

**ISOLEMENT ET ETUDE STRUCTURALE DE BIOMOLECULES ISOLEES
D'UNE GORGONE DE LA COTE SENEGALAISE**

DEDICACES

Je dédie ce travail à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à ma formation et à mon éducation, notamment :

- ☞ Mon regretté père Ndiassé Mbow qui a trépassé non sans nous avoir inculqué les vertus de la foi, de la bravoure et de l'abnégation ;
- ☞ Ma maman Bineta Mbow, une femme travailleuse et discrète ;
- ☞ Mon oncle Ass Mbow qui n'a ménagé aucun effort pour me mettre dans d'excellentes conditions de travail et de réussite ;
- ☞ Mes frères et sœurs qui ont partagé mes bonheurs et ressentiments ;
- ☞ Mes camarades de promotion et, plus particulièrement, Boye Mbaye, Papis, Ton's ;
- ☞ Les membres du Dahira "Mouvement des jeunes Tidiane de Taïba Ndiaye" ;
- ☞ Mes frères du club "Lalmy"

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au laboratoire de produits naturels de la faculté des sciences et techniques de l'UCAD sous la direction du Docteur Ibrahima NDIAYE, Maître de Conférences. Je lui dois une fière chandelle et lui exprime ma profonde gratitude. Ses conseils prodigués à mon endroit m'ont été très précieux.

Je remercie aussi le Docteur Samba Y. DIENG Maître de conférences d'avoir accepté de présider ce jury. Ses conseils m'ont été très bénéfiques.

J'exprime toute ma reconnaissance au Docteur Mouhamadou THIAM Maître de Conférences d'avoir accepté de juger ce travail.

Je remercie l'équipe des Professeurs Graziano Guella et Inès Mancini du laboratoire de chimie bioorganique de l'université de Trento en Italie pour l'enregistrement des spectres RMN.

Je tiens aussi à remercier le Professeur Mouhamadou Lamine GAYE et le Docteur Moussoukhoye DIOP pour la formation qu'ils nous ont livrée.

Je remercie le Docteur Mouhamadou FOFANA pour ses conseils et encouragements.

Mes remerciements vont aussi à l'endroit de tous les membres du laboratoire des produits naturels et du laboratoire de chimie minérale et analytique.

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES COELENTERES	2
I-1 Classification.....	2
I.2 Cœlentérés de la cote Sénégalaise.....	3
I.3 Morphologie et lieu de récolte du matériel biologique.....	5
CHAPITRE II : ISOLEMENT ET IDENTIFICATION DES ACIDES GRAS	6
II.1 Généralités sur les acides gras.....	6
II.1.1 Les acides gras saturés.....	6
II.1.2 Les acides gras insaturés.....	7
II.1.3 Les acides gras atypiques.....	7
II.2 Extraction et séparation.....	7
II.3 Détermination structurale du composé 2	11
II.4 Etude de la composition en acide gras de l'extrait brut de la gorgone...18	
CHAPITRE III : ISOLEMENT ET IDENTIFICATION DES SPHINGOLIPIDE	20
III.1 Généralités sur les sphingolipides.....	20
III.2 Extraction et séparation.....	21
III.3 Détermination structurale des sphingolipides.....	21
CONCLUSION	31
BIBLIOGRAPHIE	32

INTRODUCTION

Le développement de la recherche sur les biomolécules marines donne de plus en plus satisfaction sur le plan médical et cela par la prise en compte de leur activité biologique.

Parmi ces molécules, les métabolites secondaires qui constituent une famille de composés très hétéroclites, jouent un rôle important dans l'élaboration de nouveaux principes actifs.

Les métabolites secondaires sont recherchés parcequ'ils sont reconnus pour leurs activités biologiques nombreuses qui promouvoient des effets positifs de santé.

La diversité structurale s'explique par le fait que ces molécules qui ne jouent pas un rôle essentiel à la croissance, constituent une réponse chimique des espèces aux différentes interactions dans le milieu marin. Ainsi, la production et le stockage par l'organisme de ces substances permettent aux espèces de survivre en résistant aux prédateurs et agents pathogènes, en leur permettant de détecter leurs proies et en facilitant leur reproduction (1), (2), (3).

La diversité de ces produits, est souvent stimulée par les conditions climatiques, hydrologiques, et géomorphologiques qui influencent fortement la variation du biotope.

Ce rôle écologique explique l'importante activité biologique de ces composés qui occupent actuellement une place de choix dans les programmes de recherches de nouveaux principes actifs.

Vu les variations climatiques, hydrologiques, et géomorphologiques, la cote sénégalaise se présente comme une véritable zone de transition très riche en organismes marins (4), (5) avec des espèces spécifiques. Par rapport aux nombreuses espèces de la flore et de la faune, très peu d'organismes ont été étudiés. (6), (7), (8), (9).

Ce mémoire est présenté en trois chapitres :

- ☞ Le premier chapitre est consacré aux généralités sur les coelenteres.
- ☞ Le deuxième chapitre est consacré à l'isolement et l'identification des acides gras.
- ☞ Le troisième chapitre concerne l'isolement et l'identification des sphingolipides

CHAPITRE I

GENERALITES SUR LES COELENTERES

I.1 CLASSIFICATION

Les cœlentérés sont des animaux marins qui possèdent sur la surface de l'épiderme diverses cellules spécialisées dans la capture des proies. Selon la nature des cellules, ils sont divisés en deux embranchements :

- **Les cténaïres** : Sont voisins des cnidaires, mais sont différents au niveau des cellules prédatrices qui sont collantes et pas urticantes. Ils sont peu étudiés sur le plan chimique.

- **Les cnidaires** : Ce sont des animaux un peu plus évolués que les spongiaires. Ils sont en forme de sac avec une seule ouverture autour de laquelle est disposée une couronne de tentacules urticants et qui lui sert à la fois de bouche et d'anus.

Les cnidaires sont des animaux carnassiers qui paralysent leurs proies quand celles-ci viennent se frotter à leurs tentacules. Au moindre contact, les cellules urticantes se dévaginent en projetant une épine dont le venin (histamine) paralyse la proie, laquelle est ensuite portée à la bouche au moyen des tentacules.

Les cnidaires peuvent être répartis en trois classes :

- Les hydrozoaires :

Ils sont pélagiques et s'observent le plus souvent sous la forme de polype, qui au cours d'une reproduction asexuée bourgeonne et donne naissance à une méduse sexuée. Les méduses produisent des œufs qui donnent des polypes.

- Les anthozoaires :

Appelés « animaux fleurs », ils sont benthiques, c'est à dire fixés sur un substrat rocheux ou sablonneux. Certains sont solitaires comme les anémones, d'autres sont coloniaux et érigent un squelette calcaire comme les coraux. Le corps est cloisonné, et le nombre de cloisons peut être égal à 6 ou un multiple de 6 : ce sont

les hexacoralliaires (anémone de mer, palythoa). Il peut être égal à 8 ou un multiple de 8 : ce sont les octocoralliaires (corail, gorgone).

- Les scyphozoaires :

Ces animaux passent la majeure partie du temps de leur cycle sous la forme méduse.

Ils sont considérés comme des méduses vraies.

Tableau 1 : Classification simplifiée des cnidaires

<i>Classe</i>	<i>Sous-Classe</i>	<i>Ordre</i>	<i>Exemple type</i>
Hydrozoaires	Hydroïdes Hydrocoralliaires Siphonophores Anthomédues		Hydre Physalie Hydroméduses
Anthozoaires	Octocoralliaires	Stolonifères Alcyonacées Gorgonacées Pennatulacées	Alcyons Gorgones Corail Plume de mer
	Hexacoralliaires	Zoanthaires Actinaires	Palythoa Anémone de mer Madrepores
Scyphozoaires			Méduses

I.2 COELENTERES DE LA COTE SENEGALAISE

Les hydroïdes sont bien représentés et particulièrement sur la côte CapVerdienne.

Les octocoralliaires sont eux mal représentés sur la zone des marées. Cependant quelques espèces de gorgones sont signalées sur les roches de la côte CapVerdienne vers -30m (cf. cadre géographique).

Les hexacoralliaires sont bien représentés par les palythoas qui couvrent de grandes surfaces rocheuses entre les Almadies et Yoff.

Nous présentons dans le tableau 2 quelques cœlentérés des côtes Sénégalaises.

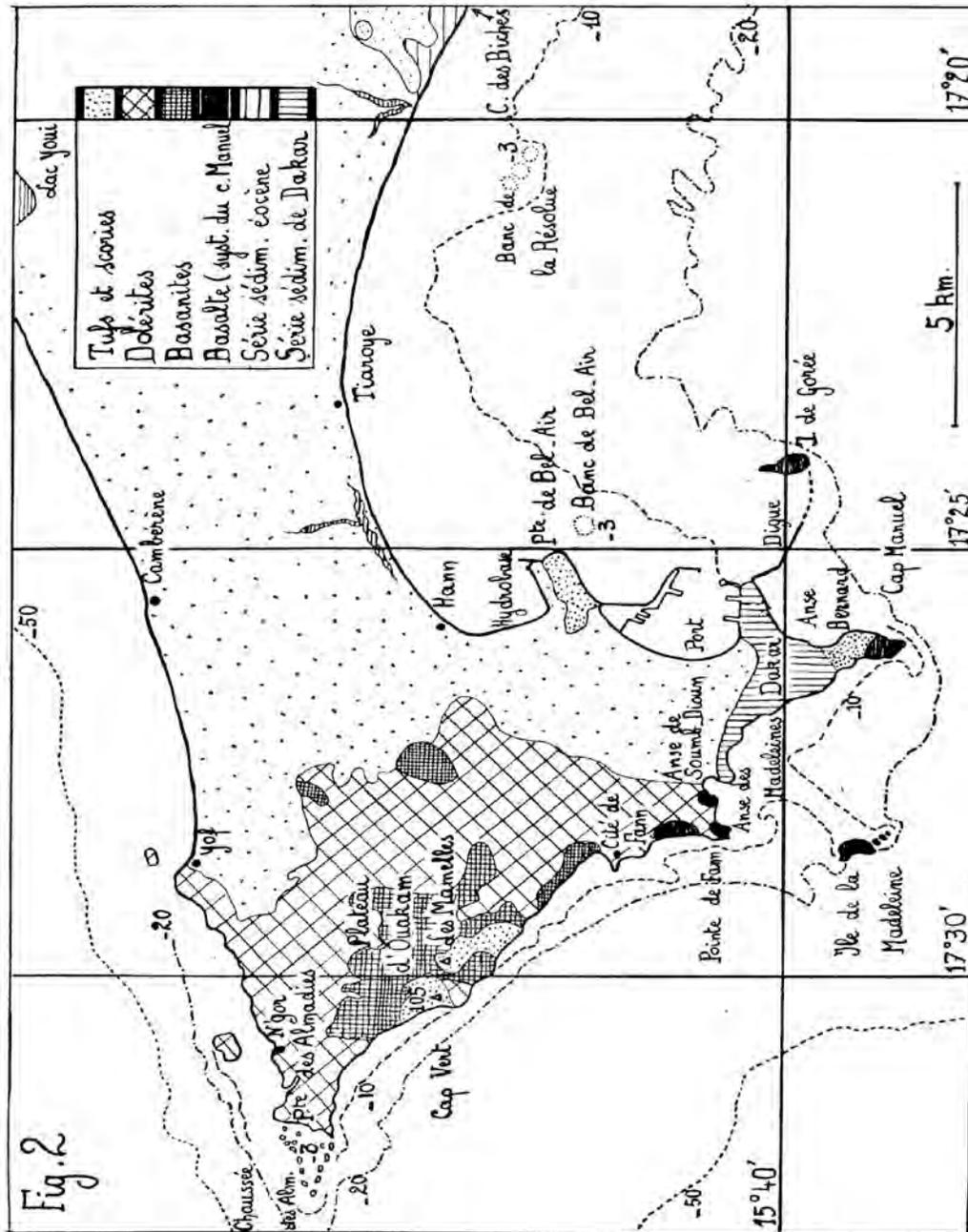
Tableau2 : Quelques cœlentérés de la côte Sénégalaise

<i>Classe</i>	<i>Sous-classe</i>	<i>Ordre</i>	<i>Espèces</i>
Hydrozoaires	Hydroïdes		<i>Sarsia ophiogaster</i> <i>Halocordyle disticha</i> <i>Tubularia larynx</i> <i>Halecium sessile</i> <i>Turritopsis nutricula</i> <i>Orthopyxis compressa</i> <i>Clytia uniflora</i> <i>Obelia dichotoma</i> <i>Obelia geniculata</i> <i>Dynamena disticha</i> <i>Sertularia distans</i> <i>Ventroma halecioides</i> <i>Plumularia setacea</i> <i>Plumularia setaceoides</i> <i>Monetheca margaretta</i> <i>Aglaophenia pluma</i>
Anthozoaires	Octocoralliaires Hexacoralliaires	Alcyonacées Gorgonacées Zoanthaires Actinaires	<i>Alcyonium Sp</i> <i>Leptogorgia piccola</i> <i>Eunicella labiata</i> <i>Palythoa monodi</i> <i>Palythoa variabilis</i> <i>Palythoa senegalensis</i> <i>Palythoa dartevelli</i> <i>Actinia equina</i> <i>Anemonia sulcata</i>

I.3 MORPHOLOGIE ET LIEU DE RECOLTE DU MATERIEL BIOLOGIQUE

C'est une gorgone de 30 à 40cm de hauteur de couleur beige. Elle a été récoltée en plongée sous marine (-40m) à Ouakam près de Dakar.

Après récolte, le matériel est soumis à différentes techniques physiques en vue d'identifier quelques principes actifs tels les acides gras et les sphingolipides.



Cadre géographique

CHAPITRE II

ISOLEMENT ET IDENTIFICATION DES ACIDES GRAS

II.1 GENERALITES SUR LES ACIDES GRAS

Les acides gras sont des acides carboxyliques caractérisés par une répétition de groupement méthylène formant une chaîne carbonée. C'est cette chaîne carbonée qui confère aux acides gras leur caractère hydrophobe.

Les acides gras constituent la substance de base des lipides qui sont une forme privilégiée de mise en réserve d'énergie, surtout chez les animaux où ils sont stockés dans les tissus adipeux. Les lipides sont donc indispensables au bon fonctionnement de l'organisme mais une nourriture trop riche en graisses favorise les maladies cardiovasculaires.

La classe des acides gras peut se subdiviser en 13 sous classes dont les principales sont :

Les acides gras et leurs dérivés : cette sous classe très riche comprend en premier lieu les acides gras à chaîne linéaire de formule semi développée :

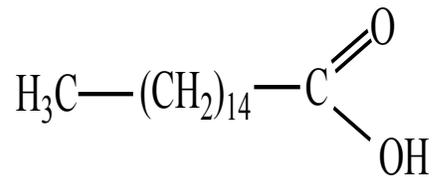


Les acides à chaîne linéaire sont des acides gras saturés dont dérivent les autres sous-classes, notamment celle des acides gras insaturés.

II.1.1 Les acides gras saturés

Une série continue d'acides gras de nombre de carbone pair (4 à plus de 30) a été isolée des lipides de source animale, végétale et microbienne.

Voici par exemple l'acide palmitique (n-hexadécanoïque) $\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{O}_2$



Pour les plantes supérieures et les animaux, les acides gras les plus connus ont de 14 à 20 atomes de carbones, avec une nette prédominance de ceux à 16 ou 18 carbones.

Les acides dont le nombre de carbone est inférieur à 12, sont trouvés dans le lait des mammifères et bien sûr dans le beurre.

Les acides gras dont le nombre de carbone est supérieur à 24, sont essentiellement des composants des cires protectrices fabriquées par des plantes, des bactéries et des insectes.

II.1.2 Les acides gras insaturés

Ils représentent plus de la moitié des acides gras des plantes et des animaux, ils possèdent :

- une double liaison : acides monoéniques ou mono insaturés
- ou plusieurs doubles liaisons : ils sont polyéniques ou poly insaturés

La plupart des acides gras insaturés ont des longueurs de chaînes de 16 à 20 atomes de carbones.

II.1.3 Les acides gras atypiques

Des acides gras à nombre impair de carbones sont présents dans les graisses animales ou dans des lipides microbiens. On trouve aussi des acides gras avec des modifications de la chaîne carbonée portant sur l'insaturation, ou ayant subi des substitutions, des cyclisations dans le monde végétal, microbien ou animal.

II.2 EXTRACTION ET SEPARATION

Après récolte, l'*Eunicella sp* est lavé à l'eau douce afin d'éliminer les sels minéraux, le sable et autres débris animaux et végétaux puis séché à l'air. La matière sèche (346g) est broyée puis macérée dans le méthanol à température ambiante pendant un an. Après filtration et évaporation du solvant sous pression réduite, on ajoute au résidu 250ml d'eau, puis on l'extrait à l'acétate d'éthyle. Après évaporation du solvant, on récupère

453mg de résidu qui sera soumis à une F.C Si 60 (Hexane / acétate d'éthyle) avec gradient d'élution (fractions de 50 ml). Celle-ci démarre avec un mélange 90% / 10%, elle est ensuite poursuivie en variant de 5 % Jusqu'à la fraction 19. Les différentes fractions sont ensuite analysées par C.C.M. (Si 60 ou RP 18). Les fractions présentant des spots similaires après observation des plaques à l'UV, sont réunies et le solvant évaporé. Les produits sont ensuite séparés et purifiés par «flash» chromatographie (F.C.) et chromatographie liquide haute performance (H.P.L.C.). Le résidu issu de la fraction 7-13 (264mg) est soumis à une F.C. RP 18 (CH₃CN / H₂O) et gradient d'élution (fraction de 40ml) nous conduisant aux deux fractions 4 (3,5mg) et 17 (18mg).

La fraction 4 est soumise à une HPLC RP-18 dans un mélange CH₃CN/H₂O conduisant au composé 2 (m=4,8mg ; t_R=3,5min) qui fera l'objet d'une étude structurale.

La figure 1 représente le chromatogramme HPLC du composé **2**.

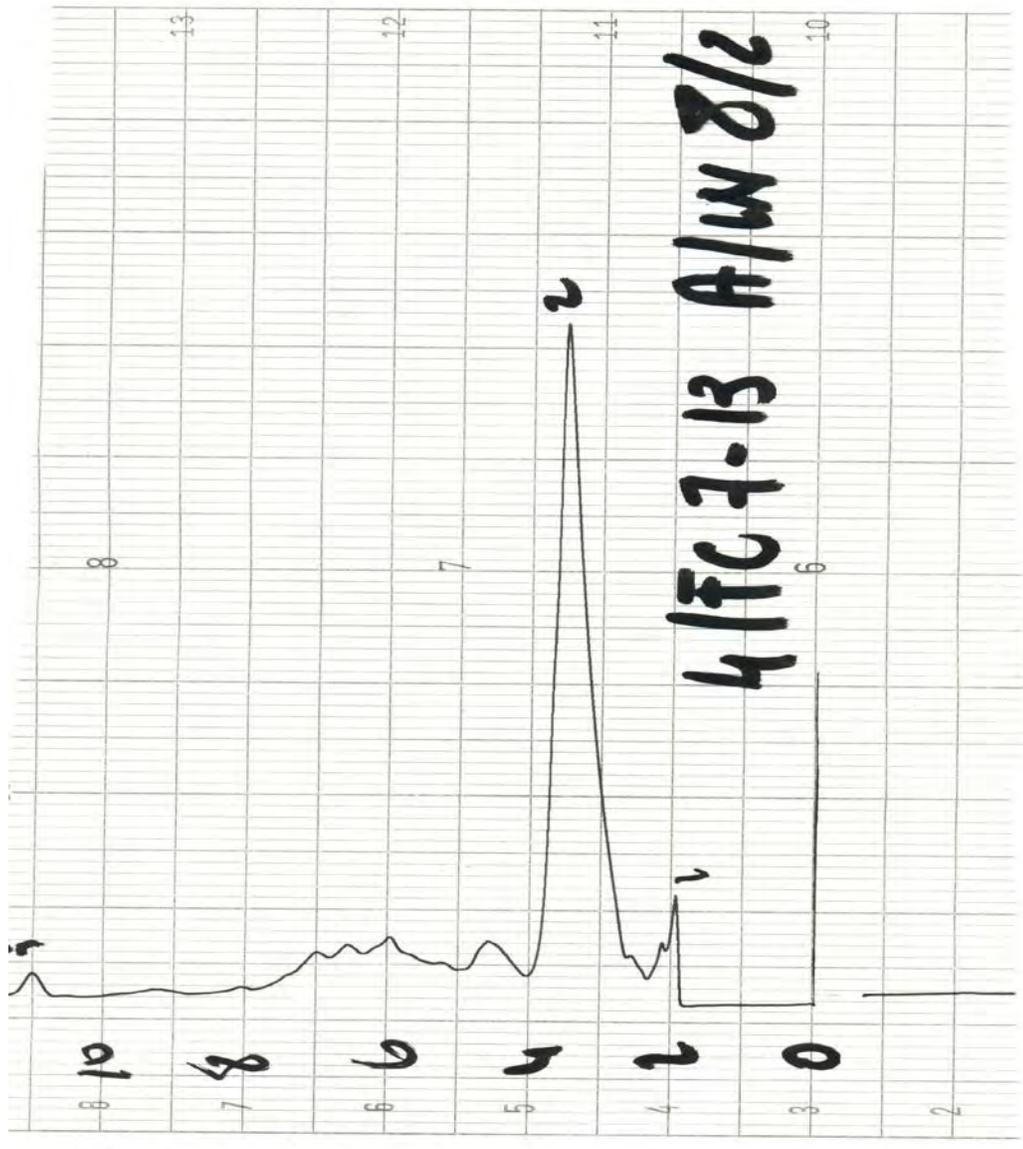
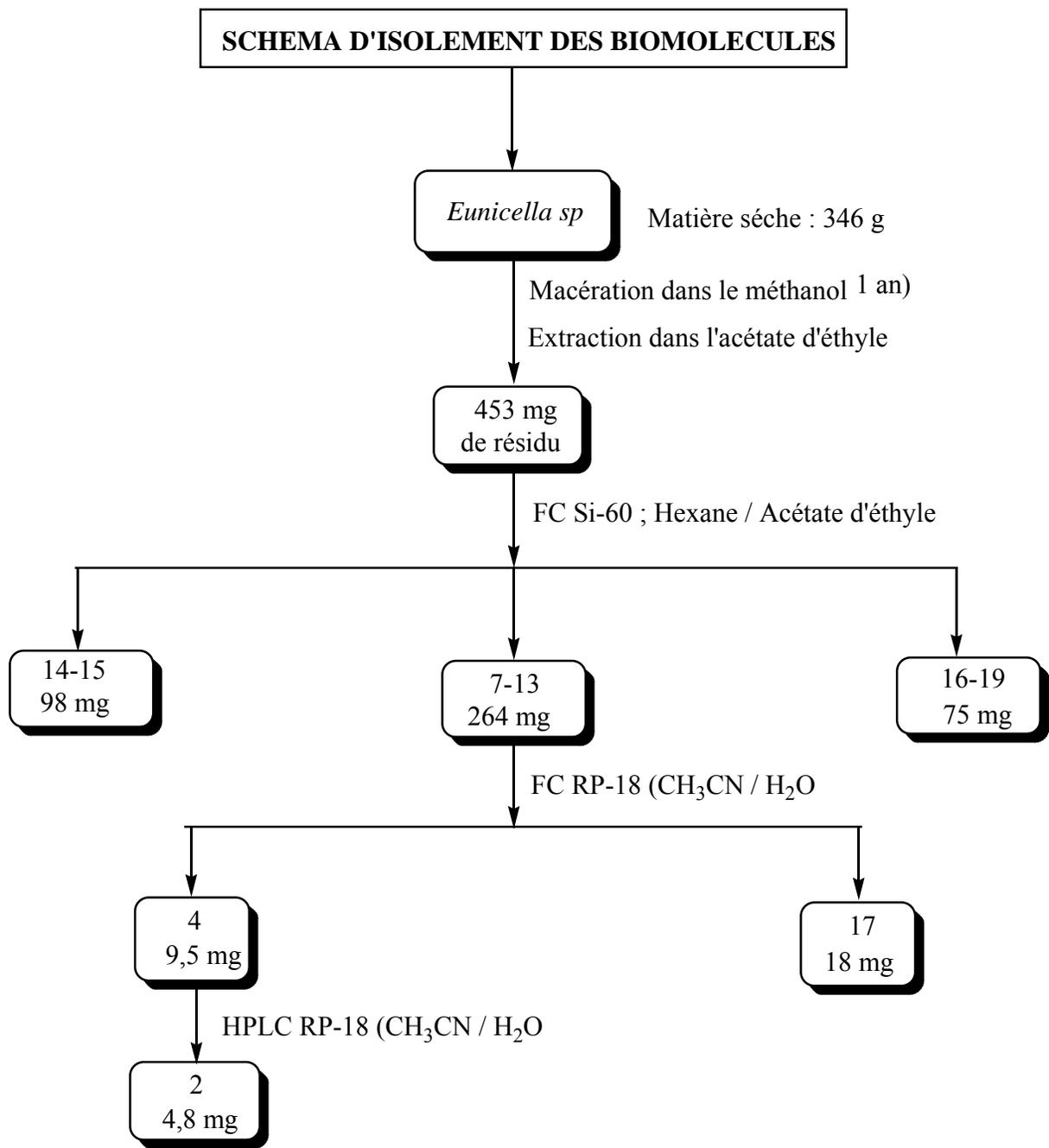


Figure 1 Chromatogramme d'isolement du composé 2



II.3 DETERMINATION STRUCTURALE DU COMPOSE 2

Le composé **2** est issu de la HPLC RP-18 (CH₃CN/H₂O) de la fraction 4 obtenue après (FC) RP-18 (CH₃CN/H₂O) de la fraction 7-13 dérivée elle aussi après (FC) Si-60 de l'extrait brut de la gorgone.

L'examen du spectre RMN du proton (figure 2) révèle des signaux caractéristiques d'un acide gras polyinsaturé avec un multiplet à 5,4 ppm intégrant 7 protons oléfiniques

et un autre multiplet à 2,90 ppm intégrant 6 protons. Ces données indiquent que la molécule est un acide gras portant un fragment à 3 doubles liaisons de configurations cis alternées avec 3 méthylènes. Ce qui est conforme à la biogénèse. Le couplage entre protons résonnant à 5,4 ppm (m) et 2,90 ppm (m) est confirmé par le spectre COSY (figure 3).

La présence du groupement hydroxyle OH est confirmée par le signal du proton tertiaire à 4,23 ppm et le signal caractéristique d'un méthylène dont les protons résonnent à 2,13 ppm et 2,37 ppm, indiquant ainsi la présence d'un système ABX.

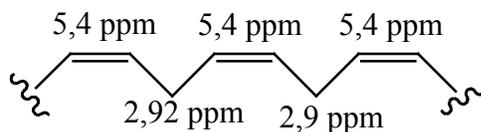
Nous remarquons aussi des signaux de protons oléfiniques indiquant la présence de deux doubles liaisons conjuguées. En effet, à 5,7 ppm apparaît un doublet dédoublé attribuable à H-(C4) avec des constantes de couplage de 15Hz et 7Hz représentant respectivement le couplage avec H-(C5) et le proton tertiaire H-(C3).

Ceci confirme d'une part le lien entre C-4 et C-3 portant le OH et d'autre part la position trans de H-(C4) et H-(C5). Ces couplages sont bien visibles sur le spectre COSY qui montre une nette corrélation entre H-(C4) résonnant à 5,7 ppm et H-(C5) résonnant à 6,54 ppm d'une part et entre le signal à 5,7 ppm et celui à 4,23 ppm attribuable à H-(C3) d'autre part.

A 6,54 ppm, nous remarquons aussi la présence dans le spectre RMN d'un doublet dédoublé avec des constantes de couplage de 15Hz et 11Hz représentant respectivement le couplage trans avec H-(C4) et un autre couplage avec H-(C6) qui résonne à 5,97 ppm. Ceci est confirmé par le COSY qui montre la corrélation entre le proton sortant à 6,54 ppm et celui à 5,97 ppm.

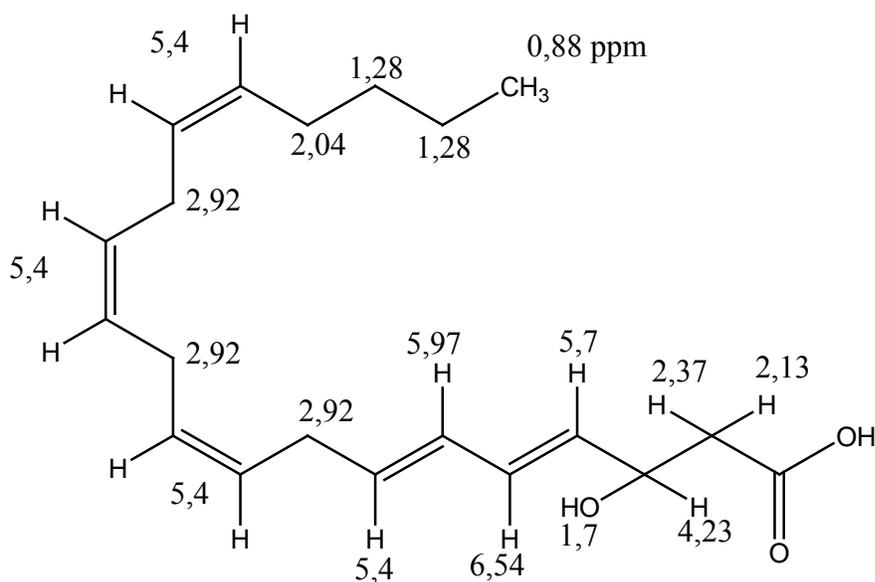
La double liaison C6 , C7 est confirmée par le signal à 5,97 ppm qui apparaît sous forme d'un pseudo triplet ($J=11\text{Hz}$) à la place du doublet dédoublé. La configuration trans de cette double liaison est soutenue par le calcul des déplacements chimiques et la biogénèse. D'autre part, le spectre COSY signale la corrélation entre H-(C6) et H-(C7) qui résonne à 5,4 ppm.

La présence du fragment ci dessous est confirmée par les multiplets à 5,4 ppm et 2,92 ppm et la corrélation entre ces deux signaux visible sur le spectre COSY.



Le lien de ce fragment avec le carbone 17 est soutenu par le déplacement chimique des deux protons de C17 à 2,04 ppm et la corrélation sur le spectre COSY de ce signal avec celui de 5,4 ppm. La présence des deux méthylènes à C18 et C19 se manifeste avec le multiplet à 1,28 ppm corrélé avec les 2H à 2,04 ppm. Le méthyle terminal sort à 0,88 ppm et présente une corrélation avec le CH₂ à 1,28 ppm.

L'ensemble des données de la RMN et les résultats de la spectroscopie de masse par impact électronique qui révèle un pic moléculaire à $m/z = 318$ permet de proposer la structure ci-dessous pour le composé **2**



Acide (4E), (6E), (9Z), (12Z), (15Z) 3-hydroxyicosa pentaénoïque **2**

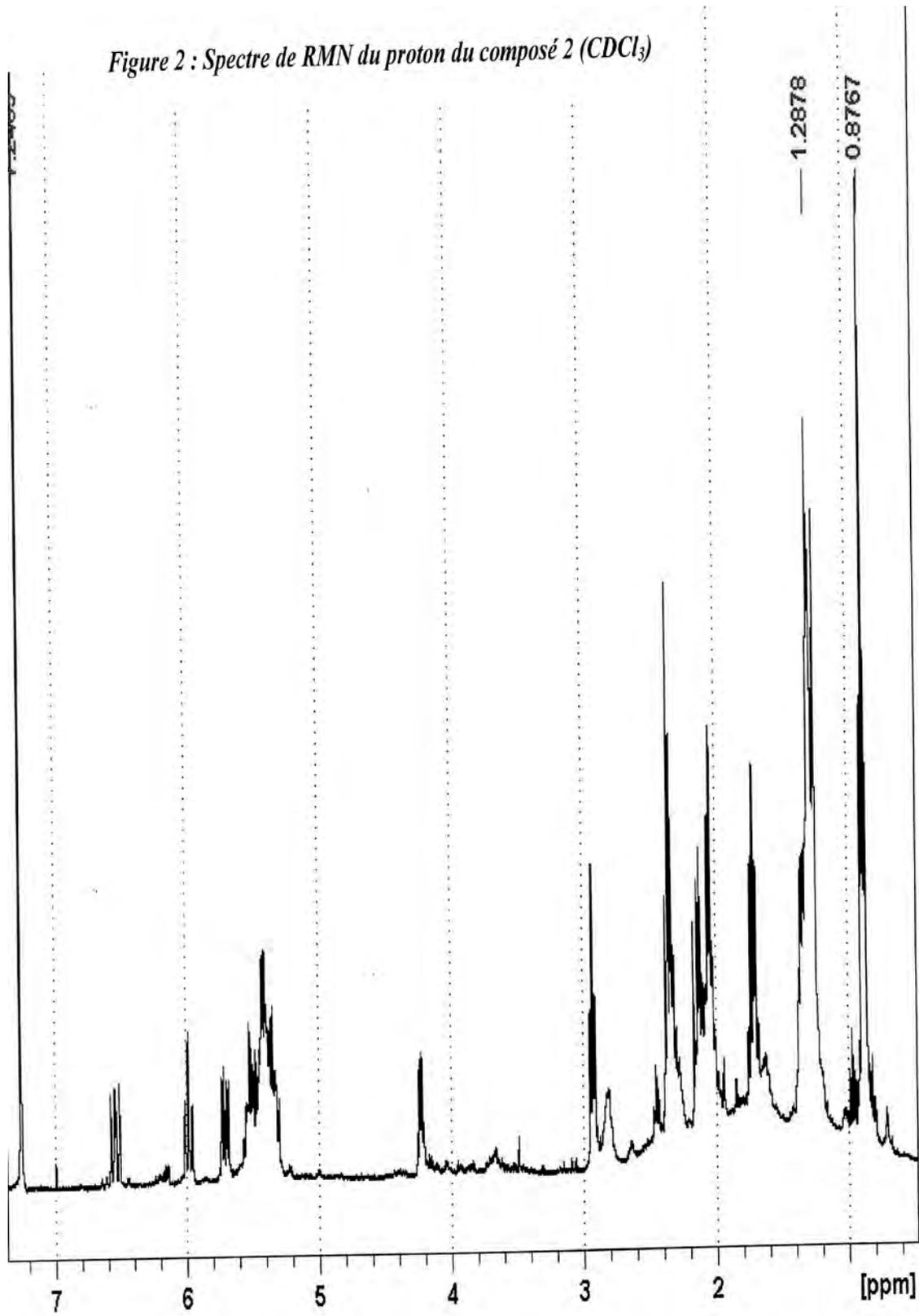
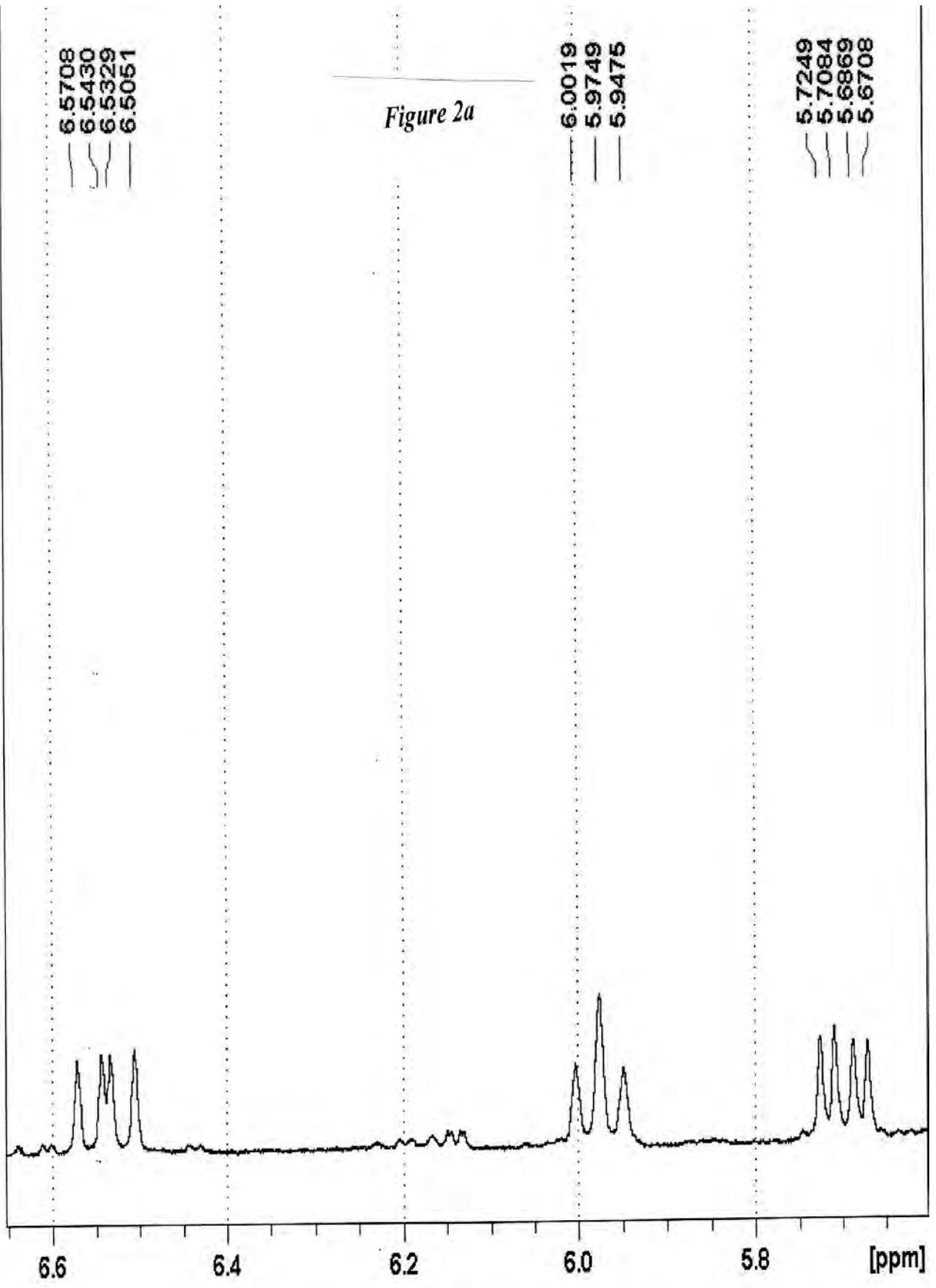
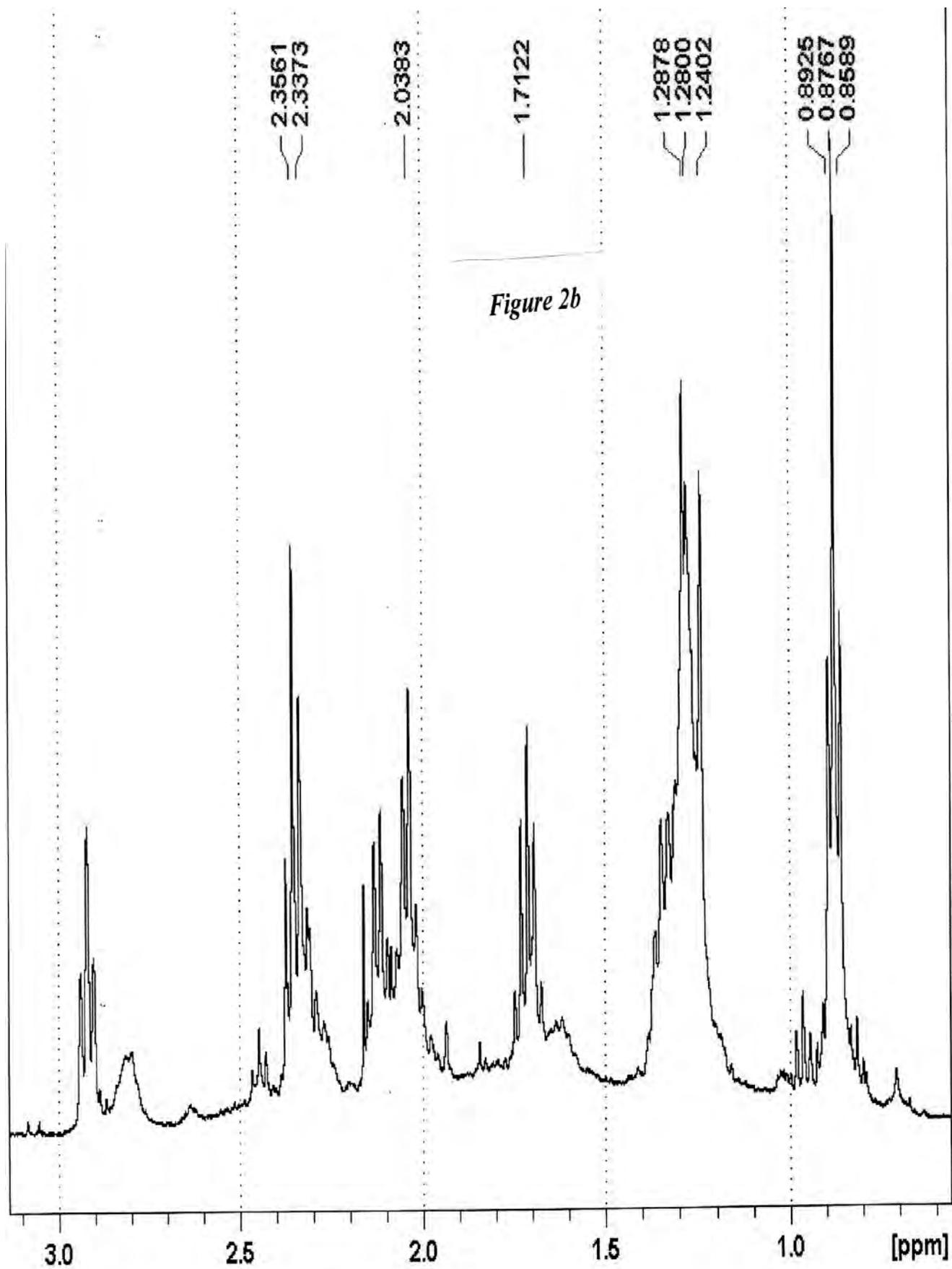


Figure 2 : Spectre de RMN du proton du composé 2 (CDCl₃)





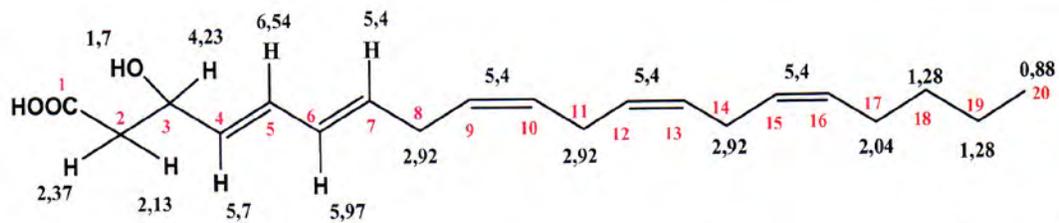
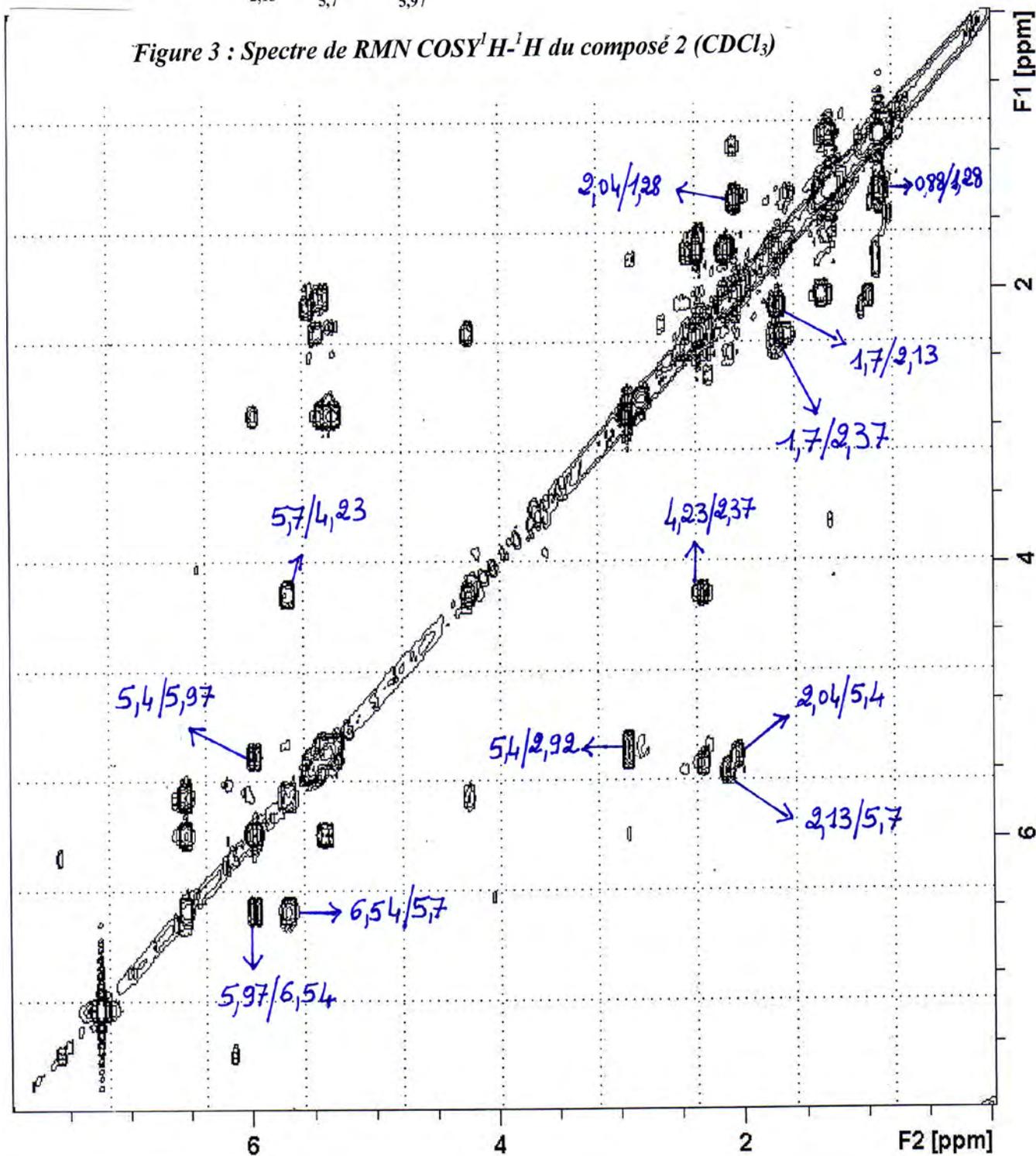


Figure 3 : Spectre de RMN COSY¹H-¹H du composé 2 (CDCl₃)



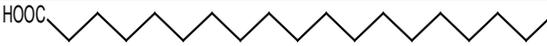
II.4 ETUDE DE LA COMPOSITION EN ACIDE GRAS DE L'EXTRAIT BRUT DE LA GORGONE

L'étude de la composition en acide gras de l'extrait brut de la gorgone a été faite au moyen de la HPLC en phase inverse (RP-18) couplée à la spectroscopie de masse par électrospray (ESI). Cette méthode permet de travailler à des pressions compatibles avec la HPLC. L'élution a été faite avec un mélange CH₃OH/CH₃COONH₄ (28mmol / L) (97:3).

Dans ce mode de fragmentation, les spectres sont bien reproductibles mais l'inconvénient est que l'ion moléculaire peut être absent du spectre.

Plusieurs acides gras saturés et insaturés, portant entre 14 et 20 atomes de carbone ont été identifiés. Exceptés les acides gras saturés, les structures des autres acides qui portent des doubles liaisons pourraient être déterminées soit par comparaison des temps de rétention à ceux des échantillons authentiques, soit par ozonolyse réductrice et comparaison des fragments carbonylés avec des échantillons authentiques.

Nous présentons dans le tableau 3 ci-dessous les différents types d'acides gras présents dans la gorgone en tenant bien sûr compte du fait que la gorgone étant une plante supérieure donc le nombre d'atomes de carbone sera compris entre 14 et 20 pour les acides gras saturés et entre 16 et 20 pour ceux insaturés.

Nombre de carbone	Masse	Nombre d'insaturation	Formule
20	312	0	
	304	4	20 : 4
	302	5	20 : 5
	300	6	20 : 6
19	298	0	

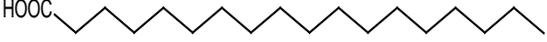
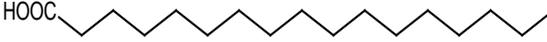
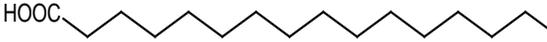
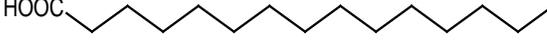
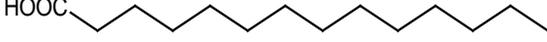
	296	1	19 : 1
	294	2	19 : 2
	292	3	19 : 3
	286	6	19 : 6
18	284	0	HOOC 
	282	1	18 : 1
	280	2	18 : 2
	278	3	18 : 3
	276	4	18 : 4
	274	5	18 : 5
	272	6	18 : 6
17	270	0	HOOC 
	268	1	17 : 1
16	256	0	HOOC 
	250	3	16 : 3
	248	4	16 : 4
15	242	0	HOOC 
14	228	0	HOOC 

Tableau 3 : Acides gras dans la gorgone

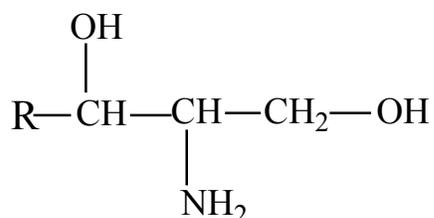
CHAPITRE III

ISOLEMENT ET IDENTIFICATION DES SPHINGOLIPIDES

III.1 GENERALITES SUR LES SPHINGOLIPIDES.

Les sphingolipides sont dérivés des sphinganines ou des sphing-4-énines, plus connus sous le nom de sphingosines.

Ces deux derniers composés dérivent eux même de la condensation d'un acide gras et de la serine. La formule générale semi développée des sphinganines et des sphingosines est :



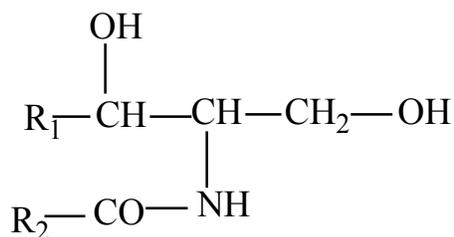
avec R une chaîne acyle saturée ou non.

Les sphingolipides peuvent se répartir en 9 sous classes :

- les sphing-4-énines ou sphingosines
- les céramides
- les phosphosphingolipides
- les phosphosphingolipides
- les glycosphingolipides
- les glycosphingolipides neutres
- les glycosphingolipides acides
- les glycosphingolipides basiques
- les glycosphingolipides amphotères
- les arsénosphingolipides

La sous classe la plus importante est sans doute celle des céramides. Il s'agit de sphinganines ou sphingosines liées à un acide gras par une liaison amide. Un exemple

bien connu de céramides est la sphingomyéline, impliquée dans la transmission nerveuse chez les mammifères. La formule générale semi développée des céramides est :



avec R₁ et R₂ deux chaînes acyle saturées, ou non.

III.2 EXTRACTION ET SEPARATION

La fraction **17** contenant les sphingolipides est issue de la F.C. RP 18 (CH₃CN / H₂O) avec gradient d'élution (fraction de 40ml) de la fraction 7-13 (264 mg) (voir schéma d'isolement des biomolécules). La fraction **17** est à son tour soumise à différentes techniques physiques telles la RMN et la spectroscopie de masse couplée avec la HPLC (ESI) en vue de déterminer la structure des sphingolipides présentes dans la fraction.

III.3 DETERMINATION STRUCTURALE DES SPHINGOLIPIDES

A l'examen du spectre de RMN du proton (figure 4), nous remarquons un doublet résonnant à 6,28 ppm (J = 7,2 Hz) caractéristique d'un proton amidique d'une céramide.

Nous remarquons aussi la présence d'un système ABX avec les multiplets à 3,94 ppm et 3,65 ppm correspondant à des protons oxyméthyléniques (CH₂-O) et le multiplet à 3,88 ppm attribuable au proton tertiaire lié à NH.

Cet enchainement est confirmé par le COSY qui révèle les corrélations suivantes : 3,65/3,94 ; 3,65/3,88 ; 3,88/6,28. La présence du groupement hydroxyle OH est confirmée par le multiplet à 4,28 ppm dont le couplage avec le proton tertiaire à 3,88 ppm se manifeste par une nette corrélation sur le COSY.

Les multiplets à 5,76 ppm et 5,5 ppm révèlent des signaux de résonance de protons portés par des atomes de carbone sp^2 dont leur corrélation est confirmée par le spectre COSY. Le calcul de la constante de couplage indique que la configuration autour de la double liaison est trans.

Le COSY montre d'une part la corrélation entre le proton oléfinique à 5,5 ppm et le proton tertiaire à 4,28 ppm et d'autre part entre le proton oléfinique à 5,76 ppm et les protons méthyléniques à 2,1 ppm. Par ailleurs, le spectre de RMN du proton révèle les signaux caractéristiques d'une deuxième double liaison avec les multiplets à 5,5 et 5,37 ppm attribuables à deux protons dont la position trans peut être déduite de la biogénèse. Le lien entre le carbone qui porte le proton à 5,37 ppm et le reste de la chaîne est confirmé par la corrélation entre ce proton et les protons méthyléniques à 1,95 ppm.

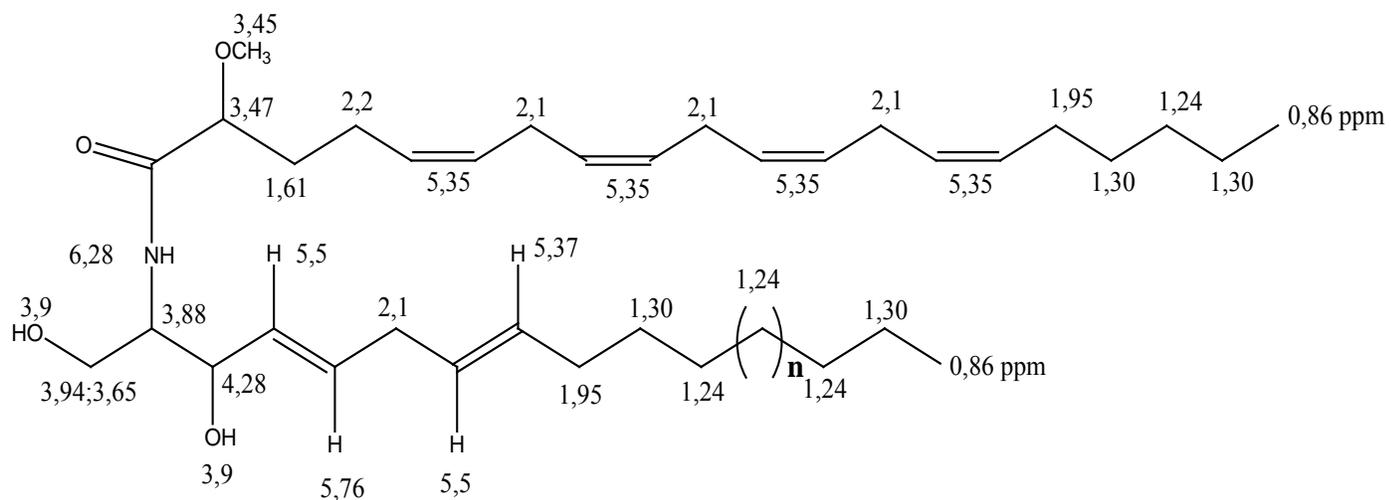
Au niveau de cette chaîne, nous observons les corrélations suivantes qui sont en accord avec la structure proposée ci-dessous : 1,95/1,30 ; 1,30/1,24 ; 1,30/0,86.

La chaîne acyle se manifeste par la présence des signaux de 8 protons oléfiniques à 5,35 ppm de configurations cis conformément à la biogénèse. Ces quatre doubles liaisons sont alternées avec 3 méthylènes qui résonnent à 2,1 ppm. La corrélation entre ces protons est confirmée par le COSY. La corrélation entre les protons à 2,2 ppm liés à un carbone éthylénique et les signaux à 1,61 ppm, confirmée par le COSY, traduit le lien entre le fragment oléfinique et le reste de l'acyle.

L'examen du COSY indique aussi que ces protons résonnant à 1,61 ppm sont couplés au proton du carbone lié au méthoxy et qui sort à 3,47 ppm.

L'origine de ce méthoxyle n'est certainement pas naturelle et serait issue de la longue macération de cette gorgone dans le méthanol (1an). Les deux autres OH résonnent à 3,9 ppm sous forme d'un singulet.

L'ensemble de ces données RMN et la spectroscopie de masse permettent de proposer cette structure correspondant à une masse molaire de 571 et qui constitue le premier terme de la série des céramides



n	Masse	Formule
1	571	$C_{36}H_{61}NO_4$
2	585	$C_{37}H_{63}NO_4$
3	599	$C_{38}H_{65}NO_4$
4	613	$C_{39}H_{67}NO_4$
5	627	$C_{40}H_{69}NO_4$
6	641	$C_{41}H_{71}NO_4$
7	655	$C_{42}H_{73}NO_4$

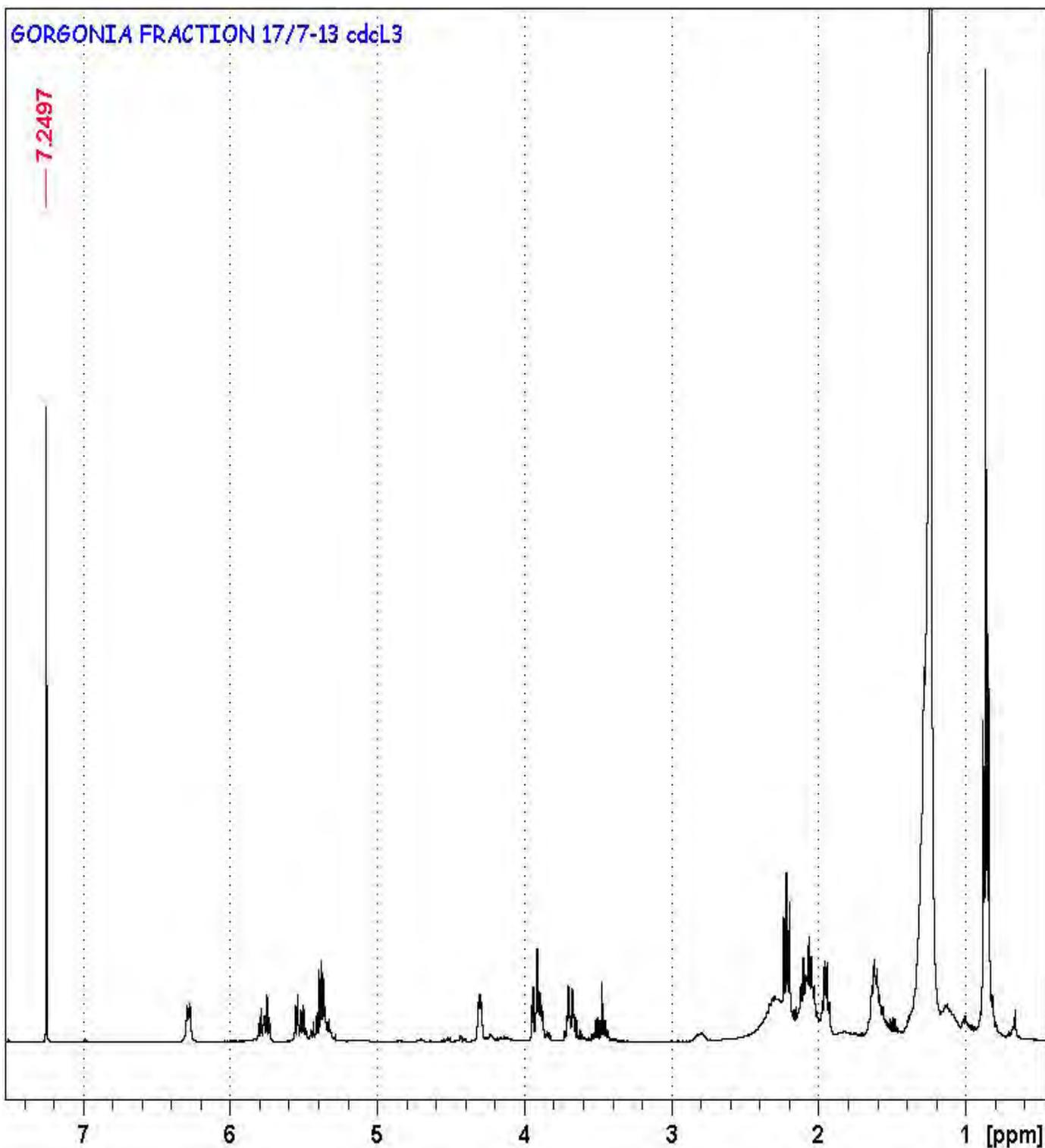


Figure 4 : Spectre de RMN du ^1H de la série de céramides (CDCl_3)

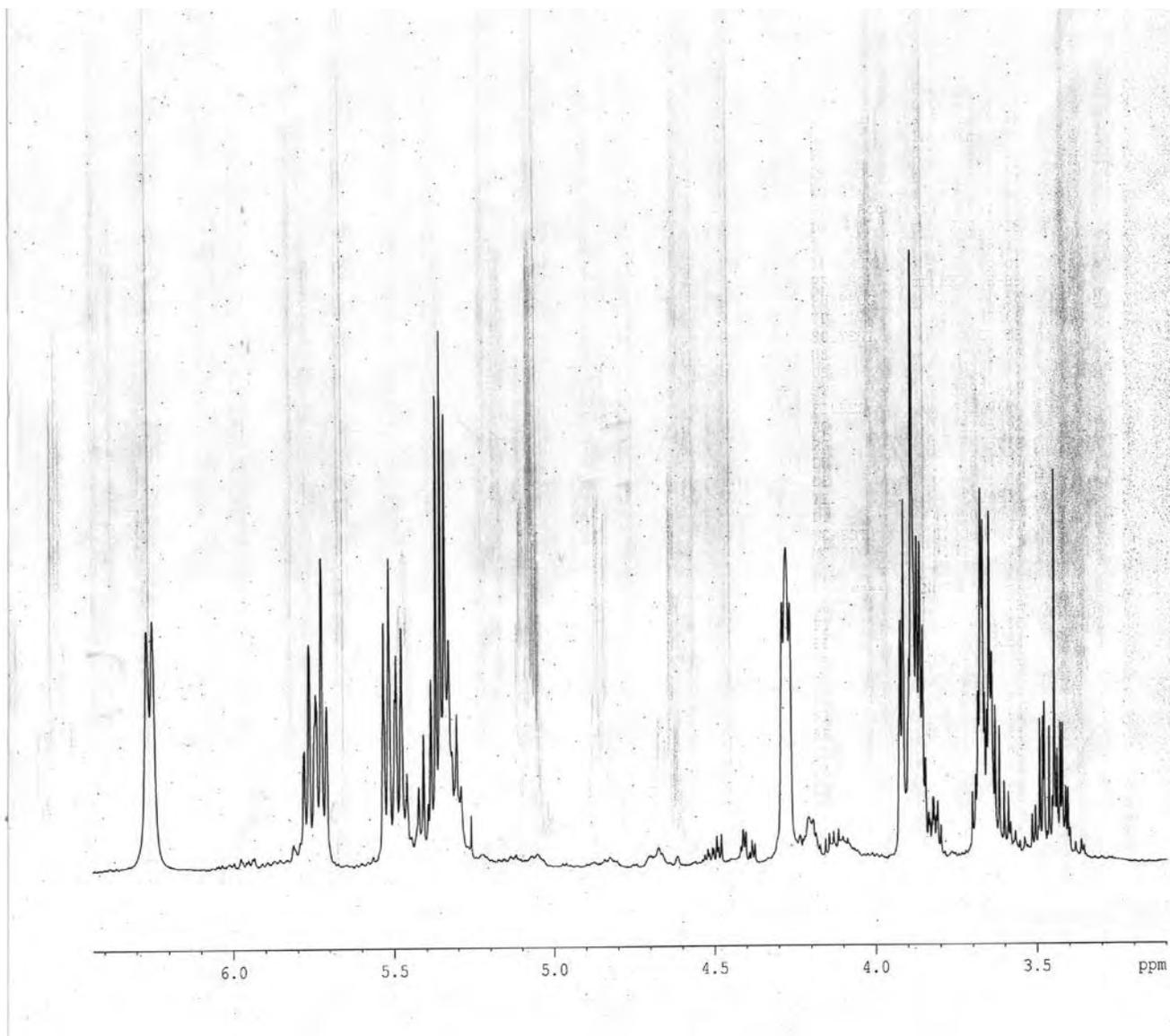


Figure 4a

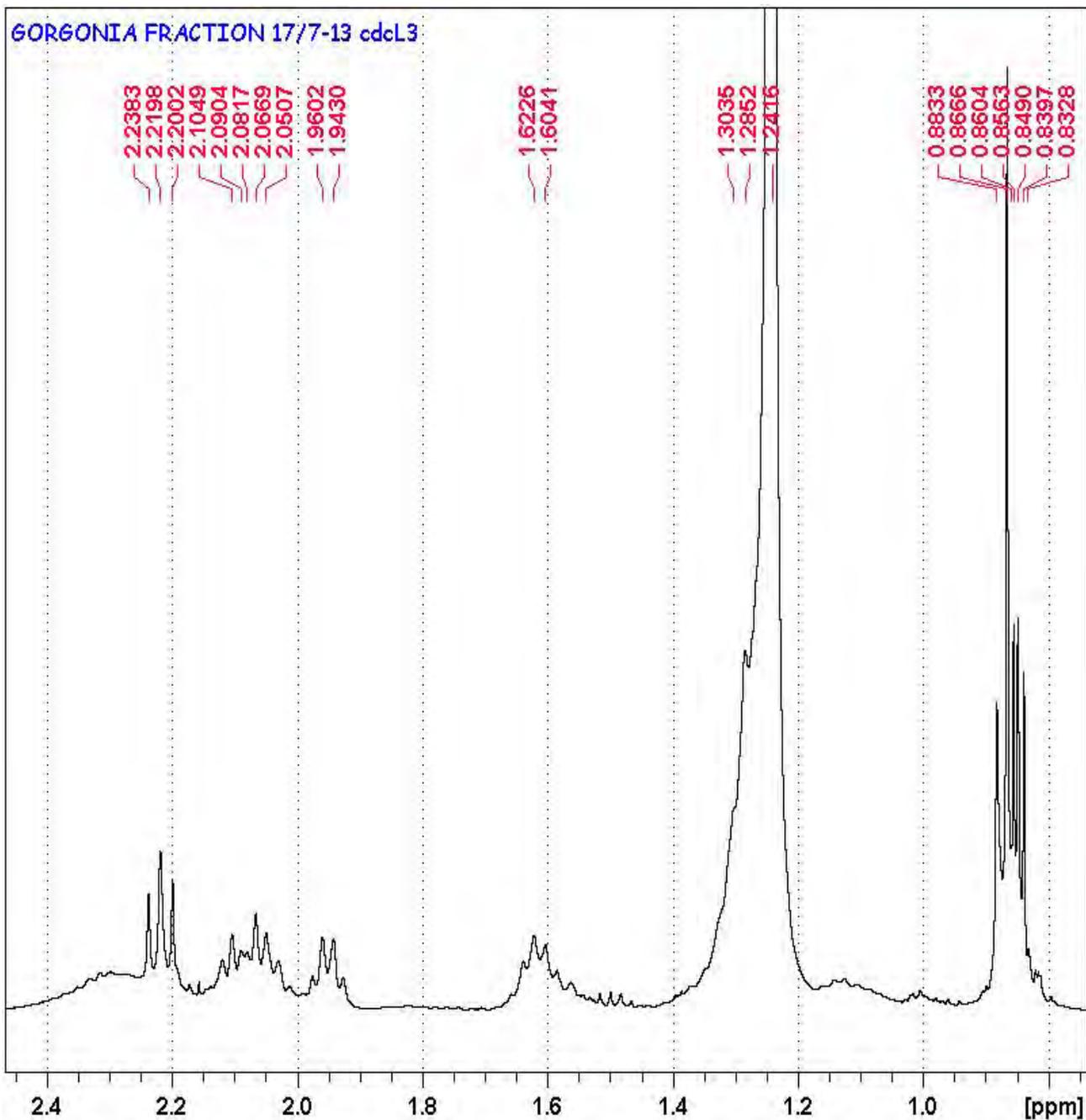


Figure 4b

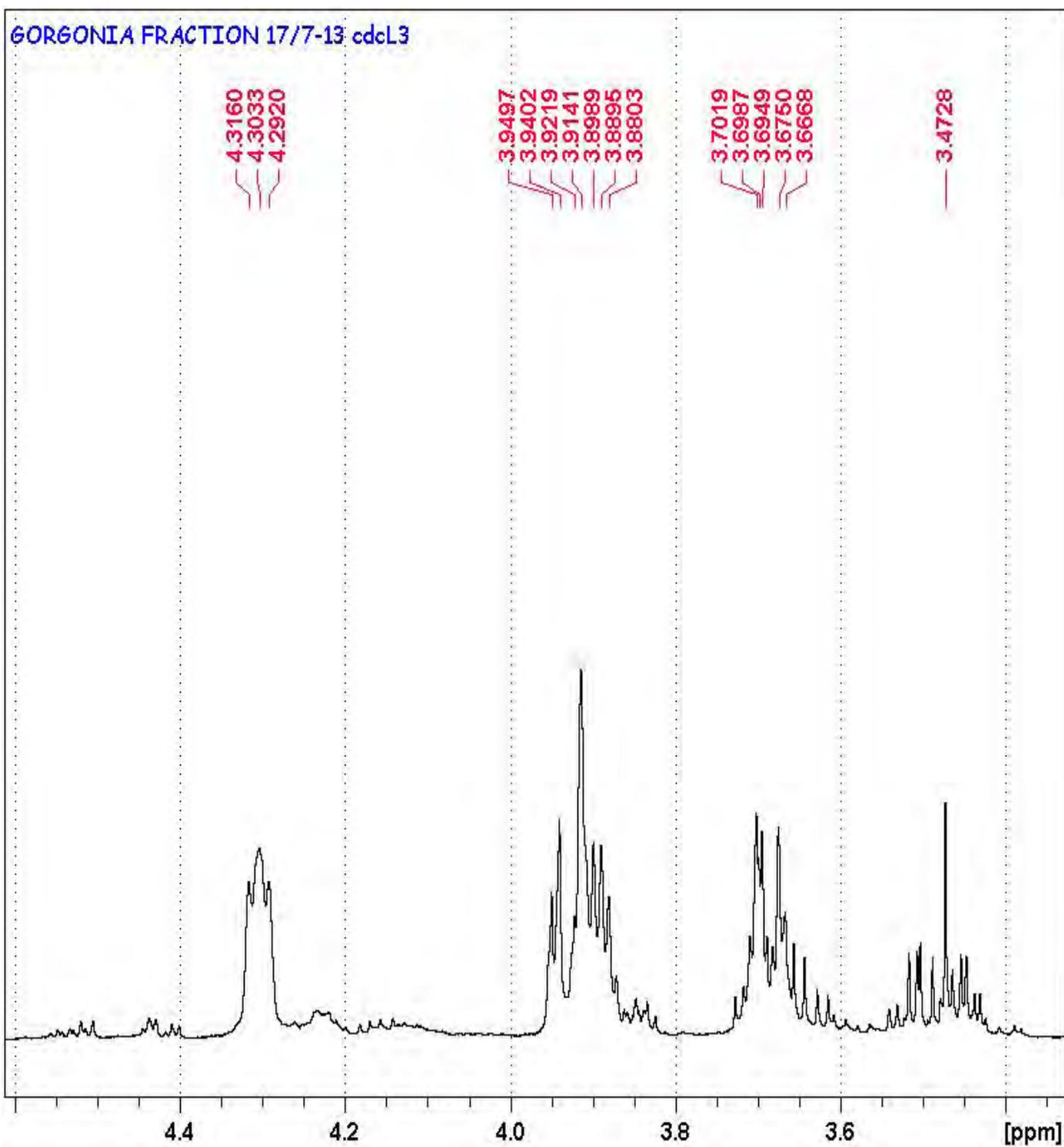


Figure 4c

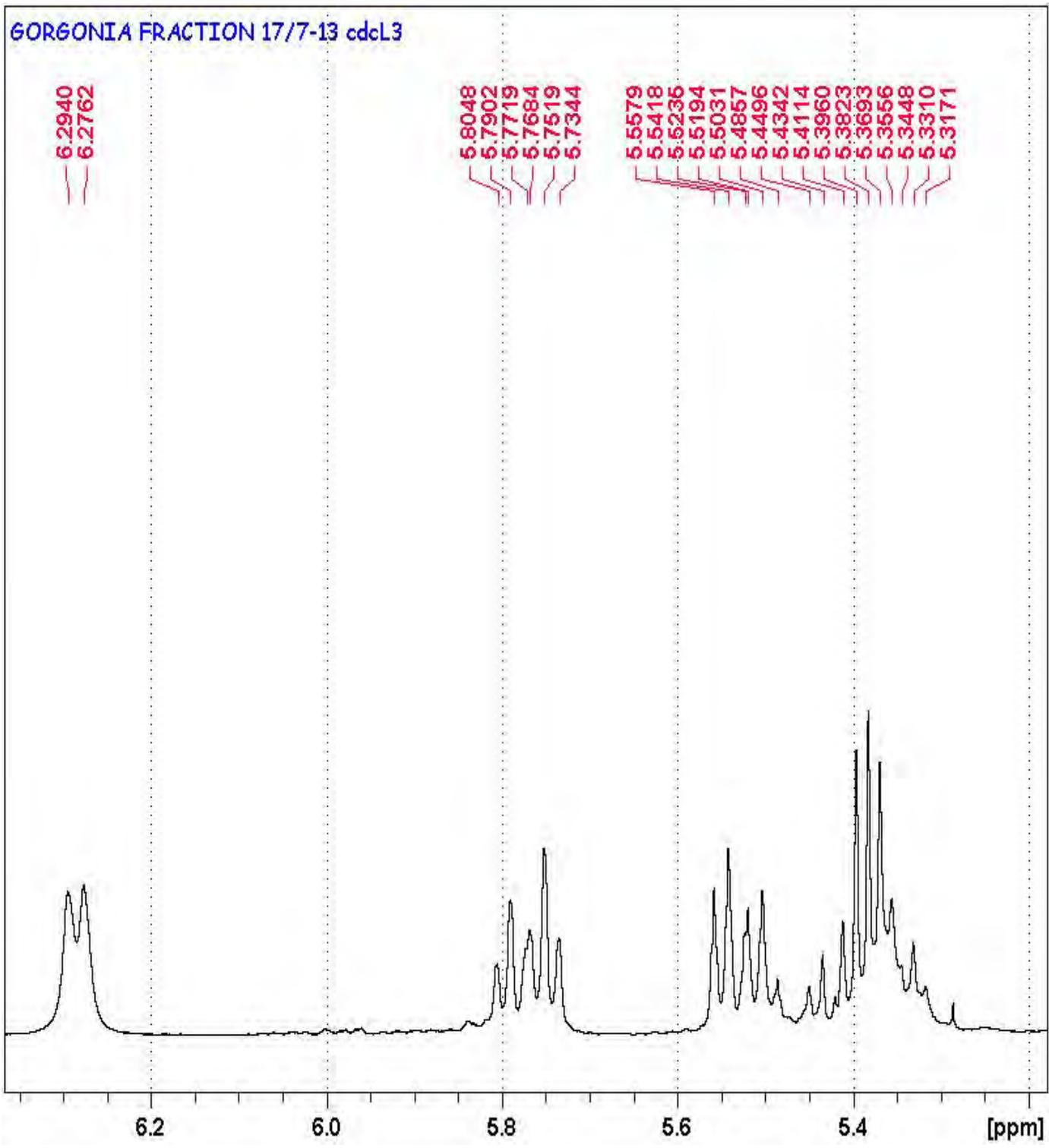


Figure 4d

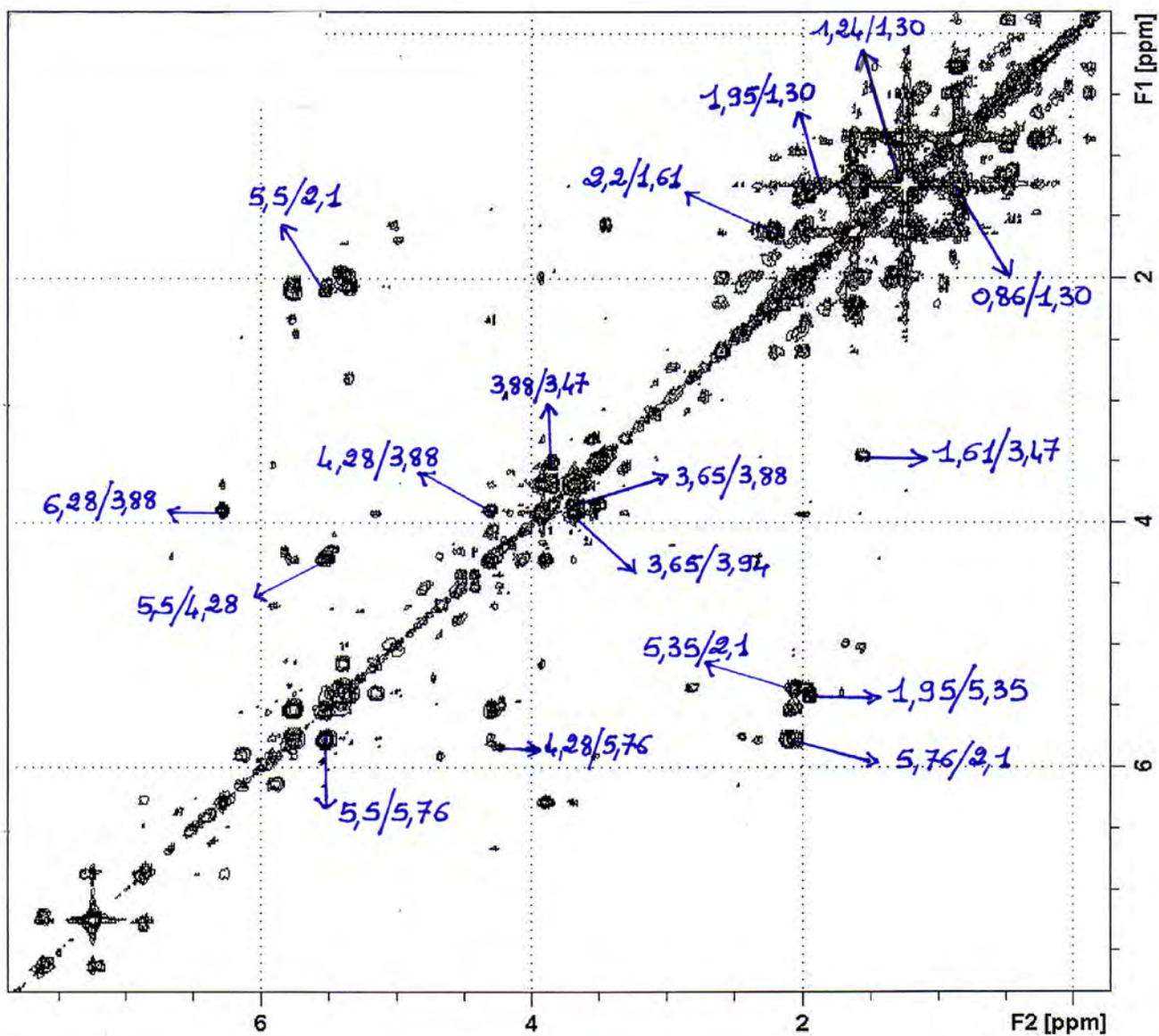
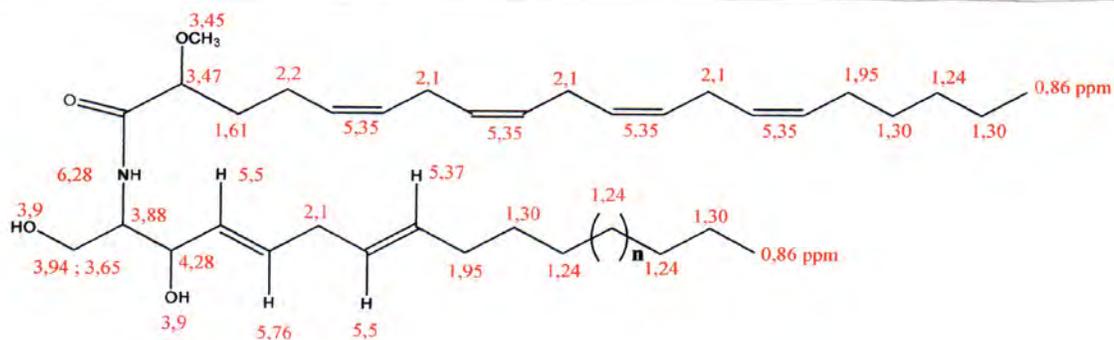


Figure 5



CONCLUSION

Au cours de ce travail, nous avons pu isoler puis identifier plus d'une vingtaine d'acides gras polyinsaturés et une série de sphingolipides de la famille des céramides

Dans le premier chapitre, nous avons exposé les généralités sur les coelenteres. Nous avons aussi signalé très brièvement les facteurs climatologiques, hydrologiques et géomorphologiques qui font de la cote Sénégalaise une zone dotée d'une population florale et faunique variée et facilement accessible.

Dans le deuxième chapitre, nous avons isolé et identifié une grande variété d'acides gras polyinsaturés

Dans le troisième chapitre, nous avons isolé et identifié une série de sphingolipides.

Après l'extraction avec les solvants polaires nous avons utilisé une suite de techniques chromatographiques : chromatographie sur colonne de silice en phases inverses (RP -18) et de silice normale et chromatographie en couches minces. La chromatographie liquide HPLC avec détecteur à indice de réfraction a permis de purifier tous les composés. D'une façon générale, les structures proposées ont été établies sur la base des données spectroscopiques de RMN du proton du COSY et de masse. Pour la spectroscopie de masse, on a couplé la HPLC avec la méthode d'ionisation Electrospray.

Pour détecter la position des doubles liaisons des différents acides gras, on peut procéder soit par comparaison des temps de rétention à ceux d'échantillons authentiques, soit par comparaison des fragments carbonylés avec des échantillons authentiques après ozonolyse réductrice. L'isolement d'acides gras polyinsaturés et de sphingolipides de ce genre pourrait ouvrir d'autres perspectives de recherches car ce sont des molécules biologiquement actives, présentant donc un intérêt pharmacologique important.

BIBLIOGRAPHIE

1. F. Pietra, «A Secret World. Natural Products of Marine Life », Birkäuser Verlag, Basel, **1990**.
2. Chem. Rev. Marine Natural Products Chemistry, **1993**, Vol. 93, N°5.
3. I. Ndiaye, « Intérêts Pharmacologiques des Métabolites Secondaires d'Origine Marine. Chance et Challenge pour l'Afrique ». 2^{ème} Journées de la Soachim. Dakar, Août **1996**.
4. D. Leung-Tack, N° spécial « Environnement Africain » p. 118, Edit. J. M. Kornprobst, Enda T. M., Dakar, **1983**.
5. R. Sourie, Mémoires de l'Ifan, **1954**, 38.
6. I. Ndiaye, Thèse de Doctorat d'Etat ès Sciences Physiques, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, **1995**.
7. I. Ndiaye, M. Diop, A. Samb, « Original Métabolites Isolated From Senegalese Species of Algae and Sponges » 6 th International Chemistry Conference in Africa: Chemistry in health, industry and the environment Accra (Ghana) 31 st July – 4 th August **1995**.
8. M. Aknin, Thèse de Doctorat ès Sciences, Université d'Aix – Marseille III, **1991**.
9. M. Diop, Thèse de Doctorat d'Etat ès Sciences, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, **2003**

