

N° d'ordre : **3104**

# **THESE**

Présentée à

## **L'UNIVERSITE BORDEAUX 1**

ECOLE DOCTORALE DES SCIENCES CHIMIQUES

par **Mlle Isabelle TARASCOU**

POUR OBTENIR LE GRADE DE

### **DOCTEUR**

SPECIALITE : CHIMIE ORGANIQUE

<p><b>SYNTHÈSE ET CARACTÉRISATION DE PROCYANIDINES OLIGOMÈRES POUR L'IDENTIFICATION DE TANINS DU RAISIN ET DU VIN</b></p>
---

Soutenue le : 16 Décembre 2005

Après avis de :

M. Victor De FREITAS	Professeur – Porto	Rapporteur
M. Jean SUFFERT	Directeur de Recherches CNRS – Strasbourg	Rapporteur

Devant la commission d'examen formée de :

M. Michel PEREYRE	Professeur émérite - Bordeaux	Président
M. Victor De FREITAS	Professeur - Porto	Rapporteur
M. Jean SUFFERT	Directeur de Recherches CNRS – Strasbourg	Rapporteur
M. Denis DUBOURDIEU	Professeur - Bordeaux	Examineur
M. Eric FOUQUET	Professeur – Bordeaux	Directeur
Mme Isabelle PIANET	Ingénieur de Recherches CNRS – Bordeaux	Directrice
Mme Christiane VENENCIE	Directrice du Département Qualité Recherche – Baron Philippe de Rothschild S.A.	Invitée



A mes parents,

A ma sœur et sa petite tribu,

A ma famille,

A mes amis



## Remerciements

Ce travail de thèse a été effectué au sein de deux laboratoires : le Laboratoire de Chimie Organique et Organométallique de l'Université Bordeaux I et le laboratoire de la Société Baron Philippe de Rothschild. Je tiens à remercier les directeurs de la société, passé et présent, Messieurs Patrick Léon et Guy-Henri Azam ainsi que Madame Christiane Venencie, directrice du Département Qualité Norme Analyse Recherche, pour avoir accepté de collaborer à ce projet et pour m'avoir accueillie au sein de leur équipe.

Je remercie le Conseil Interprofessionnel du Vin de Bordeaux pour leur soutien financier et pour l'intérêt qu'ils ont porté à mes recherches.

Merci à Messieurs Michel Pereyre, Professeur émérite de l'Université Bordeaux I, Victor de Freitas, Professeur à l'Université de Porto, Jean Suffert, Directeur de Recherches au CNRS à Strasbourg et Denis Dubourdiou, Professeur à la Faculté d'œnologie de Bordeaux qui ont accepté de m'accorder un peu de leur temps pour juger ce travail et pour faire partie de ce jury de thèse.

Un grand merci à Eric Fouquet et Isabelle Pianet, mes directeurs de thèse, qui m'ont conseillé tout au long de ces trois années de thèse et qui m'ont fait confiance. Vos connaissances et votre expérience en synthèse et en RMN m'ont énormément apporté. Avec vous, j'ai également pu participer au congrès Polyphénols et découvrir Helsinki, une ville bien agréable.

J'adresse toute ma reconnaissance à Marie-Agnès Ducasse et Michel Laguerre de l'IECB qui ont réalisé tous les calculs de modélisation moléculaire et à l'ensemble de l'équipe du CESAMO qui m'a aidée et conseillée lors de la caractérisation des produits : Christelle Absalon, Christiane Vitry et Philippe Soulié pour la spectrométrie de masse, Jean-Claude Lartigue et Michel Pétraud pour la RMN et Marie-Françoise Nonier pour les lyophilisations.

Je remercie l'ensemble du personnel du laboratoire de la Société Baron Philippe de Rothschild : Christiane, Marie-Noëlle, Béatrice, Christine, Sylvie, Joël, Magalie, Matthias, Mélanie, l'équipe de Pierre Lambert à laquelle je voudrais associer Gérard Capdet qui m'a bien aidée pour résoudre quelques problèmes techniques. Ils m'ont tous accueillie pendant

quelques mois avec gentillesse et une grande disponibilité. Au cours de ces quelques mois, j'ai pu enrichir mes connaissances en chromatographie liquide et en œnologie.

Je tiens également à remercier l'ensemble des équipes du Laboratoire de Chimie Organique et Organométallique et toutes les personnes du groupe Synthèse Molécules Bioactives avec qui, j'ai finalement passé le plus de temps au cours de ces trois dernières années : en particulier, Delphine et Muriel, pour leur bonne humeur, leur grande disponibilité, leur gentillesse et leur amitié ; Thierry, le bout-en-train du LCOO ; Marie-Hélène qui nous a rejoint dernièrement mais qui a toujours de très bonnes affaires à nous proposer ; les trois autres "Fouquettes" Agnès, Gaëlle et Magali, pour leurs conseils, leur soutien, leur amitié et les bons moments que nous avons passés ensemble ; Karine qui m'a conseillée au début de ma thèse pour apprendre à manipuler les tanins ; Yann, toujours calme et disponible, qui va pouvoir continuer à synthétiser d'autres procyanidines et participer à la découverte du secret de l'astringence ; Fred, pour les discussions et les bons conseils aussi bien en chimie qu'en informatique ; Laurent, très grand chimiste et meilleur acteur du laboratoire, souvent taquin mais très sympathique ; Raphaël, toujours prêt à rendre service et le plus gaffeur du groupe ; Eric, toujours enthousiaste et de bonne humeur ; Géraldine, Edouard et François-Xavier, les pensionnaires du second petit labo, assez discrets mais toujours souriants et d'une grande gentillesse ; Gopal, Philipp et Lee, les derniers arrivés qui ont rendu ce laboratoire cosmopolite ; et puis tous les autres étudiants du groupe que j'ai cotoyés au cours de mes deux premières années de thèse : Anne, Lucie, Cédric, Philippe, Susen, Marjolaine, Amiirah, Aline et Matthieu. Merci à tous pour l'ambiance agréable et conviviale que vous avez su faire régner dans le laboratoire.

Enfin un grand merci à mes parents, à ma sœur Christine et à sa petite famille, Fred et Yann, à toute ma famille et à mes amis (je pense notamment à Delphine, Marie, Nadège, Caro, Odile, Pierrot, Vincent) pour leur précieux soutien, pour tous leurs encouragements ainsi que pour les moments de détente.

# Sommaire

Liste des abréviations	1
Nomenclature employée pour décrire les différentes molécules (protons, carbones, cycles) et les constantes de couplage	3
Introduction générale	5
Première partie : Les Tanins du raisin et du vin	9
<b>I. Deux catégories de tanins</b>	11
<b>I.1. Les tanins hydrolysables</b>	11
<b>I.2. Les tanins condensés</b>	12
<i>I.2.a. Structure des monomères</i>	12
<i>I.2.b. Structure des dimères</i>	13
<i>I.2.c. Structure des oligomères et des polymères</i>	16
<b>II. Evolution des tanins au cours du vieillissement</b>	18
<b>II.1. Polymérisation des flavan-3-ols</b>	18
<i>II.1.a. Polymérisation directe des flavan-3-ols</i>	18
<i>II.1.b. Polymérisation indirecte des flavan-3-ols</i>	18
II.1.b.1. Polymérisation indirecte des flavan-3-ols par l'intermédiaire de l'acétaldéhyde	18
II.1.b.2. Polymérisation indirecte des flavan-3-ols par l'intermédiaire de l'acide glyoxalique	19
<b>II.2. Polymérisation des flavan-3-ols avec d'autres composés phénoliques présents dans le vin</b>	20
<i>II.2.a. Condensation entre flavanols et anthocyanes</i>	20
II.2.a.1. Polymérisation directe entre tanins et anthocyanes	21
II.2.a.2. Polymérisation indirecte entre tanins et anthocyanes par l'intermédiaire de l'acétaldéhyde	22
<i>II.2.b. Condensation entre flavanols et tanin hydrolysable</i>	24
<b>III. Principales complexations des tanins</b>	25
<b>III.1. Complexation des tanins</b>	25
<b>III.2. Complexation des tanins et des protéines</b>	25

<b>IV. Structure tridimensionnelle des tanins</b>	26
<b>IV.1. Régiochimie des liaisons interflavanes</b>	27
<b>IV.2. Stéréochimie des liaisons interflavanes</b>	27
<b>IV.3. Conformation de l'hétérocycle</b>	27
<b>IV.4. Isomérisation rotationnelle</b>	28
<b>IV.5. Caractérisation de la structure tridimensionnelle</b>	29
<i>IV.5.a. Identification des systèmes de spins</i>	29
<i>IV.5.b. Détermination de la régiochimie de la liaison interflavane</i>	30
<i>IV.5.c. Détermination de la stéréochimie de la liaison interflavane et de la conformation de l'hétérocycle</i>	30
<i>IV.5.d. Isomérisme rotationnel</i>	32
Seconde partie : Synthèse des Procyanidines dans la littérature	35
<b>I. Couplages entre unités non protégées</b>	37
<b>II. Couplages entre unités protégées</b>	42
<b>II.1. Stratégies de synthèse</b>	42
<b>II.2. Protection des fonctions phénols de la catéchine et de l'épicatéchine</b>	43
<b>II.3. Activation de la position benzylique prochirale 4 par oxydation</b>	45
<b>II.4. Etape de couplage par addition nucléophile</b>	47
<b>II.5. Etape de couplage par substitution nucléophile</b>	48
<i>II.5.a. Vers un contrôle de la stéréochimie</i>	48
<i>II.5.b. Vers un contrôle du degré d'oligomérisation</i>	52
Troisième partie : Synthèse et Caractérisation de Procyanidines	55
<b>I. Stratégie de synthèse</b>	57
<b>II. Synthèse et caractérisation des dimères B3 et B4</b>	60
<b>II.1. Protection des fonctions phénols de la catéchine et de l'épicatéchine</b>	61
<b>II.2. Activation de la position benzylique prochirale 4 par oxydation de la catéchine tétrabenzylée</b>	63
<b>II.3. Blocage de la position 8 de la catéchine protégée activée en position 4</b>	66
<b>II.4. Couplage cationique entre catBnBr8Act/catBn et catBnBr8Act/épiBn</b>	69

<b>II.5. Débromation de la position 8 des dimères B3BnBr8 et B4BnBr8</b>	74
<i>II.5.a. Rappels bibliographiques</i>	74
<i>II.5.b. Débromation par voie radicalaire</i>	76
<i>II.5.c. Débromation par voie lithienne</i>	76
<b>II.6. Déprotection des hydroxyles phénoliques des dimères B3Bn et B4Bn</b>	77
<b>II.7. Débromation et débenzylation de B3BnBr8 et B4BnBr8 en une seule étape</b>	78
<b>II.8. Caractérisation des dimères B3 et B4</b>	81
<b>III. Synthèse et caractérisation des trimères C2 et Cat-Cat-Epi</b>	86
<b>III.1. Activation du dimère B3BnBr8</b>	88
<b>III.2. Réactions de condensation</b>	90
<b>III.3. Caractérisation des trimères benzylés bromés par RMN</b>	92
<b>III.4. Débromation et déprotection des fonctions phénols</b>	95
<b>III.5. Caractérisation des trimères C2 et Cat-Cat-Epi</b>	97
<b>IV. Synthèse et caractérisation du tétramère Cat-Cat-Cat-Cat</b>	103
<b>IV.1. Réactions de condensation</b>	104
<b>IV.2. Débromation et débenzylation du tétramère benzylé bromé</b>	108
<b>IV.3. Caractérisation du tétramère Cat-Cat-Cat-Cat</b>	109
 Quatrième partie : Caractérisation par CLHP des procyanidines de pépins de raisin et des vins	 111
<b>I. Etude bibliographique</b>	113
<b>I.1. Extraction et fractionnement des composés phénoliques des pépins et des vins</b>	113
<b>I.2. Nature des phases stationnaires utilisées pour séparer les procyanidines par CLHP</b>	114
<i>I.2.a. CLHP en phase normale</i>	114
<i>I.2.b. CLHP en phase inverse</i>	116
<b>I.3. Nature des détecteurs utilisés en CLHP</b>	119
<b>II. Etude qualitative d'un extrait de pépins de raisin et d'un vin par CLHP</b>	120
<b>II.1. Préparation des extraits de pépins de raisin</b>	120
<b>II.2. Chromatographie liquide d'exclusion stérique</b>	121

<i>II.2.a. Injections d'un extrait de pépins de raisin et de vins</i>	121
<i>II.2.b. Injections des procyanidines standards synthétisées</i>	123
<b>II.3. Chromatographie liquide en phase inverse</b>	124
<i>II.3.a. Recherche des conditions optimales d'injection</i>	124
<i>II.3.b. Injection d'extraits de pépins de raisin et de vin</i>	126
Conclusions et Perspectives	131
Partie expérimentale	135
I. Matériels et méthodes	137
<b>I.1. Purification des solvants</b>	137
<b>I.2. Matières premières</b>	137
<b>I.3. Chromatographie</b>	138
<b>I.4. Analyses</b>	139
<i>I.4.a. Point de fusion</i>	139
<i>I.4.b. Spectroscopie infra rouge</i>	139
<i>I.4.c. Pouvoir rotatoire</i>	139
<i>I.4.d. Résonance Magnétique Nucléaire</i>	139
<i>I.4.e. Spectrométrie de masse</i>	140
II. Caractérisation des produits synthétisés	140
II.1. Synthèse de la 3',4',5,7-tétra-O-benzylcatéchine <b><u>32</u></b>	140
II.2. Synthèse de la 3',4',5,7-tétra-O-benzylépicatechine <b><u>35</u></b>	141
II.3. Synthèse de la 3',4',5,7-tétra-O-benzyl-4 $\beta$ -(2-hydroxyéthoxy)catéchine <b><u>52</u></b>	142
II.4. Synthèse de la 3',4',5,7-tétra-O-benzyl-4 $\beta$ -(2-hydroxyéthoxy)-8-bromo-catéchine <b><u>54</u></b>	143
II.5. Débromation de la 3',4',5,7-tétra-O-benzyl-8-bromo-catéchine	144
II.6. Synthèse du dimère B3BnBr8 <b><u>55</u></b>	145
II.7. Synthèse du dimère B3 octabenzylé B3Bn <b><u>33</u></b> à partir de B3BnBr8 <b><u>55</u></b>	146
II.8. Synthèse du dimère B3 <b><u>70</u></b> à partir du dimère B3Bn <b><u>33</u></b>	147
II.9. Synthèse du dimère B3 <b><u>70</u></b> à partir du dimère B3BnBr8 <b><u>55</u></b>	149
II.10. Synthèse du dimère B4BnBr8 <b><u>56</u></b>	149
II.11. Synthèse du dimère B4Bn <b><u>69</u></b>	150
II.12. Synthèse du dimère B4 <b><u>71</u></b>	151

II.13. Synthèse du dimère activé B3BnBr8Act <b><u>76</u></b>	152
II.14. Synthèse du trimère C2BnBr8 <b><u>74</u></b>	154
II.15. Synthèse du trimère C2Bn <b><u>77</u></b>	155
II.16. Synthèse du trimère C2 <b><u>79</u></b>	156
II.17. Synthèse du trimère C2 <b><u>79</u></b> à partir du trimère C2BnBr8 <b><u>74</u></b>	157
II.18. Synthèse du trimère (Cat-Cat-Epi)BnBr8 <b><u>75</u></b>	158
II.19. Synthèse du trimère benzylé (Cat-Cat-Epi)Bn <b><u>78</u></b>	159
II.20. Synthèse du trimère Cat-Cat-Epi <b><u>80</u></b>	160
II.21. Synthèse du tétramère benzylé bromé TétraBnBr8 <b><u>82</u></b>	162
II.22. Synthèse du tétramère benzylé TétraBn <b><u>83</u></b>	163
II.23. Synthèse du tétramère Cat-Cat-Cat-Cat <b><u>84</u></b>	165
II.24. Synthèse du tétramère Cat-Cat-Cat-Cat <b><u>87</u></b> à partir du tétramère TétraBnBr8 <b><u>85</u></b>	166
<b>Annexes</b>	167
Annexe 1 : Les procyanidines identifiées dans les pépins de raisin et les vins	169
Annexe 2 : Transformations structurales des anthocyanes en fonction du pH	170
Annexe 3 : Comparaison des corrélations observées sur les spectres HMBC et HMBC sélective	171
Annexe 4 : Etude structurale par modélisation moléculaire	172
Annexe 5 : Protocole général pour attribuer l'ensemble des résonances en RMN <sup>1</sup> H et <sup>13</sup> C	175
Annexe 6 : Dégradation des procyanidines par thiolysse	177
<b>Références bibliographiques</b>	179

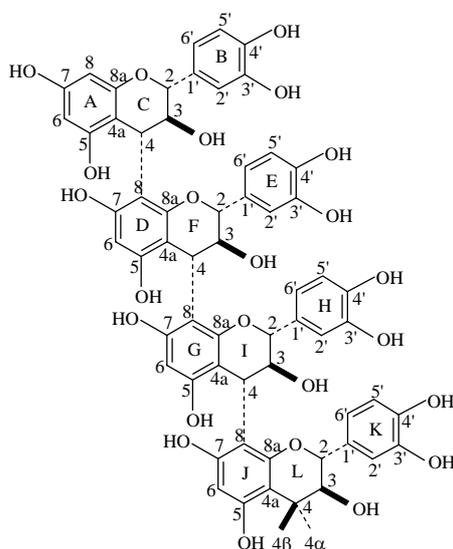


## Liste des abréviations

A ou Ax	position axiale
ACCN	1,1'-azobis(cyclohexanecarbonitrile)
AIBN	2,2'-azobis(isobutyronitrile)
BPHR	Société Baron Philippe de Rothschild
$^{13}\text{C}$	carbone 13
CCM	Chromatographie sur Couche Mince
CLHP	Chromatographie Liquide Haute Performance
Coll.	collaborateurs
COSY	COrelated Spectroscopy
Cq	Carbone quaternaire
d	doublet
dd	doublet de doublet
DCC	1,3-dicyclohexylcarbodiimide
DDQ	2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone
dec	décomposition
DEPT	Distorsionless Enhancement by Polarisation Transfert
DIBAL	hydrure de diisobutylaluminium
DMA	N,N-Diméthylacétamide
DMAP	4-diméthylaminopyridine
DMF	N,N-Diméthylformamide
DMTSF	diméthyl(méthylthio)sulfonium
E ou Eq	position équatoriale
éq	équivalent
$^1\text{H}$	proton
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Connectivity
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
IE	Impact Electronique
IR	Infra Rouge
J	constante de couplage exprimée en Hertz
lit.	littérature
LSIMS	Liquid Secondary Ion Mass Spectrometry
m	multiplet

Maj	rotamère majoritaire
min	rotamère minoritaire
NBS	N-bromosuccinimide
NIS	N-iodosuccinimide
NOE	Nuclear Overhauser Effect
NOESY	Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy
PHPB	pyridinium hydrobromure-perbromure
ppm	partie par million
py	pyridine
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
ROESY	Rotating Overhauser Enhancement Spectroscopy
RX	Rayons X
s	singulet
SM	Spectrométrie de Masse
SMHR	Spectrométrie de Masse Haute Résolution
ta	température ambiante
TMS	tétraméthylsilane
TMSOTf	trimethylsilyl triflate
TOCSY	TOTAL Correlation Spectroscopy
UV	Ultra Violet

## Nomenclature employée pour décrire les différentes molécules (protons, carbones, cycles) et les constantes de couplage



Les différents cycles sont nommés par une lettre entre A et K : de A à C pour les monomères, de A à F pour les dimères, de A à I pour les trimères et de A à L pour les tétramères. Les protons et les carbones sont respectivement notés  $H_{aX}$  et  $C_{aX}$ , a étant le numéro du proton ou du carbone et X, la lettre correspondant au cycle (par exemple :  $H_{3C}$ ).

De même, les constantes de couplage sont notées  $J_{H_aH_bX}$ ,  $H_a$  et  $H_b$  étant les protons couplés et X, la lettre correspondant au cycle (par exemple,  $J_{43C}$ ).

Les liaisons interflavanes des tanins peuvent adopter deux stéréochimies différentes :  $\alpha$  ou  $\beta$ . Si l'unité inférieure est en dessous du plan de l'hétérocycle C de l'unité supérieure, la stéréochimie de la liaison interflavane est  $\alpha$ . Par contre, si l'unité inférieure est au dessus du plan de l'hétérocycle C de l'unité supérieure, la stéréochimie est  $\beta$ .



# **I ntroduction**

## **Générale**



La définition des tanins proposée par Bate-Smith et Swain en 1962 présente les principales caractéristiques de ces composés : ils les décrivent comme des « *composés phénoliques solubles dans l'eau, possédant une masse comprise entre 500 et 3000, qui en plus de la réactivité usuelle des composés phénoliques ont la capacité de faire précipiter les alcaloïdes, la gélatine et les autres protéines* ». <sup>1</sup> Les tanins résultent en fait de la polymérisation de molécules élémentaires possédant des fonctions phénols. Leur réactivité dépend de leur configuration spatiale : selon Ribéreau-Gayon, ces molécules doivent être « *suffisamment volumineuses pour donner des combinaisons stables avec les protéines mais si elles sont trop encombrantes, elles risquent de ne pas pouvoir s'approcher des sites actifs des protéines pour réagir* ». <sup>2</sup>

Les composés phénoliques sont largement présents dans le règne végétal (pommes, pêches, prunes, raisins, cacao, ...) et se retrouvent en quantité importante dans les boissons et les denrées alimentaires qui en dérivent (cidre, vin, thé, chocolat, ...). Ils proviennent des parties solides des baies et en particulier des pépins, <sup>3</sup> des pellicules, <sup>4,5</sup> et des rafles <sup>6</sup> pour les grappes de raisin. Ainsi, la concentration en tanins est comprise entre 1 et 4 g.L<sup>-1</sup> pour les vins rouges, et entre 100 et 300 mg.L<sup>-1</sup> pour les vins blancs secs. <sup>2</sup> Les principaux facteurs qui influencent cette concentration sont la nature du cépage, <sup>7</sup> le terroir, les conditions de vinification <sup>8,9</sup> ainsi que les conditions climatiques. <sup>2</sup> Les vins rouges sont donc beaucoup plus riches en tanins condensés que les vins blancs : ceci peut être expliqué par le fait que ces molécules sont extraites au cours de l'étape de macération, étape qui est uniquement effectuée pour les vins rouges.

L'intérêt porté aux tanins s'est accru ces dernières années car ces molécules possèdent des propriétés biologiques intéressantes. Les polyphénols auraient une activité anti-oxydante, <sup>10</sup> anti-cancérogène, anti-inflammatoire, anti-virale <sup>11,12</sup> et possèderaient un rôle préventif contre les maladies cardiovasculaires. <sup>13,14</sup>

<sup>1</sup> Bate-Smith E.C., Swain T., *Flavanoid compounds in Comparative Biochemistry* ; H.S. Mason, A.M. Florkin, Academic Press, New York, **1962**, 3, 755-809

<sup>2</sup> Ribéreau-Gayon, Glories Y., Maujean A., Dubourdieu D., *Traité d'œnologie, Tome 2, Chimie du vin, Stabilisation et traitements*, Dunod, Paris, **1998**

<sup>3</sup> Prieur C., Rigaud J., Cheynier V., Moutounet M., *Phytochemistry*, **1994**, 36, 3, 781-784

<sup>4</sup> Ribéreau-Gayon P., *Ann. Physiol. Vég.*, **1964**, 6, 3, 211-242

<sup>5</sup> Souquet J.M., Cheynier V., Brossaud F., Moutounet M., *Phytochemistry*, **1996**, 43, 2, 509-512

<sup>6</sup> Souquet J.M., Labarbe B., Le Guernevé C., Cheynier V., Moutounet M., *J. Agric. Food Chem.*, **2000**, 48, 1076-1080

<sup>7</sup> De Freitas V.A.P., Glories Y., *J. Sci. Food Agric.*, **1999**, 79, 1601-1606

<sup>8</sup> Fuleki T., Ricardo da Silva J.M., *J. Agric. Food Chem.*, **2003**, 51, 640-646

<sup>9</sup> Kovac V., Alonso E., Bourzeix M., Revilla E., *J. Agric. Food Chem.*, **1992**, 40, 1953-1957

<sup>10</sup> Nakao M., Takio S., Ono K., *Phytochemistry*, **1998**, 49, 8, 2379-2382

<sup>11</sup> Saint-Cricq de Gaulejac N., Provost C., Vivas N., *J. Agric. Food Chem.*, **1999**, 47, 425-431

Les tanins jouent également un rôle important en œnologie pour la qualité et les caractéristiques organoleptiques des vins (couleur, saveur, astringence et amertume).

Leur réactivité est à l'origine de l'évolution constante de leurs structures au cours de la maturation du raisin, de la vinification et du vieillissement. Le grand nombre de molécules présentes dans les baies de raisin et dans les vins rend donc l'analyse et l'identification des composés particulièrement difficiles.

Une meilleure connaissance de la relation existant entre les structures des tanins et leurs propriétés organoleptiques, en particulier l'astringence, nécessite une identification non ambiguë des polyphénols présents dans les baies de raisin et dans les vins.

La synthèse de standards va nous permettre ainsi d'obtenir des quantités suffisantes de produits afin de réaliser une caractérisation complète de ces molécules. L'injection des produits synthétisés en chromatographie liquide nous permettra alors de déterminer les tanins présents dans les pépins de raisin et dans le vin.

---

<sup>12</sup> Soleas G.J., Diamandis E.P., Goldberg D.M., *J. Clin. Lab. An.*, **1997**, *11*, 287-313

<sup>13</sup> Frankel E.N., German J.B., Kinsella J.E., Parks E., Kanner J., *Lancet*, **1993**, *341*, 454-457

<sup>14</sup> Renaud S., de Lorgeril M., *Lancet*, **1992**, *339*, 1523-1526

# **Première Partie**

## **Les Tanins**

### **Du raisin et du vin**

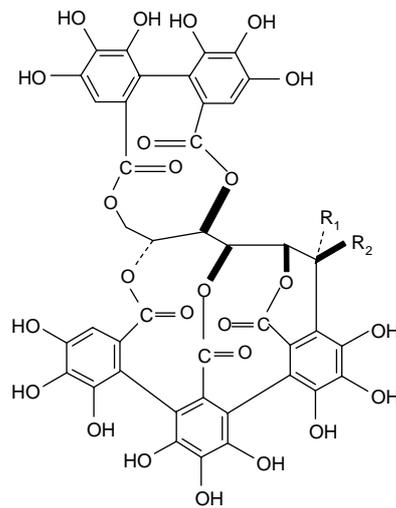


## I. Deux catégories de tanins

Le terme tanin correspond en fait à plusieurs familles qui diffèrent par la nature des molécules élémentaires. Les tanins du vin peuvent provenir de deux sources différentes : selon leurs origines, ils sont répartis en tanins hydrolysables et en tanins condensés.

### I.1. Les tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables<sup>15</sup> regroupent les gallotanins et les ellagitanins. Dans le vin, ces composés proviennent du bois de la barrique utilisée pour l'élevage des vins ou de l'addition de tanins œnologiques. Ce sont des molécules complexes qui dérivent de la structure  $\beta$ -1,2,3,4,6-pentagalloyl-D-glucose qui peut être sous forme cyclique ou sous forme ouverte.<sup>16</sup> La vescalagine et la castalagine sont les deux principaux ellagitanins issus du bois de chêne utilisé en tonnellerie (Figure 1).<sup>17</sup>



Vescalagine :  $R_1 = H$  ;  $R_2 = OH$

Castalagine :  $R_1 = OH$  ;  $R_2 = H$

**Figure 1** : Structure de deux ellagitanins identifiés dans les extraits de bois de cœur du chêne

Cette structure résulte du couplage oxydant intramoléculaire entre deux substituants galloyls voisins (couplage C-C). La polymérisation s'effectue quant à elle par couplage intermoléculaire (couplage C-O).<sup>18</sup> La structure des tanins hydrolysables varie donc en fonction du degré d'estérification et du nombre de liaisons carbone-carbone intramoléculaires entre des unités d'acide gallique voisines.

<sup>15</sup> Okuda T., Yoshida T., Hatano T., *Phytochemistry*, **1993**, 32, 3, 507-521

<sup>16</sup> Haslam E., *J. Nat. Prod.*, **1996**, 59, 205-215

<sup>17</sup> Masson G., Puech J.L., Moutounet M., *Bull. O.I.V.*, **1996**, 69, 635-657

<sup>18</sup> Haslam E., Cai Y., *Nat. Prod. Rep.*, **1994**, 11, 41-66

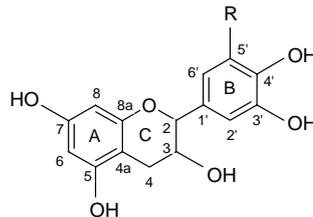
Leur concentration dans le vin ne dépasse cependant pas quelques milligrammes par litre de vin.

## I.2. Les tanins condensés

Dans la littérature, les tanins condensés peuvent être également nommés proanthocyanidines ou tanins catéchiques. Ces composés, qui correspondent à des polymères de flavan-3-ols, peuvent être répertoriés en différentes classes : les monomères, les dimères, les oligomères et les polymères.

### I.2.a. Structure des monomères

Les monomères à l'origine des tanins condensés possèdent une structure 2-phénylchromane, plus couramment nommée unité flavane, qui correspond à un squelette de quinze carbones organisés en C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>. La nomenclature suivante (Figure 2) est souvent employée pour décrire ces composés.

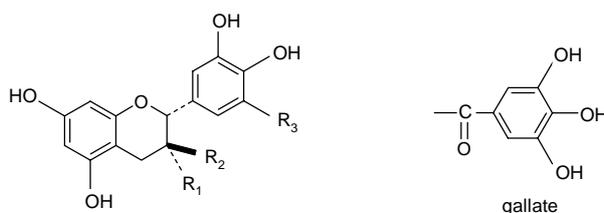


**Figure 2 :** Nomenclature des unités monomères flavanes

Le cycle A est nommé cycle phloroglucinol. Le cycle B est appelé cycle catéchol si le groupement R correspond à un atome d'hydrogène et cycle pyrogalloyle si R est une fonction hydroxyle. Quant au cycle C, il est nommé cycle pyrane.

Le nombre de groupes hydroxyles, leurs positions sur les cycles aromatiques A et B et la stéréochimie du carbone asymétrique 3 du cycle pyrane sont autant de paramètres qui peuvent varier dans la structure des monomères. Par contre, la stéréochimie du carbone 2 est toujours de type R dans les raisins et dans les vins.

Cinq monomères peuvent être rencontrés dans le raisin (Figure 3).



	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
(+)-catéchine	H	OH	H
(+)-gallocatéchine	H	OH	OH
(-)-épicatéchine	OH	H	H
(-)-épigallocatéchine	OH	H	OH
(-)-épicatéchine-3-O-gallate	O-gallate	H	H

**Figure 3 :** Structures des unités monomères présentes dans les pépins et les pellicules et structure du groupement gallate

Les deux principales unités monomères sont la (+)-catéchine et la (-)-épicatéchine. Elles sont présentes à la fois dans les pépins et dans les pellicules, tout comme la (-)-épicatéchine-3-O-gallate qui résulte de l'estérification de l'épicatéchine avec l'acide gallique. Par contre, les unités trihydroxylées sur le cycle B, la (-)-épigallocatéchine et la (+)-gallocatéchine, semblent être uniquement rencontrées dans les pellicules où elles seraient présentes en concentrations relativement faibles par rapport à la catéchine et à l'épicatéchine.<sup>3,5,19,20</sup>

Ces monomères vont se condenser et former des proanthocyanidines dimères, oligomères et polymères : ces différentes molécules sont nommées procyanidines lorsqu'elles sont uniquement constituées d'unités monomères dihydroxylées sur le cycle B et prodelphinidines quand elles possèdent des unités trihydroxylées sur le cycle B.

Seules des procyanidines sont détectées dans les pépins alors que des procyanidines et des prodelphinidines peuvent être identifiées dans les pellicules et les vins.

### *1.2.b. Structure des dimères*

Ces procyanidines dimères peuvent être classées en deux catégories<sup>21</sup> : les procyanidines de type B et les procyanidines de type A.

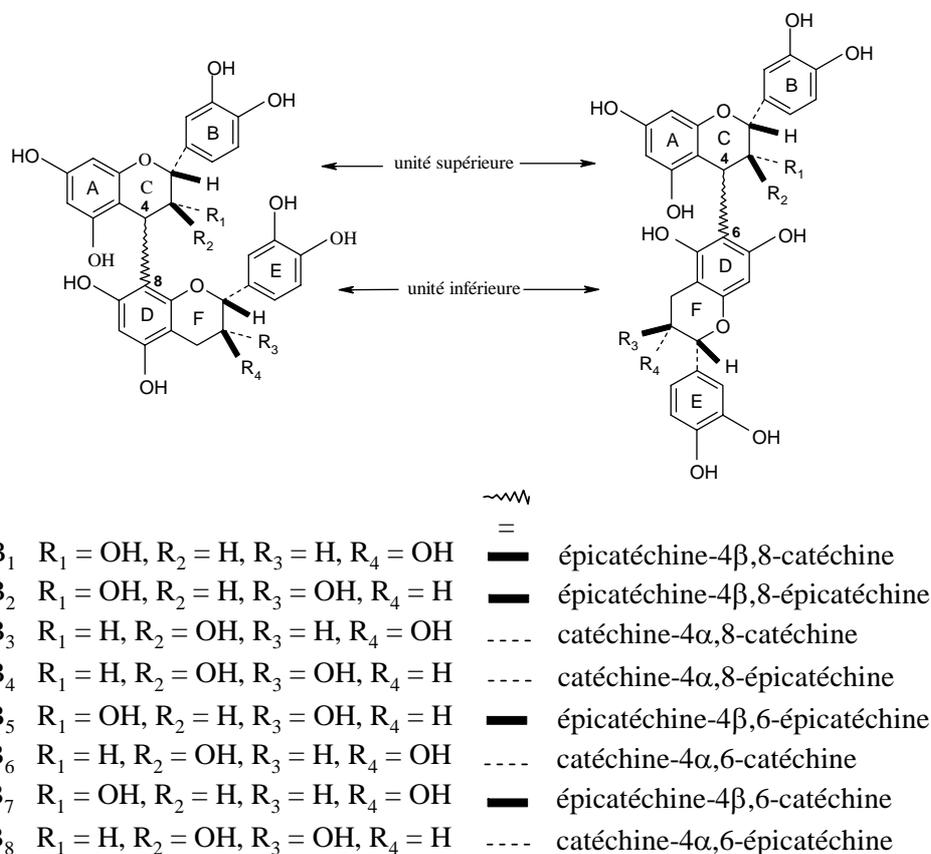
Les procyanidines de type B résultent de la condensation de deux unités flavan-3-ols entre le carbone 4 de l'hétérocycle C de l'unité supérieure et le carbone 6 ou 8 du cycle

<sup>19</sup> De Freitas V.A.P., Glories Y., Bourgeois G., Vitry C., *Phytochemistry*, **1998**, 49, 5, 1435-1441

<sup>20</sup> Santos-Buelga C., Francia-Aricha E.M., Escribano-Bailon M.T., *Food Chem.*, **1995**, 53, 197-201

<sup>21</sup> Weinges K., Kaltenhauser W., Marx H.D., Nader E., Nader F., Perner J., Seiler D., *Liebigs Ann. Chem.*, **1968**, 711, 184-204

phloroglucinol de l'unité inférieure. La liaison entre ces deux unités flavan-3-ols est nommée liaison interflavane. Huit dimères de type B constitués de catéchine et d'épicatéchine ont été isolés des pépins et des pellicules de raisin (Figure 4).



**Figure 4 :** Structure des 8 procyanidines dimères de type B

De Freitas et coll. ont déterminé les teneurs en procyanidines dimères de type B dans les pépins et les pellicules de deux cépages de raisins blancs<sup>7</sup> (Tableau 1) et de deux cépages de raisins rouges<sup>22</sup> dans le Bordelais (Tableau 2).

**Tableau 1 :** Teneurs (en mg par g de matière sèche) en procyanidines dimères de type B dans les pépins et les pellicules de Ugni blanc et de Sémillon (dans le Libournais) à la date des vendanges pour les millésimes 1991-1992 et 1992-1993

Cépage		Procyanidines dimères (mg/g)							
		B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8
Ugni blanc	Pépins	0,2	3,8	0,9	2,5	0,5	0,3	0,2	0,4
	Pellicules	1,9	0,06	0,3	-	0,07	0,04	-	-
Sémillon	Pépins	1,1	2,3	1,8	1,5	0,4	0,5	-	0,1
	Pellicules	0,02	-	0,01	-	-	0,2	-	-

<sup>22</sup> De Freitas V.A.P., Glories Y., Monique A., *Am. J. Enol. Vitic.*, **2000**, 51, 4, 397-403

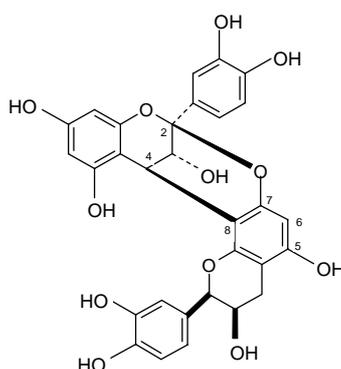
**Tableau 2 :** Teneurs (en mg par g de matière sèche) en procyanidines dimères de type B dans les pépins et les pellicules de Merlot et de Cabernet Sauvignon (dans le Bordelais) à la date des vendanges pour le millésime 1994

Cépage		Procyanidines dimères (mg/g)							
		B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8
Merlot	Pépins	5,92	24,00	7,30	12,24	4,40	2,24	0,52	1,52
	Pellicules	0,08	0,92	0,02	-	0,14	-	-	-
Cabernet Sauvignon	Pépins	5,3	30,0	5,0	8,0	4,5	1,7	2,0	0,2
	Pellicules	0,11	0,84	0,05	-	0,12	-	-	-

Des dimères gallates (B2-3-O-gallate, B4-3'-O-gallate, B1-3-O-gallate, B2-3'-O-gallate, B7-3-O-gallate et B2-3,3'-di-O-gallate) ont également été isolés des baies de raisin, le groupement gallate étant exclusivement localisé sur les unités épicatechines.<sup>20</sup>

D'une manière générale et quel que soit le cépage, les dimères possédant une liaison interflavane C4-C8 sont les plus représentés. Pour les cépages de raisins rouges, la procyanidine B2 est le dimère majoritaire dans les pellicules et dans les pépins. Par contre, la procyanidine B4, abondante dans la plupart des pépins, est absente dans les pellicules de cépages merlot et cabernet sauvignon.

Les procyanidines de type A possèdent, quant à elles, non seulement une liaison interflavane C4-C8 ou C4-C6 mais aussi une liaison de type éther entre les atomes de carbone 5 ou 7 de l'unité inférieure et l'atome de carbone 2 de l'unité supérieure (Figure 5).<sup>23</sup>

**Figure 5 :** Structure de la procyanidine dimère A2

La procyanidine A2 a été identifiée en 1999 dans un extrait de pépins de raisin.<sup>11</sup>

Les liaisons précédemment définies, C4-C6 et C4-C8, sont largement majoritaires. Mais dans des conditions particulières et grâce aux propriétés chimiques des tanins, d'autres types de liaisons semblent pouvoir exister entre deux unités monomères.

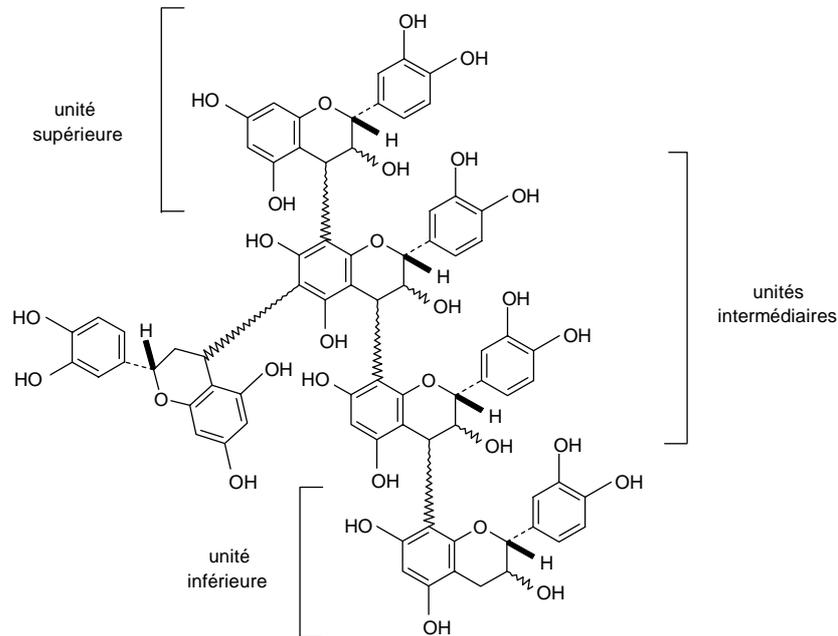
<sup>23</sup> Vivas N., Glories Y., Pianet I., Barbe B., Laguerre M., *Tetrahedron Lett.*, **1996**, 37, 2015-2018

Ainsi, Guyot et coll.<sup>24</sup> ont montré, en solution modèle, que des liaisons C3'-O-C8, C4'-O-C8 et C6'-C8 peuvent être rencontrées. Une réaction entre la catéchine et l'ortho-quinone de la catéchine, obtenue après oxydation en présence de polyphénoloxydase, conduit par exemple à des dimères possédant une liaison C6'-C8 qui sont à l'origine du brunissement des moûts blancs. D'autres modes de liaisons ont également été présentés dans la littérature : C6-C6, C8-C8, C6-C8, C4-O-C3.<sup>25,26,27</sup>

*Cependant, à notre connaissance, ces dimères n'ont jamais été identifiés dans les tanins naturellement présents dans les raisins et dans les vins. A ce jour, seules des procyanidines dimères de type B et la procyanidine A2 ont pu être isolées des pépins, des pellicules et des vins.*

### I.2.c. Structure des oligomères et des polymères

Les procyanidines oligomères sont constituées de 3 à 10 unités flavanols reliées entre elles par des liaisons C4-C6 et/ou C4-C8 (Figure 6). Leurs poids moléculaires sont donc compris entre 900 et 3000 g.mol<sup>-1</sup>. Au-delà de 10 unités flavanols, ce sont des procyanidines polymères ou condensées qui ont une masse moléculaire supérieure à 3000 g.mol<sup>-1</sup>.



**Figure 6** : Structure des procyanidines oligomères

<sup>24</sup> Guyot S., Vercauteren J., Cheynier V., *Phytochemistry*, **1996**, *42*, 1279-1288

<sup>25</sup> Romanczyk L.J., Basak A., Townsend C.A., *PCT Int. Appl.*, Mars Incorporated, US, WO 0063201, **2000**, 64p

<sup>26</sup> Tückmantel W., Kozikowski A.P., Romanczyk L.J., *PCT Int. Appl.*, Mars Incorporated, US, WO 0061547, **2000**, 19p

<sup>27</sup> Beauhaire J., Es-Safi N.E., Boyer F.D., Kerhoas L., Le Guernevé C., Ducrot P.H., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2005**, *15*, 559-562

Elles peuvent être linéaires (si elles possèdent uniquement des liaisons interflavanes C4-C8) ou branchées (si elles sont constituées à la fois de liaisons interflavanes C4-C8 et C4-C6). Ainsi, en considérant les deux principaux monomères, c'est-à-dire la catéchine et l'épicatéchine, 32 trimères, 128 tétramères, ...,  $2^n \times 2^{n-1}$  nmères peuvent être dénombrés, ce qui illustre bien la complexité du problème, même si tous ces oligomères ne semblent pas être présents dans les raisins et dans les vins. Actuellement, une dizaine de trimères ont été isolés d'extraits de pépins de raisins<sup>19,20,28</sup> (annexe 1) : les plus abondants semblent être l'épicatéchine-4 $\beta$ ,8-épicatéchine-4 $\beta$ ,8-épicatéchine (nommé C1) et l'épicatéchine-4 $\beta$ ,8-épicatéchine-4 $\beta$ ,8-catéchine.<sup>5,28</sup> De plus, Cheynier et coll.<sup>29</sup> ont étudié les teneurs en flavan-3-ols monomères, en procyanidines dimères et polymères pour les raisins rouges du cépage Cabernet Franc (Tableau 3).

**Tableau 3 :** Teneurs en monomères, procyanidines dimères et polymères pour les raisins de Cabernet Franc (exprimées en mg d'équivalent catéchine par kg de baies)

Tanins	Pellicules	Pépins
Monomères	13,8	188
Dimères	7,2	66
Oligomères et Polymères	312	3600

Leurs résultats montrent que les pépins renferment des quantités de tanins plus importantes que les pellicules. Mais les tanins issus des pépins sont en général très différents de ceux issus des pellicules. En effet, alors que les proanthocyanidines des pépins ne sont constituées que de procyanidines, les tanins condensés des pellicules renferment à la fois des procyanidines et des prodelphinidines. Les tanins de pépins sont également caractérisés par un taux de galloylation sur l'atome de carbone 3 beaucoup plus élevé que pour les tanins des pellicules.<sup>6,30</sup> De plus, le degré de polymérisation moyen, qui correspond au nombre moyen d'unités monomères, est proche de 10 pour les pépins<sup>3</sup> et de 30 pour les pellicules<sup>5</sup> : les pépins renferment essentiellement des oligomères alors que les pellicules contiennent davantage de polymères que d'oligomères.

<sup>28</sup> Ricardo da Silva J.M., Rigaud J., Cheynier V., Cheminat A., Moutounet M., *Phytochemistry*, **1991**, 30, 4, 1259-1264

<sup>29</sup> Cheynier V., Prieur C., Guyot S., Rigaud J., Moutounet M., *ACS Symposium Series*, **1997**, 661, 81-93

<sup>30</sup> Souquet J.M., Cheynier V., Moutounet M., *Bull. O.I.V.*, **2000**, 73, 601-609

*Actuellement, une trentaine de procyanidines ont été isolées des pépins de raisin (annexe 1). Les structures de ces différents tanins vont ensuite évoluer au cours de la vinification, de l'élevage et du vieillissement du vin. Nous allons donc maintenant aborder les principales réactions de polymérisation des tanins condensés ainsi que leurs réactions avec d'autres composés phénoliques présents dans le vin.*

## **II. Evolution des tanins au cours du vieillissement**

Au cours du vieillissement, les tanins réagissent entre eux ou avec d'autres composés phénoliques présents dans le vin, tels que les ellagitanins et les anthocyanes. Ces réactions ont une incidence sur la couleur et les caractéristiques organoleptiques des vins.

### **II.1. Polymérisation des flavan-3-ols**

Les flavanols peuvent ainsi réagir entre eux directement ou par l'intermédiaire d'autres petites molécules contenues dans le vin.

#### *II.1.a. Polymérisation directe des flavan-3-ols*

En l'absence d'oxygène et au pH du vin, une rupture de liaisons interflavanes des tanins condensés peut être observée, conduisant alors à la formation d'une part, de procyanidines de poids moléculaires plus faibles et d'autre part, à celle de carbocations en position 4. Ces derniers peuvent réagir avec un sommet nucléophile (C6 ou C8) d'une autre molécule de tanin,<sup>31</sup> aboutissant dans ce cas à des polymères de plus hauts poids moléculaires. Comme nous l'avons vu précédemment, ces nouvelles molécules peuvent correspondre à des oligomères et des polymères branchés et/ou linéaires selon la nature des liaisons interflavanes.

#### *II.1.b. Polymérisation indirecte des flavan-3-ols*

##### **II.1.b.1. Polymérisation indirecte des flavan-3-ols par l'intermédiaire de l'acétaldéhyde**

Dans les vins, l'acétaldéhyde est produit biochimiquement par des levures pendant la fermentation<sup>32</sup> ou par oxydation de l'éthanol en présence d'oxygène<sup>33</sup>.

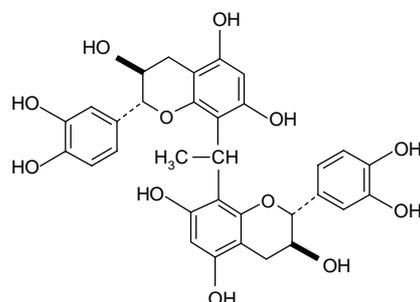
Ainsi, après protonation de l'acétaldéhyde en milieu acide, le carbocation formé va pouvoir réagir avec un sommet nucléophile du flavanol pour former un adduit éthanol-flavanol. Après perte d'une molécule d'eau, le carbocation résultant peut réagir sur un

<sup>31</sup> Haslam E., *Phytochemistry*, **1980**, 19, 2577-2592

<sup>32</sup> Romano P., Suzzi G., Turbanti L., Polsinelli M., *FEMS Microbiology Lett.*, **1994**, 118, 213-218

<sup>33</sup> Wildenradt H.L., Singleton V.L., *Am. J. Enol. Vitic.*, **1974**, 25, 2, 119-126

sommet nucléophile d'une autre molécule de flavanol. Un dimère possédant un pont méthylméthylène est formé selon ce mécanisme proposé dès 1976 par Timberlake et Bridle<sup>34</sup> et confirmé plus tard par Fulcrand et coll.<sup>35</sup> et par Saucier et coll.<sup>36,37</sup> (Figure 7).



**Figure 7 :** Structure d'un dimère obtenu après condensation entre flavanols par l'intermédiaire de l'acétaldéhyde

L'existence de ce mode de condensation dans les denrées alimentaires à base de raisins a été prouvée en 1997 : des structures de dimères et de trimères de catéchine possédant des ponts méthylméthylènes ont été détectées dans les vins rouges.<sup>38</sup>

#### II.1.b.2. Polymérisation indirecte des flavan-3-ols par l'intermédiaire de l'acide glyoxalique

En solution modèle, la réaction entre la catéchine et l'acide glyoxalique, qui proviendrait de l'oxydation de l'acide tartrique, conduit à la formation d'un produit majoritaire incolore qui correspond à un dimère de catéchine où les unités flavanols sont liées par un groupe CH-COOH (Figure 8).<sup>39</sup>

Ce composé incolore est en fait un intermédiaire qui va conduire à la formation de pigments bruns. En effet, le dérivé xanthène, obtenu après déshydratation entre les deux groupes hydroxyles des cycles phloroglucinols A et D du dimère incolore, est ensuite oxydé en sel de xanthylum, composé de couleur jaune (Figure 8).<sup>40,41</sup>

<sup>34</sup> Timberlake C.F., Bridle P., *Am. J. Enol. Vitic.*, **1976**, 27, 3, 97-105

<sup>35</sup> Fulcrand H., Doco T., Es-Safi N.E., Cheynier V., *J. Chromatogr. A*, **1996**, 752, 85-91

<sup>36</sup> Saucier C., Bourgeois G., Vitry C., Roux D., Glories Y., *J. Agric. Food Chem.*, **1997**, 45, 1045-1049

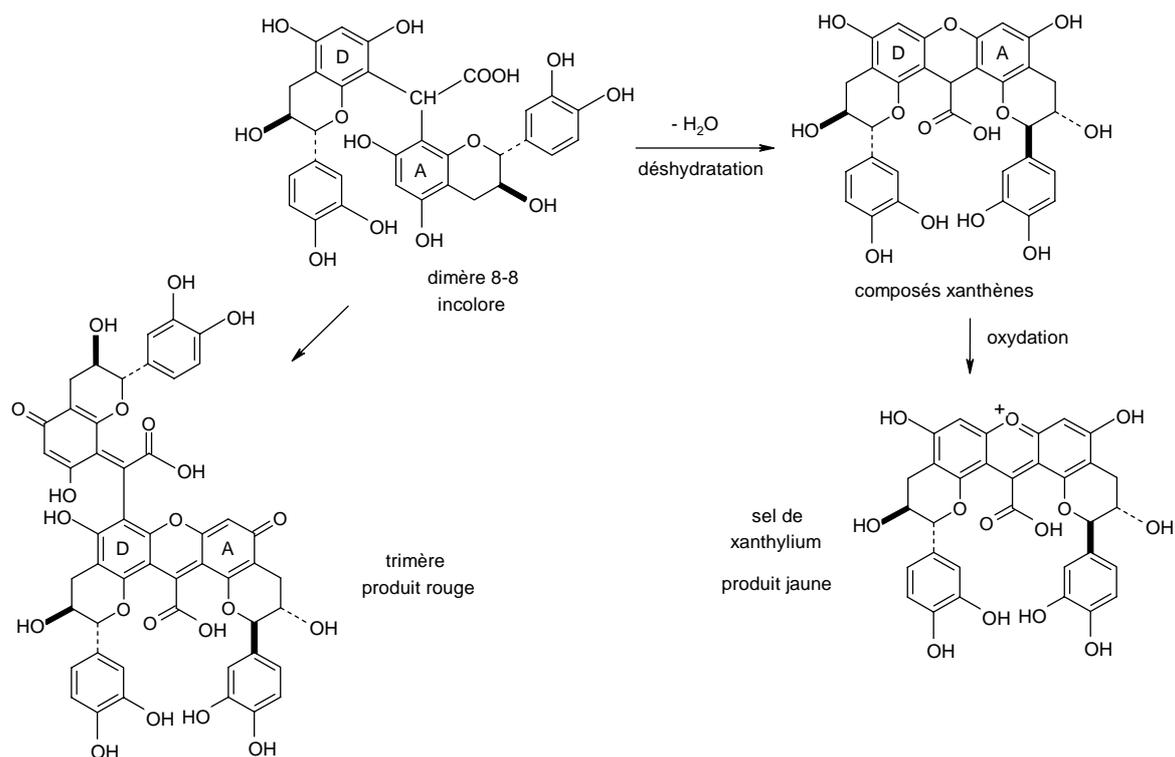
<sup>37</sup> Saucier C., Guerra C., Pianet I., Laguerre M., Glories Y., *Phytochemistry*, **1997**, 46, 229-234

<sup>38</sup> Saucier C., Little D., Glories Y., *Am. J. Enol. Vitic.*, **1997**, 48, 3, 369-373

<sup>39</sup> Fulcrand H., Cheynier V., Oszmianski J., Moutounet M., *Phytochemistry*, **1997**, 46, 223-227

<sup>40</sup> Es-Safi N.E., Le Guernevé C., Fulcrand H., Cheynier V., Moutounet M., *J. Agric. Food Chem.*, **1999**, 47, 5211-5217

<sup>41</sup> Es-Safi N.E., Le Guernevé C., Labarbe B., Fulcrand H., Cheynier V., Moutounet M., *Tetrahedron Lett.*, **1999**, 40, 5869-5872



**Figure 8 :** Condensation en solution modèle entre flavan-3-ols par l’intermédiaire de l’acide glyoxalique

Ce dimère incolore est également à l’origine de la formation de composés de couleur rouge (Figure 8). Les analyses en chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse indiquent que ces produits possèdent une structure trimère.<sup>42</sup>

## II.2. Polymérisation des flavan-3-ols avec d’autres composés phénoliques présents dans le vin

### II.2.a. Condensation entre flavanols et anthocyanes

Les anthocyanes libres (annexe 2) qui correspondent aux pigments rouges contenus dans les pellicules de baies de raisin sont extraites au cours de la macération. Ces molécules sont responsables de la couleur des vins rouges jeunes. Cependant, leur concentration diminue rapidement au cours de la vinification et de l’élevage. La couleur des vins change progressivement, du rouge vif à une teinte tuilée : ce changement est attribué entre autres à la formation de nouveaux pigments polymères plus stables qui résultent de réactions entre les anthocyanes et les tanins.<sup>36,43,44</sup> Ces condensations peuvent avoir lieu directement ou par l’intermédiaire de l’acétaldéhyde.

<sup>42</sup> Es-Safi N.E., Le Guernevé C., Cheynier V., Moutounet M., *J. Agric. Food Chem.*, **2000**, 48, 4233-4240

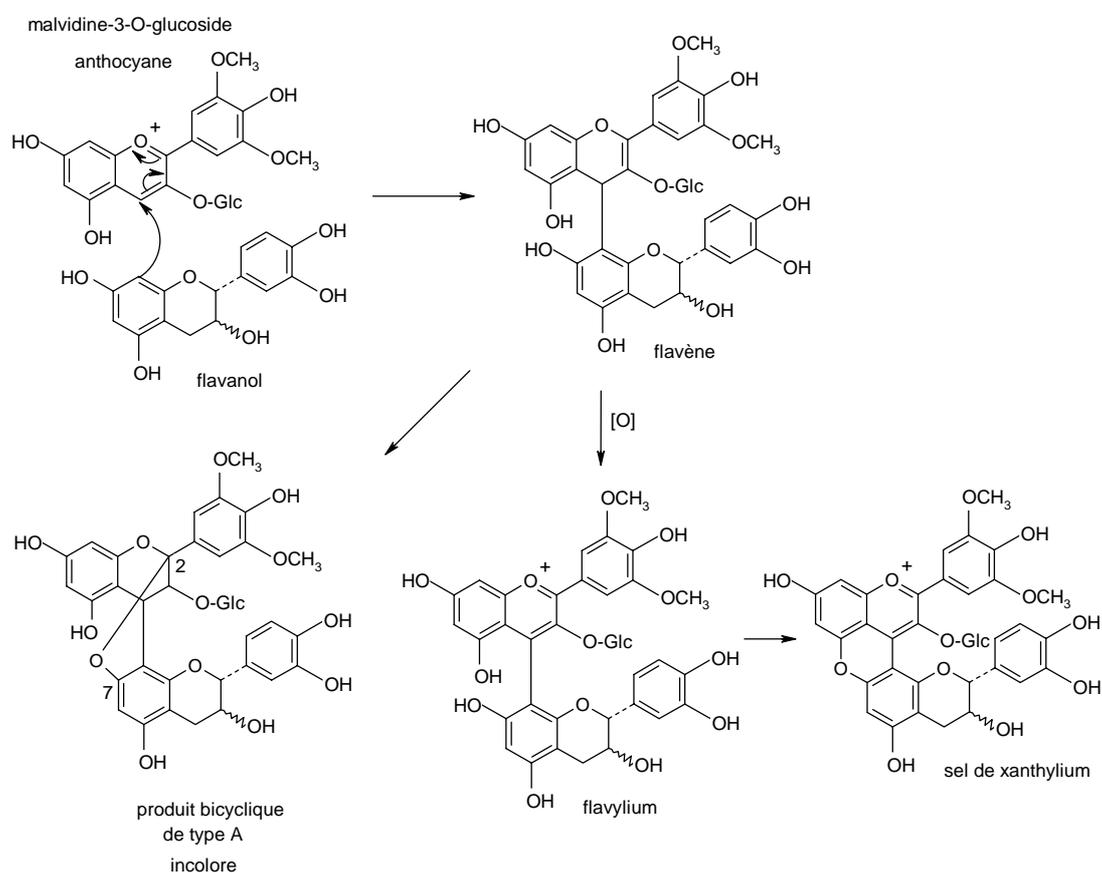
<sup>43</sup> Jurd L., *Am. J. Enol. Vitic.*, **1969**, 20, 191-195

<sup>44</sup> Somers T.C., *Phytochemistry*, **1971**, 10, 2175-2186

## II.2.a.1. Polymérisation directe entre tanins et anthocyanes

Les anthocyanes et les tanins peuvent réagir comme nucléophiles et comme électrophiles au pH du vin donc des adduits anthocyane-tanin (notés  $A^+-T$ ) et tanin-anthocyane (notés  $T-A^+$ ) peuvent être formés. Plusieurs hypothèses ont été formulées.

Pour la formation des adduits  $A^+-T$ , l'anthocyane serait sous forme cationique flavylum (annexe 2) et réagirait en tant qu'électrophile avec la molécule de tanin qui possède un caractère nucléophile (atomes de carbone 6 ou 8). L'addition nucléophile du flavanol sur le cation flavylum conduirait à la formation d'un flavène A-T qui peut être oxydé en flavylum rouge ( $A^+-T$ ) et former un sel de xanthylum coloré,<sup>45,46</sup> ou donner un produit de condensation bicyclique incolore avec une liaison de type A [A-(4-8,2-O-7)-T] (Figure 9). Ce dernier a été identifié en solution modèle et détecté récemment dans les vins.<sup>47</sup>



**Figure 9** : Mécanismes de formation des adduits anthocyane-tanin

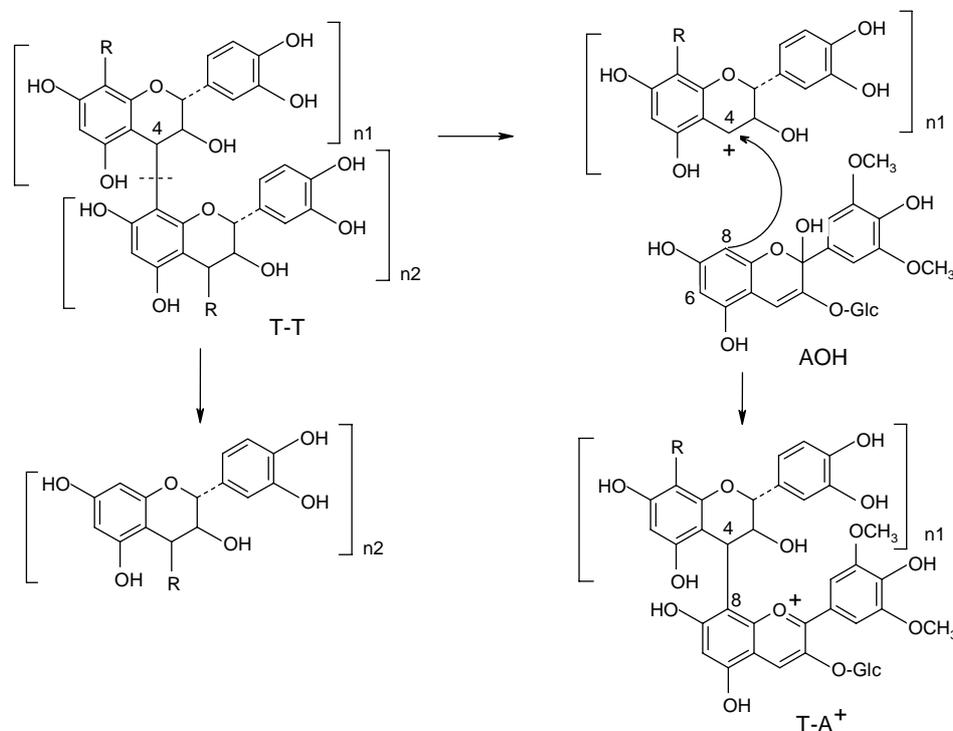
En ce qui concerne la formation des adduits  $T-A^+$ , les proanthocyanidines (notées T-T) peuvent subir un clivage d'une liaison interflavane en milieu acide et faire alors apparaître

<sup>45</sup> Liao H., Cai Y., Haslam E., *J. Sci. Food Agric.*, **1992**, 59, 299-305

<sup>46</sup> Baranowski J.D., Nagel C.W., *J. Food Sci.*, **1983**, 48, 419-421

<sup>47</sup> Remy-Tanneau S., Le Guernevé C., Meudec E., Cheyrier V., *J. Agric. Food Chem.*, **2003**, 51, 12, 3592-3597

un carbocation intermédiaire en position 4 qui peut réagir comme électrophile avec une anthocyane sous forme hémiacétal hydratée (AOH). L'adduit incolore (T-AOH) ainsi obtenu pourrait subir une déshydratation pour donner la forme flavylum rouge correspondante (T-A<sup>+</sup>) (Figure 10).<sup>31</sup>



**Figure 10 :** Mécanismes de formation des adduits tanin-anthocyane

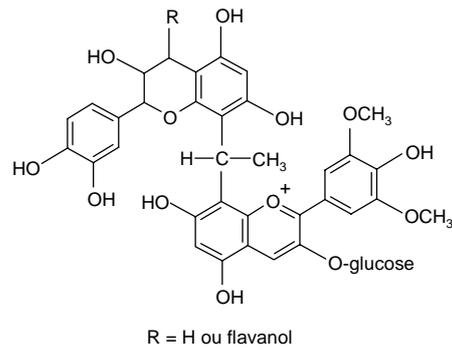
### II.2.a.2. Polymérisation indirecte entre tanins et anthocyanes par l'intermédiaire de l'acétaldéhyde

Comme nous l'avons vu précédemment pour la polymérisation indirecte des flavanols, la condensation entre les tanins et les anthocyanes par l'intermédiaire de l'acétaldéhyde naturellement présent dans les vins peut également avoir lieu selon le même principe.

Après perte d'une molécule d'eau, l'adduit éthanol-flavanol se trouve sous la forme d'un carbocation qui peut réagir avec une molécule d'anthocyane en position 6 ou 8 pour donner un dimère ou un oligomère dont les unités sont reliées par des ponts méthylméthylènes (Figure 11).<sup>48,49</sup>

<sup>48</sup> Escribano-Bailón T., Dangles O., Brouillard R., *Phytochemistry*, **1996**, *41*, 6, 1583-1592

<sup>49</sup> Es-Safi N.E., Fulcrand H., Cheynier V., Moutounet M., *J. Agric. Food Chem.*, **1999**, *47*, 2096-2102

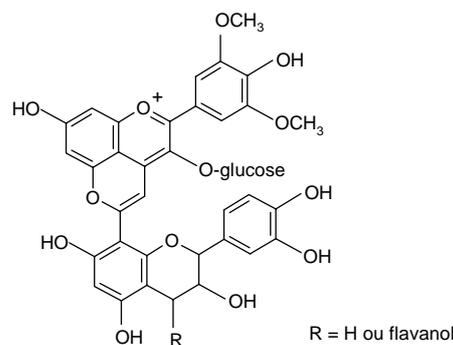


**Figure 11 :** Structure d'un pigment obtenu après condensation entre tanin et anthocyane par l'intermédiaire de l'acétaldéhyde

En solution modèle et en présence d'acétaldéhyde, les dimères formés lors de la condensation entre une catéchine et la malvidine-3-O-glucoside (anthocyane majoritaire dans les vins rouges) évoluent et donnent des oligomères parmi lesquels des adduits trimères (deux unités catéchines et une unité anthocyane, une unité catéchine et deux unités anthocyanes) et des adduits tétramères (trois unités catéchines et une unité anthocyane, deux unités catéchines et deux unités anthocyanes). Le processus de polymérisation semble s'arrêter lorsque les deux extrémités de l'oligomère sont occupées par une unité anthocyane.<sup>48</sup>

Ces pigments de couleur rouge-violet ont été identifiés dans les vins rouges.<sup>50,51</sup>

De plus, une nouvelle famille de pigments anthocyane-vinyl-flavanol (Figure 12) a pu être récemment détectée en solution modèle<sup>52</sup> et dans les vins rouges de Porto<sup>53,54</sup>.



**Figure 12 :** Structure des pigments anthocyane-vinyl-flavanol

<sup>50</sup> Dallas C., Ricardo da Silva J.M., Laureano O., *J. Agric. Food Chem.*, **1996**, *44*, 2402-2407

<sup>51</sup> Guerra C., Saucier C., Bourgeois G., Vitry C., Busto O., Glories Y., *In Vino Analytica Scientia*, Soc. Fr. Chim. Anal. Ed., **1997**, *1*, 124-127

<sup>52</sup> Francia-Aricha E.M., Guerra M.T., Rivas-Gonzalo J.C., Santos-Buelga C., *J. Agric. Food Chem.*, **1997**, *45*, 2262-2266

<sup>53</sup> Mateus N., Pascual-Teresa S., Rivas-Gonzalo J.C., Santos-Buelga C., De Freitas V.A.P., *Food Chem.*, **2002**, *76*, 335-342

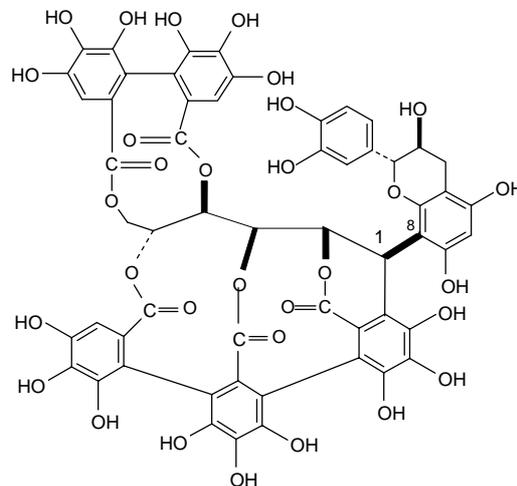
<sup>54</sup> Mateus N., Carvalho E., Carvalho A.R.F., Melo A., González-Paramás M., Santos-Buelga C., Silva A.M.S., De Freitas V., *J. Agric. Food Chem.*, **2003**, *51*, 1, 277-282

Leurs structures proviendraient de la réaction entre la malvidine-3-O-glucoside (acylée par l'acide coumarique ou non) et l'adduit 8-vinylflavanol suivant le mécanisme proposé par Fulcrand et coll.<sup>55</sup>. Les adduits vinylflavanols peuvent dériver du clivage des oligomères de flavanols liés par des ponts méthylméthylènes (Figure 7), du clivage de pigments anthocyane-méthylméthylène-flavanol (Figure 11) ou de la déshydratation de l'adduit flavanol-éthanol formé.

### II.2.b. Condensation entre flavanols et tanin hydrolysable

Les tanins complexes résultent de la condensation entre une unité de tanin hydrolysable et une unité de tanin condensé. Cette condensation conduit à la formation d'une liaison carbone-carbone entre l'atome de carbone C1 du glucose de la molécule de tanin hydrolysable et un carbone C6 ou C8 de la molécule de flavanol monomère ou de tanin condensé.<sup>15</sup>

Récemment, l'exemple de l'acutissimine A a été présenté dans la littérature : ce produit a été obtenu en solution modèle par réaction de substitution nucléophile catalysée par un acide entre la (-)-vescalagine (centre C1) (Figure 1) et la (+)-catéchine (centre C8) (Figure 13). Ce composé semble posséder des propriétés biologiques intéressantes.<sup>56</sup>



**Figure 13** : Structure d'un flavano-ellagitanin : l'acutissimine A

*La grande diversité de transformations chimiques qui ont lieu dans les vins rouges au cours de la vinification, de l'élevage et du vieillissement donne ainsi des composés plus*

<sup>55</sup> Fulcrand H., Cameira dos Santos P.J., Sarni-Manchado P., Cheynier V., Bonvin J.F., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1996**, 735-739

*stables avec des caractéristiques physico-chimiques différentes qui changent les propriétés organoleptiques des vins (couleur et goût).*

*En plus de ces réactions chimiques, les tanins peuvent s'associer et interagir avec d'autres molécules de tailles variables qui sont présentes dans le vin.*

### **III. Principales complexations des tanins**

Les tanins interagissent principalement avec d'autres composés phénoliques et avec des protéines.

#### **III.1. Complexation des tanins**

Les tanins peuvent s'auto-associer par des interactions de type stacking  $\pi$ - $\pi$  entre les cycles phénoliques des molécules. Ils forment ainsi des structures de petites tailles dont le diamètre est de l'ordre du nanomètre : ces structures correspondent à des colloïdes ou micelles.<sup>57</sup>

#### **III.2. Complexation des tanins et des protéines**

Les tanins peuvent également interagir avec les protéines. Cette propriété est utilisée lors de la vinification, notamment lors du collage<sup>58</sup> qui consiste à ajouter une substance (blanc d'œuf battu, gélatine par exemples) capable de se déposer en entraînant les particules colloïdales en suspension. Lors de la dégustation des vins, ces interactions entre les protéines de la salive, riches en proline,<sup>59,60,61</sup> et les polyphénols sont également très importantes. La formation d'agrégats tanin-protéine insolubles qui précipitent empêcherait la lubrification du palais, entraînant la contraction des muqueuses et une sensation de sécheresse en bouche caractéristique de l'astringence.<sup>62,63</sup>

Selon Haslam<sup>63</sup>, les polyphénols se répartissent en mono-couche à la surface des protéines, ces protéines s'agglomèrent puis précipitent. Charlton<sup>64</sup> a proposé un autre modèle

---

<sup>56</sup> Quideau S., Jourdes M., Saucier C., Glories Y., Pardon P., Baudry C., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2003**, 42, 48, 6012-6014

<sup>57</sup> Saucier C., *Thèse de l'Université Bordeaux II*, **1997**

<sup>58</sup> Lagune L., *Thèse de l'Université Bordeaux II*, **1994**

<sup>59</sup> Hagerman A.E., Butler L.G., *J. Agric. Food Chem.*, **1980**, 28, 944-947

<sup>60</sup> Hagerman A.E., Butler L.G., *J. Biol. Chem.*, **1981**, 256, 4494-4497

<sup>61</sup> Luck G., Liao H., Murray N.J., Grimmer H.R., Warminski E.E., Williamson M.P., Lilley T.H., Haslam E., *Phytochemistry*, **1994**, 37, 2, 357-371

<sup>62</sup> Bate-Smith E.C., *Food*, **1954**, 23, 124-135

<sup>63</sup> Haslam E., *J. Chem. Soc., Chem. Comm.*, **1981**, 309-311

<sup>64</sup> Charlton A.J., Baxter N.J., Khan M.L., Moir A.J.G., Haslam E., Davies A.P., Williamson M.P., *J. Agric. Food Chem.*, **2002**, 50, 6, 1593-1601

dans lequel les tanins se fixent dans un premier temps sur une protéine puis l'interaction d'un même tanin avec plusieurs protéines entraîne la formation d'un complexe insoluble qui précipite.

La nature même des associations tanin-protéine est sujette à un débat scientifique. Des interactions de différentes natures ont été proposées dans la littérature : des interactions hydrophobes, des liaisons hydrogène, des interactions de type ionique ou covalente.<sup>65</sup>

En effet, certains auteurs supposent que ces interactions se font essentiellement par formation de liaison hydrogène entre les groupes hydroxyles du composé phénolique et la fonction carbonyle du peptide.<sup>60,61,66,67</sup> D'autres pensent plutôt qu'il s'agit d'un stacking hydrophobe entre les cycles phénoliques des tanins et le cycle pyrrolidine de la proline.<sup>16,68,69,70</sup>

De plus, plusieurs facteurs semblent influencer ces interactions entre les tanins et les protéines. Nous pouvons citer en particulier, le poids moléculaire des tanins (la sensation d'astringence semble augmenter jusqu'à un degré de polymérisation des procyanidines égal à 7 puis diminue au-delà de l'heptamère),<sup>71,72,73</sup> le nombre de sites capables de s'associer avec les protéines,<sup>74</sup> les concentrations relatives en tanins et en protéines, la nature des liaisons interflavanes et des unités monomères,<sup>75,76</sup> le taux de galloylation<sup>70</sup> ainsi que la conformation des polyphénols qui doit être la plus mobile possible.<sup>74,76</sup>

#### IV. Structure tridimensionnelle des tanins

La structure tridimensionnelle des tanins dépend non seulement de la régiochimie et de la stéréochimie des liaisons interflavanes mais aussi de la conformation des hétérocycles.

<sup>65</sup> Asano K., Shinagawa K., Hashimoto N., *Am. Soc. Brew. Chem.*, **1982**, 40, 4, 147-154

<sup>66</sup> Haslam E., *Biochem. J.*, **1974**, 139, 285-288

<sup>67</sup> Simon C., Barathieu K., Laguerre M., Schmitter J.M., Fouquet E., Pianet I., Dufourc E.J., *Biochemistry*, **2003**, 42, 35, 10385-10395

<sup>68</sup> Oh H.I., Hoff J.E., Armstrong G.S., Haff L.A., *J. Agric. Food Chem.*, **1980**, 28, 394-398

<sup>69</sup> Murray N.J., Williamson M.P., Lilley T.H., Haslam E., *Eur. J. Biochem.*, **1994**, 219, 923-935

<sup>70</sup> Charlton A.J., Baxter N.J., Lilley T.H., Haslam E., McDonald C.J., Williamson M.P., *FEBS Letters*, **1996**, 382, 289-292

<sup>71</sup> Okuda T., Mori M., Hatano T., *Chem. Pharm. Bull.*, **1985**, 33, 4, 1424-1433

<sup>72</sup> Kawamoto H., Nakatsubo F., Murakami K., *J. Wood Chem. Technol.*, **1990**, 10, 1, 59-74

<sup>73</sup> Lea A.G.H., *Plant Polyphenols : Synthesis, Properties, Significance*, Eds Hemingway R.W., Laks P.E., **1992**

<sup>74</sup> McManus J.P., Davies K.G., Beart J.E., Gaffney S.H., Lilley T.H., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **1985**, 1429-1438

<sup>75</sup> Kawamoto H., Nakatsubo F., Murakami K., *Mokuzai Gakkaishi*, **1991**, 37, 8, 741-747

<sup>76</sup> De Freitas V., Mateus N., *J. Agric. Food Chem.*, **2001**, 49, 940-945

### IV.1. Régiochimie des liaisons interflavanes

Les tanins résultent de la condensation entre une unité flavanol électrophile (en position 4) et une unité flavanol possédant un caractère nucléophile (sommets C6 et C8). Les polyphénols sont donc constitués de liaisons interflavanes de type C4-C6 et/ou C4-C8. Les liaisons C4-C8 sont beaucoup plus fréquemment rencontrées au sein des procyanidines naturelles des raisins et du vin. Cela serait dû au fait que le sommet C8 du flavanol, stériquement moins encombré que le sommet C6, serait plus réactif vis-à-vis des électrophiles.<sup>21,77</sup>

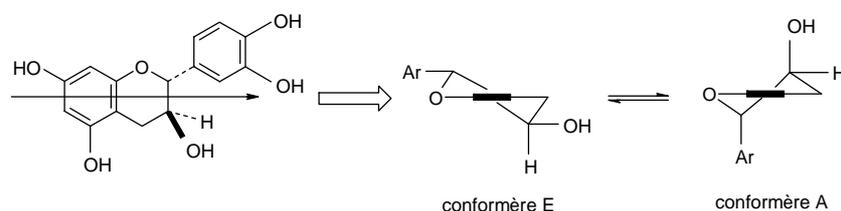
### IV.2. Stéréochimie des liaisons interflavanes

Les liaisons interflavanes des tanins peuvent adopter deux stéréochimies différentes. Si l'unité inférieure est en dessous du plan de l'hétérocycle C de l'unité supérieure, la stéréochimie de la liaison interflavane est  $\alpha$ . Par contre, si l'unité inférieure est au dessus du plan de l'hétérocycle C de l'unité supérieure, la stéréochimie est  $\beta$ .

Cependant, cette stéréochimie est contrôlée par la nature du monomère considéré : lorsque l'unité supérieure des procyanidines naturelles est une catéchine, la liaison interflavane est de type  $4\alpha,6$  ou  $4\alpha,8$  (configuration 2R,3S,4S) alors que quand l'unité supérieure est une épicatechine, la liaison interflavane est de type  $4\beta,6$  ou  $4\beta,8$  (configuration 2R,3R,4R).

### IV.3. Conformation de l'hétérocycle

Le cycle pyrane C des flavanols peut adopter principalement deux conformations : la forme E (cycle catéchol B en position équatoriale) et la forme A (cycle B en position axiale) (Figure 14). Le cycle C confère ainsi aux molécules de tanins une certaine flexibilité.



**Figure 14** : Conformères E et A de la catéchine

La barrière énergétique de conversion entre ces deux conformères étant égale à 5-6 kcal.mol<sup>-1</sup>, l'échange est rapide à température ambiante et à l'échelle de la RMN : une valeur

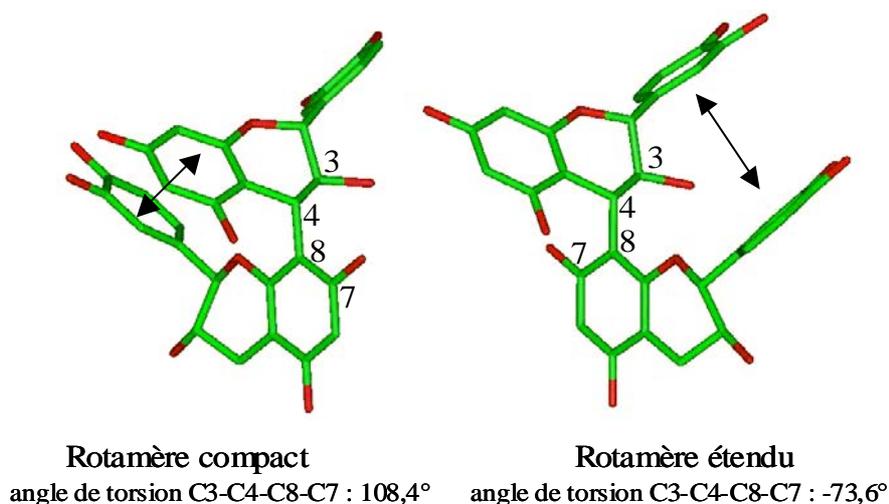
<sup>77</sup> Roux D.G., Ferreira D., *Pure and Appl. Chem.*, **1982**, 54, 12, 2465-2478

moyenne apparaît sur les spectres RMN,<sup>78</sup> ce qui rendra plus délicate la détermination non ambiguë de la stéréochimie des liaisons interflavanes (Partie 1 IV.5.c.).

#### IV.4. Isomérisation rotationnelle

Les interactions stériques entre les substituants autour de la liaison interflavane créent un empêchement à la libre rotation et sont donc à l'origine d'une barrière énergétique de rotation.<sup>78,79,80</sup>

Dans l'acétone, les procyanidines acétylées qui possèdent une unité supérieure de configuration 2,3-cis (épicatechine) présentent une barrière énergétique de rotation plus faible que les procyanidines acétylées de configuration 2,3-trans (catéchine) pour l'unité supérieure.<sup>81</sup> Ainsi, pour les procyanidines acétylées possédant une unité supérieure catéchine, l'échange est suffisamment lent à l'échelle de la RMN et à température ambiante donc plusieurs groupes de signaux dont l'intensité est proportionnelle à l'abondance relative de chaque rotamère peuvent être observés en RMN.<sup>78,80</sup> Ces rotamères sont caractérisés par l'angle dièdre C3-C4-C8-C7 (Figure 15).<sup>81,82</sup>



**Figure 15 :** Les deux formes rotamères de la procyanidine B3 (catéchine-4 $\alpha$ ,8-catéchine)

Ainsi, pour le dimère B3 acétylé, deux rotamères sont observés : un rotamère compact et un rotamère étendu. Pour le rotamère étendu, les deux cycles catéchols sont face à face, favorisant ainsi les interactions de type stacking  $\pi$ - $\pi$  (flèche sur la Figure 15). Pour le rotamère compact, ces cycles catéchols sont orientés dans des directions opposées mais des

<sup>78</sup> Weinges K., Marx H.D., Göritz K., *Chem. Ber.*, **1970**, 103, 2336-2343

<sup>79</sup> Jurd L., Lundin R., *Tetrahedron*, **1968**, 24, 2653-2661

<sup>80</sup> Thompson R.S., Jacques D., Haslam E., Tanner R.J.N., *J. Chem. Soc., Perkin Trans 1*, **1972**, 1387-1399

<sup>81</sup> Foo L.Y., Porter L.J., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1983**, 1535-1543

<sup>82</sup> Fletcher A.C., Porter L.J., Haslam E., Gupta R.K., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1977**, 1628-1637

interactions de type stacking  $\pi$ - $\pi$  (flèche sur la Figure 15) entre le cycle catéchol de l'unité inférieure et le cycle phloroglucinol de l'unité supérieure apparaissent.

Par contre, lorsqu'une épicatechine est l'unité supérieure de la procyanidine acétylée, un signal moyen est observé à température ambiante.<sup>81</sup>

#### IV.5. Caractérisation de la structure tridimensionnelle

La caractérisation de la structure tridimensionnelle des tanins est souvent difficile car ces composés ont des poids moléculaires importants. Mais comme nous l'avons vu précédemment, une bonne connaissance de leur structure est indispensable pour pouvoir étudier les complexations tanin-tanin et tanin-protéine. Différents outils analytiques peuvent cependant être utilisés pour déterminer la structure des polyphénols. L'utilisation de la cristallographie aux RX n'est souvent pas possible à cause de la faible aptitude des proanthocyanidines et de leurs dérivés à cristalliser.<sup>83</sup> Actuellement, la technique qui paraît incontournable pour déterminer la structure des tanins est la RMN et en particulier, la RMN 2D.<sup>84,85</sup> Différentes expériences de RMN 1D (spectres  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT) et de RMN 2D permettent d'obtenir des informations importantes sur la structure tridimensionnelle des procyanidines.

##### IV.5.a. Identification des systèmes de spins

Ainsi, en ce qui concerne les expériences de RMN 2D, les expériences COSY et TOCSY permettent d'attribuer les différents systèmes de spins grâce à des corrélations  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ . Toutes les résonances des atomes de carbone peuvent quant à elles être attribuées à partir d'expériences HMQC et HMBC qui conduisent à des spectres de corrélation  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  : le spectre HMQC présente des corrélations en  $^1\text{J}$  entre les protons et les carbones, il est donc possible d'attribuer les carbones primaires, secondaires et tertiaires alors que le spectre HMBC fait apparaître des corrélations en  $^2\text{J}$  et  $^3\text{J}$ , permettant ainsi de déterminer les résonances des carbones quaternaires. Quant aux expériences NOESY et ROESY (corrélations  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ ), elles mettent en évidence la proximité des protons dans l'espace.

A partir de toutes les données obtenues en RMN, il est ainsi possible de déterminer la régiochimie et la stéréochimie des liaisons interflavanes ainsi que la conformation des hétérocycles et la proportion des différents rotamères.

<sup>83</sup> Viswanadhan V.K.N., Mattice W.L., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **1987**, 739-743

<sup>84</sup> Balas L., *Thèse de l'Université Bordeaux II*, **1992**

#### IV.5.b. Détermination de la régiochimie de la liaison interflavane

La détermination non ambiguë de la liaison interflavane est un élément clé de la caractérisation structurale des procyanidines. Pour déterminer celle-ci, l'ensemble des protons et des carbones doivent être attribués à partir des différentes expériences citées précédemment. La détermination des résonances des carbones quaternaires 5, 7 et 8a des cycles phloroglucinols peut être délicate car ils résonnent au-delà de 150 ppm dans une zone étroite d'environ 4 ppm. L'enregistrement d'une HMBC sélective, qui consiste à exciter sélectivement la région des atomes de carbone qui nous intéresse (entre 140 et 160 ppm pour les carbones quaternaires 5, 7 et 8a), peut permettre d'obtenir une meilleure résolution et ainsi de mieux visualiser les protons couplés avec ces carbones (annexe 3). A titre d'exemple, la démarche ayant permis d'attribuer la régiochimie de la liaison interflavane du dimère B3 est développée dans la troisième partie (II.8.).

#### IV.5.c. Détermination de la stéréochimie de la liaison interflavane et de la conformation de l'hétérocycle

La RMN permet également d'obtenir des données intéressantes sur la stéréochimie des liaisons interflavanes et sur la conformation adoptée par les hétérocycles. En effet, à partir des constantes de couplage, il sera possible :

- d'évaluer les proportions des conformères E et A
- de préciser la nature de la liaison interflavane en déterminant la stéréochimie du carbone 4
- de préciser la nature (catéchine ou épicatechine) de l'unité étudiée en déterminant la stéréochimie du carbone 3

Les valeurs des constantes de couplage, déterminées sur les spectres RMN  $^1\text{H}$  et qui dépendent de l'angle dièdre  $\theta$  observé entre les protons (relation de Karplus), correspondent aux valeurs moyennes des constantes de couplage des conformères E et A. Grâce à la relation de Steynberg,<sup>86</sup> il est alors possible de déterminer la proportion de procyanidines ayant les cycles catéchols en position équatoriale (conformère E) et donc d'en déduire la proportion de procyanidine ayant les cycles catéchols en position axiale (conformère A) :

$J_{\text{HH}}$  (observée en RMN) =  $EJ_{\text{HH}} x + AJ_{\text{HH}} (1-x)$ , où  $EJ_{\text{HH}}$  représente la constante de couplage du conformère E ;  $AJ_{\text{HH}}$ , la constante de couplage du conformère A (ces deux constantes étant

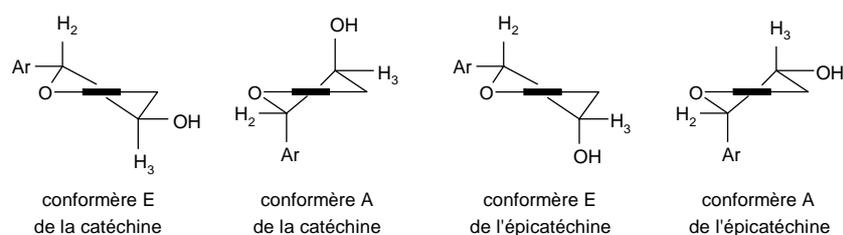
<sup>85</sup> Balas L., Vercauteren J., *Magn. Reson. Chem.*, **1994**, 32, 386-393

<sup>86</sup> Steynberg J.P., Brandt E.V., Hoffman M.J.H., Hemingway R.W., Ferreira D., *Plant Polyphenols : Synthesis, Properties, Significance*, Eds Hemingway R.W., Laks P.E., Plenum Press, New York, **1992**, p 501-520

déterminées en mécanique moléculaire après minimisation des structures) et x, la proportion de conformère équatorial.

En solution, et en particulier en solution aqueuse, le conformère E est majoritaire pour la catéchine (E:A 62:38) et pour l'épicatéchine (86:14).<sup>87</sup> De plus, la substitution sur l'atome de carbone C4 de la catéchine et de l'épicatéchine par un groupement hydroxyle ou aryle favorise fortement la conformation E. Ainsi, pour les dimères et les oligomères, les unités supérieure et d'extension adoptent préférentiellement une conformation équatoriale.

La prise en compte de cet équilibre forme A-forme E est primordiale car elle influence la valeur de la constante de couplage  $J_{23}$  et peut conduire à des erreurs d'interprétation de la stéréochimie du carbone 3 et donc à des erreurs d'attribution de la nature des unités flavanes. En théorie, les valeurs des constantes de couplage entre les protons des hétérocycles  $J_{23}$  devraient permettre de différencier la catéchine et l'épicatéchine. Ainsi pour le conformère E, une constante de couplage  $J_{23}$  élevée (entre 7 et 10 Hz) indique que les protons H2 et H3 sont en trans et qu'il s'agit de la catéchine alors qu'une constante plus faible caractérise une orientation cis entre ces deux protons et donc l'épicatéchine. Par contre, pour le conformère A de l'épicatéchine, la valeur de la constante de couplage entre les protons H2 et H3 est moyenne (3-5 Hz) et pour le conformère A de la catéchine, cette constante de couplage  $J_{23}$  est faible. Ceci signifie que la valeur de l'angle dièdre d'une catéchine avec le cycle catéchol en position axiale est proche de celui d'une épicatéchine avec le cycle catéchol en position équatoriale (Figure 16).

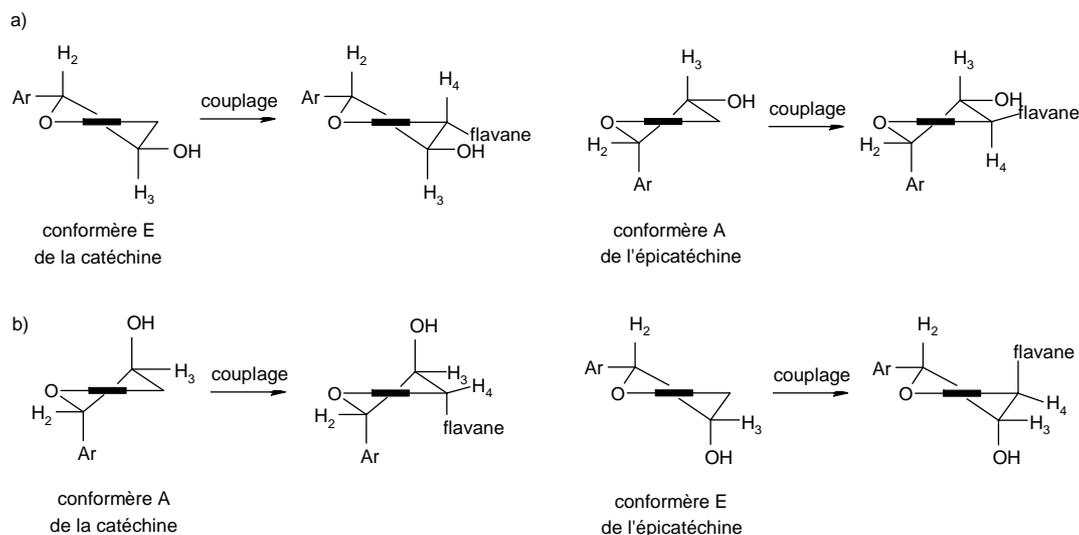


**Figure 16 :** Conformères E et A de la catéchine et de l'épicatéchine

Quant à la valeur de la constante de couplage entre les protons H3 et H4, elle permet dans la plupart des cas de déterminer la stéréochimie des liaisons interflavanes. Une valeur élevée de la constante de couplage peut correspondre à une unité catéchine supérieure ayant un cycle catéchol en position équatoriale ou à une unité épicatéchine supérieure possédant un cycle catéchol en position axiale. Par contre, une faible constante de couplage  $J_{43C}$  peut

<sup>87</sup> Porter L.J., Wong R.Y., Benson M., Chan B.G., Vishwanadhan V.N., Gandour R.D., Mattice W.L., *J. Chem. Research (S)*, **1986**, 86-87

correspondre à une unité supérieure catéchine avec un cycle catéchol en position axiale ou à une épicatechine ayant le cycle catéchol en position équatoriale (Figure 17).



**Figure 17 :** Conformations à l'origine d'une constante de couplage  $J_{43C}$  élevée (a) ou faible (b) pour la catéchine et l'épicatechine

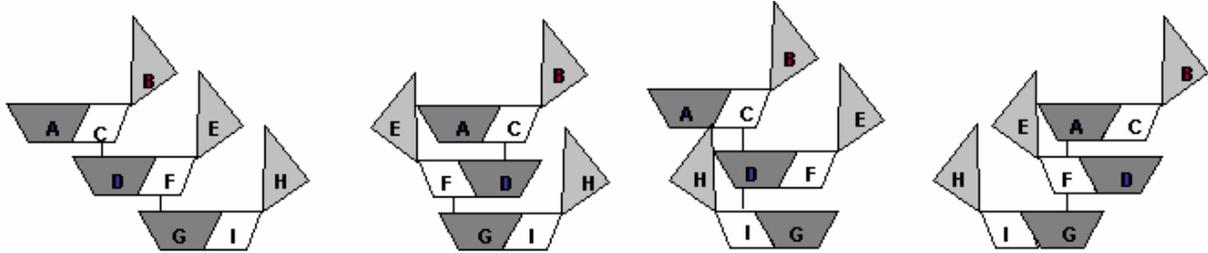
Les expériences NOESY et ROESY, qui permettent de déterminer l'intensité des effets NOE, peuvent mettre en évidence la proximité des protons dans l'espace car l'intensité des effets NOE est proportionnelle à la distance entre les protons considérés à la puissance 6. Ces expériences permettent ainsi de confirmer la stéréochimie des liaisons interflavanes et de déterminer la structure tridimensionnelle du rotamère majoritaire, c'est-à-dire de visualiser si le produit adopte une conformation compacte ou étendue.

#### IV.5.d. Isomérisme rotationnel

La caractérisation des oligomères est rendue plus complexe par la présence d'isomères rotationnels dont le rapport varie en fonction du solvant. Par exemple, alors que les proportions de rotamère étendu et de rotamère compact pour la procyanidine B3 (catéchine-4 $\alpha$ ,8-catéchine) sont respectivement de 8 pour 10 dans des solvants organiques (acétone et DMSO), seules des traces de rotamère étendu sont observées dans l'eau. Pour la procyanidine B4 (catéchine-4 $\alpha$ ,8-épicatechine), la proportion de rotamères étendu et compact change également selon la nature du solvant : alors que le rotamère étendu est légèrement préféré dans des solvants organiques (10:7), le rotamère étendu est largement minoritaire dans l'eau (2:10).<sup>88</sup>

<sup>88</sup> Hatano T., Hemingway R.W., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **1997**, 1035-1043

Le nombre de rotamères possibles étant de  $2^{n-1}$  (n représentant le nombre d'unités flavanes), la situation devrait être plus complexe pour les trimères et les tétramères. Par exemple, pour les trimères, l'empêchement à la libre rotation autour des deux liaisons interflavanes peut engendrer l'existence des quatre rotamères suivants (Figure 18).



**Figure 18 :** Schéma des quatre rotamères possibles pour les trimères

*Après avoir regroupé toutes les informations déduites des différents spectres RMN, une attribution complète des résonances des atomes d'hydrogène et de carbone, et par conséquent une structure, peut être proposée pour les procyanidines. Une étude en modélisation moléculaire est généralement menée en parallèle pour confirmer les structures tridimensionnelles proposées (annexe 4).*

*Ainsi au cours de la vinification, de l'élevage et du vieillissement, les caractéristiques organoleptiques des vins changent : la principale origine de ce phénomène provient de l'existence de différentes réactions de condensation entre les tanins et d'autres molécules présentes dans le vin.*

*Afin d'étudier leurs comportements envers ces molécules et pour tenter de mieux comprendre la sensation d'astringence qui peut être ressentie lors des dégustations de vin, les tanins doivent être parfaitement caractérisés. Pour cela, il est nécessaire d'obtenir les procyanidines individuellement. Deux voies peuvent être envisagées : la synthèse et la purification d'extraits de pépins de raisin. Or l'extraction de pépins de raisin par chromatographie liquide préparative est une méthode longue et fastidieuse qui ne permet d'isoler que de très faibles quantités de procyanidines. Donc la synthèse est beaucoup plus adaptée : elle permet d'obtenir des quantités suffisantes de standards pour réaliser leurs caractérisations et pour comparer leurs profils chromatographiques avec ceux de pépins ou de vins.*



**Seconde Partie**

**Synthèse des**

**Procyanidines dans la**

**littérature**



Dans les raisins et dans les vins, la majorité des tanins correspondent à des procyanidines reliées entre elles par des liaisons interflavanes 4,8. Dans cette partie, nous allons donc nous intéresser aux différentes méthodes de synthèse proposées dans la littérature qui traitent des proanthocyanidines dont les unités monomères sont liées par des liaisons 4,8.

Plusieurs voies sont envisageables : les couplages organométalliques, les additions nucléophiles et les substitutions nucléophiles. Une comparaison a été effectuée précédemment au laboratoire<sup>89</sup> : les couplages organométalliques apparaissent beaucoup plus limités pour la synthèse de tanins. Par conséquent, dans ce chapitre, nous aborderons uniquement les synthèses de procyanidines faisant intervenir une addition nucléophile ou une substitution nucléophile.

La synthèse consiste donc à condenser une unité flavane possédant un caractère électrophile (le carbone benzylique 4 de l'hétérocycle pyrane) et une unité flavane présentant un caractère nucléophile (les sommets 6 et 8 du cycle phloroglucinol). Dans la littérature, cette condensation est effectuée selon ce principe après protection ou non des fonctions phénoliques. Plusieurs paramètres doivent être contrôlés au cours de cette étape : la régiochimie et la stéréochimie de la liaison interflavane ainsi que le degré d'oligomérisation.

## I. Couplages entre unités non protégées

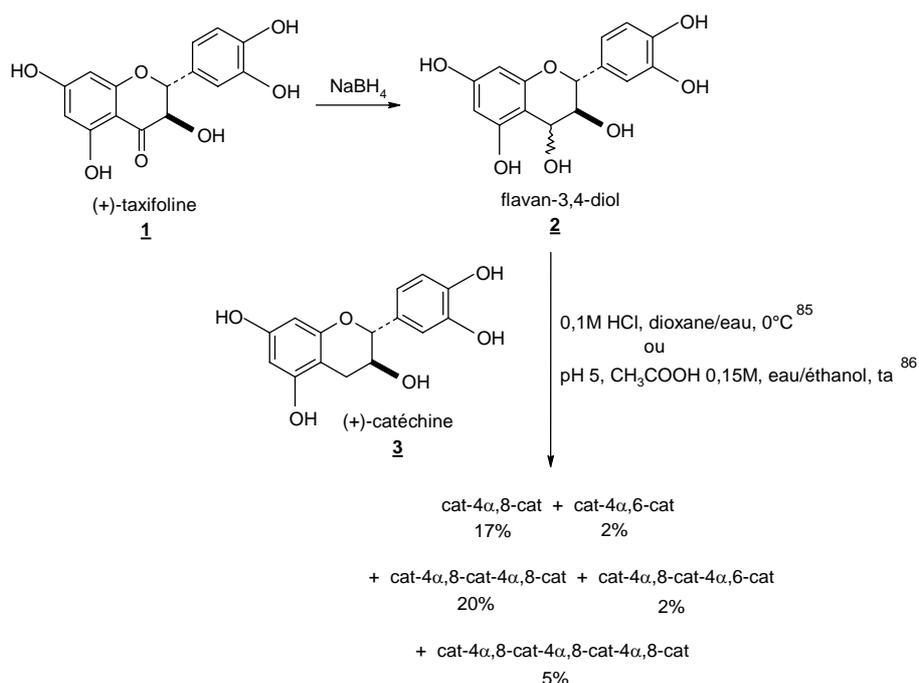
La première synthèse d'un dimère a été effectuée en milieu légèrement acide par Geissman et coll.<sup>90</sup> en 1966 entre une quantité stoechiométrique de flavan-3,4-diol et de (+)-catéchine. Delcour et coll.<sup>91</sup> présentent à nouveau cette voie de synthèse en 1983 : après réduction de la (+)-taxifoline **1**, le flavan-3,4-diol **2** permet de générer en milieu acide un carbocation en position 4 qui peut réagir avec un flavan-3-ol nucléophile, la (+)-catéchine **3** (Figure 19).

---

<sup>89</sup> Barathieu K., *Thèse de l'Université Bordeaux I*, **2002**

<sup>90</sup> Geissman T.A., Yoshimura N.N., *Tetrahedron Lett.*, **1966**, 24, 2669-2673

<sup>91</sup> Delcour J.A., Ferreira D., Roux D.G., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, **1983**, 1711-1717



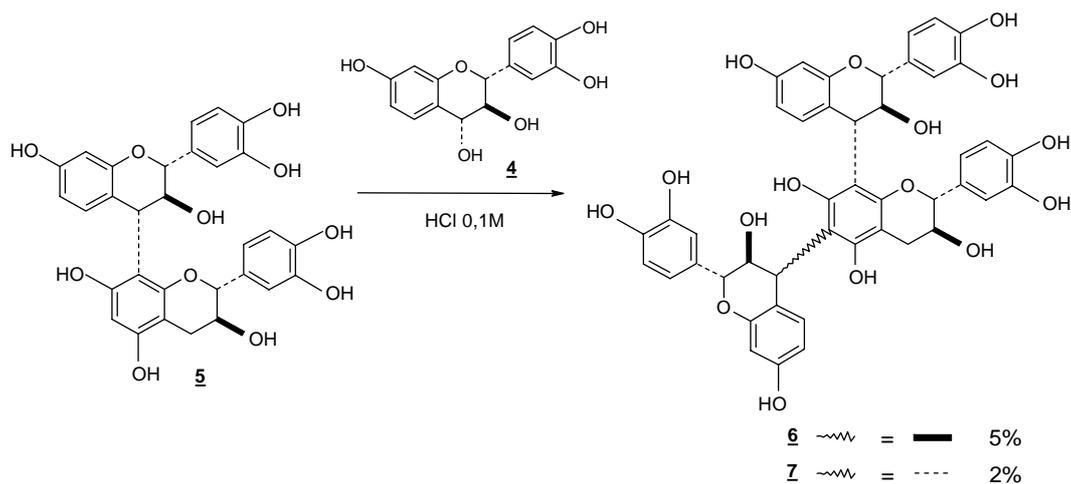
**Figure 19 :** Condensation entre unités non protégées selon les conditions de Geissman et de Delcour

De nombreux dimères et oligomères sont formés à l'issue de cette réaction. Les oligomères proviennent de l'attaque répétée de l'unité électrophile sur les dimères et trimères précédemment formés. La méthode n'est pas régiosélective et le degré d'oligomérisation n'est pas contrôlé. Les rendements obtenus sont donc faibles.

Ces auteurs ont ensuite réalisé la même réaction en utilisant un excès d'unité nucléophile (5 équivalents) : dans ces conditions, le couplage est plus efficace, la régiosélectivité est améliorée mais n'est pas totale.

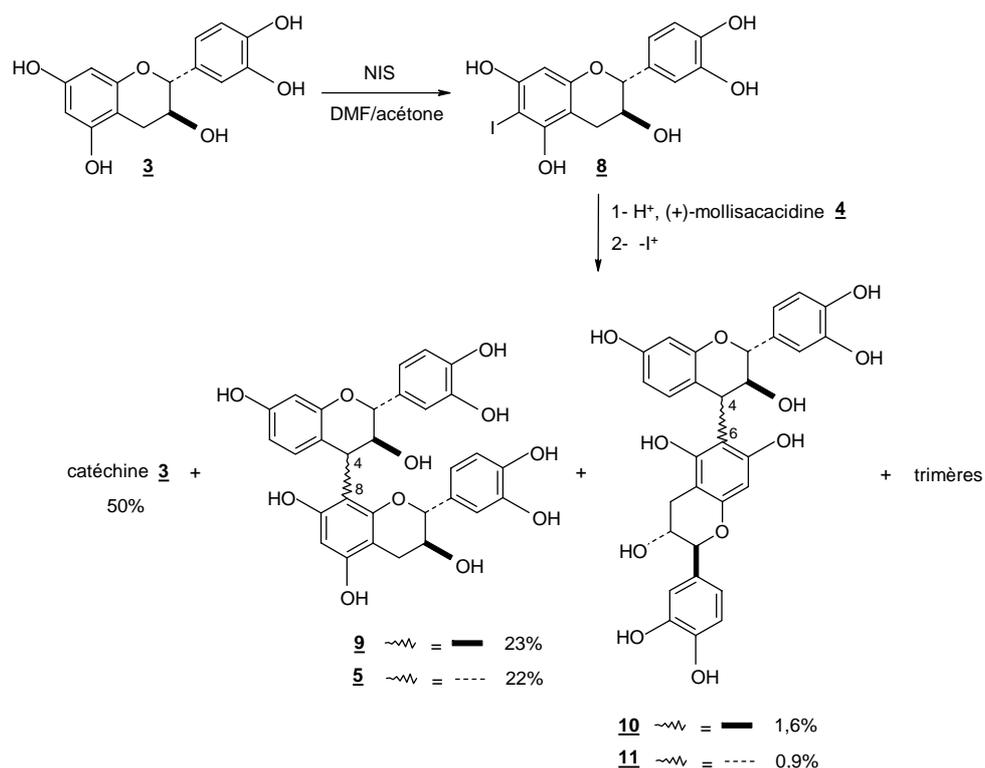
Selon une méthode analogue à celle de Geissman et coll., Roux et coll.<sup>92</sup> ont proposé la première synthèse d'un trimère en 1982 : ils ont fait réagir en milieu légèrement acide, un flavan-3,4-diol, la (+)-mollisacacidine **4**, avec le dimère **5**. Deux diastéréoisomères **6** et **7** sont obtenus respectivement avec des rendements de 5% et 2% (Figure 20).

<sup>92</sup> Botha J.J., Viviers P.M., Young D.A., Du Preez I.C., Ferreira D., Roux D.G., Hull W.E., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1982**, 527-533



**Figure 20** : Première synthèse d'un trimère en milieu acide

Young et coll.<sup>93</sup> ont quant à eux amélioré la régiosélectivité de formation de la liaison interflavane de type C4-C8 en bloquant la position 6 de la catéchine par iodation (Figure 21).

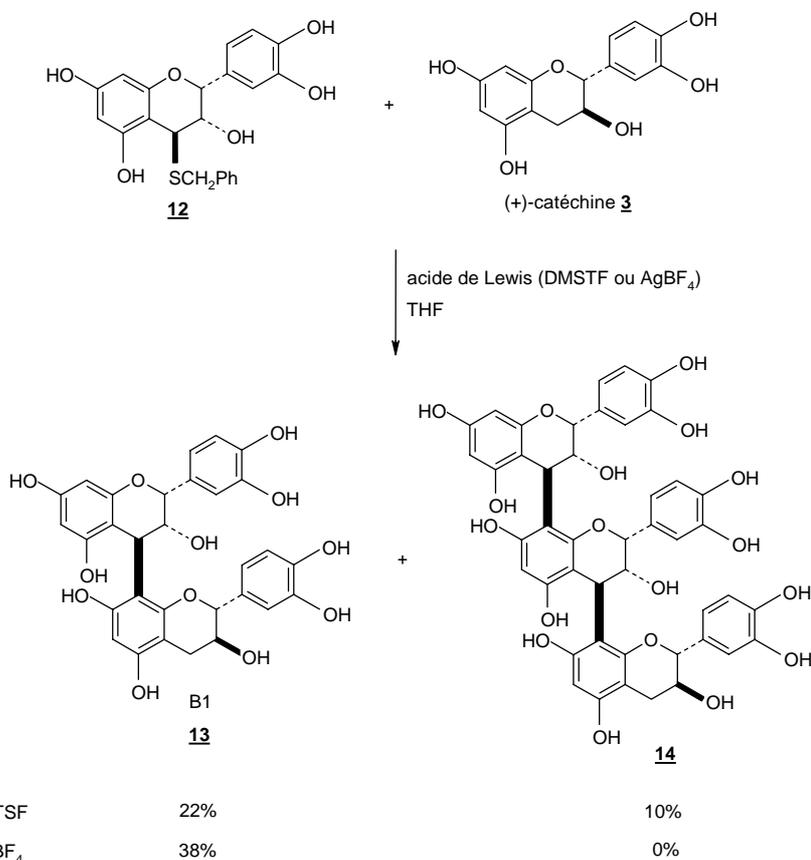


**Figure 21** : Condensation entre un flavan-3,4-diol et la catéchine après iodation en position 6 de la catéchine

La présence de dimères de régiochimie 4,6 indique donc qu'une déiodation partielle a eu lieu lors de l'étape de couplage.

<sup>93</sup> Young D.A., Cronjé A., Botes A.L., Ferreira D., Roux D.G., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1985**, 2521-2527

Plus récemment, la condensation entre un dérivé 4-thioéther de l'épicatéchine **12** et la catéchine **3** a été effectuée en présence d'un acide de Lewis (le diméthyl(méthylthio)sulfonium tétrafluoroborate noté DMSTF ou AgBF<sub>4</sub>) (Figure 22).<sup>94</sup>



**Figure 22 :** Synthèse d'un dimère à partir d'unités non protégées en présence d'acide de Lewis

La formation de régioisomères 4,6 et d'oligomères supérieurs aux trimères n'est pas détectée contrairement à ce qui avait été observé pour la condensation d'un flavan-3,4-diol avec la catéchine en milieu légèrement acide (Figure 19). De plus, cette réaction de couplage semble stéréosélective.

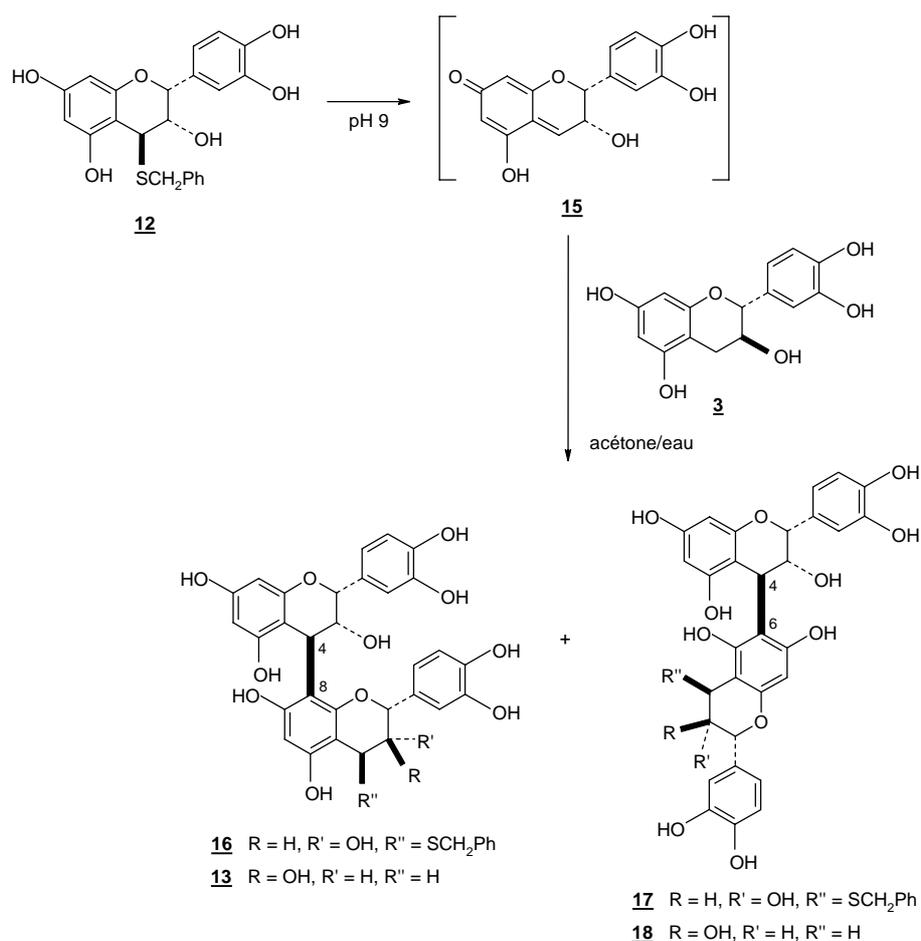
Cette condensation en présence d'AgBF<sub>4</sub> a ensuite été appliquée à la synthèse du dimère B2 (épicatéchine-4β,8-épicatéchine) et à la synthèse du trimère C2 (catéchine-4α,8-catéchine-4α,8-catéchine) avec des rendements respectifs de 37% et 26%.

Cette voie de synthèse est donc caractérisée par un bon contrôle du degré d'oligomérisation, de la régiosélectivité et de la stéréosélectivité lors de la formation de la liaison interflavane de type 4,8. Par contre, l'inconvénient de cette synthèse provient de

<sup>94</sup> Steynberg P.J., Nel R.J.J., Van Rensburg H., Bezuidenhout B.C.B., Ferreira D., *Tetrahedron*, **1998**, 54, 8153-8158

l'utilisation de benzylmercaptan, un produit nocif, pour préparer l'unité électrophile **12**, de la difficulté d'accès à ce précurseur **12** non protégé ainsi que de la fragilité des unités non protégées en milieu acide.

Une méthode de couplage entre unités non protégées a également été décrite en milieu basique.<sup>95</sup> Le dérivé thioéther de l'épicatéchine **12** est transformé en milieu basique en intermédiaire méthylène quinone **15** qui va réagir avec la catéchine **3** pour former quatre dimères dont les rendements ne sont pas précisés (Figure 23).



**Figure 23 :** Condensation entre unités non protégées en milieu basique

Le même schéma réactionnel a été utilisé l'année suivante pour synthétiser des trimères.<sup>96</sup> Dans ces conditions, un bon contrôle du degré d'oligomérisation est obtenu.

Cependant, en milieu basique, l'ouverture de l'hétérocycle C peut conduire à la formation d'acide catéchinique et à l'épimérisation de la catéchine au niveau du carbone 2 (Figure 26).<sup>97,98</sup>

<sup>95</sup> Hemingway R.W., Foo L.Y., *J. Chem. Soc., Chem. Comm.*, **1983**, 18, 1035-1036

<sup>96</sup> Foo L.Y., Hemingway R.W., *J. Chem. Soc., Chem. Comm.*, **1984**, 2, 85-86

D'une manière générale, les réactions de couplage entre unités non protégées conduisent à un mélange de dimères et d'oligomères, obtenus avec de faibles rendements et quelquefois à des produits de dégradation dûs à la fragilité des procyanidines. De plus, les catéchines et épicatechines non protégées substituées en position 4 ne sont pas facilement disponibles : ces composés doivent être préparés par réduction d'un produit naturel onéreux, la (+)-taxifoline **1**, à partir d'un produit nocif (le benzylmercaptan) ou par thiolysse des fractions de proanthocyanidines oligomères naturelles.

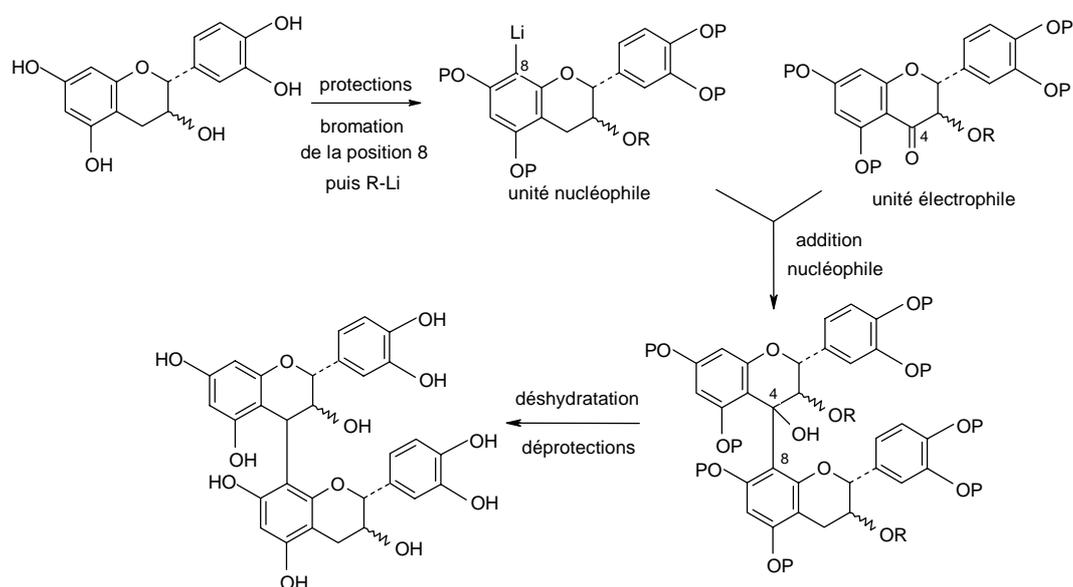
Pour remédier à ces problèmes, les réactions de condensation ont été effectuées à partir de monomères protégés.

## II. Couplages entre unités protégées

La synthèse de procyanidines dimères consiste à condenser une unité flavane protégée (unité nucléophile) et une unité flavane protégée activée en position 4 (unité électrophile).

### II.1. Stratégies de synthèse

Deux stratégies peuvent être envisagées : effectuer une addition nucléophile (Figure 24) ou une substitution nucléophile (Figure 25).

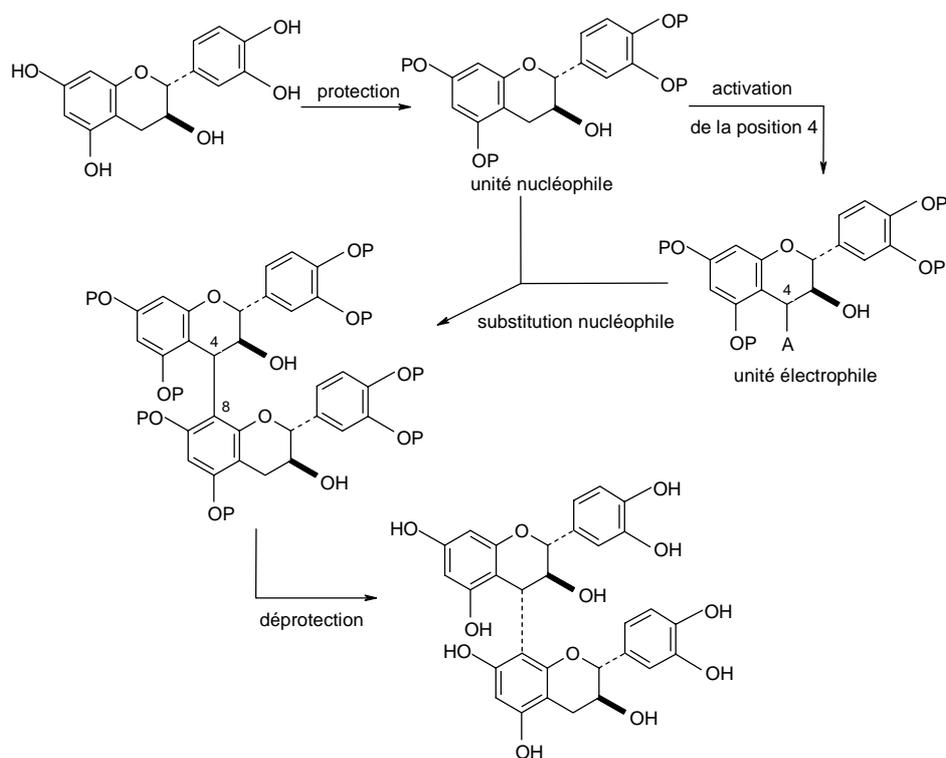


**Figure 24 :** Stratégie de synthèse de procyanidines entre unités protégées par addition nucléophile

<sup>97</sup> Sears K.D., Casebier R.L., Hergert H.L., *J. Org. Chem.*, **1974**, 39, 22, 3244-3247

<sup>98</sup> Kiatgrajai P., Wellons J.D., Gollob L., White J.D., *J. Org. Chem.*, **1982**, 47, 2910-2912

Après protection de tous les hydroxyles, bromation de la position 8 suivie d'un échange halogène-métal, l'unité nucléophile est couplée avec l'unité électrophile activée en position 4. Le dimère natif est obtenu après déshydratation et déprotections des fonctions hydroxyles.



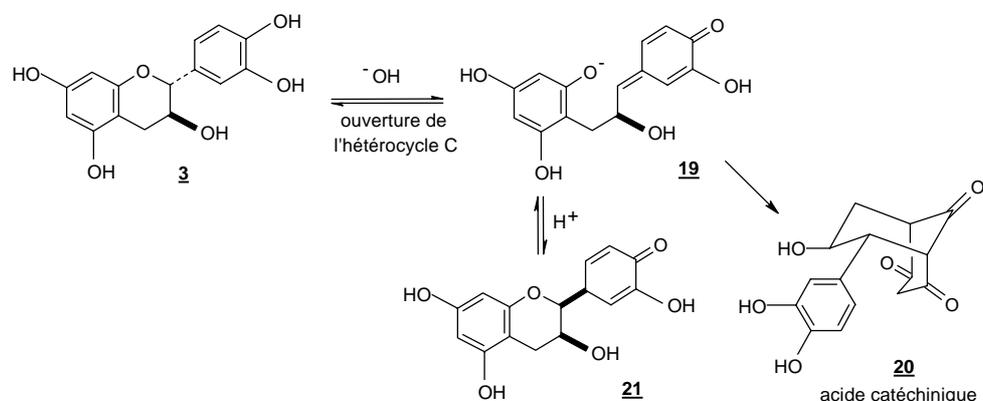
**Figure 25 :** Stratégie de synthèse de procyanidines entre unités protégées par substitution nucléophile

Ainsi, après protection des fonctions phénols et activation de la position benzylique 4 de la catéchine ou de l'épicatechine, la réaction de couplage est effectuée entre une unité nucléophile et une unité électrophile avant de déprotéger les fonctions phénols pour obtenir les procyanidines à l'état natif.

## II.2. Protection des fonctions phénols de la catéchine et de l'épicatechine

Les catéchines et épicatechines sont instables en dehors de la zone de pH 5-8<sup>97,98,99</sup> : en milieu acide, des réactions de polymérisation ont lieu alors qu'en milieu basique, l'ouverture du cycle pyrane C conduit à la formation d'acide catéchinique **20** ou à l'énantiomère non naturel de l'épicatechine **21** obtenu après épimérisation de la catéchine en position 2 (Figure 26).

<sup>99</sup> Kennedy J.A., Munro M.H.G., Powell H.K.L., Porter L.J., Foo L.Y., *Aust. J. Chem.*, **1984**, 37, 885-892



**Figure 26 :** Dégradation de la catéchine en milieu basique

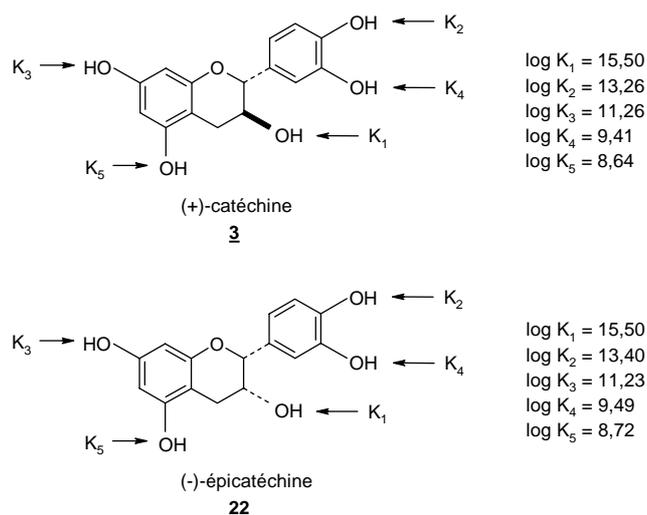
Ces monomères sont également sensibles aux réactions d'oxydation : ainsi, en présence d'oxygène, les fonctions dihydroxyphénols sont transformées en quinones très réactives qui peuvent participer à un processus complexe de polymérisation conduisant à la formation de pigments bruns.<sup>42</sup> Ces phénomènes oxydatifs peuvent être à l'origine d'une perte de qualité des vins blancs.

De plus, dans des conditions acides et basiques, la liaison interflavane des produits naturels est labile.<sup>94</sup> Il s'avère donc nécessaire de protéger les fonctions phénols des monomères pour synthétiser des procyanidines dimères et oligomères. Par ailleurs, il est établi que l'utilisation de groupes protecteurs améliorerait la régiosélectivité du couplage en position 8.<sup>100</sup>

La protection des fonctions phénols mais pas de la fonction alcool en position 3 peut permettre de préparer des dérivés tels que les dérivés gallates. En effet, l'hydroxyle en position 3 étant moins acide que les fonctions phénols (Figure 27),<sup>99,101</sup> la protection de ces quatre fonctions phénols est possible sans pour autant protéger la fonction alcool en position 3.

<sup>100</sup> Kiehlmann E., Van der Merwe P.J., Hundt H.K.L., *Org. Prep. Proc. Int.*, **1983**, 15, 5, 341-348

<sup>101</sup> Slabbert N.P., *Tetrahedron*, **1977**, 33, 821-824



**Figure 27 :** Constantes de protonation des fonctions phénols et alcools de la catéchine et de l'épicatéchine

Plusieurs groupes protecteurs de fonctions phénols ont été testés dans la littérature : nous pouvons citer notamment les substituants méthyles (diazométhane,<sup>102</sup> potasse dans le méthanol ou diméthylsulfate à partir de la catéchine pentaacétylée<sup>103</sup>), acétoxy (pyridine, anhydride acétique)<sup>103,104</sup> ou benzyles<sup>72,105</sup>. Actuellement la majorité des travaux fait appel au groupement benzyle, particulièrement stable et qui présente l'avantage d'être facile à éliminer en milieu neutre.

### II.3. Activation de la position benzylique prochirale 4 par oxydation

Cette étape d'activation de la catéchine protégée est essentielle car elle permet d'accroître le caractère électrophile du carbone 4 et peut autoriser un contrôle de la stéréochimie de la liaison interflavane lors de la réaction de couplage.

Dans la littérature, plusieurs méthodes d'activation de la position benzylique 4 ont été testées. Ganguli et coll.<sup>106</sup> ont tout d'abord activé la position benzylique 4 par halogénéation : la 4β-bromopenta-O-acétyl-(+)-catéchine **24** a ainsi été obtenue à partir de la catéchine pentaacétylée **23** en présence de N-bromosuccinimide et de peroxyde de benzoyle dans le CCl<sub>4</sub> (Figure 28).<sup>107</sup>

<sup>102</sup> Sweeny J.G., Iacobucci G.A., *J. Org. Chem.*, **1979**, *44*, 2298-2299

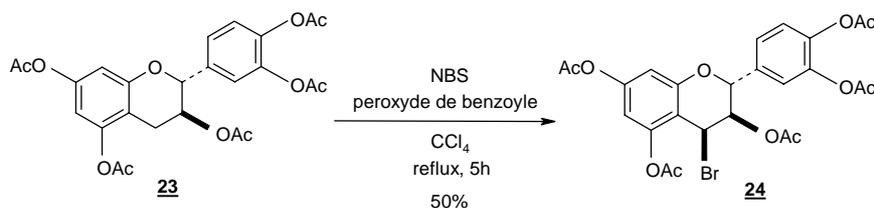
<sup>103</sup> Kiehlmann E., Lehto N., Cherniwchan D., *Can. J. Chem.*, **1988**, *66*, 2431-2439

<sup>104</sup> Kawamoto H., Tanaka N., Nakatsubo F., Murakami K., *Mokuzai Gakkaishi*, **1993**, *39*, 7, 820-824

<sup>105</sup> Kawamoto H., Nakatsubo F., Murakami K., *Mokuzai Gakkaishi*, **1991**, *37*, 5, 488-493

<sup>106</sup> Ganguli A.K., Seshadri T.R., Subramanian F.A., Subramanian P., *Proc. Indian Acad. Sc.*, **1957**, *56*, 25-28

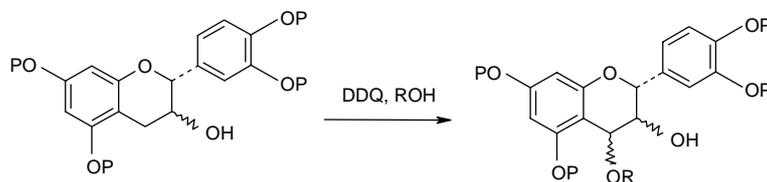
<sup>107</sup> Incremona J.H., Martin J.C., *J. Am. Chem. Soc.*, **1970**, *92*, 3, 627-631



**Figure 28** : Bromation de la position benzylique 4

Divers réactifs ont ensuite été utilisés pour activer la position benzylique 4 :  $K_2S_2O_8$ ,<sup>108,109</sup>  $Pb(OAc)_4$ ,<sup>110</sup> ou encore la 2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone notée DDQ<sup>111,112</sup> ou tout récemment, le triflate de cérium.<sup>113</sup>

Or en présence d'une quantité catalytique de sulfate de cuivre,  $K_2S_2O_8$  est très peu soluble dans le milieu réactionnel, cette méthode conduit à un mélange de produits non identifiés. La réaction avec le tétraacétate de plomb permet effectivement de synthétiser le produit activé désiré mais avec de faibles rendements. La méthode avec le triflate de cérium permet quant à elle d'introduire une fonction cétone en position 4 d'un dérivé de la catéchine avec un rendement de 66%. Mais les meilleurs résultats ont en fait été obtenus avec le DDQ (Figure 29).



**Figure 29** : Activation de la position benzylique par un alcool en présence de DDQ

Selon la nature du groupement R, les rendements varient de 30 % à 98 %.<sup>114,115</sup>

<sup>108</sup> Bhatt M.V., Perumal P.T., *Tetrahedron Lett.*, **1981**, 22, 2605-2608

<sup>109</sup> Mouton C.H.L., Steenkamp J.A., Young D.A., Bezuidenhoudt B.C.B., Ferreira D., *Tetrahedron*, **1990**, 46, 12, 6885-6894

<sup>110</sup> Betts M.J., Brown B.R., Shaw M.R., *J. Chem. Soc. (C)*, **1969**, 1178-1184

<sup>111</sup> Steenkamp J.A., Ferreira D., Roux D.G., *Tetrahedron Lett.*, **1985**, 26, 25, 3045-3048

<sup>112</sup> Steenkamp J.A., Mouton C.H.L., Ferreira D., *Tetrahedron*, **1991**, 47, 33, 6705-6716

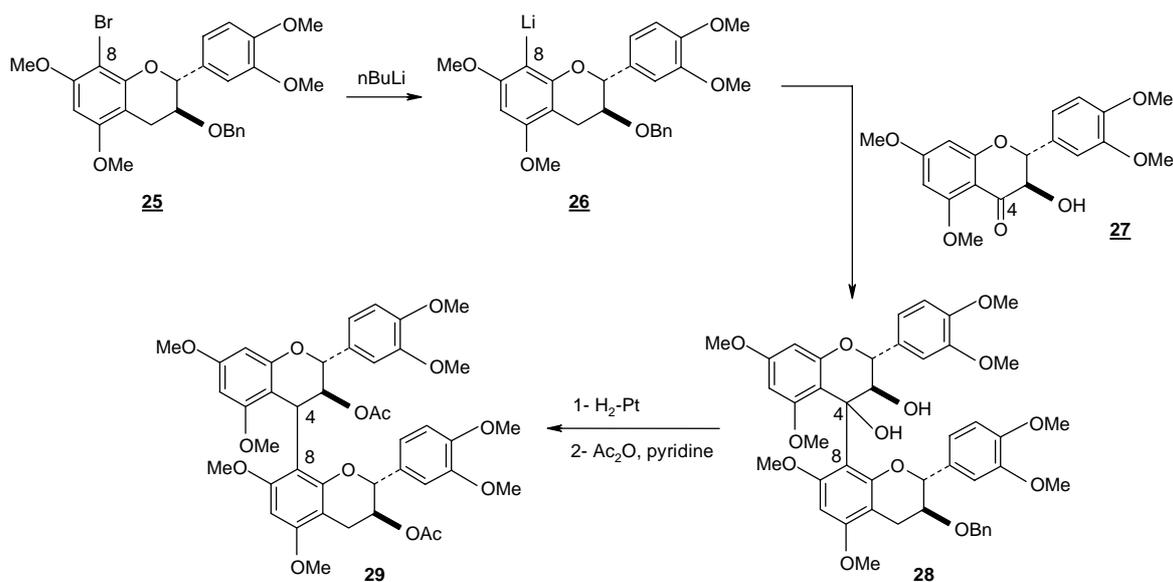
<sup>113</sup> Es-Safi N.E., Kerhoas L., Ducrot P.H., résultats non publiés

<sup>114</sup> Tückmantel W., Kozikowski A.P., Romanczyk L.J., *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, 121, 12073-12081

<sup>115</sup> Saito A., Nakajima N., Tanaka A., Ubukata M., *Tetrahedron*, **2002**, 58, 7829-7837

## II.4. Etape de couplage par addition nucléophile

La première méthode de couplage par addition nucléophile a été proposée par Weinges et Perner en 1967.<sup>116</sup> Elle consistait à coupler une unité nucléophile bromée et une unité électrophile activée en position 4 par l'intermédiaire d'un échange halogène-métal (Figure 30). L'unité nucléophile **25** a été obtenue après benzylation de l'hydroxyle en position 3 de la catéchine tétraméthylée et après bromation de la position 8. Quant à l'unité électrophile **27**, elle a été synthétisée par méthylation des fonctions phénols de la taxifoline **1**.



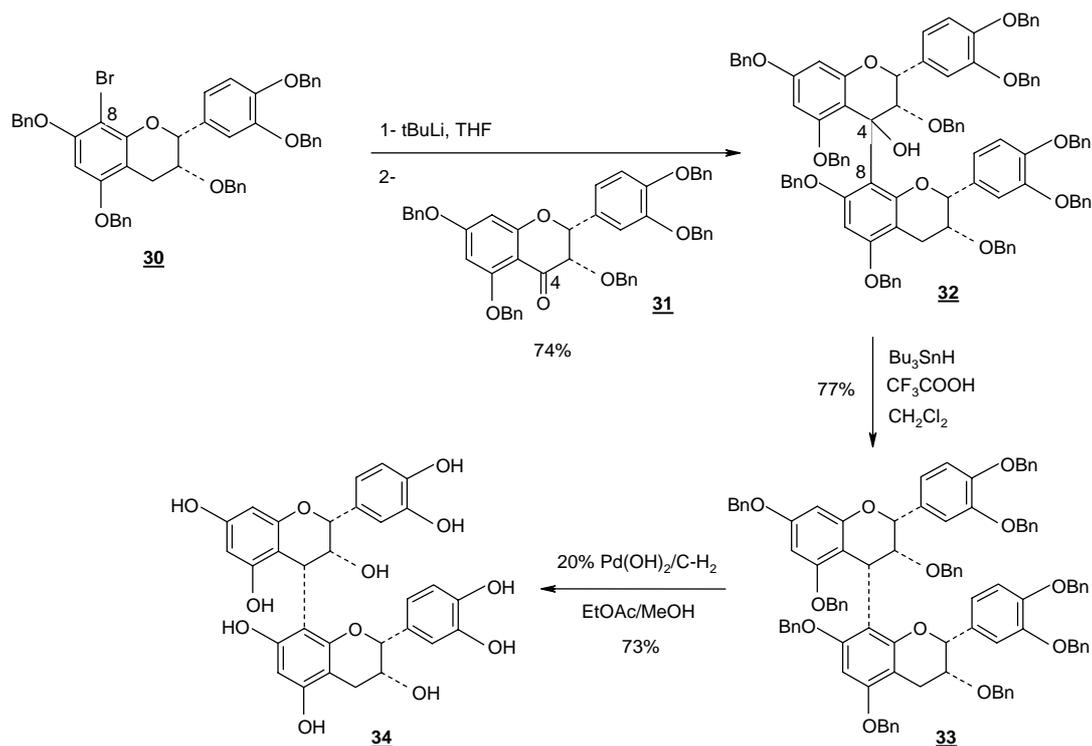
**Figure 30 :** Première synthèse d'une procyanidine dimère par addition nucléophile

Après hydrogénation catalytique et acétylation des hydroxyles en positions 3, le dimère **29** a été obtenu avec un rendement de 20%. Les auteurs n'ont pas précisé la stéréochimie de la liaison interflavane.

Tückmantel et coll.<sup>117</sup> ont proposé plus récemment une seconde méthode de couplage par addition nucléophile. La réaction entre la flavan-4-one protégée **31**, synthétisée par oxydation de l'épicatéchine pentabenzylée, et l'organolithien obtenu à partir de l'épicatéchine perbenzylée bromée en position 8 **30** conduit à la formation d'un dimère perbenzylé hydroxylé en position 4C (Figure 31).

<sup>116</sup> Weinges K., Perner J., *Chem. Comm.*, **1967**, 7, 351

<sup>117</sup> Kozikowski A.P., Tückmantel W., Hu Y., *J. Org. Chem.*, **2001**, 66, 1287-1296



**Figure 31** : Synthèse du dimère épi-4 $\alpha$ ,8-épi par l'intermédiaire d'un échange halogène-métal

Le dimère épi-4 $\alpha$ ,8-épi **34**, non naturel dans les raisins et les vins, a ainsi été obtenu après réduction sélective en présence d'hydrure de tributylétain et d'acide trifluoroacétique et après déprotection des fonctions hydroxyles.

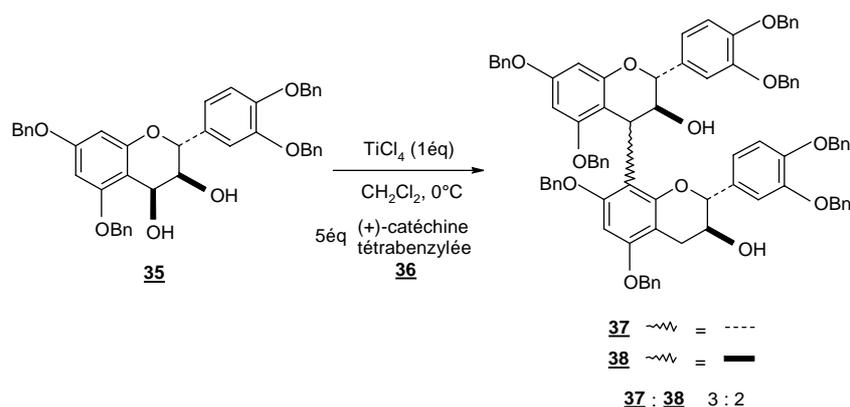
*D'après ces exemples, le couplage par addition nucléophile permet de contrôler la régiochimie de la liaison interflavane ainsi que le degré d'oligomérisation. Par contre, le contrôle de la stéréochimie pose davantage de problème : un seul stéréoisomère est effectivement obtenu par Tückmantel et coll. mais il s'agit du stéréoisomère non naturel dans les raisins. Actuellement, la majorité des procyanidines est en fait synthétisée par substitution nucléophile.*

## II.5. Etape de couplage par substitution nucléophile

### II.5.a. Vers un contrôle de la stéréochimie

Plusieurs protocoles de couplage ont été présentés dans la littérature.

La première méthode a été proposée par Kawamoto et coll.<sup>72,105</sup> en 1990 : le couplage entre la (+)-catéchine tétrabenzylée activée en position 4 par une fonction hydroxyle **35** et 5 équivalents de (+)-catéchine tétrabenzylée a été effectuée en présence d'un acide de Lewis, le  $\text{TiCl}_4$  dans le dichlorométhane à 0°C (Figure 32).



**Figure 32** : Réaction de condensation selon la méthode de Kawamoto

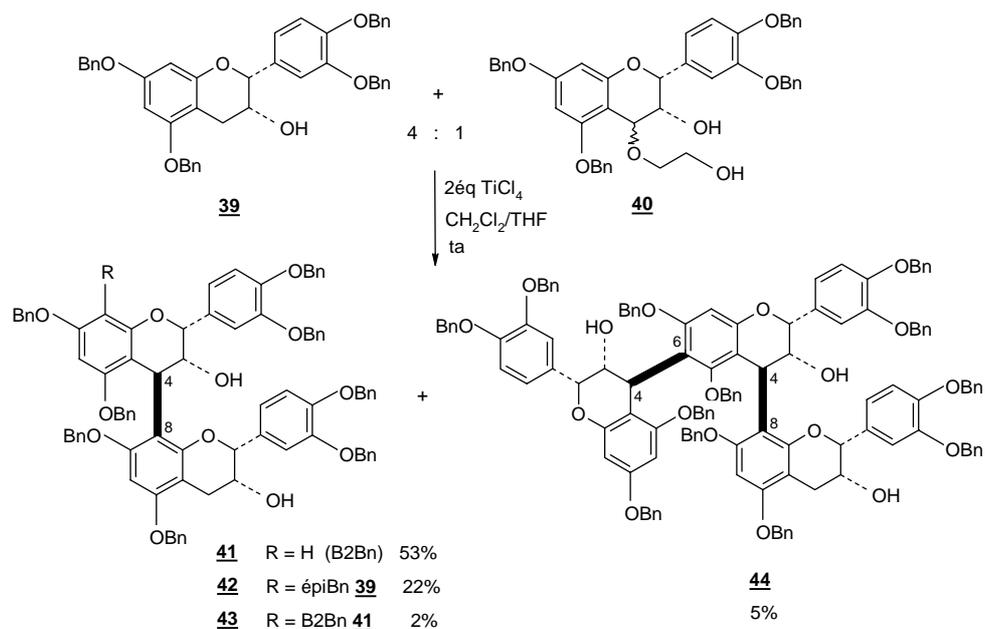
En présence de  $\text{TiCl}_4$ , cette réaction conduit à la formation de deux dimères de stéréochimie  $4\alpha,8$  (**37**) et  $4\beta,8$  (**38**) obtenus respectivement dans les proportions 3 pour 2 avec un bon rendement (93%). Ce protocole de Kawamoto et coll. est caractérisé par une bonne régiosélectivité mais par un mauvais contrôle de la stéréochimie.

D'autres acides de Lewis ont été testés ( $\text{AlCl}_3$ ,  $\text{BF}_3\text{-Et}_2\text{O}$ ,  $\text{SnCl}_4$ ,  $\text{ZnCl}_2$ )<sup>104</sup> mais les résultats étaient moins bons voire quasiment identiques à ceux obtenus avec le  $\text{TiCl}_4$ .

Vercauteren et coll.<sup>118</sup> ont amélioré la stéréosélectivité de cette réaction de condensation en remplaçant la 4-hydroxycatéchine tétrabenzylée **35** par la 4-méthoxycatéchine tétrabenzylée. Ils ont ainsi obtenu les deux dimères **37** et **38** dans les proportions 2 pour 1 avec des rendements respectifs de 55% et 27%.

En 1999, Tückmantel et coll.<sup>114</sup> ont appliqué cette méthode aux dérivés benzylés de l'épicatéchine. Ils ont cependant modifié la nature du groupe activant en position 4 : l'eau et le méthanol ont été remplacés par l'éthylène glycol lors de l'activation de la position benzylique 4 du monomère benzylé. Selon ces auteurs, l'utilisation d'un alcool nucléophile plus polaire que l'eau ou le méthanol a permis de réduire la proportion de produits d'oxydation secondaires en position 2 lors de l'étape d'activation. Ils ont ensuite fait réagir cette épicatechine protégée activée **40** avec 4 équivalents d'épicatéchine tétrabenzylée **39** en présence de  $\text{TiCl}_4$  (Figure 33).

<sup>118</sup> Arnaudinaud V., Nay B., Verger S., Nuhrich A., Deffieux G., Mérillon J.M., Monti J.P., Vercauteren J., *Tetrahedron Lett.*, **2001**, 42, 5669-5671



**Figure 33** : Couplage selon les conditions de Tückmantel

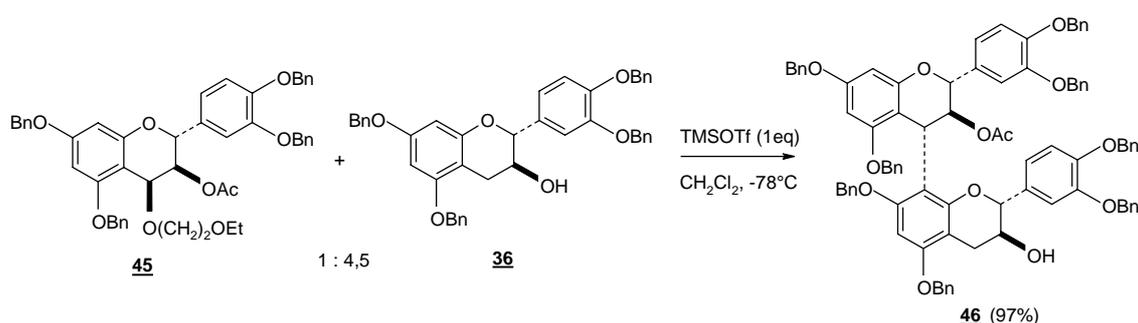
Contrairement à la méthode de Kawamoto, cette réaction de couplage est caractérisée par un bon stéréocontrôle, seuls des produits de couplage possédant une stéréochimie  $\beta$  pour les liaisons interflavanes ont été obtenus. Il est à noter que l'origine de la stéréosélectivité n'a pas été expliquée par les auteurs. Cependant, les contrôles de la régiochimie et du degré d'oligomérisation posent toujours un problème.

En 2003, Tückmantel et coll.<sup>119</sup> ont proposé une nouvelle voie de synthèse de la procyanidine B2 (épicatéchine-4 $\beta$ ,8-épicatéchine) en utilisant la bentonite ou montmorillonite K-10, une argile acide constituée d'aluminosilicates qui joue le rôle d'acide de Lewis. 4 équivalents d'épicatéchine benzylée **39** et 1 équivalent d'épicatéchine benzylée activée en position 4 avec l'éthylène glycol **40** sont mélangés en présence de bentonite K-10. Le dimère octabenzylé B2Bn **41** est obtenu presque exclusivement avec un rendement de 92% après purification sur colonne de gel de silice et après CLHP préparative. Seules des traces de trimère C1Bn **42** ont été détectées et aucun isomère possédant une liaison interflavane de type 4,6 n'a été observé.

Ce protocole a ensuite été appliqué à la synthèse du trimère C1 constitué de trois unités épicatéchine reliées par deux liaisons interflavanes 4 $\beta$ ,8. Cependant, le rendement est moins bon : la réaction entre 3 équivalents de dimère B2Bn **41** et 1 équivalent d'unité électrophile **40** permet de former le trimère C1Bn **42** avec un rendement de 40% ainsi que le tétramère benzylé **43** avec un rendement de 13%. Nous pouvons noter que la diminution de

l'excès d'unité nucléophile entraîne une chute importante du contrôle du degré d'oligomérisation. De plus, la réactivité du trimère et du tétramère semble faible donc la synthèse d'oligomères d'ordre supérieur selon ce protocole s'avère difficile.

Saito et coll. ont développé une nouvelle méthode de synthèse de dimères,<sup>115,120</sup> de dimères galloylés<sup>121</sup> et de trimères<sup>122</sup> dans laquelle ils ont remplacé l'acide de Lewis  $\text{TiCl}_4$  par le TMSOTf. Ils ont également modifié la nature du groupe activant de la position benzylique 4 : après avoir testé différents groupements, ils ont opté pour le 2-éthoxyéthanol qui permet d'obtenir de meilleurs rendements à l'issue de la condensation (Figure 34).



**Figure 34** : Réaction de couplage intermoléculaire selon la méthode de Saito

L'étape de couplage est effectuée en présence d'un excès d'unité nucléophile.

Selon ce protocole, Saito et coll. ont synthétisé les quatre procyanidines dimères possédant une liaison interflavane 4,8 (B1, B2, B3, B4) avec des rendements de 45%, 75%, 97% et 90% respectivement. Ils ont amélioré les rendements en dimères B1 et B2 (67% et 93% respectivement) en condensant 4,5 équivalents d'unité nucléophile **36** avec l'unité électrophile possédant un substituant éthoxyéthanol en position 4 et un hydroxyle libre en position 3.

Saito et coll. ont ensuite appliqué les conditions de couplage à la synthèse de sept trimères protégés : cat-4 $\alpha$ ,8-cat-4 $\alpha$ ,8-cat, 100% ; épi-4 $\beta$ ,8-épi-4 $\beta$ ,8-épi, 91% ; épi-4 $\beta$ ,8-épi-4 $\beta$ ,8-cat, 90% ; épi-4 $\beta$ ,8-cat-4 $\alpha$ ,8-épi, 90% ; épi-4 $\beta$ ,8-cat-4 $\alpha$ ,8-cat, 62% ; cat-4 $\alpha$ ,8-épi-4 $\beta$ ,8-cat, 47% et cat-4 $\alpha$ ,8-épi-4 $\beta$ ,8-épi, 44%. Selon ce principe, le trimère catéchine-4 $\alpha$ ,8-catéchine-4 $\alpha$ ,8-épicatéchine n'est pas obtenu.

<sup>119</sup> Kozikowski A.P., Tückmantel W., Böttcher G., Romanczyk Jr. L.J., *J. Org. Chem.*, **2003**, 68, 5, 1641-1658

<sup>120</sup> Saito A., Nakajima N., Matsuura N., Tanaka A., Ubukata M., *Heterocycles*, **2004**, 62, 479-489

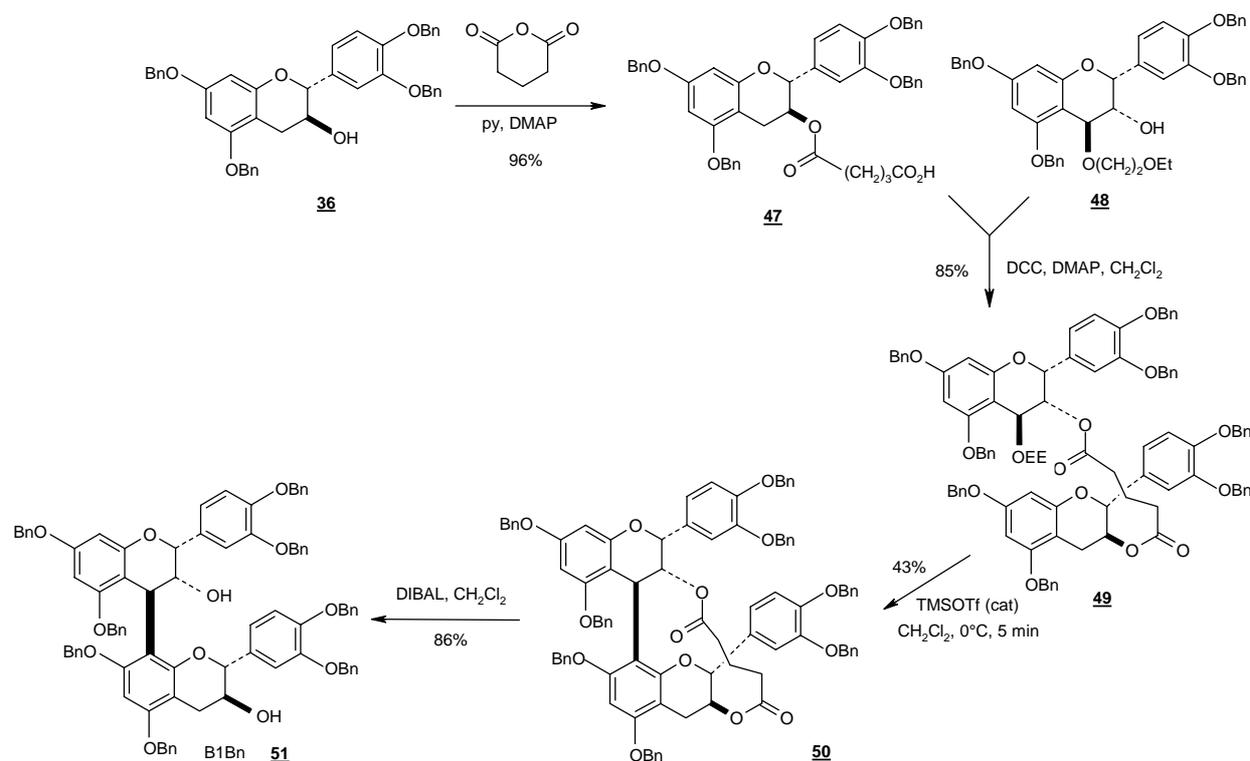
<sup>121</sup> Saito A., Mizushima Y., Ikawa H., Yoshida H., Doi Y., Tanaka A., Nakajima N., *Bioorg. Med. Chem.*, **2005**, 13, 2759-2771

<sup>122</sup> Saito A., Tanaka A., Ubukata M., Nakajima N., *Synlett*, **2004**, 6, 1069-1073

### II.5.b. Vers un contrôle du degré d'oligomérisation

La méthode de synthèse décrite précédemment est efficace, elle permet de contrôler la régiochimie et la stéréochimie de la liaison interflavane ainsi que le degré d'oligomérisation. Son inconvénient provient de l'utilisation d'un excès d'unité nucléophile.

Les mêmes auteurs, Saito et coll.,<sup>123,124</sup> ont donc proposé un protocole de couplage intramoléculaire en présence d'une quantité catalytique de TMSOTf afin d'éviter l'utilisation d'un excès d'unité nucléophile. Cette approche nécessite de lier de manière temporaire les deux monomères à coupler par un bras espaceur au niveau des deux hydroxyles en position 3 (Figure 35).



**Figure 35 :** Condensation intramoléculaire selon le protocole de Saito

Ce protocole a été appliqué avec succès à la synthèse des dimères B1 (43 %) et B4 (84 %). Par contre, il semblerait que la stéréochimie des carbonnes 3 joue un rôle important lors de l'étape de couplage car cette réaction ne permet pas de synthétiser les dimères B2 et B3. Le couplage de deux unités catéchines par voie intramoléculaire conduit par exemple à la formation du dimère non naturel cat-4 $\beta$ ,8-cat.

<sup>123</sup> Saito A., Nakajima N., Tanaka A., Ubukata M., *Heterocycles*, **2003**, *61*, 287-298

<sup>124</sup> Saito A., Nakajima N., Tanaka A., Ubukata M., *Tetrahedron Lett.*, **2003**, *44*, 5449-5452

*Des progrès importants ont été faits ces dernières années dans le domaine de la synthèse des dimères et des oligomères de tanins condensés.*

*Le problème de la régiosélectivité est généralement résolu grâce à l'utilisation de monomères dont les hydroxyles phénoliques sont protégés.*

*Le problème de la stéréosélectivité de la liaison interflavane peut se résoudre par un choix approprié du groupement activant.*

*Par contre, le contrôle du degré d'oligomérisation est toujours en suspens. Il est généralement limité par l'utilisation d'un excès (4 à 7 équivalents) d'unité nucléophile. Une approche stoechiométrique a été testée mais son manque de généralité ainsi que l'augmentation du nombre d'étapes la rendent difficilement exploitable pour la synthèse contrôlée de trimères et d'oligomères d'ordre supérieur.*



**Troisième Partie**

**Synthèse et**

**Caractérisation de**

**Procyanidines**

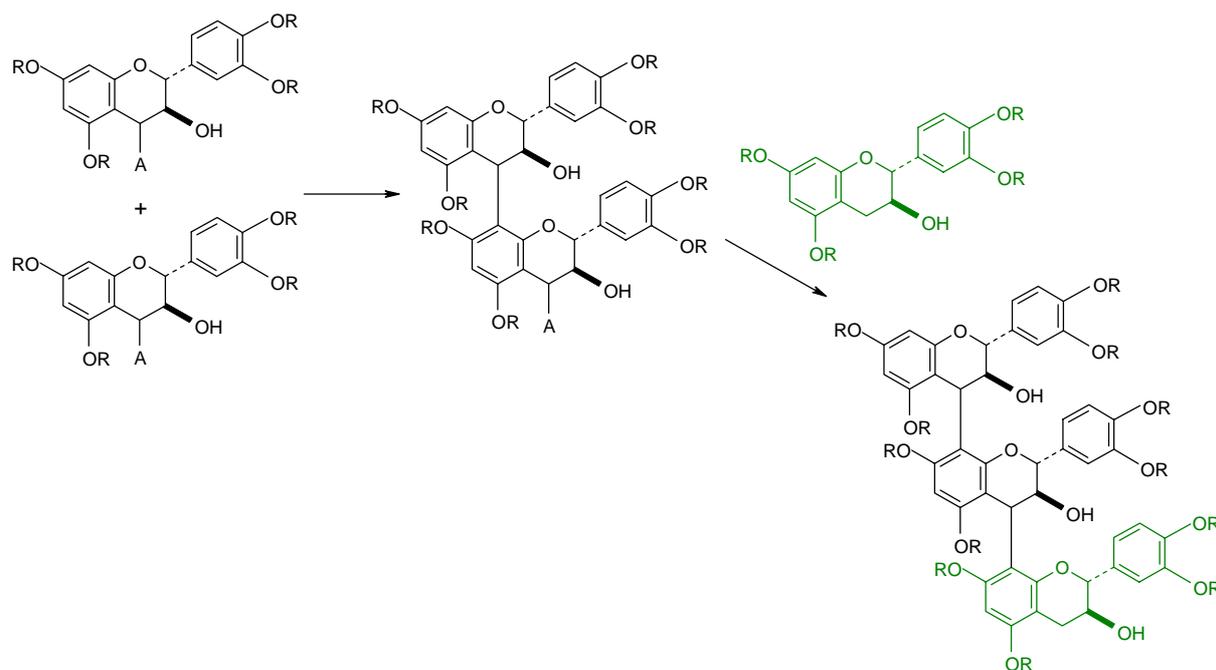


Notre objectif va donc consister à mettre au point une méthode de synthèse de tanins permettant de contrôler à la fois la régiochimie et la stéréochimie de la liaison interflavane ainsi que le degré d'oligomérisation lors de l'étape de couplage. Cette méthode devra également être itérative, c'est-à-dire qu'elle devra permettre de synthétiser facilement l'oligomère d'ordre supérieur à partir du produit de couplage.

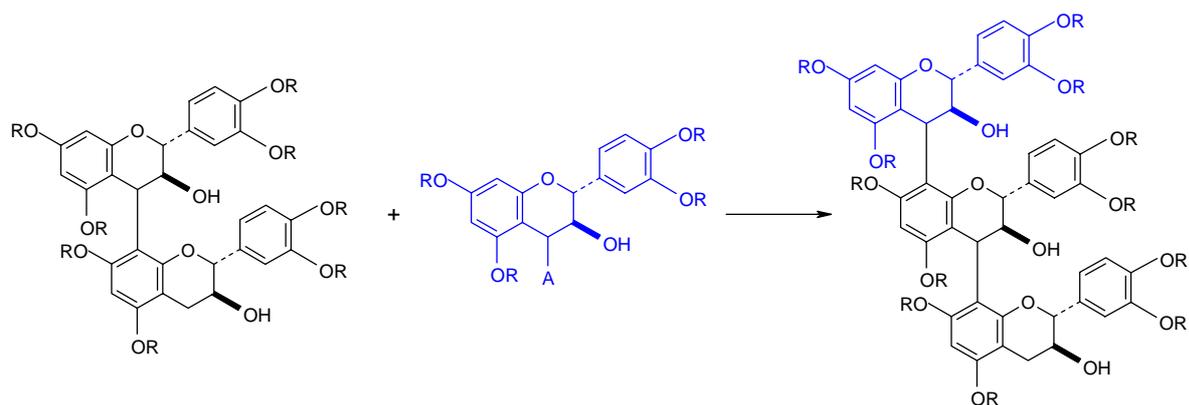
## I. Stratégie de synthèse

Pour synthétiser les procyanidines dimères et oligomères, nous avons choisi d'effectuer un couplage, entre une unité flavane protégée (unité nucléophile) et une unité flavane protégée activée en position 4 (unité électrophile), par substitution nucléophile. La protection des fonctions hydroxyles phénoliques nous permettra ainsi d'obtenir un meilleur contrôle de la régiosélectivité en position 8.<sup>100</sup> L'hydroxyle en position 3 sera, quant à lui, conservé sous forme libre car il semble jouer un rôle important pour le contrôle de la stéréochimie lors de l'étape de couplage.

Comme nous l'avons vu dans le chapitre précédent, il n'existe pas actuellement de méthode permettant de contrôler simplement le degré d'oligomérisation. Deux réactions parasites sont en fait à l'origine de cette absence de contrôle du degré d'oligomérisation : l'attaque répétée de l'électrophile sur lui-même qui donne alors un dimère activé susceptible de réagir à nouveau (Figure 36) et la réaction du produit de couplage avec une seconde unité de monomère activé (Figure 37).

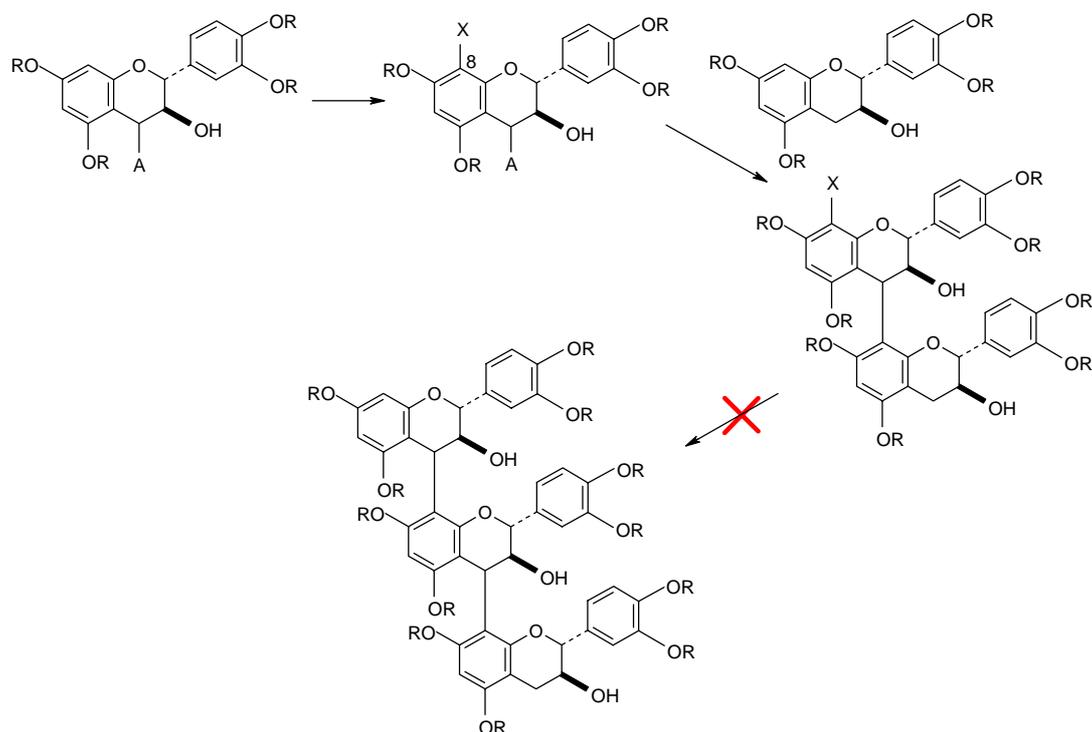


**Figure 36** : Formation du trimère par attaque répétée de l'électrophile sur lui-même



**Figure 37 :** Formation du trimère par réaction du produit de couplage avec un monomère activé

L'approche consistant à préorganiser l'étape de couplage par un lien temporaire (Figure 35) est, quant à elle, assez lourde (trois étapes supplémentaires) et n'est pas générale car elle permet d'obtenir seulement deux des quatre dimères possédant une liaison interflavane C4-C8. Nous avons donc choisi une autre approche qui consiste à bloquer temporairement la position 8 de l'unité électrophile. Cette stratégie permettrait de supprimer les réactions parasites d'oligomérisation (Figure 38).

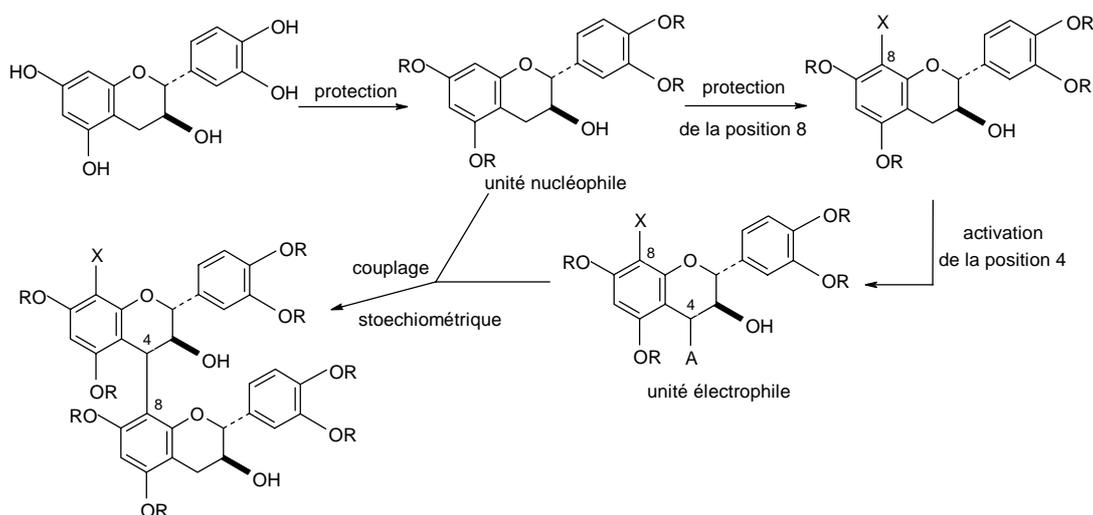


**Figure 38 :** Schéma de notre stratégie consistant à bloquer la position 8 pour contrôler le degré d'oligomérisation

Cette approche nécessiterait deux étapes supplémentaires mais elle permettrait d'effectuer la réaction de couplage dans des conditions stoechiométriques. Cette stratégie

devrait ainsi faciliter l'étape de purification et devrait être par conséquent plus adaptée à l'obtention d'oligomères d'ordre supérieur aux dimères que les précédentes méthodes décrites dans la littérature.

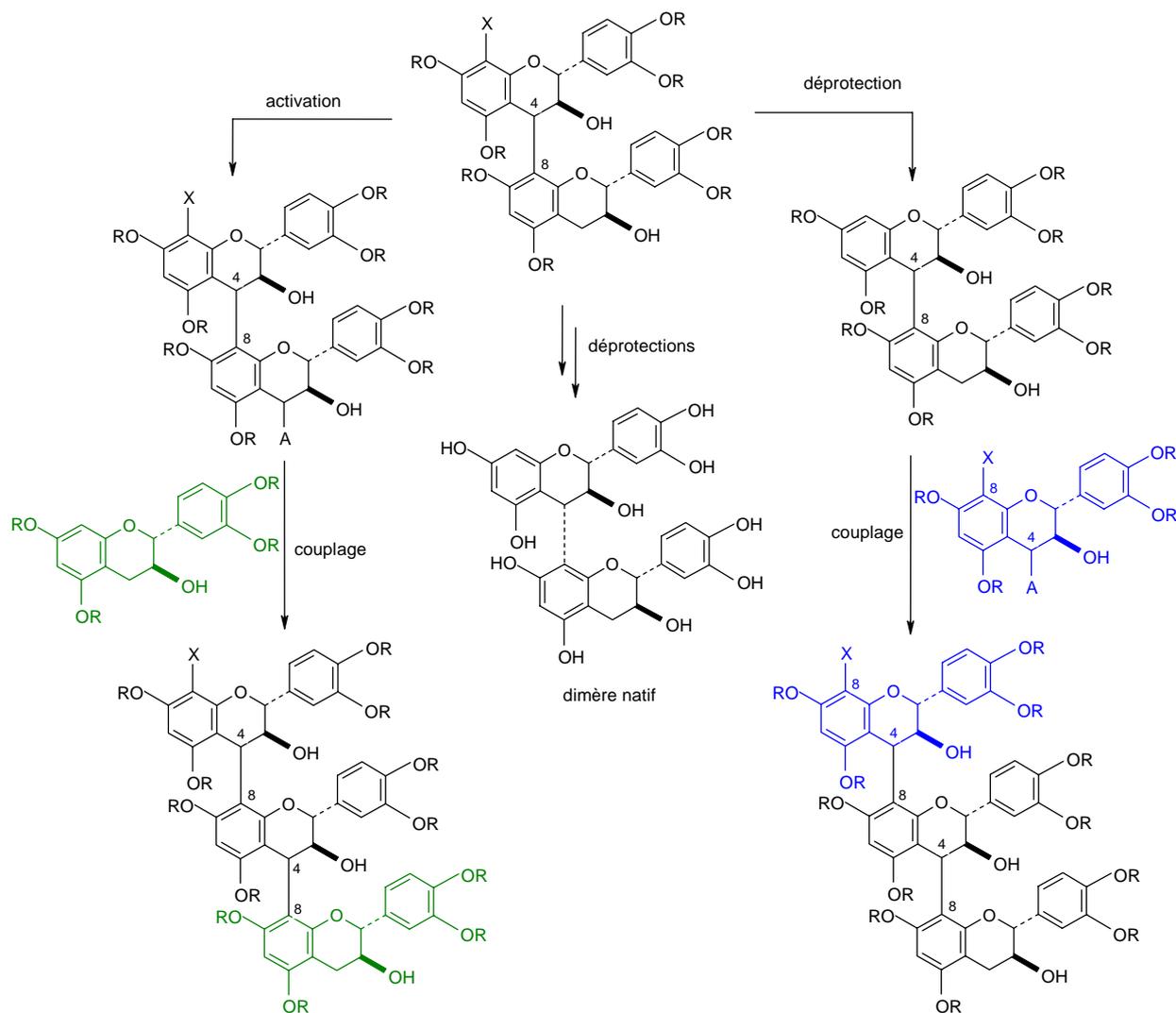
Le schéma général de la synthèse est présenté Figure 39 et sera discuté dans cette partie.



**Figure 39** : Schéma général de notre stratégie de synthèse

Après protection des fonctions phénols, blocage de la position 8 et activation de la position benzylique 4 de cette unité protégée, l'étape de couplage va être effectuée en quantités stoechiométriques entre une unité nucléophile et une unité électrophile pour synthétiser le dimère protégé bloqué en position 8.

Cette méthode remplirait également les conditions d'itérativité pour accéder aux oligomères d'ordre supérieur : le produit obtenu après couplage est en effet un intermédiaire commun qui permettrait d'accéder sélectivement aux trimères par réaction sur l'unité supérieure ou inférieure (Figure 40).



**Figure 40 :** Synthèse de dimères natifs et de trimères à partir du même intermédiaire

Cette méthode originale sera ainsi appliquée à la synthèse de deux dimères, B3 (catéchine-4 $\alpha$ ,8-catéchine) et B4 (catéchine-4 $\alpha$ ,8-épicatechine), de deux trimères (catéchine-4 $\alpha$ ,8-catéchine-4 $\alpha$ ,8-catéchine nommé C2 et catéchine-4 $\alpha$ ,8-catéchine-4 $\alpha$ ,8-épicatechine nommé Cat-Cat-Epi) et d'un tétramère constitué de quatre unités catéchines reliées par trois liaisons interflavanes de type 4 $\alpha$ ,8 (nommé Cat-Cat-Cat-Cat).

## II. Synthèse et caractérisation des dimères B3 et B4

La première étape de la synthèse des dimères B3 et B4 correspond à la protection des fonctions phénols de la catéchine et de l'épicatechine.

## II.1. Protection des fonctions phénols de la catéchine et de l'épicatéchine

Cette étape est indispensable pour protéger les catéchines et les épicatechines des réactions acido-basiques et des phénomènes éventuels d'oxydation. Comme nous l'avons vu dans la seconde partie, plusieurs groupes protecteurs ont été testés mais le groupement benzyle semble être le plus adapté car il est particulièrement robuste en milieu acido-basique tout en restant facile à éliminer en milieu neutre.

La première méthode de benzylation,<sup>125</sup> proposée en 1968, consistait à faire réagir la catéchine avec 4 équivalents de chlorure de benzyle en présence de  $K_2CO_3$  dans l'acétone au reflux. Mais seulement des traces de catéchine tétrabenzylée étaient observées. En 1983, Miura et coll.<sup>126</sup> ont présenté un protocole de benzylation plus efficace : après réaction de la catéchine avec l'hydrure de sodium et le bromure de benzyle dans le DMF, la catéchine tétrabenzylée était obtenue avec un rendement de 45%. La chimiosélectivité de la réaction reste cependant faible car des produits de O-alkylation en position 3 et de C-alkylation en positions 6 et 8 ont également été détectés. Kawamoto et coll.<sup>105</sup> ont remplacé le NaH par  $K_2CO_3$  mais les rendements étaient similaires à ceux obtenus par Miura et la chimiosélectivité de la benzylation était toujours faible.

Romanczyk et coll.<sup>25</sup> ont montré que l'utilisation de DMA comme solvant semblait améliorer la réaction de benzylation. En utilisant 6 équivalents de  $K_2CO_3$  et 4 équivalents de bromure de benzyle, soit des proportions de réactifs identiques à celles employées par Kawamoto, ils ont isolé la catéchine tétrabenzylée avec un rendement de 68% après 48 heures à température ambiante. Selon eux, la C-alkylation serait défavorisée par rapport à la O-alkylation en raison de la constante diélectrique du DMA qui est légèrement supérieure à celle du DMF.

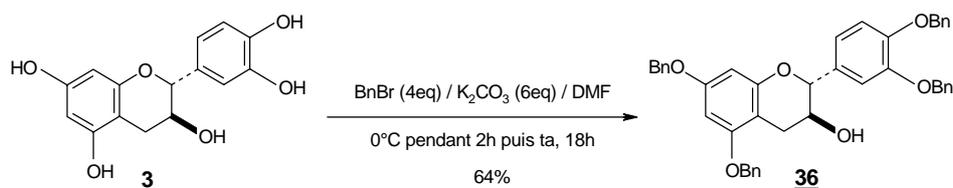
Deux méthodes ont également été proposées pour limiter la formation des produits de C-benzylation : commencer la réaction à 0°C pendant les deux premières heures<sup>127</sup> ou synthétiser le dérivé benzylé après avoir acétylé la catéchine<sup>128</sup>. Dans le premier cas, après avoir modifié les conditions de Kawamoto,<sup>105</sup> Buffnoir<sup>127</sup> a obtenu la catéchine tétrabenzylée **36** avec un rendement de 64% après purification (Figure 41).

<sup>125</sup> Weinges K., Seiler D., *Liebigs Ann. Chem.*, **1968**, 714, 193-204

<sup>126</sup> Miura S., Midorikawa T., Awata N., *Radioisotopes*, **1983**, 32, 225-230

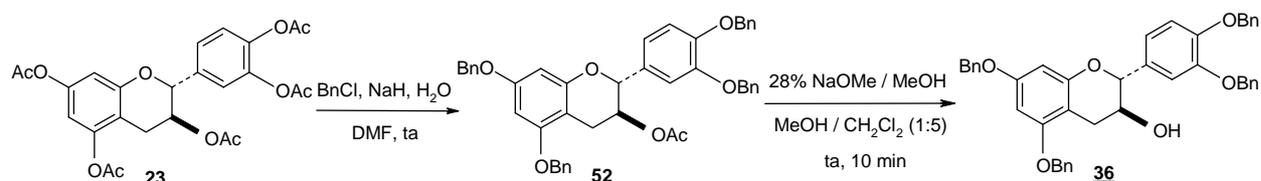
<sup>127</sup> Buffnoir S., *Thèse de l'Université de Paris VI*, **1998**

<sup>128</sup> Kawamoto H., Nakatsubo F., Murakami K., *Synth. Comm.*, **1996**, 26, 3, 531-534



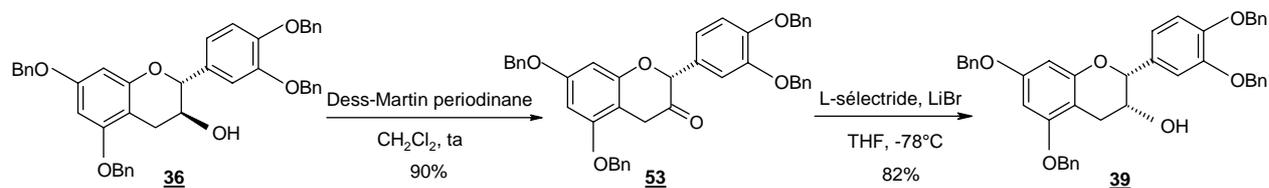
**Figure 41** : Synthèse de la catéchine tétrabenzylée selon les conditions de Buffnoir

Dans le second cas, la catéchine tétrabenzylée **36** est synthétisée à partir de la catéchine pentaacétylée **23**. En fait, l'acétylation de la catéchine permet de réduire la densité électronique du cycle aromatique A et d'empêcher ainsi la C-benzylation. Dans ces conditions, la catéchine tétrabenzylée est obtenue avec un rendement global de 64% (Figure 42). Selon ce protocole, trois étapes sont nécessaires pour préparer la catéchine tétrabenzylée **36** et le rendement est proche de ceux obtenus après une seule étape par Buffnoir et Romanczyk.



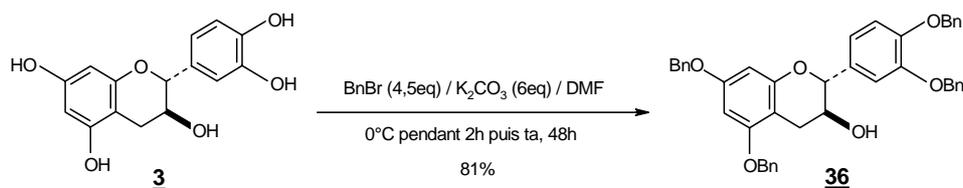
**Figure 42** : Synthèse de la catéchine tétrabenzylée à partir de la catéchine pentaacétylée

Quant à l'épicatéchine tétrabenzylée **39**, elle peut être synthétisée, soit en appliquant les protocoles précédemment cités, soit à partir de la catéchine tétrabenzylée **36**.<sup>114</sup> En effet, après oxydation de la fonction alcool en position 3, la cétone obtenue peut être réduite stéréosélectivement avec le L-sélectride (Figure 43). L'épicatéchine tétrabenzylée est ainsi synthétisée à partir de la catéchine tétrabenzylée avec un rendement global de 74%.



**Figure 43** : Synthèse de l'épicatéchine benzylée à partir de la catéchine tétrabenzylée

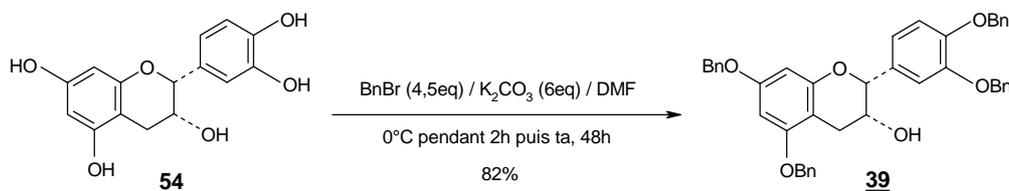
Nous avons appliqué le mode opératoire proposé par Buffnoir pour la synthèse de la catéchine tétrabenzylée **36** (nommée catBn). Le milieu réactionnel est donc placé à 0°C pendant les deux premières heures puis l'agitation est maintenue à température ambiante pendant 48 heures (Figure 44). Il convient de noter que l'utilisation du DMA comme solvant n'a pas apporté d'amélioration à la réaction.



**Figure 44** : Conditions optimisées de la benzoylation de la catéchine

Dans un premier temps, nous avons purifié la catéchine tétrabenzylée **36** par précipitation dans l'éther. Cependant, cette méthode n'était pas reproductible, les rendements variant de 30 à 60%. Nous avons donc opté pour une purification par chromatographie sur silice qui permet d'obtenir la catéchine tétrabenzylée avec un rendement de 81%.

Ce protocole optimisé a ensuite été appliqué à la synthèse de l'épicatéchine tétrabenzylée **39** (notée épiBn) qui a été isolée avec un rendement de 82% après purification (Figure 45).



**Figure 45** : Benzoylation de l'épicatéchine selon le protocole optimisé

*Les unités nucléophiles nécessaires pour la synthèse des dimères B3 et B4 étant disponibles, l'étape suivante consiste à préparer l'unité électrophile, c'est-à-dire, la catéchine tétrabenzylée activée en position 4 et dont le sommet 8 est bloqué.*

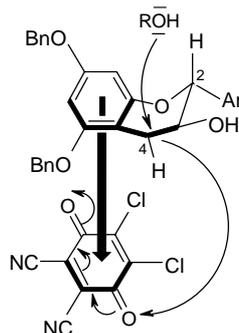
## II.2. Activation de la position benzylique prochirale 4 par oxydation de la catéchine tétrabenzylée

En ce qui concerne l'oxydation de la position benzylique 4, la méthode avec le DDQ semble donner les résultats les plus satisfaisants (Cf Partie 2 II.2.). Plusieurs réactifs ont été testés dans la littérature. Généralement, l'alcool qui assure la fonctionnalisation de la position oxydée est utilisé comme solvant.

Roux et coll.<sup>111,112</sup> ont d'abord effectué l'oxydation de la catéchine tétraméthylée en présence de deux équivalents de DDQ dans un mélange MeOH/ $\text{CHCl}_3$  : la 4 $\beta$ -méthoxycatéchine tétraméthylée a été ainsi obtenue avec un rendement de 48%. Selon ces auteurs, le DDQ peut former des complexes par transfert de charge avec les substrats aromatiques. La densité électronique du cycle A de la catéchine tétraméthylée étant supérieure

à celle du cycle B, le transfert de charge se fait préférentiellement entre le cycle A de la catéchine tétraméthylée et le cycle du DDQ. L'oxydation a donc lieu sélectivement en position 4 plutôt qu'en position 2. Cependant, Roux et coll. ont également observé la formation minoritaire de 2-méthoxycatéchine et de 2,4-diméthoxycatéchine tétraméthylées qui résultent de la formation d'un complexe entre le cycle B de l'unité flavane et le DDQ.<sup>129</sup>

Ces auteurs ont également proposé un mécanisme permettant d'expliquer la stéréochimie  $\beta$  en position 4 du produit oxydé (Figure 46).<sup>111,112</sup>

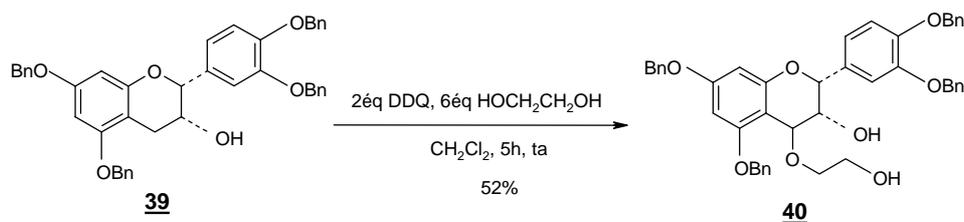


**Figure 46 :** Mécanisme de formation du complexe flavane-DDQ

Selon eux, les interactions stériques entre l'hydrogène axial en position 2 et l'oxydant volumineux faciliteraient la formation du complexe entre le DDQ et le cycle aromatique A de la catéchine protégée sur la face inférieure. L'alcool nucléophile attaquerait alors simultanément sur la face opposée au DDQ, favorisant ainsi la substitution de la position 4 par l'alcool en  $\beta$ . D'autres nucléophiles ont également été utilisés<sup>114,115</sup> : l'eau, l'éthanol ou le propan-2-ol. Les produits d'activation en position 4 sont obtenus avec des rendements variant de 30% à 60% mais des réactions secondaires d'oxydation en position 2 sont toujours observées.

Tückmantel et coll.<sup>114</sup> ont quant à eux opté pour l'éthylène glycol pour oxyder l'épicatéchine tétrabenzylée en position 4 en présence de DDQ (Figure 47). Selon ces auteurs, l'utilisation de l'éthylène glycol, un alcool nucléophile plus polaire que le méthanol, permettrait de réduire la formation du produit secondaire d'oxydation en position 2.

<sup>129</sup> Lemaire M., Guy A., Imbert D., Guetté J.P., *J. Chem. Soc., Chem. Comm.*, **1986**, 741-742

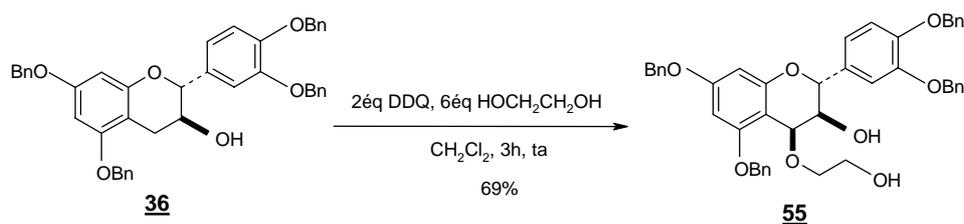


**Figure 47 :** Activation de la position 4 de l'épicatéchine benzylée par l'éthylène glycol

Le produit activé en position 4 a été ainsi obtenu avec un rendement de 52%. Cependant, de manière surprenante, la stéréochimie de la position 4 n'a pas été déterminée par les auteurs.

Saito et coll.<sup>115</sup> ont dans un premier temps appliqué ce protocole à la catéchine tétrabenzylée : le produit d'oxydation en position 4 a été isolé avec un rendement de 74%. Ils ont ensuite amélioré le rendement de cette réaction d'activation en remplaçant l'éthylène glycol par le 2-éthoxyéthanol : la 4β-(éthoxyéthoxy)catéchine tétrabenzylée a été obtenue avec un rendement de 98%.

Nous avons donc choisi d'activer la catéchine tétrabenzylée en position 4 par l'éthylène glycol selon le protocole de Saito et coll. (Figure 48). Ce choix est non seulement lié à la régiosélectivité de l'étape d'activation mais aussi à la nature de l'acide de Lewis impliqué dans la réaction ultérieure de couplage. Le titane possédant en effet une grande affinité pour des ligands bidentates, nous supposons que ce groupement activant sera un meilleur groupe partant que le méthanol lors de l'étape de couplage.



**Figure 48 :** Synthèse de la 4β-(2-hydroxyéthoxy)catéchine tétrabenzylée en présence de DDQ et d'éthylène glycol

Dans ces conditions, la catéchine protégée activée **55** (notée catBnAct) a été isolée avec un rendement de 69% après purification. Une augmentation du temps de réaction ne nous a pas permis d'accroître le rendement.

La stéréochimie en position 4 de ce produit activé a été vérifiée par RMN. Les expériences RMN 1D ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT) et 2D (COSY, HMQC, HMBC) nous ont permis de déterminer les constantes de couplage entre les protons 2 et 3 d'une part et, entre les protons 3 et 4 de l'hétérocycle d'autre part. Ainsi nous avons obtenu les constantes de couplage suivantes :  $J_{43\text{C}} = 3,4 \text{ Hz}$  et  $J_{23\text{C}} = 12 \text{ Hz}$ . En considérant que l'hétérocycle adopte une conformation équatoriale, ces résultats reflètent bien un couplage trans entre les protons 2 et 3 (valeur de J élevée) et un couplage cis entre les protons 3 et 4 (valeur de J faible) et donc une stéréochimie RSS.

De plus, d'autres analyses complémentaires en modélisation moléculaire et en dichroïsme circulaire avaient été réalisées précédemment au laboratoire<sup>89</sup> : toutes deux accréditaient effectivement la stéréochimie  $\beta$  du substituant hydroxyéthoxy en position 4.

### II.3. Blocage de la position 8 de la catéchine protégée activée en position 4

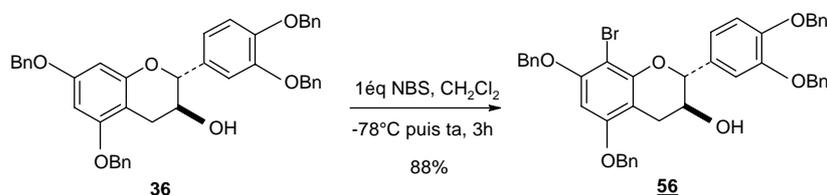
Le blocage de la position 8 de la catéchine tétrabenzylée activée **55** permet de préparer l'intermédiaire clé de notre stratégie de synthèse : cette étape doit permettre non seulement de travailler en quantités stoechiométriques mais aussi d'obtenir un bon contrôle du degré d'oligomérisation lors de l'étape de couplage. Un essai préliminaire avait été tenté au laboratoire en insérant un atome d'iode avec du N-iodosuccinimide (NIS) en position 8 de la catéchine tétrabenzylée.<sup>89</sup> Le choix de l'iode s'expliquait par l'excellent degré de régiosélectivité de la réaction en fonction du solvant utilisé : lorsque le DMF est utilisé, l'iodation a lieu préférentiellement en position 8 alors que l'iodation a lieu presque exclusivement en position 6 quand l'acétone est employée comme solvant.<sup>103</sup> Cependant, la liaison C-I s'est révélée trop fragile dans les conditions de couplage : une déprotection partielle de cette position 8 a eu lieu, ne permettant, par conséquent, d'obtenir qu'un faible contrôle du degré d'oligomérisation. Les résultats obtenus selon cette voie de synthèse étaient tout de même similaires à ceux obtenus par Kawamoto qui utilisait un excès de 5 équivalents d'unité nucléophile. Nous avons donc décidé de synthétiser le dérivé bromé de la catéchine tétrabenzylée activée qui devrait être plus stable que son analogue iodé.

Dans la littérature, deux réactifs ont été principalement utilisés pour bromer en position 8 une catéchine protégée : l'hydrobromure-perbromure de pyridinium (noté PHPB)<sup>130,131,132</sup> et le N-bromosuccinimide (noté NBS)<sup>114</sup>. Après réaction de la catéchine

<sup>130</sup> McGraw G.W., Hemingway R.W., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1982**, 973-978

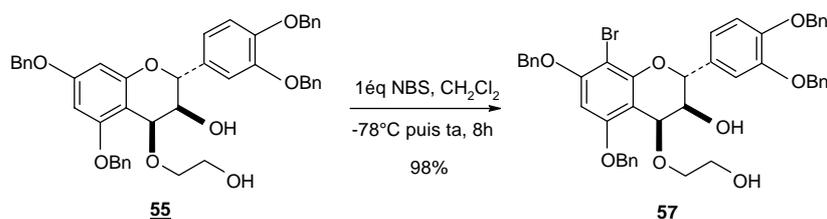
<sup>131</sup> Hundt H.K.L., Roux D.G., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1981**, 1227-1234

tétraméthylée avec un équivalent de PHPB dans l'éthanol, le dérivé bromé en position 8 a été obtenu avec un rendement de 66%. De même, à l'issue de la réaction entre la catéchine tétrabenzylée et un équivalent de NBS dans le dichlorométhane à basse température, le dérivé bromé en position 8 a été synthétisé avec un rendement de 88% et une régiosélectivité totale (Figure 49).



**Figure 49 :** Bromation sélective de la position 8 de la catéchine tétrabenzylée dans les conditions de Tückmantel et coll.

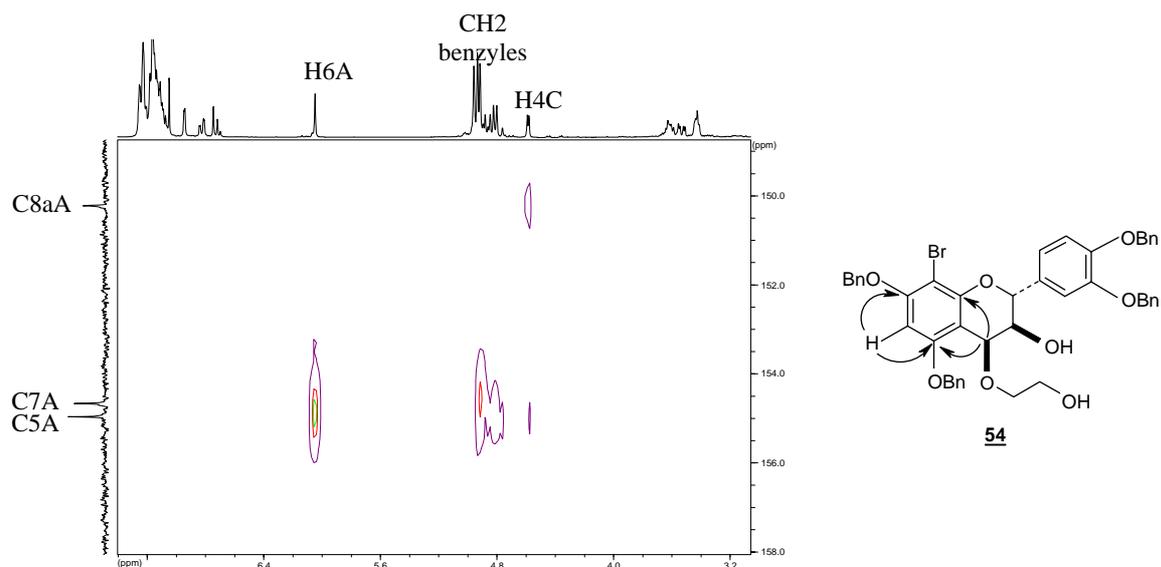
La méthode avec le NBS étant plus efficace que celle avec le PHPB, nous avons bromé la position 8 de la catéchine activée par action du NBS (Figure 50). La catéchine tétrabenzylée activée bromée **57** (nommée catBnBr8Act) est ainsi obtenue avec un rendement de 98% sans nécessiter de purification supplémentaire.



**Figure 50 :** Bromation sélective de la position 8 de la (+)-catéchine tétrabenzylée activée

Après avoir vérifié par spectrométrie de masse que la bromation avait bien été effectuée, la structure de catBnBr8Act a été confirmée par RMN : les résonances des protons et des carbones ont été attribuées à partir des différentes expériences de RMN 1D et 2D. En particulier, le spectre HMBC a permis de confirmer la position du brome sur le carbone 8 (Figure 51).

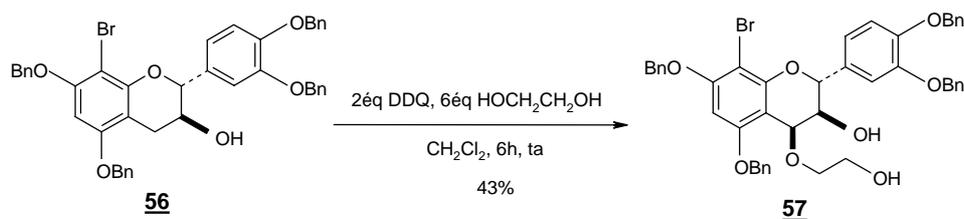
<sup>132</sup> Engel D.W., Hattingh M., Hundt H.K.L., Roux D.G., *J. Chem. Soc., Chem. Comm.*, **1978**, 695-696



**Figure 51** : Détermination du site de fixation de l'atome de brome grâce au spectre HMBC de catBnBr8Act

Au-delà de 150 ppm, seules trois résonances apparaissent à 156,9, 156,6 et 152,2 ppm : elles correspondent respectivement aux carbones quaternaires C5A, C7A et C8aA. Comme nous pouvons le voir sur le spectre HMBC précédent, les corrélations entre les CH<sub>2</sub> benzyliques et les deux carbones qui résonnent à 156,6 et 156,9 ppm nous permettent de distinguer les carbones C5A et C7A du carbone C8aA. La corrélation entre le proton H4C et le carbone qui résonne à 156,9 ppm nous permet alors de différencier les carbones C5A et C7A car le proton H4C est couplé en <sup>3</sup>J avec C5A mais pas avec C7A. La troisième résonance à 152,2 ppm peut donc être attribuée au carbone C8aA. Le proton à 6,28 ppm, qui peut correspondre à H6A ou à H8A, est quant à lui couplé avec les deux carbones C5A et C7A. Nous pouvons donc en déduire que ce proton est H6A car le proton H8A aurait été couplé à C7A mais aussi à C8aA. La bromation a donc bien été effectuée en position 8 de la catéchine benzylée activée.

Il est important de noter que l'enchaînement activation de la position 4-protection de la position 8 pouvait être éventuellement inversé. Cependant, l'étape d'activation tentée à partir de la catéchine tétrabenzylée bromée **56**, dans les conditions optimales précédemment définies, s'est avérée moins efficace (Figure 52).



**Figure 52 :** Activation de la catéchine tétrabenzylée bromée en présence de DDQ et d'éthylène glycol

La substitution de la position 8 du cycle phloroglucinol de la catéchine tétrabenzylée par un groupement électroattracteur appauvrit le cycle A en électrons. Le transfert de charge avec le DDQ, lors de l'étape d'activation, est alors moins efficace et cela se traduit par une nette diminution du rendement. Pour cette raison, l'étape d'activation de la position 4 doit être effectuée avant le blocage de la position 8 par un brome.

*L'unité électrophile **57** et les unités nucléophiles **36** et **39**, nécessaires pour obtenir respectivement les dimères B3 et B4, étant synthétisées, l'étape suivante consiste à condenser ces molécules afin d'obtenir les dimères protégés correspondants.*

#### II.4. Couplage cationique entre catBnBr8Act/catBn et catBnBr8Act/épiBn

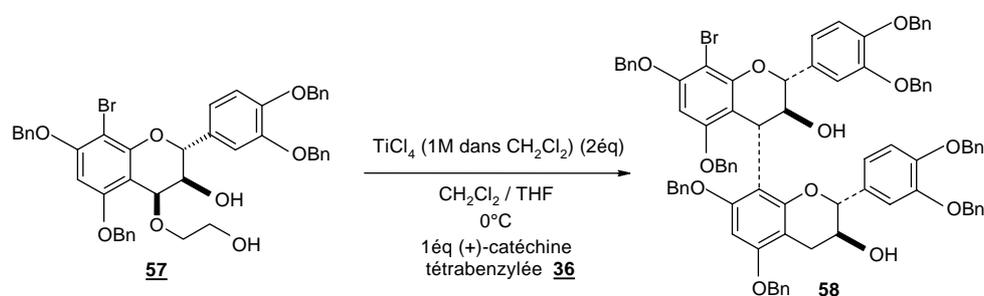
Comme nous l'avons vu dans la seconde partie (II.5.), plusieurs méthodes de couplage ont été proposées dans la littérature.

Au laboratoire,<sup>89</sup> le protocole de Kawamoto et coll.<sup>72,105</sup> a été appliqué puis optimisé pour synthétiser le dimère B3. Les meilleures conditions de couplage étaient les suivantes : 2 équivalents de TiCl<sub>4</sub>, 1 équivalent de catéchine tétrabenzylée activée en position 4 par l'éthylène glycol, 10 équivalents de catéchine tétrabenzylée, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/THF, 0°C, 3 heures. Après purification sur colonne de gel de silice, plusieurs produits avaient été obtenus : le dimère B3 protégé (48%), le trimère C2 protégé (6%) et le tétramère protégé correspondant (traces). Dans ces conditions, la régiochimie et la stéréochimie étaient parfaitement contrôlées, seul le degré d'oligomérisation posait problème.

Dans un premier temps, nous avons appliqué le protocole de Tückmantel et coll., utilisant la bentonite K-10, à la synthèse du dimère B3 (catéchine-4 $\alpha$ ,8-catéchine). Ainsi des quantités stoechiométriques de catéchine tétrabenzylée bromée et activée **57** et de catéchine tétrabenzylée **36** ont été couplées en présence de bentonite K-10 dans le dichlorométhane. Après purification sur colonne de gel de silice, un produit a été isolé avec un rendement de

62% et 28% de la catéchine tétrabenzylée de départ ont été récupérés. Cependant, le spectre RMN  $^1\text{H}$  du produit isolé nous montre la présence de plusieurs composés, probablement des rotamères et des stéréoisomères. Cette méthode ne semble donc pas totalement stéréosélective. Par ailleurs, les auteurs ont précisé que l'efficacité de cette approche chute pour la synthèse d'unités supérieures aux dimères. Par conséquent, nous avons utilisé une autre voie de couplage.

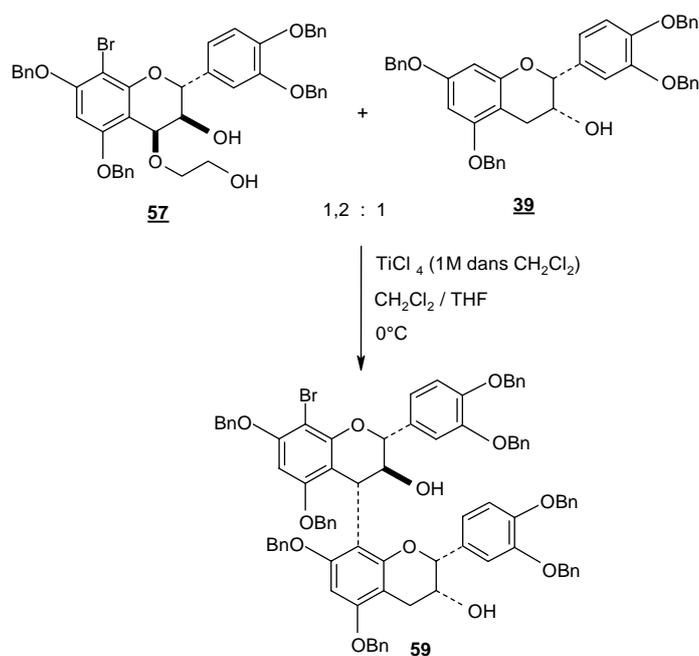
La réaction de couplage entre un équivalent de catéchine benzylée bromée activée **57** et un équivalent de catéchine benzylée **36** a donc été effectuée en présence de  $\text{TiCl}_4$  pur. Mais de meilleurs résultats ont été obtenus en utilisant du  $\text{TiCl}_4$  en solution dans du dichlorométhane. La condensation entre l'unité nucléophile et l'unité électrophile a été réalisée dans les conditions décrites sur le schéma suivant (Figure 53).



**Figure 53** : Condensation entre catBnBr8Act et catBn en quantités stoechiométriques

Après purification, 21% de catéchine tétrabenzylée **36** n'ayant pas réagi et 57% de dimère benzylé bromé **58** (noté B3BnBr8) ont été isolés. L'unité électrophile **57**, quant à elle, se dégraderait sur silice. Comme la catéchine tétrabenzylée **36** ne réagissait pas totalement, nous avons effectué la réaction de couplage entre l'unité nucléophile et un léger excès d'unité électrophile (1,2 équivalent). Dans ces conditions, 67% de dimère benzylé bromé B3BnBr8 **58** et 17% de catéchine tétrabenzylée **36** n'ayant pas réagi ont été isolés. Le rendement de cette réaction a pu être ainsi amélioré.

La réaction de condensation entre l'épicatéchine tétrabenzylée **39** et la catéchine tétrabenzylée bromée activée **57** a ensuite été effectuée selon le même protocole pour synthétiser le dimère B4BnBr8 (Figure 54). Après purification, 22% d'épicatéchine tétrabenzylée n'ayant pas réagi et 53% de dimère benzylé bromé **59** (noté B4BnBr8) ont été isolés.



**Figure 54 :** Réaction de couplage entre catBnBr8Act et épiBn dans les proportions 1,2 : 1

La caractérisation RMN des dimères B3BnBr8 et B4BnBr8, qui a été effectuée à partir des résultats obtenus en RMN 1D ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT) et 2D (HMQC, HMBC, COSY), a permis de déterminer la régiochimie et la stéréochimie de la liaison interflavane créée. L'attribution de l'ensemble des protons et des atomes de carbone de ces deux dimères octabenzylés a cependant été rendue difficile par la présence de deux rotamères dans les proportions 70/30 pour B3BnBr8 et pour B4BnBr8 dans le  $\text{CDCl}_3$ .

La stéréochimie de la liaison interflavane a été déterminée pour le rotamère majoritaire grâce à la mesure des constantes de couplage entre les protons de l'hétérocycle (Tableau 4).

**Tableau 4 :** Valeurs des constantes de couplage entre les protons des hétérocycles C et F des dimères B3BnBr8 et B4BnBr8

Constantes de couplage (Hz)	B3BnBr8	B4BnBr8
$J_{23\text{C}}$	9,8	9,6
$J_{43\text{C}}$	9,0	8,3
$J_{23\text{F}}$	12,1	~ 0
$J_{4\text{F}\alpha 3\text{F}}$	4,9	4,4
$J_{4\text{F}\beta 3\text{F}}$	8,5	< 1
$J_{4\text{F}\alpha 4\text{F}\beta}$	16,2	17,1

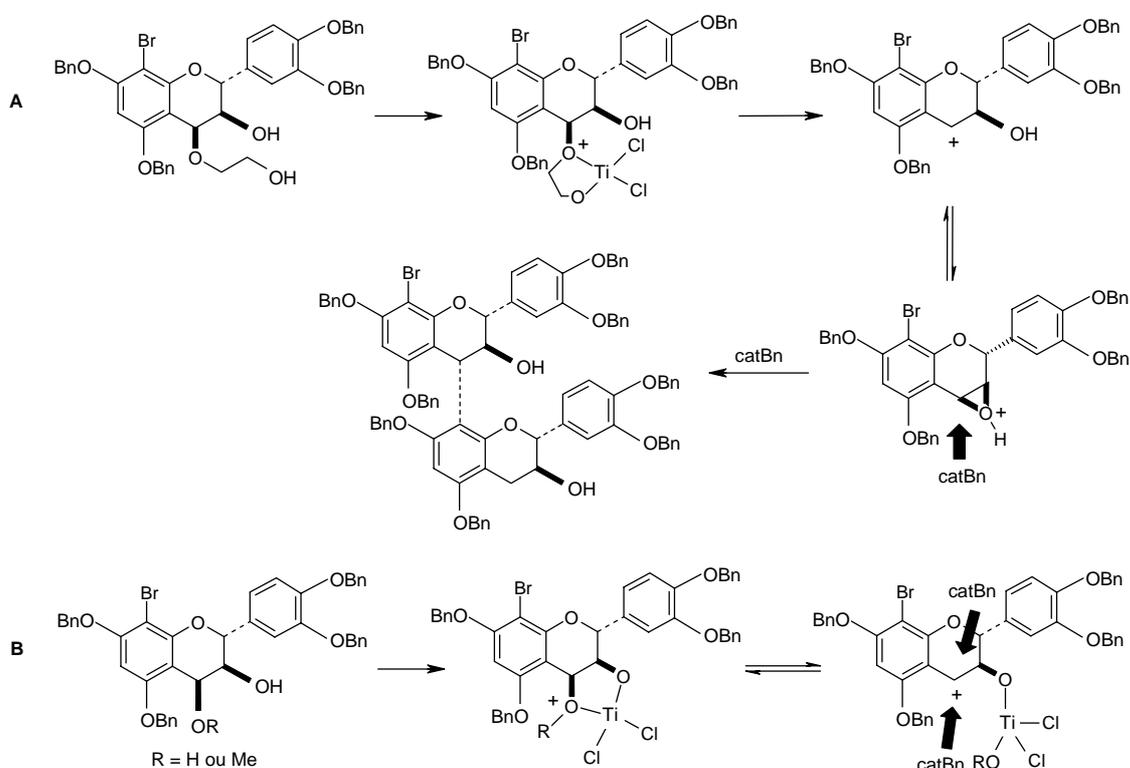
La valeur de la constante de couplage entre les protons 3C et 4C est proche de 9 Hz pour les dimères B3BnBr8 et B4BnBr8 : dans le cas vraisemblable où le cycle catéchol B

adopte une position équatoriale, cette valeur est en accord avec une stéréochimie de la liaison interflavane de type  $\alpha$ .

La régiochimie 4-8 de la liaison interflavane de ces deux dimères  $\alpha$ , quant à elle, été vérifiée à partir du spectre HMBC et en particulier, grâce au couplage entre le proton H4C et le carbone C8aD.

*Que ce soit pour la synthèse de B3BnBr8 ou de B4BnBr8, un seul produit de condensation a été obtenu : les unités nucléophile et électrophile ont été couplées avec un contrôle total du degré d'oligomérisation, de la régiochimie et de la stéréochimie de la liaison interflavane.*

Ainsi, contrairement aux méthodes de Kawamoto<sup>72,105</sup> et de Vercauteren<sup>118</sup> qui obtenaient respectivement une stéréosélectivité de 3 pour 2 et de 2 pour 1 lors de l'étape de condensation en présence de  $\text{TiCl}_4$ , la méthode de couplage présentée Figure 53 et Figure 54 est totalement stéréosélective. Cette différence de sélectivité proviendrait de la nature du groupement activant de l'unité électrophile : l'utilisation d'éthylène glycol permettrait un meilleur stéréocontrôle que l'eau ou le méthanol. Le mécanisme proposé sur la Figure 55 pourrait expliquer l'origine de ce phénomène.

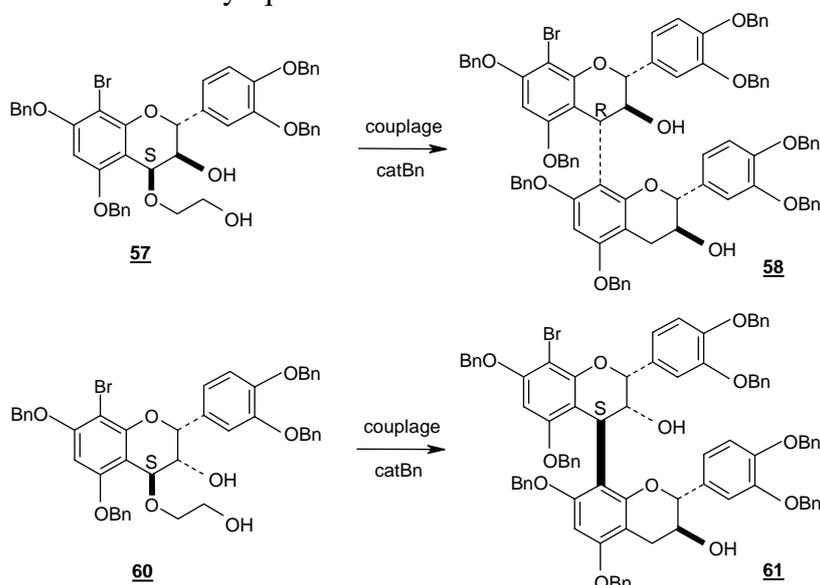


**Figure 55 :** Mécanisme proposé pour expliquer la stéréosélectivité de l'étape de couplage entre catBn et catBnBr8Act

Après complexation du titane avec les deux atomes d'oxygène de l'éthylène glycol et formation d'un carbocation benzylique intermédiaire, l'hydroxyle en position 3 peut stabiliser ce carbocation en formant l'oxonium correspondant. Dans ce cas, l'attaque de l'unité nucléophile ne peut se faire que par la face opposée à l'oxonium (Figure 55 A). Par contre, lorsque l'eau ou le méthanol est utilisé pour activer l'unité électrophile, la stabilisation du carbocation intermédiaire par formation d'un ion oxonium n'est pas possible car l'hydroxyle en position 3 est lui-même engagé dans la sphère de coordination du titane : l'attaque du nucléophile peut alors avoir lieu sur les deux faces avec une diastéréosélectivité incomplète (Figure 55 B).

L'utilisation de l'éthylène glycol pour activer l'unité électrophile, ainsi que la disponibilité de l'hydroxyle en position 3, apparaissent donc indispensables pour contrôler totalement la stéréochimie de la liaison interflavane lors de l'étape de condensation.

De plus, la fonctionnalisation en position 4 semble contrôlée par la stéréochimie du carbone 3 : dans le cas d'une catéchine activée, la réaction de couplage correspondra à une substitution nucléophile avec inversion de configuration alors que dans le cas de l'épicatéchine activée, cette réaction se fait avec une rétention de la configuration (Figure 56). Ces deux orientations opposées confirment l'implication de l'hydroxyle libre dans la stabilisation du carbocation benzylique intermédiaire.



**Figure 56 :** Stéréochimie de la liaison interflavane selon la nature de l'unité électrophile

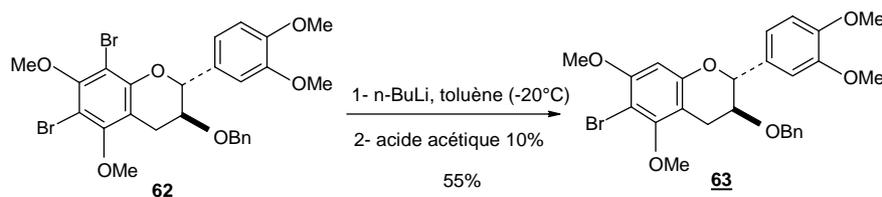
*Les étapes suivantes consistent donc à débromer et à débenzyler les deux dimères 58 et 59 pour obtenir les procyanidines B3 et B4 à l'état natif.*

## II.5. Débromation de la position 8 des dimères B3BnBr8 et B4BnBr8

### II.5.a. Rappels bibliographiques

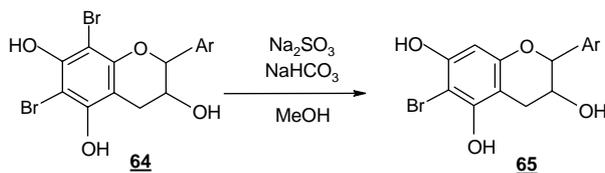
Différentes méthodes ont été proposées dans la littérature pour débromer des phénols ou des composés aromatiques bromés.

En 1981, Roux et coll.<sup>131</sup> ont employé le n-butyllithium pour débromer sélectivement le dérivé totalement protégé de la catéchine 6,8-dibromé **62** (Figure 57). Cette réaction met en évidence la réactivité supérieure de la position 8 par rapport à la position 6.



**Figure 57** : Débromation d'un dérivé de la catéchine selon les conditions de Roux et coll.

En 1983, Kiehlmann<sup>100</sup> a utilisé le sulfite de sodium en présence d'hydrogénocarbonate de sodium pour débromer la catéchine dibromée **64** dont les fonctions phénols n'étaient pas protégées (Figure 58).



**Figure 58** : Débromation de la position 8 de la catéchine dibromée selon Kiehlmann

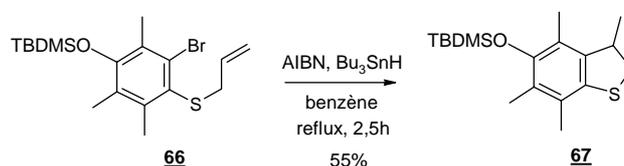
Quant à Nonaka et coll.<sup>133</sup>, ils ont réalisé la débromation d'une procyanidine trimère bromée non protégée en utilisant une solution d'acide chlorhydrique de concentration 0,2 M. Dans ces conditions, la débromation a effectivement lieu mais la rupture des deux liaisons interflavanes est également observée.

Fuji et coll.<sup>134</sup> ont effectué la débromation d'ortho- et para-bromophénols en présence de chlorure d'aluminium et d'éthanethiol dans le dichlorométhane avec des rendements variant de 1 à 50% selon les conditions (nombre d'équivalents d'acide, temps de la réaction). La chimie radicalaire permet également de réaliser la débromation de composés aromatiques bromés. En général, l'hydrure de tributylétain est utilisé en conditions thermiques avec l'AIBN en tant qu'initiateur. Les applications les plus courantes de Bu<sub>3</sub>SnH en chimie

<sup>133</sup> Nonaka G.I., Morimoto S., Nishioka I., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1983**, 2139-2145

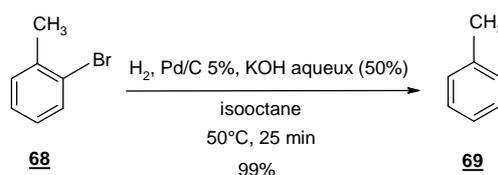
<sup>134</sup> Node M., Kawabata T., Fujita E., Fuji K., *Bull. Inst. Chem. Res.*, **1985**, 63, 2, 47-51

radicalaire sont des déhalogénations suivies d'une cyclisation par couplages C-C inter- ou intramoléculaires. Ainsi, Engman et coll.<sup>135</sup> ont réalisé la débromation du composé **66** suivie d'une réaction intramoléculaire avec 0,25 équivalent d'AIBN et 1,2 équivalent de Bu<sub>3</sub>SnH (Figure 59).



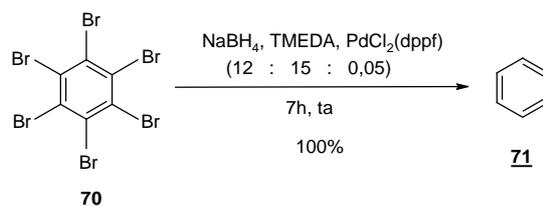
**Figure 59** : débromation suivie d'une cyclisation intramoléculaire avec le système (Bu<sub>3</sub>SnH / AIBN)

L'utilisation de catalyseurs, le plus souvent à base de palladium, en présence d'une source de proton (hydrogène ou NaBH<sub>4</sub>) permet également de débromer des composés aromatiques bromés. Tundo et coll.<sup>136,137</sup> ont par exemple effectué la débromation du bromotoluène quantitativement avec le catalyseur palladium sur charbon et de l'hydrogène dans des conditions relativement dures (Figure 60).



**Figure 60** : Débromation du bromotoluène avec H<sub>2</sub> et le catalyseur Pd sur charbon

Hor et coll.<sup>138</sup> ont utilisé un autre catalyseur palladié et du NaBH<sub>4</sub> pour réaliser la débromation de l'hexabromobenzène (Figure 61).



**Figure 61** : Débromation de l'hexabromobenzène par PdCl<sub>2</sub>(dppf) et NaBH<sub>4</sub>

*La recherche des conditions optimales de débromation a d'abord été effectuée sur la catéchine benzylée bromée (notée catBnBr8) puis le protocole a ensuite été appliqué à la débromation des dimères B3BnBr8 **58** et B4BnBr8 **59**.*

<sup>135</sup> Malmström J., Gupta V., Engman L., *J. Org. Chem.*, **1998**, 63, 3318-3323

<sup>136</sup> Marques C.A., Selva M., Tundo P., *J. Org. Chem.*, **1994**, 59, 3830-3837

<sup>137</sup> Marques C.A., Rogozhnikova O., Selva M., Tundo P., *J. Mol. Catal. A*, **1995**, 96,301-309

<sup>138</sup> Wei B., Li S., Lee H.K., Hor T.S.A., *J. Mol. Catal. A*, **1997**, 126, L83-L88

*II.5.b. Débromation par voie radicalaire*

Dans un premier temps, nous avons utilisé des conditions radicalaires, qui permettent une neutralité du milieu réactionnel, pour réaliser la débromation de la catéchine tétrabenzylée bromée. Plusieurs expériences ont été effectuées : les résultats sont rassemblés dans le Tableau 5.

**Tableau 5** : Résultats de la débromation de catBnBr8 dans différentes conditions radicalaires

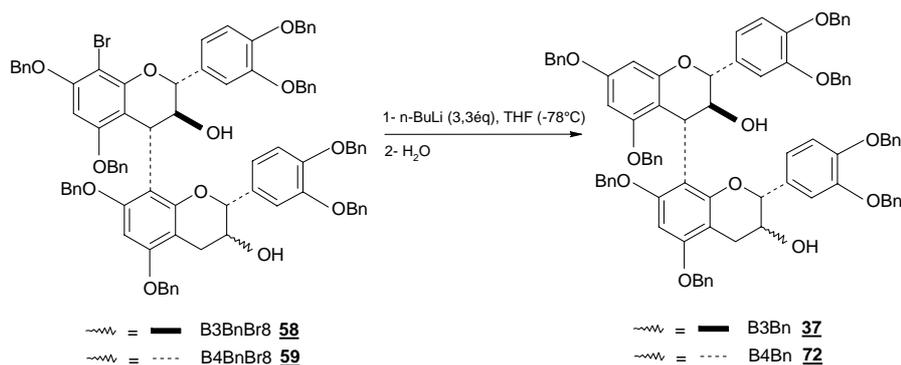
Source de radicaux	Initiateur	Solvant	%catBn/ %catBnBr8
Bu <sub>3</sub> SnH (1,2 éq)	AIBN	Benzène	18 / 82
Bu <sub>3</sub> SnH (1,2 éq)	ACCN	Toluène	39 / 61
Bu <sub>3</sub> SnH (2 éq)	ACCN	Toluène	48 / 52
Bu <sub>3</sub> SnH (2 éq)	ACCN	m-Ph(CF <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	47 / 53

Après avoir ajouté l'hydrure d'étain à la solution de catéchine benzylée bromée, l'initiateur a été additionné, au reflux du solvant, à l'aide d'un pousse-seringue à un faible débit pour que la concentration en radicaux libres reste faible mais constante. Des réactions de terminaison prématurées entre deux radicaux ne devraient donc pas avoir lieu. Ainsi, l'introduction de deux équivalents de Bu<sub>3</sub>SnH dans le milieu réactionnel a donné de meilleurs résultats qu'avec 1,2 équivalent. De même, l'utilisation de l'ACCN (temps de demi-vie à 110°C : une heure) dans le toluène a conduit à un meilleur taux de débromation que l'AIBN (temps de demi-vie à 80°C : deux heures) dans le benzène. Cependant, quelles que soient les conditions, la débromation de catBnBr8 n'a pas été totale.

Les modes opératoires décrits par Kiehlmann (Figure 58) et par Fuji et coll. ont également été testés mais n'ont donné aucun résultat satisfaisant.

*II.5.c. Débromation par voie lithienne*

Finalement, la méthode de Roux et coll. (Figure 57) a été appliquée à la débromation de catBnBr8 avec deux équivalents de n-butyllithium en utilisant l'eau comme source de proton. Le produit débromé, la catéchine tétrabenzylée **36**, a été obtenu quantitativement. Les débromations des dimères B3BnBr8 **58** et B4BnBr8 **59** ont donc été réalisées avec 3,3 équivalents de n-butyllithium (Figure 62). Cette débromation se voit aisément en RMN car un système de spins AM correspondant aux protons H6A et H8A apparaît entre 6 et 6,5 ppm sur les spectres RMN de B3Bn et de B4Bn. Après hydrolyse, les dimères octabenzylés **37** et **72** (notés B3Bn et B4Bn) ont été obtenus respectivement avec un rendement de 97% et de 98%.



**Figure 62** : Débromation des dimères B3BnBr8 et B4BnBr8 par la n-butyllithium

Le seul inconvénient de cette méthode de débromation réside dans la quantité importante de n-butyllithium qu'il faudra utiliser pour la débromation des trimères et des oligomères d'ordre supérieur, du fait de la présence d'un hydroxyle libre pour chaque unité de procyanidine.

*Après une débromation quasiment quantitative, la dernière étape de la synthèse des dimères B3 et B4 consiste à déprotéger les hydroxyles phénoliques des dimères B3Bn 37 et B4Bn 72.*

## II.6. Déprotection des hydroxyles phénoliques des dimères B3Bn et B4Bn

Cette étape de déprotection des fonctions phénols doit être effectuée dans des conditions douces en milieu neutre afin d'éviter non seulement une rupture de la liaison interflavane mais aussi toute dégradation éventuelle du dimère (ouverture de l'hétérocycle, épimérisation). La plupart des méthodes de débenzylation proposées dans la littérature font appel à des hydrogénations catalytiques. Elles se différencient par la nature du catalyseur, du donneur d'hydrogène ou du solvant ou par la température de la réaction.

Le catalyseur palladium sur charbon a souvent été utilisé. Mais quelles que soient la source d'hydrogène ( $H_2$ ,<sup>72,104,105</sup> 1,4-cyclohexadiène,<sup>139</sup> acide acétique<sup>140</sup>) et la nature du solvant (dioxane,<sup>72</sup> éthanol-THF 1:5,<sup>141</sup> méthanol), la débenzylation n'est pas totale. De bons résultats ont été obtenus avec un autre catalyseur palladié, le catalyseur de Pearlman,  $Pd(OH)_2$  sur charbon. Différents systèmes de solvants ont été utilisés pour déprotéger des

<sup>139</sup> Felix A.M., Heimer E.P., Lambros T.J., Tzougraki C., Meienhofer J., *J. Org. Chem.*, **1978**, 43, 21, 4194-4196

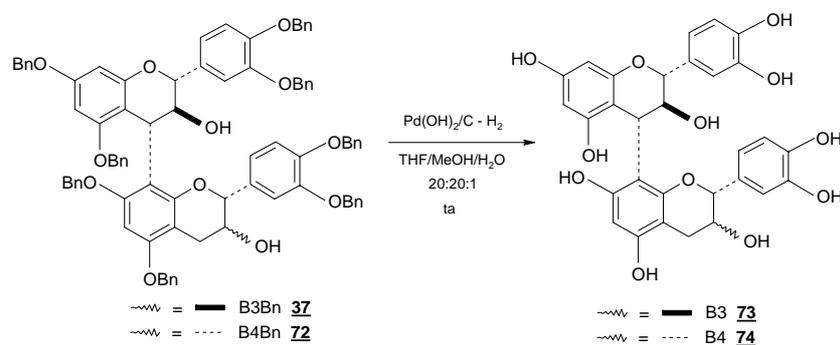
<sup>140</sup> Deme E., *J. Org. Chem.*, **1976**, 41, 23, 3769

<sup>141</sup> Yoneda S., Kawamoto H., Nakatsubo F., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1997**, 1025-1030

procyanidines benzylées sous atmosphère d'hydrogène : acétate d'éthyle/méthanol<sup>114,117</sup> et THF/méthanol/eau dans les proportions 20:20:1<sup>115,119,123,142</sup>.

Selon Tückmantel et coll.<sup>119</sup>, il est préférable d'effectuer cette réaction d'hydrogénation dans un ballon préalablement lavé avec une solution de bicarbonate de sodium afin d'éviter une fragmentation partielle des oligomères en oligomères de poids moléculaires inférieurs.

Nous avons donc appliqué le protocole de Tückmantel et coll. à la débenzylation des fonctions hydroxyles de B3Bn **37** et B4Bn **72** en présence de catalyseur de Pearlman et d'hydrogène (Figure 63).

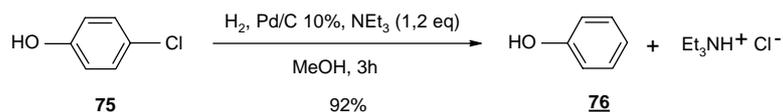


**Figure 63** : Débenzylation des dimères B3Bn et B4Bn selon le protocole de Tückmantel

Après filtration sur célite, les procyanidines dimères B3 **73** et B4 **74** ont été obtenues quantitativement.

## II.7. Débromation et débenzylation de B3BnBr8 et B4BnBr8 en une seule étape

Sajiki et coll.<sup>143,144</sup> ont montré récemment que l'utilisation de palladium sur charbon en présence d'hydrogène et de triéthylamine permettait d'effectuer des réactions de déchloration de composés aromatiques chlorés (Figure 64). La triéthylamine permettrait non seulement de piéger l'acide chlorhydrique formé mais aussi d'activer cette réaction d'hydrodéphalogenation.



**Figure 64** : Déchloration du chlorophénol avec le catalyseur Pd/C en présence de triéthylamine

<sup>142</sup> Arnaudinaud V., Nay B., Nuhrich A., Deffieux G., Mérillon J.M., Monti J.P., Vercauteren J., *Tetrahedron Lett.*, **2001**, *42*, 1279-1281

<sup>143</sup> Sajiki H., Kume A., Hattori K., Hirota K., *Tetrahedron Lett.*, **2002**, *43*, 7247-7250

<sup>144</sup> Sajiki H., Kume A., Hattori K., Nagase H., Hirota K., *Tetrahedron Lett.*, **2002**, *43*, 7251-7254

Nous avons également pu observer que l'étape de débenzylation en présence de catalyseur de Pearlman Pd(OH)<sub>2</sub> sur charbon et d'hydrogène donnait des résultats tout à fait satisfaisants. Pour éviter d'utiliser d'importantes quantités de n-butyllithium lors de l'étape de débromation des trimères et des oligomères et pour limiter le nombre d'étapes de la synthèse, il apparaissait tentant de coupler les deux réactions de débromation et de débenzylation en une seule étape, bien que Sajiki et coll.<sup>143,144</sup> aient noté que les bases azotées pouvaient agir comme « poisons » pour ces débenzylation.

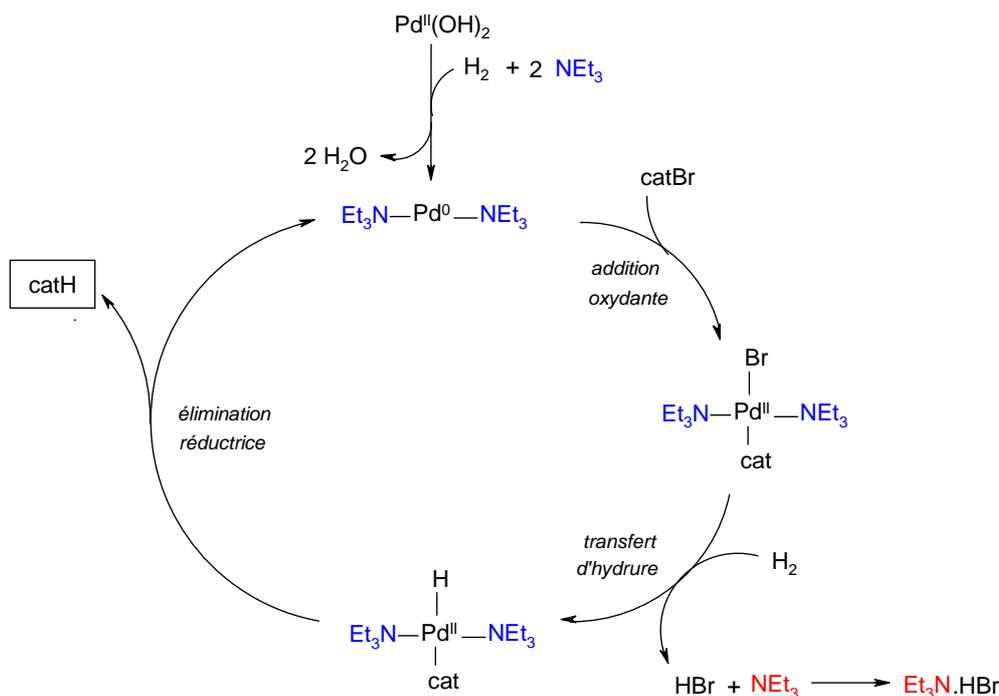
Différents paramètres (quantités de catalyseur et de triéthylamine) ont donc été testés pour réaliser les réactions de débromation et de débenzylation en une seule étape. De plus, la nature des solvants a été modifiée. Nous avons opté pour le système acétate d'éthyle/méthanol 1 : 1 : l'acétate d'éthyle permet de bien solubiliser le dimère benzylé bromé et le méthanol, solvant polaire, permet une meilleure solubilité de l'hydrogène et du dimère déprotégé. Pour des raisons de facilité, la recherche des conditions optimales a été effectuée à partir du monomère catBnBr8 avant de les appliquer aux dimères B3BnBr8 **58** et B4BnBr8 **59**. Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau suivant.

**Tableau 6 :** Détermination des conditions optimales de débromation/débenzylation en une seule étape de catBnBr8

	n(catBnBr8) (mmol)	n(Pd) (mmol)	n(NEt <sub>3</sub> ) (mmol)	Rendement (%) cat / catBr
1	0,055	0,132	0,29	81 / 19
2	0,057	0,152	0,29	73 / 27
3	0,055	0,094	0,29	91 / 9
4	0,055	0,075	0,29	98 / 2

Nous pouvons tout d'abord noter que quelles que soient les conditions utilisées, la débenzylation du monomère catBnBr8 est totale mais par contre, le taux de débromation varie. Pour un volume de triéthylamine et une masse de monomère catBnBr8 constants, la débromation se fait d'autant mieux que la quantité de catalyseur est faible.

Nous supposons en fait que deux molécules de triéthylamine réduisent le palladium du catalyseur de Pearlman en présence de H<sub>2</sub> pour former du palladium (0) plus réactif que le palladium (II). Ce palladium (0) peut alors subir l'addition oxydante de la part de la liaison C-Br. Une quantité supplémentaire de triéthylamine est ensuite nécessaire pour piéger l'acide HBr qui se libère dans le milieu. Le mécanisme suivant peut être proposé pour la débromation de catBr8 (Figure 65).

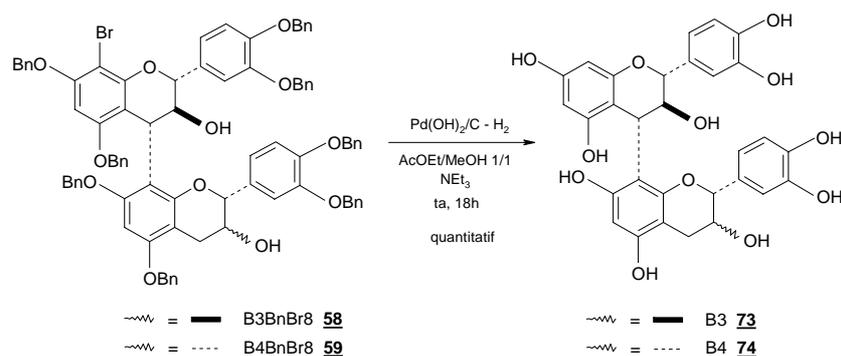


**Figure 65 :** Cycle catalytique de la débromation de catBr8

Lors de cette réaction de débromation/débenzylation en une seule étape, le bromhydrate de triéthylamine est formé. Cependant, après filtration sur célite et lavages avec l'acétate d'éthyle, le sel est toujours présent. Il est par conséquent nécessaire de mettre au point une méthode efficace pour éliminer ce sel. La catéchine et le sel étant plus solubles dans l'eau que dans les solvants organiques, l'élimination du bromhydrate de triéthylamine par extraction avec un solvant organique s'avère difficile. Nous avons donc opté pour une filtration sur silice en utilisant un solvant très polaire afin de limiter le temps de contact de la catéchine avec la silice légèrement acide. Le sel devrait quant à lui rester adsorbé sur la silice.

Ainsi, après une filtration rapide sur silice en utilisant un mélange acétone/4% méthanol comme éluant, il est possible d'obtenir la catéchine pure, sans aucune trace de sel.

Ces conditions ont été ensuite appliquées à la débromation et à la débenzylation des dimères B3BnBr8 et B4BnBr8 (Figure 66).

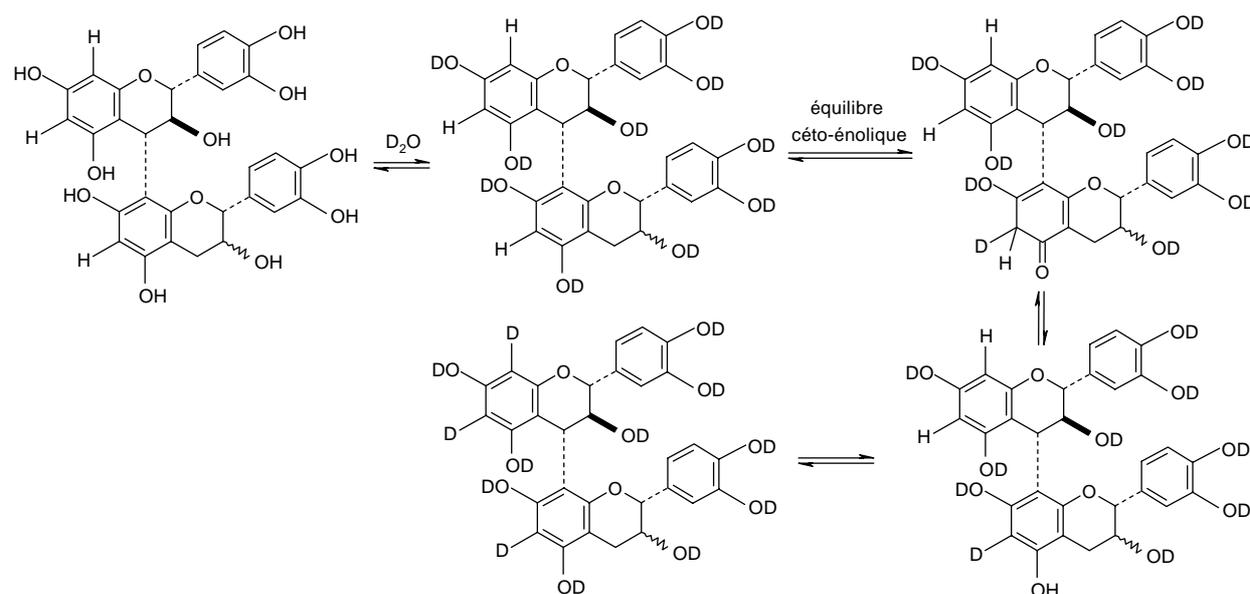


**Figure 66** : Débromation et débenzylation des dimères B3BnBr8 et B4BnBr8 en une seule étape

Le bromhydrate de triéthylamine formé est éliminé sans aucun problème par filtration sur silice. Les dimères B3 73 et B4 74 obtenus sont purs.

## II.8. Caractérisation des dimères B3 et B4

Les spectres RMN des dimères B3 et B4 à l'état natif ont été réalisés à température ambiante dans le méthanol deutérié et dans D<sub>2</sub>O. Deux formes rotamères apparaissent sur les spectres mais leurs proportions varient en fonction du solvant : pour le dimère B3, les proportions de chaque rotamère sont de 30/70 dans MeOD et de 5/95 dans D<sub>2</sub>O et pour le dimère B4, 55/45 dans MeOD et 17/83 dans D<sub>2</sub>O. Un rotamère étant largement majoritaire dans D<sub>2</sub>O, nous avons choisi d'effectuer les analyses RMN dans ce solvant. Cependant, dans D<sub>2</sub>O, nous assistons à une deutérotation progressive des sites 6 et 8 due aux équilibres céto-énoliques entre les hydroxyles en positions 5 et 7 et les protons en positions 6 et 8 (Figure 67).

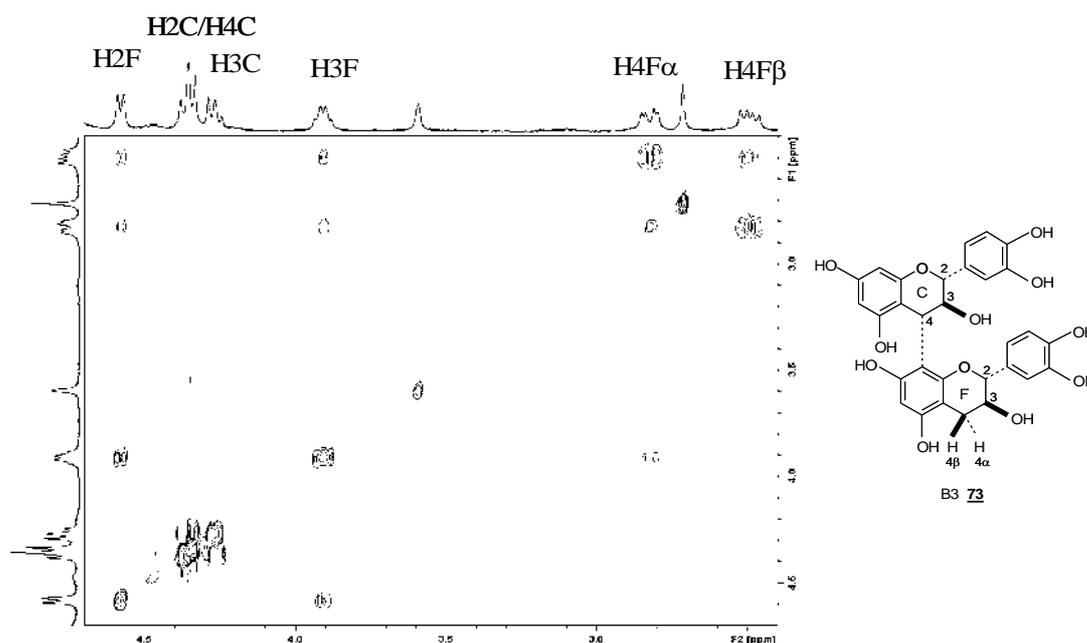


**Figure 67** : Equilibres céto-énoliques responsables de la disparition des résonances relatives aux protons H6 et H8 en RMN dans D<sub>2</sub>O

La disparition des résonances relatives aux protons H6 et H8 et par conséquent, l'absence de corrélations importantes avec ces protons, nous ont conduits à enregistrer les spectres RMN dans un mélange eau/10% D<sub>2</sub>O. L'élimination du signal de l'eau par présaturation est donc indispensable.

L'attribution complète des résonances des protons et des carbones des dimères B3 et B4 a donc été effectuée à partir des expériences RMN 1D et 2D : ceci nous a permis de confirmer la régiochimie et la stéréochimie de leur liaison interflavane. Nous avons choisi le dimère B3 pour présenter la stratégie générale de caractérisation des procyanidines par RMN (annexe 5).

Ainsi, sur le spectre RMN <sup>1</sup>H, le système de spins ABX entre 2,2 et 3 ppm nous a permis d'attribuer sans difficulté les résonances des protons H4F $\alpha$  et H4F $\beta$ . Le spectre TOCSY a permis alors de définir le système de spins correspondant aux protons de l'hétérocycle F : H2F (doublet) à 4,58 ppm, H3F (multiplet) à 3,92 ppm, H4F $\alpha$  et H4F $\beta$  à 2,85 et 2,49 ppm respectivement (Figure 68).

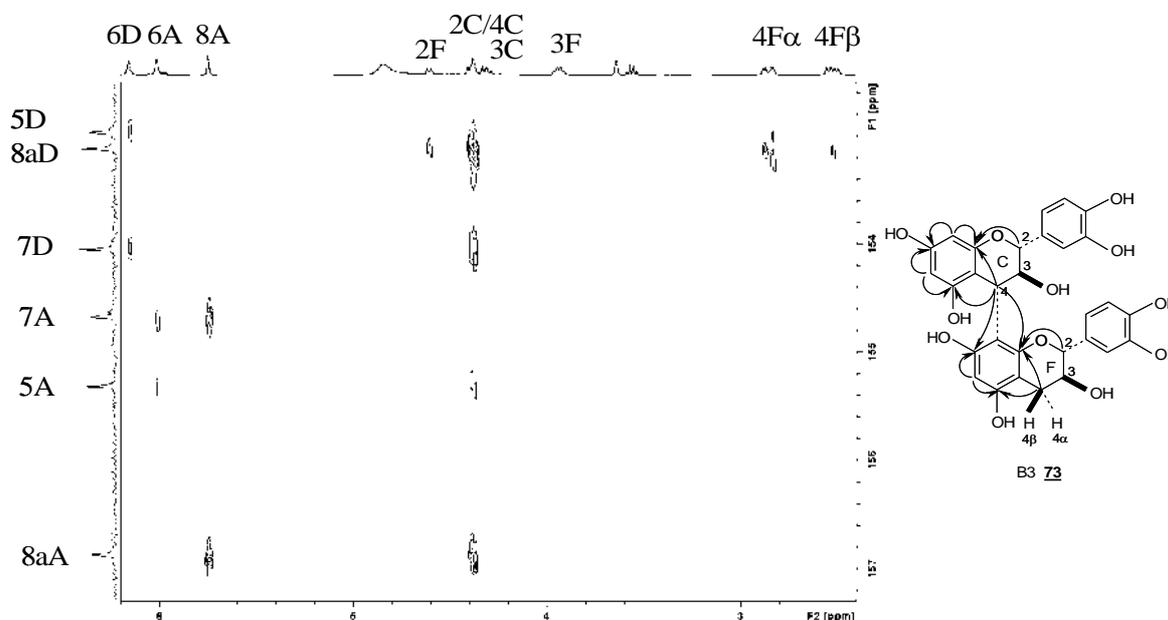


**Figure 68** : Zone du spectre TOCSY du dimère B3 permettant de visualiser les systèmes de spins relatifs aux protons des hétérocycles

Un second système de spins est mis en évidence sur ce spectre TOCSY : H2C (doublet) à 4,39 ppm, H3C (triplet) à 4,29 ppm et H4C (doublet) à 4,36 ppm. Les résonances des carbones C2F, C3F et C4F d'une part et des carbones C2C, C3C et C4C d'autre part ont été déterminées à partir du spectre HMQC : le carbone C2 est plus déblindé que le carbone C3 du fait de la substitution par un noyau aromatique et par l'oxygène de l'hétérocycle. La

différence de déplacements chimiques entre les carbones C2C (82 ppm) et C4C (37 ppm) permet alors de différencier les deux doublets relatifs aux protons H2C et H4C.

Les spectres de type HMBC, qui permettent de visualiser les couplages entre les protons et les atomes de carbone distants de 2 à 3 liaisons (couplages en  $^2J$  et  $^3J$ ), nous ont permis d'attribuer l'ensemble des carbones quaternaires. La principale difficulté réside dans la distinction des carbones C5, C7 et C8a des deux unités flavanes car ces six carbones résonnent entre 153 et 157 ppm. Or il est indispensable de différencier ces carbones car une corrélation entre le proton H4C et le carbone C5D caractérise une régiochimie 4-6 pour la liaison interflavane alors qu'une corrélation entre le proton H4C et le carbone C8aD caractérise une régiochimie 4-8. La Figure 69, qui correspond à la région 153-157 ppm du spectre HMBC sélective de la procyanidine dimère B3, montre les corrélations permettant d'attribuer sans ambiguïté les six carbones quaternaires.



**Figure 69** : Zone du spectre HMBC sélective de la procyanidine B3 enregistré dans eau/10% D<sub>2</sub>O à température ambiante permettant d'attribuer les carbones 5, 7 et 8a des hétérocycles A et D et de déterminer la régiochimie de la liaison interflavane

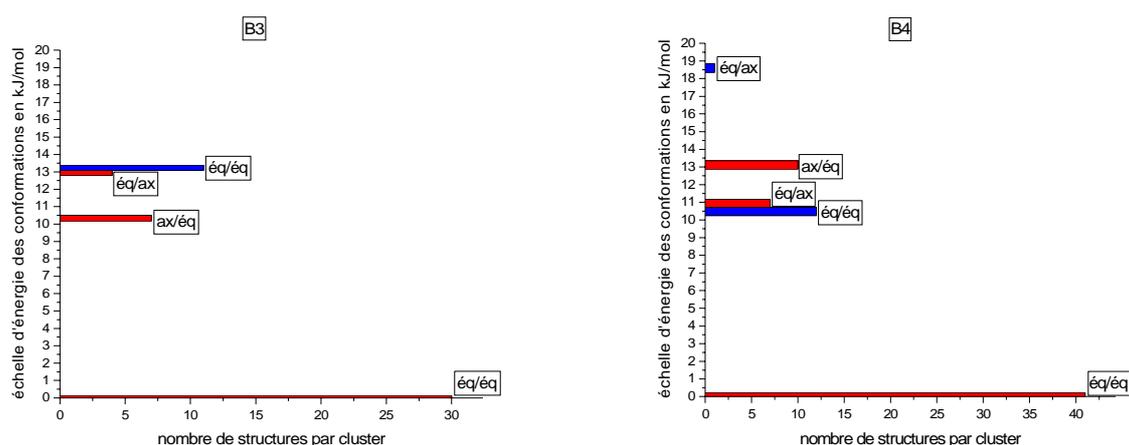
Les protons H4F $\alpha$  et H4F $\beta$  sont ainsi corrélés avec deux carbones qui résonnent à 153 et 153,2 ppm et qui correspondent respectivement au C5D et C8aD : ces deux carbones ont pu être différenciés grâce à l'observation d'une corrélation entre le proton H2F et le carbone C8aD. La même démarche a été appliquée pour déterminer les résonances des carbones C5A et C8aA. La corrélation entre le proton H4C et les carbones C8aD et C7D nous a alors permis de confirmer la régiochimie 4-8 de la liaison interflavane.

Après avoir attribué l'ensemble des résonances des protons et des carbones (annexe 5), nous avons pu déterminer la conformation des hétérocycles ainsi que la stéréochimie de la liaison interflavane à partir des constantes de couplage mesurées entre les protons des hétérocycles C et F (Tableau 7).

**Tableau 7 :** Valeurs des constantes de couplage théoriques (pour les conformères Eq-Eq et Ax-Ax) et mesurées par RMN entre les protons des hétérocycles C et F des procyanidines B3 et B4

Constantes de couplage (Hz)	B3	B3	B3	B3	B4	B4	B4	B4
	Eq-Eq calcul	Ax-Ax calcul	moyenne calcul	mesure	Eq-Eq calcul	Ax-Ax calcul	moyenne calcul	mesure
J <sub>23C</sub>	9,2	1,9	9,1	10,0	9,2	1,9	9,1	9,7
J <sub>43C</sub>	9,7	1,3	9,5	7,8	9,7	1,3	9,7	8,5
J <sub>23F</sub>	9,0	2,6	9,0	7,9	0,7	4,3	0,7	~ 0
J <sub>4F<math>\alpha</math>3F</sub>	5,7	3,7	5,8	5,6	4,6	5,0	4,1	4,7
J <sub>4F<math>\alpha</math>3F</sub>	10,6	2,5	10,5	8,5	2,0	11,0	2,2	< 1

L'analyse des valeurs des constantes de couplage, obtenues par le calcul en modélisation moléculaire selon la méthode d'Altona et coll.<sup>145</sup> (moyenne dans le Tableau 7) ou mesurées sur les spectres RMN, permet tout d'abord de montrer que les deux hétérocycles C et F adoptent préférentiellement une conformation demi-chaise dans laquelle les cycles catéchols B et E ont une orientation pseudo-équatoriale. L'analyse des structures minimisées dans MacroModel, obtenues dans une fenêtre énergétique de 20 kJ.mol<sup>-1</sup>, a permis de confirmer ces résultats (Figure 70 et annexe 4).



**Figure 70 :** Diagramme énergétique des conformations les plus stables des dimères B3 et B4 dans une fenêtre de 20 kJ.mol<sup>-1</sup>. En ordonnée, la conformation de plus basse énergie est prise comme référence pour chaque cluster. Le nombre de structures par cluster est en abscisse. Les rotamères étendus sont représentés en bleu, les rotamères compacts en rouge.

<sup>145</sup> Altona C.V., Haasnoot C.A.G., de Leew F.A.A.M., *Tetrahedron*, **1980**, 36, 2783- 2792

52 conformères répartis en 4 clusters (leaders 1 [n = 30, Eq-Eq, compact], 15 [n = 7, Ax-Eq, compact], 21 [n = 4, Eq-Ax, compact] et 22 [n = 11, Eq-Eq, étendu]) ont ainsi été observés dans une fenêtre énergétique de 20 kJ.mol<sup>-1</sup> pour le dimère B3.

Pour le dimère B4, 71 conformères répartis en 5 clusters (leaders 1 [n = 41, Eq-Eq, compact], 17 [n = 12, Eq-Eq, étendu], 18 [n = 7, Eq-Ax, compact], 32 [n = 10, Ax-Eq, compact] et 60 [n = 1, Eq-Ax, étendu]) ont été enregistrés dans une fenêtre de 20 kJ.mol<sup>-1</sup>.

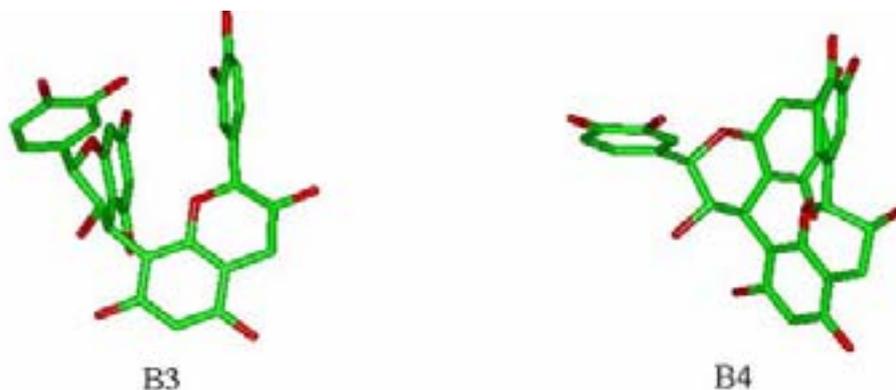
Nous pouvons ainsi noter une bonne corrélation entre les constantes de couplage mesurées en RMN et celles calculées par modélisation moléculaire pour la forme équatoriale (Tableau 7).

Quant à la stéréochimie de la liaison interflavane, elle a pu être déterminée d'une part, à partir de la valeur élevée (proche de 8 Hz) de la constante de couplage entre les protons H3C et H4C et d'autre part, à partir des expériences ROESY. Les effets NOE mesurés par RMN ont pu être quantifiés et comparés aux distances mesurées sur les structures de plus basses énergies obtenues par modélisation moléculaire (Tableau 8). La présence d'un effet NOE d'intensité moyenne entre les protons H2C et H4C (valeurs en rouge dans le Tableau 8) d'une part et d'un effet NOE de faible intensité entre les protons H3C et H2C/H4C (valeurs en vert dans le Tableau 8) d'autre part prouve que les protons H2C et H4C sont du même côté du plan alors que le proton H3C est du côté opposé. La stéréochimie de la liaison interflavane est donc effectivement de type  $\alpha$ .

**Tableau 8 :** Effets NOE entre les protons des procyanidines B3 (partie haute) et B4 (partie basse), évalués par ROESY. L'intensité des pics est répertoriée en 4 catégories : -, nulle ; +, faible ; ++, moyenne et +++, forte. Les valeurs entre parenthèses correspondent aux distances entre les protons (en Å) mesurées pour la structure minimisée de plus basse énergie.

B4 \ B3	2'B	5'B	6'B	2C	3C	4C	2'E	5'E	6'E	2F	3F	4F	4'F
2'B		-	-	++(4,1)	++(2,6)	-	-	-	-	-	-	-	-
5'B	-		++(2,5)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6'B	-	++(2,5)		++(2,4)	++(4,1)	-	-	-	-	-	-	-	-
2C	++(3,1)	-	++(3,1)		+(3,1)	++(2,7)	-	-	-	-	-	-	-
3C	++(3,4)	-	++(3,4)	+(3,1)		+(3,1)	-	-	-	(3,2)	-	-	-
4C	-	-	-	++(2,7)	+(3,1)		-	-	-	-	-	-	-
2'E	-	-	-	-	-	-		-	-	++(3,1)	++(3,5)	-	-
5'E	-	-	-	-	-	-	-		++(2,5)	+(4,7)	+(5,5)	-	-
6'E	-	-	-	-	-	-	-	++(2,5)		++(3,1)	++(3,5)	-	-
2F	-	-	-	-	(3,1)	-	++(3,0)	-	++(3,0)		+(3,1)	-	+(3,1)
3F	-	-	-	-	-	-	++(3,6)	-	++(3,6)	++(2,5)		++(2,6)	-
4F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++(2,6)		+++ (1,8)
4'F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++(2,6)	++(2,4)	+++ (1,8)	

Ces distances calculées précédemment par modélisation moléculaire (Tableau 8) permettent également d'observer que les formes compactes sont plus stables que les formes étendues dans l'eau. Le rotamère de plus basse énergie obtenu en modélisation moléculaire (Figure 70, conformère Eq-Eq rotamère compact) correspond ainsi au rotamère majoritaire observé sur les spectres en RMN. Cette forme favorise les interactions de type stacking  $\pi$ - $\pi$ . (Figure 71).



**Figure 71 :** Représentation des conformations de plus basse énergie (rotamère compact) pour les procyanidines dimères B3 et B4

*Les procyanidines B3 et B4 ont ainsi été synthétisées en 5 étapes à partir de la (+)-catéchine avec un rendement global de 36% et de 29% respectivement. La méthode de synthèse proposée permet d'effectuer la réaction de couplage en utilisant les deux réactifs monomères en quantités quasi stoechiométriques tout en contrôlant la régiochimie et la stéréochimie de la liaison interflavane ainsi que le degré d'oligomérisation. Leur caractérisation par RMN a permis de proposer une structure tridimensionnelle, confirmée par modélisation moléculaire. La stratégie mise au point pour caractériser les dimères B3 et B4 pourra être utilisée pour l'ensemble des procyanidines.*

*Nous pouvons donc envisager d'utiliser cette synthèse pour la préparation d'oligomères d'ordre supérieur aux dimères et en particulier, pour la synthèse des trimères C2 et Cat-Cat-Epi et du tétramère Cat-Cat-Cat-Cat.*

### III. Synthèse et caractérisation des trimères C2 et Cat-Cat-Epi

En appliquant l'approche utilisée pour les dimères, deux stratégies peuvent être envisagées pour obtenir ces deux trimères : condenser un dimère activé avec un monomère (Voie A) ou condenser un monomère activé avec un dimère (Voie B).

Au laboratoire,<sup>89</sup> un essai préliminaire avait été effectué pour synthétiser le trimère C2 en présence de  $TiCl_4$ . Les résultats sont rassemblés dans le tableau suivant. La condensation entre le dimère activé et le monomère semblait donner de meilleurs résultats. Nous pouvons cependant noter la présence d'oligomères d'ordre supérieur au trimère.

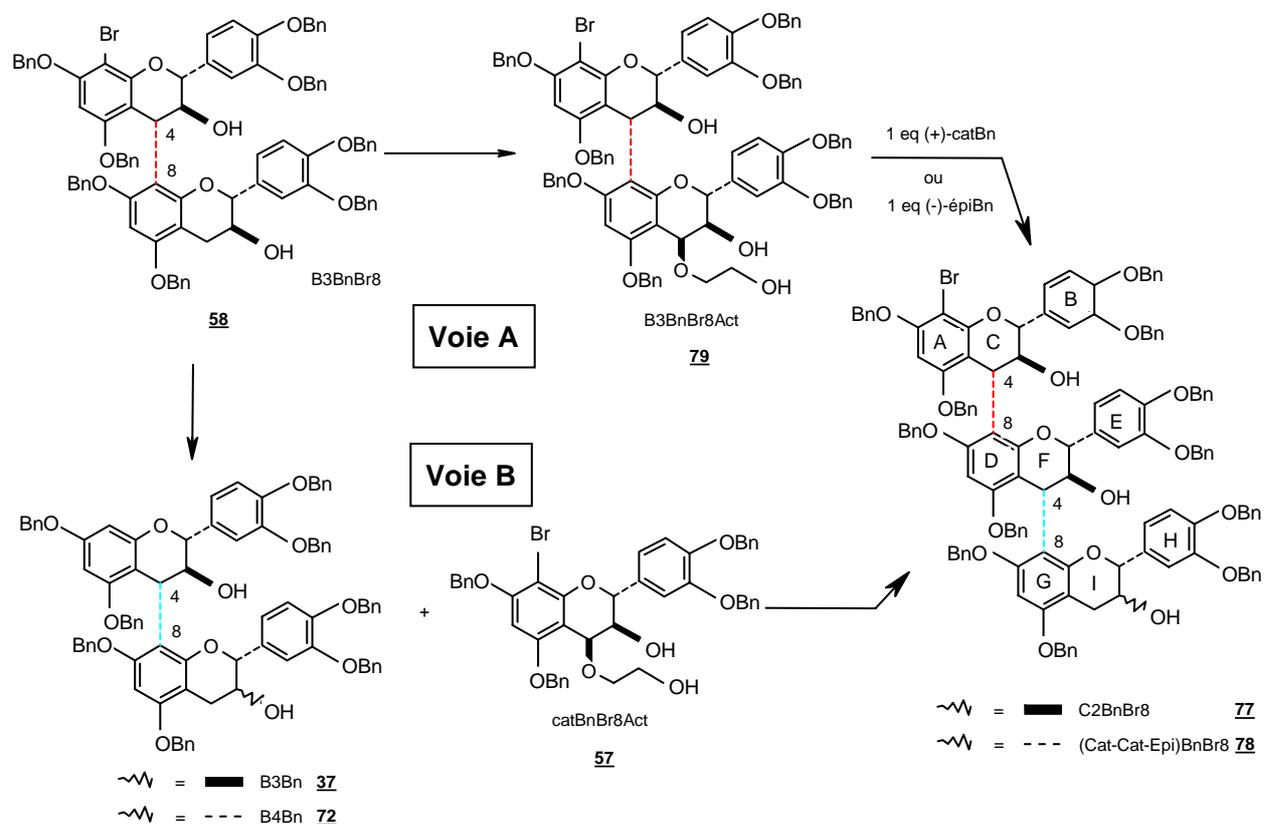
**Tableau 9 :** Résultats obtenus précédemment au laboratoire pour la synthèse du trimère C2 benzylé

	Electrophile	Nucléophile	Excès Nucléophile	% trimère C2Bn	% tétramère	% pentamère
Voie A	B3BnAct	catBn	1 : 10	54	8	Traces
Voie B	catBnAct	B3Bn	1 : 7	40	17	Traces

L'insertion d'un atome de brome en position 8 de l'unité électrophile devrait là encore nous permettre de contrôler le degré d'oligomérisation lors de l'étape de couplage.

Le produit de couplage **58** est l'intermédiaire commun aux deux approches : une activation de la position 4 fournit le dimère bromé nécessaire à la voie A et une débromation sélective de la position 8 fournit le dimère nécessaire à la voie B.

Les deux voies de synthèse suivantes ont donc été appliquées à la synthèse des trimères protégés bromés notés C2BnBr8 **77** et (Cat-Cat-Epi)BnBr8 **78** (Figure 72).

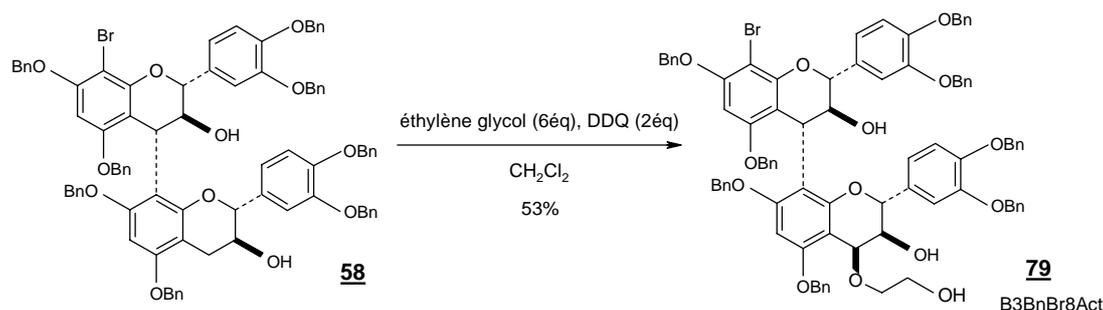


**Figure 72 :** Stratégies de synthèse des trimères C2BnBr8 et (Cat-Cat-Epi)BnBr8

Selon la voie A, après activation du dimère B3BnBr8, la réaction de couplage est effectuée entre l'unité électrophile activée et un équivalent de catéchine ou d'épicatéchine tétrabenzylée pour synthétiser respectivement le trimère C2BnBr8 **77** ou le trimère (Cat-Cat-Epi)BnBr8 **78**. Ces deux trimères peuvent être également obtenus selon la voie B après couplage entre le dimère B3Bn ou le dimère B4Bn et la catéchine benzylée bromée activée **57**.

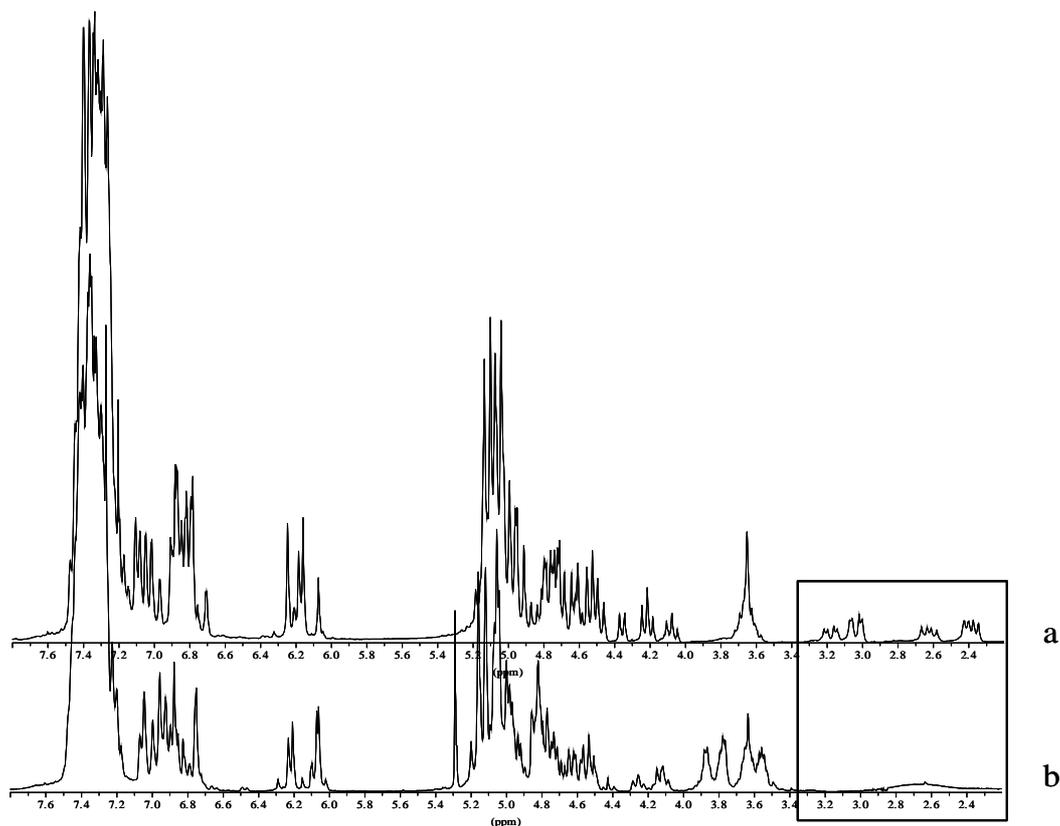
### III.1. Activation du dimère B3BnBr8

L'activation en position 4F de B3BnBr8 **58** a été réalisée en présence d'éthylène glycol et de DDQ, dans les mêmes conditions que celles utilisées pour l'activation de la catéchine benzylée **36** (Figure 73). Après purification par chromatographie sur silice, 53% du dimère activé noté B3BnBr8Act **79** ont été isolés.



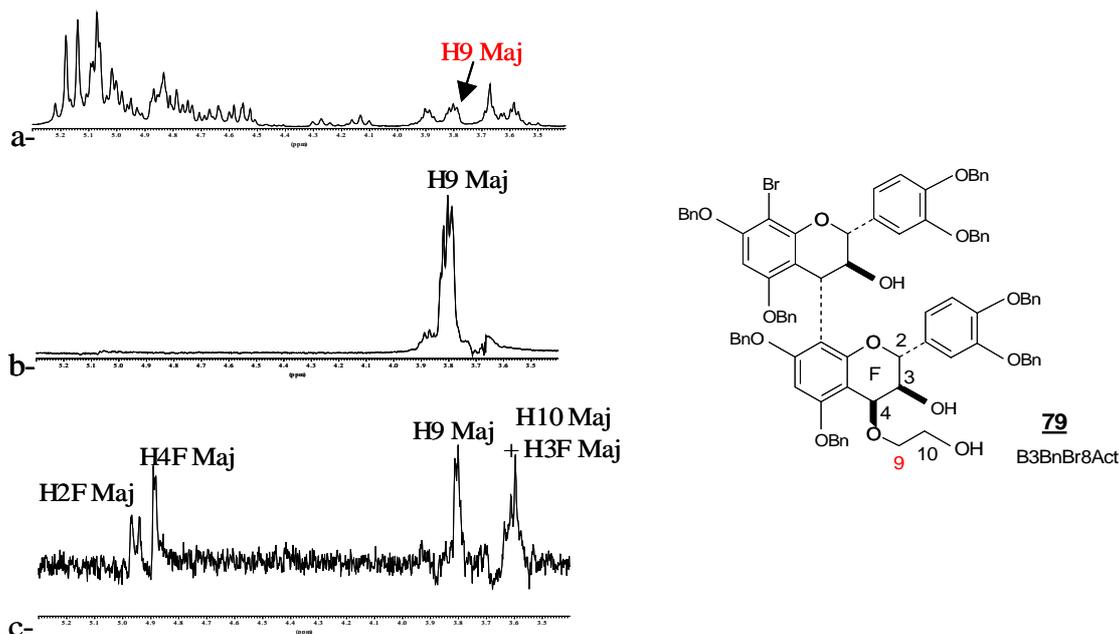
**Figure 73** : Activation du dimère B3BnBr8 par l'éthylène glycol en présence de DDQ

La spectrométrie de masse nous a permis de confirmer que l'activation du dimère B3BnBr8 avait effectivement eu lieu. De plus, la comparaison des spectres RMN <sup>1</sup>H de B3BnBr8 **58** et B3BnBr8Act **79** a confirmé la disparition du système de spins ABX relatif aux protons H4F de B3BnBr8 entre 2,2 et 3,4 ppm (Figure 74).



**Figure 74 :** Comparaison des spectres RMN  $^1\text{H}$  de B3BnBr8 (a) et B3BnBr8act (b)

La caractérisation de B3BnBr8Act à partir des données obtenues en RMN 1D ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT) et 2D (HMQC, HMBC, COSY) a été rendue particulièrement difficile par la présence des deux rotamères dans les proportions 60/40. De plus, le chevauchement des signaux relatifs aux protons de l'hétérocycle F (H2F, H3F et H4F), des signaux des  $\text{CH}_2$  benzyliques et du groupe activant a compliqué la détermination des constantes de couplage entre les protons de l'hétérocycle F (zone entre 4,5 et 5 ppm) (Figure 74). Cependant, l'expérience RMN TOCSY 1D, qui consiste à exciter sélectivement un ou plusieurs protons avant de transférer l'aimantation des spins excités vers les spins avec lesquels ils sont couplés, nous a permis d'observer dans un massif, uniquement les protons du système excité. Les constantes de couplage permettant de déterminer la stéréochimie du groupe activant ont pu alors être mesurées (Figure 75).



**Figure 75** : Détermination de la constante de couplage  $J_{43F}$  pour le rotamère majoritaire (noté Maj) à partir de différents spectres : a- spectre proton, b- irradiation sélective du proton H9 du rotamère majoritaire, c-TOCSY 1D après irradiation sélective du proton H9 du rotamère majoritaire

Par exemple, l'excitation sélective du proton H9 du rotamère majoritaire (Figure 75 b), suivie du transfert de l'aimantation du proton H9 vers les spins avec lesquels ce proton est couplé, nous a permis d'observer les protons H2F et H4F du rotamère majoritaire dans le massif entre 4,5 et 5 ppm (Figure 75 a et c).

Les valeurs des constantes de couplage  $J_{23F}$  et  $J_{43F}$  ont pu alors être déterminées : pour le rotamère majoritaire,  $J_{23FMaj} = 9,4$  Hz et  $J_{43FMaj} = 4,1$  Hz. En considérant que l'hétérocycle E adopte une conformation équatoriale, ces résultats reflètent bien un couplage cis entre les protons H3F et H4F (valeur de J faible). La stéréochimie adoptée par le groupe activant est donc de type  $\beta$ .

### III.2. Réactions de condensation

Pour synthétiser les trimères C2BnBr8 et (Cat-Cat-Epi)BnBr8, les réactions de condensation selon les voies A et B ont été effectuées en présence de deux équivalents de  $TiCl_4$  (1M dans du dichlorométhane). Les Figure 76 et Figure 77 rassemblent les résultats obtenus pour les voies A et B pour les trimères C2BnBr8 et (Cat-Cat-Epi)BnBr8 respectivement.

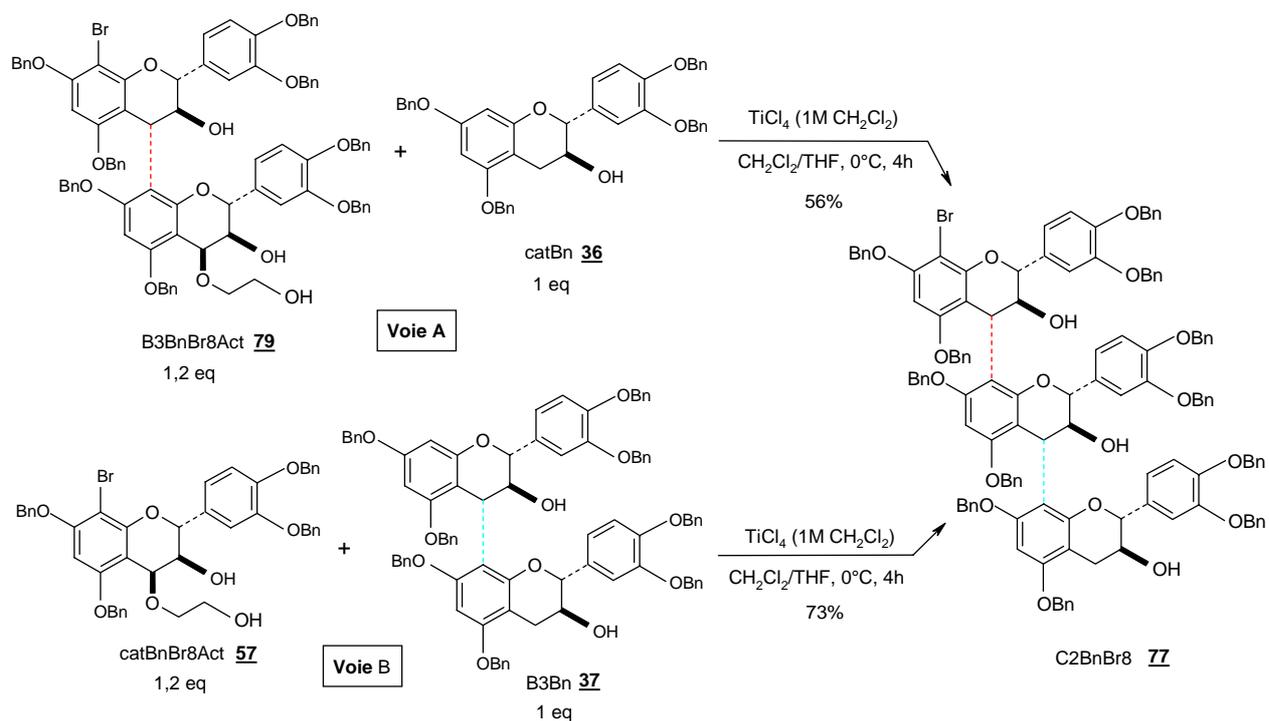


Figure 76 : Synthèse du trimère C2BnBr8 selon les voies A et B

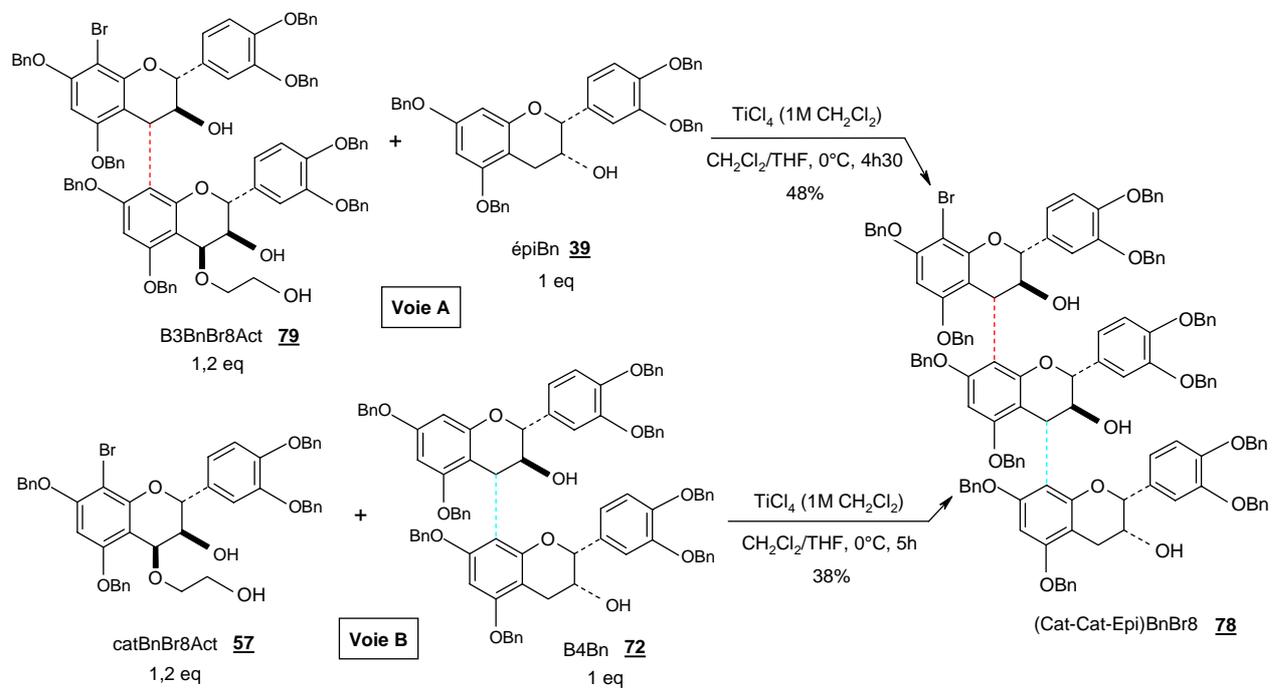


Figure 77 : Synthèse du trimère (Cat-Cat-Epi)BnBr8 selon les voies A et B

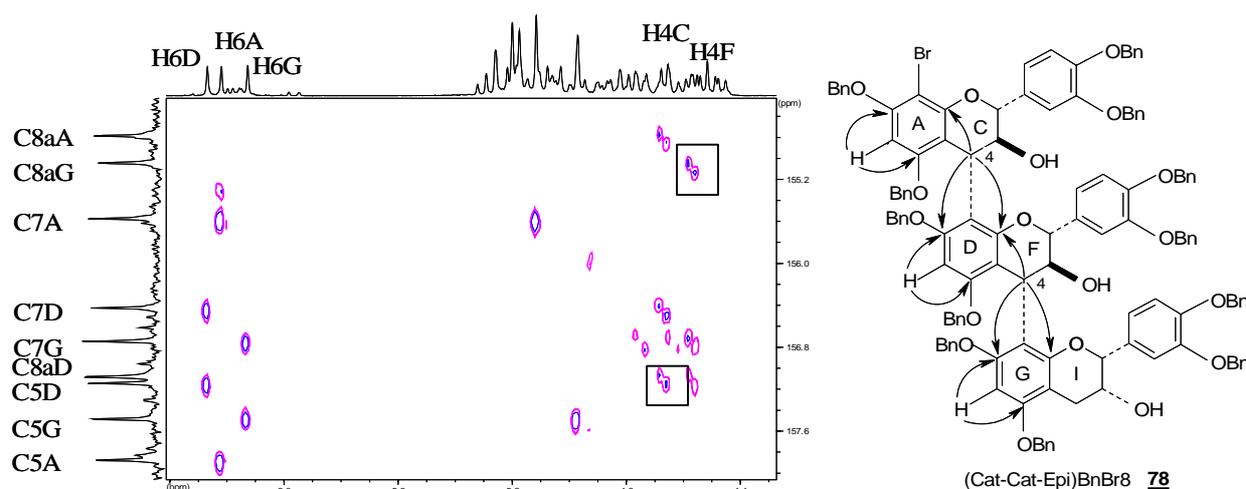
Après la réaction de couplage et après purification par chromatographie sur silice, 56% de trimère C2BnBr8 **77** et 29% de catéchine benzylée n'ayant pas réagi **36** ont été isolés selon la voie A alors que 73% de trimère C2BnBr8 ont été obtenus selon la voie B (Figure 76). En ce qui concerne le second trimère (Cat-Cat-Epi)BnBr8 **78** (Figure 77), il a été isolé après purification avec un rendement de 48% selon la voie A et de 38% selon la voie B. Ce dernier rendement n'a pas été optimisé.

### III.3. Caractérisation des trimères benzylés bromés par RMN

Que ce soit pour le trimère C2BnBr8 ou pour le trimère (Cat-Cat-Epi)BnBr8, les spectres RMN obtenus à l'issue des voies de couplage A et B sont identiques. Une simple comparaison des spectres RMN des produits obtenus à l'issue des étapes de couplage (Voies A et B) nous a ainsi permis de confirmer la régiochimie 4-8 et la stéréochimie  $\alpha$  des liaisons interflavanes des trimères. En effet, selon la voie A, la stéréochimie  $\alpha$  de la liaison interflavane entre l'unité supérieure et l'unité intermédiaire (Figure 76 et Figure 77, liaison en rouge) est déjà attribuée alors que la stéréochimie de la liaison interflavane entre l'unité intermédiaire et l'unité inférieure (Figure 76 et Figure 77, liaison en bleu) reste à déterminer. Par contre, selon la voie B, la stéréochimie de la liaison interflavane entre l'unité supérieure et l'unité intermédiaire (Figure 76 et Figure 77, liaison en rouge) doit être définie, la stéréochimie de la seconde liaison interflavane (Figure 76 et Figure 77, liaison en bleu) étant de type  $\alpha$ .

La caractérisation de ces deux composés à partir des différentes expériences RMN 1D et 2D nous a également permis de confirmer la régiochimie et la stéréochimie des deux liaisons interflavanes.

Après avoir effectué l'attribution complète des résonances des protons et des carbones, à partir des différentes expériences de RMN 1D ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT) et 2D (HMQC, HMBC, HMBC sélective dans la zone 140-160 ppm) et selon la stratégie de caractérisation mise au point pour les dimères B3 et B4 (Partie 3 II.8., annexe 5), nous avons pu observer sur le spectre de l'HMBC sélective de ces deux trimères **77** et **78**, les corrélations entre le proton H4C et le carbone C8aD d'une part, et entre le proton H4F et le carbone C8aG d'autre part (Figure 78).

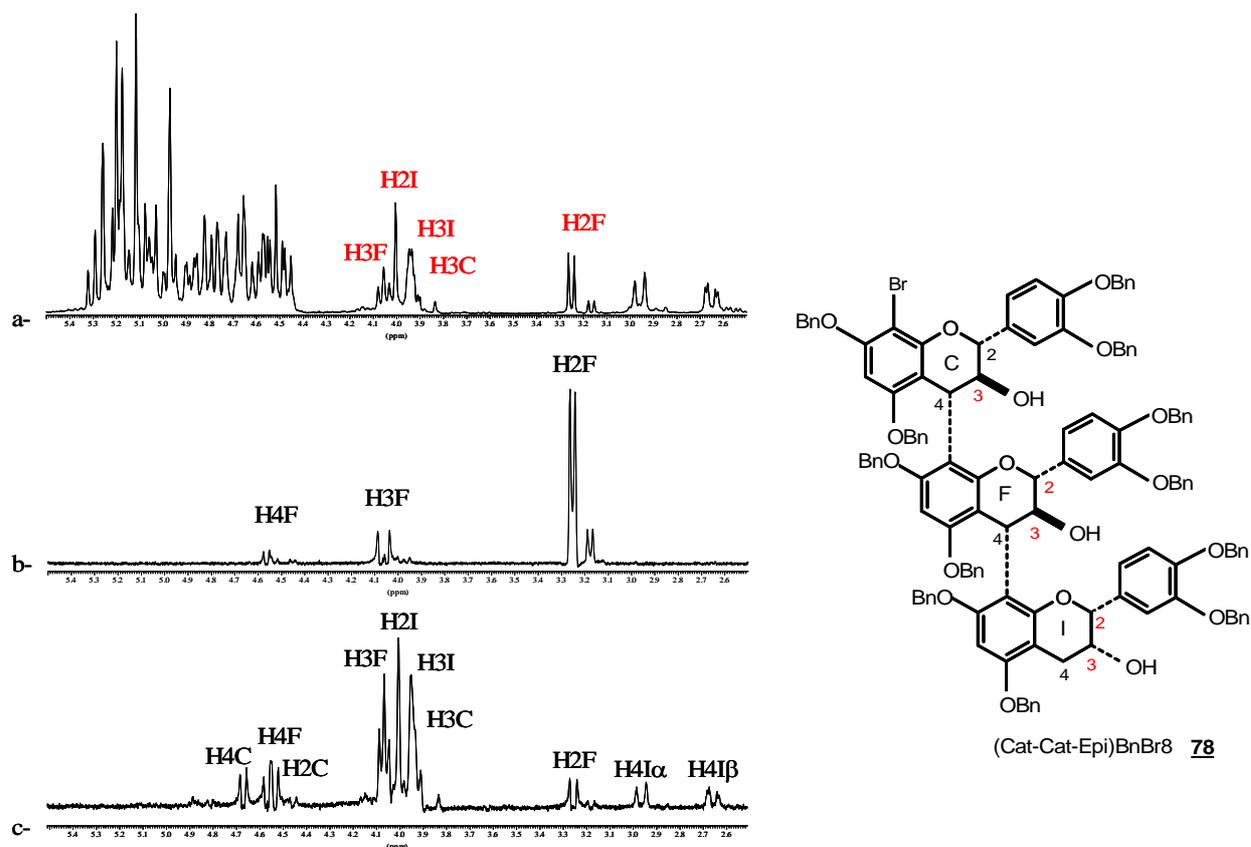


**Figure 78 :** Zone du spectre HMBC sélective du trimère (Cat-Cat-Epi)BnBr8 permettant d’observer les corrélations H4C-C8aD et H4F-C8aG (encadrées) et représentation des différentes corrélations observées

Dans cette zone entre 150 et 160 ppm, les protons H6 sont couplés avec les carbones C5 et C7 mais pas avec les carbones C8a : nous avons ainsi pu déterminer les résonances correspondant aux trois carbones C8a (153,8, 154,1 et 156,1 ppm). Comme nous pouvons le voir sur le spectre RMN précédent, le proton H4C est corrélé à deux carbones C8a à 153,8 et 156,1 ppm. De même, le proton H4F est corrélé à deux carbones C8a à 154,1 et 156,1 ppm. Le carbone C8a à 156,1 ppm étant corrélé à la fois au proton H4C et au proton H4F, nous en avons déduit qu’il ne pouvait s’agir que du carbone C8aD. Par déduction, la résonance à 153,8 ppm correspond au carbone C8aA et la résonance à 154,1 ppm, au carbone C8aG. Les corrélations H4C-C8aD et H4F-C8aG nous ont ainsi permis de confirmer la régiochimie 4-8 des deux liaisons interflavanes des trimères C2BnBr8 et (Cat-Cat-Epi)BnBr8.

De plus, un rotamère très largement majoritaire apparaît sur les spectres RMN pour les deux trimères benzylés bromés **77** et **78**. Mais le fait que les CH<sub>2</sub> benzyliques résonnent dans la même région que quelques protons des hétérocycles a rendu la détermination des valeurs des constantes de couplage relatives aux protons des trois hétérocycles plus difficile. Cependant, ce problème a été résolu grâce à l’utilisation des expériences TOCSY 1D : l’excitation sélective d’un ou plusieurs protons nous a permis de visualiser les résonances des noyaux couplés avec ces protons. Les résonances des protons des hétérocycles qui apparaissent dans la zone des CH<sub>2</sub> benzyliques et par conséquent les valeurs des constantes de couplage ont pu être ainsi déterminées.

L'exemple du trimère (Cat-Cat-Epi)BnBr8 est présenté Figure 79. La même démarche a été appliquée au trimère C2BnBr8.



**Figure 79 :** Détermination des résonances des protons H2C, H4C et H4F et des constantes de couplage  $J_{23C}$ ,  $J_{43C}$  et  $J_{43F}$  à partir de différents spectres : a- spectre proton, b- TOCSY 1D après irradiation sélective du proton H2F, c- TOCSY 1D après irradiation sélective des protons H2I, H3C, H3F et H3I

L'excitation sélective du proton H2F (Figure 79b) nous a permis d'identifier les protons H3F et H4F parmi les deux massifs 3,8-4,2 ppm et 4,4-4,9 ppm respectivement (Figure 79a). Quant à l'excitation sélective du massif de protons H3F, H2I, H3I et H3C (Figure 79c), elle nous a permis de déterminer les résonances de six protons : H4C, H4F, H2C, H2F, H4I $\alpha$  et H4I $\beta$ .

Les différentes constantes de couplage de C2BnBr8 et (Cat-Cat-Epi)BnBr8 ont alors pu être mesurées : elles sont rassemblées dans le Tableau 10.

**Tableau 10 :** Valeurs des différentes constantes de couplage de C2BnBr8 et (Cat-Cat-Epi)BnBr8

Constantes de couplage (Hz)	C2BnBr8	(Cat-Cat-Epi)BnBr8
J <sub>23C</sub>	9,8	10,0
J <sub>43C</sub>	9,4	9,2
J <sub>23F</sub>	9,8	9,8
J <sub>43F</sub>	9,0	8,2
J <sub>23I</sub>	9,0	~ 0
J <sub>4Iα3I</sub>	5,8	4,2
J <sub>4Iβ3I</sub>	9,8	~ 0

Les constantes de couplage J<sub>43C</sub> et J<sub>43F</sub> permettent de déterminer la stéréochimie des deux liaisons interflavanes pour les trimères C2BnBr8 et (Cat-Cat-Epi)BnBr8. En effet, la variation de la valeur de la constante de couplage J<sub>43F</sub> entre le dimère activé (J<sub>43F</sub> = 4,1 Hz, Partie 3 III.1.) et les trimères (J<sub>43F</sub> = 8,2 et 9,0 Hz) confirme la stéréochimie de type  $\alpha$ .

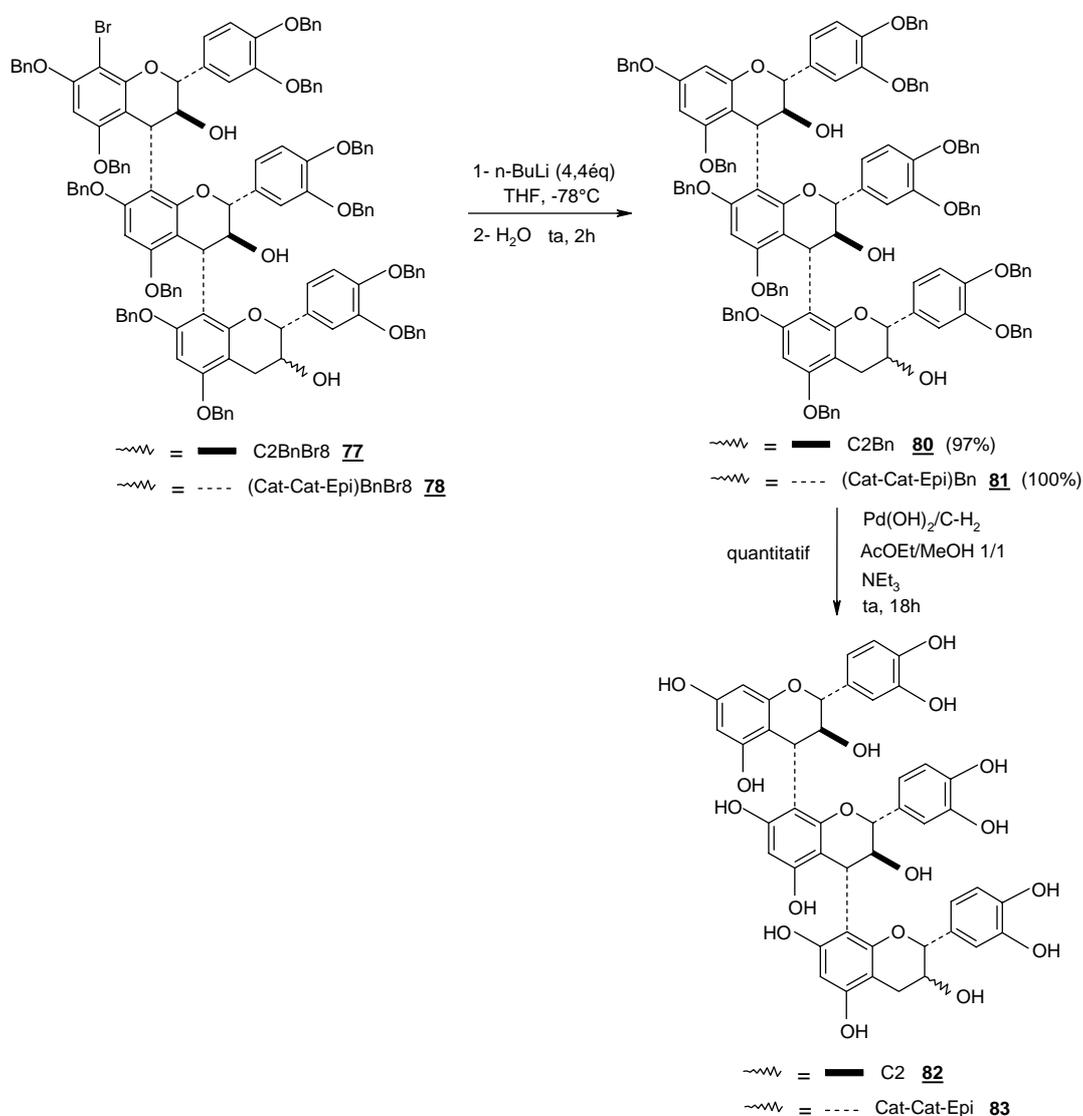
*Comme nous l'avons vu pour les dimères, l'étape de condensation est réalisée avec un contrôle total de la régiochimie et de la stéréochimie de la liaison interflavane ainsi que du degré d'oligomérisation. Seules les étapes de débromation et de débenzylation des fonctions phénols restent donc à effectuer pour obtenir les trimères C2 et Cat-Cat-Epi à l'état natif.*

#### III.4. Débromation et déprotection des fonctions phénols

La débromation et la débenzylation des fonctions phénols des trimères C2BnBr8 et (Cat-Cat-Epi)BnBr8 ont été effectuées dans un premier temps en deux étapes. Des conditions similaires à celles utilisées pour les dimères ont été appliquées à la synthèse des trimères natifs. Ainsi, la débromation a été effectuée en présence de n-butyllithium. Par rapport à l'étape de débromation des dimères, la présence d'un troisième hydroxyle non protégé en position 3 a impliqué l'utilisation d'un équivalent supplémentaire de n-butyllithium pour débromer totalement les trimères (Figure 80). Quant à la débenzylation du trimère C2Bn **80**, elle a été réalisée dans les conditions de Tückmantel en présence de catalyseur de Pearlman et d'hydrogène. Cependant, la débenzylation du trimère C2Bn n'a pas été totale. L'étape de déprotection de ce trimère ayant été effectuée quelques semaines après celle des dimères B3Bn **37** et B4Bn **72**, il se peut que cette débenzylation partielle provienne de l'oxydation de la surface du catalyseur. Il s'est donc avéré nécessaire d'activer la surface du catalyseur de Pearlman lors de la réaction d'hydrogénation.

Comme nous l'avons vu précédemment (Partie 3 II.7.), Sajiki et coll.<sup>143,144</sup> ont montré que l'addition de quelques gouttes de triéthylamine permettait d'activer la surface du catalyseur palladium sur charbon lors de la déchloration de composés aromatiques chlorés. De plus, la réaction de débromation et de débenzylation des dimères en une seule étape (Partie 3 II.7.) a été effectuée avec succès en présence de triéthylamine.

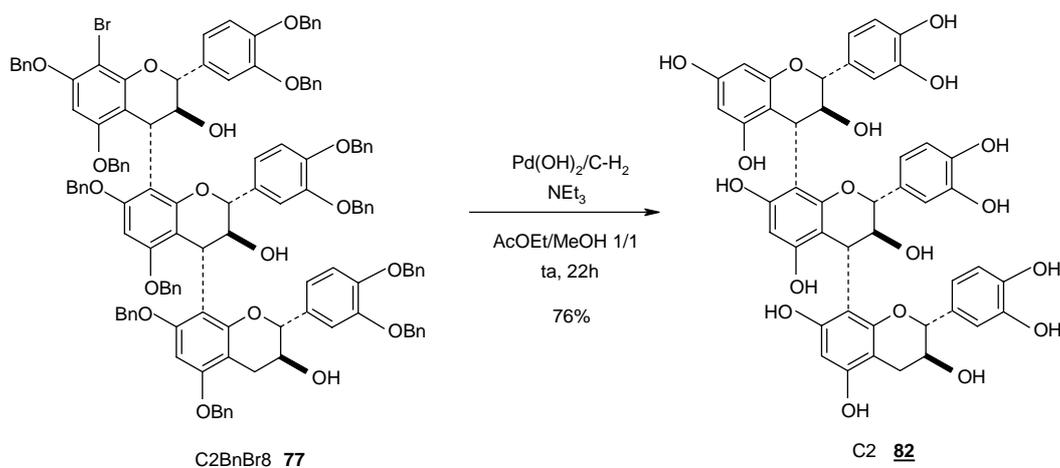
L'étape de débenzylation du trimère C2Bn **80** a donc été réalisée en ajoutant quelques gouttes de triéthylamine au milieu réactionnel pour activer la surface du catalyseur de Pearlman Pd(OH)<sub>2</sub> sur charbon. Le système de solvants choisi est le mélange acétate d'éthyle/méthanol 1:1 qui permet de bien solubiliser d'une part, le trimère benzylé et d'autre part, le trimère déprotégé. Les conditions expérimentales sont précisées sur la figure suivante (Figure 80).



**Figure 80** : Conditions de débromation et de débenzylation des trimères C2BnBr8 et (Cat-Cat-Epi)BnBr8

Les analyses effectuées en RMN et en spectrométrie de masse nous ont permis de vérifier que les réactions de débromation et de débenzylation avaient été totales.

Nous avons ensuite réalisé la débromation et la déprotection du trimère C2BnBr8 **77** en une seule étape en présence de catalyseur de Pearlman et de triéthylamine dans les conditions précédemment définies pour les dimères (Partie 3 II.7.) (Figure 81). Après filtration sur célite, le trimère C2 et le bromhydrate de triéthylamine ont été obtenus. Cependant, après une filtration rapide sur silice en utilisant l'éluant acétone/4% méthanol, le sel a pu être éliminé.



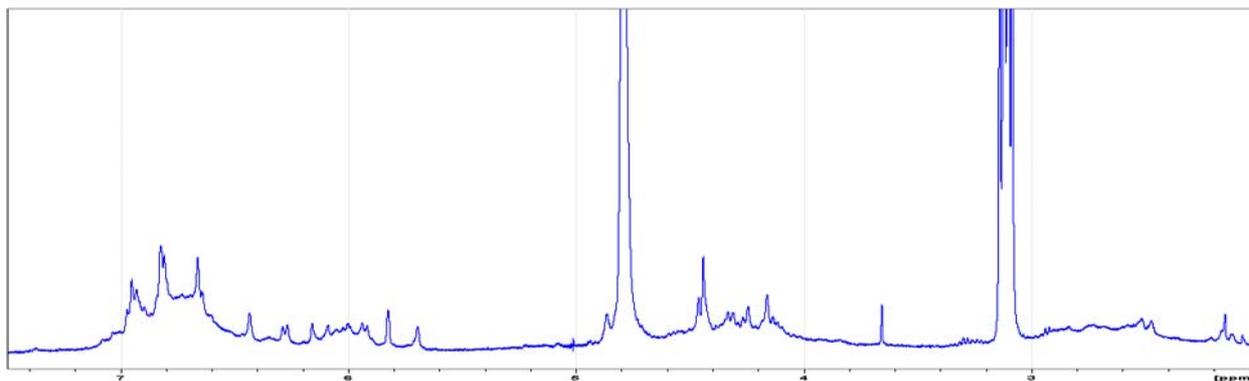
**Figure 81** : Conditions de débromation et de débenzylation de C2BnBr8 en une seule étape

La spectrométrie de masse ( $m/z$  889  $[\text{M}+\text{Na}]$ ) nous a permis de vérifier que la débromation et la débenzylation avaient été totales. Cette méthode de déprotection n'est toutefois pas encore complètement optimisée.

*Le trimère C2 a ainsi été synthétisé avec un rendement global de 11% en considérant l'étape de couplage A (B3BnBr8Act/catBn) et de 26% selon la voie de couplage B (catBnBr8Act/B3Bn). L'étape limitante pour cette première stratégie est l'activation du dimère B3BnBr8. De même, le trimère Cat-Cat-Epi a été obtenu avec un rendement global de 9% (voie A) et de 11% (voie B).*

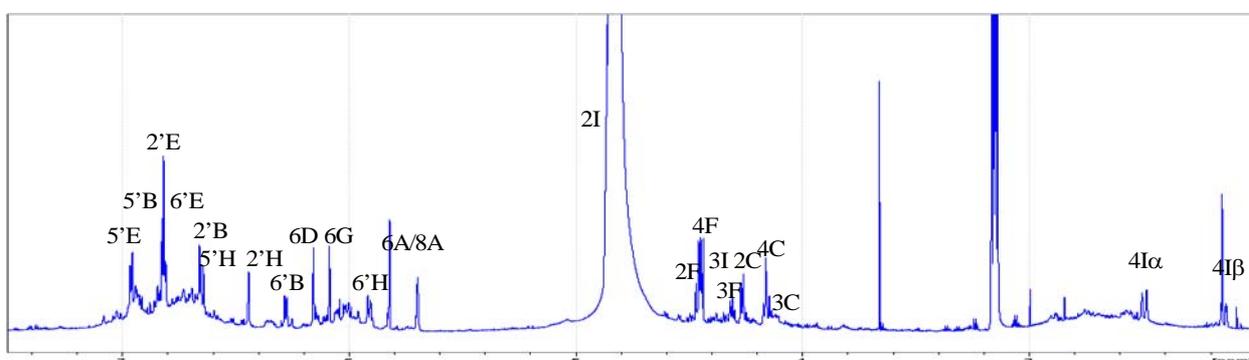
### III.5. Caractérisation des trimères C2 et Cat-Cat-Epi

Le spectre RMN  $^1\text{H}$  du trimère C2 a été enregistré dans un premier temps dans l'eau à 400 MHz (Figure 82) : mais la présence de résonances élargies a rendu le spectre ininterprétable. Ce phénomène peut être expliqué par le fait que, dans le cas des trimères, quatre rotamères (Figure 18) peuvent être dénombrés pour chacun des huit conformères : ainsi, trente deux conformations peuvent être possibles.



**Figure 82** : Spectre RMN du trimère C2 enregistré dans l'eau à 400 MHz

Le spectre du trimère C2 enregistré à 800 MHz montre un affinement des résonances et confirme l'existence de plusieurs rotamères en échange (Figure 83).

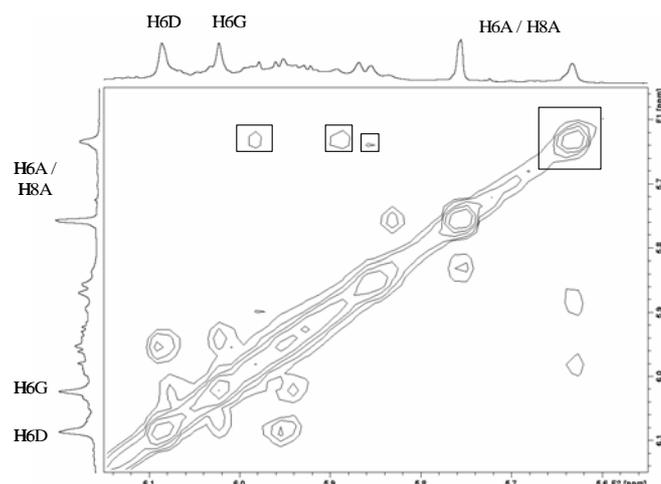


**Figure 83** : Spectre RMN du trimère C2 enregistré dans l'eau à 800 MHz (Bruker Biospin, Zurich)

Sur ce spectre, nous pouvons observer que plusieurs formes rotamères sont présentes mais que l'une d'entre elles est largement majoritaire. Même si la résolution des pics a été améliorée pour le spectre à 800 MHz, ce spectre reste tout de même d'une grande complexité.

Différentes expériences de RMN 1D ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) et 2D (HMQC, HMBC, TOCSY, NOESY) ont ensuite été réalisées pour effectuer une attribution complète des résonances des protons et des carbones et proposer ainsi une structure tridimensionnelle pour le trimère C2. L'ensemble des analyses 2D a été effectué dans l'eau sur un spectromètre 700 MHz équipé d'une cryosonde (Bruker Biospin, Zurich).

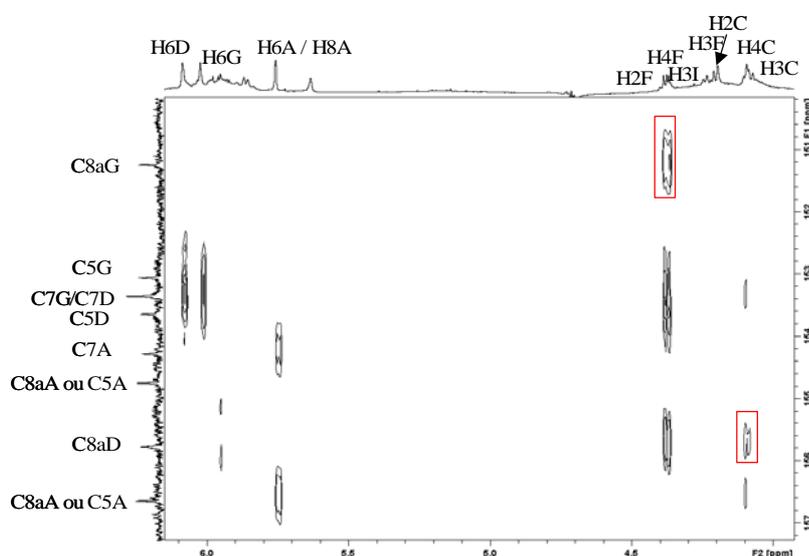
Ainsi, le spectre NOESY nous a permis de mettre en évidence la présence de plusieurs formes rotamères en échange : en effet, des pics d'échange apparaissent entre la forme majoritaire et deux voire trois autres formes minoritaires (Figure 84).



**Figure 84 :** Zone du spectre NOESY du trimère C2 permettant d'observer les échanges rotationnels (encadrés) au niveau du proton H6A ou H8A

Après avoir réalisé l'attribution des résonances des protons et des carbones du rotamère majoritaire selon la stratégie mise au point pour les dimères (Partie 3 II.8., annexe 5), nous avons pu confirmer la régiochimie et la stéréochimie des liaisons interflavanes.

Les corrélations observées sur le spectre HMBC entre le proton H4F et C8AG et entre H4C et C8aD nous ont permis de confirmer la régiochimie 4-8 des deux liaisons interflavanes du trimère C2 (Figure 85).



**Figure 85 :** Zone du spectre HMBC du trimère C2 permettant d'observer les corrélations H4C-C8aD et H4F-C8aG (encadrées)

Les résonances des carbones C8aD et C8aG ont pu être facilement identifiées dans cette région entre 150 et 160 ppm car les quatre protons H6/H8 ne sont pas corrélés à ces deux carbones. Cependant, le spectre HMBC ne nous a pas permis de différencier les carbones C8aA et C5A car aucune corrélation n'est observée entre le proton H2C et le carbone C8aA.

Il est donc impossible d'attribuer sans ambiguïté les résonances des protons H6A et H8A et par conséquent, des carbones C6A et C8A. Nous pouvons néanmoins supposer que, comme pour les dimères, le proton H6A est plus déblindé que le proton H8A.

De plus, les constantes de couplage relatives aux trois hétérocycles du trimère C2 ont été mesurées en RMN pour le rotamère majoritaire et nous ont ainsi permis de déterminer la stéréochimie des liaisons interflavanes et la conformation adoptée par les hétérocycles du trimère C2. Ces valeurs sont rassemblées dans le Tableau 11.

**Tableau 11 :** Valeurs des constantes de couplage entre les protons des hétérocycles du trimère C2

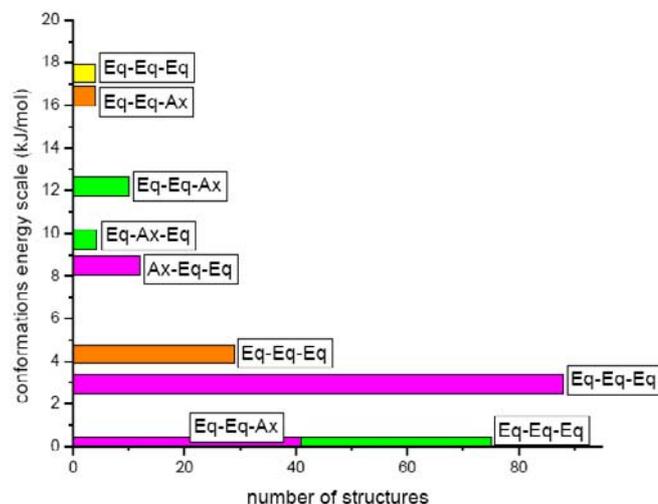
Constantes de couplage J (Hz)	J mesurées	J calculées conformère E-E-E	J calculées conformère E-E-A
J <sub>23C</sub>	8,9	9,1	9,2
J <sub>43C</sub>	7,4	10,0	9,0
J <sub>23F</sub>	8,9	9,1	9,2
J <sub>43F</sub>	7,1	10,6	9,5
J <sub>23I</sub>	< 2	9,0	1,7
J <sub>4I<math>\alpha</math>3I</sub>	< 2	10,8	2,7
J <sub>4I<math>\beta</math>3I</sub>	4,1	5,3	3,6

Alors que les valeurs des constantes de couplage J<sub>23C</sub> et J<sub>23F</sub> sont élevées, la valeur de J<sub>23I</sub> est faible : les valeurs de ces constantes de couplage sont en accord avec une structure où les cycles catéchols C et E adoptent une conformation équatoriale alors que le cycle catéchol I adopte préférentiellement une conformation axiale. Balas et coll.<sup>146</sup> avait déjà observé ce phénomène pour le trimère C2 peracétylé. La stéréochimie  $\alpha$  des deux liaisons interflavanes a pu être alors confirmée à partir des constantes de couplage J<sub>43C</sub> et J<sub>43F</sub> : ces valeurs élevées caractérisent effectivement une orientation trans entre les deux protons.

*La structure du trimère C2 (régiochimie, stéréochimie, conformation) a ainsi pu être déterminée par RMN : à notre connaissance, il s'agit de la première caractérisation du trimère C2 à l'état natif.*

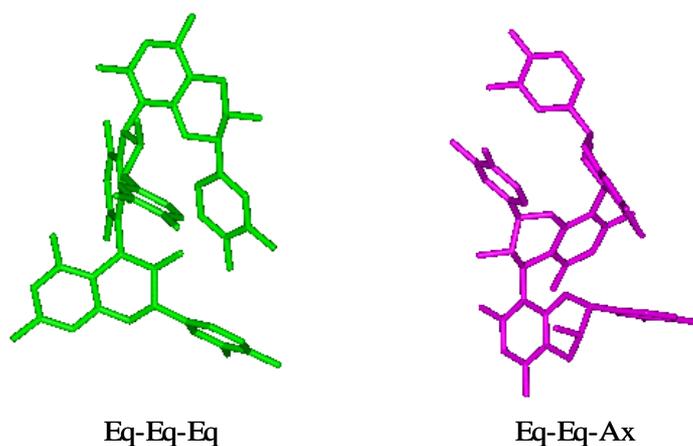
<sup>146</sup> Balas L. Vercauteren J. Laguerre M., *Magn. Reson. Chem.*, **1995**, 33, 85-94

Une étude en modélisation moléculaire (annexe 4) a été menée en parallèle pour confirmer la structure du trimère C2. 267 structures, réparties en neuf clusters, ont ainsi été obtenues dans une fenêtre énergétique de  $20 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$  (Figure 86).



**Figure 86 :** Diagramme énergétique des différentes conformations les plus stables du trimère C2 dans une fenêtre de  $20 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ . Les quatre rotamères sont représentés par des couleurs différentes : vert, rotamère compact-compact ; magenta, rotamère étendu-compact ; orange, rotamère compact-étendu et jaune, rotamère étendu-étendu (annexe 4).

Sur ce diagramme, deux conformations de plus basse énergie apparaissent pour le trimère C2 (Figure 87).



**Figure 87 :** Représentation des deux conformations de plus basse énergie du trimère C2 (Eq-Eq-Eq et Eq-Eq-Ax)

Pour la conformation Eq-Eq-Eq (en vert), les trois cycles catéchols B, E et H sont donc en position équatoriale alors que pour la conformation Eq-Eq-Ax (en magenta), les cycles catéchols B et E sont en position équatoriale et le cycle catéchol H de l'unité terminale est en position axiale. Le conformère de plus basse énergie Eq-Eq-Ax, qui correspond au

rotamère majoritaire observé sur les spectres RMN, doit en fait être stabilisé par des stacking  $\pi$ - $\pi$  favorables.

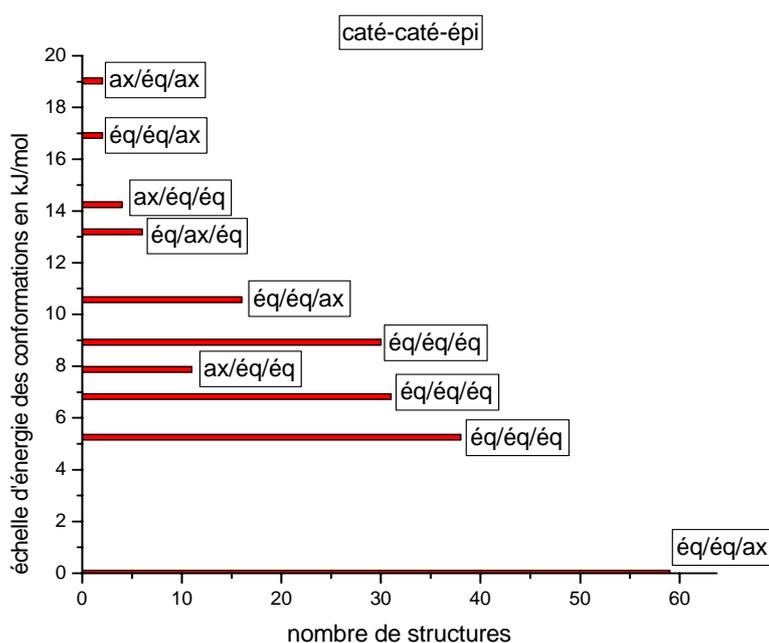
L'étude du second trimère Cat-Cat-Epi a été réalisée en RMN à 400 MHz et en modélisation moléculaire selon la même stratégie que celle employée pour les dimères ou pour le trimère C2. Nous avons tout d'abord pu noter qu'une forme rotamère est largement majoritaire sur les spectres RMN du trimère Cat-Cat-Epi. Les constantes de couplage relatives aux trois hétérocycles de ce trimère ont pu alors être mesurées pour le rotamère majoritaire : ces valeurs sont rassemblées dans le Tableau 12.

**Tableau 12 :** Valeurs des constantes de couplage entre les protons des hétérocycles du trimère Cat-cat-Epi

Constantes de couplage J (Hz)	J mesurées	J calculées conformère E-E-E	J calculées conformère E-E-A
$J_{23C}$	10,0	9,2	9,2
$J_{43C}$	9,0	9,8	9,1
$J_{23F}$	9,9	9,1	9,2
$J_{43F}$	7,9	10,6	9,4
$J_{23I}$	< 2	0,8	4,0
$J_{4\alpha 3I}$	4,4	3,8	11,2
$J_{4\beta 3I}$	< 2	2,4	4,7

Les valeurs élevées des constantes de couplage  $J_{43C}$  et  $J_{43F}$  nous ont permis de conclure que la stéréochimie des deux liaisons interflavanes du trimère Cat-Cat-Epi **83** est de type  $\alpha$ . L'observation en RMN de constantes de couplage  $J_{23C}$  et  $J_{23F}$  élevées et d'une constante de couplage  $J_{23I}$  faible nous a également permis d'en déduire que les cycles catéchols B, E et H adoptent préférentiellement une conformation Eq-Eq-Eq puisque l'unité terminale est une unité épicatechine.

D'après l'étude menée en modélisation moléculaire, il semblerait que la conformation de plus basse énergie, pour le trimère Cat-Cat-Epi, corresponde à une structure où les cycles catéchols B et E sont en position équatoriale et le cycle catéchol H, en position axiale (Figure 88).



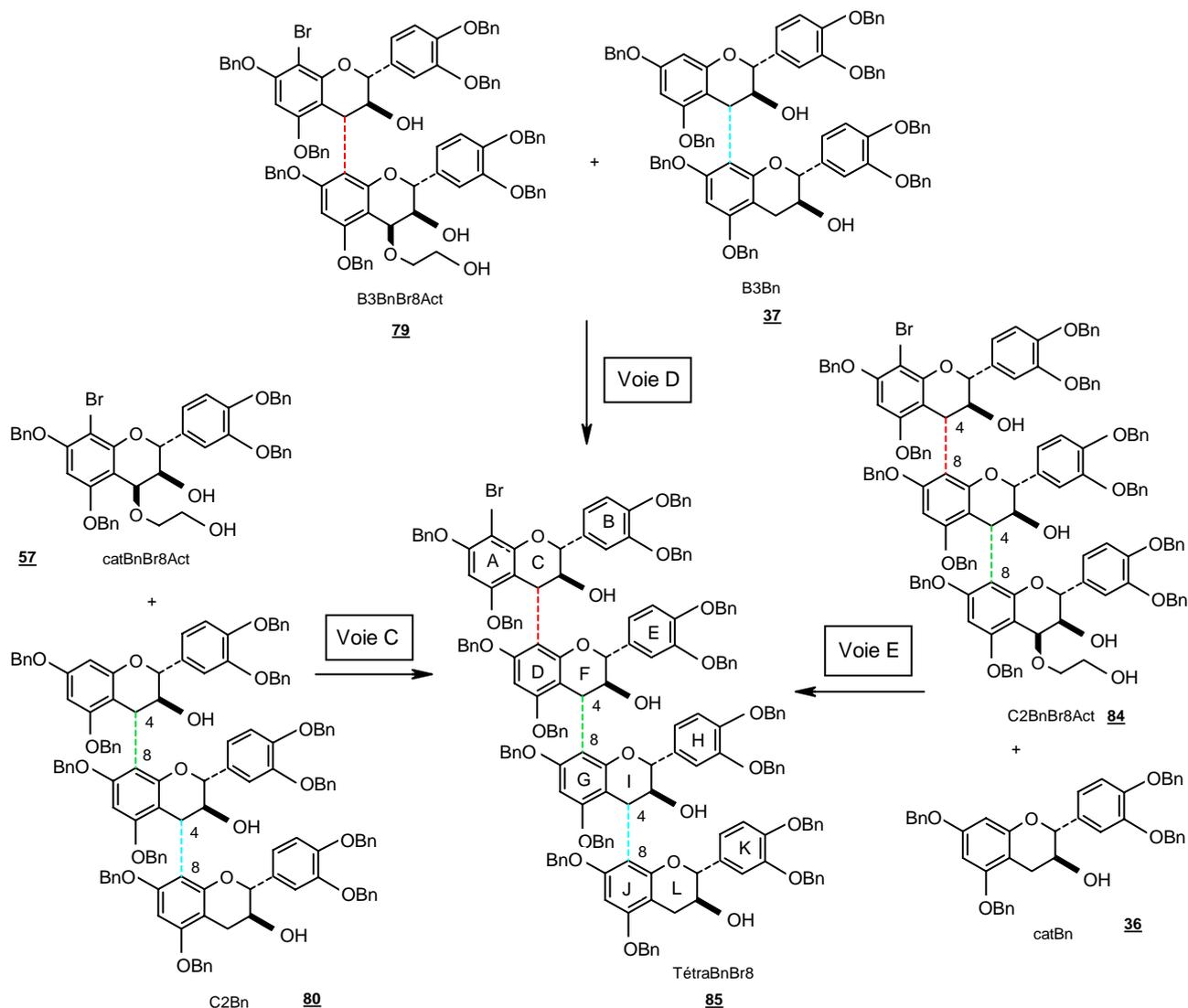
**Figure 88 :** Diagramme énergétique des différentes conformations les plus stables (réparties en dix clusters) du trimère Cat-Cat-Epi dans une fenêtre de  $20 \text{ kJ.mol}^{-1}$

Les résultats obtenus en modélisation moléculaire ne coïncident donc pas avec la conformation observée en RMN. Cependant, l'utilisation d'eau virtuelle pour effectuer les calculs en modélisation moléculaire peut en partie expliquer cette différence. L'eau virtuelle implique une absence totale de liaisons hydrogène entre la procyanidine et le solvant alors qu'au cours des expériences RMN, le solvant interagit avec la molécule.

*Après avoir obtenu ces deux trimères, nous nous sommes finalement intéressés à la synthèse du tétramère composé de quatre unités catéchines. Cette dernière synthèse illustrerait ainsi parfaitement le caractère itératif de notre méthode de synthèse.*

#### IV. Synthèse et caractérisation du tétramère Cat-Cat-Cat-Cat

Trois stratégies peuvent être envisagées pour synthétiser le tétramère constitué de quatre unités catéchines (noté Cat-Cat-Cat-Cat) par couplage cationique entre unités protégées (Figure 89).

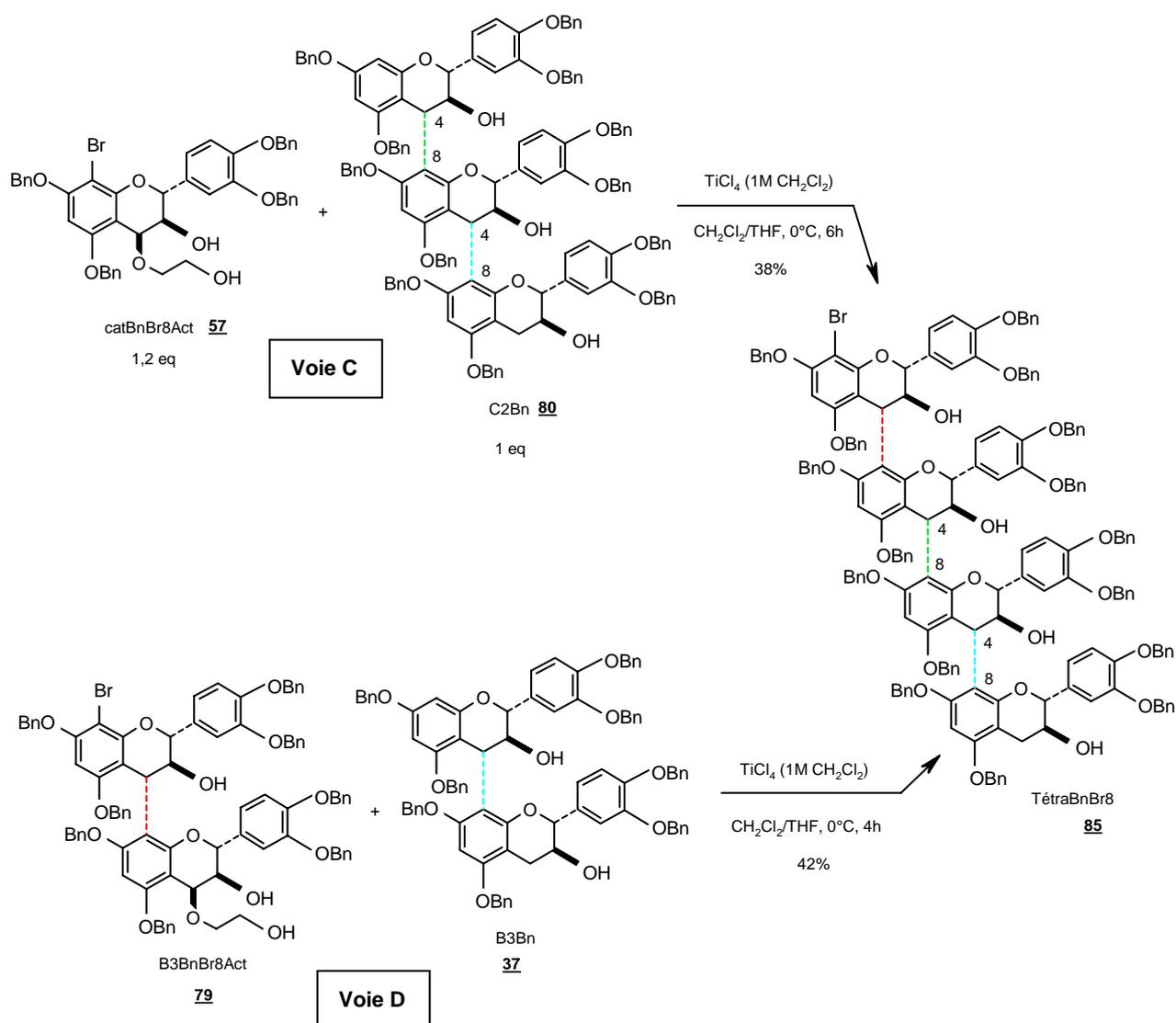


**Figure 89** : Stratégies de synthèse du tétramère envisageables

Ici encore, une simple comparaison des spectres RMN des produits de couplage obtenus à l'issue de deux voies différentes suffit pour attribuer la stéréochimie des trois liaisons interflavanes. Seules les voies C et D ont donc été testées car elles utilisent des réactifs déjà obtenus lors des précédentes synthèses alors que la voie E nécessiterait une étape supplémentaire, l'activation du trimère C2BnBr8 **77** en trimère activé **84**.

#### IV.1. Réactions de condensation

Le tétramère protégé bromé **85** (noté TétraBnBr8) a été synthétisé selon les voies C et D en présence de  $\text{TiCl}_4$  en solution dans du dichlorométhane. L'unité électrophile (catBnBr8Act pour la voie C et B3BnBr8Act pour la voie D) a été ajoutée en léger excès (1,2 équivalent) (Figure 90).

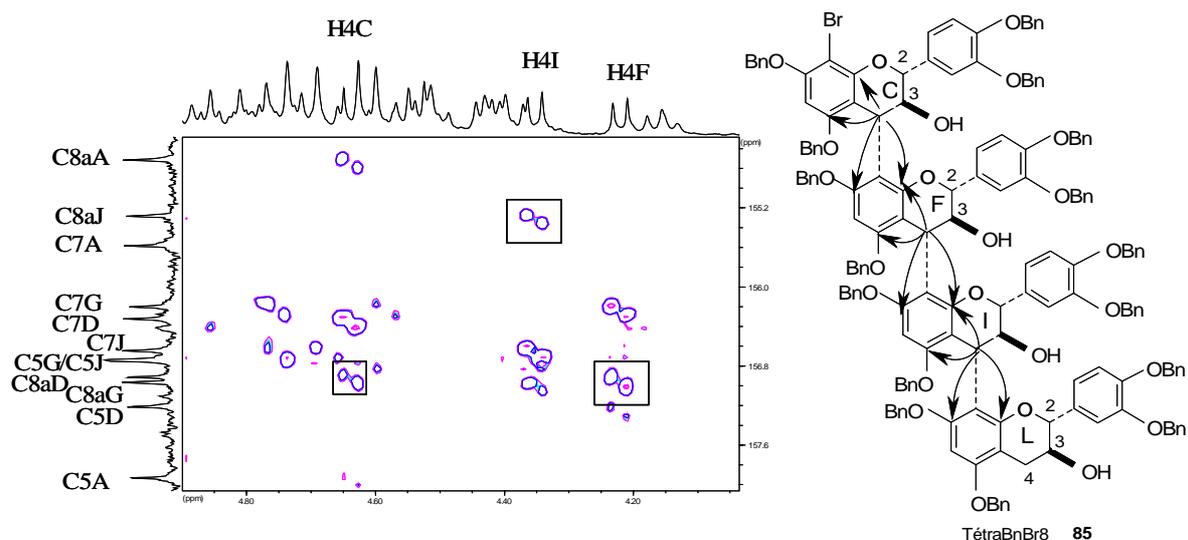


**Figure 90** : Synthèse du tétramère TétrabnBr8 selon les voies C et D

Après purification, le tétramère protégé **85** a été isolé avec un rendement de 38% selon la voie C et de 42% selon la voie D. Les unités nucléophiles n'ayant pas réagi ont pu être également récupérées : 39% de trimère C2Bn pour la voie C et 45% de dimère B3Bn pour la voie D. Mais ces conditions de réaction n'ont pas été optimisées. A l'issue des étapes de condensation effectuées selon les voies C et D, les spectres RMN obtenus pour le tétramère **85** étaient identiques et faisaient apparaître un rotamère largement majoritaire. Nous en avons donc déduit que les quatre unités catéchines constituant le tétramère étaient liées par des liaisons interflavanes de type 4 $\alpha$ ,8.

Les résultats obtenus après caractérisation complète par RMN de ce tétramère protégé, selon la stratégie employée précédemment pour les dimères et les trimères (Partie 3 II.8., annexe 5), nous ont permis de vérifier la régiochimie et la stéréochimie des liaisons interflavanes.

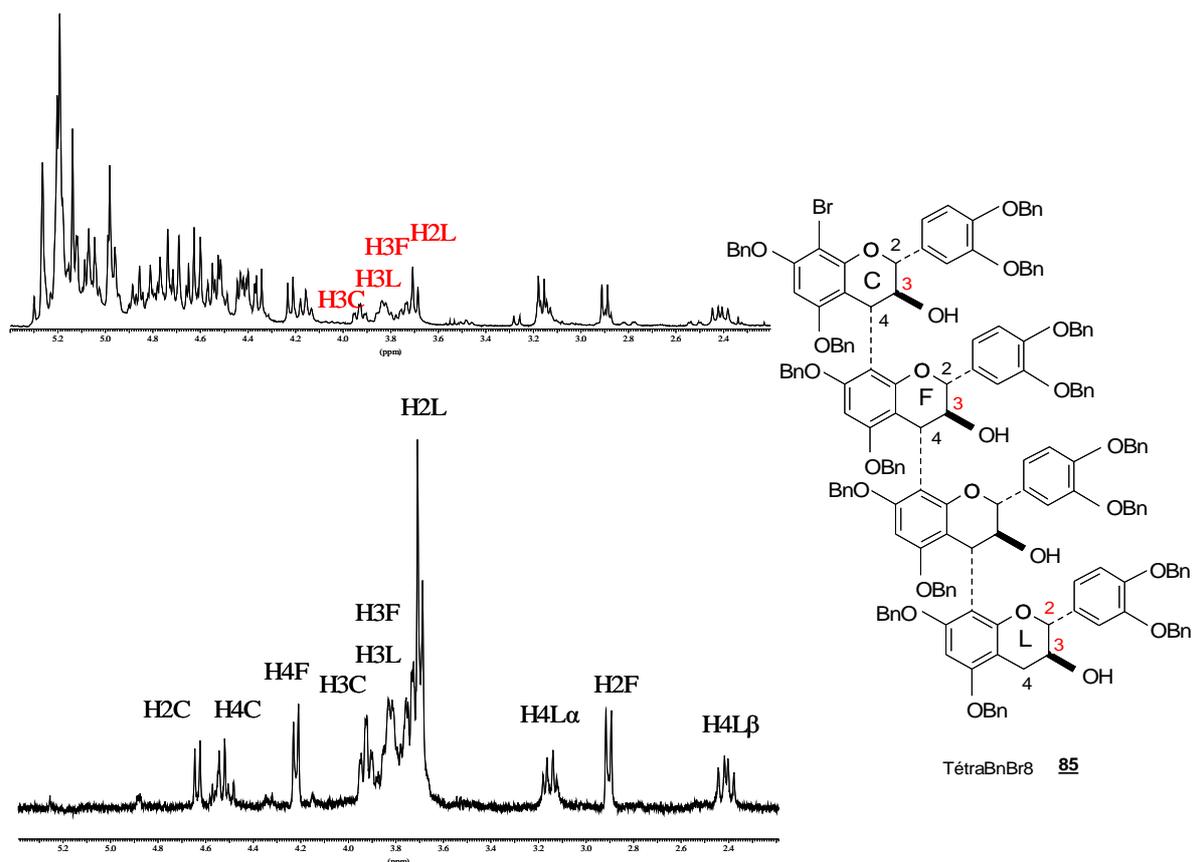
L'observation des corrélations entre le proton H4C et le carbone C8aD, entre H4F et C8aG et entre H4I et C8aJ sur le spectre HMBC sélective (Figure 91) nous a permis de confirmer que la régiochimie des trois liaisons interflavanes est 4-8.



**Figure 91** : Zone du spectre HMBC sélective du tétramère benzylé bromé permettant d'observer les corrélations H4C-C8aD, H4F-C8aG et H4I-C8aJ (encadrées) et représentation des différentes corrélations observées

Après avoir différencié les carbones C5 et C7 des carbones C8a grâce aux corrélations avec les CH<sub>2</sub> benzyls, les quatre carbones quaternaires C8a ont pu être attribués à partir des corrélations avec les protons H4. Par exemple, le proton H4F est corrélé avec les carbones C8aD et C8aG alors que le proton H4C est corrélé avec les carbones C8aA et C8aD. La comparaison de ces corrélations nous a alors permis de déduire la résonance du carbone C8aD puis des carbones C8aA et C8aG.

La stéréochimie  $\alpha$  des trois liaisons interflavanes a pu être confirmée, quant à elle, à partir des expériences de TOCSY 1D qui nous ont permis de distinguer les résonances des protons des hétérocycles dans le massif des CH<sub>2</sub> benzyls (4,3-5,3 ppm) (Figure 92).



**Figure 92** : Détermination des résonances des protons H2C, H4C et H4F et des constantes de couplage  $J_{23C}$ ,  $J_{43C}$  et  $J_{43F}$  à partir de différents spectres : en haut, spectre proton ; en bas TOCSY 1D après irradiation sélective des protons H2L, H3C, H3F et H3L

L'excitation sélective de la zone 3,5-4 ppm, qui correspond aux résonances des protons H2L, H3F, H3L et H3C, nous a permis de déterminer les résonances de six protons : H4L $\alpha$ , H4L $\beta$ , H2F, H4F, H2C et H4C. Toutes les constantes de couplage entre les protons des quatre hétérocycles ont pu alors être mesurées (Tableau 13).

**Tableau 13** : Constantes de couplage entre les protons des hétérocycles C, F, I et L du tétramère benzylé bromé

	$J_{23C}$	$J_{43C}$	$J_{23F}$	$J_{43F}$	$J_{23I}$	$J_{43I}$	$J_{23L}$	$J_{4L\alpha 3L}$	$J_{4L\beta 3L}$
Constantes de couplage (Hz)	9,0	9,0	9,7	8,9	9,8	8,8	8,9	6,0	10,0

En considérant que les cycles catéchols adoptent tous une conformation équatoriale, ces résultats reflètent bien un couplage trans entre les protons H3C et H4C, H3F et H4F, H3I et H4I (valeurs de J élevées). La stéréochimie adoptée par les trois liaisons interflavanes est donc effectivement de type  $\alpha$ .

A ce stade, seules les étapes de débromation et de débenzylation des fonctions phénols restent à effectuer pour obtenir le tétramère à l'état natif.

#### IV.2. Débromation et débenzylation du tétramère benzylé bromé

Les conditions mises au point précédemment pour les étapes de débromation et de débenzylation des dimères et des trimères ont été appliquées au tétramère (Figure 93). Nous pouvons cependant noter qu'un cinquième équivalent de n-butyllithium est nécessaire pour l'étape de débromation du tétramère.

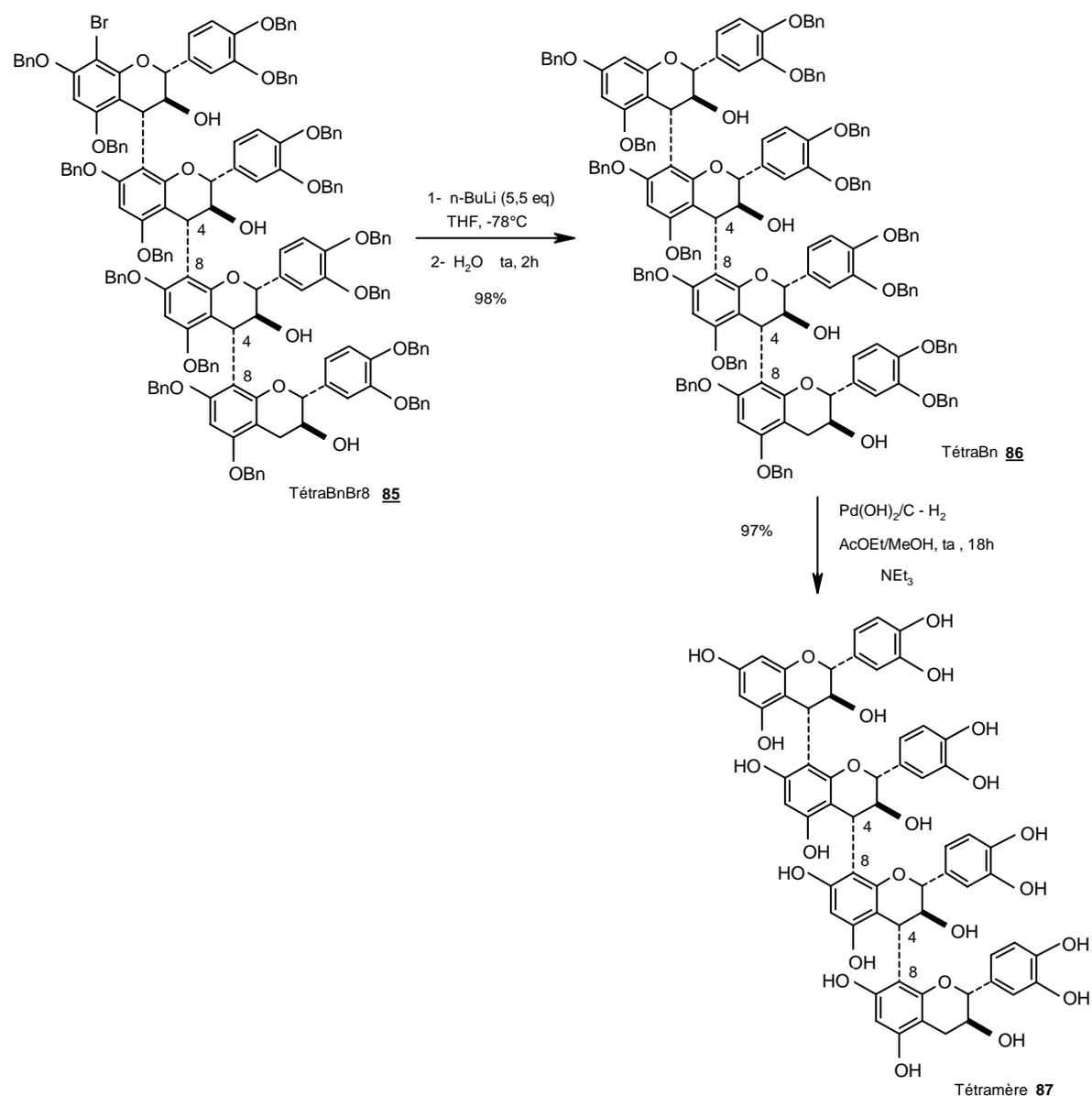


Figure 93 : Réactions de débromation et de débenzylation du tétramère benzylé bromé

Le tétramère benzylé **86** et le tétramère débenzylé **87** ont été ensuite analysés par spectrométrie de masse et par RMN. Concernant le spectre de masse du composé obtenu à l'issue de l'étape de débromation, deux ions doublement chargés apparaissent : le pic à  $m/z$  1321,6, largement majoritaire, correspond au tétramère benzylé débromé **86** et le pic à  $m/z$  1360,9 correspond au tétramère benzylé bromé **85**. La débromation n'a donc pas été totale.

Par contre, sur le spectre de masse du produit **87** obtenu à l'issue de l'étape de débenzylation du produit partiellement débromé, seul le pic moléculaire de masse 1153,4 apparaît : le composé **87** correspond effectivement au tétramère totalement débromé et entièrement débenzylé. La débromation de la fraction de tétramère protégé non débromé a donc eu lieu dans les conditions de débenzylation.

La débromation et la débenzylation du tétramère TétraBnBr8 **85** ont alors été effectuées en une seule étape dans les conditions mises au point précédemment pour le trimère C2 (Figure 81). Le tétramère natif **87** a ainsi été obtenu avec un rendement de 90 % à l'issue de cette étape de déprotection.

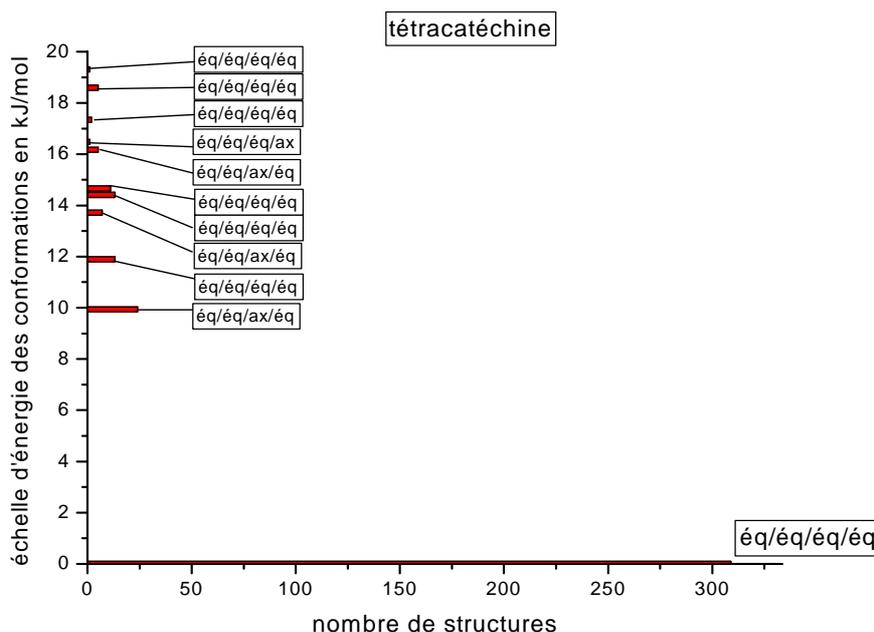
*Le tétramère Cat-Cat-Cat-Cat a donc été obtenu avec un rendement global de 9% selon la voie C et de 8% selon la voie D.*

### IV.3. Caractérisation du tétramère Cat-Cat-Cat-Cat

Pour les tétramères, les spectres RMN devraient être encore plus complexes que pour les trimères car huit rotamères peuvent être comptabilisés pour chacun des seize conformères.

La caractérisation par RMN du tétramère Cat-Cat-Cat-Cat est actuellement en cours mais nous pouvons noter que les spectres RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  sont encore plus complexes que pour les trimères. Plusieurs formes rotamères (huit formes rotamères distinctes sont attendues) apparaissent sur ces spectres mais aucune d'entre elles n'est largement majoritaire.

Une étude en modélisation moléculaire a été effectuée en parallèle : il semblerait ainsi que la conformation la plus basse en énergie corresponde à la structure pour laquelle les quatre cycles catéchols sont en position équatoriale (Figure 94).



**Figure 94 :** Diagramme énergétique des différentes conformations les plus stables du tétramère Cat-Cat-Cat-Cat dans une fenêtre de  $20 \text{ kJ.mol}^{-1}$  (11 clusters)

Ce diagramme nous permettait alors de supposer qu'un rotamère largement majoritaire devait être observé en RMN. Mais la situation s'est avérée beaucoup plus compliquée. Comme pour le trimère Cat-Cat-Epi, l'utilisation de l'eau virtuelle en modélisation moléculaire pourrait être à l'origine des différences observées entre les résultats obtenus par RMN et par modélisation moléculaire.

*Les dimères B3 et B4, les trimères C2 et Cat-Cat-Epi, le tétramère Cat-Cat-Cat-Cat ont ainsi été synthétisés avec un contrôle total du degré d'oligomérisation, de la régiochimie et de la stéréochimie de la liaison interflavane. La bromation de la position 8 de l'unité électrophile a également permis de réaliser l'étape de couplage dans des conditions quasiment stoechiométriques d'unité nucléophile et d'unité électrophile. Par conséquent, cette nouvelle méthode itérative est adaptée à la synthèse d'oligomères.*

*Tous les intermédiaires benzylés, les dimères B3 et B4 natifs ainsi que le trimère C2 natif ont pu être entièrement caractérisés par RMN. Les caractérisations du trimère Cat-Cat-Epi et du tétramère Cat-Cat-Cat-Cat sont en cours.*

# Quatrième Partie

## Caractérisation par CLHP des procyanidines de pépins de raisin et des vins



Différentes méthodes d'extraction des composés phénoliques contenus dans les raisins et dans les vins ont été proposées dans la littérature. De même, plusieurs techniques de chromatographie liquide ont été présentées pour séparer le mieux possible les différentes procyanidines oligomères présentes dans les extraits.

La grande diversité structurale (degré d'hydroxylation, stéréochimie en positions 3, régiochimie et stéréochimie des liaisons interflavanes) et le poids moléculaire des tanins présents dans les vins et dans les baies de raisin rendent leurs analyses par chromatographie liquide haute performance souvent difficiles. La plupart de ces molécules sont des isomères et possèdent donc une structure assez similaire. Le grand nombre de structures possibles (huit dimères, trente deux trimères, ...) engendre généralement des temps de rétention semblables et par conséquent des superpositions de pics sur les chromatogrammes.

Ainsi, avant de pouvoir étudier l'évolution des tanins présents dans les raisins et dans les vins, il s'avère nécessaire d'identifier les différents polyphénols présents dans ces échantillons. Pour cela, l'obtention de la plus large gamme possible de proanthocyanidines pures parfaitement identifiées est indispensable.

Les deux monomères, la catéchine et l'épicatéchine, qui sont disponibles dans le commerce, et les cinq procyanidines synthétisées précédemment (deux dimères, B3 et B4, deux trimères, C2 et Cat-Cat-Epi et un tétramère, Cat-Cat-Cat-Cat) ont donc été utilisés comme standards pour réaliser une étude qualitative de pépins de raisin et d'un vin par chromatographie liquide haute performance. Cette dernière partie de thèse a été effectuée au sein du laboratoire de la Société Baron Philippe de Rothschild (nommée BPHR par la suite).

## I. Etude bibliographique

### I.1. Extraction et fractionnement des composés phénoliques des pépins et des vins

Pour extraire les procyanidines monomères, dimères et oligomères contenues dans les pépins, l'éthanol, le méthanol,<sup>28</sup> l'eau, l'acétone,<sup>147</sup> le chloroforme ou différentes combinaisons de ces solvants<sup>7</sup> ont été utilisés. Le plus souvent, un mélange acétone/eau<sup>148,149,150</sup> ou une solution hydroalcoolique, méthanol/eau<sup>151</sup> ou éthanol/eau<sup>11,152,153</sup>,

<sup>147</sup> Rigaud J., Escribano-Bailon M.T., Prieur C., Souquet J.M., Cheynier V., *J. Chromatogr. A*, **1993**, 654, 255-260

<sup>148</sup> Karadeniz F., Durst R.W., Wrolstad R.E., *J. Agric. Food Chem.*, **2000**, 48, 5343-5350

<sup>149</sup> Saucier C., Mirabel M., Daviaud F., Longieras A., Glories Y., *J. Agric. Food Chem.*, **2001**, 49, 5732-5735

<sup>150</sup> Kennedy J.A., Waterhouse A.L., *J. Chromatogr. A*, **2000**, 866, 25-34

<sup>151</sup> Monagas M., Gómez-Cordovés C., Bartolomé B., Laureano O., Ricardo da Silva J.M., *J. Agric. Food Chem.*, **2003**, 51, 6475-6481

est employé. Selon Jayaprakasha et coll.<sup>154</sup>, l'utilisation d'un mélange acétone/eau/acide acétique (90:9,5:0,5) permet une meilleure extraction des composés phénoliques présents dans les pépins de raisin que le mélange méthanol/eau/acide acétique (90:9,5:0,5).

La complexité de la composition phénolique des vins (et parfois des extraits de pépins) a entraîné le développement de différentes méthodes de fractionnement avant l'analyse en chromatographie liquide haute performance. Ces procédures peuvent impliquer la déalcoolisation du vin,<sup>155</sup> l'extraction avec des solvants polaires (l'acétate d'éthyle en particulier),<sup>84</sup> la séparation sur des cartouches Sep-Pak C18<sup>151,156,157</sup> ou sur des gels (polyamide,<sup>151,158</sup> Sephadex LH-20<sup>159</sup>, Toyopearl TSK HW-40<sup>160</sup> ou 50 (F)<sup>6</sup>, Fractogel TSK HW-40(s)<sup>28,153</sup>). Mais ces méthodes de fractionnement peuvent modifier la composition phénolique des vins et des extraits de pépins (oxydation, hydrolyse, isomérisation). Certains chercheurs ont donc opté pour l'injection directe du vin.<sup>150</sup>

## **I.2. Nature des phases stationnaires utilisées pour séparer les procyanidines par CLHP**

Pour séparer les procyanidines par chromatographie liquide haute performance, deux types de phases stationnaires ont été principalement utilisés : la silice (phase normale) ou la silice greffée, le plus souvent avec des groupements alkyles (phase inverse). La taille des molécules, leur polarité ou leur affinité avec la phase stationnaire peut être à l'origine du fractionnement des tanins.

### *I.2.a. CLHP en phase normale*

En chromatographie liquide en phase normale, les éluants employés correspondent en général à un mélange de quatre solvants : le dichlorométhane, le méthanol, l'eau et un acide (l'acide formique,<sup>147,150</sup> acétique<sup>119,154,161</sup> ou trifluoroacétique<sup>149</sup>). L'application d'un gradient permet alors de distinguer les différentes procyanidines de l'échantillon injecté.

---

<sup>152</sup> Vivas N., Nonier M.F., Vivas de Gaulejac N., Absalon C., Bertrand A., Mirabel M., *Analytica Chimica Acta*, **2004**, 513, 247-256

<sup>153</sup> De Freitas V.A.P., *Thèse de l'Université Bordeaux II*, **1995**

<sup>154</sup> Jayaprakasha G.K., Selvi T., Sakariah K.K., *Food Res. Int.*, **2003**, 36, 117-122

<sup>155</sup> Fulcrand H., Remy S., Souquet J.M., Cheyrier V., Moutounet M., *J. Agric. Food Chem.*, **1999**, 47, 1023-1028

<sup>156</sup> Soleas G.J., Dam J., Carey M., Goldberg D.M., *J. Agric. Food Chem.*, **1997**, 45, 3871-3880

<sup>157</sup> Jaworski A.W., Lee C.Y., *J. Agric. Food Chem.*, **1987**, 35, 257-259

<sup>158</sup> Ricardo da Silva J.M., Rosec J.P., Bourzeix M. Heredia N., *J. Sci. Food Agric.*, **1990**, 53, 85-92

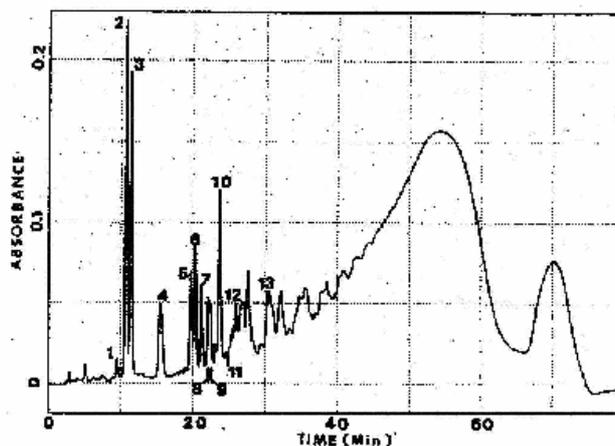
<sup>159</sup> Escribano-Bailón T., Gutiérrez-Fernández Y., Rivas-Gonzalo J.C., Santos-Buelga C., *J. Agric. Food Chem.*, **1992**, 40, 1794-1799

<sup>160</sup> Sun B., Belchior G.P., Ricardo da Silva J.M., Spranger M.I., *J. Chromatogr. A*, **1999**, 841, 115-121

<sup>161</sup> Hammerstone J.F., Lazarus S.A., Mitchell A.E., Rucker R., Schmitz H.H., *J. Agric. Food Chem.*, **1999**, 47, 490-496

Rigaud et coll.,<sup>147</sup> Jayaprakasha et coll.<sup>154</sup> et Saucier et coll.<sup>149</sup> ont développé des méthodes de fractionnement des différents tanins présents dans un extrait de pépins en phase normale.

Rigaud et coll. ont pu obtenir par exemple une résolution satisfaisante jusqu'aux tétramères. Ils ont ensuite observé un large massif correspondant aux polymères (Figure 95).

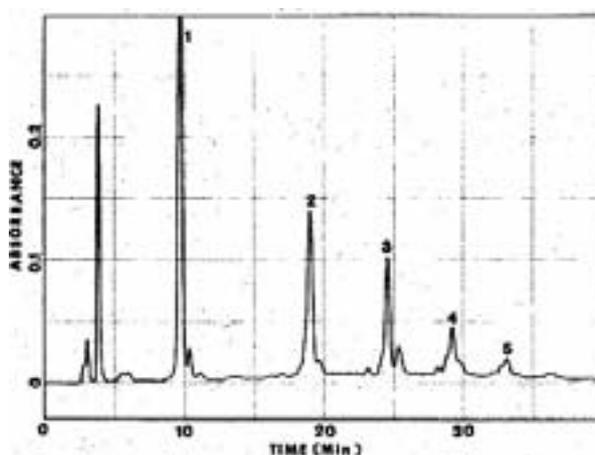


**Figure 95 :** Chromatogramme d'un extrait de procyanidines de pépins de raisin enregistré à 280 nm dans les conditions de Rigaud et coll.

1 : acide gallique, 2 : épicatechine, 3 : catéchine, 4 : épicatechine-3-O-gallate, 5 : B4, 6 : B2, 7 : B3, 8 : B4-3'-O-gallate, 9 : B1, 10 : B2-3-O-gallate, 11 : B2-3,3'-di-O-gallate, 12 : C1, 13 : tétramère constitué de quatre unités épicatechine liées par en 4 $\beta$ ,8

Les composés correspondant aux différents pics chromatographiques ont été collectés individuellement puis leurs structures ont été déterminées par thiolysse (annexe 6) et/ou par hydrolyse enzymatique. Ils ont ainsi pu identifier deux monomères, sept dimères, un trimère et un tétramère dans cet extrait de pépins de raisin.

Ce protocole a ensuite été appliqué aux tanins des fèves de cacao : une séparation des procyanidines jusqu'aux pentamères a été obtenue (Figure 96).



**Figure 96 :** Chromatogramme d'un extrait de procyanidines de fèves de cacao enregistré à 280 nm selon les conditions de Rigaud et coll.

1 : épicatechine, 2 : dimère, 3 : trimère, 4 : tétramère, 5 : pentamère constitués uniquement d'épicatechine

Nous pouvons cependant noter que la situation est simplifiée pour les tanins des fèves de cacao par rapport à ce qui est observé pour les procyanidines de pépins de raisin : les tanins de fèves de cacao sont uniquement constitués d'épicatéchine donc la diversité structurale est beaucoup moins importante.

Hammerstone et coll.<sup>161</sup> ont amélioré le fractionnement des procyanidines de fèves de cacao jusqu'aux décamères en modifiant la méthode d'extraction.

L'application de cette nouvelle technique aux pépins de raisin a permis d'identifier un octamère galloylé par spectrométrie de masse.<sup>162</sup>

Kennedy et Waterhouse<sup>150</sup> ont quant à eux développé un nouveau protocole pour distinguer les procyanidines contenues dans un vin injecté directement en CLHP. L'ajout d'acide heptanesulfonique à la phase mobile leur a permis d'éluer les anthocyanes en premier avant les tanins. Dans ces conditions, l'élution des procyanidines n'est plus perturbée par la présence des pigments rouges.

*La CLHP en phase normale semble donc permettre un fractionnement des tanins selon leurs poids moléculaires croissants.*

### *1.2.b. CLHP en phase inverse*

Mais la technique de chromatographie liquide la plus couramment utilisée pour séparer les différentes procyanidines est la chromatographie liquide haute performance en phase inverse (C8 ou C18). Les colonnes C18 semblent cependant donner un meilleur fractionnement que les colonnes C8.<sup>163</sup>

Les solvants employés pour éluer les tanins correspondent à un mélange de méthanol ou d'acétonitrile avec une solution aqueuse acide (acide acétique,<sup>7, 11,19,28</sup> formique<sup>20,159,164</sup> ou phosphorique<sup>152</sup>). La présence de l'acide dans la phase mobile permet d'empêcher l'ionisation des procyanidines. La séparation des tanins est alors effectuée grâce à un gradient.

A la fin des années 1980, deux monomères (catéchine et épicatéchine) et deux procyanidines dimères, B2 et B3, ont pu être identifiés dans le jus de raisin et dans le vin rouge,<sup>157</sup> par CLHP en phase inverse, grâce à l'injection de standards (les deux monomères commerciaux et les dimères, B2 et B3, synthétisés respectivement par Lea<sup>73</sup> et par Jaworski selon la méthode de Delcour<sup>91</sup>).

<sup>162</sup> Lazarus S.A., Adamson G.E., Hammerstone J.F., Schmitz H.H., *J. Agric. Food Chem.*, **1999**, 47, 3693-3701

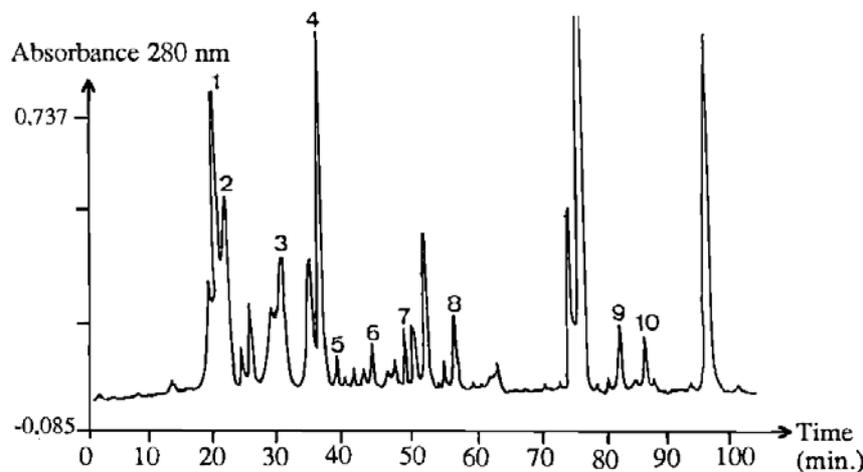
<sup>163</sup> Svedström U., Vuorela H., Kostianen R., Huovinen K., Laakso I., Hiltunen R., *J. Chromatogr. A*, **2002**, 968, 53-60

<sup>164</sup> Es-Safi N.E., Fulcrand H., Cier V., Moutounet M., *J. Agric. Food Chem.*, **1999**, 47, 2088-2095

En 1991, Ricardo da Silva et coll.<sup>28</sup> ont utilisé une colonne C18 pour dissocier les tanins d'un extrait de pépins de raisin préalablement fractionné sur gel Fractogel TSK HW-40(s). Ils sont ainsi parvenus à isoler 23 procyanidines par CLHP semi-préparative et à déterminer leurs structures par thiolyse (annexe 6) (trois monomères, huit dimères non galloylés, cinq dimères galloylés et sept trimères). Mais quelquefois, les temps de rétention de ces différentes molécules sont proches (elles sont éluées à peu près en 20 minutes) et par conséquent, leur identification est plus complexe.

De Freitas et coll.<sup>7,19,153</sup> ont donc modifié la méthode de Ricardo da Silva et coll. pour obtenir un meilleur fractionnement des procyanidines : ils ont conservé les mêmes éluants mais ils ont changé le gradient (ils ont doublé le temps d'analyse) et ils ont employé deux colonnes C18 en série. 22 procyanidines (trois monomères, huit dimères non galloylés, six dimères galloylés et cinq trimères), fractionnées en un peu plus de 60 minutes, ont pu être ainsi identifiées par comparaison avec des standards synthétisés précédemment par hémisynthèse<sup>153</sup> ou par thiolyse (annexe 6).

Vivas et coll.<sup>11</sup> ont appliqué ce protocole pour fractionner un extrait de pépins de raisin de cabernet sauvignon : ils ont obtenu le chromatogramme suivant (Figure 97).

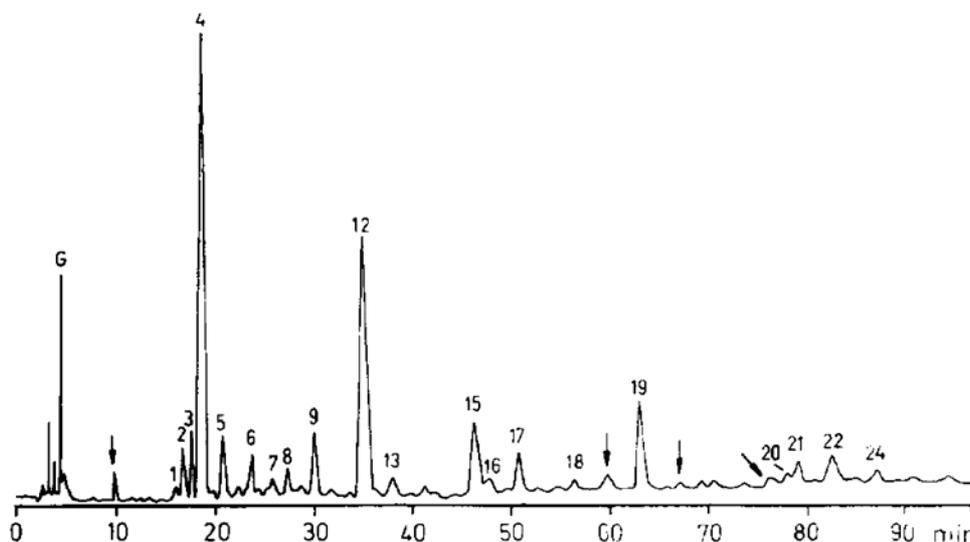


**Figure 97 :** Chromatogramme d'un extrait de pépins de raisin de cabernet sauvignon (Vivas et coll.) ; 1 : B1, 2 : B3, 3 : B4, 4 : B2, 5 : B6, 6 : B8, 7 : C1, 8 : B7, 9 : B5, 10 : A2

Seuls les temps de rétention de neuf dimères (les huit dimères attendus et le dimère A2) et d'un trimère ont été présentés sur cette figure.

Santos-Buelga et coll.<sup>20</sup> ont utilisé des éluants légèrement plus acides que précédemment (les éluants contiennent 4,5 % d'acide formique alors que précédemment, les éluants ne contenaient pas plus de 2,5 % d'acide). Ils sont ainsi parvenus à identifier 24 tanins (trois monomères, sept dimères, six dimères galloylés, dix trimères et un tétramère) dans un

extrait de pépins de raisin de cépage cabernet sauvignon par comparaison avec des standards ou par des techniques d'hydrolyse (Figure 98).



**Figure 98 :** Chromatogramme d'un extrait de procyanidines de pépins de raisin enregistré en CLHP à 280 nm dans les conditions de Santos-Buelga et coll.

1 : C2, 2 : B3, 3 : B1, 4 : cat, 5 : T2, 6 : B4, 7a : cat-4 $\alpha$ ,8-cat-4 $\alpha$ ,8-epi, 7b : T6, 8a : B6, 8b : T4, 9 : B2, 10 : T2-3-O-gallate, 11 : B2-3-O-gallate, 12 : épi, 13 : B4-3'-O-gallate, 14 : T3, 15a : B1-3-O-gallate, 15b : B2-3'-O-gallate, 16 : B7, 17 : C1, 18 : épi-4 $\beta$ ,8-épi-4 $\beta$ ,8-épi-4 $\beta$ ,8-épi, 19 : épi-3-O-gallate, 20 : B7-3-O-gallate, 21 : B2-3,3'-di-O-gallate, 22 : C1-3-O-gallate, 23 : C1-3,3'-di-O-gallate, 24 : B5

Parmi ces molécules, quelques dimères galloylés et trimères ont pu être détectés pour la première fois dans des extraits de pépins de raisin. Nous pouvons également remarquer la coélution de plusieurs de ces composés (pics 7 et 15).

En 1999, la chromatographie liquide haute performance en phase inverse couplée à la spectrométrie de masse a permis à Cheynier et coll.<sup>155</sup> de détecter la présence de tanins mixtes constitués à la fois de procyanidines et de prodelphinidines (jusqu'aux pentamères) dans le vin.

Après avoir optimisé leurs conditions d'injection, Ricardo da Silva et coll.<sup>151,165</sup> et De Freitas et coll.<sup>153</sup> ont pu finalement mener une étude quantitative sur des extraits de pépins de raisin et sur des vins provenant de différents cépages.

*A travers tous ces résultats obtenus en chromatographie liquide en phase inverse, nous pouvons noter qu'une trentaine de procyanidines ont été détectées et identifiées à ce jour dans des extraits de pépins de raisin. La liste de ces molécules et la signification des symboles employés sont présentées en annexe 1.*

<sup>165</sup> Fuleki T., Ricardo da Silva J.M., *J. Agric. Food Chem.*, **1997**, 45, 1156-1160

*De plus, l'ordre d'éluion peut différer légèrement selon la méthode (gradient, éluants) utilisée. La présence de liaisons de régiochimie 4,6 et de groupements galloyls a également une influence sur l'ordre d'éluion. La séparation des tanins par CLHP en phase inverse ne se fait donc pas selon le degré de polymérisation. La CLHP en phase inverse semble cependant permettre un fractionnement des oligomères de mêmes poids moléculaires jusqu'aux tétramères. Au-delà, l'analyse semble beaucoup plus délicate car le nombre d'isomères devient trop important.*

La séparation des différentes procyanidines contenues dans un extrait de pépins ou dans un vin devrait être également possible grâce à la chromatographie liquide d'exclusion stérique. Cette technique est fondée sur la différence de pénétration des molécules présentes dans la solution injectée dans les pores de la phase stationnaire qui correspond à un polymère réticulé.<sup>166</sup> Les molécules volumineuses traversent directement la colonne et sont ainsi éluées en début de programme alors que les plus petites sont retenues plus longtemps sur la colonne car elles suivent un chemin complexe à travers les pores de la phase stationnaire, elles sont donc éluées à des temps de rétention plus élevés.

*En chromatographie liquide d'exclusion stérique, les tanins devraient être par conséquent fractionnés selon leurs poids moléculaires décroissants.*

### **I.3. Nature des détecteurs utilisés en CLHP**

Pour les tanins, deux modes de détection ont été utilisés : la fluorescence et l'absorption. Cependant, les détecteurs spectrophotométriques sont beaucoup plus souvent employés que les détecteurs de fluorescence.

L'utilisation de détecteur à barrette de diodes permet d'enregistrer l'absorbance à plusieurs longueurs d'onde simultanément. Il est ainsi possible de distinguer les flavanols et les procyanidines qui absorbent à 280 nm, les flavonols qui absorbent entre 320 et 385 nm et les anthocyanes qui absorbent à 520 nm.

*Les analyses effectuées en chromatographie liquide sur les extraits de pépins et sur le vin ont été réalisées avec un détecteur UV à 280 nm pour visualiser uniquement les flavanols et les procyanidines.*

---

<sup>166</sup> Rouessac F., Rouessac A., *Analyse chimique. Méthodes et techniques instrumentales modernes*, Dunod, Paris, 1998

*La chromatographie liquide en phase normale et en phase inverse semble ainsi permettre de fractionner les différents tanins présents dans un extrait de pépins de raisin jusqu'aux tétramères. Ces molécules sont identifiées le plus souvent à partir des techniques d'hydrolyse (en particulier la thiolyse) ou quelquefois par co-injection avec des standards, isolés précédemment de sources naturelles ou synthétisés. Actuellement, la technique la plus employée est la chromatographie liquide en phase inverse, elle a permis d'identifier le plus grand nombre de procyanidines présentes dans un extrait de pépins. Peu de résultats sont disponibles en chromatographie liquide d'exclusion stérique.*

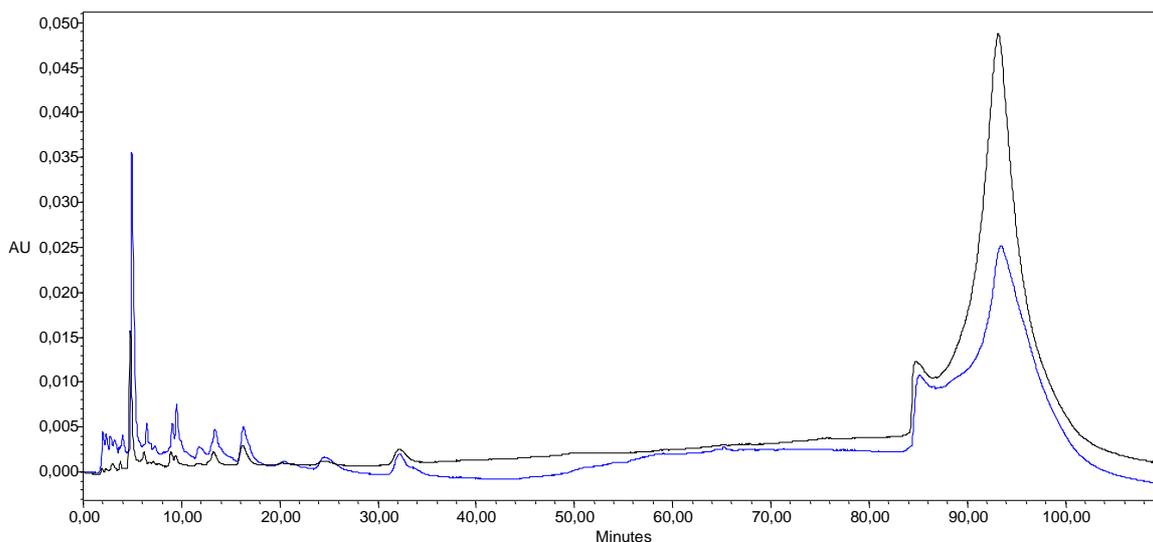
## **II. Etude qualitative d'un extrait de pépins de raisin et d'un vin par CLHP**

Nous avons donc testé deux types de chromatographie liquide haute performance pour séparer le mieux possible les procyanidines standards précédemment synthétisées : l'exclusion stérique et la phase inverse. Les conditions optimales ont ensuite été appliquées à l'étude qualitative d'un extrait de pépins de raisin et d'un vin.

### **II.1. Préparation des extraits de pépins de raisin**

Les pépins de raisin ont été extraits selon le mode opératoire mis au point au laboratoire de BPHR. Ce protocole, qui consiste à extraire les composés phénoliques des pépins grâce à une solution hydroalcoolique à 12% d'éthanol (Partie expérimentale I.2.), permet ainsi de mimer les conditions classiques d'extraction des tanins de pépins lors de la phase de macération.

Saucier et coll.<sup>149</sup> ont également proposé un mode opératoire utilisant le mélange de solvants acétone/eau dans les proportions 7:3 pour extraire les tanins de pépins. Mais selon cette méthode, une quantité plus importante de polymères (massif entre 84 et 100 minutes) est extraite (Figure 99).



**Figure 99 :** Comparaison des chromatogrammes obtenus en CLHP en phase inverse à 280 nm pour les tanins de pépins de raisin extraits selon les méthodes de Saucier et coll. ( — ) et de BPHR ( — )

Les analyses chromatographiques sur les pépins de raisin ont donc été réalisées à partir de l'extrait de pépins préparé selon le protocole de BPHR car cette méthode permet d'extraire uniquement les tanins susceptibles d'être présents dans le vin.

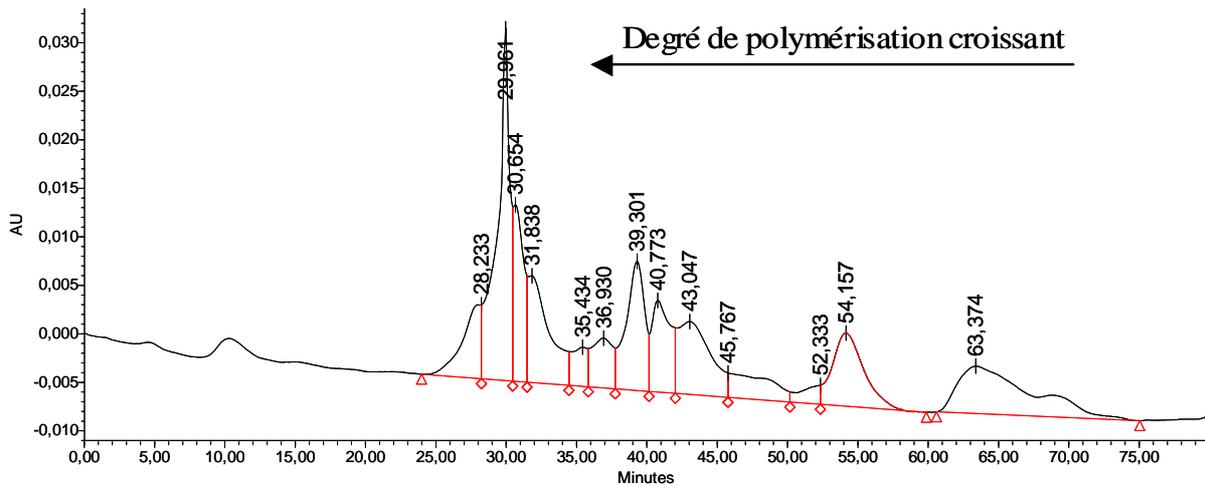
## II.2. Chromatographie liquide d'exclusion stérique

Dans un premier temps, nous avons appliqué les conditions de chromatographie d'exclusion stérique mises au point précédemment au laboratoire de BPHR (Partie expérimentale I.3.). Deux colonnes d'exclusion stérique placées en série et un éluant isocratique constitué de 50 % de méthanol et de 50 % d'acétate d'ammonium 20 mM ont été utilisés. L'acétate d'ammonium dans la phase mobile permet de limiter les phénomènes d'adsorption des polyphénols sur la phase stationnaire.

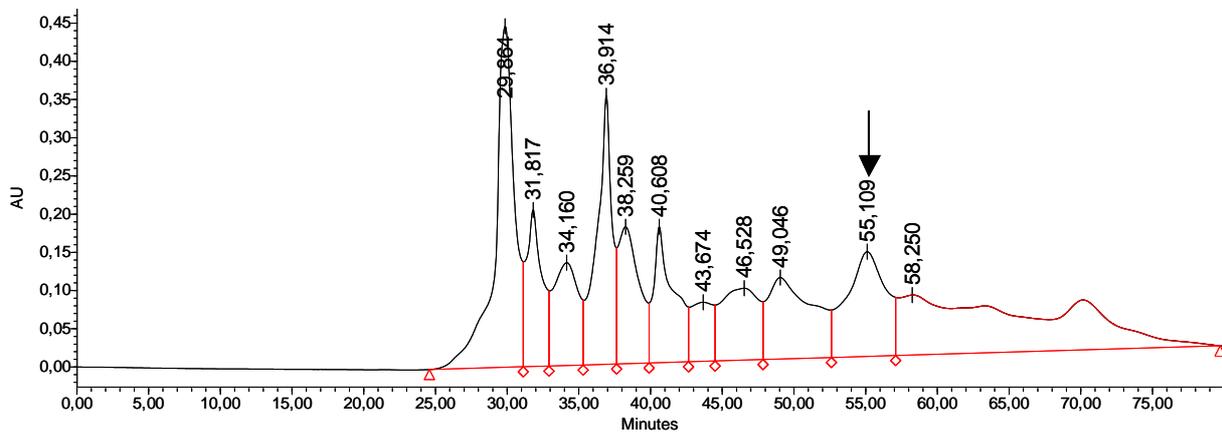
### II.2.a. Injections d'un extrait de pépins de raisin et de vins

Un extrait de pépins de raisin préparé selon le mode opératoire de BPHR, un vin en début d'élevage et un vin du millésime 1998 ont été injectés en chromatographie liquide d'exclusion stérique selon le protocole précédemment défini. Les vins ont été injectés directement après simple filtration sur filtre Sartorius 0,45 µm.

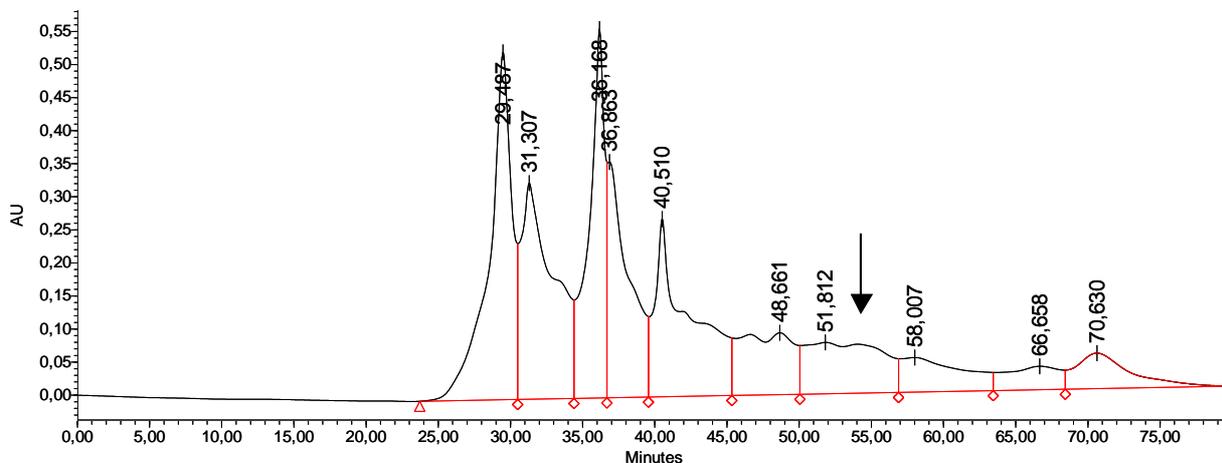
Les chromatogrammes suivants (Figure 100, Figure 101 et Figure 102) ont été obtenus pour ces trois échantillons.



**Figure 100 :** Chromatogramme d'exclusion stérique d'un extrait de pépins de cabernet sauvignon à la maturité phénolique enregistré à 280 nm (protocole de BPHR)



**Figure 101 :** Chromatogramme d'exclusion stérique d'un vin en début d'élevage en 2001 (protocole de BPHR) enregistré à 280 nm



**Figure 102 :** Chromatogramme d'exclusion stérique d'un vin du millésime 1998 (protocole de BPHR) enregistré à 280 nm

Selon le principe d'exclusion stérique, nous pouvons noter que les pépins (Figure 100) contiennent principalement des composés volumineux : la proportion d'oligomères et de polymères est supérieure à celle des molécules de faibles poids moléculaires. Cela confirme bien ce qui avait été observé par Cheynier et coll. (Tableau 3).

Les chromatogrammes (Figure 101 et Figure 102) montrent que comme pour les pépins, les vins renferment davantage de composés volumineux que de composés de petites tailles. Ces résultats sont en accord avec le phénomène de polymérisation qui a lieu au cours de la vinification, de l'élevage et du vieillissement des vins.

La comparaison des Figure 101 et Figure 102 nous montre également que les profils chromatographiques d'un vin en début d'élevage et d'un vin déjà en cours de vieillissement évoluent légèrement : l'absorbance et la proportion des grosses molécules augmentent et le pic vers 55-56 minutes semble disparaître au cours du vieillissement. Une étude menée précédemment en chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse au laboratoire de BPHR a permis de déterminer que ce pic (pic marqué d'une flèche sur les Figure 101 et Figure 102) correspond à des anthocyanes libres. Il est donc parfaitement logique que l'intensité de ce pic soit atténuée au cours du vieillissement d'un vin car les anthocyanes libres se condensent avec les tanins pour former des adduits tanin-anthocyane (Partie 1 II.2.a.).

#### *II.2.b. Injections des procyanidines standards synthétisées*

L'injection des procyanidines synthétisées devrait nous permettre de déterminer les temps de rétention de différents oligomères et d'évaluer ainsi le degré de polymérisation des molécules les plus condensées qui correspondent aux premiers pics sur les chromatogrammes d'exclusion stérique.

La catéchine, le dimère B3, les trimères C2 et Cat-Cat-Epi ainsi que le tétramère constitué de quatre unités catéchines ont été injectés selon le programme d'exclusion stérique mis au point au laboratoire (Partie expérimentale I.3.).

Ainsi, la catéchine et le dimère B3 sortent au-delà de 75 minutes. Quant aux profils chromatographiques des deux trimères et du tétramère, ils font apparaître plusieurs pics après 30 minutes à des temps de rétention similaires.

*Cette étude menée par chromatographie liquide d'exclusion stérique nous a donc permis de vérifier que les pépins et les vins étaient majoritairement constitués de composés phénoliques oligomères et polymères et que la concentration en anthocyanes libres diminuait*

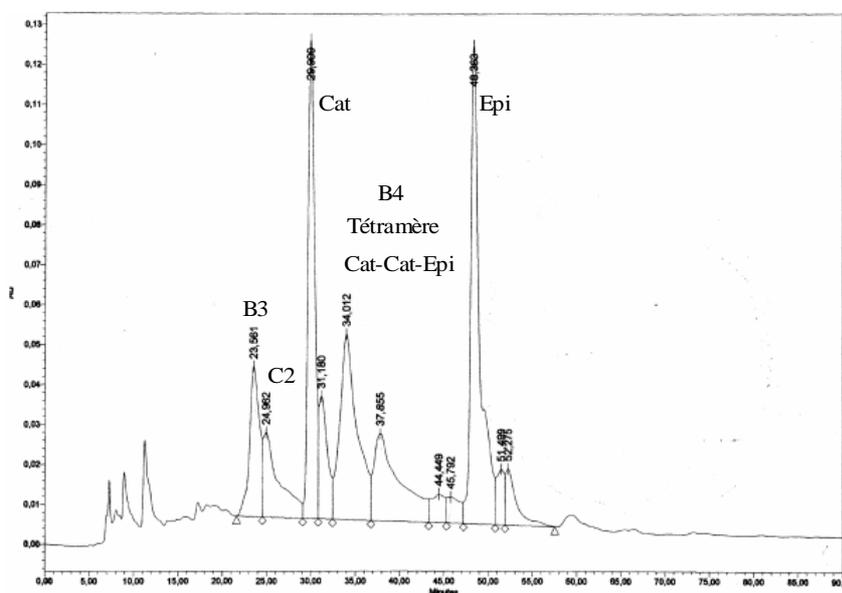
effectivement au cours du vieillissement. Cependant, l'observation de plusieurs pics chromatographiques pour une seule procyanidine, trimère ou tétramère, ne nous a pas permis d'obtenir des informations intéressantes sur la composition en procyanidines contenues dans ces échantillons. Dans ces conditions, la chromatographie liquide d'exclusion stérique n'a pas permis de séparer les différents oligomères et par conséquent les différents isomères de mêmes poids moléculaires. Nous avons donc employé la seconde technique, la chromatographie liquide en phase inverse, pour fractionner les différents tanins présents dans les pépins et dans les vins.

### II.3. Chromatographie liquide en phase inverse

#### II.3.a. Recherche des conditions optimales d'injection

Dans un premier temps, nous avons adapté les conditions chromatographiques mises au point par De Freitas et coll.<sup>7,19,153</sup> (Partie expérimentale I.3.) pour séparer les procyanidines présentes dans un extrait de pépins. Deux colonnes C18 placées en série ont ainsi été utilisées.

Une solution contenant sept tanins (les deux monomères commerciaux : catéchine et épicatechine, les deux dimères synthétisés : B3 et B4, les deux trimères : C2 et Cat-Cat-Epi et le tétramère Cat-Cat-Cat-Cat) a été préparée puis injectée dans ces conditions. Le chromatogramme suivant a été obtenu (Figure 103).



**Figure 103 :** Chromatogramme de la solution des sept procyanidines selon les conditions adaptées de De Freitas et coll.

Onze pics sont observés sur le chromatogramme entre 20 et 55 minutes.

Les tanins ont ensuite été injectés individuellement pour déterminer leur temps de rétention et attribuer les différents pics sur le chromatogramme précédent.

Ainsi nous avons pu identifier le dimère B3 (23,6 minutes), le trimère C2 (25 minutes), la catéchine (29,9 minutes) qui sort sous forme de deux pics consécutifs, de même pour l'épicatéchine (48,4 minutes).

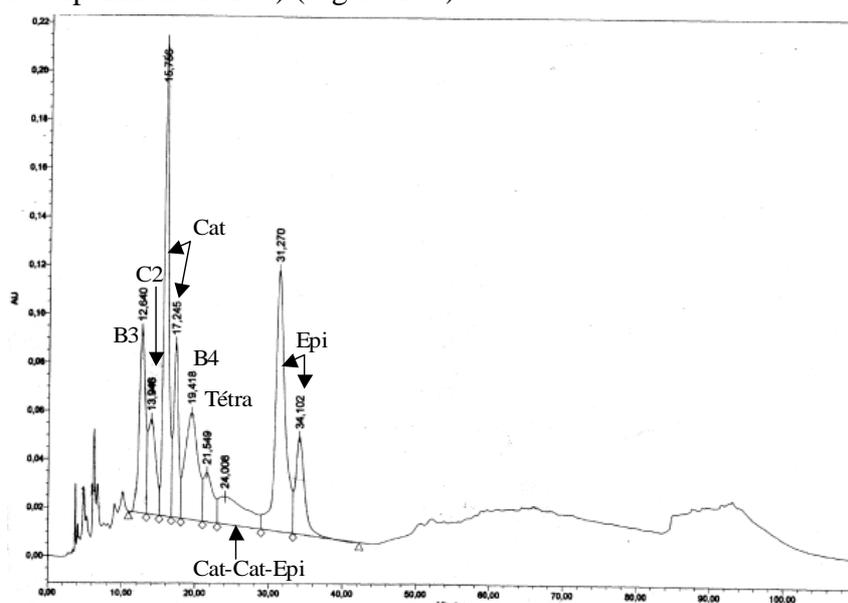
Par contre, l'attribution du dimère B4, du trimère Cat-Cat-Epi et du tétramère Cat-Cat-Cat-Cat a été plus délicate. Ces composés sont élués entre 34 et 40 minutes mais il est difficile de définir leur ordre.

En fait, de nombreux problèmes techniques (une pression trop élevée a été à l'origine de fuites) ont été observés lors des analyses : l'utilisation des deux colonnes en série doit en être la cause. Dans nos conditions d'injection, la méthode est peu reproductible, les chromatogrammes obtenus pour la même solution des sept tanins ne sont pas superposables.

Par conséquent, nous avons mis au point de nouvelles conditions en utilisant une seule colonne en phase inverse. Différents gradients d'éluion et différents systèmes de solvants ont été testés pour observer la meilleure séparation entre les différentes procyanidines de la solution contenant les sept tanins : eau et eau/10% acide acétique ; eau/2% acide acétique et eau/acétonitrile 50/50 avec 0,5% d'acide acétique ; eau/2,5% d'acide acétique (A) et 80% d'acétonitrile dans le solvant A.

Les meilleurs résultats ont été obtenus avec le système de solvants eau/2% acide acétique et eau/acétonitrile 50/50 + 0,5% d'acide acétique

Neuf pics sont alors visibles entre 10 et 40 minutes sur le chromatogramme correspondant à la solution des sept tanins injectée dans ces conditions d'éluants et de gradient (Partie expérimentale I.3.) (Figure 104).



**Figure 104 :** Chromatogramme de la solution des sept procyanidines selon les conditions mises au point au laboratoire de BPHR

Chaque procyanidine (les sept précédentes ainsi que les dimères B1, B2 et B2-3-O-gallate) a ensuite été injectée individuellement. Les temps de rétention des tanins sont rassemblés dans le Tableau 14.

**Tableau 14** : Temps de rétention des tanins obtenus avec la méthode de séparation mises au point au laboratoire de BPHR

Tanin	Temps de rétention (min)
B1	11,3
B3	12,9
C2	14,9
Catéchine	16,0
B4	19,5
B2	22,4
Tétramère	23,2
Cat-Cat-Epi	26,0
Epicatéchine	31,3
B2-3-O-gallate	57,8

Ces temps de rétention sont légèrement différents de ceux observés pour la solution des sept tanins. L'interaction des procyanidines entre elles doit être à l'origine de ce faible décalage.

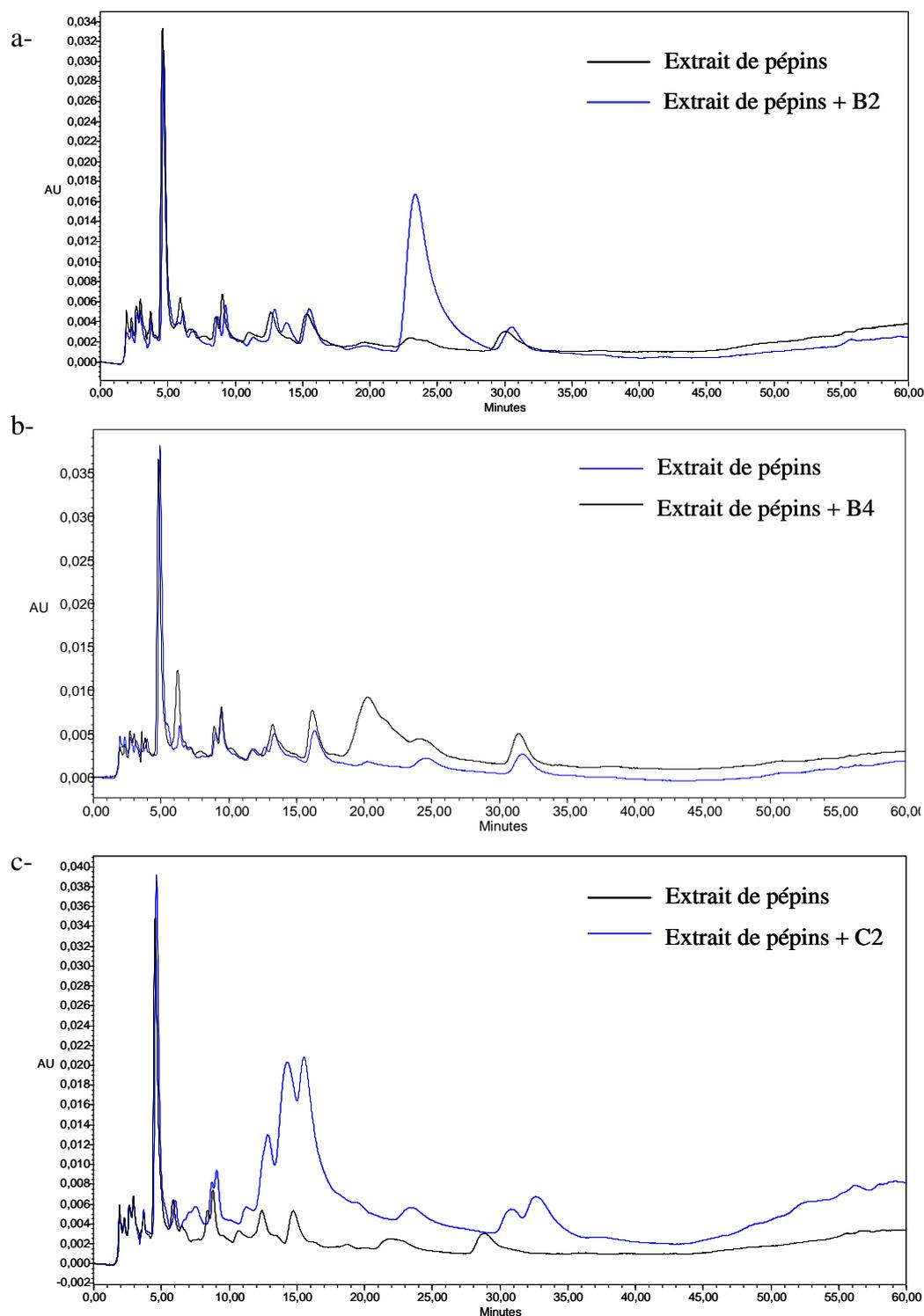
Nous pouvons noter que l'ordre d'élution des monomères et des procyanidines dimères est le même que celui observé par De Freitas et coll.<sup>7,19,153</sup>. De plus, la méthode est répétable et reproductible.

*La comparaison des chromatogrammes obtenus avant puis après ajout d'une procyanidine standard à un extrait de pépins ou à un vin devrait nous permettre d'identifier sans ambiguïté les différents tanins de ces solutions.*

### II.3.b. Injection d'extraits de pépins de raisin et de vin

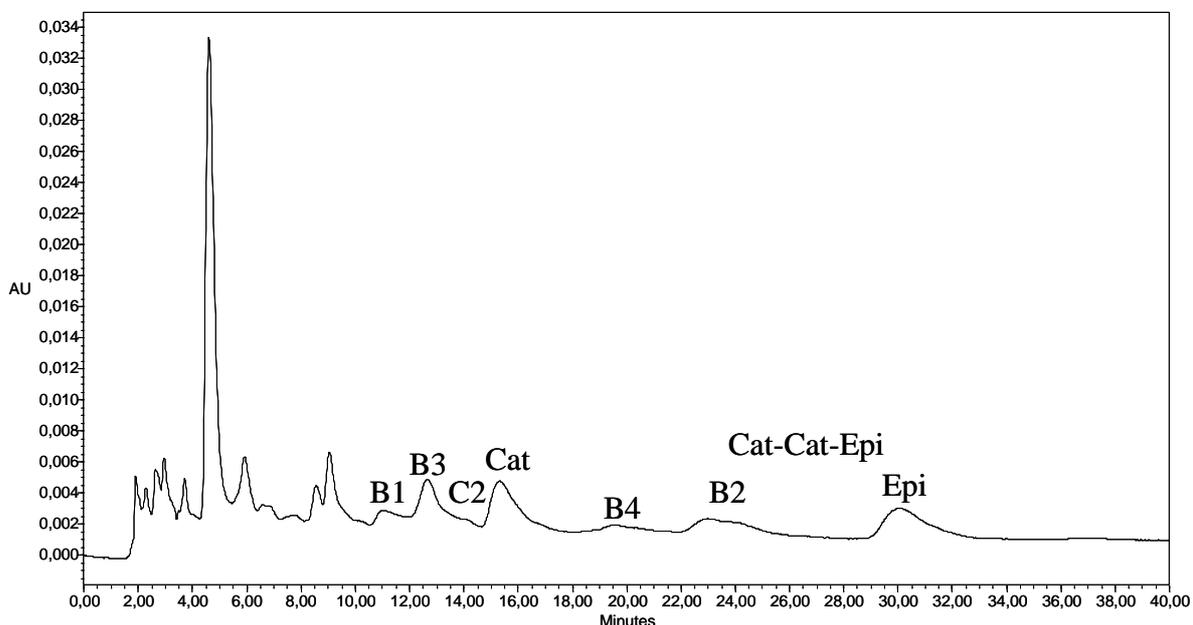
Après avoir injecté l'extrait de pépins de raisin selon les conditions chromatographiques optimisées (Figure 99, chromatogramme en bleu), nous avons additionné individuellement à cette solution les deux monomères et les différentes procyanidines standards.

Les trois chromatogrammes suivants représentent respectivement les ajouts des dimères B2, B4 et de trimère C2 (Figure 105). Le même principe a été appliqué pour attribuer les pics correspondant aux autres standards.



**Figure 105 :** Comparaison des profils chromatographiques obtenus en CLHP à 280 nm pour l'extrait de tanins de pépins et pour les ajouts de dimère B2 (a), de dimère B4 (b) et de trimère C2 (c) dans cet extrait de pépins

La Figure 106 correspond au chromatogramme de l'extrait de pépins et à l'attribution proposée pour plusieurs pics.

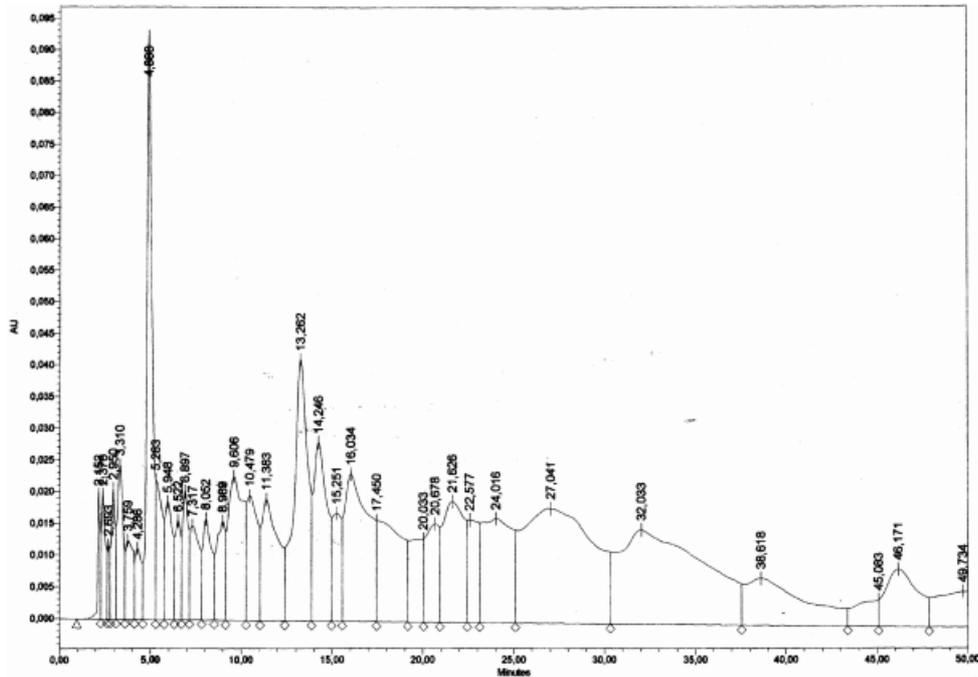


**Figure 106 :** Attribution de quelques pics du profil chromatographique d'un extrait de pépins

Le pic entre 22 et 26 minutes peut ainsi correspondre au dimère B2, au trimère Cat-Cat-Epi ou à un mélange de ces deux produits. Une analyse en chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse permettrait d'élucider la nature des molécules correspondant à ce pic. L'identification du tétramère dans l'extrait de pépins s'est avérée quant à elle plus délicate.

Nous pouvons noter d'après ce chromatogramme que l'aire du pic correspondant au dimère B3 semble plus importante que celle du pic correspondant à la procyanidine B2. Mais avant de conclure que la concentration en dimère B3 est supérieure à celle en dimère B2 dans ces pépins de raisin, une vérification par spectrométrie de masse du poids moléculaire des molécules correspondant au pic chromatographique entre 12 et 13,5 minutes s'impose.

La même étude a été ensuite réalisée sur un vin riche en tanins, un vin de millésime 2004 (Figure 107). Cet échantillon a été injecté directement après filtration sur filtre Sartorius.



**Figure 107** : Chromatogramme d'un vin de millésime 2004 obtenu en CLHP en phase inverse à 280 nm

Comme nous pouvons le voir sur le chromatogramme précédent, le vin est un milieu beaucoup plus complexe que l'extrait de pépins : l'attribution des pics relatifs aux différentes procyanidines standards a donc été difficile.

Un fractionnement des composés phénoliques avant injection en CLHP s'avère donc indispensable. L'élution du vin sur gel polyamide ou sur Fractogel TSK HW-40 (s) par des solvants de différentes polarités devrait permettre de séparer les tanins des autres molécules.

*Deux monomères et quelques procyanidines ont pu être identifiés dans l'extrait de pépins préparé selon le protocole de BPHR, par chromatographie liquide en phase inverse, grâce à la co-injection avec les standards synthétisés. Comme nous l'avons vu dans la littérature, deux méthodes permettent d'identifier les tanins correspondant aux différents pics chromatographiques : l'isolation des pics par chromatographie liquide semi-préparative suivie d'une dégradation par thiolyse qui permet de différencier les unités supérieures et les unités d'extension et la co-injection avec des molécules standards parfaitement identifiées et caractérisées. La méthode de thiolyse permet alors d'en déduire le degré de polymérisation de la procyanidine considérée ou d'un degré de polymérisation moyen si plusieurs tanins sont coélués. Ceci peut alors engendrer des erreurs d'attribution. L'utilisation de standards s'avère donc essentielle, non seulement pour s'assurer de la nature des procyanidines correspondant aux différents pics chromatographiques mais également pour pouvoir réaliser*

*une étude quantitative sur des extraits de tanins de pépins, de pellicules ou sur des vins. L'identification des tanins dans le vin s'est avérée plus délicate mais un fractionnement des composés phénoliques du vin avant l'injection en chromatographie liquide devrait permettre d'identifier ces composés.*

*La synthèse d'autres dimères, trimères, tétramères et d'oligomères d'ordre supérieur permettrait d'élargir la gamme de standards. Une attribution non ambiguë des différents pics chromatographiques relatifs aux tanins de pépins, de pellicules et de vin pourrait par conséquent être proposée après avoir injecté tous les standards disponibles et après avoir effectué une étude par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse.*

# Conclusions et Perspectives



Une nouvelle méthode de synthèse itérative des procyanidines oligomères a été mise au point par couplage cationique entre une unité nucléophile protégée et une unité électrophile protégée activée. Elle permet de contrôler non seulement la régiochimie et la stéréochimie des liaisons interflavanes mais également le degré d'oligomérisation lors de la réaction de couplage. En effet, le blocage temporaire de la position 8 par un atome de brome, qui permet de travailler en quantités quasi stoechiométriques d'unités nucléophile et électrophile, permet d'empêcher les réactions parasites d'oligomérisation (attaque répétée de l'unité électrophile sur elle-même, attaque de l'unité électrophile sur les oligomères déjà formés). Par conséquent, cette nouvelle méthode est adaptée à la synthèse d'oligomères.

Cinq procyanidines ont pu être ainsi synthétisées selon cette stratégie : deux dimères, B3 et B4, deux trimères, C2 et Cat-Cat-Epi et le tétramère constitué de quatre unités catéchine. La structure des intermédiaires benzylés, des dimères B3 et B4 natifs ainsi que du trimère C2 natif ont pu être entièrement caractérisés par RMN. La modélisation moléculaire a, quant à elle, permis de confirmer la structure des trois procyanidines natives. Nous pouvons également noter que, à notre connaissance, le trimère C2 a été caractérisé pour la première fois à l'état natif. L'étude structurale du trimère Cat-Cat-Epi et du tétramère Cat-Cat-Cat-Cat est en cours.

Ces cinq tanins, ainsi que les deux monomères commerciaux, ont pu alors être utilisés comme standards pour effectuer une analyse par chromatographie liquide des tanins du raisin et du vin. Ainsi le phénomène de polymérisation des tanins qui a lieu au cours de la vinification, de l'élevage et du vieillissement a pu être mis en évidence, tout comme la disparition des anthocyanes libres qui est due à la condensation de ces molécules avec les tanins. L'étude menée en chromatographie liquide en phase inverse nous a permis d'identifier quelques unes des procyanidines synthétisées dans un extrait de pépins de raisin. L'analyse du vin s'est avérée plus délicate et a montré qu'un fractionnement des tanins est indispensable avant l'injection en chromatographie liquide.

La synthèse d'autres dimères, trimères, tétramères et oligomères d'ordre supérieur permettra d'élargir la gamme des standards disponibles. Il est important de noter que cette stratégie développée dans le cadre de la thèse est à priori transposable à la synthèse de procyanidines possédant des liaisons interflavanes de type 4-6, dont la synthèse reste à ce jour un défi pour le chimiste organicien. Il sera alors possible d'améliorer les conditions d'injection et de fractionnement en chromatographie liquide avant de pouvoir doser les différentes procyanidines dans les pépins, les pellicules et les vins. De plus, l'étude des

interactions entre les différents tanins synthétisés et une protéine de la salive riche en proline va être poursuivie pour mieux comprendre le rôle des tanins sur les propriétés organoleptiques des vins, et en particulier, sur la sensation d'astringence.

# Partie

# Expérimentale



## I. Matériels et méthodes

### I.1. Purification des solvants

Les solvants utilisés pour la synthèse sont préalablement distillés : le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle, la triéthylamine et le méthanol sont distillés sur  $\text{CaH}_2$  ; le DMF, sur  $\text{MgSO}_4$  et le THF, sur sodium en présence de benzophénone.

Le méthanol et l'acétonitrile utilisés pour les analyses en chromatographie liquide ont une pureté CLHP. L'eau est distillée avec l'appareil de distillation GFL 2008. Les solvants (méthanol et acétate d'ammonium 20 mM en exclusion stérique et eau/2% acide acétique, eau/acétonitrile 50/50 + 0,5% d'acide acétique en phase inverse) sont ensuite filtrés sur filtre Sartorius 0,45  $\mu\text{m}$ .

### I.2. Matières premières

La (+)-catéchine et la (-)-épicatéchine ont été commandées chez Fluka. Elles ont été séchées pendant une nuit sous vide à 50°C la veille de leurs utilisations.

Les procyanidines dimères B1 et B2 ont été achetées chez Extrasynthèse.

Le dimère B2-3-O-gallate, fourni par Victor De Freitas, a été extrait de pépins de raisin et purifié par CLHP semi-préparative.

Le catalyseur de Pearlman  $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$  20% a été commandé chez Aldrich et contient moins de 50% d'eau.

Une solution de n-butyllithium de concentration 2,5 M dans l'hexane a été commandée chez Aldrich puis dosée avant chaque réaction de débromation selon le protocole suivant.<sup>167</sup> Dans un bicol de 25 mL placé sous courant d'argon et sous agitation magnétique, 100-150 mg de N-benzylbenzamide sont dissous dans 5 mL de THF anhydre. La solution est placée à -40°C et la solution de n-butyllithium est ajoutée goutte à goutte à l'aide d'une seringue. La solution incolore vire au bleu à chaque ajout de n-butyllithium mais la couleur disparaît rapidement (< 1 s). Le dosage est terminé lorsque la couleur bleu persiste.

Les baies de raisin ont été récoltées sur les parcelles de la Société Baron Philippe de Rothschild (cépages : cabernet sauvignon, merlot et cabernet franc). Les pépins de raisin ont été récupérés lors des contrôles de maturité phénolique.<sup>168</sup>

Les composés phénoliques présents dans ces pépins de raisin ont été extraits selon le protocole suivant.

3 g de pépins sont pesés puis broyés deux minutes dans une solution synthétique S (solution à 12% d'éthanol, 5  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  d'acide tartrique, ajustée à pH 3,5). 100 mL de solution synthétique sont ajoutés au broyat de pépins : cette solution est agitée pendant deux heures à température ambiante avant d'être centrifugée à 3800 tr/min. Seul le surnageant est conservé.

Les pépins ont également été extraits selon le protocole proposé par Saucier et coll.<sup>149</sup> avec le mélange de solvants acétone/eau (7:3).

Les vins ont quant à eux été injectés directement après simple filtration sur filtre Sartorius 0,45  $\mu\text{m}$ .

<sup>167</sup> Burchat A.F., Chong J.M., Nielsen N., *J. Organomet. Chem.*, **1997**, 542, 281-283

<sup>168</sup> Venencie C., Uveira M.N., Guiet S., *Rev. Fr. Oenol.*, **1997**, 167, 36-41

### I.3. Chromatographie

Les réactions ont été suivies par chromatographie sur couche mince de silice (plaques de silice SDS CCM 321254). Les révélations ont été effectuées par lumière UV ou à l'aide d'acide phosphomolybdique.

Les purifications des produits ont été réalisées par chromatographie sur gel de silice Kieselgel Si 60 40-63  $\mu\text{m}$  (Merck) (chromatographie flash) ou sur gel de silice Geduran Si 60 63-200  $\mu\text{m}$  (Merck).

L'injection des procyanidines standards en chromatographie liquide haute performance a été réalisée sur une chaîne Waters Alliance 2690 pilotée par le logiciel Millennium et munie d'un injecteur automatique. Cette chaîne est reliée à un détecteur UV à barrette de diodes 996 PDA. Les tanins ont été observés à 280 nm.

En exclusion stérique, deux colonnes PL Aquagel-OH 30, 8  $\mu\text{m}$  (300 x 7,5 mm) fournies par Polymer Laboratories ont été placées en série. Une précolonne PL Aquagel-OH Guard 8  $\mu\text{m}$  (50 x 7,5 mm) a permis de retenir les composés trop volumineux présents dans la solution injectée qui pourraient endommager les colonnes. Les solvants (méthanol et acétate d'ammonium 20 mM) ont été filtrés sur filtre Sartorius 0,45  $\mu\text{m}$ . La présence d'acétate d'ammonium dans la phase mobile a permis de limiter l'adsorption des polyphénols sur la phase stationnaire des colonnes. 100  $\mu\text{L}$  de solution ont été injectés, le temps d'analyse a été fixé à 80 min. Les différents composés ont été élués isocraquement avec une solution méthanol/acétate d'ammonium 50:50 à un débit de 0,5 mL.min<sup>-1</sup>.

En phase inverse, nous avons tout d'abord adapté les conditions mises au point par De Freitas,<sup>7,19,153</sup> en utilisant deux colonnes Interchrom IN5 ODS2-25QS (Alltech), 5  $\mu\text{m}$  (250 x 4,6 mm) placées en série et munies de quatre connecteurs Interchrom Modulo-Cart Quick-seal. 20  $\mu\text{L}$  de procyanidines ont été élués en deux heures à un débit de 1 mL.min<sup>-1</sup> selon le gradient de solvants binaire suivant :

Temps	%A	%B
0	93	7
5	93	7
90	80	20
95	0	100
110	0	100
120	93	7

où A représente le mélange eau/2,5% acide acétique et B, 80% acétonitrile dans A

La détection UV a été réalisée à 280 nm.

En phase inverse, les conditions optimales ont ensuite été obtenues avec une colonne Interchrom IN5 ODS2-25QS (Alltech), 5  $\mu\text{m}$  (250 x 4,6 mm) équipée de deux connecteurs Interchrom Modulo-Cart Quick-seal. Les tanins ont été élués en 110 minutes à un débit de 1 mL.min<sup>-1</sup> selon le gradient d'éluion binaire suivant (A : eau/2% acide acétique, B : eau/acétonitrile 50/50 + 0,5% d'acide acétique).

Temps	%A	%B
0	90	10
5	85	15
40	85	15
80	45	55
90	0	100
110	90	10

20  $\mu$ L de solution ont été injectés et la détection a été effectuée à 280 nm.

## I.4. Analyses

### I.4.a. Point de fusion

Les points de fusion ont été mesurés dans des tubes capillaires sur un appareil Stuart Scientific SMP3.

### I.4.b. Spectroscopie infra rouge

Les spectres IR ont été enregistrés sur un spectromètre Perkin Elmer IR-TF Paragon 1000. Les échantillons ont été analysés sous forme de pastille de KBr.

### I.4.c. Pouvoir rotatoire

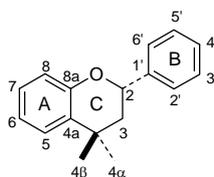
Les mesures des pouvoirs rotatoires ont été effectuées sur un polarimètre Perkin Elmer 241. Les concentrations sont en gramme pour 100 mL de solution.

### I.4.d. Résonance Magnétique Nucléaire

Les spectres de RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  des produits benzylés ont été enregistrés sur l'appareil Bruker DPX 300 MHz ou sur le Bruker Avance NB 400 MHz. Les dimères natifs, le trimère Cat-Cat-Epi et le tétramère Cat-Cat-Cat-Cat ont été analysés sur le spectromètre Bruker Avance NB 400 MHz. Pour le trimère natif C2, les spectres 1D ont été enregistrés à Zurich sur un appareil Bruker 800 MHz équipé d'une cryosonde TXI et les spectres 2D sur un spectromètre Bruker Avance II 700 MHz équipé d'une cryosonde TCI Z-Grad. Les solvants utilisés sont précisés pour chaque produit.

Les déplacements chimiques ( $\delta$ ) sont exprimés en partie par millions (ppm) par rapport à la référence interne, le tétraméthylsilane (TMS). Les constantes de couplage (J) sont exprimées en Hertz. Les multiplicités sont désignées par les abréviations suivantes : singulet (s), doublet (d), doublet de doublets (dd), multiplet (m).

La numérotation suivante a été utilisée pour attribuer les résonances des monomères :



Pour les dimères, l'unité supérieure correspond aux cycles (ACB) et l'unité inférieure, aux cycles (DFE).

Pour les trimères : unité supérieure (ACB), unité intermédiaire (DFE) et unité inférieure (GIH).

Enfin pour le tétramère : unité supérieure (ACB), unités intermédiaires (DFE) et (GIH) et unité inférieure (JLK).

## I.4.e. Spectrométrie de masse

Les spectres de masse basse et haute résolutions ont été enregistrés sur un spectromètre Micromass autospec-Q. Un potentiel d'ionisation de 70 eV a été utilisé en mode impact électronique IE. Les analyses ont été réalisées dans la matrice alcoolique, alcool 3-nitrobenzylique, en mode LSIMS.

## II. Caractérisation des produits synthétisés

II.1. Synthèse de la 3',4',5,7-tétra-O-benzylcatéchine **36**

## Mode opératoire

Dans un ballon de 250mL placé sous courant d'argon et sous agitation magnétique, 2 g (6,89 mmol) de catéchine sont dissous dans 35 mL de DMF. A cette solution, sont ajoutés 5,71 g (6 éq, 41,3 mmol) de carbonate de potassium puis 3,7 mL (4,5 éq, 31 mmol) de bromure de benzyle. La solution est agitée à 0°C pendant 2 heures puis à température ambiante pendant 48 heures.

Le milieu réactionnel est dilué dans 100 mL d'acétate d'éthyle. La solution est lavée avec de la saumure. Après séparation, la phase organique est séchée sur sulfate de magnésium et le solvant est évaporé. Un solide de couleur marron clair est obtenu.

La purification de la catéchine tétrabenzylée est réalisée par chromatographie sur colonne de silice (100% dichlorométhane). La catéchine tétrabenzylée apparaît alors sous forme d'une poudre blanche.

Rendement : 81%

Point de fusion : 124,5-126 °C *lit.*<sup>105</sup> 124-125 °C, *lit.*<sup>125</sup> 141-142 °C et *lit.*<sup>126</sup> 144-145 °C

Pouvoir rotatoire :  $[\alpha]_D^{22} = -2,3$  ( $c = 2$  ;  $CHCl_3$ ). *lit.*<sup>127</sup>  $[\alpha]_D^{20} = -3,7$  ( $c = 1$  ;  $CHCl_3$ ), *lit.*<sup>105</sup>  $[\alpha]_D^{30} = \sim 0$  ( $c = 3,3$  ;  $CHCl_3$ ), *lit.*<sup>169</sup>  $[\alpha]_D^{24} = +1,5$  ( $c = 1$  ;  $CH_2Cl_2$ )

IR ( $cm^{-1}$ ) : 3465 ; 3417 ; 1618 ; 1592 ; 1513 ; 1498 ; 1454 ; 1378 ; 1263 ; 1143 ; 1217 ; 1116 ; 1026 ; 735 ; 696

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz,  $CDCl_3$ , ppm) : 7,48-7,28 ( $H_{aromatiques}$  Bn, m, 20H) ; 7,05 (H2', s, 1H) ; 6,98 (H5' et H6', s, 2H) ; 6,29 et 6,23 (H6 et H8, AM, 2H,  $J_{68} = 2,25$  Hz) ; 5,20 ( $CH_2Bn$ , s, 2H) ; 5,19 ( $CH_2Bn$ , s, 2H) ; 5,05 ( $CH_2Bn$ , s, 2H) ; 5,01 ( $CH_2Bn$ , s, 2H) ; 4,65 (H2, d, 1H,  $J_{23} = 8,28$  Hz) ; 4,03 (H3, m, 1H) ; 3,13 et 2,67 (H4 $\alpha$  et H4 $\beta$ , ABX, 2H,  $J_{4\alpha 4\beta} = 16,39$  Hz,  $J_{4\alpha 3} = 5,64$  Hz et  $J_{4\beta 3} = 8,85$  Hz)

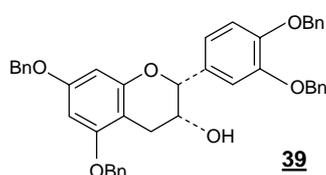
<sup>169</sup> Nay B., Monti J.P., Nuhlich A., Deffieux G., Mérillon J.M., Vercauteren J., *Tetrahedron Lett.*, **2000**, 41, 9049-9051

RMN  $^{13}\text{C}$  (100,6 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm) : 158,82 (C7) ; 157,79 (C5) ; 155,29 (C8a) ; 149,37 et 149,10 (C4' et C3') ; 137,15 (CqBn) ; 137,00 (CqBn) ; 136,93 (CqBn) ; 136,88 (CqBn) ; 130,92 (C1') ; 128,59 (2 CHBn) ; 128,52 (4 CHBn) ; 128,48 (2 CHBn) ; 127,99 (CHBn) ; 127,89 (CHBn) ; 127,85 (2 CHBn) ; 127,52 (2 CHBn) ; 127,49 (2 CHBn) ; 127,24 (2 CHBn) ; 127,12 (2 CHBn) ; 120,60 (C6') ; 115,04 (C5') ; 113,93 (C2') ; 102,30 (C4a) ; 94,41 (C8) ; 93,85 (C6) ; 81,58 (C2) ; 71,32 ( $\text{CH}_2\text{Bn}$ ) ; 71,25 ( $\text{CH}_2\text{Bn}$ ) ; 70,13 ( $\text{CH}_2\text{Bn}$ ) ; 69,92 ( $\text{CH}_2\text{Bn}$ ) ; 68,20 (C3) ; 27,62 (C4)

SM (LSIMS, m/z (intensité relative %)) : 651 (42 ; M), 530 (30), 441 (90), 409 (31), 332 (19), 319 (100), 229 (40), 219 (52)

SMHR : M+H = 651,2748 (calculé : 651,2747)

## II.2. Synthèse de la 3',4',5,7-tétra-O-benzylépicatéchine **39**



### Mode opératoire

Dans un ballon de 50mL placé sous courant d'argon et sous agitation magnétique, 1 g (3,5 mmol) d'épicatéchine est dissous dans 15 mL de DMF. A cette solution, sont ajoutés 2,857 g (6 éq, 20,7 mmol) de carbonate de potassium puis 1,8 mL (4,5 éq, 15,5 mmol) de bromure de benzyle. La solution est agitée à 0°C pendant 2 heures puis à température ambiante pendant 48 heures.

Après dilution du milieu réactionnel dans de l'acétate d'éthyle, la solution est lavée avec une solution saturée en NaCl. La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium et le solvant est évaporé.

L'épicatéchine tétrabenzylée est obtenue après purification par chromatographie sur colonne de silice (100% dichlorométhane) sous forme d'une poudre blanche.

Rendement : 82%

Point de fusion : 125,6-126,2 °C (éther) *lit.*<sup>127</sup> 120-121 °C et *lit.*<sup>114</sup> 129,5-130 °C (EtOAc/EtOH)

Pouvoir rotatoire :  $[\alpha]_D^{22} = -18,1$  ( $c = 1$  ;  $\text{CHCl}_3$ ) *lit.*<sup>127</sup>  $[\alpha]_D^{20} = -22$  ( $c = 1$  ;  $\text{CHCl}_3$ ), *lit.*<sup>126</sup>  $[\alpha]_D^{24} = -23,9$  ( $c = 1$  ;  $\text{CHCl}_3$ )

IR ( $\text{cm}^{-1}$ ) : 3440 ; 1618 ; 1592 ; 1512 ; 1498 ; 1454 ; 1378 ; 1263 ; 1142 ; 1217 ; 1113 ; 1026 ; 735 ; 696

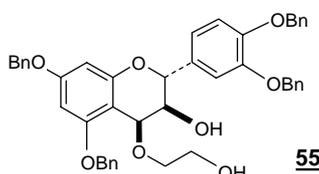
RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm) : 7,47-7,35 ( $\text{H}_{\text{aromatiques Bn}}$ , m, 20H) ; 7,18 (H2', d, 1H,  $J_{2'6'}$  = 1,21 Hz) ; 7,02 (H6', dd, 1H,  $J_{6'5'}$  = 8,37 Hz) ; 6,99 (H5', d, 1H) ; 6,30 (H6 et H8, s, 2H) ; 5,21 ( $\text{CH}_2\text{Bn}$ , s, 2H) ; 5,17 ( $\text{CH}_2\text{Bn}$ , s, 2H) ; 5,07 ( $\text{CH}_2\text{Bn}$ , s, 2H) ; 5,03 ( $\text{CH}_2\text{Bn}$ , s, 2H) ; 4,93 (H2, s, 1H) ; 4,23 (H3, m, 1H) ; 3,02 et 2,95 (H4 $\alpha$  et H4 $\beta$ , ABX, 2H,  $J_{4\alpha 4\beta}$  = 17,21 Hz,  $J_{4\alpha 3}$  = 1,49 Hz et  $J_{4\beta 3}$  = 4,32 Hz)

RMN  $^{13}\text{C}$  (100,6 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm) : 159,19 (C7) ; 158,74 (C5) ; 155,69 (C8a) ; 149,45 (C3') ; 149,27 (C4') ; 137,68 (CqBn) ; 137,58 (CqBn) ; 137,42 (CqBn) ; 137,35 (CqBn) ; 131,90 (C1') ; 129,02 (2 CHBn) ; 128,94 (2 CHBn) ; 128,92 (2 CHBn) ; 128,90 (2 CHBn) ; 128,40 (CHBn) ; 128,29 (CHBn) ; 128,27 (CHBn) ; 128,23 (CHBn) ; 127,96 (2 CHBn) ; 127,93 (2 CHBn) ; 127,69 (2 CHBn) ; 127,63 (2 CHBn) ; 119,92 (C6') ; 115,49 (C5') ; 113,95 (C2') ; 101,41 (C4a) ; 95,11 (C8) ; 94,49 (C6) ; 78,79 (C2) ; 71,80 (2  $\text{CH}_2\text{Bn}$ ) ; 70,56 ( $\text{CH}_2\text{Bn}$ ) ; 70,36 ( $\text{CH}_2\text{Bn}$ ) ; 66,76 (C3) ; 28,63 (C4)

SM (LSIMS, m/z (intensité relative %)) : 673 (31 ; M+Na), 651 (65 ; M), 409 (47), 332 (17), 319 (100), 229 (18)

SMHR : M+H = 651,2739 (calculé : 651,2747)

### II.3. Synthèse de la 3',4',5,7-tétra-O-benzyl-4 $\beta$ -(2-hydroxyéthoxy)catéchine **55**



#### Mode opératoire

Dans un ballon de 100mL placé sous courant d'argon et sous agitation magnétique, 2 g (3,07 mmol) de catéchine benzylée sont dissous dans 40 mL de dichlorométhane. Après addition de 1 mL (6 éq, 18,04 mmol) d'éthylène glycol distillé, 1,496 g (2 éq, 6,15 mmol) de DDQ sont introduits. Un précipité de couleur verte apparaît instantanément et la solution est agitée pendant 3 heures à température ambiante. 0,753 g (2 éq, 6,15 mmol) de DMAP sont alors ajoutés et l'agitation est poursuivie pendant 10 minutes.

La purification est réalisée par chromatographie sur colonne de silice en réalisant un dépôt solide. L'éluant utilisé est éther de pétrole/acétate d'éthyle 50/50.

La catéchine benzylée activée en position 4 par l'éthylène glycol apparaît sous forme d'une poudre rose-orangée.

Rendement : 69%

Point de fusion : 120-122 °C

Pouvoir rotatoire :  $[\alpha]_D^{22} = 27,2$  ( $c = 0,1$  ;  $\text{CHCl}_3$ ) *lit.*<sup>115</sup>  $[\alpha]_D^{24} = 28,3$  ( $c = 0,38$  ;  $\text{CHCl}_3$ ).

IR ( $\text{cm}^{-1}$ ) : 3583 ; 3063 ; 3031 ; 2908 ; 1635 ; 1604 ; 1513 ; 1499 ; 1454 ; 1423 ; 1380 ; 1320 ; 1263 ; 1216 ; 1179 ; 1128 ; 1027 ; 735 ; 696

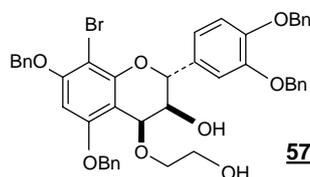
RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm) : 7,62-7,30 ( $\text{H}_{\text{aromatiques Bn}}$ , m, 20H) ; 7,21 (H2', d, 1H,  $J_{2'6'} = 1,53$  Hz) ; 7,09 (H6', dd, 1H,  $J_{6'5'} = 8,28$  Hz) ; 6,97 (H5', d, 1H) ; 6,37 (H6, d, 1H,  $J_{68} = 1,89$  Hz) ; 6,27 (H8, d, 1H) ; 5,27 ( $\text{CH}_2\text{Bn}$ , s, 2H) ; 5,19 ( $\text{CH}_2\text{Bn}$ , s, 2H) ; 5,12 (2 $\times\text{CH}_2\text{Bn}$ , m, 4H) ; 5,03 ( $\text{CH}_2\text{Bn}$ , s, 2H) ; 4,96 (H2, d, 1H,  $J_{23} = 12$  Hz) ; 4,86 (H4, d, 1H,  $J_{43} = 3,39$  Hz) ; 3,98-3,83 (H9 et H3, m, 3H) ; 3,76-3,58 (H10, m, 2H)

RMN  $^{13}\text{C}$  (100,6 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm) : 161,41 (C7) ; 159,11 (C5) ; 156,55 (C8a) ; 149,88 (C4') ; 149,59 (C3') ; 137,83 (4'-CqBn) ; 137,79 (3'-CqBn) ; 137,18 (7-CqBn) ; 137,00 (5-CqBn) ; 131,97 (C1') ; 130,06 (2 CHBn) ; 129,21 (2 CHBn) ; 129,18 (2 CHBn) ; 129,03 (2 CHBn) ; 128,99 (CHBn) ; 128,77 (CHBn) ; 128,63 (CHBn) ; 128,34 (CHBn) ; 128,22 (2 CHBn) ; 128,08 (4 CHBn) ; 127,84 (2 CHBn) ; 122,02 (C6') ; 115,31 (C2') ; 115,17 (C5') ; 104,62 (C4a) ; 94,93 (C8) ; 94,22 (C6) ; 77,36 (C2) ; 73,56 (C9) ; 71,89 ( $\text{CH}_2\text{Bn}$ ) ; 71,83 (C3) ; 71,71 ( $\text{CH}_2\text{Bn}$ ) ; 71,01 ( $\text{CH}_2\text{Bn}$ ) ; 70,62 (C4) ; 70,58 ( $\text{CH}_2\text{Bn}$ ) ; 62,72 (C10)

SM (LSIMS, m/z (intensité relative %)) : 710 (3 ; M), 374 (9), 181 (7), 91 (100), 65 (8)

SMHR : M = 710,2876 (calculé : 710,2879)

#### II.4. Synthèse de la 3',4',5,7-tétra-O-benzyl-4 $\beta$ -(2-hydroxyéthoxy)-8-bromocatéchine 57



##### Mode opératoire

Dans un tricol de 100mL placé sous courant d'argon et sous agitation magnétique, 2 g (2,81 mmol) de 3',4',5,7-tétra-O-benzyl-4 $\beta$ -(2-hydroxyéthoxy)catéchine sont dissous dans 20 mL de dichlorométhane. A  $-78^\circ\text{C}$ , 501 mg (2,81 mmol) de NBS préalablement recristallisé et dissous dans 15 mL de dichlorométhane sont additionnés à l'aide d'une ampoule à brome (addition en 5 minutes). Le milieu réactionnel est laissé revenir à température ambiante puis l'agitation est maintenue pendant 8 heures.

Le mélange réactionnel est alors dilué dans 100 mL d'acétate d'éthyle et lavé trois fois avec 100 mL de saumure. Après séparation, la phase organique est séchée sur sulfate de magnésium puis le solvant est évaporé.

La 3',4',5,7-tétra-O-benzyl-4 $\beta$ -(2-hydroxyéthoxy)-8-bromocatéchine est obtenue sous forme d'un solide beige.

Rendement : 98%

Point de fusion : 149-151  $^\circ\text{C}$  (déc.)

IR ( $\text{cm}^{-1}$ ) : 3385 ; 3063 ; 3031 ; 2924 ; 2868 ; 1604 ; 1578 ; 1516 ; 1498 ; 1454 ; 1421 ; 1380 ; 1346 ; 1265 ; 1216 ; 1185 ; 1126 ; 1069 ; 1028 ; 885 ; 855 ; 812 ; 782 ; 735 ; 696

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm) : 7,53-7,23 ( $\text{H}_{\text{aromatiques Bn}}$ , m, 20H) ; 7,17 (H2', d, 1H,  $J_{2'6'} = 1,86$  Hz) ; 7,05 (H6', dd, 1H,  $J_{6'5'} = 8,28$  Hz) ; 6,96 (H5', d, 1H) ; 6,28 (H6, s, 1H) ; 5,23-4,99 (4x $\text{CH}_2\text{Bn}$ , m, 8H) ; 5,09 (H2, d, 1H,  $J_{23} = 10,6$  Hz) ; 4,82 (H4, d, 1H,  $J_{43} = 3,39$  Hz) ; 3,86 (H9, m, 2H) ; 3,77 (H3, m, 1H) ; 3,66 (H10, m, 2H)

RMN  $^{13}\text{C}$  (100,6 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm) : 156,89 (C5) ; 156,60 (C7) ; 152,16 (C8a) ; 149,03 (C4') ; 148,69 (C3') ; 137,05 (CqBn) ; 136,95 (CqBn) ; 136,17 (CqBn) ; 135,82 (CqBn) ; 130,70 (C1') ; 128,50 (2 CHBn) ; 128,41 (2 CHBn) ; 128,25 (2 CHBn) ; 128,21 (2 CHBn) ;

128,14 (CHBn) ; 127,79 (CHBn) ; 127,54 (2 CHBn) ; 127,35 (2 CHBn) ; 127,29 (2 CHBn) ; 127,01 (2 CHBn) ; 126,73 (2 CHBn) ; 120,80 (C6') ; 114,43 (C5') ; 114,03 (C2') ; 105,21 (C4a) ; 92,47 (C8) ; 91,90 (C6) ; 76,72 (C2) ; 72,86 (C9) ; 71,38 (C3) ; 71,07 (CH<sub>2</sub>Bn) ; 70,99 (CH<sub>2</sub>Bn) ; 70,90 (CH<sub>2</sub>Bn) ; 70,53 (CH<sub>2</sub>Bn) ; 69,63 (C4) ; 62,02 (C10)

SM (LSIMS, m/z (intensité relative %)) : 813 (100 ; M+Na), 790 (16, [M+H]<sup>+</sup>), 729 (24), 721 (11), 571 (46), 549 (25), 457 (20), 329 (65), 307 (43), 289 (27)

SMHR : M+ Na = 811,1893 (calculé : 811,1883)

## II.5. Débromation de la 3',4',5,7-tétra-O-benzyl-8-bromo-catéchine dans des conditions radicalaires

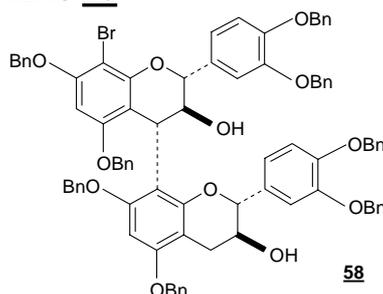
### Protocole général :

Dans un tricol de 50 mL muni d'un réfrigérant et d'une arrivée d'argon, et placé sous agitation magnétique, 500 mg (0,7 mmol) de catéchine tétrabenzylée bromée sont dissous dans 15 mL de solvant (benzène, toluène ou 1,3-bis(trifluorométhyl)benzène). Cette solution est chauffée au reflux du solvant (80 °C pour le benzène, 110 °C pour le toluène et 116 °C pour le m-Ph(CF<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) puis l'hydrure de tributylétain (1,2 ou 2 équivalents) est additionné. 0,3 équivalent d'initiateur (AIBN ou ACCN) sont ajoutés au reflux du solvant, à l'aide d'un pousse-seringue, à un débit de 0,02 équivalent par heure.

Les résultats suivants ont été obtenus.

Source de radicaux	Initiateur	Solvant	%catBn/ %catBnBr8
Bu <sub>3</sub> SnH (1,2 éq)	AIBN	Benzène	18 / 82
Bu <sub>3</sub> SnH (1,2 éq)	ACCN	Toluène	39 / 61
Bu <sub>3</sub> SnH (2 éq)	ACCN	Toluène	48 / 52
Bu <sub>3</sub> SnH (2 éq)	ACCN	m-Ph(CF <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	47 / 53

Les pourcentages ont été calculés à partir des spectres RMN des produits bruts par intégration des signaux relatifs au H6 de la catBnBr8 et aux H6 et H8 de la catBn

II.6. Synthèse du dimère B3BnBr8 **58**

## Mode opératoire

Dans un tricol de 100mL placé sous courant d'argon et sous agitation magnétique, 1 g (1,27 mmol) de 3',4',5,7-tétra-O-benzyl-4 $\beta$ -(2-hydroxyéthyl)oxy-8-bromocatechine et 0,824 g (1,27 mmol, 1 équ) de 3',4',5,7-tétra-O-benzylcatechine sont dissous dans 10 mL de THF et 10 mL de dichlorométhane. A 0°C, 2,54 mL (2,54 mmol, 2 équ) de TiCl<sub>4</sub> 1M dans le dichlorométhane sont ajoutés goutte à goutte. La solution est agitée 3 heures à température ambiante.

15 mL d'une solution saturée en NaHCO<sub>3</sub> puis 25 mL d'eau sont additionnés lentement au milieu réactionnel. La solution est filtrée sur Büchner puis une extraction est réalisée avec du dichlorométhane. La phase organique est lavée avec une solution saturée en NaCl puis séchée sur MgSO<sub>4</sub>. Le solvant est ensuite évaporé.

Une purification sur colonne de gel de silice a été réalisée en utilisant le mélange pentane/acétate d'éthyle 80/20 comme éluant.

Rendement : 67%

Point de fusion : 73-76 °C

IR (cm<sup>-1</sup>) : 3568 ; 3062 ; 3029 ; 2865 ; 1600 ; 1509 ; 1498 ; 1454 ; 1419 ; 1380 ; 1339 ; 1263 ; 1213 ; 1172 ; 1114 ; 1026 ; 909 ; 847 ; 808 ; 734 ; 695

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm, mélange de deux rotamères) :  $\delta$  = 7,56-7,24 (H<sub>aromatiques</sub>Bn, m) ; 7,19-6,76 (H2'B, H2'E, H5'B, H5'E, H6'B, H6'E, min et Maj) ; 6,32 (H6D, Maj, s) ; 6,26 (H6A, min, s) ; 6,24 (H6A, Maj, s) ; 6,15 (H6D, min, s) ; 5,34-4,49 (CH<sub>2</sub>Bn, min et Maj, m) ; 4,88 (H4C, min, d, J<sub>43Cmin</sub> = 8,28 Hz) ; 4,80 (H4C, Maj, d, J<sub>43CMaj</sub> = 9,03 Hz) ; 4,62 (H2C, min et Maj, d, J<sub>23C</sub> = 9,81 Hz) ; 4,44 (H2F, min, d, J<sub>23Fmin</sub> = 8,67 Hz) ; 4,32 (H3C, Maj, m) ; 4,19 (H3C, min, m) ; 3,73 (H3F, min et Maj, m) ; 3,72 (H2F, Maj, d, J<sub>23FMaj</sub> = 12,06Hz) ; 3,26 et 2,70 (H4F $\alpha$  et H4F $\beta$ , min, ABX, J<sub>4F $\alpha$ 4F $\beta$ min</sub> = 16,56 Hz avec J<sub>4F $\alpha$ 3Fmin</sub> = 5,84 Hz et J<sub>4F $\beta$ 3Fmin</sub> = 9,41 Hz) ; 3,11 et 2,46 (H4F $\alpha$  et H4F $\beta$ , Maj, ABX, J<sub>4F $\alpha$ 4F $\beta$ Maj</sub> = 16,20 Hz avec J<sub>4F $\alpha$ 3FMaj</sub> = 4,87 Hz et J<sub>4F $\beta$ 3FMaj</sub> = 8,47 Hz)

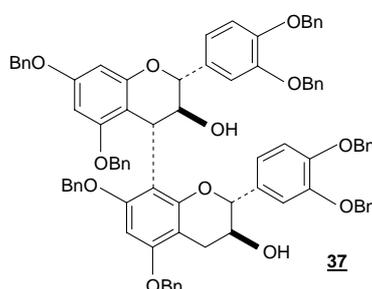
RMN <sup>13</sup>C (100,6 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm, mélange de deux rotamères) :  $\delta$  = 157,57 (C7A, min) ; 156,88 (C7A, Maj) ; 156,77 (C7D, min) ; 156,24 (C7D, Maj) ; 156,15 (C5D, min) ; 156,06 (C5D, Maj) ; 154,74 (C5A, Maj) ; 154,69 (C5A, min) ; 154,50 (C8aA, Maj) ; 154,24 (C8aA, min) ; 154,00 (C8aD, Maj) ; 153,43 (C8aD, min) ; 149,77-148,61 (C3'B, C3'E, C4'B, C4'E, min et Maj) ; 137,23-136,97 (CqBn, min et Maj) ; 132,31 (C1'E, Maj) ; 132,15 (C1'B, min) ; 132,07 (C1'B, Maj) ; 130,61 (C1'E, min) ; 130,19-127,46 (CHBn, min et Maj) ; 121,62 (C6'B, Maj) ; 121,09 (C6'B, min) ; 120,71 (C6'E, Maj) ; 120,30 (C6'E, min) ; 116,09 (C5'B, min) ; 115,39 et 115,18 (C5'B et C5'E, Maj) ; 115,07 (C5'E, min) ; 114,51 (C2'B et C2'E, min) ;

114,10 (C2'B et C2'E, Maj) ; 112,17 (C8D, min) ; 111,90 (C8D, Maj) ; 111,23 (C4aA, Maj) ; 111,13 (C4aA, min) ; 104,04 (C4aD, min) ; 103,04 (C4aD, Maj) ; 94,39 (C8A, min) ; 94,33 (C8A, Maj) ; 94,06 (C6A, Maj) ; 93,83 (C6A, min) ; 92,31 (C6D, min) ; 91,79 (C6D, Maj) ; 82,76 (C2C, Maj) ; 82,33 (C2C, min) ; 81,93 (C2F, min) ; 81,28 (C2F, Maj) ; 73,82 (C3C, min) ; 73,60 (C3C, Maj) ; 71,90-70,46 (CH<sub>2</sub>Bn, min et Maj) ; 69,27 (C3F, min) ; 68,97 (C3F, Maj) ; 38,04 (C4C, min) ; 37,94 (C4C, Maj) ; 29,07 (C4F, min) ; 28,58 (C4F, Maj)

SM (LSIMS, m/z (intensité relative %)) : 1401 (87 ; M + Na) ; 1378 (58, M) ; 1309 (16) ; 1045 (25) ; 937 (26) ; 727 (35) ; 647 (21) ; 395 (64) ; 307 (42) ; 211 (100)

SMHR : M+ Na = 1399,4160 (calculé : 1399,4183)

## II.7. Synthèse du dimère B3 octabenzylé B3Bn **37** à partir de B3BnBr8 **58**



### Mode opératoire

Dans un tricol de 25 mL placé sous courant d'argon et sous agitation magnétique, 600 mg (0,44 mmol) de dimère B3BnBr8 sont introduits puis dissous dans 5 mL de THF. La solution est placée à -78°C. 0,69 mL (3,3 éq, 1,44 mmol) de n-BuLi (2,1M dans l'hexane) sont ensuite ajoutés goutte à goutte. L'agitation est maintenue à -78°C pendant 30 minutes.

78 µL (10 éq, 4,4 mmol) d'eau sont alors additionnés à -78°C puis le milieu réactionnel est laissé revenir à température ambiante. L'agitation magnétique est poursuivie pendant 3 heures.

Le milieu réactionnel est dilué dans de l'eau et dans une solution saturée en NaCl puis il est extrait avec du dichlorométhane. La phase organique est séchée sur MgSO<sub>4</sub>. Après filtration et évaporation du solvant, le dimère B3Bn est obtenu sous forme d'un solide beige.

Rendement : 97%

Point de fusion : 68-70 °C

Pouvoir rotatoire :  $[\alpha]_D^{22} = -111$  ( $c = 1$ , CHCl<sub>3</sub>) *lit.*<sup>115</sup>  $[\alpha]_D^{26} = -106$  ( $c = 0,80$  ; CHCl<sub>3</sub>) *et lit.*<sup>105</sup>  $[\alpha]_D^{30} = -102,9$  ( $c = 1,9$  ; CHCl<sub>3</sub>)

IR (cm<sup>-1</sup>) : 3582 ; 3062 ; 3030 ; 2930 ; 1606 ; 1589 ; 1511 ; 1497 ; 1454 ; 1425 ; 1378 ; 1264 ; 1215 ; 1112 ; 1027 ; 736 ; 696

RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm, mélange de deux rotamères dans les proportions 70/30) :  $\delta = 7,52-7,26$  (H<sub>aromatiques</sub>Bn, m) ; 7,03-6,82 (H2'B, H2'E, H5'B, H5'E, H6'B, H6'E, Maj et H2'B, H5'B, H6'B, min) ; 6,73 (H5'E, min, d, J<sub>5'6'E</sub>min = 8,32 Hz) ; 6,62 (H2'E, min, d, J<sub>2'6'E</sub>min = 1,64 Hz) ; 6,47 (H6'E, min, dd) ; 6,26 (H6D, Maj, s) ; 6,22 et 6,02 (H6A et H8A,

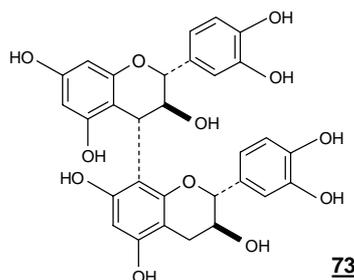
min, AM,  $J_{68Amin} = 2,10$  Hz) ; 6,19 et 6,12 (H6A et H8A, Maj, AM,  $J_{68AMaj} = 2,28$  Hz) ; 6,11 (H6D, min, s) ; 5,22-4,53 (CH<sub>2</sub>Bn, min et Maj, m) ; 4,79 (H4C, min, d,  $J_{43Cmin} = 8,72$  Hz) ; 4,68 (H4C, Maj, d,  $J_{43CMaj} = 8,88$  Hz) ; 4,51 (H2C, min et Maj, d,  $J_{23Cmin} = J_{23CMaj} = 9,68$  Hz) ; 4,47 (H2F, min, d,  $J_{23Fmin} = 8,40$  Hz) ; 4,31 (H3C, Maj, m) ; 4,19 (H3C, min, m) ; 3,68 (H3F, min et Maj, m) ; 3,60 (H2F, Maj, d,  $J_{23FMaj} = 8,52$  Hz) ; 3,19 et 2,66 (H4F $\alpha$  et H4F $\beta$ , min, ABX,  $J_{4F\alpha 4F\beta min} = 16,33$  Hz avec  $J_{4F\alpha 3Fmin} = 5,76$  Hz et  $J_{4F\beta 3Fmin} = 9,48$  Hz) ; 3,07 et 2,40 (H4F $\alpha$  et H4F $\beta$ , Maj, ABX,  $J_{4F\alpha 4F\beta Maj} = 16,24$  Hz avec  $J_{4F\alpha 3FMaj} = 5,68$  Hz et  $J_{4F\beta 3FMaj} = 9,28$  Hz)

RMN <sup>13</sup>C (100,6 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm, mélange de deux rotamères) :  $\delta = 158,39, 158,15$  (C7A, min et Maj, C5A, Maj) ; 157,97 (C5A, min) ; 157,39 (C8aA, Maj) ; 157,23 (C8aA, min) ; 155,97 (C5D ou C8aD, min et Maj) ; 155,93 (C7D, Maj) ; 155,90 (C7D, min) ; 154,30 (C8aD ou C5D, Maj) ; 153,27 (C8aD ou C5D, min) ; 149,64-148,99 (C3'B, C3'E, C4'B, C4'E, min et Maj) ; 138,10-137,07 (CqBn, min et Maj) ; 132,38 (C1'B, min) ; 132,22 (C1'B, Maj) ; 132,09 (C1'E, Maj) ; 131,01 (C1'E, min) ; 130,38-128,88 (CHBn, min et Maj) ; 121,68 et 120,51 (C6'B et C6'E, Maj) ; 121,20 et 121,09 (C6'B et C6'E, min) ; 115,47 et 114,89 (C5'B et C5'E, min) ; 115,28 et 115,21 (C5'B et C5'E, Maj) ; 114,45 et 114,20 (C2'B et C2'E, min) ; 114,06 et 113,98 (C2'B et C2'E, Maj) ; 112,45 (C8D, min) ; 112,37 (C8D, Maj) ; 109,05 (C4aA, Maj) ; 108,90 (C4aA, min) ; 103,68 (C4aD, min) ; 102,89 (C4aD, Maj) ; 95,28 (C8A, min) ; 95,25 (C8A, Maj) ; 94,54 (C6A, min et Maj) ; 92,19 (C6D, min) ; 91,87 (C6D, Maj) ; 82,50 (C2C, Maj) ; 82,20 (C2C, min) ; 81,67 (C2F, min) ; 81,04 (C2F, Maj) ; 73,83 (C3C, min) ; 73,68 (C3C, Maj) ; 71,72-70,28 (CH<sub>2</sub>Bn, min et Maj) ; 68,93 (C3F, min) ; 68,83 (C3F, Maj) ; 37,72 (C4C, min) ; 37,67 (C4C, Maj) ; 28,62 (C4F, min) ; 28,46 (C4F, Maj)

SM (LSIMS, m/z (intensité relative %)) : 1320 (26 ; M + Na) ; 1298 (47, M) ; 967 (19) ; 859 (14) ; 649 (37) ; 317 (100) ; 306 (21) ; 211 (32)

SMHR : M = 1299,5215 (calculé : 1299,5285)

## II.8. Synthèse du dimère B3 73 à partir du dimère B3Bn 37



### Mode opératoire

Dans un tricol de 100 mL préalablement lavé avec une solution saturée en NaHCO<sub>3</sub> puis placé sous courant d'azote et sous agitation magnétique, 100 mg (77  $\mu$ mol) de dimère octabenzylé B3Bn sont dissous dans 5 mL de THF, 5 mL de MeOH et 0,25 mL d'eau. 100 mg de catalyseur de Pearlman Pd(OH)<sub>2</sub>/C à 20% sont alors ajoutés. La solution est agitée pendant une heure à température ambiante sous H<sub>2</sub>.

Après filtration du milieu réactionnel sur célite et lavage avec de l'acétate d'éthyle, le solvant est évaporé. Le dimère B3 est obtenu sous forme d'un solide rosé.

Rendement : 100%

Point de fusion : 218-220 °C (dec.)

Pouvoir rotatoire :  $[\alpha]_D^{22} = -201$  ( $c = 0,8$  ; EtOH) *lit.*<sup>115</sup>  $[\alpha]_D^{24} = -221$  ( $c = 0,38$  ; EtOH)

IR ( $\text{cm}^{-1}$ ) : 3375 ; 1610 ; 1522 ; 1451 ; 1375 ; 1283 ; 1207 ; 1144 ; 1106 ; 1092 ; 1061 ; 870 ; 818 ; 780 ; 668 ; 621

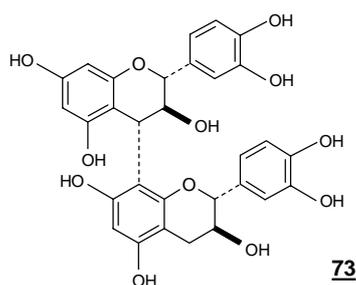
RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD, ppm, mélange de deux rotamères dans les proportions 67/33) :  $\delta = 6,97$  (H2'E et H2'B, min, d,  $J_{2'6'E \text{ min}} = J_{2'6'B \text{ min}} = 1,5$  Hz) ; 6,88-6,78 (H6'E et H6'B, min, dd) ; 6,78-6,73 (H5'E et H5'B, min et H2'B, Maj) ; 6,69 (H5'E, Maj, d,  $J_{5'6'E \text{ Maj}} = 8,28$  Hz) ; 6,68 (H5'B, Maj, d,  $J_{5'6'B \text{ Maj}} = 8,28$ ) ; 6,60 (H2'E, Maj, d,  $J_{2'6'E \text{ Maj}} = 1,86$ ) ; 6,49 (H6'B, Maj, dd,  $J_{6'5'B \text{ Maj}} = 8,28$  et  $J_{6'2'B \text{ Maj}} = 1,89$  Hz) ; 6,27 (H6'E, Maj, dd,  $J_{6'5'E \text{ Maj}} = 8,10$  Hz et  $J_{6'2'E \text{ Maj}} = 2,07$  Hz) ; 6,09 (H6D, Maj, s) ; 5,96 (H6D, min, s) ; 5,90 et 5,80 (H6A et H8A, Maj, AM,  $J_{68A \text{ Maj}} = 2,25$  Hz) ; 5,84 (H6A et H8A, min, AM,  $J_{68A \text{ min}} = 2,25$  Hz) ; 4,76 (H2F, min, d,  $J_{23F \text{ min}} = 7,17$  Hz) ; 4,61-4,49 (H2F, Maj et H3C et H4C, min) ; 4,47-4,32 (H2C, min et H3C et H4C, Maj) ; 4,27 (H2C, Maj, d,  $J_{23C \text{ Maj}} = 9,39$ ) ; 4,08 (H3F, min, m) ; 3,80 (H3F, Maj, m) ; 2,86 et 2,59 (H4 $\alpha$ F et H4 $\beta$ F, min, ABX,  $J_{4\alpha F4\beta F \text{ min}} = 16,21$  Hz avec  $J_{4\alpha F3F \text{ min}} = 3$  Hz et  $J_{4\beta F3F \text{ min}} = 7,92$  Hz) ; 2,78 et 2,50 (H4 $\alpha$ F et H4 $\beta$ F, Maj, ABX,  $J_{4\alpha F4\beta F \text{ Maj}} = 16,18$  Hz avec  $J_{4\alpha F3F \text{ Maj}} = 5,64$  Hz et  $J_{4\beta F3F \text{ Maj}} = 8,28$  Hz)

RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, H<sub>2</sub>O/10% D<sub>2</sub>O, ppm) :  $\delta = 6,87$  (H5'B, d, 1H,  $J_{5'6'B} = 8,2$  Hz) ; 6,83 (H5'E, d, 1H,  $J_{5'6'E} = 8,2$  Hz) ; 6,80 (H2'B, d, 1H,  $J_{2'6'B} < 1$  Hz) ; 6,61 (H2'E, d, 1H,  $J_{2'6'E} < 1$  Hz) ; 6,61 (H6'B, dd, 1H) ; 6,46 (H6'E, dd, 1H) ; 6,15 (H6D, s, 1H) ; 6,00 (H6A, s, 1H) ; 5,71 (H8A, s, 1H) ; 4,58 (H2F, d, 1H,  $J_{23F} = 7,9$  Hz) ; 4,39 (H2C, d, 1H,  $J_{23C} = 10,0$  Hz) ; 4,36 (H4C, d, 1H,  $J_{43C} = 10,5$  Hz) ; 4,29 (H3C, m, 1H) ; 3,92 (H3F, m, 1H) ; 2,85 et 2,49 (H4F $\alpha$  et H4F $\beta$ , ABX, 2H,  $J_{4F\alpha 4F\beta} = 15,8$  Hz,  $J_{4F\alpha 3F} = 5,3$  Hz et  $J_{4F\beta 3F} = 8,5$  Hz)

RMN <sup>13</sup>C (100.6 MHz, H<sub>2</sub>O/10% D<sub>2</sub>O) :  $\delta = 156,83$  (C8aA) ; 155,24 (C5A) ; 154,73 (C7A) ; 154,07 (C7D) ; 153,15 (C8aD) ; 153,02 (C5D) ; 144,73, 144,08, 144,03 et 143,91 (C4'B, C3'E, C4'E et C3'B) ; 130,84 (C1'E) ; 130,65 (C1'B) ; 120,54 (C6'B) ; 120,17 (C6'E) ; 116,40 (C5'B) ; 116,04 (C2'B) ; 115,84 (C5'E) ; 115,16 (C2'E) ; 109,25 (C8D) ; 107,27 (C4aA) ; 101,51 (C4aD) ; 96,89 (C6A) ; 95,65 (C6D) ; 95,61 (C8A) ; 82,04 (C2C) ; 80,57 (C2F) ; 72,85 (C3C) ; 67,28 (C3F) ; 37,07 (C4C) ; 27,52 (C4F)

SM (LSIMS, m/z (intensité relative %)) : 579 (15 ; M) ; 473 (13) ; 449 (22) ; 433 (14) ; 413 (21) ; 329 (30) ; 306 (23) ; 289 (27) ; 284 (100) ; 247 (27)

SMHR : M+Na = 601,1319 (calculé : 601,1322)

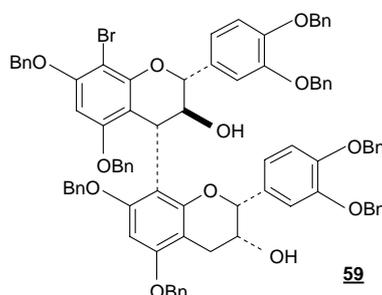
II.9. Synthèse du dimère B3 **73** à partir du dimère B3BnBr8 **58**

## Mode opératoire

Dans un tricol de 25 mL préalablement lavé avec une solution saturée en  $\text{NaHCO}_3$  puis placé sous courant d'azote et sous agitation magnétique, 40 mg (29  $\mu\text{mol}$ ) de dimère octabenzylé bromé B3BnBr8 sont dissous dans 2 mL d'acétate d'éthyle et 2 mL de méthanol. 40 mg de catalyseur de Pearlman  $\text{Pd}(\text{OH})_2$  sur charbon à 20% et 40  $\mu\text{L}$  (287  $\mu\text{mol}$ ) de triéthylamine sont alors ajoutés. La solution est agitée pendant 19 heures à température ambiante sous  $\text{H}_2$ .

Après filtration du milieu réactionnel sur célite, lavage avec de l'acétate d'éthyle puis évaporation du solvant, le dimère B3 et le bromhydrate de triéthylamine sont obtenus. Le dimère B3 natif est isolé après filtration très rapide sur silice (éluant : acétone/4% méthanol).

Rendement : 100%

II.10. Synthèse du dimère B4BnBr8 **59**

## Mode opératoire

Dans un tricol de 50mL placé sous courant d'argon et sous agitation magnétique, 400 mg (0,62 mmol) de 3',4',5,7-tétra-O-benzylépicatechine et 582 mg (0,74 mmol, 1,2 éq) de 3',4',5,7-tétra-O-benzyl-4 $\beta$ -(2-hydroxyéthoxy)-8-bromocatechine sont dissous dans 4 mL de THF et 4 mL de dichlorométhane. A 0°C, 1,23 mL (1,23 mmol, 2 éq) de  $\text{TiCl}_4$  1M dans le dichlorométhane sont ajoutés goutte à goutte. La solution est agitée 5 heures à température ambiante.

10 mL d'une solution saturée en  $\text{NaHCO}_3$  puis 10 mL d'eau sont additionnés lentement au milieu réactionnel. La solution est filtrée sur Büchner puis une extraction est réalisée avec du dichlorométhane. La phase organique est lavée avec une solution saturée en  $\text{NaCl}$  puis séchée sur  $\text{MgSO}_4$ . Le solvant est ensuite évaporé.

Une purification sur colonne de gel de silice a été réalisée en utilisant le mélange pentane/acétate d'éthyle 80/20 comme éluant.

Rendement : 53%

Point de fusion : 73-75 °C

IR (cm<sup>-1</sup>) : 3422 ; 3062 ; 3030 ; 2925 ; 2856 ; 1600 ; 1512 ; 1498 ; 1454 ; 1418 ; 1382 ; 1340 ; 1265 ; 1216 ; 1173 ; 1116 ; 1027 ; 910 ; 848 ; 786 ; 735 ; 696 ; 620

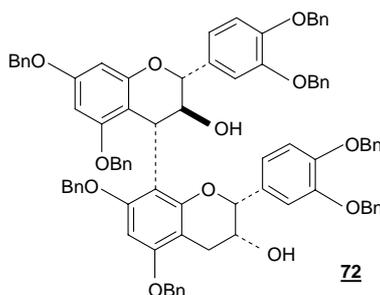
RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm) : δ = 7,49-6,80 (H<sub>aromatiques</sub>Bn, m, 40H) ; 7,22-6,67 (H2'B, H5'B, H6'B, H2'E, H5'E, H6'E, m, 6H) ; 6,22 (H6D, s, 1H) ; 6,18 (H6A, s, 1H) ; 5,24-4,38 (CH<sub>2</sub>Bn, m, 16H) ; 4,83 (H4C, d, 1H, J<sub>43C</sub> = 8,28 Hz) ; 4,58 (H2C, d, 1H, J<sub>23C</sub> = 9,6 Hz) ; 4,19 (H3C, m, 1H) ; 3,88 (H3F, m, 1H) ; 3,78 (H2F, s, 1H) ; 2,88 et 2,57 (H4F<sub>α</sub> et H4F<sub>β</sub>, ABX, 2H, J<sub>4F<sub>α</sub>4F<sub>β</sub></sub> = 17,1 Hz avec J<sub>4F<sub>α</sub>3F</sub> = 4,4 Hz et J<sub>4F<sub>β</sub>3F</sub> < 1 Hz)  
(seuls les déplacements chimiques du dimère majoritaire sont présentés)

RMN <sup>13</sup>C (100,6 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm) : δ = 156,58 (C5A) ; 156,48 (C5D) ; 155,63 (C7D) ; 154,38 (C7A) ; 153,87 (C8aD) ; 153,65 (C8aA) ; 149,24, 149,05, 148,77, 148,56 (C3'B, C3'E, C4'B, C4'E) ; 138,20-136,50 (CqBn) ; 132,29 (C1'E) ; 131,63 (C1'B) ; 129,10-127,00 (CHBn) ; 121,25 (C6'B) ; 118,95 (C6'E) ; 115,43, 114,78 (C5'B, C5'E) ; 113,58 (C2'B) ; 113,18 (C2'E) ; 111,49 (C8D) ; 110,97 (C4aA) ; 100,98 (C4aD) ; 94,04 (C8A) ; 93,89 (C6A) ; 91,36 (C6D) ; 82,43 (C2C) ; 77,49 (C2F) ; 73,14 (C3C) ; 71,90-69,80 (CH<sub>2</sub>Bn) ; 66,23 (C3F) ; 37,35 (C4C) ; 28,42 (C4F)  
(seuls les déplacements chimiques du dimère majoritaire sont présentés)

SM (LSIMS, m/z (intensité relative %)) : 1401 (100 ; M + Na) ; 1379 (38, M) ; 1309 (18) ; 1045 (13) ; 727 (7) ; 647 (21) ; 381 (30) ; 353 (14) ; 329 (24) ; 307 (16) ; 289 (15) ; 211 (7)

SMHR : M+ Na = 1399,4215 (calculé : 1399,4183)

## II.11. Synthèse du dimère B4Bn 72



### Mode opératoire

Dans un tricol de 25 mL placé sous courant d'argon et sous agitation magnétique, 200 mg (0,15 mmol) de dimère B4BnBr8 sont introduits puis dissous dans 3 mL de THF. La solution est placée à -78°C. 0,19 mL (3,3 éq, 0,48 mmol) de n-BuLi (2,5 M dans l'hexane) sont ensuite ajoutés goutte à goutte. L'agitation est maintenue à -78°C pendant 30 minutes.

26 µL (10 éq, 1,5 mmol) d'eau sont alors additionnés à -55°C puis le milieu réactionnel est laissé revenir à température ambiante. L'agitation magnétique est poursuivie pendant 3 heures et demie.

Le milieu réactionnel est dilué dans de l'eau et dans une solution saturée en NaCl puis il est extrait avec du dichlorométhane. La phase organique est séchée sur MgSO<sub>4</sub>. Après filtration et évaporation du solvant, le dimère B4Bn est obtenu sous forme d'un solide beige.

Rendement : 98%

Point de fusion : 61,6-62,8 °C

Pouvoir rotatoire :  $[\alpha]_D^{22} = -85$  (c = 1 ; CHCl<sub>3</sub>)

IR (cm<sup>-1</sup>) : 1606 ; 1589 ; 1511 ; 1497 ; 1453 ; 1378 ; 1265 ; 1108 ; 1026 ; 736 ; 696

RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm) :  $\delta = 7,52-7,10$  (H<sub>aromatiques</sub>Bn, m, 40H) ; 7,23-6,76 (H2'B, H5'B, H6'B, H2'E, H5'E, H6'E, m, 6H) ; 6,25 (H6D, s, 1H) ; 6,22 et 6,14 (H6A et H8A, AM, 2H, J<sub>68A</sub> = 2,3 Hz) ; 5,30-4,45 (CH<sub>2</sub>Bn, m, 16H) ; 4,82 (H4C, d, 1H, J<sub>43C</sub> = 9,0 Hz) ; 4,56 (H2C, d, 1H, J<sub>23C</sub> = 9,8 Hz) ; 4,31 (H3C, m, 1H) ; 3,91 (H3F, m, 1H) ; 3,79 (H2F, s, 1H) ; 2,91 et 2,62 (H4F $\alpha$  et H4F $\beta$ , ABX, 2H, J<sub>4F $\alpha$ 4F $\beta$</sub>  = 17,0 Hz avec J<sub>4F $\alpha$ 3F</sub> = 4,3 Hz et J<sub>4F $\beta$ 3F</sub> < 1 Hz) (seuls les déplacements chimiques du dimère majoritaire sont représentés)

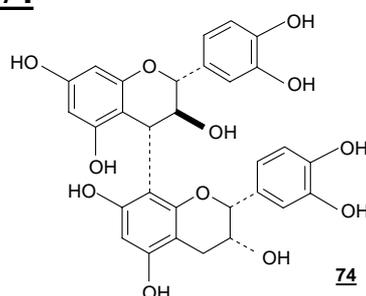
RMN <sup>13</sup>C (100,6 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm) :  $\delta = 158,44, 158,28, 157,31, 156,57, 155,92, 154,15$  (C5A, C5D, C7A, C7D, C8aD, C8aA) ; 149,65, 149,51, 149,43, 148,68 (C3'B, C3'E, C4'B, C4'E) ; 138,10-137,07 (CqBn) ; 132,65 (C1'E) ; 132,31 (C1'B) ; 129,00-127,00 (CHBn) ; 121,76 (C6'B) ; 119,22 (C6'E) ; 115,61, 115,29 (C5'B, C5'E) ; 114,07 (C2'B) ; 113,52 (C2'E) ; 112,49 (C8D) ; 109,31 (C4aA) ; 101,33 (C4aD) ; 95,33 (C8A) ; 94,59 (C6A) ; 91,96 (C6D) ; 82,59 (C2C) ; 78,83 (C2F) ; 73,60 (C3C) ; 72,30-69,90 (CH<sub>2</sub>Bn) ; 66,42 (C3F) ; 37,55 (C4C) ; 28,78 (C4F)

(seuls les déplacements chimiques du dimère majoritaire sont représentés)

SM (LSIMS, m/z (intensité relative %)) : 1320 (42 ; M+Na) ; 1298 (12 ; M) ; 967 (12) ; 859 (22) ; 649 (25) ; 317 (100) ; 306 (14) ; 211 (50)

SMHR : M+Na = 1321, 5197 (calculé : 1321,5191)

## II.12. Synthèse du dimère B4 74



### Mode opératoire

Dans un tricol de 25 mL placé sous courant d'azote et sous agitation magnétique, 31 mg (24  $\mu$ mol) de dimère octabenzylé B4Bn sont dissous dans 2 mL de THF, 2 mL de MeOH et 0,1 mL d'eau. 60 mg de catalyseur de Pearlman Pd(OH)<sub>2</sub>/C à 20% sont alors ajoutés. La solution est agitée pendant 18 heures à température ambiante sous H<sub>2</sub>.

Après filtration du milieu réactionnel sur célite et lavage avec de l'acétate d'éthyle, le solvant est évaporé. Le dimère B4 est obtenu sous forme d'un solide beige.

Rendement : 100%

Point de fusion : 177-180 °C (dec.)

Pouvoir rotatoire :  $[\alpha]_D^{22} = -168$  ( $c = 0,8$  ; EtOH)

IR ( $\text{cm}^{-1}$ ) : 3385 ; 1617 ; 1602 ; 1522 ; 1458 ; 1450 ; 1384 ; 1283 ; 1205 ; 1145 ; 1095 ; 1062 ; 819 ; 783

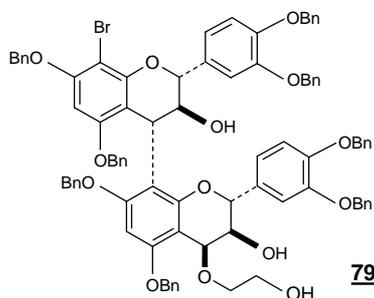
RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ /éthanol- $d_6$  88/12, ppm) :  $\delta = 6,68$  ( $\text{H5}'\text{E}$ , d, 1H,  $J_{5'6'\text{E}} = 8,2$  Hz) ; 6,63 ( $\text{H5}'\text{B}$ , d, 1H,  $J_{5'6'\text{B}} = 8,2$  Hz) ; 6,57 ( $\text{H2}'\text{B}$ , d, 1H,  $J_{2'6'\text{B}} = 1,6$  Hz) ; 6,55 ( $\text{H2}'\text{E}$ , d, 1H,  $J_{2'6'\text{E}} = 1,8$  Hz) ; 6,34 ( $\text{H6}'\text{B}$ , dd, 1H) ; 6,29 ( $\text{H6}'\text{E}$ , dd, 1H) ; 6,02 ( $\text{H6D}$ , s, 1H) ; 5,89 et 5,82 ( $\text{H6A}$  et  $\text{H8A}$ , AM, 2H,  $J_{68\text{A}} = 2,0$  Hz) ; 4,70 ( $\text{H2F}$ , d, 1H,  $J_{23\text{F}} \sim 0$  Hz) ; 4,31 ( $\text{H2C}$ , d, 1H,  $J_{23\text{C}} = 9,7$  Hz) ; 4,28 ( $\text{H4C}$ , d, 1H,  $J_{43\text{C}} = 8,5$  Hz) ; 4,13 ( $\text{H3C}$ , dd, 1H) ; 4,00 ( $\text{H3F}$ , m, 1H) ; 2,78 et 2,55 ( $\text{H4}\alpha\text{F}$  et  $\text{H4}\beta\text{F}$ , ABX, 2H,  $J_{4\alpha\text{F}4\beta\text{F}} = 17,2$  Hz avec  $J_{4\alpha\text{F}3\text{F}} = 4,7$  Hz et  $J_{4\beta\text{F}3\text{F}} < 1$  Hz) (seuls les déplacements chimiques du dimère majoritaire sont représentés)

RMN  $^{13}\text{C}$  (100,6 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ /éthanol- $d_6$  88/12, ppm) :  $\delta = 156,89$  ( $\text{C5A}$ ) ; 155,49 ( $\text{C7A}$ ) ; 155,01 ( $\text{C5D}$ ) ; 154,25 ( $\text{C7D}$ ) ; 153,83 ( $\text{C8aA}$ ) ; 153,52 ( $\text{C8aD}$ ) ; 144,65 ( $\text{C4}'\text{B}$ ) ; 144,12 ( $\text{C3}'\text{B}$ ) ; 143,81 et 143,77 ( $\text{C3}'\text{E}$  et  $\text{C4}'\text{E}$ ) ; 131,24 ( $\text{C1}'\text{E}$ ) ; 130,94 ( $\text{C1}'\text{B}$ ) ; 120,43 ( $\text{C6}'\text{B}$ ) ; 119,81 ( $\text{C6}'\text{E}$ ) ; 116,40 ( $\text{C5}'\text{B}$ ) ; 116,25 ( $\text{C2}'\text{B}$ ) ; 115,64 ( $\text{C5}'\text{E}$ ) ; 114,78 ( $\text{C2}'\text{E}$ ) ; 109,14 ( $\text{C4aA}$ ) ; 107,53 ( $\text{C8D}$ ) ; 100,83 ( $\text{C4aD}$ ) ; 97,19 ( $\text{C6A}$ ) ; 96,31 ( $\text{C8A}$ ) ; 96,00 ( $\text{C6D}$ ) ; 82,26 ( $\text{C2C}$ ) ; 78,32 ( $\text{C2F}$ ) ; 72,69 ( $\text{C3C}$ ) ; 66,22 ( $\text{C3F}$ ) ; 37,30 ( $\text{C4C}$ ) ; 27,99 ( $\text{C4F}$ ) (seuls les déplacements chimiques du dimère majoritaire sont représentés)

SM (LSIMS, m/z (intensité relative %)) : 601 (4 ; M+Na) ; 413 (15) ; 376 (7) ; 357 (10) ; 329 (58) ; 306 (19) ; 301 (16) ; 289 (13) ; 241 (53) ; 219 (100) ; 212 (33)

SMHR : M+Na = 601,1319 (calculé : 601,1322)

### II.13. Synthèse du dimère activé B3BnBr8Act **79**



#### Mode opératoire

Dans un tricol de 25mL placé sous courant d'argon et sous agitation magnétique, 600 mg (0,44 mmol) de dimère B3BnBr8 sont dissous dans 8 mL de dichlorométhane avant addition de 146  $\mu\text{L}$  (6 éq, 2,61 mmol) d'éthylène glycol distillé et 0,198 g (2 éq, 0,87 mmol) de DDQ. Un précipité de couleur verte apparaît instantanément et la solution est agitée

pendant 6 heures à température ambiante. 106 mg (2 éq, 0,87 mmol) de DMAP sont alors ajoutés et l'agitation est poursuivie pendant 20 minutes.

La purification est réalisée par chromatographie sur colonne de silice en réalisant un dépôt solide. L'éluant utilisé est pentane/acétate d'éthyle 50/50.

Le dimère activé B3BnBr8Act est isolé sous forme d'une poudre rose-orangée.

Rendement : 53%

Point de fusion : 69,5-71,5 °C

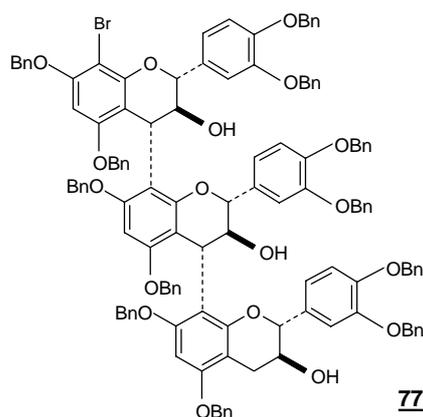
IR (cm<sup>-1</sup>) : 3422 ; 3062 ; 3030 ; 2925 ; 1600 ; 1512 ; 1498 ; 1454 ; 1420 ; 1383 ; 1339 ; 1265 ; 1213 ; 1172 ; 1117 ; 1026 ; 910 ; 849 ; 807 ; 735 ; 696 ; 620

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm, mélange de deux rotamères) : δ = 7,52-6,83 (H<sub>aromatiques</sub>Bn, m) ; 7,08-6,71 (H2'B, H2'E, H5'B, H5'E, H6'B, H6'E, min et Maj) ; 6,23 (H6D, min, s) ; 6,20 (H6A, min, s) ; 6,07 (H6A, Maj, s) ; 6,06 (H6D, Maj, s) ; 5,26-4,35 (CH<sub>2</sub>Bn, min et Maj, m) ; 4,95 (H2F, min, d, J<sub>23Fmin</sub> = 9,4 Hz) ; 4,94 (H2F, Maj, d, J<sub>23FMaj</sub> = 7,9 Hz) ; 4,86 (H4F, min, d, J<sub>43Fmin</sub> = 3,4 Hz) ; 4,84 (H4F, Maj, d, J<sub>43FMaj</sub> = 4,1 Hz) ; 4,84 (H4C, min, d, J<sub>43Cmin</sub> = 9,4 Hz) ; 4,83 (H4C, Maj, d, J<sub>43CMaj</sub> = 9,4 Hz) ; 4,57 (H2C, Maj, d, J<sub>23CMaj</sub> = 10,6 Hz) ; 4,54 (H2C, min, d, J<sub>23Cmin</sub> = 10,2 Hz) ; 4,25 (H3C, min, m) ; 4,13 (H3C, Maj, m) ; 3,87 (H9, min, m) ; 3,78 (H9, Maj, m) ; 3,71-3,51 (H10 et H3F, min et Maj, m)

RMN <sup>13</sup>C (100,6 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm, mélange de deux rotamères) : δ = 159,01 (C5D, Maj) ; 157,58 (C5D, min) ; 156,65 (C7D, min) ; 156,50 (C7D, Maj) ; 156,03 (C5A, Maj) ; 156,00 (C5A, min) ; 154,19 (C7A, Maj) ; 154,11 (C7A, min) ; 154,02 (C8aD, min) ; 153,60 (C8aD, Maj) ; 153,56 (C8aA, min) ; 152,79 (C8aA, Maj) ; 149,32, 149,05, 149,01, 148,98, 148,95, 148,69, 147,93 (C3'B, C3'E, C4'B, C4'E, min et Maj) ; 137,54-136,41 (CqBn, min et Maj) ; 132,03 (C1'E, min) ; 131,51 (C1'B, Maj) ; 131,33 (C1'B, min) ; 129,74 (C1'E, Maj) ; 129,20-126,80 (CHBn, min et Maj) ; 121,02 (C6'B, min) ; 120,88 (C6'B, Maj) ; 120,51 (C6'E, Maj) ; 119,84 (C6'E, min) ; 115,39, 115,18, 114,83, 114,70, 114,53, 114,03, 113,59, 113,44 (C2'B, C2'E, C5'B, C5'E, min et Maj) ; 111,58 (C8D, min) ; 111,19 (C8D, Maj) ; 110,82 (C4aA, min) ; 110,33 (C4aA, Maj) ; 104,74 (C4aD, Maj) ; 103,84 (C4aD, min) ; 94,18 (C6A, min et C8A, Maj) ; 93,49 (C8A, min) ; 93,09 (C6A, Maj) ; 91,14 (C6D, Maj) ; 90,91 (C6D, min) ; 82,25 (C2C, min) ; 81,67 (C2C, Maj) ; 76,50 (C2F, min) ; 76,16 (C2F, Maj) ; 73,73 (C9, Maj) ; 73,26 (C3C, min) ; 72,66 (C3C, Maj) ; 72,53 (C9, min) ; 71,94 (C3F, Maj) ; 71,80 (C3F, min) ; 71,60-70,10 (CH<sub>2</sub>Bn, min et Maj) ; 70,60 (C4F, min) ; 69,74 (C4F, Maj) ; 62,43 (C10, Maj) ; 62,22 (C10, min) ; 37,32 (C4C, Maj) ; 37,22 (C4C, min)

SM (LSIMS, m/z (intensité relative %)) : 1461 (93 ; M + Na) ; 1369 (18) ; 1105 (11) ; 727 (14) ; 557 (13) ; 467 (13) ; 211 (100)

SMHR : M+Na = 1459,4423 (calculé : 1459,4394)

II.14. Synthèse du trimère C2BnBr8 **77**

## Modes opératoires

Voie A

Dans un ballon de 25 mL placé sous courant d'argon et sous agitation magnétique, 387 mg (0,27 mmol) de dimère activé B3BnBr8Act et 0,175 g (0,27 mmol, 1 équ) de 5,7,3',4'-tétra-O-benzylcatéchine sont dissous dans 5 mL de THF et 5 mL de dichlorométhane. 0,54 mL (0,54 mmol, 2 équ) de TiCl<sub>4</sub> 1M dans le dichlorométhane sont additionnés goutte à goutte à 0°C et la solution est agitée 4 heures à température ambiante.

Voie B

Dans un ballon de 25 mL placé sous courant d'argon et sous agitation magnétique, 202 mg (0,155 mmol) de dimère B3Bn et 0,147 g (0,187 mmol, 1,2 équ) de 5,7,3',4'-tétra-O-benzyl-4β-(2-hydroxyéthoxy)-8-bromocatéchine sont dissous dans 3 mL de THF et 3 mL de dichlorométhane. 0,31 mL (0,31 mmol, 2 équ) de TiCl<sub>4</sub> 1M dans le dichlorométhane sont additionnés goutte à goutte à 0°C et la solution est agitée 4 heures à température ambiante.

## Traitement du milieu réactionnel

5 mL d'une solution saturée en NaHCO<sub>3</sub> puis 10 mL d'eau sont ajoutés au milieu réactionnel. La solution est filtrée sur fritté puis une extraction est réalisée avec du dichlorométhane. La phase organique est lavée avec une solution saturée en NaCl puis séchée sur MgSO<sub>4</sub>. Le solvant est ensuite évaporé.

Une purification sur colonne de gel de silice a été réalisée en utilisant le mélange pentane/acétate d'éthyle 80/20 comme éluant.

## Rendements :

Voie A : 56%

Voie B : 73%

Point de fusion : 76-79 °C

IR (cm<sup>-1</sup>) : 3447 ; 3029 ; 2865 ; 1600 ; 1509 ; 1454 ; 1420 ; 1382 ; 1339 ; 1263 ; 1214 ; 1174 ; 1114 ; 1026 ; 909 ; 849 ; 808 ; 734 ; 696

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm) : δ = 7,51-6,98 (H<sub>aromatiques</sub>Bn, m, 60H) ; 6,98-6,62 (H2'B, H5'B, H6'B, H2'E, H5'E, H6'E, H2'H, H5'H, H6'H) ; 6,19 (H6D, s, 1H) ; 6,17 (H6A, s, 1H) ; 6,10 (H6G, s, 1H) ; 5,28-4,32 (CH<sub>2</sub>Bn, m, 24H) ; 4,58 (H4C, d, 1H, J<sub>43C</sub> = 9,4 Hz) ; 4,47 (H2C, d, 1H, J<sub>23C</sub> = 9,8 Hz) ; 4,27 (H4F, d, 1H, J<sub>43F</sub> = 9,0 Hz) ; 3,98-3,84 (H3F et H3C, m,

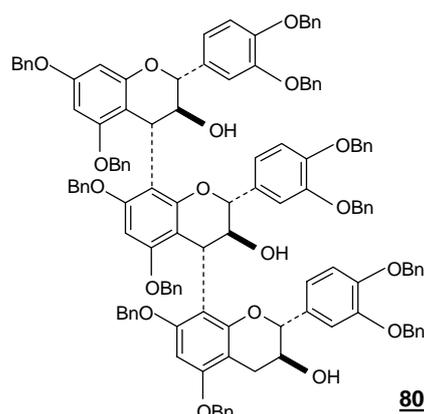
2H) ; 3,76 (H3I, m, 1H) ; 3,62 (H2I, d, 1H,  $J_{23I} = 9,0$  Hz) ; 3,11 et 2,36 (H4I $\alpha$  et H4I $\beta$ , ABX, 2H,  $J_{4I\alpha 4I\beta} = 16,2$  Hz,  $J_{4I\alpha 3I} = 5,8$  Hz et  $J_{4I\beta 3I} = 9,8$  Hz), 2,99 (H2F, d, 1H,  $J_{23F} = 9,8$  Hz)

RMN  $^{13}C$  (100,6 MHz,  $CDCl_3$ , ppm) :  $\delta = 156,75$  (C5A) ; 155,93 (C5D) ; 155,81 (C8aD) ; 155,61, 155,59 (C7G, C5G) ; 155,24 (C7D) ; 154,44 (C7A) ; 154,20 (C8aG) ; 153,63 (C8aA) ; 149,70-148,90 (C3'B, C3'E, C3'H, C4'B, C4'E, C4'H) ; 138,00-136,00 (CqBn) ; 132,79 (C1'E) ; 132,50 (C1'B) ; 132,15 (C1'H) ; 129,30-126,90 (CHBn) ; 121,34 (C6'B) ; 121,21 (C6'H) ; 121,05 (C6'E) ; 115,44, 115,11, 114,90, 114,52, 114,38, 113,90 (C2'B, C2'E, C2'H, C5'B, C5'E, C5'H) ; 112,76 (C8G) ; 112,21 (C8D) ; 111,23 (C4aA) ; 109,65 (C4aD) ; 102,94 (C4aG) ; 101,48 (C8A) ; 93,44 (C6A) ; 92,43 (C6G) ; 91,88 (C6D) ; 82,19 (C2C) ; 81,45 (C2I) ; 80,75 (C2F) ; 73,52 (C3F) ; 73,17 (C3C) ; 71,90-70,10 ( $CH_2Bn$ ) ; 68,86 (C3I) ; 37,89 (C4C, C4F) ; 30,11 (C4I)

SM (LSIMS) m/z (%) = 2050 (42 ; M+Na) ; 1587 (10) ; 739 (15) ; 407 (13) ; 317 (33) ; 301 (20) ; 211 (100)

SMHR : M+Na = 2047,6702 (calculé 2047,6695)

## II.15. Synthèse du trimère C2Bn **80**



### Mode opératoire

Dans un tricol de 25 mL placé sous courant d'argon et sous agitation magnétique, 120 mg (59  $\mu$ mol) de trimère C2BnBr8 sont introduits puis dissous dans 4 mL de THF. La solution est placée à  $-78^\circ C$ . 0,12 mL (4,4 éq, 0,26 mmol) de n-BuLi (2,1M dans l'hexane) sont ensuite ajoutés goutte à goutte. L'agitation est maintenue à  $-78^\circ C$  pendant 30 minutes.

11  $\mu$ L (10 éq, 0,59 mmol) d'eau sont alors additionnés à  $-78^\circ C$  puis le milieu réactionnel est laissé revenir à température ambiante. L'agitation magnétique est poursuivie pendant 2 heures.

Le milieu réactionnel est dilué dans de l'eau et dans une solution saturée en NaCl puis extrait avec du dichlorométhane. La phase organique est séchée sur  $MgSO_4$ . Après filtration et évaporation du solvant, le trimère C2Bn est obtenu sous forme d'un solide beige.

Rendement : 97%

Point de fusion :  $70-72^\circ C$

IR (cm<sup>-1</sup>) : 3448 ; 3030 ; 2925 ; 1596 ; 1508 ; 1498 ; 1453 ; 1424 ; 1383 ; 1264 ; 1215 ; 1107 ; 1026 ; 809 ; 734 ; 696 ; 619

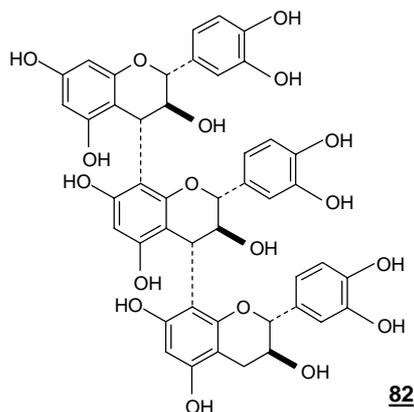
RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm) : δ = 7,40-6,61 (H<sub>aromatiques</sub>Bn, m, 60H) ; 7,06-6,91 (H2'B, H5'B, H6'B, H2'E, H5'E, H6'E, H2'H, H5'H, H6'H, 9H) ; 6,20 (H6D, s, 1H) ; 6,19 (H6A, s, 1H) ; 6,11 (H8A, d, 1H, J<sub>86A</sub> = 2,6 Hz) ; 6,09 (H6G, s, 1H) ; 5,09-4,28 (CH<sub>2</sub>Bn, m, 24H) ; 4,58 (H4C, d, 1H, J<sub>43C</sub> = 9,5 Hz) ; 4,49 (H2C, d, 1H, J<sub>23C</sub> = 10,3 Hz) ; 4,31 (H4F, d, 1H, J<sub>43F</sub> = 8,8 Hz) ; 4,23 (H3F et H3C, m, 2H) ; 3,88 (H3I, m, 1H) ; 3,78 (H2I, d, 1H, J<sub>23I</sub> = 8,9 Hz) ; 2,99 et 2,25 (H4Iα et H4Iβ, ABX, 2H, J<sub>4Iα4Iβ</sub> = 16,1 Hz, J<sub>4Iα3I</sub> = 5,8 Hz et J<sub>4Iβ3I</sub> = 9,8 Hz) ; 2,85 (H2F, d, 1H, J<sub>23F</sub> = 9,6 Hz)

RMN <sup>13</sup>C (100,6 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm) : δ = 158,39 (C5A) ; 158,22 (C7A) ; 157,05 (C8aA) ; 155,90 (C5G) ; 155,83 (C7D) ; 155,56 (C7G) ; 155,49 (C5D) ; 155,38 (C8aD) ; 154,19 (C8aG) ; 149,64, 149,57, 149,47, 149,19, 148,99 (C3'B, C3'E, C3'H, C4'B, C4'E, C4'H) ; 138,05-136,40 (CqBn) ; 132,84 (C1'B) ; 132,78 (C1'E) ; 132,11 (C1'H) ; 128,92-127,30 (CHBn) ; 121,51 (C6'B) ; 121,10 (C6'H) ; 120,98 (C6'E) ; 115,46, 115,27, 114,96, 114,55, 114,14 (C2'B, C2'E, C2'H, C5'B, C5'E, C5'H) ; 112,82 (C8D, C8G) ; 109,80 (C4aD) ; 109,19 (C4aA) ; 102,85 (C4aG) ; 95,12 (C8A) ; 94,22 (C6A) ; 92,45 (C6G) ; 92,20 (C6D) ; 82,20 (C2C) ; 81,42 (C2I) ; 80,82 (C2F) ; 73,50 (C3C) ; 73,36 (C3F) ; 71,75-70,24 (CH<sub>2</sub>Bn) ; 68,83 (C3I) ; 38,00 (C4F) ; 37,89 (C4C) ; 28,87 (C4I)

SM (LSIMS) m/z (%) = 1972 (5 ; M+Na) ; 1948 (9) [M] ; 650 (22) ; 359 (8) ; 329 (13) ; 317 (21) ; 307 (15) ; 289 (11) ; 219 (18) ; 211 (25) ; 181 (100) ; 176 (41)

SMHR : M+H = 1946,7621 (calculé 1946,7692)

## II.16. Synthèse du trimère C2 **82**



### Mode opératoire

Dans un tricol de 25 mL placé sous courant d'azote et sous agitation magnétique, une solution de 101 mg (52 μmol) de 5,7,3',4'-tétra-O-benzylcatéchine-4α,8-(5,7,3',4'-tétra-O-benzylcatéchine)-4α,8-(5,7,3',4'-tétra-O-benzylcatéchine) dans 2 mL d'acétate d'éthyle et 2 mL de méthanol est hydrogénée en présence de 187 mg de catalyseur de Pearlman Pd(OH)<sub>2</sub>/C après addition de quelques gouttes de triéthylamine. La réaction est poursuivie à température ambiante pendant 18 heures.

Après filtration sur Célite et lavages avec de l'acétate d'éthyle, les solvants sont évaporés. Le trimère C2 est obtenu quantitativement sous forme d'un solide beige.

Rendement : 100%

Point de fusion : 174-176 °C (dec.)

IR (cm<sup>-1</sup>) : 3385 ; 1610 ; 1522 ; 1458 ; 1446 ; 1384 ; 1284 ; 1208 ; 1147 ; 1074 ; 818

RMN <sup>1</sup>H (799,9 MHz, H<sub>2</sub>O/10% D<sub>2</sub>O, ppm) : δ = 6,84 (H5'E, d, 1H, J<sub>5'6'E</sub> = 7,8 Hz) ; 6,70 (H5'B, d, 1H) ; 6,70 (H2'E, d, 1H, J<sub>2'6'E</sub> < 1 Hz) ; 6,69 (H6'E, dd, 1H) ; 6,54 (H2'B, d, 1H, J<sub>2'6'B</sub> < 1 Hz) ; 6,52 (H5'H, d, 1H, J<sub>5'6'H</sub> = 8,3 Hz) ; 6,33 (H2'H, d, 1H, J<sub>2'6'H</sub> < 1 Hz) ; 6,14 (H6'B, dd, 1H, J<sub>6'5'B</sub> = 8,0 Hz et J<sub>2'6'B</sub> < 1 Hz) ; 6,04 (H6D, s, 1H) ; 5,96 (H6G, s, 1H) ; 5,77 (H6'H, dd, 1H) ; 5,69 et 5,57 (H6A et H8A, d, 2H, J<sub>68A</sub> = 1,8 Hz) ; 4,85 (H2I, d, 1H, J<sub>23I</sub> < 1 Hz) ; 4,34 (H2F, d, 1H, J<sub>23F</sub> = 8,9 Hz) ; 4,33 (H4F, d, 1H, J<sub>43F</sub> = 7,1 Hz) ; 4,31 (H3I, m, 1H) ; 4,20 (H3F, m, 1H) ; 4,14 (H2C, d, 1H, J<sub>23C</sub> = 8,9 Hz) ; 4,05 (H4C, d, 1H, J<sub>43C</sub> = 7,4 Hz) ; 4,00 (H3C, m, 1H) ; 2,37 et 2,02 (H4Iα et H4Iβ, ABX, 2H, J<sub>4Iα4Iβ</sub> = 16,8 Hz, J<sub>4Iα3I</sub> < 2 Hz et J<sub>4Iβ3I</sub> = 4,1 Hz)

(seuls les déplacements chimiques du trimère majoritaire sont représentés)

RMN <sup>13</sup>C (100,6 MHz, H<sub>2</sub>O/10% D<sub>2</sub>O, ppm) : δ = 156,63 (C5A ou C8aA) ; 155,76 (C8aD) ; 154,74 (C8aA ou C5A) ; 154,27 (C7A) ; 153,63 (C5D) ; 153,34 (C7G et C7D) ; 153,05 (C5G) ; 151,23 (C8aG) ; 144,36, 144,05, 143,69, 143,63, 143,50, 142,88 (C3'B, C3'E, C3'H, C4'B, C4'E, C4'H) ; 131,64 (C1'H) ; 131,29 (C1'E) ; 130,46 (C1'B) ; 120,69 (C6'E) ; 119,84 (C6'B) ; 117,42 (C6'H) ; 116,22, 116,17 (C2'B, C5'B) ; 115,60, 115,57, 115,54 (C2'E, C5'E, C5'H) ; 112,57 (C2'H) ; 108,59 (C8D) ; 108,34 (C8G) ; 108,12 (C4aD) ; 107,41 (C4aA) ; 99,18 (C4aG) ; 96,55 (C8A ou C6A) ; 96,45 (C6D) ; 95,18 (C6A ou C8A) ; 94,97 (C6G) ; 81,85 (C2C) ; 81,61 (C2F) ; 77,79 (C2I) ; 73,18, 73,08 (C3C, C3F) ; 64,85 (C3I) ; 37,22 (C4F) ; 36,59 (C4C) ; 21,71 (C4I)

(seuls les déplacements chimiques du trimère majoritaire sont représentés)

SM (LSIMS) m/z (%) = 889 (14, M+Na) ; 737 (14) ; 689 (15) ; 633 (20) ; 601 (26) ; 585 (55) ; 569 (41) ; 541 (36) ; 491 (37) ; 481 (100) ; 465 (74) ; 449 (72)

SMHR : M+Na = 889, 1935 (calculé : 889,1956)

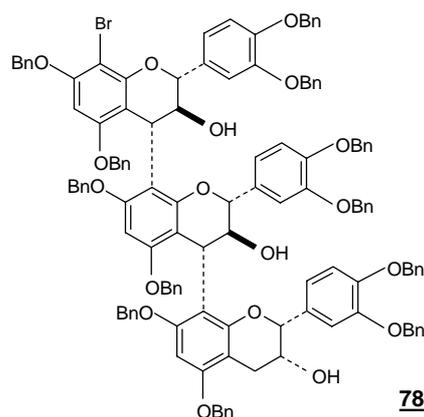
## II.17. Synthèse du trimère C2 82 à partir du trimère C2BnBr8 77

### Mode opératoire

Dans un tricol de 25 mL préalablement lavé avec une solution saturée en NaHCO<sub>3</sub> puis placé sous courant d'azote et sous agitation magnétique, 40 mg (20 μmol) de trimère benzylé bromé C2BnBr8 sont dissous dans 2 mL d'acétate d'éthyle et 2 mL de méthanol. 40 mg de catalyseur de Pearlman Pd(OH)<sub>2</sub> sur charbon à 20% et 40 μL (287 μmol) de triéthylamine sont alors ajoutés. La solution est agitée pendant 22 heures à température ambiante sous H<sub>2</sub>.

Le milieu réactionnel est filtré sur célite puis lavé avec de l'acétate d'éthyle. Après évaporation du solvant, le produit brut est filtré rapidement sur silice (éluant : acétone/4% méthanol). Le trimère C2 est ainsi isolé sous forme d'un solide beige.

Rendement : 76 %

II.18. Synthèse du trimère (Cat-Cat-Epi)BnBr8 **78**

## Modes opératoires

Voie A

200 mg (0,14 mmol, 1,2 éq) de dimère activé B3BnBr8Act et 75 mg (0,12 mmol, 1 éq) de 5,7,3',4'-tétra-O-benzylcatéchine sont introduits dans un ballon de 25 mL placé sous courant d'argon et sous agitation magnétique puis sont dissous dans 3 mL de THF et 3 mL de dichlorométhane. 0,23 mL (0,23 mmol, 2 éq) de TiCl<sub>4</sub> (1M dans le dichlorométhane) sont additionnés goutte à goutte à 0°C et la solution est agitée 4 heures et demie à température ambiante.

Voie B

Dans un ballon de 25 mL placé sous courant d'argon et sous agitation magnétique, 201 mg (0,155 mmol) de dimère B4Bn et 147 mg (0,186 mmol, 1,2 éq) de 5,7,3',4'-tétra-O-benzyl-4β-(2-hydroxyéthoxy)-8-bromocatéchine sont dissous dans 3 mL de THF et 3 mL de dichlorométhane. 0,31 mL (0,31 mmol, 2 éq) de TiCl<sub>4</sub> 1M dans le dichlorométhane sont additionnés goutte à goutte à 0°C et la solution est agitée 5 heures à température ambiante.

## Traitement du milieu réactionnel

5 mL d'une solution saturée en NaHCO<sub>3</sub> puis 10 mL d'eau sont ajoutés au milieu réactionnel. La solution, filtrée sur fritté, est extraite avec du dichlorométhane. La phase organique, lavée avec une solution saturée en NaCl, est ensuite séchée sur MgSO<sub>4</sub> puis le solvant est évaporé.

La purification du trimère (Cat-Cat-Epi)BnBr8 a été effectuée sur colonne de gel de silice en utilisant le mélange pentane/acétate d'éthyle 80/20 comme éluant.

## Rendements :

Voie A : 48%

Voie B : 38%

Point de fusion : 79,8-81,7 °C

IR (cm<sup>-1</sup>) : 3447 ; 3029 ; 2926 ; 1599 ; 1508 ; 1498 ; 1453 ; 1420 ; 1383 ; 1264 ; 1215 ; 1172 ; 1113 ; 1026 ; 909 ; 850 ; 734 ; 696 ; 620

RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm) : δ = 7,60-6,80 (H<sub>aromatiques</sub>Bn, m, 60H) ; 7,30-6,70 (H2'B, H5'B, H6'B, H2'E, H5'E, H6'E, H2'H, H5'H, H6'H, 9H) ; 6,27 (H6D, s, 1H) ; 6,22 (H6A, s,

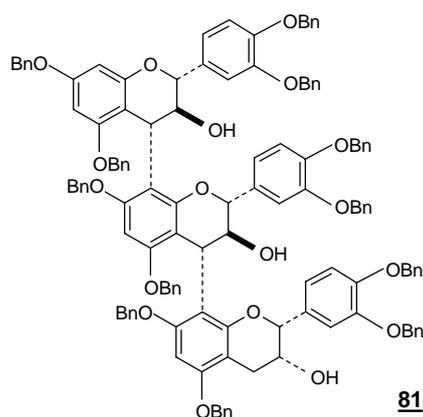
1H) ; 6,13 (H6G, s, 1H) ; 5,35-4,42 (CH<sub>2</sub>Bn, m, 24H) ; 4,67 (H4C, d, 1H, J<sub>43C</sub> = 9,2 Hz) ; 4,56 (H4F, d, 1H, J<sub>43F</sub> = 8,2 Hz) ; 4,53 (H2C, d, 1H, J<sub>23C</sub> = 9,9 Hz) ; 4,06 (H3F, m, 1H) ; 4,00 (H2I, d, 1H, J<sub>23I</sub> ~ 0 Hz) ; 3,94 (H3I, m, 1H) ; 3,93 (H3C, m, 1H) ; 3,25 (H2F, d, 1H, J<sub>23F</sub> = 9,7 Hz) ; 2,96 et 2,65 (H4I $\alpha$  et H4I $\beta$ , ABX, 2H, J<sub>4I $\alpha$ 4I $\beta$</sub>  = 16,8 Hz, J<sub>4I $\alpha$ 3I</sub> = 4,2 Hz et J<sub>4I $\beta$ 3I</sub> ~ 0 Hz)

RMN <sup>13</sup>C (100.6 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm) :  $\delta$  = 156,89 (C5A) ; 156,50 (C5G) ; 156,16 (C5D) ; 156,11 (C8aD) ; 155,76 (C7G) ; 155,44 (C7D) ; 154,59 (C7A) ; 154,07 (C8aG) ; 153,81 (C8aA) ; 149,58-149,10 (C3'B, C3'E, C3'H, C4'B, C4'E, C4'H) ; 138,40-137,40 (CqBn) ; 133,05 (C1'H) ; 132,90 (C1'E) ; 132,60 (C1'B) ; 129,28-127,10 (CHBn) ; 121,54 (C6'B) ; 121,25 (C6'E) ; 119,90 (C6'H) ; 115,78, 115,09, 115,05 (C5'B, C5'E, C5'H) ; 114,50 (C2'E) ; 114,07 (C2'B, C2'H) ; 113,05 (C8G) ; 112,44 (C8D) ; 111,37 (C4aA) ; 110,19 (C4aD) ; 100,93 (C4aG) ; 94,29 (C8A) ; 93,68 (C6A) ; 92,57 (C6G) ; 92,22 (C6D) ; 82,37 (C2C) ; 81,13 (C2F) ; 78,46 (C2I) ; 73,88 (C3F) ; 73,49 (C3C) ; 72,10-70,40 (CH<sub>2</sub>Bn) ; 66,76 (C3I) ; 38,08 (C4C) ; 37,71 (C4F) ; 30,28 (C4I)

SM (LSIMS) m/z (%) = 2050 (100 ; M+Na) ; 2027 (72) ; 1959 (24) ; 1696 (17) ; 1587 (27) ; 1497 (12) ; 1377 (12)

SMHR : M+H = 2024,6783 (calculé 2024,6797)

## II.19. Synthèse du trimère benzylé (Cat-Cat-Epi)Bn **81**



### Mode opératoire

Dans un tricol de 25 mL placé sous courant d'argon et sous agitation magnétique, une solution de 101,5 mg (50  $\mu$ mol) de trimère (Cat-Cat-Epi)BnBr8 dans 3 mL de THF est placée à -78°C. 0,09 mL (4,4  $\mu$ eq, 0,22 mmol) de n-BuLi (2,5M dans l'hexane) sont additionnés goutte à goutte. L'agitation est maintenue à -78°C pendant 30 minutes.

9  $\mu$ L (10  $\mu$ eq, 0,5 mmol) d'eau sont alors additionnés à -78°C puis le milieu réactionnel est laissé revenir à température ambiante. L'agitation magnétique est poursuivie pendant 2 heures.

Le milieu réactionnel est dilué avec une solution saturée en NaCl puis extrait avec du dichlorométhane. La phase organique séchée sur MgSO<sub>4</sub> est ensuite évaporée. Le trimère (Cat-Cat-Epi)Bn est obtenu sous forme d'un solide beige.

Rendement : 100%

Point de fusion : 76-77,5 °C

IR (cm<sup>-1</sup>) : 3448 ; 3063 ; 3030 ; 2926 ; 2861 ; 1602 ; 1508 ; 1498 ; 1453 ; 1424 ; 1380 ; 1265 ; 1216 ; 1107 ; 1026 ; 909 ; 850 ; 808 ; 734 ; 696 ; 620

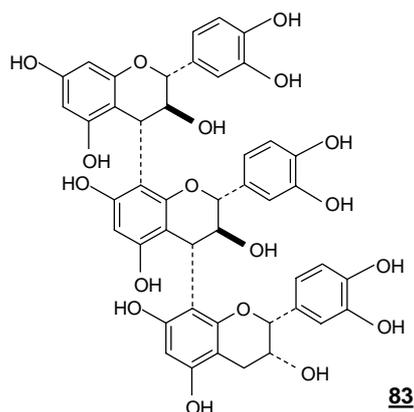
RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm) : δ = 7,50-6,55 (H<sub>aromatiques</sub>Bn, m, 60H) ; 7,05-6,38 (H2'B, H5'B, H6'B, H2'E, H5'E, H6'E, H2'H, H5'H, H6'H, 9H) ; 6,13 (H6D, s, 1H) ; 6,10 et 6,00 (H8A et H6A, AM, 1H, J<sub>68A</sub> = 2,3 Hz) ; 5,98 (H6G, s, 1H) ; 5,20-4,30 (CH<sub>2</sub>Bn, m, 24H) ; 4,51 (H4C, d, 1H, J<sub>43C</sub> = 8,0 Hz) ; 4,43 (H4F, d, 1H, J<sub>43F</sub> = 8,0 Hz) ; 4,36 (H2C, d, 1H, J<sub>23C</sub> = 9,2 Hz) ; 3,94 (H3C et H3F, m, 2H) ; 3,86 (H2I, d, 1H, J<sub>23I</sub> ~ 0 Hz) ; 3,81 (H3I, m, 1H) ; 3,10 (H2F, d, 1H, J<sub>23F</sub> = 9,2 Hz) ; 2,89 et 2,59 (H4Iα et H4Iβ, ABX, 2H, J<sub>4Iα4Iβ</sub> = 18,0 Hz, J<sub>4Iα3I</sub> = 3,6 Hz et J<sub>4Iβ3I</sub> = 1,6 Hz)

RMN <sup>13</sup>C (100.6 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm) : δ = 158,15 (C7A) ; 158,07 (C8aA) ; 156,93 (C5A) ; 156,15 (C5G) ; 155,91 (C8aD) ; 155,76 (C5D) ; 155,34 (C7G) ; 155,29 (C7D) ; 153,77 (C8aG) ; 149,33, 149,25, 149,07, 148,91, 148,78 (C3'B, C3'E, C3'H, C4'B, C4'E, C4'H) ; 138,10-136,40 (CqBn) ; 132,73 (C1'H) ; 132,63 (C1'E) ; 132,59 (C1'B) ; 129,20-126,90 (CHBn) ; 121,44 (C6'B) ; 121,00 (C6'E) ; 119,60 (C6'H) ; 115,45, 115,10, 114,80 (C5'B, C5'E, C5'H) ; 114,34 (C2'E) ; 113,94 (C2'B) ; 113,74 (C2'H) ; 112,80 (C8D) ; 112,75 (C8G) ; 110,07 (C4aD) ; 109,04 (C4aA) ; 100,55 (C4aG) ; 94,99 (C6A) ; 94,11 (C8A) ; 92,27 (C6D, C6G) ; 82,09 (C2C) ; 80,90 (C2F) ; 78,12 (C2I) ; 73,58 (C3F) ; 73,40 (C3C) ; 72,10-69,80 (CH<sub>2</sub>Bn) ; 66,45 (C3I) ; 37,80 (C4C) ; 37,49 (C4F) ; 29,98 (C4I)

SM (LSIMS) m/z (%) = 1972 (58 ; M+Na) ; 1948 (54 ; M) ; 1878 (17) ; 1617 (15) ; 1509 (16) ; 1298 (13) ; 951 (10) ; 739 (36) ; 649 (100) ; 607 (27) ; 559 (34)

SMHR : M+H = 1946,7618 (calculé 1946,7692)

## II.20. Synthèse du trimère Cat-Cat-Epi **83**



### Mode opératoire

32 mg (16 μmol) de 5,7,3',4'-tétra-O-benzylcatéchine-4α,8-(5,7,3',4'-tétra-O-benzylcatéchine)-4α,8-(5,7,3',4'-tétra-O-benzylépicatechine) sont dissous dans 2 mL d'acétate d'éthyle et 2 mL de méthanol dans un tricol de 25 mL placé sous courant d'azote et sous agitation magnétique. Après addition de quelques gouttes de triéthylamine,

l'hydrogénation est effectuée en présence de 60 mg de catalyseur de Pearlman Pd(OH)<sub>2</sub>/C 20%. La réaction est poursuivie à température ambiante pendant 18 heures.

Après filtration sur Célite, lavages avec de l'acétate d'éthyle et évaporation des solvants, le trimère Cat-Cat-Epi est obtenu quantitativement sous forme d'un solide beige.

Rendement : 100%

Point de fusion : 190-192 °C (dec.)

IR (cm<sup>-1</sup>) : 3385 ; 2926 ; 1654 ; 1618 ; 1610 ; 1522 ; 1458 ; 1449 ; 1385 ; 1284 ; 1197 ; 1145 ; 1071 ; 818

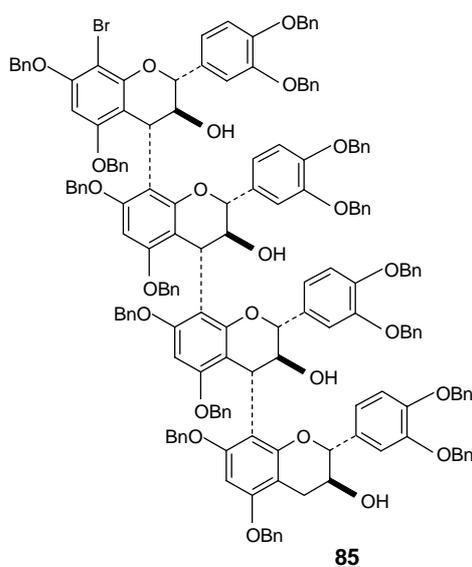
RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, H<sub>2</sub>O/10% D<sub>2</sub>O, ppm) : δ = 6,98 (H2'H, d, 1H, J<sub>2'6'H</sub> < 2 Hz) ; 6,81-6,74 (H5'E, H6'H, m, 2H) ; 6,68 (H5'B, H5'H, d, 2H, J<sub>5'6'B</sub> = J<sub>5'6'H</sub> = 8,2 Hz) ; 6,62 (H2'E, d, 1H, J<sub>2'6'E</sub> < 2 Hz) ; 6,59 (H6'E, dd, 1H, J<sub>5'6'E</sub> = 8,0 Hz et J<sub>2'6'E</sub> < 2 Hz) ; 6,53 (H2'B, d, 1H, J<sub>2'6'B</sub> < 2 Hz) ; 6,18 (H6'B, dd, 1H) ; 5,90 (H6A ou H8A, d, 1H, J<sub>68A</sub> < 2 Hz) ; 5,87 (H6G, s, 1H) ; 5,83 (H6D, s, 1H) ; 5,67 (H8A ou H6A, d, 1H, J<sub>68A</sub> < 2 Hz) ; 4,84 (H2I, d, 1H, J<sub>23I</sub> < 2 Hz) ; 4,47 (H4F, d, 1H, J<sub>43F</sub> = 7,9 Hz) ; 4,27 (H2F, d, 1H, J<sub>23F</sub> = 9,9 Hz) ; 4,21 (H2C, d, 1H, J<sub>23C</sub> = 10,0 Hz) ; 4,17 (H3I, m, 1H) ; 4,16 (H4C, d, 1H, J<sub>43C</sub> = 9,0 Hz) ; 4,06 (H3F, m, 1H) ; 3,95 (H3C, m, 1H) ; 2,79 et 2,64 (H4Iα et H4Iβ, ABX, 2H, J<sub>4Iα4Iβ</sub> = 17,0 Hz, J<sub>4Iα3I</sub> = 4,4 Hz et J<sub>4Iβ3I</sub> < 2 Hz)

RMN <sup>13</sup>C (100,6 MHz, H<sub>2</sub>O/10% D<sub>2</sub>O, ppm) : δ = 156,91 (C5A ou C8aA) ; 155,61 (C8aD) ; 155,45 (C8aA ou C5A) ; 154,74 (C7A) ; 153,94 (C8aG, C7D) ; 153,67 (C5G) ; 153,27 (C5D) ; 152,95 (C7G) ; 144,69, 144,46, 144,20, 144,07, 143,88, 143,66 (C3'B, C3'E, C3'H, C4'B, C4'E, C4'H) ; 131,75 (C1'H) ; 131,12 (C1'E) ; 130,91 (C1'B) ; 121,83 (C6'E) ; 120,22 (C6'B) ; 118,80 (C6'H) ; 117,37, 116,56, 116,51 (C2'B, C5'B, C5'H) ; 115,94, 115,81 (C2'E, C5'E) ; 114,41 (C2'H) ; 110,46 (C8G) ; 109,68 (C8D) ; 108,10 (C4aD) ; 107,67 (C4aA) ; 99,64 (C4aG) ; 97,82 (C6G) ; 97,11 (C6D) ; 96,93 (C8A ou C6A) ; 95,62 (C6A ou C8A) ; 81,84 (C2C, C2F) ; 78,05 (C2I) ; 73,70 (C3F) ; 73,27 (C3C) ; 66,04 (C3I) ; 37,47 (C4F) ; 37,15 (C4C) ; 28,11 (C4I)

(seuls les déplacements chimiques du trimère majoritaire sont représentés)

SM (LSIMS) m/z (%) = 889 (14, M+Na) ; 663 (30) ; 647 (34) ; 619 (24) ; 607 (21) ; 591 (25) ; 575 (27) ; 559 (31) ; 547 (67) ; 531 (68) ; 525 (89) ; 519 (61) ; 503 (57) ; 497 (100) ; 481 (63) ; 459 (50)

SMHR : M+Na = 889,1997 (calculé 889,1956)

II.21. Synthèse du tétramère benzylé bromé TétraBnBr8 **85**

## Modes opératoires

Voie C

202 mg (0,104 mmol) de trimère C2Bn et de 98 mg (0,125 mmol, 1,2 éq) de 5,7,3',4'-tétra-O-benzyl-4β-(2-hydroxyéthoxy)-8-bromocatéchine sont dissous dans 2 mL de THF et 2 mL de dichlorométhane. 0,21 mL (0,21 mmol, 2 éq) de TiCl<sub>4</sub> 1M dans le dichlorométhane sont additionnés à 0°C et la solution est agitée 6 heures à température ambiante.

Voie D

Dans un tricol de 25 mL placé sous courant d'argon et sous agitation magnétique, 216 mg (0,17 mmol) de dimère B3Bn et 287 mg (0,2 mmol, 1,2 éq) de dimère activé B3BnBr8Act sont dissous dans 3 mL de dichlorométhane et 3 mL de THF. A 0°C, 0,33 mL (0,33 mmol, 2 éq) de TiCl<sub>4</sub> 1M dans le dichlorométhane sont ajoutés goutte à goutte. La solution est agitée 4 heures à température ambiante.

## Traitement du milieu réactionnel

5 mL d'une solution saturée en NaHCO<sub>3</sub> puis 10 mL d'eau sont additionnés lentement au milieu réactionnel. La solution est filtrée sur fritté puis extraite avec du dichlorométhane. La phase organique est lavée avec une solution saturée en NaCl puis séchée sur MgSO<sub>4</sub>. Le solvant est ensuite évaporé.

Une purification sur colonne de gel de silice a été réalisée en utilisant le mélange pentane/acétate d'éthyle 80/20 comme éluant.

Rendements :

Voie C : 38%

Voie D : 42%

Point de fusion : 67-69 °C

IR (cm<sup>-1</sup>) : 3448 ; 3062 ; 3030 ; 2925 ; 2857 ; 1599 ; 1508 ; 1498 ; 1454 ; 1420 ; 1381 ; 1264 ; 1215 ; 1174 ; 1113 ; 1026 ; 910 ; 849 ; 808 ; 735 ; 696 ; 668 ; 620

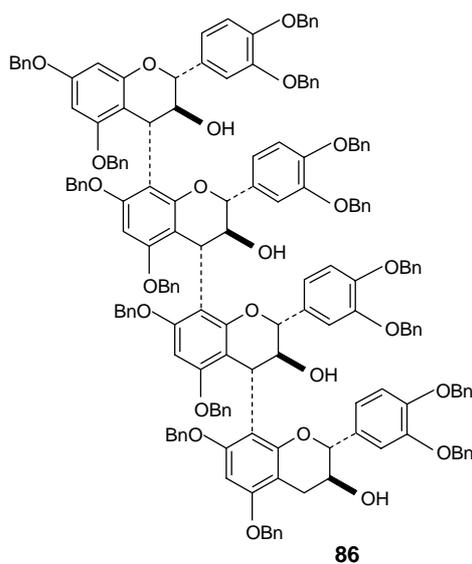
RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm) :  $\delta = 7,50\text{-}6,50$  ( $\text{H}_{\text{aromatiques}}\text{Bn}$ , m, 80H) ; 7,10-6,60 ( $\text{H}2'\text{B}$ ,  $\text{H}5'\text{B}$ ,  $\text{H}6'\text{B}$ ,  $\text{H}2'\text{E}$ ,  $\text{H}5'\text{E}$ ,  $\text{H}6'\text{E}$ ,  $\text{H}2'\text{H}$ ,  $\text{H}5'\text{H}$ ,  $\text{H}6'\text{H}$ ,  $\text{H}2'\text{K}$ ,  $\text{H}5'\text{K}$ ,  $\text{H}6'\text{K}$ , 12H) ; 6,23 ( $\text{H}6\text{D}$ , s, 1H) ; 6,18 ( $\text{H}6\text{A}$ , s, 1H) ; 6,09 ( $\text{H}6\text{J}$ , s, 1H) ; 6,05 ( $\text{H}6\text{G}$ , s, 1H) ; 5,28-4,33 ( $\text{CH}_2\text{Bn}$ , m, 32H) ; 4,56 ( $\text{H}4\text{C}$ , d, 1H,  $J_{43\text{C}} = 9,0$  Hz) ; 4,47 ( $\text{H}2\text{C}$ , d, 1H,  $J_{23\text{C}} = 9,0$  Hz) ; 4,30 ( $\text{H}4\text{I}$ , d, 1H,  $J_{43\text{I}} = 8,8$  Hz) ; 4,17 ( $\text{H}4\text{F}$ , d, 1H,  $J_{43\text{F}} = 8,9$  Hz) ; 4,11 ( $\text{H}3\text{I}$ , m, 1H) ; 3,88 ( $\text{H}3\text{C}$ , m, 1H) ; 3,78 ( $\text{H}3\text{L}$ , m, 1H) ; 3,68 ( $\text{H}3\text{F}$ , m, 1H) ; 3,65 ( $\text{H}2\text{L}$ , d,  $J_{23\text{L}} = 8,9$  Hz) ; 3,12 ( $\text{H}2\text{I}$ , d, 1H,  $J_{23\text{I}} = 9,8$  Hz) ; 2,85 ( $\text{H}2\text{F}$ , d, 1H,  $J_{23\text{F}} = 9,7$  Hz) ; 3,10 et 2,36 ( $\text{H}4\text{L}\alpha$  et  $\text{H}4\text{L}\beta$ , ABX, 2H,  $J_{4\text{L}\alpha 4\text{L}\beta} = 16,0$  Hz,  $J_{4\text{L}\alpha 3\text{L}} = 6,0$  Hz et  $J_{4\text{L}\beta 3\text{L}} = 10,0$  Hz)

RMN  $^{13}\text{C}$  (100.6 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm) :  $\delta = 156,34$  ( $\text{C}5\text{A}$ ) ; 155,63 ( $\text{C}5\text{D}$ ) ; 155,38 ( $\text{C}8\text{aG}$ ) ; 155,33 ( $\text{C}8\text{aD}$ ) ; 155,16 ( $\text{C}5\text{G}$ ,  $\text{C}5\text{J}$ ) ; 155,06 ( $\text{C}7\text{J}$ ) ; 154,74 ( $\text{C}7\text{D}$ ) ; 154,62 ( $\text{C}7\text{G}$ ) ; 154,00 ( $\text{C}7\text{A}$ ) ; 153,71 ( $\text{C}8\text{aJ}$ ) ; 153,14 ( $\text{C}8\text{aA}$ ) ; 149,14, 149,10, 149,02, 148,88, 148,80, 148,65, 148,59, 148,29 ( $\text{C}3'\text{B}$ ,  $\text{C}3'\text{E}$ ,  $\text{C}3'\text{H}$ ,  $\text{C}3'\text{K}$ ,  $\text{C}4'\text{B}$ ,  $\text{C}4'\text{E}$ ,  $\text{C}4'\text{H}$ ,  $\text{C}4'\text{K}$ ) ; 137,90-135,28 ( $\text{CqBn}$ ) ; 132,83 ( $\text{C}1'\text{E}$ ) ; 132,64 ( $\text{C}1'\text{H}$ ) ; 132,11 ( $\text{C}1'\text{B}$ ) ; 131,71 ( $\text{C}1'\text{K}$ ) ; 128,75-126,58 ( $\text{CHBn}$ ) ; 120,99 ( $\text{C}6'\text{H}$ ) ; 120,90 ( $\text{C}6'\text{B}$ ) ; 120,59 ( $\text{C}6'\text{E}$ ) ; 120,45 ( $\text{C}6'\text{K}$ ) ; 114,99, 114,54, 114,49, 114,43 ( $\text{C}5'\text{B}$ ,  $\text{C}5'\text{E}$ ,  $\text{C}5'\text{H}$ ,  $\text{C}5'\text{K}$ ,  $\text{C}2'\text{H}$ ) ; 114,06 ( $\text{C}2'\text{K}$ ) ; 113,88 ( $\text{C}2'\text{E}$ ) ; 113,44 ( $\text{C}2'\text{B}$ ) ; 112,98 ( $\text{C}8\text{G}$ ) ; 112,28 ( $\text{C}8\text{J}$ ) ; 111,64 ( $\text{C}8\text{D}$ ) ; 110,69 ( $\text{C}4\text{aA}$ ) ; 109,48 ( $\text{C}4\text{aD}$ ) ; 109,26 ( $\text{C}4\text{aG}$ ) ; 102,32 ( $\text{C}4\text{aJ}$ ) ; 93,62 ( $\text{C}8\text{A}$ ) ; 92,85 ( $\text{C}6\text{A}$ ) ; 92,55 ( $\text{C}6\text{G}$ ) ; 92,04 ( $\text{C}6\text{J}$ ) ; 91,08 ( $\text{C}6\text{D}$ ) ; 81,76 ( $\text{C}2\text{C}$ ) ; 81,09 ( $\text{C}2\text{I}$ ) ; 80,99 ( $\text{C}2\text{L}$ ) ; 80,05 ( $\text{C}2\text{F}$ ) ; 73,18 ( $\text{C}3\text{I}$ ) ; 72,87 ( $\text{C}3\text{C}$ ,  $\text{C}3\text{F}$ ) ; 71,40-69,70 ( $\text{CH}_2\text{Bn}$ ) ; 68,45 ( $\text{C}3\text{L}$ ) ; 37,64 ( $\text{C}4\text{F}$ ,  $\text{C}4\text{I}$ ) ; 37,48 ( $\text{C}4\text{C}$ ) ; 28,40 ( $\text{C}4\text{L}$ )

SM (LSIMS)  $m/z$  (%) = 2698 (100 ;  $\text{M}+\text{Na}$ ) ; 2676 (34 ;  $\text{M}$ ) ; 2607 (29) ; 2566 (12) ; 2515 (10) ; 2343 (11) ; 2336 (13) ; 1388 (22) ; 1378 (12) ; 1348 (15) ; 1326 (22) ; 1199 (28)

SMHR :  $\text{M}+\text{Na} = 2695,9363$  (calculé 2695, 9207)

## II.22. Synthèse du tétramère benzylé Tétrabn **86**



### Mode opératoire

Dans un tricol de 25 mL placé sous courant d'argon et sous agitation magnétique, 91 mg (34  $\mu\text{mol}$ ) de tétramère benzylé bromé sont dissous dans 3 mL de THF. Après avoir placé

la solution à  $-78^{\circ}\text{C}$ , 75  $\mu\text{L}$  (5,5 éq, 187  $\mu\text{mol}$ ) de  $n\text{-BuLi}$  (2,5 M dans l'hexane) sont additionnés goutte à goutte et l'agitation est maintenue à  $-78^{\circ}\text{C}$  pendant 30 minutes.

Après avoir quencher le milieu réactionnel avec 6  $\mu\text{L}$  (10 éq, 0,59 mmol) d'eau à  $-78^{\circ}\text{C}$ , l'agitation magnétique est poursuivie pendant 2 heures tout en laissant revenir la solution à température ambiante.

Le milieu réactionnel est dilué dans une solution saturée en  $\text{NaCl}$  puis extrait avec du dichlorométhane. Après séchage de la phase organique sur  $\text{MgSO}_4$  et évaporation du solvant, le tétramère (Cat-Cat-Cat-Cat)Bn est obtenu sous forme d'un solide beige.

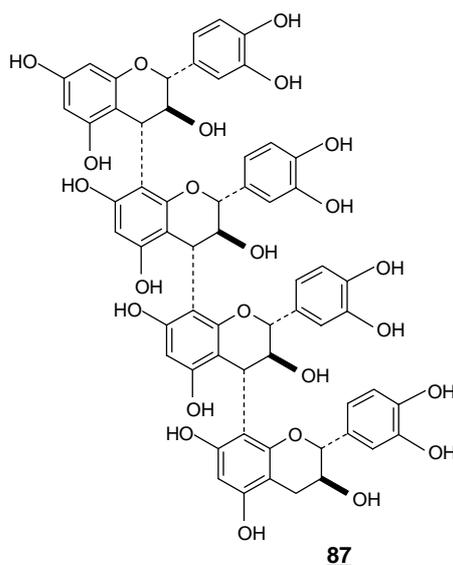
Rendement : 98%

Point de fusion :  $64\text{-}66^{\circ}\text{C}$

IR ( $\text{cm}^{-1}$ ) : 3438 ; 3059 ; 3030 ; 2925 ; 2857 ; 1599 ; 1508 ; 1498 ; 1454 ; 1424 ; 1383 ; 1264 ; 1216 ; 1108 ; 1026 ; 910 ; 849 ; 809 ; 735 ; 696 ; 668 ; 620

RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm) :  $\delta = 7,50\text{-}6,48$  ( $\text{H}_{\text{aromatiques}}\text{Bn}$ , m, 80H) ; 7,10-6,40 ( $\text{H}2'\text{B}$ ,  $\text{H}5'\text{B}$ ,  $\text{H}6'\text{B}$ ,  $\text{H}2'\text{E}$ ,  $\text{H}5'\text{E}$ ,  $\text{H}6'\text{E}$ ,  $\text{H}2'\text{H}$ ,  $\text{H}5'\text{H}$ ,  $\text{H}6'\text{H}$ ,  $\text{H}2'\text{K}$ ,  $\text{H}5'\text{K}$ ,  $\text{H}6'\text{K}$ , 12H) ; 6,22 ( $\text{H}6\text{D}$ , s, 1H) ; 6,18 ( $\text{H}6\text{A}$ , d, 1H) ; 6,09 ( $\text{H}8\text{A}$ , d, 1H,  $J_{86\text{A}} = 1,5$  Hz) ; 6,07 ( $\text{H}6\text{J}$ , s, 1H) ; 6,01 ( $\text{H}6\text{G}$ , s, 1H) ; 5,28-4,25 ( $\text{CH}_2\text{Bn}$ , m, 32H) ; 4,55 ( $\text{H}4\text{C}$ , d, 1H,  $J_{43\text{C}} = 9,9$  Hz) ; 4,44 ( $\text{H}2\text{C}$ , d, 1H,  $J_{23\text{C}} = 10,5$  Hz) ; 4,29 ( $\text{H}4\text{I}$ , d, 1H,  $J_{43\text{I}} = 9,5$  Hz) ; 4,16 ( $\text{H}4\text{F}$ , d, 1H,  $J_{43\text{F}} = 9,7$  Hz) ; 4,11 ( $\text{H}3\text{I}$ , m, 1H) ; 4,01 ( $\text{H}3\text{C}$ , m, 1H) ; 3,76 ( $\text{H}3\text{L}$ , m, 1H) ; 3,70 ( $\text{H}3\text{F}$ , m, 1H) ; 3,63 ( $\text{H}2\text{L}$ , d,  $J_{23\text{L}} = 8,4$  Hz) ; 3,09 ( $\text{H}2\text{I}$ , d, 1H,  $J_{23\text{I}} = 9,8$  Hz) ; 2,82 ( $\text{H}2\text{F}$ , d, 1H,  $J_{23\text{F}} = 9,7$  Hz) ; 3,09 et 2,35 ( $\text{H}4\text{L}\alpha$  et  $\text{H}4\text{L}\beta$ , ABX, 2H,  $J_{4\text{L}\alpha 4\text{L}\beta} = 16,0$  Hz,  $J_{4\text{L}\alpha 3\text{L}} = 5,7$  Hz et  $J_{4\text{L}\beta 3\text{L}} = 9,8$  Hz)

RMN  $^{13}\text{C}$  (100.6 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm) :  $\delta = 158,15$  (C7A) ; 158,12 (C5A) ; 156,86 (C8aA) ; 155,83 (C5D) ; 155,72 (C8aD) ; 155,69 (C8aG) ; 155,43 (C5J, C7G) ; 155,35 (C7G) ; 155,19 (C7D) ; 154,84 (C5G) ; 153,99 (C8aJ) ; 149,60-148,40 (C3'B, C3'E, C3'H, C3'K, C4'B, C4'E, C4'H, C4'K) ; 138,30-135,80 (CqBn) ; 133,09 (C1'E) ; 132,92 (C1'H) ; 132,77 (C1'B) ; 132,03 (C1'K) ; 129,40-126,80 (CHBn) ; 121,36 (C6'B) ; 121,32 (C6'H) ; 120,92 (C6'E) ; 120,72 (C6'K) ; 115,60-113,80 (C5'B, C5'E, C5'H, C5'K, C2'H, C2'K, C2'E, C2'B) ; 113,31 (C8G) ; 112,59 (C8D) ; 112,55 (C8J) ; 109,90 (C4aD) ; 109,52 (C4aG) ; 109,00 (C4aA) ; 102,57 (C4aJ) ; 94,92 (C8A) ; 93,95 (C6A) ; 92,86 (C6G) ; 92,35 (C6J) ; 91,72 (C6D) ; 82,08 (C2C) ; 81,40 (C2I) ; 81,26 (C2L) ; 80,43 (C2F) ; 73,46, 73,35 (C3C, C3I) ; 73,19 (C3F) ; 71,80-69,90 ( $\text{CH}_2\text{Bn}$ ) ; 68,74 (C3L) ; 38,05 (C4F) ; 37,91 (C4I) ; 37,80 (C4C) ; 28,68 (C4L)

II.23. Synthèse du tétramère Cat-Cat-Cat-Cat **87**

## Mode opératoire

Dans un tricol de 25 mL placé sous courant d'azote et sous agitation magnétique, 30 mg (12  $\mu\text{mol}$ ) de tétramère benzylé (Cat-Cat-Cat-Cat)Bn sont dissous dans 2 mL d'acétate d'éthyle et 2 mL de méthanol. 68 mg de catalyseur de Pearlman  $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$  à 20% et quelques gouttes de triéthylamine sont alors ajoutés. La solution est agitée pendant 18 heures à température ambiante sous  $\text{H}_2$ .

Après filtration du milieu réactionnel sur célite et lavages avec de l'acétate d'éthyle, le solvant est évaporé. Le tétramère Cat-Cat-Cat-Cat est obtenu sous forme d'un solide beige.

Rendement : 98%

Point de fusion : 188-190 °C (dec.)

IR ( $\text{cm}^{-1}$ ) : 3422 ; 1618 ; 1560 ; 1508 ; 1498 ; 1458 ; 1384 ; 1259 ; 1115 ; 1068 ; 818

SM (LSIMS)  $m/z$  (%) = 1178 (100 ;  $\text{M}+\text{Na}$ )

SMHR :  $\text{M}+\text{Na}$  = 1178,2654 (calculé : 1178,2668)

## II.24. Synthèse du tétramère Cat-Cat-Cat-Cat **87** à partir du tétramère TétraBnBr8 **85**

### Mode opératoire

Dans un tricol de 25 mL préalablement lavé avec une solution saturée en  $\text{NaHCO}_3$  puis placé sous courant d'azote et sous agitation magnétique, 17 mg (6,4  $\mu\text{mol}$ ) de tétramère benzylé bromé TétraBnBr8 sont dissous dans 2 mL d'acétate d'éthyle et 2 mL de méthanol. 20 mg de catalyseur de Pearlman  $\text{Pd}(\text{OH})_2$  sur charbon à 20% et 21  $\mu\text{L}$  (147  $\mu\text{mol}$ ) de triéthylamine sont alors ajoutés. La solution est agitée pendant 20 heures à température ambiante sous  $\text{H}_2$ .

Le milieu réactionnel est filtré sur célite puis lavé avec de l'acétate d'éthyle. Après évaporation du solvant, le produit brut est filtré rapidement sur silice (éluant : acétone/4% méthanol). Le trimère Cat-Cat-Cat-Cat est ainsi isolé sous forme d'un solide beige.

Rendement : 90 %

# Annexes

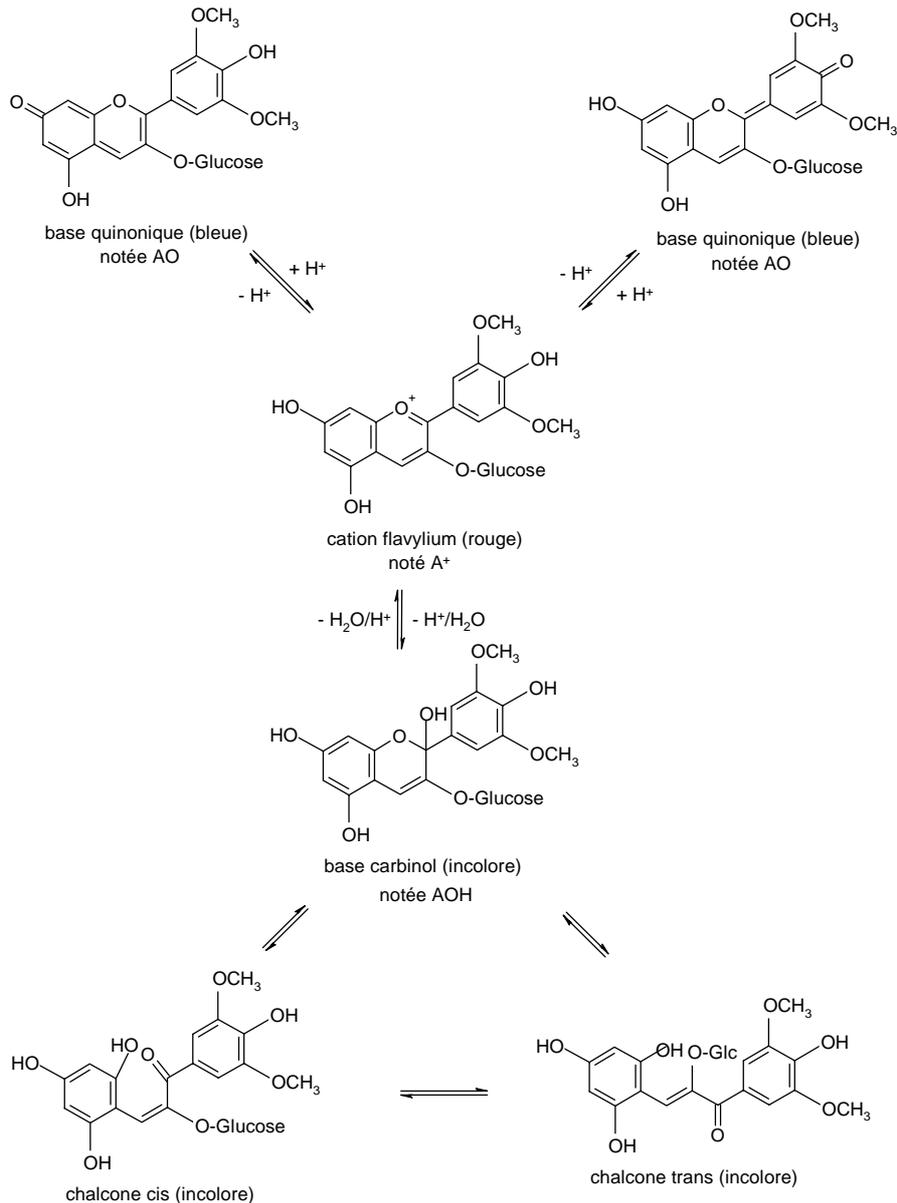


## Annexe 1 : Les procyanidines identifiées dans les pépins de raisin et les vins<sup>11,19,20,28</sup>

Monomères
Catéchine
Epicatéchine
Epicatéchine-3-O-gallate
Dimères
A2
B1
B2
B3
B4
B5
B6
B7
B8
Dimères galloylés
B1-3-O-gallate
B2-3-O-gallate
B2-3'-O-gallate
B2-3,3'-di-O-gallate
B3-gallate
B4-3'-O-gallate
B5-gallate
B6-gallate
B7-3-O-gallate
Trimères
C1 : épi-4 $\beta$ ,8-épi-4 $\beta$ ,8-épi
C1-3-O-gallate : épi-4 $\beta$ ,8-épi-4 $\beta$ ,8-épi-3-O-gallate
C1-3,3'-di-O-gallate : épi-4 $\beta$ ,8-épi-3-O-gallate-4 $\beta$ ,8-épi-3-O-gallate
C2 : cat-4 $\alpha$ ,8-cat-4 $\alpha$ ,8-cat
T2 : épi-4 $\beta$ ,8-épi-4 $\beta$ ,8-cat
T2-3-O-gallate : épi-4 $\beta$ ,8-épi-3-O-gallate-4 $\beta$ ,8-cat
T3 : épi-4 $\beta$ ,8-épi-4 $\beta$ ,6-cat
T4 : épi-4 $\beta$ ,6-épi-4 $\beta$ ,8-épi
T5 : épi-4 $\beta$ ,8-épi-4 $\beta$ ,6-épi
T6 : épi-4 $\beta$ ,6-épi-4 $\beta$ ,6-cat
épi-4 $\beta$ ,8-cat-4 $\alpha$ ,6-épi-3-O-gallate
cat-4 $\alpha$ ,8-cat-4 $\alpha$ ,8-épi
cat-4 $\alpha$ ,8-cat-4 $\alpha$ ,8-épi
cat-4 $\alpha$ ,8-épi-4 $\beta$ ,6-cat
cat-4 $\alpha$ ,8-épi-4 $\beta$ ,8-épi
Tétramère
épi-4 $\beta$ ,8-épi-4 $\beta$ ,8-épi-4 $\beta$ ,8-épi

## Annexe 2 : Transformations structurales des anthocyanes en fonction du pH (d'après Brouillard et Lang, 1990)<sup>170</sup>

Les anthocyanes sont présentes dans les pellicules et sont extraites au cours de la vinification. Elles sont responsables de la couleur des vins rouges jeunes. Mais la couleur des anthocyanes dépend de leur structure chimique et du pH du milieu dans lequel elles se trouvent.

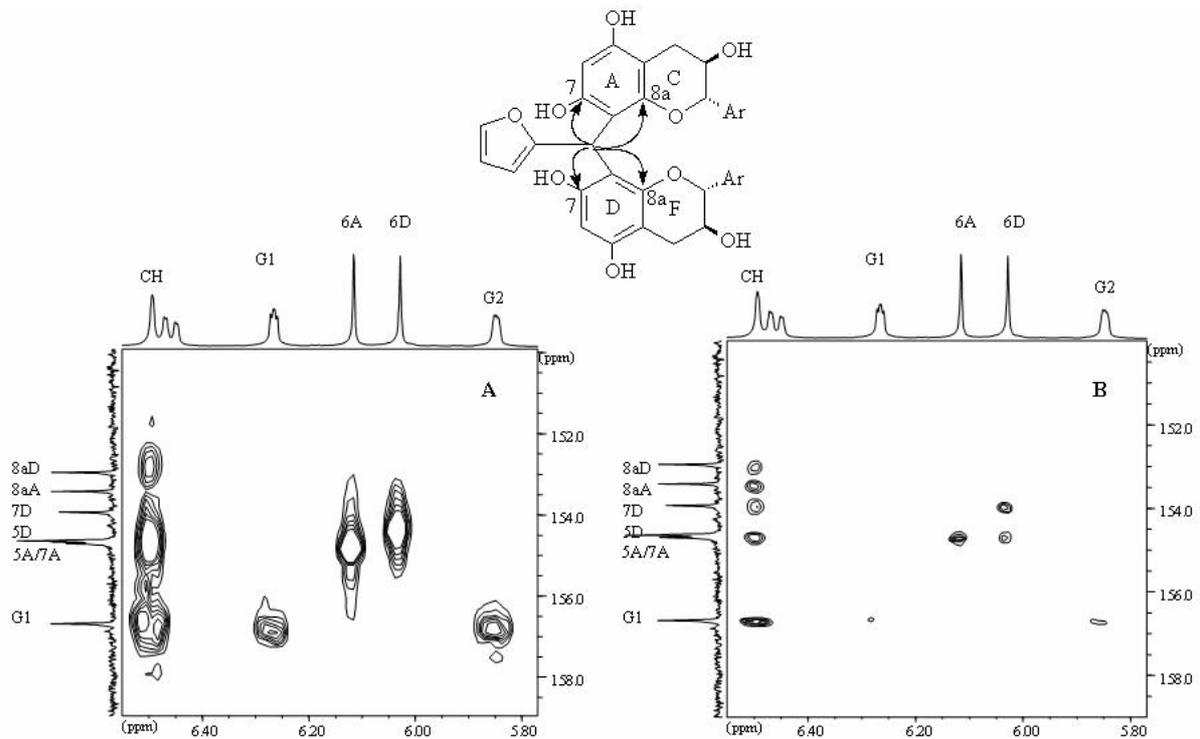


Au pH du vin, les formes cation flavylum A<sup>+</sup> et base carbinol AOH sont prédominantes.

<sup>170</sup> Brouillard R., Lang J., *Can. J. Chem.*, **1990**, 68, 755-761

### Annexe 3 : Comparaison des corrélations observées sur les spectres HMBC et HMBC sélective

La figure suivante représente les différentes corrélations  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  observées sur les spectres HMBC (A) et HMBC sélective (B) pour les carbones quaternaires 5, 7 et 8a des cycles phloroglucinols A et D (région de 150 à 160 ppm) d'une procyanidine dimère synthétisée après condensation entre la catéchine et le furfuraldéhyde.<sup>171</sup>



Alors que l'attribution des carbones est délicate à partir du spectre HMBC, elle ne pose aucun problème avec le spectre HMBC sélective, les corrélations sont nettes et bien définies. Par exemple, le proton H6D est corrélé à deux carbones dans cette zone du spectre, C5D et C7D : sur l'HMBC sélective, ces deux corrélations sont bien observées alors qu'une seule corrélation est visible sur l'HMBC. Des erreurs d'interprétation peuvent alors être commises à partir du spectre HMBC.

<sup>171</sup> Nonier M.F., Pianet I., Laguerre M., Vivas N., Vivas de Gaulejac N., *Anal. Chim. Acta*, **2005**, sous presse

## Annexe 4 : Etude structurale par modélisation moléculaire

La mécanique moléculaire est utilisée pour effectuer l'analyse conformationnelle des molécules. Elle considère les molécules comme des sphères reliées par des ressorts. Les atomes sont définis par des rayons de sphère et les liaisons entre les atomes, par des constantes de force. La distribution des électrons est quant à elle implicite, elle est représentée par la distribution des charges sur les atomes de chaque molécule.

Une fonction d'énergie potentielle, nommée champ de force, permet de simuler les propriétés structurales et énergétiques des molécules et de décrire les interactions entre les atomes liés et non liés. Les interactions entre atomes liés correspondent à des énergies de déformation de liaisons et d'angles de valence et à des énergies de torsion. Les interactions entre atomes non liés correspondent quant à elles aux énergies électrostatiques, de Van der Waals et des liaisons hydrogène.

Une distance de troncature appelée « cut-off » permet de limiter le temps de calcul. Elle correspond à une distance limite au delà de laquelle les interactions entre atomes non liés sont ignorées car elles apparaissent négligeables. Pour l'analyse conformationnelle, les molécules peuvent être minimisées par la méthode TNCG (Truncated Newton Conjugate Gradient). La recherche des conformations de plus basse énergie peut être ensuite effectuée par la méthode Monte Carlo.

### Méthode Monte Carlo

La technique de recherche conformationnelle Monte Carlo, disponible dans MacroModel,<sup>172,173</sup> permet d'obtenir un ensemble représentatif des conformations les plus stables.

La première étape consiste à choisir une structure de départ raisonnable et déjà minimisée. Un intervalle de variation de l'énergie est ensuite déterminé pour chaque variable (en général les angles de torsion) qui définit les conformations de la molécule étudiée. Pour l'analyse des tanins, la fenêtre énergétique a ainsi été fixée à 20 kJ.mol<sup>-1</sup>.

Après avoir déterminé le nombre de degrés de liberté (noté N), un nombre de degrés de liberté (angles de torsion) compris entre 1 et N-1 est tiré au hasard. La valeur de chaque angle est ensuite modifiée aléatoirement entre 0 et 180°. La conformation est alors minimisée.

---

<sup>172</sup> Chang G., Guida W.C., Still W.C., *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, *111*, 4379-4386

<sup>173</sup> Saunders M., Houk K.N., Wu Y.D., Still W.C., Lipton M., Chang G., Guida W.C., *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, *112*, 1419-1427

L'énergie de chaque nouvelle conformation (i+1) est ensuite évaluée :

- si  $E_{(i+1)} - E_i > 0$ , la nouvelle conformation est rejetée

- si  $E_{(i+1)} - E_i < 0$ , la nouvelle conformation (i+1) est stockée comme un nouveau conformère et l'analyse repart de la conformation la moins peuplée, c'est-à-dire celle qui est trouvée le moins souvent, à condition qu'elle soit dans la fenêtre énergétique de 20 kJ.mol<sup>-1</sup> par rapport à la conformation la plus basse en énergie

Pour assurer la convergence des calculs, 1000 itérations ont été effectuées pour chaque molécule dans la fenêtre énergétique de 20 kJ.mol<sup>-1</sup>. Le calcul est terminé lorsque chaque conformation a été trouvée au moins trois fois.

L'ensemble des conformations retenues est soumis à une clusterisation avec le logiciel Xcluster,<sup>174</sup> c'est-à-dire que les conformations retenues sont classées par familles, chaque famille étant caractérisée par un conformère de plus basse énergie nommé « leader ». Les angles dièdres correspondant aux constantes de couplage <sup>3</sup>J(H-H) en RMN ont été choisis comme critère pour trier les différentes conformations. Les constantes de couplage sont alors calculées directement avec MacroModel.<sup>145</sup>

Les calculs de modélisation moléculaire ont été effectués par Marie-Agnès Ducasse et Michel Laguerre à l'Institut Européen de Chimie et de Biologie sur une station SGI Octane avec les logiciels MacroModel version 6.5 (Schrödinger Inc.). Les minima conformationnels ont été déterminés en utilisant le champ de force MM3 modifié, présent dans MacroModel (paramètres 1991), et en choisissant l'eau comme solvant. Le champ de force MM3 a été sélectionné car des études précédentes sur les polyphénols ont montré qu'il permettait d'obtenir les résultats les plus satisfaisants.<sup>23,37,175</sup> Les structures ont été minimisées par l'intermédiaire de la méthode TNCG (1000 itérations). Une analyse conformationnelle a ensuite été réalisée par la méthode Monte Carlo dans une fenêtre énergétique de 20 kJ.mol<sup>-1</sup>. Dans tous les cas, l'option « extended cut-off » a été utilisée : 8 Å pour les interactions de Van der Waals, 4 Å pour les liaisons hydrogène et 20 Å pour les interactions électrostatiques.

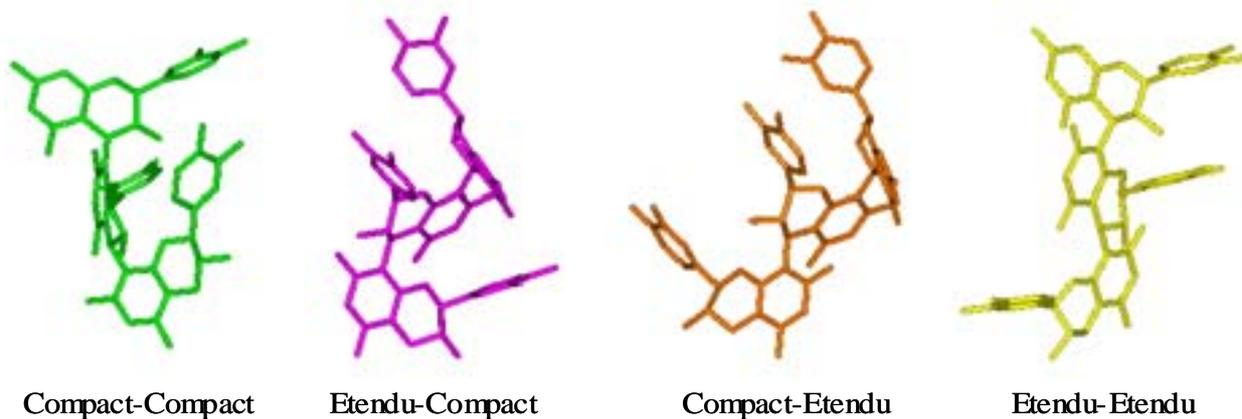
<sup>174</sup> Mohamadi F., Richards N.G.J., Guida W.C., Liskamp R., Lipton M., Caufield C., Chang G., Hendrikson T., Still W.C., *J. Comp. Chem.*, **1990**, *11*, 440-467

<sup>175</sup> Vivas N., Laguerre M., Glories Y., Bourgeois G., Vitry C., *Phytochemistry*, **1995**, *39*, 1193-1199

## Quelques résultats complémentaires pour le trimère C2

C2 : 267 conformères répartis en 9 clusters : leaders 1 (n = 75, Eq-Eq-Eq, conformère 1, Compact-Compact), 2 (n = 41, Eq-Eq-Ax, conformère 2), 10 (n = 88, Eq-Eq-Eq, conformère 1, Etendu-Compact), 13 (n = 29, Eq-Eq-Eq, conformère 1, Compact-Etendu), 46 (n = 12, Ax-Eq-Eq, conformère 3), 61 (n = 4, Eq-Ax-Eq, conformère 4), 98 (n = 10, Eq-Eq-Ax, conformère 2), 179 (n = 4, Eq-Eq-Ax, conformère 2), 199 (n = 4, Eq-Eq-Eq, conformère 1, Etendu-Etendu)

## Modélisation moléculaire des 4 rotamères du trimère C2



## Annexe 5 : Protocole général pour attribuer l'ensemble des résonances en RMN $^1\text{H}$ et $^{13}\text{C}$

La stratégie générale employée pour caractériser les procyanidines par RMN est présentée pour le dimère B3.

Après avoir distingué les systèmes de spins  $\text{H2C/H3C/H4C}$  et  $\text{H2F/H3F/H4F}\alpha/\text{H4F}\beta$  à partir du spectre TOCSY (Figure 68), le spectre HMQC nous a permis de déterminer les résonances des carbones C2, C3 et C4 pour les cycles C et F.

Sur le spectre HMBC, nous avons observé les corrélations entre les protons  $\text{H4F}\alpha$  et  $\text{H4F}\beta$  avec les carbones C2F, C3F, C4aD, C8aD et C5D. Or les carbones quaternaires substitués par un oxygène, C8aD et C5D (153,0 et 153,2 ppm), sont plus déblindés que le carbone quaternaire C4aD (101,5 ppm). L'enregistrement d'un spectre HMBC sélective a permis d'améliorer la résolution de la zone du spectre correspondant aux carbones quaternaires liés à un oxygène en excitant sélectivement les carbones entre 140 et 160 ppm (Figure 69). Il est indispensable de différencier les carbones C5D et C8aD car une corrélation entre le proton H4C et le carbone C5D caractérise une régiochimie 4-6 pour la liaison interflavane alors qu'une corrélation entre le proton H4C et le carbone C8aD caractérise une régiochimie 4-8. Les deux carbones quaternaires C5D et C8aD ont pu être différenciés grâce à l'observation d'une corrélation entre le proton H2F et le carbone C8aD. La corrélation entre le proton H4C et le carbone C8aD nous a alors permis de confirmer la régiochimie 4-8 de la liaison interflavane.

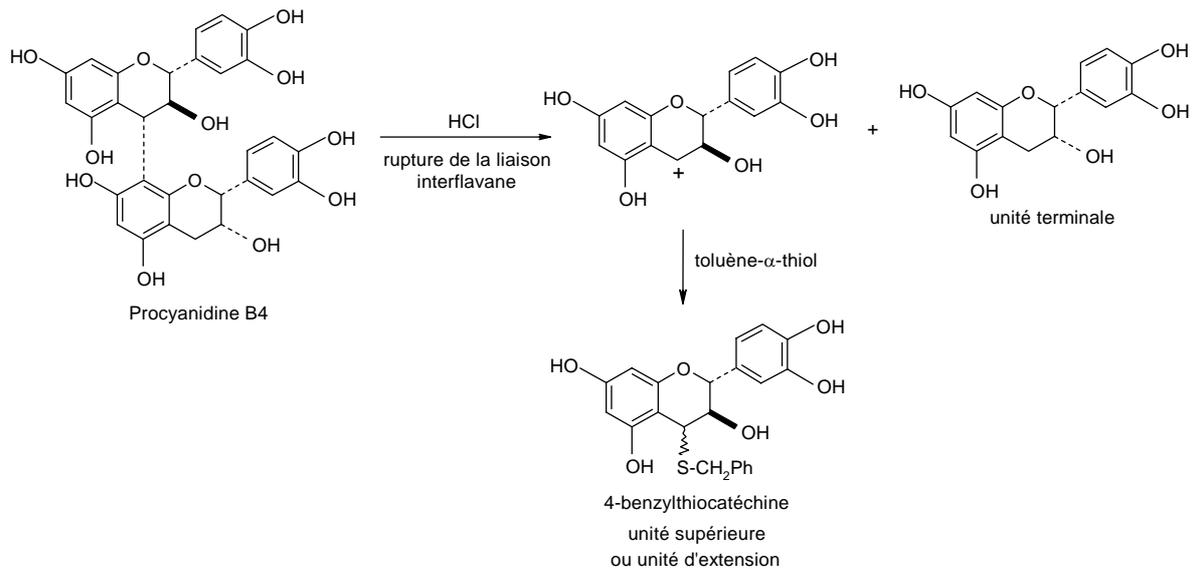
Après avoir déterminé la résonance du proton H6D grâce à la corrélation entre ce proton et le carbone C5D sur le spectre HMBC sélective, nous avons pu attribuer les résonances des carbones C6D (spectre HMQC), C7D (HMBC sélective) et C8D (HMBC).

Sur le spectre HMBC, nous avons également observé les corrélations du proton H4C avec les carbones quaternaires C4aA, C5A et C8aA : les carbones C5A et C8aA étant liés à un oxygène, ils sont plus déblindés que le carbone C4aA dont la résonance a pu être attribuée à 107,3 ppm. Comme pour l'unité inférieure, les carbones C5A et C8aA ont pu être différenciés grâce à la corrélation entre le proton H2C et le carbone C8aA sur le spectre HMBC sélective. Le proton H6A, dont la résonance a été déterminée grâce à la corrélation avec le carbone C5A sur le spectre HMBC sélective, a permis de définir les résonances des carbones C6A (HMQC), C7A (HMBC sélective) et C8A (HMBC).

Pour terminer l'attribution du dimère B3, il restait à déterminer les résonances des protons et des carbones des cycles catéchols B et E. Pour cela, le spectre HMBC a permis d'observer les corrélations entre le proton H2 (C ou F) et les carbones C1'(B ou E), C2'(B ou E) et C6'(B ou E). Les carbones C1' étant quaternaires, ils sont plus déblindés que les carbones C2' et C6'. Le spectre HMQC nous a permis de différencier les carbones C2' et C6' car les protons H6' résonnent sous forme d'un doublet de doublet alors que les protons H2' résonnent sous forme d'un doublet voire d'un singulet large. Le spectre TOCSY a permis alors d'observer les systèmes de spins H2', H5' et H6' pour les cycles catéchols B et E et d'en déduire les résonances des protons H5'B et H5'E et des carbones C5'B et C5'E par l'intermédiaire du spectre HMQC. L'attribution des résonances des carbones C3' et C4' s'est avérée quant à elle plus délicate : une corrélation entre le proton H6' et le carbone C4' permet de différencier les carbones C3' et C4' mais elle n'est pas toujours évidente à observer.

## Annexe 6 : Dégradation des procyanidines par thiolys

La thiolys est une méthode de dégradation chimique en milieu acide, basée sur la dépolymérisation en présence d'un agent nucléophile, en général le toluène- $\alpha$ -thiol ou benzylmercaptan.<sup>30,176</sup> La thiolys des proanthocyanidines conduit à la formation de flavanols, correspondant aux unités terminales, et de thioéthers, correspondant aux unités d'extension. L'exemple de la procyanidine B4 est présenté sur la figure suivante.



Cette technique peut être utilisée pour déterminer la structure d'une procyanidine non identifiée<sup>20,28</sup> (Partie 4 I.2.b.) ou pour déterminer le degré moyen de polymérisation d'un extrait de pépins ou de pellicules de raisin.<sup>28</sup>

<sup>176</sup> Guyot S., Marnet N., Laraba D., Samoner P., Drilleau J.P., *J. Agric. Food Chem.*, **1998**, 46, 1698-1705



# Références bibliographiques



- <sup>1</sup> Bate-Smith E.C., Swain T., *Flavanoid compounds in Comparative Biochemistry*; H.S. Mason, A.M. Florkin, Academic Press, New York, **1962**, 3, 755-809
- <sup>2</sup> Ribéreau-Gayon, Glories Y., Maujean A., Dubourdiou D., *Traité d'œnologie, Tome 2, Chimie du vin, Stabilisation et traitements*, Dunod, Paris, **1998**
- <sup>3</sup> Prieur C., Rigaud J., Cheynier V., Moutounet M., *Phytochemistry*, **1994**, 36, 3, 781-784
- <sup>4</sup> Ribéreau-Gayon P., *Ann. Physiol. Vég.*, **1964**, 6, 3, 211-242
- <sup>5</sup> Souquet J.M., Cheynier V., Brossaud F., Moutounet M., *Phytochemistry*, **1996**, 43, 2, 509-512
- <sup>6</sup> Souquet J.M., Labarbe B., Le Guernevé C., Cheynier V., Moutounet M., *J. Agric. Food Chem.*, **2000**, 48, 1076-1080
- <sup>7</sup> De Freitas V.A.P., Glories Y., *J. Sci. Food Agric.*, **1999**, 79, 1601-1606
- <sup>8</sup> Fuleki T., Ricardo da Silva J.M., *J. Agric. Food Chem.*, **2003**, 51, 640-646
- <sup>9</sup> Kovac V., Alonso E., Bourzeix M., Revilla E., *J. Agric. Food Chem.*, **1992**, 40, 1953-1957
- <sup>10</sup> Nakao M., Takio S., Ono K., *Phytochemistry*, **1998**, 49, 8, 2379-2382
- <sup>11</sup> Saint-Cricq de Gaulejac N., Provost C., Vivas N., *J. Agric. Food Chem.*, **1999**, 47, 425-431
- <sup>12</sup> Soleas G.J., Diamandis E.P., Goldberg D.M., *J. Clin. Lab. An.*, **1997**, 11, 287-313
- <sup>13</sup> Frankel E.N., German J.B., Kinsella J.E., Parks E., Kanner J., *Lancet*, **1993**, 341, 454-457
- <sup>14</sup> Renaud S., de Lorgeril M., *Lancet*, **1992**, 339, 1523-1526
- <sup>15</sup> Okuda T., Yoshida T., Hatano T., *Phytochemistry*, **1993**, 32, 3, 507-521
- <sup>16</sup> Haslam E., *J. Nat. Prod.*, **1996**, 59, 205-215
- <sup>17</sup> Masson G., Puech J.L., Moutounet M., *Bull. O.I.V.*, **1996**, 69, 635-657
- <sup>18</sup> Haslam E., Cai Y., *Nat. Prod. Rep.*, **1994**, 11, 41-66
- <sup>19</sup> De Freitas V.A.P., Glories Y., Bourgeois G., Vitry C., *Phytochemistry*, **1998**, 49, 5, 1435-1441
- <sup>20</sup> Santos-Buelga C., Francia-Aricha E.M., Escribano-Bailon M.T., *Food Chem.*, **1995**, 53, 197-201
- <sup>21</sup> Weinges K., Kaltenhauser W., Marx H.D., Nader E., Nader F., Perner J., Seiler D., *Liebigs Ann. Chem.*, **1968**, 711, 184-204
- <sup>22</sup> De Freitas V.A.P., Glories Y., Monique A., *Am. J. Enol. Vitic.*, **2000**, 51, 4, 397-403
- <sup>23</sup> Vivas N., Glories Y., Pianet I., Barbe B., Laguerre M., *Tetrahedron Lett.*, **1996**, 37, 2015-2018
- <sup>24</sup> Guyot S., Vercauteren J., Cheynier V., *Phytochemistry*, **1996**, 42, 1279-1288
- <sup>25</sup> Romanczyk L.J., Basak A., Townsend C.A., *PCT Int. Appl.*, Mars Incorporated, US, WO 0063201, **2000**, 64p
- <sup>26</sup> Tückmantel W., Kozikowski A.P., Romanczyk L.J., *PCT Int. Appl.*, Mars Incorporated, US, WO 0061547, **2000**, 19p
- <sup>27</sup> Beauhaire J., Es-Safi N.E., Boyer F.D., Kerhoas L., Le Guernevé C., Ducrot P.H., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2005**, 15, 559-562

- <sup>28</sup> Ricardo da Silva J.M., Cheynier V., Rigaud J., Cheminat A., Moutounet M., *Phytochemistry*, **1991**, 30, 4, 1259-1264
- <sup>29</sup> Cheynier V., Prieur C., Guyot S., Rigaud J., Moutounet M., *ACS Symposium Series*, **1997**, 661, 81-93
- <sup>30</sup> Souquet J.M., Cheynier V., Moutounet M., *Bull. O.I.V.*, **2000**, 73, 601-609
- <sup>31</sup> Haslam E., *Phytochemistry*, **1980**, 19, 2577-2592
- <sup>32</sup> Romano P., Suzzi G., Turbanti L., Polsinelli M., *FEMS Microbiology Lett.*, **1994**, 118, 213-218
- <sup>33</sup> Wildenradt H.L., Singleton V.L., *Am. J. Enol. Vitic.*, **1974**, 25, 2, 119-126
- <sup>34</sup> Timberlake C.F., Bridle P., *Am. J. Enol. Vitic.*, **1976**, 27, 3, 97-105
- <sup>35</sup> Fulcrand H., Doco T., Es-Safi N.E., Cheynier V., *J. Chromatogr. A*, **1996**, 752, 85-91
- <sup>36</sup> Saucier C., Bourgeois G., Vitry C., Roux D., Glories Y., *J. Agric. Food Chem.*, **1997**, 45, 1045-1049
- <sup>37</sup> Saucier C., Guerra C., Pianet I., Laguerre M., Glories Y., *Phytochemistry*, **1997**, 46, 229-234
- <sup>38</sup> Saucier C., Little D., Glories Y., *Am. J. Enol. Vitic.*, **1997**, 48, 3, 369-373
- <sup>39</sup> Fulcrand H., Cheynier V., Oszmianski J., Moutounet M., *Phytochemistry*, **1997**, 46, 223-227
- <sup>40</sup> Es-Safi N.E., Le Guernevé C., Fulcrand H., Cheynier V., Moutounet M., *J. Agric. Food Chem.*, **1999**, 47, 5211-5217
- <sup>41</sup> Es-Safi N.E., Le Guernevé C., Labarbe B., Fulcrand H., Cheynier V., Moutounet M., *Tetrahedron Lett.*, **1999**, 40, 5869-5872
- <sup>42</sup> Es-Safi N.E., Le Guernevé C., Cheynier V., Moutounet M., *J. Agric. Food Chem.*, **2000**, 48, 4233-4240
- <sup>43</sup> Jurd L., *Am. J. Enol. Vitic.*, **1969**, 20, 191-195
- <sup>44</sup> Somers T.C., *Phytochemistry*, **1971**, 10, 2175-2186
- <sup>45</sup> Liao H., Cai Y., Haslam E., *J. Sci. Food Agric.*, **1992**, 59, 299-305
- <sup>46</sup> Baranowski J.D., Nagel C.W., *J. Food Sci.*, **1983**, 48, 419-421
- <sup>47</sup> Remy-Tanneau S., Le Guernevé C., Meudec E., Cheynier V., *J. Agric. Food Chem.*, **2003**, 51, 12, 3592-3597
- <sup>48</sup> Escribano-Bailón T., Dangles O., Brouillard R., *Phytochemistry*, **1996**, 41, 6, 1583-1592
- <sup>49</sup> Es-Safi N.E., Fulcrand H., Cheynier V., Moutounet M., *J. Agric. Food Chem.*, **1999**, 47, 2096-2102
- <sup>50</sup> Dallas C., Ricardo da Silva J.M., Laureano O., *J. Agric. Food Chem.*, **1996**, 44, 2402-2407
- <sup>51</sup> Guerra C., Saucier C., Bourgeois G., Vitry C., Busto O., Glories Y., *In Vino Analytica Scientia*, Soc. Fr. Chim. Anal. Ed., **1997**, 1, 124-127
- <sup>52</sup> Francia-Aricha E.M., Guerra M.T., Rivas-Gonzalo J.C., Santos-Buelga C., *J. Agric. Food Chem.*, **1997**, 45, 2262-2266

- <sup>53</sup> Mateus N., Pascual-Teresa S., Rivas-Gonzalo J.C., Santos-Buelga C., De Freitas V.A.P., *Food Chem.*, **2002**, 76, 335-342
- <sup>54</sup> Mateus N., Carvalho E., Carvalho A.R.F., Melo A., González-Paramás M., Santos-Buelga C., Silva A.M.S., De Freitas V., *J. Agric. Food Chem.*, **2003**, 51, 1, 277-282
- <sup>55</sup> Fulcrand H., Cameira dos Santos P.J., Sarni-Manchado P., Cheynier V., Bonvin J.F., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1996**, 735-739
- <sup>56</sup> Quideau S., Jourdes M., Saucier C., Glories Y., Pardon P., Baudry C., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2003**, 42, 48, 6012-6014
- <sup>57</sup> Saucier C., *Thèse de l'Université Bordeaux II*, **1997**
- <sup>58</sup> Lagune L., *Thèse de l'Université Bordeaux II*, **1994**
- <sup>59</sup> Hagerman A.E., Butler L.G., *J. Agric. Food Chem.*, **1980**, 28, 944-947
- <sup>60</sup> Hagerman A.E., Butler L.G., *J. Biol. Chem.*, **1981**, 256, 4494-4497
- <sup>61</sup> Luck G., Liao H., Murray N.J., Grimmer H.R., Warminski E.E., Williamson M.P., Lilley T.H., Haslam E., *Phytochemistry*, **1994**, 37, 2, 357-371
- <sup>62</sup> Bate-Smith E.C., *Food*, **1954**, 23, 124-135
- <sup>63</sup> Haslam E., *J. Chem. Soc., Chem. Comm.*, **1981**, 309-311
- <sup>64</sup> Charlton A.J., Baxter N.J., Khan M.L., Moir A.J.G., Haslam E., Davies A.P., Williamson M.P., *J. Agric. Food Chem.*, **2002**, 50, 6, 1593-1601
- <sup>65</sup> Asano K., Shinagawa K., Hashimoto N., *Am. Soc. Brew. Chem.*, **1982**, 40, 4, 147-154
- <sup>66</sup> Haslam E., *Biochem. J.*, **1974**, 139, 285-288
- <sup>67</sup> Simon C., Barathieu K., Laguerre M., Schmitter J.M., Fouquet E., Pianet I., Dufourc E.J., *Biochemistry*, **2003**, 42, 35, 10385-10395
- <sup>68</sup> Oh H.I., Hoff J.E., Armstrong G.S., Haff L.A., *J. Agric. Food Chem.*, **1980**, 28, 394-398
- <sup>69</sup> Murray N.J., Williamson M.P., Lilley T.H., Haslam E., *Eur. J. Biochem.*, **1994**, 219, 923-935
- <sup>70</sup> Charlton A.J., Baxter N.J., Lilley T.H., Haslam E., McDonald C.J., Williamson M.P., *FEBS Letters*, **1996**, 382, 289-292
- <sup>71</sup> Okuda T., Mori M., Hatano T., *Chem. Pharm. Bull.*, **1985**, 33, 4, 1424-1433
- <sup>72</sup> Kawamoto H., Nakatsubo F., Murakami K., *J. Wood Chem. Technol.*, **1990**, 10, 1, 59-74
- <sup>73</sup> Lea A.G.H., *Plant Polyphenols : Synthesis, Properties, Significance*, Eds Hemingway R.W., Laks P.E., **1992**
- <sup>74</sup> McManus J.P., Davies K.G., Beart J.E., Gaffney S.H., Lilley T.H., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **1985**, 1429-1438
- <sup>75</sup> Kawamoto H., Nakatsubo F., Murakami K., *Mokuzai Gakkaishi*, **1991**, 37, 8, 741-747
- <sup>76</sup> De Freitas V., Mateus N., *J. Agric. Food Chem.*, **2001**, 49, 940-945
- <sup>77</sup> Roux D.G., Ferreira D., *Pure and Appl. Chem.*, **1982**, 54, 12, 2465-2478
- <sup>78</sup> Weinges K., Marx H.D., Göritz K., *Chem. Ber.*, **1970**, 103, 2336-2343
- <sup>79</sup> Jurd L., Lundin R., *Tetrahedron*, **1968**, 24, 2653-2661

- <sup>80</sup> Thompson R.S., Jacques D., Haslam E., Tanner R.J.N., *J. Chem. Soc., Perkin Trans 1*, **1972**, 1387-1399
- <sup>81</sup> Foo L.Y., Porter L.J., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1983**, 1535-1543
- <sup>82</sup> Fletcher A.C., Porter L.J., Haslam E., Gupta R.K., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1977**, 1628-1637
- <sup>83</sup> Viswanadhan V.K.N., Mattice W.L., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **1987**, 739-743
- <sup>84</sup> Balas L., *Thèse de l'Université Bordeaux II*, **1992**
- <sup>85</sup> Balas L., Vercauteren J., *Magn. Reson. Chem.*, **1994**, 32, 386-393
- <sup>86</sup> Steynberg J.P., Brandt E.V., Hoffman M.J.H., Hemingway R.W., Ferreira D., *Plant Polyphenols : Synthesis, Properties, Significance*, Eds Hemingway R.W., Laks P.E., Plenum Press, New York, **1992**, p 501-520
- <sup>87</sup> Porter L.J., Wong R.Y., Benson M., Chan B.G., Vishwanadhan V.N., Gandour R.D., Mattice W.L., *J. Chem. Research (S)*, **1986**, 86-87
- <sup>88</sup> Hatano T., Hemingway R.W., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **1997**, 1035-1043
- <sup>89</sup> Barathieu K., *Thèse de l'Université Bordeaux 1*, **2002**
- <sup>90</sup> Geissman T.A., Yoshimura N.N., *Tetrahedron Lett.*, **1966**, 24, 2669-2673
- <sup>91</sup> Delcour J.A., Ferreira D., Roux D.G., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1983**, 1711-1717
- <sup>92</sup> Botha J.J., Viviers P.M., Young D.A., Du Preez I.C., Ferreira D., Roux D.G., Hull W.E., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1982**, 527-533
- <sup>93</sup> Young D.A., Cronjé A., Botes A.L., Ferreira D., Roux D.G., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1985**, 2521-2527
- <sup>94</sup> Steynberg P.J., Nel R.J.J., Van Rensburg H., Bezuidenhout B.C.B., Ferreira D., *Tetrahedron*, **1998**, 54, 8153-8158
- <sup>95</sup> Hemingway R.W., Foo L.Y., *J. Chem. Soc., Chem. Comm.*, **1983**, 18, 1035-1036
- <sup>96</sup> Foo L.Y., Hemingway R.W., *J. Chem. Soc., Chem. Comm.*, **1984**, 2, 85-86
- <sup>97</sup> Sears K.D., Casebier R.L., Hergert H.L., *J. Org. Chem.*, **1974**, 39, 22, 3244-3247
- <sup>98</sup> Kiatgrajai P., Wellons J.D., Gollob L., White J.D., *J. Org. Chem.*, **1982**, 47, 2910-2912
- <sup>99</sup> Kennedy J.A., Munro M.H.G., Powell H.K.L., Porter L.J., Foo L.Y., *Aust. J. Chem.*, **1984**, 37, 885-892
- <sup>100</sup> Kiehlmann E., Van der Merwe P.J., Hundt H.K.L., *Org. Prep. Proc. Int.*, **1983**, 15, 5, 341-348
- <sup>101</sup> Slabbert N.P., *Tetrahedron*, **1977**, 33, 821-824
- <sup>102</sup> Sweeny J.G., Iacobucci G.A., *J. Org. Chem.*, **1979**, 44, 2298-2299
- <sup>103</sup> Kiehlmann E., Lehto N., Cherniwchan D., *Can. J. Chem.*, **1988**, 66, 2431-2439
- <sup>104</sup> Kawamoto H., Tanaka N., Nakatsubo F., Murakami K., *Mokuzai Gakkaishi*, **1993**, 39, 7, 820-824
- <sup>105</sup> Kawamoto H., Nakatsubo F., Murakami K., *Mokuzai Gakkaishi*, **1991**, 37, 5, 488-493
- <sup>106</sup> Ganguli A.K., Seshadri T.R., Subramanian F.A., Subramanian P., *Proc. Indian Acad. Sc.*, **1957**, 56, 25-28

- <sup>107</sup> Incremona J.H., Martin J.C., *J. Am. Chem. Soc.*, **1970**, 92, 3, 627-631
- <sup>108</sup> Bhatt M.V., Perumal P.T., *Tetrahedron Lett.*, **1981**, 22, 2605-2608
- <sup>109</sup> Mouton C.H.L., Steenkamp J.A., Young D.A., Bezuidenhoudt B.C.B., Ferreira D., *Tetrahedron*, **1990**, 46, 12, 6885-6894
- <sup>110</sup> Betts M.J., Brown B.R., Shaw M.R., *J. Chem. Soc. (C)*, **1969**, 1178-1184
- <sup>111</sup> Steenkamp J.A., Ferreira D., Roux D.G., *Tetrahedron Lett.*, **1985**, 26, 25, 3045-3048
- <sup>112</sup> Steenkamp J.A., Mouton C.H.L., Ferreira D., *Tetrahedron*, **1991**, 47, 33, 6705-6716
- <sup>113</sup> Es-Safi N.E., Kerhoas L., Ducrot P.H., résultats non publiés
- <sup>114</sup> Tückmantel W., Kozikowski A.P., Romanczyk L.J., *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, 121, 12073-12081
- <sup>115</sup> Saito A., Nakajima N., Tanaka A., Ubukata M., *Tetrahedron*, **2002**, 58, 7829-7837
- <sup>116</sup> Weinges K., Perner J., *Chem. Comm.*, **1967**, 7, 351
- <sup>117</sup> Kozikowski A.P., Tückmantel W., Hu Y., *J. Org. Chem.*, **2001**, 66, 1287-1296
- <sup>118</sup> Arnaudinaud V., Nay B., Verger S., Nuhrich A., Deffieux G., Mérillon J.M., Monti J.P., Vercauteren J., *Tetrahedron Lett.*, **2001**, 42, 5669-5671
- <sup>119</sup> Kozikowski A.P., Tückmantel W., Böttcher G., Romanczyk Jr. L.J., *J. Org. Chem.*, **2003**, 68, 5, 1641-1658
- <sup>120</sup> Saito A., Nakajima N., Matsuura N., Tanaka A., Ubukata M., *Heterocycles*, **2004**, 62, 479-489
- <sup>121</sup> Saito A., Mizushina Y., Ikawa H., Yoshida H., Doi Y., Tanaka A., Nakajima N., *Bioorg. Med. Chem.*, **2005**, 13, 2759-2771
- <sup>122</sup> Saito A., Tanaka A., Ubukata M., Nakajima N., *Synlett*, **2004**, 6, 1069-1073
- <sup>123</sup> Saito A., Nakajima N., Tanaka A., Ubukata M., *Heterocycles*, **2003**, 61, 287-298
- <sup>124</sup> Saito A., Nakajima N., Tanaka A., Ubukata M., *Tetrahedron Lett.*, **2003**, 44, 5449-5452
- <sup>125</sup> Weinges K., Seiler D., *Liebigs Ann. Chem.*, **1968**, 714, 193-204
- <sup>126</sup> Miura S., Midorikawa T., Awata N., *Radioisotopes*, **1983**, 32, 225-230
- <sup>127</sup> Buffnoir S., *Thèse de l'Université de Paris VI*, **1998**
- <sup>128</sup> Kawamoto H., Nakatsubo F., Murakami K., *Synth. Comm.*, **1996**, 26, 3, 531-534
- <sup>129</sup> Lemaire M., Guy A., Imbert D., Guetté J.P., *J. Chem. Soc., Chem. Comm.*, **1986**, 741-742
- <sup>130</sup> McGraw G.W., Hemingway R.W., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1982**, 973-978
- <sup>131</sup> Hundt H.K.L., Roux D.G., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1981**, 1227-1234
- <sup>132</sup> Engel D.W., Hattingh M., Hundt H.K.L., Roux D.G., *J. Chem. Soc., Chem. Comm.*, **1978**, 695-696
- <sup>133</sup> Nonaka G.I., Morimoto S., Nishioka I., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1983**, 2139-2145
- <sup>134</sup> Node M., Kawabata T., Fujita E., Fuji K., *Bull. Inst. Chem. Res.*, **1985**, 63, 2, 47-51
- <sup>135</sup> Malmström J., Gupta V., Engman L., *J. Org. Chem.*, **1998**, 63, 3318-3323
- <sup>136</sup> Marques C.A., Selva M., Tundo P., *J. Org. Chem.*, **1994**, 59, 3830-3837

- <sup>137</sup> Marques C.A., Rogozhnikova O., Selva M., Tundo P., *J. Mol. Catal. A*, **1995**, 96,301-309
- <sup>138</sup> Wei B., Li S., Lee H.K., Hor T.S.A., *J. Mol. Catal. A*, **1997**, 126, L83-L88
- <sup>139</sup> Felix A.M., Heimer E.P., Lambros T.J., Tzougraki C., Meienhofer J., *J. Org. Chem.*, **1978**, 43, 21, 4194-4196
- <sup>140</sup> Deme E., *J. Org. Chem.*, **1976**, 41, 23, 3769
- <sup>141</sup> Yoneda S., Kawamoto H., Nakatsubo F., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1997**, 1025-1030
- <sup>142</sup> Arnaudinaud V., Nay B., Nuhrich A., Deffieux G., Mérillon J.M., Monti J.P., Vercauteren J., *Tetrahedron Lett.*, **2001**, 42, 1279-1281
- <sup>143</sup> Sajiki H., Kume A., Hattori K., Hirota K., *Tetrahedron Lett.*, **2002**, 43, 7247-7250
- <sup>144</sup> Sajiki H., Kume A., Hattori K., Nagase H., Hirota K., *Tetrahedron Lett.*, **2002**, 43, 7251-7254
- <sup>145</sup> Altona C.V., Haasnoot C.A.G., de Leuw F.A.A.M., *Tetrahedron*, **1980**, 36, 2783- 2792
- <sup>146</sup> Balas L. Vercauteren J. Laguerre M., *Magn. Reson. Chem.*, **1995**, 33, 85-94
- <sup>147</sup> Rigaud J., Escribano-Bailon M.T., Prieur C., Souquet J.M., Cheynier V., *J. Chromatogr. A*, **1993**, 654, 255-260
- <sup>148</sup> Karadeniz F., Durst R.W., Wrolstad R.E., *J. Agric. Food Chem.*, **2000**, 48, 5343-5350
- <sup>149</sup> Saucier C., Mirabel M., Daviaud F., Longieras A., Glories Y., *J. Agric. Food Chem.*, **2001**, 49, 5732-5735
- <sup>150</sup> Kennedy J.A., Waterhouse A.L., *J. Chromatogr. A*, **2000**, 866, 25-34
- <sup>151</sup> Monagas M., Gómez-Cordovés C., Bartolomé B., Laureano O., Ricardo da Silva J.M., *J. Agric. Food Chem.*, **2003**, 51, 6475-6481
- <sup>152</sup> Vivas N., Nonier M.F., Vivas de Gaulejac N., Absalon C., Bertrand A., Mirabel M., *Analytica Chimica Acta*, **2004**, 513, 247-256
- <sup>153</sup> De Freitas V.A.P., *Thèse de l'Université Bordeaux II*, **1995**
- <sup>154</sup> Jayaprakasha G.K., Selvi T., Sakariah K.K., *Food Res. Int.*, **2003**, 36, 117-122
- <sup>155</sup> Fulcrand H., Remy S., Souquet J.M., Cheynier V., Moutounet M., *J. Agric. Food Chem.*, **1999**, 47, 1023-1028
- <sup>156</sup> Soleas G.J., Dam J., Carey M., Goldberg D.M., *J. Agric. Food Chem.*, **1997**, 45, 3871-3880
- <sup>157</sup> Jaworski A.W., Lee C.Y., *J. Agric. Food Chem.*, **1987**, 35, 257-259
- <sup>158</sup> Ricardo da Silva J.M., Rosec J.P., Bourzeix M. Heredia N., *J. Sci. Food Agric.*, **1990**, 53, 85-92
- <sup>159</sup> Escribano-Bailón T., Gutiérrez-Fernández Y., Rivas-Gonzalo J.C., Santos-Buelga C., *J. Agric. Food Chem.*, **1992**, 40, 1794-1799
- <sup>160</sup> Sun B., Belchior G.P., Ricardo da Silva J.M., Spranger M.I., *J. Chromatogr. A*, **1999**, 841, 115-121
- <sup>161</sup> Hammerstone J.F., Lazarus S.A., Mitchell A.E., Rucker R., Schmitz H.H., *J. Agric. Food Chem.*, **1999**, 47, 490-496

- <sup>162</sup> Lazarus S.A., Adamson G.E., Hammerstone J.F., Schmitz H.H., *J. Agric. Food Chem.*, **1999**, *47*, 3693-3701
- <sup>163</sup> Svedström U., Vuorela H., Kostianen R., Huovinen K., Laakso I., Hiltunen R., *J. Chromatogr. A*, **2002**, *968*, 53-60
- <sup>164</sup> Es-Safi N.E., Fulcrand H., Cier V., Moutounet M., *J. Agric. Food Chem.*, **1999**, *47*, 2088-2095
- <sup>165</sup> Fuleki T., Ricardo da Silva J.M., *J. Agric. Food Chem.*, **1997**, *45*, 1156-1160
- <sup>166</sup> Rouessac F., Rouessac A., *Analyse chimique. Méthodes et techniques instrumentales modernes*, Dunod, Paris, **1998**
- <sup>167</sup> Burchat A.F., Chong J.M., Nielsen N., *J. Organomet. Chem.*, **1997**, *542*, 281-283
- <sup>168</sup> Venencie C., Uveira M.N., Guiet S., *Rev. Fr. Oenol.*, **1997**, *167*, 36-41
- <sup>169</sup> Nay B., Monti J.P., Nuhrich A., Deffieux G., Mérillon J.M., Vercauteren J., *Tetrahedron Lett.*, **2000**, *41*, 9049-9051
- <sup>170</sup> Brouillard R., Lang J., *Can. J. Chem.*, **1990**, *68*, 755-761
- <sup>171</sup> Nonier M.F., Pianet I., Laguerre M., Vivas N., Vivas de Gaulejac N., *Anal. Chim. Acta*, **2005**, sous presse
- <sup>172</sup> Chang G., Guida W.C., Still W.C., *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, *111*, 4379-4386
- <sup>173</sup> Saunders M., Houk K.N., Wu Y.D., Still W.C., Lipton M., Chang G., Guida W.C., *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, *112*, 1419-1427
- <sup>174</sup> Mohamadi F., Richards N.G.J., Guida W.C., Liskamp R., Lipton M., Caufield C., Chang G., Hendrikson T., Still W.C., *J. Comp. Chem.*, **1990**, *11*, 440-467
- <sup>175</sup> Vivas N., Laguerre M., Glories Y., Bourgeois G., Vitry C., *Phytochemistry*, **1995**, *39*, 1193-1199
- <sup>176</sup> Guyot S., Marnet N., Laraba D., Samoner P., Drilleau J.P., *J. Agric. Food Chem.*, **1998**, *46*, 1698-1705



## **Synthèse et caractérisation de procyanidines oligomères pour l'identification de tanins du raisin et du vin**

**Résumé :** Les tanins condensés, qui correspondent à des oligomères et à des polymères de flavan-3-ols liés par des liaisons interflavanes C4-C6 et/ou C4-C8, jouent un rôle important en œnologie pour la qualité et les caractéristiques organoleptiques des vins (couleur, saveur). A terme, une caractérisation complète de ces tanins extraits des baies de raisin permettra une meilleure compréhension des relations existant entre leurs structures et leurs propriétés, en particulier pour l'astringence qui résulte de l'interaction entre les tanins et les protéines de la salive. Pour cela, cinq procyanidines oligomères (les dimères B3 et B4, les trimères C2 et Cat-Cat-Epi, le tétramère Cat-Cat-Cat-Cat) ont été synthétisées à partir de la catéchine et de l'épicatéchine par couplage cationique entre une unité flavane dont les fonctions phénols ont été préalablement protégées (unité nucléophile) et une unité flavane protégée, activée en position 4 et bloquée en position 8 (unité électrophile). Le blocage temporaire de la position 8 nous a permis de travailler en quantités stoechiométriques et de contrôler le degré d'oligomérisation. Cette nouvelle méthode de synthèse itérative qui nous a également permis de contrôler la régiochimie et la stéréochimie des liaisons interflavanes est donc parfaitement adaptée à l'obtention sélective d'oligomères. Après avoir caractérisé ces procyanidines de synthèse par RMN et par modélisation moléculaire, leur injection en chromatographie liquide haute performance nous a permis d'identifier les tanins correspondants dans des extraits de pépins de raisin.

**Mots clés :** procyanidines, synthèse, couplage cationique, blocage temporaire, résonance magnétique nucléaire, chromatographie liquide haute performance, coinjection, pépins de raisin.

## **Synthesis and characterization of oligomer procyanidins to identify grape and wine tannins.**

**Summary :** Condensed tannins which are oligomers and polymers of flavan-3-ols linked through C4-C6 and/or C4-C8 interflavanoid bonds play a key role in enology as well as for the quality as for the organoleptic properties of wines (color, flavour). A complete characterization of these tannins extracted from solid part of grape berries is essential to understand the relationship between their structures and their properties, in particular for the astringency which results from interactions between tannins and salivary proteins. For this reason, five oligomeric procyanidins (the B3 and B4 dimers, the C2 and Cat-Cat-Epi trimers, the Cat-Cat-Cat-Cat tetramer) have been synthesized from catechin and epicatechin by cationic way between a protected flavan unit (the nucleophilic moiety) and a protected unit which is both oxidized at the C4 position and protected in the C8 position (the electrophilic moiety). Blocking temporarily the C8 position allowed us to carry out the coupling step under stoichiometric conditions and to control the oligomerization degree. This new efficient iterative methodology which also allows a perfect control of the interflavan regio- and stereochemistry can be easily extended to the synthesis of oligomers higher than trimers. After characterization by NMR and molecular modelling calculations, these synthetic procyanidins have been used as HPLC standards in order to identify tannins present in grape seeds extracts.

**Keywords:** procyanidins, synthesis, cationic coupling, temporary blocking, nuclear magnetic resonance, high performance liquid chromatography, coinjection, grape seeds.