

INVERTEBRES MARINS DU LAGON NEO-CALEDONIEN—V¹

ISOLEMENT ET IDENTIFICATION DES METABOLITES D'UNE NOUVELLE ESPECE DE SPONGIAIRE, *PSEUDAXINYSSA* *CANTHARELLA*

G. DE NANTEUIL, A. AHOND,* J. GUILHEM, C. POUPAT,*
E. TRAN HUU DAU et P. POTIER

Institut de Chimie des Substances Naturelles du C.N.R.S., 91190 Gif-sur-Yvette, France

M. PUSSET et J. PUSSET

Laboratoire des Plantes Médicinales du C.N.R.S., B.P. 643, Nouméa, Nouvelle-Calédonie, France

et

P. LABOUTE

Centre O.R.S.T.O.M., B.P. A5, Nouméa Cédex, Nouvelle-Calédonie, France

(Received in France 12 October 1984)

Résumé—Le fractionnement des extraits aqueux d'une Éponge récoltée en Nouvelle-Calédonie et nouvellement décrite, *Pseudaxinyssa cantharella*, a permis d'isoler neuf métabolites pyrroliques, bromés ou non; quatre d'entre-eux sont originaux: la dibromocantharelline 8, l'odiline 22 et les composés 18 et 24: les structures de 8, 18 et 22 ont été déterminées grâce à l'interprétation de leurs données spectrales et de celles de dérivés hémisynthétiques; la structure de la dibromocantharelline a été confirmée par une étude radiocristallographique. Un cinquième, 17, déjà préparé par hémisynthèse, est décrit pour la première fois à l'état naturel. Les quatre autres composés, isolés d'autres Éponges, le sont pour la première fois du genre *Pseudaxinyssa*: l'oroïdine 1, les composés 2 et 3 et la (+)-dibromophakelline 4, énantiomère du produit décrit: sa structure a été confirmée par une étude aux rayons X.

Abstract—From the aqueous extracts of the New Caledonian sponge, *Pseudaxinyssa cantharella*, nine pyrrolic metabolites have been isolated. Four are new: dibromocantharelline 8, odiline 22 and compounds 18 and 24. The structures of 8, 22 and 18 were determined from spectral data and that of 8 was confirmed by X-ray studies. A fifth, 17, had been prepared previously but is isolated for the first time from a natural source. The last four are known but are isolated for the first time from the genus *Pseudaxinyssa*: oroïdine 1, compounds 2 and 3, and (+)-dibromophakelline 4, the enantiomer of a known compound: its structure was confirmed by X-ray diffraction.

Lors de sa récolte, l'Éponge étudiée était inconnue: elle a, depuis, été décrite² sous le nom de *Pseudaxinyssa cantharella* et classée dans la famille des Axinellidées (Démospouges). Le fractionnement exhaustif des constituants des extraits aqueux est décrit ici. La description des stérols, dont le squelette hydroxyméthyl-3 β A-nor cholestane confirme l'appartenance de l'Éponge à la famille des Axinellidées, sera faite séparément.³

Bien que des composés très variés aient été isolés de Spongiaires, les dérivés pyrroliques, bromés ou non, sont parmi les plus nombreux,⁴⁻¹⁶ il est peut-être significatif de constater que la plupart d'entre-eux ont été extraits d'Éponges appartenant à l'ordre des Axinellides et notamment aux familles des Axinellidées et Agélasidées.

Des quatorze composés non stéroliques isolés de *Pseudaxinyssa cantharella*, neuf sont des dérivés pyrroliques; trois d'entre-eux, isolés et décrits dans le genre *Pseudaxinyssa* pour la première fois, avaient déjà été séparés d'Éponges: l'oroïdine 1 de *Agelas oroides*⁵ puis d'*Axinella verrucosa* et *A. damicornis*,⁷ le composé 2 de *Phakellia flabellata*¹¹ et le composé 3 de *Axinella verrucosa* et d'*Acanthella aurantiaca*.¹³ Le quatrième

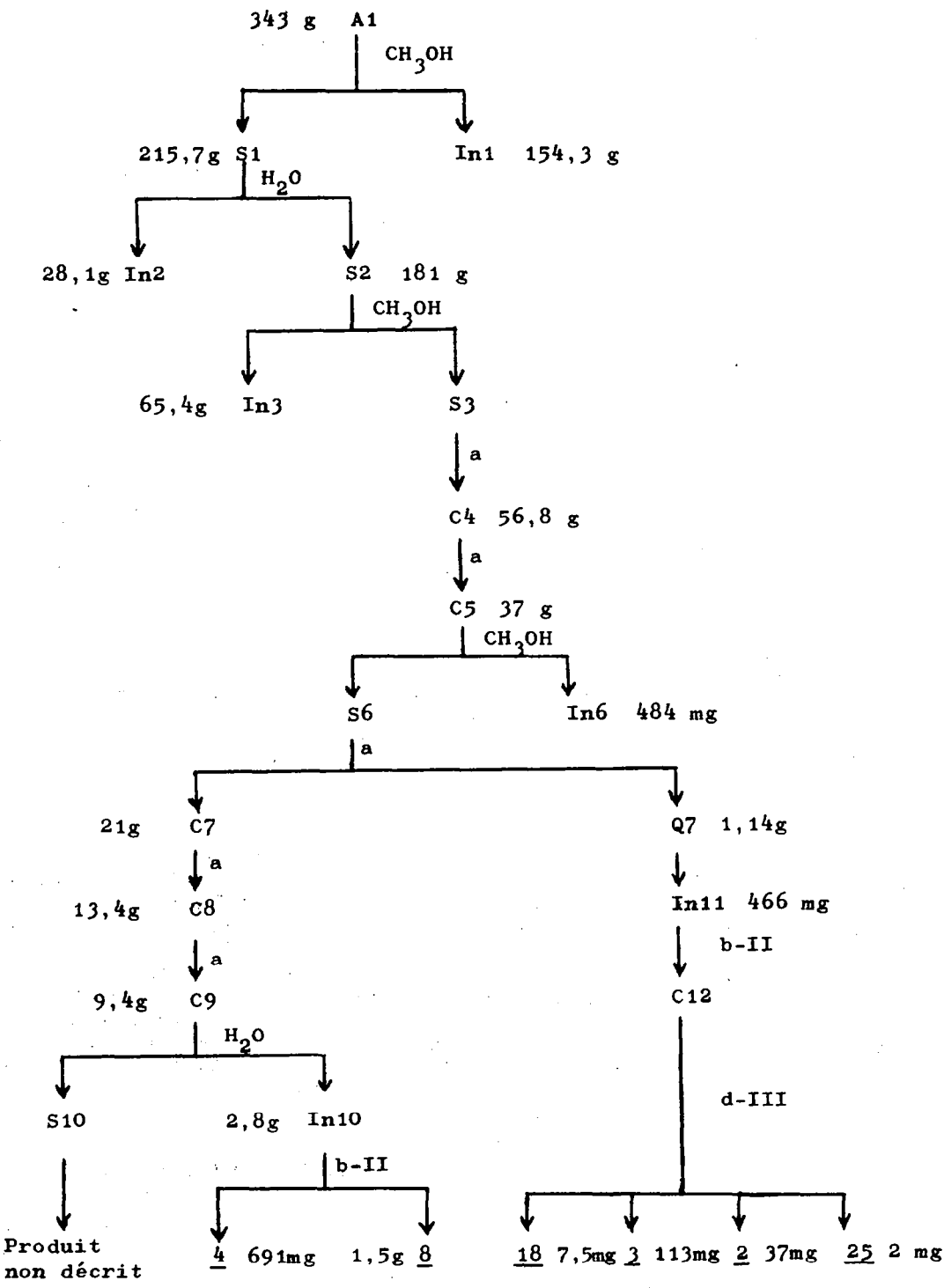
composé est un énantiomère de la dibromophakelline 4, isolée de *Phakellia flabellata*;⁴ les cinq autres composés pyrroliques 8, 17, 18, 22, 24 (la structure de ce dernier n'a pu être totalement établie) sont des produits naturels nouveaux: l'un d'eux, 18, avait été préparé par hémisynthèse. Cinq autres composés ont également été séparés: la taurine 25, en quantité importante (7 g kg⁻¹), trois dérivés pentabromés, en très faible quantité, qui n'ont pu être totalement caractérisés, et un produit, également à très faible concentration, dont la structure demeure inconnue.

ISOLEMENT ET CARACTERISATION DES PRODUITS

L'Éponge a été récoltée à deux reprises et les produits des deux récoltes traités séparément. Les extraits aqueux lyophilisés (A1 et A2) ont été soumis à une longue suite de fractionnements résumés dans les Tableaux 1 et 2.

Les composés isolés à l'état pur seront décrits dans l'ordre de leur séparation. Leur numérotation correspond à celle utilisée par Sharma.⁴

Tableau 1. Fractionnement de la première récolte



(+)-Dibromophakelline (4)

Le premier composé isolé présente toutes les caractéristiques spectrales [IR, UV, RMN ^1H (Tableau 3), SM] du produit décrit,^{4,9} auxquelles nous avons ajouté le spectre de RMN ^{13}C (voir Tableau 4); seuls le pouvoir rotatoire et le dichroïsme circulaire sont différents [litt.: $[\alpha]_{\text{D}} -205^\circ$, DC: 239 nm (−12,4), 285 nm (−4,6); trouvé pour 4: $[\alpha]_{\text{D}} +159^\circ$, DC: 241 nm (+10,2), 285 nm (+4,9)], ce qui nous a conduits à penser que nous étions en présence d'un énantiomère de la dibromophakelline déjà décrite. Au cours de la détermination structurale, et souhaitant obtenir un dérivé cristallisé convenable pour une étude aux rayons X, plusieurs dérivés de 4 ont été préparés: la N-acétyl-17-dibromophakelline 5,⁹ la N,N'-diacétyl-7,17-dibromophakelline 6 et la phakelline 7. Le composé diacétylé 6 a été obtenu en traitant 4 par l'anhydride acétique en présence d'acétate de sodium à 100° pendant 1/2 heure; la débromation de 4 ($\rightarrow$ 7) a été facilement réalisée par action du borohydrure de sodium en présence du chlorure de palladium pendant cinq minutes.¹⁷ Les caractéristiques physiques et spectrales des dérivés 5, 6 et 7 sont données dans la partie expérimentale. Comme la dibromophakelline, la N-acétyl-17-dibromophakelline diffère du composé déjà décrit par son pouvoir rotatoire et sa courbe de dichroïsme circulaire.

Finalement, c'est la (+)-dibromophakelline elle-même qui donné les cristaux (CH_3OH) les plus satisfaisants. L'étude par diffraction des rayons X d'un de ces cristaux a permis de montrer que nous étions bien

en présence d'un énantiomère de la dibromophakelline décrite par Sharma et coll.^{4,9}

Étude par diffraction des rayons X de la (+)-dibromophakelline. Les cristaux sont tricliniques, P1, avec deux molécules dans la maille, dont les paramètres sont: $a = 11,168(6)$, $b = 10,242(6)$, $c = 10,431(6)$ Å, $\alpha = 133,87(8)^\circ$, $\beta = 92,01(6)^\circ$ et $\gamma = 103,09(7)^\circ$. $U = 806 \text{ Å}^3$. Les données ont été enregistrées avec un diffractomètre automatique à quatre cercles, en utilisant la radiation $K\alpha$ du cuivre, isolée par un monochromateur au graphite. 2250 réflexions indépendantes ont été mesurées, parmi lesquelles 2164 avaient une intensité significative ($I > 3\sigma(I)$). Le balayage des réflexions a été effectué en utilisant la technique $\omega/2\theta$, avec les caractéristiques suivantes: vitesse $0,05^\circ \text{ s}^{-1}$, largeur $(1,4 + 0,1 \text{ tg } \theta)^\circ$, fond continu mesuré à chaque extrémité pendant un temps total égal à la durée du balayage. Trois réflexions de référence ont été mesurées toutes les trois heures sans signaler de décomposition significative.

La structure cristalline a été résolue par l'examen de la fonction de Patterson. Deux molécules d'eau et deux molécules d'acide formique ont été localisées dans la maille. L'affinement anisotrope par grands blocs a conduit à un facteur d'accord final de 7,3%. La configuration absolue a été déterminée par la mesure répétée des couples de Friedel de 17 réflexions "sensibles". Ces mesures ont été effectuées avec la radiation $K\alpha$ du molybdène sur un cristal différent de celui qui avait été utilisé pour la mesure des intensités. L'existence d'une activité optique en solution, en excluant la possibilité d'un dédoublement spontané, confirme la configuration absolue représentée sur la Fig. 1. Les coordonnées atomiques finales, les distances interatomiques et les angles sont donnés en partie expérimentale (Tableaux 5–7).

Systèmes de solvants

I : acétate d'éthyle-méthyléthyl-cétone-acide formique-eau	5:3:0,1:0,1
II : acétate d'éthyle-méthyléthyl-cétone-acide formique-eau	5:3:0,5:0,5
III: acétate d'éthyle-méthyléthyl-cétone-acide formique-eau	5:3:1:1
IV : acétate d'éthyle-méthyléthyl-cétone-acide formique-eau	5:3:2:2
V : n-butanol-acide acétique-eau	6:3:4
VI : n-butanol-éthanol-eau	10:2:6

S : soluble

In: insoluble

F : fractions d'une filtration ou d'une chromatographie

T : fractions de tête d'une filtration ou d'une chromatographie

C : fractions centrales d'une filtration ou d'une chromatographie

Q : fractions de queue d'une filtration ou d'une chromatographie

a : Séphadex LH20/ CH_3OH

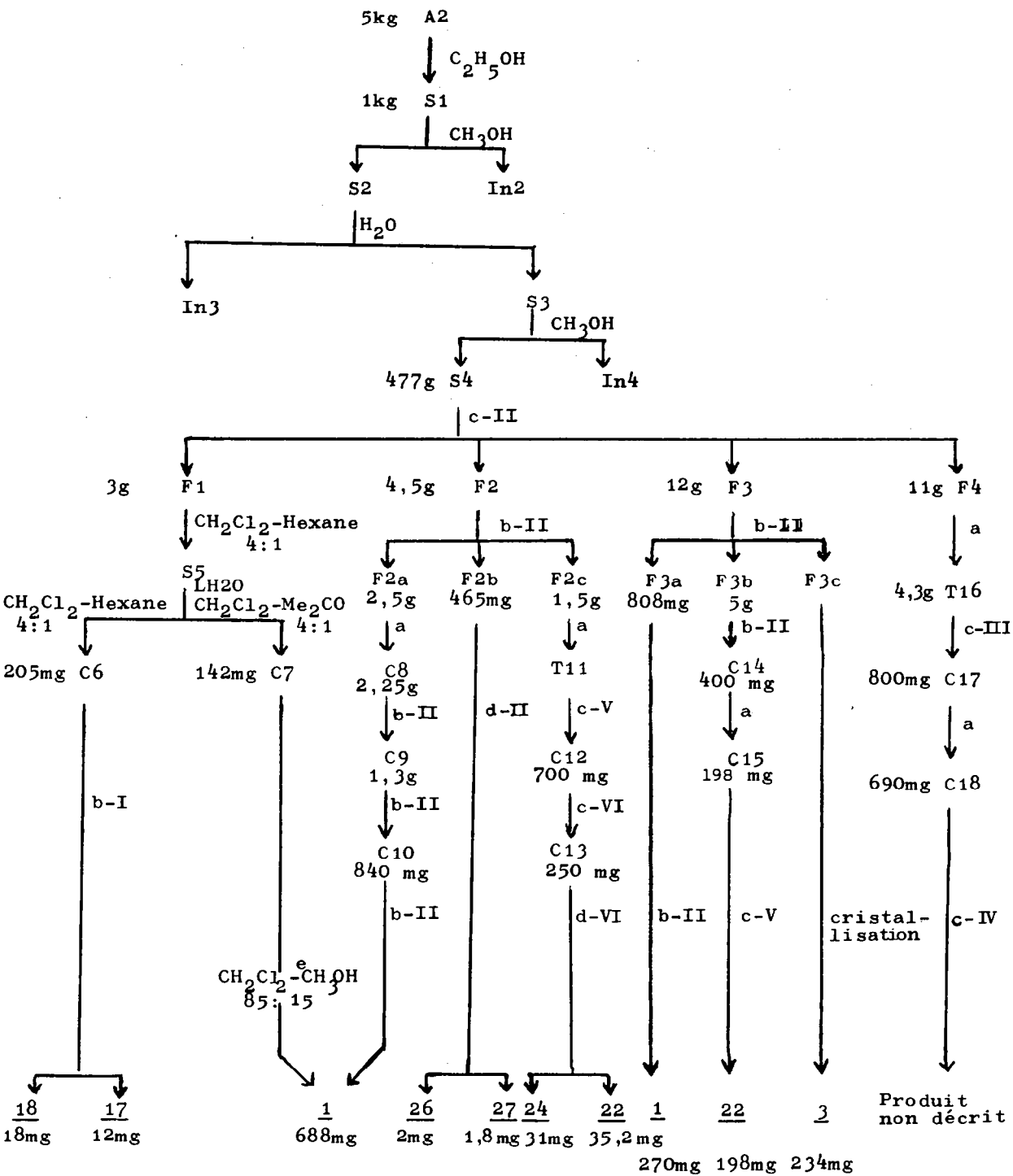
b : colonne de gel de silice Merck Art. 7736

c : colonne de gel de silice Merck Art. 7734

d : ccm Merck 60F 254

e : cce (gel de silice Merck Art. 7747)

Tableau 2. Fractionnement de la deuxième récolte



Voir légende du Tableau 1

Tableau 3. RMN ^1H 400 MHz, DMSO- d_6 , TMS

	$\text{C}_3\text{-H}$	$\text{C}_6\text{-H}$	$\text{C}_{11}\text{-H}_{(2)}$	$\text{C}_{12}\text{-H}_{(2)}$	$\text{C}_{13}\text{-H}_{(2)}$
(+) Dibromophakelline <u>4</u>	7,05 (s)	6,20 (s)	2,52 (m) 2,40 (m)	2,21 (m) 2,13 (m)	3,73 (pseudo t $J = 9$ Hz) 3,60 (pseudo t $J = 9$ Hz)
Dibromocantharelline <u>8</u>	-	5,27 (s)	2,27 à 2,08 (m)		3,65 (m) 3,57 (m)

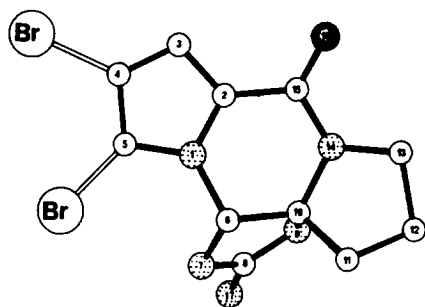


Fig. 1.

Dibromocantharelline (8)

Légèrement moins polaire que la dibromophakelline 4, le composé 8 est un isomère de celle-ci; de formule brute $\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{Br}_2\text{N}_5\text{O}$ ($F: 260^\circ$, $[\alpha]_D + 95^\circ$), il cristallise aussi du méthanol. Son spectre IR présente une forte bande à 1680 cm^{-1} (carbonyle d'amide) et son spectre UV deux maxima d'absorption à 214 (8300) et 284 nm (11000) caractéristiques des acétamido-2 pyrroles; contrairement à ce qui est observé dans le cas de la dibromophakelline 4, la bande à 284 nm subit, en milieu basique, un déplacement bathochrome (302 nm). Celui-ci nous a conduits à imaginer l'existence d'un groupement énolisable dans la molécule; pour le fixer, nous avons tenté et réussi la méthylation par le diazométhane: sur le spectre de RMN ^1H du dérivé méthylé 9, on note la présence d'un singulet de trois protons à 3,87 ppm qui confirme la O-méthylation. Le même essai, tenté sur la dibromophakelline 4 lors de son identification, n'avait donné aucun résultat. Sur le spectre UV de 9, on observe deux maxima à 230 et 288 nm, sans modification en milieu alcalin. Ce dérivé méthylé 9 est N-acétylable dans les mêmes conditions que la dibromophakelline: les caractéristiques du composé monoacétylé 10 et du composé diacétylé 11 sont décrites en partie expérimentale.

La comparaison du spectre de RMN ^1H de 8 avec celui de 4 montre l'existence de grandes analogies (Tableau 3): on remarque pourtant la disparition du singulet à 7,05 ppm attribué au $\text{C}_3\text{-H}$ de la dibromophakelline et le blindage de l'autre singulet, de 6,20 à 5,27 ppm. Des expériences d'irradiation, normale et par différence,¹⁹ ont confirmé l'enchaînement $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$.

La comparaison des spectres de RMN ^{13}C confirme les données précédentes (Tableau 4): le signal d'un carbone tertiaire, attribué au C_3 , à 114,4 ppm, ne se retrouve plus sur le spectre de 8 mais celui d'un carbone quaternaire à 122,6 ppm est visible. Les carbones 2 et 6 de la dibromophakelline 4 à 101,6 et 68,7 ppm sont blindés à 95,7 ($-5,9$ ppm) et à 53,7 ppm (-15 ppm).

Le spectre de masse, en plus du pic moléculaire "triplet" à M^+ 387–389–391 (1:2:1), dû à la présence des deux atomes de brome, présente des fragments à m/z 359–361–363, 345–347–349 et 110 qui ont pu être rapprochés de ceux fournis par 4⁹ (Schéma 1): ils confirment la présence de groupes acétamido-2-dibromo-4,5-pyrrole et amino-2-imidazole dans la molécule ainsi que de l'enchaînement $\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—N}$.

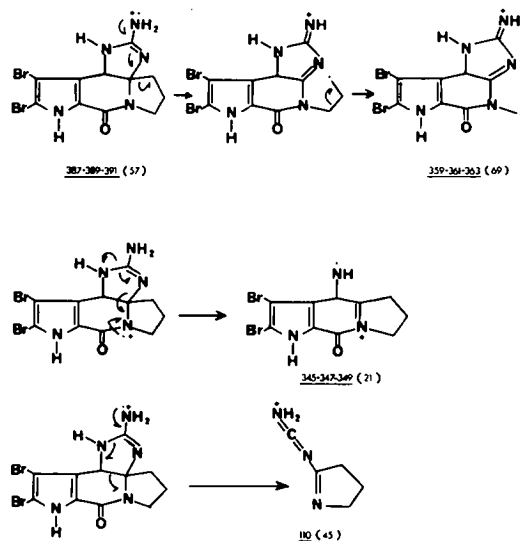


Schéma 1.

Comme la dibromophakelline, le composé 8 est débromé sous l'action du borohydrure de sodium en présence de chlorure de palladium;¹⁷ sur le spectre de RMN ^1H du dérivé débromé 12, on observe deux nouveaux doublets à 7,07 et 6,30 ppm ($J = 3$ Hz) attribués aux protons $\text{C}_3\text{-H}$ et $\text{C}_4\text{-H}$ du noyau pyrrole. Le spectre UV montre deux maxima à 225 et 275 nm sans modification en milieu basique.

Comme la dibromophakelline, le composé 8 est

Tableau 4. RMN ^{13}C

	C2	C3	C4	C5	C6	C8	C10	C11	C12	C13	C15
Dibromocantharelline (100 MHz - DMSO-d_6) <u>8</u>	95,7	122,6	122,7	108,7	53,7	154,9	83,7	39,1	18,8	43,6	157,5
(+) Dibromophakelline (100 MHz - DMSO-d_6) <u>4</u>	101,6	114,4	124,8	106,0	68,7	153,6	82,4	38,5	18,9	44,3	157,0
Oroïdine (100 MHz - DMSO-d_6) <u>1</u>	97,8	113,0	124,7	104,2	110,8	147,5	128,0	116,2	126,7	39,7	158,5
Débromodihydro- oroïdine (50 MHz - CD_4O) <u>21</u>	109,7	122,8	126,8	111,8	110,1	148,9	128,4	29,5	22,8	39,2	non visible
Odiline (100 MHz - CD_4O) <u>22</u>	99,6	127,0	123,9	109,5	113,8	149,5	128,8	129,3	126,0	39,0	164,3

Tableau 5. Coordonnées atomiques finales de 4 ($\times 10^4$)

	X	Y	Z	U
BR1A	-1394 (1)	2191 (2)	3995 (2)	95 (1)
BR2A	1878 (1)	2519 (2)	4592 (2)	89 (1)
C1A	-906 (9)	2408 (15)	6972 (15)	83 (13)
C2A	97 (8)	2575 (12)	7909 (14)	72 (11)
N3A	1128 (7)	2645 (9)	7293 (11)	60 (10)
C4A	796 (9)	2500 (14)	5888 (13)	77 (12)
C5A	-496 (9)	2332 (13)	5730 (18)	78 (15)
C6A	2361 (8)	2704 (12)	7940 (12)	61 (10)
N7A	3422 (6)	4206 (10)	8382 (10)	54 (9)
C8A	3768 (7)	5809 (12)	10255 (11)	55 (10)
N9A	3161 (6)	5431 (10)	11074 (9)	62 (9)
C10A	2467 (8)	3351 (13)	9756 (14)	78 (12)
C11A	3198 (9)	2400 (18)	10027 (19)	132 (18)
C12A	2870 (11)	2909 (17)	11690 (15)	108 (16)
C13A	1435 (10)	2725 (17)	11382 (19)	109 (18)
N14A	1268 (7)	2954 (13)	10184 (12)	101 (12)
C15A	108 (8)	2569 (12)	9324 (14)	81 (12)
O16A	-847 (7)	2279 (14)	9741 (13)	150 (15)
N17A	4597 (7)	7471 (11)	11036 (11)	69 (9)
BR1B	1531 (2)	-2339 (2)	8911 (3)	165 (2)
BR2B	-1803 (1)	-2664 (2)	8652 (2)	129 (2)
C1B	922 (11)	-2527 (17)	11517 (23)	121 (19)
C2B	-133 (8)	-2689 (13)	12129 (14)	86 (12)
N3B	-1138 (7)	-2830 (10)	11206 (11)	75 (10)
C4B	-754 (9)	-2684 (13)	10106 (17)	87 (14)
C5B	534 (10)	-2530 (14)	10195 (16)	90 (14)
C6B	-2480 (8)	-3189 (12)	11341 (13)	69 (12)
N7B	-3338 (7)	-4996 (11)	9544 (10)	71 (10)
C8B	-3592 (7)	-6398 (13)	9387 (12)	68 (12)
N9B	-3143 (8)	-5742 (12)	11061 (11)	72 (10)
C10B	-2583 (7)	-3601 (12)	12492 (12)	70 (11)
C11B	-3411 (9)	-2722 (17)	13854 (17)	101 (15)
C12B	-3098 (14)	-3034 (24)	15059 (18)	118 (21)
C13B	-1671 (11)	-2731 (19)	15241 (17)	96 (17)
N14B	-1406 (7)	-2968 (12)	13748 (12)	83 (11)
C15B	-232 (9)	-2612 (15)	13546 (16)	83 (14)
O16B	717 (8)	-2085 (15)	14660 (15)	141 (16)
N17B	-4224 (8)	-8276 (12)	7872 (12)	74 (11)
WA	-2728 (7)	1942 (11)	1322 (11)	97 (11)
WB	3143 (8)	7812 (16)	4661 (12)	120 (14)
CAFA	-4858 (11)	2236 (18)	4958 (15)	77 (16)
O1FA	-4806 (7)	3892 (12)	6455 (11)	126 (12)
O2FA	-4807 (11)	868 (13)	4696 (13)	99 (14)
CAFB	4615 (9)	8031 (18)	8000 (17)	83 (16)
O1FB	4607 (7)	8689 (13)	7375 (14)	115 (15)
O2FB	5338 (8)	8633 (14)	9351 (14)	122 (14)

Tableau 6. Longueurs de liaisons interatomiques (Å)

BR1A - C5A	1.935 (15)	C1B - C2B	1.392 (19)
BR2A - C4A	1.852 (13)	C1B - C5B	1.428 (25)
C1A - C2A	1.358 (17)	C2B - N3B	1.366 (14)
C1A - C5A	1.346 (21)	C2B - C15B	1.434 (21)
C2A - N3A	1.349 (14)	N3B - C4B	1.329 (19)
C2A - C15A	1.480 (19)	N3B - C6B	1.495 (13)
N3A - C4A	1.394 (17)	C4B - C5B	1.403 (16)
N3A - C6A	1.481 (13)	C6B - N7B	1.456 (13)
C4A - C5A	1.405 (15)	C6B - C10B	1.525 (20)
C6A - N7A	1.461 (17)	N7B - C8B	1.288 (21)
C6A - C10A	1.501 (16)	C8B - N9B	1.382 (14)
N7A - C8A	1.370 (11)	C8B - N17B	1.337 (16)
C8A - N9A	1.312 (16)	N9B - C10B	1.485 (17)
C8A - N17A	1.315 (17)	C10B - C11B	1.543 (15)
N9A - C10A	1.465 (17)	C10B - N14B	1.477 (13)
C10A - C11A	1.555 (23)	C11B - C12B	1.543 (29)
C10A - N14A	1.485 (15)	C12B - C13B	1.531 (21)
C11A - C12A	1.515 (22)	C13B - N14B	1.453 (20)
C12A - C13A	1.565 (18)	N14B - C15B	1.345 (15)
C13A - N14A	1.435 (23)	C15B - O16B	1.245 (16)
N14A - C15A	1.356 (13)	CAFA - O1FA	1.263 (17)
C15A - O16A	1.217 (16)	CAFA - O2FA	1.244 (26)
BR1B - C5B	1.855 (15)	CAFB - O1FB	1.221 (26)
BR2B - C4B	1.899 (14)	CAFB - O2FB	1.228 (17)

Tableau 7. Angles de liaisons (°)

C2A - C1A - C5A	106.6 (13)	C2B - C1B - C5B	107.3 (14)
C1A - C2A - N3A	110.0 (11)	C1B - C2B - N3B	108.1 (12)
C1A - C2A - C15A	127.6 (12)	C1B - C2B - C15B	129.8 (13)
N3A - C2A - C15A	122.3 (11)	N3B - C2B - C15B	122.1 (11)
C2A - N3A - C4A	108.8 (10)	C2B - N3B - C4B	109.5 (11)
C2A - N3A - C6A	123.9 (10)	C2B - N3B - C6B	125.3 (10)
C4A - N3A - C6A	127.1 (10)	C4B - N3B - C6B	125.1 (11)
BR2A - C4A - N3A	125.5 (9)	BR2B - C4B - N3B	124.4 (10)
BR2A - C4A - C5A	130.6 (10)	BR2B - C4B - C5B	125.4 (11)
N3A - C4A - C5A	103.9 (11)	N3B - C4B - C5B	110.2 (12)
BR1A - C5A - C1A	129.3 (11)	BR1B - C5B - C1B	127.1 (12)
BR1A - C5A - C4A	119.9 (10)	BR1B - C5B - C4B	128.0 (11)
C1A - C5A - C4A	110.7 (13)	C1B - C5B - C4B	104.9 (13)
N3A - C6A - N7A	110.3 (9)	N3B - C6B - N7B	110.3 (9)
N3A - C6A - C10A	110.8 (9)	N3B - C6B - C10B	109.3 (9)
N7A - C6A - C10A	103.1 (9)	N7B - C6B - C10B	102.3 (9)
C6A - N7A - C8A	107.9 (9)	C6B - N7B - C8B	112.1 (10)
N7A - C8A - N9A	111.0 (9)	N7B - C8B - N9B	111.4 (10)
N7A - C8A - N17A	121.7 (10)	N7B - C8B - N17B	127.9 (11)
N9A - C8A - N17A	127.3 (10)	N9B - C8B - N17B	120.8 (11)
C8A - N9A - C10A	110.2 (9)	C8B - N9B - C10B	108.1 (9)
C6A - C10A - N9A	101.8 (9)	C6B - C10B - N9B	102.7 (9)
C6A - C10A - C11A	115.0 (11)	C6B - C10B - C11B	117.3 (10)
C6A - C10A - N14A	118.0 (10)	C6B - C10B - N14B	118.8 (10)
N9A - C10A - C11A	110.9 (11)	N9B - C10B - C11B	109.8 (10)
N9A - C10A - N14A	111.4 (10)	N9B - C10B - N14B	108.5 (9)
C11A - C10A - N14A	100.2 (10)	C11B - C10B - N14B	99.6 (10)
C10A - C11A - C12A	103.0 (12)	C10B - C11B - C12B	104.3 (12)
C11A - C12A - C13A	103.2 (13)	C11B - C12B - C13B	101.9 (14)
C12A - C13A - N14A	104.2 (12)	C12B - C13B - N14B	106.1 (13)
C10A - N14A - C13A	112.9 (11)	C10B - N14B - C13B	112.0 (11)
C10A - N14A - C15A	123.3 (11)	C10B - N14B - C15B	123.5 (11)
C13A - N14A - C15A	123.2 (12)	C13B - N14B - C15B	124.5 (12)
C2A - C15A - N14A	115.7 (11)	C2B - C15B - N14B	116.9 (12)
C2A - C15A - O16A	123.4 (12)	C2B - C15B - O16B	123.0 (13)
N14A - C15A - O16A	120.9 (12)	N14B - C15B - O16B	119.8 (13)
		O1FA - CAFA - O2FA	128.0 (15)
		O2FB - CAFB - O2FB	131.5 (16)

Tableau 8. Coordonnées atomiques finales de 8 ($\times 10^4$)

		X	Y	Z
N	1	4306 (7)	9586 (25)	1844 (14)
C	2	3838 (9)	7722 (33)	1225 (16)
C	3	3288 (9)	7065 (28)	2039 (16)
C	4	3386 (10)	8533 (34)	3245 (17)
C	5	4038 (11)	10044 (36)	3032 (17)
C	6	2648 (10)	5239 (34)	1577 (19)
N	7	1813 (8)	5923 (33)	1604 (16)
C	8	1462 (10)	6699 (34)	279 (19)
N	9	1963 (8)	6247 (26)	-644 (15)
C	10	2633 (10)	4612 (31)	-20 (17)
C	11	2434 (13)	2080 (27)	-478 (23)
C	12	2705 (13)	1913 (35)	-1884 (23)
C	13	3515 (12)	3466 (41)	-1714 (21)
N	14	3403 (9)	4961 (25)	-555 (15)
C	15	3996 (11)	6674 (30)	-104 (20)
O	16	4565 (7)	7130 (26)	-696 (13)
N	17	727 (7)	7705 (41)	24 (16)
BR	1	4467 (1)	12480 (1)	4224 (2)
BR	2	2833 (2)	8390 (7)	4752 (3)
W1		10047 (12)	3349 (45)	7614 (22)
W2		1292 (14)	4229 (49)	3987 (24)
OME	1	495	-1142	-3046
OME	1	839	-2443	-3653
OME	2	1280	-3194	-3582
CME	2	894	-1425	-3637

Tableau 9. Longueurs des liaisons interatomiques (Å)

N	1 - C	2	1.393 (22)	C	8 - N	9	1.319 (22)
N	1 - C	5	1.304 (21)	C	8 - N	17	1.316 (23)
C	2 - C	3	1.332 (22)	N	9 - C	10	1.491 (22)
C	2 - C	15	1.462 (25)	C	10 - C	11	1.546 (24)
C	3 - C	4	1.414 (24)	C	10 - N	14	1.443 (22)
C	3 - C	6	1.497 (24)	C	11 - C	12	1.478 (31)
C	4 - C	5	1.415 (26)	C	12 - C	13	1.582 (30)
C	4 - BR	2	1.816 (16)	C	13 - N	14	1.435 (26)
C	5 - BR	1	1.869 (19)	N	14 - C	15	1.400 (23)
C	6 - N	7	1.421 (22)	C	15 - O	16	1.190 (21)
C	6 - C	10	1.558 (24)	OMET	- CMET		1.150 (32)
N	7 - C	8	1.370 (24)	OMET	- CMET		1.169 (34)

Tableau 10. Angles de liaisons (°)

C	2 - N	1 - C	5	106.5 (14)	N	7 - C	8 - N	17	122.8 (17)
N	1 - C	2 - C	3	110.4 (14)	N	9 - C	8 - N	17	127.5 (17)
N	1 - C	2 - C	15	121.6 (15)	C	8 - N	9 - C	10	110.7 (14)
C	3 - C	2 - C	15	127.9 (16)	C	6 - C	10 - N	9	97.7 (13)
C	2 - C	3 - C	4	107.7 (15)	C	6 - C	10 - C	11	117.6 (15)
C	2 - C	3 - C	6	122.2 (15)	C	6 - C	10 - N	14	115.9 (14)
C	4 - C	3 - C	6	129.8 (15)	N	9 - C	10 - C	11	112.5 (14)
C	3 - C	4 - C	5	103.9 (15)	N	9 - C	10 - N	14	113.1 (14)
C	3 - C	4 - BR	2	127.5 (13)	C	11 - C	10 - N	14	100.8 (14)
C	5 - C	4 - BR	2	128.5 (14)	C	10 - C	11 - C	12	103.7 (16)
N	1 - C	5 - C	4	111.5 (16)	C	11 - C	12 - C	13	103.8 (17)
N	1 - C	5 - BR	1	122.2 (13)	C	12 - C	13 - N	14	102.1 (16)
C	4 - C	5 - BR	1	126.3 (14)	C	10 - N	14 - C	13	114.5 (15)
C	3 - C	6 - N	7	114.8 (15)	C	10 - N	14 - C	15	125.9 (14)
C	3 - C	6 - C	10	110.3 (14)	C	13 - N	14 - C	15	119.5 (15)
N	7 - C	6 - C	10	102.8 (14)	C	2 - C	15 - N	14	110.3 (15)
C	6 - N	7 - C	8	109.2 (15)	C	2 - C	15 - O	16	125.4 (17)
N	7 - C	8 - N	9	109.8 (16)	N	14 - C	15 - O	16	124.2 (17)

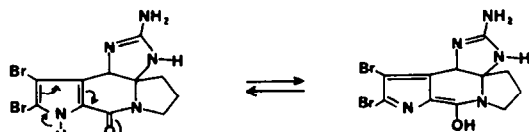


Schéma 2.

acétylé: selon les conditions opératoires (voir partie expérimentale), on isole un dérivé monoacétylé 13 (un singlet supplémentaire de 3 protons à 2,07 ppm sur le spectre de RMN ^1H) ou un dérivé diacétylé 14 (deux singlets de 3 protons à 2,10 et 2,22 ppm).

Ces données nous ont conduits à l'hypothèse de structure 8, que l'étude par diffraction des RX a confirmée; nous avons appelé ce nouveau composé, la dibromocantharelline. La cyclisation 3-6 dans la dibromocantharelline au lieu de 1-6 dans la dibromophakelline permet d'expliquer, par l'existence d'une forme tautomère, les différences observées entre 4 et 8 au niveau de l'UV et de la méthylation.

Cette tautométrie serait liée au caractère électro-attracteur du brome en position 5 qui rend le proton en 1 assez labile pour être déplacé en milieu basique; l'absence du déplacement bathochrome sur le spectre UV du dérivé débromé 12 et d'autres résultats décrits plus loin semblent confirmer cette hypothèse.

Étude par diffraction des rayons X de la dibromocantharelline. La structure cristalline du composé a été résolue à l'aide d'une fine plaquette monocristalline d'environ $0,5 \times 0,1 \times 0,07 \text{ mm}^3$. La maille est monoclinique, $P2_1$, $Z = 2$, avec $a = 16,281(9)$, $b = 5,782(4)$, $c = 9,507(7)$ et $\beta = 99,53(8)^\circ$. Les réflexions ont été mesurées avec un diffractomètre automatique Philips en utilisant la radiation $K\alpha$ du cuivre isolée par un monochromateur au graphite. Les paramètres suivants ont été choisis: vitesse de balayage $0,05^\circ \text{ s}^{-1}$, largeur $(1,4 + 0,16 \text{ tg } \theta)^\circ$, temps de mesure du fond continu égal au temps de balayage de la réflexion. Le nombre de mesures est de 1841, parmi lesquelles 1369 données indépendantes correspondant au critère $I > 2,5 \sigma(I)$ ont été utilisées. Les corrections de Lorentz, de polarisation et une correction empirique d'absorption²⁰ ($\mu = 69 \text{ cm}^{-1}$) ont été effectuées.

La structure a été résolue par les méthodes directes²¹ et affinée par la méthode des moindres carrés.²² Les séries différence de Fourier ont révélé la présence de solvant de cristallisation: deux molécules d'eau, et une molécule de méthanol désordonnée, qui occupent un canal dans le cristal. Le facteur d'accord final est de 8,7%. La configuration absolue représentée sur la figure est la plus probable compte-tenu de la qualité médiocre des données et de la présence de désordre (utilisation de la diffusion anormale des deux atomes de brome: différence de 0,1% entre les facteurs d'accord correspondant à chacun des trièdres).

Les coordonnées atomiques finales, distances et angles interatomiques figurent en partie expérimentale (Tableaux 8-10).

Composés 2, 3, 17, 18

Les composés 2 et 3 avaient été isolés d'autres Éponges,^{10,11,13,15} retrouvés dans *Pseudaxinysa cantharella*, ils ont été identifiés grâce à leurs caractéristiques spectrales, conformes à celles décrites et, pour 3, comparé à un échantillon de référence. A noter que, venant à l'appui de l'explication proposée ci-dessus, le produit 2, non bromé, possède un spectre UV non modifié en milieu alcalin alors que le composé 3, appelé tardivement hyménialdisine par Kitagawa et coll.,¹⁵ montre, en milieu basique, un déplacement bathochrome (344 $\rightarrow$ 384 nm).

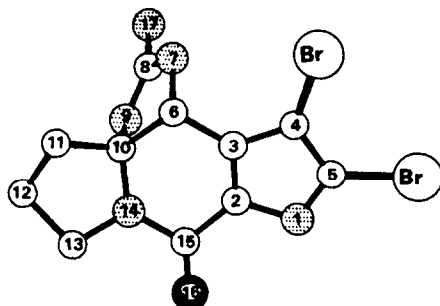
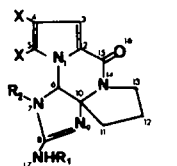


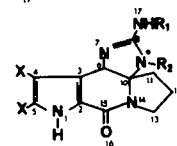
Fig. 2.

Sharma et coll. avaient, en 1978 puis en 1980,^{10,11} obtenu, par hydrolyse du produit naturel 2, une molécule oxydée en position 11, 17: nous avons isolé ce produit, pour la première fois, à l'état naturel; il a été identifié par comparaison de ses caractéristiques spectrales avec celles du produit hémisynthétique.

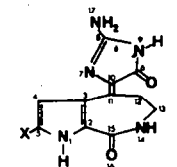
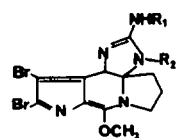
Le composé 18 ($F = 265^\circ$, $[\alpha]_D + 5^\circ$) a pour formule brute $\text{C}_8\text{H}_7\text{BrN}_2\text{O}_2$; son spectre IR montre, comme celui de 17, des bandes à 1700 et 1650 cm^{-1} . A la différence de celui de 17, son spectre UV présente trois maxima à 223, 249 et 307 nm déplacés, en milieu basique, à 236, 287 et 346 nm. Les formules brutes de 17 et 18 ne se différenciant que par la bromation de 18, celui-ci nous est apparu comme pouvant être l'homologue bromé en 5 de 17. La comparaison des spectres de RMN ^1H et ^{13}C , de 18 avec ceux de 17 d'une part et de 3 d'autre part est venue à l'appui de notre hypothèse: l'obtention d'un produit en tous points identique à 18 par oxydation du composé 3 par le permanganate de potassium a confirmé la structure 18.



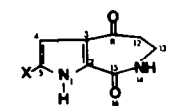
- 1 $\text{X} = \text{Br}; \text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{H}$
- 2 $\text{X} = \text{Br}; \text{R}_1 = \text{COCH}_3; \text{R}_2 = \text{H}$
- 3 $\text{X} = \text{Br}; \text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{COCH}_3$
- 7 $\text{X} = \text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{H}$
- 8 $\text{X} = \text{Br}; \text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{H}$
- 12 $\text{X} = \text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{H}$
- 13 $\text{X} = \text{Br}; \text{R}_1 = \text{COCH}_3; \text{R}_2 = \text{H}$
- 14 $\text{X} = \text{Br}; \text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{COCH}_3$



- 9 $\text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{H}$
- 10 $\text{R}_1 = \text{COCH}_3$
- 11 $\text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{COCH}_3$



- 2 $\text{X} = \text{H}$
- 3 $\text{X} = \text{Br}$



- 17 $\text{X} = \text{H}$
- 18 $\text{X} = \text{Br}$

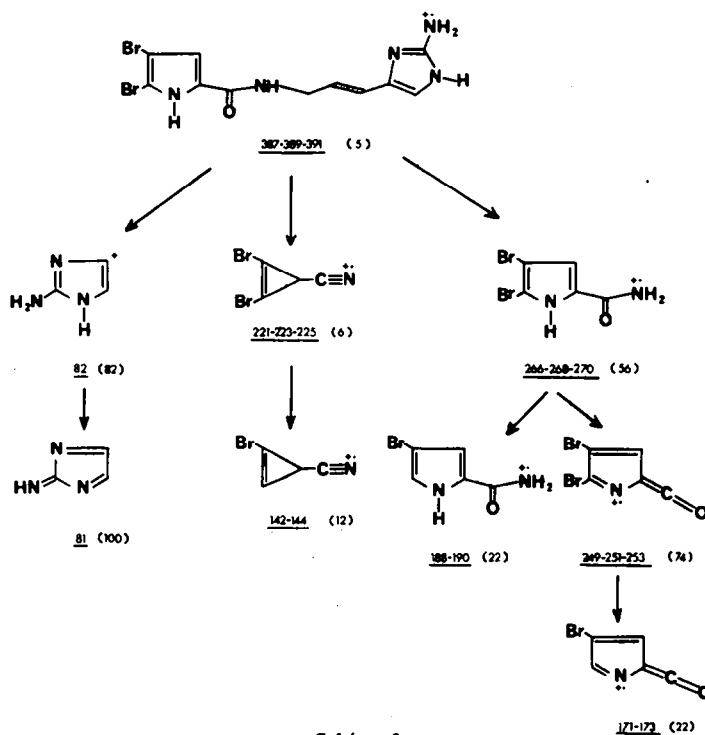
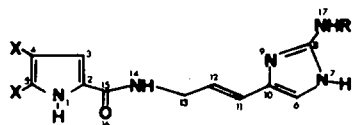
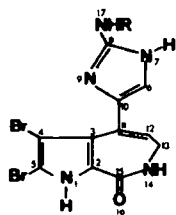


Schéma 3.



- 1 X = Br; R = H
 12 X = Br; R = COCH₃
 20 X = Br; R = COCH₃; dihydro-11,12
 21 X = H; dihydro-11,12

- 22 R = H
 23 R = COCH₃



Oroïdine 1

Déjà isolée de plusieurs Éponges,^{5a,7,13} la structure de l'oroïdine a été confirmée par synthèse du dérivé dihydrogéné 11,12^{5b} puis par diffraction des rayons X,¹² elle constitue probablement un intermédiaire "clé" dans la biosynthèse des composés du type de ceux qui ont été décrits ci-dessus. Nous l'avons trouvée en quantités relativement importantes (0,01 g %) dans *Pseudaxinyssa cantharella*: nous avons complété sa caractérisation par spectrométrie de masse (Schéma 3) et par RMN ¹³C (voir Tableau 4). Il faut remarquer que le spectre UV de l'oroïdine montre, en milieu basique, un déplacement bathochrome comparable à celui décrit ci-dessus pour les composés bromés en 5 ayant un azote pyrrolique non engagé dans un cycle. Par contre, l'essai de méthylation de 1 par le diazométhane, dans les

conditions utilisées pour la dibromocantharelline 8, a été infructueux. Au cours de son identification, nous avons préparé la N-acétyl-17-oroïdine 19 et son dérivé hydrogéné 20, identiques aux produits décrits par Forenza et coll.^{5a} Désireux de comparer le produit d'hydrogénation de l'oroïdine au produit synthétique décrit,^{5b} nous avons constaté que tout essai de réduction, qu'il soit réalisé par voie catalytique ou par voie chimique, s'accompagnait d'une débromation. Comparés à ceux de l'oroïdine 1, les spectres UV, de masse et de RMN ¹H et ¹³C, de la débromo-4,5-dihydro-11,12 oroïdine 21 (voir Tableau 4 et partie expérimentale) présentent les différences attendues liées à la déshalogénéation du noyau pyrrolique et la saturation de la double liaison.

Odiline 22

De formule brute C₁₁H₉Br₂N₃O, le composé 22, amorphe, a, comme certains des composés décrits ci-dessus, un spectre IR montrant des bandes à 1670 et 1620 cm⁻¹ et un spectre UV présentant deux maxima qui subissent un déplacement bathochrome en milieu basique (230 et 260 nm → 261 et 269 nm), ce qui est en faveur d'un groupement bromo-5-acétamido-2-pyrrole. Sur le spectre de masse, on observe, outre le pic moléculaire "triplet" à 385-387-389 caractéristique des produits dibromés, des fragments à m/z 368-370-372, 357-359-361, 306-308, 28 (100%). Sont visibles sur le spectre de RMN ¹H, un singulet large de quatre protons à 8,57 ppm, un singulet de un proton à 6,72 ppm, un triplet de un proton à 6,25 ppm (J = 7 Hz) et un doublet de deux protons à 3,58 ppm (J = 7 Hz). Des expériences d'irradiation ont permis de conclure à l'existence d'un enchaînement —CH₂—CH=CR₁R₂ dans lequel le méthylène, compte tenu de son déplacement chimique, pourrait être en α du groupe acétamido. Une première structure partielle pourrait être proposée (Fig. 3).

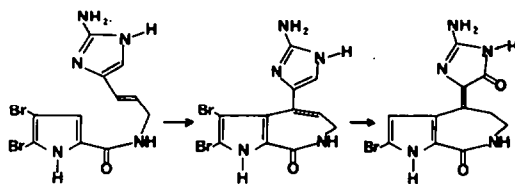


Schéma 4.

L'acétylation de 22 par l'anhydride acétique en présence d'acétate de sodium à température ambiante fournit un produit *N*-acétylé 23 dont les caractéristiques spectrales (voir partie expérimentale) sont très proches de celles du produit de départ : seuls un singulet supplémentaire de trois protons à 2,11 ppm sur le spectre de RMN ^1H et une différence de 42 unités de masse sont visibles ; l'essai de méthylation par le diazométhane dans les mêmes conditions que celles utilisées pour la dibromocantharelline a été infructueux.

Si l'on considère que l'un des substituants (R_1 ou R_2) de la double liaison est un groupement amino-2 imidazole, dont un proton de type aromatique résonnerait à 6,72 ppm, on arrive à une structure très proche de l'oroïdine 1 : il reste à déterminer R_2 et X ; seule une liaison supplémentaire 3-11 peut rendre compte de la formule brute de 22 inférieure de 2H à celle de l'oroïdine. Nous proposons donc pour ce nouveau composé, que nous avons appelé odiline, la structure 22 qui est un intermédiaire intéressant entre l'oroïdine 1 et le composé 3 (Schéma 4).

Le spectre de RMN ^{13}C , comparé à celui de l'oroïdine (Tableau 4), vient à l'appui de la structure proposée.

Composé 24

Le dernier métabolite pyrrolique, le plus polaire, isolé de *Pseudoxynassa cantharella*, est amorphe et un peu plus polaire que l'odiline ; c'est le seul à fournir une réponse positive au test de Sakaguchi²³ caractéristique de la fonction guanidine. Il a pour formule brute $\text{C}_9\text{H}_{14}\text{BrN}_5\text{O}$ et pour pouvoir rotatoire $[\alpha]_D^{20} + 15^\circ$. Son spectre IR présente une large bande entre 1680 et 1550 cm^{-1} et son spectre UV un maximum à 270 nm non déplacé en milieu alcalin. Sur le spectre de masse, le pic moléculaire "doublet" à 285-287 marque la présence d'un atome de brome dans la molécule ; les fragmentations principales sont à m/z 188-190 et 171-173, attribuables à un groupement de type du Schéma 5.

Le spectre de RMN ^1H suggère la présence de deux protons aromatiques à 6,92 ppm ($W_{1/2} = 1,5$ Hz) et 6,84 ppm ($W_{1/2} = 3$ Hz) et de six protons (massif centré sur 3,25 ppm) que des expériences d'irradiation ont montré couplés entre-eux ; le spectre de RMN ^{13}C montre que ces six protons sont portés par trois carbones.

Le spectre UV excluant la position 5 pour le brome et

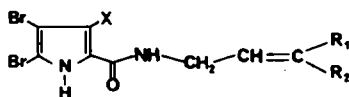


Fig. 3.

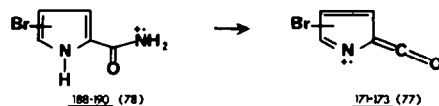


Schéma 5.

le faible couplage entre les protons aromatiques, la position 3, nous conduisent à placer le brome en position 4. Ces données spectrales permettent de conclure à la présence, dans le composé 24, d'un fragment acétamido-2 bromo-4 pyrrole, d'un groupement guanidine et d'un enchaînement de trois groupements méthylènes. Toutefois, le pic moléculaire apparent, en i.e. comme en i.c., nous empêche de réunir ces trois fragments en une structure complète.

A côté de ces neuf métabolites pyrroliques, cinq autres composés ont été séparés ; la taurine 25, la plus abondante (0,7 g %), est présente dans de nombreux organismes ; les quatre autres, en trop faible quantité, n'ont pu être complètement caractérisés et demeurent donc de structure inconnue : trois d'entre-eux sont pentabromés (26-28).

PARTIE EXPERIMENTALE

Tous les solvants utilisés sont distillés avant emploi. Les points de fusion (*F*) corrigés, sont mesurés sur un banc Kofler. Les pouvoirs rotatoires $[\alpha]_D$ sont mesurés en solution dans le méthanol, sauf indication contraire, sur un polarimètre électronique Perkin-Elmer type 141 MC pour la raie D du sodium. Les courbes de Dichroïsme Circulaire (DC) sont enregistrées en solution dans l'éthanol sur un dichrographe Jobin Yvon Mark V (λ_{nm} , $\Delta\epsilon$). Les spectres UV ont été

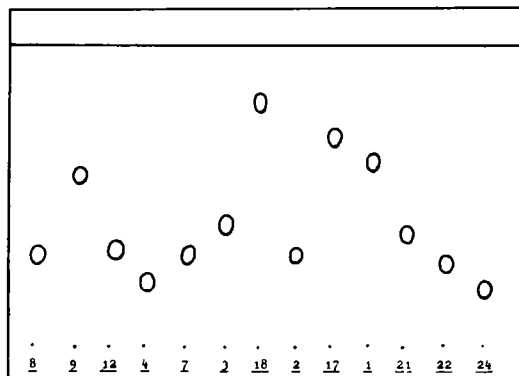


Fig. 4. Chromatographie sur couche mince de gel silice neutre des composés décrits. Migration dans le système II: $\text{AcOEt}:\text{C}_2\text{H}_5\text{COCH}_3:\text{HCOOH}:\text{H}_2\text{O}$ (5:3:0,5:0,5). Révélation par le système : eau de Javel, séchage, ortho-tolidine.

enregistrés sur un appareil Jobin-Yvon type Duospac 203, en solution dans le méthanol (λ_{max}). Les spectres IR ont été enregistrés sur un spectromètre Perkin-Elmer type 257, en solution dans le chloroforme, en film ou par pastillage dans le KBr ($\nu \text{ cm}^{-1}$). Les spectres de RMN du proton ont été enregistrés dans différents solvants sur appareils Varian T60 (60 MHz), Bruker WP 80 (80 MHz), WP 200 (200, 134 MHz) et WM 400 (400, 13 MHz) ou sur prototype IEF à 400 MHz.²⁴ Les spectres de RMN du Carbone 13 ont été enregistrés sur les appareils Bruker WP 60, WP 200 et WM 400 aux champs respectifs de 15,08; 50,323 et 100,1 MHz. En RMN du proton comme du carbone, les signaux sont désignés par s (singulet), d (doublet), t (triplet), qa (quadruplet), qi (quintuplet), m (multiplet).

Les spectres de masse ont été réalisés pour l'impact électronique (ie) sur appareil Kratos MS 50, à 70 eV sous une tension de 8 kV, pour l'ionisation chimique (ic) sur appareil AEI MS 9, pour le bombardement atomique à grande vitesse (FAB) sur appareil Kratos MS 80, en suspension dans le glycérol, en mode positif. Le système de traitement de données pour les spectres en haute résolution (S.M.H.R.) est le Kratos DS 50.

La description des composés sera faite selon l'ordre de la partie théorique. Pour les produits connus, seules sont données les caractéristiques spectrales non encore décrites.

Extraction

Pseudaxinyssa cantharella a été récoltée en plongée dans le lagon et sur le tombant du récif sud, sud-ouest et sud-est de Nouvelle-Calédonie, à des profondeurs variant de 10 à 40 mètres.

Les extraits aqueux sont obtenus en reprenant l'organisme frais (respectivement 8,5 et 25 kg pour les deux récoltes) par l'eau distillée à 4°; après filtration et centrifugation, la solution aqueuse est lyophilisée pour fournir une poudre constituant les extraits A₁ et A₂ (Tableaux 1 et 2).

(+)-*Dibromophakelline* (4) (8,13 · 10⁻³% par rapport au poids d'organisme) C₁₁H₁₁Br₂N₃O. F: 220° (déc.). [α]_D²⁰: +159° (c = 1,55). DC (c = 0,2): 241 (+10,2), 285 (+4,9). UV: 211 (10 400), 237 (10 700), 285 (11 000) pas de changement en milieu acide ou basique. IR (KBr): 3350, 1685, 1650, 1560, 1430, 1370. RMN ¹H (400 MHz/DMSO-d₆ à 2,6 ppm): 8,32 (s, NH + NH₂), 7,05 (s, 1H, C3—H), 6,20 (s, 1H, C6—H), 3,73 (m, 1H, C13—H), 3,60 (m, 1H, C13—H), 2,52 (m, 1H, C11—H), 2,40 (m, 1H, C11—H), 2,21 (m, 1H, C12—H), 2,13 (m, 1H, C12—H). RMN ¹³C, voir Tableau 4.

Étude par diffraction des rayons X: voir Tableaux 5–7.

N-Acétyle-17-dibromophakelline (5): C₁₃H₁₃Br₂N₃O₂, obtenue par acétylation de 4 dans l'Ac₂O/NaOAc à température ambiante. Amorphe. [α]_D²⁰: +121° (c = 0,69, CH₂Cl₂). SM (ie, 250°): 429–431–433 (1:2:1) (34) (M⁺), 401–403–405 (2) (M⁺—CH₂N ou M⁺—C₂H₅), 387–389–391 (5) (M⁺—CH₂N₂), 308–310 (3) (M⁺—CH₂BrN₂), 180 (70), 138 (40), 110 (44) (C₃H₈N₃), 43 (100) (C₂H₃O).

N,N'-Diacétyle-17-dibromophakelline (6): C₁₅H₁₅Br₂N₃O₃, obtenue par acétylation de 4 dans l'Ac₂O/NaOAc à 100°. Amorphe. [α]_D²⁰: 0° (c = 0,7, CH₂Cl₂). UV: 215 (14 500), 240 ép. (10 500), 275 (9900). UV en milieu basique: 272 (11 900), 293 (11 200). IR (CHCl₃): 1690, 1600, 1500. RMN ¹H (400 MHz/CD₃O à 3,33 ppm): 8,40 (s, 1H, NH), 7,02 (s, 1H, C3—H), 6,25 (s, 1H, C6—H), 3,85 (m, 1H, C13—H), 3,67 (m, 1H, C13—H), 2,42 (m, 1H, C11—H), 2,25 (m, 1H, C11—H), 2,20 (m, 2H, C12—H₂), 2,10 (s, 3H, N—COCH₃), 2,00 (s, 3H, N17—COCH₃). SM (ie, 270°): 471–473–475 (1:2:1) (6) (M⁺), 429–431–433 (3) (M⁺—CH₂N₂), 387–389–391 (3), 370–372–374 (12), 345–347–349 (8), 138 (19), 43 (100) (C₂H₃O).

(+)-*Phakelline* (7): C₁₁H₁₁N₃O. (+)-Dibromophakelline 4 (1 eq.), chlorure de palladium (2 eq.) et NaBH₄ (10 eq.) sont dissous dans le méthanol sous argon.¹⁷ En cinq minutes, la réaction est complète; la (+) phakelline est purifiée par oee dans le système II (65°). F: 270° (CH₃OH). [α]_D²⁰: +5° (c = 0,81). UV: 228 (2200), 274 (2600). IR (KBr): 1680, 1580, 1390, 1335. RMN ¹H (400 MHz CD₃O à 3,33 ppm): 8,54 (s épais, 3H, NH + NH₂), 7,18 (s épais, W_{1/2} = 5 Hz, 1H, C3—H),

6,90 (dd, J = 4 et 1 Hz, 1H, C5—H), 6,40 (t, J = 4 Hz, 1H, C4—H), 6,12 (s, 1H, C6—H), 3,82 (m, 1H, C13—H), 3,71 (m, 1H, C13—H), 2,39 (m, 2H, C11—H₂), 2,22 (m, 2H, C12—H₂). SM (ie, 200°): 231 (17) (M⁺), 203 (2) (M⁺—CH₂N et M⁺—C₂H₅), 188 (4) (M⁺—CH₃N₂), 110 (19) (C₃H₈N₃), 45 (100).

Dibromocantharelline (8) (0,018%): C₁₁H₁₁Br₂N₃O—386,9224–388,9334–390,9293 (S.M.H.R.). F: 260° (CH₃OH). Trouvé: C, 31,4; N, 15,0; Br, 35,5. Calc pour C₁₁H₁₁Br₂N₃O, 2H₂O, CH₃OH: C, 31,5; N, 15,3; Br, 35,0%. [α]_D²⁰: +95° (c = 1,0). DC (c = 0,24): 242 (–3,6), 279 (–2,1). UV: 214 (8300), 284 (11 000); en milieu basique: 214 (11 500), 302 (11 100). IR (KBr): 1680, 1650, 1570, 1550, 1440, 1415, 1335, 1285. RMN ¹H (DMSO-d₆ à 2,60 ppm): 8,43 (s, 1H, NH), 5,27 (s, 1H, C6—H), 3,65 (m, 1H, C13—H), 3,57 (m, 1H, C13—H), 2,27 à 2,08 (m, 4H, C11—H₂ et C12—H₂). RMN ¹H (pyridine-d₅ à 7,08 ppm): 9,12 (s, épais NH₂ + NH), 5,04 (s, 1H, C6—H), 3,82 (m, 1H, C13—H), 3,62 (m, 1H, C13—H), 2,36 (m, 1H, C11—H), 2,23 (m, 1H, C11—H), 1,94 (m, 1H, C12—H), 1,80 (m, 1H, C12—H). RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆): voir Tableau 4. SM (ie, 180°): voir Schéma 1. SM (FAB): 388–390–392 (1:2:1) (M + 1)⁺.

Étude par diffraction de rayons X de 8: Tableaux 8–10.

O-Méthyl-16-dibromocantharelline (9): C₁₂H₁₃Br₂N₃O, obtenue quantitativement par action d'une solution étherée de diazométhane sur la dibromocantharelline dissoute dans le méthanol à 0°, pendant une nuit. [α]_D²⁰: +87° (c = 0,2). DC (c = 0,22): 278 (–0,82). UV: 230 (6500), 288 (11 500), pas de changement en milieu acide ou basique. IR (KBr): 1680, 1650, 1590, 1410, 1350. RMN ¹H (400 MHz, D₂O à 4,85 ppm): 8,43 (s, épais NH), 5,20 (s, 1H, C6—H), 3,87 (s, 3H, OCH₃), 3,67 (m, 1H, C13—H), 3,53 (m, 1H, C13—H), 2,37 à 1,94 (m, 4H, C11—H₂ + C12—H₂). SM (ie, 200°): 401–403–405 (1:2:1) (64) (M⁺), 373–375–377 (78) (M⁺—CH₂N), 359–361–363 (20) (M⁺—CH₂N₂), 344–346–348 (33), 322–324 (1:1) (13) (M⁺—Br), 242 (8) (M⁺—2Br), 110 (29) (C₃H₈N₃), 28 (100) (C₂H₄).

Acétylation de 9. 20 mg de 9 traités par 2 ml d'Ac₂O en présence de 12 mg d'AcONa, une nuit, à température ambiante, donnent, après purification par ccm (dans le système II, voir légende Tableaux 1 et 2), 5 mg de 10 et 4 mg de 11.

O-Méthyl-16-N-acétyle-17-dibromocantharelline (10): C₁₄H₁₅Br₂N₃O₂. Amorphe. [α]_D²⁵: +2° (c = 0,27). UV: 239 (15 100), 272 (5200), 305 (4450). IR (CHCl₃): 1650, 1590, 1390. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃ + CD₃O/TMS): 8,20 (s, 2H, NH), 5,07 (s, 1H, C6—H), 3,92 (s, 3H, OCH₃), 3,90 (m, 2H, C13—H₂), 2,89 (m, 1H, C11—H), 2,77 (m, 1H, C11—H), 2,06 (s, 3H, N—COCH₃), 2,00 (m, 2H, C12—H₂). SM (ie, 220°): 443–445–447 (1:2:1) (50) (M⁺), 401–403–405 (6) (M⁺—CH₂N₂), 384–386–388 (100) (M⁺—CH₂N₃), 359–361–363 (25), 305–307 (1:1) (13) (M⁺—CH₃BrN₃).

O-Méthyl-16-N,N'-diacétyle-17-dibromocantharelline (11): C₁₆H₁₇Br₂N₃O₃. Amorphe. [α]_D: +14° (c = 0,5). UV: 222 (18 900), 288 (14 900). IR (CHCl₃): 2975, 1680, 1640, 1580, 1420. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃/TMS): 8,2 (s, 1H, NH), 5,08 (s, 1H, C6—H), 4,10 (m, 1H, C13—H), 3,95 (s, 3H, OCH₃), 3,80 (m, 1H, C13—H), 3,18 (m, 1H, C11—H), 3,02 (m, 1H, C11—H), 2,32 (s, 3H, N—COCH₃), 2,25 (m, 2H, C12—H₂), 1,99 (s, 3H, N17—COCH₃). SM (ie, 250°): 485–487–489 (1:2:1) (50) (M⁺), 443–445–447 (37) (M⁺—CH₂N₂), 428–430–432 (35), 406–408 (1:1) (48) (M⁺—Br), 401–403–405 (97), 384–386–388 (75), (M⁺—C₄H₉NO₂), 359–361–363 (68) (M⁺—C₃H₈N₂O₂), 343–345–347 (47), 322–324 (50), 280–282 (65), 242 (25) (M⁺—C₄H₈Br₂O₂), 110 (35) (C₃H₈N₃), 43 (100) (C₂H₃O).

Cantharelline (12): C₁₁H₁₃N₃O, préparée comme la (+) phakelline 4 avec 42% de rendement.¹⁷ F: 265° (CH₃OH). [α]_D²⁰: –2° (c = 0,98). DC (c = 0,36): 233 (+0,48), 305 (–0,10), 355 (–0,17), 405 (+0,16). UV: 225 ép., 275 (2300). IR (KBr): 1590, 1350. RMN ¹H (400 MHz, CD₃O à 3,33 ppm): 8,65 (s épais, 4H, NH), 7,07 (d, J = 3 Hz, 1H, C5—H), 6,30 (d, J = 3 Hz, 1H, C4—H), 5,22 (s, 1H, C6—H), 3,77 (m, 1H, C13—H), 3,64 (m, 1H, C13—H), 2,40 (m, 2H, C11—H₂), 2,17 (m, 2H, C12—H₂). SM (ie, 220°): 231 (100)

(M⁺), 203 (57) (M⁺ - CH₂N), 189 (32) (M⁺ - CH₂N₂), 174 (32), 110 (22) (C₅H₈N₃), 28 (22) (C₂H₄ et CH₂N).

Acétylation de 8. La dibromocantharelline (80 mg) et 12 mg d'AcONa sont dissous dans 3 ml d'Ac₂O. Après agitation pendant 10 heures à température ambiante, on évapore à sec; une ccm dans le système II fournit le composé monoacétylé 13 (6 mg) et le diacétylé 14 (3 mg).

N-Acetyl-17-dibromocantharelline (13): C₁₃H₁₃Br₂N₃O₂. Amorphe. [α]_D²⁰: +9° (c = 0,36). UV: 235 (14 200), 285 (7900). UV en milieu basique: 235 (15 800), 304 (8300). IR (CHCl₃): 1620-1580, 1410, 1340. RMN ¹H (400 MHz, CD₃O à 3,33 ppm): 8,36 (s épais, 3H, NH), 5,18 (s, 1H, C6-H), 3,78 (m, 1H, C13-H), 3,60 (m, 1H, C13-H), 2,30 (m, 2H, C11-H₂), 2,15 (m, 2H, C12-H₂), 2,07 (s, 3H, N17-CO-CH₃). SM (ie, 190°): 429-431-433 (1:2:1) (<5) (M⁺), 387-389-391 (<5) (M⁺ - CH₂N₂), 359-361-363 (<5) (M⁺ - C₂H₄N₂), 345-347-349 (<5), 43 (100) (C₂H₃O). SM (FAB): 430-432-434 (1:2:1) (M+1)⁺.

N,N' - Diacetyl - 7,17 - dibromocantharelline (14): C₁₃H₁₁Br₂N₃O₃. Amorphe. [α]_D²⁰: +8° (c = 0,53). UV: 212 (2700), 237 (3600), 284 (1300). UV en milieu basique: 240 (4300), 297 (1400). IR (CHCl₃): 1680, 1630, 1565, 1420, 1360, 1275. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃/TMS): 8,26 (s épais, 2H, NH), 5,13 (s, 1H, C6-H), 4,00 (m, 1H, C13-H), 3,88 (m, 1H, C13-H), 3,69 (m, 1H, C11-H), 3,60 (m, 1H, C11-H), 2,30 (m, 2H, C12-H₂), 2,22 (s, 3H, N7-CO-CH₃), 2,10 (s, 3H, N17-CO-CH₃). SM (ie, 210°): 471-473-475 (1:2:1) (5) (M⁺), 429-431-433 (5) (M⁺ - CH₂N₂), 414-416-418 (8) (M⁺ - CH₂N₃), 387-389-391 (20), 370-372-374 (15), 345-347-349 (25), 330-332-334 (10), 308-310 (1:1) (10), 110 (20) (C₅H₈N₃), 43 (100) (C₂H₃O).

Composé 2 (4,35 · 10⁻⁴%) C₁₁H₁₁N₃O₂. [α]_D: -30° (c = 0,05). IR (KBr): 1700, 1665-1605, 1480. SM (ie, 220°): 245 (10) (M⁺), 228 (2) (M⁺ - NH₃), 216 (5) (M⁺ - CH₂N), 202 (11) (M⁺ - CH₂N₂), 174 (7) (M⁺ - C₃H₃NO), 146 (25) (M⁺ - C₃H₃N₃O), 103 (70), 89 (100). SM (FAB): 246 (M+1)⁺.

Composé 17 (1,2 · 10⁻⁴%) C₉H₈N₂O₂. [α]_D: -6° (c = 0,12). IR (KBr): 1650, 1590, 1470, 1350, 1260. SM (ie, 200°): 164 (100) (M⁺), 136 (95) (M⁺ - C₂H₄ et M⁺ - CO), 120 (33) (M⁺ - CH₂NO), 107 (95) (M⁺ - C₂H₃NO). RMN ¹H (400 MHz, CD₃O à 3,33 ppm): 8,57 (s épais, 1H, NH), 7,03 (d, J = 3 Hz, 1H, C5-H), 6,75 (d, J = 3 Hz, 1H, C4-H), 3,52 (m, 2H) et 2,83 (m, 2H) (C12-H₂ et C13-H₂).

Composé 3 [(1,33 · 10⁻³%) (première récolte) et 2,30 · 10⁻³%) (deuxième récolte)] C₁₁H₁₀BrN₃O₂ - 323,0037-324,9939 (S.M.H.R.). [α]_D: -6° (c = 0,26). IR (KBr): 1680, 1655, 1605, 1550, 1450, 1265. SM (ie, 220°): 323-325 (1:1) (81) (M⁺), 306-308 (6) (M⁺ - NH₃), 294-296 (44) (M⁺ - CH₂N), 280-282 (50) (M⁺ - CH₂N₂), 252-254 (39) (M⁺ - C₃H₃NO), 244 (17) (M⁺ - Br), 224-226 (85) (M⁺ - C₃H₃N₃O), 43 (100) (CH₃N₂).

Composé 18 [8,8 · 10⁻³%) (première récolte) et 1,8 · 10⁻⁴%) (deuxième récolte)] C₉H₇BrN₂O₂. F: 265° (CH₃OH). [α]_D: +5° (c = 0,47). DC (c = 0,22): 236 (-1,2). UV: 223 (28 700), 249 ép. (12 500), 307 (9900). UV en milieu basique: 236 (25 000), 287 (11 900), 346 (10 000). IR (CHCl₃): 1700, 1650, 1605, 1450, 1345. RMN ¹H (400 MHz, pyridine-d₅ à 7,08 ppm): 9,34 (s épais, 1H, NH), 6,96 (s, 1H, C4-H), 3,43 (m) et 2,74 (m, C12-H₂ et C13-H₂). RMN ¹³C (100 MHz, CD₃O): 122,9 (C3), 113,9 (C4), 42,0 (C13), 30,9 (C12), les autres carbones ne sont pas détectés. SM (ie, 180°): 242-244 (1:1) (100) (M⁺), 214-216 (31) (M⁺ - CO), 185-187 (29), 171-173 (24) (M⁺ - C₃H₃NO), 157-159 (14), 43 (53) (C₃H₃N).

Hémisynthèse de 18. A 12 mg du composé 3 dissous dans 2 ml d'eau, on ajoute 2 mg de KMnO₄. Après 1/4 heure, on évapore à sec; le résidu est purifié par ccm dans le système de solvants II pour donner 7 mg (67%) d'un composé identique à 18 (R_f, UV, IR, RMN ¹H, SM).

Oroïdine (1) (9,6 · 10⁻³%) C₁₁H₁₁Br₂N₃O. RMN ¹³C: voir Tableau 4. SM (ie, 250°): voir Schéma 3.

N-Acetyl-17-oroidine (19): C₁₃H₁₃Br₂N₃O₂. Le composé 1 (23 mg) est dissous dans l'Ac₂O (1 ml). Après cinq minutes, on évapore à sec et purifie par ccm dans le système de solvants II le composé majoritaire obtenu (12 mg). Amorphe. [α]_D: -22° (c

= 0,18). UV: 238 ép. (6600), 278 (12900). UV en milieu basique: 298 (12400). RMN ¹H (400 MHz, CD₃O à 3,33 ppm): 8,23 (s épais, NH), 6,85 (s, 1H, C3-H), 6,82 (s, 1H, C6-H), 6,42 (d épais, J = 16 Hz, 1H, C11-H), 6,14 (dt, J = 16 et 6 Hz, 1H, C12-H), 4,06 (d, J = 6 Hz, 2H, C13-H₂), 2,17 (s, 3H, N17-CO-CH₃). SM (ie, 200°): 429-431-433 (1:2:1) (11) (M⁺), 266-268-270 (4) (C₂H₂Br₂N₃), 249-251-253 (8) (C₃HBr₂NO), 43 (78) (C₂H₃O), 28 (100) (C₂H₄ et CH₂N).

N-Acetyl-17-dihydro-11,12-oroidine (20): C₁₃H₁₅Br₂N₃O₂. Le composé 19 (30 mg) est hydrogéné 15 mn en présence de Pd/C à température et pression ambiantes. Une ccm dans le système II fournit 10 mg (33%) du composé 20.

Débromo-dihydro-11,12-oroidine (21): C₁₁H₁₅N₃O. Mode d'obtention¹⁷ identique à celui utilisé pour la cantharelline. Rdt: 58%. F: 250° (CH₃OH). [α]_D: +3° (c = 0,32). UV: 220 (8600), 265 (9300); pas de changement en milieu acide ou basique. IR (sans solvant): 1660-1560, 1520, 1420, 1320. RMN ¹H (400 MHz, CD₃O à 3,33 ppm): 8,53 (s épais, NH), 6,93 (s épais, W_{1/2} = 5 Hz, 1H, C5-H), 6,82 (dd, J = 4 et 1 Hz, 1H, C3-H), 6,55 (s, 1H, C6-H), 6,18 (dd, J = 4 et 1 Hz, 1H, C4-H), 3,57 (t, J = 7 Hz, 2H, C13-H₂), 2,57 (t, J = 7 Hz, 2H, C11-H₂), 1,89 (qi, J = 7 Hz, 2H, C12-H₂). RMN ¹³C: voir Tableau 4. SM (ie, 220°): 233 (78) (M⁺), 138 (22), 123 (44) (M⁺ - C₂H₄N₃), 110 (100).

Oroïdine (22) (2,35 · 10⁻³%) C₁₁H₉Br₂N₃O. Amorphe. [α]_D: +28° (c = 0,84). DC (c = 0,2): 241 (-1,6), 275 (-0,81). UV: 230 (15 500), 260 ép. (10 800). UV en milieu basique: 261 (14 100), 296 ép. IR (KBr): 1670, 1620, 1570, 1460, 1340. RMN ¹H (400 MHz, CD₃O à 3,33 ppm): 8,57 (s épais, NH), 6,72 (s, 1H, C6-H), 6,25 (t, J = 7 Hz, 1H, C12-H), 3,58 (d, J = 7 Hz, 2H, C13-H₂). RMN ¹³C: voir Tableau 4. SM (ie, 270°): 385-387-389 (1:2:1) (<5) (M⁺), 368-370-372 (<5) (M⁺ - NH₃), 357-359-361 (<5) (M⁺ - C₂H₄), 342-344-346 (<5), 306-308 (4) (M⁺ - Br), 28 (100) (C₂H₄).

N-Acetyl-17-oroidine (23): C₁₃H₁₁Br₂N₃O₂. Obtenue par acétylation dans l'Ac₂O/NaOAc à température ambiante. Amorphe. [α]_D: -2° (c = 0,44). UV: 235 (8800), 274 (6200). UV en milieu acide: 242 (8370), 280 (4200). UV en milieu basique: 262 (7600), 296 (5600). IR (KBr): 1650-1540, 1350. RMN ¹H (400 MHz, CD₃O à 3,33 ppm): 8,56 (s épais, NH), 6,78 (s, 1H, C6-H), 6,23 (m, 1H, C12-H), 3,58 (d, J = 7 Hz, 2H, C13-H₂), 2,11 (s, 3H, N17-CO-CH₃). SM (ie, 230°): 427-429-431 (1:2:1) (<5) (M⁺), 400-402-404 (<5), 385-387-389 (<5) (M⁺ - CH₂N₂), 370-372-374 (<5) (M⁺ - C₂H₃NO), 359-361-363 (<5), 348-350 (1:1) (<5) (M⁺ - Br), 306-308 (<5) (M⁺ - CH₂BrN₂), 105 (5), 58 (48), 45 (40), 28 (82) (C₂H₄ et CO), 17 (100) (NH₃).

Composé 24 (3,1 · 10⁻⁴%) C₉H₁₄BrN₃O. Amorphe. [α]_D: +15° (c = 0,65). DC (c = 0,22): 236 (-0,29), 305 (+0,23). UV: 270 (17 550) pas de changement en milieu acide ou basique. IR (KBr): 1680-1550, 1510, 1440, 1380. RMN ¹H (400 MHz, CD₃O à 3,33 ppm): 6,93 (s, NH), 6,92 (s épais, W_{1/2} = 1,5 Hz, 1H, C5-H), 6,84 (s, W_{1/2} = 3 Hz, 1H, C3-H), 3,25 (m, 6H, C11-H₂ + C12-H₂ + C13-H₂). RMN ¹³C (100 MHz, CD₃O): 158,7 s (C-guanidine), 127,6 s (C4), 122,9 d (C3), 114,1 d (C5), 97,5 s (C2), 42,0, 31,0, 26,4 t (CH₂). SM (ie, 270°): 285-287 (1:1) (58) (M⁺), 254-256 (19), 207 (21) (M⁺ - Br), 188-190 (72) (C₂H₂BrN₃O), 172-174 (100), 171-173 (77) (C₂H₂BrNO), 144-146 (21), 113 (50), 110 (33), 94 (51), 70 (79), 64 (42). SM (ie): 286-288 (1:1) (M+1)⁺, 189-191 (C₂H₂BrN₃O + H)⁺.

Composés pentabromés

26: SM (ie, 220): 569-571-573-575-577-579 (1:2:2:3:3:3:3:2:2:1) (M⁺). **27:** SM (ie, 240): 495-497-499-501-503-505 (1:2:2:3:3:3:3:2:2:1) (M⁺). **28:** SM (ie, 270): 497-499-501-503-505-507 (1:2:2:3:3:3:3:2:2:1) (M⁺).

Remerciements—Nous remercions vivement le Dr B. C. Das pour les fructueuses discussions en spectrométrie de masse, Mr M. Colin et Mlle O. Thoisson pour l'aide qu'ils nous ont apportée dans le traitement des extraits bruts et Mme Garnier (Faculté de Médecine, Bobigny) pour l'enregistrement des courbes de dichroïsme circulaire des composés 2, 3, 4, 8, 22 et 24; nous remercions également le Dr G. Sodano (Naples,

Italie) de l'envoi d'un échantillon de référence de composé 3, et le Dr S. Kan (Institut d'Electronique Fondamentale, Orsay) de nous avoir donné accès à son appareil expérimental de RMN à haut champ.²⁴

BIBLIOGRAPHIE

- ¹ Partie IV: S. Bhatnagar, B. Dudouet, A. Ahond, C. Poupat, O. Thoison, A. Clastres, D. Laurent et P. Potier, *Bull. Soc. Chim. Fr.* II, 124 (1985).
- ² C. Lévi, *Bull. Mus. Nat. Hist. Nat., Paris 4e sér.* 5, A, n° 3, 719 (1983).
- ³ G. de Nanteuil, A. Ahond, C. Poupat, P. Potier, M. Pusset, J. Pusset et P. Laboute, Partie VI, publication suivante.
- ^{4a} P. R. Burkholder et G. M. Sharma, *Lloydia* 32, 466 (1969);
^b G. M. Sharma et P. R. Burkholder, *Chem. Commun.* 151 (1971).
- ^{5a} S. Forenza, L. Minale, R. Riccio et E. Fattorusso, *Chem. Commun.* 1129 (1971); ^b E. E. Garcia, L. E. Benjamin et I. Fryer, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 78 (1973).
- ⁶ M. F. Stempien, Jr., R. F. Nigrelli et J. S. Chib, 164th ACS Meeting, Abstracts, MEDI 21 (1972).
- ⁷ G. Cimino, S. De Stefano, L. Minale et G. Sodano, *Comp. Biochem. Physiol.* 50B, 279 (1975).
- ⁸ L. Chevolot, S. Padua, B. N. Ravi, P. C. Blyth et P. J. Scheuer, *Heterocycles* 7, 891 (1977).
- ⁹ G. M. Sharma et B. Magdoff-Fairchild, *J. Org. Chem.* 42, 4118 (1977).
- ¹⁰ G. M. Sharma, G. F. Schem et A. T. Pastore, *Proc. "Drugs and Food from the Sea, Myth or Reality?" Int. Symp.* (1977) (Edited by P. N. Kaul et C. J. Sinderman), pp. 199–202. Univ. Oklahoma, Norman (1978).
- ¹¹ G. M. Sharma, J. S. Buyer et M. W. Pomerantz, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 435 (1980).
- ¹² R. P. Walker, D. J. Faulkner, D. van Engen et J. Clardy, *J. Am. Chem. Soc.* 103, 6772 (1981).
- ¹³ G. Cimino, S. De Rosa, S. De Stefano, L. Mazzarella, R. Puliti et G. Sodano, *Tetrahedron Lett.* 23, 767 (1982).
- ¹⁴ R. Kazlauskas, P. T. Murphy, R. J. Wells, J. A. Baird-Lambert et D. D. Jamieson, *Aust. J. Chem.* 36, 165 (1983).
- ¹⁵ I. Kitagawa, M. Kobayashi, K. Kitanaka, M. Kido et Y. Kyogoku, *Chem. Pharm. Bull.* 31, 2321 (1983).
- ¹⁶ H. Nakamura, H. Wu, R. Abe, J. Kobayashi, Y. Ohizumi et Y. Hirata, Tennen Yuki Kagobutsu Toronkai Koen Yoshishu, 26th, 118 (1983) (*Chem. Abstr.* 100, 83029).
- ¹⁷ T. R. Bosin, M. G. Raymond et A. R. Buckpitt, *Tetrahedron Lett.* 4699 (1973).
- ¹⁸ Communication par affiche au Colloque International du C.N.R.S. "Chimie des Substances Naturelles: état et perspectives", Gif-sur-Yvette (France), 10 and 11 September (1984).
- ¹⁹ G. Massiot, S. K. Kan, P. Gonord et C. Duret, *J. Am. Chem. Soc.* 97, 3277 (1975) et références citées.
- ²⁰ N. Walker et D. Stuart, *Acta Cryst.* A39, 158 (1983).
- ²¹ C. Riche, 7th European Crystallographic Meeting, Jerusalem (1982): Collected Abstracts, p. 25.
- ²² G. M. Sheldrick, Program for crystal structure determination, University of Cambridge, U.K. (1976).
- ²³ J. B. Jenson et J. Smith, *Nature* 172, 1100 (1953).
- ²⁴ P. Gonord, S. K. Kan et M. J. Sauzade, *J. Magn. Reson.* 24, 457 (1975); S. K. Kan, P. Gonord, M. Fan, M. J. Sauzade et J. Courtieu, *Rev. Scient. Instrum.* 49, 785 (1978).