

Université de Neuchâtel
Faculté des Sciences

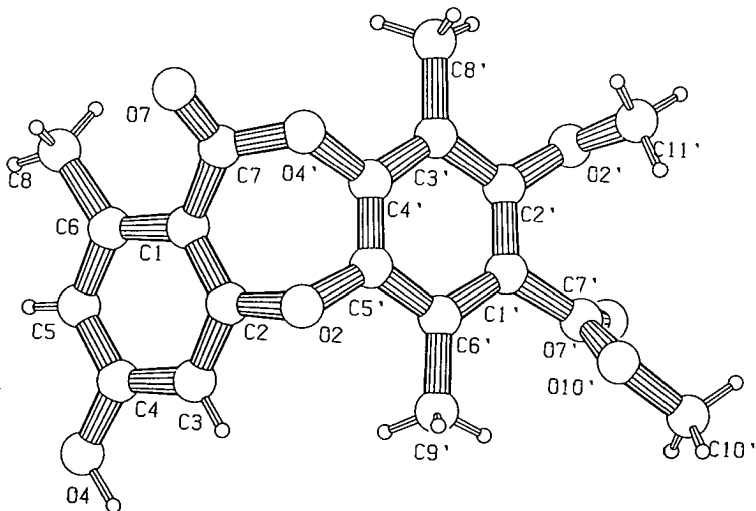
Etude phytochimique de "*Bryoria fuscescens*" (Gyelnik) Brodo & D. Hawksw

Synthèse de depsidones comportant un cycle hydroxyphthalide

Thèse présentée à la faculté des sciences par

Mafalda Rama

*Chimiste diplômée de l'Université de Neuchâtel
pour l'obtention du grade de Docteur ès sciences*



Université de Neuchâtel
Faculté des Sciences

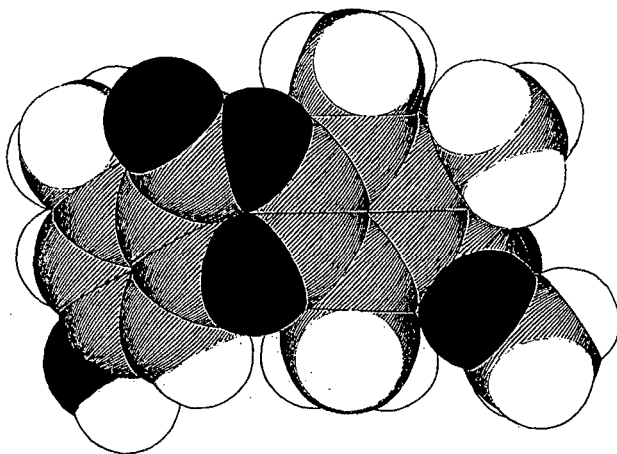
Etude phytochimique de "Bryoria fuscescens "
(Gyelnik) Brodo & D. Hawksw

Synthèse de depsidones comportant un cycle
hydroxyphtalide

Thèse présentée à la faculté des sciences par

Mafalda Rama

*Chimiste diplômée de l'Université de Neuchâtel
pour l'obtention du grade de Docteur ès sciences*



SCHEKAL

IMPRIMATUR POUR LA THÈSE

**Etude phytochimique de "*Bryoria fuscescens*"
(Gyelnik) Brodo & D. Hawksw
Synthèse de depsidones comportant un cycle
hydroxyphthalide**

de Mme Mafalda Rama

UNIVERSITÉ DE NEUCHÂTEL
FACULTÉ DES SCIENCES

La Faculté des sciences de l'Université de
Neuchâtel sur le rapport des membres du jury,

MM. R. Tabacchi (directeur de thèse),
R. Deschenaux et U. Burger (Genève)

autorise l'impression de la présente thèse.

Neuchâtel, le 6 janvier 1998

Le doyen:



F. Stoeckli

A Mammina cara
e Papparino bello

Ce travail de recherche a été effectué d'avril 1993 à octobre 1997, dans les laboratoires de Chimie Organique Analytique de l'Université de Neuchâtel, sous la direction de Monsieur le Professeur Raffaele Tabacchi. Je le remercie chaleureusement de m'avoir accueillie dans son groupe et je lui suis profondément reconnaissante de la confiance et de la liberté qu'il m'a accordées tout au long de ces quatre années.

Je tiens également à remercier:

Messieurs les Professeurs U. Burger de l'Université de Genève et R. Deschenaux de l'Université de Neuchâtel d'avoir accepté de juger ce travail.

Tous les membres du groupe pour leur soutien et leur bonne humeur.

Madame le Professeur H. Stoeckli-Evans et son groupe pour les mesures aux rayons X.

Monsieur le Docteur S. Claude pour les excellentes mesures de RMN.

Tous mes collègues non-chimistes de l'institut pour les discussions très animées sur la vie actuelle.

Tous mes amis qui m'ont soutenue dans les moments difficiles.

Les quatre volées de chimistes de 3ème année pour les bons moments passés au laboratoire.

A l'équipe des sports de l'Université de Neuchâtel qui m'a permis de garder un bon équilibre physique et psychologique.

L'Etat de Neuchâtel de m'avoir accordé un poste d'assistante.

Et "last but not least" mes parents qui ont toujours cru en moi.

TABLE DES MATIERES

CHAPITRE 1

1	Introduction	1
1.1	But du travail	1
1.2	Qu'est-ce qu'un lichen?	1
1.3	Les composés lichéniques en général	5
1.4	Les depsides et depsidones	9
1.4.1	<u>Les depsides</u>	9
1.4.2	<u>Les depsidones</u>	11
1.4.3	<u>Les depsidones contenant un cycle hydroxyphtalide</u>	13
1.5	Méthodes de séparation et d'identification	16
1.5.1	<u>Extraction</u>	16
1.5.2	<u>Tests colorés</u>	16
1.5.3	<u>Spectroscopie RMN</u>	17
1.5.4	<u>Chromatographie sur couche mince (CCM)</u>	18
1.5.5	<u>Chromatographie liquide à haute performance (HPLC)</u>	18
1.5.6	<u>Chromatographie en phase gazeuse (GC)</u>	19
1.5.7	<u>Dérivation</u>	19
1.5.8	<u>Clivage de depsides</u>	20

CHAPITRE 2

2	Etude phytochimique de <i>Bryoria fuscescens</i> (Gyelnik) Brodo & D. Hawksw	21
2.1	Introduction	21
2.2	Extraction de <i>Bryoria fuscescens</i>	21
2.2.1	<u>Extrait à l'hexane</u>	22

2.2.2	<u>Extrait à l'éther</u>	22
2.3	Séparation et identification des composés extraits	22
2.3.1	<u>Traitement de l'extrait à l'hexane</u>	23
	β-orcinolcarboxylate de méthyle	24
	Acides gras	26
	Peroxyde d'ergostérol	29
2.3.2	<u>Traitement de l'extrait à l'éther</u>	31
	Acide norstictique	32
	Acide fumarprotocétrarique	37
	Acide psoromique	40

CHAPITRE 3

3	Etude de composés lichéniques par HPLC	45
3.1	Introduction	45
3.1.1	<u>Données techniques</u>	46
3.1.2	<u>Extraction de <i>Solorina crocea</i></u>	47
3.2	Mesures	48

CHAPITRE 4

4	Etude de l'acide fumarprotocétrarique par MS/MS	51
4.1	Introduction	51
4.1.1	<u>L'électrospray</u>	51
4.1.2	<u>Le "quadripôle ion trap" ou quistor</u>	54
4.1.3	<u>Spectrométrie de masse "en tandem" dans l'ion trap</u>	56
4.2	Fragmentation de l'acide fumarprotocétrarique	57
4.2.1	<u>MS²</u>	58

4.2.2	<u>MS</u> n=3 à 6	62
-------	-------------------	----

CHAPITRE 5

5	Synthèse de depsidones contenant un cycle hydroxyphthalide	67
5.1	Introduction	67
5.2	Synthèses de depsidones	68
5.2.1	<u>Couplage oxydatif d'une benzophénone</u>	68
5.2.2	<u>Réarrangement de <i>Smiles</i></u>	74
5.2.3	<u>La réaction de <i>Ullmann</i></u>	75
5.3	Voies de synthèse tentées par <i>Pulgarin</i> [42] et <i>Hareed</i> [43]	76
5.3.1	<u>Par couplage oxydatif d'une benzophénone</u>	76
5.3.2	<u>Par réarrangement de <i>Smiles</i></u>	78
5.3.3	<u>La réaction de <i>Ullmann</i></u>	79
5.4	Protections et régénérations	80
5.4.1	<u>Protection et régénération des fonctions phénoliques</u>	80
5.4.2	<u>Formylation</u>	82
	- La réaction de <i>Duff</i>	82
	- Oxydation des aldéhydes	82
5.5	Bromation radicalaire	83
5.6	Nouvelle stratégie de synthèse mise au point dans le présent travail	84
5.7	Synthèse du 7H-[4,5-b]-iosbenzofuro-1,3-dihydro-1-hydroxy-4,10-diméthoxy-5,8-diméthyl-3,7-dioxobenz-[1,4]-dioxépine (depsidone 17)	85

5.7.1	<u>Synthèse de l'acide 2-benzyloxy-5-méthoxy carbonyl-4-méthoxy-3,6-diméthyl benzoïque (7)</u>	85
5.7.2	<u>Synthèse du 3,8-diméthoxy-1,6,9-triméthyl-11-oxo 11H-[b,e]-dibenzo-[1,4]-dioxépine-7-carboxylate de méthyle (depsidone 13)</u>	87
5.7.3	<u>Synthèse du 7H-[4,5-b]-iosbenzofuro-1,3-dihydro 1-hydroxy-4,10-diméthoxy-5,8-diméthyl-3,7 dioxobenzo-[1,4]-dioxépine (depsidone 17)</u>	89
5.7.4	<u>Conclusions</u>	91

CHAPITRE 6

6	Structure par rayons X de la depsidone 11	93
6.1	Observation du cristal	93

CHAPITRE 7

7	Couplages longue distance dans les depsidones synthétisées	103
7.1	Introduction	103
7.2	Couplage 7J entre les deux méthyles en position para	104
7.2.1	<u>Couplage 7J dans le composé 11</u>	104
7.2.2	<u>Couplage 7J dans le composé 13</u>	106
7.3	Couplage 4J et 6J	108
7.3.1	<u>Couplage 4J et 6J dans le composé 11</u>	108
7.3.2	<u>Couplage 4J et 6J dans le composé 13</u>	111
7.4	NOESY du composé 13	115
7.5	Discussions	117

CHAPITRE 8

8	Conclusions et perspectives	119
8.1	Analyses	119
8.2	Synthèses	120
8.3	Couplages longue distance	122

CHAPITRE 9

9	Partie expérimentale	123
9.1	Généralités	123
9.2	Synthèses	126
9.2.1	<i>Synthèse du 4-benzyloxy-2-hydroxy-3,6-diméthyl benzoate de méthyle (2)</i>	126
9.2.2	<i>Synthèse du 4-benzyloxy-2-méthoxy-3,6-diméthyl benzoate de méthyle (3)</i>	127
9.2.3	<i>Synthèse du 4-hydroxy-2-méthoxy-3,6-diméthyl benzoate de méthyle (4)</i>	128
9.2.4	<i>Synthèse du 5-formyl-4-hydroxy-2-méthoxy-3,6 diméthyl benzoate de méthyle (5)</i>	129
9.2.5	<i>Synthèse du 4-benzyloxy-5-formyl-2-méthoxy-3,6 diméthyl benzoate de méthyle (6)</i>	130
9.2.6	<i>Synthèse de l'acide 2-benzyloxy-5-méthoxy carbonyle-4-méthoxy-3,6-diméthyl benzoïque (7)</i>	132
9.2.7	<i>Synthèse du 3,5-dibenzyloxy toluène (8)</i>	133
9.2.8	<i>Synthèse du 4-benzyloxy-3-[bis(2',4'-benzyloxy-6 méthyl benzoyl)]-6-méthoxy-2,5-diméthyl benzoate de méthyle (9)</i>	134
9.2.9	<i>Synthèse du 4-hydroxy-3-(2',4'-dihydroxy-6'-méthyl benzoyl)-6-méthoxy-2,5-diméthyl benzoate de méthyle (10)</i>	135

9.2.10	<i>Synthèse du 3-hydroxy-8-méthoxy-1,6,9-triméthyl-11-oxo-11H-[b,e]-dibenzo-[1,4]-dioxépine-7-carboxylate de méthyle (11)</i>	136
9.2.11	<i>Synthèse du 3,8-diméthoxy-1,6,9-triméthyl-11-oxo-11H-[b,e]-dibenzo-[1,4]-dioxépine-7-carboxylate de méthyle (13)</i>	138
9.2.12	<i>Synthèse du 7H-[4,5-b]-iosbenzofuro-1,3-dihydro-4,10-diméthoxy-5,8-diméthyl-3,7-dioxo benzo-[1,4]-dioxépine (14)</i>	139
9.2.13	<i>Synthèse du 7H-[4,5-b]-iosbenzofuro-1,3-dihydro-1-hydroxy-4,10-diméthoxy-5,8-diméthyl-3,7-dioxo benzo-[1,4]-dioxépine (17)</i>	142

CHAPITRE 10

10	Bibliographie	145
-----------	----------------------	------------

ANNEXES

CHAPITRE 1

INTRODUCTION

1.1 But du travail

Dans ce travail, nous avons d'abord effectué une étude phytochimique du lichen *Bryoria fuscescens*. Dans ce cadre, nous avons isolé plusieurs composés lichéniques dont certains appartiennent à la famille des depsidones. Nous avons ensuite entrepris avec succès, et ceci pour la première fois, la synthèse totale d'une depsidone comportant un cycle hydroxyphthalide.

1.2 Qu'est-ce qu'un lichen?

Pour les anciens naturalistes, les lichens comme les champignons ne constituaient que "l'excrément de la terre" [1]. A l'époque de Linné, vers 1750, on ne connaissait encore qu'environ 300 espèces de lichens.

En 1867, le naturaliste suisse *Schwendener* [2], formula ce que différents chercheurs avaient peu à peu découvert, que tous les lichens sont formés d'un champignon constituant le *mycosymbiote*, hétérotrophe (tributaire d'un autre être vivant pour son alimentation carbonée) et d'une algue, le *phycosymbiote*, autotrophe (capable de photosynthèse) qui vivent en symbiose.

Les lichens font partie des végétaux qui n'ont jamais de fleurs, les *cryptogames*. Comme les mousses, les algues et les champignons, ils appartiennent aux espèces qui se caractérisent par l'absence de vaisseaux dans leurs tissus. Ils diffèrent cependant des mousses et des algues car

INTRODUCTION

leurs tissus végétatifs ne sont pas uniformément remplis de chlorophylle, et des champignons, parce qu'ils n'en sont pas complètement dépourvus.

Leur taille varie de quelques centimètres à plusieurs décimètres ou même un mètre et plus (certains *Usnea*). Ils ont ordinairement des couleurs ternes: verdâtre, grisâtre, brun plus ou moins foncé noir, et plus rarement vives: vert, jaune, orangé ou rouge.

La nutrition carbonée est assurée par la photosynthèse de l'algue, elle fournit au champignon les substances carbonées nutritives tandis que le champignon, qui constitue l'essentiel de la morphologie du lichen, fournit entre autres l'humidité nécessaire au développement de l'algue. Cependant, il n'est pas exclu que le mycosymbiote puisse tirer d'un substrat organique, bois, humus, une partie de son alimentation carbonée.

Leur reproduction s'effectue le plus souvent par détachement de fragments (sorédies) qui contiennent des filaments du champignon ainsi que des cellules de l'algue, et qui sont propagés par le vent.

L'absorption de l'eau se fait par toute la surface du thalle, mais le pouvoir rétenteur est faible et les thalles perdent leur eau par temps sec. Un état optimal d'humidité du thalle est nécessaire pour que s'accomplissent les fonctions vitales: sec, il passe à l'état de vie ralentie; il reprend ensuite son activité quand l'humidité redevient suffisante. Cette faculté de *reviviscence* est une caractéristique essentielle des lichens.

La nutrition azotée se fait soit à partir des poussières qui se déposent sur le thalle, soit à partir du substrat.

La nutrition minérale se fait à partir des poussières, du substrat et des sels dissous apportés par l'eau.

Les produits du métabolisme des thalles lichéniques sont assez bien connus. Il n'en est pas de même sur le rôle joué par chacun des symbiotes dans leur élaboration. Par marquage isotopique, il a été démontré que l'algue fournit au champignon associé, des éléments élaborés par sa photosynthèse; le champignon les transforme pour les utiliser ou les mettre en réserve. L'algue excrète des substances vitaminiques qui paraissent être indispensables au *mycosymbiote* pour assurer sa croissance.

Les lichens sont répandus sur toute la terre. Il en existe plus de 20'000 espèces que l'on rencontre aussi bien dans la fournaise des déserts que dans les régions glacées des pôles. Ils colonisent tous les substrats

INTRODUCTION

possibles: terre, écorces, bois, vieux murs, arbres, rochers, etc., substrats secs ou mouillés par l'eau douce ou, sur le littoral, par les embruns, les vagues ou la submersion à chaque marée. Pour survivre, les lichens ont toutefois certaines exigences minimales: tous ont besoin d'air et d'eau purs, la plupart ont aussi besoin de beaucoup de lumière. Certains lichens sont capables de survivre à -48°C grâce à leurs productions d'acides qui leur servent d'antigel! La température optimale de développement des lichens indigènes (10°C) est aussi nettement plus basse que celle des plantes supérieures herbacées. Chez les lichens, la photosynthèse fonctionne même à des températures inférieures à 0°C . Les pays à climat humide sont les plus favorables à la croissance de lichens.

La vitesse de croissance chez la plupart des lichens est très lente. *Rhizocarpon geographicum*, que l'on trouve dans les Alpes, ne croît que de 4 mm par siècle. Ainsi selon les chercheurs, les plus grands exemplaires pourraient être âgés de 9'000 ans. Un autre lichen, *Peltigera canina* qui vit sur le sol, grandit de 2 cm par an. Les espèces foliacées indigènes qui colonisent les troncs d'arbres poussent en moyenne de un à quatre mm par an et vivent généralement 30 à 50 ans. Ces particularités font des lichens les végétaux les plus âgés de la flore terrestre. Ils représentent aussi la dernière végétation que l'on rencontre vers les pôles. Ils sont particulièrement abondants dans la toundra arctique.

L'originalité des lichens réside dans la production et l'excrétion de nombreux corps chimiques nommés improprement "acides lichéniques". Ces composés sont insolubles dans l'eau et leur nombre est d'environ 200, mais il ne cesse de s'accroître.

La classe la plus abondamment représentée est celle des composés aromatiques: les depsides, les depsidones, les depsones, les dérivés de l'acide pulvinique, les xantones et les dibenzofuranes. La distribution des depsides et des depsidones dans les différentes espèces de lichens est utilisée en chimiotauxonomie par les biologistes. En effet, les différences morphologiques sont souvent insignifiantes.

Une faible partie des substances lichéniques appartient à la classe des composés aliphatiques et alicycliques comme: les acides gras, les lactones, les triterpènes et les stérols.

Les substances qu'on trouve dans les lichens ont de nombreuses activités biologiques [3]. Les composés aromatiques absorbent la lumière

INTRODUCTION

UV [4,5], ils protègent ainsi l'algue d'une irradiation trop intense. Certains acides aromatiques ou aliphatiques [6] tels que l'acide norstictique ou usnique sont des agents chélatants très forts et sont essentiels pour ravitailler le lichen en minéraux provenant du substrat. Les substances sécrétées dans la médulla ont des propriétés hydrophobiques [7], elles empêchent aussi la saturation en eau, permettant un échange continu avec l'atmosphère.

Les lichens sont très sensibles à la qualité de l'air. De ce fait, ils sont de bons indicateurs de pollution. Au siècle dernier déjà, on savait que les lichens étaient particulièrement sensibles à l'état de l'air; des naturalistes notaient déjà à Manchester (1859) et à Paris (1866) que les lichens disparaissaient des centres urbains pollués, mais ce n'est que depuis quelques années qu'ils sont utilisés d'une manière plus approfondie pour étudier les effets de la pollution. Ils sont aussi de très bons indicateurs de retombées nucléaires.

Les lichens poussant sur certains monuments en Grèce produisent de l'acide oxalique [8] qui transforme le carbonate de calcium du substrat en oxalate de calcium; ceci entraîne une dégradation de structure de la surface.

Les lichens ont de nombreuses utilisations parfois inattendues. Certaines substances odorantes tirées des lichens (*Evernia prunastri*) restent irremplaçables dans la parfumerie. Depuis 1939, les effets antibiotiques spécifiques des acides lichéniques sur les bactéries et les champignons intéressent la pharmacologie. Un antibiotique "Usniplant" est produit à partir d'usnées. La mousse d'Islande (*Cetraria islandica*) est toujours utilisée dans la fabrication d'infusion et de pastilles contre la toux. *Letharia vulpina* fut longtemps utilisé pour empoisonner les loups et les renards. L'utilisation des lichens pour teinter la laine accuse un certain renouveau avec le "retour au naturel" actuel. Les produits glucidiques des membranes, hydrolysés, donnent des sucres fermentescibles en alcool.

1.3 Les composés lichéniques en général [3,9]

Les études réalisées sur la biosynthèse de ces métabolites secondaires, montrent qu'ils doivent être synthétisés par le champignon à partir des hydrates de carbones fournis par l'algue. Il est important de souligner que cette étude est très difficile, vu la faible proportion que représente cette dernière dans le thalle par rapport au champignon.

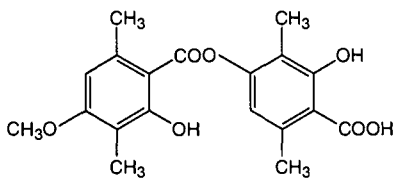
Voici les composés les plus courants qu'on rencontre dans les lichens:

- Acides gras
- Acides γ -lactoniques
- Monoterpènes
- Diterpènes
- Triterpènes
- Stéroïdes
- Caroténoïdes
- Sucres
- Dérivés monoaryliques de l'orcinol et du β -orcinol
- Depsides
- Depsidones
- Depsones
- Dérivés de chromanones et xanthones
- Quinones
- Dibenzofuranes et dérivés
- Acide pulvinique et dérivés
- Composés azotés
- Composés soufrés
- Acides aminés, vitamines et enzymes

Quelques exemples de structures pour les principales classes de composés lichéniques:

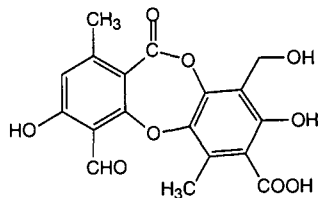
INTRODUCTION

Depside



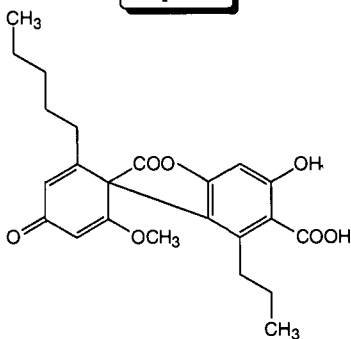
Ac. barbatique

Depsidone



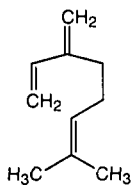
Ac. protocétrarique

Depsone



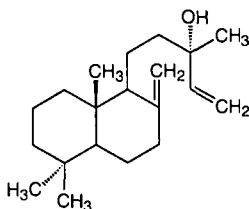
Ac. isosubpicrolichénique

Monoterpène



Myrcène

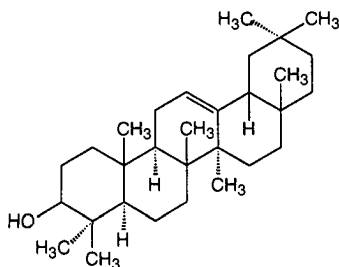
Diterpène



Manool

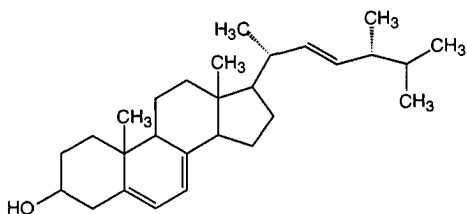
INTRODUCTION

Triterpène



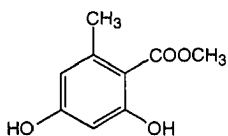
β -amyrine

Steréide



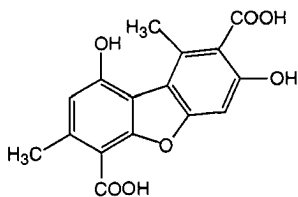
Ergostérol

Dérivé monoarylique



Orcellinate de méthyle

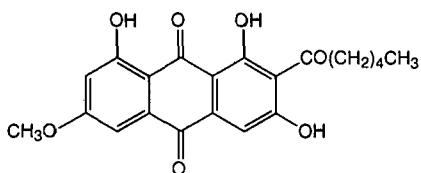
Dibenzofurane



Ac. pannarique

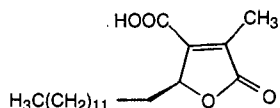
INTRODUCTION

Quinone



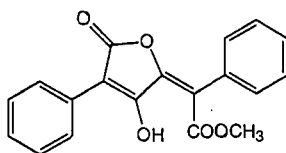
Ac. solorinique

Acide γ -lactonique



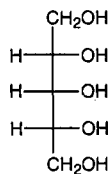
Ac. R (-) lichestérinique

Dérivé de l'ac. pulvinique



Ac. vulpinique

Sucre



Ribitol

1.4 Depsides et depsidones

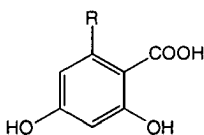
Les depsides et depsidones sont des métabolites secondaires, ceci signifie qu'il s'agit de produits que les lichens synthétisent, mais qui ne sont pas indispensables à leur survie. Ils sont les plus communs, les plus abondants et les plus caractéristiques métabolites secondaires des lichens. Certaines depsidones ont également été isolées des champignons.

1.4.1 Les depsides

Les depsides sont des substances polyaromatiques formées biosynthétiquement par estérification de deux ou plusieurs molécules d'acides phénolcarboxyliques (unité S) avec l'hydroxyle d'une molécule phénolique (unité A) [10].

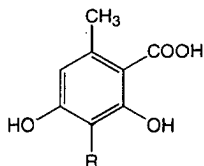
Les cycles aromatiques précurseurs ont une structure de base du type orcinol ou β -orcinol résultant de la condensation d'acétyle-S-CoA avec trois unités de malonyl-S-CoA. Ce mécanisme a été mis en évidence par marquage radioactif avec ^{14}C [11].

Orcinol



R = CH₃, C₃H₇, C₅H₁₁, C₇H₁₅

β -Orcinol

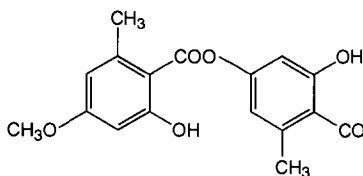


R = CH₃, CH₂OH, CHO, COOH

Les différents types de depsides dépendent de la structure de base des cycles aromatiques et de la manière dont ils sont substitués et liés entre eux. Les molécules suivantes sont des exemples des différentes combinaisons possibles.

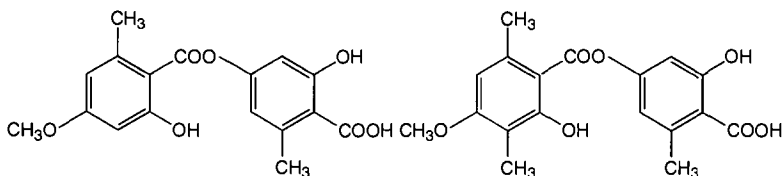
INTRODUCTION

p-depside d'orcinol



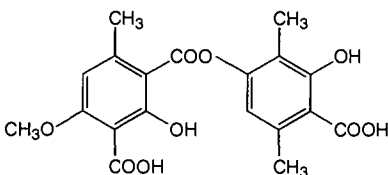
Acide évernique [12]

p-depside d'orcinol et de β-orcinol



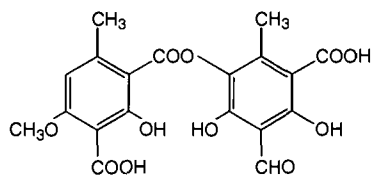
Acide obtusatique [13]

p-depside du β-orcinol



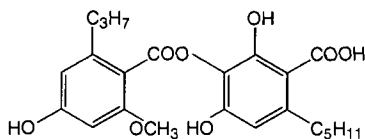
Acide squématique [13]

m-depside du β-orcinol



Acide thamnolique [14]

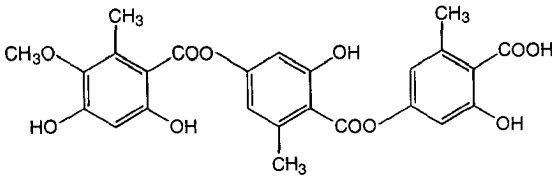
m-depside de l'orcinol



Acide paludosique [13]

INTRODUCTION

tridepside de l'orcinoï

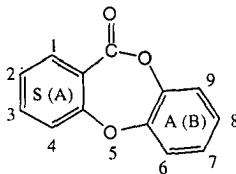


Acide 5-O-méthyl hiascique [15]

La partie champignon d'un lichen producteur de depsides et de depsidones est capable, si on la met en culture, de synthétiser des dérivés de l'orcinoï tels que l'acide orcellinique ou l'acide haematomnique. Cependant, le champignon seul semble incapable de coupler ces intermédiaires pour former des depsides et des depsidones. On peut donc suggérer que c'est la partie algue du lichen qui permet ce couplage.

1.4.2 Les depsidones

Les depsidones représentent la seconde classe, en abondance, des composés lichéniques. Leur structure de base est une dibenzodioxépine.

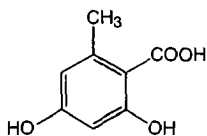


Par analogie avec les depsides, les depsidones sont classées selon le type de cycles précurseurs (orcinoï ou β -orcinoï).

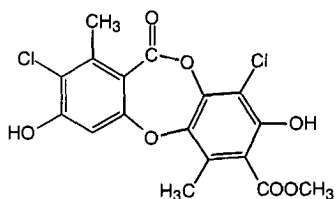
Ces composés peuvent être divisés en quatre sous classes selon la structure des cycles S (A) et A (B).

La première comprend les depsidones dont les deux cycles aromatiques dérivent de l'acide orcellinique.

INTRODUCTION

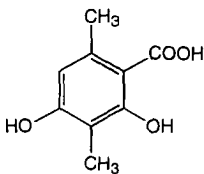


Acide orcellinique

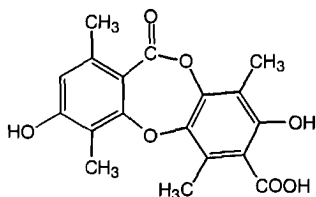


Lecidéoidine [16]

La deuxième comprend les depsidones dont les deux cycles aromatiques dérivent de l'acide β -orcellinique.

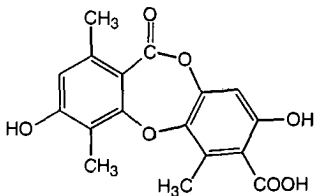


Acide β -orcellinique



Acide hypoprotocétrarique [13]

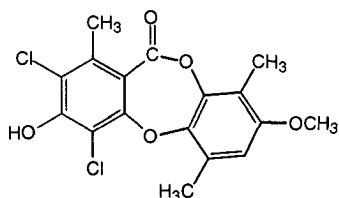
La troisième comprend les depsidones dont le cycle S (A) dérive de l'acide β -orcellinique et le cycle A (B) de l'acide orcellinique.



Acide normotatique [17]

La quatrième comprend les depsidones dont le cycle S (A) dérive de l'acide orcellinique et le cycle A (B) de l'acide β -orcellinique.

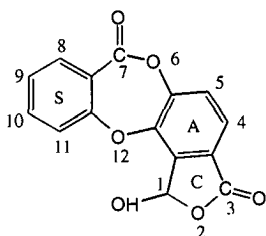
INTRODUCTION



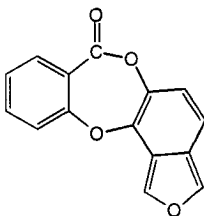
Fulgoïcine [18]

1.4.3 Les depsidones contenant un cycle hydroxyphalide

Il existe 21 composés de la famille des depsidones qui possèdent un cycle hydroxylactonique C attaché au cycle A (B). Les cycles A et C réunis portent le nom d'**hydroxyphtalide**.



La structure de base de ce type de depsidones est une isobenzofurobenzodioxépine:



INTRODUCTION

particulier car il présente un cycle hydroxyphtalide méthylé; de même l'acide 8',9'-di-O-éthylsalazinique (13) possède un cycle C éthylyé et un reste éthyle sur la fonction alcool du cycle A.

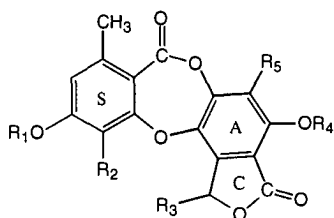
L'acide menegazziaïque (7) possède un cycle S dérivé du β -orcinol et comporte une fonction phénolique en position 11. L'isidiophorine est elle aussi modifiée en position 11, un reste but-3-ène, 2-one y est fixé.

L'acide substictique (2) est formé d'un cycle S dérivé du β -orcinol et d'un cycle A et C dérivé de l'orcinol.

L'acide vesuvianique (1) possède un reste éthoxy en position 4, mais cela est sûrement un artefact. En effet, l'acide vesuvianique n'est autre que l'acide stictique avec un groupement éther éthylique à la place du phénol. Cette transformation est due à la présence de traces d'éthanol dans le chloroforme utilisé lors de l'extraction du lichen [19].

Il faut noter que l'atome de carbone 1 de ces depsidones est asymétrique. Le cycle hydroxyphtalide cependant est relativement labile et peut s'ouvrir pour donner l'acide phtaladéhydique. Cette ouverture est réversible et on aboutit, après fermeture, au mélange racémique d'hydroxyphtalides. Ceci est illustré par le fait que *Shimada et al.* [20] n'ont mesuré aucun pouvoir rotatoire sur un extrait naturel de l'acide cryptostictique.

Voici la structure de base pour les 21 depsidones contenant un cycle hydroxyphtalide.



INTRODUCTION

Tableau 1: Depsidones contenant un cycle hydroxyptalide.

No	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	Nom trivial	Réf.
1	CH ₃	CHO	OH	Et	CH ₃	ac. vesuvianique	[21]
2	CH ₃	CHO	OH	H	H	ac. substictic	[22]
3	CH ₃	CHO	OH	H	CH ₃	ac. stictique	[13]
4	H	CHO	OH	H	CH ₂ OH	ac. salazinique	[13]
5	H	CHO	OH	H	CH ₃	ac. norstictique	[13]
6	CH ₃	CHO	OCH ₃	H	CH ₃	ac. méthylstictique	[20]
7	CH ₃	OH	OH	H	CH ₃	ac. menegazziaique	[23]
8	CH ₃	CHCHCOCH ₃	OH	H	CH ₃	isidiophorine	[24]
9	CH ₃	CH ₃	OH	H	CH ₃	ac. hypostictique	[25]
10	H	CH ₃	OH	H	CH ₃	ac. hyposalazinique	[25]
11	CH ₃	CH ₃	OH	H	CH ₂ OH	ac. hypoconstictique	[26]
12	CH ₃	CH ₂ OH	OH	CH ₃	CH ₃	ac. 4,2'-di-O-méthyl-connorstictique	[27]
13	H	CHO	OEt	H	CH ₂ OEt	ac. 8',9'-di-O-éthyl-salazinique	[28]
14	CH ₃	CH ₂ OH	OH	H	CH ₃	ac. cryptostictique	[20]
15	CH ₃	CHO	OH	H	CH ₂ OH	ac. constictique	[29]
16	H	CH ₂ OH	OH	H	CH ₂ OH	ac. consalazinique	[30]
17	H	CH ₂ OH	OH	H	CH ₃	ac. connorstictique	[30]
18	H	CHO	OH	H	CH ₂ OAc	ac. α-acétyl-salazinique ou ac. galbinique	[31]
19	CH ₃	CH ₃	OH	H	CH ₂ OAc	ac. α-acétyl-hypoconstictique	[32]
20	CH ₃	CHO	OH	H	CH ₂ OAc	ac. α-acétyl-constictique	[33]
21	H	CHO	OH	H	H	ac. subnorstictique	[33]

1.5 Méthodes de séparation et d'identification [3]

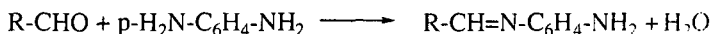
Lors de l'étude d'un lichen, il faut s'assurer que ce lichen ne soit pas contaminé par une autre espèce; il doit être identifié par un expert. Un échantillon avec la date et le lieu de la cueillette doit être conservé.

1.5.1 Extraction

Du fait que les composés lichéniques ont des solubilités différentes, on utilise l'extraction fractionnée. Le lichen sec et réduit en poudre est mis dans un Soxhlet et extrait successivement avec des solvants de polarité croissante (hexane, éther, acétone et méthanol). Souvent, il se forme un précipité qui est séparé par filtration, il sera traité à part. L'extrait brut obtenu peut être séparé en fractions acide, phénolique et neutre en le traitant successivement avec une solution de NaHCO_3 (10%), puis avec une solution de NaOH (5%). Une autre possibilité est de faire un fractionnement du brut par chromatographie sur gel de silice en utilisant un gradient d'élution. La différence de solubilité de certains composés permet de les séparer facilement. Par exemple, l'acide usnique et l'atranorine sont très solubles dans le CHCl_3 mais presque insolubles dans le MeOH .

1.5.2 Tests colorés

La présence de certains groupes fonctionnels peut être mise en évidence par l'emploi de réactions colorées. Une solution de NaOCl se colore en rouge en présence de depsides ou de xanthones contenant deux groupes hydroxy libres en position méta. Une solution de p-phénylènediamine (2-5% dans EtOH) met en évidence par une coloration allant du jaune au rouge, le présence de depsides et depsidones contenant un groupe aldéhyde. Les produits formés sont des bases de Schiff.



INTRODUCTION

L'acide norstictique forme un complexe microcristallin de couleur rouge foncée en présence d'une solution de KOH (20%).

1.5.3 Spectroscopie RMN

La spectroscopie RMN est une méthode importante pour l'identification et l'élucidation de structures de composés lichéniques. La RMN comprend une vaste gamme d'expériences, chacune d'elles apportant des informations spécifiques et complémentaires.

Le spectre ^1H -RMN d'une depsidone est essentiellement constitué de singulets, ceci ne permet pas de trouver la structure. Il est donc indispensable de mesurer d'autres spectres tels que ^{13}C , DEPT (90 ou 135) et l'utilisation de techniques bidimensionnelles COSY, HETCOR

Les protons des composés lichéniques ont des déplacements chimiques caractéristiques. Les tableaux 2 et 3 regroupent ces valeurs.

Tableau 2: Déplacements chimiques ^1H -RMN de substituants typiques de composés lichéniques.

Protons	δ (ppm)
CH_3 -	0.5-2
$-\text{CH}_2-$	1-2
HO-C-	1-5
$\text{CH}_3\text{-CO-}$	1.8-2.8
$-\text{CH}_2\text{-CO-}$	2.2-2.8
CH_3 arom.	2.2-2.8
$-\text{CH}_2\text{-arom.}$	2.9-3.1
$\text{CH}_3\text{-O-}$	3.2-4
$\text{CH}_3\text{-O-CO-}$	3.2-4
$-\text{CH}_2\text{-O-}$	3.5-4.6
$-\text{CO-CH}_2\text{-arom.}$	4-4.2
OH phénolique	4-15
H arom.	6.5-8.5
COOH	9-12
CHO	9.2-10.5

INTRODUCTION

Tableau 3: Déplacements chimiques ^{13}C -RMN de substituants typiques de composés lichéniques.

^{13}C	δ (ppm)
CH_3 -	5-30
$-\text{CH}_2$ -	20-40
$-\text{CH}$ -	30-60
$-\text{C}$ -	30-50
$\text{CH}_3\text{-O}$	50-70
$-\text{CH}_2\text{-O}$	40-70
$-\text{CH-O}$	60-80
$-\text{C-O}$	75-85
C arom.	100-140
$-\text{CO-O}$	160-180
COOH	170-185
$-\text{CHO}$	180-200
$-\text{CO}$	200-230

1.5.4 Chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince (CCM) est une méthode rapide pour faire un screening des substances présentes dans le lichen. *Culbertson et al.* [34] ont fait plusieurs publications à ce sujet. Pour les mélanges complexes, la chromatographie sur couche mince en deux dimensions [35] peut être utilisée. Comme toutes les méthodes, la CCM a ses limites et il est risqué d'identifier des composés uniquement par leur R_f . Cette méthode est souvent utilisée par les biologistes.

1.5.5 Chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

L'HPLC est une méthode pour analyser les composés qui sont difficilement séparable par chromatographie sur gel de silice ou par chromatographie en phase gazeuse (GC). En effet, la GC requiert des composés volatils et stables à haute température. En 1993, *Huneck et coll.*

INTRODUCTION

[36] ont publié une méthode standard pour l'identification de plus de 300 composés. La colonne utilisée est une Spherisorb 5ODS2 (Kontron), 5 μ m, 4.6 x 250mm (silice, phase inverse octadécyle). Les solvants sont le méthanol et de l'eau bidistillée contenant 1% d'acide ortho-phosphorique. Comme standards internes, ils ont utilisé l'acide benzoïque (R_t faible) et l'acide solorinique qui il est fortement retenu sur la colonne (R_t élevé). Le temps de rétention relatif est calculé de la manière suivante:

$$R_1 = \frac{R_t \text{ du composé} - R_t \text{ de l'ac. benzoïque}}{R_t \text{ de l'ac. solorinique}} \times 100$$

1.5.6 Chromatographie en phase gazeuse (GC)

Les limites de la GC sont dues au fait que la plupart des substances lichéniques sont très polaires et peu volatiles. Pour résoudre ce problème, on utilise des dérivés acétylés, trifluoroacétylés et triméthylsililés.

1.5.7 Dérivation

Beaucoup de substances possédant des fonctions hydroxyles et carboxyliques peuvent être dérivées, soit en acétyles, soit en esters méthyliques ou benzyliques. Voici quelques méthodes simples pour la formation des ces dérivés.

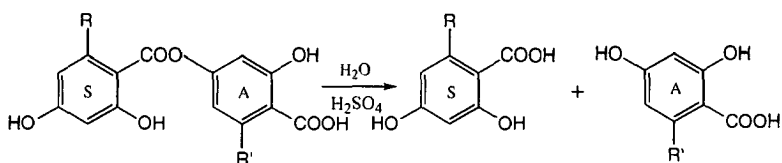
- Acétylation d'un phénol ou d'un alcool par de l'anhydride acétique dans la pyridine.
- Acétylation par de l'anhydride acétique et de l'acide sulfurique concentré (une goutte).
- Méthylation d'acides carboxyliques et de phénols par le diazométhane.
- Méthylation de phénols avec le sulfate de diméthyle, K_2CO_3 dans le DMF.
- Benzoylation de fonctions acides par le bromure de benzyle, K_2CO_3 dans le DMF.

INTRODUCTION

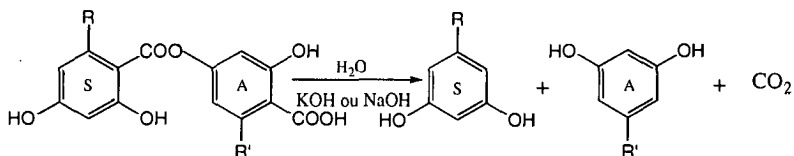
1.5.8 Clivage de depsides

Le pont ester des depsides peut être hydrolysé pour donner les deux parties (S et A). Cette hydrolyse peut se faire de différentes façons:

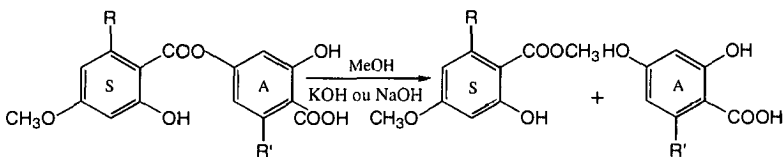
1) avec de l'acide sulfurique



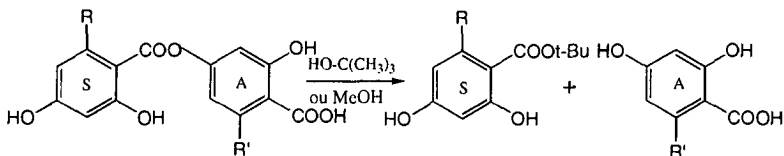
2) avec du KOH ou du NaOH en solution aqueuse



3) avec du KOH ou du NaOH en solution méthanolique



4) avec du méthanol ou du tert-butanol à reflux



ETUDE PHYTOCHIMIQUE DE *Bryoria fuscescens* (Gyelnik) Brodo & D. Hawksw.

2.1 Introduction

Le lichen que nous avons choisi d'étudier, provient du Valais. Il a été cueilli le long de la route qui va de Sion aux Collons, à une altitude d'environ 1200m. Peu d'études ont été menées sur la composition chimique de *Bryoria fuscescens*, aucun résultat récent n'a été publié. Dans les années 70, quelques publications [37, 38, 39], font état de la présence d'acide fumarprotocétrarique, d'acide protocétrarique, de sucres, d'atranorine, d'acide alectorialique et d'acide thamnolique. Ces substances n'ont été identifiées que par chromatographie sur couche mince. Ces résultats doivent donc être considérés avec prudence.

Nos extraits ont été séparés et purifiés par chromatographie sur gel de silice, par chromatographie (silice) sur couches minces et épaisses et par recristallisation.

Les structures ont été établies par voies spectroscopiques.

2.2 Extraction de *Bryoria fuscescens*

Le lichen est trié et débarrassé des aiguilles et brindilles de sapin. Il est plongé dans un bain d'azote liquide et réduit en poudre dans un moulin

puis il est extrait dans un Soxhlet avec deux solvants de polarité différente (hexane et éther). Nous n'avons pas utilisé le chloroforme ni le méthanol, car ces solvants produisent des artefacts lors de l'extraction [40]. Le chloroforme contient des traces d'éthanol et le méthanol produit des méthylations au niveau des phénols, des acides et des alcools.

2.2.1 Extrait à l'hexane

75g de lichen broyé sont extraits dans un Soxhlet, avec 600ml d'hexane bidistillé pendant 24h. Cette opération est répétée deux fois. Les trois extraits sont réunis, le volume du solvant est réduit et l'extrait est mis au réfrigérateur pendant une nuit.

Un précipité blanc-jaune apparaît, il est filtré et conservé à part. Le filtrat est évaporé à sec. On obtient une pâte verte. Le poids total de l'extraction à l'hexane est de 760mg, soit environ 1% de la masse de départ.

2.2.2 Extrait à l'éther

Le lichen déjà extrait à l'hexane est extrait pendant 24h avec 3 portions de 600ml d'éther bidistillé. La solution étherée est mise au réfrigérateur pendant une nuit.

Un précipité blanc apparaît, il est filtré et conservé à part. Le filtrat est évaporé à sec. Le poids total de l'extraction à l'éther est de 550mg.

2.3 **Séparation et identification des composés extraits**

Les solides obtenus lors des extractions sont purifiés par recristallisation ou par chromatographie. Les filtrats sont essentiellement purifiés par colonnes chromatographiques. Les produits purs ainsi obtenus sont identifiés par les méthodes spectroscopiques courantes (RMN, IR, MS). Lorsqu'un témoin est disponible, on effectue une vérification du R_f.

2.3.1 Traitement de l'extrait à l'hexane

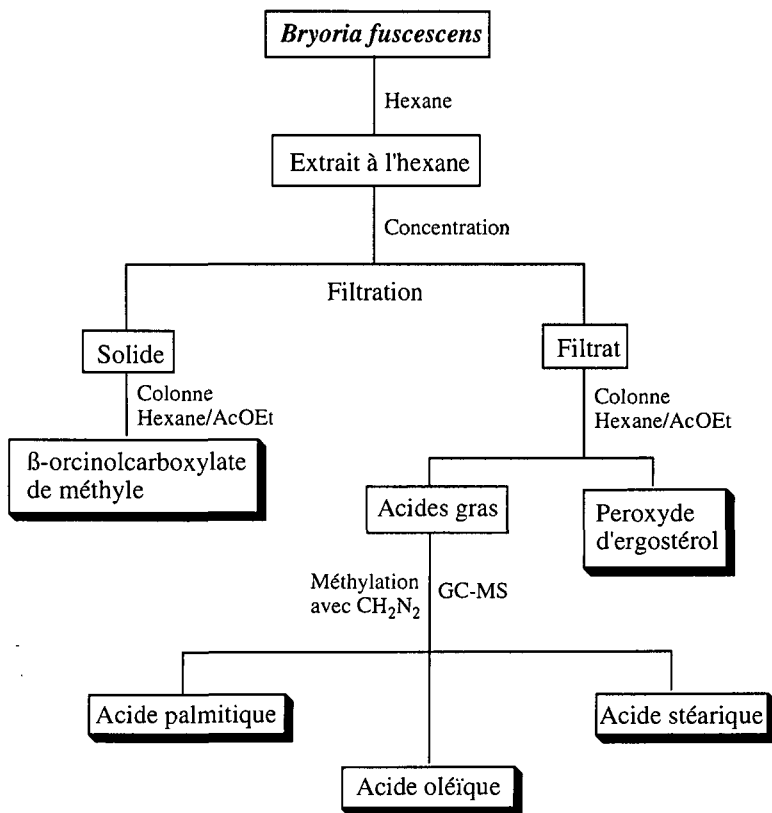
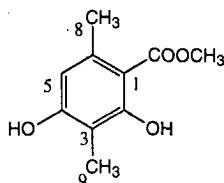


Schéma 1: Séparation de l'extrait à l'hexane de *Bryoria fuscescens*.

- β -orcinolcarboxylate de méthyle (1)



1

Le solide obtenu est impur. On le purifie par chromatographie sur gel de silice, en utilisant un gradient d'éluion (hexane/AcOEt). Les fractions 8 et 9 semblent assez pures, elles sont réunies et repurifiées sur couches épaisses en utilisant comme solvant (hexane/AcOEt 3:1). On obtient après évaporation du solvant 11mg de β -orcinolcarboxylate de méthyle, un solide blanc.

Le spectre $^1\text{H-RMN}$ (fig. 1), on constate la présence de 2 groupes méthyles, d'un ester méthylique, de 2 fonctions phénols et d'un proton aromatique.

Le spectre de masse (fig. 2) donne un pic moléculaire à 196. En comparant le spectre de masse mesuré aux spectres contenus dans la librairie et les valeurs obtenues pour les protons avec celles de [3], il apparaît que **1** est le β -orcinolcarboxylate de méthyle.

Analyses:

F: 135-137°C

$\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_4$

PM: 196

F: [3] 140-141°C (acétone), 143-144°C (benzène)

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3 , 400 MHz): 2.11 (s, 3H, CH_3 -arom); 2.46 (s, 3H, CH_3 -arom); 3.92 (s, 3H, OCH_3); 5-5.1 (b, 1H, OH); 6.21 (s, 1H, H-arom), 12.02 (s, 1H, OH).

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3 , 100 MHz) [3]: 2.10 (s, 3H, CH_3 -arom (8)); 2.45 (s, 3H, CH_3 -arom (9)); 3.92 (s, 3H, OCH_3); 5.23 (b, 1H, OH (4)); 6.20 (s, 1H, H-arom (5)), 12.04 (s, 1H, OH (2)).

MS (EI,m/z,%): 196 (M⁺, 100); 164 (79); 136 (75); 108 (10); 79 (10).

Fragments importants:

164 (M⁺ - CH₃OH); 136 (164 - CO); 108 (136 - CO)

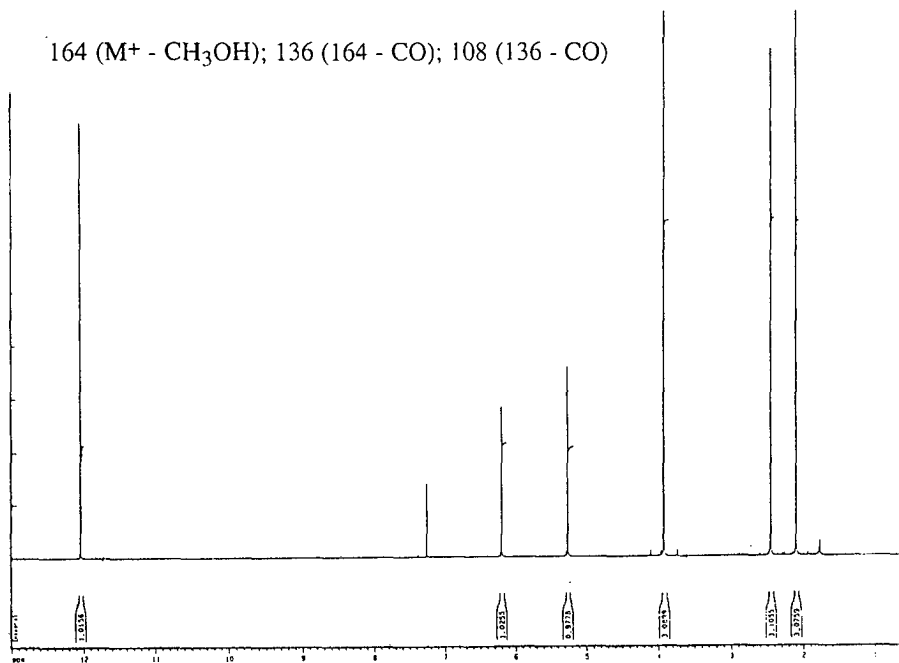


Fig.1: Spectre ¹H-RMN de **1** (400MHz dans CDCl₃).

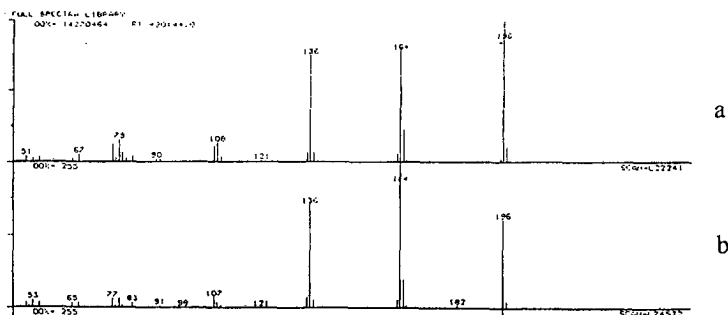


Fig. 2: Comparaison du spectre MS (EI, +) de **1** (a) avec la librairie (b).

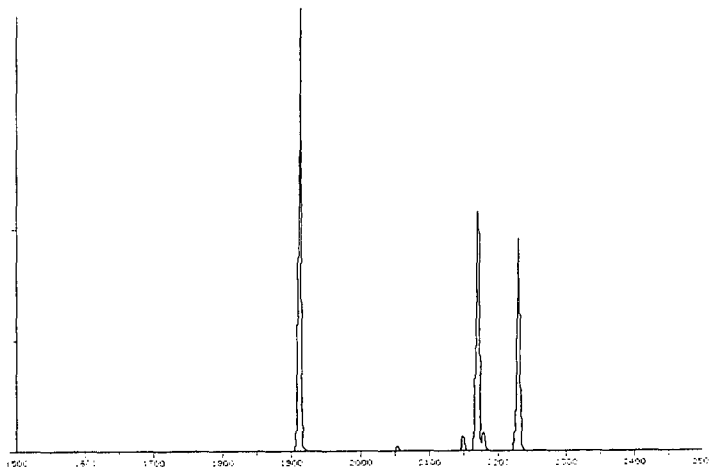
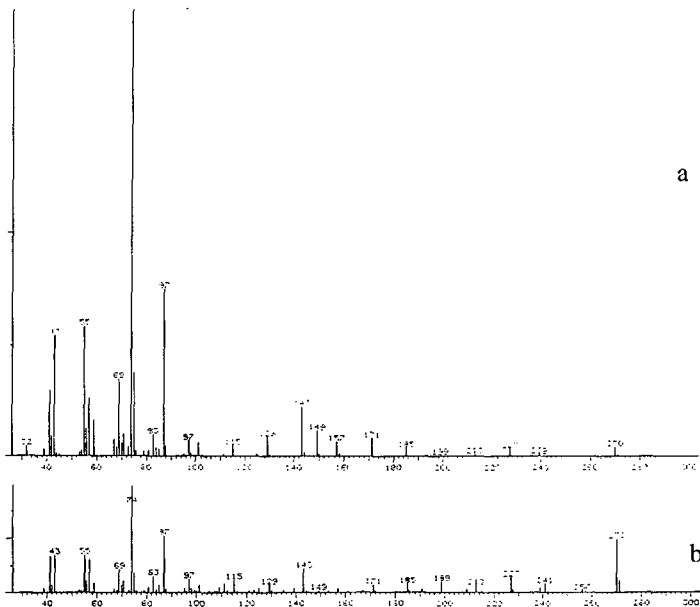
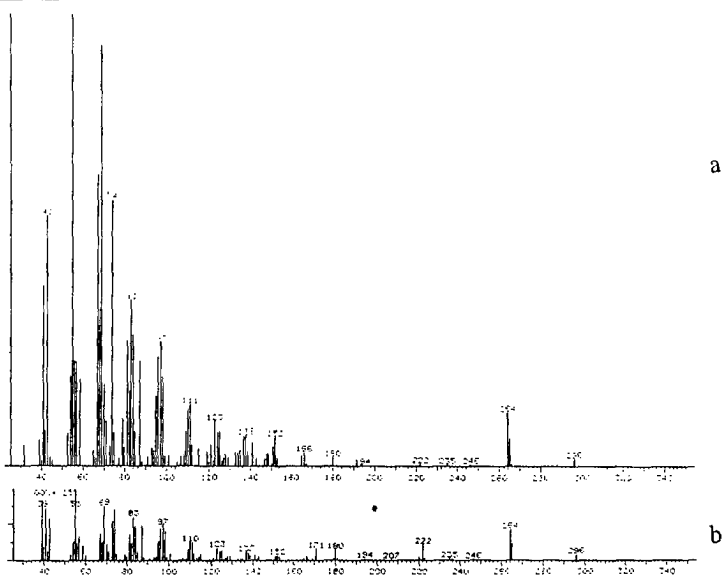
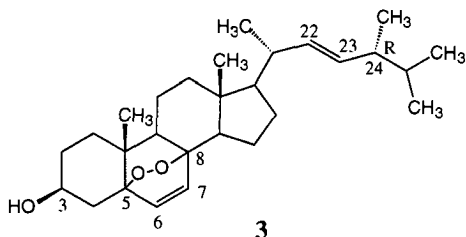


Fig. 3: Chromatogramme des acides gras méthylés.





- Peroxyde d'ergostérol (3)



Du filtrat on récupère après les acides gras le peroxyde d'ergostérol (hexane/AcOEt 4:1). Il est repurifié sur couches épaisses en utilisant comme éluant (hexane/AcOEt 4:1). On récupère après évaporation du solvant 15mg de **3**, un solide blanc qui est sensible à la lumière.

Le spectre $^1\text{H-RMN}$ (fig. 7) du produit **3** est typique d'un produit triterpénique. Les signaux apparaissant entre 0.8 et 2.2 ppm correspondent à un squelette carboné substitué par des groupes méthyles. Entre 4 et 7ppm, on observe la présence de protons oléfiniques et voisins d'hétéroatomes. Le système AB centré à environ 6.4ppm est dû aux protons (6, 7) de la double liaison. Ce signal est caractéristique des composés de la famille du peroxyde d'ergosterol [27]. Le signal situé entre 5.11 et 5.25ppm correspond aux deux protons de la double liaison entre les carbones C(22) et C(23) sur la chaîne latérale. Le proton en α du groupe hydroxyle en C(3), donne un signal typique à 3.98ppm.

Analyses:

F: 181-183°C

$\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{O}_3$

PM: 428

F: [3] 183-184°C

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3 , 400MHz): 0.8-2.2 (*m*, 38H, dont 6x CH_3 , 7x CH_2 , 6x CH); 3.97 (*m*, 1H, H(3)), 5.18 (*m*, 2H, H(22) et H(23)); 6.24 (*d*, 1H, $J_{6-7}=8.4\text{Hz}$, H(6)); 6.50 (*d*, 1H, $J_{7-6}=8.4\text{Hz}$, H(7)).

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3 , 60MHz, [3]): 0.81-1.04 ($6\times\text{CH}_3$); 3.96 (*m*, 1H, H(3)); 5.15-5.22 (*m*, 2H, H(22), H(23)); 6.35 (*q*, 1H, $J=8.4\text{Hz}$, H(6), H(7)).

MS (EI, m/z , %): 428 (M+, 8); 410 (13); 396 (18); 377 (13); 251 (20); 152 (21); 107 (24); 91 (46); 81 (58); 69 (85); 55 (100).

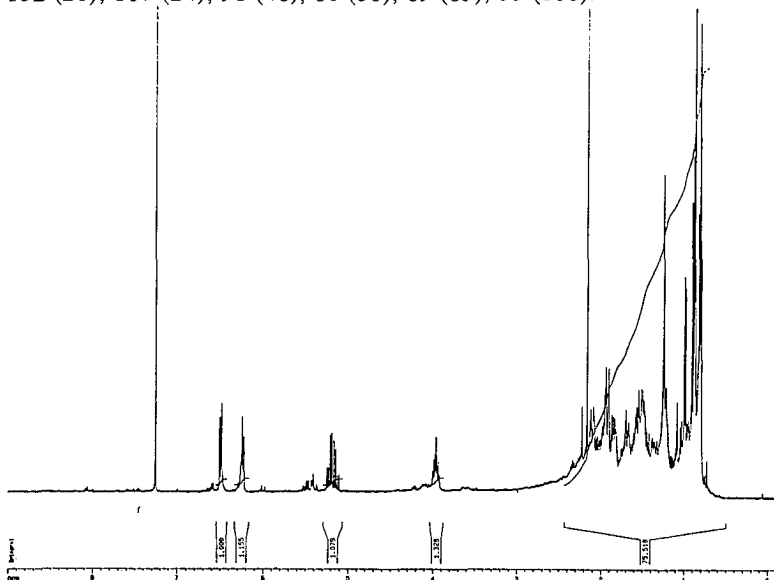


Fig. 7: Spectre $^1\text{H-RMN}$ de 3 (400MHz dans le CDCl_3).

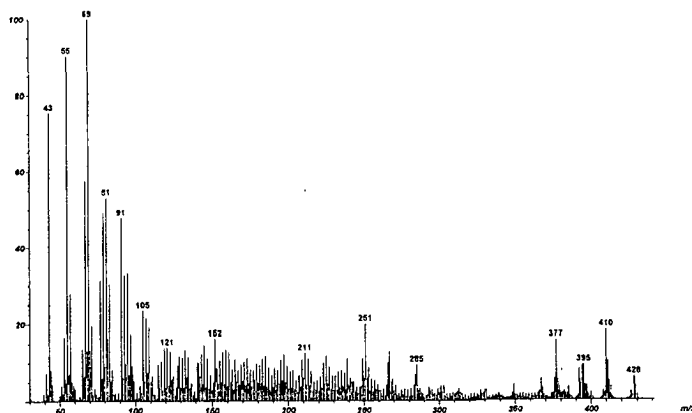


Fig. 8: Spectre MS (EI, +) de 3.

2.3.2 Traitement de l'extrait à l'éther

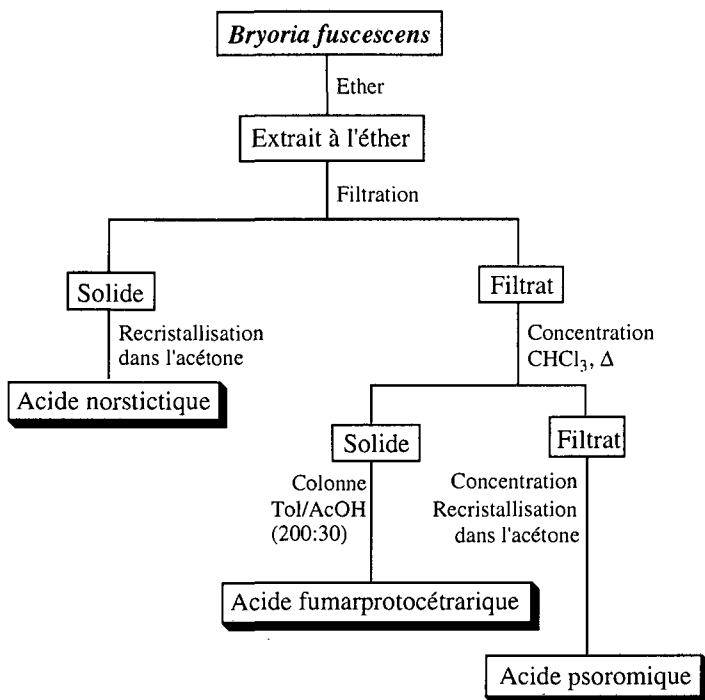
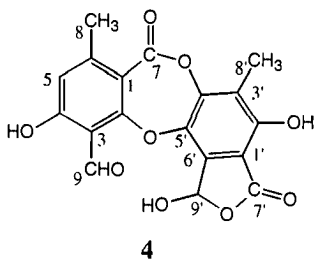


Schéma 2: Séparation de l'extrait à l'éther de *Bryoria fuscescens*.

- Acide norstictique (4)



Le précipité obtenu lors de l'extraction à l'éther est recristallisé dans l'acétone. On récupère 13mg d'acide norstictique, un solide blanc. C'est une depsidone contenant un cycle hydroxyphthalide dérivée du β -orcinol. Il est difficilement soluble dans l'éther, le chloroforme et le benzène, ainsi les spectres RMN ont été enregistrés dans le DMSO.

Sur le spectre ^1H -RMN (fig. 9), on observe 2 groupes méthyles, un proton aromatique et un aldéhyde. L'absence de signaux vers 4ppm confirme qu'il n'y a pas de groupes méthoxy. Le signal à 6.91ppm assez aplati avec une intégrale de 1 appartient au proton situé sur le cycle hydroxyphthalide. Le fait que ce signal soit déformé est dû au couplage avec le OH porté par le même carbone (9'). A 400MHz, on observe un doublet juste esquissé. Le signal large situé à 8.4ppm appartient au OH porté par le carbone 9', son sommet est légèrement découpé par le couplage avec le proton. Les deux signaux à 10.36 et 12.17ppm sont dus aux 2 phénols situés respectivement sur les cycles S et A.

Le spectre ^{13}C -RMN (fig. 10) comporte 18 signaux correspondant aux 18 carbones de l'acide norstictique. Le carbone de l'aldéhyde est bien visible à 192.86ppm. Le DEPT 135 confirme la présence des deux méthyles, du CH situé sur le cycle hydroxyphthalide, du CH aromatique et du CHO.

Le spectre de masse (EI, +) (fig. 11) présente un pic moléculaire à 372, il est confirmé par la DCI (NH_3 , +) (fig. 12) avec un pic à 373 ($\text{M}+1$) et 390 ($\text{M}+\text{NH}_4^+$).

ETUDE PHYTOCHIMIQUE DE *Bryoria fuscescens*

Le spectre IR (fig. 13) possède un pic important à 3392 cm⁻¹ confirmant la présence de groupes phénols, les pics à 1735 et 1658 cm⁻¹ celle de la fonction aldéhyde et de la fonction ester.

Analyses:

F: 279-280°C (décomposition) C₁₈H₁₂O₉ PM: 372
 F: [3] 286-287°C (décomposition) R_f = 0.28 (Toluène/AcOH 200:30)

¹H-RMN (DMSO, 400MHz): 2.33 (s, 3H, CH₃-arom); 2.58 (s, 3H, CH₃-arom); 6.91 (s, 1H, H(9')); 7.00 (s, 1H, H-arom); 8.40 (s, 1H, OH(9')); 10.36 (s, 1H, OH); 10.58 (s, 1H, CHO); 12.18 (s, 1H, OH).

Tableau 4: Comparaison des déplacements chimiques ¹³C-RMN de l'acide norstictique dans le DMSO avec la littérature [3].

Valeurs observées en ppm (100.62MHz)		Valeurs selon [3] en ppm (25.05MHz)	
C(8) 192.86	C(6') 135.91	C(8) 192.6	C(6') 135.5
C(2) 166.71	C(3') 121.85	C(2) 166.1	C(3') 120.7
C(4) 164.11	C(5) 117.49	C(4) 164.0	C(5) 117.2
C(7') 163.86	C(1) 111.97	C(7') 163.4	C(1) 111.6
C(7) 160.48	C(3) 110.78	C(7) 160.0	C(3) 110.4
C(6) 152.45	C(1') 108.90	C(6) 152.2	C(1') 109.0
C(2') 152.07	C(9') 94.92	C(2') 151.9	C(9') 95.4
C(4') 147.88	C(9) 21.55	C(4') 147.7	C(9) 21.3
C(5') 137.49	C(8') 9.75	C(5') 137.3	C(8') 9.3

IR (KBr): 3392 (m); 1734 (vs); 1658 (s); 1571 (m); 1442 (m); 1358 (m); 1293 (vs); 1251 (s); 1165 (s); 1142 (s); 1098 (s); 1012 (w); 888 (w); 799 (w).

ETUDE PHYTOCHIMIQUE DE *Bryoria fuscescens*

MS (EI, %, m/z): 372 (M+, 19); 354 (17); 326 (12); 298 (10); 270 (8); 254 (3); 216 (4); 177 (10); 150 (6); 83 (17); 77 (11); 55 (11); 44 (100).

MS (DCI, NH₃, +), (% , m/z): 390 (M+18, 5); 373 (M+1, 7); 329 (12); 153 (50); 85 (83); 79 (100).

Fragments importants:

328 (M⁺ - CO₂); 343 (M⁺ - CHO)

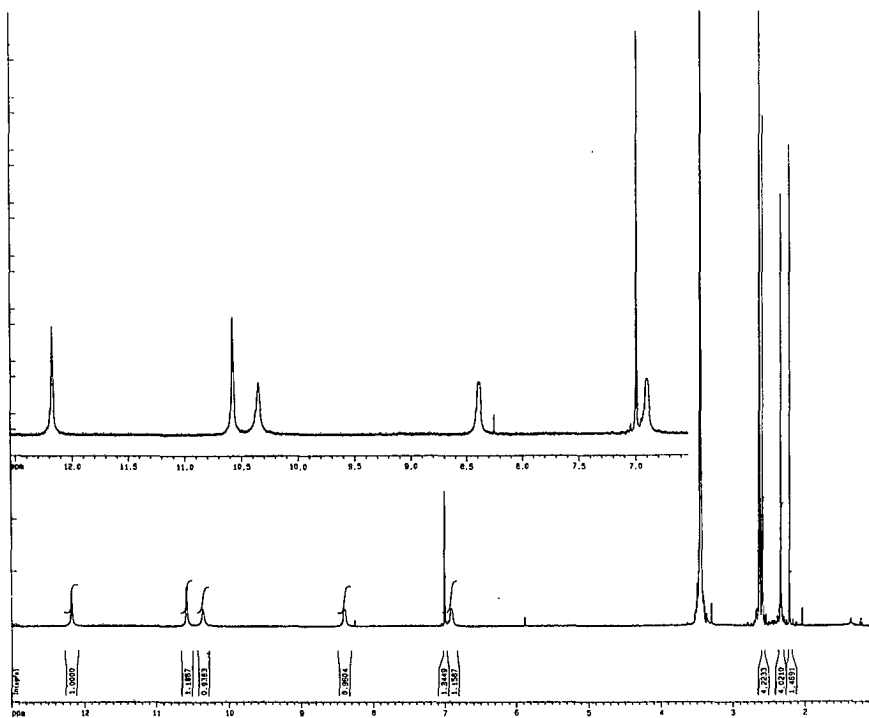


Fig. 9: Spectre ¹H-RMN de 4 (400MHz dans le DMSO)

ETUDE PHYTOCHIMIQUE DE *Bryoria fuscescens*

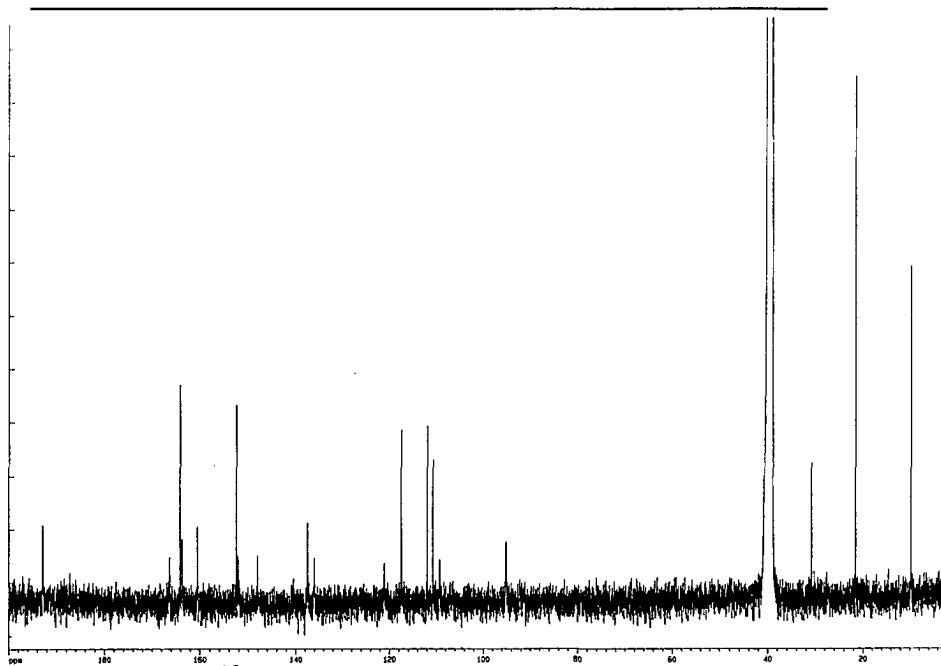


Fig. 10: Spectre ^{13}C de 4 (100MHz, dans le DMSO).

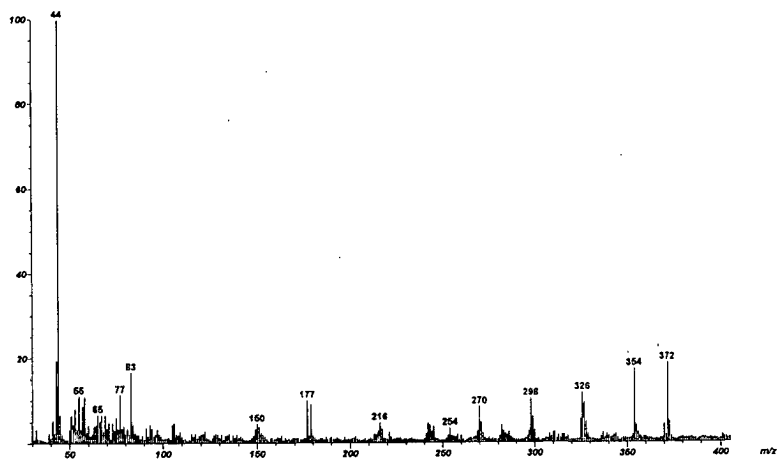


Fig. 11: Spectre MS (EI, +) de 4.

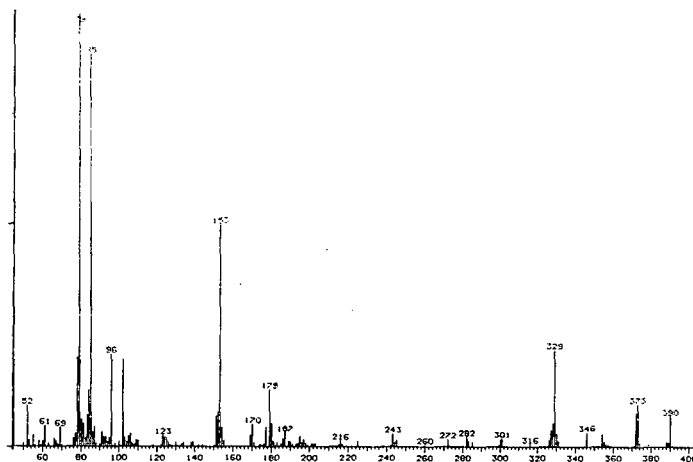


Fig. 12: Spectre MS (DCI, NH₃, +) de 4.

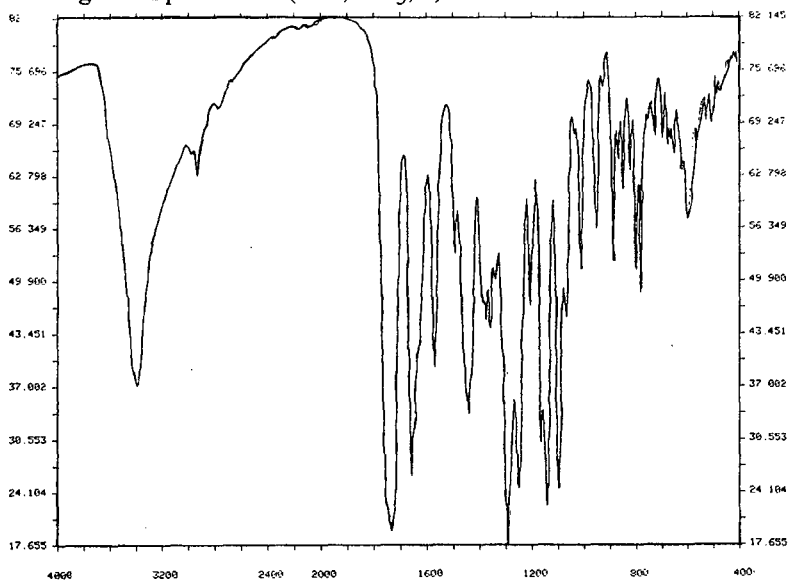
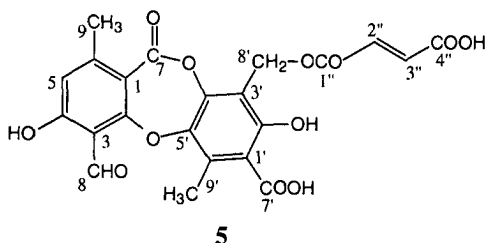


Fig. 13: Spectre IR (KBr) de 4.

- Acide fumarprotocétrarique (5)



Après avoir éliminé par filtration de l'extrait à l'éther, l'acide norstictique, le filtrat contenant les autres acides est évaporé à sec. Le résidu est dissout dans du chloroforme et chauffé à reflux pendant 15 min. Après refroidissement, il y a formation d'un précipité blanc, on le récupère par filtration. On effectue une chromatographie sur colonne en utilisant comme éluant toluène/acide acétique (200:30). Les deux premiers produits qui éluent sont l'acide psoromique et l'acide norstictique, les dernières fractions contiennent l'acide fumarprotocétrarique. Après évaporation du solvant et séchage dans l'étuve à vide, on en récupère 35mg. Il se présente sous forme de poudre blanchâtre. Il est très peu soluble dans la plupart des solvants organiques, il est par contre soluble dans l'acétone hydraté (80-90%).

Le spectre $^1\text{H-RMN}$ (fig. 14) permet d'observer la présence de 2 groupes méthyles d'un $\text{CH}_2\text{-O}$, de 2 protons vinyliques, d'un proton aromatique, d'un aldéhyde et d'un acide. On ne voit pas les OH ni le deuxième acide. Le DEPT 135 confirme la présence d'un CH_2 .

Le spectre de masse n'a pas donné de résultats satisfaisants en utilisant les méthodes à notre disposition (EI et DCI, NH_3 , +). Dans un chapitre ultérieur, son spectre de masse effectué par électrospray sera discuté.

Analyses:

F: 253-256°C (décomposition) $\text{C}_{22}\text{H}_{16}\text{O}_{12}$ PM: 472
 F: [3] 250-260°C (décomposition) $R_f = 0.12$ (Toluène/AcOH 200:30)

ETUDE PHYTOCHIMIQUE DE Bryoria fuscescens

¹H-RMN (DMSO, 400MHz): 2.43 (*s*, 3H, CH₃-arom); 2.45 (*s*, 3H, CH₃-arom); 5.30 (*s*, 2H, CH₂-arom); 6.64 (*s*, 2H, CH=CH); 6.84 (*s*, 1H, H-arom); 10.57 (*s*, 1H, CHO); 11.95 (*b*, 1H, COOH arom).

IR (KBr): 3096 (*m*); 1747 (*vs*); 1699 (*vs*); 1577 (*s*); 1451 (*s*); 1379 (*s*); 1296 (*vs*); 1259 (*vs*); 1155 (*vs*); 1130 (*s*); 1005 (*m*); 936 (*m*); 801 (*m*).

Tableau 5: Comparaison des déplacements chimiques ¹³C-RMN de l'acide fumarprotocétrarique dans le DMSO avec la littérature [3].

Valeurs observées en ppm (100.62MHz)		Valeurs selon [3] en ppm (25.05MHz)	
C(8) 191.65	C(2'') 135.04	C(8) 191.7	C(2'') 135.0
C(7') 170.16	C(6') 132.22 *	C(7') 170.7	C(6') 132.5
C(2) 165.62	C(3'') 132.00 *	C(2) 165.6	C(3'') 132.5
C(4) 164.63	C(5) 117.25	C(4) 164.6	C(5) 117.3
C(1'') 164.03	C(1') 116.78	C(1'') 164.1	C(1') 115.4
C(4'') 163.99	C(3') 113.25	C(4'') 164.0	C(3') 113.2
C(7) 160.95	C(1) 112.18	C(7) 160.7	C(1) 112.1
C(2') 155.65	C(3) 112.04	C(2') 156.1	C(3) 111.8
C(6) 152.10	C(8') 56.83	C(6) 152.3	C(8') 56.8
C(4') 145.54	C(9) 21.29	C(4') 145.8	C(9) 21.4
C(5') 142.07	C(9') 14.66	C(5') 142.1	C(9') 14.9

* Ces carbones peuvent être interchangeés.

ETUDE PHYTOCHIMIQUE DE *Bryoria fuscescens*

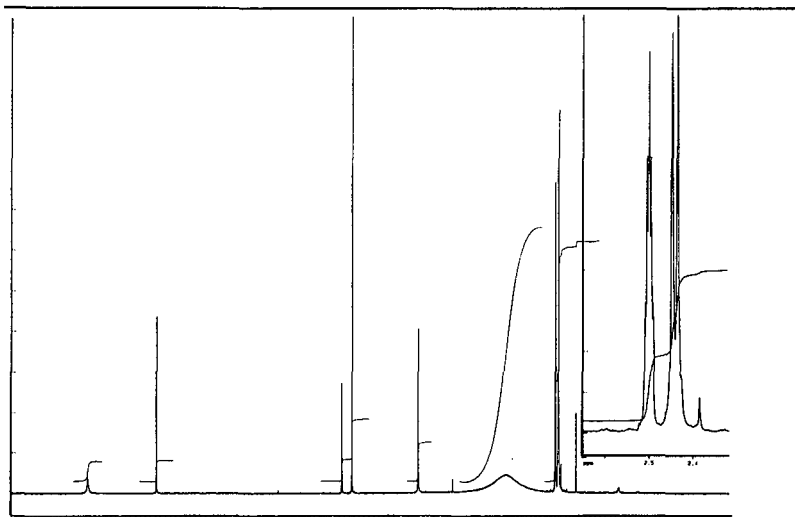


Fig. 14: Spectre ^1H -RMN de 5 (400MHz dans le DMSO).

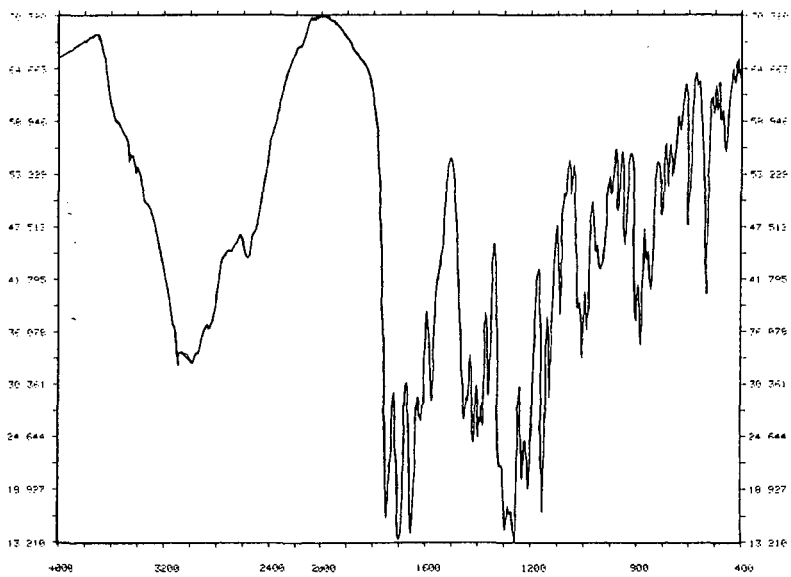


Fig. 15: Spectre IR (KBr) de 5.

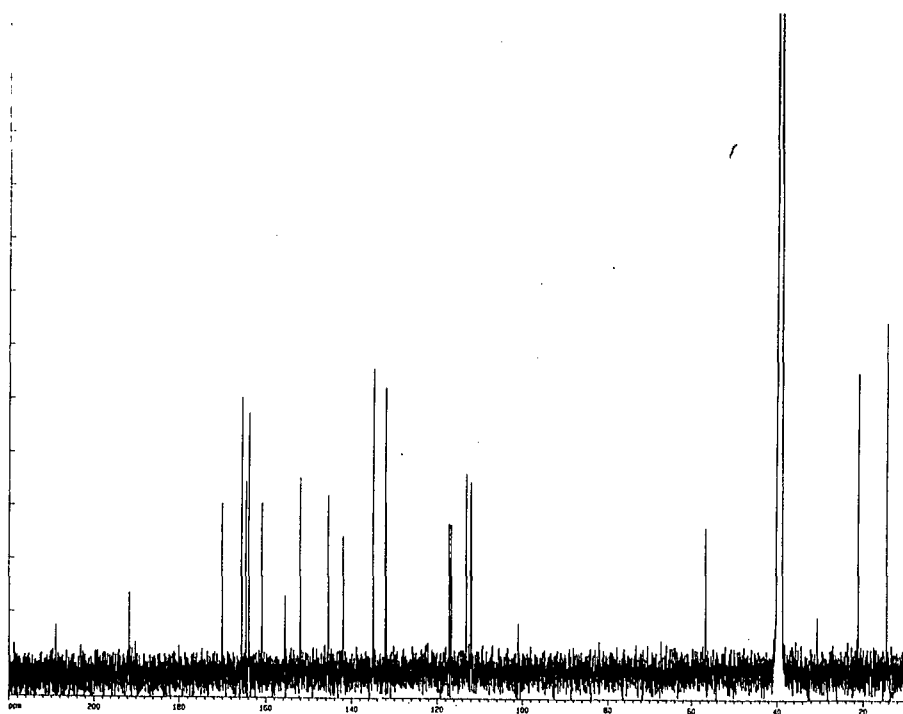
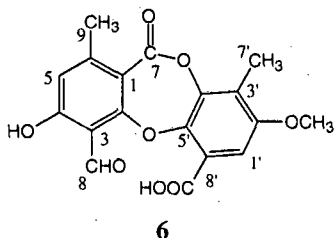


Fig. 16: Spectre ^{13}C de 5 (100.62MHz dans le DMSO).

- Acide psoromique (6)



Le filtrat est concentré et recristallisé dans l'acétone. Après refroidissement, l'acide psoromique précipite, on en récupère 45mg sous

forme de poudre blanche. Le filtrat contient des traces d'acide norstictique et d'acide fumarprotocétrarique.

C'est une depsidone dérivée du β -orcinol. Il est difficilement soluble dans le chloroforme et l'éthanol. Les spectres RMN ont été enregistrés dans le DMSO.

Le spectre ^1H -RMN (fig. 18) montre la présence de 2 groupes méthyles, d'un groupe méthoxy, de 2 protons aromatiques, d'un aldéhyde et d'un acide. Les protons aromatiques ne sont pas couplés entre eux, ce qui signifie qu'ils ne sont pas sur le même cycle. Le groupe phénol n'est pas visible, mais sa présence est déduite par le fait qu'il manque un substituant pour former la depsidone. Le spectre de masse (fig. 19) le confirme par un pic moléculaire à 358. Le DEPT 135 confirme la présence de deux CH_3 -arom., d'un OCH_3 , de deux CH -arom. et d'un CHO . Le déplacement chimique de 193 ppm sur le spectre ^{13}C (fig. 20) est caractéristique pour la présence de l'aldéhyde.

Analyses:

F: 267-269°C (décomposition) $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{O}_8$ PM: 358
F: [3] 265°C (décomposition) $R_f = 0.42$ (Toluène/AcOH 200:30)

^1H -RMN (DMSO, 400MHz): 2.20 (s, 3H, CH_3 -arom); 2.46 (s, 3H, CH_3 -arom); 3.83 (s, 3H, CH_3 -O); 6.85 (s, 1H, H(5)); 7.09 (s, 1H, H(1')); 10.43 (s, 1H, CHO).

IR (KBr): 3181-2972 (m); 1737 (vs); 1651 (s); 1615 (m); 1584 (m); 1562 (m); 1492 (m); 1455 (s); 1386 (m); 1360 (m); 1288 (s); 1262 (s); 1229 (m); 1209 (s); 1153 (s); 1129 (s); 1006 (w); 881 (w); 746 (m).

MS (EI, %, m/z): 358 (M^+ , 35); 330 (5); 314 (10); 299 (8); 286 (100); 271 (36); 257 (15); 243 (15); 177 (17); 151 (7); 106 (15); 77 (16).

Fragments importants:

330 ($\text{M}^+ - \text{CO}$); 286 (330 - CO_2); 271 (286 - CH_3); 314 (358 - CO_2)

Tableau 6: Comparaison des déplacements chimiques ^{13}C -RMN de l'acide psoromique dans le DMSO avec la littérature [3].

Valeurs observées en ppm (100.62MHz)		Valeurs selon [3] en ppm (25.05MHz)	
C(8) 193.99	C(6') 123.45	C(8) 193.7	C(6') 123.7
C(8') 166.15	C(3') 122.78	C(8') 165.3	C(3') 122.6
C(2) 164.81	C(5) 117.40	C(2) 164.4	C(5) 116.8
C(4) 164.06	C(1) 111.92	C(4) 163.9	C(1) 111.5
C(7) 161.03	C(3) 110.97	C(7) 160.4	C(3) 110.6
C(2') 154.72	C(2') 107.72	C(2') 154.5	C(2') 107.7
C(6) 152.75	C(2)-OCH ₃ 56.36	C(6) 152.4	C(2)-OCH ₃ 56.0
C(4') 143.42	C(9) 21.7	C(4') 143.0	C(9) 21.2
C(5') 142.51	C(7') 9.79	C(5') 142.3	C(7') 9.2

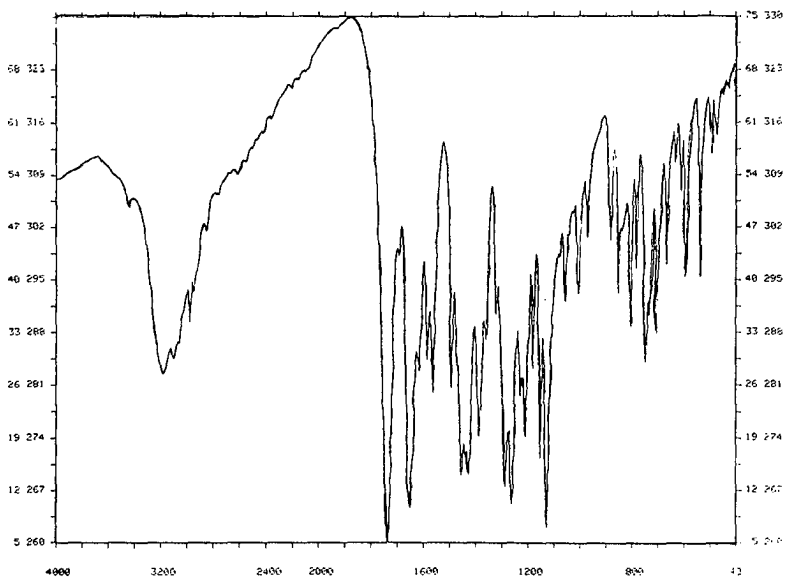


Fig. 17: Spectre IR (KBr) de 6.

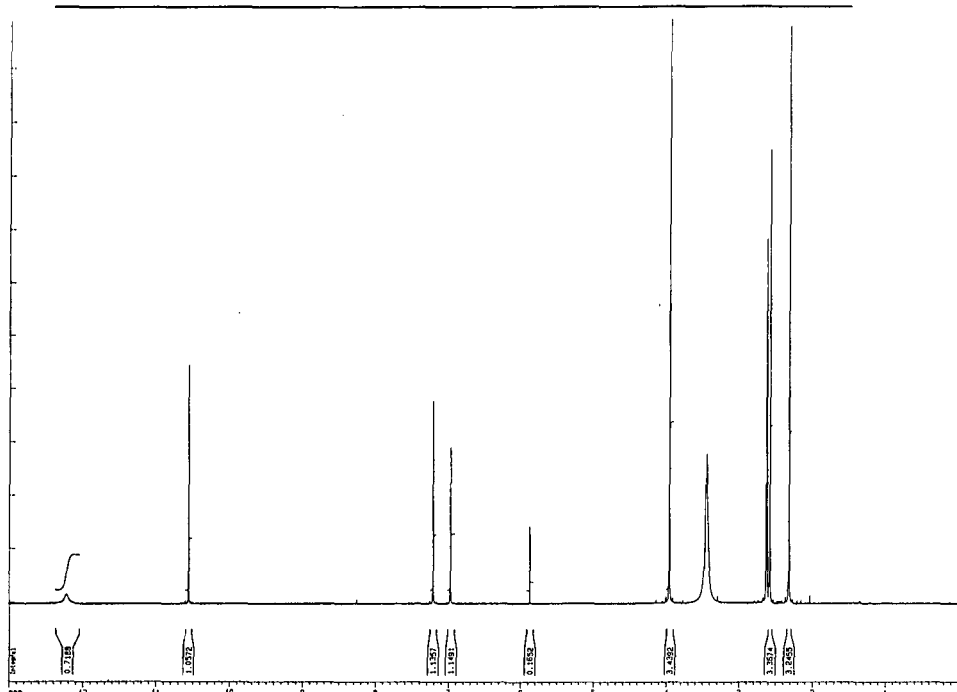


Fig. 18: Spectre $^1\text{H-NMR}$ de **6** (400MHz dans le DMSO).

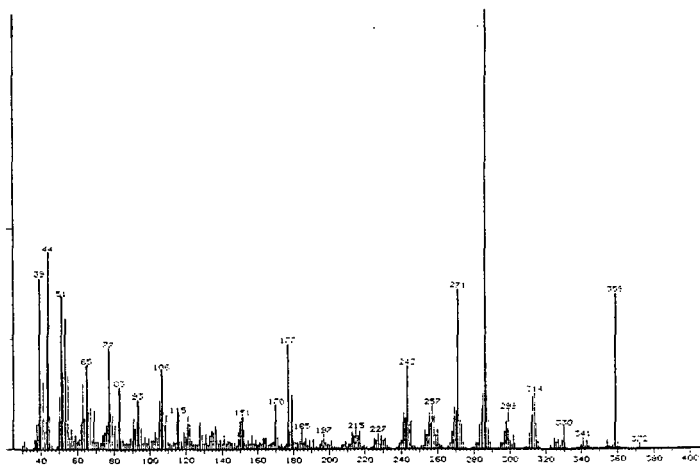


Fig. 19: Spectre MS (EI, +) de **6**.

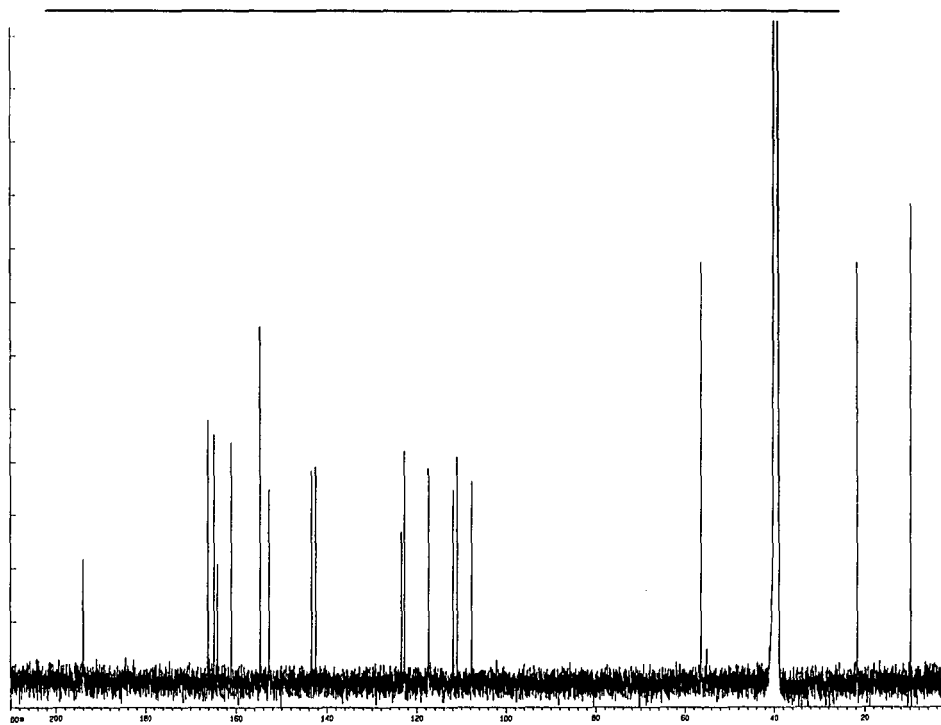


Fig. 20: Spectre ^{13}C de 6 (100.62MHz dans le DMSO).

ETUDE DE COMPOSES LICHENIQUES PAR HPLC

3.1 Introduction

Les lichens sont connus pour la diversité de métabolites secondaires qu'ils produisent. Environ 550 substances ont été identifiées, dont plus de 450 sont des dérivés aromatiques.

Culberson et coll. [34] ont mis au point une méthode standard pour détecter et identifier des composés lichéniques par CCM. Cette méthode a été améliorée en utilisant la CCM à deux dimensions [35]. Elle a permis l'identification de produits lichéniques ayant des structures similaires et ceux présents en faibles quantités dans des mélanges complexes.

Dernièrement, l'HPLC s'est développée comme méthode analytique pour la séparation et l'identification de substances lichéniques. Les premiers essais d'application de cette méthode pour l'analyse chimiotaxonomique ont été réalisés sur des colonnes remplies de silice normale [41, 42], mais de meilleurs résultats ont été obtenus par des colonnes remplies de phase inverse. Alors que *Culberson et Culberson* [43] ont utilisé comme solvant d'élution un mélange méthanol-eau-acide acétique, *Lumbsch et Elix* [44] préfèrent utiliser une phase mobile constituée d'un mélange méthanol-eau-acide orthophosphorique. Même si ces méthodes isocratiques donnent de bons résultats, l'utilisation d'un gradient d'élution est une méthode plus performante.

En 1993 *Huneck et coll.* [36] ont proposé une nouvelle méthode standardisée avec un gradient d'élution MeOH/acide orthophosphorique 1% qui permet la résolution d'un grand nombre de composés. Cette méthode a été utilisée avec succès pour des lichens appartenant à différentes familles comme les Agyriaceae [45], les Lecanoraceae [46, 47], les Pertusaciaceae [48] et les Roccellaceae [49].

3.1.1 Données techniques

Nous avons utilisé le même type de colonne que *Huneck* soit une colonne Spherisorb 5 ODS 2 (silice, phase inverse, C₁₈), 5µm, 250 x 4.6mm. Les mesures sont effectuées à température ambiante avec deux systèmes de solvants. Le premier (A) contient de l'eau bidistillée avec 1% d'acide orthophosphorique et le deuxième système (B) le méthanol.

Le programme d'élution est le suivant:

La mesure commence avec 30% de B, pendant 1min. On injecte ensuite l'échantillon et le pourcentage de B est augmenté jusqu'à 70% en 14min, puis jusqu'à 100% en 30min. Ce pourcentage est maintenu pendant 18 min.

La vitesse du flux est de 0.7ml/min et la détection se fait par UV 254nm.

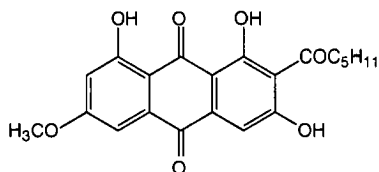
L'acide benzoïque (R_t faible) et l'acide solorinique (R_t élevé) sont utilisés comme standards internes. *Huovinen et al.* [50] utilisait le bis-(2-éthylhexyl)-phtalide comme deuxième standard, mais il éluait en même temps que les chloroxanthes et les depsides contenant de longues chaînes. Ainsi, l'acide solorinique a été employé, il est plus hydrophobe et il est facilement extrait du lichen *Solorina crocea*.

Le temps de rétention relatif est calculé de la manière suivante:

$$R_1 = \frac{R_t \text{ du composé} - R_t \text{ de l'ac. benzoïque}}{R_t \text{ de l'ac. solorinique}} \times 100$$

3.1.2 Extraction de *Solorina crocea*

Pour obtenir l'acide solorinique, nous avons extrait à l'éther 10g de *Solorina crocea* (provenant de la Collection de l'Institut de Botanique, Université de Neuchâtel) pendant 24h. On récupère une solution rouge, que l'on met au réfrigérateur pendant 48h. Le précipité qui apparaît est filtré et recristallisé dans le toluène. Après filtration et séchage, on récupère 15mg d'acide solorinique, un solide rouge.



Acide solorinique

Analyses:

F: 195-199°C

$C_{21}H_{20}O_7$

PM: 384

F: [3] 201°C

1H -RMN (400MHz, DMSO): 0.86 (*t*, 3H, CH_3 -chaîne); 1.23-1.32 (*m*, 6H, $3 \times CH_2$ -chaîne); 2.78 (*t*, 2H, CH_2 -O); 3.91 (*s*, 3H, CH_3 -O); 6.84 (*d*, 1H, $J=2.48$ Hz); 7.03 (*s*, 1H, H-arom); 7.16 (*d*, 1H, $J=2.54$ Hz, H-arom).

MS (EI, %, m/z): 384 (M^+ , 15); 366 (12); 341 (28); 328 (15); 313 (100); 286 (9); 270 (3); 242 (5); 186 (8).

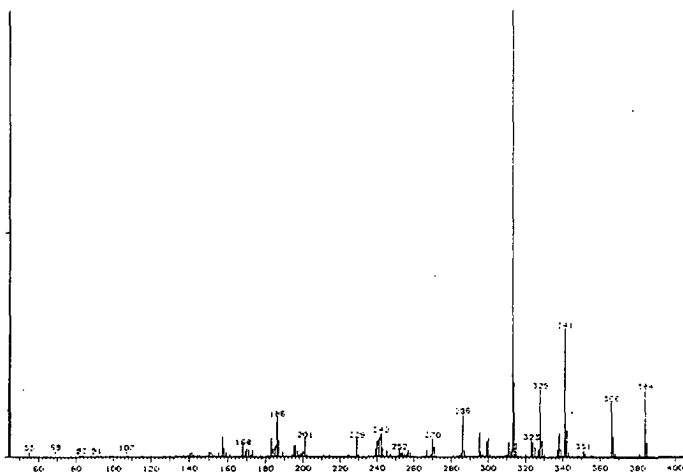


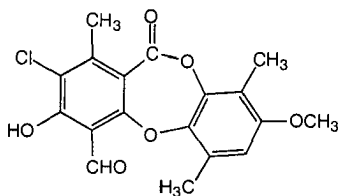
Fig. 21: Spectre MS (EI, +) de l'acide solorinique.

3.2 Mesures

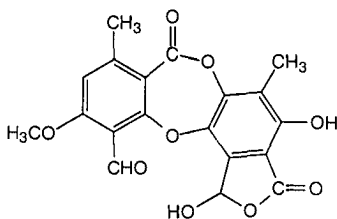
Nous avons effectué l'analyse d'un échantillon témoin contenant 5 composés lichéniques et les deux témoins. 3 de ces composés ont été extraits du lichen *Bryoria fuscescens*.

Les 5 produits analysés sont les suivants:

- Acide psoromique
- Acide norstictique
- Acide stictique
- Acide fumarprotocétrarique
- Pannarine



Pannarine



Acide stictique

ETUDE DE COMPOSES LICHENIQUES PAR HPLC

Nous obtenons un chromatogramme (fig. 22) avec 7 pics bien séparés qui ont les temps de rétention (min) suivants:

- 17.42 Acide benzoïque
- 21.69 Acide stictique
- 25.93 Acide norstictique
- 30.81 Acide fumarprotocétrarique
- 33.25 Acide psoromique
- 43.80 Pannarine
- 68.35 Acide solorinique

Nous avons calculé le temps de rétention relatif en utilisant la formule décrite au chap. 3.1.1. La comparaison des temps de rétention relatifs mesurés avec ceux de la littérature [36] est donnée dans le tableau 7.

Tableau 7: Comparaison des temps de rétention relatifs pour 7 composés lichéniques avec la littérature [36].

Produits	R _t en (min)	R _I mesuré	R _I selon [36]
Ac. benzoïque	17.42	/	/
Ac. stictique	21.69	6.25	6
Ac. norstictique	25.93	12.46	12
Ac. fumarprotocétrarique	30.81	19.59	17
Ac. psoromique	33.25	23.17	21
Pannarine	43.80	38.61	37
Ac. solorinique	68.35	74.52	75

On remarque une légère déviation pour les acides fumarprotocétrarique et psoromique. Le dopage avec des composés authentiques confirme le résultat.

Ces résultats démontrent que cette méthode est très valable pour l'identification de composés lichéniques.

ETUDE DE COMPOSES LICHENIQUES PAR HPLC

Elle doit cependant être utilisée avec précaution. Les spectres UV, facilement enregistrables avec un DAD apportent une confirmation supplémentaire. Malheureusement, elle ne nous a pas permis d'identifier de nouveaux produits.

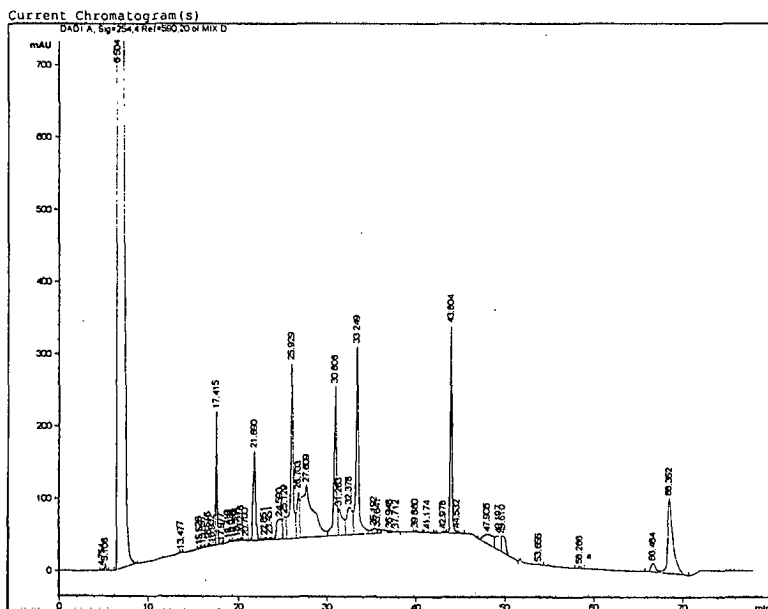


Fig. 22: Chromatogramme des 7 composés lichéniques.

ETUDE PAR MS/MS DE L'ACIDE FUMARPROTOCETRARIQUE

4.1 Introduction

L'acide fumarprotocétrarique se fragmente très facilement en utilisant la technique EI. En fait à 70eV il se décompose pour donner de façon non reproductible des fragments à bas poids moléculaire. Ainsi, nous avons décidé de passer par une technique de ionisation douce.

4.1.1 L'électrospray [51]

La production de ions par l'électrospray requiert deux étapes : la dispersion de gouttelettes hautement chargées à pression atmosphérique, puis l'évaporation de ces dernières [52].

L'électrospray est produit par application, à pression atmosphérique, d'un fort champ électrique sur un liquide traversant un tube capillaire en acier (0.1-0.15mm de diamètre interne) avec un faible débit (couramment 1-10 μ l/min). Le champ électrique est obtenu par application d'une différence de potentiel de 3 à 6 KV entre ce capillaire et la contre-électrode, séparés de 0.3 à 2cm (fig. 23). Ce champ provoque une accumulation de charges à la surface du liquide, située à l'extrémité du capillaire métallique. Ce spray va se disperser pour former des gouttelettes hautement chargées.

L'évaporation du solvant (par passage dans un flux d'azote chaud à 80°C) contenu dans ces gouttelettes va provoquer leur rétrécissement jusqu'au moment où les forces coulombiennes répulsives vont approcher le niveau des forces de cohésions. Ces forces vont provoquer l'explosion des gouttelettes.

Elles subissent alors une cascade de fissions donnant des particules de plus en plus petites, jusqu'au moment où le champ électrique de leur surface devienne suffisant pour provoquer la désorption des ions.

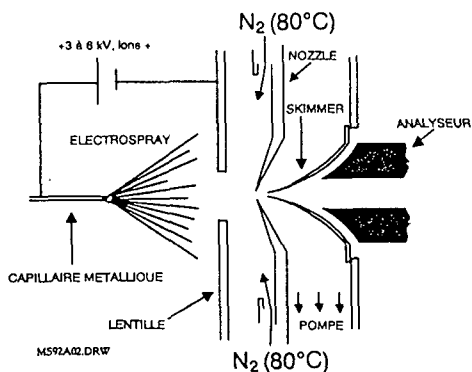


Fig. 23: Schéma d'une source électrospray.

Alexandro Gomez et Keqi Tang [53] ont pu photographier des gouttes en cours de désagrégation dans l'électrospray.

L'équation de Rayleigh donne les conditions auxquelles la répulsion électrostatique devient égale à la force due à la tension de surface γ , qui garde les gouttelettes ensemble.

La gouttelette chargée devient instable et subit une fission quand le rayon D et la charge q satisfont l'équation 1.

$$\text{Rayleigh: } q^2 = 8\pi^2 \epsilon_0 \gamma D^3 \quad (1)$$

q = charge

ϵ_0 = permittivité du milieu environnant

γ = tension de surface liquide

D = diamètre de la goutte

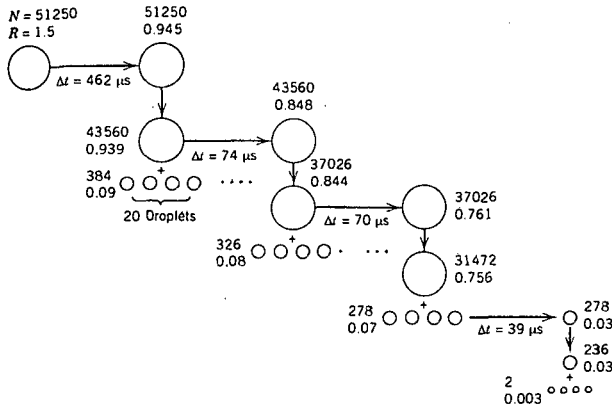


Fig. 24: Représentation schématique au cours du temps de gouttelettes "parent" et de celles "enfant". N =nombre de charges élémentaires sur la gouttelette. R =rayon de la gouttelette en μm . Les valeurs Δt correspondent aux temps requis pour que la gouttelette atteigne par évaporation la taille requise pour qu'une fission ait lieu.

Lors de la fission, la gouttelette ne se divise pas en deux particules plus petites de tailles égales. A cause de vibrations élastiques, elle donne un nuage de gouttelettes beaucoup plus petites; leur masse est d'environ 2% de celle de la particule de départ ("parent") et leur charge correspond à 15% de la charge de départ. De ce fait, ces nouvelles micro-gouttes ont un rapport charge sur masse beaucoup plus important que celui de la gouttelette de départ [54] (fig. 24).

4.1.2 Le "quadripôle ion trap" ou quistor [55, 56]

Le spectromètre de masse à trappe ionique (ion trap mass spectrometer, ITMS) est en effet un quadripôle en trois dimensions.

La trappe ionique est constituée d'une électrode circulaire entourée de deux calottes sphériques (fig. 25), maintenues à une distance précise par des espaceurs en céramique ou en quartz. Le quadripôle à trois dimensions consiste en deux calottes hyperboliques et en une électrode circulaire hyperbolique positionnées entre la source électrospray et le détecteur (fig. 25).

Un champ quadripolaire à trois dimensions se forme entre les trois électrodes lorsqu'une tension appropriée est appliquée sur l'électrode circulaire.

Dans les appareils à quadripôle, on règle les potentiels de manière telle, que seul les ions d'une masse déterminée traversent les barres. Ici, le principe est différent. Les ions de différentes masses sont présents simultanément dans la trappe, et on cherchera à les expulser en fonction de leur masse pour obtenir le spectre.

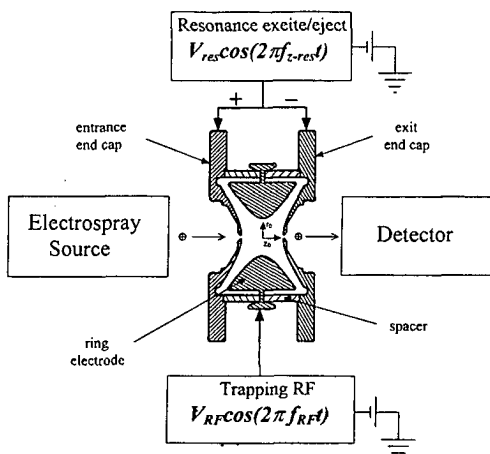


Fig. 25: Schéma d'un quadripôle à trois dimensions (d'après [55]).

L'analyse mathématique par les équations de Mathieu conduit à la détermination dans l'espace de zones de stabilité des ions de masses différentes. On peut représenter dans un diagramme en fonction des valeurs de U , tension continue, et V_{RF} , amplitude de la tension alternative, les domaines dans lesquels les ions sont stables, donc ayant une trajectoire ne tombant jamais hors des dimensions z_0 et r_0 de la trappe. Un tel diagramme est représenté à la figure 26.

Les ions se repoussent mutuellement et de ce fait ont tendance à accroître le volume qu'ils occupent par un accroissement du rayon de la trajectoire. De ce fait, cette méthode impose de garder dans l'analyseur une pression de gaz inerte, de l'hélium en général, de manière à constamment "freiner" les ions pour qu'ils restent sur une trajectoire de petite dimension. Cette pression est de l'ordre de 10^{-3} torr. Pour maintenir ce niveau de vide, il suffit d'une pompe de haut vide d'un débit de l'ordre de 40L/sec, comparé à deux pompes de 250L/sec typiques d'autres spectromètres.

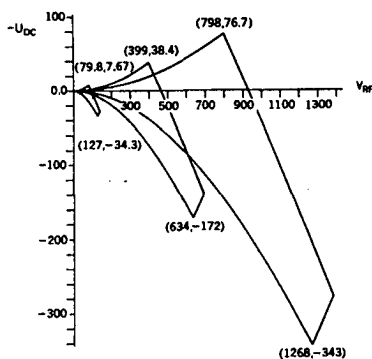


Fig.26: Courbes de stabilité d'ions simultanément stables suivant r et z , de masses 10, 50, et 100 respectivement, de gauche à droite, dans une trappe de 1cm de diamètre à une radiofréquence de 1 MHz. Dans ces conditions, pour $U=0$, tous les ions sont stables si leur masse est inférieure à $0.108 V_{RF}$. Comme on le voit sur le diagramme, l'ion de masse 50 sera instable à partir de $V_{RF}=463V$. En augmentant V_{RF} , on déstabilise des masses de plus en plus hautes.

4.1.3 Spectrométrie de masse "en tandem" dans l'ion trap

Comme le montre la figure 27, on peut en sélectionnant correctement les valeurs de $-U_{DC}$ et V_{RF} ne conserver dans la trappe que les ions d'une masse choisie. Au cours du temps, ces ions vont se fragmenter dans la trappe, qui contiendra alors tous les ions fils. On peut alors les expulser sélectivement, et on obtient ainsi un spectre des ions fragments d'une masse choisie. On fait ainsi de la MS/MS dans le temps au lieu de la faire dans l'espace avec plusieurs analyseurs couplés.

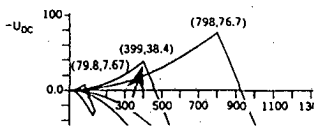


Fig. 27: Vue partielle de la figure 26. La flèche indique un point auquel seul les ions de 50 thomsons sont stables.

Le gaz destiné à ralentir les ions et présent dans la trappe est de l'hélium, de masse $4u$. L'énergie cinétique des ions est de l'ordre de quelques eV seulement. Cette énergie échangée en énergie interne est limitée par l'équation ci-dessous:

$$E_t = E_c \frac{m_2}{(m_1 + m_2)}$$

E_t = énergie disponible appelée énergie cinétique relative.

m_1 = masse de la particule.

m_2 = masse du gaz.

La figure 28 donne une séquence typique utilisée pour, en répétant l'opération décrite ci-dessus, observer des ions de troisième génération.

Cette faible énergie transmise sera souvent insuffisante pour provoquer une fragmentation appréciable dans un temps court. Pour y

remédier, on peut augmenter l'énergie cinétique des ions en superposant leur fréquence propre à la radiofréquence, mais avec une amplitude faible, de manière à ne pas les expulser de la trappe.

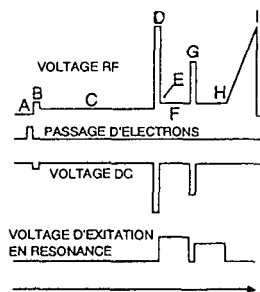


Fig. 28: Séquence des opérations contrôlées par ordinateur, pour réaliser une expérience MS/MS/MS typique dans un ion trap:

A: Ionisation par impact électronique du gaz d'ionisation chimique; B: par ajustement approprié de U (voltage DC) et V (voltage RF), sélection d'un ion pour l'ionisation chimique. C: protonation pendant 200ms de l'analyte par l'ion choisi. D: sélection de l'ion parent. E: accroissement de V pour choisir une gamme de masse pour l'observation des fragments. F: excitation résonante pour fragmenter le parent choisi. G: sélection d'un des fragments. H: excitation résonante pour fragmenter ce fragment. I: balayage en masse fournissant le spectre de masse.

4.2 Fragmentation de l'acide fumarprotocétrarique

Son spectre de masse a été réalisé en utilisant la méthode ESI. L'échantillon a été dissout dans du méthanol contenant de l'acétate d'ammonium pour faciliter l'ionisation.

Nous avons aussi effectué une MSⁿ (n=2 à 6) sur ce composé en utilisant la méthode de l'ion trap.

Sur le spectre de masse complet (fig. 29), nous observons le pic moléculaire à m/z=472 (16%). Cet ion perd ensuite sa chaîne latérale

(115) pour donner le fragment $m/z=357$ (49%) (schéma 3). Sur ce spectre nous observons aussi la présence d'un pic à $m/z=490$ (100%), il est dû à "l'adduit" formé avec l'ammonium, de même, le pic à $m/z=495$ (35%) est dû à "l'adduit" formé avec le sodium.

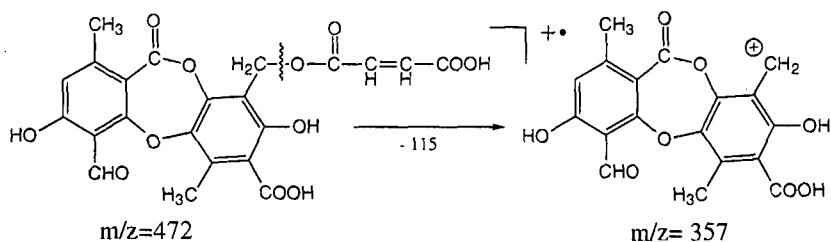


schéma 3: Fragmentation à partir de $m/z=472$.

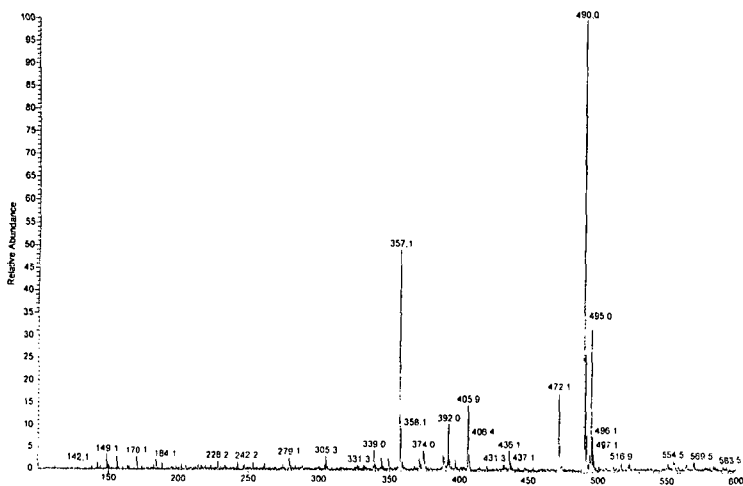


Fig. 29: Spectre de masse (ESI, +) de l'acide fumarprotocétrarique.

4.2.1 MS²

L'expérience de MS² sur le pic moléculaire $m/z=472$ (fig.30), donne 2 fragments: $m/z=356$ (100%), qui provient probablement de la

perte de la chaîne latérale et du proton du phénol du cycle S, et $m/z=338$ (80%) qui correspond à une perte supplémentaire d'eau (schéma 4).

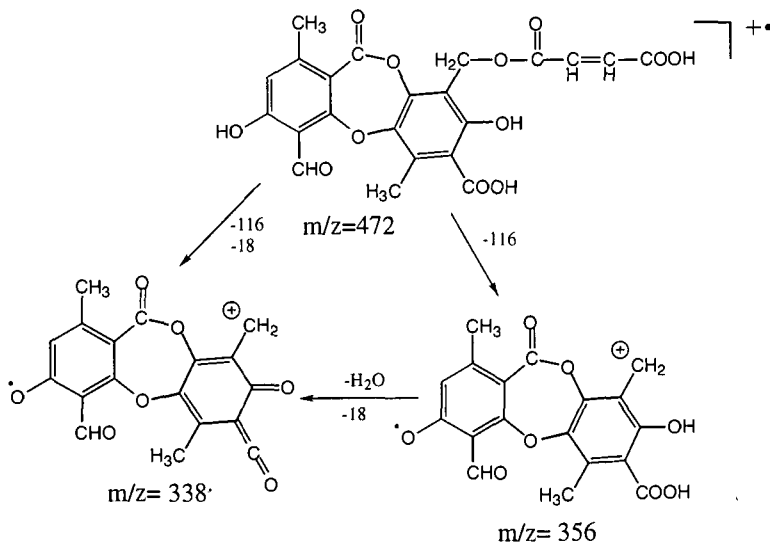


Schéma 4: Fragmentation MS² à partir de $m/z=472$.

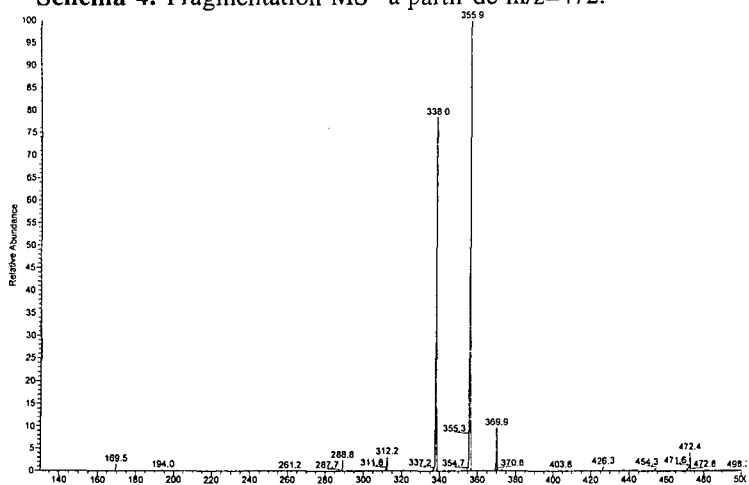


Fig.30: Spectre de masse MS² (ESI,+) sur le fragment $m/z=472$.

La MS² effectuée à partir de l'ion m/z=490 produit un fragment à m/z=357 (fig.31). L'ammonium s'est fixé sur la chaîne latérale et la perte de 133 le confirme (schéma 5).

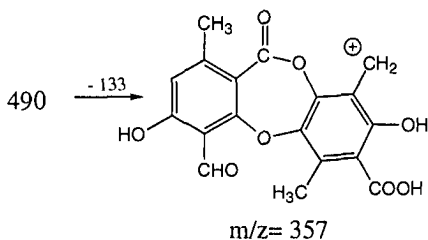


Schéma 5: Fragmentation MS² à partir de m/z=490.

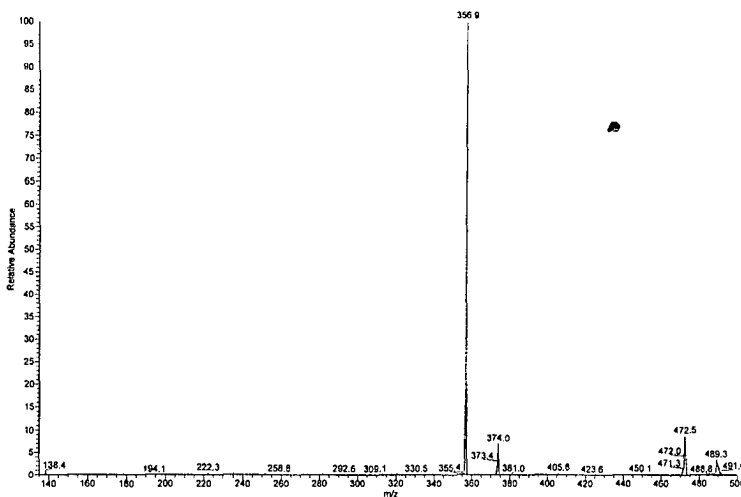


Fig. 31: Spectre de masse MS² (ESI, +) de l'ion m/z=490.

"L'adduit" formé entre l'acide fumarprotocétrarique et le sodium donne un ion à m/z=495. La fragmentation de ce ion (fig.32) donne un pic à m/z=379. Ce qui confirme que le Na⁺ reste fixé sur le fragment chargé positivement (schéma 6).

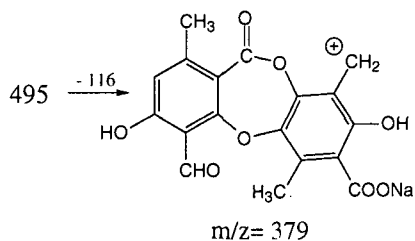


Schéma 6: Fragmentation MS² (ESI, +) de $m/z=495$.

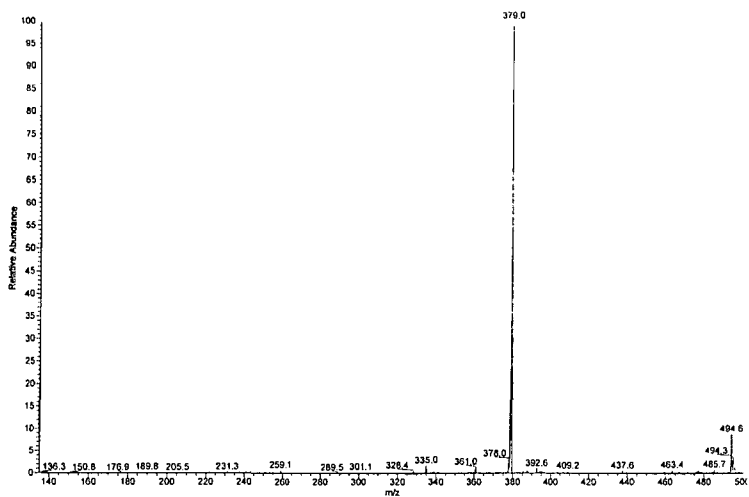


Fig. 32: Spectre de masse MS² (ESI, +) de l'ion $m/z=495$.

La MS² du fragment m/z=357 donne après perte d'une molécule d'eau (schéma 7), le fragment m/z=339 (fig.33).

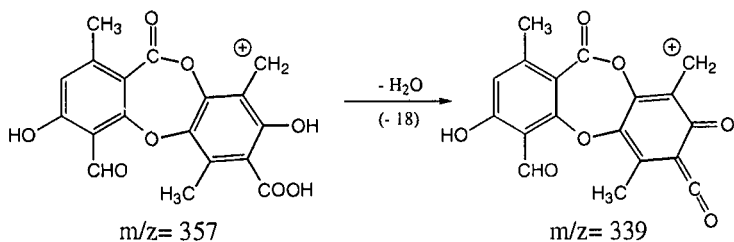


Schéma 7: Fragmentation MS² (ESI, +) de m/z=357.

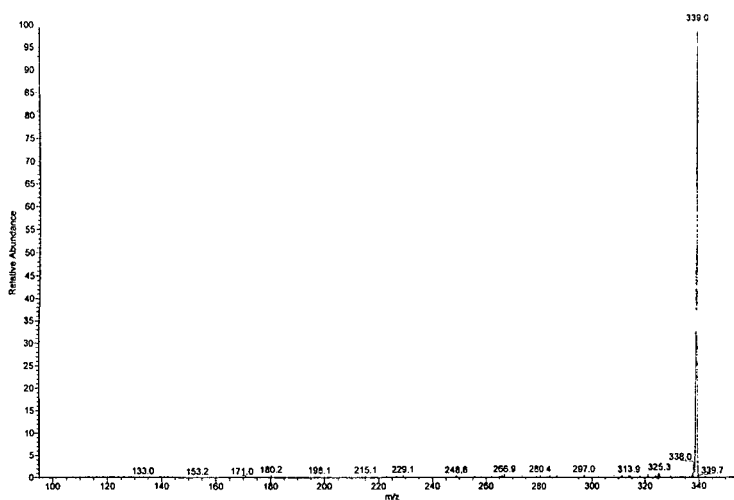


Fig. 33: Spectre de masse MS² (ESI, +) du fragment m/z=357.

4.2.2 MS n=3 à 6

A partir du fragment m/z=339, nous avons obtenu après perte d'un cétène sur le cycle A m/z=285 (fig. 34). Ce ion est refragmenté en ion m/z=257 qui correspond à une perte de CO sur le cycle S (fig. 35).

ETUDE PAR MSMS DE L'ACIDE FUMARPROTOCETRARIQUE

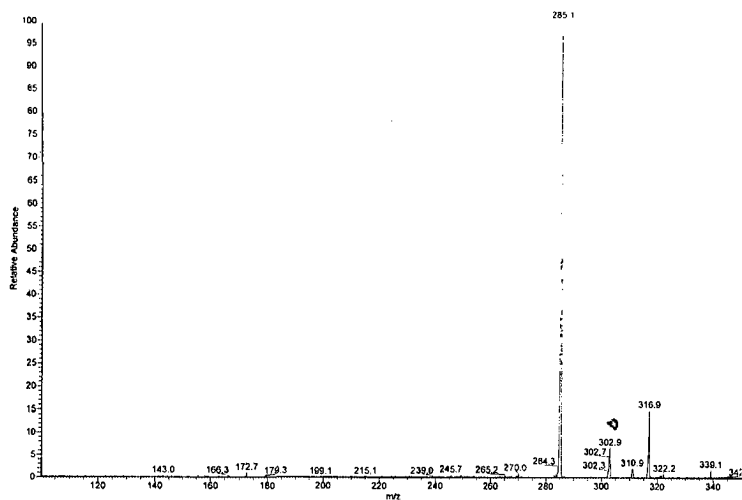


Fig. 34: Spectre de masse MS³ (ESI, +) du fragment m/z=339.

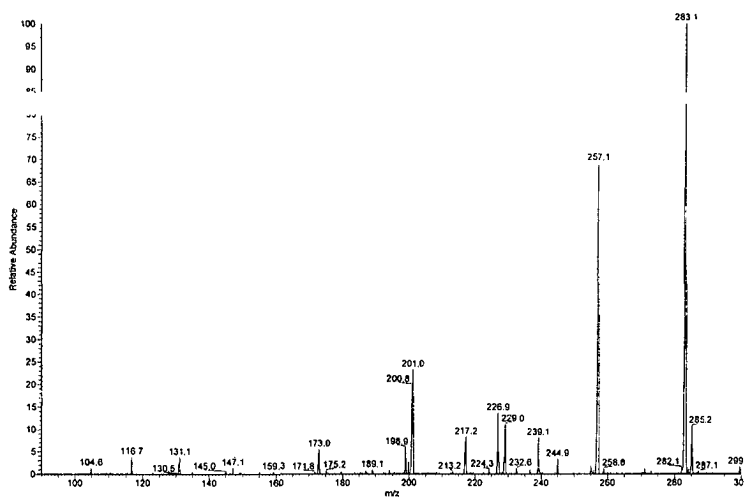


Fig. 35: Spectre de masse MS⁴ (ESI, +) du fragment m/z=285.

Sur les spectres de masse MS⁵ et MS⁶ (fig. 36 et 37), nous avons observé un enchaînement de pertes de CO. Le schéma 8 illustre la fragmentation de l'acide fumarprotocétrarique à partir de MS³.

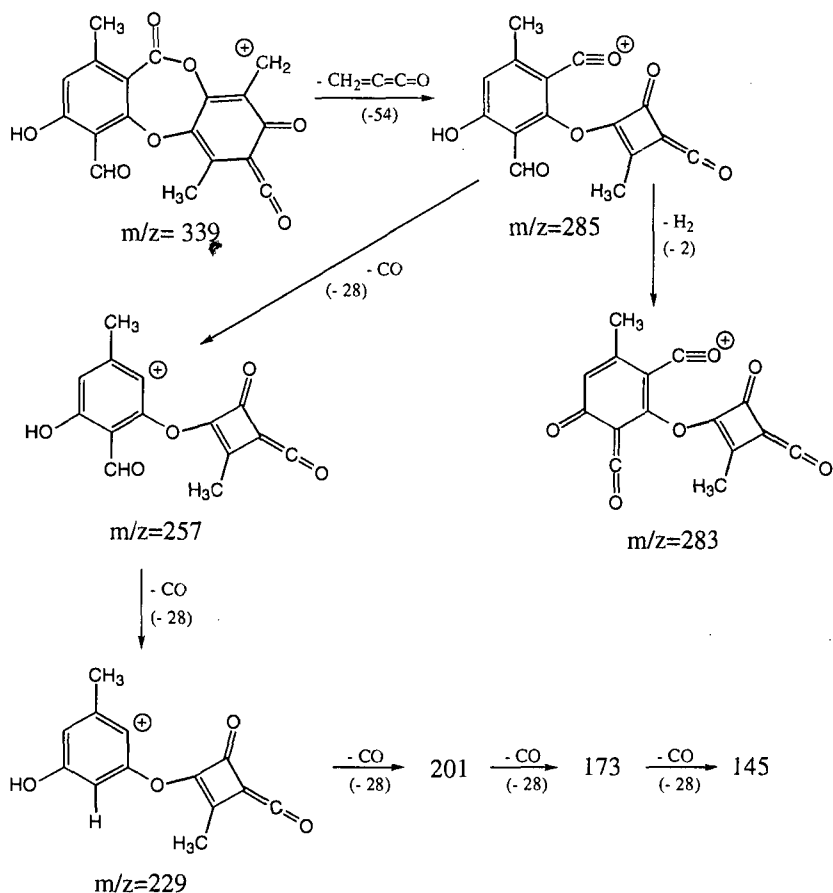


Schéma 8: Fragmentation de MS³ à MS⁶ de l'acide fumarprotocétrarique.

ETUDE PAR MSMS DE L'ACIDE FUMARPROTOCETRARIQUE

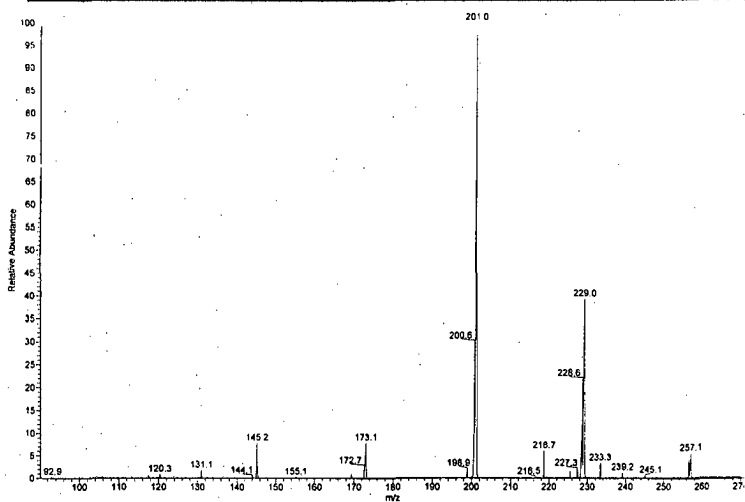


Fig. 36: Spectre de masse MS⁵ (ESI, +) du fragment m/z=229.

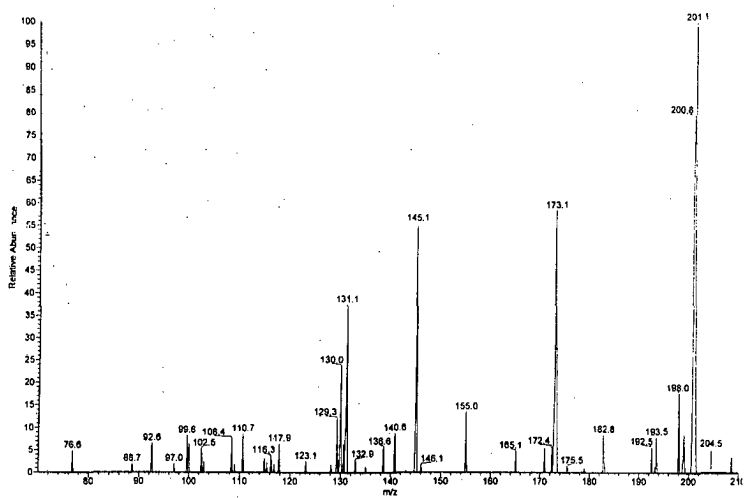


Fig. 37: Spectre de masse MS⁶ (ESI, +) du fragment m/z=201.

CHAPITRE 5

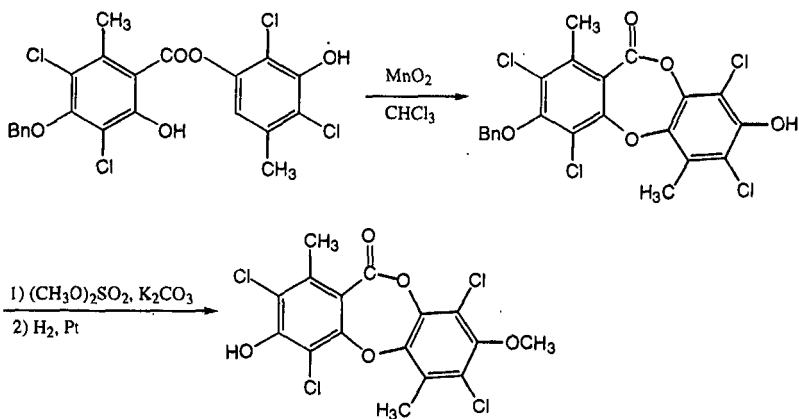
SYNTHESE DE DEPSIDONES CONTENANT UN CYCLE HYDROXYPHTALIDE

5.1 Introduction

Dans le chapitre 1 (introduction), nous avons décrit les différentes depsidones naturelles contenant un cycle hydroxyphtalide. Aucune synthèse totale de ces composés n'a été décrite dans la littérature. Trois voies de synthèse différentes ont été tentées dans notre laboratoire [57, 58], mais sans succès.

La première voie passe par le couplage oxydatif d'une benzophénone, la deuxième comporte le réarrangement de *Smiles* d'un depside et la troisième s'appuie sur l'utilisation de la réaction de *Ullmann*. Ces trois méthodes s'inspirent des théories biogénétiques.

En 1957, *Barton* [59] formula la première hypothèse sur la biosynthèse des depsidones. Selon lui, les depsidones résultaient du couplage oxydatif des p-depsides. *Ollis et coll.* [60] en 1960 réalisèrent la synthèse de la diplôidine sur ce modèle. Elle a été proposée comme méthode biomimétique et consistait à former le pont éther de la depsidone sur le depside correspondant par oxydation au MnO_2 dans le chloroforme.



Diploïcine

Bien que les substituants halogénés sur le depside favorisent cette fermeture oxydative, le rendement est faible. Cette première méthode de synthèse ne sera plus utilisée par la suite, car la fermeture est généralement difficile à effectuer.

Dans les chapitres suivants nous allons illustrer les méthodes de synthèse décrites dans la littérature pour la synthèse des depsidones, puis l'application de ces méthodes dans notre laboratoire par *Pulgarin* [57] et *Hareed* [58].

Nous décrirons ensuite l'approche inédite que nous avons utilisée pour l'obtention de depsidones contenant un cycle hydroxyphthalide

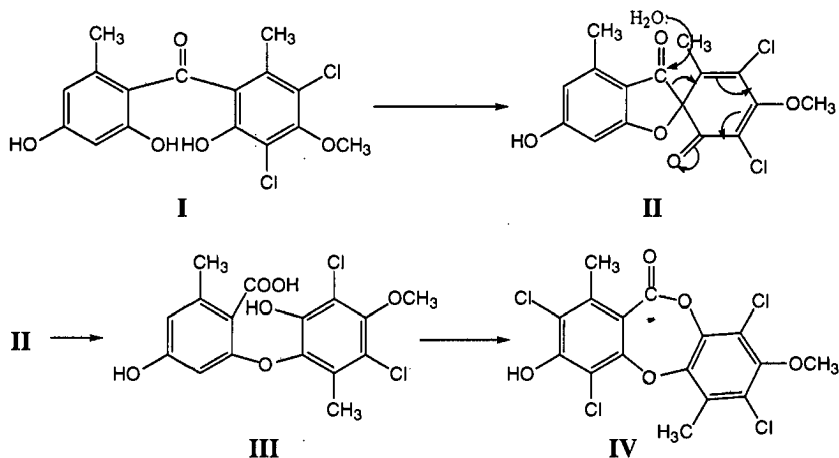
5.2 Synthèses de depsidones

5.2.1 Couplage oxydatif d'une benzophénone

En 1972, *Hendrickson et coll.* [61] ont mis en doute la généralisation et l'efficacité de la fermeture d'un cycle à sept membres proposée par *Barton*. Ils ont pensé qu'une fermeture à cinq membres était cinétiquement plus favorable. Ils ont oxydé la benzophénone **I** pour obtenir le composé **III** résultant de l'hydrolyse de la grisadiènedione **II**.

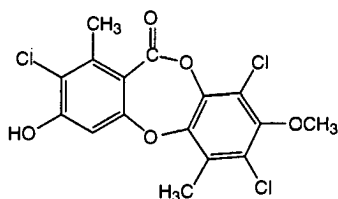
SYNTHÈSE DE DEPSIDONES

La depsidone **IV** a été obtenue par traitement du diphenyléther avec l'anhydride acétique à chaud.



C'est en 1981, que *Sala et Sargent* [62] ont éclairci le mécanisme de conversion benzophénone → grisadiènedione → depsidone et ont suggéré que la biosynthèse des depsidones pourrait suivre le même chemin.

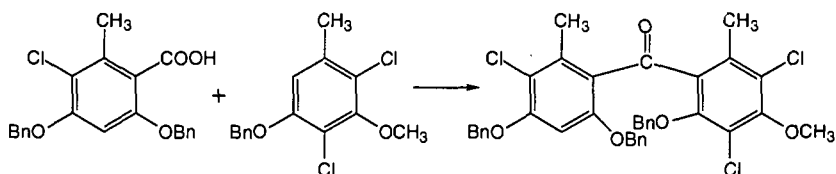
Pour étayer cette hypothèse, ils ont effectué la synthèse de la déchlorodiploïcine:



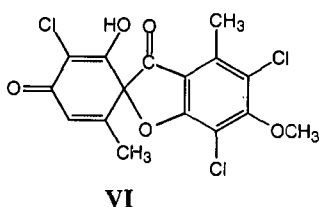
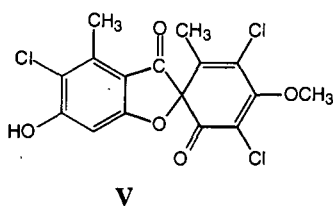
Déchlorodiploïcine

En partant du dérivé de l'acide orcellinique protégé sous forme d'éther benzyle ils ont obtenu la benzophénone par condensation de type Friedel-Crafts en présence d'anhydride trifluoroacétique [62].

SYNTHESE DE DEPSIDONES

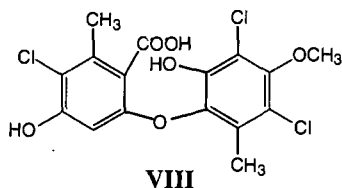
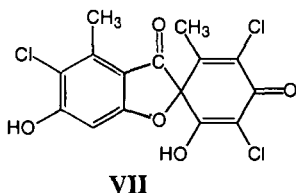


L'hydroxybenzophénone a été ensuite obtenue par hydrogénation catalytique. Elle a été traitée pendant 30sec dans une solution aqueuse de K_2CO_3 en présence de $K_3[Fe(CN)_6]$ pour obtenir, avec un bon rendement, la grisadiènedione **V** et non la grisadiènedione linéaire **VI**.



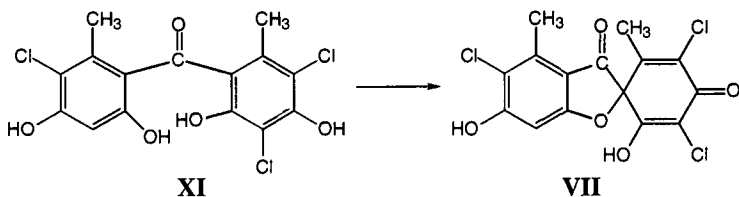
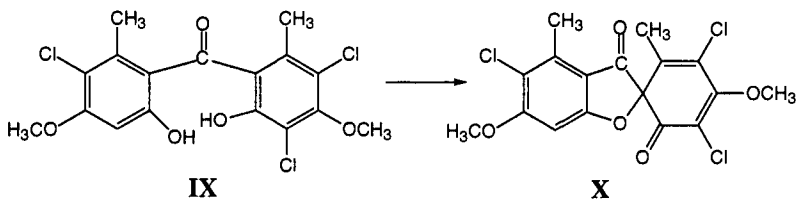
L'identification de **V** est aisée par RMN puisqu'elle se distingue de **VI** par la présence d'un proton aromatique. A ce stade, les auteurs suspectent déjà une orientation dans le couplage oxydatif.

Par traitement basique pendant 3h, **V** est converti en déchlorodiploïcine, en grisadiènedione **VII** et en acide **VIII**.

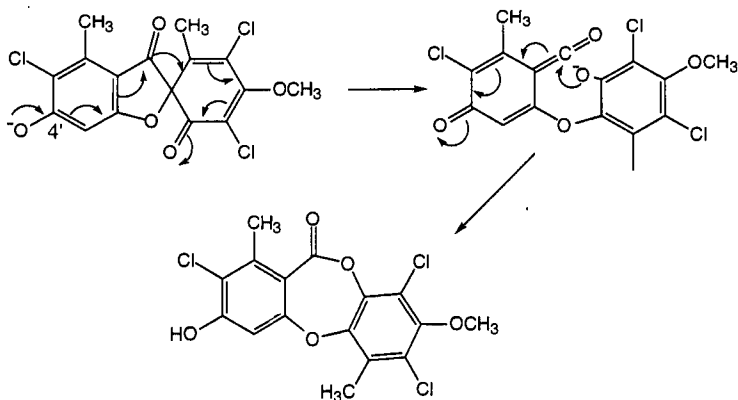


SYNTHESE DE DEPSIDONES

Par ailleurs, un couplage oxydatif des benzophénones **IX** et **XI** n'aboutit respectivement qu'aux grisadiènediones **X** et **VII**. Ces grisadiènediones ne se réarrangent pas en depsidones par hydrolyse basique.

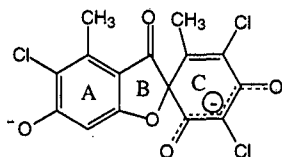


De ces observations, *Sargent et coll.* concluent que le réarrangement grisadiènedione-depsidone lors d'une hydrolyse basique doit passer par un intermédiaire céténique.



SYNTHESE DE DEPSIDONES

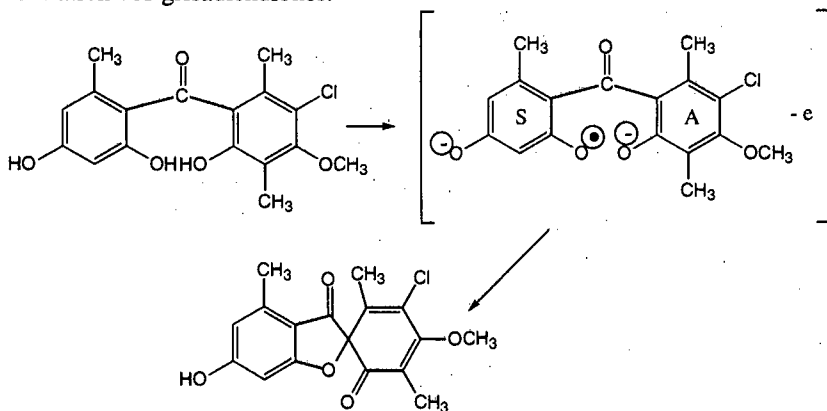
La grisadiènedione **X** possède un méthoxy en position 4'. De ce fait, il ne peut pas se former de phénolate à cette position en milieu basique, et l'intermédiaire céténique ne peut pas se constituer. Pour la grisadiènedione **VII**, l'ion phénolate existe en position 4', ainsi que sur le cycle C.



L'intermédiaire céténique ne se forme pas, car la rupture de la liaison cycle C - benzophénone, qui donnerait naissance à un diphenolate peu favorable, ne se produit pas.

Sargent et coll. ont constaté que les grisadiènediones **X** et **VII** de même que celles aisément convertibles par hydrolyse basique sont capables de se transformer en depsidone par réarrangement thermique si on les chauffe sous forme de cristaux ou en solution jusqu'au point de fusion. Ils ont également constaté que, pour pouvoir se réarranger en depsidone, la grisadiènedione doit posséder une fonction cétone ou phénol en position 4'.

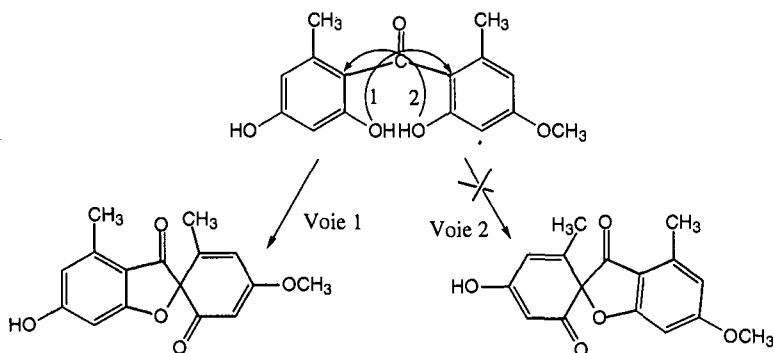
Les mêmes auteurs proposent un mécanisme radicalaire pour la formation des grisadiènediones.



SYNTHESE DE DEPSIDONES

Le radical phénoxy est situé en ortho de la fonction carbonyle, sur le cycle possédant les deux fonctions phénol. Le résultat du couplage oxydatif peut être expliqué par la différence du potentiel d'oxydation des ions phénolates en ortho du carbonyle. En particulier, l'ion localisé sur le cycle S et possédant deux fonctions hydroxyles, doit avoir un potentiel inférieur à celui du cycle A possédant un hydroxy et un méthoxy.

Cette explication s'est avérée correcte dans plusieurs cas.



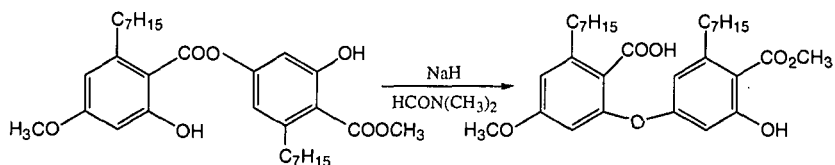
Pour orienter correctement le couplage oxydatif lors de la synthèse de depsidones naturelles, on a souvent recours à des protections sur les fonctions les plus réactives.

Le bon fonctionnement et les excellents rendements "in vitro" de cette méthode ne constituent pas une preuve que ce mécanisme se déroule "in vivo". On n'a jamais isolé des benzophénones ou des grisadiènediones dans les lichens

Sala et Sargent [62] ont postulé que, dans les lichens, les benzophénones résultent de l'acylation d'un cycle de type orcinol par un acide du même type. Ils pensent que les benzophénones sont des intermédiaires très réactifs et de vie très courte, raison pour laquelle elles n'ont jamais été isolées "in vivo".

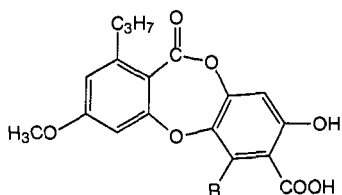
5.2.2 Réarrangement de Smiles

En 1984, *Elix et coll.* [63] réalisèrent la transformation suivante:



Un p-depside a été converti en un diphenyléther isomérique par un réarrangement de Smiles dans des conditions très douces.

Par cette méthode *Elix et coll.* [64] effectuèrent la synthèse de deux depsidones, l'acide divaronique et l'acide sténosporonique.

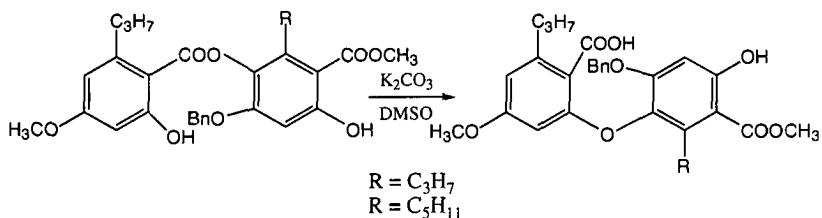


R = C₃H₇ **Acide divaronique**

R = C₅H₁₁ **Acide sténosporonique**

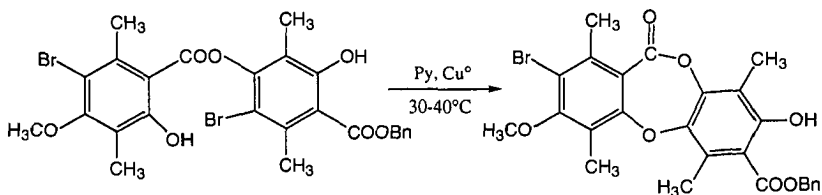
SYNTHÈSE DE DEPSIDONES

L'étape clé de cette synthèse fut la conversion des depsides en diphenyléthers avec K_2CO_3 dans le DMSO.



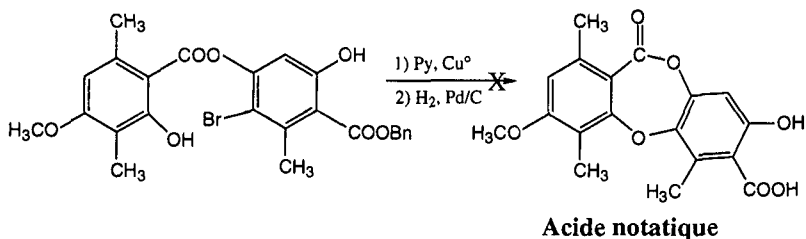
5.2.3 La réaction de Ullmann

En 1975, *Sargent et al.* [65] tentèrent la cyclisation d'un depside bromé par une réaction de Ullmann.



L'acide méthoxy-4-hypoprotocétrarique a ensuite été obtenu par débromation et hydrogénation catalytique. La réaction d'Ullman ne donna que 13% de rendement.

Les mêmes auteurs essayèrent par analogie, la synthèse de l'acide notatique:



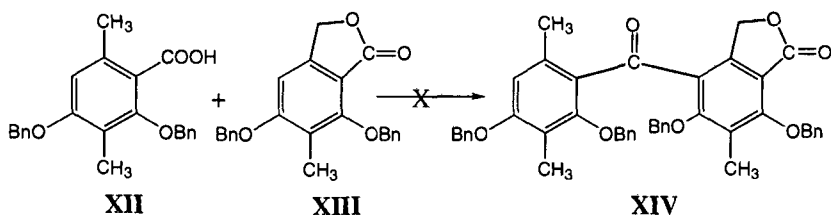
Dans ce cas, le depside, qui ne diffèrait du précédent que par l'absence d'un méthyle sur le cycle A, et d'un brome sur le cycle S, n'a pas cyclisé. Cet échec illustre bien la difficulté qu'ont les depsides à cycliser par condensation de Ullmann.

5.3 Voies de synthèse tentées par Pulgarin [57] et Hareed [58]

5.3.1 Par couplage oxydatif d'une benzophénone

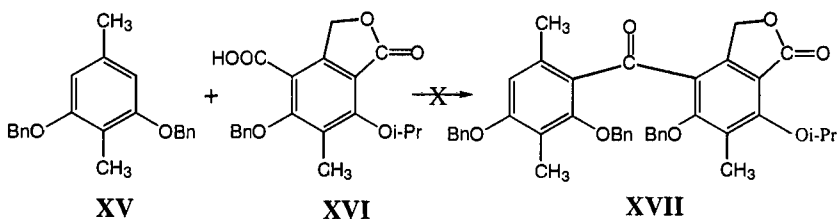
Pulgarin [57] a essayé de synthétiser une benzophénone par couplage oxydatif en utilisant 2 voies de synthèse:

- Premièrement en voulant condenser l'acide 2,4-dibenzyloxy-3,6-diméthyl benzoïque **XII** et un phtalide dibenzylé **XIII**.



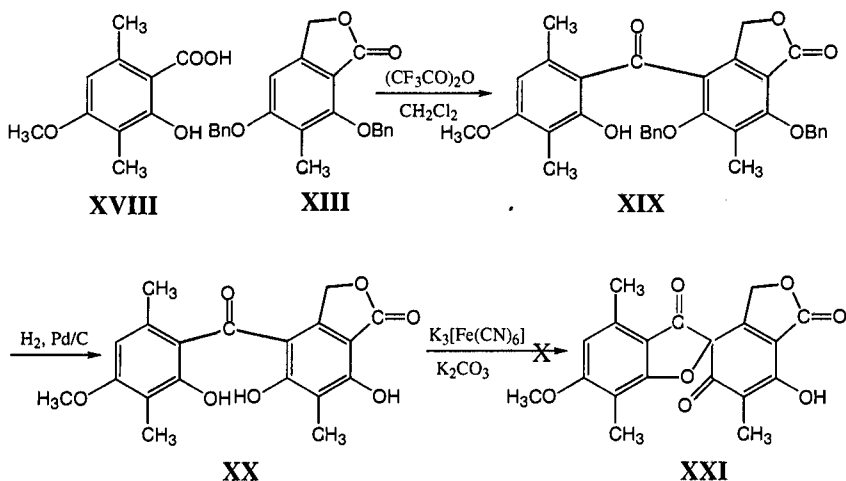
SYNTHESE DE DEPSIDONES

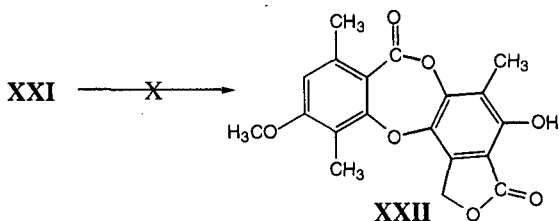
- Deuxièmement en cherchant à condenser le bis (3,5-benzyloxy-4-méthyl) toluène **XV** avec un carboxy-phthalide **XVI**.



Dans ces deux cas, la réaction du type Friedel-Crafts, en présence d'anhydride trifluoroacétique n'a pas permis d'obtenir la benzophénone.

Hareed [58] a réussi la synthèse d'une depsidone en utilisant la même réaction que *Pulgarin*, mais en partant de réactifs moins encombrés stériquement.





La réaction avec l'hexacyanoferrate (III) de potassium en solution aqueuse en présence de K_2CO_3 n'a pas permis la formation de la grisadiènedione **XXI**.

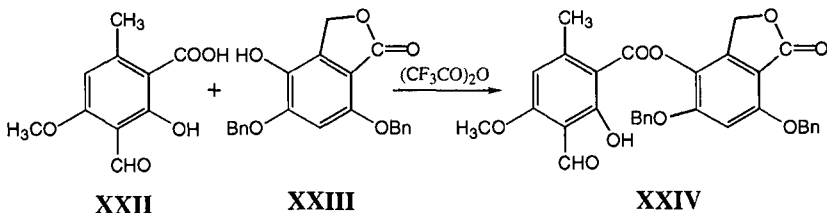
Selon *Hareed*, la présence du cycle lactonique empêche la formation de la grisadiènedione. L'ouverture du cycle lactonique qui peut avoir lieu lors de la dernière réaction, pourrait être une cause supplémentaire à l'empêchement de la formation de **XXI**.

On peut remarquer par ces deux exemples l'importance des substituants utilisés pour la formation d'une benzophénone.

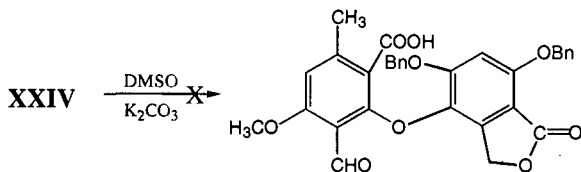
5.3.2 Par réarrangement de Smiles

Pulgarin a formé un depside contenant déjà le cycle lactonique, puis il a tenté un réarrangement de *Smiles* dans le DMSO avec du K_2CO_3 .

La formation du depside en utilisant l'acide 3-formyl-2-hydroxy-4-méthoxy-6-méthyl benzoïque **XXII** et le bis (5,7-benzyloxy)-4-hydroxy-1-isobenzofuran-(3H)-one **XXIII** en présence de $(CF_3CO)_2O$ n'a posé aucun problème.

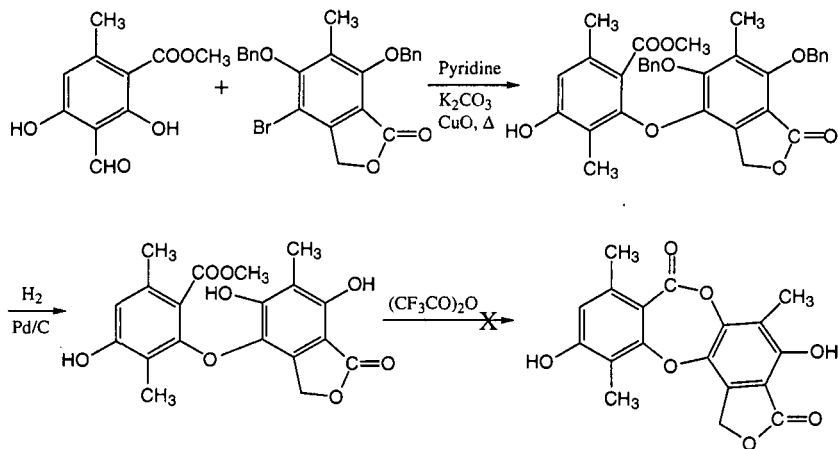


Par contre le réarrangement de *Smiles* de **XXIV** resta infructueux. Dans ce cas encore, la présence du cycle lactonique semble gêner la réaction.



5.3.3 La réaction de *Ullmann*

Hareed a tenté une voie de synthèse basée sur la formation d'un pont éther entre un phénol et un composé bromé. Après déprotection des groupes benzyles, la fermeture du cycle à 7 membres devrait se faire par condensation dans l'anhydride trifluoroacétique.



Cette fois encore, la fermeture n'a pas eu lieu. Nous pouvons constater par les exemples précédents combien ces synthèses sont difficiles et délicates.

5.4 Protections et régénérations

La synthèse des depsidones requiert la condensation d'unités phénoliques polysubstituées. Lors de la préparation de ces unités, il est souvent nécessaire de protéger certaines fonctions. La même précaution s'impose avant d'introduire de nouveaux substituants sur les noyaux aromatiques ou d'en modifier d'autres.

Nous allons présenter dans ces sous-chapitres les méthodes les plus utilisées lors de la synthèse de nos intermédiaires.

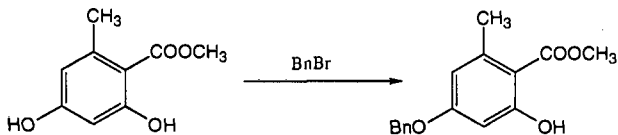
5.4.1 Protection et régénération des fonctions phénoliques

La méthode la plus utilisée est la formation de l'éther benzylique. Cette réaction est réalisée à l'aide de bromure de benzyle en présence de K_2CO_3 , dans l'acétone ou le DMF anhydre.

L'excès de réactif peut être éliminé par entraînement à la vapeur ou par chromatographie sur gel de silice.

Dans certains cas (hydroxy en position ortho d'une fonction ester), il est nécessaire d'utiliser un excès de réactif et de travailler à une température de 50-60°C pour introduire le groupe protecteur.

Cette méthode peut ainsi servir à benzilyler sélectivement les fonctions phénols.



SYNTHESE DE DEPSIDONES

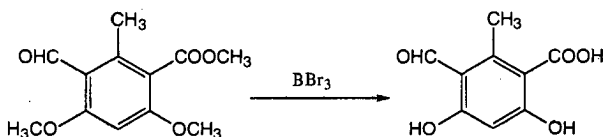
Les phénols sont facilement régénérés à partir des éthers benzyliques par hydrogénolyse catalytique (H_2/Pd), généralement dans l'acétate d'éthyle.

Dans le cas où la formation d'un éther benzylique est déconseillée (réaction ultérieure incompatible avec cette fonction), il est possible de protéger les phénols sous forme d'éther méthylique.

Ceux-ci sont obtenus à l'aide d'iode de méthyle en présence de K_2CO_3 dans l'acétone ou le DMF anhydre. Dans certains cas on peut utiliser le diméthylsulfate.

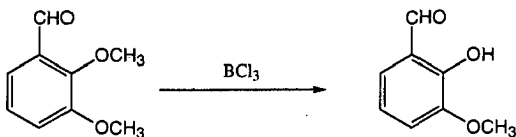
La régénération des phénols à partir des éthers méthyliques peut être réalisée à l'aide de plusieurs réactifs [66] comme BBr_3 et BCl_3 .

BBr_3 transforme tous les éthers méthyliques en phénols sans distinction. Il est un réactif de choix pour les polyéthers aromatiques. Il a l'inconvénient de réagir dans certaines conditions avec les esters [67].



Ces réactions secondaires sont attribuées au fait que l'ester est stériquement encombré.

BCl_3 permet de déméthylar sélectivement en position ortho d'une fonction carbonyle [68].



La déméthylation suit l'ordre de réactivité suivante:

aldéhyde > cétone > acide

D'autres éthers peuvent réagir avec BCl_3 : les éthers benzyliques, les éthers cycliques et dans certains cas, les acétals et certains types d'esters.

BBr_3 réagit dans certaines conditions avec les esters permettant ainsi la formation d'acides dans des conditions moins agressives que celles d'une saponification basique.

Pour les deux réactifs, BBr_3 et BCl_3 , ce sont les conditions de la réaction qui permettent d'obtenir le résultat désiré sans affecter d'autres fonctions.

5.4.2 Formylation

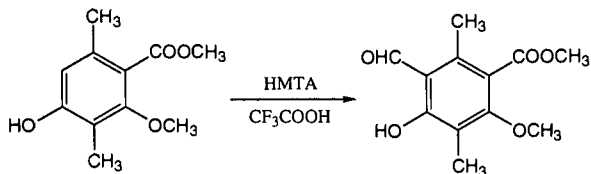
Il existe une grande variété de méthodes permettant l'introduction d'un aldéhyde sur un noyau aromatique. Nous avons utilisé la réaction de *Duff* modifiée.

- La réaction de *Duff*

Dans la réaction de *Duff*, l'hexaméthylènetetramine est généralement utilisée avec l'acide glycéroborique, afin de convertir en aldéhyde des composés aromatiques activés par des fonctions phénoliques.

Cette méthode est rigoureuse et les rendements sont généralement faibles.

W.E. Smith [69] a modifié les conditions de la réaction en utilisant de l'acide trifluoroacétique. Il obtient ainsi un bon rendement et les composés sont isolés facilement.



5.4.3 Oxydation des aldéhydes

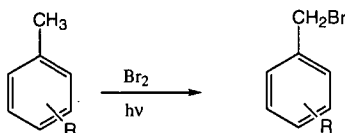
Dans notre voie de synthèse, nous avons converti l'aldéhyde formé par la réaction de *Duff* modifiée en acide.

Pour cette conversion, nous avons utilisé la méthode développée par *Lindgren et Nilson* [70] qui donne d'excellents résultats. L'agent oxydant est le chlorite de sodium (NaClO_2). Les chlorations parasites sont évitées par l'adjonction d'un excès d'acide sulfamique ($\text{NH}_2\text{SO}_3\text{H}$).

Nous avons utilisé cette méthode avec succès. La réaction se déroule rapidement, l'isolement des composés est facile, et les rendements élevés (95%).

5.5 Bromation radicalaire

Dans le cadre de nos synthèses, nous avons effectué des bromations en position benzylique du type:



Les deux agents de bromation les plus couramment utilisés sont le brome et la N-bromosuccinimide (NBS); dans notre cas, nous n'avons utilisé que le brome.

Le mécanisme de la substitution par le brome en position benzylique implique généralement la formation de radicaux libres. Le traitement par le brome se fait en présence de lumière visible ou ultraviolette. Comme catalyseurs, on peut également utiliser des peroxydes (peroxyde de dibenzoyle, de di-ter-butyle) à la place de la lumière. Elle s'effectue à reflux dans un solvant non-polaire, généralement le CCl_4 .

Les bromures d'alkyle obtenus par photobromation sont de très bons précurseurs d'autres fonctions. Par hydrolyse ils permettent l'obtention d'alcools qui peuvent, à leur tour être transformés en aldéhydes puis en acides. Ce sont des groupes qui se prêtent fort bien aux substitutions nucléophiles.

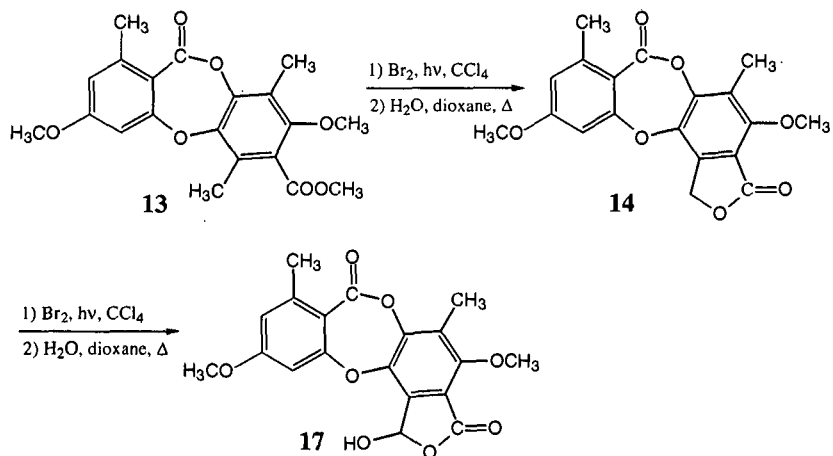
Dans notre cas, nous avons bromé le méthyle en position 6 du composé **13**, ce qui nous a permis de former le cycle lactonique. Une

photobromation sur le CH₂ de ce cycle nous a conduit à la création du cycle hydroxyphtalide du composé **17**.

5.6 Nouvelle stratégie de synthèse mise au point dans le présent travail

Par les tentatives de *Pulgarin* et *Hareed*, nous avons conclu que la fermeture du cycle lactonique avant la formation de la depsidone n'est pas une voie possible pour obtenir des depsidones contenant un cycle hydroxyphtalide.

Notre idée originale a ainsi été de former dans un premier temps la depsidone (**13**) par la méthode de *Sargent* [62] passant par l'intermédiaire grisadiènedione. Par photobromation nous allons créer sur cette depsidone le cycle lactonique pour obtenir le composé (**14**). Une deuxième photobromation sur le CH₂ du cycle lactonique nous permettra d'obtenir le cycle hydroxyphtalide.



5.7 Synthèse du 7H-[4,5-b]-isobenzofuro-1,3-dihydro-1-hydroxy-4,10-diméthoxy-5,8-diméthyl-3,7-dioxobenzo-[1,4] dioxépine (depsidone 17)

5.7.1 Synthèse de l'acide 2-benzyloxy-5-méthoxy carbonyl-4-méthoxy-3,6-diméthyl benzoïque (7) (schéma 9 p. 86)

Pour cette synthèse, nous sommes partis du β -orcinolcarboxylate de méthyle **1** composé naturel disponible commercialement (nous l'avons aussi isolé de *Bryoria fuscescens*).

Nous avons effectué une protection sélective de la fonction hydroxyle en position 4 de **1** au moyen de bromure de benzyle en présence de K_2CO_3 dans le DMF pour obtenir **2**. Lors de cette réaction, il s'est formé une quantité non négligeable de produit dibenzylé qui peut être retransformé en **1** par hydrogénolyse. La fonction phénol de **2** a été protégée au moyen d'iodure de méthyle en présence de K_2CO_3 dans le DMF, pour donner le produit **3** où les deux fonctions phénol sont protégées différemment. Ensuite, nous avons introduit le groupement aldéhyde, mais il faut préalablement éliminer le groupe benzyle par hydrogénation catalytique. En effet, pour que la formylation ait lieu, il faut que le noyau aromatique soit activé par la fonction hydroxyle. **4** a été formylé par la réaction de *Duff* modifiée [69], en faisant réagir **4** dans l'acide trifluoroacétique en présence d'HMTA. La fonction hydroxyle de **5** a été ensuite reprotégée par benzylation au moyen de bromure de benzyle en présence de K_2CO_3 dans le DMF pour obtenir **6**. L'aldéhyde a été oxydé en acide en utilisant la méthode de *Lindgren* et *Nilson* [70], où l'agent oxydant est le chlorite de sodium ($NaClO_2$). Nous avons ainsi obtenu **7**.

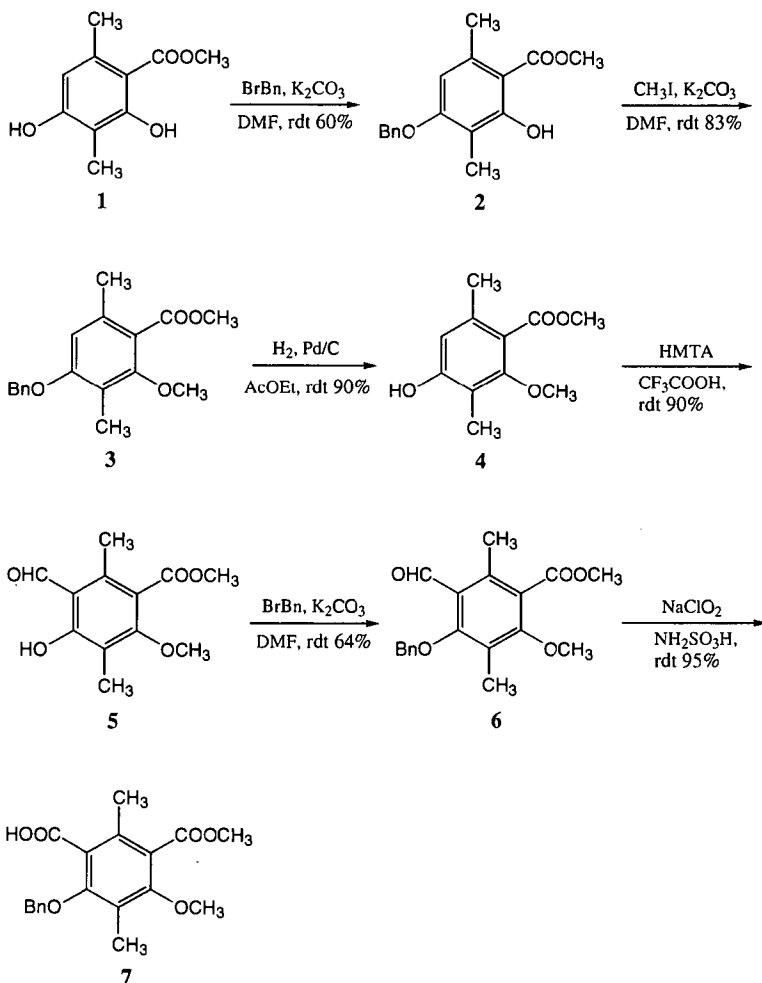
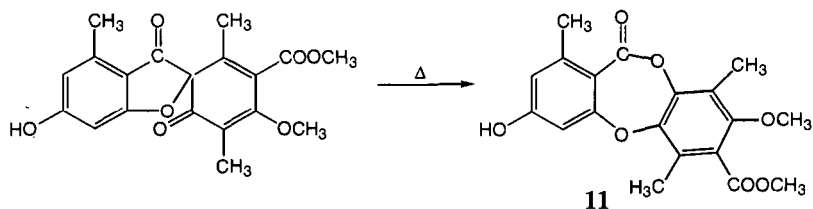


Schéma 9: Synthèse de l'acide 2-benzyloxy-5-méthoxy carbonyl-4-méthoxy-3,6-diméthyl benzoïque (**7**).

5.7.2 Synthèse du 3,8-diméthoxy-1,6,9-triméthyl-11-oxo-1H-[b,e]dibenzo-[1,4]dioxépine-7-carboxylate de méthyle
(depsidone **13**) (schémas 10 et 11 p. 88 et p. 89)

Afin d'obtenir la depsidone voulue (**13**), nous avons procédé à la synthèse de la deuxième unité en protégeant l'orcinol par benzoylation au moyen de bromure de benzyle en présence de K_2CO_3 dans le DMF pour obtenir **8**. Nous avons formé la benzophénone **9** par condensation du type Friedel-Crafts entre **7** et **8** dans l'anhydride trifluoroacétique. **9** a été ensuite déprotégé par hydrogénation catalytique dans AcOEt avec quelques gouttes d'acide acétique. La benzophénone **10** traitée par $K_3[Fe(CN)_6]$ dans K_2CO_3/H_2O conduit à la depsidone par l'intermédiaire de la grisadiènedione.

On peut arrêter la réaction au stade de la grisadiènedione (temps de réaction court de l'ordre d'une minute) qui peut être convertie en depsidone par chauffage à son point de fusion. Dans notre cas, vu que le temps de réaction a été de 15min, nous n'avons pas isolé la grisadiènedione.



Par contre, cette réaction après 15min a donné deux produits principaux, la depsidone **11** et l'acide **12**, qui est facilement converti en depsidone en le faisant réagir dans le $(CF_3CO)_2O$. Avant de tenter la photobromation, nous avons encore protégé la fonction phénol par méthylation en utilisant l'iodure de méthyle en présence de K_2CO_3 dans le DMF pour obtenir le composé **13** (schéma 11). Ainsi, le cycle S a été désactivé et la photobromation sur les protons aromatiques a été évitée.

SYNTHESE DE DEPSIDONES

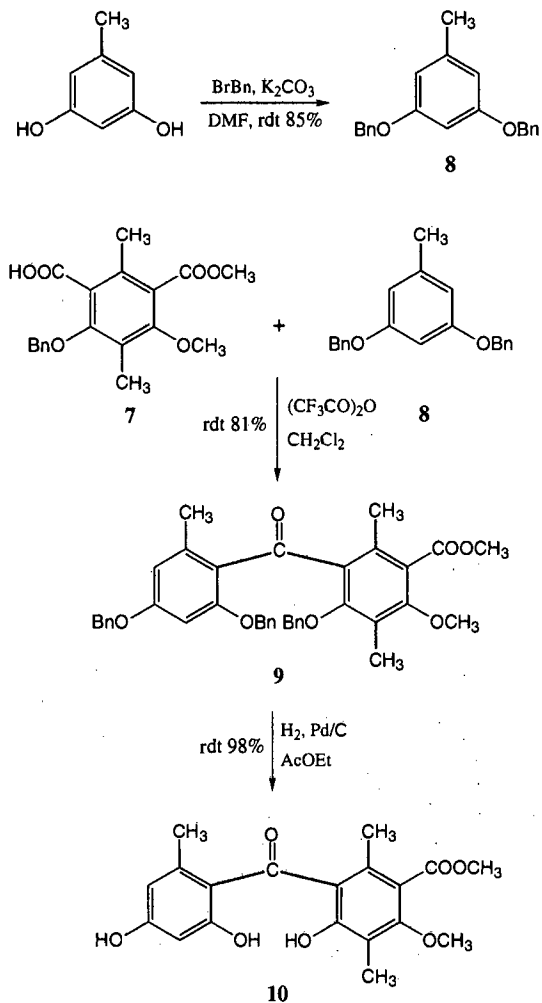


Schéma 10: Synthèse de la benzophénone **10**.

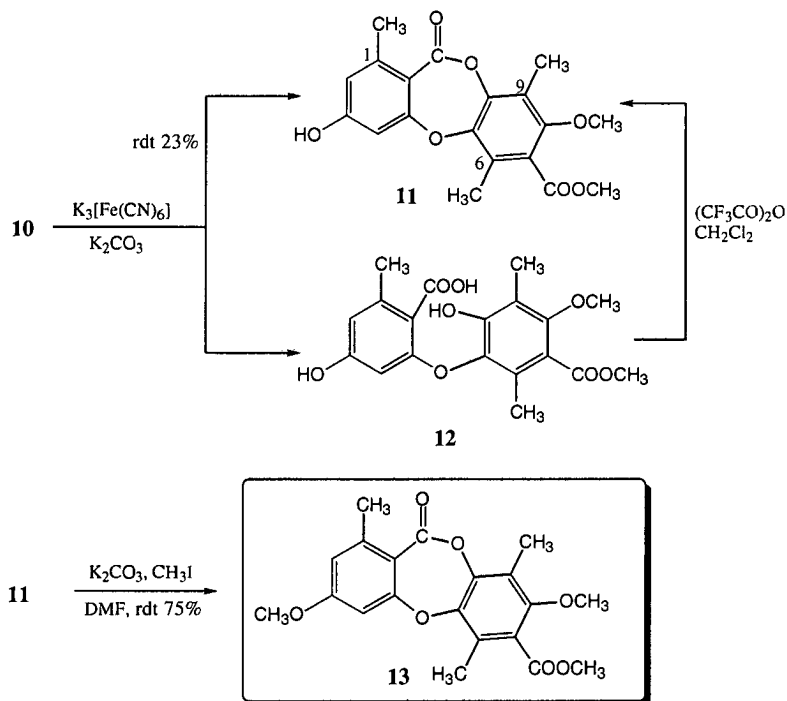


Schéma 11: Synthèse du 3,8-diméthoxy-1,6,9-triméthyl-11-oxo-11H-[b,e]dibenzo-[1,4]dioxépine-7-carboxylate de méthyle (**13**).

5.7.3 Synthèse du 7H-[4,5-b]-isobenzofuro-1.3-dihydro-1-hydroxy-4,10-diméthoxy-5,8-diméthyl-3,7-dioxobenzo-[1,4]dioxépine (depsidone **17**) (schémas 12 et 13 p. 90 et p. 92)

Pour cette synthèse, nous avons effectué deux photobromations successives. Nous avons utilisé le brome en présence de lumière visible dans un solvant apolaire, le tétrachlorure de carbone.

Le composé **13** a été bromé avec 1 équivalent de Br_2 . Cette réaction n'est pas sélective et nous avons obtenu après hydrolyse 3 produits. Le produit **15** est majoritaire avec une bromation sur le

méthyle en position 9, qui, après hydrolyse donne l'alcool. Ce composé peut être converti en **13** par hydrogénation catalytique.

Le produit désiré **14**, avec bromation sur le méthyle en position 6 se forme après hydrolyse en petite quantité (8% rdt). On observe aussi une dibromation des méthyles en positions 6 et 9 qui après hydrolyse donne le composé **16**. Ce dernier après hydrogénation catalytique conduit au produit **14** (schéma 12).

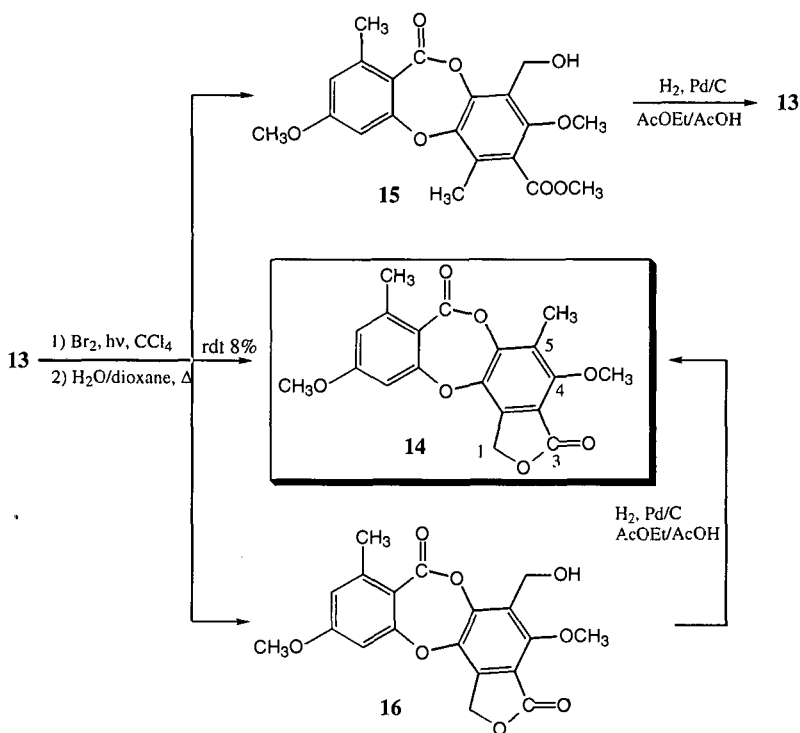


Schéma 12: Synthèse du 7H-[4,5-b]-iosbenzofuro-1,3-dihydro -4,10-diméthoxy -5,8-diméthyl -3,7-dioxo benzo-[1,4] dioxépine (**14**).

La réaction ayant été réalisée avec 1 équivalent de Br_2 , il est resté du réactif **13** et il y a eu formation du composé dibromé **16**. Nous avons ensuite effectué cette réaction avec 2 équivalents de Br_2 . Dans ce cas, tout le réactif a été consommé, mais la réaction a été moins propre et le rendement total des produits **14**, **15** et **16** a été de 20 %, dont 2% de **14**.

Par ailleurs, nous avons tenté sans succès d'effectuer une photobromation sur le composé **15**. Son insolubilité dans le CCl_4 n'a pas permis la réalisation de la réaction.

Après avoir obtenu le composé **14**, nous avons effectué une nouvelle photobromation. Dans ce cas aussi, cette réaction n'a pas été sélective et nous avons obtenu après hydrolyse comme pour la précédente, trois produits. Le composé **16** où la photobromation a eu lieu sur le méthyle en position 5, le composé désiré **17** avec la photobromation sur le cycle lactonique et le composé dibromé **18** avec bromation sur le méthyle en position 5 et sur le cycle lactonique.

En effectuant une hydrogénation catalytique de **18**, on obtient **17**, de même **16** est converti de la même manière en **14** (schéma 13).

Il faut noter que lors de ces photobromations, le méthyle en position 1 du cycle S n'a jamais réagi.

5.7.4 Conclusions

Cette nouvelle approche pour la synthèse de depsidones contenant un cycle hydroxyphtalide a été un succès. Nous pensons que les échecs de *Pulgarin* et *Hareed* sont dus à la forme particulière de la depsidone **11**. Comme nous le verrons dans le chapitre suivant, cette depsidone a une forme de "cuvette" et de grandes tensions entre le cycle S et A sont présentes. L'idée de vouloir former le cycle lactonique sur le cycle A avant la fermeture n'était pas une bonne solution, car la présence de ce cycle impose une tension supplémentaire. Par contre la réaction de photobromation sur la "cuvette" s'est avérée beaucoup plus simple. Il reste maintenant à rendre ces deux dernières étapes plus sélectives pour augmenter les rendements.

SYNTHESE DE DEPSIDONES

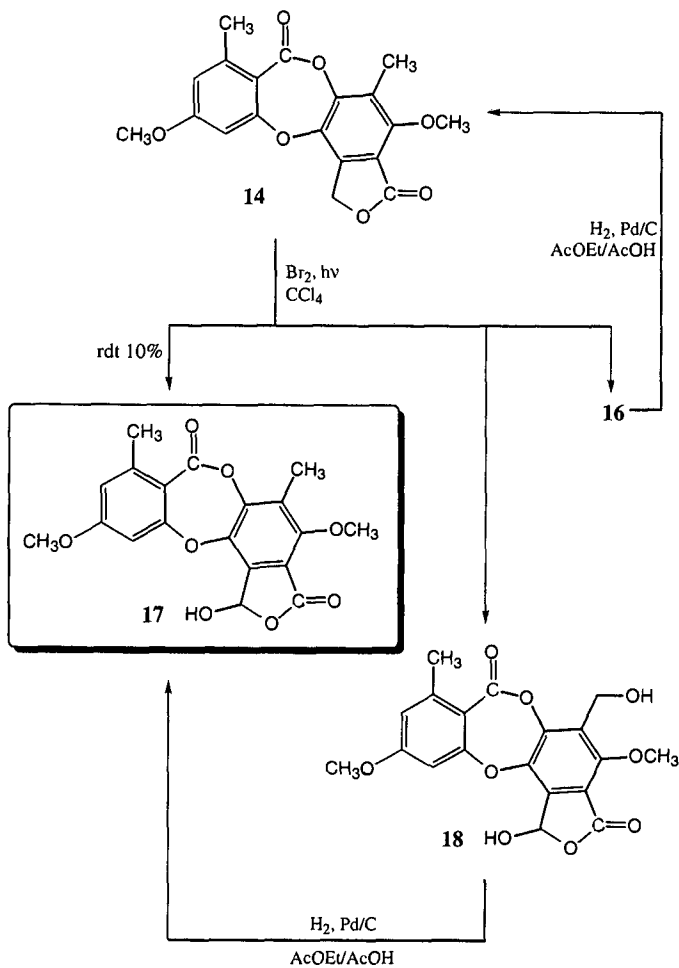


Schéma 13: Synthèse du 7H -[4,5-b] -isobenzofuro -1,3-dihydro 1-hydroxy -4,10-diméthoxy -5,8-diméthyl-3,7-dioxo benzo-[1,4] dioxépine (17).

STRUCTURE PAR RAYONS X DE LA DEPSIDONE 11

Au cours d'une étude ^1H -RMN du composé **11**, nous avons remarqué que le spectre montrait des couplages surprenants (voir chapitre 7). Pour qu'aucun doute ne subsiste sur la structure, nous avons effectué une analyse par diffractométrie aux rayons X.

6.1 Observation du cristal

Le cristal de la depsidone **11** obtenu dans la solution de CDCl_3 utilisée pour la RMN, a pu être analysé directement

Les résultats de cette analyse montrent que la maille élémentaire est constituée de 4 molécules. Les cristaux qui se sont formés dans le CDCl_3 se trouvent sous forme de plaquettes incolores. La mesure a été effectuée à -50°C sur un diffractomètre à 4 cercles SIEMENS-STOE AED2 en utilisant un rayonnement monochromaté $\text{MoK}\alpha$ graphite ($\lambda=0.71013\text{\AA}$).

Le cristal ne diffracte pas de manière significative au-dessus de 40° , ceci est probablement dû à la présence de molécules très désordonnées de chloroforme.

La structure a été élucidée en utilisant le programme SHELXS-86 [71]. L'affinage et les calculs supplémentaires ont été effectués en utilisant SHELXL-93 [72].

N.B.: Pour l'assignation des atomes, nous avons utilisé la numérotation classique des depsidones et non pas celle des dioxépines (cf. chap. 9).

Tableau 8: Valeurs caractéristiques observées par rayons X pour le composé 11.

Système cristallin	Monoclinique
Groupe spatial	P2 ₁ /a
Dimensions de la maille élémentaire	a = 8.392(2)Å α = 90° b = 14.908(3)Å β = 90.09(2)° c = 17.400(4)Å γ = 90°
Volume	2176.6(8)Å ³
Z	4
Densité calculée	1.458mg/m ³
Coefficient d'absorption	0.460mm ⁻¹
Taille du cristal	0.57 x 0.42 x 0.19mm
Réflexions mesurées et indépendantes	2839
Réflexions observées	2066 [I>2σ(I)]
Indices R finaux [I>2σ(I)]	R1 = 0.0697 wR2 = 0.1574
Toutes les réflexions	R1 = 0.1026 wR2 = 0.1892

Ci-dessous, les équations pour R1 et wR2:

$$R1 = \frac{\sum ||F_{ol} - |F_{cl}||}{\sum |F_{ol}|}$$

$$wR2 = \sqrt{\frac{\sum w(F_o^2 - F_c^2)^2}{\sum (wF_o^4)}}$$

RAYONS X DU COMPOSE 11

Tableau 9: Coordonnées atomiques ($\cdot 10^4$) et facteurs d'agitation thermique isotrope $U(\text{éq})$ ($\text{\AA} \cdot 10^3$) pour le composé **11**.

Atomes	X	Y	Z	$U(\text{éq})$
C(1)	2445(5)	10417(3)	167(3)	28(1)
C(2)	2443(5)	11271(3)	499(3)	27(1)
C(3)	1719(6)	11998(3)	149(3)	32(1)
C(4)	953(6)	11871(4)	-557(3)	32(1)
C(5)	929(6)	11033(3)	-887(3)	32(1)
C(6)	1684(5)	10300(3)	-557(3)	28(1)
C(7)	3365(5)	9677(3)	517(3)	31(1)
C(8)	1634(6)	9423(4)	-978(3)	40(1)
C(1')	1246(5)	10966(4)	3003(3)	30(1)
C(2')	1354(5)	10040(4)	3018(3)	33(1)
C(3')	2084(6)	9551(3)	2438(3)	33(1)
C(4')	2681(6)	10060(3)	1838(3)	31(1)
C(5')	2576(5)	10973(3)	1810(3)	28(1)
C(6')	1851(6)	11467(3)	2391(3)	32(1)
C(7')	447(6)	11432(4)	3652(3)	36(1)
C(8')	2253(7)	8545(4)	2467(3)	44(1)
C(9')	1684(7)	12470(4)	2319(3)	41(1)
C(10')	736(8)	12570(5)	4593(4)	64(2)
C(11')	1699(9)	9456(6)	4272(4)	82(3)
O(2)	3249(4)	11433(2)	1190(2)	32(1)
O(7)	4017(4)	9093(2)	143(2)	36(1)
O(4)	198(4)	12550(3)	-936(2)	44(1)
O(2')	693(4)	9574(2)	3625(2)	41(1)
O(4')	3562(4)	9587(2)	1288(2)	36(1)
O(7')	-904(4)	11309(3)	3852(2)	50(1)
O(10')	1421(4)	12016(3)	3999(2)	49(1)

A l'état solide, le composé **11** présente des liaisons hydrogènes intermoléculaires entre l'oxygène (7) et le phénol. Ces liaisons sont visibles sur la figure 38.

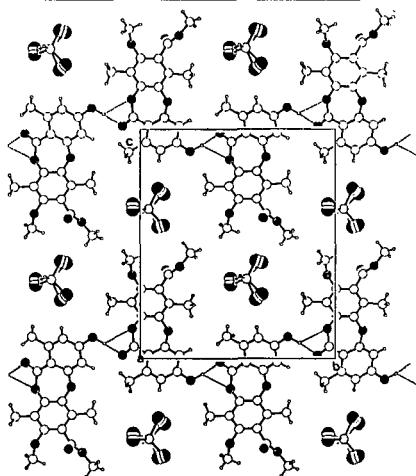


Fig. 38: Maille élémentaire du composé 11.

Tableau 10: Longueur des liaisons [Å].

Atomes	Longueur de la liaison	Atomes	Longueur de la liaison
C(1) - C(2)	1.397(7)	C(1') - C(7')	1.494(7)
C(1) - C(6)	1.414(7)	C(2') - O(2')	1.388(6)
C(1) - C(7)	1.473(7)	C(2') - O(3')	1.394(7)
C(2) - C(3)	1.379(7)	C(3') - C(4')	1.391(7)
C(2) - O(2)	1.391(6)	C(3') - C(8')	1.507(7)
C(3) - C(4)	1.390(7)	C(4') - C(5')	1.365(7)
C(4) - O(4)	1.359(6)	C(4') - O(4')	1.408(6)
C(4) - C(5)	1.376(7)	C(5') - C(6')	1.400(7)
C(5) - C(6)	1.383(7)	C(5') - O(2')	1.404(6)
C(6) - C(8)	1.500(7)	C(6') - C(9')	1.506(7)
C(7) - O(7)	1.223(6)	C(7') - O(7')	1.206(6)
C(7) - O(4')	1.356(6)	C(7') - O(10')	1.333(6)
C(1') - C(2')	1.383(7)	C(10') - O(10')	1.448(7)
C(1') - C(6')	1.402(7)	C(11') - O(2')	1.406(7)

RAYONS X DU COMPOSE 11

Tableau 11: Distances entre les atomes d'oxygènes et les atomes d'hydrogènes [Å].

Atomes	Distances	Atomes	Distances
O(4) - H(4)	0.996(4)	O(4') - H(8'A)	2.548(8)
O(7) - H(8A)	2.663(4)	O(4') - H(8'B)	3.718(0)
O(7) - H(8B)	2.515(5)	O(4') - H(8'C)	3.006(7)
O(7) - H(8C)	3.763(6)	O(2') - H(8'A)	3.684(7)
O(7') - H(9'A)	3.291(6)	O(2') - H(8'B)	2.481(0)
O(7') - H(9'B)	4.410(4)	O(2') - H(8'C)	3.273(3)
O(7') - H(9'C)	4.568(5)	O(4) - H(5)	2.491(4)
O(4) - H(3)	2.612(8)		

Tableau 12: Distances entre les hydrogènes [en Å].

Distances	Hydrogènes	Distances	Hydrogènes
6.7418	H8'A - H9'A	3.9823	H11'C - H8'A
6.4755	H8'A - H9'B	2.7980	H11'C - H8'B
6.6706	H8'A - H9'C	2.8205	H11'C - H8'C
6.5585	H8'B - H9'A	3.5395	H9'A - H10'A
6.6476	H8'B - H9'B	4.1143	H9'A - H10'B
6.7561	H8'B - H9'C	3.1357	H9'A - H10'C
6.6841	H8'C - H9'A	5.0843	H9'B - H10'A
6.6889	H8'C - H9'B	5.6465	H9'B - H10'B
6.5273	H8'C - H9'C	4.6680	H9'B - H10'C
4.9466	H11'A - H8'A	4.3047	H9'C - H10'A
3.4976	H11'A - H8'B	5.1074	H9'C - H10'B
4.0802	H11'A - H8'C	4.3847	H9'C - H10'C
5.0739	H11'B - H8'A	4.1384	H9'A - H3
3.9227	H11'B - H8'B	2.5757	H9'B - H3
4.1229	H11'C - H8'C	3.5281	H9'C - H3

RAYONS X DU COMPOSE 11

La distance moyenne entre les protons du $\text{CH}_3(8')$ et $\text{CH}_3(9')$ est de 6.6\AA . Le $\text{CH}_3(9')$ se situe à une distance d'environ 4.4\AA du $\text{CH}_3(10')$ et à 3.4\AA du $\text{H}(3)$ du cycle S (fig. 39).

La distance qui sépare le $\text{CH}_3(8')$ du $\text{CH}_3(11')$ est d'environ 3.9\AA . On remarque que les $\text{H}(11'\text{C})$ et $\text{H}(8'\text{B})$ ne sont séparés que de 2.8\AA , de même la distance entre les $\text{H}(9'\text{B})$ et $\text{H}(3)$ n'est que de 2.6\AA .

La proximité des $\text{H}(9'\text{B})$ et $\text{H}(3)$ est due à la torsion provoquée par le cycle intermédiaire reliant les cycles S et A.

Tableau 13: Angles de liaison [degrés].

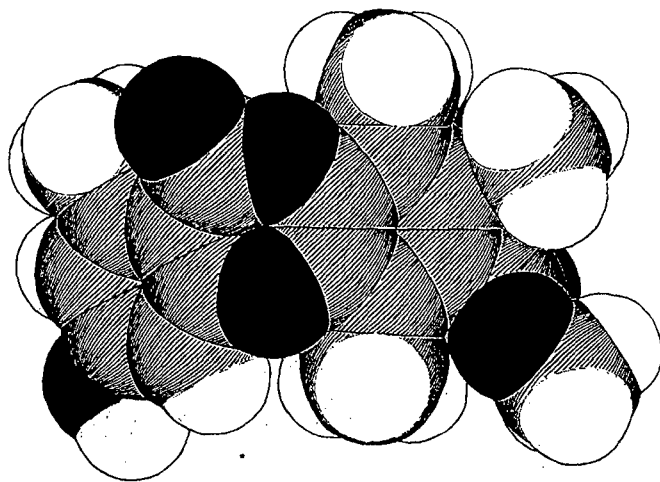
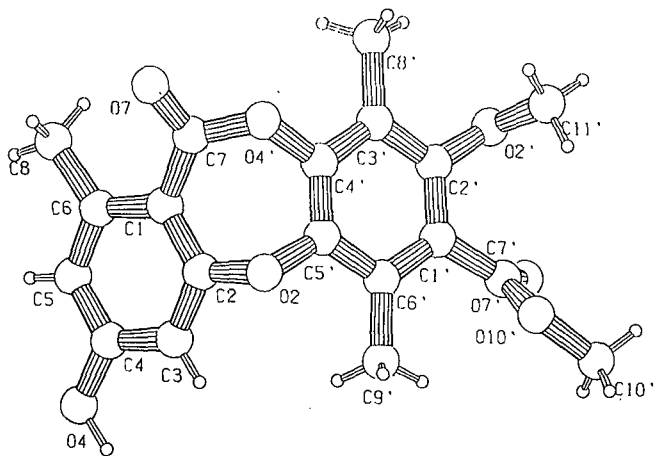
Atomes	Angles	Atomes	Angles
C(2) - C(1) - C(6)	118.5(4)	C(1') - C(2') - C(3')	122.5(5)
C(2) - C(1) - C(7)	121.0(4)	O(2') - C(2') - C(3')	118.3(5)
C(6) - C(1) - C(7)	120.1(4)	C(4') - C(3') - C(2')	115.2(5)
C(3) - C(2) - O(2)	116.7(4)	C(4') - C(3') - C(8')	122.2(5)
C(3) - C(2) - C(1)	122.5(5)	C(2') - C(3') - C(8')	122.6(5)
O(2) - C(2) - C(1)	120.8(4)	C(5') - C(4') - C(3')	123.1(5)
C(2) - C(3) - C(4)	118.5(5)	C(5') - C(4') - O(4')	120.6(4)
O(4) - C(4) - C(5)	118.1(5)	C(3') - C(4') - O(4')	115.9(4)
O(4) - C(4) - C(3)	122.2(5)	C(4') - C(5') - C(6')	121.9(5)
C(5) - C(4) - C(3)	119.7(5)	C(4') - C(5') - O(2)	119.2(4)
C(4) - C(5) - C(6)	122.8(5)	C(6') - C(5') - O(2)	118.9(4)
C(5) - C(6) - C(1)	118.0(4)	C(5') - C(6') - C(1')	115.9(5)
C(5) - C(6) - C(8)	118.5(4)	C(5') - C(6') - C(9')	120.2(5)
C(1) - C(6) - C(8)	123.5(5)	C(1') - C(6') - C(9')	123.9(5)
O(7) - C(7) - O(4')	114.1(4)	O(7') - C(7') - O(10')	122.7(5)
O(7) - C(7) - C(1)	123.3(5)	O(7') - C(7') - C(1')	125.7(5)
O(4') - C(7) - C(1)	122.6(4)	O(10') - C(7') - C(1')	111.5(4)
C(2') - C(1') - C(6')	121.5(5)	C(2) - O(2) - C(5')	112.6(3)
C(2') - C(1') - C(7')	118.7(5)	C(2') - O(2') - C(11')	115.5(4)
C(6') - C(1') - C(7')	119.9(5)	C(7) - O(4') - C(4')	124.5(4)
C(1') - C(2') - O(2')	119.1(5)	C(7') - O(10') - C(10')	116.6(4)

RAYONS X DU COMPOSE 11

Tableau 14: Angles de torsion [degrés].

Atomes	Angles	Atomes	Angles
C(6) - C(1) - C(2) - C(3)	0.5(7)	C(2') - C(3') - C(4') - O(4')	173.8(4)
C(7) - C(1) - C(2) - C(3)	173.8(4)	C(8') - C(3') - C(4') - O(4')	-4.8(7)
C(6) - C(1) - C(2) - O(2)	-176.5(4)	C(3') - C(4') - C(5') - C(6')	0.0(8)
C(7) - C(1) - C(2) - O(2)	-3.2(6)	O(4') - C(4') - C(5') - C(6')	-173.2(4)
O(2) - C(2) - C(3) - C(4)	177.6(4)	C(3') - C(4') - C(5') - O(2)	178.4(4)
C(1) - C(2) - C(3) - C(4)	0.5(7)	O(4') - C(4') - C(5') - O(2)	5.2(7)
C(2) - C(3) - C(4) - O(4)	179.4(4)	C(4') - C(5') - C(6') - C(1')	0.2(7)
C(2) - C(3) - C(4) - C(5)	0.2(7)	O(2) - C(5') - C(6') - C(1')	-178.3(4)
O(4) - C(4) - C(5) - C(6)	178.8(4)	C(4') - C(5') - C(6') - C(9')	-176.8(5)
C(3) - C(4) - C(5) - C(6)	-2.0(7)	O(2) - C(5') - C(6') - C(9')	4.8(7)
C(4) - C(5) - C(6) - C(1)	3.0(7)	C(2') - C(1') - C(6') - C(5')	-0.6(7)
C(4) - C(5) - C(6) - C(8)	-177.8(4)	C(7') - C(1') - C(6') - C(5')	-179.9(4)
C(2) - C(1) - C(6) - C(5)	-2.2(6)	C(2') - C(1') - C(6') - C(9')	176.2(5)
C(7) - C(1) - C(6) - C(5)	-175.5(4)	C(7') - C(1') - C(6') - C(9')	-3.0(7)
C(2) - C(1) - C(6) - C(8)	178.7(4)	C(2') - C(1') - C(7') - O(7')	-58.2(8)
C(7) - C(1) - C(6) - C(8)	5.4(7)	C(6') - C(1') - C(7') - O(7')	121.1(6)
C(2) - C(1) - C(7) - O(7)	-145.4(5)	C(2') - C(1') - C(7') - O(10')	121.6(5)
C(6) - C(1) - C(7) - O(7)	27.7(7)	C(6') - C(1') - C(7') - O(10')	-59.1(6)
C(2) - C(1) - C(7) - O(4')	34.6(6)	C(3) - C(2) - O(2) - C(5')	116.6(4)
C(6) - C(1) - C(7) - O(4')	-152.2(4)	C(1) - C(2) - O(2) - C(5')	-66.2(5)
C(6') - C(1') - C(2') - O(2')	-178.1(4)	C(4') - C(5') - O(2) - C(2)	68.2(5)
C(7') - C(1') - C(2') - O(2')	1.2(7)	C(6') - C(5') - O(2) - C(2)	-113.3(5)
C(6') - C(1') - C(2') - C(3')	1.0(8)	C(1') - C(2') - O(2') - C(11')	-87.7(6)
C(7') - C(1') - C(2') - C(3')	-179.8(4)	C(3') - C(2') - O(2') - C(11')	93.2(6)
C(1') - C(2') - C(3') - C(4')	-0.7(7)	O(7) - C(7) - O(4') - C(4')	-166.7(4)
O(2') - C(2') - C(3') - C(4')	178.3(4)	C(1) - C(7) - O(4') - C(4')	13.3(7)
C(1') - C(2') - C(3') - C(8')	177.8(5)	C(5') - C(4') - O(4') - C(7)	-52.8(7)
O(2') - C(2') - C(3') - C(8')	-3.1(7)	C(3') - C(4') - O(4') - C(7)	133.5(5)
C(2') - C(3') - C(4') - C(5')	0.2(7)	O(7') - C(7') - O(10') - C(10')	-5.7(8)
C(8') - C(3') - C(4') - C(5')	-178.3(5)	C(1') - C(7') - O(10') - C(10')	174.5(5)

Les données recueillies par les rayons X confirment que le composé **11** est bien le 3-hydroxy-8-méthoxy-1,6,9-triméthyl-11-oxo-11H-[b,e] dibenzo-[1,4] dioxépine-7-carboxylate de méthyle.



SCHEKAL

Fig. 39: Structure moléculaire du composé **11**.

Pour avoir une idée plus précise de la structure tridimensionnelle du composé **11**, nous avons construit un modèle CPK (COREY-PAULING-KOLTUN). Cette représentation nous a permis de constater que le cycle à sept membres situé entre le cycle S et A crée une grande tension au sein du composé.

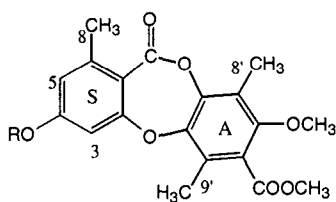
La molécule se présente sous forme de cuvette très rigide et est stériquement encombrée. Tous les substituants ont une mobilité restreinte, en particulier les méthyles 8' et 9'.

COUPLAGES LONGUE DISTANCE DANS LES DEPSIDONES SYNTHETISEES

7.1 Introduction

Lors de mesures de spectres $^1\text{H-RMN}$ (400MHz, CDCl_3) sur les composés **11** et **13**, nous avons remarqué que les signaux des trois méthyles ainsi que ceux des deux protons aromatiques se trouvaient sous forme de multiplets. Ce résultat nous a intrigué.

Nous avons en premier lieu pensé qu'il s'agissait d'un artefact, mais ces couplages à longue distance ont été confirmés par des irradiations sélectives effectuées sur les groupes méthyles, par la RMN 2D et par simulation par ordinateur.



R=H composé **11**

R=CH₃ composé **13**

N.B.: Dans ce chapitre, la numérotation des atomes est celle classique des depsidones et non pas celle des dioxépines (cf. chap.9).

A notre connaissance, un couplage négatif 7J a été remarqué dans le cas du 4-méthylbenzaldéhyde [73].

Schaefer et coll. [73] ont déterminé que, à 297K, les constantes de couplage spin-spin à travers sept liaisons entre le proton de l'aldéhyde et du méthyle du 4-méthylbenzaldéhyde est de -0.030Hz dans le $\text{CS}_2/\text{C}_6\text{D}_{12}/\text{TMS}$ et de -0.035Hz dans l'acétone- d_6 . Ils ont rationalisé ce résultat inattendu en fonction d'un mécanisme de couplage spin-spin attribué à l'importance d'une structure de liaison de valence avec une liaison carbonyle ionique. Ce résultat a mis à nouveau en relief la sensibilité des perturbations des substituants sur la constante de couplage à travers six liaisons dans des dérivés benzaldéhydes presque plans.

Ces mêmes auteurs [74] avaient en effet déjà remarqué en 1989 un couplage 6J entre le proton et l'aldéhyde en para dans le benzaldéhyde.

7.2 Couplage 7J entre les deux méthyles en position para

Nous avons remarqué un couplage 7J entre les deux méthyles en position para, 8' et 9', des composés **11** et **13**.

7.2.1 Couplage 7J dans le composé **11**

Les méthyles 8' et 9' qui se trouvent en position para sur le cycle A, montrent étonnamment, une constante de couplage de **0.65Hz**.

Les deux quadruplets qui ont un déplacement chimique de 2.26ppm ($\text{CH}_3(8')$) respectivement de 2.33ppm ($\text{CH}_3(9')$) démontrent qu'il s'agit d'un spectre A_3X_3 (cf. fig. 40 p.105).

Ce couplage est confirmé par les irradiations effectuées sur ces deux méthyles. En effet, lorsque l'on irradie le $\text{CH}_3(8')$, le signal du $\text{CH}_3(9')$ devient un singulet et réciproquement (cf. fig.41 p. 105).

Le spectre COSY 90, nous montre aussi clairement le couplage entre ces deux méthyles .

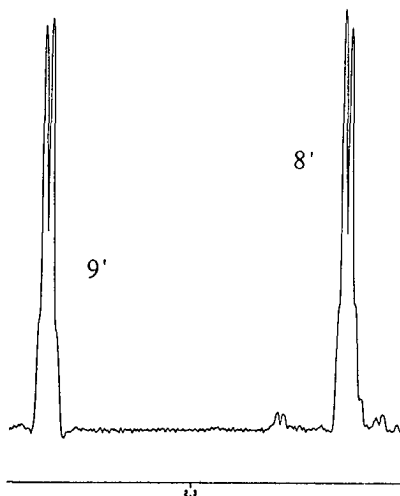


Fig. 40: Quadruplets pour les deux méthyles 8' et 9' du composé 11.

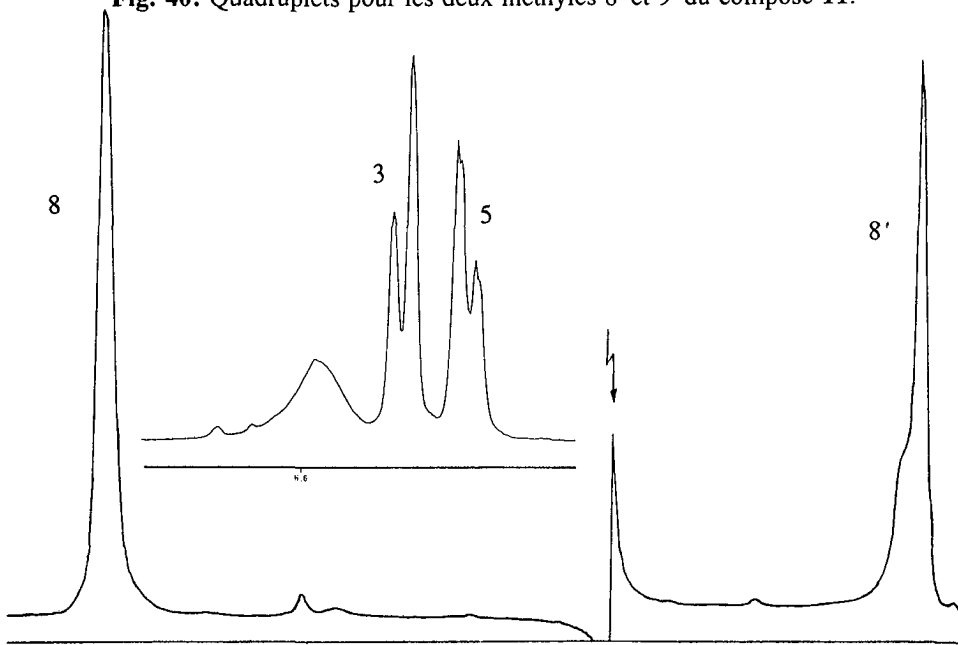


Fig. 41: Irradiation du méthyle 9' du composé 11.

La simulation par ordinateur confirme les résultats expérimentaux (fig.42).

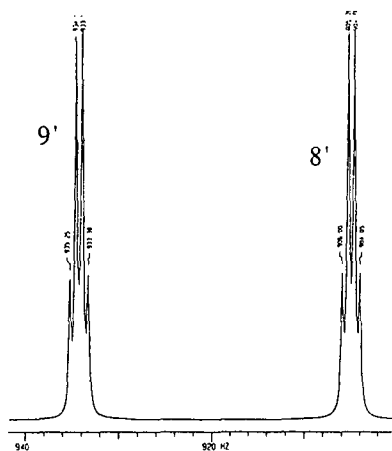


Fig. 42: Quadruplets pour les méthyles 8' et 9' par simulation du spectre A_3X_3 du composé 11.

7.2.2 Couplage 7J dans le composé 13

Dans ce composé aussi, ce couplage à longue distance est présent. La valeur de la constante de couplage 7J dans ce cas est de **0.62Hz**. Les déplacements chimiques de ces deux quadruplets sont de 2.27ppm ($CH_3(8')$) et de 2.37ppm ($CH_3(9')$) (fig. 43).

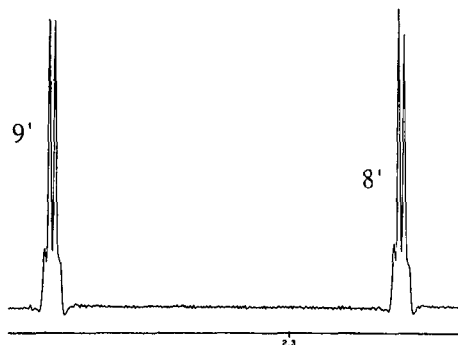


Fig. 43: Quadruplets pour les deux méthyles 8' et 9' du composé 13.

Ce résultat a été confirmé par des irradiations (fig. 44 et 45) et par le spectre COSY 90 (fig. 46), comme dans le cas précédent.

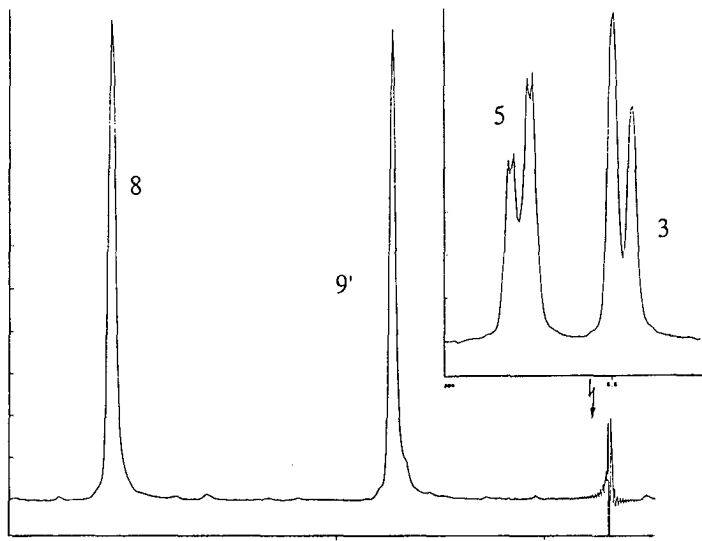


Fig. 44: Irradiation du méthyle 8' du composé 13.

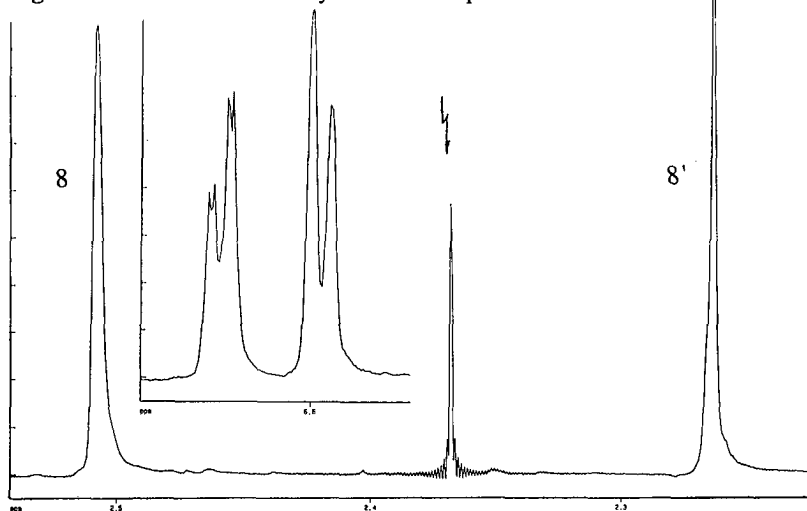


Fig. 45: Irradiation du méthyle 9' du composé 13.

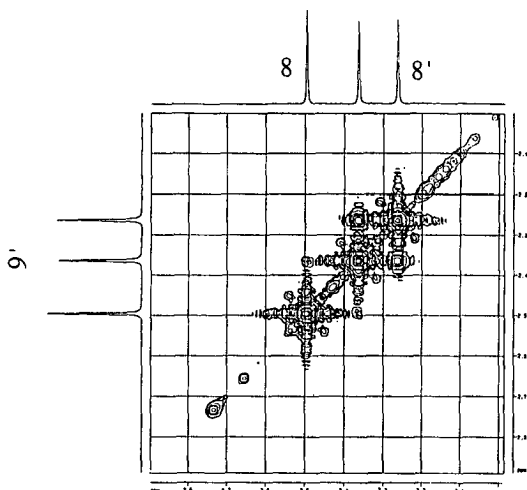


Fig. 46: Agrandissement de la zone des méthyles sur le spectre COSY 90 du composé 13.

La simulation par ordinateur confirme les résultats expérimentaux (fig. 47).

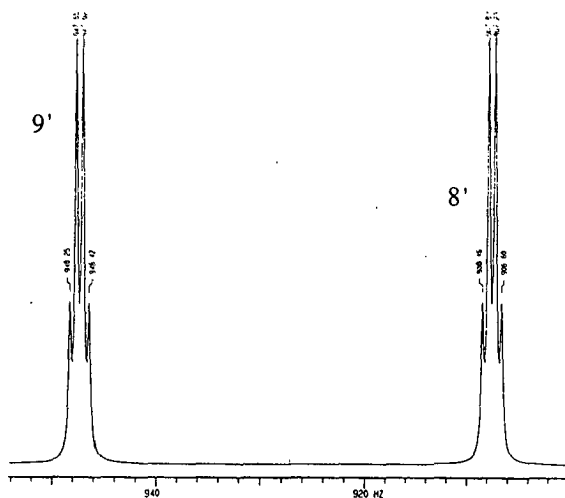


Fig. 47: Quadruplets pour les méthyles 8' et 9' par simulation du spectre A_3X_3 du composé 13.

7.3 Couplage 4J et 6J

Nous avons remarqué qu'en plus du couplage 7J , les composés **11** et **13** présentaient sur le cycle S un couplage 4J et 6J entre les protons aromatiques (H(3) et H(5)) et le méthyle (CH₃(8)).

7.3.1 Couplage 4J et 6J dans le composé **11**

Un couplage longue distance est visible sur la partie S du composé **11**. Le proton aromatique (H(3)) (6.56ppm) couple en para avec le méthyle (CH₃(8)) (2.46ppm). Cette constante de couplage est de **0.60Hz**. Le proton aromatique (H(5)) (6.55ppm) couple en ortho avec le méthyle (CH₃(8)), cette constante vaut **0.75Hz**. De plus, les deux protons couplent entre eux avec une constante de couplage de **2.44Hz**. Ce système de spins est du type **ABM₃**, donc d'ordre supérieur. Pour simplifier nous traitons ce spectre comme de pseudo premier ordre en considérant la partie AB comme étant du premier ordre. De ce fait, les deux protons aromatiques forment deux doublets de quadruplets (dq) (fig. 48).

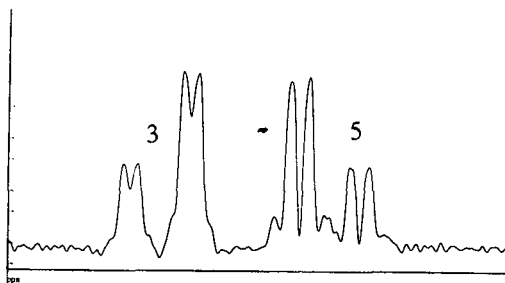


Fig. 48: Doublets de quadruplets pour les protons aromatiques (H(5) et H(3)) du composé **11**.

La simulation par ordinateur confirme ce résultat expérimental (fig. 49 p. 110).

Le couplage réciproque du méthyle (CH₃(8)) avec H(3) et H(5) est visible. Il devrait donner un doublet de doublets (dd), malheureusement, sur le spectre ¹H-RMN à 400MHz, nous ne voyons qu'un triplet. Le pic

7.3.2 Couplage 4J et 6J dans le composé 13

Cette molécule ne diffère du composé 11 que par la présence d'un groupe méthoxy à la place d'une fonction hydroxyle en position 4. Ainsi, elle présente le même type de couplages que 11 (fig. 51).

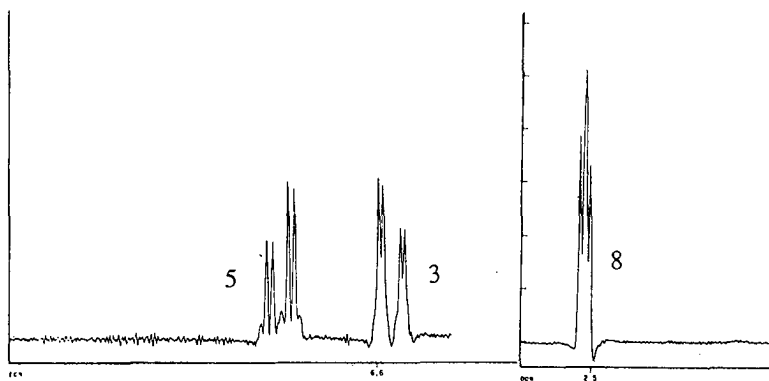


Fig. 51: Doublets de quadruplets pour les protons aromatiques (H(5) (6.63 ppm) et H(3) (6.60ppm)) et doublets de doublets pour le méthyle (CH₃(8)) (2.50ppm) pour le composé 13.

Nous pouvons remarquer, que les deux doublets de quadruplets sont mieux séparé que dans le cas du composé 11.

Il faut aussi noter l'inversion des deux protons aromatiques, la présence du groupement méthoxy à la place de la fonction hydroxyle inverse la valeur des déplacements chimiques.

Le COSY 90 (fig. 52 et 53, p. 112) et l'irradiation du méthyle 8 (fig. 54, p. 113) confirment ces résultats.

COUPLAGES LONGUE DISTANCE

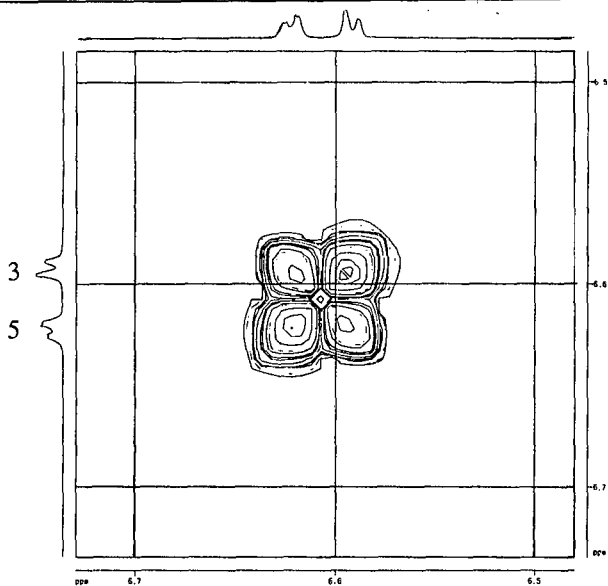


Fig. 52: Agrandissement de la zone des protons aromatiques sur le spectre COSY 90 pour le composé 13.

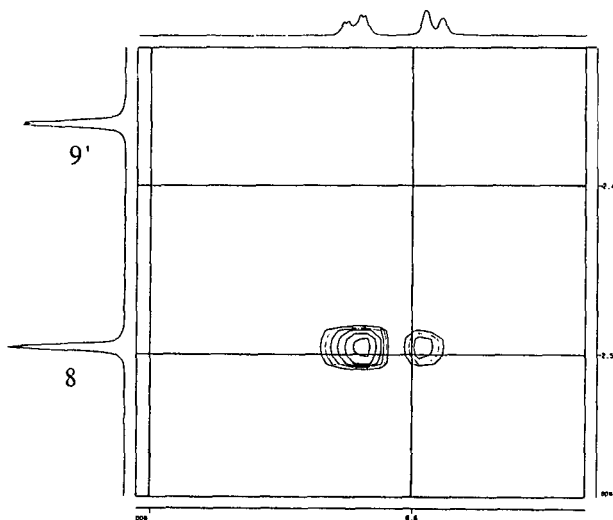


Fig. 53: Agrandissement de la zone des protons aromatiques et des méthyles sur le spectre COSY 90 pour le composé 13.

COUPLAGES LONGUE DISTANCE

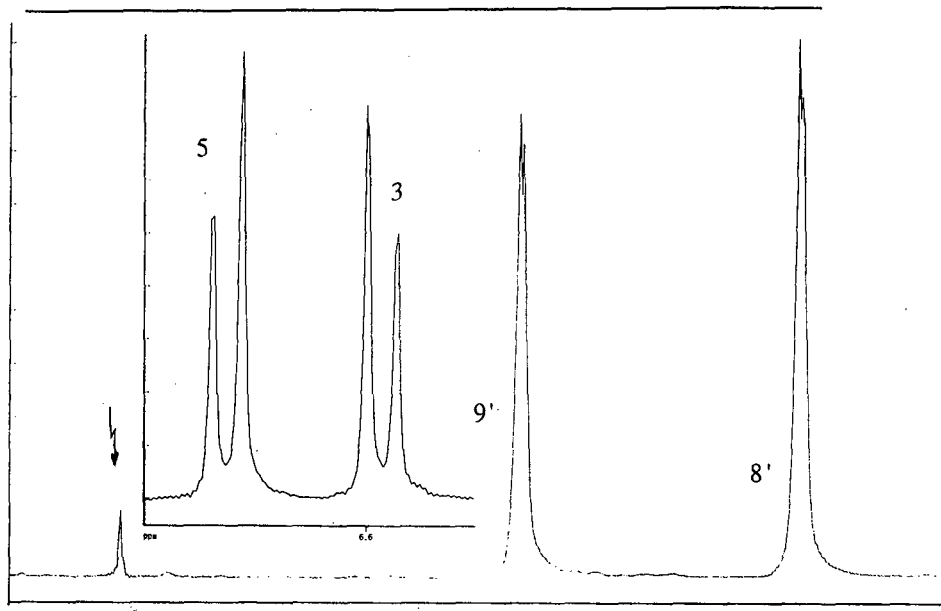


Fig. 54: Irradiation du méthyle 8 du composé 13.

Dans ce cas aussi, nous avons effectué une simulation par ordinateur pour la partie S de la depsidone. Les résultats obtenus confirment que le méthyle ($\text{CH}_3(8)$) couple en ortho avec le H(5) et en para avec le H(3), de ce fait, il forme un doublet de doublets (dd) (fig. 55). Les protons aromatiques (H(5) et H(3)) donnent deux doublets de quadruplets (dq) (fig.56, p. 114).

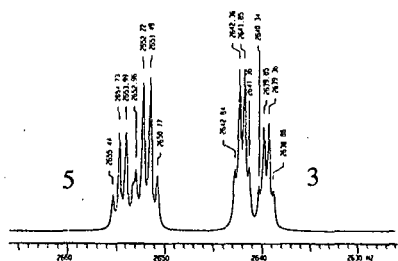


Fig. 55: Doublets de quadruplets pour les protons aromatiques obtenus par simulation pour le composé 13.

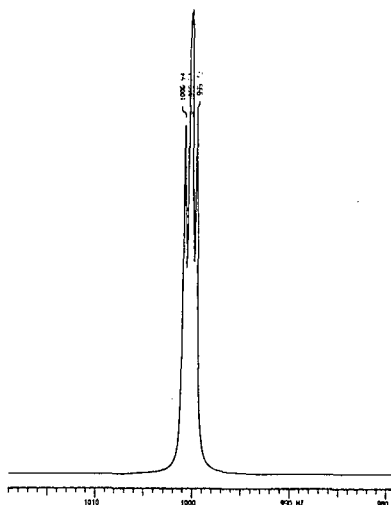


Fig. 56: Doublets de doublets pour le méthyle 8 obtenus par simulation pour le composé 13.

Tableau 15: Récapitulation des valeurs des constantes de couplage pour les composés 11 et 13.

Type de couplage	11 expérimental [Hz]	13 expérimental [Hz]
7J ($\text{CH}_3(8')$ et $\text{CH}_3(9')$)	0.65	0.62
6J ($\text{CH}_3(8)$ et $\text{H}(3)$)	0.60	0.50
4J ($\text{CH}_3(8)$ et $\text{H}(5)$)	0.75	0.73
4J ($\text{H}(5)$ et $\text{H}(3)$)	2.44	2.50

7.4 NOESY du composé 13

Les résultats obtenus par le NOESY montrent les couplages spaciaux du méthyle 8' avec le méthoxy voisin (fig. 57), du méthyle 9' avec l'ester méthylique (fig. 57) et avec le proton aromatique H(3) (fig. 58), du méthoxy situé sur le cycle S avec les deux protons aromatiques H(3) et H(5) (fig. 59, p. 116) et du méthyle 8 avec le proton aromatique H(5) (fig. 59, p. 116).

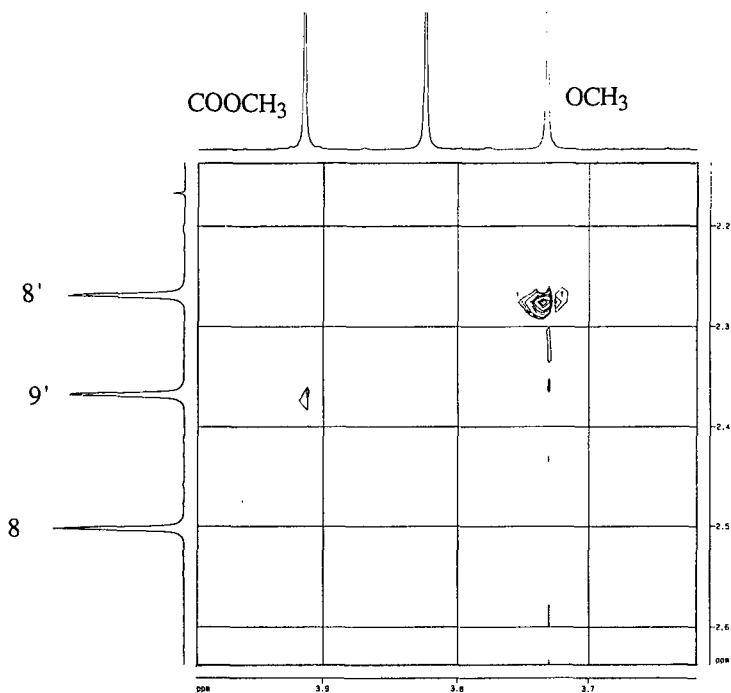


Fig. 57: Couplages NOESY du méthyle 8' avec le méthoxy voisin et du méthyle 9' avec l'ester méthylique pour le composé 13.

COUPLAGES LONGUE DISTANCE

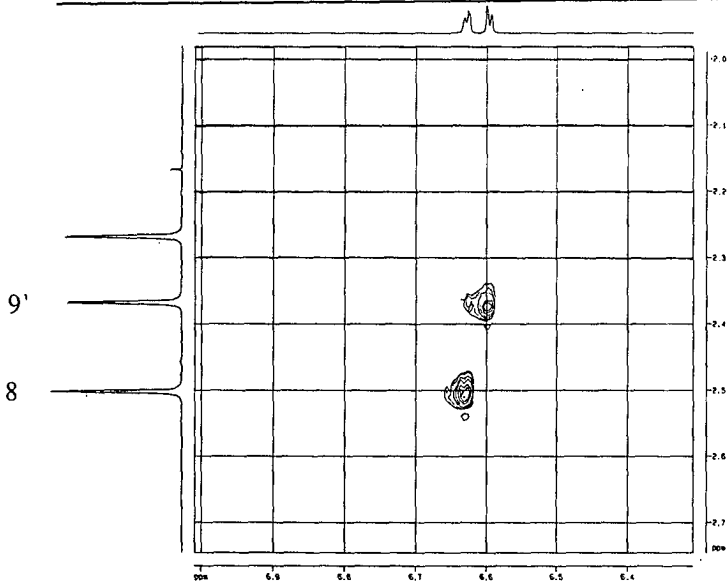


Fig. 58: Couplages NOESY du proton aromatique (H(3)) avec le méthyle 9' du cycle A et du proton aromatique (H(5)) avec le méthyle 8 pour le composé 13.

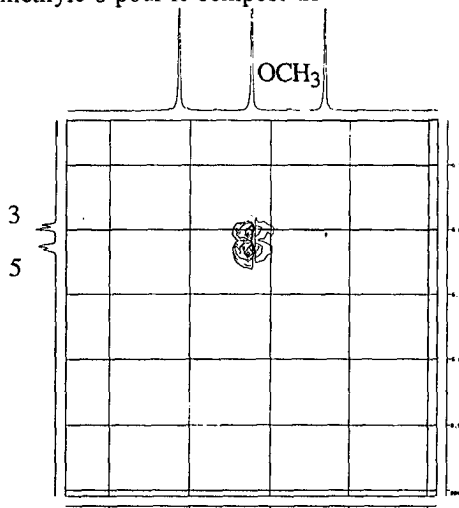
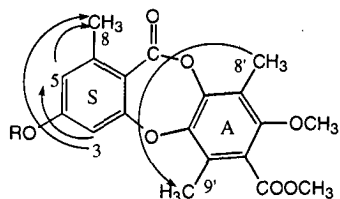


Fig. 59: Couplages NOESY des protons aromatiques (H(3) et 5)) avec le méthoxy situé sur le cycle S pour le composé 13.

7.5 Discussions

Nous pensons que ces couplages longue distance observés dans les composés **11** et **13** sont dus en partie à la rigidité de la molécule et à la mobilité réduite de ses substituants.

Les rayons X et le modèle CPK (cf chap. 6) du composé **11** ont montré que ce type de molécule se trouve sous forme de "cuvette" et que les substituants sont situés très proches les uns des autres. Les résultats obtenus par le spectre NOESY confirment cette proximité.



R = OH (**11**), OCH₃ (**13**)

Fig. 60: Couplages longue distance observés pour les composés **11** et **13** par la ¹H-RMN et le COSY 90.

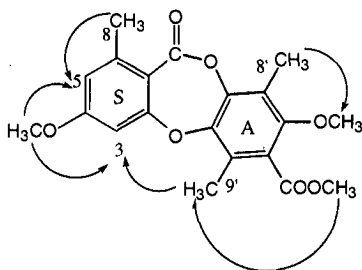


Fig. 61: Couplages spaciaux observés pour le composé **13** par le NOESY.

COUPLAGES LONGUE DISTANCE

Ces couplages longue distance sur le cycle A ont été observés par la RMN 2D dans autres depsidones synthétisées (composés **14**, **15**, **16** et **17**). Cette étude n'a pas été approfondie, mais elle sera poursuivie.

Les depsidones naturelles ne possèdent pas de groupement méthoxy en position 2' sur le cycle A. Elles ont toutes à cette position un groupe hydroxyle. Dans ce cas, le couplage en para des deux méthyles 8' et 9' n'est plus visible, car la rotation du méthyle 8' n'est plus gênée par la présence du groupement méthoxy.

A 200MHz, le couplage 4J est déjà visible. Pour les couplages plus éloignés (6J et 7J) les spectres ont été enregistrés en 400MHz et nous avons du recourir à des conditions expérimentales de mesures optimales (shim, traitement mathématique de la FID: GM gauss-Lorentz multiplication, etc.), ces conditions étant essentielles pour observer ces couplage

Nous avons aussi mesuré les spectres 600MHz pour le composé **13**. Nous espérons avoir de meilleurs résultats, ceci n'a pas été le cas.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

8.1 Analyses

L'analyse phytochimique que nous avons effectuée sur *Bryoria fuscescens*, nous a permis d'isoler différents composés lichéniques appartenant à diverses familles:

- Acides gras: acide palmitique
 acide stéarique
 acide oléique
- Dérivé monoarylique: β -orcinolcarboxylate de méthyle
- Stéroïde: peroxyde d'ergostérol
- Depsidones: acide norstictique
 acide psoromique
 acide fumarprotocétrarique

Malheureusement, tous ces produits sont connus dans la littérature. Ils ont été fréquemment isolés d'autres lichens. Ces résultats sont différents de ceux obtenus par la littérature (cf pg 21). L'atranorine n'a pas été isolée, même en faisant des recherches de sa présence par chromatographie sur couche mince dans différents extraits. Les acides protocétrarique, alectorialique et thamnolique n'ont eux aussi pas été isolés, malgré des essais par méthodes standardisées (HPLC et TLC) dans les divers extraits obtenus.

8.2 Synthèses

Nous avons mis au point, et pour la première fois, une voie de synthèse totale pour accéder à une depsidone comportant un cycle hydroxyphtalide.

Néanmoins, du point de vue expérimental, nous pourrions encore apporter quelques modifications pour améliorer les rendements de certaines étapes clés:

- La formation du cycle à 7 membres est une réaction délicate du point de vue de sa cinétique. Nous avons remarqué de grandes différences de proportions des deux composés principaux synthétisés (**11** et **12**), dues principalement au temps de réaction et à la dilution utilisés. Il est préférable de travailler avec de petites quantités (~500mg) à grande dilution (~500ml).
- La photobromation des composés **13** et **14** n'est pas sélective ce qui entraîne une importante perte de réactifs. Pour palier à cet inconvénient, il serait intéressant de protéger de manière judicieuse le méthyle en position 9, de façon à empêcher la photobromation à cet endroit.

Nous pensons également, que le temps de réaction et la dilution utilisés peuvent influencer considérablement les rendements.

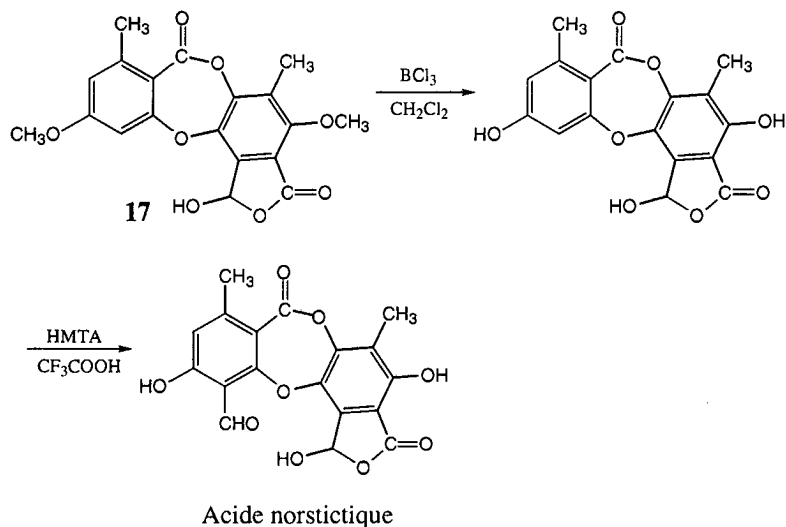
A partir du composé **17**, nous pensons que la synthèse totale de l'acide norstictique doit être possible. En effet, il ne manque plus que deux étapes: une deprotection avec BCl_3 des deux groupes méthoxy pour activer le cycle S, suivie d'une formylation avec HMTA dans l'acide trifluoroacétique. Par cette méthode nous devrions obtenir l'acide norstictique.

Pour permettre l'aboutissement de cette synthèse totale, le composé **17** devra être préparé en plus grande quantité. Ce travail est déjà en cours dans notre laboratoire.

Les deux étapes manquantes pour compléter la synthèse semblent être délicates et demandent certaines mises au point. On ignore en effet la stabilité du cycle hydroxyphtalide dans les conditions de deprotection et de formylation. L'introduction de l'aldéhyde pourrait s'effectuer en position 3 ou 5 du cycle S. Dans un composé de structure similaire, le

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

rendement de cette réaction était de 15% [75]. Il serait intéressant, d'essayer d'autres réactions de formylation pour améliorer la régiosélectivité de cette réaction.



Nous pensons que cette voie de synthèse pourrait être considérée comme une méthode générale pour la synthèse totale de la majorité des depsidones naturelles contenant un cycle hydroxyphthalide.

8.3 Couplages longue distance

Les couplages longue distance observés dans les depsidones synthétisées étaient inattendus et inédits.

Le couplage en para des deux méthyles sur le cycle A est dû à la mobilité réduite des méthyles surtout celui 8'. Nous pensons en effet que le groupe méthoxy adjacent contribue activement à réduire la rotation du méthyle voisin ($\text{CH}_3(8')$). Nous aimerions synthétiser d'autres composés similaires, avec à la place du méthoxy en position 2' une fonction hydroxyle ou un groupe tert-butyle. Ceci nous permettrait de quantifier l'influence des substituants adjacents au groupe méthyle sur le couplage ^7J .

CHAPITRE 9

PARTIE EXPERIMENTALE

9.1 Généralités

Les analyses par chromatographie sur couche mince ont été effectuées sur gel de silice 60 et les séparations sur colonne avec de la silice ayant une granulométrie de 0.063-0.200 mm Mesh ASTM (Merck).

Pour l'HPLC, nous avons utilisé un appareil *HP 1050* couplé à un détecteur à barrettes de diodes UV/VIS *HP 1040A*.

Les spectres IR ont été enregistrés sur un *FT-IR Perkin Elmer 1720X*. Pour les solides, les spectres IR ont été effectués avec pastille de KBr. Pour les produits liquides par film entre plaques de NaCl. Cette technique permet de récupérer le produit par lavage de la plaque de NaCl avec un solvant approprié. La fréquence est exprimée en cm^{-1} et les intensités par les abréviations suivantes: *vs*: très fort; *s*: fort; *m*: moyen; *w*: faible.

Les spectres de masse ont été enregistrés sur un appareil *Nermag R30-10*, triple quadrupôle, par introduction directe en impact électronique (EI, +) (70 eV) par ionisation chimique (NH_3 , +).

Pour la GC-MS, le spectromètre de masse est couplé à un chromatographe en phase gazeuse *Dani 6500* équipé d'une colonne capillaire de type OV-73 (5% phényl, 95% méthyl) de 25m de longueur et 0.32mm de diamètre. Le débit d'hélium est d'environ 1ml/min.

PARTIE EXPERIMENTALE

Les spectres MSⁿ ont été enregistrés sur un appareil *LCQ Finnigan*..

Les spectres RMN ont été enregistrés sur un appareil *Brucker AMX 400*, ou *Varian Gemini-200* pour les spectres de routine et les simulations par ordinateur (chapitre 7).

Les spectres effectués dans le chapitre 7 ont été enregistrés sur un *Brucker AMX 400* avec les paramètres d'acquisition suivants:

PULPROG	zg30		
SOLVENT	CDCl ₃	PI	14.3 usec
AQ	61.3417168 sec	DE	292.5 usec
FIDRES	0.008151 Hz	SF01	400.1361289 MHz
DW	234.0 usec	SWH	2136.75 Hz
RG	2048	TD	262144
HL1	2 dB	NS	16 ou 32
D1	0.5000000 sec	DS	0

Les paramètres de traitement sont les suivants:

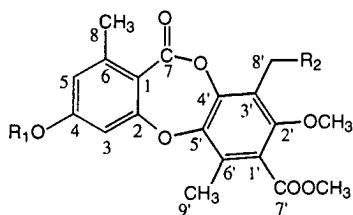
SI	131072
SF	400.1343946 MHz
WDW	GM
SSB	0
LB	-0.65 ou -0.8 Hz
GB	0.04
PC	0.10

Les valeurs des déplacements chimiques sont exprimées en ppm. Pour la multiplicité, nous utilisons les abréviations suivantes: *s*: singulet; *d*: doublet; *dd*: doublet de doublets; *dq*: doublet de quadruplets; *t*: triplet; *m*: multiplet; *b*: bosse.

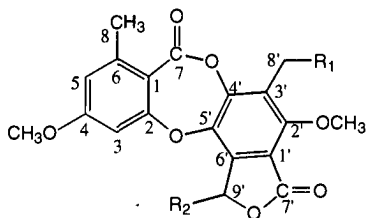
L'attribution des valeurs des déplacements chimiques pour les carbones a été faite grâce aux informations obtenues par les spectres ¹³C, HETCOR SR et HETCOR LR.

PARTIE EXPERIMENTALE

Pour l'interprétation des spectres RMN des produits **11** à **18**, nous avons utilisé la numérotation classique des depsidones et non pas celle des dioxépines.



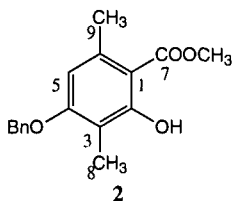
- 11:** $R_1 = R_2 = H$
13: $R_1 = CH_3, R_2 = H$
15: $R_1 = CH_3, R_2 = OH$



- 14:** $R_1 = R_2 = H$
15: $R_1 = OH, R_2 = H$
17: $R_1 = H, R_2 = OH$
18: $R_1 = R_2 = OH$

9.2 Synthèses

9.2.1 Synthèse du 4-benzyloxy-2-hydroxy-3,6-diméthyl benzoate de méthyle (2)



Sous atmosphère inerte d'azote, 25g (0.12 mol) de 2,4-dihydroxy-3,6-diméthyl benzoate de méthyle **1** et 88g (0.63 mol, env. 5 éq.) de K_2CO_3 anhydre sont dissous dans 250ml de DMF sec. Sous forte agitation, on ajoute goutte à goutte en 1h une solution de 14ml (0.12 mol, 1 éq.) de bromure de benzyle dans 120ml de DMF sec. Le mélange est laissé sous agitation pendant une nuit. On ajoute 500ml d'eau et on extrait à l'éther. La phase organique est lavée avec une solution de $NaCl_{sat}$. jusqu'à pH neutre, puis séchée sur $MgSO_4$, filtrée et évaporée à sec. Le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/AcOEt 95:5).

On obtient 20.6g (60%) de **2**, un solide blanc sous forme d'aiguilles. Il se forme comme produit secondaire le composé dibenzylé et il reste une partie de **1** non consommé.

F: 84-85°C $C_{17}H_{18}O_4$ PM:286 $R_f(\text{hex}/\text{AcOEt}, 4:1) = 0.5$

F: [76] 79.5-80°C

1H -RMN (400MHz, $CDCl_3$) (Annexe 1): 2.15 (s, 3H, CH_3 -arom); 2.51 (s, 3H, CH_3 -arom); 3.93 (s, 3H, CH_3O); 5.12 (s, 2H, CH_2O); 6.34 (s, 1H, H-arom); 7.31-7.45 (m, 5H, benzyl); 11.85 (s, 1H, OH).

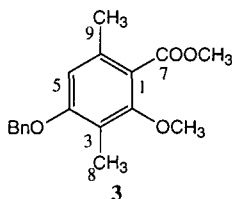
PARTIE EXPERIMENTALE

^{13}C -RMN (100MHz, CDCl_3): 8.75 (C_8); 25.32 (C_9); 52.48 ($\text{C}_7\text{-OCH}_3$); 70.53 ($\text{C}_4\text{-OCH}_2$); 106.36 (C_5); 107.80 (C_3); 112.07 (C_1); 127.74 (2x C-benzyl); 128.60 (C-benzyl); 129.25 (2x C-benzyl); 137.52 ($\text{CH}_2\text{-C}$); 140.73 (C_6); 161.25 (C_2); 162.93 (C_4); 173.20 (C_7).

MS (EI, +, m/e, %): 286 (M^+ , 20); 271 (9); 254 (19); 91 (100).

IR (KBr): 3091-2864 (m); 1651 (vs); 1626 (s); 1608 (s); 1579 (s); 1498 (m); 1449 (s); 1434 (s); 1404 (s); 1305 (vs); 1278 (vs); 1236 (s); 1194 (s); 1164 (s); 1141 (vs); 1075 (w); 1021 (s); 966 (w); 938 (w); 806 (vs).

9.2.2 Synthèse du 4-benzyloxy-2-méthoxy-3,6-diméthyl benzoate de méthyle (**3**)



Sous atmosphère inerte d'azote, 14.5g (50.69 mmol) de **2** et 35g (0.25 mol, 5 éq.) de K_2CO_3 anhydre sont dissous dans 100ml de DMF sec. On ajoute 3.5ml (56 mmol, 1.1 éq.) de iodure de méthyle. La réaction se poursuit sous agitation pendant une nuit. On dilue avec 250ml d'eau, puis on extrait à l'éther. La phase organique est lavée avec une solution de NaCl_{sat} . jusqu'à neutralité, puis séchée sur MgSO_4 , filtrée et évaporée à sec.

On obtient 12.6g (83%) de **3**, un solide jaune.

F: 70-71°C $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{O}_4$ PM: 300 · $R_f(\text{hex}/\text{AcOEt}, 4:1)=0.37$
F: [76] 73-74°C

PARTIE EXPERIMENTALE

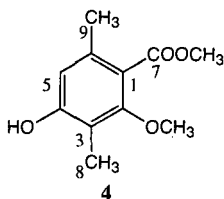
¹H-RMN (400MHz, CDCl₃) (Annexe 2): 2.18 (s, 3H, CH₃-arom); 2.30 (s, 3H, CH₃-arom); 3.78 (s, 3H, CH₃O); 3.91 (s, 3H, CH₃O); 5.08 (s, 2H, CH₂O); 6.55 (s, 1H, H-arom); 7.32-7.45 (m, 5H, H-benzyl).

¹³C-RMN (100MHz, CDCl₃): 9.60 (C₈); 20.47 (C₉); 52.70 (C₇-OCH₃); 62.53 (C₂-OCH₃); 70.79 (C₄-OCH₂); 109.88 (C₃); 118.34 (C₁); 121.71 (C₅); 127.76 (2x C-benzyl); 128.56 (C-benzyl); 129.22 (2x C-benzyl); 135.31 (C₆); 137.61 (CH₂-C); 157.41 (C₂); 159.21 (C₄); 169.59 (C₇).

MS (EI, +, m/e, %): 300 (M⁺, 54); 269 (37); 241 (25), 91 (100).

IR (KBr): 3055-2892 (m); 1728 (s); 1605 (s); 1576 (s); 1489 (m); 1469 (s); 1434 (m); 1403 (m); 1391 (s); 1318 (s); 1282 (vs); 1242 (s); 1190 (m); 1152 (vs); 1107 (vs); 1062 (s); 1029 (m); 957 (m); 859 (m).

9.2.3 Synthèse du 4-hydroxy-2-méthoxy-3,6-diméthyl benzoate de méthyle (**4**)



11.3g (37.7 mmol) de **3** et 1.1g de Pd/C (10%) sont dissous dans 100ml d'AcOEt et quelques gouttes d'acide acétique. Le mélange réactionnel est hydrogéné sous H₂ (4 bars) pendant une nuit. Le Pd/C est éliminé par filtration et après évaporation du solvant, on obtient 7.15g (90%) de **4**, un solide blanc.

F: 145-147°C C₁₁H₁₄O₄ PM: 210 R_f(hex/AcEtO,4:1)=0.14
F: [76] 144-145°C

PARTIE EXPERIMENTALE

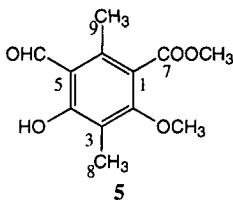
¹H-RMN (400MHz, CDCl₃) (Annexe 3): 2.12 (s, 3H, CH₃-arom); 2.20 (s, 3H, CH₃-arom); 3.75 (s, 3H, CH₃O); 3.90 (s, 3H, CH₃O); 5.66 (s, 1H, OH); 6.37 (s, 1H, H-arom).

¹³C-RMN (100MHz, CDCl₃): 9.19 (C₈); 20.01 (C₉); 52.86 (C₇-OCH₃); 62.56 (C₂-OCH₃); 113.29 (C₃); 115.76 (C₅); 121.11 (C₁); 135.57 (C₆); 156.73 (C₄); 157.77 (C₂); 170.00 (C₇).

MS (EI, +, m/e, %): 210 (M⁺, 32); 179 (100); 163 (13); 149 (20); 136 (16); 107 (11); 91 (13); 77 (16).

IR (KBr): 3322 (vs); 3046-2868 (m); 1696 (vs); 1610 (s); 1594 (s); 1502 (m); 1462 (s); 1436 (s); 1404 (s); 1382 (m); 1326 (vs); 1307 (vs); 1274 (s); 1200 (m); 1162 (s); 1099 (vs); 1068 (m); 1023 (w); 1001 (m); 949 (w); 919 (w); 850 (s); 806 (w); 772 (w).

9.2.4 Synthèse du 5-formyl-4-hydroxy-2-méthoxy-3,6-diméthyl benzoate de méthyle (5)



7g (33 mmol) de 4 et 23.3g (166 mmol, env. 5 éq.) de hexaméthylènetétramine (HMTA) sont dissous dans 150ml de d'acide trifluoroacétique (CF₃COOH) à 0°C. Le mélange réactionnel est chauffé à reflux pendant 12h. Le solvant est évaporé à pression réduite. L'huile jaune obtenue est hydrolysée dans 600ml d'eau à 60°C pendant 6h. Il y a formation d'un précipité jaunâtre, il est filtré et séché au dessiccateur, puis à l'étuve à vide. Le filtrat est extrait à l'éther. La phase organique est lavée avec une solution de NaCl_{sat.} jusqu'à pH neutre, séchée sur MgSO₄, filtrée et évaporée à sec.

PARTIE EXPERIMENTALE

On obtient en combinant le précipité et le solide extrait, 7g (90%) de **5**, un solide jaunâtre.

F: 67-69°C C₁₂H₁₄O₅ PM: 238 R_f(hex/AcOEt,4:1)=0.27
F: [76] 73-47°C

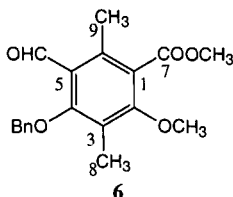
¹H-RMN (400MHz, CDCl₃) (Annexe 4): 2.14 (s, 3H, CH₃-arom); 2.49 (s, 3H, CH₃-arom); 3.81 (s, 3H, CH₃O); 3.92 (s, 3H, CH₃O); 10.23 (s, 1H, CHO); 12.65 (s, 1H, OH).

¹³C-RMN (100MHz, CDCl₃): 8.23 (C₈); 14.61 (C₉); 52.43 (C₇-OCH₃); 61.77 (C₂-OCH₃); 114.63 (C₃); 117.85 (C₁); 122.01 (C₅); 137.86 (C₆); 162.24 (C₄); 164.51 (C₂); 168.06 (C₇); 194.16 (C₅-CHO).

MS (EI, +, m/e, %): 238 (M⁺, 84); 223 (31); 207 (100); 191 (30); 178 (66); 163 (24); 149 (25); 135 (13); 121 (8); 107 (14); 91 (15); 77 (13).

IR (KBr): 2953-2900 (w); 1734 (s); 1634 (s); 1583 (m); 1531 (w); 1455 (m); 1421 (m); 1393 (m); 1362 (m); 1325 (m); 1306 (s); 1275 (s); 1213 (vs); 1116 (m); 1070 (m); 1054 (m); 1026 (m); 955 (m); 904 (s); 840 (w); 789 (s).

9.2.5 Synthèse du 4-benzyloxy-5-formyl-2-méthoxy-3,6-diméthyl benzoate de méthyle (**6**)



Sous atmosphère inerte d'azote, 7g (29.4 mmol) de **5** et 20g (0.15 mol, 5 éq) de K₂CO₃ sont dissous dans 100ml de DMF sec. On ajoute 7ml (58.8 mmol, 2 éq.) de bromure de benzyle. Le mélange réactionnel est

PARTIE EXPERIMENTALE

laissé sous agitation pendant une nuit. Après filtration, on ajoute 200ml d'eau et on extrait à l'éther. La phase organique est lavée jusqu'à neutralité avec une solution de NaCl_{sat.}, séchée sur MgSO₄, filtrée et évaporée à sec. Le résidu est une huile jaune. Le bromure de benzyle en excès est éliminé par purification par chromatographie sur gel de silice hexane/AcOEt (95:5 - 85:15).

On obtient 6.2g (64%) de **6**, un solide blanc.

F: 83-85°C C₁₉H₂₀O₅ PM: 328 R_f(hex/AcOEt,4:1)=0.29

¹H-RMN (400MHz, CDCl₃): 2.23 (*s*, 3H, CH₃-arom); 2.47 (*s*, 3H, CH₃-arom); 3.82 (*s*, 3H, CH₃O); 3.94 (*s*, 3H, CH₃O); 4.91 (*s*, 2H, CH₂O); 7.36-7.42 (*m*, 5H, H-benzyl); 10.41 (*s*, 1H, CHO).

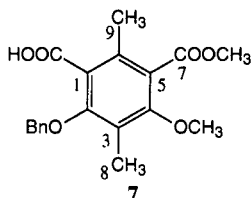
¹³C-RMN (100MHz, CDCl₃): 9.42 (C₈); 17.22 (C₉); 52.43 (C₇-OCH₃); 61.71 (C₂-OCH₃); 76.68 (C₄-OCH₂); 123.44 (C₃); 124.60 (C₁); 127.39 (C₅); 128.14 (2x C-benzyl); 128.66 (C-benzyl); 128.70 (2x C-benzyl); 135.63 (C₆); 137.10 (CH₂-C); 160.31 (C₄); 163.60 (C₂); 168.17 (C₇); 191.48 (C₅-CHO).

MS (El, +, m/e, %): 328 (M⁺, 13); 237 (17); 91 (100).

IR (KBr): 3064-2862 (*w*); 1732 (*s*); 1688 (*s*); 1568 (*s*); 1501 (*w*); 1456 (*s*); 1435 (*s*); 1404 (*m*); 1370 (*s*); 1310 (*s*); 1295 (*vs*); 1275 (*s*); 1213 (*vs*); 1179 (*vs*); 1103 (*vs*); 1079 (*s*); 1058 (*s*); 1013 (*m*); 980 (*vs*); 968 (*vs*); 912 (*s*); 844 (*m*); 759 (*s*).

PARTIE EXPERIMENTALE

9.2.6 Synthèse de l'acide 2-benzyloxy-5-méthoxycarbonyl-4-méthoxy-3,6-diméthyl benzoïque (7)



5g (15.2 mmol) de 6 sont dissous dans 150ml de dioxane/eau (2:1). On ajoute 8.88g (91 mmol, 6 éq.) d'acide sulfamique (NH₂SO₃H). 2.76g (30 mmol, 2 éq.) de NaClO₂ sont dissous dans 70 ml d'eau, cette solution est ajoutée goutte à goutte au mélange réactionnel. Après 4h de réaction, on extrait à l'éther. La phase organique est lavée jusqu'à neutralité avec une solution de NaCl_{sat.}, séchée sur MgSO₄, filtrée et évaporée à sec.

On obtient 5g (95%) de 7, un solide blanc.

F: 97-99°C

C₁₉H₂₀O₆

PM: 344

F: [76] 103-105°C

¹H-RMN (400MHz, CDCl₃) (Annexe 6): 2.23 (s, 3H, CH₃-arom); 2.32 (s, 3H, CH₃-arom); 3.80 (s, 3H, CH₃O); 3.95 (s, 3H, CH₃O); 4.95 (s, 2H, CH₂O); 7.28-7.44 (m, 5H, benzyl).

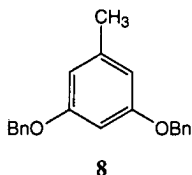
¹³C-RMN (100MHz, CDCl₃): 9.64 (C₈); 16.81 (C₉); 52.45 (C₇-OCH₃); 61.81 (C₄-OCH₃); 76.62 (C₂-OCH₂); 123.49 (C₃); 124.40 (C₅); 125.95 (C₁); 128.13 (2x C-benzyl); 128.32 (C-benzyl); 128.52 (2x C-benzyl); 132.53 (C₆); 136.34 (CH₂-C); 156.45 (C₂); 157.83 (C₄); 168.16 (C₇); 172.26 (C₁-COOH).

MS (EI, +, m/z,%): 344 (M⁺,22); 326 (5); 313 (10); 294 (7); 236 (51); 208 (27); 91 (100).

PARTIE EXPERIMENTALE

IR (KBr): 3029-2891 (*s*); 2625 (*m*); 2575 (*m*); 1730 (*vs*); 1693 (*vs*); 1579 (*s*); 1498 (*w*); 1433 (*s*); 1400 (*m*); 1374 (*s*); 1333 (*s*); 1302 (*s*); 1256 (*vs*); 1219 (*m*); 1198 (*s*); 1172 (*vs*); 1103 (*vs*); 1068 (*m*); 1031 (*w*); 1009 (*m*); 974 (*s*); 942 (*m*); 906 (*m*); 857 (*w*); 833 (*w*); 740 (*m*); 697 (*s*).

9.2.7 Synthèse du 3,5-dibenzyloxy toluène (**8**)



Sous atmosphère inerte d'azote, 10g (70 mmol) d'orcinol et 48g (350 mmol, 5 éq.) de K_2CO_3 anhydre sont dissous dans 100ml de DMF sec. On ajoute 25ml (211 mmol, 3 éq.) de bromure de benzyle. On laisse réagir une nuit à température ambiante. Le K_2CO_3 est éliminé par filtration, on ajoute 200ml d'eau au mélange réactionnel, on extrait à l'éther. La phase organique est lavée avec une solution de $NaCl_{sat}$. jusqu'à neutralité, puis séchée sur $MgSO_4$, filtrée et évaporée à sec. L'excès de bromure de benzyle est éliminé par chromatographie sur gel de silice (hexane/AcOEt 95:5).

On obtient 18.2g (85%) de **8**, une huile jaune.

$C_{21}H_{20}O_2$

PM: 304

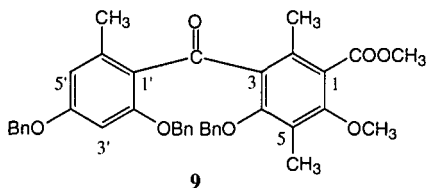
$R_f(\text{hex}/\text{AcEtO}, 4:1)=0.55$

1H -RMN (400MHz, $CDCl_3$): 2.32 (*s*, 3H, CH_3 -arom); 5.03 (*s*, 4H, 2x CH_2O); 6.47 (*s*, 3H, 3x H-arom); 7.34-7.43 (*m*, 10H, 2x benzyl).

MS (EI, +, *m/z*, %): 304 (M^+ , 16); 213 (4); 181 (15); 91 (100); 65 (10).

PARTIE EXPERIMENTALE

9.2.8 Synthèse du 4-benzyloxy-3-[bis (2',4'-benzyloxy-6-méthyl benzoyl)]-6-méthoxy-2,5-diméthyl benzoate de méthyle (**9**)



Sous atmosphère inerte d'azote, une solution de 17ml d'anhydride trifluoroacétique [(CF₃CO)₂O] dans 30ml de CH₂Cl₂ sec est additionnée goutte à goutte à 4.5g (13.08 mmol) de **7** dissout dans 30ml de CH₂Cl₂ sec. La réaction est exothermique, on laisse le mélange réactionnel revenir à température ambiante, puis on y ajoute goutte à goutte une solution de 3.98 (13.08 mmol) de **8** dans 30ml de CH₂Cl₂ sec. La réaction se poursuit pendant 6h. Le mélange réactionnel est évaporé; on récupère une huile brune qui est purifiée par chromatographie sur gel de silice ligroïne/AcOEt (90:10 - 85:15).

On obtient 6.6g (81%) de **9**, un solide blanc.

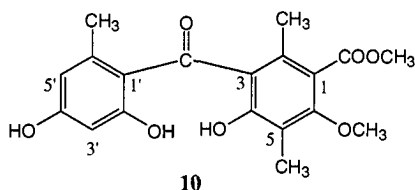
F: 91-92°C C₄₀H₃₈O₇ PM: 630 R_f(hex/AcOEt,4:1)=0.19
 F: [72] 93-94°C

¹H-RMN (400MHz, CDCl₃) (Annexe 7): 2.05 (*s*, 3H, CH₃-arom); 2.09 (*s*, 3H, CH₃-arom); 2.33 (*s*, 3H, CH₃-arom); 3.75 (*s*, 3H, CH₃O); 3.90 (*s*, 3H, CH₃O); 4.38 (*b*, 2H, CH₂O); 4.78 (*s*, 2H, CH₂O); 5.00 (*s*, 2H, CH₂O); 6.34 (*d*, 1H, J_{5'-3}=2.16Hz, H_{5'}); 6.39 (*d*, 1H, J_{3'-5'}=2.21Hz, H_{3'}); 6.93-7.41 (*m*, 15H, 3x benzyl).

MS (EI, +, m/e, %) (Annexe 8): 630 (M⁺, 0.4); 304 (12); 181 (11); 91 (100).

PARTIE EXPERIMENTALE

9.2.9 Synthèse du 4-hydroxy-3-(2',4'-dihydroxy-6'-méthyl benzoyl)-6-méthoxy-2,5-diméthyl benzoate de méthyle (**10**)



5.35g (8.49 mmol) de **9** et 600mg de Pd/C (10%) sont mis en suspension dans 150ml d'AcOEt, et quelques gouttes d'acide acétique. Le mélange réactionnel est hydrogéné sous H₂ (4 bars) pendant une nuit. Le Pd/C est éliminé par filtration et après évaporation du solvant, on obtient 3g (98%) de **10**, une glue jaune.

C₁₉H₂₀O₇

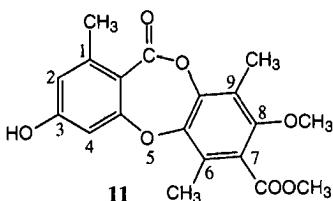
PM: 360

¹H-RMN (400MHz, CDCl₃) (Annexe 9): 1.80 (*s*, 3H, CH₃-arom); 1.90 (*s*, 3H, CH₃-arom); 2.17 (*s*, 3H, CH₃-arom); 3.79 (*s*, 3H, CH₃O); 3.90 (*s*, 3H, CH₃O); 6.14 (*d*, 1H, J_{3'-5'}=1.92Hz, H_{3'}); 6.27 (*d*, 1H, J_{5'-3'}=2.38Hz, H_{5'}).

MS (EI, +, m/e,%) (Annexe 10): 360(M⁺, 10); 345 (22); 329 (7); 313 (12); 237 (100); 208 (38); 151 (58).

PARTIE EXPERIMENTALE

9.2.10 Synthèse du 3-hydroxy-8-méthoxy-1,6,9-triméthyl-11-oxo-11H-[b,e] dibenzo-[1,4] dioxépine-7-carboxylate de méthyle (11)



On additionne en une fois une solution de 3g (9 mmol, env. 2 éq.) de $K_3[Fe(CN)_6]$ dans 750ml d'eau à une solution de 1.5g (4.17 mmol) de **10** et 10.65g (77 mmol, 18 éq.) de K_2CO_3 dans 900ml d'eau. Après 15min d'agitation, la réaction est arrêtée en ajoutant 200ml de HCl 2N. Il y a formation d'un précipité blanc que l'on élimine pas. La phase aqueuse est extraite à l'éther, puis la phase organique est lavée avec une solution saturée de NaCl jusqu'à neutralité, séchée sur $MgSO_4$, filtrée et évaporée à sec.

On obtient un solide jaune que l'on purifie par chromatographie sur gel de silice ligroïne/AcOEt (70:30 - 65:35).

Le premier produit qui élue est le composé **11**, un solide blanc. On en récupère 700mg (23%).

L'acide 2-[2'-hydroxy-4'-méthoxy-5'(méthoxycarbonyl)-3',6'-diméthyl phénoxy]-4-hydroxy-6-méthyl benzoïque **12** est élué sous forme de mélange avec **11**. La séparation se fait par recristallisation dans $CHCl_3$ /ligroïne.

Pour **11**: $C_{19}H_{18}O_7$ PM: 358 F: 202-204°C
F: [75] 204-205°C

PARTIE EXPERIMENTALE

^1H -RMN (400MHz, CDCl_3)⁽¹⁾ (Annexe 11): 2.26 (*q*, 3H, $J=0.65\text{Hz}$, $\text{CH}_3\text{-arom}$); 2.33 (*q*, 3H, $J=0.65\text{Hz}$, $\text{CH}_3\text{-arom}$); 2.46 (*s*, 3H, $\text{CH}_3\text{-arom}$); 3.73 (*s*, 3H, CH_3O); 3.92 (*s*, 3H, CH_3O); 6.43 (*b*, 1H, OH); 6.55 (*dq*, 1H, $J_{5-3}=2.44\text{Hz}$, $J_{5-8}=0.75\text{Hz}$, H₅); 6.56 (*dq*, 1H, $J_{3-5}=2.44$, $J_{3-8}=0.60\text{Hz}$, H₃).
(1)N.B: Les valeurs des déplacements chimiques et des constantes de couplages sont celles obtenues dans le chapitre 7.

^{13}C -RMN (100MHz, CDCl_3) (Annexe 12): 9.83 (C_{8'}); 12.81 (C_{9'}); 21.19 (C₈); 52.57 (C₇-OCH₃); 62.12 (C_{2'}-OCH₃); 105.29 (C₃); 113.27 (C₁); 115.91 (C₅); 122.04 (C_{3'}); 125.71 (C_{6'}); 125.79 (C_{1'}); 144.67 (C_{4'}); 145.45 (C₅); 145.94 (C₆); 152.68 (C_{2'}); 160.23 (C₄); 162.78 (C₇); 162.89 (C₂); 167.91 (C₇).

HETCOR SR (Annexe 13) et **HETCOR LR** (Annexe 14).

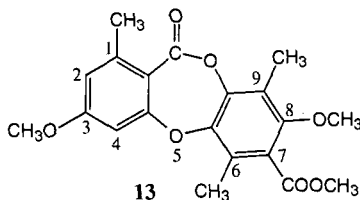
Analyse élémentaire: $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_7$ (358.35): calc.: C 63.68, H 5.06; mesuré: C 63.45, H 5.18.

Pour **12**: F: 150-152°C F: [75] 155°C

^1H -RMN (200MHz, CDCl_3): 1.83 (*s*, 3H, $\text{CH}_3\text{-arom}$); 1.91 (*s*, 3H, $\text{CH}_3\text{-arom}$); 2.19 (*s*, 3H, $\text{CH}_3\text{-arom}$); 3.81 (*s*, 3H, CH_3O); 3.89 (*s*, 3H, $\text{CH}_3\text{-arom}$); 5.80 (*b*, 1H, OH); 6.19 (*d*, 1H, $J=1.8\text{Hz}$, H-arom); 6.31 (*d*, 1H, $J=2.2\text{Hz}$, H-arom); 7.97 (*s*, 1H, OH); 11.28 (*s*, 1H, COOH).

PARTIE EXPERIMENTALE

9.2.11 Synthèse du 3,8-diméthoxy-1,6,9-triméthyl-11-oxo-11H-[b,e]dibenzo-[1,4] -dioxépine-7-carboxylate de méthyle (**13**)



Sous atmosphère inerte d'azote, 700mg (1.96 mmol) de **11** et 1.35g (9.78 mmol, 5 éq.) de K_2CO_3 anhydre sont dissous dans 30ml de DMF sec. On ajoute sous agitation 0.2ml (3.2 mmol, 1.6 éq.) de iodure de méthyle. La réaction se poursuit à température ambiante pendant une nuit. On ajoute 100ml d'eau au mélange réactionnel et on extrait à l'éther. La phase organique est lavée avec une solution saturée de NaCl jusqu'à neutralité, puis séchée sur $MgSO_4$, filtrée et évaporée à sec. Le solide est purifié par chromatographie sur gel de silice ligroïne/AcOEt (90:10 - 70:30).

On obtient 550mg (75%) de **13**, un solide blanc.

F: 148-150°C

$C_{20}H_{20}O_7$

PM: 372

1H -RMN (400MHz, $CDCl_3$)⁽¹⁾ (Annexe 15): 2.27 (*q*, 3H, $J=0.62$ Hz, CH_3 -arom); 2.37 (*q*, 3H, $J=0.62$ Hz, CH_3 -arom); 2.50 (*s*, 3H, CH_3 -arom); 3.73 (*s*, 3H, CH_3O); 3.83 (*s*, 3H, CH_3O); 3.92 (*s*, 3H, CH_3O); 6.60 (*dq*, 1H, $J_{3-5}=2.50$ Hz, $J_{3-8}=0.5$ Hz, H_3); 6.63 (*dq*, 1H, $J_{5-3}=2.50$ Hz, $J_{5-8}=0.73$ Hz, H_5).

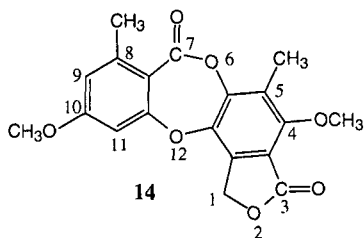
⁽¹⁾N.B: Les valeurs des déplacements chimiques et des constantes de couplages sont celles obtenues dans le chapitre 7.

^{13}C -RMN (100MHz, $CDCl_3$) (Annexe 16): 10.50 (C_8); 13.57 (C_9); 22.04 (C_8); 53.08 (C_7-OCH_3); 56.31 (C_4-OCH_3); 62.77 (C_2-OCH_3); 104.28 (C_3); 114.23 (C_1); 115.05 (C_5); 122.67 (C_3); 126.30 (C_6); 126.53 (C_1); 145.30 (C_4); 146.18 (C_5); 146.19 (C_6); 153.35 (C_2); 162.98 (C_7); 163.44 (C_2); 163.89 (C_4); 168.20 (C_7).

HETCOR SR (Annexe 17) et **HETCOR LR** (Annexe 18):

MS (EI, +, m/e, %): 372 (M⁺, 83); 357 (49); 344 (82); 329 (60); 313 (42); 297 (100); 285 (30); 269 (48); 257 (25); 241 (23); 231 (37); 207 (13); 194 (24); 180 (46); 165 (24); 156 (27); 148 (11); 120 (23); 91 (20); 77 (54); 67 (21).

9.2.12 Synthèse du 7H-[4,5-b]-isobenzofuro-1,3-dihydro-4,10-diméthoxy-5,8-diméthyl-3,7-dioxo-benzo-[1,4] dioxépine (**14**)



Sous atmosphère inerte d'azote, 60mg ($1.61 \cdot 10^{-1}$ mmol) de **13** sont dissous dans 5ml de CCl₄ anhydre. Le mélange réactionnel est irradié avec une lampe de 300W et chauffé à reflux à l'aide d'un bain d'huile. On ajoute en 4 fois 0.8ml ($1.61 \cdot 10^{-1}$ mmol, 1éq.) d'une solution de 0.1ml de Br₂ dans 10ml de CCl₄ anhydre, puis on laisse réagir 5h sous agitation à reflux en irradiant avec la lampe de 300W. Le CCl₄ est évaporé et on hydrolyse le mélange réactionnel avec 20ml de dioxane/eau 1:1 à reflux pendant une nuit. Le dioxane est évaporé et la phase aqueuse est extraite à l'AcOEt, la phase organique est lavée avec une solution de NaCl_{sat.} jusqu'à neutralité, séchée sur MgSO₄, filtrée et évaporée à sec. Le résidu, un solide brun est purifié par chromatographie sur gel de silice en utilisant un gradient d'élution hexane/AcOEt (4:1 - 1:1).

On récupère 4 fractions:

La première (2.5mg) est le produit de départ **13** non consommé.

La deuxième 4.5mg (8%) est le produit désiré **14**.

PARTIE EXPERIMENTALE

La troisième (12.7mg) est le produit **15** le 9-hydroxyméthyl-3,8-diméthoxy-1,6,9-triméthyl 11-oxo-11H [b,e] dibenzo [1,4] dioxépine 7-carboxylate de méthyle.

La dernière (2mg) est le produit **16** le 7H-[4,5-b]-isobenzofuro-1,3-dihydro-5-hydroxyméthyl-4,10-diméthoxy-5,8-diméthyl-3,7-dioxo benzo-[1,4] dioxépine.

Pour **14**:

$C_{19}H_{16}O_7$

PM:356

1H -RMN (400MHz, $CDCl_3$) (Annexe 19): 2.32 (s, 3H, CH_3 -arom); 2.51 (s, 3H, CH_3 -arom); 3.84 (s, 3H, CH_3O); 4.05 (s, 3H, CH_3O); 5.37 (d, 2H, $J=0.7Hz$, CH_2); 6.51 (d, 1H, $J_{3-5}=2.48Hz$, H_3); 6.67 (dd, 1H, $J_{5-3}=2.47Hz$, $J_{5-8}=0.62Hz$, H_5).

^{13}C -RMN (100MHz, $CDCl_3$) (Annexe 20): 10.56 (C_8); 22.13 (C_8); 56.17 ($C_4-O\overline{C}H_3$); 63.36 ($C_2-O\overline{C}H_3$); 67.00 (C_9); 104.08 (C_3); 113.80 (C_1); 114.43 (C_5); 115.33 (C_3'); 126.03 (C_6'); 137.24 (C_1'); 140.54 (C_4'); 146.63 (C_5'); 148.86 (C_6); 155.95 (C_2'); 161.88 (C_7); 162.53 (C_2); 164.17 (C_4); 168.16 (C_7').

COSY (Annexe 21).

MS (EI, +, m/z,%) (Annexe 22): 356 (M^+ ,26); 327 (100); 297 (5); 271 (7); 231 (5); 165 (10); 136 (8); 120 (9); 91 (7); 77 (17); 51 (12).

Pour **15**:

$C_{20}H_{20}O_8$

PM:388

1H -RMN (400MHz, $CDCl_3$) (Annexe 23): 2.39 (s, 3H, CH_3 -arom); 2.48 (s, 3H, CH_3 -arom); 3.82 (s, 3H, CH_3O); 3.84 (s, 3H, CH_3O); 3.91 (s, 3H, CH_3O); 4.78 (s, 2H, CH_2OH); 6.60 (d, 1H, $J_{3-5}=2.47Hz$, H_3); 6.62 (d, 1H, $J_{5-3}=2Hz$, H_5).

PARTIE EXPERIMENTALE

¹³C-RMN (100MHz, CDCl₃) (Annexe 24): 13.86 (C₉); 22.25 (C₈); 53.21 (C₇-OCH₃); 55.54 (C₈); 56.37 (C₄-OCH₃); 64.74 (C₂-OCH₃); 104.43 (C₃); 113.79 (C₁); 115.15 (C₅); 125.07 (C₁); 126.91 (C₃); 129.47 (C₆); 145.42 (C₅); 146.12 (C₄); 146.69 (C₆); 153.73 (C₂); 162.57 (C₇); 163.35 (C₂); 164.09 (C₄); 167.84 (C₇).

MS (EI, +, m/z, %) (Annexe 25): 388 (M⁺, 17); 357 (27); 330 (76); 283 (100); 245 (25); 164 (25); 120 (24); 77 (40).

Pour **16**:

C₁₉H₁₆O₈

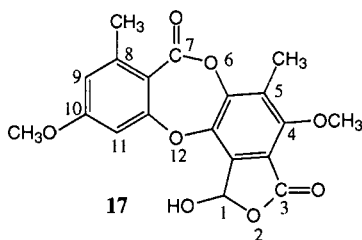
PM: 372

¹H-RMN (400MHz, CDCl₃) (Annexe 26): 2.35 (*t*, 1H, J=6.80Hz, OH); 2.51 (*s*, 3H, CH₃-arom); 3.85 (*s*, 3H, CH₃-arom); 4.17 (*s*, 3H, CH₃-arom); 4.87 (*d*, 2H, J=6.78Hz, CH₂); 6.52 (*d*, 1H, J₃₋₅=2.45Hz, H₃); 6.67 (*dd*, 1H, J₅₋₃=2.47Hz, J₅₋₈=0.61Hz, H₅).

MS (EI, +, m/z, %) (Annexe 27): 372 (M⁺, 25); 354 (60); 325 (76); 269 (17); 239 (12); 165 (31); 120 (22); 77 (40).

PARTIE EXPERIMENTALE

9.2.13 Synthèse du 7H-[4,5-b]-isobenzofuro-1,3-dihydro-1-hydroxy-4,10-diméthoxy-5,8-diméthyl-3,7-dioxo-benzo-[1,4] dioxépine (**17**)



Sous atmosphère inerte d'azote, 53mg ($1.49 \cdot 10^{-1}$ mmol) de **14** sont dissous dans 15ml de CCl_4 anhydre. Le mélange réactionnel est irradié avec une lampe de 300W et chauffé à reflux à l'aide d'un bain d'huile. On ajoute en 3 fois 1.2ml ($2.23 \cdot 10^{-1}$ mmol, 1.5 éq.) d'une solution de 0.1ml de Br_2 dans 10ml de CCl_4 anhydre, puis on laisse réagir 3h sous agitation à reflux en irradiant avec la lampe de 300W. Le CCl_4 est évaporé et on hydrolyse le mélange réactionnel avec 20ml de dioxane/eau 1:1 à reflux pendant une nuit. Le dioxane est évaporé et la phase aqueuse est extraite à l'AcOEt. La phase organique est lavée avec une solution de NaCl_{sat} jusqu'à neutralité, séchée sur MgSO_4 , filtrée et évaporée à sec. Le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice en utilisant un gradient d'éluion hexane/AcOEt (4:1 - 1:1).

On récupère 2 fractions:

La première 5.4mg (10%) est le produit désiré **17**.

La deuxième est le produit **18**.

Pour **17**:

$\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{O}_8$

PM: 372

^1H -RMN (400MHz, CDCl_3) (Annexe 28): 2.31 (s, 3H, CH_3 -arom); 2.50 (s, 3H, CH_3 -arom); 3.83 (s, 3H, CH_3O); 4.04 (s, 3H, CH_3O); 6.60 (dd, 1H, $J_{5-3}=2.51\text{Hz}$, $J_{5-8}=0.62\text{Hz}$, H_5); 6.73 (s, 1H, H_9); 6.75 (d, 1H, $J_{3-5}=2.5\text{Hz}$, H_3).

PARTIE EXPERIMENTALE

¹³C-RMN (100MHz, CDCl₃) (Annexe 29): 10.08 (C_{8'}); 21.33 (C₈); 55.74 (C₄-OCH₃); 62.67 (C₂-OCH₃); 94.24 (C₉); 103.68 (C₃); 113.00 (C₁); 114.05 (C₅); 115.07 (C_{3'}); 127.67 (C_{6'}); 135.53 (C_{1'}); 141.34 (C_{4'}); 145.37 (C_{5'}); 148.97 (C₆); 154.90 (C_{2'}); 161.07 (C₇); 162.00 (C₂); 163.54 (C_{7'}); 164.81 (C₄).

COSY (Annexe 30).

MS (EI, +, m/z,%) (Annexe 31): 372 (M⁺,100); 355 (31); 327 (48); 311 (30); 298 (40); 283 (27); 271 (17); 257 (28); 229 (17); 165 (49); 138 (24); 120 (25); 103 (24); 83 (26); 77 (48).

Pour 18:

C₁₉H₁₆O₉

PM: 388

MS (EI, +, m/z,%) (Annexe 32): 388 (M⁺,22); 358 (21); 343 (38); 330 (90); 311 (66); 283 (100); 271 (60); 245 (32); 213 (21); 164 (46); 136 (19); 120 (25); 77 (33).

BIBLIOGRAPHIE

- [1]: Revue PANDA II/88: "Les lichens" WWF Suisse.
- [2]: Encyclopedia Universalis, E.U. France S.A., 9, 997.
- [3]: S. Huneck et I. Yoshimura, Identification of lichen substances, Springer-Verlag, Berlin (1996).
- [4]: P.W. Rundel, *Biochem. Syst. Ecol.*, **1978**, 6, 157.
- [5]: J.D. Lawrey, *Bryologist*, **1986**, 89, 112.
- [6]: O.W. Purvis, J.A. Elix, J.A. Broomhead, G.C. Jones, *Lichenologist*, **1987**, 19, 193.
- [7]: D. Armaleo, XV Int. Bot. Congr., Tokyo-Yokohama, Abstr. 11, 1993.
- [8]: H.G.M. Edwards, D.W. Farwell, I.R. Lewis, M.R.D. Seaward, P. Turner, A. Withley, *Bruker Rep.*, **1993**, 138, 8.
- [9]: J. Gunzinger, Thèse de doctorat, Université de Neuchâtel, 1985.
- [10]: K. Huovinen, T. Ahti, *Ann. Bot. Fennici*, **1982**, 19, 225.
- [11]: M. Yamazaki, M. Matsuo, S. Shibata, *Chem. Pharm. Bull.*, **1965**, 13 (8), 1015.
- [12]: A. Robertson, R.J. Stephenson, *J. Chem. Soc.*, **1932**, 1388.
- [13]: C.F. Culberson, Chemical and Botanical guide to lichen products. Univ. North Carolina Press., Chapel Hill. (1969).
- [14]: J.A. Elix, S. Norfolk, *Aust. J. Chem.*, **1975**, 28, 2035.
- [15]: J.A. Elix, V.K. Jayanthi, *Aust. J. Chem.*, **1977**, 30, 2695.
- [16]: D.O. Chester, J.A. Elix, A.J. Jones, *Aust. J. Chem.*, **1979**, 32, 1857.
- [17]: P. Djura, M.V. Sargent, *Aust. J. Chem.*, **1977**, 30, 1293.
- [18]: M.M. Mohandru, O.L. Gilbert, *Bryologist*, **1979**, 82, 302.

BIBLIOGRAPHIE

- [19]: K. Ingolfssdottir, P.J. Hylands, Y. Solberg, *Phytochemistry*, **1986**, 25, 550.
- [20]: S. Shimada, T. Saitoh, U. Sankawa, S. Shibata, *Phytochemistry*, **1980**, 19, 328.
- [21]: Y.J. Solberg, *Z. Naturforsch*, **1977**, 32c, 182.
- [22]: J.A. Elix, V.K. Jayanthi, *Aust. J. Chem.*, **1987**, 40, 1851.
- [23]: T. Hirayama, F. Fujikawa, I. Yosioka, I. Kitagawa, *Chem. Pharm. Bull.*, **1976**, 24, 2340.
- [24]: L. Bo, L. Zhongwan, S. Handong, *Act. Bot. Yunnan*, **1990**, 12, 447.
- [25]: Y. Asahina, S. Shibata, Chemistry of lichen substances, Jpn. Soc. for Promotion of Science. (1954).
- [26]: S.E. Moroney, K.J. Ronaldson, A.L. Wilkins, T.G.A. Green, P.W. James, *Phytochemistry*, **1981**, 20, 787.
- [27]: P. Allemand, Thèse de doctorat, Université de Neuchâtel, 1988.
- [28]: S. Handong, L. Zhongwen, L. Jiafeng, *Acta Bot. Yunnan*, **1984**, 6, 329.
- [29]: I. Yosioka, Y. Morita, K. Ebihara, *Chem. Pharm. Bull.*, **1980**, 18, 2364.
- [30]: D.G. O'Donovan, G. Roberts, M.F. Keogh, *Phytochemistry*, **1980**, 19, 2497.
- [31]: Y. Asahina, T.T. Tukamoto, *Ber. Dtsch. Cem. Ges.*, **1934**, 67, 963.
- [32]: J.A. Elix, K.L. Gaul, P.W. James, *Aust. J. Chem.*, **1985**, 38, 1735.
- [33]: J.A. Elix, K.L. Gaul, P.W. Pal, O.W. Purvis, *Aust. J. Chem.*, **1987**, 40, 417.
J.A. Elix, M.T. Alder, J.H. Wardlaw, *Aust. J. Chem.*, **1996**, 49, 1175.
- [34]: C.F. Culberson, H. Kristinsson, *J. Chromatogr.*, **1970**, 46, 85.
C.F. Culberson, *J. Chromatogr.*, **1972**, 72, 113.
C.F. Culberson, *J. Chromatogr.*, **1974**, 97, 107.
C.F. Culberson, K. Ammann, *Herzogia*, **1979**, 5, 1.
C.F. Culberson, W.L. Culberson, A. Johnson, *Bryologist*, **1981**, 84, 16.
C.F. Culberson, A. Johnson, *J. Chromatogr.*, **1982**, 238, 483.
- [35]: C.F. Culberson, A. Johnson, *J. Chromatogr.*, **1976**, 128, 253.

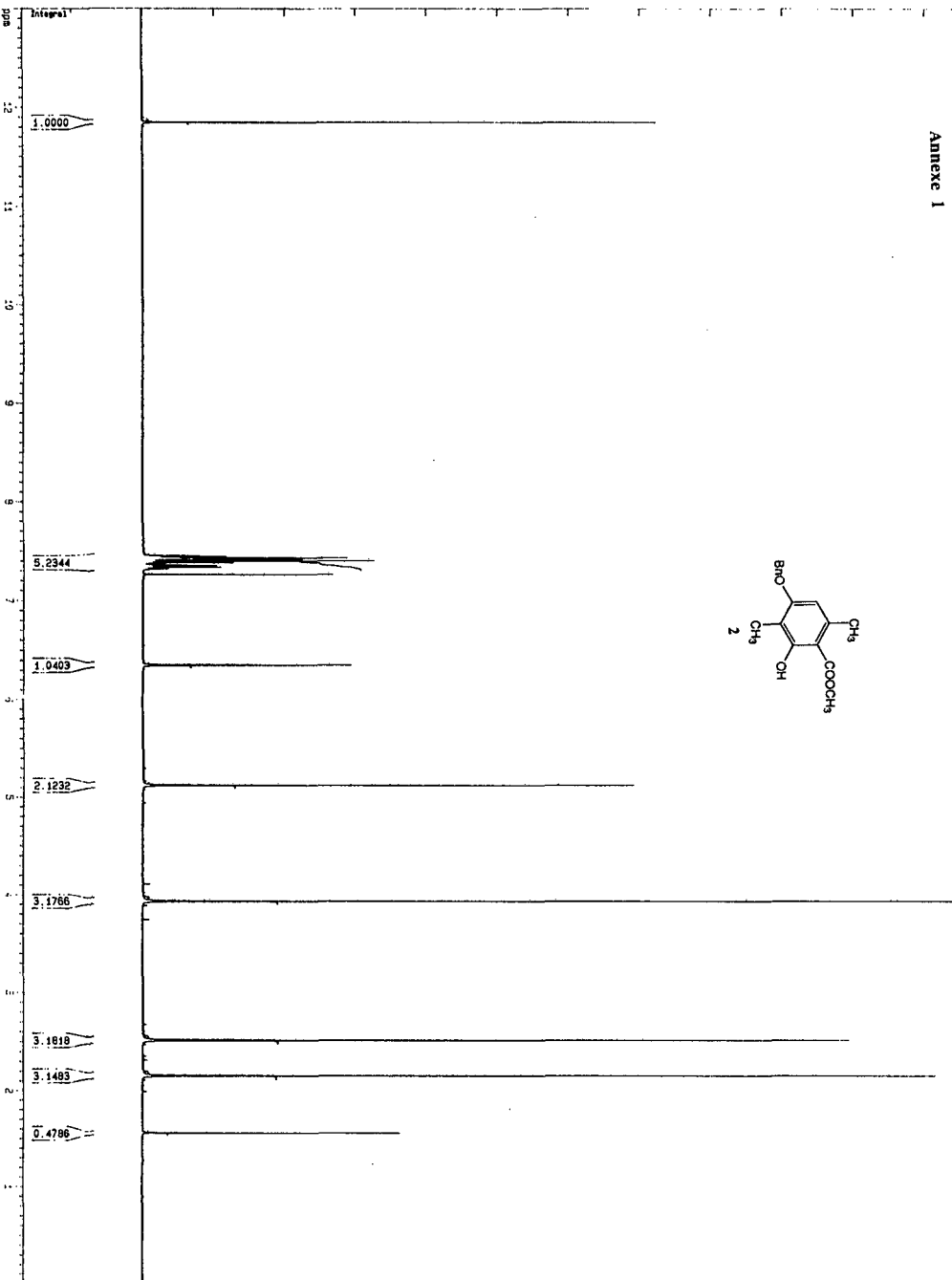
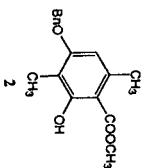
BIBLIOGRAPHIE

- [36]: G.B. Feige, H.T. Lumbsch, S. Huneck, J.A. Elix, *J. Chromatogr.*, **1993**, 646, 417.
- [37]: C.F. Culberson, W.L. Culberson et A. Johnson, Second supplement to "Chemical and botanical guide to lichen products", The American Bryological and Lichenological Society, St-Louis (1977).
- [38]: H. Krog, T.D.V. Swinscow, *Norwegian Jour. Bot.*, **1975**, 22, 115.
- [39]: S. Huneck, G. Follmann, *Oesterreich. Bot. Zeitschr.*, **1970**, 118, 486.
- [40]: S. Huneck, R. Tabacchi, *Phytochemistry*, **1987**, 26, 1131.
- [41]: C.F. Culberson, *Bryologist*, **1972**, 75, 54.
- [42]: R. Nourish et R.W.A. Olivier, in D.H. Brown, D.L. Hawksworth et R.H. Bailey (Editors), *Lichenology: Progress and Problems*, Academic Press, London, 1976, p 185.
- [43]: C.F. Culberson et W.L. Culberson, *Exp. Mycol.* 2, **1978**, 245.
- [44]: H.I. Lumbsch et J.A. Elix, *Pl. Syst. Evol.*, **1985**, 150, 275.
- [45]: H.T. Lumbsch, H. Kashiwadani, H. Streimann, *Pl. Syst. Evol.*, **1993**, 185, 285.
- [46]: H.T. Lumbsch, *Bryologist*, **1992**, 95, 430.
- [47]: H.T. Lumbsch et G.B. Feige, *Mycotaxon*, **1995**, 45, 473.
- [48]: H.T. Lumbsch, G.B. Feige, K.E. Schmitz, *Bibl. Lichenol.*, **1993** in press.
- [49]: G.B. Feige, H.T. Lumbsch, B. Mies, *Crypt. Bot.*, **1993**, 3, 101.
- [50]: K. Huovinen, R. Hiltunen, M. von Schantz, *Acta Pharm. Fenn.*, **1985**, 94, 99.
- [51]: E. de Hoffmann, J. Charette, V. Stroobant, *Spectrométrie de masse*, Masson, Paris, 1994.
- [52]: R.D. Smith, J.A. Loo, C.G. Edmonds, C.J. Barinaga, H.R. Udseth, *Anal. Chem.*, **1990**, 62, 882.
- [53]: A. Gomez, K. Tang, *Phys. Fluids*, **1994**, 6 (1), 404.
- [54]: P. Kebarle, L. Tang, *Anal. Chem.*, **1993**, 65, 972A.
- [55]: R.B. Cole, *Electrospray ionisation mass spectrometry*, John Wiley et Sons, USA, 1997.
- [56]: R.E. March, R.J. Hughes, *Quadrupole Storage Mass Spectrometry*, John Wiley et Sons, USA, 1989.
- [57]: C. Pulgarin, Thèse de doctorat, Université de Neuchâtel, 1989.
- [58]: M. Hareed Ali, Thèse de doctorat, Université de Neuchâtel, 1992.

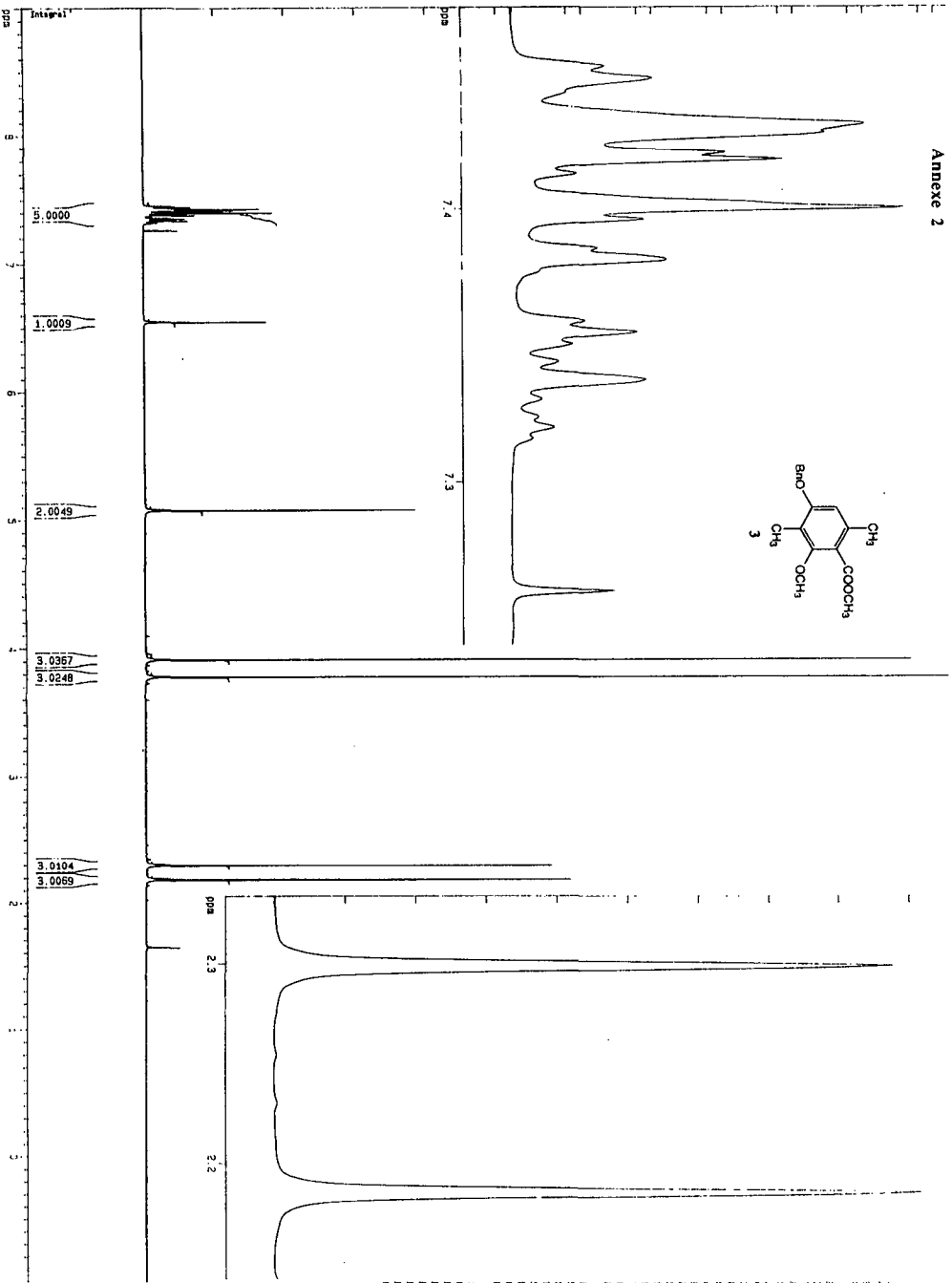
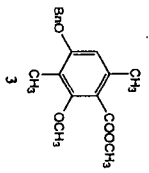
BIBLIOGRAPHIE

- [59]: D.H.R. Barton, T. Cohen, *Festschrift Prof. Dr. Artur Stoll*, Birkhäuser, Basel, 1957, p 117; H. Erdtman and C.A. Wachtmeister, *ibid.*, p 144.
- [60]: W.D. Ollis et coll., *Proc. Chem. Soc.*, **1960**, 393.
- [61]: J.B. Hendrickson, M.V.J. Ramsay et T.R. Kelly, *J. Amer. Chem. Soc.*, **1972**, *94*, 6834.
- [62]: T. Sala et M.V. Sargent, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, **1981**, 855.
- [63]: J.A. Elix, A.J. Jones, O.L. Lajida, B.J. Copins, P.W. James, *Aust. J. Chem.*, **1984**, *7*, 2349.
- [64]: J.A. Elix, U.A. Jenie, J.L. Parker, *Aust. J. Chem.*, **1987**, *40*, 1451.
- [65]: T.M. Cresp, P. Djura, M.V. Sargent, J.A. Elix, D.P.H. Murphy, *Aust. J. Chem.*, **1975**, *28*, 2417.
- [66]: M.V. Bhatt, S.V. Kulkarni, *Synthesis*, **1983**, 249.
- [67]: P.Djura, M.V. Sargent, *Aust. J. Chem.*, **1976**, *29*, 1069.
- [68]: F.M. Dean, J. Goodschild. L.E. Houghton, J.A. Martin, R.B. Morton, B. Parton, A.W. Price, *Tetrahedron Lett.*, **1971**, *35*, 4153.
- [69]: W.E. Smith, *J. Org. Chem.*, **1972**, *37*, 3972.
- [70]: B.O. Lindgreen, T. Nilsson, *Acta Chem. Scand.*, **1973**, *27*, 88.
- [71]: G.M. Sheldrick, "SHELXS-86 Program for Crystal Structure Determination", *Acta Crystallogr.*, **1990**, *A 46*, 467.
- [72]: G.M. Sheldrick, "SHELXL-93", Universität Göttingen, Göttingen, Germany, 1993.
- [73]: T. Schaefer, R. Sebastian, *Can. J. Chem.*, **1992**, *70*, 2555.
- [74]: T. Schaefer, C.S. Takeuchi, *Can. J. Chem.*, **1989**, *67*, 827.
- [75]: C. Pulgarin, R. Tabacchi, *Helv. Chim. Acta*, **1989**, *72*, 1061.
- [76]: T. Sala, M.V. Sargent, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, **1981**, 877.

ANNEXES



Current Data Parameters
 NAME:
 EXPNO: 1
 PROCNO: 1
 F2 - Acquisition Parameters
 Date_Time: 06/11/18
 PALNO: 1721
 SFO: 500.136401 MHz
 AQ: 0.01
 RG: 3.6666439 Hz
 FIDRES: 0.129312 Hz
 DV: 59.0 uM
 NS: 1024
 DS: 2
 HLI: 15
 F1: 0.5000000 MHz
 P1: 14.3 uM
 SFO2: 400.136386 MHz
 SWH: 8274.50 Hz
 TD: 65536
 NS: 8
 DS: 0
 F2 - Processing parameters
 SI: 65536
 SF: 400.136386 MHz
 NCU: 64
 NCH: 64
 LB: 0.20 Hz
 GB: 0
 PC: 1.00
 ID: NMR data parameters
 CD: 1.0000000 MHz
 FID: 13.0000000 MHz
 F1: 500.136386 MHz
 F2: 0.0000000 MHz
 F3: 0.0000000 MHz
 F4: 0.0000000 MHz
 F5: 144.46288 MHz

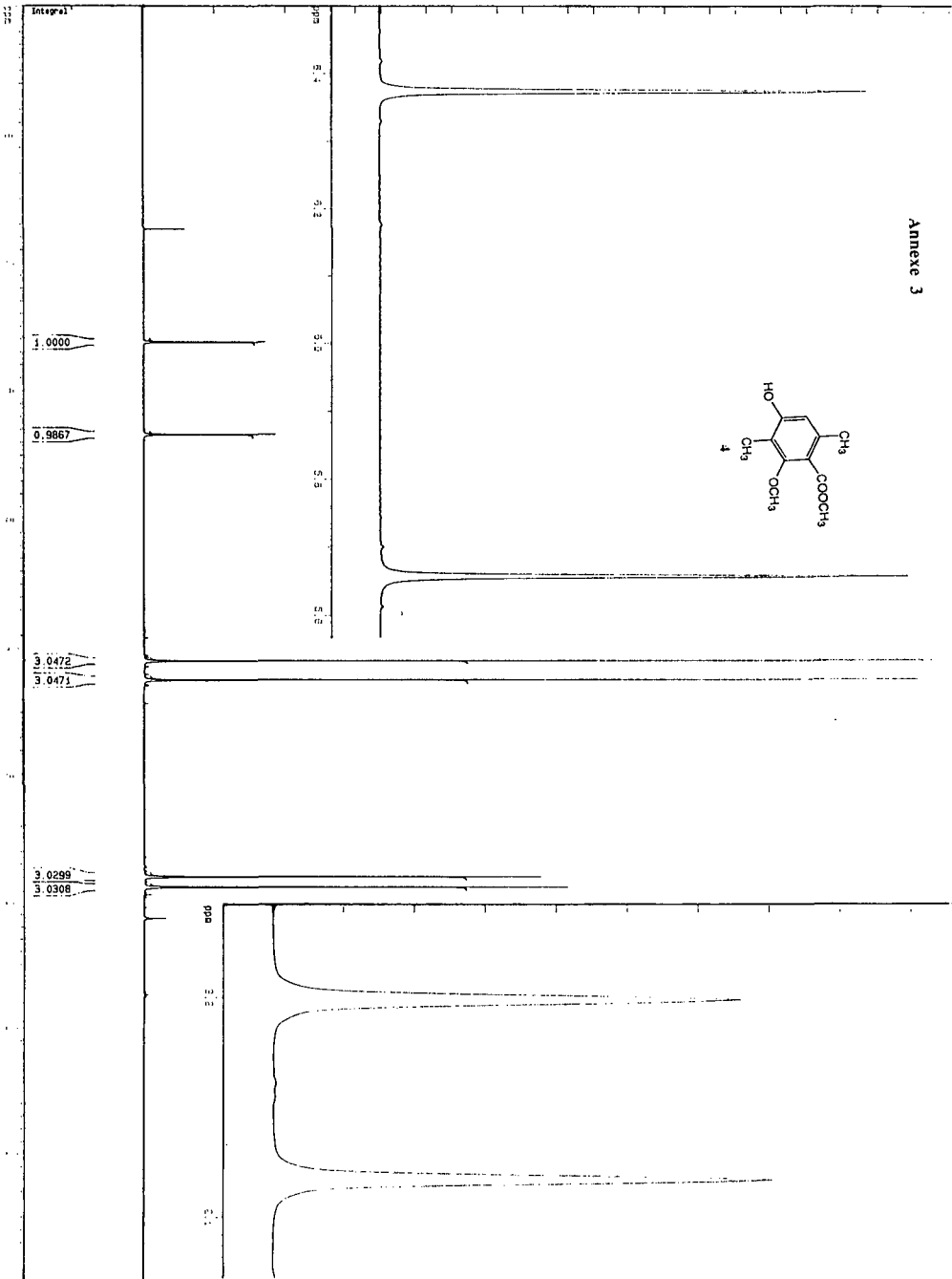
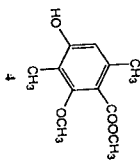


```

=====
Name: 313 Parameters
Date: 20120701
Time: 10:12
Pulse Program: zgpg30
NUC1: 13C
SOLVENT: CDCl3
AQ: 3.8666439 sec
FIDRES: 1.129312 Hz
CQ: 59.0000000 Hz
CPC: 230
NUCLEUS1: 13C
P1: 2.00
P2: 14.3000000 sec
PC: 72.0000000 sec
SFO1: 400.1377000 MHz
SFO2: 101.3252000 MHz
SFO3: 3474.3500000 Hz
SFO4: 625000000.000 Hz
DS: 0
=====
F2 - Processing parameters
SI: 65536
SF: 400.1377000 MHz
SFO1: 101.3252000 MHz
SFO2: 3474.3500000 Hz
SFO3: 625000000.000 Hz
LB: 0.20 Hz
GB: 0
PC: 1.00
=====
1D NMR plot parameters
SI: 36.00 cm
F1P: 9.000 dppm
F1: 3801.21 Hz
F2P: -1.000 dppm
F2: 0.000 Hz
PUNCH: 0.27718 mm
KICK: 11.14645 Hz
=====

```

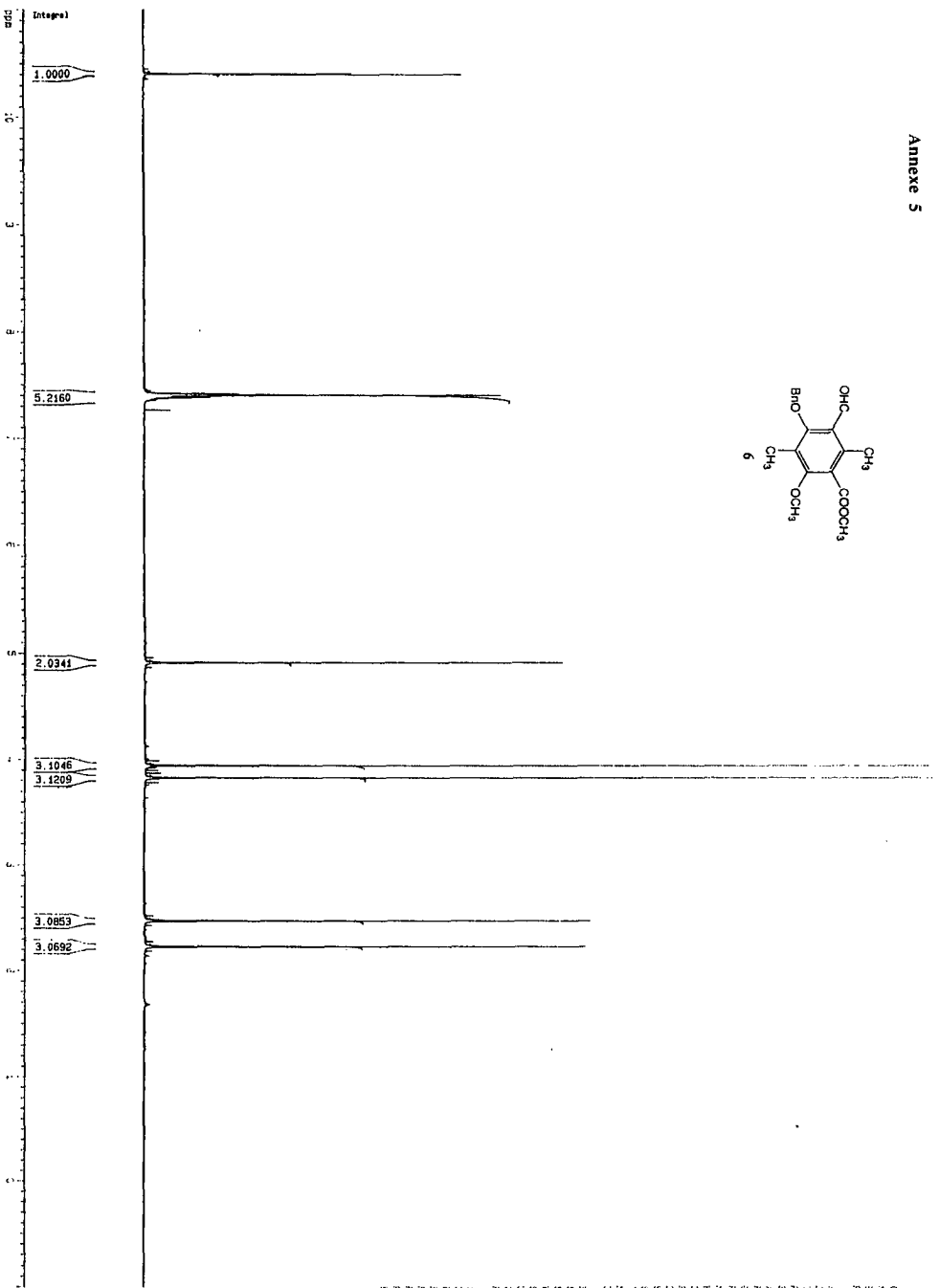
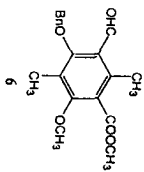
Annexe 3



Current Data Parameters
 VME : TMS3
 EXPNO : 1
 F2 - Acquisition Parameters
 Date_ : 861120
 Time : 11:55
 F2 - Processing Parameters
 SI : 400.1348445 MHz
 SF : 400.1348445 MHz
 WDW : EM
 SSB : 0
 GB : 0
 PC : 1.00

D0 - Acquisition Parameters
 G0 : 0
 F1 P : 3.7000000 MHz
 F1 : 3801.21 MHz
 F2 P : -1.7000000 MHz
 F2 : -4001.12 MHz
 F2 Q : -4001.12 MHz
 HZ0 : 11.18464 MHz

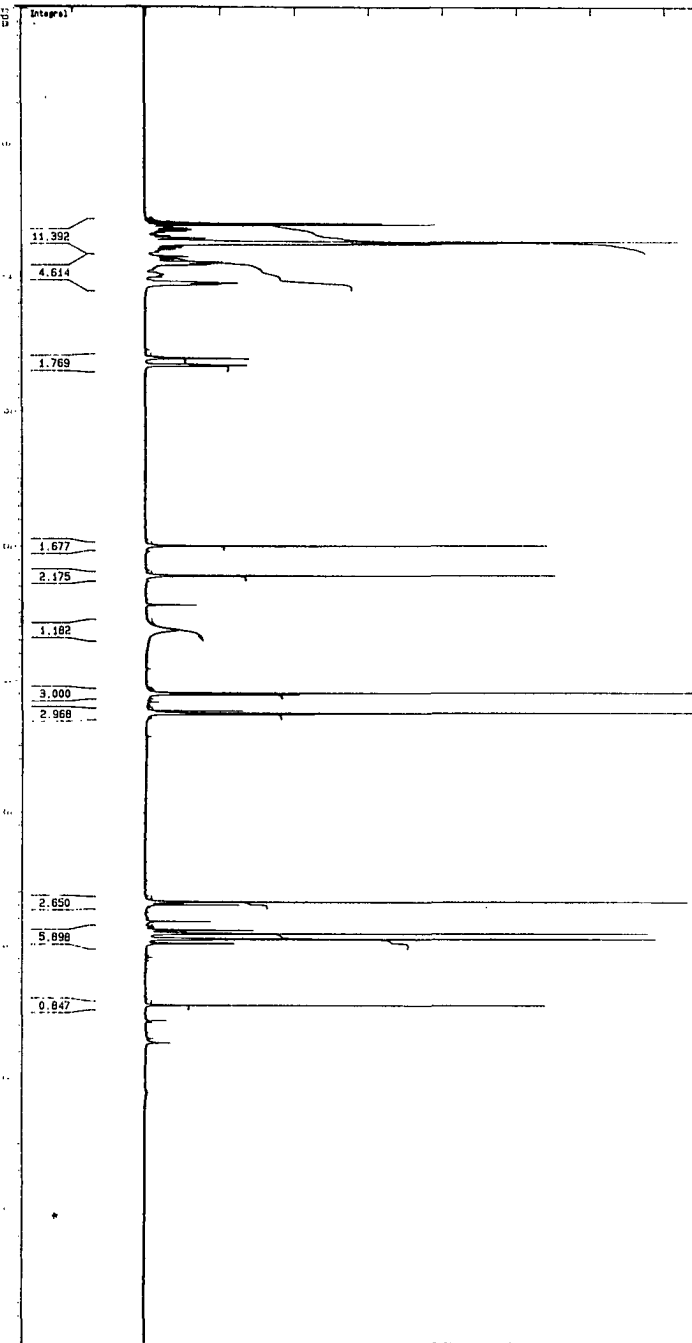
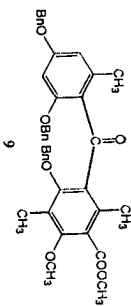
Anexe 5



Current Data Parameters
 NAME :
 EXPNO : 1
 PROCNO : 1
 F2 - Acquisition Parameters
 Date_ Time : 07/05/12 11:38
 File : 200706
 SOLVENT : DMSO
 AD : 3.866449 sec
 FIDRES : 0.199312 Hz
 AQ : 391.0781 sec
 RG : 327
 NUCLEUS : 1H
 P1 : 2.00
 PL1 : 0.00
 PC : 1.00
 SFO1 : 400.1378267 MHz
 SFO2 : 400.1378267 MHz
 SWH : 9.944
 FWHM : 450.936
 AQ1 : 3.866449 sec
 AQ2 : 3.866449 sec
 NUCLEUS2 : 1H
 P2 : 2.00
 PL2 : 0.00
 PC2 : 1.00

F2 - Processing parameters
 SI : 65536
 SF : 400.1378267 MHz
 KW : 65536
 SSB : 0
 LB : 0.20 Hz
 GB : 0
 PC : 1.00

ID Non-Det. Parameters
 CX : 36.00 cm
 F1P : 11.000 000 MHz
 F2P : 11.000 000 MHz
 F3P : 11.000 000 MHz
 W2 : -60.13 Hz
 PHENOM : J-DECODING
 CHCM : 133.07912 Hz



Current Data Parameters
 NAME :
 EXPNO : 1
 PROCNO : 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ : 06/18/01
 Time : 17.43
 PULPROG : zgpg30
 AQC : 100.626133 MHz
 FIDRES : 0.159812 Hz
 CN : 59.0 Hz
 AS : 102.4
 DS : 24
 M : 48
 SFO : 3.5000000 MHz
 P1 : 14.3 usec
 DE : 73.8 usec
 SF01 : 400.13770257 MHz
 T0 : 42.5536 sec
 NS : 3
 DS : 3

F2 - Processing parameters
 SI : 65536
 SF : 400.1343942 MHz
 NWDW : EM
 USF : 0.20 Hz
 GB : 0
 PC : 1.00

1D NMR 0101 parameters
 CD : 1
 F1P : 8.000 MHz
 F1 : 3801.21 Hz
 F2P : -1.000 MHz
 F2 : -400.137 Hz
 F2CEN : 377.722 MHz
 HZCEN : 111.14446 Hz

File: MAF7
Sample: PM6307

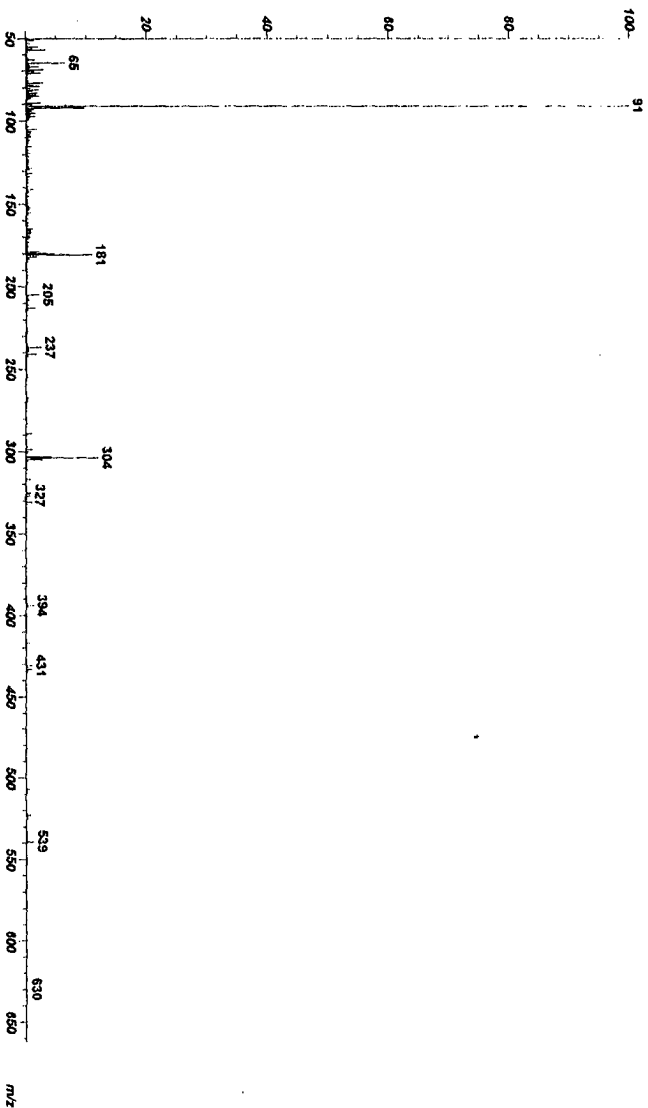
Date Run: 05-05-1997

Time Run: 15:10:58
Instrument: R30-10

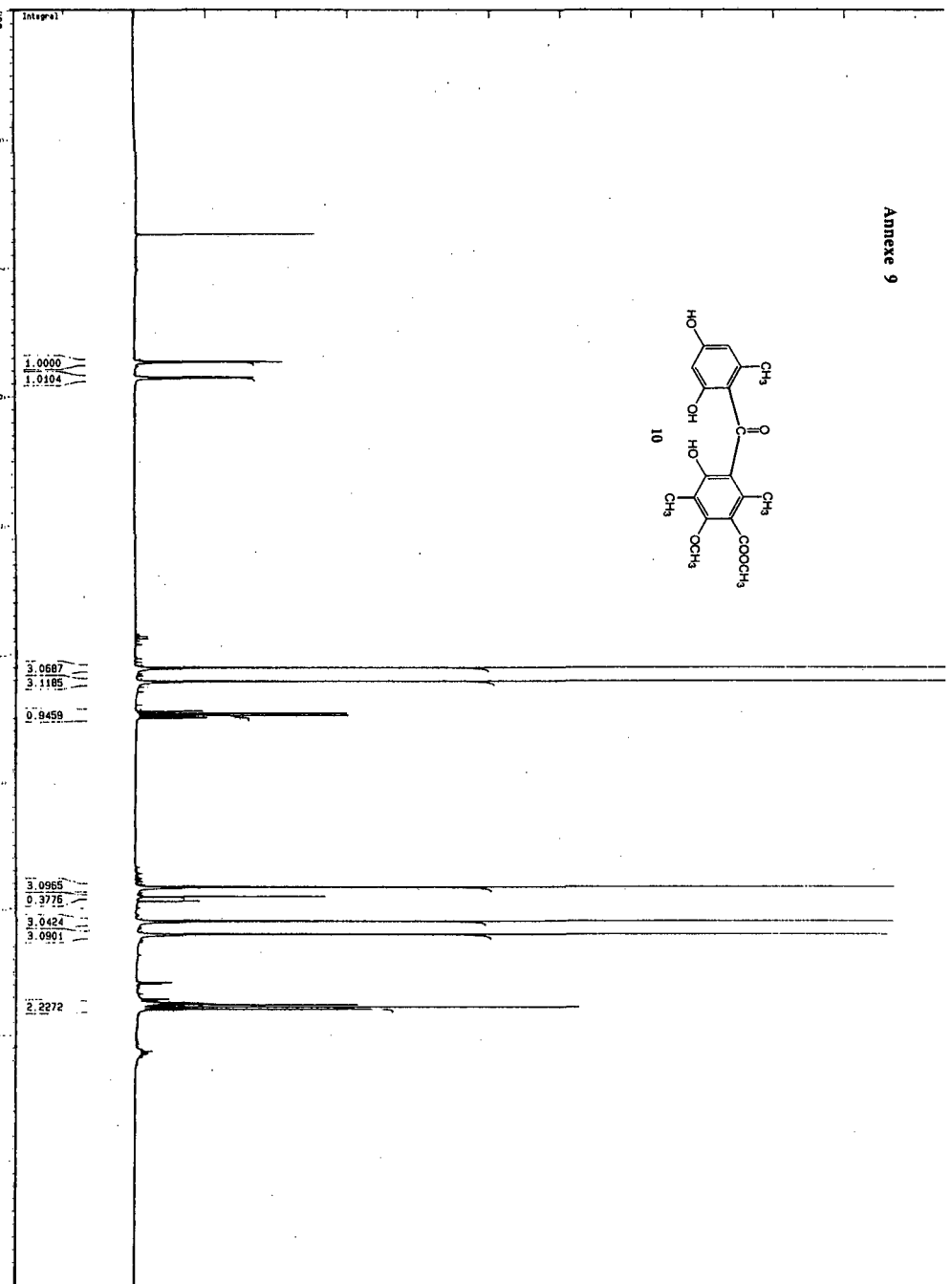
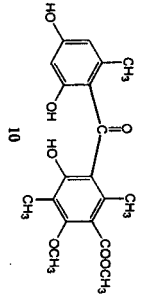
Scan: 113
Base: m/z 91; 69.1%FS TIC: 1209308

R.T.: 3:51

#Ions: 920



Annexe 9



Current Date Parameters
Date : 08/07
Time : 13:00
PULPROG : gpm
SOLVENT : CDCl3
AQ : 3.866433 sec
F2PACES : 0.128212 Hz
NUC1 : 13C
NUC2 : 1H
NUC3 : 1H

F2 - Acquisition Parameters
Date : 08/07
Time : 13:00
PULPROG : gpm
SOLVENT : CDCl3
AQ : 3.866433 sec
F2PACES : 0.128212 Hz
NUC1 : 13C
NUC2 : 1H
NUC3 : 1H

F2 - Processing parameters
SI : 3200000
SF : 75.281
WDW : EM
SSB : 0
GB : 0
PC : 1.00

13 NMR D1K parameters
CX : 36.00 cm
C1P : 9.000 Hz
SFO1 : 400.1375267 MHz
F2 : -400.13 Hz
PCHOM : 2.27718 Hz
KCOR : 111.14469 Hz

F2 - Acquisition Parameters
Date : 08/07
Time : 13:00
PULPROG : gpm
SOLVENT : CDCl3
AQ : 3.866433 sec
F2PACES : 0.128212 Hz
NUC1 : 13C
NUC2 : 1H
NUC3 : 1H

F2 - Processing parameters
SI : 3200000
SF : 75.281
WDW : EM
SSB : 0
GB : 0
PC : 1.00

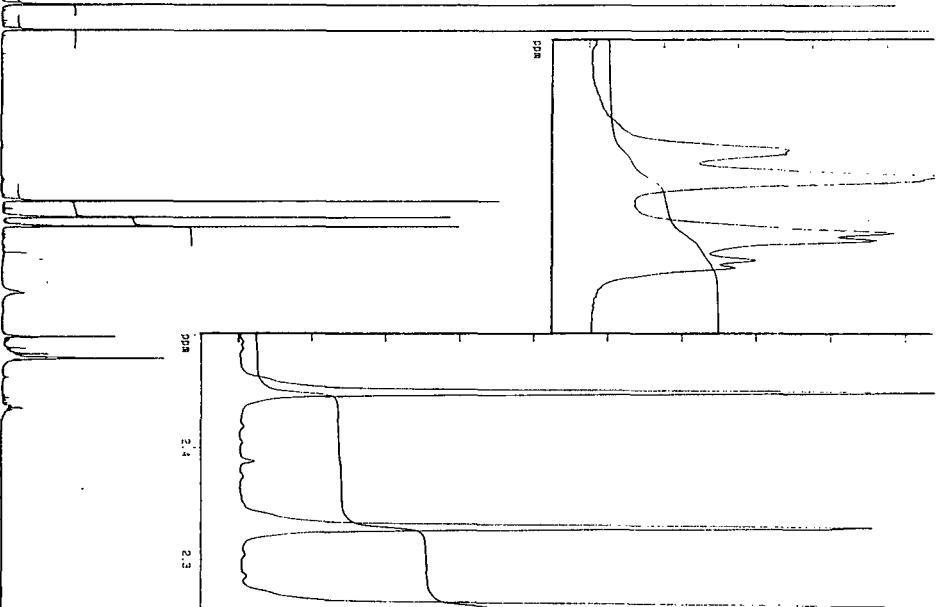
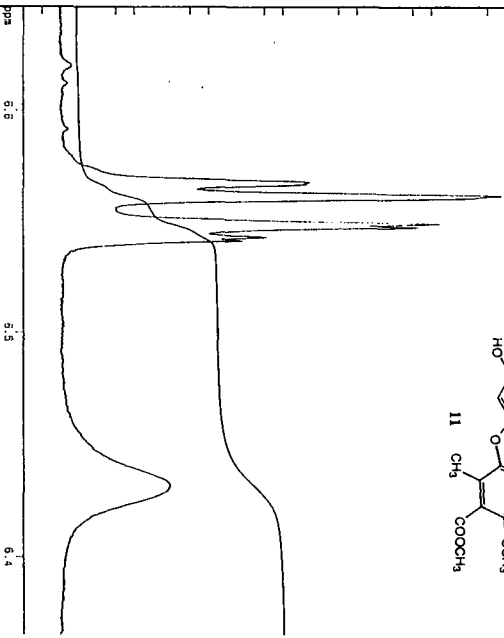
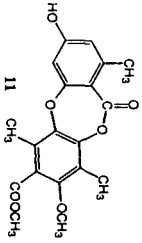
13 NMR D1K parameters
CX : 36.00 cm
C1P : 9.000 Hz
SFO1 : 400.1375267 MHz
F2 : -400.13 Hz
PCHOM : 2.27718 Hz
KCOR : 111.14469 Hz

F2 - Acquisition Parameters
Date : 08/07
Time : 13:00
PULPROG : gpm
SOLVENT : CDCl3
AQ : 3.866433 sec
F2PACES : 0.128212 Hz
NUC1 : 13C
NUC2 : 1H
NUC3 : 1H

F2 - Processing parameters
SI : 3200000
SF : 75.281
WDW : EM
SSB : 0
GB : 0
PC : 1.00

13 NMR D1K parameters
CX : 36.00 cm
C1P : 9.000 Hz
SFO1 : 400.1375267 MHz
F2 : -400.13 Hz
PCHOM : 2.27718 Hz
KCOR : 111.14469 Hz

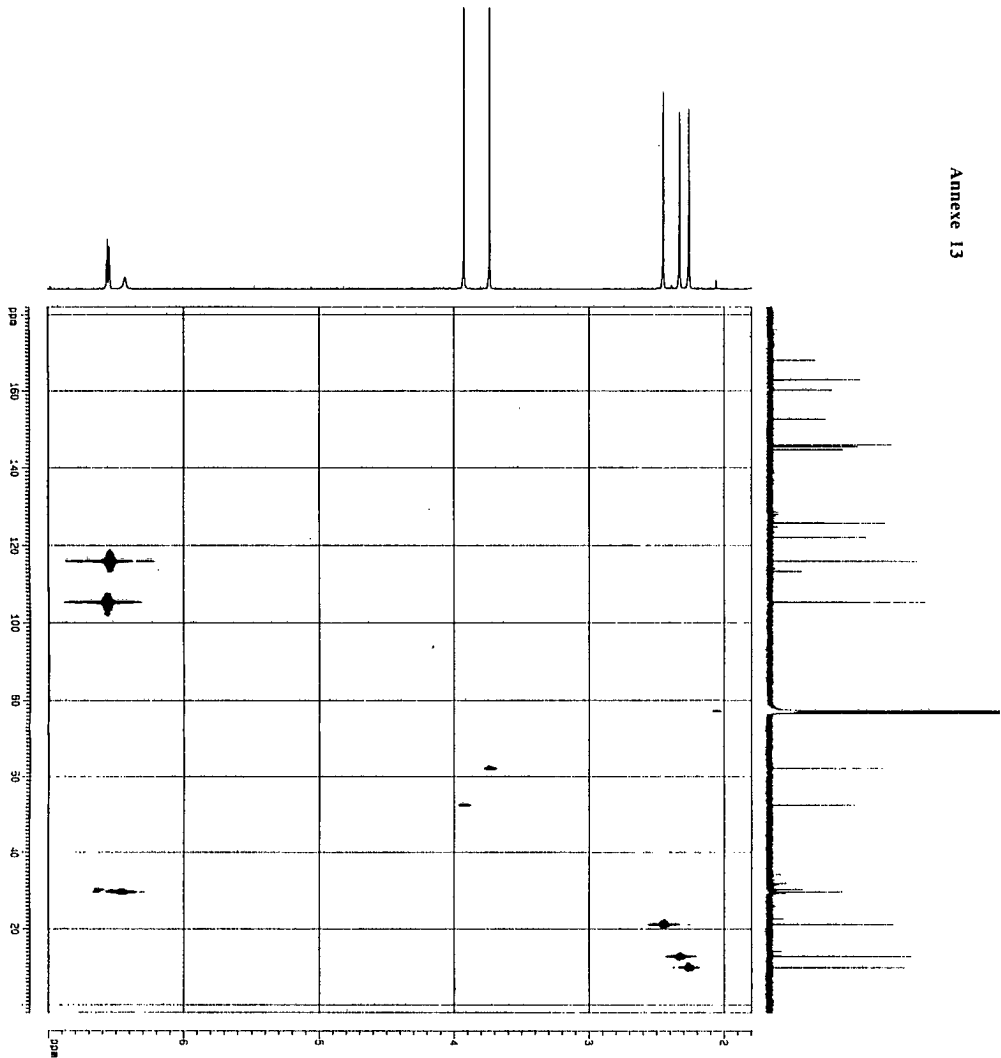
Annexe 11



Current Data Parameters
 NAME :
 EXPNO :
 PROCNO :
 F2 - Acquisition Parameters
 Date_ Time : 26/12/10 15:48
 File : 7450
 F2 - Acquisition Parameters
 AD INSTR : 5.4305000 MHz
 DW : 0.0915000 Hz
 DE : 33.00000 Hz
 DS : 1024
 NS : 32
 DSF : 1.2000000 MHz
 P1 : 1.4000000 Hz
 P2 : 103.80000 Hz
 SFO : 400.1326100 MHz
 SFM : 400.1326100 MHz
 TD : 65536
 GB : 0
 PC : 3

F2 - Processing parameters
 SI : 65536
 SF : 400.1343946 MHz
 DM : 1
 EQ : 1
 L2 : 0
 L3 : 0
 GB : 0
 PC : 1.40

1D NMR plot parameters
 CX : 36.00000 Hz
 F2 P : 8.000000 MHz
 F1 : 3801.211000 MHz
 F2 P : -11.000000 MHz
 PRNCH : 0.27778000 Hz
 HZCN : 111.4845000 Hz



Current Data Parameters
 Name:
 Sample:
 Process: 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_Time: 16.18
 File: 00131
 Dir: C:\MSDCHEM\DATA\00131
 ExpNO: 1
 F2 - Acquisition Parameters
 Date_Time: 16.18
 File: 00131
 Dir: C:\MSDCHEM\DATA\00131
 ExpNO: 1

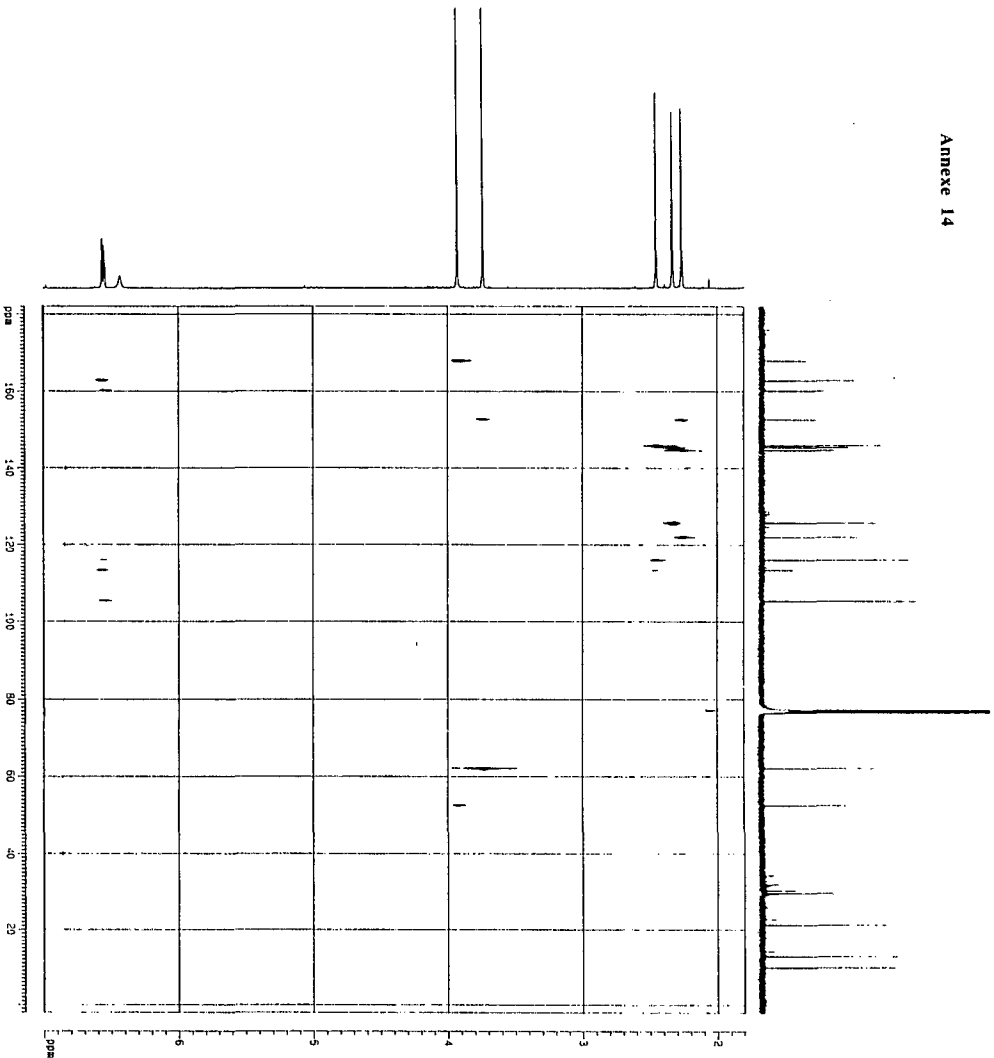
F1 - Acquisition Parameters
 Date_Time: 16.18
 File: 00131
 Dir: C:\MSDCHEM\DATA\00131
 ExpNO: 1
 F1 - Acquisition Parameters
 Date_Time: 16.18
 File: 00131
 Dir: C:\MSDCHEM\DATA\00131
 ExpNO: 1

F2 - Processing parameters
 SI: 320
 SF: 400.1463010
 DS: 4
 EQ: 0
 AS: 0
 L4: 0
 L8: 0
 PC: 1.49

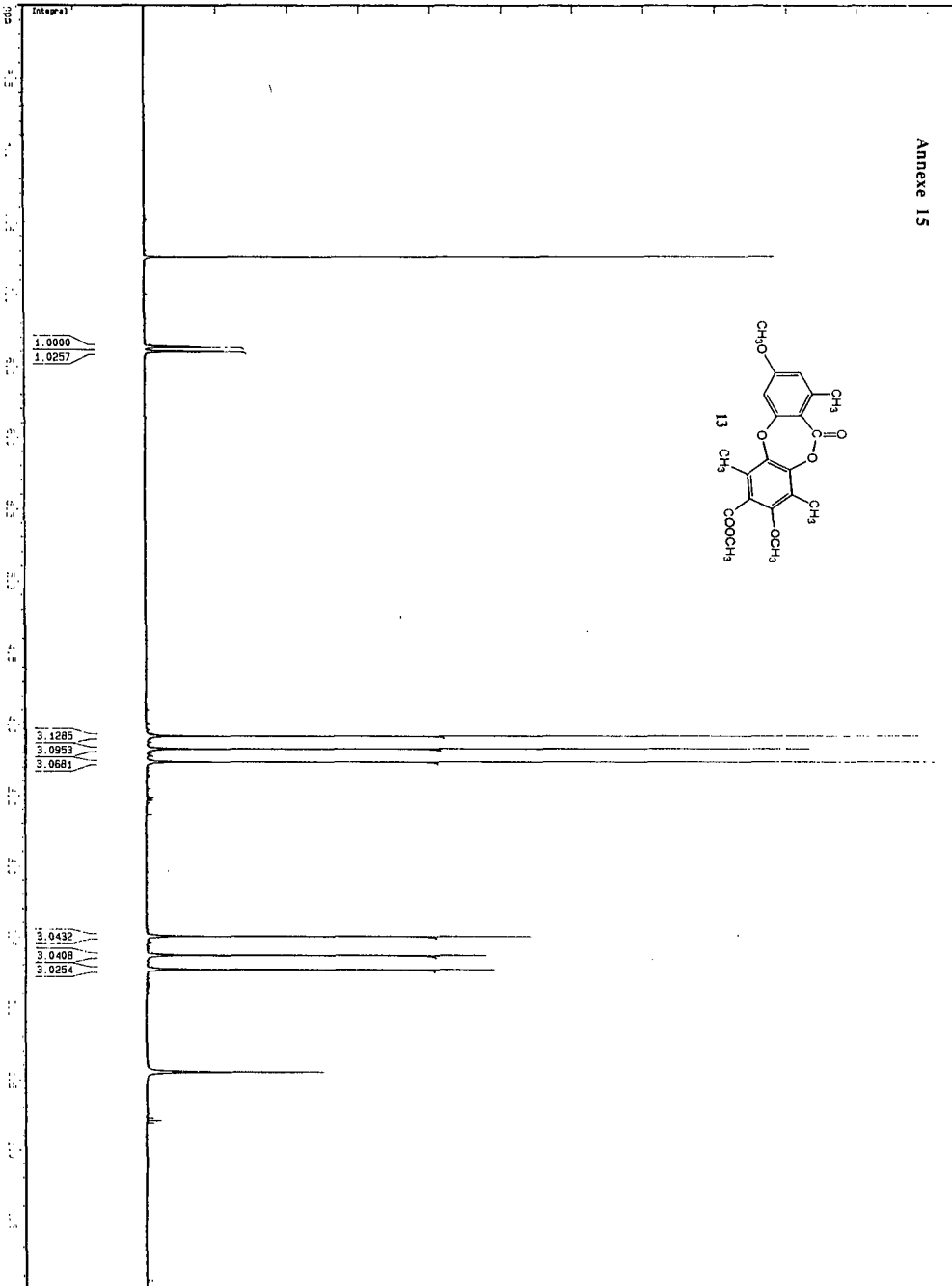
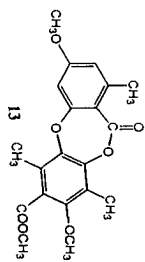
F1 - Processing parameters
 SI: 320
 SF: 400.1463010
 DS: 4
 EQ: 0
 AS: 0
 L4: 0
 L8: 0
 PC: 1.49

2D NMR 0131 Parameters
 CDE: 12.00 MHz
 C14: 18.00 MHz
 F2D1: 13014.41 MHz
 F2PMT: -2.628 MHz
 F1D1: -2.633 MHz
 F1L1: 2892.28 MHz
 F1PC: 7.62 MHz
 F1PMT: 5.02718 MHz/cm
 F1PMT0: 0.2740 MHz/cm
 F1PC0: 108.0000 MHz/cm

SI: 320
 SF: 400.1463010
 DS: 4
 EQ: 0
 AS: 0
 L4: 0
 L8: 0
 PC: 1.49



NAME:
 EXPNO:
 PROCNO:
 F2 - Processing parameters
 SI 100.618711 MHz
 SF 500.136260 MHz
 DS 4
 AS 2
 FS 3.00 MHz
 FC 1.00 MHz
 F1 - Processing parameters
 SI 100.618711 MHz
 SF 500.136260 MHz
 DS 4
 AS 2
 FS 3.00 MHz
 FC 1.00 MHz
 F2 - Acquisition parameters
 SI 100.618711 MHz
 SF 500.136260 MHz
 DS 4
 AS 2
 FS 3.00 MHz
 FC 1.00 MHz
 F1 - Processing parameters
 SI 100.618711 MHz
 SF 500.136260 MHz
 DS 4
 AS 2
 FS 3.00 MHz
 FC 1.00 MHz
 F2 - Acquisition parameters
 SI 100.618711 MHz
 SF 500.136260 MHz
 DS 4
 AS 2
 FS 3.00 MHz
 FC 1.00 MHz



Current Data Parameters
 EXPNO : 1
 PROCNO : 1

F2 - Acquisition Parameters:

Time : 00.33
 PULPROG : zgpg30
 SOLVENT : CDCl3
 AQ : 3.9864439 sec
 INJ : 1.0000000 sec
 DELTA : 59.0000000 sec
 RG : 4096
 NUCLEI : 1H

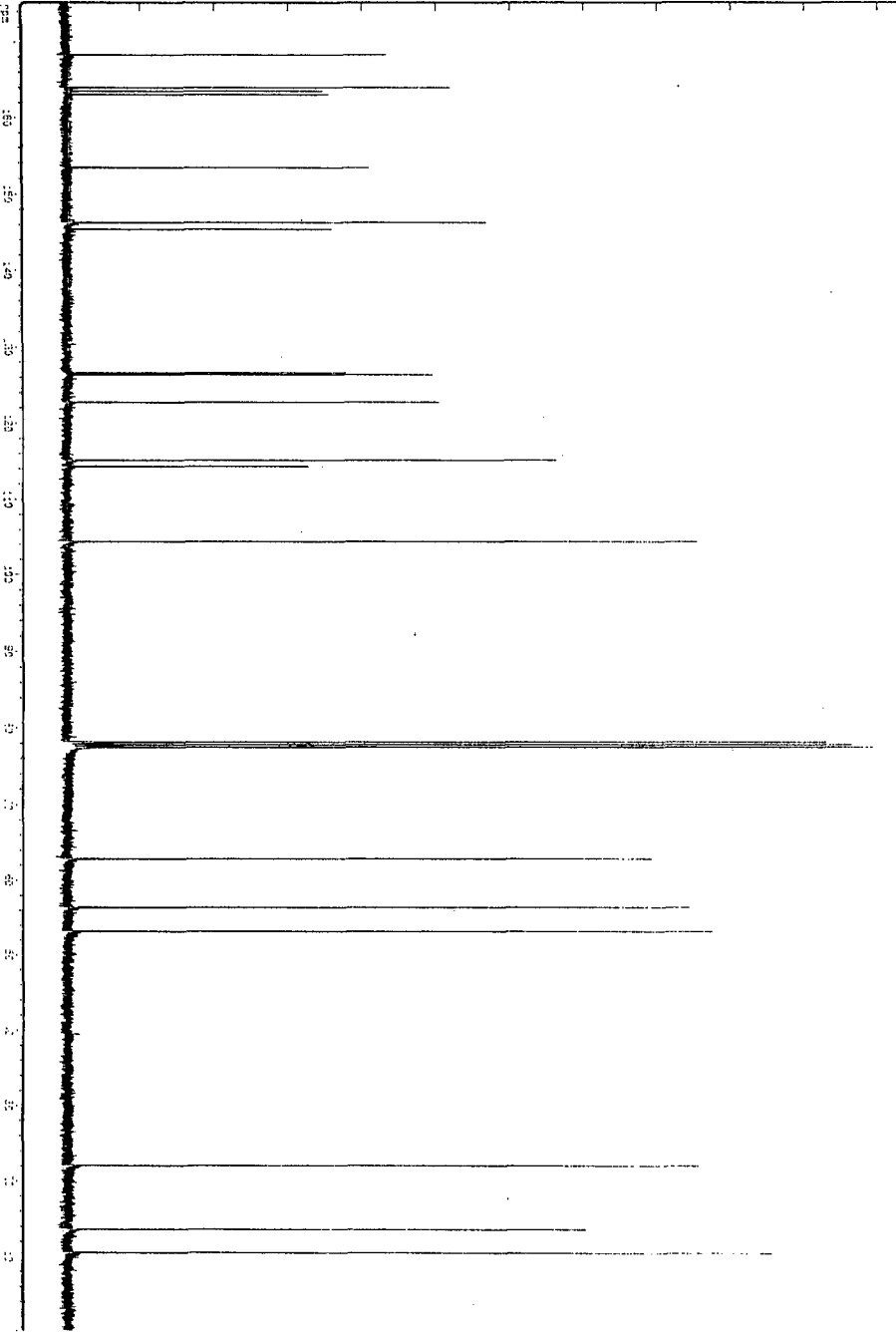
RG1 : 0.5000000 sec
 P1 : 14.3000000 sec
 CE : 73.8000000 sec
 SFO1 : 400.1375297 MHz
 SFO2 : 800.4580000 MHz
 DS3 : 16
 DS4 : 6
 CS : 0

F2 - Processing parameters:

SI : 32768
 SF : 400.1363843 MHz
 KW : EM
 SSB : 0
 LB : 0.20 Hz
 GB : 0
 PC : 1.00

1D NMR Data parameters:

CH : 36.00 sec
 F1 : 3.00 sec
 F2 : 3661.31 Hz
 F3 : 0.000 sec
 PRGM : MCMQ
 NUC1 : 100.626399 MHz



UNITED STATES
 NAME
 ADDRESS
 PHONE

1 - "CLASSIFICATION" parameter

NAME
 ADDRESS
 PHONE
 NAME
 ADDRESS
 PHONE
 NAME
 ADDRESS
 PHONE

NAME
 ADDRESS
 PHONE
 NAME
 ADDRESS
 PHONE
 NAME
 ADDRESS
 PHONE

NAME
 ADDRESS
 PHONE
 NAME
 ADDRESS
 PHONE
 NAME
 ADDRESS
 PHONE

NAME
 ADDRESS
 PHONE
 NAME
 ADDRESS
 PHONE
 NAME
 ADDRESS
 PHONE

NAME
 ADDRESS
 PHONE
 NAME
 ADDRESS
 PHONE
 NAME
 ADDRESS
 PHONE

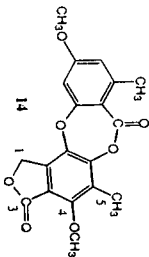
NAME
 ADDRESS
 PHONE
 NAME
 ADDRESS
 PHONE
 NAME
 ADDRESS
 PHONE

NAME
 ADDRESS
 PHONE
 NAME
 ADDRESS
 PHONE
 NAME
 ADDRESS
 PHONE

NAME
 ADDRESS
 PHONE
 NAME
 ADDRESS
 PHONE
 NAME
 ADDRESS
 PHONE

F2 - Processing parameters
 SI 32750
 SF 100.6130000 06
 SW 5
 SSB 5
 LB 1.00 Hz
 RB 5
 PC 1.00

20 MHz disk parameters
 CX 36.00 03
 F1P 175.000 00
 F2 1760.762 02
 F2 0.20 Hz
 FWHICK 4.88111 00
 HZCN 489.09481 02



Current Data Parameters

NAME	7443
EXPNO	1
PROCNO	1

F2 - Acquisition Parameters

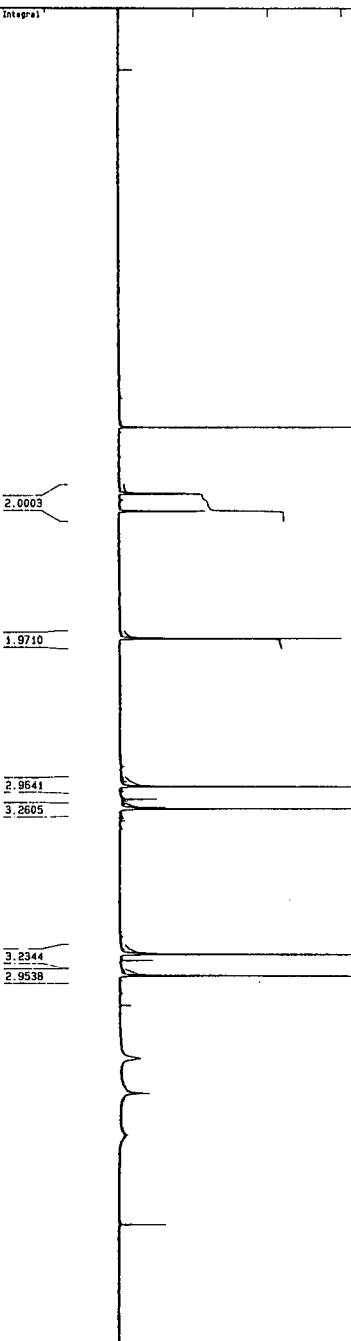
Date_	16/12/8
Time	16.05
PROBHD	5MM QNP1H
AD (GEN)	3 866433 srt
FIDRES	0.128312 Hz
NUC1	59.0 UBI
NUC2	4098
NUC3	1 15
PC	11
P1	0.500000 srt
PC2	14.13 srt
PC3	17.73 UBI
PC4	400.137733 UBI
SHH	8474.58 Hz
TD	65535
NS	12
DS	3

F2 - Processing parameters

SI	65535
SP	400.137733 MHz
WDW	EM
SSB	0
LB	0.20 Hz
GB	0
PC	1.00

1D NMR Plot parameters

File	11.000 DFT
F1p	4401.48 Hz
F1	-1.500 DFT
F2p	400.137 Hz
F2	2.000000 Hz
NUC1	131.37815 Hz
NUC2	



File: MAF
Sample: cycle phthalique

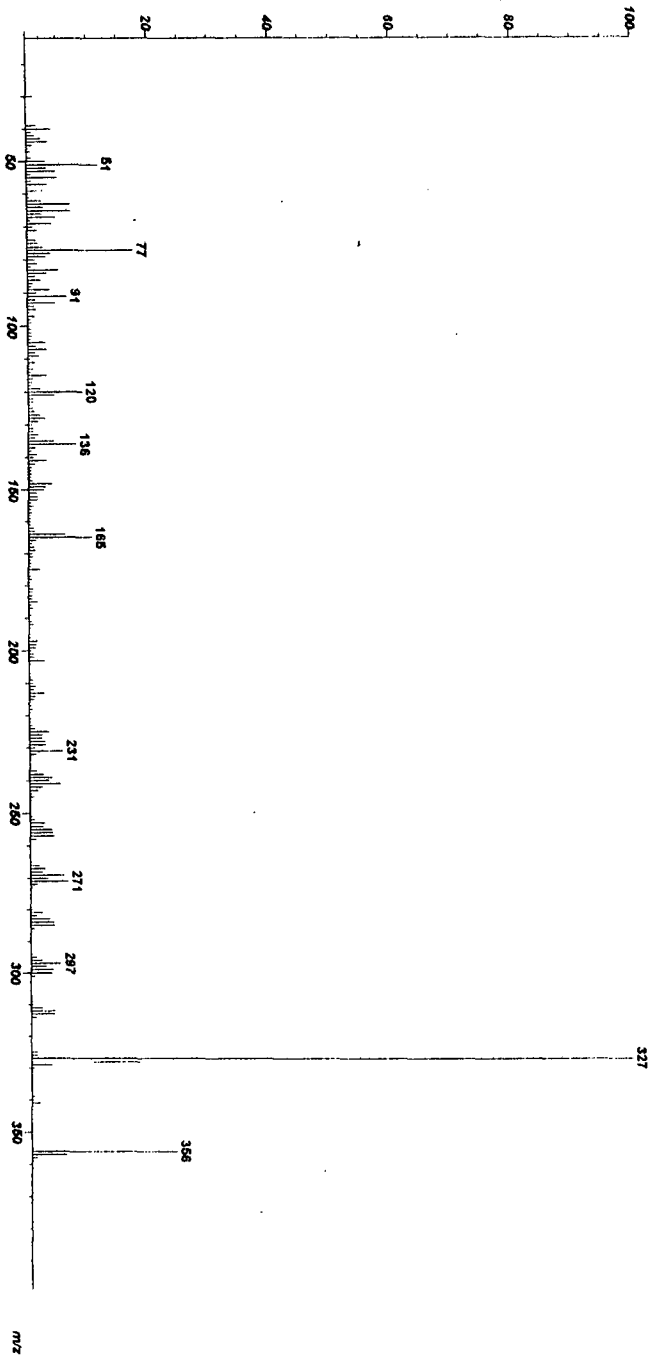
Date Run: 10-28-1996

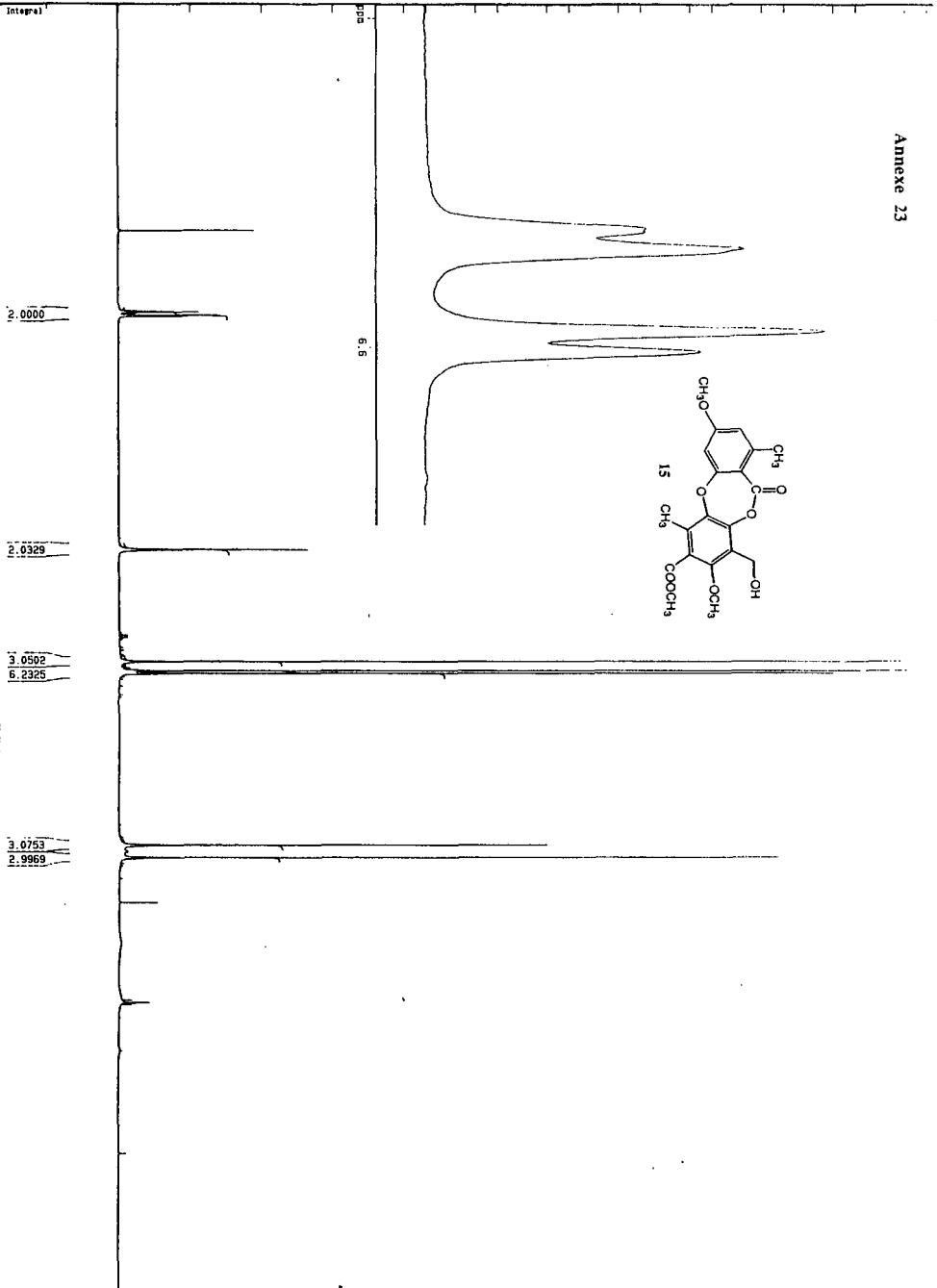
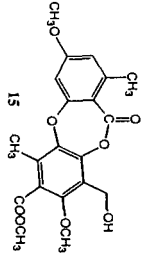
Time Run: 14:26:19
Instrument: R30-10

Scan: 132
Base: m/z 327; 51.8%FS TIC: 1557509

R.T.: 3:01

#Ions: 570



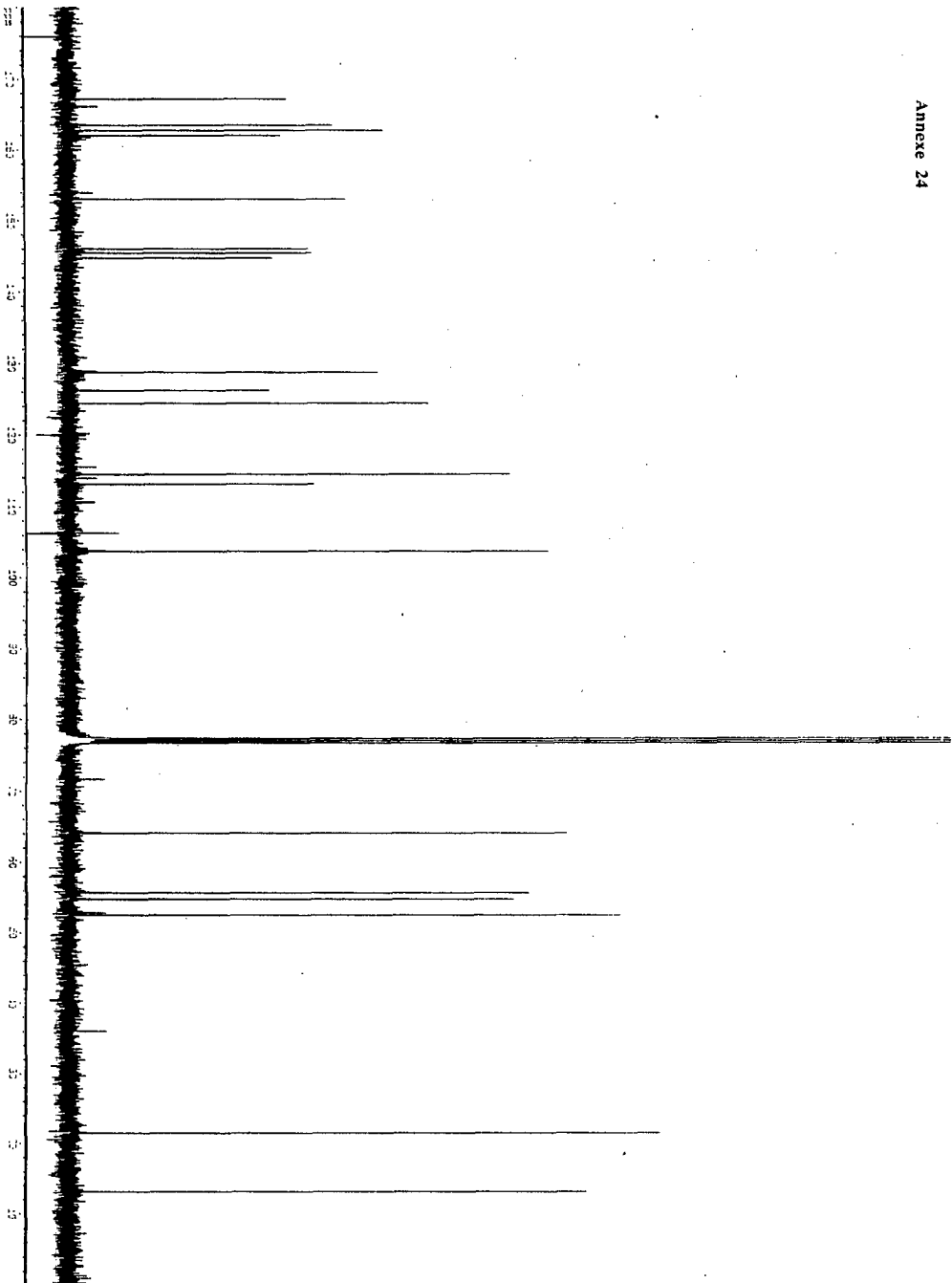


Current Data Parameters
 NAME : 7844
 PROBNM : 1

F2 - Acquisition Parameters
 DATE : 06/02/99
 TIME : 17:20
 PATHNAME : C:\113
 SOLVENT : CDCl3
 A0 : 3.0664339 sec
 FIDRES : 3.729312 Hz
 SFO1 : 500.136199 MHz
 NUC1 : 13C
 PULPROG : zgpg30
 AQ1 : 2.48
 D1 : 3.5000000 sec
 D2 : 1.0000000 sec
 CE : 73.8
 SFO1 : 400.1370267 MHz
 SMO1 : 84774.339 Hz
 WD : 65936
 NS : 5
 DS : 4

F2 - Processing parameters
 SI : 65936
 SF : 400.1349264 MHz
 WDW : EM
 SSB : 0
 LB : 3.20 Hz
 GB : 0
 BR : 1.00

1D NMR plot parameters
 CX : 36.00 cm
 F1P : 9.000 GHz
 F1 : 3801.22 MHz
 F2 : -400.13 MHz
 F2P : 3.27778 GHz
 FIDNM : 111-14845 Hz



Support Data Parameters
 NAME : ANNEKE
 EXPNO : 2
 PROCNO : 1

F3 - Acquisition Parameters

DATE_ TIME : 13.14
 PULPROG : zgpg30
 SFOFF : 1.200000 MHz
 SI : 32768
 FIDRES : 19.4 Hz
 AQ : 32768
 RG : 32768
 REFLIM : 19 dB
 ACQ : 3.200000 sec
 SFO : 0.250000 MHz
 P1 : 5.2 usec
 DE : 23.5 usec
 SFO2 : 100.626770 MHz
 SI2 : 32768
 FIDRES2 : 19.4 Hz
 NS : 1344
 DS : 2

F2 - Processing parameters

SI : 32768
 SF : 100.613765 MHz
 WDW : EM
 SSB : 0 Hz
 GB : 0 Hz
 PC : 1.40

ID - NMR Data Parameters

SI : 32768
 CP : 180.000000 MHz
 F1 : 18115.500000 Hz
 F2 : 0.000000 MHz
 PRGNO : 5.000000 MHz
 HZCN : 503.058460 Hz

Annexe 25

Université de Neuchâtel
10-28-1996 12:29:59

File: MAF
Sample: brom. fr.9.2-12.2

Date Run: 10-28-1996

Time Run: 12:20:53

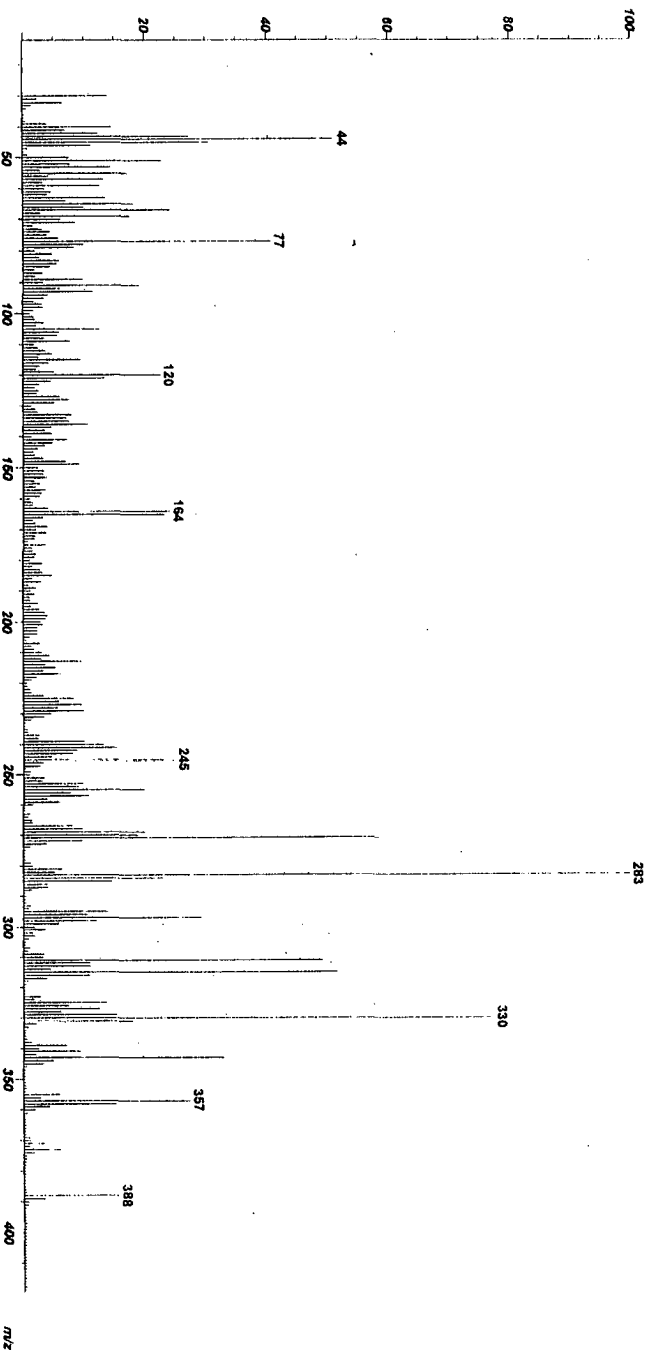
Instrument: R30-10

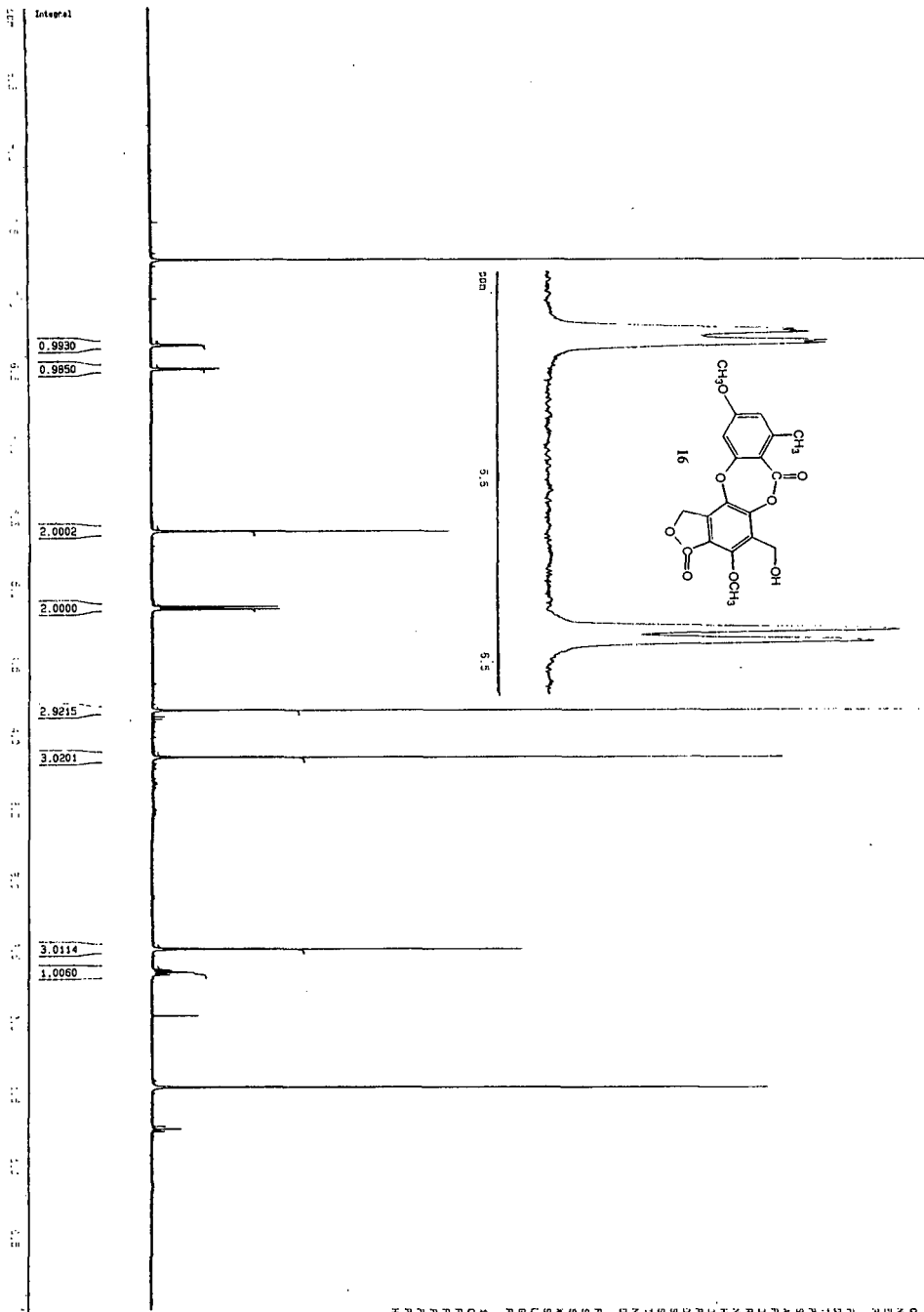
Scan: 105

R.T.: 2:24

Base: m/z 283; 8%FS TIC: 856742

#Ions: 570





Current Data Parameters
 NAME :
 EXPNO : 1
 PROCNO : 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ : 27/2/2007
 Time : 16:13
 File : 0105
 SWH : 30000 Hz
 A0 : 3.8666438 MHz
 FIDRES : 0.126312 Hz
 ZF : 591.3 MHz
 M : 2
 NU1 : 5122
 SFO1 : 400.1372700 MHz
 HET : 2
 P1 : 14.2000000 sec
 P2 : 14.2000000 sec
 SFO2 : 400.1372700 MHz
 SWH : 8474.58 Hz
 F2 - Processing parameters
 SI : 65536
 SF : 400.1343916 MHz
 RG : 512
 EN : 512
 LB : 0.10 Hz
 GB : 0
 PC : 1.00

1D NMR Data Parameters
 CX : 36.00 cm
 F1P : 9.000 psi
 F1 : 3601.21 Hz
 F2P : 0.000 psi
 F2 : 0.000 Hz
 PULPROG : zgpg30
 FREQM : 0.25000 MHz
 NUC1 : 100.03800 Hz

Annexe 27

Université de Neuchâtel
10-28-1996 12:43:23

File: MAF
Sample: brom. fr 13.2-14.2

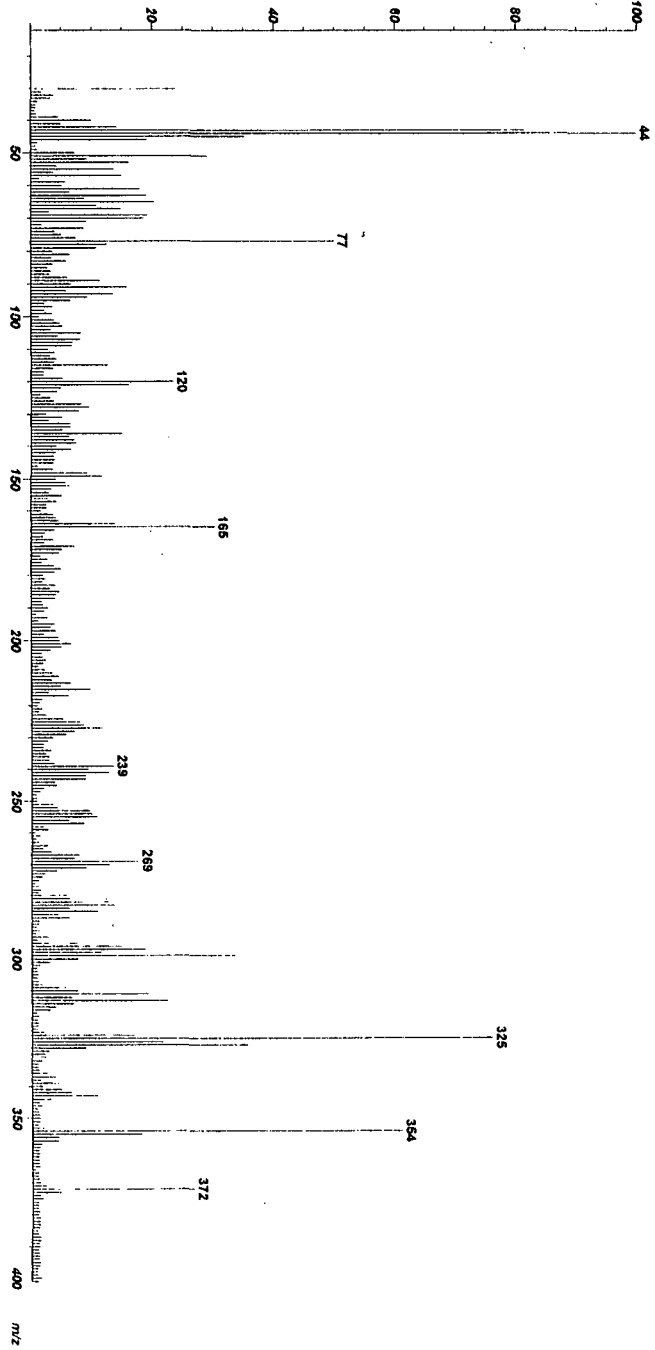
Date Run: 10-28-1996

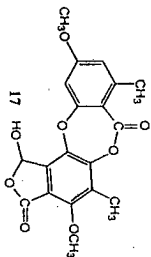
Time Run: 12:31:29
Instrument: R30-10

Scan: 121
Base: m/z 44; 2.9%FS TIC: 352666

R.T.: 2.46

#Ions: 570



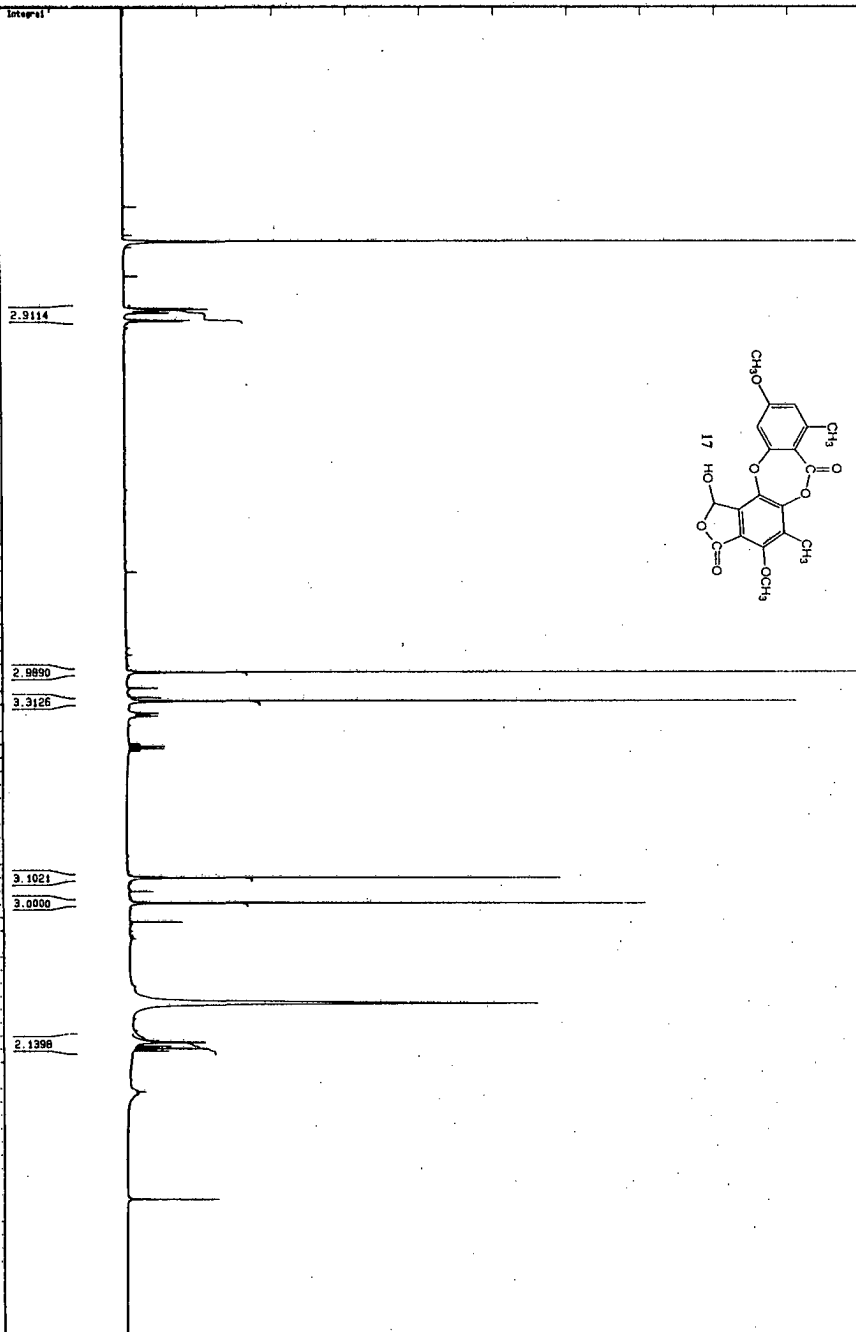


Current Data Parameters
 Name :
 EXPNO :
 PROCNO :
 F2 - Acquisition Parameters

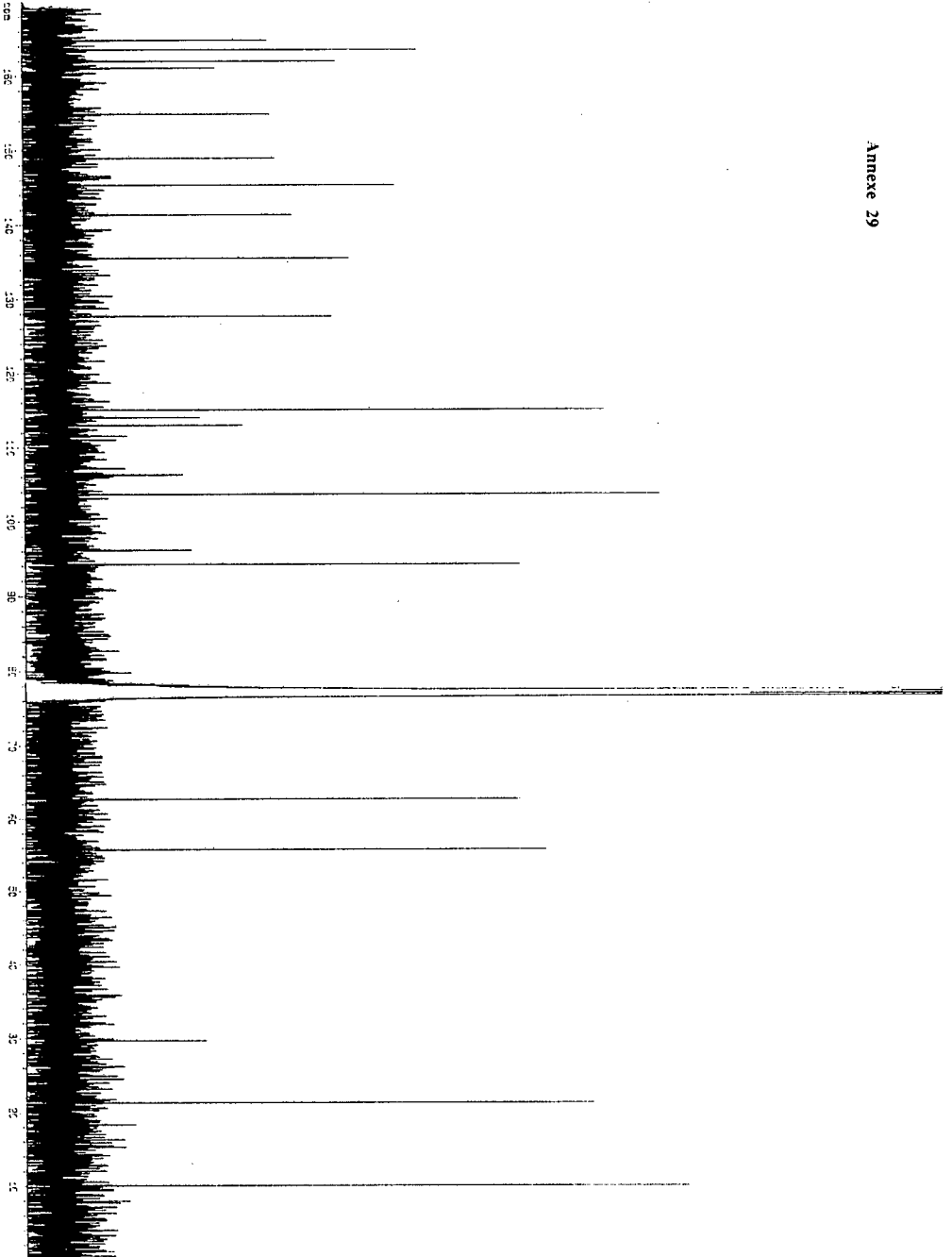
Date_ : 3/22/12
 Time : 3:12
 INSTRUM : spect
 SOLVENT : CDCl3
 AD : 3.6664639 sec
 FIDRES : 2.139312 Hz
 AQ : 28.2341
 RG : 512
 NUC1 : 13C
 P1 : 2.39
 C1 : 3.5000000 sec
 F1 : 14.13344 MHz
 SFO1 : 400.1254207 MHz
 SH1 : 4874.59 Hz
 T0 : 50536
 NS : 783
 DS : 3

F2 - Processing parameters
 SI : 65536
 SF : 400.1254207 MHz
 SD : 54
 SSB : 0
 LB : 0.20 Hz
 GB : 0
 PC : 1.00

1D NMR plot parameters
 CX : 36.00 cm
 CP : 3.000 DPH
 F1 : 2601.21 Hz
 F2 : -41.005 DPH
 SFO1 : 3.27778 DPH
 PC1 : 111.14845 Hz



Annexe 29



Current Data Parameters
 NAME TMSA
 SPNO 3
 PNO00
 :

F2 - Acquisition Parameters
 Date 970221
 Time 16.43
 PULPROG zgpg30
 PROCNO 1
 AD 1:243904.00
 FIDRES 0.401547 Hz
 SFO1 100.6284710 MHz
 NUC1 13C
 NUC2 13C
 NUC3
 NUC4
 NUC5
 NUC6
 NUC7
 NUC8
 NUC9
 NUC10
 NUC11
 NUC12
 NUC13
 NUC14
 NUC15
 NUC16
 NUC17
 NUC18
 NUC19
 NUC20

F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 100.618711 MHz
 MD 64
 AS 32768
 SFO1 100.6284710 MHz
 N 262144
 NI 262144
 N2 262144
 N3 262144
 N4 262144
 N5 262144
 N6 262144
 N7 262144
 N8 262144
 N9 262144
 N10 262144
 N11 262144
 N12 262144
 N13 262144
 N14 262144
 N15 262144
 N16 262144
 N17 262144
 N18 262144
 N19 262144
 N20 262144

F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 100.618711 MHz
 MD 64
 AS 32768
 SFO1 100.6284710 MHz
 N 262144
 NI 262144
 N2 262144
 N3 262144
 N4 262144
 N5 262144
 N6 262144
 N7 262144
 N8 262144
 N9 262144
 N10 262144
 N11 262144
 N12 262144
 N13 262144
 N14 262144
 N15 262144
 N16 262144
 N17 262144
 N18 262144
 N19 262144
 N20 262144

F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 100.618711 MHz
 MD 64
 AS 32768
 SFO1 100.6284710 MHz
 N 262144
 NI 262144
 N2 262144
 N3 262144
 N4 262144
 N5 262144
 N6 262144
 N7 262144
 N8 262144
 N9 262144
 N10 262144
 N11 262144
 N12 262144
 N13 262144
 N14 262144
 N15 262144
 N16 262144
 N17 262144
 N18 262144
 N19 262144
 N20 262144

F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 100.618711 MHz
 MD 64
 AS 32768
 SFO1 100.6284710 MHz
 N 262144
 NI 262144
 N2 262144
 N3 262144
 N4 262144
 N5 262144
 N6 262144
 N7 262144
 N8 262144
 N9 262144
 N10 262144
 N11 262144
 N12 262144
 N13 262144
 N14 262144
 N15 262144
 N16 262144
 N17 262144
 N18 262144
 N19 262144
 N20 262144

F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 100.618711 MHz
 MD 64
 AS 32768
 SFO1 100.6284710 MHz
 N 262144
 NI 262144
 N2 262144
 N3 262144
 N4 262144
 N5 262144
 N6 262144
 N7 262144
 N8 262144
 N9 262144
 N10 262144
 N11 262144
 N12 262144
 N13 262144
 N14 262144
 N15 262144
 N16 262144
 N17 262144
 N18 262144
 N19 262144
 N20 262144

Annexe 31

File: MAFALDA
Sample: C19G8H16 ?

Date Run: 07-04-1997

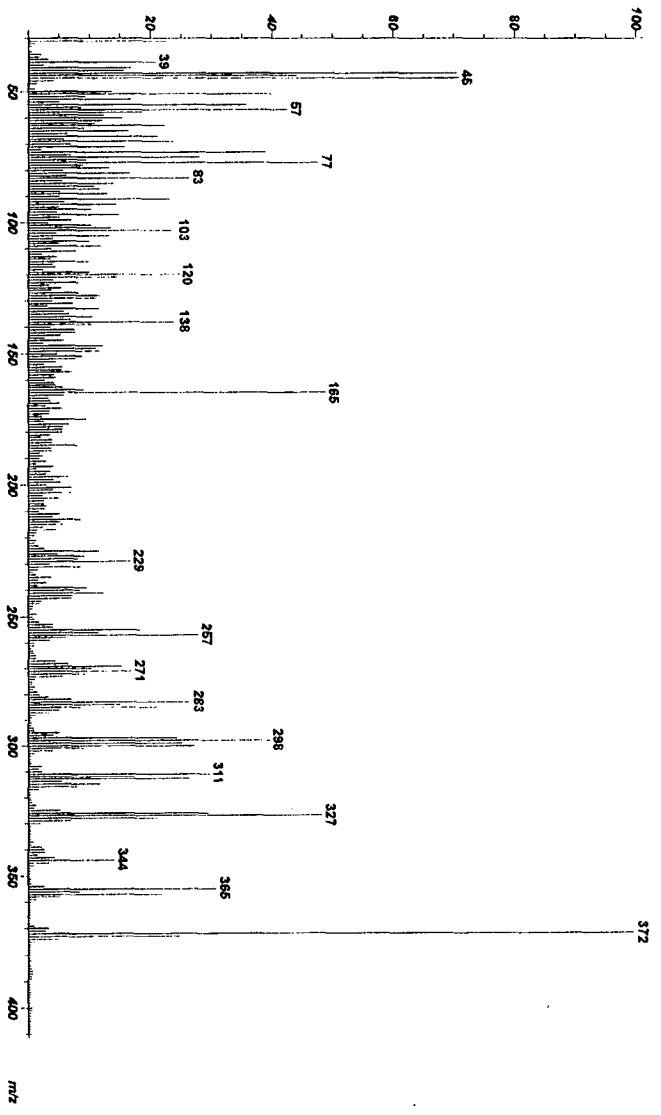
Time Run: 15:47:40

Instrument: R30-10

Scan: 109
Base: m/z 372; 29.2%FS TIC: 3976116

R.T.: 3:10

#ions: 770



Annexe 32

Université de Neuchâtel
02-10-1997 16:10:15

File: MAF4
Sample: depsidones bromation fr.3

Date Run: 02-10-1997

Time Run: 16:01:25

Instrument: R30-10

Scan: 102 - 110
Base: m/z 283; .8%FS TIC: 192585

R.T.: 2:48

#Ions: 670

