

Malyngamide G : Proposition de Structure pour un Nouvel Amide Chloré d'une Algue Bleu-Verte Epiphyte de *Cystoseira crinita*.

A. Praud, R. Valls[‡], L. Piovetti* et B. Banaigs[§]

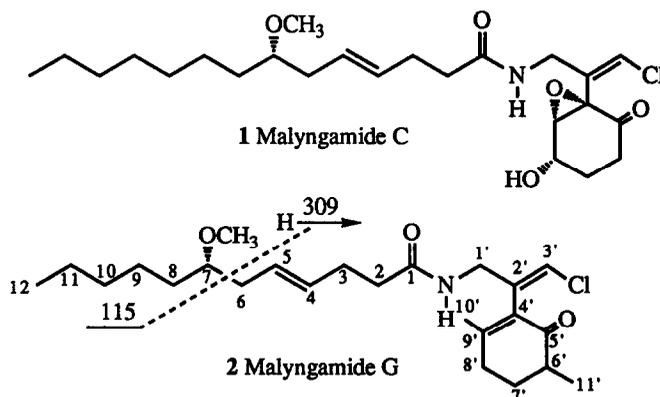
Laboratoire de Recherches de Chimie Marine des Organométalliques (RCMO), Université de Toulon et du Var, BP 132, F-83957 La Garde Cedex, France.

*Laboratoire d'Analyse et de Valorisation des Biomolécules, IUT Saint-Jérôme, Université d'Aix-Marseille III, BP 157, F-13388 Marseille cedex 13, France.

[§]Groupe d'étude des Métabolites Marins d'Intérêt Biologique, Université de Perpignan, F-66860 Perpignan cedex, France.

Abstract : Isolation and structure of a new malyngamide from a blue-green alga epiphyte of the brown mediterranean alga *Cystoseira crinita* are reported. The novel structure is chlorine-containing 7(S)-methoxydodec-4(E)-enamide, called malyngamide G, which was determined mainly by using MS and 2-D NMR experiments.

Au cours d'un travail récent sur l'étude chimiotaxonomique des espèces méditerranéennes et atlantiques du genre *Cystoseira*^{1,2}, nous avons mis en évidence chez *Cystoseira crinita* (récoltée au Brusuc, Var, France), à côté de méroditerpènes³ acycliques que nous décrirons ultérieurement, un nouveau métabolite à biogénèse tout à fait inhabituelle chez les Cystoseiraceae. Il s'agit d'un amide chloré provenant probablement d'une Cyanophyceae, épiphyte de *Cystoseira crinita*, que nous n'avons pas pu distinguer de l'algue porteuse lors de la récolte. En raison de similitudes structurales avec les malyngamides antérieurement publiés⁴⁻¹⁰, plus particulièrement le malyngamide C (1) isolé de la Cyanophyceae *Lyngbia majuscula*⁷, nous avons donné le nom de malyngamide G à ce nouveau métabolite (2). Les malyngamides A, B, C et F sont des amides chlorés dérivant de l'acide 7(S)-méthoxytétradec-4(E)-énoïque, alors que les malyngamides D et E sont des amides de l'acide 7-méthoxy-9-méthylhexadec-4(E)-énoïque¹⁰. Le malyngamide G (2), dont nous présentons ici l'isolement et la détermination de structure, est le premier amide chloré de cette famille de composés à dériver de l'acide 7-méthoxydodec-4(E)-énoïque.



L'algue, récoltée en Juillet 1987 au Brusuc dans le Var (France) a été séchée à l'ombre (1000 g d'algue sèche) puis extraite à l'éther diéthylique conduisant à 0,23% d'extrait éthéré. Une chromatographie sur colonne

de silice a permis d'obtenir une fraction éluée par le gradient hexane/éther diéthylique (3:6, v/v) entre les stérols et les caroténoïdes. 15 mg du composé 2 pur¹¹ (huile jaune clair) ont été isolés de cette fraction par CLHP semi-préparative à polarité de phases normale : colonne de silice de granulométrie 5 μm , éluant acétate d'éthyle/isooctane (3:2, v/v), débit de 3 ml/mn.

La spectrométrie de masse haute résolution en FAB ($[\text{M H}]^+$ obs. 424,2617, calc. 424,2618) et la RMN ^1H et ^{13}C indiquent que 2 a la formule moléculaire brute $\text{C}_{24}\text{H}_{38}\text{ClNO}_3$. Les données de RMN ^1H , associées à la présence d'un ion intense à m/z 115 en SM (impact électronique) suivi de m/z 83 (100%), montrent qu'il s'agit d'un dérivé de l'acide 7-méthoxydodec-4(E)-énoïque. L'absorption IR à 970 cm^{-1} et la valeur de la constante de couplage des deux protons éthyléniques 4 et 5 (15 Hz) confirment la configuration E de la double liaison en C4. Une fonction amide secondaire est mise en évidence par : ^1H multiplet à δ 5.55 (RMN ^1H dans C_6D_6) qui se déplace à δ 5.85 (bt) en présence d' Et_2O , un signal à δ 171.4 en RMN ^{13}C (C_6D_6) et les absorptions IR à 3325, 1655 et 1541 cm^{-1} . Ces données, complétées par l'absorption IR à 798 cm^{-1} et le couplage longue distance entre le méthylène 1' et le proton éthylénique 3', sont en accord avec la présence de l'unité amide allylique 2,3-disubstituée caractéristique des malyngamides C et F^{7,8}. La position vinylique du chlore (fragment à m/z 388 = M-Cl) est confirmée en 3' par les données de RMN ^1H (H3': δ 5.57) et RMN ^{13}C (C3': δ 118.4, δ calculé 112.5¹²; C2': δ 137.7, δ calculé 136.9¹²).

Tableau : Valeurs de RMN ^1H (400 MHz) et ^{13}C (100 MHz) pour le malyngamide G dans CDCl_3 et C_6D_6 (δ ppm et J Hz).

Position	^1H RMN		^{13}C RMN		DEPT
	C_6D_6	CDCl_3	C_6D_6	CDCl_3	
1	-	-	171.35	171.23	C
2	1.91 t (7)	2.18 m	36.34	35.34	CH_2
3	2.31 m	2.28 m	29.05	27.67	CH_2
4	5.44 dt (15, 6)	5.46 m	131.42	129.74	CH
5	5.52 dt (15, 6)	5.46 m	127.92	126.41	CH
6	2.19 m	2.18 m	37.02	35.28	CH_2
7	3.06 m	3.14 m	80.98	79.72	CH
8	1.50 m	1.42 m	33.87	32.26	CH_2
9	[1.32m	[1.29 m	25.42	23.90	CH_2
	[1.50m	[1.42 m			
10	1.28 m	1.29 m	32.45	30.98	CH_2
11	1.28 m	1.29 m	23.09	21.64	CH_2
12	0.91 t (7)	0.89 t (7)	14.29	13.06	CH_3
13 (OCH3)	3.19 s	3.33 s	56.37	55.50	CH_3
1'	[Ha 4.27 dd (15, 6) [Hb 4.32 ddd (15, 6, 1.2)	4.11 m	40.06	38.90	CH_2
2'	-	-	137.71	134.82	C
3'	5.57 t (1.2)	5.89 t (1.2)	118.37	118.58	CH
4'	-	-	134.28	133.03	C
5'	-	-	200.09	200.95	C
6'	2.01 m	2.38 m	41.10	39.98	CH
7'	[1.32 m	[1.70 m	30.17	28.88	CH_2
	[1.50 m	[2.04 m			
8'	1.71 m	2.40 m	31.65	30.71	CH_2
9'	-	-	158.33	159.05	C
10'	1.47 s	1.93 s	21.83	21.29	CH_3
11'	1.09 d (7)	1.14 d (7)	15.56	14.28	CH_3
NH	5.55* m	6.07 bt (6)	-	-	-

*5,85 bt (6) avec un ajout d' Et_2O .

L'étude structurale complète, notamment de la partie cyclohexénique de la molécule, a été effectuée essentiellement par les techniques de RMN 2D homo (^1H - ^1H COSY) et hétéronucléaires (^1H - ^{13}C COSY, HMBC). La multiplicité des signaux en RMN ^{13}C a été déterminée par des expériences DEPT (Tableau ci-dessus).

Les carbones protonés ont d'abord été attribués par corrélation directe ^1H - ^{13}C COSY. L'étude des corrélations longues distances ^1H - ^{13}C en détection inverse (HMBC) a ensuite permis de confirmer certains éléments structuraux et d'en établir de nouveaux (Fig. 2). Ainsi, à l'intérieur de l'enchaînement C1-C12 la position de la double liaison en C4 est mise en évidence par les couplages J^2 et J^3 CH des carbones sp^2 C4 (δ 129.7) et C5 (δ 126.4) avec les protons H3 et H6; de même la position du groupement méthoxyle (C13) en C7, par les corrélations C7-H13 et C13-H7. Par ailleurs le carbone sp^2 C1 (δ 171.4) est couplé au proton fixé sur l'azote, confirmant la présence d'une fonction amide secondaire.

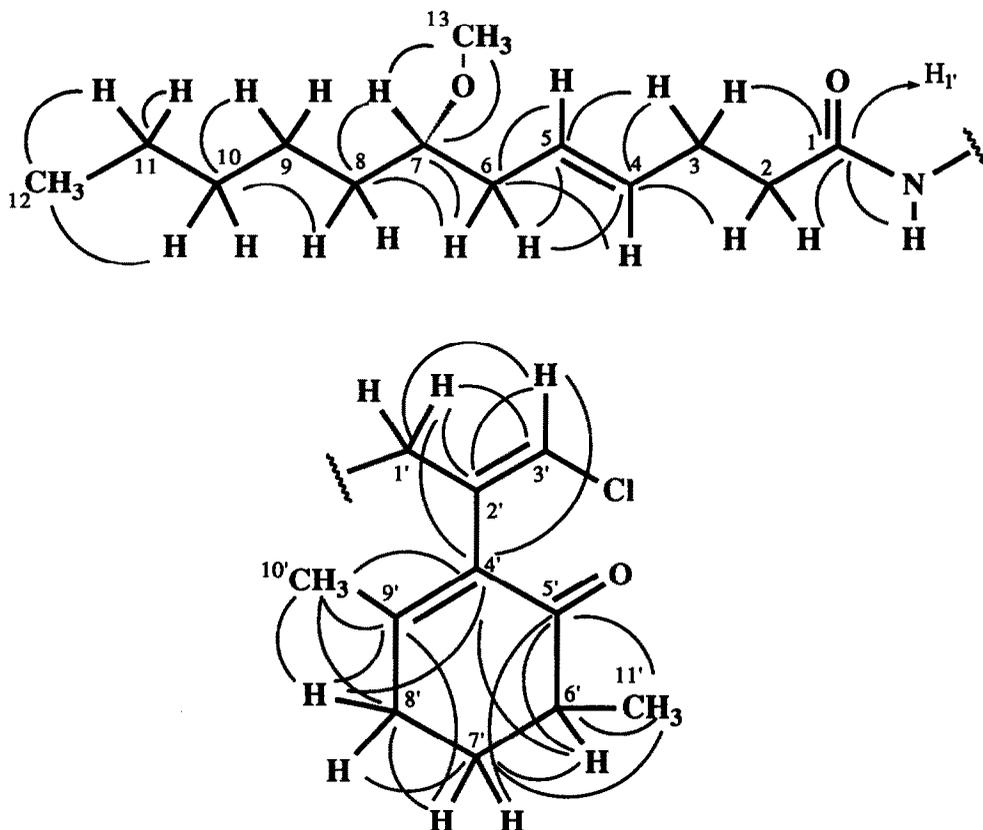


Figure 2 : Couplages J^2 et J^3 CH observés en HMBC.

La mise en place de la chaîne carbonée C1'-C3' est liée à l'existence des couplages J^2 et J^3 CH entre chacun des deux carbones sp^2 C2' (δ 134.8), C3' (δ 118.6) et H1' d'une part et entre H3'-C2' et C1' d'autre part. Ceci est confirmé par le couplage longue distance ($^4J_{\text{H-H}} = 1.2$ Hz) entre les protons H3' et H1'. La jonction de cette chaîne avec la fonction amide secondaire est mise en évidence par la corrélation C1'-H1' ainsi que par le couplage H1'-HN (^1H - ^1H COSY) et la présence d'un système AB dédoublé en RMN ^1H pour les 2 protons non équivalents du méthylène allylique 1'.

Pour la partie cyclique de la molécule, on remarque en premier lieu la présence d'une double liaison conjuguée à un carbonyle avec : trois carbones sp^2 quaternaires à δ 133.0 (C4'), δ 159.0 (C9') et δ 200.9 (C5'), une absorption IR à 1655 cm^{-1} confondue avec celle du carbonyle de la fonction amide et une absorption UV à 230 nm (ϵ 7300). L'enchaînement carboné C4'-C9' est mis en évidence par les corrélations longues distances indiquées sur la figure 2. On remarque que la position du groupe méthyle 10' en C9' est clairement indiquée par les couplages entre H10' et les carbones C4', C9' et C8'; de même celle du méthyle 11' en C6' est établie par les couplages entre H11' et les carbones C6', C5' et C7'. En outre, les couplages entre C4'-H3' et H1' sont particulièrement intéressants dans la mesure où ils assurent la connexion en C2' entre cet enchaînement (cycle de la diméthylcyclohexénone) et le reste de la molécule. La structure 2 que nous proposons pour le malyngamide G est la seule qui soit en accord avec l'ensemble des résultats présentés.

En ce qui concerne la stéréochimie de la molécule, nous avons attribué la configuration S au C7 sur la base de considérations biosynthétiques, en relation avec les malyngamides déjà décrits⁴⁻⁹ ($[\alpha]_D$ du même ordre de grandeur que celui du malyngamide F⁸ qui possède également deux carbones asymétriques en positions 7 et 6'). Des études complémentaires sont en cours pour d'une part, confirmer cette attribution à partir de l'acide correspondant que l'on obtient par hydrolyse acide de la fonction amide et d'autre part, déterminer la configuration du C6' qui n'a pas encore été précisée. Nous avons entrepris, par ailleurs, l'étude des épiphytes de *Cystoseira crinita* récoltée en eau peu profonde afin d'être en mesure de préciser, dans un prochain article, le nom de la Cyanophyceae qui métabolise le malyngamide G (2). On peut supposer, d'ores et déjà, qu'il s'agit d'une espèce appartenant au genre *Lyngbia*⁷, étant donné la structure du composé 2.

Remerciements : Nous remercions F. Delolme (Service central d'analyse du CNRS, Vernaison, France) pour les analyses de spectrométrie de masse.

Références et notes :

1. Valls R., Piovetti L. and Praud A. *Hydrobiol.* sous presse.
2. Valls R., Piovetti L., Banaigs B. and Praud A. *Phytochemistry* 1993, 32, 961-966.
3. Diterpènes à biogénèse mixte qui proviennent de la condensation d'un noyau hydroquinonique avec des diterpènes cycliques ou acycliques.
4. Cardellina J.H., Dalietos D., Marner F.J., Mynderse J.S. and Moore R.E. *Phytochemistry* 1978, 17, 2091-2095.
5. Cardellina J.H., Marner F.J. and Moore R.E. *J. Am. Chem. Soc.* 1979, 101, 240-242.
6. Moore R.E. In "Marine Natural Products : Chemical and Biological Perspectives", Scheuer P.J., Ed., Academic Press, New York, 1981, Vol. IV, pp 1-52.
7. Ainslie R.D., Barchi J.J., Kuniyoshi M., Moore R.E. and Mynderse J.S. *J. Org. Chem.* 1985, 50, 2859-2862.
8. Gerwick W.H., Reyes S. and Alvarado B. *Phytochemistry* 1987, 26, 1701-1704.
9. Gerwick W.H., Communication personnelle. Voir également: Faulkner D.J. *Nat. Prod. Rep.* 1988, 5, 613-615.
10. Mynderse J.S. and Moore R.E. *J. Org. Chem.* 1978, 43, 4359-4363.
11. $[\alpha]_D = +16.2^\circ$ (CHCl₃, *c* 1.1); UV (MeOH) λ_{max} nm (ϵ) 230 (7300); IR (film) ν_{max} cm⁻¹ 3325, 1655, 1541, 970, 798; hrms (FAB⁺ dans thioglycérol) obs. 424.2617, calc. 424.2618 pour C₂₄H₃₉NCIO₃ [MH⁺]; eims *m/z* (%) 426 (1) [MH⁺+2], 424 (3) [MH⁺], 388 (14), 309 (30), 220 (61), 176 (24), 161 (40), 115 (47), 83 (100), 55 (78), 45 (90).
12. Dorman D.E., Jautelat M. and Roberts J.D. *J. Org. Chem.* 1971, 36, 2757-2766.

(Received in France 19 May 1993; accepted 29 June 1993)