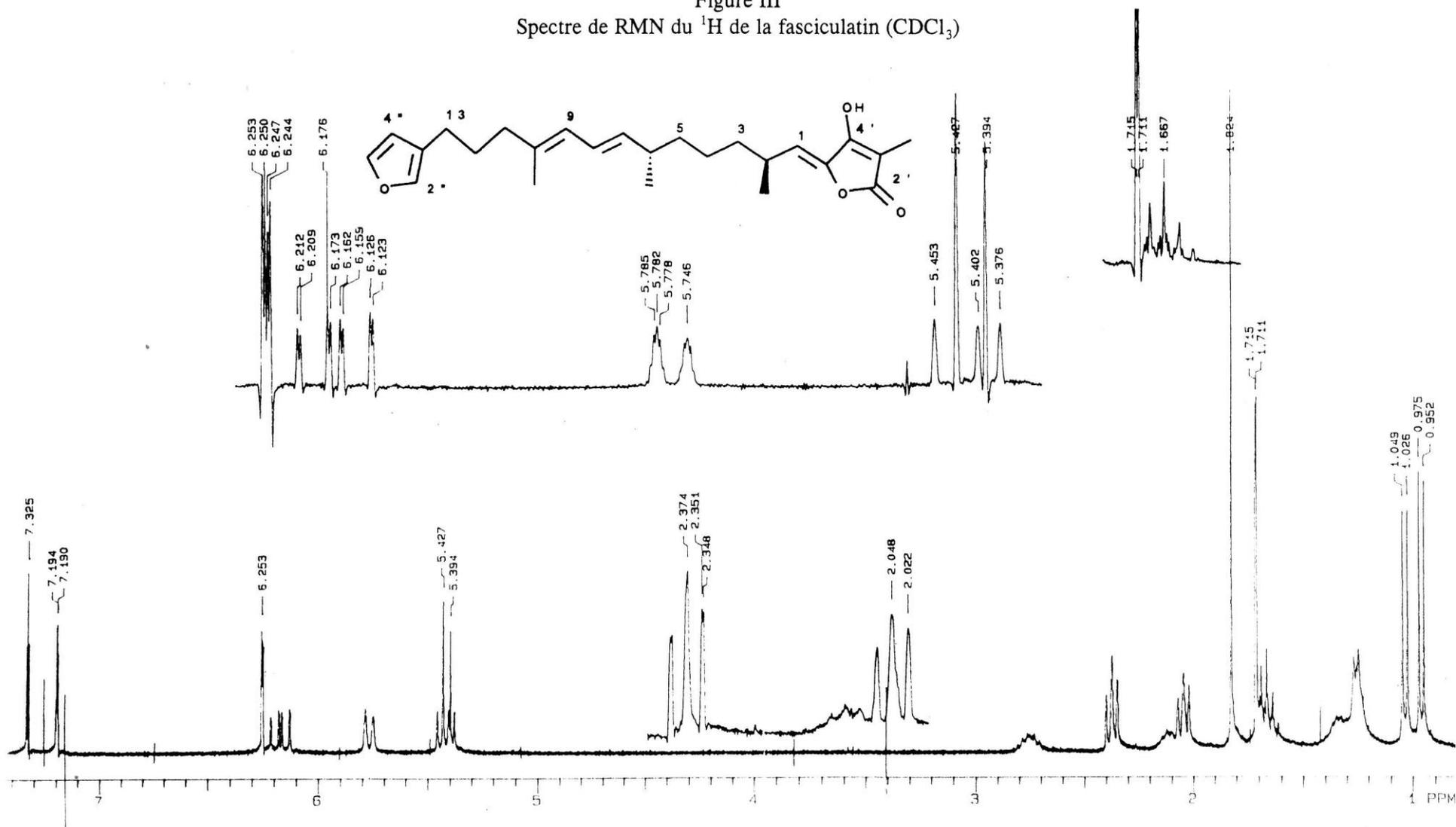


Figure IV
 Spectre de RMN du ^{13}C de la fasciculatin (CDCl_3)

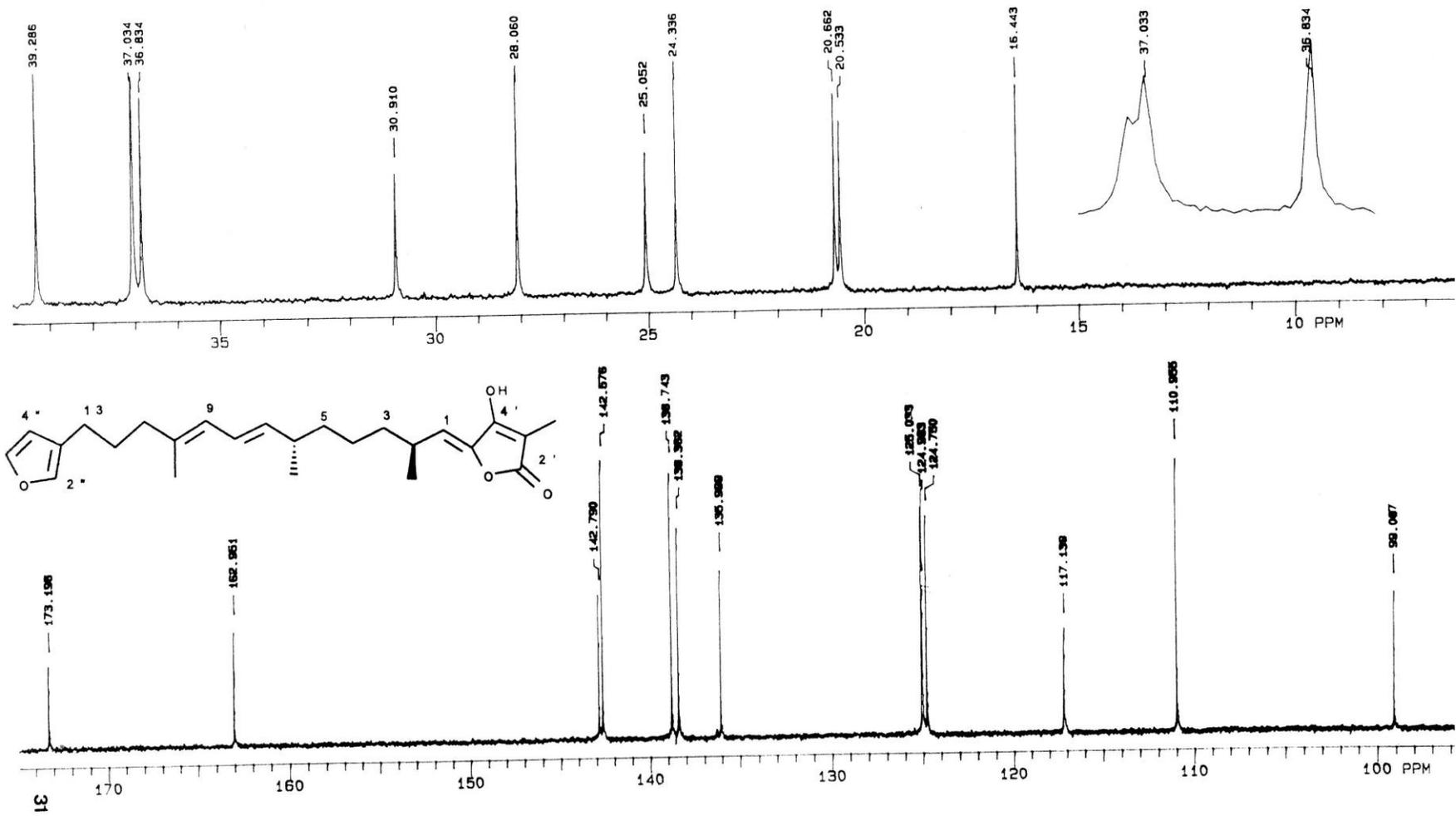
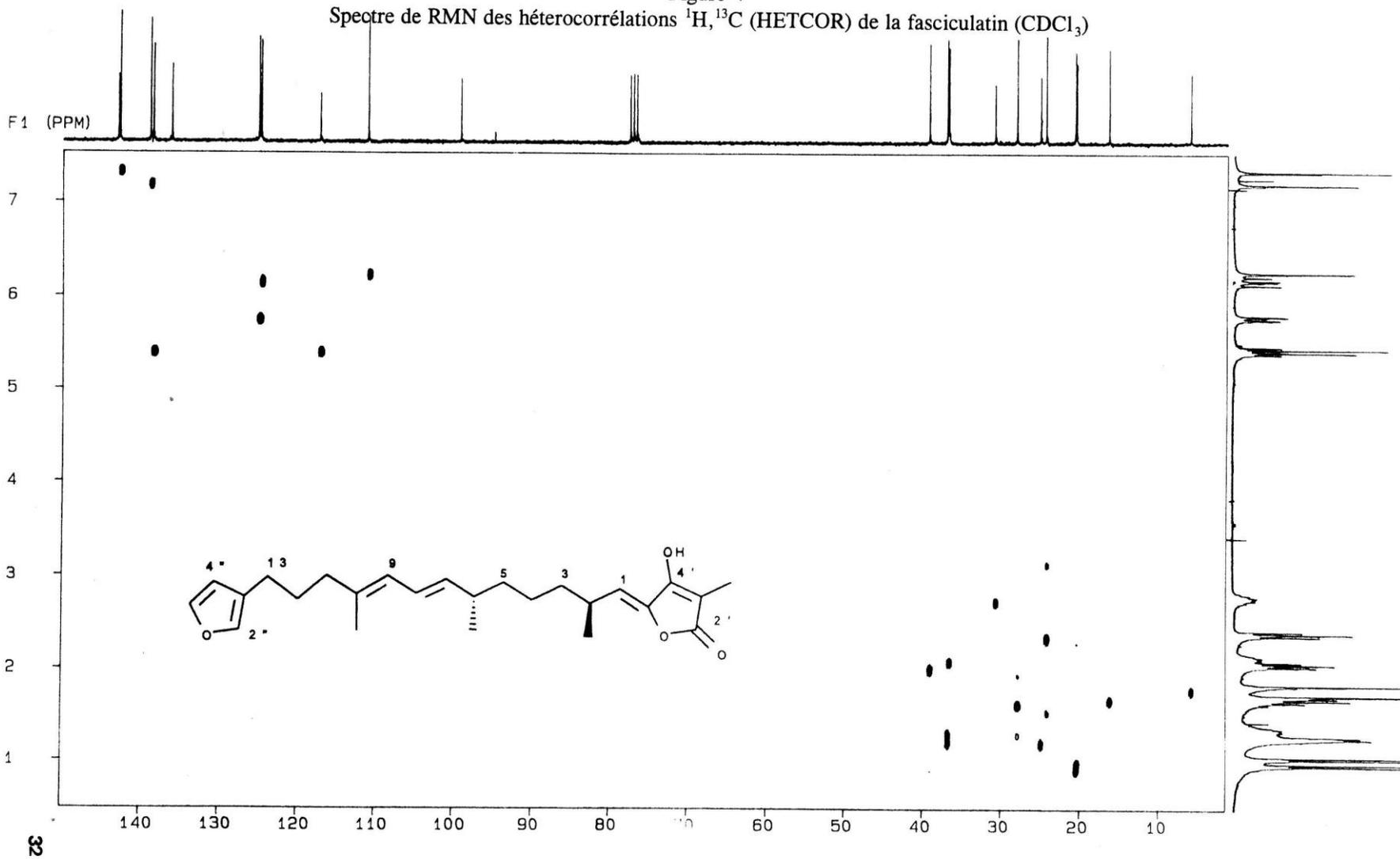


Figure V
Spectre de RMN des hétérocorrélations $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ (HETCOR) de la fasciculatin (CDCl_3)



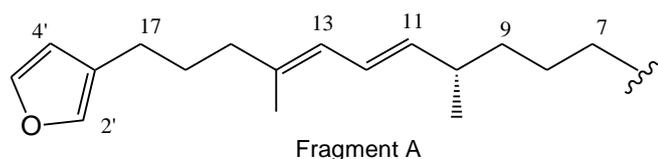
1.3 IDENTIFICATION DU NORSESTERTERPENE KONAKHIN (C₂₄)

1.3.1 Analyses spectroscopiques

Ce composé isolé à partir des fractions les plus polaires possède la formule brute C₂₄H₃₇ClO₃, établie après analyse du spectre de RMN du carbone 13 et d'un spectre de masse haute résolution.

$$m/z \text{ trouvé} = 408,2410 ; \text{ calculé (C}_{24}\text{H}_{37}\text{ClO}_3) = 408,2431$$

Après examen des spectre de RMN, nous remarquons que ce composé présente des signaux superposables à ceux du fragment A allant du furanne au carbone 3 de la fasciculatin (**10**) (carbone 7 pour **12**).

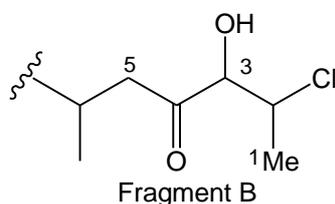


Ainsi en RMN du proton, nous observons 3 signaux à δ 7,37; 7,26 et 6,30 ppm caractéristiques d'un furanne β substitué. La présence de 2 triplets à δ 2,39 et 2,07 ppm et d'un quintet à δ 1,68 ppm sont attribuables respectivement à 2H-C-17, 2H-C-15 et 2H-C-16. Les protons oléfiniques H-C-13, H-C-12 et H-C-11 résonnent respectivement à δ 5,77 ppm (d), 6,21 ppm (ddd) et 5,40 ppm (dd). Une série de multiplets à δ 1,24 ppm intégrant 6H indique la présence de 2H-C-9, 2H-C-8, 2H-C-7. Le méthyle vinylique résonne à δ 1,73 ppm (d) tandis que CH₃-C-10 apparaît à δ 0,99 ppm (d). Ces données combinées avec celles du carbone 13 présentant aussi les mêmes similitudes (voir Tableau VII) confirment la présence du fragment A.

Dans la portion restante se trouvent 2 oxygènes et un chlore. La présence sur ce fragment d'une fonction alcool et carbonyle est supportée par les deux bandes du spectre infra-rouge à 3480 cm⁻¹(f) et 1720 cm⁻¹ (m) attribuables respectivement à ces deux fonctions. La RMN du ¹³C confirme l'existence d'une fonction cétone avec le signal à δ 207,96 ppm (s) et signale 2 carbones doublets à δ 84,22 et 55,39 ppm. La RMN du ¹H indique la présence de 2 protons résonant à δ 4,53 ppm(d) et 4,29 ppm(dq) attribuables à deux protons tertiaires par le spectre HETCOR qui montre

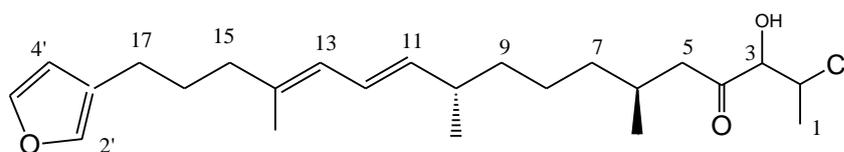
l'hétérocorrélation entre le proton à δ 4,29 ppm et le carbone à δ 55,39 ppm puis entre le proton à δ 4,53 ppm et le carbone à δ 84,22 ppm. Ceci permet d'établir la présence des groupements CHOH et CHCl dont les déplacements chimiques respectifs en RMN du $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ à 4,53/84,22 ppm et 4,29/55,39 leurs sont caractéristiques. L'irradiation du proton à δ 4,29 ppm (dq, $J=5,6$ Hz; 6,8 Hz) transforme le doublet du méthyle à δ 1,57 ppm (d, $J=6,8$ Hz) en un singulet et le doublet du proton δ 4,53 ppm (d, $J=5,6$ Hz) en un singulet. L'ensemble de ces données ont permis d'établir la présence du fragment (CH₃-CHCl-CHOH-CO). La RMN du ^1H signale outre un méthyle à δ 0,88 ppm (d) la présence d'un système ABX avec une partie AB centrée à δ 2,83 ppm(dd), δ 2,57 ppm (dd) et une partie X à δ 2,00 ppm(m). La valeur des déplacements chimiques des 2 protons de la partie AB et $J_{\text{AB}} = 18,8$ Hz sont en accord avec la position d'un méthylène en α d'une cétone. Dans le spectre de RMN du ^{13}C , la résonance de ce méthylène à δ 48,38 ppm est confirmé par l'hétérocorrélation entre ce carbone et les protons de la partie AB. L'irradiation du proton à δ 2,00 ppm (m) transforme le système ABX en AB et le doublet du méthyle à δ 0,88 ppm en un singulet. Ceci est confirmé par le COSY qui montre la corrélation du le proton à δ 2,00 ppm avec le méthyle à δ 0,88 ppm et les protons de la partie AB.

Le fragment B du composé **12** peut être établi comme suit :



L'attribution des signaux du spectre de RMN du ^{13}C à δ 20,96 ppm (q) ; 20,63 ppm (q) et 27,95 (d) respectivement à CH₃-1; CH₃-C-6 et CH-6 est confirmée par l'hétérocorrélation entre les carbones à δ 20,96 et 20,63 ppm respectivement avec les protons à δ 1,57 et 0,88 ppm; puis entre le carbone à δ 27,95 ppm et le proton à δ 2,00 ppm.

La jonction de ces deux parties au niveau des carbones 6 pour B et 7 pour A, supportée par la corrélation entre le proton H-C-6 à δ 2,00 ppm et un signal à δ 1,24-1,35 ppm où résonne 2H-C-7, conduit au composé **12** qui est un nouveau type de furanonorsesterterpène (C₂₄) nommé konakhin en rapport avec le lieu de récolte de l'éponge: Konakhé (Dakar).



Konakhin 12

La constante de couplage $J_{11,12} = 15,0$ Hz confirme la configuration *E* de la double liaison C(11)=C(12), alors qu'en RMN du ^{13}C la position du méthyle vinylique à δ 16,51 ppm indique une configuration *E* pour la double liaison C(13)=C(14).

La konakhin étant un produit de dégradation de la fasciculatin (**10**), les configurations des carbones 6 et 10 pourraient être considérées comme étant 6*S*, 10*S*.

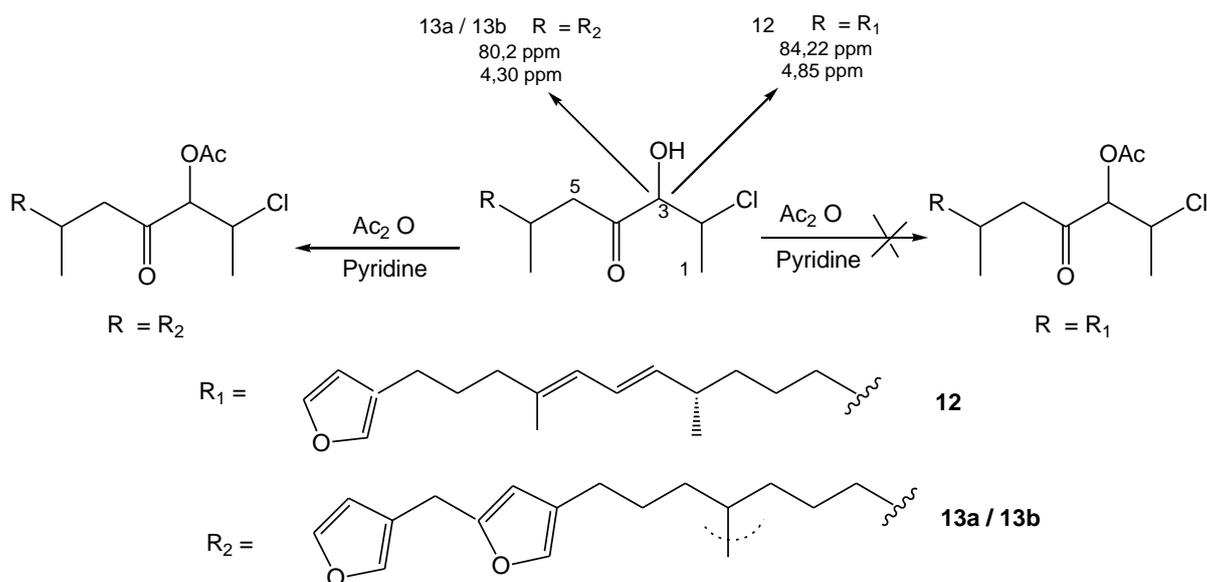
La structure du composé **12** est supportée par les résultats de la SM-IE basse et haute résolution (chaque fragment chloré se manifeste avec la présence des 2 pics dus au ^{35}Cl et l'isotope ^{37}Cl (33%)) : $m/z(\%)$: 410/408 (1/3, M^+); 395/393 (7/21, $[\text{M}-\text{CH}_3]^+$); 372 (14, $[\text{M}-\text{HCl}]^+$); 357 (57, $[\text{M}-\text{CH}_3-\text{HCl}]^+$); 135 (100).

Les données en RMN du proton et carbone 13 sont présentées au Tableau VII. La Figure VI représente le spectre de RMN du proton.

1.3.2 Discussion sur la liaison hydrogène intramoléculaire

Quand le spectre de RMN du proton est enregistré dans CDCl_3 , nous remarquons l'apparition du signal de OH sous forme d'un large singulet à δ 2,22 ppm indiquant ainsi l'existence d'une liaison hydrogène intramoléculaire avec le carbonyle voisin. Ceci est confirmé par la résistance à l'acétylation du composé **12** en présence de $(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O}$ /pyridine à température ambiante.

Récemment 2 norsesterterpènes similaires à la konakhin (**12**) ont été publiés simultanément à ce dernier (33). Contrairement à la konakhin, ces composés **13a** et **13b** qui sont des isomères sont facilement acétylés selon le même protocole que ci-dessus, indiquant ainsi l'absence d'une liaison hydrogène intramoléculaire.



Après examen des données de la RMN de **13a** et **13b**, nous remarquons que les déplacements chimiques de H-C-3 et C-3 sont respectivement à δ 4,30 et 80,2 ppm contre 4,85 et 84,22 ppm pour le composé **12**. Ce déblindage au niveau du carbone hydroxylé, qui ne peut être imputé à une différence structurale du moins sur la partie qui nous intéresse, pourrait avoir pour origine la liaison d'hydrogène intramoléculaire.

Une différence de la stéréochimie relative, qui implique généralement une différence conformationnelle, pourrait expliquer la présence de la liaison hydrogène intramoléculaire sur **12** et son absence sur **13a** et **13b**. En effet, les configurations relatives des centres chiraux C-2 et C-3 n'ayant pas été déterminées pour **12** et **13**, les résultats de la RMN et la résistance à l'acétylation de **12** établissent une relation diastéréoisomérique entre ces deux composés. Cette relation, pourrait placer le fragment (Me-CHCl-CHOH-CO-) du composé **12** dans une conformation privilégiée permettant la liaison hydrogène intramoléculaire.

1.3.3 Proposition d'un schéma de biogénèse

La konakhin (C_{24}) qui est issue d'un nouveau type de dégradation est un sesterterpène dégradé et halogéné. L'incorporation d'halogènes sur les terpènes dégradés est très rare. Néanmoins, nous pouvons citer l'exemple du kumepaloxane qui est un trinorsesquiterpène (C_{12}) incorporant un Br et un Cl et isolé d'un mollusque nudibranche (35).

Le schéma biogénétique conduisant à la konakhin pourrait être établi à partir de la fasciculatin (**10**) précurseur. La dégradation démarre avec l'ouverture de la lactone de l'acide tétronique donnant ainsi un β -céto-acide qui subit à son tour une décarboxylation conduisant à l'énol. Celui-ci sera soumis à une chloration par un chloroperoxydase. La dicétone chlorée sera finalement réduite pour conduire à la konakhin.

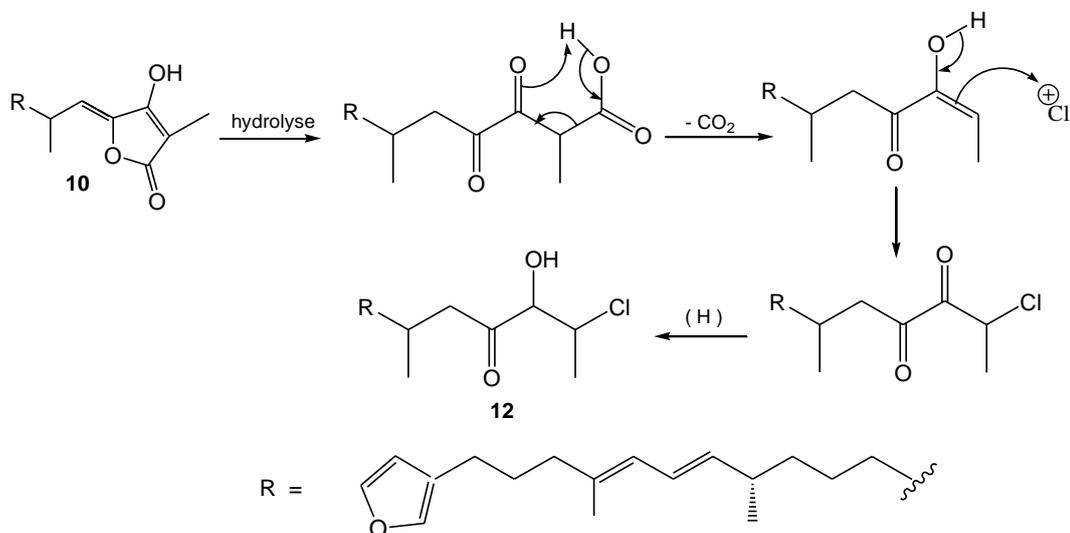


TABLEAU VII

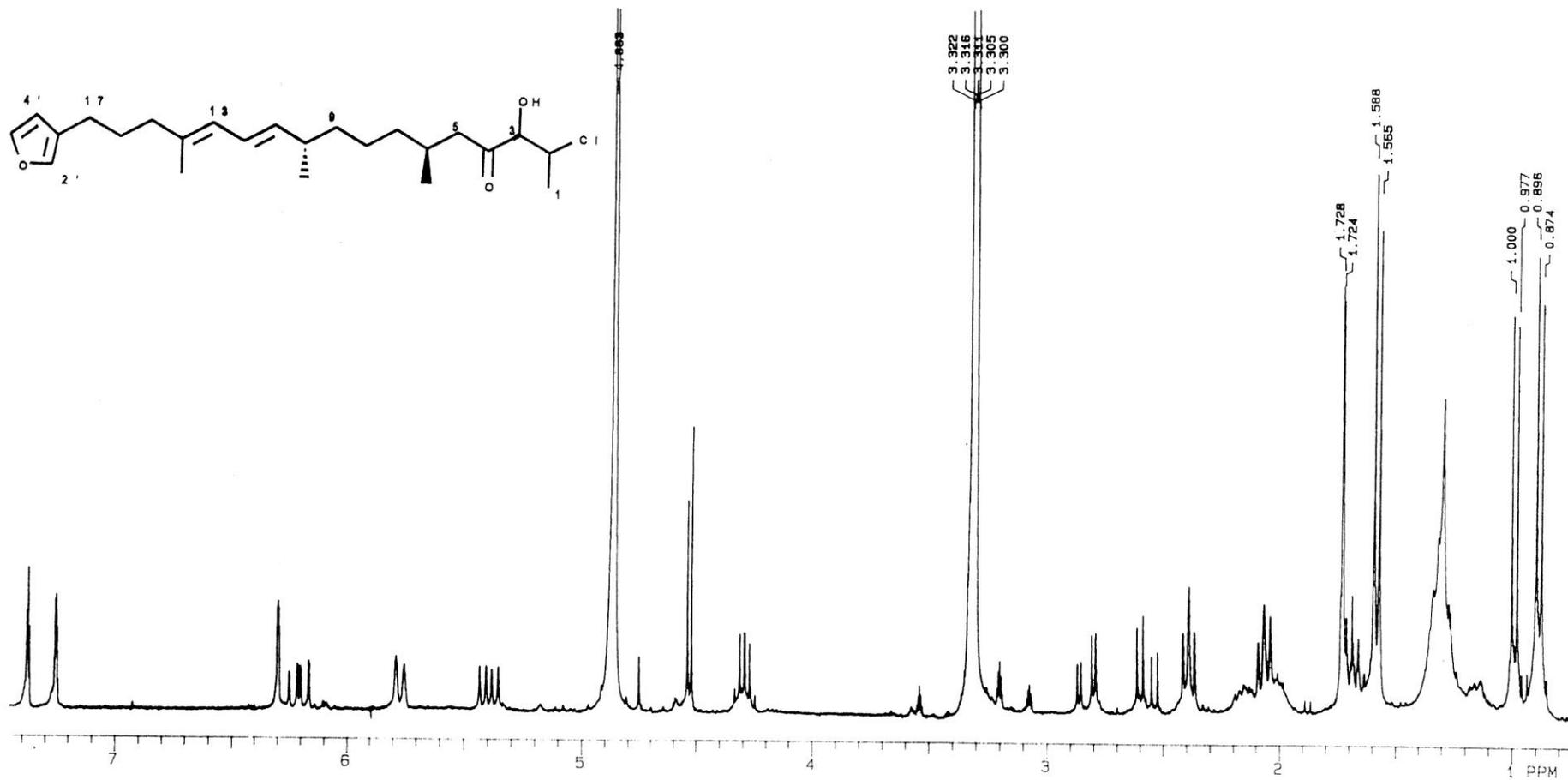
RMN DU PROTON ET CARBONE 13 DE LA KONAKHIN 12

N°	¹ H δ(ppm)(mult.; J(Hz)) CD ₃ OD	¹ H δ(ppm) CDCl ₃	¹ H δ(ppm) corresp./ 10 CDCl ₃	¹³ C δ(ppm)m CDCl ₃	¹³ C δ(ppm) corresp./ 10 CDCl ₃
1	1,57 (d; J _{1,2} = 6,8)	1,54		20,96 q	
2	4,29(dq; J _{2,1} = 6,8, J _{2,3} =5,6)	4,33		55,39 d	
3	4,53 (d; J _{3,2} = 5,6)	4,85		84,22 d	
4	--	--	--	207,96 s	
5	Partie AB du système ABX 5A:2,83(dd; J _{A,B} =18,8, J _{AX} =5,1) 5B:2,57(dd; J _{A,B} =18,8, J _{BX} =7,8)	2,60 2,56		48,38 t	
6	Partie X: 2,00(m)	2,03		27,95 d	
7	1,24-1,35 (m)	1,2-1,3	1,25-1,35	36,85 t	37,05**
8	1,24-1,35 (m)	1,2-1,3	1,25-1,35	24,75 t	25,05
9	1,24-1,35 (m)	1,2-1,3	1,25-1,35	37,34 t	37,03**
10	2,15 (m)	2,10	2,13	37,01 d	36,83
11	5,40 (dd; J _{11,12} = 15,0; J _{11,10} = 8,3)	5,42	5,42	138,49 d	138,36
12	6,21(ddd; J _{12,11} =15,0; J _{12,13} =10,7; J _{12,10} =0,8)	6,17	6,17	124,70 d	124,75
13	5,77 (d(l); J _{13,12} =10,7)	5,77	5,77	125,11 d	125,03
14	--	--	--	135,97 s	136,00
15	2,07 (t, J _{15,16} =7,9)	2,05	2,04	39,34 t	39,28
16	1,68 (quint.; J= 7,8)	1,66	1,67	28,11 t	28,06
17	2,39 (t; J _{17,16} = 7,6)	2,37	2,38	24,38 t	24,33
2'	7,26 (m)	7,18	7,19	138,77 d	138,74
3'	--	--	--	124,98 s	124,98
4'	6,30 (m)	6,24	6,25	110,97 d	110,95
5'	7,37 (pseudo t; J _{5',4'} = J _{5',2'} =1,8)	7,32	7,32	142,63 d	142,57
CH ₃ -C(6)	0,88 (d; J _{Me,6} =6,6)	0,86		20,63 q	
CH ₃ -C(10)	0,99 (d; J _{Me,10} =6,6)	0,96	0,96	19,51 q	20,66
CH ₃ -C(14)	1,73 (d; J _{Me,13} =1,2)	1,71	1,71	16,51 q	16,44

*HO sort à 2,22 ppm sous forme d' un large singulet; ** Ces attributions sont interchangeables.

[α]_D²⁰ = +6,0° (c=0,1; CHCl₃); IR (film), ν_{max} cm⁻¹: 3480 (f), 1720 (m); UV(CH₃OH), λ_{max} nm(ε) 238 (22000)

Figure VI
Spectre de RMN du ^1H de la konakhin (CD_3OD)

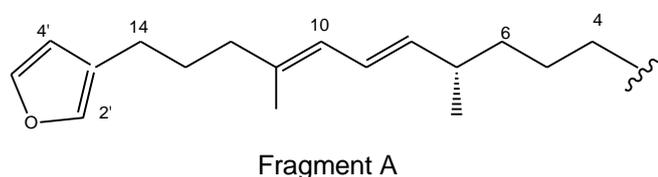


1.4 IDENTIFICATION DE L'ACIDE CARBOXYLIQUE FURANOTERPENIQUE (C₂₁)

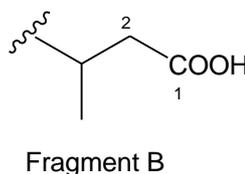
Ce composé possède la formule brute C₂₁H₃₂O₃, établie à partir du spectre de RMN du ¹³C et de la spectroscopie de masse haute résolution.

$$m/z \text{ trouvé} = 332,2359; \text{ calculé (C}_{21}\text{H}_{32}\text{O}_3) = 332,2351$$

L'examen des spectres de RMN nous indique la présence des signaux superposables à ceux du fragment A de la fasciculatin (**10**) et de la konakhin (**12**).



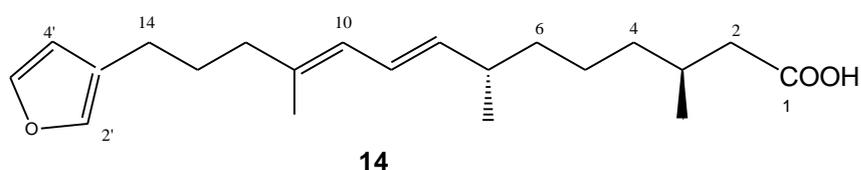
Les données en RMN ainsi que les différentes constantes de couplage (voir Tableau VIII) confirment la présence de ce fragment sur le composé **14**.



Pour la portion restante, la RMN du ¹³C signale la présence d'un groupement COOH à δ 187,30 ppm (s), un CH₂, un CH₃ et un carbone tertiaire résonant respectivement à δ 40,90 (t), 20,67 (q) et 30,15 ppm (d). Le spectre de RMN du ¹H fait apparaître en plus d'un méthyle à δ 0,93 ppm, 3 multiplets centrés à δ 1,90; 2,10 et 2,28 ppm intégrant chacun un proton. Ces signaux très complexes pourraient indiquer la présence d'un système ABX avec une partie AB centrée à δ 2,28 et 2,10 ppm et une partie X à δ 1,90 ppm. L'irradiation du proton à δ 1,90 ppm (m) transforme le doublet du méthyle à δ 0,93 ppm en un singulet et transforme le système ABX en AB ($J = 14,8$ Hz).

Sans l'aide d'autres techniques, les signaux du spectre de RMN du ^{13}C résonant à δ 40,90 (t); 20,67 (q) et 30,15 ppm (d) peuvent être attribués respectivement au CH_2 ($\delta(\text{H})$ 2,10 et 2,28 ppm); CH_3 ($\delta(\text{H})$ 0,93 ppm) et au carbone tertiaire dont le proton résonne à δ 1,90 ppm. La valeur des déplacements chimiques en RMN du méthylène supporte sa présence en position α du COOH . L'ensemble de ces données permet d'établir le fragment B du composé **14**.

La jonction de A et B confirmée par la corrélation entre le proton H-C-3 à δ 1,90 ppm et un signal à δ 1,25-1,35 ppm où résonne 2H-C-4, conduit au composé **14** qui est un nouveau furanosesterterpène (C_{21}) "tronqué".



La configuration *E* de la double liaison C(8)=C(9) est supportée par une constante de couplage $J_{8,9} = 14,9$ Hz, alors que pour la double liaison C(10)=C(11) la résonance en RMN du ^{13}C de $\text{CH}_3\text{-C-11}$ à δ 16,48 ppm signale une double liaison *E*.

Comme pour la konakhin (**12**), les centres chiraux C-3 et C-7 issus de la fasciculatin (**10**) pourraient être considérés comme étant 3*S*,7*S*.

La structure du composé **14** sera encore confirmée à la suite de sa préparation par dégradation oxydative de la fasciculatin (**10**) qui sera traitée au prochain chapitre.

Bien qu'étant nouveau, des composés de ce type, issus de la dégradation naturelle du sesterterpène correspondant sont déjà connus. Parmi ceux-ci se trouvent les composés **3a**, **3b** (24a) et **4** (23b) déjà cités dans l'introduction.

Les données en RMN du ^1H et ^{13}C sont présentées au Tableau VIII. La Figure VII représente le spectre de RMN du ^1H .

TABLEAU VIII

RMN DU PROTON ET CARBONE 13 DU COMPOSE 14

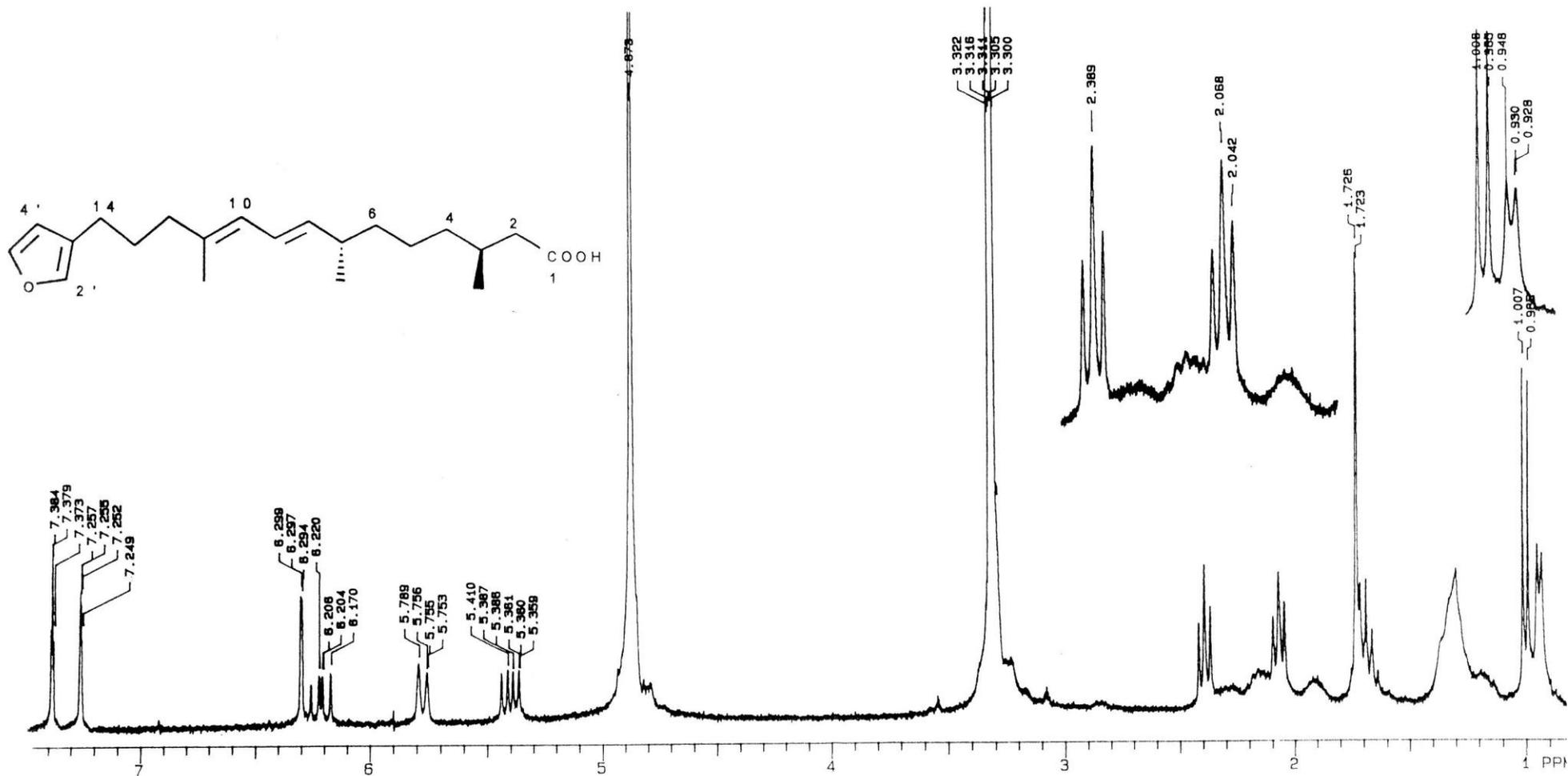
N°	¹ H δ(ppm)(mult.; J(Hz)) CD ₃ OD	¹ H δ(ppm) corresp./ 10 CDCl ₃	¹³ C δ(ppm)m CDCl ₃	¹³ C δ(ppm) corresp./ 10 CDCl ₃
1	--	--	187,30 s	
2	2,10(m) et 2,28 (m)		40,90 t	
3	1,90 (m)		30,15 d	
4	1,25-1,35 (m)	1,25-1,35	36,79 t	37,05 *
5	1,25-1,35 (m)	1,25-1,35	24,64 t	25,05
6	1,25-1,35 (m)	1,25- 1,35	37,19 t	37,03 *
7	2,13 (m)	2,13	36,96 d	36,83
8	5,37 (dd; J _{8,9} = 14,9; J _{8,7} = 7,9)	5,42	138,45 d	138,36
9	6,21 (ddd; J _{9,8} = 14,9; J _{9,10} = 10,8; J _{9,7} = 0,8)	6,17	124,74 d	124,75
10	5,76 (d(l); J _{10,9} = 10,8)	5,77	125,04 d	125,03
11	--	--	136,05 s	136,00
12	2,07(t; J _{12,13} = 7,8)	2,04	39,32 t	39,28
13	1,68 (quint.; J = 7,8)	1,67	28,08 t	28,06
14	2,39 (t; J _{14,13} = 7,8)	2,38	24,37 t	24,33
2'	7,26 (m)	7,19	138,78 d	138,74
3'	--	--	124,99 s	124,98
4'	6,30 (m)	6,25	110,96 d	110,95
5'	7,37 (pseudo t; J _{5,2'} = J _{5,4} = 1,8)	7,32	142,62 d	142,57
CH ₃ -C(3)	0,93 (d(l); J _{Me,3} = 6,6)		20,67 q	C(5')
CH ₃ -C(7)	1,00 (d; J _{Me,7} = 6,6)	0,96	19,67 q	20,66
CH ₃ -C(11)	1,72 (d; J _{Me,10} = 1,0)	1,71	16,48 q	16,44

* Ces attributions sont interchangeables.

[α]_D²⁰ = +10° (c = 0,1; CHCl₃); UV (CH₃OH), λ_{max} nm(ε) : 238 (21000); SM-IE (m/z(%)) :

332(16, M⁺); 317 (100, [M-CH₃]⁺); 315 (1, [M-OH]⁺); 250(11); 203(5).

Figure VII
Spectre de RMN du ^1H du composé 14 (CD_3OD)



1.5 IDENTIFICATION DE L'ALDEHYDE FURANOTERPENIQUE (C₂₀)

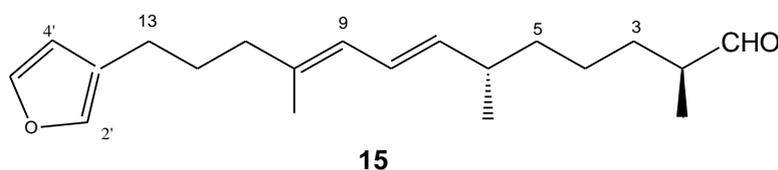
Ce composé qui se caractérise par son instabilité possède la formule brute C₂₀H₃₀O₂, établie après analyse du spectre de RMN du ¹³C et l'obtention du pic moléculaire du spectre de masse haute résolution.

$$m/z \text{ trouvé} = 302,2245; \text{ calculé (C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_2) = 302,2245$$

Comme il a été constaté lors de l'étude des composés **12** et **14**, l'examen des spectres de RMN indique la présence des signaux caractéristiques du fragment A de la fasciculatin (voir Tableau IX) avec comme exception le CH₂ en bout de chaîne résonant à δ 37,05; 36,85 et 36,79 ppm respectivement pour les composés **10**, **12** et **14** et qui subit dans ce cas un sensible déplacement vers les hauts champs : δ 30,65 ppm (t). Ce blindage permet de prévoir que le fragment B lié à ce carbon, présente au voisinage de celui-ci un changement de structure comparativement aux composés **12** et **14**.

La nature du fragment B a été établie après étude des spectres de RMN. Ainsi le spectre ¹³C révèle la présence d'un CHO résonant à δ 205,36 ppm (d) et confirmée en RMN du proton par un signal à δ 9,59 ppm (d; J=2,0 Hz) caractéristique d'un aldéhyde. Le reste des signaux de la RMN du proton concernant B se présente sous forme d'un doublet à δ 1,07 ppm intégrant 3H, et un multiplet centré à δ 2,31 ppm intégrant 1H. L'irradiation de ce dernier transforme le doublet du méthyle à δ 1,07 ppm en un singulet et le doublet de l'aldéhyde à δ 9,59 ppm en un singulet. En RMN du ¹³C le reste des signaux concernant B se présente sous forme d'un quadruplet à δ 13,40 ppm et d'un doublet à δ 46,31 ppm, caractéristique d'un carbone tertiaire en position α d'un CHO. La synthèse de toutes ces données conduit au fragment B: CH₃-CH-CHO.

La jonction de celui-ci avec le fragment A conduit au composé **15**.



Pour CH₂-3 et ses homologues dans **10**, **12**, et **14**, les calculs effectués avec des méthodes empiriques (36) donnent des déplacements chimiques en ¹³C proches de ceux observés.

Comme pour les composés **12** et **14** et selon la même méthodologie, les configurations des doubles liaisons C(7)=C(8) et C(9)=C(10) sont établies comme étant *E*, alors que les

configurations des centres chiraux C-2 et C-6 pourraient être considérées comme étant *2S,6S*.

La structure du composé **15** sera encore confirmée à la suite de sa préparation par une réaction de dégradation oxydative de la fasciculatin (**10**) qui sera traitée au prochain chapitre.

Ce type de composé est rare et représente le premier cas d'un aldéhyde, formellement, furanoditerpène (C₂₀) issu de la dégradation naturelle d'un sesterterpène (C₂₅).

Les données en RMN du ¹H et ¹³C sont présentées au Tableau IX. La Figure VIII représente le spectre de RMN du proton.

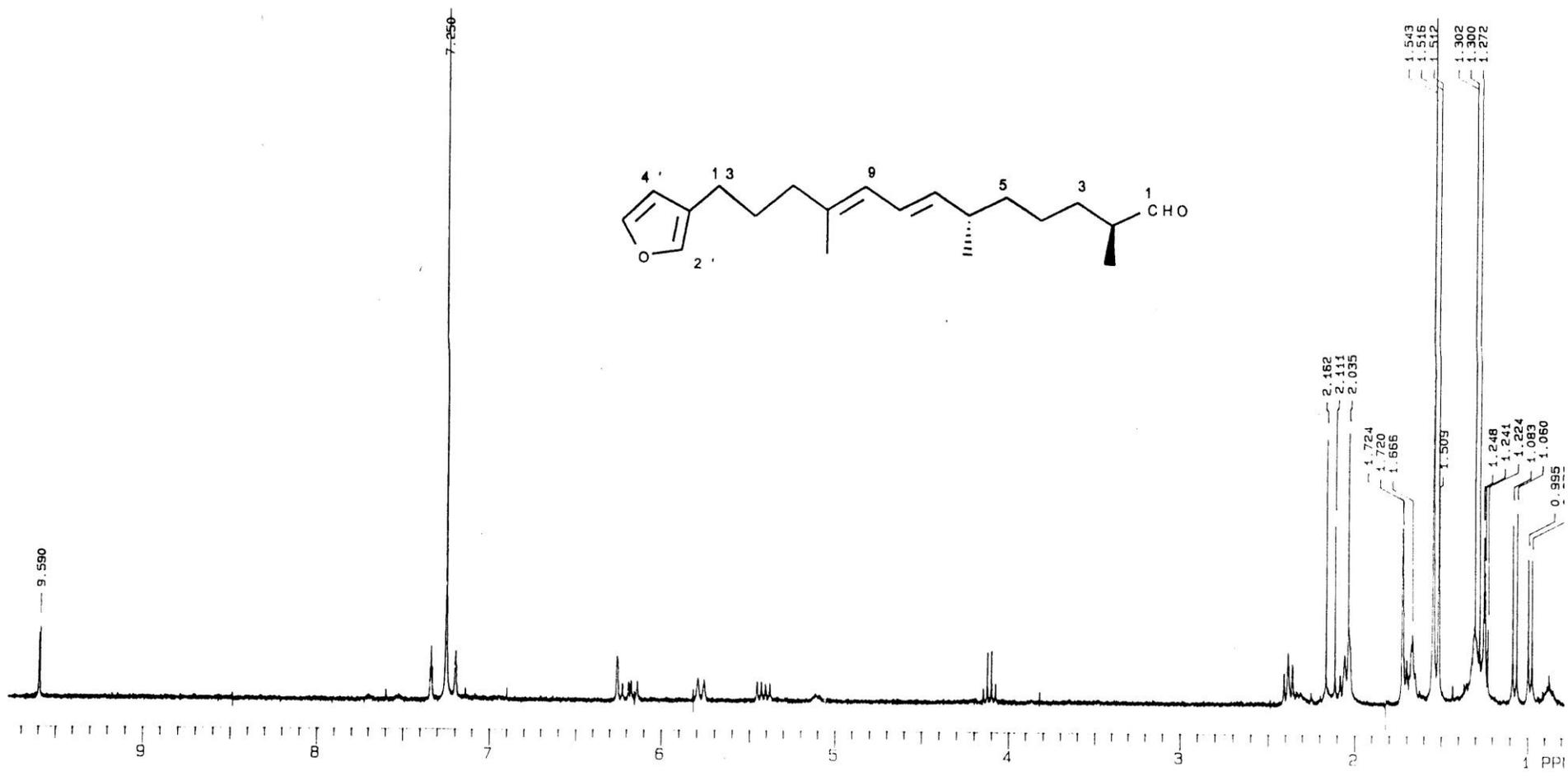
TABLEAU IX
RMN DU PROTON ET CARBONE 13 DU COMPOSE 15

N°	¹ H δ(ppm)(mult.; J(Hz)) CDCl ₃	¹ H δ(ppm) corresp./ 10 CDCl ₃	¹³ C δ(ppm)m CDCl ₃	¹³ C δ(ppm) corresp./ 10 CDCl ₃
1	9,59(d; J _{1,2} = 2,0)		205,36 d	
2	2,31 (m)		46,31 d	
3	1,24 -1,30(m)	1,25-1,35	30,65 t	37,05 *
4	1,24-1,30 (m)	1,25-1,35	24,74 t	25,05
5	1,24-1,30 (m)	1,25-1,35	37,13 t	37,03 *
6	2,15 (m)	2,13	36,92 d	36,83
7	5,42 (dd; J _{7,8} = 14,8; J _{7,6} = 8,3)	5,42	138,08 d	138,36
8	6,18 (ddd; J _{8,7} = 14,8; J _{8,9} = 10,7; J _{8,6} =0,8)	6,17	124,97 d	124,75
9	5,77 (d(l); J _{9,8} =10,7)	5,77	124,97 d	125,03
10	--	--	136,27 s	136,00
11	2,05 (t; J _{11,12} = 7,5)	2,04	39,32 t	39,28
12	1,67(quint; J= 7,6)	1,67	28,11 t	28,06
13	2,38 (t; J _{13,12} =7,5)	2,38	24,39 t	24,33
2'	7,19 (m)	7,19	138,81 d	138,74
3'	--	--	125,00 s	124,98
4'	6,25 (m)	6,25	110,98 d	110,95
5'	7,33 (pseudo t; J _{5',2} =J _{5',4} = 1,8)	7,32	142,64 d	142,57
CH ₃ -C(2)	1,07 (d;J _{Me,2} =6,9)		13,40 q	
CH ₃ -C(6)	0,98 (d;J _{Me,6} =6,6)	0,96	20,75 q	20,66
CH ₃ -C(10)	1,72 (d;J _{Me,9} =1,4)	1,71	16,51 q	16,44

* Ces attributions sont interchangeables.

$[\alpha]_D^{20} = +9^\circ$ (c = 0,08; CHCl₃); UV (CH₃OH), λ_{\max} nm (ε): 238 (20200); SM-IE (m/z(%)): 302 (4, M⁺); 287 (53, [M-CH₃]⁺); 274 (9, [M-CO]⁺); 259 (57, [M- CH₃CO]⁺); 220 (10); 203 (16); 81 (100).

Figure VIII
Spectre de RMN du ^1H du composé **15** (CDCl_3)



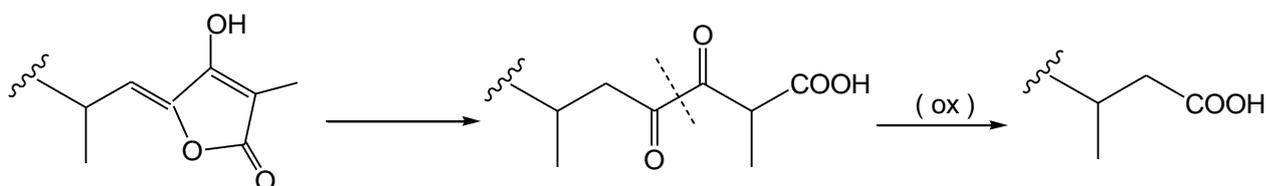
CHAPITRE II

HYPOTHESE BIOGENETIQUE PAR ANALOGIE AVEC LA DEGRADATION OXYDATIVE DE FURANOSESTERTERPENE (C₂₅)

2.1 INTRODUCTION

Après l'identification des premiers furanoterpènes (C₂₁) tronqués ircinin-3 (**3a**) et ircinin-4 (**3b**) (24a) jusqu'au début des années 80, l'origine biogénétique de ces composés qui ont souvent coexister dans la même espèce avec le furanosesterterpène (C₂₅) correspondant fut l'objet de beaucoup de spéculations. En s'appuyant sur la parenté structurale, et la coexistence dans la même espèce, MINALE *et al.* ont proposé l'idée que les C₂₁ sont issus de la dégradation des sesterterpènes (C₂₅) avec la perte de 4 atome de carbone plutôt que la biosynthèse par l'addition d'un carbone supplémentaire à un diterpène (C₂₀) précurseur (24b).

Cette hypothèse créera un certain intérêt aussi bien auprès des taxonomistes (37) que des chimistes. Ainsi FAULKNER (38) proposera un schéma biogénétique dans lequel la perte des 4 atomes de carbone a lieu par une coupure oxydative d'une α -dicétone obtenue après hydrolyse de l'acide tétronique.



Ce schéma a été mimé par GONZALEZ *et al.* (39) qui sont parvenus à obtenir l'acide (C₂₁) sous forme d'ester méthylique à partir de la variabilin (**2**) qui est un acide tétronique furanosesterterpénique conjugué.

Dans le présent travail, la découverte d'un nouveau type de dégradation naturelle avec l'isolement du furanoterpène (C₂₀) issu de la perte de 5 atomes de carbone de la fasciculatin a été un facteur motivant pour procéder dans des conditions proches ou différentes de celles de GONZALEZ *et al.* à la dégradation oxydative de la fasciculatin.

Notre objectif étant de vérifier le lien biogénétique entre l'aldéhyde (C₂₀) et la fasciculatin (C₂₅), et de proposer en conséquence un schéma de biogénèse conduisant au (C₂₀).

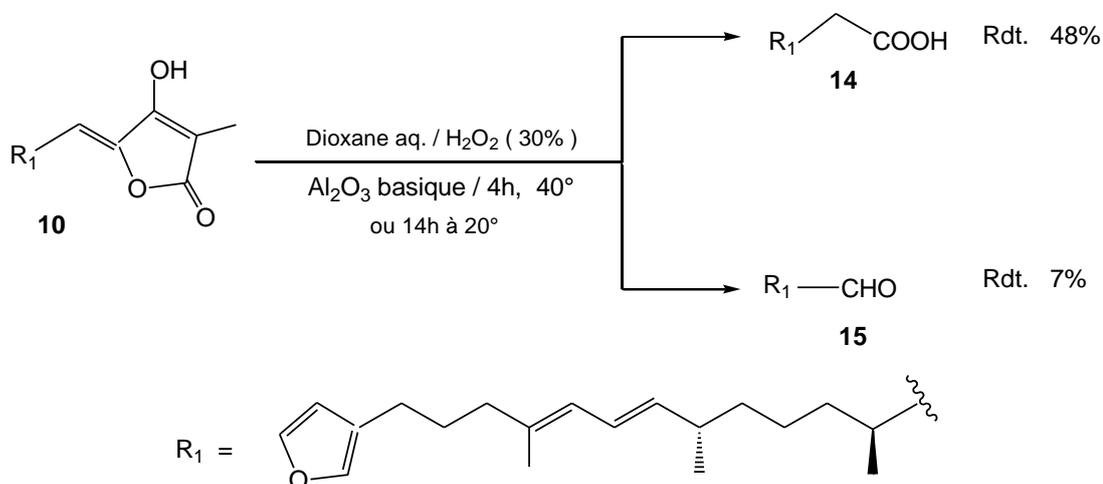
Pour mieux étoffer nos arguments et savoir les facteurs structuraux liés à cette dégradation, la réaction a été étendue à d'autres acides tétroniques sesterterpéniques (C₂₅), conjugués ou non, après avoir vérifié la coexistence au sein de la même espèce des produits de dégradation (C₂₁) et (C₂₀) avec le précurseur (C₂₅).

2.2 DEGRADATION OXYDATIVE DE LA FASCICULATIN (C₂₅)

La méthode élaborée par GONZALEZ *et al.* consiste à chauffer au reflux pendant 12 h le sesterterpène dissout dans le dioxane en présence de Al₂O₃ basique et H₂O₂ (30 %).

Pour optimiser la réaction et avoir des conditions opératoires plus douces permettant d'éviter éventuellement une racémisation, nous avons testé plusieurs méthodes en faisant varier la base, le solvant ou la température. Ceci nous a conduit dans un premier temps à un protocole opératoire proche de celle de GONZALEZ *et al.* et qui a permis d'isoler non seulement l'acide (C₂₁) attendu, mais aussi l'aldéhyde (C₂₀) qui n'a jamais été observé dans les travaux antérieurs.

Protocole I

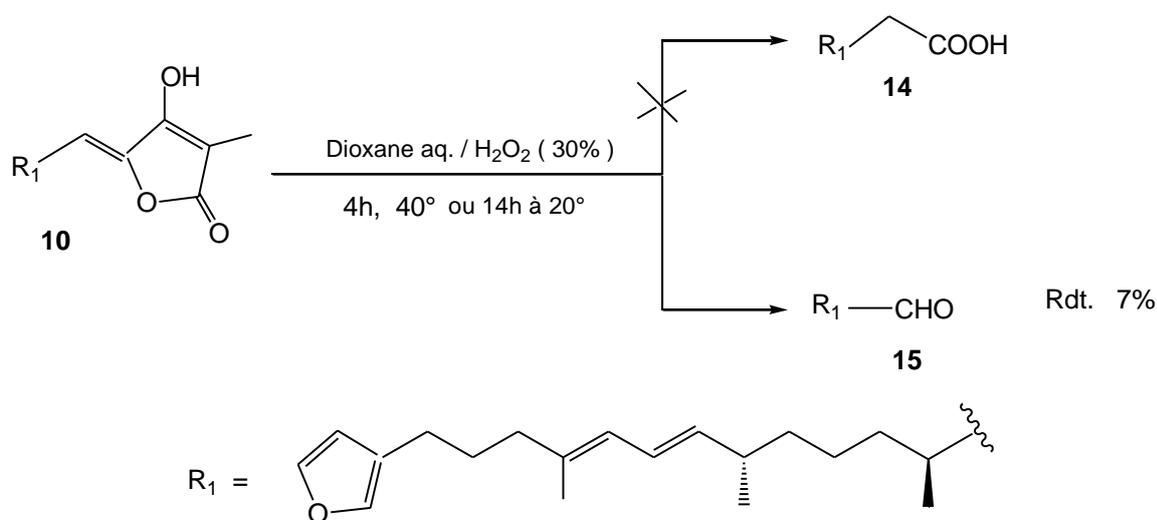


Les spectres de RMN des composés **14** et **15** sont parfaitement superposables avec ceux obtenus à partir des mêmes composés d'origine naturelle. Les spectres de masse (basse et haute résolution) et les pouvoirs rotatoires sont également identiques confirmant ainsi les configurations *S,S* des centres chiraux des produits naturels.

L'évolution préférentielle de la réaction vers l'acide (C₂₁) (Rdt= 48%) pourrait s'expliquer par la basicité du milieu qui favorise une rapide ouverture de la lactone de l'acide tétronique conduisant ainsi à une α -dicétone qui par coupure oxydative avec H₂O₂ donne le (C₂₁).

Après avoir soupçonné que l'évolution de la réaction vers l'aldéhyde (C₂₀) ne passe pas nécessairement par l'ouverture préalable de cette lactone, nous avons sensiblement modifié le protocole opératoire en supprimant la base. Dans ce cas nous remarquons que seul l'aldéhyde (C₂₀) se forme.

Protocole II



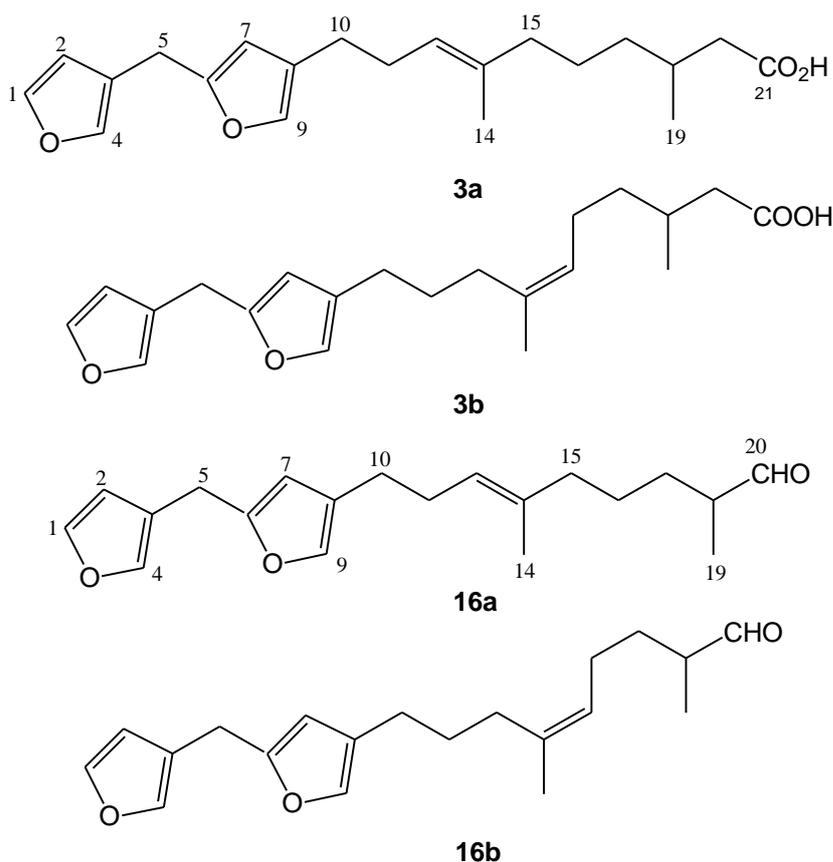
Dans le premier protocole opératoire, la différence sur la température et le temps de réaction par rapport aux conditions de GONZALEZ *et al.*, n'ont pas été négligeables et pourraient être les raisons pour lesquelles ces auteurs n'ont pas pu observé la présence de l'aldéhyde (C₂₀) issu de la variabilin (2). En effet, nous avons remarqué qu'une température élevée et /ou un temps de chauffage assez long conduisent à une décomposition progressive de l'aldéhyde (C₂₀) et de l'acide carboxylique (C₂₁).

2.3 EXTENSION DE LA REACTION DE DEGRADATION OXYDATIVE A D'AUTRES ACIDES TETRONIQUES FURANOSESTERTERPENIQUES (C₂₅)

2.3.1 Dégradation oxydative de l'ircinin-1 et ircinin-2

2.3.1.1 Isolement et identification de l'ircinin-1, ircinin-2 et de ses produits de dégradation naturelle

L'ircinin-1 et 2 ont été obtenus à partir d'une éponge non identifiée de l'ordre Dictyoceratida récoltée au large de Venise (Italie). Ces acides tétroniques sesterterpéniques ont été isolés sous forme d'un mélange d'isomères (**1a**, 12E (70%); **1b**, 13Z (30%)). De cette même espèce ont été également isolés les deux acides (C₂₁) (**3a**; **3b**) et aldéhydes (C₂₀) (**16a**, **16b**) correspondants. Ces derniers se présentent séparément sous forme d'un mélange d'isomères dans les mêmes proportions que pour l'ircinin-1 et ircinin-2.



(La numérotation des composés ci-dessus a été adoptée pour des raisons de commodité).

Du point de vue biogénétique la coexistence entre l'ircinin-1 et 2 (C₂₅) avec l'acide (C₂₁) et

l'aldéhyde (C₂₀) confirme les résultats observés avec la fasciculatin (**10**) qui est comme l'ircinin-1 et ircinin-2 un acide tétronique sesterterpénique conjugué.

- L'identification des composés **1a** et **1b** a été obtenue par comparaison des données de la RMN avec celles de la littérature (21), (32). On rappelle que ces deux isomères sous forme d'un mélange ont été isolés pour la première fois par CIMINO *et al.* (21), cependant la séparation a été faite par MANES *et al.* (32).

- Les composés **3a** et **3b** sont identifiés après l'obtention du pic moléculaire en spectroscopie de masse et comparaison des données de la RMN avec celles de leurs homologues séparés sous forme d'esters méthylique (24a). Nous signalons que la RMN du ¹³C révèle la présence du groupement COOH à δ 187,07 ppm.

- Les isomères **16a** et **16b** qui sont nouveaux possèdent chacun la formule C₂₀H₂₆O₃ établie à partir du spectre de masse haute résolution.

$$m/z \text{ trouvé} = 314,1880; \text{ calculé (C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_3) = 314,1881$$

En raison de la présence des 2 isomères, l'attribution de certains signaux de la RMN n'a pas été faite, cependant avec les autres signaux attribuables par comparaison avec celles de **1a** et **1b** (32) et les résultats de la masse haute résolution, nous avons pu confirmer la structure de **16a** et **16b**. Les signaux propres à chacun des isomères sont discernables en raison de la grande différence d'intensité des pics. De C-1 à C-15 les déplacements chimiques des protons et carbones des isomères **16a** et **16b** sont comparables respectivement à ceux de **1a** et **1b** du présent travail et à ceux publiés par MANES *et al.* (32) (voir Tableau X). La présence du groupement CHO est confirmé par le spectre de ¹³C qui révèle un signal à δ 205,35 ppm, alors que le spectre du ¹H révèle la présence de 2 doublets d'intensités très inégales à δ 9,58 ppm (d; J=2,0 Hz) pour **16a** et à δ 9,59 ppm (d; J=2,0 Hz) pour **16b**.

Les structures de **16a** et **16b** sont supportées par les résultats de la SM-IE basse et haute résolution : m/z(%) = 314 (21, M⁺); 286 (9, [M-CO]⁺)

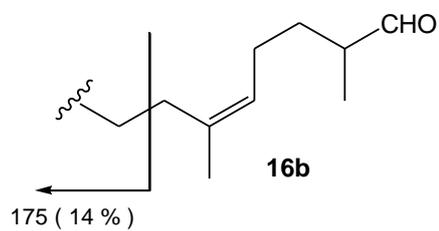
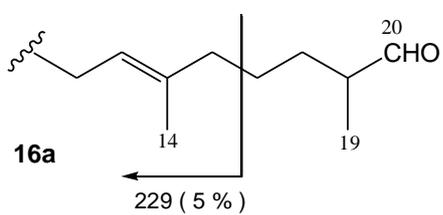
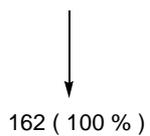
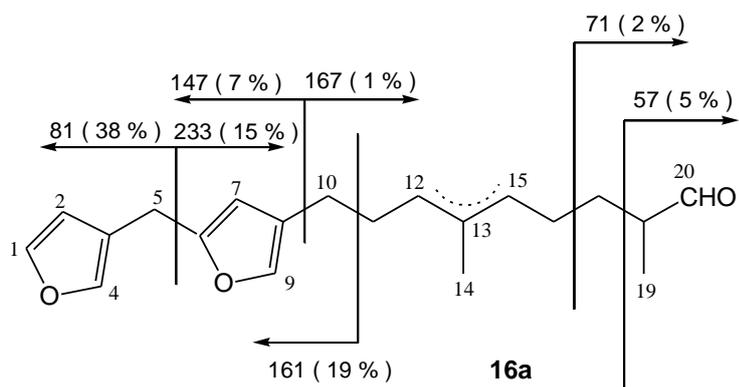
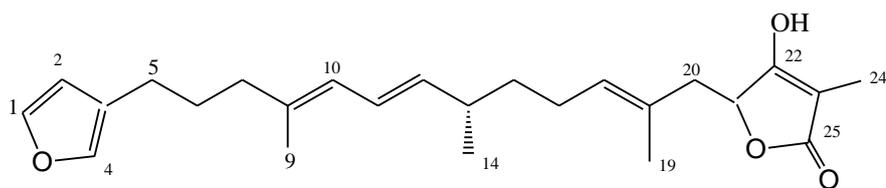


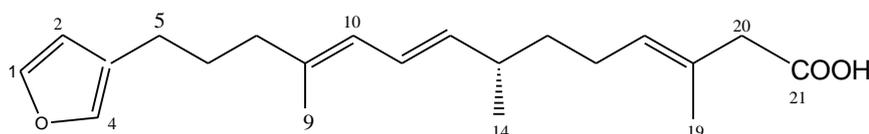
TABLEAU X
RMN DU PROTON ET CARBONE 13 DES ISOMERES 16a ET 16b

16a					16b	
N°	¹ H δ(ppm)(mult.;J(Hz)); CDCl ₃	¹ H δ(ppm) corresp./1a (32) C ₆ D ₆	¹³ C δ(ppm) m CDCl ₃	¹³ C δ(ppm) corresp./1a (32) CDCl ₃	¹ H δ(ppm)(mult.;J(Hz)) CDCl ₃	¹ H δ(ppm) corresp./ 1b (32) CDCl ₃
1	7,35 (<i>pseudo t</i> ; J= 1,8)	7,15	142,92 d	142,8	7,33 (<i>pseudo t</i> ;J =1,8)	7,33
2	6,31 (d(l); J _{2,1} = 1,8)	6,14	119,19 d	111,1	6,31 (d(l))	6,28
3	--	--		125,7	--	--
4	7,28 (m)	7,08	139,72 d	139,6 *	7,28(m)	7,25
5	3,72 (s)	3,52	25,18 t	25,5	3,72 (s)	3,69
6	--	--		153,8	--	--
7	5,89 (s(l))	5,82	107,35 d	107,3	5,89 (s(l))	5,86
8	--	--		121,5	--	
9	7,07 (d(l), J _{9,7} = 0,9)	7,02	137,43 d	137,3*	7,08 (d(l), J _{9,7} = 0,9)	7,04
10	2,37 (t(l); J _{10,11} = 6,9)	2,35	24,13 t	24,1		2,27
11	2,18(m)	2,22	28,28 t	28,4		1,55
12	5,13 (tq; J _{12,11} = 6,9;	5,22	124,28 d	124,1	1,97 (m)	1,97
13	--	--		135,5	--	--
14	1,52 (d; J _{14,12} = 1,2)	1,50	15,84 q	15,8	1,66(d; J _{14,15} =1,2)	1,60
15	1,97 (t(l); J _{15,16} = 7,2)	1,93	39,45 t	39,4	5,10(tq; J _{15,16} =6,9; J _{15,14} =1,2)	5,05
16	1,23 (m)		25,03 t			
17	1,23 (m)		29,95 t			
18	2,32 (m)		46,19 d		2,32 (m)	
19	1,07 (d; J _{19,18} =6,9)		13,32 q		1,06 (d; J _{19,18} =6,9)	
20	9,58 (d; J _{20,18} = 2,0)		205,35 d		9,59 (d; J _{20,18} = 2,0)	

* Ces attributions sont interchangeables.



17



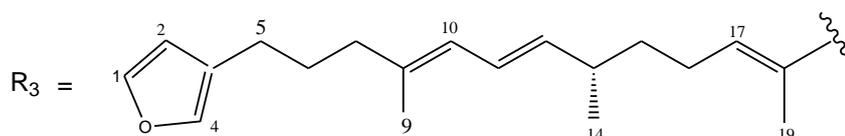
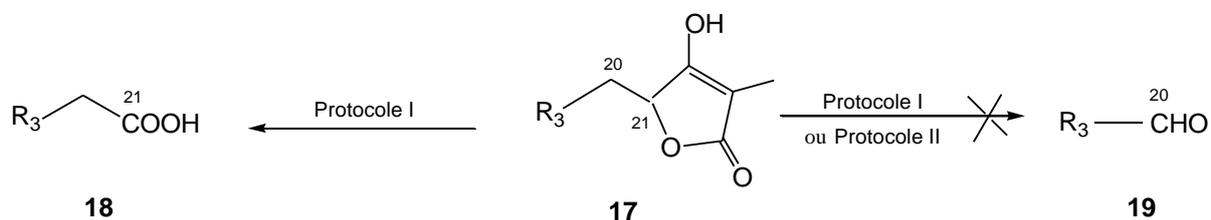
18

(La numérotation des composés ci-dessus a été adoptée pour des raisons de commodités).

- L'identification du composé **17** a été obtenue par comparaison des données de la RMN avec celles de ALFANO *et al.* (30b) qui ont été les premiers à isoler cette molécule. Le pouvoir rotatoire $[\alpha]_D^{20} = +23,4^0$ (c=1,2; CHCl₃) est en accord avec la structure **17**.
- L'identification de l'acide carboxylique (C₂₁) **18**, dérivé de **17** et qui était attendu, a été faite après analyse des spectres de RMN selon la procédure utilisée pour l'identification du composé **14**.

2.3.2.2 Dégradation de la palinurin

Comme pour la fasciculatin, l'ircinin-1 et ircinin-2, les réactions de dégradation oxydative ont été conduites selon les protocoles opératoires I et II.



Les spectres de RMN et de masse du composé **18** sont superposables avec ceux du produit d'origine naturelle.

Les résultats de ces réactions confirment ceux obtenus avec les produits naturels et qui concernent particulièrement l'absence de l'aldéhyde (C₂₀) **19**. En effet, contrairement aux acides tétroniques conjugués **10** et **1a/1b**, le protocole opératoire I ou II ne conduit pas à l'aldéhyde (C₂₀). L'acide (C₂₁) est obtenu selon le protocole I et nécessite donc la présence de la base.

2.4 PROPOSITION DE SCHEMAS DE BIOGENESE DE L'ACIDE CARBOXYLIQUE FURANOTERPENIQUE (C₂₁) ET DE L'ALDEHYDE FURANOTERPENIQUE (C₂₀)

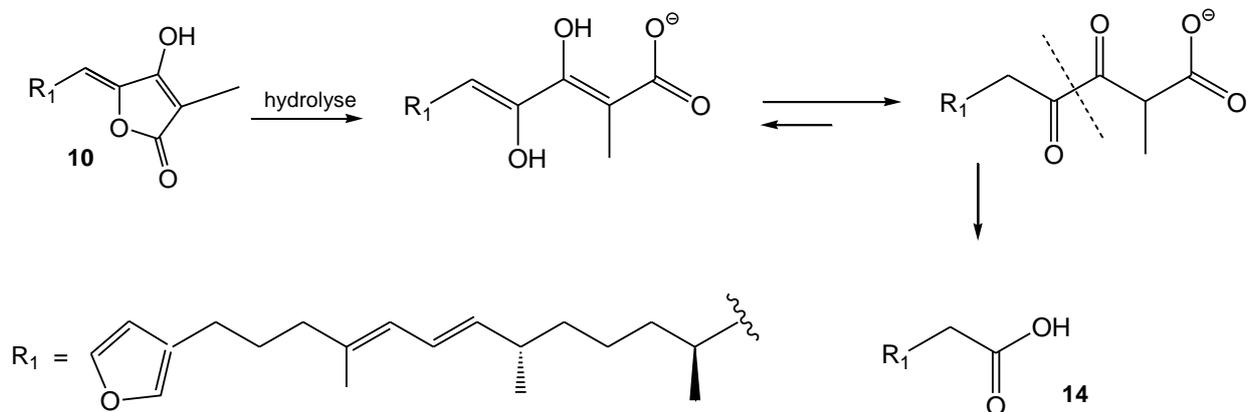
A partir des résultats obtenus nous pouvons faire quelques remarques :

1 - les acides tétroniques furanosesterterpéniques conjugués (C₂₅) coexistent avec les produits de dégradation (C₂₁) et (C₂₀), alors que pour leurs homologues non conjugués seule la présence de l'acide carboxylique furanoterpénique (C₂₁) est notée.

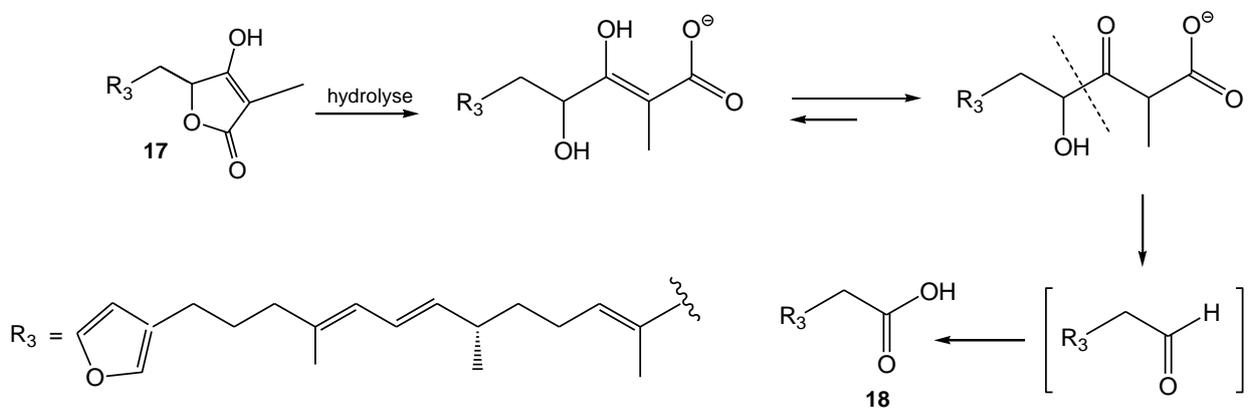
2 - Ces réactions d'origine naturelle trouvent équivalence avec les réactions de dégradation oxydative développées au laboratoire; ces réactions indiquent en plus le lien entre la formation de l'aldéhyde furanoterpène (C₂₀) et la conjugaison de l'acide tétronique (C₂₅) précurseur.

3 - Dans tous les cas, la présence de la base lors des réactions de dégradation est requise pour la formation des acides (C₂₁), alors que les aldéhydes (C₂₀) sont obtenus à partir des acides tétroniques conjugués avec ou sans la présence de la base.

14 qui est issu d'un acide tétronique conjugué aura un schéma de biogénèse identique à celui proposé par FAULKNER.



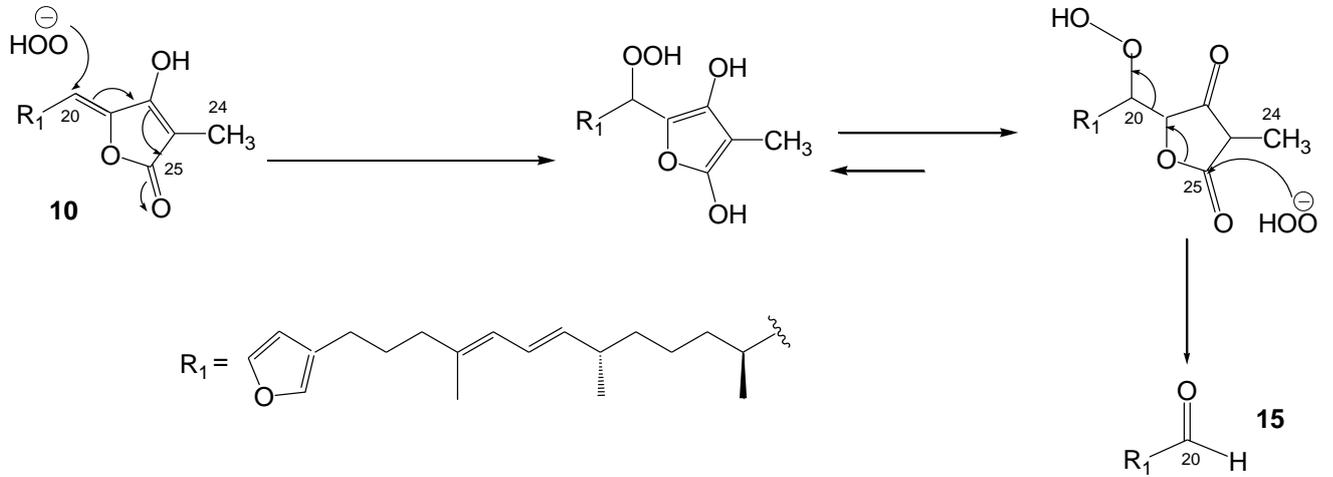
D'autre part nous pouvons signaler que la dégradation d'un acide tétronique non conjugué comme la palinurine (**17**), et qui n'était pas prévu par FAULKNER en raison de son absence dans la littérature suit le même processus. Cependant la perte des 4 atomes de carbone qui conduit à l'acide **18** aura lieu par une rupture oxydative d'un α -cétol. Ce type de rupture en présence de H₂O₂ en milieu alcalin fut l'objet d'un article bien argumenté de OGATA *et al.*(40) qui montrent par la même occasion que dans certains cas l'aldéhyde intermédiaire peut être isolé.



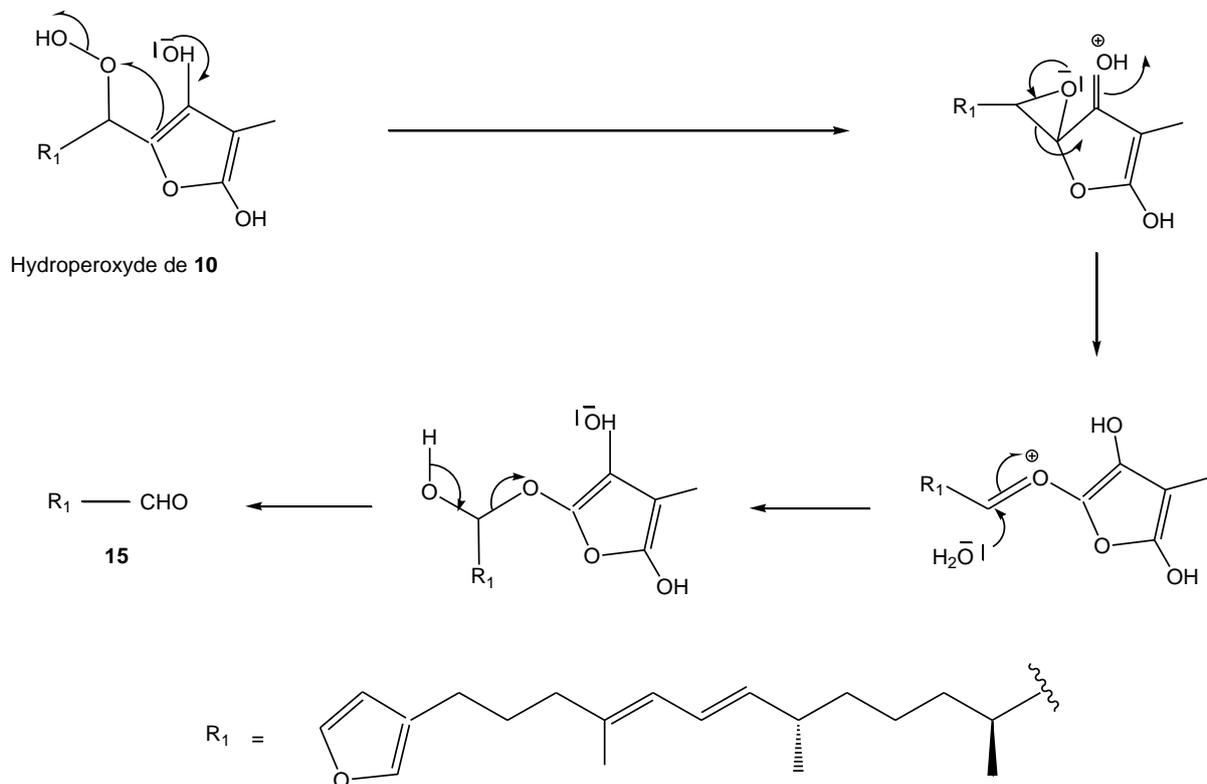
2.4.2 Biogénèse de l'aldéhyde furanoterpénique

Les observations faites ci-dessus suggèrent que l'aldéhyde (C₂₀) **15**, comme les composés **16a** et **16b** obtenus à partir d'un autre sesterterpène sont issus d'un nouveau type de dégradation des acides tétroniques sesterterpéniques conjugués avec la perte de 5 carbones. Il a été démontré que la dégradation chimique vers le (C₂₀) emprunte une voie différente de celle du (C₂₁).

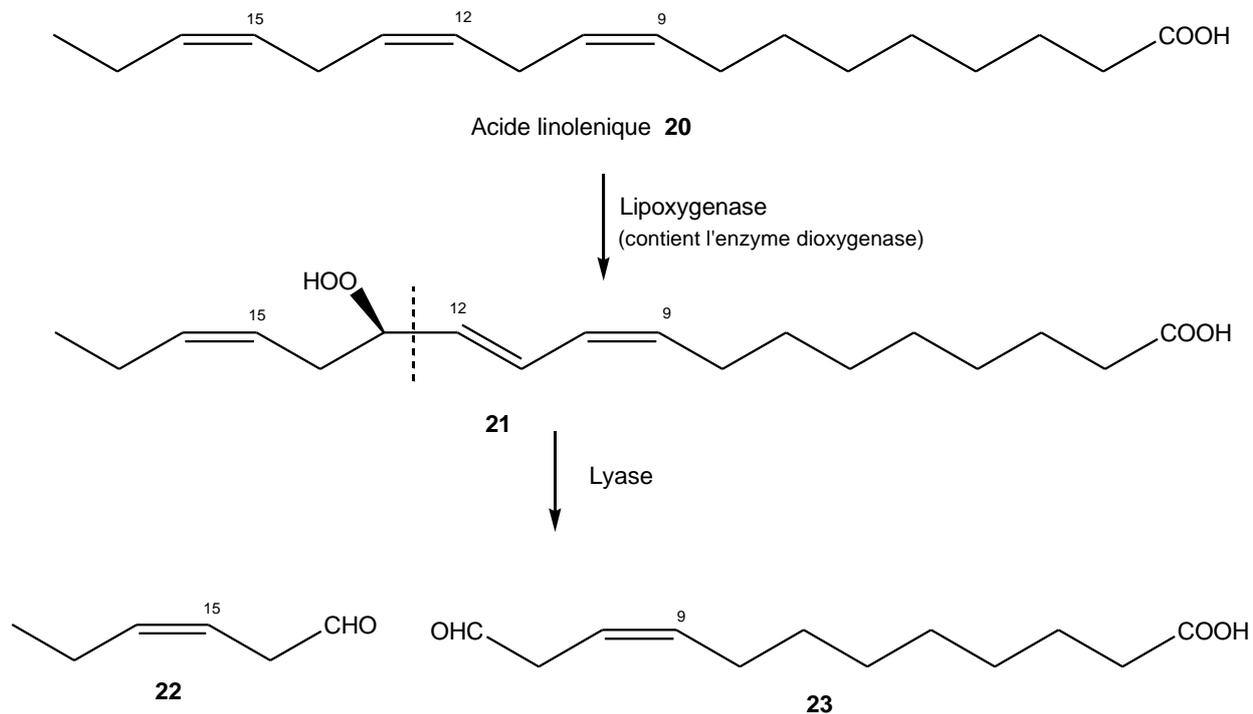
En effet, contrairement à l'acide (C₂₁), dont l'étape initiale de la formation passe par une ouverture de la lactone, la dégradation vers l'aldéhyde (C₂₀) démarre très probablement par la formation d'un hydroperoxyde par attaque de H₂O₂ sur le carbone 1 du sesterterpène, suivie de l'ouverture du cycle et la perte de 5 atomes de carbone.



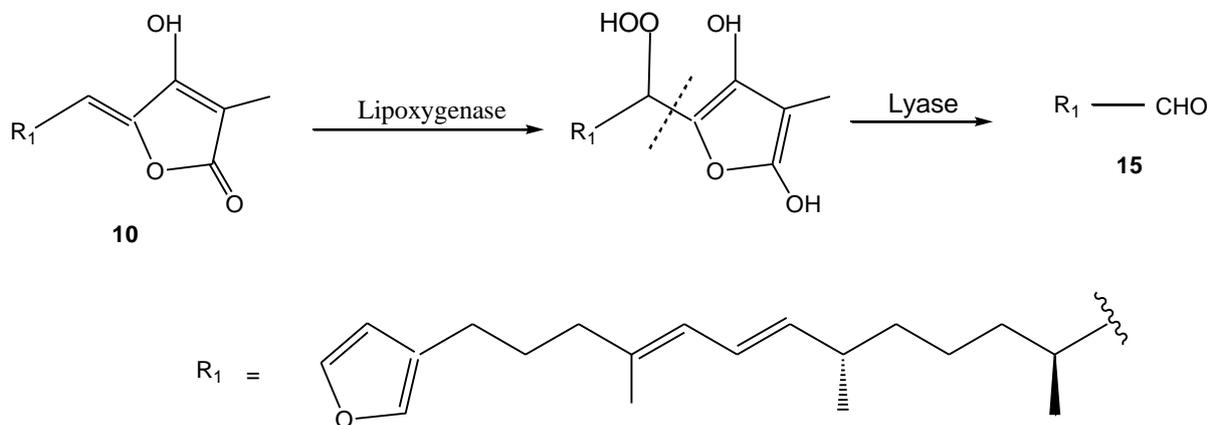
Pour ce qui concerne le processus conduisant à la perte des 5 atomes de carbone, nous pouvons proposer un autre mécanisme qui s'inspire de celui de HATANAKA *et al.* (41) et concernant la décomposition en aldéhydes d'un hydroperoxyoctadéca-9(Z),11(E)-diénoïl au moyen d'une lyase du chloroplaste du thé. Ces auteurs ont utilisé ¹⁸O pour le groupement HOO et ¹⁶O pour H₂O. Ceci a permis de mieux suivre l'évolution des oxygènes.



En nature, la formation de l'hydroperoxyde suivie de la coupure conduisant au (C₂₀), trouve analogie avec des exemples concernant la peroxydation enzymatique d'acides gras polyinsaturés ; l'hydroperoxyde formé sera coupé sous l'action d'une lyase conduisant ainsi à des aldéhydes (42).



Si nous reproduisons ce cas au sesterterpène **10** on aura :



CONCLUSION

L'étude des métabolites secondaires de l'éponge *Ircinia fasciculata* nous a permis d'isoler et d'identifier 4 composés dont 3 qui sont nouveaux :

- La fasciculatin (**10**) est un acide tétronique furanosesterterpénique (C₂₅) conjugué déjà connu (30). Ce composé isolé comme métabolite principal de cette éponge est le précurseur des trois autres nouveaux produits (**12**, **14**, **15**) formés par différents types de dégradation.

- Le norsesterterpène **12** est un composé original au point de vue du squelette et représente l'un des rares terpènes dégradés incorporant un halogène. Il est issu d'un nouveau type de dégradation de sesterterpène (C₂₅). Un schéma de biogénèse a été proposé pour expliquer sa formation.

- l'acide carboxylique furanoterpénique **14** bien qu'étant nouveau ne présente pas une originalité ; il fait partie de la famille des acides (C₂₁) issus de la dégradation bien connue des sesterterpènes correspondants.

- L'aldéhyde furanoterpénique **15** est le premier du genre. L'isolement de ce composé a donc permis de mettre en évidence un nouveau type de dégradation avec la perte de 5 atomes de carbone d'un sesterterpène. Cette dégradation naturelle a été mimée avec succès à l'aide d'une réaction de dégradation oxydative de la fasciculatin (**10**) en présence de H₂O₂ dans le dioxane.

La coexistence de l'aldéhyde (C₂₀) avec d'autres acides tétroniques sesterterpéniques été vérifiée. Ainsi nous avons remarqué sa présence uniquement avec les acides tétroniques conjugués. Quand l'acide tétronique n'est pas conjugué, seule la présence de l'acide (C₂₁) est notée.

Ces constatations, faites à partir des produits naturels, trouvent analogie avec les réactions de dégradation oxydative conduites dans différentes conditions.

La synthèse des résultats obtenus, aussi bien avec les produits naturels qu'avec les réactions de dégradation oxydative, nous a permis de proposer un schéma de biogénèse de l'aldéhyde furanoterpénique et de donner davantage de précision sur le schéma de biogénèse des acides (C₂₁) issus d'acides tétroniques non conjugués.

Nous pouvons aussi considérer comme établie la coexistence systématique des aldéhydes (C₂₀) avec les acides tétroniques furanosesterterpéniques conjugués correspondants dans les éponges de l'ordre Dictyoceratida. Cependant vu la faible teneur et l'instabilité relative constatées pour ce genre de composés, l'isolement est lié à certaines précautions opératoires, notamment au niveau de la température.

Les résultats de cette partie ont fait l'objet de 2 publications (43), (44).

TROISIEME PARTIE

ETUDE DES METABOLITES SECONDAIRES DE L'ALGUE *DICTYOTA CILIOLATA*

CHAPITRE I : ISOLEMENT ET IDENTIFICATION DES DITERPENES

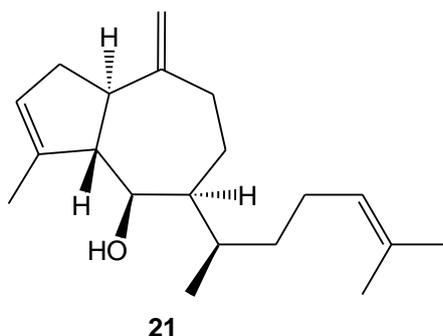
CHAPITRE II : ANALYSE CONFORMATIONNELLE DYNAMIQUE DES XENICANES ISOLES

INTRODUCTION

Les espèces du genre *Dictyota* de l'ordre des Dictyotales sont bien distribuées dans les régions tropicales et sont les plus étudiées de la Division des algues brunes (Phaéophycées).

Les métabolites secondaires produits par ce genre présentent une très grande variété structurale et sont souvent biologiquement actifs (45a). Ceux-ci sont généralement des diterpènes mono ou polycycliques parfois sans équivalents en milieu terrestre.

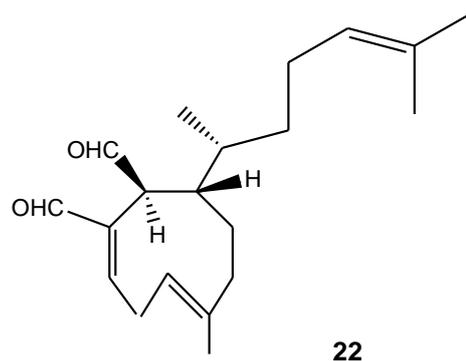
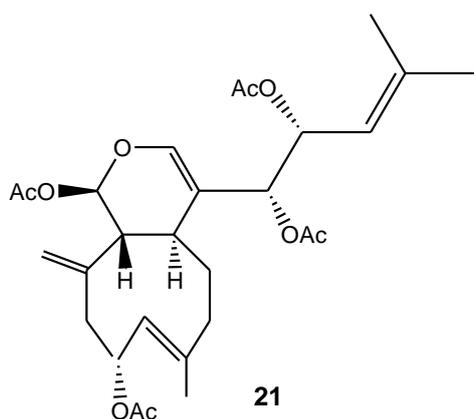
Le pachydictyol A (**20**) est l'un des premiers diterpènes identifiés de ce groupe. Ce composé, dérivé du noyau guaïane a été isolé pour la première fois d'un *Pachydictyon coriaceum* (45). par la suite, il a été identifié à partir de nombreuses algues du genre *Dictyota*.



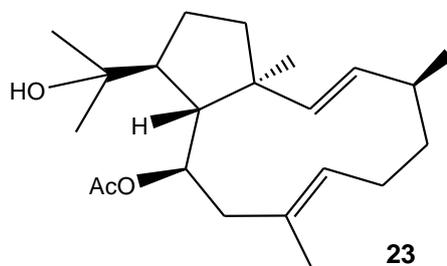
A partir de propositions sur l'interconversion biogénétique des différents squelettes diterpéniques des algues brunes (45), une sélection, suivie d'une mise à jour, a permis de regrouper les différents squelettes identifiés seulement avec le genre *Dictyota* dans un schéma mettant en relief des hypothèses biogénétiques.

Ces diterpènes pourraient être biogénétiquement liés directement ou indirectement au géranylgeraniol. Ce dernier, à partir de différents types de cyclisations peut conduire à 3 squelettes de base : le xénicane, le dolabellane et un troisième, isoprénologue du squelette sesquiterpénique du germacrane. Ceux-ci possèdent des cycles à 9, 11 et 10 chaînons respectivement.

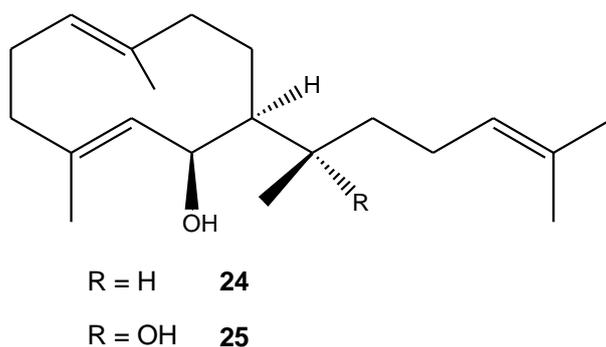
La xénicin (**21**) est le premier métabolite à squelette xénicane. Il a été isolé d'un corail mou *Xenia elongata* (47). Cependant, le premier xénicane isolé d'un *Dictyota* est le dictyodial (**22**) isolé d'un *Dictyota crenulata* et *D. flabellata* et présentant une bonne activité antibactérienne (48).



Le squelette du dolabellane a été établi avec l'isolement du dolabelladiène (**23**) et d'autres composés proches, des glandes digestives du mollusque opisthobranche *Dolabella californica* qui se nourrit d'algues brunes (49). Par la suite ces composés ont été isolés du *Dictyota dichotoma* (50).



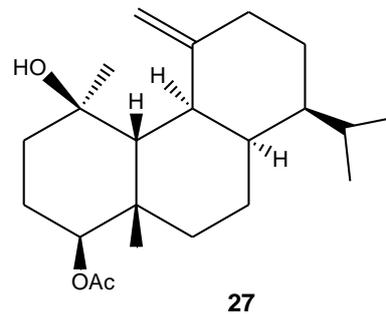
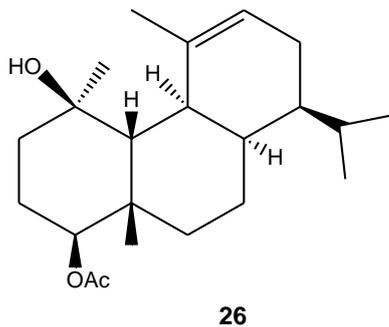
Après l'identification du dilophol (**24**) isolé d'un *Dilophus ligulatus* (51), la présence de l'isoprénologue du squelette du germacrane dans le genre *Dictyota* fut signalée avec l'identification de l'hydroxydilophol (**25**) isolé du *Dictyota masonii* (52).



A partir de ces 3 squelettes de base, plusieurs types de cyclisations et réarrangements ont conduit à différents squelettes diterpéniques dont les composés correspondants ont été isolés à partir d'espèces du genre *Dictyota* (voir schéma ci-dessous : hypothèse biogénétique).

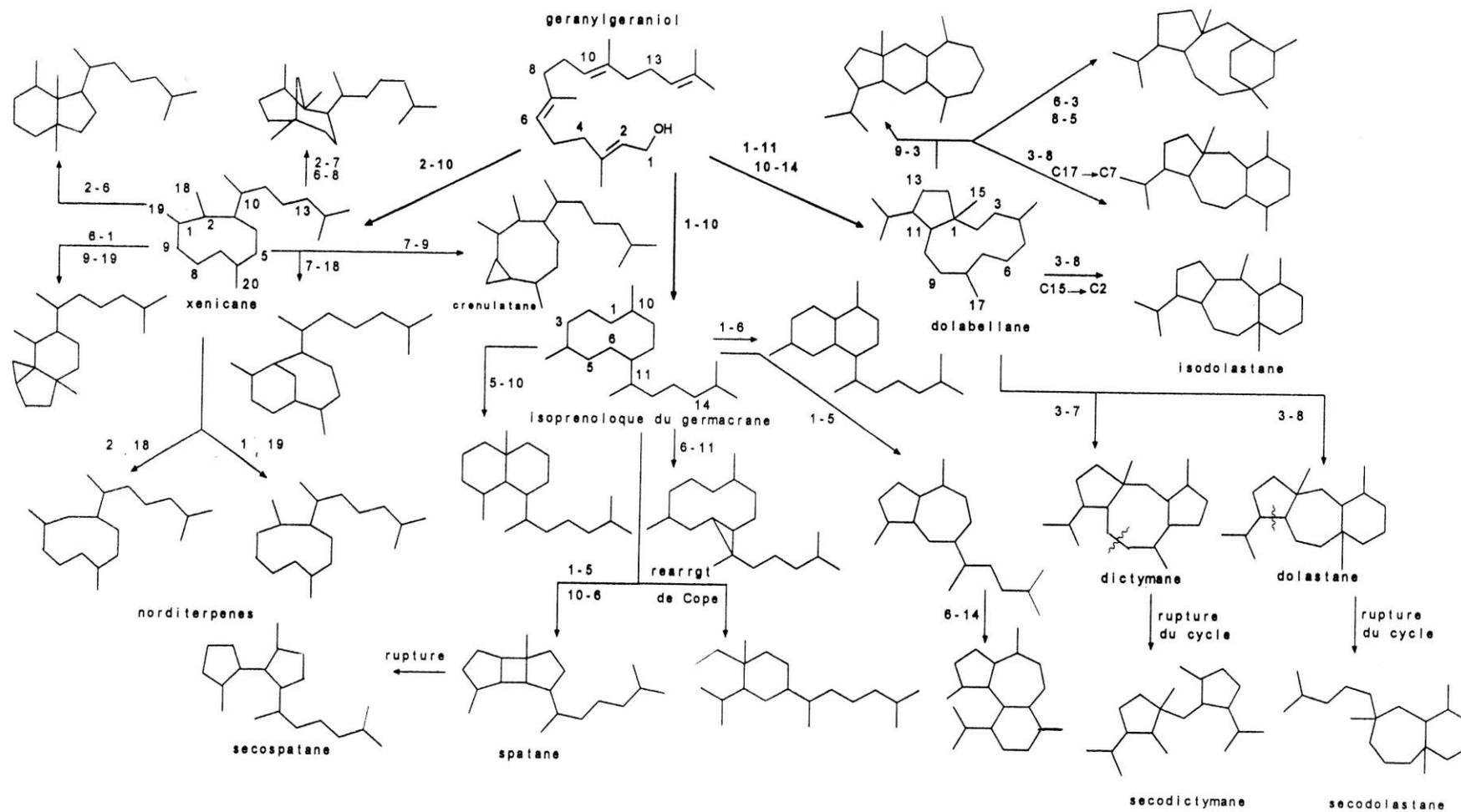
En dehors de ce schéma, nous pouvons citer le cas des dictalediol monoacétate α (**26**) et β (**27**)

isolés d'un *Dictyota* des Iles canaries (53), et qui présentent un squelette très singulier dont l'origine biogénétique n'est pas encore bien définie.



Dans le présent travail, nous nous proposons d'isoler et d'établir les structures des métabolites secondaires d'une algue *Dictyota ciliolata*. Une étude conformationnelle comparée des xénicanes isolés de cette algue sera ensuite abordée en profondeur.

SCHEMA DE BIOGENESE



CHAPITRE I

ISOLEMENT ET IDENTIFICATION DES DITERPENES

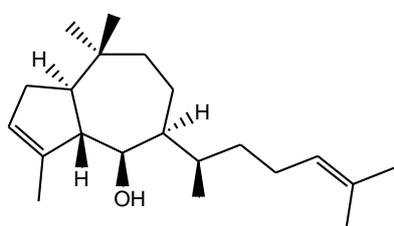
1.1. ISOLEMENT

L'algue *Dictyota ciliolata* a été récoltée en marée basse à la pointe de Senti à Joal. Après homogénéisation dans le méthanol suivie d'une série d'extraction dans l'hexane et l'acétate d'éthyle, le résidu est soumis à une "flash" chromatographie avec gradient d'élution.

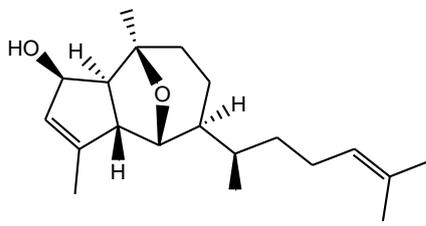
Les différentes fractions soumises à une série de chromatographies liquides haute performance (HPLC) ont conduit à l'isolement de 13 métabolites secondaires présentant le squelette xénicane, crénulatane et 1 troisième isoprénologue du squelette du guaïane. Parmi ceux-ci, 4 sont nouveaux (**37-40**).

Après analyse des spectres (RMN et masse) et comparaison avec ceux de la littérature, ces composés sont identifiés et possèdent les structures ci-dessous.

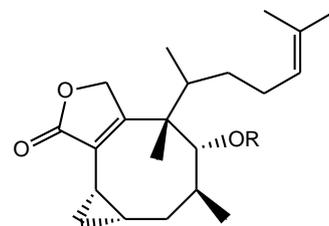
Sur le plan stéréochimique, l'ensemble des données spectroscopiques et les pouvoirs rotatoires mesurés, sont en accord avec ces structures.



28

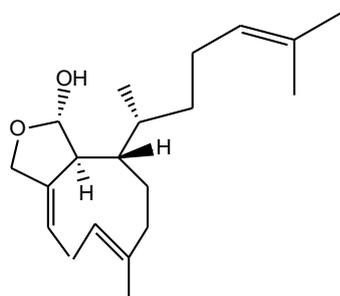


29

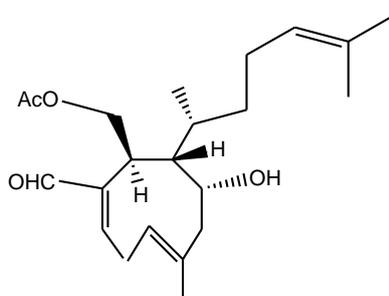


30 R = H

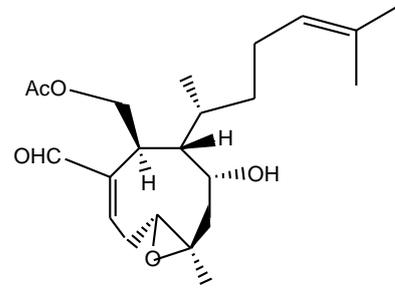
31 R = CH₃CO



32



33



34

28 : dictyol C (54)

29 : 2-hydroxydictyoxide (55)

30 : 4-hydroxycrenulide (56)

31 : 4-acetoxycrenulide (56b)

32 : isodictyohemiacetal (57a)

33 : hydroxyacetyldictyolal(57), (58a)

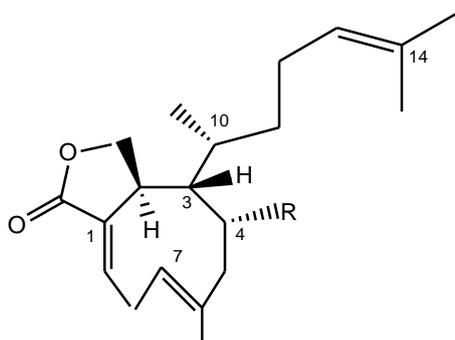
34 : 6,7-epoxy-hydroxyacetyldictyolal (59)

1.2. IDENTIFICATION DU DICTYOLACTONE, DE L'HYDROXYDICTYOLACTONE ET D'AUTRES XENICANES SIMILAIRES

■ Après analyse et comparaison avec les données en RMN et masse de la littérature, les composés **35** et **36** ont été identifiés comme étant respectivement le dictyolactone (48, 60) et l'hydroxydictyolactone (58).

Au niveau de la stéréochimie configurationnelle, les données spectroscopiques et les pouvoirs rotatoires mesurés sont en accord avec ces structures. Cependant, sur le plan conformationnel, nous avons remarqué et confirmé expérimentalement, la présence au niveau de chacun de ces composés de deux conformères en équilibre, due à un lent vacillement de la portion C(7) = C(6)-Me du cyclononène.

Une étude conformationnelle dynamique de ces composés sera abordée au chapitre suivant sur la base des calculs de modélisation moléculaire, la RMN à température variable, et la simulation de spectres.



35 R = H

36 R = OH

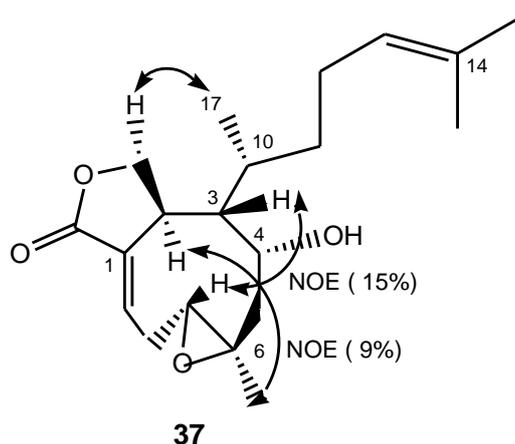
(cette numérotation a été adoptée pour des raisons de commodité).

■ Les spectres de RMN et de masse du composé **37** sont analysés par comparaison avec ceux de l'hydroxydictyolactone (**36**) (58). Après examen des spectres de RMN, nous remarquons que ces 2 composés présentent des signaux similaires excepté ceux correspondant à la zone C(7) = C(6) - Me(20).

Le changement le plus notable est constaté avec la disparition sur le spectre de RMN du ^1H de **37** du signal à δ 5,30 ppm (dd) correspondant au proton oléfinique H-C-7 de l'hydroxydictyolactone (**36**), et l'apparition d'un signal intégrant 1H à δ 3,07 ppm (dd); Me passe de 1,89ppm à 1,57 ppm dans **37**. En RMN du ^{13}C , cette modification est remarquée avec la disparition sur le spectre de **37** des signaux à δ 125,28 ppm (d) et 135,36 ppm (s) correspondant respectivement aux carbones 7 et 6 de **36**, et l'apparition sur le sepctre du composé **37** de signaux sans équivalents dans **36** à δ 62,36 ppm (d) et 59,46(s).

Ces données, et la différence de 16 (1 atome d'oxygène) unités de masse entre les pics moléculaires de **36** et **37**, montrent que ce dernier est le 6,7 - époxyde de l'hydroxydictyolactone (**36**).

La configuration relative de ce composé est supportée par la mesure des effets NOE entre Me-20/H-C-2; H-C-7/H-C-3; Me-17/H $_{\beta}$ -C-18 et par l'observation de faibles couplages H,H entre H-C-2/H-C-3; H-C-3/H $_{\beta}$ -C-4 et H-C-10/H-C-3.



Les données en RMN du ^1H et ^{13}C sont présentées au Tableau XI.

Ce composé, comme d'ailleurs **34**, pourrait résulter respectivement de l'époxydation de **36** et **33** dans l'algue exposée en marée basse sous une forte irradiation solaire. Ceci peut être supporté par l'époxydation de **35** après irradiation à 365 nm (travaux non publiés).

TABLEAU XI
RMN DU PROTON ET CARBONE 13 DU COMPOSE 37

N°	¹ H δ(ppm)(mult.; J(Hz)) CDCl ₃	¹³ C δ(ppm) m CDCl ₃	NOE δ(H _{irrad.})→δ(H _{obs.}) (%)
1	--	136,52 d	
2	3,64 (d(l); J _{2,18α} = 7,4)	36,57 d	3,64 → 1,57 (9%)
3	1,96 (s(l))	50,38 d	
4	4,26 (dd(l); J _{4,5α} = 4,5; J _{4,5β} =2,6)	68,12 d	4,26 → 3,07
5	H _α : 1,22 (dd; J _{gem} =14,1; J _{5α,4} =4,5) H _β : 2,39 (dd; J _{gem} =14,1; J _{5β,4} =2,6)	48,13 t	
6	--	59,46 s	
7	3,07 (dd; J _{7,8α} =11,0; J _{7,8β} = 2,5)	62,36 d	3,07 → 1,96 (15%)
8	H _α : 2,29 (ddt; J _{gem} =17,6; J _{8α,7} =11,0; J _{8α,9} =2,1) H _β : 2,98 (ddd; J _{gem} =17,6; J _{8β,9} =8,2; J _{8β,7} =2,5)	27,92 t	
9	6,90 (dt; J _{9,8β} =8,2; J _{9,8α} =2,1)	134,47 d	
10	1,75 (m)	32,26 d	
11	1,15 (m)	37,05 t	
12	1,90 (m)	25,79 t	
13	4,99 (sept.t; J _{13,12} =7,1; J = 1,3)	123,62 d	4,99 → 1,65 (7%)
14	--	132,12 s	
15	1,65 (d; J _{15,13} = 1,3)	25,63 q	
16	1,55 (d; J _{16,13} = 1,3)	17,72 q	
17	1,09 (d; J _{17,10} = 6,6)	17,97 q	1,09 → 4,52
18	H _α : 4,16 (dd; J _{gem} = 9,7; J _{18α,2} =7,4) H _β : 4,52 (dd; J _{gem} = 9,7; J _{18β,2} =1,3)	68,40 t	4,52 → 1,09
19	--	173,29 s	
20	1,57 (s)	20,18 q	

$[\alpha]_D^{25} = - 34^\circ$ (c = 0,16; CCl₄).

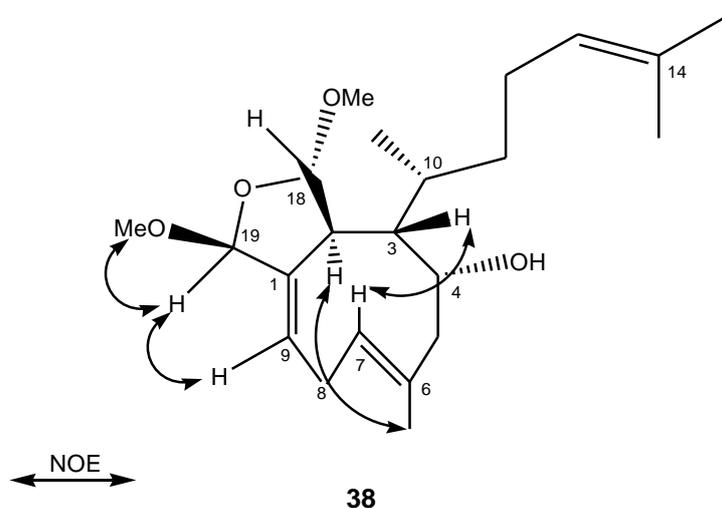
SM-IE (m/z (%)): 334(2,M⁺); 319(1,[M-Me]⁺); 316(2,[M-H₂O]⁺); 265(1,[M-C₃H₉]⁺);

109(59); 69 (98); 41(100).

■ La structure du composé **38** a été établie après analyse par comparaison des spectres de RMN du ^1H , ^{13}C et masse avec ceux du dérivé 4-acétylé déjà connu (57a).

Excepté l'absence des signaux dus au groupement acétyle, l'ensemble des données en RMN sont tout à fait similaires, alors que les résultats de la masse sont en accord avec le produit non acétylé.

La configuration du carbone 19, qui n'avait pas été déterminée par les auteurs du composé 4-acétylé (57a), a été établie avec mesure d'un effet NOE sur H-C-9 (3 %) après irradiation de H-C-19. Ceci indique une orientation β pseudoxiale pour $\text{CH}_3\text{O}-\text{C}-19$.



Les données en RMN du ^1H et ^{13}C sont présentées au Tableau XII.

TABLEAU XII
RMN DU PROTON ET CARBONE 13 DU COMPOSE 38

N°	¹ H δ(ppm)(mult.; J(Hz)) CDCl ₃	¹³ C δ(ppm)m CDCl ₃	NOE δ(H _{irrad.})→δ(H _{obs.})
1	--	146,04 s	
2	3,02 (s(l))	46,23 d	3,02 → 1,88
3	1,96 (s(l))	49,20 d	
4	4,26 (dd(l); J _{4,5β} = 4,2; J _{4,5α} =2,3)	73,07 d	
5	H _α : 2,31 (dd; J _{gem} =13,1; J _{5α,4} =2,3) H _β : 2,13 (dd; J _{gem} =13,1; J _{5β,4} =4,2)	49,00 t	
6	--	134,79 s	
7	5,32 (dd(l); J _{7,8α} =11,4; J _{7,8β} = 3,9)	125,34 d	5,32 → 1,96
8	H _α : 3,16 (ddt; J _{gem} =16,1; J _{8α,7} =11,4; J _{8α,9} =1,9) H _β : 2,72 (ddd; J _{gem} =16,1; J _{8β,9} =7,8; J _{8β,7} =3,9)	29,04 t	2,72 → 5,87
9	5,87 (dq; J _{9,8β} =7,8; J _{9,8α} =1,9)	127,34 d	
10	1,60 (m)	31,18 d	
11	1,20 (m)	38,38 t	
12	1,90 (m)	26,03 t	
13	5,06 (sept.t; J _{13,12} =7,2; J = 1,4)	124,47 d	
14	--	131,51 s	
15	1,67 (d; J _{15,13} = 1,4)	25,71 q	
16	1,58 (s(l))	17,78 q	
17	1,07 (d; J _{17,10} = 6,7)	18,68 q	
18	5,09 (s)	106,63 d	5,09 → 3,33
19	5,29 (s(l))	107,08 d	5,29 → 3,47 et 5,87
20	1,88 (s(l))	20,01 q	
CH ₃ O-C(18)	3,33 (s)	54,61* q	
CH ₃ O-C(19)	3,47(s)	55,52 *q	

1,32 (d; J = 4,2; OH) ; * ces attributions sont interchangeables. $[\alpha]_D^{25} = -96$ (c = 0,28, CCl₄)

Spectre de masse obtenu par impact électronique (m/z (%)) : 364(1, M⁺); 332(4, [M-MeOH]⁺);

314(2, [M-H₂O-MeOH]⁺); 300(12); 285(3, [M-C₅H₉]⁺); 271(12); 69 (95); 41(100).

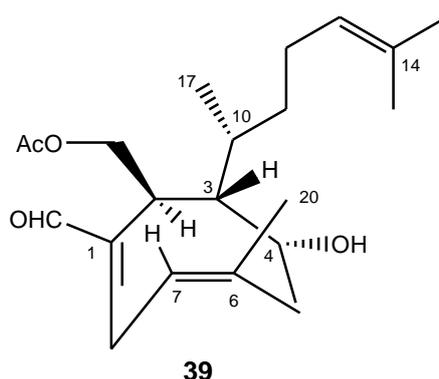
■ Le composé **39** présente le même spectre de masse que l'hydroxyacétyldictyolal (**33**).

* SM-IE de **39**, (m/z (%)) : 362(4, M^+); 344(2,[$M-H_2O$] $^+$); 302(5,[$M-AcOH$] $^+$); 284(8); 69 (100); 43(84).

* SM-IE de **33**, (m/z (%)) : 362(1, M^+); 344(1,5;[$M-H_2O$] $^+$); 302(4,[$M-AcOH$] $^+$); 284(5); 109(33); 69 (100); 43(98).

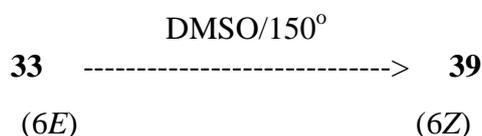
Après analyse par comparaison du spectre de RMN du 1H , tous les protons résonant dans **33** ont été détectés sur le spectre du composé **39**. Cependant, ces produits présentent des spectres tout à fait différents. Ainsi, à température ambiante, **33** ne présente que des signaux fins, alors que dans les mêmes conditions **39** se manifeste avec la présence de plusieurs signaux élargis, dont certains se séparant comme pour un couple de conformères sous le rapport 85 : 15.

L'existence d'un effet NOE entre H-C-7 et Me-20 indique que **39** est l'isomère (6Z) de l'hydroxyacétyldicyolal (**33**) (57a).



Les données en RMN du proton sont présentées au tableau XIII

Ce composé a été obtenu par isomérisation thermique de **33** (61).



En effet, lors de la RMN à température variable des xénicanes (voir chapitre II), il a été constaté qu'à haute température a lieu une isomérisation thermique irréversible des xénicanes (6E) en (6Z) ; cette réaction fut par la suite développée et étudiée profondément sous l'angle conformationnelle et cinétique (61). Les barrières d'énergie évaluées pour les xénicanes (6Z) formés se révèlent être trop élevées et pourraient expliquer la rareté de l'isomère (6Z) en nature :

le composé **39** est l'un des rarissimes xénicanes (6Z) et le seul isolé de cette algue. Le rendement est de 0,01 % par rapport à l'algue séche contre 0,035 % pour **33**.

La conversion photochimique (6E) -----> (6Z) en nature bien qu'étant discutable pourrait être envisagée pour la formation de **39** à partir de **33** après une longue exposition de l'algue en marée basse sous une forte irradiation solaire.

TABLEAU XIII
RMN DU PROTON DU COMPOSE 39

N°	¹ H δ(ppm)(mult.;J(Hz)) CDCl ₃
2	3,50 (m(l))
3	2,00 (m)
4	4,11 (m(l))
5	H _α : 2,10 (dd; J _{gem} =13,4; J _{5α,4} =6,4) H _β : 2,96 (dd; J _{gem} =13,4; J _{5β,4} =9,4)
7	5,27 (dd; J _{7,8α} =6,9; J _{7,8β} =10,1)
8	H _α : 2,73 (dt; J _{gem} =13,8; J _{8α,7} =J _{8α,9} =10,1) H _β : 3,50 (m(l))
9	6,54 (dd; J _{9,8β} = 9,2; J _{9,8α} = 6,9)
10	1,80 (m)
11	1,20-1,30 (m)
12	1,90 (m)
13	5,00 (t(l); J _{13,12} = 7,2)
15	1,65 (s(l))
16	1,55 (s(l))
17	1,02 (d; J _{17,10} = 7,0)
18	4,67 (m)
19	9,31 (s(l))
20	1,69 (s(l))
Ac	2,00 (s(l))

NOE (δ(H_{irrad.}) → δ(H_{obs.}) : 1,69 → 5,27.

[α]_D²⁵ = -26,0⁰ (c = 0,17; CCl₄).

1.3. IDENTIFICATION DE LA JOALIN (DITERPENE XENICANIQUE AZOTE)

1.3.1. Analyses spectroscopiques

Ce composé nommé joalin, en rapport avec le lieu de récolte de l'algue (Joal), possède la formule brute $C_{21}H_{31}NO_3$ établie après analyse du spectre de RMN du carbone 13 et du spectre de masse haute résolution.

m/z trouvé	calculé
345,2303	345,2304 ($C_{21}H_{31}NO_3$) [M^+]
313,2031	313,2042 ($C_{20}H_{27}NO_2$) [$M-MeOH$] ⁺
277,1672	277,1678 ($C_{16}H_{23}NO_3$) [$M-C_5H_9+H$] ⁺
276,1602	276,1600 ($C_{16}H_{22}NO_3$) [$M-C_5H_9$] ⁺

L'attribution des signaux en RMN a été faite à l'aide d'expériences de doubles irradiations différentielles (62) et l'enregistrement d'un DEPT (63).

L'analyse de ces spectres et celle d'un spectre COSY 120 (64) montrent que, sur les sept insaturations du composé **40**, trois sont dues à la présence de 2 doubles liaisons C = C trisubstituées et d'une double liaison tétrasubstituée.

En effet, la RMN du 1H signale 2 protons résonant à δ 5,31 ppm (dd, $J = 12,7; 3,9$ Hz) et 5,00 ppm (t sept.; $J = 6,7; 1,5$ Hz) attribuables à deux protons oléfiniques par l'hétérocorrélation entre le proton à δ 5,31 ppm et le carbone à δ 120,92 ppm, puis entre le proton à δ 5,00 ppm et le carbone à δ 123,96 ppm.

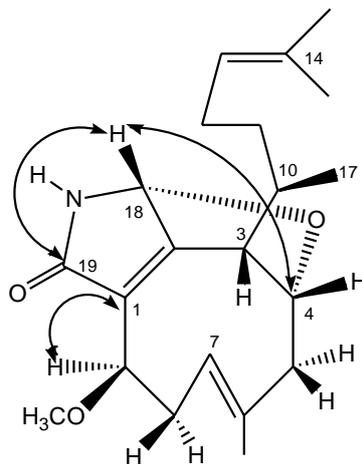
Le spectre COSY, qui ne montre aucune corrélation entre ces deux protons, indique seulement la corrélation entre le proton à δ 5,00 ppm et les méthyles à δ 1,57 et δ 1,66 ppm, puis la corrélation entre le proton à δ 5,31 ppm et 1 méthyle à δ 1,58 ppm et les 2 protons géminés à δ 2,31 et δ 2,56 ppm.

Ces données avec les constantes de couplage impliquées confirment l'existence des 2 doubles liaisons C = C trisubstituées. Le spectre de RMN du ^{13}C montre un signal à δ 174,60 ppm (s) qui pourrait être attribué à un carbonyle d'un ester ou d'un amide/lactame. Le choix de ce dernier est supporté par la bande du spectre infra-rouge à 1702 cm^{-1} et la présence d'un azote confirmée par le spectre de masse haute résolution.

Considérant les 2 protons oléfiniques de la molécule et les 3 carbones sp_2 (s) que nous venons de décrire, nous pouvons dire que les 2 carbones sp_2 (s) restant sur le spectre de RMN ^{13}C forment la double liaison tétrasubstituée.

L'ensemble de ces données montrent que la joalin est tricyclique.

La portion partant de C-1 à C-4 et le lien entre C-9 et C-1 est supporté par les données en RMN des protons déblindés H-C-4, H-C-9, H-C-18; dont certaines corrélations hétéronucléaires (HMBC (65)) sont indiquées par des doubles flèches sur la structure de la joalin.



40

Ainsi, la substitution de l'oxygène sur C-4 est supportée par le déblindage de C-4 (δ 94,60 ppm) et H-C-4 (δ 4,70 ppm); dans les xénicanes précédents le carbone 4 hydroxylé résonne autour de 70 ppm alors que le proton H-C(OH)-4 se manifeste autour de 4,20 ppm. Les signaux à δ 79,47 ppm(d, $J=148\text{Hz}$) du spectre de RMN du ^{13}C , et δ 4,52 ppm(td) de la RMN du 1H montrent que C-9 est un carbone allylique comportant un groupement méthoxyle hétérocouplé à longue distance avec H-C-9.

Enfin l'enchaînement N-C(18)-O est supporté par la résonance vers les bas champs de C-18 et H-C-18 ($\delta_C = 85,7$ ppm ; $\delta_H = 5,59$ ppm).

Un soutien supplémentaire à la connexion est apporté par le couplage longue distance H-C(18) - H-C(9) et l'hétérocorrélation longue distance entre H-C-3 et C-2; C-10 et C-18; H-C-4 et C-18; H-C-18 et C-1; C-2 et C-19, NH et C-2.

La présence du groupement isoprénique en C₈ est confirmée par les pics à m/z 276 [$M-C_5H_9$]⁺ et 69 [C_5H_9]⁺ du spectre de masse et par la corrélation du proton résonant à δ 5,00 ppm avec les Me-15 et Me-16.

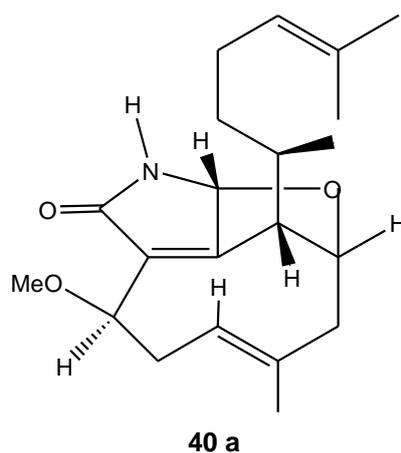
La portion manquante C(5) - (C8) pourra être construite avec le COSY qui montre la

corrélation entre H-C-7 et Me-20, H_α-C-8, H_β-C-8.

Les deux portions C(9)-C(4) et C(5)-C(8) peuvent être jointes sur la base de l'hétérocorrélation longue distance entre H-C-4 et C-5, puis la corrélation entre H-C-9 et H_α-C-8, H_β-C-8.

La position α pour H-C-9 est signalée par les faibles couplages avec les protons adjacents ; H_β-C-9 impliquerait un couplage de l'ordre de 11 Hz avec H_α-C-8. Un NOE très intense entre H-C-7 et H-C-3 montre que ces deux protons doivent être du même côté du cycle xénicanique nécessitant ainsi que H-C-9 soit sur le côté opposé. Un faible couplage entre H-C-3 et H-C-4, suggérant un angle dièdre de l'ordre de 90°, nous permet d'attribuer la position α à O-C(4).

L'effet NOE entre H-C-4 et Me-17, et une analyse conformationnelle complète avec le programme "PCMODEL 4.0" basé sur les champs de force MMX (34), nous permet d'établir la configuration relative et la conformation préférentielle de la joalin comme présentée ci-dessous.



Ceci est en accord avec les xénicanes décrits précédemment (66) excepté l'incorporation de l'azote et la chiralité à C-9 qui sont les particularités de la joalin.

En effet, ce composé est le premier diterpène xénicanique incorporant un atome d'azote, fonctionnalisé au carbone 9, et qui se présente sous une forme tricyclique non décrite auparavant même si le squelette carboné n'est pas nouveau.

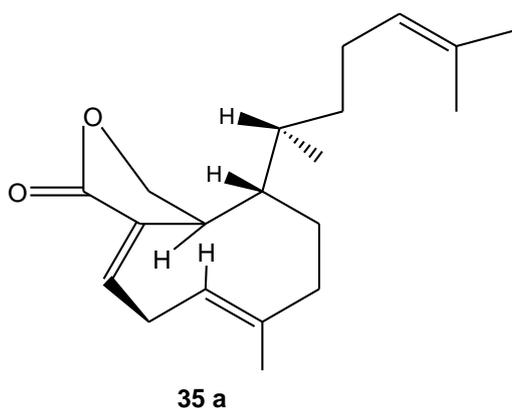
Nous avons déterminé les signes des effets Cotton de la joalin :

$$\Delta\epsilon (259) = +5,8; \quad \Delta\epsilon (217,5) = -39,6 \quad (\text{CDCl}_3)$$

Si ces signes sont interprétés comme pour les γ buténolides, tenant compte des cas décrits avec les réserves liées aux extrapolations basées sur les données chiroptiques de modèles très

limités (67), la configuration absolue 3S,4R,9R,10R,18R peut être attribuée à la joalin. Ceci est en accord avec tous les autres xénicanes d'origine algale précédemment décrits (66).

En dehors du caractère exceptionnel de la présence de l'azote, la joalin se démarque notablement des autres xénicanes précédemment décrits (66) en montrant un fort couplage entre H-C-3 et H-C-10 ($J_{3,10} = 10,4$ Hz). Le dictyolactone (**35**), qui est un exemple typique, montre un couplage $J_{3,10}$ pratiquement nul (48) conformément à la structure de ce composé dont la diffraction aux rayons X montre la chaîne fixée sur C-3 dans une conformation **35a** avec le Me-17 orienté vers le côté de la lactone.

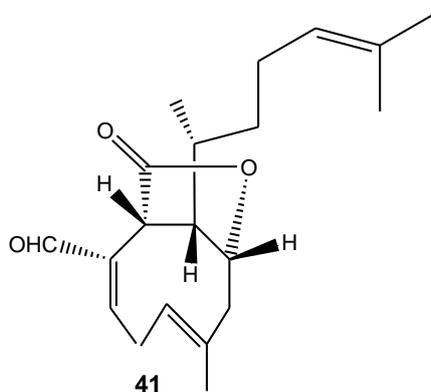


Pour la joalin (**40a**) le large couplage $J_{3,10}$ indique, conformément aux résultats des calculs de mécanique moléculaire (34), que le Me-17 est orienté vers le côté opposé du lactame.

Les données en RMN du proton et carbone 13 (Figure IX) sont présentées au Tableau XIV; le spectre COSY est présenté comme Figure X.

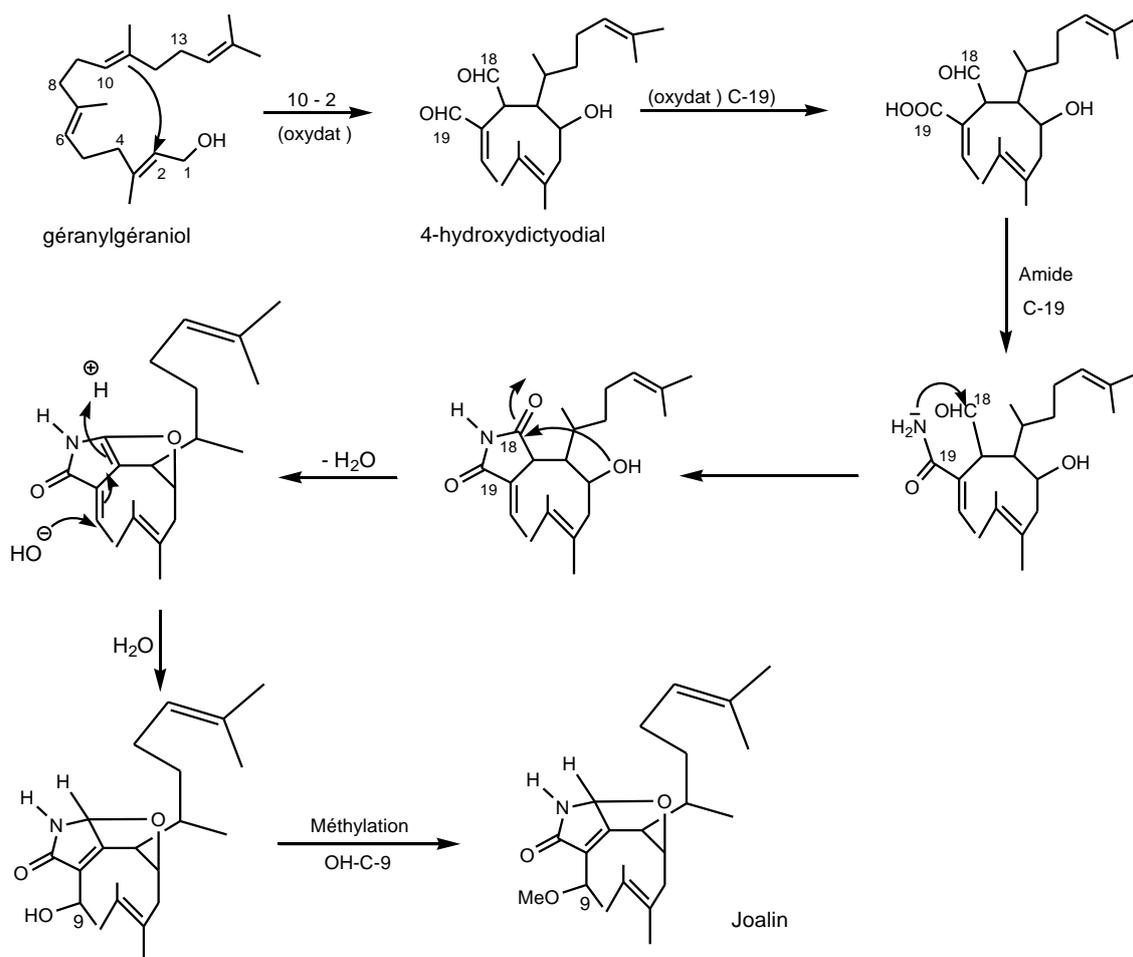
1.3.2. Proposition d'un schéma de biogénèse

Plusieurs diterpènes xénicaniques ont été isolés des algues brunes de l'ordre des Dictyotales, des mollusques opisthobranches et alcyonnaires, cependant aucun d'entre eux n'incorpore l'azote (66). La joalin dispose d'un pont oxyde entre C-4 et C-18 dont le seul décrit précédemment dans un xénicane vient du dictyotalide A (**41**) isolé d'un *Dictyota dichotoma*(68).



Dotée d'un carbonyle lactonique à C-18 et d'un CHO à C-19, le dictyotalide A peut être issue d'un xénicane possédant un OH en C-4 et d'un CHO au niveau des carbones 18 et 19 (4-hydroxydictyodial (58b)) et qui, par suite d'oxydation de C-18, subit une estérification intramolécule.

Pour la biogénèse de la joalin un précurseur du même type peut être envisagé. Ainsi, au moyen d'enzymes appropriés, CHO(19) subit d'abord une oxydation; celle-ci est suivie de la formation de l'amide sur C-19, l'attaque de l'azote sur le carbonyle de l'aldéhyde à C-18, et l'aminocétalisation par OH.



1.3.3. Activité cytotoxique de la joalin

Avec l'aide des laboratoires " Pharmacia", la cytotoxicité de la joalin a été évaluée et se manifeste par une légère activité contre les cellules de la leucémie L 1210 in vitro.

Ce résultat, bien qu'étant très limité, doit nous inciter à poursuivre les tests avec d'autres xénicanes et sur d'autres types de cellules cancéreuses d'autant plus qu'une activité cytotoxique significative du dictyotalide A (**41**) contre les cellules B16 de la souris a été signalée (68).

TABLEAU XIV

RMN DU PROTON ET CARBONE 13 DU COMPOSE 40

N°	¹ H δ(ppm)(mult.;J(Hz)) CDCl ₃	¹³ C δ(ppm) m;(J(Hz)) CDCl ₃
1	-	162,60 s
2	--	131,91 s
3	2,77 (d; J _{3,10} =10,4)	49,72 d
4	4,70 (dd; J _{4,5α} =3,6; J _{4,5β} =2,2)	94,60 d
5	H _α : 2,41 (dd; J _{gem} =13,4; J _{5α,4} = 3,6) H _β : 2,10 (dd; J _{gem} =13,4; J _{5β,4} = 2,2)	44,82 t
6	--	140,05 s
7	5,31 (dd(l); J _{7,8α} = 12,7; J _{7,8β} = 3,9)	120,92 d
8	H _α : 2,31 (ddd; J _{gem} =13,5; J _{8α,7} = 12,7; J _{8α,9} = 3,5) H _β : 2,56 (ddd; J _{gem} =13,5; J _{8β,7} = 3,9; J _{8β,9} = 3,1)	32,06 t
9	4,52 (td; J _{9,8β} ≈ J _{9,8α} = 3,1; J _{9,18} = 1,3)	79,47 d (J=148)
10	1,75 (d sext.; J _{10,3} = 10,4; J _{10,17} ≈J _{10,11} = 6,5)	34,78 d
11	1,15 (m)	35,43 t
12	1,85 (m)	25,71 t
13	5,00 (t sept.; J _{13,12} = 6,7; J = 1,5)	123,96 d
14	--	131,58 s
15	1,66(s(l))	25,53 q
16	1,57(s(l))	17,69 q
17	1,01(d; J _{17,10} = 6,5)	18,08 q
18	5,59(s(l))	85,70 d (J=172)
19	--	174,60 s
20	1,58 (d; J _{20,7} = 1,5)	19,80 q
CH ₃ O-C(9)	3,32 (s)	57,68 q
H-N	5,93 (s)	--

[α]_D²⁹ = -59°; [α]₄₃₄²⁰ = -102° (c=0,01; CHCl₃)

IR(film), ν_{max}cm⁻¹: 1702(f) ; UV(CH₃OH), λ_{max}nm(ε): 205(12300); 245(f)

SM-IE (m/z(%)): 345(7, M⁺); 313(4, [M-MeOH]⁺); 277(28, [M-69+H]⁺); 276(19, [M-69]⁺); 166(50);

109(39); 69 (66); 41(100).

Figure IX
 Spectre de RMN du ^1H et ^{13}C de la joalin (CDCl_3)

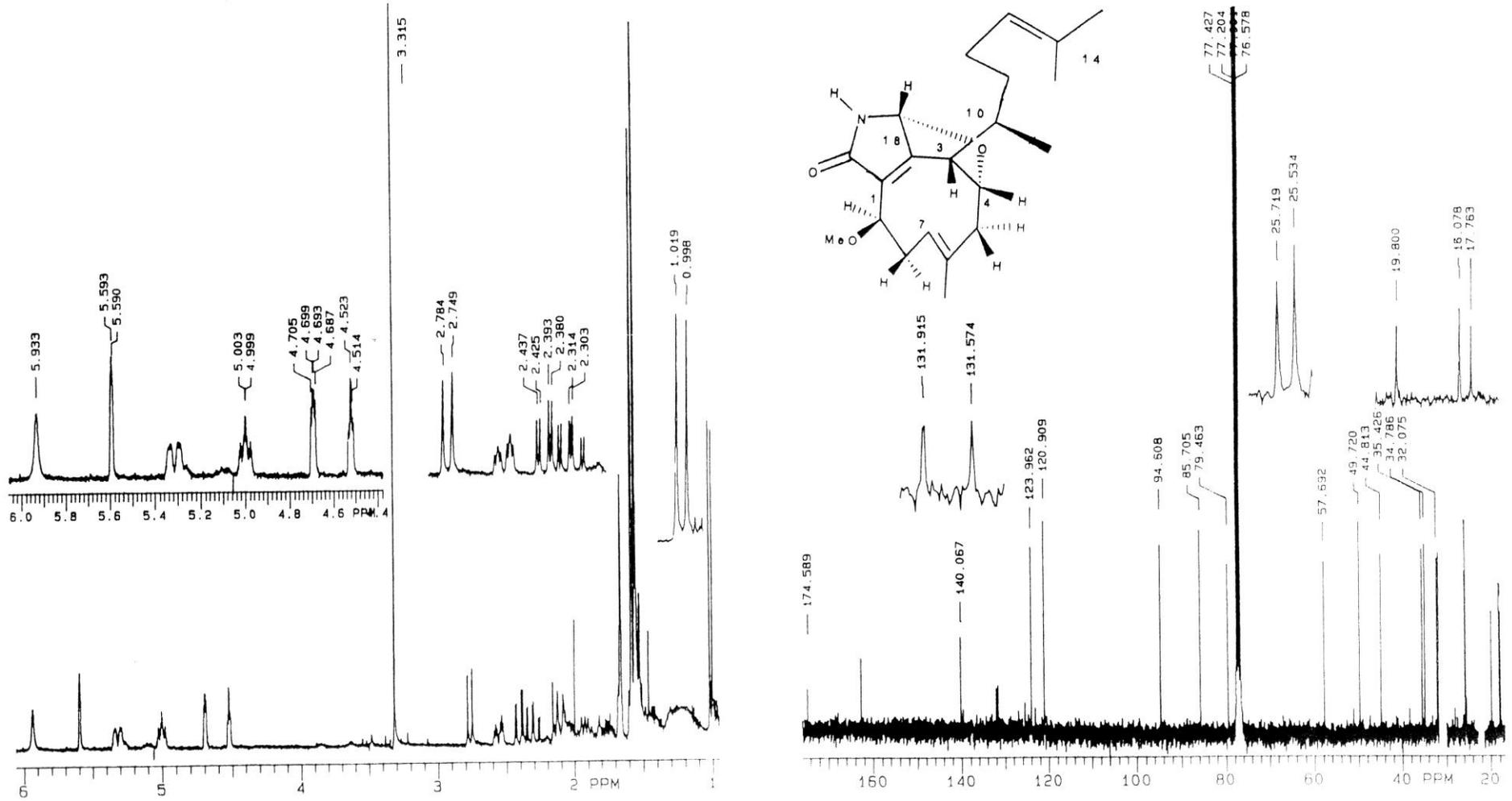
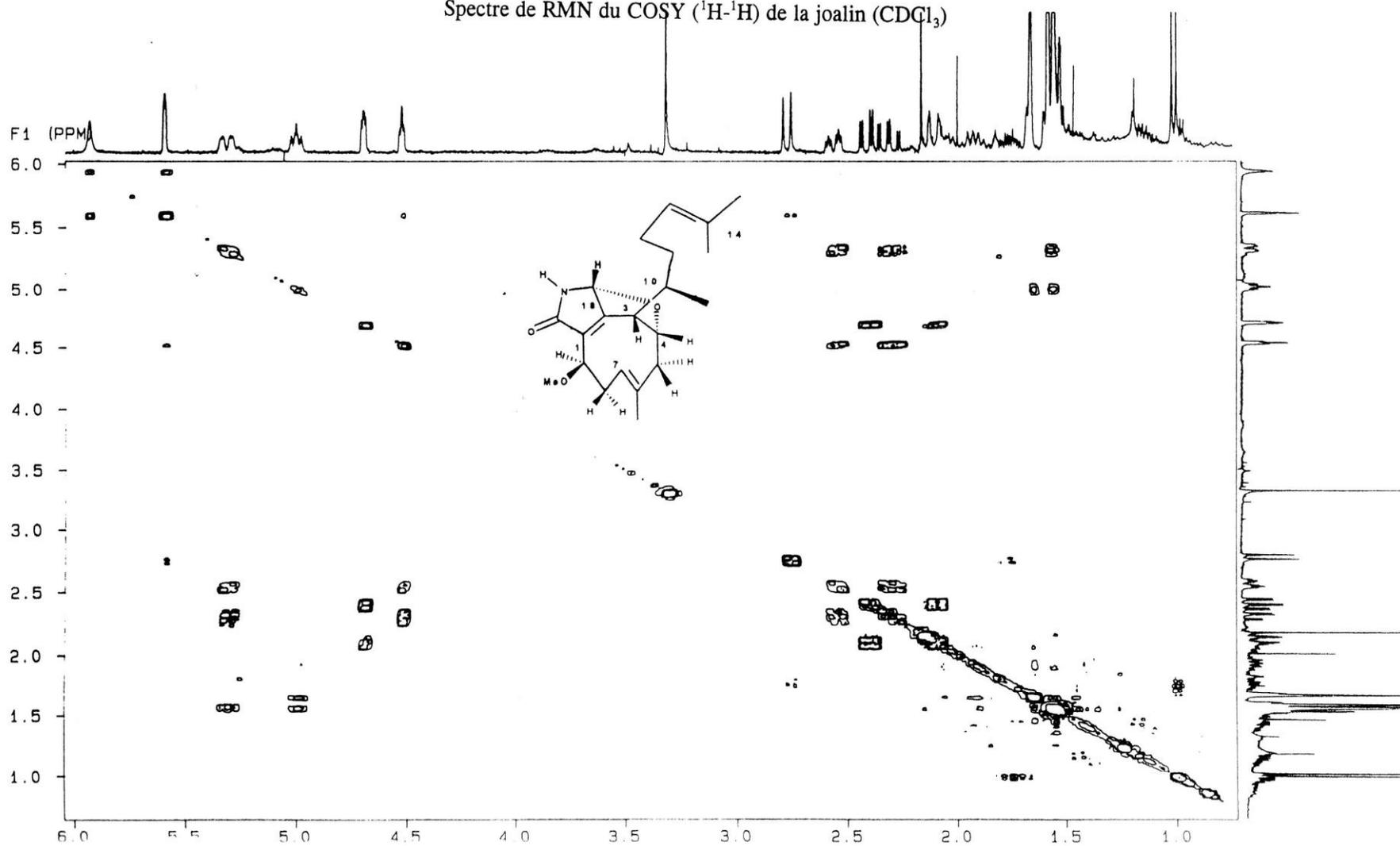


Figure X
Spectre de RMN du COSY (^1H - ^1H) de la joalin (CDCl_3)



CHAPITRE II

ANALYSE CONFORMATIONNELLE DYNAMIQUE DES XÉNICANES ISOLÉS

2.1. INTRODUCTION

Sur les nombreux xénicanes décrits précédemment (66), le comportement conformationnel est très rarement analysé excepté quelques cas où l'étude est présentée sous forme de petites notes qui signalent la présence de larges signaux en RMN (41).

Cependant en raison des multiples activités biologiques signalées: antibactériennes(48), antifongiques(48, 60b), cytotoxiques(60b,68), une étude conformationnelle complète des xénicanes s'avère nécessaire car la connaissance des mouvements conformationnels pourrait être déterminant lors de l'étude pharmacodynamique de ces systèmes biologiquement actifs.

Conformément aux structures établies par diffraction aux rayons X (48), le dictyolactone (35) et l'hydroxydictyolactone (36) sont décrits comme constitué chacun d'un seul conformère 35a et 36a où H-C-3 et CH₃-C-6 sont placés orthogonalement au plan moyen du cyclononadiène.

Pendant longtemps, ces résultats ont été adoptés excepté quelques petites notes parmi lesquelles celle de ISHITSUKA *et al.* qui observent la RMN dynamique d'une structure proche : le dictyotalide A (41) (68).

En effet, pour ces auteurs, ce composé présente en RMN du ¹H (CDCl₃) à température ambiante 3 groupements aldéhydiques sous le rapport 5:1:1 ; quand le spectre est enregistré dans le DMSO à 105°C les 3 signaux dus à l'aldéhyde deviennent un seul singulet indiquant ainsi que le dictyotalide A existe sous 3 conformations dont une largement majoritaire. Cependant rien n'a été signalé sur la réversibilité de ce phénomène en refroidissant (68).

Dans le présent travail, nous nous proposons de faire une étude conformationnelle approfondie des xénicanes dans le but d'arriver à la généralisation de ce comportement. Ainsi des calculs de mécanique moléculaire permettant de dégager les conformations de basse énergie ont été faits. La RMN à température variable, suivie de simulations de certains signaux permettant ainsi d'établir les constantes de vitesse de l'interconversion conformationnelle ont été développées.

La présence d'un seul conformère pour certains xénicanes sera également analysée.

2.2 ETUDE CONFORMATIONNELLE DU DICTYOLACTONE ET DE L'HYDROXYDICTYOLACTONE

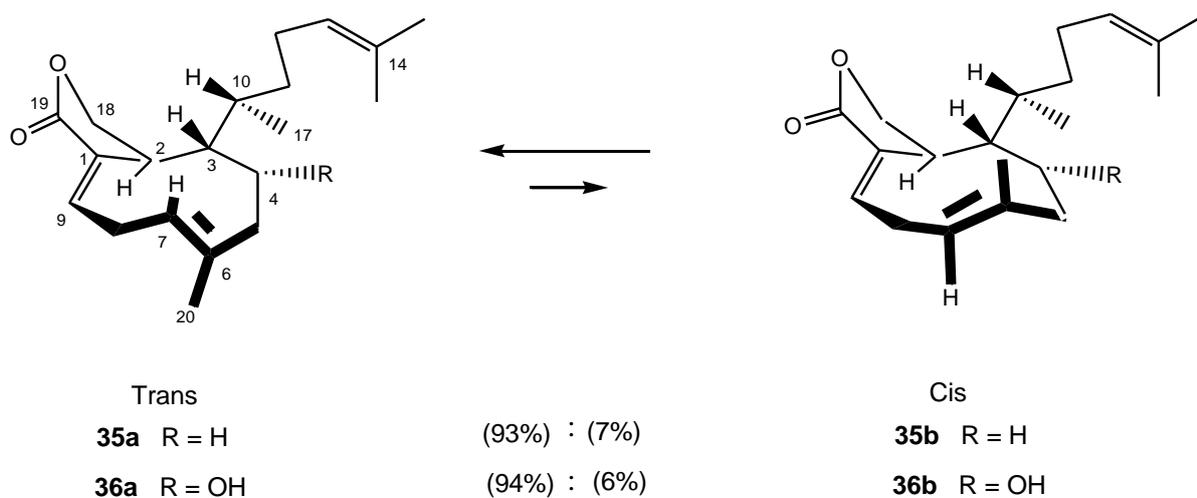
2.2.1 Mise en évidence d'une interconversion conformationnelle lente

Les spectres de RMN du ^1H et ^{13}C (CDCl_3), (Figures XI et XII) de **35** et **36** enregistrés à température ambiante, montrent des signaux présentant une très grande différence d'intégration 95 : 5 environ (voir Figures XI et XII). La preuve que ces signaux sont liés à deux conformères en équilibre lent fut donnée par des expériences de "cross-saturation transfer" (69).

Ainsi pour chacun de ces composés, l'irradiation de H-C-2 du présumé conformère minoritaire à 50°C dans CDCl_3 conduit à un "cross-saturation transfer" de 25 % sur le proton correspondant du conformère majoritaire.

A partir des données de la RMN du ^1H et ^{13}C déjà publiées pour les composés **35**(48) et **36**(58a) vus sous un seul conformère, une analyse détaillée des spectres de RMN impliquant des découplages par irradiations différentielles (62), COSY 120(64a), HMQC(65) nous a permis d'attribuer les signaux de la RMN pour les conformères majoritaires et minoritaires (voir Tableaux XV et XVI).

Ces données et particulièrement la mesure des effets NOE ont permis de définir l'équilibre conformationnelle en terme de vacillement de la portion $\text{C}(7) = \text{C}(6) - \text{CH}_3(20)$ de configuration *E* où CH_3-20 peut passer de la position trans par rapport à H-C-3 dans le conformère majoritaire **35a** ou **36a** à la position cis dans le conformère minoritaire **35b** ou **36b**.



■ NOE 35a: (H-C-7) 5,36 ----->1,67 (H-C-3) [7%]; 5,36 ----->1,98 (H_β-C-5) [6%];
5,36 -----> 2,90 (H_β-C-8) [4%] ; (CH₃-20) 1,71 -----> 2,70 (H-C-2);
1,71 -----> 2,23 (H_α-C-5); (CH₃-17) 0,93 -----> 4,52 (H_α-C-18).

■ NOE 36a: (H-C-7) 5,30 -----> 2,02 (H-C-3) ; (CH₃-20) 1,89 -----> 3,39 (H-C-2).

Conséquemment un déblindage marqué a été observé pour certains signaux des conformères minoritaires par rapport aux protons correspondants des conformères majoritaires.

35: $\Delta\delta$ (H-C-2) = 0,84 ppm ; $\Delta\delta$ (H_β-C-5) = 0,44 ppm.

36: $\Delta\delta$ (H-C-2) = 0,45 ppm ; $\Delta\delta$ (H_α-C-5) = 0,58 ppm ; $\Delta\delta$ (C-20) = 5,51 ppm.

TABLEAU XV

RMN DU PROTON ET CARBONE 13 DES CONFORMERES 35a ET 35b

35a		35b	
N°	¹ H δ(ppm)(mult.;J(Hz)); CDCl ₃	¹³ C δ(ppm)m; CDCl ₃	¹ H δ(ppm)(mult.;J(Hz)); CDCl ₃
1	--	136,48 s	--
2	2,70 (ddd; J _{2,18α} = 7,3; J _{2,9} = 2,4; J _{2,18β} = 1,1)	43,93 d	3,54 (dtd; J _{2,18α} = 7,5; J _{2,9} = 2,0; J _{2,18β} = 1,1)
3	1,67 (dd; J _{3,4α} = 9,4; J _{3,4β} = 1,7)	47,38 d	1,50 (m)
4	H _α : 1,75 (m) H _β : 1,48 (m)	30,55 t	1,45- 1,55 (m) 1,45- 1,55 (m)
5	H _α : 2,23 (ddd; J _{gem} = 12,9; J _{5α,4β} = 2,3; J _{5α,4α} = 4,7) H _β : 1,98 (ddd; J _{gem} =12,9; J _{5β,4α} = 12,4; J _{5β,4β} = 5,4)	40,19 t	2,24 (m) 2,42 (dt; J= 12,7; 8,9)
6	--	135,34 s	--
7	5,36 (dd(l); J _{7,8α} = 11,4; J _{7,8β} =3,7)	122,96 d	5,54 (dd; J= 12,9; 4,5)
8	H _α : 3,11 (ddd; J _{gem} = 17,0; J _{8α,7} = 11,4; J _{8α,9} = 2,4) H _β : 2,90 (ddd; J _{gem} = 17,0; J _{8β,9} = 7,7; J _{8β,7} = 3,7)	28,78 t	3,23 (m) 2,98 (m)
9	6,94 (dt; J _{9,8β} = 7,7; J _{9,8α} = 2,4)	140,35 d	6,86 (dt; J=4,0; 2,0)
10	1,61 (m)	32,65 d	1,55 (m)
11	1,17- 1,22 (m)	37,41 t	1,17- 1,22 (m)
12	1,92 (m)	25,94 t	1,92 (m)
13	5,03 (sept.t; J= 1,5; J _{13,12} = 7,2)	124,13 d	5,03 (sept.t; J= 1,5; 7,2)
14	--	131,66 s	--
15	1,66 (d; J=1,5)	25,64 q	1,66 (d; J=1,5)
16	1,56 (s(l))	17,36 q	1,56 (s(l))
17	0,93 (d; J _{17,10} = 6,6)	17,58 q	0,89 (d; J=6,7)
18	H _α : 4,02 (dd; J _{gem} =9,6; J _{18α,2} = 7,3) H _β : 4,52 (dd; J _{gem} =9,6; J _{18β,2} = 1,1)	68,22 t	H _α : 4,09 (dd; J _{gem} =9,6; J _{18α,2} = 7,5) H _β : 4,44 (dd; J _{gem} =9,6; J _{18β,2} = 1,1)
19	--	173,27 s	--
20	1,17 (d; J=1,5)	17,68 q	1,59 (d; J=1,5)

[α]_D²⁵ = -122° (c = 0,15; CCl₄)

SM-IE (m/z (%)): 302 (9; M⁺); 287 (3, [M-CH₃]⁺); 259 (4, [M-CH₃CO]⁺); 233 (11, [M-C₅H₉]⁺); 222 (11); 137 (40); 82 (96); 41 (100).

TABLEAU XVI

RMN DU PROTON ET CARBONE 13 DES CONFORMERES 36a ET 36b

36a			36b	
N°	¹ H δ(ppm) (mult.; J(Hz)) CDCl ₃	¹³ C δ(ppm) m CDCl ₃	¹ H δ(ppm) (mult.; J(Hz)) CDCl ₃	¹³ C δ(ppm) m CDCl ₃
1	--	136,08 s	--	*
2	3,39 (d(l); J _{2,18α} = 7,8)	35,74 d	3,84 (m)	*
3	2,02 (s(l))	50,97 d	1,80(s(l))	50,23 d
4	4,28 (m)	72,71 d	*	67,49 d
5	H _α : 2,17 (dd; J _{gem} = 12,8; J _{5α,4β} = 2,0) H _β : 2,32 (dd; J _{gem} = 12,8; J _{5β,4β} = 4,3)	49,05 t	2,75 (m) 2,24 (m)	46,21 t
6	--	135,36 s	--	*
7	5,30 (dd(l); J _{7,8α} =11,4; J _{7,8β} =4,2)	125,28 d	5,60 (m)	130,80d
8	H _α : 3,19 (ddt; J _{gem} = 17,6; J _{8α,7} =11,4; J _{8α,9} =2,3) H _β : 2,94 (ddd; J _{gem} = 17,6; J _{8β,9} =7,5; J _{8β,7} =4,2)	29,42 t	3,23 (m) 2,94 (m)	*
9	6,92 (dt; J _{9,8β} = 7,5; J _{9,8α} = 2,3)	139,39 d	6,87 (dt; J=7,5; 2,4)	140,24 d
10	1,61 (m)	32,25 d	*	*
11	1,17-1,22 (m)	37,86 t	*	*
12	1,92 (m)	25,87 t	*	*
13	5,02 (sept.t; J=1,5; J _{13,12} =7,2)	123,90 d	*	123,68 d
14	--	131,87 s	--	*
15	1,66 (s(l))	25,64 q	*	*
16	1,56 (s(l))	17,69 q	*	*
17	1,06(d; J _{17,10} =6,7)	18,13 q	1,02 (d; J=6,7)	*
18	H _α : 4,09 (dd; J _{gem} = 9,5; J _{18α,2} =7,8) H _β : 4,44 (dd; J _{gem} = 9,5; J _{18β,2} =1,2)	68,73 t	4,19(dd; J _{gem} =9,7; J=8,3) 4,38(dd; J _{gem} =9,7; J=1,3)	*
19	--	173,39 s	--	172,78 s
20	1,89 (d; J=1,3)	20,00 q	1,53 (d; J=1,3)	25,51 q

* Ces signaux sont superposables à ceux de **36a**.

[α]_D²⁵ = -247° (c = 0,17; CCl₄) ; SM-IE (m/z (%)): 300 (2; [M-H₂O]⁺); 287 (10) , 249 (16; [M-C₅H₉]⁺); 165 (29); 136(21); 109(31); 81(41); 69(97); 41(100).

Figure XI
 Spectres de RMN partiels du dictyolactone **35** (au dessous) et de l'hydroxydictyolactone **36** (au dessus) (CDCl₃)

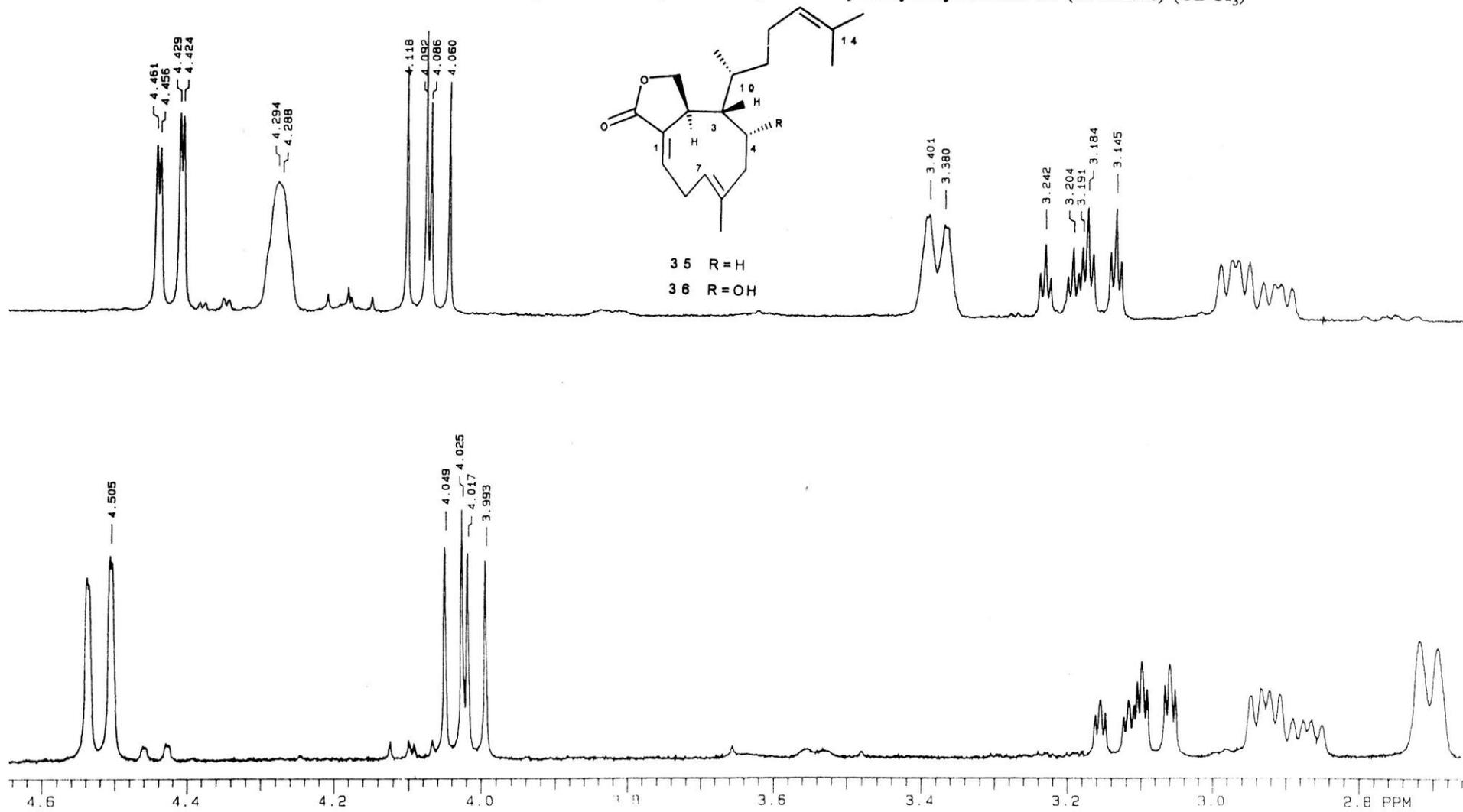
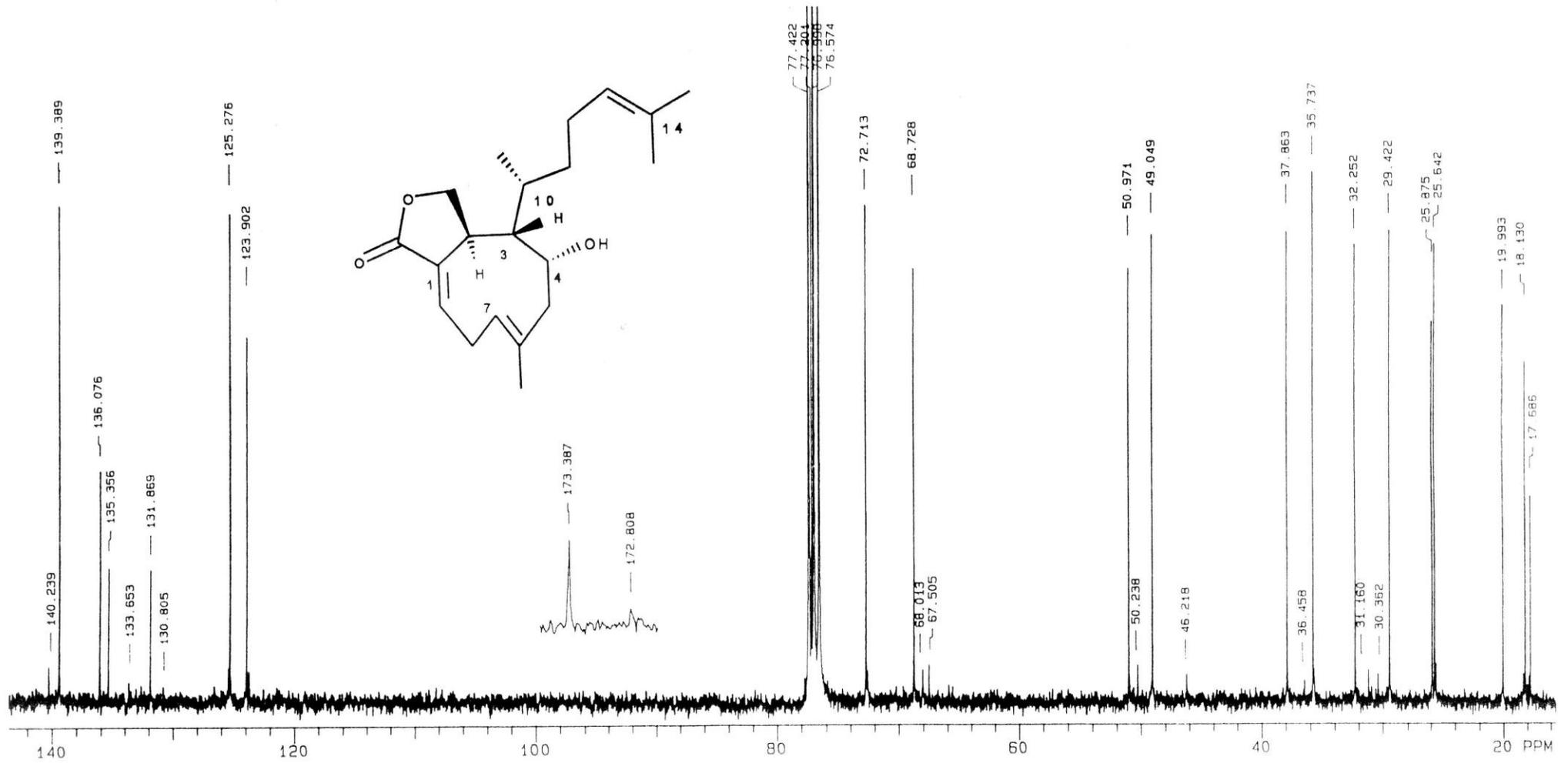


Figure XII
 Spectre de RMN du ^{13}C de l'hydroxydictyolactone (36) (CDCl_3)



Les calculs de mécanique moléculaire (34) ont permis de dégager pour chaque composé 2 conformations de basse énergie : **35a** / **35b** ; **36a** / **36b** en accord avec les différents NOE mesurés et les constantes de couplage.

Les rapports de populations pour les conformères estimés avec ces calculs sont également en accord avec ceux trouvés à partir des spectres de RMN.

Ces calculs fournissent plusieurs informations similaires sur les structures conformationnelles de **35** et **36** :

a) La portion isoprénique fixée à C-3 se met dans une conformation privilégiée présentant un angle dièdre H-C(3)-C(10)-H de l'ordre de 90°, ceci est confirmé par le couplage $J_{3,10}$ pratiquement nul. Ainsi conformément aux résultats de la diffraction aux rayons X de **35** (48), CH₃-17 est orienté vers le côté de la lactone.

b) Les angles dièdres adjacents le long du cycle à 9 chaînons dans le conformère majoritaire **35a** possèdent des signes opposés, par contraste avec les mêmes signes pour les deux couples d'angles dièdres adjacents : C(3)-C(4)-C(5)-C(6)/ C(4)-C(5)-C(6)-C(7) et C(5)-C(6)-C(7)-C(8)/ C(6)-C(7)-C(8)-C(9) dans le conformère minoritaire **35b**.

Partant de l'angle dièdre C(5)-C(6)-C(7)-C(8) et en se déplaçant dans le sens des aiguilles d'une montre, les angles dièdres calculés sont : 162°, -110, 40,2, -89,132, -79,50 -85° pour **35a** et -164°, 60,33, 3, -98,110, -91, 43 et 56° pour **35b**

Ces résultats suggèrent un décalage le long de la totalité du cycle dans le conformère majoritaire **35a**, alors que dans le minoritaire **35b** l'éclipse a lieu surtout dans la région C-4, C-5 et dans une moindre mesure dans la région de C-8.

La diminution des déformations dues à la tension dans le conformère majoritaire de type trans est partiellement compensée d'une part par les facteurs de flexion caractérisés par une moyenne arithmétique des angles de torsion C(5)-C(6)-C(7)-H et C(8)-C(7) - C(6) - CH₃(20) calculée comme étant égale à 10° et 9° pour **35a** et **35b** respectivement et d'autre part par les interactions répulsives transannulaires qui sont plus importantes dans le conformère majoritaire **35a** que dans le minoritaire **35b**. Ceci peut se vérifier par le calcul de certaines distances H,H (Å) :

35a	35b
H-C-3 et H-C-7 : 2,18	H-C-2 et H-C-7 : 2,32
H-C-2 et CH ₃ -20 : 2,62	H-C-3 et CH ₃ -20 : 2,96

2.2.2 Paramètres cinétiques de l'interconversion conformationnelle

Les paramètres cinétiques ont été obtenus à partir d'expériences de RMN du proton dynamique développées dans le $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ entre 20 et 140° C.

Les couplages et les rapports de populations des conformères sont les mêmes dans le CDCl_3 et le $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ bien que ces 2 solvants présentent des polarités différentes. Le DMSO permet de suivre les différents changements du spectre de RMN, de l'interconversion lente au rapide en passant par la coalescence.

Pour chaque expérience, certains signaux ont été simulés à l'aide du programme DNMR5(70) permettant ainsi d'obtenir les constantes de vitesse d'échange. Les paramètres cinétiques sont calculés à partir du graphique d'Eyring($\ln(k/T) = f(1/T)$). Pour **35** et **36**, ΔG^\ddagger est de l'ordre de 20,3 kcal/mole résultant surtout des contributions enthalpiques.

Cette énergie d'activation est essentiellement liée aux déformations dues à la tension et aux interactions répulsives transannulaires dans l'état de transition. A ce niveau l'orientation orthogonale dans le plan moyen du cycle à 9 chaînons de la double liaison (6E) contraint H-C-7 dans une position très proche de H-C-3, ce qui conduit à une importante tension angulaire du système cyclique.

Les barrières d'énergie peuvent être évaluées à partir des calculs de mécanique moléculaire par simulation de l'interconversion conformationnelle à travers le changement simultané de 2 angles dièdres: C(6)-C(7)-C(8)-C(9) (de -110° dans **35a** à +60° dans **35b**, avec des étapes de 10°) et C(5)-C(6)-C(7)-C(8) (de +160° dans **35a** à -160° dans **35b**, avec des étapes de 5°).

Nous pouvons remarquer avec les Tableaux XVII et XVIII ci-dessous que les barrières calculées sont en accord avec les valeurs expérimentales.

TABLEAU XVII

PARAMETRES CINETIQUES ET THERMODYNAMIQUES ETABLIS A PARTIR DE LA RMN A TEMPERATURE VARIABLE

Composés	x _a : x _b	ΔH [‡] (kcal/mole)	ΔS [‡] (cal/mole)	ΔG [‡] (kcal/mole)
35	93 : 7	16,9 ± 0,7	-11,2 ± 2	20,3 ± 0,2
36	94 : 6	--	--	20,3 ± 0,2

▲ x_a et x_b sont déterminées par intégration de certains signaux à température ambiante.

▲ ΔG[‡] est établie à T = 298°K avec un coefficient de transmission χ = 1.

TABLEAU XVIII

PARAMETRES CINETIQUES ET THERMODYNAMIQUES (kcal/mole) OBTENUS A PARTIR DES CALCULS DE MECANIQUE MOLECULAIRE

Composés	ΔE	x _a : x _b	ΔE _{ab} [‡]	ΔE _{ba} [‡]	ΔE [‡]
35	1,30	90 : 10	20,7	19,3	19,4
36	1,71	95 : 5	21,3	19,6	19,7

▲ ΔE représente la différence entre les niveaux d'énergie du conformère majoritaire **a** et minoritaire **b**.

▲ x_a/x_b représente le rapport de population des 2 conformères; x_a est déterminée à 298°K à partir de l'équation : $x_a = (1 + \exp(-\Delta E/RT))^{-1}$

▲ ΔE_{ab}[‡] est la différence d'énergie entre l'état fondamental du conformère **a** et l'état de transition.

▲ ΔE_{ba}[‡] est la différence d'énergie entre l'état de transition et l'état fondamental du conformère **b**.

▲ ΔE[‡] est calculée à partir de la relation: $\Delta E^{\ddagger} = [\Delta E_{ab}^{\ddagger} + \Delta E_{ba}^{\ddagger} - (x_a - x_b) \Delta E] / 2$.

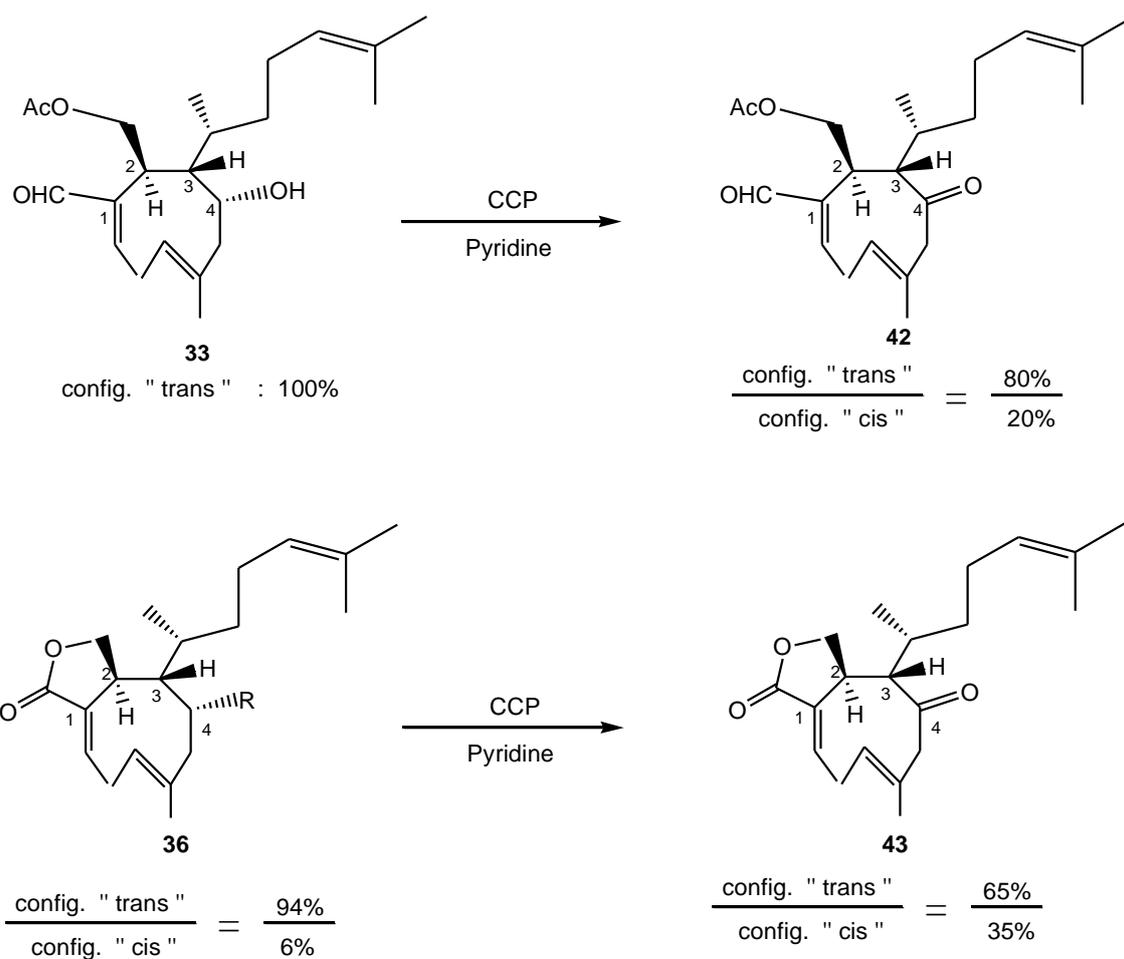
2.3. COMPORTEMENT CONFORMATIONNEL DE L'HYDROXYACETYLDICTYOLAL

L'étude conformationnelle de **35** et **36** a montré que le rapport de populations des conformères est régulé par une fine balance de facteurs structuraux divergents. Le passage d'un xénicane à un autre, impliquant un changement notable de structure, modifie l'influence de ces

facteurs, conduisant ainsi à un déplacement de l'équilibre conformationnel vers l'un ou l'autre conformère de type trans ou cis, selon la nature des interactions prédominantes.

Ainsi, pour le cas du composé **33**, les calculs de mécanique moléculaire suggèrent que lorsque la lactone est ouverte le conformère minoritaire de type cis est défavorisé principalement par les déformations dues à la tension autour de C(4)-C(5). Ce conformère présente une éclipse entre H_β-C(5)/OH-C(4) (30°) et H_β-C(4) / H_β-C(5) (36°). Par contraste, les interactions répulsives transannulaires sont absentes dans le conformère de type trans majoritaire. En conséquence, seul le conformère de type trans avec de fins signaux est détecté en RMN pour le xénicane **33**.

Ces interprétations théoriques liées aux calculs de mécanique moléculaire, ont été confirmées par l'oxydation du carbone 4 de **33** et **36**, qui conduit dans chaque cas à l'observation d'un mélange de 2 conformères où le minoritaire de type cis se présente sous une proportion assez élevée (61).



CONCLUSION

L'étude de l'algue *Dictyota ciliolata* nous a permis d'isoler et d'identifier 13 métabolites secondaires dont 4 qui sont nouveaux. Parmi ces derniers, se distingue la joalin (**40**) qui présente des caractéristiques structurales tout à fait originales avec un nouveau type de structure tricyclique, la fonctionnalisation au carbone 9 et la présence jamais observée auparavant d'un atome d'azote sur un diterpène xénicanique. Nous signalons que les diterpènes d'une manière générale incorporent rarement un atome d'azote, excepté quelques isolés à partir d'éponges marines. Une explication sur l'origine biogénétique de l'azote fut également proposée. La stéréochimie complète a été élucidée grâce à l'examen des couplages, la mesure des effets NOE, l'étude des effets Cotton, ainsi qu'aux calculs de mécanique moléculaire qui ont permis en outre de dégager une conformation de basse énergie pour ce composé.

Les 3 autres nouveaux xénicanes **37**, **38** et **39** ont des structures très peu différentes de composés déjà connus, cependant la stéréochimie a été complètement élucidée. Ainsi la configuration relative des carbones 6 et 7 du composé **37** a été déterminée ; la configuration du carbone 19 de **38** qui n'avait pas été déterminée par les auteurs du composé 4-acétylé (**57a**) a été établie ; la configuration (*6Z*) du composé **39** isomère de l'hydroxyacétyldictyolal (*6E*)- **33** a été établie.

Le dictyolactone (**35**) et l'hydroxydictyolactone (**36**), qui étaient déjà connus sous forme d'un seul conformère, ont été l'objet d'une analyse conformationnelle approfondie. Ceci a permis de mettre en évidence une interconversion conformationnelle lente entre un conformère largement majoritaire et un conformère minoritaire. Pour chaque produit, les 2 conformations de basse énergie ont été dégagées et les paramètres cinétiques et thermodynamiques de l'interconversion déterminés.

Nous avons montré que la formation du conformère minoritaire est inhibée pour les composés comme **33** dont le cycle lactonique est ouvert. Cette inhibition étant principalement due aux déformations dues à la tension autour de C(4)-C(5).

Cette étude conformationnelle est justifiée par l'importance chimique des diterpènes xénicaniques et par leurs activités biologiques qui peuvent conduire éventuellement à des études pharmacodynamiques nécessitant une parfaite connaissance de la géométrie de ces types de composés.

L'ensemble des résultats de cette partie a fait l'objet de 2 publications (61) et (71).

QUATRIEME PARTIE

ETUDE DES METABOLITES SECONDAIRES DE L'ALGUE *HAROLDIOPHYLLUM* SP.

**CHAPITRE I : ISOLEMENT ET IDENTIFICATION DES
METABOLITES SECONDAIRES**

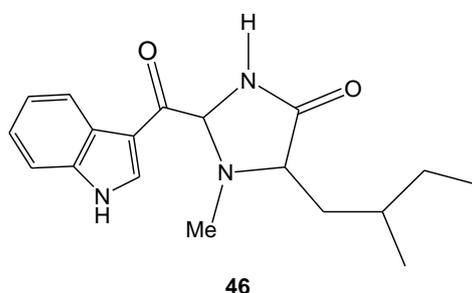
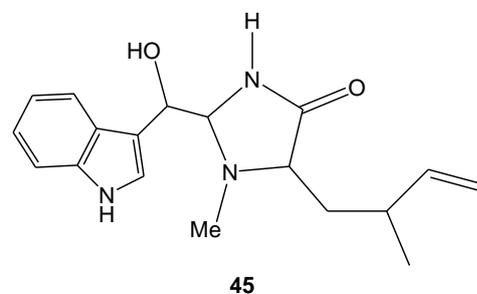
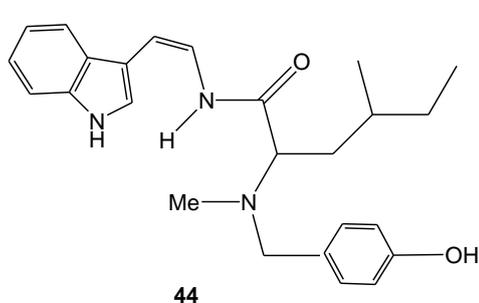
**CHAPITRE III : BIOGENESE DES METABOLITES
SECONDAIRES ISOLES**

INTRODUCTION

Le genre *Haraldiophyllum* (Division Rhodophycées; ordre Cérariales; famille Délesseriaceés) n'a pas fait l'objet d'études chimiques.

Dans le cadre de ce présent travail, nous avons isolé et identifié plusieurs composés dont la majorité sont des alcaloïdes originaux. Ces types de composés très fréquents dans les éponges, ascidies et nudibranches (66) sont parfois rencontrés dans les algues rouges (72).

Parmi les indoles alcaloïdiques d'origine algale, nous pouvons citer la fragilamide (**44**) et les martensines A (**45**), B (**46**) isolés du *Martensia fragelis* qui est également de la famille des Délesseriaceés (72a).



L'identification des différents composés faite avec les méthodes spectroscopiques courantes a été confirmée par la synthèse biomimétique ou la conversion chimique des nouveaux composés.

L'activité cytotoxique et antibactérienne de quelques composés seront évaluées en rapport avec l'activité biologique souvent signalée pour ces types de composés (2a), (72a).

Des schémas de biogénèse seront enfin proposés pour les nouveaux métabolites secondaires dont leur parenté biogénétique est facilement établie. D'autre part l'isolement de molécules indoliques et benzéniques usuelles, permet d'avoir un panorama biogénétique complet.

CHAPITRE I

ISOLEMENT ET IDENTIFICATION DES METABOLITES SECONDAIRES

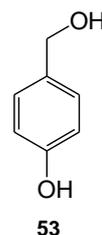
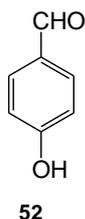
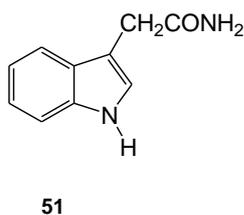
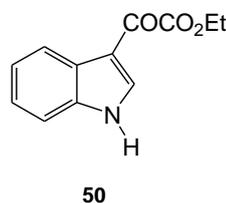
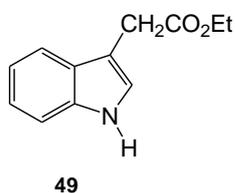
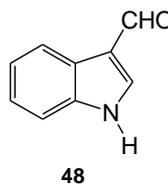
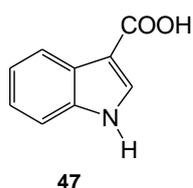
1.1 ISOLEMENT

L'algue *Haradiophyllum* sp. a été récoltée en marée basse aux Almadies. Après homogénéisation dans l'éthanol suivie d'une série d'extraction dans l'hexane et l'acétate d'éthyle, le résidu est soumis à une "flash" chromatographie avec gradient d'éluion.

Les différentes fractions soumises à une série de chromatographies liquides haute performance (HPLC) ont conduit à l'isolement de 15 métabolites secondaires dont 8 nouveaux qui sont tous des dérivés du tryptophane et de la N, N - diméthylphénylalanine.

1.2 IDENTIFICATION DE COMPOSES BENZENIQUES ET INDOLIQUES USUELS

Après analyse des spectres de RMN et de masse, ces composés qui sont de simples molécules indoliques et benzéniques très courantes sont identifiés et possèdent les structures ci-dessous ; la présence du groupement éthyle sur certains composés étant due à une estérification après une longue homogénéisation dans l'éthanol.



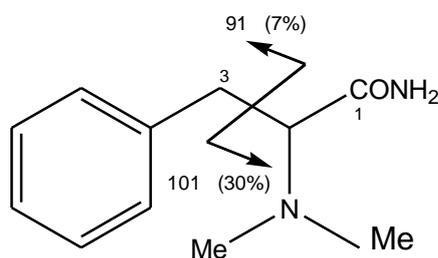
1.3 IDENTIFICATION ET DETERMINATION DE LA CONFIGURATION ABSOLUE DE LA N,N-DIMETHYLPHENYLALANINAMIDE

1.3.1 Analyses spectroscopiques

La structure de ce composé est facilement déduite de l'analyse des spectres de RMN et de masse. En effet, la RMN du proton signale la présence de 5 H à $\delta(7,15 - 7,30 \text{ ppm})$ caractéristiques d'un noyau benzénique monosubstitué ; un singulet intégrant 6 H à $\delta 2,33 \text{ ppm}$ attribuable à un groupement gem-diméthylamino ; deux larges singulets à $\delta 6,32$ et $6,88 \text{ ppm}$ intégrant chacun 1 H ; un système ABX avec une partie AB centrée à $\delta 3,08 \text{ ppm}(\text{dd})$ et une partie X à $\delta 3,30 \text{ ppm}(\text{dd})$, ceci est confirmé par l'irradiation du proton à $\delta 3,30 \text{ ppm}$ qui transforme le système ABX en AB ($J = 13,6\text{Hz}$). Le glissement chimique de ce proton indique que le carbone tertiaire est lié à l'azote du groupement $(\text{CH}_3)_2\text{N}$ alors que les déplacements chimiques des 2 protons de la partie AB indiquent que le méthylène est en position α du benzène monosubstitué.

En RMN du ^{13}C nous remarquons la présence de signaux supportant cet enchaînement structural avec un triplet à $\delta 33,96 \text{ ppm}$, un doublet à $70,74 \text{ ppm}$ et un quadruplet à $\delta 42,07 \text{ ppm}$ attribuables respectivement au carbone tertiaire, au méthylène, et à $(\text{CH}_3)_2\text{N}$. Outre les signaux caractéristiques à la résonance des carbones du phényle, nous remarquons la présence d'un singulet à $\delta 173,48 \text{ ppm}$ attribuable au carbonyle d'une fonction amide.

Le spectre de masse est en accord avec la structure **54** en révélant le pic moléculaire à m/z 192 (0,4 %) alors que le pic de base à m/z 148 provient de la perte du groupement $(\text{CH}_3)_2\text{N}$ ou CONH_2 .

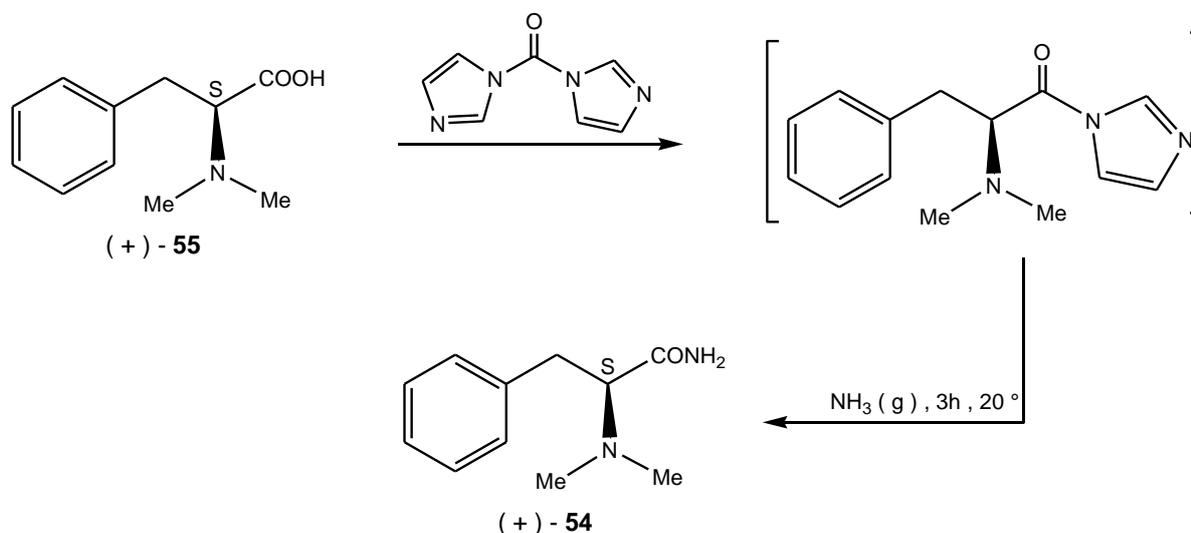


54

La structure de ce nouveau composé a été confirmée par synthèse permettant également de déterminer la configuration absolue.

1.3.2 Synthèse et détermination de la configuration absolue

La synthèse de la N, N- diméthylphénylalaninamide (**54**) est faite à partir de la (*S*)-N, N- diméthylphénylalanine commerciale (**55**). Après avoir essayé sans succès les méthodes classiques dont la fusion à haute température avec l'urée, la fonction amide est formée en utilisant la méthode de couplage avec le N, N'-carbonyldiimidazole (CDI) (73). La réaction, conduite en présence de DMF sec, donne dans un premier temps un acylimidazole, puis sous l'action de NH₃ sec, cet intermédiaire libère le groupement imidazole et donne le composé **54** avec un bon rendement (83 %).



Après isolement du produit, les caractéristiques physiques et spectroscopiques sont parfaitement superposables avec celles du produit naturel. La comparaison du pouvoir rotatoire $[\alpha]_D^{20} = +45,8^\circ$ ($c = 0,6$; CH₃OH) avec celle du produit naturel $[\alpha]_D^{20} = +40^\circ$ ($c = 0,2$; CH₃OH) qui montre qu'une très légère différence en valeur absolue due aux conditions opératoires, mais présentant surtout le même signe, permet d'attribuer la configuration *S* pour le carbone asymétrique du produit naturel **54**

Nous signalons que l'utilisation du CDI n'entraîne pratiquement pas de racémisation (73). Dans ce cas, ceci est vérifié par le fait que l'addition d'un réactif de déplacement chimique chiral [Eu(tfc)₃] à une solution 0,02 M du composé (+)-**54** dans le CDCl₃ provoque le déplacement des signaux correspondants à 2H-C-3 ; H-C-2 et (CH₃)₂N sans dédoublement d'aucun signal. Les données en RMN du proton et carbone 13 sont présentées au Tableau XIX.

TABLEAU XIX
RMN DU PROTON ET CARBONE 13 DU COMPOSE (+)-54

N°	¹ H δ(ppm)(mult.;J(Hz)) (CD ₃) ₂ CO	¹³ C δ(ppm)m (CD ₃) ₂ CO
1	--	173,48 s
2	Partie X du système ABX 3,30 (dd; J _{AX} =8,3; J _{BX} =5,4)	70.74 d
3	Partie AB du système ABX 3A: 3,08(dd; J _{AB} =13,6; J _{AX} =8,3) 3B: 2,83(dd; J _{AB} =13,6; J _{BX} =5,4)	33,96 t
4	--	141,02 s
5	7,15 - 7,30 (m)	130,07 d
6	7,15 - 7,30 (m)	128,85 d
7	7,15 - 7,30 (m)	126,56 d
8	7,15 - 7,30 (m)	128,85 d
9	7,15 - 7,30 (m)	130.07 d
NMe ₂	2,33 (s)	42,07 q

6,88 et 6,32 ppm:2 larges singulets (NH₂CO)

[α]_D²⁰ = +40° (c = 0,20; CH₃OH)

UV(CH₃OH) , λ_{max} nm (ε) : 205 (10400)

SM-IE (m/z (%)): 192 (0,4; M⁺); 148 (100, [M-CONH₂]⁺); 133 (18, [M-CONH₂-CH₃]⁺); 101 (30,[M-C₇H₇]⁺); 91 (7, [C₇H₇]⁺).

1.4. IDENTIFICATION DES ALCALOÏDES ALMAZOLE A ET ALMAZOLE B

1.4.1 Analyses spectroscopiques

Ces composés sont nommés almazole en rapport avec le lieu de récolte de l'algue (Almadies).

L'almazole A (**56**) possède la formule brute $C_{21}H_{21}N_3O_3$ déduite de l'analyse du spectre de RMN du carbone 13 et des résultats de la spectrométrie de masse. Le SM-IE donne le pic à m/z 364 (0,2 %; $[M+H]^+$) sous une très faible proportion, alors que le pic de base à m/z 272 correspond à la perte de l'ion tropylium ($(C_7H_7)^+$) par l'ion moléculaire. Le pic correspondant à l'ion $(M+H)^+$ est plus intense après enregistrement d'un SM-FAB où l'alcool 3-nitrobenzylique "3-NOBA" est utilisé comme matrice. Le SM-HR-IE fait sur le fragment à m/z 272 correspondant à la perte de l'ion tropylium donne:

$$m/z \text{ trouvé} = 272,1036 ; \text{ calculé } (C_{14}H_{14}N_3O_3) = 272,1035$$

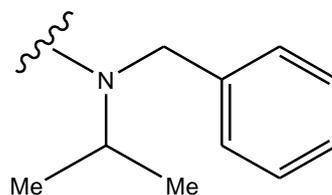
L'examen des spectres de RMN révèle la présence sur ce composé d'un benzène monosubstitué et d'un autre ortho-disubstitué. Ces portions ont été élucidées par des expériences de découplages différentiels de spins (62), COSY 120 (64a), HMQC(74) et HMBC (75).

Le benzène monosubstitué qui se manifeste en RMN du 1H par un multiplet intégrant 5H et résonant entre 7,15 - 7,20 ppm est associé à une portion dérivée de la N, N-diméthylphénylalanine (Fragment A). En effet, le spectre de RMN du proton signale la présence d'un système ABX avec une partie AB centrée à δ 3,35 ppm (dd) et 3,22 ppm (dd) et une partie X à δ 4,15 ppm(dd). Ceci est confirmé par l'irradiation du proton à δ 4,15 ppm qui transforme le système ABX en AB($J= 13,4$ Hz).

Nous remarquons d'une part l'hétérocorrélation longue distance entre un carbone à δ 64,56 ppm(d) attribuable au carbone tertiaire de cette portion avec les 2 protons résonant à δ 3,35 - 3,22 ppm et avec un singulet intégrant 6 H à δ 2,39 ppm attribuable au groupement gem-diméthylamino; d'autre part l'hétérocorrélation longue distance d'un carbone à δ 36,82 ppm (t) attribuable au méthylène du système AB avec le proton X résonant à δ 4,15 ppm, le singulet à δ 2,39 ppm et un signal de la zone aromatique à δ 7,15 ppm correspondant très certainement aux 2

protons ortho du noyau benzénique.

D'autres hétérocorrélations confirment la présence de la portion dérivée de la N,N-diméthylphénylalanine (Voir tableau XX).



Fragment A

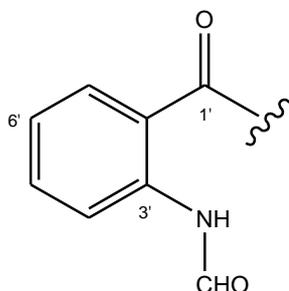
L'ortho-disubstitution de l'autre noyau benzénique est supportée par la nature du couplage des différents protons. Ainsi, nous remarquons la résonance de deux protons présentant chacun un couplage ortho et méta : δ 8,63 ppm (dd ; 8,6 ; 1,1), δ 7,77 ppm (dd; 8,0 ; 1,7) et deux autres présentant chacun 2 couplages ortho et un couplage méta : δ 7,61 ppm (ddd ; 8,6 ; 7,0 ; 1,7), δ 7,20 ppm (ddd ; 8,0 ; 7,0 ; 1,1). La présence d'un groupement formyle NH-CHO est supportée par la présence de signaux caractéristiques à ce groupement ($\delta_C = 159,47$ (d), $J_{C-H} = 180$ Hz ; $\delta_H = 8,45$ (d) , $J = 1,8$; $\delta_H = 10,42$ (s(l),NH). L'irradiation du large singulet à δ 10,42 ppm qui transforme le signal à δ 8,45 ppm (d) en un singulet permet de confirmer l'attribution de ce signal au NH. Nous signalons que l'hétérocorrélation entre le proton à δ 8,45 ppm et la carbone à δ 159,47 ppm a été observée.

Au niveau de la région aromatique, nous remarquons la présence de signaux qui pourrait être attribuée à un équilibre lent entre deux conformères sous le rapport 85 : 15 évalué par intégration. La présence de ces deux conformères serait due à une rotation lente autour de la liaison N-CHO. Elle est confirmée par l'observation d'un "cross saturation transfer" de 80 % sur H-C-4' (8,63 ppm (dd)) du conformère majoritaire **56a** après irradiation du signal à δ 7,41 ppm (dd) correspondant à H-C-4' du conformère minoritaire **56b** (69). L'étude conformationnelle détaillée sera développée au paragraphe 1.4.2.

Le lien entre le groupement NH-CHO et le noyau benzénique est supporté par l'hétérocouplage longue distance entre le proton de CHO ($\delta_H = 8,45$ ppm) avec le carbone C-3'(s) à $\delta_C = 138,88$ ppm. NH-CHO est donc en position ortho par rapport à un groupement COR ($\delta_C = 183,12$ ppm(s)) dont le lien avec le noyau benzénique est supporté par l'hétérocouplage longue distance avec H-C-7' ($\delta_H = 7,77$ ppm (dd ; 8,0 ; 1,7)). Conséquemment, le signal à δ 8,63 ppm (dd ; 8,6 ; 1,1) ne peut être que H-C-4'.

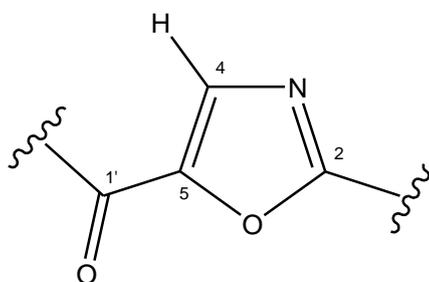
Enfin par comparaison des couplages des 2 protons (ddd) avec ceux de H-C-7' et H-C-4',

nous pouvons attribuer le signal à δ 7,61 ppm (ddd, 8,6; 7,0; 1,7) au proton H-C-5' alors que le signal à δ 7,20 ppm (ddd; 8,0; 7,0; 1,1) peut être attribué au proton H-C-6'. Ces attributions sont en accord avec les hétérocouplages longue distance observés (voir Tableau XX). L'ensemble de ces données confirme la présence du fragment B :

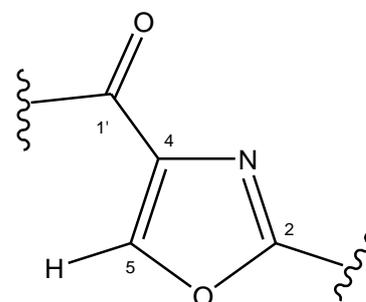


Fragment B

En dehors des signaux propres aux deux fragments que nous venons de décrire, le spectre de RMN du ^{13}C présente 3 signaux à δ 167,22 (s), 148,94 (s) et 136,79(d; $J_{\text{C-H}} = 200$ Hz) alors que la RMN du ^1H présente seulement 1 signal à δ 7,68 ppm (s). L'hétérocorrélation longue distance entre d'une part le carbone à δ 167,22 ppm et les protons à δ 4,15; 3,35; 3,22; et 2,39 ppm du fragment A, et d'autre part le carbone à δ 148,94 ppm et le proton à 7,68 indique, en rapport avec la formule brute de ce composé, que le fragment C intermédiaire est un oxazole disubstitué en position 2 par un alkyle et en position 5 par un acyle.



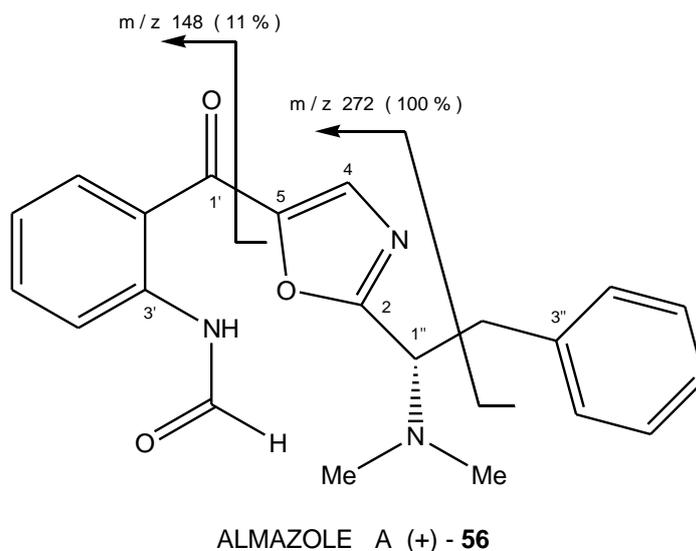
Fragment C



Fragment C'

Une disubstitution en position 2,4 (Fragment C') pourrait être envisagée, cependant les déplacements chimiques observés en RMN contrastent nettement avec ceux des oxazoles 2,4-disubstitués beaucoup plus décrits (76) et permettent après analyse de confirmer que l'oxazole est disubstitué en position 2,5. En effet, dans le cas d'une disubstitution 2-alkyle, 4-acyle, le proton de l'oxazole résonne toujours entre 8,0 et 8,2 ppm (76a) montrant ainsi un déblindage de 0,5 ppm environ par rapport à celui de l'almazole. Cette différence est également observée entre $\delta(\text{H-C-4})$ et $\delta(\text{H-C-5})$ des classiques oxazoles monosubstitués en 2. La liaison C(1')-C-(5) du fragment C

est également en accord avec le déplacement chimique $\delta_c = 148,94$ ppm(s) observé pour C-5 ; dans le cas du fragment C', le carbone singulet C-4 correspondant résonne avec un blindage de l'ordre de 10 ppm (76). La jonction des 3 fragments conduit à l'almazole A (**56**). Cette structure est en accord avec les fragmentations observées sur le spectre de masse où le pic de base à m/z 272 dérive de la perte du groupement benzylique par l'ion moléculaire alors que le pic à m/z 148 dérive de la rupture de la liaison C(1')-C(5).



Au point de vue stéréochimique, le carbone 1'' issu du fragment A qui est biogénétiquement lié à la N, N-diméthylphénylalaninamide (**54**) possède en rapport avec le carbone asymétrique de ce dernier la configuration absolue *S*.

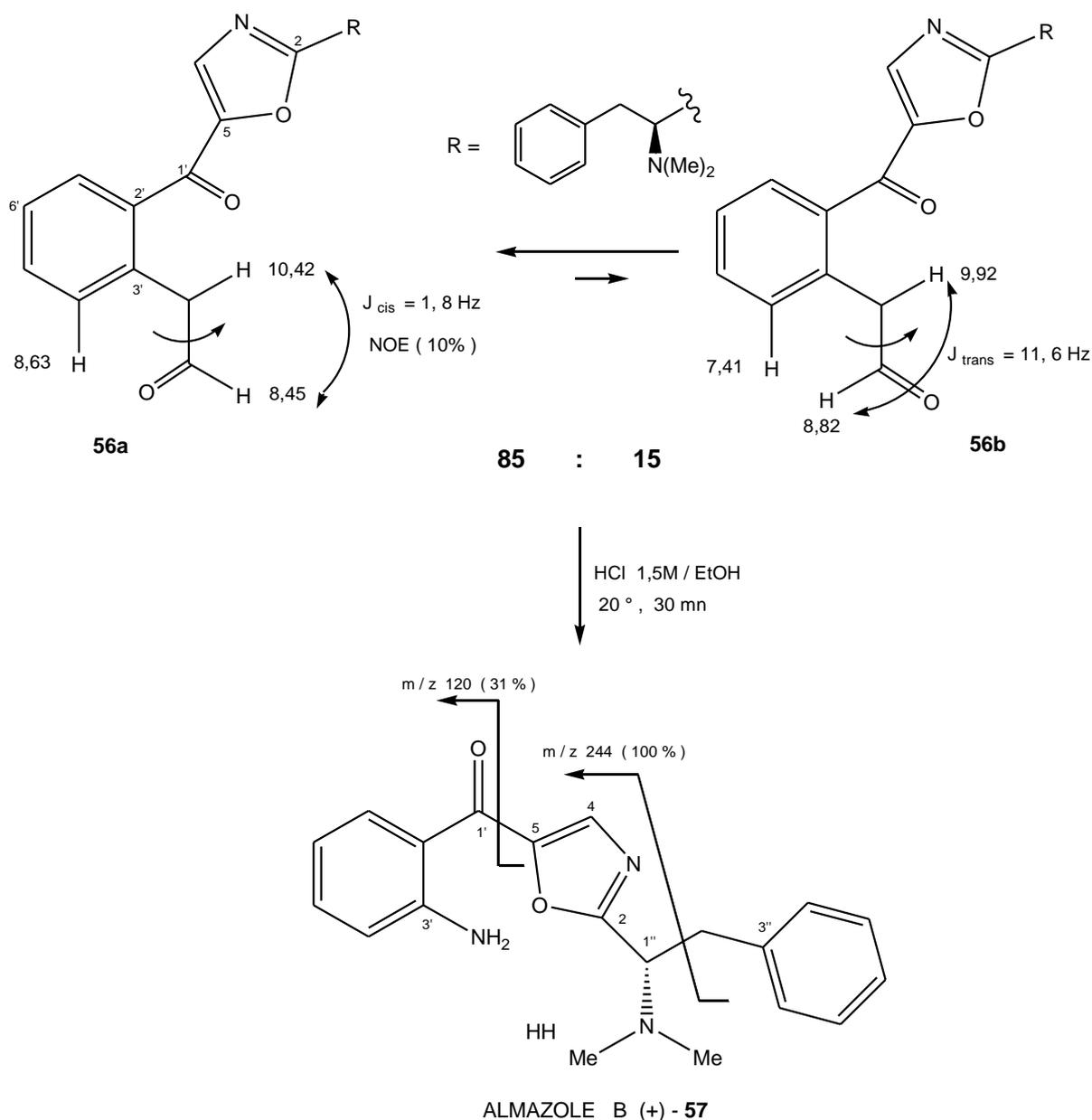
Au niveau du groupement NH-CHO, les constantes de couplage observées ($J_{\text{CHO-NH}} = 1,8$ Hz) pour le conformère majoritaire **56a** et 11,6Hz pour le conformère minoritaire **56b**, permettent d'attribuer la conformation de type *Z* à **56a** et la conformation de type *E* à **56b**. Ceci est confirmé par l'effet NOE (10 %) mesuré entre les protons de CHO et NH du conformère majoritaire **56a**.

Par comparaison avec les spectres de RMN de l'almazole A (**56**), nous remarquons que les spectres de l'almazole B (**57**) indiquent la présence des signaux caractéristiques de l'oxazole disubstitué en 2,5 et de la portion dérivée de la N, N-diméthylphénylalanine; par contre nous constatons l'absence du groupement formyle (NH-CHO). Cette disparition entraîne l'apparition

de nouveaux signaux. Ainsi, nous remarquons un large singulet intégrant 2H à δ 6,00 ppm attribuable au NH₂. La présence et la position de ce groupement sur le noyau benzénique disubstitué sont établies par l'apparition d'un nouveau signal à δ 6,71 ppm (dd ; 8,1 ; 0,7) attribuable au proton en position ortho du NH₂ (H-C-4') et d'un autre à δ 6,67 ppm (td ; 7,5 ; 0,7) attribuable au proton para du NH₂ (H-C-6'). Cette portion se présente donc comme l'aniline orthosubstitué par un groupement COR. Ceci se manifeste avec la coloration jaune de ce produit par rapport avec l'almazone A (**56**) qui est incolore. La structure de **57** présentée ci-dessus est supportée par les fragmentations observées sur le spectre de masse où le pic de base à m/z 244 dérive de la perte du groupement benzylique par l'ion moléculaire alors que le pic à m/z 120, dérive de la rupture de la liaison C (1')-C(5). Ce composé présente pratiquement les mêmes types de fragmentations que l'almazone A (**56**). Ainsi nous observons pour les principaux ions une différence de 28 unités de masse en moins due à la différence entre NHCHO et NH₂.

La confirmation chimique de la structure de l'almazone B (**57**) vient de la conversion de l'almazone A en Almazone B par hydrolyse acide avec HCl/EtOH (77). Le produit obtenu présente des caractéristiques optiques et spectroscopiques identiques à ceux de l'almazone B (**57**) naturel (voir schéma ci-dessous).

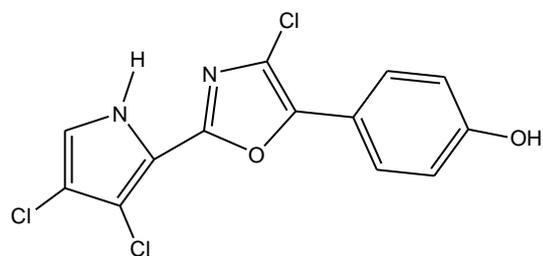
Nous signalons que ces deux composés présentent une très forte fluorescence liée très certainement à la présence de l'oxazole disubstitué en 2,5. Les propriétés fluorescentes des oxazoles 2,5 - disubstitués et leurs nombreuses applications industrielles ont été décrites (78).



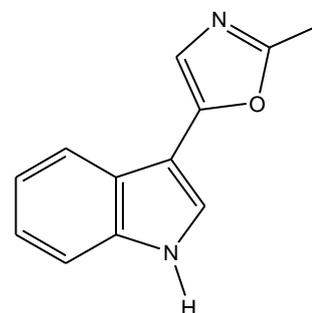
L'almazone A et B sont des alcaloïdes originaux présentant un nouveau type de squelette. Elles représentent les premiers cas d'oxazoles d'origine algale qui par surcroît sont du type disubstitué en 2,5 beaucoup plus rares en nature.

En effet, dans les produits naturels d'origine marine ou terrestre incorporant un oxazole, la disubstitution en position 2,4 est la plus courante(79). Les oxazoles 2,4 - disubstitués d'origine marine sont généralement isolés d'éponges, d'ascidies, et de nudibranches. Les rares cas d'oxazoles 2,5 - disubstitués d'origine marine que nous avons rencontrés sont les peptides cycliques : diazonamides A et B isolés d'une ascidie (80) ; phorbazoles A-D qui sont des

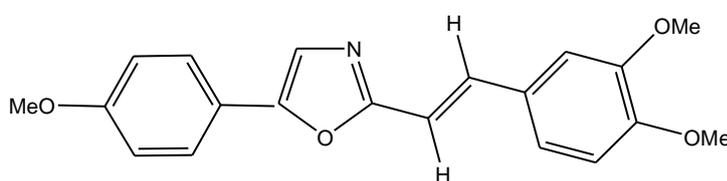
phénylpyrrolyloxazoles isolés d'une éponge (81). Même au niveau terrestre, les oxazoles 2,5 - disubstitués sont rares, la pimprinine isolée de l'actinobactérie *Streptomyces pimprina* (82) et l'annuloline isolé d'une espèce de seigle (*Lolium multiflorum*) (83) étant les seuls cas que nous avons rencontrés.



58 Phorbazole A



59 Pimprinine



60 Annuloline

Les données en RMN du ^1H et ^{13}C des almazoles A et B sont présentées respectivement aux Tableaux XX et XXI. Les Figures XIII et XIV représentent respectivement le spectre de RMN du ^1H et celui des hétérocorrélations longue distance par "inverse détection" de l'almazole A.

1.4.2. Etude de l'équilibre conformationnel de l'almazole A

L'équilibre conformationnel de l'almazole A a été étudié à l'aide d'une expérience de RMN à température variable développée dans le DMSO (d_6). En passant du CDCl_3 au DMSO (d_6), les déplacements chimiques changent, cependant les couplages et le rapport de population restent les mêmes. Le DMSO (d_6) permet ainsi d'étudier l'évolution des signaux correspondants à CHO(d) et H-C-4' (dd) des 2 conformères **56a** et **56b** de 20°C (échange lent) à 118°C (échange rapide) en passant par la coalescence. Ceci est représenté sur la gauche de la Figure XV. Sur la droite de cette figure est représentée ces mêmes signaux simulés avec le programme DNMR5 (70). Nous pouvons ainsi observer la coalescence des signaux correspondants à CHO du conformère majoritaire **56a** (δ 8,20 ppm(d)) et du conformère minoritaire **56b** (δ 8,64 ppm(d)) à

une température de l'ordre de 75°C (348°K); pour H-C-4', nous avons seulement présenté le signal du conformère majoritaire **56a** (δ 7,92 ppm(dd) car le signal correspondant sur le conformère minoritaire (δ 7,54 ppm(dd) est partiellement couvert par d'autres signaux.

La simulation obtenue avec le programme DNMR 5 (70) a permis de déterminer les constantes de vitesse d'échange selon le 1er ordre. Celles-ci sont présentées sur chaque spectre correspondant. Les paramètres cinétiques sont calculés à partir du graphique d'Eyring ($\ln k/T$) = $f(1/T)$.

La barrière d'énergie pour la rotation autour de la liaison N-CHO ($\Delta G^\ddagger=16,1$ kcal/mole) est significativement plus basse que celles généralement observées pour les amides N, N-disubstitués (19-21 kcal/mole), cependant une confrontation avec les formamides N-monosubstitués n'a pas été possible en raison de la rareté des travaux concernant les barrières de rotation de ces types de composés (84).

Almazole A (+) - **56**

- $[\alpha]_D^{20}=+103^\circ$ (c = 0,155; CH₃OH)
- Dichroïsme circulaire (CH₃OH): $\Delta\epsilon_{\max}(261 \text{ nm})=+2,5$; (217 nm)=+4,9
- UV (CH₃OH), λ_{\max} nm (ϵ): 204 (36700); 237 (26400); 278 (18200); 320 (6000)
- SM-IE (m/z (%)) : 364(0,2 ; [M+H]⁺) ; 272 (100), [M-C₇H₇]⁺; 244 (12,[272-CO]⁺); 148 (11, [C₆H₄(CO)(NHCHO)]⁺)
- SM-FAB (Argon, alcool 3 -nitrobenzylique)(m/z(%)) : 364(14) ; 336(2,[M-CO+H]⁺)

Almazole B (+) - **57**

- $[\alpha]_D^{20}=+92^\circ$ (c = 0,05; CH₃OH)
- Dichroïsme circulaire (CH₃OH) : $\Delta\epsilon_{\max}(255 \text{ nm})=+2,0$; (218 nm)=+3,8
- UV (CH₃OH), λ_{\max} nm (ϵ): 203 (40320); 234 (22600); 260 (16500); 396 (6300)
- SM-IE (m/z(%)) : 291(0,3; [M-NMe₂]⁺) ; 244 (100, [M-C₇H₇]⁺); 120 (31, [C₆H₄(CO)(NH₂)]⁺)
- SM-HR-IE fait sur le fragment à m/z 244 :
trouvé = 244,1085; calculé (C₁₃H₁₄N₃O₂) = 244,1086
- SM- FAB (Argon, alcool 3 - nitrobenzylique (m/z(%)) : 336(6, [M+H]⁺)

TABLEAU XX
RMN DU PROTON ET CARBONE 13 DE L'ALMAZOLE A (+)- 56

56a					56b
N°	¹ H δ(ppm)(mult.;J(Hz)); CDCl ₃	Couplage longue distance ¹³ C- ¹ H CDCl ₃	¹³ C δ(ppm)m; CDCl ₃	¹ H δ(ppm)* DMSOd ₆	¹ H δ(ppm)(mult.; J(Hz)); CDCl ₃
2	--	7,68;4,15;3,35;3,22;2,39	167,22 (s)	--	--
4	7,68 (s)	4,15	136,79 (d)	7,83	**
5	--	7,68	148,94 (s)	--	--
1'	--	7,77	183,12 (s)	--	--
2'	--	8,63	122,77 (s)	--	--
3'	--	8,45;7,77;7,61	138,88 (s)	--	--
4'	8,63 (dd;8,6;1,1)	7,20	122,37 (d)	7,92	7,41(d(l);8,6)
5'	7,61 (ddd;8,6;7,0;1,7)	7,77	134,87 (d)	7,62	7,59(t(l);7,5)
6'	7,20(ddd;8,0;7,0;1,1)	8,63	123,38 (d)	7,29	**
7'	7,77 (dd;8,0;1,7)	7,61	130,94 (d)	7,63	7,73(d(l);8,0)
1''	4,15 (dd;9,6;5,8)	7,68;3,35;3,22;2,39	64,56 (d)	4,17	**
2''	3,35 (dd;13,4;9,6) 3,22 (dd;13,4;5,8)	7,15;4,15;2,39	36,82 (t)	3,21 3,14	**
3''	--	7,20;4,15;3,35;3,22	137,52 (s)	--	--
4''-8''	7,15-7,20 (m)	3,35;3,22	128,50 (d)	7,15-7,25	**
5''-7''	7,15-7,20 (m)	7,15-7,20	129,02(d)	7,15-7,25	**
6''	7,15-7,20 (m)	7,15	126,66 (d)	7,15-7,25	**
CHO	8,45 (d;1,8)	--	159,47 (d)	8,20	8,82(d;11,6)
NH	10,42(s(l))	--	--	10,27	9,92(d(l);11,6)
NMe ₂	2,39 (s)	4,15;3,35;3,22	41,70 (q)	2,26	**

* δ (ppm) (DMSOd₆) pour **56b** :7,88 (H-4);7,54 (H-4'); 7,60 (H-5'); 7,61 (H-7'); 8,64 (CHO);9,98NH

** Ces signaux sont superposables à ceux de **56a**.

Figure XIII
Spectre de RMN du ^1H de l'almazone A (CDCl_3)

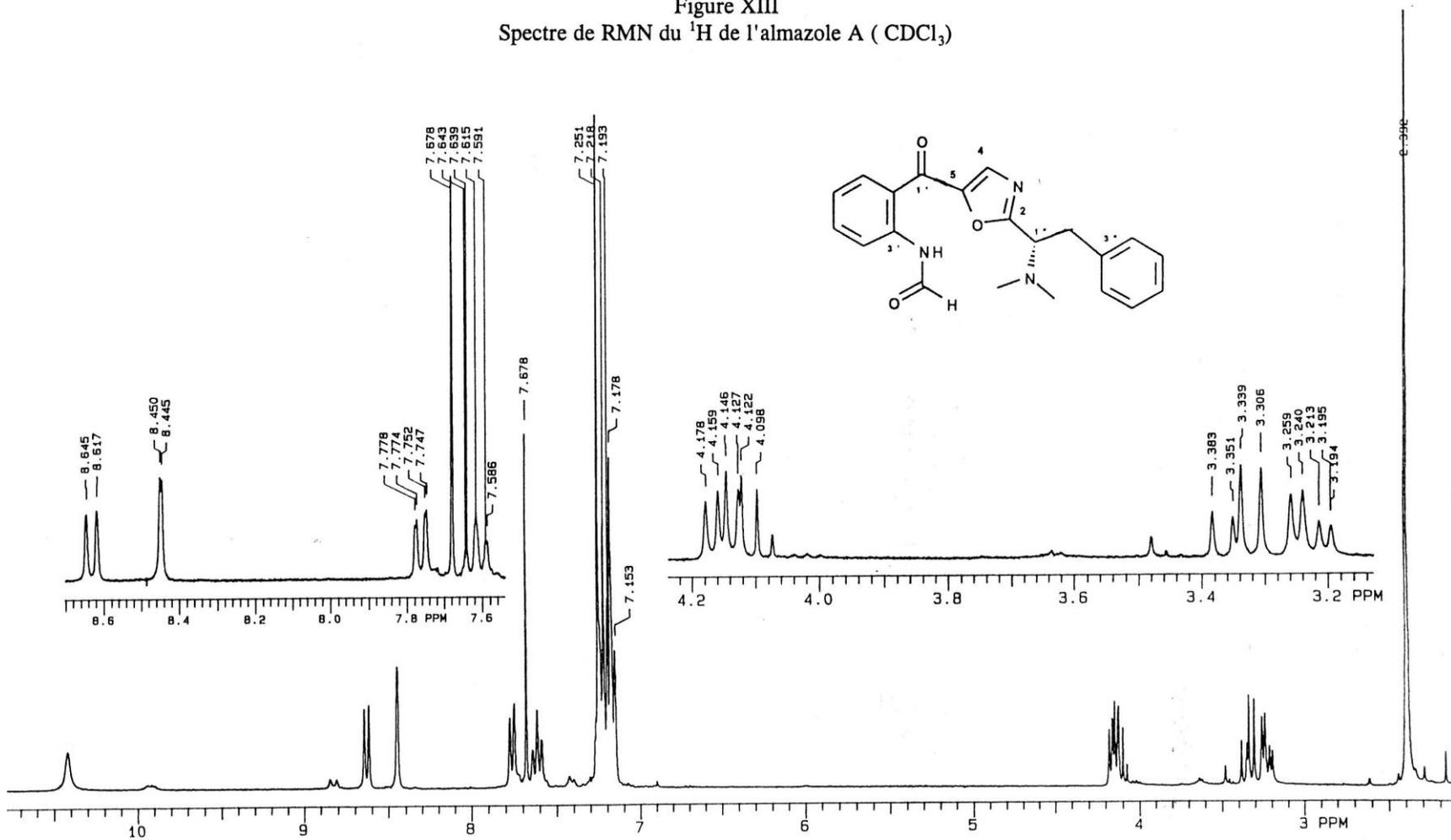


Figure XIV
Spectre de RMN des hétérocorrélations longue distance (HMBC) de l'alazole A (CDCl₃)

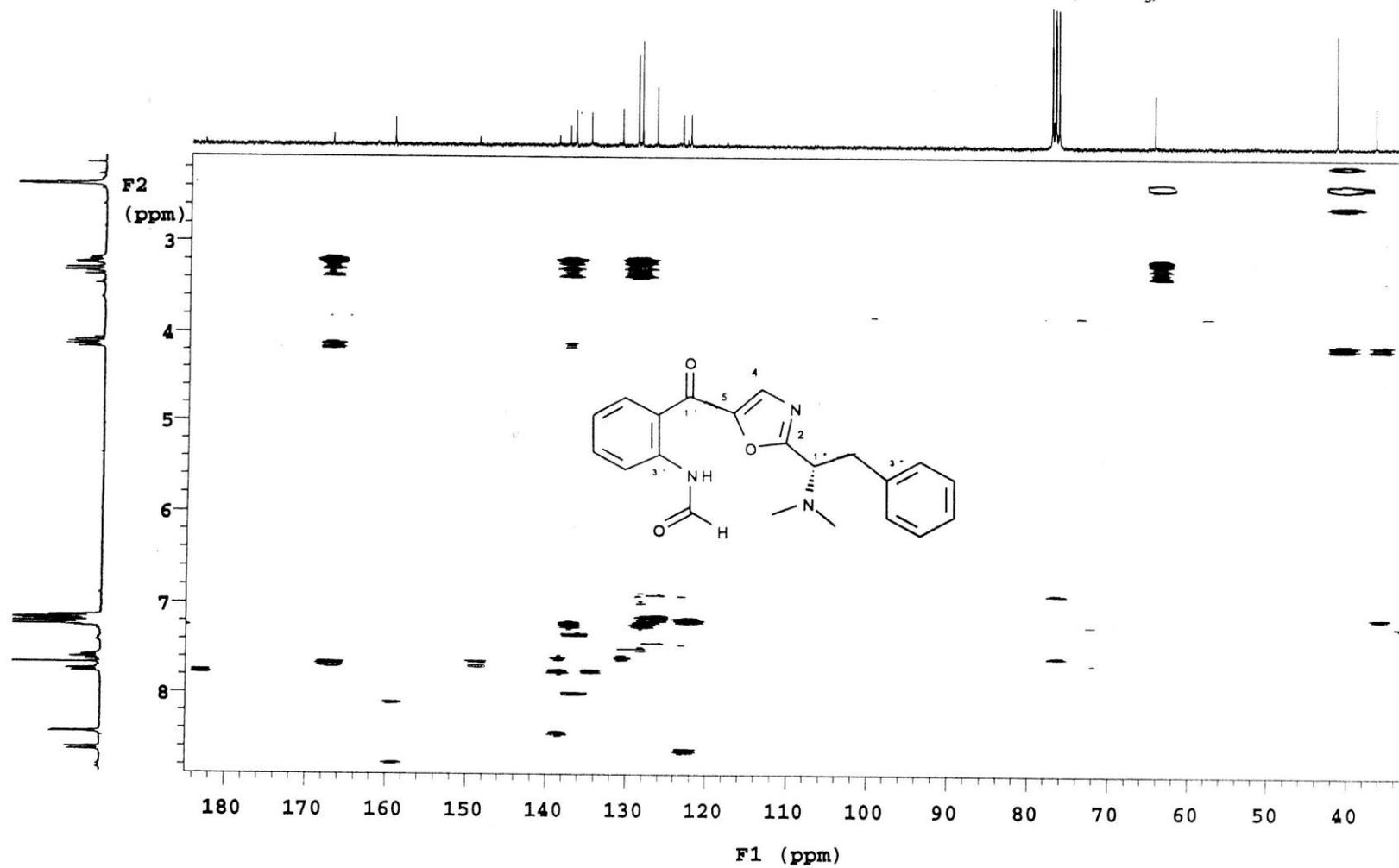
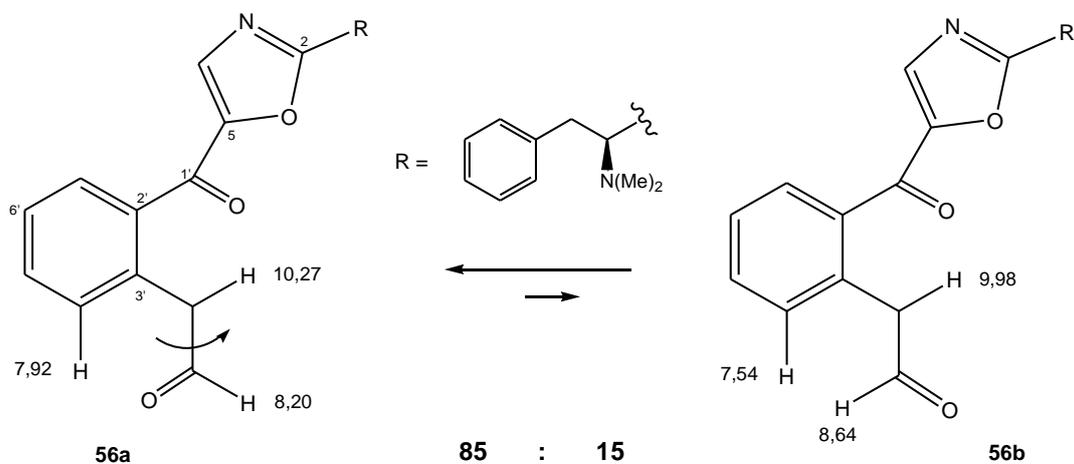


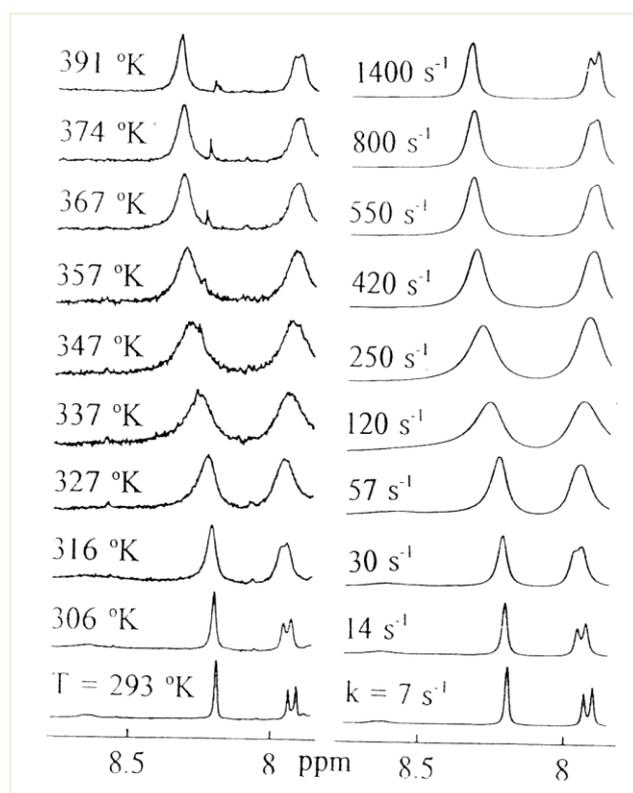
Figure XV



$$\Delta G^\ddagger = 16,1 \pm 0,2 \text{ Kcal / mole}$$

$$\Delta H^\ddagger = 12,3 \pm 0,5 \text{ Kcal / mole}$$

$$\Delta S^\ddagger = -12,8 \pm 0,2 \text{ cal / mole } ^\circ\text{K}$$



Evolution des signaux (CHO et H-C-4') de 56a et 56b en fonction de la température.

Spectre expérimental à gauche ($(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) et simulé à droite.

TABLEAU XXI
RMN DU PROTON ET CARBONE 13 DE L'ALMAZOLE B (+)-57

N°	¹ H δ(ppm)(mult.;J(Hz)) CDCl ₃	¹³ C δ(ppm)m CDCl ₃
2	--	165,60 s
4	7,62 (s)	134,18 d
5	--	150,74 s
1'	--	non détecté
2'	--	117,49 s
3'	--	137,75 s
4'	6,71 (dd; 8,1; 0,7)	117,18 d
5'	7,31 (ddd; 8,1; 7,5; 1,5)	134,74 d
6'	6,67 (td; 7,5; 0,7)	116,19 d
7'	7,71 (dd; 7,5; 1,5)	131,62 d
1''	4,15 (dd; 9,6; 5,7)	64,42d
2''	3,34 (dd; 13,5; 9,6)	36,97 t
3''	--	non détecté
4''-8''	7,15-7,20 (m)	128,45 d
5''-7''	7,15-7,20 (m)	129,02d
6''	7,15-7,20 (m)	126,55d
NH ₂	6,00 (s(l))	--
NMe ₂	2,38(s)	41,69 q

1.5. IDENTIFICATION DE L'ALCALOÏDE INDOLIQUE ALMAZOLE C ET DE SON PRECURSEUR PREALMAZOLE C

1.5.1 Analyses spectroscopiques

L'almazone C possède la formule brute $C_{21}H_{21}N_3O$ établie après analyse du spectre de RMN du ^{13}C et de la spectroscopie de masse.

- Le SM-IE donne les résultats suivants: $m/z(\%)$: 330(0,4; $[M-H]^+$); 287(1,1; $[M-NMe_2]^+$); 240(100; $[M-C_7H_7]^+$); 199(4); 197(3); 155(9); 144(6); 120(5)

- Le spectre FAB (3-NOBA) signale particulièrement l'ion $(M+H)^+$ non observé sur l'impact électronique : $m/z(\%)$: 332(14, $[M+H]^+$); 287(12, $[M-Me_2N]^+$); 240(95, $[M-C_7H_7]^+$).

- Le SM-HR-IE fait sur les fragments à m/z 330, 287 et 240 correspondant respectivement à l'ion $(M-H)^+$ et aux ions obtenus après la perte des groupements NMe_2 et $C_6H_5-CH_2$ par l'ion moléculaire donne :

m/z trouvé	calculé
330,1608;	$(C_{21}H_{20}N_3O)$: 330,1603
287,1178 ;	$(C_{19}H_{15}N_2O)$: 287,1184
240,1138 ;	$(C_{14}H_{14}N_3O)$: 240,1150

Outre les résultats de la masse et de la RMN, la structure de ce composé a été élucidée à l'aide d'expériences de découplages différentiels de spins (62), la détection des hétérocorrélations longue distance (HMBC) (65) et la mesure de certains effets NOE. Après examen des spectres de RMN du 1H et ^{13}C et par comparaison avec ceux de l'almazone A et B, nous remarquons la présence des signaux correspondants au fragment A de l'almazone A et à l'oxazole 2,5-disubstitué. En effet, le spectre de RMN du 1H signale en plus de 5 H du benzène monosubstitué, la présence d'un système ABX avec une partie AB centrée à δ 3,40 ppm (dd); 3,22 ppm (dd) et une partie X à δ 4,11 ppm (dd). Ceci est confirmé par l'irradiation du proton X qui transforme le système ABX en AB ($J = 13,3$ Hz). Nous signalons aussi l'hétérocorrélation longue distance entre le proton X à δ 4,11 ppm avec les carbones à δ 37,39 (t) et δ 41,83 (q) attribuables respectivement au méthylène et au groupement $(CH_3)_2N$. Le lien du méthylène avec le noyau benzénique est confirmé par l'hétérocorrélation longue distance entre les 2 protons du système

AB avec un singulet à δ 139,92 ppm et un signal à δ 129,96 ppm correspondant respectivement aux carbones C-3" et (C-4", C-8").

La présence de l'oxazole 2,5-disubstitué est supportée par la présence sur le spectre de RMN du ^1H du singulet (H-C-4') à δ 7,30 ppm et par le spectre de ^{13}C qui révèle la présence des signaux caractéristiques déjà observés lors de l'étude de l'almazole A et B: 160,68 ppm (s, C-2'); 148,84 ppm(s, C-5') et le doublet à δ 119,86 ppm (C-4').

Par rapport à l'almazole A, il faut signaler le blindage de ces signaux lié sans doute à la différence structurale du fragment fixé sur C-5'.

Les attributions liées à l'oxazole 2,5 - disubstitué sont confirmées sans équivoque par les différents couplages ^{13}C - ^1H observés:

$$^1\text{J}(\text{C-4}', \text{H-C-4}') = 193 \text{ Hz.}$$

$$^2\text{J}(\text{C-5}', \text{H-C-4}') = 18,7 \text{ Hz.}$$

Dans le cas d'un oxazole 2,4 - disubstitué, ces mêmes couplages auraient sensiblement varié (76b) :

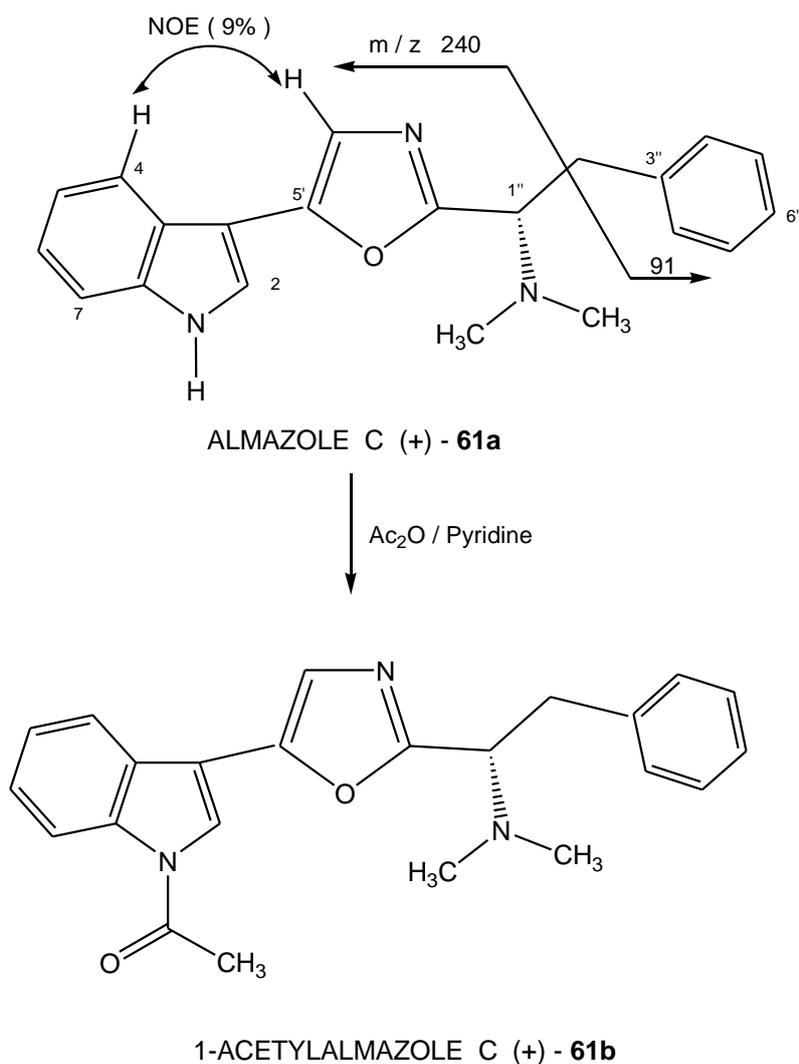
$$^1\text{J}(\text{C-4}', \text{H-C-4}') = 206-209 \text{ Hz}$$

$$^2\text{J}(\text{C-5}', \text{H-C-4}') = 14-15 \text{ Hz}$$

La jonction de l'oxazole avec le fragment A est supportée par l'hétérocorrélation longue distance entre le carbone C-2' de l'oxazole à δ 160,68 ppm(s) et les protons à δ 4,11; 3,40 et 3,22 ppm du système ABX.

La portion restante de l'almazole C est un indole 3-substitué. En effet, mis à part les signaux propres à l'oxazole et à la portion dérivée de la N, N-diméthylphénylalanine, les spectres de RMN du ^1H et ^{13}C présentent les classiques signaux d'un indole 3-substitué dont le singulet à δ 105,72 ppm(C-3) et le doublet à δ 112,71 ppm (C-7) très caractéristiques pour ce genre de structure. La présence de l'indole est confirmée par la N-acétylation de l'almazole C **61a** par l'anhydride acétique en présence de pyridine.

La jonction de C-5' de l'oxazole et le carbone 3 de l'indole, supportée par l'hétérocorrélation longue distance entre C-5' et H-C-2 de l'indole conduit à l'almazole C (**61a**) dont la structure sera également confirmée par synthèse (Voir 1.5.2).



(La numération de ces composés de même que celles qui suivront ont été adoptées pour des raisons de commodités).

L'effet NOE (9%) mesuré entre H-C-4 et H-C-4' et l'absence de NOE entre H-C-2 et H-C-4' suggèrent que la structure de **61a** ci-dessus présentée est dans sa conformation privilégiée. Comme pour l'almazone A et B, le carbone 1'' qui est biogénétiquement lié au carbone asymétrique de la N, N - diméthylphénylalaninamide (**54**) est donc de configuration *S*.

L'almazone C présente une très forte fluorescence en rapport avec la présence de l'oxazole : $\lambda(\text{excitation})$ dans CH₃OH = 365 nm, $\lambda(\text{émission})$ = 470 nm.

Cette fluorescence de l'almazone C mais aussi des autres métabolites incorporant l'oxazole est très certainement liée à l'aspect brillant de cette algue et la variation de la couleur avec la profondeur de l'eau en marée basse: rose vers 1m et rouge près de la surface (0,2 - 0,3m).

L'almazone C est un alcaloïde original présentant un nouveau squelette qui incorpore le rarissime oxazole 2,5-disubstitué.

Les données en RMN du ^1H et ^{13}C de **61a** et **61b** sont présentées respectivement aux Tableaux XXII et XXIII. Les Figures XVI, XVII et XVIII représentent respectivement le spectre de RMN du ^1H , du ^{13}C , et celui des hétérocorrélations longue distance ^1H , ^{13}C de l'alazole C (**61a**).

TABLEAU XXII

RMN DU PROTON ET CARBONE 13 DE L'ALMAZOLE C (+)-61a

N°	¹ H δ(ppm)(mult.; J(Hz)) (CD ₃) ₂ CO	¹³ C δ(ppm)(m; ¹ J _{C,H} (Hz)) (CD ₃) ₂ CO	Hétérocorrélations des C désignés avec le proton sur la même ligne (HMBC)
2	7,75 (d; 2,7)	123,61 (d, 185)	C(7a); C(3a); C(5')
3	--	105,72 (s)	
3a	--	124,94 (s)	
4	7,91(ddt;7,2;2,1;0,8)	120,41 (d, 162)	C(3a); C(6); C(7a)
5	7,20 (t(l); 7,2)	121,08 (d,160)	
6	7,24 (t(l), 8,0)	123,12 (d, 160)	
7	7,52 (ddd;8,0;2,0;0,8)	112,71 (d,162)	C(3a); C(5)
7a	--	137,60 (s)	
2'	--	160,68 (s)	
4'	7,30 (s)	119,86 (d,193)	C(3a); C(5'); C(2')
5'	--	148,84 (s)	
1''	4,11 (dd; 9,2; 6,1)	64,92 (d,139)	C(2'); NMe ₂ ; C(2'')
2''	3,40 (dd; 13,3; 9,1) 3,22 (dd; 13,3; 6,1)	37,39 (t,128)	C(2'); C(1''); C(3''); C(4'')
3''	--	139,92 (s)	
4'', 8''	7,28 (m)	129,96 (d,157)	
5'', 7''	7,22 (m)	128,84 (d,160)	
6''	7,15 (m)	126,82 (d,160)	
H-N-1	10,79 (s(l))	--	C(2); C(7)
NMe ₂	2,37 (s)	41,83 (q,133)	C(1'')

$[\alpha]_D^{20} = +168^\circ$ (c = 1,08; CH₃OH).

UV(CH₃OH), λ_{\max} nm (ε) : 222 (26600); 271 (15100); 282 (14500); 300 (12900).

Dichroïsme circulaire (CH₃OH): $\Delta\epsilon_{\max}$ (268 nm) = + 3,5; (230 nm) = + 3,4.

Figure XVI
 Spectre de RMN du ^1H de l'almazone C $((\text{CD}_3)_2\text{CO})$

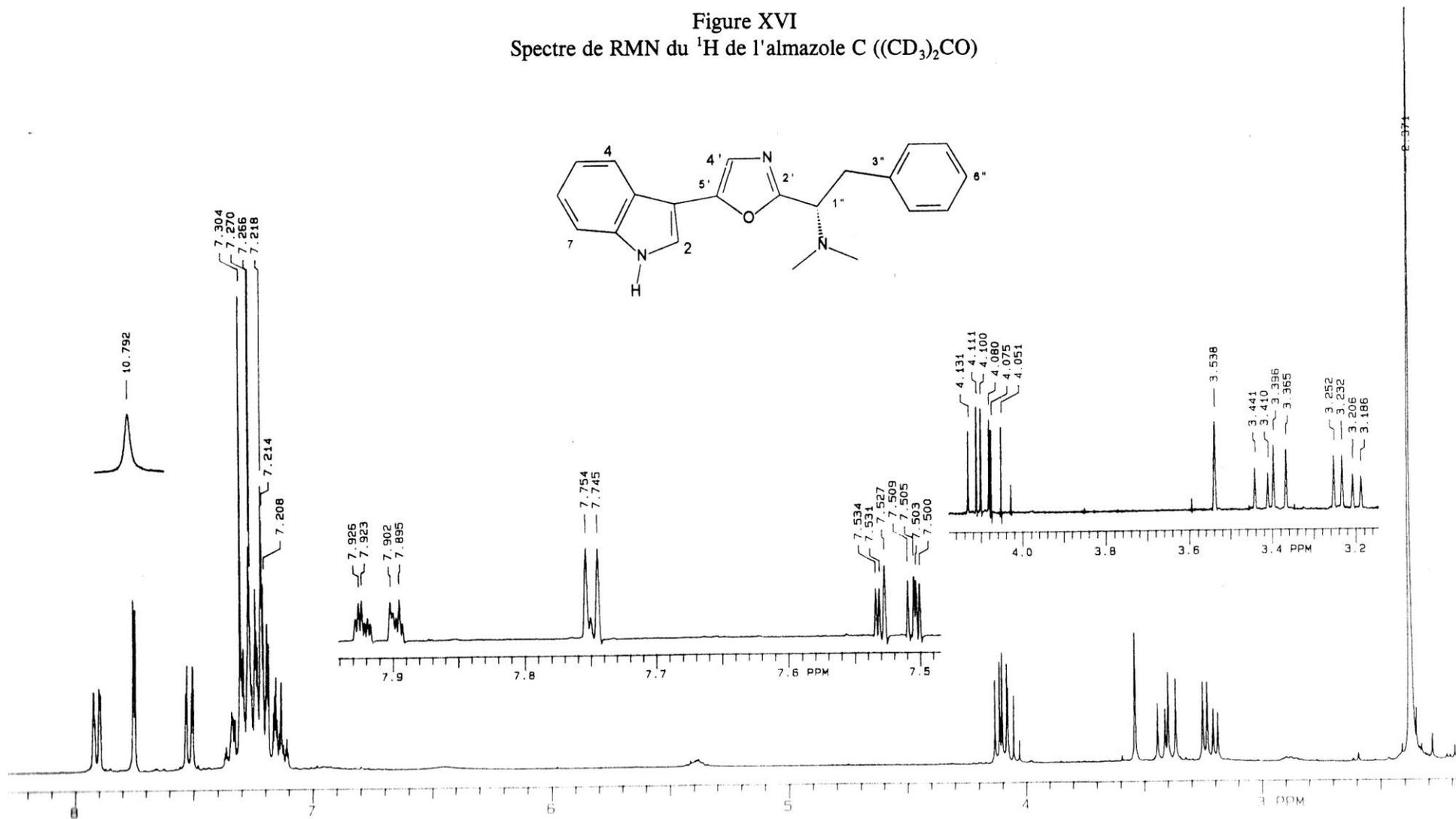


Figure XVII
Spectre de RMN du ^{13}C de l'almazole C ($(\text{CD}_3)_2\text{CO}$)

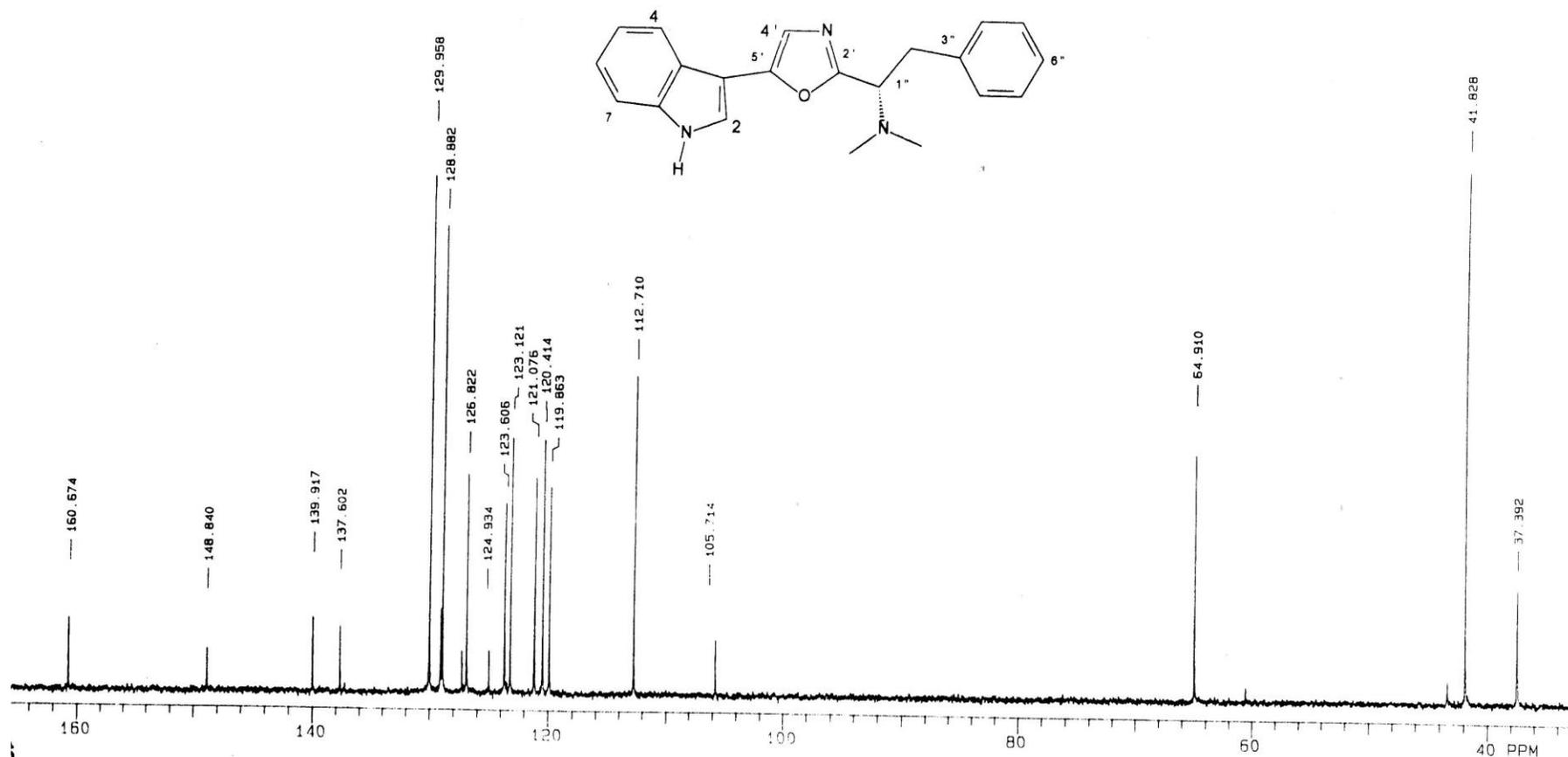


Figure XVIII
Spectre de RMN des hétérocorrélations longue distance (HMBC) de l'almazole C (CDCl_3)

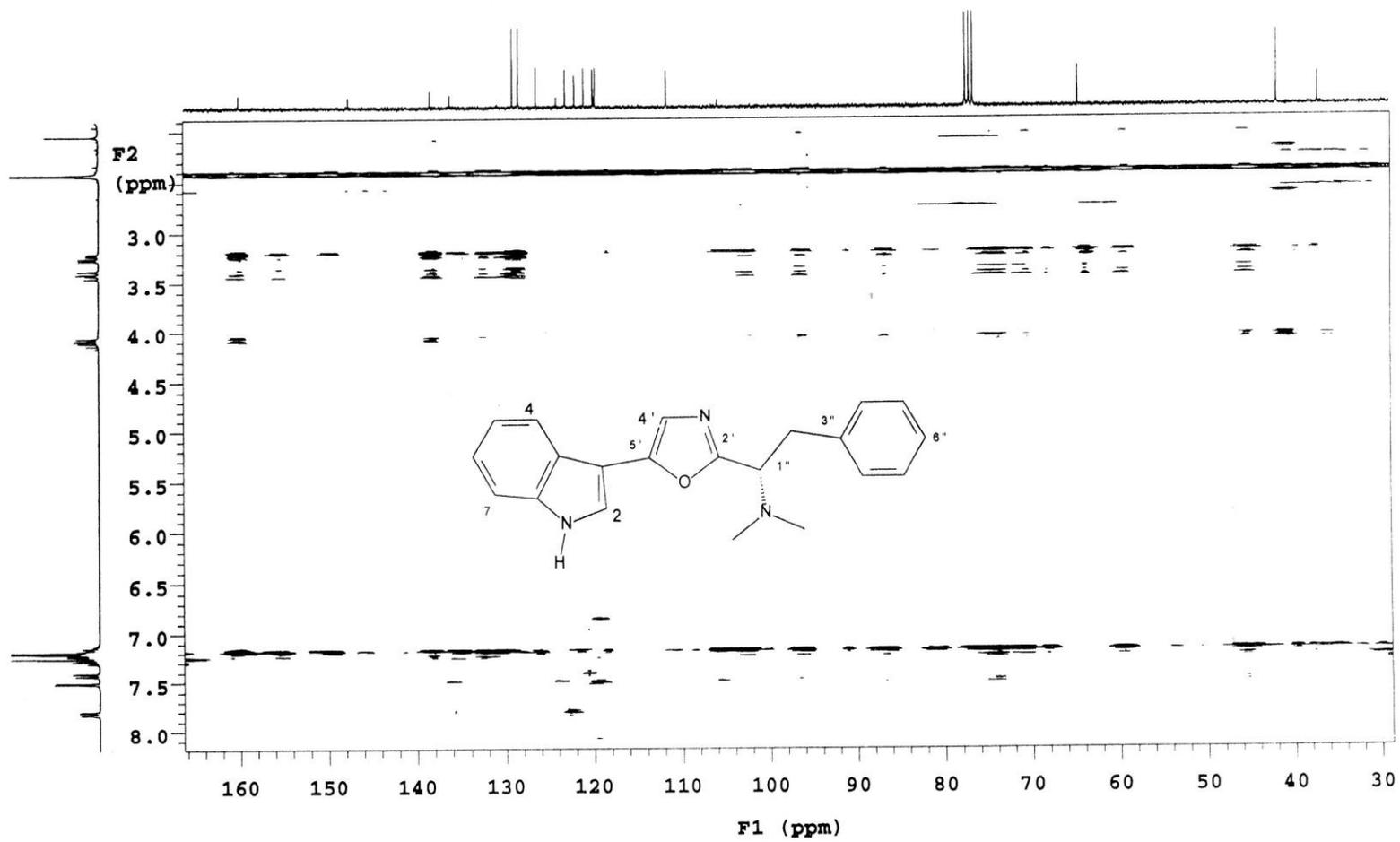


TABLEAU XXIII

RMN DU PROTON ET CARBONE 13 DU 1-ACETYLMALMAZOLE C (+)-61b

N°	¹ H δ(ppm)(mult.;J(Hz)) CDCl ₃	¹³ C δ(ppm) m CDCl ₃
2	7,67 (s)	126,06 d
3	--	111,14 s
3a	--	126,54 s
4	7,73 (dd(l); 7,4, 2,0)	121,64 d
5	7,37 (t; 7,4)	122,55 d
6	7,43 (t; 7,4)	124,35 d
7	8,49 (d(l); 7,4)	116,90 d
7a	--	135,93 s
2'	--	161,57 s
4'	7,33 (s)	119,91 d
5'	--	145,51 s
1"	4,07 (dd; 9,6; 5,7)	64,66 d
2"	3,38 (dd; 13,7; 9,6) 3,24 (dd; 13,7; 5,7)	36,94 t
3"	--	138,23 s
4", 8"	7,15-7,30 (m)	129,03 d
5", 7"	7,15-7,30 (m)	128,38 d
6"	7,15-7,30 (m)	126,41 d
MeCO	2,69 (s)	24,08 q
MeCO	--	168,47 s
NMe ₂	2,41 (s)	41,93 q

$[\alpha]_D^{20} = +106^\circ$ (c = 0,58; CH₃OH)

SM-IE (m/z (%)): 330 (0,8; [M-MeCO]⁺); 286(13, [330-NMe₂]⁺);

282 (100,M-C₇H₇)⁺; 240 (26, [330- C₇H₇]⁺).

Le préalmazole C (**62**) possède la formule brute $C_{21}H_{23}N_3O_2$ déduite du spectre de RMN du ^{13}C et de la spectrométrie de masse.

Le SM-IE et SM-FAB révèle l'ion $(M+H)^+$ à m/z 350.

LE SM-HR-IE a été fait par la suite sur le fragment à m/z 258 attribuable à la perte de l'ion tropylium par l'ion moléculaire.

$$m/z \text{ trouvé} = 258,1240 ; \text{ calculé } (C_{14}H_{16}N_3O_2) = 258,1242$$

Après examen des spectres de RMN, nous remarquons comparativement à l'almazone C la présence des signaux correspondant à l'indole 3 - substitué, cependant C-3 résonne à δ 115,63 ppm contre 105,72 ppm pour l'almazone C indiquant ainsi un changement de structure marqué sur le fragment lié à ce carbone ; les signaux caractéristiques de la portion dérivée de la N, N - diméthylphénylalanine sont également présents, cependant en RMN du 1H nous constatons un blindage marqué du proton X du système ABX ((H-C-5') : δ 4,11 ppm pour l'almazone C contre 3,45 ppm pour le préalmazole C alors qu'en RMN du ^{13}C le carbone (C-5') est déblindé pour le préalmazole C ($\delta_C = 71,13$ ppm (d)) par rapport à l'almazone C ($\delta_C = 64,92$ ppm (d)).

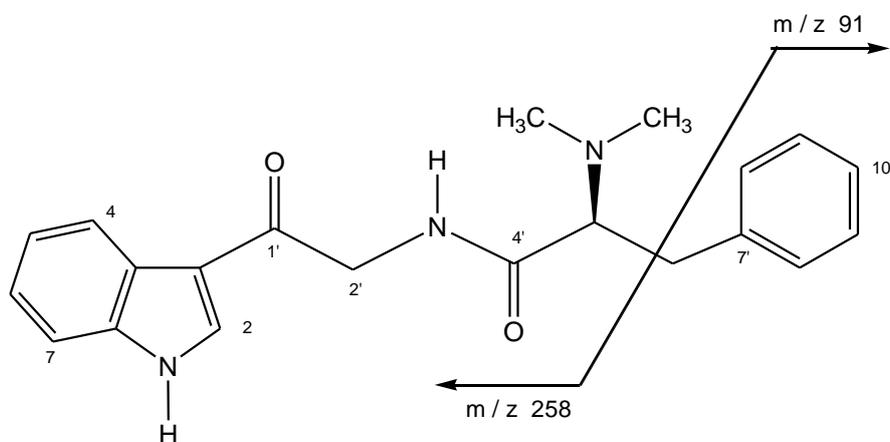
Ces changements qui se situent au niveau des 2 carbones de jonction de l'oxazole dans l'almazone C permettent de suggérer que le composé ne possède pas d'oxazole. Ceci se manifeste d'ailleurs par la disparition de la forte fluorescence lorsqu'une solution du préalmazole C (**62**) est exposée sous la lampe UV (365nm). En effet, outre l'absence du proton H-C-4', le spectre de RMN du ^{13}C ne présente plus les signaux caractéristiques de l'oxazole, en revanche nous remarquons la présence de nouveaux signaux à δ 190,45 (s), 172,05 (s) et 46,51 ppm (t).

La RMN du 1H montre également la présence de nouveaux signaux attribuables à un système ABX avec une partie AB centrée à δ 4,65 ppm (dd ; $J = 18,0 ; 5,5$ Hz) ; δ 4,51 ppm (dd ; $J = 18,0 ; 5,0$ Hz) et une partie X (NH-CO) qui résonne sous forme d'un massif très large centré à δ 7,74 ppm.

La présence du fragment CO-CH₂-NH-CO est supportée par l'hétérocorrélation longue distance entre CO ($\delta_C = 190,45$ ppm(s)) et les protons du CH₂ ; l'hétérocorrélation directe entre le carbone triplet à δ 46,51 ppm et les protons du CH₂ ; l'existence du carbonyle de l'amide à δ 172,05 (s).

L'insertion de ce fragment entre C-3 de l'indole et la portion dérivée de la N, N - diméthylphénylalanine qui conduit au préalmazole C **62** est supportée d'une part par la résonance de H-C-2 (8,37 ppm) et C-2 (133,50 ppm) et d'autre part par l'hétérocorrélation longue distance

entre le carbonyle de l'amide à $\delta 172,05$ ppm et H-C-5' de la portion dérivée de la N, N-diméthylphénylalanine. Comme pour l'almazone A, B, C le carbone 5' est de configuration *S*.



Prealmazole C (+) - **62**

Ce composé qui est un nouveau peptide modifié possède toutes les caractéristiques structurales pour être le précurseur biogénétique de l'almazone C (**61a**) d'où son nom de préalmazole C.

Les données en RMN du ^1H et ^{13}C sont présentées au Tableau XXIV. Les Figures XIX et XX représentent respectivement le spectre de RMN du ^1H et celui des hétérocorrélations longue distance ^1H , ^{13}C .

TABLEAU XXIV
RMN DU PROTON ET CARBONE 13 DU PREALMAZOLE C (+)-62

N°	¹ H δ(ppm)(mult.;J(Hz)) (CD ₃) ₂ CO	¹³ C δ(ppm) m; (CD ₃) ₂ CO
2	8,37 (d; 2,7)	133,50 d
3	--	115,63 s
3a	--	126,65 s
4	8,29 (dd(l); 7,4; 2,0)	122,50 d
5	7,25 (t; 7,4)	122,80 d
6	7,25 (t; 7,4)	123,95 d
7	7,54 (dd(l); 7,4; 2,0)	112,79 d
7a	--	137,66 s
1'	--	190,45 s
2'	4,65 (dd; 18,0; 5,5) 4,51 (dd; 18,0; 5,0)	46,51 t
4'	--	172,05 s
5'	3,45 (dd; 7,6; 5,8)	71,13 d
6'	3,16 (dd; 13,7; 7,6)	33,68 t
7'	--	141,38 s
8', 12'	7,30 (m)	130,10 d
9', 11'	7,25 (m)	128,87 d
10'	7,14 (m)	126,53 d
H-N-1	11,16 (s(l))	--
H-N-3'	7,74 (massif)	--
NMe ₂	2,39 (s)	42,24 q

$[\alpha]_D^{20} = +38^\circ$ (c = 0,25; CH₃OH)

SM-IE (m/z (%)): 350 (0,4; [M+H]⁺); 306(0,2; [M-NMe₂]⁺); 258 (23, M-C₇H₇)⁺;
 148(100).

Figure XIX
Spectre de RMN du ^1H du préalmazole C ($(\text{CD}_3)_2\text{CO}$)

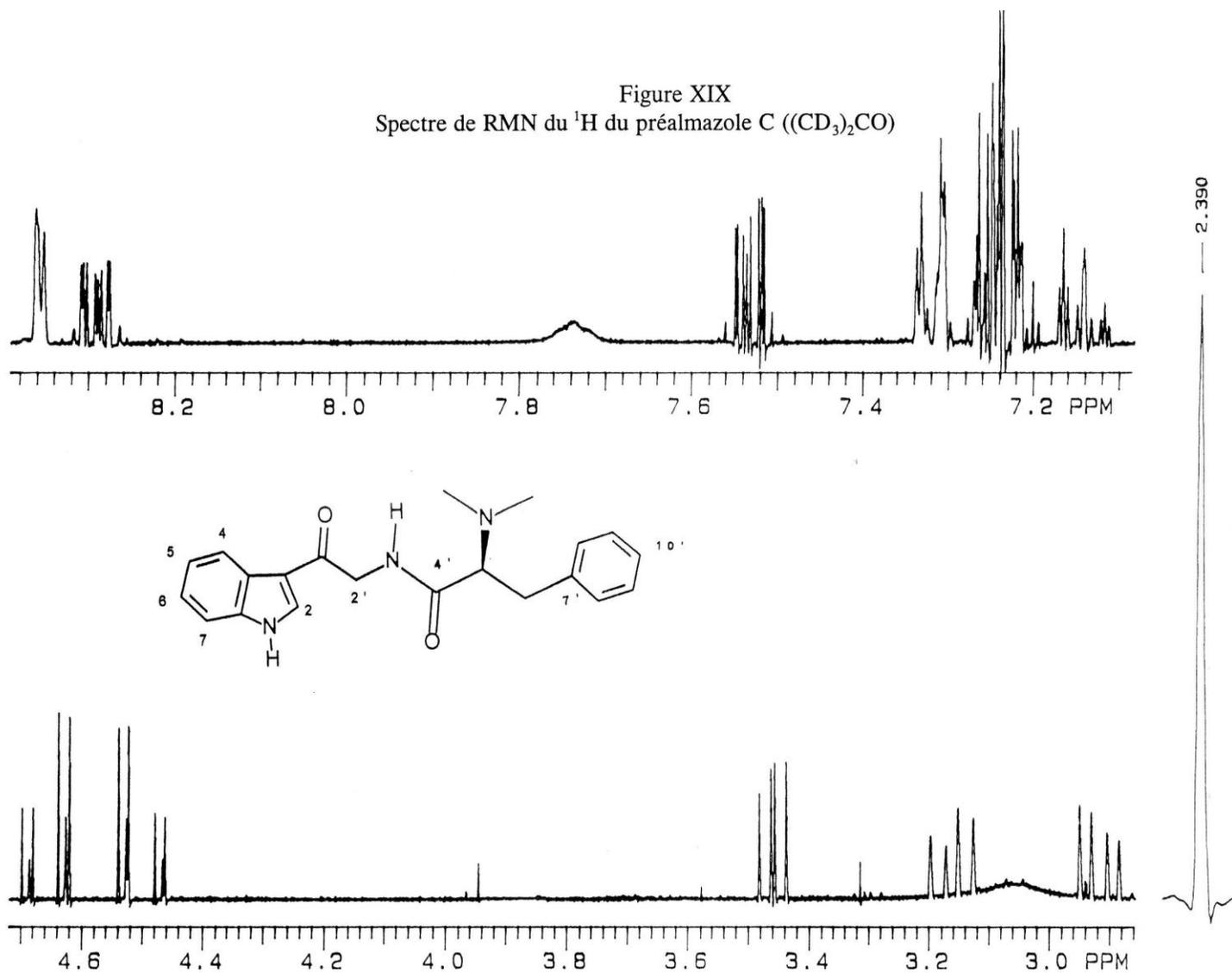
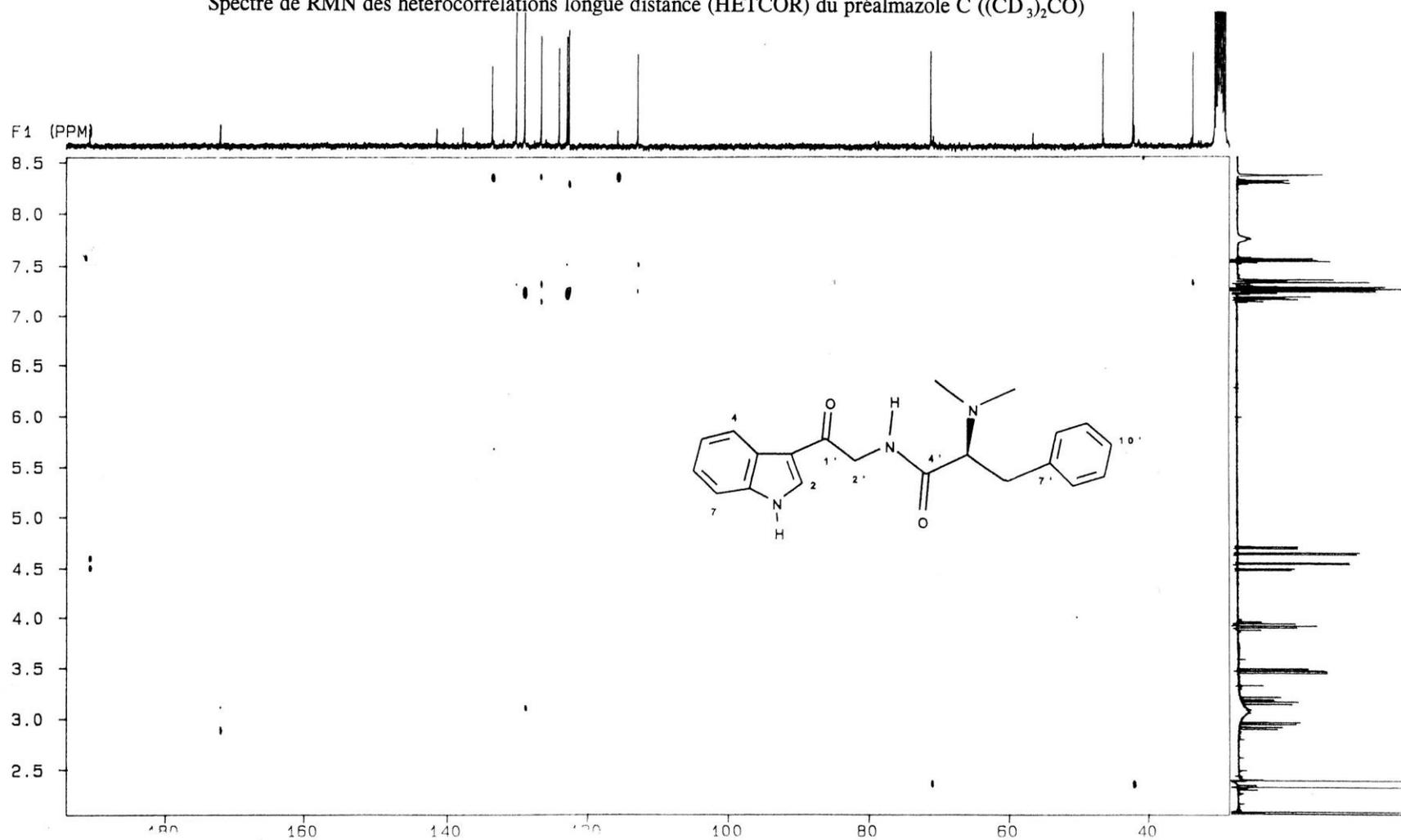


Figure XX
Spectre de RMN des hétérocorrélations longue distance (HETCOR) du préalmazole C ((CD₃)₂CO)



1.5.2. Synthèse de l'almazole C et du préalmazole C

Pour accéder à l'almazole C, nous avons retenu un schéma de synthèse biomimétique aboutissant par couplage peptidique entre une partie indolique et une partie dérivée de la (S)-N, N-diméthylphénylalanine au préalmazole C. Ce dernier conduisant ensuite par cyclisation à l'almazole C.

- La partie indolique est obtenue en partant du 3 - acétylindole (**63**) qui après bromation du méthyle (85) suivie d'une amination par l'héxaméthylènetétramine (HMTA) (85) conduit au chlorhydrate d'amine **65**.

- L'acylimidazole obtenu à partir de la (S)-N, N- diméthylphénylalanine commerciale (**55**) et le N, N'- carbonyldiimidazole (CDI) (73) sera couplé avec la partie indolique **65** conduisant ainsi au préalmazole C (**62**) avec un bon rendement (80 %).

- Le préalmazole C soumis à une cyclisation de GABRIEL-ROBINSON (86), (78) au moyen de POCl₃ conduit à l'almazole C (**61a**) avec un bon rendement (77 %).

Après avoir essayé sans succès plusieurs méthodes de couplage : soit avec le dicyclohexylcarbodiimide (DCC) (87), soit avec le chlorure d'acide de la (S)-N, N-diméthylphénylalanine, le CDI donne des résultats très satisfaisants et comme indiqué au paragraphe 1.3.2 il n'y a pratiquement pas de racémisation provoquée par ce réactif (73).

La déshydratation avec l'oxychlorure de phosphore est conduite ici à 40°C. Le reflux en présence de POCl₃ ou H₂SO₄ concentré (82), (86), (78) conduit à un mélange complexe où l'almazole C est présent sous une très faible proportion, alors que l'agitation à 20°C en présence de H₂SO₄ concentré pendant une nuit conduit au préalmazole C intact.

Les données spectroscopiques de l'almazole C et du préalmazole C obtenus par synthèse sont identiques à celles des produits d'origine naturelle.

En ce qui concerne les pouvoirs rotatoires, nous avons les résultats ci-dessous:

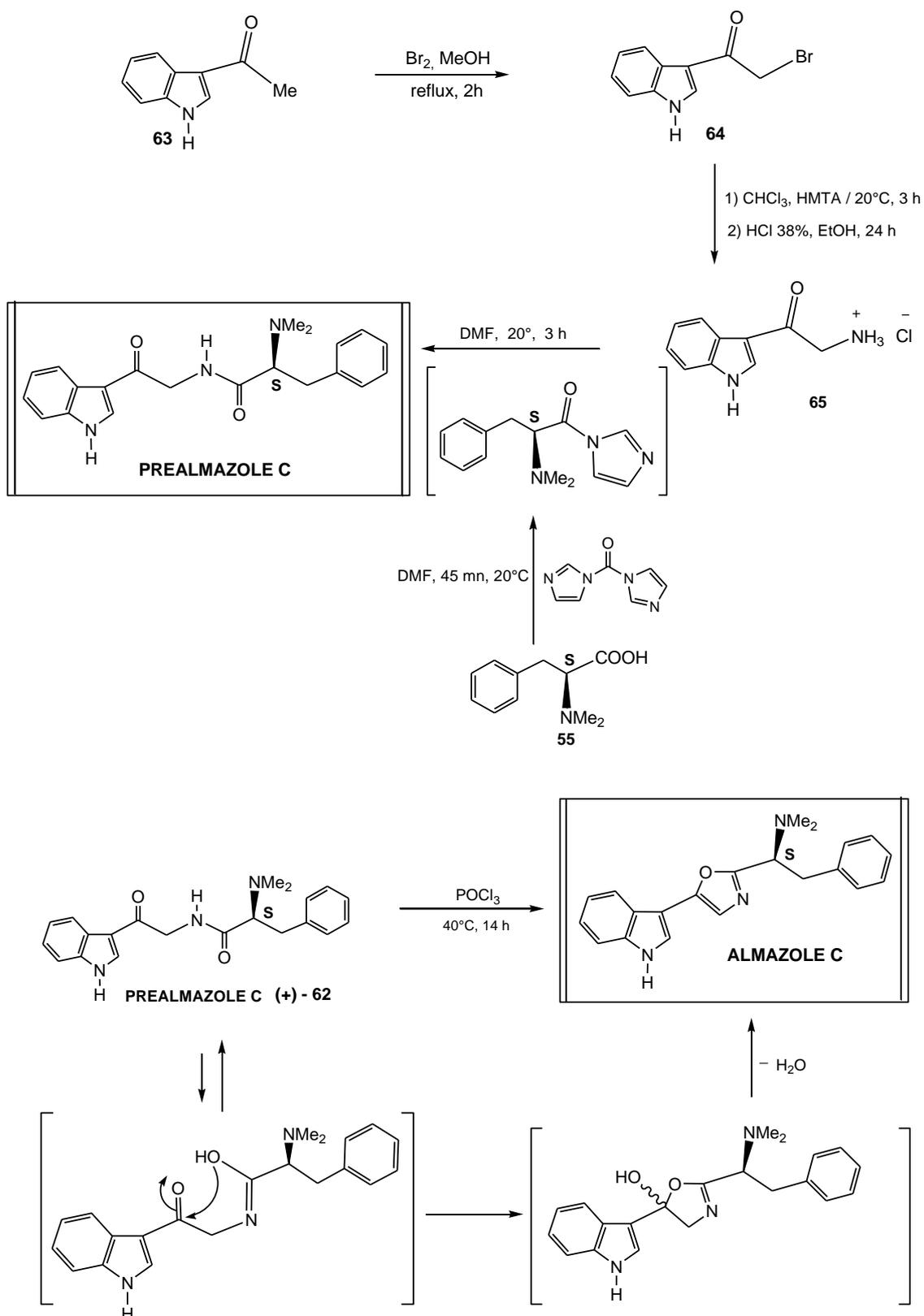
- Préalmazole C : $[\alpha]_D^{20} = + 37,9^\circ$ (c = 0,1 ; CH₃OH) pour le produit synthétique
 $[\alpha]_D^{20} = + 38^\circ$ (c = 0,25 ; CH₃OH) pour le produit naturel.

Les pouvoirs rotatoires du préalmazole C naturel et synthétique sont donc parfaitement superposables.

- Almazole C : $[\alpha]_D^{20} = + 138^\circ$ (c = 0,1 ; CH₃OH) pour le produit synthétique
 $[\alpha]_D^{20} = + 168^\circ$ (c = 1,08 ; CH₃OH) pour le produit naturel.

Le produit naturel et synthétique de l'almazole C présente un pouvoir rotatoire avec le même

signe, cependant nous remarquons une différence sur la valeur absolue, attribuable probablement à une racémisation partielle due au POCl_3 .



1.6. IDENTIFICATION DES DIPEPTIDES

1.6.1. Analyses spectroscopiques

Le composé **66** possède la formule brute $C_{22}H_{25}N_3O_3$ qui peut être déduite de l'analyse du spectre de RMN du ^{13}C et de l'ion $(M+H)^+$ à m/z 380 (11%) détecté à partir du SM-FAB.

Après examen des spectres de RMN du 1H , ^{13}C et hétérocorrélacion longue distance, nous remarquons, comparativement à l'almazole C (**61a**) et au préalmazole C (**62**), la présence des signaux caractéristiques de l'indole 3 -substitué et du fragment dérivé de la (S)-N, N-diméthylphénylalanine qui se manifeste toujours avec le système ABX et le singulet intégrant 6 H et correspondant au groupement gem-diméthylamine.

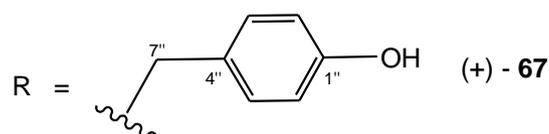
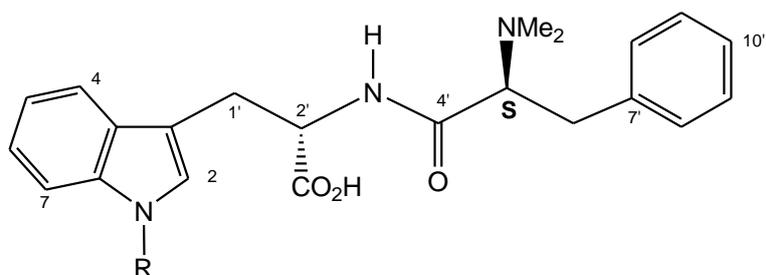
La présence du fragment $CH_2-CH(COOH)-NH-CO$ et sa position entre l'indole et la portion dérivée de la N, N-diméthylphénylalanine sont supportées par les résultats de la RMN. Ainsi en RMN du 1H , nous constatons la présence d'un large doublet à δ 7,61 ppm (NH échangeable) et d'un deuxième système ABX avec une partie AB centrée à δ 3,26 ppm (dd ; $J = 14,9 ; 7,3$ Hz) ; 3,06 ppm (dd ; $J = 14,9 ; 7,3$ Hz) et une partie X centrée à δ 4,33 ppm(m). Le spectre de RMN du ^{13}C signale la présence d'un singulet à δ 169,87 ppm hétérocorrélé avec H-C-5' et 2H-C-6' et attribuable au carbonyle de l'amide ; un triplet à δ 27,47 ppm et un doublet à δ 53,84 ppm attribuables respectivement au méthylène et au carbone tertiaire. Nous remarquons aussi l'hétérocorrélacion longue distance entre 2H-C-1' de la partie AB du système ABX et le carbone tertiaire (C-2') portant la partie X. En RMN du ^{13}C , le signal correspondant à COOH n'a pas été détecté, cependant sa présence et la configuration absolue S du carbone asymétrique (C-2') ont été établies par la synthèse de ce nouveau dipeptide.

En RMN du 1H et ^{13}C , le dipeptide **67**, qui est également nouveau, présente à l'exclusion du signal correspondant à NH-1, tous les signaux du dipeptide **66** avec des déplacements chimiques et constantes de couplage pratiquement superposables.

Avec la disparition de NH-1, les spectres de RMN signalent comparativement à ceux du peptide **66** de nouveaux signaux attribuables au groupement para-hydroxybenzyle lié à l'azote (N-1) de l'indole. Ainsi en RMN du 1H nous remarquons la présence d'un singulet à δ 5,16 ppm ; deux doublets larges intégrant chacun 2 H à δ 7,01 ppm ($J = 8,5$ Hz) et 6,65 ppm ($J = 8,5$ Hz). Ce

dernier déplacement chimique est en accord avec la présence d'un OH résonant à δ 9,38 ppm et placé sur un carbone (C-1'') adjacent aux 2 carbones (C-2'', C-6'') qui portent les deux protons résonant à 6,65 ppm.

Biogénétiquement lié à **66**, le carbone asymétrique (C-2') de ce composé possède la même configuration *S* qui sera établie par la synthèse de **66**.



Les données en RMN du ^1H et ^{13}C des peptides **66** et **67** sont présentées respectivement aux Tableaux XXV et XXVI. La Figure XXI représente le spectre de RMN du proton du composé **66**.

TABLEAU XXV
RMN DU PROTON ET CARBONE 13 DU PEPTIDE (+)-66

N°	¹ H δ(ppm) (mult.; J(Hz)) (CD ₃) ₂ SO	¹³ C δ(ppm)m (CD ₃) ₂ SO	Hétérocorrélations des C désignés avec le proton sur la même ligne (HMBC)
2	7,14 (s(l))	123,32 d	C(7a); C(3a)
3	--	110,87 s	
3a	--	128,93 s	
4	7,57 (d(l); 7,8)	118,41 d	C(3a); C(6); C(7a)
5	6,96 (t; 7,8)	117,75 d	
6	7,05 (t; 8,1)	120,38 d	
7	7,30 (d(l); 8,1)	110,87 d	C(4); C(5)
7a	--	135,87 d	
1'	3,26 (dd; 14,9; 7,3) 3,06 (dd; 14,9; 7,3)	27,47 t	C(2')
2'	4,33 (m)	53,84 d	
4'	--	169,87 s	
5'	3,18 (t; 6,9)	69,29 d	C(4'); C(6') ; NMe ₂ ; C(7')
6'	2,86 (dd; 13,8; 6,9) 2,70 (dd; 13,8; 6,9)	33,26 t	C(4'); C(5'); C(7')
7'	--	139,97 s	
8', 12'	7,05-7,15 (m)	128,83 d	
9', 11'	7,05-7,15 (m)	127,76 d	
10'	7,05-7,15 (m)	125,40 d	
H-N-1	10,66 (s(l))	--	
H-N-3'	7,61 (d(l); 6,1)	--	
NMe ₂	2,03 (s)	41,39 q	C(5')

$[\alpha]_D^{20} = +10^\circ$ (c = 0,18; CH₃OH);

SM-FAB (glycérol, H⁺ comme matrice) (m/z (%)):380 (11, [M+H]⁺); 148 (100).

Figure XXI
Spectre de RMN du ^1H du peptide **66** ($(\text{CD}_3)_2\text{SO}$)

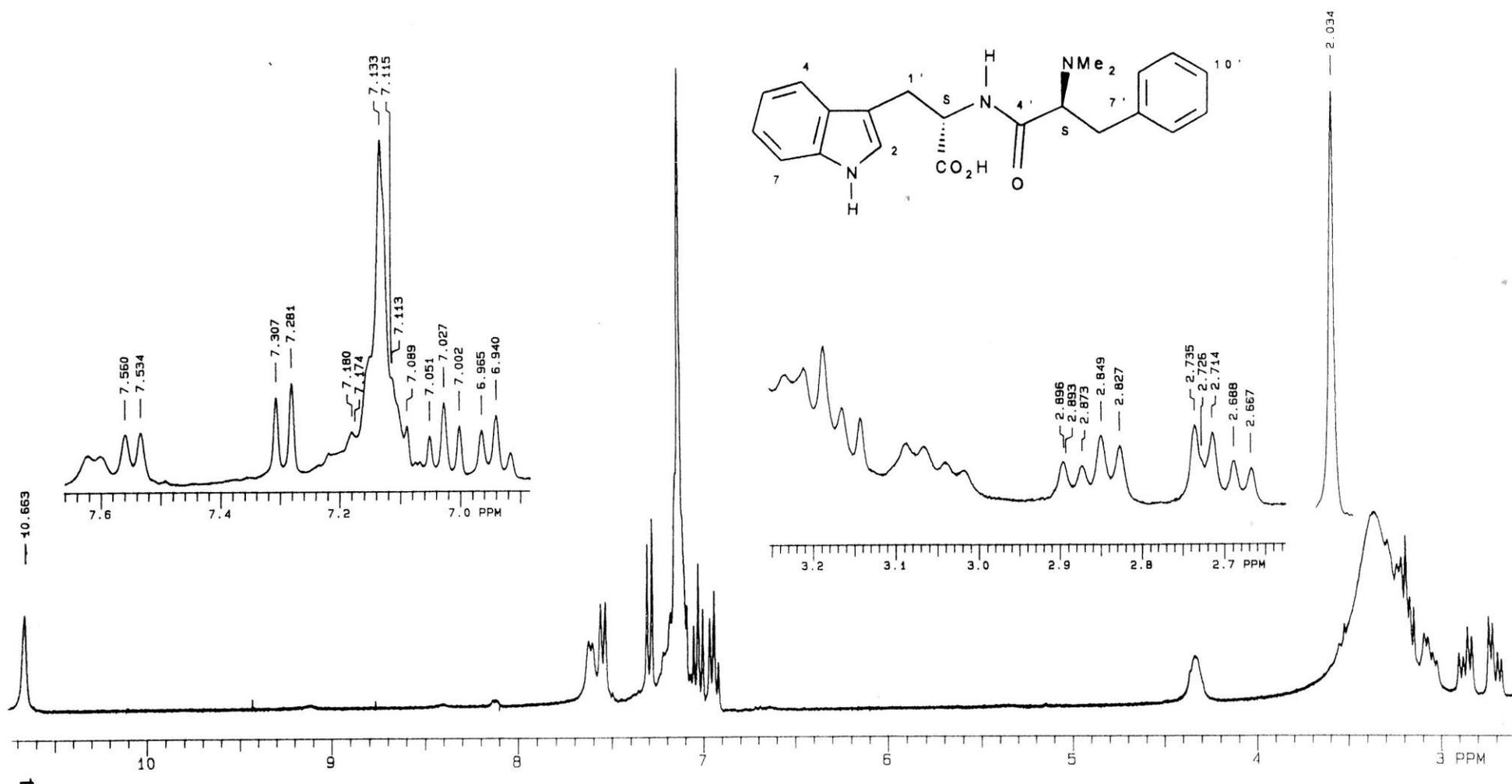


TABLEAU XXVI
RMN DU PROTON ET CARBON 13 DU PEPTIDE (+)-67

N°	¹ H δ(ppm)(mult.; J(Hz)) (CD ₃) ₂ SO	¹³ C δ(ppm) m (CD ₃) ₂ SO	Hétérocorrélations des C désignés avec le proton sur la même ligne (HMBC)
2	7,10 (s(l))	123,32 d	
3	--	110,14 s	
3a	--	128,11 s	
4	7,55 (d(l); 7,3)	118,58 d	C(6); C(7a)
5	6,99 (t; 7,3)	118,19 d	
6	7,07 (t; 8,2)	120,79 d	
7	7,38 (d(l); 8,2)	109,69 d	C(3a); C(5)
7a	--	135,77 s	
1'	3,26 (dd; 15,2; 7,0) 3,03 (dd; 15,2; 7,0)	27,13 t	
2'	4,37 (m)	53,03 d	
4'	--	170,08 s	
5'	3,19 (t; 6,7)	69,00 d	
6'	2,83 (dd; 13,9; 6,7) 2,70 (dd; 13,9; 6,7)	33,52 t	
7'	--	139,65 s	
8', 12'	7,05-7,15 (m)	128,79 d	
9', 11'	7,05-7,15 (m)	127,74 d	
10'	7,05-7,15 (m)	125,43 d	
H-N-3'	7,86 (d(l); 7,0)	--	
NMe ₂	2,01 (s)	41,33 q	
1"	--	156,49 s	
2", 6"	6,65 (d(l); 8,5)	115,02 d	C(5")
3", 5"	7,01 (d(l); 8,5)	128,29 d	
4"	--	126,97 s	
HO-C-1"	9,38 (s(l))	--	
7"	5,16 (s)	48,51 t	C(3")

$[\alpha]_D^{20} = +12^{\circ}$ (c = 0,20; CH₃OH).

SM- FAB (glycérol, H⁺ comme matrice) (m/z (%)): 191(13),148(90);115 (14); 107 (35); 91 (48).

1.6.2. Synthèse et détermination de la configuration absolue du dipeptide

L'étape déterminante de la préparation du composé **66** est le couplage peptidique entre la partie dérivée du tryptophane et la partie dérivée de la (*S*)-*N*, *N*-diméthylphénylalanine.

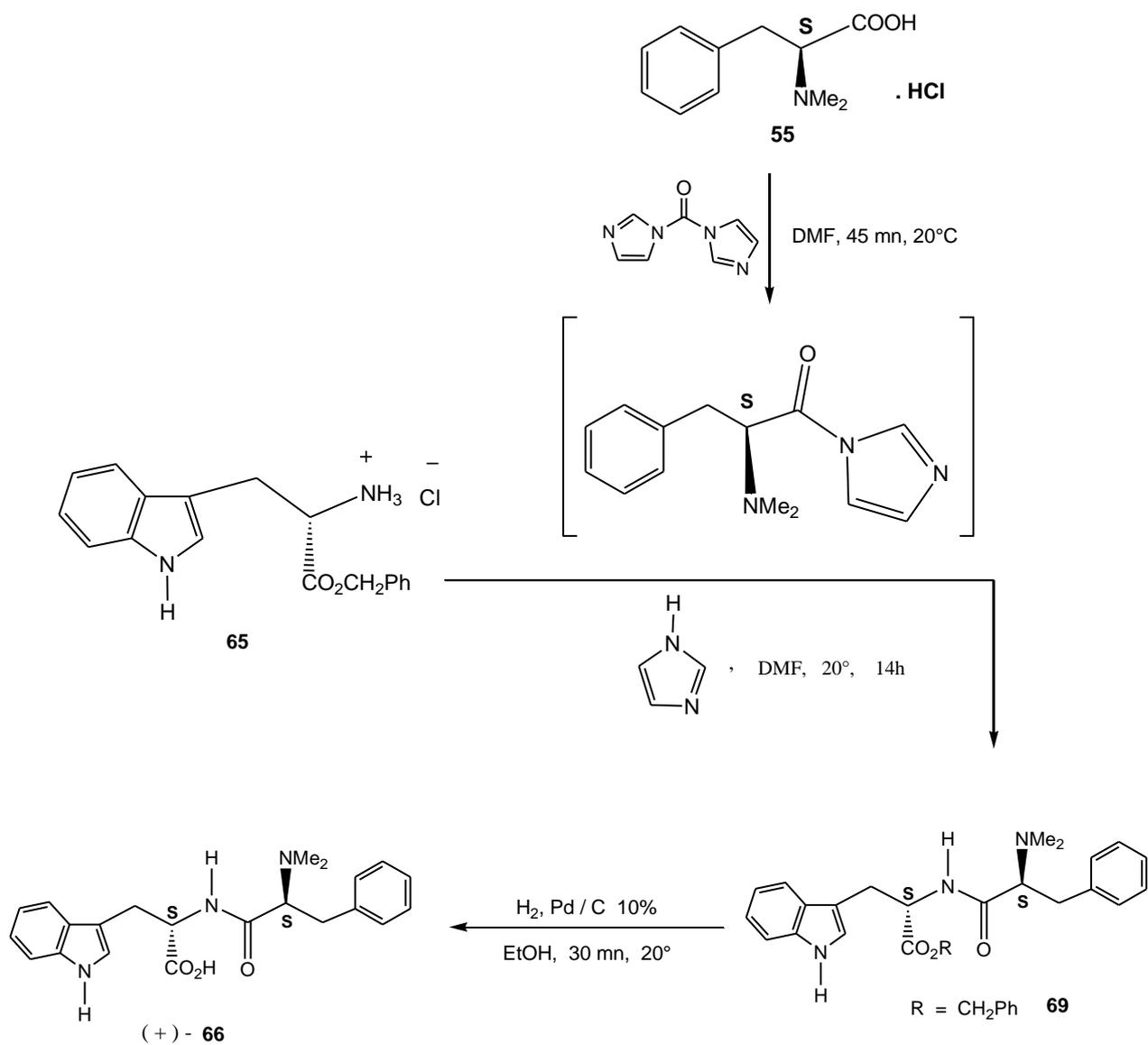
Pour accéder à ce composé, nous avons retenu un schéma de synthèse partant du (*S*)-tryptophane sous forme d'ester benzylique commercial (**68**) ; le couplage peptidique se faisant par réaction avec l'acylimidazole obtenu à partir du chlorhydrate de la (*S*)-*N*, *N*-diméthylphénylalanine (**55**) commerciale et le CDI (73). Ceci conduit au dipeptide **69** dont une hydrogénation catalytique débloque le groupement COOH conduisant ainsi au dipeptide (+)-**66**.

Nous signalons que la protection de COOH du (*S*)-tryptophane est requise pour éviter des réactions secondaires d'autocondensation. La (*S*)-*N*, *N*-diméthylphénylalanine (**55**) est utilisé sous forme de chlorhydrate soluble dans le DMF au lieu de la base libre insoluble dans ce milieu, augmentant ainsi le rendement du dipeptide intermédiaire **69** par suppression de la formation du *N*, *N'*-ditryptophanylurée à partir de la condensation de la base libre de **68** avec le CDI (73).

Le dipeptide (*S,S*)-(+)-**66** synthétique présente des spectres de RMN superposables à ceux du produit naturel. Le pouvoir rotatoire $[\alpha]_D^{20} = +15^\circ$ (*c* = 0,5 ; CH₃OH) est proche de celui du produit naturel $[\alpha]_D^{20} = +10^\circ$ (*c* = 0,18 ; CH₃OH). La petite différence en valeur absolue pouvant être imputée aux conditions opératoires.

Ces résultats, renforcés par la synthèse du diastéréoisomère de **66** à partir du (*R*)-tryptophane et qui présente des spectres de RMN tout à fait différents à ceux du produit naturel, nous permettent d'attribuer la configuration *S* au carbone 2' du dipeptide **66**, mais aussi à son dérivé **67**.

SCHEMA DE SYNTHÈSE DU DIPEPTIDE (+) -66



1.7. IDENTIFICATION DE L'ALCALOÏDE INDOLIQUE ALMAZOLE D

Ce composé qui est le métabolite le plus abondant de cette algue se manifeste par sa grande polarité. En effet l'essentiel de ce métabolite a été isolé après évaporation de la phase aqueuse issue de l'extraction à l'acétate d'éthyle.

Après examen des spectres du RMN, et par comparaison avec ceux de l'almazone C (**61**), nous remarquons la présence des signaux du fragment A, de l'indole 3-substitué et de l'oxazole 2,5-disubstitué. En effet, la RMN du proton signale la présence d'un système ABX avec une partie AB centrée à δ 3,41 et 3,30 ppm et une partie X à δ 4.03 ppm. Nous constatons également un singulet intégrant 6H à δ 2,44 ppm attribuable au groupement NMe₂. Dans la zone aromatique, se manifestent 3 signaux caractéristiques de l'indole à δ 8,73 (s), 8,02 (ddd) et 7,42 (ddd) attribuables respectivement à H-C-2, H-C-4 et H-C-7.

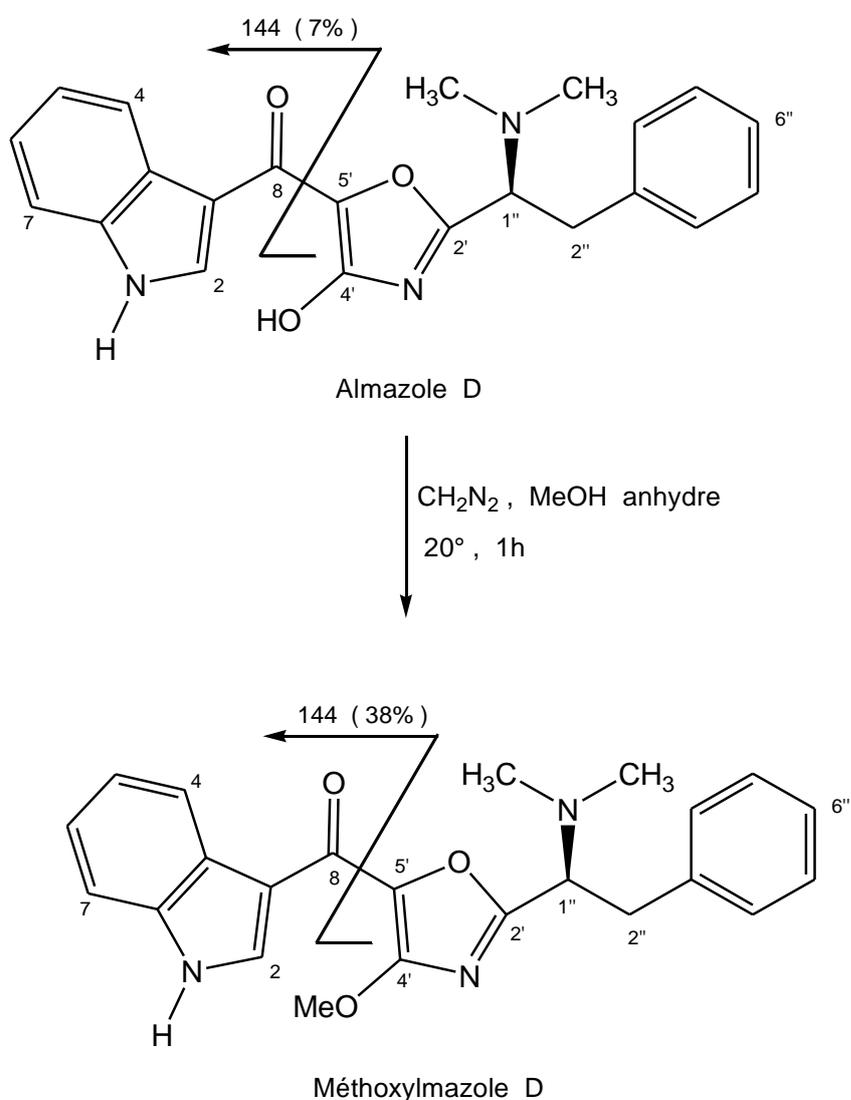
La présence de l'oxazole qui est qualitativement signalée par la forte fluorescence de ce composé est confirmée par le spectre de RMN du ¹³C qui révèle la présence de 3 singulets à δ 158,50; 152,20 et 170,38 ppm. Nous remarquons d'une part l'hétérocorrélation longue distance entre le signal à 158,50 et le proton tertiaire du fragment A ($\delta_H = 4,03$ ppm) et d'autre part entre le singulet à δ 152,20 ppm et le proton H-C-2 de l'indole ($\delta_H = 8,73$ ppm). Ces corrélations permettent ainsi d'attribuer le singulet à δ 158,50 et 152,20 respectivement aux carbones C-2' et C-5'. Par conséquent, le singulet à 170,38 non observé sur le spectre de l'almazone C pourrait être attribué au carbone C-4 de l'oxazole. En effet, comparé au spectre de RMN du proton de l'almazone C, le proton H-C-4 qui résonne à 7,30 ppm(s) disparaît sur le spectre de l'almazone D. Ceci se manifeste ainsi par l'apparition d'un groupe de multiplets entre 7,05 et 7,25 ppm intégrant 7H et attribuables aux 5 protons du benzène monosubstitué du fragment A et aux protons H-C-5 et H-C-6 de l'indole.

Le glissement chimique de C-4 à 170,38 ppm suggère la présence d'un OH sur ce carbone. Ceci a été confirmé par la méthylation au moyen de CH₂N₂ dans le méthanol anhydre. Après méthylation, le signal de C-4 passe à 177,96 ppm, ce qui est conforme à la position de ce carbone après méthylation d'un énol. Nous remarquons en outre la présence du méthyle à 52,18 ppm caractéristique d'un méthoxyle.

L'ensemble de ces données pourrait indiquer la structure du 4'-hydroxyalmazone C,

cependant le spectre de masse par FAB effectué sur l'almazole D et le méthoxyalmazole D signale 28 unités de masse supplémentaires attribuables à la présence d'un carbonyle CO.

Celui-ci non détecté sur le spectre de RMN du ^{13}C doit être entre C-3 de l'indole et C-5' de l'oxazole. Cette position est supportée par les déplacements chimiques en RMN de H-C-2 et C-2 de l'indole. En effet, comparativement à la RMN de l'almazole C, nous remarquons un net déblindage de H-C-2 (7,75 ppm pour l'almazole C contre 8,73 ppm pour l'almazole D) et de C-2 (123,61 ppm pour l'almazole C contre 130,18 ppm pour l'almazole D). Ces déplacements chimiques sont similaires à ceux observés sur les dérivés du topsentin où le proton résonne entre 8,40 et 8,73 ppm alors que le carbone se manifeste entre 132 et 137 ppm (89).



La structure de l'almazole D et de son dérivé méthylé sont en accord avec les fragmentations observées par le SM-FAB:

- pour l'alamazole D, le spectre signale le pic moléculaire à m/z 375 (1,5%), 331 (10%, $[M-NMe_2]^+$) et le pic à m/z 144 (7%) correspondant à l'ion indolique obtenu après rupture de la liaison C(5')--C(8).

- pour le méthoxyalmazole D, nous observons le pic ($[M+H]^+$) à m/z 390 (24%), 345 (76%, $[M-NMe_2]^+$) et le pic à m/z 144 (38%).

L'alamazole D est un alcaloïde présentant un nouveau squelette. Son originalité par rapport à l'alamazole C se situe au niveau de la présence du CO entre l'indole et l'oxazole, mais aussi dans une moindre mesure avec la fonctionnalisation du carbone 4 de l'oxazole. Comme pour tous les nouveaux composés déjà décrits, le carbone 1" biogénétiquement lié au carbone asymétrique de la N,N-diméthylphénylalaninamide (**54**) devrait être de configuration *S*.

Les données en RMN du 1H et ^{13}C de **70** et **71** sont présentées au Tableau XXVII. Les Figures XXII et XXIII représentent respectivement le spectre de RMN du 1H et ^{13}C de l'alamazole D (**70**).

TABLEAU XXVII
RMN DU PROTON ET CARBONE 13 DE L'ALMAZOLE D (+)-70 ET DU
METHOXYALMAZOLE D (+)-71

70			71	
N°	¹ H δ(ppm) (mult.; J(Hz)); CD ₃ OD	¹³ C δ(ppm) (m; J(Hz)) CD ₃ OD	¹ H δ(ppm) (mult.; J(Hz)); CD ₃ OD	¹³ C δ(ppm)m; CD ₃ OD
2	8,73 (s)	130,18 (d; 190)	8,71(s)	131,43 d
3	--	105,05 (s)	--	103,90 s
3a	--	126,65(s)	--	126,40 s
4	8,02 (ddd; 8,0; 2,1; 0,8)	121,45 (d; 158)	8,13(ddd; 7,6; 1,8; 0,9)	121,68 d
5	7,05-7,25 (m)	121,70 (d; 160)	7,10-7,30 (m)	122,38 d
6	7,05-7,25 (m)	123,15 (d; 162)	7,10-7,30 (m)	123,95 d
7	7,42 (ddd; 8,0; 2,0; 0,8)	112,71 (d; 162)	7,50 (ddd; 7,8; 2,1; 0,9)	113,07 d
7a	--	137,64 (s)	--	137,82 s
8	--	non détecté	--	non détecté
2'	--	158,50 (s)	--	159,46 s
4'	--	170,38 (s)	--	177,96 s
5'	--	152,20 (s)	--	153,00 s
1"	4,03 (dd; 10,5; 4,9)	66,38 (d)	4,12 (dd; 10,5; 4,8)	66,07 d
2"	3,41 (dd; 12,8; 10,5) 3,30 (dd; 12,8; 4,9)	38,32 (t)	3,45 (dd; 12,9; 10,5) 3,32 (dd; 12,9; 4,8)	38,04 t
3"	--	139,00(s)	--	138,78 s
4",8"	7,05- 7,25 (m)	130,11 (d)	7,10- 7,30 (m)	130,05 d
5",7"	7,05- 7,25 (m)	129,47 (d)	7,10- 7,30 (m)	129,55 d
6"	7,05- 7,25 (m)	127,52 (d)	7,10- 7,30 (m)	127,71 d
NMe ₂	2,44 (s)	42,71 (q)	2,45 (s)	42,41 q
OMe	--		3,90 (s)	52,18 q

Composé (+)-70: $[\alpha]_D^{20} = +20^\circ$ (c = 0.07; CH₃OH). UV (MeOH), λ_{max} nm (ϵ): 398 (580), 310 (5900), 272 (5300), 206 (16200). SM-FAB (glycérol, H⁺, comme matrice) (m/z (%)): 375 (1,5, M⁺); 331 (10); 239 (36); 144 (7).

Composé (+)-71: $[\alpha]_D^{20} = +70^\circ$ (c = 0.1; CH₃OH). SM-FAB (glycérol, H⁺ comme matrice) (m/z (%)): 390 (24, [M+H]⁺); 345 (76); 148 (49); 144 (38).

Figure XXII
Spectre de RMN du ^1H de l'almazone D ((CD_3OD))

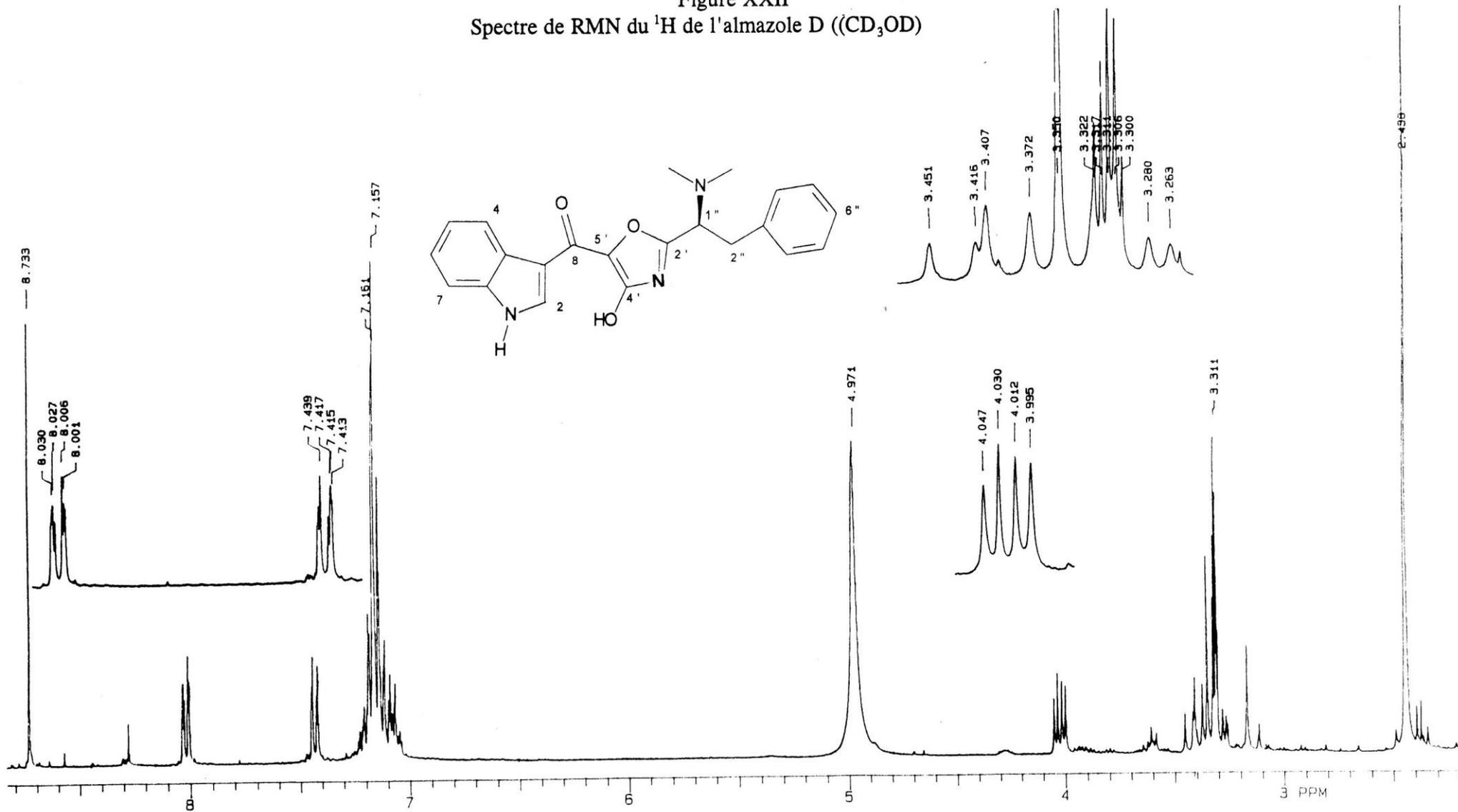
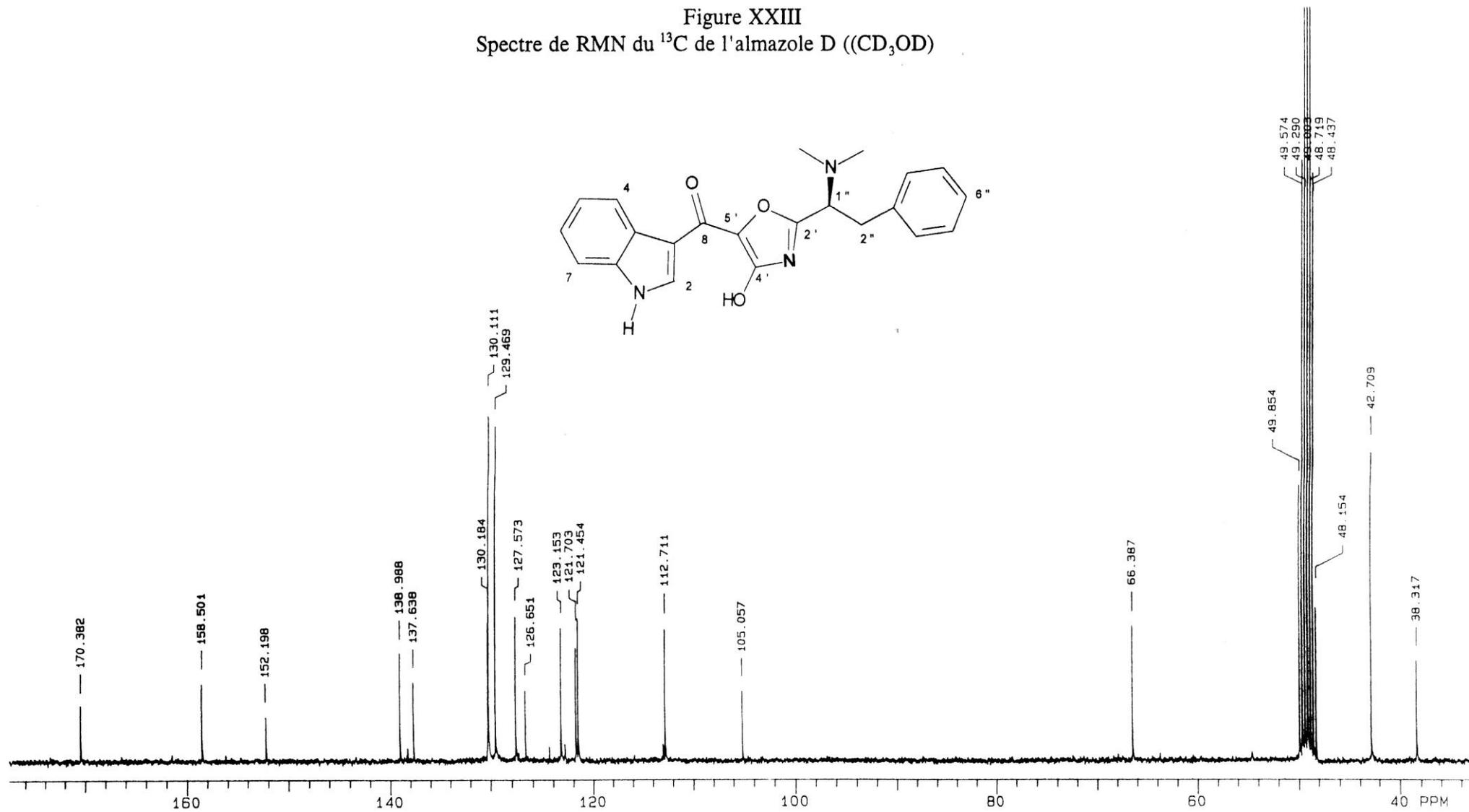


Figure XXIII
Spectre de RMN du ^{13}C de l'almazone D ((CD_3OD))



1.8. RECHERCHES D'ACTIVITES BIOLOGIQUES SUR LES NOUVEAUX COMPOSES

- La recherche d'activités cytotoxiques a été motivée par la puissante activité signalée pour des composés présentant une ressemblance structurale (90).

Les tests d'activité cytotoxique contre les cellules tumorales L1210 des almazoles A,B,C, du préalmazole C et des dipeptides ont été effectués aux Laboratoires "Pharmacia" de Milan (Italie). Dans tous les cas, l'activité est nulle.

Les tests, effectués au Laboratoire de Biophysique "Centro di Fisica degli Stati Aggregati" du CNR de Trento (Italie) sur l'almazole D, révèlent également que ce produit n'est pas cytotoxique au moins jusqu'à 10 µg/ml sur les lignes cellulaires suivantes : TPH-1 (monocytes humains); RAJI (lymphocytes humains); RAW 264.7 (monocytes-macrophages du chat).

- Au Laboratoire de Microbiologie "Department of Biology, Biotechnical Faculty, University of Ljubljana" (Slovenie), l'activité antibactérienne de l'almazole D a été évaluée et se manifeste par une bonne activité particulièrement sur certaines bactéries de Gram-négatif. Nous donnons ci- dessous la liste de microorganismes sensibles à l'almazole D (Tableau XXVIII); à partir des conditions opératoires de ce Laboratoire, on considère que l'activité est bonne lorsque la zone d'inhibition atteint 20 mm après injection de 200 µl d'une solution (5 mg/ml) d'almazole D dans l'eau.

Nous remarquons une bonne activité sur *Serratia marcescens* et *Salmonella typhi* XLD, mais aussi une activité non négligeable sur *Escherichia coli* lac+, *Yersinia enterocolitica* et *Pseudomonas stutzeri*.

Ces résultats encourageants, motivent la poursuite des tests avec les autres almazoles. Ceci pourraient conduire, dans le cas où l'absence de toxicité de ces molécules est établie, à de nouveaux antibactériens dépourvus d'effets secondaires sévères.

TABLEAU XXVIII

GRAM - NEGATIF		GRAM - POSITIF	
Microorganisme	zone inhibée (mm)	Microorganisme	zone inhibée (mm)
<i>Serratia marcescens</i>	22	<i>Streptococcus agalactiae</i> (KA)	18
<i>Salmonella typhi</i> XLD	20	<i>Bacillus subtilis</i>	17,5
<i>Escherichia coli</i> lac+	19	<i>Staphylococcus epidermidis</i> (NA)	16,5
<i>Yersinia enterocolitica</i>	19	--	
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	19	--	
<i>Aeromonas hydrophilla/sobria</i>	18	--	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	18	--	
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	17,5	--	
<i>Aeromonas</i> sp.	17	--	

CHAPITRE II

BIOGENESE DES METABOLITES SECONDAIRES ISOLES

2.1. BIOGENESE DES ALMAZOLES A,B,C, DU PREALMAZOLE C ET DES DIPEPTIDES

■ A l'exclusion de l'amide **54** très abondant dans cette algue et biogénétiquement lié à la N, N-diméthylphénylalanine (**55**), la biogénèse des nouveaux métabolites implique, avec l'aide d'enzymes appropriés, le L-tryptophane selon deux voies supportée analogiquement par la synthèse biomimétique et une troisième voie alternative dans le cas de l'almazole A (**56**) et l'almazole B (**57**) (Voir schéma ci-dessous).

1) Dans la voie 1, la condensation du L-tryptophane avec la N, N-diméthyl-L-phénylalanine (**55**), pourrait conduire au dipeptide **66**, qui par N-alkylation avec l'alcool para-hydroxybenzylique (**53**) mène au dipeptide **67**.

2) Dans la voie 2, le 2-oxo-tryptamine dérivé du tryptophane se condense avec **55** pour donner le préalmazole C (**62**) qui, par déshydratation, conduit à l'almazole C (**61a**). Ce dernier, par rupture oxydative de la liaison C(2)-C(3) de l'indole non démontrée dans le présent travail, conduit probablement à l'almazole A (**56**) qui, par suite d'une déformylation observée, mène à l'almazole B (**57**).

3) Pour la biogénèse des composés **56** et **57**, une troisième voie alternative à la voie 2 peut être envisagée. En effet, celle-ci peut impliquer l'ouverture oxydative déjà décrite (88) de l'indole du tryptophane qui conduit au N-formylkynurénine. Ce dernier, après décarboxylation et oxydation en α du CO, se condense avec le composé **55** pour conduire à l'almazole A (**56**) qui donne ensuite l'almazole B (**57**).

■ Une variété de molécules indoliques simples et courantes isolées de cette algue entrent harmonieusement dans le schéma.

Ainsi, l'acide indole-3-carboxylique (**47**) et l'aldéhyde correspondant **48**, l'acide indole -3-

glyoxylique isolé sous forme d'ester **50** et l'indole-3-acétamide (**51**) pourraient dériver respectivement du tryptophan, du 2-oxo-tryptamine et du tryptamine.

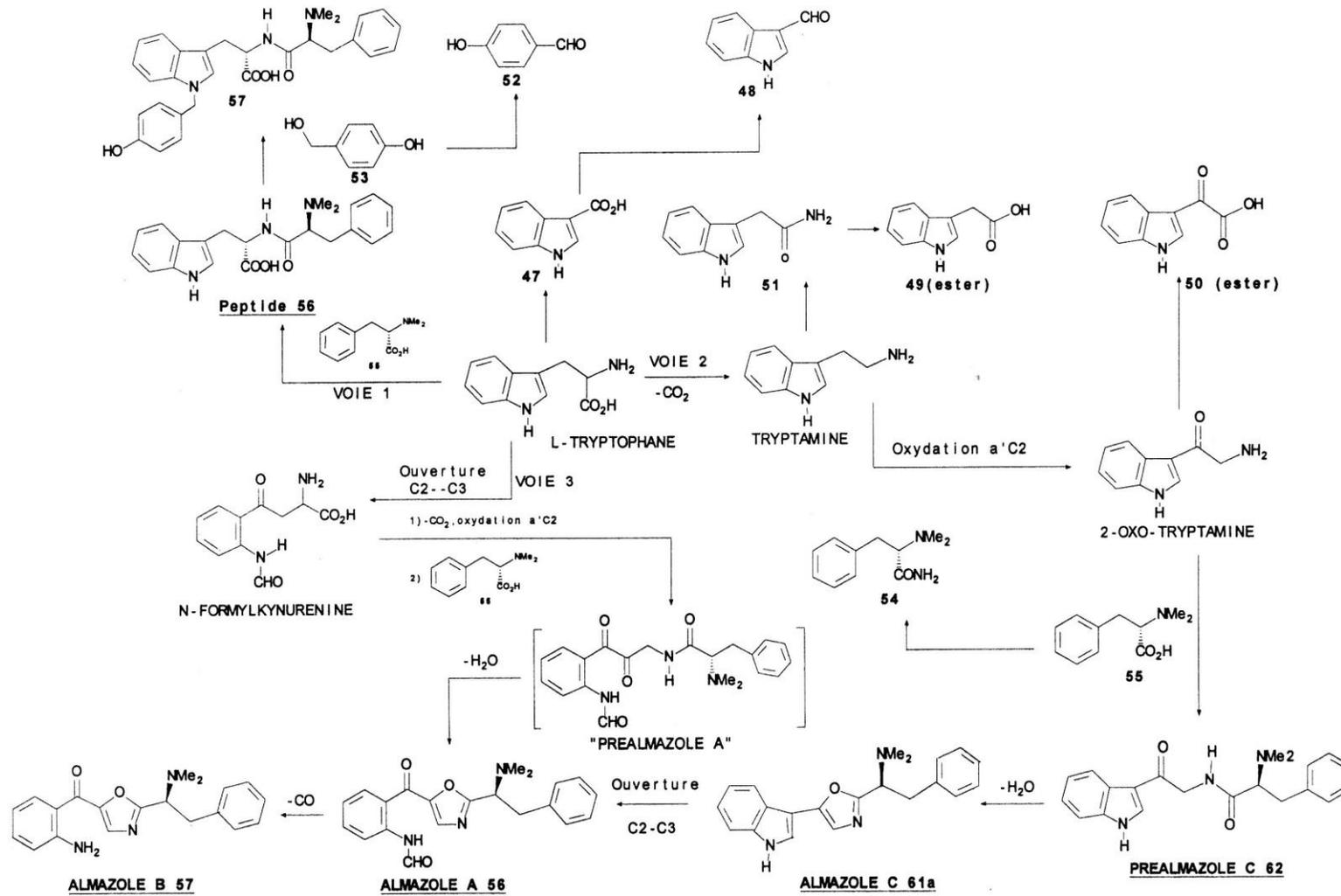
L'indole-3-acétamide (**51**) peut évoluer pour conduire à l'acide indole-3-acétique isolé sous forme d'ester **49**.

Finalement l'alcool para-hydroxybenzylique (**53**), qui intervient lors de la biosynthèse du dipeptide **67** à partir de **66**, et le para-hydroxybenzaldéhyde (**52**) pourraient être biogénétiquement liés à la N, N-diméthylphénylalanine (**55**) ou à l'amide correspondant **54** isolé de cette algue.

2.2. BIOGENESE DE L'ALMAZOLE D

L'almazole D pourrait résulter d'un processus biogénétique où le carbone supplémentaire, par rapport à l'almazole C, aurait pour origine la non décarboxylation du tryptophane. Cependant, ce dernier pourrait subir une désamination oxydative suivie d'un couplage avec la N,N-diméthylphénylalaninamide (**54**).

SCHEMA DE BIOGENESE DES METABOLITES SECONDAIRES



CONCLUSION

L'étude de l'algue *Haraldiophyllum* sp. nous a permis d'isoler et d'identifier 15 métabolites secondaires dont 8 qui sont nouveaux.

Les structures ont été établies sur la base des données spectroscopiques et confirmées pour la majorité des nouveaux composés, par la synthèse ou la conversion chimique.

Tous les nouveaux métabolites secondaires possèdent des portions dérivées du L-tryptophane ou de la N, N-diméthyl-L- phénylalanine. La configuration absolue des carbones asymétriques de ces composés étant établie par synthèse.

- Le nouveau amide **54** dérivé de la N, N-diméthylphénylalanine (**55**), a permis après synthèse à partir de **55**, d'établir la configuration absolue *S* du carbone asymétrique de la portion phénylalanine présente sur tous les nouveaux composés.

- l'almazole A (**56**) et l'almazole B (**57**) représentent une nouvelle classe d'alcaloïde avec un nouveau squelette. La corrélation chimique entre ces deux composés a été établie par conversion de l'almazole A en almazole B. L'analyse conformationnelle de l'almazole A présent sous forme de 2 conformères de type *E* (15 %) et *Z* (85 %) a été abordée en profondeur par l'étude de la RMN du ¹H dynamique. Ainsi les paramètres cinétiques de l'interconversion ont été déterminés.

- L'almazole C (**61a**) est un alcaloïde indolique présentant un nouveau squelette. La structure de ce composé a été confirmée par synthèse, dont l'une des étapes conduit au préalmazole C (**62**) qui est un nouveau peptide modifié isolé également de cette algue.

- La structure et la configuration absolue du nouveau dipeptide **66** a été confirmée par synthèse à partir du L-tryptophane et de la N, N-diméthyl-L-phénylalanine (**55**). La structure du nouveau dipeptide **67** dérivé de **66** par N-alkylation au moyen du groupement para-hydroxybenzyle a été également déterminée.

- L'almazole D (**70**) est un alcaloïde indolique présentant un nouveau squelette. Comparativement aux autres almazoles, ce composé dérive d'un processus biogénétique différent

Les almazoles A, B, C et D incorporent tous le rarissime oxazole 2,5 - disubstitué. La présence de cet oxazole est d'ailleurs à l'origine de la forte fluorescence observée pour ces composés.

La synthèse ou conversion chimique des principaux métabolites, mais aussi l'isolement de molécules indoliques et benzéniques plus simples mais biogénétiquement importantes, nous ont permis d'établir par analogie le schéma de biogénèse des métabolites secondaires de cette algue.

Ces composés ne sont pas cytotoxiques, cependant l'almazole D présente une assez bonne activité antibactérienne contre les bactéries de Gram-négatif.

L'aisance relative de la synthèse de l'almazole C (**61a**), du préalmazole C (**62**) et du dipeptide (**66**), en peu d'étapes et avec de bons rendements, ouvre de nouvelles perspectives de recherches sur ces types de composés. Ainsi l'application de ces réactions à d'autres acides aminés de la série L ou D, pourrait conduire à la préparation d'un nombre important de composés dont certains doués d'une activité biologique, ou pouvant présenter un autre intérêt industriel en rapport avec la fluorescence manifestée par ceux qui incorporent l'oxazole.

L'ensemble des résultats de cette partie a fait l'objet de 2 publications (91) et (92).

CONCLUSION GENERALE

Nos travaux ont permis d'isoler et de déterminer la structure de 32 métabolites secondaires dont 15 nouveaux à partir d'une éponge et de 2 algues de la côte sénégalaise.

L'isolement des différents composés a été fait avec l'aide des techniques chromatographiques courantes, et plus particulièrement avec les méthodes récentes de la chromatographie liquide haute performance (HPLC) et les nouvelles phases stationnaires.

Toutes les structures ont été établies sur la base des données spectroscopiques. Dans certains cas, les techniques récentes de la RMN bidimensionnelle et plus particulièrement celles permettant l'étude des couplages longue distance par "inverse detection" (HMBC) ont été déterminantes. De même, la spectrométrie de masse par "Fast Atomic Bombardment" (FAB) s'est révélée d'une importance fondamentale pour l'élucidation structurale de certains composés. Dans la majorité des cas, l'étude structurale des nouveaux composés a été supportée par leur synthèse ou la conversion chimique. Par analogie avec la dégradation ou la synthèse biomimétique, des schémas de biogénèse ont été proposés.

Dans la première partie, nous avons exposé les généralités sur les 3 grandes Divisions d'algues et les éponges. Nous avons aussi signalé très brièvement, les facteurs climatologiques, hydrologiques et géomorphologiques qui font de la côte sénégalaise une zone dotée d'une population florale et faunique variées et facilement accessibles.

Dans la deuxième partie consacrée à l'éponge *Ircinia fasciculata*, nous avons isolé et identifié le métabolite majoritaire : la fasciculatin (**10**) déjà décrite et 3 nouveaux métabolites issus de la dégradation de ce sesterterpène (C₂₅). Ainsi 2 nouveaux types de dégradation naturelle de sesterterpène (C₂₅) ont été clarifiés :

- Le norsesterterpène konakhin (**12**) (C₂₄) qui présente en outre un nouveau squelette et qui est l'un des très rares terpène dégradé incorporant un halogène.

- L'aldéhyde furanoterpénique **15** (C₂₀) dont la dégradation avec perte de 5 atomes de carbone, a été abordée en profondeur par l'étude de la dégradation oxydative de la fasciculatin et

l'extension à d'autres furanosesterterpène (C₂₅).

Ceci a abouti à la proposition d'un schéma de biogénèse du composé **15** et de l'acide carboxylique furanoterpénique **14** (C₂₁) isolé de cette éponge, mais dont la présence avec le furanosesterterpène (C₂₅) correspondant était attendue. Cette étude nous a permis d'établir la présence systématique jamais observée auparavant, des aldéhydes furanoterpénique (C₂₀) avec les furanosesterterpènes (C₂₅) dans les éponges de l'ordre des Dictyocératides.

Dans la troisième partie, l'étude de l'algue *Dictyota ciliolata* a permis d'identifier 13 métabolites secondaires dont 4 nouveaux. Parmi ces derniers, 3 composés (**37**, **38**, **39**) présentent des structures peu différentes de composés déjà décrits, cependant dans chaque cas, la stéréochimie a été précisée d'une manière relative avec des méthodes spectroscopiques.

La joalin (**40**), qui est le premier diterpène xénicanique incorporant un azote, se distingue des autres métabolites de cette algue avec des caractéristiques structurales originales comme la nature de la structure tricyclique et la fonctionnalisation au carbone 9. La stéréochimie complète, aussi bien au niveau configurationnel que conformationnel, a été élucidée grâce aux méthodes spectroscopiques ainsi qu'aux calculs de mécanique moléculaire avec le programme "PCMODEL 4.0" basé sur les champs de force MMX.

Un schéma de biogénèse théorique expliquant la formation naturelle de ce composé a été proposé.

Le dictyolactone (**35**) et l'hydroxydictyolactone (**36**), qui se présentent séparément sous forme d'un mélange de 2 conformères, ont été l'objet d'une étude conformationnelle détaillée. Outre les calculs de mécanique moléculaire, l'enregistrement de spectres de RMN du ¹H à température variable, suivi d'une simulation des différents spectres avec le programme "DNMR 5", a permis pour chaque cas de mettre en évidence une interconversion conformationnelle lente, et d'établir les paramètres cinétiques de ces processus.

Dans la quatrième partie consacrée à l'algue *Haraldiophyllum* sp., 15 métabolites secondaires dont 8 nouveaux sont identifiés. Ces derniers sont tous des dérivés du L-tryptophane

et de la N, N-diméthyl-L-phénylalanine. Les configurations absolues des carbones asymétriques ont été établies par synthèse.

Nous avons également identifié un nouveau dipeptide **66** et son dérivé N-alkylé par le groupement para-hydroxybenzyle **67**. Le dipeptide **66** est issu du couplage du L-tryptophane et de la N,N-diméthyl-L-phénylalanine. La structure et la configuration de ce composé ont été établies par synthèse.

La synthèse des principaux métabolites secondaires de cette algue en peu d'étapes et avec de bons rendements ouvre de nouvelles perspectives de recherche avec l'application sur d'autres acides aminés de la même série L ou de la série D ; ceci pourrait conduire à plusieurs molécules dont certaines biologiquement actives.

L'ensemble des 15 métabolites isolés de cette algue, avec le support de la synthèse biomimétique ou la conversion chimique des principaux, ont permis d'établir par analogie le schéma de biogénèse de ces composés.

La totalité des résultats répertoriés dans cette thèse a fait l'objet de 6 articles publiés dans des revues internationales.

PARTIE EXPERIMENTALE

GENERALITES

* Les chromatographies sur couches minces (CCM) ont été réalisées sur des plaques de silice (Si60 F₂₅₄ (0,25 mm)), CN (0,25 mm) ou RP18(0,25 mm) Merck.

* Les chromatographies préparatives ont été réalisées sur des plaques de silice (Si60 F₂₅₄ (2 mm) Merck.

* Les "flash" chromatographies (FC) ont été réalisées en phase normale sur gel de silice (Si60 (15-25 µm)) et en phase inverse sur gel de silice (RP18 (40-63 µm) Merck

* Les chromatographies liquides haute performance (HPLC) ont été effectuées sur un Perkin Elmer Série 3B avec un détecteur JASCO UVIDEC100 et sur un Hitachi L6200 "intelligent Pump" avec un détecteur L300 Photo diode. Différents types de colonnes (7 µm) ont été utilisées selon le cas :

- en phase inverse : Merck Lichrosorb RP18

- en phase normale : Merck Lichrosorb Si60 ; CN ; NH₂ ("amine").

Excepté quelques rares cas, le débit est généralement fixé à 5 ml/mn. Le spectrophotomètre UV est réglé selon le cas à λ 254 nm ou 225 nm.

* Toutes les évaporations ont été effectuées sous pression réduite.

* Les rendements ont été calculés pour les produits naturels par rapport au poids du matériel sec après extraction alors que pour les produits synthétiques, ils sont établis par rapport aux substrats.

* Le DMF utilisé pour la synthèse (4ème partie) a été distillé sur BaO puis conservé sur tamis moléculaire (4A).

* Les spectres de RMN ont été enregistrés sur un spectromètre Varian XL-300(299,94 MHz pour le proton et 75,43 MHz pour le carbone). Les déplacements chimiques (δ) sont indiqués en ppm relativement au tétraméthylsilane interne (0.0 ppm) et au solvant :

CDCl₃ (δ (H) 7,25 ; δ (C) 77,00) ; CD₃OD (δ (H) 3,31 ; δ (C) 49,0) ; (CD₃)₂ SO (δ (H) 2,50 ; δ (C) 39,50) ; (CD₃)₂ CO (δ (H) 2,05 ; δ (C) 29,80) ; D₂O (δ (H) 4,77) .

Les constantes de couplage en Hz sont déterminées par des expériences de découplages différentiels de spins. Les multiplicités en RMN du ¹³C ont été établies dans chaque cas à l'aide d'un DEPT.

* Les spectres IR ont été enregistrés sur un spectrophotomètre Pye-Unicam SP3-100(ν_{\max} en cm⁻¹).

* Les spectres UV ont été enregistrés sur un spectrophotomètre Perkin - Elmer Lambda - 3 (λ_{\max} en nm ; ϵ en mole⁻¹ l cm⁻¹).

* Les dichroïsmes circulaires ont été effectués sur spectropolarimètre Jasco J710 (λ_{\max} en nm ; $\Delta\epsilon$ en mole⁻¹ l cm⁻¹).

* Les spectres de masse ont été enregistrés sur un Kratos MS80 doté d'équipements supplémentaires pour l'enregistrement des spectres par "fast atomic bombardment" (FAB).

* les pouvoirs rotatoires ont été mesurés sur un polarimètre JASCO DP 181.

* Les points de fusion ont été déterminés sur un microscope Kofler.

▲ Isolement des métabolites secondaires de l'éponge *Ircinia fasciculata*

L'éponge *Ircinia fasciculata* a été récoltée en plongée sous-marine (-30 m) en Juillet 1989 à Dakar (Konakhé).

Aussitôt après la récolte, elle a été placée dans l'éthanol et conservée au réfrigérateur (1-2°C). Après 2 mois d'homogénéisation, on filtre et récupère l'extrait éthanolique et 123 g de résidu sec. Après évaporation du solvant sous pression réduite, le résidu aqueux repris avec un peu d'eau est extrait à l'acétate d'éthyle. Après évaporation du solvant sous pression réduite on obtient 1,75 g d'un résidu brun foncé dont la CCM développée dans un mélange éther de pétrole/acétate d'éthyle (80 : 20) puis avec un mélange chloroforme/méthanol (90 : 10) révèle plusieurs tâches sensibles au réactif d'Ehrlich. La carbonisation des produits présents dans les différentes tâches a été vérifiée avec un mélange $\text{CeSO}_4 / \text{H}_2\text{SO}_4$. Ce résidu est ensuite soumis à une flash chromatographie (FC) en phase normale (Si60, 90 g) avec gradient d'élution (fractions de 40 ml). Celle-ci démarre avec 4 fractions d'hexane et sera poursuivie avec des mélanges hexane/éther éthylique en faisant varier la proportion de l'hexane de 2,5 % jusqu'à la 20^{ème} fraction. A partir de la 21^{ème}, la chromatographie sera développée avec les mélanges suivants : acétate d'éthyle/éther éthylique (50 : 50) puis (100 : 0) ; acétate d'éthyle/méthanol (50 : 50) puis 4 fois avec le méthanol seul.

Les différentes fractions issues de cette FC sont ensuite analysées par CCM phase normale (Si60) et RP18.

- Les fractions 1 à 8 sont réunies et évaporées puis le résidu soumis à une HPLC RP18 ($\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$; 80 : 20), $\lambda = 225$ nm donne le composé (+)-**15** (tr = 14mn ; Rdt = 0,002 %).

- Les fractions 10 à 11 sont réunies et évaporées puis le résidu soumis à une flash chromatographie RP 18 ($\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$; 85 : 15). Les fractions 1 à 4 de cette FC sont ensuite réunies et évaporées puis le résidu soumis à une HPLC RP18 ($\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$; 80 : 20), $\lambda = 225$ nm. On obtient ainsi l'acide carboxylique furanoterpène (+)-**14** (tr = 8mn30 ; Rdt = 0,01 %). Ce composé est également présent dans les fractions 12, 13.

- Les fractions 14-17 contiennent essentiellement la fasciculatin (-)-**10** qui sera isolée par chromatographie préparative développée dans un mélange hexane/éther éthylique (60 : 40) acidifié avec CH_3COOH (0,5%). Ce composé est également présent dans les fractions 12-13 et 18-21 (Rdt = 0,41 %).

- Les fractions 25-27 sont réunies et évaporées puis le résidu soumis à une FC phase normale avec gradient d'élution. Celle-ci débute avec 4 fractions de CHCl_3 puis avec des mélanges $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ en faisant varier la proportion du méthanol de 2,5%. Les fractions 26-29 (200 mg) de cette FC sont ensuite acétylées en présence d'anhydride acétique et pyridine selon (30a). Le mélange de produits issu de l'acétylation est soumis à une FC phase normale avec gradient d'élution (hexane/acétate d'éthyle). La fraction 37 de cette FC contient la konakhin (+)-**12** qui sera purifiée par HPLC RP18 ($\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$; 70 : 30), $\lambda = 225$ nm (tr = 11 mn ; Rdt = 0,006 %)

▲ Isolement des métabolites secondaires 1a/1b, 3a/3b,16a/16b puis 17, 18 des deux Dictyocératides de Venise

Pour chaque éponge correspondante, ces composés ont été isolés dans les mêmes conditions que ci-dessus.

▲ Dégradation oxydative de la fasciculatin (10)

- Protocole opératoire 1 : 27 mg (0,07 mmole) de fasciculatin sont dissouts dans 3 ml de dioxane. On ajoute 0,76 g (7,4 mmoles) de Al₂O₃ basique (type 60 E), Merck, puis 0,40 ml (4,2 mmoles) H₂O₂ (30%). Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation pendant 4 heures à 40°C ou 14 heures à 20°C. Le mélange est filtré et Al₂O₃ lavé avec 3 fois 3 ml de méthanol. Les solvants sont évaporés sous pression réduite et le résidu extrait avec de l'acétate d'éthyle. La phase organique est ensuite séchée sur sulfate de sodium puis on élimine le solvant sous pression réduite. A partir du résidu, les composés (+)-**14** (t_r = 8mn30 ; Rdt = 48%) et (+)-**15** (t_r = 14mn ; Rdt = 7%) sont isolés et purifiés par HPLC RP18 (CH₃CN/H₂O; 80 : 20).

- Protocole 2 : La réaction est conduite dans les mêmes conditions que ci-dessus excepté l'absence de Al₂O₃ basique. Dans ce cas seul le composé (+)-**15** est obtenu (Rdt = 7%).

▲ Dégradations oxydatives des sesterterpènes 1a/1b et 17

Selon le protocole opératoire 1 ou 2 ces réactions ont été conduites dans les mêmes conditions que celles de la fasciculatin (**10**).

▲ Isolement des métabolites secondaires de l'algue *Dictyota ciliolata*

L'algue *Dictyota ciliolata* a été récoltée en marée basse en Septembre 1991 à la pointe de Senti à Joal.

Aussitôt après la récolte, elle a été placée dans le méthanol et conservée au réfrigérateur. Après 6 mois d'homogénéisation, on filtre et récupère l'extrait méthanolique et 25 g de résidu sec. Après évaporation du solvant sous pression réduite, le résidu est extrait avec l'hexane puis l'acétate d'éthyle. Le résidu huileux (1,2 g) issu de l'extrait hexanique est ensuite soumis à une flash chromatographie en phase normale (Si60, 60 g) avec gradient d'élution (fractions de 40 ml). Celle-ci démarre avec 4 fractions d'hexane et sera poursuivie avec des mélanges d'hexane / acétate d'éthyle en faisant varier la proportion d'hexane de 2 % jusqu'à la 30^{ème} fraction. De la fraction 31 à 55, on élue avec le même mélange mais sous le rapport (50 : 50).

Les différentes fractions sont ensuite analysées par CCM en utilisant des plaques (CN) sur lesquelles la séparation est beaucoup plus nette et les pigments mieux retenus à la base que sur (Si60) ou RP18. Les fractions présentant des tâches similaires sont réunies puis le solvant évaporé. Les différents produits sont ensuite séparés et purifiés par des méthodes chromatographiques.

- Le résidu des fractions 17 à 26 soumis à une HPLC-CN (hexane /i-PrOH ; 98 : 2) donne le dictyolactone (-)-**35** ($t_R = 12$ mn ; Rdt = 0,04 %).
- Le résidu des fractions 27 à 32 soumis à une HPLC-CN (hexane /i-PrOH ; 97 : 3) donne l'isodictyohémiacétal (-)-**32** ($t_R = 5$ mn 30 ; Rdt = 0,013 %) , l'hydroxyacétyldictyolal (-)- **33** ($t_R = 10,2$ mn ; Rdt = 0,035 %) et l'acétoxyrénuclide (+)-**31** ($t_R = 15$ mn ; Rdt = 0,03%).
- Le résidu des fractions 33 à 36 soumis à une HPLC-CN (hexane/i-PrOH ; 95 : 5) conduit à 2 éluats à 7,2 mn et 11 mn 30. La fraction qui sort à 7,2 mn est évaporée puis le résidu soumis à une HPLC-Si60 (hexane /i-PrOH ; 97 : 3) donne l'acétal (-)-**38** ($t_R = 11,8$ mn ; Rdt = 0,03 %) et la joalin (-)**40** ($t_R = 10$ mn ; Rdt = 0,02 %).

La fraction à 11mn30 est ensuite évaporée et le résidu soumis à une HPLC-Si60 (hexane/i-PrOH ; 95 :5) donne le (6Z) -hydroxyacétyldictyolal (-)- **39** ($t_R = 10$ mn ; Rdt = 0,01 %).

- Le résidu des fractions 37 à 44 soumis à une HPLC-CN (hexane/i-PrOH ; 95 : 5) donne 2 éluats à 13,8 mn et 16 mn. La fraction qui sort à 16 mn conduit après évaporation à l'hydroxydictyolactone (-)-**36** ($t_R = 16$ mn ; Rdt = 0,07 %), l'hydroxyrénuclide (+)-**30** ($t_R = 19$ mn ; Rdt = 0,02 %), le dictyol C **28** ($t_R = 6$ mn ; Rdt = 0,02 %), et l'hydroxydictyoxide **29** ($t_R = 10$ mn ; Rdt = 0,01 %).

La fraction à 13,8 mn est évaporée puis le résidu soumis à une HPLC-Si60 (hexane / i-PrOH ; 95 : 5) donne l'époxyde de l'hydroxyacétaldictyolal (-)-**34** ($t_R = 18$ mn ; Rdt = 0,02 %).

- Le résidu des fractions 45 à 50 soumis à une HPLC-Si60 (hexane/i-PrOH ; 90 : 10) conduit à l'époxyde de l'hydroxydictyolactone(-)- **37** ($t_R = 15$ mn 30 : Rdt = 0,015%).

▲ Isolement des métabolites secondaires de l'algue *Haraldiophyllum* sp.

L'algue *Haraldiophyllum* sp. a été récoltée en marée basse en Mai 1993 aux Almadies (10 km au nord de Dakar). Aussitôt après la récolte, elle a été placée dans l'éthanol, pour 3 mois d'homogénéisation. Après filtration, on récupère l'extrait éthanolique et 203 g de résidu sec. Après évaporation de l'alcool, le résidu repris avec un peu d'eau est extrait à l'hexane puis à l'acétate d'éthyle. Le résidu issu de l'acétate d'éthyle (1,5 g) est soumis à une flash chromatographie en phase normale (Si60, 75 g) avec gradient d'élution (fractions de 40 ml). Celle-ci démarre avec le mélange hexane/acétate d'éthyle (95 : 5) et sera poursuivie jusqu'à la fraction 18 en faisant varier la proportion de l'hexane : 2(90 : 10) ; 3(85 : 15) ; 4(75 : 25) ; 5(65 : 35) ; 6(50 : 50) ; 7(35 : 65) ; 8-12(25 : 75) ; 13-15(12 : 88) ; 16-18(0 : 100). A partir de la fraction 19 la chromatographie sera développée avec le mélange méthanol / acétate d'éthyle (10 : 90) et sera poursuivie jusqu'à la fraction 25 en faisant varier la proportion de l'acétate d'éthyle : 20(30 : 70) ; 21(50 : 50) ; 22(70 : 30) ; 23-24(90 : 10) ; 25(100 : 0).

Les différentes fractions sont ensuite analysées par CCM (Si60 ou RP18). Les fractions présentant des spots similaires sont réunies puis le solvant évaporé. Les différents produits sont ensuite séparés et purifiés par chromatographie liquide haute performance (HPLC).

- Le résidu des fractions 6 à 9 soumis à une HPLC RP18(CH₃CN/H₂O ; 50 : 50) donne le para-hydroxybenzaldéhyde (**52**) ($t_R = 3,9$ mn ; Rdt = 0,004 %), l'indole-3-glyoxalate d'éthyle (**50**) ($t_R = 8,2$ mn ; Rdt = 0,006 %) et l'indole-3-acétate d'éthyle (**49**) ($t_R = 9,2$ mn ; Rdt = 0,002 %).
- Le résidu issu des fractions 10 à 12 soumis à une HPLC RP18 (CH₃CN/H₂O ; 50 : 50) conduit à l'alcool para-hydroxybenzylique (**53**) ($t_R = 3$ mn 30 ; Rdt = 0,02 %) et à l'indole-3-carbaldéhyde (**48**) ($t_R = 4$ mn 30 ; Rdt = 0,002 %).
- Le résidu issu des fractions 13 à 16 soumis à une HPLC-NH₂ (hexane/*i*-PrOH ; 90 : 10) conduit à l'almazole A (**56**) ($t_R = 9$ mn 30 ; Rdt total = 0,005 %) et l'almazole B (**57**) ($t_R = 9$ mn ; Rdt = 0,002 %).
- Le résidu issu des fractions 17 à 20 soumis à une HPLC-NH₂ (hexane /*i*-PrOH ; 85 : 15) conduit également à l'almazole A (**56**) ($t_R = 7,2$ mn) et à l'almazole C (**61a**) ($t_R = 12,2$ mn ; Rdt total = 0,05 %).
- Le résidu issu des fractions 21 à 23 est soumis à une autre flash chromatographie (Si60) avec gradient d'élution en démarrant avec le mélange hexane / acétate d'éthyle (95 : 5) comme solvant d'élution. On récupère 17 fractions de 40 ml en faisant varier la proportion de l'hexane de 5 %. Après analyse par CCM des fractions 1a-17a, les fractions présentant des spots similaires sont réunies et le solvant évaporé.
 - Le résidu issu des fractions 6a-9a de cette FC, soumis à une HPLC dans les mêmes conditions que pour les fractions 17 à 20 conduit également à l'almazole C (**61a**).
 - Le résidu issu de la fraction 10a conduit après HPLC-NH₂ (hexane /*i*-PrOH ; 75 : 25) à une première fraction contenant le préalmazole C (**62**) ($t_R = 8$ mn) ; ce produit sera ensuite purifié par HPLC RP18(CH₃CN/H₂O ; 60 : 40 pendant 10 mn puis 80 : 20 ; $t_R = 13$ mn 30 ; Rdt = 0,002 %). La deuxième fraction qui sort à 19 mn 30 contient l'indole-3-acétamide (**51**) qui sera par la suite purifié par HPLC-RP18(CH₃CN/H₂O ; 60 : 40 ; $t_r = 3$ mn 30 ; Rdt = 0,004 %).

- Le résidu des fractions 11a -12a, soumis à une HPLC -RP18(CH₃OH/H₂O ; 62 : 38) conduit à la N,N-diméthylphénylalaninamide (**54**) ($t_R = 5,7$ mn ; Rdt = 0,015 %) et à l'acide indole-3 carboxylique (**47**) ($t_R = 3,7$ mn ; Rdt = 0,001 %).

• Le résidu des fractions 24-25 issues de la première flash chromatographie est soumis à une HPLC -RP18(CH₃CN/H₂O ; 20 : 80) pendant 10 mn puis on élue avec CH₃CN seul.

On obtient ainsi le dipeptide (+)-**66** ($t_R = 7,4$ mn ; Rdt = 0,004 %) et une autre fraction qui soumise à une HPLC- RP18(CH₃CN /H₂O ; 40 : 60) conduit au dipeptide N-alkylé (+)-**67** ($t_R = 4$ mn ; Rdt = 0,0015 %).

• **Isolement de l'almazole D (70)**

L'algue *Haraldiophyllum* sp. a été récoltée une deuxième fois en Mai 1994 toujours aux Alamadies. Après séchage (310g), on extrait à froid avec le méthanol pendant 15 jours. Après filtration, on évapore le solvant. Le résidu repris avec 200 ml d'eau est extrait à l'acétate d'éthyle. Après évaporation du solvant, le résidu (4,12g) est soumis à une flash chromatographie (Si60 ,220g) avec gradient d'élution (fractions de 40 ml). Celle-ci démarre avec le mélange hexane/acétate d'éthyle (100:0) et sera poursuivie jusqu'à la 20^{ème} fraction en faisant varier la proportion de l'hexane de 5%. L'élution sera maintenue avec l'acétate d'éthyle seul jusqu'à la 30^{ème} fraction. Ensuite on passe à des mélanges méthanol / acétate d'éthyle: 31(3 : 97) ; 32(5 : 95) ; 33(7 : 93) ; 34-43(10 : 90); 44-48(30 :70); 49 (40 :60); 50-54 (50:50); 55-56 (80:20); 57-78 (100:0).

Les différentes fractions sont ensuite analysées par CCM (Si60 ou RP18). Les fractions 62-78 très fluorescentes après exposition sous la lampe UV (365 nm) sont réunies puis le solvant évaporé .Le résidu (144 mg) est soumis à une flash chromatographie RP18 sans gradient d'élution (CH₃CN/H₂O ; 70 : 30). Les fractions 1a et 2a issues de cette FC sont réunies puis le solvant évaporé. Le résidu soumis à une HPLC RP18 (CH₃CN/H₂O ; 60 : 40) conduit à l'almazole D (+)-**70** ($t_R = 3$ mn 30 ; 180 mg).

La grande partie de l'almazole D a été isolée de la phase aqueuse. Ainsi après évaporation complète de l'eau, le résidu est repris avec un minimum de méthanol. Le surnageant est récupéré puis le solvant évaporé. Le résidu ainsi obtenu est soumis à une flash chromatographie RP18 avec gradient d'élution (CH₃CN/H₂O) : 1(0:100) ; 2-17 (on fait varier pour chaque fraction de 40 ml, la proportion de CH₃CN de 2,5%), puis on élue jusqu'à la fraction 27 avec CH₃CN seul. Après analyse des fractions par CCM, nous remarquons qu'à partir de la fraction 15 seul l'almazole D sort de la colonne à l'état pur (475 mg, Rdt total = 0,21 %)

▲ **Préparation de la (S)-N, N-diméthylphénylalanine ((+)-54)**

Dans un ballon bicol maintenu sous atmosphère d'azote, on introduit la (S)-N, N-diméthylphénylalanine (+)-**55** (Aldrich) (60 mg ; 0,31 mmole) et 2 ml de DMF anhydre. On ajoute ensuite le 1,1' - carbonyldiimidazole (CDI)(56 mg ; 0,34 mmole). La suspension est agitée vigoureusement pendant 45 mn à température ambiante puis on fait passer à travers le mélange un courant de NH₃ (gaz) sec pendant 1 heure.L'agitation est ensuite maintenue pendant 2 heures. A la solution incolore obtenue on ajoute 15 ml d'eau puis le mélange est extrait 3 fois avec 20 ml d'acétate d'éthyle. Les phases organiques réunies sont lavées avec une solution saturée de chlorure

de sodium. On sèche sur sulfate de sodium puis évapore le solvant sous pression réduite. On obtient le composé (+)-**54** sous forme d'une poudre blanche (50 mg ; 83 %). Point de fusion = 145 - 146°C.

▲ Conversion de l'almazole A ((+)-**56**) en almazole B ((+)-**57**)

Dans un ballon monocol de 10 ml, on introduit 2 mg d'almazole A (**56**) et 2 ml d'une solution de HCl 1,5 M dans l'éthanol. Le mélange incolore agité pendant 30 mn à température ambiante devient jaune en raison de la présence de l'almazole B (**57**). On ajoute une solution de KOH 1M jusqu'au PH 9 puis extrait avec l'acétate d'éthyle. Après évaporation du solvant, le produit est purifié avec une petite colonne de flash chromatographie avec comme éluant le mélange (hexane / acétate d'éthyle 10 : 90). On récupère 1,6 mg (74 %) d'almazole B ((+) - **5**).

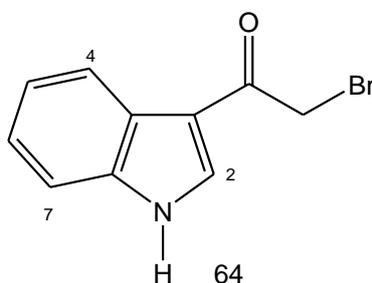
▲ Acétylation de l'almazole C ((+)-**61a**)

Dans un ballon monocol de 10 ml, on introduit l'almazole C ((+)- **61a**) (10 mg ; 0,030 mmole) puis 500 µl de pyridine et 500 µl d'anhydride acétique. Le mélange est agité à température ambiante pendant une nuit. Après évaporation du solvant, le résidu soumis à une HPLC-NH₂ (hexane / i-PrOH ; 85 : 15) conduit au 1-acétylalmazole C ((+)-**61b**) (t_R = 5,6 mn ; 3 mg, 89 %).

▲ Préparation du préalmazole C ((+)-**62**) et de l'almazole C ((+)-**61a**)

• 3 - (Bromoacétyl) -1H-Indole (**64**)

Dans un ballon bicol de 25 ml, équipé d'un réfrigérant et d'une ampoule à brome, on introduit 300 mg (1,9 mmoles) de 3-acétyl - 1H-indole (**63**) et 3 ml de CH₃OH. Sur la suspension agitée dans un bain de glace, on ajoute goutte à goutte 303 mg (1,9 mmoles) de brome. Le mélange est ensuite porté au reflux pendant 2 heures. On évapore le solvant, puis 10 ml d'eau sont ajoutées. Après neutralisation avec une solution saturée de bicarbonate de sodium le mélange est extrait 3 fois avec 15 ml d'acétate d'éthyle. Les phases organiques réunies et évaporées donnent 380 mg (84 %) du composé **64**.



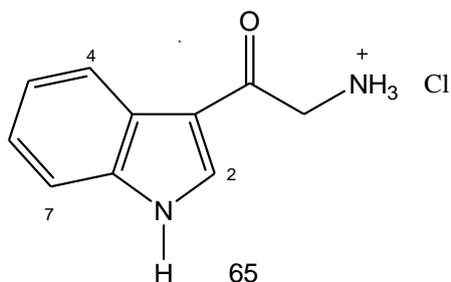
RMN du ¹H ((CD₃)₂CO) δ(ppm) (mult.) : 8,41 (d ; J = 3,3 Hz ; H - C-2) ; 8,30 (m ; H-C-4) ; 7,26 (m ; H-C-5 et H-C-6) ; 7,55 (m ; H-C-7) ; 4,55 (m ; CH₂) ; 11,20(s(l) ; NH.

RMN du ¹³C ((CD₃)₂CO) δ (ppm) (mult.) : 134,82(d ; C-2) ; 115,06 (s ; C-3), 126,84 (s ; C-3a) ; 124,22 (d ; C-4) ; 123,05 (d ; C-5) ; 122,60 (d ; C-6) ; 112,87 (d ; C-7) ; 137,84 (s ; C-7a) ; 186,99 (s ; CO) ; 33,06 (t ; CH₂).

SM-IE (m/z (%)) : 240, 238 (14,14, [M+H]⁺) ; 239, 237 (6,6, M⁺) ; 145 (100) ; 144 (22) ; 116 (5).

• **Chlorure de [2-(1H-indol-3-yl) -2-oxoéthyl] ammonium (65)**

Dans un ballon monocol de 25 ml, on dissout 357 mg (1,5 mmoles) de **64** dans un mélange acétone /chloroforme (1 ml/2 ml). 210 mg (1,5 mmoles) d'hexaméthylènetétramine (HMTA) dans 3 ml de chloroforme sont ajoutés puis le mélange est agité à température ambiante pendant 3 heures. Le précipité obtenu, filtré et séché est mis en réaction à température ambiante avec une solution d'acide chlorhydrique à 37 % (0,46 ml) dans EtOH (4 ml). Le mélange est agité périodiquement. 24 heures après, 30 ml d'acétate d'éthyle sont ajoutés. Après extraction avec 2 fois 30 ml d'eau, les phases aqueuses sont réunies et l'eau évaporée. Le résidu séché sous vide sur P₂O₅ conduit au composé **65** (310 mg, 98 %).



RMN du ¹H (D₂O) δ (ppm) (mult.) : 8,22 (s ; H-C-2) ; 8,12 (m ; H-C-4) ; 7,33 (m ; H-C-5 et H-C-6) ; 7,55 (m ; H-C-7) ; 4,47 (s ; CH₂)

RMN du ¹³C (D₂O) δ(ppm) (mult.) : 138,24 (d ; C-2) ; 115,47 (s ; C-3) ; 127,20 (s ; C-3a) ; 126,77 (d ; C-4) ; 125,86 (d ; C-5) ; 123,51 (d ; C-6) ; 115,47 (d ; C-7) ; 139,20 (s ; C-7a) ; 190,05 (s ; CO) ; 46,87 (t ; CH₂).

SM-IE (m/z (%)) : 174 (13, [M-HCl]⁺) ; 145 (11) ; 144 (86) ; 116 (22)

• **Préalmazole C ((+)-62)**

Dans un ballon bicol de 25 ml, maintenu sous atmosphère d'azote, on introduit 150 mg (0,77 mmole) de (*S*)-N, N-diméthylphénylalanine ((+)-**55**) (Aldrich) dans 3 ml de DMF sec puis 140 mg (0,86 mmole) de 1,1'-carbonyldiimidazole (CDI). Le mélange est vigoureusement agité, pendant 45 mn à température ambiante puis 162 mg (0,77 mmole) du composé **65** dans 2 ml de DMF sont ajoutés. On maintient l'agitation à température ambiante pendant 14 heures environ. On ajoute 20 ml d'eau puis le mélange est extrait 3 fois avec 20 ml d'acétate d'éthyle. Les phases organiques réunies sont lavées avec une solution saturée froide de chlorure de sodium. On sèche sur sulfate de sodium puis évapore le solvant sous pression réduite. Le résidu soumis à une flash chromatographie (Lichroprep-CN) avec CHCl₃ comme solvant d'élution conduit au préalmazole C ((+)-**62**) (160 mg, 80 %). Un échantillon pour analyse a été obtenu à partir d'une HPLC-NH₂ (hexane /i-PrOH/i-PrNH₂ ; 32 : 10 : 3 ; t_R = 6,8 mn).

• **Almazole C ((+)- 61a)**

Dans un ballon monocol de 25 ml, équipé d'un réfrigérant, on introduit 18 mg (0,07 mmole) du préalmazole C (**62**) synthétique et 0,5 ml de POCl₃ fraîchement distillé. Le mélange est agité pendant 14 heures environ à 40°C. Après évaporation, 2 ml d'eau sont ajoutés au résidu puis le

mélange neutralisé avec une solution concentrée de soude est extrait 3 fois avec 5 ml d'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont réunies puis le solvant évaporé. Le résidu ainsi obtenu, soumis à une HPLC-NH₂ (hexane /i-PrOH/i-PrNH₂ ; 32 : 10 : 3) donne l'almazole C ((+)-**61a**) pur (t_R = 5,1 mn, 13 mg, 77 %).

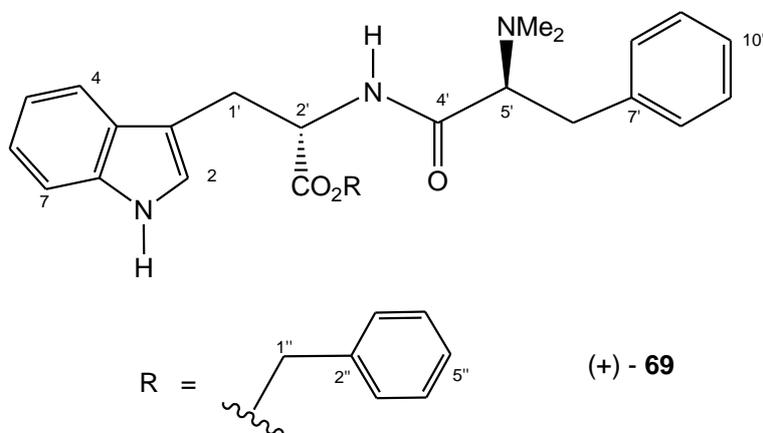
▲ Préparation du dipeptide (+)-**66**

- Ester benzylique du (N5',N5'-diméthyl- L-phénylalanyl) -L-tryptophane ((+)-**69**)

Dans un ballon bicol de 25 ml, maintenu sous atmosphère d'azote, on introduit 39 mg (0,17 mmole) de chlorhydrate de la (*S*)-N, N-diméthylphénylalanine ((+)-**55**). HCl, dans 2 ml de DMF sec puis 35 mg (0,21 mmole) de CDI. Le mélange est vigoureusement agité pendant 45 mn à température ambiante puis on ajoute une solution d'ester benzylique du chlorhydrate de L-tryptophane ((+)-**68**) (Sigma) (56 mg ; 0,17 mmole) et 1H-imidazole (12 mg ; 0,17 mmole) dans 1 ml de DMF. On maintient l'agitation à température ambiante pendant 14 heures environ. On ajoute 15 ml d'eau puis le mélange est extrait 3 fois avec 10 ml d'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont réunies et lavées avec une solution saturée de chlorure de sodium. On sèche sur sulfate de sodium puis évapore le solvant sous pression réduite. On obtient un résidu contenant ((+)-**69**) et 13 % d'ester benzylique du L-tryptophane qui n'a pas réagi. Le composé (+)-**69** pur (68 mg, 85 %) est obtenu par HPLC -NH₂ (hexane/i-PrOH/i-PrNH₂ ; 32 : 10 : 3 ; débit = 7 ml/mn ; t_R = 4,2 mn)

$[\alpha]_D^{20} = + 14^\circ$ (c = 0,6 ; CH₃OH)

RMN du ¹H ((CD₃)₂CO) δ (ppm) (mult. ; J (Hz)) : 7,60 (d (l) ; J = 7,8 ; H-C-4) ; 3,32 (ddd ; J = 14,7 ; 5,9 ; 0,8) et 3,24 (ddd ; J = 14,7 ; 7,7 ; 0,8) 2H-C-1' ; 4,77 (dd ; J = 5,9 ; 7,7 ; H-C-2') ; 3,21 (dd, J = 6,0 ; 7,5 ; H-C-5'') ; 2,96 (dd ; J = 13,8 ; 7,5) et 2,80 (dd ; J = 13,8 ; 6,0) 2H-C-6' ; 10,15 (s(l) ; H-N-1) ; 7,56 (d(l) ; J = 6 ; H-N-3') ; 5,09 (s ; 2H-C-1'') ; 7,40 - 7,05 (série de m ; H-C-2 ; (H-C-5) - (H-C-7) ; (H-C-8') - (H-C-12') ; (H-C-3'') - (H-C-7'')) ; 2,14 (s ; NMe₂).



RMN du ^{13}C ($(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) δ (ppm) (mult.) : 124,52 (d ; C-2) ; 110,67 (s ; C-3) ; 128,20 (s ; C-3a) ; 119,61 et 119,15 (2d ; C-4 et C-5) ; 122,21 (d ; C-6) ; 112,19 (d ; C-7) ; 136,97 ou 137,54 (s ; C-7a) 28,27 (t ; C-1') ; 53,82 (d ; C-2') ; 172,54 ou 172,08 (s ; C-4') ; 67,00 (d ; C-5') ; 34,13 (t ; C-6') ; 140,87 (s ; C-7') ; 128,82 (d ; C-8' et C-12') ; 172,08 ou 172,54 (s ; COO) ; 71,28 (t ; C-1'') ; 137,5 ou 136,97 (s ; C-2'') ; 126,53 ; 128,77 ; 129,17 ; 129,99 (4d ; (C-9') - (C-11'') et (C-3'') - (C-7'') ; 42,24 (q ; Me_2N).

SM-IE (m/z (%)) : 378 (4, $[\text{M}-\text{C}_7\text{H}_7]^+$) ; 302(8) ; 148 (100) ; 130 (12) ; 91 (10).

• **Dipeptide (+)-66**

Dans un ballon bicol de 25 ml, on introduit 25 mg (0,05 mmole) de (+)-**69** et une quantité catalytique de palladium sur charbon à 10 % (Aldrich) dans 3 ml d'éthanol. On fait barboter à travers la suspension H_2 pendant 30 mn à température ambiante. Le mélange est ensuite filtré à travers une petite colonne Lichrolut RP18 (Merck) avec comme éluant : $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (80 : 20).

L'évaporation du filtrat donne le dipeptide (+)-**66** (17 mg, 90 %).

• **Méthylation de l'almazole D (70)**

Dans un ballon monocol de 10 ml, on introduit l'almazole D ((+)- **70**) (13 mg ; 0,034 mmole) dans 500 μl de méthanol anhydre. On ajoute un excès d'une solution de CH_2N_2 dans l'éther éthylique (2ml). Le mélange est agité à température ambiante pendant 1 heure. Après évaporation du solvant, le résidu soumis à une HPLC-RP18 ($\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$; 70:30) conduit au méthoxylalmazole D ((+)-**71**) ($t_{\text{R}} = 8$ mn ; 2 mg, 15 %).

BIBLIOGRAPHIE

1. F.PIETRA, "A Secret World. Natural Products of Marine Life", Birkhäuser Verlag, Basel, **1990**.
2. a) Chem. Rev. Marine Natural Products Chemistry, 1993, Vol. 93, No.5 ; b) R.A. LINCOLN, K. S. STRUPINSKI, J. M. WALKER, Life Chem. Rep., **1991**, 8,97.
3. M. AKNIN, Thèse de Doctorat en Sciences, Université d'Aix-Marseille III, **1991**
4. M. AKNIN, A. SAMB, J. MIRALLES, V. COSTANTINO, E. FATTORUSSO, A. MANGONI, Tetrahedron Lett., **1992**, 33, 4, 555.
5. M. AKNIN, J. MIRALLES, J. M. KORNPORBST, R. FAURE, E. M. GAYDOU, N. BOURY-ESNAULT, Y. KATO, J. CLARDY, Tetrahedron Lett., **1990**, 31, 2979.
6. D. LEUNG-TACK, No spécial 'Environnement Africain" p. 118, Edit. J. M. Kornprobst, Enda T.M., Dakar, **1983**.
7. R. SOURIE, Mémoires de l'IFAN, **1954**, 38.
8. N. BOURY-ESNAULT, No spécial "Environnement Africain" p. 124, Edit. J. M. Kornprobst, Enda T.M., Dakar, **1983**.
9. P. R. BERGQUIST "Sponges" University of California Press, Berkeley and Los Angeles, **1978**.
10. C. LEVI, Arch. Zoologique Expérimentale, gén., **1956**, 93, 1.
11. C. LEVI, Bulletin de l'IFAN, **1952**, Tome XIV, série A, No1, 34.
12. C. LEVI, Bulletin de l'IFAN, **1956**, Tome XVIII, série A, No2, 391.
13. C. LEVI, Bulletin de l'IFAN, **1960**, Tome XXII, série A, No3, 743.
14. R. SOURIE, Mémoires de l'IFAN, **1952**, 36.
15. I. MORRIS, "An Introduction to the Algae", p.5, Ed. Hutchinson and Co, London, **1967**.
16. R. A. LEWIN, "Algal Physiology and Biochemistry", Botanical Monograph., Edit. W. D. P. Stewart, University of California Press, Berkeley and Los Angeles, **1974**.

17. P. DANGEARD, *Botaniste*, **1952**, 36, 195.
18. M. BODARD, J. MOLLION, *Bull. Soc. Phycol. de France*, **1974**, 19, 193.
19. J. MOLLION, D.E.A, Université de Lille, **1974**.
20. L. MINALE, "Marine Natural Products, Chemical and Biological Perspectives", Vol. 1, p. 207, Ed. P. J. Scheuer, Academic Press, New-York, **1978**.
21. G. CIMINO, S. DE STEFANO, L. MINALE, E. FATTORUSSO, *Tetrahedron*, **1972**, 28, 333.
22. D. J. FAULKNER, *Tetrahedron Lett.*, **1973**, 3821.
23. a) N. B. PERRY, C. N. BATTERSHILL, J. W. BLUNT, G. D. FENWICK, M. H. G. MUNRO, P. R. BERQUIST, *Biochem. Syst. Ecol*, **1987**, 15, 373 ; b) C. J. BARROW, J. W. BLUNT, M. H. G. MUNRO, N. B. PERRY, *J. Nat. Prod.*, **1988**; 51, 275.
24. a) G. CIMINO, S. DE STEFANO, L. MINALE, *Tetrahedron*, **1972**, 28, 5983 ; b) L. MINALE, "Marine Natural Products, Chemical and Biological Perspectives", Vol. 1, p. 205, Ed. P. J. Scheuer, Academic Press, New-York, **1978**.
25. G. CIMINO, S. DE STEFANO, L. MINALE, *Tetrahedron*, **1972**, 28, 1315.
26. G. CIMINO, S. DE STEFANO, L. MINALE, *Experientia*, **1972**, 28, 1401
27. W. HOFHEINZ, P. SCHÖNHOLZER, *Helv. Chim. Acta*, **1977**, 60, 1367.
28. R. P. GREGSON, D. OUVRIER, *J. Nat. Prod.*, **1982**, 45, 412.
29. D. J. FAULKNER, *Nat. Prod. Rep.*, **1984**, 1, 563.
30. a) F. CAFIERI, E. FATTORUSSO, C. SANTACROCE, L. MINALE, *Tetrahedron*, 1972, 28, 1579 ; b) G. ALFANO, G. CIMINO, S. DE STEFANO *Experientia*, **1979**, 35, 1136.
31. a) R. N. COATES, D. A. LEY, P. L. CAVENDER, *J. Org. Chem.*, **1978**, 43, 4915 ; b) P. A. COUPEROUS, A. D. H. CLAGUE, J. P. C. M. VAN DONGEN, *Org. Magn. Reson.*, **1976**, 8, 426.
32. L. V. MANES, P. CREWS, M. B. KSEBATI, F. J. SCHMITZ, *J. Nat. Prod.*, **1986**, 49, 787.
33. A. DEGIULIO, S. DE ROSA, G. DI VICENZO, G. STRAZZULLO, N. ZAVODNIK, *J. Nat. Prod.*, **1990**, 53, 1503.

34. "PC MODEL 4.0" Serena Software, Bloomington, Indiana : U. BURKERT, N. L. ALLINGER, "Molecular Mechanics", ACS Monograph 177, American Chemical Society, Washington, DC, **1982**.
35. A. POINER, V. J. Paul, P.J. SCHEUER, Tetrahedron, **1989**, 45, 617.
36. R. M. SILVERSTEIN, G. C. BASSLER, T. C. MORRIL, "Spectrometric Identification of Organic Compounds" Edit. John Wiley & Sons, 4ème Edition, New-York, **1981**.
37. P. R. BERGQUIST, R. J. WELLS, "Marine Natural Products, Chemical and Biological Perspectives", Vol. 5, p.1, Ed. P. J. Scheuer, Academic Press, New-York, **1983**.
38. D. J. FAULKNER, Tetrahedron, **1977**, 33, 1421.
39. A. G. GONZALEZ, M. L. RODRIGUEZ, A. S. M. BARRIENTOS, J. Nat. Prod., **1983**, 46, 256.
40. Y. OGATA, Y. SAWAKI, M. SHIROYAMA, J. Org. Chem., **1977**, 42, 4061.
41. a) A. HATANAKA, T. KAJIWARA, J. SEKIYA, H. TOYOTA, Z. Naturforsch., Teil C, **1986**, 41, 359 ; b) A. HATANAKA, T. KAJIWARA, J. SEKIYA, T. FUKUMOTO, Z. Naturforsch., Teil C, **1982**, 37, 752.
42. L. CROMBIE, D. O. MORGAN, E. H. SMITH, J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1, **1991**, 567.
43. I. N'DIAYE, G. GUELLA, I. MANCINI, J. M. KORNPORST, F. PIETRA, J. Chem. Soc., Chem. Commun., **1991**, 97.
44. G. GUELLA, I. MANCINI, I. N'DIAYE, F. PIETRA, Tetrahedron Lett., **1991**, 32, 6415.
45. a) W. FENICAL, "Marine Natural Products, Chemical and biological Perspectives" Vol.2, p. 173, Ed. Scheuer, Academic Press, New-York, **1978** ; b) D. J. FAULKNER, Nat. Prod. Rep., **1984**, 1, 251.
46. D. R. HIRSCHFELD, W. FENICAL, G. H. Y. LIN, R. M. WING, P. RADLICK, J. J. SIMS, J. Am. Chem. Soc., **1973**, 95, 4049.
47. D. J. VANDERAH, P. A. STEUDLER, L. S. CIERESZKO, F. J. SCHMITZ, J. D. EKSTRAND, D. VAN DER HELM, J. Am. Chem. Soc., **1977**, 99, 5780
48. J. FINER, J. CLARDY, W. FENICAL, L. MINALE, R. RICCIO, J. BATAILE, M. KIRKUP, R. E. MOORE, J. Org. Chem., **1979**, 44, 2044.

49. C. IRELAND, D. J. FAULKNER, J. CLARDY, *J. Am. Chem. Soc.*, **1976**, 98, 4664.
50. V. AMICO, G. ORIENTE, M. PIATTELLI, C. TRINGALI, E. FATTORUSSO, S. MAGNO, L. MAYOL, *Tetrahedron*, **1980**, 36, 1409.
51. V. AMICO, G. ORIENTE, M. PIATTELLI, C. TRINGALI, E. FATTORUSSO, S. MAGNO, L. MAYOL, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1976**, 1024.
52. H. H. SUN, W. FENICAL, *J. Org. Chem.*, **1979**, 44, 1354.
53. a) A. G. GONZALEZ, J. D. MARTIN, B. GONZALEZ, J. L. RAVELO, C. PEREZ, S. RAFII, J. CLARDY, *J. Chem., Soc., Chem. Commun.*, **1984**, 669 ; b) J. CLARDY, G. VAN DUYN, A. GALLARDO, E. MANTA, J. D. MARTIN, C. PEREZ, J. L. RAVELO, M. L. RODRIGUEZ, G. K. SCHULTE, *Tetrahedron Lett.*, **1987**, 28, 6699.
54. B. DANISE, L. MINALE, R. RICCIO, V. AMICO, G. ORIENTE, M. PIATTELLI, C. TRINGALI, E. FATTORUSSO, S. MAGNO, L. MAYOL, *Experientia*, **1977**, 33, 413.
55. G. M. KÖNIG, A. D. WRIGHT, O. STICHER, *Tetrahedron*, **1991**, 47, 1399.
56. a) S. L. MIDLAND, R. M. WING, J. J. SIMS, *J. Org. Chem.* **1983**, 48, 1906 ; b) H. H. SUN, F. K. Mc ENROE, W. FENICAL, *J. Org. Chem.*, **1983**, 48, 1903.
57. a) N. ENOKI, R. ISHIDA, T. MATSUMOTO, *Chem. Lett.*, **1982**, 1749 ; b) I. OHTANI, T. KUSUMI, M. O. ISHITSUKA, H. KAKISAWA, *Tetrahedron Lett.*, **1989**, 30, 3147.
58. a) M. OCHI, N. MASUI, H. KOTSUKI, I. MIURA, T. TOKOROYAMA, *Chem. Lett.*, **1982**, 1927 ; b) J. HIGA, *Chem. Lett.*, **1984**, 231.
59. M. NORTE, A. G. GONZALEZ, P. ARROYO, M. ZARRAGA, C. PEREZ, M. L. RODRIGUEZ, C. RUIZ-PEREZ, L. DORTA, *Tetrahedron* **1990**, 46, 6125.
60. a) M. ISHITSUKA, T. KUSUMI, J. TANAKA, H. KAKISAWA, *Chem. Lett.*, **1983**, 1517 ; b) N. BOUAICHA, C. TRINGALI, D. PESANDO, M. MALLEA, C. ROUSSAKIS, J. F. VERBIST, *Planta Med.*, **1993**, 59, 256.
61. G. GUELLA, G. CHIASERA, I. N'DIAYE, F. PIETRA, *Helv. Chim. Acta*, **1994**, 77, 1203.
62. J. K. M. SANDERS, J. D. MERSCH, *Progr. NMR Spectrosc.*, **1982**, 15, 353.
63. a) D. H. DODDREL, D. T. PEGG, H. R. BENDALL, *J. Magn. Reson.*, **1982**, 48, 323 ; b) D. T. PEGG, D. H. DODDREL, M. R. BENDALL, *J. Chem. Phys.*, **1982**, 77, 2745.

64. a) A. BAX, R. FREEMAN, *J. Magn. Reson.*, **1981**, 44, 542 ; b) V. PIANTINI, O. W. SORENSEN, R. R. ERNST, *J. Am. Soc.*, **1982**, 104, 6800.
65. a) L. MULLER, *J. Am. Chem. Soc.*, **1979**, 101, 4481 ; b) G. GRAY, *Magn. Moments*, **1987**, III, 6.
66. D. J. FAULKNER, *Nat. Prod. Rep.* ; a) **1984**, 1, 251 et 551 ; b) **1986**, 3, 1, ; c) **1987**, 4, 539 ; d) **1988**, 5, 613 ; e) **1990**, 7, 269 ; **1992**, 9, 323.
67. a) I. UCHIDA, K. KURIYAMA, *Tetrahedron Lett.*, **1974**, 3761 ; b) M. MASUKO, K. KIYAMOTO, K. SAKURAI, M. IINO, Y. TAKEUCHI, T. HASHIMOTO, *Phytochemistry*, **1983**, 22, 1278 ; c) H. SHIMOMOURA, Y. SASHIDA, Y. MIMAKI, Y. MINEGISHI, *Phytochemistry*, **1987**, 26, 582.
68. M. O. ISHITSUKA, T. KUSUMI, H. KAKISAWA, *J. Org. Chem.*, **1988**, 53, 5010.
69. G. GUELLA, G. CHIASERA, I. MANCINI, F. PIETRA, *Helv. Chim. Acta*, **1991**, 74, 774.
70. C. B. LEMASTER, C. L. LEMASTER, H. S. TRUE, *Quantum Chem. Progr. Exch.* **1989**, QCMP 059, Indiana University, based
on D. S. STEPHENSON, G. BINSCH, *Quantum Chem. Progr. Exch.* **1978**, QCPE 365, Indiana University.
71. G. GUELLA, I. N'DIAYE, G. CHIASERA, F. PIETRA, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1993**, 1545.
72. a) P. M. KIRKUP, R. E. MOORE, *Tetrahedron Lett.*, **1983**, 24, 2087; b) T.HIGA, J. TANAKA, G. BERNARDINELLI, C.W. JEFFORD, *Tetrahedron Lett.*, **1988**, 29, 6091; c) M.R. BRENNAN, K.L. ERICKSON, *Tetrahedron Lett.*, **1978**, 1637; d) G.T.CARTER, K.L. RINEHART, L.H.LI, S.K. KUENTZEL, *Tetrahedron Lett.*, **1978**, 4479; e) J. TANAKA, T.HIGA, G. BERNARDINELLI, C.W. JEFFORD, *Tetrahedron*, **1989**, 45, 7301.
73. R. PAUL, G. W. ANDERSON, *J. Am. Chem. Soc.*, **1960**, 82, 4596.
74. M. F. SUMMERS, L. G. MARZILLI, A. BAX, *J. Am. Chem. Soc.*, **1986**, 108, 4285.
75. A. BAX, A. AZOLOS, Z. DINYA, K. J. SUDO, *J. Am. Chem. Soc.*, **1986**, 108, 8056.
76. a) R. N. MISRA, B. R. BROWN, P. M. SHER, M. M. PATEL, S. E. HALL, W. C. HAN, J. C. BARRISH, O. KOCY, D. N. HARRIS, H. J. GOLDENBERG, I. M. MICHEL, W. A. SCHUMAKER, M. L. WEBB, H. MONSHIZADEGAN, M. L. OGLETREE, *J. Med. Chem.*, **1993**, 36, 1401 ; A. L. MEYERS, D. G. WALKER, *J. Org. Chem.*, **1982**, 47, 2999 ; b) H.

HIEMSTRA, H. A. HOUWING, O. POSSEL, A. M. VANLEUSEN, *Can. J. Chem.*, **1979**, *57*, 3168.

77. H. NIWA, M. WATANABE, K. YAMADA, *Tetrahedron Lett.*, **1993**, *34*, 7441.

78. I. J. TURCHI, M. J. S. DEWAR, *Chem. Rev.*, **1975**, *75*, 389.

79. a) T. ICHIBA, W. Y. YOSHIDA, P. J. SCHEUER, T. HIGA, D. G. GRAVALOS, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 3173 ; b) S. MATSUNAGA, N. FUSETANI, K. HASHIMOTO, K. KOSEKI, M. NOMA, H. NOGUCHI, U. SANKAWA, *J. Org. Chem.*, **1989**, *54*, 1360 ; c) N. FUSETANI, T. SUGAWARA, S. MATSUNAGA, H. HIROTA, *J. Am. Chem. Soc.*, **1991**, *113*, 7811 ; d) J. M. WASYLYK, J. E. BISKUPIAK, C. E. COSTELLO, C. M. IRELAND, *J. Org. Chem.*, **1983**, *48*, 4445.

80. N. LINDQUIST, W. FENICAL, G. D. VAN DUYNE, J. CLARDY, *J. Am. Chem. Soc.*, **1991**, *113*, 2303.

81. A. RUDI, Z. STEIN, S. GREEN, I. GOLDBERG, Y. KASHMAN, Y. BENAYAHU, M. SCHLEYER, *Tetrahedron Lett.*, **1994**, *35*, 2589.

82. B. S. JOSHI, W. I. TAYLOR, D. S. BHATE, S. S. KARMARKAR, *Tetrahedron*, **1963**, *19*, 1437.

83. R. S. KARIMOTO, B. AXELROD, J. WOLINSKY, E. D. SCHALL, *Phytochemistry*, **1964**, *3*, 349.

84. a) W. E. SIEWART, T. H. SIDALL, *Chem. Rev.*, **1970**, *70*, 517 ; b) M. MORIYASU, K. KAWANISHI, A. KATO, Y. HASHIMOTO, *Bull. Chem. Soc. Japan*, 1984, *57*, 1766

85. K. BODENDORF, A. WALK, *Arch. Pharm.*, 1961, *294*, 484 ; *Chem. Abstr.*, **1962**, *56*, 2407.

86. R. LAKHAN, B. TERNAL, "Advances in Heterocyclic Chemistry", Vol. 17, p. 100, **1974**.

87. Y. S. KLAUSNER, M. BODANSKY, *Synthesis*, **1972**, 453.

88. O. HAYAISHI, F. HIRATA, T. OHNISHI, J. P. HENRY, I. ROSENTHAL, A. KATOH, *J. Biol. Chem.*, **1977**, *252*, 3548.

89. a) J.C. BRAEKMAN, D. DALOZE, C. STOLLER, *Bull. Soc. Chim. Belg.*, **1987**, *96*, 809; b) K. BARTIK, J.C. BRAEKMAN, D. DALOZE, C. STOLLER, J. HUYSECOM, G. VANDEVYVER, R. OTTINGER, *Can. J. Chem.*, **1987**, *65*, 2118; c) S. TSUJII, K.L. RINEHART, S.P. GUNASEKERA, Y. KASHMAN, S.S. CROSS, M.S. LUI, S.A. POMPONI, M.C. DIAZ, *J. Org. Chem.*, **1988**, *53*, 5446.

90. T. ROSEN, A.A. NAGELN, J.P. RIZZI, J.L. IVES, J.B. DAFTEH, A.H. GANONG, K. GUARINO, J. HEYM, S. McLEAN, J. NOWAKOWSKI, A.W. SCHMIDT, T.F. SEEGER, C.J. SIOK, L.A. VINCENT, *J. Med. Chem.*, **1990**, 33, 2715.

91. I. N'DIAYE, G. GUELLA, G. CHIASERA, I. MANCINI, F. PIETRA, *Tetrahedron Lett.*, **1994**, 35, 4827.

92. G. GUELLA, I. MANCINI, I. N'DIAYE, F. PIETRA, *Helv. Chem. Acta*, 32. L. V. MANES, P. CREWS, M. B. KSEBATI, F. J. SCHMITZ, *J. Nat. Prod.*, **1986**, 49, 787.

RESUME

Le travail exposé dans cette thèse concerne l'isolement, l'étude structurale, la synthèse totale et la recherches d'activités biologiques de métabolites secondaires de deux algues et d'une éponge des côtes du Sénégal.

Trente deux (32) métabolites secondaires dont 15 nouveaux ont été identifiés. Ces structures ont été établies sur la base des données spectroscopiques avec le support de réactions de dégradation chimique, de la synthèse totale ou la conversion chimique.

Deux nouveaux types de dégradation de furanosesterterpène (C₂₅) conduisant à des furanoterpène (C₂₄) et (C₂₀) ont été clarifiés; pour ce dernier la dégradation a été étudiée en profondeur en l'étendant à d'autres sesterterpènes (C₂₅).

Les composés isolés sous forme de mélange de conformères ont été l'objet d'une étude conformationnelle approfondie à l'aide d'expériences de RMN du ¹H dynamique et des techniques de simulation.

Des schémas de biogénèse ont été proposés, par analogie, pour les métabolites secondaires, soit sur la base de réactions de dégradation oxydative pour les furanoterpènes isolés de l'éponge *Ircinia fasciculata*, soit avec le support de la synthèse biomimétique ou la conversion chimique pour les alcaloïdes et peptides isolés de l'algue *Haraldiophyllum* sp..

L'activité cytotoxique et antibactérienne *in vitro* de certains composés ont été évaluées.

MOTS-CLES : algue ; éponge ; métabolites secondaires ; furanoterpène ; xénicane ; analyse conformationnelle ; RMN dynamique ; alcaloïde ; peptide ; oxazole.