

# UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR



ECOLE DOCTORALE SCIENCES DE L'ENVIRONNEMENT ET DE LA VIE

FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES

Année : 2019

N° d'ordre : 2019 28

**THESE DE DOCTORAT**

**SPECIALITE : CHIMIE ET BIOCHIMIE DES PRODUITS NATURELS**

Présentée par :

**ABOU MOUSSA SOW**

**Maître-ès Sciences Physiques**

---

---

**METABOLITES SECONDAIRES D'EPONGES ENDEMIQUES  
DE LA COTE SENEGALAISE : ISOLEMENT, ETUDE  
STRUCTURALE ET EVALUATION BIOLOGIQUE**

---

---

Soutenue le 21/12/2019 devant la commission d'examen composée de :

<b>Présidente</b>	Mme Moussoukhoye	Diop	Professeur Titulaire	FST/UCAD
<b>Rapporteurs</b>	M. Aboubacary	Sène	Professeur Assimilé	FST/UCAD
	M. Djibril	Fall	Professeur Titulaire	FMPO/UCAD
	M. El Hadj Alioune	Fall	Professeur Assimilé	FST/UCAD
<b>Examineur</b>	M. Mouhamadou	Thiam	Maître de Conférences Titulaire	FST/UCAD
<b>Directeur de Thèse</b>	M. Ibrahima	Ndiaye	Professeur Titulaire	FST/UCAD
<b>Co-Directeur de Thèse</b>	M. Mohamed	Mehiri	Maître de Conférences	Université de Nice Sophia Antipolis

*Année universitaire 2018-2019*

Au nom d'ALLAH le tout miséricordieux, le très miséricordieux

A mon fils Oumar qui vient de naître, je te souhaite une longue vie  
pleine de santé et remplie de bonheur et

A la mémoire de ma maman Ramata Abou

## REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire Groupe de Recherche sur les Substances Bioactives (GRSB) dirigé par le Professeur Ibrahima Ndiaye et du laboratoire Produits Naturels Marins (PNM) de l'Institut de Chimie de Nice dirigé par le Docteur Mohamed Mehiri.

Je tiens à remercier énormément le professeur Ibrahima Ndiaye pour m'avoir confié ce sujet de recherche et pour en avoir guidé la réalisation. Vos conseils et votre soutien m'ont été d'une grande aide tout au long de ce travail.

Je remercie vivement le Docteur Mohamed Mehiri de m'avoir accueilli dans son laboratoire, pour l'excellente formation qu'il m'a prodiguée en HPLC et en techniques de laboratoire. Vous m'avez permis de réaliser ce travail de recherche et d'enrichir mes compétences chimiques malgré vos charges multiples.

J'adresse mes sincères remerciements aux membres du jury, Madame Moussoukhoye Diop pour avoir fait les premières corrections du document et pour avoir présidé ce jury, Monsieur Mouhamadou Thiam pour avoir bien voulu examiner ce travail de thèse, Messieurs Aboubacary Sène, Djibril Fall et El Hadj Alioune Fall pour m'avoir fait l'honneur d'être les rapporteurs de ce travail. Je vous témoigne toute mon admiration et mon profond respect.

Je remercie les Docteurs Marc Gaysinsky et Lionel Massi pour la réalisation des spectres RMN et masse.

Mes remerciements au Docteur Gaëtan Burgaud du Laboratoire Universitaire de Biodiversité et Ecologie Microbienne (LUBEM) de l'université Bretagne Occidentale pour avoir réalisé les tests antimicrobiens sur mes produits.

Merci au Docteur Mouhamadou Fofana qui avec l'efficacité de sa supervision a toujours trouvé les mots pertinents pour me rassurer et m'encourager et me faire constamment profiter de son expérience. Je vous souhaite bonne chance dans tous vos projets professionnels.

Je ne saurais oublier l'ensemble de mes camarades de laboratoire, particulièrement Mohamet Diop et Estelle Sfecci, pour leur sympathie et leur conseil.

Enfin, mes vifs remerciements à toute ma famille plus particulièrement à mon père, à mes frères Amadou et Baboye et à ma femme Youma pour leur soutien moral et financier.

## Abréviation

ACN : acétonitrile

AF : acide formique

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

COSY : COrrrelated SpectroscopY

DCM : Dichlorométhane

DMSO : Diméthylsulfoxyde

EC<sub>50</sub> : Concentration efficace médiane

ESI : ElectroSpray Ionization

HMBC : Heteronuclear Multiple Bond Correlation

HPLC : High Performance Liquid Chromatography

HSQC : Heteronuclear Single Quantum Correlation

IC<sub>50</sub> : Concentration inhibitrice médiane

LCMS : Liquid Chromatography Mass Spectrometry

MeOH : méthanol

NOESY : Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy

RMN : résonance magnétique nucléaire

ppm : partie par million

# TABLE DES MATIÈRES

Introduction générale .....	1
Chapitre 1 : Généralités sur les éponges .....	6
I.1. Définition et caractères généraux .....	7
I.2. Anatomie de l'éponge .....	7
I.3. Systématique .....	8
I.4. Les métabolites secondaires.....	9
I.4.1. Les peptides .....	9
I.4.2. Les polycétides.....	12
I.4.3. Les alcaloïdes .....	12
I.4.4. Les terpènes .....	14
I.5. Quelques métabolites isolés ou identifiés d'éponges des côtes Sénégalaises .....	16
I.6. Conclusion.....	17
Chapitre 2 : Etude Chimique de l'éponge <i>Psammaplysilla purpurea</i> , Carter (1880).....	19
II.1. Données bibliographiques.....	20
II.1.1. Description.....	20
II.1.2. Métabolites secondaires isolés de l'éponge <i>Psammaplysilla purpurea</i> .....	20
II.2. Isolement et identification des métabolites secondaires.....	27
II.2.1. Dérivés Simples .....	28
II.3. Conclusion.....	38
Chapitre 3 : Etude de l'éponge Dictyocératide .....	39
III.1. L'ordre des Dictyoceratida Minchin, 1900.....	40
III.2. Etude chimique de l'éponge Dictyocératide.....	41
III.2.1. Etude de la fraction H <sub>2</sub> O/MeOH, 1:2 .....	42
III.2.3. Etude de la fraction H <sub>2</sub> O/MeOH, 2:1 .....	61
III.3. Conclusion .....	68
Chapitre 4 : Etude chimique de l'éponge <i>Ircinia sp.</i> .....	70
IV.1. Généralités.....	71
IV.1.1. Caractéristiques taxonomiques.....	71
IV.1.2. La variabiline et ses analogues.....	71
IV.2. Etude chimique de l'éponge <i>Ircinia sp.</i> .....	78
IV.2.1. Collecte et extraction de l'éponge <i>Ircinia sp.</i> , fractionnement et purification.....	78
IV.3. Conclusion .....	103
Chapitre 5 : Résultats des évaluations biologiques .....	106

<b>Conclusion générale</b> .....	110
<b>PARTIE EXPERIMENTALE</b> .....	112
<b>I. Solvants et réactifs</b> .....	113
<b>II. Chromatographie sur colonne</b> .....	113
<b>III. Instruments</b> .....	113
<b>III.1. HPLC analytique et semi-préparative</b> .....	113
<b>III.1.1. Analyse et purification en routine</b> .....	113
<b>III.2. LC-MS et MS/MS</b> .....	114
<b>III.2.1. Spectromètre de masse à basse résolution</b> .....	114
<b>III.2.2. Spectromètre de masse à haute résolution (1)</b> .....	114
<b>III.2.3. Spectromètre de masse à haute résolution (2)</b> .....	115
<b>III.3. RMN</b> .....	115
<b>BIBLIOGRAPHIE</b> .....	126
<b>ANNEXE</b> .....	138

## **Introduction générale**

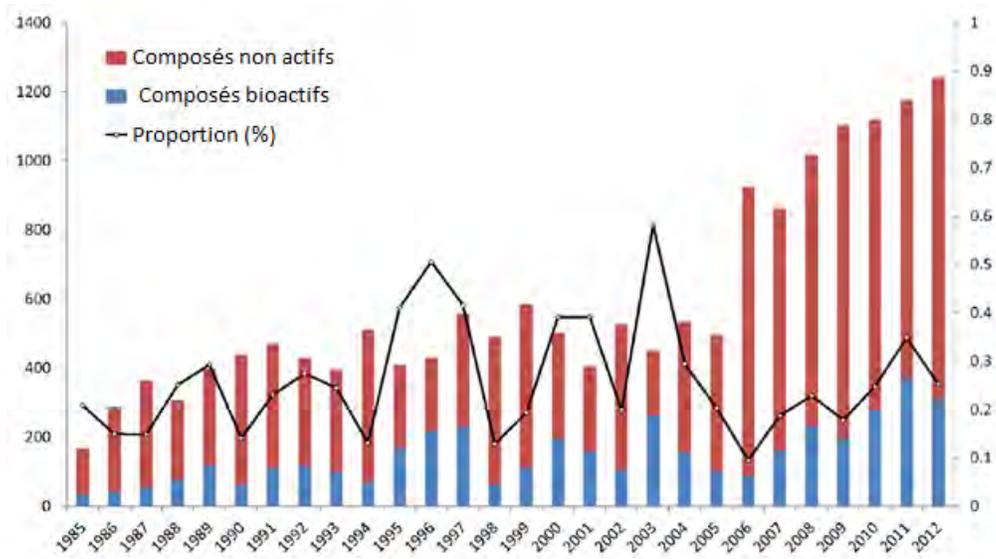
## Introduction générale

Les océans constituent un espace continu, homogène et relativement stable au regard du temps géologique. Témoins des origines de la vie, ils en conservent une mémoire, illustrée par une biodiversité particulière à laquelle correspond une chimiodiversité encore peu explorée. Si la biodiversité en phylums est ainsi plus riche dans l'environnement marin que sur terre, il en est de même pour la chimiodiversité, qui s'intéresse aux métabolites primaires et secondaires des organismes vivants. Les organismes marins vivent dans une solution saline complexe qui renferme la quasi-totalité des 92 éléments naturels, dont certains sont fortement présents dans l'eau de mer mais beaucoup moins ou seulement à l'état de traces dans l'eau douce ou sur terre. La chimiodiversité marine se caractérise ainsi par la présence d'éléments chimiques inhabituels ou très rares dans les organismes dulçaquicoles ou terrestres. Il est ainsi permis d'envisager une « spécificité marine » pour certains groupes d'organismes qui possèdent abondamment des métabolites possédant ces éléments chimiques particuliers et en quantités notables. Si personne n'ignore que la mer est salée par le chlorure de sodium, peu de personnes savent qu'après le sodium et le chlore, les éléments les plus abondants de l'eau de mer sont le magnésium et le soufre (**tableau I**)<sup>1</sup>.

**Tableau I :** Concentration des 20 éléments les plus abondants dans l'eau de mer après l'hydrogène et l'oxygène

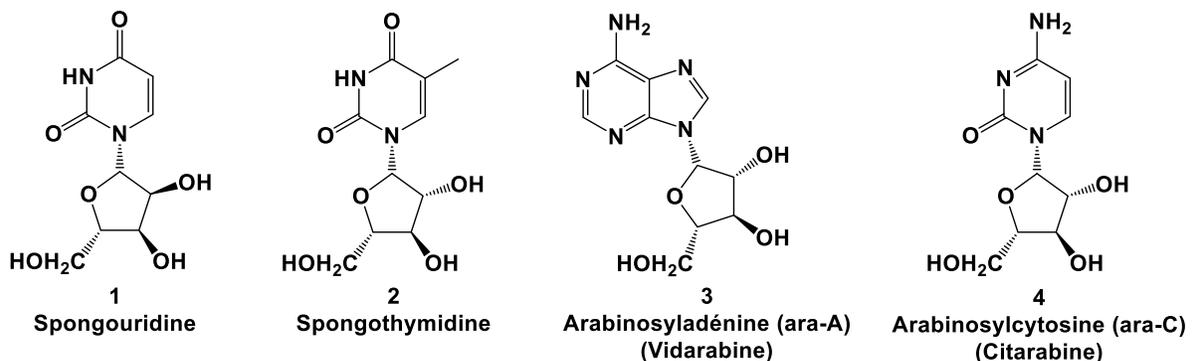
Ordres de grandeur	Eléments	ppm	Ordres de grandeur	Eléments	ppm
>10 <sup>3</sup>	<b>Cl</b>	18980	10 <sup>-1</sup>	<b>B</b>	5,00
	Na	10560		Si	4,00
	Mg	1275		<b>F</b>	1,50
10 <sup>3</sup> -10 <sup>2</sup>	<b>S</b>	885	1-10 <sup>-1</sup>	<b>N</b>	0,70
	Ca	400		Al	0,50
	K	380		Rb	0,20
10 <sup>2</sup> -10	Br	65	10 <sup>-1</sup> -10 <sup>-2</sup>	<b>P, Li</b>	0,1
	C	30		<b>I, Ba</b>	0,05
	Sr	15		<b>As</b>	0,02

Ainsi les océans sont considérés comme le plus formidable réservoir biologique qui soit, bien moins altéré par la présence anthropique que les environnements de surface. La recherche a pour le moment mis à jour moins de 100000 substances chimiques dans les océans, mais on estime qu'il en existe près de 500 millions<sup>2</sup>. Avant 1985, le nombre de nouveaux produits découverts annuellement était inférieur à 100. Le nombre a évolué depuis atteignant aujourd'hui plus de 1000 nouveaux produits par an isolés d'organismes marins (**figure 1**)<sup>3</sup>.



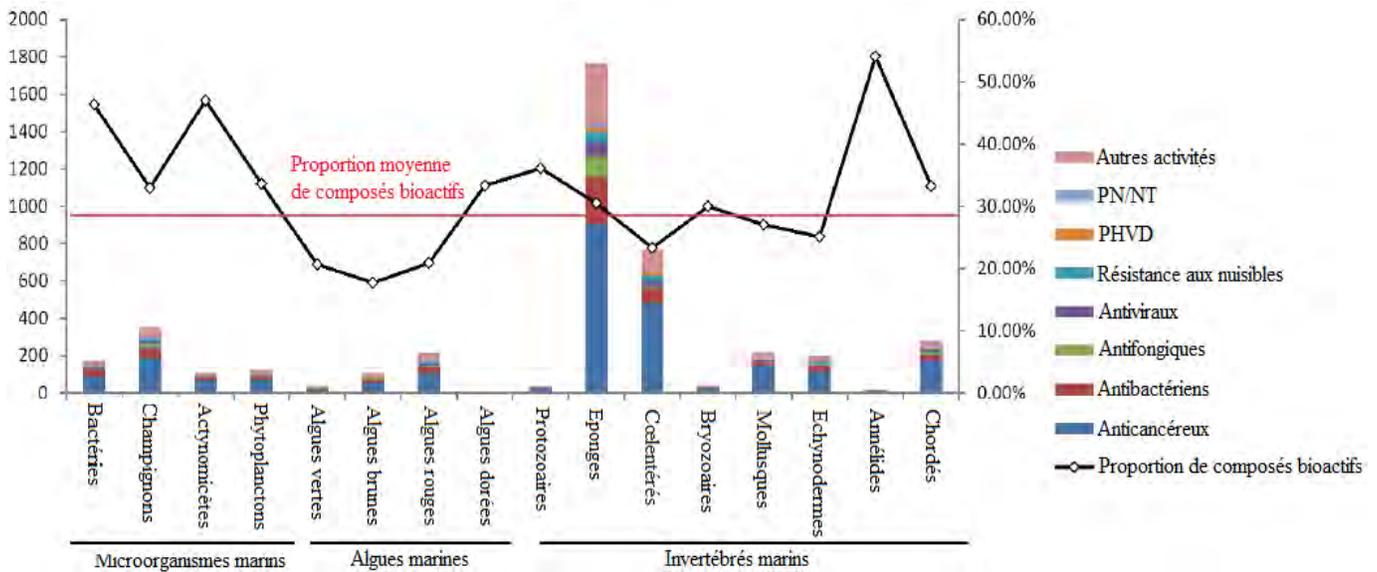
**Figure 1** : Variation du nombre de nouveaux produits naturels marins de 1985 à 2012

Les premières molécules découvertes à partir d'organismes marins sont la spongouridine (1) et la spongothymidine (2), isolées de l'éponge Caraïbienne *Cryptotethia crypta*<sup>4</sup>. Cette découverte a abouti à la commercialisation de leurs analogues synthétiques : l'antiviral ara-A (3) et l'anticancéreux ara-C (4) (**figure 2**)<sup>5,6</sup>.



**Figure 2** : Premiers produits naturels marins et leurs analogues synthétiques

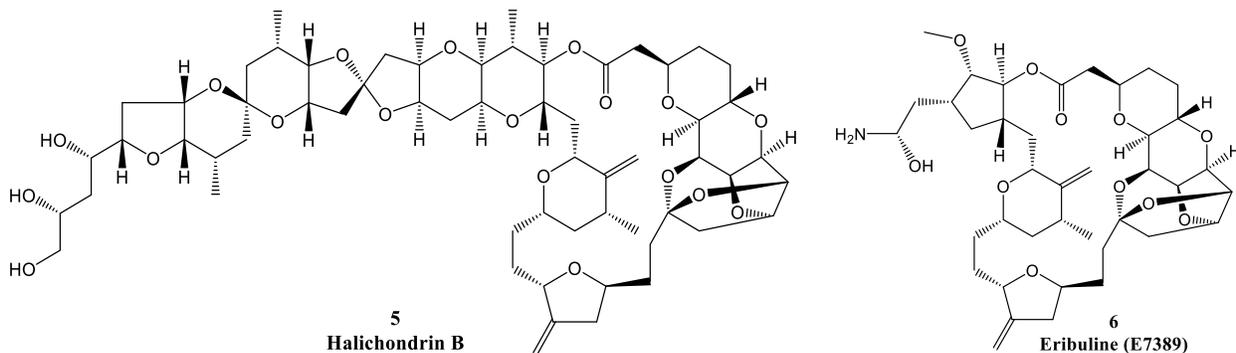
Depuis ce travail de pionnier, un certain nombre de composés structurellement originaux et biologiquement actifs ont été découverts à partir d'organismes marins et en particuliers d'éponges, la plupart d'entre eux ayant une application potentielle en tant qu'agents anticancéreux (figure 3)<sup>3,5</sup>.



**Figure 3 :** Nombre et proportion de composés bioactifs / non bioactifs provenant d'organismes marins (PHVD : Prévention des maladies cardiovasculaires, PN/PT : Protection des neurones/Neurotoxicité)

Environ 28 000 nouveaux composés d'origine marine ont été découverts. Parmi tous les organismes marins, les éponges, qui appartiennent au phylum de Porifera, représentent la plus riche source de composés marins naturels, contribuant à 30% du nombre de produits naturels marins identifiés jusqu'à présent. Ce fait ne devrait pas être surprenant. Les éponges sont des invertébrés sessiles ; elles n'ont pas de système immunitaire inné ou de structures de défense mécanique comme les coquilles ou les épines, donc la seule méthode de se préserver est de produire des métabolites qui agissent comme un dispositif d'autodéfense et de les laisser s'adapter à l'environnement. De plus, la biodiversité intraphylum des éponges se traduit par une variété chimique des molécules produites. Jusqu'à présent, des nucléosides particuliers, des stéroïdes, des alcaloïdes, des peroxydes, des terpènes, des acides gras, des dérivés d'acides aminés et des peptides

cycliques ont été découverts comme composés actifs et au moins 60 d'entre eux ont un potentiel chimiopréventif et/ou anticancéreux<sup>6</sup>. Cependant, ce potentiel reste sous exploité puisqu'à ce jour, un seul médicament anticancéreux dérivé d'éponges marines est disponible dans le commerce : l'éribuline (E7389) (6) analogue synthétique de l'halichondrine B (5), isolé de l'éponge marine *Halichondria okadai* (Figure 4). L'éribuline est utilisée dans le traitement du cancer du sein métastasé<sup>5,7</sup>. C'est dans ce sens que les éponges sont considérées comme une mine d'or par les chimistes<sup>8</sup>.



**Figure 4 :** Structures de l'halichondrin B et de son analogue synthétique l'éribuline

Mon projet de thèse est consacré à l'isolement, à la caractérisation et à l'évaluation biologique de métabolites secondaires de *Psammaphysilla purpurea*, d'une Dictyocératide et d'une *Ircinia sp.* collectées au large des côtes Sénégalaises. Ceci grâce à la collaboration entre le laboratoire « Groupe de Recherche sur les Substances Bioactives » (GRSB) de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar dirigé par le Professeur Ibrahima Ndiaye et le laboratoire « Produits Naturels Marins » (PNM) de l'institut de chimie de Nice dirigé par le Docteur Mohamed Mehiri. Cette thèse s'articule autour de 5 chapitres :

- Le premier est consacré à quelques généralités sur les éponges et l'étude chimique de certaines espèces collectées au Sénégal,
- le deuxième concerne l'étude chimique de l'éponge *Psammaphysilla purpurea*,
- le troisième représente l'étude de l'éponge Dictyocératide,
- le quatrième est consacré l'étude chimique de l'éponge *Ircinia sp.*,
- enfin, le cinquième résume les résultats des tests biologiques de quelques composés que nous avons isolés.

**Chapitre 1 : Généralités sur les éponges**

### **I.1. Définition et caractères généraux**

Les éponges sont des animaux aquatiques multicellulaires (marins ou d'eau douce) appartenant au groupe des spongiaires ou à l'embranchement, « les porteurs de pores » (Porifera), qui comprend environ 7000 espèces. Ce sont des métazoaires, mais les plus primitifs existant depuis des millions d'années<sup>9-12</sup>. Grâce aux nombreux pores répartis sur le corps, 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. C'est ainsi qu'elles jouent un rôle important dans la filtration de l'eau de mer, essentielle à l'équilibre des écosystèmes marins<sup>6</sup>.

### **I.2. Anatomie de l'éponge**

L'éponge est constituée de deux populations cellulaires fondamentales, dont la répartition n'est pas au hasard, mais répond à un certain nombre d'exigences fonctionnelles liées en particulier à ce qui fait la grande originalité des éponges dans l'ensemble du règne animal : leur système aquifère. Le corps de l'éponge est en effet parcouru par un courant aquifère en circuit ouvert (**figure 5**). L'eau extérieure (flèches) pénètre dans l'éponge par de petits orifices inhalants ( $\pm 50 \mu\text{m}$ ), puis par un réseau de canaux inhalants atteint le moteur, la pompe du système : les chambres choanocytaires. En forme de sphères creuses, ces chambres sont tapissées de cellules munies d'une collerette et d'un flagelle : les choanocytes. Le battement des flagelles assure le mouvement de l'eau. L'eau sort de l'éponge par un réseau de canaux exhalants qui confluent vers des ouvertures relativement larges : les oscules (1 à 5 mm de diamètre environ).

Dans cette eau circulante l'éponge prélève ce qui lui est nécessaire pour couvrir ses besoins nutritionnels et respiratoires, et rejette les produits de déchets de son métabolisme. L'ensemble de la surface de l'éponge et des canaux est tapissé par des cellules appelées pinacocytes. Pinacocytes et choanocytes sont les deux éléments essentiels d'une éponge (il existe des espèces qui ne possèdent que ces deux types cellulaires) ; ils forment deux assises cellulaires continues qui isolent totalement l'éponge de l'eau extérieure et de l'eau circulante ; ces assises délimitent le milieu intérieur de l'éponge et assurent son intégrité. Entre ces deux assises cellulaires, on trouve des cellules mobiles qui constituent le mésohyle<sup>10</sup>.

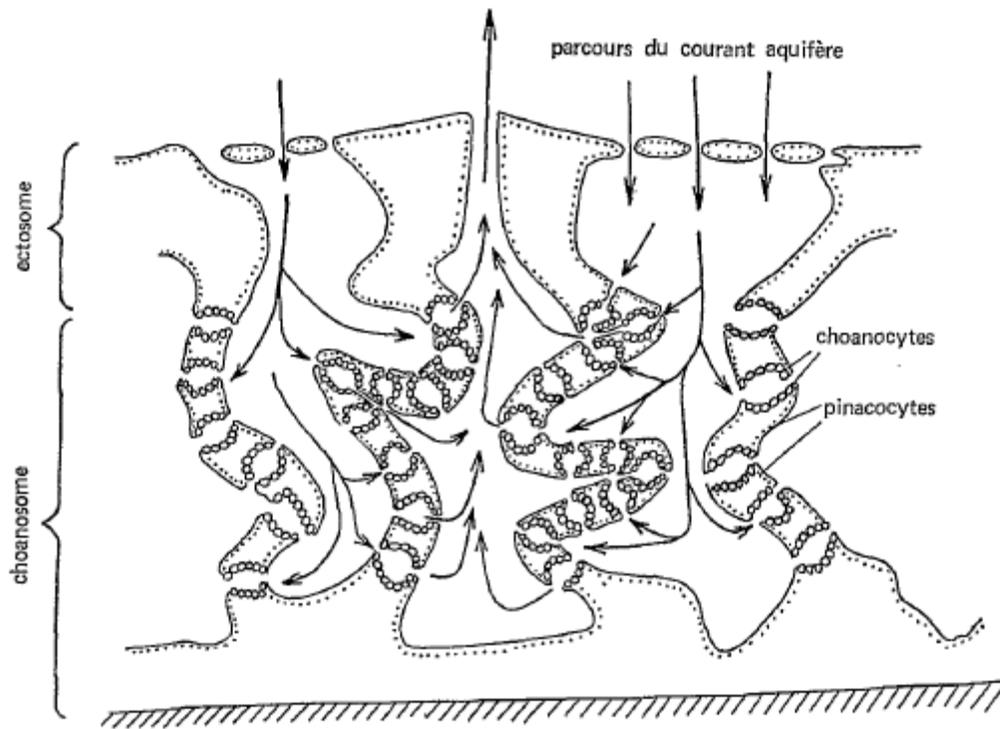


Figure 5 : Schéma d'une éponge

La partie interne l'éponge creusée par des canaux de courant d'eau, également bordée par une seule couche de cellules de pinacocytes formant l'endopinacoderme est appelée **choanosome**. La fine couche extérieure de l'éponge, contenant des cellules, les squelettes minéraux et organiques, est appelée **ectosome**<sup>9</sup>.

### I.3. Systématique

La systématique des spongiaires est fondée jusqu'à présent sur la nature et la forme des spicules. Trois classes existent aujourd'hui<sup>13-15</sup> :

- **La classe Calcarea (éponges calcaires ou calcispongia)**

Leur squelette est constitué de spicules calcaires. Les spicules sont de forme relativement peu variée, on y trouvera essentiellement des oxes et des triactines, mais il existe également des genres présentant une plus grande variété. Les microsclères sont absents. Les calcisponges sont souvent considérés comme les spongiaires les plus primitifs, bien que ce fait soit souvent remis en cause par les spécialistes.

- **Les Hexactinellida (éponges de verre)**

Elles se trouvent généralement dans les eaux très profondes. Ces éponges possèdent des spicules siliceux, qui peuvent former une structure rigide en s'associant étroitement (cas de la « coupe de Vénus » appartenant au genre *Euplectella*). Les spicules caractéristiques de cette classe sont des triaxones hexactines (spicules à trois axes et six pointes), qui n'existent pas chez les démosponges. Ces spicules sont à l'origine du nom « hexactinellides » de cette classe. Les hexactinellides représentent probablement les spongiaires les plus évolués.

- **Les Demospongiae**

Les démosponges sont de loin les éponges les plus communes et les plus diverses, et celles qu'on est le plus susceptible de rencontrer en faisant de la plongée sous-marine. Les spicules de ces éponges sont constitués de silice hydratée (opale). Les démosponges peuvent posséder des spicules siliceux et/ou des fibres de spongine (l'éponge de toilette est un démosponge). Certaines espèces de démosponge ne possèdent pas de squelette. La forme des spicules peut être extrêmement variée et les microsclères sont souvent présents.

#### **I.4. Les métabolites secondaires**

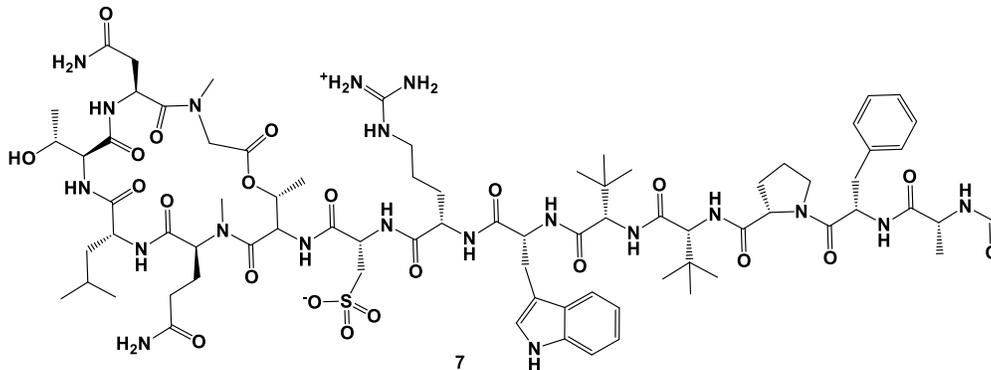
Grace à leur propension à produire des métabolites bioactifs, les éponges ont fourni plus de produits naturels que tout autre phylum dans le milieu marin<sup>16</sup>. Bien que certains de ces métabolites aient été attribués à des organismes symbiotiques, la majorité d'entre eux sont considérés comme de vrais métabolites des éponges et leurs modèles chimiotaxonomiques revêtent une importance accrue<sup>17,18</sup>.

Les métabolites secondaires les plus souvent isolés d'éponges marines peuvent être classés dans les quatre groupes suivants<sup>19</sup> : les peptides, les polycétides (macrolide et éribuline), les alcaloïdes (manzamine, bromopyrrole et bromotyrosine) et les terpènes (sesterterpène et triterpène).

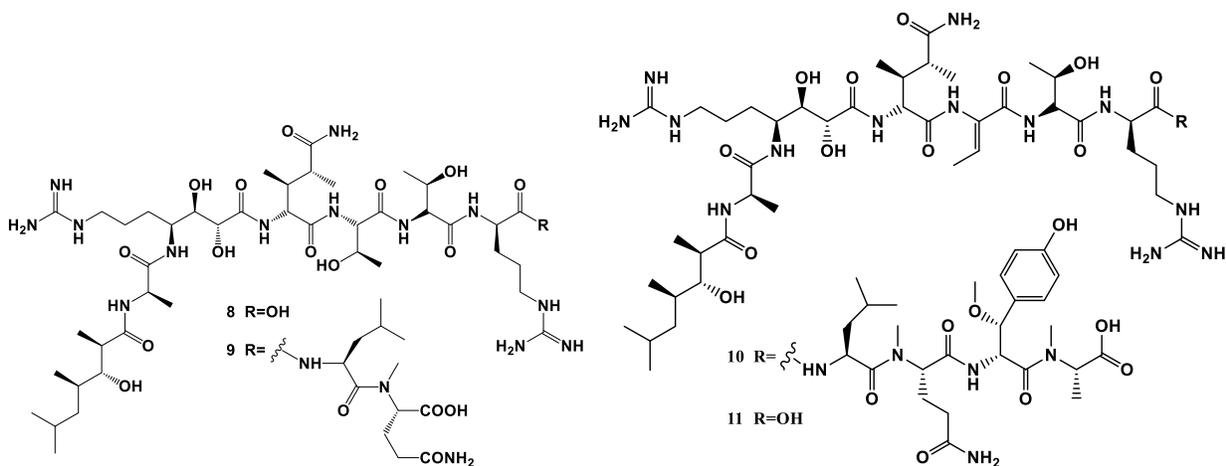
##### **I.4.1. Les peptides**

Les éponges marines synthétisent une grande variété de molécules peptidiques et organiques représentant une gamme intéressante d'activités biologiques : antifongique,

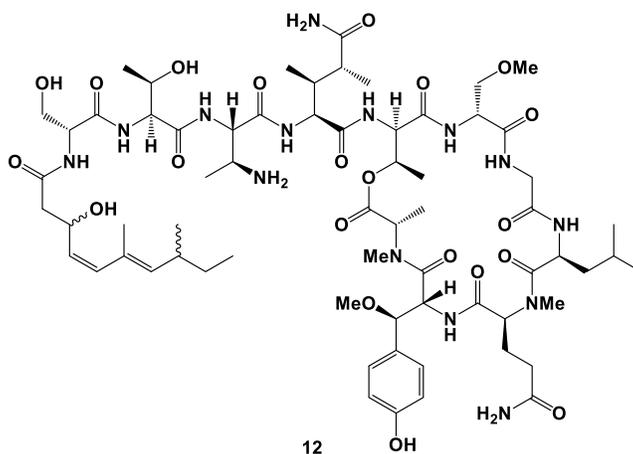
cytotoxique, anti-inflammatoire, antibactérienne et inhibitrice d'enzymes<sup>20-22</sup>. Structuellement, ils comprennent des peptides linéaires, des lactones peptidiques, des peptides cycliques et des depsipeptides<sup>21</sup>. Ils représentent ainsi un domaine important de la recherche sur les produits naturels marins et offrent des structures uniques par rapport à d'autres sources<sup>22</sup>. La discodermine-A (7) est le premier peptide isolé d'une éponge marine. Ce tetradecapeptide isolé de l'éponge *Discodermia kiiensis* possède une activité antimicrobienne<sup>23,24</sup>.



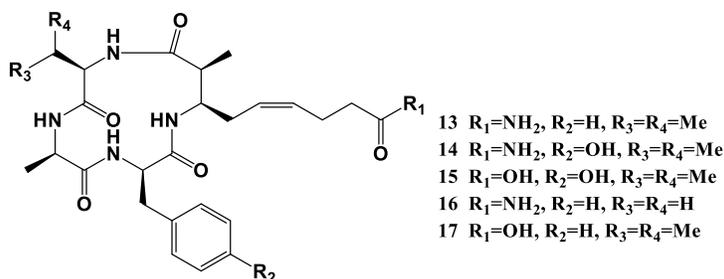
Les callipeltines F-I (8-11) sont des peptides antifongiques isolés de l'éponge marine *Latrunculia sp.*<sup>25</sup>.



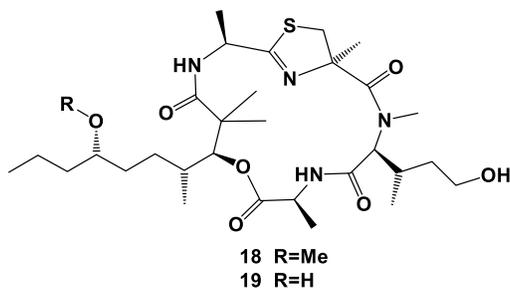
Le stellatolide H (12), isolé de l'éponge *Dicodermia sp.*, est une peptide lactone ayant une activité cytotoxique contre les cellules HeLa avec une IC<sub>50</sub> de 0,3 μM<sup>26</sup>.



Cinq tetrapeptides cycliques, les azumamides A-E (**13-17**), ont été isolés de l'éponge marine *Mycale izuensis*. Ces composés présentent une puissante activité inhibitrice de l'enzyme histone désacétylase (HDAC) avec une  $IC_{50}$  de 0,045 à 1,3  $\mu M$ <sup>27,28</sup>.

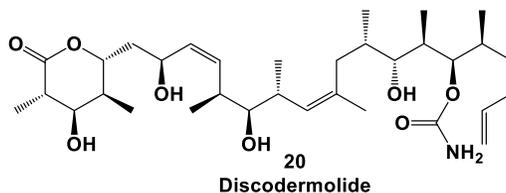


Deux depsipeptides cycliques, les halipeltines A et B (**18, 19**), ont été isolés de l'éponge marine *Haliclona sp.* L'halipeltine A (**18**) a montré *in vivo*, une forte activité anti-inflammatoire<sup>29</sup>.



### I.4.2. Les polycétides

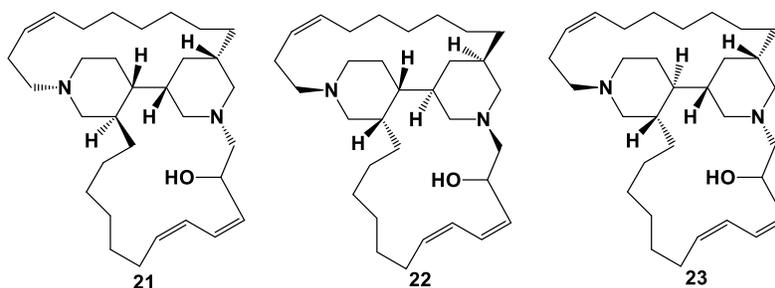
Les polycétides sont des métabolites secondaires produits par divers organismes vivants, y compris les éponges. Ils constituent la classe la plus importante de produits naturels marins du point de vue de la découverte de médicaments<sup>30</sup>. On peut citer l'halichondrine B (**5**), un macrolide dont l'éribuline (**6**), qui est maintenant un produit sous licence, a été développée à partir du fragment macrocyclique présent sur sa structure. Le discodermolide (**20**) a été isolé de l'éponge *Discodermia dissoluta* comme composé antiprolifératif et antimittotique<sup>31</sup>. Il s'attaque aux cellules cancéreuses de la même façon que le taxol, médicament anticancéreux couronné de succès, qui était devenu le médicament anticancéreux le plus vendu de l'histoire au milieu des années 2000<sup>32</sup>.



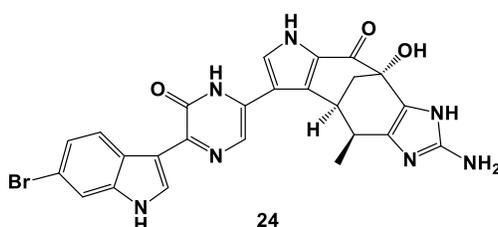
Cependant, plusieurs polycétides isolés d'éponges marines sont connus comme étant des métabolites synthétisés par des organismes symbiotiques. On peut citer entre autres l'onnamide<sup>33</sup>, la psymberine<sup>34</sup> et le swinholide<sup>35,36</sup>.

### I.4.3. Les alcaloïdes

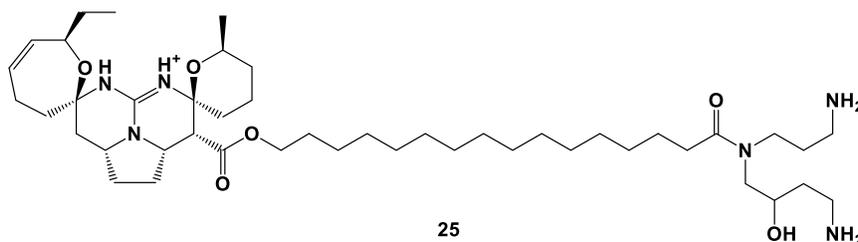
Les alcaloïdes constituent l'une des principales classes de métabolites secondaires les plus étudiées et les plus exploitées tout au long de l'histoire. Ce sont des composés contenant de l'azote, présent non seulement dans les plantes, les microorganismes, les organismes marins et les animaux<sup>37</sup>. Ils ont été trouvés dans presque toutes les éponges marines, présentant une large gamme de structures chimiques et un vaste éventail d'activités biologiques<sup>38</sup>. Les arenosclerines A-C (**21-23**), trois alkyloxy-piperidines isolés de l'éponge *Arenosclera brasiliensis*, ont montré des activités antibactériennes et cytotoxiques<sup>39,40</sup>.



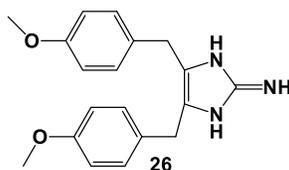
La dragmacidine F (**24**) est un alcaloïde de type indolique isolé de l'éponge *Halicortex sp.* et présentant *in vitro* des activités antivirales<sup>41</sup>.



La crambescidine 800 (**25**), un alcaloïde pentacyclique de type guanidine, a été isolée de *Clathria cervicornis* et s'est avérée présenter une activité antimicrobienne puissante contre *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*, avec des CMI respectivement de 2, 1 et 1 µg/mL<sup>42</sup>.



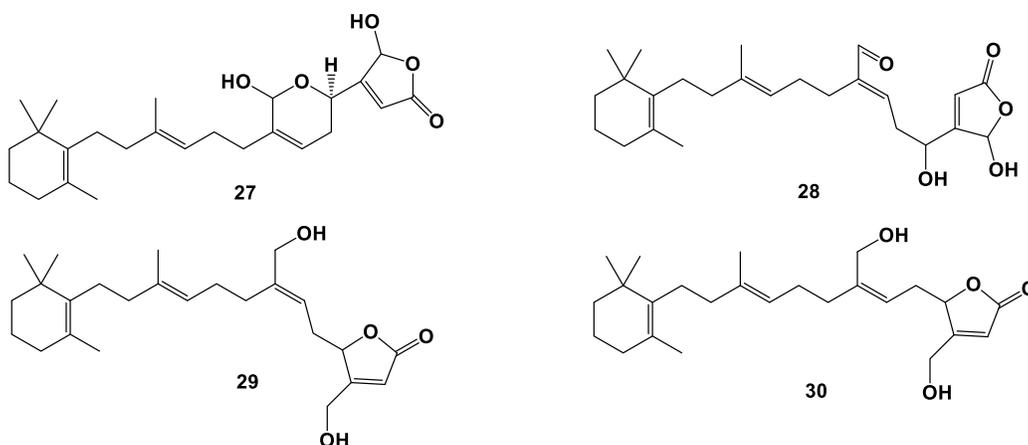
La Naamine D (**26**) est un alcaloïde de type imidazole isolé de l'éponge *Leucetta cf chagosensis* possédant des activités antifongique modérée et inhibitrice de l'enzyme oxyde nitrique synthase<sup>43</sup>.



#### I.4.4. Les terpènes

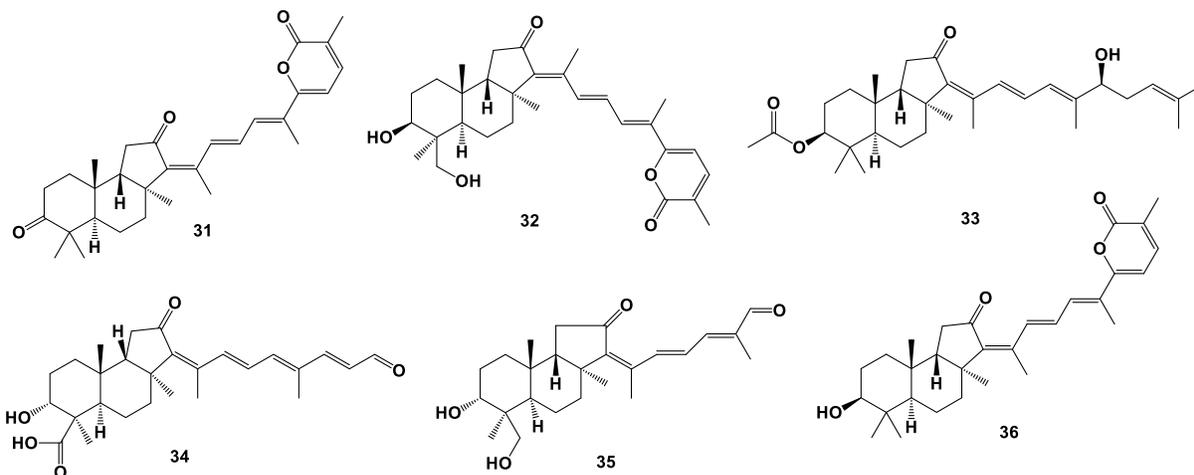
Les terpènes sont considérés à la fois comme des métabolites primaires et secondaires des éponges marines et sont assemblés à partir de cinq unités d'isoprène donnant une grande variété de structures et de composés bioactifs. Pour la plupart, les terpènes dérivés d'organismes marins ressemblent étroitement à leurs homologues terrestres<sup>44</sup>.

Le manoalide (**27**) est le composé parent d'une série de métabolites d'éponges marines appartenant à la classe des sesterterpènes. Il a été isolé pour la première fois en 1980 par Scheuer de l'éponge marine *Luffariella variabilis*<sup>45</sup>. Le manoalide est connu pour avoir plusieurs activités biologiques y compris antibactérienne et a atteint la phase II clinique en tant que antipsoriasique. Le composé est maintenant disponible dans le commerce comme outil biochimique standard pour bloquer l'action de la PLA<sub>2</sub><sup>46</sup>. Un peu plus tard, Scheuer a rapporté trois métabolites apparentés provenant de la même éponge, à savoir le seco-manoalide (**28**), le (*E*)-neomanoalide (**29**) et le (*Z*)-neomanoalide (**30**)<sup>47</sup>. Les trois composés, comme le manoalide, ont montré une activité antibactérienne.

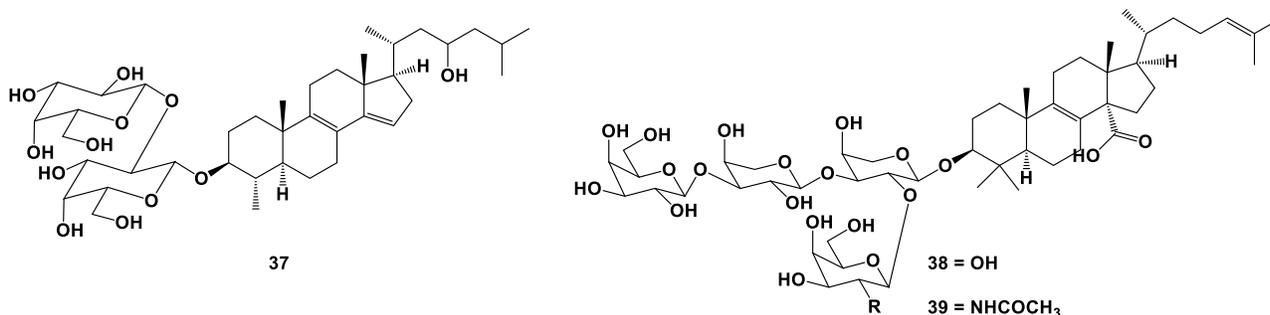


Les triterpènes stéroïdiens ont été les premiers isoprènes marins découverts dans les années 1930. L'intérêt scientifique a été porté à ces métabolites en raison de l'isolement de dérivés sans précédent dans le domaine de la biosynthèse, possédant un large spectre de bioactivité<sup>48</sup>. Les isomalabaricanes et les saponines stéroïdiens sont deux classes importantes de triterpènes obtenus à partir d'éponges marines grâce à leur importance pharmacologique (Fattorusso et al. 2012). Les malabaricanes ne sont pas propres aux éponges marines et ont été isolés de sources terrestres mais les isomalabaricanes (caractérisés par leur jonction en anneau *trans-syn-trans*) propres aux éponges marines ont été isolés en premier de l'éponge *Jaspis stellifera*. Ils comprennent les

stellétines (31), les rhabdastrellines (32) et les stelliferines (33) dont certains composés ont montré une activité antiprolifération<sup>49-51</sup>. Une classification plus poussée au sein des isomalabaricanes sépare d'autres composés isolés en nortriterpénoïdes, norsesterterpénoïdes et norditerpénoïdes. Il s'agit notamment des jaspiferales (34), des aurorales (35) et des jaspolidés (36), qui présentent également une puissante activité cytotoxique<sup>50,52,53</sup>.



Dans le règne animal, les glycosides stéroïdiens et triterpéniques sont les métabolites prédominants des étoiles de mer et des concombres de mer respectivement<sup>54</sup>. En outre, ce type de glycoside a été isolé d'éponges marines. L'eryloside A (37), ayant montré des activités antileucémique et antifongique, est le premier congénère isolé de l'éponge *Erylus lendenfeldi* collectée en mer rouge<sup>55</sup>. Le formoside A (38) a été isolé à partir de l'éponge marine caribéenne *Erylus formosus*<sup>56</sup>. Plus tard, il a été isolé avec le formoside B (39) d'une autre collection de la même éponge des Bahamas<sup>57</sup>. Le formoside A et son dérivé N-acétyl galactosamine, le formoside B, possèdent des propriétés dissuasives contre les poissons prédateurs. Par conséquent, il a été suggéré qu'ils ont des fonctions écologiques importantes, comparables à celles attribuées à des composés présents dans les étoiles de mer, les concombres de mer et les plantes terrestres<sup>57</sup>.



### I.5. Quelques métabolites isolés et identifiés d'éponges collectées au Sénégal

Avec une façade maritime de 700 km environ dont un plateau continental de 20 000 km peuplé par une flore et une faune facilement accessibles, abondantes 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.

Cependant, les éponges des côtes Sénégalaises n'ont jusqu'à présent, à ma connaissance, fait l'objet que de peu d'études chimiques relatives aux métabolites secondaires, la plupart de ces études ayant intervenu du début jusqu'au milieu des années 1990.

Ainsi, les acides gras à savoir les acides 4,8-diméthyldecanoïque (**40a**) et 12 (Z)-méthyltridéc-6-énoïque (**40b**) d'une part et 10,13-octadecadiénoïque (**41a**) et 16-tricosénoïque (**41b**) d'autre part ont été respectivement identifiés d'une *Pseudosuberites sp.* et de l'éponge *Cinachyrella alloclada* collectées à Joal<sup>48,58</sup>. En 1993, il a été isolé de l'éponge Sénégalaise *Trikentrion loeve* le glycolipide (**42**)<sup>59</sup>. Trois nouveaux glycosphingolipides nommés Axidjiferoside-A-C (**43**, **43b** et **43c**) ont été isolés de l'éponge marine *Axinyssa djiferi* collectée sur des racines de mangrove près du village de Djifer dans le Sine Saloum. Ces derniers ont montré une activité antipaludique significative, avec une IC<sub>50</sub> de 0.53 ± 0.2 µM contre une souche de *Plasmodium falciparum* résistante à la chloroquine<sup>60</sup>. En 1994, Costantino et al., ont isolé de l'éponge *Microscleroderma spirophora*, collectée près de Dakar, les 3-β-métoxystéroïdes : (24S)-24-éthyl-3β-méthoxy-8α,9α-oxido-8,9-seco-5α-cholesta-7,9(11)-diène (**44**), (24S)-24-éthyl-3β-méthoxy-8α,9α-oxido-8,9-seco-5α-cholesta-7,8(14)-diène (**45**) et (24S)-24-éthyl-3β-méthoxy-8α,9α-époxy-5α-cholest-14-ène (**46**)<sup>61</sup>. La konakhine (**47**), un sesterterpène dégradé a été isolée d'une *Ircinia sp.* collectée à Konakhè près de Dakar<sup>62</sup>. Aknin et al. (1990), ont isolé de l'éponge *Trikentrion loeve* le trikentramine (**48**)<sup>63</sup>. La dakaramine (**49**), un dérivé iodé de la tyrosine et le R-3-éthyl-4-méthylpentane-1-sulfate (**50**) ont été isolés de l'éponge *Ptilocaulis spiculifer*<sup>64</sup>.

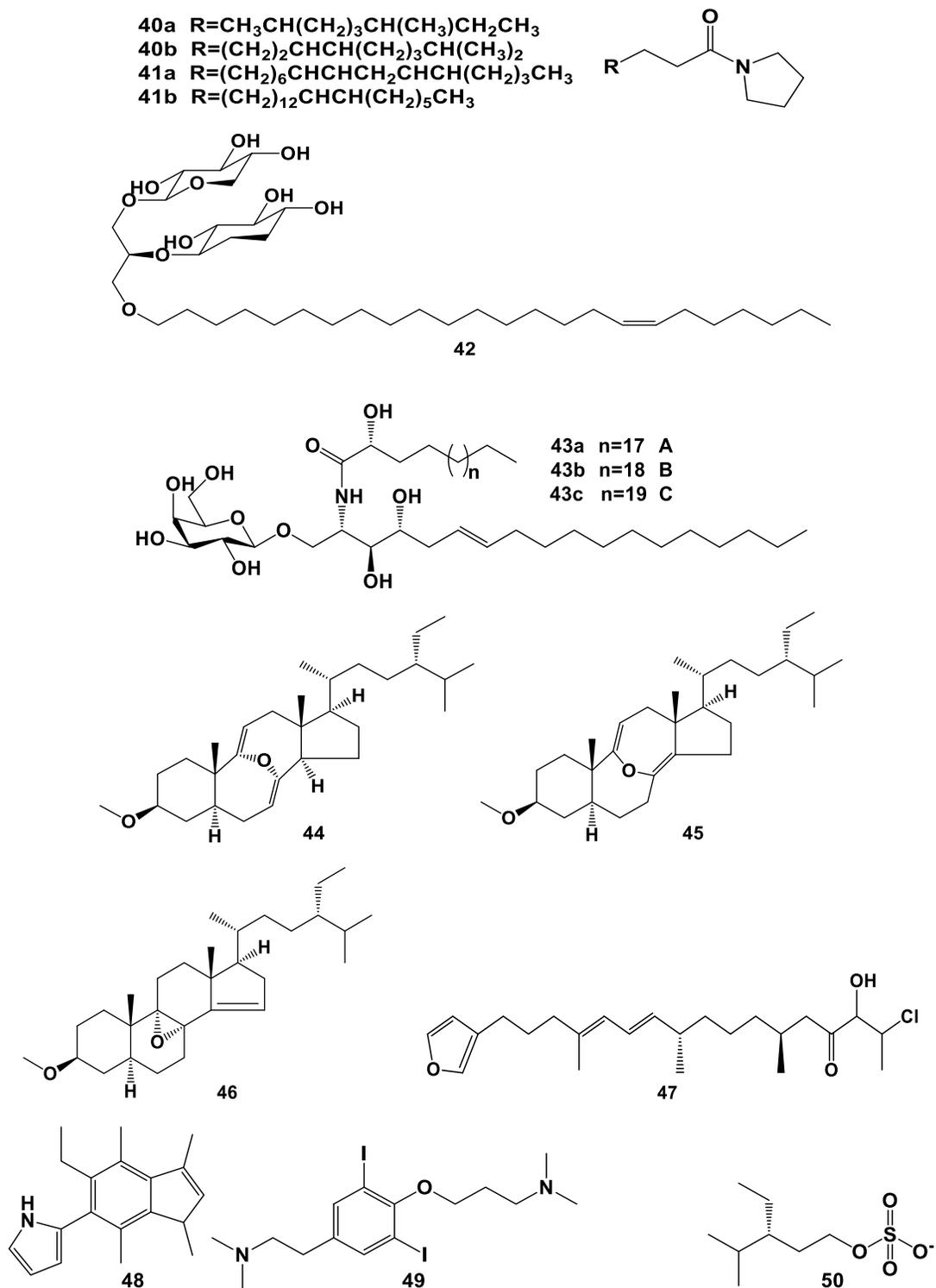


Figure 6 : Métabolites secondaires isolés d'éponges des côtes Sénégalaise

## I.6. Conclusion

Les éponges marines sont d'excellentes sources de produits naturels bioactifs ayant des propriétés telles qu'inhibitrice d'enzyme, inhibitrice de division cellulaire, antivirale, antifongique, antimicrobienne, anti-inflammatoire, antitumorale, cytotoxique ou cardiovasculaire<sup>9</sup>. Malheureusement, ces métabolites secondaires sont généralement présents à l'état de traces et les stocks naturels sont trop petits, ce qui constitue l'un des principaux obstacles au développement de médicaments largement disponibles. Un exemple est l'avarol isolé de *Dysidea avara*, puissant médicament anti-VIH<sup>65</sup>, en évaluation préclinique. Cependant, d'autres études sur ce produit naturel ont été arrêtées en raison d'une quantité insuffisante d'éponge pour son isolement<sup>66</sup>. De plus, le noyau ou le squelette actif de ces composés peut être utilisé comme précurseur pour générer des dérivés avec leur propre efficacité et leurs effets secondaires distincts<sup>6</sup>.

**Chapitre 2 : Etude Chimique de l'éponge *Psammaplysilla purpurea*,  
Carter (1880).**

## II.1. Données bibliographiques

### II.1.1. Description

L'éponge *Psammaplysilla* (= *Pseudoceratina* ou *Druinella*) *purpurea* identifiée par Carter en 1880, appartient à la famille des Aplysinellidae (**tableau II**)<sup>67-69</sup>.

**Tableau II** : Classification taxonomique de l'éponge *Psammaplysilla purpurea*

Règne	Phylum	Classe	Ordre	Famille	Genre
Animal					
	Porifera				
		Demospongiae			
			Verongidae		
				Aplysinellidae	
					Aplysinella Porphyria <b>Psammaplysilla</b> Pseudoceratina Suberea

C'est une éponge massive ou à digitations épaisses, irrégulières. Elle est de couleur jaune sur le vivant, devenant bleue, puis noire quand elle est exposée à l'air et violette foncé dans l'alcool. Sa consistance est très ferme et caoutchouteuse. La surface porte des conules réguliers. Le choanosome est très dense et renforcé par de grandes travées de collagène sans cellules, qui sont aussi bien développées dans le cortex ; ces travées de collagène constituent l'essentiel du squelette. Les fibres de spongine, de diamètre très variable, sont composées uniquement d'une moelle lacuneuse, identique à celle des Vérongia et sont entièrement dépourvues d'écorce ; peu nombreuses et peu résistantes, elles forment un réseau irrégulier<sup>70,71</sup>.

### II.1.2. Métabolites secondaires isolés de l'éponge *Psammaplysilla purpurea*

Comme toutes les autres espèces de l'ordre Verongida, *Psammaplysilla purpurea* se distingue par sa caractéristique biochimique unique. Ils contiennent une faible quantité de terpènes,

un pourcentage modérément élevé de stérols principalement avec un squelette aplystan. Ils produisent également une série importante de métabolites bromés dérivés de la tyrosine (bromotyrosines) considérés comme propres aux espèces de cet ordre. Les éponges de cet ordre sont également connues pour leur grande variabilité phylogénétique<sup>72</sup>.

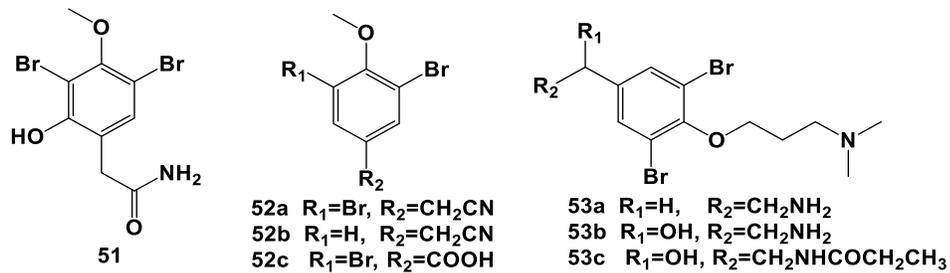
### *II.1.2.1. Les bromotyrosines*

Les bromotyrosines isolés de *P. purpurea* peuvent être classés en cinq catégories : les dérivés de bromotyrosine simples, les spirocyclohexadienylisoxazolines, les spirooxepinisoxazolines, les oximes et les bastadines<sup>72,73</sup>.

#### *II.1.2.1.1. Les dérivés de bromotyrosine simples*

Cette catégorie résulte des produits d'une unité de bromotyrosine subissant une dégradation, une réduction, une hydroxylation, une alkylation ou une estérification avec des groupes fonctionnels simples.

Chang et Weinheimer (1977) ont isolé de l'éponge *P. purpurea* la 3,5-dibromo-2-hydroxy-4-méthoxyphenylétanamide (**51**)<sup>74</sup>. En Inde, la 3,5-dibromo-4-méthoxyphenylétanitrile (**52a**), la 3-bromo-4-méthoxyphenylétanitrile (**52b**) et l'acide-3,5-dibromo-4-méthoxybenzoïque (**52c**) ont été isolés d'une espèce collectée sur la côte de Tuticorin<sup>75</sup> et les purpurealidines E-G (**53a-c**) d'une autre espèce collectée à Mandapam dans l'état de Tamil Nadu en Inde<sup>76</sup>. Trois composés (mololipides **54a-c**) contenant des chaînes lipidiques ont été identifiés d'une espèce Hawaïenne<sup>77</sup>. Ces derniers ont montré une activité anti VIH-1 avec une EC<sub>50</sub> de 52.2 µM et une cytotoxicité sur les lymphocytes humains (IC<sub>50</sub> > 100µM).



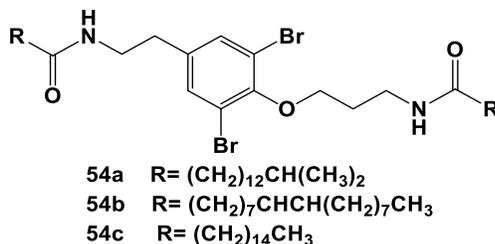


Figure 7 : Structures de bromotyrosines simples

### II.1.2.1.2. Les spirocyclohexadienylisoxazolines

Dans une spirocyclohexadienylisoxazoline, une ou deux unités de bromotyrosines sont transformées par voie de biosynthèse d'oxyde d'arène. Cette catégorie comprend généralement une à trois unités de dérivé de bromotyrosine ainsi que d'autres groupes fonctionnels (figure 8).

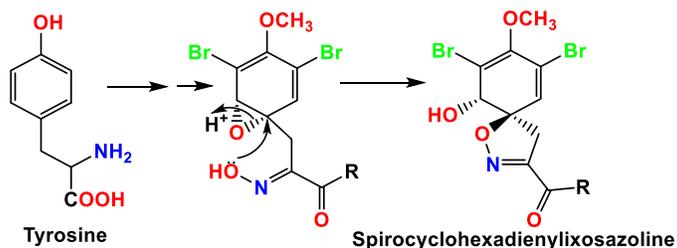


Figure 8 : Voie de biosynthèse des spirocyclohexadienylisoxazolines

Les psammaplysines A et B (**55a** et **55b**), deux composés ayant des activités antimicrobiennes, ont été isolées d'une espèce des Palaos<sup>78</sup>. La psammaplysine A a également montré une activité antibiofouling avec une EC<sub>50</sub> de 0.27 µg.mL<sup>-1</sup><sup>79,80</sup>. La 14-debromoaraplysilline I (**56**) ayant des propriétés antimicrobiennes a été isolée d'une espèce des Seychelles et d'une autre collectée en Inde<sup>81,82</sup>. De cette dernière, ont été identifiées, la purealidine Q (**57**) de *Psammaplysilla purea* et la purpurealidine J (**58**)<sup>82,83</sup>. Les purpurealidines A, C et D (**59a-c**) ainsi que la purpurealidine B (**60**) ont été isolées de la même espèce que les purpurealidines E-G; la purpurealidine B a montré une activité antimicrobienne<sup>76</sup>.

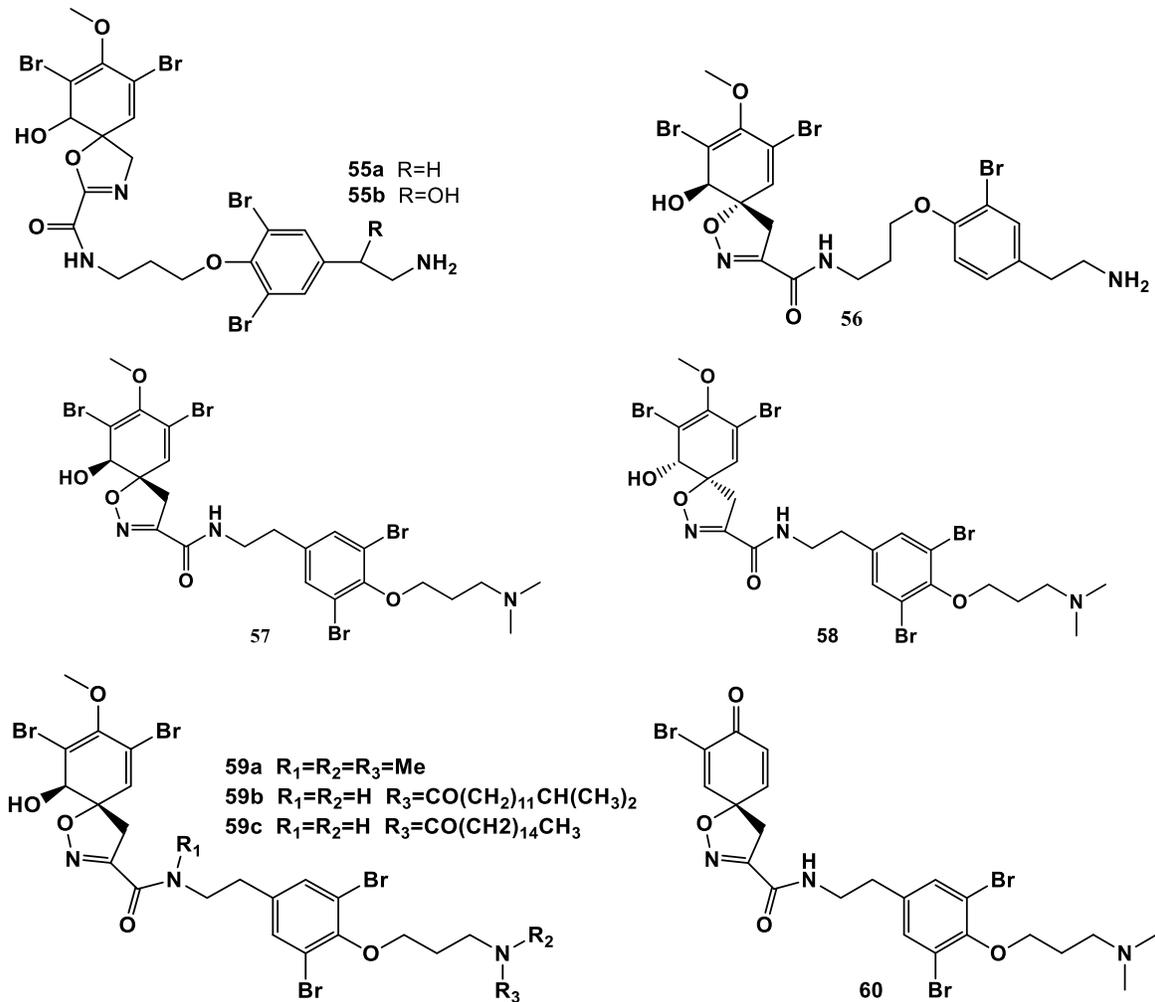


Figure 9 : Structures de spirocyclohexadienylisoxazolines isolées de *P. purpurea*

### II.1.2.1.3. Les spirooxepinisoxazolines

La voie de biosynthèse des spirooxepinisoxazolines nécessite un intermédiaire de dérivé de bromotyrosine avec un groupement O-méthyle, qui transformé en un intermédiaire oxime forme peu après un intermédiaire d'oxyde d'arène.

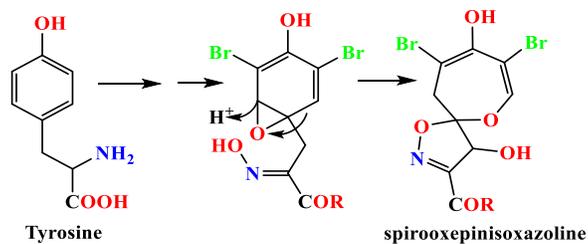


Figure 10 : Voie de biosynthèse des spirooxepinisoxazolines

L'étude d'une espèce collectée dans la partie sud du golfe d'Eilat (au large de la Mer Rouge), a donné les psammaplysines-A et B (**61a** et **61b**), toutes deux possédant des activités antibactériennes<sup>84-86</sup>. La psammaplysine C (**62**) isolée de *P. purpurea* collecté au large de l'île de Makaluva aux Fidji, présente une cytotoxicité *in vitro* vis-à-vis des cellules tumorales du côlon HCT 116 avec une IC<sub>50</sub> de 3 µg/mL<sup>87</sup>.

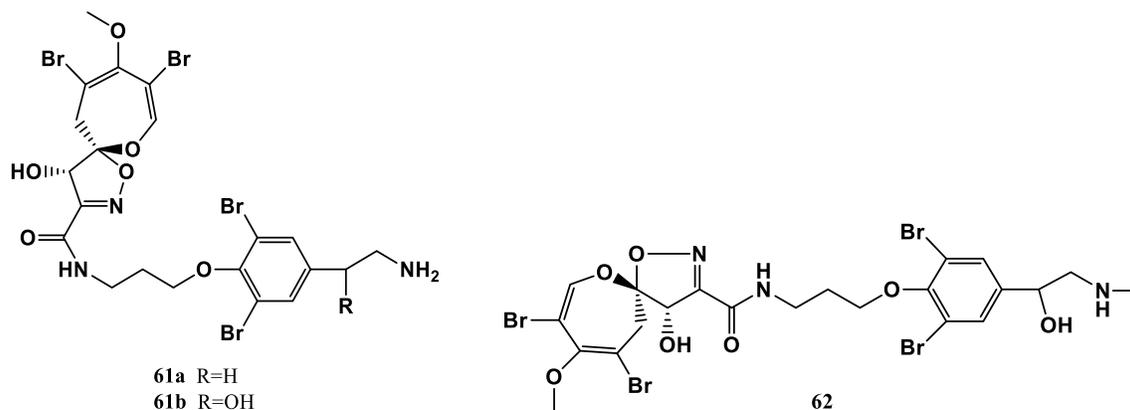


Figure 11 : Structures de spirooxepinisoxazolines isolées de *P. purpurea*

#### II.1.2.1.4. Les oximes

Pour les catégories oximes des bromotyrosines, la fonction amine de la tyrosine est simplement transformée en oxime. La géométrie des oximes a été déterminée comme étant de configuration *E* dans presque toutes les classes de cette catégorie.

James et al. (1991) ont isolé de *Druinella* (= *Psammaplysilla*) *purpurea* deux métabolites secondaires avec des propriétés antimicrobiennes dont la 14-debromoprearaplysilline I (**63**)<sup>81</sup>. Trois dérivés cytotoxiques ; les aplysamines 3-5 (**64a-c**) ont été isolées d'une espèce Hawaïenne<sup>88</sup>. Les aplysamines 3 et 4 ont également montré une activité antibactérienne modérée contre *Staphylococcus aureus*. Fusetani et al. (1993) ont rapporté neuf nouveaux métabolites dérivés de la bromotyrosine, les purpuramines A-C (**65a-c**), D-E (**66a-b**) et F-I (**67a-d**) provenant de *P. purpurea*. Ces derniers ont montré une activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus*<sup>89</sup>. Les purpuramines K (**68**) et L (**69**), isolées à partir d'une éponge indienne de *P. purpurea*, ont montré une activité antimicrobienne contre les deux bactéries Gram positif et Gram négatif<sup>90</sup>. En 2009, un potentiel médicament anticancéreux, le JBIR-44 (**70**), a été isolé d'une espèce collectée dans la baie de Kinwan à Okinawa au Japon<sup>91</sup>. L'étude d'une éponge Indo-pacifique de *P.*

*purpurea* a donné les psammaphlines B-D (71a-c). La psammaphline D qui est un dimère de la cystéine a montré une activité antimicrobienne et une légère activité inhibitrice de la tyrosine kinase<sup>92</sup>.

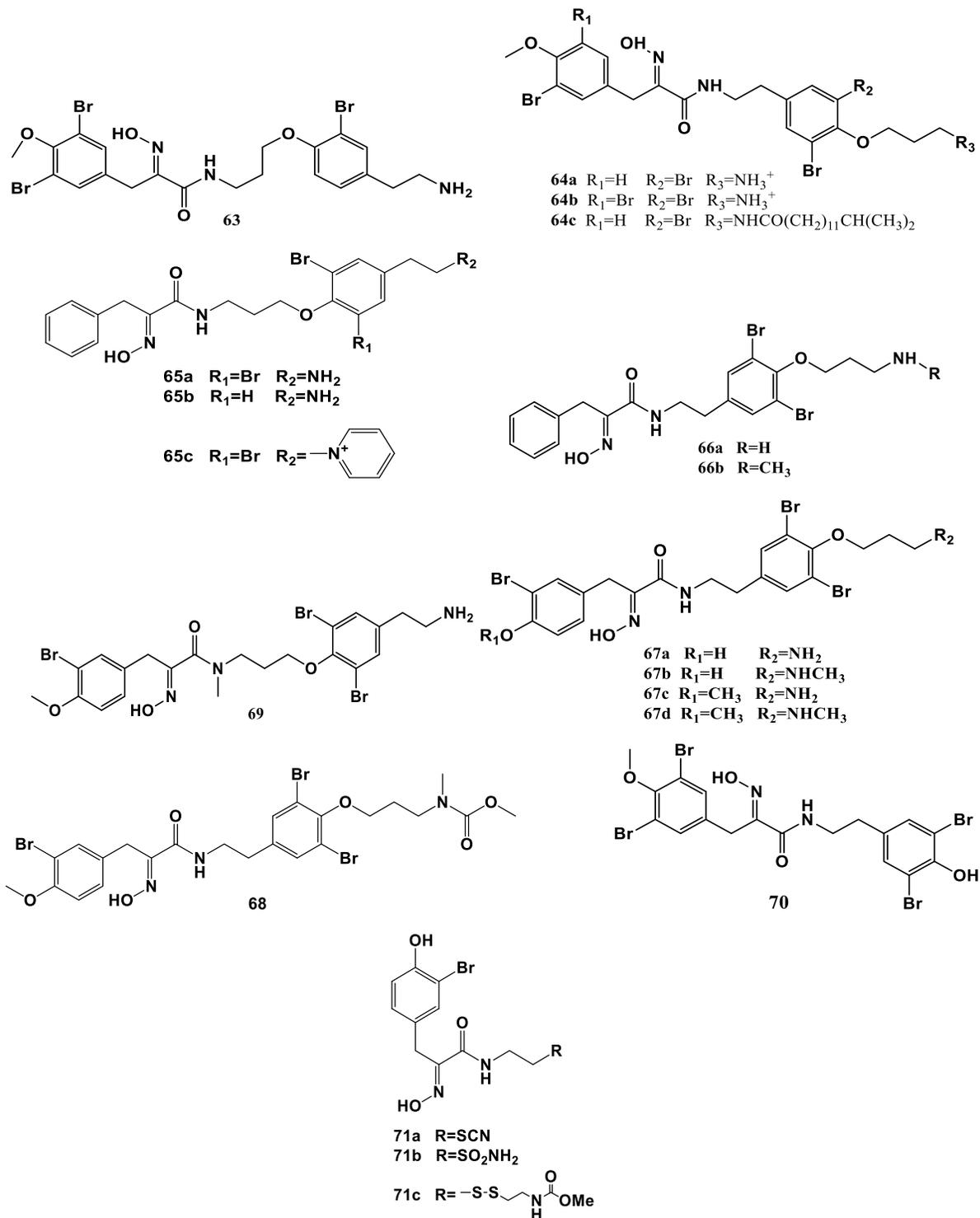


Figure 12 : Structures de dérivés oximes isolés de *P. purpurea*

### II.1.2.1.5. Les bastadines

Enfin, les bastadines, composés à prédominance macrocyclique, peuvent être dérivées biogénétiquement de quatre unités de bromotyrosines par couplage phénolique oxydant de deux unités tyramine-tyrosine reliés par une liaison amide.

La bastadine-14 (72), isolée de *P. purpurea* collectée à Pohnpei, en Micronésie, est légèrement cytotoxique contre plusieurs lignées cellulaires et inhibe l'enzyme topoisomérase II et la déhydrofolate réductase<sup>93</sup>. Elle a été isolée avec les bastadines-5 (73), -7 (74) et -8 de Miao et al. (renumérotée bastadine-12 (75)), déjà isolées de *Ianthella basta*<sup>94,95</sup>.

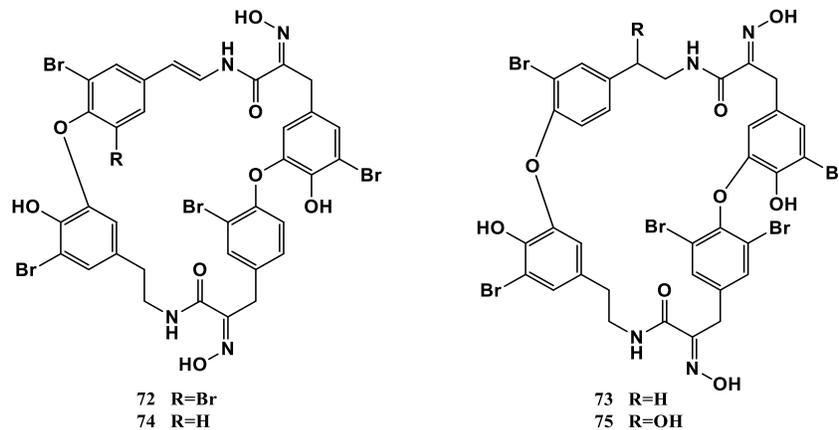


Figure 13 : Structures de bastadines isolées *P. purpurea*

### II.1.2.1.6. Les stérols

A ce jour, seulement quatre stérols ont été isolés de *P. purpurea* ; l'aplystérol (76), la 3 $\beta$ -hydroxy-26,27-bis norcholest-5-en-24-one (77), la 3 $\beta$ -hydroxy pregn-5-en-20-one (78) et la 3 $\beta$ -hydroxy-5 $\alpha$ -pregnan-20-one (79)<sup>96</sup>.

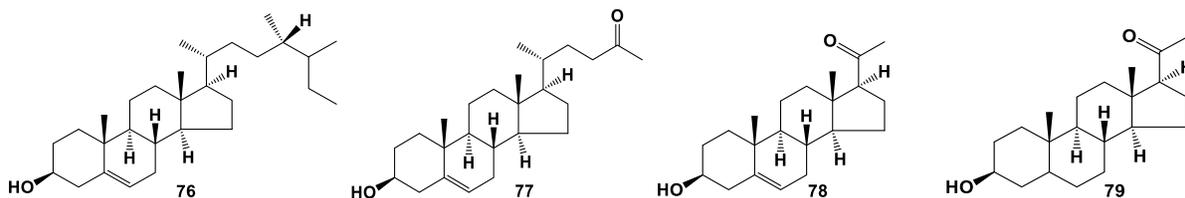


Figure 14 : Dérivés aplystanes isolés de *P. purpurea*

## II.2. Isolement et identification des métabolites secondaires

L'éponge (**figure 15**) a été collectée au large de Yoff à 4,5 m de profondeur courant septembre 2015, elle a été immédiatement congelée après la collecte. L'espèce est ensuite lyophilisée et 107 g du lyophilisat ont été extraits sous ultrasons avec 2 L de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, 1/1 (3 extractions successives : une avec 1 L puis 2 x 500 mL).



Figure 15 : photo de l'éponge *P. purpurea*

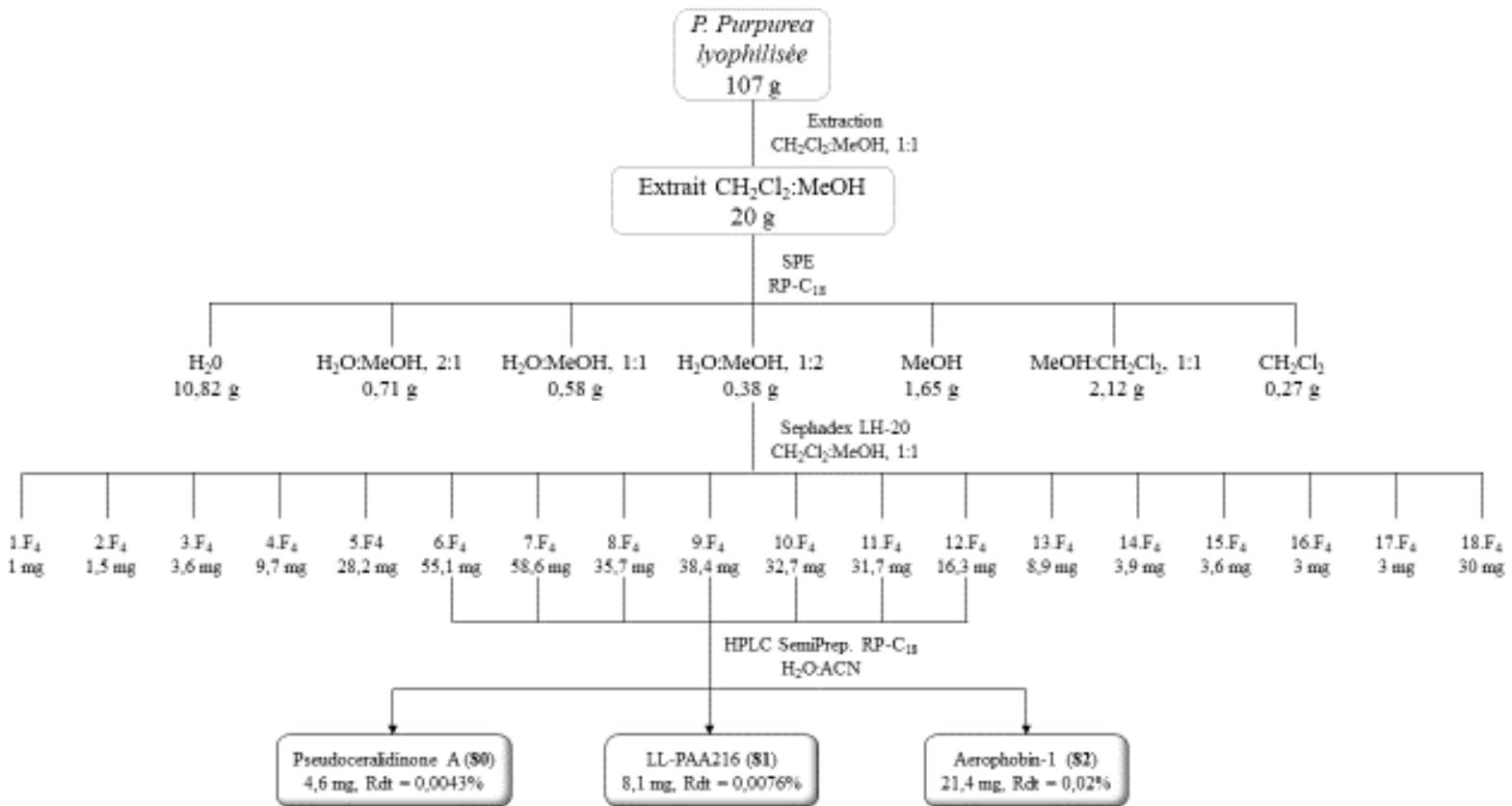
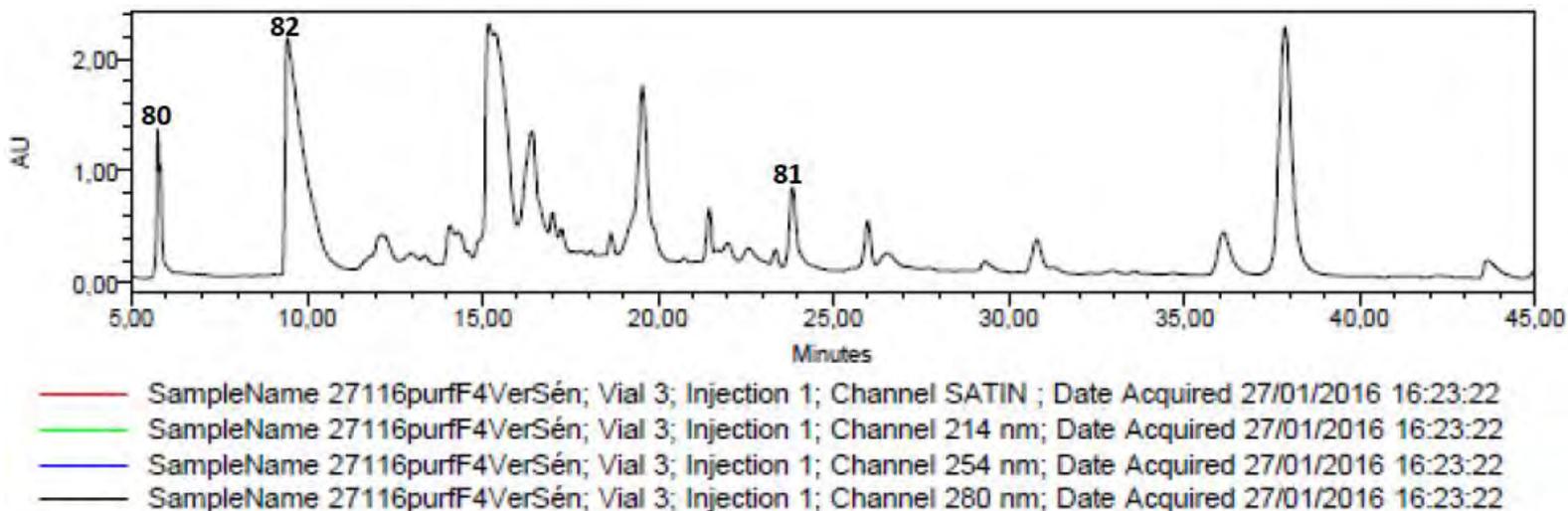


Figure 16 : Protocole d'extraction et d'isolement de l'éponge *P. purpurea*

L'extrait brut (20 g), obtenu après évaporation, a été fractionné par chromatographie liquide sous vide en phase inverse C<sub>18</sub>. Le système d'éluant choisi a été un gradient de polarité décroissante composé de H<sub>2</sub>O/MeOH, 1/0 à 0/1 puis de MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 1/0 à 0/1. Après analyse par HPLC des fractions 1 à 7, la fraction 4 (H<sub>2</sub>O/MeOH, 1/2) a été fractionnée sur colonne de Sephadex LH-20 et les fractions 6 à 12 de cette LH-20 ont été purifiées par HPLC semi-préparative en phase inverse C<sub>18</sub> (gradient d'éluant : H<sub>2</sub>O/ACN, 83:17 à 45:55).

La purification par HPLC semi préparative nous a permis d'isoler trois métabolites connus (**figure 16**), dont deux dérivés simples ; les composés **80** (4,6 mg ; 0,0043 % par masse sèche), obtenu à la fraction 6 et **81** (8,1 mg ; 0,0076 % par masse sèche) obtenu à la fraction 30 et une spirocyclohexadienyloxazoline ; le composé **82** (21,4 mg ; 0,02 % par masse sèche), obtenu à la fraction 11 (**figure 17**).



Colonne semi-préparative Macherey Nagel Nucleodur Sphinx RP C<sub>18</sub> (250 x 10 mm, 5µm)  
Gradient: H<sub>2</sub>O/ACN/AF de 83/17/0.1 à 45/55/0.1 en 50 minutes (débit: 3 mL/min)

**Figure 17** : Profil HPLC de purification des fractions 6-12F<sub>4</sub>

## II.2.1. Dérivés Simples

### II.2.1.1. Elucidation structurale du composé 80

Le composé **80** (**figure 18**) obtenu sous la forme d'un solide amorphe incolore. Le spectre ESI-MS du composé présente trois pics d'ions [M + H]<sup>+</sup> pseudomoléculaires respectivement à 421, 423 et 425 dans le ratio 1/2/1, indiquant la présence de deux atomes de brome. Le pic d'ion pseudomoléculaire dans le spectre + ESI à 421.20 indique la formule brute C<sub>14</sub>H<sub>19</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup> pour le composé **80**.

L'analyse des spectres RMN  $^{13}\text{C}$  et HSQC indique la présence de cinq carbones quaternaires, de trois méthines, de quatre méthylènes et de deux groupes méthyles. Les spectres RMN  $^1\text{H}$  et COSY montrent la présence de deux systèmes de spin,  $-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{NH}-$  et  $(\text{CH}_3)_2-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ . Le cycle oxazolidinone 5-substitué (fragment A) a été déduit du système  $-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{NH}-$  en raison des corrélations HMBC des protons H-4 ( $\delta_{\text{H}}$  3,44 et 3,99 ppm) et H-5 ( $\delta_{\text{H}}$  5,63 ppm) résonant avec le signal du carbone C-2 ( $\delta_{\text{C}}$  161,50 ppm). Le singulet intégrant deux protons à  $\delta_{\text{H}}$  7,67 ppm en corrélation HMBC avec les carbones quaternaires C-6 ( $\delta_{\text{C}}$  140,30 ppm), C-8 ( $\delta_{\text{C}}$  119,50 ppm), C-9 ( $\delta_{\text{C}}$  153,97 ppm) et C-10 ( $\delta_{\text{C}}$  119,50 ppm) est assigné à des protons d'un cycle aromatique symétrique correspondant à la classe structurale des 3,5-dibromotyrosines (fragment B). Les corrélations HMBC entre H-5 et les carbones C-7 ( $\delta_{\text{C}}$  131,47 ppm) et C-11 ( $\delta_{\text{C}}$  131,47 ppm) et entre H-4 et C-6 ( $\delta_{\text{C}}$  140,30 ppm) indiquent la connexion des fragments A et B en C-5 et C-6. La corrélation HMBC entre H-13 ( $\delta_{\text{H}}$  4,16 ppm) à C-9 ( $\delta_{\text{C}}$  153,97 ppm) confirme la connexion des fractions B et C en O-C-9. L'ensemble des données spectrales nous a permis d'attribuer à la structure du composé **80**, la pseudoceralidinone A, isolée d'une espèce Australienne de *Pseudoceratina verrucosa*<sup>97</sup>.

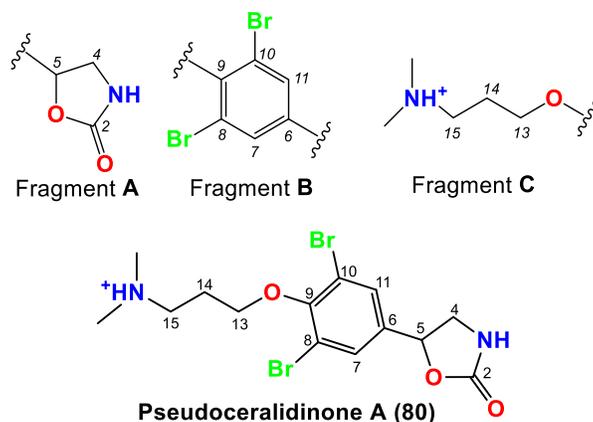


Figure 18 : Structure de la pseudoceralidinone A (**80**)

Tableau III : Données RMN (500/125 MHz, MeOH- $d_4$ ) de la pseudoceralidinone A (**80**)

*Chapitre 2 : Etude chimique de l'éponge Psammaplysilla purpurea, Carter (1880)*

N°	$\delta_C$ (ppm)/	mult.	$\delta_H$ (ppm)/	$J$ (Hz)/	mult.	COSY	HMBC
2	161,50	qC					
4	49,28	CH <sub>2</sub>	3,99	10	<i>t</i>	4, 5	2, 5, 6
			3,44	5	<i>t</i>		2, 5, 6
5	77,10	CH	5,63	10	<i>t</i>	4	2, 7, 11
6	140,30	qC					
7, 11	131,47	CH	7,67		<i>s</i>		5, 6, 8, 9, 10
8, 10	119,50	qC					
9	153,97	qC					
13	71,24	CH <sub>2</sub>	4,16	10		14	9, 14, 15
14	26,39	CH <sub>2</sub>	2,32		<i>m</i>	13, 15	13, 15
15	57,02	CH <sub>2</sub>	3,53	10	<i>t</i>	14	13, 14, N-(Me) <sub>2</sub>
N-(Me) <sub>2</sub>	43,71	CH <sub>3</sub>	2,98		<i>s</i>		15

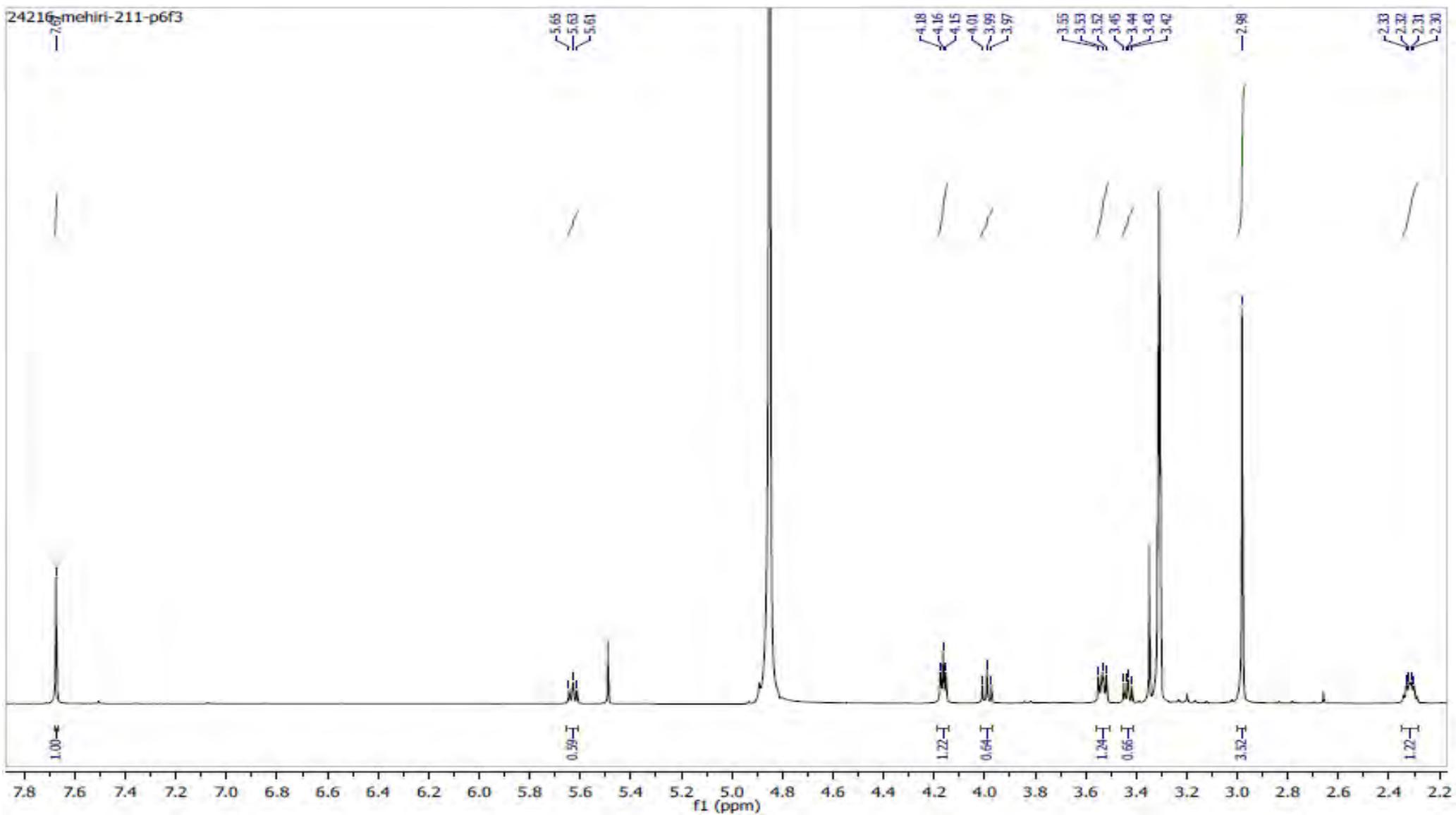


Figure 19 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz, MeOH- $d_4$ ) de la pseudoceralidinone A (80)

### II.2.1.2. Elucidation structurale du composé 81

Le composé **81** (figure 20) a été obtenu sous la forme d'un solide amorphe jaune. Le spectre de masse haute résolution du composé montre trois pics d'ions pseudomoléculaires  $[M + H]^+$  à  $m/z$  435/437/439 d'intensité dans le ratio 1/2/1, indiquant la présence de deux atomes de brome dans la molécule. En outre, le poids moléculaire du composé est compatible avec la formule brute  $C_{13}H_{12}Br_2N_2O_5$  de la LL-PAA216.

Des spectres RMN, on déduit la présence des fragments A et B de la pseudoceralidinone A dans la structure du composé **81**. Le fragment A (cycle oxazolidinone 5-substitué) est confirmé par les corrélations HMBC des protons H-12 ( $\delta_H$  3.99 et 3.44) et H-11 ( $\delta_H$  5.63) résonant avec le signal du carbone C-13 ( $\delta_C$  161.52). Le fragment B est lui confirmé par le signal singulet intégrant deux protons H-7, H-9 ( $\delta_H$  7.67) ppm en corrélation HMBC avec les carbones quaternaires C-5 ( $\delta_C$  153.76 ppm), C-6 ( $\delta_C$  119.44 ppm), C-8 ( $\delta_C$  140.21 ppm) et C-10 ( $\delta_C$  119.44 ppm). La connexion entre les deux fragments en C-8 et C-11 étant confirmée par les corrélations HMBC entre H-11 et les carbones C-7 et C-9 ( $\delta_C$  131,50 ppm) et entre H-12 et C-8. Les spectres RMN  $^1H$  et COSY indiquent la présence d'un troisième système de spin  $-CH_2-CH-CH_2-NH-$ .

Les corrélations HMBC entre les protons H-2 ( $\delta_H$  3.78 et 3.82 ppm) et H-3 ( $\delta_H$  5.05 ppm) et le carbone C-1 ( $\delta_C$  162.10 ppm) indiquent la présence d'un deuxième cycle oxazolidinone 5-substitué. Le couplage entre H-3 et H-4 ( $\delta_H$  4.24 ppm) montre que ce cycle est substitué par un méthylène. La corrélation HMBC entre H-4 et C-5 indique la connexion entre les fragments B et C' en O-C-5.

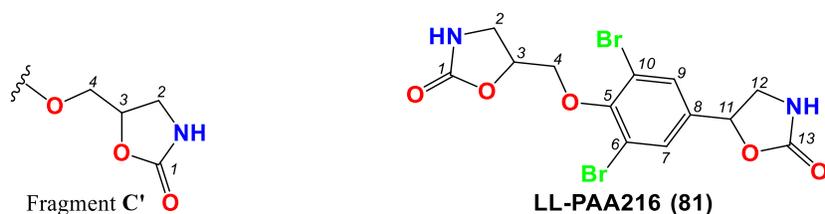


Figure 20 : Structure de la LL-PAA216 (**81**)

**Tableau IV** : Données RMN (500/125 MHz, MeOH-*d*<sub>4</sub>) de la LL-PAA216 (81)

N°	$\delta_C$ (ppm)/	mult.	$\delta_H$ (ppm)/	$J$ (Hz)/	mult.	COSY	HMBC
1	162,10	qC					
2	43,07	CH <sub>2</sub>	3,82		<i>m</i>	3	3, 4, 13
			3,78		<i>m</i>	3	
3	76,37	CH	5,05		<i>m</i>	2, 4	1
4	73,78	CH <sub>2</sub>	4,24	5	<i>t</i>	3	2, 3, 5
5	153,76	qC					
6, 10	119,44	qC					
7, 9	131,50	CH	7,66		<i>s</i>	11	5, 6, 8, 10, 11
8	140,21	qC					
11	77,13	CH	5,63	10, 5	<i>dd</i>	7, 9, 12	7, 8, 9, 12, 13
12	48,70	CH <sub>2</sub>	3,99	10, 5	<i>td</i>	13, 15	8, 11, 13
			3,44	10, 5	<i>td</i>		
13	161,52						

La LL-PAA216 a été isolée pour la première fois sous sa forme dextrogyre ( $[\alpha]_D + 8.9^\circ$ ) de l'éponge *Verongia lanucosa* collectée au large de Porto Rico<sup>98</sup>. Elle est le premier dérivé bromé contenant deux cycles oxazolidinones isolé à partir d'une éponge<sup>73</sup>. Plus tard, l'énantiomère (-) ( $[\alpha]_D - 6.5^\circ$ ) a été isolé d'une *Aplysina sp.* collectée à Cuba (Makarieva et al. 1981)<sup>99</sup>. Un autre stéréoisomère a été identifié à partir de l'éponge *Aplysina aerophoba* et la configuration absolue des deux carbones asymétriques a été déterminée comme étant *R, R* par analyse aux rayons X<sup>100</sup>. Le pouvoir rotatoire de ce dernier ( $[\alpha]_D -33^\circ$ ) est significativement différente de celle des (+)-LL-PAA216 et (-)-LL-PAA216, indiquant qu'il s'agit d'un nouveau diastéréoisomère de ces dernières.

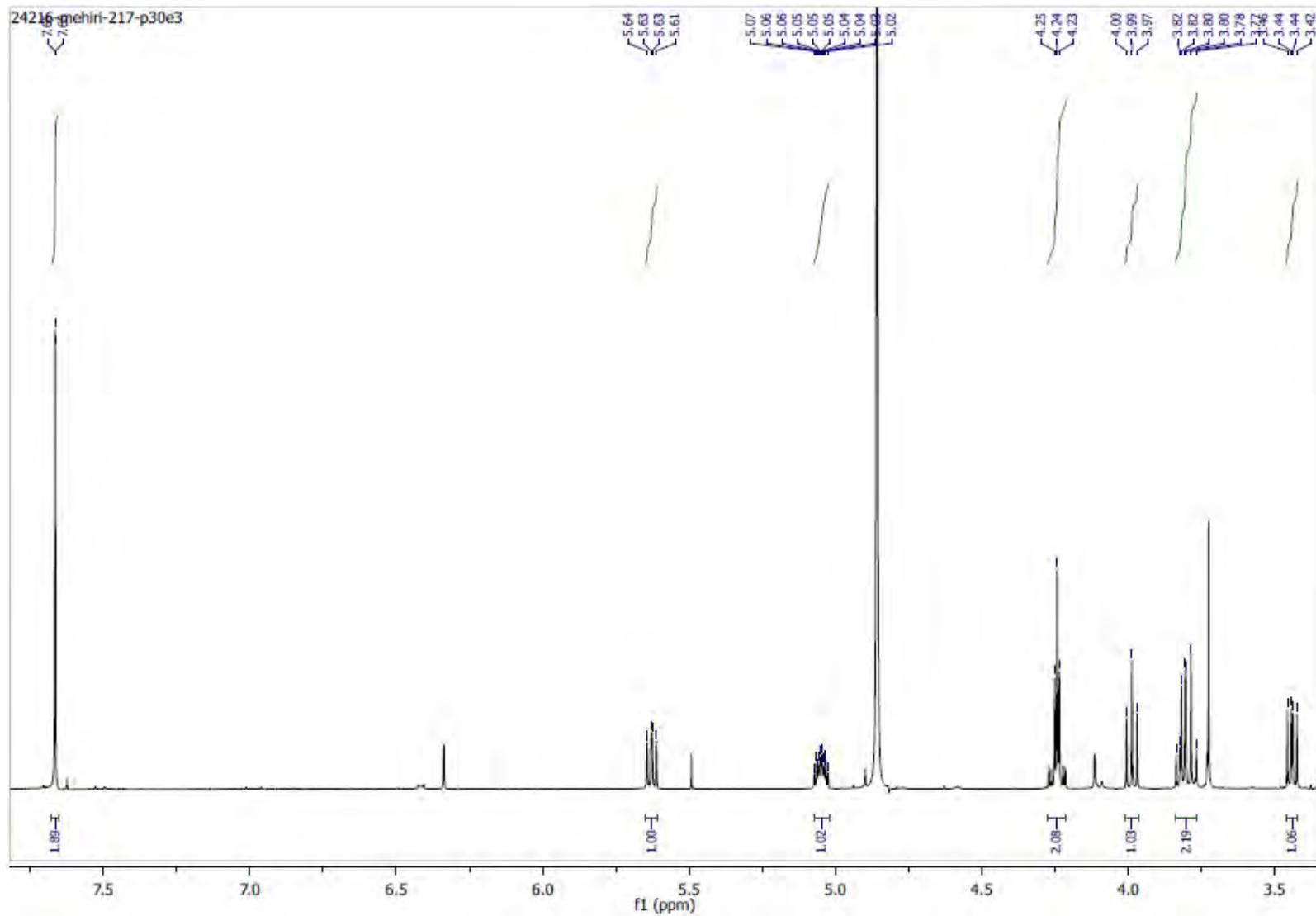


Figure 21 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz, MeOH- $d_4$ ) de la LL-PAA216 (81)

## II.2.2. Elucidation structurale du spirocyclohexadienylisoxazoline (composé 82)

Le composé **82** a été obtenu sous la forme d'un solide amorphe jaune et sa formule brute  $C_{15}H_{16}N_4O_4Br_2$  est en accord avec son spectre de masse haute résolution. Ce dernier montre trois pics d'ions pseudomoléculaires à  $m/z$  475  $[M + H]^+$ , 477, 479 dans le ratio 1,2,1. Les signaux RMN à  $\delta_C$  75.49 (C-1), 122.76 (C-2), 149.30 (C-3), 114.16 (C-4), 132.24 (C-5), 92.42 (C-6), 40.10 (C-7), 155.21 (C-8) et  $\delta_H$  4.07 (s, H-1), 6.41 (s, H-5), 3.75 (d, H-7), 3.07 (d, H-7), sont conventionnellement attribués à un fragment spirocyclohexadienylisoxazoline (**tableau V**). Les signaux RMN  $^1H$  (**figure 23**) des protons H-10 ( $\delta_H$  3.55 ppm), H-11 ( $\delta_H$  2.89 ppm) et la corrélation COSY qui existe entre eux ainsi que la corrélation HMBC entre le carbone C-9 ( $\delta_C$  161.60 ppm) et H-10 mettent en évidence le fragment correspondant à l'éthylamide CO-NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>. La corrélation HMBC entre C-9 et H-7 montre la connexion entre le fragment éthylamide et le spirocyclohexadienylisoxazoline en C-8 ( $\delta_C$  155.21 ppm) et C-9. Cependant les signaux RMN des protons et des carbones de l'imidazole sont absents des spectres enregistrés, la structure du composé **82** (**figure 22**) a été déduite de sa masse et de la bibliographie<sup>101,102</sup>. Celui-ci a été identifié comme étant l'aerophobine-1.

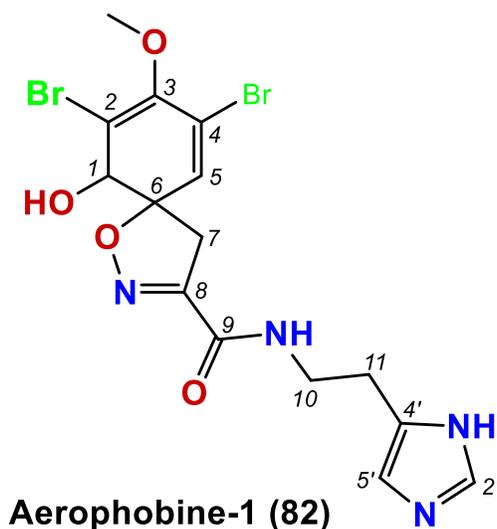


Figure 22 : Structure de l'aerophobine-1 (82)

**Tableau V : Données RMN (500/125 MHz, MeOH-*d*<sub>4</sub>) de l'aerophobine-1 (82)**

N°	$\delta_C$ (ppm)/	mult.	$\delta_H$ (ppm)/	$J$ (Hz)/	mult.	COSY	HMBC
1	75,49	CH	4,07		s	5	2, 3, 4, 5, 6, 7, O-Me
2	122,76	qC					
3	149,30	qC					
4	114,16	qC					
5	132,24	CH	6,41		s	1	1, 2, 3, 4, 6, 7
6	92,42	qC					
7	40,10	CH <sub>2</sub>	3,75	17,5	d	7b	1, 2, 5, 6, 8
		CH <sub>2</sub>	3,07	17,5	d	7a	1, 4, 5, 6, 8
8	155,21	qC					
9	161,60	qC					
10	39,96	CH <sub>2</sub>	3,55	5	t	11	9, 11
11	26,87	CH <sub>2</sub>	2,89	5	t	10	10
2'	NO						
4'	NO						
5'	NO						
O-Me	60,38	CH <sub>3</sub>	3,72		s		3
HN-CO			8,05				

NO = non observé

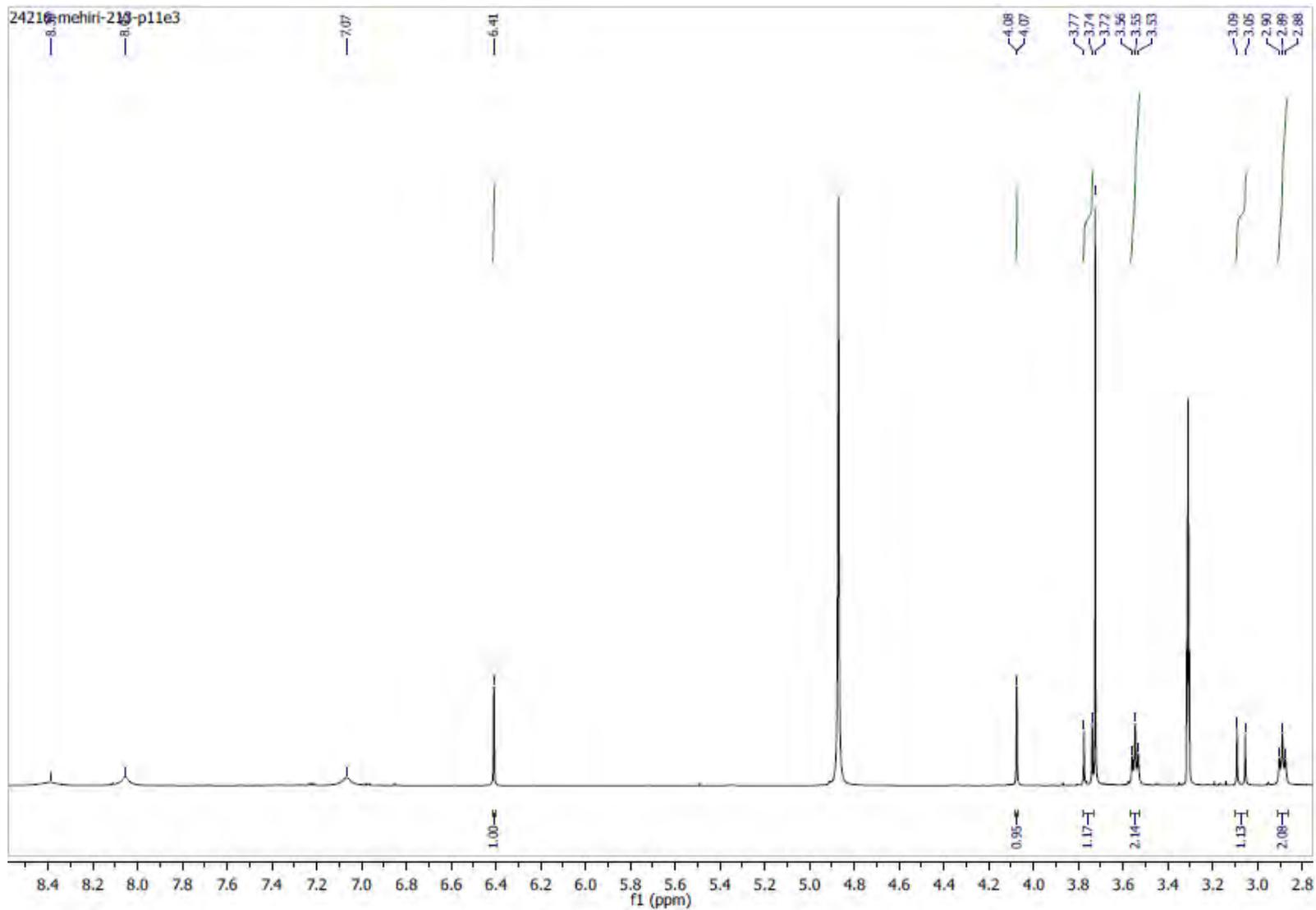


Figure 23 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{MeOH-}d_4$ ) de l'aerophobine-1 (82)

### **II.3. Conclusion**

L'étude de cette éponge nous a permis d'isoler trois composés connus, deux dérivés de bromotyrosine simples contenant des fragments oxazolidinone 5-substitué : la pseudocéralidinone A (**80**), la LL-PAA216 (**81**) et un dérivé spirocyclohexadienylisoxazoline : l'aerophobine-1 (**82**). Ces derniers sont des bromotyrosines qui constituent des marqueurs chimiotaxonomiques de l'ordre des vérongidées.

**Chapitre 3 : Etude de l'éponge Dictyocératide**

### III.1. L'ordre des Dictyoceratida Minchin, 1900

Les éponges de l'ordre Dictyoceratida de la classe des Demospongiae n'ont pas de spicules siliceux, ce qui rend plus difficile l'identification taxonomique des éponges dictyocératides. Les éponges dictyocératides sont robustes et flexibles, avec une surface conulosée typique, marquée par des conules ou des élévations coniques. Ces éponges ont souvent une différence marquée dans la pigmentation externe et interne avec un extérieur sombre et l'intérieur allant du blanc au brun pâle ou jaune. L'ordre est constitué de quatre familles ; les Dysideidae, les Spongiidae, les Irciniidae et les Thorectidae (**tableau VI**) et de trente-six genres valides<sup>103,104</sup>. Parmi les éponges dictyocératides, la famille Irciniidae Gray, 1867 possède des caractéristiques autapomorphiques distinguant ce taxon des autres familles : ses taxons possèdent de fins filaments de collagène dans le mésohyle, ce qui donne aux éponges une texture semblable à celle du caoutchouc<sup>103</sup>.

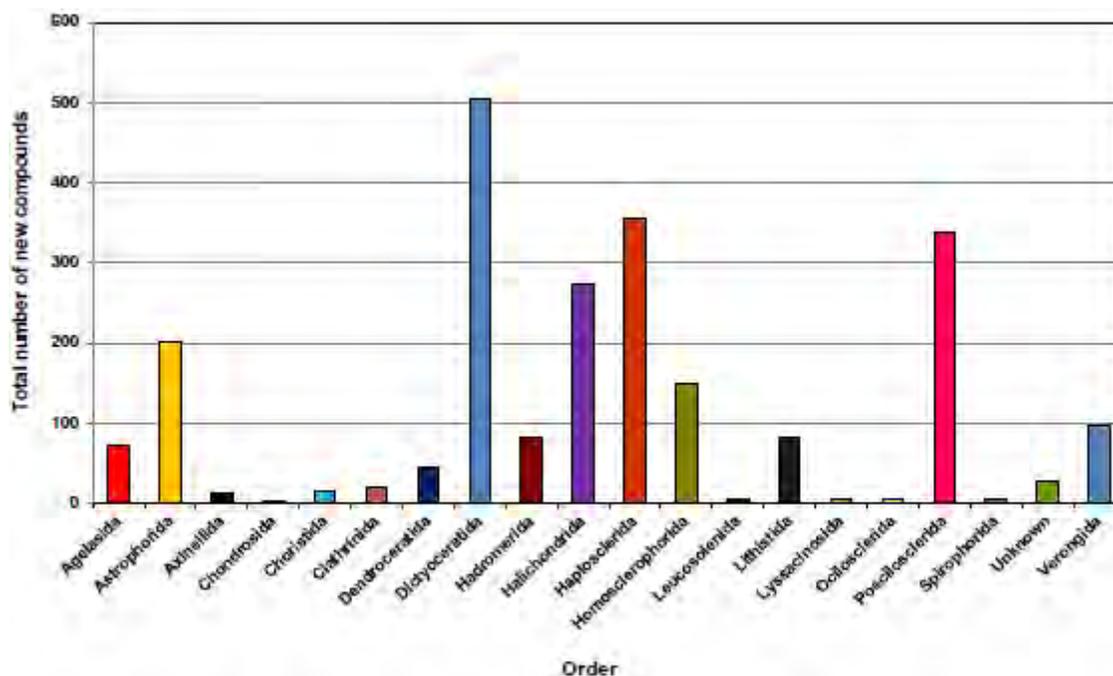
**Tableau VI** : Classification taxonomique de l'ordre Dictyoceratida

Règne	Phylum	Classe	Ordre	Familles
Animal				
	Porifera			
		Demospongiae		
			Dictyoceratida	
				Dysideidae
				Irciniidae
				Spongiidae
				Thorectida

Plusieurs genres additionnels sont connus mais n'ont pas encore été décrits<sup>105</sup>. En 1980, une révision systématique majeure de l'ordre Dictyoceratida a été publiée, fournissant ainsi une base taxonomique stable pour l'étude de la systématique des dictyoceratida dans le monde entier<sup>68</sup>. Depuis lors, de nouvelles espèces et de nouveaux genres ont été décrits, et le statut de nombreuses espèces précédemment mal décrites a été clarifié<sup>106</sup>.

Les familles qui composent cet ordre sont facilement différenciées, mais la distinction entre les genres et les sous-genres peut être difficile. Ainsi, plusieurs autres caractéristiques doivent être précisément décrites et comparées entre les espèces apparentées, y compris l'architecture squelettique, la production de mucus et la présence ou l'absence d'armure corticale<sup>105</sup>.

L'ordre Dictyoceratida s'est avéré être le producteur le plus prolifique de nouveaux composés parmi tous les ordres d'éponges étudiées lors de la dernière décennie (**figure 24**). Les genres *Dysidea* et *Ircinia* se sont avérés être plus prometteurs en raison de leur capacité à produire de nouveaux composés bioactifs<sup>107</sup>.



**Figure 24 :** Nombre total de nouveaux composés isolés des différents ordres d'éponges marines entre 2001 et 2010

### III.2. Etude chimique de l'éponge Dictyocératide

L'éponge (**Figure 25**) a été collectée au large de Ouakam à 3 m de profondeur durant l'été 2016 puis congelée. L'éponge a été ensuite lyophilisée et 170 g du lyophilisat ont été extraits par 4 L de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, 1:1 dans un bain à ultrasons. L'extrait brut (21,17 g) après évaporation, a été fractionné par chromatographie liquide sous vide en phase inverse C<sub>18</sub>. Le système d'éluant

choisi a été un gradient de polarité décroissante composé de H<sub>2</sub>O/MeOH, 1:0 à 0:1 puis de MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 1:0 à 0:1.



Figure 25 : Photo du Dictyocératide

### III.2.1. Etude de la fraction H<sub>2</sub>O/MeOH, 1:2

434 mg de la fraction 4 (H<sub>2</sub>O/MeOH, 1:2) ont été purifiés par HPLC semi préparative en phase inverse C<sub>18</sub> (figure 26).

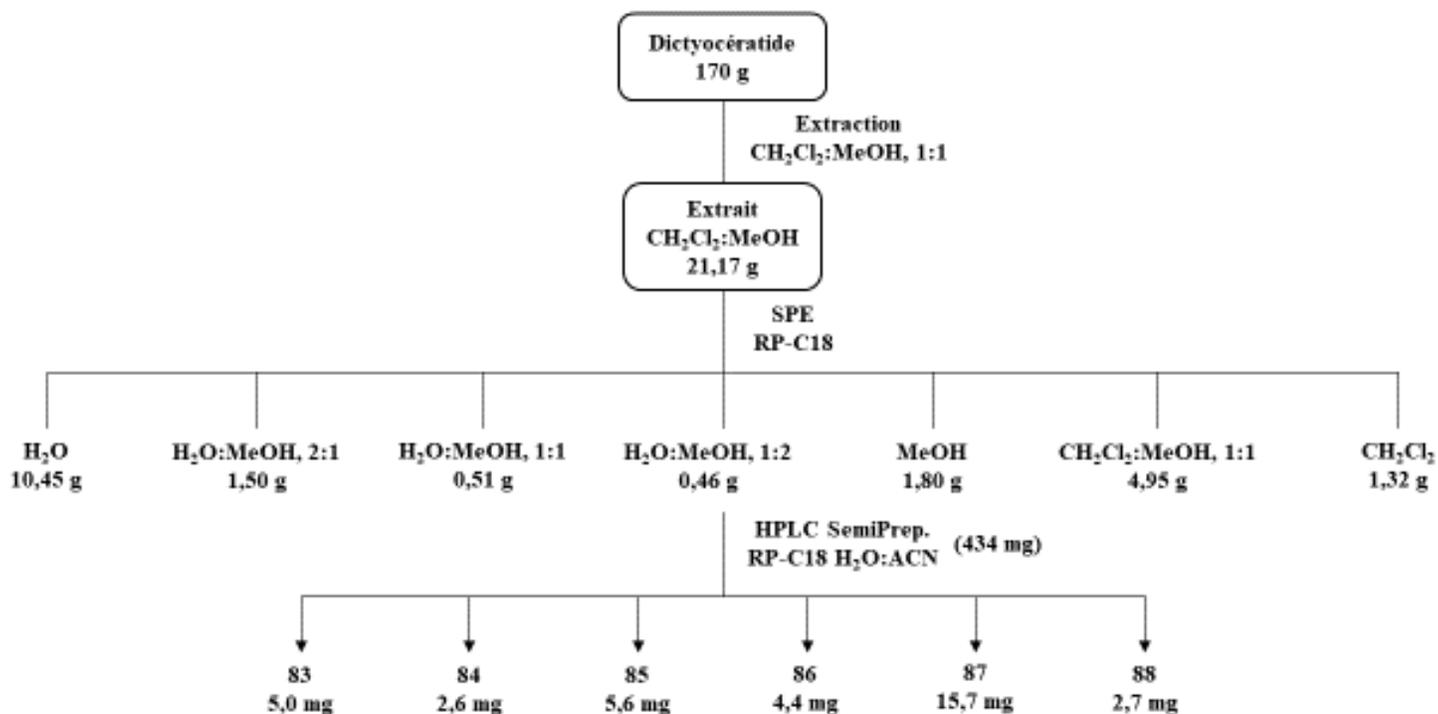
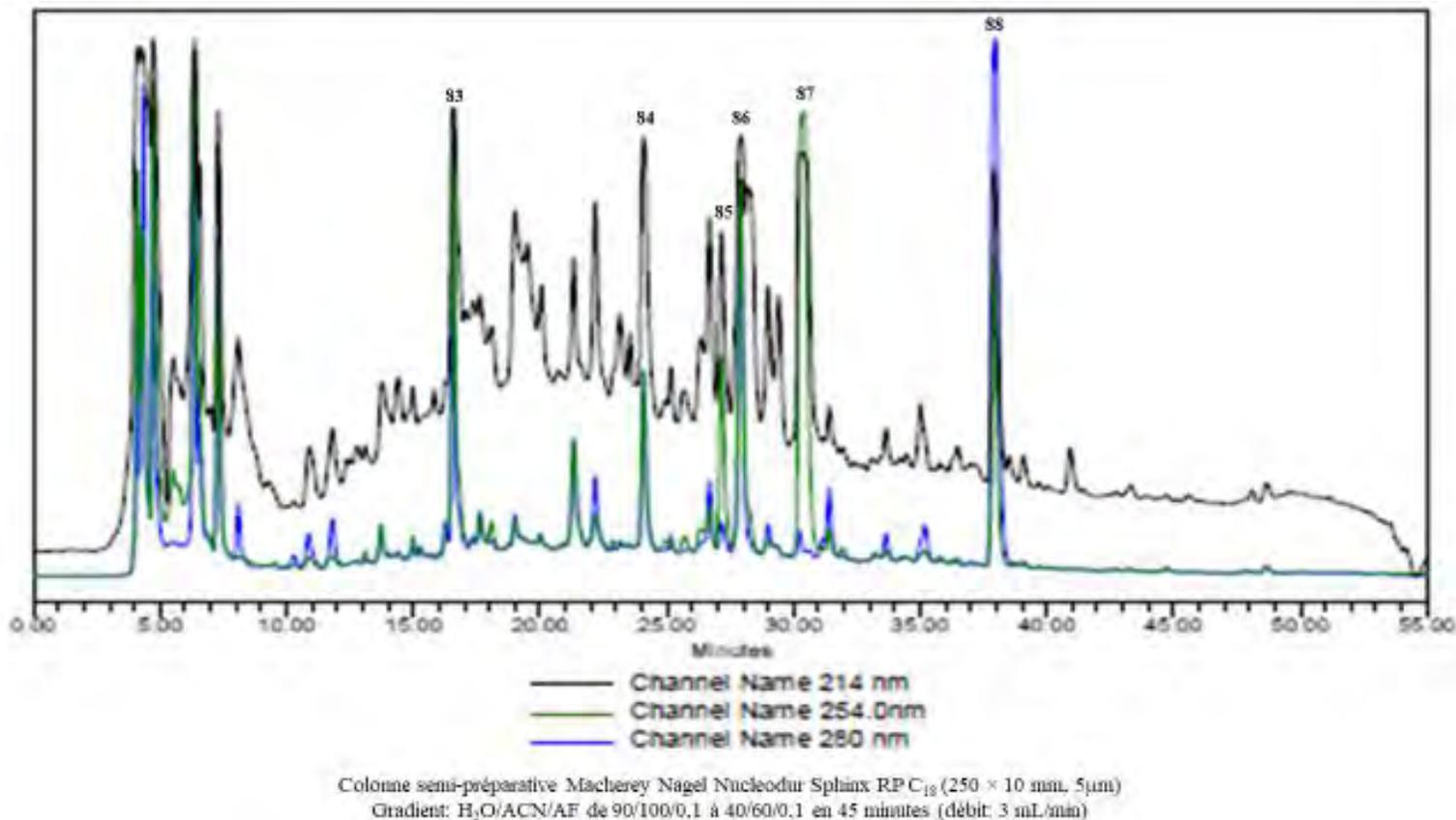


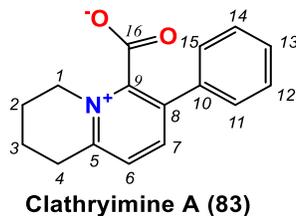
Figure 26 : Protocole d'extraction et d'isolement du dictyocératide

Cette purification nous a permis d'isoler six composés dont trois connus : les composés **83** (5 mg ; 0,0029% par masse sèche), obtenu à la fraction 7, **86** (4,4 mg ; 0,0026% par masse sèche), obtenu à la fraction 14 et **88** (2,7 mg ; 0,0016% par masse sèche), obtenu à la fraction 18 et deux nouveaux : les composés **85** (5,6 mg ; 0,0033% par masse sèche), obtenu à la fraction 13 et **87** (15,7 mg ; 0,0092% par masse sèche), obtenu à la fraction 15 (**figure 27**). Les composés **86** et **88** sont cependant isolés pour la première fois d'une espèce vivante.



**Figure 27** : Profil HPLC semi-préparative de la fraction H<sub>2</sub>O/MeOH, 1:2 du Dictyocératide

III.2.1.1. Elucidation structurale du composé 83



**Figure 28** : Structure de la clathryimine A (**83**)

Le spectre de masse HRMS du composé **83**, enregistré en mode positif présente un pic d'ion pseudomoléculaire à  $m/z = 254,1161$   $[M + H]^+$ , correspondant à la formule brute  $C_{16}H_{16}NO_2$ .

Les spectres RMN  $^1H$  et COSY montrent trois systèmes de spins séparés, constitués d'un cycle aromatique monosubstitué, d'une double liaison disubstituée et de quatre méthylènes. L'examen des corrélations HMBC, en particulier entre H-1 ( $\delta_H$  4,63 ppm), H-7 ( $\delta_H$  8,33 ppm) et C-9 ( $\delta_C$  154,58 ppm), entre H-7 et C-5 ( $\delta_C$  155,67 ppm) et entre H-4 ( $\delta_H$  3,33 ppm) et C-6 ( $\delta_C$  127,22 ppm) montre la présence du fragment d'ion tetrahydroquinolinium substitué en C-8 ( $\delta_C$  136,15 ppm) et en C-9. Les corrélations HMBC entre H-11, H-15 ( $\delta_H$  7,62 ppm) et C-8 et entre H-7 et C-10 ( $\delta_C$  136,76 ppm) montrent la connexion entre le fragment d'ion tetrahydroquinolinium et le cycle aromatique en C-8 et C-10 (**tableau VII**). La présence du groupe carbonyle, substituant en C-9 est confirmée par le fragment HRMS intense à  $m/z = 208,1119$   $[M - H - CO_2]^-$ .

L'ensemble des données spectrales permet de proposer la structure ci-dessus pour le composé **83** (**figure 28**), identique à la clathryimine A, d'abord isolée de *Clathria basilana*<sup>108</sup> et ensuite de *Luffariella geometrica*<sup>109</sup>.

**Tableau VII** : Données RMN (500/125 MHz, MeOH-*d*<sub>4</sub>) de la clathryimine A (**83**)

N°	$\delta_c$ (ppm)/	mult.	$\delta_H$ (ppm)/	<i>J</i> (Hz)/	mult.	COSY	HMBC
1	54,07	CH <sub>2</sub>	4,63	6	<i>t</i>	2	2, 3, 5, 9
2	22,59	CH <sub>2</sub>	2,19	6,5	<i>qt</i>	1, 3	1, 3, 4
3	18,47	CH <sub>2</sub>	2,04		<i>m</i>	2, 4	1, 2, 4, 5
4	29,86	CH <sub>2</sub>	3,33		<i>m</i>	3, 6	2, 3, 5, 6
5	155,67	qC					
6	127,22	CH	7,80	8,5	<i>d</i>	4, 7	4, 5, 8
7	146,75	CH	8,33	8,5	<i>d</i>	6	5, 9, 10
8	136,15	qC					
9	154,71	qC					
10	136,76	qC					
11, 15	130,03	CH	7,62		<i>m</i>	12, 14	8, 13
12, 14	130,09	CH	7,48		<i>m</i>	11, 13, 15	10
13	130,48	CH	7,47		<i>m</i>	12, 14	11, 15
16	165,88	qC					

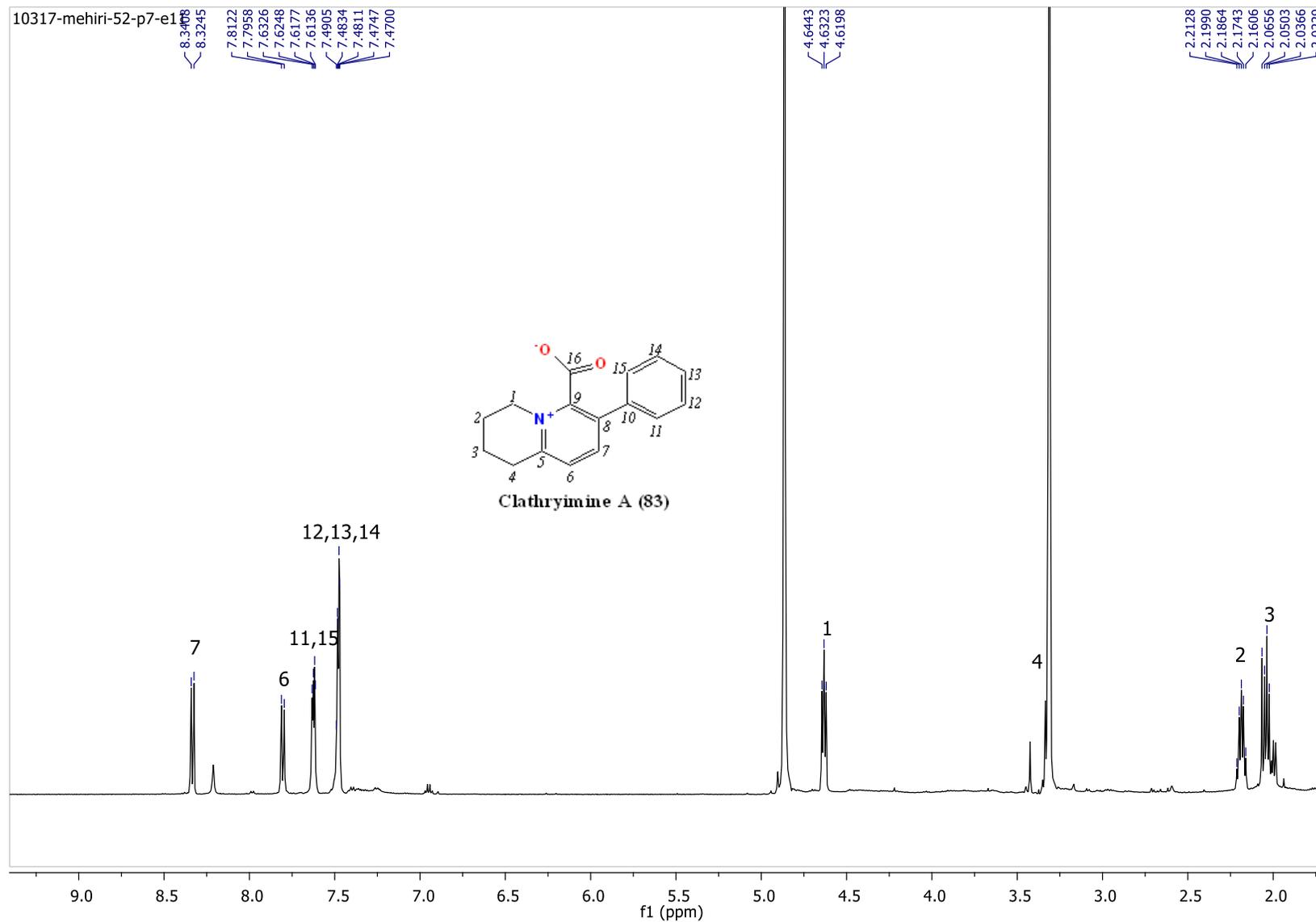
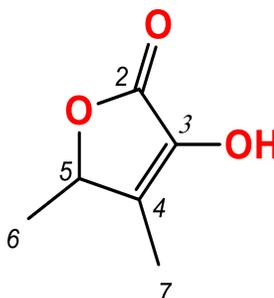


Figure 29 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz, MeOH- $d_4$ ) de la clathrymine A (83)

III.2.1.2. Proposition de structure du composé 85



3-hydroxy-4,5-diméthylfuran-2(5H)-one (**85**)

**Figure 30** : Structure du composé **85**

La structure du composé **85** (**figure 30**) a été déduite de celle des composés **87** et **88**. En effet, en analysant son spectre RMN  $^1\text{H}$  (**figure 31**), on note la présence du fragment  $\gamma$ -méthylhydroxybuténolide confirmé par le système de spin H-5 ( $\delta_H$  5,07 ;  $q$  ;  $J = 6,5$  Hz) et H-6 ( $\delta_H$  1,43 ;  $d$  ;  $J = 6,5$  Hz). Ce fragment serait substitué en position 4 par un groupement méthyle et traduit par le signal des protons H-7 ( $\delta_H$  2,08 ;  $s$ ).

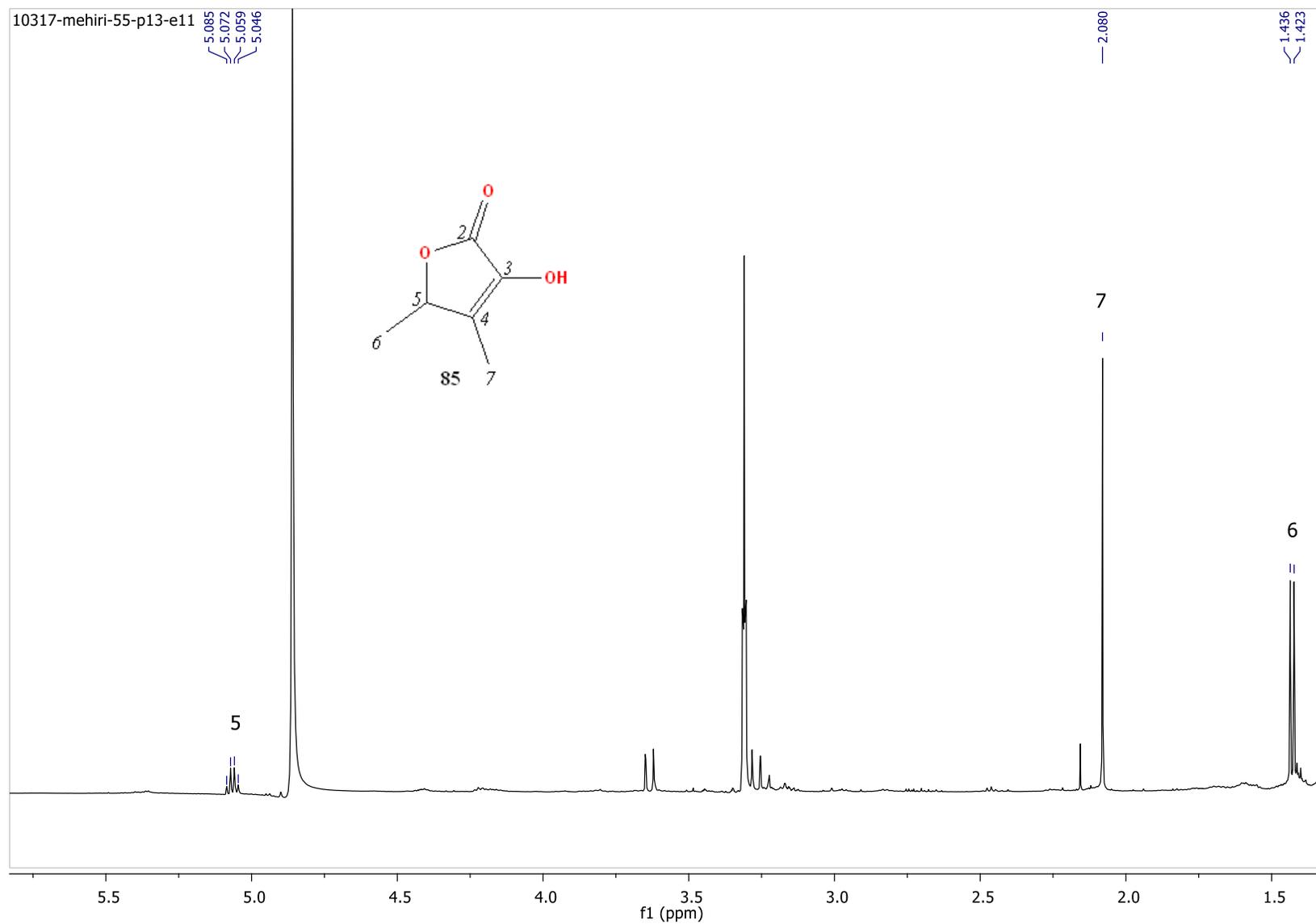


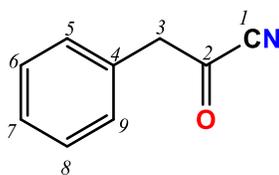
Figure 31 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz, MeOH- $d_4$ ) du composé 85

III.2.1.5. Elucidation structurale du composé 86

Le composé **86** possède la formule brute C<sub>9</sub>H<sub>7</sub>NO, établie après analyse des spectres RMN et HRMS ; pic d'ion pseudomoléculaire [M + H]<sup>+</sup> à m/z = 146.

Les spectres RMN <sup>1</sup>H (**Figure 33**), <sup>13</sup>C et HSQC indiquent la présence d'un noyau aromatique monosubstitué, d'un méthylène et d'un carbonyle. Le fragment restant en accord avec la masse du composé est un nitrile (-CN). Les corrélations HMBC entre les protons méthyléniques H<sub>2</sub>-3 et les carbones C-2, C-4, C-5 et C-9 d'une part et entre les protons H-5 et H-9 et le carbone C-3 d'autre part confirme la connexion entre le noyau aromatique et l'acétylcyanide en C-3-C4 (**tableau VIII**).

L'ensemble de ces données ci-dessus confère à ce composé la structure du 2-oxo-3-phenylpropanenitrile (**figure 32**), connu uniquement en chimie combinatoire<sup>110,111</sup>.



2-oxo-3-phenylpropanenitrile (**86**)

**Figure 32** : Structure du composé (**86**)

**Tableau VIII** : Données RMN (500/125 MHz, MeOH-*d*<sub>4</sub>) du 2-oxo-3-phenylpropanenitrile (**86**)

N°	δ <sub>C</sub> (ppm)/	mult.	δ <sub>H</sub> (ppm)/ J (Hz)/	mult.	COSY	HMBC
1	NO					
2	175,95	qC				
3	42,24	CH <sub>2</sub>	3,59	s		2, 4, 5, 9
4	136,30	qC				
5, 9	130,35	CH	7,23-7,30	m	6, 8	3, 7
6, 8	129,43	CH	7,23-7,30	m	5, 7, 9	4
7	127,83	CH	7,23-7,30	m	6, 8	5, 9

NO = Non observé

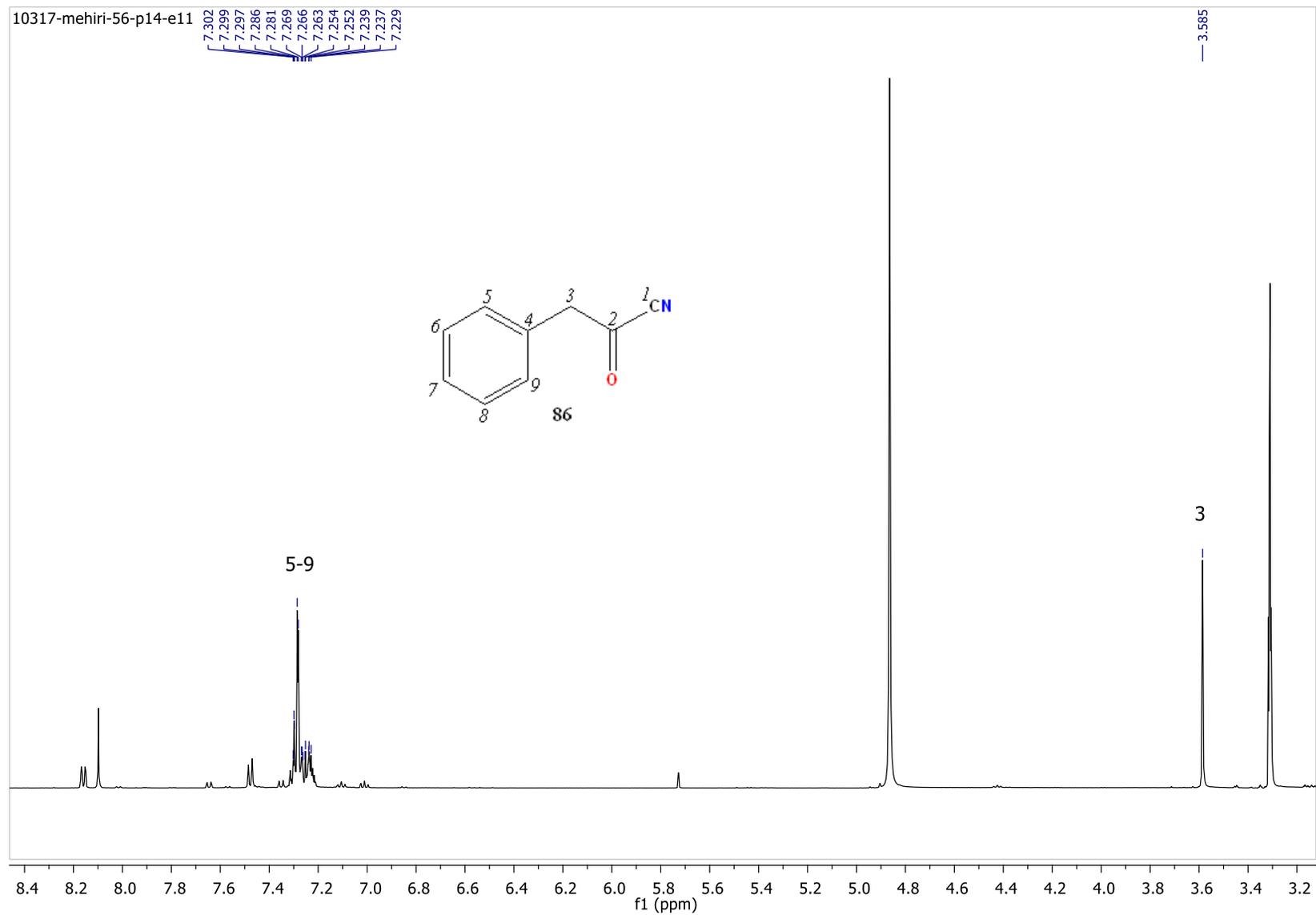
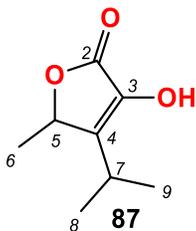


Figure 33 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz, MeOH- $d_4$ ) du 2-oxo-3-phenylpropanenitrile (**86**)

III.2.1.4. Elucidation structurale du composé 87



**Figure 34** : Structure du 3-hydroxy-4-isopropyl-5-méthylfuran-2(5H)-one (**87**)

La formule brute ( $C_8H_{12}O_3$ ) et la structure du composé **87** (**figure 34**) ont été déterminées après analyse des spectres RMN (**tableau IX, figures 35-39**). On note la présence d'un fragment  $\gamma$ -hydroxybuténolide marquée par les signaux des protons H-5 ( $\delta_H$  4,94 ppm) et H-6 ( $\delta_H$  1,41 ppm) ainsi que les signaux des carbones C-2 ( $\delta_C$  171,99 ppm), C-3 ( $\delta_C$  138,13 ppm), C-4 ( $\delta_C$  142,74 ppm), C-5 ( $\delta_C$  77,85 ppm) et C-6 ( $\delta_C$  19,89 ppm). Ce fragment a été confirmé par le couplage entre les protons H-5 et H-6 et les corrélations HMBC entre le proton H-5 et les carbones C-2, C-3, C-4 et C-6 ainsi qu'entre le proton H-6 et les carbones C-4 et C-5. On note également la présence d'un fragment isopropyle marqué par les couplages entre le protons H-7 ( $\delta_H$  2,68 ppm) et les protons H-8 ( $\delta_H$  1,21 ppm) et H-9 ( $\delta_H$  1,25 ppm) et les corrélations HMBC entre le proton H-7 et les carbones C-8 ( $\delta_C$  21,07 ppm) et C-9 ( $\delta_C$  20,29 ppm) ensuite entre le proton H-8 et les carbones C-7 ( $\delta_C$  27,03 ppm) et C-9 enfin entre le proton H-9 et les carbones C-7 et C-8. La connexion entre les deux fragments en C-4-C-7 se traduit par les corrélations HMBC entre le proton H-7 et les carbones C-3, C-4 et C-5 ainsi qu'entre les protons H-8 et H-9 et le carbone C-4.

**Tableau IX** : Données RMN (500/125 MHz, MeOH-*d*<sub>4</sub>) du composé **87**

N°	$\delta_c$ (ppm)/	mult.	$\delta_H$ (ppm)/ <i>J</i> (Hz)/ mult.			COSY	HMBC
2	171,99	qC					
3	138,13	qC					
4	142,74	qC					
5	77,85	CH	4,94	6,5	q	6	2, 3, 4, 6
6	19,89	CH <sub>3</sub>	1,40	6,5	d	5	4, 5
7	27,03	CH	2,68	7	Hept.	8, 9	3, 4, 5, 8, 9
8	21,07 <sup>a</sup>	CH <sub>3</sub>	1,21 <sup>b</sup>	7	d	7	4, 7, 9
9	20,29 <sup>a</sup>	CH <sub>3</sub>	1,25 <sup>b</sup>	7	d	7	4, 7, 8

<sup>a,b</sup> Signaux interchangeables

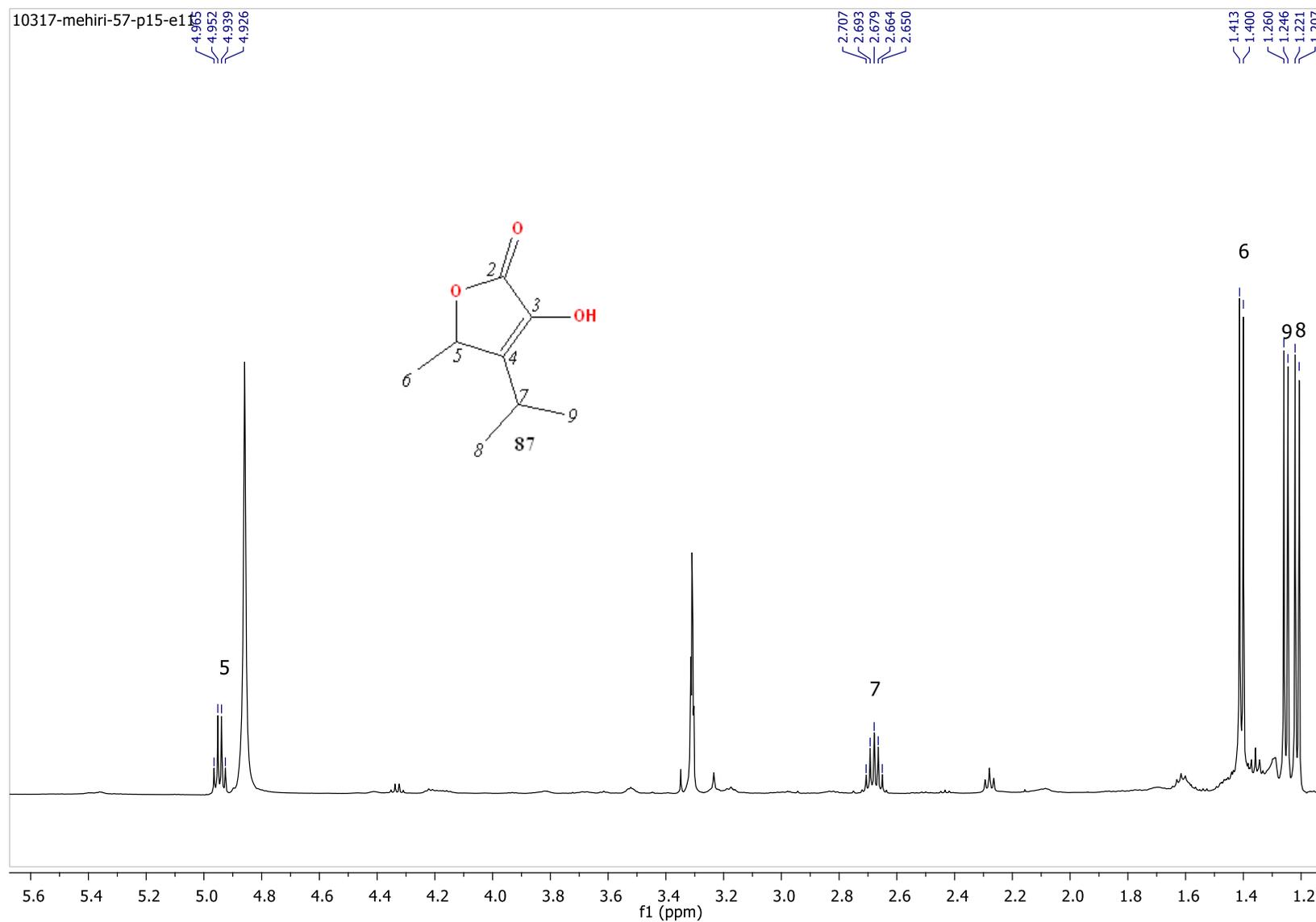


Figure 35 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz, MeOH- $d_4$ ) du composé 87

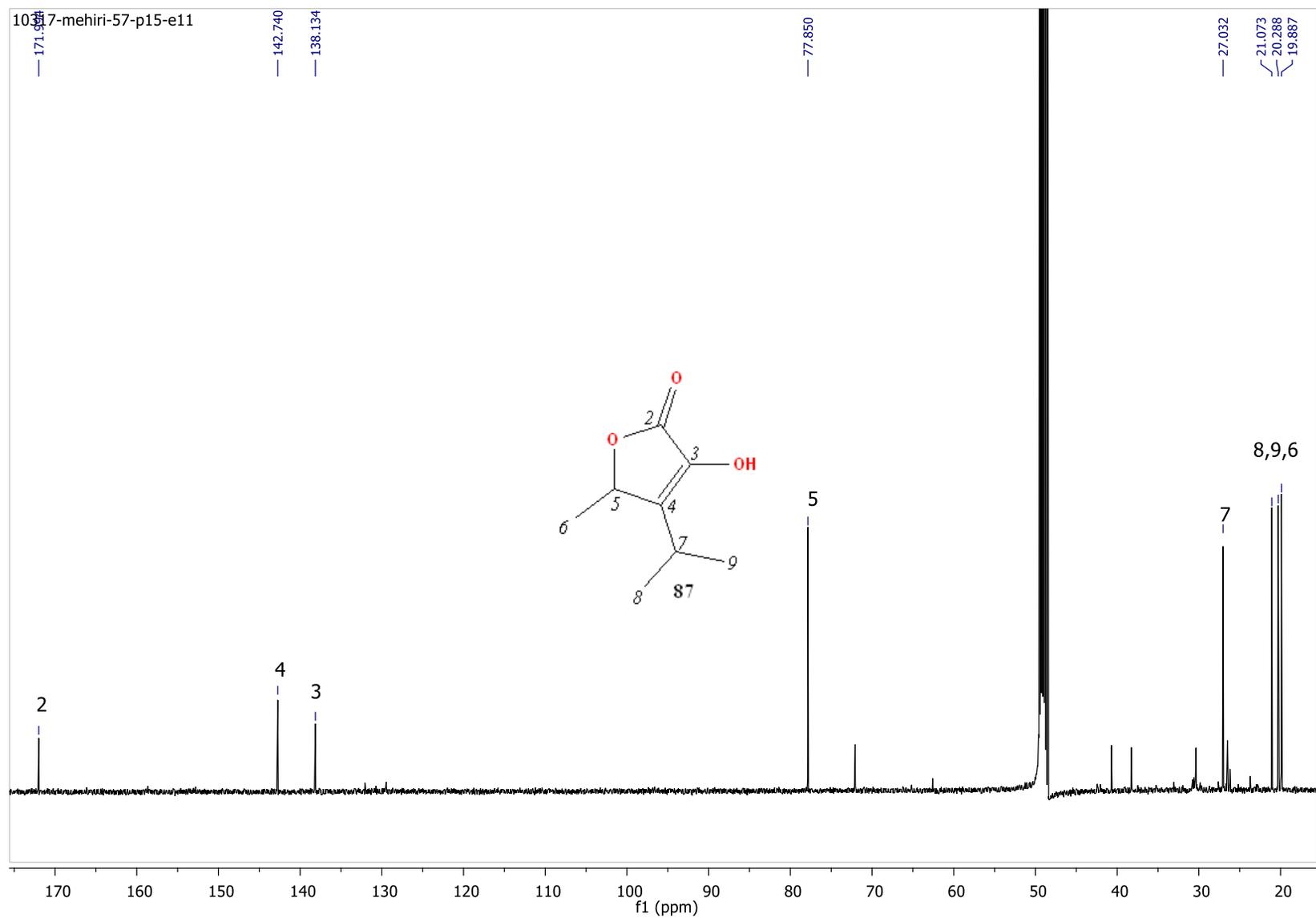


Figure 36 : Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz, MeOH- $d_4$ ) du composé 87

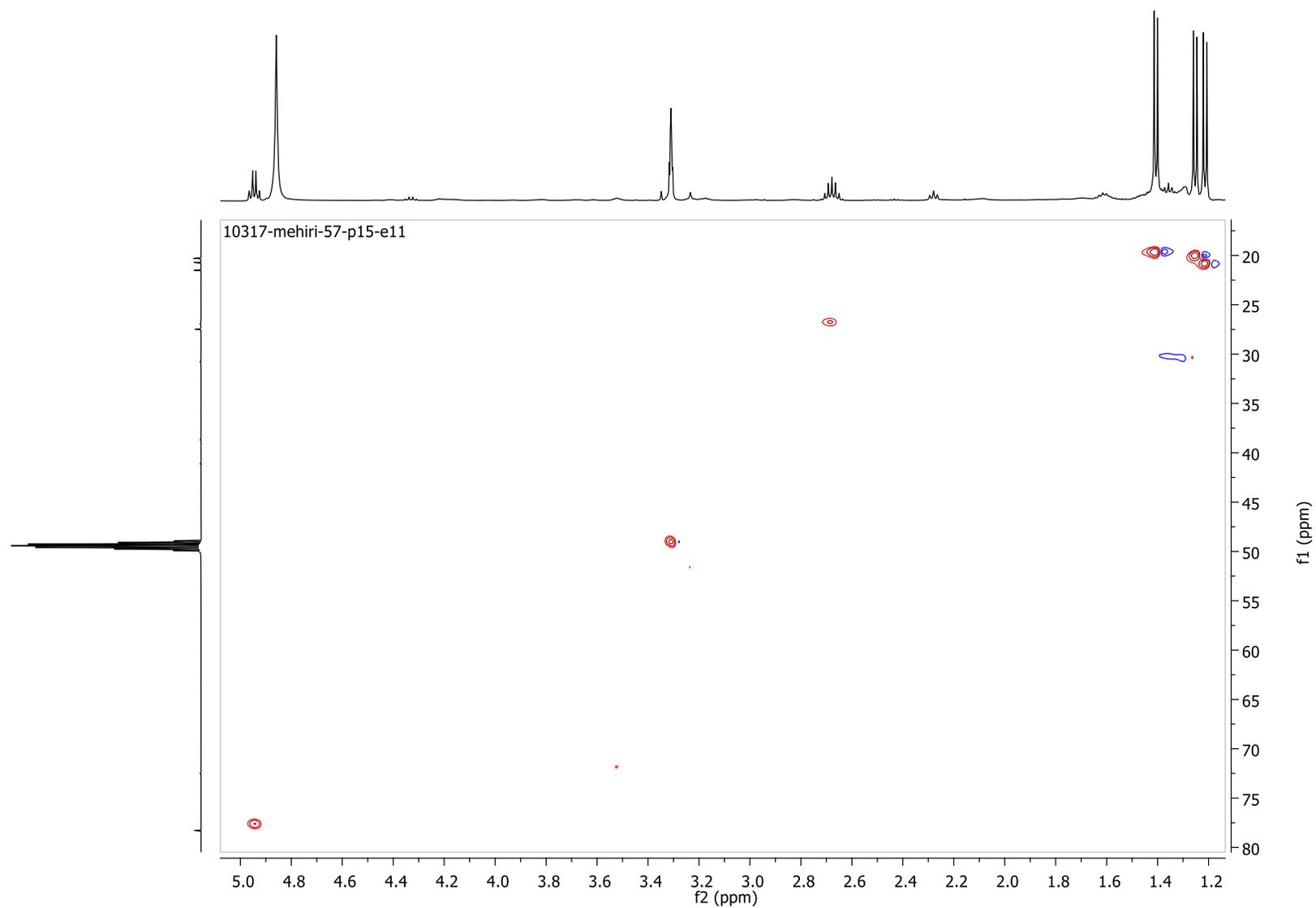


Figure 37 : Spectre HSQC (500 MHz, MeOH- $d_4$ ) du composé 87

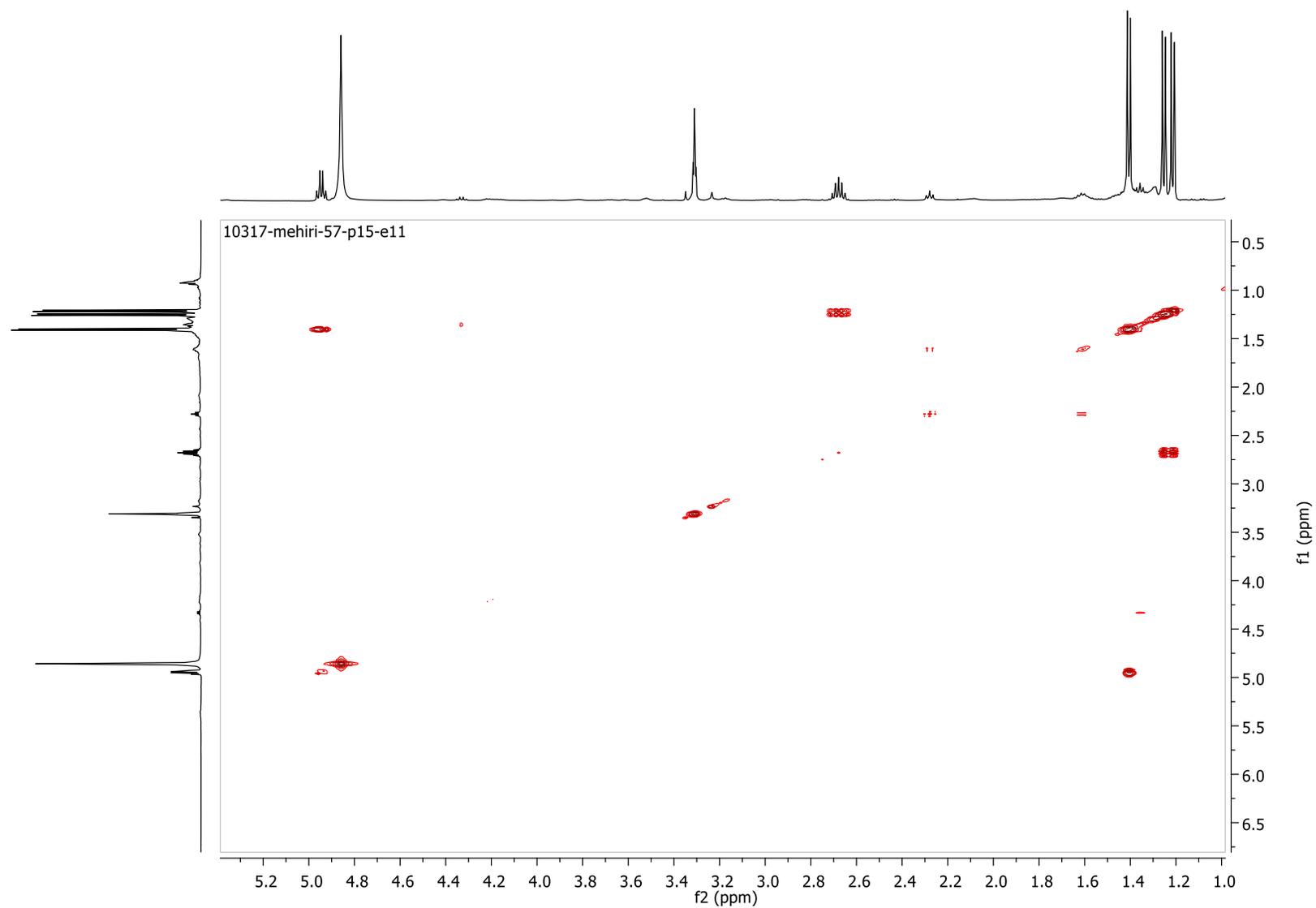


Figure 38 : Spectre COSY (500 MHz, MeOH- $d_4$ ) du composé 87

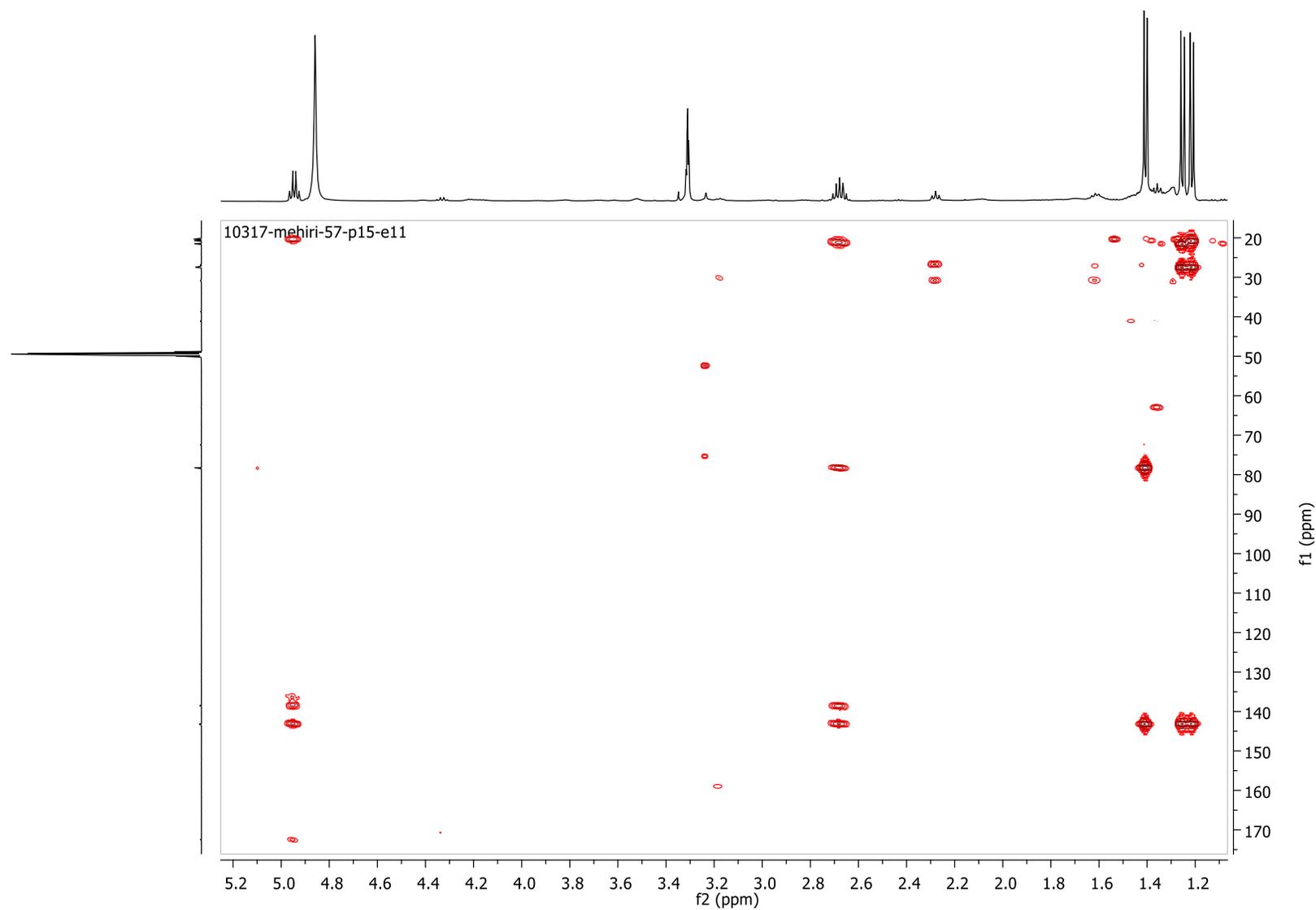
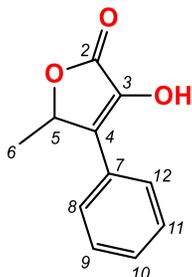


Figure 39 : Spectre HMBC (500 MHz, MeOH- $d_4$ ) du composé **87**

III.2.1.5. Elucidation structurale du composé **88**



3-hydroxy-5-méthyl-4-phénylfuran-2(5H)-one (**88**)

Figure 40 : Structure du composé (**88**)

Le pic d'ion pseudomoléculaire enregistré à  $m/z$  191,0720  $[M + H]^+$  indique la formule brute  $C_{11}H_{10}O_3$  pour ce composé.

Les spectres RMN indiquent la présence de deux systèmes de spin constitués du fragment  $\gamma$ -méthylhydroxybuténolide observée dans la structure du composé **87** et d'un noyau aromatique monosubstitué (**tableau X**). Ce dernier est confirmé par les signaux des carbones C-7 ( $\delta_C$  132,14 ppm), C-8 et C-12 ( $\delta_C$  128,59 ppm), C-9 et C-11 ( $\delta_C$  129,67 ppm) et C-10 ( $\delta_C$  129,53 ppm) ainsi que par les signaux des protons H-8 et H-12 ( $\delta_H$  7,70 ppm), H-9 et H-11 ( $\delta_H$  7,44 ppm) et H-10 ( $\delta_H$  7,34 ppm). La connexion entre les deux systèmes de spin se traduit par les corrélations HMBC entre le proton H-5 ( $\delta_H$  5,52 ppm) et le carbone C-7 enfin entre les protons H-8 et H-12 et le carbone C-4 ( $\delta_C$  132,14 ppm). L'ensemble de ces données spectrales comparées avec les données de la littérature confère au composé **88** la structure de la 3-hydroxy-5-méthyl-4-phénylfuran-2(5H)-one (**figure 40**), produit uniquement obtenu jusque-là par synthèse organique <sup>112,113</sup>.

**Tableau X** : Données RMN (500/125 MHz, MeOH-*d*<sub>4</sub>) de la 3-hydroxy-5-méthyl-4-phenyl-furan-2(5H)-one (**88**)

N°	$\delta_C$ (ppm)/	mult.	$\delta_H$ (ppm)/ <i>J</i> (Hz)/ mult.			COSY	HMBC
2	171,57	qC					
3	139,18	qC					
4	132,14	qC					
5	76,99	CH	5,52	6,5	q	6	2, 3, 6, 7
6	20,78	CH <sub>3</sub>	1,48	6,5	d	5	4, 5
7	132,14	qC					
8, 12	128,59	CH	7,70		m	9, 11	4, 10
9, 11	129,67	CH	7,44		m	8, 10, 12	7, 8, 10, 12
10	129,53	CH	7,34		m	9, 11	8, 12

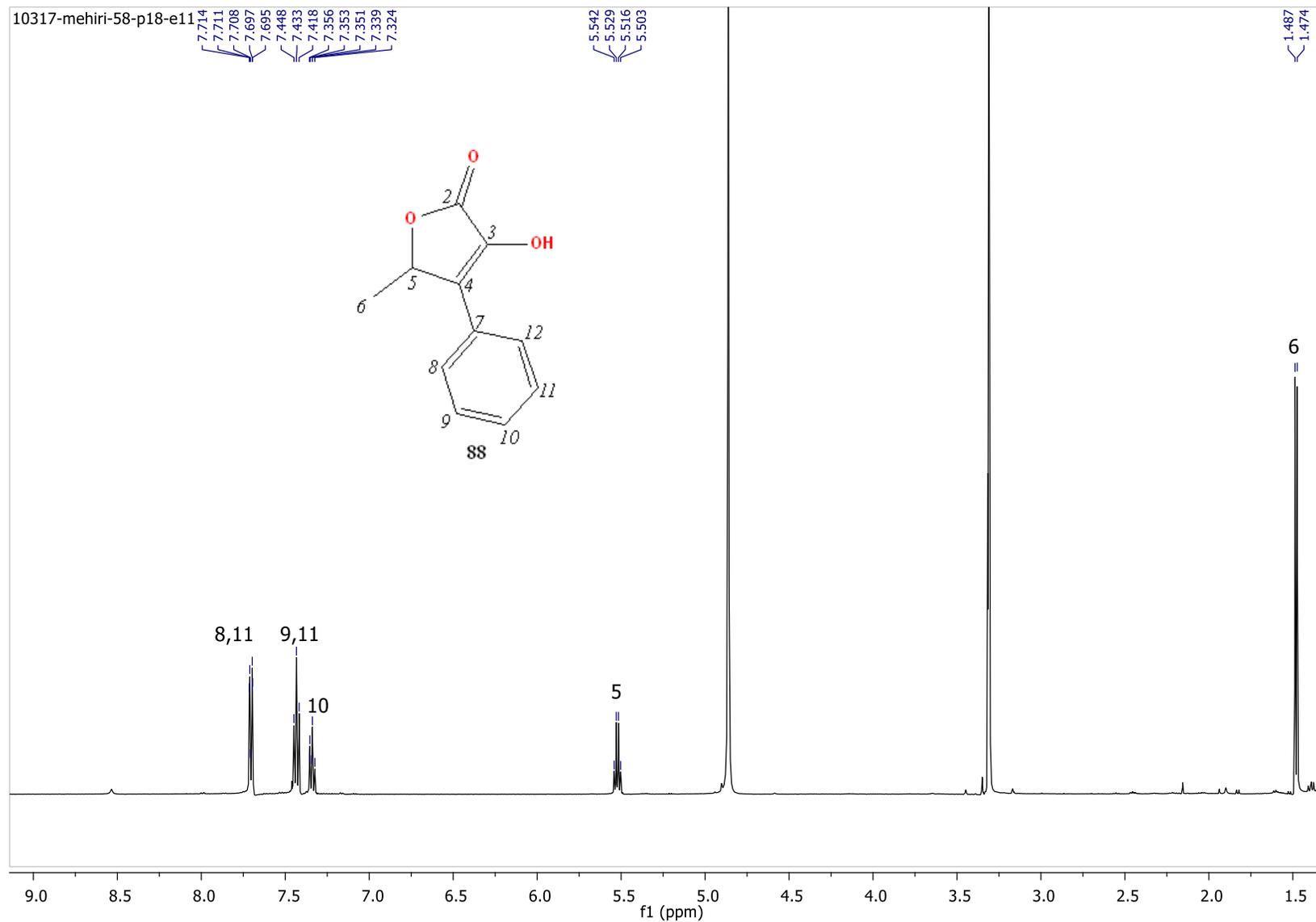
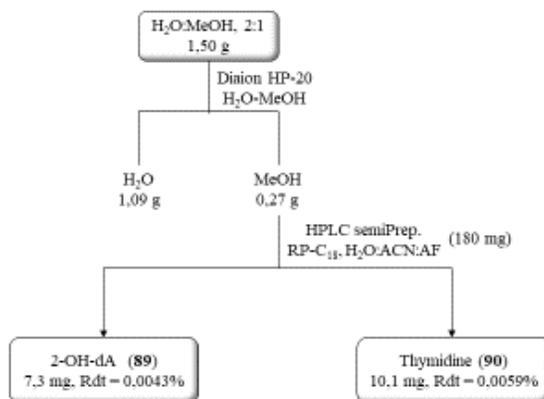


Figure 41 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz, MeOH- $d_4$ ) de la 3-hydroxy-5-méthyl-4-phényl-furan-2(5H)-one (**88**)

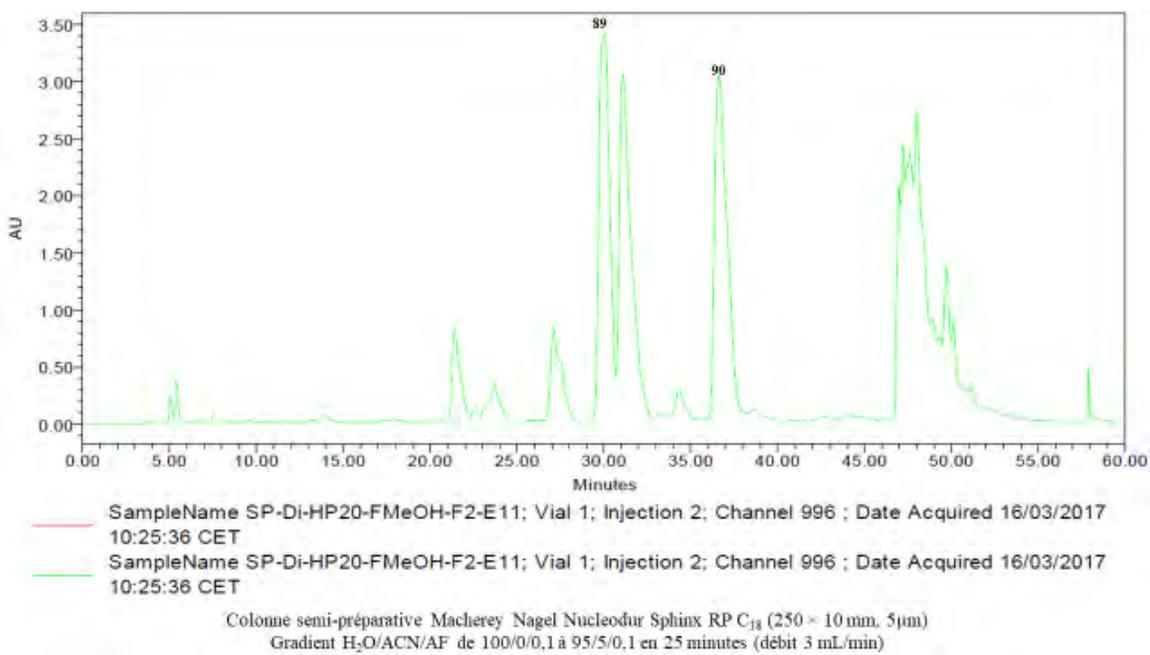
### III.2.2. Etude de la fraction H<sub>2</sub>O:MeOH, 2:1

La fraction 2 (H<sub>2</sub>O:MeOH, 2:1) a enfin été fractionnée sur Diaion HP-20 avec comme éluant l'eau et le méthanol. La fraction méthanolique a ensuite été purifiée par HPLC semi préparative en phase inverse C<sub>18</sub> (**figure 42**).



**Figure 42** : Protocole de fractionnement et de purification de la fraction H<sub>2</sub>O:MeOH, 2:1

Après optimisation du gradient en HPLC, 8 pics ont été enregistrés (**figure 43**). Nous avons ainsi isolé et identifié deux nucléosides dont la 2-hydroxy-2'-désoxyadénosine (**89**) et la thymidine (**90**).



**Figure 43** : Profil HPLC semi-préparative de la fraction méthanolique sur Diaion HP-20

III.2.2.1. Elucidation structurale du composé 89

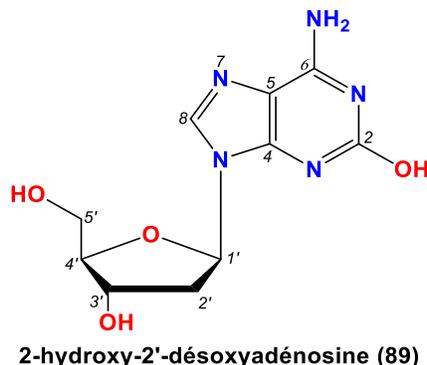


Figure 44 : Structure du composé (89)

La formule brute de ce composé a été déterminée après analyse de son spectre ESI-MS (pic d'ion pseudomoléculaire  $[M + H]^+$  à  $m/z$  268). Sa structure a été obtenue grâce aux données spectrales RMN.

L'examen des spectres RMN révèle deux sous-structures : la 2-désoxyribose et la 2-désoxyadénosine (**tableau XI**). La 2-désoxyribose est caractérisée par les signaux des protons H-1'-H-5' ensuite par les couplages entre H-1' ( $\delta_H$  6,11 ; 1H ; dd) et H-2' ( $\delta_H$  2,19 ; 2H ; m), entre H-2' et H-3' ( $\delta_H$  4,33 ; 1H ; m), entre H-3' et H-4' ( $\delta_H$  3,80 ; 1H ; m) et entre H-4' et H-5' ( $\delta_H$  3,52 ; 2H ; m), enfin par les corrélations HMBC entre les protons H-1' et H-2' et les carbones C-3' ( $\delta_C$  70,72) et C-4' ( $\delta_C$  87,55), entre H-3' et les carbones C-1' ( $\delta_C$  82,55), C-4' et C-5' ( $\delta_C$  61,70), entre H-4' et les carbones C-1', C-2' ( $\delta_C$  40,00) et C-3' et entre H-5' et les carbones C-3' et C-4'.

La 2-hydroxyadénine est caractérisée par les signaux des protons H-8 ( $\delta_H$  7,91 ; 1H ; s), NH<sub>2</sub> ( $\delta_H$  6,56 ; 2H ; s) et OH ( $\delta_H$  10,81 ; 1H ; b) ainsi que la corrélation HMBC entre le proton H-8 et les carbones C-4 ( $\delta_C$  150,89) et C-5 ( $\delta_C$  116,66).

Le composé **89** (**figure 44**) est connu comme produit de synthèse pour quelques applications en biologie <sup>114</sup>.

**Tableau XI** : Données RMN (500/125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) de la 2-hydroxy-2'-désoxyadénosine (**89**)

N°	$\delta_C$ (ppm)/	mult.	$\delta_H$ (ppm)/ <i>J</i> (Hz)/	mult.	COSY	HMBC
2	153,75	qC				
4	150,89	qC				
5	116,66	qC				
6	156,78	qC				
8	135,21	CH	7,91	s		4, 5
1'	82,55	CH	6,11	6,5 ; 6	dd	2'
2'	40,00	CH <sub>2</sub>	2,50		m	1', 3', 2b
				2,19	m	1', 3', 2a
3'	70,72	CH	4,33	m	2', 4'	1', 4', 5'
4'	87,55	CH	3,80	m	3', 5'	1', 2', 3'
5'	61,70	CH <sub>2</sub>	3,52	m	4'	3', 4'
-NH <sub>2</sub>			6,56	s		
-OH-ade			10,81	b		

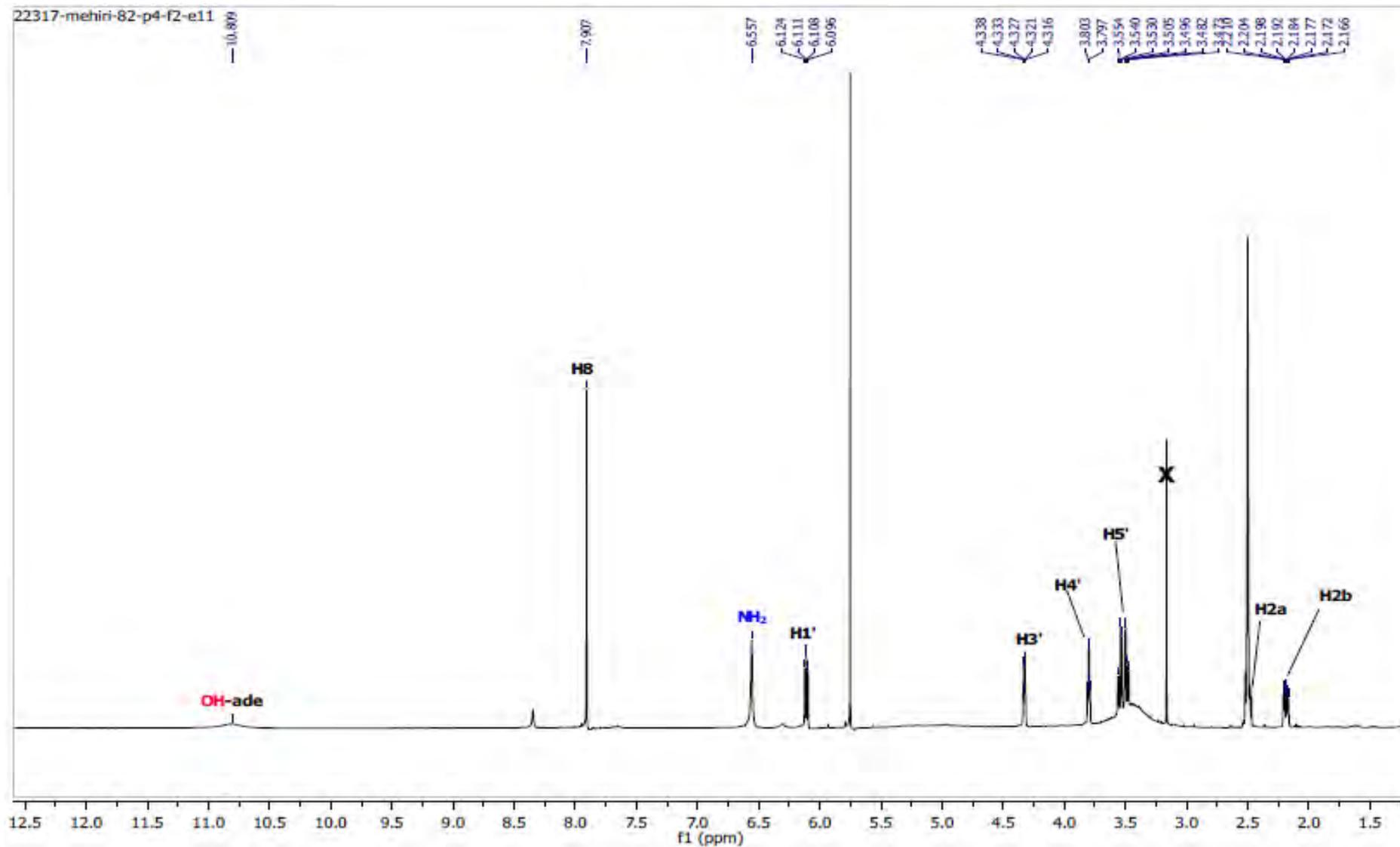
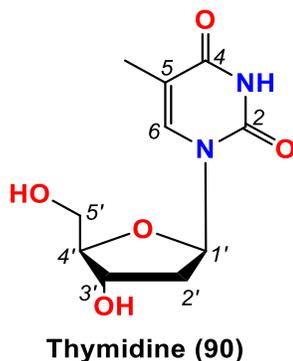


Figure 45 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) de la 2-hydroxy-2'-désoxyadénosine (89)

III.2.2.2. Elucidation structurale du composé 90



**Figure 46 :** Structure du composé (90)

L'analyse des spectres RMN de ce composé nous montre la présence de deux systèmes de spin composés de la 2-désoxyribose et de la thymine caractérisée par les signaux des protons H-3 ( $\delta_H$  11,25 ; 1H ; b), H-6 ( $\delta_H$  7,70 ; 1H ; d) et 5-CH<sub>3</sub> ( $\delta_H$  1,77 ; 3H ; d) ainsi que par les corrélations HMBC entre le proton H-6 et les carbones C-2 ( $\delta_C$  150,46), C-4 ( $\delta_C$  163,74), C-5 ( $\delta_C$  109,35) et 5-CH<sub>3</sub> ( $\delta_C$  12,26) (**tableau XII**). L'ensemble de ces données nous a permis de déduire que le composé **90** est la thymidine (**figure 46**).

La thymidine a été isolée auparavant de l'étoile de mer *Acanthaster planci*<sup>115</sup> et également des éponges marines *Haliclona sp.*<sup>116</sup> et *Callyspongia sp.*<sup>117</sup>.

Tableau XII : Données RMN (500/125 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) de la thymidine (90)

N°	$\delta_C$ (ppm)/	mult.	$\delta_H$ (ppm)/ $J$ (Hz)/	mult.	COSY	HMBC
2	150,46	qC				
3			11,25			
4	163,74	qC				
5	109,35	qC				
6	136,12	CH	7,70	m	CH <sub>3</sub> -thy	2, 4, 5, 1', CH <sub>3</sub> -thy
1'	83,72	CH	6,16	6,5 ; 6	dd	2', 5, 6, 2', 3', 4'
2'	40,00	CH <sub>2</sub>	2,06		m	1', 3', 1', 3', 4'
3'	70,41	CH	4,23		m	2', 4', 1', 5'
4'	87,25	CH	3,75		m	3', 5', 1'
5'	61,31	CH <sub>2</sub>	3,56		m	4', 3', 4'
CH <sub>3</sub> -thy	12,26	CH <sub>3</sub>	1,77	1	d	6, 4, 5, 6

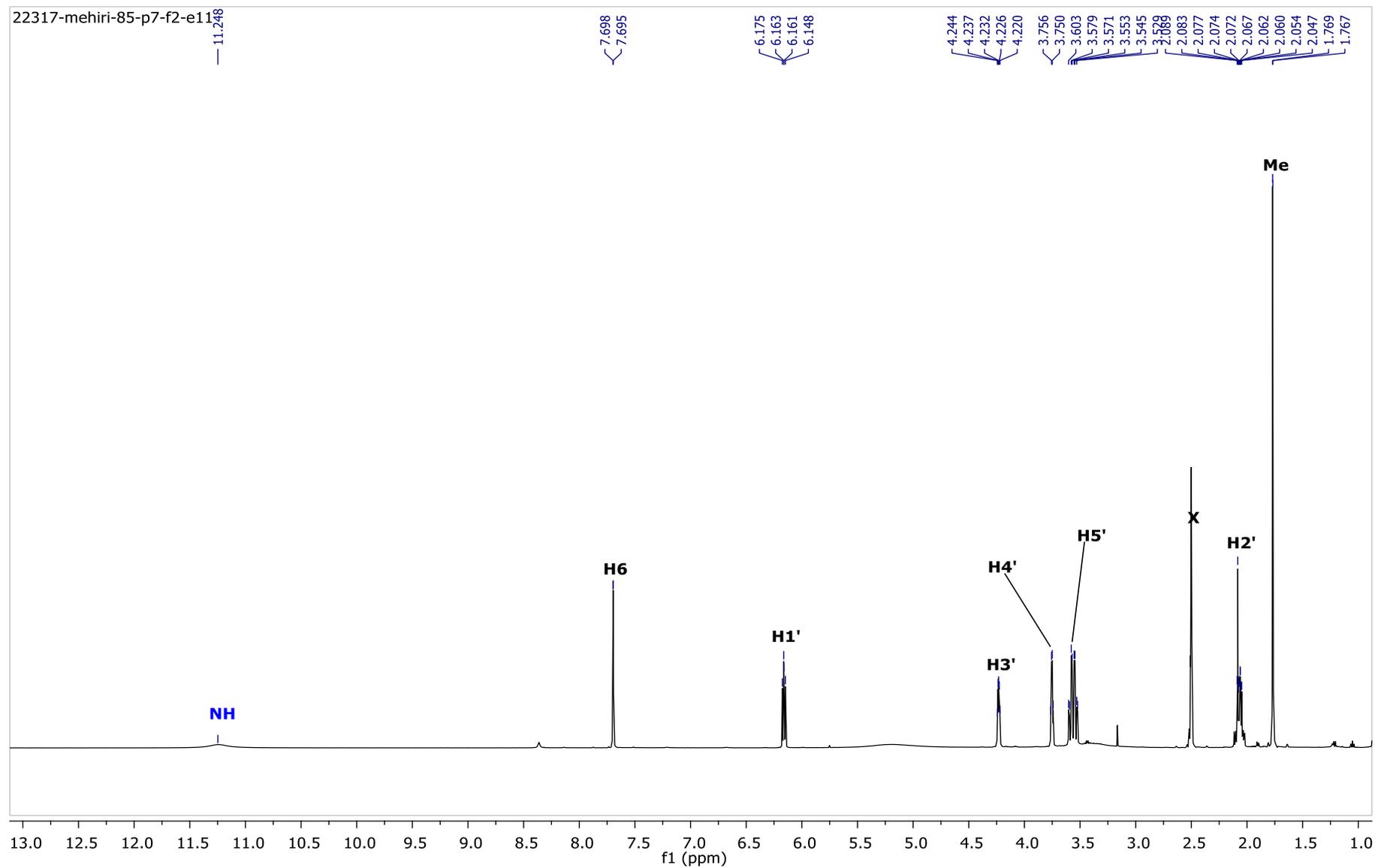


Figure 47 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz, DMSO- $d_6$ ) de la thymidine (90)

### **III.3. Conclusion**

L'étude chimique du Dictyocératide nous a permis d'isoler et de caractériser cinq (5) composés connus dont la clathryimine A (**83**), la 2-oxo-3-phenylpropanenitrile (**86**), la 3-hydroxy-5-méthyl-4-phenylfuran-2(5H)-one (**88**), la 2-hydroxy-2'-désoxyadénosine (**89**) et la thymidine (**90**). Notons cependant que les composés (**86**), (**88**) et (**89**) sont pour la première fois isolés d'une espèce vivante. Nous avons aussi isoler et caractériser deux (2) composés nouveaux : la 3-hydroxy-4,5-diméthylfuran-2(5H)-one (**85**) et la 3-hydroxy-4-isopropyl-5-méthylfuran-2(5H)-one (**87**).

La clathryimine A et les  $\gamma$ -hydroxybuténolides (**85**), (**87**) et (**88**) sont caractéristiques du genre *Luffariella* auquel pourrait appartenir cette éponge.

Le composé **84** n'a pu être caractérisé car nous n'avons enregistré que trois spectres : RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  et HSQC (**annexe**).



**Chapitre 4 : Etude chimique de l'éponge *Ircinia sp.***

## IV.1. Généralités

### IV.1.1. Caractéristiques taxonomiques

Les éponges du genre *Ircinia*, sont bien connues pour leur forte odeur d'ail déplaisante attribuée à des composés de faible poids moléculaire et volatiles contenant de l'azote et du soufre<sup>118</sup>.

Le genre a été initialement décrit par Nardo (1833) qui dressa une liste de cinq noms d'espèces (collectées exclusivement à Venise) considérés comme *Nomina nuda*. Il existe à ce jour plus 40 espèces d'*Ircinia* recensées bien que plusieurs d'entre elles soient décrites de façon incomplète<sup>119,120</sup>.

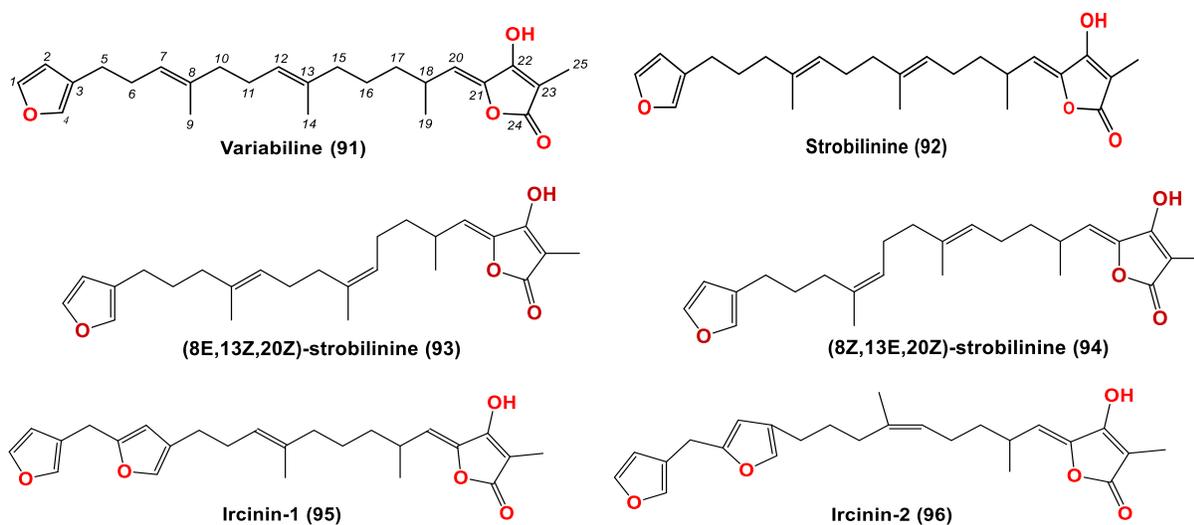
Les espèces du genre *Ircinia* affichent un large éventail de formes avec une surface pourvue de conulose, un squelette de fibres primaires et secondaires et des filaments fins. Les fibres primaires sont carénées avec des corps étrangers et forment des fascicules massifs. Les fibres secondaires sont simples et incolores. La consistance de ces éponges est de douce à ferme bien qu'elles soient extrêmement dures et difficiles à couper ou à déchirer<sup>121</sup>.

### IV.1.2. La variabiline et ses analogues

Les éponges de la famille des Irciniidae représentent la source la plus prolifique de sesterterpènes contenant un acide tétronique comme la variabiline<sup>122-126</sup>. Elle n'a été isolée que des genres *Ircinia*, *Psammocinia* et *Sarcotragus*, constituant un marqueur chimiotaxonomique de la famille des Irciniidae<sup>127</sup>. La variabiline (**91**), un furanoterpène possédant des propriétés antimicrobienne et antitumorale est isolé pour la première fois d'*Ircinia variabilis* (Faulkner, 1973)<sup>123</sup>. Ce composé possède à ces deux extrémités un fragment furane  $\beta$ -substitué caractérisé par les déplacements chimiques  $\delta_H$  (6.25, 7.18 et 7.31 ppm) et un fragment acide tétronique conjugué caractérisé par les déplacements chimiques  $\delta_H$  (1.81 et 5.41 ppm) reliés par une chaîne polyisoprénique constituée de deux doubles liaisons aux positions  $\Delta^{7,12}$ . Une structure de ce type mais avec deux doubles liaisons aux positions  $\Delta^{8,13}$  appelée la strobilinine (**92**) a été isolée de *Ircinia strobilina* en 1975 en tant qu'agent antibiotique contre *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*<sup>127</sup>. Cependant, aucune de ces publications ne traitait ni de la géométrie des doubles liaisons trisubstituées ni de la configuration absolue du carbone (C-18).

Par la suite, Gonzales et *al.* 1983 ont élucidé la stéréochimie des doubles liaisons ; les déplacements chimiques  $^1\text{H}$  (<1,5 ppm) et  $^{13}\text{C}$  (<20 ppm) des méthyles oléfiniques correspondraient à la géométrie *E* tandis que les déplacements chimiques  $^1\text{H}$  (>1,5 ppm) et  $^{13}\text{C}$  (>20 ppm) seraient compatibles avec la géométrie *Z*<sup>128</sup>. Lors de l'étude des métabolites d'une *Sarcotragus* sp., collectée en Nouvelle Zélande, Barrow et *al.* 1989 ont assigné à la stéréochimie de la double liaison conjuguée (C-20) avec un déplacement chimique blindé (<120,0 ppm) compatible avec la géométrie *E* et un déplacement chimique non blindé (>120,0 ppm) correspondant à la configuration *Z*<sup>122</sup>. Suivant ces règles de RMN empiriques, Davis et Capon 1994, ont réaffecté à la strobilinine, composé pur isolé, un mélange de deux isomères géométriques la 8*E*-13*Z*-20*Z*-strobilinine (**93**) et la 8*Z*-13*E*-20*Z*-strobilinine (**94**)<sup>129</sup>. Les auteurs ont utilisé le pouvoir rotatoire pour attribuer des configurations 18*S* et 18*R* à la variabiline et aux strobilines respectivement, puis ont appliqué la même approche pour déterminer la configuration 18*S* à l'ircinine-1 (**95**) et à l'ircinine-2 (**96**)<sup>130</sup>.

Depuis lors, ces méthodes ont été utilisées pour attribuer la stéréochimie de la variabiline et de ses métabolites associés<sup>124-126,131-135</sup>.

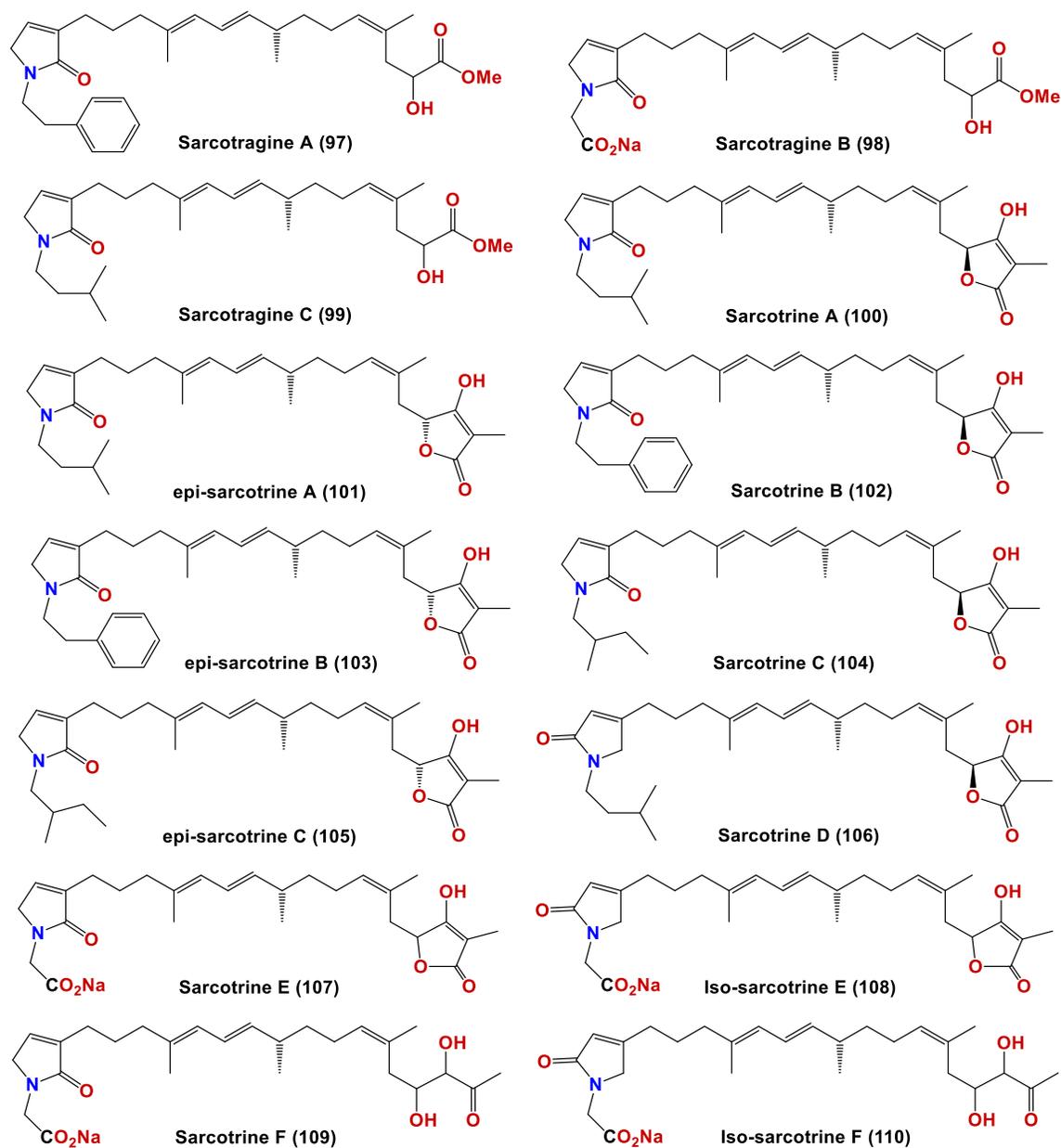


Il est à noter que les dérivés de la variabiline et leurs isomères géométriques sont connus pour résister à la purification par HPLC en raison du chevauchement des pics<sup>124</sup>. Dans la plupart des cas, ces isomères géométriques des furanoterpènes sont isolés sous forme de mélange ou sous forme d'analogues acétylés, comme indiqué dans les revues faisant état de métabolites dérivés de la variabiline isolés de deux éponges Coréennes des genres *Smenospongia* et *Sarcotragus*, d'une

éponge Australienne d'*I. strobilina*<sup>129</sup> et d'une éponge Maltaise d'*I. oros*<sup>131</sup>. En revanche, cette approche de dérivation n'a pas aidé efficacement à la purification d'un mélange de variabilines, de strobilines et de flexinines de trois éponges colombiennes : *I. felix*, *I. strobilina* et *I. campana*<sup>124</sup>.

Outre les isomères géométriques, les modifications des structures de la variabiline et de ses métabolites associés résultent également des transformations rapportées aux extrémités furane et acide tétronique. On peut citer en exemple une série de métabolites isolés de *Sarcotragus spp.* et d'*Ircinia spp.* présentant à la place de l'acide tétronique conjugué des acides tétroniques non conjugués ou tronqués et des aminoacides en échange du furane.

Ainsi, Shin et al. 2001, ont isolé les sarcotragines A-B (**97-98**), deux trinorsesterterpènes contenant respectivement des fragments phényléthylamine et glycine lactames, d'une *Sarcotragus sp.* Coréenne<sup>136</sup>. Outre les lactames  $\alpha$ - $\beta$ -insaturés inhabituels, les sarcotragines étaient uniques du fait que l'acide tétronique était remplacé par un  $\alpha$ -hydroxy méthyle ester. La sarcotragine C (**99**) est un norsesterterpène contenant un fragment leucine lactame isolé d'une *Sarcotragus sp.*<sup>137</sup> et structurellement apparenté aux sarcotragines A et B. Liu et al. 2002, 2003 et 2006 ont isolé une série de composés aux structures étroitement apparentées appelés sarcotrines A-F (**100-110**), présentant un couplage entre terpènes et dérivés d'acides aminés tels que la leucine, l'isoleucine, la glycine ou la phénylalanine, de deux autres *Sarcotragus spp.*<sup>125,126</sup>. Alors que les sarcotrines A-E (**100-108**) contiennent un fragment acide tétronique non conjugué, ce dernier est remplacé par des radicaux  $\alpha,\beta$ -hydroxyméthoxybutanone et  $\alpha,\beta$ -dihydroxybutanone respectivement dans les sarcotragines A-C (**97-99**) et les sarcotrines F (**109, 110**). Les variations entre sarcotrines découlent également d'épimérisation comme dans les sarcotrines A-C (**100-105**), d'isomérisation comme dans les sarcotrines E-F (**107-110**) et de la régiochimie des lactames comme dans les sarcotrines E-F. Les déplacements chimiques d'une oléfine et d'un carbone quaternaire au niveau des fragment  $\gamma$ -lactames pourraient être utilisés pour différencier la régiochimie des lactames avec des résonances blindées ( $\sim 6,74$  (H-2),  $\sim 137,2$  (C-2) et  $\sim 140,2$  (C-3)) attribuées à un lactame  $\alpha$ -substitué et des résonances déblindées ( $\sim 5,7$  (H-2),  $\sim 121,0$  (C-2) et  $\sim 136,0$  (C-3)) attribuées à un lactame  $\beta$ -substitué<sup>125,126</sup>.



En 2008, Wang et *al.* ont isolé une série de sesterterpènes contenant un fragment furane,  $\gamma$ -lactone,  $\gamma$ -lactame ou méthylacétal à une extrémité et un fragment acide tétronique ou diméthylester à l'autre extrémité de ces terpènes linéaires isolés d'une espèce coréenne de *Sarcotragus* sp. (111-125)<sup>134</sup>.

Trois de ces métabolites (111-113) partagent une structure très proche de la variabiline, à la différence que le fragment furane ait été remplacé par des hydroxy  $\gamma$ -lactones  $\alpha,\beta$ -substitués régioisomères. Ils représentent à ce jour les seuls hydroxybuténolides connus pour la classe des

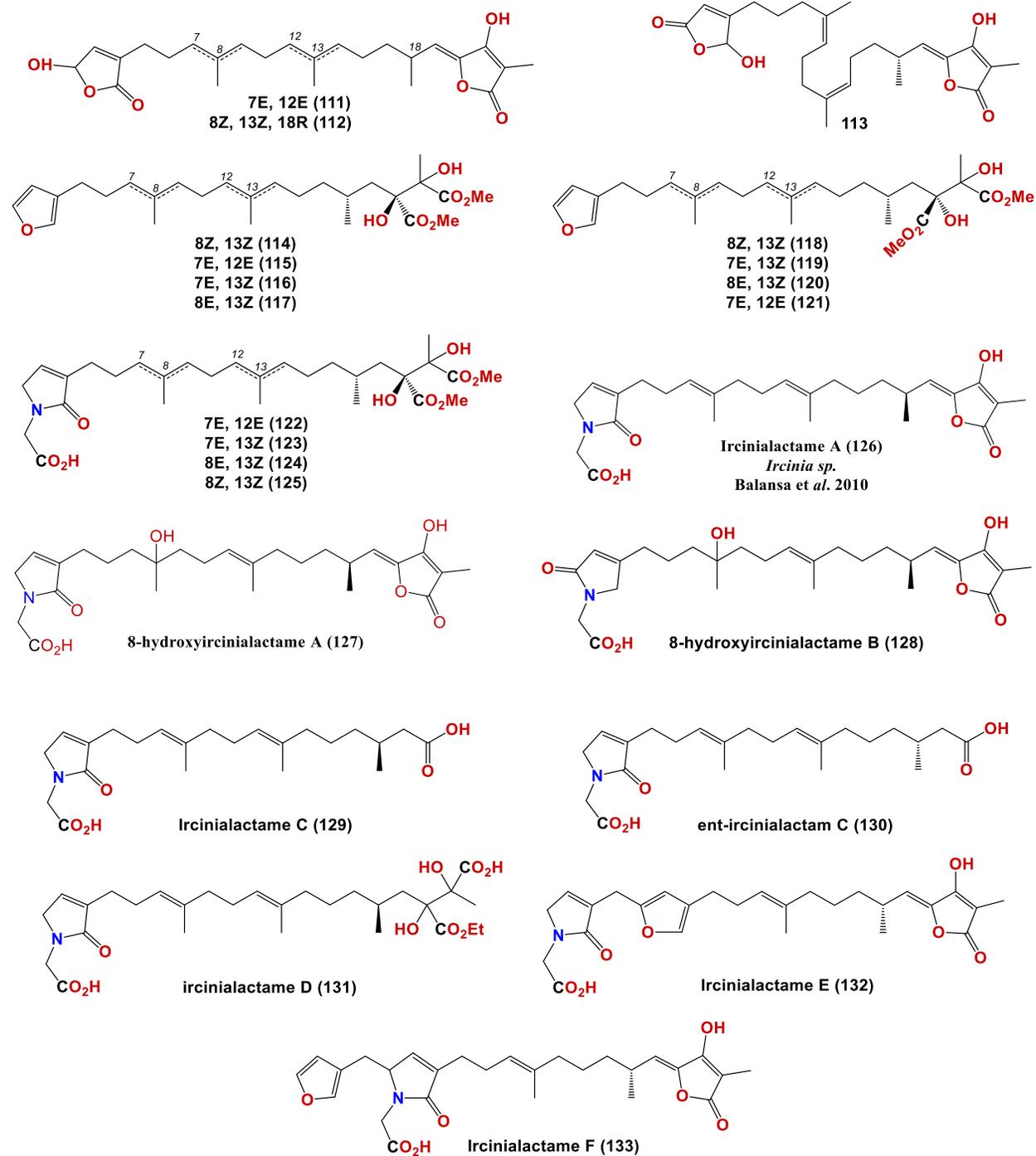
structures proches de la variabiline<sup>134</sup>. Faulkner et ses collaborateurs ont rapporté des hydroxybuténolides régioisomères par oxydation simple de furanes 3 ou 3,4-substitués<sup>138</sup> et Barrow et al.<sup>139</sup> ont obtenu de l'hydroxybuténolide comme l'un des principaux produits d'une étude d'auto-oxydation de la variabiline.

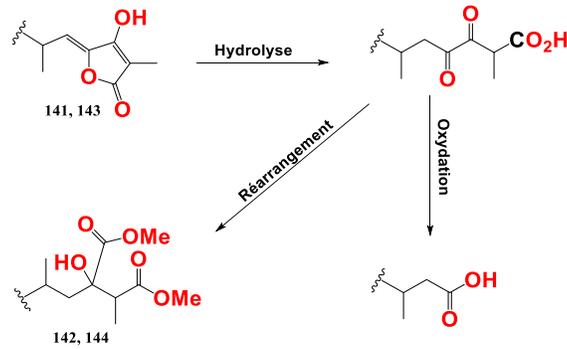
Les composés (**114-121**) contiennent des fragments furane et diester diméthylque reliés par le terpène linéaire. Une étude de la littérature a montré qu'un composé possédant le même fragment terminal avait été obtenu comme produit de dégradation d'un acide tétronique en utilisant une base forte<sup>140</sup>. Cependant, un composé possédant le fragment diester diméthylque n'avait jamais été rapporté comme produit naturel avant la publication de 2008 de Shin et al<sup>136</sup>. Il a été proposé que l'acide tétronique subit une hydrolyse pour donner une  $\alpha$ -dicétone qui, lors d'un réarrangement, aboutit au fragment diester diméthylque (**figure 48**)<sup>141</sup>. Fait intéressant, les auteurs ont isolé différents isomères du diester diméthylque qui se distinguent par leurs propriétés de rotation optique. Ils représentent avec les composés (**122-125**) les seules molécules connues portant un fragment diester diméthylque.

En plus du fragment diester diméthylque, les composés (**122-125**) contiennent également un fragment glycine lactame, signalé auparavant uniquement du spongolactame C isolé d'une éponge japonaise *Spongia sp.*<sup>142</sup> et de plusieurs sesterterpènes isolés de *Sarcotragus spp*<sup>127,128,136,138</sup>.

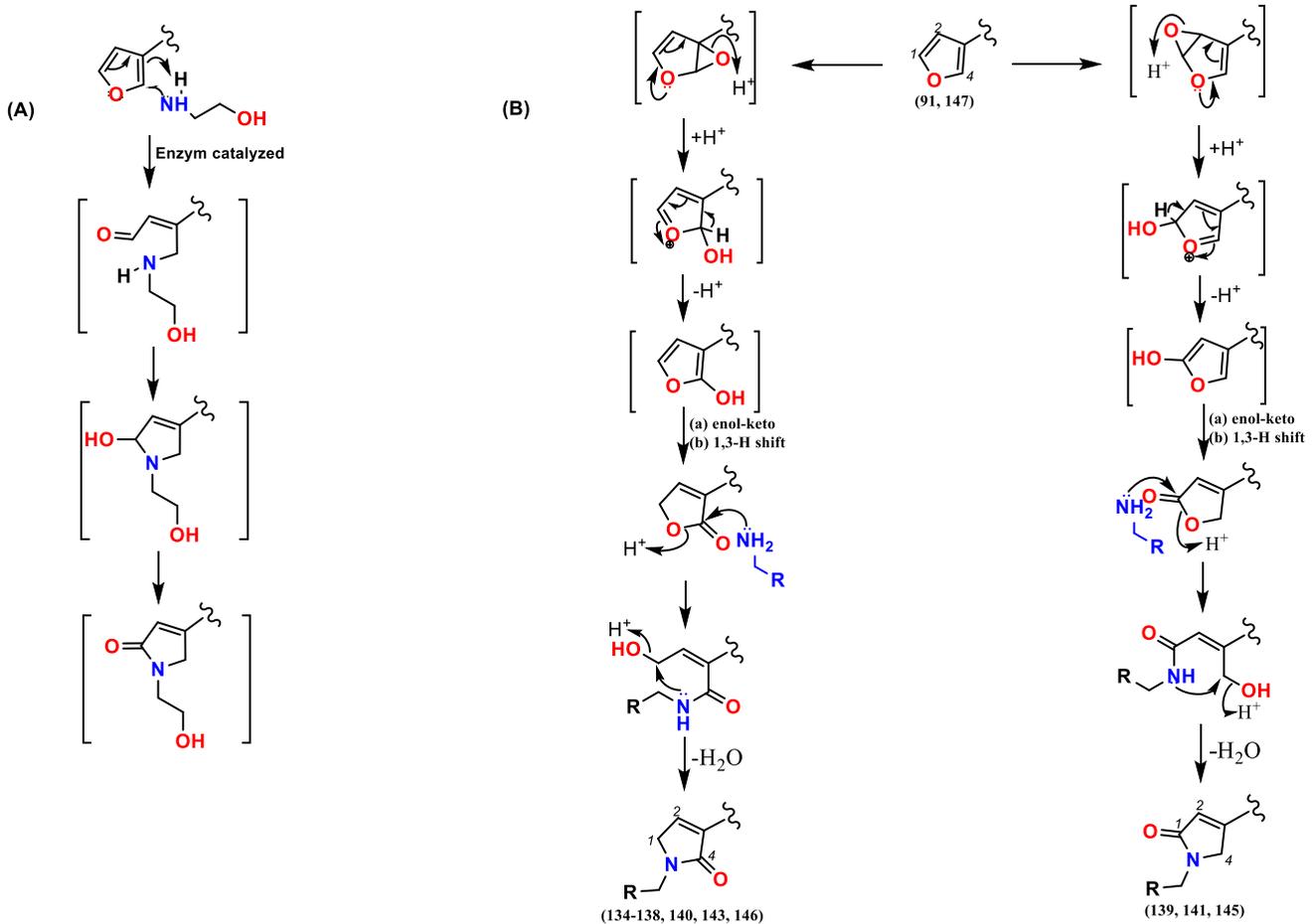
Par la suite, d'autres sesterterpènes portant le fragment glycine lactame ont été rapportés de deux espèces d'*Ircinia spp*. Il s'agit entre autres des ircinialactames A-D (**126-131**) isolés d'une espèce australienne<sup>143</sup> et des ircinialactames E-F (**132-133**) isolés d'une espèce turque d'*Ircinia oros*<sup>144</sup>. Il a déjà été proposé que la formation du lactame à partir du fragment furane soit catalysée par une enzyme. Dans une attaque nucléophile de l'éthanolamine, sur un carbone déficient en électron, l'ouverture du cycle et la formation d'un aldéhyde ont lieu, ce qui, par cyclisation et oxydation concertées, conduit à la formation du lactame (**figure 49A**)<sup>145</sup>. Cependant, quelques études ont montré qu'au lieu d'une cyclisation, une telle lactamisation nécessitait des lactones intermédiaires et des acides aminés<sup>146-148</sup>. Il a été proposé par la suite, pour le fragment terminal C-1-C-4, une relation basée sur l'élaboration par oxydation du fragment précurseur furanyle  $\beta$ -substitué. La mono-époxydation conduit à des butyrolactones isomères  $\alpha,\beta$ -substituées qui, à leur tour, sont additionnées à l'acide aminé pour donner les  $\gamma$ -lactames régioisomères (**figure 49B**). Ainsi cette dernière voie biosynthétique a conduit à la formation de 150 mimétiques qui ont conduit

au développement d'un analgésique de premier ordre pour le traitement de la douleur inflammatoire chronique<sup>148</sup>.





**Figure 48 :** Formation du diméthylester proposé par Gonzales et *al.* 1983 à partir de l'acide tétronique.



**Figure 49 :** (A) Formation plausible du  $\gamma$ -lactame à partir du furane, proposée par Hamman et *al.* 1999 et (B) Voie biosynthétique plausible de la formation des  $\gamma$ -lactames à partir du furane en passant par les butyrolactones isomères.

## **IV.2. Etude chimique de l'éponge *Ircinia sp.***

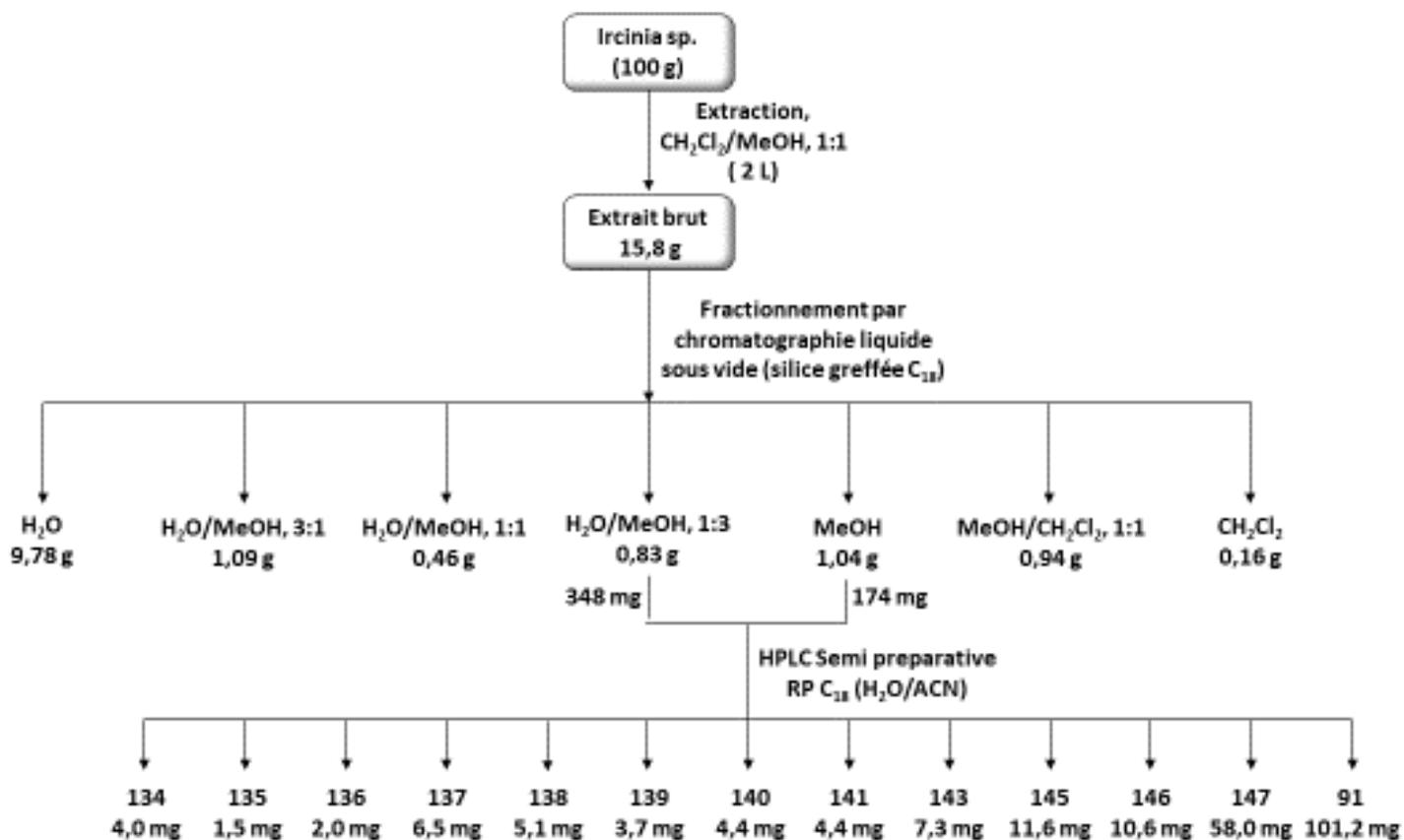
### **IV.2.1. Collecte et extraction de l'éponge *Ircinia sp.*, fractionnement et purification**

L'éponge du genre *Ircinia* (**figure 50**) a été collectée en plongée sous-marine (-3 m) au large de Ouakam (Dakar, Sénégal) au mois d'Août 2016. Le matériel biologique a été ensuite lavé afin d'éliminer le sel, le sable et autres débris animaux ou végétaux avant d'être congelé à -18°C pour être ensuite lyophilisé.

Une partie du lyophilisat (100 g) a été extrait par un mélange de MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1 :1, v/v) pour donner 15,8 g d'extrait brut. Ce dernier a été fractionné par chromatographie liquide sous-vide en phase inverse RP-C<sub>18</sub> (élution avec gradient de polarité décroissante de H<sub>2</sub>O/MeOH de 1 :0 à 0 :1 puis de MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> de 1 :0 à 0 :1). Des portions des fractions H<sub>2</sub>O/MeOH 1 :3 (348 mg) et MeOH (174 mg) ont été réunies puis purifiées par HPLC semi-préparative (colonne semi préparative Macherey Nagel Nucleodur sphinx RP C<sub>18</sub>, 250 x 10 mm, 5 µm. Gradient H<sub>2</sub>O/ACN/AF de 60/40/0,1 à 0/100/0,1 en 50 minutes, débit 3 ml/min) (**figure 51**).

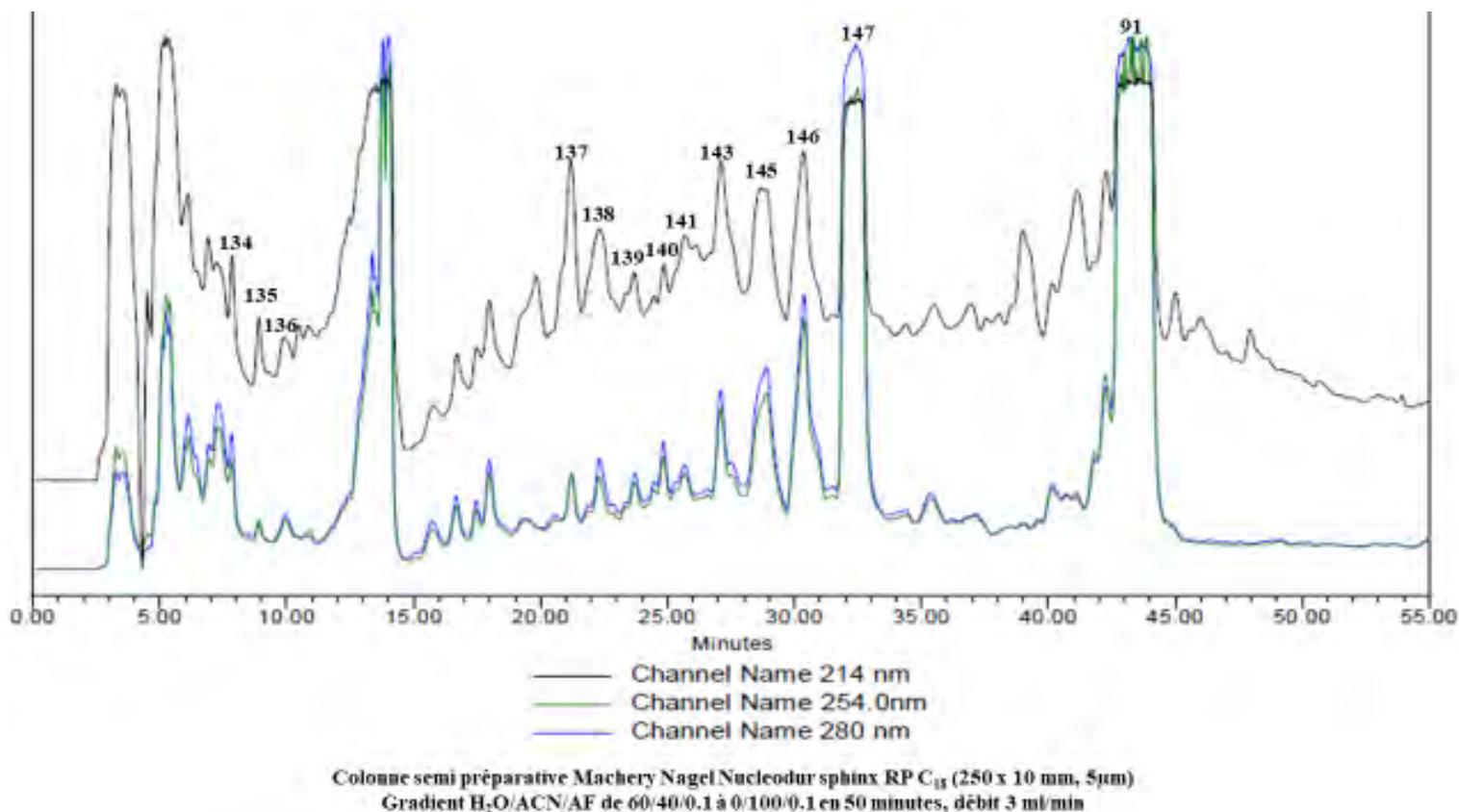


**Figure 50** : Photo de l'*Ircinia sp.*



**Figure 51** : Schéma d'extraction et de purification des fractions H<sub>2</sub>O/MeOH 1:3 et MeOH de l'extrait brut MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> de l'*Ircinia sp.*

Cette purification nous a permis d'isoler les composés **134** (4,0 mg ; 0,0040%), **135** (1,5 mg ; 0,0015%), **136** (2,0 mg ; 0,0020%), **137** (6,5 mg ; 0,0065%), **138** (5,1 mg ; 0,0051%), **139** (3,7 mg ; 0,0037%), **140** (4,4 mg ; 0,0044%), **141** (4,4 mg ; 0,0044%), **143** (7,3 mg ; 0,0073%), **145** (11,6 mg ; 0,0116%), **146** (10,6 mg ; 0,0106%), la 8-hydroxyvariabiline (**147**) (58,0 mg ; 0,0580%) et la variabiline (**91**) (101,2 mg ; 0,1012%) (**figure 52**). L'étude structurale de ces composés a été faite par la combinaison des données spectroscopiques (RMN 1D et 2D, MS) et de la littérature. Les pourcentages ont été calculés par rapport à la masse de l'éponge lyophilisée.

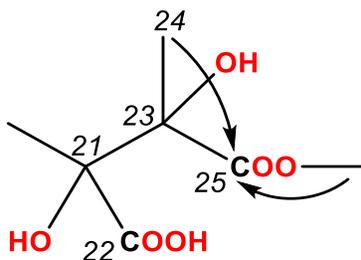


**Figure 52 :** Profil HPLC semi-préparative des fractions H<sub>2</sub>O/MeOH 1 :3 et MeOH

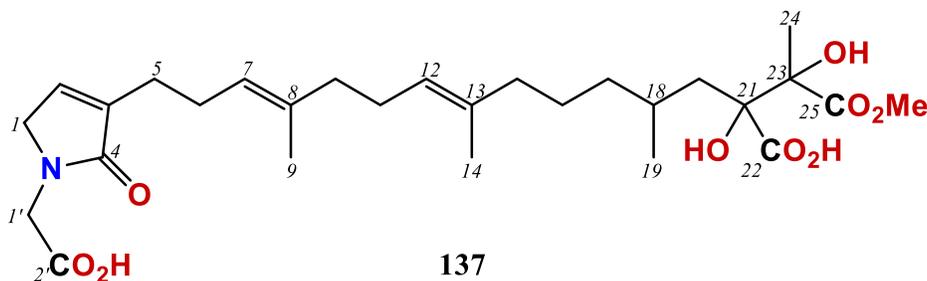
#### IV.2.1.1. Elucidation structurale du composé 137

Le composé **136** a été isolé sous la forme d'une huile jaune claire. Sa formule brute, C<sub>28</sub>H<sub>43</sub>NO<sub>9</sub>, a été déduite de l'analyse du spectre HRESI (+) MS (ion pseudomoléculaire [M + H]<sup>+</sup> de *m/z* 538,2919 ; Δ = 1,9 ppm). L'ensemble des données spectrales (MS, HRMS, RMN) et des chromatogrammes obtenus par HPLC et HPLC-MS, couplé aux données de la bibliographie, notamment celles relatives aux Irciniidae, nous a permis de déduire la structure du composé **137** (**figure 54**). En effet la structure de ce composé a été déduite en comparaison à celle de deux composés analogues : le composé **122**<sup>134</sup> et de l'ircinialactame D<sup>143</sup>. Le spectre de masse Haute résolution du composé **137** a indiqué une différence de 14 uma par rapport à ces deux analogues, ce qui suggère la perte d'un groupement méthylène. L'analyse des spectres RMN révèle la présence des carbonés C-1 à C-19 et C-1'-C-2' des deux analogues, Δ<sup>7,8</sup> (C-9, δ<sub>C</sub> 16.17, *E*) et Δ<sup>12,13</sup> (C-14, δ<sub>C</sub> 16.17, *E*) (**Tableau XIII**). La différence entre le composé 1 et ses deux analogues se

situerait donc dans le fragment terminal C-21-C-25. Ce fragment est constitué de fonctions acide et méthyle ester aux positions 22 et 25. Les corrélations HMBC entre les protons H<sub>3</sub>-24 à  $\delta_H$  1,31 ppm d'une part et H<sub>3</sub>-O-C-25 d'autre part avec le carbone du carbonyle à  $\delta_C$  174.78 ppm confirment que le carbone du carbonyle de la fonction ester se situe en position 25 (**Figure 53**).



**Figure 53** : Corrélations HMBC (H → C) du fragment acide 1, 2-dihydroxy-2-carbométhoxy-2-méthyl-carboxylique du composé **137**



**Figure 54** : Structure du composé **137**

Tableau XIII : Données RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  (400/100 MHz, DMSO- $d_6$ ) du composé 137

N°	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)/	mult.	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)
1'	43,69	CH <sub>2</sub>	4,09
2'	171,25	qC	
1	50,95	CH <sub>2</sub>	3,95
2	137,47	CH	6,88
3	137,93	qC	
4	171,42	qC	
5	26,11	CH <sub>2</sub>	2,19
6	26,11	CH <sub>2</sub>	2,19
7	123,90	CH	5,12
8	135,89	qC	
9	16,17	CH <sub>3</sub>	1,56
10	40,00 <sup>a</sup>	CH <sub>2</sub>	1,94
11	26,20	CH <sub>2</sub>	1,97
12	123,90	CH	5,07
13	135,22	qC	
14	16,17	CH <sub>3</sub>	1,56
15	40,00 <sup>a</sup>	CH <sub>2</sub>	1,94
16	25,19	CH <sub>2</sub>	1,28
17	38,15	CH <sub>2</sub>	1,24
			1,01
18	29,60	CH	1,30
19	21,96	CH <sub>3</sub>	0,88
20	40,00 <sup>a</sup>	CH <sub>2</sub>	1,84
21	<sup>b</sup>		
22	171,25	qC	
23	80,15	qC	
24	20,91	CH <sub>3</sub>	1,31
25	174,78	qC	
25-O-Me	51,49	CH <sub>3</sub>	3,57

<sup>a</sup> Signaux superposés avec le pic du solvant. <sup>b</sup> Pas observé.

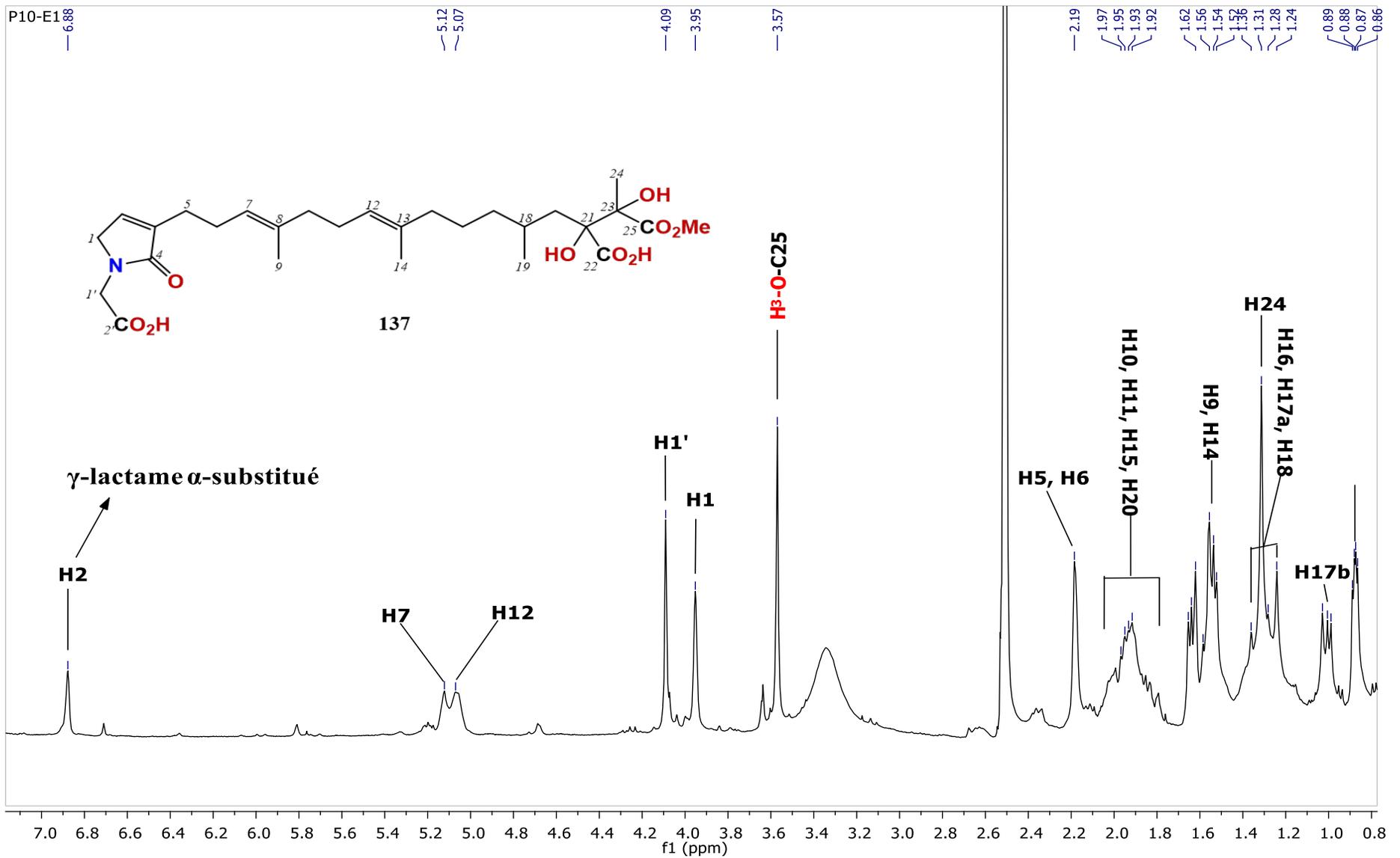


Figure 55 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) du composé **136**

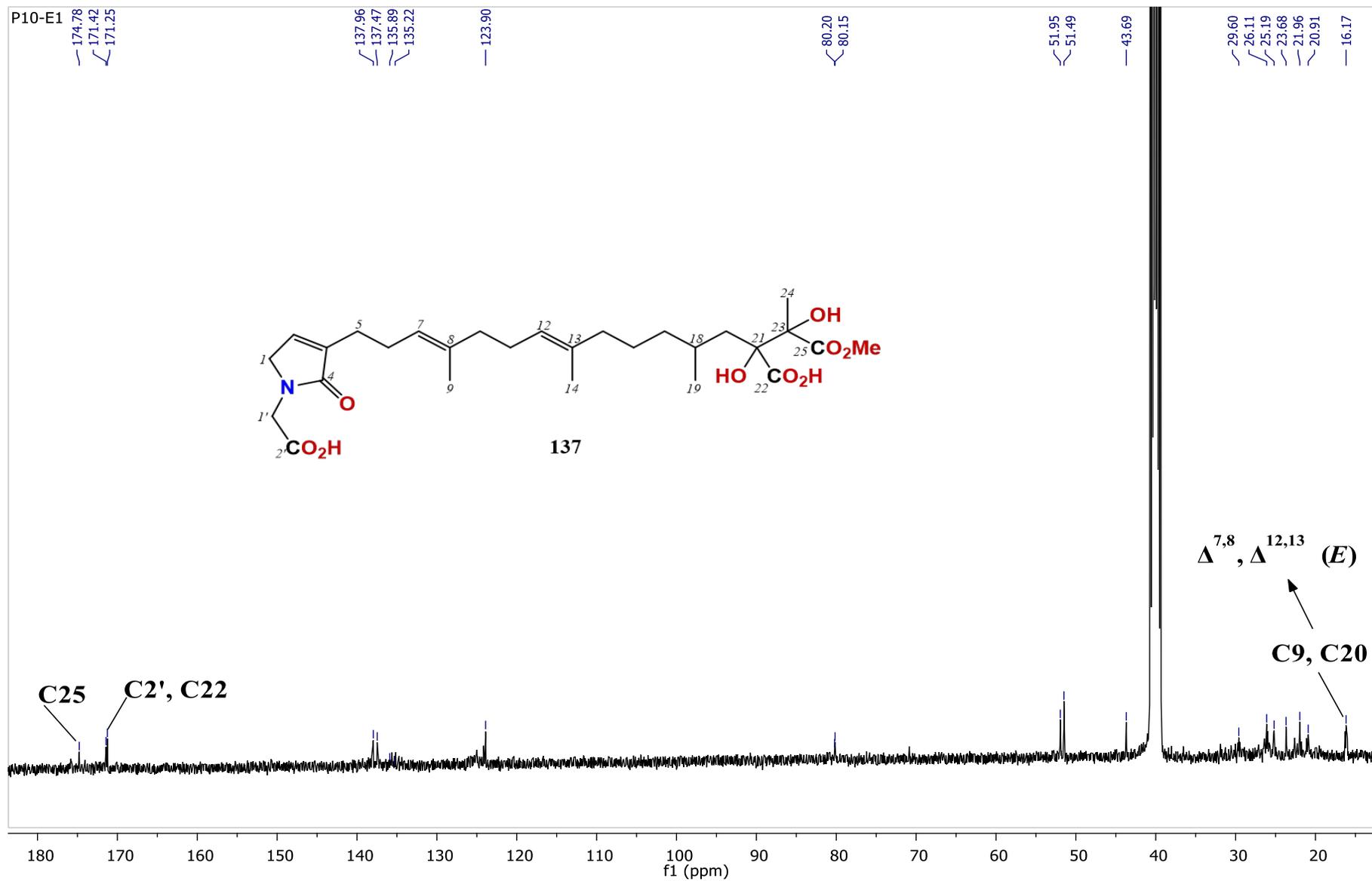


Figure 56 : Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ ) du composé 137

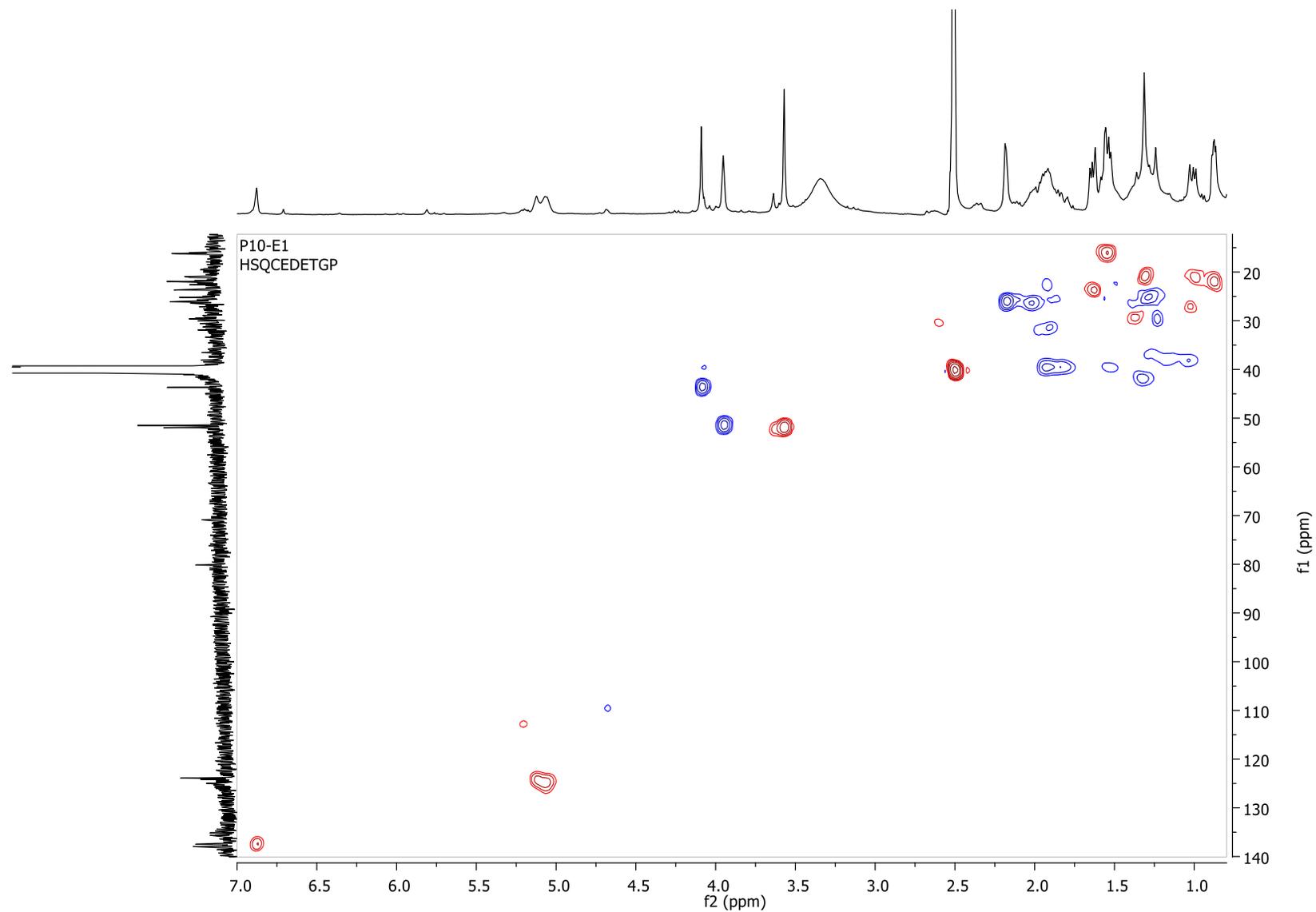


Figure 57 : Spectre HSQC (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) du composé 137

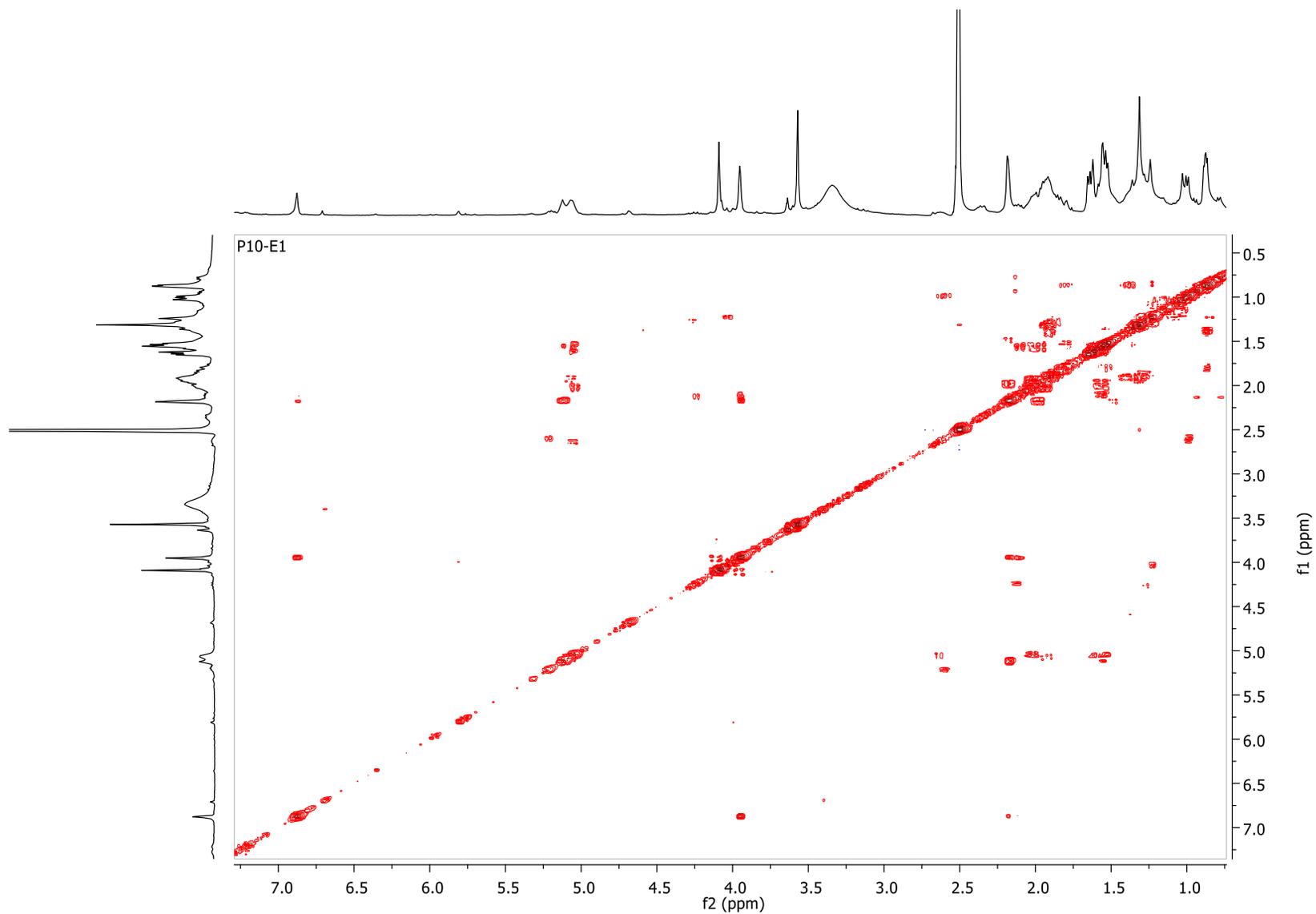


Figure 58 : Spectre COSY (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) du composé 137

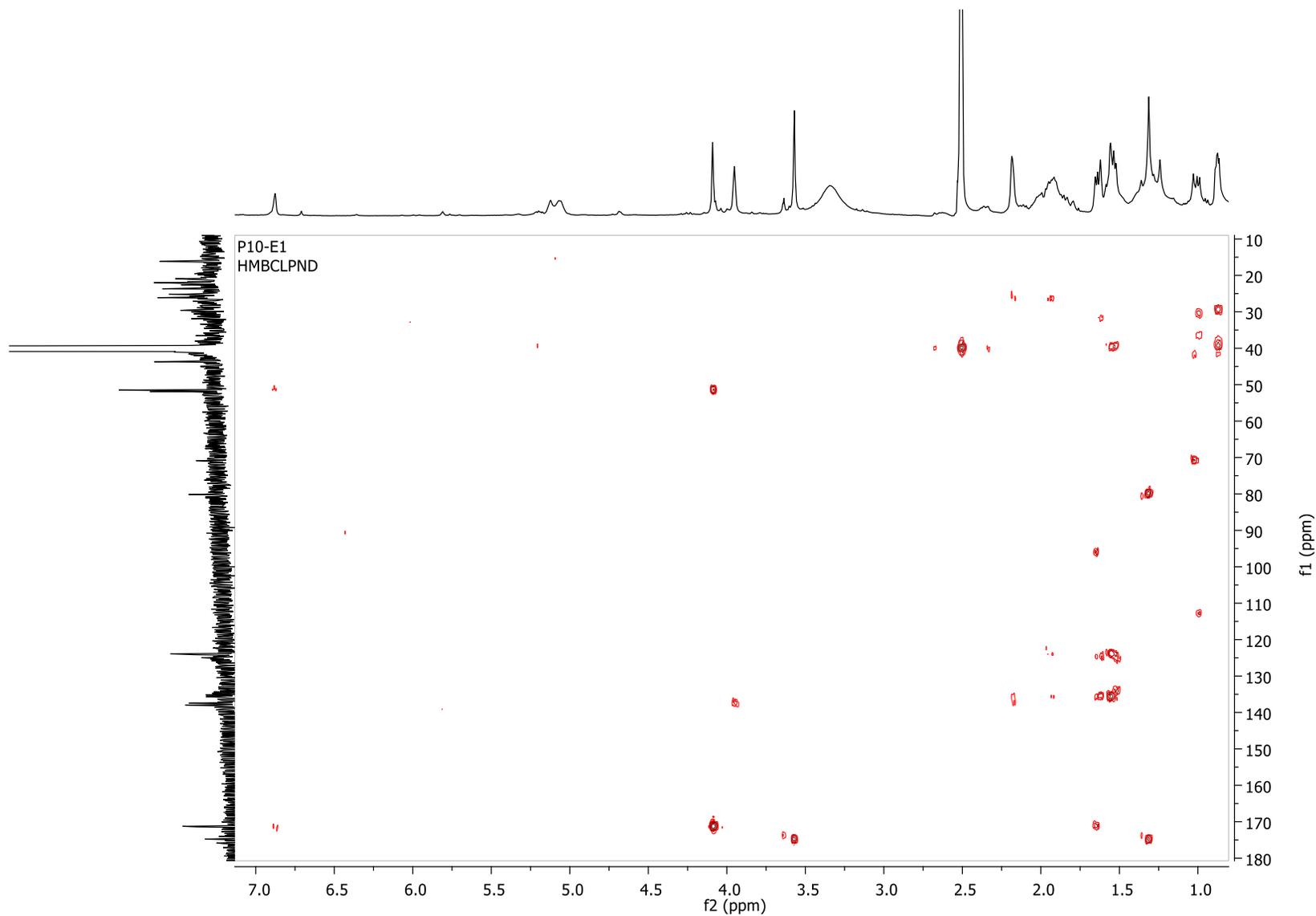
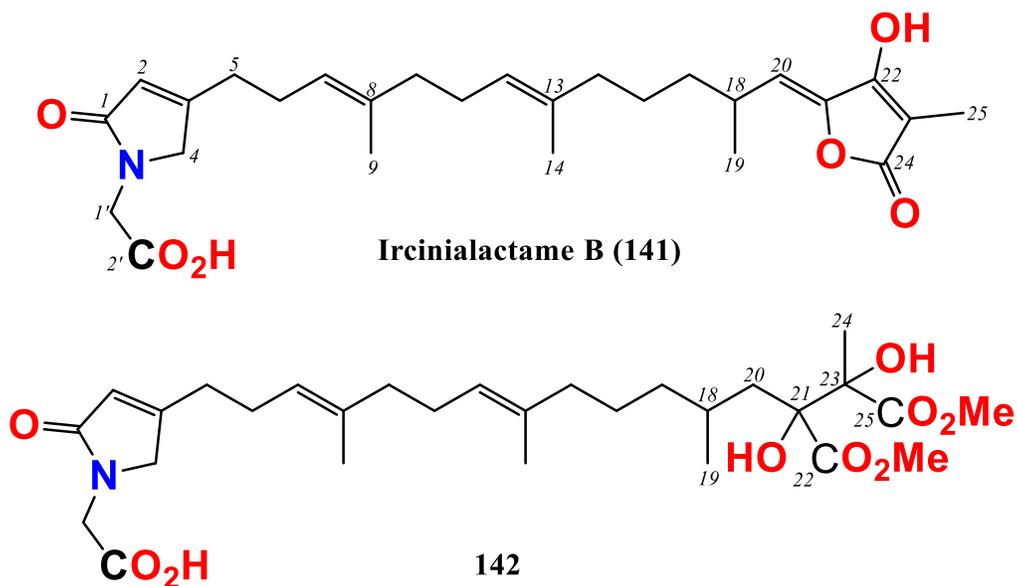


Figure 59 : Spectre HMBC (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) du composé 137

## IV.2.1.2. Elucidation structurale du composé 141

Le composé **141** a été isolé sous la forme d'une huile jaune claire. L'ensemble des données spectrales, SM (pic d'ion pseudomoléculaire  $[M + H]^+$  de 472) et RMN et des chromatogrammes obtenus par CLHP et CLHP-SM, couplé aux données de la bibliographie, notamment celles relatives aux Irciniidae, nous a permis de déduire que le composé **141** (**Figure 60**) est l'ircinialactame B isolée d'une *Psammocinia* sp.<sup>148</sup>. En effet l'analyse des données RMN du composé **141** (**Tableau XIV**) confirme les configurations évidentes *E* pour  $\Delta^{7,8}$  et  $\Delta^{12,13}$  et *Z* pour  $\Delta^{20,21}$  d'après les déplacements chimiques des carbones C-9 ( $\delta_C$  16.18) et C-14 ( $\delta_C$  15.94) et C-20 ( $\delta_C$  115.00) et la régiochimie alternative du glycine lactame (H-2,  $\delta_H$  5.85) qui correspond au  $\gamma$ -lactame  $\beta$ -substitué.

Toutefois l'analyse du spectre de masse du composé **141** nous révèle un pic d'ion pseudomoléculaire  $[M + H]^+$  à  $m/z$  552 attribué au composé **142**. Ce dernier correspondrait à la forme tronquée du fragment acide tétronique du composé **141** en diméthylester. Ceci se traduit par les signaux (C-18 ;  $\delta_C$  30,70 ;  $\delta_H$  1,47), (C-19 ;  $\delta_C$  22,06 ;  $\delta_H$  0,94), (C-20 ;  $\delta_C$  40,60 ;  $\delta_H$  1,94), (C-21,  $\delta_C$  83.00), (C-22,  $\delta_C$  174.20), (C-23, 81.83), (C-24,  $\delta_C$  21.30 et H<sub>3</sub>-24,  $\delta_H$  1.46), (C-25,  $\delta_C$  174.50) et ceux des méthyles Me-O-C-22 ( $\delta_C$  52.84,  $\delta_H$  3.75) et Me-O-C-25 ( $\delta_C$  52.84,  $\delta_H$ , 3.71).



**Figure 60** : Structures de l'ircinialactame B (**141**) et de son dérivé **142**

Tableau XIV : Données RMN (100/400/500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) de l'ircinialactame B (141)

N°	δ <sub>C</sub> (ppm)/	mult.	δ <sub>H</sub> (ppm)
1'	44,50	CH <sub>2</sub>	4,15
2'	172,00 <sup>a</sup>	qC	
1	174,00 <sup>a</sup>	qC	
2	121,14 <sup>b</sup>	CH	5,85
3	137,93 <sup>a</sup>	qC	
4	54,80	CH <sub>2</sub>	4,12
5	27,00 <sup>c</sup>	CH <sub>2</sub>	2,28 <sup>f</sup>
6	27,00 <sup>c</sup>	CH <sub>2</sub>	2,28 <sup>f</sup>
7	124,30 <sup>b</sup>	CH	5,13 <sup>g</sup>
8	136,70 <sup>a</sup>	qC	
9	16,18 <sup>d</sup>	CH <sub>3</sub>	1,60 <sup>h</sup>
10	40,76 <sup>e</sup>	CH <sub>2</sub>	1,99 <sup>i</sup>
11	27,00	CH <sub>2</sub>	2,08 <sup>i</sup>
12	125,13 <sup>b</sup>	CH	5,13 <sup>g</sup>
13	135,00 <sup>a</sup>	qC	
14	15,94 <sup>d</sup>	CH <sub>3</sub>	1,58 <sup>h</sup>
15	40,47 <sup>e</sup>	CH <sub>2</sub>	1,97 <sup>i</sup>
16	26,32	CH <sub>2</sub>	1,40 <sup>j</sup>
17	37,64	CH <sub>2</sub>	1,40 <sup>j</sup>
			1,31
18	31,83	CH	2,75
19	21,10	CH <sub>3</sub>	1,06
20	115,00 <sup>b</sup>	CH <sub>2</sub>	5,25-5,28
21	144,71 <sup>a</sup>	qC	
22	165,20 <sup>a</sup>	qC	
23	97,00 <sup>a</sup>	qC	
24	173,13 <sup>a</sup>	qC	
25	6,10	CH <sub>3</sub>	1,73

<sup>a,b</sup> Signaux confirmés respectivement par les expériences HMBC et HSQC

<sup>c,f,g,h,i</sup> signaux superposés, <sup>d,e</sup> Signaux interchangeables

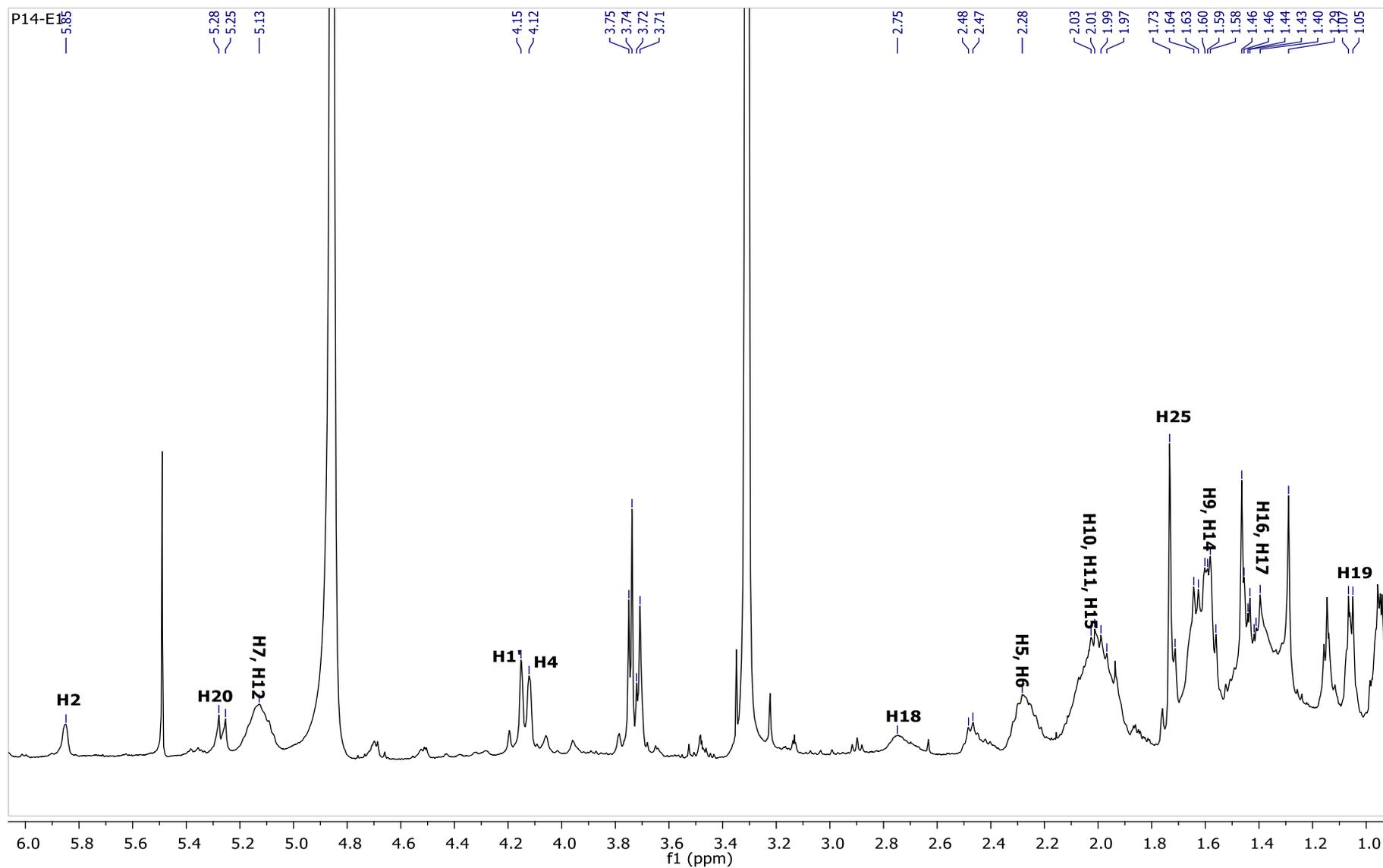
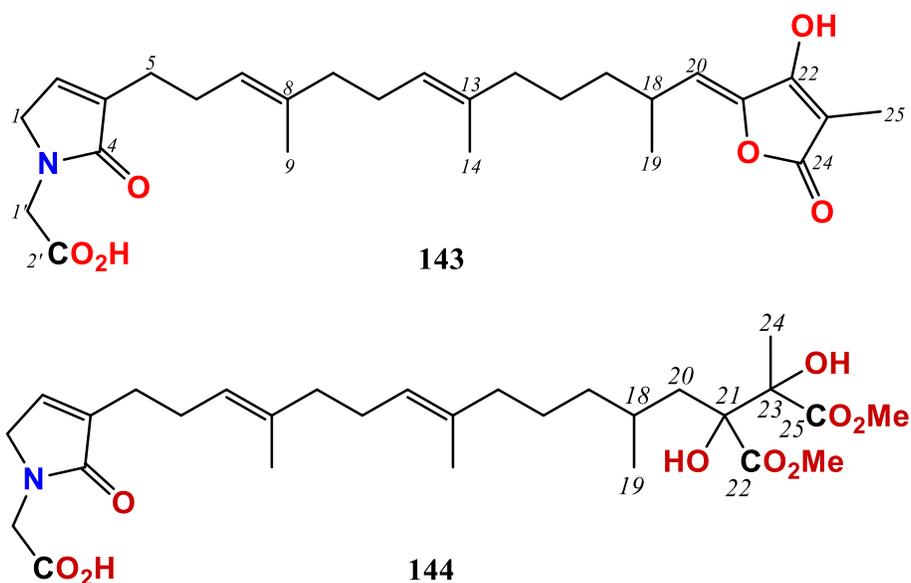


Figure 61 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) de l'ircinialactame B (141)

## IV.2.1.3. Elucidation structurale du composé 143

Le composé **143** a été isolé sous la forme d'une huile jaune claire. Sa formule brute,  $C_{27}H_{37}NO_6$ , a été déduite de l'analyse du spectre HRESI (+) MS (ion pseudomoléculaire  $[M + H]^+$  de  $m/z$  472.2624 ;  $\Delta = 0.3$  ppm). L'ensemble des données spectrales (SM, SMHR, RMN) et des chromatogrammes obtenus par CLHP et CLHP-SM, couplé aux données de la bibliographique, notamment celles relatives aux *Ircinia spp.*<sup>143</sup>, nous a permis de déduire que le composé **143** (**figure 62**) est l'ircinialactame A (**126**). En effet, l'analyse des spectres RMN (**Tableau XV**) nous a permis de déterminer les configurations *E* pour  $\Delta^{7,8}$  (C-9 ;  $\delta_C$  16,21) et  $\Delta^{12,13}$  (C-14 ;  $\delta_C$  16,08) et *Z* pour  $\Delta^{20,21}$  (C-20 ;  $\delta_C$  111,62) ainsi que la présence du glycine lactame (H-2 ;  $\delta_H$  6,88) qui correspond à un  $\gamma$ -lactame  $\alpha$ -substitué.

Cependant, l'analyse du spectre de masse haute résolution du composé **143** nous révèle un pic d'ion pseudomoléculaire  $[M + H]^+$  à  $m/z$  552.3065 attribué au composé **144**. Ce dernier correspondrait à la forme tronquée du fragment acide tétronique du composé **143** en diméthylester. Ceci se traduit par les signaux (C-18 ;  $\delta_C$  30,04 ;  $\delta_H$  1,31), (C-19 ;  $\delta_C$  21,53 ;  $\delta_H$  0,88), (C-20 ;  $\delta_C$  40,00 ;  $\delta_H$  1,84), (C-21,  $\delta_C$  83.33), (C-22,  $\delta_C$  174.06), (C-23,  $\delta_C$  80.78), (C-24,  $\delta_C$  21.22 et H<sub>3</sub>-24,  $\delta_H$  1.36), (C-25,  $\delta_C$  174.06) et ceux des méthyles Me-O-C-22 ( $\delta_C$  52.35,  $\delta_H$  3.64) et Me-O-C-25 ( $\delta_C$  52.35,  $\delta_H$  3.64).



**Figure 62** : Structures de l'ircinialactame A (**143**) et de son dérivé **144**

Tableau XV : Données RMN (100/400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) de l'ircinialactame A (143)

N°	δ <sub>C</sub> (ppm)/	mult.	δ <sub>H</sub> (ppm)
1'	43.70	CH <sub>2</sub>	4.08
2'	171.28	qC	
1	50.95	CH <sub>2</sub>	3.95
2	137.90	CH	6.88
3	137.98	qC	
4	171.41	qC	
5	26.04 <sup>a</sup>	CH <sub>2</sub>	2.18 <sup>e</sup>
6	26.04 <sup>a</sup>	CH <sub>2</sub>	2.18 <sup>e</sup>
7	123.90 <sup>b</sup>	CH	5.12
8	135.67	qC	
9	16.21 <sup>c</sup>	CH <sub>3</sub>	1.54 <sup>f</sup>
10	40.00 <sup>d</sup>	CH <sub>2</sub>	1.94 <sup>g</sup>
11	26.72	CH <sub>2</sub>	2.02 <sup>g</sup>
12	123.90 <sup>b</sup>	CH	5.07
13	135.64	qC	
14	16.08 <sup>c</sup>	CH <sub>3</sub>	1.54 <sup>f</sup>
15	40.00 <sup>d</sup>	CH <sub>2</sub>	1.94 <sup>g</sup>
16	25.72	CH <sub>2</sub>	1.27 <sup>h</sup>
17	36.63	CH <sub>2</sub>	1.31 <sup>h</sup>
			1.24
18	34.04	CH	2.58
19	21.22	CH <sub>3</sub>	0.98
20	111.62	CH <sub>2</sub>	5,14
21	143.51	qC	
22	167.05	qC	
23	94.29	qC	
24	171.41	qC	
25	6.85	CH <sub>3</sub>	1.60

<sup>a,b,e,f,g,h</sup> Signaux superposés, <sup>c</sup> Signaux interchangeables

<sup>d</sup> Signaux couverts par le pic du solvant

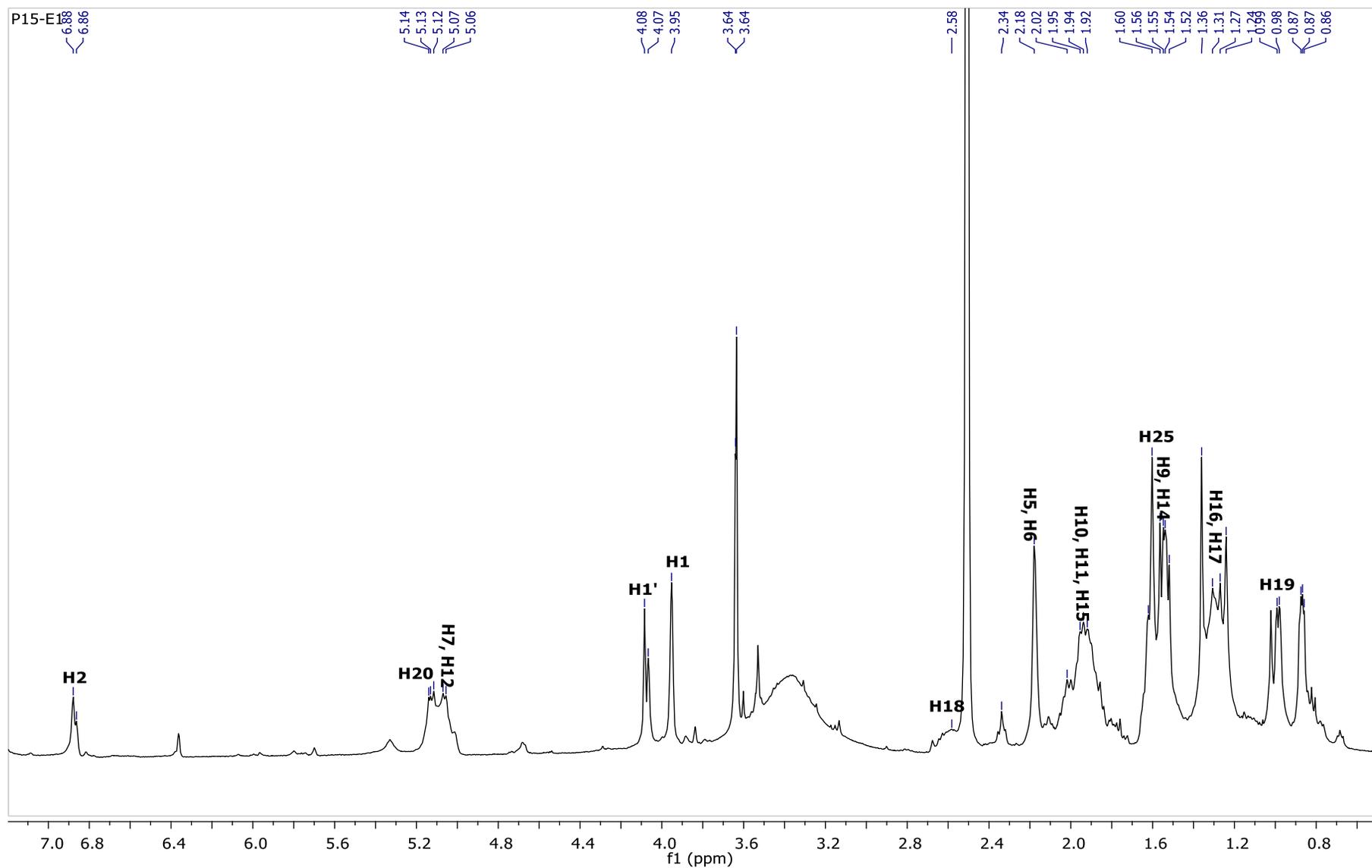


Figure 63 : spectre RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) de l'ircinialactame A(143)

IV.2.1.4. Elucidation structurale du composé 145

Le composé **145** (**figure 64**) a été isolé sous la forme d'une huile jaune claire. C'est un regioisomère du composé **146** et sa structure a été déduite de l'analyse de son spectre ESI-MS (pics d'ion pseudomoléculaire  $[M + H]^+$  de  $m/z$  536,20 et  $[M - H]^+$  de 534,33) et de la comparaison de son spectre RMN  $^1H$  (**figure 65**) avec celui du composé **146**.

En effet, les deux composés ont la même masse et presque les mêmes signaux RMN  $^1H$ , la seule différence se trouvant au niveau du fragment  $\gamma$ -lactame,  $\beta$ -substitué pour le composé **145** et se traduit par les signaux des protons H-2 ( $\delta_H$  5,73) et H-4 ( $\delta_H$  3,63).

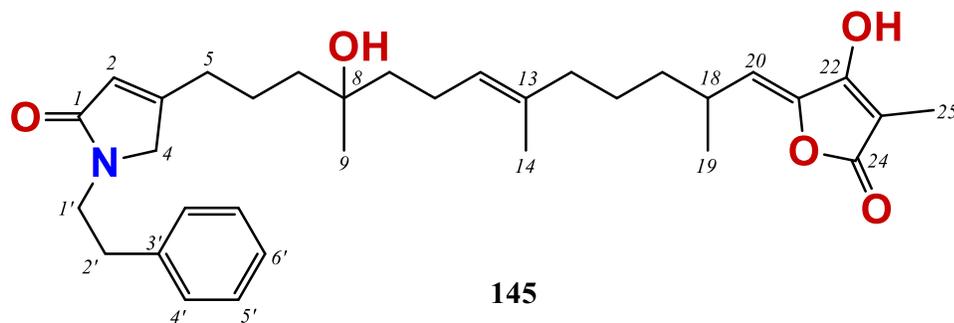


Figure 64 : Structure du composé 145

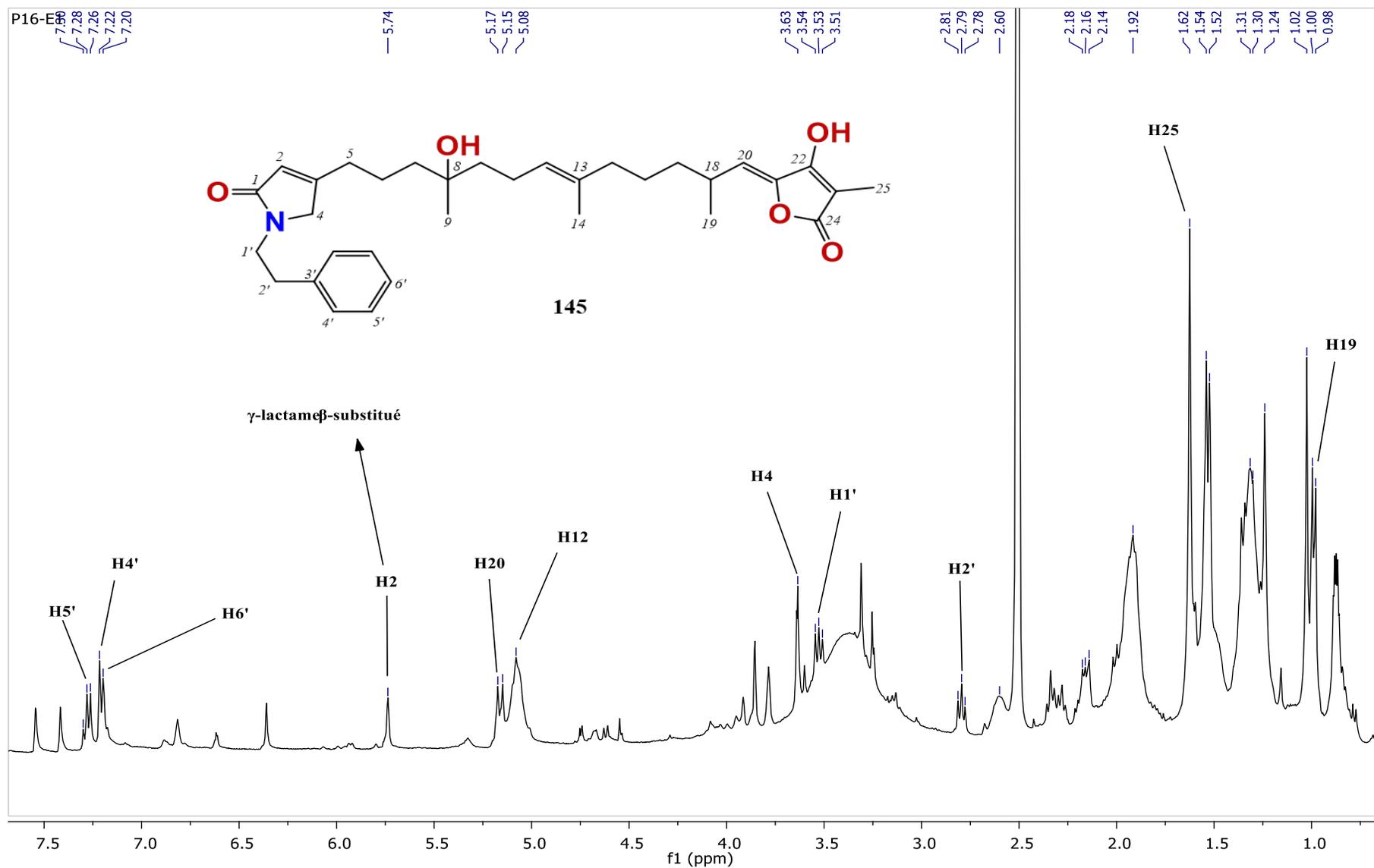


Figure 65 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) du composé 145

## IV.2.1.5. Elucidation structurale du composé 146

Le composé **146** (**figure 66**) a été isolé sous la forme d'une huile jaune claire. Sa formule brute,  $C_{33}H_{45}NO_5$ , a été déduite de l'analyse du spectre HRESI (+) MS (ion pseudomoléculaire  $[M + H]^+$  de  $m/z$  536,3271 ;  $\Delta = 2,7$  ppm). L'ensemble des données spectrales (SM, SMHR, RMN) et des chromatogrammes obtenus par CLHP et CLHP-SM, couplé aux données de la bibliographie, notamment celles relatives aux Irciniidae, nous a permis de déduire la structure du composé. L'analyse des spectres RMN (**figures 67-71**) du composé révèle la présence des carbones C-5 à C-25 de la 8-hydroxyvariabiline <sup>122</sup> ; avec les configurations *E* pour  $\Delta^{12,13}$  (C-14 ;  $\delta_C$  15,17) et *Z* pour  $\Delta^{20,21}$  (C-20 ;  $\delta_C$  111,03) (**Tableau XVI**). La différence entre les deux structures est liée à la partie restante de formule  $C_{12}H_{12}NO$ . Celle-ci est constituée d'un fragment  $\gamma$ -lactame  $\alpha$ -substitué confirmé d'une part par le couplage entre le proton oléfinique H-2 à  $\delta_H$  6,77 et les protons méthyléniques H<sub>2</sub>-1 à  $\delta_H$  3,79 et d'autre part par leur corrélation HMBC avec le carbone C-4 à  $\delta_C$  171,40 et d'un noyau aromatique terminal (monosubstitué). Ce dernier est mis en évidence par les signaux des protons H-4', H-5' et H-6' observés respectivement à  $\delta_H$  7,21, 7,27 et 7,19 et par les signaux des carbones C-3', C-4', C-5' et C-6' observés respectivement à  $\delta_C$  139,06, 128,50 ; 128,29 et 126,11. La connexion en 1'-2' entre le noyau aromatique et la  $\gamma$ -lactame se traduit par le couplage entre les protons H-1' à  $\delta_H$  3,57 et H-2' à  $\delta_H$  2,80 et les corrélations HMBC entre le proton H-1' et les carbones C-1 à  $\delta_C$  50,53, C-4 et C-3' et entre le proton H-2' et les carbones C-4'.

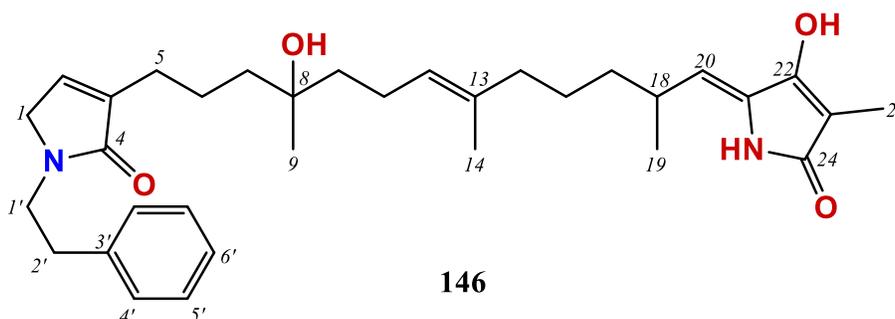


Figure 66 : Structure du composé 146

Tableau XVI : Données RMN (100/400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) du composé 146

N°	δ <sub>C</sub> (ppm)/	mult.	δ <sub>H</sub> (ppm)/ J (Hz)/ mult.			COSY	HMBC
1'	43,03	CH <sub>2</sub>	3,57	6,0	t	2'	2', 3', 1, 4
2'	34,11	CH <sub>2</sub>	2,80	6,0	t	1'	1', 3', 4'
3'	139,06	qC					
4'	128,50	CH	7,21		m	5'	2', 6'
5'	128,29	CH	7,27		m	4', 6'	3', 4'
6'	126,11	CH	7,19		m	5'	4'
1	50,53	CH <sub>2</sub>	3,79		m	2	2, 3
2	135,54	CH	6,77		m	1	1, 4
3	138,59	qC					
4	170,46	qC					
5	25,93	CH <sub>2</sub>	2,09	6,0	t	2, 6	2, 3, 4, 6
6	21,81	CH <sub>2</sub>	1,46		m	5, 7	
7	41,56	CH <sub>2</sub>	1,34 <sup>a</sup>		m	6	
8	70,37	qC					
9	26,69	CH <sub>3</sub>	1,01		s		7, 8, 10
10	41,07	CH <sub>2</sub>	1,34			11	
11	22,07	CH <sub>2</sub>	1,91 <sup>b</sup>			10, 12	10, 12, 13
12	124,79	CH	5,06	6,0	t	11	10, 11, 14, 15
13	133,83	qC					
14	15,47	CH <sub>3</sub>	1,51		s		12, 13, 15
15	39,15	CH <sub>2</sub>	1,89 <sup>b</sup>			16	12, 13
16	25,20	CH <sub>2</sub>	1,30 <sup>a</sup>			15, 17	
17	36,15	CH <sub>2</sub>	1,31 <sup>a,c</sup> 1,21 <sup>c</sup>			16, 18	
18	29,92	CH	2,57		m	17, 19, 20	
19	20,67	CH <sub>3</sub>	0,97	8,0	d	18	17, 18, 20
20	111,03	CH	5,12	8,0	d	18	17, 19, 21, 22
21	144,96	qC					
22	166,40						
23	93,64	qC					
24	171,25	qC					
25	6,32	CH <sub>3</sub>	1,60		s		22, 23, 24

<sup>a,b</sup> Signaux superposés. <sup>c</sup> <sup>1</sup>H attributions confirmées par les expériences de HSQC

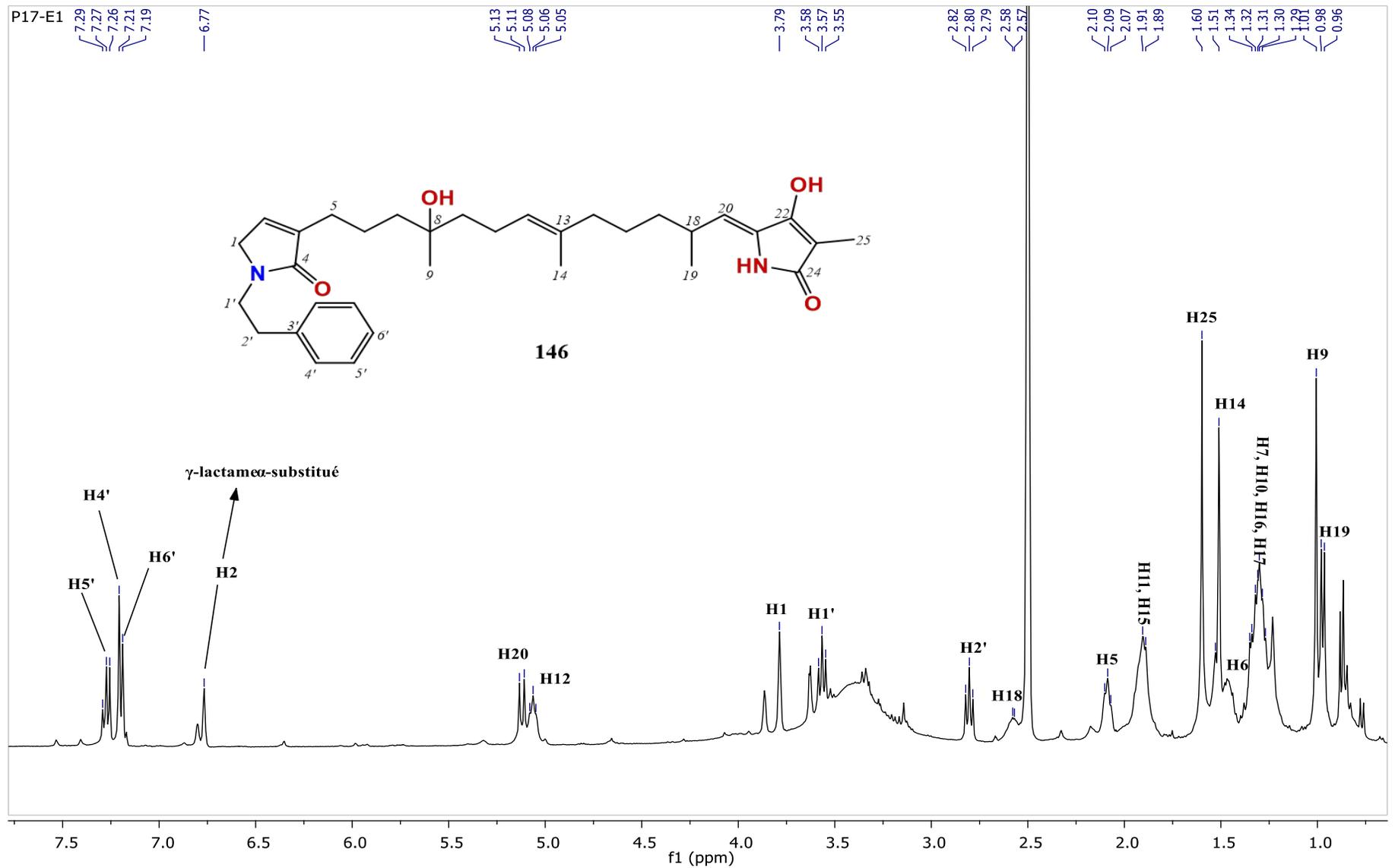


Figure 67 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) du composé 146

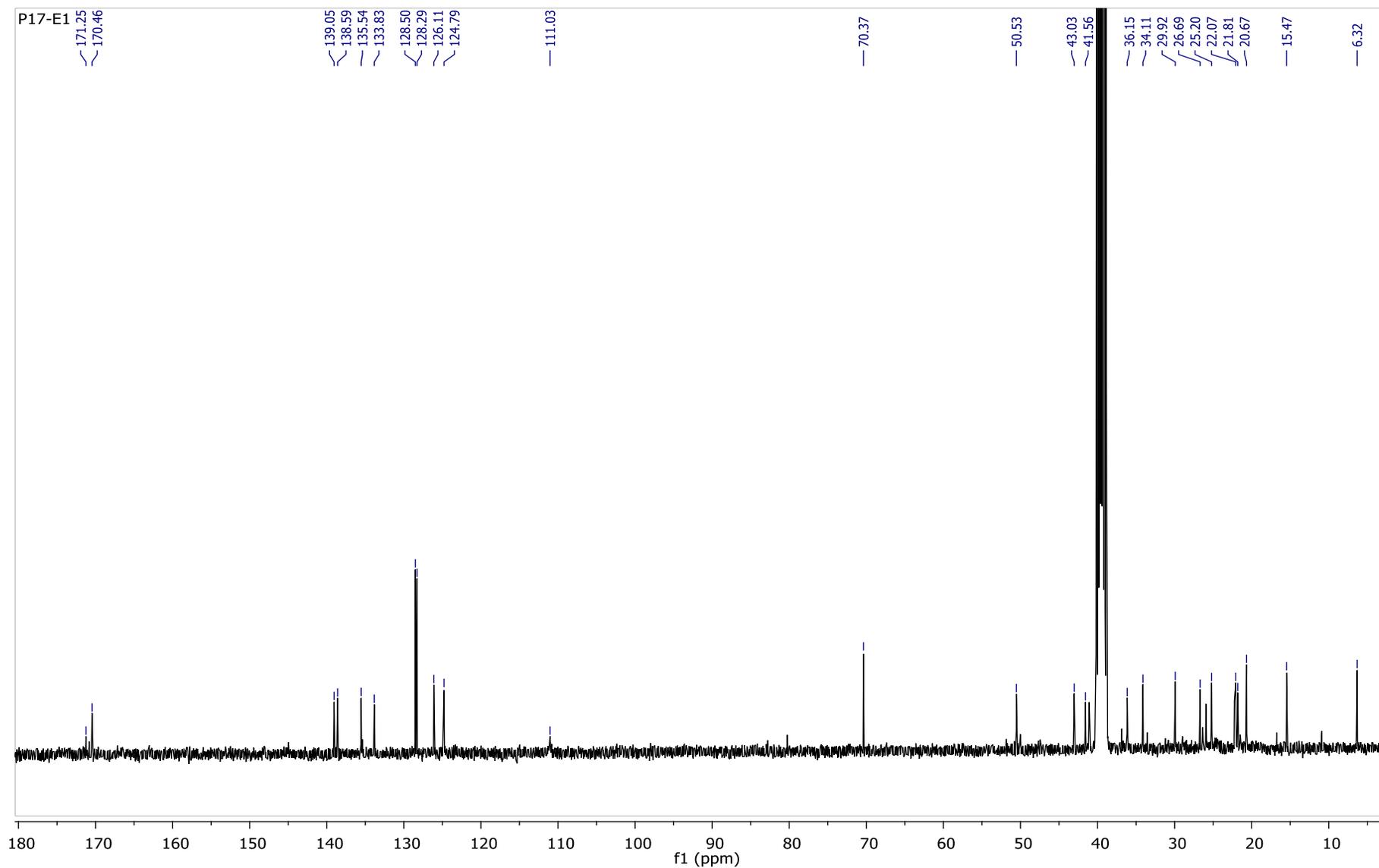


Figure 68 : Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ ) du composé 146

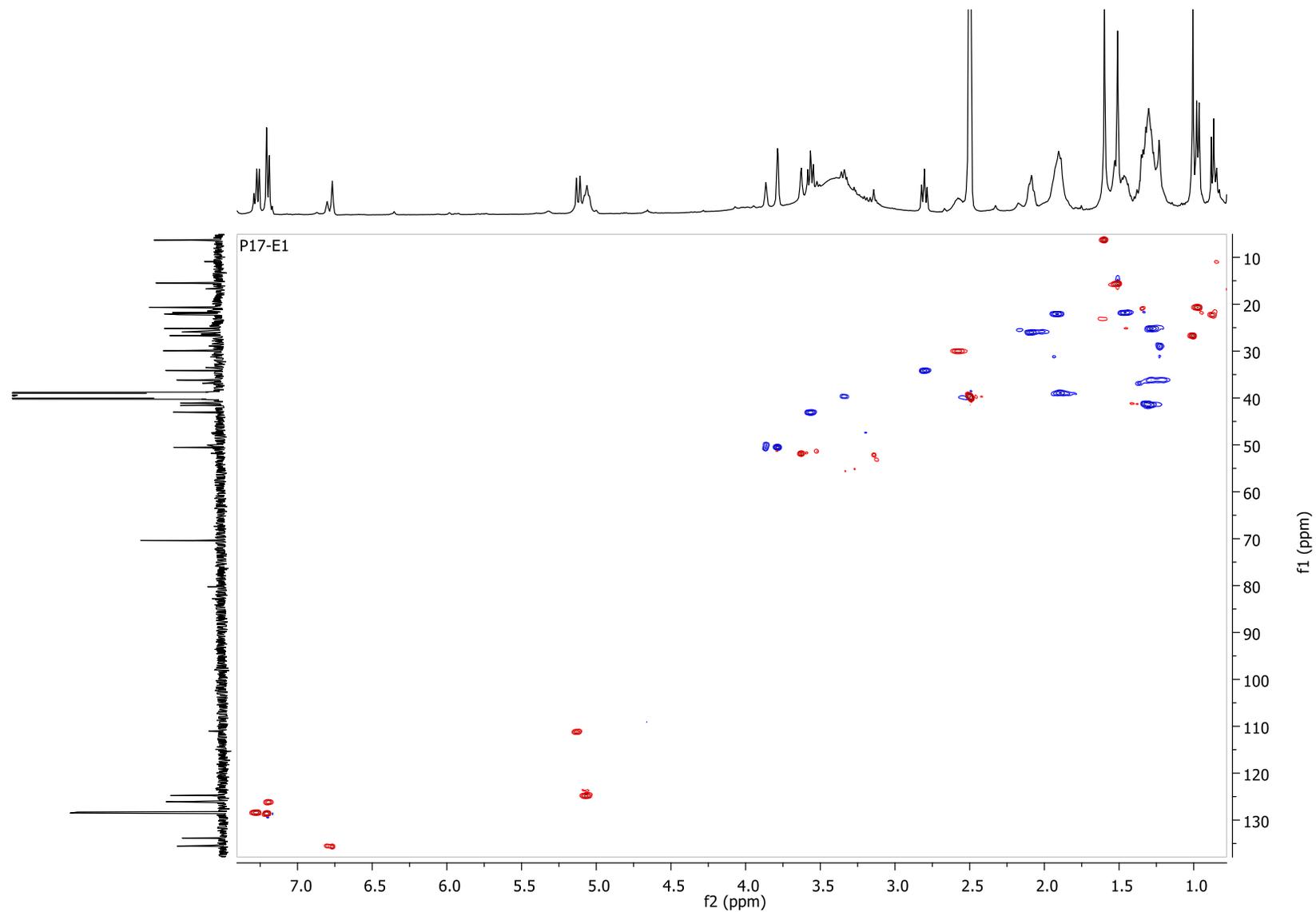


Figure 69 : Spectre HSQC (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) du composé 146

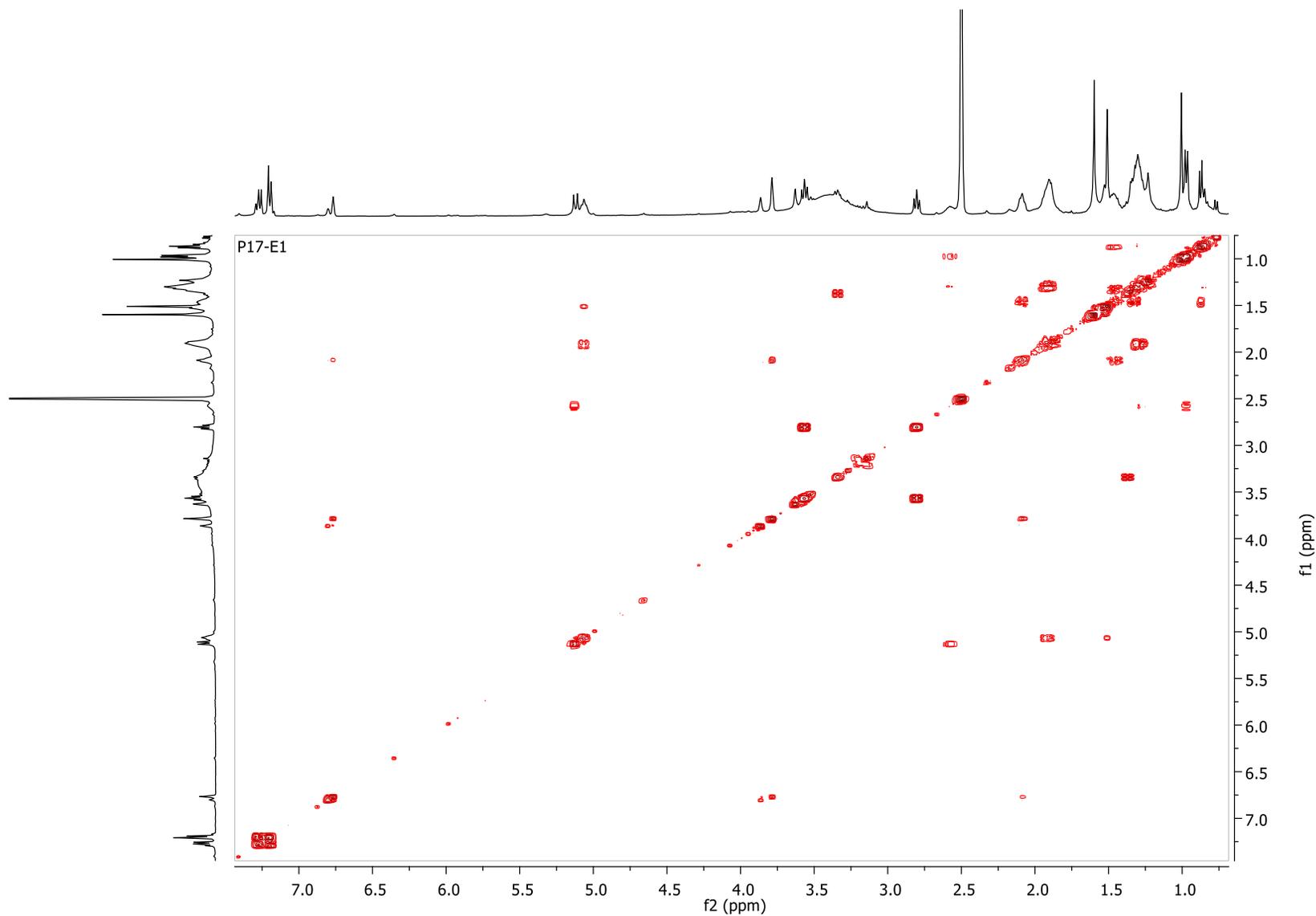


Figure 70 : Spectre COSY (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) du composé 146

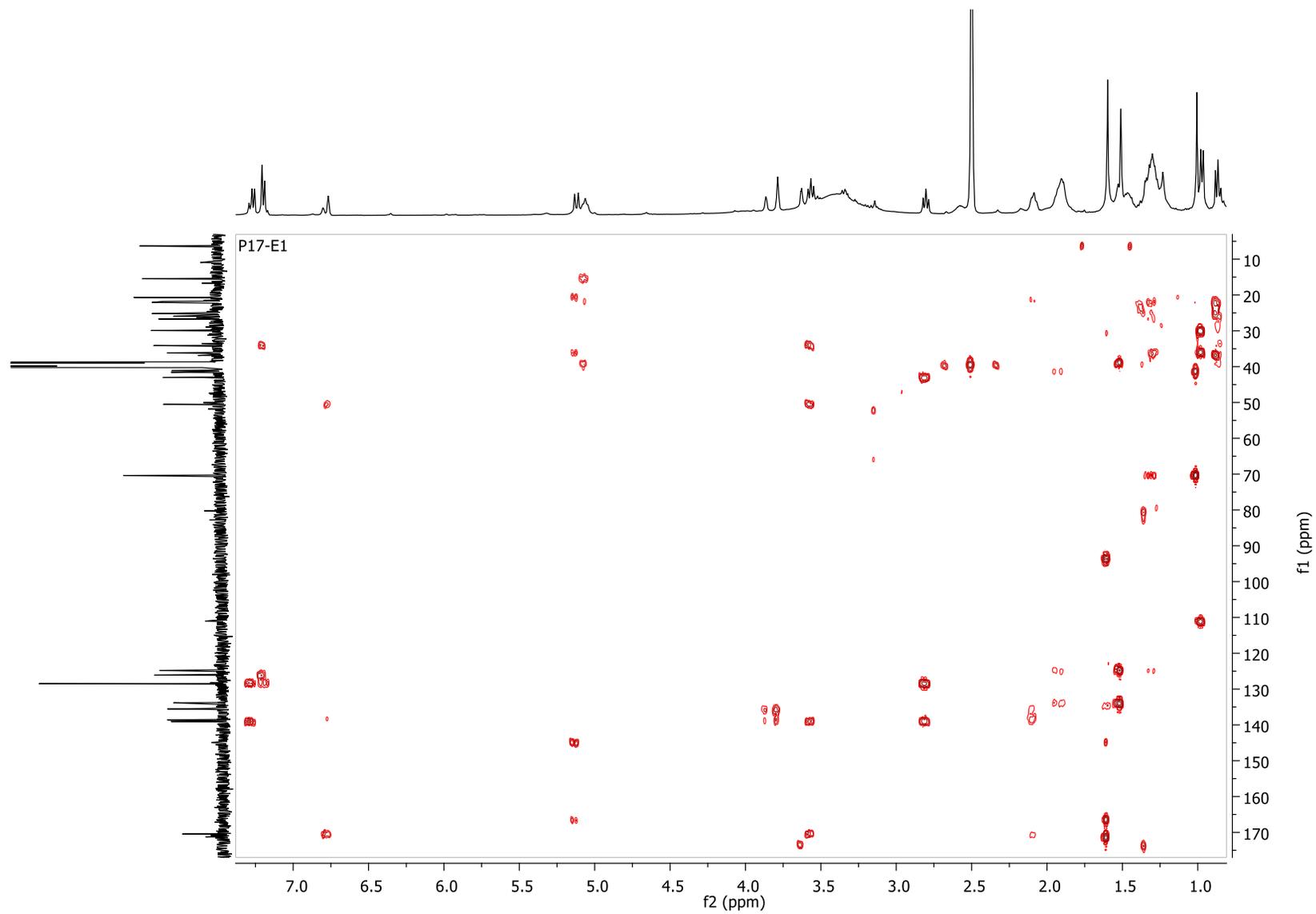
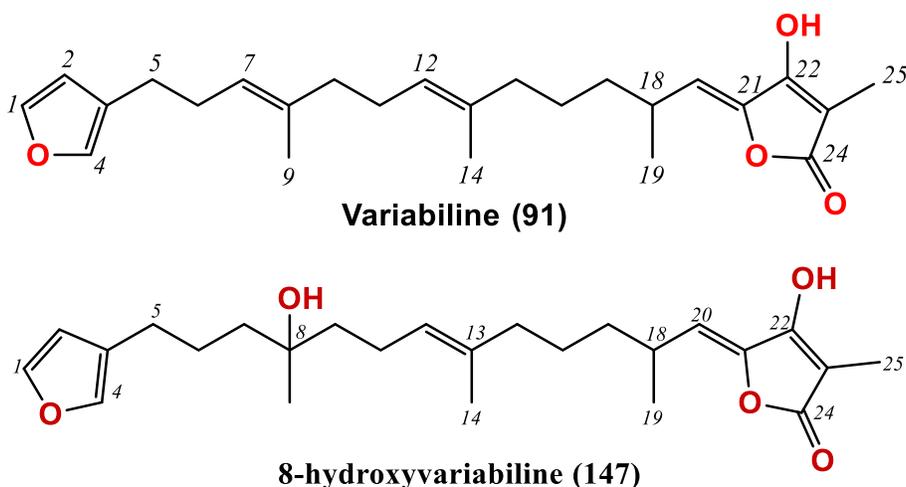


Figure 71 : Spectre HMBC (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) du composé 146

### IV.3. Conclusion

Les structures des composés **137**, **141**, **142**, **143**, **144**, **145** et **146** élucidées ici sont caractérisées par la présence d'un fragment  $\gamma$ -lactame  $\alpha$  ou  $\beta$ -substitué et d'un fragment acide tétronique (ouvert dans certains cas), reliés par une chaîne terpénique. Les structures des composés **133-135** et **137-139** n'ont pas pu être élucidées car nous n'avons pas pu enregistrer tous les spectres RMN. Cependant, ils présentent tous des fragments  $\gamma$ -lactame ;  $\alpha$ -substitué pour les composés **134** (H-2 ;  $\delta_H$  6,84), **135** (H-2 ;  $\delta_H$  6,80), **136** (H-2 ;  $\delta_H$  6,85), **138** (H-2 ;  $\delta_H$  6,89) et **140** (H-2 ;  $\delta_H$  6,89) et  $\beta$ -substitué pour le composé **139** (H-2 ;  $\delta_H$  5,80). Et comme pour les composés **141** et **143** d'une part et **145** et **146** d'autre part, les composés **139** et **140** sont deux regioisomères. Ces composés dérivent tous de la variabiline qui est isolée ici comme métabolite secondaire majoritaire. Ainsi les structures des composés **147** (8-hydroxyvariabiline) et **91** (variabiline) ont été déduites de ce lien biosynthétique combiné aux données spectroscopiques MS (pics d'ion pseudomoléculaire  $[M + H]^+$  de  $m/z$  397,27 et  $[M + H]^+$  de  $m/z$  415,20 respectivement pour les composés **91** et **147** et RMN (figures 72-73). Les composés **142** et **144** sont des produits de l'ouverture du fragment acide tétronique respectivement des composés **141** et **143** durant la purification.



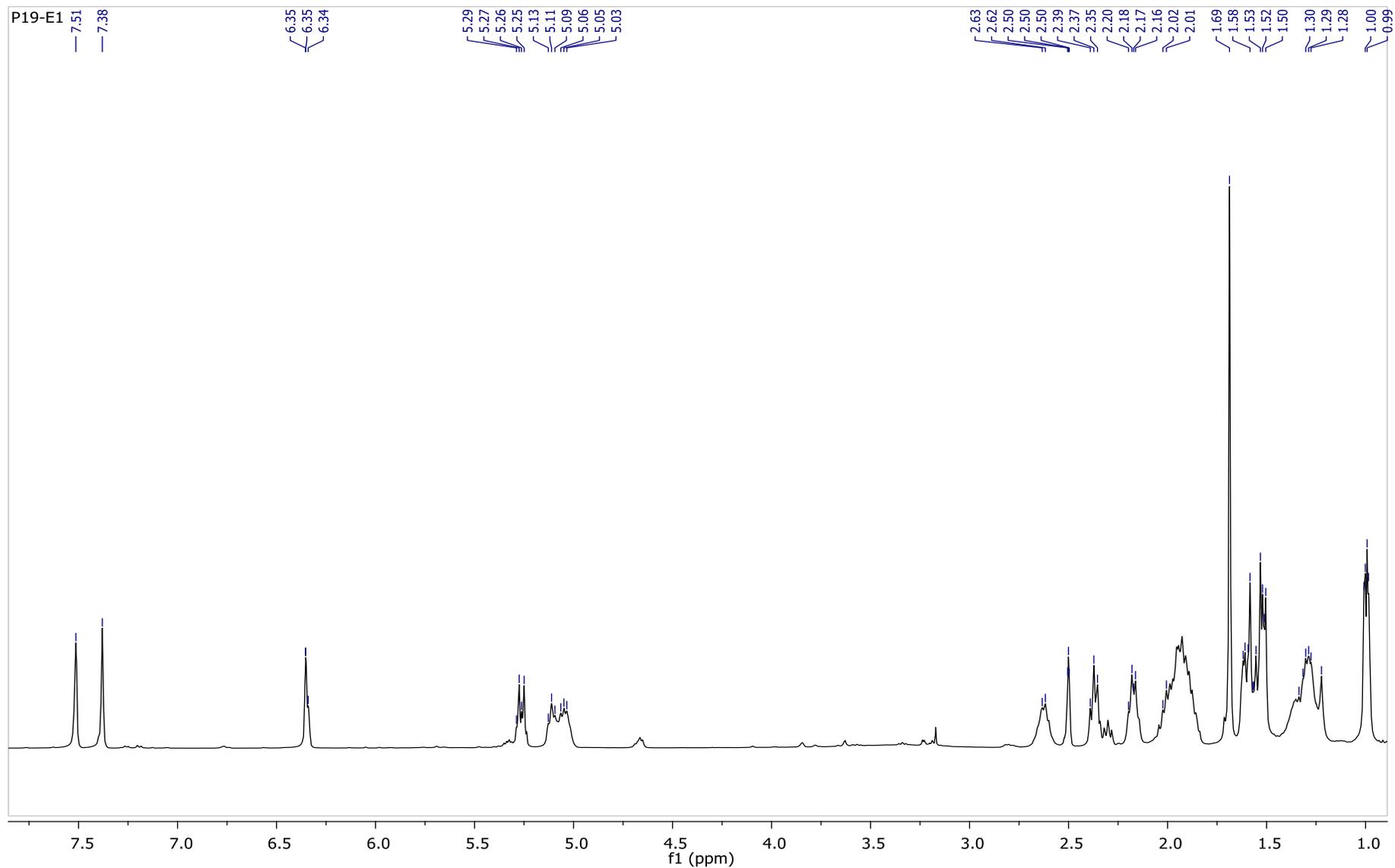


Figure 72 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) de la variabiline (91)

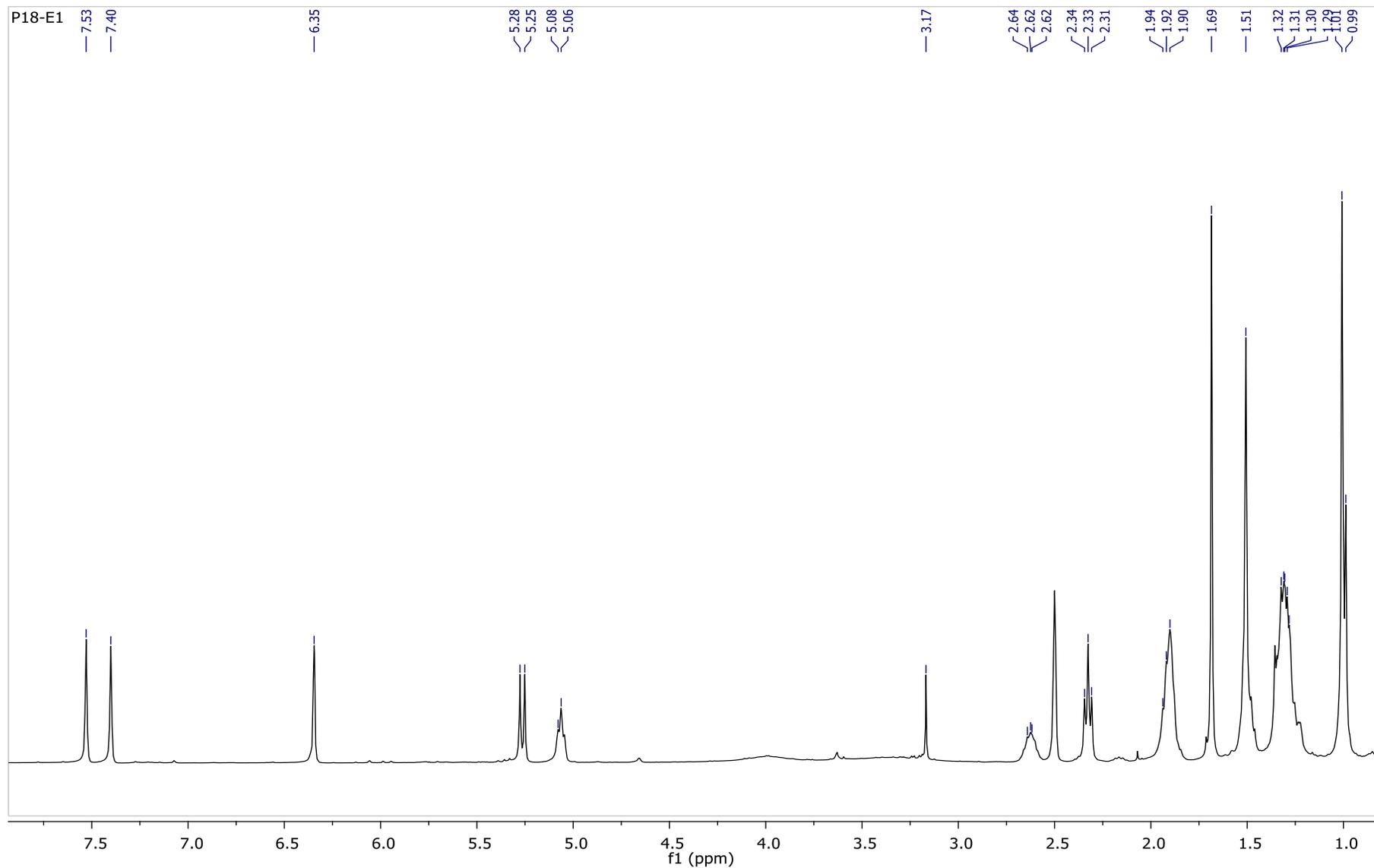
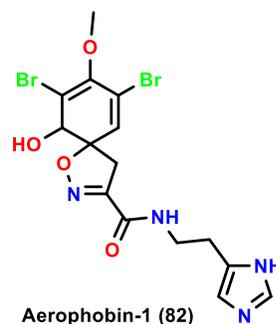
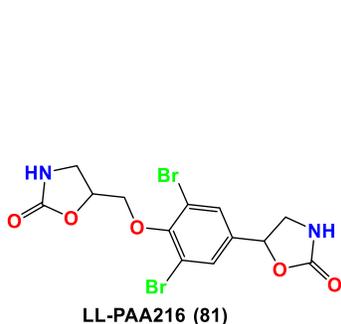


Figure 73 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) de la 8-hydroxyvariabiline (147)

**Chapitre 5 : Résultats des évaluations biologiques**

L'objectif de la seconde partie de ce travail étant la recherche d'activités biologiques, nous avons soumis deux composés à l'évaluation des activités antimicrobiennes. Les tests ont été réalisés au laboratoire universitaire de biodiversité et écologie microbienne (LUBEM) de l'université Bretagne Occidentale par le Dr. Gaëtan Burgaud.

Les composés étudiés sont la LL-PAA216 (**81**) et l'aerophobin-1 (**82**).



Ils ont été testés pour leurs propriétés anti-infectieuses sur quatre souches bactériennes Gram négatif : *Escherichia coli* ATCC25922, *Salmonella enterica* CIP8297, *Klebsiella oxytoca* CIP7932 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 et quatre souches bactériennes Gram positif : *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Enterococcus faecalis* CIPA186, *Streptococcus equinus* NRRLB4268 et *Listeria monocytogenes* 80R100. Les résultats, exprimés en concentration minimale inhibitrice (CMI), ont été observés après 24h (**tableau XVII**).

**Tableau XVII** : Activité inhibitrice de la LL-PAA216 et de l'aerophobin-1 isolée de *P. purpurea* sur les huit souches bactériennes

Souches bactériennes	Inhibition de la croissance CMI (µg/mL)	
	LL-PAA216 (81)	Aerophobin-1 (82)
<i>Escherichia coli</i>	320	-
<i>Salmonella enterica</i>	320	-
<i>Klebsiella oxytoca</i>	320	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	160	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-
<i>Streptococcus equinus</i>	320	-
<i>Listeria monocytogenes</i>	-	-

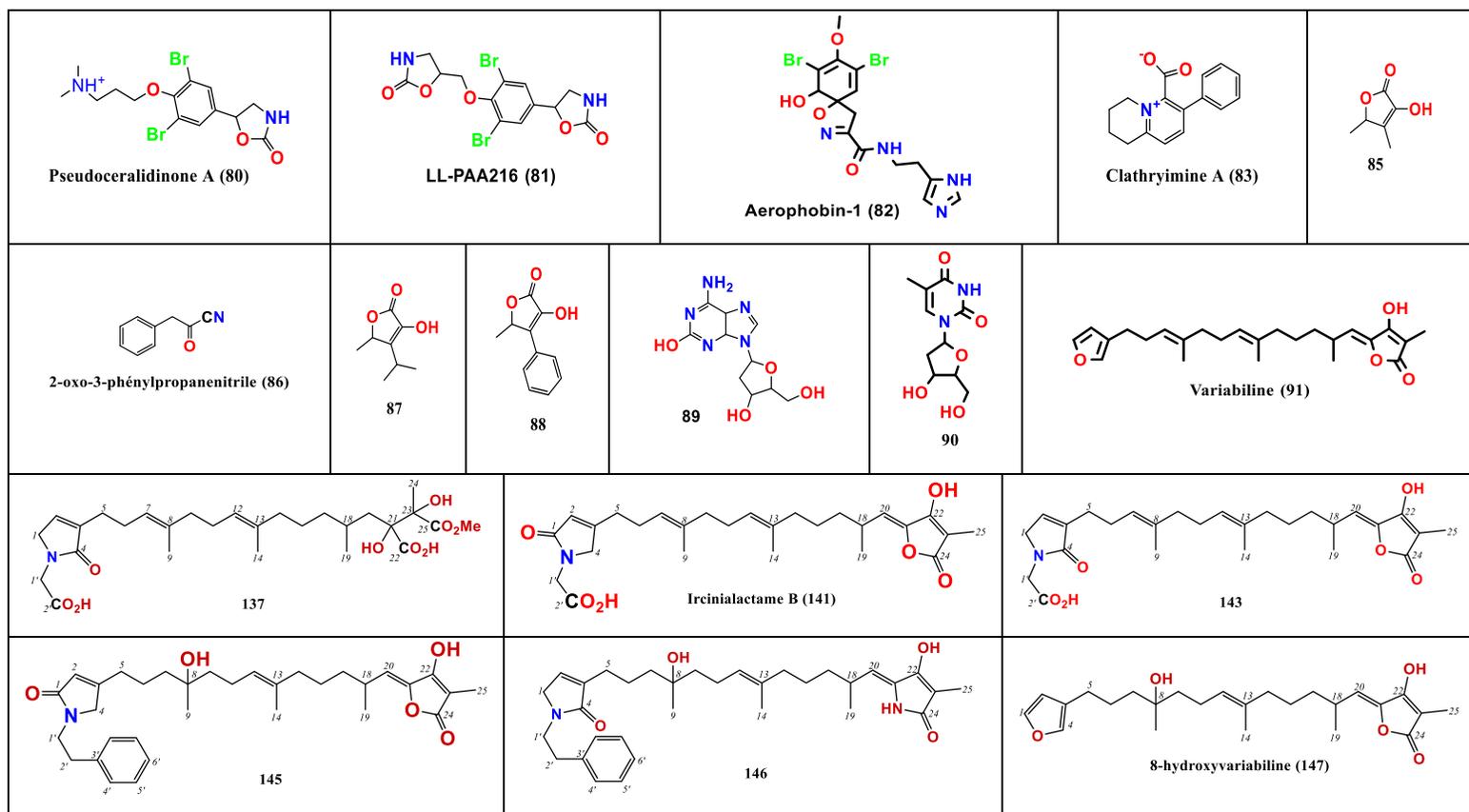
La LL-PAA216 (81) a montré une faible activité inhibitrice contre *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Klebsiella oxytoca*, *Streptococcus equinus* avec une CMI = 320 µg/mL et *Staphylococcus aureus* avec une CMI = 160 µg/mL et n'a eu aucun effet sur *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis* et *Listeria monocytogenes* alors que l'aerophobin-1 (82) n'a montré aucune activité sur les huit souches bactériennes.

## **Conclusion générale**

## Conclusion générale

L'objectif du travail de recherche que nous nous étions fixés dans cette thèse était d'effectuer l'étude chimique de trois éponges collectées au large de la côte sénégalaise, afin d'isoler et de caractériser des métabolites nouveaux et originaux et enfin faire une recherche d'activité biologique sur ces derniers. L'isolement de ces métabolites a été fait par macération des éponges suivie d'une série d'extractions sur phase solide avec des solvants de polarité décroissante ensuite d'une séparation sur colonne (sephadex LH-20, diaion HP-20) et enfin d'une purification par HPLC en phase inverse. Deux de ces métabolites ont été testés sur huit souches bactériennes pour évaluer leur activité biologique.

Ainsi, sur les trois éponges étudiées, 24 molécules ont été isolées, 17 molécules dont 5 nouveaux ont pu être caractérisées.



L'étude de l'éponge *P. purpurea* nous a permis d'isoler la pseudoceralidinone A (**80**), la LL-PAA216 (**81**) et l'aerophobin-1 (**82**), des bromotyrosines qui sont des marqueurs chimiotaxonomiques de l'ordre des vérongidées. La LL-PAA216 (**81**) a montré une faible activité contre *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Klebsiella oxytoca*, *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus equinus* alors que l'aerophobin-1 (**82**) n'a montré aucune activité.

Du Dictyocératide, nous avons isolé 8 composés et caractérisé 7 dont deux nucléosides (**89-90**). Deux de ces composés (**85** et **87**) sont nouveaux et trois (**86**, **88** et **90**) ont été isolés pour la première fois d'un organisme vivant. La clathryimine A (**83**) et les  $\gamma$ -hydroxybuténolides (**85**, **87** et **88**) nous ont permis d'identifier le Dictyocératide comme étant du genre *Luffariella*.

L'étude de l'*Ircinia sp.* nous a permis d'isoler des sesterterpènes dérivés de la variabiline (**91**) elle-même isolée comme composé majoritaire. Ces dérivés sont caractérisés par la présence d'un fragment  $\gamma$ -lactame  $\alpha$  ou  $\beta$ -substitué et d'un fragment acide tétronique (ouvert dans certains cas), reliés par une chaîne terpénique. Les molécules de cette classe structurale ont montré d'intéressantes activités biologiques (modulatrice des récepteurs de la glycine et antiprotozoaire) ; notre objectif est d'en collecter davantage lors d'une prochaine purification pour pouvoir caractériser complètement (stéréochimie comprise) les structures élucidées ou non et faire une étude de leurs activités biologiques.

## **Partie expérimentale**

## **I. Matériels**

### **I.1. Solvants et réactifs**

L'intégralité des solvants utilisés (Méthanol : MeOH, eau : H<sub>2</sub>O, dichlorométhane : CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, acétonitrile : ACN) ainsi que l'acide formique (af) sont de pureté chromatographique HPLC minimum (Merck).

### **I.2. Chromatographie sur colonne**

Plusieurs techniques et supports ont été utilisés lors des purifications :

- Chromatographie sur colonne en phase inverse, généralement SPE : gel de silice greffée C18 (60-80  $\mu$ m, Macherey-Nagel), utilisée dans des cartouches SPE reliées à un manifold soumis à une pression obtenue grâce à une pompe reliée au système.
- Résines : Chromatographie de perméation sur gel : gel de Sephadex LH-20 (GE HealthCare) suspendu dans un solvant approprié et versé dans une colonne avant élution avec le même solvant. Chromatographie en phase inverse : Diaion HP-20 (Supelco) suspendu dans l'eau et versé dans une colonne avant élution avec l'eau et le méthanol.

### **I.3. Instruments**

#### **I.3.1. HPLC analytique et semi-préparative**

##### **I.3.1.1. Analyse et purification en routine**

- Pompe : Alliance Waters 2695
- Détecteurs : PhotoDiode Array Waters 996 et DEDL Shimadzu ELSD LT
- Logiciel : Empower 2
- Colonnes analytiques : Macherey-Nagel Nucleodur Sphinx RP de phase propylphényl-C18 (4,6 x 100 mm, 5  $\mu$ m).

- Colonnes semi-préparatives : Macherey-Nagel Nucleodur Sphinx RP de phase propylphényl-C18 (10 x 250 mm, 5  $\mu$ m).

En analyse de routine (empreinte métabolomique des extraits bruts à 10 mg/mL), la colonne utilisée est la Sphinx RP, les longueurs d'ondes de détection sont programmées à 214, 254 et 280 nm, le débit est de 1 mL/min et le gradient d'élution est celui présenté dans le tableau suivant :

**Tableau.** Gradient de l'analyse de routine.

Temps /min	Phase mobile /%	
	H <sub>2</sub> O + 0,1% CH <sub>3</sub> COOH	ACN + 0,1% CH <sub>3</sub> COOH
0	90	10
5	90	10
30	0	100
35	0	100
45	90	10
60	90	10

### **I.3. LC-MS et MS/MS**

Différents spectromètres de masse ont pu être utilisés en fonction du type d'analyse à réaliser. Concrètement, un appareil en basse résolution et deux appareils en haute résolution ont permis d'obtenir l'ensemble des résultats de cette thèse aussi bien en spectrométrie de masse qu'en spectrométrie de masse en tandem.

#### **I.3.1. Spectromètre de masse à basse résolution**

- Pompe HPLC : Agilent 1100 équipé d'un détecteur UV à barrettes de diodes
- Source : Ionisation electrospray
- Spectromètre de masse : Thermo LCQ Advantage
- Analyseur : Trappe ionique
- Logiciel : Xcalibur 2.0.7

#### **I.3.2. Spectromètre de masse à haute résolution (1)**

- Pompe HPLC : Thermo Dionex Ultimate 3000
- Source : Ionisation electrospray

- Spectromètre de masse : Thermo LTQ-Exactive Plus
- Analyseur : Orbitrap
- Logiciel : Xcalibur 2.2

### **I.3.3. Spectromètre de masse à haute résolution (2)**

- Pompe HPLC : Thermo Dionex Ultimate 3000
- Source : Ionisation electrospray
- Spectromètre de masse : Bruker Daltonics
- Analyseur : Bruker micrOTOF II
- Logiciel : Data Analysis

## **I.4. RMN**

Les spectres RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  sont enregistrés par deux spectromètres :

- Spectromètres : Bruker Avance 400 MHz ou 500 MHz
- Application : MestReNova

Les déplacements chimiques ( $\delta$ ) sont exprimés en ppm et les constantes de couplage ( $J$ ) en Hz.

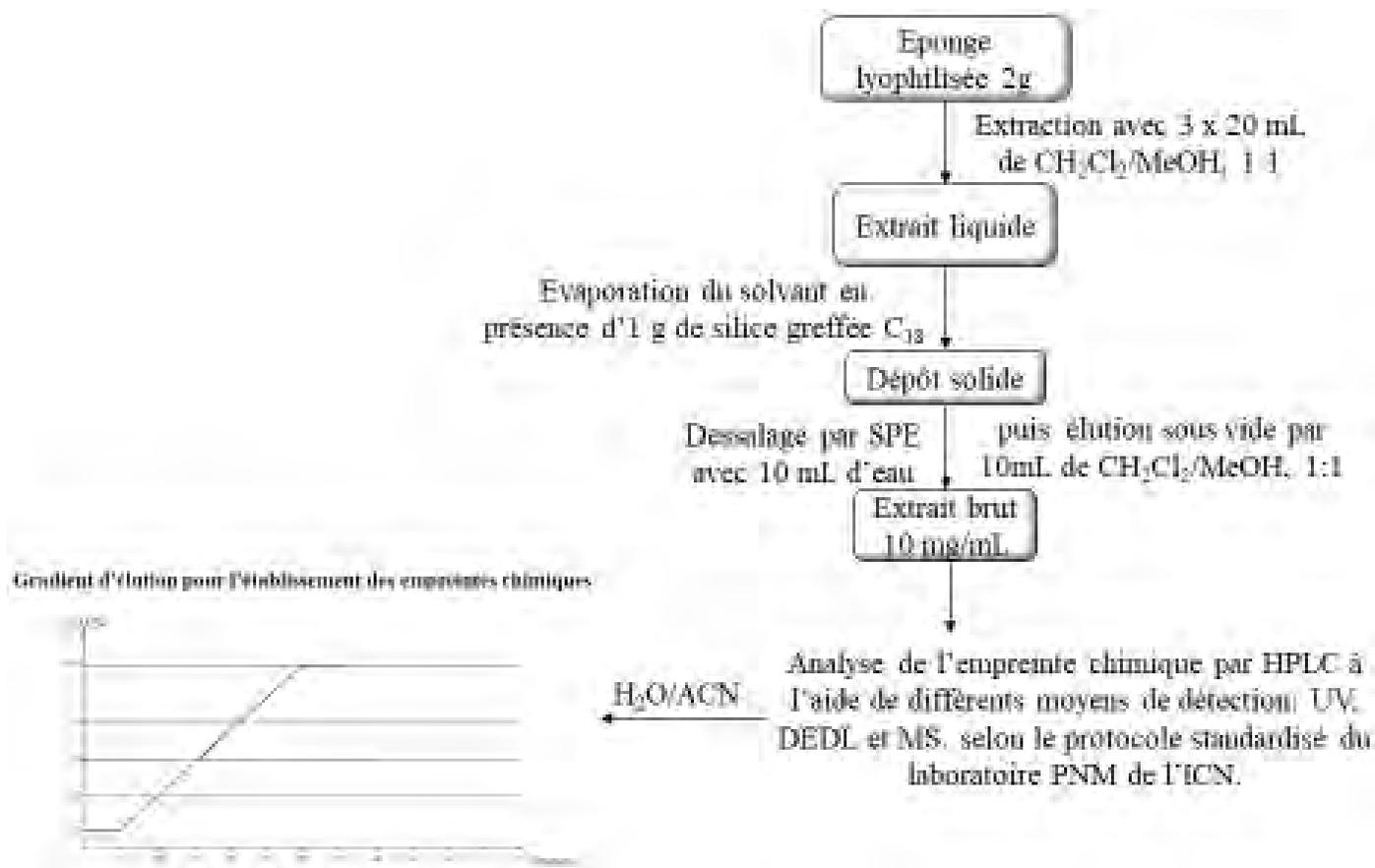
Lors de la résolution des spectres RMN, les abréviations suivantes ont été utilisées : *s* (singulet), *d* (doublet), *t* (triplet), *q* (quadruplet), *dd* (doublet de doublet), *m* (multiplet) et *b* (signal large).

Les solvants deutérés utilisés pour solubiliser les échantillons ont permis de calibrer les signaux des protons et des carbones ( $\text{D}_2\text{O}$  :  $\delta_{\text{H}} = 4,79$  ppm ;  $\text{CDCl}_3$  :  $\delta_{\text{H}} = 7,26$  ppm et  $\delta_{\text{C}} = 77,2$  ppm ; *d*<sub>4</sub>-MeOH :  $\delta_{\text{H}} = 3,31$ ,  $\delta_{\text{C}} = 49,0$  ; *d*<sub>6</sub>-DMSO :  $\delta_{\text{H}} = 2,50$  ppm et  $\delta_{\text{C}} = 39,5$  ppm). Les signaux sont attribués d'après les expériences 1D ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) associées aux expériences 2D ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY,  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  NOESY,  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC,  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC).

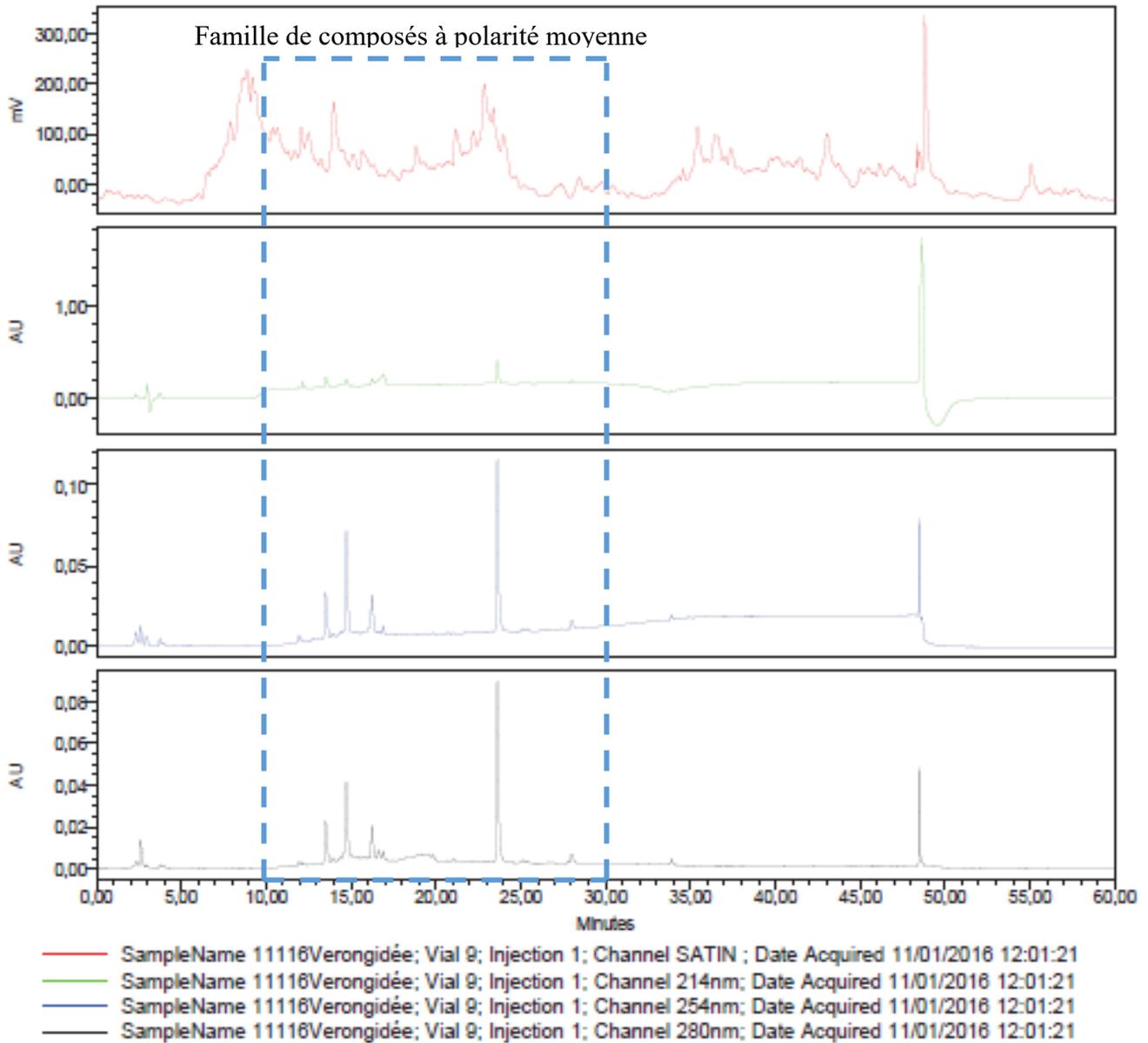
Pour les produits naturels connus, les données RMN sont comparées à la bibliographie existante.

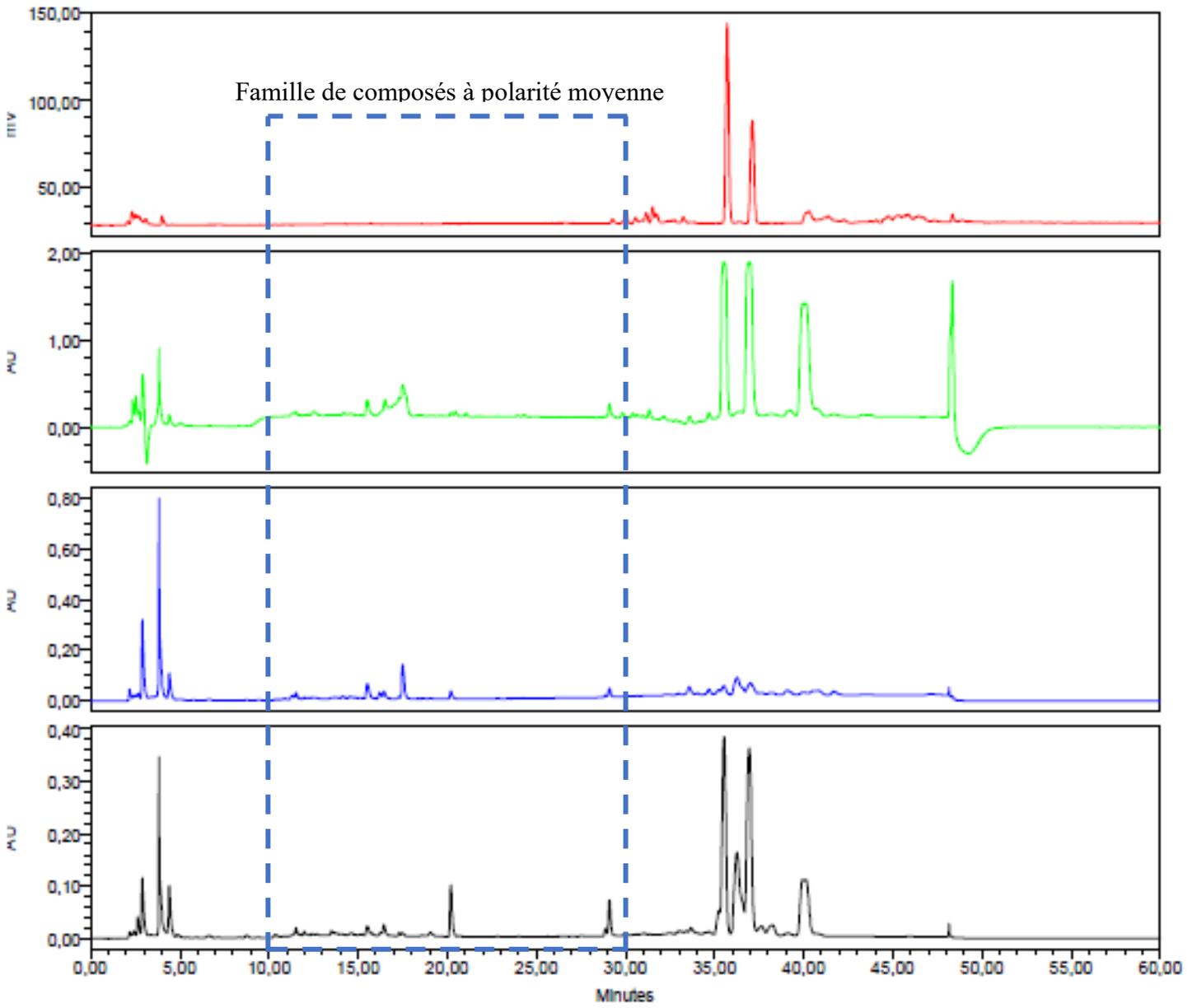
## II. Méthodes

### II.1. Analyse de l’empreinte chimique des éponges



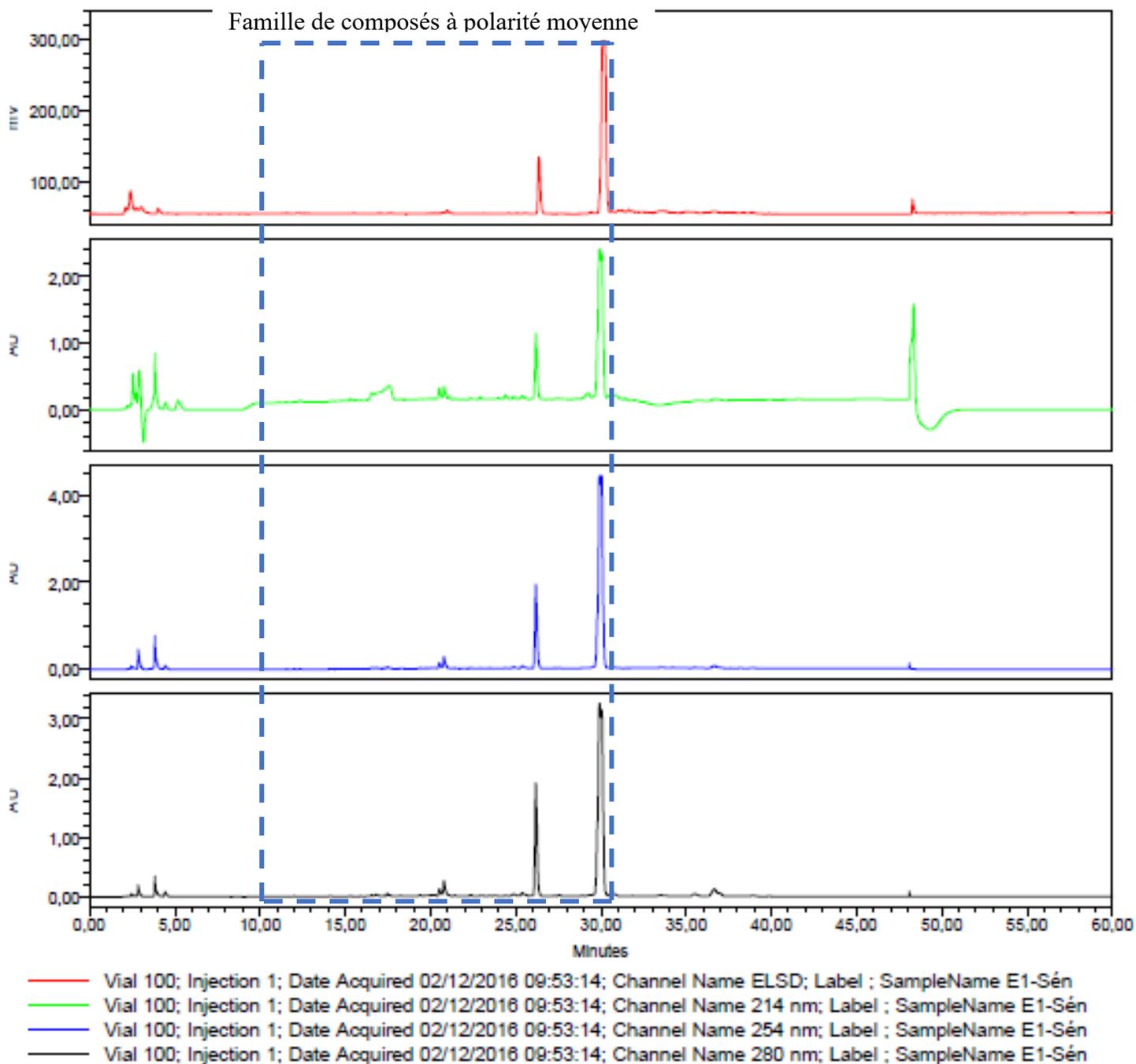
Les chromatogrammes obtenus après analyse HPLC montrent le plus souvent trois familles de composés : polaires entre 5 et 10 min, de polarité moyenne entre 10 et 30 min et apolaire entre 30 et 45 min. Selon le protocole standard du laboratoire, la famille de composés de polarité moyenne est celle qui nous intéresse (figures ci-dessous). Ainsi, lorsque les empreintes chimiques d’une espèce sont intéressantes, l’isolement et la caractérisation des différents métabolites secondaires sont envisagés. Le fractionnement peut être bio- et/ou chimioguidé en fonction des espèces étudiées.

Profil HPLC analytique de *P. purpurea*



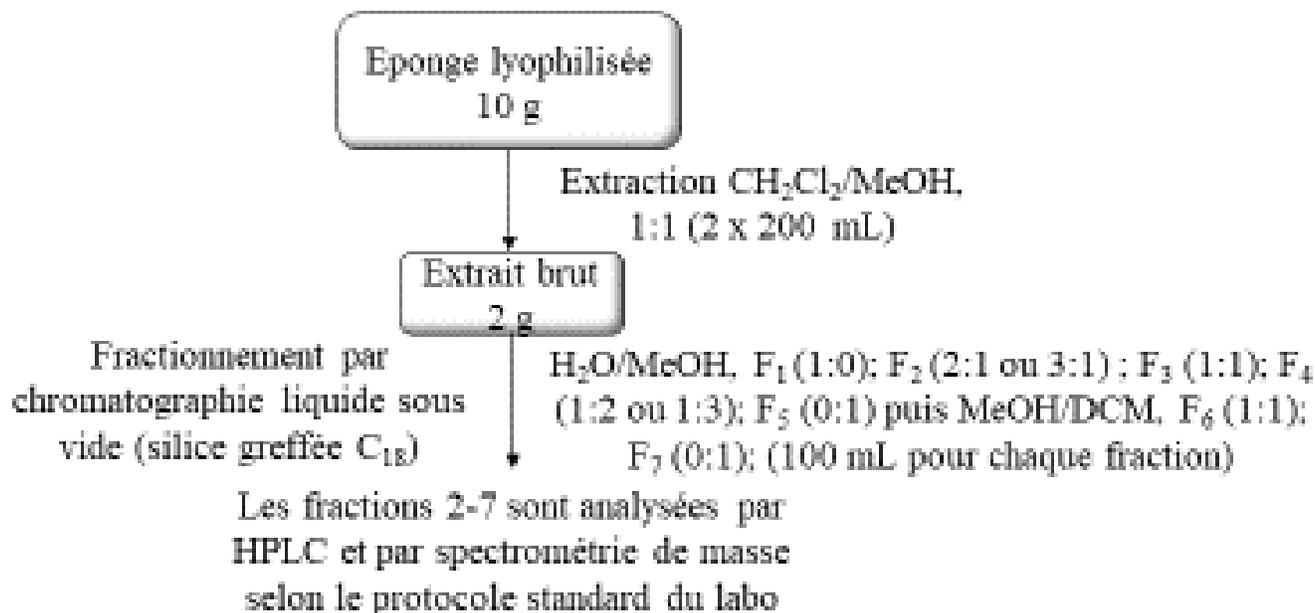
- Vial 70; Injection 1; Date Acquired 06/12/2016 13:41:13; Channel Name ELSD; Label ; SampleName IRCINIA-SEN
- Vial 70; Injection 1; Date Acquired 06/12/2016 13:41:13; Channel Name 214 nm; Label ; SampleName IRCINIA-SEN
- Vial 70; Injection 1; Date Acquired 06/12/2016 13:41:13; Channel Name 254 nm; Label ; SampleName IRCINIA-SEN
- Vial 70; Injection 1; Date Acquired 06/12/2016 13:41:13; Channel Name 280 nm; Label ; SampleName IRCINIA-SEN

Profil HPLC analytique du Dictyocératide

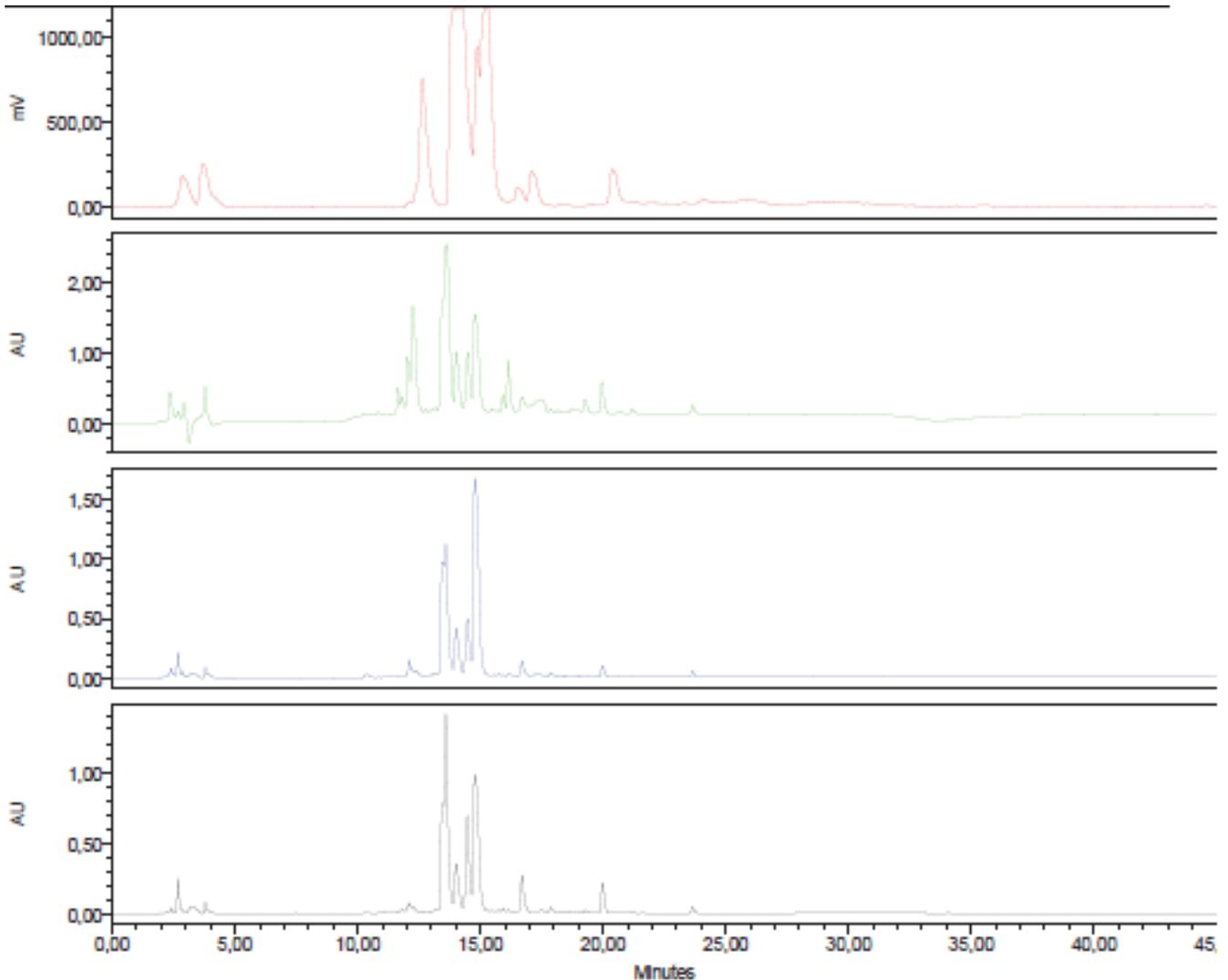


Profil HPLC analytique de l'*Ircinia sp.*

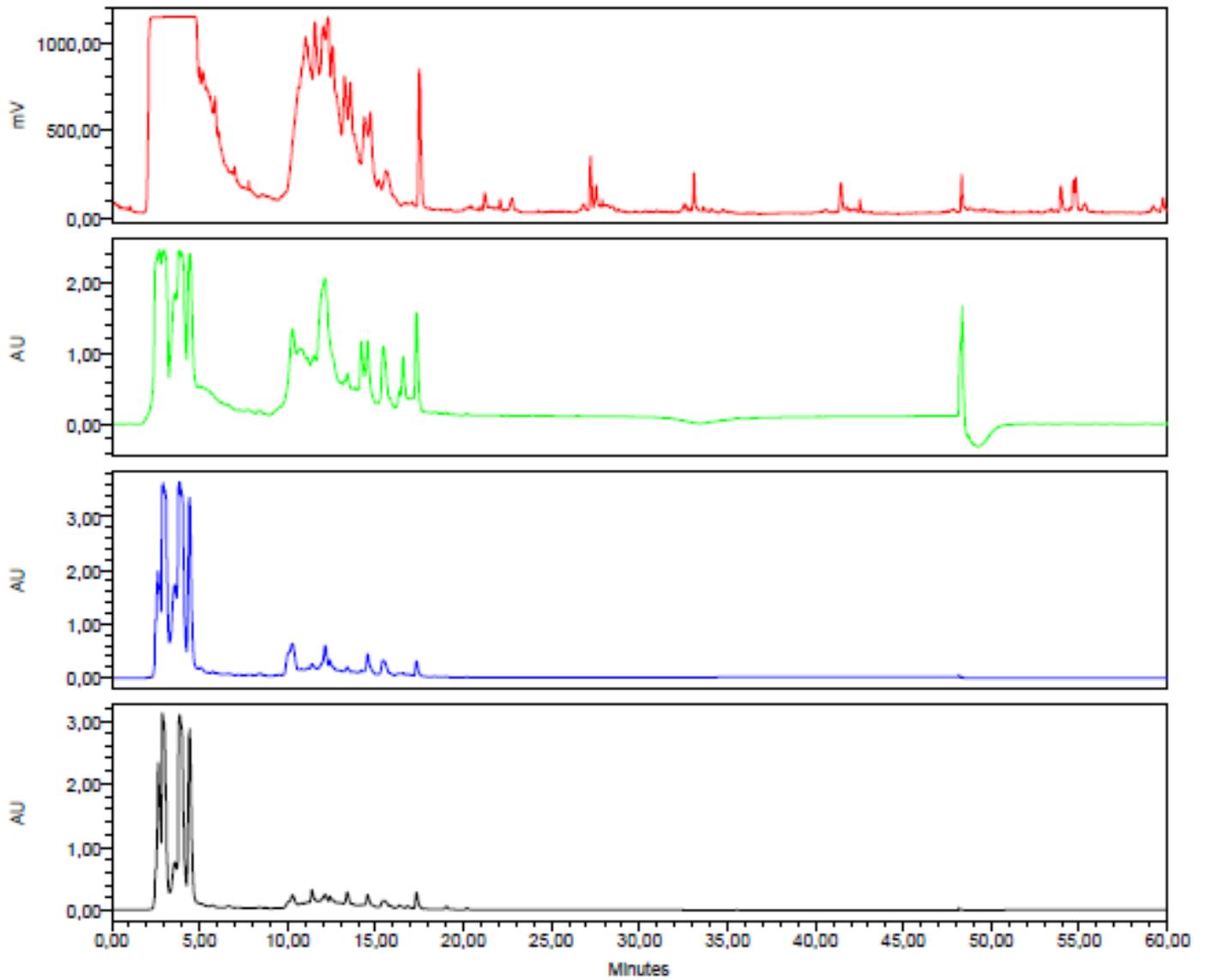
## II.2. Fractionnement des extraits bruts des éponges



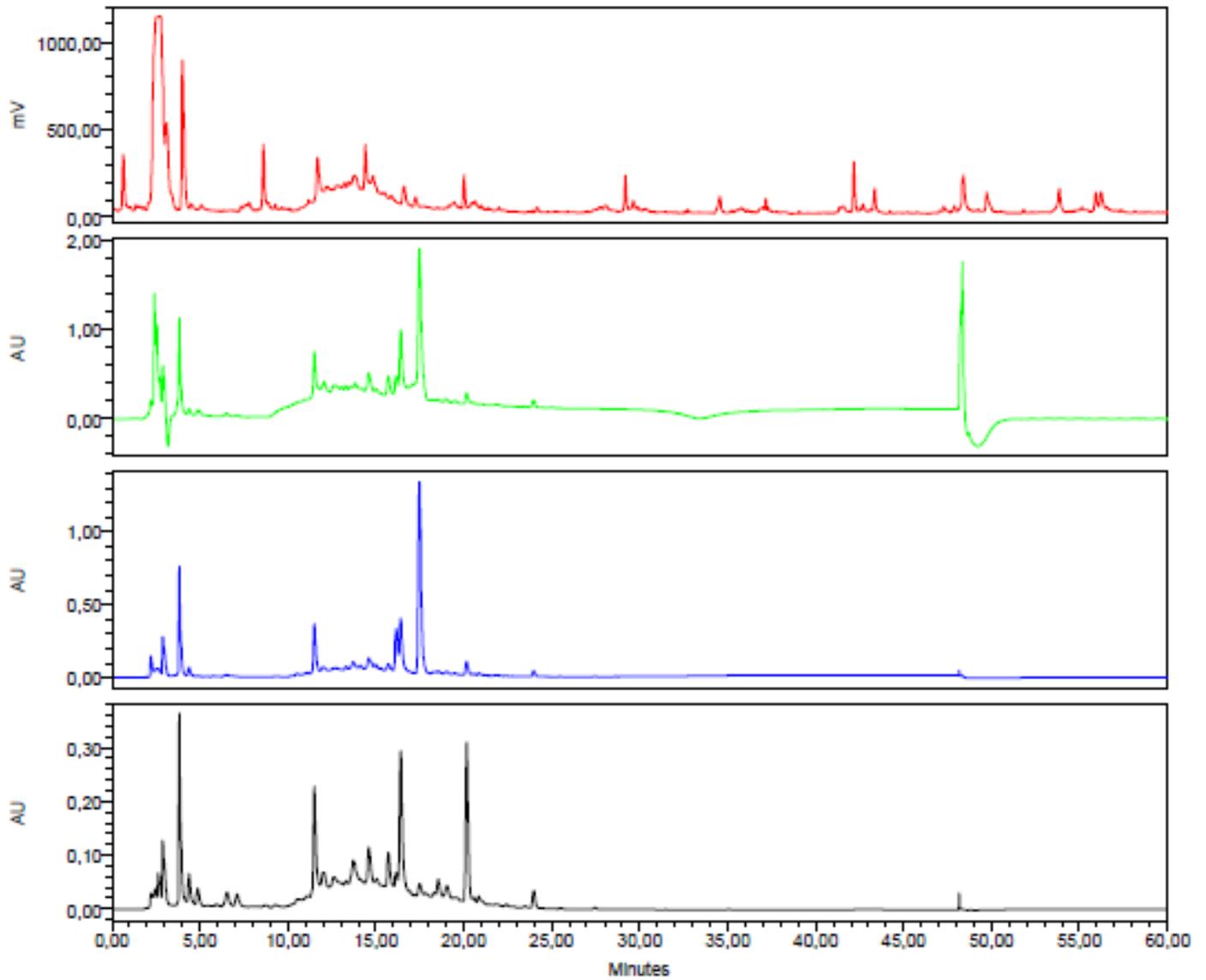
Nous avons ainsi sélectionné quelques fractions présentant des signatures chimiques intéressantes afin d'en isoler des métabolites secondaires (figures ci-dessous). La suite du fractionnement et de la purification est à adapter en fonction de l'espèce étudiée et/ou de la famille chimique à purifier.



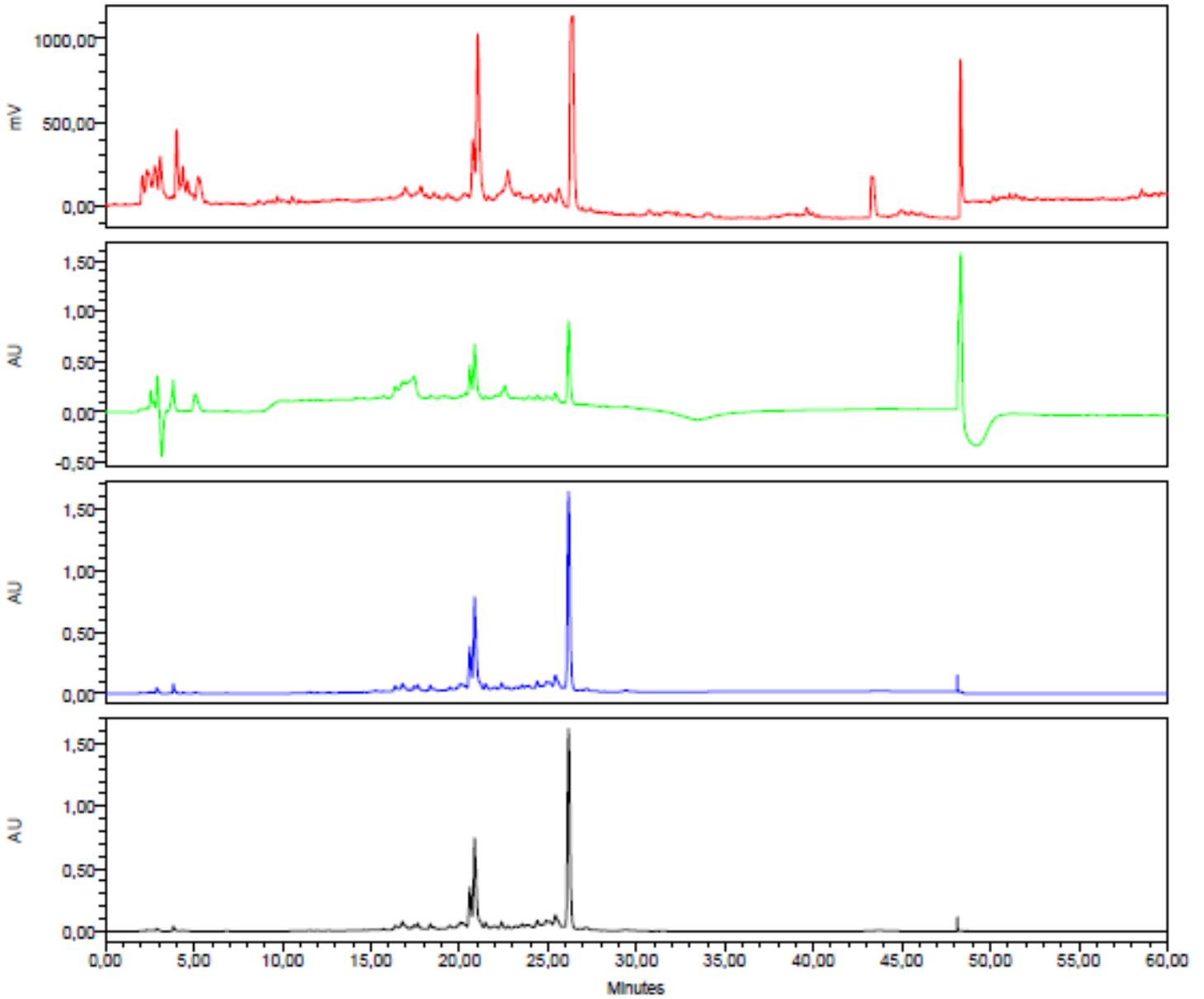
- SampleName F4/E3; Vial 99; Injection 1; Channel SATIN ; Date Acquired 17/12/2015 17:23:45
- SampleName F4/E3; Vial 99; Injection 1; Channel 214nm; Date Acquired 17/12/2015 17:23:45
- SampleName F4/E3; Vial 99; Injection 1; Channel 254nm; Date Acquired 17/12/2015 17:23:45
- SampleName F4/E3; Vial 99; Injection 1; Channel 280nm; Date Acquired 17/12/2015 17:23:45



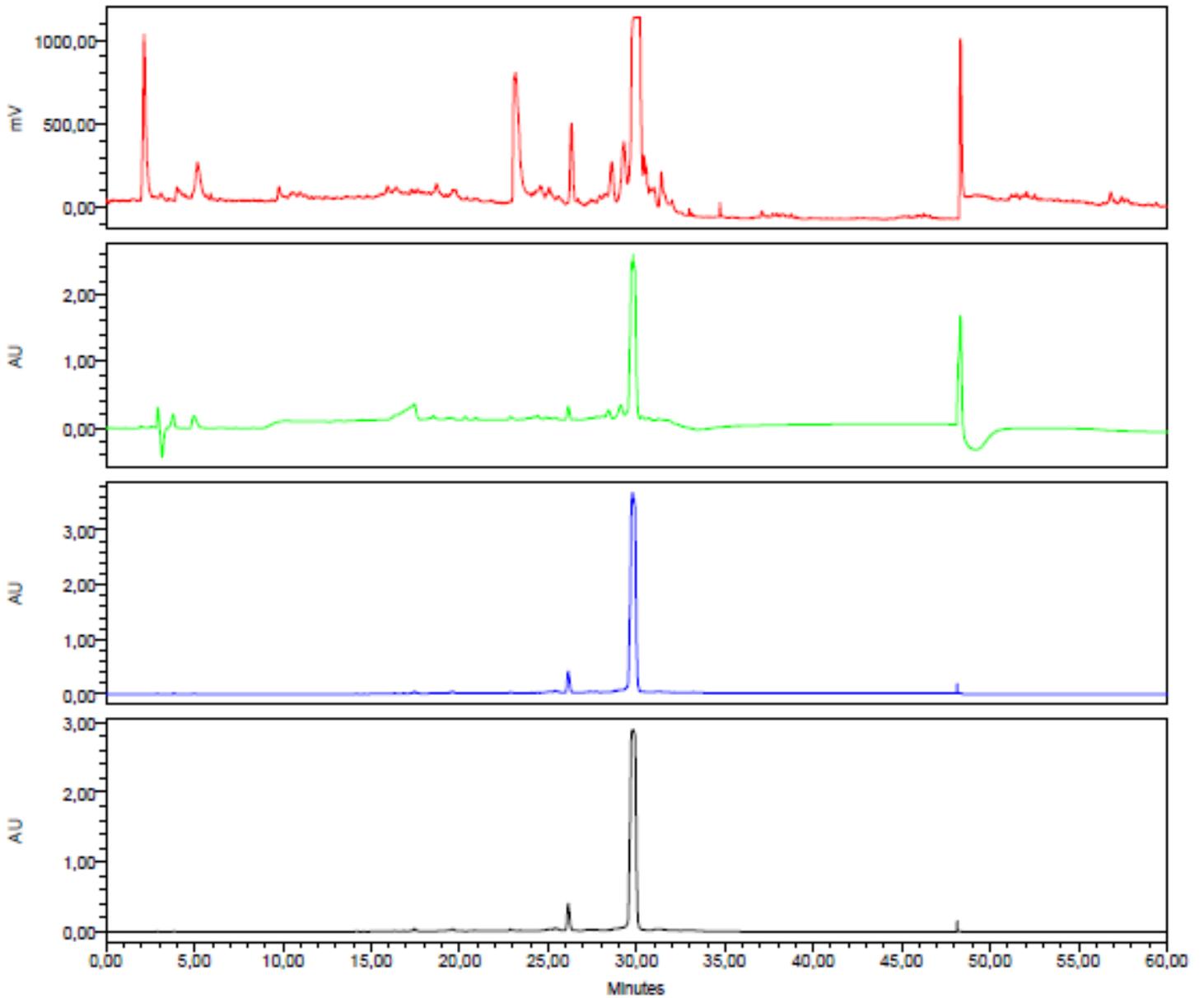
- SampleName IRCN-2; Vial 18; Injection 1; Channel SATIN ; Date Acquired 08/02/2017 16:08:45
- SampleName IRCN-2; Vial 18; Injection 1; Channel W2998 ; Date Acquired 08/02/2017 16:08:45
- SampleName IRCN-2; Vial 18; Injection 1; Channel W2998 ; Date Acquired 08/02/2017 16:08:45
- SampleName IRCN-2; Vial 18; Injection 1; Channel W2998 ; Date Acquired 08/02/2017 16:08:45



- SampleName IRCN-4; Vial 16; Injection 1; Channel SATIN ; Date Acquired 08/02/2017 14:06:15
- SampleName IRCN-4; Vial 16; Injection 1; Channel W2998 ; Date Acquired 08/02/2017 14:06:15
- SampleName IRCN-4; Vial 16; Injection 1; Channel W2998 ; Date Acquired 08/02/2017 14:06:15
- SampleName IRCN-4; Vial 16; Injection 1; Channel W2998 ; Date Acquired 08/02/2017 14:06:15



- Vial 35; Injection 1; Date Acquired 31/01/2017 17:38:40; Channel Name ELSD; Label ; SampleName F4-E1
- Vial 35; Injection 1; Date Acquired 31/01/2017 17:38:40; Channel Name 214 nm; Label ; SampleName F4-E1
- Vial 35; Injection 1; Date Acquired 31/01/2017 17:38:40; Channel Name 254 nm; Label ; SampleName F4-E1
- Vial 35; Injection 1; Date Acquired 31/01/2017 17:38:40; Channel Name 280 nm; Label ; SampleName F4-E1



- Vial 34; Injection 1; Date Acquired 31/01/2017 18:38:03; Channel Name ELSD; Label ; SampleName F5-E1
- Vial 34; Injection 1; Date Acquired 31/01/2017 18:38:03; Channel Name 214 nm; Label ; SampleName F5-E1
- Vial 34; Injection 1; Date Acquired 31/01/2017 18:38:03; Channel Name 254 nm; Label ; SampleName F5-E1
- Vial 34; Injection 1; Date Acquired 31/01/2017 18:38:03; Channel Name 280 nm; Label ; SampleName F5-E1

## **BIBLIOGRAPHIE**

---

**Bibliographie**

1. Bœuf, G.; Kornprobst, J-M.; *Biofutur* **2009**, *301*, 28-33.
2. Le Vavasseur, A. « Océans, pharmacies du futur ? » In Claire Fackler, CINMS, NOAA, *Cargo Marine*, Paris, « Centre d'études stratégiques de la marine », **2015**, N°6, pp. 4-13.
3. Hu, Y.; Chen, J.; Hu G., Yu, J.; Zhu, X.; Lin, Y.; Chen, S.; Yuan, J. *Mar. Drugs* **2015**, *13*, 202-221.
4. Bergmann, W.; Burke, D.C. *J. Org. Chem.* **1955**, *20* (11), 1501-1507.
5. Guyot, M. *Zoosystema* **2000**, *22* (2), 419-431.
6. Anjum, K.; Abbas, S.Q.; Shah, S.A.A.; Akhter, N.; Batool, S.; Hassan, S.S.U. *Biomol. Ther.* **2016**, *24* (4), 347-362.
7. Calcabrini, C.; Catanzaro, E.; Bishayee, A.; Turrini, E.; Fimognari, C. *Mar. Drugs* **2017**, *15*, 310.
8. Schwartzmann, G.; da Rocha, A.B.; Berlinck, R.G.S.; Jimeno, J. *Lancet Oncol* **2001**, *2*, 221-225
9. Joseph, B.; Sujatha, S. *J. Nat. Prod.* **2011**, *4*, 5-12.
10. Lévi, C.; Laboute, P.; Bargibant, G.; Menou, J-L. *Orstom éditions* **1998**, 27.
11. Boury-Esnault, N. Spongiaires, In: Durant Jean-René (ED.), Lévêque Christian (ED.), Tome 1, Paris, *Orstom* **1980**, *44*, 199-217.
12. Manuel, M.; Boury-Esnault, N.; Vacelet, J. *Pour la Science* **2003**, *310*, 68-75.
13. Pöppe, J.; Sutcliffe, P.; Hooper, J.N.A.; Wörheide, J.; Erpenbeck, D. *PLoS One* **2010**, *5*, e9950.
14. Quintin, C.; **2001**, 1-19, <http://pagesperso-orange.fr/christophe.quintin>. 08/11/2017.
15. Kelly, M. Splendid Sponges, *NIWA Taihoro Nukurangi*, Version 1, **2015**, 6.

16. Faulkner, D.J. *Nat. Prod. Rep.* **2001**, *18*, 1-49.
17. Faulkner, D.J. *Nat. Prod. Rep.* **1986**, *3*, 1-33.
18. Faulkner, D.J. *Nat. Prod. Rep.* **1987**, *4*, 539-576.
19. Fattorusso, E.; Gerwick, W.H.; Taglialatela-Scafati, O. *Handbook of Marine Natural Products*. Springer **2012**.
20. Joseph, B.; Nair, V.M.; Sujatha, S. *IJPSR* **2012**, *3*, 4689-4696.
21. Matsunaga, S.; Fusetani, N. *Curr. Org. Chem.* **2003**, *7*, 945-966.
22. Agrawal, S.; Adholeya, A.; Deshmukh, S.K. *Front. Pharmacol.* **2016**, *7*, 333.
23. Matsunaga, S.; Fusetani, N.; Konosu, S. *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 5165-5168.
24. Matsunaga, S.; Fusetani, N.; Konosu, S. *J. Nat. Prod.* **1985**, *48*, 236-241.
25. Sepe, V.; D'Orsi, R.; Borbone, N.; D'Auria, M.V.; Bifulco, G.; Monti, M.C.; Catania, A.; Zampella, A. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 833-840.
26. Nakamukai, S.; Takada, K.; Furihata, K.; Ise, Y.; Okada, S.; Morii, Y.; Yamawaki, N.; Takatani, T.; Arakawa, O.; Gustafson, K.R.; Matsunaga, S. *Tetrahedron Lett.* **2018**, *59*, 2532-2536.
27. Nakao, Y.; Yoshida, S.; Matsunaga, S.; Shindoh, N.; Terada Koji, N.; Yamashita, J.K.; Ganesan, A.; van Soest, R.W.M.; Fusetani, N. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 7553-7557.
28. El-Demerdash, A.; Tammam, M.A.; Atanasov, A.G.; Hooper, J.N.A.; Al-Mourabit, A.; Kijjoa, A. *Mar. Drugs.* **2018**, *16*, 214.
29. Randazzo, A.; Bifulco, G.; Giannini, C.; Bucci, M.; Debitus, C.; Cirino, G.; Gomez-Paloma, L. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 10870-10876.
30. Sala, G.D.; Hochmuth, T.; Teta, R.; Costantino, V.; Mangoni, A. *Mar. Drugs.* **2014**, *12*, 5425-5440.

31. Gunasekera, S.P.; Gunasekera, M.; Longley, R.E.; Schulte, G.K. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 4912; Correction *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 1346.
32. De souza, M.V.N. *Sci. World J.* **2004**, *4*, 415-436.
33. Piel, J.; Hui, D.; Wen, G.; Butzke, D.; Platzer, M.; Fusetani, N.; Matsunaga, S. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 16222–16227.
34. Fisch, K.M.; Gurgui, C.; Heycke, N.; van der Sar, S.A.; Anderson, S.A.; Webb, V.L. Taudien, S.; Platzer, M.; Rubio, B.K.; Robinson, S.J.; et al. *Nat. Chem. Biol.* **2009**, *5*, 494–501.
35. Bewley, C.A.; Holland, N.D.; Faulkner, D.J. *Cell. Mol. Life Sci.* **1996**, *52*, 716–722.
36. Andrianasolo, E.H.; Gross, H.; Goeger, D.; Musafija-Girt, M.; McPhail, K.; Leal, R.M.; Mooberry, S.L.; Gerwick, W.H. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 1375–1378.
37. Kuramoto, M.; Arimoto, H.; Uemura, D. *Mar. Drugs* **2004**, *2*, 39-54.
38. Singh, K.S.; Majik, M. In: Pallela, R.; Ehrlich, H. (eds) *Marine Sponges: Chemicobiological and Biomedical*. Springer; New Delhi; India **2016**, 257-286.
39. Torres, Y.R.; Berlinck, R.G.; Magalhães, A.; Schefer, A.B.; Ferreira, A.G.; Hajdu, E.; Muricy, G. *J. Nat. Prod.* **2000**, *63*, 1098-1105.
40. Torres, Y.R.; Berlinck, R.G.; Nascimento, G.G.; Fortier, S.C.; Pessoa, C.; Moraes, M.O. *Toxicon* **2002**, *40*, 885-891.
41. Cutignano, A.; Bifulco, G.; Bruno, I.; Casapullo, A.; Gomez-Paloma, L.; Riccio, R. *Tetrahedron* **2000**, *56*, 3743-3748.
42. Sun, X.; Sun, S.; Ference, C.; Zhu, W.; Zhou, N.; Zhang, Y.; Zhou, K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2015**, *25*, 67–69.
43. Dumbar, D.C.; Rimoldi, J.M.; Clark, A.M.; Kelly, M.; Hamann, M.T. *tetrahedron* **2000**, *56*, 8795-8798.

44. Chadwick, D.J.; Whelan, J. eds. (1992) Secondary Metabolites: Their Function and Evolution, Ciba Foundation Symposium 171. (Wiley, Chichester, U.K).
45. De Silva, E.D.; Scheuer, P.J. *Tetrahedron Lett.* **1980**, *21*, 1611–1614.
46. Gross, H.; König, G.M. *Phytochem. Rev.* **2006**, *5*, 115–141.
47. De Silva, E.D.; Scheuer, P.J. *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 3147–3150.
48. Barnathan, G.; Kornprobst, J-M.; Doumenq, P.; Miralles, J.; Boury-Esnault, N. *J. Nat. Prod.* **1993**, *56*, 2104-2113.
49. Ravi, B.N.; Wells, R.J.; Croft, K.D. *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 1998-2001.
50. Kobayashi, J.; Yuasa, K.; Kobayashi, T.; Sasaki, T.; Tsuda, M. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 5745-5750.
51. Lv, F.; Xu, M.; Deng, Z.; de Voogd, N.J.; Van Soest, R.W.M.; Proksch, P.; Lin, W. *J. Nat. Prod.* **2008**, *71*, 1738-1741.
52. Tang, S.G.; Pei, Y.H.; Fu, H.Z.; Deng, Z.W.; Li, J.; Proksch, P.; Lin, W.H. *Chem. Pharm. Bull.* **2006**, *54*, 4-8.
53. Bourguet-Kondracki, M.L.; Longeon, A.; Debitus, C.; Guyot, M. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 3087-3090.
54. D’Auria, M.V.; Paloma, L.G.; Minale, L.; Riccio, R.; Debitus, C. *Tetrahedron* **1992**, *48*, 491–498.
55. Carmely, S.; Roll, M.; Loya, Y.; Kashman, Y. *J. Nat. Prod.* **1989**, *52*, 167–170.
56. Jaspars, M.; Crews, P. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 7501–7504.
57. Kubanek, J.; Pawlik, J.R.; Eve, T.M.; Fenical, W. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **2000**, *207*, 69–77.
58. Barnathan, G.; Miralles, J.; Gaydou, E-M.; Boury-Esnault, N.; Kornprobst, J-M. *Lipids* **1992**, *27*, 779-784.

59. Costantino, V.; Fattorusso, E.; Mangoni, A.; Akin, M.; Fall, A.; Samb, A.; Miralles, J. *Tetrahedron* **1993**, *49*, 2711-2716.
60. Farokhi, F.; Grellier, P.; Clément, M.; Roussakis, C.; Loiseau, P.M.; Genin-Seward, E.; Kornprobst, J-M.; Barnathan, G.; Wielgosz-Collin, G. *Mar. Drugs* **2013**, *11*, 1304-1315.
61. Costantino, V.; Fattorusso, E.; Mangoni, A.; Akin, M.; Gaydou, E.M. *Steroids* **1994**, *59*, 181-184.
62. Ndiaye, I.; Guella, G.; Mancini, I.; Kornprobst, J-M.; Pietra, F. *J. Chem. Soc., Chem. Commun* **1991**, 97-98.
63. Akin, M.; Miralles, J.; Kornprobst, J-M.; Faure, R.; Gaydou, E-M.; Boury-Esnault, N.; Kato, Y.; Clardy, J. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31* (21), 22979-2982.
64. Diop, M.; Samb, A.; Costantino, V.; Fattorusso, E.; Mangoni, A. *J. Nat. Prod.* **1996**, *59* (3), 271-272.
65. Muller, W.G.; Sobel, C.; Diehl-Seifert, B.; Maidhof, A.; Schröder, H.C. *Biochem. Pharmacol.* **1987**, *36*, 1489-1494.
66. Müller, W.E.; Schröder, H.C.; Wiens, M.; Perovic-Ottstadt, S.; Batel, R.; Müller, I.M. *Alternat. Med.* **2004**, *1*, 133-144.
67. Van Soest, R.W.M.; Boury-Esnault, N.; Hooper, J.N.A.; Rützler, K.; De Voogd, N.J.; Alvarez, B.; Hajdu, E.; Pisera, A.B.; Manconi, R.; Schönberg, C.; Klautau, M.; Picton, B.; Kelly, M.; Vacelet, J.; Dohrmann, M.; Díaz, M-C.; Cárdenas, P.; Carballo, J.L.; Rios, P.; Downey, R. (Carter 1880). <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=234363> (2017-11-20).
68. Bergquist, P.R. *N. Z. J. Zool.* **1980**, *7*, 443-503.

69. Bergquist, P.R.; de Cook, S.C.; (2002), Family Aplysinellidae Bergquist, 1980. In: Hooper J.N.A., Van Soest R.W.M., Willenz P. (eds) *Systema Porifera*.
70. Bergquist, P.R. *Pacific science* **1965**, XIX, 123-204.
71. Vacelet, J.; Vasseur, P.; Lévi, C. *Mem. Mus. Natl. Hist. Nat. Ser. A Zool.* **1976**, 49, 1-116.
72. Lira, N.S.; Montes, R.C.; Tavares, J.F.; Da Silva, M.S.; Da Cunha, E.V.L.; De Athayde-Filho, P.F.; Rodrigues, L.C.; Da Silva Dias, C.; Barbosa-Filho, J.M. *Mar. Drugs* **2011**, 9, 2316-2368.
73. Peng, J.; Li, J.; Hamann, M.T. *Alkaloids Chem. Biol.* **2005**, 61, 59-262.
74. Chang, C.W.J.; Weinheimer, A.J. *Tetrahedron Lett.* **1977**, 18, 4005-4007.
75. Venkateswarlu, Y.; Ramadas, C. *J. Nat. Prod.* **1995**, 58 (7), 1087-1088.
76. Tilvi, S.; Rodrigues, C.; Naik, C.G.; Parameswaran, P.S.; Wahidhulla, S. *Tetrahedron* **2004**, 60 (45), 10207-10215.
77. Ross, S.A.; Weete, J.D.; Schinazi, R.F.; Wirtz, S.S.; Tharnish, P.; Scheuer, P.J.; Hamann, T. *J. Nat. Prod.* **2000**, 63 (4), 501-503.
78. Roll, D.M.; Chang, C.W.J.; Scheuer, P.J.; Gray, G.A.; Shoolery, J.N.; Matsumoto, G.K.; Van Duyne, G.D.; Clardy, G. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, 107, 2916-2920.
79. Tsukamoto, S.; Kato, H.; Hirota, H.; Fusetani, N. *Tetrahedron* **1996**, 52, 8181.
80. Fusetani, N. *Nat. Prod. Rep.* **2004**, 21, 94-104.
81. James, D.M.; Kunze, H.B.; Faulkner, D.J. *J. Nat. Prod.* **1991**, 54 (4), 1137-1140.
82. Tilvi, S.; D'Souza, S. *Eur. J. Mass Spectrom* **2012**, 18, 333-343.
83. Kobayashi, J.; Honma, K.; Sasaki, T.; Tsuda, M. *Chem. Pharm. Bull.* **1995**, 43 (3), 403-407.

84. Kashman, Y.; Groweiss, A.; Carmely, S.; Kinamoni, Z.; Czarkie, D.; Rotem, M. *Pure & Appl. Chem.* **1982**, *54* (10), 1995-2010.
85. Nicholas, G.M.; Eckman, L.L.; Ray, S.; Hughes, R.O.; Pfefferkorn, J.A.; Barluenga, S.; Nicolaou, K.C.; Bewley, C.A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 2487-2490.
86. Nicholas, G.M.; Eckman, L.L.; Newton, G.L.; Fahey, R.C.; Ray, S.; Bewley, C.A. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 601-608.
87. Copp, B.R.; Ireland, C.M.; Barrows, L.R. *J. Nat. Prod.* **1992**, *55* (6), 822-823.
88. Jurek, J.; Yoshida, W.Y.; Scheuer, P.J. *J. Nat. Prod.* **1993**, *56* (9), 1609-1612.
89. Yagi, H.; Matsunaga, S.; Fusetani, N. *Tetrahedron* **1993**, *49* (18), 3749-3754.
90. Goud, T.V.; Srinivasulu, M.; Reddy, V.L.N.; Reddy, A.V.; Rao, T.P.; Kumar, D.S.; Murty, U.S.; Venkateswarlu, Y. *Chem. & Pharm. Bull.* **2003**, *51* (8), 990-993.
91. Fujiwara, T.; Hwang, J-H.; Kanamoto, A.; Nagai, H.; Takagi, M.; Shin-ya, K. *The Journal of Antibiotics* **2009**, *62*, 393-395.
92. Jiménez, C.; Crews, P. *Tetrahedron* **1991**, *47* (12-13), 2097-2102.
93. Carney, J.R.; Scheuer, P.J. *J. Nat. Prod.* **1993**, *56* (1), 153-157.
94. Kazlauskas, R.; Lidgard, R.O.; Murphy, P.T.; Wells, R.J. *Tetrahedron Lett.* **1980**, *21* (23), 2277-2280.
95. Miao, S.C.; Andersen, R.J.; Allen, T.M. *J. Nat. Prod.* **1990**, *53*, 1441-1446.
96. Ayanoglu, A.; Djerassi, C.; Erdman, T.R.; Scheuer, P.J. *Steroids* **1978**, *31*, 815-822.
97. Tran, T.D.; Pham, N.B.; Fechner, G.; Hooper, J.N.A.; Quinn, R.J. *J. Nat. Prod.* **2013**, *76*, 516-523.
98. Borders, B.; Morton, G.O.; Wetzel, E.R. *Tetrahedron Lett.* **1974**, 2709.

99. Makarieva, T.N.; Stonik, V.A.; Alcolado, P.; Elyakov, Y.B. *Comp. Biochem. Physiol.* **1981**, *68B*, 481-484.
100. Norte, M.; Rodriguez, M.L.; Fernandez, J.J.; Eguren, L.; Estrada, D.M. *Tetrahedron* **1988**, *44*, 4973-4980.
101. Cimino, G.; De Rosa, S.; De Stefano, S.; Self, R.; Sodano, G. *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 3029-3032.
102. Gunasekera, M.; Gunasekera, S.P. *J. Nat. Prod.* **1989**, *52*, 753-756.
103. Systema Porifera: a guide to the classification of sponges; Hooper, J.N.A., van Soest, R.W.M., Willenz, P., Eds.; *Kluwer Academic/Plenum Publishers: New York* **2002**.
104. Hooper, J.N.A. *Queensland Museum* **2003**, 1-26.
105. Cook, S.D.C.; Bergquist, P.R. *New Zeal. J. Mar. Fresh. Res.* **1996**, *30*, 19-34.
106. Sandes, J.; Pinheiro, U. *Zootaxa* **2014**, *3838* (4), 445-461.
107. Mehbub, M.F.; Lei, J.; Franco, C.; Zhang, W. *Mar. Drugs* **2014**, *12*, 4539-4577.
108. Sperry, S.; Crews, P. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37* (14), 2389-2390.
109. Kehraus, S.; König, G.M.; Wright, A.D. *J. Nat. Prod.* **2002**, *65*, 1056-1058.
110. Hoffmann, H.M.R.; Haase, K.; Ismail, Z.M.; Prefitsi, S.; Weber, A. *Chem. Ber.* **1982**, *115*, 3380-3385.
111. Pfaltz, A.; Anwar, S. *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25* (28), 2977-2980.
112. Babakhanyan, A.V.; Ovsepyan, V.S.; Kocharyan, S.T.; Panosyan, G.A. *Russ. J. Org. Chem.* **2003**, *39* (6), 814-819.
113. Ovsepyan, V.S.; Babakhanyan, A.V.; Manukyan, M.O.; Kocharyan, S.T. *Russ. J. Org. Chem.* **2004**, *74* (9), 1376-1382.
114. Kamiya, H.; Ito, M.; Nishi, K.; Harashima, H. *J. Biotechnol.* **2016**, *228*, 52-57.

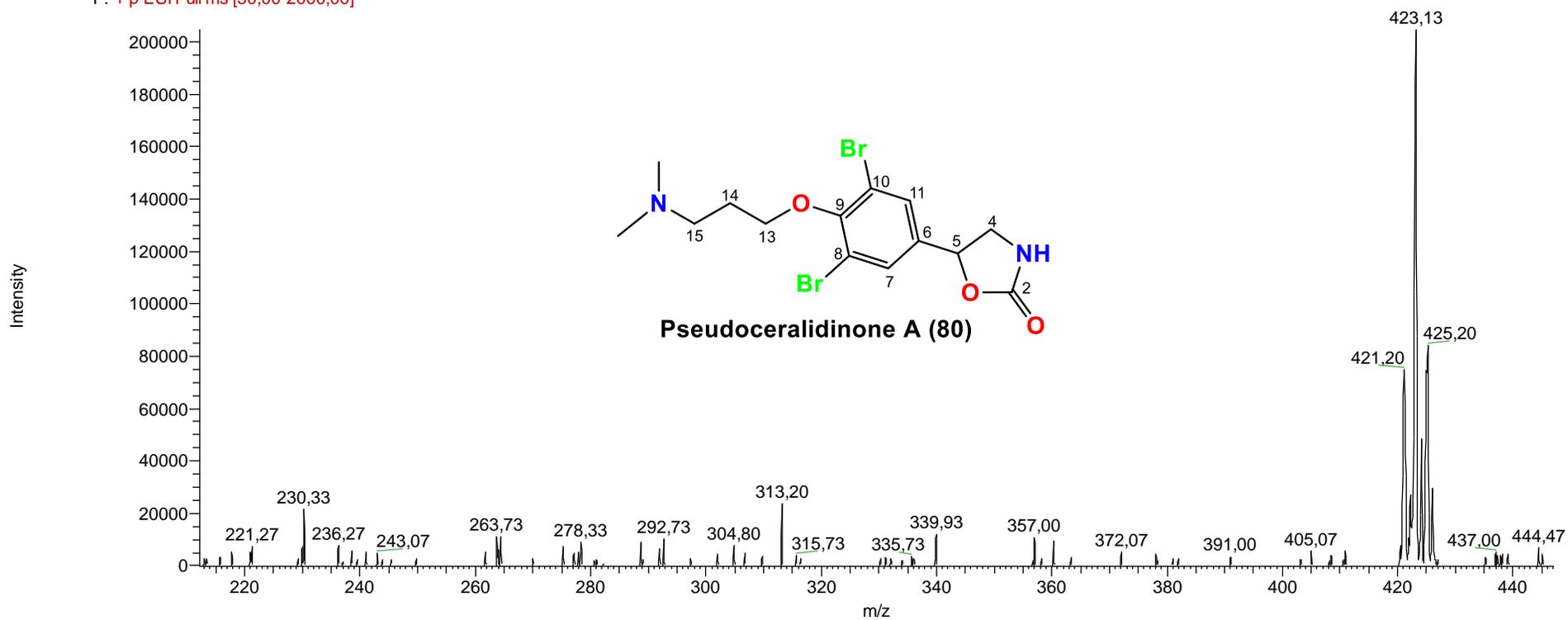
115. Komori, T.; Sanechika, Y.J.; Ito, Y.S.; Matsuo, J.J.; Nohara, T.; Kawasaki, T.; Schulten, H.R. *Leibigs Ann. Chem.* **1980**, *1980*, 653–668.
116. Wang, B.; Dong, J.; Zhou, X.F.; Lee, K.J.; Huang, R.M.; Zhang, S.; Liu, Y.H. *Z. Naturforsch C* **2009**, *64*, 143–148.
117. Huang, R.M.; Zhou, X.F.; Peng, Y.; Yang, X.W.; Xu, T.H.; Liu, Y.H. *Chem. Nat. Compd.* **2011**, *46*, 1010–1011.
118. Pawlik, J.R.; Mcfall, G.; Zea, S. *J. Chem. Ecol.* **2002**, *28*, 1104–1115.
119. Pronzato, R.; Malva, R.; Manconi, R. *Boll. Mus. Ist. Biol. Univ. Genova* **2003**, *68*, 553–563.
120. Cook, S.D.; Bergquist, P.R. In: *Systema Porifera: A Guide to the Classification of Sponges*, Edited by John N.A. Hooper and Rob W.M. Van Soest *Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York* **2002**, 1022–1027.
121. Cook, S.D.C.; Bergquist, P.R. *New Zeal. J. Mar. Fresh. Res.* **1999**, *33* (4), 545–563.
122. Barrow, C.J.; Blunt, J.W.; Munro, M.H.G.; Perry, N.B. *J. Nat. Prod.* **1988**, *51*, 275–281.
123. Faulkner, D.J. *Tetrahedron Lett.* **1973**; *39*, 3821–3822..
124. Martinez, A.; Duque, C.; Sato, N.; Tanaka, R.; Fujimoto, Y. *Nat. Prod. Lett.* **1995**, *6*, 1–6.
125. Liu, Y.H.; Mansoor, T.A.; Hong, J.K.; Lee, C.O.; Sim, C.J.; Im, K.S.; Kim, N.D.; Jung, J.H. *J. Nat. Prod.* **2003**; *66*, 1451–1456.
126. Liu, Y.H.; Hong, J.K.; Lee, C.O.; Im, K.S.; Kim, N.D.; Choi, J.S.; Jung, J.H. *J. Nat. Prod.* **2002**, *65*, 1307–1314.
127. Rothberg, I.; Shubiak, P. *Tetrahedron Lett.* **1975**, *10*, 769–772.
128. Gonzales, G.A.; Redriguez, M.L.; Barrientos, S.M. *J. Nat. Prod.* **1983**, *46*, 256–261.

129. Davis, R.; Capon, R.J. *Aust. J. Chem.* **1994**, *47*, 933-936.
130. Capon, R.J.; Dragaville, T.R.; Davis, R. *Nat. Prod. Lett.* **1994**, *4*, 51-56.
131. Holler, U.; Konig, G.M.; Wright, A.D. *J. Nat. Prod.* **1997**, *60*, 832-835.
132. McPhail, K.; Coleman, M.T.D.; Coetzee, P. *J. Nat. Prod.* **1998**, *61*, 961-964.
133. Song, J.; Jeong, W.; Wang, N.; Lee, H.S.; Sim, C.J.; Oh, K.B.; Shin, J. *J. Nat. Prod.* **2008**, *71*, 1866-1871.
134. Wang, N.; Song, J.; Jang, K.H.; Lee, H.S.; Li, X.; Oh, K.B.; Shin, J. *J. Nat. Prod.* **2008**, *71*, 551-557.
135. Choi, K.; Hong, J.K.; Lee, C.O.; Kim, D.K.; Sim, C.J.; Im, K.S.; Jung, J.H. *J. Nat. Prod.* **2004**, *67*, 1186-1189.
136. Shin, J.; Rho, J.R.; Seo, Y.; Lee, H.S.; Cho, K.W.; Sim, C.J. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 3005-3007.
137. Woo, J.-K.; Jeon, J.-E.; Kim, B.; Sim, C.J.; Oh, D.-C.; Oh, K.-B.; Shin, J. *Nat. Prod. Sci.* **2015**, *21*, 237-239.
138. Mitchell, S.S.; Harper, M.K.; Faulkner, D.J. *Tetrahedron*, **1999**, *55*, 10887-10892.
139. Barrow, C.J.; Blunt, J.W.; Munro, M.H.G. *J. Nat. Prod.* **1989**, *52*, 346-359.
140. Cafieri, F.; Fattorusso, E.; Santacroce, C. *Tetrahedron* **1972**, *28*, 1579-1583.
141. Faulkner, D.J. *Tetraheron* **1977**, *33*, 1421-1443.
142. Mori, D.; Kimura, Y.; Kitamura, S.; Sakagami, Y.; Yoshioka, Y.; Sinntani, T.; Okamoto, T.; Ojika, M. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 7190-7198.
143. Balansa, W.; Islam, R.; Fontaine, F.; Piggott, A.M.; Zhang, H.; Webb, T.I.; Gilbert, D.F.; Lynch, J.W.; Capon, R.J. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 2912-2919.
144. Chianese, G.; Silber, J.; Luciano, P.; Merten, C.; Erpenbeck, D.; Topaloglu, B.; Kaiser, M.; Tasdemir, D. *J. Nat. Prod.* **2017**, *80*, 2566-2571.

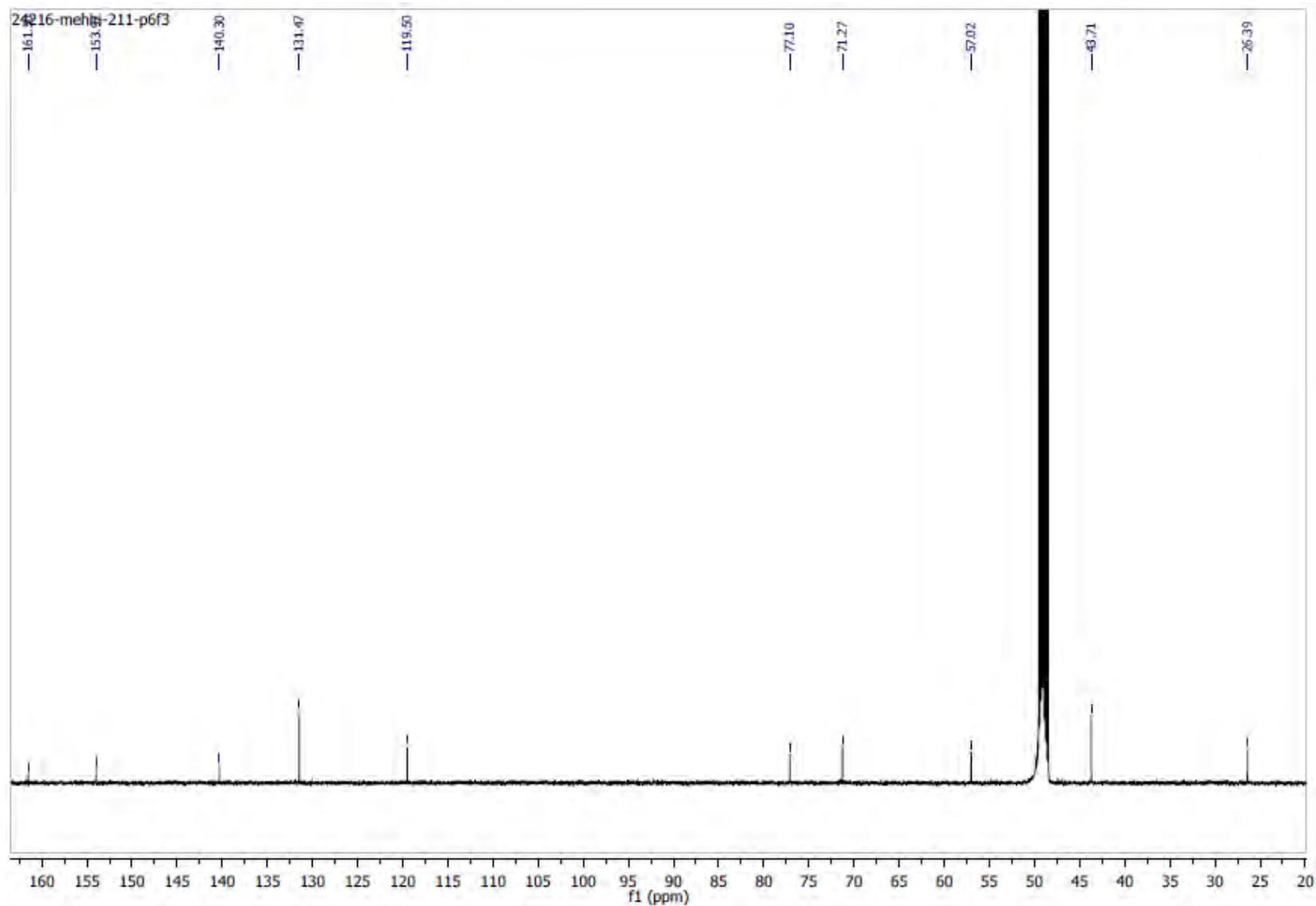
145. El Sayed, K.A.; Mayer, A.M.S.; Kelly, M.; Hamann, M.T. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 9258-9260.
146. Decker, M.; Nguyen, T.T.H.; Lehman, J. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 4567-4578.
147. Khushi, S.; Nahar, L.; Salim, A.A.; Capon, R.J. *Mar. Drugs* **2018**, *16*, 456.
148. Prasad, P.; Zhang, A.; Salim, A.A.; Capon, R.J. *Fitoterapia* **2018**, *126*, 83-89.

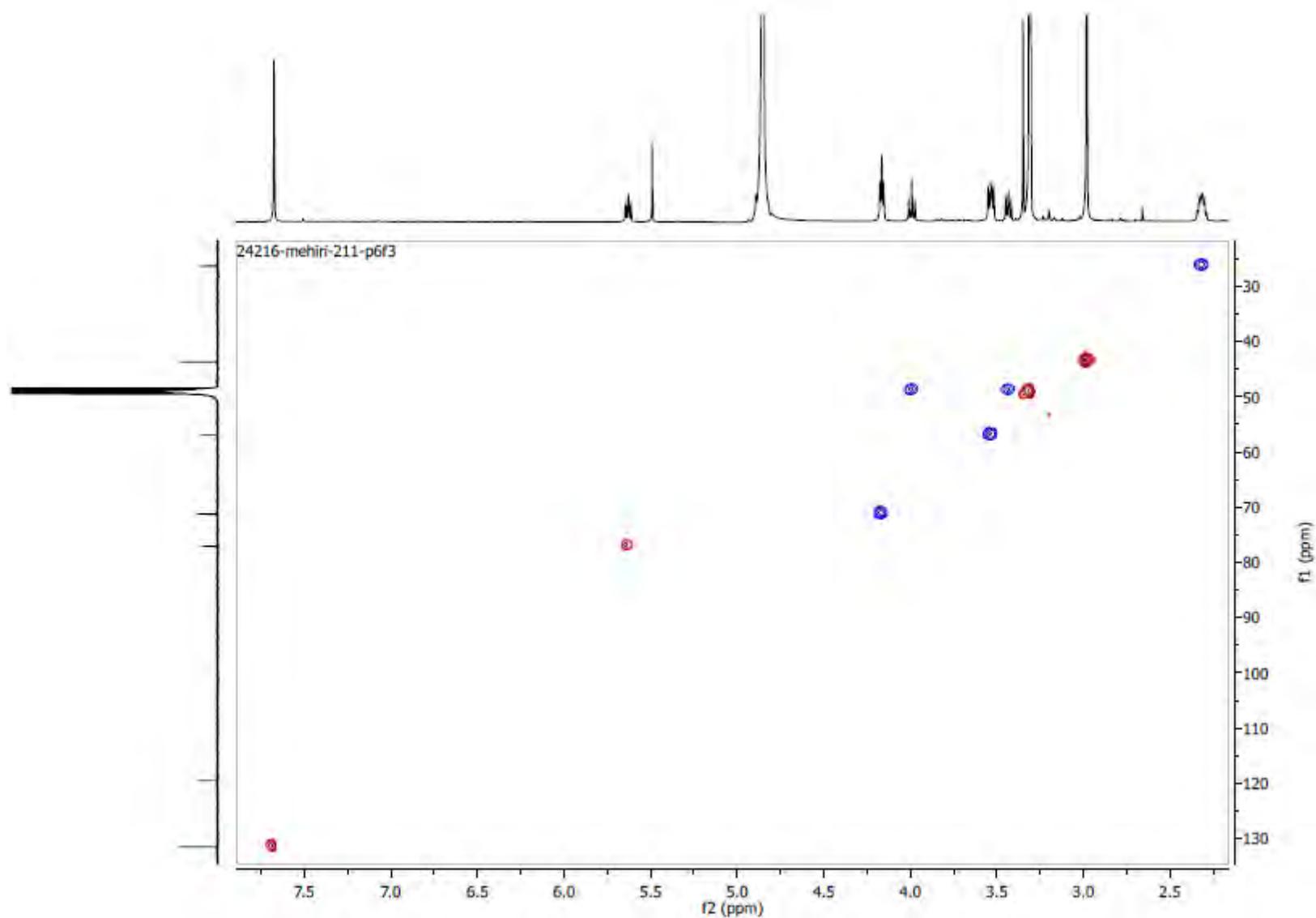
**ANNEXE**

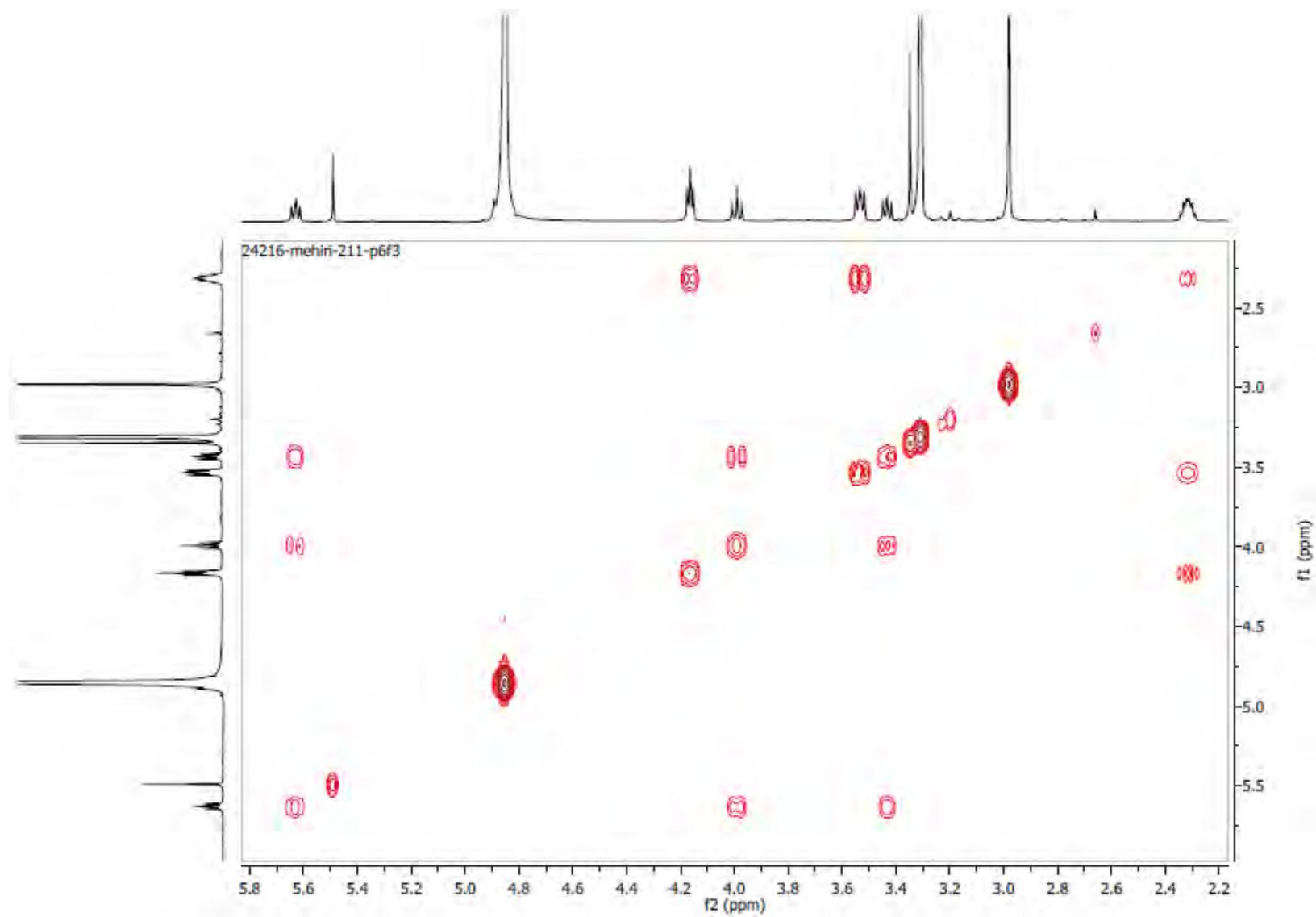
P6E3 #131 RT: 6,12 AV: 1 NL: 2,05E5  
F: + p ESI Full ms [50,00-2000,00]

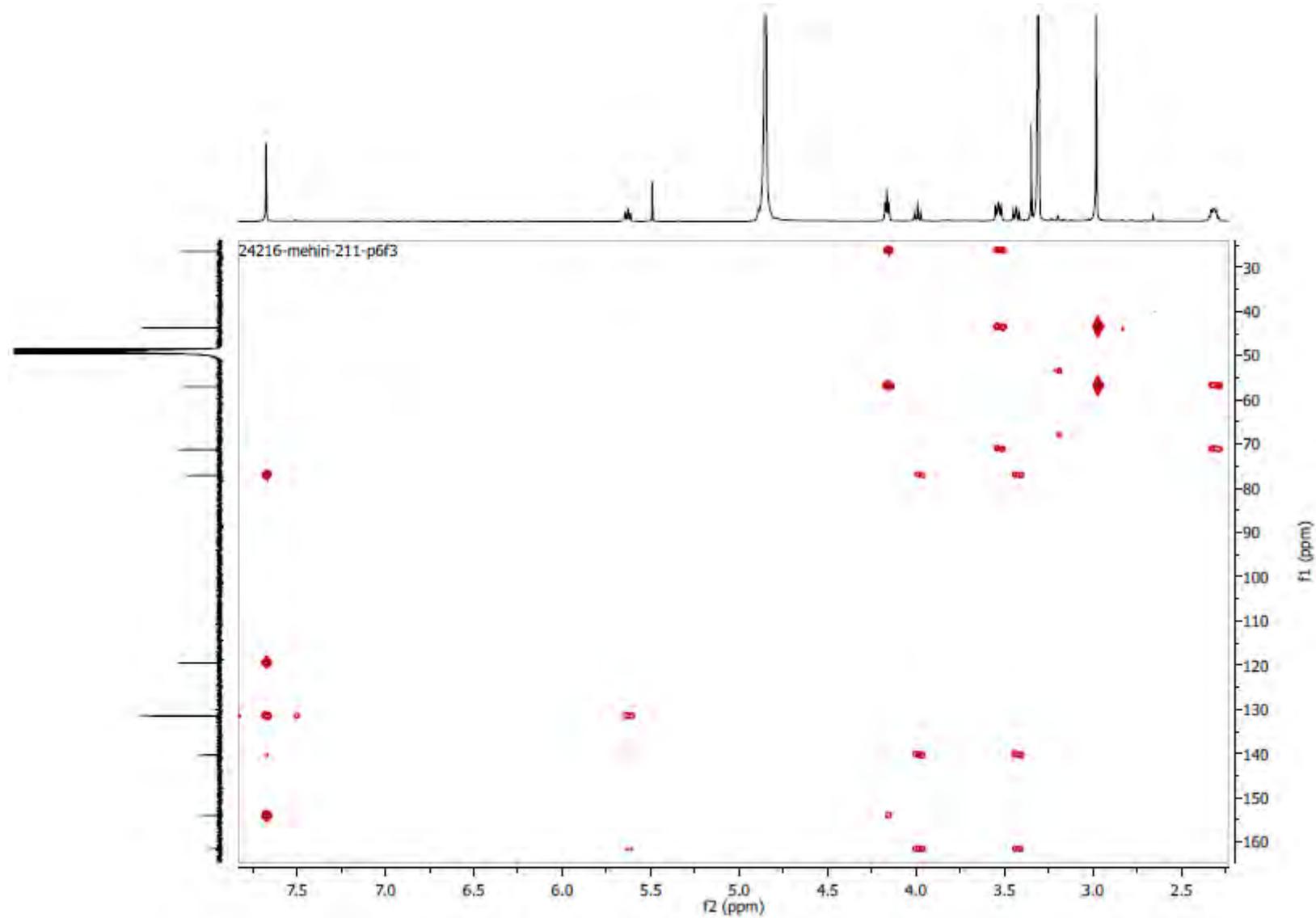


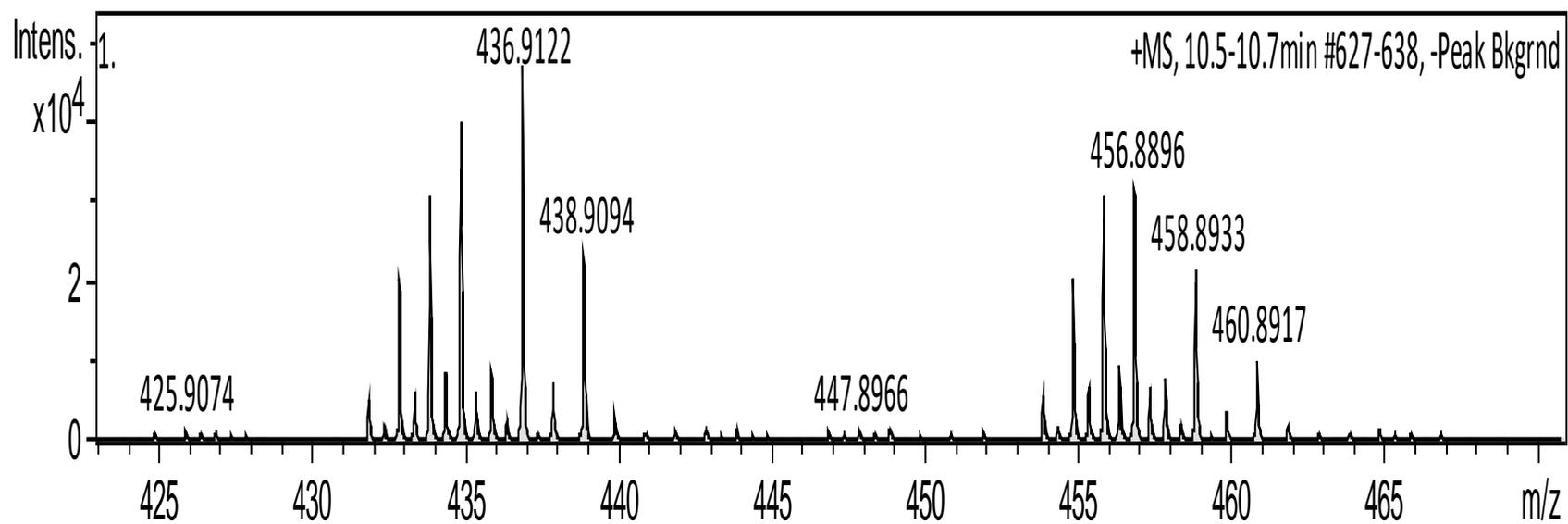
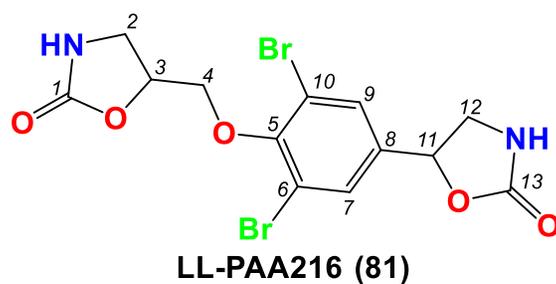
Spectre ESI-MS (+) basse résolution de la pseudoceralidinone A (80)

Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz, MeOH- $d_4$ ) de la pseudoceralidinone A (**80**)

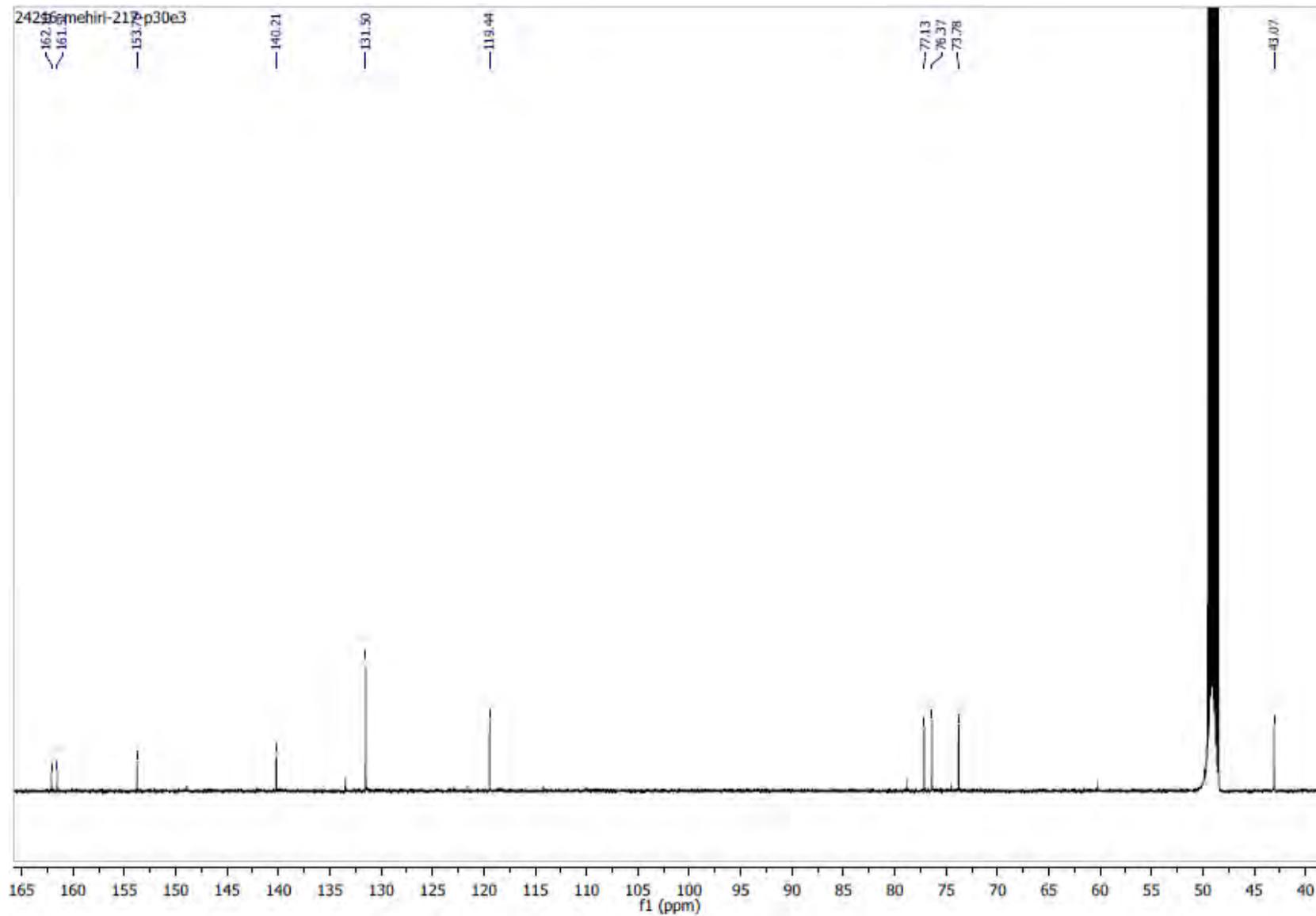
Spectre HSQC de la pseudoceralidinone A (**80**)

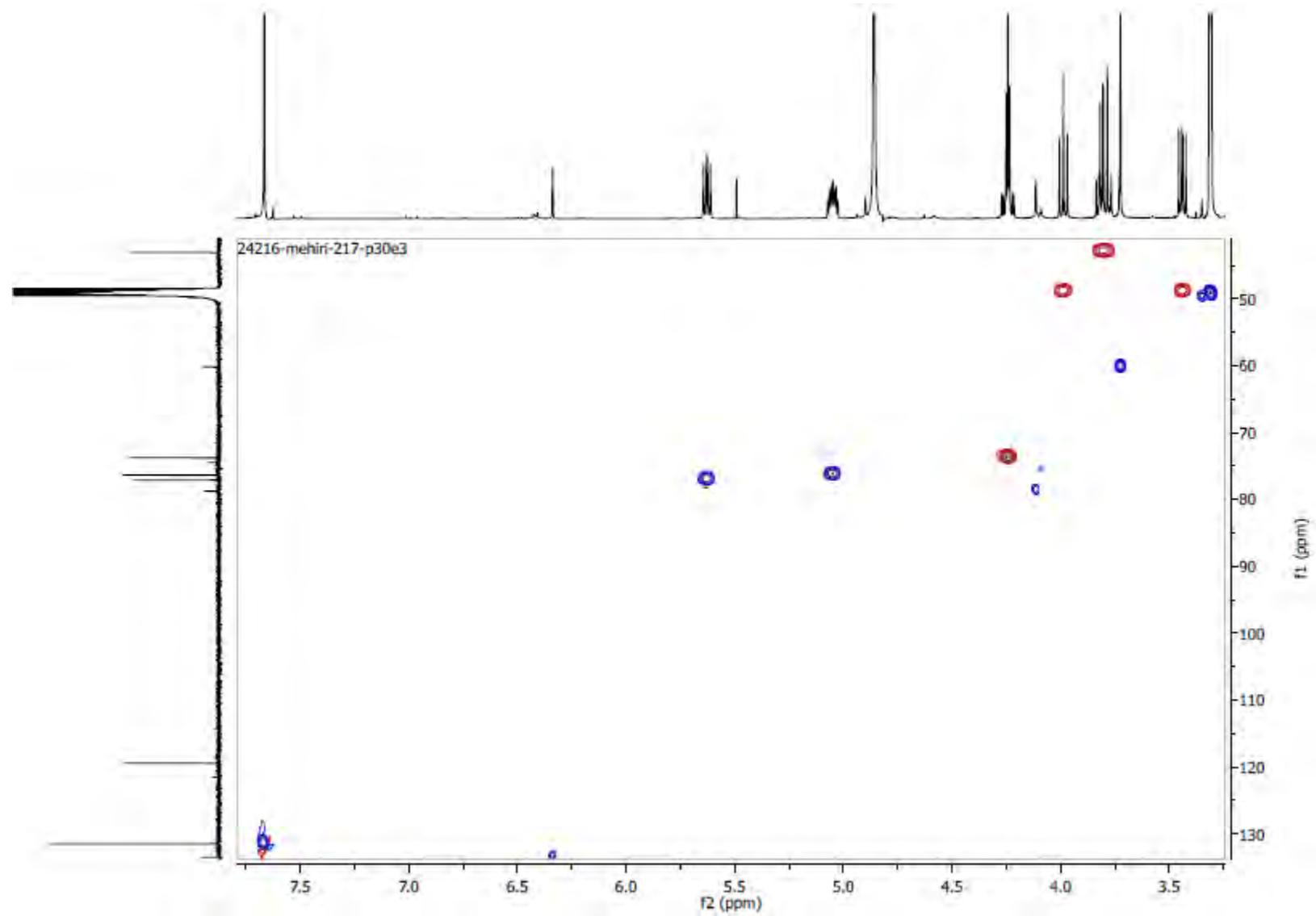
Spectre COSY de la pseudoceralidinone A (**80**)

Spectre HMBC de la pseudoceralidinone A (**80**)

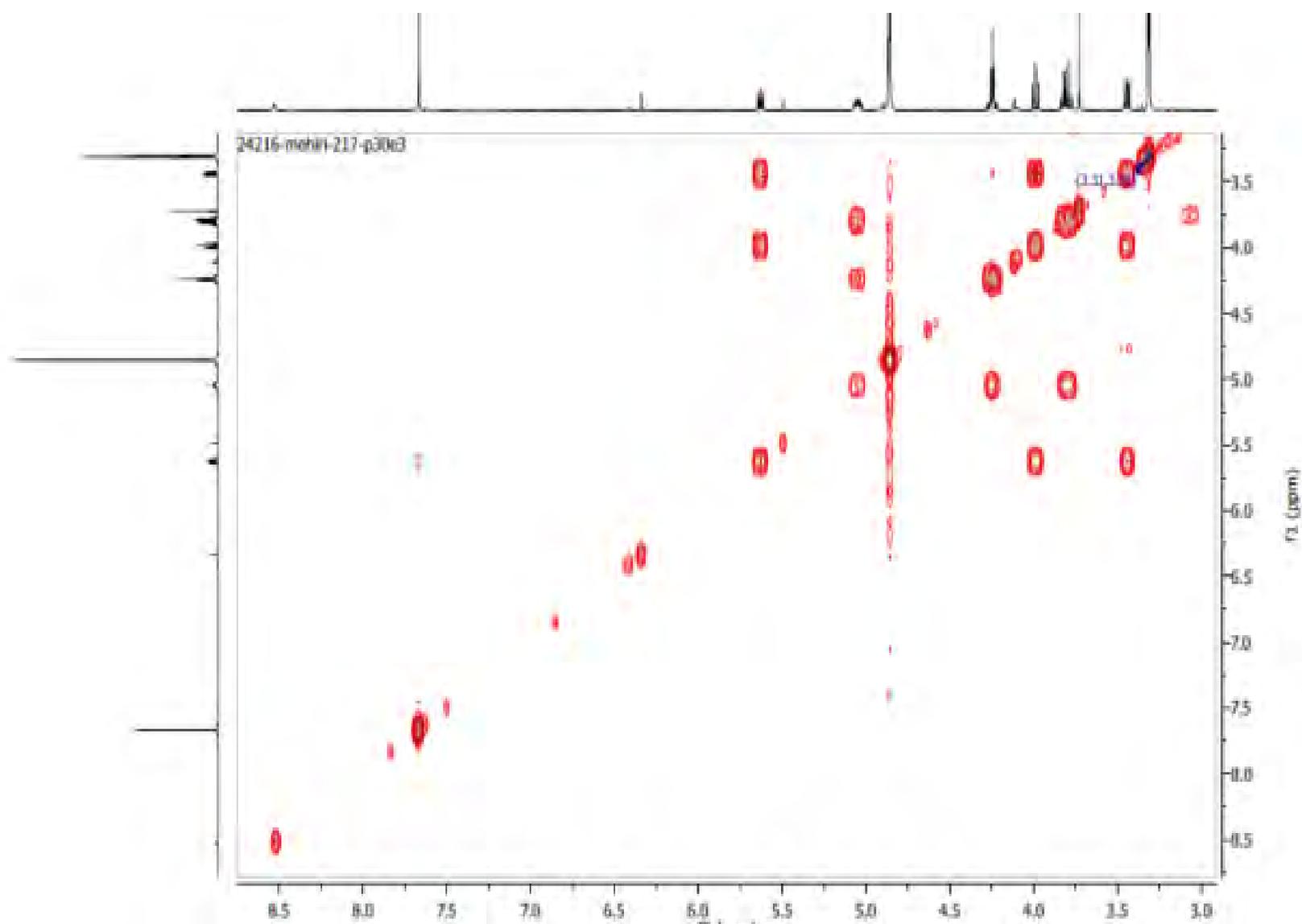


Spectre HRMS (+) de la LL-PAA216 (81)

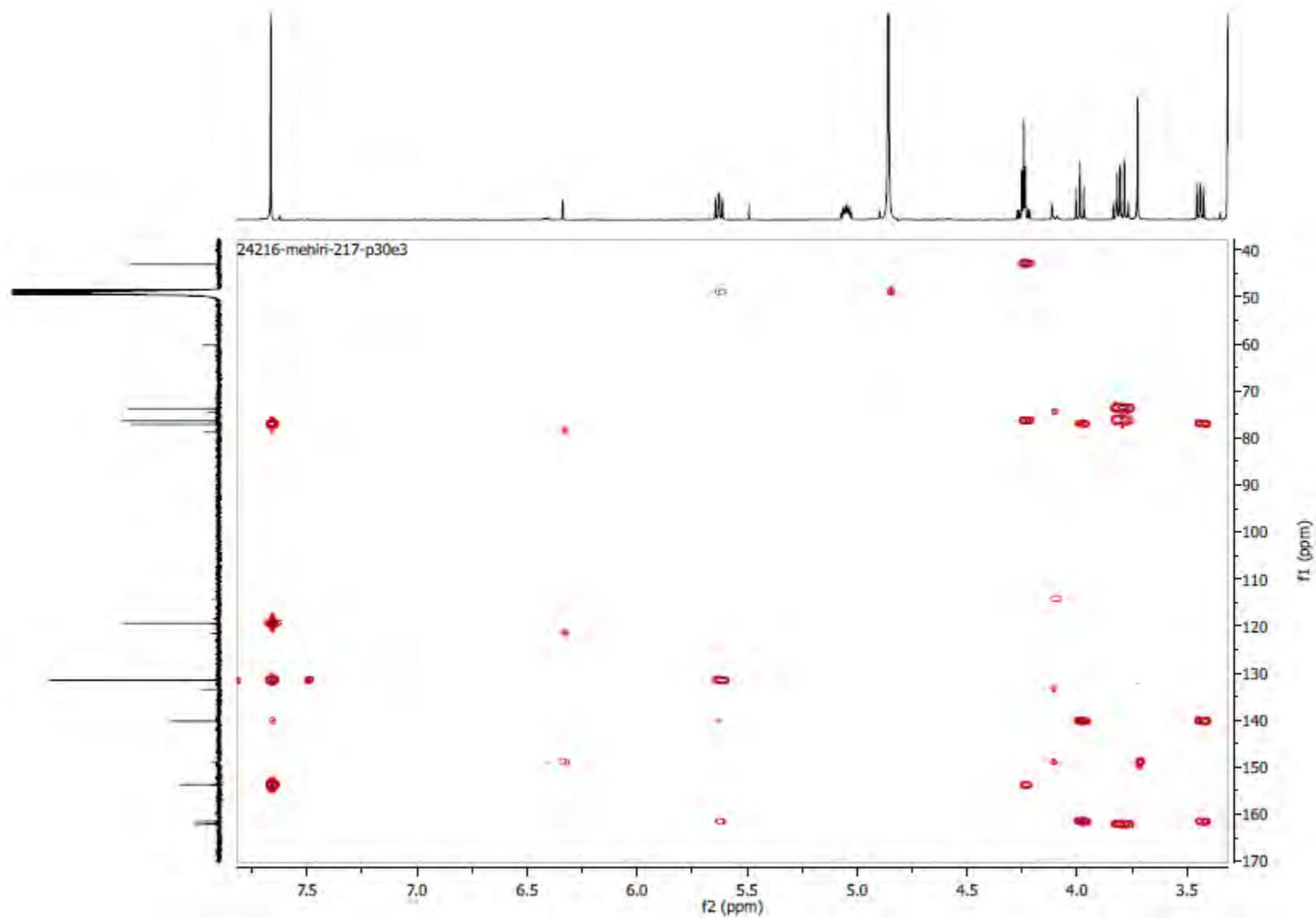
Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz, MeOH- $d_4$ ) de la LL-PAA216 (81)



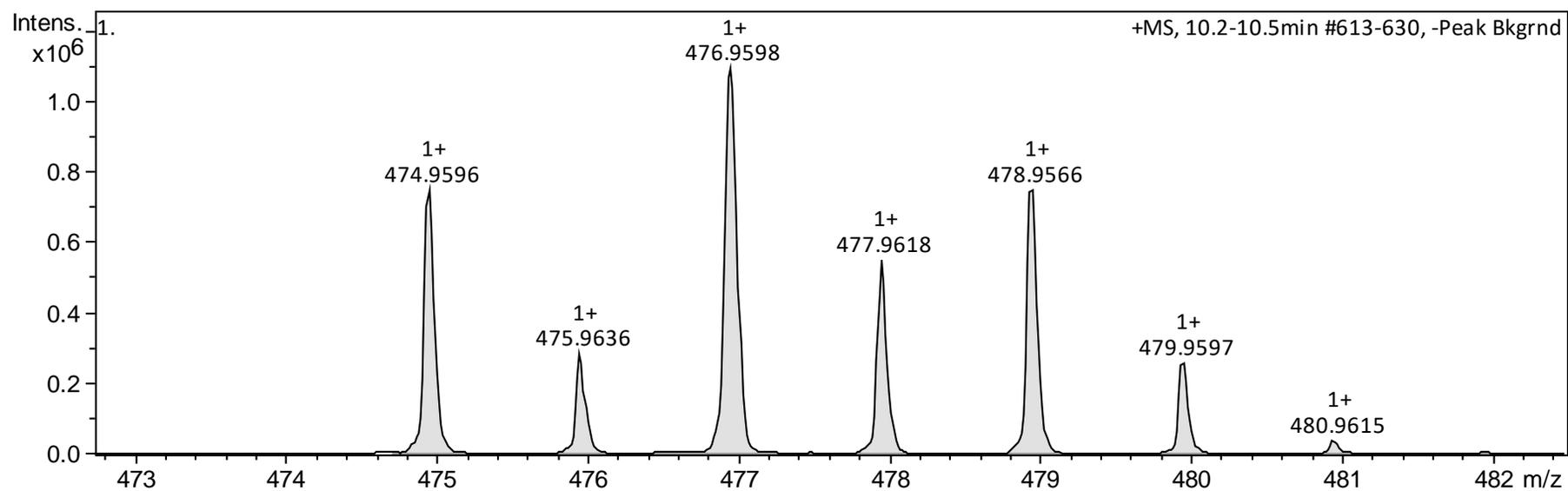
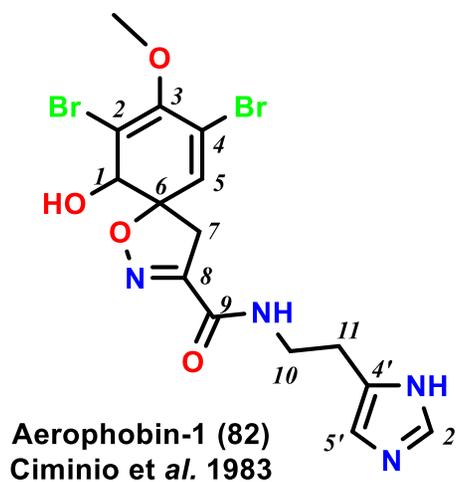
Spectre HSQC de la LL-PAA216 (81)



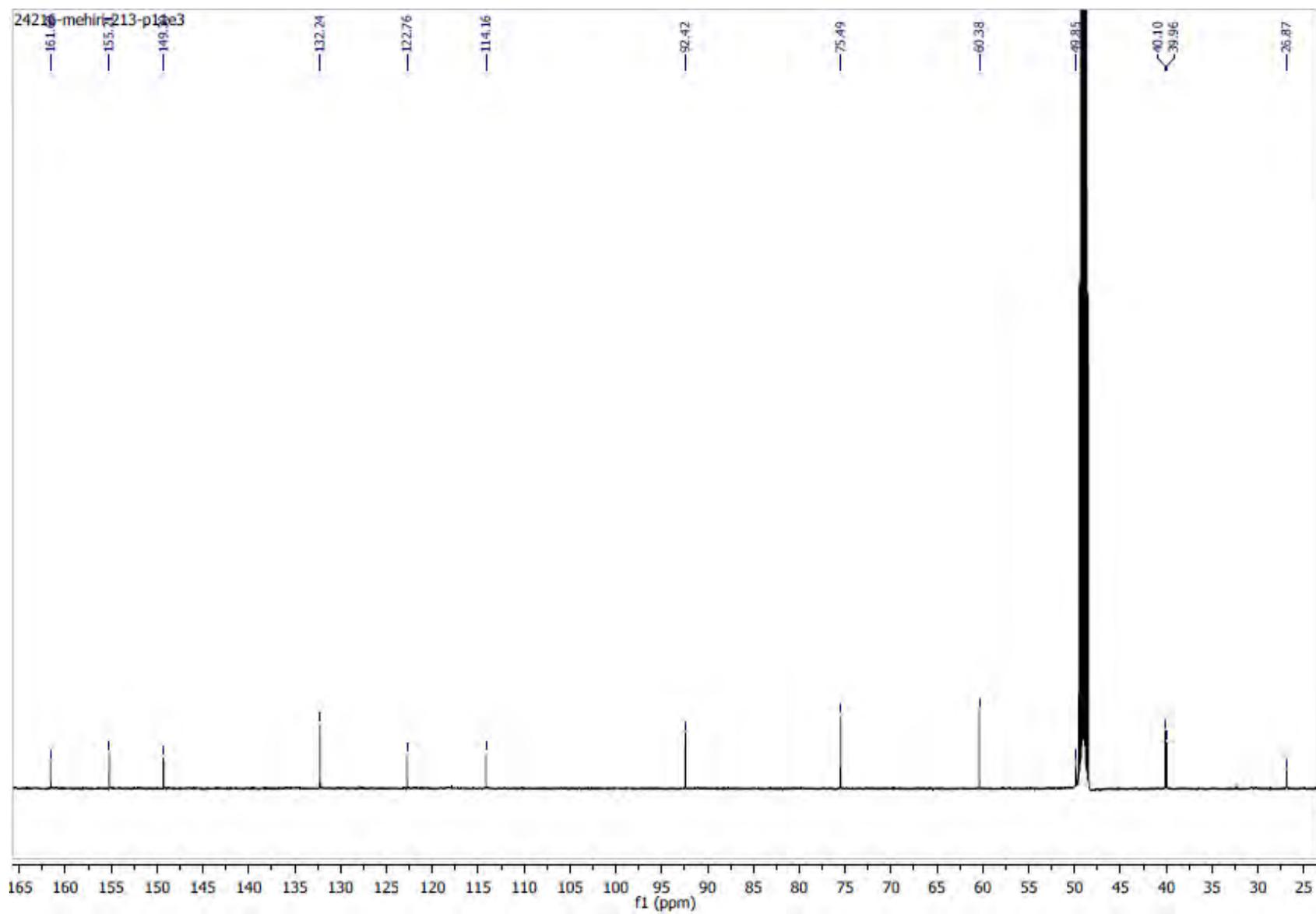
Spectre COSY de la LL-PAA216 (81)

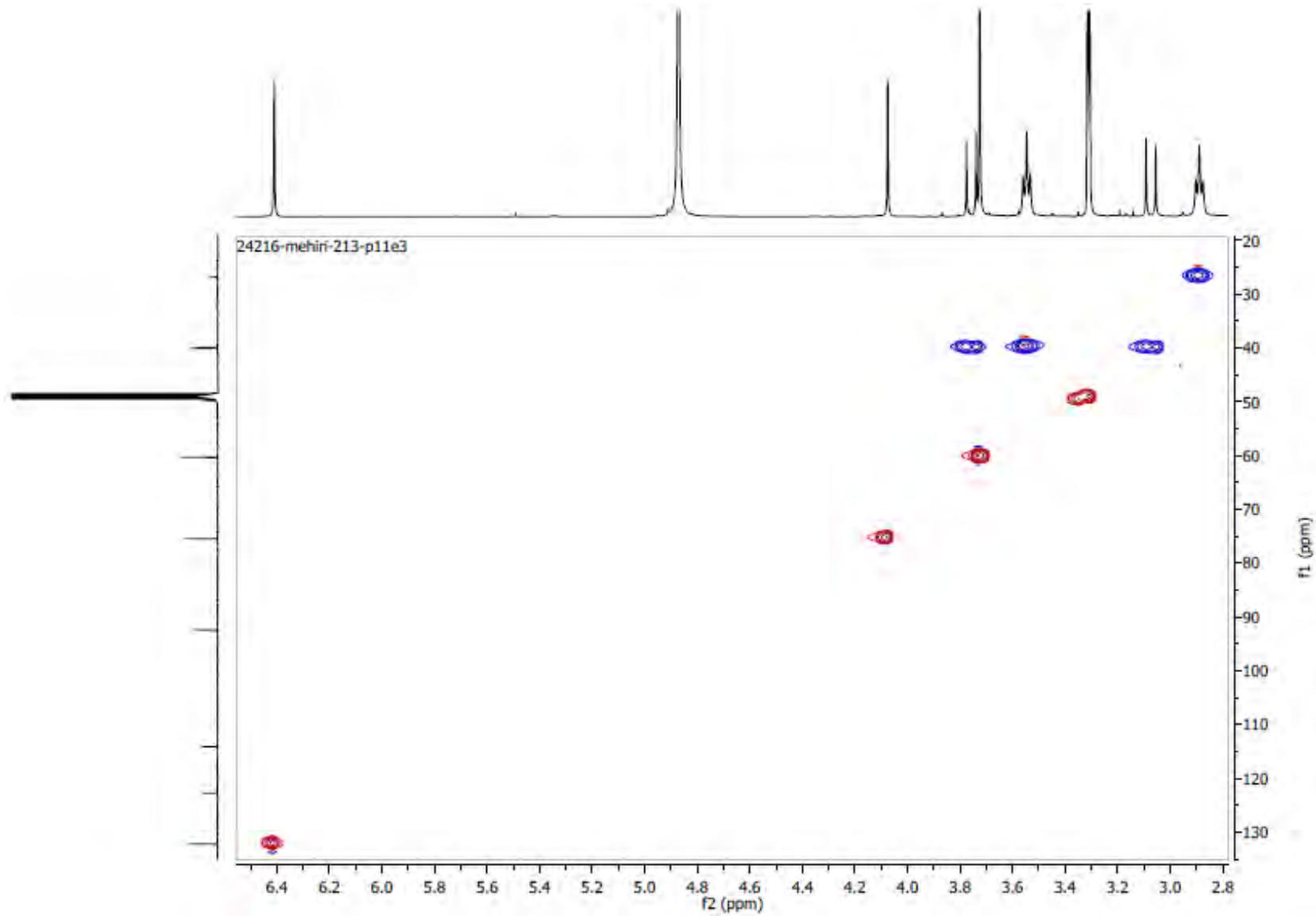


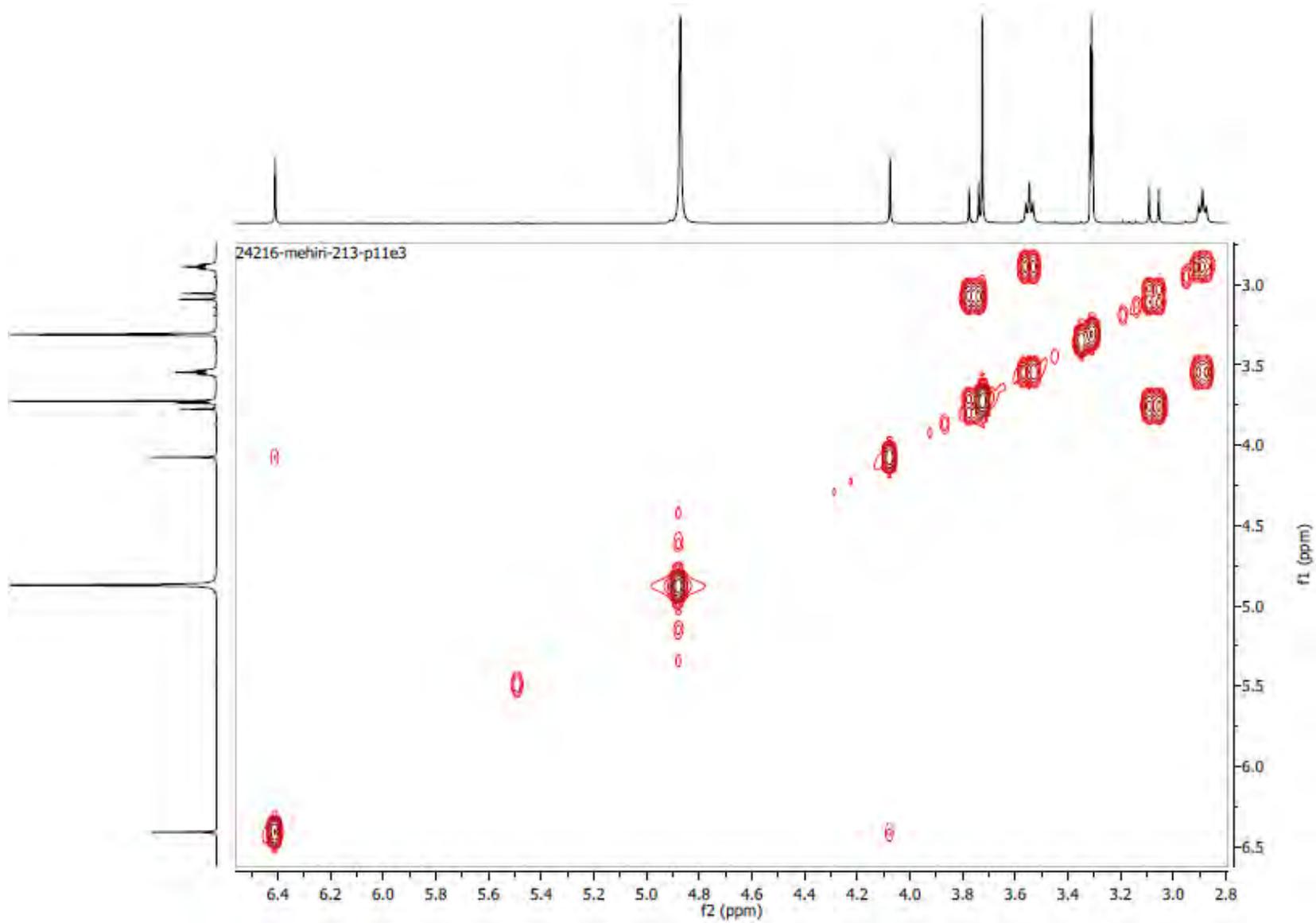
Spectre HMBC de la LL-PAA216 (81)



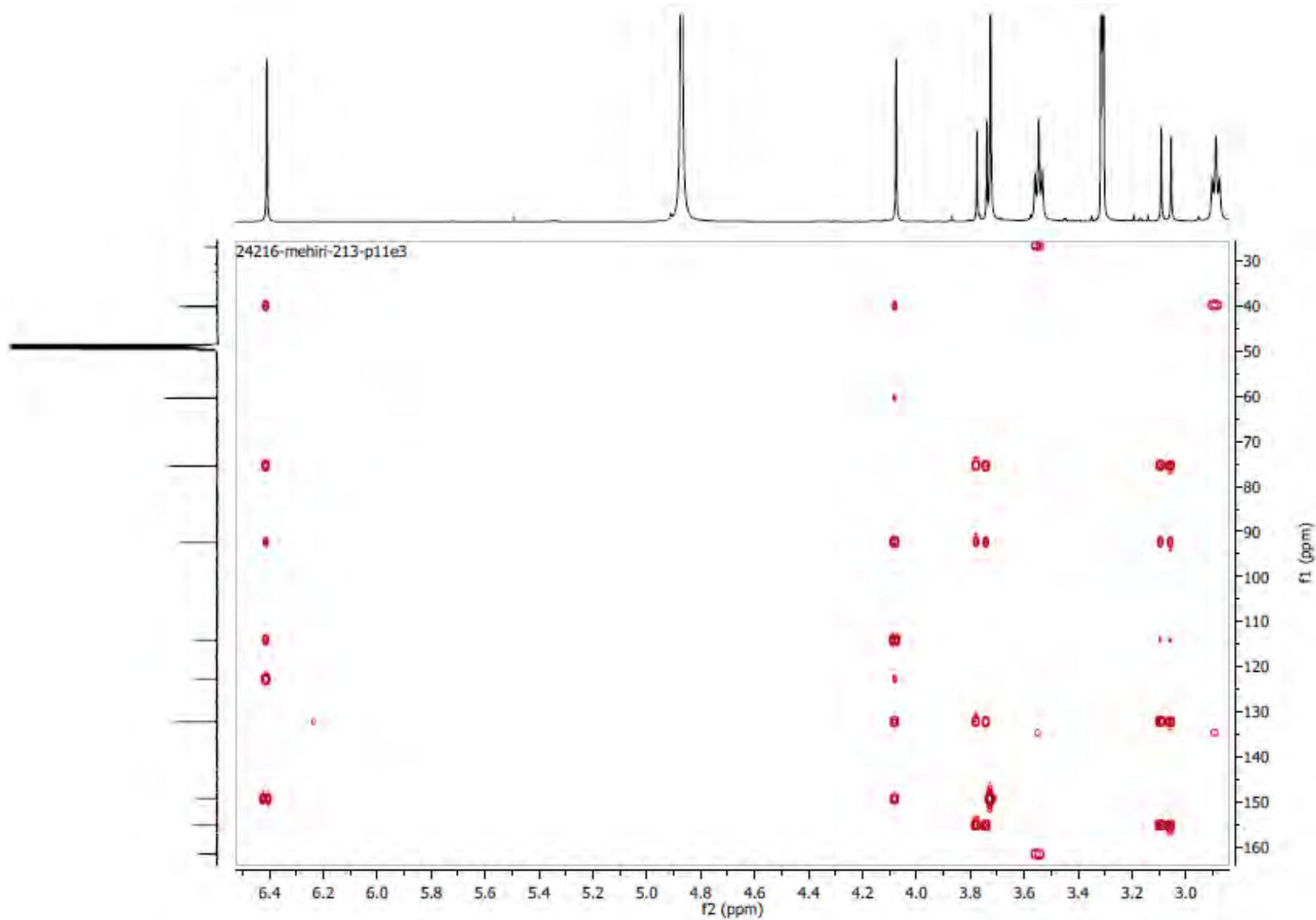
Spectre HRMS (+) de l'aerophobine-1 (82)

Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz, MeOH- $d_4$ ) de l'aerophobine-1 (**82**)

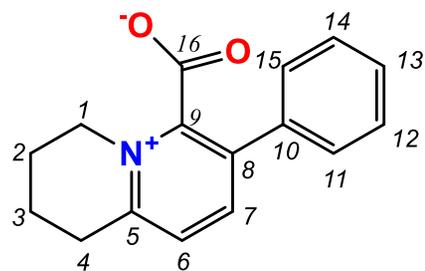
Spectre HSQC de l'aerophobine-1 (**82**)



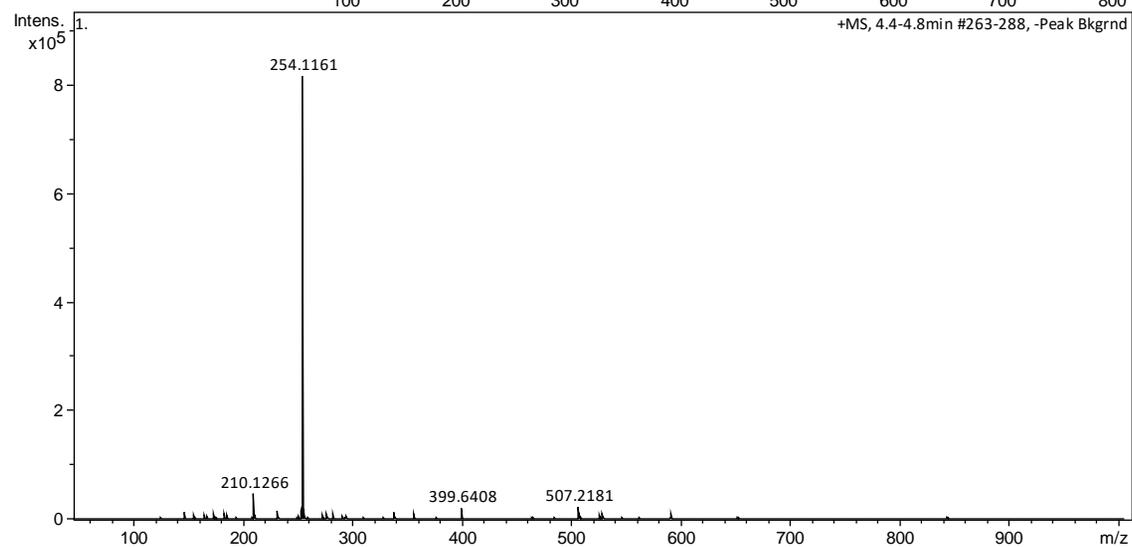
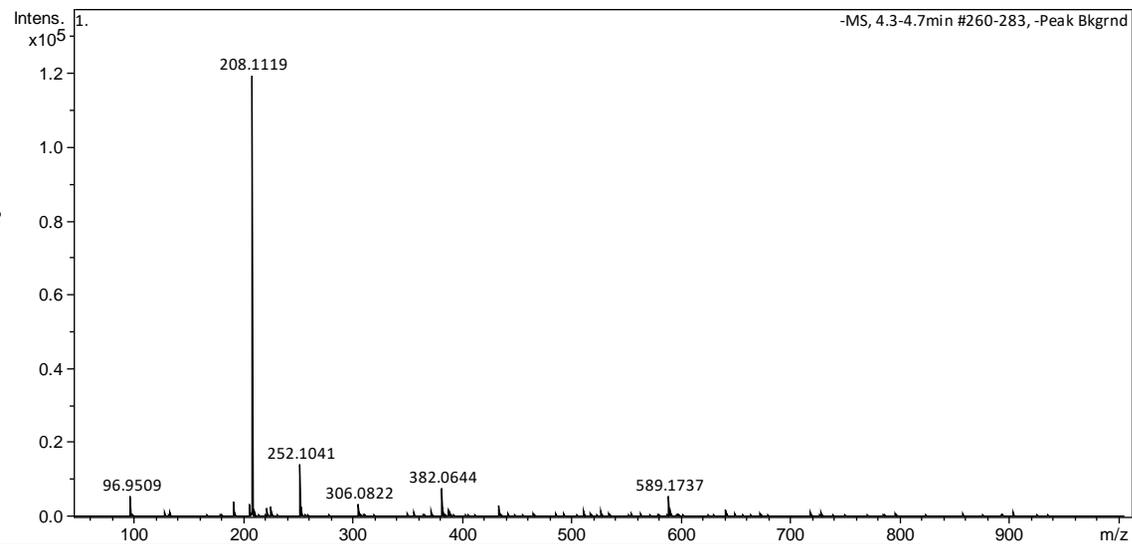
Spectre COSY de l'aerophobine-1 (82)



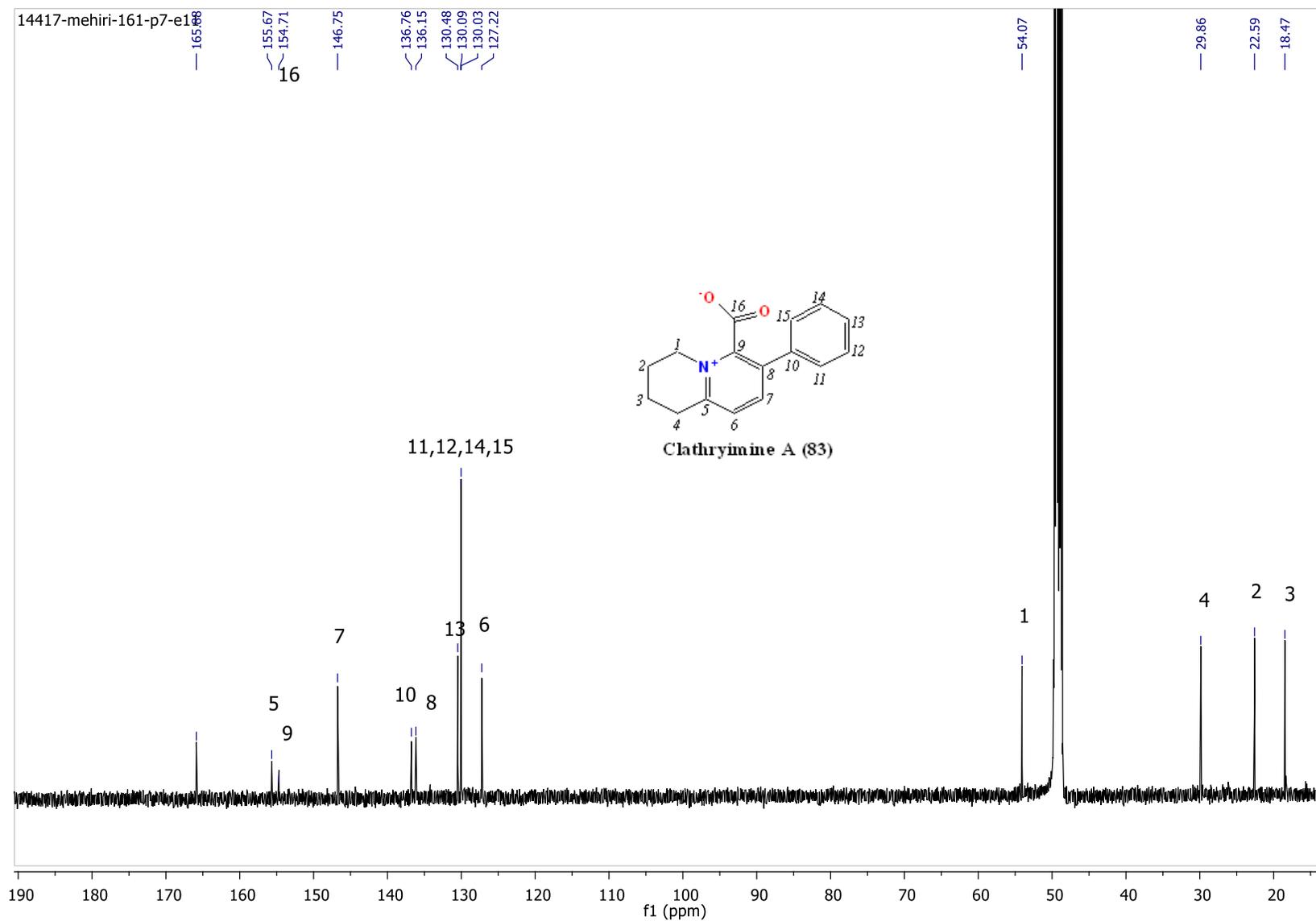
Spectre HMBC de l'aerophobine-1 (82)

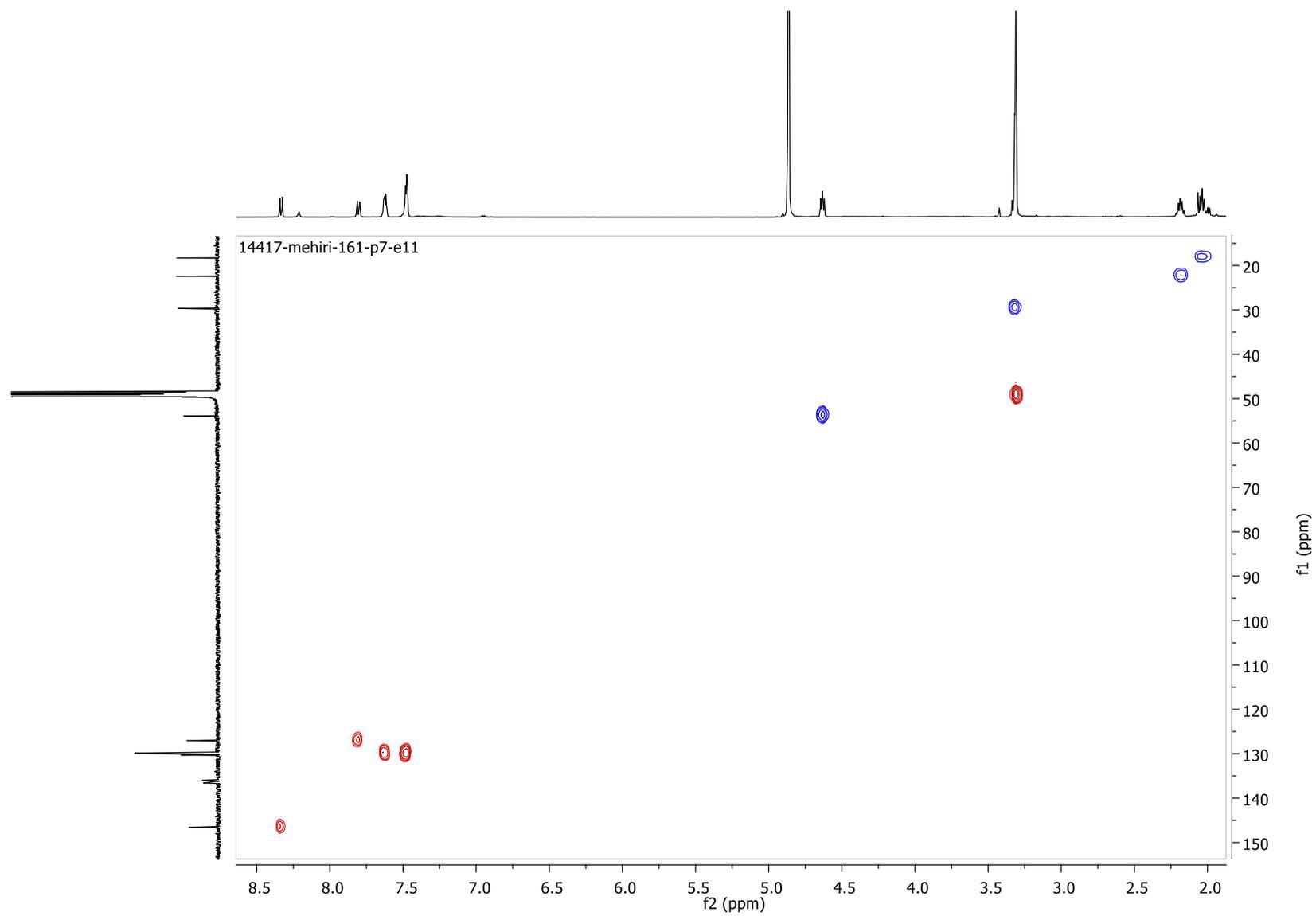


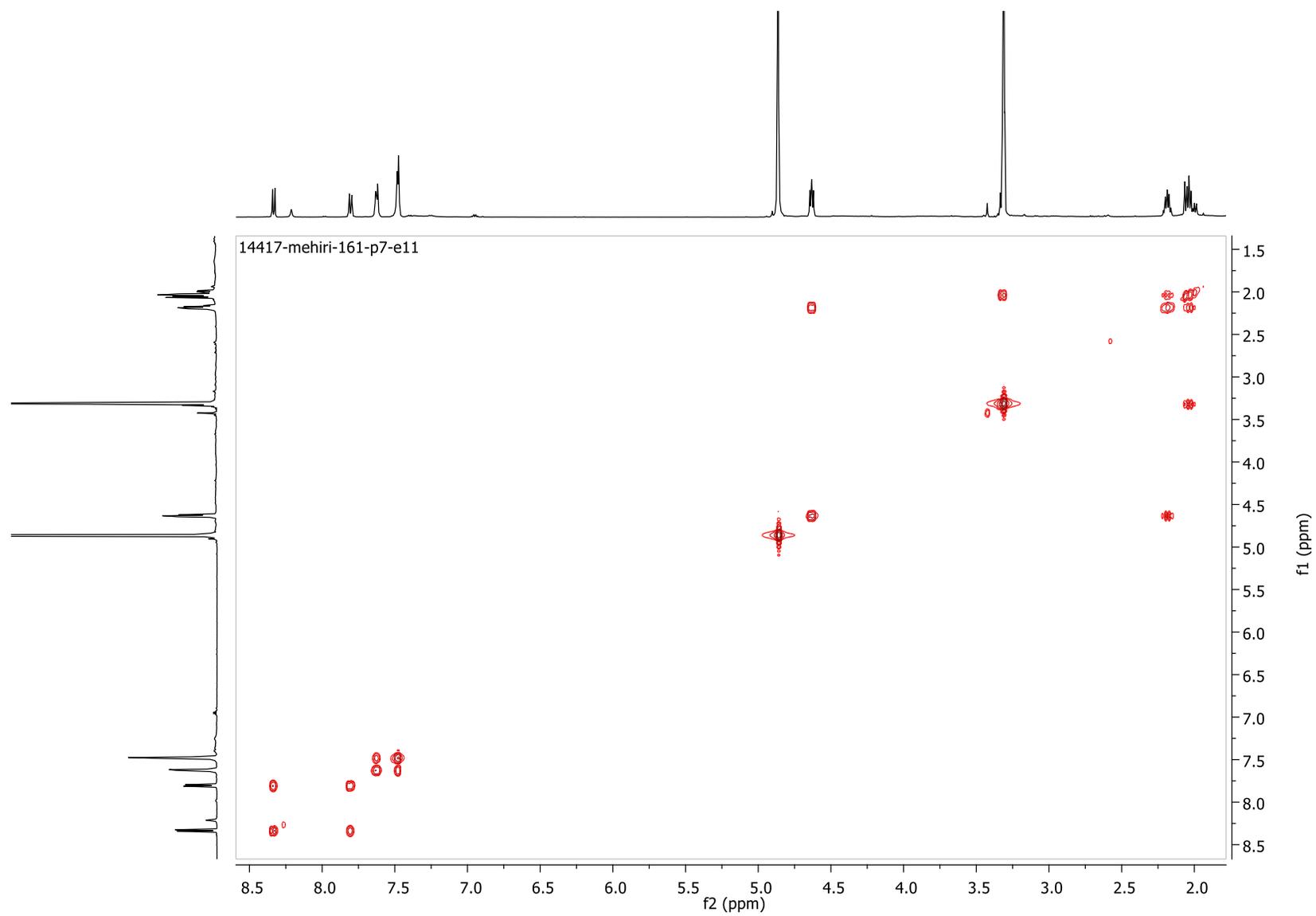
**Clathryimine A (83)**  
Sperry et Crews 1996

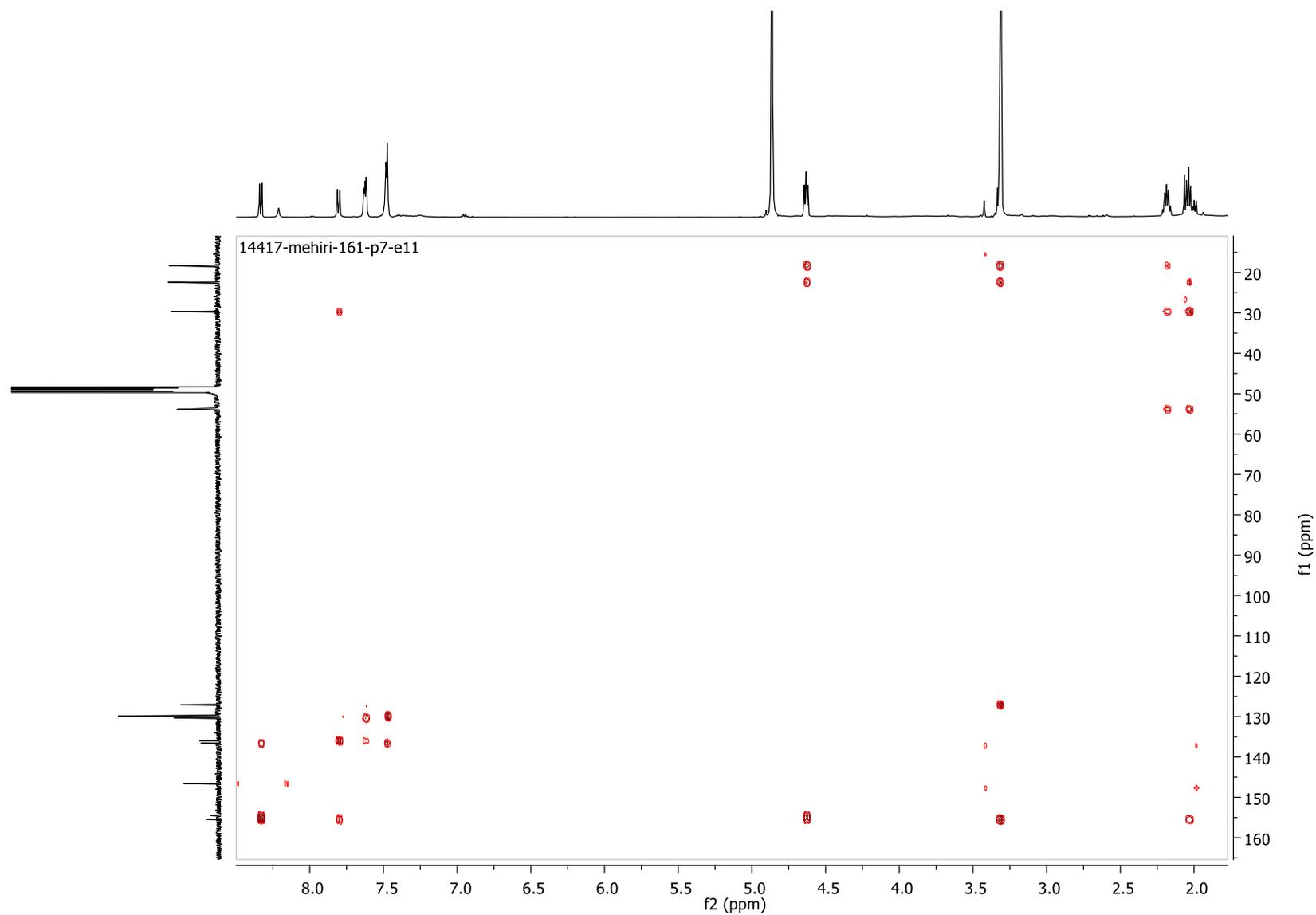


Spectres HRMS (-) et (+) de la clathryimine A (83)

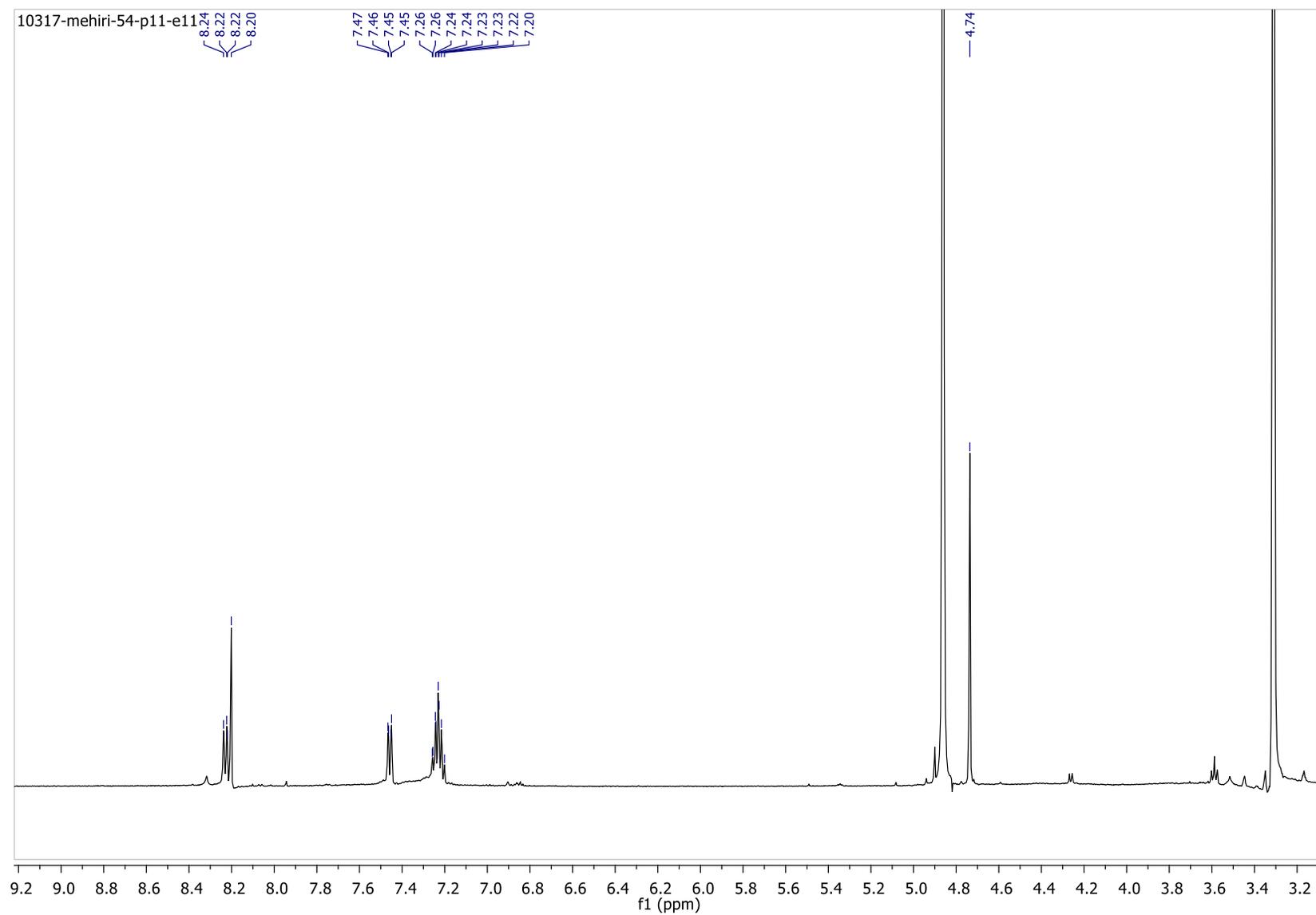
Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz, MeOH- $d_4$ ) de la clathrymine A (83)

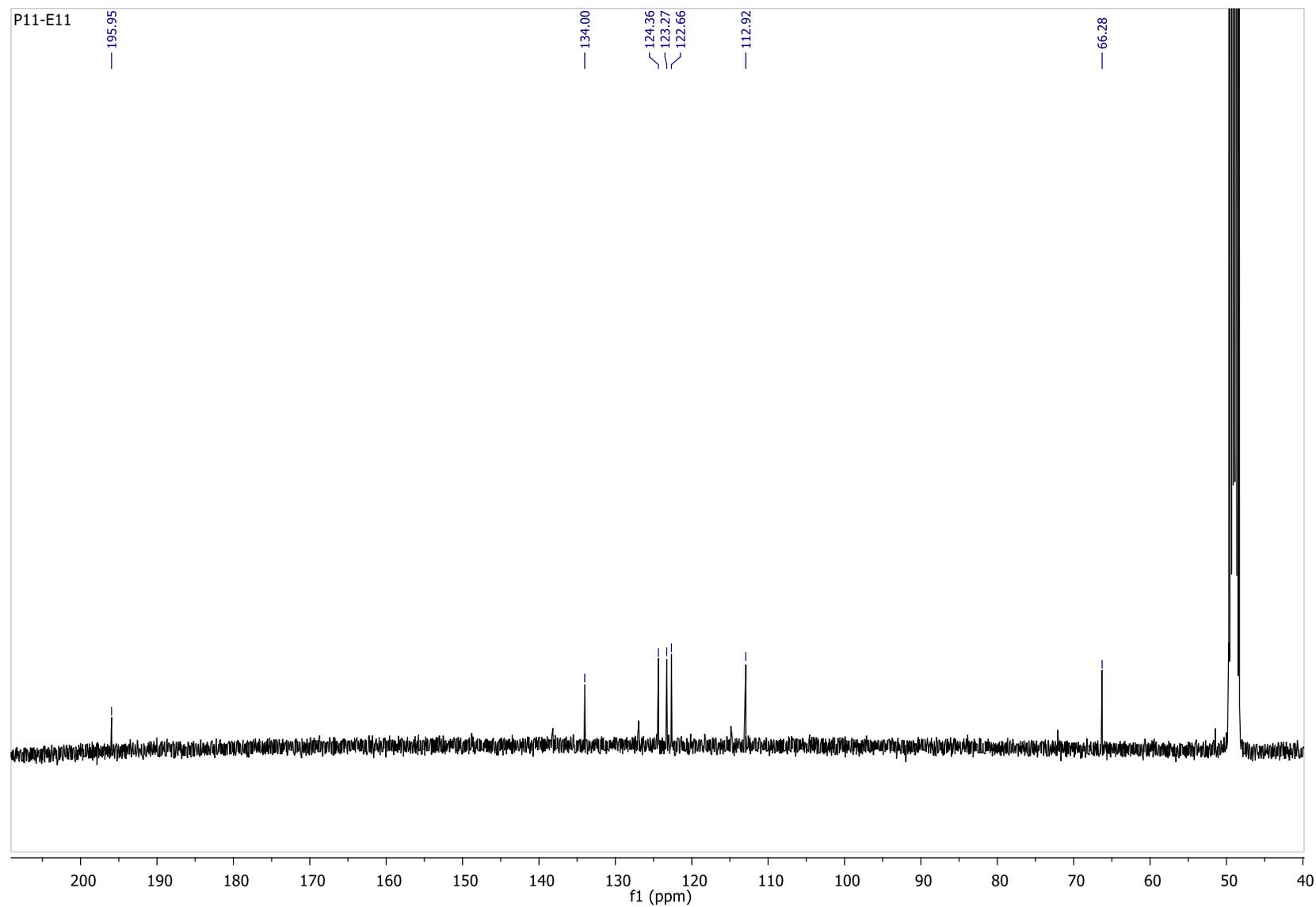
Spectre HSQC de la clathryimine A (**83**)

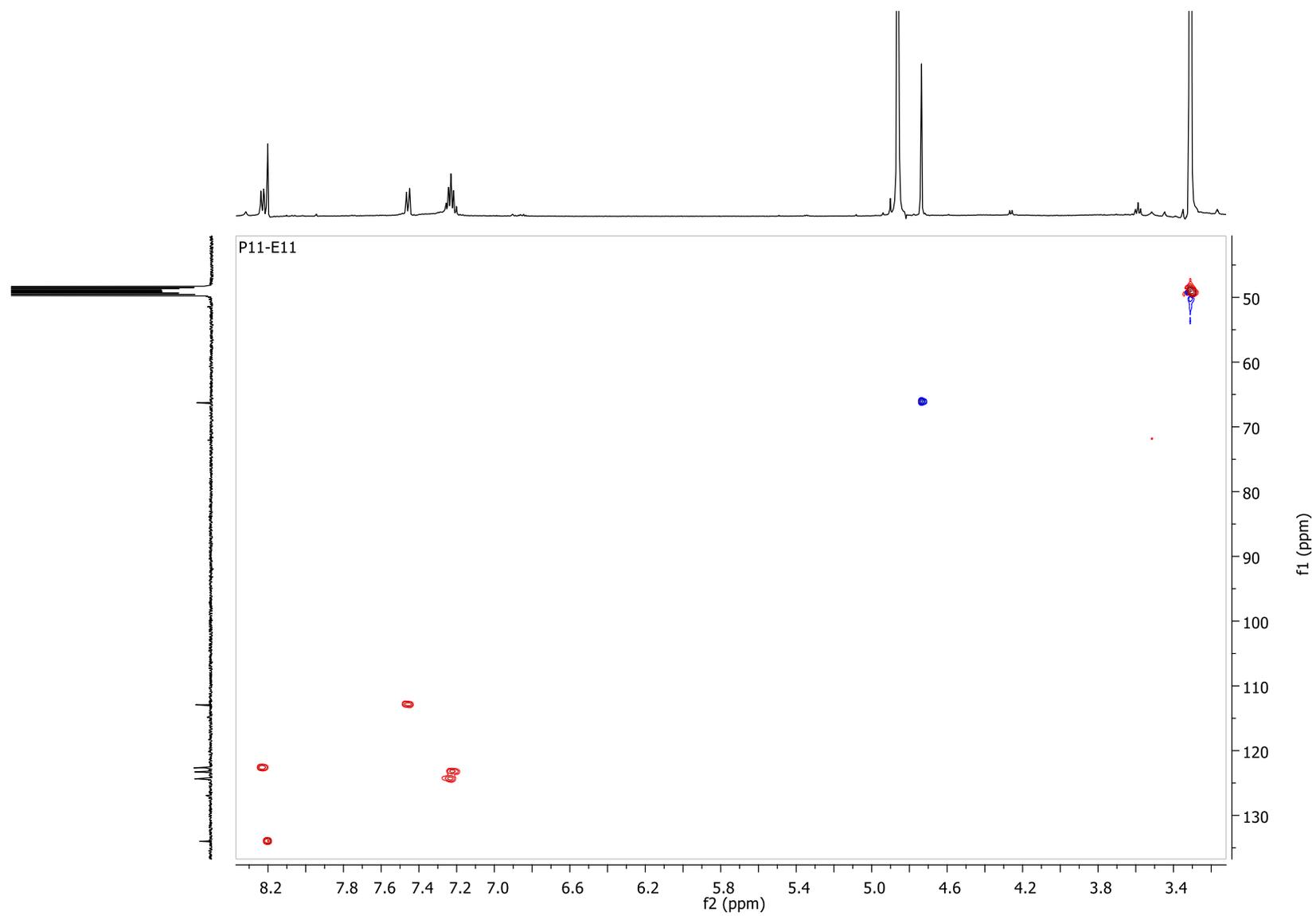
Spectre COSY de la clathryimine A (**83**)

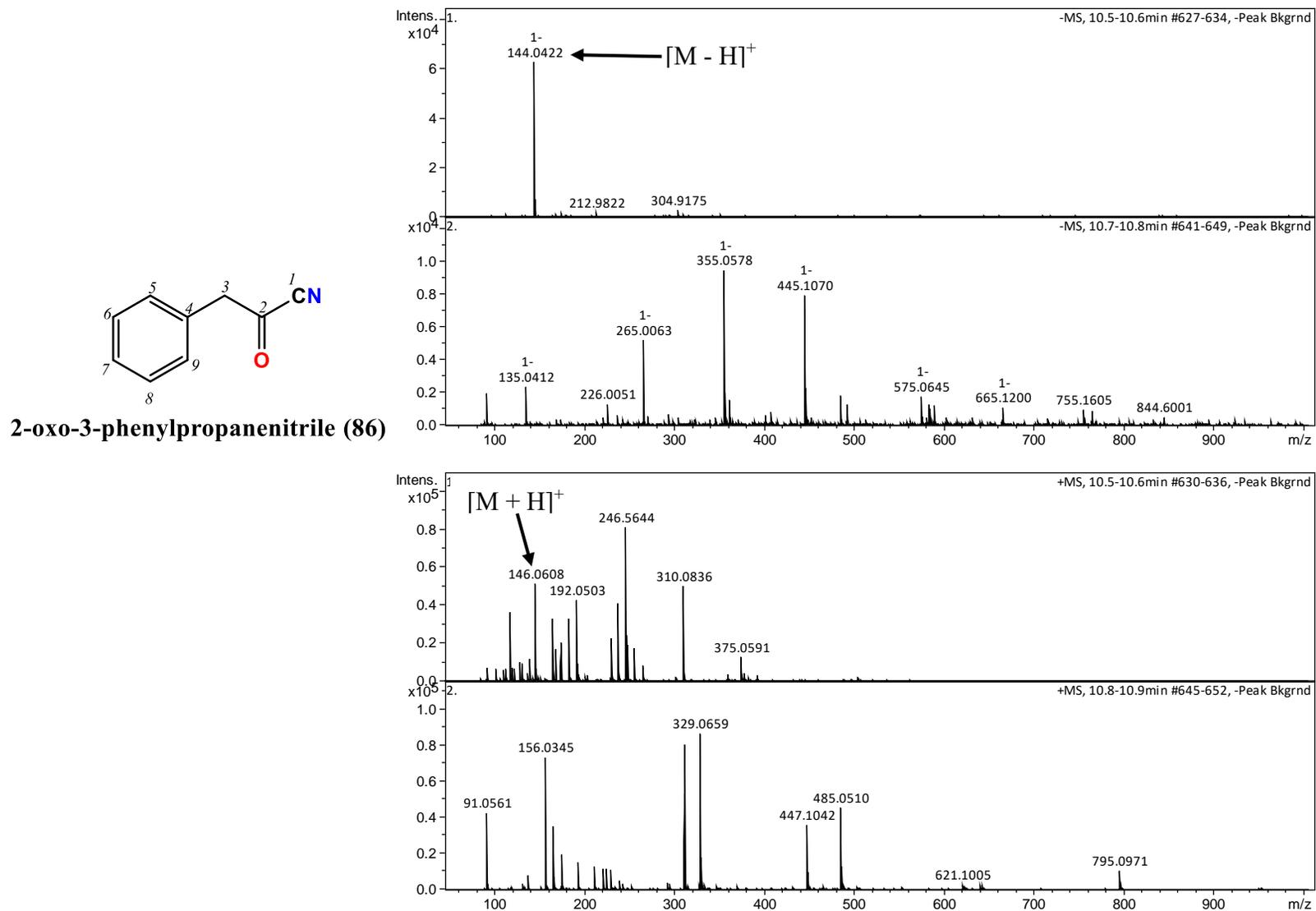


Spectre HMBC de la clathryimine A (83)

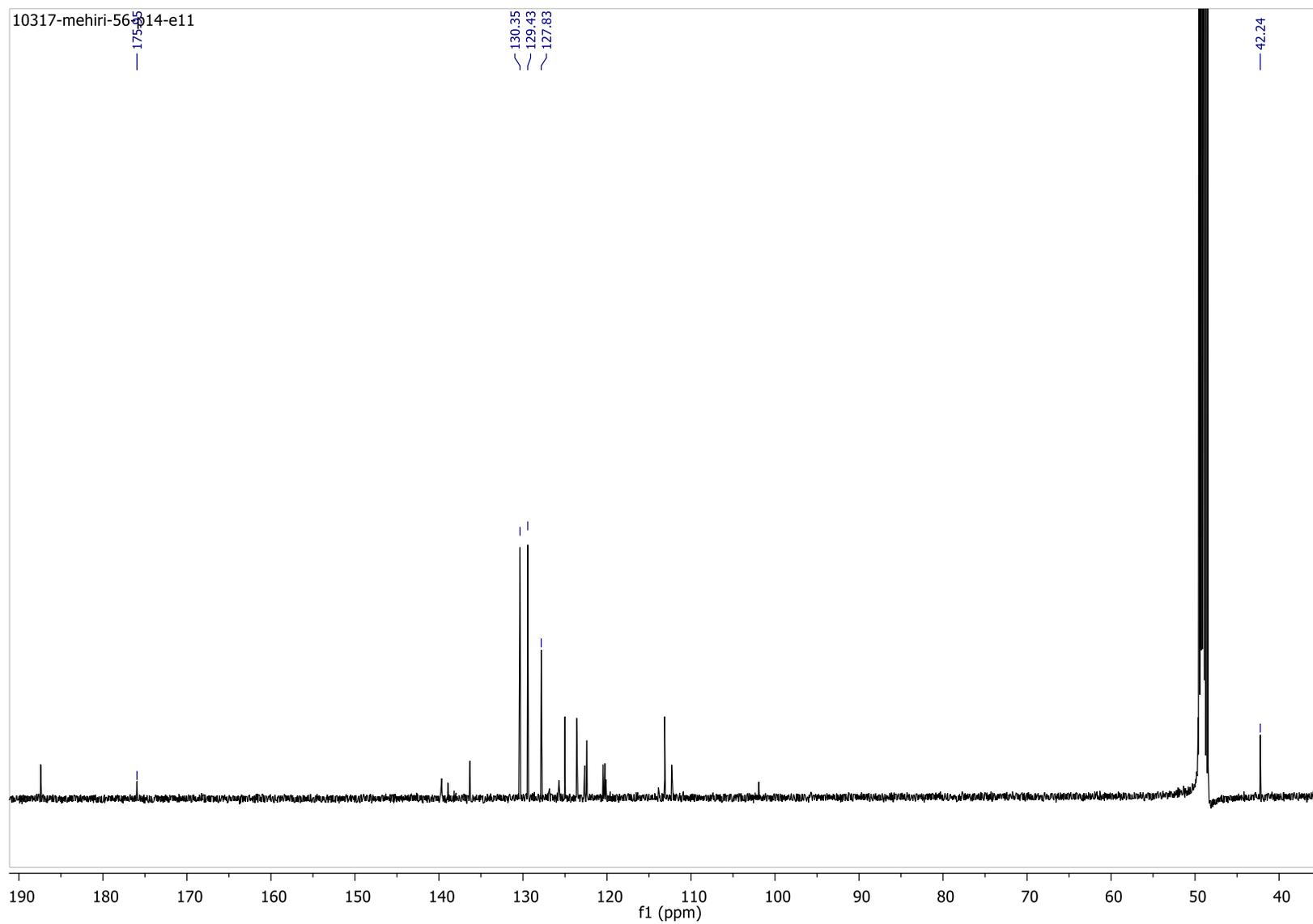
Spectre RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz, MeOH- $d_4$ ) du composé **84**

Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, MeOH- $d_4$ ) du composé **84**

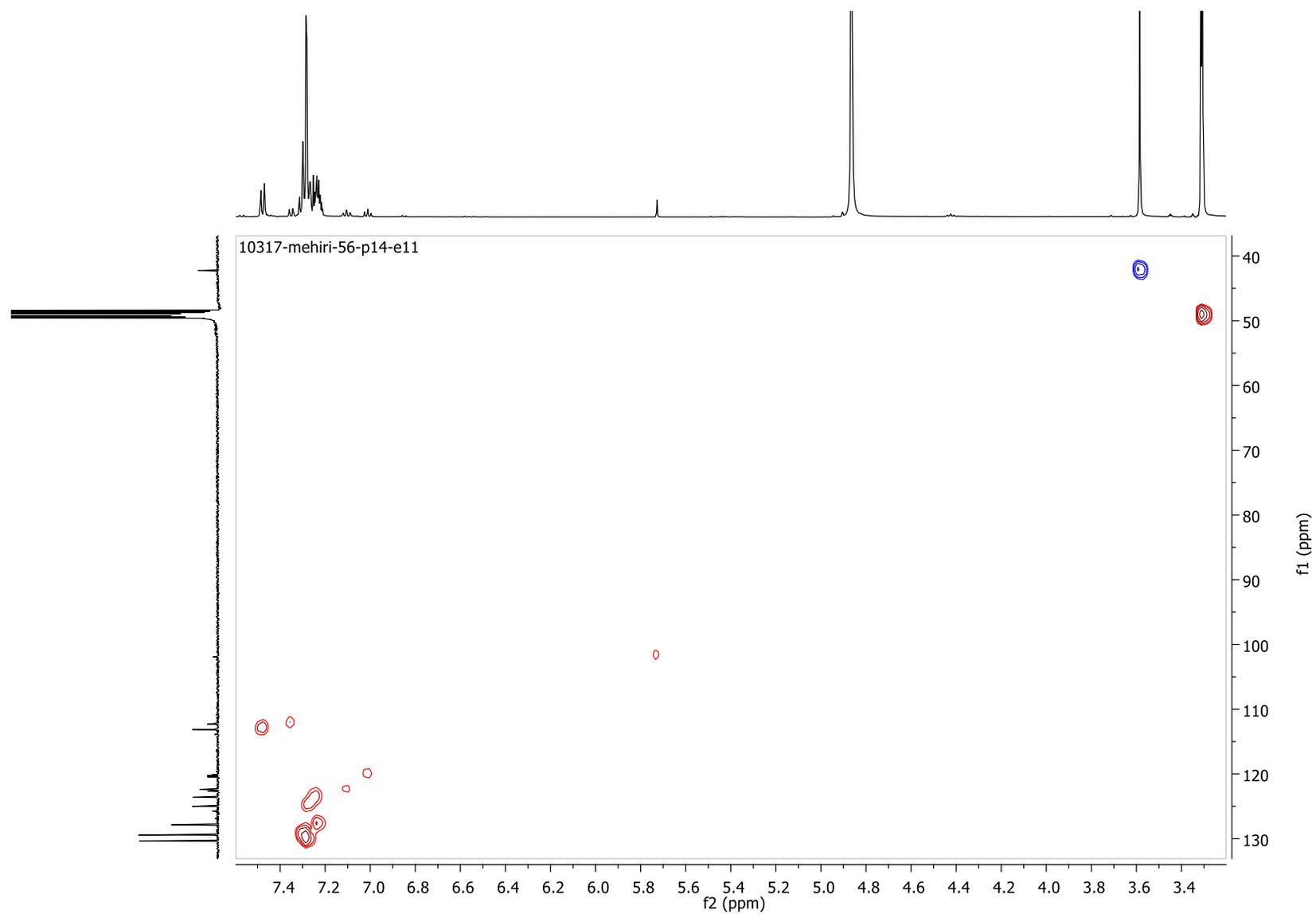
Spectre HSQC du composé **84**

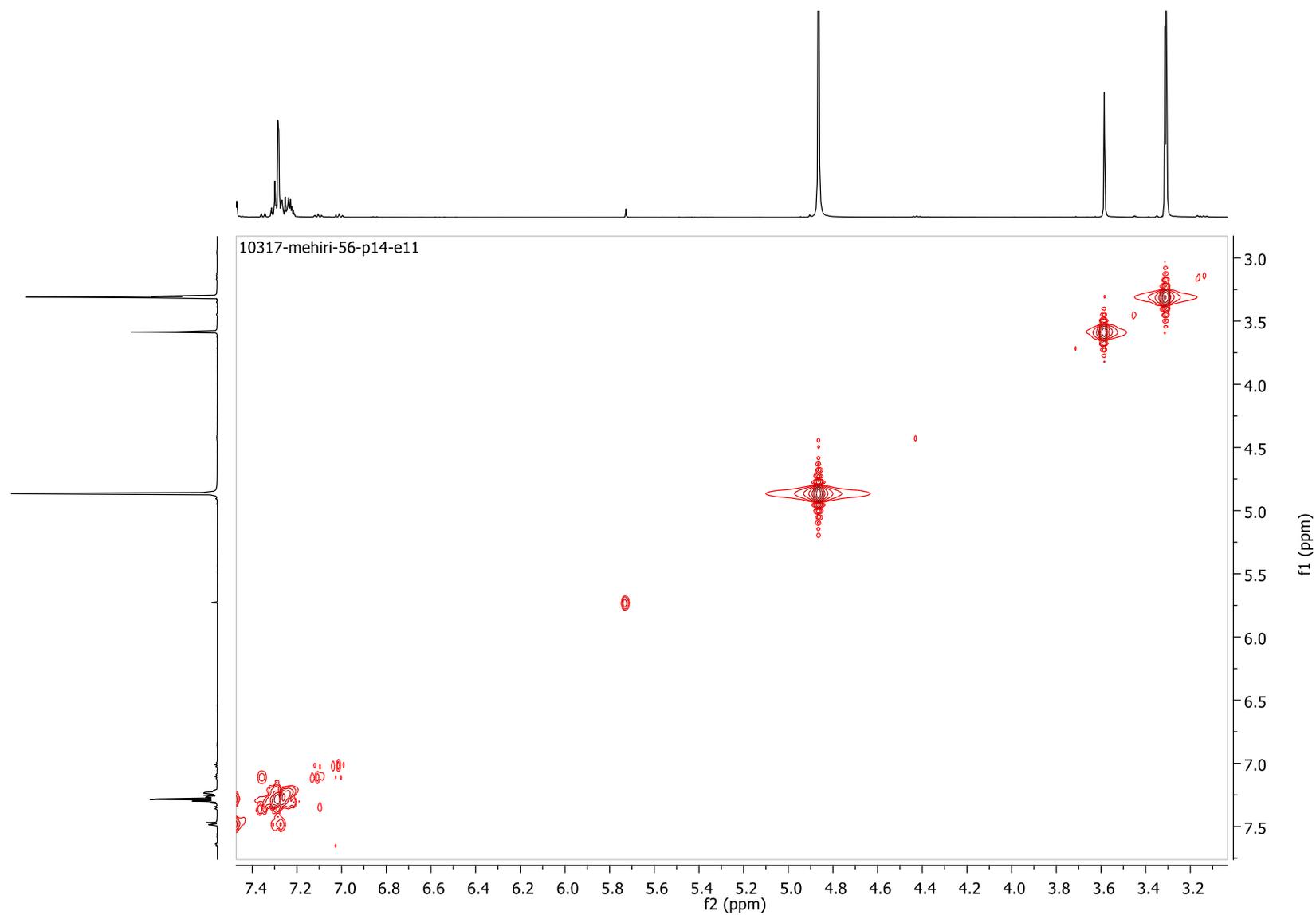


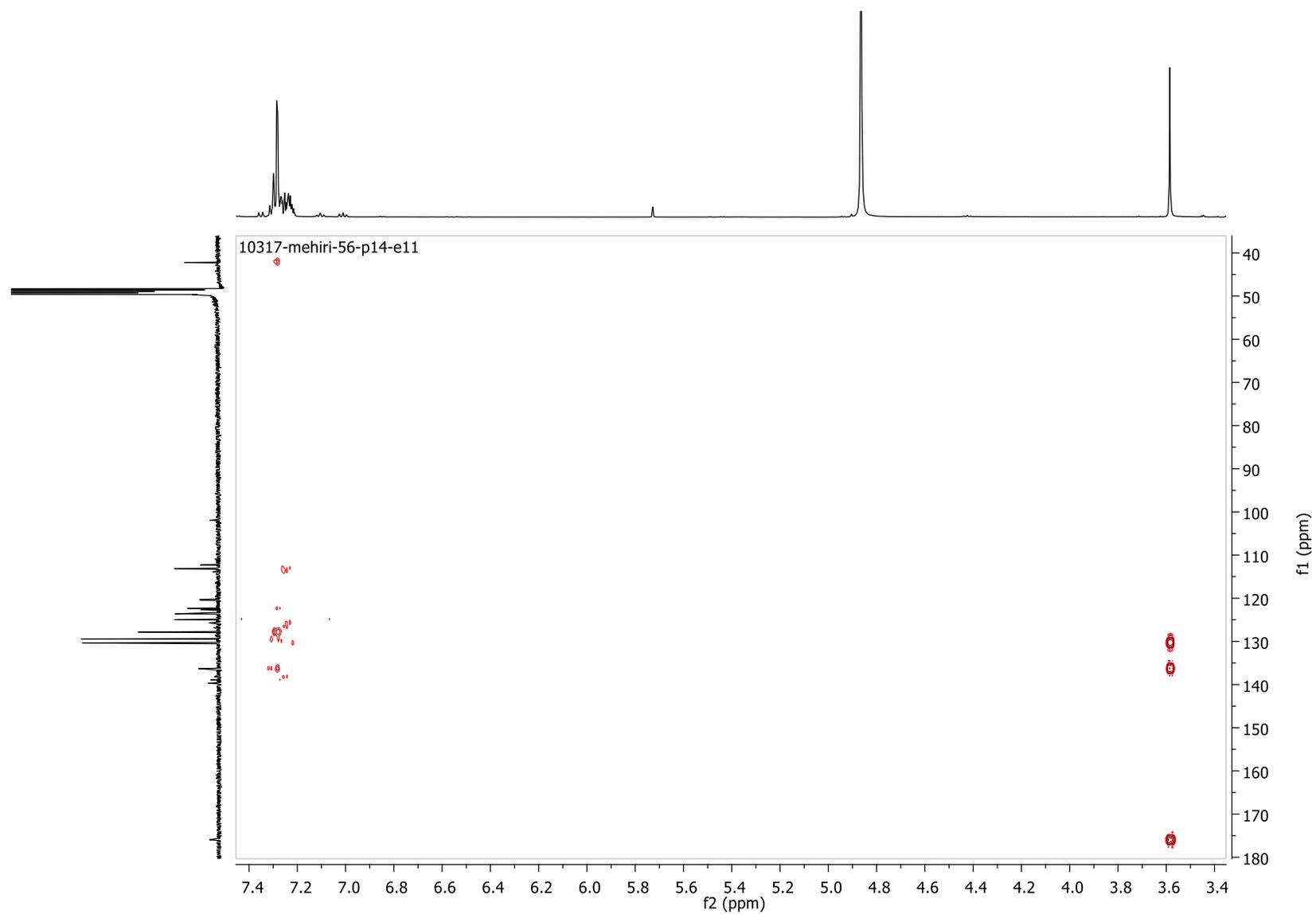
Spectres HRMS (-) et (+) du composé (86)

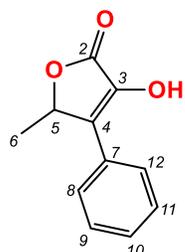
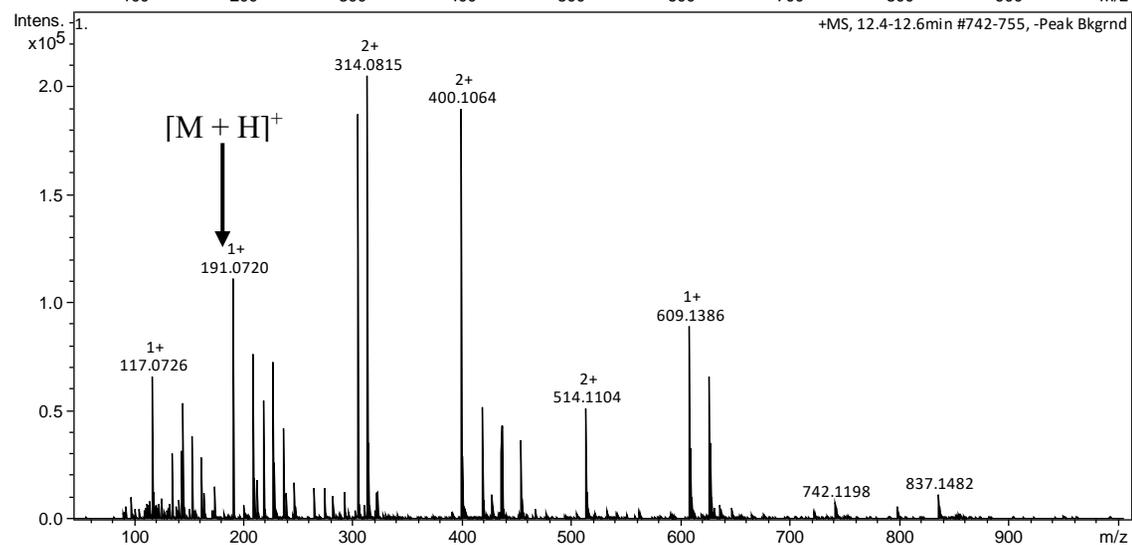
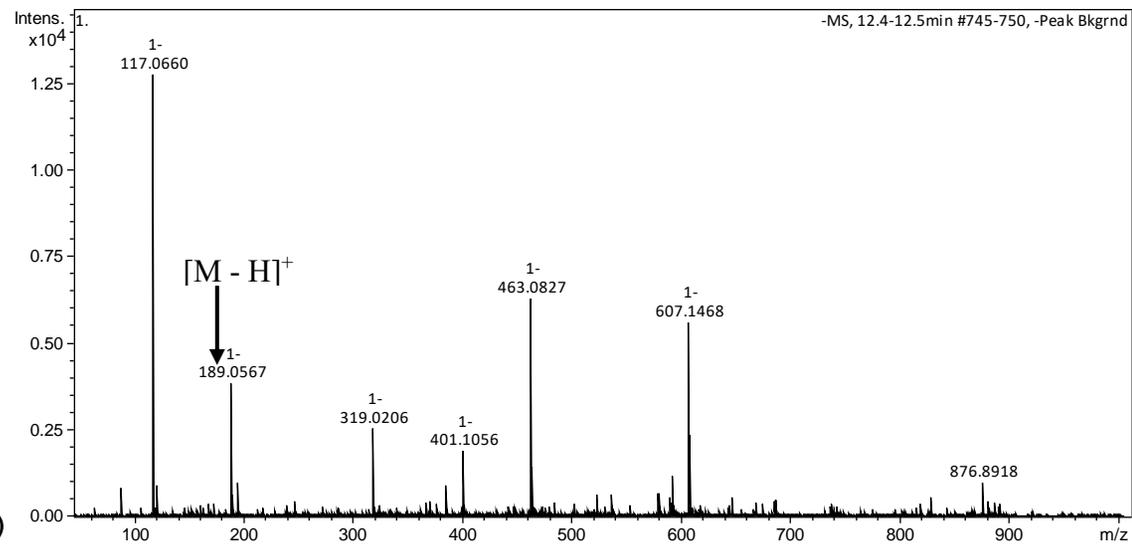


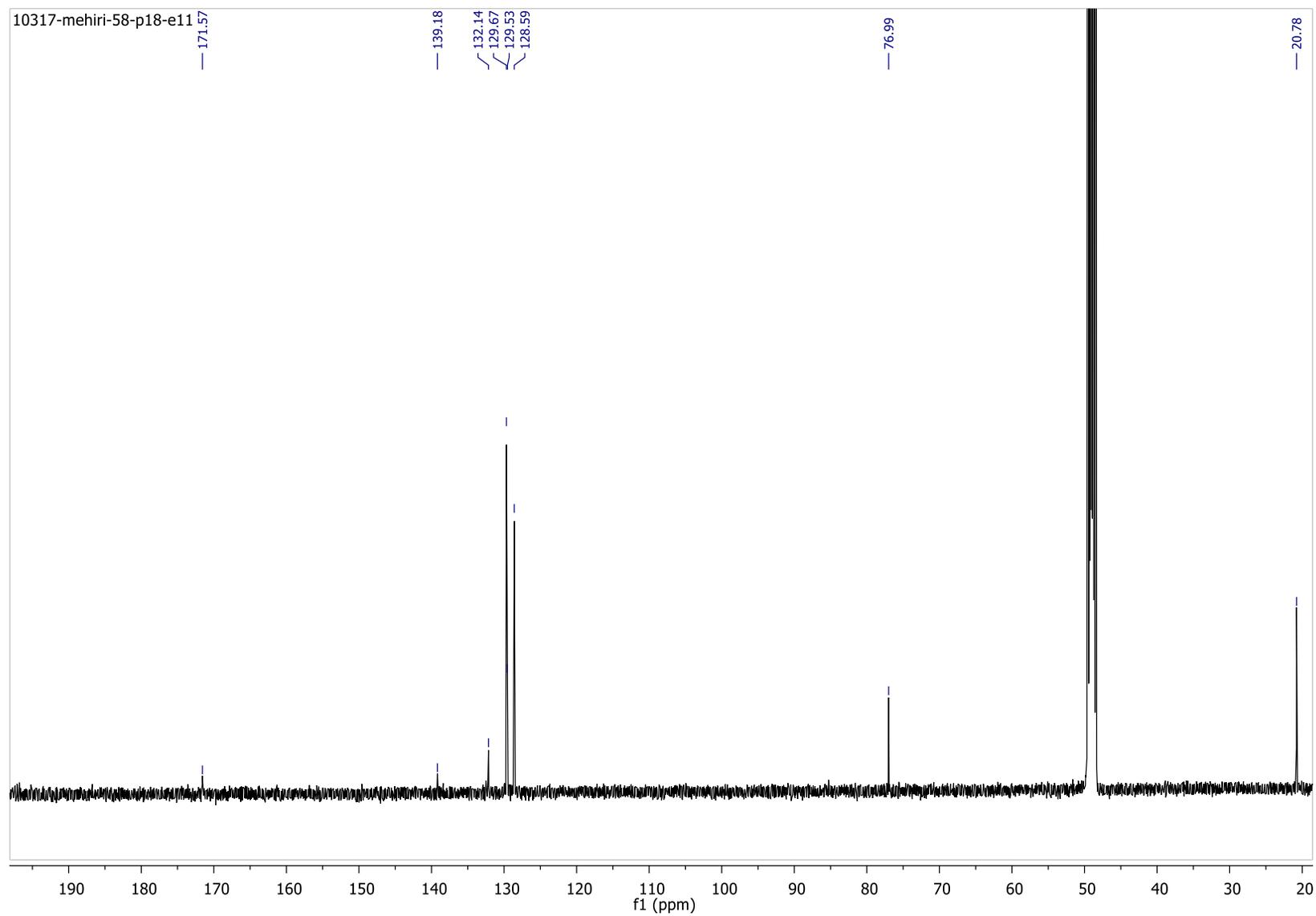
Spctre RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz, MeOH- $d_4$ ) du 2-oxo-3-phenylpropanenitrile (**86**)

Spectre HSQC du 2-oxo-3-phenylpropanenitrile (**86**)

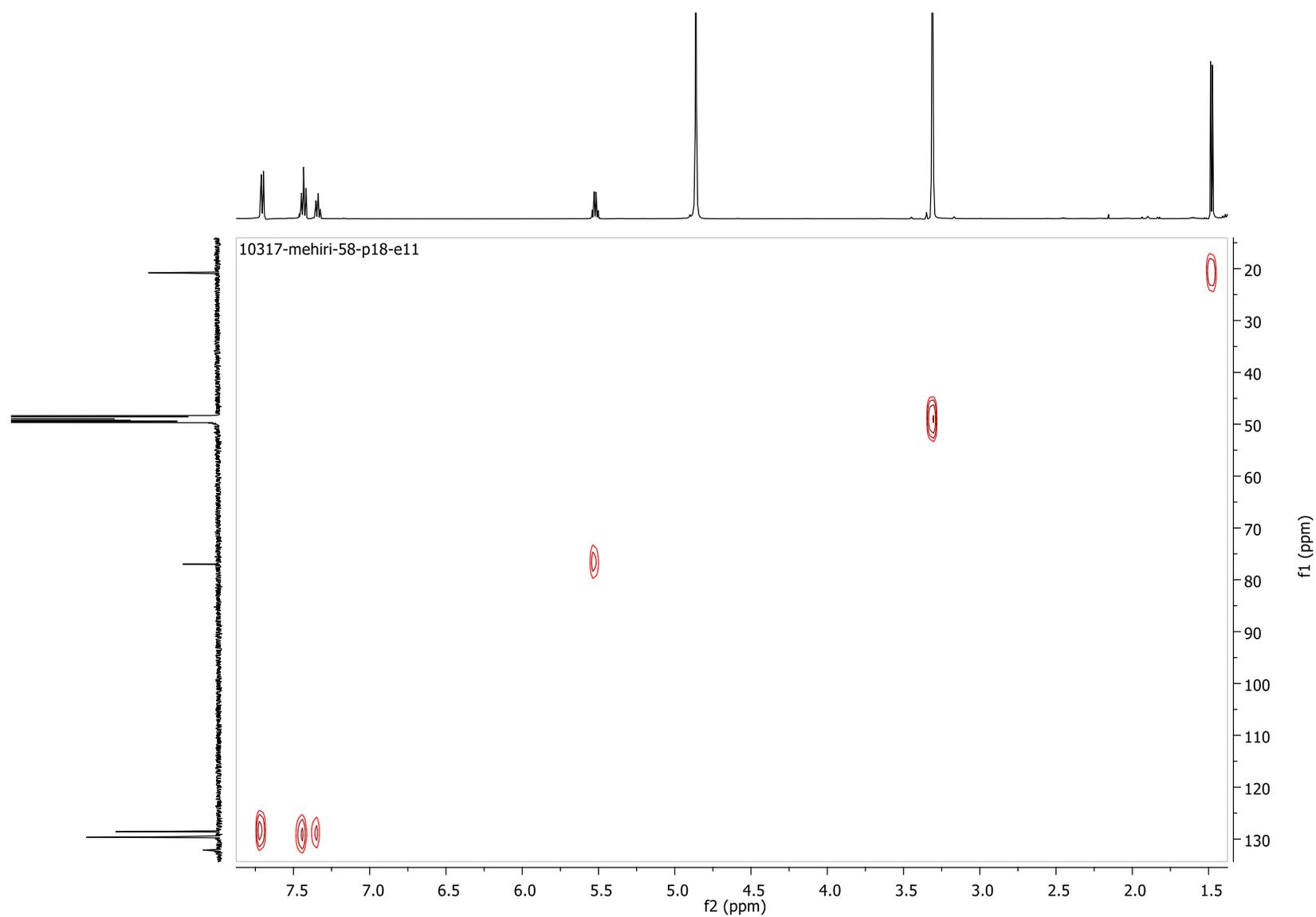
Spectre COSY du 2-oxo-3-phenylpropanenitrile (**86**)

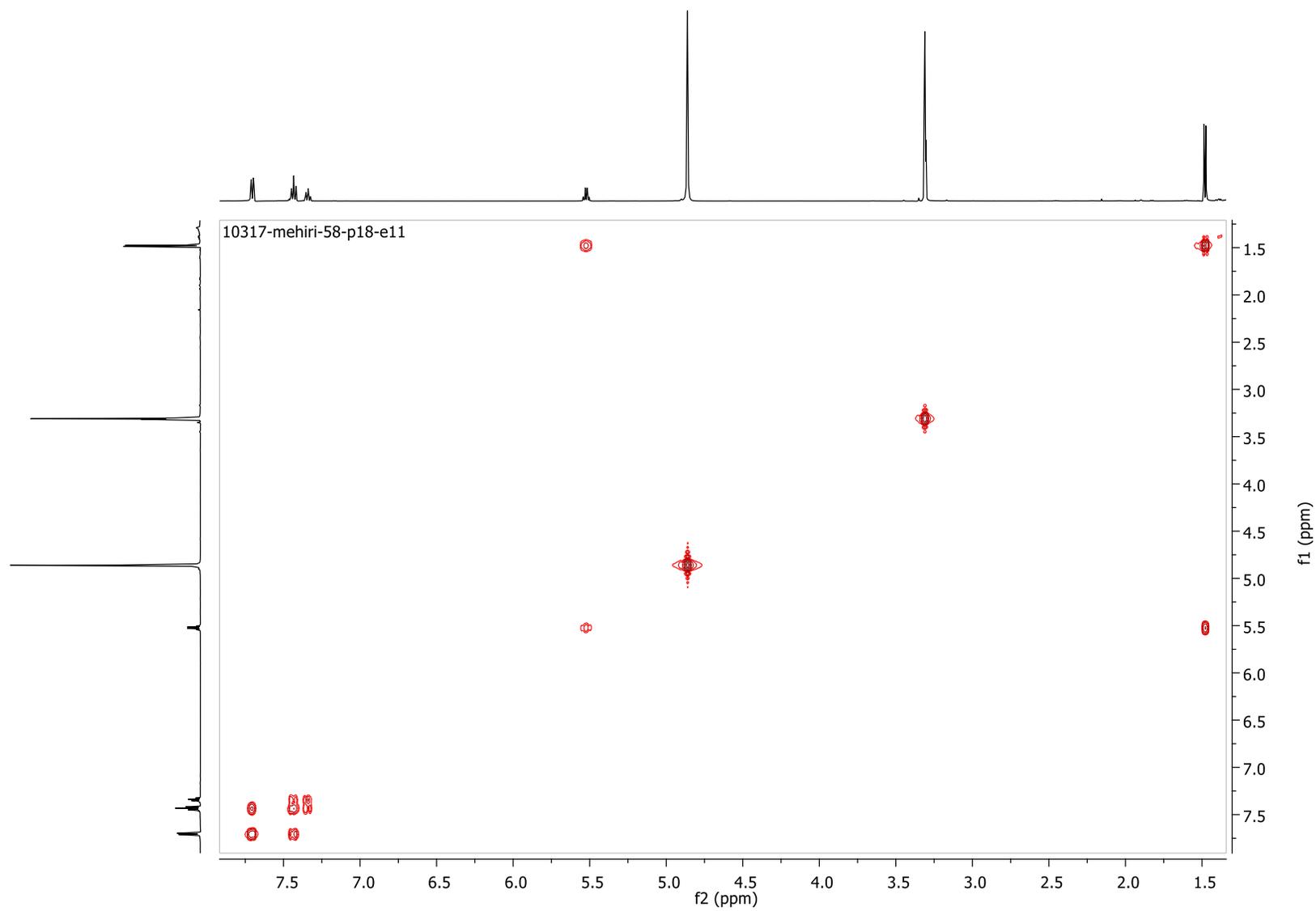
Spectre HMBC du 2-oxo-3-phenylpropanenitrile (**86**)

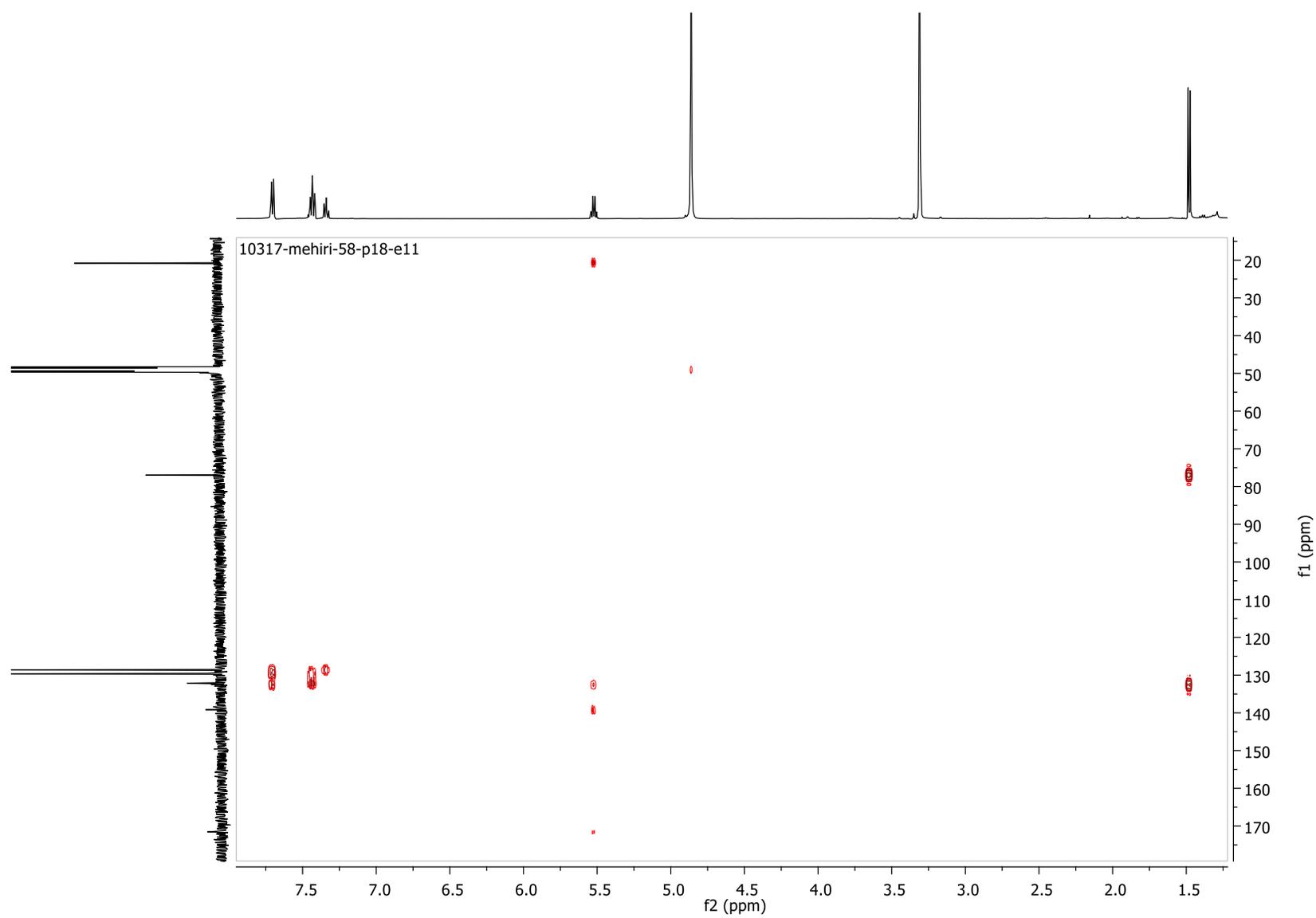
3-hydroxy-5-méthyl-4-phenyl-furan-2(5H)-one (**88**)Spectres HRMS (-) et (+) du composé (**88**)



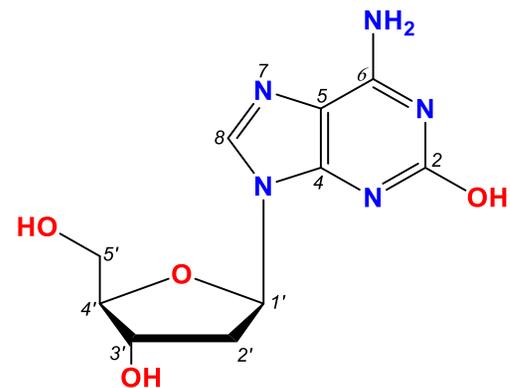
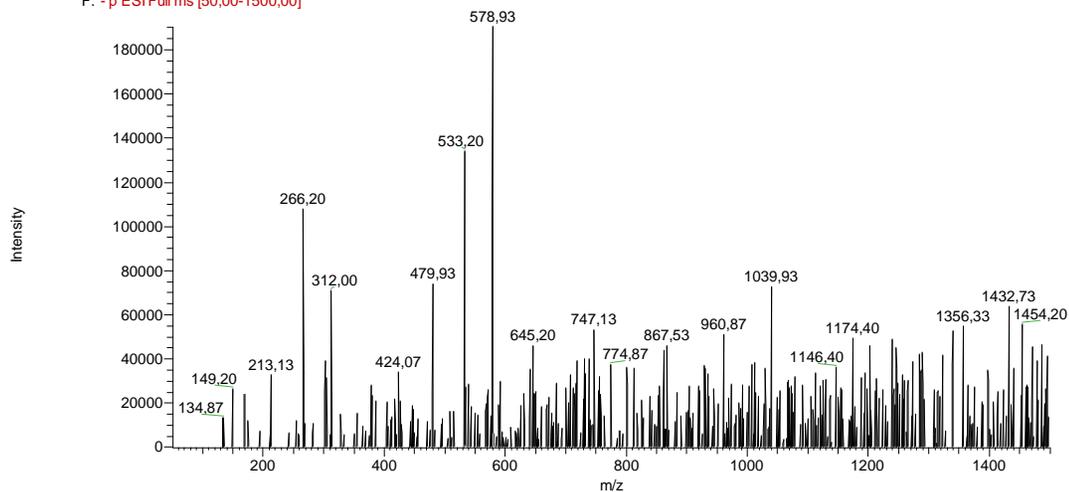
Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz, MeOH- $d_4$ ) de la 3-hydroxy-5-méthyl-4-phénylfuran-2(5H)-one (**88**)

Spectre HSQC de la 3-hydroxy-5-méthyl-4-phenylfuran-2(5H)-one (**88**)

Spectre COSY de la 3-hydroxy-5-méthyl-4-phenylfuran-2(5H)-one (**88**)

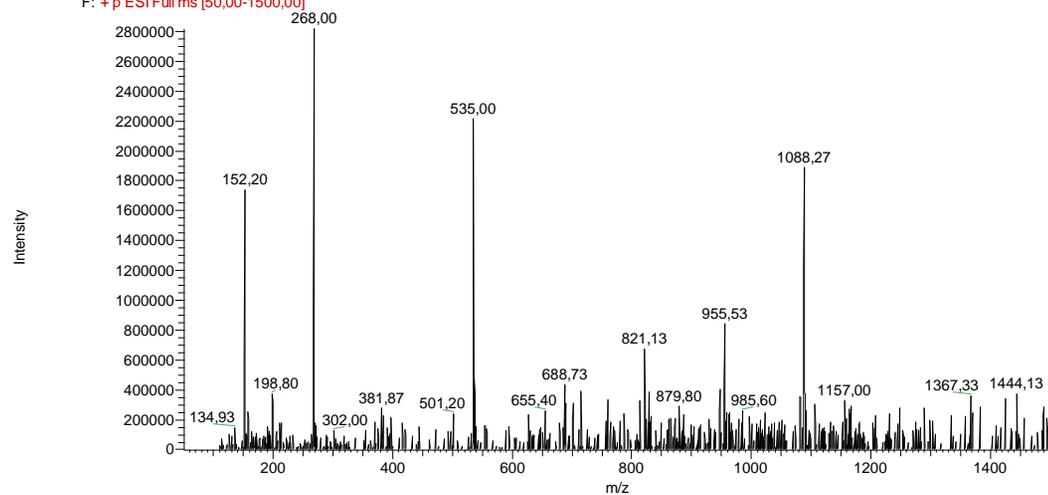
Spectre HMBC de la 3-hydroxy-5-méthyl-4-phénylfuran-2(5H)-one (**88**)

P4-F2-E11 #46 RT: 1.84 AV: 1 NL: 1,  
F: -p ESI Full ms [50,00-1500,00]

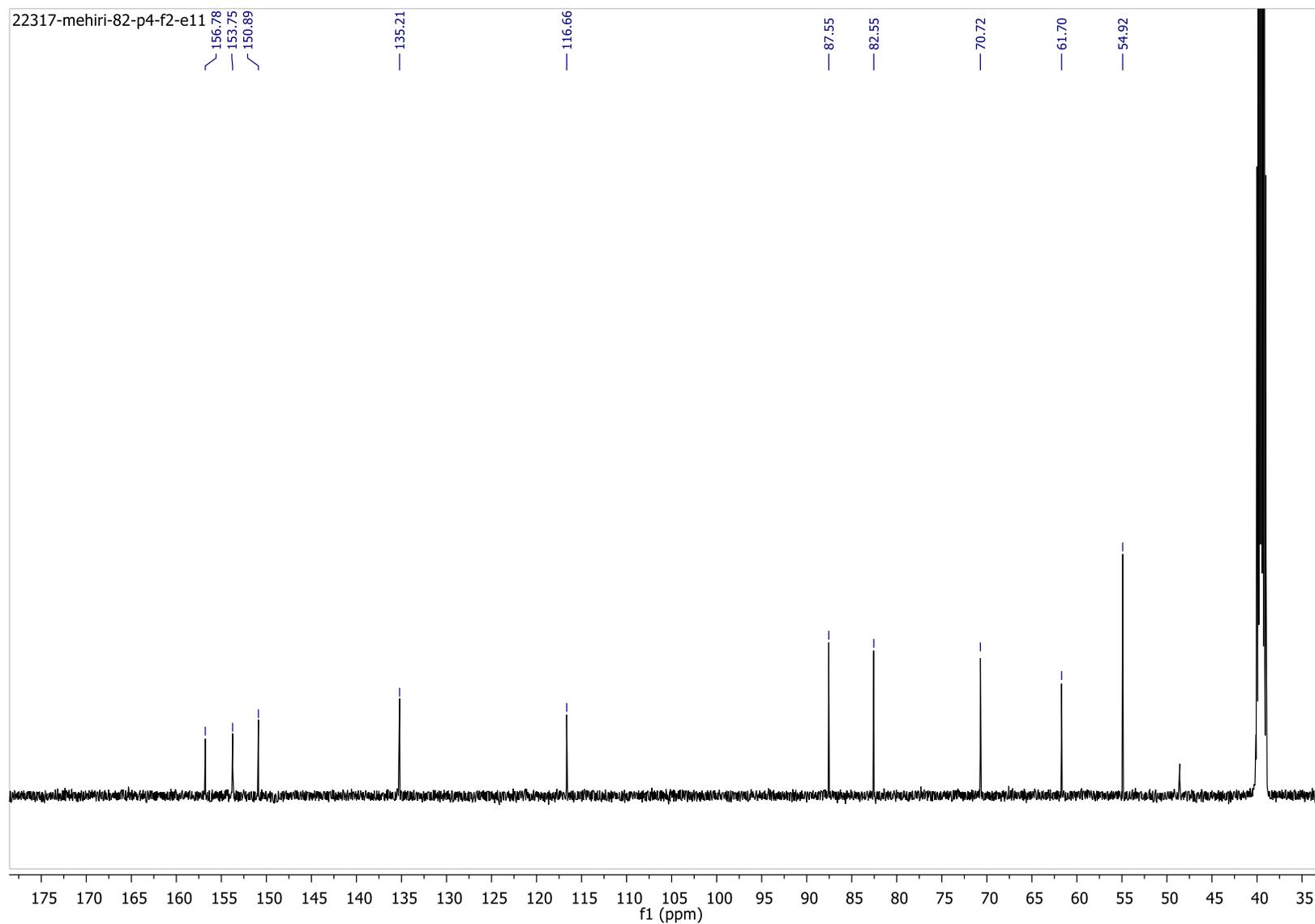


2-hydroxy-2'-désoxyadénosine (89)

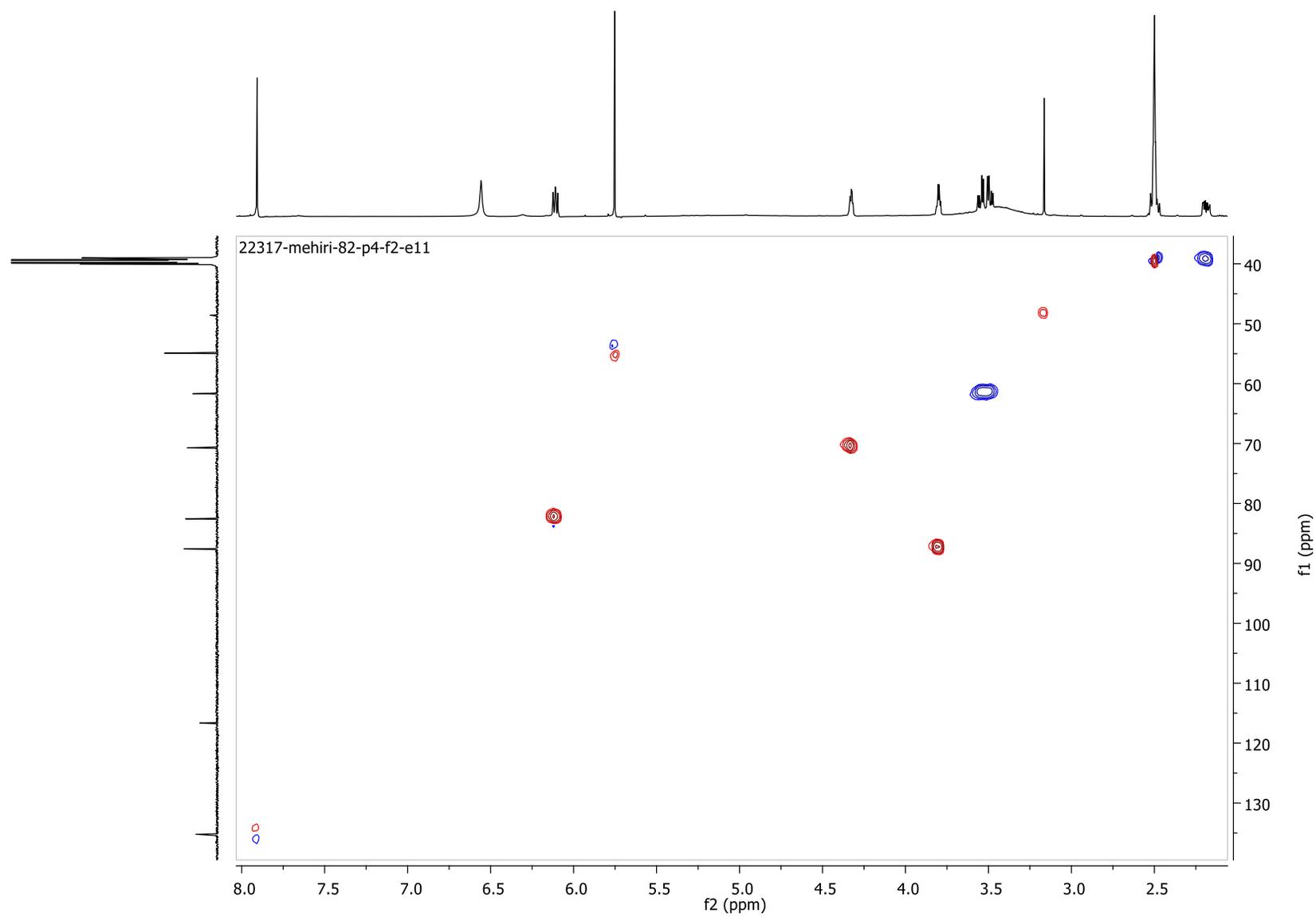
P4-F2-E11 #45 RT: 1.80 AV: 1 NL: 2,  
F: +p ESI Full ms [50,00-1500,00]



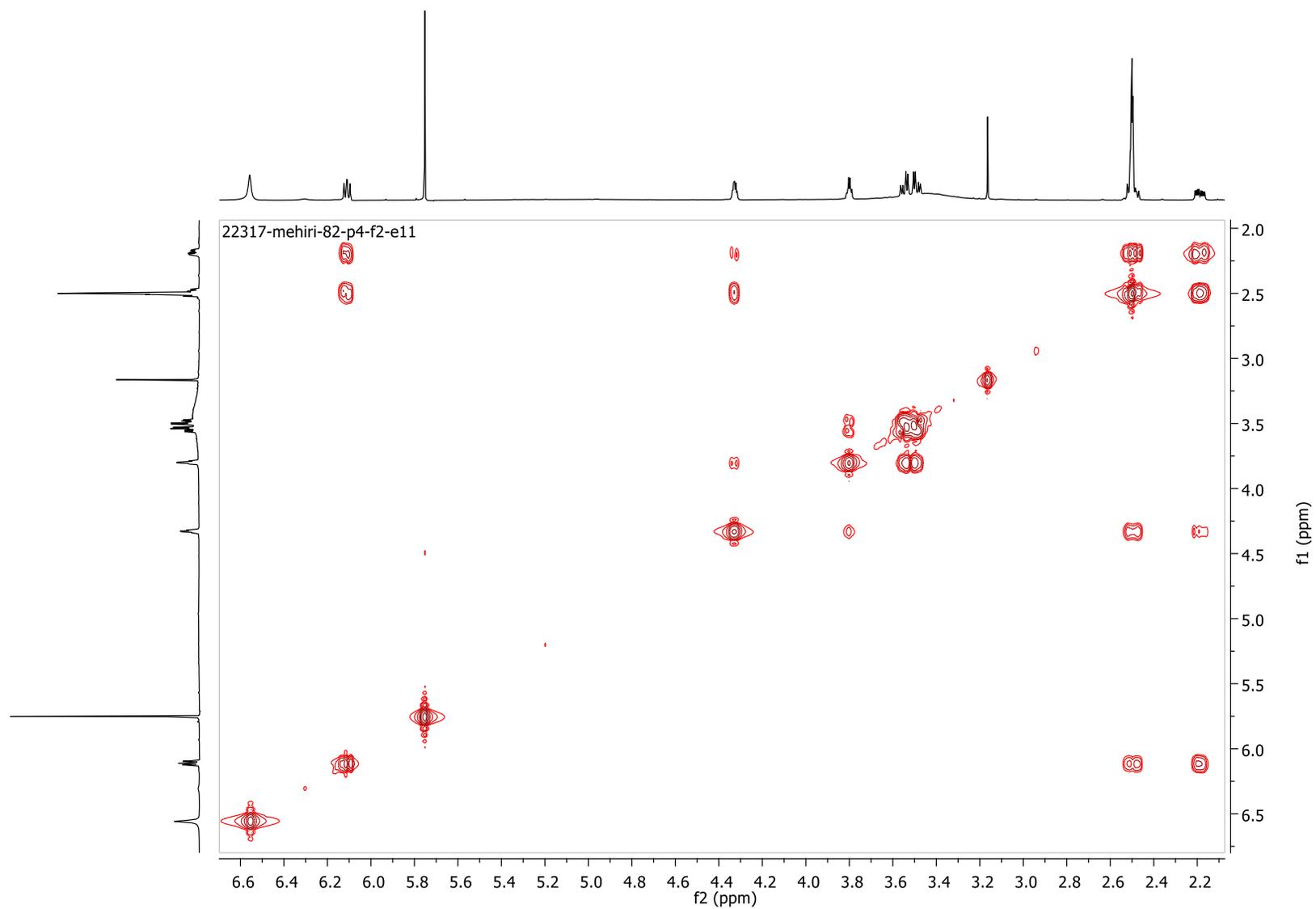
Spectres ESI-MS (-) et (+) basse résolution de la 2-hydroxy-2'-désoxyadénosine (89)



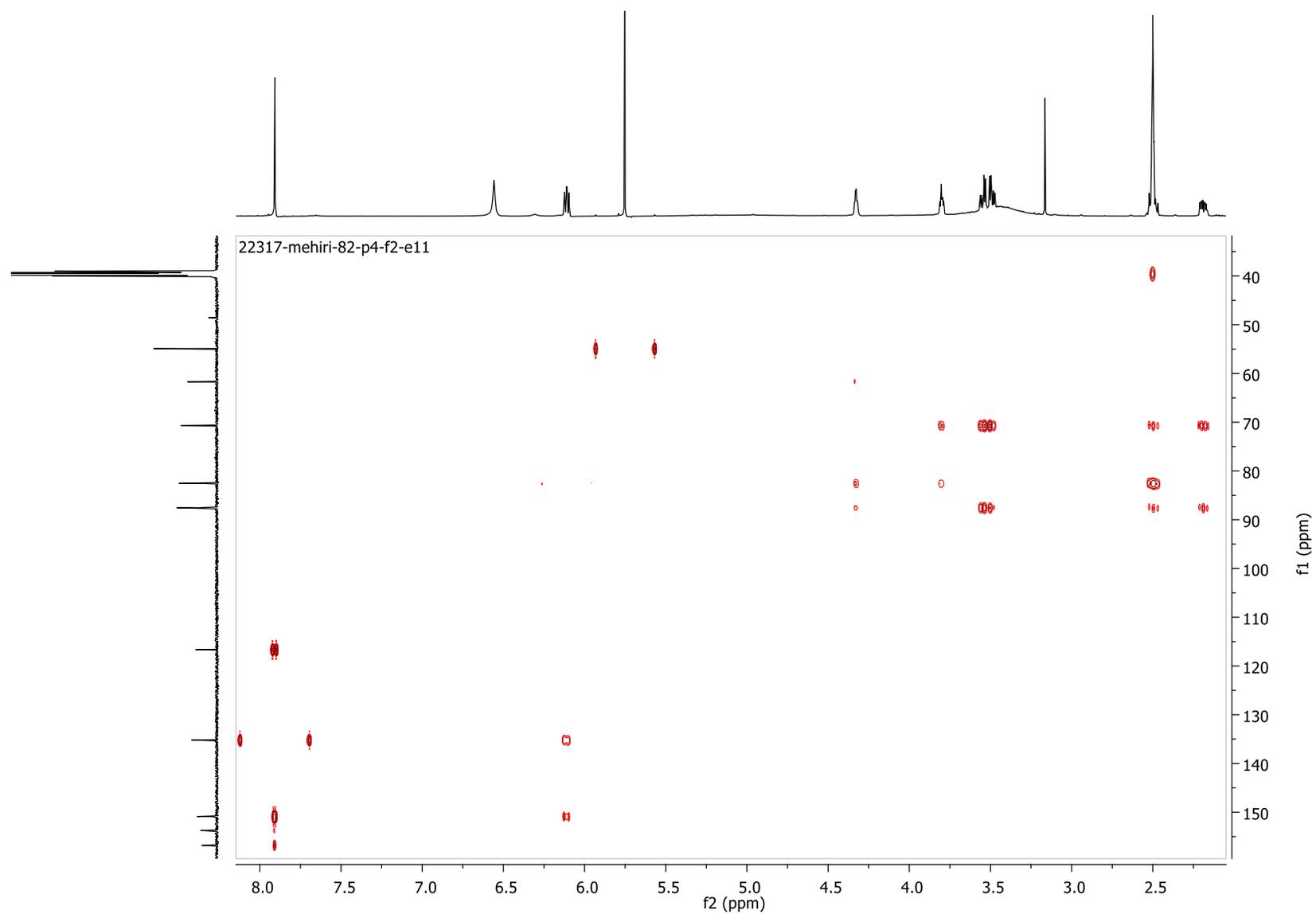
Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz, MeOH- $d_4$ ) de la 2-hydroxy-2'-désoxyadénosine (**89**)



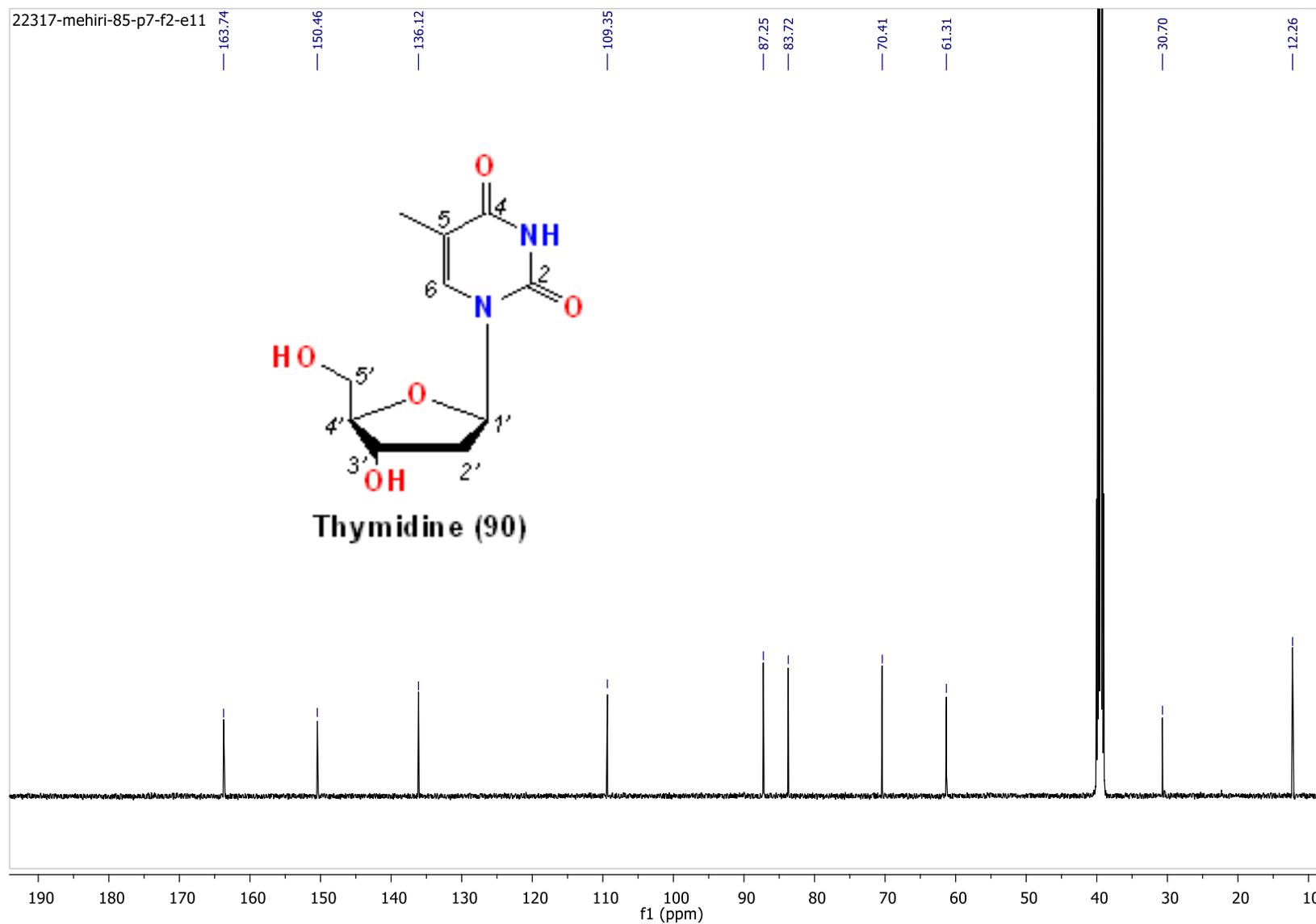
Spectre HSQC de la 2-hydroxy-2'-désoxyadénosine (89)

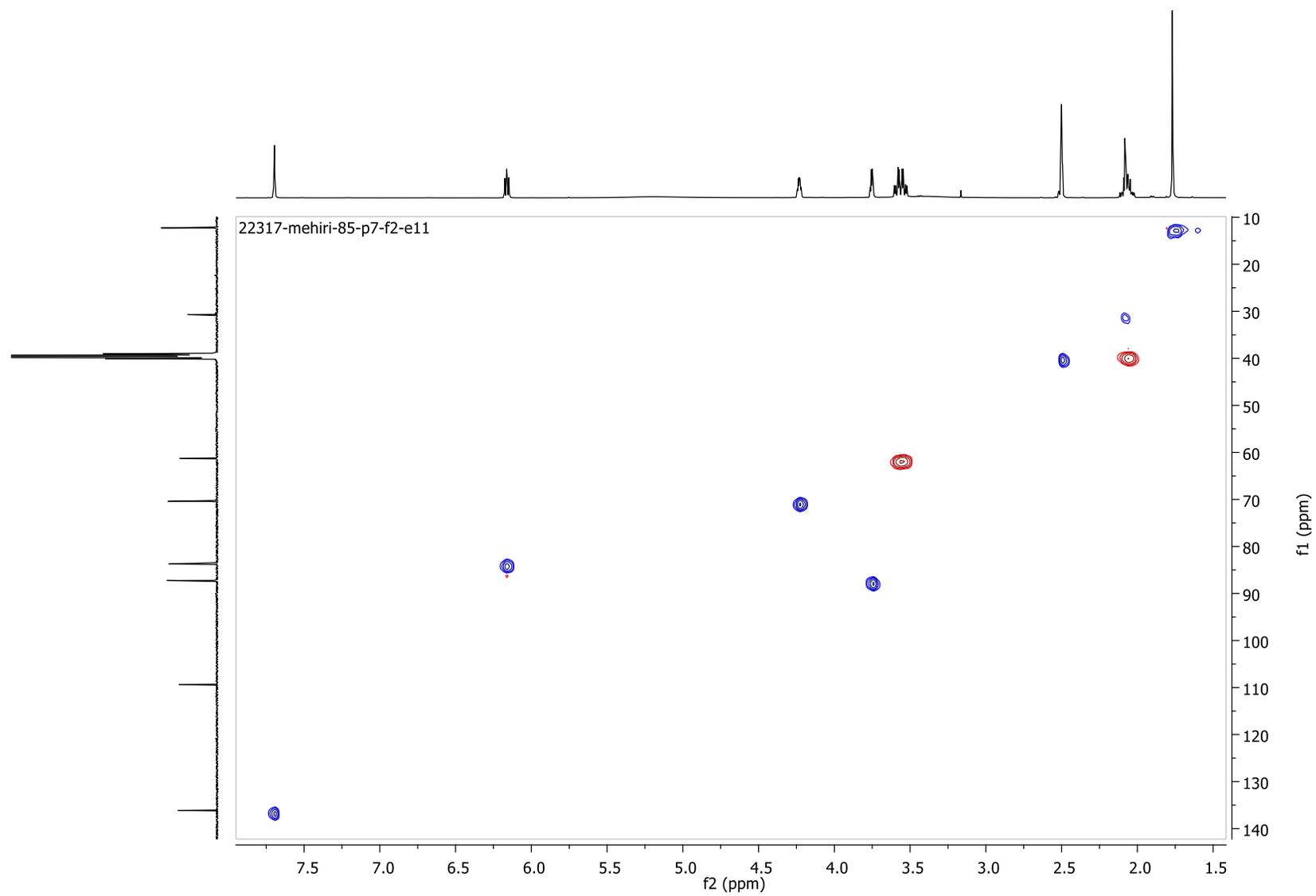


Spectre COSY de la 2-hydroxy-2'-désoxyadénosine (89)

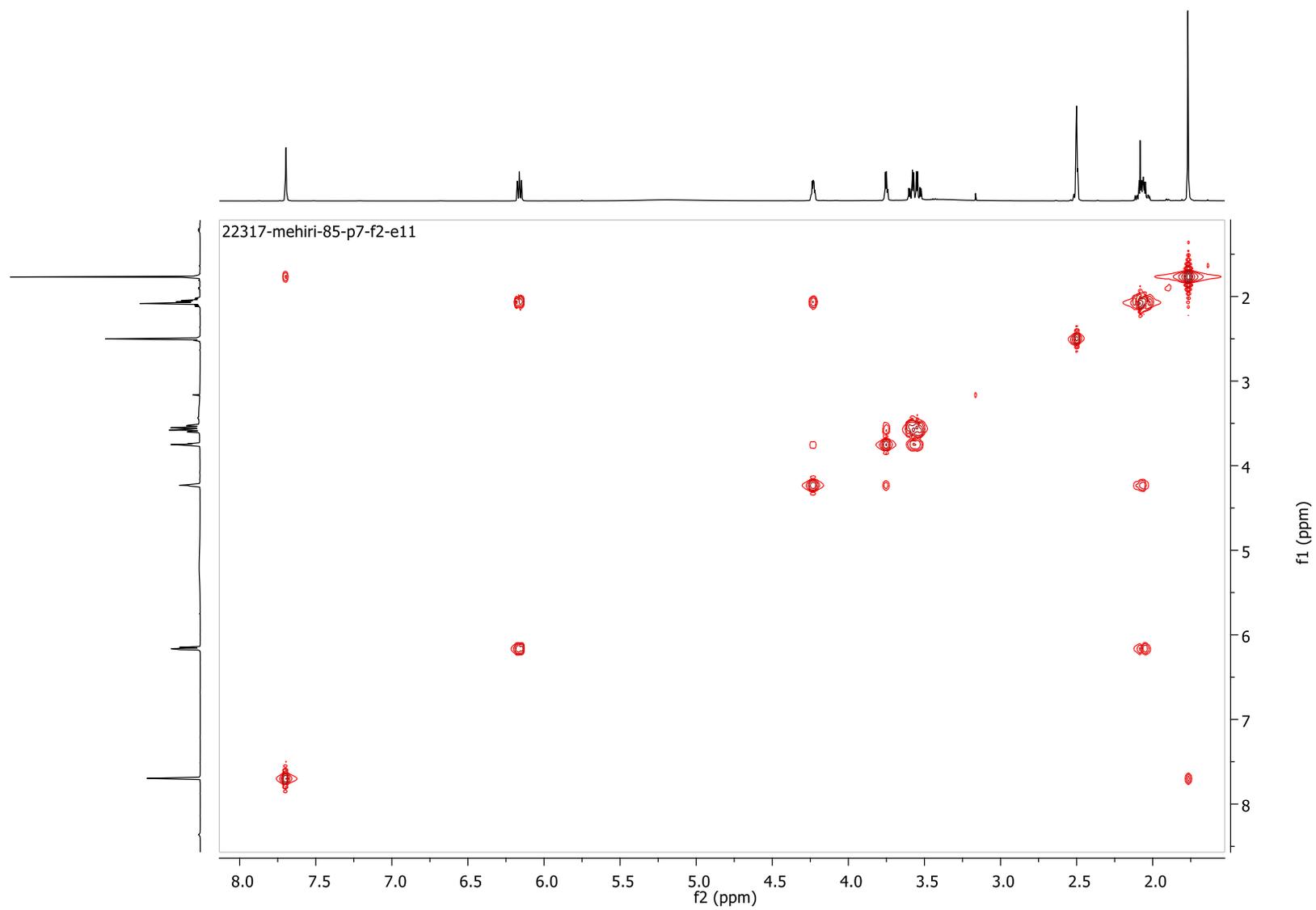


Spectre HMBC de la 2-hydroxy-2'-désoxyadénosine (89)

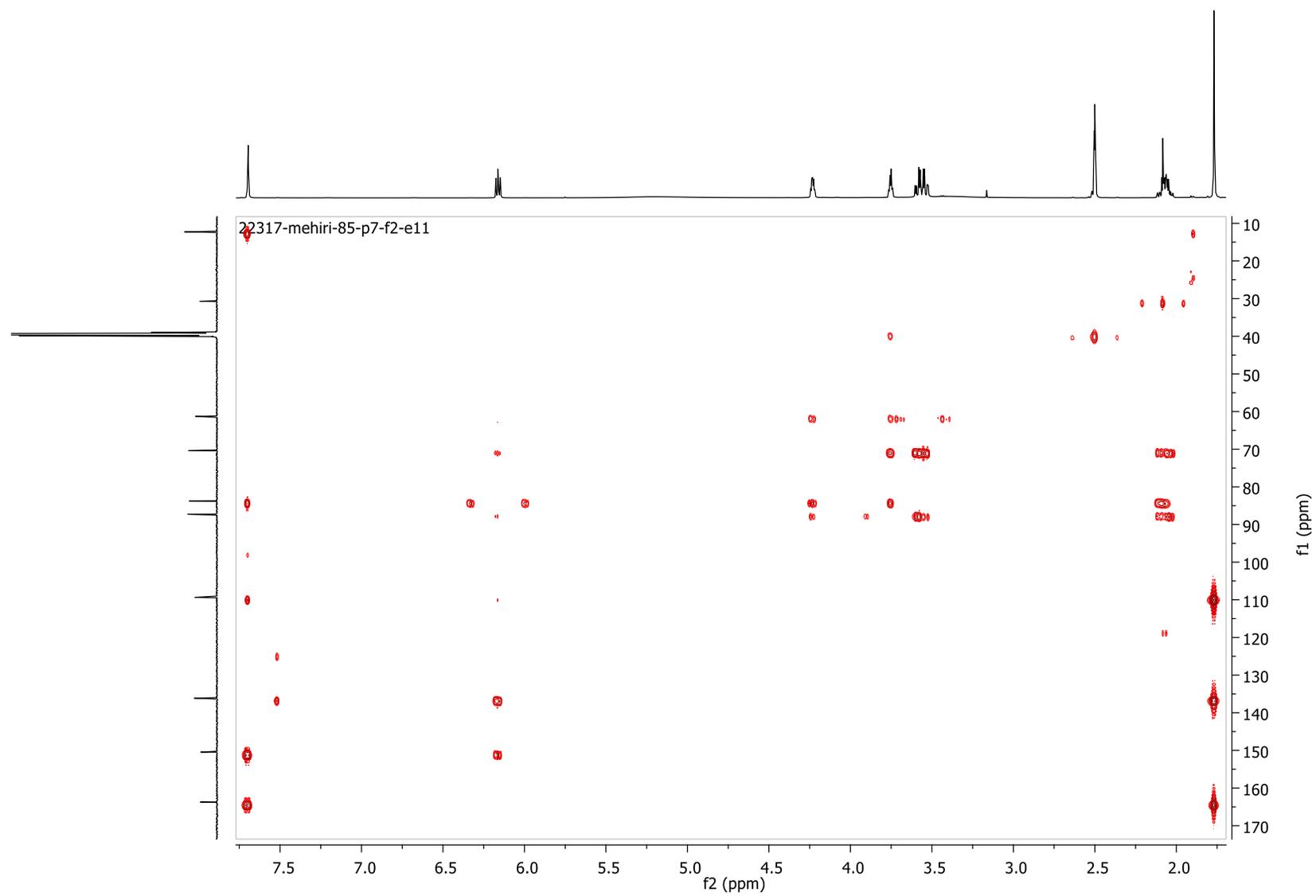
Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (500 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) de la thymidine (90)



Spectre HSQC de la thymidine (90)

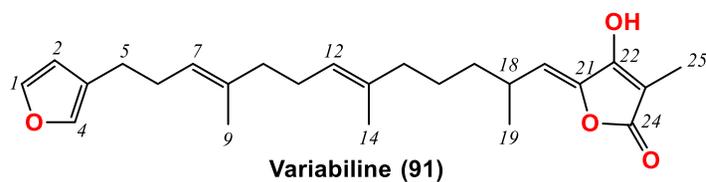
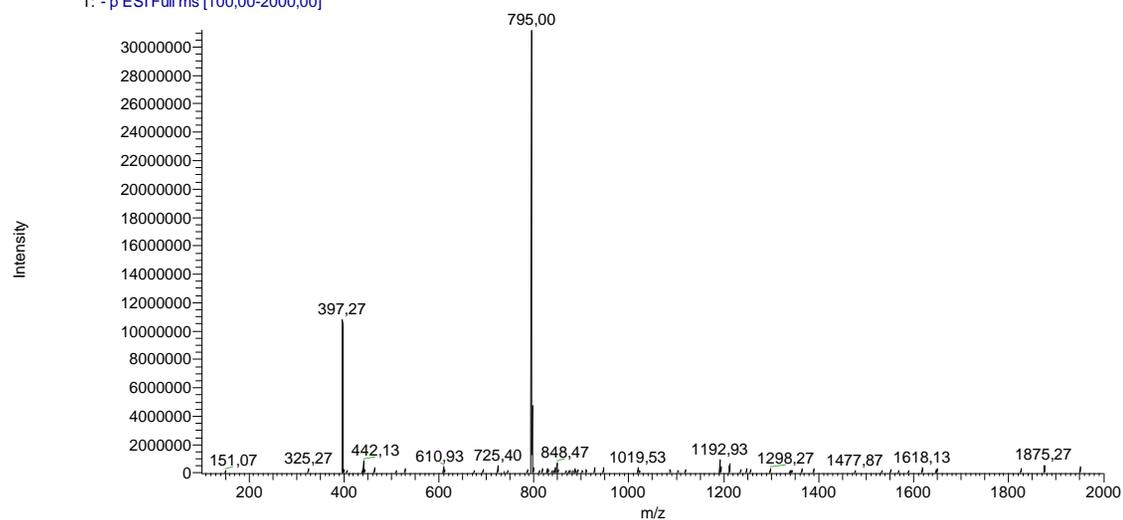


Spectre COSY de la thymidine (90)

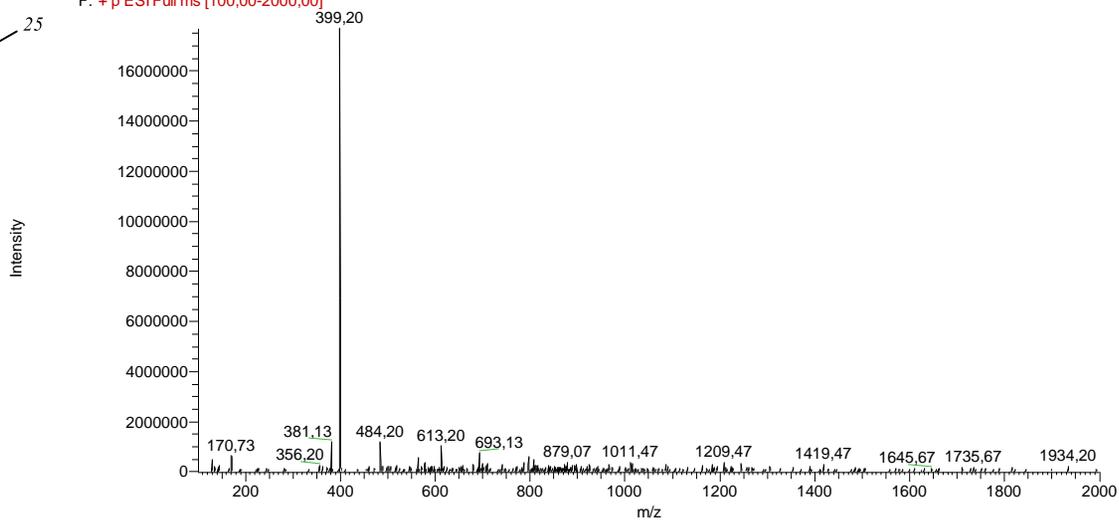


Spectre HMBC de la thymidine (90)

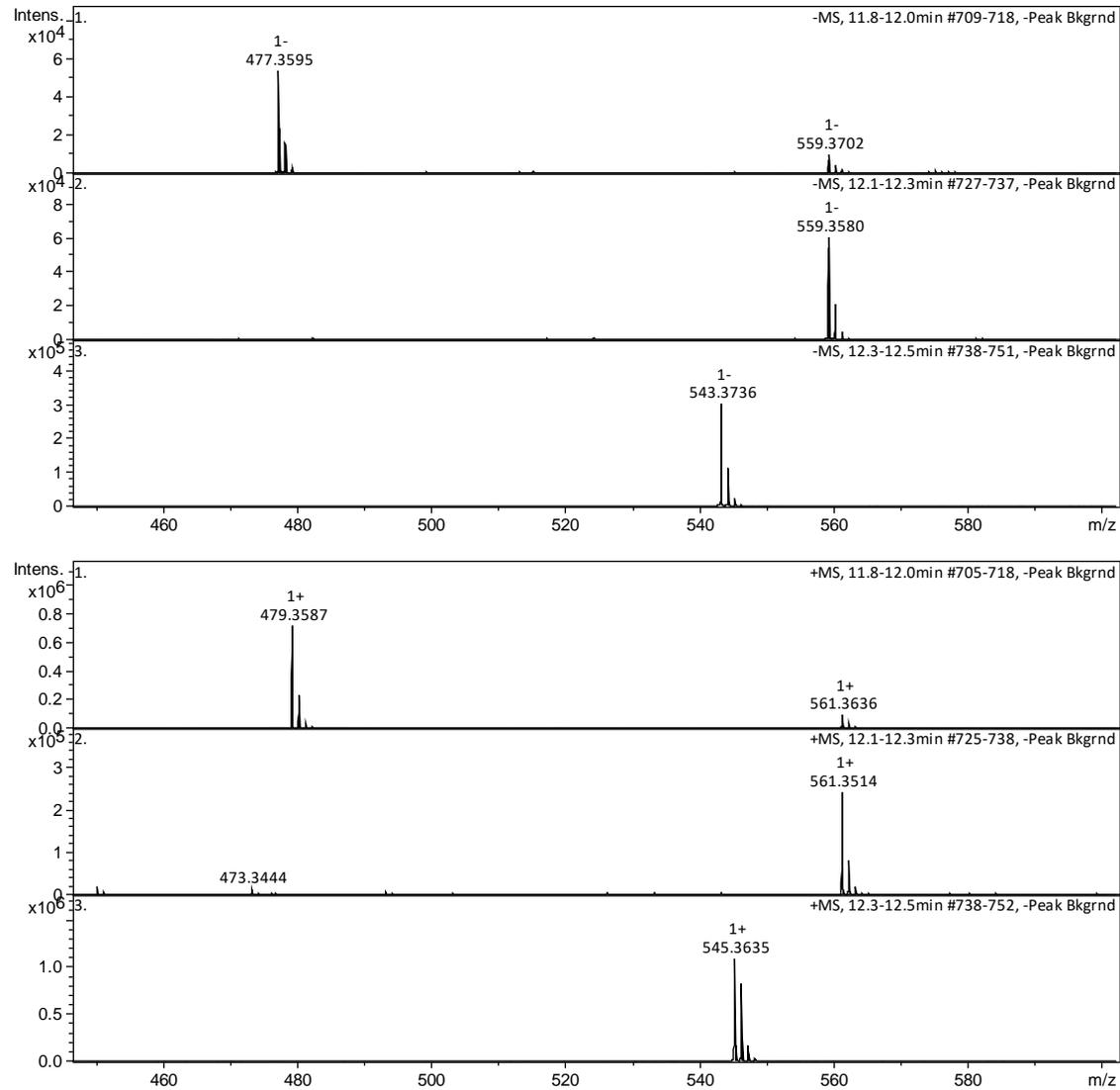
P19-E1 #520 RT: 23,58 AV: 1 NL: 3,1  
T: - p ESI Full ms [100,00-2000,00]

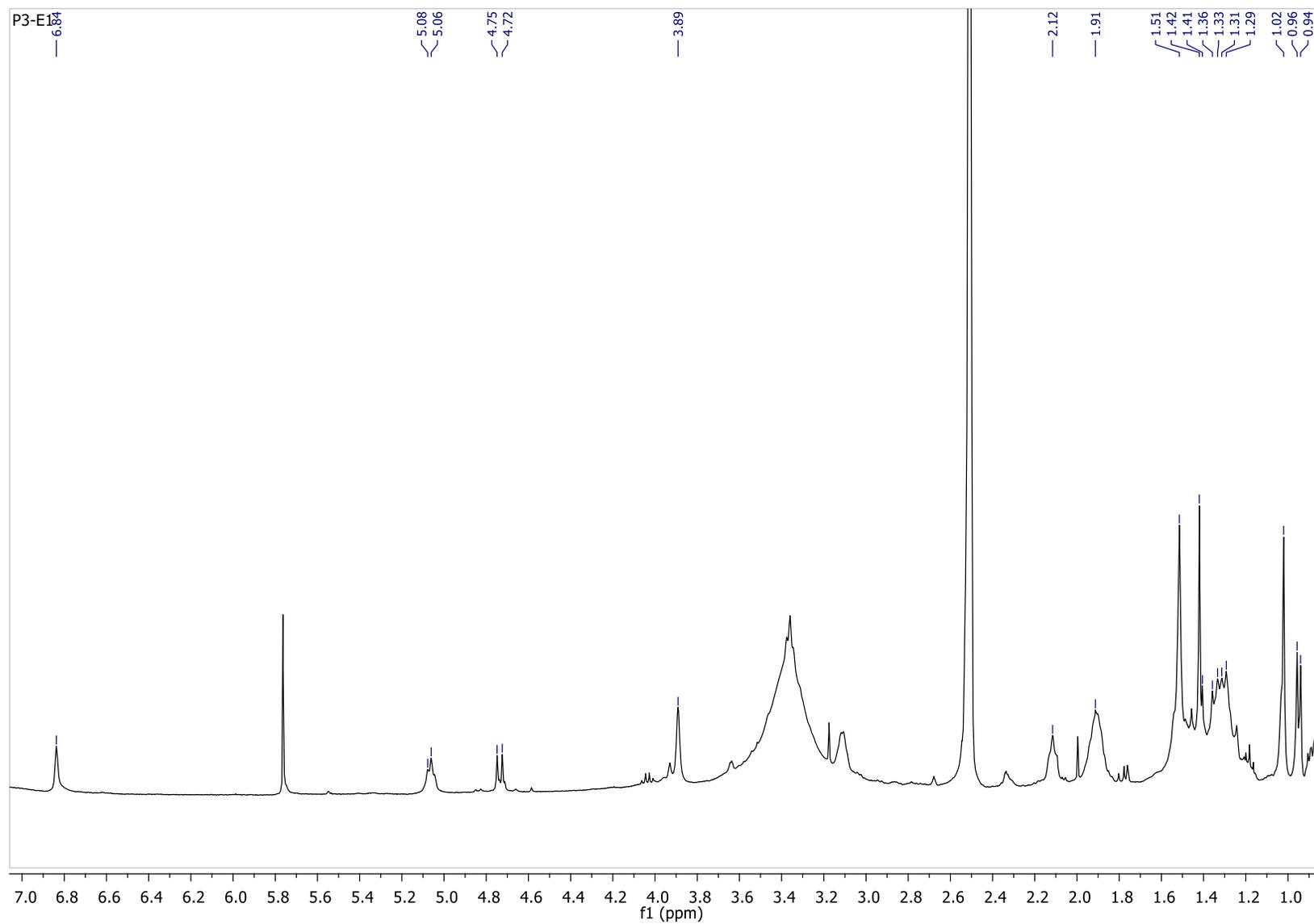


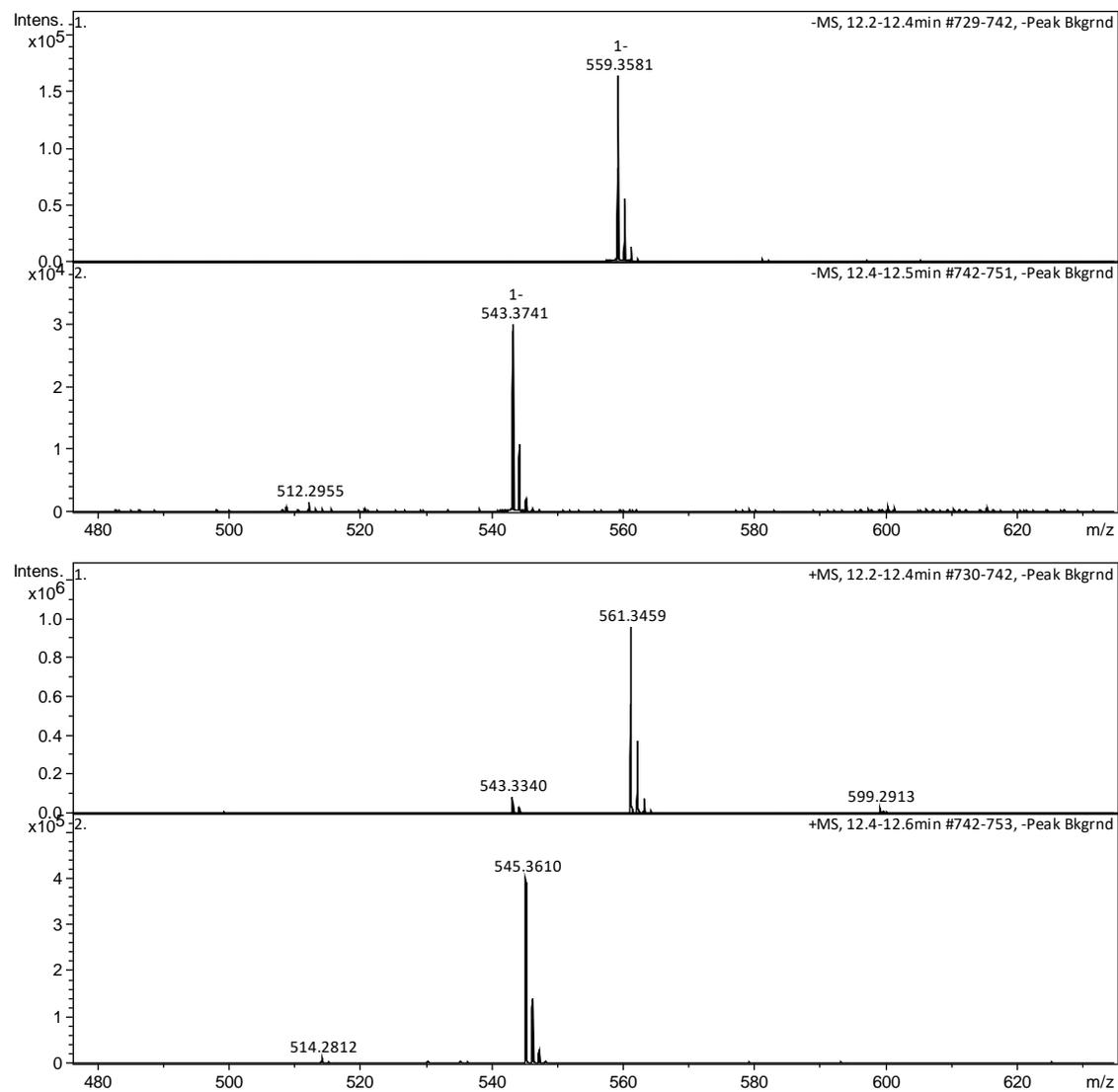
P19-E1 #523 RT: 23,71 AV: 1 NL: 1,7  
F: + p ESI Full ms [100,00-2000,00]



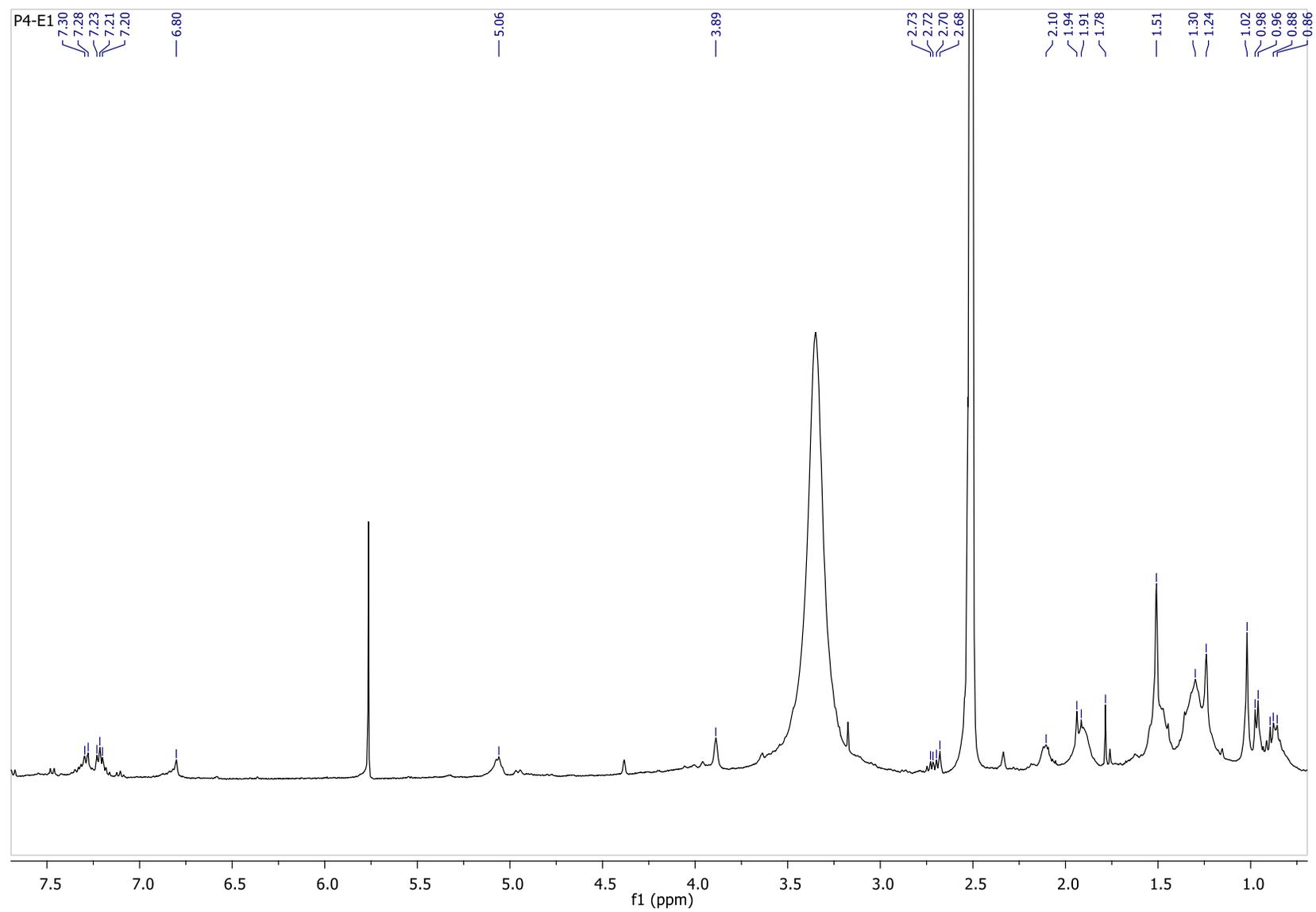
Spectre ESI-MS (-) et (+) basse résolution de la variabiline (91)

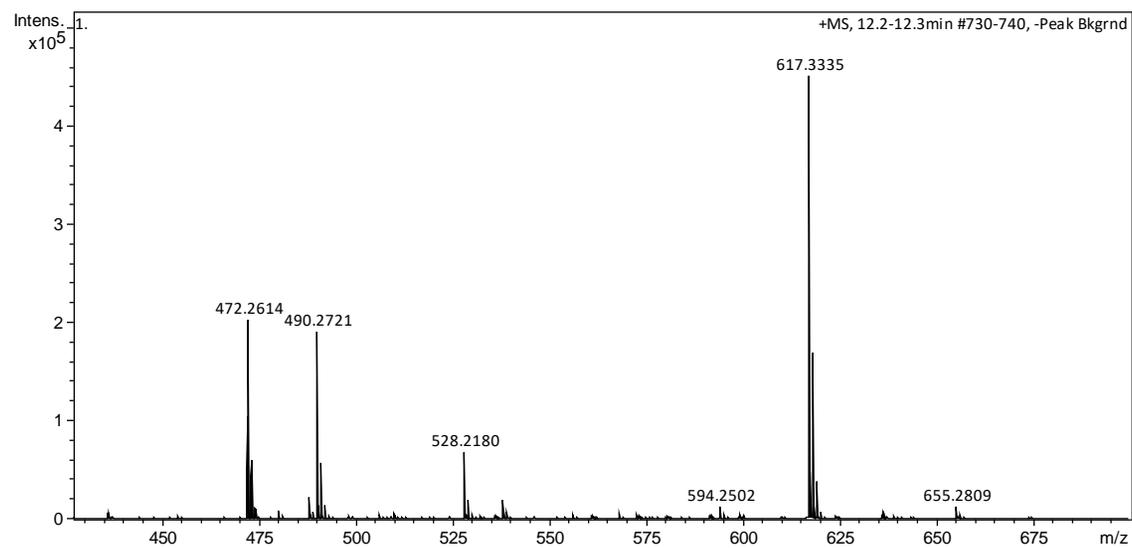
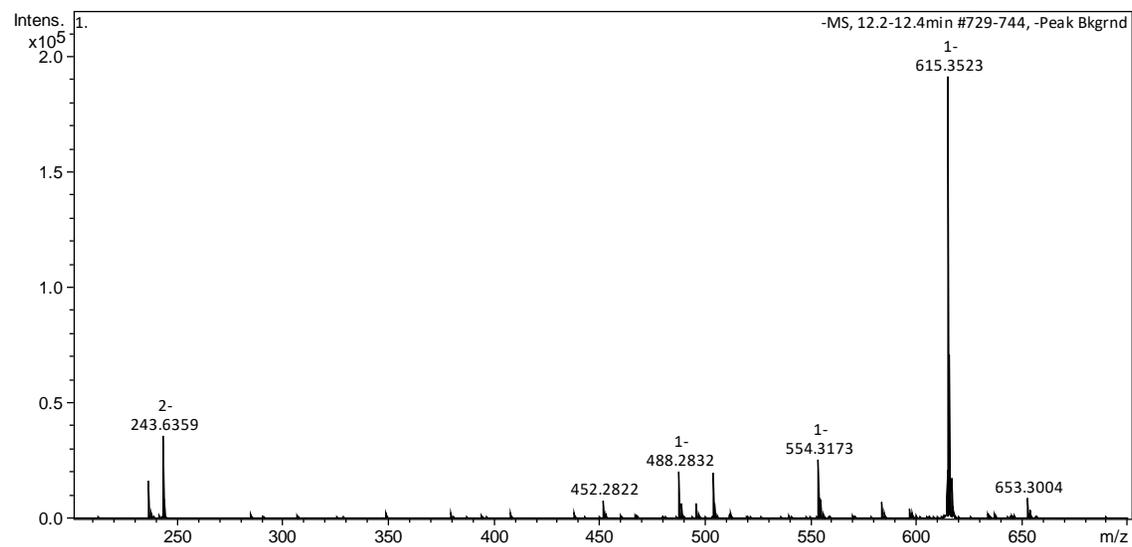
Spectre HRMS (-) et (+) du composé **134**

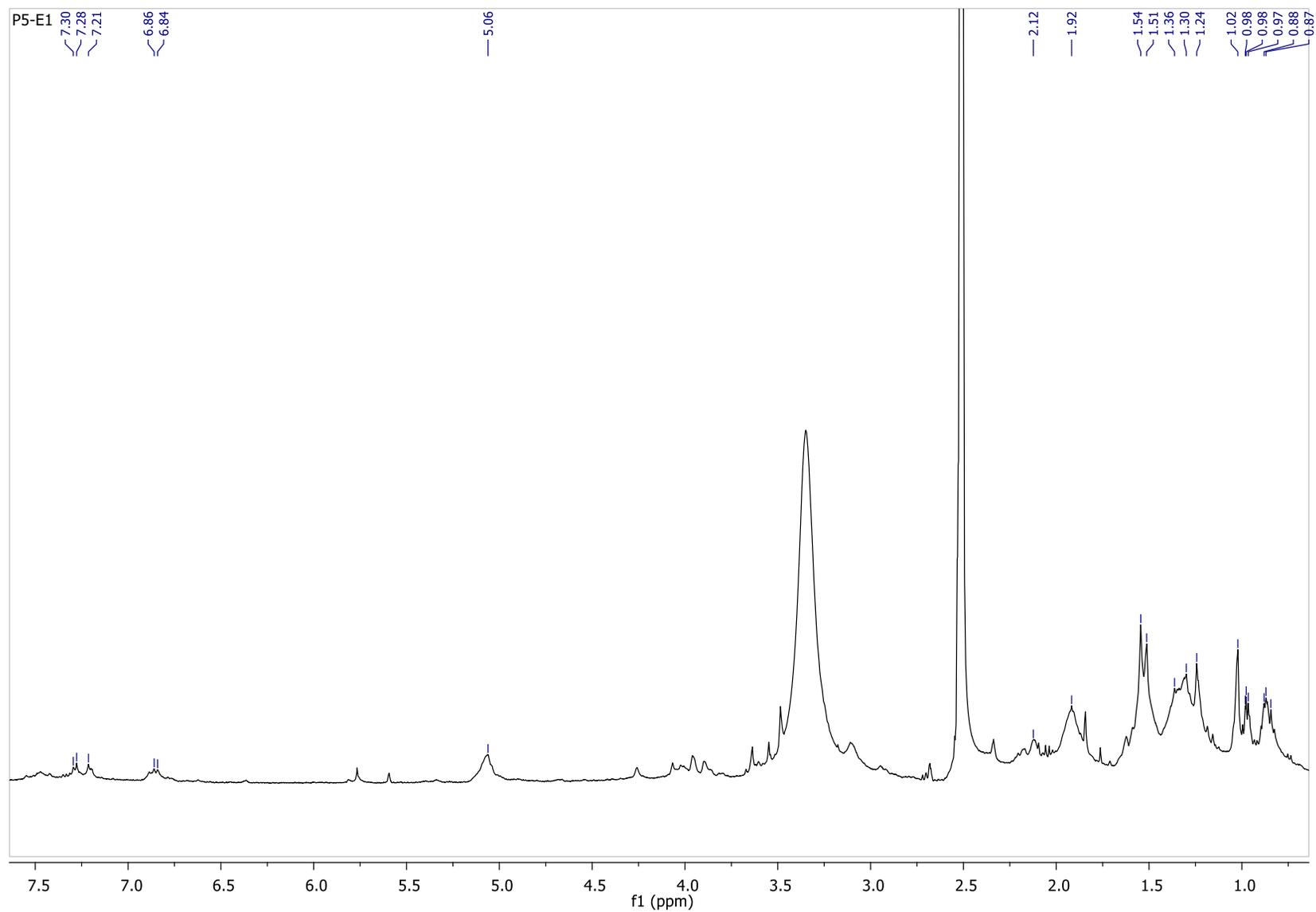
Spectre RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) du composé **134**

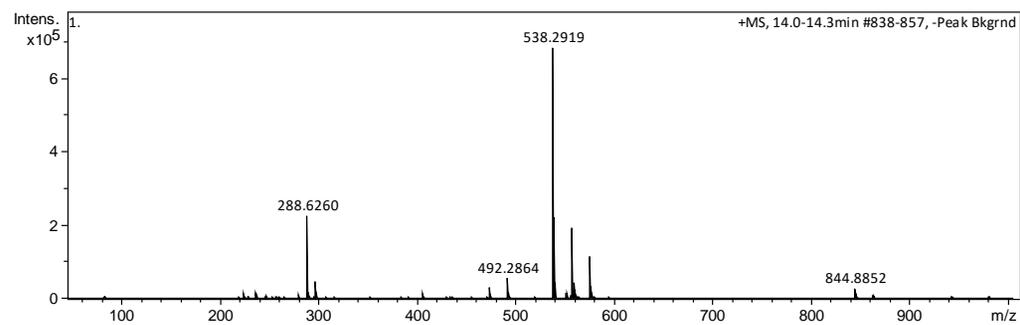
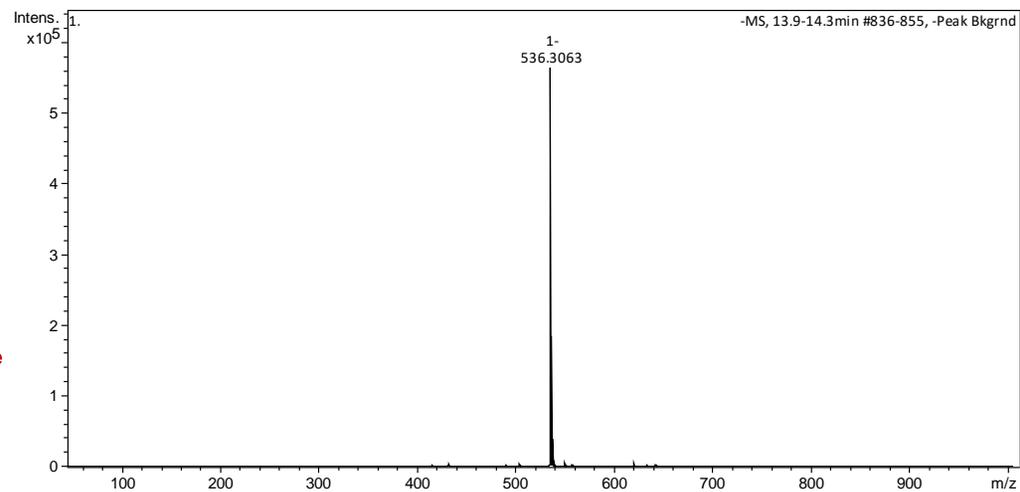
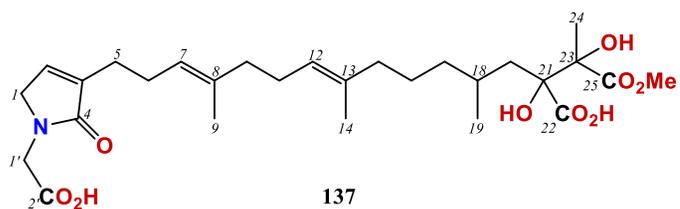


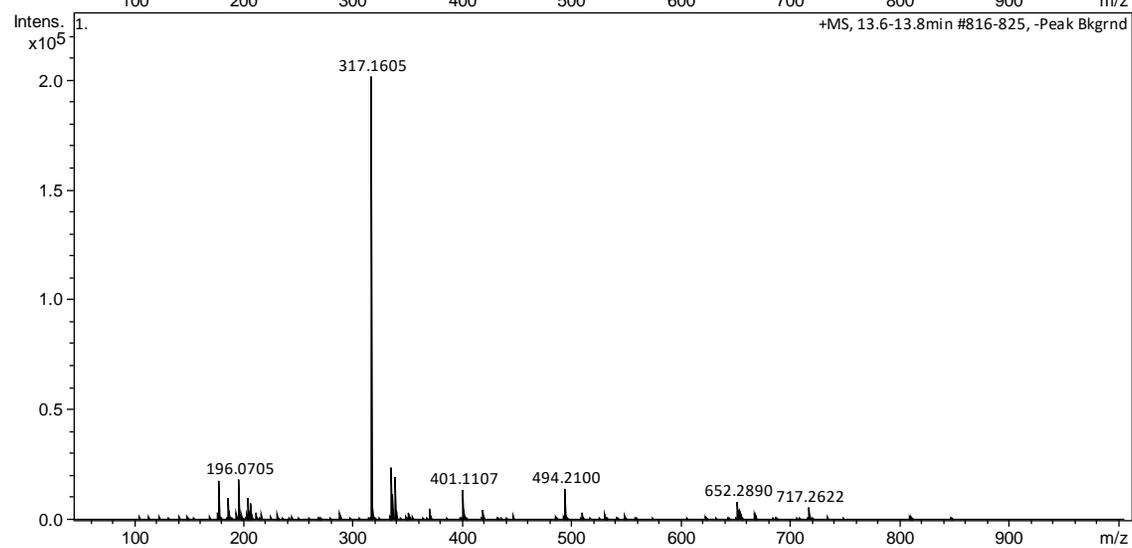
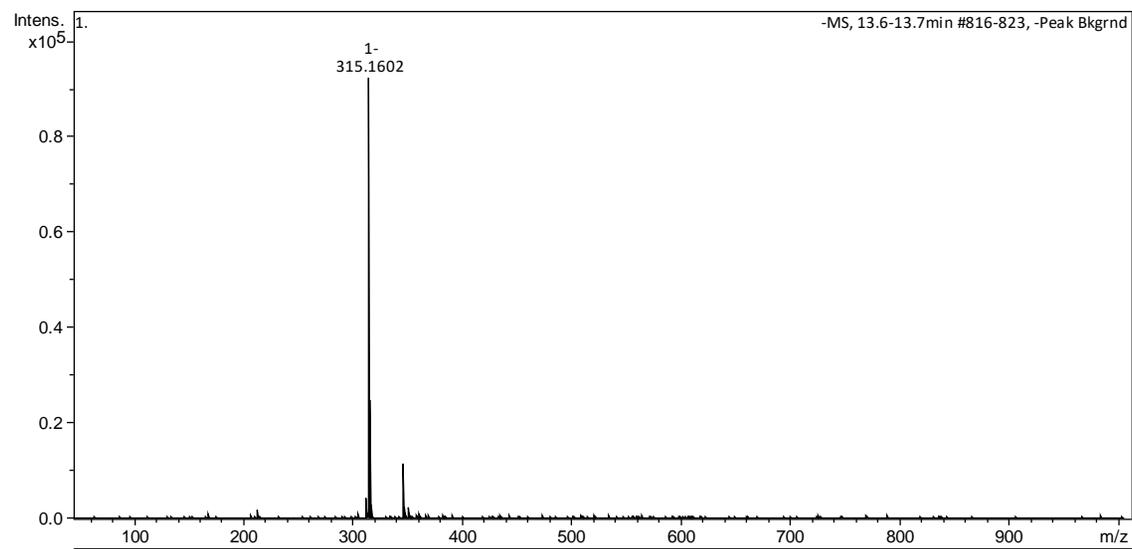
Spectre HRMS (-) et (+) du composé 135

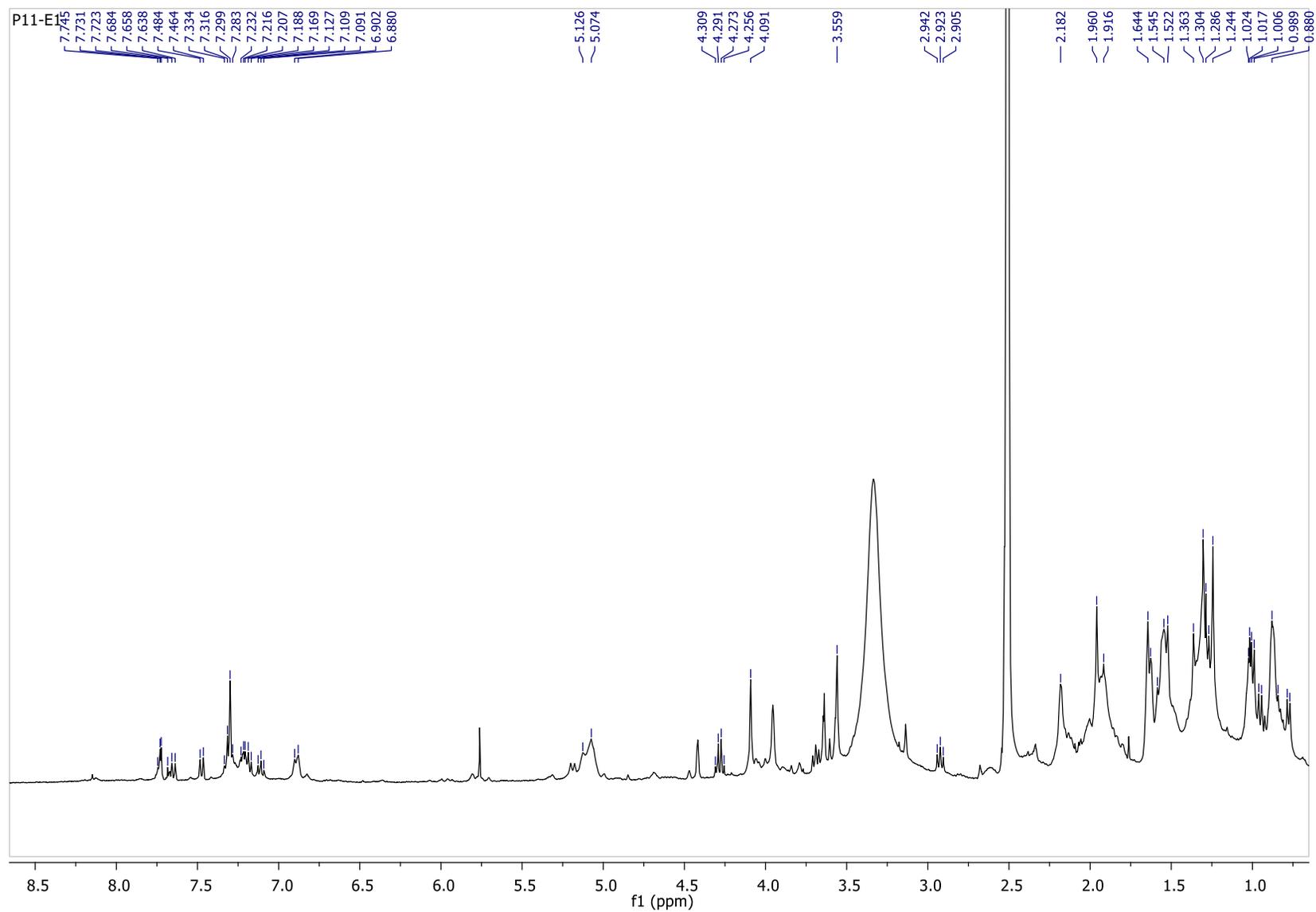
Spectre RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) du composé **135**

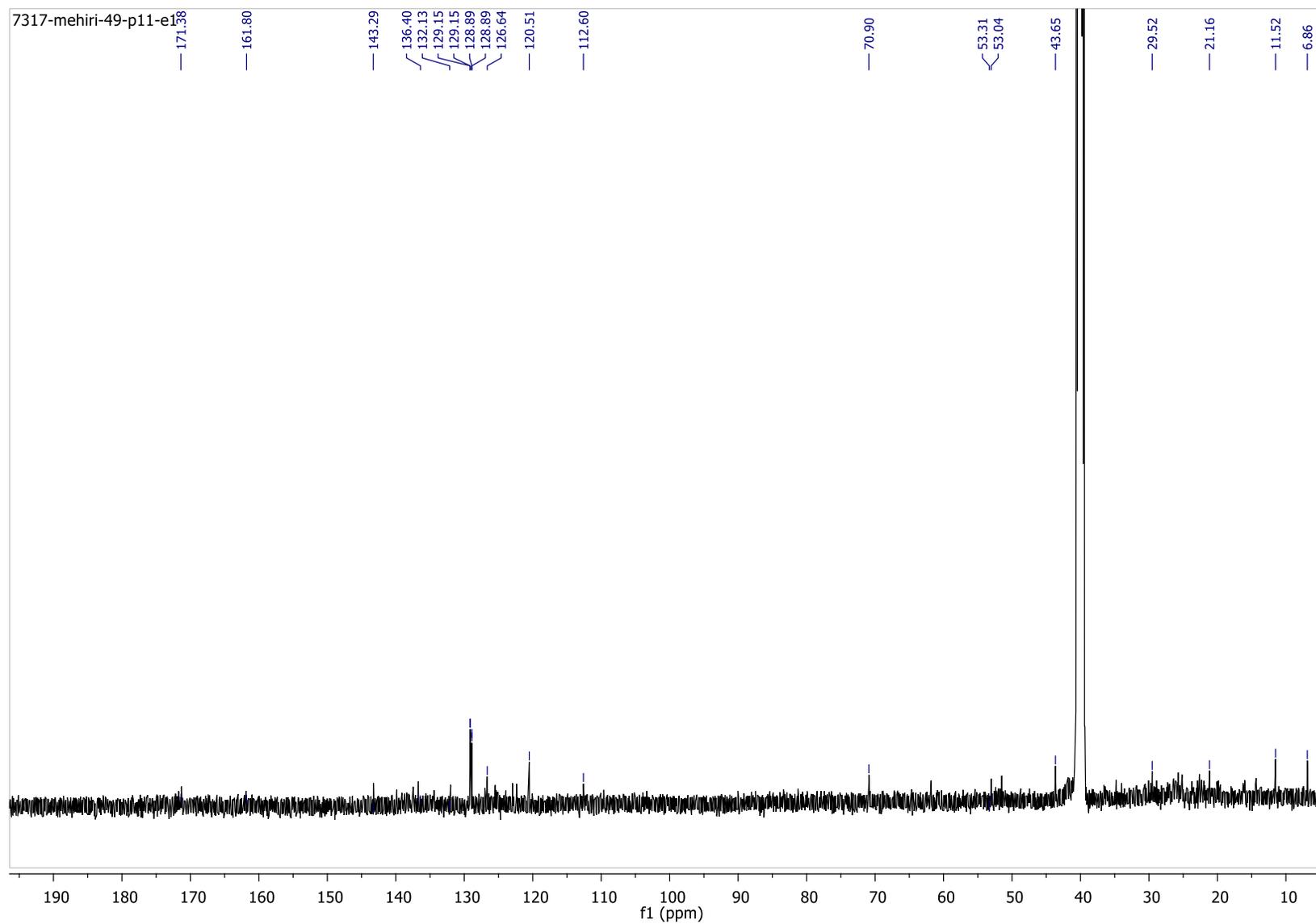
Spectre HRMS (-) et (+) du composé **136**

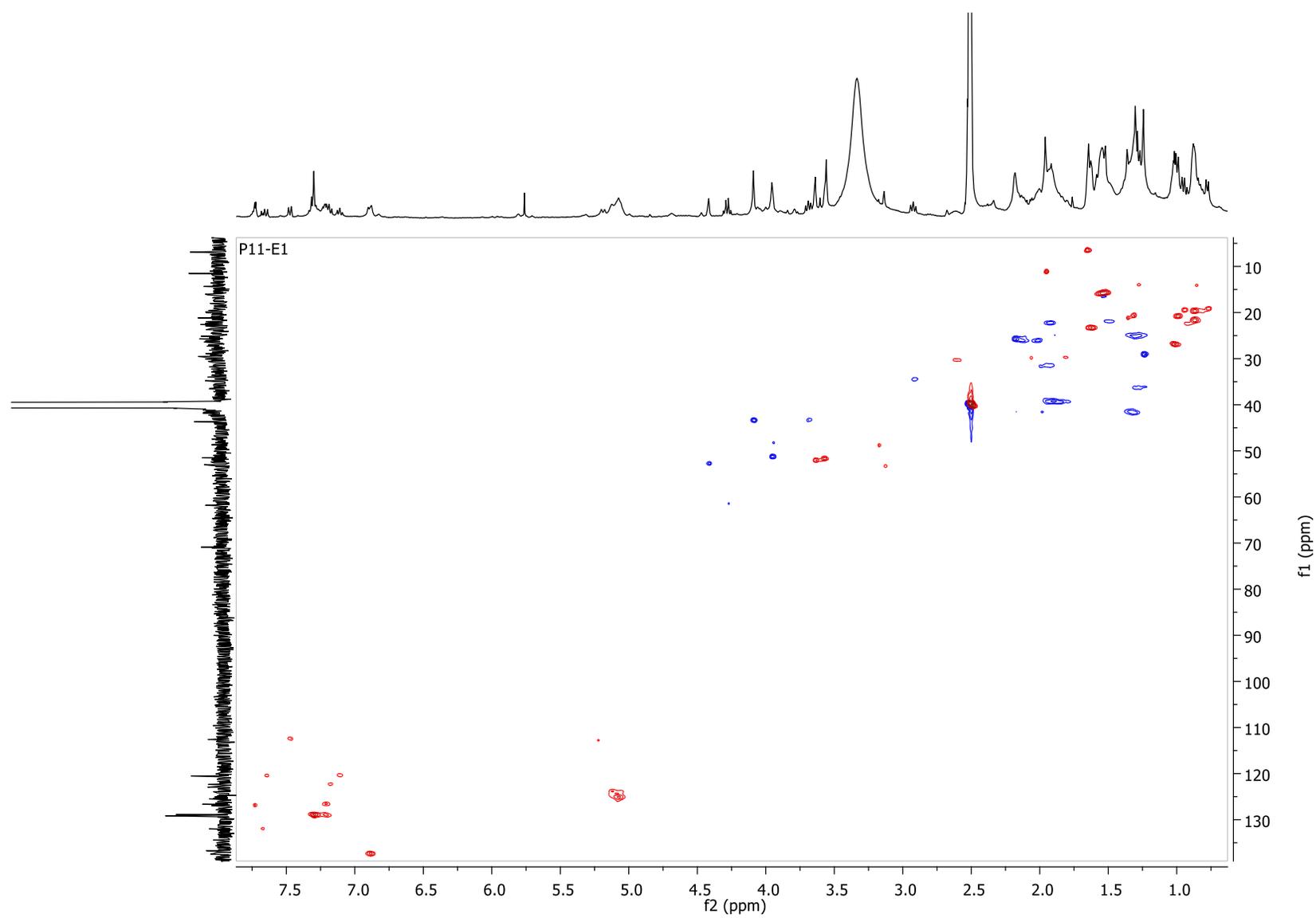
Spectre RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) du composé **136**

Spectre HRMS (-) et (+) du composé **137**

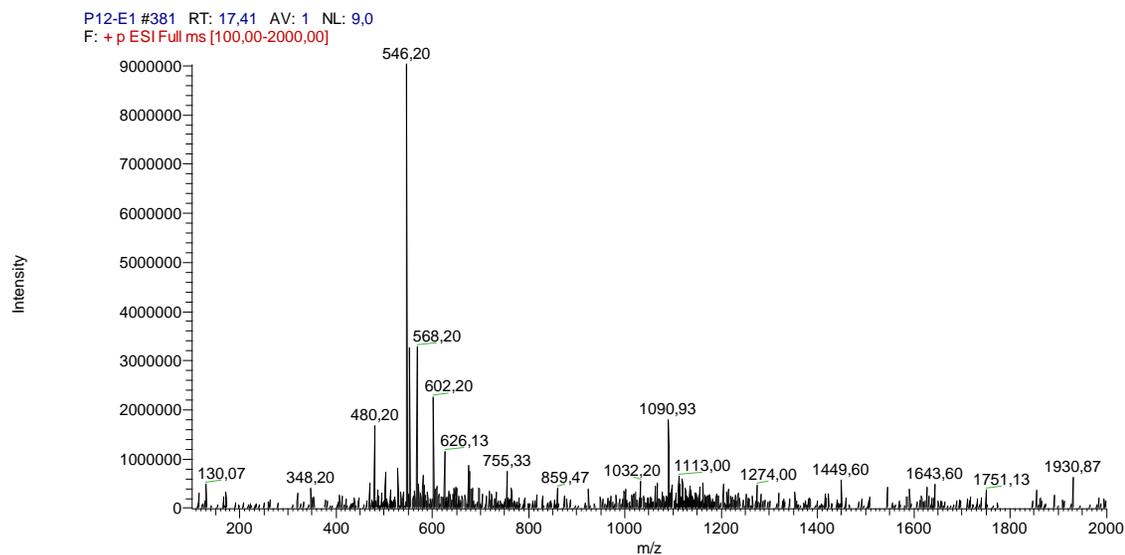
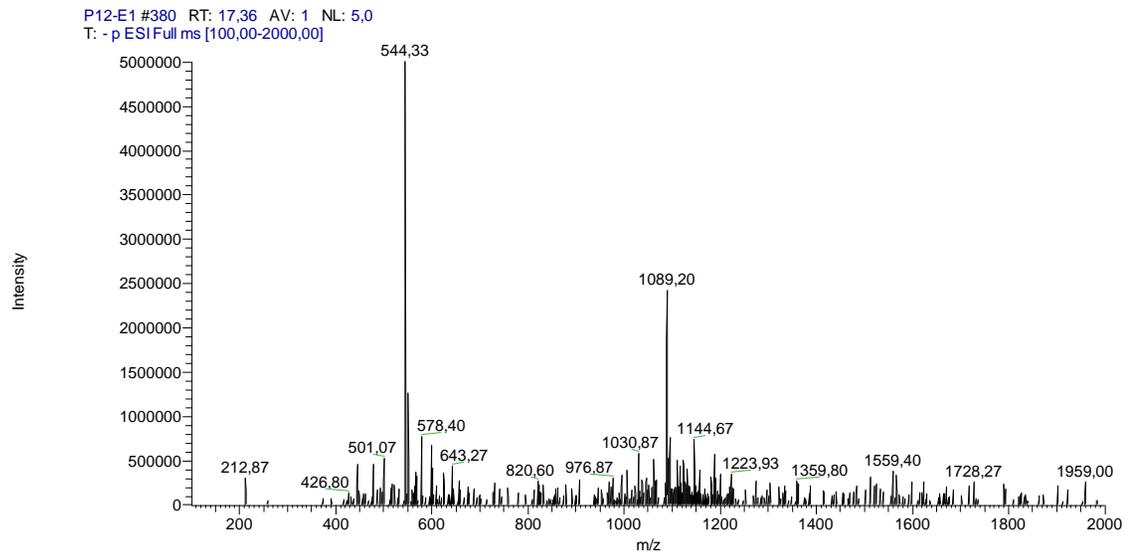
Spectre HRMS (-) et (+) du composé **138**

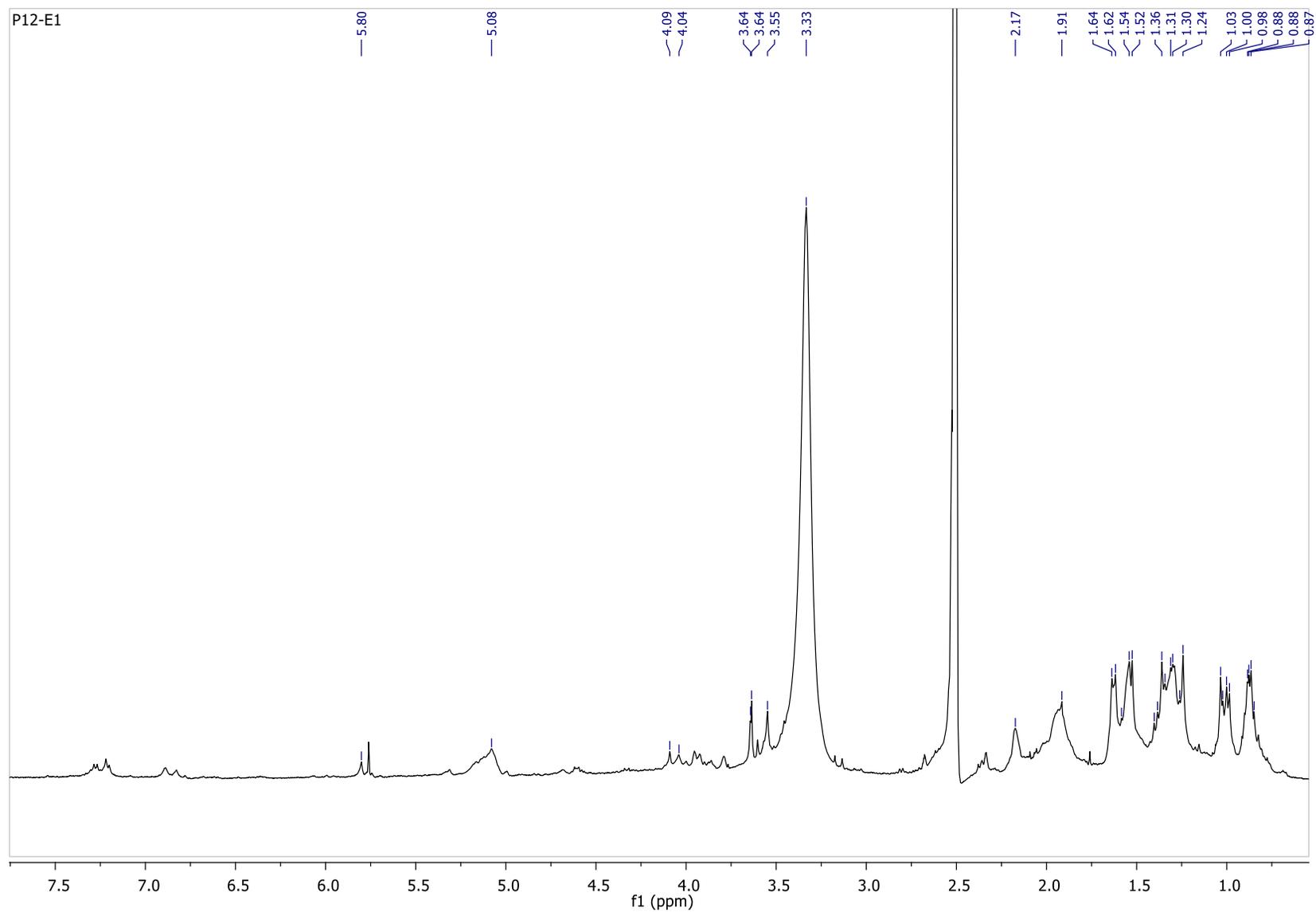
Spectre RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) du composé **138**

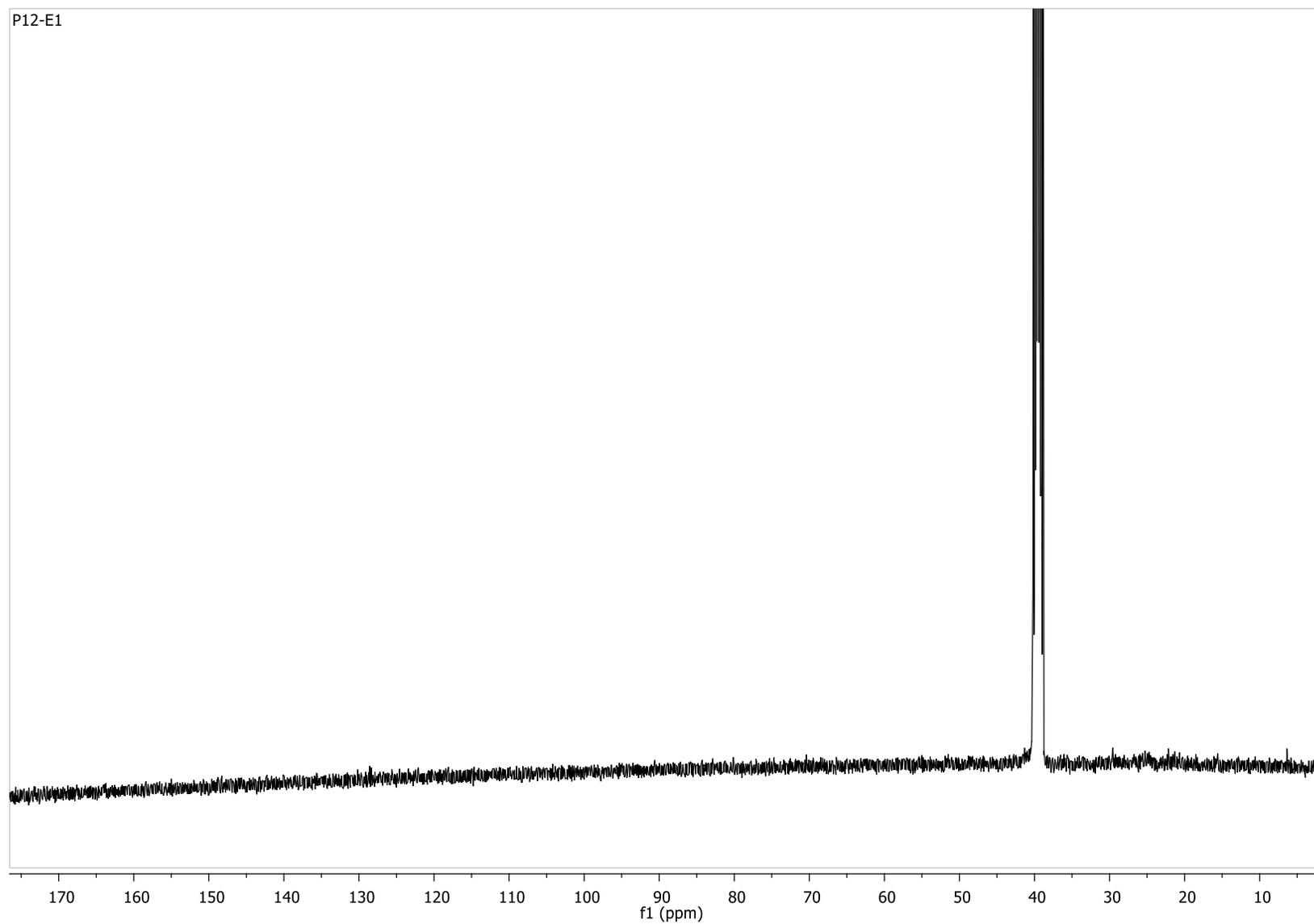
Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ ) du composé **138**

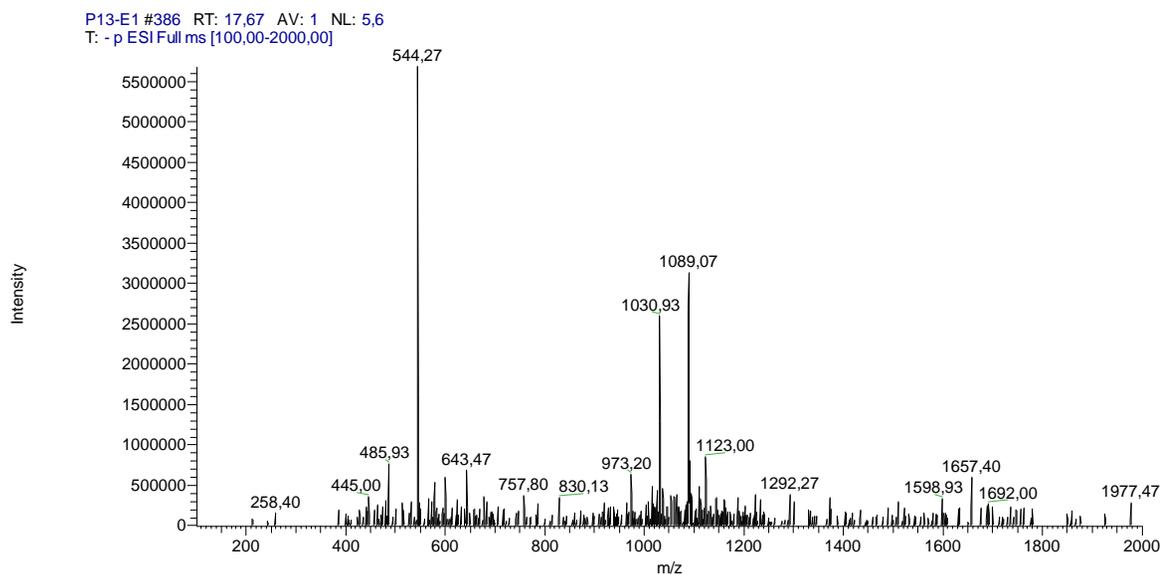
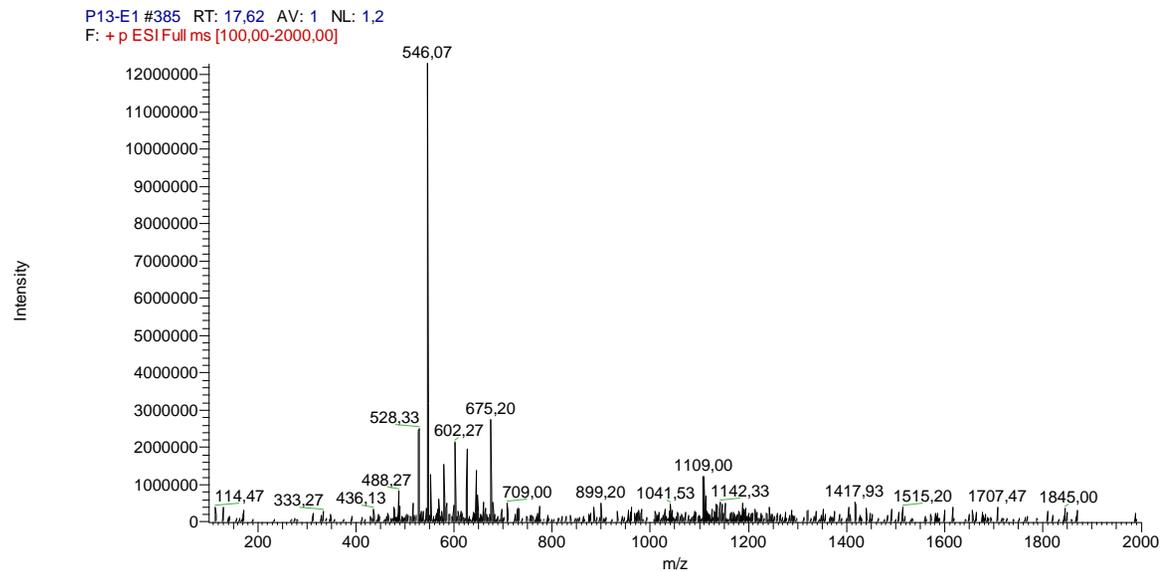


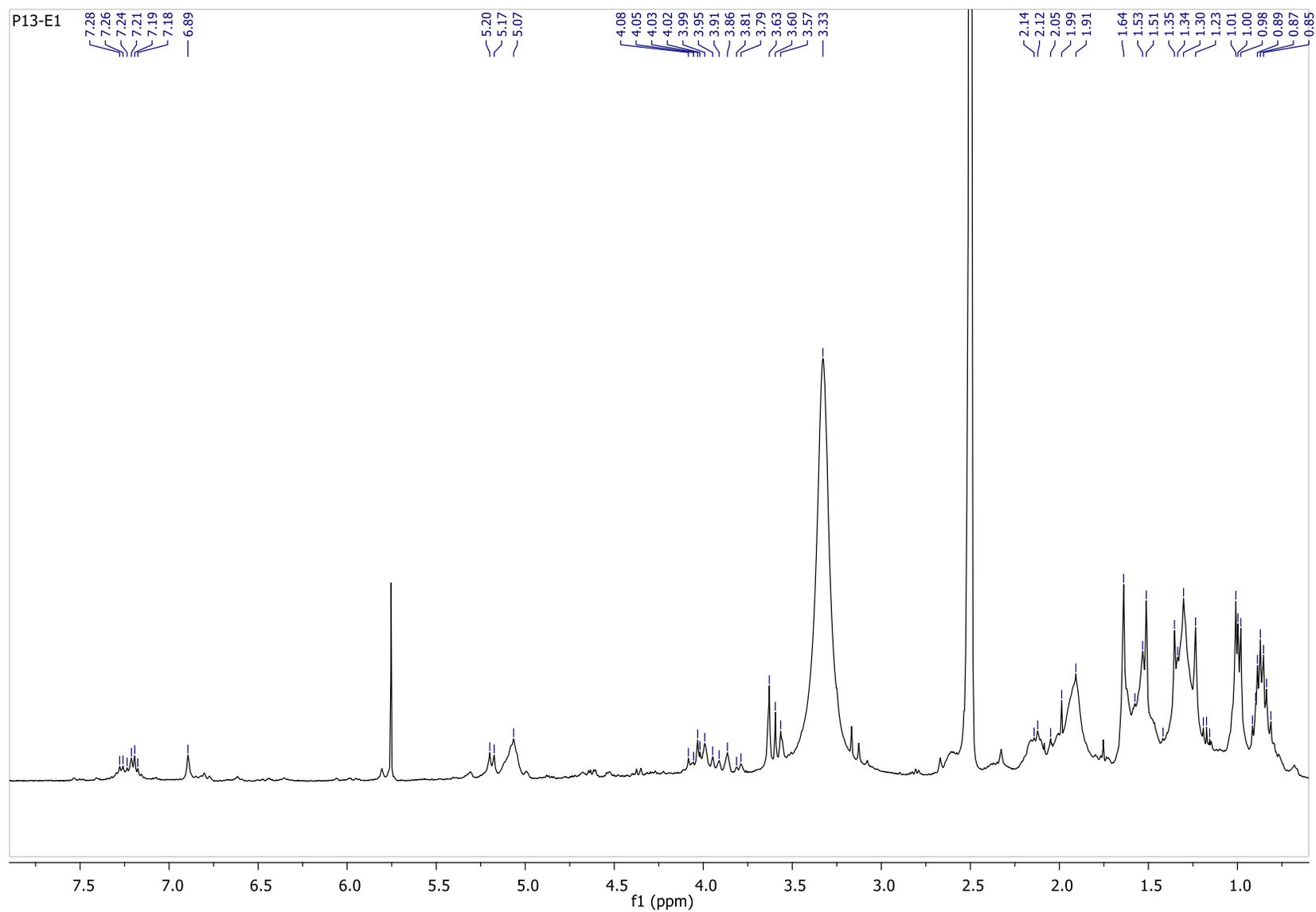
Spectre HSQC du composé 138

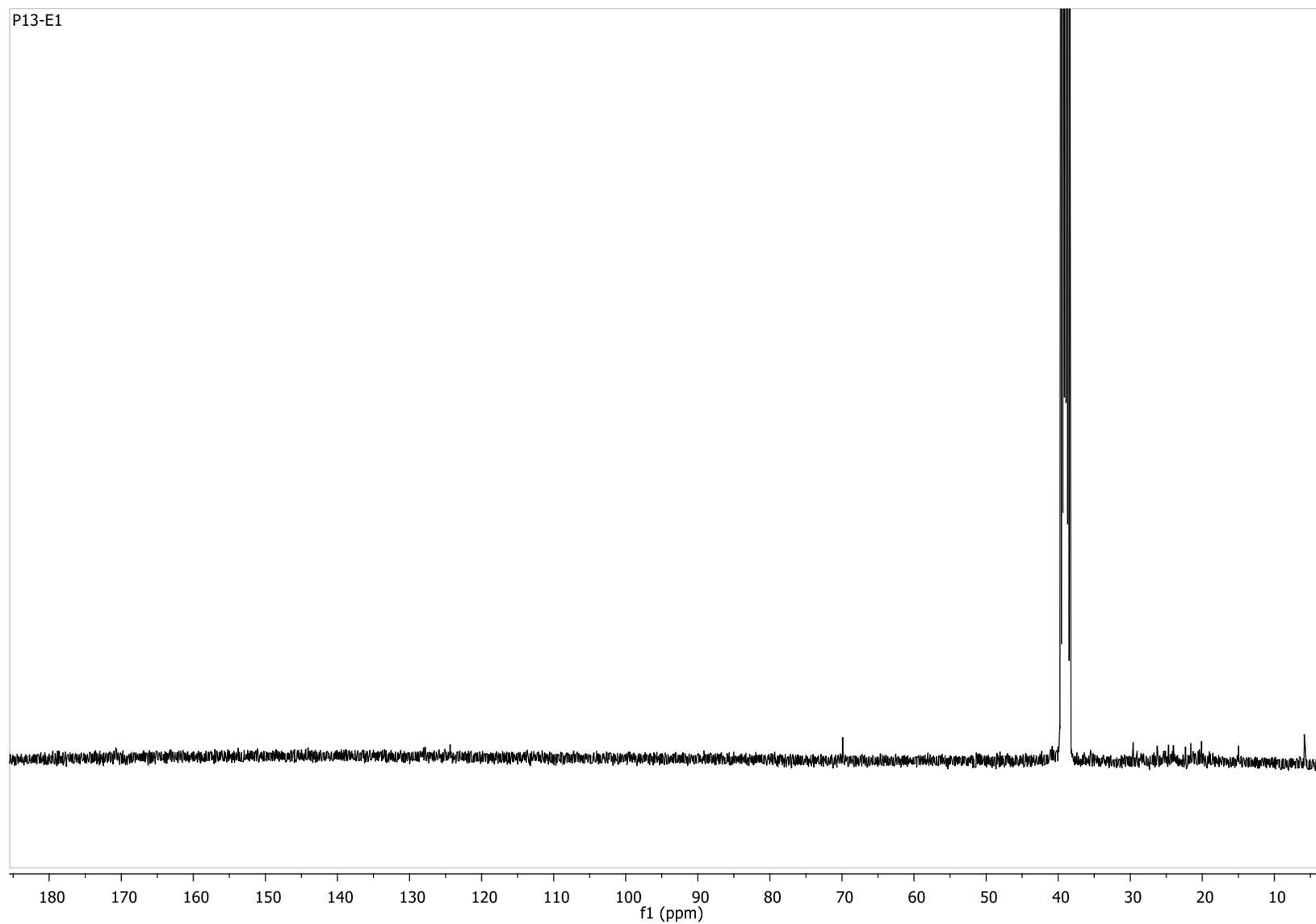
Spectre ESI-MS (-) et (+) basse résolution du composé **139**

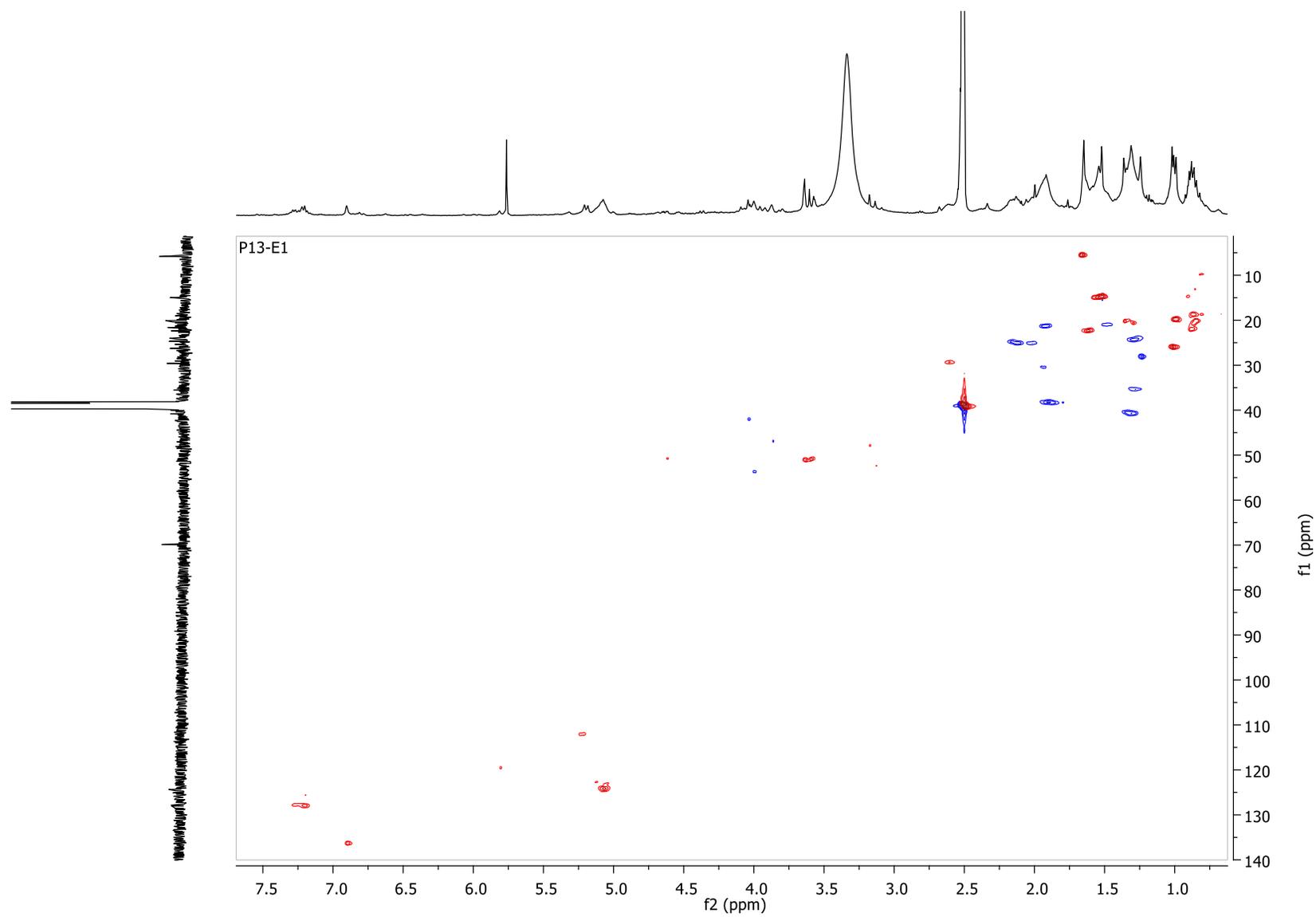
Spectre RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) du composé **139**

Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) du composé **139**

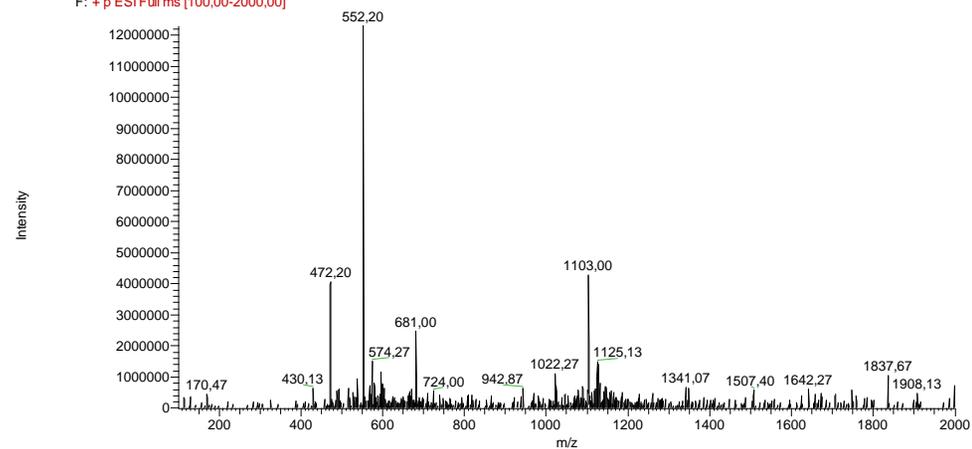
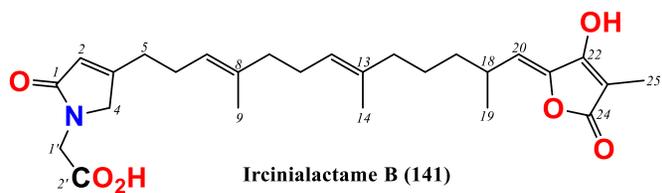
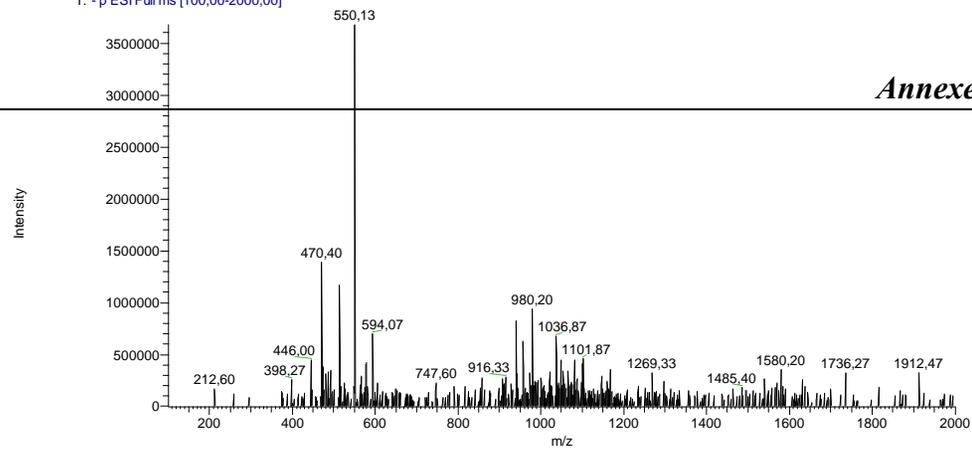
Spectre ESI-MS (-) et (+) basse résolution du composé **140**

Spectre RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) du composé **140**

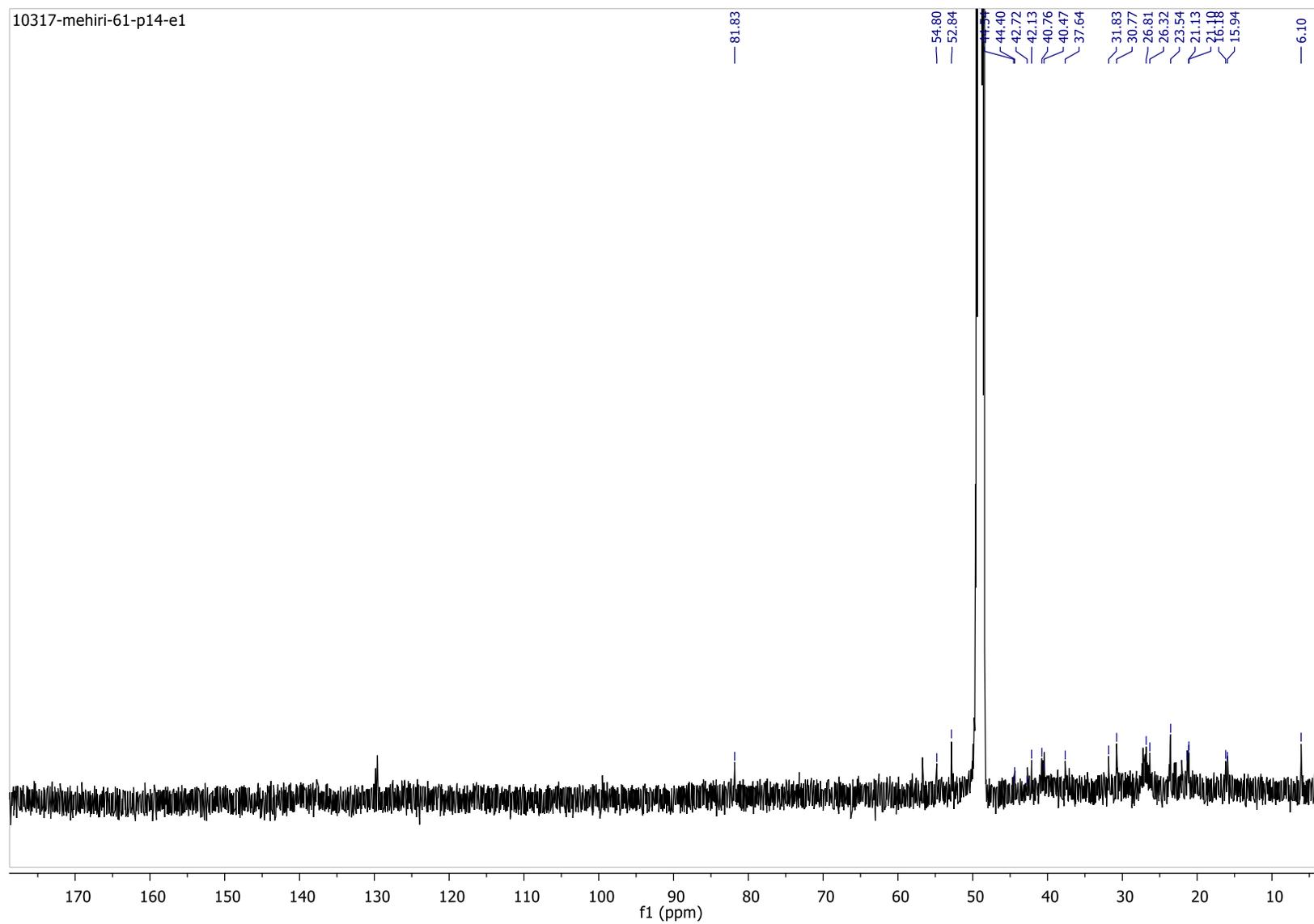
Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) du composé **140**



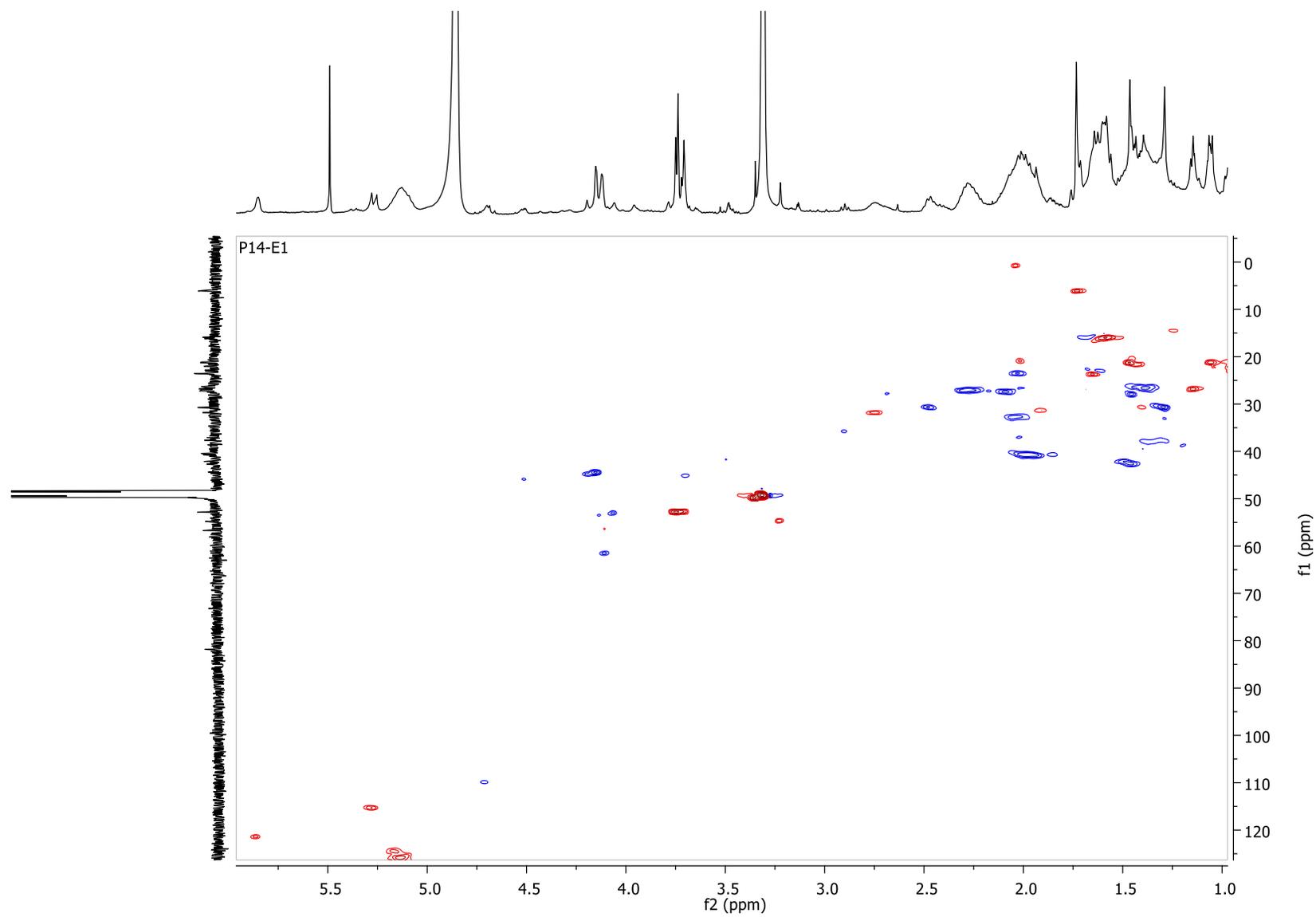
Spectre HSQC du composé 140



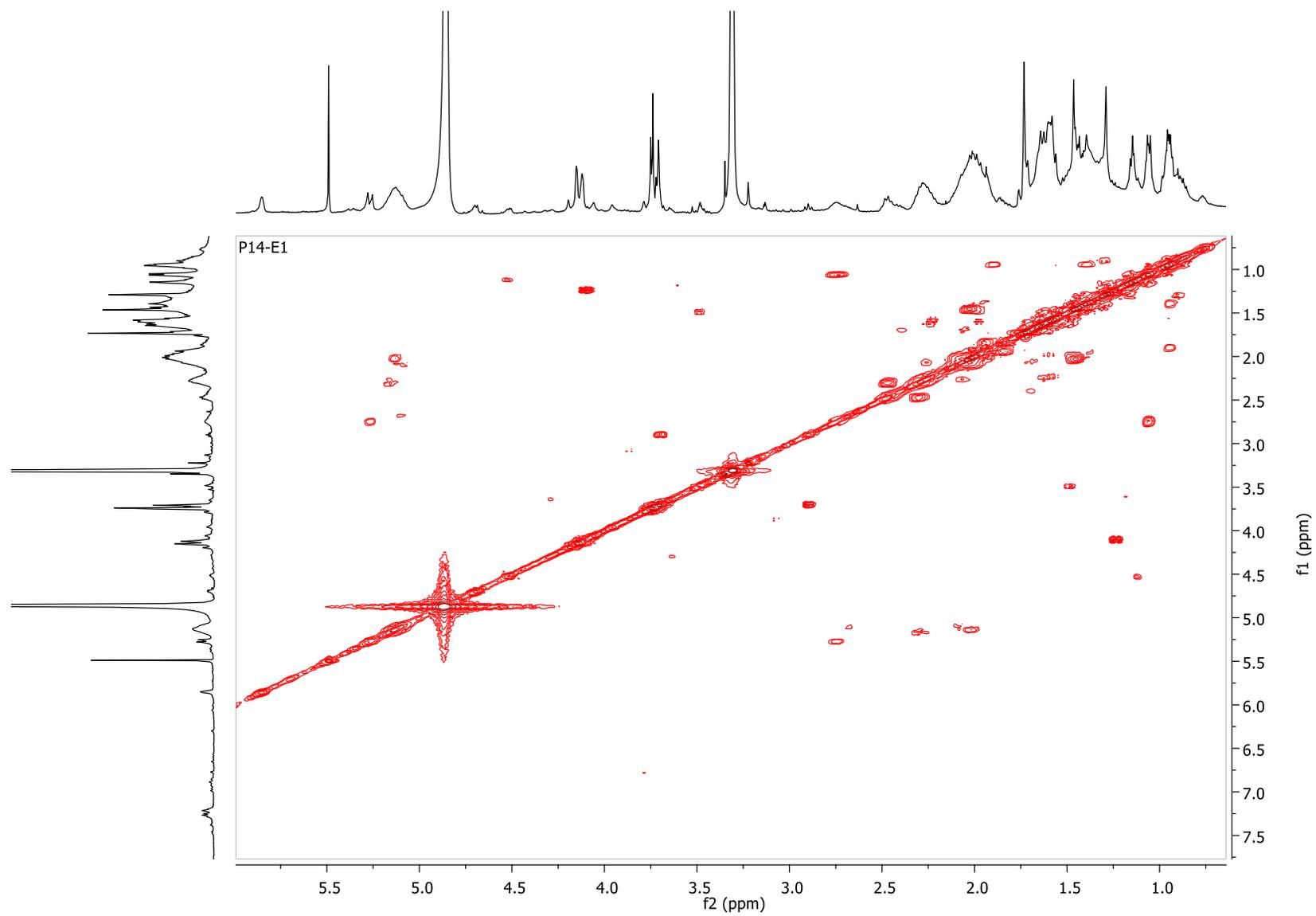
Spectre ESI-MS (-) et (+) basse résolution du composé 141

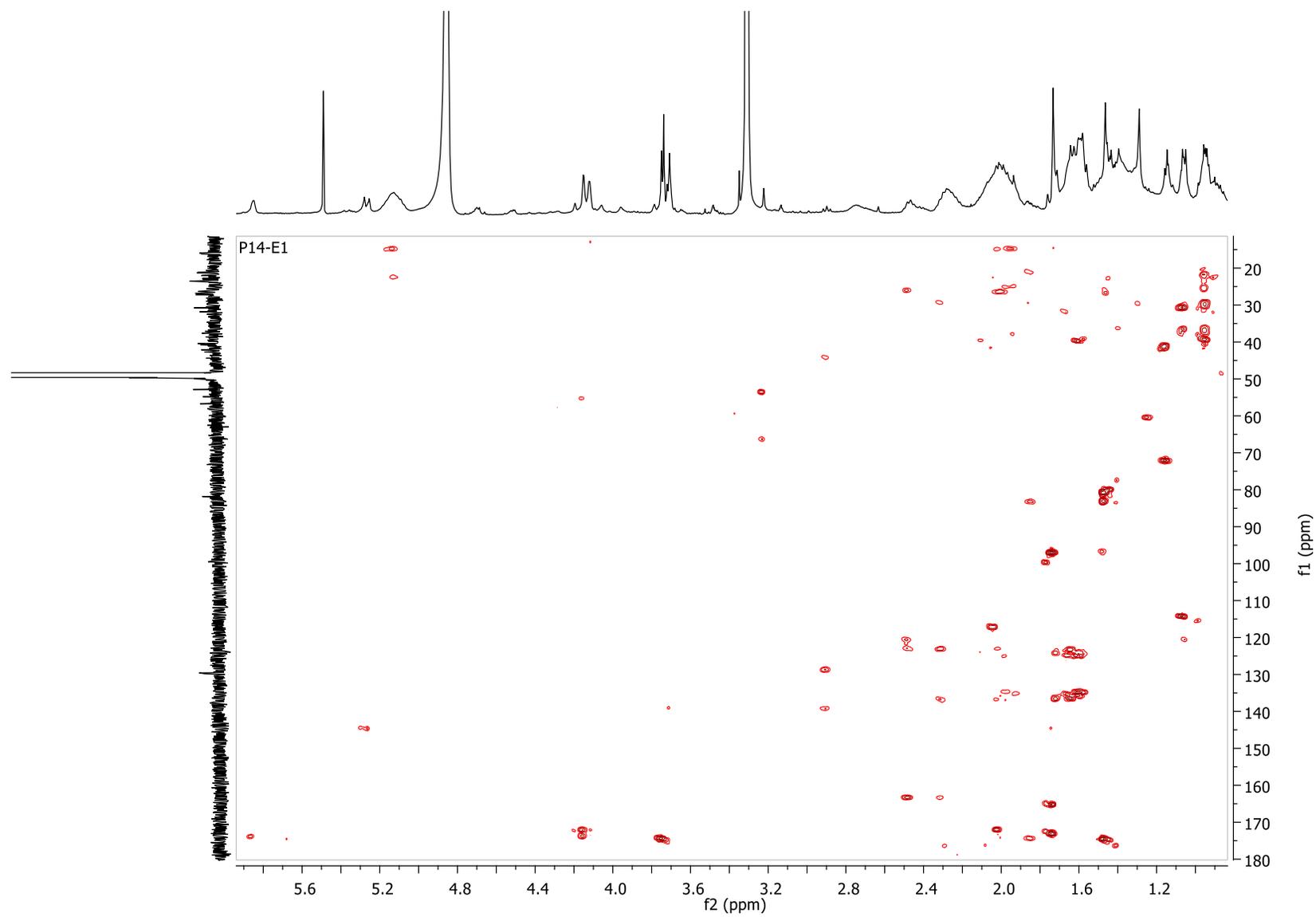


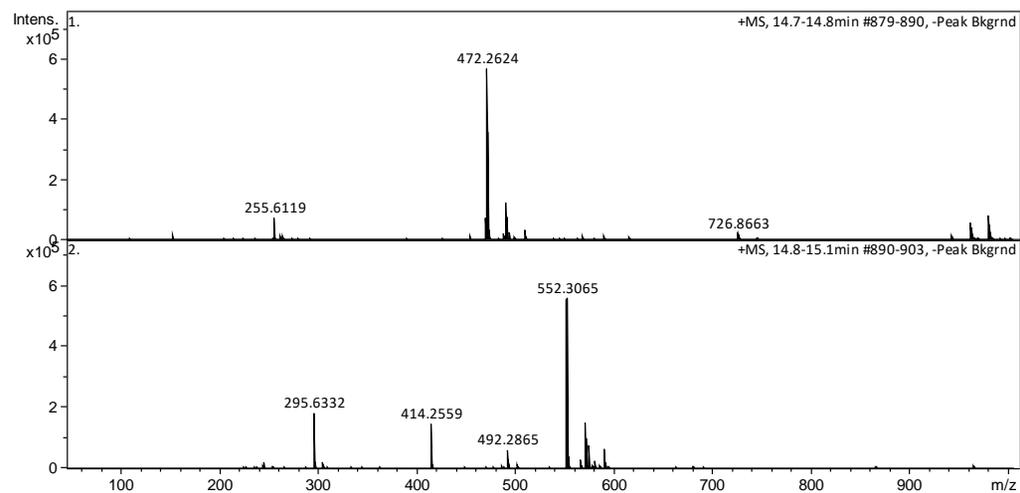
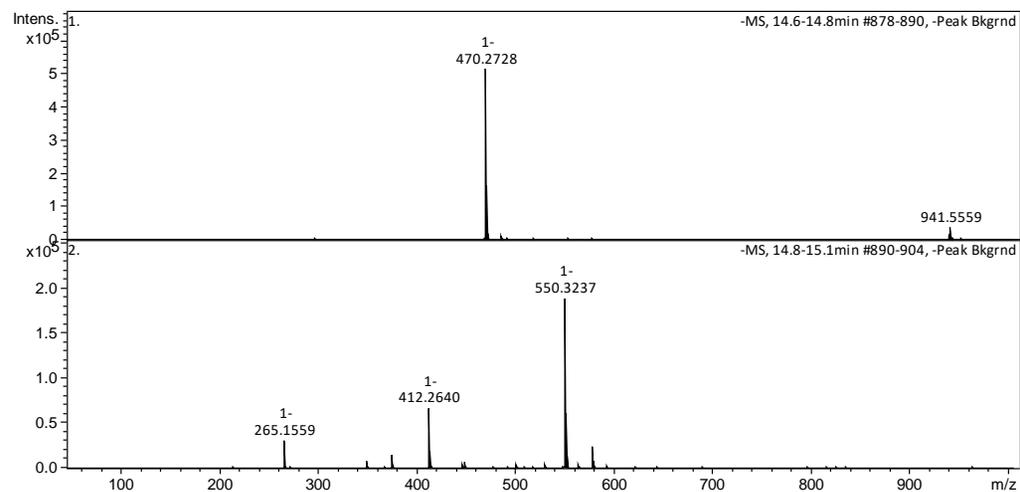
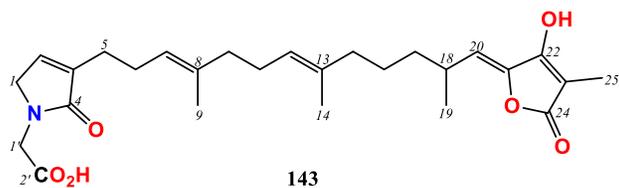
Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) de l'ircinialactame B (141)

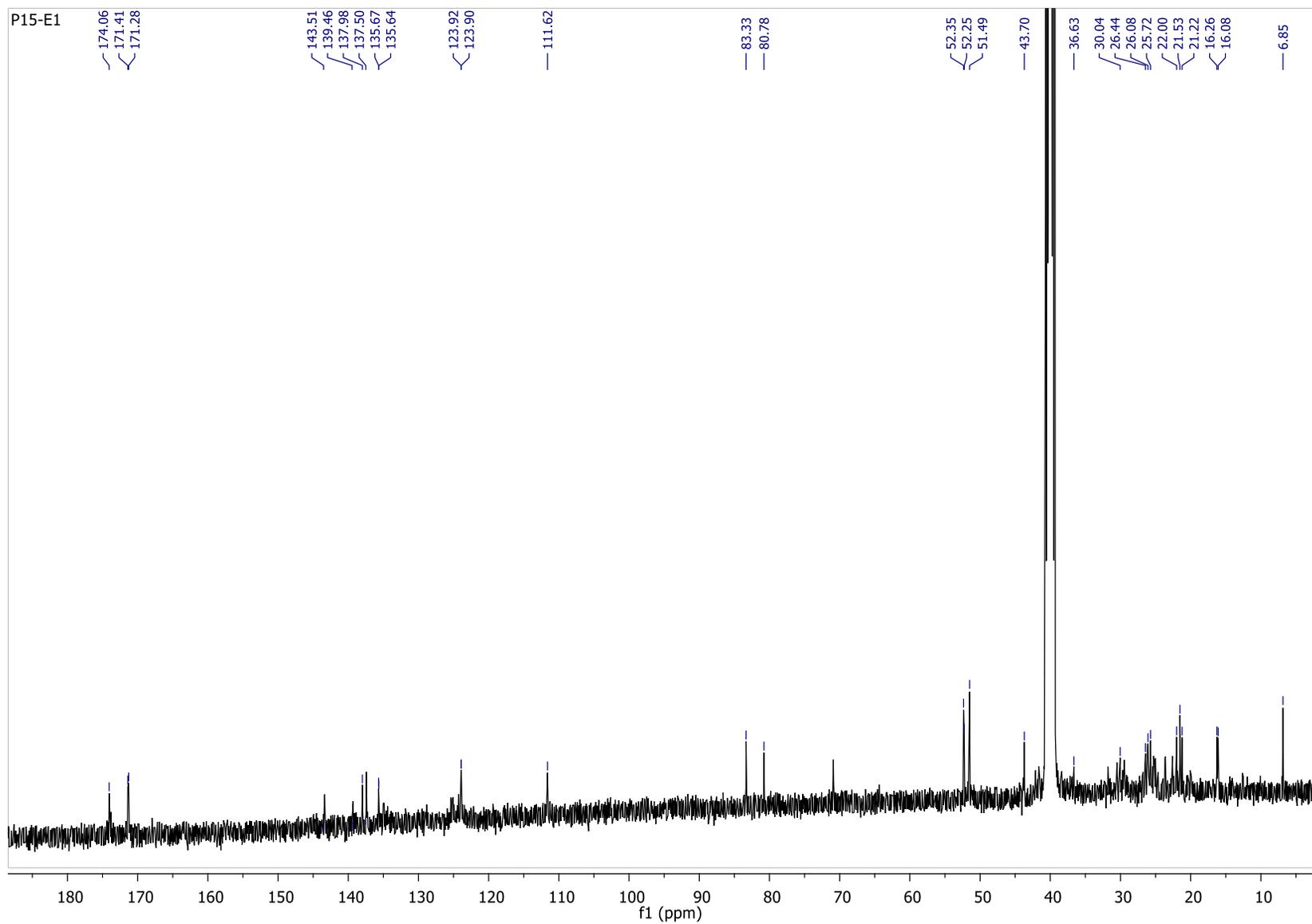


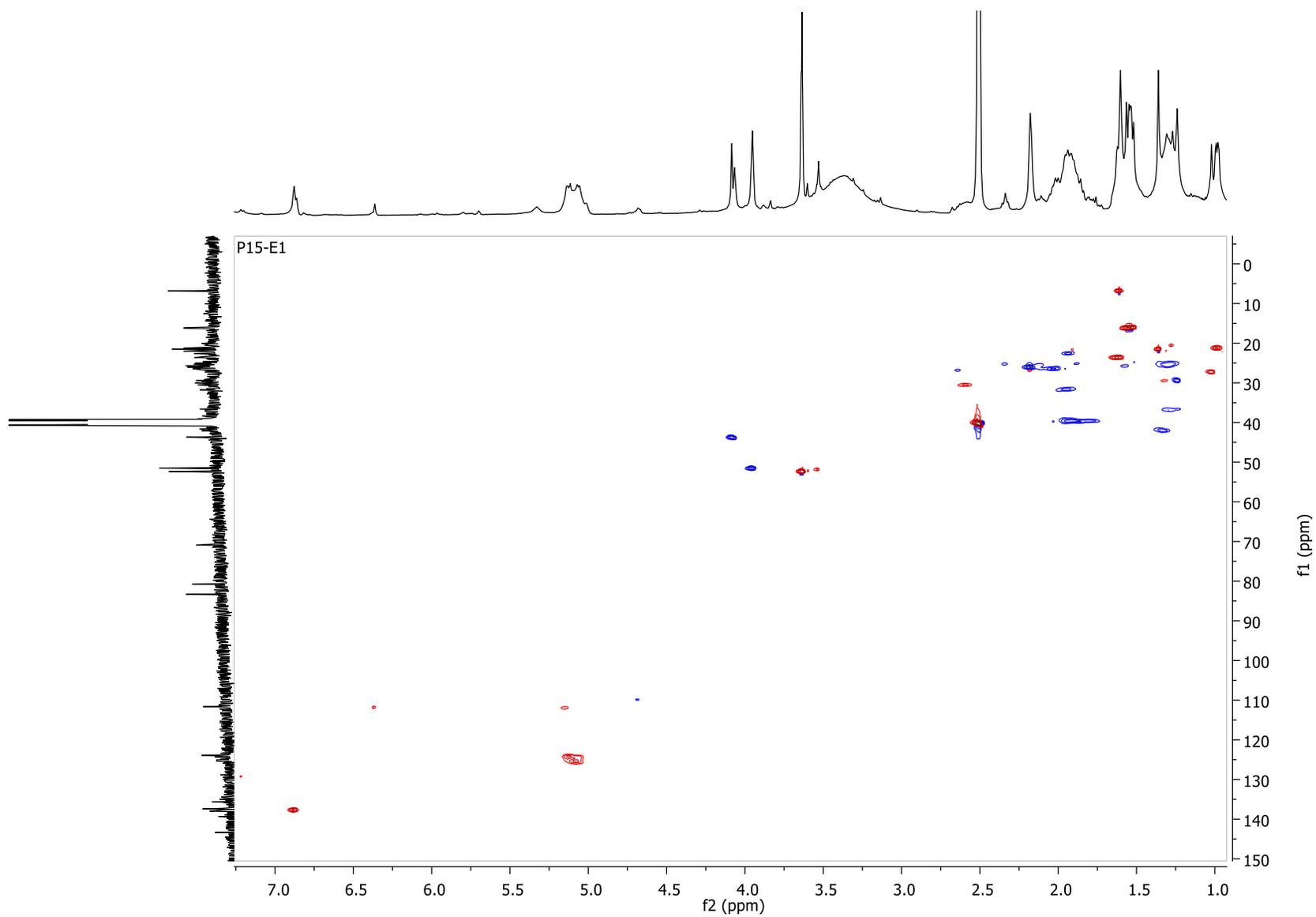
Spectre HSQC du composé 141

Spectre COSY du composé **141**

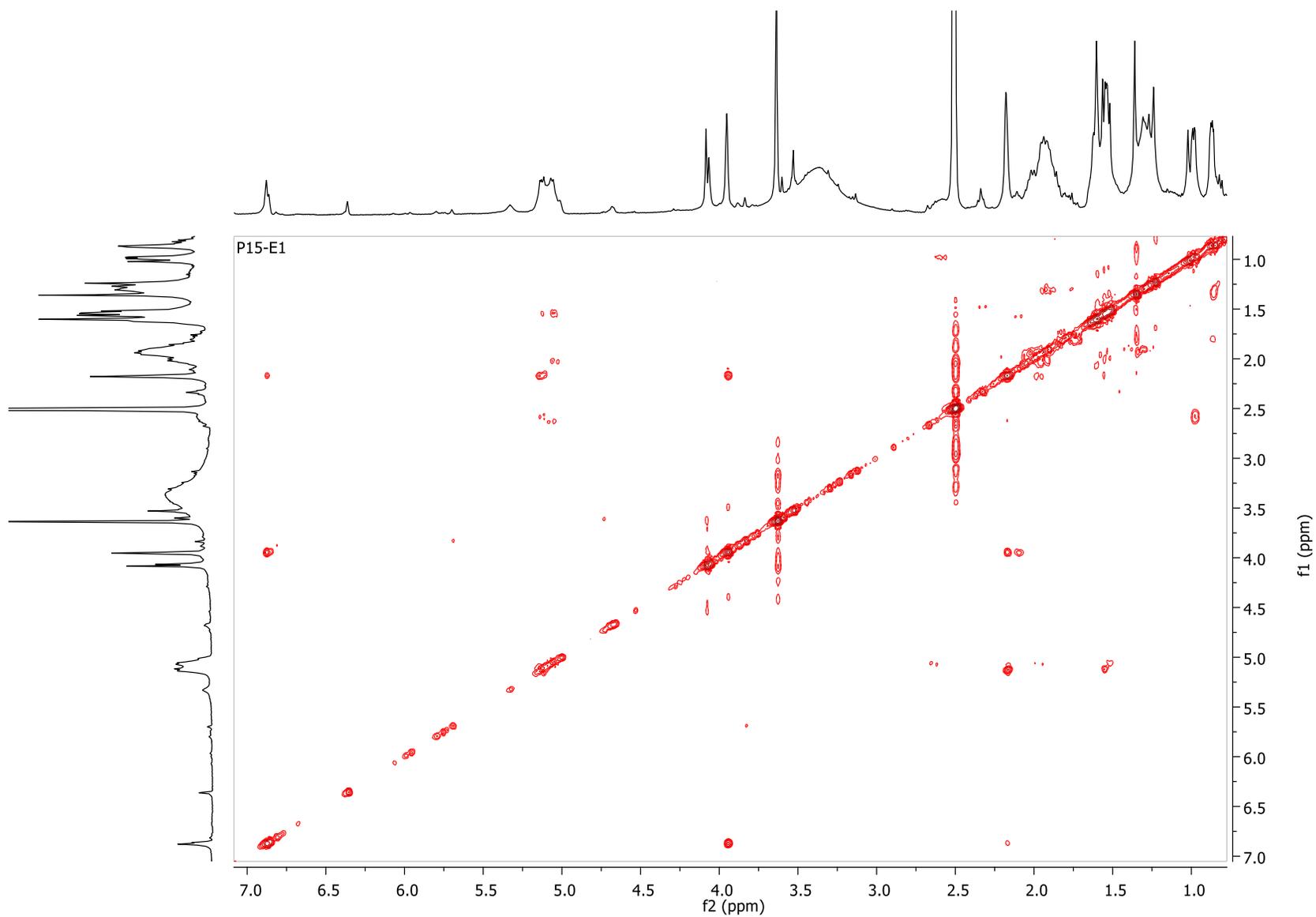
Spectre HMBC du composé **141**

Spectre HRMS (-) et (+) de l'ircinalactame A (**143**)

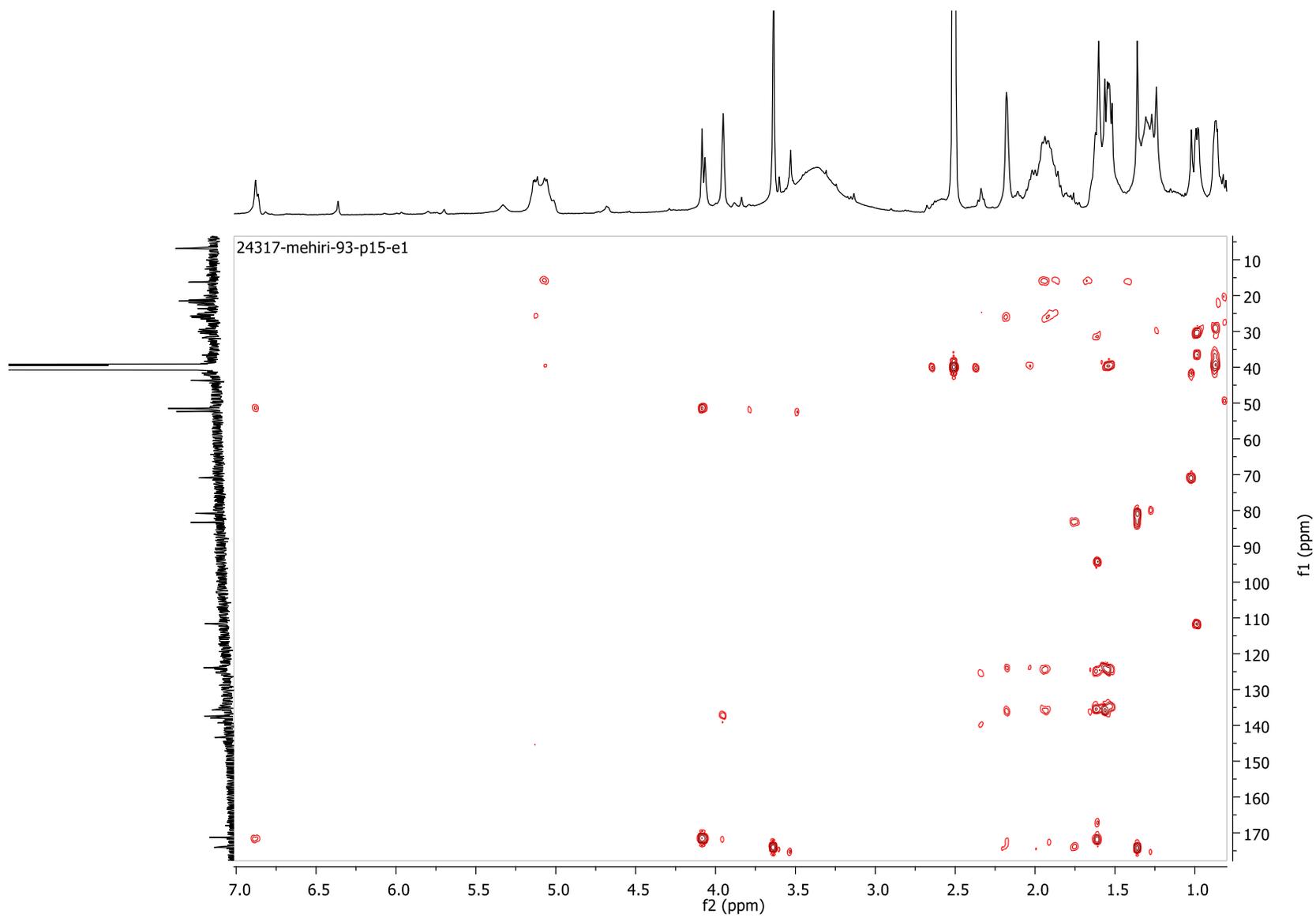
Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ ) de l'ircinialactame A (**143**)

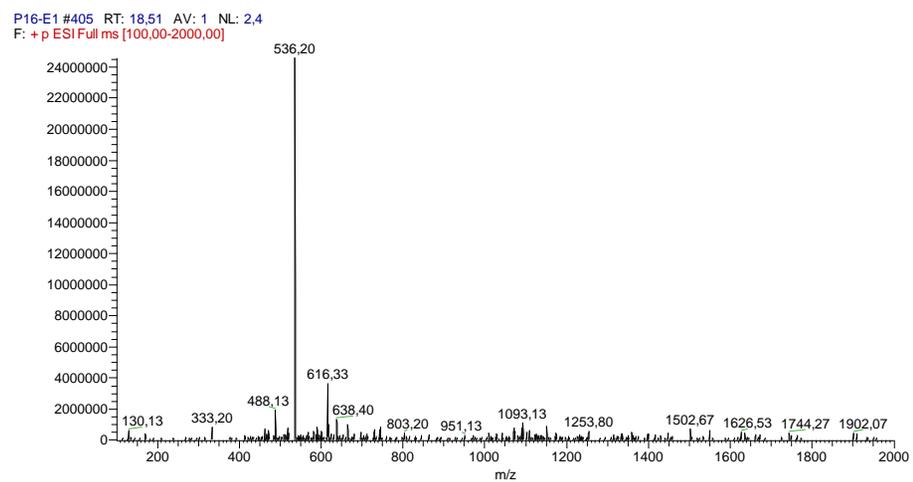
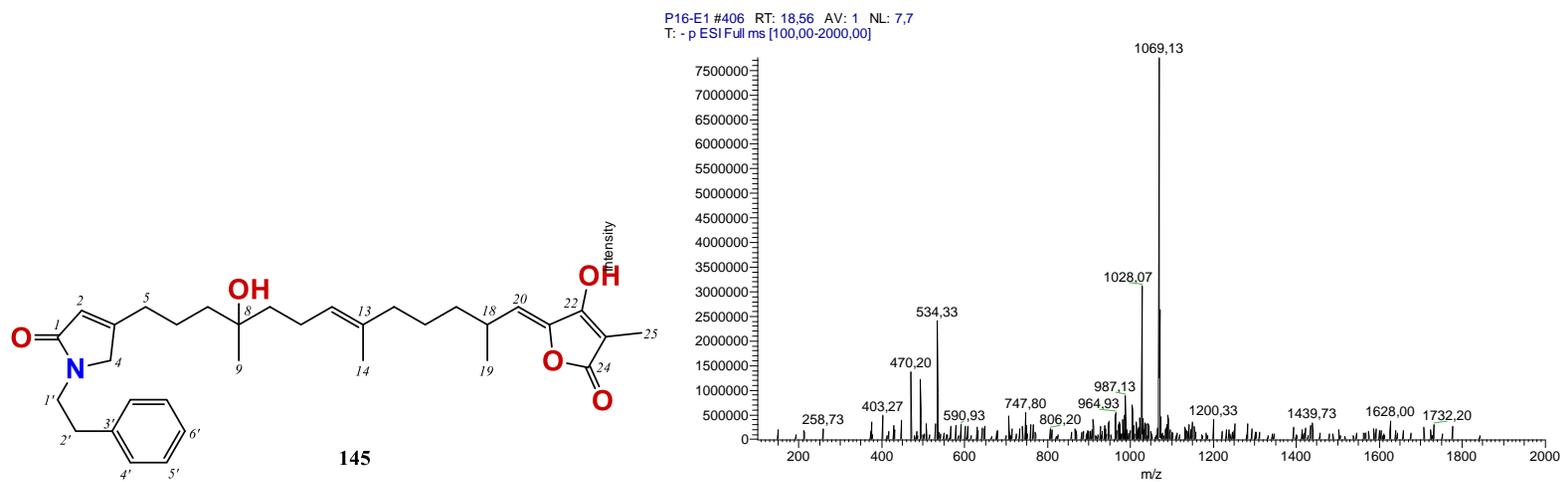


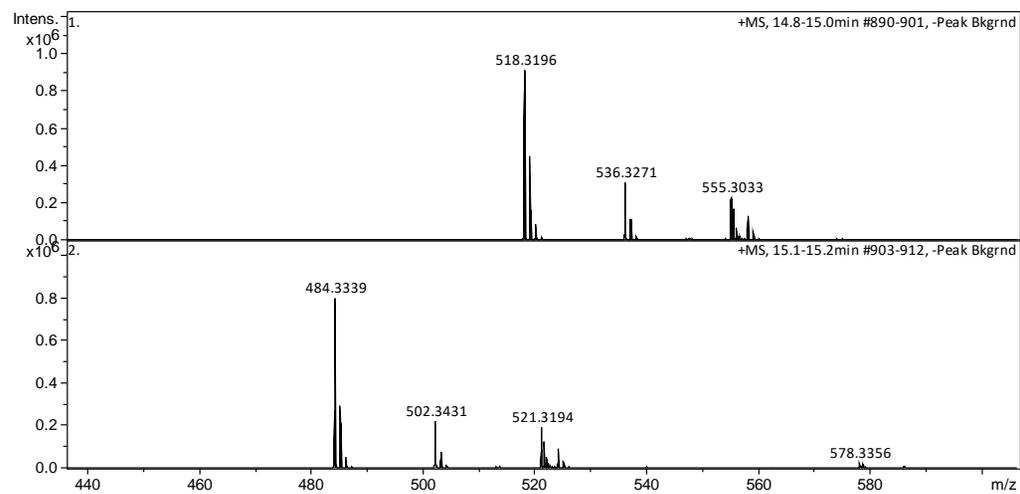
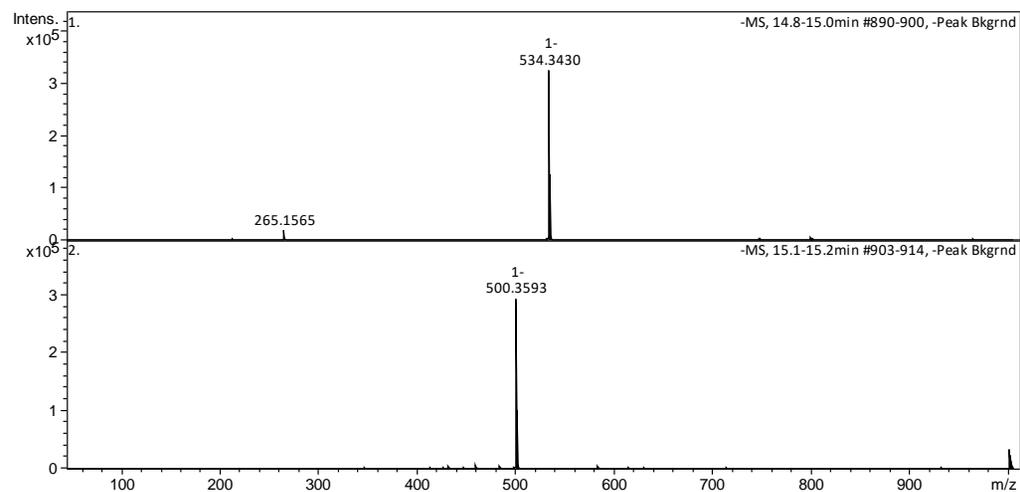
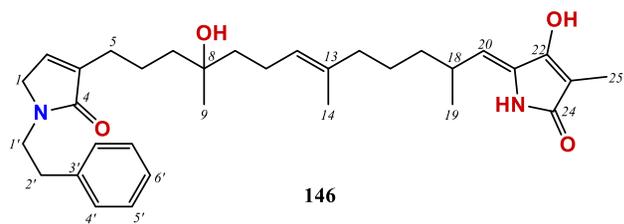
Spectre HSQC de l'ircinialactame A (143)

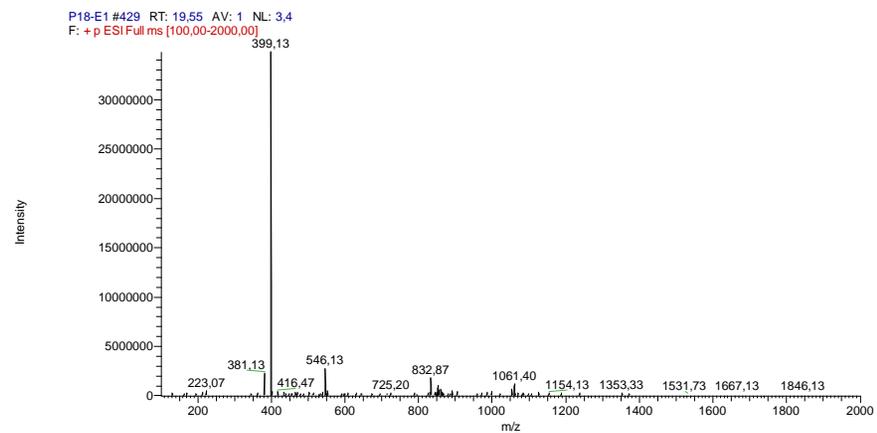
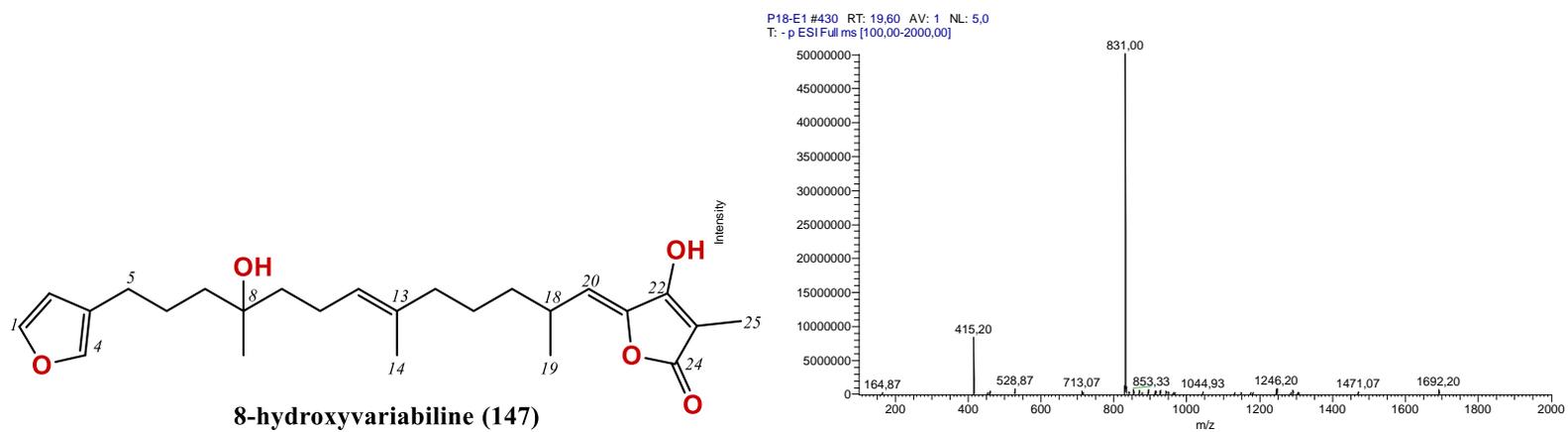


Spectre COSY de l'ircinialactame A (143)

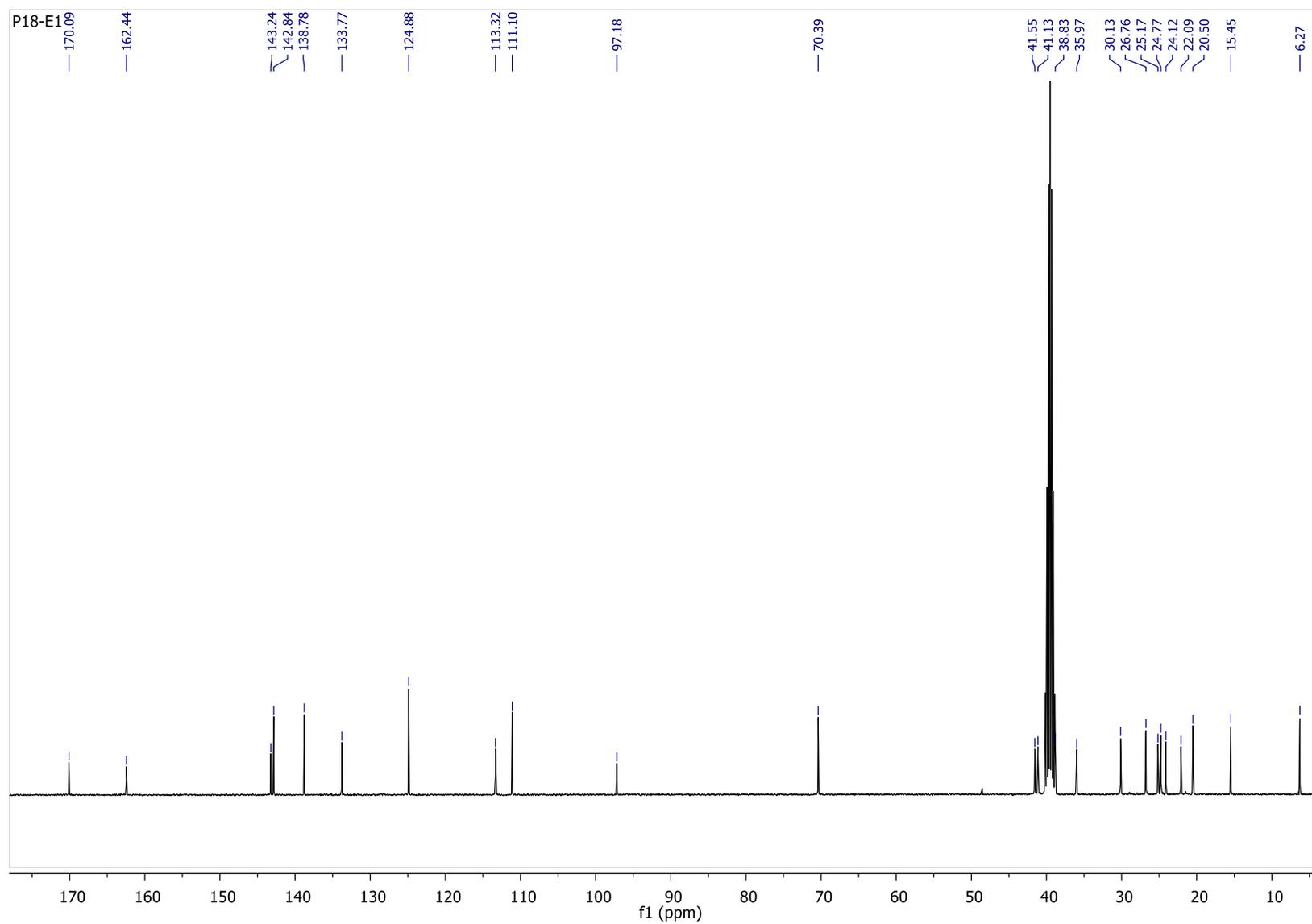
Spectre HMBC de l'ircinialactame A (**143**)

Spectre ESI-MS (-) et (+) basse résolution du composé **145**

Spectre HRMS (-) et (+) du composé **146**



Spectre ESI-MS (-) et (+) basse résolution de la 8-hydroxyvariabiline (147)

Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) de la 8-hydroxyvariabiline (**147**)

**Sow Abou Moussa**

**Métabolites secondaires d'éponges endémiques de la côte sénégalaise : isolement, étude structurale et évaluation biologique**

**RESUME**

Ce travail est consacré à l'isolement, à la caractérisation et à la recherche d'activités biologiques de métabolites de trois éponges marines collectées au large de la côte Dakaroise au Sénégal aux étés 2015 et 2016.

Au total, nous avons isolé vingt-quatre (24) molécules dont cinq (5) nouvelles, de trois (3) éponges à savoir *Psammaplysilla purpurea*, une Dictyocératide et une *Ircinia sp.* Dix-sept (17) ont pu être caractérisées par comparaison des données spectroscopiques (RMN 1D et 2D, MS) avec celles issues de la bibliographie. Nous avons isolé et identifié trois (3) dérivés bromés de la tyrosine (bromotyrosines) de l'éponge *P. purpurea*. Les bromotyrosines constituent des marqueurs chimiotaxonomiques de l'ordre verongidae auquel appartient l'espèce *P. purpurea*. Les métabolites isolés de l'*Ircinia sp.* représentent une classe rare de molécules dérivées de la variabiline composés d'un fragment  $\gamma$ -lactame et d'un fragment acide tétronique (ouvert dans certains cas) reliés par une chaîne terpénique linéaire.

La LL-PAA216 a montré une faible activité inhibitrice contre cinq (5) souches bactériennes alors que l'aerophobin-1 n'a montré aucune activité contre les huit (8) souches.

**Mots-clés :** éponges marines, bromotyrosine, variabiline, produits naturels marins.

---

**Sow Abou Moussa**

**Secondary metabolites from endemic marine sponges of the Senegalese coast: isolation, structural determination and biological evaluation**

**Abstract**

This work is dedicated to the isolation, structural characterization and biological evaluation of secondary metabolites from three marine sponges collected in Dakar along the Senegalese coasts in the summers 2015 and 2016.

In total, we isolated twenty-four molecules, five of which were new, from the marine sponges *Psammaplysilla purpurea*, a Dictyoceratida and *Ircinia sp.* Seventeen metabolites were characterized by comparison of spectroscopic data (1D and 2D NMR, MS) with those from the bibliography. We isolated and identified three (3) brominated derivatives of tyrosine (bromotyrosines) from *P. purpurea*. Bromotyrosines are chemotaxonomic markers of the order Verongida. Metabolites isolated from *Ircinia sp.* represent a rare class of variabilin-derived compound incorporating glycinyllactam or phenylethylamine lactam moiety and a tetronic acid moiety (open in some cases) linked by a linear terpene chain.

LL-PAA216 exhibited weak inhibitory activity against five (5) bacterial strains compared to aerophobin-1 which did not show activity against the eight (8) strains.

**Keywords:** Marine sponges, bromotyrosine, variabilin, marine natural products.