



**HAL**  
open science

# Analyse et valorisation des matières premières à odeur boisée : ciblage des composés odorants

Loïc Tissandié

► **To cite this version:**

Loïc Tissandié. Analyse et valorisation des matières premières à odeur boisée : ciblage des composés odorants. Chimie analytique. COMUE Université Côte d'Azur (2015 - 2019), 2018. Français. NNT : 2018AZUR4244 . tel-03270817

**HAL Id: tel-03270817**

**<https://theses.hal.science/tel-03270817>**

Submitted on 25 Jun 2021

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

$$\rho \left( \frac{\partial v}{\partial t} + v \cdot \nabla v \right) = -\nabla p + \nabla \cdot T + f$$

$$e^{i\pi} + 1 = 0$$

# THÈSE DE DOCTORAT

Analyse et valorisation des matières premières à odeur  
boisée : ciblage des composés odorants

**Loïc Tissandié**

Institut de Chimie de Nice

**Présentée en vue de l'obtention  
du grade de docteur en Chimie  
de l'Université Côte d'Azur**

**Dirigée par :**

M. Jean-Jacques FILIPPI, Maître de conférences

**Co-dirigée par :**

M. Uwe MEIERHENRICH, Professeur

**Soutenue le :** 20 décembre 2018

**Devant le jury, composé de :**

M. Félix TOMI, Professeur, Université de Corse

M. Carlo BICCHI, Professeur, Université de Turin, Italie

M. Pascal RICHOMME, Professeur, Université d'Angers

M. Hugues BREVARD, Docteur, Société Robertet

Mme Cornelia MEINERT, CR, CNRS, Université Côte d'Azur

# Analyse et valorisation des matières premières à odeur boisée : ciblage des composés odorants

Jury :

Président du jury

Monsieur Félix TOMI, Professeur, Université de Corse

Rapporteurs

Monsieur Carlo BICCHI, Professeur, Université de Turin, Italie

Monsieur Pascal RICHOMME, Professeur, Université d'Angers

Examineurs

Madame Cornelia MEINERT, CR, CNRS, Université Côte d'Azur

Monsieur Hugues BREWARD, Docteur, Société Robertet

Directeur

Monsieur Jean-Jacques FILIPPI, Maître de conférences-HDR, Université Côte d'Azur

Co-Directeur

Monsieur Uwe MEIERHENRICH, Professeur, Université Côte d'Azur

**Titre :** Analyse et valorisation des matières premières à odeur boisée : ciblage des composés odorants

**Résumé :** Ce mémoire de doctorat rassemble les travaux réalisés dans le cadre d'une étude analytique approfondie et systématique des substances à odeur boisée. Ces substances définissent une famille d'ingrédients unanimement appréciés pour leurs notes puissantes et recherchés par les parfumeurs pour composer les accords parmi les plus emblématiques de la profession. Les matières premières inscrites au programme de cette étude sont les essences de Gaïac, d'Araucaria, de Patchouli, de Cyprès Jaune d'Alaska, de Vétiver et d'Agarwood, ainsi que certains de leurs produits dérivés. La plupart de ces matières premières sont couramment utilisées par l'industrie du parfum. Leur spécificité provient de leur composition chimique très largement dominée par les dérivés sesquiterpéniques, conférant ainsi à ces extraits une complexité moléculaire indéniable. Les principaux objectifs de cette thèse de doctorat ont consisté à améliorer la connaissance de ces matières premières en termes de composition chimique, à déterminer autant que possible les composés odorants contribuant à leur odeur, et enfin d'explorer d'éventuelles voies de valorisation pour ces mêmes ingrédients à l'échelle industrielle.

La méthodologie analytique développée tout au long de l'étude a nécessité l'utilisation combinée d'un large éventail de techniques chromatographiques, spectrométriques et spectroscopiques pour parvenir à caractériser ces matières premières au plus près et à réaliser l'isolement de leurs constituants inconnus. Ainsi, ces travaux s'articulent autour de quatre outils centraux : la chromatographie gazeuse bidimensionnelle intégrale couplée à la spectrométrie de masse (GC × GC-MS), la chromatographie gazeuse couplée à l'olfactométrie (GC-O), la chromatographie gazeuse semi-préparative (GC prép.) et la résonance magnétique nucléaire (RMN). Près de 190 composés ont été isolés et caractérisés dont 107 sont décrits pour la première fois comme constituants d'extraits naturels.

**Mots-clés :** Gaïac ; Araucaria ; Patchouli ; Cyprès Jaune d'Alaska ; Vétiver ; Agarwood ; Chromatographie bidimensionnelle ; Analyse olfactométrique ; RMN ; Elucidation structurale.

---

**Title:** Analysis and valuation of raw materials with woody smell: targeting odorous compounds

**Abstract:** This Ph.D. dissertation sums up the work carried out as part of a thorough and systematic analytical study of woody-scented substances. These substances define a family of ingredients unanimously appreciated for their powerful notes, and sought by perfumers to compose some of the most emblematic accords in perfumery. The raw materials included in the frame of this study are the oils of Guaiac, Araucaria, Patchouli, Alaska Yellow Cypress, Vetiver, and Agarwood, as well as some of their by-products. Most of these raw materials are ingredients commonly used by the perfume industry. Their chemical specificity comes from their composition largely dominated by sesquiterpene derivatives, giving these extracts an undeniable molecular complexity. The main objectives of this Ph.D. thesis were to improve the knowledge of these raw materials in terms of chemical composition, to determine as much as possible the odorous compounds contributing to their odor, and finally to explore possible ways of valorization for these products on an industrial scale.

The analytical methodology developed throughout this study required the combined use of a wide range of chromatographic, spectrometric, and spectroscopic techniques in order to characterize these raw materials as precisely as possible and achieve the isolation of their unknown constituents. Thus, our work revolved around four central tools: comprehensive two-dimensional gas chromatography-mass spectrometry (GC × GC-MS), gas chromatography-olfactometry (GC-O), preparative capillary-gas chromatography (pc-GC) and nuclear magnetic resonance (NMR). Almost 190 compounds have been isolated and characterized, 107 of which are described for the first time as constituents of natural extracts.

**Key-words:** Guaiac; Araucaria; Patchouli; Alaska Yellow Cypress; Vetiver; Agarwood; Comprehensive two-dimensional gas chromatography; Olfactometry; NMR; Compound isolation; Structure determination.

# **Avant-Propos**

Dans ce manuscrit, l'ensemble des composés a été numéroté selon trois critères :

- Les composés identifiés dans les huiles essentielles étudiées dans ce manuscrit sont numérotés (1, 2, 3, 4, etc.). La numérotation se base sur les différents tableaux analytiques rapportés dans ce manuscrit.
- Les composés non-identifiés dans les huiles essentielles étudiées dans ce manuscrit mais qui ont été synthétisés, isolés et caractérisés sont numérotés avec des lettres de l'alphabet (A–Z).
- Les composés non-identifiés dans les huiles essentielles étudiées dans ce manuscrit sont numérotés en chiffres romains (I, II, III, IV, etc.).

Afin de faciliter la lecture, la partie expérimentale et la bibliographie sont rassemblées à la fin de chaque chapitre.

Certaines études conduites au cours de cette thèse ont pu être valorisées sous la forme d'articles scientifiques et de présentations par affiche :

#### Publications :

- Loïc Tissandié, Marc Gaysinski, Hugues Brévard, Uwe J. Meierhenrich, Jean-Jacques Filippi, Revisiting the chemistry of guaiacwood oil: Identification and formation pathways of 5,11- and 10,11-epoxyguaianes, *J. Nat. Prod.*, **2017**, 80, 526.
- Gabriel Garcia, Loïc Tissandié, Jean-Jacques Filippi, Félix Tomi, New Pinane Derivatives Found in essential Oils of *Calocedrus decurrens*, *Molecules*, **2017**, 22, 921.
- Loïc Tissandié, Stéphane Viciano, Hugues Brévard, Uwe J. Meierhenrich, Jean-Jacques Filippi, Towards a complete characterisation of guaiacwood oil, *Phytochemistry*, **2018**, 149, 64.
- Loïc Tissandié, Hugues Brévard, Emilie Belhassen, Marion Alberola, Uwe J. Meierhenrich, Jean-Jacques Filippi, Integrated comprehensive two-dimensional gas-chromatographic and spectroscopic characterization of vetiveryl acetates: molecular identifications, quantification of constituents, regulatory and olfactory considerations, *J. Chrom. A*, **2018**, 1573, 125.

#### Présentation sous forme d'affiche :

- Loïc Tissandié, Jean-Jacques Filippi, New sesquiterpenic alcohols from Guaiacwood oil, 47<sup>ème</sup> ISEO 2016, 11-14 septembre 2016, Nice, France.
- Loïc Tissandié, Jean-Jacques Filippi, Hugues Brevard, Uwe J. Meierhenrich, Integrated comprehensive two-dimensional gas-chromatographic and spectroscopic characterization of vetiveryl acetates, 42<sup>ème</sup> ISCC et 15<sup>ème</sup> GC×GC Symposium, 13-18 mai 2018, Riva del Garda, Italie.

## Remerciements

Je souhaite tout d'abord remercier les Professeurs Pascal Richomme et Carlo Bicchi d'avoir accepté d'être les rapporteurs de cette thèse.

J'aimerais également remercier le Professeur Félix Tomi d'avoir accepté d'examiner ces travaux.

Je tiens à adresser mes remerciements à la région Sud - Provence Alpes Côtes d'Azur et à la société Robertet d'avoir financé l'intégralité de mes travaux de thèse en m'accordant une bourse Région.

Je suis fier de compter sur la présence de Monsieur Hugues Brevard et de Madame Cornelia Meinert dans ce jury de thèse. Hugues, nos conversations que ce soit dans ton laboratoire ou entre deux repas ont été des plus intéressantes et parfois, des plus amusantes. Conny, que dire, j'ai vraiment aimé ta joie de vivre et ton humour. Nos conversations n'ont pas toujours été très sérieuses mais c'est pour ça que je t'apprécie (même si tu n'aimes pas mes vêtements).

Uwe, Monsieur le Directeur de l'ICN, je crois me souvenir qu'au début de ma thèse tu m'as autorisé à travailler dans cet excellent laboratoire d'analyse. Après trois ans, je dois avouer qu'étudier et faire de la recherche dans ce laboratoire a été pour moi une expérience des plus enrichissantes. Merci encore de m'avoir ouvert ces lieux.

Ô Maître Jedi ou plutôt, Monsieur le Directeur, je suis extrêmement honoré d'avoir travaillé avec le plus emblématique corse de l'ICN. Non sans magagne (voir si l'orthographe n'est pas fautive, je n'suis pas CORse moi), je dois t'avouer que je suis ravi de notre relation, professionnelle bien sûr, que ce soit au travail mais aussi en dehors. Tu m'as apporté un bagage scientifique que je n'imaginai pas avant que cette belle aventure commence. Les travaux que nous avons conduits ensemble sur ces fabuleuses matières premières boisées m'ont permis d'améliorer mes connaissances dans le domaine de l'analyse, de la synthèse et de l'évaluation olfactive des composés volatils. Je ne regrette rien et je crois que ce n'est pas un au revoir mais plutôt le début d'une nouvelle aventure. Merci pour tout !

Je tiens à remercier également un autre Maître Jedi, Monsieur Mohamed Mehiri. Je crois que toute cette histoire commence par la main que tu m'as tendue quand je n'étais encore qu'un petit étudiant de Master 1. Je crois que mon amour pour les produits naturels provient de ce stage que tu m'as offert et de mon année passée dans ton labo. Je te suis réellement reconnaissant de m'avoir poussé à faire une thèse et d'avoir cru en moi tout ce temps.

A mes collègues de labo, Mathieu, Léonel ou Damien (ça dépend des jours), Sara et Rébecca sans qui ce travail n'aurait jamais pu arriver à son terme, je vous kiffe et vous le savez ! Je vous souhaite le meilleur pour la suite de votre carrière, j'espère que vous garderez un excellent souvenir de notre rencontre et du travail que l'on a fait ensemble !

Je tiens à dire un grand merci à mes collègues de bureau qui ont toujours été au top ! Emilie, Hortense, Bénédicte, Stéphane, Ayaka, Harouna, Pauline, Alexandre, et Adrien, je ne sais pas comment vous avez fait pour me supporter tout ce temps. Ça force le respect ! Non, sans blague, je suis heureux d'avoir partagé de très bons moments et de bonnes blagues bien nulles avec vous tous. C'est aussi ça une thèse. Gaby l'ajaccien, une petite pensée pour toi. Je souhaite que tes projets se réalisent. On se revoit bientôt pour un combo pizza bière avec Adri et JJ.

J'ai également une pensée pour ceux que j'ai trahis. Oui je suis descendu d'un étage et je les ai abandonnés. Estelle, Johanna, Pascal, Arnaud, Hélène, Corentin (le petit nouveau) et les fous du 4<sup>ème</sup> Pierrick, Vincent, Luisa, je crois bien que cette année-là était la plus belle (et la plus alcoolisée aussi). Merci pour votre folie.

Je remercie Madame Nelly Barat de m'avoir accueilli dans le laboratoire de recherche chez Robertet mais aussi de m'avoir accordé de son temps pour m'expliquer notamment les subtilités du TOF.

Je tiens à remercier la PFTC de l'ICN et plus particulièrement Marc Gaysinski qui m'a permis d'obtenir de beaux spectres RMN et qui m'a accordé de son temps pour m'expliquer certaines subtilités des spectromètres, mais aussi Lionel Massi pour m'avoir ouvert les portes de son labo durant plus d'un an avant ma thèse.

Un grand MERCI à tous les membres de l'ICN pour leur accueil, et plus particulièrement à Dominique, Najiba, Thomas, Jérémy, Anne, Fabien pour leur bonne humeur.

Le plus important se trouve dans les proches qui nous entourent. Choco, Fabrice, Fouad, Vivi, Nico, Kresh, Jérémy, Caro, Valentin, n'Alex, Soufia, Steph, à vous mes amis, qui m'ont soutenu dans la folie de mes études, je vous dis merci ! Je crois que c'est un peu grâce à nos délires, à nos conneries, à notre style de vie que j'ai fait tout ça.

Pour finir, je crois que je n'ai pas de mot pour définir le bonheur que ma famille a pu m'apporter au cours de cette thèse et dans ma vie. Je suis ce que je suis, grâce à vous. Pa, Mame, Juliano, Moule, mon Bof, Lilou, Théo, Ninie, l'étoile qui partage ma vie et celle d'O'Link, je crois que sans vous je n'aurais jamais pu faire cette thèse. Depuis le début de mes études, votre soutien infailible a été mon moteur. Je suis un homme fier d'avoir une famille comme vous. A ma belle-famille, qui a hébergé un roumain thésard pendant plus d'un an, je tiens également à vous dire que je suis heureux de vous avoir comme beaux-parents, comme belles sœurs et comme beau-frère. Ne changez rien ! Je remercie également du fond du cœur mes grands-parents qui ont toujours été là quand j'en avais besoin et qui m'ont toujours soutenu dans mes choix.

A vous tous et à ceux qui nous ont quittés trop tôt.

Ce travail vous est dédié.



## Table des matières

Glossaire des abréviations .....	1
Introduction .....	3
Chapitre I : L'huile essentielle de bois de Gaïac : L'excellence de la note de fond rosée – <i>Bulnesia sarmientoi</i> 12	
I.1. Considérations générales .....	12
I.2. Étude antérieure de la composition chimique de l'huile essentielle de bois de Gaïac .....	13
I.3. Analyse globale de la composition chimique de l'essence de bois de Gaïac .....	14
I.4. Isolement et caractérisation des composés inconnus de l'essence de bois de Gaïac .....	18
I.4.1. Identification des éthers .....	18
I.4.2. Identification des alcools/cétones inconnus .....	21
I.5. Voies de formation et synthèse des composés identifiés de l'essence de Gaïac .....	26
I.5.1. Hypothèse des voies de formation des composés isolés .....	26
I.5.2. Hypothèse de formation des oxydes guaïaniques .....	29
I.5.3. Formation des époxycadinanes et cétones inusuelles .....	32
I.5.4. Hypothèse de formation des isoguaiols .....	34
I.6. Analyse quantitative de la composition chimique par GC × GC–FID .....	36
I.7. Détermination des constituants odorants de l'essence de Gaïac .....	40
I.8. Conclusion .....	41
Partie expérimentale : Partie I .....	43
Chapitre II : L'huile essentielle de <i>Callitris pancheri</i> : une senteur oubliée .....	71
II.1. Considérations générales .....	71
II.2. Étude antérieure de la composition chimique de l'huile essentielle de <i>C. pancheri</i> .....	72
II.3. Analyse globale de la composition chimique de l'essence et formation potentielle des composés isolés .....	73
II.3.1. Analyse GC–MS de l'essence de <i>C. pancheri</i> .....	73
II.3.2. Hypothèse de formation des composés identifiés .....	74
II.3.3. Analyse GC × GC–MS de l'essence de <i>C. pancheri</i> .....	76
II.4. Isolement et caractérisation des composés inconnus .....	78
II.5. Analyse quantitative des constituants de l'essence de <i>C. pancheri</i> par GC × GC .....	86
II.6. Analyse olfactive de l'essence de <i>C. pancheri</i> par GC–O et GC–O–MS .....	91
II.7. Conclusion .....	93
Partie expérimentale : Partie II .....	95
Chapitre III : L'huile essentielle de Patchouli : Les secrets d'une matière première emblématique – <i>Pogostemon cablin</i> .....	104
III.1. Considérations générales et études antérieures .....	104
III.2. Analyse globale de la composition chimique de l'essence de patchouli .....	105
III.2.1. Analyse qualitative par GC × GC–MS de l'essence de patchouli .....	105
III.2.2. Identification et isolement des éthers .....	107
III.2.3. Isolement et identification des dérivés guaïaniques et patchoulanes .....	108
III.2.4. Isolement et identification des dérivés eudesmanes .....	113
III.2.5. Isolement et identification des autres dérivés sesquiterpéniques .....	115
III.3. Analyse quantitative de l'essence de patchouli et Clearwood™ .....	116
III.4. Relations et filiations chimiques des composés identifiés dans l'essence de patchouli .....	122
III.5. Analyse olfactive des essences de patchouli et du Clearwood™ .....	126
III.6. Conclusion .....	128
Partie expérimentale : Partie III .....	130
Chapitre IV : L'huile essentielle de cyprès jaune d'Alaska : la note boisée par excellence – <i>Callitropsis nootkatensis</i> .....	146
IV.1. Considérations générales .....	146
IV.2. Étude antérieure de la composition chimique de l'huile essentielle de cyprès jaune .....	147
IV.3. Analyse globale de la composition chimique par GC–MS et par GC × GC–MS .....	150
IV.4. Isolement et caractérisation des composés inconnus .....	155
IV.5. Analyse quantitative par GC × GC–FID de l'essence de bois de <i>C. nootkatensis</i> .....	166
IV.6. Analyse olfactive de l'huile essentielle de bois de <i>C. nootkatensis</i> et de ses voisins américains – le Cèdre de Virginie et le Cèdre du Texas .....	171
IV.7. Conclusion .....	176
Partie expérimentale : Partie IV .....	177
Chapitre Va : L'huile essentielle de Vétiver : Matière première emblématique et casse-tête du chimiste – <i>Chrysopogon zizanioides</i> .....	194

Va.1. Considérations générales.....	194
Va.2. Etudes antérieures menées sur l'huile essentielle de Vétiver.....	195
Va.3. Etude des dérivés carbonylés de l'huile essentielle de Vétiver par extraction spécifique.....	199
Va.3.1. Extraction sélective des dérivés carbonylés.....	199
Va.3.2. Etude de la composition chimique de la fraction cétonique.....	201
Va.3.3. Analyse quantitative de la fraction cétonique.....	207
Va.3.4. Analyse olfactométrique des dérivés carbonylés.....	212
Va.4. Etude des fractions alcooliques de l'huile essentielle de Vétiver.....	218
V.5. Analyse qualitative et quantitative par GC × GC–MS/FID des huiles essentielles de Vétiver.....	224
Va.6. Conclusion.....	233
Partie expérimentale : Partie Va.....	234
Chapitre Vb : Etude approfondie de la composition chimique des acétates de vétivéryle.....	254
Vb.1. Contexte et considération générale.....	254
Vb.2. Identification des esters de l'acétate de vétivéryle.....	256
Vb.2.1. Identification des esters à travers leur dégradation sur le modulateur.....	258
Vb.2.2. Identification des acétates via leurs alcools parents.....	261
Vb.2.3. Identification des acétates après isolement par GC semi-préparative et/ou synthèse chimique.....	263
Vb.3. Considérations chimiques concernant le procédé de fabrication.....	265
Vb.4. Quantification par GC × GC–FID des constituants des acétates de vétivéryle.....	272
Vb.5. Considérations toxicologiques.....	277
Vb.6. Considérations olfactives.....	283
Vb.7. Conclusion.....	285
Partie expérimentale : Partie Vb.....	287
Chapitre VI : L'huile essentielle d'Agarwood : L'essence des dieux – <i>Aquilaria sp.</i> .....	304
VI.1. Considérations générales.....	304
VI.2. Situation économique et écologique des espèces d' <i>Aquilaria</i> .....	305
VI.3. Étude antérieure de la composition chimique de l'essence d'Agarwood.....	307
VI.4. Analyse GC–MS et GC × GC–MS de l'essence d'agarwood.....	310
VI.5. Isolement et caractérisation des composés cibles.....	317
VI.6. Etude olfactive de l'essence d'agarwood et de ses fractions.....	318
VI.7. Conclusion.....	320
Partie expérimentale : Partie VI.....	322
Conclusion.....	330
Partie expérimentale.....	332

## Glossaire des abréviations

1, 2, 3,... Chiffres utilisés pour les constituants isolés

A, B, C,... Lettres utilisées pour les composés synthétisés, non répertoriés dans les essences

I, II, III,... Chiffres romains pour les composés mentionnés

$[\alpha]_D^{20}$  : Pouvoir rotatoire spécifique défini à 20 °C et à la longueur d'onde D du sodium

$\delta$  : Déplacement chimique

AEDA : *Aroma Extract Dilution Analysis*

CAS RN : *Chemical Abstracts Service Registry Number*

CC : Chromatographie sur colonne ouverte

CCM : Chromatographie sur couche mince

CITES : Convention sur le commerce international des espèces de faune et de flore sauvages menacées d'extinction

COSY : *Correlation Spectroscopy*

DC : Dichroïsme circulaire

DFT : *Density Functional Theory*

DMAPP : Diméthylallyle diphosphate

EI : Impact électronique

équiv. : Équivalent

F : Fraction

FD : Facteur de dilution

FID : Détecteur à ionisation de flamme

FPP : Farnésyl Pyrophosphate

FRR : Facteur de réponse relative

FRRP : Facteur de réponse relative prédit

GC : Chromatographie en phase gazeuse

GC  $\times$  GC : Chromatographie bidimensionnelle intégrale

GC prép. : Chromatographie en phase gazeuse semi-préparative

GC-O : Chromatographie en phase gazeuse couplée à l'olfactométrie

HE : Huile essentielle

HMBC : *Heteronuclear Multiple-Bond Correlation*

HRMS : Spectrométrie de masse haute résolution

HSQC : *Heteronuclear Single Quantum Coherence*

i.d. : Diamètre interne

int. rel. : Intensité relative

IPP : Isopentényle diphosphate

IR : Infrarouge

ISO : *International Organization for Standardization*

$J$  : Constante de couplage

M.A : Moyenne arithmétique

M.M. : Poids moléculaire (en g.mol<sup>-1</sup>)

$m/z$  : Rapport masse sur charge

$M^+$  : Ion moléculaire

MS : Spectrométrie de masse

NOESY : *Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy*

ORD : *Optical rotatory dispersion*

ppm : Partie par million

PSL : Mode d'injection *Pulsed Splitless*  
Q : Quadripôle  
qTOF : Analyseur en tandem quadripôle-temps de vol  
REACH : Règlement européen REACH (*Registration, Evaluation, Authorisation and restriction of CHemicals*) entré en vigueur le 1er juin 2007 au sein de l'Union Européenne  
Rf : Rapport frontal  
RI : Indice de rétention  
RMN : Résonance magnétique nucléaire  
ROESY : *Rotating frame Overhauser Effect Spectroscopy*  
S/N : Rapport signal sur bruit  
S/SL : Mode d'injection *Split/Splitless*  
T.A. : Température ambiante  
THF : Tétrahydrofurane  
TIC : *Total ion chromatogram*  
TOCSY : *Total Correlated Spectroscopy*  
*tr* : Temps de rétention  
UICN : Union Internationale pour la Conservation de la Nature  
UV : Ultraviolet

## Introduction

Un parfum est une composition mêlant à la fois des ingrédients d'origine naturelle et synthétique. Parmi les extraits naturels utilisés par les professionnels de la parfumerie on retrouve des huiles essentielles, des concrètes, des absolues ou encore des extraits CO<sub>2</sub>. Ces extraits sont généralement constitués de plusieurs dizaines de constituants. D'un point de vue biochimique, beaucoup parmi ces molécules sont issues plus ou moins directement de voies enzymatiques et ces molécules sont souvent regroupées sous le terme de « métabolites ». En fonction de leur implication au niveau des processus biochimiques de leur organisme d'origine, ils sont considérés soit comme des métabolites primaires (acides aminés, acides gras, sucres, etc.) soit comme des métabolites secondaires. Les molécules d'intérêt pour la chimie des parfums sont souvent issues de cette dernière classe, et elles appartiennent la plupart du temps à deux grandes familles, les isoprénoïdes, communément appelés terpènes et les phénylpropanoïdes, issus de la biosynthèse des plantes (Schéma 1).

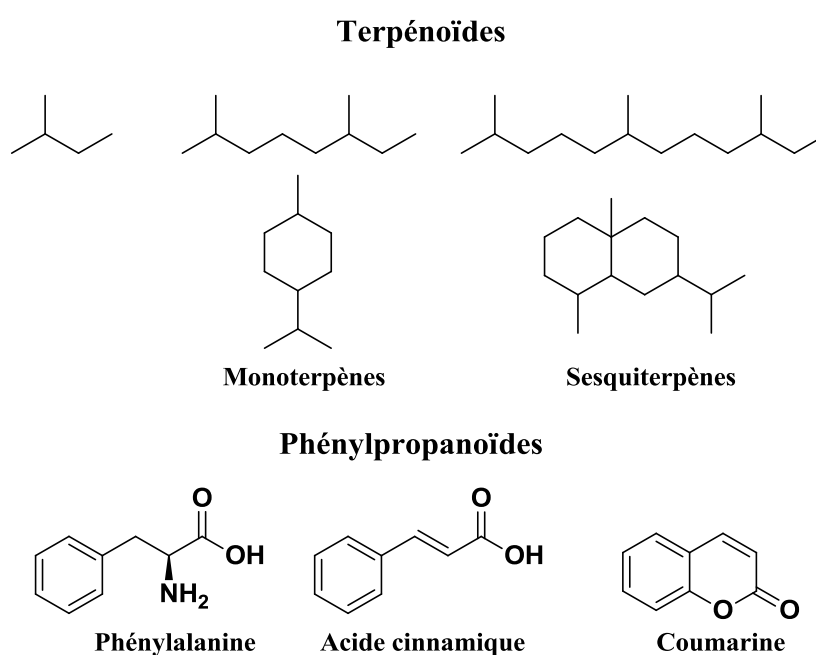


Schéma 1. Grandes familles de composés identifiés dans les extraits naturels.

Alors que les extraits au solvant (les concrètes, par exemple) contiennent majoritairement des composés non-volatils, les huiles essentielles sont quant à elles composées de molécules volatiles. Ces métabolites secondaires volatils sont produits par la plante dans le

but de se défendre contre les nuisibles, de communiquer et/ou de se reproduire. Les molécules ainsi produites peuvent aussi avoir des propriétés olfactives très intéressantes pour les industriels de la parfumerie. Ainsi, les différentes matières premières sont communément catégorisées en fonction de leur odeur principale (florale, boisée, épicée, sucrée, fruitée, hespéridée, etc.) et sont utilisées en fonction de leur volatilité.

Les matières premières à odeur boisée regroupent des ingrédients emblématiques de la parfumerie tels que le bois de Santal, le bois de Cèdre, le Vétiver ou encore le Patchouli. En effet, les boisés sont utilisés en grande quantité par l'industrie du parfum. Parmi ces boisés, les cèdres de Virginie, du Texas et de Chine sont les plus demandés (~ 2 200 tonnes/an). Bien que leurs huiles essentielles entrent dans plusieurs compositions parfumées, elles sont principalement utilisées pour la fabrication de l'acétate de cédrène et de thujopsène (Lixetone® ou Vertofix®). Tous deux possèdent des notes boisées plus intenses que l'huile essentielle d'origine (Schéma 2).

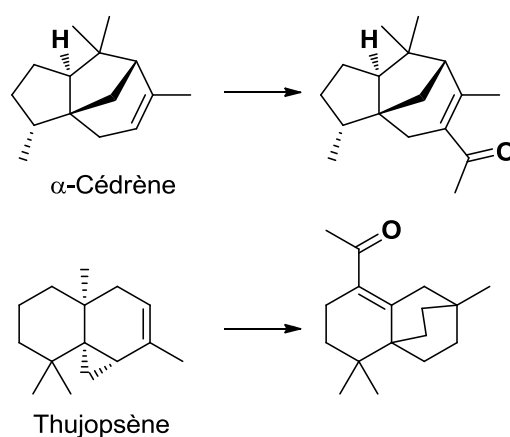


Schéma 2.  $\alpha$ -Cédrène et thujopsène, composés majoritaires des essences de Cèdres (Virginie, Texas et Chine) utilisés pour la fabrication du Vertofix®.

Les essences boisées sont généralement obtenues à partir d'arbres dont le bois est chargé en résine, comme le bois de Santal. Plus l'arbre est âgé, plus le bois est enrichi en résine, plus il est odorant et plus il est recherché. Toutefois, certaines de ces essences boisées proviennent de végétaux autres que les arbres. En effet, l'huile essentielle de Vétiver est obtenue à partir de la distillation des racines d'une graminée, ou encore l'huile essentielle de Patchouli qui est produite à partir des feuilles séchées d'une plante issue de la famille des lamiacées.

La famille des boisés se distingue principalement par la composition chimique de ces essences, laquelle est principalement constituée de sesquiterpènes qui sont des terpènes possédant quinze atomes de carbones (Schéma 1). En conséquence directe de la présence de ces composés, il n'est pas étonnant que les boisés soient généralement utilisés comme note de fond dans les compositions de parfums. Cependant, la présence de sesquiterpènes induit une certaine complexité moléculaire qui est directement liée à la biosynthèse de ces molécules. A la différence des monoterpènes qui comptent entre deux et trois centres stéréogéniques, les sesquiterpènes possèdent souvent plus de trois centres chiraux. D'un point de vue biosynthétique, les sesquiterpènes sont issus d'une cascade de réactions enzymatiques partant de l'isoprényle diphosphate (IPP) et du diméthylallyle diphosphate (DMAPP) pour conduire au précurseur commun constitué de trois unités isopréniques, le farnésyl pyrophosphate (FPP) (Schéma 3). La transformation enzymatique de ce précurseur conduit via des réarrangements carbocationiques à des squelettes différents avec divers degrés de cyclisation (voir les chapitres suivants).

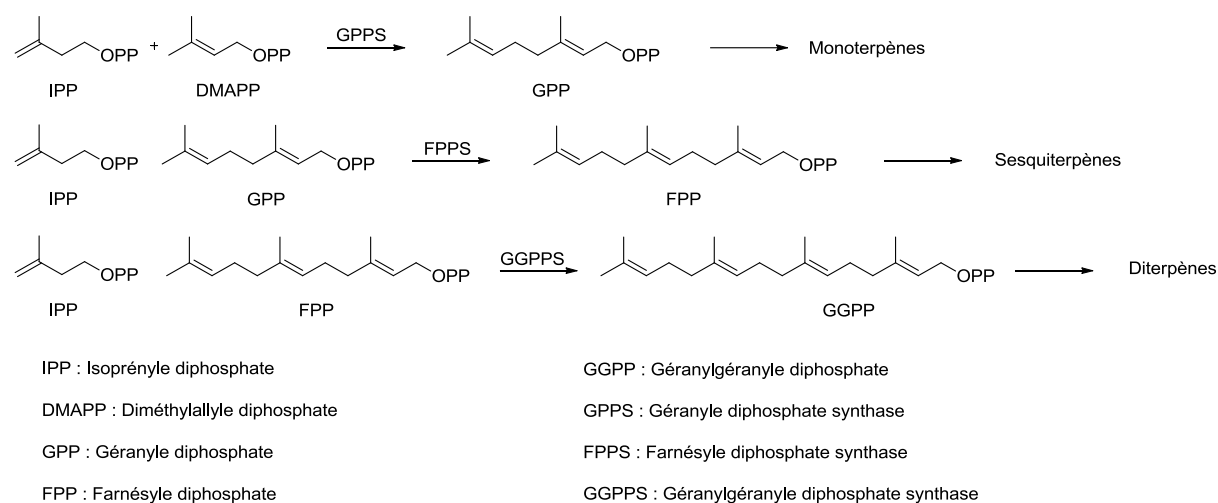


Schéma 3. Résumé de la voie biosynthétique des différents isoprénoïdes précurseurs des monoterpènes, sesquiterpènes et diterpènes.

La complexité des transformations enzymatiques est propre à chaque espèce et dépend de la machinerie enzymatique qu'elle possède. En effet, en s'appuyant sur les données de la littérature, on peut s'apercevoir que les huiles essentielles de bois de Santal ou bien de bois de Cèdre sont composées principalement de deux à trois squelettes différents. On atteint un degré de complexité beaucoup plus important pour une huile essentielle de Vétiver qui peut compter plus de vingt squelettes différents. En plus de cette variété structurale, des phénomènes

chimiques (isomérisation, épimérisation, oxydation, etc.) peuvent se produire à l'intérieur et/ou à l'extérieur de la plante conduisant ainsi à une diversité et une complexité moléculaire plus importante. Il est à noter que les procédés d'extraction des substances à partir du matériel végétal sont eux-mêmes susceptibles d'induire des modifications chimiques sur les composés présents initialement. De fait, la complexité moléculaire de ces essences rend l'analyse de leur composition chimique extrêmement compliquée.

Dans un contexte où la réglementation sur les ingrédients de parfums devient de plus en plus stricte, il était opportun d'améliorer la caractérisation de ces mélanges complexes. Pour cela, le développement des techniques analytiques a permis aux analystes d'avoir les outils nécessaires pour caractériser ces extraits naturels complexes. Malgré l'amélioration considérable des connaissances sur la chimie des sesquiterpènes, il existe encore un manque de caractérisation chimique pour plusieurs extraits naturels, et en particulier pour les ingrédients utilisés par l'industrie des parfums.

Cette thèse s'inscrit donc dans une thématique d'étude des substances à odeur boisée démarrée en 2008 au sein de notre laboratoire. Les travaux précédents se sont principalement axés autour de l'analyse de l'essence de Vétiver et de ses produits dérivés. Il m'a été proposé d'étendre l'étude à un éventail plus important de matières premières tout en combinant plusieurs approches analytiques, avec notamment le ciblage des composés odorants par des techniques olfactométriques. Les objectifs étaient multiples :

- Obtenir une meilleure caractérisation des matières premières à odeur boisée
- Cibler les composés odorants d'impact
- Valoriser ces résultats par l'identification et la synthèse des molécules cibles

Cette thèse s'inscrit donc à la convergence entre le développement analytique et la synthèse de molécules olfactives. La chromatographie bidimensionnelle (GC × GC) s'est avérée être un outil performant et son utilisation permet de s'apercevoir de la réelle complexité de ces essences. L'analyse olfactométrique (GC-O/FID) permet de décomposer et d'évaluer les différentes odeurs présentes au sein d'un extrait. Toutefois, l'attribution d'une odeur à une molécule est parfois difficile. Alors que les composés majoritaires sont également les composés odorants d'impact pour une essence de bois de Santal, la détermination des composés odorants pour une huile essentielle Vétiver est un véritable casse-tête (Figure 1).



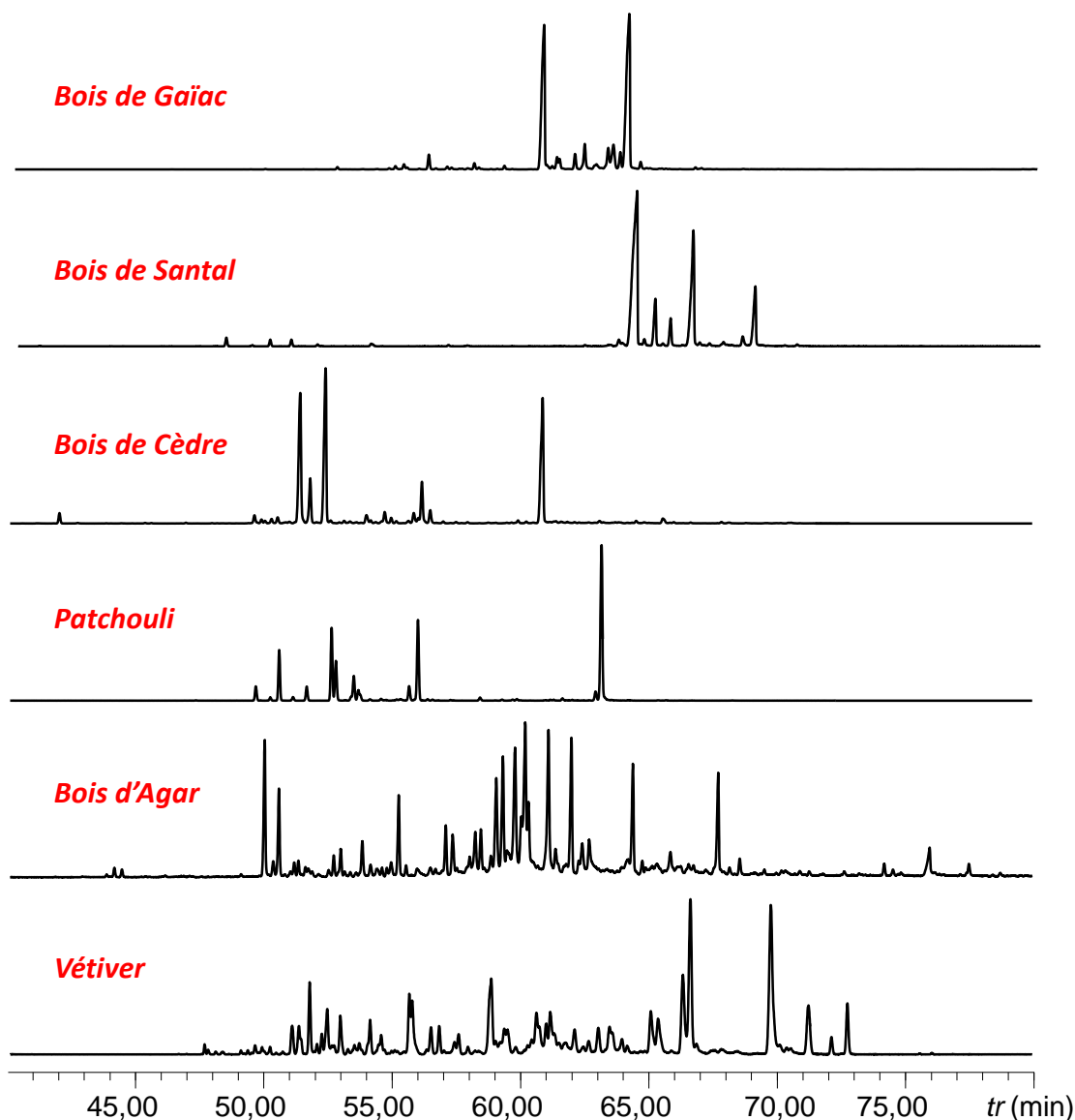


Figure 1. Analyse GC–MS de différentes huiles essentielles à odeur boisée.

Ainsi, afin d'identifier les molécules odorantes, il est nécessaire de procéder à leur isolement. L'utilisation de la GC semi-préparative s'avère être un outil particulièrement performant pour isoler les composés minoritaires. La caractérisation de ces composés est généralement effectuée par RMN. Toutefois, la configuration absolue de ces composés de faible masse moléculaire, tels que les sesquiterpènes, est souvent un problème. La plupart des sesquiterpènes possèdent plusieurs carbones asymétriques rendant leur synthèse difficile. D'un point de vue stéréochimique, la cristallographie par rayons X est la méthode de choix pour déterminer sans ambiguïté à la fois la structure et la configuration absolue d'un composé organique. Cependant, les composés isolés à partir d'huiles essentielles cristallisent rarement, même sous leur forme pure. En combinant plusieurs techniques spectroscopiques (RMN, UV,

IR, ORD et DC), il est souvent possible de caractériser leur configuration relative avec précision. Même si les calculs DFT peuvent permettre une confirmation des mesures expérimentales, la détermination finale de la configuration absolue n'est pas toujours possible. En parallèle à une approche purement spectroscopique, l'hémisynthèse de composés-cibles, à partir de produits ayant des propriétés chiroptiques bien établies, est une alternative particulièrement judicieuse. Néanmoins, cette approche synthétique n'est valable que si l'intégrité d'au moins un ou deux centres stéréogéniques est maintenue au cours de la(des) transformation(s) chimique(s). Ces configurations intactes serviront de bases stéréochimiques et les configurations modifiées pourront ainsi être déduites avec l'examen des spectres NOESY/ROESY. Ainsi, la configuration absolue n'a pas pu être définie pour les constituants étudiés dans cette thèse. Toutefois, la configuration relative a été déduite des considérations biosynthétiques décrites ci-dessus et sur la base de la configuration absolue des composés majoritaires de l'essence, lorsqu'elle était disponible.

Parmi les huiles essentielles au programme de cette thèse, nous avons entrepris d'améliorer nos connaissances sur les essences de bois de Gaïac (*Bulnesia sarmientoi*), de bois d'Araucaria (*Callitris pancheri*), de Patchouli (*Pogostemon cablin*), de bois de cyprès jaune d'Alaska (*Callitropsis nootkatensis*), de Vétiver (*Chrysopogon zizanoides*) et de son équivalent acétylé, mais aussi de bois d'Agar (*Aquilaria sp.*). L'idée principale de cette thèse repose sur le fait que toutes ces matières premières possèdent des machineries enzymatiques suffisamment proches pour conduire à des dérivés sesquiterpéniques communs (Figure 2).

Directement après à la première étape de cyclisation du farnésyl pyrophosphate, on obtient deux voies biosynthétiques différentes conduisant d'une part au squelette germacrane et d'autre part au squelette bisabolane. Le germacrane est à l'origine de la formation des guaïanes et des eudesmanes, qui eux-mêmes sont à l'origine des patchoulanes et des érémosphilanes/vétispiranes. Le squelette bisabolane mène à la formation de plusieurs types de sesquiterpènes dont les plus identifiés sont les acoranes et les cuparanes. Les acoranes conduisent à la formation des cédranes, identifiés principalement dans les essences de Cèdres américains (*Juniperus sp.*) et, dans une moindre mesure, dans l'essence de Vétiver. Cette proximité chimique et biogénétique entre les différentes matières premières offre un point de convergence évident. Cela facilite ainsi l'identification croisée et peut aussi permettre de développer des voies de synthèse pour l'obtention de composés standards, voire d'envisager

de nouvelles voies de valorisation permettant l'obtention de molécules odorantes à haute-valeur ajoutée à partir de ces mêmes matières premières.

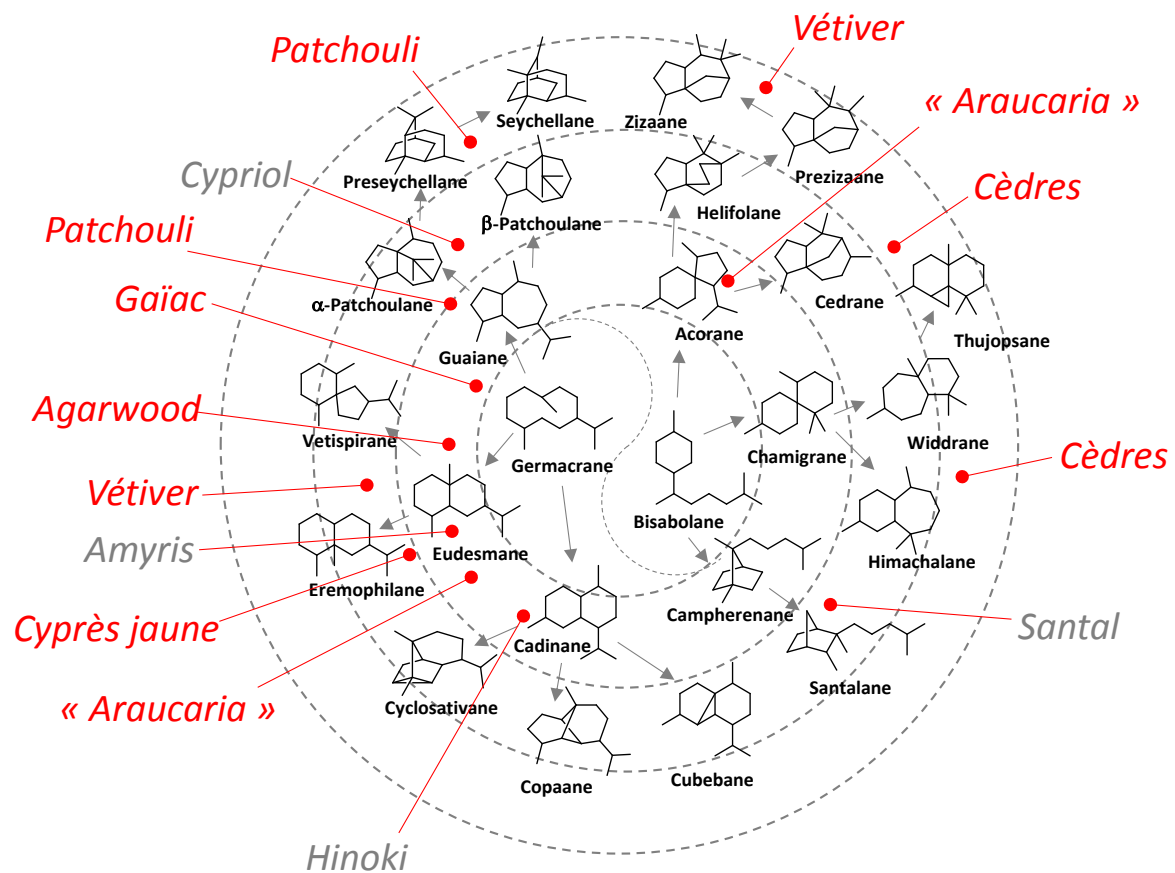


Figure 2. Proximité structurale des différentes essences à odeur boisée à l'étude.

Ces trois idées fondatrices sont au cœur-même de ce projet de thèse. La connaissance précise des compositions chimiques et des composés odorants est donc un prérequis nécessaire à toute démarche de valorisation. Le travail analytique constitue donc l'essentiel de ce mémoire.

Ce mémoire de thèse a été organisé en chapitres indépendants dans un souci de clarté et de lisibilité. Chacun possède donc sa partie expérimentale et sa bibliographie. Seule la numérotation des composés a été maintenue tout au long du texte de manière à mieux visualiser les molécules partagées par les différentes matières premières étudiées.

Chapitre I. La première étude a été menée sur l'huile essentielle de Gaïac, laquelle avait fait l'objet d'une étude lors d'un stage de Master 1, effectué par Stéphane Vician. L'étude avait soulevé un manque important de caractérisation chimique pour cette essence et une complexité

moléculaire peu visible lors de son analyse par GC conventionnelle. A notre connaissance, aucune étude olfactive n'avait été réalisée sur cet extrait.

Chapitre II. Nous nous sommes ensuite tournés vers une essence oubliée de l'industrie des parfums, l'essence d'Araucaria. Cette étude a fait l'objet d'un stage de Master 1, effectué par Damien Dalleau. Très peu d'études ont été réalisées sur cette essence, malgré tout, le peu d'information rapportée sur elle nous a permis de souligner une certaine similarité avec la composition chimique de l'huile essentielle de bois de Gaïac. Une fois de plus, aucune étude olfactive n'avait été rapportée.

Chapitre III. Parmi les matières premières étudiées, nous nous sommes intéressés à l'huile essentielle de Patchouli et à son équivalent biosynthétique, le Clearwood<sup>®</sup>. L'étude a été initiée par Mathieu Agostini à l'occasion de son stage de Master 1. Bien qu'ils soient des ingrédients communément utilisés par l'industrie des parfums, son essence ainsi que le Clearwood<sup>®</sup> manquaient d'une caractérisation chimique poussée au niveau de leurs constituants minoritaires. Les odorants étant déjà bien connus, nous avons voulu confirmer les résultats des études olfactives antérieures.

Chapitre IV. Une étude a également été menée sur une matière première, peut-être en devenir, l'huile essentielle de *C. nootkatensis*. Petit trésor trouvé au fond des tiroirs, nous avons réalisé une étude exploratoire de cette essence et elle a révélé un fort potentiel en termes de composition chimique. Elle a montré la particularité de posséder à la fois des sesquiterpènes comme les autres matières premières à odeur boisée (avec un taux important de nootkatone) mais aussi des monoterpènes principalement aromatiques. Très peu d'études rapportent sa composition chimique et aucune étude olfactive n'a été rapportée à notre connaissance.

Chapitre V. En plus de l'huile essentielle de Patchouli, nous nous sommes intéressés à une autre matière première emblématique, l'huile essentielle de Vétiver et à son dérivé majeur l'acétate de vétivéryle. Dans la continuité des recherches précédentes sur cette essence, cette étude comprend l'extraction sélective et l'analyse des dérivés carbonylés du Vétiver qui a fait l'objet du stage de Master 2 de Mathieu Agostini, mais aussi d'une identification plus aboutie des alcools tertiaires présents dans cette essence. L'analyse croisée des différentes matières premières au programme de cette thèse a permis de confirmer ou de réfuter la présence de composés communs. De plus, dans un contexte où l'acétate de vétivéryle était sous surveillance par les autorités européennes (REACH), il a été nécessaire de parachever l'étude de cette substance. Il était important de donner plus d'informations sur l'influence des procédés de

fabrication sur la composition chimique mais également sur la composition chimique elle-même de ce produit économiquement important.

Chapitre VI. En dernier lieu, nous avons commencé une étude exploratoire sur une des matières premières les plus prisées du moment mais aussi l'une des plus chères du marché, l'huile essentielle d'Agarwood. Cette étude a fait l'objet d'un stage de Master 1, par Sara Lachegur. L'étude bibliographique donne un aperçu du nombre important d'articles traitant de cet extrait. Sachant que l'Agarwood peut être obtenu à partir de plusieurs espèces d'*Aquilaria*, il est difficile de tracer l'origine et la qualité de l'extrait, même pour des professionnels du milieu. Toutefois, on peut remarquer que cette essence est composée en grande partie de sesquiterpènes dont les squelettes sont communs à plusieurs essences étudiées dans cette thèse. Ainsi, bien que plusieurs études olfactives aient été réalisées sur cet extrait, nous avons voulu confirmer la véracité des descriptions olfactives données pour ces composés et de nous faire notre propre idée des composés odorants de cette essence.

## Chapitre I : L'huile essentielle de bois de Gaïac : L'excellence de la note de fond rosée – *Bulnesia sarmientoi*

### I.1. Considérations générales

*Bulnesia sarmientoi* Lorentz ex. Griseb est un arbre endémique d'Amérique latine et plus spécifiquement implanté dans la région du Gran Chaco, partagée entre l'Argentine, la Bolivie, le Brésil et le Paraguay. Cet arbre est localement connu comme « Palo Santo » (c'est-à-dire, bâton/mât sacré). Ce nom trivial est parfois source de confusion car il se réfère également à un arbre d'Amérique centrale, *Bursera graveolens*.<sup>1</sup> Le bois de Gaïac (Guaiacwood en anglais) fournit un bois dense, dur et quasiment imputrescible. Il est ainsi principalement utilisé dans la fabrication de parquets, de clôtures pour le bétail, et également dans divers pièces d'artisanat. De plus, ce bois, particulièrement riche en résine, est utilisé par la population locale en médecine traditionnelle afin de guérir et prévenir diverses maladies, telles que les maux d'estomac et les rhumatismes. Comme l'encens, il peut être simplement brûlé pour purifier l'atmosphère ambiante et repousser les nuisibles.<sup>2</sup> Historiquement, l'exploitation forestière du bois de Gaïac a toujours été liée à l'industrie du parfum. En effet, l'essence de bois de Gaïac est considérée comme un sous-produit de l'industrie forestière. La distillation à la vapeur de la sciure et/ou des écarts de scierie donne une huile essentielle visqueuse, jaune à verdâtre, qui se solidifie après quelques semaines de stockage à température ambiante (Rendement 3,0 à 6,0 %). En tant qu'ingrédient de parfums, l'essence de bois de Gaïac est décrite comme possédant une odeur boisée/fumée délicate mais extrêmement tenace, avec des notes distinctes qui évoquent la rose et la violette.<sup>3,4</sup> Ainsi, elle se marie particulièrement bien dans des compositions de type rosées, où elle est principalement utilisée comme note de fond et comme fixateur.

En raison d'une demande croissante en bois, venant principalement du marché asiatique (Chine), et en raison d'une déforestation importante liée à l'agriculture intensive en Amérique Latine,<sup>5-8</sup> *B. sarmientoi* est aujourd'hui considéré comme une espèce menacée. A ce titre, cette espèce figure dans l'annexe II de la CITES afin de réglementer son commerce au niveau mondial.<sup>9,10</sup>

## I.2. Étude antérieure de la composition chimique de l'huile essentielle de bois de Gaïac

Comme la plupart des huiles essentielles à odeur boisée (voir Chapitres suivants), l'essence de bois de Gaïac est composée en grande partie de molécules sesquiterpéniques, distribuées en deux familles biosynthétiquement liées : les guaïanes et les eudesmanes. Au sein des sesquiterpènes, le squelette guaïanique est probablement l'une des structures de base les plus répandues. En effet, le guaïol (**74**), un alcool tertiaire bicyclique, a été l'un des tout premiers guaïanes identifiés dans la nature,<sup>11,12</sup> celui-ci étant facilement obtenu en relativement bonne pureté à partir de l'essence de Gaïac par recristallisation. Le nom générique guaïane a été par la suite donné à toute une famille de sesquiterpènes partageant le même squelette de base 7-isopropyl-1,4-diméthyl-décahydroazulénique. La chimie analytique et la synthèse organique ont évolué depuis ces premières études, et maintenant, la famille des guaïanes englobe plusieurs centaines de membres d'origine synthétique ou bien identifiés dans des extraits naturels. Certains composés tels que les guaïanolides possèdent certaines activités biologiques,<sup>13,14</sup> tandis que d'autres trouvent des applications spécifiques dans le domaine des arômes et parfums, comme la rotundone (**269**) ou des dérivés issus de l'auto-oxydation de l' $\alpha$ -guaïène (**14**).<sup>15-17</sup> Bien que les guaïanes aient attiré l'intérêt de nombreux scientifiques dans le monde entier, l'huile essentielle de bois de Gaïac, qui est la matrice à l'origine de cette nomenclature, n'a pas bénéficié d'une analyse chimique approfondie.

Les premières analyses menées par Sorm et son équipe et par Bates et Slagel dans les années 1960 ont permis d'identifier les deux principaux constituants comme étant deux dérivés guaïaniques : le guaïol (**74**) et le bulnésol (**111**).<sup>18,19</sup> En plus du guaïol et du bulnésol, Bates et Slagel identifient également pour la première fois l' $\alpha$ -guaïène (**14**), l' $\alpha$ -bulnésène (**42**), le  $\beta$ -bulnésène (**65**) qui sont issus de la déshydratation du guaïol et du bulnésol, ainsi que le  $\beta$ -patchoulène (**9**) et le guaïoxide (**37**). Plus tard, les études menées par les équipes de Prudence en 1991,<sup>20</sup> de Rodilla en 2011,<sup>21</sup> et de Schmidt et de Groot en 2016<sup>22</sup> confirment que cette essence contient majoritairement du guaïol et du bulnésol, représentant environ 70 % (*m/m*) de l'essence, ainsi que des alcools tertiaires à squelette eudesmane et élémmane tels que le  $\beta$ -élémol (**61**), l' $\alpha$ -eudesmol (**107**), le  $\beta$ -eudesmol (**108**), le 10-*épi*- $\gamma$ -eudesmol (**87**) et le  $\gamma$ -eudesmol (**89**) (Schéma 4). De plus, ils identifient des hydrocarbures minoritaires de type eudesmane, bergamotane, et caryophyllane. Cependant, la présence de certains composés reste à confirmer.

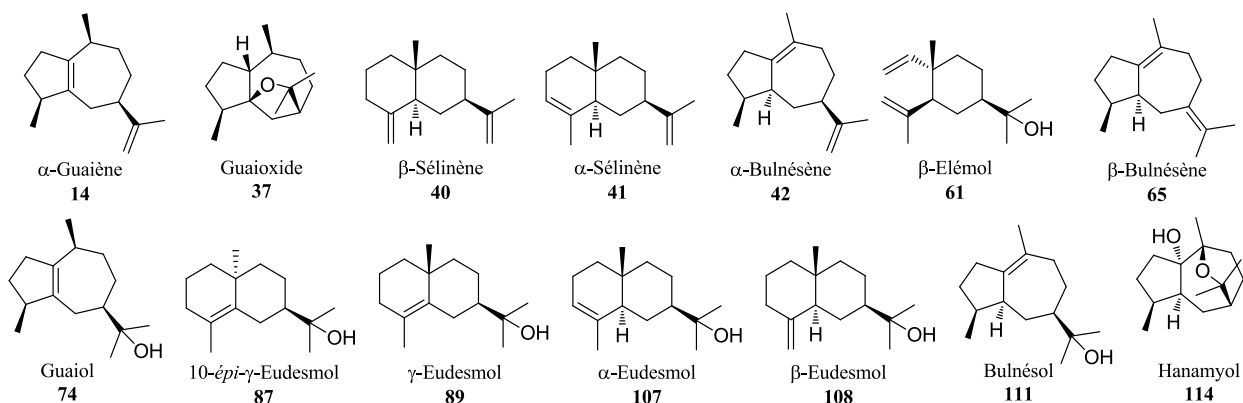


Schéma 4. Sesquiterpènes communément identifiés dans l'huile essentielle de bois de Gaïac.

A la lumière de ces études, et particulièrement celle menée par l'équipe de Rodilla, l'essence de Gaïac affiche une complexité moléculaire inattendue et intrigante liée à la présence de plusieurs éthers et alcools sesquiterpéniques inconnus. De plus, bien que l'essence de Gaïac soit un ingrédient couramment employé dans la création de parfum, à notre connaissance, aucune étude olfactométrique n'a été réalisée sur cette huile essentielle si bien que ses composés odorants d'impact sont encore inconnus.

Ainsi, nous avons entrepris de réaliser une étude approfondie de sa composition chimique à l'aide d'une méthodologie analytique combinant fractionnement conventionnel (chromatographie sur colonne ouverte notamment) et techniques chromatographiques modernes. L'analyse qualitative a été réalisée par chromatographie en phase gazeuse bidimensionnelle intégrale couplée à la spectroscopie de masse (GC × GC–MS), tandis que l'analyse quantitative a été faite par GC × GC couplée à un détecteur par ionisation de flamme (FID) sur deux échantillons d'huile essentielle. L'utilisation de la chromatographie en phase gazeuse semi-préparative (GC-prép) a permis l'isolement de 41 composés, dont 31 nouveaux. De plus, nous décrivons également l'identification des composés odorants d'impact de l'essence de Gaïac via l'utilisation de la chromatographie en phase gazeuse couplée à l'olfactométrie (GC–O/MS et GC–O).

### I.3. Analyse globale de la composition chimique de l'essence de bois de Gaïac

L'analyse qualitative par GC–MS a conduit à l'identification des hydrocarbures, des éthers et des alcools tertiaires publiés antérieurement. Le guaiol (**74**) et le bulnésol (**111**) sont en effet les deux alcools majoritaires de l'essence. Néanmoins, les analyses GC–MS, même



effectuées avec des phases stationnaires polaires et apolaires, ne permettent pas de déterminer correctement tous les constituants mineurs. En effet, plusieurs co-élutions ont été observées dans certaines parties du chromatogramme, notamment celles où les constituants majeurs éluent. Ainsi, nous avons opté pour l'utilisation de la chromatographie bidimensionnelle en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC × GC-MS), laquelle est particulièrement adaptée à l'analyse des matrices complexes, afin de mieux visualiser les composés minoritaires au sein de nos échantillons.

De ce fait, l'analyse par GC × GC-MS a permis d'obtenir une information détaillée de la composition chimique de l'essence de Gaïac. Cette analyse a conduit à une distribution des analytes dans deux régions chromatographiques distinctes : la première contenant les hydrocarbures et les éthers (RI<sub>VF-5ms</sub> 1350–1600), la seconde regroupant les alcools tertiaires et les dérivés bifonctionnalisés, tel que l'hanamyol (**114**) (RI<sub>VF-5ms</sub> 1550–1800) (Figure 3).

Dans la zone de faible polarité (RI 1350–1600), on identifie rapidement l'ensemble des hydrocarbures déjà reportés dans l'essence de Gaïac, ainsi que la présence de plusieurs hydrocarbures minoritaires identifiables par comparaison de leur spectre de masse et de leur indice de rétention avec ceux de la littérature. De plus, des molécules possédant des ions moléculaires (M<sup>+</sup>) à  $m/z = 220$  et  $222$  sont autant d'éthers sesquiterpéniques potentiellement inconnus. Une première étape dans l'identification de ces éthers a consisté à explorer le chromatogramme bidimensionnel au moyen d'extraction d'ions spécifiques (Figure 4). Ainsi, la présence de guaioxide (**37**), de *trans*- (**44**) et de 4-*épi-trans*-dihydroagarofurane (**47**) et celle d'un éther, initialement identifié comme le kessane, a été détectée par extraction d'ions à  $m/z = 222$  et  $207$  à partir du *TIC* bidimensionnel (Figure 4A). Ces derniers produits ont été provisoirement identifiés sur la base de (a) leurs spectres de masse et (b) de leurs indices de rétention, néanmoins, leur identification finale en tant que *trans*-dihydroagarofurane (**44**) et 4-*épi-trans*-dihydroagarofurane (**47**) n'a été validée que par spectroscopie RMN du <sup>13</sup>C (voir Partie Exp.). Par ailleurs, leur présence a pu être corroborée en considérant leur formation par cyclisation du 10-*épi-γ*-eudesmol (**87**), également présent dans notre échantillon. Il est à noter que la présence des structures « type agarofurane » est établie ici pour la première fois dans l'essence de Gaïac.

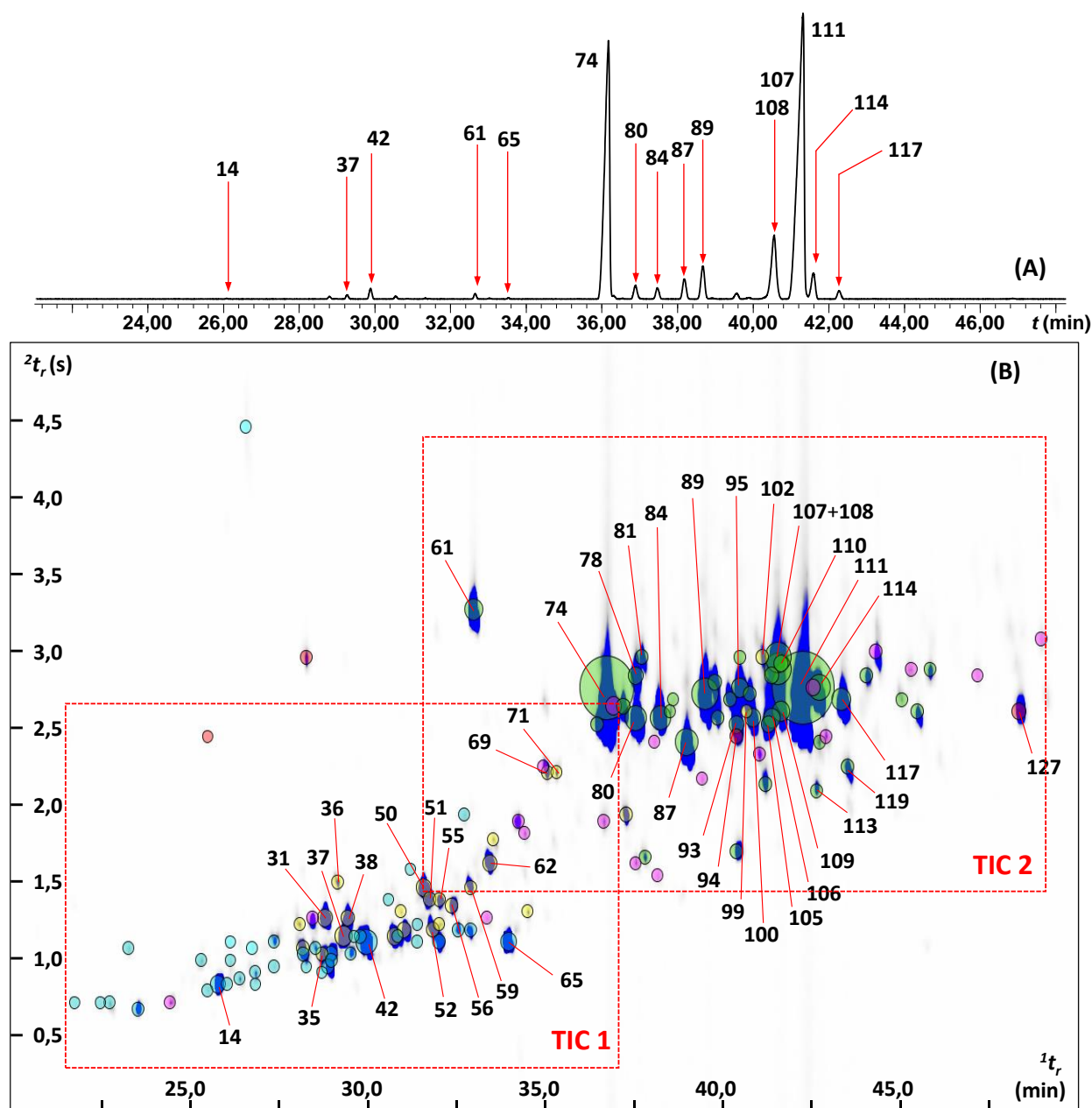


Figure 3. (A) Analyse GC–MS de l’huile essentielle de bois de Gaïac pointant les principaux constituants, (B) Analyse GC × GC–MS du même échantillon. Les hydrocarbures apparaissent sous la forme de cercle bleu, les éthers sont en jaune, les cétones en rouge et les alcools et époxyalcools tels que **114** sont affichés en vert. Les cadres en pointillés nommés ici TIC 1 (RI environ 1350–1600) et TIC 2 (RI environ 1550–1800) sont utilisés sur la Figure 4 pour afficher les expansions du chromatogramme 2D en utilisant les traces ioniques spécifiques.

De plus, le composé **52** fournit donc un spectre de masse et un indice de rétention sur phase stationnaire apolaire (HP-5) très similaire au kessane, composé isolé de l’essence de racines de valériane japonaise.<sup>23</sup> Cependant, son indice de rétention sur phase stationnaire polaire diffère significativement. En effet, le kessane est décrit pour avoir un indice de rétention sur phase polaire (PEG) de 1779,<sup>24</sup> tandis que le composé inconnu **52** affiche un RI (Wax) de 1733.

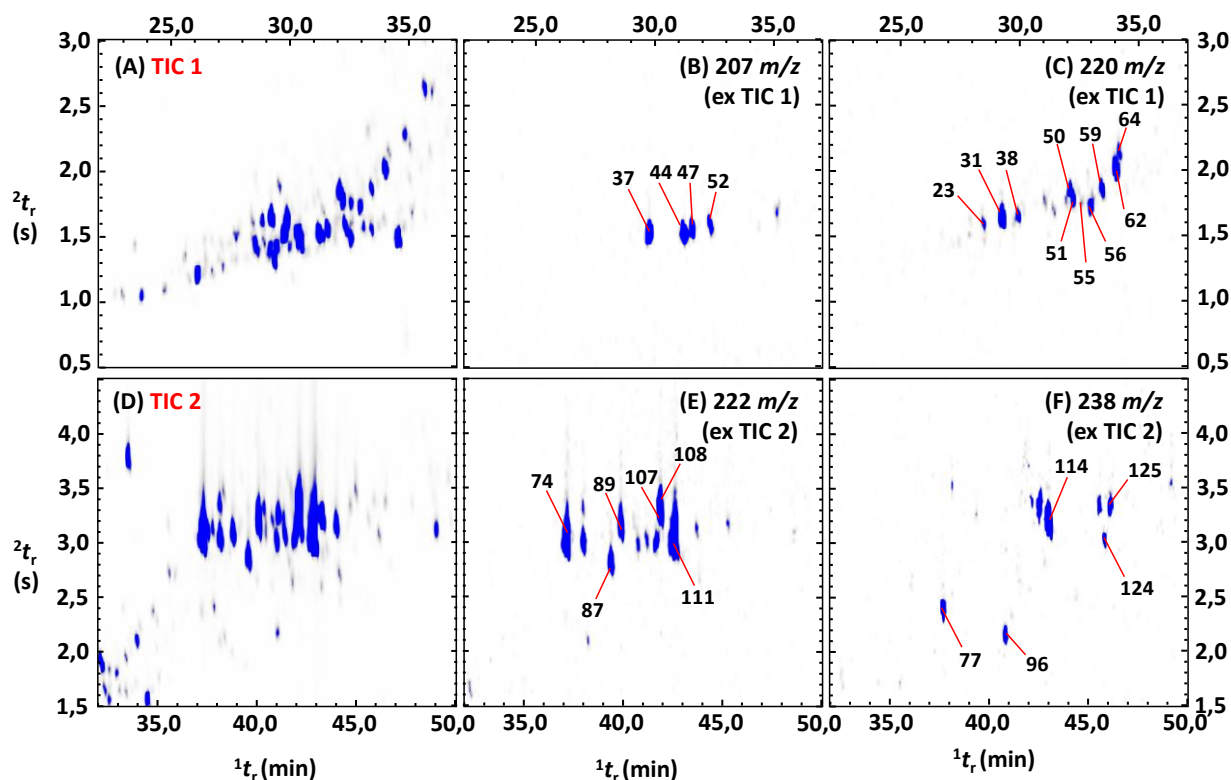


Figure 4. TIC 1 et TIC 2 correspondent aux cadres en pointillés représentés sur la Figure 3, respectivement (A) représente la zone d'élution des composés de faible polarité (RI 1350–1600) et (D) la zone d'élution des constituants plus polaires (RI 1550–1800). (B) Extraction des ions à 207  $m/z$  du TIC 1 montrant les éthers sesquiterpéniques saturés comme le guaïoxide (**37**). (C) Extraction des ions à 220  $m/z$  du TIC 1 montrant la série des éthers sesquiterpéniques insaturés comme **31**. (E) Extraction des ions à 222  $m/z$  du TIC 2 montrant les principaux alcools sesquiterpéniques. (F) Extraction des ions à 238  $m/z$  du TIC 2 pointant les époxyguaïanols saturés comme l'hanamyol (**114**).

Cette différence d'indice de rétention est suffisante pour confirmer que **52** est un isomère du kessane. Après isolement par GC semi-préparative, cette observation a été confirmée par comparaison de leurs déplacements respectifs en RMN du  $^{13}\text{C}$  (voir section I.4.1). L'extraction sélective des ions à  $m/z = 220$  dans la première zone d'élution fournit des indices utiles pour la localisation correcte de certains composés, notamment celle des éthers sesquiterpéniques insaturés (Figure 4C). Ainsi, une série importante de pics a pu être détectée, indiquant la présence de plusieurs éthers sesquiterpéniques inconnus de nos bases. De plus, lors de l'extraction des ions à  $m/z = 220$ , on identifie clairement la présence d' $\alpha$ -agarofurane (**64**) et de son isomère (**46**), isolé de l'huile essentielle de *Callitris pancheri* (Chapitre II).

Dans la seconde partie du chromatogramme, on retrouve les différents alcools tertiaires sesquiterpéniques possédant des squelettes eudesmane ou guaïane, notamment l' $\alpha$ -eudesmol (**107**), le  $\beta$ -eudesmol (**108**), le  $\gamma$ -eudesmol (**89**), le 10-*épi*- $\gamma$ -eudesmol (**87**), le  $\beta$ -élémol (**61**), ainsi que le guaïol (**74**) et le bulnésol (**111**). En plus de ces alcools tertiaires déjà identifiés dans

l'essence de Gaïac, l'analyse bidimensionnelle a permis de mettre en évidence la présence de plusieurs alcools tertiaires minoritaires inconnus, éluant entre le guaiol et le bulnésol. Par ailleurs, la présence de plusieurs composés bi-fonctionnels, comme l'hanamyol (**114**), ont été détectés lors de l'exploration à  $m/z = 238$  (Figure 4F). Hormis **114**, aucun d'entre eux n'a pu être identifié sur la base de leur spectre de masse et de leur RI.

Ainsi, afin d'identifier les nombreux composés minoritaires éluant parmi les éthers et les alcools tertiaires, notre échantillon d'huile essentielle de bois de Gaïac a été fractionnée sur colonne de silice afin de procéder à leur isolement.

#### I.4. Isolement et caractérisation des composés inconnus de l'essence de bois de Gaïac

##### I.4.1. Identification des éthers inconnus

L'essence de bois de Gaïac a été d'abord séparée en huit fractions (F1–F8) par chromatographie sur colonne de gel de silice en utilisant des solvants de polarité croissante (Figure 5). La fraction F2 contenait la plupart des éthers sesquiterpéniques, accompagnés d'un peu de guaiol (**74**). La fraction F2 a ensuite été séparée en plusieurs sous-fractions par chromatographie répétée sur colonne de gel de silice imprégnée de nitrate d'argent (5 %,  $m/m$ ). Les sous-fractions suffisamment enrichies en un ou plusieurs constituants inconnus ont finalement été regroupées afin d'être exploitées en GC semi-préparative pour tenter d'isoler les composés cibles. Au total, 17 éthers présents initialement entre 0,1 % et 0,9 % dans notre échantillon ont été isolés et entièrement caractérisés par RMN (voir Partie Exp.). On remarque rapidement que l'ensemble des composés isolés sont répartis en trois familles, les éthers guaïaniques portant la fonction époxyde branchée sur les positions #5 et #11 comme pour le guaïoxide (**37**), ceux ayant la fonction époxyde branchée en position #10 et #11, identique à l'hanamyol (**114**), ou enfin, une série de dérivés à squelette 5,11-époxycaïnane (**69**, **71**, **99** et **102**).

Des constituants supplémentaires ont également été identifiés tels que le  $\beta$ -kessane (**35**), avec une fonction 7,10-époxyde, et le nouveau 4,5;5,11-di-époxy-*seco*-guaïane (**77**). Une description complète de leurs déplacements en RMN du  $^{13}\text{C}$  est donnée en Tableau 1, en Tableau 2 et en Tableau 3. Les deux séries d'éthers guaïaniques se distinguent par leurs déplacements chimiques au niveau des atomes impliqués dans la fonction éther. En effet, les 5,11-époxyguaïaniques présentent des déplacements chimiques supérieurs à 90 ppm au niveau du

C-5 en tête de pont, jusqu'à 110 ppm pour le diépoxyde **77**, tandis que les 10,11-époxyguaïanes affichent des déplacements chimiques supérieurs à 70 ppm pour le C-10 en tête de pont.

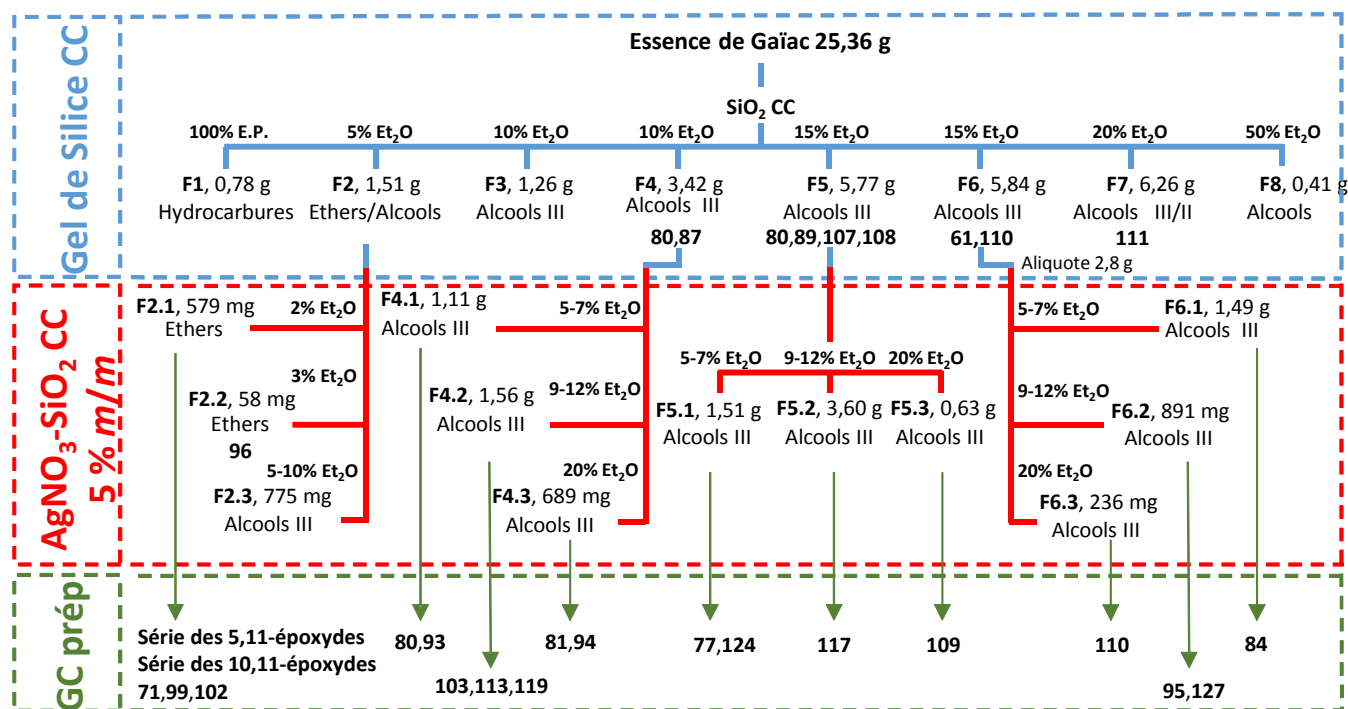


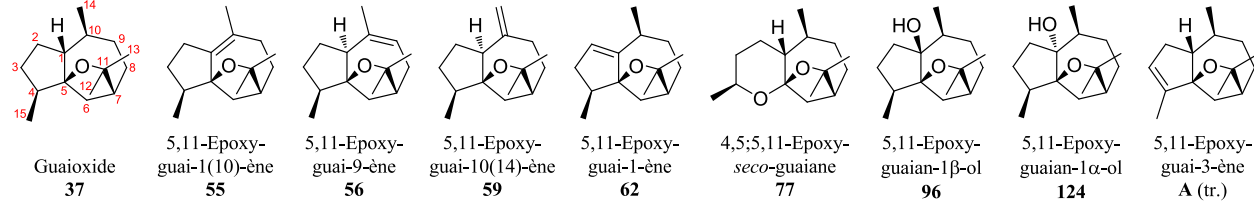
Figure 5. Schéma expérimental décrivant la méthodologie de fractionnement et d'isolement des constituants de l'essence de bois de Gaïac.

Sur la base des déplacements RMN du <sup>13</sup>C, le composé **35** a été identifié comme étant le β-kessane, précédemment isolé de *Rubus rosifolius* Sm.<sup>25</sup> Compte tenu de la configuration connue des guaïanes identifiés dans l'essence de bois de Gaïac, en particulier en ce qui concerne les carbones en position #4 et #7, le composé **35** correspond probablement à l'énantiomère du composé décrit antérieurement, cependant aucune confirmation supplémentaire n'a pu être obtenue.

Comme mentionné précédemment, le composé **52** a un spectre de masse similaire au kessane, sans correspondre à la valeur d'indice de rétention sur phase stationnaire polaire déjà publié. Ainsi, le composé **52** a été isolé par GC semi-préparative et entièrement caractérisé par RMN. Les déplacements RMN du <sup>13</sup>C pour ce composé ne correspondent pas aux valeurs publiées pour le kessane,<sup>24</sup> ni à l'isokessane (le 1-épi-kessane, le seul épimère connu du kessane).<sup>25</sup> Finalement, l'analyse du spectre NOESY a permis l'identification du composé **52** comme étant le 4,5-di-épi-kessane, un 10,11-époxyguaïane.

Hormis le guaïoxide (**37**), il convient de noter que l'ensemble de ces éthers n'ont jusque-là pas été décrits dans l'essence de bois de Gaïac.

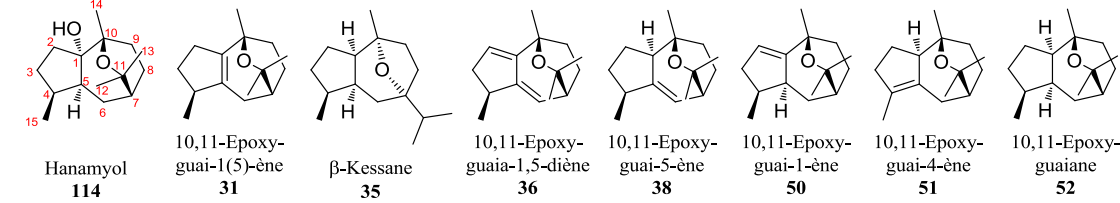
Tableau 1. Déplacements chimiques RMN du  $^{13}\text{C}$  (en ppm) des 5,11-époxyguaïanes isolés de l'essence de Gaïac.



#C	37 <sup>a</sup>	55 <sup>b</sup>	56 <sup>a</sup>	59 <sup>b</sup>	62 <sup>a</sup>	77 <sup>b</sup>	96 <sup>a</sup>	124 <sup>b</sup>	A <sup>a,c</sup>
1	55,89 (CH)	143,03 (C)	56,16 (CH)	57,11 (CH)	153,79 (C)	47,80 (CH)	82,41 (C)	85,90 (C)	59,61 (CH)
2	28,94 (CH <sub>2</sub> )	29,49 (CH <sub>2</sub> )	27,06 (CH <sub>2</sub> )	24,85 (CH <sub>2</sub> )	124,00 (C)	30,27 (CH <sub>2</sub> )	36,10 (CH <sub>2</sub> )	31,17 (CH <sub>2</sub> )	35,37 (CH <sub>2</sub> )
3	31,59 (CH <sub>2</sub> )	31,96 (CH <sub>2</sub> )	29,69 (CH <sub>2</sub> )	30,35 (CH <sub>2</sub> )	38,24 (CH <sub>2</sub> )	33,24 (CH <sub>2</sub> )	30,74 (CH <sub>2</sub> )	29,46 (CH <sub>2</sub> )	124,93 (C)
4	46,17 (CH)	44,28 (CH)	40,84 (CH)	40,98 (CH)	42,64 (CH)	69,17 (CH)	45,28 (CH)	37,95 (CH)	144,08 (C)
5	91,72 (C)	90,30 (C)	90,64 (C)	92,08 (C)	93,60 (C)	109,60 (C)	91,96 (C)	94,88 (C)	95,69 (C)
6	41,21 (CH <sub>2</sub> )	40,38 (CH <sub>2</sub> )	37,89 (CH <sub>2</sub> )	33,77 (CH <sub>2</sub> )	38,43 (CH <sub>2</sub> )	38,37 (CH <sub>2</sub> )	42,64 (CH <sub>2</sub> )	31,13 (CH <sub>2</sub> )	34,31 (CH <sub>2</sub> )
7	45,28 (CH)	45,53 (CH)	44,09 (CH)	44,31 (CH)	45,20 (CH)	45,58 (CH)	45,03 (CH)	44,27 (CH)	45,42 (CH)
8	30,52 (CH <sub>2</sub> )	28,35 (CH <sub>2</sub> )	32,92 (CH <sub>2</sub> )	27,44 (CH <sub>2</sub> )	31,51 (CH <sub>2</sub> )	31,35 (CH <sub>2</sub> )	28,77 (CH <sub>2</sub> )	28,78 (CH <sub>2</sub> )	30,54 (CH <sub>2</sub> )
9	34,18 (CH <sub>2</sub> )	32,70 (CH <sub>2</sub> )	121,66 (C)	34,35 (CH <sub>2</sub> )	33,88 (CH <sub>2</sub> )	33,74 (CH <sub>2</sub> )	29,43 (CH <sub>2</sub> )	29,42 (CH <sub>2</sub> )	34,48 (CH <sub>2</sub> )
10	37,56 (CH)	127,20 (C)	134,34 (C)	149,37 (C)	33,42 (CH)	38,34 (CH)	39,79 (CH)	42,58 (CH)	36,77 (CH)
11	81,67 (C)	81,97 (C)	81,84 (C)	82,57 (C)	81,93 (C)	82,19 (C)	83,97 (C)	82,53 (C)	81,76 (C)
12	30,57 (CH <sub>3</sub> )	31,51 (CH <sub>3</sub> )	30,58 (CH <sub>3</sub> )	31,78 (CH <sub>3</sub> )	31,24 (CH <sub>3</sub> )	29,17 (CH <sub>3</sub> )	30,74 (CH <sub>3</sub> )	31,50 (CH <sub>3</sub> )	31,44 (CH <sub>3</sub> )
13	23,33 (CH <sub>3</sub> )	24,68 (CH <sub>3</sub> )	24,43 (CH <sub>3</sub> )	26,16 (CH <sub>3</sub> )	23,73 (CH <sub>3</sub> )	22,80 (CH <sub>3</sub> )	23,09 (CH <sub>3</sub> )	23,43 (CH <sub>3</sub> )	23,30 (CH <sub>3</sub> )
14	23,47 (CH <sub>3</sub> )	23,23 (CH <sub>3</sub> )	25,72 (CH <sub>3</sub> )	111,33 (C)	20,61 (CH <sub>3</sub> )	22,70 (CH <sub>3</sub> )	18,97 (CH <sub>3</sub> )	18,32 (CH <sub>3</sub> )	22,85 (CH <sub>3</sub> )
15	16,29 (CH <sub>3</sub> )	13,50 (CH <sub>3</sub> )	13,89 (CH <sub>3</sub> )	13,98 (CH <sub>3</sub> )	13,35 (CH <sub>3</sub> )	22,70 (CH <sub>3</sub> )	16,51 (CH <sub>3</sub> )	15,04 (CH <sub>3</sub> )	12,34 (CH <sub>3</sub> )

<sup>a</sup> enregistré dans le CDCl<sub>3</sub>. <sup>b</sup> Enregistré dans le benzène-*d*<sub>6</sub>. <sup>c</sup> Composé à l'état de trace dans l'essence.

Tableau 2. Déplacements chimiques RMN du  $^{13}\text{C}$  (en ppm) des 10,11-époxyguaïanes isolés de l'essence de Gaïac.



#C	114 <sup>a</sup>	31 <sup>b</sup>	35 <sup>a</sup>	36 <sup>b</sup>	38 <sup>b</sup>	50 <sup>a</sup>	51 <sup>b</sup>	52 <sup>a</sup>
1	90,85 (C)	142,92 (C)	50,73 (CH)	153,30 (C)	57,66 (CH)	151,75 (C)	59,75 (CH)	56,40 (CH)
2	32,50 (CH <sub>2</sub> )	33,12 (CH <sub>2</sub> )	27,10 (CH <sub>2</sub> )	126,28 (C)	25,16 (CH <sub>2</sub> )	121,91 (C)	28,40 (CH <sub>2</sub> )	23,31 (CH <sub>2</sub> )
3	29,70 (CH <sub>2</sub> )	31,86 (CH <sub>2</sub> )	33,44 (CH <sub>2</sub> )	40,06 (CH <sub>2</sub> )	31,09 (CH <sub>2</sub> )	40,48 (CH <sub>2</sub> )	36,61 (CH <sub>2</sub> )	30,24 (CH <sub>2</sub> )
4	35,57 (CH)	44,20 (CH)	37,47 (CH)	36,12 (CH)	36,18 (CH)	34,50 (CH)	133,22 (C)	38,42 (CH)
5	48,04 (CH)	139,00 (C)	38,68 (CH)	153,47 (C)	148,89 (C)	44,90 (CH)	134,75 (C)	40,33 (CH)
6	24,61 (CH <sub>2</sub> )	34,70 (CH <sub>2</sub> )	28,31 (CH <sub>2</sub> )	122,60 (C)	122,66 (C)	27,67 (CH <sub>2</sub> )	34,56 (CH <sub>2</sub> )	25,78 (CH <sub>2</sub> )
7	36,57 (CH)	36,94 (CH)	84,03 (C)	39,71 (CH)	38,02 (CH)	37,46 (CH)	36,23 (CH)	37,14 (CH)
8	19,38 (CH <sub>2</sub> )	23,22 (CH <sub>2</sub> )	37,45 (CH <sub>2</sub> )	25,05 (CH <sub>2</sub> )	25,39 (CH <sub>2</sub> )	20,01 (CH <sub>2</sub> )	24,36 (CH <sub>2</sub> )	19,43 (CH <sub>2</sub> )
9	26,33 (CH <sub>2</sub> )	35,67 (CH <sub>2</sub> )	30,79 (CH <sub>2</sub> )	32,93 (CH <sub>2</sub> )	34,11 (CH <sub>2</sub> )	31,93 (CH <sub>2</sub> )	34,51 (CH <sub>2</sub> )	31,76 (CH <sub>2</sub> )
10	75,81 (C)	71,17 (C)	80,99 (C)	72,16 (C)	72,85 (C)	70,62 (C)	73,82 (C)	73,16 (C)
11	73,78 (C)	74,31 (C)	36,53 (CH)	77,03 (C)	76,60 (C)	74,49 (C)	74,07 (C)	73,73 (C)
12	29,29 (CH <sub>3</sub> )	29,92 (CH <sub>3</sub> )	17,53 (CH <sub>3</sub> )	30,17 (CH <sub>3</sub> )	30,35 (CH <sub>3</sub> )	29,57 (CH <sub>3</sub> )	29,18 (CH <sub>3</sub> )	29,48 (CH <sub>3</sub> )
13	29,47 (CH <sub>3</sub> )	30,98 (CH <sub>3</sub> )	17,48 (CH <sub>3</sub> )	30,14 (CH <sub>3</sub> )	29,71 (CH <sub>3</sub> )	30,91 (CH <sub>3</sub> )	31,05 (CH <sub>3</sub> )	30,27 (CH <sub>3</sub> )
14	26,85 (CH <sub>3</sub> )	28,77 (CH <sub>3</sub> )	29,38 (CH <sub>3</sub> )	28,78 (CH <sub>3</sub> )	29,92 (CH <sub>3</sub> )	28,60 (CH <sub>3</sub> )	28,84 (CH <sub>3</sub> )	31,11 (CH <sub>3</sub> )
15	15,24 (CH <sub>3</sub> )	19,55 (CH <sub>3</sub> )	14,86 (CH <sub>3</sub> )	22,23 (CH <sub>3</sub> )	18,94 (CH <sub>3</sub> )	16,41 (CH <sub>3</sub> )	14,27 (CH <sub>3</sub> )	15,57 (CH <sub>3</sub> )

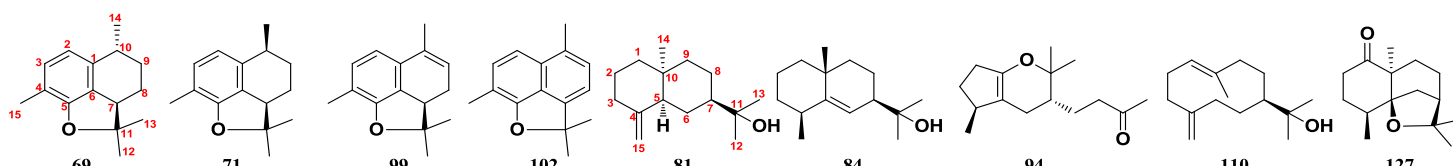
<sup>a</sup> Enregistré dans le CDCl<sub>3</sub>. <sup>b</sup> Enregistré dans le benzène-*d*<sub>6</sub>.

Certains époxyguaïanes ont cependant été décrits comme composés d'origine synthétique, obtenus avec de faibles rendements, soit par oxydation du guaïol avec du Pb(OAc)<sub>4</sub>,<sup>26,27</sup> soit par photo-oxydation.<sup>28</sup> De plus, le composé **124** a été synthétisé par

traitement acide d'un époxyde de guaïol.<sup>29,30</sup> Plusieurs diastéréoisomères des époxyguaïanes identifiés ici ont également été synthétisés et utilisés comme intermédiaires pour la préparation du liguloxyde, un épimère du guaïoxide.<sup>31,32</sup>

En plus des éthers guaïaniques et eudesmaniques, plusieurs 5,11-époxycadinanes aromatiques **69**, **71**, **99** et **102** ont été identifiés dans la fraction F2. D'un point de vue chromatographique, ces composés éluent différemment des autres éthers précédemment identifiés. En effet, ces composés ont été détectés parmi les alcools tertiaires alors que les éthers non aromatiques ont été observés parmi les hydrocarbures (Figure 3). Ces structures inattendues n'ont jamais été identifiées jusqu'à présent dans aucun extrait naturel (Tableau 3). L'ensemble des éthers identifiés ici ont également été caractérisés dans la composition chimique de l'essence de *C. pancheri* (Chapitre II), prouvant ainsi que ces composés ne sont pas des artefacts.

Tableau 3. Déplacements chimiques en RMN du <sup>13</sup>C (en ppm) des composés isolés de l'essence de bois de Gaïac.



#C	69 <sup>a</sup>	71 <sup>a</sup>	99 <sup>a</sup>	102 <sup>a</sup>	81 <sup>b</sup>	84 <sup>b</sup>	94 <sup>b</sup>	110 <sup>a</sup>	127 <sup>b</sup>
1	138,13 (C)	137,33 (C)	131,69 (C)	129,97 (C)	29,89 (CH <sub>2</sub> )	42,57 (CH <sub>2</sub> )	150,02 (C)	125,40 (CH)	212,89 (C)
2	118,83 (CH)	117,57 (CH)	113,68 (CH)	112,72 (CH)	23,59 (CH <sub>2</sub> )	17,97 (CH <sub>2</sub> )	30,93 (CH <sub>2</sub> )	27,92 (CH <sub>2</sub> )	37,55 (CH <sub>2</sub> )
3	129,55 (CH)	129,61 (CH)	129,61 (CH)	132,51 (CH)	30,63 (CH <sub>2</sub> )	33,59 (CH <sub>2</sub> )	29,96 (CH <sub>2</sub> )	35,09 (CH <sub>2</sub> )	31,14 (CH <sub>2</sub> )
4	116,23 (C)	116,52 (C)	119,08 (C)	110,76 (C)	151,81 (C)	38,76 (CH)	38,66 (CH)	150,59 (C)	31,91 (CH)
5	155,40 (C)	155,41 (C)	154,48 (C)	156,94 (C)	52,68 (CH)	148,93 (C)	108,92 (C)	37,91 (CH <sub>2</sub> )	90,06 (C)
6	128,02 (C)	128,41 (C)	126,03 (C)	127,00 (C)	29,92 (CH <sub>2</sub> )	122,50 (CH)	24,05 (CH <sub>2</sub> )	29,19 (CH <sub>2</sub> )	33,77 (CH <sub>2</sub> )
7	49,38 (CH)	49,45 (CH)	45,90 (CH)	144,60 (C)	49,45 (CH)	48,41 (CH)	41,53 (CH)	48,90 (CH)	43,66 (CH)
8	24,12 (CH <sub>2</sub> )	24,15 (CH <sub>2</sub> )	24,58 (CH <sub>2</sub> )	114,04 (CH)	22,98 (CH <sub>2</sub> )	21,35 (CH <sub>2</sub> )	25,25 (CH <sub>2</sub> )	29,49 (CH <sub>2</sub> )	24,73 (CH <sub>2</sub> )
9	31,31 (CH <sub>2</sub> )	33,81 (CH <sub>2</sub> )	122,71 (CH)	127,54 (CH)	41,12 (CH <sub>2</sub> )	41,96 (CH <sub>2</sub> )	41,58 (CH <sub>2</sub> )	40,75 (CH <sub>2</sub> )	28,21 (CH <sub>2</sub> )
10	29,42 (CH)	31,41 (CH)	132,39 (C)	131,48 (C)	33,89 (C)	34,57 (C)	205,92 (C)	134,65 (C)	53,14 (C)
11	92,49 (C)	92,20 (C)	92,73 (C)	92,36 (C)	71,79 (C)	72,37 (C)	77,96 (C)	74,71 (C)	81,85 (C)
12	27,67 (CH <sub>3</sub> )	27,75 (CH <sub>3</sub> )	28,66 (CH <sub>3</sub> )	28,70 (CH <sub>3</sub> )	27,36 (CH <sub>3</sub> )	28,01 (CH <sub>3</sub> )	20,65 (CH <sub>3</sub> )	27,15 (CH <sub>3</sub> )	22,78 (CH <sub>3</sub> )
13	21,84 (CH <sub>3</sub> )	22,01 (CH <sub>3</sub> )	22,96 (CH <sub>3</sub> )	28,70 (CH <sub>3</sub> )	27,36 (CH <sub>3</sub> )	25,82 (CH <sub>3</sub> )	27,47 (CH <sub>3</sub> )	27,64 (CH <sub>3</sub> )	30,30 (CH <sub>3</sub> )
14	19,36 (CH <sub>3</sub> )	21,11 (CH <sub>3</sub> )	18,02 (CH <sub>3</sub> )	18,00 (CH <sub>3</sub> )	28,21 (CH <sub>3</sub> )	27,34 (CH <sub>3</sub> )	29,39 (CH <sub>3</sub> )	16,95 (CH <sub>3</sub> )	23,08 (CH <sub>3</sub> )
15	14,92 (CH <sub>3</sub> )	14,93 (CH <sub>3</sub> )	15,25 (CH <sub>3</sub> )	14,75 (CH <sub>3</sub> )	108,63 (CH <sub>2</sub> )	23,47 (CH <sub>3</sub> )	20,65 (CH <sub>3</sub> )	111,21 (CH <sub>2</sub> )	15,30 (CH <sub>3</sub> )

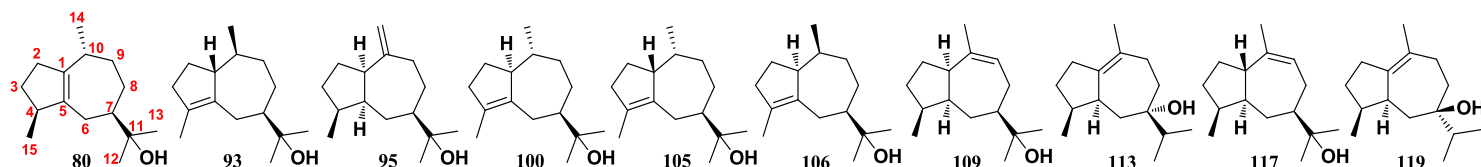
<sup>a</sup> Enregistré dans le CDCl<sub>3</sub>. <sup>b</sup> Enregistré dans le benzène-*d*<sub>6</sub>.

#### I.4.2. Identification des alcools/cétones inconnus

Les fractions F3 à F6 contenant principalement des alcools inconnus ont été chromatographiées à plusieurs reprises soit sur colonne de gel de silice standard, soit sur colonne de gel de silice imprégné au nitrate d'argent (Figure 5). Comme pour les éthers, les sous-fractions obtenues ont été ensuite exploitées afin d'isoler les composés inconnus par GC semi-préparative. Les composés 10-épi-guaïol (**80**) et germacradiénol (**110**) ont été quant à eux respectivement isolés des fractions F4 et F6 par chromatographie sur colonne avec une pureté

suffisante pour être analysés directement par RMN. Au total, 16 composés ont été isolés et entièrement caractérisés par spectrométrie de masse et par RMN (voir Partie Exp.). Parmi les constituants isolés, plusieurs alcools tertiaires et produits d'oxydation des alcools majoritaires jusqu'alors inconnus ont été caractérisés. Une description comparative de leurs déplacements chimiques RMN du  $^{13}\text{C}$  est donnée dans les Tableau 3 et Tableau 4.

Tableau 4. Déplacements chimiques RMN du  $^{13}\text{C}$  (en ppm) des alcools guaïaniques isolés de l'essence de Gaïac.



#C	80 <sup>a</sup>	93 <sup>a</sup>	95 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	105 <sup>a</sup>	106 <sup>a</sup>	109 <sup>a</sup>	113 <sup>a</sup>	117 <sup>a</sup>	119 <sup>a</sup>
1	140,92 (C)	58,18 (CH)	50,47 (CH)	55,62 (CH)	53,43 (CH)	53,29 (CH)	49,71 (CH)	141,05 (C)	46,25 (CH)	138,69 (C)
2	34,76 (CH <sub>2</sub> )	30,42 (CH <sub>2</sub> )	28,73 (CH <sub>2</sub> )	40,27 (CH <sub>2</sub> )	25,75 (CH <sub>2</sub> )	28,92 (CH <sub>2</sub> )	29,15 (CH <sub>2</sub> )	30,27 (CH <sub>2</sub> )	28,06 (CH <sub>2</sub> )	30,01 (CH <sub>2</sub> )
3	31,57 (CH <sub>2</sub> )	36,98 (CH <sub>2</sub> )	32,35 (CH <sub>2</sub> )	36,62 (CH <sub>2</sub> )	36,64 (CH <sub>2</sub> )	37,86 (CH <sub>2</sub> )	30,65 (CH <sub>2</sub> )	33,09 (CH <sub>2</sub> )	34,51 (CH <sub>2</sub> )	32,35 (CH <sub>2</sub> )
4	45,83 (CH)	130,93 (C)	39,23 (CH)	131,75 (C)	132,03 (C)	132,50 (C)	39,56 (CH)	39,12 (CH)	37,80 (CH)	39,10 (CH)
5	140,92 (C)	139,44 (C)	48,07 (CH)	138,63 (C)	139,89 (C)	135,52 (C)	45,19 (CH)	40,55 (CH)	46,87 (CH)	42,60 (CH)
6	27,31 (CH <sub>2</sub> )	26,70 (CH <sub>2</sub> )	25,13 (CH <sub>2</sub> )	30,43 (CH <sub>2</sub> )	27,36 (CH <sub>2</sub> )	30,92 (CH <sub>2</sub> )	25,80 (CH <sub>2</sub> )	37,83 (CH <sub>2</sub> )	35,78 (CH <sub>2</sub> )	39,80 (CH <sub>2</sub> )
7	49,75 (CH)	48,89 (CH)	52,20 (CH)	49,33 (CH)	54,07 (CH)	49,68 (CH)	49,53 (CH)	75,24 (C)	49,10 (CH)	75,27 (C)
8	28,41 (CH <sub>2</sub> )	27,78 (CH <sub>2</sub> )	32,70 (CH <sub>2</sub> )	31,52 (CH <sub>2</sub> )	32,50 (CH <sub>2</sub> )	27,53 (CH <sub>2</sub> )	29,14 (CH <sub>2</sub> )	35,06 (CH <sub>2</sub> )	29,59 (CH <sub>2</sub> )	37,48 (CH <sub>2</sub> )
9	32,73 (CH <sub>2</sub> )	33,06 (CH <sub>2</sub> )	35,15 (CH <sub>2</sub> )	30,39 (CH <sub>2</sub> )	30,30 (CH <sub>2</sub> )	37,42 (CH <sub>2</sub> )	122,16 (CH)	30,16 (CH <sub>2</sub> )	125,62 (CH)	29,94 (CH <sub>2</sub> )
10	34,73 (CH)	39,56 (CH)	154,01 (C)	39,40 (CH)	36,18 (CH)	37,48 (CH)	138,35 (C)	128,35 (C)	142,43 (C)	128,27 (C)
11	72,61 (C)	73,03 (C)	72,93 (C)	72,84 (C)	72,60 (C)	72,85 (C)	73,00 (C)	38,88 (CH)	72,74 (C)	34,97 (CH)
12	28,14 (CH <sub>3</sub> )	26,13 (CH <sub>3</sub> )	28,05 (CH <sub>3</sub> )	26,68 (CH <sub>3</sub> )	26,36 (CH <sub>3</sub> )	26,85 (CH <sub>3</sub> )	27,44 (CH <sub>3</sub> )	17,49 (CH <sub>3</sub> )	27,51 (CH <sub>3</sub> )	17,31 (CH <sub>3</sub> )
13	25,38 (CH <sub>3</sub> )	27,67 (CH <sub>3</sub> )	26,18 (CH <sub>3</sub> )	26,91 (CH <sub>3</sub> )	27,95 (CH <sub>3</sub> )	26,70 (CH <sub>3</sub> )	27,18 (CH <sub>3</sub> )	17,17 (CH <sub>3</sub> )	26,48 (CH <sub>3</sub> )	16,89 (CH <sub>3</sub> )
14	18,75 (CH <sub>3</sub> )	22,65 (CH <sub>3</sub> )	110,39 (CH <sub>2</sub> )	22,02 (CH <sub>3</sub> )	20,27 (CH <sub>3</sub> )	13,56 (CH <sub>3</sub> )	26,11 (CH <sub>3</sub> )	22,05 (CH <sub>3</sub> )	22,26 (CH <sub>3</sub> )	22,40 (CH <sub>3</sub> )
15	20,28 (CH <sub>3</sub> )	14,07 (CH <sub>3</sub> )	16,25 (CH <sub>3</sub> )	14,61 (CH <sub>3</sub> )	14,00 (CH <sub>3</sub> )	14,29 (CH <sub>3</sub> )	16,29 (CH <sub>3</sub> )	15,15 (CH <sub>3</sub> )	15,99 (CH <sub>3</sub> )	14,53 (CH <sub>3</sub> )

<sup>a</sup> Enregistré dans le benzène-*d*<sub>6</sub>.

L'ensemble des composés isolés appartient principalement à la famille des guaïanes. Parmi eux, le composé **80** a un spectre de masse similaire à celui du guaïol (**74**). L'étude des données RMN indique que **80** partage la même structure guaïanique de base que **74** et a été identifié comme étant le 10-*épi*-guaïol. La co-occurrence des deux épimères **74** et **80** dans l'essence n'est pas surprenante et peut provenir de l'isomérisation du bulnésol (**111**) lors de l'extraction de l'essence. Des études antérieures suggèrent la présence d'un épimère de guaïol (**74**) parmi les constituants, mais ce composé n'a jamais été véritablement isolé.<sup>20-22</sup> De plus, le 10-*épi*-guaïol (**80**) est rapporté comme un produit d'isomérisation du bulnésol (**111**), lorsque ce dernier est mis à réagir en conditions acides.<sup>33</sup> Cependant, puisqu'aucune étude antérieure n'a jamais fourni une description suffisamment détaillée de ses caractéristiques spectrales, ceci constitue la première description complète du 10-*épi*-guaïol (**80**) qui peut maintenant être listé comme constituant de l'essence de Gaïac.

Plusieurs isomères du guaïol (**74**) et du 10-*épi*-guaïol (**80**) tels que **93**, **100**, **105** et **106** ont également été isolés par GC semi-préparative, caractérisés par spectroscopie RMN et



finalement synthétisés. Le composé **106**, connu sous le nom d'isoguaiol (guai-4-en-11-ol), a été isolé à partir des fruits de *Pittosporum undulatum* et possède des propriétés anti-inflammatoires.<sup>34</sup> Ce composé a été préalablement synthétisé à partir du guaiol (**74**) via un traitement au palladium, sous atmosphère d'hydrogène.<sup>35</sup> En plus de **106**, son épimère **93**, nommé ici 1-*épi*-isoguaiol, a été préalablement préparé à partir de **74** après plusieurs étapes de synthèse.<sup>30</sup> Les composés **100** et **105**, identifiés ici, partagent le même squelette que les isoguaiols mentionnés ci-dessus (**93** et **106**). L'orientation du méthyle #14 pour **100** et **105** suggère que ces composés sont des isomères potentiels du 10-*épi*-guaiol (**80**). De ce fait, ces isomères ont été observés comme fournissant des spectres de masse similaires. Néanmoins, ils ont été facilement identifiés à partir de leur indice de rétention respectif sur colonne apolaire. Il est à noter que ceci est la première description de **100** et **105** en tant que constituants d'un extrait naturel.

Puisque le phénomène d'isomérisation se produit facilement parmi les sesquiterpènes,<sup>36,37</sup> il n'est pas surprenant de trouver plusieurs constituants dérivés de l'isomérisation du bulnésol (**111**). Par analogie avec **80**, le composé **117** a été décrit dans les études antérieures comme un stéréoisomère de **111** mais sa structure n'a jamais été décrite.<sup>22</sup> Bien que **117** présente un spectre de masse identique au bulnésol (**111**), son spectre RMN du <sup>1</sup>H montre un seul proton éthylénique à 5,7 ppm, indiquant clairement un déplacement de la double liaison. Au total, les trois isomères du bulnésol **95**, **109** et **117** ont été clairement identifiés comme 1 $\alpha$ H,5 $\alpha$ H-guai-10(14)-én-11-ol, 1 $\alpha$ H,5 $\alpha$ H-guai-9-én-11-ol et 1 $\beta$ H,5 $\alpha$ H-guai-9-én-11-ol, respectivement. Étonnamment, le seul guai-9-én-11-ol décrit jusque-là a été provisoirement identifié dans la résine de *Galbanum* par Thomas et Ozainne en 1978.<sup>38</sup> Le spectre de masse et les déplacements chimiques RMN du <sup>13</sup>C donnés par les auteurs correspondent à ceux du composé **109**, confirmant ainsi la structure de cette molécule. D'un point de vue chromatographique, tous les guaiénols éluent dans une zone très étroite du chromatogramme 2D (Figure 3). A contrario, les composés **113** et **119** éluent dans une région inférieure sur le chromatogramme 2D, distincte de celle des alcools isolés jusqu'à présent (Figure 3). De plus, leurs spectres de masse ne montrent aucun fragment de masse  $m/z = 59$ , lequel est généralement caractéristique de la présence d'un groupement isopropylalcool sur la molécule. Ces données indiquent un éventuel déplacement de l'hydroxyle sur le squelette. L'analyse des données RMN fournit une structure typique des guaianes dont le groupement hydroxyle est positionné sur le carbone #7. Les composés **113** et **119** diffèrent uniquement par l'orientation de l'alcool, en position  $\alpha$  pour **113** et  $\beta$  pour **119**. Fait intéressant, ces deux guai-

1(10)-én-7-ols, qui sont structurellement liés au  $\beta$ -bulnèsène (**65**), n'ont jamais été décrits jusqu'à présent.

Plusieurs eudesménols, tels que le 10-*épi*- $\gamma$ -eudesmol (**87**), le  $\gamma$ -eudesmol (**89**), l' $\alpha$ -eudesmol (**107**) et le  $\beta$ -eudesmol (**108**) constituent aussi une partie importante de la teneur en alcool de l'essence. Rodilla et al. signalent la présence de deux autres eudesménols, le 7-*épi*- $\alpha$ -eudesmol et l'eudesm-5-én-11-ol, qui sont des constituants communs des extraits naturels.<sup>21,39</sup> Néanmoins, la stéréochimie de l'eudesm-5-én-11-ol n'a pas été décrite par les auteurs. Sur le plan des faits, certains guai-5-én-11-ols et d'autres eudesm-5-én-11-ols tel que le rosifoliol<sup>40</sup> présentent des spectres de masse similaires.<sup>30,41</sup> Par conséquent, après isolement et caractérisation par RMN, le composé **84** a été identifié comme étant le 4 $\alpha$ H,7 $\alpha$ H,10 $\beta$ -eudesm-5-én-11-ol. Ce composé a déjà été signalé comme constituant de l'huile essentielle d'immortelle (*Helichrysum italicum*).<sup>42</sup> En plus de **84**, un autre eudesménol **81** a été détecté dans nos échantillons d'essence de Gaïac. Le spectre de masse du composé **81** est très proche de celui du 10-*épi*- $\alpha$ -eudesmol (**78**), mais ce dernier a déjà été détecté parmi les constituants de l'essence. Après isolement de **81** par GC semi-préparative, les données RMN montrent la présence de deux protons éthyléniques géminés similaires à ceux du  $\beta$ -eudesmol (**108**). Le spectre NOESY présente des corrélations claires entre le proton #7 et le proton #5 d'une part, et le proton #5 et le méthyle #14 d'autre part (Figure 6).

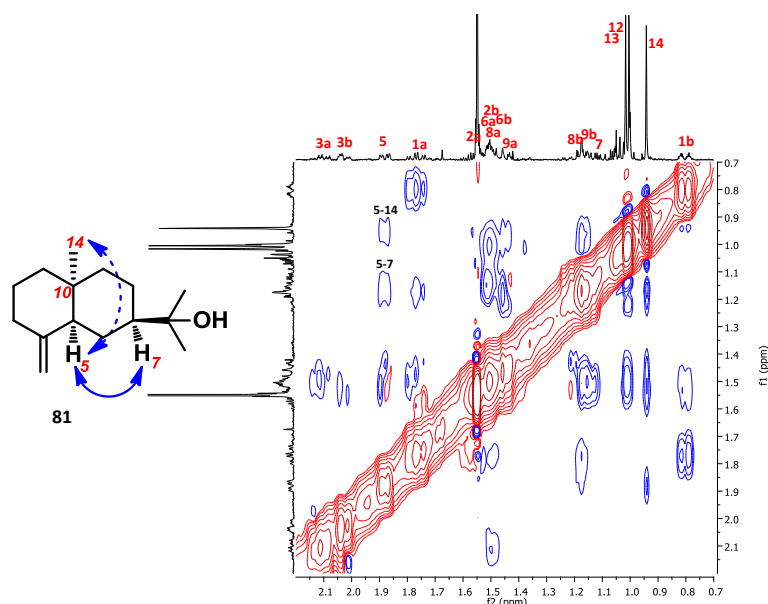


Figure 6. Spectre NOESY enregistré dans le benzène- $d_6$  du 10-*épi*- $\beta$ -eudesmol (**81**).

Par conséquent, **81** a été identifié comme le 10-*épi*- $\beta$ -eudesmol. De plus, un dérivé eudesmanique inhabituel a été isolé pour la première fois dans un extrait naturel. Le composé **127**, identifié comme le 4-*épi-trans*-dihydroagarofuran-1-one, possède le squelette commun type « agarofurane » mais également une fonction cétone en position #1. Ceci est plutôt surprenant puisque, dans l'essence de Gaïac, la localisation habituelle des fonctions oxygénées sur le squelette eudesmane est généralement située à proximité des positions biosynthétiques des carbocations (Schéma 5). Dans le cas de **127**, cette oxydation inhabituelle est due au clivage oxydatif et à la cyclisation consécutive du 10-*épi*-guaïol (**84**), comme démontré ci-dessous (voir I.5.3).

En plus de l'identification des guaïanes, des eudesmanes et dans une moindre mesure des cadinanes, des constituants mineurs sesquiterpéniques ont été caractérisés. Tout d'abord, le composé **94** a été à peine détecté dans notre essence en raison d'une co-élution presque parfaite avec l'alcool **93**. Affichant deux ions intenses à  $m/z = 111$  et  $236$ , ce composé a d'abord été apparenté à l'hanamyol (**114**). Une fois isolé, **94** a été identifié comme possédant un squelette bicyclopyranique ramifié inhabituel avec une chaîne latérale à quatre carbones portant une méthylcétone (Tableau 3). De même, le composé **110** présente à la fois un indice de rétention, une élution sur le profil chromatographique 2D et un spectre de masse similaire à l' $\alpha$ -eudesmol (**107**) et au  $\beta$ -eudesmol (**108**). En raison d'un nombre important de doubles liaisons disponibles pour cette molécule, la chromatographie sur colonne ouverte sur gel de silice imprégné au nitrate d'argent s'est révélée particulièrement utile pour son isolement. **110** a été obtenu en quantité et en pureté suffisante pour l'identifier comme le germacra-1(10),4(15)-dién-11-ol, un isomère inconnu de l'hédycaryol. Il n'est pas surprenant de trouver un tel germacradiénol dans cette essence puisque l'hédycaryol, lui-même, est un précurseur connu des dérivés guaïaniques et eudesmaniques issus de la biosynthèse générale des sesquiterpènes (Schéma 5).

Bien que l'examen des spectres NOESY permette d'attribuer une configuration relative aux composés isolés, leurs configurations absolues ne peuvent être déduites que par celles du guaïol (**74**) ou du bulnésol (**111**). De plus, il convient de noter que la configuration absolue du carbone #7 est établie au début de la voie de biosynthèse des guaïanes et des eudesmanes impliquant la cyclisation du farnésyl-pyrophosphate en germacrène(s) (Schéma 5).<sup>36</sup> Ainsi, le guaïol **74** a été isolé à partir de l'essence de Gaïac et plusieurs fois purifié, pour donner un solide blanc avec une pureté GC supérieure à 99 %. Les tentatives d'acquisition de données cristallographiques aux rayons X ont toutefois échoué et n'ont pas conduit à l'établissement de sa configuration absolue. Cependant, le pouvoir rotatoire du produit isolé est de  $[\alpha]_D^{25} = -22$

(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, c = 1), concordant avec les données de la littérature (-26,6 dans l'EtOH),<sup>11</sup> et a ainsi confirmé la configuration absolue du guaiol (**74**). Néanmoins, la présence de composés inattendus tels que les éthers aromatiques **69**, **71**, **99** et **102**, la dihydroagarofuranone (**127**), ainsi que le composé pyranique (**94**) est très intrigante. Par conséquent, ceci nous a incité à déterminer les voies de formations possibles de ces composés mais aussi celles des différents éthers guaïaniques isolés. De plus, nous avons évalué la probabilité que l'isomérisation du guaiol (**74**) et du 10-*épi*-guaiol (**80**) pourrait conduire éventuellement aux différents isoguaiols (**93**, **100**, **105** et **106**).

## I.5. Voies de formation et synthèses des composés identifiés de l'essence de Gaïac

### I.5.1. Hypothèse des voies de formation des composés isolés

La présence des composés décrits ci-dessus a pu être confirmée, ou au moins expliquée, en examinant leurs voies de formation potentielles. En effet, d'un point de vue biosynthétique, les guaïanes et les eudesmanes sont liées par la cyclisation d'un précurseur germacrane commun.<sup>36,43</sup> Dans les toutes premières étapes biosynthétiques, le cation germacryle (**I**) peut soit perdre un proton pour produire des germacrènes, soit être hydroxylé en position #11 pour donner l'hédycaryol (**II**) (Schéma 5). L'hydroxylation est également possible en position #7 si un déplacement 1,2 d'hydrure se produit, menant éventuellement après cyclisation, aux guai-1(10)-én-7-ols (**113** et **119**) et aux eudesmén-7-ols (**82**). L'isomérisation de l'hédycaryol (**II**) conduit également à la formation de **110**, décrit ici. De plus, **II** peut produire du β-élémol (**61**) par transposition de Cope.<sup>44,45</sup> Il est intéressant de noter que les cyclisations enzymatiques de **II** et de ses isomères, tels que le néohédycaryol, conduisent à des intermédiaires cationiques eudesmane et guaïane, qui peuvent être par la suite stabilisés par la perte d'un proton pour former divers eudesménols et guaïénols.<sup>46</sup>

De plus, il a été démontré que les différents conformères de l'hédycaryol (**III**, **IV**, **V** et un autre conformère non présenté ici) sont susceptibles de produire des composés bicycliques distincts,<sup>47</sup> lesquels sont différents par leurs configurations en position #1, #4, #5 et #10 (Schéma 5). Cependant, tous ces conformères possèdent la même configuration absolue en position #7, qui est induite au cours de la cyclisation du (*E,E*)-farnésyl-pyrophosphate (**VI**) en cation germacryle (**I**).<sup>48</sup> La configuration native du carbone #7 doit donc être communément partagée par tous les eudesmanes et guaïanes détectés dans l'essence.

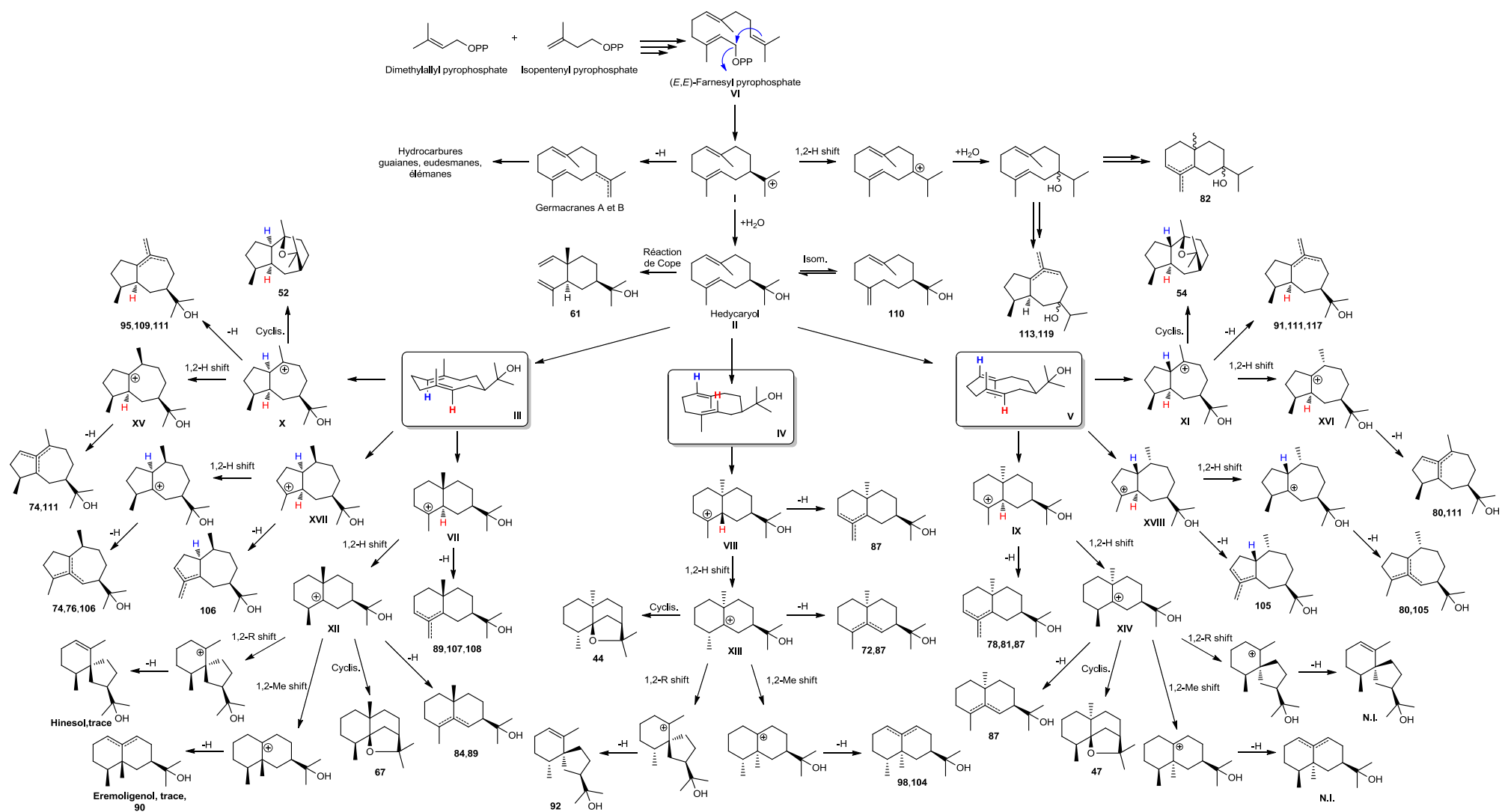


Schéma 5. Voies de formation potentielles des principaux composés oxygénés identifiés dans l'essence de Gaïac. N.I. : Non identifié dans l'essence.

Parmi les quatre conformères de l'hédycaryol, le conformère **III** avec les deux groupements méthyles orientés en  $\beta$  est le plus stable. Dans le cas présent, **III** est susceptible de conduire à des composés majeurs tels que le  $\gamma$ -eudesmol (**89**), l' $\alpha$ -eudesmol (**107**), le  $\beta$ -eudesmol (**108**) et également le guai-10(14)-én-11-ol (**95**), le guai-9-én-11-ol (**109**) et le bulnésol (**111**). Les cations eudesmyles (**VII**, **VIII** et **IX**) sont susceptibles de subir un déplacement 1,2 d'hydrure de la position #5 à la position #4, formant par la suite l'eudesm-5-én-11-ol (**84**), le 10-*épi*- $\gamma$ -eudesmol (**87**), et le  $\gamma$ -eudesmol (**89**) par perte d'un proton (Schéma 5). Un phénomène similaire est susceptible de se produire sur les guaïanes pour former le guaiol (**74**), le 10-*épi*-guaiol (**80**) et le bulnésol (**111**), nécessitant ainsi un déplacement 1,2 d'hydrure de la position #1 à la position #10 à partir des cations guaïanyles (**X** et **XI**). De plus, la cyclisation de l'alcool tertiaire en position #11 vers la position #5 pour les cations eudesmyles (**XII**, **XIII**, **XIV**) ou vers la position #10 pour les cations guaïanyles (**X** et **XI**) peut conduire respectivement à la formation d'agarofuranes (**44** et **47**) et de 4,5-di-*épi*-kessane (**52a**) isolé ici. Dans le cas des 5,11- et 10,11-époxyguaïènes et des époxyguaïanols précédemment isolés, leur formation peut être liée à la cyclisation de possible précurseurs de type époxyde, tels que les époxydes de guaiol (**B** et **C**) et les époxydes de bulnésol (**D** et **E**) (Schéma 6). En ce qui concerne le guaïoxide (**37**) et le bulnésoxyde (**52b**, encore appelé 10-*épi*-guaïoxide), leur formation est due à la cyclisation en milieu acide du guaiol (**74**) et du bulnésol (**111**), respectivement.<sup>33,49</sup>

De manière surprenante, aucun alcool guaïanique possédant une double liaison en position #1, #3 ou #4(15) n'a jusqu'à présent pas été identifié dans l'essence de Gaïac. En effet, les doubles liaisons en position #1(10), en position #1(5) et en position #4 sont plus stables du fait de leur tétrasubstitution. D'un point de vue général, la position des cations **XV** et **XVI** dans la voie de biosynthèse (Schéma 5) conduit inévitablement à la formation des alcools **74** et **111** les plus stables et les plus abondants. Cependant, **74** et **80** peuvent également être formés par isomérisation de **111** durant l'hydrodistillation du bois. Il est également probable que les quatre isoguaïols (**93**, **100**, **105** et **106**) se forment par isomérisation du guaiol (**74**) et du 10-*épi*-guaiol (**80**) ou par la perte d'un proton à partir des cations (**XVII** et **XVIII**) (Schéma 5). De surcroît, d'autres processus biosynthétiques peuvent également avoir lieu puisque nous avons identifié plusieurs dérivés polyoxygénés dans l'essence. Ainsi, **74** et **111** peuvent être impliqués dans des processus d'oxydation distincts conduisant soit aux intermédiaires époxydes **B**, **C**, **D** et **E**, soit aux dicétones **F** et **XIX** (Schéma 6).<sup>29,50,51</sup> Les époxydes **B**, **C**, **D** et **E** sont donc supposés être des précurseurs des 5,11- et 10,11-époxyguaïènes décrits précédemment, alors que les

dicétones **F** et **XIX** peuvent conduire à la formation de composés inhabituels tels que **94**, **127** et les 5,11-époxydadinènes (**69**, **71**, **99** et **102**).

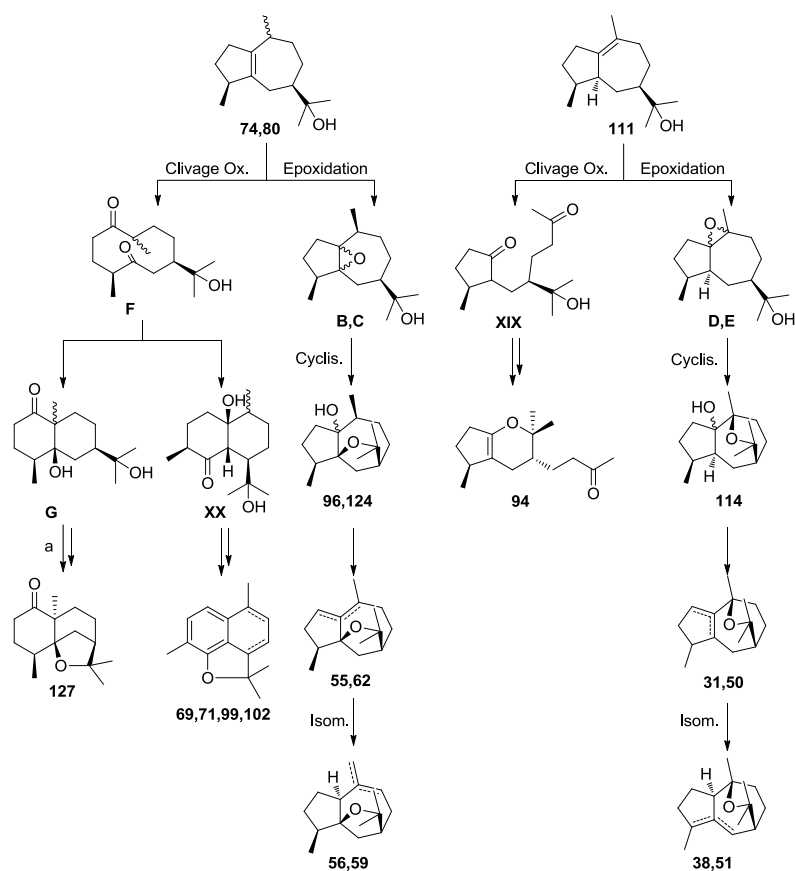


Schéma 6. Voies de formation potentielles des composés polyoxygénés à partir du guaïol (**74**), du 10-épi-guaïol (**80**) et du bulnésol (**111**). (a) D'après la stéréochimie observée en position #10, le composé **127** résulte nécessairement du clivage oxydatif du 10-épi-guaïol (**80**).

Afin de confirmer leurs structures et de prouver nos hypothèses quant à leurs voies de formation, nous avons entrepris la synthèse simple et efficace de plusieurs composés décrits ci-dessus.

### I.5.2. Hypothèse de formation des oxydes guaïaniques

Il a été démontré que le guaïoxide (**37**) se forme lors de la cyclisation du guaïol (**74**).<sup>19,49</sup> Par conséquent, plusieurs éthers sesquiterpéniques identifiés ici peuvent être liés à la transformation des précurseurs présents dans l'essence de Gaïac. Afin de proposer des voies de formation basées sur leur présence dans l'essence, la chimie de ces éthers a été étudiée au moyen de transformations simples à partir des deux alcools majoritaires de l'essence. Le guaïol (**74**) a été transformé en guaïoxide (**37**) par cyclisation en conditions acides en utilisant soit de

la montmorillonite K10 ou bien avec du *p*-TsOH comme catalyseur (Schéma 7), confirmant ainsi la relation de **74** avec le guaioxide (**37**). De la même façon, afin obtenir la formation directe des éthers en C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>O (220 g/mol) à partir du guaiol (**74**), plusieurs approches et conditions ont été testées, par exemple, Pb(OAc)<sub>4</sub>, photo-oxydation et Clayfen/ $\mu$ -ondes. Aucune n'a donné les composés cibles en quantités significatives. Par conséquent, l'apparition de la plupart des époxyguaïènes  $m/z = 220$  identifiés ici n'a pas pu être expliquée par simple cyclisation à partir d'un précurseur d'alcool ou par déshydrogénation d'un précurseur d'éther en C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>O (222 g/mol). Cependant, la déshydratation d'un éther hydroxylé de formule C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>O<sub>2</sub> (238 g/mol), tel que l'hanamyol (**114**), est hautement probable lors de l'hydrodistillation. Ainsi, les 5,11-époxyguaïènes **55** et **62** sont susceptibles de se former par déshydratation des époxyguaïanols **96** et **124**. De la même façon, l'hanamyol (**114**) servirait de précurseur aux 10,11-époxyguaïènes **31** et **50**, correspondants. Ainsi, les composés **114** et **124** ont été synthétisés en deux étapes à partir du bulnésol (**111**) et du guaiol (**74**), respectivement (Schéma 7). Lorsqu'ils sont mis à réagir avec l'acide *m*-chloroperbenzoïque (*m*-CPBA), chaque alcool a fourni un mélange de deux époxydes, **B** et **C** pour le guaiol,<sup>30</sup> et **D** et **E** pour le bulnésol, lesquels sont séparables sur colonne de gel de silice. Ensuite, chaque époxyde a été soumis à une cyclisation catalysée par un acide Lewis (AlCl<sub>3</sub>) impliquant l'ouverture de l'oxirane via la fonction alcool tertiaire, conduisant aux époxyguaïan-1-ols correspondants. Seuls les époxydes positionnés sur la face opposée au groupement isopropyle, à savoir **B** et **D**, ont conduit aux produits cibles **114** et **124**, respectivement, tandis que **C** et **E** n'ont pas donné les époxyguaïanols attendus.

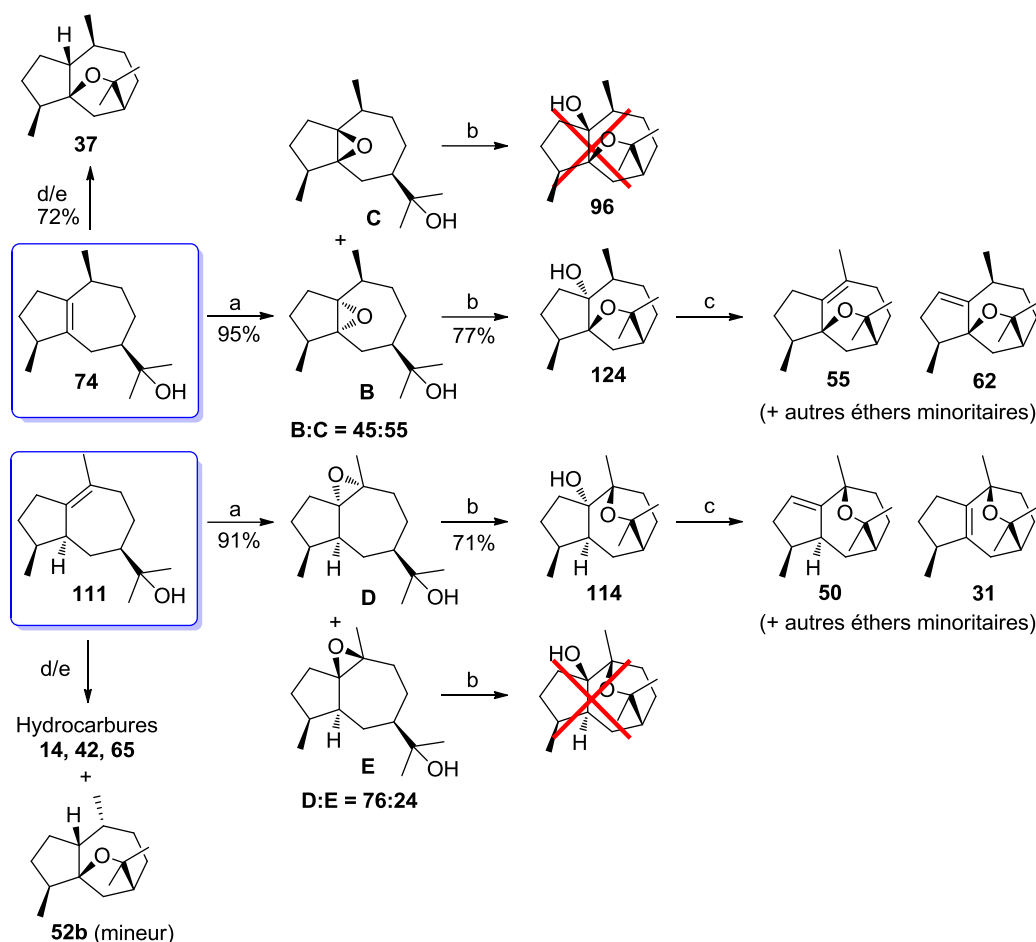
Pour évaluer la validité des hypothèses susmentionnées, l'hanamyol (**114**) a été soumis à différentes conditions visant la formation d'éthers sesquiterpéniques. Étonnamment, le traitement de **114** avec de la montmorillonite K10 ou bien du BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O n'a pas conduit à la formation des composés attendus. Cependant, lorsque **114** est exposé à 200 °C pendant 1,5 h dans un tube scellé, les éthers tels que **31** et **50** ont été détectés comme produits principaux, accompagnés de petites quantités de **38** et **51**. De plus, le 5,11-époxyguaïanol **124** a été également soumis à une dégradation thermique et a donné les 5,11-époxyguaïènes attendus, à savoir **55** et **62**, ainsi qu'un peu de **31** provenant probablement de la migration du pont époxyde du composé **55**. De manière surprenante, le 1 $\beta$ -hydroguaïoxide **96** isolé directement de l'essence ne conduit pas à la formation de 5,11-époxyguaïènes lorsqu'il est chauffé à 200 °C. Au lieu de cela, **96** montre une stabilité thermique plus élevée que son épimère **124**, ne donnant presque aucune trace de décomposition. Cette stabilité plutôt élevée est probablement due à la liaison hydrogène présente entre le pont époxyde et l'alcool tertiaire. Les autres éthers



guaïaniques présents dans l'essence, tels que **38** et **59**, peuvent se former par isomérisation de la double liaison des époxyguaïènes majeurs à savoir **31**, **50**, **55** et **62**.

En conclusion, ces expériences ont permis de comprendre les voies de formation conduisant à ces éthers sesquiterpéniques. On est en droit de supposer que les éthers saturés de formule  $C_{15}H_{26}O$  (222 g/mol), tel que le guaïoxide (**37**), proviennent de la cyclisation en milieu acide de leurs alcools précurseurs.

Schéma 7. Préparation des époxyguaïanes et des époxyguaïanols **114** et **124** (238 g/mol) à partir des époxydes de **74** et de **111**, et leur déshydratation ultérieure en 5,11- et 10,11-époxyguaïènes.



<sup>a</sup> Réactifs et conditions : (a) *m*-CPBA,  $CH_2Cl_2$ , T.A., 5 min; (b)  $AlCl_3$ , THF, T.A., 2 h; (c) tube scellé, 200 °C, 1,5 h; (d) montmorillonite activée K10,  $CH_2Cl_2$ , T.A., 30 min; et (e) *p*-TSOH,  $CH_2Cl_2$ , T.A., 3 h.

Ce processus est susceptible de se produire dans la plante elle-même, mais également, pendant l'hydrodistillation. Les 5,11- et 10,11-époxyguaïènes (220 g/mol,  $C_{15}H_{24}O$ ) proviennent quant à eux de la déshydratation des époxyguaïanols (238 g/mol,  $C_{15}H_{26}O_2$ ), et cette transformation peut probablement se produire lors de l'extraction de l'huile essentielle du bois. Étonnamment, aucun 1,11-époxyguaïane n'a pu jusqu'à présent être détecté dans l'essence. En outre, il est probable que les époxyguaïanols tels que **96**, **114**, et **124** se concentrent dans la résine du bois

suite à une probable époxydation des précurseurs les plus abondants, à savoir le guaiol (**74**) et le bulnésol (**111**). Des recherches futures sur le bois de Gaïac lui-même pourraient donner une idée de ce qui se passe et permettraient éventuellement de valider nos hypothèses. Afin d'en apprendre d'avantage sur les voies de formation potentielles des composés de l'essence, nous avons cherché à confirmer les hypothèses de formation sur les époxycadinanes et les composés inattendus isolés.

### I.5.3. Formation des époxycadinanes et cétones inusuelles

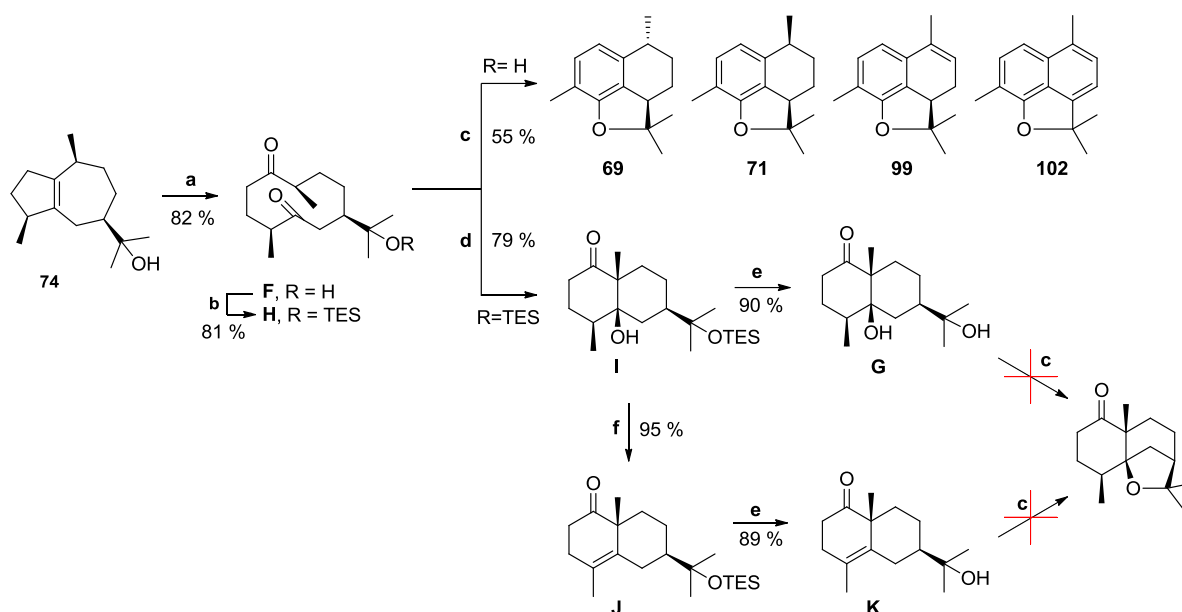
Puisque le guaiol (**74**) et, dans une moindre mesure, le bulnésol (**111**) peuvent être facilement isolés de l'essence par précipitation ou recristallisation,<sup>35</sup> ces deux composés ont été utilisés comme précurseurs dans l'hémi-synthèse de plusieurs molécules naturelles.<sup>29,33,50,52,53</sup> En 1994, Minnaard et son équipe rapportent la coupure oxydante du guaiol (**74**) avec un mélange de RuO<sub>2</sub>/NaIO<sub>4</sub>.<sup>50</sup> La réaction donne une hydroxygermacradione (**F**) qui cyclise facilement en une dihydroxycadinone (**XX**) sous condition alcaline (Schéma 8). Le traitement de cette cétone avec une solution de *p*-TsOH conduit à la formation d'un dérivé de type 5,11-époxycadinol structuralement proche des 5,11-époxycadinènes identifiés ici. Il est donc probable que la réduction de cet époxycadinol conduise aux composés **69**, **71**, **99** et **102**. Ainsi, nous avons effectué l'oxydation de **74** dans les mêmes conditions oxydantes, produisant **F** avec un rendement de 82 % (Schéma 8). De plus, le traitement acide de **F** au *p*-TsOH donne les composés **69**, **71**, **99** et **102** attendus. Minnaard signale également que **F** peut être susceptible de cycliser en une cétone eudesmanique **G**, structurellement proche de **127**, si l'hydroxyle en position #11 est protégé par un groupe triéthylsilyle avant formation du germacrane. L'étape manquante pour atteindre le composé **127** correspond à la cyclisation de l'alcool déprotégé pour former le squelette agarofurannique habituel. Ainsi, après formation de **H**, ce composé a été traité dans les mêmes conditions alcalines (KOH dans EtOH) pour former la TES-dihydroxeudesmanone **I**.

Afin de diminuer l'encombrement stérique et de faciliter la cyclisation dans l'étape suivante, **I** a été traité par du chlorure de thionyle (SOCl<sub>2</sub>) en présence de pyridine pour donner la cétone insaturée **J**. Des scénarii différents ont été envisagés pour obtenir le composé **127**. Ainsi, à la fois **I** et **J** ont été déprotégés avec du fluorure de tétra-*n*-butylammonium (TBAF) pour donner **G** et **K**. Malheureusement, aucun de ces produits n'a fourni **127** après traitement au *p*-TsOH ou de la montmorillonite K10. Il a été postulé par la suite que l'orientation β du méthyle #14 peut empêcher l'attaque du groupe hydroxyle en position #5. Cette observation soutient

fortement que le méthyle #14 pour le composé **127** est orienté en position  $\alpha$ . De plus, cette exigence stéréochimique suggère que **127** peut être formé par oxydation et cyclisation du 10-*épi*-guaïol (**80**).

Le composé **94** possède un squelette pyranique et présente des caractéristiques structurales communes à celle du bulnésol (**111**). Ainsi, en se basant sur les résultats obtenus pour l'oxydation de **74**, il était intéressant de s'intéresser au clivage oxydant de **111**. A notre connaissance, aucune étude antérieure n'a été menée sur ce sujet.

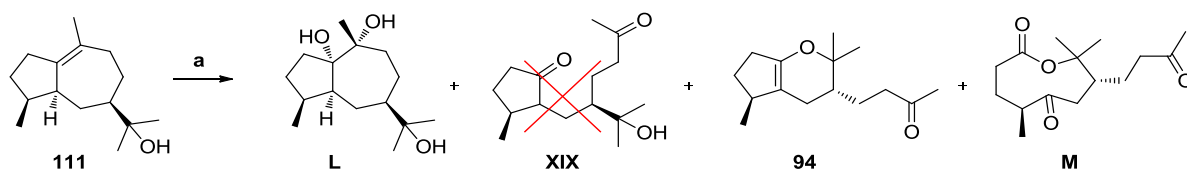
Schéma 8. Préparation des 5,11-époxycaadinènes (**69**, **71**, **99** et **102**) et de la potentielle 5,11-époxyeudesmanone.



Réactifs et conditions : (a)  $\text{RuO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NaIO}_4$ , mélange de  $\text{CCl}_4$ , MeCN et  $\text{H}_2\text{O}$ , T.A., 2 h; (b) TESCl, imidazole, DMF anhydre, sous  $\text{N}_2$ , T.A., 5 h; (c) *p*-TsOH,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , T.A., 3 h; (d) KOH, EtOH, T.A., 2 heures; (e) TBAF, THF anhydre, sous  $\text{N}_2$ , 40 °C, 3 h; (f)  $\text{SOCl}_2$ , pyridine, 0 °C, 15 min.

Ainsi, afin de confirmer la voie de formation de **94**, le même protocole d'oxydation utilisant un mélange  $\text{RuO}_2/\text{NaIO}_4$  a été utilisé. Contrairement à **74**, l'oxydation de **111** n'a pas conduit à un seul produit mais à un mélange de quatre composés, dont trois ont pu être isolés (Schéma 9). Dans ces conditions, l'oxydation de **111** donne un premier guaiène-1,10,11-triol (**L**), épimère du stachytriol isolé à partir d'*Azorella cryptantha*.<sup>54</sup> Ce composé **L** peut subir ensuite une coupure oxydante pour donner l'hydroxydicétone **XIX**, qui peut à son tour cycliser pour donner le composé **94** après déshydratation. En outre, le composé **94** peut subir une autre coupure oxydante pour produire la dicétolactone **M**, précédemment connue sous le nom d'holostylactone, provenant d'un extrait solvant d'*Holostylis reniformis*.<sup>55</sup> Tous ces composés d'oxydation, excepté **M**, n'ont jamais été décrits jusqu'ici.

Schéma 9. Oxydation du bulnésol (**111**) avec un mélange de  $\text{RuO}_2/\text{NaIO}_4$  vers la formation du dérivé pyranique (**94**). Dans ces conditions, **XIX** est un composé instable et n'a pas pu être isolé.



Réactifs et conditions : (a)  $\text{RuO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NaIO}_4$ , mélange de solvant  $\text{CCl}_4$ , MeCN et  $\text{H}_2\text{O}$ , T.A., 2 h.

#### I.5.4. Hypothèse de formation des isoguaiols

D'un point de vue synthétique, la série complète d'isoguaiols (**93**, **100**, **105** et **106**) peut être obtenue par isomérisation des composés **74** et **80** (Figure 7). Selon la littérature, l'isomérisation du guaiol (**74**) en isoguaiol **106** a été effectuée par traitement au palladium sous atmosphère d'hydrogène.<sup>35</sup> Néanmoins, il est également probable que l'isomérisation de **74** et **80** en isoguaiols puisse être réalisée en milieu acide. Dans ce contexte et comme décrit plus haut, le traitement du guaiol (**74**) avec du *p*-TsOH, de la montmorillonite K10 ou un mélange  $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{AcOH}$  conduit principalement au guaioxide (**37**).<sup>19</sup> Cependant, il est possible d'observer que le traitement au *p*-TsOH de **74** donne différents produits mineurs aux côtés de **37** lorsque l'on contrôle le milieu réactionnel par GC en tout début de réaction. Ces composés mineurs sont identifiés par GC-MS comme étant les isoguaiols **93** et **106**. Il est important de noter qu'un traitement prolongé comme réalisé plus haut conduit à la formation exclusive d'hydrocarbures mais aussi de guaioxide (**37**).

Parallèlement, un traitement similaire a été appliqué au 10-*épi*-guaiol (**80**) et a donné les isoguaiols **100** et **105** (Figure 7). En plus de la formation de **100** et **105**, **80** a fourni un éther, qui peut être identifié comme le 10-*épi*-guaioxide, également référencé sous le nom bulnesoxide (**52a**).<sup>49</sup> Hélas, ce composé n'a pas pu être isolé et caractérisé par RMN.

L'ensemble des interrogations liées aux voies de formation des différents constituants nous a permis de mieux appréhender la « chimie » à l'œuvre au sein du bois de Gaïac. Alors que la biosynthèse des alcools majoritaires est décrite depuis longtemps, l'identification des dérivés minoritaires tels que les 5,11- et 10,11-époxyguaïanes nous a permis de retracer leurs voies de formation, nécessitant l'époxydation et la cyclisation du guaiol (**74**) et du bulnésol (**111**).

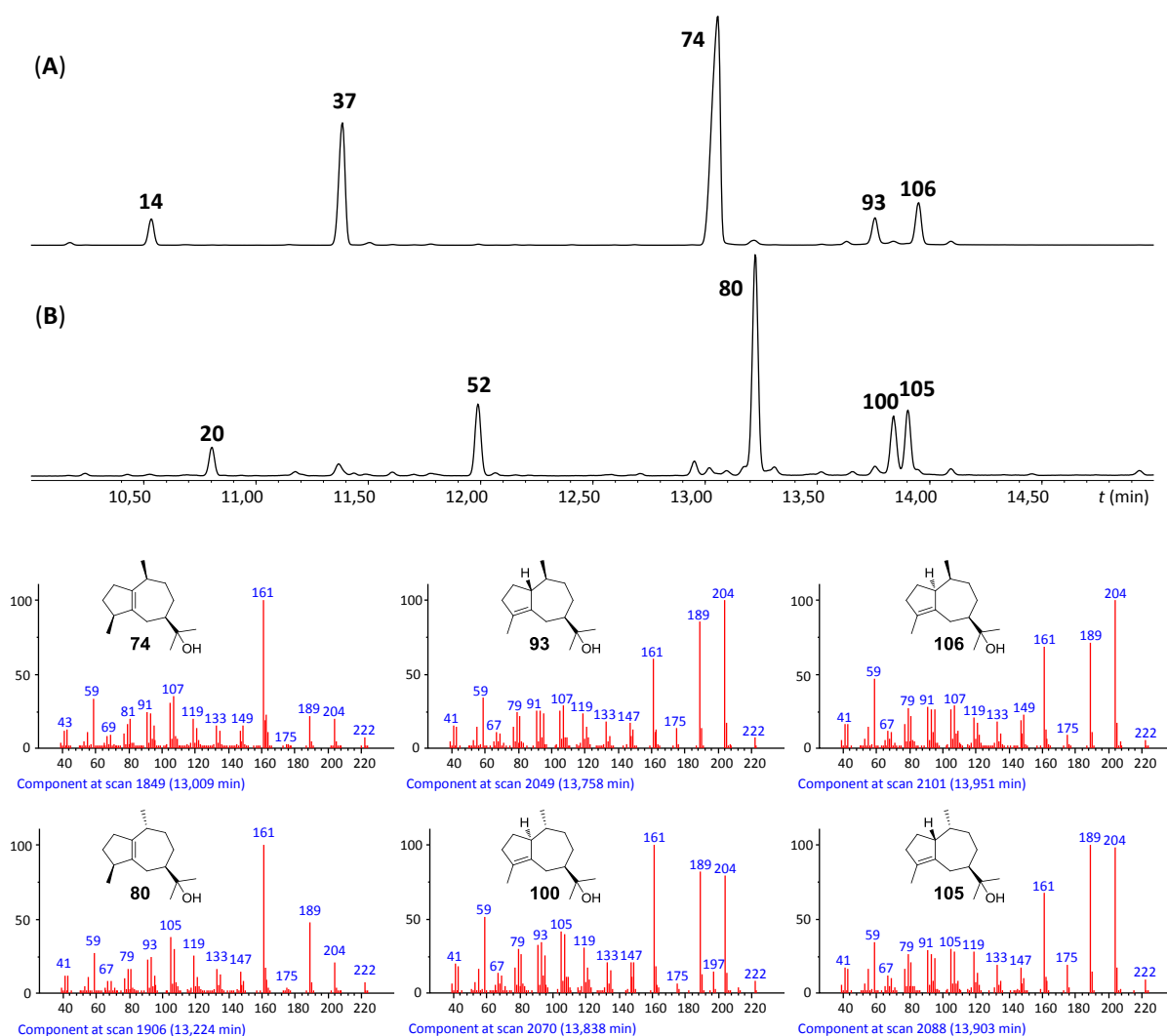


Figure 7. (A) Chromatogramme (GC-MS) de la réaction d'isomérisation du guaiol (**74**) avec du *p*-TsOH conduisant à la formation d' $\alpha$ -guaiène (**14**), de guaioxide (**37**) et des isoguaiols (**93** et **106**) ainsi que leurs spectres de masse associés. (B) Chromatogramme (GC-MS) de la réaction d'isomérisation du 10-*épi*-guaiol (**80**) avec du *p*-TsOH conduisant à la formation de 10-*épi*- $\alpha$ -guaiène (**20**), 10-*épi*-guaioxide (**52b**) et les isoguaiols (**100** et **105**) ainsi que leurs spectres de masse associés.

Les époxycadinanes sont quant à eux issus de processus plus avancés, nécessitant la coupure oxydante des doubles liaisons du guaiol ou du 10-*épi*-guaiol, libérant ainsi des diones susceptibles de cycliser via, par exemple, des réactions de type condensation de Claisen-Schmidt. En tout état de cause, l'ensemble de ces considérations montre bien que les doubles liaisons des constituants majeurs sont le siège de divers processus oxydatifs (époxydation, coupure oxydante) conduisant à une diversité moléculaire et donc à la complexité de l'essence de bois de Gaïac. Sur la base de ces identifications, il a été possible de donner une description qualitative et quantitative précise de la composition chimique de l'essence au moyen de la chromatographie bidimensionnelle en phase gazeuse (GC  $\times$  GC).

## I.6. Analyse quantitative de la composition chimique par GC × GC–FID

L'étude analytique la plus récente a été réalisée par Rodilla et al. en 2011.<sup>21</sup> Les auteurs décrivent une composition chimique riche en alcools sesquiterpéniques, où le guaiol (**74**) et le bulnésol (**111**) représentent environ 54 % (% relatif) de l'huile essentielle. Seulement seize constituants ont été identifiés par GC × GC–MS, l'hanamyol (**114**) étant le seul composé isolé. En se basant principalement sur les propriétés chromatographiques (RI/MS), les auteurs soulignent la présence de cinq éthers supplémentaires et de neuf alcools sesquiterpéniques, sans toutefois proposer de structure pour ces composés. Le travail de fractionnement et de synthèse a permis d'identifier l'ensemble des composés inconnus décrits par Rodilla et son équipe mais également de découvrir de nouveaux dérivés sesquiterpéniques. Ainsi, afin d'assurer la fiabilité de nos résultats analytiques, deux échantillons différents d'huile essentielle de bois de Gaïac ont été analysés et quantifiés au moyen de la GC × GC–FID. L'ensemble des résultats analytiques sont résumés dans le Tableau 5.

L'essence de Gaïac est constituée en majeure partie d'alcools tertiaires appartenant principalement aux familles des guaïanes et des eudesmanes, dont les deux constituants principaux **74** et **111** représentent entre 65 et 69 % de l'essence totale. Le β-élémol (**61**; ~0,84 %), le 10-épi-guaiol (**80**; 1,15–1,47 %), l'eudesm-5-én-11-ol (**84**; 1,21–1,27 %), le 10-épi-γ-eudesmol (**87**; ~1,94 %), le γ-eudesmol (**89**; 3,21–3,65 %), l'α-eudesmol (**107**; 2,43–2,50 %), le β-eudesmol (**108**; ~3,08 %), le germacra-1(10),4(15)-dién-11-ol (**110**; ~1,40 %), l'hanamyol (**114**; 2,45–2,52 %) et le guai-9-én-11-ol (**117**; 0,89–1,06 %) sont également considérés comme des constituants principaux de l'essence. L'étude menée par Schmidt en GC–MS sur 22 échantillons d'essence de bois de Gaïac donne des pourcentages (relatifs) proche de nos deux analyses.<sup>22</sup> De plus, plusieurs hydrocarbures mineurs et éthers sesquiterpéniques tels que l'α-guaïène (**14**), le 10,11-époxyguai-1(5)-ène (**31**), le guaioxide (**37**), le α-bulnesène (**42**), le *trans*-dihydroagarofurane (**44**), le 5,11-époxyguai-1-ène (**62**) et le β-bulnesène (**65**) sont facilement détectables, même par simple analyse GC–MS. Les hydrocarbures et les éthers constituent 3,16–4,02 % et 3,05–4,03 % de l'huile essentielle, respectivement. En plus des dérivés eudesmanes et guaïanes, quelques constituants appartenant à la famille des éremophilanes et des vétispiranes sont également détectés dans l'essence, tels que l'agarospirol (**92**), le jinkoh-éremol (**98**) et le valérianol (**104**). Ces composés sont directement liés à la voie de formation des eudesmanes (Schéma 5).

Tableau 5. Analyse par chromatographie bidimensionnelle intégrale en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme de deux échantillons d'essence de bois de Gaïac.

#	RI <sup>a</sup> VF-5	RI Litt.	Composé <sup>b</sup>	Classe chimique	Famille	MM (g/mol)	#C	#H	#O	Ph	FRR	<sup>1</sup> t <sub>r</sub> (min)	<sup>2</sup> t <sub>r</sub> (s)	#1 <sup>g</sup> g/100g	Ecart Type	#2 <sup>g</sup> g/100g	Ecart Type	Ident.	Ref <sup>n</sup> (%rel.)
1	965	957	5-Méthylfurfural	Aldéhydes		110	6	6	2	0	0,518	11,00	4,04	0,08	0,02	0,07	0,01	MS,RI	
2	1001	1014	$\alpha$ -Terpinène	Hydrocarbures		136	10	16	0	0	0,942	11,64	0,14	0,02	0,00	0,02	0,00	MS,RI,Std	
3	1035	1024	Limonène	Hydrocarbures		136	10	16	0	0	0,942	12,19	0,24	0,01	0,00	0,01	0,00	MS,RI,Std	
4	1224	1217	$\beta$ -Cyclocitral	Aldéhydes		152	10	16	1	0	0,812	17,14	2,44	0,02	0,00	0,02	0,00	MS,RI	
5	1359	1350	$\alpha$ -Longipinène	Hydrocarbures		204	15	24	0	0	0,959	22,73	0,72	0,00	0,00	0,00	0,00	MS,RI	
6	1376	1373	$\alpha$ -Ylangène	Hydrocarbures	Copaanes	204	15	24	0	0	0,959	23,47	0,69	0,01	0,00	0,01	0,00	MS,RI,Ref <sup>h</sup>	
7	1381	1374	$\alpha$ -Copaène	Hydrocarbures	Copaanes	204	15	24	0	0	0,959	23,74	0,70	0,03	0,00	0,03	0,00	MS,RI,Ref <sup>h</sup>	
8	1391	1389	$\beta$ -Elémène	Hydrocarbures	Elémanes	204	15	24	0	0	0,959	24,29	1,08	0,02	0,00	0,02	0,00	MS,RI,Ref <sup>h</sup>	
9	1395	1388	$\beta$ -Patchoulène	Hydrocarbures	Patchoulanes	204	15	24	0	0	0,959	24,57	0,66	0,07	0,00	0,09	0,00	MS,RI,Ref <sup>i</sup>	0,2–0,5
10	1411		79 91 105 119 133 147 161 189 204	Inconnus H		204	15	24	0	0	0,959	25,58	0,75	0,04	0,00	0,05	0,00		
11	1426	1417	( <i>E</i> )-Caryophyllène	Hydrocarbures	Caryophyllanes	204	15	24	0	0	0,959	26,40	1,01	0,03	0,00	0,03	0,00	MS,RI,Std	0,0–0,2
12	1429	1432	<i>trans</i> - $\alpha$ -Bergamotène	Hydrocarbures	Bergamotanes	204	15	24	0	0	0,959	26,58	0,86	0,01	0,00	0,01	0,00	MS,RI,Ref <sup>j</sup>	
13	1429	1434	dihydro- $\beta$ -Ionone	Cétones		194	13	22	1	0	0,858	26,68	2,66	0,01	0,00	0,01	0,00	MS,RI	
14	1434	1437	$\alpha$ -Guaïène	Hydrocarbures	Guaïanes	204	15	24	0	0	0,959	26,95	0,88	0,43	0,01	0,50	0,00	MS,RI,Ref <sup>i</sup>	0,2–0,8
15	1437	1448	( <i>E</i> )-Isoeugénol	Phénols		164	10	12	2	1	0,760	27,13	4,11	0,01	0,00	0,01	0,00	MS,RI,Std	
16	1439	1443	Guai-6,9-diène	Hydrocarbures	Guaïanes	204	15	24	0	0	0,959	27,23	0,90	0,01	0,00	0,01	0,00	MS,RI,Ref <sup>h</sup>	
17	1440	1440	( <i>Z</i> )- $\beta$ -Farnésène	Hydrocarbures	Farnésanes	204	15	24	0	0	0,959	27,23	1,10	0,02	0,00	0,01	0,00	MS,RI	
18	1440		79 93 105 119 134 161 189 204	Inconnus H		204	15	24	0	0	0,959	27,32	0,98	0,01	0,00	0,02	0,00		
19	1445	1445	Guaia-1(5),6-diène <sup>c</sup>	Hydrocarbures	Guaïanes	204	15	24	0	0	0,959	27,59	0,88	0,03	0,00	0,03	0,00	MS,RI	
20	1453		10- <i>épi</i> - $\alpha$ -Guaïène	Hydrocarbures	Guaïanes	204	15	24	0	0	0,959	27,96	0,97	0,03	0,00	0,04	0,00	MS,RI,Std	
21	1462	1452	$\alpha$ -Humulène	Hydrocarbures	Caryophyllanes	204	15	24	0	0	0,959	28,51	1,20	0,06	0,00	0,07	0,00	MS,RI,Std	
22	1462	1457	Séline-4(15),7-diène	Hydrocarbures	Eudesmanes	204	15	24	0	0	0,959	28,60	1,04	0,01	0,00	0,02	0,00	MS,RI,Ref <sup>h</sup>	
23	1475		10,11-Epoxyguai-1(5)-ène épimère (tent. MS)	Ethers	Guaïanes	220	15	24	1	0	0,868	29,24	1,29	0,04	0,00	0,04	0,00	MS	
24	1476	1466	$\delta$ -Patchoulène	Hydrocarbures	Patchoulanes	204	15	24	0	0	0,959	29,43	1,03	0,02	0,00	0,02	0,01	MS,RI,Ref <sup>i</sup>	
25	1476	1475	Séline-4,11-diène	Hydrocarbures	Eudesmanes	204	15	24	0	0	0,959	29,43	1,08	0,06	0,00	0,11	0,01	MS,RI	
26	1476		10,11-Epoxyguai-4-ène épimère (tent. MS)	Ethers	Guaïanes	220	15	24	1	0	0,868	29,43	1,11	0,07	0,00	0,07	0,01	MS	
27	1478	1487	$\beta$ -Ionone	Cétones		192	13	20	1	0	0,845	29,52	3,18	0,06	0,00	0,06	0,00	MS,RI,Std	
28	1480	1483	$\alpha$ -Amorphène	Hydrocarbures	Cadinanes	204	15	24	0	0	0,959	29,70	1,13	0,02	0,00	0,03	0,00	MS,RI,Ref <sup>h</sup>	
29	1480		10- <i>épi</i> - $\beta$ -Sélinène (tent. MS)	Hydrocarbures	Eudesmanes	204	15	24	0	0	0,959	29,70	1,27	0,07	0,00	0,08	0,00	MS	
30	1488		10- <i>épi</i> -Séline-4,11-diène (tent. MS)	Hydrocarbures	Eudesmanes	204	15	24	0	0	0,959	29,98	1,08	0,07	0,02	0,12	0,02	MS	
31	1486	1494	10,11-Epoxyguai-1(5)-ène	Ethers	Guaïanes	220	15	24	1	0	0,868	30,07	1,32	0,39	0,00	0,49	0,00	RMN	
32	1484	1480	<i>trans</i> - $\beta$ -Bergamotène	Hydrocarbures	Bergamotanes	204	15	24	0	0	0,959	30,09	1,04	0,02	0,00	0,07	0,01	MS,RI,Ref <sup>j</sup>	
33	1487	1492	<i>cis</i> - $\beta$ -Guaïène	Hydrocarbures	Guaïanes	204	15	24	0	0	0,959	30,16	0,98	0,09	0,00	0,07	0,02	MS,RI,Ref <sup>i</sup>	
34	1488	1492	$\delta$ -Sélinène	Hydrocarbures	Eudesmanes	204	15	24	0	0	0,959	30,25	1,06	0,02	0,01	0,04	0,01	MS,RI,Std	
35	1488	1488	$\beta$ -Kessane (7,10-époxyguaiane)	Ethers	Guaïanes	222	15	26	1	0	0,879	30,25	1,11	0,10	0,02	0,06	0,01	RMN	
36	1491	1497	10,11-Epoxyguaia-1,5-diène	Ethers	Guaïanes	218	15	22	1	0	0,856	30,43	1,61	0,03	0,00	0,04	0,00	RMN	
37	1493	1496	Guaioxide	Ethers	Guaïanes	222	15	26	1	0	0,879	30,62	1,19	0,51	0,01	0,74	0,03	RMN	0,3–1,9
38	1495	1499	10,11-Epoxyguai-5-ène	Ethers	Guaïanes	220	15	24	1	0	0,868	30,71	1,31	0,10	0,01	0,19	0,02	RMN	
39	1498	1500	$\alpha$ -Muuroolène	Hydrocarbures	Cadinanes	204	15	24	0	0	0,959	30,80	1,09	0,02	0,01	0,03	0,01	MS,RI	
40	1498	1489	$\beta$ -Sélinène	Hydrocarbures	Eudesmanes	204	15	24	0	0	0,959	30,80	1,31	0,04	0,00	0,06	0,02	MS,RI,Ref <sup>k</sup>	0,0–0,1
41	1500	1498	$\alpha$ -Sélinène	Hydrocarbures	Eudesmanes	204	15	24	0	0	0,959	31,08	1,25	0,07	0,04	0,10	0,01	MS,RI,Ref <sup>k</sup>	0,0–0,2
42	1502	1503	$\delta$ -Guaïène (aka $\alpha$ -Bulnésène)	Hydrocarbures	Guaïanes	204	15	24	0	0	0,959	31,26	1,16	1,27	0,03	1,58	0,02	MS,RI,Ref <sup>i</sup>	0,8–4,5
43	1514	1528	<i>cis</i> -Calaménène	Hydrocarbures	Cadinanes	202	15	22	0	1	1,019	32,08	1,54	0,01	0,00	0,02	0,01	MS,RI,Ref <sup>h</sup>	
44	1514	1517	<i>trans</i> -dihydroAgarofurane	Ethers	Eudesmanes	222	15	26	1	0	0,879	32,09	1,22	0,34	0,01	0,40	0,03	RMN	
45	1517	1522	$\delta$ -Cadinène	Hydrocarbures	Cadinanes	204	15	24	0	0	0,959	32,18	1,20	0,08	0,01	0,09	0,04	MS,RI,Std	
46	1517		10- <i>épi</i> - $\alpha$ -Agarofurane	Ethers	Eudesmanes	220	15	24	1	0	0,868	32,27	1,42	0,03	0,00	0,04	0,00	MS,RI,Ref <sup>m</sup>	
47	1518	1522	4- <i>épi</i> - <i>trans</i> -dihydroAgarofurane	Ethers	Eudesmanes	222	15	26	1	0	0,879	32,45	1,22	0,11	0,00	0,18	0,01	RMN	
48	1523	1527	Eremophila-1(10),7(11)-diène	Hydrocarbures	Eremophilanes	204	15	24	0	0	0,959	32,73	1,20	0,01	0,00	0,02	0,00	MS,RI,Ref <sup>h</sup>	
49	1523	1520	7- <i>épi</i> - $\alpha$ -Sélinène	Hydrocarbures	Eudesmanes	204	15	24	0	0	0,959	32,91	1,35	0,03	0,00	0,03	0,00	MS,RI,Ref <sup>k</sup>	

#	RI <sup>a</sup> VF-5	RI Litt.	Composé <sup>b</sup>	Classe chimique	Famille	MM (g/mol)	#C	#H	#O	Ph	FRR	<sup>1</sup> t <sub>r</sub> (min)	<sup>2</sup> t <sub>r</sub> (s)	#1 <sup>g</sup> g/100g	Ecart Type	#2 <sup>g</sup> g/100g	Ecart Type	Ident.	Ref <sup>n</sup> (%rel.)
50	1526	1536	10,11-Epoxyguai-1-ène	Ethers	Guaianes	220	15	24	1	0	0,868	32,91	1,55	0,36	0,01	0,44	0,01	RMN	
51	1528	1534	10,11-Epoxyguai-4-ène	Ethers	Guaianes	220	15	24	1	0	0,868	33,09	1,47	0,08	0,00	0,15	0,01	RMN	
52	1530	1533	4,5-di-épi-Kessane + 10-épi-guaioxide	Ethers	Guaianes	222	15	26	1	0	0,879	33,18	1,27	0,07	0,00	0,10	0,01	RMN	
53	1532	1534	Séline-4,7(11)-diène <sup>d</sup>	Hydrocarbures	Eudesmanes	204	15	24	0	0	0,959	33,37	1,18	0,07	0,00	0,10	0,00	MS,RI	
54	1532		1,4,5-tri-épi-Kessane (tent. MS)	Ethers	Guaianes	222	15	26	1	0	0,879	33,37	1,26	0,02	0,00	0,03	0,01	MS	
55	1532	1541	5,11-Epoxyguai-1(10)-ène	Ethers	Guaianes	220	15	24	1	0	0,868	33,46	1,47	0,05	0,00	0,09	0,00	RMN	
56	1537	1543	5,11-Epoxyguai-9-ène	Ethers	Guaianes	220	15	24	1	0	0,868	33,83	1,44	0,09	0,00	0,13	0,00	RMN	
57	1540	1534	Séline-4(15),7(11)-diène	Hydrocarbures	Eudesmanes	204	15	24	0	0	0,959	33,92	1,28	0,03	0,00	0,04	0,00	MS,RI,Ref <sup>h</sup>	
58	1543	1544	α-Calacorène	Hydrocarbures	Cadinanes	200	15	20	0	1	1,008	34,10	2,11	0,02	0,00	0,02	0,00	MS,RI,Ref <sup>h</sup>	
59	1545	1550	5,11-Epoxyguai-10(14)-ène	Ethers	Guaianes	220	15	24	1	0	0,868	34,28	1,56	0,06	0,00	0,09	0,00	RMN	
60	1545	1545	Séline-3,7(11)-diène	Hydrocarbures	Eudesmanes	204	15	24	0	0	0,959	34,29	1,24	0,03	0,00	0,05	0,00	MS,RI,Ref <sup>h</sup>	
61	1546	1548	β-Elémol	Alcools III	Elemannes	222	15	26	1	0	0,879	34,38	3,51	0,85	0,00	0,84	0,00	MS,RI,Ref <sup>k</sup>	0,5–1,7
62	1553	1560	5,11-Epoxyguai-1-ène	Ethers	Guaianes	220	15	24	1	0	0,868	34,83	1,75	0,23	0,00	0,28	0,00	RMN	
63	1553		55 67 79 93 105 119 133 147 161 176 189 <b>204</b>	Inconnus H		204	15	24	0	0	0,959	34,84	1,34	0,01	0,00	0,02	0,00		
64	1555	1548	α-Agarofurane	Ethers	Eudesmanes	220	15	24	1	0	0,868	35,02	1,90	0,04	0,00	0,05	0,00	MS,RI,Ref <sup>k</sup>	
65	1562	1558	β-Bulnésène <sup>c</sup>	Hydrocarbures	Guaianes	204	15	24	0	0	0,959	35,38	1,17	0,28	0,00	0,39	0,00	MS,RI	
66	1566		53 77 91 105 131 <b>145</b> 159 189 203 218	Inconnus		218	15	22	1	0	0,856	35,66	2,06	0,07	0,00	0,08	0,00		
67	1569		cis-dihydroAgarofurane isomère (tent. MS)	Ethers	Eudesmanes	222	15	26	1	0	0,879	36,03	1,44	0,02	0,00	0,03	0,00	MS	
68	1577		95 <b>109</b> 111 123 210 252	Inconnus		252	16	28	2	0	0,813	36,48	2,43	0,02	0,00	0,03	0,01		
69	1577		(7αH,10βH)-trans-5,11-Epoxyalaménène	Ethers	Cadinanes	216	15	20	1	1	0,911	36,48	2,44	0,04	0,00	0,05	0,01	RMN	
70	1577		<b>59</b> 93 107 122 147 <b>161</b> 189 204 222	Inconnus		222	15	26	1	0	0,879	36,48	2,90	0,03	0,00	0,04	0,00		
71	1581		(7αH,10αH)-cis-5,11-Epoxyalaménène	Ethers	Cadinanes	216	15	20	1	1	0,911	36,85	2,46	0,05	0,01	0,07	0,00	RMN	
72	1595	1600	Rosifoliol	Alcools III	Eudesmanes	222	15	26	1	0	0,879	37,95	2,79	0,03	0,00	0,04	0,01	MS,RI,Ref <sup>k</sup>	
73	1598		81 95 105 <b>121</b> 136 161 179 204 222	Inconnus		222	15	26	1	0	0,879	38,23	2,06	0,03	0,00	0,04	0,01		
74	1599	1600	Guaiol	Alcools III	Guaianes	222	15	26	1	0	0,879	38,41	3,05	28,27	0,07	27,96	0,11	RMN	25,6–38,7
75	1601		<b>59</b> 81 93 107 121 135 147 149 161 189 204 222	Inconnus		222	15	26	1	0	0,879	38,59	2,82	0,13	0,02	0,25	0,01		
76	1604		Guai-5-én-11-ol (tent. MS) <sup>e</sup>	Alcools III	Guaianes	222	15	26	1	0	0,879	38,78	2,85	0,16	0,00	0,17	0,01	MS	
77	1606		4,5;5,11-di-Epoxy-4,5-seco-guaiane	Ethers	Guaianes	238	15	26	2	0	0,800	38,87	2,09	0,09	0,00	0,11	0,00	RMN	
78	1609	1607	10-épi-α-Eudesmol	Alcools III	Eudesmanes	222	15	26	1	0	0,879	39,14	3,11	0,32	0,00	0,39	0,01	MS,RI	
79	1609		79 91 105 107 <b>122</b> 147 220	Inconnus		220	15	24	1	0	0,868	39,15	1,76	0,03	0,00	0,03	0,00		
80	1609		10-épi-Guaiol	Alcools III	Guaianes	222	15	26	1	0	0,879	39,15	2,79	1,15	0,00	1,47	0,00	RMN	0,0–1,0
81	1611		10-épi-β-Eudesmol	Alcools III	Eudesmanes	222	15	26	1	0	0,879	39,33	3,24	0,07	0,00	0,09	0,00	RMN	
82	1612		Eudesm-4-én-7α-ol <sup>e</sup>	Alcools III	Eudesmanes	222	15	26	1	0	0,879	39,42	1,83	0,03	0,00	0,04	0,00	MS,RI	
83	1612		59 79 105 119 133 <b>161</b> 189 204 222	Inconnus		222	15	26	1	0	0,879	39,69	2,68	0,01	0,00	0,02	0,00		
84	1618		(4αH,7αH,10β)-Eudesm-5-én-11-ol	Alcools III	Eudesmanes	222	15	26	1	0	0,879	39,88	2,84	1,21	0,00	1,27	0,00	RMN	
85	1621	1613	Sélin-6-én-4β-ol	Alcools III	Eudesmanes	222	15	26	1	0	0,879	40,15	2,89	0,02	0,00	0,03	0,00	MS,RI	
86	1622		Néointermèdeol, aka Sélin-11-én-4β-ol	Alcools III	Eudesmanes	222	15	26	1	0	0,879	40,24	2,99	0,02	0,00	0,02	0,00	MS,RI	
87	1627	1622	10-épi-γ-Eudesmol	Alcools III	Eudesmanes	222	15	26	1	0	0,879	40,70	2,60	1,93	0,01	1,94	0,00	MS,RI,Ref <sup>k</sup>	1,2–3,5
88	1632		79 91 105 118 <b>145</b> 161 200 218	Inconnus		218	15	22	1	0	0,856	41,07	2,41	0,03	0,00	0,03	0,00		
89	1634	1630	γ-Eudesmol	Alcools III	Eudesmanes	222	15	26	1	0	0,879	41,16	3,03	3,21	0,01	3,65	0,02	MS,RI,Ref <sup>k</sup>	1,6–3,8
90	1637		4,5-di-épi-Jinkoh-érémol	Alcools III	Erémophilanes	222	15	26	1	0	0,879	41,43	3,09	0,14	0,01	0,17	0,00	MS,RI,Ref <sup>m</sup>	
91	1638		1-épi-Guai-10(14)-én-11-ol (tent. MS)	Alcools III	Guaianes	222	15	26	1	0	0,879	41,53	2,87	0,12	0,01	0,10	0,01	MS	
92	1642	1646	Agarospirol	Alcools III	Vétispiranes	222	15	26	1	0	0,879	41,89	3,00	0,12	0,00	0,13	0,01	MS,RI,Ref <sup>l</sup>	
93	1645		(1βH,7αH,10αH)-Guai-4-én-11-ol (Isoguaiol A)	Alcools III	Guaianes	222	15	26	1	0	0,879	42,08	2,79	0,24	0,01	0,28	0,01	RMN	
94	1645		4-(2,2,5-triméthyl-2,3,4,5,6,7-hexahydrocyclopentapyran-3-yl)butan-2-one	Cétones		236	15	24	2	0	0,789	42,09	2,75	0,12	0,01	0,20	0,02	RMN	
95	1646		(1αH,4αH,5αH,7αH)-Guai-10(14)-én-11-ol	Alcools III	Guaianes	222	15	26	1	0	0,879	42,17	3,06	0,64	0,01	0,53	0,01	RMN	
96	1646	1656	5,11-Epoxyguaian-1β-ol	Alcools III	Guaianes	238	15	26	2	0	0,800	42,18	1,86	0,11	0,00	0,15	0,00	RMN	
97	1646		Erémophila-1(10),8-dién-11-ol <sup>f</sup>	Alcools III	Erémophilanes	220	15	24	1	0	0,868	42,19	3,32	0,02	0,01	0,06	0,00	MS	
98	1649	1652	Jinkoh-érémol	Alcools III	Erémophilanes	222	15	26	1	0	0,879	42,44	3,01	0,12	0,00	0,15	0,01	MS,RI,Ref <sup>l</sup>	
99	1649		(7αH)-5,11-Epoxycalacorène	Ethers	Cadinanes	214	15	18	1	1	0,900	42,45	2,87	0,03	0,01	0,03	0,00	RMN	
100	1650		(1αH,7αH,10βH)-Guai-4-én-11-ol (Isoguaiol B)	Alcools III	Guaianes	222	15	26	1	0	0,879	42,53	2,83	0,29	0,01	0,33	0,02	RMN	



#	RI <sup>a</sup> VF-5	RI Litt.	Composé <sup>b</sup>	Classe chimique	Famille	MM (g/mol)	#C	#H	#O	Ph	FRR	<sup>1</sup> t <sub>r</sub> (min)	<sup>2</sup> t <sub>r</sub> (s)	#1 <sup>g</sup> g/100g	Ecart Type	#2 <sup>g</sup> g/100g	Ecart Type	Ident.	Ref <sup>n</sup> (%rel.)		
101	1653		55 <b>83</b> 98 111 151 161 203 236	Inconnus		236	15	24	2	0	0,789	42,72	2,63	0,05	0,00	0,06	0,00				
102	1654		5,11-Epoxycedalène	Ethers	Cadinanes	212	15	16	1	2	0,956	42,89	3,24	0,10	0,00	0,12	0,01	RMN			
103	1655	1656	$\alpha$ -Bisabolol oxide B	Alcools III	Bisabolanes	238	15	26	2	0	0,800	42,90	2,41	0,07	0,00	0,08	0,00	RMN			
104	1655	1656	Valérianol	Alcools III	Erémophilanes	222	15	26	1	0	0,879	42,91	3,07	0,03	0,00	0,07	0,01	MS,RI,Ref <sup>h</sup>			
105	1656		(1 $\beta$ H,7 $\alpha$ H,10 $\beta$ H)-Guai-4- $\acute{e}$ n-11-ol (Isoguaiol C)	Alcools III	Guaianes	222	15	26	1	0	0,879	42,99	2,82	0,28	0,03	0,24	0,01	RMN			
106	1657		(1 $\alpha$ H,7 $\alpha$ H,10 $\alpha$ H)-Guai-4- $\acute{e}$ n-11-ol (Isoguaiol D)	Alcools III	Guaianes	222	15	26	1	0	0,879	43,08	2,87	0,45	0,03	0,39	0,04	RMN			
107	1658	1652	$\alpha$ -Eudesmol	Alcools III	Eudesmanes	222	15	26	1	0	0,879	43,27	3,32	2,50	0,27	2,43	0,38	MS,RI,Ref <sup>k</sup>	2,3–4,7		
108	1659	1649	$\beta$ -Eudesmol	Alcools III	Eudesmanes	222	15	26	1	0	0,879	43,35	3,28	3,09	0,17	3,08	0,33	MS,RI,Ref <sup>k</sup>	0,2–3,6		
109	1659		(1 $\alpha$ H,4 $\alpha$ H,5 $\alpha$ H,7 $\alpha$ H)-Guai-9- $\acute{e}$ n-11-ol	Alcools III	Guaianes	222	15	26	1	0	0,879	43,36	2,97	0,52	0,03	0,52	0,12	RMN			
110	1660		Germacra-1(10),4(15)-di $\acute{e}$ n-11-ol	Alcools III	Germacrane	222	15	26	1	0	0,879	43,54	3,34	1,42	0,01	1,40	0,00	RMN			
111	1668	1670	Bulnésol	Alcools III	Guaianes	222	15	26	1	0	0,879	44,18	3,14	40,49	0,14	37,26	0,07	RMN	30,5–49,8		
112	1672		59 81 93 107 121 135 149 161 189 204 222	Inconnus		222	15	26	1	0	0,879	44,28	3,09	0,15	0,01	0,12	0,03				
113	1673		(4 $\alpha$ H,5 $\alpha$ H)-Guai-1(10)- $\acute{e}$ n-7 $\alpha$ -ol	Alcools III	Guaianes	222	15	26	1	0	0,879	44,46	2,37	0,03	0,00	0,05	0,00	RMN			
114	1674	1679	Hanamyol	Alcools III	Guaianes	238	15	26	2	0	0,800	44,55	3,07	2,45	0,02	2,52	0,06	RMN			
115	1674	1665	Intermédéol	Alcools III	Eudesmanes	222	15	26	1	0	0,879	44,56	2,70	0,04	0,00	0,05	0,00	MS,RI,Ref <sup>h</sup>			
116	1676		59 93 107 119 135 <b>161</b> 189 204 222	Inconnus		222	15	26	1	0	0,879	44,73	2,77	0,04	0,00	0,04	0,00				
117	1682		(1 $\beta$ H,4 $\alpha$ H,5 $\alpha$ H,7 $\alpha$ H)-Guai-9- $\acute{e}$ n-11-ol	Alcools III	Guaianes	222	15	26	1	0	0,879	45,19	2,99	1,06	0,00	0,89	0,00	RMN	0,0–0,8		
118	1684		53 67 81 95 109 <b>122</b> 133 149 161 189 204 222	Inconnus		222	15	26	1	0	0,879	45,38	2,24	0,02	0,00	0,02	0,00				
119	1684		(4 $\alpha$ H,5 $\alpha$ H)-Guai-1(10)- $\acute{e}$ n-7 $\beta$ -ol	Alcools III	Guaianes	222	15	26	1	0	0,879	45,38	2,50	0,09	0,00	0,11	0,00	RMN			
120	1690		Eudesm-7(11)- $\acute{e}$ n-4 $\beta$ -ol (tent. MS, 4- $\acute{e}$ pi-Juniper camphor)	Alcools III	Eudesmanes	222	15	26	1	0	0,879	45,93	3,21	0,11	0,00	0,09	0,00	MS			
121	1693		59 91 105 131 145 <b>159</b> 202 220, (Guaiaidi $\acute{e}$ n-11-ol, isomère inconnu)	Inconnus		220	15	24	1	0	0,868	46,20	3,36	0,18	0,00	0,18	0,00				
122	1701	1700	Juniper Camphor	Alcools III	Eudesmanes	222	15	26	1	0	0,879	46,84	3,10	0,06	0,00	0,06	0,00	MS,RI,Ref <sup>h</sup>			
123	1704		55 71 95 109 128 162 181 195 220 238	Inconnus		238	15	26	2	0	0,800	47,12	3,30	0,06	0,00	0,07	0,00				
124	1706	1715	5,11-Epoxyguaian-1 $\alpha$ -ol	Alcools III	Guaianes	238	15	26	2	0	0,800	47,39	2,92	0,14	0,00	0,12	0,00	RMN			
125	1711		Hanamyol isomère (tent. MS)	Alcools III	Guaianes	238	15	26	2	0	0,800	47,76	3,27	0,08	0,00	0,08	0,00	MS			
126	1726		55 71 93 <b>108</b> <b>111</b> 126 236	Inconnus		236	15	24	2	0	0,789	49,13	3,33	0,03	0,00	0,02	0,00				
127	1740		4- $\acute{e}$ pi-trans-dihydroAgarofuran-1-one	Cétones	Eudesmanes	236	15	24	2	0	0,789	50,33	3,02	0,23	0,00	0,26	0,00	RMN			
128	1747		57 109 138 162 <b>205</b> 220 223 238	Inconnus		238	15	26	2	0	0,800	50,97	3,65	0,06	0,00	0,05	0,01				
													Total Alcools III		91,98		89,25				
													Total Ethers		3,05		4,03				
													Total Aldéhydes		0,10		0,09				
													Total Hydrocarbures		3,16		4,02				
													Total Cétones		0,42		0,53				
													Total Inconnus H		0,02		0,04				
													Total Inconnus		0,94		1,08				
													<b>Total</b>		99,67		99,03				

<sup>a</sup> Indices de rétentions (RI) calculés par comparaison d'une série d'*n*-alcanes de C7–C24 via l'analyse GC  $\times$  GC–MS sur colonne VF-5ms. <sup>b</sup> Les principaux ions sont affichés pour les composés inconnus (les pics de base sont écrits en gras); composés identifiés sur la base de leur spectre de masse et leur indice de rétention (RI) à partir des banques MS.<sup>56,57</sup> <sup>c</sup> Identification via MassFinder MS library. <sup>d</sup> de Lima, S., G., et al., *J. Essent. Oil Res.* **2012**, *24*, 371-376. <sup>e</sup> Paul, C., et al., *Phytochemistry*, **2001**, *58*, 789-798. <sup>f</sup> Näf, R., et al., *Flavour Frag. J.*, **1995**, *10*, 147-152. <sup>g</sup> Le pourcentage massique (g/100 g) et l'écart type ont été calculés via des analyses en triplicata. <sup>h</sup> Référence croisée avec l'essence de Vétiver (Chapitre Va). <sup>i</sup> Référence croisée avec l'essence de Patchouli (Chapitre III). <sup>j</sup> Référence croisée avec l'essence de bois de Santal. <sup>k</sup> Référence croisée avec l'essence d'*Amyris balsamifera*. <sup>l</sup> Référence croisée avec l'essence de Agarwood (Chapitre VI). <sup>m</sup> Référence croisée avec l'essence de *C. pancheri* (Chapitre II). <sup>n</sup> Gamme de pourcentage obtenue par GC–MS sur 22 échantillons d'huile essentielle de bois de Gaïac.<sup>22</sup>

Cette analyse par GC × GC nous a permis de montrer la présence de 128 constituants parmi lesquels 96 constituants ont été identifiés sur la base de leur spectre de masse et de leur indice de rétention. Cette étude a fourni un ensemble de 80 constituants supplémentaires par rapport aux analyses antérieures.<sup>20-22</sup> Au total, 41 composés répartis parmi les alcools, les éthers et les cétones ont été isolés et entièrement caractérisés par RMN. De plus, 29 d'entre eux ont été identifiés pour la première fois. Grâce à la connaissance précise de la composition chimique et au fractionnement avancé, la détermination des composés odorants dans l'essence de bois de Gaïac a été grandement facilitée.

### I.7. Détermination des constituants odorants de l'essence de Gaïac

Comme pour l'ensemble des matières premières à odeur boisée, il existe un manque important au niveau de la détermination de leurs composés odorants. L'essence de Gaïac, solide à température ambiante, possède une odeur boisée et fumée, délicate mais tenace, accompagnée de notes agréables de rose et de violette.<sup>4</sup> Comme la plupart des matières premières boisées, l'essence de Gaïac est également connue pour ses excellentes propriétés fixatrices. Par conséquent, elle entre dans plusieurs compositions de parfums.<sup>3,4,58,59</sup> Plus intrigant, aucune étude olfactive n'a été entreprise pour identifier les composés volatils responsables de son odeur suave caractéristique. En s'appuyant sur notre étude de la composition chimique, nous avons effectué l'identification des composés odorants d'impact présents dans nos échantillons au moyen de la chromatographie en phase gazeuse couplée à l'olfactométrie (GC–O et GC–MS/O).

La combinaison de ces techniques a conduit à l'identification de treize composés odorants dans l'essence de Gaïac. Parmi eux, le composé principal, le bulnésol (**111**), a été identifié comme possédant une note rosée délicate et caractérisée par tous les panélistes comme apportant la plus forte contribution à l'odeur de l'essence (FD 2048). De plus, une note fruitée intense, perçue à RI 1499, a été assignée à la  $\beta$ -ionone (**27**) dont la présence a été confirmée par GC × GC–MS. Remarquablement, sur les cinq panélistes, un paneliste a montré une anosmie complète à la  $\beta$ -ionone, confirmant l'anosmie spécifique précédemment rapportée pour ce composé par Plotto et son équipe.<sup>60</sup> En plus de ces deux composés, des notes de cuir, de clou de girofle et de vanille ont été détectées de façon prononcée dans l'essence. Leur association avec des molécules odorantes a été réalisée grâce à l'utilisation de composés standards, notamment dans le cas des dérivés phénoliques souvent présents à l'état de trace

dans les huiles essentielles à odeur boisée. Tous les résultats liés à l’investigation olfactive de l’huile essentielle de bois de Gaïac sont rassemblés dans le Tableau 6.

Tableau 6. Description olfactive des constituants actifs de l’huile essentielle de bois de Gaïac.

#	RI <sup>a</sup> (DB-5)	RI Litt. <sup>b</sup>	Nom du composé <sup>b</sup>	Description de l’odeur	Log <sub>2</sub> (FD) <sup>c</sup>					M.A. <sup>d</sup>	Référence <sup>e</sup>
					P1	P2	P3	P4	P5		
1	889	894	2-Méthylfuran-3-thiol	Viande, rôtie	0	0	3	-	-	1,0	Réf
2	1101	1087	Guaiacol	Phénolique, fumée, épicée, cuir	4	3	6	6	5	4,8	Réf
3	1261	1285	4-Propylphénol	Cuir, forte	4	3	2	3	0	2,4	Réf
4	1328	1309	4-Vinylguaiacol	Boisée, clou de girofle, phénolique	3	2	3	-	0	2,0	Réf
5	1366	1356	Eugénol	Clou de girofle, épicée	5	5	6	7	6	5,8	Réf
6	1401	1383	β-Damascénone	Fruitée, type prune	0	-	2	-	-	-	Réf
7	1415	1393	Vanilline	Vanille, chaude, douce	5	5	4	4	3	4,2	Réf
8	1417	1406	(Z)-Isoeugénol	Clou de girofle	0	0	0	-	-	0,0	Réf
9	1459	1448	(E)-Isoeugénol	Clou de girofle, phénolique	5	5	6	9	8	6,6	Réf
10	1483		Inconnu	Noix de coco, douce, lait chaud	3	2	4	4	0	2,6	
11	1499	1487	β-Ionone	Fruitée, violette, rosée	9	-	9	6	7	7,8	Réf
12	1540		Inconnu	Chaude, riz cuit, épicée	0	-	0	10	0	2,5	
13	1619	1600	Guaiol	Rosée, poudrée	3	3	3	4	0	2,6	F3-F5, Réf
14	1634	1622	10-épi-γ-Eudesmol	Camphrée, boisée, <i>Pelargonium</i>	2	2	2	-	0	1,5	F3-F4, Réf
15	1645		4,5-di-épi-Jinkoh-éremol/Agarospinol	Fleurie, Camphrée	3	3	1	-	-	2,3	F4-F6
16	1684	1670	Bulnésol	Rosée intense	11	11	11	10	10	10,6	F4-F6, Réf

<sup>a</sup> Indices de rétention (RI) calculés sur une série de *n*-alcane en C7-C24. <sup>b</sup> Les composés ont été identifiés sur la base de leur spectre de masse, leur indice de rétention (RI) *versus* littérature<sup>56</sup> et par co-injection de composé de référence disponible dans le commerce ou de produit isolé. <sup>c</sup> Le protocole AEDA a été mené par cinq panélistes afin d’évaluer les constituants d’impact odorant dans l’essence de Gaïac. <sup>d</sup> La moyenne arithmétique (M.A.) de Log<sub>2</sub>(FD) est donnée lorsque l’odeur est perçue par au moins 3 juges sur 5. <sup>e</sup> Réf : Composé de référence ; F : Fraction de l’essence de Gaïac.

Notre analyse olfactométrique révèle l’importance du bulnésol (**111**; log<sub>2</sub>(FD)10,6) et celle de la β-ionone (**27**, log<sub>2</sub>(FD) 7,8) pour l’odeur globale de l’essence, alors que le guaiol (**74**) fournit une contribution très limitée (**74**, log<sub>2</sub>(FD) 2,6). Ces résultats sont en contradiction avec les études antérieures prétendant que **74** était totalement inodore<sup>20</sup> et que le guaioxide (**37**) possédait une note vétiver chaude.<sup>61</sup> Enfin, comme on le voit dans d’autres huiles essentielles boisées, la présence de molécules aromatiques apporte soit des notes fumées (RI 1101, guaiacol), de cuir (RI 1261, 4-propylphénol) et sucrées/herbacées (RI 1415, vanilline et RI 1459, (E)-isoeugénol).

## I.8. Conclusion

En dépit d’être un ingrédient commun de la parfumerie, l’essence de bois de Gaïac souffrait d’un manque de caractérisation détaillée de sa composition chimique. Cette nouvelle étude donne une vision étendue de ses constituants et de leurs relations chimiques intrinsèques. Alors que les alcools tertiaires apparaissent en effet comme les composés les plus importants

de l'huile essentielle, diverses transformations chimiques ou biosynthétiques, comprenant des réactions de cyclisation, d'oxydation et de déshydratation, conduisent à l'apparition de constituants mineurs tels que des éthers et des cétones sesquiterpéniques. Nous avons ainsi caractérisé la présence de dérivés mineurs tels que des 5,11- et 10,11-époxyguaïanes, des 5,11-époxycaïnanes, des agarofuranes, ou encore des cétones inattendues provenant de l'oxydation des alcools majoritaires. De plus, la plupart d'entre eux ont révélé une nature isomérique proche, rendant leur identification plutôt difficile. Cela a été notamment le cas pour les alcools tertiaires minoritaires issus de l'isomérisation du guaiol (**74**) et du bulnésol (**111**). Néanmoins, l'utilisation intensive de la chromatographie en phase gazeuse semi-préparative a permis l'isolement de 41 dérivés sesquiterpéniques, dont 31 encore jamais décrits. De plus, le nombre total de constituants connus est passé de 16 à 96 composés. Pour la première fois, une analyse quantitative approfondie a été effectuée grâce à l'utilisation de la chromatographie bidimensionnelle en phase gazeuse combinée à l'utilisation des facteurs de réponse relatifs prédits (FRRP). Enfin, l'établissement d'une composition chimique précise nous a permis d'identifier les composés odorants d'impact de l'essence. De ce fait, l'huile essentielle de bois de Gaïac peut être résumée par une forte contribution du bulnésol (**111**) accompagné de la  $\beta$ -ionone (**27**) et de plusieurs composés aromatiques, tels que le 4-propylphénol, la vanilline, l'eugénol et le (*E*)-isoeugénol (**15**), lesquels sont présents en faibles quantités, voire même à l'état de trace.

En raison d'un nombre limité d'échantillons, l'application de nos résultats à une définition générale de l'huile essentielle de bois de Gaïac doit toutefois être considérée avec prudence. Cependant, ces résultats constituent une base solide pour l'analyse future des huiles essentielles et des extraits de bois de Gaïac. De plus, de nombreux composés identifiés dans cette essence sont également présents dans d'autres extraits naturels telle que l'huile essentielle de *C. pancheri* (voir Chapitre II), indiquant que ces composés ne sont pas des artefacts.

## Partie expérimentale : Partie I

Fractionnement de l'essence de bois de Gaïac

25,36 g d'huile essentielle de bois de Gaïac (Ech. 1) ont été fractionnés selon le protocole décrit en Figure 5. Les fractions F2 (1,51 g), F4 (3,42 g), F5 (5,77 g) et F6 (5,84 g) ont été séparées sur gel de silice imprégné d'AgNO<sub>3</sub> (5 % *m/m*) en plusieurs sous fractions. Celles-ci ont été à nouveau fractionnées sur gel de silice imprégnée d'AgNO<sub>3</sub> (5 % *m/m*). Les sous-fractions significatives ont été regroupées pour être utilisées en GC semi préparative.

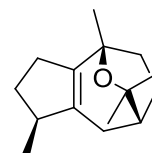
Descriptions des composés isolés de l'essence de bois de Gaïac

Composé : (4 $\alpha$ H,7 $\alpha$ H,10 $\beta$ )-10,11-époxyguai-1(5)-ène (**31**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1494/1710

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV) *m/z* (int. rel.): 220 [M]<sup>++</sup> (72), 205 (99), 191 (9), 177 (82), 163 (15), 159 (10), 149 (100), 138 (45), 135 (20), 123 (18), 121 (19), 119 (17), 109 (18), 107 (17), 105 (27), 95 (16), 91 (27), 79 (13), 77 (14), 69 (9), 55 (9), 43 (25)



HREIMS *m/z* 220,1833 (calc. pour C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>O, 220,1827)

<sup>1</sup>H (500 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  2,70–2,62 (1H, dt, *J* = 18,1, 2,5 Hz, H-6a), 2,49–2,40 (2H, m, H-4, H-2a), 2,10–2,00 (2H, m, H-2b, H-8a), 1,99–1,92 (1H, m, H-3a), 1,84–1,74 (3H, m, H-6b, H-9a, H-9b), 1,59–1,49 (2H, m, H-8b, H-7), 1,37–1,33 (1H, m, H-3b), 1,32 (6H, s, H-12, H-13), 1,27 (3H, s, H-14), 1,02 (3H, d, *J* = 6,8 Hz, H-15)

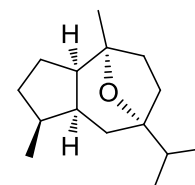
<sup>13</sup>C (126 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) voir Tableau 2

Composé : (1 $\alpha$ H,4 $\alpha$ H,5 $\alpha$ H,7 $\alpha$ ,10 $\alpha$ )-7,10-époxyguaiane (**35**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1488/1656

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV) *m/z* (int. rel.): 222 [M]<sup>++</sup> (6), 204 (5), 179 (18), 164 (12), 161 (16), 136 (60), 127 (100), 125 (27), 123 (49), 122 (54), 121 (37), 107 (54), 97 (36), 95 (48), 83 (25), 82 (30), 81 (38), 71 (43), 67 (30), 55 (32), 43 (73)



HREIMS *m/z* 222,1968 (calc. pour C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>O, 222,1984)

<sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  2,42 (1H, td, *J* = 10,0, 9,4, 3,9 Hz, H-1), 2,06 (1H, dq, *J* = 12,0, 8,4 Hz, H-5), 2,00–1,93 (1H, m, H-4), 1,89–1,85 (1H, m, H-9a), 1,84 (1H, hept, *J* = 7,0 Hz, H-11),

1,69–1,60 (3H, m, H-6a, H-3a, H-2a), 1,52–1,47 (2H, m, H-8a, H-8b), 1,41–1,36 (1H, m, H-9b), 1,35–1,28 (1H, m, H-2b), 1,27 (3H, s, H-14), 1,28–1,24 (1H, m, H-3b), 0,94 (3H, d,  $J = 6,7$  Hz, H-13), 0,91 (3H, d,  $J = 7,0$  Hz, H-15), 0,90 (3H, d,  $J = 6,9$  Hz, H-12)

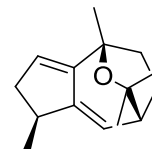
$^{13}\text{C}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) voir Tableau 2

Composé : (4 $\alpha$ H,7 $\alpha$ H,10 $\beta$ )-10,11-époxyguaia-1,5-diène (**36**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1497/1763

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 218 [ $\text{M}]^{+}$  (9), 160 (72), 146 (13), 145 (100), 132 (34), 131 (71), 129 (13), 128 (12), 119 (16), 118 (34), 117 (21), 115 (13), 105 (24), 91 (18), 77 (9), 65 (4), 53 (3), 43 (13)



HREIMS  $m/z$  218,1662 (calc. pour  $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}$ , 218,1671)

$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  5,57 (1H, d,  $J = 8,5$  Hz, H-6), 5,41 (1H, td,  $J = 2,5, 1,8$  Hz, H-2), 2,71–2,63 (1H, m, H-4), 2,52 (1H, ddd,  $J = 17,3, 7,9, 2,5$  Hz, H-3a), 2,06–1,98 (1H, m, H-8a), 1,94–1,85 (3H, m, H-9a, H-3b, H-7), 1,83–1,79 (1H, m, H-8b), 1,70 (1H, ddd,  $J = 10,6, 8,3, 2,7$  Hz, H-9b), 1,44 (3H, s, H-14), 1,32 (3H, s, H-12), 1,30 (3H, s, H-13), 1,10 (3H, d,  $J = 7,0$  Hz, H-15)

$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 2

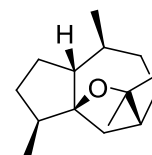
Composé : Guaioxide, (1 $\beta$ H,4 $\alpha$ H,5 $\beta$ ,7 $\alpha$ H,10 $\alpha$ H)-5,11-époxyguaiane (**37**)

Dans un bicol de 25 mL, 112 mg de **74** (0,5 mmol) sont dissouts dans 2 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Sous agitation magnétique, on ajoute ensuite à la solution 223 mg de montmorillonite K10 (2 équiv.,  $m/m$ ). Après 1 heure à température ambiante, le mélange est filtré, concentré sous vide, puis purifié sur gel de silice (éther de pétrole/ $\text{Et}_2\text{O}$ , 98:2) pour donner **37** (80,3 mg, 72 %).

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1496/1679

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 222 [ $\text{M}]^{+}$  (5), 207 (100), 189 (41), 164 (11), 149 (28), 137 (28), 125 (11), 123 (11), 109 (26), 107 (17), 95 (22), 81 (25), 79 (10), 69 (17), 67 (12), 55 (23), 43 (16), 41 (20)



HREIMS  $m/z$  222,1977 (calc. pour  $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$ , 222,1984)

$^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2,00–1,93 (2H, m, H-6a, H-6b), 1,93–1,81 (3H, m, H-7, H-2a, H-8a), 1,78–1,65 (3H, m, H-9a, H-4, H-3a), 1,44 (2H, m, H-1, H-10), 1,41 (1H, dd,  $J = 8,5, 2,5$  Hz, H-9b), 1,35 (1H, dt,  $J = 13,9, 3,9$  Hz, H-8b), 1,31 (3H, s, H-13), 1,28–1,20 (1H, m, H-3b), 1,16

(3H, s, H-12), 0,98 (3H, d,  $J = 6,9$  Hz, H-15), 0,96–0,92 (1H, m, H-2b), 0,90 (3H, d,  $J = 6,2$  Hz, H-14)

$^{13}\text{C}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) voir Tableau 1

Composé : (1 $\alpha$ H,4 $\alpha$ H,7 $\alpha$ H,10 $\beta$ )-10,11-époxyguai-5-ène (**38**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1499/1712

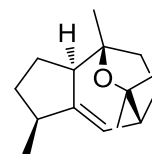
Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 220  $[\text{M}]^{+}$  (16), 202 (14), 187 (10), 177 (16), 162 (79), 159 (8), 149 (26), 147 (100), 133 (23), 121 (26), 120 (35), 119 (36), 107 (27), 105 (65), 95 (15), 93 (23), 91 (48), 81 (15), 79 (20), 77 (17), 67 (8), 55 (12), 43 (30)

HREIMS  $m/z$  220,1821 (calc. pour  $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}$ , 220,1827)

$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  5,58 (1H, dt,  $J = 8,5, 2,3$  Hz, H-6), 2,43–2,33 (1H, m, H-4), 2,31–2,25 (1H, m, H-1), 2,02–1,94 (1H, m, H-8a), 1,93–1,86 (2H, m, H-8b, H-9a) 1,82–1,74 (3H, m, H-2a, H-7, H-3a), 1,64–1,56 (1H, m, H-9b), 1,52 (1H, ddd,  $J = 9,4, 6,1, 2,6$  Hz, H-2b), 1,27 (3H, s, H-13), 1,26 (3H, s, H-12), 1,22–1,16 (1H, m, H-3b), 1,13 (3H, s, H-14), 1,07 (3H, d,  $J = 6,7$  Hz, H-15)

$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 2



Composé : (4 $\alpha$ H,5 $\alpha$ H,7 $\alpha$ H,10 $\beta$ )-10,11-époxyguai-1-ène (**50**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1536/1787

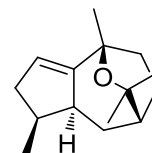
Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 220  $[\text{M}]^{+}$  (22), 205 (64), 192 (39), 187 (21), 177 (15), 162 (52), 159 (20), 149 (28), 147 (43), 136 (48), 134 (36), 124 (47), 123 (58), 121 (100), 119 (36), 105 (51), 93 (49), 91 (45), 81 (31), 79 (27), 69 (23), 55 (15), 43 (45)

HREIMS  $m/z$  220,1809 (calc. pour  $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}$ , 220,1827)

$^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5,47 (1H, q,  $J = 2,2$  Hz, H-2), 2,91–2,80 (1H, m, H-5), 2,53–2,46 (1H, m, H-3b), 2,48–2,40 (2H, m, H-4), 2,13–2,01 (1H, m, H-8b), 1,96–1,83 (2H, m, H3a, H-6b), 1,71 (4H, m, H-7, H-9a, H-9b, H-8a), 1,49–1,40 (1H, dt,  $J = 13,9, 7,1$  Hz, H-6a), 1,30 (3H, s, H-14), 1,27 (3H, s, H-13), 1,14 (3H, s, H-12), 0,97 (3H, d,  $J = 7,0$  Hz, H-15)

$^{13}\text{C}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) voir Tableau 2

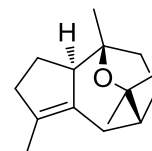


Composé : (1 $\alpha$ H,7 $\alpha$ H,10 $\beta$ )-10,11-époxyguai-4-ène (**51**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1535/1777

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 220  $[M]^{+}$  (16), 203 (17), 202 (100), 187 (32), 177 (11), 162 (42), 159 (12), 149 (27), 147 (55), 145 (20), 135 (17), 125 (54), 121 (20), 119 (34), 107 (31), 105 (28), 95 (89), 94 (58), 91 (41), 79 (79), 67 (11), 55 (15), 43 (59)



HREIMS  $m/z$  220,1823 (calc. pour  $C_{15}H_{24}O$ , 220,1827)

$^1H$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  2,81 (1H, dd,  $J = 16,5, 4,5$  Hz, H-6a), 2,59–2,50 (1H, m, H-1), 2,18–2,10 (1H, m, H-3a), 2,10–2,00 (2H, m, H-3b, H-8a), 1,89–1,79 (3H, m, H-6b, H-2a, H-9a), 1,74 (1H, dtd,  $J = 11,5, 6,7, 1,1$  Hz, H-2b), 1,62–1,60 (3H, m, H-15), 1,57 (1H, ddd,  $J = 13,4, 11,0, 1,3$  Hz, H-9b), 1,52–1,45 (2H, m, H-7, H-8b), 1,26–1,23 (3H, s, H-13), 1,22–1,19 (3H, s, H-12), 1,13 (3H, s, H-14)

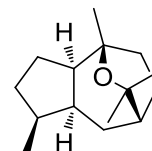
$^{13}C$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 2

Composé : 4,5-di-épi-Kessane, (1 $\alpha$ H,4 $\alpha$ H,5 $\alpha$ H,7 $\alpha$ H,10 $\beta$ )-10,11-époxyguaiane (**52**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1533/1733

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 222  $[M]^{+}$  (7), 207 (10), 189 (9), 161 (12), 149 (24), 126 (100), 121 (20), 109 (34), 108 (72), 107 (23), 97 (12), 95 (23), 93 (24), 83 (19), 82 (32), 81 (43), 71 (16), 69 (19), 67 (21), 55 (21), 43 (42), 41 (21)



HREIMS  $m/z$  222,1977 (calc. pour  $C_{15}H_{26}O$ , 222,1984)

$^1H$  (500 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  2,08–2,01 (1H, m, H-5), 2,00–1,91 (3H, m, H-4, H-1, H-8a), 1,88–1,80 (2H, m, H-2a, H-9a), 1,74–1,71 (2H, m, H-9b, H-8b), 1,71–1,67 (1H, m, H-3a), 1,67–1,62 (1H, m, H-7), 1,62–1,57 (2H, m, H-6a, H-2b), 1,45–1,38 (1H, m, H-6b), 1,32–1,29 (1H, m, H-3b), 1,27 (3H, s, H-13), 1,22 (3H, s, H-12), 1,04 (3H, s, H-14), 0,91 (3H, d,  $J = 6,7$  Hz, H-15)

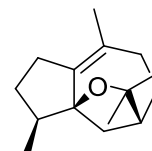
$^{13}C$  (126 MHz,  $CDCl_3$ ) voir Tableau 2

Composé : (4 $\alpha$ H,5 $\beta$ ,7 $\alpha$ H)-5,11-époxyguai-1(10)-ène (**55**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1541/1790

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 220  $[M]^{+}$  (16), 205 (25), 187 (33), 162 (92), 159 (100), 149 (23), 147 (50), 145 (29), 119 (34), 107 (19), 105 (62), 93 (17), 91 (33), 79 (17), 55 (15), 43 (22), 41 (22)



HREIMS  $m/z$  220,1826 (calc. pour  $C_{15}H_{24}O$ , 220,1827)

$^1H$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  2,54–2,45 (1H, m, H-9a), 2,39 (1H, dd,  $J = 16,1, 7,9$  Hz, H-2a), 2,13 (1H, ddd,  $J = 12,1, 6,5, 1,5$  Hz, H-6a), 2,10 – 2,00 (2H, m, H-2b, H-9b), 1,88 – 1,79 (2H,



m, H-7, H-8a), 1,70 (1H, d,  $J = 12,3$  Hz, H-6b), 1,71 – 1,63 (2H, m, H-4, H-3a), 1,61 (1H, dt,  $J = 8,0, 1,4$  Hz, H-3b), 1,58 (3H, d,  $J = 0,8$  Hz, H-14), 1,57 – 1,50 (1H, m, H-8b), 1,33 (3H, s, H-13), 1,16 (3H, s, H-12), 1,14 (3H, d,  $J = 6,5$  Hz, H-15)

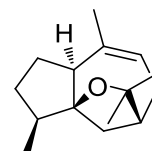
$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 1

Composé : (1 $\alpha$ H,4 $\alpha$ H,5 $\beta$ ,7 $\alpha$ H)-5,11-époxyguai-9-ène (**56**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1543/1785

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 220  $[\text{M}]^{+*}$  (61), 205 (15), 202 (20), 187 (15), 177 (5), 163 (11), 159 (16), 150 (65), 137 (100), 124 (19), 123 (18), 109 (27), 107 (19), 105 (23), 95 (16), 93 (17), 91 (23), 81 (40), 79 (22), 69 (13), 55 (14), 41 (25)



HREIMS  $m/z$  220,1796 (calc. pour  $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}$ , 220,1827)

$^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5,32 (1H, m, H-9), 2,47 (1H, ddd,  $J = 12,3, 7,2, 1,7$  Hz, H-6a), 2,39–2,30 (1H, m, H-8a), 2,23–2,17 (1H, m, H-1), 2,17–2,10 (1H, m, H-8b), 1,97 (1H, dt,  $J = 7,3, 3,8$  Hz, H-7), 1,95–1,88 (1H, m, H-4), 1,87–1,77 (2H, m, H-3a, H-2a), 1,67 (3H, td,  $J = 2,5, 1,2$  Hz, H-14), 1,64–1,60 (1H, m, H-2b), 1,60–1,57 (1H, m, H-6b), 1,40–1,34 (1H, m, H-3b), 1,24 (3H, s, H-13), 1,17 (3H, s, H-12), 0,96 (3H, d,  $J = 6,6$  Hz, H-15)

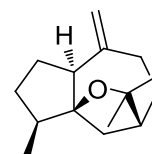
$^{13}\text{C}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) voir Tableau 1

Composé : (1 $\alpha$ H,4 $\alpha$ H,5 $\beta$ ,7 $\alpha$ H)-5,11-époxyguai-10(14)-ène (**59**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1550/1805

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 220  $[\text{M}]^{+*}$  (100), 205 (48), 192 (26), 191 (24), 187 (17), 177 (74), 159 (24), 149 (42), 147 (32), 135 (26), 123 (37), 109 (30), 107 (46), 105 (29), 93 (35), 91 (37), 81 (36), 79 (40), 77 (22), 69 (24), 67 (25), 55 (29), 43 (31), 41 (42)



HREIMS  $m/z$  220,1813 (calc. pour  $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}$ , 220,1827)

$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  4,92–4,90 (1H, m, H-14a), 4,89 (1H, t,  $J = 2,1$  Hz, H-14b), 2,28 (1H, ddd,  $J = 13,2, 6,4, 1,8$  Hz, H-9a), 2,07 (1H, dd,  $J = 12,8, 7,5$  Hz, H-6a), 2,03 (1H, dd,  $J = 11,7, 6,6$  Hz, H-2a), 1,98–1,90 (1H, m, H-9b), 1,90–1,85 (1H, m, H-1), 1,85–1,71 (4H, m, H-3a, H-4, H-8a, H-7), 1,61–1,53 (1H, m, H-2b), 1,50 (1H, d,  $J = 12,7$  Hz, H-6b), 1,49–1,41 (2H, m, H-3b, H-8b), 1,22 (3H, s, H-13), 1,11 (3H, s, H-12), 1,03 (3H, d,  $J = 6,5$  Hz, H-15)

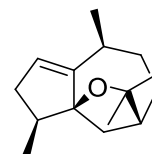
$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 1

Composé : (4 $\alpha$ H,5 $\beta$ ,7 $\alpha$ H,10 $\alpha$ H)-5,11-époxyguai-1-ène (**62**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1560/1851

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 220 [M]<sup>++</sup> (83), 205 (100), 187 (17), 177 (15), 163 (28), 159 (14), 147 (43), 133 (12), 124 (18), 119 (22), 109 (17), 105 (43), 95 (13), 93 (19), 91 (32), 81 (13), 79 (16), 77 (17), 69 (13), 55 (21), 43 (29)



HREIMS  $m/z$  220,1800 (calc. pour C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>O, 220,1827)

<sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  5,47 (1H, q,  $J = 2,2$  Hz, H-2), 2,30 (1H, ddd,  $J = 12,8, 6,3, 2,2$  Hz, H-6a), 2,29–2,25 (1H, m, H-10), 2,23–2,15 (1H, m, H-3a), 2,13 (1H, ddd,  $J = 8,5, 3,7, 1,8$  Hz, H-3b), 2,04–1,94 (3H, m, H-4, H-8a, H-7), 1,83 (1H, dt,  $J = 14,5, 2,8$  Hz, H-9b), 1,78 (1H, d,  $J = 12,8$  Hz, H-6b), 1,54–1,48 (2H, m, H-9b, H-8b), 1,32 (3H, s, H-13), 1,17 (3H, s, H-12), 1,12 (3H, d,  $J = 6,6$  Hz, H-14), 1,07 (3H, d,  $J = 6,9$  Hz, H-15)

<sup>13</sup>C (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) voir Tableau 1

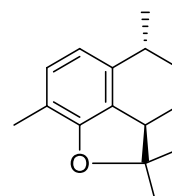
Composé : (7 $\alpha$ H,10 $\beta$ H)-*trans*-5,11-époxycalaménène (**69**)

Dans un bicol de 25 mL, 65 mg de **E** (0,25 mmol) sont dissouts dans 2 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Sous agitation magnétique, on ajoute ensuite 21,9 mg de *p*-TSOH (0,5 équiv.) à la solution. Après 3 heures, le mélange réactionnel est lavé avec une solution saturée de NaHCO<sub>3</sub>. Le mélange est extrait avec 4 × 5 mL d'Et<sub>2</sub>O. L'ensemble des phases organiques obtenus sont lavées avec de la saumure (5 mL), puis séchées sur MgSO<sub>4</sub> anhydre et filtrées. Le filtrat est concentré sous vide pour donner un mélange de composés **69**, **71**, **99** et **102** (55 %, 30,0 mg). Le résidu est séparé par GC semi-préparative afin d'isoler les composés.

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1582/1980

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 216 [M]<sup>++</sup> (80), 201 (26), 188 (13), 174 (23), 173 (100), 159 (41), 145 (14), 128 (15), 115 (13), 91 (7), 77 (4), 65 (2), 43 (6)



HREIMS  $m/z$  216,1497 (calc. pour C<sub>15</sub>H<sub>20</sub>O, 216,1514)

<sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  6,86 (1H, d,  $J = 7,6$  Hz, H-3), 6,60 (1H, d,  $J = 7,7$  Hz, H-2), 3,08–2,88 (2H, m, H-10, H-7), 2,15 (3H, s, H-15), 2,04–1,87 (1H, m, H-9a), 1,81–1,70 (1H, m, H-8a), 1,63 (3H, s, H-12), 1,47–1,36 (2H, m, H-8b, H-9b), 1,18 (3H, d,  $J = 7,2$  Hz, H-14), 1,12 (3H, s, H-13)

<sup>13</sup>C (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) voir Tableau 3

Composé : (7 $\alpha$ H,10 $\alpha$ H)-*cis*-5,11-époxy calaménène (**71**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1586/1992

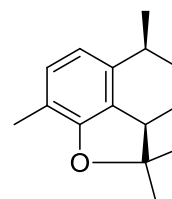
Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 216 [M]<sup>++</sup> (77), 201 (24), 188 (13), 175 (14), 174 (24), 173 (100), 172 (11), 160 (9), 159 (37), 158 (11), 157 (8), 145 (14), 143 (10), 141 (10), 128 (16), 115 (12), 91 (7), 77 (5), 43 (6)

HREIMS  $m/z$  216,1499 (calc. pour C<sub>15</sub>H<sub>20</sub>O, 216,1514)

<sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  6,88 (1H, d,  $J = 7,8$  Hz, H-3), 6,67 (1H, d,  $J = 7,8$  Hz, H-2), 3,04 (1H, dd,  $J = 11,9, 4,2$  Hz, H-7), 2,80–2,71 (1H, m, H-10), 2,15 (3H, s, H-15), 2,18–2,12 (1H, m, H-9a), 1,92–1,86 (1H, m, H-8a), 1,63 (3H, s, H-12), 1,44–1,36 (2H, m, H-8a, H-9b), 1,30 (3H, d,  $J = 6,9$  Hz, H-14), 1,11 (3H, s, H-13)

<sup>13</sup>C (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) voir Tableau 3



Composé : Guaiol, (4 $\alpha$ H,7 $\alpha$ H,10 $\alpha$ H)-guai-1(5)-én-11-ol (**74**)

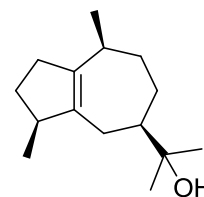
Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1609/2083

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>56,62</sup>

$[\alpha]^{25}_D -22$  ( $c$  1, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)

<sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  2,54 (1H, qd,  $J = 6,5, 1,6$  Hz, H-4), 2,47–2,39 (1H, m, H-2a), 2,33–2,26 (1H, m, H-10), 2,14 (1H, d,  $J = 15,7$  Hz, H-6a), 2,12–2,08 (1H, m, H-2b), 2,01–1,87 (2H, m, H-3a, H6b), 1,85–1,78 (1H, m, H-8a), 1,75–1,67 (1H, m, H-9a), 1,61–1,51 (2H, m, H-9b, H-7), 1,49–1,41 (1H, m, H-8b), 1,33–1,25 (1H, m, H-3b), 1,19 (3H, s, H-12), 1,16 (3H, s, H-13), 0,99 (3H, d,  $J = 7,2$  Hz, H-14), 0,95 (3H, d,  $J = 6,9$  Hz, H-15)

<sup>13</sup>C (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  140,21, 139,04, 73,70, 49,78, 46,45, 35,53, 33,92, 33,84, 31,09, 28,02, 27,55, 27,47, 26,13, 20,08, 19,91



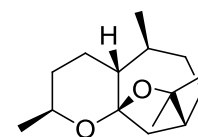
Composé : (1 $\beta$ H,4 $\alpha$ H,5 $\beta$ ,7 $\alpha$ H,10 $\alpha$ H)-4,5;5,11-diépoxy-4,5-*seco*-guaiane (**77**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1611/1929

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 238 [M]<sup>+</sup> (66), 223 (78), 195 (15), 180 (51), 179 (22), 178 (22), 165 (22), 141 (29), 124 (42), 123 (68), 114 (44), 113 (73), 110 (44), 109 (52), 107 (21), 97 (28), 96 (32), 95 (100), 83 (32), 82 (36), 81 (81), 69 (72), 68 (55), 67 (39), 55 (85), 43 (51), 41 (56)

HREIMS  $m/z$  238,1943 (calc. pour C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>O<sub>2</sub>, 238,1933)



$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  3,26 (1H, dqd,  $J = 12,2, 6,1, 2,2$  Hz, H-4), 2,12 (1H, tdd,  $J = 13,5, 10,4, 3,0$  Hz, H-9a), 2,05 (1H, dddd,  $J = 12,4, 6,4, 1,9, 0,9$  Hz, H-6a), 1,88 (1H, ddd,  $J = 13,5, 7,4, 4,0$  Hz, H-2a), 1,77–1,71 (2H, m, H-7, H-8a), 1,70 (1H, d,  $J = 12,3$  Hz, H-6b), 1,38 (3H, s, H-12), 1,26 (3H, s, H-13), 1,31–1,21 (3H, m, H-9b, H-3a, H-1), 1,18 (3H, d,  $J = 6,2$  Hz, H-15), 1,15–1,09 (1H, m, H-3b), 1,07–1,00 (1H, m, H-8b), 0,96–0,90 (1H, m, H-10), 0,89 (3H, d,  $J = 5,3$  Hz, H-14), 0,85–0,78 (1H, m, H-2b)

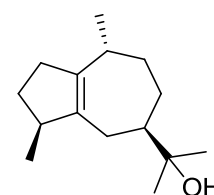
$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 1

Composé : 10-*épi*-Guaiol, (4 $\alpha$ H,7 $\alpha$ H,10 $\beta$ H)-guai-1(5)-én-11-ol (**80**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1616/2115

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 222 [ $\text{M}]^{+}$  (7), 204 (29), 189 (52), 161 (100), 147 (18), 133 (21), 119 (29), 107 (31), 105 (40), 93 (25), 91 (23), 81 (16), 79 (15), 67 (8), 59 (20), 55 (8), 43 (10)



HREIMS  $m/z$  222,1968 (calc. pour  $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$ , 222,1984)

$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  2,69–2,58 (1H, m, H-4), 2,44–2,33 (1H, m, H-2a), 2,36–2,30 (1H, m, H-10), 2,30 (1H, dd,  $J = 15,3, 1,3$  Hz, H-6a), 2,27–2,16 (1H, m, H-2b), 2,04 (1H, dddd,  $J = 12,7, 9,3, 8,2, 4,9$  Hz, H-3a), 1,97–1,86 (2H, m, H-6b, H-8a), 1,85 (1H, ddd,  $J = 13,5, 3,9, 2,3$  Hz, H-9a), 1,52 (1H, tdd,  $J = 11,2, 5,1, 1,6$  Hz, H-7), 1,45–1,31 (2H, m, H-9b, H-3b), 1,22 (1H, dddd,  $J = 12,4, 11,1, 6,0, 3,8$  Hz, H-8b), 1,06 (3H, d,  $J = 6,9$  Hz, H-15), 1,05 (3H, d,  $J = 7,1$  Hz, H-14), 1,00 (3H, s, H-12), 1,00 (3H, s, H-13)

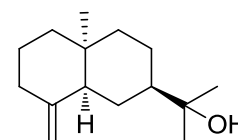
$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 4

Composé : 10-*épi*- $\beta$ -Eudesmol, (5 $\alpha$ H,7 $\alpha$ H,10 $\alpha$ )-eudesm-4(15)-én-11-ol (**81**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1617/2144

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 222 [ $\text{M}]^{+}$  (1), 204 (40), 189 (18), 164 (18), 161 (16), 149 (68), 135 (17), 122 (17), 109 (100), 108 (26), 93 (23), 79 (19), 67 (14), 59 (75), 55 (10), 43 (14), 41 (13)



HREIMS  $m/z$  222,1961 (calc. pour  $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$ , 222,1984)

$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  4,78–4,74 (2H, m, H-15), 2,10 (1H, ddt,  $J = 13,2, 5,8, 1,8$  Hz, H-3a), 2,06–1,99 (1H, m, H-3b), 1,88 (1H, dd,  $J = 12,1, 4,6$  Hz, H-5), 1,77 (1H, td,  $J = 13,4, 4,9$  Hz, H-1a), 1,54–1,41 (6H, m, H-2a, H-6a, H-2b, H-8a, H-6b, H-9a), 1,20–1,15 (2H, m, H-8b,

H-9b), 1,14–1,08 (1H, m, H-7), 1,02 (3H, s, H-13), 1,00 (3H, s, H-12), 0,94 (3H, d,  $J = 0,5$  Hz, H-14), 0,84–0,77 (1H, m, H-1b)

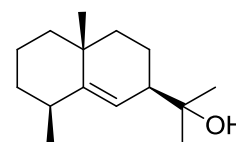
$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 3

Composé : Eudesm-5-én-11-ol, (4 $\alpha$ H,7 $\alpha$ H,10 $\beta$ )-eudesm-5-én-11-ol (**84**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1624/2124

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>42</sup>

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 222 [ $\text{M}]^{+}$  (1), 189 (3), 164 (34), 149 (100), 135 (8), 121 (14), 108 (23), 93 (21), 91 (15), 81 (26), 67 (8), 59 (43), 43 (8), 41 (8)



$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  5,54–5,45 (1H, m, H-6), 2,45 (1H, p,  $J = 7,2$  Hz, H-4), 2,15–2,07 (1H, m, H-7), 1,76 (1H, qt,  $J = 13,5, 3,6$  Hz, H-2a), 1,56 (1H, tdd,  $J = 11,0, 4,5, 3,0$  Hz, H-3a), 1,52–1,45 (3H, m, H-8a, H-3b, H-1a), 1,41–1,33 (4H, m, H-2b, H-9a, H-9b, H-8b), 1,17 (1H, dd,  $J = 13,1, 3,8$  Hz, H-1b), 1,13 (3H, d,  $J = 7,6$  Hz, H-15), 1,11 (3H, s, H-14), 1,05 (6H, s, H-12, H-13)

$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 3

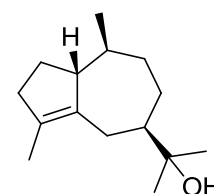
Composé : (1 $\beta$ H,7 $\alpha$ H,10 $\alpha$ H)-Guai-4-én-11-ol, isoguaiol A (**93**)

Dans un bicol de 25 mL, 50 mg de **74** (0,23 mmol) sont dissouts dans 2 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Sous agitation magnétique, on ajoute ensuite 38,8 mg de *p*-TSOH (1 équiv.) à la solution. Après 1 heure, le mélange réactionnel est lavé avec une solution saturée de  $\text{NaHCO}_3$ . Le mélange est extrait avec  $4 \times 5$  mL d' $\text{Et}_2\text{O}$ . Les phases organiques rassemblées sont lavées avec de la saumure (5 mL), puis séchées sur  $\text{MgSO}_4$  anhydre et filtrées. Le filtrat est concentré sous vide pour donner un mélange de **14**, **37**, **74**, **93** et **106** (Figure 7. (A) Chromatogramme (GC–MS) de la réaction d'isomérisation du guaiol (**74**) avec du *p*-TsOH conduisant à la formation d' $\alpha$ -guaiène (**14**), de guaioxide (**37**) et des isoguaiols (**93** et **106**) ainsi que leurs spectres de masse associés. (B) Chromatogramme (GC–MS) de la réaction d'isomérisation du 10-*épi*-guaiol (**80**) avec du *p*-TsOH conduisant à la formation de 10-*épi*- $\alpha$ -guaiène (**20**), 10-*épi*-guaioxide (**52b**) et les isoguaiols (**100** et **105**) ainsi que leurs spectres de masse associés. Figure 7).

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1654/2158

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>30</sup>

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 222 [ $\text{M}]^{+}$  (5), 204 (100), 189 (84), 175 (14), 161 (59), 147 (22), 133 (22), 119 (28), 107 (29), 105 (34), 95 (30), 93 (28), 91 (31), 81 (20), 79 (29), 77 (18), 67 (13), 59 (22), 55 (15), 41 (16)



HREIMS  $m/z$  222,1970 (calc. pour  $C_{15}H_{26}O$ , 222,1984)

$^1H$  (400 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  2,69 (1H, dd,  $J = 12,9, 1,5$  Hz, H-6a), 2,29–2,13 (3H, m, H-3ab, H-1), 2,05 (1H, dtd,  $J = 12,0, 7,7, 4,2$  Hz, H-2a), 1,67 (3H, td,  $J = 1,8, 0,8$  Hz, H-15), 1,65–1,59 (1H, m, H-6b), 1,57–1,33 (6H, m, H-8a, H-9ab, H-8b, H-7, H-2b), 1,30–1,23 (1H, m, H-10), 1,04 (3H, s, H-12), 1,03 (3H, s, H-13), 0,95 (3H, d,  $J = 6,7$  Hz, H-14)

$^{13}C$  (101 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 4

Composé : 4-(2,2,5-triméthyl-2,3,4,5,6,7-hexahydrocyclopentapyran-3-yl)butan-2-one (**94**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1655/2159

Données spectroscopiques :

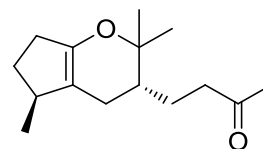
EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 236  $[M]^{+*}$  (46), 221 (14), 203 (10), 185 (10), 179 (12), 175 (11), 163 (11), 133 (11), 126 (15), 111 (100), 108

(67), 93 (38), 91 (14), 83 (22), 79 (12), 71 (27), 69 (22), 55 (18), 43 (48), 41 (18)

HREIMS  $m/z$  236,1783 (calc. pour  $C_{15}H_{24}O_2$ , 236,1776)

$^1H$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  2,60 (1H, q,  $J = 7,1$  Hz, H-4), 2,48–2,37 (1H, m, H-2a), 2,36–2,25 (1H, m, H-2b), 2,06–1,92 (3H, m, H-3a, H-9a, H-6a), 1,88–1,79 (1H, m, H-9b), 1,80–1,73 (1H, m, H-8a), 1,64 (3H, s, H-14), 1,43–1,36 (1H, m, H-7), 1,36–1,29 (1H, m, H-6b), 1,29 (3H, s, H-13), 1,14–1,10 (1H, m, H-3b), 1,05 (3H, d,  $J = 6,9$  Hz, H-15), 1,05 (3H, s, H-12)

$^{13}C$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 3



Composé : (1 $\alpha$ H,4 $\alpha$ H,5 $\alpha$ H,7 $\alpha$ H)-Guai-10(14)-én-11-ol (**95**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1652/2200

Données spectroscopiques :

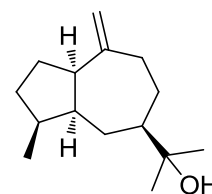
EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 222  $[M]^{+*}$  (1), 204 (53), 189 (15), 161 (68), 149 (71), 136 (20), 135 (25), 122 (24), 121 (33), 107 (45), 95 (25), 94 (23),

93 (39), 91 (27), 81 (48), 79 (32), 67 (21), 59 (100), 43 (26), 41 (23)

HREIMS  $m/z$  204,1864 (calc. pour  $C_{15}H_{26}O - H_2O$ , 204,1878)

$^1H$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  4,91 (1H, dq,  $J = 1,6, 0,7$  Hz, H-14a), 4,87 (1H, t,  $J = 1,9$  Hz, H-14b), 2,70 (1H,  $J = 7,8, 1,3$  Hz, H-1), 2,37 (1H, ddd,  $J = 12,6, 7,0, 3,9$  Hz, H-9a), 1,99–1,92 (2H, m, H-9b, H-4), 1,91–1,84 (1H, m, H-8a), 1,84–1,70 (4H, m, H-2a, H-5, H-6a, H-2b), 1,70–1,62 (1H, m, H-3a), 1,30–1,16 (2H, m, H-3b, H-7), 1,12–1,06 (1H, m, H-8b), 1,00 (6H, s, H-13, H-12), 0,95 (3H, d,  $J = 6,9$  Hz, H-15), 0,79 (1H, ddd,  $J = 13,6, 11,4, 10,0$  Hz, H-6b)

$^{13}C$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 4

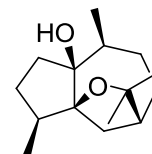


Composé : (1 $\beta$ ,4 $\alpha$ H,5 $\beta$ ,7 $\alpha$ H,10 $\alpha$ H)-5,11-Epoxyguaian-1 $\beta$ -ol (**96**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1656/1985

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 238 [M]<sup>+</sup> (46), 223 (77), 220 (50), 205 (100), 196 (17), 187 (30), 182 (40), 162 (39), 159 (45), 153 (45), 139 (76), 125 (40), 123 (41), 114 (50), 109 (60), 95 (46), 85 (61), 72 (50), 69 (61), 55 (72), 43 (63), 41 (65)



HREIMS  $m/z$  238,1902 (calc. pour C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>O<sub>2</sub>, 238,1933)

<sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  3,41 (1H, s, O-H), 2,13–2,04 (2H, m, H-6a, H-6b), 1,95–1,90 (1H, m, H-7), 1,89 (1H, ddd,  $J$  = 13,0, 6,5, 1,9 Hz, H-2a), 1,86–1,81 (1H, m, H-4), 1,79–1,73 (1H, m, H-9a), 1,72–1,62 (2H, m, H-10, H-3a), 1,53–1,46 (1H, m, H-3b), 1,44–1,36 (1H, m, H-8a), 1,34 (3H, s, H-13), 1,27–1,15 (3H, m, H-8b, H-2b, H-9b), 1,21 (3H, s, H-12), 0,97 (3H, d,  $J$  = 7,1 Hz, H-15), 0,92 (3H, d,  $J$  = 6,7 Hz, H-14)

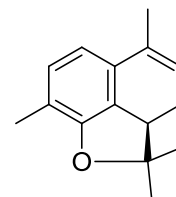
<sup>13</sup>C (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) voir Tableau 1

Composé : (7 $\alpha$ H)-5,11-Epoxycalacorène (**99**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1658/2154

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 214 [M]<sup>+</sup> (100), 199 (77), 184 (12), 173 (66), 172 (72), 159 (21), 158 (12), 157 (12), 156 (9), 155 (16), 153 (11), 141 (25), 129 (15), 128 (22), 115 (15), 91 (6), 77 (5), 63 (3), 43 (5)



HREIMS  $m/z$  214,1345 (calc. pour C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>O, 214,1358)

<sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  6,91–6,88 (1H, m, H-3), 6,64 (1H, d,  $J$  = 7,6 Hz, H-2), 5,68–5,61 (1H, m, H-9), 3,28 (1H, dd,  $J$  = 12,7, 10,9 Hz, H-7), 2,27–2,20 (2H, m, H-8a, H-8b), 2,19 (3H, s, H-15), 2,02 (3H, dd,  $J$  = 3,5, 1,6 Hz, H-14), 1,63 (3H, s, H-12), 1,26 (3H, s, H-13)

<sup>13</sup>C (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) voir Tableau 3

Composé : (1 $\alpha$ H,7 $\alpha$ H,10 $\beta$ H)-Guai-4-én-11-ol, isoguaiol B (**100**)

Dans un bicol de 25 mL, 30 mg de **111** (0,14 mmol) sont dissouts dans 1,5 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Sous agitation magnétique, on ajoute ensuite 23,3 mg de *p*-TsOH (1 équiv.) à la solution. Après 1 heure, le mélange réactionnel est lavé avec une solution saturée de NaHCO<sub>3</sub>. Le mélange est extrait avec 4 × 5 mL d'Et<sub>2</sub>O. Les phases organiques rassemblées sont lavées avec de la saumure (5 mL), puis séchées sur MgSO<sub>4</sub> anhydre et filtrées. Le filtrat est concentré sous vide pour donner un mélange de composés **20**, **52**, **80**, **100** et **105** (Figure 7).

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1661/2168

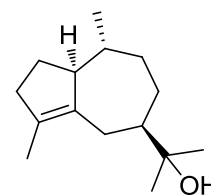
Données spectroscopiques :

EIMS (prob) 70 eV,  $m/z$  (int. rel.): 222  $[M]^{+*}$  (5), 204 (100), 189 (84), 175 (10), 161 (70), 149 (20), 147 (36), 133 (27), 119 (31), 107 (34), 105 (43), 95 (39), 93 (31), 91 (34), 81 (24), 79 (32), 77 (19), 67 (15), 59 (25), 41 (15)

HREIMS  $m/z$  222,1985 (calc. pour  $C_{15}H_{26}O$ , 222,1984)

$^1H$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  2,67 (1H, d,  $J = 15,6$  Hz, H-6a), 2,32–2,22 (2H, m, H-1, H-3a), 2,16–2,12 (1H, m, H-3b), 2,06–1,96 (1H, m, H-6b), 1,95–1,89 (1H, m, H-8a), 1,82–1,70 (2H, m, H-9a, H-2a), 1,64 (3H, dt,  $J = 2,3, 1,1$  Hz, H-15), 1,56–1,52 (1H, m, H-9b), 1,40–1,31 (2H, m, H-7, H-10), 1,15–1,09 (1H, m, H-2b), 1,04 (3H, s, H-12), 1,03 (3H, s, H-13), 1,02–0,99 (1H, m, H-8b), 0,93 (3H, d,  $J = 6,6$  Hz, H-14)

$^{13}C$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 4



Composé : 5,11-Epoxycadalène (**102**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1661/2210

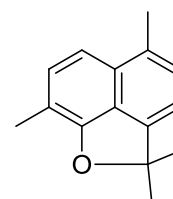
Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 212  $[M]^{+*}$  (28), 198 (16), 197 (100), 196 (5), 195 (6), 182 (7), 181 (3), 166 (1), 165 (4), 154 (2), 153 (5), 152 (6), 128 (2), 115 (2), 105 (2), 91 (3), 77 (1), 76 (1), 63 (1), 43 (1)

HREIMS  $m/z$  212,1184 (calc. pour  $C_{15}H_{16}O$ , 212,1201)

$^1H$  (500 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  7,29 (1H, d,  $J = 8,4$  Hz, H-3), 7,25–7,20 (2H, m, H-9, H-2), 6,97 (1H, d,  $J = 6,9$  Hz, H-8), 2,60 (3H, d,  $J = 1,0$  Hz, H-14), 2,37 (3H, s, H-15), 1,70 (6H; s, H-12, H-13)

$^{13}C$  (126 MHz,  $CDCl_3$ ) voir Tableau 3



Composé : (1 $\beta$ H,7 $\alpha$ H,10 $\beta$ H)-Guai-4-én-11-ol, isoguaiol C (**105**)

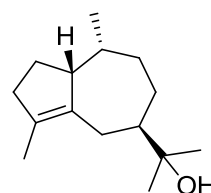
Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1665/2161

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 222  $[M]^{+*}$  (8), 204 (100), 189 (97), 175 (18), 161 (67), 147 (18), 133 (20), 119 (30), 107 (28), 105 (30), 95 (25), 93 (26), 91 (28), 81 (21), 79 (26), 77 (16), 59 (32), 55 (19), 43 (22), 41 (20)

HREIMS  $m/z$  222,1960 (calc. pour  $C_{15}H_{26}O$ , 222,1984)

$^1H$  (400 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  2,86–2,74 (1H, m, H-1), 2,74 (1H, d,  $J = 12,7$  Hz, H-6a), 2,35–2,18 (1H, m, H-3a), 2,12 (1H, dd,  $J = 15,1, 8,7$  Hz, H-3b), 1,87–1,64 (3H, m, H-10, H-





8a, H-2a), 1,69–1,66 (3H, m, H-15), 1,50 (1H, t,  $J = 11,9$  Hz, H-6b), 1,39–1,16 (5H, m, H-2b, H-9ab, H-8b, H-7), 1,05 (3H, s, H-12), 1,02 (3H, s, H-13), 0,91 (3H, d,  $J = 7,2$  Hz, H-14)

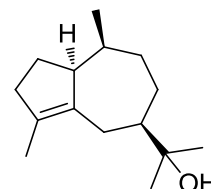
$^{13}\text{C}$  (101 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 4

Composé : (1 $\alpha$ H,7 $\alpha$ H,10 $\alpha$ H)-Guai-4-én-11-ol, isoguaiol D (**106**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1666/2188

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>30</sup>

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 222 [ $\text{M}]^+$  (4), 204 (100), 189 (82), 175 (14), 161 (71), 149 (24), 147 (35), 133 (29), 119 (30), 107 (34), 105 (47), 95 (47), 93 (37), 91 (39), 81 (25), 79 (39), 77 (26), 59 (36), 55 (19), 41 (21)



HREIMS  $m/z$  222,1979 (calc. pour  $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$ , 222,1984)

$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  2,95–2,87 (1H, m, H-1), 2,69 (1H, d,  $J = 16,8$  Hz, H-6a), 2,38–2,16 (2H, m, H-3ab), 2,01–1,93 (1H, m, H-2a), 1,92–1,77 (3H, m, H-6b, H-10, H-8a), 1,73–1,65 (1H, m, H-9a), 1,60 (3H, dt,  $J = 2,3, 1,3$  Hz, H-15), 1,53–1,46 (2H, m, H-2b, H-9b), 1,42–1,35 (1H, m, H-7), 1,02 (3H, s, H-12), 1,02 (3H, s, H-13), 0,83 (3H, d,  $J = 6,9$  Hz, H-14)

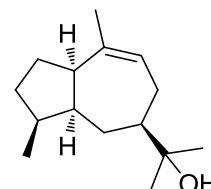
$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 4

Composé : (1 $\alpha$ H,4 $\alpha$ H,5 $\alpha$ H,7 $\alpha$ H)-Guai-9-én-11-ol (**109**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1669/2208

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>38</sup>

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 222 [ $\text{M}]^+$  (1), 204 (73), 189 (44), 175 (15), 161 (100), 149 (47), 147 (51), 135 (40), 121 (31), 119 (33), 107 (68), 105 (57), 95 (34), 93 (52), 91 (45), 81 (58), 79 (41), 67 (27), 59 (97), 55 (22), 43 (27), 41 (29)



HREIMS  $m/z$  222,1936 (calc. pour  $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$ , 222,1984)

$^1\text{H}$  (400 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  5,45 (1H, ddp,  $J = 7,7, 5,2, 1,4$  Hz, H-9), 2,50–2,41 (1H, m, H-1), 2,42–2,29 (1H, m, H-8a), 1,99–1,82 (3H, m, H-4, H-8b, H-2a), 1,83–1,75 (2H, m, H-6a, H-5), 1,72 (3H, d,  $J = 1,3$  Hz, H-14), 1,67–1,50 (2H, m, H-3a, H-2b), 1,38 (1H, dddd,  $J = 10,8, 7,6, 4,6, 3,0$  Hz, H-7), 1,24–1,14 (1H, m, H-3b), 1,05 (3H, s, H-13), 1,04 (3H, s, H-12), 1,03–0,97 (1H, m, H-6b), 0,94 (3H, d,  $J = 7,0$  Hz, H-15)

$^{13}\text{C}$  (101 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 4

Composé : (7 $\alpha$ H)-Germacra-1(10),4(15)-dién-11-ol (**110**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1670/2215

Données spectroscopiques :

$[\alpha]_D^{25} -11,6$  (*c* 1, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)

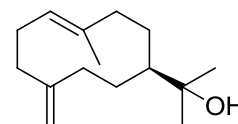
EIMS (70 eV) *m/z* (int. rel.): 222 [M]<sup>++</sup> (1), 175 (6), 204 (12), 189 (17),

164 (20), 161 (22), 149 (42), 135 (22), 133 (19), 121 (39), 109 (36), 108 (32), 107 (41), 105 (23), 95 (31), 93 (60), 91 (25), 81 (76), 79 (41), 69 (23), 67 (37), 59 (100), 55 (22), 43 (22), 41 (24)

HREIMS *m/z* 222,1966 (calc. pour C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>O, 222,1984)

<sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 5,41 (1H, t, *J* = 7,6 Hz, H-1), 4,79 (2H, d, *J* = 35,9 Hz, H-15), 2,34 (1H, ddd, *J* = 12,8, 9,7, 4,7 Hz, H-2a), 2,24–2,18 (2H, m, H-3a, H-9a), 2,17–2,02 (4H, m, H-2b, H-5a, H-5b, H-3b), 1,90 (1H, td, *J* = 12,7, 3,8 Hz, H-9b), 1,67 (3H, d, *J* = 1,0 Hz, H-14), 1,66–1,58 (2H, m, H-6a, H-8a), 1,34–1,29 (1H, m, H-7), 1,18 (3H, s, H-12), 1,17 (3H, s, H-13), 1,16–1,07 (2H, m, H-8b, H-6b)

<sup>13</sup>C (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) voir Tableau 3



Composé : Bulnésol, (4αH,5αH,7αH)-Guai-1(10)-én-11-ol (**111**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1675/2198

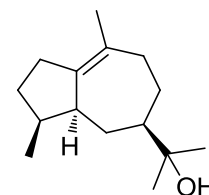
Données spectroscopiques :

$[\alpha]_D^{25} +2$  (*c* 1, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)

<sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 2,39 (1H, t, *J* = 9,2 Hz, H-5), 2,35–2,27 (1H, m, H-2a), 2,22–2,03 (4H, m, H-2b, H-4, H-9a, H-9b), 1,93–1,87 (1H, m, H-8a),

1,86–1,82 (1H, m, H-6a), 1,71–1,60 (4H, m, H-14, H-3a), 1,46–1,33 (2H, m, H-7, H-3b), 1,17 (6H, s, H-12, H-13), 1,10–1,00 (1H, m, H-8b), 0,90 (3H, d, *J* = 7,1 Hz, H-15), 0,79 (1H, q, *J* = 11,8 Hz, H-6b)

<sup>13</sup>C (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 141,81, 128,99, 73,93, 54,23, 46,39, 39,13, 34,97, 33,15, 30,46, 28,83, 27,84, 27,34, 27,26, 22,46, 15,47



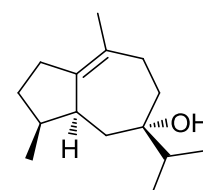
Composé : (4αH,5αH)-Guai-1(10)-én-7α-ol (**113**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1681/2146

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV) *m/z* (int. rel.): 222 [M]<sup>++</sup> (1), 204 (26), 189 (7), 179 (8), 162 (14), 161 (100), 147 (5), 133 (8), 121 (22), 119 (25), 107 (12), 105 (42), 95 (9), 93 (12), 91 (15), 81 (10), 79 (10), 77 (8), 67 (5), 55 (7), 43 (11)

HREIMS *m/z* 222,1996 (calc. pour C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>O, 222,1984)



$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  2,95–2,87 (1H, m, H-5), 2,36–2,28 (1H, m, H-2a), 2,28–2,21 (1H, m, H-9a), 2,20–2,14 (1H, m, H-2b), 2,08–2,01 (1H, m, H-4), 1,81 (1H, dd,  $J = 16,5, 7,4$  Hz, H-9b), 1,66–1,61 (1H, m, H-3a), 1,63 (3H, d,  $J = 0,9$  Hz, H-14), 1,60–1,55 (2H, m, H-8ab), 1,53–1,46 (2H, m, H-6a, H-11), 1,39–1,34 (1H, m, H-3b), 1,34 (1H, dd,  $J = 13,2, 1,3$  Hz, H-6b), 0,89 (3H, d,  $J = 6,9$  Hz, H-13), 0,87 (3H, d,  $J = 6,7$  Hz, H-12), 0,82 (3H, d,  $J = 6,9$  Hz, H-15)

$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 4

Composé : Hanamyol, (1 $\alpha$ ,4 $\alpha$ H,5 $\alpha$ H,7 $\alpha$ H,10 $\beta$ )-10,11-Epoxyguaian-1 $\alpha$ -ol (**114**)

Dans un bicol de 25 mL sous atmosphère inerte ( $\text{N}_2$ ), 37,5 mg de **D** (0,16 mmol) sont dissouts dans 1,5 mL de THF anhydre. Sous agitation magnétique, on ajoute ensuite 25,3 mg d' $\text{AlCl}_3$  (0,19 mmol) en suspension dans 1 mL de THF anhydre. Après 2,5 heures à température ambiante, on ajoute goutte à goutte 0,5 mL d'une solution saturée de  $\text{NaHCO}_3$ . Après 15 minutes d'agitation, le mélange est extrait avec  $3 \times 10$  mL d' $\text{Et}_2\text{O}$ . Les phases organiques rassemblées sont lavées avec de la saumure (5 mL), puis séchées sur  $\text{MgSO}_4$  anhydre et filtrées. Le filtrat est concentré sous vide puis purifié sur gel de silice pour donner **114** (26,5 mg, 71 %).

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1679/2215

Données spectroscopiques :

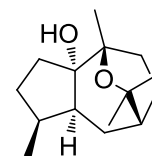
$[\alpha]_D^{25} -17$  (c 1,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.) : 238  $[\text{M}]^{+}$  (12), 220 (7), 205 (15), 177 (24), 153 (15), 126 (24), 111 (100), 109 (16), 97 (21), 69 (25), 55 (28), 43 (60), 41 (31)

HREIMS  $m/z$  238,1909 (calc. pour  $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}_2$ , 238,1933)

$^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2,64–2,54 (1H, m, H-4), 2,51–2,43 (1H, m, H-2a), 2,11–2,03 (1H, m, H-9a), 1,97–1,90 (1H, m, H-8a), 1,90–1,79 (2H, m, H-3a, H-5), 1,71–1,65 (2H, m, H-7, H-8b), 1,65–1,59 (1H, m, H-9b), 1,53 (1H, t,  $J = 13,6$  Hz, H-6a), 1,44 (1H, t,  $J = 7,5$  Hz, H-6b), 1,41–1,30 (2H, m, H-3b, H-2b), 1,29 (3H, s, H-13), 1,19 (3H, s, H-12), 1,10 (3H, s, H-14), 0,95 (3H, d,  $J = 7,0$  Hz, H-15)

$^{13}\text{C}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) voir Tableau 2

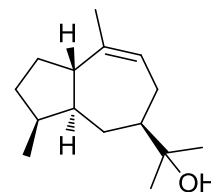


Composé : (1 $\beta$ H,4 $\alpha$ H,5 $\alpha$ H,7 $\alpha$ H)-Guai-9-én-11-ol (**117**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1690/2257

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 222 [M]<sup>+</sup> (2), 204 (39), 189 (39), 161 (76), 149 (24), 147 (22), 135 (100), 121 (26), 119 (38), 107 (91), 105 (53), 93 (66), 91 (40), 81 (44), 79 (36), 67 (20), 59 (67), 55 (25), 43 (27), 41 (27)



HREIMS  $m/z$  222,1965 (calc. pour C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>O, 222,1984)

<sup>1</sup>H (500 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ 5,68 (1H, ddt,  $J = 9,1, 5,5, 1,8$  Hz, H-9), 2,53 (1H, q,  $J = 9,0$  Hz, H-1), 2,37–2,27 (1H, m, H-8a), 2,17–2,05 (1H, m, H-6a), 2,02–1,92 (1H, m, H-4), 1,93–1,81 (1H, m, H-8a), 1,77–1,69 (2H, m, H-3a, H-2a), 1,73 (3H, q,  $J = 1,3$  Hz, H-14), 1,65–1,53 (1H, m, H-2b), 1,50–1,38 (1H, m, H-5), 1,25–1,09 (3H, m, H-7, H-6b, H-3b), 1,03 (3H, s, H-13), 1,03 (3H, s, H-12), 0,82 (3H, d,  $J = 7,1$  Hz, H-15)

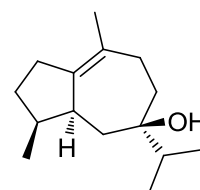
<sup>13</sup>C (126 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) voir Tableau 4

Composé : (4αH,5αH)-Guai-1(10)-én-7β-ol (**119**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1693/2179

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 222 [M]<sup>+</sup> (4), 204 (47), 189 (23), 179 (32), 161 (100), 147 (20), 136 (19), 134 (23), 121 (81), 119 (40), 109 (17), 107 (31), 105 (58), 95 (28), 93 (30), 91 (29), 81 (26), 79 (24), 77 (17), 67 (12), 55 (16), 43 (28)



HREIMS  $m/z$  222,2025 (calc. pour C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>O, 222,1984)

<sup>1</sup>H (500 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ 2,44–2,27 (3H, m, H-9a, H-5, H-2a), 2,18–2,11 (1H, m, H-2b), 1,98–1,92 (1H, m, H-4), 1,83 (1H, dt,  $J = 13,5, 1,6$  Hz, H-6a), 1,85–1,80 (1H, m, H-9b), 1,77 (1H, ddd,  $J = 14,0, 11,0, 1,7$  Hz, H-8a), 1,73–1,65 (1H, sept,  $J = 6,7$  Hz, H-11), 1,61 (3H, d,  $J = 0,7$  Hz, H-14), 1,59–1,53 (1H, m, H-3a), 1,52–1,46 (1H, m, H-8b), 1,46 (1H, dd,  $J = 13,3, 12,2$  Hz, H-6b), 1,39–1,33 (1H, m, H-3b), 0,92 (3H, d,  $J = 6,8$  Hz, H-12), 0,91 (3H, d,  $J = 6,9$  Hz, H-13), 0,75 (3H, d,  $J = 7,1$  Hz, H-15)

<sup>13</sup>C (126 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) voir Tableau 4

Composé : (1α,4αH,5β,7αH,10αH)-5,11-Epoxyguaian-1α-ol (**124**)

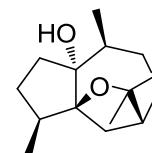
Dans un bicol de 25 mL sous atmosphère inerte (N<sub>2</sub>), 23,3 mg de **B** (0,1 mmol) sont dissous dans 1,5 mL de THF anhydre. Sous agitation magnétique, on ajoute ensuite 15,7 mg d'AlCl<sub>3</sub> (0,12 mmol) suspension dans 2 mL de THF anhydre. Après 2 heures à température ambiante, on ajoute goutte à goutte 0,5 mL d'une solution saturée de NaHCO<sub>3</sub>. Après 15 minutes d'agitation, le mélange est extrait 3 × 10 mL d'Et<sub>2</sub>O. L'ensemble des phases organiques

obtenus sont lavées avec de la saumure (5 ml), puis séchées sur MgSO<sub>4</sub> anhydre et filtrées. Le filtrat est concentré sous vide puis purifié sur gel de silice pour donner **124** (17,7 mg, 76 %).

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1715/2205

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV) *m/z* (int. rel.): 238 [M]<sup>+</sup> (15), 223 (25), 220 (68), 205 (100), 187 (33), 182 (17), 177 (20), 163 (32), 162 (51), 159 (66), 147 (46), 139 (42), 109 (49), 105 (55), 95 (37), 91 (40), 85 (37), 81 (33), 69 (46), 55 (56), 43 (55), 41 (51)



HREIMS *m/z* 238,1947 (calc. pour C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>O<sub>2</sub>, 238,1933)

<sup>1</sup>H (500 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ 2.50–2.39 (1H, m, H-4), 2.05 (1H, ddd, *J* = 12.6, 11.5, 6.9 Hz, H-2a), 1.98 (1H, dd, *J* = 13.2, 6.1 Hz, H-6a), 1.90 (1H, d, *J* = 13.1 Hz, H-6b), 1.88–1.83 (1H, m, H-3a), 1.82–1.73 (2H, m, H-8a, H-9a), 1.64 (1H, td, *J* = 5.7, 3.0 Hz, H-7), 1.61–1.51 (2H, m, H-10, H-9b), 1.47–1.37 (1H, m, H-3b), 1.31–1.26 (1H, m, H-8b), 1.26 (3H, s, H-13), 1.15 (1H, ddd, *J* = 12.7, 9.0, 2.6 Hz, H-2b), 1.07 (3H, s, H-12), 1.04 (3H, d, *J* = 6.4 Hz, H-15), 1.03 (3H, d, *J* = 6.6 Hz, H-14)

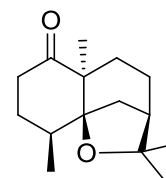
<sup>13</sup>C (126 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) voir Tableau 1

Composé : dihydroAgarofuran-2-one, (4 $\alpha$ H,5 $\beta$ ,7 $\alpha$ H,10 $\alpha$ )-5,11-époxyeudesman-1-one (**127**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1766/2340

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV) *m/z* (int. rel.): 236 [M]<sup>+</sup> (39), 221 (10), 208 (21), 180 (10), 151 (10), 137 (100), 124 (27), 109 (21), 93 (10), 71 (18), 69 (22), 55 (29), 43 (40), 41 (31)



HREIMS *m/z* 236,1745 (calc. pour C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>O<sub>2</sub>, 236,1771)

<sup>1</sup>H (500 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ 2,70–2,58 (1H, m, H-9a), 2,24–2,20 (2H, m, H-2a, H-2b), 1,90–1,79 (2H, m, H-3a, H-6a), 1,69–1,64 (1H, m, 1H), 1,62–1,54 (1H, m, H-8a), 1,48–1,42 (1H, m, H-7), 1,38–1,35 (1H, m, H-9b), 1,35–1,31 (1H, m, H-3b), 1,29 (1H, ddd, *J* = 13,7, 6,5, 2,6 Hz, H-8b), 1,22 (3H, s, H-13), 1,22 (1H, d, *J* = 12,1 Hz, H-6b), 0,99 (3H, s, H-12), 0,85 (3H, s, H-14), 0,85 (3H, d, *J* = 6,4 Hz, H-15)

<sup>13</sup>C (126 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) voir Tableau 3

Composé : (1 $\beta$ H,5 $\beta$ ,7 $\alpha$ H,10 $\alpha$ H)-5,11-Epoxyguaï-3-ène (**A**):

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1552/1798

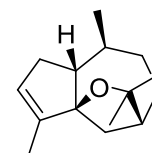
Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 220 [M]<sup>+</sup> (3), 206 (18), 205 (100), 187 (9), 162 (10), 147 (19), 133 (12), 123 (17), 119 (10), 109 (11), 105 (16), 96 (10), 95 (9), 94 (17), 93 (8), 91 (14), 79 (7), 55 (6), 43 (8), 41 (7)

HREIMS  $m/z$  220,1814 (calc. pour C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>O, 220,1827)

<sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  5,38 (1H, dt,  $J = 2,9, 1,3$  Hz, H-3), 2,39–2,32 (1H, m, H-2a), 2,08 (1H, ddd,  $J = 12,8, 6,9, 1,8$  Hz, H-6a), 2,01–1,98 (1H, m, H-7), 1,92–1,85 (1H, m, H-8a), 1,80 (1H, d,  $J = 12,8$  Hz, H-6b), 1,77–1,70 (2H, m, H-9a, H-1), 1,67 (3H, q,  $J = 2,1$  Hz, H-15), 1,67–1,63 (1H, m, H-2b), 1,62–1,57 (1H, m, H-10), 1,50–1,42 (2H, m, H-9b, H-8b), 1,33 (3H, s, H-13), 1,22 (3H, s, H-12), 0,90 (3H, d,  $J = 6,5$  Hz, H-14)

<sup>13</sup>C (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) voir Tableau 1



Composés : (1 $\alpha$ ,4 $\alpha$ H,5 $\alpha$ ,7 $\alpha$ H,10 $\alpha$ H)-1,5-Epoxyguaïan-11-ol (**B**) et (1 $\beta$ ,4 $\alpha$ H,5 $\beta$ ,7 $\alpha$ H,10 $\alpha$ H)-1,5-époxyguaïan-11-ol (**C**)

Dans un bicol de 25 mL, 54 mg de **74** (0,24 mmol) sont dissous dans 1 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Sous agitation magnétique, on ajoute ensuite goutte à goutte 65 mg d'*m*-CPBA à 77 % (0,29 mmol) en suspension dans 1 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Après 10 minutes à 0 °C, on ajoute goutte à goutte 0,5 mL d'une solution saturée de NaHCO<sub>3</sub>. Après 15 minutes d'agitation, le mélange est extrait 3  $\times$  10 mL d'Et<sub>2</sub>O. L'ensemble des phases organiques obtenus sont lavées avec de la saumure (10 ml), puis séchées sur MgSO<sub>4</sub> anhydre et filtrées. Le filtrat est concentré sous vide puis purifié sur gel de silice (Ether de pétrole/Et<sub>2</sub>O, 80:20) pour donner :

**B** (1 $\alpha$ ,4 $\alpha$ H,5 $\alpha$ ,7 $\alpha$ H,10 $\alpha$ H)-1,5-époxyguaïan-11-ol (25 mg, 43 %)

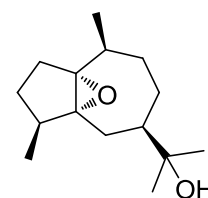
Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1729/2355

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>30</sup>

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 238 [M]<sup>+</sup> (1), 220 (7), 205 (28), 187 (12), 177 (13), 165 (73), 156 (45), 5147 (37), 138 (45), 125 (56), 123 (71), 109 (43), 95 (47), 81 (38), 67 (33), 59 (100), 55 (33), 43 (42), 41 (35)

HREIMS  $m/z$  238,1922 (calc. pour C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>O<sub>2</sub>, 238,1933)

<sup>13</sup>C (50 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  73,48, 73,02, 72,57, 47,35, 40,72, 32,71, 31,65, 29,69, 29,61, 27,58, 27,56, 26,31, 25,31, 17,00, 16,13



**C** (1 $\beta$ ,4 $\alpha$ H,5 $\beta$ ,7 $\alpha$ H,10 $\alpha$ H)-1,5-époxyguaïan-11-ol (30,1 mg, 52 %)

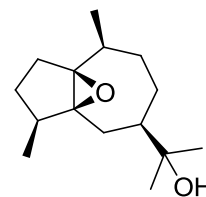
Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1686/2300

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>30</sup>

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 238 [M]<sup>++</sup> (1), 220 (8), 205 (26), 187 (13), 177 (15), 165 (74), 156 (52), 147 (36), 138 (49), 125 (62), 123 (79), 109 (45), 95 (48), 81 (38), 67 (34), 59 (100), 55 (35), 43 (44), 41 (37)

HREIMS  $m/z$  238,1925 (calc. pour C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>O<sub>2</sub>, 238,1933)

<sup>13</sup>C (50 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  73,92, 72,55, 72,52, 46,47, 37,80, 34,87, 31,20, 28,69, 28,26, 28,03, 28,02, 26,58, 25,22, 19,06, 13,93



Composés : (1 $\alpha$ ,4 $\alpha$ H,5 $\alpha$ H,7 $\alpha$ H,10 $\alpha$ )-1,10-Epoxyguaïan-11-ol (**D**) et (1 $\beta$ ,4 $\alpha$ H,5 $\alpha$ H,7 $\alpha$ H,10 $\beta$ )-1,10-époxyguaïan-11-ol (**E**)

Dans un bicol de 25 mL, 49,6 mg de **111** (0,22 mmol) sont dissous dans 1 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Sous agitation magnétique, on ajoute ensuite goutte à goutte 57,8 mg d'*m*-CPBA à 77 % (0,26 mmol) en suspension dans 1 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Après 10 minutes à 0 °C, on ajoute goutte à goutte 0,5 mL d'une solution saturée de NaHCO<sub>3</sub>. Après 15 minutes d'agitation, le mélange est extrait 3 × 10 mL d'Et<sub>2</sub>O. L'ensemble des phases organiques obtenus sont lavées avec de la saumure (10 mL), puis séchées sur MgSO<sub>4</sub> anhydre et filtrées. Le filtrat est concentré sous vide puis purifié sur gel de silice (Ether de pétrole/Et<sub>2</sub>O, 80:20) pour donner :

**D** (1 $\alpha$ ,4 $\alpha$ H,5 $\alpha$ H,7 $\alpha$ H,10 $\alpha$ )-1,10-époxyguaïan-11-ol (36,7 mg, 69 %)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1756/2391

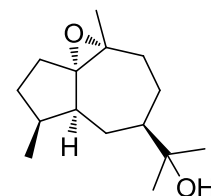
Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 238 [M]<sup>+</sup> (3), 220 (32), 205 (20), 202 (37), 187 (42), 179 (30), 177 (36), 162 (39), 161 (31), 159 (100), 147 (47), 133 (35), 121 (51), 111 (67), 110 (57), 107 (50), 105 (61), 95 (62), 93 (45), 91 (47), 83 (45), 81 (68), 59 (99), 55 (35), 43 (71)

HREIMS  $m/z$  238,1908 (calc. pour C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>O<sub>2</sub>, 238,1933)

<sup>1</sup>H (500 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  2,43–2,33 (1H, m, H-4), 2,05–1,93 (2H, m, H-9a, H-2a), 1,88 (1H, ddd,  $J$  = 13,6, 3,1, 1,8 Hz, H-6a), 1,81–1,61 (4H, m, H-8a, H-5, H-3a, H-2b), 1,51 (1H, t,  $J$  = 12,8 Hz, H-9b), 1,18 (3H, d,  $J$  = 0,7 Hz, H-14), 1,15–1,10 (2H, m, H-3b, H-7), 1,00 (3H, s, H-12), 0,99 (3H, s, H-13), 0,94 (3H, d,  $J$  = 6,9 Hz, H-15), 0,92–0,89 (1H, m, H-8b), 0,71 (1H, dt,  $J$  = 13,2, 11,7 Hz, H-6b)

<sup>13</sup>C (126 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  75,51, 72,76, 63,03, 54,50, 49,24, 38,19, 37,55, 31,08, 29,53, 27,63, 27,06, 26,23, 25,20, 20,54, 15,37



**E** (1 $\beta$ ,4 $\alpha$ H,5 $\alpha$ H,7 $\alpha$ H,10 $\beta$ )-1,10-époxyguaïan-11-ol (11,5 mg, 22 %)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1759/2356

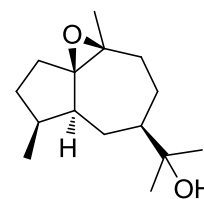
Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 238 [M]<sup>+</sup> (1), 220 (19), 205 (20), 202 (21), 187 (24), 179 (33), 162 (41), 159 (43), 147 (59), 133 (28), 125 (74), 121 (58), 111 (71), 107 (68), 95 (76), 83 (58), 81 (86), 59 (87), 55 (46), 43 (100)

HREIMS  $m/z$  238,1917 (calc. pour C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>O<sub>2</sub>, 238,1933)

<sup>1</sup>H (500 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  2,03–1,96 (1H, m, H-4), 1,91 (1H, ddd,  $J = 6,2, 5,5, 2,3$  Hz, H-9a), 1,87 (1H, ddd,  $J = 11,9, 8,6, 1,7$  Hz, H-2a), 1,80 (1H, dd,  $J = 10,5, 8,9$  Hz, H-2b), 1,74 (1H, ddd,  $J = 11,5, 5,7, 2,1$  Hz, H-5), 1,67 (1H, ddd,  $J = 12,7, 4,2, 2,2$  Hz, H-6a), 1,64–1,54 (2H, m, H-8a, H-9b), 1,52–1,44 (1H, m, H-3a), 1,44–1,33 (2H, m, H-3b, H-8b), 1,31 (1H, dd,  $J = 11,6, 1,3$  Hz, H-6b), 1,16 (3H, s, H-14), 1,01 (3H, s, H-12), 1,01 (3H, s, H-13), 1,01 (3H, d,  $J = 7,2$  Hz, H-15), 0,86–0,83 (1H, m, H-7)

<sup>13</sup>C (126 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  72,81, 72,11, 60,52, 53,98, 47,18, 39,76, 35,02, 31,36, 30,50, 28,16, 27,34, 27,05, 26,01, 23,63, 15,29



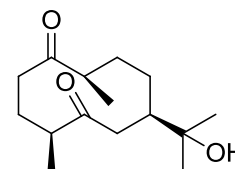
Composé : (4 $\alpha$ H,7 $\alpha$ H,10 $\alpha$ H)-11-Hydroxy-germacra-1,5-dione (**F**)

Dans un bicol de 25 mL, 236 mg de **74** (1,06 mmol) sont dissous dans un mélange ternaire de CCl<sub>4</sub> (2,5 mL), de MeCN (2,5 mL) et de H<sub>2</sub>O (3,5 mL). Sous agitation magnétique, on ajoute ensuite à la solution un mélange de 2 mg de RuO<sub>2</sub>.H<sub>2</sub>O (0,015 mmol) et de 370 mg de NaIO<sub>4</sub> (1,73 mmol). Après 2 heures, 1 mL de *n*-propanol est ajouté goutte à goutte au mélange réactionnel. Après 15 minutes, le mélange est extrait 4  $\times$  5 mL d'Et<sub>2</sub>O. L'ensemble des phases organiques obtenus sont lavées avec de la saumure (5 mL), puis séchées sur MgSO<sub>4</sub> anhydre et filtrées. Le filtrat est concentré sous vide et purifié sur gel de silice pour donner **F** (221 mg, 82 %).

R<sub>f</sub> (SiO<sub>2</sub>, Ether de Pétrôle/AcOEt 7:3) : 0,34

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>51</sup>

<sup>13</sup>C (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  218,31, 216,79, 72,94, 49,44, 44,68, 44,26, 43,35, 35,32, 30,62, 28,90, 28,71, 27,77, 25,30, 19,22, 17,50



Composé : (4 $\alpha$ H,7 $\alpha$ H,10 $\beta$ )-5 $\beta$ ,11-Dihydroxy-eudesman-1-one (**G**)

Dans un bicol de 25 mL sous atmosphère inerte (N<sub>2</sub>), 88 mg de **I** (0,24 mmol) et 188 mg de TBAF (0,72 mmol) sont dissous sous agitation magnétique dans 2 mL de THF. Après 3 heures

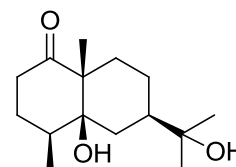


à 40 °C, 2 mL de NaHCO<sub>3</sub> sont ajoutés goutte à goutte au mélange réactionnel. Après dilution avec de l'eau, le mélange est extrait 4 × 5 mL d'Et<sub>2</sub>O. L'ensemble des phases organiques obtenues sont lavées avec de la saumure (5 mL), puis séchées sur MgSO<sub>4</sub> anhydre et filtrées. Le filtrat est concentré sous vide et purifié sur gel de silice (éther de pétrole/AcOEt, 5:5) pour donner **G** (54,6 mg, 90 %).

R<sub>f</sub> (SiO<sub>2</sub>, Ether de Pétrole/AcOEt 7:3) : 0,09

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>50</sup>

<sup>13</sup>C (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 215,80, 77,95, 71,99, 53,68, 44,71, 37,38, 33,92, 32,89, 31,94, 28,72, 26,93, 26,69, 21,26, 14,64, 14,21

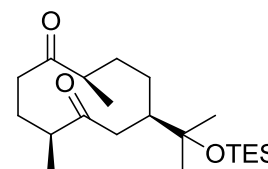


Composé : (4αH,7αH,10αH)-11-HydroxyTES-germacra-1,5-dione (**H**)

Dans un bicol de 25 mL sous atmosphère inerte (N<sub>2</sub>), 110 mg de **F** (0,43 mmol) et 101 mg d'imidazole (0,72 mmol) sont dissous sous agitation magnétique dans 2 mL de DMF anhydre. On ajoute ensuite au milieu réactionnel 132 mg de TESCO (0,88 mmol) dilué dans 2 mL de DMF anhydre. Après 5 heures à température ambiante, 1 mL de NaHCO<sub>3</sub> est ajouté goutte à goutte au mélange réactionnel. Après dilution avec de l'eau, le mélange est extrait 3 × 5 mL d'Et<sub>2</sub>O. L'ensemble des phases organiques obtenues sont lavées avec de la saumure (5 mL), puis séchées sur MgSO<sub>4</sub> anhydre et filtrées. Le filtrat est concentré sous vide et purifié sur gel de silice (éther de pétrole, AcOEt, 9:1) pour donner **H** (130 mg, 81 %).

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>50</sup>

<sup>13</sup>C (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 218,80, 216,99, 75,81, 50,37, 45,54, 45,43, 41,30, 34,41, 30,93, 30,11, 28,77, 27,30, 25,37, 19,60, 18,01, 7,25, 6,91

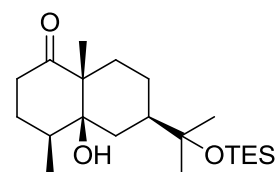


Composé : (4αH,7αH,10β)-5β-Hydroxy-11-hydroxyTES-eudesman-1-one (**I**)

Dans un bicol de 25 mL, 130 mg de **H** (0,35 mmol) sont dissous sous agitation magnétique dans 1 mL d'EtOH. On ajoute à la réaction 0,2 mL d'un mélange KOH/EtOH à 60 mg/mL. Après 2 heures à température ambiante, 2 mL de NaHCO<sub>3</sub> est ajouté goutte à goutte au mélange réactionnel. Après dilution avec de l'eau, le mélange est extrait 4 × 5 mL d'Et<sub>2</sub>O. L'ensemble des phases organiques obtenues sont lavées avec de la saumure (5 mL), puis séchées sur MgSO<sub>4</sub> anhydre et filtrées. Le filtrat est concentré sous vide et purifié sur gel de silice (éther de pétrole/AcOEt, 7:3) pour donner **I** (108 mg, 83 %).

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>50</sup>

<sup>13</sup>C (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 215,90, 78,03, 74,25, 53,72, 45,99, 37,36, 34,04, 32,76, 31,93, 28,76, 27,59, 26,99, 21,16, 14,50, 14,11, 6,89, 6,55

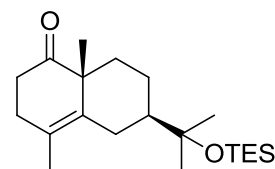


Composé : (7αH,10β)-11-hydroxyTES-eudesm-4-én-1-one (**J**)

Dans un bicol de 25 mL, 20 mg de **I** (0,05 mmol) sont dissous sous agitation magnétique dans 1 mL de pyridine. La température est abaissée à -10 °C puis on ajoute 0,05 mL de SOCl<sub>2</sub> (0,07 mmol). Après 15 minutes à 0 °C, un mélange d'eau glacé est ajouté goutte à goutte à la réaction. Le mélange est ensuite extrait 4 × 5 mL d'Et<sub>2</sub>O. L'ensemble des phases organiques obtenus sont lavées avec de la saumure (5 mL), puis séchées sur MgSO<sub>4</sub> anhydre et filtrées. Le filtrat est concentré sous vide et purifié sur gel de silice (éther de pétrole/AcOEt, 8:2) pour donner **J** (18 mg, 95 %).

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>50</sup>

<sup>13</sup>C (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 216,25, 134,76, 123,57, 74,64, 50,47, 47,07, 35,93, 34,82, 31,94, 27,90, 26,64, 26,26, 22,28, 21,79, 18,57, 6,91, 6,62



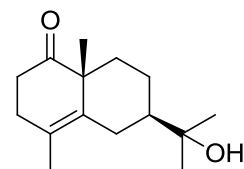
Composé : (7αH,10β)-11-Hydroxy-eudesm-4-én-1-one (**K**)

Dans un bicol de 25 mL sous atmosphère inerte (N<sub>2</sub>), 18 mg de **J** (0,24 mmol) et 40 mg de TBAF (0,15 mmol) sont dissous sous agitation magnétique dans 1 mL de THF. Après 3 heures à 40 °C, 1 mL de NaHCO<sub>3</sub> sont ajoutés goutte à goutte au mélange réactionnel. Après dilution avec de l'eau, le mélange est extrait 4 × 5 mL d'Et<sub>2</sub>O. L'ensemble des phases organiques obtenues sont lavées avec de la saumure (5 mL), puis séchées sur MgSO<sub>4</sub> anhydre et filtrées. Le filtrat est concentré sous vide et purifié sur gel de silice (éther de pétrole/AcOEt, 7: 3) pour donner **K** (11 mg, 89 %)

Indice de rétention : RI (VF-5ms/Wax) 1857/2595

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV) *m/z* (int. rel.): 236 [M]<sup>+</sup> (1), 218 (97), 203 (30), 175 (31), 160 (100), 145 (41), 133 (39), 119 (18), 105 (22), 93 (19), 91 (21), 79 (11), 59 (33), 43 (15)



<sup>1</sup>H (500 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ 2,60 (1H, ddd, *J* = 13,6, 3,4, 2,1 Hz, H-6a), 2,41 (1H, ddd, *J* = 13,4, 8,2, 7,0 Hz, H-2a), 2,26 (1H, dt, *J* = 13,2, 6,4 Hz, H-2b), 2,03–1,93 (3H, m, H-9a, H-3ab), 1,64 (1H, ttt, *J* = 12,5, 2,5, 1,1 Hz, H-6b), 1,56–1,48 (1H, m, H-8a), 1,50 (3H, dd, *J* = 1,7, 0,6 Hz, H-15), 1,42 (1H, td, *J* = 13,6, 4,2 Hz, H-9b), 1,14 (qd, *J* = 12,7, 3,7 Hz, H-8b), 1,17 (3H, s, H-14), 1,08–1,02 (1H, m, H-7), 0,97 (6H, s, H-12, H-13)

$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  213,58, 135,22, 124,11, 71,71, 49,98, 47,40, 36,17, 35,54, 32,34, 27,74, 26,94, 26,56, 22,95, 22,19, 18,87

Composés : (4 $\alpha$ H,5 $\alpha$ H,7 $\alpha$ H)-Guaia-1 $\alpha$ ,10 $\alpha$ ,11-triol (**L**) et holostylactone (**M**)

Dans un bicol de 25 mL, 200 mg de **111** (0,90 mmol) sont dissous dans un mélange ternaire de  $\text{CCl}_4$  (2,5 mL), de MeCN (2,5 mL) et de  $\text{H}_2\text{O}$  (3,5 mL). Sous agitation magnétique, on ajoute ensuite à la solution un mélange de 2 mg de  $\text{RuO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (0,015 mmol) et de 373 mg de  $\text{NaIO}_4$  (1,74 mmol). Après 2 heures, 1 mL de *n*-propanol est ajouté goutte à goutte au mélange réactionnel. Après 15 minutes, le mélange est extrait avec  $4 \times 5$  mL d' $\text{Et}_2\text{O}$ . Les phases organiques rassemblées sont lavées avec de la saumure (5 mL), puis séchées sur  $\text{MgSO}_4$  anhydre et filtrées. Le filtrat est concentré sous vide puis purifié sur gel de silice (éther de pétrole/AcOEt, 5:5 à AcOEt 100 %) pour donner le (4 $\alpha$ H,5 $\alpha$ H,7 $\alpha$ H)-guaia-1 $\alpha$ ,10 $\alpha$ ,11-triol (**L**) (48 mg, 21 %) et l'holostylactone (**M**) (123 mg, 54 %).

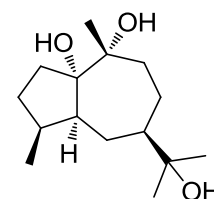
**L** (4 $\alpha$ H,5 $\alpha$ H,7 $\alpha$ H)-guaia-1 $\alpha$ ,10 $\alpha$ ,11-triol (48 mg, 21 %)

$R_f$  ( $\text{SiO}_2$ , Petroleum Ether/AcOEt 7:3): 0,10

Données spectroscopiques :

$^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2,49 (1H, dq,  $J = 14,7, 7,4, 6,9$  Hz, H-4), 1,90–1,77 (3H, m, H-2a, H-8a, H-3a), 1,77–1,67 (3H, m, H-9ab, H-5), 1,64–1,57 (2H, m, H-6a, H-7), 1,51–1,44 (1H, m, H-2b), 1,27–1,18 (1H, m, H-3b), 1,18 (3H, s, H-14), 1,15–1,11 (1H, m, H-8b), 1,10 (3H, s, H-12), 1,06 (3H, s, H-13), 0,88 (3H, d,  $J = 7,1$  Hz, H-15), 0,83–0,71 (1H, m, H-6b)

$^{13}\text{C}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  88,68, 76,66, 74,03, 55,78, 48,50, 36,74, 34,14, 33,52, 30,17, 27,49, 27,34, 25,46, 24,57, 23,89, 15,99



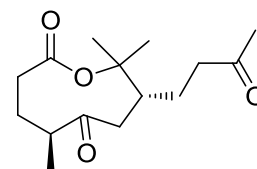
Holostylactone (**M**) (123 mg, 54 %)

$R_f$  ( $\text{SiO}_2$ , Petroleum Ether/AcOEt 7:3) : 0,26

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>55</sup>

$^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2,76 (1H, dqd,  $J = 8,7, 6,9, 1,8$  Hz, H-4), 2,61–2,53 (3H, m, H-9ab, H-6a), 2,33–2,21 (3H, m, H-7, H-2ab), 2,14 (3H, s, H-14), 2,14–2,06 (1H, m, H-3a), 2,00 (1H, dd,  $J = 12,4, 1,8$  Hz, H-6b), 1,61 (3H, s, H-12), 1,59–1,53 (2H, m, H-8a, H-3b), 1,30 (3H, s, H-13), 1,29–1,23 (1H, m, H-8b), 1,01 (3H, d,  $J = 7,1$  Hz, H-15)

$^{13}\text{C}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  215,55, 208,11, 171,12, 85,11, 49,17, 47,76, 43,07, 42,25, 34,67, 30,94, 30,29, 25,70, 23,80, 20,36, 18,65



## Références

- (1) Waller T.,Barros M.,Draque J.,Micucci P., Conservation of the Palo Santo tree, *Bulnesia sarmientoi* Lorentz ex Griseb, in the South American Chaco region, *Medicinal Plant Conservation*, **2012**, *15*, 4.
- (2) Martínez G. J.,Barboza G. E., Natural pharmacopoeia used in traditional Toba medicine for the treatment of parasitosis and skin disorders (Central Chaco, Argentina), *J. Ethnopharmacol.*, **2010**, *132*, 86.
- (3) Arctander S. *Perfume and flavor materials of natural origin*; Arctander, S.: Elizabeth, New Jersey (USA), **1960**.
- (4) Surburg H.,Panten J. In *Common Fragrance and Flavor Materials*; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: 2006, p 177.
- (5) Le Polain de Waroux Y.,Garrett R. D.,Heilmayr R.,Lambin E. F., Land-use policies and corporate investments in agriculture in the Gran Chaco and Chiquitano, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **2016**, *113*, 4021.
- (6) Vidal J. Chaco deforestation by Christian sect puts Paraguayan land under threat. *The Guardian's Environment Blog* [Online Early Access]. Published Online: 2010. <https://www.theguardian.com/world/2010/oct/05/chaco-paraguay-deforestation>.
- (7) Collyns D. Bolivia's indigenous people join fight to save Gran Chaco wilderness *The Guardian* [Online Early Access]. Published Online: 2013. <https://www.theguardian.com/world/2013/jul/08/bolivia-indigenous-people-gran-chaco-wilderness>.
- (8) Vidal J. The transformation of the Chaco is an ecological and human tragedy *The Guardian's Environment Blog* [Online Early Access]. Published Online: 2011. <https://www.theguardian.com/environment/blog/2011/jul/08/natural-history-museum-south-america>.
- (9) centre U. N.-E. p. w. c. m.; UNEP-WCMC, Ed. Cambridge, 2011.
- (10) CITES, 15th Meeting of the Conference of the Parties to CITES. Proposal 15.42. Inclusion of *Bulnesia sarmientoi* in CITES-Appendix II. Available at: [www.cites.org/eng/cop/15/prop/E-15-Prop-42.pdf](http://www.cites.org/eng/cop/15/prop/E-15-Prop-42.pdf) , **2010**, *15*.
- (11) Gandurin A., Structure of Guaiol, *Eur. J. Inorg. Chem.*, **1908**, *41*, 4359.
- (12) Plattner P. A.,Lemay L., Sesquiterpenes. XLIV. Carbon skeleton of guaiol and of guiazulene, *Helv. Chim. Acta*, **1940**, *23*, 897.

- (13) Santana A., Molinillo J. M. G., Macías F. A., Trends in the Synthesis and Functionalization of Guaianolides, *Eur. J. Org. Chem.*, **2015**, 2015, 2093.
- (14) Ordóñez P. E., Sharma K. K., Bystrom L. M., Alas M. A., Enriquez R. G., Malagón O., Jones D. E., Guzman M. L., Compadre C. M., Dehydroleucodine, a Sesquiterpene Lactone from *Gynoxys verrucosa*, Demonstrates Cytotoxic Activity against Human Leukemia Cells, *J. Nat. Prod.*, **2016**, 79, 691.
- (15) Siebert T. E., Wood C., Elsey G. M., Pollnitz A. P., Determination of Rotundone, the Pepper Aroma Impact Compound, in Grapes and Wine, *J. Agric. Food Chem.*, **2008**, 56, 3745.
- (16) Schilling B., Granier T., Locher E.; Givaudan S.A., Switz.: 2014, p No pp. given.
- (17) Huang A.-C., Sefton M. A., Taylor D. K., Comparison of the Formation of Peppery and Woody Sesquiterpenes Derived from  $\alpha$ -Guaiene and  $\alpha$ -Bulnesene under Aerial Oxidative Conditions, *J. Agric. Food Chem.*, **2015**, 63, 1932.
- (18) Dolejs L., Mironov A., Sorm F., Terpenes. CXXI. Structure of bulnésol and stereochemistry of guaiol, nepetalinic acids, and iridomyrmecins, *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **1961**, 26, 1015.
- (19) Bates R. B., Slagel R. C., Terpenoids. VI.  $\beta$ -Bulnesene,  $\alpha$ -guaiene,  $\beta$ -patchoulene, and guaioxide in essential oils, *Chem. Ind. (London, U. K.)*, **1962**, 1715.
- (20) Prudent D., Perineau F., Bravo R., Delmas M., Préparation et caractérisation d'extraits volatils de bois de guaiac (*Bulnesia sarmientoi* Lor.), *Rivista Italiana, EPPOS*, **1991**, 5, 35.
- (21) Rodilla J. M., Silva L. A., Martínez N., Lorenzo D., Davyt D., Castillo L., Giménez C., Cabrera R., González-Coloma A., Zrostlíková J., Dellacassa E., Advances in the identification and agrochemical importance of sesquiterpenoids from *Bulnesia sarmientoi* essential oil, *Ind. Crops Prod.*, **2011**, 33, 497.
- (22) Groot A. C. d., Schmidt E. *Essential oils: contact allergy and chemical composition*; CRC Press Inc.: London, **2016**.
- (23) Hikino H., Hikino Y., Kato H., Takeshita Y., Takemoto T., Constituents of Kesso Root, *Yakugaku Zasshi*, **1963**, 83, 219.
- (24) van Beek T. A., Lelyveld G. P., Gijzen H. J. M., Lankhorst P. P., Confirmation of the Structure of Kessane by NMR Spectroscopy, *J. Essent. Oil Res.*, **1993**, 5, 169.
- (25) Southwell I. A., Tucker D. J., Isokessane and  $\beta$ -Kessane from *Rubus rosifolius* Sm, *J. Essent. Oil Res.*, **1996**, 8, 143.
- (26) Ehret C., Ourisson G., Lead tetraacetate oxidation of guaiol: structure of guaioxide and epiguaioxide, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, **1968**, 2629.

- (27) Tori M., Sono M., Asakawa Y., The Reaction of Three Sesquiterpene Ethers with *m*-Chloroperbenzoic Acid, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1990**, *63*, 1770.
- (28) Nadgouda S. A., Trivedi G. K., Bhattacharyya S. C., Sensitized photooxygenation of guaiol, *Indian J. Chem., Sect. B: Org. Chem. Incl. Med. Chem.*, **1978**, *16B*, 205.
- (29) Craven R. A., Arp N. W., Johnson E., Waddell T. G., Guaiol epoxides: New chemistry of medicinal plant derivatives and potential xenobiotic action in humans, *J. Undergrad. Chem. Res.*, **2005**, *4*, 81.
- (30) Huang A.-C., Sumbly C. J., Tiekink E. R. T., Taylor D. K., Synthesis of guaia-4(5)-en-11-ol, guaia-5(6)-en-11-ol, aciphyllene, 1-epi-melicodenones C and E, and other guaiane-type sesquiterpenoids via the diastereoselective epoxidation of guaiol, *J. Nat. Prod.*, **2014**, *77*, 2522.
- (31) Ishii H., Tozyo T., Nakamura M., Minato H., Sesquiterpenoids. XIX. Structure and absolute configuration of liguloxide, liguloxidol, and liguloxidol acetate, *Tetrahedron*, **1970**, *26*, 2911.
- (32) Ishii H., Tozyo T., Nakamura M., Funke E., Microbial Transformation of Sesquiterpenoids. V. Preparation of 1-Epiliguloxide, the Sixth Stereoisomer of Guaioxide, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin (Tokyo)*, **1972**, *20*, 203.
- (33) Bates R. B., Slagel R. C., Conversion of bulnésol to patchouli alcohol, guaiol, and  $\delta$ -guaiene, *J. Am. Chem. Soc.*, **1962**, *84*, 1307.
- (34) Mendes S. A. C., Mansoor T. A., Rodrigues A., Armas J. B., Ferreira M. J. U., Anti-inflammatory guaiane-type sesquiterpenes from the fruits of *Pittosporum undulatum*, *Phytochemistry*, **2013**, *95*, 308.
- (35) van der Gen A., van der Linde L. M., Witteveen J. G., Synthesis of guaipyridine and some related sesquiterpene alkaloids, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas*, **1972**, *91*, 1433.
- (36) Bülow N., König W. A., The role of germacrene D as a precursor in sesquiterpene biosynthesis: investigations of acid catalyzed, photochemically and thermally induced rearrangements, *Phytochemistry*, **2000**, *55*, 141.
- (37) Hong Y. J., Tantillo D. J., Consequences of conformational preorganization in sesquiterpene biosynthesis: Theoretical studies on the formation of the bisabolene, curcumene, acoradiene, zizaene, cedrene, duprezianene, and sesquithuriferol sesquiterpenes, *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, *131*, 7999.
- (38) Thomas A. F., Ozainne M., New sesquiterpene alcohols from *Galbanum* resin; the occurrence of C(10)-epi-sesquiterpenoids, *Helv. Chim. Acta*, **1978**, *61*, 2874.
- (39) van Beek T. A., Kleis R., Posthumus M. A., van Veldhuizen A., Essential oil of *Amyris balsamifera*, *Phytochemistry*, **1989**, *28*, 1909.

- (40) Southwell I. A., The Constituents of *Rubus rosifolius*. The Structure of rosifoliol, a biogenetically significant sesquiterpenoid, *Aust. J. Chem.*, **1978**, *31*, 2527.
- (41) Ruecker G., Hefendehl F. W., Guai-5-en-11-ol, a new guaiane alcohol from gurjun-Balsam, *Phytochemistry*, **1978**, *17*, 809.
- (42) Bianchini A., Tomi F., Richomme P., Bernardini A.-F., Casanova J., Eudesm-5-en-11-ol from *Helichrysum italicum* essential oil, *Magn. Reson. Chem.*, **2004**, *42*, 983.
- (43) Sell C. S. *A fragrant introduction to terpenoid chemistry*; Royal Society of Chemistry, **2003**.
- (44) Jones R. V. H., Sutherland M. D., Hédycaryol, the precursor of elemol, *Chem. Commun. (London)*, **1968**, 1229.
- (45) Kodama M., Yokoo S., Matsuki Y., Itô S., Synthesis of macrocyclic terpenoids by intramolecular cyclization V. Transannular reactions of hédycaryol isomers, *Tetrahedron Lett.*, **1979**, *20*, 1687.
- (46) Minnaard A. J., Stork G. A., Wijnberg J. B. P. A., de Groot A., Total synthesis of neohédycaryol. Its possible role in the biosynthesis of eudesmane sesquiterpenes, *J. Org. Chem.*, **1997**, *62*, 2344.
- (47) Wharton P. S., Poon Y.-C., Kluender H. C., Conformational isomerism in dihydropregeijerene and hédycaryol, *J. Org. Chem.*, **1973**, *38*, 735.
- (48) Minnaard A. J. *Germacrane sesquiterpenes. Synthesis and role in biosynthesis*; Minnaard, A. J.: Wageningen, **1997**.
- (49) Ishii H., Tozyo T., Nakamura M., Microbial transformation of sesquiterpenoids—IV: Preparation of 10-epiguaioxide and its identification with bulnesoxide, *Tetrahedron*, **1971**, *27*, 4263.
- (50) Minnaard A. J., B.P.A. Wijnberg J., Groot A. d., The synthesis of (+)-hédycaryol, starting from natural (–)-guaiol, *Tetrahedron*, **1994**, *50*, 4755.
- (51) Winter R. E. K., Zehr R. J., Honey M., Van Arsdale W., Some guaiol oxidation products, *J. Org. Chem.*, **1981**, *46*, 4309.
- (52) Carman R., Garner A., Robinson W., The Structure of the decalone obtained from the oxidation of guaiol, *Aust. J. Chem.*, **1992**, *45*, 327.
- (53) Miyazawa M., Sugawara A., Biotransformation of (–)-guaiol by *Eurotium rubrum* as a biocatalyst, *Nat. Prod. Res.*, **2006**, *20*, 731.
- (54) Lima B., Sanchez M., Agüero M. B., Tapia A., Palermo J. A., Feresin G. E., Antibacterial activity of extracts and compounds isolated from the Andean medicinal plant *Azorella cryptantha* (Clos) Reiche, Apiaceae, *Ind. Crops Prod.*, **2015**, *64*, 152.

- (55) Pereira M., da Silva T., Lopes L., Krettli A., Madureira L., Zukerman-Schpector J., 4,5-*seco*-Guaiane and a nine-membered sesquiterpene lactone from *Holostylis reniformis*, *Molecules*, **2012**, *17*, 14046.
- (56) Adams R. P. *Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy. 4th Ed.*; Allured Pub. Corp., **2007**.
- (57) Joulain D., König W. *The atlas of spectral data of sesquiterpene hydrocarbons*; EB-Verlag: Hamburg, **1998**.
- (58) Burdock G. A. *Fenaroli's Handbook of Flavor Ingredients, Sixth Edition*; Taylor & Francis: Boca Raton, FL, **2010**.
- (59) Niebler J. In *Springer Handbook of Odor*; Buettner, A., Ed.; Springer International Publishing: Cham, 2017, p 63.
- (60) Plotto A., Barnes K. W., Goodner K. L., Specific anosmia observed for  $\beta$ -ionone, but not for  $\alpha$ -ionone: Significance for flavor research, *J. Food Sci.*, **2006**, *71*, S401.
- (61) Ansari H. R., Curtis A. J., Sesquiterpenes in the perfumery industry, *J. Soc. Cosmet. Chem.*, **1974**, *25*, 203.
- (62) Ruzicka L., Haagen-Smit A. J., Polyterpenes and polyterpenoids. LVII. Guaiol, *Helv. Chim. Acta*, **1931**, *14*, 1122.



## Chapitre II : L'huile essentielle de *Callitris pancheri* : une senteur oubliée

### II.1. Considérations générales

Autrefois dénommée essence d'Araucaria,<sup>1</sup> l'huile essentielle de Candlewood, nom anglais, correspond à l'huile essentielle extraite du bois d'un arbre originaire de la Nouvelle-Calédonie, le *Callitris pancheri* (Carrière) Byng. Selon les ouvrages, cette espèce peut apparaître sous différents noms, *Eutacta pancheri* (Carrière), *Callitropsis araucarioides* (Compton), *Neocallitropsis araucarioides* (Compton) ou jusqu'à très récemment *Neocallitropsis pancheri* (Carrière) de Laubenfels. Des analyses ADN montrent que l'espèce qui est encore considérée comme l'unique représentant du genre *Neocallitropsis* appartient bien au genre *Callitris*.<sup>1-3</sup> Le *C. pancheri* est un arbre endémique de la Nouvelle-Calédonie et se retrouve dans deux régions de l'île, le massif sud (Montagne des Sources et Plaine des Lacs/Chute de la Madeleine) et le massif de Paéoua. Faisant partie de la famille des Cupressacées, il peut atteindre une taille de 10 mètres de hauteur et présente souvent de nombreuses ramifications.<sup>4</sup> Le *C. pancheri* a longtemps été exploité pour la qualité de son bois mais également pour son huile essentielle, laquelle possède des notes généralement décrites comme boisées, sucrées, voire florales.<sup>5</sup> De ce fait, la surexploitation du *C. pancheri* au cours du XX<sup>ème</sup> siècle a conduit les autorités locales à interdire le prélèvement du bois, même mort, dès 1942.<sup>6</sup> Malgré cette interdiction et en raison d'une forte demande en huile essentielle provenant des industries de la parfumerie, l'espèce a continué à subir un braconnage régulier. En 1998, le *C. pancheri* est passé d'espèce vulnérable à espèce en danger.<sup>7</sup> Cette espèce est considérée comme étant extrêmement vulnérable, puisque, la moindre modification de son milieu naturel peut avoir un impact sur son développement.<sup>8</sup> De plus, l'UICN signale un déclin continu de sa zone d'occupation et de la qualité de son habitat en raison d'importants incendies, d'une exploitation minière intensive, ainsi que la disparition d'une de ses zones d'habitation durant la construction d'un barrage dans les années soixante.<sup>7</sup> Néanmoins, des actions de sauvegarde de cette espèce ont été mises en œuvre, notamment dans le massif de Paéoua où les autorités locales et les exploitants miniers ont récemment décidé de se tourner vers une exploitation forestière plus respectueuse de l'environnement et d'investir dans la sauvegarde de cet arbre endémique de la Nouvelle-Calédonie.<sup>7</sup> En outre, les derniers arbres se trouvant dans le massif sud de l'île se situent dans des zones protégées. Bien que l'espèce soit toujours

classée comme espèce en danger, on peut se procurer du bois mort sur autorisation spéciale afin de le commercialiser.

## II.2. Étude antérieure de la composition chimique de l'huile essentielle de *C. pancheri*

Très peu de travaux traitent de la composition chimique de l'huile essentielle de *C. pancheri*. Seuls quelques rares articles, dont ceux de Raharivelomanana et al., mentionnent ses différents constituants. Ils décrivent une huile essentielle riche en sesquiterpènes, notamment en alcools tertiaires.<sup>9,10</sup> Ces études montrent également une forte proportion de composés appartenant à la famille des eudesmanes et des guaïanes (Schéma 10). Ils identifient le  $\gamma$ -eudesmol (**89**), l' $\alpha$ -eudesmol (**107**) et le  $\beta$ -eudesmol (**108**) comme étant les composés majoritaires de cette essence. Ils identifient également le  $\beta$ -élémol (**61**), le guaïol (**74**), le bulnésol (**111**), la carisson (**185**) et plusieurs autres hydrocarbures trouvés dans l'huile essentielle de bois de Gaïac (Chapitre I).<sup>11</sup>

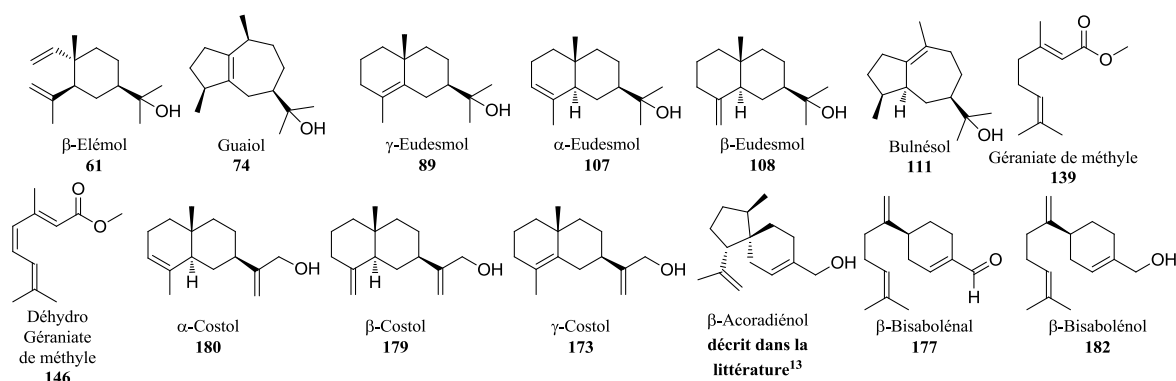


Schéma 10. Sesquiterpènes communément identifiés dans l'huile essentielle de bois de *C. pancheri*.<sup>9,10</sup>

Lors de leurs travaux, les auteurs ont pu mettre en évidence la présence d'autres squelettes sesquiterpéniques tels que des acoranes et des bisabolanes, lesquels sont issus d'une voie biosynthétique différente des guaïanes et des eudesmanes (voir II.3.2). Parmi les composés identifiés, on trouve le  $\beta$ -bisabolénal (**177**) et son équivalent alcool primaire, le  $\beta$ -bisabolénol (**182**), mais aussi le  $\beta$ -acoradiénol (**176**), dont nous corrigeons ici la structure (voir II.4).<sup>12,13</sup> Ils identifient également plusieurs sesquiterpènes bifonctionnalisés dérivés des eudesménols et de la rotundone, lesquels ne sont pas présents dans notre échantillon.<sup>14</sup> De plus, ils notent la présence d'un acide prézizanique, l'acide jinkoholique, non identifié dans notre échantillon.<sup>15</sup> En plus des sesquiterpènes, ils identifient des monoterpènes couramment retrouvés dans les huiles essentielles, ainsi que des esters et des composés aromatiques, tels

que le (*E*)-cinnamate de méthyle (**140**), le géraniate de méthyle (**139**) et son analogue déhydrogéraniate de méthyle (**146**).<sup>9,16</sup> Lebouvier et al. identifient aussi la présence de  $\gamma$ -costol (**173**), de  $\beta$ -costol (**179**) et d' $\alpha$ -costol (**180**),<sup>16</sup> des alcools primaires à squelette eudesmane isolés des racines de *Costus*, *Saussurea lappa* (Schéma 10).<sup>17</sup>

Bien que l'essence de *C. pancheri* fut un ingrédient couramment utilisé par l'industrie du parfum, notamment comme note de fond et pour ses propriétés fixatrices,<sup>5</sup> aucune étude liée à l'identification de ses composés odorants n'a été réalisée. En raison de son statut de matière première oubliée et que, de prime abord, il existe une certaine similarité entre cette essence et celle du bois de Gaïac, nous avons décidé de réaliser une étude analytique approfondie dans le but d'améliorer principalement sa composition chimique et de la comparer avec les autres essences étudiées dans ce mémoire. Les travaux engagés ont permis d'isoler 11 nouveaux composés encore jamais identifiés dans cette huile essentielle mais également d'identifier les composés odorants d'impact via des analyses olfactométriques (GC–O et GC–MS/O) et enfin de confirmer un lien chimique certain entre cette essence et celle du bois de Gaïac.

### II.3. Analyse globale de la composition chimique de l'essence de *C. pancheri* et formation potentielle des composés isolés

#### II.3.1. Analyse GC–MS de l'essence de *C. pancheri*

L'analyse par GC–MS de l'essence de *C. pancheri* permet rapidement de remarquer que sa composition chimique est qualitativement proche de l'essence de bois de Gaïac (Chapitre I) ainsi que de l'essence d'*Amyris balsamifera*, encore appelé faux-santal.<sup>18</sup> Néanmoins, on remarque qu'à l'inverse de l'huile essentielle de bois de Gaïac, l'essence de *C. pancheri* est composée en grande partie de  $\beta$ -élémol (**61**), de  $\gamma$ -eudesmol (**89**), d' $\alpha$ -eudesmol (**107**) et de  $\beta$ -eudesmol (**108**) alors que le guaiol (**74**) et le bulnésol (**111**) sont des constituants minoritaires de l'huile essentielle. On confirme la présence des trois costols (**173**, **179** et **180**) ainsi que du  $\beta$ -bisabolénal (**177**) et du  $\beta$ -bisabolénol (**182**) dans notre échantillon, lesquels ne sont pas présents dans l'huile essentielle de bois de Gaïac. Faits intéressants, on identifie clairement la présence d'époxyguaïanes, tels que le 5,11-époxyguaï-1-ène (**62**) et le 10,11-époxyguaï-1-ène (**50**), isolés de l'huile essentielle de bois de Gaïac (Chapitre I).

En raison d'un nombre important de co-élutions dans la zone d'élution des alcools sesquiterpéniques (Figure 8), et notamment dans la zone des alcools tertiaires, il est difficile

d'identifier les constituants minoritaires de cette essence par une simple analyse monodimensionnelle. De plus, plusieurs composés restent encore inconnus, notamment dans la zone des alcools tertiaires et primaires, ces derniers pouvant contribuer à l'odeur globale de l'essence de *C. pancheri*. Ainsi, nous nous sommes donc tournés vers la même méthodologie analytique que celle employée pour l'analyse de l'huile essentielle de bois de Gaïac : l'utilisation de la GC × GC–MS pour analyser notre échantillon, la GC semi-préparative pour isoler les composés inconnus et la RMN afin de caractériser ces molécules.

### II.3.2. Hypothèse de formation des composés identifiés

Au vu de la ressemblance de composition chimique avec l'essence de bois de Gaïac, on peut supposer que des voies biosynthétiques similaires sont à l'œuvre au sein de ces deux espèces. Ainsi, il est possible que plusieurs composés minoritaires puissent être communs aux deux essences. Il est également évident que d'autres voies enzymatiques interviennent pour expliquer la présence des bisabolanes et des acoranes.<sup>19,20</sup> En effet, le précurseur biosynthétique commun de ces composés est le farnésyl-pyrophosphate (FPP) (**VI** et **XXI**), un composé insaturé à 15 carbones (

Schéma 11). En fonction de la configuration de ces doubles liaisons, la cyclisation du FPP peut mener soit à la formation des germacrane soit à celle des bisabolanes. Comme vu dans le Chapitre I, la cyclisation de **VI** conduit à la formation de germacrane, qui lui-même cyclise pour donner, entre autres, les squelettes guaïanes, eudesmanes, éremophilanes et vétispiranes. La cyclisation du (*Z,E*)-FPP (**XXI**) conduit dans un premier temps à la formation du cation bisabolane (**XXII**), lequel peut cycliser selon deux voies de formation (

Schéma 11). La voie en rouge conduit à la formation de cuparanes (**XXIII**) et la voie bleue mène à la formation de camphérénanes (**XXIV**). Le cation camphérénane **XXIV** est le précurseur des santalanes (**XXV** et **XXVI**), dérivés que l'on identifie principalement dans l'huile essentielle de bois de Santal.<sup>21</sup> Il est à noter qu'aucun squelette de type camphérénane, santalane ou cuparane n'a été retrouvé jusqu'à présent dans l'essence de *C. pancheri*. Le cation **XXI** peut également s'hydrater pour former le (*E*)-nérolidol (**154**), présent dans notre échantillon. Partant du cation bisabolane **XXII**, celui-ci peut subir une migration 1,2 d'un hydrure pour donner **XXVII**. Dès lors, ce nouveau cation donne accès à la formation du squelette acorane **XXVIII**, lequel est retrouvé dans cette essence. De plus, l'acorane **XXVIII** peut lui-même conduire à la formation de cédrane **XXIX**, retrouvé de façon majoritaire dans les essences de bois de « cèdres » américains (*Juniperus virginiana* ou cèdre de Virginie et *Juniperus monosperma* ou cèdre du Texas).<sup>22</sup>

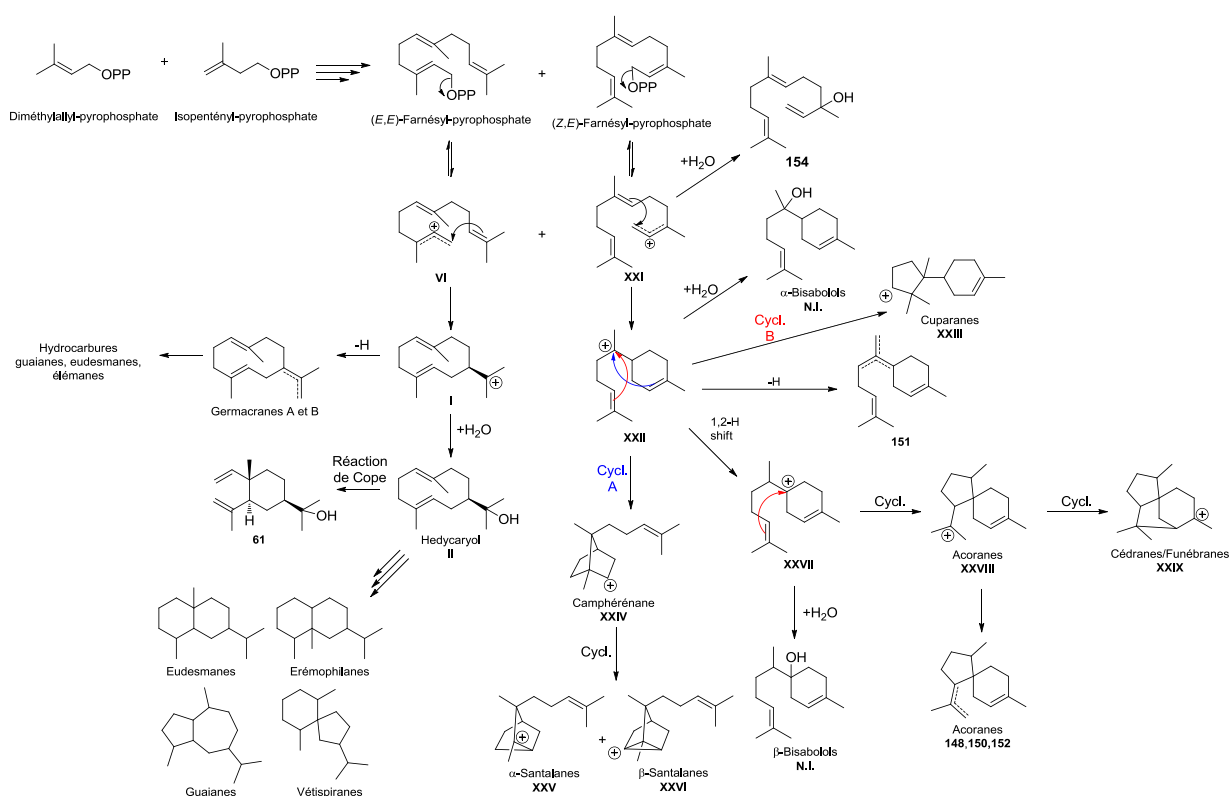


Schéma 11. Voies de formation potentielles des principaux composés identifiés dans l'essence de *C. pancheri*. N.I. : Non identifié dans l'essence.

En s'appuyant sur la composition chimique décrite dans la littérature, on peut définir assez rapidement les voies biosynthétiques qui entrent en jeu dans l'essence de *C. pancheri*. La présence de dérivés à squelette guaiane et eudesmane d'une part, et bisabolane et acorane d'autre part, indique clairement que le FFP se trouve dans deux configurations absolues différentes dans cette espèce. De fait, sur la base de ce schéma de biosynthèse et sur les résultats obtenus précédemment (Chapitre I), on peut expliquer la présence de plusieurs composés identifiés dans cette essence, tels que les alcools tertiaires et les éthers. Cependant, le schéma de biosynthèse de ces squelettes n'explique pas à lui seul la présence des alcools primaires tels que les costols (**173**, **179** et **180**), le  $\beta$ -acoradiénol (**176**) ou le  $\beta$ -bisabolénol (**182**). En effet, la localisation de leur fonction alcool ne concorde pas avec la position des carbocations formés, après cyclisation des précurseurs **XXII**, **XXVII** ou **XXVIII**. Leur formation provient probablement d'une oxydation enzymatique particulière des différents hydrocarbures majeurs formés dans le bois.<sup>23</sup> Il est également important de noter qu'une part importante d'isomérisation et d'oxydation peut avoir lieu durant l'hydrodistillation, le stockage ou lors du

vieillesse de l'essence (Chapitre III). Sur la base de ces observations, nous avons pu orienter notre identification par GC  $\times$  GC–MS.

### II.3.3. Analyse GC $\times$ GC–MS de l'essence de *C. pancheri*

D'une part, cette analyse a permis de confirmer la présence de l'ensemble des squelettes et d'identifier les composés précédemment décrits dans l'essence de *C. pancheri*.<sup>9,16</sup> D'autre part, on identifie sans ambiguïté certains alcools tertiaires et époxydes guaïaniques décrits dans l'essence de Gaïac, tels que le guaïoxide (**37**), l'hanamyol (**114**), les 5,11-époxyguaïan-1-ols **96** (à l'état de trace seulement) et **124**, les 5,11-époxyguaïènes **55** et **62**, et les 10,11-époxyguaïènes **31**, **38** et **50**.

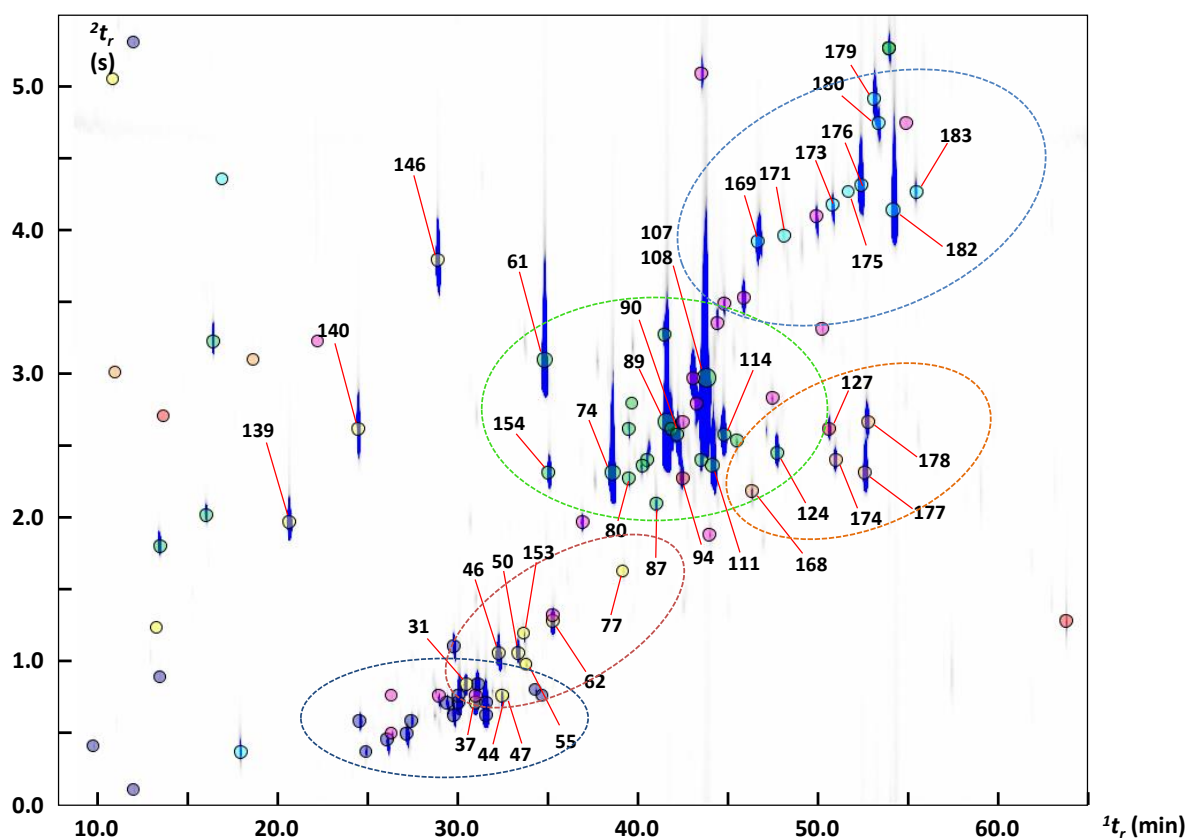


Figure 8. Analyse GC  $\times$  GC–MS pointant les principaux constituants et les composés isolés de l'essence de *C. pancheri*. Les hydrocarbures apparaissent sous la forme de cercle bleu foncé, les aldéhydes sont en orange, les esters et les éthers sont en jaune, les cétones en rouge, les inconnus en rose, les alcools primaires sont en bleu clair et les alcools tertiaires sont affichés en vert.

On note également la présence du *seco*-guaiane **77** et des produits d'oxydation du guaiol (**74**), du 10-*épi*-guaiol (**80**) et du bulnésol (**111**), tels que la 5,11-époxyeudesman-1-one (**127**), les 5,11-époxyeudesman-1-ols **69**, **71**, **99** et **102** et le dérivé furanique **94** (Figure 8). En outre, on détecte les deux agarofuranes, le *trans*- (**44**) et le 4-*épi-trans*-agarofurane (**47**), isolé de l'essence de Gaïac (Chapitre I). En plus de ces composés, on remarque la présence d'un composé **46** possédant un spectre de masse identique à celui de l' $\alpha$ -agarofurane (**64**), un éther de type eudesmane identifié dans l'huile essentielle de l'*Amyris balsamifera* et de l'Agarwood.<sup>24,25</sup> Cependant, l'indice de rétention de **46** sur colonne apolaire diffère de **64** (RI<sub>HP-5</sub>  $\alpha$ -agarofurane (**64**) 1548, RI<sub>HP-5</sub> composé **46** 1511). Ce composé **46** a été isolé par GC semi-préparative et, par la suite, identifié comme étant un épimère de l' $\alpha$ -agarofurane (voir II.4).

Au niveau des alcools tertiaires (Figure 8 – Zone verte), en plus du guaiol (**74**), du bulnésol (**111**) et des eudesménols trouvés dans l'huile essentielle de Gaïac, on retrouve le 10-*épi*-guaiol (**80**), le 10-*épi*- $\alpha$ -eudesmol (**78**), le 10-*épi*- $\beta$ -eudesmol (**81**), le 10-*épi*- $\gamma$ -eudesmol (**87**), le eudesm-5-én-11-ol (**84**), ainsi que les deux guai-9-én-11-ols (**109** et **117**). Cette analyse permet également d'identifier le (*E*)-nérolidol (**154**), l'agarospirol (**92**), le sélin-11-én-4 $\alpha$ -ol (**164**) ainsi que le juniper camphor (**122**) sur la base de leur spectre de masse et de leur indice de rétention sur colonne apolaire. A l'exception du (*E*)-nérolidol (**154**) et du sélin-11-én-4 $\alpha$ -ol (**164**), l'ensemble des composés nommés ci-dessus sont présents dans l'huile essentielle de bois de Gaïac (voir Chapitre I). On remarque la présence de composés inconnus principalement localisés dans la zone d'éluion des alcools tertiaires (Figure 8 – Zone verte), des alcools primaires (Figure 8 – Zone bleue clair) et des aldéhydes (Figure 8 – Zone orange). En effet, on note la présence d'un composé ayant un spectre de masse proche du jinkoh-érémol (**98**), un alcool tertiaire à squelette éremophilane identifié dans l'huile essentielle de cyprès jaune d'Alaska et dans l'Agarwood (Chapitre IV et VI). Néanmoins, leur indice de rétention respectif sur colonne apolaire (RI<sub>VF-5</sub> Jinkoh-érémol (**98**) 1652, RI<sub>HP-5</sub> Composé **90** 1635) et leur localisation sur le chromatogramme bidimensionnel GC  $\times$  GC indiquent clairement que ce composé est probablement un épimère (ou bien un isomère) du jinkoh-érémol (**98**) (Figure 8 - Zone verte). Le composé **90** et le jinkoh-érémol (**98**) ont été identifiés ensemble dans l'huile essentielle de bois de Gaïac sans être isolés (Chapitre I).

Une meilleure connaissance de la composition chimique de notre extrait, acquise grâce à l'analyse bidimensionnelle, va nous permettre de mieux nous guider dans les étapes de

fractionnement qui vont suivre et de faciliter la détermination des composés odorants dans l'extrait global et dans les fractions.

#### II.4. Isolement et caractérisation des composés inconnus

Ainsi, nous avons donc procédé au fractionnement de 26,09 g d'essence de *C. pancheri* sur colonne de silice conventionnelle en utilisant un gradient d'éluant de polarité croissante (Figure 9). La séparation de l'essence a permis d'obtenir dix-neuf fractions qui ont été analysées par GC-MS et GC × GC-MS afin de cibler les composés inconnus. L'analyse des différentes fractions révèle que les fractions A9, A10, A12, et A17 présentent les compositions les plus intéressantes (présence de molécules inconnues et de composés odorants). Celles-ci ont été à nouveau séparées sur colonne de silice, cette fois-ci imprégnée au nitrate d'argent à 5 % (m/m), afin d'obtenir des sous-fractions exploitables en GC semi-préparative et de tenter l'isolement des composés inconnus.

En premier lieu, le fractionnement de la fraction A17 a permis d'isoler directement le  $\beta$ -élémol (**61**), le  $\beta$ -eudesmol (**108**) et le  $\beta$ -bisabolénol (**182**), lesquels, en raison d'une forte disponibilité de leurs doubles liaisons, sont fortement retenus sur colonne au nitrate d'argent. Ces composés sont suffisamment enrichis dans les fractions récupérées pour permettre leur identification définitive par RMN (pureté > 90 %).

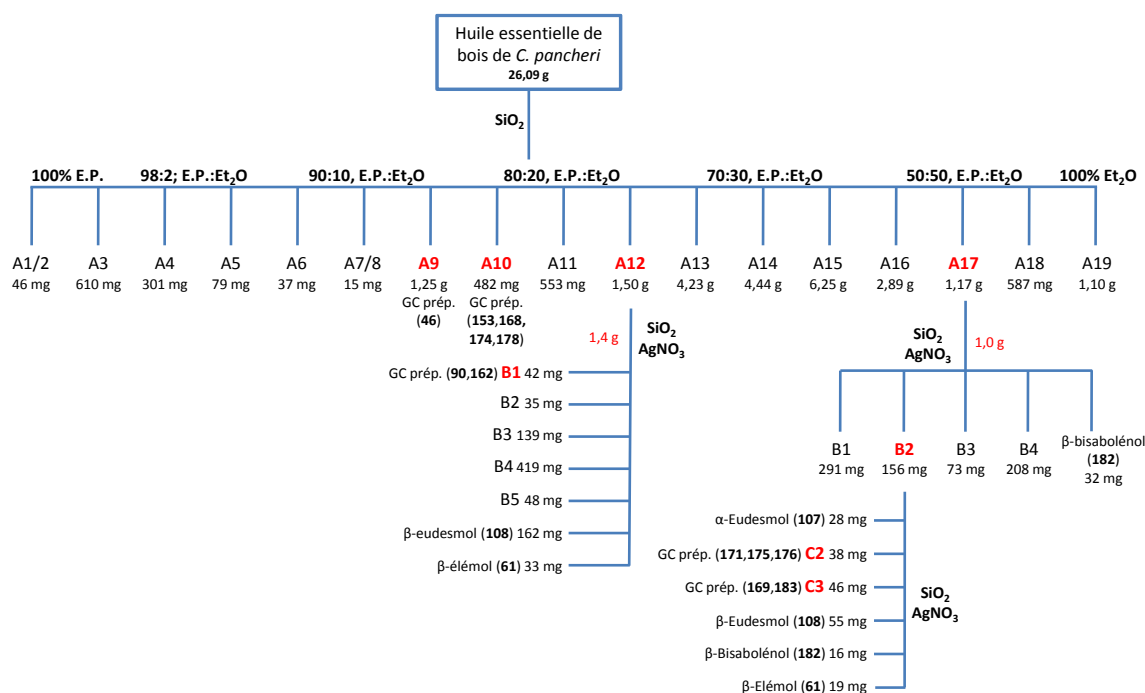


Figure 9. Schéma expérimental décrivant la méthodologie de fractionnement et d'isolement des constituants de l'essence de bois de *C. pancheri*.



Par ailleurs, les fractionnements successifs sur silice imprégnée au nitrate d'argent nous donnent accès à d'autres sous-fractions suffisamment enrichies en produits inconnus qui ont par la suite pu être isolés par GC semi-préparative. Leurs données RMN du  $^{13}\text{C}$  sont rassemblées dans le Tableau 7 et le Tableau 8.

Parmi les fractions obtenues, la fraction A10 est la plus enrichie en composés inconnus, que l'on suppose être des éthers et des aldéhydes sesquiterpéniques en raison de leur faible polarité (90:10, E.P.:Et<sub>2</sub>O, Figure 8 – Zone marron et orange). Cette fraction a été directement exploitée en GC semi-préparative.

Le composé **153** possède un spectre de masse équivalent au 8,14-cédranoxyde mais son indice de rétention sur colonne apolaire diffère légèrement (RI<sub>DB-5</sub> 8,14-Cédranoxyde 1541,<sup>26</sup> RI<sub>VF-5</sub> Composé **153** 1531). Après isolement, l'examen des différentes expériences RMN confirme que **153** est un épimère du 8,14-cédranoxyde, identifié dans un extrait de bois de *Juniperus foetidissima*.<sup>27</sup> Les déplacements RMN du  $^{13}\text{C}$  du 8,14-cédranoxyde<sup>28</sup> diffèrent significativement de **153** pour affirmer que ces deux composés sont différents (Tableau 7). En s'appuyant sur le spectre NOESY, le composé **153** a été identifié comme étant le 10-*épi*-4,12-époxyfunébrane, dont la structure est en accord avec la stéréochimie des acoranes majoritaires identifiés dans cette essence (Tableau 7 et Tableau 8). En plus de ce funébrane, on isole dans la même fraction (A10) le composé (**174**) lequel élue dans la zone des aldéhydes et possède un ion moléculaire intense à  $m/z = 218$  (Figure 8 - Zone orange). L'analyse des différents spectres RMN confirme la présence d'une fonction aldéhyde et d'une double liaison, ainsi qu'un squelette proche du funébrane et de l'acorane. De manière générale, on s'attend souvent à obtenir le signal de quatre méthyles en RMN du  $^1\text{H}$ , parfois trois s'il y a présence d'un alcool ou d'un aldéhyde primaire sur la molécule (sauf bien sûr, dans le cas des norsesquiterpènes – Chapitres IV et V). Dans le cas de la molécule **174**, seuls les signaux de deux méthyles sous la forme de doublet et d'une fonction aldéhyde à 9,31 ppm sont observés. L'examen RMN permet de déterminer que **174** possède un squelette sesquiterpénique encore inconnu (Schéma 12). Sa formation peut provenir de la migration du carbocation **XXVIII** vers un des deux méthyles de l'isopropyle. Le carbocation **XXX** ainsi formé, peut cycliser de la position #3 vers #12 pour donner un nouveau sesquiterpène tricyclique **XXXI**, lequel est structurellement proche des cédranes/funébranes.

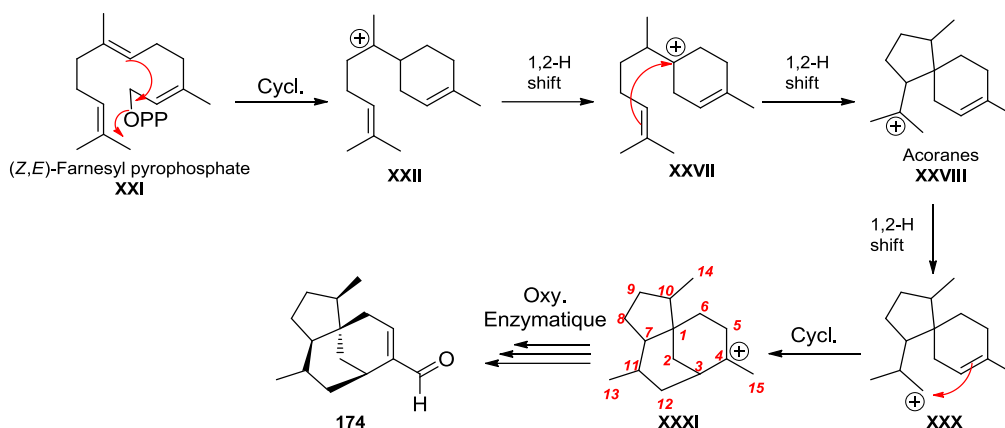


Schéma 12. Voie de formation potentielle de l'araucariane **174** nouvellement identifié dans l'essence de *C. pancheri*.

En partant de l'hypothèse que les acoranes sont les précurseurs biosynthétiques de **153** et de **174** (

Schéma 11 et Schéma 12), on peut supposer que ces deux molécules possèdent une stéréochimie en accord avec celles des acoranes majoritaires isolés dans cette essence (Tableau 8). Ainsi, sur la base de ces suppositions et sur les spectres NOESY de ces composés, on propose une configuration relative concordante avec la stéréochimie des acoranes isolés. A notre connaissance, les composés **153** et **174** n'ont jamais été décrits dans la littérature. De plus, on propose d'attribuer au squelette du composé **174**, le nom d'araucariane, en relation avec le nom trivial de l'arbre.

En plus de ces composés, l'isolement du composé **46** a été réalisé directement par GC semi-préparative à partir de la fraction A9 (Figure 9). Ce composé possède un spectre de masse identique à l' $\alpha$ -agarofurane (**64**). Bien que les composés **46** et **64** soient également présents dans l'essence de bois de Gaïac, ils n'ont pas pu être correctement isolés. Ainsi, afin de déterminer la structure de **46**, nous avons procédé à son isolement à partir de la fraction A9. L'analyse des données RMN ont permis de confirmer sa structure type agarofurane ainsi qu'une double liaison en position #3. Afin de s'assurer que ce composé ne soit pas le composé décrit dans la littérature,<sup>26</sup> nous avons également procédé à l'isolement de l' $\alpha$ -agarofurane (**64**) décrit dans l'huile essentielle d'*Amyris balsamifera*.<sup>18</sup> Un fractionnement rapide de cette huile essentielle a permis d'isoler directement le composé d'intérêt dans la fraction de faible polarité, où l'on attend l'élution des éthers (98:2, E.P.:Et<sub>2</sub>O). La comparaison de leurs déplacements <sup>13</sup>C enregistrés dans le benzène-*d*<sub>6</sub> confirme que **46** est un nouvel épimère de **64**, le 10-épi- $\alpha$ -agarofurane (Figure 10).

Tableau 7. Déplacements chimiques  $^{13}\text{C}$  (en ppm) des sesquiterpènes isolés de l'essence de *C. pancheri*.

	46	64	90	98	XXXIII	153	174
#	46 <sup>a</sup>	64 <sup>a,b</sup>	90 <sup>a</sup>	98	XXXIII	153 <sup>a</sup>	174 <sup>a</sup>
1	33,91 (CH <sub>2</sub> )	33,27 (CH <sub>2</sub> )	32,58 (CH <sub>2</sub> )	32,5 (CH <sub>2</sub> )	51,8 (C)	54,23 (C)	42,94 (C)
2	23,27 (CH <sub>2</sub> )	23,02 (CH <sub>2</sub> )	29,83 (CH <sub>2</sub> )	27,8 (CH <sub>2</sub> )	34,9 (CH <sub>2</sub> )	32,19 (CH <sub>2</sub> )	36,56 (CH <sub>2</sub> )
3	121,33 (CH)	126,65 (CH)	31,64 (CH <sub>2</sub> )	31,2 (CH <sub>2</sub> )	59,4 (CH)	67,63 (CH)	28,98 (CH)
4	138,16 (C)	133,46 (C)	38,76 (CH)	44,3 (CH)	83,8 (C)	85,74 (C)	145,59 (C)
5	86,40 (C)	84,71 (C)	39,77 (C)	38,7 (C)	31,7 (CH <sub>2</sub> )	33,03 (CH <sub>2</sub> )	150,90 (CH)
6	40,01 (CH <sub>2</sub> )	32,73 (CH <sub>2</sub> )	35,97 (CH <sub>2</sub> )	38,9 (CH <sub>2</sub> )	29,7 (CH <sub>2</sub> )	19,26 (CH <sub>2</sub> )	27,18 (CH <sub>2</sub> )
7	43,36 (CH)	44,62 (CH)	41,63 (CH)	41,1 (CH)	58,7 (CH)	66,09 (CH)	57,94 (CH)
8	26,02 (CH <sub>2</sub> )	24,90 (CH <sub>2</sub> )	28,02 (CH <sub>2</sub> )	27,4 (CH <sub>2</sub> )	24,6 (CH <sub>2</sub> )	18,34 (CH <sub>2</sub> )	24,91 (CH <sub>2</sub> )
9	34,62 (CH <sub>2</sub> )	34,89 (CH <sub>2</sub> )	118,47 (CH)	118,6 (CH)	34,4 (CH <sub>2</sub> )	37,00 (CH <sub>2</sub> )	29,80 (CH <sub>2</sub> )
10	37,82 (C)	37,38 (C)	146,51 (C)	144,7 (C)	41,4 (CH)	39,80 (CH)	43,94 (CH)
11	82,02 (C)	80,58 (C)	71,59 (C)	72,6 (C)	52,4 (C)	46,94 (C)	29,85 (CH)
12	30,44 (CH <sub>3</sub> )	30,54 (CH <sub>3</sub> )	27,49 (CH <sub>3</sub> )	27,5 (CH <sub>3</sub> )	77,3 (CH <sub>2</sub> )	74,82 (CH <sub>2</sub> )	39,46 (CH <sub>2</sub> )
13	23,62 (CH <sub>3</sub> )	23,12 (CH <sub>3</sub> )	26,87 (CH <sub>3</sub> )	26,4 (CH <sub>3</sub> )	18,2 (CH <sub>3</sub> )	29,18 (CH <sub>3</sub> )	19,77 (CH <sub>3</sub> )
14	23,13 (CH <sub>3</sub> )	22,00 (CH <sub>3</sub> )	21,12 (CH <sub>3</sub> )	18,0 (CH <sub>3</sub> )	15,2 (CH <sub>3</sub> )	15,26 (CH <sub>3</sub> )	13,96 (CH <sub>3</sub> )
15	18,03 (CH <sub>3</sub> )	19,37 (CH <sub>3</sub> )	15,88 (CH <sub>3</sub> )	15,8 (CH <sub>3</sub> )	27,5 (CH <sub>3</sub> )	28,24 (CH <sub>3</sub> )	191,29 (C)
Réf				[29] <sup>c</sup>	[28] <sup>c</sup>		

<sup>a</sup> Enregistré dans le benzène-*d*<sub>6</sub>. <sup>b</sup> Composé isolé de l'essence d'*Amyris balsamifera*, non identifié dans l'essence de *C. pancheri*. <sup>c</sup> Données RMN et MS disponibles.

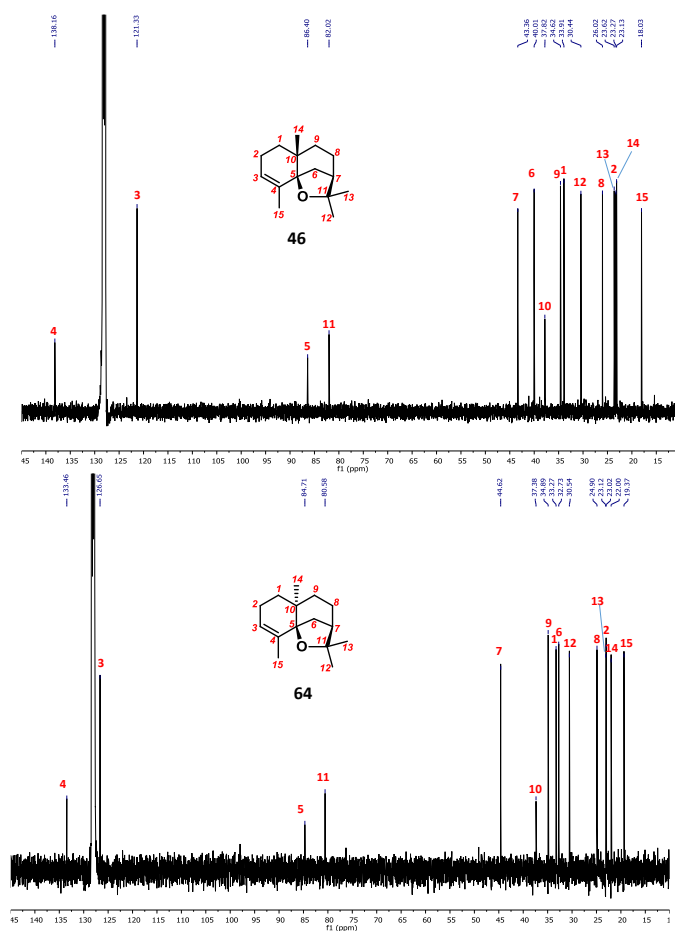
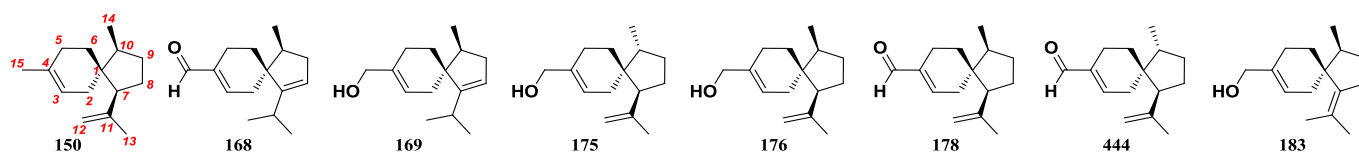


Figure 10. Spectre RMN du  $^{13}\text{C}$  pour les deux  $\alpha$ -agarofuranes **46** et **64** isolés respectivement de l'essence de *C. pancheri* et de l'essence d'*Amyris balsamifera*.

A partir de la fraction A12, on isole le composé **90** qui élue dans la zone des alcools tertiaires (Figure 8 - Cercle vert) et qui partage le même spectre de masse que le jinkoh-éremol (**98**). Son spectre RMN du  $^{13}\text{C}$  présente 15 signaux dont deux carbones éthyléniques ( $> 115$  ppm) et montre la présence d'un système  $\text{C}=\text{CH}$  ainsi qu'un signal correspondant à un carbone quaternaire hydroxylé à 71 ppm. Le spectre  $^1\text{H}$  confirme la présence d'un proton éthylénique à 5,38 ppm. L'examen complet des expériences COSY, TOCSY, HSQC et HMBC permet de déterminer la nature bicyclo[4.4.0]décanique associée au squelette éremophilane du composé et permet de l'identifier comme étant l'éremophil-9-én-11-ol, comme le jinkoh-éremol (**98**), isolé de l'Agarwood.<sup>30</sup> Néanmoins, les déplacements RMN du  $^{13}\text{C}$  ne correspondent pas à ceux de **98** mais concordent avec ceux du 4,5-di-*épi*-jinkoh-éremol, isolé de l'huile essentielle d'*Alpina japonica* (Tableau 7).<sup>31</sup> Il est à signaler que les deux jinkoh-éremols (**90** et **98**) sont présents dans nos échantillons d'huile essentielle de bois de Gaïac et d'Agarwood (Chapitres I et VI).

Eluant parmi les aldéhydes (Figure 8 - Cercle orange), les composés **168** et **178** ont été isolés de la fraction A10. **168** présente un spectre de masse équivalent au 10-*épi*-acoradiénal (**444**), décrit brièvement dans l'essence de Vétiver ( $^1\text{H}$  et MS seulement).<sup>32</sup> Après isolement et caractérisation par RMN, ces deux composés ont en commun une structure de type acorane et possèdent une fonction aldéhyde (Tableau 8). L'analyse des spectres RMN conduit à identifier **168** comme étant l'acora-3,7-di-én-15-al et **178** comme étant le  $\beta$ -acora-3,11-di-én-15-al, épimère du 10-*épi*-acora-3,11-di-én-15-al (**444**).<sup>32</sup> **168** et **178** n'ont jamais été identifiés dans la littérature. Néanmoins, afin de confirmer la nature épimérique entre **178** et **444** et de comparer leurs déplacements RMN du  $^{13}\text{C}$ , nous avons isolé le composé **444** à partir d'un extrait enrichi en dérivés carbonyles issu de l'essence de Vétiver (Chapitre Va). Ainsi, les résultats spectroscopiques obtenus pour ces deux composés sont différents et confirment que nous avons bien deux isomères (Tableau 8).

La séparation sur colonne de la fraction A17 a permis l'isolement de quatre acoranénols et d'un composé ayant un squelette peu commun. Dans un premier temps, les composés **169**, **175**, **176** et **183** affichent un ion moléculaire à  $m/z = 220$  et ils éluent dans la zone des alcools primaires et secondaires (Figure 8 – Cercle bleu clair). Le composé **183** présente 15 signaux dont 4 éthyléniques ( $> 120$  ppm) ainsi qu'un signal correspondant à un carbone hydroxylé (67 ppm). Le spectre  $^1\text{H}$  présente deux méthyles portés par des doubles liaisons à 1,62 et 1,71 ppm ainsi qu'un méthyle-doublet à 0,87 ppm et un proton éthylénique à 5,51 ppm.

Tableau 8. Déplacements chimiques  $^{13}\text{C}$  (en ppm) des acoranes isolés de l'essence de *C. pancheri*.


#	150 <sup>a</sup>	168 <sup>a</sup>	169 <sup>a</sup>	175 <sup>a</sup>	176 <sup>a</sup>	178 <sup>a</sup>	444 <sup>c</sup>	183 <sup>a</sup>
1	44,97 (C)	50,74 (C)	50,51 (C)	45,00 (C)	45,24 (C)	43,94 (C)	45,30 (C)	47,40 (C)
2	39,44 (CH <sub>2</sub> )	34,49 (CH <sub>2</sub> )	33,22 (CH <sub>2</sub> )	31,65 (CH <sub>2</sub> )	38,76 (CH <sub>2</sub> )	39,08 (CH <sub>2</sub> )	32,94 (CH <sub>2</sub> )	35,08 (CH <sub>2</sub> )
3	121,54 (CH)	149,43 (CH)	121,72 (CH)	122,41 (CH)	122,03 (CH)	149,62 (CH)	150,10 (CH)	121,91 (CH)
4	133,74 (C)	141,67 (C)	137,96 (C)	137,85 (C)	138,01 (C)	141,83 (C)	141,76 (C)	138,54 (C)
5	29,12 (CH <sub>2</sub> )	19,77 (CH <sub>2</sub> )	23,85 (CH <sub>2</sub> )	23,48 (CH <sub>2</sub> )	24,53 (CH <sub>2</sub> )	20,39 (CH <sub>2</sub> )	19,30 (CH <sub>2</sub> )	24,31 (CH <sub>2</sub> )
6	24,50 (CH <sub>2</sub> )	24,85 (CH <sub>2</sub> )	28,98 (CH <sub>2</sub> )	30,07 (CH <sub>2</sub> )	24,03 (CH <sub>2</sub> )	22,53 (CH <sub>2</sub> )	28,96 (CH <sub>2</sub> )	27,77 (CH <sub>2</sub> )
7	58,33 (CH)	156,24 (C)	157,30 (C)	56,40 (CH)	58,34 (CH)	58,18 (CH)	56,40 (CH)	142,03 (C)
8	28,20 (CH <sub>2</sub> )	120,75 (CH)	120,20 (CH)	28,47 (CH <sub>2</sub> )	28,02 (CH <sub>2</sub> )	27,34 (CH <sub>2</sub> )	28,17 (CH <sub>2</sub> )	30,81 (CH <sub>2</sub> )
9	31,69 (CH <sub>2</sub> )	37,83 (CH <sub>2</sub> )	38,04 (CH <sub>2</sub> )	33,38 (CH <sub>2</sub> )	31,55 (CH <sub>2</sub> )	31,01 (CH <sub>2</sub> )	33,26 (CH <sub>2</sub> )	30,15 (CH <sub>2</sub> )
10	44,51 (CH)	40,38 (CH)	40,32 (CH)	40,89 (CH)	44,63 (CH)	45,04 (CH)	40,04 (CH)	41,82 (CH)
11	146,92 (C)	26,40 (CH)	26,54 (CH)	146,33 (C)	146,74 (C)	145,72 (C)	145,72 (C)	123,07 (C)
12	112,37 (CH <sub>2</sub> )	24,35 (CH <sub>3</sub> )	24,55 (CH <sub>3</sub> )	113,20 (CH <sub>2</sub> )	112,55 (CH <sub>2</sub> )	113,25 (CH <sub>2</sub> )	113,25 (CH <sub>2</sub> )	20,50 (CH <sub>3</sub> )
13	24,35 (CH <sub>3</sub> )	24,16 (CH <sub>3</sub> )	24,37 (CH <sub>3</sub> )	23,29 (CH <sub>3</sub> )	24,31 (CH <sub>3</sub> )	23,90 (CH <sub>3</sub> )	23,01 (CH <sub>3</sub> )	24,11 (CH <sub>3</sub> )
14	16,04 (CH <sub>3</sub> )	16,15 (CH <sub>3</sub> )	16,42 (CH <sub>3</sub> )	17,97 (CH <sub>3</sub> )	15,96 (CH <sub>3</sub> )	15,48 (CH <sub>3</sub> )	17,94 (CH <sub>3</sub> )	15,78 (CH <sub>3</sub> )
15	23,54 (CH <sub>3</sub> )	192,64 (CH)	67,17 (CH <sub>2</sub> )	67,18 (CH <sub>2</sub> )	67,16 (CH <sub>2</sub> )	192,54 (CH)	192,52 (CH)	67,19 (CH <sub>3</sub> )
Réf	[33] <sup>b</sup>			[32] <sup>b</sup>			[32] <sup>d</sup>	

<sup>a</sup> Enregistré dans le benzène-*d*<sub>6</sub>. <sup>b</sup> Données MS et RMN disponibles. <sup>c</sup> Isolé à partir d'un extrait enrichi en dérivés carbonylés du Vétiver (Chapitre Va). <sup>d</sup> Données MS et RMN du  $^1\text{H}$  disponibles.

L'examen combiné des expériences RMN permet de déterminer la nature spiranique du composé que nous identifions comme étant l'acora-3,7(11)-dién-15-ol (**183**). Pour le composé **169**, l'analyse spectrale  $^{13}\text{C}$  montre la présence de 15 signaux dont 4 éthyléniques (> 120 ppm) ainsi qu'un signal correspondant à un carbone hydroxylé (67 ppm). **169** possède également un squelette spiranique et a été par la suite identifié comme l'acora-3,7-dién-15-ol.

D'un point de vue général, l'examen des spectres NOESYs de **169**, **183** mais également de l'aldéhyde **168** suggère que ces produits sont des 10-*épi*-acora-3,11-diènes ou des acora-4,11-diènes et non des acora-3,11-diènes. De plus, comme Weyerstahl et al. le supposent, le  $\beta$ -acoradiénol (**176**), isolé par Raharivelomanana et al.,<sup>13</sup> n'est pas un acora-3,11-dién-15-ol mais probablement un acora-4,11-dién-15-ol.<sup>32</sup> En effet, ils isolent, à partir de l'huile essentielle de Vétiver, un acora-3,11-dién-15-ol (**175**) dont la stéréochimie décrite est identique au  $\beta$ -acoradiénol (**176**) isolé de l'essence de *C. pancheri* par Raharivelomanana et al..<sup>13</sup> Cependant, les déplacements chimiques RMN du  $^1\text{H}$  et du  $^{13}\text{C}$  de **175** ne correspondent pas à ceux du  $\beta$ -acoradiénol (**176**). Leurs résultats sont appuyés par des données RMN du  $^1\text{H}$  publiées en 1980 par Piovetti et al. qui concerne un acora-3,11-dién-15-ol dont la stéréochimie est en accord avec la structure décrite par Weyerstahl et al..<sup>34</sup> Ainsi, afin de confirmer la structure des acoranes nouvellement isolés de cette essence, nous avons procédé à l'isolement du  $\beta$ -acoradiénol (**176**) mais également d'un composé affichant un spectre de masse équivalent à celui de **176**. Après isolement à partir de la fraction A17, le composé **176** a été confirmé comme

étant le  $\beta$ -acoradiénol déjà isolé de l'essence de *C. pancheri*.<sup>13</sup> Le composé inconnu, avec un spectre de masse identique à **176**, a été identifié comme étant le 10-*épi*- $\beta$ -acoradiénol (**175**), isolé de l'essence de Vétiver.<sup>32</sup> Outre **175**, l'examen des spectres NOESY pour les acoradiènes isolés de *C. pancheri* montrent que le méthyle #14 et les carbones #5 et #6 du cyclohexane sont proches (Figure 11). On observe également pour les composés **176** et **178** que le groupement isopropyle en #7 se trouve du même côté que le méthyle #14, démontrant ainsi que **176** est bien un épimère du 10-*épi*- $\beta$ -acoradiénol (**175**). Ainsi, afin d'apporter une preuve supplémentaire sur la stéréochimie relative des acoranes du *C. pancheri*, nous avons effectué l'isolement, la caractérisation et l'examen du spectre NOESY du 10-*épi*- $\beta$ -acoradiène (**150**). La stéréochimie de **150**, qui est majoritaire parmi les hydrocarbures, suggère que tous les acoranes majoritaires ont la même configuration relative (Figure 11 et Tableau 8), à savoir que le méthyle #14 et le groupement isopropyle en #7 sont en position  $\beta$ , du même côté que les carbones #5 et #6 du cyclohexane. Il est à noter que Piovetti et al. décrivent également la présence du composé **183** dans l'huile essentielle de *Cupressus dupreziana*, sans pour autant apporter une description spectroscopique détaillée.<sup>34</sup>

Il est important de noter que la nomenclature des acoranes isolés ici n'est pas adaptée à la configuration relative que nous rapportons. En effet, Weyerstahl et al. reportent que **175** est le 10-*épi*- $\beta$ -acoradién-15-ol. Cependant, **150** est reporté comme étant le 10-*épi*- $\beta$ -acoradiène, lequel ne partage pas la même stéréochimie que **175** au niveau du méthyle #14. Il serait donc plus adapté de définir **175** comme étant le  $\beta$ -acoradiénol et que les acoranes, dont **176**, soient nommés 10-*épi*-acoranes. Cette nomenclature a été utilisée dans le Tableau 10.

En plus des acorénols, nous avons isolé et caractérisé un nouveau composé avec un squelette peu commun à partir de la fraction A17. Le composé **171**, éluant entre le  $\gamma$ -costol (**173**) et le 10-*épi*- $\beta$ -acora-3,7-dién-15-ol (**169**), a été identifié comme un isomère du 1,7-cyclogermacra-1(10),4-dién-15-ol (**575**), isolé de l'essence de Vétiver (Chapitre Va).<sup>32</sup> En effet, on définit pour ce composé un squelette type 1,7-cyclogermacrane déjà décrit par Weyerstahl et al. sur la base d'expériences de RMN. Ainsi, **171** a été identifié comme le 1,7-cyclogermacra-1(10),3-dién-15-ol, jamais décrit dans la littérature.

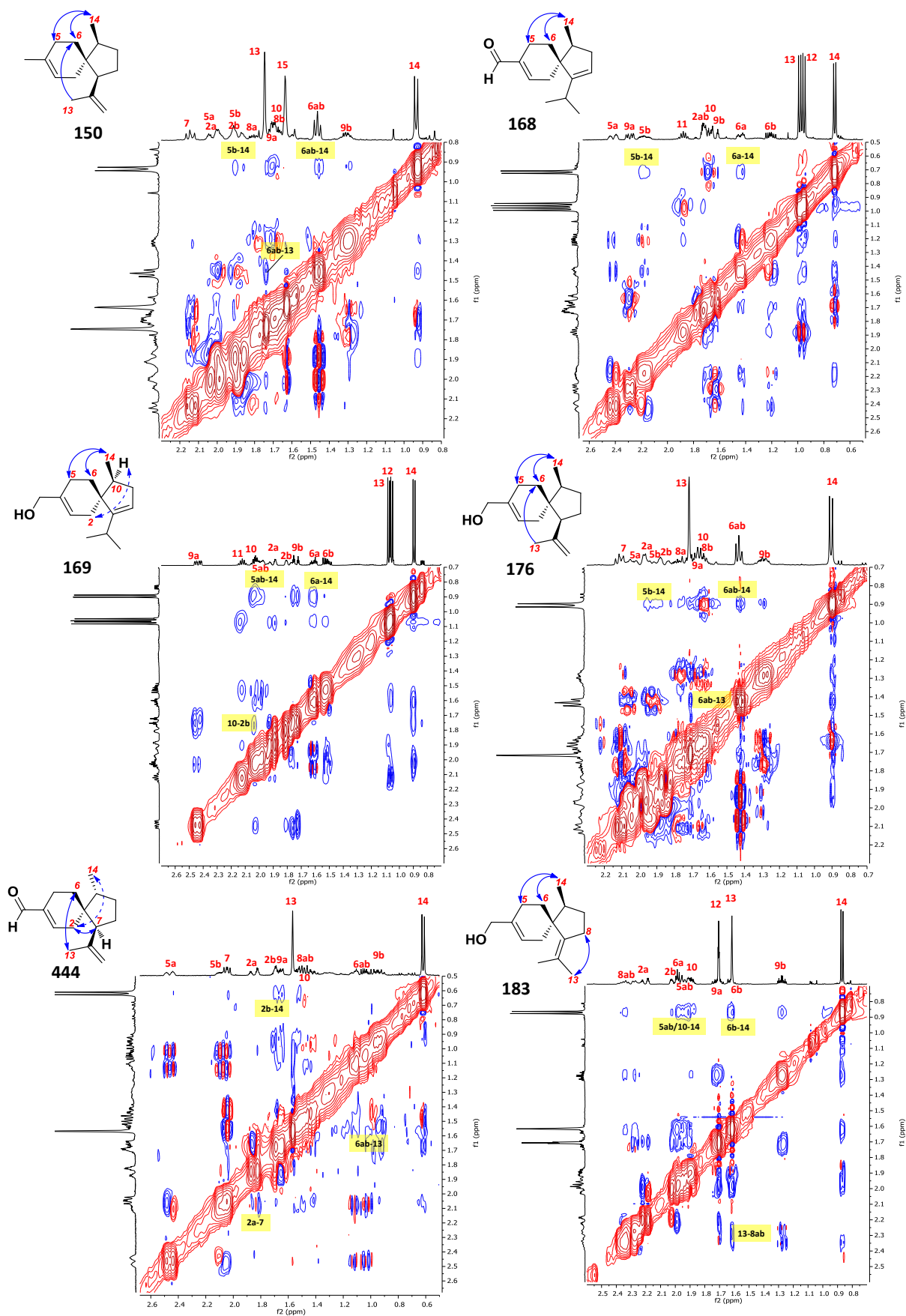
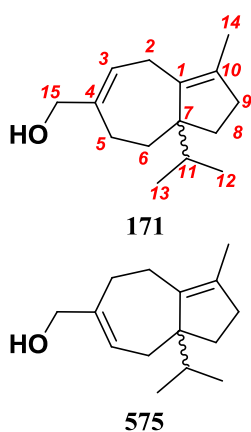


Figure 11. Spectres NOESYs des différents acoranes isolés de l'huile essentielle de *C. pancheri* et de Vétiver.

Tableau 9. Déplacement chimique RMN du  $^{13}\text{C}$  pour le composé **171** et son isomère **575**.<sup>32</sup>

#	<b>171</b> <sup>a</sup>	<b>575</b> <sup>b</sup>
1	138,08	142,2
2	24,92	23,6
3	123,16	29,4
4	142,41	143,6
5	25,33	124,1
6	38,99	39,0
7	58,23	56,4
8	28,54	29,4
9	37,36	36,0
10	131,68	129,3
11	33,88	29,0
12	17,47	17,3
13	18,24	17,0
14	13,85	13,4
15	68,99	68,3
Réf		[32] <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Enregistré dans le benzène- $d_6$ . <sup>b</sup> Données RMN et MS disponibles

Sur la base de ces identifications et de celles obtenues lors d'études antérieures, il a été possible de donner une description précise de la composition chimique de l'essence de *C. pancheri*. Ainsi, l'étape suivante a été de réaliser une analyse quantitative des différents constituants en combinant la qualité de séparation de la chromatographie bidimensionnelle en phase gazeuse (GC  $\times$  GC–FID) et la quantification par étalonnage interne utilisant des facteurs de réponse relatifs prédits (PRRFs) selon la méthode établie par Cachet et al.<sup>35</sup>

## II.5. Analyse quantitative des constituants de l'essence de *C. pancheri* par GC $\times$ GC

Afin de quantifier notre échantillon, nous avons opté pour l'utilisation de la GC  $\times$  GC couplée à un détecteur à ionisation de flamme (FID) et l'utilisation des facteurs de réponse relatifs prédits.<sup>36</sup> L'analyse par GC  $\times$  GC–FID a permis d'obtenir une séparation et une résolution optimale pour la quantification de nos constituants, même minoritaires. En raison de la rareté de cette essence, l'analyse a été menée sur un seul échantillon (Tableau 10).

Comme pour l'huile essentielle de bois de Gaïac, on confirme la forte proportion en alcools tertiaires de l'essence de *C. pancheri* (~ 66,39 %). Parmi les constituants majoritaires, on établit que le  $\gamma$ -eudesmol (**89**), l' $\alpha$ -eudesmol (**107**) et le  $\beta$ -eudesmol (**108**) sont les alcools prépondérants de l'essence, représentant plus de 45 % de l'échantillon. A la différence de l'essence de Gaïac, le guaiol (**74**) et le bulnesol (**111**) sont présents en faible quantité, environ 7,4 % à eux deux.



Tableau 10. Analyse par chromatographie bidimensionnelle intégrale en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme d'un échantillon d'huile essentielle de bois de *C. pancheri*.

#	RI <sup>a</sup> VF-5	RI Litt.	RI 1D HP-1	Composé <sup>b</sup>	Classe chimique	Famille	MM (g/mol)	#C	#H	#O	Ph	FRR	<sup>1</sup> t <sub>r</sub> (min)	<sup>2</sup> t <sub>r</sub> (s)	Ech. <sup>f</sup> (g/100g)	Ecart Type	Ident.
129	959	952	949	Benzaldéhyde	Aldéhydes		106	7	6	1	0	0,677	11,09	2,93	0,03	0,01	MS,RI,Std
130	1015	1020	1022	<i>p</i> -Cymène	Hydrocarbures		134	10	14	0	1	1,032	12,10	0,30	0,01	0,00	MS,RI
3	1035	1024	1030	Limonène	Hydrocarbures		136	10	16	0	0	0,942	12,10	5,53	0,02	0,00	MS,RI,Std
131	1082	1095	1096	Linalool	Alcools III		154	10	18	1	0	0,829	13,38	1,92	0,17	0,00	MS,RI,Std
132	1082	1089	1086	<i>p</i> -Cymenène	Hydrocarbures		132	10	12	0	1	1,015	13,48	1,06	0,01	0,00	MS,RI
133	1088		1092	6-Méthyl-3 <i>E</i> ,5-heptadièn-2-one (tent. MS)	Cétones		124	8	12	1	0	0,763	13,57	2,75	0,02	0,00	MS
134	1181	1174	1174	Terpinèn-4-ol	Alcools III		154	10	18	1	0	0,829	15,86	2,12	0,10	0,00	MS,RI
135	1192	1186	1188	$\alpha$ -Terpinéol	Alcools III		154	10	18	1	0	0,829	16,23	3,29	0,20	0,00	MS,RI
136	1211	1223	1225	Citronellol	Alcools I		156	10	20	1	0	0,845	16,78	4,30	0,03	0,00	MS,RI,Std
137	1238	1249	1250	Géraniol	Alcools I		154	10	18	1	0	0,829	17,69	0,33	0,19	0,00	MS,RI,Std
138	1257	1264	1255	Géraniale	Aldéhydes		152	10	16	1	0	0,812	18,43	3,25	0,03	0,00	MS,RI
139	1307	1322	1316	Géraniate de méthyle	Esters		182	11	18	2	0	0,731	20,35	2,17	1,12	0,00	MS,RI
140	1385	1376	1373	( <i>E</i> )-Cinnamate de méthyle	Esters		162	10	10	2	1	0,743	24,20	2,58	0,53	0,00	MS,RI
8	1387	1389	1400	$\beta$ -Elémène	Hydrocarbures	Elémanes	204	15	24	0	0	0,959	24,29	0,84	0,11	0,00	MS,RI,Ref <sup>g</sup>
141	1389	1387	1396	10-épi- $\alpha$ -Funebrane (tent. MS)	Hydrocarbures	Funébranes	204	15	24	0	0	0,959	24,57	0,62	0,05	0,00	MS
142	1408	1407	1427	Acora-3,7(14)-diène <sup>c</sup>	Hydrocarbures	Acoranes	204	15	24	0	0	0,959	25,76	0,66	0,09	0,00	MS,RI
143	1411		1427	53 <b>69</b> 79 93 105 119 147 204	Inconnus H		204	15	24	0	0	0,959	25,94	1,00	0,03	0,00	
144	1426	1430	1442	$\beta$ -Copaène	Hydrocarbures	Copaanes	204	15	24	0	0	0,959	26,86	0,74	0,15	0,00	MS,RI
14	1433	1437	1448	$\alpha$ -Guaïène	Hydrocarbures	Guaïanes	204	15	24	0	0	0,959	26,95	0,65	0,04	0,00	MS,RI,Ref <sup>g</sup>
145	1435		1435	69 77 91 105 119 <b>161</b> 204	Inconnus H		204	15	24	0	0	0,959	27,13	0,81	0,06	0,00	
146	1459		1466	Déhydro géraniate de méthyle	Esters		180	11	16	2	0	0,715	28,51	3,90	1,10	0,00	MS,RI
22	1461	1457	1466	Séline-4(15),7-diène	Hydrocarbures	Eudesmanes	204	15	24	0	0	0,959	28,60	0,81	0,02	0,00	MS,RI,Ref <sup>h</sup>
147	1462	1440	1455	$\beta$ -Barbatène (tent.)	Hydrocarbures		204	15	24	0	0	0,959	28,60	0,95	0,06	0,00	MS,RI
148	1469	1469	1477	$\beta$ -Acoradiène	Hydrocarbures	Acoranes	204	15	24	0	0	0,959	29,06	0,94	0,09	0,00	MS,RI
25	1474	1475	1486	Séline-4,11-diène	Hydrocarbures	Eudesmanes	204	15	24	0	0	0,959	29,43	0,87	0,21	0,00	MS,RI,Ref <sup>g</sup>
149	1474	1479	1482	$\alpha$ -Curcumène	Hydrocarbures	Bisabolanes	202	15	22	0	1	1,019	29,43	1,34	0,16	0,00	MS,RI
150	1479	1474	1486	10-épi- $\beta$ -Acoradiène, aka $\alpha$ -Néocallitropsène	Hydrocarbures	Acoranes	204	15	24	0	0	0,959	29,70	0,99	1,17	0,01	RMN
31	1485		1493	10,11-Epoxyguai-1(5)-ène	Ethers	Guaïanes	220	15	24	1	0	0,868	30,07	1,09	0,19	0,00	MS,RI,Ref <sup>g</sup>
34	1488	1492	1498	$\delta$ -Sélinène	Hydrocarbures	Eudesmanes	204	15	24	0	0	0,959	30,25	0,86	0,03	0,00	MS,RI,Ref <sup>g,i</sup>
37	1493	1496	1493	Guaioxide	Ethers	Guaïanes	222	15	26	1	0	0,879	30,62	0,97	0,51	0,01	MS,RI,Ref <sup>g</sup>
38	1493		1496	10,11-Epoxyguai-5-ène	Hydrocarbures	Ethers	204	15	24	0	0	0,959	30,71	1,06	0,16	0,01	MS,RI,Ref <sup>g</sup>
40	1493	1489	1496	$\beta$ -Sélinène	Hydrocarbures	Eudesmanes	220	15	24	1	0	0,868	30,71	1,08	0,30	0,01	MS,RI,Ref <sup>g,h,i</sup>
41	1499	1498	1506	$\alpha$ -Sélinène	Hydrocarbures	Eudesmanes	204	15	24	0	0	0,959	31,08	1,02	0,23	0,01	MS,RI,Ref <sup>g,h,i</sup>
151	1499	1505	1513	$\beta$ -Bisabolène	Hydrocarbures	Bisabolanes	204	15	24	0	0	0,959	31,17	0,90	1,07	0,01	MS,RI,Ref <sup>j</sup>
152	1511	1512	1523	$\alpha$ -Alaskène	Hydrocarbures	Acoranes	204	15	24	0	0	0,959	31,90	0,93	0,02	0,00	MS,RI <sup>i</sup>
46	1511		1511	10-épi- $\alpha$ -Agarofurane	Ethers	Eudesmanes	220	15	24	1	0	0,868	31,90	1,28	0,71	0,00	RMN
44	1513		1513	<i>trans</i> -Dihydroagarofurane	Ethers	Eudesmanes	222	15	26	1	0	0,879	32,08	0,98	0,11	0,00	MS,RI,Ref <sup>g</sup>
47	1518		1518	4-épi- <i>trans</i> -Dihydroagarofurane	Ethers	Eudesmanes	222	15	26	1	0	0,879	32,45	1,00	0,04	0,00	MS,RI,Ref <sup>g</sup>

#	RI <sup>a</sup> VF-5	RI Litt.	RI 1D HP-1	Composé <sup>b</sup>	Classe chimique	Famille	MM (g/mol)	#C	#H	#O	Ph	FRR	<sup>1</sup> t <sub>r</sub> (min)	<sup>2</sup> t <sub>r</sub> (s)	Ech. <sup>f</sup> (g/100g)	Ecart Type	Ident.
50	1525		1530	10,11-Epoxyguai-1-ène	Ethers	Guaianes	220	15	24	1	0	0,868	32,91	1,32	0,22	0,00	MS,RI,Ref <sup>g</sup>
153	1531		1529	10-épi-4,12-Epoxyfunébrane	Ethers	Funébranes	220	15	24	1	0	0,868	33,28	1,38	0,08	0,01	
55	1531		1540	5,11-Epoxyguai-1(10)-ène	Ethers	Guaianes	220	15	24	1	0	0,868	33,46	1,23	0,05	0,00	MS,RI,Ref <sup>g</sup>
57	1539	1534	1545	Séline-4(15),7(11)-diène	Hydrocarbures	Eudesmanes	204	15	24	0	0	0,959	33,92	1,04	0,05	0,00	MS,RI,Ref <sup>g,h</sup>
60	1544	1545	1554	Séline-3,7(11)-diène	Hydrocarbures	Eudesmanes	204	15	24	0	0	0,959	34,28	1,00	0,03	0,00	MS,RI,Ref <sup>g,h</sup>
61	1545	1548	1548	β-Elémol	Alcools III	Elémanes	222	15	26	1	0	0,879	34,47	3,41	6,92	0,01	RMN
154	1547	1561	1561	(E)-Nérolidol	Alcools III	Farnesanes	222	15	26	1	0	0,879	34,74	2,51	0,29	0,00	MS,RI,Ref <sup>i,j</sup>
62	1552		1554	5,11-Epoxyguai-1-ène	Ethers	Guaianes	220	15	24	1	0	0,868	34,93	1,50	0,31	0,00	MS,RI,Ref <sup>g</sup>
69	1573		1579	(7αH,10βH)-trans-5,11-Epoxy calaménène	Ethers	Cadinanes	216	15	20	1	1	0,911	36,48	2,19	0,10	0,00	MS,RI,Ref <sup>g</sup>
155	1573		1575	95 <b>109</b> 111 123 210 252	Inconnus		252	16	28	2	0	0,813					
71	1577		1583	(7αH,10αH)-cis-5,11-Epoxy calaménène	Ethers	Cadinanes	216	15	20	1	1	0,911	36,85	2,19	0,04	0,00	MS,RI,Ref <sup>g</sup>
156	1583		1570	67 79 107 121 135 150 163 191 <b>206</b>	Inconnus		206	14	22	1		0,857	37,22	2,47	0,07	0,00	
74	1595	1600	1600	Guaiol	Alcools III	Guaianes	222	15	26	1	0	0,879	38,23	2,62	5,80	0,01	MS,RI,Ref <sup>g</sup>
77	1602		1601	4,5;5,11-Diépoxy-4,5-seco-guaiane	Ethers	Guaianes	238	15	26	2	0	0,800	38,78	1,86	0,06	0,00	MS,RI,Ref <sup>g</sup>
80	1607		1618	10-épi-Guaiol	Alcools III	Guaianes	222	15	26	1	0	0,879	39,14	2,50	0,08	0,00	MS,RI,Ref <sup>g</sup>
78	1606	1607	1613	10-épi-α-Eudesmol	Alcools III	Eudesmanes	222	15	26	1	0	0,879	39,14	2,83	0,10	0,00	MS,RI,Ref <sup>g</sup>
81	1609		1614	10-épi-β-Eudesmol	Alcools III	Eudesmanes	222	15	26	1	0	0,879	39,33	2,98	0,05	0,00	MS,RI,Ref <sup>g</sup>
84	1615		1616	(4αH,7αH,10β)-Eudesm-5-én-11-ol	Alcools III	Eudesmanes	222	15	26	1	0	0,879	39,78	2,56	0,09	0,00	MS,RI,Ref <sup>g</sup>
86	1618		1619	Néointermédéol, aka Séline-11-én-4β-ol	Alcools III	Eudesmanes	222	15	26	1	0	0,879	40,15	2,61	0,09	0,00	MS,RI,Ref <sup>i,j</sup>
157	1619		1625	59 67 81 91 107 123 149 <b>161</b> 189 204 222	Inconnus		222	15	26	1	0	0,879	40,24	2,71	0,10	0,00	
87	1625	1622	1629	10-épi-γ-Eudesmol	Alcools III	Eudesmanes	222	15	26	1	0	0,879	40,61	2,31	0,12	0,02	MS,RI,Ref <sup>g,h</sup>
158	1631		1636	Eudesma-1,3-dién-11-ol <sup>d</sup>	Alcools III	Eudesmanes	220	15	24	1	0	0,868	41,16	3,51	0,49	0,00	MS,RI
159	1632	1629	1636	Erémoligénol	Alcools III	Erémophilanes	222	15	26	1	0	0,879	41,25	2,98		0,02	MS,RI
89	1632	1630	1640	γ-Eudesmol	Alcools III	Eudesmanes	222	15	26	1	0	0,879	41,25	2,92	15,46		MS,RI,Ref <sup>g,h,j</sup>
90	1635		1639	4,5-di-épi-Jinkoh-érémol	Alcools III	Erémophilanes	222	15	26	1	0	0,879	41,53	2,83	0,55	0,00	RMN
160	1640	1640	1647	Hinésol	Alcools III	Vétispiranes	222	15	26	1	0	0,879	41,89	2,74	0,65	0,01	MS,RI,Ref <sup>g,k</sup>
94	1642		1654	4-(2,2,5-triméthyl-2,3,4,5,6,7-hexahydrocyclopentapyran-3-yl)butan-2-one	Cétones		236	15	24	2	0	0,789	42,17	2,48	0,18	0,00	MS,RI,Ref <sup>g</sup>
161	1644			7-épi-α-Eudesmol isomère (tent. MS)	Inconnus		222	15	26	1	0	0,879	42,17	2,85	0,09	0,00	MS
98	1646	1652	1652	Jinkoh-érémol	Alcools III	Erémophilanes	222	15	26	1	0	0,879	42,44	2,65	0,07	0,00	MS,RI,Ref <sup>g,k</sup>
99	1648		1650	(7αH)-5,11-Epoxy calacorène	Ethers	Cadinanes	214	15	18	1	1	0,900	42,53	2,58	0,03	0,01	MS,RI,Ref <sup>g</sup>
162	1650		1654	Déhydrojinkoh-érémol (tent. MS)	Alcools III	Erémophilanes	220	15	24	1	0	0,868	42,72	3,16	0,83	0,02	RMN
102	1650		1656	5,11-Epoxy cadalène	Ethers	Cadinanes	212	15	16	1	2	0,956	42,90	2,99	0,14	0,02	MS,RI,Ref <sup>g</sup>
109	1656			(1αH,5αH)-Guai-9-én-11-ol	Alcools III	Guaianes	222	15	26	1	0	0,879	43,27	2,71	0,12	0,01	MS,RI,Ref <sup>g</sup>
163	1656		1667	55 67 <b>81 93</b> 105 121 133 149 161 189 204 222	Inconnus		222	15	26	1	0	0,879	43,27	5,28	0,25	0,00	
107	1659	1652	1662	α-Eudesmol	Alcools III	Eudesmanes	222	15	26	1	0	0,879	43,45	3,24	31,05	0,12	RMN
108	1659	1649	1656	β-Eudesmol	Alcools III	Eudesmanes	222	15	26	1	0	0,879	43,45	3,24	31,05	0,12	RMN
164	1661		1661	Sélin-11-én-4α-ol	Alcools III	Eudesmanes	222	15	26	1	0	0,879	43,63	3,06	0,37	0,14	MS,RI,Ref <sup>i,j</sup>
111	1663	1670	1673	Bulnésol	Alcools III	Guaianes	222	15	26	1	0	0,879	43,91	2,55	1,60	0,01	MS,RI,Ref <sup>g</sup>
165	1666		1669	<b>59 77</b> 91 105 131 145 <b>159</b> 187 220	Inconnus		220	15	24	1	0	0,868	44,09	3,56	0,16	0,00	
114	1671	1679	1668	Hanamyol	Alcools III	Guaianes	238	15	26	2	0	0,800	44,46	2,78	0,97	0,00	MS,RI,Ref <sup>g</sup>

#	RI <sup>a</sup> VF-5	RI Litt.	RI 1D HP-1	Composé <sup>b</sup>	Classe chimique	Famille	MM (g/mol)	#C	#H	#O	Ph	FRR	<sup>1</sup> t <sub>r</sub> (min)	<sup>2</sup> t <sub>r</sub> (s)	Ech. <sup>f</sup> (g/100g)	Ecart Type	Ident.	
166	1672		1671	59 79 91 105 119 133 147 162 220	Inconnus		220	15	24	1	0	0,868	44,46	3,67	0,16	0,00		
117	1679		1685	(1βH,5αH)-Guai-9-én-11-ol	Alcools III	Guaianes	222	15	26	1	0	0,879	45,19	2,70	0,10	0,00	MS,RI,Ref <sup>g</sup>	
167	1684		1677	55 68 <b>79</b> 91 123 161 188 204 222	Inconnus		222	15	26	1	0	0,879	45,56	3,69	0,29	0,00		
168	1690		1688	10- <i>épi</i> -Acora-3,7-dién-15-al	Aldéhydes	Acoranes	218	15	22	1	0	0,856	46,02	2,36	0,16	0,00		
169	1694		1705	10- <i>épi</i> -Acora-3,7-dién-15-ol	Alcools I	Acoranes	220	15	24	1	0	0,868	46,38	4,09	0,65	0,00	RMN	
122	1700	1700	1700	Juniper camphor	Alcools III	Eudesmanes	222	15	26	1	0	0,879	46,84	2,82	0,09	0,00	MS,RI,Ref <sup>g,h</sup>	
170	1703		1700	55 69 <b>95</b> 109 128 <b>162</b> 181 195 205 223 238	Inconnus		238	15	26	2	0	0,800	47,12	3,01	0,12	0,00		
124	1706		1701	5,11-Epoxyguaian-1α-ol	Ethers	Guaianes	238	15	26	2	0	0,800	47,39	2,66	0,31	0,00	MS,RI,Ref <sup>g</sup>	
171	1710		1721	1,7-Cyclogermacra-1(10),3-dién-15-ol	Alcools I	Cyclogermacranes	220	15	24	1	0	0,868	47,76	4,19	0,18	0,00	RMN	
172	1732		1738	79 93 105 <b>119 121</b> 132 145 187 202 220	Inconnus		220	15	24	1	0	0,868	49,68	4,18	0,24	0,00		
127	1740		1733	5,11-Epoxyeudemane-1-one	Cétones	Eudesmanes	236	15	24	2	0	0,789	50,33	2,76	0,16	0,00	MS,RI,Ref <sup>g</sup>	
173	1742	1745	1755	γ-Costol	Alcools I	Eudesmanes	220	15	24	1	0	0,868	50,60	4,19	0,30	0,00	MS,RI,Ref <sup>j</sup>	
174	1744		1735	Araucari-4-én-15-al	Aldéhydes	Araucarianes	218	15	22	1	0	0,856	50,69	2,54	0,20	0,00		
175	1753		1761	β-Acoradiénol	Alcools I	Acoranes	220	15	24	1	0	0,868	51,43	4,32	0,11	0,00	MS	
176	1761	1762	1768	10- <i>épi</i> -β-Acoradiénol	Alcools I	Acoranes	220	15	24	1	0	0,868	52,16	4,29	1,32	0,01	RMN	
177	1763	1768	1761	β-Bisabolénal	Aldéhydes	Bisabolanes	218	15	22	1	0	0,856	52,43	2,40	0,66	0,00	RMN	
178	1765		1761	10- <i>épi</i> -β-Acoradiénal	Aldéhydes	Acoranes	218	15	22	1	0	0,856	52,53	2,76	0,25	0,00	RMN	
179	1769	1765	1772	β-Costol	Alcools I	Eudesmanes	220	15	24	1	0	0,868	52,98	4,77	0,58	0,01	MS,RI,Ref <sup>j</sup>	
180	1772	1773	1780	α-Costol	Alcools I	Eudesmanes	220	15	24	1	0	0,868	53,17	4,66	0,18	0,01	MS,RI,Ref <sup>j</sup>	
181	1778		1777	Cryptomériol épimère (tent. MS) <sup>e</sup>	Cétones	Eudesmanes	240	15	28	2	0	0,811	53,72	5,14	0,18	0,00	MS	
182	1780	1789	1788	β-Bisabolénol	Alcools I	Bisabolanes	220	15	24	1	0	0,868	54,08	4,11	2,46	0,02	MS,RI,Ref <sup>j</sup>	
183	1798		1807	10- <i>épi</i> -Acora-3,7(11)-dién-15-ol	Alcools I	Acoranes	220	15	24	1	0	0,868	55,28	4,26	0,21	0,00	RMN	
184	1829	1813	1814	Cryptomériol	Cétones	Eudesmanes	240	15	28	2	0	0,811	57,29	0,96	0,10	0,00	MS,RI	
185	1928	1926	1922	Carissone	Cétones	Eudesmanes	236	15	24	2	0	0,789	64,72	0,69	0,16	0,00	MS,RI	
															Total Alcools III	66,39		
															Total Alcools I	5,91		
															Total Hydrocarbures	4,03		
															Total Aldéhydes	1,33		
															Total Ethers	2,90		
															Total Esters	2,75		
															Total Cétones	0,80		
															Total Inconnus H	0,14		
															Total Inconnus	1,48		
															<b>Total</b>	<b>86,20</b>		

<sup>a</sup> Indices de rétentions (RI) calculés par comparaison d'une série d'*n*-alcanes de C7–C24. <sup>b</sup> Les principaux ions sont affichés pour les composés inconnus (les pics de base sont écrits en gras); composés identifiés sur la base de leur spectre de masse et leur indice de rétention (RI) sur colonne HP-1 (GC–MS) à partir des banques MS.<sup>26,37</sup> <sup>c</sup> Nomenclature douteuse. <sup>d</sup> Identification via NIST MS Search 2.0. <sup>e</sup> **181** a un spectre de masse équivalent au cryptomériol (**184**), identification incorrect par l'équipe de Raharivelomanana.<sup>10</sup> <sup>f</sup> Le pourcentage massique (g/100 g) et l'écart type ont été calculés via des analyses en triplicata. <sup>g</sup> Référence croisée avec l'essence de bois de Gaïac (Chapitre I). <sup>h</sup> Référence croisée avec l'essence de Vétiver (Chapitre V). <sup>i</sup> Référence croisée avec l'essence de Patchouli (Chapitre III). <sup>j</sup> Référence croisée avec l'essence de cèdre jaune d'Alaska (Chapitre IV) <sup>k</sup> Référence croisée avec l'essence de Agarwood (Chapitre VI).

Le  $\beta$ -élémol (6,92 %, **61**), le  $\beta$ -bisabolénol (2,46 %, **182**), le 10-*épi*- $\beta$ -acoradiénol (1,32 %, **176**), le 10-*épi*- $\beta$ -acoradiène (1,17 %, aka  $\alpha$ -néocallitropsène **150**), ainsi que le déhydrogéraniate de méthyle (1,10 %, **146**) et le géraniate de méthyle (1,12 %, **139**) sont déterminés comme étant les composés majeurs de l'essence. Il est à noter que l'ensemble de ces composés sont facilement détectables par chromatographie en phase gazeuse monodimensionnelle. Après les alcools tertiaires, on identifie plus de 5,9 % d'alcools primaires et de 1,3 % d'aldéhydes. Ces derniers sont probablement issus de réactions enzymatiques oxydantes à partir des hydrocarbures majeurs de l'essence tels que le 10-*épi*- $\beta$ -acoradiène (**150**, 1,17 %), le  $\beta$ -bisabolène (**151**, 1,07 %), l' $\alpha$ -sélinène (**41**, 0,23 %), le  $\beta$ -sélinène (**40**, 0,30 %) et le sélin-4,11-diène (**25**, 0,21 %). On remarque que l'oxydation se produit généralement en position allylique sur une partie de la molécule qui n'est pas encombrée. Enfin, les hydrocarbures, les éthers et les esters constituent respectivement 4,03 %, 2,90 % et 2,75 % de l'huile essentielle. Ainsi, ce dosage nous a permis de quantifier plus de 86 % de notre échantillon.

D'un point de vue qualitatif, on confirme que les eudesmanes et les guaïanes sont les constituants majoritaires de cette essence, tandis que les acoranes, les éremophilanes et les bisabolanes sont des dérivés secondaires. En plus de ces composés, on note la présence d'un nouveau squelette que l'on nomme araucariane et d'un squelette peu commun, le 1,7-cyclogermacrane. La présence de ces squelettes minoritaires permet de montrer une différence d'activité biosynthétique pour cette essence et celle obtenue à partir du bois de Gaïac, laquelle est constituée majoritairement de guaïanes et d'eudesmanes (Chapitre I). On remarque également que les eudesmanes, les éremophilanes et les vétispiranes majoritaires identifiés dans l'huile essentielle de *C. pancheri* sont de configuration *cis* et les groupements en #4, #5, #7 et #10 sont orientés en position  $\beta$ . En s'appuyant sur le schéma de biosynthèse proposé en chapitre I (I.5.1), on peut supposer que l'hédycaryol (**II**), lors de la formation des cations eudesmanes et des guaïanes par voie enzymatique dans le bois de *C. pancheri*, possède les méthyles #4 et #10 orientés du même côté que l'isopropyle #7 (conformation **III**). Il est à noter toutefois que de faibles quantités d'eudesmanes et d'éremophilanes, ayant leurs méthyles en position  $\alpha$  tels que le 10-*épi*- $\alpha$ -eudesmol (**78**), 10-*épi*- $\beta$ -eudesmol (**81**), le jinkoh-éremol (**98**) ou encore le 10-*épi*- $\gamma$ -eudesmol (**87**), sont également présentes et proviennent probablement de la conformation **IV** (voir I.5.1).

Cette analyse nous a permis de détecter et de quantifier plus de 98 composés dont 86 ont été identifiés. Ainsi, en s'appuyant sur l'ensemble de ces données, nous avons par la suite pu déterminer quels sont les odorants d'impact de l'essence de *C. pancheri*.

## II.6. Analyse olfactive de l'essence de *C. pancheri* par GC–O et GC–O/MS

L'huile essentielle de *C. pancheri* possède la caractéristique d'être, comme l'essence de bois de Gaïac, solide à température ambiante. Il se dégage de cette essence des notes fumées, boisées, accompagnées de nuances florales très distinctes.<sup>5</sup> A l'instar des autres matières premières à odeur boisée, l'essence de *C. pancheri* était connue pour ses excellentes propriétés fixatrices. A notre connaissance, aucune étude menée par GC–O n'a été effectuée sur cette matière première. Ainsi, dans la continuité de notre étude, nous avons réalisé l'évaluation olfactive de l'essence de *C. pancheri* via un protocole de type AEDA.<sup>38,39</sup> L'étude a été réalisée par quatre panélistes, en démarrant par une concentration en huile essentielle à 54 mg/mL dans le MTBE (Tableau 11).

Tableau 11. Description olfactive des constituants actifs de l'huile essentielle de bois de *C. pancheri*.

#	RI <sup>a</sup>	RI	Odeur perçue	Composé <sup>b</sup>	Log <sub>2</sub> (FD) <sup>c</sup>				M.A. <sup>d</sup>	Fraction <sup>e</sup>
	Calc.	Litt.			P1	P2	P3	P4		
1	1075	952	Odeur corporelle, cumin	-	1	-	1	3	1,7	A12-A16
2	1097	1095	Fleurie, Citrus	Linalool ( <b>131</b> )	2	2	4	3	2,8	A10-A15
3	1101	1087	Fumée	Guaiacol	-	2	-	-	2,0	A14-A16
4	1215	-	Cuir	<i>p</i> -Isopropylphénol	8	8	7	9	8,0	A10-A19
5	1240	1249	Florale, rosée	Géranol ( <b>137</b> )	7	7	2	3	4,8	A11-A19
6	1302	1322	Verte, métallique, cireux	Géraniate de méthyle ( <b>139</b> )	2	2	1	2	1,8	A9-A12
7	1322	1309	Boisée, clou de girofle	<i>p</i> -Vinylguaiacol	0	3	0	3	1,5	A11-A14
8	1354	1356	Clou de girofle	Eugénol	-	1	0	3	1,3	A15-A16
9	1379	1376	Typique <i>C. pancheri</i> , balsamique	Cinnamate de méthyle ( <b>140</b> )	1	2	3	8	3,5	A9-A15
10	1431	-	Fleurie, Aneth	-	2	2	4	2	2,5	A9-A15
11	1446	-	Typique <i>C. pancheri</i> , fruitée	déhydroGéraniate de méthyle ( <b>146</b> )	-	1	3	8	4,0	A9-A15
12	1453	-	Sucrée, Aneth	-	2	4	3	4	3,3	A9-14
13	1522	-	Fruitée, sucrée, savonneuse	<b>69</b> 109 149 192	6	-	4	1	3,7	A5-A14
14	1596	-	Fleurie	-	4	-	-	3	3,5	A10-A14
15	1646	-/1640	Fleurie, lys	4,5-di- <i>épi</i> -Jinkoh-eremol ( <b>90</b> )/hinésol ( <b>160</b> )	4	4	3	7	4,5	A9-14
16	1672	1670	Fleurie, rosée	Bulnésol ( <b>111</b> )	1	3	3	6	3,3	A15-A19
17	1692	-	Moisie	-	1	-	-	2	1,5	A10-A12
18	1700	-	Fleurie, rosée	10- <i>épi</i> -Acora-3,7-dién-15-ol ( <b>169</b> )	0	0	0	2	0,5	A17
19	1708	-	Poivrée	-	9	-	9	-	9,0	A6-A12
20	1812	-	Pamplemousse, rosée	10- <i>épi</i> -Acora-3,7(11)-dién-15-ol ( <b>183</b> )	1	3	0	4	2,0	A17
21	1867	-	Poivrée, épicée	-	3	4	2	-	3,0	A7-A12

<sup>a</sup> Indices de rétention (RI) calculés sur une série de *n*-alcanes en C7-C24 sur colonne HP-5. <sup>b</sup> Les composés ont été identifiés sur la base de leur spectre de masse, leur indice de rétention (RI) *versus* littérature ou par co-injection de composé de référence disponible dans le commerce ou de produit isolé. <sup>c</sup> Le protocole AEDA a été mené par quatre panélistes afin d'évaluer les constituants d'impact odorant dans l'essence. <sup>d</sup> La moyenne arithmétique (M.A.) de Log<sub>2</sub>(FD) est donnée lorsque l'odeur est perçue par au moins 2 juges sur 4. <sup>e</sup> Odeur identifiée dans les fractions de *C. pancheri*.

Afin d'identifier un maximum de molécules responsables des notes principales de l'essence, nous avons analysé l'ensemble des fractions obtenues durant le fractionnement de celle-ci. Par ailleurs, l'utilisation de composés standards, notamment parmi les dérivés aromatiques, a permis d'identifier plusieurs zones odorantes. Les résultats de cette étude définissent clairement deux molécules contribuent de façon importante à l'odeur globale de cette essence. Tout d'abord, les évaluateurs identifient une odeur typique de cuir (RI 1215), laquelle contribue fortement à l'odeur de l'essence ( $\text{Log}_2(\text{FD}) = 8$ ). Plus surprenant, la moitié des panélistes décrivent aussi une odeur poivrée, légèrement rosée (RI 1708), laquelle est perçue jusqu'à la dilution  $D_9$  ( $\text{Log}_2(\text{FD}) = 9,0$ ). Avec la note cuir décrite au-dessus, elle est ainsi déterminée comme molécule d'impact du *C. pancheri* pour deux panélistes sur quatre. De manière intrigante, les deux autres panélistes semblent présenter une anosmie totale à cette odeur, comme celle observée pour la  $\beta$ -ionone (**27**) lors de l'étude sur l'essence de bois de Gaïac (Chapitre I). De plus, il apparaît que le cinnamate de méthyle (**140**,  $\text{Log}_2(\text{FD}) = 3,5$ ) et le déhydrogéraniate de méthyle (**146**,  $\text{Log}_2(\text{FD}) = 4,0$ ) fournissent la note caractéristique de cette essence, un mélange balsamique et fruité. L'odeur fleurie de type « lys » (RI 1646) a été retrouvée dans les fractions A12 à A14. Cependant, une coélution engageant l'hinésol (**160**), le 4,5-di-*épi*-jinkoh-érémol (**90**) et des traces d'agarospirol n'a pas permis une identification directe du composé responsable de cette note. L'isolement du 4,5-di-*épi*-jinkoh-érémol (**90**) à partir du *C. pancheri* et de l'agarospirol (**92**), via un fractionnement de l'essence d'Agarwood (Chapitre VI), nous a permis de confirmer que l'odeur « muguet/lys » était imputable à ces deux molécules. L'odeur typique cuir (RI 1215) a été attribuée à la présence d'*p*-isopropylphénol dans notre échantillon. Cette identification a été confirmée par comparaison de son spectre de masse et de son odeur avec un échantillon commercial. De manière générale, on retrouve plusieurs odeurs fleuries lesquelles contribuent fortement à l'odeur globale de l'essence (Tableau 11). Elles ont été attribuées à la présence de bulnésol (**111**, RI 1672) déjà identifié dans l'essence de bois de Gaïac, de linalool (**131**, RI 1097) et de géranol (**137**, RI 1240), l'odeur de ces derniers a été confrontée avec une référence commerciale. On note également que les deux acoradiénols nouvellement isolés **169** et **183** possèdent des notes « fleuries/lys » et « pamplemousse », respectivement. Malheureusement, les notes type poivrée (RI 1708,  $\text{Log}_2(\text{FD}) = 9$ ), aneth/sucré (RI 1453,  $\text{Log}_2(\text{FD}) = 3,3$ ), retrouvée également dans l'essence de Gaïac, et fleurie (RI 1522,  $\text{Log}_2(\text{FD}) = 3,7$  et RI 1596,  $\text{Log}_2(\text{FD}) = 3,5$ ) n'ont pas pu être identifiées.

Ainsi, à la concentration donnée de 54 mg/mL, il ressort de cette étude que 21 zones odorantes sont détectées par les panélistes. Les notes principales de l'essence de *C. pancheri* sont des notes épicées, balsamiques, fleuries et de cuir. De plus, sur les 21 zones odorantes, la combinaison de la GC–O et de la GC–O/MS a permis l'identification de 13 molécules odorantes dans l'huile essentielle de *C. pancheri*. Le *p*-isopropylphénol est décrit par l'ensemble des panélistes comme la molécule d'impact de cette essence. Ainsi, comme pour l'essence de bois de Gaïac, on montre une nouvelle fois l'importance des dérivés aromatiques dans l'odeur globale des huiles essentielles à odeur boisée.

## II.7. Conclusion

L'huile essentielle de bois de *C. pancheri*, matière première oubliée de l'industrie du parfum, a révélé une composition chimique qualitativement proche de celle du bois de Gaïac. En effet, des squelettes sesquiterpéniques sont communs à ces deux essences, les guaïanes et les eudesmanes, mais à la différence du Gaïac, on identifie en plus des squelettes issus de voies biosynthétiques différentes, tels que les acoranes et les bisabolanes. On note également la présence d'un nouveau squelette, nommé araucariane, probablement issu de la même voie biosynthétique des acoranes. En plus des sesquiterpènes, on identifie de façon surprenante des esters peu répandus, tels que le cinnamate de méthyle et le géraniate de méthyle. L'analyse par GC × GC–MS a permis de noter la présence de plusieurs composés inconnus. L'utilisation combinée d'un fractionnement avancé, de la GC-semi préparative et de la RMN a permis l'isolement et la caractérisation de 11 molécules dont 8 n'ont jamais été décrites dans la littérature. De plus, nous corrigeons la structure du  $\beta$ -acoradiénol, que nous renommons 10-*épi*- $\beta$ -acoradiénol, laquelle est en accord avec le 10-*épi*- $\beta$ -acoradiène, hydrocarbure majoritaire de cette essence. Le dosage par GC × GC–FID à l'aide des FRRPs a permis de quantifier à plus de 85 % notre échantillon.

Enfin, l'utilisation combinée de la GC–O et de la GC–O/MS nous a aidé à l'identification des odorants de cette huile essentielle oubliée. Les notes fumées et épicées, majoritaires dans cette essence et qui contribuent le plus à l'odeur, sont dues en majorité à la présence de composés aromatiques, tels que le *p*-isopropylphénol (cuir), la vanilline (doux/sucré), ou encore les dérivés de l'eugénol (épicé/sucré). Les notes florales sont apportées par les terpènes tels que le géraniol (rose), l'agarospirol (muguet/lys), le bulnésol (rose), le 4,5-di-*épi*-jinkoh-éremol (muguet). On peut résumer que la note typique de cette essence, sans son

côté fumé/épicé, est apportée par les esters atypiques, à savoir le déhydrogéraniate de méthyle, le géraniate de méthyle, et le cinnamate de méthyle (balsamique/verte). Néanmoins, il reste encore certaines zones d'ombre concernant cette matière première. Tout d'abord, il faudrait confirmer l'ensemble de nos résultats avec d'autres échantillons d'huile essentielle de *C. pancheri*, tâche compliquée connaissant la situation de cette espèce en voie de disparition. Au niveau olfactif, une note intéressante poivrée/rosée perçue par la moitié des panélistes reste encore à découvrir. Celle-ci serait probablement due à la présence d'un composé minoritaire dans cette essence (et que l'on retrouve également dans l'huile essentielle d'Agarwood - Chapitre VI). Il serait donc intéressant d'identifier les composés minoritaires encore inconnus, notamment dans la zone des alcools primaires et secondaires, afin de pouvoir identifier cette intrigante molécule.

Dans la continuité de nos recherches sur les ingrédients à odeur boisée, possédant également plusieurs constituants à squelette guaiane, nous nous sommes ensuite intéressés à une matière première emblématique de l'industrie de la parfumerie, l'huile essentielle de Patchouli.



## Partie expérimentale : Partie II

Fractionnement de l'essence de bois de *C. pancheri*

26,09 g d'huile essentielle de bois de *C. pancheri* ont été fractionnés selon le protocole décrit en Figure 9. Les fractions A12 (1,4 g) et A17 (1,0 g) ont été séparées sur gel de silice imprégné d'AgNO<sub>3</sub> (5 %, *m/m*) en plusieurs sous-fractions. Celles-ci ont été à nouveau fractionnées sur gel de silice imprégnée d'AgNO<sub>3</sub> (5 %, *m/m*). Les sous-fractions significatives ont été regroupées pour être exploitées en GC semi-préparative. Les fractions A9 et A10 ont été directement soumises à la GC semi-préparative.

Description des composés isolés :

Composé : 10-épi- $\alpha$ -Agarofurane (**46**)

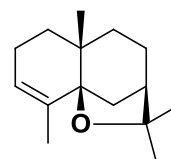
Indice de rétention : HP-1/Wax : 1511/1756

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV) *m/z* (int. rel.): 220 [M]<sup>++</sup> (100), 205 (8), 187 (6), 177 (8), 164 (11), 147 (19), 136 (8), 124 (32), 123 (31), 122 (13), 121 (11), 109 (28), 105 (12), 95 (11), 91 (14), 82 (67), 69 (9), 55 (11), 43 (11), 41 (14)

<sup>1</sup>H (500 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  5,29–5,20 (1H, m, H-3), 2,05 (1H, ddd, *J* = 12,3, 5,0, 2,9 Hz, H-6a), 2,09–1,99 (1H, m, H-2a), 1,92–1,86 (2H, m, H-1a, H-2b), 1,88–1,83 (3H, m, H-15), 1,75 (1H, ddd, *J* = 14,6, 12,2, 7,9 Hz, H-9a), 1,61–1,51 (3H, m, H-7, H-8a, H-6b), 1,51–1,42 (1H, m, H-8b), 1,31 (3H, s, H-13), 1,26–1,17 (2H, m, H-1b, H-9b), 1,17 (3H, s, H-12), 1,11 (3H, s, H-14)

<sup>13</sup>C (126 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) voir Tableau 7



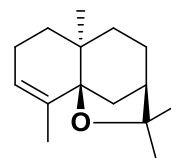
Composé :  $\alpha$ -Agarofurane (**64**) identifié dans l'essence de Santal Amyris

Indice de rétention : HP-1/Wax : 1555/1865

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>31</sup>

EIMS (70 eV) *m/z* (int. rel.): 220 [M]<sup>++</sup> (100), 205 (46), 202 (40), 187 (18), 177 (13), 162 (14), 159 (16), 147 (42), 123 (35), 109 (31), 105 (23), 95 (15), 91 (25), 82 (66), 67 (10), 55 (13), 43 (18), 41 (19)

<sup>1</sup>H (500 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  5,58–5,52 (1H, m, H-3), 2,08 (1H, ddd, *J* = 12,0, 4,8, 2,1 Hz, H-6a), 2,05–1,93 (2H, m, H-1a, H-2a), 1,92–1,81 (1H, m, H-2b), 1,78–1,70 (4H, m, H-15, H-9a),



1,66 (1H, q,  $J = 3,6$  Hz, H-7), 1,57–1,48 (2H, m, H-8a, H-8b), 1,50 (1H, d,  $J = 11,3$  Hz, H-6b), 1,31 (3H, s, H-13), 1,15 (3H, s, H-12), 1,11 (1H, ddd,  $J = 13,3, 5,8, 1,9$  Hz, H-9b), 1,04–0,98 (1H, m, H-1b), 0,88 (3H, s, H-14)

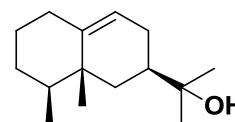
$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 7

Composé : 4,5-di-épi-Jinkoh-éremol (**90**)

Indice de rétention : HP-1/Wax : 1639/2165

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>31</sup>

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 222  $[\text{M}]^{+\bullet}$  (1), 204 (47), 189 (45), 161 (90), 147 (38), 133 (23), 119 (17), 105 (100), 91 (28), 81 (13), 59 (27), 43 (14)



$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  5,38 (1H, dt,  $J = 6,2, 1,6$  Hz, H-9), 2,28–2,16 (1H, m, H-1a), 2,02–1,89 (3H, m, H-1b, H-8a, H-6a), 1,80–1,69 (2H, m, H-2a, H-8b), 1,68–1,58 (1H, m, H-4), 1,50 (1H, dddd,  $J = 13,3, 11,4, 3,9, 2,2$  Hz, H-7), 1,44–1,40 (1H, m, H-3a), 1,31–1,26 (2H, m, H-3b, H-2b), 1,02 (3H, s, H-12), 1,01 (3H, s, H-13), 1,00–0,97 (1H, m, H-6b), 0,93 (3H, s, H-14), 0,78 (3H, d,  $J = 6,8$  Hz, H-15)

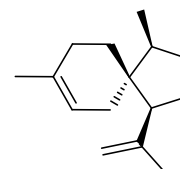
$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 7

Composé : 10-épi- $\beta$ -Acoradiène (**150**)

Indice de rétention : HP-1/Wax : 1486/1688

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 204  $[\text{M}]^{+\bullet}$  (14), 189 (13), 175 (4), 161 (24), 147 (27), 133 (15), 121 (55), 119 (100), 107 (21), 105 (38), 93 (52), 91 (27), 79 (24), 67 (12), 55 (8), 41 (9)



$^1\text{H}$  (400 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  5,39 (1H, dt,  $J = 2,9, 1,5$  Hz, H-3), 4,93 (1H, dd,  $J = 2,3, 1,4$  Hz, H-12a), 4,86–4,79 (1H, m, H-12b), 2,20–2,09 (1H, m, H-7), 2,06–1,96 (2H, m, H-2a, H-5a), 1,94–1,85 (2H, m, H-2b, H-5b), 1,83–1,76 (1H, m, H-8a), 1,76–1,73 (3H, m, H-13), 1,72–1,66 (3H, m, H-9a, H-10, H-8b), 1,64 (3H, d,  $J = 1,4$  Hz, H-15), 1,46 (2H, t,  $J = 6,4$  Hz, H-6ab), 1,34–1,26 (1H, m, H-9b), 0,94 (3H, d,  $J = 6,8$  Hz, H-14)

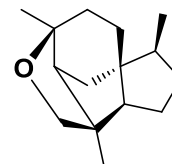
$^{13}\text{C}$  (101 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 8

Composé : 3,12-Epoxy-2-épi-funébrane (**153**)

Indice de rétention : HP-1/Wax : 1529/1790

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 220  $[M]^+$  (18), 205 (100), 189 (8), 177 (7), 161 (12), 148 (16), 133 (23), 121 (27), 119 (28), 107 (20), 105 (25), 97 (72), 91 (24), 81 (14), 79 (15), 67 (8), 55 (9), 43 (19)



$^1\text{H}$  (400 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  3,99 (1H, d,  $J = 8,9$  Hz, H-12a), 3,58 (1H, d,  $J = 8,8$  Hz, H-12b), 2,08 (1H, d,  $J = 5,1$  Hz, H-3), 2,07–1,98 (1H, m, H-9a), 1,63–1,52 (3H, m, H-5a, H-7, H-10), 1,41 (1H, d,  $J = 6,0$  Hz, H-9b), 1,35–1,31 (3H, m, H-2a, H-6ab), 1,29 (3H, s, H-15), 1,29–1,23 (3H, m, H-5b, H-8ab), 1,07 (3H, s, H-13), 0,82 (3H, d,  $J = 6,6$  Hz, H-14), 0,84–0,80 (1H, m, H-2b)

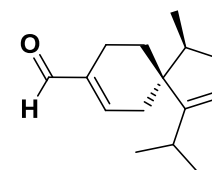
$^{13}\text{C}$  (101 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 7

Composé : 10-épi-Acora-3,7-diène-15-al (**168**)

Indice de rétention : HP-1/Wax : 1688/2171

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 218  $[M]^+$  (4), 203 (5), 190 (5), 175 (38), 162 (90), 147 (9), 136 (63), 135 (28), 121 (100), 107 (52), 93 (64), 91 (30), 79 (19), 77 (19), 67 (7), 55 (7), 41 (11)



$^1\text{H}$  (400 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  9,35 (1H, s, CHO), 6,05 (1H, ddt,  $J = 4,7, 3,2, 1,6$  Hz, H-3), 5,28 (1H, d,  $J = 2,8$  Hz, H-8), 2,47–2,36 (1H, m, H-5a), 2,29 (1H, ddt,  $J = 15,8, 6,4, 1,7$  Hz, H-9a), 2,18 (1H, dddd,  $J = 15,3, 10,6, 5,4, 2,7$  Hz, H-5b), 1,88 (1H, p,  $J = 6,8$  Hz, H-11), 1,77–1,67 (3H, m, H-2ab, H-10), 1,63 (1H, dt,  $J = 15,7, 2,4$  Hz, H-9b), 1,44 (1H, dddd,  $J = 13,7, 5,2, 3,4, 1,3$  Hz, H-6a), 1,21 (1H, ddd,  $J = 13,4, 10,6, 5,9$  Hz, H-6b), 0,99 (3H, d,  $J = 6,8$  Hz, H-12), 0,95 (3H, d,  $J = 6,7$  Hz, H-13), 0,72 (3H, d,  $J = 6,8$  Hz, H-14)

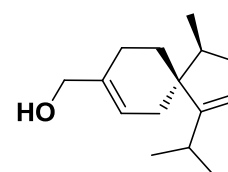
$^{13}\text{C}$  (101 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  voir Tableau 8

Composé : 10-épi-Acora-3,7-diène-15-ol (**169**)

Indice de rétention : HP-1/Wax : 1705/2379

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 220  $[M]^+$  (14), 177 (7), 136 (100), 121 (66), 107 (34), 93 (41), 79 (11), 67 (4), 55 (5), 41 (8)



$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  5,58–5,49 (1H, m, H-3), 5,35 (1H, t,  $J = 1,9$  Hz, H-8), 3,81 (2H, s, H-15), 2,44 (1H, ddt,  $J = 15,6, 6,5, 1,6$  Hz, H-9a), 2,12 (1H, pd,  $J = 6,8, 1,4$  Hz, H-11), 2,03 (1H, td,  $J = 6,8, 2,6$  Hz, H-10), 2,02–1,96 (2H, m, H-5ab), 1,94–1,87 (1H,

m, H-2a), 1,83–1,76 (1H, m, H-2b), 1,74 (1H, dt,  $J = 15,7, 2,8$  Hz, H-9b), 1,61 (1H, dddd,  $J = 13,1, 5,6, 3,8, 1,7$  Hz, H-6a), 1,52 (1H, ddd,  $J = 13,1, 10,0, 6,1$  Hz, H-6b), 1,08 (3H, d,  $J = 6,8$  Hz, H-12), 1,05 (3H, d,  $J = 6,8$  Hz, H-13), 0,90 (3H, d,  $J = 6,9$  Hz, H-14);

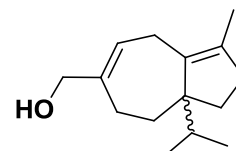
$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  voir Tableau 8

Composé : 1,7-Cyclogermacra-1(10),3-dién-15-ol (**171**)

Indice de rétention : HP-1/Wax : 1721/2410

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 220  $[\text{M}]^{+\bullet}$  (2), 177 (58), 159 (100), 144 (8), 131 (22), 117 (16), 105 (12), 91 (17), 77 (7), 67 (3), 55 (4), 41 (5)



$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  5,52–5,45 (1H, m, H-3), 3,72 (2H, s, H-15ab), 2,79 (1H, dd,  $J = 17,0, 7,3$  Hz, H-2a), 2,50 (1H, d,  $J = 17,1$  Hz, H-2b), 2,21–2,12 (2H, m, H-9ab), 2,05–1,95 (1H, m, H-5a), 1,91 (1H, td,  $J = 4,2, 2,3$  Hz, H-5b), 1,84 (1H, dt,  $J = 13,6, 6,2$  Hz, H-8a), 1,78 (1H, dt,  $J = 13,7, 6,9$  Hz, H-11), 1,57 (3H, q,  $J = 1,0$  Hz, H-14), 1,55–1,52 (2H, m, H-6ab), 1,37–1,31 (1H, m, H-8b), 0,88 (3H, d,  $J = 6,8$  Hz, H-12), 0,77 (3H, d,  $J = 6,9$  Hz, H-13)

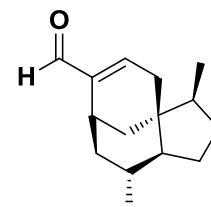
$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  voir Tableau 7

Composé : Araucari-4-én-15-al (**174**)

Indice de rétention : HP-1/Wax : 1735/2253

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 218  $[\text{M}]^{+\bullet}$  (100), 203 (14), 200 (15), 189 (14), 176 (39), 161 (19), 147 (30), 133 (29), 121 (22), 107 (29), 105 (37), 93 (20), 91 (40), 79 (25), 67 (13), 55 (13), 41 (13)



$^1\text{H}$  (400 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  9,31 (1H, s, CHO), 6,10 (1H, t,  $J = 3,7$  Hz, H-5), 3,17 (1H, t,  $J = 3,0$  Hz, H-3), 1,70–1,59 (3H, m, H-12a, H-6a, H-9a), 1,58–1,52 (1H, m, H-8a), 1,40 (1H, ddd,  $J = 11,9, 3,2, 1,6$  Hz, H-2a), 1,32 (1H, dd,  $J = 21,1, 4,0$  Hz, H-6b), 1,28–1,21 (1H, m, H-10), 1,05–0,91 (4H, m, H-11, H-9b, H-12b, H-8b), 0,86 (1H, dd,  $J = 11,9, 2,8$  Hz, H-2b), 0,75–0,72 (1H, m, H-7), 0,70 (3H, d,  $J = 6,4$  Hz, H-13), 0,68 (3H, d,  $J = 6,8$  Hz, H-14)

$^{13}\text{C}$  (101 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  voir Tableau 7

Composé :  $\beta$ -Acoradiénol (**175**)

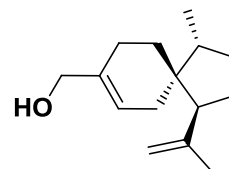
Indice de rétention : HP-1/Wax : 1761/2490

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>32</sup>

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 220 [M]<sup>++</sup> (5), 202 (5), 189 (19), 177 (16), 159 (9), 147 (26), 135 (100), 121 (20), 119 (19), 109 (23), 107 (33), 105 (53), 93 (27), 91 (48), 79 (54), 67 (24), 55 (18), 41 (15)

<sup>1</sup>H (500 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ 5,53 (1H, dq,  $J = 4,9, 3,1, 2,2$  Hz, H-3), 4,96–4,87 (1H, m, H-12a), 4,76 (1H, dt,  $J = 2,4, 0,8$  Hz, H-12b), 3,78 (2H, s, H-15), 2,23 (1H, dd,  $J = 10,1, 7,3$  Hz, H-7), 2,07–1,99 (1H, m, H-5a), 1,97–1,90 (2H, m, H-5b, H-2a), 1,84–1,76 (2H, m, H-9a, H-2b), 1,75–1,69 (1H, m, H-10), 1,68 (3H, dd,  $J = 1,5, 0,8$  Hz, H-13), 1,66–1,62 (1H, m, H-8a), 1,59–1,53 (1H, m, H-8b), 1,35–1,28 (2H, m, H-6ab), 1,13–1,07 (1H, m, H-9b), 0,85 (3H, d,  $J = 6,9$  Hz, H-14)

<sup>13</sup>C (126 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ voir Tableau 8



Composé : 10-épi-β-Acoradiénol (**176**)

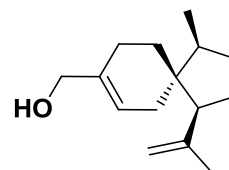
Indice de rétention : HP-1/Wax : 1768/2497

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 220 [M]<sup>++</sup> (5), 202 (5), 189 (17), 177 (16), 159 (9), 147 (26), 135 (100), 121 (20), 119 (19), 109 (23), 107 (33), 105 (53), 93 (27), 91 (46), 79 (54), 67 (24), 55 (18), 41 (16)

<sup>1</sup>H (400 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ 5,53 (1H, dd,  $J = 3,0, 1,5$  Hz, H-3), 4,95–4,87 (1H, m, H-12a), 4,84–4,77 (1H, m, H-12b), 3,80 (2H, s, H-15ab), 2,10 (1H, dt,  $J = 8,5, 6,7$  Hz, H-7), 2,07–2,00 (1H, m, H-5a), 1,99–1,89 (2H, m, H-2a, H-5b), 1,90–1,81 (1H, m, H-2b), 1,81–1,74 (1H, m, H-8a), 1,73–1,70 (3H, m, H-13), 1,69–1,60 (3H, m, H-9a, H-10, H-8b), 1,43 (2H, dd,  $J = 7,3, 6,2$  Hz, H-6ab), 1,34–1,23 (1H, m, H-9b), 0,91 (3H, d,  $J = 6,9$  Hz, H-14)

<sup>13</sup>C (101 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) voir Tableau 8



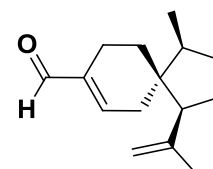
Composé : 10-épi-β-Acoradién-15-al (**178**)

Indice de rétention : HP-1/Wax : 1761/2323

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 218 (30), 203 (16), 189 (21), 176 (36), 175 (44), 162 (21), 161 (21), 148 (27), 147 (43), 134 (44), 133 (100), 121 (26), 119 (28), 107 (72), 105 (84), 91 (84), 79 (73), 77 (45), 68 (53), 67 (53), 55 (31), 41 (32)

<sup>1</sup>H (400 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ 9,34 (1H, s, CHO), 6,12–6,01 (1H, m, H-3), 4,76 (2H, dt,  $J = 57,7, 1,6$  Hz, H-12ab), 2,46–2,33 (1H, m, H-5a), 2,29–2,19 (1H, m, H-5b), 1,98–1,89 (2H, m,



H-7, H-2a), 1,78–1,73 (1H, m, H-2b), 1,69–1,60 (3H, m, H-8ab, H-9a), 1,56 (3H, d,  $J = 1,3$  Hz, H-13), 1,42–1,33 (1H, m, H-10), 1,16–1,07 (3H, m, H-6ab, H-9b), 0,72 (3H, d,  $J = 7,1$  Hz, H-14)

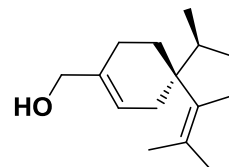
$^{13}\text{C}$  (101 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  voir Tableau 8

Composé : 10-*épi*-Acora-3,7(11)-dién-15-ol (**183**)

Indice de rétention : HP-1/Wax : 1807/2538

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 220  $[\text{M}]^{++}$  (8), 177 (6), 146 (4), 136 (57), 121 (100), 107 (7), 93 (10), 91 (11), 79 (8), 77 (7), 55 (4), 41 (5)



$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  5,51 (1H, dd,  $J = 3,2, 1,5$  Hz, H-3), 3,82 (2H, s, H-15), 2,40–2,30 (1H, m, H-8a), 2,31–2,23 (1H, m, H-8b), 2,20 (1H, ddq,  $J = 18,5, 4,9, 2,5$  Hz, H-2a), 2,06–1,91 (4H, m, H-2b, H-6a, H-5ab), 1,92–1,84 (1H, m, H-10), 1,75–1,69 (1H, m, H-9a), 1,71 (3H, t,  $J = 2,0$  Hz, H-12), 1,65–1,62 (1H, m, H-6b), 1,62 (3H, t,  $J = 1,3$  Hz, H-13), 1,28 (1H, ddt,  $J = 12,3, 8,5, 3,6$  Hz, H-9b), 0,87 (3H, d,  $J = 6,9$  Hz, H-14)

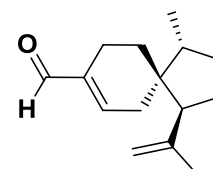
$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  voir Tableau 8

Composé :  $\beta$ -Acoradién-15-al (**444**)

Indice de rétention : HP-1/Wax : 1750/2298

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>32</sup>

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 218 (30), 203 (16), 189 (21), 176 (32), 175 (40), 162 (21), 161 (21), 148 (27), 147 (43), 134 (44), 133 (100), 121 (26), 119 (28), 107 (72), 105 (94), 91 (86), 79 (73), 77 (45), 68 (53), 67 (53), 55 (31), 41 (32)



$^1\text{H}$  (400 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  9,32 (1H, s, CHO), 6,10 (1H, dd,  $J = 3,4, 1,8$  Hz, H-3), 4,85 (1H, dd,  $J = 2,5, 1,4$  Hz, H-12a), 4,64 (1H, d,  $J = 2,3$  Hz, H-12b), 2,52–2,39 (1H, m, H-5a), 2,16–2,00 (2H, m, H-5b, H-7), 1,88–1,79 (1H, m, H-2a), 1,67 (2H, m, H-2b, H-9a), 1,57 (3H, d,  $J = 1,3$  Hz, H-13), 1,54–1,38 (3H, m, H-8ab, H-10), 1,15–1,01 (2H, m, H-6ab), 0,99–0,91 (1H, m, H-9b), 0,62 (3H, d,  $J = 7,0$  Hz, H-14)

$^{13}\text{C}$  (101 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  voir Tableau 8

## Références

- (1) Pye M. G., Gadek P. A., Edwards K. J., Divergence, diversity and species of the Australasian *Callitris* (Cupressaceae) and allied genera: evidence from ITS sequence data, *Aust. Syst. Bot.*, **2003**, 16, 505.
- (2) Byng J. *The Gymnosperms Handbook: a practical guide to extant families and genera of the world*. Plant Gateway: Hertford (UK), **2015**.
- (3) Pillon Y., Barrabé L., Buerki S., How many genera of vascular plants are endemic to New Caledonia? A critical review based on phylogenetic evidence, *Bot. J. Linear. Soc.*, **2017**, 183, 177.
- (4) Woltz P., Cherrier J. F., A propos du *Neocallitropsis pancheri* (Carr.) de Laub. Cupressaceae endémique de Nouvelle-Calédonie et de l'évolution vasculaire de la plantule, *Bull. Soc. bot. Fr.*, **1984**, 131, 191.
- (5) Arctander S. *Perfume and flavor materials of natural origin*; Arctander, S.: Elizabeth, New Jersey (USA), **1960**.
- (6) Tome 6 - La Nouvelle-Calédonie, *Rapport National France - L'état des ressources génétiques forestières mondiales (FAO)*, **2014**, 1ère édition, 27 pp.
- (7) Thomas P., *Neocallitropsis pancheri*, *The IUCN Red List of Threatened Species 2010: e.T30997A9592160.*, **2010**.
- (8) Tanguy J., Jean-Marie V., J.F. C., Sur la présence de deux Cupressaceae, *Neocallitropsis pancheri* (Carr.) Laubenf. et *Libocedrus austrocaledonica* Brongn. et Gris dans le massif du Paéoua et localités nouvelles de Gymnospermes en Nouvelle-Calédonie., *Bull. Mus. natn. Hist. nat., Paris, section B, Adansonia*, **1987**, 9, 273.
- (9) Raharivelomanana P., Etude de l'huile essentielle de *Neocallitropsis pancheri* : Apports des techniques de RMN multi-impulsionnelles et bidimensionnelles à l'étude des structures sesquiterpeniques, University of Nice, **1992**.
- (10) Raharivelomanana P., Cambon A., Azzaro M., Bianchini J.-P., Claude-Lafontaine A., George G., Volatile Constituents of *Neocallitropsis pancheri* (Carrière) de *Laubenfels* Heartwood Extracts (Cupressaceae), *J. Essent. Oil Res.*, **1993**, 5, 587.
- (11) Raharivelomanana P., Bianchini J.-P., Cambon A., Azzaro M., Faure R., Two-dimensional NMR of sesquiterpenes. 8—complete assignment of 1H and 13C NMR spectra of seven sesquiterpene alcohols from *Neocallitropsis pancheri*, *Magn. Reson. Chem.*, **1995**, 33, 233.
- (12) Raharivelomanana P., Cambon A., Azzaro M., Bianchini J.-P., Faure R.,  $\beta$ -Bisabolanol and  $\beta$ -Bisabolenal, Two New Bisabolene Sesquiterpenes from *Neocallitropsis pancheri*, *J. Nat. Prod.*, **1993**, 56, 272.
- (13) Raharivelomanana P., Faure R., Cambon A., Azzaro M.,  $\beta$ -Acoradienol, a sesquiterpene alcohol from *Neocallitropsis pancheri*, *Phytochemistry*, **1993**, 33, 235.
- (14) Raharivelomanana P., Bianchini J.-P., Faure R., Cambon A., Azzaro M., Two guaiane and eudesmane-type sesquiterpenoids from *Neocallitropsis pancheri*, *Phytochemistry*, **1996**, 41, 243.
- (15) Raharivelomanana P., Bianchini J.-P., Faure R., Cambon A., Azzaro M., Jinkoholic acid, a prezizane sesquiterpene from *Neocallitropsis pancheri*, *Phytochemistry*, **1994**, 35, 1059.
- (16) Lebouvier N., Menut C., Hnawia E., Illinger A., Cabalion P., Nour M., Chemical investigations of essential oils from endemic Cupressaceae trees from New Caledonia, *Nat. Prod. Commun.*, **2010**, 5, 949.
- (17) Maurer B., Grieder A., Sesquiterpenoids from Costus Root Oil (*Saussurea lappa* CLARKE), *Helv. Chim. Acta*, **1977**, 60, 2177.
- (18) van Beek T. A., Kleis R., Posthumus M. A., van Veldhuizen A., Essential oil of *Amyris balsamifera*, *Phytochemistry*, **1989**, 28, 1909.
- (19) Sell C. S. *A fragrant introduction to terpenoid chemistry*; Royal Society of Chemistry, **2003**.

- (20) Hong Y. J., Tantillo D. J., Consequences of conformational preorganization in sesquiterpene biosynthesis: Theoretical studies on the formation of the bisabolene, curcumene, acoradiene, zizaene, cedrene, duprezianene, and sesquithuriferol sesquiterpenes, *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, *131*, 7999.
- (21) Baldovini N., Delasalle C., Joulain D., Phytochemistry of the heartwood from fragrant *Santalum* species: a review, *Flavour Fragr. J.*, **2011**, *26*, 7.
- (22) Adams R. P. In *Essential Oils and Waxes*; Linskens, H. F., Jackson, J. F., Eds.; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 1991, p 159.
- (23) Cankar K., van Houwelingen A., Goedbloed M., Renirie R., de Jong R. M., Bouwmeester H., Bosch D., Sonke T., Beekwilder J., Valencene oxidase CYP706M1 from Alaska cedar (*Callitropsis nootkatensis*), *FEBS Lett.*, **2014**, 588, 1001.
- (24) Maheshwari M. L., Jain T. C., Bates R. B., Bhattacharyya S. C., Terpenoids—XLI: Structure and absolute configuration of  $\alpha$ -agarofuran,  $\beta$ -agarofuran and dihydroagarofuran, *Tetrahedron*, **1963**, *19*, 1079.
- (25) Rohmer M., Schwartz A.-C., Anton R., Sesquiterpenes from essential oil of *Amyris balsamifera*, *Phytochemistry*, **1977**, *16*, 773.
- (26) Adams R. P. *Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy*. 4th Ed.; Allured Pub. Corp., **2007**.
- (27) Baggaley K. H., Erdtman H., Norin T., Some new cedrane derivatives from *Juniperus foetidissima* willd.: Configuration of cedrolic acid, *Tetrahedron*, **1968**, *24*, 3399.
- (28) Brun P., Casanova J., Raju M. S., Waegell B., Wenkert E., Zahra J. P., Structural studies in the cedrane series by <sup>13</sup>C NMR, *Magn. Reson. Chem.*, **1987**, *25*, 619.
- (29) Okugawa H., Ueda R., Matsumoto K., Kawanishi K., Kato A., Effect of Jinkoh-eremol and Agarospirol from Agarwood on the Central Nervous System in Mice, *Planta Med.*, **1996**, *62*, 2.
- (30) Ishihara M., Tsuneya T., Uneyama K., Fragrant sesquiterpenes from agarwood, *Phytochemistry*, **1993**, *33*, 1147.
- (31) Itokawa H., Morita H., Watanabe K., Mihashi S., Iitaka Y., Agarofuran-, eudesmane- and eremophilane-type sesquiterpenoids from *Alpinia japonica* (THUNB.) MIQ, *Chem. Pharm. Bull.*, **1985**, *33*, 1148.
- (32) Weyerstahl P., Marschall H., Splittgerber U., Wolf D., 1,7-Cyclogermacra-1(10),4-dien-15-al, a sesquiterpene with a novel skeleton, and other sesquiterpenes from Haitian vetiver oil, *Flavour Fragr. J.*, **2000**, *15*, 61.
- (33) Cool L. G., Sesquiterpenes from *Cupressus macrocarpa* foliage, *Phytochemistry*, **2005**, *66*, 249.
- (34) Piovetti L., Combaut G., Diara A., Monoterpenes et sesquiterpenes oxygenes de *Cupressus dupreziana*, *Phytochemistry*, **1980**, *19*, 2117.
- (35) Cachet T., Brevard H., Chaintreau A., Demyttenaere J., French L., Gassenmeier K., Joulain D., Koenig T., Leijts H., Liddle P., Loesing G., Marchant M., Merle P., Saito K., Schippa C., Sekiya F., Smith T., IOFI recommended practice for the use of predicted relative-response factors for the rapid quantification of volatile flavouring compounds by GC-FID, *Flavour Fragr. J.*, **2016**, *31*, 191.
- (36) Tissot E., Rochat S., Debonneville C., Chaintreau A., Rapid GC-FID quantification technique without authentic samples using predicted response factors, *Flavour Fragr. J.*, **2012**, *27*, 290.
- (37) Joulain D., König W. *The atlas of spectral data of sesquiterpene hydrocarbons*; EB-Verlag: Hamburg, **1998**.
- (38) Grosch W., Determination of Potent Odourants in Foods by Aroma Extract Dilution Analysis (AEDA) and Calculation of Odour Activity Values (OAVs), *Flavour Fragr. J.*, **1994**, *9*, 147.



(39) Ferreira V., Pet'ka J., Aznar M., Aroma Extract Dilution Analysis. Precision and optimal experimental design, *J. Agric. Food Chem.*, **2002**, *50*, 1508.

## Chapitre III : L'huile essentielle de Patchouli : Les secrets d'une matière première emblématique – *Pogostemon cablin*

### III.1. Considérations générales et études antérieures

*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth. est une plante vivace de la famille des lamiacées, principalement cultivée en Indonésie et dans d'autres pays tropicaux de l'Asie du Sud-Est. La distillation à la vapeur (ou hydrodistillation) de ses feuilles séchées et partiellement fermentées produit une huile essentielle à l'odeur unique camphrée et boisée (Rendement 3-4 %). Cette essence est prisée par les parfumeurs pour se fondre dans des compositions odorantes modernes, mais aussi pour élaborer certains des accords les plus emblématiques tels que les parfums orientaux et ceux de la famille des Chypres.<sup>1</sup> Agréable et peu coûteuse, l'huile essentielle de patchouli est actuellement l'un des principaux ingrédients naturels de l'industrie des parfums.<sup>2</sup> De nos jours, on estime que la production mondiale d'huile essentielle de patchouli atteint les 1 300 tonnes par an, principalement à partir des îles indonésiennes de Sumatra et de Sulawesi.<sup>3</sup>

En raison de son importance pour l'industrie des parfums et des cosmétiques, l'essence de patchouli est donc étudiée depuis plus d'un siècle et elle a vu tous les experts en terpénoïdes et certains chimistes organiciens parmi les plus renommés élucider les structures de ses constituants. Récemment, van Beek et Joulain ont publié une synthèse complète des études les plus pertinentes ayant apportées une contribution décisive à la connaissance de l'huile de patchouli en termes de composition chimique, de processus d'extraction et d'aspects agricoles.<sup>2</sup> Dans le cadre de leurs travaux, les auteurs ont souligné un manque assez important de caractérisation, concernant principalement l'identification des constituants mineurs susceptibles de contribuer à l'odeur caractéristique de l'essence de patchouli, voire de servir de marqueurs de qualité. Selon les auteurs qui ont examiné près de 600 références bibliographiques, seuls 72 composés organiques peuvent actuellement être considérés comme des constituants de l'huile de patchouli. 58 molécules supplémentaires sont également répertoriées, mais leur présence n'est pas définitivement confirmée. Dans leur revue, les auteurs ont également indiqué que « *a good GC×GC study on PEO, comparable to the state-of-the-art one on vetiver oil<sup>4</sup>, is regrettably still lacking. Anyhow, even if such a study would be performed, it is doubtful whether it would lead to many newly identified components as the*

*mass spectral identification is only as good as the mass spectral database and many PEO components probably do not occur in the commercial databases. However due to the much higher chromatographic resolution of the GC×GC separation, at least one would know how many more constituents are awaiting their structural elucidation, i.e., they would be upgraded from “unknown unknowns” to “known unknowns”* ». Considérant ces propos comme une demande indirecte, nous avons entrepris une analyse analytique détaillée de plusieurs essences de patchouli commerciales ainsi que de son équivalent issu de la biotechnologie, récemment commercialisé, le Clearwood™. Comme précédemment effectué pour les autres matières premières étudiées dans ce mémoire, nous avons concentré nos efforts sur l'identification des constituants mineurs de cette essence emblématique.

Notre travail expérimental repose sur une combinaison de techniques chromatographiques comprenant la chromatographie semi-préparative pour l'isolement des constituants, la chromatographie en phase gazeuse bidimensionnelle intégrale (GC × GC–FID/MS) pour l'analyse qualitative et quantitative des échantillons sélectionnés et enfin la chromatographie en phase gazeuse couplée à l'olfactométrie (GC–O/MS) pour la détermination des composés odorants actifs.

### III.2. Analyse globale de la composition chimique de l'essence de patchouli

#### III.2.1. Analyse qualitative par GC × GC–MS de l'essence de patchouli

Comme indiqué précédemment, la GC × GC–MS permet d'observer bien plus de composés dans les huiles essentielles de patchouli qu'une analyse GC–MS classique (Figure 12). Ainsi, une première analyse GC × GC–MS d'un échantillon représentatif a été effectuée. À partir de la concentration de 25 mg/mL de MTBE et en utilisant un rapport de division de 1/20<sup>ème</sup> à l'injection, plus de 210 pics avec un rapport S/N > 10 ont été détectés sur le chromatogramme 2D. Au total, 121 constituants peuvent être facilement détectés. De toute évidence, les essences de patchouli sont diverses et un seul échantillon ne peut couvrir toute la variabilité chimique. Cependant, cette analyse par GC × GC amène un avantage décisif sur l'analyse des composés minoritaires de cette huile essentielle, indiquant ainsi combien de composés inconnus n'avaient pas encore été dévoilés. En s'appuyant sur cette analyse, nous avons entrepris l'isolement et la caractérisation de ces composés inconnus.

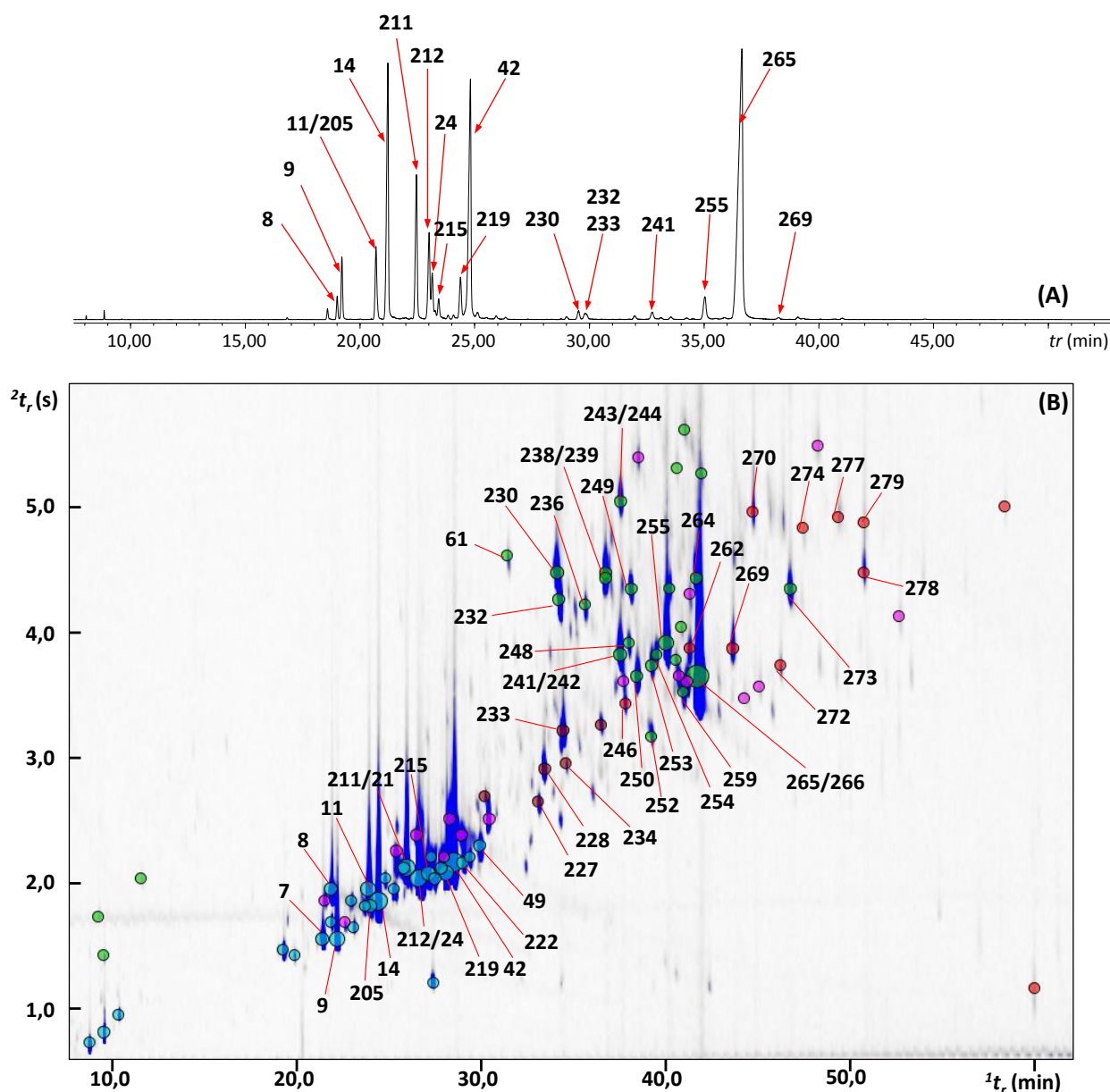


Figure 12. (A) Analyse GC-MS sur colonne apolaire (VF-5ms) pointant les principaux constituants de l'essence de patchouli. (B) Analyse GC  $\times$  GC-MS du même échantillon pointant également une partie des composés isolés dans cette étude. Les hydrocarbures apparaissent sous la forme de cercle bleu foncé, les éthers sont en marron, les cétones en rouge, les inconnus en rose et les alcools sont affichés en vert.

Dans le but d'isoler autant de composés inconnus que possible, un échantillon d'une huile essentielle fraîchement distillée (conforme à la norme ISO3757) a été séparé en 14 fractions avec un gradient de solvant de polarité croissante (Figure 13). Les fractions d'essence contenant les composés d'intérêt ont été chromatographiées de manière répétée soit sur du gel de silice standard, soit sur du gel de silice imprégné de  $\text{AgNO}_3$  (5 % en  $m/m$ ). Dans la mesure du possible, les sous-fractions résultantes ont été exploitées par GC semi-préparative afin d'isoler les constituants-cibles.

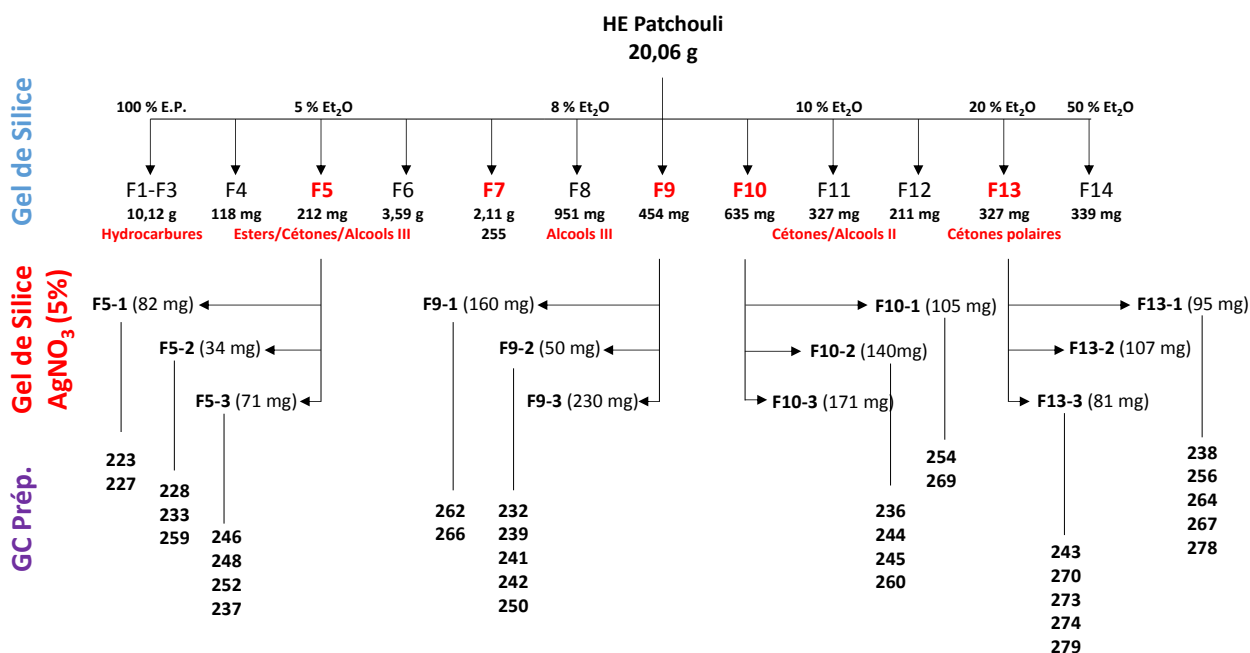


Figure 13. Schéma expérimental décrivant la méthodologie de fractionnement et d'isolement des constituants de l'essence de patchouli.

### III.2.2. Identification et isolement des éthers

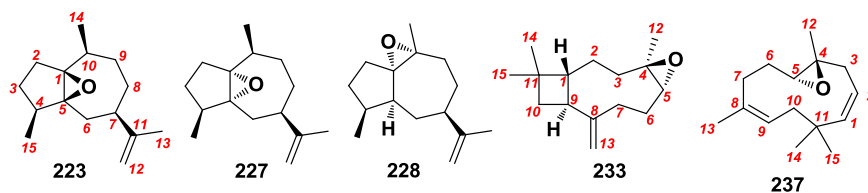
Une analyse rapide des fractions oxygénées a permis d'identifier directement le patchoulol (**265**), le norpatchoulénol (**230**) et le nortétracyclopatchoulol (**249**) en comparant leurs spectres MS à ceux de la littérature.<sup>5,6</sup> Le patchoulol (**265**) a également été isolé de la fraction F6 et sa structure a été confirmée en comparant ses données de RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C avec celles de la littérature.<sup>7</sup>

De manière similaire, les époxydes tels que l'oxyde de caryophyllène (**233**), l'oxyde d'humulène II (**237**), les deux 1,5-époxy- $\alpha$ -guaïènes (**223** et **227**) et les deux 1,10-époxybulnènes (**228** et **234**) ont été visibles à partir des fractions oxygénées les moins polaires de l'huile essentielle (F4–F5; 2–5 % Et<sub>2</sub>O). La présence de certains de ces éthers a été également confirmée par RMN, après isolement par GC semi-préparative (

Tableau 12). Comme précédemment supposé par Teisseire, les époxydes **228** et **234** présents dans les essences de patchouli résultent de l'oxydation naturelle de l' $\alpha$ -bulnésène (**42**).<sup>8</sup> Le *cis*-1,10-époxy- $\alpha$ -bulnésène (**234**) est présent en plus faible quantité que son équivalent *trans* dans les échantillons frais d'huile essentielle de patchouli. Toutefois, il est parfaitement identifiable dans les échantillons vieillis (voir III.4). De plus, comme l' $\alpha$ -guaïène (**14**), l' $\alpha$ -bulnésène (**42**) et l'aciphyllène (**219**) sont les principaux hydrocarbures de l'essence,<sup>2</sup> il n'est pas surprenant

d'identifier une série de dérivés oxygénés probablement liée à la biosynthèse de ces squelettes ou à l'oxydation naturelle de ces hydrocarbures.

Tableau 12. Déplacements chimiques  $^{13}\text{C}$  (en ppm) de différents époxydes isolés de l'essence de patchouli



#C	223 <sup>a</sup>	227 <sup>a</sup>	228 <sup>a</sup>	233 <sup>a</sup>	237 <sup>a</sup>
1	72,5	71,9	75,0	50,93	142,63
2	28,3	27,7	30,0	27,55	122,95
3	31,4	29,8	37,7	39,67	43,04
4	38,4	40,6	37,9	58,82	62,51
5	72,6	73,0	49,3	36,11	61,23
6	31,8	34,2	30,7	30,80	25,30
7	43,5	43,8	50,9	29,91	37,00
8	32,2	31,3	31,1	152,12	132,11
9	28,6	29,7	29,7	49,06	125,76
10	34,5	32,7	62,6	39,99	40,58
11	150,6	151,8	151,4	33,98	36,37
12	109,1	108,9	109,0	17,37	17,50
13	20,0	21,0	21,0	112,77	15,06
14	13,9	16,0	20,6	21,73	29,05
15	18,5	17,0	15,3	30,05	25,80
Ref	[37] <sup>b</sup>	[37] <sup>b</sup>	[60] <sup>b</sup>	[55] <sup>b</sup>	[56] <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Enregistré dans le benzène- $d_6$ . <sup>b</sup> Données des études antérieures : RMN du  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  disponibles.

### III.2.3. Isolement et identification de dérivés guaïanes et patchoulanes

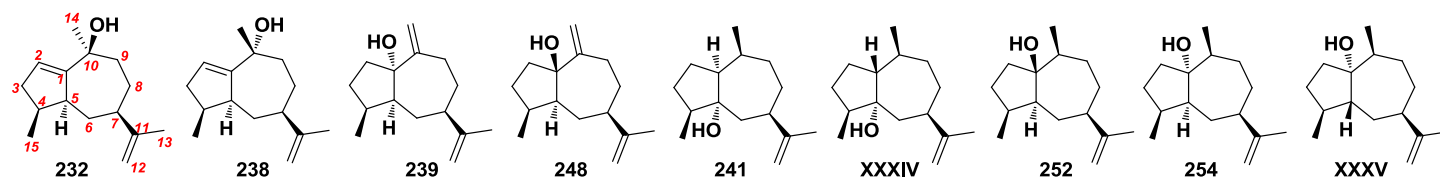
Pour les huiles essentielles riches en alcools tertiaires telles que l'essence de patchouli, l'hydratation des hydrocarbures menant aux alcools sesquiterpéniques en  $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$  (222 g/mol) est plutôt improbable. Au contraire, la déshydratation des alcools est susceptible de se produire, lors de la distillation à la vapeur, conduisant ainsi aux hydrocarbures en  $\text{C}_{15}\text{H}_{24}$  (204 g/mol). Néanmoins, on s'attend à ce que ces hydrocarbures subissent divers processus d'oxydation donnant soit les époxydes en  $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}$  (220 g/mol) soit des hydropéroxydes ( $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}_2$ ), pouvant par la suite conduire à la formation de leur alcool allylique correspondant ( $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}$ ; 220 g/mol).<sup>9</sup>

Le pogostol (**255**) est probablement le premier alcool guaïanique identifié dans l'essence de patchouli (Tableau 14).<sup>10</sup> Présent en quantité non négligeable, **255** est l'un des constituants les plus rapportés dans l'huile essentielle de patchouli.<sup>2</sup> Néanmoins, comme déjà mentionné par van Beek et Joulain, la stéréochimie actuelle associée à son numéro CAS

[21698-41-9] est erronée. En accord avec la configuration naturelle des hydrocarbures à squelette guaiane présents dans l'essence de patchouli, mais aussi d'après l'examen de son spectre NOESY obtenu après isolement, la stéréochimie correcte, montrée en Tableau 14, est sans équivoque l'inverse de celle décrite par Amand et al.<sup>13</sup>

En plus de **255**, nous isolons et identifions pour la première fois son stéréoisomère, le 1,10-di-*épi*-pogostol (**250**). Sa structure a été confirmée par l'examen de son spectre NOESY. Booker-Milburn et al. ont prétendu avoir synthétisé ce composé avec un autre isomère du pogostol,<sup>14</sup> toutefois aucune de leurs données RMN ne correspondent aux nôtres.

Tableau 13. Déplacements chimiques <sup>13</sup>C (en ppm) des différents alcools guaïaniques isolés de l'essence de patchouli



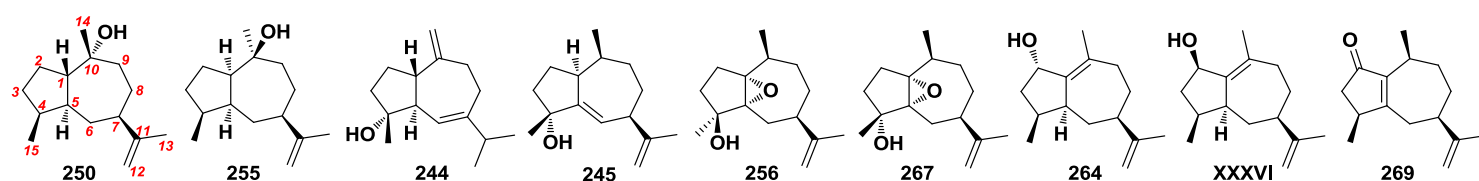
#C	232 <sup>a</sup>	238 <sup>a</sup>	239 <sup>a</sup>	248 <sup>a</sup>	241 <sup>a</sup>	XXXIV <sup>c</sup>	252 <sup>a</sup>	254 <sup>a</sup>	XXXV <sup>c</sup>
1	159,17	156,98	86,72	84,19	56,67	51,7	83,77	87,11	85,6
2	124,12	124,64	36,73	40,74	20,09	42,7	40,71	32,32	40,5
3	38,12	38,41	31,19	32,00	28,51	31,1	31,73	30,53	33,2
4	40,02	39,59	35,80	36,32	46,72	49,8	37,25	36,28	40,7
5	47,84	47,03	54,36	49,74	80,40	82,8	50,35	58,30	47,5
6	35,62	35,25	30,61	31,20	35,36	30,3	29,12	27,93	31,2
7	50,80	50,35	49,89	49,36	37,53	43,4	45,95	45,31	45,7
8	29,20	30,26	37,93	34,24	31,76	30,3	31,65	31,24	26,6
9	42,67	42,25	33,04	35,79	27,48	34,9	30,63	28,97	32,2
10	73,38	71,91	156,51	157,17	29,17	34,2	43,74	40,81	40,5
11	151,90	151,69	151,54	151,98	152,45	152,2	152,30	151,94	152,5
12	108,87	108,85	108,81	108,72	108,50	108,7	108,43	108,45	108,3
13	20,70	20,79	20,66	20,66	20,45	20,9	20,77	19,91	20,0
14	32,44	28,57	111,51	110,80	23,42	22,9	17,93	18,74	15,9
15	15,47	15,59	16,17	19,10	13,58	18,2	18,83	16,17	19,0
Réf		[11] <sup>b</sup>	[11] <sup>b</sup>			[12] <sup>b</sup>			[12] <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Enregistré dans le benzène-*d*<sub>6</sub>. <sup>b</sup> Données des études antérieures : RMN du <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C disponibles. <sup>c</sup> Composé non isolé de l'essence de patchouli.

En plus du pogostol, plusieurs dérivés guaïaniques supplémentaires ont été rapportés dans l'essence de *P. cablin*. En 2004, Kiuchi et al. identifient trois hydropéroxydes dans un extrait solvant, le 10 $\alpha$ -hydropéroxyguaia-1,11-diène, le 1 $\alpha$ -hydropéroxyguaia-10(14),11-diène et le 14-hydropéroxyguaia-1(10),11-diène.<sup>9</sup> Ces trois hydropéroxydes pourraient potentiellement conduire aux alcools allyliques correspondants. Néanmoins, seul le guaia-10(14),11-dién-1 $\alpha$ -ol (**239**) a été trouvé dans leur extrait. Plus récemment, Zaizen et al. ont identifié deux nouveaux alcools à squelette guaïane dans l'essence de patchouli, à savoir le guaia-1,11-dién-10-ol et le guai-11-én-5-ol, sans toutefois donner d'informations

stéréochimiques.<sup>6</sup> Nous confirmons ici la présence de plusieurs de ces composés dans nos échantillons d'essence de patchouli. Le guaia-10(14),11-dién-1 $\alpha$ -ol (**239**) a été ainsi isolé par GC semi-préparative et ses déplacements chimiques en RMN du <sup>13</sup>C sont en accord avec ceux précédemment rapportés (Tableau 13).<sup>11,19</sup> Cependant, ceci constitue sa première identification dans une huile essentielle de patchouli. De plus, un épimère de **239** avec un spectre de masse similaire a été isolé de la fraction F5 et identifié par RMN comme étant le guaia-10(14),11-dién-1 $\beta$ -ol (**248**). À notre connaissance, ce composé n'a pas été rapporté dans un extrait naturel.

Tableau 14. Déplacements chimiques <sup>13</sup>C (en ppm) des différents dérivés guaïaniques isolés de l'essence de patchouli.



#C	250 <sup>a</sup>	255 <sup>a</sup>	244 <sup>c</sup>	245 <sup>c</sup>	256 <sup>d</sup>	267 <sup>d</sup>	264 <sup>c</sup>	XXXVI <sup>e</sup>	269 <sup>a</sup>
1	52,66	55,49	47,51	47,75	74,6	71,5	146,63	145,01	145,57
2	25,92	26,30	25,21	27,39	27,8	27,4	72,13	73,69	208,22
3	32,12	31,26	40,55	41,84	35,6	34,4	43,34	43,26	43,16
4	39,08	39,06	80,13	79,60	79,0	78,0	35,24	36,03	38,05
5	46,80	45,95	55,27	152,94	71,1	71,3	45,24	46,28	177,10
6	32,67	28,70	122,59	125,86	28,7	28,3	31,76	33,70	36,94
7	48,68	46,24	149,10	49,35	42,9	42,9	51,78	51,02	46,28
8	30,04	28,68	30,24	27,09	29,0	29,1	31,51	31,83	30,87
9	41,05	36,21	37,50	38,75	30,7	30,5	35,09	35,41	32,81
10	73,63	75,02	154,01	32,58	32,2	32,5	135,84	135,22	27,03
11	152,87	152,60	37,84	151,11	151,2	151,1	151,93	151,67	151,22
12	107,77	107,89	21,71	109,54	108,7	108,6	108,89	108,51	109,20
13	20,38	20,05	21,49	20,31	20,4	20,6	20,93	20,70	20,42
14	32,31	29,91	106,86	13,30	15,9	15,5	21,65	21,78	17,70
15	16,07	16,30	24,23	27,34	22,4	23,8	15,60	16,72	19,34
Réf		[ <sup>14</sup> ] <sup>b</sup>	[ <sup>15</sup> ] <sup>b</sup>		[ <sup>16</sup> ] <sup>b</sup>		[ <sup>17</sup> ] <sup>b</sup>	[ <sup>17</sup> ] <sup>b</sup>	[ <sup>18</sup> ] <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Enregistré dans le CDCl<sub>3</sub>. <sup>b</sup> Données des études antérieures : RMN du <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C disponibles. <sup>c</sup> Enregistré dans le benzène-*d*<sub>6</sub>. <sup>d</sup> Enregistré dans le DMSO-*d*<sub>6</sub>. <sup>e</sup> Composé non isolé de l'essence de patchouli.

De même, les composés **232**, **238** et **241** ont été identifiés comme étant le guaia-1,11-dién-10 $\alpha$ -ol, le guaia-1,11-dién-10 $\beta$ -ol et le guai-11-én-5 $\alpha$ -ol, respectivement. Les déplacements chimiques en RMN du <sup>13</sup>C pour le composé **238** sont en accord avec celui du composé synthétisé et décrit par Ishihara et al..<sup>19</sup> Le composé **232** n'a jamais été décrit jusqu'à présent dans la littérature. Dans le cas de **241**, les données de RMN décrites par Huang et al. pour le guai-11-én-5-ol synthétisé (**XXXIV**) ne correspondent pas à notre molécule (Tableau 13).<sup>12</sup> De plus, deux composés **252** et **254** possèdent un ion moléculaire à 222 *m/z* et un pic de base intense à 111 *m/z*, comme observé pour l'hanamyol, un époxyalcool à squelette guaïane isolé d'*Alpinia japonica*<sup>20</sup> et identifié dans *Bulnesia sarmientoi* (Chapitre I). Les données RMN



suggèrent que ces composés sont liés structurellement par la présence d'un squelette guaiane et d'un groupement alcool en position #1. Les composés **252** et **254** ont finalement été caractérisés comme étant le guai-11-én-1 $\beta$ -ol et le guai-11-én-1 $\alpha$ -ol, respectivement. Ces deux composés n'ont jusqu'à présent pas été signalés en tant que constituants de l'essence de patchouli. Les données spectroscopiques d'un épimère de ces deux guaién-1-ols (**XXXV**), synthétisé par Huang et al., ne correspondent pas à celles que nous avons obtenues.<sup>12</sup> Il a également été constaté la présence d'un troisième composé (**261**) avec un spectre de masse similaire à **252** et **254** éluant devant le patchoulol (VF-5). Ce composé pourrait correspondre à un nouveau guaién-1-ol, mais sans isolement, ce composé demeure inconnu.

Dans les fractions polaires de l'huile essentielle, plusieurs alcools secondaires et autres composés bifonctionnels, éluant généralement après le patchoulol (**265**), ont été caractérisés. Tout d'abord, le composé **264** a été isolé et identifié par RMN comme étant l' $\alpha$ -bulnésén-2 $\alpha$ -ol (guaia-1(10),11-dién-2 $\alpha$ -ol). La présence de ce composé n'est pas surprenante. En effet, Huang et al. ont précédemment signalé que **264** est formé par auto-oxydation de l' $\alpha$ -bulnésène, conjointement avec l' $\alpha$ -bulnésén-2 $\beta$ -ol et l' $\alpha$ -bulnésén-1-one (**272**).<sup>21</sup> Il est intéressant de noter que van Beek et Joulain<sup>2</sup> ont récemment cité la bulnésénone **272** comme constituant possible de l'essence de patchouli. Sa présence dans nos échantillons a été déterminée par comparaison de son spectre de masse avec la littérature<sup>19</sup> mais **272** n'a pas pu être isolée. Son alcool correspondant, l' $\alpha$ -bulnésén-2 $\beta$ -ol, n'a pas été identifié dans nos échantillons. En effet, l'oxydation de l' $\alpha$ -bulnésène peut conduire majoritairement à la formation de **264**.<sup>21</sup> L' $\alpha$ -bulnésén-2 $\beta$ -ol pourrait être également présent à l'état de trace (Tableau 14).

En plus de ces composés, la rotundone (**269**), précédemment signalée comme constituant de l'huile essentielle de patchouli par R. Clery,<sup>22</sup> et la  $\beta$ -patchoulén-2-one (**262**) identifiée par Mookherjee et al.,<sup>23,24</sup> ont été détectées par GC-MS et isolées de notre essence de patchouli. De plus, une nouvelle cétone  $\alpha,\beta$ -insaturée (**278**) a été identifiée pour la première fois dans un extrait naturel. Son spectre de masse présente un pic de base à  $m/z = 149$  et un ion moléculaire à  $m/z = 218$ . L'analyse de ses spectres RMN suggère la présence d'un squelette proche de l' $\alpha$ -patchoulène (**212**). **278** est finalement identifiée comme étant l' $\alpha$ -patchoulén-8-one. Ce composé, comme la rotundone, le  $\beta$ -patchoulène et la bulnésénone, doit probablement être issu de l'oxydation de l'hydrocarbure correspondant. La preuve en est donnée en section III.5. On identifie également quatre cétones inhabituelles de l'essence de patchouli. Tout d'abord, la 7-*épi*-chabrolidione A (**279**) et la 1,7-di-*épi*-chabrolidione A (**277**) ont été isolées et caractérisées dans nos essences de patchouli. Ces deux dicétones ont été récemment citées, mais leur présence dans l'essence demeurerait encore incertaine.<sup>2</sup> Ces produits sont

probablement formées par auto-oxydation de l' $\alpha$ -guaïène (**14**)<sup>25</sup> ou issus d'un clivage oxydant de l'aciphyllène (**219**). Par ailleurs, deux composés **270** et **274**, présentant un pic de base intense à  $m/z = 83$ , ont été identifiés par RMN comme étant des composés formés par clivage oxydant de l' $\alpha$ -bulnésène (**42**). Il convient de noter que **270** a déjà été identifié dans un extrait alcoolique d'*Anaphalis lactea*.<sup>26</sup> Le composé **274** a quant à lui été identifié comme étant un épimère de **270** formé sans aucun doute par épimérisation céto-énolique au niveau du carbone #5.

Certains produits tels que les cétones ou les époxyguaïanes décrits ci-dessus peuvent également subir une étape supplémentaire d'oxydation pour donner des composés bifonctionnels. C'est le cas des dérivés hydroxylés de la rotundone, de l' $\alpha$ - et de la  $\beta$ -patchoulénone rapportés dans trois articles récents.<sup>16,25,27</sup> Malheureusement, aucun spectre de masse n'a été donné pour ces composés. Sans aucune information sur ces composés, il était donc difficile de les identifier dans nos échantillons. De plus, aucun d'entre eux n'a été isolé au cours de cette investigation. Toutefois, nous montrons la présence dans les fractions les plus polaires de deux composés **256** et **267** identifiés comme des époxyguaïanols. Les données spectroscopiques permettent d'identifier **256** et **267** comme étant le 1,5-époxyguaï-11-én-4 $\beta$ -ol et 1,5-époxyguaï-11-én-4 $\alpha$ -ol (Tableau 14). À notre connaissance, **267** n'a jamais été identifié dans aucune source naturelle alors que **256** a déjà été signalé comme constituant d'un extrait de *P. cablin* par Peng et al..<sup>16,28</sup> Ces composés sont probablement issus de l'oxydation des guaïa-1(5),11-dién-4-ols ou des 1,5-époxyguaïènes, eux-mêmes formés par oxydation de l' $\alpha$ -guaïène. Ainsi, sachant que l' $\alpha$ -guaïène est l'hydrocarbure majoritaire de cette essence (voir III.3), il n'est pas surprenant de retrouver de tels composés dans des huiles essentielles ou des extraits de *P. cablin*.

Dans la partie haute du chromatogramme bidimensionnel (Figure 12), nous identifions deux autres dérivés à squelette guaïane (**244** et **245**). Ces deux composés minoritaires sont parfaitement co-élués sur colonne HP-5 avec un autre composé **243** décrit ci-après. L'examen des spectres RMN montre que le guaïane **244** possède deux doubles liaisons et une fonction alcool sur le carbone #4. Ainsi, **244** est identifié comme étant le guaïa-6,10(14)-dién-4-ol, appelé également alismol, et déjà identifié dans un extrait de racines de *Gynura bicolor*.<sup>15</sup> Les auteurs rapportent également que ce composé est présent dans leur extrait sous deux formes énantiomériques, le (+)-alilmol et le (-)-alilmol. L'orientation du groupement isopropyl #7 est généralement déterminante dans la stéréochimie des dérivés guaïaniques, celle-ci étant fixée lors de la cyclisation du précurseur FPP en germacrane (Chapitre I). Sachant que dans le cas de l'alilmol (**244**) cette position n'est plus déterminante, nous avons voulu vérifier si notre

alismol (**244**), isolé de l'essence de patchouli, était également sous forme racémique. L'analyse chirale a donc été réalisée par GC-MS et elle confirme que l'alismol, isolé dans notre essence de *P. cablin*, se trouve sous forme racémique. Sa présence sous forme énantiomérique est sans doute liée aux nombreuses possibilités de réactions pouvant se produire sur les positions #1, #4, #5 et #10. Cependant, aucune hypothèse tangible ne peut être formulée quant à leur formation.

Dans la suite des identifications, le guaiane **245** partage avec **244** une fonction alcool en position #4 et possède deux doubles liaisons. Après caractérisation, il a été identifié comme étant le guaia-5,11-dién-4 $\alpha$ -ol (**245**), encore jamais identifié dans un extrait naturel. Il est à noter qu'un diastéréoisomère de **245** a été synthétisé à partir de l'époxyde d' $\alpha$ -gurjunène.<sup>29</sup> Nous identifions également dans notre échantillon le spathuléol (**236**), un aromadendrane, dont la présence au sein des essences de patchouli demeure controversée.<sup>2</sup> La présence de ce composé est discutée plus en détails en partie III.4.

#### III.2.4. Isolement et identification des dérivés eudesmanes

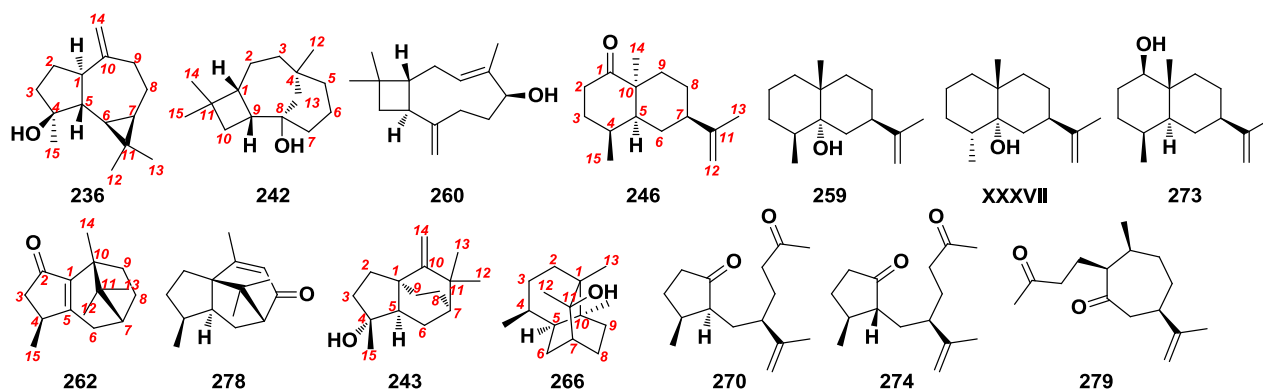
En plus des guaianes, une série de dérivés oxygénés à squelette eudesmane a été isolée et caractérisée pour la première fois dans l'essence de patchouli (Tableau 15). Parmi eux, une cétone **246** avec des ions caractéristiques à  $m/z = 220, 138$  et  $125$  a été identifiée par RMN comme étant la *cis*-eudesm-11-én-1-one. Cette cétone est issue de l'oxydation du patchoulol (**265**). En effet, la réaction du patchoulol en présence de  $Pb(OAc)_4$  décrite précédemment par Mehta et Singh permet de former **246**.<sup>30</sup> Ainsi, la configuration de **246** en particulier aux positions #4, #7 et #10 est nécessairement liée à celle du patchoulol. Cette hypothèse est validée par l'examen de son spectre NOESY.

Dans une zone plus avancée du chromatogramme 2D, le composé **273** présente un spectre de masse proche des dérivés eudesm-11-én-4-ols.<sup>31</sup> Cependant, son spectre RMN  $^1H$  affiche un proton à 2,99 ppm indiquant la présence d'un alcool secondaire. Le composé **273** a finalement été identifié comme étant le (4 $\alpha$ H,5 $\alpha$ H,7 $\alpha$ H,10 $\beta$ )-eudesm-11-én-1 $\beta$ -ol. Dans la littérature, plusieurs isomères de cet eudesm-11-én-1-ol ont été signalés et, dans la plupart des cas, les numéros CAS et les structures associées ont été attribués de manière incorrecte. Un seul épimère de **273** a été correctement rapporté, il provient de la réduction de l'eudesmén-1-one précédemment évoquée.<sup>30</sup> Aucune donnée RMN ou MS ne permet d'identifier correctement ces eudesmén-1-ols pourtant couramment signalés dans des extraits naturels. En tout état de cause, aucune étude analytique n'a fourni de données suffisamment détaillées pour

ces composés. Ainsi, il serait envisageable de réaliser la synthèse des stéréoisomères de **273**, le (4 $\alpha$ H,5 $\alpha$ H,7 $\alpha$ H,10 $\alpha$ )-eudesm-11-én-1 $\alpha$ -ol et le -1 $\beta$ -ol par réduction de l'eudesm-11-én-1-one (**246**, mentionnée ci-dessus), afin d'avoir plus de données spectroscopiques sur ces composés.

Enfin, un autre alcool **259** à squelette eudesmane, associé dans un premier temps à l'amiteol, a été identifié.<sup>31</sup> Cependant, **259** affiche un indice de rétention sur colonne apolaire significativement différent (RI<sub>HP-1</sub> 1587 pour l'amiteol et RI<sub>HP-1</sub> 1658 pour **259**). Cet écart important met en évidence que **259** n'est pas l'amiteol. D'après ses spectres RMN, **259** partage le même squelette eudesmane et il est identifié comme étant l'eudesm-11-én-5 $\alpha$ -ol, déjà identifié dans l'huile essentielle de *Kleinia pendula*.<sup>35</sup>

Tableau 15. Déplacements chimiques <sup>13</sup>C (en ppm) de différents composés isolés de l'essence de patchouli.



#C	236 <sup>a</sup>	242 <sup>a</sup>	260 <sup>a</sup>	246 <sup>a</sup>	259 <sup>a</sup>	XXXVII <sup>c</sup>	273 <sup>a</sup>	262 <sup>a</sup>	278 <sup>a</sup>	243 <sup>a</sup>	266 <sup>a</sup>	270 <sup>a</sup>	274 <sup>a</sup>	279 <sup>a</sup>
1	53,8	49,1	50,5	212,70	35,2	35,0	80,24	145,17	65,69	47,91	41,08	218,4	217,8	54,2
2	27,2	23,5	28,9	37,52	17,6	20,7	26,93	204,78	26,10	31,66	32,61	37,5	34,6	24,8
3	42,3	36,8	125,2	29,45	28,4	30,4	31,85	45,01	37,97	42,56	28,02	29,6	28,0	41,6
4	80,3	33,1	138,8	28,89	41,7	34,3	33,51	34,83	34,50	79,34	28,86	38,8	33,8	206,5
5	54,3	41,0	69,4	50,54	75,2	74,8	46,19	173,50	57,19	54,92	42,95	54,1	51,3	210,7
6	30,3	21,1	37,8	28,28	38,1	35,7	32,17	34,90	26,26	24,60	24,30	33,5	29,4	50,2
7	27,8	43,5	32,9	45,76	40,4	40,1	46,69	43,83	64,88	38,96	39,39	45,2	44,8	43,4
8	25,2	72,4	154,8	29,02	26,7	26,0	27,34	29,31	200,74	22,92	23,32	27,2	26,8	29,9
9	39,4	41,9	42,8	35,81	38,4	34,6	40,68	41,31	126,75	34,60	30,70	41,1	41,2	37,1
10	153,5	34,8	39,9	49,28	37,0	36,9	39,67	43,89	170,55	160,51	35,24	206,2	206,2	35,0
11	20,4	33,8	33,1	150,37	150,6	150,7	150,52	45,52	50,13	37,78	75,19	147,3	147,4	149,8
12	28,8	35,4	16,0	108,92	108,8	108,4	108,67	22,82	26,15	28,44	25,10	113,4	112,9	109,6
13	16,4	45,1	109,9	20,94	21,2	20,9	21,10	19,13	21,46	31,55	19,75	17,7	17,9	19,8
14	106,7	24,5	30,1	27,15	21,8	20,4	14,29	13,32	21,54	104,26	21,90	29,5	29,6	14,1
15	26,4	29,0	22,8	18,81	16,8	14,9	15,09	18,41	16,25	28,15	19,30	20,1	14,8	29,3
Réf	[32] <sup>b</sup>	[33] <sup>b</sup>	[34] <sup>b</sup>		[35] <sup>b</sup>	[36] <sup>b</sup>						[26] <sup>b</sup>		[37] <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Enregistré dans le benzène-*d*<sub>6</sub>. <sup>b</sup> Données des études antérieures : RMN du <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C disponibles. <sup>c</sup> Composé non isolé de l'essence de patchouli.

En conclusion, ces trois composés **246**, **259** et **273** sont les premiers dérivés oxygénés à squelette eudesmane isolés à partir de l'essence de patchouli. D'autres alcools eudesmaniques

courants, tels que le sélin-11-én-4-ol, ont été identifiés par GC × GC–MS pour la première fois dans l'essence de patchouli (voir Tableau 16).

### III.2.5. Isolement et identification des autres dérivés sesquiterpéniques

D'une façon presque prévisible, un alcool tertiaire **266** dérivé du seychellène a été isolé et identifié. Puisque le seychellène (**211**) fait partie des principaux hydrocarbures de l'essence de patchouli, il n'a pas été surprenant de trouver ce dérivé oxygéné dans notre extrait. Toutefois, au vu du nombre important d'études analytiques antérieures, il était assez inattendu d'identifier un tel composé. Les analyses de l'huile essentielle par GC–MS et GC × GC–MS à l'aide de phases stationnaires apolaires (HP-1 ou HP-5) n'ont pas clairement montré sa présence. Dans ces conditions, **266** co-élue presque parfaitement avec le patchoulol (**265**), le principal alcool de l'essence. Néanmoins, sur une phase stationnaire polaire, **266** est suffisamment séparé de **265** pour permettre sa détection. Après fractionnement sur gel de silice et isolement par GC semi-préparative, sa structure a été élucidée par RMN et **266** a finalement été identifié comme le seychellan-11-ol, une forme hydratée du seychellène (**211**).

De façon similaire, nous identifions dans cette essence pour la première fois deux dérivés du caryophyllène. Sachant que le  $\beta$ -caryophyllène (**11**) et ses dérivés (**201**, **206** et **213**) sont également présents de façon abondante dans cette essence, il n'a pas été étonnant d'isoler le produit issu de l'ouverture de l'époxyde de  $\beta$ -caryophyllène (**234**), le  $\beta$ -caryophyllén-5 $\beta$ -ol (**260**) ainsi qu'un produit issu du 9-*épi*- $\beta$ -caryophyllène (**213**), le 9-*épi*-caryolanol (**242**). **242** a déjà été isolé d'un extrait de *Panax ginseng*<sup>33</sup> et **260** a déjà été retrouvé dans plusieurs extraits.<sup>38,39</sup>

De manière plus surprenante, un autre alcool **243** présentant un squelette inhabituel a été isolé pour la première fois de l'essence de patchouli. D'après sa formule moléculaire et ses spectres RMN, il a été déterminé que ce composé possédait un squelette tricyclique basique, mais ne correspondait à aucune des structures sesquiterpéniques déjà connues dans les extraits de patchouli. Son spectre HMBC indique la présence de deux motifs distincts reliés entre eux par un atome de carbone quaternaire (ici marqué d'un astérisque) C\*-C(=CH<sub>2</sub>)-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-CH et un cycle cyclopentane CH<sub>2</sub>-CH(C\*)-COH(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-C\*. Lors de la combinaison de toutes les données des spectres RMN 2D, la structure tricyclique finale a été établie comme ayant un squelette de base octahydro-3 $\alpha$ ,6-éthanoindène. Ce squelette sesquiterpénique assez inhabituel, connu sous le nom d'antsorane, a déjà été signalé dans quelques cas, tels que des norsesquiterpenes dans des huiles de vétiver africaines et indonésiennes<sup>40,41</sup> et très récemment

parmi les composants volatils d'*Elionurus tristis* de Madagascar (Garcia et al., soumis 2018). Par conséquent, en accord avec ces études précédentes, ce nouveau composé **243** devrait être nommé antsor-6(13)-én-2 $\alpha$ -ol. Sa présence, dans cette huile essentielle constituée en large majorité de guaïanes et de patchoulanes, peut être associée à un réarrangement de type Wagner-Meerwein du squelette  $\beta$ -patchoulane pour donner l'antsorane correspondant (Schéma 13).

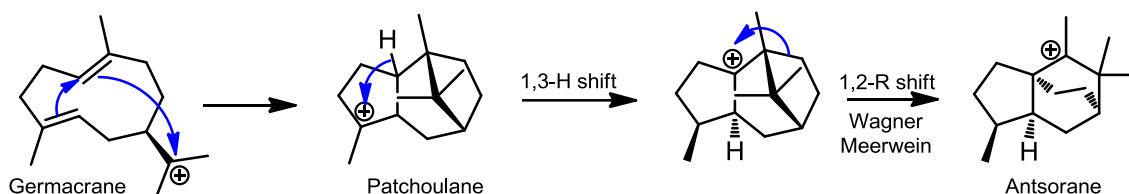


Schéma 13. Voie de biosynthèse possible pour la formation du squelette antsorane identifié dans l'essence de patchouli.

Au total, l'étude de la composition chimique de l'essence de patchouli nous a permis d'isoler 35 composés parmi lesquels 22 sont signalés pour la première fois dans cette essence. Afin de s'assurer que les composés décrits ci-dessus ne sont pas des artefacts, une série d'échantillons d'huiles essentielles et son équivalent issu de la bio-ingénierie, le Clearwood™, ont été analysés de façon systématique par GC-MS et GC  $\times$  GC-MS afin de fournir une analyse comparative de leur composition chimique.

### III.3. Analyse quantitative de l'essence de patchouli et Clearwood™

Comme souvent observé pour les ingrédients naturels à odeur boisée, l'huile essentielle de patchouli est principalement composée de dérivés sesquiterpéniques. Ils sont généralement répartis dans trois grandes familles de sesquiterpènes : les guaïanes, les patchoulanes et les (pré)seychellanes, parmi lesquels les hydrocarbures et le patchoulol (**265**) sont les composés les plus abondants. Les principaux hydrocarbures de l'huile essentielle de patchouli sont bien connus et peuvent donc être facilement identifiés par une simple analyse GC-MS classique. Ainsi, le (*E*)- $\beta$ -caryophyllène (**11**), les  $\beta$ - et  $\delta$ -élémenes (**8** et **196**), l' $\alpha$ -guaïène (**14**), l'aciphyllène (**219**), l' $\alpha$ -bulnésène (**42**), le  $\beta$ - et l' $\alpha$ -patchoulène (**9** et **212**) ainsi que le seychellène (**211**), le cycloseychellène (**205**) et l' $\alpha$ -humulène (**21**) ont été identifiés par comparaison de leur spectre de masse et de la valeur de leur RI sur colonne apolaire. Les composés mineurs tels que (*Z*)- $\beta$ -caryophyllène (**201**), le 9-*épi*-(*E*)- $\beta$ -caryophyllène (**213**), l'«*exo*»-caryophyllène (**206**) ainsi que l' $\alpha$ -cubébène (**197**), l' $\alpha$ -copaène (**7**) et le  $\delta$ -cadinène

(45) ont également été identifiés sur la base de leur spectre de masse et leur RI *versus* les données de la littérature. De plus, le  $\delta$ -patchoulène (24), décrit précédemment par Mookherjee et al.,<sup>24</sup> et le  $\gamma$ -patchoulène (222) ont également été identifiés par déshydratation du patchoulol (265). En outre, l'analyse a confirmé la présence de composés eudesmaniques, à savoir l' $\alpha$ -sélinène (41), le  $\beta$ -sélinène (40), le  $\delta$ -sélinène (34), le *ent*-cascarilladiène (204), le 7-*épi*- $\alpha$ -sélinène (49, alias 5,10-di-*épi*- $\alpha$ -sélinène) et le 5,10-di-*épi*- $\beta$ -sélinène (218, tent. MS). De même, de nouveaux hydrocarbures à  $m/z = 202$  ont été détectés dans l'essence. Bien que non-isolés, nous pensons que ces produits sont des composés issus de la déshydratation de leurs alcools correspondants en  $m/z = 220$ . L'identification de ces nouveaux composés est actuellement en cours. L'ensemble des données sont rassemblées dans le Tableau 16.

Outre les hydrocarbures, le patchoulol (265) constitue la majeure partie de la composition chimique des huiles essentielles et du Clearwood. Selon la norme ISO 3757:2002, 265 doit représenter entre 27 et 35 % de l'huile essentielle. Dans nos échantillons, il est déterminé que le patchoulol est présent à hauteur de 30 à 48 % dans les essences et près de 34 % dans le Clearwood™. De plus, il est montré ici que les échantillons vieillis (2005 et 2006, échantillons 1, 2 et 5) présentent généralement des niveaux d'hydrocarbures plus faibles, probablement liés à des processus de dégradation par oxydation, impactant du même coup le pourcentage d'identification. Au final, un taux de patchoulol conforme à la norme ISO3757 combiné à un pourcentage élevé en hydrocarbures peut donc être considéré comme marqueur de la fraîcheur de l'huile essentielle.

De plus, des sesquiterpènes communs tels que le  $\beta$ -élémol (61), le (*E*)-nérolidol (154), le spathuléol (236), le bulnésol (111) et des traces de guaiol (74) sont détectés dans nos échantillons d'huiles essentielles. L'identification du spathuléol (236) et du bulnésol (111) a été confirmée par RMN (partie exp.). La présence du spathuléol (236) peut être expliquée par l'oxydation naturelle du bicyclogermacène,<sup>42</sup> lui-même peut potentiellement provenir de la cyclisation du germacrène C. Toutefois, aucune trace de ces deux composés n'a été détectée dans nos échantillons. Considéré comme une impureté et une marque potentielle d'adultération,<sup>2</sup> le spathuléol (236) est toutefois observé lorsque l'on fait vieillir notre échantillon de Clearwood™ à l'air libre, sans toutefois être détecté dans l'échantillon frais (voir III.5).

Tableau 16. Analyse GC × CG–FID des six échantillons d'essence de patchouli (Ech. 1 à 6) et du Clearwood™ (Ech. 7).

#	RI Litt.	RI <sup>a</sup> Calc.	Composé <sup>b</sup>	Classe chimique	Famille	<sup>1</sup> t <sub>r</sub> (min)	<sup>2</sup> t <sub>r</sub> (s)	MM	#C	#H	#O	Ph	FRR	Ech. #1 <sup>c,d</sup>	St.D.	Ech. #2 <sup>c,d</sup>	St.D.	Ech. #3 <sup>c,d</sup>	St.D.	Ech. #4 <sup>c,d</sup>	St.D.	Ech. #5 <sup>c,d</sup>	St.D.	Ech. #6 <sup>c,d</sup>	St.D.	Ech. #7 <sup>c,e</sup>	St.D.		
186	932	926	α-Pinène	Hydrocarbures	Pinanes	12,00	1,11	136	10	16	0	0	0,942	0,06	0,00	0,14	0,00	0,08	0,03	0,13	0,03	0,05	0,00	0,09	0,00	-	-		
187	974	964	1-Octén-3-ol	Alcools II		12,60	2,16	128	8	16	1	0	0,806	0,01	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	-	-	0,01	0,00	-	-		
188	974	977	β-Pinène	Hydrocarbures	Pinanes	12,80	1,21	136	10	16	0	0	0,942	0,12	0,01	0,28	0,01	0,19	0,03	0,27	0,00	0,14	0,01	0,21	0,00	-	-		
189	988	982	1-Octan-3-ol	Alcools II		12,90	1,86	130	8	18	1	0	0,826	0,01	0,00	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01	0,00	-	-	0,01	0,00	-	-		
3	1024	1022	Limonène	Hydrocarbures	Menthanes	13,70	1,37	136	10	16	0	0	0,942	0,01	0,00	0,02	0,00	0,02	0,00	0,02	0,00	0,02	0,00	0,01	0,00	0,02	0,00	-	-
131	1095	1089	Linalool	Alcools III		15,10	2,46	154	10	18	1	0	0,829	0,01	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,01	0,00	-	-	0,01	0,00	-	-		
190	1135	1147	Nopinone	Cétones	Pinanes	16,60	1,84	138	9	14	1	0	0,790	-	-	0,01	0,00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
191	1140	1147	trans-Verbénol	Alcools II	Pinanes	16,60	2,51	152	10	16	1	0	0,812	-	-	0,01	0,00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
192	1135	1151	trans-Pinocarvéol	Alcools II	Pinanes	16,70	2,28	152	10	16	1	0	0,812	-	-	0,03	0,00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
193	1195	1201	Myrténol	Aldéhydes	Pinanes	18,20	2,03	150	10	14	1	0	0,794	-	-	0,02	0,00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
194	1194	1201	Myrténol	Alcools I	Pinanes	18,20	3,71	152	10	16	1	0	0,812	-	-	0,02	0,00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
195	1204	1212	Verbénone	Cétones	Pinanes	18,60	2,82	150	10	14	1	0	0,794	-	-	0,01	0,00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
196	1335	1327	δ-Elémène	Hydrocarbures	Elémanes	23,10	1,92	204	15	24	0	0	0,959	0,07	0,00	0,03	0,00	0,09	0,01	0,12	0,00	0,06	0,00	0,11	0,00	0,03	0,00		
197	1348	1340	α-Cubébène	Hydrocarbures	Cubébanes	23,70	1,91	204	15	24	0	0	0,959	0,00	0,00	-	-	0,02	0,01	0,02	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	-	-		
7	1374	1375	α-Copaène (ISO 3757, tr.-1,0 %)	Hydrocarbures	Copaanes	25,30	2,02	204	15	24	0	0	0,959	0,01	0,00	-	-	0,22	0,00	0,24	0,01	0,00	0,00	0,43	0,01	0,01	0,00		
198	1377	1377	épi-β-Elémène, 81 93 107 121 147 161 189 204	Inconnus H		25,40	2,32	204	15	24	0	0	0,959	0,02	0,00	0,01	0,00	0,04	0,00	0,04	0,00	0,03	0,00	0,06	0,01	0,01	0,00		
199	1387	1384	β-Cubébène	Hydrocarbures	Cubébanes	25,80	2,10	204	15	24	0	0	0,959	0,01	0,00	0,01	0,00	0,02	0,00	0,02	0,00	0,02	0,00	0,03	0,00	-	-		
8	1389	1384	β-Elémène	Hydrocarbures	Elémanes	25,80	2,35	204	15	24	0	0	0,959	0,65	0,05	0,43	0,03	1,08	0,02	1,10	0,00	0,91	0,01	1,09	0,01	0,55	0,00		
9	1389	1389	β-Patchoulène (ISO 3757, 1,8-3,5 %)	Hydrocarbures		26,10	2,01	204	15	24	0	0	0,959	3,04	0,01	0,66	0,03	2,77	0,03	2,92	0,00	1,67	0,03	2,62	0,01	0,59	0,02		
200	1396	1396	91 105 119 161 189 204	Inconnus H		26,50	2,10	204	15	24	0	0	0,959	0,04	0,00	0,01	0,00	0,03	0,00	0,03	0,00	0,02	0,00	0,02	0,00	0,01	0,00		
201	1408	1403	(Z)-β-Caryophyllène	Hydrocarbures	Caryophyllanes	26,90	2,30	204	15	24	0	0	0,959	0,03	0,00	0,03	0,00	0,04	0,00	0,04	0,00	0,02	0,00	0,04	0,00	-	-		
202	1409	1405	di-épi-α-Gurjunène (tent.)	Hydrocarbures	Aromadendranes	27,00	1,66	204	15	24	0	0	0,959	0,01	0,01	-	-	0,02	0,00	0,01	0,00	-	-	0,03	0,00	-	-		
203	1411	1411	91 117 145 159 187 202	Inconnus H		27,40	2,32	202	15	22	0	0	0,947	0,03	0,00	-	-	0,01	0,00	0,02	0,00	0,01	0,00	0,01	0,00	-	-		
204	1415	1415	Cascarilladiène	Hydrocarbures	Eudesmanes	27,60	2,23	204	15	24	0	0	0,959	0,01	0,00	-	-	0,03	0,01	0,03	0,00	0,02	0,00	0,04	0,00	0,04	0,00		
11	1417	1418	(E)-β-Caryophyllène (ISO 3757, 2-5 %)	Hydrocarbures	Caryophyllanes	27,80	2,36	204	15	24	0	0	0,959	1,95	0,02	-	-	3,56	0,03	3,61	0,01	1,78	0,00	3,92	0,01	3,52	0,01		
205	1406	1418	Cycloseychéllène	Hydrocarbures	Seychellanes	27,80	2,36	204	15	24	0	0	0,959	-	-	0,36	0,01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
14	1437	1428	α-Guaiène (ISO 3757, 11-16 %)	Hydrocarbures	Guaianes	28,40	2,27	204	15	24	0	0	0,959	6,36	0,06	0,98	0,02	12,49	0,09	12,58	0,02	5,75	0,02	12,22	0,04	17,12	0,05		
17	1440	1435	(Z)-β-Farnésène	Hydrocarbures	Farnésanes	28,80	2,44	204	15	24	0	0	0,959	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,05	0,00		
206	1435	1435	exo-Caryophyllène	Hydrocarbures	Caryophyllanes	28,80	2,44	204	15	24	0	0	0,959	0,03	0,00	0,01	0,00	0,04	0,00	0,04	0,00	0,02	0,00	0,04	0,00	-	-		
207	1444	1444	γ-Gurjunène	Hydrocarbures	Guaianes	29,30	2,34	204	15	24	0	0	0,959	0,03	0,00	-	-	0,07	0,00	0,07	0,00	0,04	0,00	0,07	0,00	0,09	0,00		
208	1445	91 145 159 187 202		Inconnus H		29,40	2,64	202	15	22	0	0	0,947	0,16	0,01	0,04	0,00	0,13	0,03	0,13	0,00	0,08	0,00	0,14	0,00	-	-		
209	1445	77 91 107 133 161 175 203 218		Inconnus H		29,40	2,85	218	15	22	1	0	0,856	0,07	0,00	-	-	0,03	0,00	0,03	0,00	0,02	0,00	0,03	0,00	-	-		
210	1451	1451	10-épi-α-Sélinène (tent. MS)	Hydrocarbures	Eudesmanes	29,70	2,53	204	15	24	0	0	0,959	0,03	0,00	0,03	0,00	0,06	0,01	0,06	0,00	0,03	0,00	0,05	0,01	0,07	0,01		
211	1444	1456	Seychéllène	Hydrocarbures	Seychellanes	30,00	2,54	204	15	24	0	0	0,959	4,60	0,06	4,43	0,07	7,25	0,04	7,17	0,03	4,45	0,02	7,01	0,02	8,65	0,03		
21	1452	1456	α-Humulène	Hydrocarbures	Humulanes	30,00	2,54	204	15	24	0	0	0,959	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
212	1454	1466	α-Patchoulène	Hydrocarbures	Patchoulanes	30,60	2,43	204	15	24	0	0	0,959	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
24	1466	1466	δ-Patchoulène	Hydrocarbures	Patchoulanes	30,60	2,43	204	15	24	0	0	0,959	4,76	0,07	1,97	0,03	7,17	0,03	7,17	0,05	3,90	0,09	7,11	0,08	9,89	0,73		
213	1464	1466	9-épi-(E)-β-Caryophyllène	Hydrocarbures	Caryophyllanes	30,60	2,43	204	15	24	0	0	0,959	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
214	1466	91 117 131 145 159 187 202		Inconnus H		30,60	2,76	202	15	22	0	0	0,947	0,31	0,01	0,23	0,00	0,35	0,03	0,36	0,03	0,25	0,11	0,31	0,07	-	-		
215	1490	81 91 105 121 133 147 161 189 204		Inconnus H		31,20	2,46	204	15	24	0	0	0,959	0,68	0,01	0,60	0,01	1,06	0,01	1,07	0,00	0,60	0,01	1,04	0,00	1,62	0,01		
216	1500	1497	Pentadécane	Hydrocarbures		31,40	1,66	212	15	32	0	0	1,003	0,02	0,00	0,02	0,00	0,04	0,00	0,05	0,01	0,00	0,00	0,07	0,00	-	-		
34	1492	1500	δ-Sélinène	Hydrocarbures	Eudesmanes	31,60	2,43	204	15	24	0	0	0,959	0,06	0,00	-	-	0,12	0,00	0,12	0,00	0,07	0,00	0,12	0,00	0,31	0,00		
217	1480	1500	Germacrène D	Hydrocarbures	Germacrènes	31,60	2,67	204	15	24	0	0	0,959	0,02	0,00	-	-	0,04	0,00	0,03	0,00	0,02	0,00	0,04	0,01	-	-		
40	1489	1504	β-Sélinène	Hydrocarbures	Eudesmanes	31,90	2,53	204	15	24	0	0	0,959	0,16	0,01	0,05	0,00	0,26	0,01	0,26	0,01	0,18	0,01	0,27	0,02	0,36	0,04		
218	1507	1507	β-Sélinène épimère (tent. MS)	Inconnus H		32,10	2,61	204	15	24	0	0	0,959	0,15	0,01	0,05	0,00	0,13	0,03	0,11	0,03	0,08	0,02	0,13	0,03	0,08	0,03		
41	1498	1508	α-Sélinène	Hydrocarbures	Eudesmanes	32,20	2,45	204	15	24	0	0	0,959	1,20	0,02	0,09	0,00	2,17	0,02	2,25	0,01	1,08	0,02	2,12	0,03	4,47	0,04		
219	1501	1508	Aciphyllène	Hydrocarbures	Guaianes	32,20	2,45	204	15	24	0	0	0,959	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
220	1511	79 91 105 145 159 187 202		Inconnus H		32,40	2,89	202	15	22	0	0	0,947	0,34	0,02	0,41	0,03	0,35	0,10	0,29	0,02	0,45	0,03	0,40	0,08	0,08	0,04		
42	1509	1515	α-Bulnésène (ISO 3757, 13-21 %)	Hydrocarbures	Guaianes	32,70	2,57	204	15	24	0	0	0,959	9,80	0,13	0,83	0,02	15,75	0,05	15,71	0,05	8,69	0,06	15,25	0,13	13,36	0,03		
221	1521	91 105 119 131 145 161 202		Inconnus H		33,10	2,75	202	15	22	0	0	0,947	0,08	0,01	-	-	0,09	0,02	0,07	0,00	0,06	0,01	0,08	0,00	-	-		
222	1522	1522	γ-Patchoulène	Inconnus H	Patchoulanes	33,20	2,58	204	15	24	0	0	0,959	0,31	0,02	0,22	0,00	0											



#	RI Litt.	RI <sup>a</sup> Calc.	Composé <sup>b</sup>	Classe chimique	Famille	<sup>1</sup> t <sub>r</sub> (min)	<sup>2</sup> t <sub>r</sub> (s)	MM	#C	#H	#O	Ph	FRR	Ech. #1 <sup>c,d</sup>	St.D.	Ech. #2 <sup>c,d</sup>	St.D.	Ech. #3 <sup>c,d</sup>	St.D.	Ech. #4 <sup>c,d</sup>	St.D.	Ech. #5 <sup>c,d</sup>	St.D.	Ech. #6 <sup>c,d</sup>	St.D.	Ech. #7 <sup>c,e</sup>	St.D.	
45	1522	1526	δ-Cadinène	Hydrocarbures	Cadinanes	33,50	2,59	204	15	24	0	0	0,959	0,01	0,00	-	-	0,06	0,00	0,06	0,00	0,01	0,00	0,06	0,00	0,00	-	-
49	1520	1534	7-épi-α-Sélinène	Hydrocarbures	Eudesmanes	34,10	2,66	204	15	24	0	0	0,959	0,23	0,01	0,06	0,00	0,35	0,01	0,31	0,02	0,19	0,00	0,34	0,00	0,38	0,00	0,00
223		1540	cis-1,5-Epoxyguai-11-ène	Ethers	Guaianes	34,50	3,07	220	15	24	1	0	0,868	0,03	0,01	0,17	0,00	0,05	0,01	0,04	0,01	0,05	0,00	0,04	0,00	-	-	-
224		1540	91 105 <b>119</b> 131 145 <b>161</b> 187 202	Inconnus H		34,50	2,86	202	15	22	0	0	0,947	0,08	0,00	0,11	0,02	0,09	0,01	0,07	0,01	0,06	0,00	0,09	0,00	-	-	-
225		1540	77 91 105 <b>133</b> 146 159 187 202	Inconnus H		34,50	2,96	202	15	22	0	0	0,947	0,08	0,01	0,06	0,00	0,11	0,01	0,08	0,00	0,09	0,01	0,10	0,00	-	-	-
61	1548	1555	β-Elémol	Alcools III	Elemannes	35,60	4,89	222	15	26	1	0	0,879	0,04	0,00	0,04	0,00	0,03	0,00	0,03	0,00	0,08	0,00	0,03	0,00	0,05	0,00	0,00
154	1561	1561	(E)-Nérolidol	Alcools III		36,00	4,17	222	15	26	1	0	0,879	0,03	0,00	0,03	0,00	0,01	0,00	0,02	0,00	0,02	0,00	0,02	0,00	0,01	0,00	0,00
226		1571	Germacrène B	Hydrocarbures	Germacranes	36,70	2,28	204	15	24	0	0	0,959	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,00	0,00
227		1580	trans-1,5-Epoxyguai-11-ène	Ethers	Guaianes	37,40	3,01	220	15	24	1	0	0,868	0,05	0,00	0,46	0,01	0,09	0,01	0,07	0,01	0,10	0,00	0,06	0,00	-	-	-
228		1583	trans-1,10-Epoxyguai-11-ène	Ethers	Guaianes	37,60	3,26	220	15	24	1	0	0,868	0,25	0,01	1,09	0,04	0,27	0,02	0,23	0,01	0,41	0,00	0,19	0,00	0,01	0,00	0,00
229		1590	Gynurénol	Alcools III	Eudesmanes	38,10	3,09	222	15	26	1	0	0,879	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,00	0,00
230		1593	Norpatchoulénol (ISO 3757, 0,35-1 %)	Alcools III	Préseychellanes	38,30	4,80	206	14	22	1	0	0,857	0,83	0,01	1,35	0,02	0,66	0,01	0,71	0,01	0,75	0,01	0,62	0,01	-	-	-
231		1596	95 133 <b>146</b> 159 187 202	Inconnus H		38,50	2,91	202	15	22	0	0	0,947	0,06	0,00	0,03	0,00	0,07	0,00	0,06	0,01	0,04	0,00	0,06	0,00	-	-	-
232		1596	Guaia-1,11-diène-10β-ol	Alcools III	Guaianes	38,50	4,54	220	15	24	1	0	0,868	0,28	0,00	0,34	0,01	0,29	0,01	0,23	0,01	0,41	0,00	0,30	0,00	-	-	-
233	1582	1571	Oxyde de caryophyllène	Ethers	Caryophyllanes	38,70	3,58	220	15	24	1	0	0,868	0,43	0,04	1,31	0,02	0,48	0,04	0,42	0,02	0,62	0,03	0,38	0,00	0,05	0,01	0,00
234		1601	cis-1,10-Epoxyguai-11-ène	Ethers	Guaianes	38,90	3,30	220	15	24	1	0	0,868	0,03	0,00	0,17	0,00	0,04	0,00	0,03	0,00	0,05	0,00	0,02	0,00	-	-	-
74	1600	1608	Guaïol	Alcools III	Guaianes	39,50	3,65	222	15	26	1	0	0,879	tr.	-	tr.	-	tr.	-	tr.	-	tr.	-	-	-	-	0,03	0,00
235		1609	81 95 107 <b>123</b> <b>124</b> 136 163 206	Inconnus		39,60	3,21	206	14	22	1	0	0,857	-	-	0,09	0,00	-	-	tr.	-	0,06	0,01	-	-	-	-	-
236	1577	1614	Spathuléol	Alcools III	Aromadendranes	40,00	4,48	222	15	26	1	0	0,879	0,03	0,01	-	-	-	-	0,02	0,00	0,02	0,00	0,03	0,00	-	-	-
237	1608	1624	Epoxyhumulène II	Ethers	Humulanes	40,80	3,63	220	15	24	1	0	0,868	0,07	0,00	0,27	0,00	0,07	0,00	0,07	0,00	0,10	0,00	0,05	0,00	-	-	-
238		1626	Guaia-1,11-diène-10α-ol	Alcools III	Guaianes	41,00	4,73	220	15	24	1	0	0,868	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
239		1626	Guaia-10(14),11-diène-1α-ol	Alcools III	Guaianes	41,00	4,73	220	15	24	1	0	0,868	0,28	0,01	0,96	0,03	0,35	0,03	0,27	0,01	0,60	0,01	0,37	0,00	-	-	-
240		1634	Germacradién-4-ol	Alcools III	Germacranes	41,60	4,15	222	15	26	1	0	0,879	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,03	0,00	0,00
241		1637	Guaï-11-én-5α-ol	Alcools III	Guaianes	41,90	4,14	222	15	26	1	0	0,879	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,65	0,00	0,00
242		1637	9-épi-β-Caryonanol	Alcools III	Caryophyllanes	41,90	4,14	222	15	26	1	0	0,879	0,65	0,00	0,70	0,02	0,54	0,01	0,51	0,00	0,96	0,01	0,55	0,00	-	-	-
243		1637	Antsor-6(13)-én-2α-ol	Alcools III	Antsoranes	41,90	5,30	220	15	24	1	0	0,868	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
244		1637	Alismol (Majoritaire)	Alcools III	Guaianes	41,90	5,30	220	15	24	1	0	0,868	0,13	0,00	0,12	0,00	0,14	0,00	0,12	0,00	0,27	0,00	0,12	0,00	-	-	-
245		1637	Guaia-5,11-diène-4α-ol (Minoritaire)	Alcools III	Guaianes	41,90	5,30	220	15	24	1	0	0,868	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
246		1640	cis-Eudesm-11-én-1-one	Cétones	Eudesmanes	42,10	3,80	220	15	24	1	0	0,868	0,04	0,00	0,02	0,00	0,04	0,00	0,03	0,00	0,03	0,00	0,04	0,00	-	-	-
247		1640	Eudesm-11-én-5β-ol épimère (tent. MS)	Inconnus		42,10	3,94	222	15	26	1	0	0,879	0,04	0,00	0,06	0,01	0,02	0,00	0,02	0,00	0,03	0,00	0,03	0,00	0,02	0,00	0,00
248		1643	Guaia-10(14),11-diène-1β-ol	Alcools III	Guaianes	42,40	4,20	220	15	24	1	0	0,868	0,05	0,00	0,03	0,00	0,06	0,00	0,05	0,00	0,07	0,00	0,06	0,00	-	-	-
249		1645	Nortétracyclopatchoulol	Alcools III	Préseychellanes	42,50	4,65	206	14	22	1	0	0,857	0,17	0,00	0,26	0,00	0,11	0,00	0,12	0,00	0,12	0,00	0,10	0,00	-	-	-
250		1648	1,10-di-épi-Pogostol	Alcools III	Guaianes	42,80	3,97	222	15	26	1	0	0,879	0,28	0,00	0,25	0,00	0,22	0,00	0,21	0,00	0,33	0,01	0,22	0,00	0,18	0,00	0,00
251		1649	69 91 105 <b>136</b> 149 220	Inconnus		42,90	5,62	220	15	24	1	0	0,868	0,08	0,01	0,11	0,01	0,11	0,01	0,08	0,00	0,09	0,01	0,07	0,00	-	-	-
252		1658	Guaï-11-én-1β-ol	Alcools III	Guaianes	43,60	3,53	222	15	26	1	0	0,879	0,07	0,00	0,09	0,00	0,05	0,00	0,04	0,02	0,07	0,00	0,05	0,00	0,03	0,00	0,00
253		1658	Paradisïol	Alcools III	Eudesmanes	43,60	4,07	222	15	26	1	0	0,879	0,15	0,00	0,11	0,00	0,11	0,00	0,10	0,01	0,17	0,00	0,11	0,00	0,15	0,00	0,00
254		1662	Guaï-11-én-1α-ol	Alcools III	Guaianes	43,90	4,16	222	15	26	1	0	0,879	0,07	0,00	0,10	0,00	0,06	0,00	0,06	0,00	0,12	0,00	0,07	0,00	0,06	0,00	0,00
255		1669	Pogostol (ISO 3757, 1-2,5 %)	Alcools III	Guaianes	44,50	4,26	222	15	26	1	0	0,879	2,64	0,02	2,49	0,01	1,99	0,03	1,76	0,02	3,30	0,01	1,82	0,00	1,52	0,01	0,00
164		1670	Sélin-11-én-4α-ol	Alcools III	Eudesmanes	44,60	4,64	222	15	26	1	0	0,879	0,20	0,02	0,18	0,01	0,10	0,00	0,09	0,02	0,21	0,00	0,11	0,00	0,02	0,00	0,00
111	1670	1675	Bulnésol	Alcools III	Guaianes	45,00	4,07	222	15	26	1	0	0,879	0,05	0,00	-	-	0,03	0,01	0,03	0,00	0,06	0,00	0,03	0,00	0,07	0,01	0,00
256		1675	trans-1,5-Epoxyguai-11-én-4β-ol	Alcools III	Guaianes	45,00	5,58	236	15	24	2	0	0,789	0,04	0,00	0,07	0,00	0,03	0,01	0,02	0,00	0,03	0,00	0,02	0,00	-	-	-
257		1676	81 95 107 125 149 161 <b>189</b> 207 222	Alcools III		45,10	4,02	222	15	26	1	0	0,879	0,01	0,00	0,07	0,00	0,04	0,01	0,04	0,01	0,09	0,01	0,05	0,00	0,08	0,01	0,00
115		1679	Intermédéol	Alcools III	Eudesmanes	45,30	4,32	222	15	26	1	0	0,879	0,04	0,00	-	-	0,03	0,00	0,03	0,00	0,05	0,01	0,02	0,00	0,03	0,00	0,00
258		1680	77 105 119 <b>133</b> 159 218	Inconnus		45,40	3,38	218	15	22	1	0	0,856	-	-	0,06	0,00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
259		1680	Eudesm-11-én-5α-ol	Alcools III	Eudesmanes	45,40	3,82	222	15	26	1	0	0,879	0,09	0,00	0,08	0,00	0,07	0,00	0,07	0,00	0,10	0,00	0,07	0,00	0,04	0,01	0,00
260		1681	β-Caryophyllén-5β-ol	Alcools II	Caryophyllanes	45,50	5,82	222	15	26	1	0	0,879	0,07	0,00	0,28	0,01	0,08	0,00	0,06	0,00	0,09	0,01	0,05	0,00	-	-	-
261		1682	69 83 95 97 <b>111</b> 193 207 222	Inconnus		45,60	3,95	222	15	26	1	0	0,879	0,06	0,00	0,13	0,00	0,09	0,00	0,08	0,00	0,17	0,00	0,10	0,00	0,19	0,00	0,00
262		1685	β-Patchoulén-2-one	Cétones	Patchoulanes	45,80	4,15	218	15	22	1	0	0,856	0,26	0,01	0,23	0,00	0,10	0,00	0,08	0,00	0,07	0,00	0,09	0,00	-	-	-
263		1685	79 91 <b>105</b> <b>107</b> 133 147 175 218	Inconnus		45,80	4,56	218	15	22	1	0	0,856	0,05	0,02	-	-	0,05	0,00	0,03	0,01	0,04	0,01	0,04	0,01	-	-	-
264		1687	α-Bulnésén-2α-ol																									

#	RI Litt.	RI <sup>a</sup> Calc.	Composé <sup>b</sup>	Classe chimique	Famille	<sup>1</sup> t <sub>r</sub> (min)	<sup>2</sup> t <sub>r</sub> (s)	MM	#C	#H	#O	Ph	FRR	Ech. #1 <sup>c,d</sup>	St.D.	Ech. #2 <sup>c,d</sup>	St.D.	Ech. #3 <sup>c,d</sup>	St.D.	Ech. #4 <sup>c,d</sup>	St.D.	Ech. #5 <sup>c,d</sup>	St.D.	Ech. #6 <sup>c,d</sup>	St.D.	Ech. #7 <sup>c,e</sup>	St.D.
269		1711	Rotundone	Cétones	Guaianes	48,00	4,18	218	15	22	1	0	0,856	0,34	0,00	0,63	0,00	0,19	0,00	0,15	0,00	0,18	0,00	0,16	0,00	-	-
270		1723	(2S,3S)-3-methyl-2-((R)-5-oxo-2-(prop-1-en-2-yl)hexyl)cyclopentanone	Cétones		49,10	5,22	236	15	24	2	0	0,789	0,20	0,00	1,46	0,02	0,17	0,00	0,14	0,00	0,22	0,01	0,12	0,00	-	-
271		1729	69 95 125 <b>140</b> 193 236	Inconnus		49,60	3,92	236	15	24	2	0	0,789	0,04	0,00	0,10	0,00	0,03	0,00	0,02	0,00	0,02	0,01	0,02	0,00	-	-
272		1741	<i>α</i> -Bulnés-2-one	Cétones	Guaianes	50,70	4,05	218	15	22	1	0	0,856	0,09	0,00	0,08	0,00	0,03	0,01	0,04	0,00	0,03	0,01	0,04	0,00	-	-
273		1747	<i>trans</i> -Eudesm-11-én-1β-ol	Alcools II	Eudesmanes	51,20	4,64	222	15	26	1	0	0,879	0,28	0,00	0,25	0,00	0,15	0,00	0,15	0,00	0,32	0,00	0,16	0,00	-	-
274		1755	(2R,3S)-3-methyl-2-((R)-5-oxo-2-(prop-1-en-2-yl)hexyl)cyclopentanone	Cétones		51,90	5,11	236	15	24	2	0	0,789	0,05	0,00	0,28	0,00	0,03	0,00	0,03	0,00	0,06	0,00	0,03	0,00	-	-
275		1763	<b>93</b> 109 135 160 176 221 236	Inconnus		52,60	5,54	236	15	24	2	0	0,789	-	-	0,18	0,01	-	-	-	-	0,03	0,00	-	-	-	-
276		1765	97 <b>110</b> 139 152 175 218	Inconnus		52,80	5,73	218	15	22	1	0	0,856	0,05	0,00	0,14	0,00	0,03	0,01	0,02	0,01	0,05	0,01	0,04	0,00	-	-
277		1778	1,7-di-épi-Chabrolidione A	Cétones		53,90	5,24	236	15	24	2	0	0,789	0,13	0,01	0,20	0,00	0,07	0,00	0,07	0,00	0,18	0,00	0,07	0,00	-	-
278		1794	<i>α</i> -Patchoulén-8-one	Cétones	Patchoulanes	55,30	4,84	218	15	22	1	0	0,856	0,16	0,00	0,27	0,00	0,08	0,00	0,07	0,00	0,29	0,00	0,07	0,00	-	-
279		1794	7-épi-Chabrolidione A	Cétones		55,30	5,19	236	15	24	2	0	0,789	0,06	0,00	0,74	0,01	0,05	0,00	0,05	0,00	0,07	0,00	0,03	0,00	-	-
280		1805	67 81 <b>105 107</b> 119 147 161 189 204 219 234	Inconnus		56,30	2,34	234	15	22	2	0	0,777	-	-	0,11	0,01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
281		1816	67 79 <b>109</b> 119 161 175 203 218	Inconnus		57,20	4,55	218	15	22	1	0	0,856	0,06	0,00	0,14	0,00	0,04	0,01	0,03	0,00	0,03	0,00	0,02	0,00	-	-
282		1868	<b>69</b> 95 97 <b>110</b> 123 136 167 180 193 236	Inconnus		61,60	1,04	236	15	24	2	0	0,789	-	-	0,49	0,03	-	-	-	-	0,04	0,00	-	-	-	-
283		1897	86 107 <b>109</b> 122 125 236	Inconnus		64,10	5,99	236	15	24	2	0	0,789	-	-	0,15	0,00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
284		1902	Corymbolone	Cétones	Eudesmanes	64,30	1,53	236	15	24	2	0	0,789	0,10	0,00	0,27	0,01	0,05	0,00	0,05	0,00	0,04	0,00	0,04	0,00	-	-
														Total Alcools III	45,54	49,40	35,37	35,00	56,75	35,41	36,86						
														Total Alcools II	0,49	0,78	0,30	0,29	0,55	0,31	0,00						
														Total Alcools I	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00						
														Total Ethers	0,86	3,47	1,01	0,86	1,34	0,74	0,70						
														Total Aldéhydes	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00						
														Total Hydrocarbures	33,98	11,04	55,06	55,48	29,70	54,42	61,12						
														Total Cétones	1,43	4,21	0,82	0,71	1,19	0,68	0,00						
														Total Inconnus H	0,32	1,63	0,28	0,20	0,40	0,22	0,02						
														Total Inconnus	1,72	1,17	1,73	1,59	1,46	1,74	0,71						
														<b>Total</b>	<b>84,34</b>	<b>71,74</b>	<b>94,57</b>	<b>94,12</b>	<b>91,39</b>	<b>93,53</b>	<b>99,41</b>						

<sup>a</sup> Indices de rétentions (RI) calculés par comparaison d'une série d'*n*-alcanes de C7–C24 via l'analyse GC × GC–MS sur colonne VF-5ms. <sup>b</sup> Les principaux ions sont affichés pour les composés inconnus (les pics de base sont écrits en gras); composés identifiés sur la base de leur spectre de masse et leur indice de rétention (RI) à partir des banques MS.<sup>5,43</sup> <sup>c</sup> Le pourcentage massique (g/100 g) et l'écart type ont été calculés via des analyses en triplicata. <sup>d</sup> Echantillons 1 à 6 : Huile essentielle de patchouli Java. <sup>e</sup> Echantillon 7 : Clearwood™.

Le pouvoir de séparation de la GC × GC–MS permet également d’identifier d’autres dérivés eudesmaniques, parmi lesquels on identifie clairement l’intermédiol (**115**), le paradisiol (**253**), le sélin-11-én-4 $\alpha$ -ol (**164**) et le néointermédiol (**86**, identifié seulement à l’état de trace). Leur présence a été confirmée par recoupement à partir de l’analyse GC × GC–MS de l’huile essentielle de cyprès de Nootka (Chapitre IV). Il est à noter que tous ces alcools sont nouvellement identifiés dans l’essence de patchouli et se retrouvent dans tous les échantillons analysés, confirmant ainsi qu’il ne s’agit pas d’une éventuelle contamination.

Suite à l’analyse de notre série d’échantillons, l’ensemble des molécules identifiées peuvent être considérés comme des constituants naturels des essences de patchouli et non comme des artefacts. L’analyse du Clearwood™, équivalent biosynthétique de l’essence de patchouli, a révélé la présence de composés non identifiés dans les échantillons d’huiles essentielles. On note notamment la présence de deux germacrane (**226** et **240**), du gynurénol (**229**) déjà identifié dans l’huile de vétiver (Chapitre V), et surtout de l’éther éthylique du patchoulol (**268**), qui est probablement issu d’une transformation enzymatique secondaire (piégeage du carbocation préseychellane par l’éthanol issu du processus de fermentation. Dans le cas des germacrane, ils peuvent conduire après cyclisation aux squelettes eudesmanes et guaïanes. Toutefois, en dehors de ces composés, on retrouve dans le Clearwood™ les hydrocarbures majoritaires de l’essence de patchouli. Les proportions d’ $\alpha$ -guaïène (**14**), d’ $\alpha$ -bulnésène (**42**), d’ $\alpha$ -, de  $\beta$ -, de  $\gamma$ -, de  $\delta$ -patchoulène (**212**, **9**, **215** et **24**), d’aciphyllène (**219**) et de seychellène (**211**) sont sensiblement équivalentes à celles observées dans les échantillons d’huiles essentielles fraîches. Le patchoulol (**265**) est le composé majoritaire du Clearwood™ et le seychellanol (**266**) est présent en quantité suffisamment importante pour être clairement identifié lors d’analyses sur colonne polaire. Les alcools à squelette guaïane et eudesmane sont également détectés et représentent un peu plus de 3 % de l’échantillon. De façon générale, tous les alcools possédant un ion moléculaire à  $m/z = 222$  et présents dans les huiles essentielles de patchouli sont également détectés dans le Clearwood™. En revanche, on note que les alcools à  $m/z = 220$ , les hydrocarbures à  $m/z = 202$ , les produits d’oxydation, tels que la rotundone (**269**) et l’ $\alpha$ -patchoulén-8-one (**278**), et les dicétones (**270**, **274**, **277** et **279**) ne sont pas détectés ou sont présents à l’état de trace uniquement.

Étant donné que les hydrocarbures constituent une grande partie de l’huile essentielle de patchouli et qu’ils s’oxydent facilement à l’air,<sup>21,25,37</sup> la présence de ces produits d’oxydation dans les essences de patchouli et leur absence dans le Clearwood™ ne sont pas surprenantes. En effet, ces composés peuvent probablement être formés à différents stades de la production de l’huile essentielle de *P. cablin*. De plus, on peut noter que dans le cas d’essences vieilles,

ayant potentiellement été exposées à l'air, les composés d'oxydation sont plus abondants, entraînant en parallèle la consommation des hydrocarbures correspondants. Afin de confirmer cette hypothèse, nous avons entrepris de tester divers processus oxydatifs simples à partir d'une fraction enrichie en hydrocarbures mais aussi à partir du Clearwood™.

#### III.4. Relations et filiations chimiques des composés identifiés dans l'essence de patchouli

Concernant la chimie de l'huile essentielle de patchouli et de ses constituants, la question est de savoir dans quelle mesure ses constituants sont formés naturellement par des processus biosynthétiques ou bien s'ils proviennent de réactions chimiques survenant lors du stockage, du vieillissement ou bien lors de l'hydrodistillation. Depuis les années 1960, le patchoulol (**265**), en tant que molécule facilement isolée de l'essence, a été largement étudié pour examiner ses produits dérivés.<sup>44</sup> Les transformations susceptibles de se produire pendant l'hydrodistillation, notamment la déshydratation de l'alcool, sont particulièrement importantes pour la compréhension de la chimie des extraits de patchouli. Ainsi, lors de l'utilisation de réactifs de déshydratation puissants ( $\text{POCl}_3$ ,  $\text{SOCl}_2$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , etc.), certains auteurs ont signalé la formation de divers hydrocarbures, tels que l' $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - et  $\delta$ -patchoulènes, formés en quantités variables en fonction de l'agent déshydratant utilisé pendant la transformation.<sup>24,44</sup> Ainsi, nous avons entrepris l'hydrodistillation à l'échelle du laboratoire du patchoulol (**265**) seul. Cette expérience n'a fourni aucun indice positif sur ses produits potentiels de déshydratation.

D'un point de vue de la nomenclature, plusieurs auteurs ont discuté de la question de savoir si le patchoulol (**265**) devrait être ou non considéré comme un véritable patchoulane. Cette contradiction peut être en partie liée à l'erreur initiale de Büchi et al. qui ont assigné à tort un squelette de type  $\alpha$ -patchoulène au patchoulol.<sup>44,45</sup> Comme le soulignent van Beek et Joulain,<sup>2</sup> le nom patchoulane lui-même est trompeur puisqu'il désigne deux structures tricycliques biogénétiquement liées au squelette de guaiane : le 1,4,9,9-tétraméthyl-octahydro-1H-3 $\alpha$ ,7-méthanoazulène, communément connu comme l' $\alpha$ -patchoulane (et aussi appelé cypérane) et 1,4,9,9-tétraméthyl-décahydro-4,7-méthanoazulène, ce qui correspond au structure type  $\beta$ -patchoulane (Schéma 14).

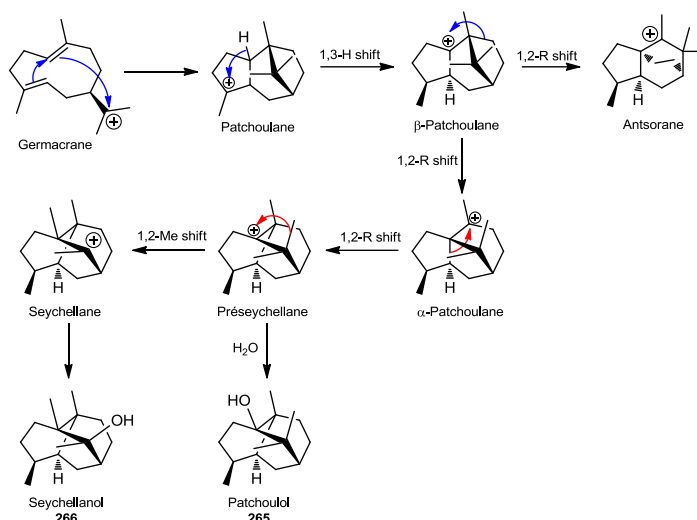


Schéma 14. Voie de formation des  $\alpha$ - et  $\beta$ -patchoulanes ainsi que des préseychellanes et seychellanes.

Ces deux squelettes possèdent plusieurs dérivés parmi les composants de l'huile essentielle de patchouli, tels que l' $\alpha$ -patchoulène (**212**), le  $\gamma$ -patchoulène (**222**), l' $\alpha$ -patchoulén-8-one (**278**) pour le squelette  $\alpha$ -patchoulane, et le  $\beta$ -patchoulène (**9**), le  $\delta$ -patchoulène (**24**) et la  $\beta$ -patchoulén-2-one (**262**) pour le squelette  $\beta$ -patchoulane. Cependant, au vu de sa structure tricyclique, le patchoulol (**265**) n'est pas à proprement parler un patchoulane mais bien un alcool dérivé du cation préseychellane (2,5,5,8 $\alpha$ -tétraméthyl-décahydro-1,6-méthanonaphtalène) puisque son squelette se trouve à un pas du squelette seychellane, lui-même obtenu par migration d'un des méthyles géminés. En ce sens, le patchoulol (**265**) devrait être également nommé préseychellanol.

Le seychellène (**211**) lui-même est très résistant à l'oxydation naturelle à l'air puisqu'il demeure l'un des seuls hydrocarbures majeurs, avec le cycloseychellène (**205**), encore présents en quantité importante dans tous les échantillons vieillis d'essences de patchouli (Tableau 16). En 1968, Wolff et Ourrisson ont déjà signalé cette résistance et indiquent que seule l'oxydation au tetroxyde d'osmium permet d'obtenir un produit d'oxydation à partir du seychellène.<sup>46</sup> Toutefois, l'identification du seychellanol (**266**) indique que l'hydratation du cation seychellane est réelle au même titre que celle du cation préseychellane conduisant au patchoulol (Schéma 14).

Les autres principaux hydrocarbures contenus dans l'essence semblent s'oxyder assez aisément, conduisant à des alcools ou à des cétones sesquiterpéniques, voire à des produits non volatils. En effet, le pourcentage d'identification des essences vieilles est en moyenne beaucoup moins élevé que celui obtenu pour des essences fraîches, ce qui suggère la présence de composés n'éluant pas en GC, sans doute en raison de leur faible volatilité (Tableau 16). Au

vu du nombre élevé de produits d'oxydation observés dans des échantillons plus vieux, éluant principalement après le patchoulol sur le chromatogramme 2D, nous avons décidé d'étudier leurs possibles voies de formation.

Dans ce contexte, le Clearwood™ a fourni une très bonne opportunité d'étudier ces transformations puisque cette substance est un pur produit de la bioingénierie, à tous égards comparables à ce que les terpènes synthèses pourraient initialement produire au sein de *Pogostemon cablin*. De plus, ce produit est donné pour n'avoir subi aucune étape d'hydrodistillation, ni de vieillissement. Nous nous sommes assuré que l'échantillon était suffisamment frais et stocké correctement. Ainsi, cette substance a permis de monitorer l'impact des deux procédés susmentionnés (hydrodistillation et vieillissement) en soumettant en parallèle le Clearwood™ à un processus d'hydrodistillation et à une oxydation naturelle à l'air libre (pendant deux semaines). Les résultats sont illustrés en Figure 14.

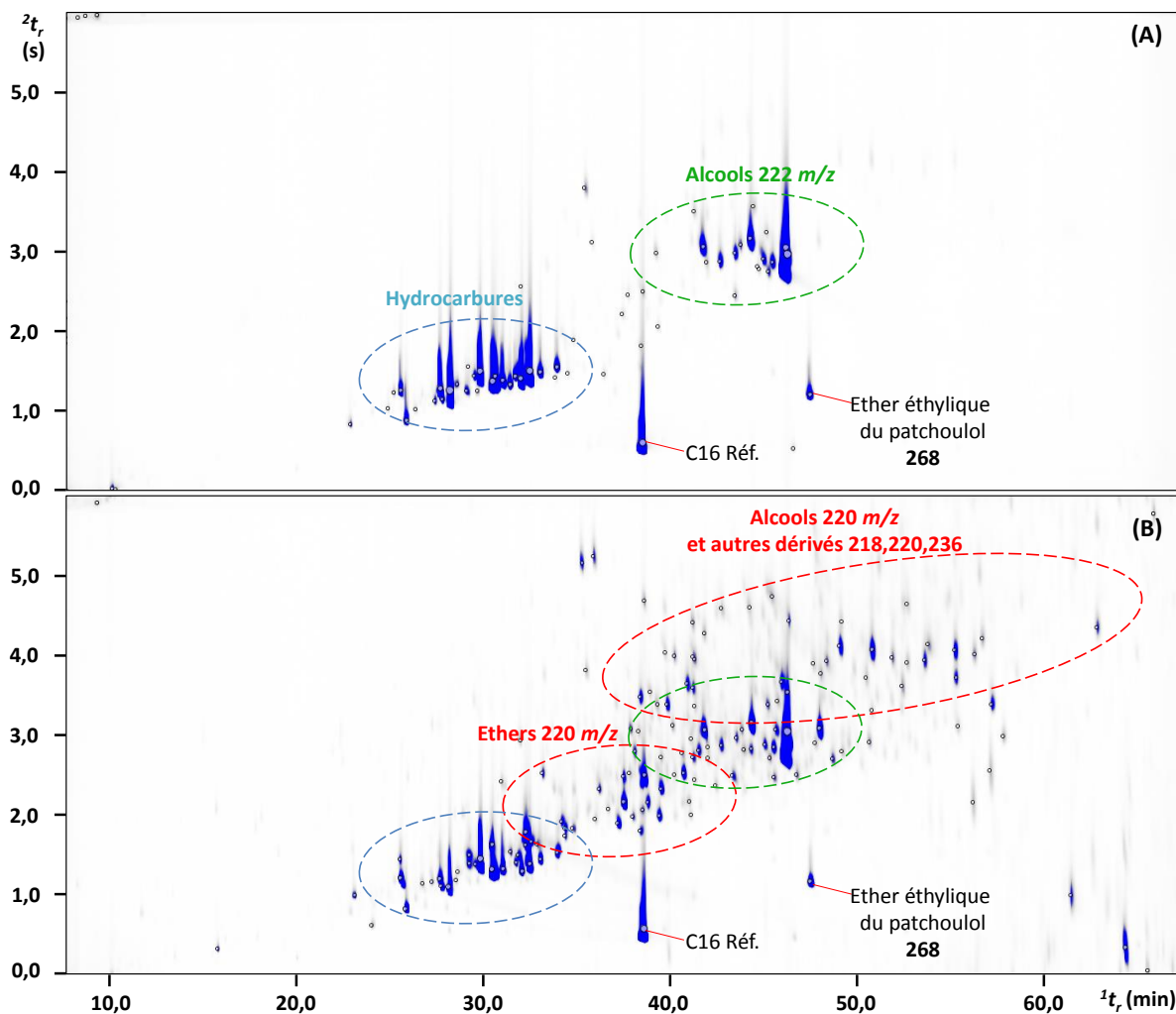


Figure 14. Analyse GC x GC-MS des échantillons de Clearwood (A) et de Clearwood vieillie (B). En rouge, zone d'éluion majoritaire des composés oxydés non visibles dans le Clearwood.

Alors que l'hydrodistillation semble avoir un effet très limité voire quasi nul, le vieillissement naturel a eu un impact considérable sur la composition chimique du Clearwood™. Grâce à l'analyse GC × GC comparée de l'échantillon initial, du Clearwood vieilli et des essences de patchouli, il a été possible de mieux rationaliser la formation de certains constituants oxygénés majeurs, notamment celle des alcools allyliques et des cétones.

Comme mentionné dans les précédents paragraphes, quelques dérivés germacrènes sont détectés dans le Clearwood™. A l'exception du germacrène D (**217**), ces dérivés ne sont pas présents dans les essences. En raison de leur instabilité intrinsèque<sup>47,48</sup> et des conditions drastiques employées durant la distillation à la vapeur, les germacrènes peuvent se transformer et conduire à différents squelettes sesquiterpéniques tels que les guaïanes, les eudesmanes, voire même les  $\alpha$ - et  $\beta$ -patchoulanes. Toutefois, il est assez peu probable que les patchoulanes conduisent à la formation de préseychellanes et seychellanes aux différents stades d'extraction de l'essence, notamment pendant l'hydrodistillation. Leur présence importante dans le Clearwood est une preuve définitive de leur origine biosynthétique. Outre ces composés, les hydrocarbures en  $m/z = 202$  et les dérivés oxygénés en  $m/z = 220, 218$  et  $236$  ne sont pas retrouvés dans le Clearwood™. Lors du vieillissement de ce dernier, on remarque la formation de nombreux produits d'oxydation, parmi lesquels la rotundone (**269**), les dicétones (**270, 274, 277** et **279**) ou l' $\alpha$ -patchoulén-8-one (**278**) sont clairement identifiés (Figure 14). De façon logique, les constituants mineurs isolés et identifiés dans les essences proviennent probablement de la formation d'hydropéroxydes à partir des hydrocarbures associés.<sup>9</sup> Il est donc possible de proposer un schéma général de formation des différents constituants des essences de patchouli, comprenant à la fois les processus purement biosynthétiques et les étapes d'oxydation ultérieures (Schéma 15).

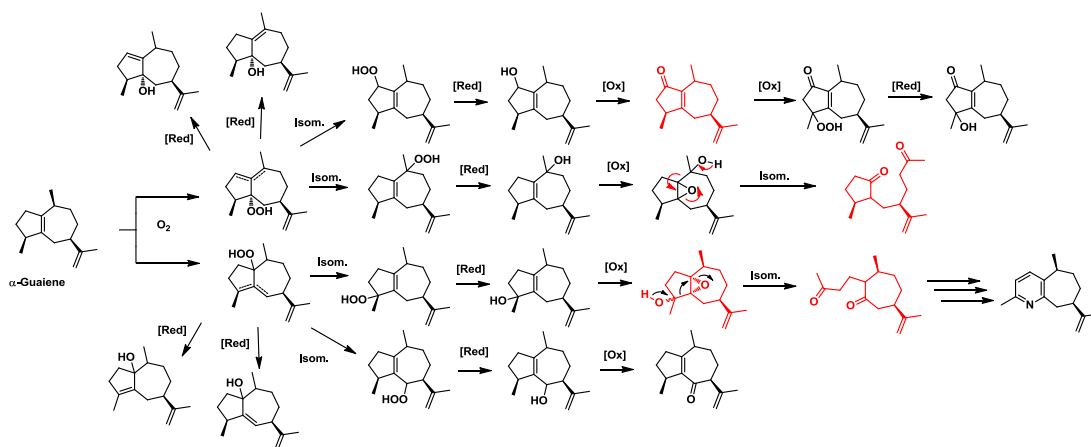


Schéma 15. Exemple des processus oxydatifs de l' $\alpha$ -guaïène potentiellement à l'œuvre et conduisant en partie aux composés oxygénés identifiés dans l'essence de patchouli.

Cette hypothèse a été confirmée par la présence de certains dérivés suroxydés inhabituels dans des extraits au solvant. Huang et al. ont déjà rapporté que l'oxydation naturelle de l' $\alpha$ -bulnesène (**42**) et de l' $\alpha$ -guaiène (**14**) conduit à plusieurs composés oxygénés dont la plupart sont ici identifiés dans nos échantillons d'essences mais aussi dans le Clearwood vieilli.<sup>21,25,37</sup> Ainsi, cette analyse comparée entre les échantillons de Clearwood à différents stades de vieillissement nous permet de conclure sur l'origine biosynthétique ou purement chimique des différents produits identifiés dans cette partie de l'étude. Les hydrocarbures (204 g/mol) et les alcools (222 g/mol) sont formés naturellement par la plante et se retrouvent nécessairement dans les essences de patchouli. En revanche, les hydrocarbures (202 g/mol), les alcools (220 g/mol) et les cétones (218 et 236 g/mol) ne sont présents que suite à l'oxydation à l'air des hydrocarbures et alcools majoritaires de l'essence.

Cette étude nous a permis de définir la différence de composition chimique entre le Clearwood, l'essence de patchouli fraîche et ces extraits vieillis. Dans la continuité de nos recherches sur les odorants des matières premières à odeur boisée, nous avons entrepris l'étude olfactive de l'essence totale dans un premier temps puis l'huile essentielle de patchouli *versus* le Clearwood™ et enfin, l'étude olfactive des extraits vieillis.

### III.5. Analyse olfactive des essences de patchouli et du Clearwood™

Sur les cinquante dernières années, plusieurs groupes de recherche se sont intéressés à la composition chimique de l'essence de patchouli et à ses composés odorants. La première étude donne l'occasion d'isoler le patchoulol (**265**) de l'essence et permet simplement d'attribuer une formule brute.<sup>58</sup> L'étude structurale de **265** a été menée en premier lieu par Büchi et al. et ont tenté de le synthétiser. Toutefois, ils attribuent au patchoulol (**265**) une structure de type  $\beta$ -patchoulane.<sup>44,45</sup> Ce composé a été caractérisé plus tard par rayons X.<sup>49</sup> Teisseire a défini ce composé comme étant inodore et déclenche par la même occasion ce qui s'avère être la plus grande controverse du monde des parfums.<sup>59</sup> En effet, différentes évaluations olfactives sur le patchoulol ont été entreprises et les résultats diffèrent. Toutefois, Buchbauer montrera grâce à l'utilisation de la GC–O que le patchoulol est bien le composé le plus actif et qu'il possède la note typique de l'essence de patchouli.<sup>50,51</sup> Bien que ces études apportent une preuve concrète de l'importance du patchoulol sur l'odeur, on note que dans certaines références bibliographiques le patchoulol est encore décrit comme étant peu actif



comparativement au norpatchoulénol (**230**) et le nortétracyclopatchoulol (**249**), décrits comme étant les plus odorants.<sup>52</sup>

Afin de donner une preuve supplémentaire de l'importance du patchoulol (**265**) et par la même occasion de tenter d'identifier de nouveaux composés odorants dans les différentes essences de patchouli, nous avons réalisé une étude olfactive de l'essence de patchouli par GC–O. Comme pour les autres matières premières étudiées dans cette thèse, nous avons entrepris d'appliquer un protocole AEDA à notre échantillon d'essence de patchouli fraîche (Ech. 3). L'analyse a été réalisée par trois panélistes à une concentration de 50 mg/mL (Figure 15).

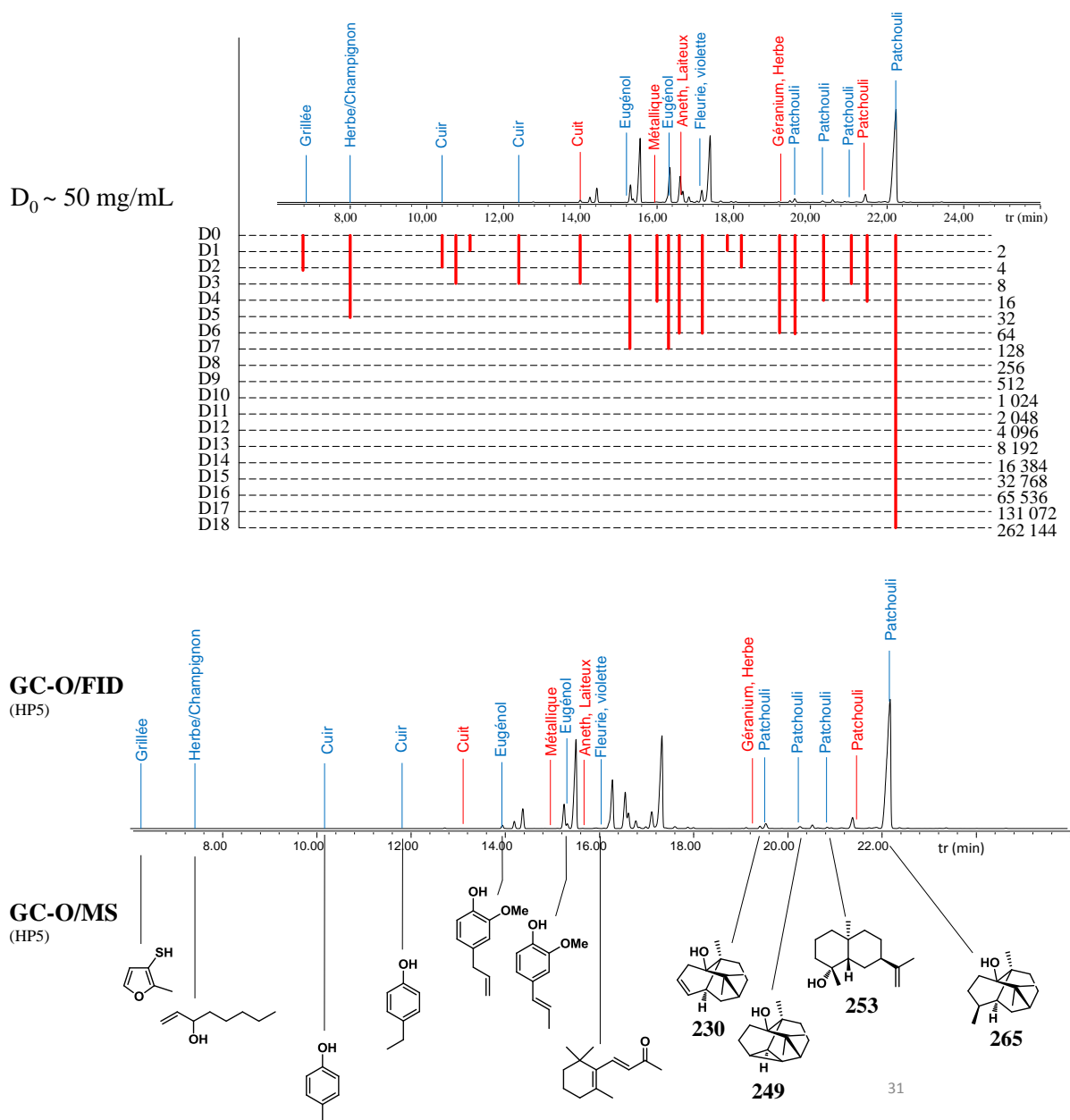


Figure 15. Aromagramme de l'essence de patchouli obtenu pour une concentration initiale en huile essentielle à 50 mg/mL (au-dessus) et attribution des odeurs par GC–O/MS (en-dessous).

L'analyse AEDA confirme que le patchoulol (**255**) est bien la molécule odorante d'impact de l'essence de patchouli. En effet, on détermine que pour une concentration initiale à 50 mg/mL d'huile essentielle, le facteur de dilution est de 262 144. Alors que pour le norpatchoulénol (**230**) et le nortétracyclopatchoulol (**249**), on obtient des facteurs de dilutions beaucoup moins importants, 64 et 16 respectivement. Par ailleurs, nous pouvons affirmer que le seychellanol (**266**), nouvellement identifié dans cette essence et coélué avec **265**, est très peu odorant voire inodore quand celui-ci est analysé sur phase stationnaire polaire (Wax).

Cette analyse nous a permis également d'identifier une nouvelle molécule odorante dans l'essence de patchouli, à savoir le paradisiol (**253**). Cet eudesmane est décrit par les panélistes comme possédant une odeur patchouli mais avec un côté plus terreux et vert. C'est la première fois que ce composé est décrit comme odorant. Parmi les nombreuses notes détectées, les dérivés aromatiques sont une fois de plus bien présents et contribuent à l'odeur globale de l'essence. Plus intrigant enfin, la rotundone (**269**), qui est un composé décrit comme étant une molécule d'impact de plusieurs extraits naturels<sup>37,53,54</sup> et identifiée en quantité non-négligeable dans cette essence, n'a pas été clairement perçue par les trois panélistes.

Des investigations plus approfondies sont nécessaires. Notre étude olfactive étant encore en cours, nous avons pour objectif de soulever les différences olfactives entre une essence fraîche, le Clearwood et une essence vieillie mais aussi de vérifier la contribution olfactive de la rotundone, décrite par ailleurs comme étant un composé d'impact.

### III.6. Conclusion

Ainsi, l'analyse rigoureuse de la composition chimique de l'essence de patchouli a permis d'améliorer drastiquement notre connaissance sur cette matière première emblématique de l'industrie du parfum. Au total, 35 composés ont été isolés par GC semi-préparative et caractérisés par RMN. L'analyse qualitative de l'essence permet de confirmer la présence de plusieurs dérivés oxygénés à squelette eudesmane. L'étude quantitative conduite par GC × GC–FID a été réalisée sur six échantillons d'essence de patchouli et sur un échantillon de Clearwood, un équivalent issu de la bioingénierie de l'essence de patchouli. En s'appuyant sur ces données et grâce à des expériences de vieillissement des essences de patchouli et du Clearwood, nous avons pu définir des liens chimiques clairs entre les hydrocarbures et certains dérivés oxygénés. L'étude olfactométrique par GC–O confirme la puissance du patchoulol,

composé majoritaire de l'essence, et nous permet d'identifier le paradisiol comme l'une des notes verte, camphrée et terreuse proche de celle du patchoulol.

A la différence de l'essence de patchouli, nous avons ensuite entrepris l'étude d'une matière première encore peu connue de l'industrie du parfum, le cyprès jaune d'Alaska *Callitropsis nootkatensis*.

## Partie expérimentale : Partie III

Le fractionnement de l'essence de Patchouli

20,02 g d'huile essentielle de patchouli fraîche ont été fractionnés sur 700 g de gel de silice. Les fractions d'intérêt ont été à nouveau séparées sur gel de silice imprégné d'AgNO<sub>3</sub> (5 % ; *m/m*) en plusieurs sous-fractions. Les sous-fractions significatives ont été regroupées pour être exploitées en GC semi préparative. Le même protocole a été adopté pour le Clearwood™ (4,0 g).

Vieillessement des hydrocarbures et du Clearwood™

Environ 25 mg d'une fraction d'hydrocarbures provenant de l'essence de patchouli sont ajoutés dans un vial de 2,5 mL percé par une aiguille. Après deux semaines d'exposition à l'air/lumière, le contenu est dilué dans un mélange de référence (109 mg *n*-hexadécane/ 20,03 g de MTBE) et directement analysé par GC × CG-MS/FID. Le même protocole a été appliqué au Clearwood™.

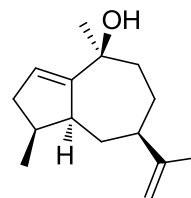
Description des composés isolés

Composé : (4 $\alpha$ H,5 $\alpha$ H,7 $\alpha$ H)-Guaia-1,11-dièn-10 $\beta$ -ol (**232**)

Indice de rétention : HP-1/Wax : 1576/2117

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV) *m/z* (int. rel.): 220 [M]<sup>+</sup> (10), 202 (54), 187 (94), 177 (27), 161 (52), 159 (67), 147 (51), 145 (59), 133 (37), 131 (42), 121 (54), 107 (61), 105 (60), 95 (51), 93 (65), 91 (58), 81 (58), 79 (61), 77 (39), 69 (39), 55 (43), 43 (100)



<sup>1</sup>H (500 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  5,70 (1H, dd, *J* = 2,9, 1,8 Hz, H-2), 4,82–4,73 (2H, m, H-12ab), 2,23 (1H, dq, *J* = 9,9, 7,2 Hz, H-4), 2,15 (1H, ddd, *J* = 15,5, 7,6, 3,1 Hz, H-3a), 2,07 (1H, ddt, *J* = 11,9, 7,1, 2,1 Hz, H-5), 1,95–1,83 (2H, m, H-3a, H-7), 1,80–1,73 (2H, m, H-6a, H-9a),

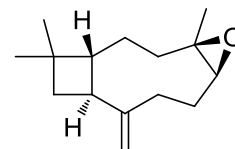
1,68–1,63 (3H, m, H-13), 1,56–1,51 (1H, m, H-8a), 1,52–1,44 (2H, m, H-8b, H-9b), 1,27 (3H, s, H-14), 1,15 (1H, t,  $J = 12,1$  Hz, H-6b), 0,92 (3H, d,  $J = 7,0$  Hz, H-15)

$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 13

Composé : Oxyde de Caryophyllène (**233**)

Indice de rétention : HP-1/Wax : 1578/1971

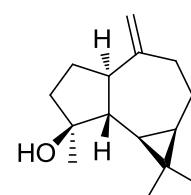
Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>55</sup>



Composé : Spathuléol (**236**)

Indice de rétention : HP-1 : 1564

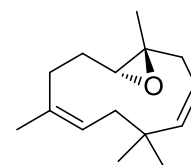
Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>32</sup>



Composé : Oxyde d'humulène II (**237**)

Indice de rétention : HP-1/Wax : 1595/2026

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>5,56</sup>

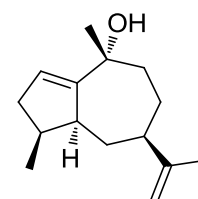


Composé : (4 $\alpha$ H,5 $\alpha$ H,7 $\alpha$ H)-Guaia-1,11-dièn-10 $\alpha$ -ol (**238**)

Indice de rétention : HP-1/Wax : 1602/2185

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>11</sup>

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 220 [M]<sup>++</sup> (10), 205 (17), 202 (30), 187 (40), 177 (30), 162 (61), 159 (48), 149 (30), 147 (36), 145 (38), 136 (25), 135 (25), 123 (49), 121 (53), 107 (52), 93 (54), 81 (48), 79 (49), 69 (34), 55 (32), 43 (100)



$^1\text{H}$  (400 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  5,60–5,47 (1H, m, H-2), 4,80–4,70 (2H, m, H-12ab), 2,55 (1H, dd,  $J = 12,5, 7,1$  Hz, H-5), 2,27 (1H, ddd,  $J = 15,0, 8,2, 7,1$  Hz, H-4), 2,17 (1H, ddd,  $J = 15,7, 7,5, 2,9$  Hz, H-3a), 2,00 (1H, tt,  $J = 11,5, 3,1$  Hz, H-7), 1,91–1,85 (1H, m, H-3b), 1,84–1,71 (3H, m, H-9ab, H-6a), 1,69–1,59 (1H, m, H-8a), 1,63 (3H, t,  $J = 1,1$  Hz, H-13), 1,33 (3H, s, H-14), 1,17–1,09 (2H, m, H-8b, H-6b), 0,91 (3H, d,  $J = 7,0$  Hz, H-15)

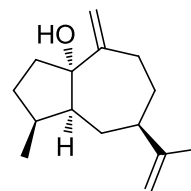
$^{13}\text{C}$  (101 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 13

Composé : (4 $\alpha$ H,5 $\alpha$ H,7 $\alpha$ H)-Guaia-10(14),11-dién-1 $\alpha$ -ol (**239**)

Indice de rétention : HP-1/Wax : 1604/2186

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>11,19</sup>

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 220 [M]<sup>+</sup> (24), 205 (46), 187 (33), 177 (51), 173 (21), 159 (57), 147 (42), 135 (45), 131 (40), 121 (77), 119 (72), 109 (60), 107 (87), 105 (75), 95 (71), 93 (98), 91 (100), 79 (93), 67 (65), 55 (80), 41 (88)



<sup>1</sup>H (500 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  4,94–4,92 (1H, m, H-14a), 4,80–4,79 (1H, m, H-14b), 4,79–4,76 (1H, m, H-12a), 4,75–4,70 (1H, m, H-12b), 2,67 (1H, ddq,  $J = 15,8, 8,8, 7,1$  Hz, H-4), 2,37 (1H, td,  $J = 12,5, 2,9$  Hz, H-9a), 2,17 (1H, ddd,  $J = 12,9, 6,0, 3,0$  Hz, H-9b), 2,05 (1H, ddd,  $J = 13,7, 10,6, 6,6$  Hz, H-2a), 2,05–1,95 (1H, m, H-7), 1,96–1,85 (3H, m, H-3a, H-5, H-8a), 1,63 (3H, dd,  $J = 1,3, 0,9$  Hz, H-13), 1,63–1,59 (1H, m, H-6a), 1,60–1,52 (1H, m, H-2b), 1,33 (1H, dtd,  $J = 13,1, 12,1, 3,3$  Hz, H-8b), 1,16 (1H, dddd,  $J = 12,7, 10,7, 9,0, 5,3$  Hz, H-3b), 0,95–0,88 (1H, m, H-6b), 0,88 (3H, d,  $J = 7,1$  Hz, H-15)

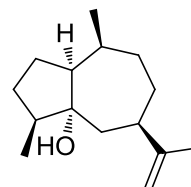
<sup>13</sup>C (126 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) voir Tableau 13

Composé : (1 $\alpha$ H,4 $\alpha$ H,7 $\alpha$ H,10 $\alpha$ H)-Guai-11-én-5 $\alpha$ -ol (**241**)

Indice de rétention : HP-1/Wax : 1612/2153

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 222 [M]<sup>+</sup> (3), 204 (45), 189 (63), 175 (15), 165 (37), 161 (58), 151 (42), 147 (37), 138 (27), 137 (25), 125 (100), 123 (62), 121 (60), 109 (76), 107 (54), 95 (69), 81 (59), 69 (38), 67 (43), 55 (60), 41 (47)



<sup>1</sup>H (500 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  4,89–4,72 (2H, m, H-12ab), 2,79 (1H, td,  $J = 10,6, 5,4$  Hz, H-7), 2,13–2,00 (1H, m, H-10), 1,74–1,63 (4H, m, H-1, H-8a, H-4, H-3a), 1,71 (3H, dd,  $J = 1,3, 0,8$  Hz, H-13), 1,51–1,40 (4H, m, H-6a, H-2a, H-9a, H-8b), 1,34–1,21 (3H, m, H-2b, H-9b, H-6b), 1,06–0,96 (1H, m, H-3b), 0,84 (3H, d,  $J = 7,1$  Hz, H-14), 0,79 (3H, d,  $J = 6,5$  Hz, H-15)

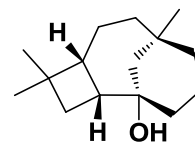
<sup>13</sup>C (126 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) voir Tableau 13

Composé : 10-épi- $\beta$ -Caryolanol (**242**)

Indice de rétention : HP-1/Wax : 1604/2121

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 222 [M]<sup>++</sup> (0), 204 (2), 179 (4), 166 (11), 164 (9), 161 (6), 149 (30), 138 (6), 137 (6), 123 (100), 111 (15), 109 (15), 95 (22), 81 (11), 69 (10), 67 (10), 55 (17), 41 (17)



<sup>1</sup>H (400 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ 2,41–2,30 (1H, m, H-9), 1,95 (1H, dt,  $J = 13,5, 2,4$  Hz, H-13a), 1,68–1,51 (5H, m, H-1, H-10ab, H-7a, H-2a), 1,47–1,34 (4H, m, H-6ab, H-7b, H-3a), 1,31–1,27 (1H, m, H-2b), 1,25–1,19 (1H, m, H-5a), 1,12 (3H, s, H-15), 1,11–1,01 (2H, m, H-3b, H-5b), 0,91 (3H, s, H-12), 0,87 (3H, s, H-14)

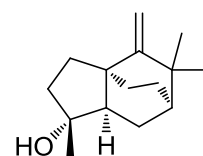
<sup>13</sup>C (101 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) voir Tableau 15

Composé : Antsor-6(13)-én-2α-ol (**243**)

Indice de rétention : HP-1/Wax : 1596/2230

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 220 [M]<sup>++</sup> (27), 205 (100), 187 (20), 177 (17), 162 (38), 159 (29), 147 (26), 133 (20), 119 (41), 105 (30), 93 (32), 91 (39), 79 (20), 77 (18), 67 (10), 55 (11), 43 (33)



HREIMS  $m/z$  220,1811 (calc. pour C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>O, 220,1827)

<sup>1</sup>H (500 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ 4,78 (1H, s, H-13a), 4,73 (1H, s, H-13b), 1,94 (1H, dd,  $J = 11,2, 8,6$  Hz, H-1), 1,87 (1H, ddd,  $J = 11,6, 7,5, 1,5$  Hz, H-4a), 1,83–1,76 (2H, m, H-3ab), 1,73–1,65 (2H, m, H-9a, H-11a), 1,60–1,49 (2H, m, H-10a, H-11b), 1,40–1,32 (3H, m, H-4b, H-9b, H-10b), 1,23–1,14 (1H, m, H-8), 1,11 (3H, s, H-12), 1,07 (3H, s, H-14), 1,05 (3H, s, H-15)

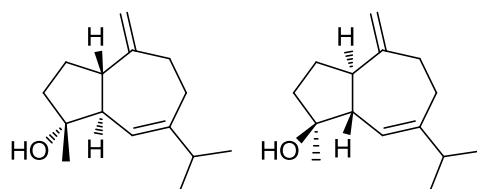
<sup>13</sup>C (101 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) voir Tableau 15

Composé : Alismol, deux énantiomères (**244**)

Indice de rétention : HP-1 : 1612

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>15</sup>

<sup>13</sup>C (101 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) voir Tableau 14

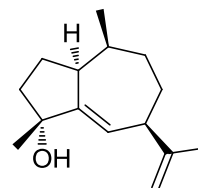


Composé : Guaia-5,11-dién-4α-ol (**245**)

Indice de rétention : HP-1/Wax : 1603/2202

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 220  $[M]^{+}$  (2), 205 (10), 187 (11), 163 (20), 162 (100), 149 (20), 147 (23), 145 (20), 131 (17), 123 (16), 121 (19), 119 (26), 107 (26), 105 (36), 93 (25), 91 (38), 79 (31), 67 (13), 55 (17), 43 (37)



HREIMS  $m/z$  220,1814 (calc. pour  $C_{15}H_{24}O$ , 220,1827)

$^1H$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  5,80 (1H, t,  $J = 3,3$  Hz, H-6), 4,90 (1H, td,  $J = 1,5, 0,7$  Hz, H-12a), 4,82–4,76 (1H, m, H-12b), 2,81–2,73 (2H, m, H-1, H-7), 1,77–1,72 (1H, m, H-9a), 1,72 (3H, q,  $J = 0,9$  Hz, H-13), 1,71–1,68 (1H, m, H-2a), 1,68–1,60 (4H, m, H-6a, H-4, H-9b, H-3a), 1,49 (1H, ddd,  $J = 12,2, 9,5, 7,1$  Hz, H-3b), 1,39 (1H, ddd,  $J = 7,7, 5,9, 3,8$  Hz, H-6b), 1,28–1,22 (1H, m, H-2b), 1,23 (3H, s, H-15), 0,76 (3H, d,  $J = 7,0$  Hz, H-14)

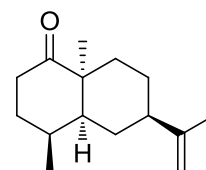
$^{13}C$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 14

Composé : (4 $\alpha$ H,5 $\alpha$ H,7 $\alpha$ H,10 $\alpha$ )-Eudesm-11-én-1-one (246)

Indice de rétention : HP-1/Wax : 1616/2082

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 220  $[M]^{+}$  (30), 202 (23), 187 (9), 177 (9), 163 (9), 138 (100), 125 (76), 121 (22), 107 (30), 93 (31), 81 (24), 79 (23), 67 (26), 55 (32), 41 (31)



HREIMS  $m/z$  220,1820 (calc. pour  $C_{15}H_{24}O$ , 220,1827)

$^1H$  (400 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  4,82–4,71 (2H, m, H-12ab), 2,51 (1H, dt,  $J = 13,2, 3,1$  Hz, H-9a), 2,20 (1H, ddd,  $J = 15,5, 13,1, 7,4$  Hz, H-2a), 2,14–2,09 (1H, m, H-2b), 2,08–2,01 (1H, m, H-4), 1,74 (1H, dt,  $J = 11,4, 3,6$  Hz, H-7), 1,67 (1H, dd,  $J = 12,5, 3,5$  Hz, H-8a), 1,65–1,62 (4H, m, H-13, H-8b), 1,62–1,56 (1H, m, H-6a), 1,41–1,23 (3H, m, H-3ab, H-5), 0,93 (3H, s, H-14), 0,89 (1H, dd,  $J = 12,8, 1,3$  Hz, H-6b), 0,79 (1H, td,  $J = 12,8, 4,6$  Hz, H-9b), 0,71 (3H, d,  $J = 6,9$  Hz, H-15)

$^{13}C$  (101 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 15

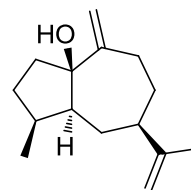
Composé : (4 $\alpha$ H,5 $\alpha$ H,7 $\alpha$ H)-Guaia-10(14),11-dién-1 $\beta$ -ol (248)

Indice de rétention : HP-1/Wax : 1619/2161



Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 220 [M]<sup>+</sup> (34), 205 (47), 187 (37), 177 (48), 159 (60), 147 (45), 135 (45), 131 (40), 121 (77), 119 (72), 107 (86), 105 (68), 95 (71), 94 (67), 93 (100), 91 (89), 81 (71), 79 (84), 69 (49), 67 (57), 55 (75), 41 (75)



HREIMS  $m/z$  220,1854 (calc. pour C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>O, 220,1827)

<sup>1</sup>H (400 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ 4,90 (1H, s, H-14a), 4,88–4,81 (1H, m, H-12a), 4,77–4,75 (1H, m, H-12b), 4,74 (1H, q,  $J = 1,5$  Hz, H-14b), 2,39 (1H, dddd,  $J = 14,8, 6,5, 3,0, 1,1$  Hz, H-9a), 2,21–2,11 (1H, m, H-9b), 2,07 (1H, ddt,  $J = 14,4, 7,1, 1,4$  Hz, H-4), 1,99 (1H, tt,  $J = 11,2, 3,0$  Hz, H-7), 1,92–1,81 (2H, m, H-3a, H-6a), 1,83–1,72 (1H, m, H-8a), 1,74–1,68 (6H, m, H-2ab, H-13, H-5), 1,66–1,58 (2H, m, H-8b, H-6b), 1,54 (1H, dddd,  $J = 12,6, 9,3, 6,1, 2,9$  Hz, H-3b), 1,09 (3H, d,  $J = 7,2$  Hz, H-15)

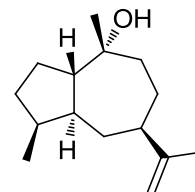
<sup>13</sup>C (101 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) voir Tableau 13

Composé : 1,10-di-épi-Pogostol, (1βH,4αH,5αH,7αH)-Guai-11-én-10α-ol (**250**)

Indice de rétention : HP-1 : 1638

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 222 [M]<sup>++</sup> (2), 204 (13), 189 (26), 175 (10), 161 (27), 147 (21), 136 (14), 133 (16), 123 (25), 122 (33), 121 (36), 111 (22), 109 (45), 108 (47), 107 (52), 95 (52), 93 (50), 91 (37), 81 (70), 79 (45), 77 (25), 71 (73), 69 (38), 67 (62), 55 (59), 43 (100)



<sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 4,78–4,54 (2H, m, H-12ab), 2,14–1,90 (4H, m, H-1, H-5, H-4, H-7), 1,90 (1H, ddd,  $J = 13,2, 6,0, 3,1$  Hz, H-9a), 1,80–1,67 (6H, m, H-2ab, H-13, H-8a), 1,65–1,57 (3H, m, H-8b, H-9b, H-3a), 1,52–1,44 (2H, m, H-6ab), 1,32 (1H, ddd,  $J = 12,4, 8,0, 3,9$  Hz, H-3b), 1,22 (3H, s, H-15), 0,87 (3H, d,  $J = 6,6$  Hz, H-14)

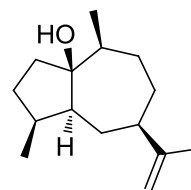
<sup>13</sup>C (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) voir Tableau 14

Composé : (4αH,5αH,7αH,10αH)-Guai-11-én-1β-ol (**252**)

Indice de rétention : HP-1/Wax : 1635/2104

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 222 [M]<sup>++</sup> (5), 207 (19), 204 (16), 189 (16), 175 (10), 165 (14), 161 (20), 149 (28), 147 (26), 123 (20), 121 (27), 112 (29), 111 (100), 110 (28), 109 (37), 107 (33), 95 (36), 93 (36), 83 (61), 81 (38), 69 (54), 55 (66), 41 (53)



HREIMS  $m/z$  222,1972 (calc. pour C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>O, 222,1984)

<sup>1</sup>H (400 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ 4,82 (2H, m, H-12ab), 2,16 (dt,  $J = 11,0, 5,6$  Hz, 1H), 2,04 (q,  $J = 7,8, 7,0$  Hz, 1H), 1,91–1,74 (m, 3H), 1,73 (s, 3H), 1,67–1,46 (m, 5H), 1,33 (5H, m, H), 1,07 (d,  $J = 7,2$  Hz, 3H), 0,80 (d,  $J = 6,8$  Hz, 3H)

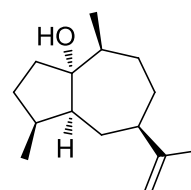
<sup>13</sup>C (101 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) voir Tableau 13

Composé : Guai-11-én-1α-ol (**254**)

Indice de rétention : HP-1/Wax : 1638/2190

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 222 [M]<sup>++</sup> (4), 207 (21), 204 (9), 189 (16), 165 (13), 161 (20), 149 (22), 147 (19), 137 (12), 133 (12), 121 (27), 111 (100), 110 (30), 109 (41), 107 (36), 95 (46), 93 (39), 91 (31), 83 (66), 81 (43), 69 (59), 67 (45), 55 (73), 41 (79)



<sup>1</sup>H (400 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ 4,86–4,67 (2H, m, H-12ab), 2,58 (1H, dq,  $J = 10,2, 7,1$  Hz, H-4), 2,19 (1H, td,  $J = 10,2, 6,8$  Hz, H-7), 1,87–1,73 (2H, m, H-3a, H-2a), 1,65 (3H, t,  $J = 1,0$  Hz, H-13), 1,65–1,56 (2H, m, H-8a, H-10), 1,53–1,28 (6H, m, H-5, H-8b, H-6a, H-9ab, H-2b), 1,16–1,10 (1H, m, H-3b), 1,01–0,96 (1H, m, H-6b), 0,97 (3H, d,  $J = 7,1$  Hz, H-14), 0,87 (3H, d,  $J = 7,1$  Hz, H-15)

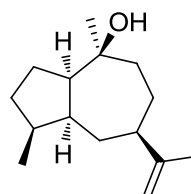
<sup>13</sup>C (101 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) voir Tableau 13

Composé : Pogostol (**255**)

Indice de rétention : HP-1/Wax : 1640/2208

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>5,57</sup>

<sup>13</sup>C (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) voir Tableau 14

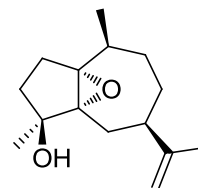


Composé : (7αH,10αH)-1,5-Epoxyguai-11-én-4β-ol (**256**)

Indice de rétention : HP-1 : 1644

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>16,28</sup>

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 236  $[M]^+$  (2), 221 (12), 218 (9), 203 (16), 178 (18), 175 (18), 161 (30), 160 (26), 150 (34), 145 (24), 137 (32), 135 (47), 123 (45), 121 (53), 109 (66), 107 (49), 105 (30), 95 (99), 93 (49), 91 (33), 81 (53), 67 (55), 55 (44), 43 (100), 41 (51)



$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  4,82 (1H, dt,  $J = 1,9, 0,9$  Hz, H-12a), 4,74 (1H, p,  $J = 1,5$  Hz, H-12b), 2,41 (1H, tt,  $J = 11,8, 2,6$  Hz, H-7), 2,23 (1H, qt,  $J = 7,0, 3,6$  Hz, H-10), 2,17 (1H, dt,  $J = 15,0, 2,6$  Hz, H-6a), 2,08 (1H, dd,  $J = 14,9, 12,0$  Hz, H-6b), 1,97–1,89 (2H, m, H-2a, H-9a), 1,66 (3H, t,  $J = 1,2$  Hz, H-13), 1,61–1,47 (3H, m, H-3a, H-2b, H-8a), 1,38–1,30 (2H, m, H-9b, H-8b), 1,26 (1H, dd,  $J = 12,8, 8,3$  Hz, H-3b), 1,13 (3H, s, H-15), 0,97 (3H, d,  $J = 7,1$  Hz, H-14)

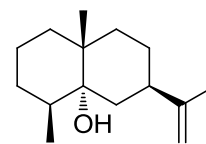
$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 14

Composé : (4 $\alpha$ H,7 $\alpha$ H,10 $\beta$ )-Eudesm-11-én-5 $\alpha$ -ol (**259**)

Indice de rétention : HP-1/Wax : 1647/2169

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>35</sup>

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 222  $[M]^+$  (3), 204 (55), 189 (35), 161 (28), 151 (36), 147 (29), 126 (24), 123 (42), 109 (100), 108 (97), 97 (31), 95 (41), 93 (29), 81 (37), 69 (31), 67 (32), 55 (37), 41 (40)



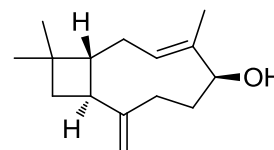
$^1\text{H}$  (400 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  4,92–4,80 (2H, m, H-12ab), 2,62 (1H, tt,  $J = 12,4, 4,5$  Hz, H-7), 2,04 (1H, tt,  $J = 13,3, 5,1$  Hz, H-3a), 1,94 (1H, td,  $J = 13,0, 4,8$  Hz, H-9a), 1,82 (1H, t,  $J = 12,9$  Hz, H-6a), 1,78–1,72 (1H, m, H-1a), 1,72–1,69 (3H, m, H-13), 1,66 (1H, dt,  $J = 13,6, 3,6$  Hz, H-2a), 1,61–1,55 (1H, m, H-8a), 1,51 (1H, ddd,  $J = 13,0, 4,1, 0,8$  Hz, H-8b), 1,39–1,29 (2H, m, H-2b, H-4), 1,22–1,15 (1H, m, H-3b), 1,08 (1H, ddd,  $J = 13,5, 4,1, 1,6$  Hz, H-6b), 0,99–0,93 (2H, m, H-1b, H-9b), 0,96 (3H, s, H-14), 0,90 (3H, d,  $J = 7,7$  Hz, H-15)

$^{13}\text{C}$  (101 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 15

Composé : Caryophyllén-5 $\beta$ -ol (**260**)

Indice de rétention : HP-1 : 1657

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>34</sup>



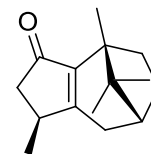
$^{13}\text{C}$  (101 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 15

Composé :  $\beta$ -Patchoulén-2-one (**262**)

Indice de rétention : HP-1/Wax : 1649/2177

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 218  $[M]^+$  (71), 203 (17), 175 (100), 162 (15), 161 (14), 150 (20), 147 (27), 133 (38), 119 (18), 105 (17), 91 (18), 77 (11), 69 (17), 41 (4)



HREIMS  $m/z$  218,1669 (calc. pour  $C_{15}H_{22}O$ , 218,1671)

$^1H$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  2,37–2,30 (2H, m, H-6a, H-3a), 2,07–1,97 (1H, m, H-4), 1,87 (1H, m, H-9a), 1,82–1,75 (1H, m, H-8a), 1,72 (1H, ddt,  $J = 18,2, 2,6, 0,8$  Hz, H-3b), 1,71–1,64 (1H, m, H-9b), 1,59 (3H, s, H-14), 1,58–1,55 (1H, m, H-7), 1,47 (1H, d,  $J = 18,7$  Hz, H-6b), 1,05–1,02 (1H, m, H-8b), 0,79 (3H, s, H-12), 0,75 (3H, s, H-13), 0,67 (3H, d,  $J = 7,1$  Hz, H-15)

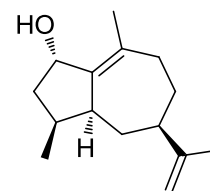
$^{13}C$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 15

Composé :  $\alpha$ -Bulnésén-2 $\alpha$ -ol (**264**)

Indice de rétention : HP-1/Wax : 1666/2300

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>17</sup>

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 220  $[M]^+$  (71), 205 (42), 187 (30), 177 (44), 163 (87), 159 (36), 151 (31), 149 (40), 137 (62), 133 (45), 123 (61), 119 (67), 109 (81), 108 (75), 107 (100), 105 (68), 95 (95), 93 (68), 91 (75), 79 (56), 67 (50), 55 (43), 41 (59)



$^1H$  (400 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  4,81–4,73 (2H, m, H-12ab), 4,53 (1H, d,  $J = 5,1$  Hz, H-2), 2,52–2,35 (2H, m, H-4, H-5), 2,14 (1H, dd,  $J = 14,4, 11,8$  Hz, H-9a), 2,05 (1H, tt,  $J = 11,5, 3,3$  Hz, H-7), 1,83 (1H, ddd,  $J = 14,6, 7,4, 1,4$  Hz, H-9b), 1,78–1,73 (1H, m, H-3a), 1,72 (3H, m, H-14), 1,65 (3H, m, H-13), 1,65–1,61 (2H, m, H-6a, H-8a), 1,41–1,28 (1H, m, H-3b), 1,26–1,12 (1H, m, H-8b), 0,96–0,89 (1H, m, H-6b), 0,86 (3H, d,  $J = 6,4$  Hz, H-15)

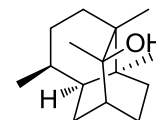
$^{13}C$  (101 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 14

Composé : Seychellénol (**266**)

Indice de rétention : HP-1/Wax : 1653/2186

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 222  $[M]^{+}$  (86), 204 (84), 189 (82), 179 (39), 175 (33), 161 (29), 151 (24), 147 (20), 137 (46), 136 (32), 135 (30), 133 (32), 123 (100), 122 (98), 121 (48), 119 (40), 109 (71), 107 (54), 95 (80), 84 (63), 81 (58), 69 (44), 55 (45), 43 (78)



HREIMS  $m/z$  222,1982 (calc. pour  $C_{15}H_{26}O$ , 222,1984)

$^1H$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  2,25–2,15 (1H, m, H-8a), 1,89 (1H, ddd,  $J = 13,4, 11,6, 6,9$  Hz, H-9a), 1,80–1,71 (1H, m, H-4), 1,39–1,36 (1H, m, H-7), 1,34–1,29 (2H, m, H-2ab), 1,28–1,25 (2H, m, H-6ab), 1,24–1,12 (3H, m, H-3a, H-8b, H-5), 1,12–1,08 (1H, m, H-3b), 1,07 (3H, s, H-12), 1,05–1,01 (1H, m, H-9b) 0,84 (3H, s, H-13), 0,75 (3H, d,  $J = 6,7$  Hz, H-15), 0,71 (3H, s, H-14)

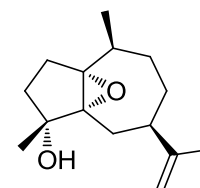
$^{13}C$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 15

Composé : (7 $\alpha$ H,10 $\alpha$ H)-1,5-Epoxyguai-11-én-4 $\alpha$ -ol (**267**)

Indice de rétention : HP-1/Wax : 1666/2363

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 236  $[M]^{+}$  (1), 221 (12), 218 (14), 203 (26), 185 (13), 175 (23), 161 (38), 160 (50), 150 (31), 145 (34), 135 (59), 134 (58), 123 (46), 121 (58), 109 (69), 107 (53), 95 (100), 81 (51), 67 (48), 55 (37), 43 (78)



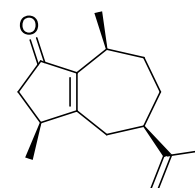
$^1H$  (400 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  4,84–4,72 (2H, m, H-12ab), 2,50 (1H, dt,  $J = 14,6, 2,3$  Hz, H-6a), 2,38 (1H, tt,  $J = 11,9, 2,3$  Hz, H-7), 2,08 (1H, qt,  $J = 7,3, 3,8$  Hz, H-10), 1,93 (1H, tt,  $J = 14,0, 2,8$  Hz, H-9a), 1,71 (1H, dd,  $J = 14,7, 12,0$  Hz, H-6b), 1,67–1,63 (3H, m, H-13), 1,53–1,43 (4H, m, H-8a, H-2ab, H3a), 1,35–1,26 (3H, m, H-3b, H-8b, H-9b), 1,00 (3H, s, H-15), 0,78 (3H, d,  $J = 7,2$  Hz, H-14)

$^{13}C$  (101 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 14

Composé : Rotundone (**269**)

Indice de rétention : HP-1/Wax : 1692/2258

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>18</sup>

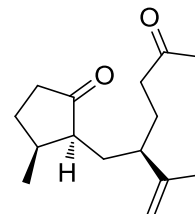


Composé : (2S,3S)-3-Méthyl-2-((R)-5-oxo-2-(prop-1-én-2-yl)hexyl)cyclopentanone (**270**)

Indice de rétention : HP-1/Wax : 1692/2404

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>26</sup>

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 236 [M]<sup>+</sup> (0), 218 (7), 185 (9), 175 (11), 160 (23), 145 (14), 133 (11), 121 (37), 120 (38), 111 (18), 107 (14), 98 (25), 97 (27), 95 (21), 83 (100), 67 (17), 55 (31), 43 (65)



<sup>1</sup>H (400 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ 4,81–4,67 (2H, m, H-12ab), 2,29 (1H, tq,  $J = 10,0, 5,0$  Hz, H-7), 2,03–1,89 (4H, m, H-9ab, H-2a, H-6a), 1,76 (1H, dd,  $J = 11,0, 8,7$  Hz, H-2b), 1,66 (3H, s, H-14), 1,66–1,61 (1H, m, H-8a), 1,57 (3H, t,  $J = 1,1$  Hz, H-13), 1,56–1,47 (1H, m, H-3a), 1,48–1,44 (1H, m, H-8b), 1,44–1,39 (2H, m, H-4, H-5), 1,18 (1H, dd,  $J = 6,7, 5,3$  Hz, H-6b), 0,90 (3H, d,  $J = 5,9$  Hz, H-15), 0,86–0,81 (1H, m, H-3b)

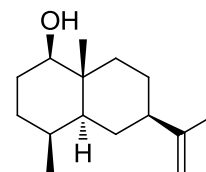
<sup>13</sup>C (101 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) voir Tableau 14

Composé : (4 $\alpha$ H,5 $\alpha$ H,7 $\alpha$ H,10 $\beta$ )-Eudesm-11-én-1 $\beta$ -ol (**273**)

Indice de rétention : HP-1/Wax : 1713/2390

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 222 [M]<sup>+</sup> (16), 207 (56), 204 (100), 189 (40), 178 (34), 161 (49), 147 (22), 137 (36), 135 (70), 121 (47), 109 (48), 107 (80), 105 (44), 95 (57), 93 (62), 81 (64), 69 (36), 67 (51), 55 (46), 41 (48)



<sup>1</sup>H (500 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ 4,87–4,79 (2H, m, H-12ab), 2,99 (1H, dd,  $J = 11,5, 3,9$  Hz, H-1), 1,90–1,85 (1H, m, H-7), 1,85 (1H, dt,  $J = 12,6, 3,4$  Hz, H-9a), 1,70 (3H, s, H-13), 1,60–1,54 (2H, m, H-8a, H-2a), 1,48 (1H, d,  $J = 12,4$  Hz, H-6a), 1,45–1,36 (5H, m, H-4, H-3ab, H-2b, H-8b), 1,27–1,22 (1H, m, H-6b), 1,04 (1H, ddd,  $J = 12,5, 4,2, 2,9$  Hz, H-5), 0,90 (1H, m, H-9b), 0,86 (3H, s, H-14), 0,79 (3H, d,  $J = 7,5$  Hz, H-15)

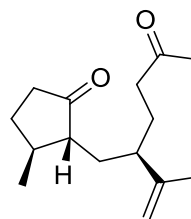
<sup>13</sup>C (126 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) voir Tableau 15

Composé : (2R,3S)-3-Méthyl-2-((R)-5-oxo-2-(prop-1-én-2-yl)hexyl)cyclopentanone (**274**)

Indice de rétention : HP-1/Wax : 1725/2455

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 236 [M]<sup>++</sup> (1), 221 (4), 218 (10), 203 (8), 185 (10), 175 (16), 163 (19), 160 (25), 145 (14), 139 (12), 133 (14), 121 (47), 120 (43), 111 (39), 98 (27), 97 (23), 93 (24), 83 (100), 67 (22), 55 (40), 43 (88)



<sup>1</sup>H (400 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ 4,82–4,75 (2H, m, H-12ab), 2,40 (1H, dddd,  $J = 10,6, 8,4, 6,4, 4,6$  Hz, H-7), 2,11–1,95 (3H, m, H-4, H-5, H9ab), 1,86 (2H, dd,  $J = 9,8, 6,0$  Hz, H-2ab), 1,72–1,67 (1H, m, H-6a), 1,66 (3H, s, H-14), 1,68–1,61 (1H, m, H-8a), 1,52–1,47 (1H, m, H-8b), 1,46 (3H, d,  $J = 1,3$  Hz, H-13), 1,45–1,40 (1H, m, H-3a), 1,25–1,15 (2H, m, H-3b, H-6b), 0,57 (3H, d,  $J = 6,8$  Hz, H-15)

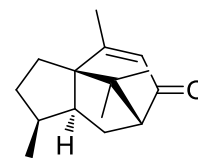
<sup>13</sup>C (101 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) voir Tableau 15

Composé : α-Patchoulén-8-one (278)

Indice de rétention : HP-1/Wax : 1752/2429

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 218 [M]<sup>++</sup> (33), 203 (13), 175 (15), 161 (6), 149 (100), 148 (25), 147 (19), 131 (46), 121 (15), 105 (31), 91 (26), 77 (15), 69 (13), 55 (9), 41 (15)



HREIMS  $m/z$  218,1657 (calc. pour C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>O, 218,1671)

<sup>1</sup>H (400 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ 5,86 (1H, s, H-9), 2,57 (1H, d,  $J = 6,4$  Hz, H-7), 2,18 (1H, ddd,  $J = 11,9, 10,2, 7,2$  Hz, H-5), 2,02–1,90 (1H, m, H-4), 1,86 (1H, dt,  $J = 13,6, 6,8$  Hz, H-6a), 1,67 (1H, qd,  $J = 8,8, 2,8$  Hz, H-3a), 1,45–1,42 (1H, m, H-2a), 1,43 (3H, d,  $J = 1,5$  Hz, H-14), 1,35 (1H, dd,  $J = 13,5, 10,2$  Hz, H-6b), 1,27–1,17 (2H, m, H-3b, H-2b), 0,86 (3H, s, H-13), 0,77 (3H, d,  $J = 7,2$  Hz, H-15), 0,62 (3H, s, H-12)

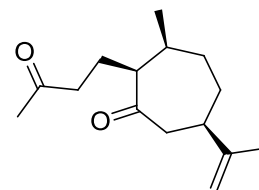
<sup>13</sup>C (101 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) voir Tableau 15

Composé : 7-épi-Chabrolidione A (279)

Indice de rétention : HP-1/Wax : 1758/2518

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>37</sup>

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 236  $[M]^{+}$  (13), 221 (24), 193 (6), 179 (29), 161 (19), 150 (17), 135 (20), 123 (40), 121 (26), 109 (46), 107 (29), 95 (65), 93 (28), 81 (39), 79(27), 67 (53), 55 (38), 43 (100)



$^1\text{H}$  (400 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  4,70–4,61 (2H, m, H-12ab), 2,65 (1H, ddd,  $J = 9,6, 4,4, 2,3$  Hz, H-1), 2,40–2,28 (3H, m, H-6ab, H-7), 2,26–2,18 (1H, m, H-2a), 2,13 (1H, ddd,  $J = 17,1, 8,1, 6,0$  Hz, H-3a), 1,87 (1H, ddd,  $J = 17,0, 8,0, 6,5$  Hz, H-3b), 1,67–1,63 (1H, m, H-10), 1,65 (3H, s, H-15), 1,52–1,36 (7H, m, H-13, H-9ab, H-8a, H-2b), 1,32–1,24 (1H, m, H-8b), 0,67 (3H, d,  $J = 7,3$  Hz, H-14)

$^{13}\text{C}$  (101 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 15



## Références

- (1) Sell C. In *The Chemistry of Fragrances: From Perfumer to Consumer* (2); Sell, C. S., Ed.; The Royal Society of Chemistry: 2006, p 24.
- (2) van Beek T. A., Joulain D., The essential oil of patchouli, *Pogostemon cablin*: A review, *Flavour Fragr. J.*, **2018**, *33*, 6.
- (3) J. H., Natural Product Supply Bulletin: Patchouli, Mexican Lime and the Crimean Conflict, *Perfum Flavor.*, **2015**, *40*, 32.
- (4) Filippi J.-J., Belhassen E., Baldovini N., Brevard H., Meierhenrich U. J., Qualitative and quantitative analysis of vetiver essential oils by comprehensive two-dimensional gas chromatography and comprehensive two-dimensional gas chromatography/mass spectrometry, *J. Chromatogr., A*, **2013**, *1288*, 127.
- (5) Adams R. P. *Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy*. 4th Ed.; Allured Pub. Corp., **2007**.
- (6) Zaizen K., Kusano Y., Kabayahi T., Study about a novel odor-active compound in Patchouli oil, In *Proceedings of 58th Symposium on the Chemistry of Terpenes, Essential Oils and Aromatics (TEAC)*, Wakayama, **2014**, 184.
- (7) Aleu J., Hanson J. R., Galán R. H., Collado I. G., Biotransformation of the Fungistatic Sesquiterpenoid Patchoulol by *Botrytis cinerea*, *J. Nat. Prod.*, **1999**, *62*, 437.
- (8) Teisseire P. J., Maupetit P., Corbier B., Contribution à la connaissance de l'huile essentielle de patchouli, *Recherches*, **1974**, 8.
- (9) Kiuchi F., Matsuo K., Ito M., Qui T. K., Honda G., New Sesquiterpene Hydroperoxides with Trypanocidal Activity from *Pogostemon cablin*, *Chem. Pharm. Bull.*, **2004**, *52*, 1495.
- (10) Hikino H., Ito K., Takemoto T., Structure of Pogostol, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin (Tokyo)*, **1968**, *16*, 1608.
- (11) Ishihara M., Tsuneya T., Shiga M., Uneyama K., Three sesquiterpenes from agarwood, *Phytochemistry*, **1991**, *30*, 563.
- (12) Huang A.-C., Sumby C. J., Tiekink E. R. T., Taylor D. K., Synthesis of guaia-4(5)-en-11-ol, guaia-5(6)-en-11-ol, aciphyllene, 1-epi-melicodenones C and E, and other guaiane-type sesquiterpenoids via the diastereoselective epoxidation of guaiol, *J. Nat. Prod.*, **2014**, *77*, 2522.
- (13) Amand S., Langenfeld A., Blond A., Dupont J., Nay B., Prado S., Guaiane Sesquiterpenes from *Biscogniauxia nummularia* Featuring Potent Antigerminative Activity, *J. Nat. Prod.*, **2012**, *75*, 798.
- (14) Booker-Milburn K. I., Jenkins H., Charmant J. P. H., Mohr P., Synthesis of the Reported Structure of Pogostol and a Total Synthesis of (±)-Kessane without the Use of Protecting Groups, *Org. Lett.*, **2003**, *5*, 3309.
- (15) Yasuhiro S., Yuriko I., Mika K., Kazuhiro M., Hisakatsu I., Koichiro S., New eudesmane-type sesquiterpenoids and other volatile constituents from the roots of *Gynura bicolor* DC, *Flavour Fragr. J.*, **2011**, *26*, 55.
- (16) Zhou Q.-M., Chen M.-H., Li X.-H., Peng C., Lin D.-S., Li X.-N., He Y., Xiong L., Absolute Configurations and Bioactivities of Guaiane-Type Sesquiterpenoids Isolated from *Pogostemon cablin*, *J. Nat. Prod.*, **2018**, *81*, 1919.
- (17) Schilling B., Granier T., Locher E., 1-hydroxy-octahydroazulenes as fragrances, Givaudan S.A., Switz., US8883468B2, **2014**.
- (18) Wood C., Siebert T. E., Parker M., Capone D. L., Elsey G. M., Pollnitz A. P., Eggers M., Meier M., Vössing T., Widder S., Krammer G., Sefton M. A., Herderich M. J., From Wine to Pepper: Rotundone, an Obscure Sesquiterpene, Is a Potent Spicy Aroma Compound, *J. Agric. Food Chem.*, **2008**, *56*, 3738.

- (19) Ishihara M., Masatsugu Y., Uneyama K., Preparation of (–)-guaia-1(10),11-dien-15,2-olide and (–)-2 $\alpha$ -hydroxyguaia-1(10),11-dien-15-oic acid, fragrant sesquiterpenes in agarwood (*Aquilaria agallocha* Roxb.), *Tetrahedron*, **1992**, 48, 10265.
- (20) Itokawa H., Morita H., Watanabe K., Takase A., Iitaka Y., Two new sesquiterpenoids (alpinolide and hanamyol) from *Alpinia japonica* (Thunb.) Miq., *Chem. Lett.*, **1984**, 13, 1687.
- (21) Huang A.-C., Sefton M. A., Taylor D. K., Comparison of the Formation of Peppery and Woody Sesquiterpenes Derived from  $\alpha$ -Guaiene and  $\alpha$ -Bulnesene under Aerial Oxidative Conditions, *J. Agric. Food Chem.*, **2015**, 63, 1932.
- (22) Clery R., High-impact odorants in essential oils, *Flavour Fragr. J.*, **2010**, 25, 117.
- (23) Mookherjee B. D., Perfume compositions containing hexahydro-1,4,9,9-tetramethyl-4,7-methanoazulenones, International Flavors and Fragrances Inc. , US3814704A, **1974**.
- (24) Mookherjee B. D., Trenkle R. W., Ledig W. O.,  $\delta$ -Patchoulene, an acid-catalyzed transformation product of patchouli alcohol, *J. Agric. Food Chem.*, **1974**, 22, 771.
- (25) Huang A.-C., Sefton M. A., Sumbly C. J., Tiekink E. R. T., Taylor D. K., Mechanistic Studies on the Autoxidation of  $\alpha$ -Guaiene: Structural Diversity of the Sesquiterpenoid Downstream Products, *J. Nat. Prod.*, **2015**, 78, 131.
- (26) Ren Z.-Y., Qi H.-Y., Shi Y.-P., Phytochemical Investigation of *Anaphalis lactea*, *Planta Med.*, **2008**, 74, 859.
- (27) Li F., Li C.-J., Ma J., Yang J.-Z., Chen H., Liu X.-M., Li Y., Zhang D.-M., Four new sesquiterpenes from the stems of *Pogostemon cablin*, *Fitoterapia*, **2013**, 86, 183.
- (28) Peng C., Xiong L., Zhou Q.-m., Dai O., Sesquiterpene compound, its preparation method and application in vasodilation, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Peop. Rep. China . CN107698540A, **2018**.
- (29) Richardson D. P., Messer A. C., Newton B. A., Lindeman N. I., Identification and preparation of antiinsectan dienols from *Dipterocarpus kerrii* tree resins, *J. Chem. Ecol.*, **1991**, 17, 663.
- (30) Mehta G., Pal Singh B., Terpenes and related systems. XIII. Regiospecific fragmentation of patchoulol: A short synthesis of  $\alpha$ -bulnesene, *Tetrahedron Lett.*, **1975**, 16, 4495.
- (31) Kesselmans R. P. W., Wijnberg J. B. P. A., de Groot A., van Beek T. A., Chromatographic and Spectroscopic Data of All Stereoisomers of Eudesm-11-en-4-ol, *J. Essent. Oil Res.*, **1992**, 4, 201.
- (32) Ragasa C. Y., Ganzon J., Hofile, ntilde, a J., Tamboong B., Rideout J. A., A New Furanoid Diterpene from *Caesalpinia pulcherrima*, *Chem. Pharm. Bull.*, **2003**, 51, 1208.
- (33) Iwabuchi H., Kato N., Yoshikura M., Studies on the Sesquiterpenoids of *Panax ginseng* C. A. MEYER. IV, *Chem. Pharm. Bull.*, **1990**, 38, 1405.
- (34) Collado I. G., Hanson J. R., Macías-Sánchez A. J., The cleavage of caryophyllene oxide catalysed by tetracyanoethylene, *Tetrahedron*, **1996**, 52, 7961.
- (35) Elmi A. H., Farah M. H., Fattorusso E., Magno S., Mayol L., Volatile mono- and sesquiterpeneoids from *Kleinia pendula*, *Phytochemistry*, **1987**, 26, 3069.
- (36) Näf R., Velluz A., Meyer A. P., Volatile Constituents of Blood and Blond Orange Juices: A Comparison, *J. Essent. Oil Res.*, **1996**, 8, 587.
- (37) Huang A.-C., Burrett S., Sefton M. A., Taylor D. K., Production of the Pepper Aroma Compound, (–)-Rotundone, by Aerial Oxidation of  $\alpha$ -Guaiene, *J. Agric. Food Chem.*, **2014**, 62, 10809.
- (38) Gupta A. S., Dev S., Studies in sesquiterpenes—XLVI: Sesquiterpenes from the oleoresin of *Dipterocarpus pilosus*: Humulene epoxide—III, caryophyllenol—I and caryophyllenol—II, *Tetrahedron*, **1971**, 27, 635.
- (39) Mitsui S., Kobayashi S., Nagahori H., Ogiso A., Constituents from Seeds of *Alpinia galanga* WILD. and Their Anti-ulcer Activities, *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, **1976**, 24, 2377.

- (40) Champagnat P., Figueredo G., Chalchat J.-C., Carnat A.-P., Bessière J.-M., A Study on the Composition of Commercial *Vetiveria zizanioides* Oils from Different Geographical Origins, *J. Essent. Oil Res.*, **2006**, *18*, 416.
- (41) Filippi J.-J., Norsesquiterpenes as markers of overheating in Indonesian vetiver oil, *Flavour Fragr. J.*, **2014**, *29*, 137.
- (42) Toyota M., Koyama H., Mizutani M., Asakawa Y., (-)-*ent*-spathulenol isolated from liverworts is an artefact, *Phytochemistry*, **1996**, *41*, 1347.
- (43) Joulain D., König W. *The atlas of spectral data of sesquiterpene hydrocarbons*; EB-Verlag: Hamburg, **1998**.
- (44) Büchi G., Erickson R. E., Wakabayashi N., Terpenes. XVI.1,2 Constitution of Patchouli Alcohol and Absolute Configuration of Cedrene, *J. Am. Chem. Soc.*, **1961**, *83*, 927.
- (45) Büchi G., Macleod W. D., Synthesis of Patchouli Alcohol, *J. Am. Chem. Soc.*, **1962**, *84*, 3205.
- (46) Wolff G., Ourisson G., Un nouveau sesquiterpene tricyclique : le seychellene, *Tetrahedron Lett.*, **1968**, *9*, 3849.
- (47) Bülow N., König W. A., The role of germacrene D as a precursor in sesquiterpene biosynthesis: investigations of acid catalyzed, photochemically and thermally induced rearrangements, *Phytochemistry*, **2000**, *55*, 141.
- (48) Adio A. M., Germacrenes A–E and related compounds: thermal, photochemical and acid induced transannular cyclizations, *Tetrahedron*, **2009**, *65*, 1533.
- (49) Dobler M., Dunitz J. D., Gubler B., Weber H. P., Büchi G., Padilla O. J., The Structure of Patchouli Alcohol, *Proc. Chem. Soc.*, **1963**, 383.
- (50) Nikiforov A., Jirovetz L., Buchbauer G., ( $\pm$ )-Patchoulol, der dominante Geruchsträger des Patchouliöls (singapur.), *Monatshefte für Chemie / Chemical Monthly*, **1986**, *117*, 1095.
- (51) Spreitzer H., A study on the structure/odour relationship of norpatchoulenol and patchoulol, II, *Monatshefte für Chemie / Chemical Monthly*, **1992**, *123*, 587.
- (52) Sell C. S. *A fragrant introduction to terpenoid chemistry*; Royal Society of Chemistry, **2003**.
- (53) Siebert T. E., Wood C., Elsey G. M., Pollnitz A. P., Determination of Rotundone, the Pepper Aroma Impact Compound, in Grapes and Wine, *J. Agric. Food Chem.*, **2008**, *56*, 3745.
- (54) Niebler J., Zhuravlova K., Minceva M., Buettner A., Fragrant Sesquiterpene Ketones as Trace Constituents in Frankincense Volatile Oil of *Boswellia sacra*, *J. Nat. Prod.*, **2016**, *79*, 1160.
- (55) Reina M., Nold M., Santana O., Orihuela J. C., González-Coloma A., C-5-Substituted Antifeedant Silphinene Sesquiterpenes from *Senecio palmensis*, *J. Nat. Prod.*, **2002**, *65*, 448.
- (56) Oyarzún M. L., Garbarino J. A., Sesquiterpenoids from *Pilgerodendron uvifera*, *Phytochemistry*, **1988**, *27*, 1121.
- (57) Stierle A. A., Stierle D. B., Goldstein E., Parker K., Bugni T., Baarson C., Gress J., Blake D., A Novel 5-HT Receptor Ligand and Related Cytotoxic Compounds from an Acid Mine Waste Extremophile, *J. Nat. Prod.*, **2003**, *66*, 1097.
- (58) De Montgolfier J., Camphre et leurs dérivés - Sur le camphre de patchouli, *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, **1877**, *84*, 88.
- (59) Teisseire P. J., The chemistry of patchouli oil, *Rivista Italiana E.P.P.O.S.*, **1973**, *55*, 572.
- (60) Ishihara M., Tsuneya T., Uneyama K., Guaiane sesquiterpenes from agarwood, *Phytochemistry*, **1991**, *30*, 3343.

## Chapitre IV : L'huile essentielle de cyprès jaune d'Alaska : la note boisée par excellence – *Callitropsis nootkatensis*

### IV.1. Considérations générales

*Callitropsis nootkatensis* (D. Don) Spach, également décrit comme *Chamaecyparis nootkatensis*, et plus récemment comme *Xanthocyparis nootkatensis*<sup>1</sup> et *Cupressus nootkatensis*, est un arbre endémique d'Amérique du Nord.<sup>2,3</sup> Cette espèce a été découverte pour la première fois sur l'île de Nootka, située à proximité de l'île de Vancouver, donnant ainsi le nom cyprès de Nootka à cette arbre (d'où *nootkatensis*). Il est également connu sous plusieurs noms triviaux comme le cyprès jaune d'Alaska, le cèdre jaune d'Alaska, ou bien encore le canoe-cedar, en anglais. Cet arbre se trouve de façon générale de la côte sud de l'Alaska jusqu'au Nord de la Californie (Figure 16).



Figure 16. Distribution géographique du *C. nootkatensis* sur le continent Nord-Américain.<sup>3</sup>

Appartenant à la famille des *Cupressaceae*, tout comme le *Callitris pancheri* de la Nouvelle Calédonie (Chapitre II),<sup>4</sup> le *C. nootkatensis* peut atteindre plus de 50 m de hauteur et possède un feuillage en rameaux extrêmement dense.<sup>5</sup> Il partage avec *Bulnesia sarmientoi* (le bois de Gaïac – Chapitre I) et *Callitris pancheri* la particularité d'être un arbre à croissance lente rendant son bois extrêmement dense et dur. De ce fait, c'est une ressource culturelle, écologique et économique importante pour le sud de l'Alaska.<sup>3</sup> En effet, le cyprès jaune d'Alaska donne un bois précieux, utilisé historiquement par la population locale dans la

fabrication de totems, de petits bateaux, de meubles et de boiseries d'intérieur/d'extérieur.<sup>6</sup> Plusieurs études l'ont décrit comme ayant une résistance naturelle supérieure aux nuisibles<sup>7-9</sup> ainsi qu'une forte résistance à la pourriture.<sup>10-12</sup> Ainsi, même après sa mort, l'arbre peut rester debout plus d'un siècle, posant un véritable problème pour le développement des jeunes individus.<sup>13</sup> De fait, des études ont été réalisées sur différents extraits de *C. nootkatensis* pour comprendre d'où pouvait provenir cette résistance naturelle à la pourriture. Un article récent résume les résultats de ces études de bioactivité menées sur différents extraits de cyprès jaune d'Alaska.<sup>14</sup> Cependant, un problème de mortalité importante de cet arbre est apparu depuis les années 90, principalement en raison du changement climatique.<sup>3,12</sup> Cet arbre est également très prisé dans le monde entier, en particulier par le marché asiatique, pour sa résistance naturelle mais aussi pour la couleur jaune intense de son bois.<sup>15</sup> Dans une moindre mesure, il est aussi connu pour donner, par hydrodistillation des copeaux et de la sciure de bois, une huile essentielle décrite comme boisée intense avec des notes de cèdre, d'épices, d'agrumes, voire de bois de santal.<sup>3,16</sup> Pour l'ensemble de ces raisons, la présence du *C. nootkatensis* pourrait décliner dans un avenir proche. Néanmoins, les gouvernements locaux de Colombie Britannique et d'Alaska prônent une agriculture respectueuse de l'environnement, régulent la coupe des arbres et organisent des plans d'action de sauvegarde de l'espèce.<sup>3,16</sup>

#### IV.2. Étude antérieure de la composition chimique de l'huile essentielle de cyprès jaune

Depuis le début du siècle dernier, plusieurs études ont été menées sur différents extraits de *C. nootkatensis*. Un grand nombre de ces études concerne l'analyse des constituants présents dans des extraits solvant obtenus à partir des feuilles ou/et du bois. Ces études ont permis d'identifier plusieurs dérivés de type  $\alpha$ -tropolone, des cétones cycliques à sept carbones,<sup>17-19</sup> mais également des mono-, sesqui- et diterpènes (Schéma 16 et Schéma 17).<sup>7,19-25</sup> En revanche, peu d'études concernent l'analyse de l'huile essentielle de cyprès jaune d'Alaska. La première étude a été menée par Clark et Lucas en 1926 sur l'huile essentielle obtenue à partir des feuilles de cyprès jaune.<sup>26</sup> Cette étude a conduit à l'identification de plusieurs hydrocarbures monoterpéniques courants, tels que l' $\alpha$ -pinène (**186**), le limonène (**3**) et de façon moins évidente, le  $\beta$ -pinène (**188**), le sabinène et le *p*-cymène (**130**).

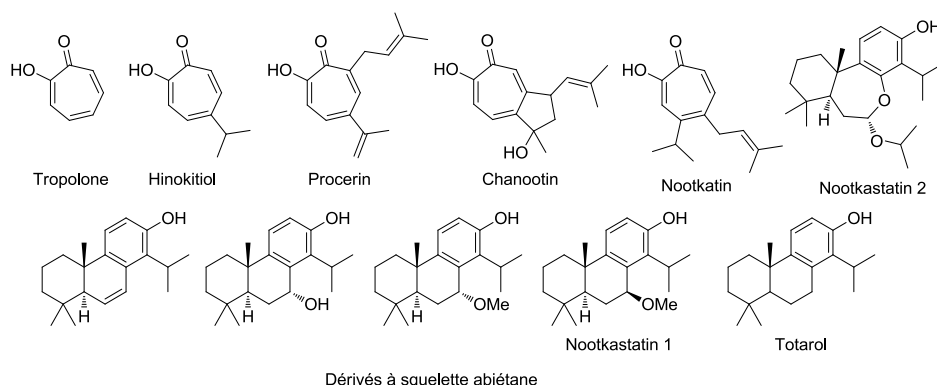


Schéma 16. Tropolones et diterpènes isolés des extraits de feuilles ou de bois de *C. nootkatensis*.<sup>17-19</sup>

Au début des années cinquante, les études menées par Holger Erdtman et al. ont permis l'identification de mono- et sesquiterpènes d'une huile essentielle obtenue à partir de l'hydrodistillation du bois de cyprès jaune d'Alaska.<sup>27-29</sup> Ils isolent et identifient le carvacrol (**316**), le carvacryl méthyl éther (**308**) et la nootkatin. Ils identifient deux nouveaux acides, l'acide chamique et l'acide chaminique, et ils supposent la présence de l'acide thujique, identifié dans *Thuja plicata*, également appelé Western Red Cedar en anglais (Schéma 17).<sup>30</sup>

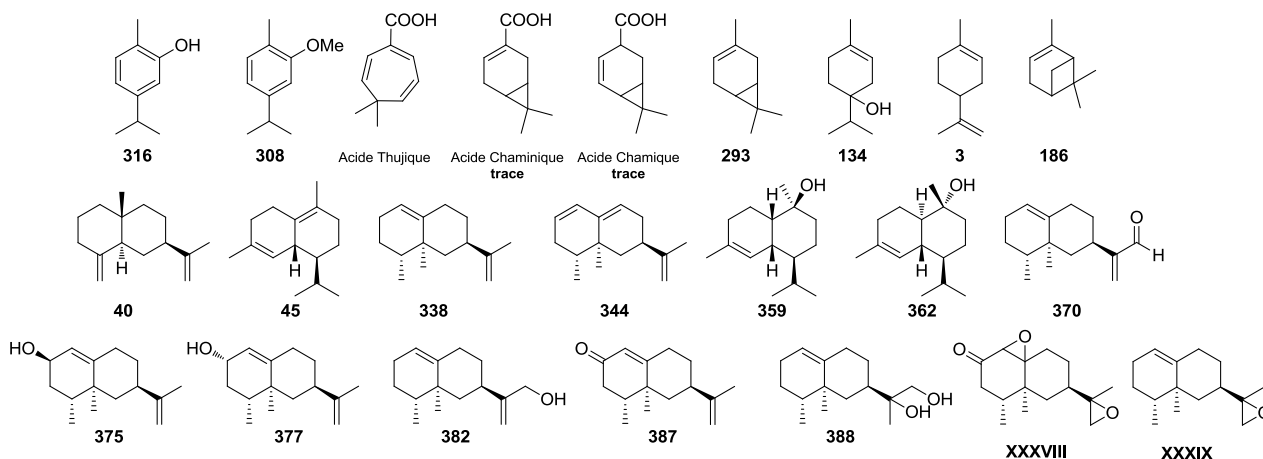


Schéma 17. Monoterpènes et sesquiterpènes identifiés dans l'huile essentielle de bois de *C. nootkatensis*.<sup>27-36</sup>

Ils isolent également le valencène (**338**), le nootkatène (**344**) et la nootkatone (**387**), qu'ils caractérisent de façon erronée comme des sesquiterpènes à squelette eudesmane.<sup>27</sup> La structure de ces composés a été révisée plus tard et confirme une structure de type érémosphilane.<sup>31</sup>

En 1970, Andersen et al. identifient dans l'huile essentielle obtenue à partir des feuilles de cyprès jaune deux hydrocarbures de type acorane, qu'ils nomment alaskènes.<sup>32,33</sup> Il est à

noter que ces composés n'ont pas été identifiés dans l'huile essentielle de bois de *C. nootkatensis*. Andersen et al. signalent également une différence significative de composition chimique entre l'huile essentielle obtenue à partir des feuilles et celle obtenue à partir du bois. En effet, l'huile essentielle obtenue à partir des feuilles est plus riche en monoterpènes et en sesquiterpènes de type cadinane et bisabolane, alors que celle obtenue à partir du bois est riche en sesquiterpènes de type eudesmane et éremophilane. Plus récemment, Panella et al. décrivent la présence du  $\delta$ -3-carène (**293**) et du terpinén-4-ol (**134**) dans leur échantillon d'huile essentielle obtenue à partir du bois.<sup>34</sup> En 2011, Khasawneh et al. reportent une composition chimique partielle de l'huile essentielle obtenue à partir du bois.<sup>35,36</sup> Ils confirment la présence de carvacrol (**316**), de carvacryl méthyl éther (**308**), de valencène (**338**), de nootkatène (**344**), de nootkatone (**387**) et de nootkatin (Schéma 17). De plus, ils identifient pour la première fois les nootkatols (**375** et **377**) et le valencén-12-ol (**382**). Enfin, ils synthétisent deux dérivés du valencène (**338**), le valencén-12-al (**370**) et la 1(10),11(12)-di-époxy-nootkatone (**XXXVIII**), sans toutefois préciser si ces composés sont présents dans leur échantillon. Point intéressant, ils notent la présence du 11,12-époxy-éremophil-1(10)-ène (**XXXIX**) dans leur extrait solvant à partir du bois. Ce composé n'est cependant pas retrouvé dans leur échantillon d'huile essentielle en raison de sa probable instabilité durant l'hydrodistillation. On peut ainsi supposer que cet époxyde, présent dans le bois, peut bien être le précurseur d'autres composés, tel que le valencén-12-ol (**382**). La découverte de cet époxyde dans le bois de *C. nootkatensis* est en accord avec les hypothèses formulées durant le Chapitre I. En effet, les époxydes pourraient être à l'origine de la formation de certains composés présents après hydrodistillation, et dans le cas de l'essence de bois de Gaïac, être à l'origine de la formation des éthers-alcools à squelette guaïane. En 2017, Adesso et al. identifient pour la première fois dans l'huile essentielle obtenue à partir du bois, le  $\beta$ -sélinène (**40**), ainsi que des dérivés à squelette cadinane, le  $\delta$ -cadinène (**45**), le  $\tau$ -muurolol (**359**) et l' $\alpha$ -cadinol (**362**).<sup>7</sup> Il est à noter également qu'une équipe américaine a réalisé l'analyse comparative des extraits de morceaux de bois obtenus par extraction au CO<sub>2</sub> supercritique et ceux obtenus par extraction au solvant.<sup>20</sup> Au niveau de l'analyse des composés volatils, peu d'informations supplémentaires sont rapportées, néanmoins, ils confirment également la présence de dérivés cadinanes, tels que le  $\tau$ -cadinol (**357**).

Le *C. nootkatensis* est un arbre emblématique et une ressource économique importante de la région Nord-Pacifique. Cependant, l'huile essentielle de bois de *C. nootkatensis* est un ingrédient peu employé par l'industrie du parfum. C'est une matière première encore peu

connue mais dont l'odeur boisée, typique des « cèdres » américains, est des plus intéressantes.<sup>16</sup> Les analyses antérieures décrivent un taux important de nootkatone (~ 5 %, % rel.) dans cette essence.<sup>16,36</sup> La nootkatone (**387**) est un produit extrait de l'écorce de pamplemousse dont l'odeur et le goût de pamplemousse sont fortement recherchés par les parfumeurs et aromaticiens.<sup>37,38</sup> Néanmoins, il faut environ 400 tonnes d'écorce de pamplemousse pour extraire 1 kg de nootkatone. Il est à noter qu'elle peut également être produite par synthèse et par biotechnologie à partir du valencène (**338**).<sup>39-41</sup> C'est un produit dont le prix est estimé à environ 4 000 à 7 000 \$/kg en 2015 pour la molécule naturelle et ~2 000 \$/kg pour la molécule synthétique.<sup>42</sup> L'utilisation de l'huile essentielle de bois de cyprès de Nootka pourrait être une source alternative pour la production de nootkatone naturelle.

En raison de son statut de matière première « nouvelle » et, que de prime abord, il existe une composition chimique riche en sesquiterpènes, nous avons décidé d'entreprendre une étude approfondie de cette huile essentielle prometteuse. Cette étude a mené à la découverte de 31 molécules jamais identifiées dans cette essence et soulève un lien olfactif important entre cette essence et celles des « cèdres » américains, le *Juniperus mexicana* et le *Juniperus virginiana*.

#### IV.3. Analyse globale de la composition chimique par GC–MS et par GC × GC–MS

L'analyse par GC–MS permet de déceler rapidement une certaine complexité moléculaire dans cette essence (Figure 17A). A la différence des matières premières à odeur boisée qui sont composées quasi-exclusivement de sesquiterpènes, l'huile essentielle de bois de *C. nootkatensis* est également constituée d'une partie non négligeable de monoterpènes (et de diterpènes).

L'analyse du chromatogramme permet d'identifier, sur la base de leur spectre de masse et de leur indice de rétention,<sup>43,44</sup> la présence d'hydrocarbures déjà décrits dans l'essence, à savoir le valencène (**338**) et le nootkatène (**344**), ce dernier étant le composé majoritaire. On identifie également leurs dérivés oxygénés, le valencén-12-ol (**382**) et la nootkatone (**387**). Dans la partie basse du chromatogramme, dans la zone d'élution des monoterpènes (Figure 17 – Zone 1), on confirme la présence de carvacrol (**316**) et de son éther méthylique (**308**). L'examen approfondi des différents pics du chromatogramme monodimensionnel (GC–MS) permet d'identifier certains hydrocarbures, alcools tertiaires et primaires faisant partie de la famille des eudesmanes, des cadinanes, et, dans une moindre mesure, des bisabolanes. Ainsi, l'analyse GC–MS sur colonne apolaire<sup>43,44</sup> donne lieu à l'identification du sélina-4,11-diène



(25), du  $\beta$ -sélinène (40), de l' $\alpha$ -sélinène (41), du 7-*épi*- $\alpha$ -sélinène (49), du  $\beta$ -bisabolène (151), de l' $\alpha$ -muurolène (39) et du calaménène (346) (Figure 17 – Zone 2).

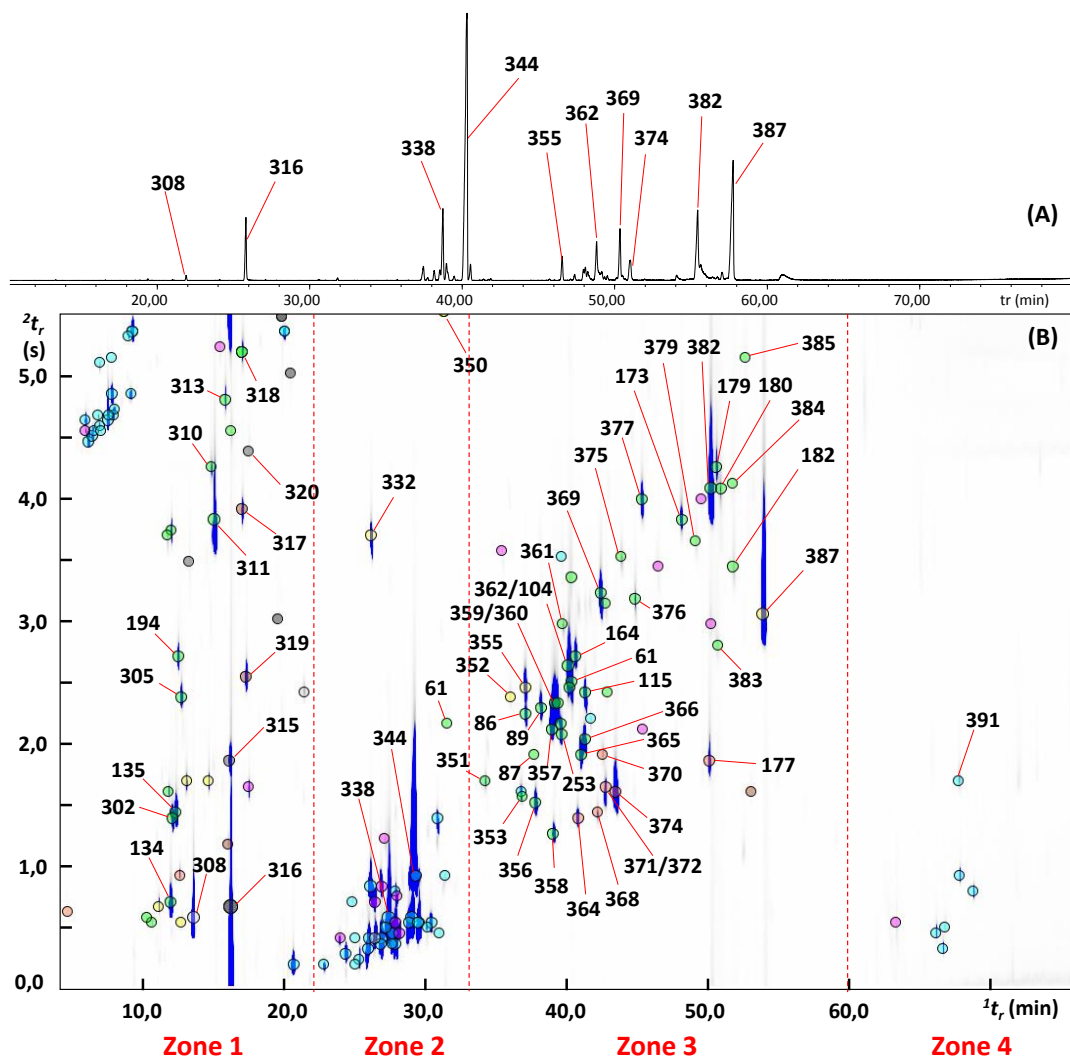


Figure 17. (A) Chromatogramme monodimensionnel (GC-MS) de l'huile essentielle de bois de *C. nootkatensis*. (B) Chromatogramme bidimensionnel (GC  $\times$  GC-MS) du même échantillon. Identification de quatre zones distinctes : Les monoterpènes éluent en Zone 1, les hydrocarbures et les éthers sesquiterpéniques en Zone 2 et les alcools sesquiterpéniques en Zone 3 et les diterpènes en Zone 4. Les hydrocarbures apparaissent sous la forme de cercle bleu foncé, les aldéhydes sont en orange, les esters sont en jaune, les éthers sont en marron, les cétones en jaune, les inconnus en rose, les alcools sont affichés en vert.

En raison de la présence d'hydrocarbures à squelette eudesmane, il n'est pas étonnant de retrouver également des eudesmanes oxygénés communément retrouvés dans les autres matières premières étudiées dans ce mémoire. De ce fait, on détecte l' $\alpha$ -eudesmol (107), le  $\beta$ -eudesmol (108) et le  $\gamma$ -eudesmol (89) dans la zone des alcools tertiaires (Figure 17 – Zone 3). De plus, on identifie clairement la présence d'eudesménols primaires, à savoir l' $\alpha$ -costol (180),

le  $\beta$ -costol (**179**) et le  $\gamma$ -costol (**173**), déjà identifiés dans l'huile essentielle de *Callitris pancheri* (Chapitre II). On confirme également la présence des cadinols,<sup>7</sup> à savoir le  $\tau$ -muurolol (**359**), l' $\alpha$ -muurolol (**360**), le  $\tau$ -cadinol (**357**), ainsi que l' $\alpha$ -cadinol (**362**). De façon similaire, on identifie deux autres composés à squelette éremophilane, le déhydrojinkoh-éremol (**369**), également présent dans l'essence de bois de Gaïac et d'Agarwood (Chapitres I et VI), et la 13-nor-éremophil-1(10)-én-11-one, identifiée dans l'huile essentielle de Vétiver (Chapitre Va). A l'exception du  $\beta$ -sélinène (**40**), du  $\tau$ -muurolol (**359**) et de l' $\alpha$ -cadinol (**362**), l'ensemble de ces produits sont pour la première fois caractérisés dans l'huile essentielle de bois de *C. nootkatensis*. Il est à noter également que l'identification de la plupart de ces alcools a été confirmée par comparaison de leurs déplacements chimiques en RMN du <sup>13</sup>C avec ceux de la littérature, après isolement par GC semi-préparative.

En outre, une grande partie de l'huile essentielle a été caractérisée par GC-MS. Cependant, de nombreux composés minoritaires de cet extrait restent encore difficiles à caractériser en raison d'un degré important de coélution, principalement au niveau des alcools tertiaires. Ainsi, comme pour l'ensemble des matières premières étudiées dans ce manuscrit, nous avons opté pour une analyse par chromatographie bidimensionnelle couplée à la spectrométrie de masse afin d'améliorer notre connaissance de cette essence.

La sensibilité et le pouvoir résolutif de la GC  $\times$  GC permettent de mettre en évidence la présence de plus de 140 composés, dont beaucoup de monoterpènes et sesquiterpènes qui n'étaient jusqu'à présent pas détectés ou peu visibles sur notre analyse monodimensionnelle (Figure 17A). Dans la première zone du chromatogramme (Figure 17B – Zone 1), on confirme la présence du  $\delta$ -3-carène (**293**) et du terpinén-4-ol (**134**).<sup>7,34,36</sup> De plus, on identifie également le limonène (**3**), l' $\alpha$ -pinène (**186**), le  $\beta$ -pinène (**188**), le myrcène (**291**) et le  $\beta$ -phéllandène (**294**) déjà identifiés dans les huiles essentielles obtenues à partir des feuilles de *C. nootkatensis*.<sup>24</sup> Plusieurs hydrocarbures et alcools monoterpéniques de type pinane, menthane et thujane sont aussi détectés, ainsi que des dérivés aromatiques encore jamais décrits dans cette essence (plus de détails dans le Tableau 17 et le Tableau 18).

Dans la seconde zone du chromatogramme, plusieurs hydrocarbures sesquiterpéniques ont été identifiés sans surprise comme étant des dérivés de la famille des eudesmanes, des éremophilanes, des cadinanes et des bisabolanes. On retrouve le 7-*épi*- $\alpha$ -sélinène (**49**), le  $\gamma$ -cadinène (**343**), le  $\delta$ -cadinène (**45**), ou encore le  $\beta$ -bisabolène (**151**). Dans la troisième zone du chromatogramme (Figure 17B), on note, pour la première fois dans cette essence, la présence de quatre *trans*-eudesm-11-én-4-ols (**86**, **253**, **164** et **115**). **86**, **115** et **164** ont déjà été identifiés

dans l'huile essentielle de bois de Gaïac, de bois de *C. pancheri* et de Patchouli (Chapitres I, II, III). L'identification de ces composés repose sur l'isolement à partir de cette essence via un fractionnement avancé (voir IV.4), l'utilisation de la GC semi-préparative et par comparaison de l'ensemble de nos analyses RMN, RI et MS avec celles obtenues par Kesselmans et al. (Tableau 20).<sup>45</sup> De plus, plusieurs composés de polarité inférieure aux alcools identifiés au-dessus (composés moins retenus sur la colonne de seconde dimension) sont observés dans la partie basse du chromatogramme (Figure 17B - Zone 3). Parmi eux, trois cubénols (**353**, **356** et **358**), isomères de position des cadinols (**357**, **359**, **360** et **362**), ont été identifiés sur la base de leur spectre de masse et de leur indice de rétention sur colonne apolaire. Il est à noter également que le 1-*épi*-cubénol (**356**) a été caractérisé par RMN après isolement (Tableau 19). En plus de ces alcools, on identifie le  $\beta$ -bisabolénal (**177**), ainsi que son équivalent alcool primaire, le  $\beta$ -bisabolénol (**182**) (Figure 17B). Ces deux composés sont des constituants majeurs de l'huile essentielle de *C. pancheri* (Chapitre II). On confirme également la présence du valencén-12-al (**370**) dans notre échantillon par comparaison de son spectre de masse et de ses déplacements chimiques en RMN du  $^{13}\text{C}$  avec la littérature (Tableau 21).<sup>36</sup> On note également l'absence des différents tropolones et diterpènes cités plus haut dans notre échantillon (Schéma 16). Néanmoins, nous identifions, de façon précise, différents diterpènes encore jamais identifiés dans cette essence, à savoir les oxydes de manool **389** et **390**, le manool (**391**), l'abiétatriène (**392**) et l'abiétadiène (**393**).

La formation des sesquiterpènes de cette essence est liée au même précurseur biosynthétique, à savoir le farnésyl-pyrophosphate (FPP). Comme exposé dans les chapitres précédents, en fonction de la position du carbocation formé, la cyclisation en cascade de **VI** ou de **XXI** via les cations germacyle **I** et bisabolyle **XXII** conduit à la formation de divers squelettes sesquiterpéniques (Schéma 18). La formation des squelettes cadinanes, présents dans cette essence, peut provenir de deux voies principales de biosynthèse.<sup>46</sup> Cependant, celle empruntant le passage par les carbocations bisabolanes **XXII** et **XXVII** semble peu probable puisqu'aucun produit pouvant en être issu n'a été retrouvé parmi les constituants de l'essence.

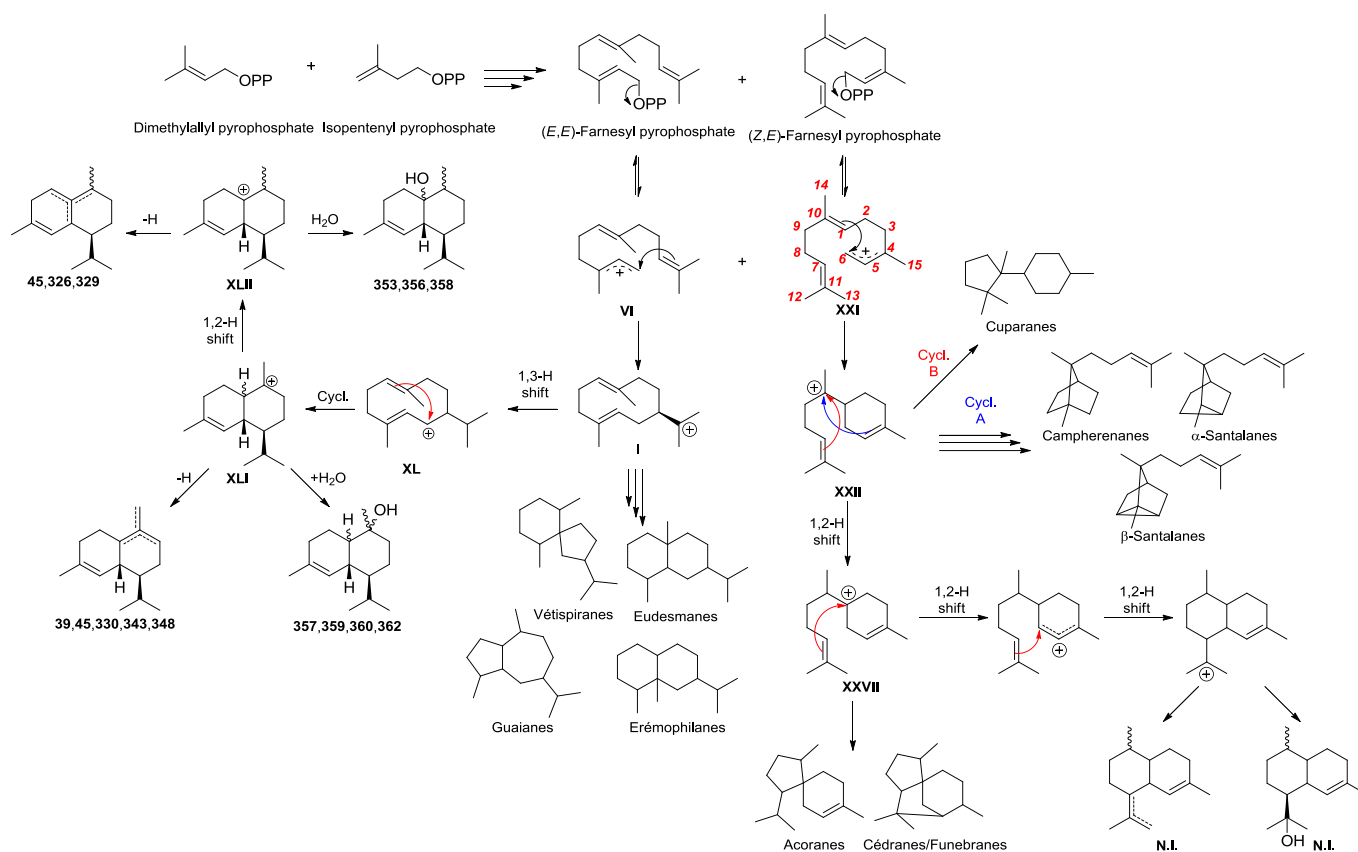


Schéma 18. Formation potentielle des divers squelettes sesquiterpéniques identifiés dans l'essence de bois de *C. nootkatensis*. Hypothèse de formation conduisant au squelette cadinane. N.I. : Non Identifié.

La seconde hypothèse, plus plausible, est reliée à la voie du germacrane **I**.<sup>47-49</sup> En plus de former les squelettes eudesmanes et guaianes, le cation germacryle **I** peut subir une migration d'hydrure de type 1,3 ou bien une première migration d'hydrure en 1,2, pour conduire au carbocation tertiaire en position #7, puis une seconde migration d'hydrure en 1,2 pour former un carbocation délocalisé. Dans les deux cas, le carbocation **XL** ainsi formé peut alors cycliser pour donner le squelette cadinane **XLI**. Ce dernier peut alors former par perte d'un proton les hydrocarbures **39**, **45**, **330**, **343**, et **348**. De façon similaire, l'hydratation du carbocation en position #10 peut conduire aux alcools tertiaires **357**, **359**, **360**, et **362**. Le carbocation cadinane **XLI** peut également subir une migration d'hydrure de type 1,2 pour donner le carbocation **XLII**, menant à la formation des hydrocarbures **45**, **326**, et **329** et des alcools **353**, **356**, et **358** identifiés dans cette essence. Ainsi, dans notre cas, la voie de formation la plus probable est celle impliquant le cation germacrane **I**. En effet, à partir de **I**, on suppose la formation de deux carbocations à squelette cadinane (**XLI** et **XLII**), lesquels mènent à la formation des cadinols et cadinènes identifiés dans l'essence de *C. nootkatensis*. Il est à noter que les composés identifiés ici sont soit des cadinanes, soit des muurolanes. Aucun dérivé

amorphe n'a été identifié dans cette essence. D'un point de vue stéréochimique, l'amorphe diffère du muurolane et du cadinane au niveau de la configuration du carbone #6 en jonction de cycle (Schéma 19). La stéréochimie de ces composés, et notamment l'orientation des protons #6 et #7, est nécessairement liée à la conformation du cation germacrane **I** avant cyclisation. La configuration du carbone #1 définit la nature cadinane ou muurolane des composés identifiés dans cette essence. Cette configuration est nécessairement fixée lors de la cyclisation de **I**. Sachant que les carbocations **XLII** et **XLIII** existent, le méthyle #10 peut être orienté en position  $\alpha$  ou  $\beta$  pour les trois types de squelettes (Schéma 18).

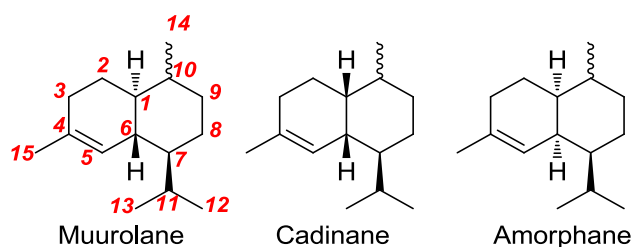


Schéma 19. Stéréochimie des sesquiterpènes à squelette muurolane, cadinane et amorphe.

Alors qu'une grande partie de l'huile essentielle a été caractérisée, il est important de noter que plusieurs monoterpènes et sesquiterpènes n'ont pas pu être identifiés par simple comparaison de leur spectre de masse avec nos banques de données. Ainsi, comme pour les précédentes matières premières, nous avons envisagé de fractionner notre échantillon sur colonne de silice afin d'isoler et de caractériser les composés inconnus dans notre échantillon.

#### IV.4. Isolement et caractérisation des composés inconnus

L'huile essentielle de bois de *C. nootkatensis* a été fractionnée sur colonne ouverte de gel de silice au moyen d'un gradient de polarité croissante (Figure 18). Au total, nous avons ainsi obtenu dix-sept fractions. Les fractions A7, A8, A9, A10, A11, A13, et A16 étaient les plus enrichies en composés inconnus. Afin d'isoler ces composés, les fractions ont été à nouveau séparées sur gel de silice imprégné au nitrate d'argent. Les sous-fractions, suffisamment enrichies en composés inconnus, ont été exploitées par GC semi-préparative. Comme exposé au-dessus, le fractionnement et l'utilisation de la GC semi-préparative ont permis d'isoler et de caractériser 31 constituants encore jamais découverts dans l'essence. Ce fractionnement a également permis de confirmer la présence de certains composés dans cette

essence par comparaison de leur spectre de masse, de leur indice de rétention et de leurs déplacements en RMN du  $^{13}\text{C}$ .

Ainsi, dans la zone des monoterpènes (Figure 17B – Zone 1), le carvacrol (**316**) et ses dérivés, le déhydrocarvacrol (**322**), le carvacryl méthyl éther (**308**) et le déhydrocarvacryl méthyl éther (**315**) ont été isolés. On rapporte également la présence du méthyl thujate (**319**), lequel est présent en grande quantité dans l'essence de bois de *Thuja plicata*, alors qu'aucune trace d'acide thujique n'a été détectée dans l'ensemble de nos fractions.<sup>50</sup> Il est à noter que l'acide chamérique et l'acide chamique sont présents dans la fraction A16 et n'ont pas été détectés lors des analyses chromatographiques.

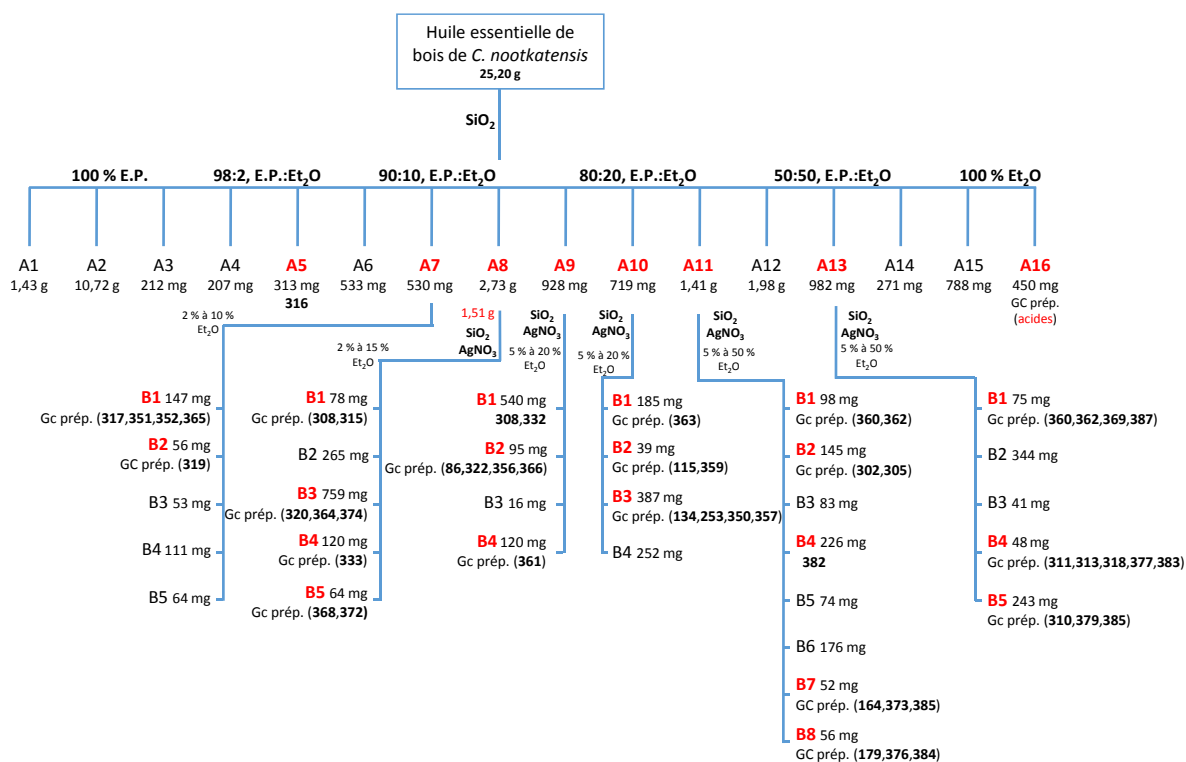
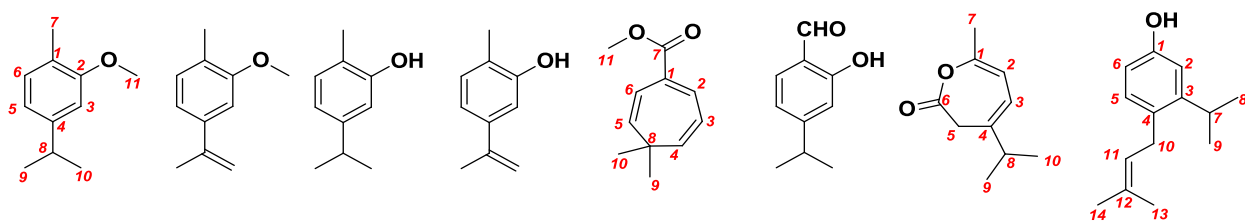


Figure 18. Schéma décrivant la méthodologie de fractionnement l'huile essentielle de bois de *C. nootkatensis*.et d'isolement des constituants inconnus.

On isole aussi le 2-hydroxy-4-isopropylbenzaldéhyde (**320**), également connu sous le nom de chamaecin, isolé de *Chamaecyparis taiwanensis* et qui serait un inhibiteur de tyrosine kinase.<sup>51</sup> En plus de ces composés, on décrit pour la première fois **317**, un monoterpène de type lactone structurellement proche du carvacrol, ainsi qu'un nor-sesquiterpène phénolique **363**, lequel semble être un précurseur ou un produit de dégradation de la nootkatin (Schéma 16).<sup>52</sup> On note également que la nootkatin n'a pas été détecté dans notre échantillon d'huile

essentielle, probablement en raison de sa faible volatilité. **317** et **363** n'ont jamais été décrits dans la littérature. Quant aux composés **315**, **319** et **322**, ils sont décrits pour la première fois dans l'essence de bois de *C. nootkatensis*. L'ensemble de leurs déplacements chimiques en RMN du  $^{13}\text{C}$  sont résumés dans le Tableau 17.

Tableau 17. Déplacements chimiques  $^{13}\text{C}$  (en ppm) de dérivés aromatique isolés de l'essence de *C. nootkatensis*.


	308	315	316	322	319	320	317	363		
		#C	308 <sup>a</sup>	315 <sup>c</sup>	316 <sup>b</sup>	322 <sup>c</sup>	319 <sup>c</sup>	320 <sup>c</sup>	317 <sup>c</sup>	363 <sup>c</sup>
1			124,04	126,27	121,1	123,50	132,21	119,46	149,07	155,12
2			157,79	158,11	153,5	154,28	135,81	162,71	108,82	112,50
3			108,63	107,62	113,1	112,35	123,83	115,53	118,38	148,24
4			148,09	140,75	148,3	140,69	138,35	159,11	149,07	130,57
5			118,12	118,15	118,7	118,18	132,63	118,32	38,30	130,70
6			130,55	130,73	130,8	131,06	123,54	133,82	164,74	112,98
7			15,94	16,28	15,3	15,57	167,54	195,79	20,89	29,23
8			34,34	144,08	33,6	143,37	35,18	34,77	35,68	23,85
9			24,29	111,78	23,9	111,82	26,16	23,24	20,72	23,85
10			24,29	22,16	23,9	22,00	26,16	23,24	20,72	31,35
11			55,39	54,68	-	-	51,62	-	-	125,02
12			-	-	-	-	-	-	-	131,16
13			-	-	-	-	-	-	-	17,82
14			-	-	-	-	-	-	-	25,81
Réf			[53] <sup>b</sup>	[54] <sup>b</sup>	[55]	[56] <sup>b</sup>	[57] <sup>b</sup>			

<sup>a</sup> Enregistré dans le  $\text{CDCl}_3$ . <sup>b</sup> Données des études antérieures : RMN du  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  disponibles. <sup>c</sup> Enregistré dans le benzène- $d_6$ .

Dans les fractions A13 et A14, on détecte la présence de plusieurs alcools monoterpéniques dont les spectres de masse ne correspondent à aucun composé présent dans nos banques de donnée MS/RI. Ainsi, après isolement par GC semi-préparative, on identifie un dérivé du  $\delta$ -3-carène (**293**) qui, après le carvacrol (**316**) et le carvacryl méthyl éther (**308**), est le composé le plus abondant parmi les monoterpènes de cette essence. Ainsi, ce composé **311** affiche un ion moléculaire à  $m/z = 154$  et l'ensemble des données RMN n'indique pas la présence d'insaturation. Ce monoterpène a ainsi été identifié comme étant le caran-10-ol (**311**). Son spectre NOESY montre que la jonction du cyclopropane de ce composé est en position *cis* du groupement méthanol (Figure 19). Ce composé a déjà été synthétisé à partir du  $\delta$ -3-carène (**293**)<sup>58</sup> mais n'a jamais été identifié dans un extrait naturel. En plus de **311**, une série de monoterpène de type menthane a été caractérisée, tous possédant une insaturation et un ion

moléculaire à  $m/z = 154$ . Parmi eux, on identifie pour la première fois dans l'essence de bois de *C. nootkatensis*, le *trans*- et le *cis*-shisool (**310** et **313**) précédemment isolés de *Perilla acuta*.<sup>59</sup> Les données MS du *cis*-shisool (**313**) et du *trans*-shisool (**310**) sont en accord avec celles publiés par Ishida et al. et par Thomas et Ohloff.<sup>60,61</sup> Ces deux produits sont probablement issus de l'oxydation allylique du limonène en position #7. On identifie également un isomère de ces deux shisools, le menth-4(8)-én-7-ol (**318**). Ce composé a été cité comme étant présent dans l'huile essentielle des feuilles de Buchu (*Barosma betulina*).<sup>62</sup> Cependant, les auteurs ne donnent aucune information au niveau de ses propriétés spectrales.

Tableau 18. Déplacements chimiques  $^{13}\text{C}$  (en ppm) d'alcools monoterpéniques isolés de l'essence de bois de *C. nootkatensis*.

#C	302 <sup>a</sup>	310 <sup>a</sup>	313 <sup>a</sup>	318 <sup>a</sup>	311 <sup>a</sup>	305 <sup>a</sup>	XLIII <sup>b</sup>
1	133,72	41,04	36,97	40,98	19,12	33,96	25,54
2	32,01	29,53	26,74	30,78	21,61	25,36	25,05
3	45,85	26,27	27,20	29,56	35,67	24,00	23,58
4	23,78	45,32	44,22	120,59	24,41	43,88	43,40
5	26,63	32,18	27,20	29,56	18,15	25,40	24,69
6	121,32	35,12	26,74	30,78	17,65	12,99	12,40
7	24,08	68,52	64,58	68,08	16,15	32,95	32,43
8	71,78	150,64	149,69	131,84	14,16	20,55	20,19
9	26,67	108,69	109,24	20,14	28,11	19,90	19,62
10	27,46	21,00	21,50	20,14	66,74	66,44	66,60

<sup>a</sup> Enregistré dans le benzène- $d_6$ . <sup>b</sup> Données enregistrées dans le  $\text{CDCl}_3$  par Urabe et al.<sup>63</sup>

De plus, on isole un alcool tertiaire de type *m*-menthane **302**, dérivé du sylvestrène, ainsi qu'un alcool primaire de type thujane **305**. Après examen de leurs spectres RMN, on identifie **302** comme étant le *m*-menth-1(6)-én-8-ol, déjà identifié dans le *Pinus silvestris*,<sup>64,65</sup> et **305** comme étant le thujan-10-ol, encore jamais identifié dans un extrait naturel. Toutefois, en ce qui concerne le composé **302**, aucune donnée spectroscopique ne confirme que **302** soit identique au composé isolé de l'essence de *Pinus silvestris*. Il est à noter également que les déplacements en RMN du  $^{13}\text{C}$  de **305**, synthétisé par Urabe et al., ne concordent pas avec les données du composé isolé ici (Tableau 18).<sup>63</sup> Le spectre NOESY obtenue pour **305** montre



clairement que le carbone cyclopropanique #6 est du même côté que le proton #4 (Figure 19). Ainsi, ils synthétisent probablement l'isothujan-10-ol (**XLIII**), également obtenu par hydroboration à partir du  $\delta$ -sabinène.<sup>66</sup>

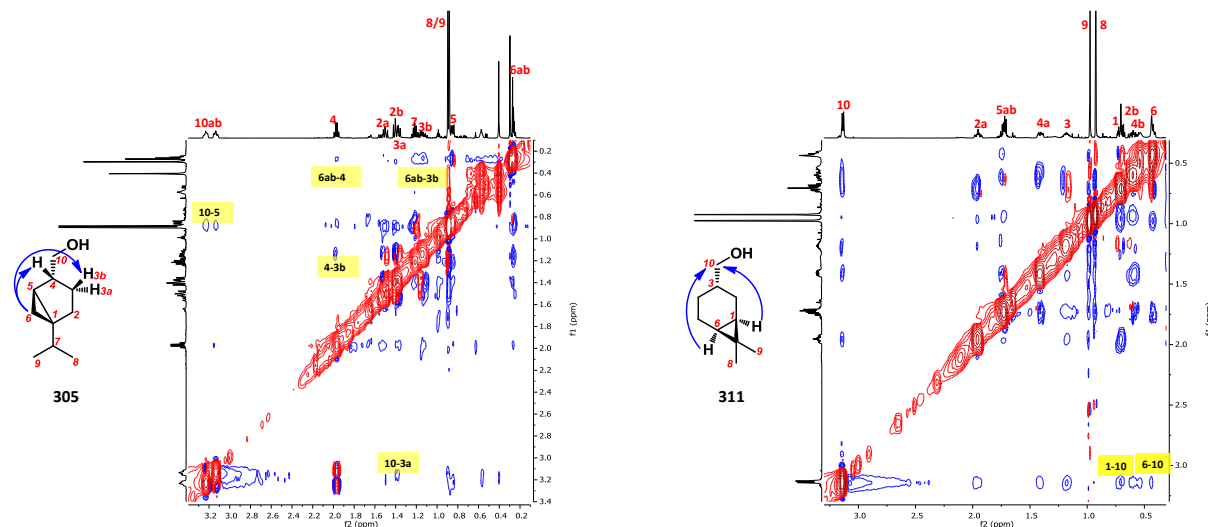


Figure 19. Spectres NOESY des composés **305** et **311**. Les corrélations-clés obtenues apparaissent en jaune.

Outre ces monoterpènes, cette essence est composée en grande majorité de sesquiterpènes. Parmi les sesquiterpènes majoritaires, on isole la série des quatre cadinols **357**, **359**, **360** et **362**, le 4,10-époxy muurolane (**333**), le 1-*épi*-cubénol (**356**), le gléénol (**351**), la série des eudesm-11-én-4-ols **86**, **115**, **164** et **253**, ainsi que les éremophilanes **369**, **370**, **377**, **382** et **387**. Les déplacements chimiques en RMN du <sup>13</sup>C sont résumés en Tableau 19, Tableau 20 et Tableau 21.

En plus du valencén-12-al (**370**), on identifie la présence d'une série d'aldéhydes possédant des spectres de masse très similaires. En effet, les spectres de masse des composés **364**, **368**, **371**, **372** et **374** présentent des ions caractéristiques à  $m/z = 147$  et  $162$  très intenses (Figure 20). Seuls les composés **374** et **374'** ont des spectres de masse plus fournis affichant un ion moléculaire à  $m/z = 220$  plus intense. Après fractionnement et exploitation de la fraction A8 en GC semi-préparative, nous avons pu isoler les composés **364**, **368**, **372**, ainsi que **374**.

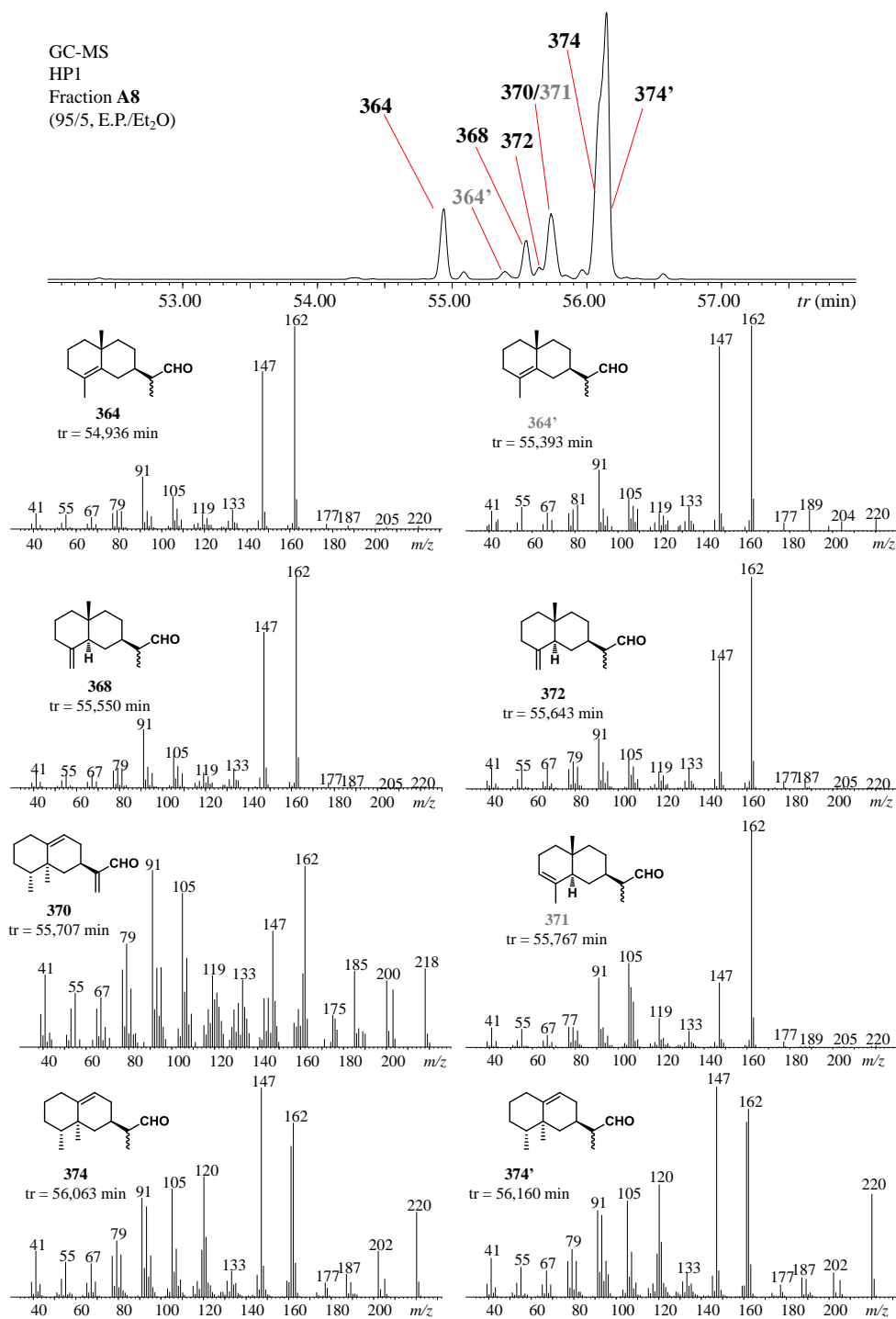
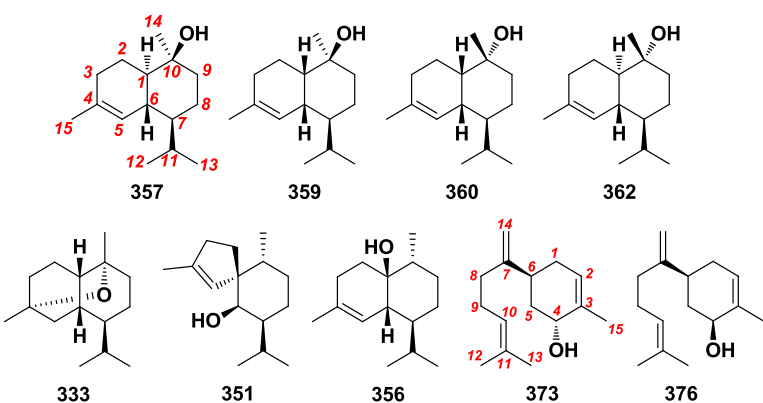


Figure 20. Spectres de masse des différents aldéhydes sesquiterpéniques identifiés dans la fraction A8 de l'essence de bois de *C. nootkatensis*. Les composés en gris n'ont pas été isolés.

Tout d'abord, le composé **374** est le composé le plus abondant dans la zone d'éluion des aldéhydes (Figure 17B - Zone 2). Sur colonne HP-5, l'analyse ne présente qu'un seul et unique pic. Son isolement par GC semi-préparative révèle cependant la présence de deux composés avec des spectres de masse similaires. Le composé **374** est identifié par RMN comme

étant un aldéhyde à squelette éremophilane, et plus précisément, comme le dihydrovalencén-12-al (**374** et **374'**), dont les deux diastéréoisomères se différencient seulement par la stéréochimie du carbone #11. Ces deux aldéhydes sont probablement issus de l'oxydation du valencén-12-ol (**382**) ou du valencène (**338**) présent en quantité non négligeable dans cette essence. Leur description chimique en RMN du  $^{13}\text{C}$  est donnée dans le Tableau 21. Parmi les composés ayant des spectres de masse quasi identiques, on isole les composés **364**, **368** et **372** (Figure 20). Le composé **371** n'a pas pu être caractérisé en raison d'une instabilité trop importante durant sa tentative d'isolement. Néanmoins, on suppose qu'il correspond à l'eudesm-3-én-12-al.

Tableau 19. Déplacements chimiques  $^{13}\text{C}$  (en ppm) des cadinanes et bisabolanes isolés de l'essence de bois de *C. nootkatensis*.



#C	333 <sup>a</sup>	357 <sup>a</sup>	359 <sup>a</sup>	360 <sup>a</sup>	362 <sup>a</sup>	351 <sup>c</sup>	356 <sup>a</sup>	373 <sup>c</sup>	376 <sup>c</sup>
1	33,94	48,09	46,28	45,70	50,15	59,47	72,84	31,99	32,09
2	22,33	22,75	21,75	18,66	22,82	34,24	24,21	124,86	123,41
3	32,41	31,05	31,41	31,29	31,08	36,58	26,87	134,93	137,12
4	69,98	134,52	133,68	134,51	135,12	142,66	134,02	68,47	70,87
5	34,88	122,80	124,95	124,75	122,46	126,32	122,30	37,84	39,00
6	30,94	37,90	34,68	36,94	40,00	76,28	42,08	34,32	39,75
7	47,27	46,82	44,09	44,24	46,84	45,87	48,25	153,62	153,21
8	18,95	19,97	19,51	21,69	22,10	24,80	22,20	35,43	34,94
9	39,35	40,46	34,79	35,49	42,34	32,32	31,32	27,25	27,19
10	72,78	70,84	72,56	72,70	72,58	34,31	49,41	124,96	124,77
11	28,19	26,33	26,81	26,57	26,13	29,64	27,0	131,40	131,46
12	21,46	21,57	21,10	21,84	21,68	21,43	15,39	17,80	17,78
13	22,43	15,35	15,54	15,47	15,27	21,01	15,35	25,88	25,86
14	26,01	28,62	29,43	28,12	20,93	16,70	21,81	108,07	108,16
15	27,47	23,93	23,78	23,78	24,00	17,04	23,71	21,06	19,30
Ref	[67] <sup>b</sup>	[68] <sup>b</sup>	[68] <sup>b</sup>	[69] <sup>b</sup>	[70] <sup>b</sup>	[71] <sup>b</sup>	[72] <sup>b</sup>		

<sup>a</sup> Enregistré dans le  $\text{CDCl}_3$ . <sup>b</sup> Données des études antérieures : RMN du  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  disponibles. <sup>c</sup> Enregistré dans le benzène- $d_6$ .

Après analyse des spectres RMN des composés **364**, **368** et **372**, on peut définir sans surprise la présence d'une fonction aldéhyde et il est possible d'affirmer que ces trois composés sont des dérivés eudesmanes. Possédant des ions moléculaires à  $m/z = 220$ , les composés **364**, **368** et **372** ont été caractérisés comme étant l'eudesm-4-én-12-al, l'eudesm-4(15)-én-12-al A, et l'eudesm-4(15)-én-12-al B, respectivement. Ces composés sont probablement issus de l'oxydation des costols (**173**, **179** et **180**) ou des hydrocarbures correspondants (**25**, **40** et **41**) également présents dans cette essence. Les composés **368** et **372** se différencient seulement au niveau de la stéréochimie du carbone #11, comme vu pour les composés **374** et **374'**. Il est à également noter que ces produits n'ont jamais été découverts dans un extrait naturel.

Tableau 20. Déplacements chimiques  $^{13}\text{C}$  (en ppm) des eudesmanes isolés de l'essence de bois de *C. nootkatensis*

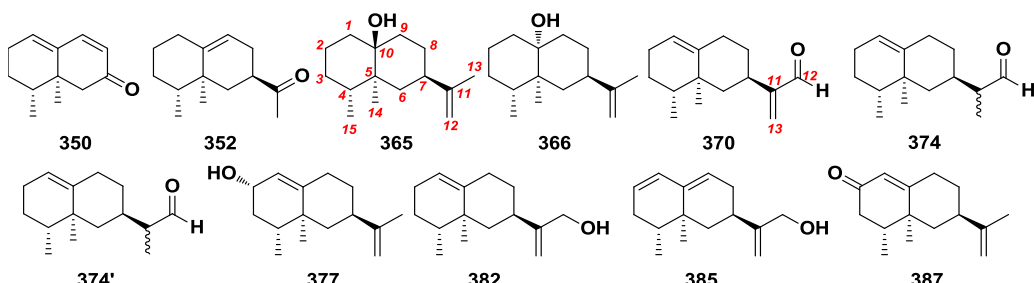
	86 <sup>a</sup>	115 <sup>a</sup>	164 <sup>a</sup>	253 <sup>a</sup>	361 <sup>a</sup>	364 <sup>a</sup>	368 <sup>a</sup>	372 <sup>a</sup>	379 <sup>a</sup>	383 <sup>a,c</sup>	383' <sup>a,c</sup>	384 <sup>a</sup>
#C	86 <sup>a</sup>	115 <sup>a</sup>	164 <sup>a</sup>	253 <sup>a</sup>	361 <sup>a</sup>	364 <sup>a</sup>	368 <sup>a</sup>	372 <sup>a</sup>	379 <sup>a</sup>	383 <sup>a,c</sup>	383' <sup>a,c</sup>	384 <sup>a</sup>
1	42,27	41,75	41,50	40,02	41,63	40,70	42,16	42,18	40,43	38,29	38,36	42,52
2	18,67	20,49	20,55	18,86	23,61	19,43	23,75	22,00	19,31	17,36	21,91	23,88
3	44,18	43,81	43,91	41,78	37,07	33,42	37,25	37,19	33,23	29,61	32,47	37,36
4	71,27	71,32	71,38	71,39	150,94	127,38	150,71	150,78	124,70	40,71	32,67	151,06
5	51,98	49,15	55,03	46,44	44,22	131,87	43,93	44,21	133,76	88,36	87,70	44,59
6	26,35	23,08	26,37	23,00	34,34	28,72	24,75	27,05	28,81	37,43	33,44	26,22
7	47,17	39,85	46,80	39,84	74,65	35,73	34,03	37,13	37,04	40,99	39,98	35,56
8	27,32	23,89	27,35	23,82	31,27	23,29	24,15	23,76	24,58	25,09	25,21	23,49
9	41,85	40,75	45,01	42,55	36,38	37,43	35,81	36,02	37,04	38,86	36,56	37,06
10	34,08	35,41	34,70	34,78	35,73	34,93	36,27	39,24	34,82	39,04	39,04	36,70
11	150,73	146,89	150,63	147,24	152,70	45,46	45,32	45,29	152,73	83,27	83,27	150,71
12	108,88	111,35	108,68	111,06	108,99	204,22	203,87	203,77	66,01	69,59	69,39	65,63
13	20,88	23,04	21,21	23,04	19,23	11,81	12,29	12,60	109,97	18,41	18,03	110,02
14	18,99	18,58	18,80	18,86	15,49	24,91	16,18	16,22	24,89	23,73	23,69	16,28
15	30,44	22,74	22,81	30,33	105,30	19,56	105,81	105,91	19,61	17,68	15,77	105,79
Ref	[45] <sup>b</sup>	[45] <sup>b</sup>	[45] <sup>b</sup>	[45] <sup>b</sup>								[73] <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Enregistré dans le benzène-*d*<sub>6</sub>. <sup>b</sup> Données des études antérieures : RMN du  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  disponibles. <sup>c</sup> Les composés ont été isolés en mélange.

En plus de ces aldéhydes, on note également la présence de quatre dérivés norsequiterpéniques. En premier lieu, on remarque que les composés **332** et **350** éluent dans la zone d'élution des hydrocarbures sur la colonne première dimension et dans une zone de

polarité plus élevé sur la colonne de seconde dimension (Figure 17B - Zone 2). **350** et **332** possèdent respectivement des ions moléculaires intenses à  $m/z = 176$  et  $178$ , indiquant potentiellement que ces composés sont des cétones trinorsesquiterpéniques. On identifie également deux autres norsesquiterpènes, les composés **352** et **355**, avec des ions moléculaires à  $m/z = 206$ . Les composés **332** et **355** ( $m/z = 178$  et  $206$ ) ont été identifiés sur la base de leur spectre de masse et de leur indice de rétention sur colonne apolaire comme étant le 11,12,13-trinor-érérophil-7-one et la 13-nor-érérophil-1(10)-én-11-one, respectivement. Ces deux composés ont été isolés de l'essence de Vétiver<sup>74,75</sup> et leur présence a été confirmée durant notre étude sur l'huile essentielle de Vétiver (voir Chapitre V).

Tableau 21. Déplacements chimiques  $^{13}\text{C}$  (en ppm) des érérophilanes isolés de l'essence de bois de *C. nootkatensis*



#C	350 <sup>a</sup>	352 <sup>a</sup>	365 <sup>a</sup>	366 <sup>a</sup>	370 <sup>a</sup>	374 <sup>a,c</sup>	374 <sup>a,c</sup>	377 <sup>a</sup>	382 <sup>d</sup>	385 <sup>a</sup>	387 <sup>d</sup>
1	133,72	32,92	34,51	34,26	120,8	120,77	120,70	125,81	120,50	129,42	124,85
2	26,29	28,01	21,14	17,49	26,3	26,23	26,23	67,90	26,02	125,75	199,77
3	25,72	31,41	30,25	29,52	27,5	27,46	27,45	37,72	27,26	32,61	42,24
4	38,67	44,12	34,88	40,02	41,3	41,30	41,29	39,65	41,07	39,20	40,62
5	38,36	38,56	40,11	39,94	38,4	38,16	38,02	38,40	38,08	36,72	39,48
6	50,10	40,28	37,44	41,20	45,3	44,46	42,31	44,95	45,57	41,00	44,08
7	197,49	44,51	40,29	40,26	31,9	34,16	33,89	41,17	36,87	33,57	40,48
8	125,17	28,07	26,53	28,56	33,3	30,30	32,36	33,26	33,75	32,21	31,78
9	146,04	118,21	35,42	38,21	32,9	32,88	32,74	32,63	32,87	122,97	33,18
10	140,78	144,22	72,20	73,75	142,6	142,56	142,52	144,70	142,91	142,23	170,63
11	-	209,31	150,76	150,02	155,5	51,49	51,42	150,09	154,19	154,26	149,25
12	-	27,61	108,95	108,88	193,5	203,71	203,62	109,05	65,38	65,10	109,39
13	-	-	20,89	21,34	131,5	9,80	9,89	20,94	107,99	107,75	20,98
14	18,79	18,04	15,46	19,24	18,3	18,51	18,48	18,28	18,50	17,47	17,01
15	15,19	15,83	15,11	18,09	15,8	15,83	15,82	15,54	15,79	14,88	15,07
Ref			[76] <sup>b</sup>	[76] <sup>b</sup>	[36] <sup>b</sup>			[36] <sup>b</sup>	[36] <sup>b</sup>		[77] <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Enregistré dans le benzène- $d_6$ . <sup>b</sup> Données des études antérieures : RMN du  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  disponibles. <sup>c</sup> Composé isolé en mélange. Déplacement chimique en RMN du  $^{13}\text{C}$  défini selon les expériences HSQC et COSY. <sup>d</sup> Enregistré dans le  $\text{CDCl}_3$ .

Le composé **350** a été isolé par GC semi-préparative à partir de la fraction A10. Les spectres RMN montrent la présence de deux doubles liaisons ainsi que le signal d'un carbone fortement déblindé à 197,49 ppm correspondant à une fonction carbonylée. Le composé **350**

est identifié comme étant un érérophilane avec trois systèmes  $\pi$  conjugués impliquant deux doubles liaisons et une fonction carbonylée. Le composé **350** est ainsi identifié comme l'érérophila-1(10),8-diène-7-one, encore jamais décrite dans la littérature.

En plus de cette nouvelle cétone, on isole un nouvel isomère de 13-nor-érérophil-1(10)-én-11-one (**355**). Après isolement de **352** à partir de la fraction A7, l'analyse des spectres RMN confirme une structure de type érérophilane ainsi que la présence d'une double liaison et d'un groupement méthylcétone. La structure a été caractérisée par la suite comme étant la 13-nor-érérophil-9-én-11-one (**352**), jamais encore décrite dans la littérature. Cependant, un épimère connu de cette cétone, la 5-*épi*-érérophil-9-én-11-one, a été synthétisé à partir de l'oxydation du debnéyol, alias 5-*épi*-érérophil-9-én-11,12-diol.<sup>78</sup> Les données spectroscopiques de cet épimère ne correspondent pas au produit isolé ici.

Enfin, parmi les alcools isolés, on identifie au total neuf composés encore jamais décrits dans l'essence de cyprès jaune d'Alaska. Après isolement et caractérisation par RMN, on identifie trois eudesmanes (**361**, **379** et **384**), trois érérophilanes (**365**, **366** et **385**), ainsi que deux bisabolanes (**373** et **376**). Eluant parmi les alcools tertiaires, **361** possède un ion moléculaire peu visible à  $m/z = 220$  et un pic de base à  $m/z = 187$ . L'ensemble des spectres RMN permet de montrer la présence de deux doubles liaisons en position *exo*, d'un alcool tertiaire situé au pied d'un groupement isopropényle et que cette molécule possède un squelette eudesmane. Ainsi, **361** a été identifié comme étant l'eudesma-4(15),11-diène-7 $\alpha$ -ol, jamais identifié dans la littérature. En plus de cet alcool tertiaire, on isole un épimère du  $\gamma$ -costol **379** et un épimère du  $\beta$ -costol **384**. Les spectres RMN nous permettent de déterminer que **379** correspond au 10-*épi*- $\gamma$ -costol et que **384** est le 5,10-di-*épi*- $\gamma$ -costol. Ces deux composés ont des spectres de masse très similaires mais aussi très proches de ceux obtenus pour le  $\gamma$ -costol (**173**) et le  $\beta$ -costol (**179**) (Figure 21). Cependant, on remarque que l'ion fragment à  $m/z = 123$  est plus intense pour les 10-*épi*-costols (**379** et **384**) que pour les costols (**173** et **179**). Ces deux produits n'ont à notre connaissance jamais été identifiés. Sachant que l' $\alpha$ -costol (**180**) est identifié dans cette essence, il se pourrait que du 10-*épi*- $\alpha$ -costol puisse être présent également.

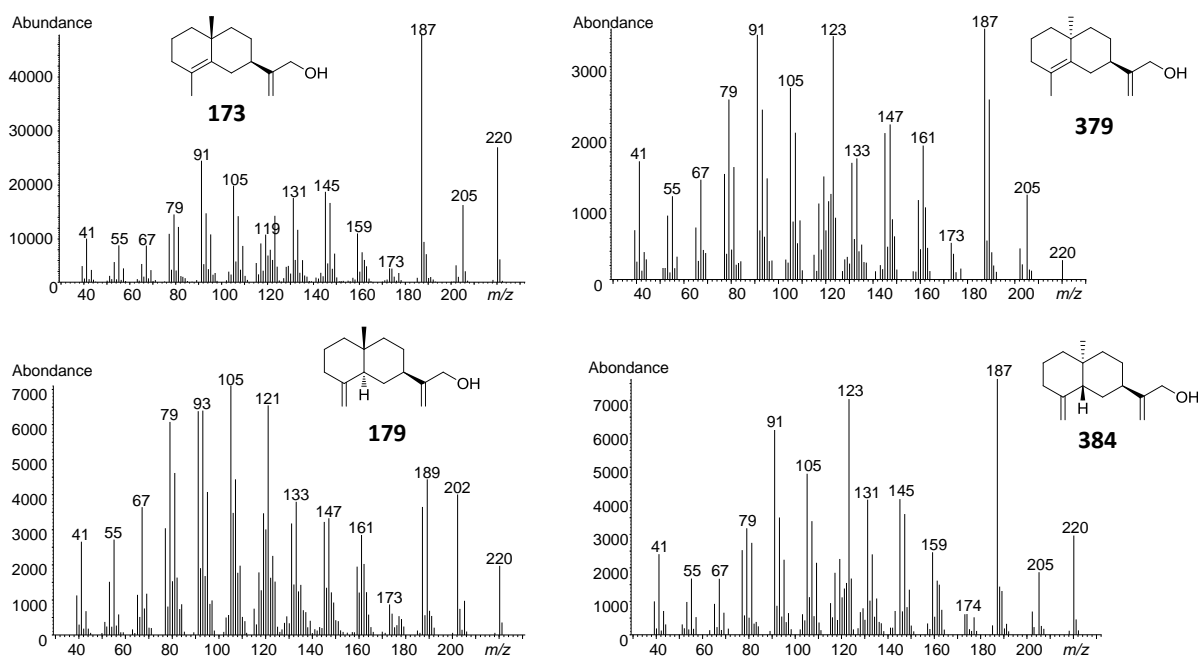


Figure 21. Spectre de masse du  $\gamma$ -costol (**173**), 10-*épi*- $\gamma$ -costol (**379**),  $\beta$ -costol (**179**) et du 5,10-di-*épi*- $\beta$ -costol (**384**) isolés de l'essence de cèdre jaune d'Alaska.

En plus de ces composés, on isole en mélange deux alcools primaires à squelette agarofuranique (Tableau 20). L'un d'eux a déjà été isolé par Bazzali et al. dans l'huile essentielle de bois de *Xanthocyparis vietnamensis*,<sup>73</sup> une espèce nouvellement découverte au Vietnam et faisant partie de la même famille que le *C. nootkatensis* (voir IV.1). Ce composé a ainsi été identifié comme étant le 12-hydroxyisodihydroagarofurane (**383'**). Le second composé possède un spectre de masse et un indice de rétention quasi similaire sur phase stationnaire apolaire (HP5 = 1770) à **383'**. De plus, les indices de rétention sur colonne polaire de **383** et **383'** se différencient que de cinq unités (**383** RI<sub>wax</sub> 2483, **383'** RI<sub>wax</sub> 2478), rendant son isolement difficile. Cependant, **383** a pu être identifié par soustraction des déplacements chimiques en RMN du <sup>13</sup>C obtenu pour **383'**. Il est finalement caractérisé comme le 4-*épi*-12-hydroxyisodihydroagarofurane, jamais décrit dans la littérature.

Dans les fractions A11 et A13, deux autres alcools secondaires (**373** et **376**) ont pu être isolés par GC semi-préparative et caractérisés par RMN. On remarque pour ces deux composés une structure de type bisabolane et la présence d'un alcool secondaire. De plus, **373** et **376** sont structurellement proches du  $\beta$ -bisabolénol (**182**), identifié dans cette essence et dans l'essence de bois de *C. pancheri* (Chapitre II). Après traitement des différentes données, on identifie **373** et **376** comme étant le bisabolén-4 $\alpha$ -ol et le bisabolén-4 $\beta$ -ol, respectivement. L'examen des spectres NOESY de ces deux composés et du  $\beta$ -bisabolénol (**182**) permet de confirmer une

stéréochimie identique au niveau du carbone #6. Ces deux composés sont décrits pour la première fois dans un extrait naturel.

Afin d'en apprendre davantage sur cette huile essentielle, nous avons isolé également trois autres composés présents dans les fractions A7, A9 et A11. L'étude des spectres RMN permet d'affirmer que les composés **365**, **366** et **385** partagent le même squelette éremophilane. Les composés **365** et **366** ont été identifiés comme étant des alcools tertiaires ( $m/z = 222$ ), alors que **385** est un alcool primaire ( $m/z = 218$ ). **365**, **366** et **385** ont ainsi été identifiés comme étant l'éremophil-11-én-10 $\beta$ -ol, l'éremophil-11-én-10 $\alpha$ -ol et l'éremophila-1,9,11-trién-12-ol (alias nookatén-12-ol), respectivement. Les composés **365** et **366** ont déjà été isolés par Näf et al. dans un extrait de jus d'orange sanguine, *Citrus sinensis sanguinea*.<sup>76</sup> A notre connaissance, le nookatén-12-ol (**385**) n'a jamais été décrit dans la littérature. Les déplacements chimiques en RMN du <sup>13</sup>C de ces composés sont regroupés dans le Tableau 21.

L'ensemble des composés identifiés ici nous permet d'avoir une meilleure connaissance de la composition chimique de notre essence. Afin de donner une quantification précise de chaque constituant de cette huile essentielle, nous avons procédé à une analyse par GC  $\times$  GC–FID utilisant les facteurs de réponse relatifs prédits.

#### IV.5. Analyse quantitative par GC $\times$ GC–FID de l'essence de bois de *C. nootkatensis*

Comme effectué dans les chapitres précédents, nous avons opté pour une quantification des constituants par GC  $\times$  GC–FID en utilisant les facteurs de réponse relatifs prédits.<sup>79</sup> Les résultats analytiques sont résumés dans le Tableau 22.

L'huile essentielle de bois de *C. nootkatensis* est composée en large majorité de sesquiterpènes (67,72 %) et de monoterpènes (17,89 %). Les diterpènes représentent une faible proportion de notre échantillon (0,21 %). Les hydrocarbures composent plus de la moitié de la composition chimique de cette essence (~ 53 %). Les alcools tertiaires (15,83 %), les alcools primaires (6,07 %), les cétones (3,91 %) et les esters (3,27 %) constituent la seconde part de notre échantillon. Les éremophilanes constituent une large partie de l'essence (53,44 %) suivis des cadinanes (6,86 %) et des eudesmanes (4,89 %).



Tableau 22. Analyse quantitative par GC × GC–FID d'un échantillon d'huile essentielle de cyprès jaune d'Alaska.

#	RI <sup>a</sup> Calc.	RI Litt.	Composé <sup>b</sup>	Classe chimique	Famille	<sup>1</sup> t <sub>r</sub> (min)	<sup>2</sup> t <sub>r</sub> (s)	MM (g/mol)	#C	#H	#O	Ph	RRF	Ech. <sup>f</sup> (g/100g)	Ec. Type	Ident.
285	834	828	Furfural	Aldéhydes		10,40	1,75	96	5	4	2	1	0,594	0,01	0,00	MS,RI
286	920	924	Cumène	Hydrocarbures		11,80	0,19	120	9	12	0	1	1,032	0,04	0,01	MS,RI
287	926		79 91 107 122 136	Inconnus H		11,90	0,12	136	10	16	0	0	0,942	0,01	0,00	
186	926	932	$\alpha$ -Pinène	Hydrocarbures		11,90	6,00	136	10	16	0	0	0,942	0,14	0,00	MS,RI,Std
288	943	945	$\alpha$ -Fenchène	Hydrocarbures		12,20	6,04	136	10	16	0	0	0,942	0,09	0,00	MS,RI
289	943	953	Thuja-2,4(10)-diène	Hydrocarbures		12,20	6,04	136	10	16	0	0	0,942	0,01	0,00	MS,RI
290	973		<i>m</i> -Cymène	Hydrocarbures		12,70	0,23	134	10	14	0	1	1,032	0,01	0,00	MS,RI
291	979	988	Myrcène	Hydrocarbures		12,80	0,16	136	10	16	0	0	0,942	0,02	0,00	MS,RI
188	979	974	$\beta$ -Pinène	Hydrocarbures		12,80	6,11	136	10	16	0	0	0,942	0,01	0,00	MS,RI
292	985	988 <sup>c</sup>	$\alpha$ -Méthylstyrène	Hydrocarbures		12,90	0,62	118	9	10	0	1	1,014	0,02	0,00	MS,RI
293	1008	1008	$\delta$ -3-Carène	Hydrocarbures		13,40	0,15	136	10	16	0	0	0,942	0,74	0,08	MS,RI
2	1013	1014	$\alpha$ -Terpinène	Hydrocarbures		13,50	0,20	136	10	16	0	0	0,942	0,13	0,08	MS,RI
130	1023	1020	<i>p</i> -Cymène	Hydrocarbures		13,70	0,37	134	10	14	0	1	1,032	0,11	0,00	MS,RI
3	1028	1024	Limonène	Hydrocarbures		13,80	0,24	136	10	16	0	0	0,942	0,04	0,01	MS,RI
294	1028	1025	$\beta$ -Phéllandrière	Hydrocarbures		13,80	0,26	136	10	16	0	0	0,942	0,02	0,01	MS,RI
295	1080	1082	<i>m</i> -Cyménène	Hydrocarbures		14,90	0,86	132	10	12	0	1	1,015	0,02	0,00	MS,RI
296	1085	1086	Terpinolène	Hydrocarbures		15,00	0,38	136	10	16	0	0	0,942	0,05	0,00	MS,RI
132	1089	1089	<i>p</i> -Cyménène	Hydrocarbures		15,10	0,86	132	10	12	0	1	1,015	0,21	0,00	MS,RI
297	1125	1118	<i>exo</i> -Fenchol	Alcools II		16,00	1,60	154	10	18	1	0	0,829	0,01	0,00	MS,RI
298	1137	1130	Terpinén-1-ol	Alcools III		16,30	1,58	154	10	18	1	0	0,829	0,01	0,00	MS,RI
299	1157	1154	Sabina cétone	Cétones		16,80	1,72	138	9	14	1	0	0,790	0,05	0,00	MS,RI
300	1181	1176	<i>o</i> -Cymén-8-ol	Alcools III		17,40	4,50	150	10	14	1	1	0,890	0,04	0,00	MS,RI
301	1185	1165	Bornéol (tent. MS)	Alcools II		17,50	2,53	154	10	18	1	0	0,829	0,04	0,01	MS,RI
134	1188	1174	Terpinèn-4-ol	Alcools III		17,60	1,63	154	10	18	1	0	0,829	0,66	0,00	RMN
302	1191		<i>m</i> -Menth-6-én-8-ol	Alcools III		17,70	2,33	154	10	18	1	0	0,829	0,14	0,01	RMN
302	1191	1179	<i>p</i> -Cymén-8-ol	Alcools III		17,70	4,53	150	10	14	1	1	0,890	0,07	0,00	MS,RI
135	1199	1186	$\alpha$ -Terpinéol	Alcools III		18,00	2,37	154	10	18	1	0	0,829	0,35	0,00	MS,RI
194	1202	1194	Myrténol	Alcools I		18,10	3,59	152	10	16	1	0	0,812	0,14	0,00	MS,RI
193	1205	1195	Myrténal	Aldéhydes		18,20	1,96	150	10	14	1	0	0,794	0,03	0,00	MS,RI
304	1208	1196	<i>trans</i> -4-Caranone	Cétones		18,30	1,54	152	10	16	1	0	0,812	0,02	0,00	MS,RI
305	1208		<i>trans</i> -10-Thujanol	Alcools I		18,30	3,27	154	10	18	1	0	0,829	0,12	0,00	RMN
306	1216	1245	Eucarvone (tent. MS)	Cétones		18,60	2,62	150	10	14	1	0	0,794	0,07	0,00	MS,RI
307	1228	1247	<i>p</i> -Cuménol	Hydrocarbures		19,00	1,85	136	9	12	1	1	0,876	0,03	0,00	MS,RI
308	1231	1241	Carvacryl méthyl éther	Ethers		19,10	1,53	164	11	16	1	1	0,902	2,60	0,00	RMN
309	1262	1255	Carvénone	Cétones		20,20	2,65	152	10	16	1	0	0,812	0,05	0,00	MS,RI
310	1265		<i>trans</i> -Menth-8-én-7-ol, alias <i>trans</i> -Shisool	Alcools I		20,30	5,05	154	10	18	1	0	0,829	0,07	0,00	RMN
311	1273		(-)-Caran-10-ol	Alcools I		20,60	4,57	154	10	18	1	0	0,829	2,02	0,00	RMN
312	1282		79 91 105 108 119 121 152	Inconnus		20,90	6,05	152	10	16	1	0	0,812	0,03	0,00	
313	1291		<i>cis</i> -Menth-8-én-7-ol, alias <i>cis</i> -Shisool	Alcools I		21,30	5,60	154	10	18	1	0	0,829	0,08	0,00	RMN
314	1296	1293	Myrténate de méthyle	Esters		21,50	2,18	180	11	16	2	0	0,715	0,02	0,00	MS,RI
315	1298		Déhydrocarvacryl méthyl éther	Ethers		21,60	2,79	162	11	14	1	1	0,887	0,15	0,00	RMN
316	1298	1298	Carvacrol	Alcools III		21,60	5,21	150	10	14	1	0	0,794	8,92	0,01	RMN

#	RI <sup>a</sup> Calc.	RI Litt.	Composé <sup>b</sup>	Classe chimique	Famille	<sup>1</sup> t <sub>r</sub> (min)	<sup>2</sup> t <sub>r</sub> (s)	MM (g/mol)	#C	#H	#O	Ph	RRF	Ech. <sup>f</sup> (g/100g)	Ec. Type	Ident.
317	1315		4-Isopropyl-7-méthoxyépén-2(3 <i>H</i> )-one	Esters		22,40	4,78	166	10	14	2	0	0,689	0,13	0,00	RMN
318	1315		Menth-4(8)-én-7-ol	Alcools I		22,40	6,03	154	10	18	1	0	0,829	0,10	0,00	RMN
319	1322	1318	Thujate de méthyle	Esters		22,70	3,45	178	11	14	2	1	0,781	0,16	0,00	RMN
320	1328		2-Hydroxy-4-isopropylbenzaldéhyde	Aldéhydes		23,00	5,27	164	10	12	2	1	0,760	0,04	0,01	RMN
321	1370		Acide dehydrocaranoïque (tent. MS)	Acides		24,90	0,69	166	10	14	2	0	0,689	0,01	0,00	MS
322	1374		Déhydrocarvacrol	Alcools III		25,10	2,57	148	10	12	1	1	0,874	0,04	0,00	RMN
7	1379	1374	$\alpha$ -Copaène	Hydrocarbures	Copaanes	25,30	0,87	204	15	24	0	0	0,959	0,04	0,00	MS,RI
8	1388	1389	$\beta$ -Elémène	Hydrocarbures	Elémanes	25,80	1,23	204	15	24	0	0	0,959	0,31	0,00	MS,RI
323	1400	1424	2,5-Diméthoxy- <i>p</i> -Cymène (tent. MS)	Ethers		26,50	3,35	194	12	18	2	1	0,812	0,03	0,00	MS,RI
11	1424	1417	( <i>E</i> )-Caryophyllène	Hydrocarbures	Caryophyllanes	27,90	1,21	204	15	24	0	0	0,959	0,03	0,00	MS,RI
324	1441		91 105 133 159 <b>174</b> 202	Inconnus H		28,90	1,42	202	15	22	0	0	0,947	0,04	0,00	
206	1448		10,10-Diméthyl-2,6-diméthylènebicyclo[7,2,0]undecane <sup>c</sup>	Hydrocarbures	Caryophyllanes	29,30	1,34	204	15	24	0	0	0,959	0,13	0,00	MS,RI
325	1456		4,5-di- <i>épi</i> -Erémophila-1(10),2,11-triène (tent. MS)	Hydrocarbures	Erémophilanes	29,80	1,70	202	15	22	0	0	0,947	0,02	0,00	MS
326	1460	1461	<i>cis</i> -Cadina-1(6),4-diène	Hydrocarbures	Cadinanes	30,00	1,25	204	15	24	0	0	0,959	0,01	0,00	MS,RI
21	1460	1452	$\alpha$ -Humulène	Hydrocarbures	Humulanes	30,00	1,43	204	15	24	0	0	0,959	0,01	0,00	MS,RI
327	1465	1471	4,5-di- <i>épi</i> -Aristolochène	Hydrocarbures	Erémophilanes	30,30	1,26	204	15	24	0	0	0,959	0,03	0,00	MS,RI
328	1465		79 91 <b>105</b> 119 133 204	Inconnus H		30,30	1,35	204	15	24	0	0	0,959	0,03	0,00	
329	1473	1475	Cadina-1(6),4-diène	Hydrocarbures	Cadinanes	30,80	1,33	204	15	24	0	0	0,959	0,36	0,09	MS,RI
25	1473		Séline-4,11-diène	Hydrocarbures	Eudesmanes	30,80	1,33	204	15	24	0	0	0,959			MS,RI
330	1475	1478	$\gamma$ -Muuroène	Hydrocarbures	Cadinanes	30,90	1,36	204	15	24	0	0	0,959	0,43	0,09	MS,RI
331	1477		Erémophila-1(10),2,11-triène	Hydrocarbures	Erémophilanes	31,00	1,77	202	15	22	0	0	0,947	1,15	0,01	MS,RI,Ref <sup>g</sup>
332	1477		11,12,13-trinor-Erémophil-1(10)-én-7-one	Cétones	Erémophilanes	31,00	4,48	178	12	18	1	0	0,830	0,17	0,00	RMN
333	1482	1481	4,10-Epoxymuuroène	Ethers	Cadinanes	31,30	1,43	222	15	26	1	0	0,879	0,30	0,01	RMN
334	1482		77 91 105 <b>119</b> 145 161 202	Inconnus H		31,30	1,73	202	15	22	0	0	0,947	0,17	0,01	
30	1488		10- <i>épi</i> -Séline-4,11-diène (tent. MS)	Hydrocarbures	Eudesmanes	31,70	1,34	204	15	24	0	0	0,959	0,43	0,01	MS
335	1488	1487	Aristolochène	Hydrocarbures	Erémophilanes	31,70	1,40	204	15	24	0	0	0,959	0,30	0,02	MS,RI
336	1488		79 <b>91</b> 10 117 131 145 159 202	Inconnus H		31,70	1,81	202	15	22	0	0	0,947	0,25	0,00	
337	1491		77 91 128 <b>143</b> 157 200	Inconnus H		31,90	2,13	200	15	20	0	0	0,935	0,10	0,01	
40	1492	1489	$\beta$ -Sélinène	Hydrocarbures	Eudesmanes	32,00	1,50	204	15	24	0	0	0,959	0,05	0,02	MS,RI
338	1495	1496	Valencène	Hydrocarbures	Erémophilanes	32,20	1,52	204	15	24	0	0	0,959	6,86	0,24	MS,RI
41	1499	1498	$\alpha$ -Sélinène	Hydrocarbures	Eudesmanes	32,50	1,46	204	15	24	0	0	0,959			MS,RI
39	1499	1500	$\alpha$ -Muuroène	Hydrocarbures	Cadinanes	32,50	1,46	204	15	24	0	0	0,959	0,55	0,33	MS,RI
151	1501	1505	$\beta$ -Bisabolène	Hydrocarbures	Bisabolanes	32,60	1,32	204	15	24	0	0	0,959	0,39	0,01	MS,RI
339	1502		10- <i>épi</i> - $\delta$ -Sélinène (tent. MS)	Inconnus H	Eudesmanes	32,70	1,49	204	15	24	0	0	0,959	0,57	0,08	MS
340	1502	1507	Erémophila-1(10),8,11-triène <sup>d</sup>	Hydrocarbures	Erémophilanes	32,70	1,75	202	15	22	0	0	0,947	0,10	0,02	MS
341	1503		79 93 <b>107</b> 119 133 147 162 204	Inconnus H		32,80	1,47	204	15	24	0	0	0,959	0,06	0,03	
342	1503		79 <b>91</b> 105 119 131 145 161 187 202	Inconnus H		32,80	1,73	202	15	22	0	0	0,947	0,06	0,02	
343	1513	1513	$\gamma$ -Cadinène	Hydrocarbures	Cadinanes	33,50	1,52	204	15	24	0	0	0,959	0,74	0,09	MS,RI
45	1516	1522	$\delta$ -Cadinène	Hydrocarbures	Cadinanes	33,70	1,47	204	15	24	0	0	0,959	1,51	0,08	MS,RI
344	1519	1517	Nootkatène	Hydrocarbures	Erémophilanes	33,90	2,13	202	15	22	0	0	0,947	36,37	0,10	MS,RI
48	1522	1528	Erémophila-1(10),7(11)-diène	Hydrocarbures	Erémophilanes	34,10	1,52	204	15	24	0	0	0,959	0,09	0,06	MS,RI
345	1522		Zonarène	Hydrocarbures	Cadinanes	34,10	1,52	204	15	24	0	0	0,959			MS,RI
49	1523	1520	7- <i>épi</i> - $\alpha$ -Sélinène	Hydrocarbures	Eudesmanes	34,20	1,52	204	15	24	0	0	0,959	0,84	0,06	MS,RI

#	RI <sup>a</sup> Calc.	RI Litt.	Composé <sup>b</sup>	Classe chimique	Famille	<sup>1</sup> t <sub>r</sub> (min)	<sup>2</sup> t <sub>r</sub> (s)	MM (g/mol)	#C	#H	#O	Ph	RRF	Ech. <sup>f</sup> (g/100g)	Ec. Type	Ident.
346	1523	1521	Calaménène	Hydrocarbures	Cadinanes	34,20	1,92	202	15	22	0	1	1,019	0,11	0,04	MS,RI
347	1530	1533	<i>trans</i> -Cadina-1,4-diène	Hydrocarbures	Cadinanes	34,70	1,52	204	15	24	0	0	0,959	0,03	0,00	MS,RI
348	1535	1537	$\alpha$ -Cadinène	Hydrocarbures	Cadinanes	35,00	1,52	204	15	24	0	0	0,959	0,13	0,01	MS,RI
58	1542	1544	$\alpha$ -Calacorène	Hydrocarbures	Cadinanes	35,50	2,29	200	15	20	0	1	1,008	0,10	0,00	MS,RI
60	1543	1545	Séline-3,7(11)-diène	Hydrocarbures	Eudesmanes	35,60	1,48	204	15	24	0	0	0,959	0,01	0,00	MS,RI
61	1544	1548	$\beta$ -Elémol	Alcools III	Elemanes	35,70	3,75	222	15	26	1	0	0,879	0,01	0,00	MS,RI
349	1547	1554	$\beta$ -Vetivénène	Hydrocarbures	Erémophilanes	35,90	1,85	202	15	22	0	0	0,947	0,03	0,00	MS,RI
350	1547		11,12,13-trinor-Erémophila-1(10),8-dién-7-one	Cétones	Erémophilanes	35,90	6,15	176	12	16	1	0	0,816	0,03	0,00	RMN
154	1549		( <i>E</i> )-Nérolidol	Alcools III	Farnesanes	36,00	3,05	222	15	26	1	0	0,879	0,02	0,00	MS,RI
351	1585	1586	Gleénol	Alcools III	Eudesmanes	38,60	2,57	222	15	26	1	0	0,879	0,07	0,01	RMN
352	1606		13-nor-Erémophil-9-én-11-one	Cétones	Erémophilanes	40,30	3,23	206	14	22	1	0	0,857	0,05	0,00	RMN
353	1615	1618	1,10-di- <i>épi</i> -Cubénol	Alcools III	Cadinanes	41,00	2,46	222	15	26	1	0	0,879	0,04	0,01	MS,RI
354	1615	1622	$\alpha$ -Corocalène	Hydrocarbures	Cadinanes	41,00	2,47	200	15	20	0	1	1,008	0,04	0,01	MS,RI
86	1618		Néointermédéol, alias Séline-11-én-4 $\beta$ -ol <sup>e</sup>	Alcools III	Eudesmanes	41,30	3,06	222	15	26	1	0	0,879	0,09	0,00	RMN
355	1618		13-nor-Erémophil-1(10)-én-11-one	Cétones	Erémophilanes	41,30	3,27	206	14	22	1	0	0,857	0,25	0,00	MS,RI,Ref <sup>g</sup>
87	1626	1622	10- <i>épi</i> - $\gamma$ -Eudesmol	Alcools III	Eudesmanes	41,90	2,73	222	15	26	1	0	0,879	0,02	0,00	MS,RI
356	1627	1627	1- <i>épi</i> -Cubénol	Alcools III	Cadinanes	42,00	2,36	222	15	26	1	0	0,879	0,17	0,00	RMN
89	1630	1630	$\gamma$ -Eudesmol	Alcools III	Eudesmanes	42,30	3,11	222	15	26	1	0	0,879	0,18	0,00	MS,RI
357	1639	1638	$\tau$ -Cadinol	Alcools III	Cadinanes	43,00	2,97	222	15	26	1	0	0,879	0,50	0,02	RMN
358	1641	1645	Cubénol	Alcools III	Cadinanes	43,20	2,14	222	15	26	1	0	0,879	0,10	0,00	MS,RI
359	1641	1640	$\tau$ -Muurolol	Alcools III	Cadinanes	43,20	3,10	222	15	26	1	0	0,879	0,99	0,09	RMN
360	1641	1644	$\alpha$ -Muurolol	Alcools III	Cadinanes	43,20	3,10	222	15	26	1	0	0,879			RMN
98	1644		Jinkoh-érémol	Alcools III	Erémophilanes	43,40	3,14	222	15	26	1	0	0,879	0,28	0,09	MS,RI
253	1648		Paradisiole <sup>c</sup>	Alcools III	Eudesmanes	43,70	2,92	222	15	26	1	0	0,879	0,15	0,00	RMN
361	1649		Eudesma-4(15),11-dién-7 $\alpha$ -ol	Alcools III	Eudesmanes	43,80	3,73	220	15	24	1	0	0,868	0,05	0,00	RMN
362	1654	1652	$\alpha$ -Cadinol	Alcools III	Cadinanes	44,20	3,35	222	15	26	1	0	0,879	1,22	0,04	RMN
104	1654	1656	Valérianol	Alcools III	Erémophilanes	44,20	3,35	222	15	26	1	0	0,879			MS,RI
107	1655	1649	$\alpha$ -Eudesmol	Alcools III	Eudesmanes	44,30	3,31	222	15	26	1	0	0,879	0,26	0,05	MS,RI
108	1655	1652	$\beta$ -Eudesmol	Alcools III	Eudesmanes	44,30	3,31	222	15	26	1	0	0,879			MS,RI
363	1656		3-Isopropyl-4-(3-méthylbut-2-én-1-yl)phénol	Alcools III	Phénols	44,40	2,16	204	14	20	1	1	0,915	0,08	0,02	RMN
164	1659	1658	Séline-11-én-4 $\alpha$ -ol <sup>e</sup>	Alcools III	Eudesmanes	44,60	3,52	222	15	26	1	0	0,879	0,17	0,00	RMN
364	1661		Eudesm-4-én-12-al	Aldéhydes	Eudesmanes	44,80	2,28	220	15	24	1	0	0,868	0,09	0,00	RMN
365	1663		Erémophil-11-én-10 $\beta$ -ol	Alcools III	Erémophilanes	45,00	2,78	222	15	26	1	0	0,879	0,23	0,00	RMN
366	1666		Erémophil-11-én-10 $\alpha$ -ol	Alcools III	Erémophilanes	45,20	2,86	222	15	26	1	0	0,879	0,19	0,00	RMN
115	1667	1665	Intermédeol <sup>c</sup>	Alcools III	Eudesmanes	45,30	3,19	222	15	26	1	0	0,879	0,20	0,00	RMN
367	1672	1675	Cadalène	Hydrocarbures	Cadinanes	45,70	3,04	198	15	18	0	1	0,996	0,02	0,00	MS,RI
368	1677		Eudesm-4(15)-én-12-al, épimère A	Aldéhydes	Eudesmanes	46,10	2,32	220	15	24	1	0	0,868	0,06	0,00	RMN
369	1679		Déhydrojinkoh-érémol	Alcools III	Erémophilanes	46,30	3,93	220	15	24	1	0	0,868	0,49	0,00	RMN
370	1680		Valencén-12-al	Aldéhydes	Erémophilanes	46,40	2,80	220	15	24	1	0	0,868	0,08	0,00	RMN
371	1683		Eudesm-3-én-12-al (tent. MS)	Aldéhydes	Eudesmanes	46,60	2,45	220	15	24	1	0	0,868	0,12	0,00	MS
372	1683		Eudesm-4(15)-én-12-al, épimère B	Aldéhydes	Eudesmanes	46,60	2,45	220	15	24	1	0	0,868			RMN
122	1684		Juniper camphor	Alcools III	Eudesmanes	46,70	3,26	222	15	26	1	0	0,879	0,02	0,00	MS,RI,Ref <sup>g</sup>
373	1684		Bisabolén-4 $\alpha$ -ol	Alcools II	Bisabolanes	46,70	3,85	220	15	24	1	0	0,868	0,06	0,00	RMN

#	RI <sup>a</sup> Calc.	RI Litt.	Composé <sup>b</sup>	Classe chimique	Famille	<sup>1</sup> t <sub>r</sub> (min)	<sup>2</sup> t <sub>r</sub> (s)	MM (g/mol)	#C	#H	#O	Ph	RRF	Ech. <sup>f</sup> (g/100g)	Ec. Type	Ident.
374	1691		Erémophil-1(10)-én-12-al, épimère A et B	Aldéhydes	Erémophilanes	47,30	2,44	220	15	24	1	0	0,868	0,86	0,01	RMN
375	1696		β-Nootkatol	Alcools II	Erémophilanes	47,70	4,27	220	15	24	1	0	0,868	0,06	0,00	MS,RI
376	1706		Bisabolén-4β-ol	Alcools II	Bisabolanes	48,60	3,91	220	15	24	1	0	0,868	0,14	0,00	RMN
377	1710		α-Nootkatol	Alcools II	Erémophilanes	49,00	4,68	220	15	24	1	0	0,868	0,18	0,00	RMN
378	1727		55 79 <b>91</b> 117 133 147 157 218	Inconnus		50,50	3,38	218	15	22	1	0	0,856	0,06	0,01	
173	1740	1745	γ-Costol	Alcools I	Eudesmanes	51,60	4,57	220	15	24	1	0	0,868	0,25	0,01	MS,RI,Ref <sup>h</sup>
379	1751		10-épi-γ-Costol	Alcools I	Eudesmanes	52,60	4,39	220	15	24	1	0	0,868	0,11	0,00	RMN
380	1756		55 79 <b>91</b> 105 107 131 147 204 220	Inconnus		53,00	4,72	220	15	24	1	0	0,868	0,05	0,00	
177	1762	1768	β-Bisabolénal	Aldéhydes	Bisabolanes	53,50	2,69	218	15	22	1	0	0,856	0,23	0,00	MS,RI,Ref <sup>h</sup>
381	1763		67 79 91 107 121 135 <b>163</b> 189 222	Inconnus		53,60	3,73	222	15	26	1	0	0,879	0,09	0,01	
382	1763	1767	Valencén-12-ol	Alcools I	Erémophilanes	53,60	4,72	220	15	24	1	0	0,868	2,35	0,01	RMN
383	1767		Hydroxyisodihydroagarofurane, épimère A + B	Alcools I	Eudesmanes	54,00	3,59	238	15	26	2	0	0,800	0,09	0,01	RMN
179	1767	1766	β-Costol	Alcools I	Eudesmanes	54,00	4,86	220	15	24	1	0	0,868	0,24	0,00	MS,RI,Ref <sup>h</sup>
180	1770	1773	α-Costol	Alcools I	Eudesmanes	54,20	4,75	220	15	24	1	0	0,868	0,13	0,00	MS,RI,Ref <sup>h</sup>
384	1779		5,10-di-épi-β-Costol	Alcools I	Eudesmanes	55,00	4,83	220	15	24	1	0	0,868	0,07	0,00	RMN
182	1780	1789	β-Bisabolénol	Alcools I	Bisabolanes	55,10	4,13	220	15	24	1	0	0,868	0,18	0,00	MS,RI,Ref <sup>h</sup>
385	1789		Nootkatén-12-ol	Alcools I	Erémophilanes	55,90	5,69	218	15	22	1	0	0,856	0,05	0,00	RMN
386	1794		Valencén-12-yl formate	Esters		56,30	2,56	248	16	24	2	0	0,791	0,03	0,00	MS,RI
387	1803	1806	Nootkatone	Cétones	Erémophilanes	57,10	3,83	218	15	22	1	0	0,856	3,22	0,02	RMN
388	1928	1912	Kudtdiol	Alcools I	Eudesmanes	65,80	0,68	238	15	26	2	0	0,800	0,09	0,01	MS,RI
389	1994	1987	Manool oxide	Ethers		68,30	1,51	290	20	34	1	0	0,906	0,04	0,00	MS,RI
390	2018	2009	13-épi-Manool oxide	Ethers		68,90	1,57	290	20	34	1	0	0,906	0,02	0,00	MS,RI
391	2054	2056	Manool	Alcools III		69,80	2,73	290	20	34	1	0	0,906	0,06	0,00	MS,RI
392	2058	2055	Abiétatriène	Hydrocarbures		69,90	1,97	270	20	30	0	1	1,012	0,05	0,00	MS,RI
393	2094	2087	Abiétadiène	Hydrocarbures		70,80	1,84	272	20	32	0	0	0,967	0,04	0,00	MS,RI
								Total Alcools III					15,83			
								Total Alcools II					0,49			
								Total Alcools I					6,07			
								Total Ethers					3,27			
								Total Esters					0,21			
								Total Aldéhydes					1,52			
								Total Hydrocarbures					52,99			
								Total Cétones					3,91			
								Total Inconnus H					1,28			
								Total Inconnus					0,23			
								<b>Total</b>					<b>85,82</b>			

<sup>a</sup> Indices de rétentions (RI) calculés par comparaison d'une série d'*n*-alcanes de C7–C24 via l'analyse GC × GC–MS sur colonne VF-5ms. <sup>b</sup> Les principaux ions sont affichés pour les composés inconnus (les pics de base sont écrits en gras), composés identifiés sur la base de leur spectre de masse et leur indice de rétention (RI) à partir des banques MS.<sup>43,44</sup> <sup>c</sup> Identification via NIST MS Search 2.0. <sup>d</sup> Martins Adio et al., *Phytochemistry*, **2002**, 61, 79-91.<sup>80</sup> <sup>e</sup> Kesselmanns et al., *J. Essent. Oil Res.*, **1992**, 4, 201-217.<sup>45</sup> <sup>f</sup> Le pourcentage massique (g/100 g) et l'écart type ont été calculés via des analyses en triplicata. <sup>g</sup> Référence croisée avec l'essence de Vétiver (Chapitre Va). <sup>h</sup> Référence croisée avec l'essence de *C. pancheri* (Chapitre II).

On identifie également de façon moins abondante des bisabolanes, tels que le  $\beta$ -bisabolène (**151**), les deux bisabolén-4-ols (**373** et **376**), le  $\beta$ -bisabolénal (**177**) et le  $\beta$ -bisabolénol (**182**), lesquels sont identifiés pour la première fois dans cette essence. Parmi les 145 constituants, le nootkatène (**344**) est le composé majoritaire de l'essence (~ 36 %). On peut également souligner une grande quantité de carvacrol (**316**, 8,92 %), de valencène (**338**, 6,86 %), de nootkatone (**387**, 3,22 %), de carvacryl méthyl éther (**308**, 2,60 %), de valencén-12-ol (**382**, 2,35 %), ainsi que de caran-10-ol (**311**, 2,02 %), nouvellement identifiés ici. Ces molécules constituent environ ~ 26 % de notre échantillon. On note que l' $\alpha$ -terpinéol (**135**), le  $\beta$ -bisabolène (**151**), le 7-*épi*- $\alpha$ -séliène (**49**), l'intermédiol (**115**) et le  $\beta$ -bisabolénol (**182**) ont déjà été identifiés dans un extrait solvant du bois de cyprès jaune d'Alaska<sup>19</sup> mais jamais dans l'huile essentielle. Il est à souligner que la nootkatin,<sup>52</sup> le thymyl méthyl éther (probablement confondu avec le carvacryl méthyl éther (**315**)),<sup>7</sup> l'acide thujique,<sup>50</sup> l' $\alpha$ -vétivone (**452**),<sup>3</sup> ainsi que les deux époxydes de type éremophilane<sup>36</sup> (Schéma 16 et Schéma 17) n'ont pas été retrouvés dans notre échantillon.

Ainsi, les analyses menées par GC  $\times$  GC nous ont permis de quantifier 145 constituants, dont 133 identifiés sur la base de leur spectre de masse, indice de rétention et/ou RMN. De fait, on ajoute 120 molécules supplémentaires à la composition chimique de l'huile essentielle de bois de *C. nootkatensis*. De plus, on rapporte la caractérisation par RMN de plus de 48 composés, dont 22 composés nouveaux ou dont la description des caractéristiques spectrales demeurerait partielle voire erronée. Ainsi, le dosage par GC  $\times$  GC-FID nous a permis de quantifier plus de 85 % de notre échantillon. En s'appuyant sur cette analyse et sur le fractionnement avancé, nous avons ainsi pu caractériser au mieux les composés odorants de cette essence.

#### IV.6. Analyse olfactive de l'huile essentielle de bois de *C. nootkatensis* et de ses voisins américains – le Cèdre de Virginie et le Cèdre du Texas

L'essence de bois de *C. nootkatensis* est décrite comme présentant des notes épicées, agrumes, voire de santal.<sup>3,16</sup> Néanmoins, lorsque l'on évalue olfactivement cette huile essentielle, une note boisée intense s'en dégage en tout premier lieu. On associe souvent cette odeur au crayon à papier que l'on taille, laquelle est caractéristique des cèdres américains (*Juniperus sp.*). Ainsi, afin de connaître les molécules d'impact olfactives de cette essence, nous avons procédé à une analyse par dilution successive type AEDA afin de déterminer le(s)

composé(s) odorants d'impact de l'essence de bois de *C. nootkatensis*. Cette étude a été réalisée par quatre panélistes à partir d'une solution de départ à 50 mg/mL. L'ensemble des résultats sont résumés dans le Tableau 23.

Tableau 23. Description olfactive des constituants actifs de l'essence de bois de *C. nootkatensis*.

#	RI <sup>a</sup> Calc.	RI Litt. <sup>b</sup>	Composé <sup>b</sup>	Description de l'odeur <sup>c</sup>	Log <sub>2</sub> (FD) <sup>d</sup>				
					P1	P2	P3	P4	M.A. <sup>d</sup>
1	1051	-	-	Moisie, aqueuse	8	8	5	5	6,5
2	1071	1071	<i>p</i> -Crésol	Fleurie, cuir	5	1	0	0	1,5
3	1091	1095	Linalool	Citrus, verte	1	5	4	4	3,5
4	1096	-	-	Grillée, brûlée, cuir	5	3	-	5	4,3
5	1139	1130	1-Terpinéol	Fleurie, <i>Pelargonium</i> , terreuse	0	0	0	1	0,3
6	1152	-	-	Poire, sucrée, chaude	3	-	1	0	1,3
7	1165	-	<i>p</i> -Ethylphénol	Cuir, clou de girofle	5	6	3	2	4,0
8	1207	-	-	Métallique, phénolique	-	1	1	0	0,7
9	1218	-	4-Isopropylphénol	Cuir	9	8	9	9	8,8
10	1235	1241	Carvacryl Méthyl Ether	Boisée, chaude, épicée	7	6	6	5	6,0
11	1249	-	-	Marine, aqueuse	3	4	2	3	3,0
12	1270	-	95 <b>110</b> 152	Fleurie, phénolique, verte, douce	2	0	2	2	1,5
13	1290	1298	Carvacrol	Boisée, chaude, épicée, thym	9	9	11	10	9,8
14	1310	-	-	Métallique, riz chaud	3	8	4	2	4,3
15	1323	1318	Thujate de méthyle + menth-4(8)-én-7-ol	Banane séchée, fruitée, légèrement rosée	7	5	8	5	6,3
16	1335	-	4-Isopropylsalicylaldéhyde	Fleurie, verte, phénolique	2	7	3	3	3,8
17	1350	-	Déhydrocarvacrol	Chaude, boisée, épicée, sèche	1	-	2	4	2,3
18	1355	-	Acide avec <i>m/z</i> = 168	Epicée, cumin, transpiration	7	7	5	3	5,5
19	1397	1393	Vanilline	Vanille, chaude, sucrée	3	0	4	4	2,8
20	1443	-	-	Fleurie, crémeuse, sucrée	4	2	-	1	2,3
21	1459	-	-	Noix de coco, crémeuse, lait chaud	7	6	6	5	6,0
22	1539	-	-	Fleurie, framboise	1	6	1	1	2,3
23	1545	-	11,12,13-trinor-Erémophila-1(10),8-én-7-one	Cèdre de l'Atlas, boisée	4	-	0	1	1,7
24	1579	-	-	Boisée, cuir	2	4	0	1	1,8
25	1624	-	13-nor-Erémophila-1(10)-én-11-one/1-épi-cubénol	Fruitée, verte	0	-	0	1	0,3
26	1644	-	Paradiisol	Fleurie, humide, terreuse, <i>Pelargonium</i>	0	-	2	0	0,7
27	1684	-	-	Vétiver	3	0	1	7	2,8
28	1693	-	Valencén-12-al + érémophil-1(10)-én-12-al A	Vétiver, boisée	2	0	-	2	1,3
29	1696	-	Erémophil-1(10)-én-12-al B	Champignon, terreuse	1	1	2	0	1,0
30	1703	1699	$\beta$ -Nootkatol	Fleurie, rosée	1	0	-	1	0,7
31	1712	1714	$\alpha$ -Nootkatol	Pamplemousse	2	3	4	3	3,0
32	1729	-	131 145 <b>159</b> 187 202 220	Pamplemousse, verte	4	4	3	1	3,0
33	1745	-	10-épi- $\gamma$ -Costol + inconnu	Vétiver, boisée	3	2	2	0	1,8
34	1764	-	-	Bois de Santal, douce	3	0	2	2	1,8
35	1803	1806	Nootkatone	Pamplemousse, amer	9	9	9	8	8,8

<sup>a</sup> Indices de rétention (RI) calculés sur une série de *n*-alcanes en C7-C24 sur colonne DB-5. <sup>b</sup> Les composés ont été identifiés sur la base de leur spectre de masse, leur indice de rétention (RI) versus littérature ou par co-injection de composé de référence disponible dans le commerce ou de produit isolé. <sup>c</sup> Le protocole AEDA a été mené par quatre panélistes afin d'évaluer les constituants d'impact odorant dans l'essence. <sup>d</sup> La moyenne arithmétique (M.A.) de Log<sub>2</sub>(FD) est donnée lorsque l'odeur est perçue par au moins 2 juges sur 4.

Il ressort de ces études que le carvacrol (**316**, log<sub>2</sub>(FD) 9,8) est la molécule d'impact de cette essence et elle apporte le caractère typique boisé, « crayon que l'on taille » avec des nuances de thym. En plus de **316**, le carvacryl méthyl éther (**308**, log<sub>2</sub>(FD) 6,0) et le déhydrocarvacrol (**322**, log<sub>2</sub>(FD) 2,3) sont décrits pour avoir des notes similaires au carvacrol (**316**) mais dont la facette boisée est plus intense que la note de thym. Il est à noter que le déhydrocarvacryl méthyl

éther (**315**) coélue avec **316** et a été évalué comme ayant une odeur typique boisée équivalente au carvacryl méthyl éther (**308**). Toutefois, la puissance olfactive de **316** est plus importante que **315**. En plus de cette note boisée, on identifie le 4-isopropylphénol ( $\log_2(\text{FD})$  8,8) et la nootkatone (**387**,  $\log_2(\text{FD})$  8,8) comme ayant une forte contribution à l'odeur globale de cette essence. En effet, le 4-isopropylphénol apporte une odeur de cuir/animal qui alourdit l'odeur globale de l'essence, tandis que nootkatone (**387**) apporte une odeur tenace et caractéristique de pamplemousse avec une légère note acidulée. Dans une moindre mesure, on note que l' $\alpha$ -nootkatol (**377**,  $\log_2(\text{FD})$  3,0) possède une odeur typique de pamplemousse et que le 4-éthylphénol ( $\log_2(\text{FD})$  4,0) apporte également une odeur de cuir avec des nuances de clou de girofle à cette essence. On remarque que la note verte/fruitée à RI = 1323 ( $\log_2(\text{FD})$  6,4) est composée d'un mélange de molécules. En effet, le thujate de méthyle (**319**) possède une note verte/sèche et le menth-4(8)-én-7-ol (**318**) est évalué comme ayant une note délicate de rose. L'acide inconnu (**321**) à  $m/z = 168$ , potentiellement l'acide dehydrocaranoïque, ( $\log_2(\text{FD})$  5,5) apporte une odeur tenace épicée de type cumin, voire de transpiration, à cette essence. Grâce à la fraction A16, les autres acides de cette essence n'ont pas été déterminés comme odorants. Les odeurs humide/moisie à RI 1051 ( $\log_2(\text{FD})$  6,5) et noix de coco/crémeuse à RI 1459 ( $\log_2(\text{FD})$  6,0), présentes dans plusieurs essences à odeur boisée, n'ont malheureusement pas pu être identifiées. Ainsi, la note boisée typique de cette essence est attribuée principalement à la présence de carvacrol (**316**) et de carvacryl méthyl éther (**308**). La nootkatone (**387**) et le 4-isopropylphénol apportent des nuances de pamplemousse et de cuir à l'essence.

Cette odeur typique de « crayon à papier que l'on taille » est également associée aux notes des cèdres américains, le cèdre de Virginie et le cèdre du Texas.<sup>81</sup> En effet, ces cèdres sont souvent décrits par les parfumeurs comme ayant cette odeur typique boisée, avec des nuances fumées ou crémeuses selon l'espèce.<sup>82</sup> Ces deux cèdres sont comme le *C. nootkatensis* appelés à tort « cèdre » et sont, en réalité, deux genévriers appartenant à la famille des Cupressaceae. Ces deux espèces apparentées au *C. nootkatensis* donnent des huiles essentielles largement utilisées par l'industrie du parfum. En effet, leurs essences, obtenues par hydrodistillation de la sciure et des chutes de bois broyées, sont peu coûteuses et sont utilisées comme note de fond dans de nombreuses compositions. Au même titre que l'huile essentielle de *C. nootkatensis*, ces extraits possèdent des notes boisées, typique d'« une essence de cèdre ».<sup>82</sup> Néanmoins, la composition globale de ces deux *Juniperus* diffère grandement de celle du cyprès jaune d'Alaska. En effet, les squelettes de type cédrane et thujopsane sont majoritaires dans ces essences de bois de *Juniperus*,<sup>83-85</sup> alors que l'essence de bois de *C.*

*nootkatensis* est majoritairement composée de dérivés éremophilanes. Dans les essences de *Juniperus*, on identifie notamment de l' $\alpha$ -cédrene, du  $\beta$ -cédrene, du thujopsène, du widdrol et du cédrol (Figure 22). Il est à noter que ces essences servent à la fabrication du Vertofix/Lixetone<sup>®</sup>, composée « d'acétylcédrene et d'acétylthujopsène ».

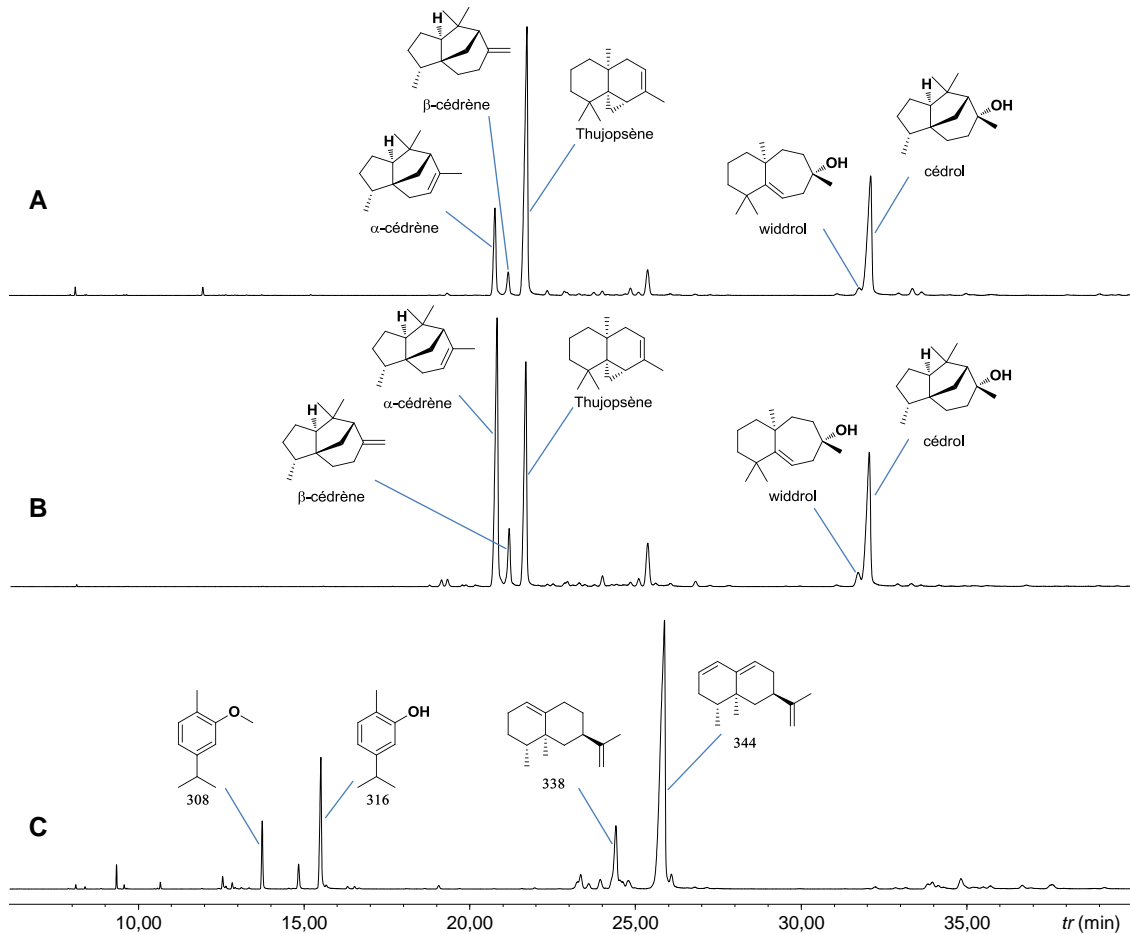


Figure 22. Analyse GC–MS sur colonne apolaire (VF-5ms) des huiles essentielles de cèdres américains. (A) Essence de *Juniperus mexicana* (cèdre du Texas). (B) Essence de *Juniperus virginiana* (cèdre de Virginie). (C) Essence de *C. nootkatensis* (cèdre jaune d'Alaska). Le chromatogramme C est centré sur ceux de A et B et n'affiche pas les alcools primaires et la nootkatone présent dans cette essence.

Sachant que ces essences sont d'un point de vue olfactif assez semblables, mais qu'il existe une différence significative au niveau de leur composition chimique, il était donc particulièrement opportun d'identifier dans ces essences quelle(s) est(ont) la(les) molécule(s) apportant à ces extraits la facette boisée, si typique des « cèdres ». Ainsi, nous avons rapidement cherché à déterminer les compositions chimiques de ces deux *Juniperus*. Comparativement à notre essence de bois de *C. nootkatensis*, les cèdres de Virginie et du Texas



sont composés exclusivement de squelette type cédrane et thujane (Figure 22). Très peu, voire quasiment aucun des composés identifiés dans l'essence de cyprès jaune d'Alaska sont retrouvés dans ces essences. Les seuls composés communs que nous identifions dans ces essences sont le carvacrol (**316**), le carvacryl méthyl éther (**308**) et du *p*-isopropylphénol. Sachant que ces trois dérivés donnent le caractère boisé à l'essence de *C. nootkatensis*, nous pensons qu'ils doivent également contribuer de façon importante à l'odeur typique du cèdre du Texas et du cèdre de Virginie. Ainsi, il a été nécessaire d'effectuer une étude olfactive exploratoire sur ces deux essences de *Juniperus*, afin de valider que le carvacrol et son éther soient bien responsables de l'odeur typique boisée des cèdres américains.

En s'appuyant sur les résultats analytiques obtenus pour l'huile essentielle de *C. nootkatensis*, on confirme la présence de l'odeur typique boisée du carvacrol (**316**) et du carvacryl méthyl éther (**308**) ainsi que l'odeur de cuir du *p*-isopropylphénol dans les huiles essentielles de cèdres du Texas et de Virginie (Figure 23).

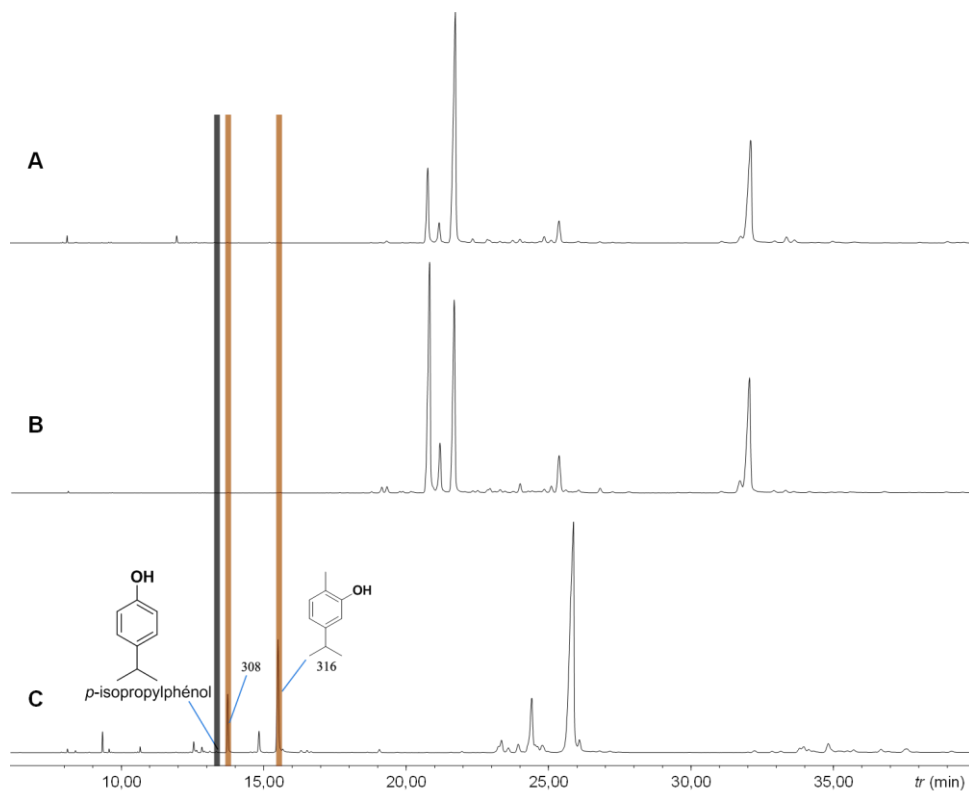


Figure 23. Analyses olfactives par GC–O/MS des différentes huiles essentielles de cèdres. Les zones odorantes définies comme boisées sont affichées en marron et de cuir en noir. Les autres notes ne sont pas représentées. Ces analyses olfactives ont été menées par deux panélistes pour une concentration de 25 mg/mL en huile essentielle (mode d'injection splitless, ratio MS/O 1/9). (A) Analyse de l'essence de *J. mexicana*. (B) Analyse de l'essence de *J. virginiana*. (C) Analyse de l'essence de *C. nootkatensis*.

Par conséquent, ces analyses olfactives nous permettent de confirmer que **308** et **316** sont en partie responsables de l'odeur boisée caractéristique type « cèdre ». En outre, la note de cuir du *p*-isopropylphénol est également intense pour les cèdres de Virginie et du Texas, et doit contribuer à l'odeur globale typique boisée du « crayon à papier que l'on taille ». Les autres composés odorants qui caractérisent l'odeur des cèdres du Texas et de Virginie ne sont pas rapportés pas ici. Une étude plus approfondie de ces cèdres avec un nombre de panélistes plus important est envisagée afin de confirmer ces premiers résultats.

#### IV.7. Conclusion

Le travail analytique effectué sur le cyprès jaune d'Alaska a conduit à l'isolement et à la caractérisation de plus de 44 molécules. Les études qualitatives et quantitatives menées par GC × GC donnent une première évaluation de la composition chimique de cette essence encore méconnue du monde industriel. L'huile essentielle de cyprès jaune d'Alaska, également appelé cèdre jaune, est composée en majeure partie de sesquiterpènes, majoritairement à squelette érémosphilane, mais également de monoterpènes, de diterpènes et de composés aromatiques. Ces derniers se sont révélés être les composés olfactifs les plus importants pour l'odeur globale de l'essence mais aussi des essences de cèdres du Texas et de Virginie. En effet, le carvacrol et le carvacryl méthyl éther ont été identifiés comme possédant des notes puissantes boisées typique des « cèdres ». En plus de ces deux composés aromatiques, le *p*-isopropylphénol et la nootkatone apportent respectivement des notes animales et d'agrumes à l'essence de cyprès jaune d'Alaska.

Dans la continuité d'améliorer nos connaissances sur les matières premières à odeur boisée et en nous appuyant sur les résultats analytiques obtenus jusqu'ici, nous nous sommes intéressés à l'une des essences les plus emblématiques et les plus complexes de la parfumerie, l'huile essentielle de Vétiver.

## Partie expérimentale : Partie IV

Fractionnement de l'essence de bois de *C. nootkatensis*

25,20 g d'huile essentielle de bois de *C. nootkatensis* ont été fractionnés selon le protocole décrit en Figure 18 pour conduire à seize sous-fractions. Les fractions A7 (530 mg), A8 (1,51 g), A9 (928 mg), A10 (719 mg), A11 (1,41 g) et A13 (982 mg) ont été séparées sur gel de silice imprégné d'AgNO<sub>3</sub> (5 %, *m/m*) en plusieurs sous-fractions. Les sous-fractions significatives ont été regroupées pour être utilisées en GC semi-préparative. Les fractions A5 et A16 ont été directement soumises à la GC semi-préparative afin d'isoler les constituants inconnus.

Descriptions des composés isolés de l'essence de bois de *C. nootkatensis*Composé : *m*-Menth-6-én-8-ol (302)

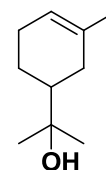
Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1182/1602

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV) *m/z* (int. rel.): 154 [M]<sup>+</sup> (1), 139 (8), 136 (29), 121 (24), 107 (4), 105 (4), 93 (100), 92 (35), 81 (33), 79 (14), 77 (10), 67 (14), 59 (71), 55 (9), 43 (23)

<sup>1</sup>H (500 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ 5,43 (1H, ddt, *J* = 3,9, 2,7, 1,5 Hz, H-6), 2,07–1,94 (2H, m, H-5ab), 1,88–1,80 (1H, m, H-2a), 1,77–1,67 (2H, m, H-4a, H-2b), 1,64 (3H, t, *J* = 2,0 Hz, H-7), 1,42 (1H, dddd, *J* = 12,5, 11,4, 5,2, 2,5 Hz, H-3), 1,06 (1H, tdd, *J* = 12,2, 11,2, 5,7 Hz, H-4b), 1,00 (3H, s, H-9), 0,99 (3H, s, H-10)

<sup>13</sup>C (126 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) voir Tableau 18

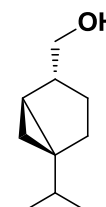
Composé : *trans*-Thujan-10-ol (305)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1199/1705

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV) *m/z* (int. rel.): 154 [M]<sup>+</sup> (5), 136 (21), 123 (49), 121 (64), 108 (16), 107 (16), 93 (100), 91 (34), 81 (60), 79 (51), 77 (29), 69 (18), 67 (63), 55 (24), 53 (11), 43 (19), 41 (30)

<sup>1</sup>H (500 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ 3,28–3,08 (2H, m, H-10ab), 1,97 (1H, q, *J* = 7,4 Hz, H-4), 1,53–1,47 (1H, m, H-2a), 1,43–1,34 (2H, m, H-2b, H-3a), 1,22 (1H, dt, *J* = 13,7, 6,9 Hz, H-7), 1,16–1,10 (1H, m, H-3b), 0,89 (3H, d, *J* = 6,8 Hz, H-12), 0,88 (3H, d, *J* = 6,9 Hz, H-13), 0,85 (1H, dd, *J* = 7,8, 4,3 Hz, H-5), 0,28–0,24 (2H, m, H-6ab)



$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 18

Composé : *trans*-Shisool; *trans*-Menth-8-én-7-ol (**310**)

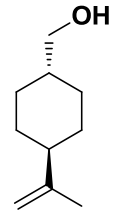
Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1261/1852

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>61</sup>

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 154  $[\text{M}]^{+}$  (28), 136 (16), 123 (100), 121 (96), 107 (48), 93 (88), 81 (87), 79 (80), 70 (37), 67 (80), 55 (42), 41 (42)

$^1\text{H}$  (400 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  4,84–4,75 (2H, m, H-9), 3,16 (2H, d,  $J = 6,2$  Hz, H-7), 1,81 (1H, tt,  $J = 12,0, 3,3$  Hz, H-4), 1,77–1,57 (4H, m, H-3a, H-5a, H-6a, H-2a), 1,68–1,63 (3H, m, H-10), 1,35–1,23 (1H, m, H-1), 1,17 (1H, dt,  $J = 12,8, 3,4$  Hz, H-6b), 1,05 (1H, td,  $J = 11,9, 3,1$  Hz, H-5b), 0,77 (1H, q,  $J = 12,2$  Hz, H-3b), 0,77–0,66 (1H, m, H-2b)

$^{13}\text{C}$  (101 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 18



Composé : Caran-10-ol (**311**)

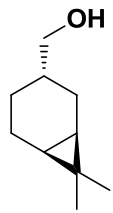
Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1264/1820

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 154  $[\text{M}]^{+}$  (8), 136 (21), 123 (59), 121 (100), 108 (16), 107 (21), 105 (11), 95 (18), 93 (97), 91 (30), 81 (44), 79 (52), 77 (24), 69 (20), 67 (59), 55 (27), 53 (14), 43 (16), 41 (36), 39 (16)

$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  3,13 (2H, d,  $J = 6,2$  Hz, H-10), 1,95 (1H, dddd,  $J = 15,2, 10,9, 4,2, 2,2$  Hz, H-2a), 1,77–1,70 (2H, m, H-5), 1,45–1,37 (1H, m, H-4a), 1,24–1,13 (1H, m, H-3), 0,98 (3H, s, H-9), 0,93 (3H, s, H-8), 0,74–0,68 (2H, m, H-1, H-2b), 0,65–0,56 (1H, m, H-4b), 0,43–0,40 (1H, m, H-6)

$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 18

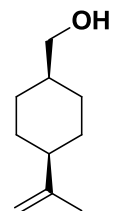


Composé : *cis*-Shisool; *cis*-Menth-8-én-7-ol (**313**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1286/1889

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>60,61</sup>

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 154  $[\text{M}]^{+}$  (13), 136 (35), 123 (19), 121 (69), 108 (41), 107 (88), 94 (30), 93 (100), 81 (59), 79 (95), 67 (74), 55 (35), 53 (21), 41 (40), 39 (24)



$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  4,86–4,76 (2H, m, H-9), 3,30 (2H, d,  $J = 6,9$  Hz, H-7), 1,90–1,81 (1H, m, H-4), 1,63 (3H, dt,  $J = 1,4, 0,6$  Hz, H-10), 1,61–1,51 (3H, m, H-1, H2a, H-6a), 1,47–1,32 (6H, m, H-3ab, H-5ab, H-2b, H-6b)

$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 18

Composé : 4-Isopropyl-7-méthoxyépén-2(3H)-one (**317**)

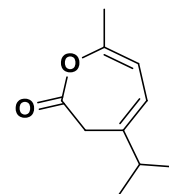
Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1318/1870

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 166 [ $\text{M}]^{+}$  (66), 151 (17), 137 (10), 133 (11), 123 (100), 109 (85), 95 (70), 79 (14), 77 (14), 67 (13), 53 (10), 43 (64)

$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  5,46 (1H, d,  $J = 5,4$  Hz, H-3), 5,16 (1H, d,  $J = 5,5$  Hz, H-2), 2,64 (2H, s, H-5ab), 2,14 (1H, h,  $J = 6,9$  Hz, H-8), 1,64 (3H, s, H-7), 0,89 (6H, d,  $J = 6,8$  Hz, H-9, H-10)

$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 17



Composé : Menth-4(8)-én-7-ol (**318**)

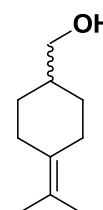
Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1317/1918

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 154 [ $\text{M}]^{+}$  (59), 136 (10), 121 (100), 108 (37), 107 (26), 95 (20), 93 (99), 91 (27), 81 (33), 79 (42), 77 (21), 67 (46), 55 (19), 43 (13), 41 (26)

$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  3,19 (2H, d,  $J = 6,3$  Hz, H-7), 2,69–2,59 (2H, m, H-3a, H-5a), 1,75–1,66 (4H, m, H-2a, H-6a, H-3b, H-5b), 1,63 (6H, t,  $J = 1,4$  Hz, H-9, H-10), 1,47–1,38 (1H, m, H-1), 0,99–0,85 (2H, m, H-2b, H-6b)

$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 18



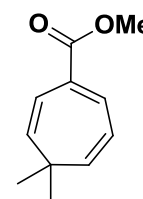
Composé : Thujate de méthyle (**319**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1320/1694

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 178 [ $\text{M}]^{+}$  (17), 163 (100), 147 (22), 131 (21), 119 (50), 105 (29), 103 (24), 91 (46), 77 (25), 59 (7), 51 (10), 41 (8)

$^1\text{H}$  (400 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  7,67 (1H, d,  $J = 6,8$  Hz, H-2), 6,98 (1H, d,  $J = 10,4$  Hz, H-6), 5,97 (1H, dd,  $J = 10,0, 6,9$  Hz, H-3), 5,13 (1H, dd,  $J = 10,0, 1,6$  Hz, H-4), 5,04 (1H, d,  $J = 10,3$  Hz, H-5), 3,43 (3H, s, H-11), 0,83 (6H, s, H-9/10)



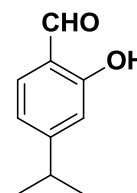
$^{13}\text{C}$  (101 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 17

Composé : Chamaécin (**320**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1318/1892

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 164  $[\text{M}]^{+\bullet}$  (100), 149 (95), 135 (17), 121 (27), 103 (19), 91 (17), 77 (18), 65 (7), 44 (8), 40 (11)



$^1\text{H}$  (400 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  11,59 (1H, s, CHO), 9,24 (1H, s, OH), 6,80 (1H, d,  $J = 1.5$  Hz, H-3), 6,76 (1H, d,  $J = 7.9$  Hz, H-6), 6,46 (1H, dd,  $J = 7.9, 1.6$  Hz, H-5), 2,47 (1H, hept,  $J = 6.9$  Hz, H-8), 0,95 (6H, d,  $J = 6.9$  Hz, H-9, H-10)

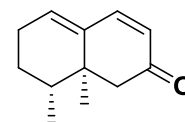
$^{13}\text{C}$  (101 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 17

Composé : 11,12,13-trinor-Erémophila-1(10),8-dién-7-one (**350**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1535/1867

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 176  $[\text{M}]^{+\bullet}$  (100), 161 (92), 147 (10), 134 (69), 133 (36), 121 (17), 119 (36), 115 (12), 108 (10), 107 (19), 106 (27), 105 (33), 91 (63), 79 (16), 78 (13), 77 (23), 65 (12), 55 (11), 41 (12)



$^1\text{H}$  (400 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  6,33 (1H, d,  $J = 9,8$  Hz, H-9), 5,85 (1H, dt,  $J = 9,6, 1,0$  Hz, H-8), 5,43 (1H, t,  $J = 4,1$  Hz, H-1), 2,56 (1H, d,  $J = 15,2$  Hz, H-6a), 1,95 (1H, dd,  $J = 15,3, 1,1$  Hz, H-6b), 1,83–1,72 (2H, m, H-2ab), 1,24–1,16 (1H, m, H-4), 1,15–1,07 (1H, m, H-3ab), 0,81 (3H, d,  $J = 1,0$  Hz, H-14), 0,57 (3H, d,  $J = 6,7$  Hz, H-15)

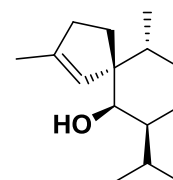
$^{13}\text{C}$  (101 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 21

Composé : Gleénol (**351**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1585/2015

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>44,71</sup>

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 222  $[\text{M}]^{+\bullet}$  (35), 204 (14), 189 (8), 179 (4), 161 (12), 147 (8), 135 (11), 121 (100), 108 (39), 107 (21), 93 (21), 91 (16), 81 (63), 67 (7), 55 (11), 43 (10), 41 (12)



$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  5,19 (1H, h,  $J = 1,7$  Hz, H-5), 3,55 (1H, s, H-6), 2,14 (2H, ttd,  $J = 8,6, 2,3, 1,2$  Hz, H-3ab), 1,88 (1H, ddd,  $J = 13,4, 9,0, 7,4$  Hz, H-2a), 1,82–1,74 (2H, m, H-10, H-2b), 1,63 (3H, d,  $J = 1,3$  Hz, H-15), 1,62–1,58 (2H, m, H-8a, H-11), 1,50–1,41 (1H, m,

H-9a), 1,39 (1H, qd,  $J = 13,0, 12,5, 3,9$  Hz, H-8b), 1,15–1,07 (2H, m, H-7, H-9b), 0,94 (3H, d,  $J = 3,5$  Hz, H-12), 0,93 (3H, d,  $J = 3,5$  Hz, H-13), 0,84 (3H, d,  $J = 6,8$  Hz, H-14)

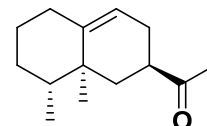
$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  142,66, 126,32, 76,28, 59,47, 45,87, 36,58, 34,31, 34,24, 32,32, 29,64, 24,80, 21,43, 21,01, 17,04, 16,70

Composé : 13-nor-Erémophil-9-én-11-one (**352**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1608/2072

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 206  $[\text{M}]^{+*}$  (100), 191 (43), 173 (15), 163 (88), 161 (55), 147 (33), 135 (17), 133 (18), 121 (25), 119 (21), 107 (71), 105 (94), 93 (40), 91 (89), 81 (36), 79 (31), 77 (26), 67 (14), 55 (17), 43 (78)



$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  5,21 (1H, dd,  $J = 4,8, 2,8$  Hz, H-9), 2,36 (1H, dddd,  $J = 13,2, 11,4, 5,1, 2,6$  Hz, H-7), 2,12–2,02 (2H, m, H-8a, H-1a), 1,99–1,95 (1H, m, H-1b), 1,94–1,88 (1H, m, H-8b), 1,86 (1H, dt,  $J = 12,8, 2,3$  Hz, H-6a), 1,74 (3H, s, H-12), 1,64–1,59 (1H, m, H-2a), 1,33–1,27 (2H m, H-3a, H-2b), 1,26–1,18 (2H, m, H-3b, H-6b), 1,20–1,10 (1H, m, H-4), 0,83 (3H, d,  $J = 0,8$  Hz, H-14), 0,74 (3H, d,  $J = 6,5$  Hz, H-15)

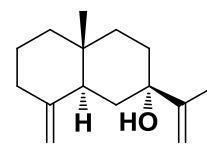
$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 21

Composé : Eudesma-4(15),11-én-7 $\alpha$ -ol (**361**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1649/2259

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 220  $[\text{M}]^{+*}$  (1), 202 (14), 187 (100), 174 (14), 159 (13), 145 (12), 131 (12), 123 (15), 107 (15), 93 (13), 91 (12), 79 (12), 69 (10), 55 (7), 41 (14)



$^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5,05 (1H, d,  $J = 1,4$  Hz, H-12a), 4,82 (1H, q,  $J = 1,5$  Hz, H-12b), 4,70 (1H, q,  $J = 1,8$  Hz, H-15a), 4,39 (1H, q,  $J = 1,7$  Hz, H-15b), 2,35–2,25 (2H, m, H-5, H-3b), 2,04 (1H, td,  $J = 12,0, 7,5$  Hz, H-3b), 1,84 (3H, t,  $J = 1,3$  Hz, H-13), 1,84–1,79 (1H, m, H-8a), 1,73–1,61 (4H, m, H-6a, H-9a, H-2ab), 1,51–1,36 (4H, m, H-6b, H-8b, H-1ab), 1,32 (1H, ddd,  $J = 13,0, 4,3, 2,5$  Hz, H-9b), 0,72 (3H, s, H-14)

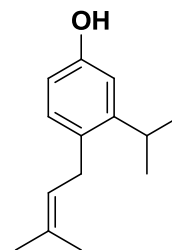
$^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) voir Tableau 20

Composé : 3-Isopropyl-4-(3-méthylbut-2-én-1-yl)phénol (**363**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1665/2825

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 204 [M]<sup>+</sup> (77), 189 (18), 161 (76), 148 (95), 147 (100), 133 (32), 131 (12), 129 (11), 121 (10), 115 (11), 107 (17), 91 (13), 77 (9), 65 (3), 55 (4), 43 (7), 41 (9)



<sup>1</sup>H (500 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ 7,01 (1H, d,  $J = 8,2$  Hz, H-5), 6,59 (1H, d,  $J = 2,6$  Hz, H-2), 6,43 (1H, dd,  $J = 8,2, 2,7$  Hz, H-6), 5,30 (1H, hept,  $J = 7,0, 1,4$  Hz, H-11), 3,88 (1H, s, OH), 3,29 (2H, d,  $J = 7,0$  Hz, H-10), 3,07 (1H, hept,  $J = 6,8$  Hz, H-7), 1,65 (3H, d,  $J = 1,4$  Hz, H-14), 1,60 (3H, s, H-13), 1,13 (6H, d,  $J = 6,9$  Hz, H-8, H-9)

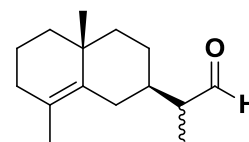
<sup>13</sup>C (126 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) voir Tableau 17

Composé : (7 $\alpha$ H,10 $\alpha$ )-Eudesm-4-én-12-al (**364**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1670/2048

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 220 [M]<sup>+</sup> (3), 177 (3), 162 (100), 147 (74), 133 (8), 119 (7), 107 (11), 105 (14), 93 (10), 91 (28), 81 (10), 79 (11), 67 (7), 55 (12), 41 (10)



<sup>1</sup>H (500 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ 9,38 (CHO, d,  $J = 3,2$  Hz, H-1), 2,45 (1H, dt,  $J = 14,4, 2,4$  Hz, H-6a), 2,21 (1H, dqd,  $J = 10,5, 7,1, 3,4$  Hz, H-11), 2,00–1,92 (2H, m, H-6b, H-3a), 1,86–1,67 (2H, m, H-3b, H-7), 1,63–1,59 (1H, m, H-8a), 1,56 (3H, d,  $J = 0,9$  Hz, H-15), 1,58–1,44 (2H, m, H-2ab), 1,43–1,38 (1H, m, H-1a), 1,35–1,23 (2H, m, H-8b, H-1b), 1,16–1,11 (2H, m, H-9ab), 1,01 (3H, s, H-14), 0,68 (3H, d,  $J = 7,1$  Hz, H-13)

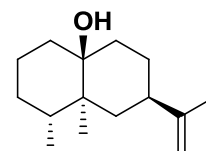
<sup>13</sup>C (126 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) voir Tableau 20

Composé : Erémophil-11-én-10 $\beta$ -ol (**365**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1662/2170

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 222 [M]<sup>+</sup> (2), 204 (100), 189 (100), 175 (13), 162 (43), 161 (34), 147 (25), 133 (25), 123 (32), 111 (31), 109 (33), 107 (36), 97 (25), 95 (26), 93 (24), 91 (19), 83 (29), 81 (32), 69 (28), 67 (27), 55 (70), 41 (37)



<sup>1</sup>H (500 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ 4,96–4,77 (2H, m, H-13), 3,53 (1H, s, OH in DMSO-*d*<sub>6</sub>), 2,19 (1H, tt,  $J = 13,2, 4,0$  Hz, H-7), 1,91 (1H, dqd,  $J = 13,8, 6,9, 4,1$  Hz, H-4), 1,83–1,68 (2H, m, H-8a, H-2a), 1,73–1,71 (3H, m, H-12), 1,61 (1H, t,  $J = 12,6$  Hz, H-6a), 1,55 (1H, td,  $J = 13,4,$



4,4 Hz, H-9a), 1,48 (1H, dtt,  $J = 12,7, 4,2, 1,9$  Hz, H-8b), 1,45–1,27 (4H, m, H-6b, H-1a, H-2b, H-3a), 1,21 (1H, tdd,  $J = 13,5, 12,2, 4,6$  Hz, H-3b), 1,07 (1H, ddd,  $J = 13,3, 4,5, 2,1$  Hz, H-9b), 1,00–0,93 (1H, m, H-1b), 0,74 (3H, s, H-14), 0,71 (3H, d,  $J = 6,9$  Hz, H-15)

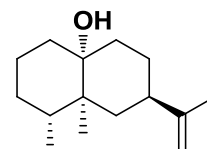
$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 21

Composé : Erémophil-11-én-10 $\alpha$ -ol (**366**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1665/2186

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 222  $[\text{M}]^{+\bullet}$  (1), 207 (9), 204 (33), 189 (43), 179 (15), 176 (15), 161 (36), 147 (29), 133 (19), 126 (47), 123 (33), 111 (56), 109 (40), 108 (100), 97 (37), 93 (27), 81 (34), 69 (32), 67 (28), 55 (45), 43 (26), 41 (39)



$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  4,81 (2H, h,  $J = 1,6$  Hz, H-12), 3,70 (1H, s, OH in DMSO- $d_6$ ), 2,20 (1H, tt,  $J = 12,2, 4,1$  Hz, H-7), 2,01–1,89 (1H, m, H-2a), 1,86–1,73 (3H, m, H-1a, H-6a, H-3a), 1,65 (3H, s, H-13), 1,61–1,52 (2H, m, H-9a, H-8a), 1,35–1,25 (7H, m, H-2b, H-15, H-4, H-3b, H-8b), 1,14–1,06 (2H, m, H-6b, H-9b), 1,03–0,98 (1H, m, H-1b), 1,00 (3H, s, H-14)

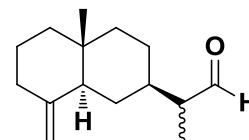
$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 21

Composé : Eudesm-4(15)-én-12-al épimère A (**368**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1688/2086

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 220  $[\text{M}]^{+\bullet}$  (tr.), 187 (2), 177 (3), 162 (100), 147 (56), 133 (9), 119 (8), 107 (11), 105 (15), 95 (10), 93 (14), 91 (20), 81 (13), 79 (13), 67 (9), 55 (10), 41 (10)



$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  9,27 (1H, d,  $J = 3,8$  Hz, CHO), 4,82–4,77 (1H, m, H-15a), 4,48 (1H, q,  $J = 1,7$  Hz, H-15b), 2,40–2,33 (1H, m, H-11), 2,23 (1H, dq,  $J = 4,0, 2,0$  Hz, H-3a), 1,94–1,88 (1H, m, H-3b), 1,70–1,59 (2H, m, H-7, H-5), 1,56–1,49 (2H, m, H-2ab), 1,48–1,39 (3H, m, H-6a, H-8ab), 1,35–1,23 (3H, m, H-6b, H-1a, H-9a), 1,13–1,06 (1H, m, H-1b), 1,06–1,02 (1H, m, H-9b), 0,68 (3H, s, H-14), 0,66 (3H, d,  $J = 6,9$  Hz, H-13)

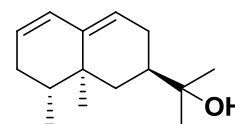
$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 20

Composé : Déhydrojinkoh-érémol (**369**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1678/2346

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>86</sup>

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 220 [M]<sup>++</sup> (2), 202 (97), 187 (40), 159 (100), 145 (73), 131 (45), 119 (36), 117 (22), 105 (31), 95 (13), 91 (31), 77 (13), 59 (24), 43 (14)



<sup>1</sup>H (500 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ 6,09 (1H, dd,  $J = 9,9, 2,4$  Hz, H-1), 5,62–5,55 (1H, m, H-2), 5,41 (1H, dd,  $J = 5,3, 2,6$  Hz, H-9), 2,08 (1H, dt,  $J = 17,6, 4,8$  Hz, H-8a), 1,94–1,87 (2H, m, H-3ab), 1,84 (1H, dt,  $J = 12,2, 2,1$  Hz, H-6a), 1,82–1,74 (1H, m, H-8b), 1,78–1,69 (1H, m, H-7), 1,61–1,52 (1H, m, H-4), 1,01–0,97 (1H, m, H-6b), 1,01 (3H, s, H-13), 1,00 (3H, s, H-12), 0,96 (3H, s, H-14), 0,81 (3H, d,  $J = 6,8$  Hz, H-15)

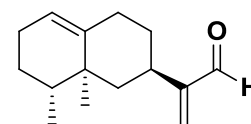
<sup>13</sup>C (126 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) voir Tableau 21

Composé : Valencén-12-al (**370**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1693/2181

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>36</sup>

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 218 [M]<sup>++</sup> (77), 203 (52), 200 (66), 185 (71), 175 (30), 161 (58), 147 (54), 145 (42), 143 (44), 133 (47), 119 (56), 107 (49), 105 (83), 95 (57), 93 (55), 91 (100), 79 (68), 77 (53), 67 (29), 55 (29), 41 (42)



<sup>1</sup>H (400 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ 9,28 (1H, s, CHO), 5,62 (1H, d,  $J = 1,1$  Hz, H-13a), 5,35–5,28 (1H, m, H-1), 5,28 (1H, s, H-13b), 2,91 (1H, ttd,  $J = 12,5, 3,2, 1,1$  Hz, H-7), 2,35–2,22 (1H, m, H-9a), 2,00 (1H, ddd,  $J = 14,3, 4,3, 2,6$  Hz, H-9b), 2,01–1,95 (1H, m, H-2a), 1,93–1,83 (2H, m, H-2b, H-6a), 1,73–1,62 (1H, m, H-8a), 1,38–1,27 (3H, m, H-4, H-3ab), 1,10–1,01 (1H, m, H-8b), 0,95 (3H, s, H-14), 0,85 (1H, d,  $J = 12,5$  Hz, H-6b), 0,79 (3H, d,  $J = 6,1$  Hz, H-15)

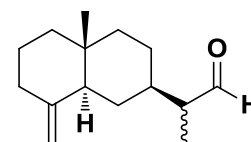
<sup>13</sup>C (101 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) voir Tableau 21

Composé : Eudesm-4(15)-én-12-al épimère B (**372**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1691/2096

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 220 [M]<sup>++</sup> (1), 187 (3), 177 (4), 162 (100), 147 (64), 133 (10), 121 (7), 119 (11), 107 (12), 105 (16), 95 (10), 93 (15), 91 (24), 79 (15), 67 (10), 55 (10), 41 (11),



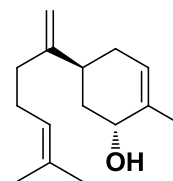
<sup>13</sup>C (126 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) voir Tableau 20

Composé :  $\beta$ -Bisabolén-4 $\alpha$ -ol (**373**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1685/2393

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 220 [M]<sup>++</sup> (5), 202 (12), 187 (8), 77 (4), 159 (32), 135 (27), 132 (18), 119 (17), 109 (98), 105 (26), 93 (31), 91 (30), 84 (23), 79 (23), 69 (100), 55 (18), 41 (56)



<sup>1</sup>H (500 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  5,38 (1H, dt,  $J = 5,4, 1,8$  Hz, H-2), 5,23 (1H, tdq,  $J = 7,1, 2,9, 1,5$  Hz, H-10), 4,92–4,80 (2H, m, H-14ab), 3,75 (1H, s, H-4), 2,34 (1H, ddt,  $J = 12,9, 8,0, 3,9$  Hz, H-6), 2,26–2,18 (2H, m, H-9ab), 2,13–2,08 (2H, m, H-8ab), 2,07–2,00 (1H, m, H-1a), 1,87 (1H, dq,  $J = 13,5, 2,3$  Hz, H-5a), 1,83–1,72 (1H, m, H-1b), 1,73–1,70 (3H, m, H-15), 1,68 (3H, d,  $J = 1,4$  Hz, H-13), 1,56 (3H, d,  $J = 1,3$  Hz, H-12), 1,42 (1H, ddd,  $J = 13,3, 12,9, 4,0$  Hz, H-5b)

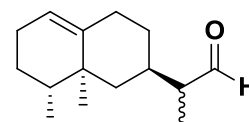
<sup>13</sup>C (126 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) voir Tableau 19

Composés isolés en mélange : (4 $\alpha$ ,5 $\alpha$ ,7 $\alpha$ H,11R)- and (4 $\alpha$ ,5 $\alpha$ ,7 $\alpha$ H,11S)-Erémophil-1(10)-én-12-al (**374/374'**)

Indice de rétention : **374** VF-5ms/Wax : 1704/2144 ; **374'** VF-5ms/Wax : 1704/2149

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 220 [M]<sup>+</sup> (43), 202 (17), 187 (8), 177 (6), 162 (88), 161 (75), 147 (100), 133 (11), 121 (30), 120 (65), 119 (21), 107 (25), 105 (51), 95 (22), 93 (48), 91 (50), 81 (23), 79 (28), 77 (22), 67 (17), 55 (20), 41 (23)



<sup>1</sup>H (500 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  9,39 (1H, d,  $J = 1,8$  Hz, CHO), 9,38 (1H, d,  $J = 1,9$  Hz, CHO'), 5,31 (2H, d,  $J = 5,3$  Hz, H-1, H-1'), 2,21–2,08 (2H, m, H-9a, H-9a'), 2,01–1,92 (4H, m, H-2a, H-2a', H-9a, H-9a'), 1,92–1,84 (2H, m, H-2b, H-2b'), 1,81–1,70 (4H, m, H-7, H-7', H-11, H-11'), 1,65 (1H, dt,  $J = 12,8, 2,8$  Hz, H-6a'), 1,59 (1H, dt,  $J = 12,5, 2,6$  Hz, H-6a), 1,47–1,26 (8H, m, H-8a, H-3a, H-3a', H-8a', H-4, H-4', H-3b, H-3b'), 1,00–0,94 (1H, m, H-8b), 0,87–0,83 (1H, m, H-8b'), 0,86 (3H, s, H-14'), 0,83 (3H, s, H-14), 0,80 (3H, d,  $J = 6,0$  Hz, H-15), 0,79 (3H, d,  $J = 7,1$  Hz, H-15'), 0,81–0,77 (1H, m, H-6b'), 0,77 (3H, d,  $J = 7,4$  Hz, H-13'), 0,76 (3H, d,  $J = 6,9$  Hz, H-13), 0,71 (1H, t,  $J = 12,6$  Hz, H-6b)

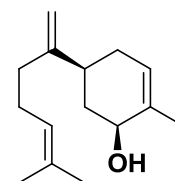
<sup>13</sup>C (126 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  203,71/203,62, 142,56/142,52, 120,77/120,70, 51,49/51,42, 44,46/42,31, 41,30/41,29, 38,16/38,02, 34,16/33,89, 32,88/32,74, 32,36/30,30, 27,46/27,45, 26,23, 18,51/18,48, 15,83/15,82, 9,89/9,80

**Composé :**  $\beta$ -Bisabolén-4 $\beta$ -ol (**376**)

**Indice de rétention :** VF-5ms/Wax : 1706/2452

**Données spectroscopiques :**

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 220 [M]<sup>+</sup> (2), 202 (13), 187 (15), 159 (31), 145 (15), 132 (56), 119 (35), 117 (25), 109 (41), 105 (64), 93 (44), 91 (55), 79 (28), 77 (29), 69 (100), 55 (22), 41 (72)



<sup>1</sup>H (500 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  5,33 (1H, ddq,  $J = 5,4, 2,5, 1,5$  Hz, H-2), 5,21 (1H, tdq,  $J = 7,1, 2,9, 1,4$  Hz, H-10), 4,84 (2H, q,  $J = 1,0$  Hz, H-14), 3,95 (1H, s, H-4), 2,21–2,11 (3H, m, H-9ab, H-6), 2,08–1,99 (3H, m, H-8ab, H-5a), 2,01–1,93 (1H, m, H-1a), 1,93–1,81 (1H, m, H-1b), 1,77 (3H, dd,  $J = 2,6, 1,3$  Hz, H-15), 1,68 (3H, d,  $J = 1,4$  Hz, H-13), 1,55 (3H, d,  $J = 1,3$  Hz, H-12), 1,40 (1H, td,  $J = 12,2, 9,7$  Hz, H-5b)

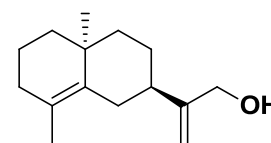
<sup>13</sup>C (126 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) voir Tableau 19

**Composé :** 10-*épi*- $\gamma$ -Costol (**379**)

**Indice de rétention :** VF-5ms/Wax : 1754/2574

**Données spectroscopiques :**

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 220 [M]<sup>+</sup> (53), 205 (21), 187 (95), 177 (29), 159 (46), 147 (51), 145 (52), 131 (57), 123 (98), 107 (51), 105 (75), 93 (57), 91 (100), 81 (47), 79 (60), 77 (42), 67 (31), 55 (29), 41 (39)



<sup>1</sup>H (500 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  5,18–5,08 (2H, m, H-13), 3,83 (2H, s, H-12), 2,71 (1H, dt,  $J = 14,8, 2,1$  Hz, H-6a), 2,40 (1H, t,  $J = 6,8$  Hz, H-7), 2,17–2,07 (1H, m, H-6b), 1,99–1,90 (1H, m, H-3a), 1,85–1,76 (2H, m, H-3b, H-8a), 1,67–1,62 (1H, m, H-2a), 1,62 (3H, s, H-15), 1,55–1,47 (3H, m, H-2b, H-9a, H-8b), 1,42–1,36 (2H, m, H-1ab), 1,22–1,16 (1H, m, H-9b), 1,07 (3H, s, H-14)

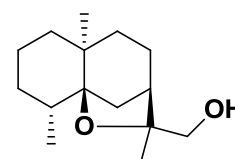
<sup>13</sup>C (126 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) voir Tableau 20

**Composé :** 12-Hydroxy-*trans*-dihydroagarofurane (**383**)

**Indice de rétention :** VF-5ms/Wax : 1770/2483

**Données spectroscopiques :**

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 238 [M]<sup>+</sup> (1), 207 (100), 189 (65), 163 (10), 161 (11), 149 (10), 147 (13), 137 (11), 133 (11), 125 (22), 109 (18), 107 (14), 95 (16), 93 (12), 91 (11), 81 (20), 55 (13), 43 (31)



$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  3,28–3,13 (2H, m, H-12), 2,04 (1H, tdd,  $J = 13,4, 5,5, 4,1$  Hz, H-3a), 1,81–1,66 (2H, m, H-1a, H-9a), 1,65–1,61 (2H, m, H-7, H-4), 1,58 (1H, d,  $J = 12,1$  Hz, H-6a), 1,53 (1H, dt,  $J = 13,9, 3,4$  Hz, H-2a), 1,50–1,45 (2H, m, H-8ab), 1,44–1,40 (1H, m, H-6b), 1,35 (3H, s, H-13), 1,33 (1H, ddd,  $J = 6,9, 3,5, 0,6$  Hz, H-2b), 1,31–1,23 (1H, m, H-3b), 1,11 (1H, ddt,  $J = 12,7, 3,1, 1,9$  Hz; H-1b), 0,95 (3H, t,  $J = 0,9$  Hz, H-14), 0,87 (3H, d,  $J = 7,8$  Hz, H-15)

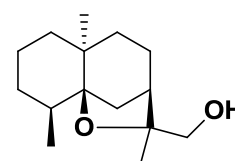
$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 20

Composé isolé en mélange avec 383 : 12-Hydroxy-4-*épi-trans*-dihydroagarofurane (**383'**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1770/2478

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>73</sup>

$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  87,70, 83,27, 69,39, 39,98, 39,04, 38,36, 36,56, 33,44, 32,67, 32,47, 25,21, 23,69, 21,91, 18,03, 15,77



Composé : 5,10-di-*épi*- $\beta$ -Costol (**384**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1779/2672

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 220  $[\text{M}]^+$  (9), 205 (30), 189 (66), 187 (94), 173 (16), 162 (45), 161 (45), 159 (30), 147 (72), 145 (48), 133 (52), 131

(44), 123 (100), 119 (40), 107 (61), 105 (77), 95 (41), 93 (69), 91 (92), 81 (48), 79 (73), 77 (46), 67 (43), 55 (37), 41 (44)

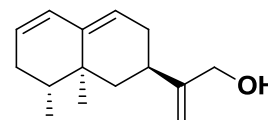
$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  5,22 (1H, p,  $J = 1,6$  Hz, H-13a), 5,01 (1H, dq,  $J = 2,2, 1,1$  Hz, H-13b), 4,83 (1H, q,  $J = 1,8$  Hz, H-15a), 4,56 (1H, q,  $J = 1,8$  Hz, H-15b), 3,82 (2H, s, H-12), 2,45 (1H, t,  $J = 5,3$  Hz, H-7), 2,26 (1H, ddt,  $J = 13,0, 4,3, 2,0$  Hz, H-3a), 2,00–1,89 (2H, m, H-5, H-3b), 1,79–1,69 (2H, m, H-6a, H-8a), 1,67 (1H, ddd,  $J = 14,0, 5,6, 4,1$  Hz, H-8b), 1,58 (1H, dt,  $J = 13,3, 4,3$  Hz, H-2a), 1,54–1,49 (1H, m, H-6b), 1,49–1,39 (2H, m, H-2b, H-9a), 1,30 (1H, ddt,  $J = 13,0, 4,2, 2,0$  Hz, H-1a), 1,20–1,11 (2H, m, H-1b, H-9b), 0,77 (3H, s, H-14)

$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 20

Composé : Nootkatén-12ol (**385**)

Indice de rétention : VF-5ms/Wax : 1793/2765

Données spectroscopiques :



EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 218  $[M]^{+\bullet}$  (71), 200 (34), 185 (58), 177 (21), 171 (11), 160 (34), 157 (29), 145 (52), 143 (62), 134 (29), 131 (48), 130 (71), 129 (46), 119 (100), 105 (52), 91 (63), 79 (24), 77 (26), 65 (11), 41 (16)

$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  6,06 (1H, dd,  $J = 9,4, 2,4$  Hz, H-1), 5,57 (1H, tt,  $J = 4,8, 2,4$  Hz, H-2), 5,37 (1H, dd,  $J = 5,3, 2,7$  Hz, H-9), 5,07 (1H, q,  $J = 1,3$  Hz, H-13a), 4,87 (1H, d,  $J = 1,3$  Hz, H-13b), 3,86 (2H, s, H-12), 2,46 (1H, tdd,  $J = 13,0, 5,4, 2,6$  Hz, H-7), 2,16 (1H, dt,  $J = 18,1, 5,4$  Hz, H-8a), 2,00–1,83 (3H, m, H-8b, H-3ab), 1,74 (1H, dt,  $J = 12,5, 2,1$  Hz, H-6a), 1,61–1,49 (1H, m, H-4), 1,21 (1H, t,  $J = 12,7$  Hz, H-6b), 0,93 (3H, s, H-14), 0,77 (3H, d,  $J = 6,8$  Hz, H-15)

$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 21

## Références

- (1) Farjon A., Hiep N. T., Harder D. K., Loc P. K., Averyanov L., A New Genus and Species in Cupressaceae (Coniferales) from Northern Vietnam, *Xanthocyparis vietnamensis*, *Novon*, **2002**, *12*, 179.
- (2) Little D. P., Schwarzbach A. E., Adams R. P., Hsieh C.-F., The circumscription and phylogenetic relationships of *Callitropsis* and the newly described genus *Xanthocyparis* (Cupressaceae), *Am. J. Bot.*, **2004**, *91*, 1872.
- (3) Hennon P., McKenzie C., D'Amore D., Wittwer D., Mulvey R., Lamb M., Biles F., Cronn R., *A Climate Adaptation Strategy for Conservation and Management of Yellow-Cedar in Alaska*, **2016**.
- (4) Thomas P., *Neocallitropsis pancheri*, *The IUCN Red List of Threatened Species 2010: e.T30997A9592160.*, **2010**.
- (5) Owens J. N., Molder M. *The reproductive cycles of western redcedar and yellow-cedar*; Information Services Branch, Ministry of Forests: Victoria, B.C., **1984**.
- (6) Kirker G. T., Bishell A. B., Lebow P. K., Laboratory Evaluations of Durability of Southern Pine Pressure Treated With Extractives From Durable Wood Species, *J. Econ. Entomol.*, **2016**, *109*, 259.
- (7) Adesso K. M., Oliver J. B., O'Neal P. A., Youssef N., Efficacy of Nootka Oil as a Biopesticide for Management of Imported Fire Ants (Hymenoptera: Formicidae), *J. Econ. Entomol.*, **2017**, *110*, 1547.
- (8) Morales-Ramos J. A., Rojas M. G., Hennon P. E., Black-Staining Fungus Effects on the Natural Resistance Properties of Alaskan Yellow Cedar to the Formosan Subterranean Termite (Isoptera: Rhinotermitidae), *Environ. Entomol.*, **2003**, *32*, 1234.
- (9) Taylor A. M., Gartner B. L., Morrell J. J., Tsunoda K., Effects of heartwood extractive fractions of *Thuja plicata* and *Chamaecyparis nootkatensis* on wood degradation by termites or fungi, *J. Wood Sci.*, **2006**, *52*, 147.
- (10) Hennon P., Woodward B., Lebow P., Deterioration of wood from live and dead Alaska yellow-cedar in contact with soil, *Forest Prod. J.*, **2007**, *57*, 23.
- (11) Kelsey R. G., Hennon P. E., Huso M., Karchesy J. J., Changes in Heartwood Chemistry of Dead Yellow-Cedar Trees that Remain Standing for 80 Years or More in Southeast Alaska, *J. Chem. Ecol.*, **2005**, *31*, 2653.
- (12) De Groot R. C., Woodward B., Hennon P. E., Natural decay resistance of heartwood from dead, standing yellow-cedar trees : laboratory evaluations, *Forest Prod. J.*, **2000**, *50*, 53.
- (13) Hennon P. E., Hansen E. M., Shaw Iii C. G., Dynamics of decline and mortality of *Chamaecyparis nootkatensis* in southeast Alaska, *Can. J. Bot.*, **1990**, *68*, 651.
- (14) Karchesy J. J., Kelsey R. G., González-Hernández M. P., Yellow-Cedar, *Callitropsis (Chamaecyparis) nootkatensis*, Secondary Metabolites, Biological Activities, and Chemical Ecology, *J. Chem. Ecol.*, **2018**, *44*, 510.
- (15) Barton G. M., A Review of Yellow Cedar (*Chamaecyparis Nootkatensis* [D. Don] Spach) Extractives and their Importance to Utilization, *Wood Fiber Sci.*, **1976**, *3*, 172.
- (16) Thwaites C., Janz N., Innovation from the northwest rainforest emerging sources of natural ingredients provide perfumers with new olfactive opportunities, *Perfum. Flavor.*, **2010**, *35*, 24.
- (17) Karlsson B., Pilotti A.-M., Wiehager A.-C., The crystal structure of chanoetin, a bicyclic C15-tropolone, *Acta Cryst. B*, **1973**, *29*, 1209.
- (18) Aulin-Erdtman G., Tropolone series. I. Thujaplicins and nootkatin, *Acta Chem. Scand.*, **1950**, *4*, 1031.
- (19) Kelsey R. G., González-Hernández M. P., Karchesy J., Veluthoor S., Volatile terpenoids and tropolones in heartwood extracts of yellow-cedar, Monterey cypress, and their hybrid Leyland cypress, *Ann. For. Sci.*, **2015**, *72*, 349.

- (20) Du T., Shupe Todd F., Hse Chung Y., Antifungal activities of three supercritical fluid extracted cedar oils, *Holzforschung*, **2011**, 65, 277.
- (21) Constantine G. H., Karchesy J. J., Franzblau S. G., LaFleur L. E., (+)-Totarol from *Chamaecyparis nootkatensis* and activity against *Mycobacterium tuberculosis*, *Fitoterapia*, **2001**, 72, 572.
- (22) Khasawneh M. A., Karchesy J. J., Terpenoids of the Heartwood of *Chamaecyparis Nootkatensis*, *Am. J. Org. Chem.*, **2011**, 1, 1.
- (23) Pettit G. R., Tan R., Northen J. S., Herald D. L., Chapuis J.-C., Pettit R. K., Antineoplastic Agents. 529. Isolation and Structure of Nootkastatins 1 and 2 from the Alaskan Yellow Cedar *Chamaecyparis nootkatensis*, *J. Nat. Prod.*, **2004**, 67, 1476.
- (24) Cheng Y. S., von Rudloff E., The volatile oil of the leaves of *chamaecyparis nootkatensis*, *Phytochemistry*, **1970**, 9, 2517.
- (25) Manter D. K., Kelsey R. G., Karchesy J. J., Antimicrobial Activity of Extractable Conifer Heartwood Compounds Toward *Phytophthora ramorum*, *J. Chem. Ecol.*, **2007**, 33, 2133.
- (26) Clark R. H., Lucas C. C., The essential oil content of *Chamaecyparis Nootkatensis*, *Proc. Trans. R. Soc. Can.*, **1926**, 20, 423.
- (27) Erdtman H., Hirose Y., The chemistry of the natural order Cupressales. XLVI. The structure of nootkatone, *Acta Chem. Scand.*, **1962**, 16, 1311.
- (28) Erdtman H., Topliss J. G., Chemistry of the natural-order cupressales. XVIII. Nootkatene, a sesquiterpene type hydrocarbon from the heartwood of *Chamaecyparis nootkatensis*, *Acta Chem. Scand.*, **1957**, 11, 1157.
- (29) Carlsson B., Erdtman H., Frank A., E Harvey V., The Chemistry of the Natural Order Cupressales. VIII. Heartwood Constituents of *Chamaecyparis nootkatensis* - Carvacrol, Nootkatin, and Chamic Acid, *Acta Chem. Scand.*, **1952**, 6, 690.
- (30) Gripenberg J., Antibiotic substances from the heartwood of *Thuja plicata*. VI. The structure of thujic acid (dehydroperillic acid), *Acta Chem. Scand.*, **1949**, 3, 1137.
- (31) MacLeod W. D., The constitution of nootkatone, nootkatene and valencene, *Tetrahedron Lett.*, **1965**, 6, 4779.
- (32) Andersen N. H., Syrdal D. D., Terpenes and sesquiterpenes of *Chamaecyparis nootkatensis* leaf oil, *Phytochemistry*, **1970**, 9, 1325.
- (33) Andersen N. H., Syrdal D. D., The absolute stereochemistry of the alaskenes and acorone-related sesquiterpenes, *Tetrahedron Lett.*, **1972**, 13, 899.
- (34) Panella N. A., Dolan M. C., Karchesy J. J., Xiong Y., Peralta-cruz J., Khasawneh M., Montenieri J. A., Maupin G. O., Use of Novel Compounds for Pest Control: Insecticidal and Acaricidal Activity of Essential Oil Components from Heartwood of Alaska Yellow Cedar, *J. Med. Entomol.*, **2005**, 42, 352.
- (35) Xiong Y., Essential oil components of Alaska cedar heartwood, Oregon State University, **2000**.
- (36) Khasawneh M. A., Xiong Y., Peralta-Cruz J., Karchesy J. J., Biologically Important Eremophilane Sesquiterpenes from Alaska Cedar Heartwood Essential Oil and Their Semi-Synthetic Derivatives, *Molecules*, **2011**, 16, 4775.
- (37) Shaw P. E., Wilson C. W., Importance of nootkatone to the aroma of grapefruit oil and the flavor of grapefruit juice, *J. Agric. Food Chem.*, **1981**, 29, 677.
- (38) Michael Zviely, Molecule of the month: Nootkatone, *Perfum. Flavor.*, **2009**, 34, 20.
- (39) Fraatz M. A., Berger R. G., Zorn H., Nootkatone—a biotechnological challenge, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **2009**, 83, 35.
- (40) Wriessnegger T., Augustin P., Engleder M., Leitner E., Müller M., Kaluzna I., Schürmann M., Mink D., Zellnig G., Schwab H., Pichler H., Production of the sesquiterpenoid (+)-nootkatone by metabolic engineering of *Pichia pastoris*, *Metab. Eng.*, **2014**, 24, 18.



- (41) Salvador J. A. R., Clark J. H., The allylic oxidation of unsaturated steroids by tert-butyl hydroperoxide using surface functionalised silica supported metal catalysts, *Green Chem.*, **2002**, *4*, 352.
- (42) King J., Gill H. Q&A on the production of nootkatone (an ingredient of grapefruit flavour). [Online Early Access]. Published Online: 2015. <http://oxfordbiotrans.com/wp-content/uploads/2015/03/QA1.pdf>.
- (43) Joulain D., König W. *The atlas of spectral data of sesquiterpene hydrocarbons*; EB-Verlag: Hamburg, **1998**.
- (44) Adams R. P. *Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy. 4th Ed.*; Allured Pub. Corp., **2007**.
- (45) Kesselmans R. P. W., Wijnberg J. B. P. A., de Groot A., van Beek T. A., Chromatographic and Spectroscopic Data of All Stereoisomers of Eudesm-11-en-4-ol, *J. Essent. Oil Res.*, **1992**, *4*, 201.
- (46) Hong Y. J., Tantillo D. J., Consequences of conformational preorganization in sesquiterpene biosynthesis: Theoretical studies on the formation of the bisabolene, curcumene, acoradiene, zizaene, cedrene, duprezianene, and sesquithuriferol sesquiterpenes, *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, *131*, 7999.
- (47) Bülow N., König W. A., The role of germacrene D as a precursor in sesquiterpene biosynthesis: investigations of acid catalyzed, photochemically and thermally induced rearrangements, *Phytochemistry*, **2000**, *55*, 141.
- (48) Steele C. L., Crock J., Bohlmann J., Croteau R., Sesquiterpene Synthases from Grand Fir (*Abies grandis*): Comparison of Constitutive and Wound-Induced Activities, and cDNA Isolation, Characterization, and Bacterial Expression of  $\delta$ -Selinene Synthase and  $\gamma$ -Humulene Synthase, *J. Bio. Chem.*, **1998**, *273*, 2078.
- (49) Citron C. A., Gleitzmann J., Laurenzano G., Pukall R., Dickschat J. S., Terpenoids are Widespread in Actinomycetes: A Correlation of Secondary Metabolism and Genome Data, *ChemBioChem*, **2012**, *13*, 202.
- (50) Erdtman H., Harvey W. E., Topliss J. G., Chemistry of the natural order cupressales. XVI. Heartwood constituents of *Chamaecyparis nootkatensis*. The structure of chamic and chaminic acids, *Acta Chem. Scand.*, **1956**, *10*, 1381.
- (51) Nihei K.-i., Yamagiwa Y., Kamikawa T., Kubo I., 2-Hydroxy-4-isopropylbenzaldehyde, a potent partial tyrosinase inhibitor, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2004**, *14*, 681.
- (52) Duff S. R., Erdtman H., Harvey W. E., The chemistry of the natural order cupressales. XII. Heartwood constituents of *Chamaecyparis nootkatensis* (Lamb.) Spach. Nootkatin, *Acta Chem. Scand.*, **1954**, *8*, 1073.
- (53) Silva V. B., Travassos D. L., Nepel A., Barison A., Costa E. V., Scotti L., Scotti M. T., Mendonça-Junior F. J. B., La Corte dos Santos R., de Holanda Cavalcanti S. C., Synthesis and Chemometrics of Thymol and Carvacrol Derivatives as Larvicides against *Aedes aegypti*, *J. Arthropod. Borne Dis.*, **2017**, *11*, 315.
- (54) Dethe D. H., Boda R., Murhade G. M., Lewis acid catalyzed Nazarov type cyclization for the synthesis of a substituted indane framework: total synthesis of ( $\pm$ )-mutisianthol, *Org. Chem. Front.*, **2015**, *2*, 645.
- (55) Yamada K., Murata T., Kobayashi K., Miyase T., Yoshizaki F., A lipase inhibitor monoterpene and monoterpene glycosides from *Monarda punctata*, *Phytochemistry*, **2010**, *71*, 1884.
- (56) Liang Y.-F., Song S., Ai L., Li X., Jiao N., A highly efficient metal-free approach to meta- and multiple-substituted phenols via a simple oxidation of cyclohexenones, *Green Chem.*, **2016**, *18*, 6462.
- (57) Yang F., Rauch K., Kettelhoit K., Ackermann L., Aldehyde-Assisted Ruthenium(II)-Catalyzed C-H Oxygenations, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2014**, *53*, 11285.

- (58) Cocker W., Shannon P. V. R., Staniland P. A., The chemistry of terpenes. Part IV. The hydroboration of (+)-car-3-ene at elevated temperatures, *J. Chem. Soc. C*, **1967**, 915.
- (59) Yasuji F., Shin-ichi F., Yoshiko H., *trans*-Shisool (*trans*-8-p-Menthen-7-ol) Isolated from the Essential Oils of *Perilla acuta* Nakai and *P. acuta* f. *viridis* Nakai, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1970**, *43*, 2637.
- (60) Ishida T., Toyota M., Asakawa Y., Terpenoid biotransformation in mammals. V. Metabolism of (+)-citronellal, (±)-7-hydroxycitronellal, citral, (–)-perillaldehyde, (–)-myrtenal, cuminaldehyde, thujone, and (±)-carvone in rabbits, *Xenobiotica*, **1989**, *19*, 843.
- (61) Thomas A. F., Ohloff G., 4-Isopropenylcyclohexylmethanol organoleptic compositions, Firmenich S. A., DE2427609A1, **1975**.
- (62) Kaiser R., Lamparsky D., Schudel P., Analysis of Buchu leaf oil, *J. Agric. Food Chem.*, **1975**, *23*, 943.
- (63) Urabe H., Suzuki K., Sato F., Intramolecular Cyclization of 2,7- or 2,8-Bis-unsaturated Esters Mediated by ( $\eta^2$ -Propene)Ti(O-*i*-Pr)<sub>2</sub>. Facile Construction of Mono- and Bicyclic Skeletons with Stereoselective Introduction of a Side Chain. A Synthesis of  $\delta$ -Sabinene, *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**, *119*, 10014.
- (64) Haworth W. N., Perkin W. H., Jr., Wallach O., Sylvestrene. Constitution of  $\delta$ -Sylvestrene and its Derivatives, *J. Chem. Soc., Trans.*, **1913**, *103*, 1228.
- (65) Gollnick K., Schade G., Absolute Konfigurationen von Verbindungen der Caran- und m-Menthan-Reihe1), *Justus Liebigs Ann. Chem.*, **1969**, *721*, 133.
- (66) Acharya S. P., Brown H. C., Suzuki A., Nozawa S., Itoh M., Hydroboration of terpenes. V. Isomerization of (+)-sabinene to (+)- $\alpha$ -thujene. Hydroboration of (+)-sabinene and (+)- $\alpha$ -thujene with configurational assignments for the thujanols, *J. Org. Chem.*, **1969**, *34*, 3015.
- (67) Amico V., Oriente G., Piattelli M., Tringali C., Fattorusso E., Magno S., Mayol L., Sesquiterpenes based on the cadalane skeleton from the brown alga *Dilophus fasciola*, *Experientia*, **1979**, *35*, 450.
- (68) Cheng S.-S., Chung M.-J., Lin C.-Y., Wang Y.-N., Chang S.-T., Phytochemicals from *Cunninghamia konishii* Hayata Act as Antifungal Agents, *J. Agric. Food Chem.*, **2012**, *60*, 124.
- (69) Weyerstahl P., Kaul V. K., Meier N., Weirauch M., Marschall H., Volatile Constituents of *Plectranthus rugosus* Leaf Oil, *Planta Med.*, **1983**, *48*, 99.
- (70) Szafranek B., Chrapkowska K., Pawińska M., Szafranek J., Analysis of Leaf Surface Sesquiterpenes in Potato Varieties, *J. Agric. Food Chem.*, **2005**, *53*, 2817.
- (71) De Rosa S., De Giulio A., Iodice C., Zavodink N., Sesquiterpenes from the brown alga *Taonia atomaria*, *Phytochemistry*, **1994**, *37*, 1327.
- (72) Connolly J. D., Phillips W. R., Huneck S., (+)-*Ent*-epicubenol from the liverwort *Scapania undulata*, *Phytochemistry*, **1982**, *21*, 233.
- (73) Bazzali O., Thai H. T., Hoi M. T., Khang S. N., Hien T. N., Casanova J., Bighelli A., Tomi F., Integrated Analysis of the Wood Oil from *Xanthocyparis vietnamensis* Farjon & Hiep. by Chromatographic and Spectroscopic Techniques, *Molecules*, **2016**, *21*.
- (74) Maurer B., Fracheboud M., Grieder A., Ohloff G., Zur Kenntnis der sesquiterpenoiden C12-Ketone des ätherischen Öls von *Vetiveria zizanioides* (L.) Nash, *Helv. Chim. Acta*, **1972**, *55*, 2371.
- (75) Weyerstahl P., Marschall H., Splittgerber U., Wolf D., 1,7-Cyclogermacra-1(10),4-dien-15-al, a sesquiterpene with a novel skeleton, and other sesquiterpenes from Haitian vetiver oil, *Flavour Fragr. J.*, **2000**, *15*, 61.
- (76) Näf R., Velluz A., Meyer A. P., Volatile Constituents of Blood and Blond Orange Juices: A Comparison, *J. Essent. Oil Res.*, **1996**, *8*, 587.
- (77) Furusawa M., Hashimoto T., Noma Y., Asakawa Y., Biotransformation of Citrus Aromatics Nootkatone and Valencene by Microorganisms, *Chem. Pharm. Bull.*, **2005**, *53*, 1423.

- (78) Burden R. S., Rowell P. M., Bailey J. A., Loeffler R. S. T., Kemp M. S., Brown C. A., Debneyol, a fungicidal sesquiterpene from tnv infected *Nicotiana debneyi*, *Phytochemistry*, **1985**, 24, 2191.
- (79) Cachet T., Brevard H., Chaintreau A., Demyttenaere J., French L., Gassenmeier K., Joulain D., Koenig T., Leijts H., Liddle P., Loesing G., Marchant M., Merle P., Saito K., Schippa C., Sekiya F., Smith T., IOFI recommended practice for the use of predicted relative-response factors for the rapid quantification of volatile flavouring compounds by GC–FID, *Flavour Fragrance J.*, **2016**, 31, 191.
- (80) Martins Adio A., Paul C., König W. A., Muhle H., Volatile components from European liverworts *Marsupella emarginata*, *M. aquatica* and *M. alpina*, *Phytochemistry*, **2002**, 61, 79.
- (81) Férat L., <http://madame.lefigaro.fr/beaute/le-cedre-arbre-cache-de-la-parfumerie-150416-113867>, *Madame Figaro*, **2016**.
- (82) Arctander S. *Perfume and flavor materials of natural origin*; Arctander, S.: Elizabeth, New Jersey (USA), **1960**.
- (83) Adams R. P., Investigation of *Juniperus* species of the United States for new Sources of Cedarwood Oil, *Economic Botany*, **1987**, 41, 48.
- (84) Zhang K., Yao L., The anxiolytic effect of *Juniperus virginiana* L. essential oil and determination of its active constituents, *Physiology & Behavior*, **2018**, 189, 50.
- (85) Kamatou G. P. P., Viljoen A. M., Özek T., Başer K. H. C., Chemical composition of the wood and leaf oils from the “Clanwilliam Cedar” (*Widdringtonia cedarbergensis* J.A. Marsh): A critically endangered species, *South African Journal of Botany*, **2010**, 76, 652.
- (86) Ishihara M., Tsuneya T., Uneyama K., Fragrant sesquiterpenes from agarwood, *Phytochemistry*, **1993**, 33, 1147.

## Chapitre Va : L'huile essentielle de Vétiver : Matière première emblématique et casse-tête du chimiste – *Chrysopogon zizanioides*

### Va.1. Considérations générales

Le Vétiver, *Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty, est une graminée vivace appartenant à la famille des Poacées. Originaire d'Inde, cette herbe est cultivée principalement pour prévenir l'érosion des sols et consolider les terrains.<sup>1</sup> On la retrouve aujourd'hui dans plusieurs régions du globe où elle y est cultivée pour consolider les sols et prévenir de l'érosion mais aussi pour obtenir une huile essentielle caractéristique. En effet, la distillation à la vapeur des racines de cette plante produit une substance odorante unique en son genre (Rendement 1,0 à 1,5 %). L'essence de vétiver est généralement produite à petite et à moyenne échelle dans des pays tropicaux et subtropicaux tels qu'Haïti, l'Indonésie, le Brésil et la Chine. Au même titre que l'essence de Patchouli, l'essence de Vétiver est une matière première emblématique de l'industrie du parfum. Elle est souvent décrite comme ayant des facettes boisées, fumées, terreuse, avec des notes marquées de pamplemousse, ce qui la rend particulièrement appréciée des parfumeurs.<sup>2-4</sup> Au cours des deux dernières décennies, sa production mondiale annuelle a été sujette à d'importantes fluctuations, principalement en raison de paramètres externes (problème de rentabilité à La Réunion, séisme violent en Haïti en 2010, etc.). Dans un contexte où le maintien d'une production durable est devenu crucial pour l'industrie du parfum, les grandes entreprises s'engagent désormais dans des partenariats très étroits avec des coopératives locales et même de petits producteurs.<sup>5-7</sup>

Le caractère unique de cette essence provient de la combinaison d'une multitude de composés odorants, eux-mêmes résultant d'une activité enzymatique particulière à l'intérieur de la plante ou au niveau des microorganismes qui lui sont associés.<sup>8,9</sup> En effet, les études antérieures menées par plusieurs équipes ont permis d'identifier dans cette essence plus de 250 dérivés sesquiterpéniques, caractérisés par une grande variété de squelettes et de fonctions chimiques.<sup>4,10-12</sup> Les structures de ces molécules ont suscité de nombreux débats parmi les chercheurs et ont conduit à des désaccords.<sup>13,14</sup> Malgré son utilisation courante en parfumerie (~260 tonnes/an),<sup>1,15</sup> la connaissance de la composition chimique de cette essence est encore incomplète. En raison du nombre abondant de constituants, cette essence est un véritable casse-tête pour les analystes. Par conséquent, l'identification de ses odorants d'impact a constitué et constitue encore un sujet de discussion et de débat au sein de la profession. Ainsi, pour toutes

ces raisons et dans le cadre de nos recherches sur les matières premières à odeur boisée, nous nous sommes plongés dans cette fantastique essence afin d'en apprendre encore davantage sur sa composition chimique et sur ses composés odorants.

## Va.2. Etudes antérieures menées sur l'huile essentielle de Vétiver

Parmi tous les extraits utilisés par les parfumeurs, l'huile essentielle de Vétiver est souvent considérée comme l'une des matières premières les plus complexes, sinon la plus complexe. En effet, près de 250 constituants ont été identifiés à ce jour et, comme pour les autres matières premières à odeur boisée, la majeure partie d'entre eux sont des dérivés sesquiterpéniques.<sup>4,10,11</sup> De plus, il est désormais bien établi que l'origine géographique des racines (Haïti, Java, Bourbon, etc.) ainsi que les procédés de distillation jouent un rôle important sur la variabilité chimique de l'huile essentielle obtenue.<sup>10,16,17</sup> En effet, l'essence d'Haïti est quasi dépourvue de sesquiterpènes de type isozaane (Schéma 20) et les essences de Vétiver du Brésil ou d'Indonésie présentent généralement un taux d'acides plus élevé que celles d'Haïti.<sup>10</sup>

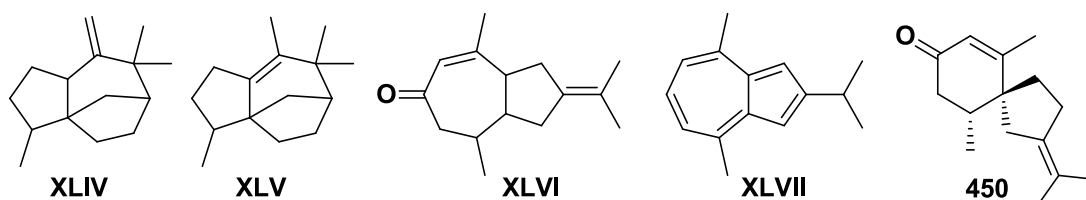


Schéma 20. Zizaane (**XLIV**) et Isozaane (**XLV**). **XLV** est présent de façon importante dans les essences de Vétiver Java et absent des essences de Vétiver Haïti. Le composé **XLVI** correspond à une structure erronée de la  $\beta$ -vétivone (**450**) initialement décrite par Pfau et Plattner,<sup>13,18,19</sup> puis corrigée par Marshall et al..<sup>14,20</sup> Le composé **XLVII** correspond à la structure du vétivazulène, lui aussi non-pertinent pour la chimie du vétiver.

Contrairement aux autres matières premières à odeur boisée étudiées précédemment, qui comptent entre quatre et cinq familles de squelettes sesquiterpéniques différents, l'essence de Vétiver rassemble plus de vingt types de squelettes.<sup>4,21</sup> Les composés qui en résultent sont souvent des diastéréoisomères dont les spectres de masse sont extrêmement proches. Ainsi, en raison de la grande diversité moléculaire et de la proximité structurale de ces molécules, de nombreuses co-élutions rendent l'identification particulièrement ardue. L'analyse quantitative de cette essence par l'utilisation d'une GC conventionnelle est alors quasi-impossible. L'utilisation commerciale des différents types d'essence de vétiver est d'ailleurs encadrée par

une norme internationale (ISO4716) qui définit des gammes de concentration relative pour seulement 5 composés majeurs, quand l'essence en contient plusieurs centaines. Les études antérieures menées par GC × GC sur différents types d'essences de Vétiver montrent clairement la complexité de ces essences,<sup>10</sup> et notamment dans la zone d'élution des alcools tertiaires (Figure 24).

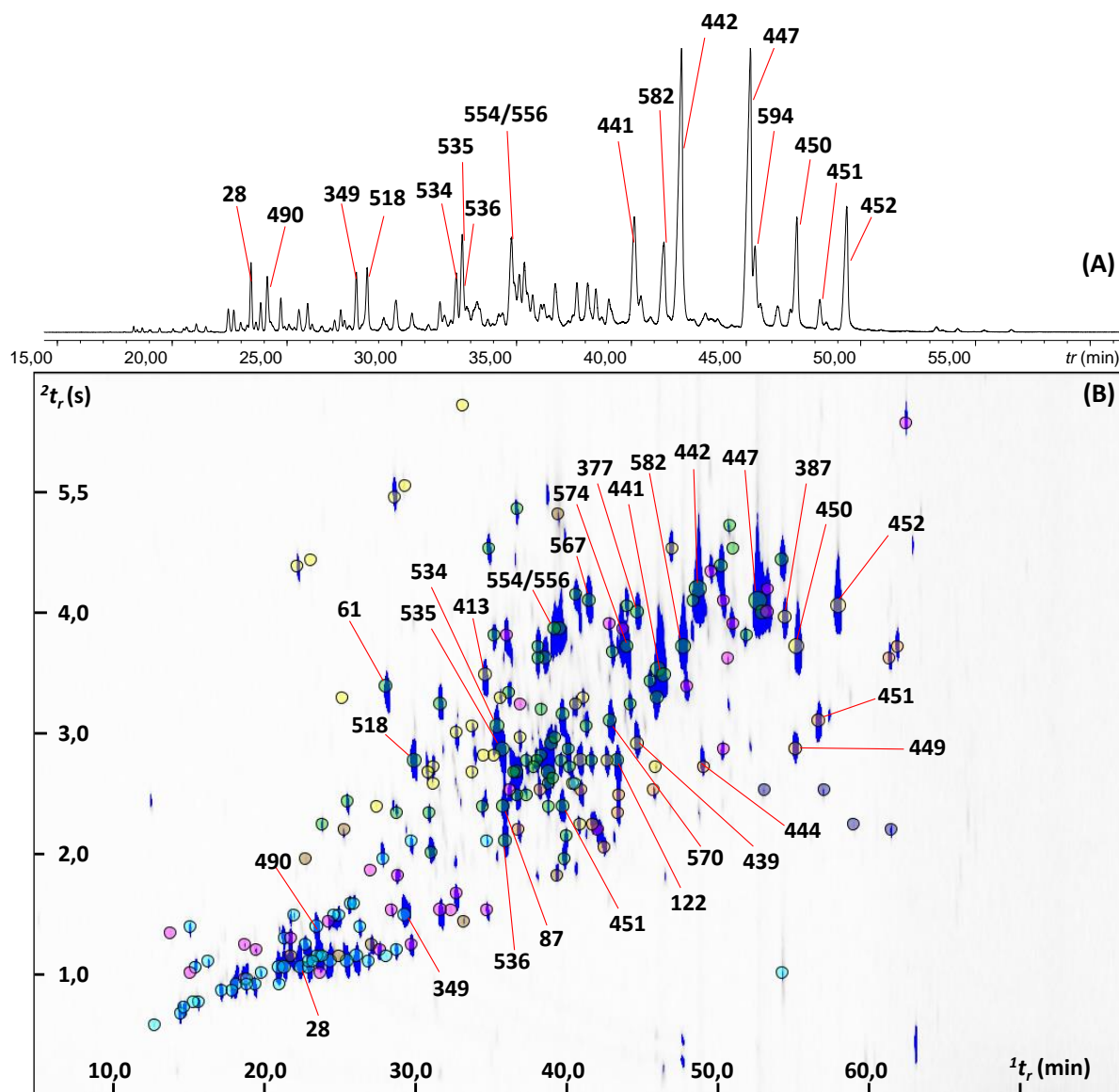


Figure 24. (A) Analyse GC-MS d'une huile essentielle de Vétiver Haïti. (B) Analyse GC × GC-MS du même échantillon pointant les principaux constituants de l'huile essentielle de Vétiver. Les hydrocarbures apparaissent sous la forme de cercles bleu-pâle, les aldéhydes sont en orange, les cétones sont en jaune, les éthers sont en marron, les esters en bleu foncé, les alcools sont affichés en vert et les inconnus en rose.

De ce fait, et compte tenu de sa complexité moléculaire, l'analyse de cette essence a conduit à plusieurs controverses historiques, la plupart étant liée à l'identification de ses

constituants odorants. Dès 1939, Pfau et Plattner suggèrent que la fraction cétonique apporte une contribution décisive à l'odeur de l'huile essentielle de Vétiver.<sup>18,19</sup> Leur première étude a abouti à l'isolement de deux cétones  $\alpha,\beta$ -insaturées,<sup>18</sup> qu'ils nomment  $\alpha$ -vétivone (**452**) et  $\beta$ -vétivone (**450**) en raison de leur nature isomérique (Schéma 20). Les auteurs ont initialement proposé une structure de type bicyclo[5.3.0]décane (**XLVI**) pour la  $\beta$ -vétivone car ce composé générerait du vétivazulène (**XLVII**) lors de sa déshydrogénation complète. Environ trois décennies plus tard, Marshall et al. réfutent la structure de Pfau et de Plattner en dévoilant un squelette de type spiro[4.5]décane pour la  $\beta$ -vétivone (**450**), aujourd'hui validé par synthèse organique (Schéma 20).<sup>14,20</sup>

Outre ces erreurs structurales, les propriétés olfactives de **450** et de **452** ont également fait l'objet d'un débat intense entre les professionnels de la parfumerie. En effet, Mookherjee (de la société IFF) rapporte que la  $\beta$ -vétivone (**450**) est la principale contributrice à l'odeur spécifique de l'huile essentielle de Vétiver, alors que **452** n'apporte qu'une contribution mineure.<sup>22</sup> Quelques années plus tard, Spreitzer propose une nouvelle méthodologie de synthèse pour la  $\beta$ -vétivone (**450**) et montre que **450** a une odeur fruitée, de type pamplemousse, sans toutefois mentionner un quelconque caractère « vétiver » et suppose que de probables contaminations ont faussé les descriptions olfactives précédentes.<sup>23</sup> En parallèle, Maurer (de la société Firmenich) démontre que la khusimone (**413**), une cétone minoritaire et contenue dans l'essence, dégage une odeur caractéristique de vétiver.<sup>24</sup> Il identifie également deux cétones trinoir-sesquiterpéniques **332** et **402/403** possédant des notes puissantes de vétiver.<sup>12</sup> Ces données ont été réfutées par Mookherjee, qui décrit ces molécules comme ayant des odeurs vertes et boisées.<sup>22</sup> Jusqu'à très récemment, la khusimone (**413**) a longtemps été considéré comme le seul composé à l'origine de l'odeur si caractéristique du Vétiver. Cependant, en 2014, des travaux menés dans notre équipe ont permis de montrer que la ziza-6(13)-én-3-one (**425**) et son épimère, la 2-épi-ziza-6(13)-én-3-one (**435**) (Schéma 21), sont les composés odorants d'impact de cette essence, présentant des notes typique de vétiver.<sup>3</sup> Ces travaux confirment également que **413** possède une odeur typique de vétiver, mais moins puissante que celle des zizaénones. De plus, les vétivones **450** et **452** jouent un rôle important dans l'odeur globale de cette huile essentielle et sont décrites comme ayant des odeurs de pamplemousse et de citron-vert. Ainsi, on remarque rapidement que les cétones contribuent de façon importante à l'odeur globale de cette essence.

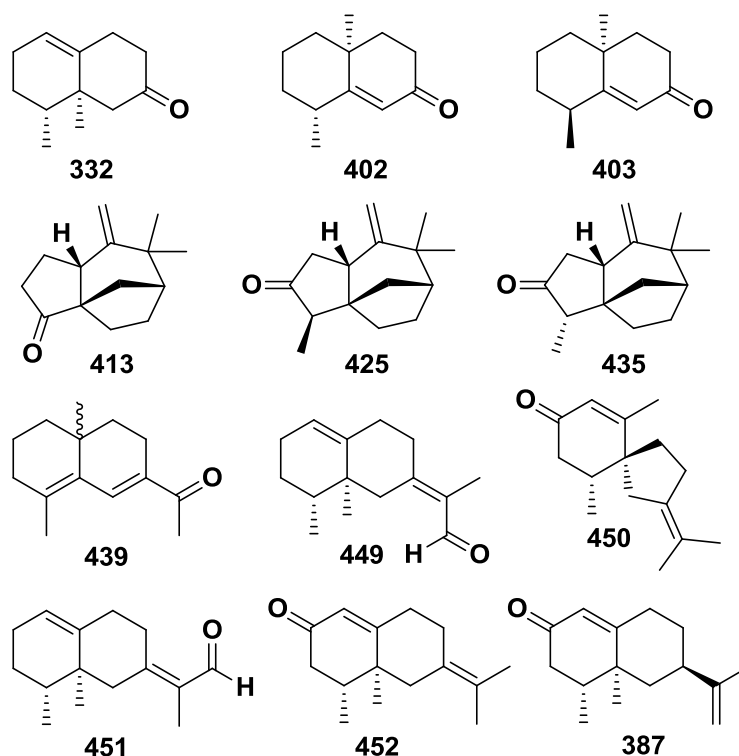


Schéma 21. Cétones et aldéhydes sesquiterpéniques couramment identifiés dans les essences de Vétiver.

En plus de ces cétones, les alcools sont généralement associés aux odeurs boisées et fruitées de l'essence. Les travaux réalisés par P. Weyerstahl et son équipe dans les années 2000 ont permis d'améliorer considérablement la connaissance de la composition chimique de l'essence de Vétiver.<sup>11,21,25,26</sup> Ces mêmes auteurs définissent que les alcools majoritaires, à savoir le khusimol (**442**), l'*(E)*-isovalencénol (**447**) et le vétisélinénol (**441**), possèdent des notes boisées, ambrées et d'agrumes. Cependant, notre précédente étude révèle que le vétisélinénol (**441**) est inodore, que le khusimol (**442**) possède bien une note vétiver semblable à celle de la khusimone (**413**) mais largement plus faible, et que l'*(E)*-isovalencénol (**447**) possède une note santalée remarquable.<sup>3</sup>

Sur la totalité des travaux antérieurs effectués sur l'essence de Vétiver, la chromatographie en phase gazeuse couplée à l'olfactométrie (GC-O) n'a été employée qu'à deux reprises.<sup>3,27</sup> Notre précédente étude identifie avec précision la majeure partie des odorants de l'essence mais il restait encore plusieurs notes intéressantes à identifier. Dans ce contexte, il a donc été opportun d'améliorer notre connaissance de la composition chimique et d'étudier avec précision la contribution olfactive des dérivés carbonylés. Ainsi, effectuer l'isolement d'une fraction cétonique a constitué la première étape de cette étude. Nous avons ensuite analysé cette fraction spécifique de l'essence afin de caractériser avec précision sa composition



chimique. Enfin, notre but a été d'identifier les cétones et les aldéhydes odorants et de confirmer leur contribution dans l'essence de Vétiver. Dans un second temps, nous nous sommes intéressés à l'étude de la composition chimique de l'essence de Vétiver en ciblant plus particulièrement les alcools tertiaires. Ce travail a été réalisé en utilisant la même méthodologie analytique que celle employée pour les autres matières premières présentées dans ce mémoire. En raison de relations biogénétiques entre les matières premières proposées à l'étude dans cette thèse, et de la possibilité de comparaison directe des résultats analytiques obtenus, nous avons pu confirmer/réfuter la présence de certains composés dans ce mélange si complexe qu'est l'essence de Vétiver.

### Va.3. Etude des dérivés carbonylés de l'huile essentielle de Vétiver par extraction spécifique

#### Va.3.1. Extraction sélective des dérivés carbonylés

Parmi les différentes essences de Vétiver existantes (Brésil, Indonésie, Réunion, etc.), les essences de Vétiver Haïti contiennent plus de 65 % de sesquiterpènes oxygénés, les dérivés carbonylés (aldéhydes et cétones) représentent entre 14 et 19 % de l'huile essentielle.<sup>10</sup> Comme exposé précédemment, les cétones, et plus particulièrement les ziza-6(13)-én-3-ones (**425** et **435**), la khusimone (**413**) ainsi que les deux vétivones (**450** et **452**), apportent une contribution décisive à l'odeur caractéristique de l'essence de Vétiver. Cependant, d'autres molécules sont susceptibles de fournir des notes olfactives intéressantes et restent encore non identifiées. Afin de les caractériser, il a été nécessaire de procéder à une extraction sélective des composés carbonylés de l'huile essentielle et de réaliser l'isolement et la caractérisation structurale et olfactive de ces composés.

L'extraction sélective des dérivés carbonylés à partir d'huiles essentielles ou d'extraits bruts a été développée par Girard et Sandulesco.<sup>28</sup> En effet, ils ont réalisé l'extraction spécifique de carbonylés en utilisant des réactifs de type semicarbazone, lesquels sont connus aujourd'hui sous le nom de réactifs de Girard (Schéma 22). Il est à noter que Pfau et Plattner en 1939 ont déjà utilisé ces dérivés semicarbazones afin d'extraire les cétones présentes dans l'essence de Vétiver.<sup>18</sup> Ils ont ainsi pu isoler l' $\alpha$ - et la  $\beta$ -vétivone (**450** et **452**) de l'essence.

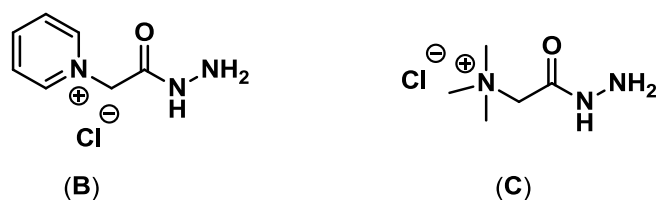


Schéma 22. Réactifs Girard-P (B) et Girard-T (C) développés par Girard et Sandulesco pour l'extraction sélective de composés carbonylés à partir de mélanges complexes.

Après réaction, les adduits formés peuvent généralement être récupérés par extraction liquide-liquide (LLE) et/ou par précipitation-filtration. Les dérivés carbonylés sont régénérés par hydrolyse acide des sels ainsi formés. Ce type d'extraction a déjà été appliqué à d'autres huiles essentielles, comme l'essence de Cypriol (*Cyperus scariosus*) afin d'en extraire la mustakone, produit d'oxydation de l' $\alpha$ -copaène (7).<sup>29</sup> Cette méthode sélective est décrite comme très efficace, mais selon les auteurs, la régénération des carbonylés se révèle être la partie la plus sensible du procédé.<sup>18,28</sup> En effet, il se peut qu'une hydrolyse partielle se fasse au cours des diverses étapes de traitement (changement de pH du milieu réactionnel, extraction liquide/liquide, etc.). Il est à noter également que l'hydrolyse des sels doit être effectuée en milieu acide aqueux et doit être maintenue plus de 20 heures pour restaurer les fonctions carbonylées piégées.<sup>29</sup> Dans de telles conditions, il peut potentiellement se produire une isomérisation des dérivés carbonylés insaturés ou encore des transformations chimiques non souhaitées (ouverture de cycle, condensation, déshydratation, etc.).

En application directe de cette méthode à l'huile essentielle de Vétiver, nous avons pu récupérer environ 70 % des dérivés carbonylés présents dans l'essence (11,9 g sur 100 g d'huile essentielle de départ). La réaction a été monitorée par suivi GC-MS durant les différentes étapes de la réaction. Ainsi, la première étape de condensation des dérivés carbonylés se fait en milieu acide (EtOH/AcOH) en 6 heures à 50 °C. On note que les aldéhydes sont les premiers à réagir avec la semicarbazone et pourraient être extraits plus ou moins sélectivement du mélange si nécessaire. Après régénération des carbonylés (20 heures/acide chlorhydrique 2M), le chromatogramme final montre la présence quasi exclusive d'aldéhydes et de cétones sesquiterpéniques. Toutefois, l'extraction liquide/liquide entre chaque étape est compliquée en raison d'une émulsion importante entre la phase organique (Et<sub>2</sub>O ou E.P. + constituants de l'essence) et la phase aqueuse (différents sels et produits d'oxydation potentiels).

Comme prévu, cette fraction carbonylée a révélé en GC–O de précieuses notes boisées et d’agrumes caractéristiques de l’essence de Vétiver. Il était donc crucial d’étudier plus en détail la composition moléculaire de cet extrait.

### Va.3.2. Etude de la composition chimique de la fraction cétonique

Afin d’obtenir un maximum d’information sur cet extrait, nous avons analysé par GC–MS et GC × GC–MS notre échantillon final. Sans surprise l’analyse révèle une composition chimique quasi exclusive en cétones et en aldéhydes (Figure 25), confirmant ainsi la sélectivité de la réaction au réactif de Girard.

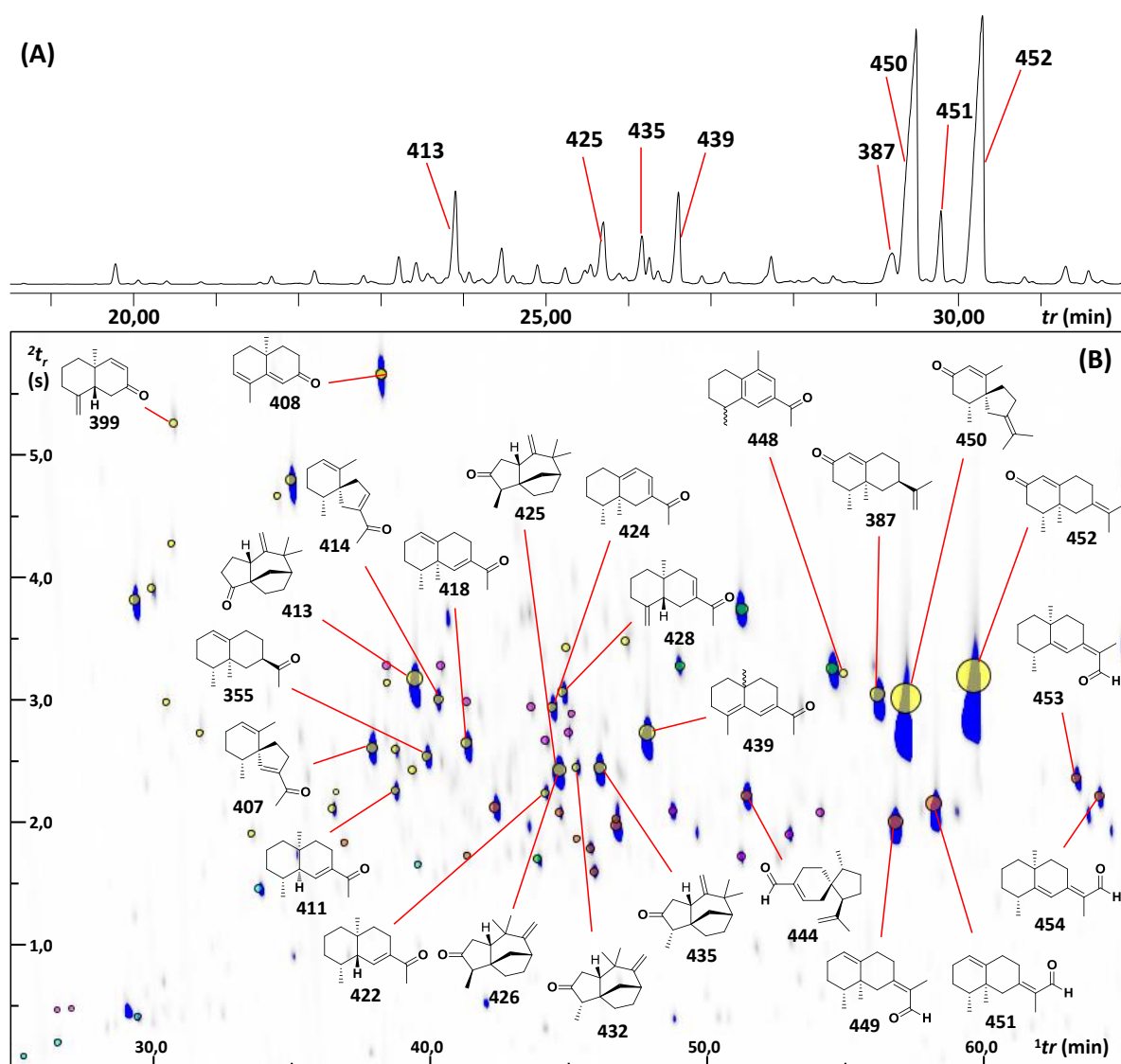


Figure 25. (A) Analyse GC–MS après extraction sélective des dérivés carbonylés présents dans l’essence de Vétiver (ex. Haïti) pointant les principales cétones et aldéhydes sesquiterpéniques. (B) Analyse par GC × GC–MS du même échantillon. Les hydrocarbures sesquiterpéniques apparaissent sous forme de cercle bleu, les alcools apparaissent sous forme de cercle vert, les cétones apparaissent sous forme de cercle jaune, les aldéhydes apparaissent sous forme de cercle orange, tandis que les molécules inconnues sont affichées en rose pâle.

Néanmoins, en se basant seulement sur l'examen des spectres de masse et des indices de rétention, un grand nombre de composés n'ont pas pu être identifiés. Ainsi, dans l'optique d'améliorer notre connaissance sur la composition chimique de cette fraction, nous avons procédé au fractionnement de 11,36 g de l'extrait sur colonne de gel de silice en appliquant un gradient de polarité croissante de 100 % E.P. à 50 % d'Et<sub>2</sub>O dans l'E.P. (Figure 26).

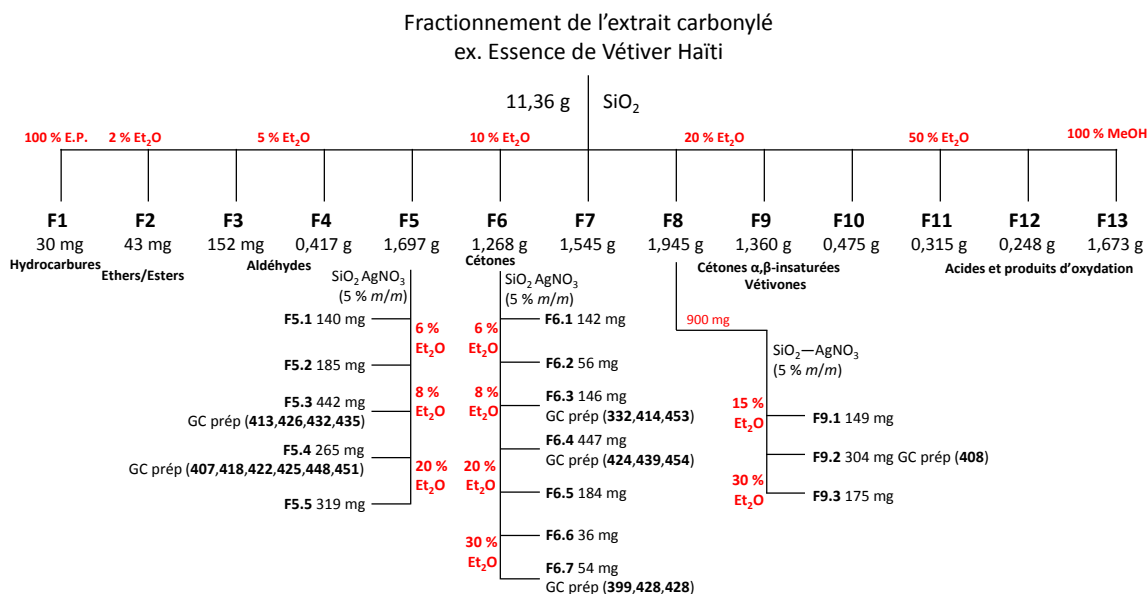


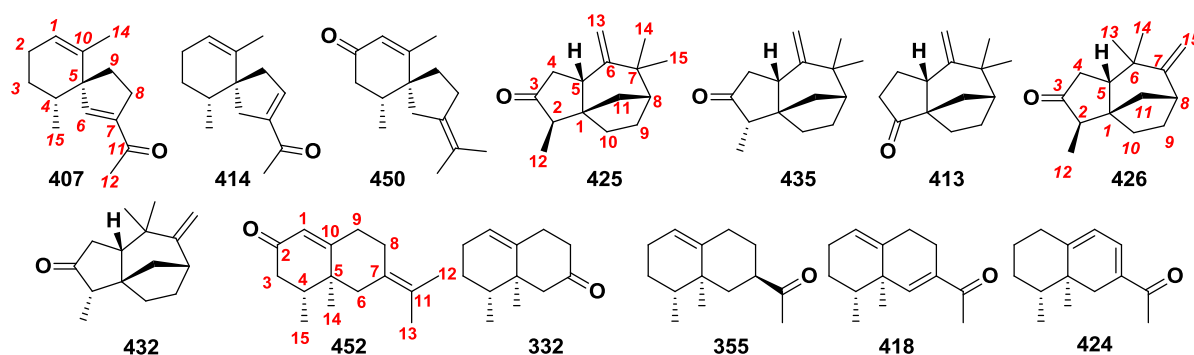
Figure 26. Schéma de fractionnement de l'extrait carbonyle obtenu par extraction spécifique au réactif de Girard-T à partir de l'huile essentielle de Vétiver Haïti.

Il en résulte l'obtention de 13 fractions et les fractions F5, F6 et F8 sont les plus intéressantes. Comme pour les autres matières premières étudiées précédemment, nous avons à nouveau séparé les fractions d'intérêt sur gel de silice imprégnée au nitrate d'argent et, lorsque cela s'est avéré utile, nous avons soumis ces sous-fractions à la GC semi-préparative. Il est à noter que toutes les sous-fractions ont été analysées par GC-MS et GC × GC-MS. Ainsi, nous avons isolé et caractérisé plus de 25 composés dont 9 n'avaient jamais été identifiés dans l'essence de Vétiver. La description RMN du <sup>13</sup>C des composés isolés est donnée en Tableau 24 et Tableau 25 et la description complète est donnée en partie expérimentale.

Comme pour l'huile essentielle de Vétiver (voir Va.4), l'ensemble des composés isolés sont répartis dans plusieurs familles sesquiterpéniques. On retrouve des vétispiranes, des zizaanes, des prézizaanes, des éremophilanes, des eudesmanes et, dans une moindre mesure, des oppositanes. On isole et caractérise ainsi les deux vétivones **450** et **452**, les deux zizaénones

**425** et **435**, mais aussi la khusimone (**413**), l'*(E)*-isovalencénal (**451**), la 11,12,13-trinor-érérophil-1(10)-én-7-one (**332**), la 13-nor-érérophil-1(10)-én-11-one (**355**), la 13-nor-érérophila-1(10),6-dién-11-one (**418**), la 13-nor-eudesma-4(15),7-dién-11-one (**428**), la 13-nor-eudesma-4,6-dién-11-one (**439**) et l'oppositadiénal (**436**). Le 10-*épi*-acora-3,11-dién-15-al (**444**), décrit dans le Chapitre IV, a été également isolé à partir de cette fraction carbonylée du Vétiver. L'ensemble de ces composés ont déjà été identifiés par P. Weyersthal et al. durant leurs travaux sur l'essence de Vétiver.<sup>11,21,26</sup>

Tableau 24. Déplacements chimiques en RMN du <sup>13</sup>C (en ppm) obtenus pour les cétones de type vétispirane, zizaane, prézizaane, et érérophilane isolées de la fraction carbonylée de l'essence de Vétiver Haïti.



#C	<b>407<sup>a</sup></b>	<b>414<sup>a</sup></b>	<b>450<sup>a</sup></b>	<b>425<sup>a</sup></b>	<b>435<sup>a</sup></b>	<b>413<sup>c</sup></b>	<b>426<sup>a</sup></b>	<b>432<sup>a</sup></b>	<b>452<sup>a</sup></b>	<b>332<sup>c</sup></b>	<b>355<sup>c</sup></b>	<b>418<sup>c</sup></b>	<b>424<sup>c</sup></b>
1	123,07	122,08	126,74	52,22	52,16	57,93	51,70	51,63	124,44	122,48	121,22	120,93	32,38
2	23,95	25,21	196,61	52,24	51,36	222,34	52,82	51,90	199,84	25,99	26,17	25,50	26,31
3	28,18	27,82	43,22	218,00	215,27	38,20	218,14	215,66	40,98	27,03	27,55	26,66	31,26
4	37,65	39,74	39,16	38,65	37,86	22,02	37,03	36,11	39,42	40,62	41,08	36,64	44,41
5	58,42	48,16	51,00	44,25	46,80	47,99	51,11	54,23	41,92	41,81	37,71	39,28	39,19
6	147,01	38,15	38,18	154,84	154,47	154,98	37,20	37,23	42,54	53,69	41,47	145,34	35,21
7	145,90	145,83	134,52	40,54	40,80	40,82	161,13	161,57	126,98	208,54	47,52	138,03	133,97
8	31,06	141,71	29,55	48,71	48,38	50,18	47,57	47,28	30,13	41,75	30,15	27,30	132,71
9	34,07	45,03	37,74	26,39	26,19	25,77	30,07	21,36	33,95	32,42	32,14	29,52	118,09
10	136,67	139,52	164,13	31,83	21,52	28,32	31,85	30,19	171,72	139,85	141,92	140,98	155,68
11	195,00	194,47	121,92	35,78	38,71	36,12	40,76	43,57	124,93	-	209,07	197,73	196,58
12	26,48	26,26	21,14	13,84	8,19	-	13,71	8,00	20,37	-	27,50	25,07	24,73
13	-	-	21,08	106,39	106,25	106,37	26,45	26,60	20,33	-	-	-	-
14	20,07	19,41	20,99	26,22	28,39	28,59	32,08	32,08	16,61	18,89	18,23	20,13	15,66
15	16,62	16,12	16,61	28,38	26,43	25,89	106,86	106,84	15,34	15,60	15,79	15,68	16,11
Ref			[21] <sup>b</sup>	[25] <sup>b</sup>	[25] <sup>b</sup>	[25] <sup>b</sup>			[21] <sup>b</sup>	[25] <sup>b</sup>	[25] <sup>b</sup>	[25] <sup>b</sup>	

<sup>a</sup> Enregistré dans le benzène-*d*<sub>6</sub>. <sup>b</sup> Données MS et RMN disponibles. <sup>c</sup> Enregistré dans le CDCl<sub>3</sub>.

En plus de ces composés communément retrouvés dans l'essence de Vétiver, nous avons identifié dans notre extrait carbonylé plusieurs nouvelles molécules. Les composés **407** et **414**, facilement détectables dans l'essence de Vétiver (voir Va.5), affichent un ion à  $m/z = 204$  qui est caractéristique d'une cétone norsesquiterpénique (hormis les sesquiterpènes C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>). Après isolement et interprétation des spectres RMN de ces produits, nous affirmons que ces deux produits sont des norsesquiterpènes (14 carbones) et qu'ils partagent une structure

de type vétispirane (Tableau 24). Ainsi, les spectres RMN de **407** et **414** nous ont permis de les identifier comme étant la 13-nor-spirovétiva-1(10),6-dién-11-one et 13-nor-spirovétiva-1(10),7-dién-11-one, respectivement (Figure 27). Ces deux composés n'ont jamais été décrits dans aucune source naturelle.

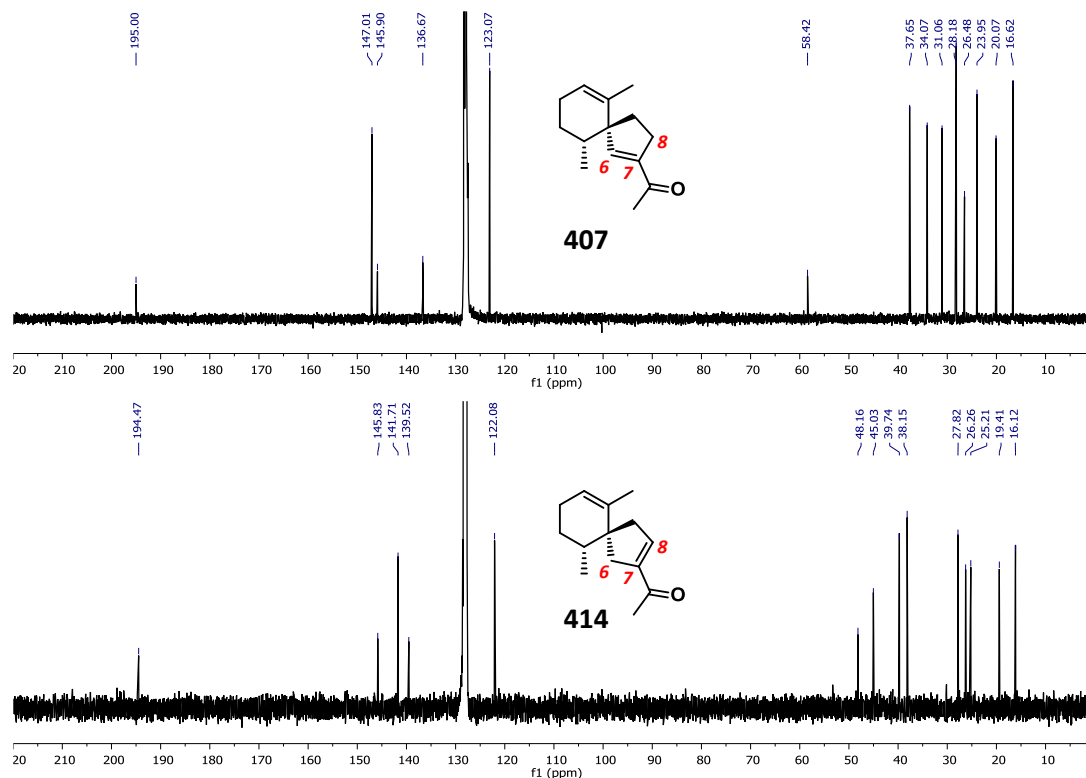


Figure 27. Spectres RMN du  $^{13}\text{C}$  pour la 13-nor-spirovétiva-1(10),6-dién-11-one (**407**) et pour la 13-nor-spirovétiva-1(10),7-dién-11-one (**414**).

En plus de ces deux vétispiranes, on isole pour la première fois deux préziza-7(15)-én-3-ones **426** et **432** (Tableau 24) que Weyerstahl et al. ont supposé être présentes à l'état de trace dans l'essence de Vétiver, sans toutefois les isoler.<sup>21</sup> L'isolement de ces deux prézizanones a été réalisé à partir d'une sous-fraction de F5, qui contenait également les zizanones **425** et **435**. La GC semi-préparative s'est avérée encore une fois l'outil ultime pour la séparation et l'isolement de ces cétones, proches structurellement et dont les indices de rétention sur colonne apolaire (HP-5) sont quasi identiques (Tableau 26). On note également la présence de ces deux cétones **426** et **432** dans l'huile essentielle de Vétiver (voir Va.5). Nous rapportons aussi la présence d'une nouvelle cétone, la 13-nor-éremophila-7,9-dién-11-one (**424**), encore jamais identifiée

dans une source naturelle. Suite à son isolement, il a été possible de noter sa présence parmi les constituants de l'essence de Vétiver (voir Va.5).

Par ailleurs, un grand nombre d'eudesmanes ont été caractérisés. Parmi eux, le composé **422** possède un spectre de masse similaire à celui de **411**, la 13-nor-*cis*-eudesm-6-én-11-one décrit par Weyerstahl et al.<sup>26</sup> D'après les travaux de Weyerstahl, **411** élue entre la khusimone (**413**) et la 13-nor-eudesm-1(10)-én-11-one (**355**) (RI<sub>CP5</sub> 1584–1598).<sup>11</sup> L'analyse GC × GC permet de confirmer que **411** (RI<sub>VF-5</sub> = 1591) se situe dans la zone d'élution de la khusimone (**413**) et que **422** (RI<sub>VF-5</sub> = 1604) élue entre les deux zizanones **425** et **435**. Afin d'identifier **422**, nous avons réalisé son isolement à partir d'une sous-fraction de F5 et sa caractérisation par RMN. Ainsi, **422** a été identifié comme étant la 13-nor-*trans*-eudesm-6-én-11-one. Les déplacements chimiques en RMN du <sup>13</sup>C de **411** et **422** confirment que ces deux composés sont différents (Tableau 25). De plus, le spectre NOESY permet de définir **422** comme étant l'épimère de **411**, se différenciant seulement par l'orientation du proton #5 en jonction de cycle. En plus de **422**, on identifie deux trinor-eudesménones, **399** et **408**, identifiées également pour la première fois dans l'huile essentielle de Vétiver. Isolées de la fraction F6 et de F8, respectivement, ces deux cétones affichent un ion moléculaire à  $m/z = 176$  et éluent de manière similaire aux autres cétones trinor-sesquiterpéniques, **332**, **402** et **403** (Figure 25). Après isolement, on confirme que ces structures sont bien des trinor-eudesménones et possèdent deux insaturations. La cétone **399** est ainsi identifiée comme étant la 11,12,13-trinor-eudesma-4(15),8-dién-7-one et **408** comme étant la 11,12,13-trinor-eudesma-3,5-dién-7-one. Cette fois encore, ces deux molécules n'ont jamais été identifiées dans aucun extrait naturel, elles ont seulement été décrites comme intermédiaire de synthèse.<sup>30,31</sup> Parmi les cétones isolées, nous rapportons également l'identification d'une cétone mineure aromatique (**448**) dont les spectres RMN montrent qu'elle possède un squelette proche des eudesmanes à la différence près que le méthyle #14 migre de la position #10 à la position #9. A notre connaissance, cette molécule n'a jamais été décrite dans la littérature. Cette molécule peut potentiellement être un artefact et provenir d'une réaction secondaire de transposition durant les diverses étapes d'extraction/régénération des carbonylés. En effet, ce composé n'a pas été identifié dans l'huile essentielle de Vétiver.

En plus de ces cétones, nous avons pu isoler et corriger les structures de deux aldéhydes auparavant identifiés comme des spirovétiva-3,7(11)-dién-12-als.<sup>10</sup> De nouveau la GC semi-préparative s'est avérée être un outil performant pour isoler les composés **453** et **454**.

Tableau 25. Déplacements chimiques en RMN du  $^{13}\text{C}$  (en ppm) obtenus pour les cétones et aldéhydes de type eudesmane et oppositane isolées de la fraction carbonylée de l'essence de Vétiver Haïti.

#C	454 <sup>a</sup>	453 <sup>a</sup>	399 <sup>a</sup>	408 <sup>a</sup>	411 <sup>d,e</sup>	422 <sup>a</sup>	428 <sup>a</sup>	436 <sup>e</sup>	439 <sup>a</sup>	448 <sup>a</sup>
1	41,55	41,49	37,68	35,96	40,3	40,11	41,19	39,63	37,62	27,55
2	17,50	17,50	23,09	22,93	21,4	17,82	23,76	23,64	18,39	19,97
3	33,03	32,87	35,51	133,70	36,0	33,06	37,27	35,75	33,73	30,83
4	38,73	38,38	147,69	130,84	36,4	32,78	148,95	147,55	135,44	33,22
5	161,01	157,78	47,57	160,38	50,3	47,82	44,41	60,47	138,49	142,44
6	122,56	118,10	37,47	121,31	144,3	143,10	23,70	37,43	134,51	126,56
7	149,51	151,02	197,80	197,49	137,2	139,28	138,95	160,01	133,78	135,37
8	21,52	25,41	127,08	34,05	21,0	21,84	137,44	28,32	20,70	127,22
9	40,61	39,83	158,99	37,09	27,2	40,22	42,60	39,38	36,76	136,62
10	35,49	35,07	38,04	32,83	31,3	32,74	34,18	44,73	32,16	140,77
11	128,57	129,07	-	-	199,7	197,19	197,02	138,34	199,68	196,63
12	190,29	188,63	-	-	25,3	25,04	25,00	195,62	25,54	26,21
13	10,26	11,04	-	-	-	-	-	9,81	-	-
14	25,28	25,12	16,95	20,75	27,5	19,06	17,48	18,52	19,29	19,75
15	22,79	22,88	107,41	19,21	20,6	15,53	107,67	106,00	23,43	23,11
Ref			[30] <sup>b</sup>	[31] <sup>c</sup>	[26]		[25] <sup>b</sup>	[32] <sup>b</sup>	[25] <sup>b</sup>	

<sup>a</sup> Enregistré dans le benzène- $d_6$ . <sup>b</sup> Données MS et RMN disponibles. <sup>c</sup> Données RMN du  $^1\text{H}$  seulement. <sup>d</sup> Données RMN enregistré par Weyerstahl et al..<sup>26</sup> <sup>e</sup> Enregistré dans le  $\text{CDCl}_3$ .

Néanmoins, l'utilisation de cette technique sur des aldéhydes est souvent compliquée en raison d'une certaine instabilité thermique lors de l'isolement et d'une plus forte sensibilité à l'oxydation (Chapitre IV). La réduction de la température du collecteur de fraction de 230 °C à 210 °C a permis de limiter la dégradation de ces produits. Par conséquent, nous avons pu identifier **453** et **454** comme étant le (*Z*)-eudesma-5,7(11)-dién-12-al et le (*E*)-eudesma-5,7(11)-dién-12-al, respectivement. Ces deux produits n'ont jamais été identifiés jusqu'à présent.

Par la suite, il a été nécessaire de parvenir à quantifier nos échantillons par GC × GC-FID en utilisant les PRRFs afin de fournir leur composition détaillée.



## Va.3.3. Analyse quantitative de la fraction cétonique

Afin d'effectuer l'analyse qualitative et quantitative précise de notre fraction cétonique, nous nous sommes tournés une nouvelle fois vers la GC × GC. Comme observé pour l'ensemble des matières premières, l'analyse GC × GC nous permet d'observer une certaine classification/distribution des analytes sur le chromatogramme 2D. Ainsi, on peut avoir une idée de la fonction chimique de l'analyte et, en s'appuyant sur son spectre de masse, de lui attribuer une masse moléculaire, même si celui-ci est inconnu. Cela s'est avéré extrêmement efficace lors du dosage de l'acétate de vétivéryle (Chapitre Vb). Au total, plus de 84,5 % de l'extrait a été quantifié grâce à cette méthode de dosage. 35 cétones et 14 aldéhydes ont été identifiés, représentant respectivement 66,98 % et 11,27 % de notre échantillon (Tableau 26). Les deux vétivones **450** et **452** sont les constituants principaux de l'extrait (18,15 % et 25,57 % respectivement). Les deux isovalencénals **449** et **451** (2,75 % et 3,82 %), la khusimone (**413**, 3,57 %), la 13-nor-eudesma-4,6-diène-11-one (**439**, 3,54 %), la nootkatone (**437**, 2,49 %) et les deux zizaénones **425** et **435** (2,01 et 1,53 %) sont parmi les composés les plus abondants. Il est à noter que le pourcentage de **425** est légèrement surévalué sachant que cette cétone coélué parfaitement avec la préziza-7(15)-én-3-one (**426**) sur colonne VF-5ms.

Nous identifions également quatre alcools, l'hydroxycalaménène (**421**), le vétisélinénol (**441**), le khusimol (**442**) et le (*E*)-isovalencénol (**447**), qui représentent 3,55 % de notre extrait. La présence de ces alcools est probablement due à une mauvaise séparation lors de la première extraction liquide/liquide. Ces alcools primaires, majoritaires dans l'huile essentielle (voir Va.5), peuvent également avoir une légère affinité avec la phase aqueuse, laquelle doit être plusieurs fois extraite pour n'obtenir que les sels d'imine. En plus de ces alcools, on identifie dans une moindre mesure, la présence de quelques hydrocarbures (0,41 %), tels que l' $\alpha$ -amorphène (**28**), l' $\alpha$ -calacorène (**58**) ou encore l' $\alpha$ -corocalène (**354**). Ces dérivés peuvent être issus de la dégradation de certaines cétones/aldéhydes ou de certains alcools minoritaires présents durant le processus de régénération des dérivés carbonylés en milieu acide.

Tableau 26. Analyse quantitative par GC × GC–FID de l'extrait carbonylé obtenu à partir de l'essence de Vétiver Haïti.

#	RI <sup>a</sup> Calc.	RI Litt.	Composé <sup>b</sup>	Classe Chimique	Famille	MM g/mol	#C	#H	#O	Ph	FRRP	<sup>1</sup> tr (min)	<sup>2</sup> tr (s)	Ext. C. g/100g <sup>c</sup>	Ec. Type	Ident.
142	1425	1407	Acora-3,7(14)-diène <sup>c</sup>	Hydrocarbures	Acoranes	204	15	24	0	0	0,959	25,30	4,98	0,02	0,00	MS,RI
394	1444		105 120 133 175 <b>190</b>	Inconnus		190	14	22	0	0	0,954	26,40	5,37	0,03	0,00	
144	1446	1430	β-Copaène	Hydrocarbures	Copaanes	204	15	24	0	0	0,959	26,50	5,10	0,04	0,01	MS,RI
395	1454		105 121 133 161 175 <b>190</b>	Inconnus		190	14	22	0	0	0,954	27,00	5,36	0,02	0,00	
28	1493	1483	α-Amorphène	Hydrocarbures	Amorphanes	204	15	24	0	0	0,959	29,30	5,27	0,09	0,01	MS,RI
332	1495		11,12,13-trinor-Erémophil-1(10)-én-7-one	Cétones	Erémophilanes	178	12	18	1	0	0,83	29,40	2,56	0,88	0,13	RMN
396	1504		11,12,13-trinor-Spirovétiv-1(10)-én-7-one (tent. MS)	Cétones	Vétispiranes	178	12	18	1	0	0,83	30,00	2,68	0,19	0,02	MS,Ref <sup>f</sup>
397	1511		12,13-dinor-6(7-8)-abeo-Erémophil-1(10)-én-7-one	Cétones	Erémophilanes	192	13	20	1	0	0,845	30,50	1,79	0,11	0,01	MS,RI
398	1513		4-épi-11,12,13-trinor-Spirovétiv-1(10)-én-7-one (tent. MS)	Cétones	Vétispiranes	178	12	18	1	0	0,83	30,60	3,09	0,09	0,01	MS,Ref <sup>f</sup>
399	1514		11,12,13-trinor-trans-Eudesma-4(15),8-dién-7-one	Cétones	Eudesmanes	176	12	16	1	0	0,816	30,70	4,05	0,16	0,02	RMN
400	1528		8α-méthyl-11,12,13-trinor-Erémophil-1(10)-én-7-one	Cétones	Erémophilanes	192	13	20	1	0	0,845	31,70	1,55	0,13	0,01	MS,RI
401	1553		13-nor-cis-Eudesm-6-én-8-one	Cétones	Eudesmanes	206	14	22	1	0	0,857	33,50	0,73	0,08	0,00	MS,RI
58	1557	1544	α-Calacorène	Hydrocarbures	Cadinanes	200	15	20	0	0	0,935	33,80	0,28	0,18	0,03	MS,RI
402	1565		11,12,13-trinor-cis-Eudesm-5-én-7-one	Cétones	Eudesmanes	178	12	18	1	0	0,83	34,40	3,4	0,10	0,01	MS,RI
403	1572		11,12,13-trinor-trans-Eudesm-5-én-7-one	Cétones	Eudesmanes	178	12	18	1	0	0,83	34,90	3,53	0,96	0,02	MS,RI
404	1592		15-nor-Prézizaan-7-one	Cétones	Prézizaanes	206	14	22	1	0	0,857	36,30	0,94	0,20	0,06	MS,RI
405	1594		13-nor-Eudesm-5-én-11-one (épimère B)	Cétones	Eudesmanes	206	14	22	1	0	0,857	36,50	1,07	0,04	0,00	MS,RI
406	1597		Cyclocopacamphan-12-al A+B	Aldéhydes	Cyclocopacamphanes	218	15	22	1	0	0,856	36,70	0,66	0,10	0,03	MS,RI
407	1610		13-nor-Spirovétiva-1(10),6-dién-11-one	Cétones	Vétispiranes	204	14	20	1	0	0,844	37,70	1,4	1,09	0,03	RMN
408	1613		11,12,13-trinor-Eudesma-3,5-dién-7-one	Cétones	Eudesmanes	176	12	16	1	0	0,816	38,00	4,41	1,10	0,02	RMN
409	1617		12-nor-Préziza-7(15)-én-2-one	Cétones	Prézizaanes	204	14	20	1	0	0,844	38,30	1,97	0,06	0,02	MS,RI
410	1617		95 <b>110</b> 149 192 204	Inconnus		204	14	20	1	0	0,844	38,30	2,05	0,16	0,02	
411	1621		13-nor-cis-Eudesm-6-én-11-one	Cétones	Eudesmanes	206	14	22	1	0	0,857	38,60	1,04	0,31	0,02	MS,RI
412	1621		15-nor-Funébran-3-one	Cétones	Funébranes	206	14	22	1	0	0,857	38,60	1,36	0,19	0,05	MS,RI
352	1628		13-nor-Erémophil-9-én-11-one	Cétones	Erémophilanes	206	14	22	1	0	0,857	39,20	1,23	0,18	0,05	Ref <sup>g</sup>
413	1628	1604	Khusimone	Cétones	Zizaanes	204	14	20	1	0	0,844	39,20	1,97	3,57	0,13	RMN
354	1629	1622	α-Corocalène	Hydrocarbures	Cadinanes	200	15	20	0	1	1,008	39,30	0,51	0,10	0,04	MS,RI
355	1634		13-nor-Erémophil-1(10)-én-11-one	Cétones	Erémophilanes	206	14	22	1	0	0,857	39,70	1,32	0,53	0,03	RMN
414	1639		13-nor-Spirovétiva-1(10),7-dién-11-one	Cétones	Vétispiranes	204	14	22	1	0	0,865	40,10	1,77	0,41	0,00	RMN
415	1640		79 91 96 107 119 <b>134</b> 161 176 204	Inconnus		204	14	20	1	0	0,844	40,20	2,03	0,17	0,03	
416	1650		77 105 119 147 <b>189</b> 204	Inconnus		204	14	20	1	0	0,844	41,00	1,76	0,19	0,00	
417	1651		Erémophila-1(10),6-dién-12-al	Aldéhydes	Erémophilanes	218	15	22	1	0	0,856	41,10	0,53	0,09	0,01	MS,RI
418	1651		13-nor-Erémophila-1(10),6-dién-11-one	Cétones	Erémophilanes	204	14	20	1	0	0,844	41,10	1,42	1,06	0,02	RMN
419	1663		α-Funébrén-15-al	Aldéhydes	Funébranes	218	15	22	1	0	0,856	42,10	0,9	0,62	0,10	MS,RI
420	1679		77 91 105 161 <b>189</b> 204	Inconnus		204	14	20	1	0	0,844	43,40	1,71	0,19	0,00	
421	1682		Hydroxycalaménène	Alcools	Cadinanes	218	15	22	1	1	0,922	43,60	0,5	0,19	0,01	MS,RI
422	1685		13-nor-trans-Eudesm-6-én-11-one	Cétones	Eudesmanes	206	14	22	1	0	0,857	43,90	1,03	0,27	0,01	RMN
423	1685		79 91 93 107 <b>122</b> 135 150 164 206 218 (épimère A)	Inconnus		218	15	22	1	0	0,856	43,90	1,45	0,20	0,01	
424	1688		13-nor-Erémophila-7,9-dién-11-one	Cétones	Erémophilanes	204	14	20	1	0	0,844	44,10	1,72	0,63	0,01	RMN
425	1690	1668	Ziza-6(13)-én-3-one <sup>d</sup>	Cétones	Zizaanes	218	15	22	1	0	0,856	44,30	1,22	2,01	0,09	RMN
426	1690		Préziza-7(15)-én-3-one	Cétones	Prézizaanes	218	15	22	1	0	0,856	44,30	1,22			RMN

#	RI <sup>a</sup> Calc.	RI Litt.	Composé <sup>b</sup>	Classe Chimique	Famille	MM g/mol	#C	#H	#O	Ph	FRRP	<sup>1</sup> tr (min)	<sup>2</sup> tr (s)	Ext. C. g/100g <sup>e</sup>	Ec. Type	Ident.
427	1691		Ziza-6(13)-én-12-al	Aldéhydes	Zizaanes	218	15	22	1	0	0,856	44,40	0,87	0,25	0,01	MS,RI
428	1693		13-nor- <i>trans</i> -Eudesma-4(15),7-dién-11-one	Cétones	Eudesmanes	204	14	20	1	0	0,844	44,50	1,83	0,45	0,01	RMN
429	1694		13-nor-4β,5β-Epoxyeudesm-6-én-11-one	Cétones	Eudesmanes	220	14	20	2	0	0,762	44,60	2,19	0,21	0,01	RMN
430	1695		79 91 93 107 <b>122</b> 135 150 164 206 218 (épimère B)	Inconnus		218	15	22	1	0	0,856	44,70	1,51	0,18	0,01	
431	1696		77 91 105 119 <b>161</b> 189 204	Inconnus		204	14	20	1	0	0,844	44,80	1,66	0,11	0,01	
370	1699		Valencén-12-al	Aldéhydes	Erémophilanes	218	15	22	1	0	0,856	45,00	0,66	0,08	0,01	Ref <sup>g</sup>
432	1699		2- <i>épi</i> -Préziza-7(15)-én-3-one	Cétones	Prézizaanes	218	15	22	1	0	0,856	45,00	1,23	0,27	0,03	RMN
433	1705		1,7-Cyclogermacra-1(10),4-dién-15-al	Aldéhydes	Cyclogermacrane	218	15	22	1	0	0,856	45,50	0,58	0,30	0,02	MS,RI
434	1706		Prézizaan-15-al	Aldéhydes	Prézizaanes	220	15	24	1	0	0,868	45,60	0,40	0,27	0,02	MS,RI
435	1708		2- <i>épi</i> -Ziza-6(13)-én-3-one	Cétones	Zizaanes	218	15	22	1	0	0,856	45,80	1,22	1,53	0,06	RMN
436	1715		( <i>E</i> )-Opposita-4(15),7(11)-dién-12-al	Aldéhydes	Oppositanes	218	15	22	1	0	0,856	46,40	0,76	0,86	0,02	RMN
437	1715		2- <i>épi</i> -Ziza-6(13)-én-12-al	Aldéhydes	Zizaanes	218	15	22	1	0	0,856	46,40	0,83	0,28	0,02	MS,RI
438	1718	1702	10-nor-Calaménén-10-one	Cétones	Cadinanes	202	14	18	1	1	0,903	46,70	2,24	0,27	0,00	RMN
439	1727		13-nor-Eudesma-4,6-dién-11-one	Cétones	Eudesmanes	204	14	20	1	0	0,844	47,50	1,50	3,54	0,05	RMN
440	1736		77 <b>94</b> 121 135 162 175 218	Inconnus		218	15	22	1	0	0,856	48,30	0,89	0,35	0,01	
441	1740	1730	Vétisélinéol	Alcools	Eudesmanes	220	15	24	1	0	0,868	48,60	2,04	0,47	0,01	MS,RI
442	1764	1741	Khusimol	Alcools	Zizaanes	220	15	24	1	0	0,868	50,70	2,53	1,48	0,03	MS,RI
443	1765		79 95 <b>107</b> 121 149 159 <b>177</b> 187 220	Inconnus		220	15	24	1	0	0,868	50,80	0,50	0,20	0,01	
444	1767		10- <i>épi</i> -Acora-3,11-dién-15-al	Aldéhydes	Acoranes	218	15	22	1	0	0,856	51,00	1,00	0,93	0,03	RMN
445	1784		69 83 93 107 121 135 149 <b>220</b>	Inconnus		220	15	24	1	0	0,868	52,50	0,70	0,29	0,01	
446	1797		91 105 119 <b>147</b> 175 203 <b>218</b>	Inconnus		218	15	22	1	0	0,856	53,60	0,89	0,19	0,00	
447	1801	1793	( <i>E</i> )-Isovalencénol	Alcools	Erémophilanes	220	15	24	1	0	0,868	54,00	2,05	1,41	0,02	MS,RI
448	1806		1-(4,8-Diméthyl-5,6,7,8-tétrahydronaphthalén-2-yl)éthanone	Cétones	Eudesmanes	202	14	18	1	1	0,903	54,40	2,01	0,15	0,02	RMN
387	1821	1806	Nootkatone	Cétones	Erémophilanes	218	15	22	1	0	0,856	55,70	1,84	2,49	0,05	Ref <sup>g</sup>
449	1827		( <i>Z</i> )-Isovalencénal	Aldéhydes	Erémophilanes	218	15	22	1	0	0,856	56,20	0,83	2,75	0,06	MS,RI
450	1832	1822	β-Vétivone	Cétones	Vétispiranes	218	15	22	1	0	0,856	56,60	1,82	18,15	0,36	RMN
451	1844		( <i>E</i> )-Isovalencénal	Aldéhydes	Erémophilanes	218	15	22	1	0	0,856	57,60	0,97	3,82	0,10	RMN
452	1860	1842	α-Vétivone	Cétones	Erémophilanes	218	15	22	1	0	0,856	59,00	2,01	25,57	0,49	RMN
453	1905		( <i>Z</i> )-Eudesma-5,7(11)-dién-12-al	Aldéhydes	Eudesmanes	218	15	22	1	0	0,856	62,60	1,14	0,51	0,01	RMN
454	1926		( <i>E</i> )-Eudesma-5,7(11)-dién-12-al	Aldéhydes	Eudesmanes	218	15	22	1	0	0,856	63,40	1,01	0,41	0,01	RMN
													Total Cétones	66,98		
													Total Aldéhydes	11,27		
													Total Hydrocarbures	0,43		
													Total Alcools	3,55		
													Total Inconnus	2,28		
													<b>Total</b>	<b>84,51</b>		

<sup>a</sup> Les indices de rétentions (RI) ont été calculés sur colonne VF-5ms par rapport à une série de *n*-alcanes analysée par GC × GC-MS en utilisant une programmation de température du four non-linéaire. <sup>b</sup> Les principaux ions sont donnés pour les composés inconnus (les pics de base sont écrits en gras); tous les composés ont été identifiés sur la base de leur spectre de masse et leur indice de rétention (RI). <sup>c</sup> Nomenclature douteuse. <sup>d</sup> **425** est le composé majoritaire. <sup>e</sup> Le pourcentage massique (g/100g) et l'écart type ont été calculés via des analyses en triplicata. Ext. C. = Extrait cétonique. <sup>f</sup> Identification du composé via une description partielle du spectre de masse. <sup>g</sup> Composé isolé de l'essence de cyprès jaune d'Alaska (voir Chapitre IV).

De façon qualitative, on identifie l'ensemble des cétones et des aldéhydes présents dans l'huile essentielle de Vétiver (Figure 28). L'extraction spécifique des ions du TIC permet d'observer d'autres cétones peu visibles dans l'essence totale, telles que la 12,13-dinor-6(7-8)-*abeo*-éremophil-1(10)-én-7-one (**397**), la 11,12,13-trinor-*trans*-eudesma-4(15),8-dién-7-one (**399**), les cyclopacamphan-12-als A+B (**406**), la 12-nor-préziza-7(15)-én-2-one (**409**), la 13-nor-4 $\beta$ ,5 $\beta$ -époxyeudesm-6-én-11-one (**429**) ainsi que la 10-nor-calaménén-10-one (**438**). Hormis **399** et **438**, toutes ces cétones ont déjà été identifiées par Weyerstahl et al.<sup>11,21</sup> On remarque aussi que sur les deux épimères de la 13-nor-eudesm-5-én-11-one (épimère A et B, **520** et **405**), seule **405** est identifiable dans la fraction cétonique (HE Vétiver ex. Haïti). A contrario, les deux cétones **405** et **520** sont présentes dans l'essence de Vétiver de départ (voir Va.5.). De surcroît, on note un taux plus élevé de 11,12,13-trinor-*trans*-eudesm-5-én-7-one (**403**, 0,96 %) au détriment de son isomère *cis* **402** (0,10 %), alors que dans l'huile essentielle de Vétiver Haïti, **402** est plus abondant que **403** (0,27 % et 0,06 %, respectivement) (voir Va.5). On note également une quantité plus élevée de 11,12,13-trinor-eudesma-3,5-dién-7-one (**408**, 1,10 %) que dans l'huile essentielle. A titre comparatif, le ratio **408/413** dans la fraction cétonique est de  $\sim 0,3$  alors que dans l'huile essentielle de Vétiver, il est de seulement  $\sim 0,1$ . Ce taux anormalement élevé de **408** est vraisemblablement dû à la dégradation d'un produit durant l'extraction. Ces conversions sont probablement induites par les différentes conditions réactionnelles appliquées durant l'extraction des dérivés carbonyles de l'huile essentielle. Toutefois, on ne note pas de différence quantitative importante parmi les autres constituants.

Ainsi, la finalité de cette étude a été d'entreprendre l'étude olfactométrique de cet extrait via l'utilisation de la GC–O et GC–O/MS.

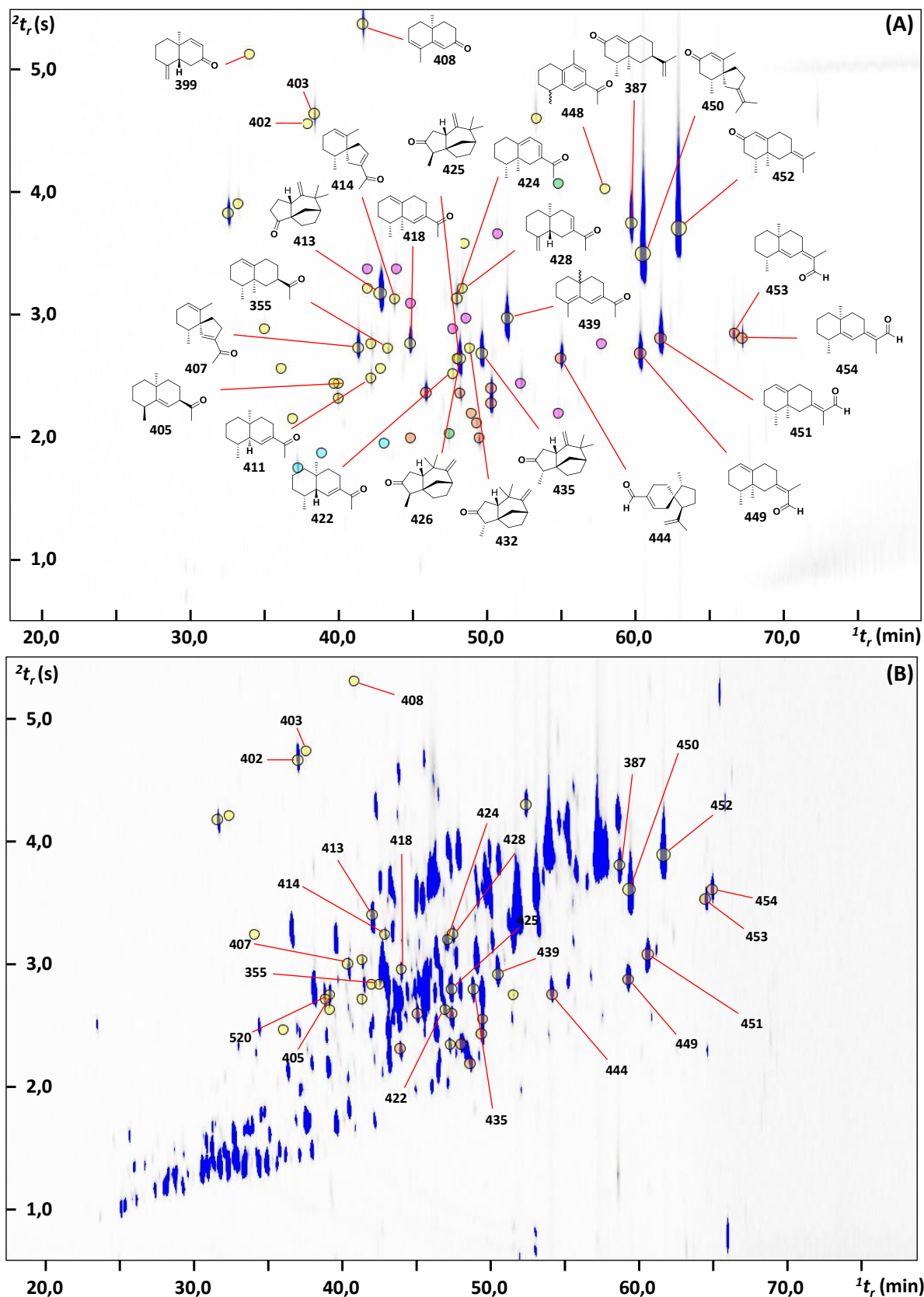


Figure 28. Analyse GC × GC–MS pointant les différents dérivés carbonyles identifiés à la fois dans notre extrait carbonyle (A) et dans l’huile essentielle de Vétiver (B). Les cétones apparaissent sous forme de cercle jaune et les aldéhydes de cercle orange.

## Va.3.4. Analyse olfactométrique des dérivés carbonylés

Nous avons opté pour une analyse AEDA classique de notre extrait afin de déterminer quelles sont les notes qui contribuent le plus à l'odeur globale de l'extrait. Connaissant la composition chimique de notre fraction cétonique, nous avons également pour objectif d'identifier par GC-MS/O quels sont les dérivés carbonylés odorants. Enfin, le croisement des données recueillies pour l'huile essentielle de Vétiver<sup>3</sup> et celles que nous venons d'obtenir, nous permettra de confirmer que l'odeur si caractéristique du Vétiver est apportée par plusieurs dérivés carbonylés. Le Tableau 27 résume l'ensemble des résultats olfactométriques ainsi obtenus.

En appliquant un protocole AEDA (solution de départ 25 mg/mL), plus de 29 zones odorantes distinctes ont été perçues par trois panélistes. Toutefois, seules 21 zones communes ont finalement été sélectionnées. L'analyse olfactive a révélé plusieurs odeurs différentes telles que des notes florales, marines, d'agrumes, de bois de santal et de vétiver. L'analyse par GC-MS/O des différentes fractions et des composés isolés a confirmé que les deux ziza-6(13)-én-3-ones **425** et **435** sont les dérivés les plus puissants de notre extrait (**425**,  $\log_2(\text{FD})$  9,0 et **435**,  $\log_2(\text{FD})$  11,0) et possèdent une odeur puissante et caractéristique de vétiver.<sup>3</sup> En plus de ces deux zizaénones, on confirme que les deux vétivones ont un pouvoir olfactif puissant et possèdent des notes de type pamplemousse pour la  $\beta$ -vétivone (**450**) ( $\log_2(\text{FD})$  8,0) et de rose/citron vert pour l' $\alpha$ -vétivone (**452**) ( $\log_2(\text{FD})$  10,0). On confirme que la khusimone (**413**,  $\log_2(\text{FD})$  4,3) a une odeur vétiver prononcée, proche des deux zizaénones **425** et **435**. De même, la ziza-6(13)-én-12-al (**427**,  $\log_2(\text{FD})$  1,3) possède une note vétiver mais moins intense que les autres dérivés zizaanes. En plus de ces composés, on attribue à la 13-nor-spirovétiva-1(10),6-dién-11-one (**407**,  $\log_2(\text{FD})$  6,3), nouvellement décrite, une odeur intense de framboise et de violette. Cette odeur a également été perçue lors de l'analyse olfactive de l'huile essentielle de Vétiver,<sup>3</sup> sans pour autant être identifiée. Il est à noter que son isomère, la 13-nor-spirovétiva-1(10),7-dién-11-one (**414**), n'est pas odorante pour les trois panélistes.

Parmi les zones odorantes, les notes de cuir, de clou de girofle et de vanille en début de chromatogramme résultent de la présence résiduelle de dérivés phénoliques présents dans l'extrait. L'attribution a été réalisée par co-injection de composés de référence, les temps et les odeurs correspondent parfaitement aux notes décrites lors de l'étude olfactive de l'extrait carbonylé. De la même façon, la note de bois de santal à RI = 1772 provient de la présence d'*(E)*-isovalencénol (**447**) dans notre échantillon final. Son odeur a déjà été rapportée durant l'investigation de l'huile essentielle totale.<sup>3</sup>

Tableau 27. Contribution relative déterminée par expérience AEDA (solution de départ 25 mg/mL) des différents composés d'impact olfactifs détectés dans la fraction carbonylée du Vétiver Haïti.

#	R.I. <sup>a</sup> DB-5	R.I. Litt. <sup>b</sup>	Composé <sup>b</sup>	Description Odeur	Log <sub>2</sub> (FD) <sup>c</sup>				Réf <sup>e</sup>
					P1	P2	P3	M.A. <sup>d</sup>	
1	1096	1087	Guaiacol	Cuir, fumée	2	1	1	1,0	Réf
2	1105		Inconnu	Ail	1	2	-	1,5	
3	1210		Inconnu	Riz chaud, métallique	2	3	1	1,8	
4	1350	1356	Eugénol	Clou de girofle	2	1	1	1,3	Réf
5	1395	1393	Vanilline	Vanille	1	1	1	1,0	Réf
6	1433	1448	( <i>E</i> )-Isoeugénol	Clou de girofle	6	-	2	3,0	Réf
7	1455		Inconnu	Crémeuse, aneth	3	3	6	4,0	
8	1505		Inconnu	Framboise, violette	1	-	1	1,0	
9	1584		Cyclocopacamphanal (épimère inconnu)	Marine, typique calone	3	3	3	2,8	
10	1596		13-nor-Spirovétiva-1(10),6-dién-11-one	Violette, fleurie	9	4	6	6,3	Réf
11	1612	1604	Khusimone	Vétiver	4	4	5	4,3	Réf
12	1637		Inconnu	Lait, crémeuse	0	1	-	0,7	
13	1653		Ziza-6(13)-én-12-al	Vétiver	1	2	-	1,3	
14	1674	1668	Ziza-6(13)-én-3-one	Vétiver	10	9	8	9,0	Réf
15	1695		2-épi-Ziza-6(13)-én-3-one	Vétiver	11	11	11	11,0	Réf
16	1703		Inconnu	Marine	3	3	2	2,5	
17	1741		Inconnu	Cuir, fumée	1	-	0	0,3	
18	1772	1793	( <i>E</i> )-Isovalencénol (trace)	Bois de Santal	3	6	5	3,8	Réf
19	1807	1806	Nootkatone	Pamplemousse, acidulée	6	5	7	6,0	Réf
20	1833	1822	β-Vétivone	Pamplemousse, fruitée	8	8	8	8,0	Réf
21	1847	1842	α-Vétivone	Rosée, citrus	10	10	10	10,0	Réf

<sup>a</sup> Indices de rétention (RI) calculés pour une série de *n*-alcane en C7–C24. <sup>b</sup> Les composés ont été identifiés sur la base de leur spectre de masse et de leur indice de rétention (RI)<sup>33</sup> et lorsque c'était possible par co-injection de composés de référence, commerciaux ou isolés. <sup>c</sup> Le protocole AEDA a été mené par trois panélistes afin d'évaluer les constituants d'impact olfactifs de l'extrait. <sup>d</sup> Log<sub>2</sub>(FD) et la moyenne arithmétique (M.A.) sont donnés lorsque l'odeur est perçue par au moins 2 panélistes sur 3. <sup>e</sup> Ref: Composés de référence.

En plus de cette étude, nous avons également cherché à comprendre les différences de perception des différents panélistes observées pour l'α-vétivone (**452**) lors de l'étude précédente.<sup>3,22</sup> Les divergences sur l'odeur de cette molécule pourraient en partie expliquer les nombreuses controverses liées aux molécules d'impact olfactives du Vétiver. Afin de donner une réponse concrète à ces divergences, une étude olfactive centrée sur ces deux vétivones a été réalisée. Dans un premier temps, il a été nécessaire d'isoler les deux vétivones. Seule, l'α-vétivone (**452**) a été synthétisée à partir de la nootkatone (**387**). Afin de procéder à une étude statistique représentative de la population, un panel de 32 évaluateurs a été mobilisé comprenant 17 hommes et 15 femmes (Figure 29). Pour cette première étude, nous avons sélectionné la fraction F9 qui contenait seulement les deux vétivones **450** et **452**, en quantité quasi équivalente. Afin d'avoir des résultats précis, le mélange a été quantifié par étalonnage interne en utilisant du tridécane comme étalon interne.

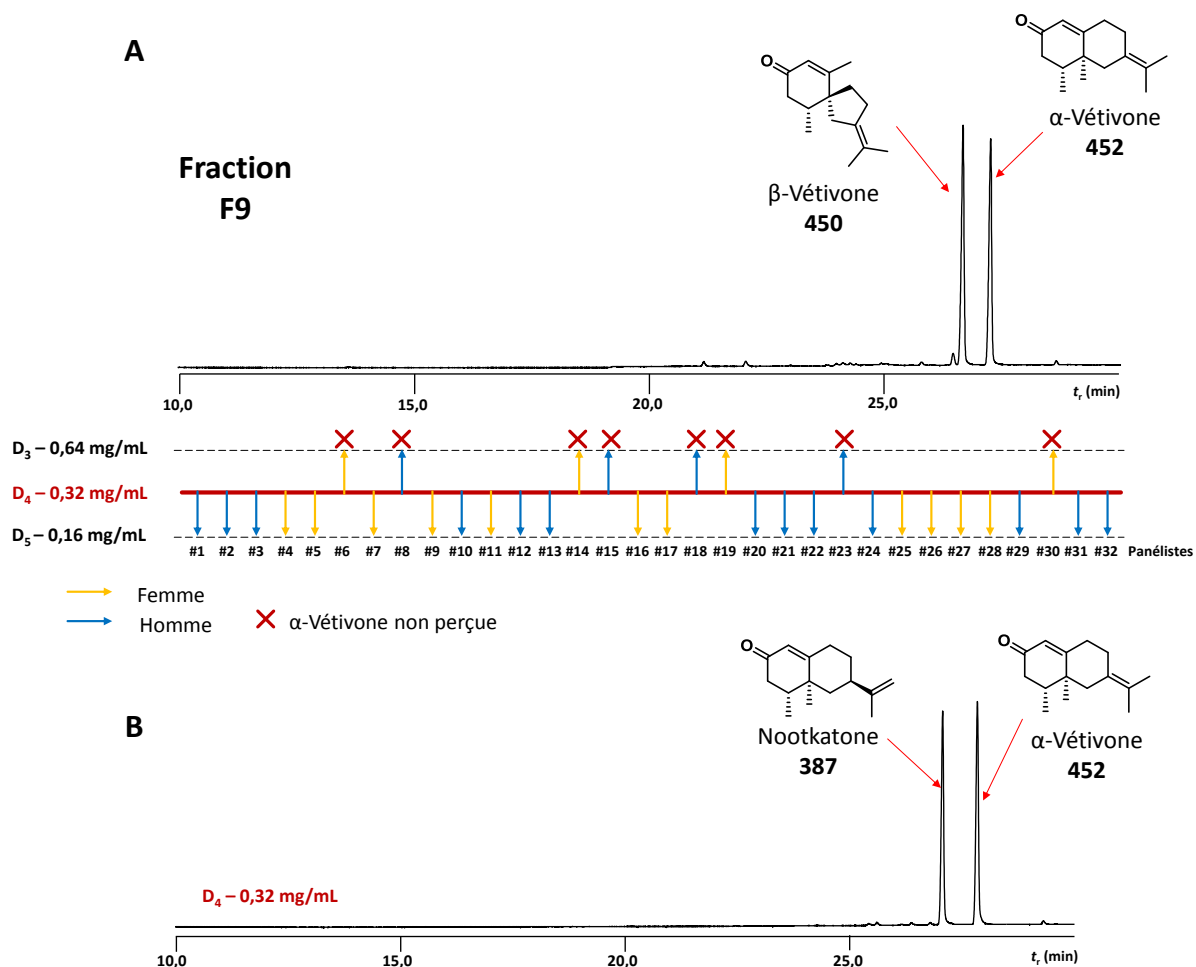


Figure 29. (A) Chromatogramme GC–FID/O d’un mélange  $\beta$ -vétivone (450) et  $\alpha$ -vétivone (452) utilisé pour l’évaluation olfactive. Première évaluation à D<sub>4</sub> (0,32 mg/mL) pour les trente-deux panélistes. Les huit panélistes anosmiques ont été ensuite soumis à l’évaluation de la D<sub>3</sub> (0,64 mg/mL), les autres panélistes à la D<sub>5</sub> (0,16 mg/mL). (B) Chromatogramme GC–FID/O d’un mélange utilisé pour l’évaluation olfactive de l’ $\alpha$ -vétivone (452) versus la nootkatone (387).

De plus, en supposant que les cétones sesquiterpéniques répondent d’une façon similaire au tridécano, nous avons utilisé le facteur de réponse relatif mesuré de la nootkatone (387) pour réaliser notre étude.<sup>10</sup> Ainsi, nous avons préparé une solution de F9 à 5,10 mg/mL dans le MTBE, donnant une concentration massique pour les deux vétivones proche de leur concentration initiale durant notre étude AEDA. La solution mère (D0) ainsi créée a été diluée cinq fois consécutives par un facteur deux, donnant ainsi six solutions (D0 5,1 mg/mL à D5 0,16 mg/mL). Il est à noter que le panel de trente-deux évaluateurs n’a pas été entraîné à l’évaluation des odeurs par GC–O. Cependant, notre étude repose principalement sur la détection de l’odeur (détectée ou non détectée), la description de l’odeur n’étant que secondaire. En premier lieu, les panélistes ont évalué la solution D4 (0,32 mg/mL), laquelle a été jugée, par nos soins, comme la plus significative pour débiter cette étude (odeur perceptive



et pic bien résolu). Sur l'ensemble des trente-deux panélistes, huit n'ont pas détecté l' $\alpha$ -vétivone (**452**) dans la solution D4. Afin de s'assurer de ces résultats, les huit panélistes ont été ensuite soumis à l'analyse d'une solution deux fois plus concentrée (D3, 0,64 mg/mL) et les vingt-quatre autres évaluateurs ont analysé une dilution deux fois moins concentrée (D5, 0,16 mg/mL). On peut conclure de cette étude qu'à ces deux concentrations testées les huit panélistes montrent une totale anosmie à l' $\alpha$ -vétivone (**452**). Les vingt-quatre autres juges détectent, de façon unanime, **452** dans les solutions D4 et D5. On note que la  $\beta$ -vétivone (**450**) est détectée par l'ensemble des panélistes.

Afin de mieux appréhender ce phénomène, nous avons soumis aux huit panélistes anosmiques un autre mélange constitué de la nootkatone (**387**) et de l' $\alpha$ -vétivone (**452**). La nootkatone a été choisie en raison d'une structure très proche de **452** et a toujours été perçue par les panélistes (Chapitre IV). Pour préparer ce mélange, l' $\alpha$ -vétivone (**452**) a été synthétisée par isomérisation de la nootkatone (**387**) en condition acide (voir Partie Exp. Va). A partir d'un mélange égal de **387** et **452**, nous avons réalisé une solution mère (D0 à 2,5 mg/mL) que nous avons dilué cinq fois par un facteur deux afin d'obtenir six solutions (D0, 2,5 mg/mL à D5, 0,08 mg/mL). Les évaluateurs ont été soumis à l'évaluation olfactive de la solution D4 (0,16 mg/mL). Comme attendu, aucun des huit juges n'a détecté la présence de l' $\alpha$ -vétivone (**452**) mais tous ont perçu l'odeur de la nootkatone (**387**).

Ainsi, ces résultats révèlent qu'un quart des panélistes possède une totale anosmie à l' $\alpha$ -vétivone (**452**). On remarque que l'anosmie n'est pas spécifique au sexe de l'évaluateur. En effet, sur les quinze juges féminins et les dix-sept masculins, quatre hommes et quatre femmes montrent une anosmie à l' $\alpha$ -vétivone. Il est à noter également la spécificité des récepteurs olfactifs, puisqu'une légère modification de la structure initiale, dans notre cas la position de la double liaison sur le groupement isopropyle, peut déclencher/annihiler une perception sensorielle. Ainsi, nous pouvons affirmer que les divergences sur la contribution olfactive des vétivones proviennent probablement d'une anosmie des évaluateurs.

De façon similaire, au cours de notre étude organoleptique sur les dérivés carbonylés, nous avons déterminé que les deux préziza-7(15)-én-3-ones **426** et **432**, nouvellement identifiées dans l'essence de Vétiver, possèdent aussi une odeur vétiver similaire à leurs homologues, les ziza-6(13)-én-3-ones **425** et **435**. Néanmoins, l'évaluation olfactive de **426** et **432** a été réalisée via une analyse basique par GC-O/FID, directement sur le composé isolé par GC semi-préparative, sans connaître la concentration réelle de l'analyte dans la solution

analysée. Sachant que ces nouvelles cétones **426** et **432** ont des structures proches, des odeurs similaires et des indices de rétention sur colonne apolaire proches des zizaénones **425** et **435**, il a été opportun de comparer le pouvoir olfactif de ces quatre cétones et de s'assurer que les zizaénones **425** et **435** sont les molécules d'impact olfactives de l'essence de Vétiver.

Afin de réaliser cette étude, il a été nécessaire d'optimiser nos conditions analytiques afin de séparer au mieux les quatre cétones. Eluant de façon similaire sur colonne apolaire (HP-5) et sur colonne polaire, **425** et **426** sont mieux séparées sur colonne chirale et sur colonne apolaire HP-1 (Figure 30). Cependant, nous avons obtenu une meilleure résolution en un temps d'analyse plus court sur colonne énantiosélective. Avant l'étude, nous avons analysé les quatre références sur cette colonne chirale afin de déterminer l'élution de chaque cétone sur le chromatogramme. Ainsi, alors que les quatre cétones éluent de la même façon sur colonne polaire et sur colonne apolaire HP-5 (Figure 30), on observe que **426** élue avant **425** sur colonne HP-1. Encore plus surprenant, l'ordre d'élution est complètement modifié sur colonne chirale. En effet, **432** élue en premier, suivi de **425**, puis de **426** et enfin **435**.

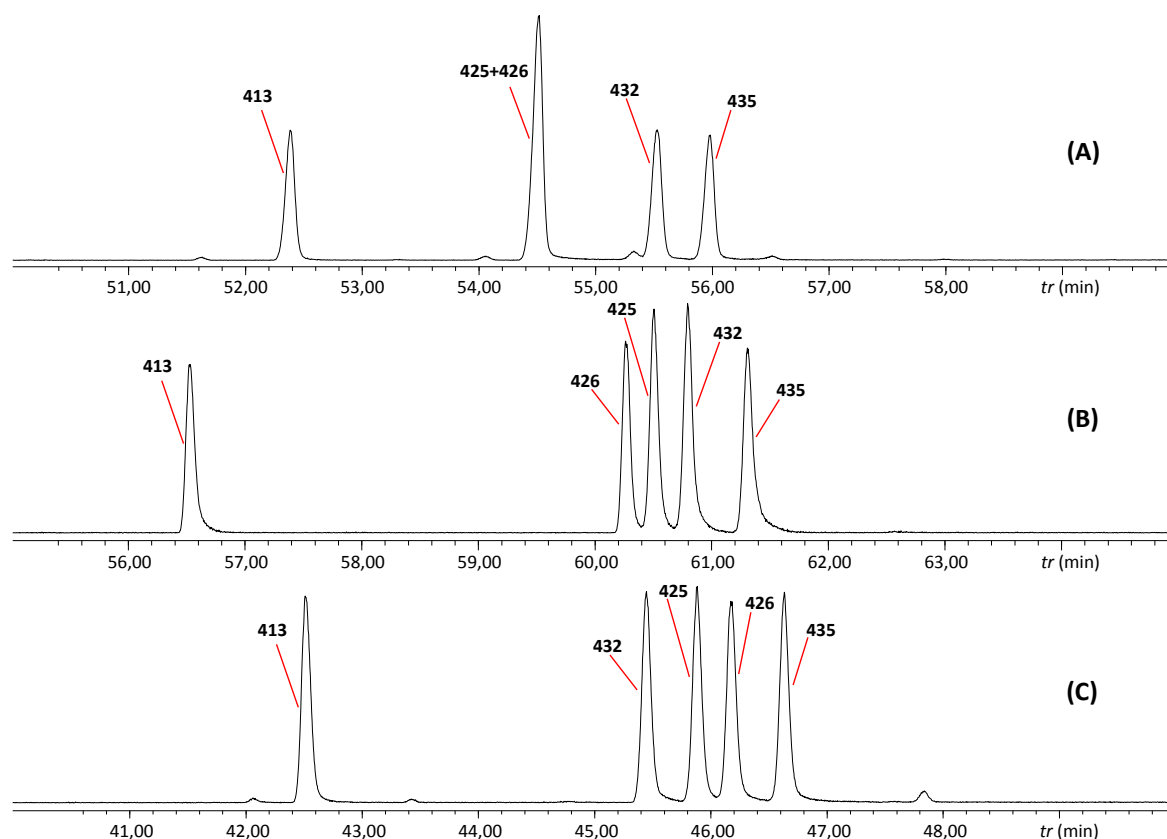


Figure 30. Chromatogrammes GC-FID obtenus sur différentes phases stationnaires d'un mélange contenant les deux zizanones **425** et **435**, les deux prézizanones **426** et **432** et la khusimone (**413**). (A) Chromatogramme enregistré sur colonne polaire (Wax), (B) chromatogramme enregistré sur colonne apolaire (HP-1ms) et (C) chromatogramme enregistré sur colonne chirale et validé pour l'évaluation olfactive du mélange.

Dans une seconde étape, il a fallu faire un mélange quasi-équivalent de ces quatre cétones et d'une cétone de référence, la khusimone (**413**, odeur vétiver). L'isolement des cinq cétones par GC semi-préparative nous a permis de réaliser ce mélange. Ce dernier a été réalisé par ajout successif de chaque cétone et suivi par GC-FID en mesurant l'air de chaque pic sur colonne chirale (Figure 30C). L'étude olfactive a été réalisée par cinq panélistes en GC-O/MS.

A partir de ce mélange, nous avons dilué la solution mère 8 fois par un facteur deux afin d'obtenir 9 solutions (D0 à D8). Il ressort de cette étude que les deux ziza-6(13)-én-3-ones **425** et **435** ont un pouvoir olfactif extrêmement puissant, comparativement aux deux préziza-7(15)-én-3-ones **426** et **432** (Tableau 28). Tous les panélistes perçoivent les zizaénones **425** et **435** comme étant les plus puissantes. Tandis que les prézizaénones **426** et **432** ne sont généralement plus perçues après 1, voire 2 dilutions. De plus, on note qu'à concentration équivalente la 2-épi-ziza-6(13)-én-3-one (**435**) est 2 à 4 fois plus puissante que son épimère **425** et que les zizaénones ont un pouvoir odorant 4 à 16 fois supérieur à la khusimone (**413**). Cette dernière est plus odorante que les deux prézizaénones **426** et **432**. Ainsi, bien que les prézizaénones **426** et **432** développent des notes de vétiver, les ziza-6(13)-én-3-ones **425** et **435** et la khusimone (**413**) restent les composés odorants type vétiver les plus importants.

Tableau 28. Protocole AEDA du mélange zizaénones **425** et **435**, prézizaénones **426** et **432** et khusimone (**413**)

	Paneliste 1 (LT)	Paneliste 2 (JJF)	Paneliste 3 (SL)	Paneliste 4 (AC)	Paneliste 5 (LDD)
Khusimone ( <b>413</b> )	D2	D3	D2	D1	D1
2-épi-Prézizaénone ( <b>432</b> )	D0	D2	D0	D1	-
Zizaénone ( <b>425</b> )	D4	D5	D5	D3	D3
Prézizaénone ( <b>426</b> )	D0	D0	D0	D1	D1
2-épi-Zizaénone ( <b>435</b> )	D6	D7	D6	D5	D5

En conclusion, nous avons pu extraire de façon sélective les dérivés carbonylés de l'huile essentielle de Vétiver Haïti. Nous avons réalisé l'étude qualitative et quantitative de l'extrait obtenu. Ces résultats nous ont permis de confirmer la puissance olfactive des zizaénones et des vétivones. Nos travaux mettent en lumière la présence d'une anosmie pour l' $\alpha$ -vétivone (**452**) au sein de la population, laquelle est probablement à l'origine des différentes contradictions et désaccords au sujet de l'importance olfactive des vétivones dans l'essence de Vétiver. On identifie également neuf nouveaux constituants dans cette fraction dont 8 sont clairement identifiés dans l'huile essentielle de Vétiver (voir Va.5). Parmi ces composés, la 13-

nor-spirovétiva-1(10),6-dién-11-one (**407**) a été définie comme ayant une odeur de framboise et de violette.

Afin d'être le plus complet possible sur la composition chimique de l'essence de Vétiver, nous nous sommes intéressés ensuite à l'isolement des molécules encore inconnues, et plus particulièrement, à l'identification des alcools tertiaires.

#### Va.4. Etude des fractions alcooliques de l'huile essentielle de Vétiver

De nombreuses études ont été menées sur l'huile essentielle de Vétiver. Toutefois, donner une composition chimique détaillée de cette essence est un véritable défi. Il existe une complexité moléculaire importante, que ce soit en termes de fonction chimique ou de variabilité des squelettes sesquiterpéniques. La première étude quantitative, menée par notre équipe, sur les huiles essentielles de Vétiver<sup>10</sup> a conduit à la détection de plus de 500 composés via une analyse par GC × GC (S/N > 10). Bien que cette technique analytique permette d'obtenir une sélectivité et une résolution des pics plus importantes que la GC conventionnelle, on peut remarquer que plusieurs constituants sont coélus, notamment dans la zone des alcools tertiaires (Figure 24). Ainsi, dans la continuité de cette étude, nous nous sommes intéressés à l'isolement et à la caractérisation des alcools tertiaires du Vétiver. Cette étude s'est appuyée sur les résultats analytiques précédents mais aussi sur les analyses des autres matières premières étudiées durant cette thèse.

Afin d'isoler et de caractériser les molécules encore inconnues, nous avons procédé au fractionnement d'une huile essentielle de Vétiver Haïti sur colonne de gel de silice en appliquant un gradient de polarité croissant (100 % E.P. à 50:50, E.P./Et<sub>2</sub>O, voir Partie Exp.). Ce fractionnement a conduit à la formation de 12 fractions, dont la fraction F6 était celle contenant le plus d'alcools inconnus. Ensuite, nous avons procédé à un nouveau fractionnement de F6 sur colonne de gel de silice, cette fois-ci imprégné au nitrate d'argent, créant ainsi quatre sous-fractions. Lorsqu'elles étaient suffisamment enrichies en composés inconnus, les sous-fractions ont ensuite été exploitées par GC semi-préparative afin de tenter l'isolement des composés ciblés. Ainsi, nous avons isolé quinze composés, dont neuf n'ont jamais été décrits dans l'essence de Vétiver. Les descriptions des déplacements chimiques en RMN du <sup>13</sup>C des différents composés sont données en Tableau 29 et Tableau 30.

Sur l'ensemble des composés isolés, on confirme la présence du *cis*-eudesm-6-én-11-ol (**518**), du *trans*-eudesm-6-én-4 $\beta$ -ol (**535**), du juniper camphor (**122**) et du *trans*-eudesma-4(15),7-dién-3 $\beta$ -ol (**550**) dans l'huile essentielle.<sup>4,11</sup> Il est à noter que le *cis*-eudesma-6,11-diène (**488**) a été directement isolé par GC semi-préparative à partir de la décomposition thermique de **518** dans l'injecteur. En plus de ces eudesmanes, on identifie et isole un alcool à squelette guaiane identifié dans l'essence de Patchouli, le guai-11-én-10 $\beta$ -ol également appelé pogostol (**255**) (Chapitre III). La comparaison des spectres RMN <sup>1</sup>H enregistrés dans le benzène-*d*<sub>6</sub> obtenus pour **255**, isolé de l'essence de Vétiver et de Patchouli, permet de confirmer l'identité de la molécule (Figure 31).

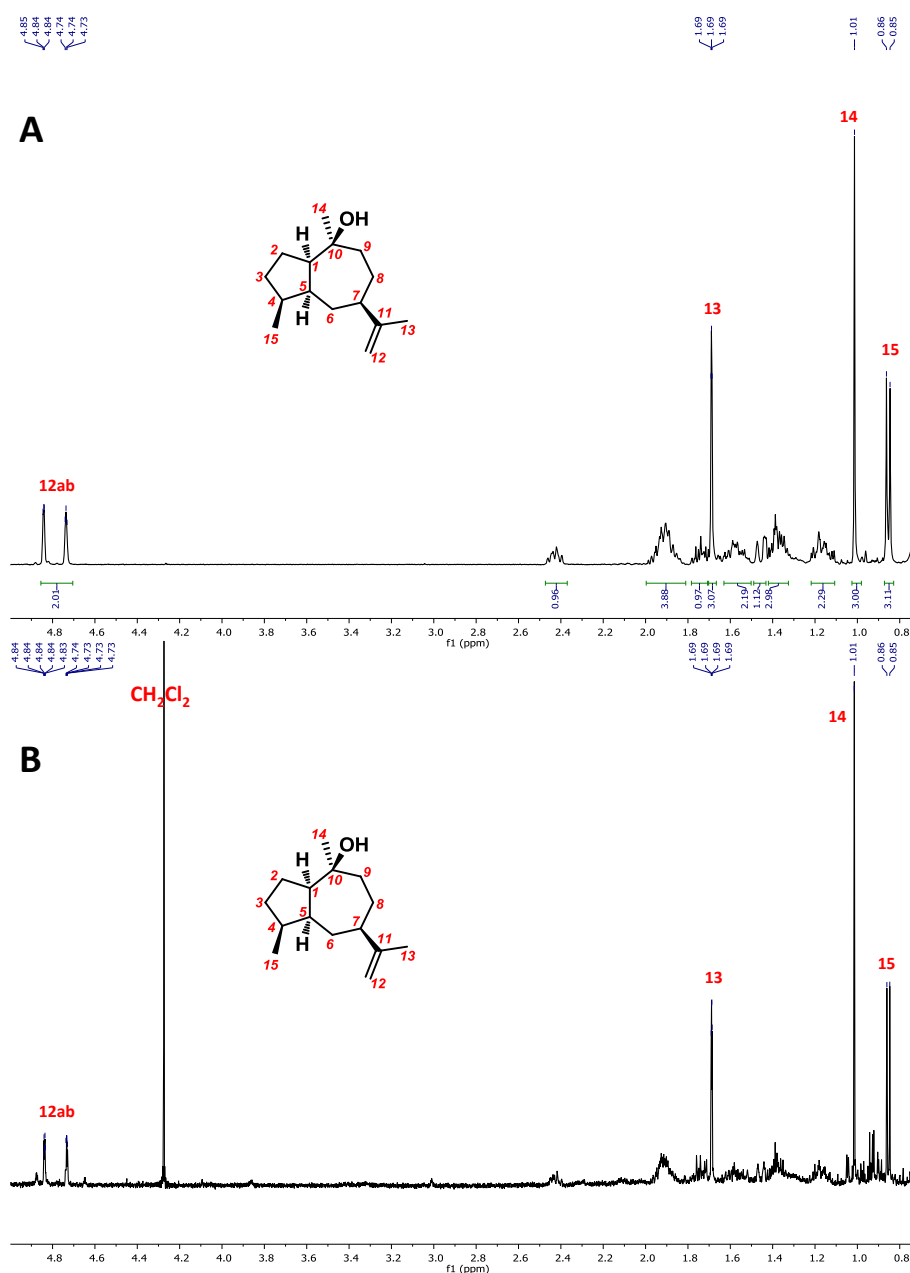


Figure 31. Comparaison des spectres RMN du <sup>1</sup>H obtenus pour le pogostol (**255**) isolé de l'essence de Patchouli (A) et isolé de l'essence de Vétiver (B).

Le pogostol (**255**) a déjà été reporté dans l'essence de Vétiver par Weyerstahl et al.<sup>21</sup> Cependant, la structure doit être corrigée et remplacée par celle décrite par van Beek et Joulain<sup>35</sup> et que nous validons durant notre étude sur l'essence de Patchouli (Chapitre III).

Tableau 29. Déplacements chimiques en <sup>13</sup>C (en ppm) des eudesmanes et éremophilanes isolés de l'essence de Vétiver.

#C	488 <sup>a</sup>	518 <sup>a</sup>	524 <sup>a</sup>	535 <sup>a</sup>	538 <sup>a</sup>	550 <sup>a</sup>	122 <sup>a</sup>	562 <sup>a</sup>	568 <sup>a</sup>
1	41,10	41,24	41,92	39,75	41,92	35,21	41,37	120,50	135,74
2	22,08	22,12	18,02	20,79	24,04	30,16	20,59	26,16	125,52
3	36,32	36,35	31,93	43,52	37,58	73,69	43,98	27,00	32,84
4	36,92	37,17	36,17	71,60	150,29	152,42	71,54	41,72	31,76
5	50,24	49,41	149,86	54,44	45,26	39,66	55,64	38,24	42,19
6	128,48	122,13	119,68	118,48	24,83	26,07	25,06	47,92	35,35
7	143,89	142,10	143,19	143,07	143,12	141,96	132,05	73,20	129,03
8	23,81	22,46	114,48	23,68	116,77	117,17	25,98	38,38	25,71
9	28,35	28,55	41,76	41,01	42,16	42,00	45,67	31,12	37,84
10	31,71	31,65	34,08	33,85	34,35	34,52	34,92	143,02	73,32
11	134,58	72,40	71,30	35,35	72,34	35,50	120,59	149,35	121,53
12	110,40	29,54	29,50	22,05	29,28	21,92	20,29	110,95	20,56
13	21,03	29,51	29,30	21,80	29,28	21,52	20,26	19,43	20,20
14	27,86	27,77	23,69	17,82	17,41	16,73	18,22	18,06	15,26
15	21,03	21,01	24,73	22,55	106,86	109,13	22,32	16,00	16,18
Ref	[26] <sup>b</sup>	[26] <sup>b</sup>	[36] <sup>b</sup>	[38] <sup>b</sup>	[39] <sup>b</sup>	[21] <sup>c</sup>	[40] <sup>b</sup>	[37] <sup>d</sup>	

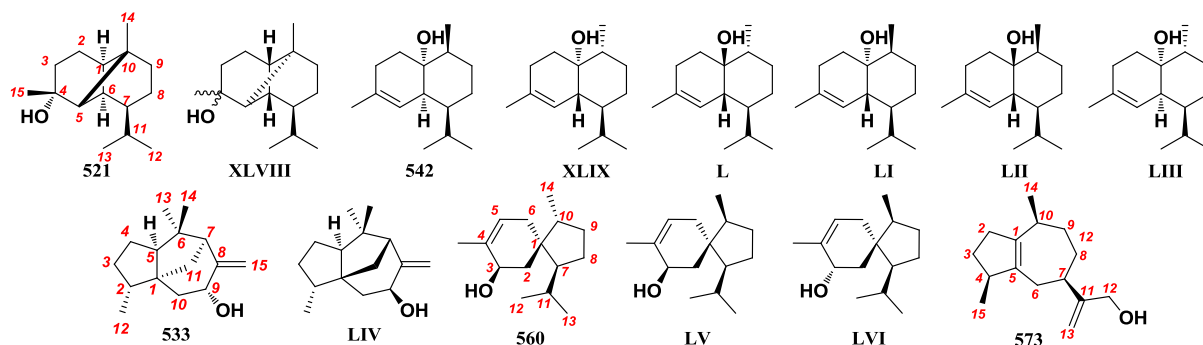
<sup>a</sup> Enregistré dans le benzène-*d*<sub>6</sub>. <sup>b</sup> Données RMN et MS disponibles. <sup>c</sup> Données RMN du <sup>1</sup>H et MS disponibles. <sup>d</sup> Données RMN du <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C disponibles.

A partir de la fraction F6, plusieurs nouveaux composés, éluant dans la zone des alcools tertiaires, ont été isolés (Figure 24). Eluant entre **518** et **535**, le composé **524** a été rapidement caractérisé par RMN comme étant l'eudesma-5,7-diène-11-ol. Cette molécule, également connue sous le nom de gynuradiénol, fut à l'origine identifiée dans un extrait au solvant des racines de *Gynura bicolor*.<sup>36</sup> Le composé **538**, qui partage avec **524** le même squelette eudesmane et la même masse moléculaire à  $m/z = 220$ , a été identifié par RMN comme étant le *trans*-eudesma-4(15),7-diène-11-ol, jamais encore identifié dans l'essence de Vétiver. En plus de ces deux eudesménols, on isole et identifie un dérivé alcoolique à squelette éremophilane. Sur le spectre de masse du composé **562** aucun ion moléculaire n'est visible. Cependant, la

combinaison des spectres RMN et la présence d'un pic de base important à  $m/z = 202$  permet de rapidement identifier **562** comme l'érémosphila-1(10),11-dién-7 $\beta$ -ol. Ce composé, que l'on nomme valencén-7 $\beta$ -ol, a été identifié dans un extrait au solvant des racines de *Ligularia cyathiceps*.<sup>37</sup> En plus de **562**, un autre érémosphilane jamais identifié dans l'essence de Vétiver, a été isolé. Coéluant avec la 2-épi-préziza-7(15)-én-3-one (**432**), **568** a été identifié par RMN comme étant l'érémosphila-1,7(11)-dién-10 $\alpha$ -ol, jamais encore décrit dans la littérature.

Sachant que l'huile essentielle de Vétiver est composée d'une multitude de sesquiterpènes différents,<sup>4,10</sup> il n'a pas été étonnant d'identifier des alcools tertiaires ayant des squelettes de type ylangane, funébrane, acorane, guaiane ou encore amorphe.

Tableau 30. Déplacements chimiques RMN du <sup>13</sup>C (en ppm) d'alcools sesquiterpéniques isolés de l'essence de Vétiver.



#C	521 <sup>a</sup>	XLVIII	542 <sup>a</sup>	XLIX	L	LI	LII	LIII	533 <sup>a</sup>	LIV	560 <sup>a</sup>	LV	LVI	573
1	49,31	39,2	72,43	70,7	72,7	72,4	72,2	71,8	56,66	54,92	46,95	45,0	46,3	141,02
2	24,89	19,0	34,32	32,1	26,8	34,5	27,8	35,1	36,67	41,68	38,53	32,3	34,3	36,73
3	32,50	18,2	29,70	30,2	31,2	29,6	31,3	29,9	36,96	36,76	68,98	68,7	69,2	31,52
4	73,83	69,2	134,87	135,1	133,8	134,4	133,6	134,7	19,91	25,88	135,68	135,6	135,1	46,94
5	50,82	49,0	121,61	119,8	122,2	120,4	123,3	121,1	59,71	57,08	123,59	125,1	124,6	138,82
6	41,46	41,4	45,22	46,0	42,0	44,9	41,7	45,6	34,14	42,30	31,61	35,3	38,1	34,32
7	44,87	41,0	42,08	39,9	49,3	42,5	49,0	42,7	63,58	60,42	51,95	59,9	57,0	42,53
8	22,43	22,8	23,54	26,8	22,0	30,6	19,0	26,8	155,30	154,14	23,58	26,5	26,2	32,07
9	38,38	19,8	29,68	24,1	24,1	26,2	28,5	31,0	67,81	70,13	31,92	28,9	30,7	34,10
10	40,34	41,4	39,84	39,8	48,1	30,4	37,1	30,9	44,88	44,95	40,99	46,6	46,2	34,05
11	32,95	20,4	29,27	25,9	26,9	28,6	27,7	28,9	35,65	45,01	28,11	30,2	29,1	156,10
12	19,77	15,0	21,77	15,0	21,6	20,5	21,8	21,9	18,32	15,50	20,03	23,4	23,7	64,98
13	20,37	15,0	21,55	21,4	15,2	21,7	16,6	20,7	35,47	26,72	24,44	23,0	21,9	107,11
14	21,95	15,8	15,67	14,9	15,2	14,5	13,9	14,8	21,59	26,16	15,80	14,2	16,4	18,68
15	32,16	28,8	23,47	23,7	23,5	23,3	23,4	23,4	107,96	106,56	19,92	19,0	19,0	20,04
Ref		[41] <sup>b</sup>		[42] <sup>b</sup>	[42] <sup>b</sup>	[42] <sup>b</sup>	[42] <sup>b</sup>	[43] <sup>b</sup>		[44] <sup>b</sup>		[45] <sup>b</sup>	[45] <sup>b</sup>	[46] <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Enregistré dans le benzène-*d*<sub>6</sub>. <sup>b</sup> Données RMN et MS disponibles.

Parmi eux, le composé **521** possède un spectre de masse extrêmement proche des cubébols, la seule différence étant la présence d'un ion à  $m/z = 121$  au lieu d'un ion à  $m/z = 119$ . Cette légère différence nous a permis de différencier **521** des cubébols et nous a incités à

isoler ce composé. Ainsi, après isolement et caractérisation par RMN, **521** a été identifié comme étant l'ylangan-4 $\alpha$ -ol, encore jamais mentionné dans la littérature. Son épimère **XLVIII** a été identifié dans l'huile essentielle d'*Ocimum americanum* et ses déplacements chimiques en RMN du  $^{13}\text{C}$  sont reportés en Tableau 30.

En plus de ce nouveau composé, nous rapportons pour la première fois la présence d'un nouvel isomère du cubénol. Le composé **542** a été identifié lors de notre précédente analyse<sup>10</sup> comme étant le 1-*épi*-cubénol (**356**, identifié dans l'essence de cyprès jaune d'Alaska, voir Chapitre IV). Cependant, lorsque l'on compare l'analyse bidimensionnelle de l'essence de Vétiver et celle de l'essence de cyprès jaune d'Alaska, on s'aperçoit que les cubénols (**353**, **356** et **358**) présents dans l'essence de cèdre jaune éluent dans une zone bien inférieure au composé **542** (Figure 32).

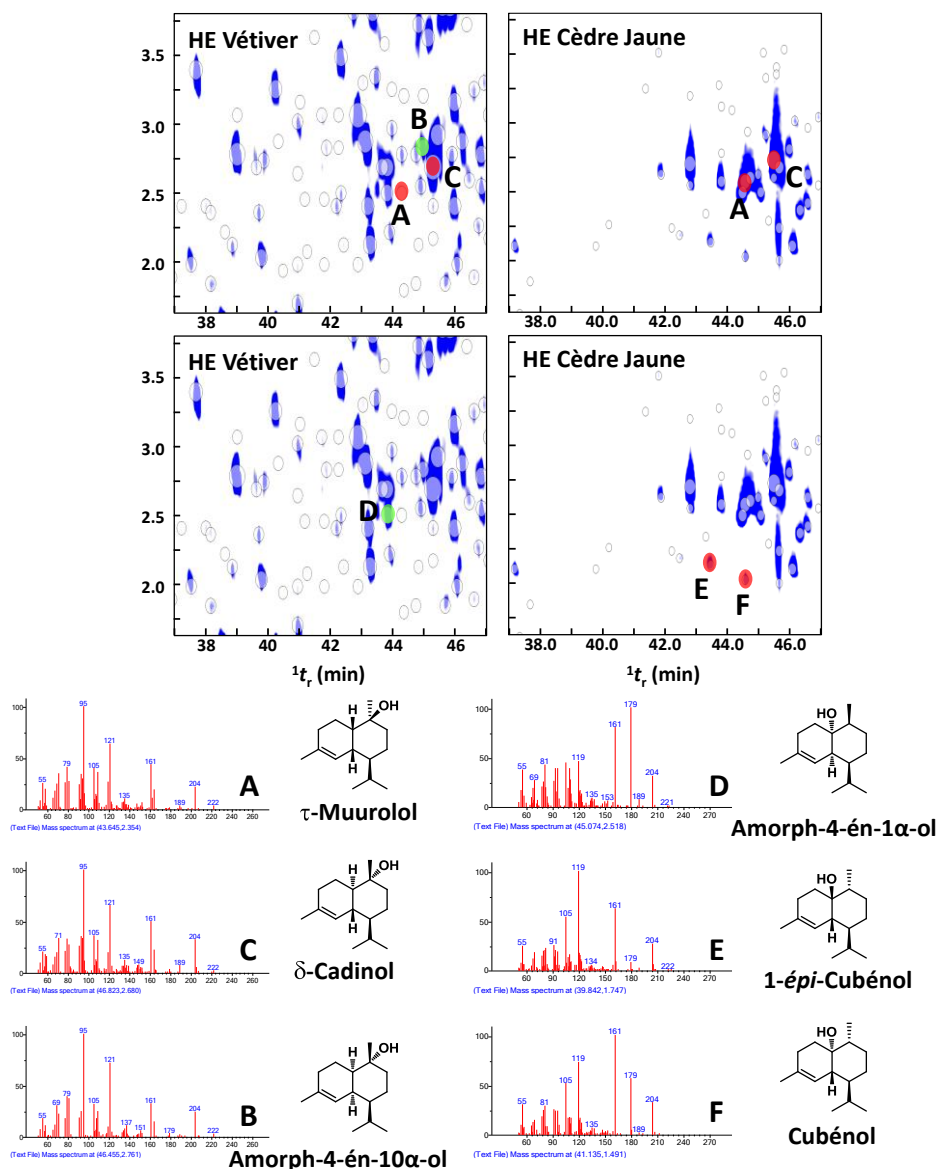




Figure 32. Exemple de « géolocalisation » de composés retrouvés dans plusieurs essences permettant de confirmer ou de réfuter la présence de certains composés dans l'huile essentielle de Vétiver.

La « géolocalisation » des composés sur le chromatogramme bidimensionnel et leur comparaison avec les analyses d'autres matières premières nous ont permis de confirmer ou de réfuter la présence de certaines molécules dans l'huile essentielle de Vétiver.

Bien que le spectre de masse de **542** soit quasi identique aux cubénols, on peut remarquer une abondance relative plus importante de l'ion à  $m/z = 179$  au sein de son spectre de masse. Ainsi, après isolement, on définit **542** comme étant l'amorph-4-én-1 $\alpha$ -ol, également nommé le 6,10-di-*épi*-cubénol. L'ensemble des cubénols (**XLIX**, **L**, **LI** et **LII**) reportés dans la littérature sont résumés dans le Tableau 30.

On isole ensuite deux composés biosynthétiquement liés, **533** et **560**. Ces deux alcools secondaires sont localisés dans la partie haute du chromatogramme bidimensionnel au-dessus des alcools tertiaires. Bien qu'étant des composés normalement plus polaires que les alcools tertiaires, **533** et **560** ont été isolés à partir de la même fraction F6 et caractérisés par RMN comme étant respectivement le funébr-8(15)-én-9 $\alpha$ -ol et l'acor-4-én-3 $\beta$ -ol. Il est à noter que ces deux composés sont isolés et caractérisés pour la première fois dans une ressource naturelle. Toutefois, on note que des épimères de ces composés ont été reportés dans la littérature. Leurs déplacements chimiques en RMN du  $^{13}\text{C}$  ne concordent pas avec nos molécules (Tableau 30). En guise de confirmation, l'acétate de **560** a par ailleurs été isolé d'un échantillon d'acétate de vétivéryle (Chapitre Vb).

En plus du pogostol (**255**), on isole un alcool primaire à squelette guaïanique. Eluant dans la zone des alcools primaires, **573** a été isolé et caractérisé comme étant le guaia-1(5),11-di-én-12-ol, également appelé « glaucyl alcohol », identifié auparavant dans un extrait solvant des racines de *Lindera glauca*.<sup>46</sup> C'est la première description de ce composé dans l'essence de Vétiver.

Ainsi, le fractionnement de l'essence de Vétiver combiné à l'utilisation de la GC semi-préparative a permis d'isoler et d'identifier quinze composés situés principalement dans la zone des alcools tertiaires. De plus, l'utilisation de la GC  $\times$  GC comme outil de « géolocalisation » des composés a permis de réfuter la présence des cubénols et de confirmer la présence de l'amorph-4-én-1 $\alpha$ -ol. La finalité de cette étude a donc été de donner une composition chimique détaillée de l'essence de Vétiver en combinant les résultats analytiques obtenus pour les dérivés carbonylés, les alcools, tout en s'appuyant sur l'analyse croisée des autres matières premières étudiées dans cette thèse.

### V.5. Analyse qualitative et quantitative par GC × GC–MS/FID des huiles essentielles de Vétiver

En 2013, une étude analytique par GC × GC a été menée par notre équipe sur la composition chimique des essences de Vétiver.<sup>10</sup> Cette étude rassemblait l'analyse qualitative et quantitative des constituants des essences de Vétiver provenant de diverses régions (Haïti, Java, Brésil et Bourbon). La quantification a été effectuée via des facteurs de réponse calculés pour chaque famille de fonction chimique. De plus, différents modes d'injection ont également été testés afin de quantifier au mieux les échantillons. Dans le cadre de cette étude sur les matières premières boisées et sur l'essence de Vétiver, nous avons augmenté de façon significative le nombre de molécules identifiées. Ainsi, nous avons choisi d'effectuer une mise à jour de la composition chimique des essences de Vétiver, en gardant les données analytiques déjà publiées. La composition chimique de ces essences est résumée dans le Tableau 31.

D'un point de vue qualitatif, nous réfutons la présence des spirovétiva-3,7(11)-dién-12-als, identifiés comme les eudesm-5,7(11)-dién-12-als (**453** et **454**) ainsi que celle du 1-*épi*-cubénol et du 10-*épi*-cubénol, que l'on identifie comme l'amorph-4-én-1 $\alpha$ -ol (**542**) et l'épimère de l'amorph-4-én-1 $\alpha$ -ol (**529**, tent. MS), de l'isocédranol, identifié comme l'acor-4-én-3 $\beta$ -ol (**560**), mais aussi des *cis*-eudesm-6-én-12-ol A et B, identifiés respectivement comme l'eudesm-4(15)-én-5 $\beta$ -ol (**534**) et le *trans*-eudesm-6-én-4 $\beta$ -ol (**535**). De plus, la 12-nor-préziza-7(15)-én-2-one (**409**), identifiée dans l'essence de Vétiver, est en réalité la 13-nor-spirovétiva-1(10),7-dién-11-one (**414**). Le composé **409**, visible dans l'extrait carbonylé (voir Va.3.3), est seulement présent à l'état de trace dans l'huile essentielle de Vétiver. Nous signalons également une erreur d'identification pour le 1,7-cyclogermacra-1(10),4-dién-15-al (**433**) et le  $\beta$ -eudesmol (**108**). Par comparaison de leur spectre de masse et de leur position sur le chromatogramme bidimensionnel, on identifie clairement la présence du  $\beta$ -costol (**179**), de l' $\alpha$ -costol (**180**), du 10-*épi*- $\beta$ -acoradiénol (**175**), du  $\beta$ -nootkatol (**375**), du valencén-12-al (**370**), du cadalène (**367**), du sélin-11-én-4 $\alpha$ -ol (**164**), du valérianol (**104**), de l'amorph-4-én-10 $\alpha$ -ol (**549**), de l'eudesma-4(15),11-dién-7 $\alpha$ -ol (**361**), du jinkoh-érémol (**98**), de l' $\alpha$ -muurolol (**360**), du  $\tau$ -muurolol (**359**), du  $\tau$ -cadinol (**357**), de la 13-nor-érémophil-1(10)-én-11-one (**355**), de l' $\alpha$ -corocalène (**354**), de la 13-nor-érémophil-9-én-11-one (**352**), du gynurénol (**229**), du  $\beta$ -calacorène (**517**), de la 13-nor-*cis*-eudesm-6-én-8-one (**401**), de l'8 $\alpha$ -méthyl-11,12,13-trinor-érémophil-1(10)-én-7-one (**400**), de l'érémophila-1(10),2,7(11)-triène (**498**), du sesquicinéole (**497**), de l'érémophila-1(10),2,11-triène (**496**), du  $\gamma$ -cadinène (**343**), de l' $\alpha$ -muurolène (**39**), du

valencéne (**338**), de l'aristolochène (**335**), du spirovétiva-1(10),2,7(11)-triène (**481**) et du  $\gamma$ -muurolène (**330**). Tous ces composés ont été confirmés dans l'essence de Vétiver par comparaison de leur localisation sur le chromatogramme bidimensionnel obtenu à partir d'autres matières premières. En raison de la stéréochimie des deux guaïanes isolés dans l'essence de Vétiver, on suppose que **508** pourrait être le 4,5-di-*épi*-kessane (**52**), isolé de l'essence de bois de Guaiac (Chapitre I). Cependant, sans preuve spectroscopique, **508** reste identifié comme le kessane. L'isolement par GC semi-préparative nous a permis d'identifier dans l'essence le guaïa-1(5),11-dién-12-ol (**573**), la 2-*épi*-préziza-7(15)-én-3-one (**432**), l'érémophila-1,7(11)-dién-10 $\alpha$ -ol (**568**), la 13-nor-*trans*-eudesma-4(15),7-dién-11-one (**428**), la préziza-7(15)-én-3-one (**426**), la 13-nor-érémophila-7,9-dién-11-one (**424**), la 13-nor-*trans*-eudesm-6-én-11-one (**422**), le valencén-7 $\beta$ -ol (**562**), le pogostol (**255**), l'ylangén-15-ol (**548**), l'eudesma-4(15),7-dién-11-ol (**538**), le funébr-8(15)-én-9 $\alpha$ -ol (**533**), la 11,12,13-trinor-eudesma-3,5-dién-7-one (**408**), la 13-nor-spirovétiva-1(10),6-dién-11-one (**407**), le gynuradiénol (**524**), l'ylangan-4 $\beta$ -ol (**521**). L'étude de l'acétate de vétivéryle (voir Chapitre Vb) nous a permis d'identifier par saponification des acétates correspondants, l'eudesma-4(15),7(11)-dién-12-ol (**597**), le préziza-7(15)-én-12-ol (**584**), l'ylang-3-én-15-ol (**548**).

Ainsi, grâce à cette analyse qualitative, nous avons pu améliorer la quantification des différentes essences de Vétiver. Sur la base des analyses antérieures, l'essence de Vétiver Haïti a été quantifiée à 85,13 %, soit une amélioration de 6,24 %, Java à 70,00 %, Brésil à 72,62 % et Bourbon à 60,58 %. Tous les composés nouvellement identifiés sont généralement retrouvés dans toutes les essences de Vétiver. Toutefois, on note la présence exclusive de certaines cétones, telles que **400**, **401** et **414**, et de certains alcools, tels que **229** et **375**, dans l'essence de Vétiver Haïti. Sachant que les conditions d'hydrodistillation jouent un rôle important dans la variabilité chimique des essences de Vétiver,<sup>10,17</sup> l'absence de ces composés, dans les autres essences, est probablement due aux conditions drastiques appliquées pendant l'hydrodistillation des racines de Vétiver. La sensibilité thermique des alcools allyliques, tels que l' $\alpha$ -isonootkatol (**582**), a déjà été démontrée<sup>47</sup> et il serait donc probable que les composés sensibles, comme **375**, se dégradent de la même façon durant la distillation.

Tableau 31. Analyse quantitative par GC × GC de quatre huiles essentielles de Vétiver (résultat basé sur le tableau analytique reporté par Filippi et al.).<sup>10</sup>

#	RI <sup>a</sup> HP-5	Composé <sup>b</sup>	Classe Chimique	Famille	FRR <sup>g</sup>	<sup>1</sup> tr (min)	<sup>2</sup> tr (s)	Haïti g/100g <sup>h</sup>	Ec. Type	Java g/100g <sup>h</sup>	Ec. Type	Brésil g/100g <sup>h</sup>	Ec. Type	Bourb. g/100g <sup>h</sup>	Ec. Type	Réf.
455	1318	Vinylguaïacol	Phénols		0,800	20,81	3,55	-	-	0,11	0,00	-	-	-	-	Std
197	1358	$\alpha$ -Cubébéne	Hydrocarbures	Cubébanes	0,890	22,28	0,66	0,02	0,01	-	-	-	-	-	-	RI,MS
456	1375	91 105 <b>117</b> 119 132 145 159 173 188	Inconnus H		0,890	23,10	1,25	-	-	0,06	0,01	0,04	0,00	0,04	0,00	
6	1387	$\alpha$ -Ylangène	Hydrocarbures	Ylanganes	0,890	23,56	0,72	0,09	0,03	0,07	0,00	0,11	0,00	0,08	0,00	RI,MS
457	1389	<b>147</b> 175 190	Inconnus H		0,890	23,74	0,86	-	-	0,94	0,02	0,03	0,00	0,06	0,01	
458	1390	<b>119</b> 175 190	Inconnus H		0,890	23,74	0,97	-	-	0,18	0,01	0,02	0,00	-	-	
459	1392	Cyclocopacamphène (tent. MS)	Hydrocarbures	Cyclocopacamphanes	0,890	23,83	0,75	0,06	0,03	0,13	0,01	0,10	0,01	0,27	0,00	RI,MS
460	1396	<b>119</b> 134 159 187 202	Inconnus H		0,890	24,11	1,07	0,02	0,00	0,06	0,02	0,04	0,00	0,03	0,00	
461	1396	Déhydronigritène (possiblement 12-nor-zizaène)	Hydrocarbures	Zizaanes	0,890	24,11	1,41	0,04	0,02	0,05	0,00	0,08	0,00	0,05	0,00	MS
199	1400	$\beta$ -Cubébéne	Hydrocarbures	Cubébanes	0,890	24,29	0,85	0,03	0,01	-	-	-	-	-	-	RI,MS
462	1403	<b>119</b> 134 147 161 175 190	Inconnus H		0,890	24,48	1,00	-	-	0,33	0,01	0,04	0,00	0,13	0,00	
8	1403	$\beta$ -Elémène	Hydrocarbures	Elémanes	0,890	24,48	1,11	0,06	0,01	-	-	-	-	-	-	RI,MS
463	1404	$\alpha$ -Funébrène	Hydrocarbures	Funébranes	0,890	24,57	0,81	0,04	0,02	0,16	0,01	0,10	0,01	0,09	0,00	RI,MS
464	1413	<i>trans</i> -2-nor-Zizaène	Hydrocarbures	Zizaanes	0,890	25,12	1,14	0,04	0,02	-	-	-	-	-	-	RI,MS
465	1416	Nigritène A	Hydrocarbures	Zizaanes	0,890	25,30	1,08	-	-	1,18	0,01	0,08	0,01	0,14	0,00	RI,MS
466	1422	Nigritène B	Hydrocarbures	Zizaanes	0,890	25,58	1,14	-	-	2,68	0,08	0,10	0,00	0,28	0,00	RI,MS
142	1425	Acora-3,7(14)-diène	Hydrocarbures	Acoranes	0,890	25,76	0,89	0,09	0,02	0,17	0,00	0,11	0,00	0,14	0,01	RI,MS
204	1434	Cascarilladiène	Hydrocarbures	Eudesmanes	0,890	26,40	0,93	0,08	0,01	0,06	0,01	0,05	0,01	0,05	0,01	RI,MS
11	1438	( <i>E</i> )-Caryophyllène	Hydrocarbures	Caryophyllanes	0,890	26,48	1,25	-	-	-	-	-	-	1,48	0,04	RI,MS
467	1438	$\beta$ -Funébrène	Hydrocarbures	Funébranes	0,890	26,58	0,97	0,19	0,02	0,52	0,02	0,37	0,00	1,42	0,04	RI,MS
12	1441	<i>trans</i> - $\alpha$ -Bergamotène	Hydrocarbures	Bergamotane	0,890	26,76	1,01	-	-	-	-	-	-	0,29	0,02	RI,MS
468	1141	<b>159</b> 173 188	Inconnus H		0,890	26,77	1,45	-	-	0,05	0,00	0,01	0,00	-	-	
469	1444	91 <b>105</b> 120 133 148 161 175 <b>190</b>	Inconnus H		0,890	26,95	1,18	0,04	0,00	0,13	0,00	0,03	0,00	0,06	0,00	
144	1446	$\beta$ -Copaène	Hydrocarbures	Copaanes	0,890	27,04	1,01	0,21	0,06	0,31	0,05	0,22	0,01	0,15	0,00	RI,MS
470	1448	105 <b>119</b> 133 161 189 204	Inconnus H		0,890	27,13	0,81	-	-	0,14	0,00	0,04	0,01	-	-	
471	1448	$\beta$ -Cédrène	Hydrocarbures	Cédranes	0,890	27,13	1,08	0,03	0,02	-	-	-	-	0,44	0,00	RI,MS
472	1449	Acora-3,5-diène	Hydrocarbures	Acoranes	0,890	27,32	0,98	-	-	0,07	0,00	0,03	0,00	-	-	RI,MS
473	1449	117 <b>132</b> 202	Inconnus H		0,890	27,32	1,17	-	-	0,24	0,01	0,02	0,00	0,03	0,00	
16	1453	Guaia-6,9-diène (tent. MS)	Hydrocarbures	Guaïanes	0,890	27,59	0,95	0,13	0,00	0,18	0,00	0,13	0,00	0,11	0,00	RI,MS
474	1454	<b>105</b> 121 133 161 175 <b>190</b>	Inconnus H		0,890	27,59	1,26	0,05	0,01	-	-	-	-	-	-	
475	1456	Thujopsène	Hydrocarbures	Thujopsanes	0,890	27,68	1,29	-	-	-	-	-	-	1,74	0,01	RI,MS
476	1456	161 <b>175</b> 190	Inconnus H		0,890	27,68	1,21	-	-	0,99	0,01	0,10	0,01	0,15	0,01	
477	1459	Acora-3,9-diène	Hydrocarbures	Acoranes	0,890	27,87	1,08	0,04	0,00	0,09	0,00	0,06	0,00	-	-	RI,MS
15	1460	( <i>E</i> )-Isoeugénol	Phénols		0,800	27,96	5,52	-	-	0,29	0,01	-	-	-	-	Std
478	1474	Prézizaène (Majoritaire)	Hydrocarbures	Prézizaanes	0,890	28,88	1,10	0,75	0,04	1,33	0,05	0,97	0,00	0,85	0,01	RI,MS
330		$\gamma$ -Muuroène	Hydrocarbures	Muurolanes												RI,MS
479	1474	77 93 105 <b>119</b> 134 161 175 190	Inconnus H		0,890	28,88	1,46	0,03	0,02	0,23	0,01	0,07	0,04	0,05	0,00	
480	1478	Zizaène	Hydrocarbures	Zizaanes	0,890	29,15	1,13	0,45	0,02	1,20	0,00	0,66	0,01	0,87	0,01	RI,MS
481	1478	Spirovétiva-1(10),2,7(11)-triène	Hydrocarbures	Vétispiranes	0,890	29,15	1,37	0,17	0,02	0,29	0,01	0,27	0,00	0,20	0,01	RI,MS

#	RI <sup>a</sup> HP-5	Composé <sup>b</sup>	Classe Chimique	Famille	FRR <sup>g</sup>	<sup>1</sup> tr (min)	<sup>2</sup> tr (s)	Haïti g/100g <sup>h</sup>	Ec. Type	Java g/100g <sup>h</sup>	Ec. Type	Brésil g/100g <sup>h</sup>	Ec. Type	Bourb. g/100g <sup>h</sup>	Ec. Type	Réf.
482	1484	77 91 117 <b>145</b> 159 187 202	Inconnus H		0,890	29,43	1,32	0,17	0,01	0,31	0,00	0,19	0,00	0,11	0,00	
483	1485	79 105 119 133 147 <b>175</b> 190	Inconnus H		0,890	29,52	1,49	0,06	0,00	0,27	0,00	0,12	0,00	0,04	0,00	
484	1486	3-Isopropyl-6-méthyl-2-(3-méthylcyclopent-2-ényl)-3,4-dihydro-2H-pyrane	Ethers		0,752	29,61	1,19	0,20	0,02	0,28	0,04	0,25	0,00	0,27	0,00	RI,MS
149	1487	$\alpha$ -Curcumène	Hydrocarbures	Cadinanes	0,890	29,70	1,59	0,06	0,01	0,06	0,00	0,60	0,87	0,12	0,00	RI,MS
332	1490	11,12,13-trinor-Erémophil-1(10)-én-7-one	Cétones	Erémophilanes	0,676	29,88	4,42	0,14	0,00	0,47	0,01	0,14	0,00	0,41	0,00	RMN
28	1493	$\alpha$ -Amorphène	Hydrocarbures	Amorphanes	0,890	29,98	1,18	1,27	0,04	1,80	0,01	1,10	0,84	1,13	0,01	RI,MS
485	1496	$\alpha$ -Vétispirène	Hydrocarbures	Vétispiranes	0,890	30,25	1,33	0,18	0,04	1,40	0,03	0,70	0,00	0,49	0,01	RI,MS
486	1497	4 $\alpha$ ,7-Epoxy-10 $\beta$ H-spirovétiva-2,11(12)-diène	Ethers	Vétispiranes	0,752	30,34	2,01	0,03	0,00	0,02	0,00	0,03	0,00	0,02	0,00	RI,MS
487	1499	185 <b>200</b>	Inconnus H		0,890	30,43	1,68	-	-	0,06	0,00	0,07	0,00	0,02	0,00	
34	1500	$\delta$ -Sélinène (Majoritaire)	Hydrocarbures	Eudesmanes	0,890	30,53	1,13	0,46	0,03	1,11	0,20	0,41	0,17	0,35	0,02	RI,MS
335		Aristolochène	Hydrocarbures	Erémophilanes												RI,MS
488	1500	<i>cis</i> -Eudesma-6,11-diène	Hydrocarbures	Eudesmanes	0,890	30,53	1,20	0,34	0,05	0,91	0,21	0,96	0,17	0,61	0,03	RMN
396	1500	11,12,13-trinor-Spirovétiv-1(10)-én-7-one <sup>c</sup>	Cétones	Vétispiranes	0,676	30,53	4,52	0,03	0,00	0,04	0,00	0,02	0,00	0,04	0,00	MS
489	1504	131 <b>173</b> 188	Inconnus H		0,890	30,80	1,84	-	-	0,09	0,02	0,02	0,00	0,02	0,00	RI,MS
490	1505	$\beta$ -Vétispirène	Hydrocarbures	Vétispiranes	0,890	30,89	1,45	0,79	0,04	1,99	0,00	1,76	0,01	1,11	0,03	RI,MS
491		$\gamma$ -Amorphène (Majoritaire)	Hydrocarbures	Amorphanes												RI,MS
338	1506	Valencène	Hydrocarbures	Erémophilanes	0,890	30,98	1,22	0,63	0,03	0,70	0,01	0,68	0,04	0,67	0,01	RI,MS
39		$\alpha$ -Muuroloène	Hydrocarbures	Muurolanes												RI,MS
492	1510	4- <i>épi</i> -Cubébol	Alcools III	Cubébanes	0,871	31,17	2,34	0,03	0,02	-	-	-	-	-	-	RI,MS
493	1515	$\delta$ -Amorphène (Majoritaire)	Hydrocarbures	Amorphanes	0,890	31,63	1,15	0,73	0,02	1,37	0,01	0,76	0,00	0,46	0,01	RI,MS
343		$\gamma$ -Cadinène	Hydrocarbures	Cadinanes												RI,MS
494	1515	79 93 105 131 <b>145</b> 159 187 202	Inconnus H		0,890	31,63	1,50	0,14	0,04	0,50	0,01	0,34	0,00	0,25	0,01	
495	1516	131 <b>173</b> 188	Inconnus H		0,890	31,72	1,81	-	-	0,09	0,00	0,03	0,00	0,03	0,00	
496	1519	Erémophila-1(10),2,11-triène <sup>d</sup>	Hydrocarbures	Erémophilanes	0,890	31,81	1,53	0,11	0,01	0,13	0,00	0,10	0,01	0,03	0,00	RI,MS
497	1521	Sesquicinéole	Ethers	Bisabolanes	0,890	32,08	1,20	0,03	0,00	0,05	0,00	0,05	0,00	0,03	0,00	RI,MS
498	1521	Erémophila-1(10),2,7(11)-triène	Hydrocarbures	Erémophilanes	0,890	32,08	1,52	0,25	0,05	0,25	0,01	0,35	0,01	0,27	0,01	RI,MS
400	1522	8 $\alpha$ -méthyl-11,12,13-trinor-Erémophil-1(10)-én-7-one	Cétones	Erémophilanes	0,676	32,27	3,34	0,02	0,00	-	-	-	-	-	-	RI,MS
499	1523	Chamigrène	Hydrocarbures	Chamigranes	0,890	32,36	1,31	0,02	0,01	-	-	-	-	-	-	RI,MS
500	1523	7 $\beta$ ,10 $\beta$ -Epoxy-4 $\beta$ H-érémophila-1,11(12)-diène	Ethers	Erémophilanes	0,752	32,36	2,26	0,06	0,00	0,02	0,00	0,07	0,00	0,04	0,00	RI,MS
501	1525	Spirovétiva-1(10),7(11)-diène	Hydrocarbures	Vétispiranes	0,890	32,54	1,17	0,23	0,05	0,34	0,03	0,22	0,01	0,54	0,10	RI,MS
45	1525	$\delta$ -Cadinène	Hydrocarbures	Cadinanes	0,890	32,54	1,24	0,26	0,06	0,28	0,03	0,23	0,01	0,14	0,07	RI,MS
502	1525	Cuparène	Hydrocarbures	Cuparanes	0,890	32,54	1,68	-	-	-	-	-	-	0,11	0,00	RI,MS
503	1525	Cubébol	Alcools III	Cubébanes	0,871	32,54	2,56	0,08	0,00	-	-	-	-	-	-	RI,MS
344	1530	Nootkatène	Hydrocarbures	Erémophilanes	0,890	32,63	1,68	0,14	0,01	0,47	0,00	0,46	0,19	0,23	0,01	RI,MS
346	1532	Calaménène	Hydrocarbures	Cadinanes	0,890	32,91	1,69	0,08	0,01	0,11	0,01	0,11	0,00	0,11	0,00	RI,MS
48	1535	Erémophila-1(10),7(11)-diène	Hydrocarbures	Erémophilanes	0,890	33,09	1,18	0,82	0,01	1,01	0,01	0,78	0,01	0,69	0,01	RI,MS
504	1537	$\gamma$ -Vétivénène	Hydrocarbures	Erémophilanes	0,890	33,28	1,49	0,20	0,06	2,58	0,01	1,17	0,01	0,88	0,02	RI,MS
505	1541	173 188 <b>200</b>	Inconnus H		0,890	33,64	1,87	-	-	0,09	0,00	0,09	0,00	0,03	0,00	
506	1543	131 <b>145</b> 159 202	Inconnus H		0,890	33,73	1,42	-	-	0,17	0,00	0,03	0,00	0,06	0,00	
57	1543	Sélima-4(15),7(11)-diène	Hydrocarbures	Eudesmanes	0,890	33,73	1,19	0,07	0,01	0,33	0,00	0,10	0,00	0,10	0,00	RI,MS
507	1543	173 188 <b>200</b>	Inconnus		0,800	33,73	1,97	0,04	0,00	-	-	-	-	-	-	

#	RI <sup>a</sup> HP-5	Composé <sup>b</sup>	Classe Chimique	Famille	FRR <sup>g</sup>	<sup>1</sup> tr (min)	<sup>2</sup> tr (s)	Haïti g/100g <sup>h</sup>	Ec. Type	Java g/100g <sup>h</sup>	Ec. Type	Brésil g/100g <sup>h</sup>	Ec. Type	Bourb. g/100g <sup>h</sup>	Ec. Type	Réf.
508	1546	Kessane <sup>c</sup>	Ethers	Guaianes	0,752	33,83	1,31	0,13	0,01	-	-	-	-	-	-	RI,MS
401	1549	13-nor- <i>cis</i> -Eudesm-6-én-8-one	Cétones	Eudesmanes	0,676	34,10	2,57	0,03	0,00	-	-	-	-	0,01	0,00	RMN
509	1551	91 105 133 <b>161 204</b> (isomère Vétisélinène)	Inconnus H		0,890	34,28	1,29	0,11	0,01	0,26	0,00	0,12	0,00	0,17	0,00	
58	1553	$\alpha$ -Calacorène	Hydrocarbures	Cadinanes	0,890	34,47	2,10	0,19	0,02	0,35	0,00	0,42	0,00	0,22	0,01	RI,MS
60	1556	Séline-3,7(11)-diène	Hydrocarbures	Eudesmanes	0,890	34,56	1,26	0,03	0,00	0,07	0,00	0,03	0,00	0,17	0,00	RI,MS
61	1557	$\beta$ -Elémol	Alcools III	Elémanes	0,871	34,65	3,55	0,57	0,00	0,19	0,00	0,17	0,00	0,71	0,01	RI,MS
510	1560	Erémophila-1(10),7,11-triène (tent.)	Hydrocarbures	Erémophilanes	0,890	34,93	1,64	0,10	0,02	0,24	0,00	0,25	0,00	0,14	0,01	MS
402	1532	11,12,13-trinor- <i>cis</i> -Eudesm-5-én-7-one	Cétones	Eudesmanes	0,676	35,02	5,15	0,27	0,00	0,08	0,00	0,21	0,00	0,24	0,00	RI,MS
511	1564	<i>trans</i> -Eudesma-6,11-diène (tent. MS)	Hydrocarbures	Eudesmanes	0,890	35,20	1,30	0,10	0,01	0,12	0,00	0,13	0,00	0,07	0,00	MS
512	1564	77 91 129 143 185 <b>200</b>	Inconnus		0,800	35,20	1,95	0,11	0,04	0,20	0,00	0,20	0,09	0,11	0,03	
513	1564	10- <i>épi</i> -Cubébol	Alcools III	Cubébanes	0,871	35,20	2,54	0,05	0,00	-	-	-	-	-	-	RI,MS
514	1569	77 91 129 143 185 <b>200</b>	Inconnus H		0,890	35,57	1,94	-	-	0,08	0,01	0,08	0,02	0,04	0,03	
349	1569	$\beta$ -Vétivénène	Hydrocarbures	Erémophilanes	0,890	35,57	1,63	1,36	0,07	5,35	0,15	4,22	0,15	0,52	0,03	RI,MS
403	1569	11,12,13-trinor- <i>trans</i> -Eudesm-5-én-7-one	Cétones	Eudesmanes	0,676	35,57	5,22	0,06	0,00	0,10	0,00	0,08	0,00	0,08	0,00	RI,MS
515	1573	91 105 117 <b>131 145 159 187 202</b>	Inconnus H		0,890	35,84	1,64	0,24	0,09	1,29	0,12	0,86	0,15	0,64	0,03	
516	1574	Séline-4(15),7(11)-diène isomère (tent.)	Inconnus H		0,890	36,03	1,32	0,18	0,01	0,56	0,01	0,16	0,00	0,08	0,00	
517	1574	$\beta$ -Calacorène	Hydrocarbures	Cadinanes	0,890	36,03	2,18	0,09	0,01	0,05	0,00	0,11	0,00	0,10	0,00	RI,MS
518	1577	<i>cis</i> -Eudesm-6-én-11-ol	Alcools III	Eudesmanes	0,871	36,12	2,98	1,30	0,04	0,17	0,00	0,43	0,00	0,57	0,01	RMN
519	1588	128 <b>143 157 185 200</b>	Inconnus H		0,890	36,85	1,93	-	-	0,08	0,00	0,07	0,00	0,42	0,02	
520	1588	13-nor-Eudesm-5-én-11-one (épimère A)	Cétones	Eudesmanes	0,676	36,85	2,80	0,04	0,00	0,03	0,00	0,03	0,00	0,05	0,00	RI,MS
521	1588	Ylangan-4 $\alpha$ -ol	Alcools III	Ylanganes	0,871	36,94	2,48	0,09	0,00	0,06	0,00	0,04	0,00	0,04	0,00	RMN
229	1589	Eudesm-6-én-5 $\alpha$ -ol, Gynurénol <sup>f</sup>	Alcools III	Eudesmanes	0,871	37,03	2,18	0,43	0,04	-	-	-	-	-	-	MS
404	1589	15-nor-Prézizaan-7-one	Cétones	Prézizaanes	0,676	37,03	2,75	0,05	0,00	0,02	0,00	0,06	0,00	0,03	0,00	RI,MS
522	1590	129 <b>143 185 200</b>	Inconnus H		0,890	37,13	2,00	-	-	0,20	0,02	0,43	0,02	0,11	0,01	
405	1590	13-nor-Eudesm-5-én-11-one (épimère B)	Cétones	Eudesmanes	0,676	37,13	2,87	0,07	0,00	0,05	0,00	0,06	0,00	0,03	0,00	RI,MS
523	1596	77 91 131 145 173 <b>187 202</b> (isomère $\beta$ -Vétivénène)	Inconnus H		0,890	37,58	1,62	0,47	0,05	0,50	0,01	0,30	0,00	0,31	0,01	
524	1596	Eudesma-5,7-dién-11-ol, Gynuradiénol	Alcools III	Eudesmanes	0,871	37,58	3,48	0,52	0,01	0,10	0,00	0,21	0,00	0,26	0,01	RMN
525	1602	79 105 145 159 187 <b>202</b>	Inconnus H		0,890	38,04	1,65	0,09	0,03	0,94	0,00	0,21	0,00	0,10	0,02	
526	1607	81 93 105 <b>119 161 204</b>	Inconnus H		0,890	38,41	1,75	0,18	0,00	0,12	0,00	0,20	0,00	0,12	0,00	
407	1607	13-nor-Spirovétiva-1(10),6-dién-11-one	Cétones	Vétispiranes	0,676	38,41	3,14	0,18	0,00	0,05	0,00	0,09	0,00	0,15	0,01	RMN
527	1608	<i>cis</i> -Guai-6-én-10-ol	Alcools III	Guaianes	0,871	38,65	2,72	-	-	-	-	-	-	0,54	0,01	RI,MS
528	1611	6 $\alpha$ ,12-Epoxy-7 $\beta$ H-10 $\alpha$ H,11 $\beta$ H-spiroax-4-ène	Ethers		0,752	38,78	1,59	0,04	0,00	0,04	0,00	0,03	0,00	0,04	0,01	RI,MS
408	1615	11,12,13-trinor-Eudesma-3,5-dién-7-one	Cétones	Eudesmanes	0,676	38,87	0,47	0,08	0,01	0,08	0,00	0,10	0,02	0,08	0,01	RMN
411	1620	13-nor- <i>cis</i> -Eudesm-6-én-11-one	Cétones	Eudesmanes	0,676	39,23	2,84	0,10	0,03	0,05	0,00	0,07	0,00	0,10	0,00	RI,MS
412	1621	15-nor-Funébran-3-one	Cétones	Funébranes	0,676	39,33	3,34	0,10	0,04	0,03	0,01	0,07	0,01	0,20	0,01	RI,MS
529	1623	Amorph-4-én-1 $\alpha$ -ol épimère	Alcools III	Amorphanes	0,871	39,88	2,55	0,07	0,01	0,07	0,00	0,07	0,00	0,06	0,00	MS
352	1623	13-nor-Erémophil-9-én-11-one	Cétones	Erémophilanes	0,676	39,88	2,98	0,07	0,01	0,03	0,00	0,05	0,00	-	-	RMN
413	1624	Khusimone	Cétones	Zizaanes	0,676	39,97	3,61	0,71	0,03	0,36	0,00	0,62	0,00	0,56	0,01	RMN
354	1626	$\alpha$ -Corocalène	Hydrocarbures	Cadinanes	0,890	40,06	2,16	0,09	0,01	0,06	0,00	0,11	0,00	0,10	0,00	RI,MS
530	1626	77 105 131 145 159 <b>187 202</b>	Inconnus H		0,890	40,06	1,66	0,14	0,03	1,12	0,02	0,26	0,01	0,09	0,00	
531	1627	12-nor-Ziza-6(13)-én-2 $\beta$ -ol	Alcools II	Zizaanes	0,871	40,15	4,83	0,19	0,04	0,11	0,05	0,24	0,00	0,20	0,00	RI,MS

#	RI <sup>a</sup> HP-5	Composé <sup>b</sup>	Classe Chimique	Famille	FRR <sup>g</sup>	<sup>1</sup> tr (min)	<sup>2</sup> tr (s)	Haïti g/100g <sup>h</sup>	Ec. Type	Java g/100g <sup>h</sup>	Ec. Type	Brésil g/100g <sup>h</sup>	Ec. Type	Bourb. g/100g <sup>h</sup>	Ec. Type	Réf.
532	1627	Cédrool	Alcools III	Cédranes	0,871	40,29	2,88	-	-	-	-	-	-	0,50	0,01	RI,MS
355	1629	13-nor-Erérophil-1(10)-én-11-one	Cétones	Erémophilanes	0,676	40,42	3,08	0,13	0,00	0,07	0,00	0,09	0,00	0,07	0,01	RMN
533	1630	Funébr-8(15)-én-9 $\alpha$ -ol	Alcools II	Funébranes	0,871	40,43	4,08	0,17	0,05	0,08	0,00	0,14	0,03	0,12	0,00	RMN
534	1633	Eudesm-4(15)-én-5 $\beta$ -ol	Alcools III	Eudesmanes	0,871	40,61	3,27	1,86	0,07	0,04	0,01	0,07	0,00	0,47	0,02	RI,MS
414	1635	13-nor-Spirovétiva-1(10),7-dién-11-one	Cétones	Vétispiranes	0,676	40,79	3,52	0,12	0,01	-	-	-	-	-	-	RMN
535	1636	<i>trans</i> -Eudesm-6-én-4 $\beta$ -ol	Alcools III	Eudesmanes	0,871	40,88	3,07	1,28	0,03	0,37	0,00	0,69	0,00	0,58	0,00	RMN
87	1637	10-épi- $\gamma$ -Eudesmol	Alcools III	Eudesmanes	0,871	40,98	2,57	0,40	0,01	0,20	0,00	0,26	0,00	0,71	0,00	RI,MS
536	1638	Junénol	Alcools II	Eudesmanes	0,871	41,07	2,27	0,62	0,01	0,31	0,00	0,57	0,00	0,39	0,01	RI,MS
537	1639	<b>59</b> 145 185 218	Inconnus		0,800	41,16	4,11	0,42	0,01	0,20	0,04	0,37	0,01	0,25	0,02	
538	1641	Eudesma-4(15),7-dién-11-ol	Alcools III	Eudesmanes	0,871	41,25	3,59	0,16	0,05	0,23	0,00	-	-	-	-	RMN
539	1641	135 <b>150</b> 177 205 220 (Oplopénone, tent.)	Inconnus		0,800	41,25	2,37	-	-	-	-	0,05	0,02	-	-	
540	1642	81 95 105 119 <b>161</b> 204	Inconnus		0,800	41,34	2,70	0,13	0,04	0,12	0,00	0,09	0,00	0,06	0,00	
89	1642	$\gamma$ -Eudesmol	Alcools III	Eudesmanes	0,871	41,62	2,88	0,32	0,07	0,28	0,00	0,38	0,00	0,69	0,00	RI,MS
541	1645	12-nor-Ziza-6(13)-én-2 $\alpha$ -ol	Alcools II	Zizaanes	0,871	41,62	5,21	0,12	0,01	0,06	0,00	0,14	0,00	0,10	0,01	RI,MS
542	1646	Amorph-4-én-1 $\alpha$ -ol	Alcools III	Amorphanes	0,871	41,71	2,68	0,29	0,00	0,08	0,00	0,30	0,00	0,17	0,00	RMN
543	1646	<i>trans</i> -Eudesm-6-én-11-ol (tent. MS)	Alcools III	Eudesmanes	0,871	41,71	2,86	0,34	0,07	-	-	-	-	-	-	MS
544	1647	<b>59</b> 107 119 161 189 204	Inconnus		0,800	41,80	2,78	-	-	0,07	0,00	0,10	0,00	-	-	
417	1647	Erémophila-1(10),6-dién-12-al	Aldéhydes	Erémophilanes	0,696	41,80	2,34	0,12	0,01	0,12	0,00	0,09	0,00	0,06	0,00	RI,MS
545	1647	81 91 105 <b>123</b> 147 220	Inconnus		0,800	41,80	3,51	0,06	0,00	0,06	0,00	0,08	0,00	0,05	0,02	
418	1648	13-nor-Erérophila-1(10),6-dién-11-one	Cétones	Erémophilanes	0,676	41,89	3,13	0,18	0,00	0,06	0,00	0,12	0,01	0,20	0,00	RMN
357	1651	$\tau$ -Cadinol	Alcools III	Cadinanes	0,871	42,17	2,75	0,06	0,00	0,03	0,00	0,01	0,00	-	-	Ref <sup>f</sup>
546	1651	Valencén-7 $\alpha$ -ol (tent. MS) (Majoritaire)	Alcools III	Erémophilanes	0,871	42,26	3,01	0,10	0,01	-	-	0,03	0,00	0,05	0,00	MS
359	1651	$\tau$ -Muurolol	Alcools III	Muurolanes	0,871	42,26	3,01	0,10	0,01	-	-	0,03	0,00	0,05	0,00	Ref <sup>f</sup>
360	1654	$\alpha$ -Muurolol	Alcools III	Muurolanes	0,871	42,53	2,93	0,03	0,01	0,03	0,01	0,04	0,00	0,05	0,01	Ref <sup>f</sup>
98	1656	Jinkoh-éremol	Alcools III	Erémophilanes	0,871	42,72	3,01	0,12	0,01	0,11	0,00	0,05	0,00	0,11	0,01	RI,MS
547	1657	Eudesma-4(15),7-dién-3 $\alpha$ -ol (tent. MS)	Alcools II	Eudesmanes	0,871	42,81	3,83	0,11	0,00	-	-	0,06	0,00	-	-	MS
419	1657	$\alpha$ -Funébren-15-al	Aldéhydes	Funébranes	0,696	42,90	2,69	0,17	0,00	0,24	0,00	0,24	0,00	0,15	0,04	RI,MS
548	1657	Ylang-3-én-15-ol <sup>d</sup>	Alcools I	Ylanganes	0,800	42,90	4,02	0,27	0,01	0,12	0,00	0,16	0,08	0,13	0,00	MS
361	1658	Eudesma-4(15),11-dién-7 $\alpha$ -ol	Alcools III	Eudesmanes	0,871	42,99	3,50	0,09	0,01	0,30	0,01	0,32	0,09	-	-	Ref <sup>f</sup>
549	1658	Amorph-4-én-10 $\alpha$ -ol	Alcools III	Amorphanes	0,871	42,99	3,06	0,16	0,00	0,16	0,00	0,22	0,13	0,10	0,00	RI,MS
550	1664	Eudesma-4(15),7-dién-3 $\beta$ -ol	Alcools II	Eudesmanes	0,871	43,27	3,95	0,42	0,00	0,17	0,00	0,36	0,00	0,22	0,00	RMN
362	1665	$\alpha$ -Cadinol (Majoritaire)	Alcools III	Cadinanes	0,871	43,36	2,88	1,81	0,02	0,35	0,01	1,20	0,45	2,49	0,01	Ref <sup>f</sup>
104	1665	Valérianol	Alcools III	Erémophilanes	0,871	43,36	2,88	1,81	0,02	0,35	0,01	1,20	0,45	2,49	0,01	RI,MS
551	1666	Bisabola-3(15),10-dién-7-ol	Alcools III	Bisabolanés	0,871	43,45	2,58	0,06	0,00	0,07	0,00	0,10	0,00	0,07	0,00	RI,MS
552	1667	<b>159</b> 177 205 220	Inconnus		0,800	43,54	3,80	-	-	0,23	0,00	-	-	0,06	0,00	
107	1667	$\alpha$ -Eudesmol	Alcools III	Eudesmanes	0,871	43,54	3,12	0,84	0,01	1,40	0,02	1,39	0,45	1,18	0,02	RI,MS
108	1667	$\beta$ -Eudesmol	Alcools III	Eudesmanes	0,871	43,54	3,12	0,84	0,01	1,40	0,02	1,39	0,45	1,18	0,02	RI,MS
255	1667	Pogostol (Minoritaire)	Alcools III	Guaianes	0,871	43,54	3,12	0,84	0,01	1,40	0,02	1,39	0,45	1,18	0,02	RMN
553	1670	7,15-Epoxyprézizaane	Ethers	Prézizaanes	0,752	43,82	1,98	0,12	0,00	0,02	0,00	0,06	0,01	0,07	0,00	RI,MS
554	1670	Cyclocopacamphanol A	Alcools I	Cyclosativanes	0,800	43,82	4,15	1,07	0,01	0,45	0,00	0,72	0,03	0,48	0,01	RMN
164	1670	Sélin-11-én-4 $\alpha$ -ol	Alcools III	Eudesmanes	0,871	43,82	3,28	0,13	0,00	0,07	0,00	0,17	0,00	0,06	0,01	Ref <sup>f</sup>

#	RI <sup>a</sup> HP-5	Composé <sup>b</sup>	Classe Chimique	Famille	FRR <sup>g</sup>	<sup>1</sup> tr (min)	<sup>2</sup> tr (s)	Haïti g/100g <sup>h</sup>	Ec. Type	Java g/100g <sup>h</sup>	Ec. Type	Brésil g/100g <sup>h</sup>	Ec. Type	Bourb. g/100g <sup>h</sup>	Ec. Type	Réf.
555		69 93 119 161 222 (Majoritaire)	Inconnus													
556	1672	Cyclocopacamphanol B (Majoritaire)	Alcools I	Cyclosativanes	0,800	44,00	4,19	1,15	0,00	0,62	0,04	0,93	0,02	0,71	0,02	RI,MS
557		55 69 79 105 121 135 161 177 220	Inconnus													RI,MS
558	1673	Prézizaan-7β-ol (allo-khusiol)	Alcools II	Prézizaanes	0,871	44,09	2,56	0,40	0,03	0,24	0,00	0,32	0,01	0,26	0,02	RI,MS
559	1673	7-épi-α-Eudesmol	Alcools III	Eudesmanes	0,871	44,09	2,97	0,11	0,00	-	-	-	-	0,49	0,01	RI,MS
560	1675	Acor-4-én-3β-ol	Alcools II	Acoranes	0,871	44,18	3,38	0,42	0,05	0,09	0,04	0,23	0,08	0,22	0,00	RMN
111	1675	Bulnesol	Alcools III	Guaianes	0,871	44,19	2,73	-	-	-	-	-	-	0,58	0,00	Ref <sup>i</sup>
561	1677	β-Bisabolol	Alcools III	Bisabolanes	0,871	44,28	2,16	0,14	0,00	0,13	0,00	0,25	0,00	0,10	0,02	RI,MS
421	1678	Hydroxycalaménène	Alcools II	Cadinanes	0,871	44,37	2,30	0,11	0,00	0,03	0,00	0,13	0,00	0,03	0,01	RI,MS
118	1679	Intermédeol	Alcools III	Eudesmanes	0,871	44,46	2,98	0,08	0,03	-	-	-	-	-	-	Ref <sup>i</sup>
562	1679	Valencén-7β-ol	Alcools III	Erémophilanes	0,871	44,46	3,14	0,21	0,01	0,25	0,00	0,41	0,23	0,35	0,01	RMN
422	1681	trans-13-nor-Eudesm-6-én-11-one (Majoritaire)	Cétones	Eudesmanes	0,676	44,64	2,81	0,17	0,01	0,06	0,03	0,16	0,01	0,06	0,00	RMN
367		Cadalène	Hydrocarbures	Cadinanes												RI,MS
424	1684	13-nor-Erémophila-7,9-dién-11-one	Cétones	Erémophilanes	0,676	44,92	3,44	0,22	0,00	0,11	0,00	0,27	0,21	0,15	0,00	RMN
563	1684	2-épi-Ziza-6(13)-én-3β-ol	Alcools II	Zizaanes	0,871	44,92	4,47	0,24	0,04	0,07	0,08	0,25	0,00	0,16	0,00	RI,MS
564	1685	Acorénone	Cétones	Acoranes	0,676	45,01	2,40	0,13	0,00	0,09	0,00	0,09	0,00	0,10	0,00	RI,MS
425	1686	Ziza-6(13)-én-3-one (Majoritaire)	Cétones	Zizaanes	0,676	45,10	2,95	0,46	0,00	0,40	0,00	0,43	0,00	0,36	0,01	RMN
426		Préziza-7(15)-én-3-one	Cétones	Prézizaanes												RMN
565	1686	10-méthoxy-7,10-Epoxysalvialane	Ethers	Daucanes	0,752	45,10	4,48	0,09	0,03	-	-	-	-	-	-	RI,MS
427	1687	Zizanal	Aldéhydes	Zizaanes	0,696	45,19	2,65	0,22	0,00	0,79	0,01	0,22	0,00	0,12	0,00	RI,MS
428	1689	13-nor-trans-Eudesma-4(15),7-dién-11-one	Cétones	Eudesmanes	0,676	45,28	3,55	0,23	0,02	0,15	0,01	0,17	0,02	0,08	0,01	RMN
566	1690	2-épi-Khusian-2-ol	Alcools II	Dupréziananes	0,871	45,47	3,28	0,14	0,01	0,12	0,00	0,15	0,00	0,14	0,01	RI,MS
567	1692	Ziza-6(13)-én-3α-ol	Alcools II	Zizaanes	0,871	45,65	4,43	0,90	0,00	0,88	0,00	0,89	0,00	0,72	0,01	RI,MS
568	1693	Erémophila-1,7(11)-dién-10α-ol (Majoritaire)	Alcools III	Erémophilanes	0,871	45,74	3,00	0,20	0,01	0,07	0,00	0,12	0,04	0,10	0,00	RMN
432		2-épi-Préziza-7(15)-én-3-one	Cétones	Prézizaanes												RMN
370	1693	Valencén-12-al	Aldéhydes	Erémophilanes	0,696	45,83	2,45	0,17	0,02	0,12	0,01	0,10	0,01	-	-	Ref <sup>i</sup>
433	1695	1,7-Cyclogermacra-1(10),4-dién-15-al (Majoritaire)	Aldéhydes	Cyclogermacranes	0,696	46,11	2,37	0,14	0,01	0,25	0,00	0,15	0,04	0,07	0,00	RI,MS
569		81 91 105 119 145 189 218	Inconnus													
434	1701	Prézizaan-15-al	Aldéhydes	Prézizaanes	0,696	46,38	2,23	0,17	0,01	0,66	0,01	0,25	0,01	0,14	0,00	RI,MS
435	1703	2-épi-Ziza-6(13)-én-3-one	Cétones	Zizaanes	0,676	46,57	2,96	0,33	0,00	0,42	0,00	0,18	0,00	0,29	0,00	RMN
570	1705	Khusian-2-ol	Alcools II	Dupréziananes	0,871	46,75	3,33	0,87	0,00	0,89	0,00	0,80	0,00	0,70	0,01	RMN
571	1705	93 107 133 148 187 202 240	Inconnus		0,800	46,75	4,25	0,11	0,01	-	-	-	-	-	-	
375	1707	β-Nootkatol	Alcools II	Erémophilanes	0,871	46,93	3,97	0,20	0,01	-	-	-	-	-	-	RI,MS
436	1710	(E)-Opposita-4(15),7(11)-dién-12-al	Aldéhydes	Oppositanes	0,696	47,21	2,53	0,24	0,00	0,09	0,00	0,23	0,00	0,14	0,00	RMN
437	1710	2-épi-Zizanal	Aldéhydes	Zizaanes	0,696	47,21	2,69	0,16	0,01	0,61	0,00	0,18	0,00	0,07	0,00	RI,MS
122	1710	Juniper camphor	Alcools III	Eudesmanes	0,871	47,21	2,97	0,78	0,01	0,20	0,00	0,38	0,00	0,33	0,00	RMN
572	1712	79 91 135 159 189 220	Inconnus		0,800	47,39	4,23	0,37	0,01	0,11	0,01	0,21	0,05	0,17	0,00	RI,MS
573	1716	Guaia-1(5),11-dién-12-ol, Glaucyl alcohol	Alcools I	Guaianes	0,800	47,66	4,42	0,15	0,01	0,14	0,02	0,15	0,02	0,10	0,00	RMN
574	1716	Ziza-6(13)-én-3β-ol	Alcools II	Zizaanes	0,871	47,67	4,02	0,85	0,02	0,56	0,00	0,74	0,01	0,45	0,01	RI,MS
575	1718	1,7-Cyclogermacra-1(10),4-dién-15-ol	Alcools I	Cyclogermacranes	0,800	47,85	3,52	0,16	0,00	0,07	0,00	0,20	0,00	0,08	0,00	RI,MS
439	1722	13-nor-Eudesma-4,6-dién-11-one	Cétones	Eudesmanes	0,676	48,22	3,16	0,65	0,22	0,36	0,00	0,68	0,00	0,45	0,02	RMN



#	RI <sup>a</sup> HP-5	Composé <sup>b</sup>	Classe Chimique	Famille	FRR <sup>g</sup>	<sup>1</sup> tr (min)	<sup>2</sup> tr (s)	Haïti g/100g <sup>h</sup>	Ec. Type	Java g/100g <sup>h</sup>	Ec. Type	Brésil g/100g <sup>h</sup>	Ec. Type	Bourb. g/100g <sup>h</sup>	Ec. Type	Réf.
377	1723	$\alpha$ -Nootkatol	Alcools II	Erémophilanes	0,871	48,31	4,35	0,46	0,01	0,04	0,00	0,13	0,02	0,18	0,00	Ref <sup>f</sup>
576	1726	Isokhusimol	Alcools I	Zizaanes	0,800	48,49	3,57	-	-	1,73	0,01	0,26	0,00	0,28	0,01	RI,MS
577	1731	Vétisélinénol épimère	Alcools I	Eudesmanes	0,800	48,95	3,67	0,19	0,00	-	-	-	-	-	-	MS
440	1733	77 <b>94</b> 121 135 162 175 218	Inconnus		0,800	49,13	2,65	0,08	0,00	0,11	0,00	0,11	0,00	0,09	0,01	
578	1734	5,6- <i>seco</i> -6,7-Furoeudesman-5-one	Cétones	Eudesmanes	0,676	49,32	2,92	0,06	0,00	-	-	-	-	-	-	RI,MS
579	1734	$\beta$ -Isonootkatol	Alcools II	Erémophilanes	0,871	49,32	3,50	0,67	0,03	-	-	-	-	0,16	0,00	RI,MS
441	1735	Vétisélinénol	Alcools I	Eudesmanes	0,800	49,41	3,77	3,58	0,12	0,99	0,01	2,19	0,00	1,54	0,01	RMN
580	1738	$\beta$ -Vétivol, aka spirovétiva-1(10),7(11)-dién-2 $\alpha$ -ol	Alcools II	Vétispiranes	0,871	49,68	3,70	0,70	0,18	-	-	-	-	-	-	RI,MS
581	1743	Oplopanone	Cétones		0,676	50,14	4,76	0,23	0,00	0,04	0,00	0,22	0,00	0,17	0,01	RI,MS
582	1751	$\alpha$ -Vétivol, aka $\alpha$ -isonootkatol	Alcools II	Erémophilanes	0,871	50,78	3,89	3,24	0,13	0,10	0,00	0,44	0,01	0,75	0,01	RI,MS
583	1753	95 105 119 147 <b>189</b> 220	Inconnus		0,800	50,97	3,49	0,30	0,00	0,35	0,01	0,27	0,02	0,17	0,00	
443	1758	<b>107</b> 177 220	Inconnus		0,800	51,52	2,26	-	-	0,13	0,00	0,19	0,08	0,08	0,00	
175		10- <i>épi</i> - $\beta$ -Acoradienol	Alcools I	Acoranes												Ref <sup>k</sup>
442	1760	Khusimol (Majoritaire)	Alcools I	Zizaanes	0,800	51,61	4,30	9,09	0,02	5,61	0,04	7,16	0,02	5,42	0,10	RI,MS
584		Préziza-7(15)-én-12-ol <sup>d</sup>	Alcools I	Prézizaanes												RI,MS
444	1763	10- <i>épi</i> -Acora-3,11-dién-15-al	Aldéhydes	Acoranes	0,696	51,79	2,79	0,25	0,00	0,20	0,00	0,25	0,01	0,20	0,01	RMN
585	1768	79 91 <b>105</b> 205 220	Inconnus		0,800	52,34	4,38	0,20	0,00	0,10	0,00	0,13	0,01	0,10	0,00	
586	1774	91 107 161 179 219 <b>234</b> (Acide Inconnu)	Inconnus		0,800	52,89	2,82	0,12	0,00	-	-	-	-	-	-	
382	1774	Valencén-12-ol	Alcools I	Erémophilanes	0,800	52,89	4,41	0,36	0,00	0,14	0,05	0,26	0,01	0,18	0,01	Ref <sup>f</sup>
587	1775	<b>91</b> 93 105 189 220 + (2- <i>épi</i> -khusimol, trace)	Inconnus		0,800	52,98	4,08	0,17	0,01	0,10	0,02	0,11	0,03	0,15	0,05	
588	1784	91 105 145 <b>189</b> 202 220	Inconnus		0,800	53,26	3,55	0,11	0,00	-	-	-	-	-	-	
179	1784	$\beta$ -Costol	Alcools I	Eudesmanes	0,800	53,26	4,66	0,12	0,01	0,03	0,01	0,11	0,00	-	-	Ref <sup>k</sup>
589	1785	79 <b>91</b> 107 133 161 174 207 220	Inconnus		0,800	53,44	3,86	0,33	0,01	-	-	-	-	-	-	
180	1785	$\alpha$ -Costol	Alcools I	Eudesmanes	0,800	53,53	4,51	0,08	0,01	0,03	0,00	0,08	0,00	-	-	Ref <sup>k</sup>
590	1786	131 159 <b>174</b> 216	Inconnus		0,800	53,63	3,46	-	-	0,14	0,00	0,17	0,06	0,06	0,00	
591	1789	( <i>Z</i> )-Isovalencénol	Alcools I	Erémophilanes	0,800	54,18	3,70	0,16	0,00	0,14	0,00	0,21	0,00	0,11	0,00	RI,MS
592	1791	Acide Isozizanoïque	Acides	Zizaanes	0,650	54,45	0,56	-	-	2,05	0,03	0,21	0,00	-	-	RI,MS
447	1797	( <i>E</i> )-Isovalencénol	Alcools I	Erémophilanes	0,800	54,91	4,06	11,26	0,21	1,04	0,01	4,11	0,05	2,54	0,01	RI,MS
593	1801	Formate de khusimyle	Esters	Zizaanes	0,758	55,18	2,41	0,1	0,00	0,09	0,00	0,20	0,00	0,38	0,00	Ref <sup>f</sup>
594	1801	Spirovétiva-3,7(11)-dién-12-ol	Alcools I	Vétispiranes	0,800	55,18	3,93	1,50	0,37	0,12	0,01	0,47	0,03	0,49	0,02	RI,MS
595	1804	91 <b>189</b> 202 220	Inconnus		0,800	55,46	3,88	0,39	0,02	0,05	0,00	0,08	0,01	-	-	
596	1804	131 145 187 <b>202</b> 220	Inconnus		0,800	55,46	4,03	0,29	0,03	0,10	0,00	0,12	0,07	0,06	0,00	
597	1813	<i>trans</i> -Eudesma-4(15),7(11)-dién-12-ol <sup>d</sup>	Alcools I	Eudesmanes	0,800	56,28	4,25	0,63	0,02	-	-	-	-	-	-	RI,MS
598	1815	Acide Zizanoïque	Acides	Zizaanes	0,650	56,38	2,59	1,16	0,03	4,33	0,09	8,62	0,01	1,43	0,06	MS
387	1816	Nootkatone	Cétones	Erémophilanes	0,676	56,38	3,73	0,60	0,00	0,28	0,01	0,35	0,00	0,30	0,04	Ref <sup>f</sup>
449	1823	( <i>Z</i> )-Isovalencénal	Aldéhydes	Erémophilanes	0,696	57,02	2,71	0,50	0,00	0,51	0,00	0,74	0,01	0,45	0,01	RI,MS
450	1825	$\beta$ -Vétivone	Cétones	Vétispiranes	0,676	57,20	3,50	3,91	0,03	2,41	0,01	2,90	0,01	2,20	0,05	RMN
451	1840	( <i>E</i> )-Isovalencénal	Aldéhydes	Erémophilanes	0,696	58,39	2,88	1,06	0,01	0,56	0,01	0,82	0,00	0,65	0,01	RMN
599	1843	Formiate d'( <i>E</i> )-isovalencényle	Esters	Erémophilanes	0,758	58,67	2,37	0,13	0,00	0,03	0,00	0,14	0,00	0,22	0,00	RI,MS
452	1853	$\alpha$ -Vétivone	Cétones	Erémophilanes	0,676	59,49	3,76	5,60	0,04	2,79	0,02	2,89	0,01	3,06	0,05	RMN
600	1866	Acétate de khusimyle	Esters	Zizaanes	0,758	60,41	2,00	-	-	0,15	0,00	0,05	0,00	0,09	0,00	Ref <sup>f</sup>

#	RI <sup>a</sup> HP-5	Composé <sup>b</sup>	Classe Chimique	Famille	FRR <sup>g</sup>	<sup>1</sup> tr (min)	<sup>2</sup> tr (s)	Haïti g/100g <sup>h</sup>	Ec. Type	Java g/100g <sup>h</sup>	Ec. Type	Brésil g/100g <sup>h</sup>	Ec. Type	Bourb. g/100g <sup>h</sup>	Ec. Type	Réf.
453	1899	(Z)-Eudesm-5,7(11)-dién-12-al	Aldéhydes	Eudesmanes	0,696	63,25	3,26	0,22	0,00	0,15	0,01	0,24	0,16	0,12	0,00	RMN
454	1914	(E)-Eudesm-5,7(11)-dién-12-al	Aldéhydes	Eudesmanes	0,696	63,89	3,28	0,22	0,00	0,08	0,00	0,14	0,00	0,12	0,01	RMN
601	1931	91 131 <b>159</b> 174 216	Inconnus		0,800	64,53	4,82	0,18	0,02	0,13	0,01	0,17	0,00	0,16	0,03	
				Total Acides				1,16		6,38		8,83		1,43		
				Total Alcools I				29,77		11,23		17,01		12,06		
				Total Alcools II				10,83		3,75		5,59		4,80		
				Total Alcools III				12,71		4,96		7,31		11,36		
				Total Aldéhydes				3,64		4,38		3,65		2,29		
				Total Esters				0,23		0,27		0,39		0,69		
				Total Ethers				0,70		0,43		0,49		0,47		
				Total Hydrocarbures				11,12		29,57		19,20		18,01		
				Total Cétones				14,97		8,63		10,15		9,47		
				Total Phénols				0,00		0,40		0,00		0,00		
				<b>TOTAL</b>				<b>85,13</b>		<b>70,00</b>		<b>72,62</b>		<b>60,58</b>		
				Total Hydrocarbures inconnus				1,92		10,08		4,02		3,19		
				Total Composés inconnus				3,41		2,20		2,45		1,57		

<sup>a</sup> Les indices de rétentions (RI) ont été calculés par rapport à une série de *n*-alcane analysée par GC × GC-MS en utilisant une programmation de température du four non-linéaire. <sup>b</sup> Les principaux ions sont donnés pour les composés inconnus (les pics de base sont écrits en gras); l'ensemble des composés ont été identifiés sur la base de leur spectre de masse et leur indice de rétention (RI) sur colonne HP-5 à partir des banques de spectre de masse.<sup>33</sup> <sup>c</sup> Identification du composé grâce à la description de son spectre de masse.<sup>34</sup> <sup>d</sup> Composé identifié par saponification/déshydratation de l'acétate correspondant (voir Chapitre Vb). <sup>e</sup> Identification incertaine, probablement le 4,5-di-*épi*-kessane (**52**) identifié dans l'essence de bois de Gaïac. <sup>f</sup> Spectre de masse disponible.<sup>36</sup> <sup>g</sup> FRRs calculés durant notre première quantification des essences de Vétiver.<sup>10</sup> <sup>h</sup> Le pourcentage massique (g/100g) et l'écart type ont été calculés via des analyses en triplicata. <sup>i</sup> Composé isolé de l'essence de cyprès jaune d'Alaska (voir Chapitre IV). <sup>j</sup> Composé isolé de l'essence de bois de Gaïac (voir Chapitre I). <sup>k</sup> Composé isolé de l'essence de bois d'Araucaria (voir Chapitre II). <sup>l</sup> Composé identifié de l'acétate de vétivéryle (voir Chapitre Vb).

## Va.6. Conclusion

A l'aide des outils analytiques à notre disposition (GC × GC, GC semi-préparative, GC–O/MS) et par comparaison des résultats analytiques obtenus pour l'ensemble des matières premières étudiées, nous avons pu améliorer notre connaissance de l'huile essentielle de Vétiver. Nous avons ainsi isolé et caractérisé 40 composés, dont 18 n'ont jamais été décrits dans l'huile essentielle. De plus, on identifie la présence de 3 composés encore inconnus dans l'essence par saponification des acétates correspondants et par spectrométrie de masse (voir Chapitre Vb). L'étude olfactométrique des dérivés carbonylés nous a permis de déterminer que les deux zizaénones **425** et **435** sont les composés odorants contribuant le plus au caractère vétiver de l'essence. Les deux vétivones **450** et **452** développent un pouvoir olfactif également important et sont décrites pour avoir des notes d'agrumes. Cependant, nous rapportons que sur un panel de 32 juges, 8 ont montré une totale anosmie à l' $\alpha$ -vétivone (**452**). Cette anosmie pourrait être à l'origine des différentes discordes ayant concerné les composés d'impact olfactif du Vétiver. On note également que la 13-nor-spirovétiva-1(10),6-diène-11-one (**407**) possède une note framboise/violette et un fort potentiel olfactif. Ainsi, ces études ont permis d'améliorer la connaissance de la composition chimique globale de cette matière première complexe mais toujours surprenante.

Afin de compléter notre étude, nous nous sommes ensuite intéressés à un des dérivés de l'huile essentielle de Vétiver le plus utilisé par l'industrie du parfum, l'acétate de vétivéryle.

## Partie expérimentale : Partie Va

### Extraction des dérivés carbonylés de l'huile essentielle de Vétiver Haïti

Dans un bicol de 1 L placé sous atmosphère inerte (N<sub>2</sub>), 100,5 g d'huile essentielle de Vétiver Haïti, dont les dérivés carbonylés représentent environ 17 % de l'essence (soit ~78 mmol), et 26,8 g de réactif de Girard-T (156 mmol, 2 éq.) sont dissous dans un mélange 9:1 EtOH:AcOH (500 mL). Le mélange est chauffé à 50 °C pendant 6 heures. Le brut réactionnel est ensuite refroidi à 0 °C puis traité par addition d'une solution de soude 2M jusqu'à pH 9. Le mélange est extrait 3 fois avec de l'éther de pétrole. La phase aqueuse ainsi obtenue est ensuite acidifiée avec une solution de HCl 2M jusqu'à pH 2 et agitée pendant 20 heures à température ambiante. Le milieu réactionnel est ensuite extrait 3 fois avec de l'éther de pétrole. Les phases organiques sont ensuite séchées sur MgSO<sub>4</sub>, évaporées sous vide pour donner une fraction carbonylée (11,89 g, 70,6 %), sous la forme d'une huile brunâtre avec une forte odeur de vétiver.

### Séparation sur gel de silice des dérivés carbonylés

La fraction cétonique (11,36 g, huile jaune/orangé) a été séparée par chromatographie sur colonne ouverte de gel de silice (SiO<sub>2</sub>, 40–60 µm, 300 g) en 13 fractions (F1–F13) en utilisant un gradient de solvants (E.P./Et<sub>2</sub>O, 100:0 à 50:50). La première fraction (F1) contenait les hydrocarbures, F2 contenait principalement des oxydes résiduels, F3–F4 des aldéhydes, F5–F6 des cétones et des cétones insaturées, F7–F9 principalement les vétivones (**450** et **452**), F10–F13 les acides et les carbonylés polaires. Toutes les fractions ont été analysées par GC–MS, GC–O et GC–O/MS afin de confirmer les zones odorantes et les molécules associées. Les fractions F5, F6 et F8 ont ensuite été séparées sur gel de silice imprégné au nitrate d'argent (5 %, *m/m*) en plusieurs sous-fractions. Les molécules inconnues ont finalement été isolées par GC semi-préparative. Un schéma de fractionnement détaillé est présenté en section Va.3.2.

### Séparation sur gel de silice des alcools de l'essence de Vétiver

La même stratégie de fractionnement qu'employée pour les dérivés carbonylés a été utilisée pour la séparation des constituants de l'huile essentielle de Vétiver. A partir de 20,00 g d'huile essentielle de Vétiver Haïti, nous obtenons ainsi 12 fractions (F1-F12). La fraction F6 (2,87 g) étant la plus intéressante pour notre étude, elle a été à nouveau fractionnée sur gel de silice au

nitrate d'argent. Les sous-fractions F6.1–F6.4 ainsi obtenues ont été chromatographiées à nouveau pour donner des fractions suffisamment enrichies en composés inconnus. Finalement, ces dernières ont été soumises à la GC semi-préparative pour tenter l'isolement des molécules d'intérêt.

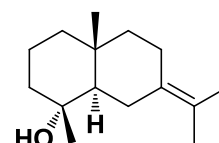
Description des composés isolés

Composé : Juniper camphor (**122**)

Indice de rétention : HP-1 : 1704

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>40</sup>

EIMS (70 eV) *m/z* (int. rel.) : 222 [M]<sup>+</sup> (60), 204 (60), 189 (100), 161 (52), 149 (16), 148 (17), 147 (17), 135 (41), 121 (31), 107 (26), 93 (31), 81 (44), 67 (23), 55 (23), 43 (45)



<sup>1</sup>H (500 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ 3,00 (dt, *J* = 13,7, 2,6 Hz, 1H, H-6a), 2,52 (ddt, *J* = 14,3, 4,6, 2,5 Hz, 1H, H-8a), 1,93–1,84 (m, 1H, H-8b), 1,77 (t, *J* = 1,7 Hz, 3H, H-12), 1,69 (t, *J* = 1,7 Hz, 3H, H-13), 1,63 (dtd, *J* = 12,5, 3,3, 1,6 Hz, 1H, H-3a), 1,61–1,53 (m, 1H, H-6b), 1,41–1,29 (m, 3H, H-2ab, H-9b), 1,26 (dtd, *J* = 13,0, 3,2, 1,6 Hz, 1H, H-1a), 1,17–1,08 (m, 2H, H-3b, H-9b), 1,05 (dd, *J* = 13,0, 2,9 Hz, 1H, H-5), 1,01 (d, *J* = 0,9 Hz, 3H, H-15), 0,94–0,87 (m, 1H, H-1b), 0,83 (s, 3H, H-14)

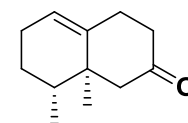
<sup>13</sup>C (126 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) voir Tableau 29

Composé : 11,12,13-trinor-Erémophila-1(10)-én-7-one (**332**)

Indice de rétention : VF-5ms : 1398

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>25</sup>

EIMS (70 eV) *m/z* (int. rel.) : 178 [M]<sup>+</sup> (100), 163 (55), 150 (12), 145 (21), 136 (59), 122 (36), 121 (47), 120 (37), 107 (47), 105 (40), 93 (65), 91 (43), 79 (81), 77 (32), 67 (16), 55 (17), 41 (23)



<sup>1</sup>H (400 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ 5,25 (dt, *J* = 4,8, 2,2 Hz, 1H), 2,41 (dd, *J* = 13,0, 2,4 Hz, 1H), 2,37–2,28 (m, 1H), 2,26–2,18 (m, 1H), 2,04–1,95 (m, 2H), 1,92–1,83 (m, 1H), 1,82–1,72 (m, 2H), 1,27 (dq, *J* = 13,3, 6,7, 3,7 Hz, 1H), 1,22–1,12 (m, 2H), 0,75 (d, *J* = 0,9 Hz, 3H), 0,63 (d, *J* = 6,7 Hz, 3H)

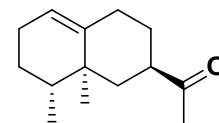
<sup>13</sup>C (101 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) voir Tableau 24

**Composé :** 13-nor-Erémophil-1(10)-én-11-one (**355**)

**Indice de rétention :** VF-5ms : 1609

**Données spectroscopiques :** En accord avec la littérature<sup>25</sup>

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.) : 206 [M]<sup>+</sup> (100), 191 (32), 188 (17), 173 (19), 163 (57), 161 (29), 147 (24), 136 (20), 135 (36), 121 (77), 119 (21), 107 (52), 105 (39), 95 (22), 93 (52), 91 (64), 81 (19), 79 (33), 77 (24), 71 (17), 67 (15), 55 (15), 43 (60)



<sup>1</sup>H (500 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ 5,33–5,27 (1H, m, H-1), 2,28 (1H, tt,  $J = 12,7, 3,4$  Hz, H-7), 2,13–2,03 (1H, m, H-9a), 2,00–1,92 (2H, m, H-9b, H-2a), 1,90–1,81 (2H, m, H-6a, H-2b), 1,73 (3H, s, H-12), 1,70–1,65 (1H, m, H-8a), 1,43–1,22 (4H, m, H-3ab, H-4, H-8b), 1,10 (1H, t,  $J = 12,9$  Hz, H-6b), 0,79 (3H, s, H-14), 0,78 (3H, d,  $J = 6,4$  Hz, H-15)

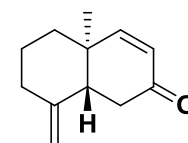
<sup>13</sup>C (126 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) voir Tableau 24

**Composé :** 11,12,13-trinor-Eudesma-4(15),8-dién-7-one (**399**)

**Indice de rétention :** VF-5ms : 1486

**Données spectroscopiques :** En accord avec la littérature<sup>30</sup>

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.) : 176 [M]<sup>+</sup> (84), 161 (61), 148 (92), 134 (60), 133 (100), 120 (31), 119 (59), 105 (63), 95 (45), 91 (84), 80 (68), 79 (66), 77 (42), 69 (46), 67 (39), 53 (25), 41 (39)



<sup>1</sup>H (500 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ 6,07 (d,  $J = 10,0$  Hz, 1H, H-9), 5,83 (dd,  $J = 9,9, 1,0$  Hz, 1H, H-8), 4,69 (d,  $J = 1,6$  Hz, 1H, H-15a), 4,31 (d,  $J = 1,6$  Hz, 1H, H-15b), 2,36 (dd,  $J = 16,7, 3,7$  Hz, 1H, H-6a), 2,24 (dd,  $J = 16,7, 14,0$  Hz, 1H, H-6b), 2,11–2,00 (m, 2H, H-5, H-3a), 1,70–1,60 (m, 1H, H-3b), 1,38–1,27 (m, 2H, H-2ab), 1,14–1,08 (m, 1H, H-1a), 1,01 (td,  $J = 12,6, 5,7$  Hz, 1H, H-1b), 0,60 (s, 3H, H-14)

<sup>13</sup>C (126 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) voir Tableau 25

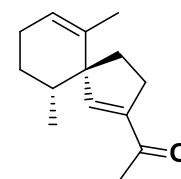
**Composé :** 13-nor-Spirovétiva-1(10),6-dién-11-one (**407**)

**Indice de rétention :** VF-5ms : 1582

**Données spectroscopiques :**

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.) : 204 [M]<sup>+</sup> (37), 189 (6), 162 (100), 147 (41), 119 (62), 105 (10), 91 (21), 77 (10), 65 (5), 43 (27)

HRMS (EI-TOF):  $m/z$  calc. pour C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>O 204,1514; trouvé 204,1507



<sup>1</sup>H (500 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ 6,12 (t,  $J = 1,9$  Hz, 1H, H-6), 5,35 (td,  $J = 3,8, 1,5$  Hz, 1H, H-1), 2,67–2,59 (m, 2H, H-8), 1,96 (s, 3H, H-12), 1,93–1,83 (m, 2H, H-2ab), 1,82–1,74 (m, 1H, H-

9a), 1,66–1,56 (m, 1H, H-9b), 1,53–1,47 (m, 2H, H-3a, H-4), 1,49–1,44 (m, 3H, H-14), 1,29–1,20 (m, 1H, H-3b), 0,75 (d,  $J = 6,8$  Hz, 3H, H-15)

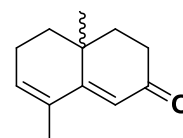
$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 24

Composé : 11,12,13-trinor-Eudesma-3,5-diène-7-one (**408**)

Indice de rétention : VF-5ms : 1590

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.) : 176  $[\text{M}]^{+}$  (100), 161 (17), 148 (97), 133 (66), 119 (39), 105 (77), 91 (35), 77 (20), 65 (10), 51 (10)



$^1\text{H}$  (400 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  6,02 (s, 1H, H-6), 5,51 (d,  $J = 5,7$  Hz, 1H, H-3), 2,47–2,28 (m, 2H, H-8ab), 1,99–1,85 (m, 1H, H-2a), 1,71 (dt,  $J = 19,3, 5,8, 1,6$  Hz, 1H, H-2b), 1,56–1,52 (m, 3H, H-15), 1,51–1,40 (m, 1H, H-9a), 1,24 (ddd,  $J = 13,2, 5,1, 2,5$  Hz, 1H, H-9b), 1,14 (td,  $J = 12,4, 5,5$  Hz, 1H, H-1a), 1,08–1,00 (m, 1H, H-1b), 0,76 (s, 3H, H-14)

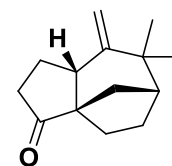
$^{13}\text{C}$  (101 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 25

Composé : Khusimone (**413**)

Indice de rétention : VF-5ms : 1607

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>25</sup>

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.) : 204  $[\text{M}]^{+}$  (100), 189 (66), 175 (13), 161 (61), 147 (33), 135 (33), 133 (73), 119 (67), 108 (85), 105 (55), 96 (36), 91 (58), 77 (31), 67 (23), 41 (31)



$^1\text{H}$  (400 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  4,76 (dd,  $J = 2,0, 1,1$  Hz, 1H), 4,60 (d,  $J = 1,5$  Hz, 1H), 2,63–2,53 (m, 1H), 2,28 (ddd,  $J = 19,2, 8,7, 1,3$  Hz, 1H), 2,19 (dd,  $J = 11,3, 2,9$  Hz, 1H), 1,92 (dddd,  $J = 12,4, 8,5, 5,5, 1,3$  Hz, 1H), 1,83 (t,  $J = 5,0$  Hz, 1H), 1,80–1,74 (m, 1H), 1,72–1,59 (m, 2H), 1,53–1,32 (m, 4H), 1,14–1,05 (m, 1H), 1,00 (s, 3H), 0,99 (s, 3H)

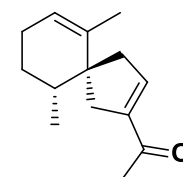
$^{13}\text{C}$  (101 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 24

Composé : 13-nor-Spirovétiva-1(10),7-diène-11-one (**414**)

Indice de rétention : VF-5ms : 1612

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.) : 204  $[\text{M}]^{+}$  (90), 189 (76), 162 (30), 161 (43), 147 (33), 133 (21), 119 (56), 108 (39), 107 (29), 105 (44), 93 (65), 91 (57), 81 (25), 79 (23), 77 (31), 65 (17), 53 (18), 43 (100)



$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  6,00–5,93 (m, 1H, H-8), 5,25 (td,  $J = 3,1, 1,5$  Hz, 1H, H-1), 2,68 (ddt,  $J = 17,8, 3,8, 2,0$  Hz, 1H, H-6a), 2,53–2,42 (m, 2H, H-6b, H-9a), 2,11–2,04 (m, 1H, H-9b), 1,95 (s, 3H, H-12), 1,90–1,84 (m, 2H, H-2ab), 1,52–1,47 (m, 3H, H-14), 1,46 (ddd,  $J = 9,9, 6,7, 2,9$  Hz, 1H, H-4), 1,38–1,30 (m, 1H, H-3a), 1,30–1,21 (m, 1H, H-3b), 0,75 (d,  $J = 6,8$  Hz, 3H, H-15)

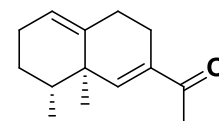
$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 24

Composé : 13-nor-Erémophila-1(10),6-dién-11-one (**418**)

Indice de rétention : VF-5ms : 1627

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>25</sup>

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.) : 204  $[\text{M}]^{+\bullet}$  (73), 189 (35), 161 (100), 147 (44), 135 (11), 119 (32), 105 (24), 91 (26), 77 (12), 43 (49)



HRMS (EI-TOF):  $m/z$  calc. pour  $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{O}$  204,1514; trouvé 204,1501

$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  6,62–6,52 (m, 1H, H-6), 5,29 (s, 1H, H-1), 2,80–2,66 (m, 1H, H-8a), 2,18–2,09 (m, 2H, H-8b, H-9a), 2,02 (dddd,  $J = 8,9, 2,7, 2,2, 1,1$  Hz, 1H, H-9b), 1,99 (s, 3H, H-12), 1,91–1,83 (m, 2H, H-2ab), 1,46–1,38 (m, 2H, H-3a, H-4), 1,33–1,26 (m, 1H, H-3b), 0,90 (s, 3H, H-14), 0,81 (d,  $J = 6,3$  Hz, 3H, H-15)

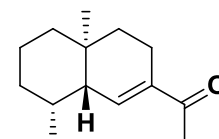
$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 24

Composé : 13-nor-*trans*-(4 $\beta$ H,5 $\beta$ H)-Eudesm-6-én-11-one (**422**)

Indice de rétention : VF-5ms : 1662

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.) : 206  $[\text{M}]^{+\bullet}$  (100), 191 (89), 163 (36), 135 (18), 123 (37), 122 (30), 121 (19), 109 (34), 107 (28), 95 (20), 93 (32), 91 (33), 81 (83), 67 (18), 55 (21), 43 (71)



HRMS (EI-TOF):  $m/z$  calc. pour  $\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{O}$  206,1671; trouvé 206,1667

$^1\text{H}$  (400 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  6,28 (d,  $J = 2,0$  Hz, 1H, H-6), 2,53 (dddt,  $J = 18,7, 6,3, 2,8, 1,4$  Hz, 1H, H-8a), 2,39–2,28 (m, 1H, H-8b), 2,01 (s, 3H, H-12), 1,79–1,70 (m, 1H, H-4), 1,67–1,55 (m, 1H, H-2a), 1,50–1,43 (m, 1H, H-3a), 1,39 (ddd,  $J = 13,1, 5,1, 4,4$  Hz, 1H, H-3b), 1,35–1,28 (m, 2H, H-2b, H-1a), 1,21–1,07 (m, 2H, H-9ab), 0,99–0,95 (m, 1H, H-1b), 0,81 (d,  $J = 7,5$  Hz, 3H, H-15), 0,71 (s, 3H, H-14)

$^{13}\text{C}$  (101 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 25

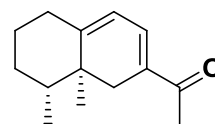
Composé : 13-nor-Erémophila-7,9-dién-11-one (**424**)



Indice de rétention : VF-5ms : 1665

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.) : 204  $[M]^{+}$  (63), 189 (100), 161 (52), 148 (14), 147 (13), 133 (9), 119 (29), 115 (10), 105 (67), 91 (20), 77 (12), 43 (74)



$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  6,36 (ddd,  $J = 5,7, 3,0, 0,9$  Hz, 1H, H-8), 5,48 (dd,  $J = 5,7, 1,8$  Hz, 1H, H-9), 3,23 (d,  $J = 16,9$  Hz, 1H, H-6a), 2,07–2,02 (m, 2H, H-1ab), 2,02 (s, 3H, H-12), 1,96 (dd,  $J = 16,5, 3,4$  Hz, 1H, H-6b), 1,54–1,47 (m, 1H, H-4), 1,37–1,28 (m, 1H, H-4), 1,26–1,17 (m, 2H, H-3a, H-2b), 1,08 (td,  $J = 12,6, 3,3$  Hz, 1H, H-3b), 0,75 (d,  $J = 6,8$  Hz, 3H, H-15), 0,70 (s, 3H, H-14)

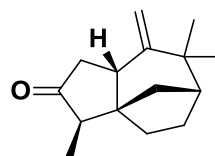
$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 24

Composé : Ziza-6(13)-én-3-one (**425**)

Indice de rétention : VF-5ms : 1672

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>25</sup>

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.) : 218  $[M]^{+}$  (73), 190 (36), 175 (52), 161 (32), 148 (100), 147 (62), 133 (31), 121 (73), 120 (75), 119 (50), 108 (38), 105



(48), 96 (51), 95 (75), 94 (95), 93 (78), 91 (57), 81 (35), 79 (83), 77 (39), 67 (33), 55 (33), 41 (45), 39 (18)

$^1\text{H}$  (400 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  4,72 (dd,  $J = 2,1, 0,9$  Hz, 1H, H-13a), 4,41 (d,  $J = 2,0$  Hz, 1H, H-13b), 2,70–2,51 (m, 1H, H-5), 2,10 (ddd,  $J = 17,9, 12,3, 1,1$  Hz, 1H, H-4a), 1,99 (dd,  $J = 18,0, 7,3$  Hz, 1H, H-4b), 1,91 (q,  $J = 7,8$  Hz, 1H, H-2), 1,64 (dd,  $J = 11,4, 2,4$  Hz, 1H, H-11a), 1,56 (t,  $J = 5,1$  Hz, 1H, H-8), 1,38–1,28 (m, 3H, H-9ab, H-10a), 1,05 (dd,  $J = 11,4, 4,7$  Hz, 1H, H-11b), 0,97 (s, 3H, H-14), 0,96 (s, 3H, H-15), 0,91 (d,  $J = 7,8$  Hz, 3H, H-12), 0,82–0,60 (m, 1H, H-10b)

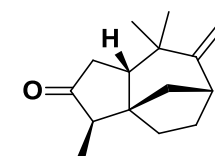
$^{13}\text{C}$  (101 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 24

Composé : Préziza-7(15)-én-3-one (**426**)

Indice de rétention : VF-5ms : 1678

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.) : 218  $[M]^{+}$  (67), 203 (24), 190 (94), 175 (50), 161 (66), 148 (60), 147 (100), 133 (58), 121 (68), 120 (82), 119 (96), 108



(71), 107 (55), 105 (97), 95 (59), 93 (80), 91 (88), 81 (33), 79 (66), 77 (49), 69 (29), 67 (36), 55 (33), 41 (55)

HRMS (EI-TOF) :  $m/z$  calc. pour  $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}$  218,1671, trouvé 218,1660

$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  4,73 (dd,  $J = 24,9, 1,6$  Hz, 2H, H-15ab), 2,69 (dd,  $J = 6,6, 4,5$  Hz, 1H, H-8), 2,05–1,92 (m, 2H, H-4ab), 1,89 (q,  $J = 8,0$  Hz, 1H, H-2), 1,79 (ddd,  $J = 14,0, 7,3, 1,3$  Hz, 1H, H-5), 1,69 (dddd,  $J = 13,6, 9,2, 4,9, 2,1$  Hz, 1H, H-10a), 1,63–1,56 (m, 1H, H-9a), 1,49 (dddd,  $J = 13,6, 9,3, 4,6, 2,1$  Hz, 1H, H-9b), 1,22 (dd,  $J = 10,7, 4,5$  Hz, 1H, H-11a), 1,16–1,09 (m, 1H, H-11b), 0,93 (s, 3H, H-14), 0,92–0,89 (m, 1H, H-10b), 0,88 (s, 3H, H-13), 0,87 (d,  $J = 7,8$  Hz, 3H, H-12)

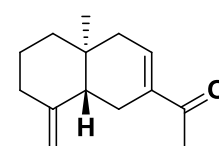
$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 24

Composé : 13-nor-*trans*-Eudesma-4(15),7-dién-11-one (**428**)

Indice de rétention : VF-5ms : 1670

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>25</sup>

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.) : 204  $[\text{M}]^{+}$  (100), 189 (79), 176 (11), 175 (10), 161 (62), 147 (17), 135 (30), 133 (28), 119 (25), 108 (29), 105 (45), 93 (38), 91 (45), 81 (18), 79 (27), 77 (24), 67 (11), 53 (13), 43 (83)



$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  6,23 (dddd,  $J = 4,2, 3,2, 2,5, 0,9$  Hz, 1H, H-8), 4,79 (dq,  $J = 39,7, 1,7$  Hz, 2H, H-15ab), 2,76–2,66 (m, 1H), 2,25 (dtd,  $J = 13,1, 3,4, 1,9$  Hz, 1H), 2,21–2,11 (m, 1H), 1,98 (s, 3H, H-12), 1,91–1,82 (m, 1H), 1,71–1,63 (m, 3H), 1,47–1,39 (m, 2H), 1,35 (dtd,  $J = 13,0, 3,2, 1,8$  Hz, 1H), 1,03 (ddd,  $J = 13,0, 10,1, 7,4$  Hz, 1H), 0,58 (s, 3H, H-14)

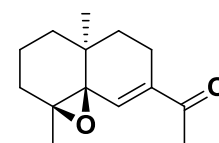
$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 25

Composé : 13-nor-4 $\beta$ ,5 $\beta$ -Epoxyeudesm-6-én-11-one (**429**)

Indice de rétention : VF-5ms : 1670

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>25</sup>

EIMS (70 eV)  $m/z$  (rel. int.) : 220  $[\text{M}]^{+}$  (63), 204 (25), 189 (21), 178 (28), 177 (61), 163 (31), 162 (29), 161 (25), 159 (22), 147 (47), 135 (49), 122 (35), 121 (31), 119 (60), 107 (40), 105 (30), 93 (27), 91 (50), 79 (31), 77 (25), 67 (13), 55 (16), 43 (100)



$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  6,22 (dd,  $J = 2,6, 1,0$  Hz, 1H, H-6), 2,52 (dddd,  $J = 18,6, 4,2, 3,4, 1,0$  Hz, 1H, H-8a), 2,25–2,15 (m, 1H, H-8b), 1,89 (s, 3H, H-12), 1,75 (dtd,  $J = 14,3, 4,5, 1,4$  Hz, 1H, H-3a), 1,54–1,46 (m, 1H, H-2a), 1,36 (ddd,  $J = 14,7, 10,4, 4,7$  Hz, 1H, H-3b), 1,33–1,27 (m, 2H, H-9ab), 1,19 (dddd,  $J = 13,3, 6,2, 2,7, 1,4$  Hz, 1H, H-1a), 1,15 (s, 3H, H-15), 1,12–1,02 (m, 1H, H-2b), 0,94 (s, 3H, H-14), 0,78 (td,  $J = 12,7, 3,1$  Hz, 1H, H-1b)

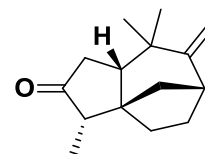
$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 25

Composé : 2-épi-Préziza-7(15)-én-3-one (**432**)

Indice de rétention : VF-5ms : 1689

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.) : 218 [M]<sup>++</sup> (60), 203 (26), 190 (86), 175 (46), 161 (60), 148 (53), 147 (93), 133 (62), 121 (63), 120 (86), 119 (99), 108 (69), 107 (56), 105 (100), 95 (61), 93 (92), 91 (91), 79 (72), 67 (38), 55 (35), 41 (59)



HRMS (EI-TOF):  $m/z$  calc. pour C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>O 218,1671, trouvé 218,1664

<sup>1</sup>H (400 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ 4,83–4,69 (m, 2H, H-15ab), 2,68 (dd,  $J = 6,3, 4,7$  Hz, 1H, H-8), 2,03–1,83 (m, 2H, H-4ab), 1,82–1,78 (m, 1H, H-2), 1,61–1,51 (m, 2H, H-10ab), 1,53–1,43 (m, 1H, H-5), 1,43 (dd,  $J = 10,6, 4,6$  Hz, 1H, H-11a), 1,13–0,97 (m, 3H, H-9ab, H-11b), 0,94 (s, 3H, H-14), 0,90 (d,  $J = 7,0$  Hz, 3H, H-12), 0,86 (s, 3H, H-13)

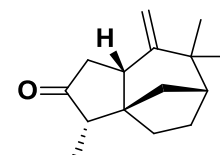
<sup>13</sup>C (101 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) voir Tableau 24

Composé : 2-épi-Ziza-6(13)-én-3-one (**435**)

Indice de rétention : VF-5ms : 1689

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>25</sup>

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.) : 218 [M]<sup>+</sup> (78), 190 (30), 175 (50), 161 (31), 148 (100), 147 (62), 133 (28), 121 (68), 120 (70), 119 (47), 108 (40), 105 (47), 96 (57), 95 (65), 94 (78), 93 (72), 91 (57), 81 (30), 79 (75), 77 (41), 67 (30), 55 (30), 41 (36)



<sup>1</sup>H (500 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ 4,73 (dd,  $J = 2,2, 0,9$  Hz, 1H, H-13a), 4,41 (d,  $J = 2,2$  Hz, 1H, H-13b), 2,31 (ddd,  $J = 11,8, 7,4, 1,8$  Hz, 1H, H-5), 2,02 (ddd,  $J = 18,1, 7,5, 1,0$  Hz, 1H, H-4a), 1,94 (dd,  $J = 18,2, 11,9$  Hz, 1H, H-4b), 1,90–1,83 (m, 1H, H-2), 1,55 (dd,  $J = 6,3, 4,7$  Hz, 1H, H-8), 1,46 (dt,  $J = 11,4, 2,3$  Hz, 1H, H-11a), 1,36 (dddd,  $J = 13,5, 9,3, 4,4, 2,2$  Hz, 1H, H-9a), 1,34–1,26 (m, 1H, H-9b), 1,26 (dd,  $J = 11,4, 4,7$  Hz, 1H, H-11b), 1,01 (s, 3H, H-14), 0,98 (s, 3H, H-15), 0,97–0,91 (m, 1H, H-10a), 0,90 (d,  $J = 7,0$  Hz, 3H, H-12), 0,76–0,67 (m, 1H, H-10b)

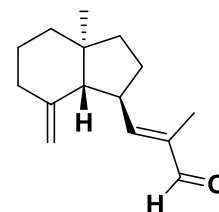
<sup>13</sup>C (126 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) voir Tableau 24

Composé : (*E*)-Opposita-4(15),7(11)-dién-12-al (**436**)

Indice de rétention : VF-5ms : 1691

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>32</sup>

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.) : 218  $[M]^{+•}$  (57), 203 (63), 189 (37), 185 (33), 175 (38), 161 (38), 147 (42), 133 (54), 122 (50), 119 (34), 107 (100), 95 (68), 93 (81), 91 (79), 81 (28), 79 (73), 67 (33), 55 (26), 41 (38)



$^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9,38 (s, 1H, H-12), 6,37 (dq,  $J = 9,9, 1,1$  Hz, 1H, H-7), 4,73 (d,  $J = 1,7$  Hz, 1H, H-15a), 4,29 (d,  $J = 1,7$  Hz, 1H, H-15b), 3,11–3,05 (m, 1H, H-6), 2,35–2,27 (m, 1H, H-3a), 2,17–2,08 (m, 1H, H-8a), 1,94–1,90 (m, 2H, H-5, H-3b), 1,81 (s, 3H, H-13), 1,79–1,75 (m, 1H, H-1a), 1,67–1,63 (m, 3H, H-2ab, H-9a), 1,50–1,45 (m, 1H, H-8a), 1,39–1,32 (m, 2H, H-1b, H-9b), 0,75 (s, 3H, H-14)

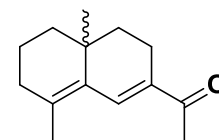
$^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) voir Tableau 25

Composé : 13-nor-Eudesm-4,6-diène-11-one (**439**)

Indice de rétention : VF-5ms : 1701

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>25</sup>

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.) : 204  $[M]^{+•}$  (100), 189 (94), 175 (11), 161 (61), 147 (19), 145 (17), 131 (12), 119 (17), 105 (30), 91 (23), 77 (11), 43 (44)



$^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7,44 (d,  $J = 2,2$  Hz, 1H), 2,51 (dd,  $J = 18,6, 5,6$  Hz, 1H), 2,36 (s, 3H), 2,32–2,23 (m, 1H), 2,23–2,12 (m, 2H), 1,85 (s, 3H), 1,81 (ddt,  $J = 10,5, 6,9, 3,4$  Hz, 1H), 1,73–1,65 (m, 1H), 1,60–1,48 (m, 2H), 1,36–1,21 (m, 2H), 0,92 (s, 3H)

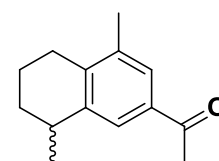
$^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) voir Tableau 25

Composé : 1-(5,6,7,8-tétrahydro-4,8-diméthyl-2-naphtalényl)Ethanone (**448**)

Indice de rétention : VF-5ms : 1775

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.) : 202  $[M]^{+•}$  (41), 188 (15), 187 (100), 159 (35), 145 (8), 129 (10), 128 (13), 115 (10), 105 (4), 91 (5), 43 (22)



HRMS (EI-TOF):  $m/z$  calc. pour  $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}$  202,1358, trouvé 202,1350

$^1\text{H}$  (400 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  7,77 (s, 1H, H-6), 7,60 (s, 1H, H-8), 2,71 (h,  $J = 6,8$  Hz, 1H, H-4), 2,34–2,23 (m, 2H, H-1ab), 2,23 (s, 3H, H-12), 1,96 (s, 3H, H-14), 1,66–1,56 (m, 2H, H-2a, H-3a), 1,52–1,40 (m, 1H, H-2b), 1,36–1,27 (m, 1H, H-3b), 1,15 (d,  $J = 7,0$  Hz, 3H, H-15)

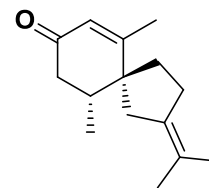
$^{13}\text{C}$  (101 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 25

Composé :  $\beta$ -Vétivone (**450**)

Indice de rétention : VF-5ms : 1808

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>21</sup>

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.) : 218 [M]<sup>+</sup> (100), 203 (13), 176 (31), 175 (29), 161 (40), 147 (26), 136 (76), 135 (32), 133 (30), 121 (42), 107 (31), 91 (35), 83 (32), 67 (29), 55 (15), 41 (21)



<sup>1</sup>H (400 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ 5,86 (p,  $J = 1,2$  Hz, 1H), 2,46 (dd,  $J = 16,7, 4,8$  Hz, 1H), 2,13 (ddd,  $J = 16,7, 4,4, 0,9$  Hz, 1H), 2,12–2,01 (m, 3H), 1,95 (d,  $J = 16,3$  Hz, 1H), 1,67–1,56 (m, 1H), 1,52 (td,  $J = 3,0, 2,5, 1,4$  Hz, 7H), 1,51–1,48 (m, 1H), 1,43 (d,  $J = 1,3$  Hz, 3H), 0,74 (d,  $J = 6,9$  Hz, 3H)

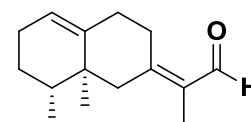
<sup>13</sup>C (101 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) voir Tableau 24

Composé : (*E*)-Isovalencénal (**451**)

Indice de rétention : VF-5ms : 1825

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>25</sup>

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.) : 218 [M]<sup>+</sup> (100), 203 (56), 189 (32), 176 (42), 161 (82), 148 (38), 147 (36), 145 (34), 133 (32), 119 (52), 117 (21),



107 (32), 105 (66), 93 (38), 91 (65), 79 (34), 77 (37), 67 (17), 55 (21), 53 (17), 41 (32)

<sup>1</sup>H (500 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ 10,25 (s, 1H, CHO), 5,37 (dt,  $J = 4,7, 2,2$  Hz, 1H, H-1), 3,14 (ddt,  $J = 13,1, 5,0, 2,6$  Hz, 1H, H-8a), 2,83 (dd,  $J = 12,7, 2,6$  Hz, 1H, H-6a), 2,19 (dddtd,  $J = 13,9, 11,0, 4,9, 3,1, 1,6$  Hz, 1H, H-9a), 2,11–2,02 (m, 2H, H-9b, H-2a), 2,00–1,94 (m, 1H, H-2b), 1,94 (t,  $J = 1,5$  Hz, 3H, H-13), 1,71–1,60 (m, 1H, H-8b), 1,52–1,43 (m, 2H, H-6b, H-4), 1,43–1,35 (m, 2H, H-3ab), 0,88 (d,  $J = 6,6$  Hz, 3H, H-15), 0,77 (d,  $J = 0,8$  Hz, 3H, H-14)

<sup>13</sup>C (126 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) voir Tableau 24

Composé : α-Vétivone (**452**)

Dans un ballon bicol à fond rond de 25 mL, 218 mg de nootkatone (1,0 mmol, 95 %) sont dilués dans 5 mL de toluène sous atmosphère inerte (N<sub>2</sub>). On ajoute ensuite 0,1 mL de BF<sub>3</sub>.Et<sub>2</sub>O (0,81 mmol, 0,81 éq.) que l'on laisse réagir pendant 26 heures à 60 °C. Finalement, la réaction est stoppée par addition d'une solution saturée de bicarbonate de sodium et le mélange est ensuite extrait avec 3 × 10 mL d'éther diéthylique. Les phases organiques sont séchées sur du sulfate de magnésium et concentrées sous vide. Le résidu obtenu est chromatographié sur gel de silice pour donner l'α-vétivone (161 mg, 0,74 mmol, 74 %).

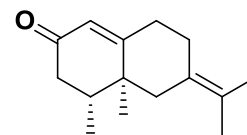
Indice de rétention : VF-5ms : 1837

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>21</sup>

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.) : 218 [M]<sup>+</sup> (58), 203 (23), 185 (100), 175 (10), 161 (22), 157 (11), 147 (21), 133 (11), 121 (19), 105 (14), 91 (19), 77 (10), 41 (12)

<sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  5,76 (d,  $J = 1,7$  Hz, 1H, H-1), 2,80 (dd,  $J = 13,5, 2,0$  Hz, 1H, H-6a), 2,79–2,73 (m, 1H, H-8a), 2,48–2,33 (m, 2H, H-9ab), 2,28–2,25 (m, 2H, H-3ab), 2,12–2,03 (m, 1H, H-4), 1,96–1,83 (m, 1H, H-8b), 1,73 (t,  $J = 1,4$  Hz, 3H, H-12), 1,72 (t,  $J = 1,4$  Hz, 3H, H-13), 1,67 (d,  $J = 13,6$  Hz, 1H, H-6b), 1,01 (d,  $J = 6,8$  Hz, 3H, H-15), 0,97 (d,  $J = 0,7$  Hz, 3H, H-14)

<sup>13</sup>C (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) voir Tableau 24



Composé : (Z)-Eudesma-5,7(11)-dién-12-al (**453**)

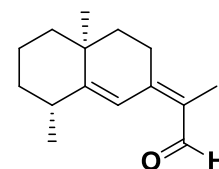
Indice de rétention : VF-5ms : 1883

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.) : 218 [M]<sup>+</sup> (100), 203 (37), 189 (18), 185 (10), 175 (16), 161 (36), 148 (32), 147 (49), 136 (42), 122 (24), 119 (24), 105 (30), 91 (37), 77 (18), 55 (12), 41 (16)

<sup>1</sup>H (500 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  10,43 (s, 1H, CHO), 6,74 (s, 1H, H-6), 2,32–2,25 (m, 1H, H-4), 2,23–2,16 (m, 1H, H-8a), 2,09–2,05 (m, 1H, H-8b), 1,81 (d,  $J = 1,5$  Hz, 3H, H-13), 1,65–1,60 (m, 1H, H-2a), 1,43–1,40 (m, 2H, H-3ab), 1,36–1,31 (m, H-1a), 1,32–1,25 (m, 1H, H-2b), 1,25–1,22 (m, 1H, H-9a), 1,17–1,15 (m, 1H, H-9b), 1,04–0,99 (m, 1H, H-1b), 1,01 (d,  $J = 7,6$  Hz, 3H, H-15), 0,93 (s, 3H, H-14)

<sup>13</sup>C (126 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) voir Tableau 25



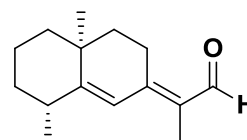
Composé : (E)-Eudesma-5,7(11)-dién-12-al (**454**)

Indice de rétention : VF-5ms : 1892

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.) : 218 [M]<sup>+</sup> (100), 203 (40), 189 (21), 175 (16), 161 (37), 148 (35), 147 (53), 136 (45), 133 (23), 122 (25), 119 (23), 105 (28), 95 (14), 91 (35), 77 (18), 65 (8), 55 (12), 41 (16)

<sup>1</sup>H (500 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  10,22 (s, 1H, H-12), 6,15 (s, 1H, H-6), 2,79 (dt,  $J = 16,5, 3,7$  Hz, 1H, H-8a), 2,36–2,28 (m, 1H, H-4), 2,13 (ddt,  $J = 16,2, 4,3, 2,1$  Hz, 1H, H-8b), 1,93 (d,  $J = 2,1$  Hz, 3H, H-13), 1,68–1,60 (m, 1H, H-2a), 1,45–1,37 (m, 2H, H-3ab), 1,35–1,29 (m, 1H, H-1a),



1,31–1,22 (m, 1H, H-2b), 1,17–1,08 (m, 2H, H-9ab), 1,05–1,01 (m, 1H, H-1b), 1,02 (d,  $J = 7,6$  Hz, 3H, H15), 0,94 (d,  $J = 0,8$  Hz, 3H, H-14)

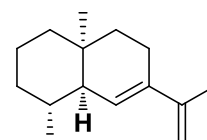
$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 25

Composé : *cis*-Eudesma-6,11-diène (**488**)

Indice de rétention : HP-1 : 1491

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>26</sup>

$^1\text{H}$  (400 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  6,09 (d,  $J = 5,4$  Hz, 1H), 5,12–4,89 (m, 2H), 2,35–2,19 (m, 2H), 1,97–1,82 (m, 1H), 1,90 (d,  $J = 1,2$  Hz, 3H), 1,56–1,48 (m, 1H), 1,46–1,35 (m, 3H), 1,31–1,18 (m, 3H), 0,96 (d,  $J = 6,1$  Hz, 3H), 0,97–0,89 (m, 2H), 0,90 (s, 3H)



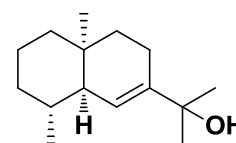
$^{13}\text{C}$  (101 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 29

Composé : *cis*-Eudesm-6-én-11-ol (**518**)

Indice de rétention : HP-1 : 1570

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>26</sup>

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.) : 222  $[\text{M}]^{+}$  (4), 207 (31), 204 (13), 189 (20), 164 (45), 149 (100), 135 (14), 121 (21), 108 (38), 97 (24), 93 (25), 81 (27), 59 (47), 43 (38)



$^1\text{H}$  (400 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  5,95 (dt,  $J = 3,6, 1,7$  Hz, 1H), 2,09–1,97 (m, 2H), 1,91–1,79 (m, 1H), 1,53 (ddt,  $J = 10,2, 5,8, 2,8$  Hz, 1H), 1,46–1,38 (m, 3H), 1,32–1,24 (m, 1H), 1,21 (d,  $J = 7,9$  Hz, 8H), 0,98 (d,  $J = 5,9$  Hz, 3H), 0,98–0,89 (m, 1H), 0,90 (s, 4H)

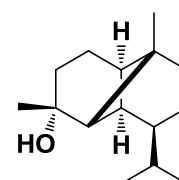
$^{13}\text{C}$  (101 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 29

Composé : Ylangan-4 $\alpha$ -ol (**521**)

Indice de rétention : HP-1 : 1578

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.) : 222  $[\text{M}]^{+}$  (3), 207 (44), 204 (30), 189 (16), 179 (9), 164 (31), 161 (100), 149 (16), 137 (19), 135 (18), 121 (55), 109 (25), 107 (26), 105 (58), 95 (28), 93 (43), 91 (31), 81 (36), 79 (30), 69 (14), 67 (15), 55 (18), 43 (41)



$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  2,09 (s, 1H, H-6), 1,86–1,80 (m, 2H, H-2a, H-5), 1,75–1,68 (m, 3H, H-3ab, H-2a), 1,57–1,43 (m, 6H, H-9ab, H-8ab, H-7, H-11), 1,41 (dt,  $J = 5,6, 2,7$  Hz, 1H,

H-1), 1,17 (s, 3H, H-15), 0,96 (d,  $J = 6,4$  Hz, 3H, H-12), 0,94 (d,  $J = 6,5$  Hz, 3H, H-13), 0,80 (s, 3H, H-14)

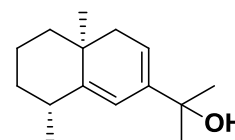
$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 30

Composé : Eudesma-5,7-dién-11-ol, Gynuradiénol (**524**)

Indice de rétention : HP-1 : 1588

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>36</sup>

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.) : 220  $[\text{M}]^{+\bullet}$  (60), 205 (92), 202 (39), 187 (57), 177 (14), 159 (18), 147 (38), 145 (33), 131 (55), 119 (17), 117 (14), 115 (16), 105 (39), 91 (52), 77 (13), 59 (100), 43 (51)



$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  5,88 (t,  $J = 1,2$  Hz, 1H, H-6), 5,58 (ddd,  $J = 6,6, 2,5, 1,7$  Hz, 1H, H-8), 2,61–2,51 (m, 1H, H-4), 2,13 (dd,  $J = 16,4, 2,6$  Hz, 1H, H-9a), 1,85 (dd,  $J = 16,3, 6,6$  Hz, 1H, H-9b), 1,70–1,62 (m, 1H, H-2a), 1,60–1,53 (m, 1H, H-1a), 1,51–1,45 (m, 2H, H-3ab), 1,42–1,37 (m, 1H, H-2b), 1,27 (s, 3H, H-12), 1,24 (s, 3H, H-13), 1,23–1,18 (m, H, H-1b), 1,14 (d,  $J = 7,5$  Hz, 3H, H-15), 1,01 (s, 3H, H-14)

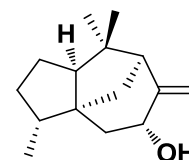
$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 29

Composé : Funébr-8(15)-én-9 $\alpha$ -ol (**533**)

Indice de rétention : HP-1 : 1623

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.) : 220  $[\text{M}]^{+\bullet}$  (17), 204 (10), 189 (11), 177 (39), 159 (50), 149 (26), 136 (29), 131 (22), 118 (48), 109 (46), 108 (62), 107 (35), 105 (28), 95 (34), 91 (46), 81 (41), 69 (100), 55 (35), 41 (42)



$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  5,07 (t,  $J = 2,1$  Hz, 1H, H-15a), 4,75 (t,  $J = 2,2$  Hz, 1H, H-15b), 4,31 (t,  $J = 6,9$  Hz, 1H, H-9), 2,62 (d,  $J = 5,0$  Hz, 1H, H-7), 2,22 (ddd,  $J = 12,3, 9,9, 8,4$  Hz, 1H, H-3a), 1,98 (ddd,  $J = 14,1, 7,9, 2,7$  Hz, 1H, H-10a), 1,84 (dd,  $J = 13,9, 6,1$  Hz, 1H, H-5), 1,64 (ddd,  $J = 10,8, 5,0, 2,6$  Hz, 1H, H-11a), 1,38 (ddd,  $J = 8,3, 7,1, 1,8$  Hz, 1H, H-2), 1,32 (d,  $J = 10,8$  Hz, 1H, H-11b), 1,30–1,24 (m, 2H, H-3b, H-4a), 1,15 (dd,  $J = 14,1, 8,3$  Hz, 1H, H-10b), 1,11–1,07 (m, 1H, H-4b), 1,01 (s, 3H, H-13), 0,87 (s, 3H, H-14), 0,78 (d,  $J = 7,2$  Hz, 3H, H-12)

$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 30

Composé : *trans*-Eudesm-6-én-4 $\beta$ -ol (**535**)

Indice de rétention : HP-1 : 1627

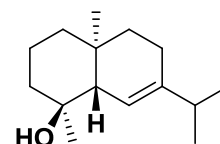


Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>38</sup>

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.) : 222 [M]<sup>+</sup> (7), 204 (100), 189 (62), 161 (90), 147 (24), 137 (36), 135 (39), 121 (48), 109 (21), 105 (52), 93 (43), 91 (35), 81 (75), 71 (18), 55 (18), 43 (50)

<sup>1</sup>H (400 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ 5,78 (d,  $J = 2,4$  Hz, 1H, H-6), 2,20 (p,  $J = 6,9$  Hz, 1H, H-11), 2,08–1,95 (m, 1H, H-8a), 1,94–1,81 (m, 2H, H-4, H-8b), 1,69–1,64 (m, 1H, H-3a), 1,49–1,38 (m, 2H, H-2ab), 1,33–1,24 (m, 3H, H-9ab, H-1a), 1,17 (tdd,  $J = 13,3, 5,1, 1,0$  Hz, 1H, H-3b), 1,07 (s, 3H, H-15), 1,05 (d,  $J = 6,9$  Hz, 6H, H-12, H-13), 1,01–0,87 (m, 1H, H-1b), 0,79 (s, 3H, H-14)

<sup>13</sup>C (101 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) voir Tableau 29



Composé : *trans*-Eudesma-4(15),7-diène-11-ol (**538**)

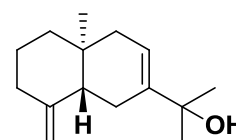
Indice de rétention : HP-1 : 1635

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>39</sup>

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.) : 220 [M]<sup>+</sup> (9), 205 (100), 202 (14), 187 (18), 177 (6), 161 (7), 159 (9), 147 (15), 133 (12), 131 (11), 119 (10), 105 (18), 95 (15), 93 (14), 91 (19), 79 (11), 67 (6), 59 (17), 43 (20)

<sup>1</sup>H (500 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ 5,59 (dtd,  $J = 5,1, 2,5, 0,8$  Hz, 1H, H-8), 4,89 (d,  $J = 1,8$  Hz, 1H, H-15a), 4,72 (d,  $J = 1,7$  Hz, 1H, H-15b), 2,33 (ddt,  $J = 13,0, 4,1, 2,3$  Hz, 1H, H-3a), 2,20–2,14 (m, 1H, H-6a), 2,10–2,01 (m, 1H, H-6b), 1,95–1,87 (m, 2H, H-3b, H-5), 1,83 (ddd,  $J = 14,9, 4,7, 2,3$  Hz, 2H, H-9ab), 1,56–1,48 (m, 2H, H-2ab), 1,47–1,42 (m, 1H, H-1a), 1,23 (s, 3H, H-12), 1,20 (s, 3H, H-13), 1,15 (td,  $J = 12,8, 5,2$  Hz, 1H, H-1b), 0,75 (s, 3H, H-14)

<sup>13</sup>C (126 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) voir Tableau 29



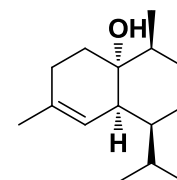
Composé : Amorph-4-én-1α-ol (**542**)

Indice de rétention : HP-1 : 1641

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.) : 222 [M]<sup>+</sup> (1), 204 (36), 189 (5), 179 (100), 161 (65), 123 (14), 119 (33), 109 (23), 105 (25), 95 (21), 93 (18), 81 (17), 69 (11), 55 (14), 41 (14)

<sup>1</sup>H (500 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ 5,37–5,29 (m, 1H, H-5), 2,36 (s, 1H, H-6), 1,94–1,89 (m, 2H, H-3ab), 1,74 (ddd,  $J = 13,4, 6,0, 4,6$  Hz, 1H, H-2a), 1,68–1,62 (m, 2H, H-10, H-9a), 1,60–1,58 (m, 1H, H-2b), 1,58–1,55 (m, 3H, H-15), 1,56–1,51 (m, 3H, H-11, H-7, H-8a), 1,27–1,17 (m,



1H, H-9b), 1,17–1,08 (m, 1H, H-8b), 1,02 (d,  $J = 7,3$  Hz, 3H, H-14), 0,94 (d,  $J = 6,0$  Hz, 3H, H-12), 0,94 (d,  $J = 6,1$  Hz, 3H, H-13)

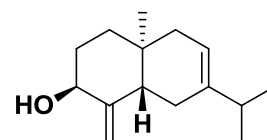
$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 30

Composé : *trans*-Eudesma-4(15),7-dién-3 $\beta$ -ol (**550**)

Indice de rétention : HP-1 : 1664

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>21</sup>

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.) : 220  $[\text{M}]^{+}$  (74), 204 (26), 187 (44), 177 (51), 161 (87), 159 (100), 147 (44), 145 (35), 135 (38), 133 (37), 131



(44), 119 (48), 107 (57), 105 (74), 93 (55), 91 (73), 79 (43), 67 (28), 55 (28), 41 (34)

$^1\text{H}$  (400 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  5,38–5,30 (m, 1H, H-8), 4,85 (t,  $J = 1,8$  Hz, 1H, H-15a), 4,64 (t,  $J = 1,9$  Hz, 1H, H-15b), 4,10 (t,  $J = 2,9$  Hz, 1H, H-3), 2,59 (ddt,  $J = 11,3, 4,6, 2,0$  Hz, 1H, H-5), 2,16 (dq,  $J = 12,3, 6,2, 5,5$  Hz, 1H, H-11), 2,04–1,84 (m, 4H, H-9a, H-6ab, H-1a), 1,82–1,68 (m, 2H, H-9b, H-2a), 1,64 (ddd,  $J = 14,0, 4,1, 2,9$  Hz, 1H, H-2b), 1,19 (ddd,  $J = 13,1, 4,1, 2,9$  Hz, 1H, H-1b), 1,03 (d,  $J = 6,9$  Hz, 6H, H-12, H-13), 0,72 (s, 3H, H-14)

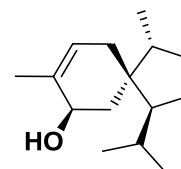
$^{13}\text{C}$  (101 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 29

Composé : Acor-4-én-3 $\beta$ -ol (**560**)

Indice de rétention : HP-1 : 1676

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.) : 222  $[\text{M}]^{+}$  (42), 207 (7), 179 (22), 166 (20), 161 (34), 151 (77), 138 (80), 123 (38), 119 (46), 109 (52), 105 (43), 95 (45), 84 (100), 69 (30), 55 (31), 41 (33)



$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  5,35 (ddp,  $J = 4,6, 2,9, 1,4$  Hz, 1H, H-5), 4,07 (d,  $J = 6,5$  Hz, 1H, H-3), 2,05 (ddt,  $J = 15,6, 8,7, 6,9$  Hz, 1H, H-10), 1,86–1,81 (m, 1H, H-6a), 1,81–1,77 (m, 1H, H-9a), 1,79–1,77 (m, 3H, H-15), 1,77–1,73 (m, 1H, H-11), 1,71 (ddd,  $J = 13,4, 6,0, 1,6$  Hz, 1H, H-2a), 1,67–1,55 (m, 2H, H-8a, H-7), 1,52 (ddq,  $J = 17,0, 4,7, 1,7$  Hz, 1H, H-6b), 1,47 (dd,  $J = 13,4, 7,0$  Hz, 1H, H-2b), 1,43–1,35 (m, 1H, H-8b), 1,20–1,12 (m, 1H, H-9b), 0,83 (d,  $J = 7,1$  Hz, 6H, H-14, H-13), 0,81 (d,  $J = 6,7$  Hz, 3H, H-12)

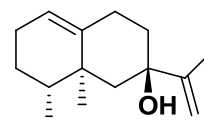
$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 30

Composé : Valencén-7 $\beta$ -ol (**562**)

Indice de rétention : HP-1 : 1674

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.) : 220  $[M]^{+}$  (1), 202 (100), 187 (50), 173 (9), 159 (22), 145 (33), 131 (24), 121 (36), 107 (23), 105 (22), 91 (25), 79 (22), 69 (19), 55 (10), 41 (21)



$^1\text{H}$  (400 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  5,33 (dt,  $J = 4,8, 2,3$  Hz, 1H, H-1), 4,97 (s, 1H, H-12a), 4,81 (t,  $J = 1,5$  Hz, 1H, H-12b), 2,47–2,37 (m, 1H, H-9a), 2,33 (dd,  $J = 13,5, 2,6$  Hz, 1H, H-6a), 2,11 (ddt,  $J = 13,1, 4,5, 2,9$  Hz, 1H, H-8a), 2,06–1,94 (m, 2H, H-9b, H-2a), 1,93–1,84 (m, 2H, H-2b), 1,83 (d,  $J = 1,6$  Hz, 3H, H-13), 1,53 (td,  $J = 13,4, 4,8$  Hz, 1H, H-8b), 1,44–1,34 (m, 2H, H-4, H-3a), 1,32 (dd,  $J = 12,8, 2,6$  Hz, 1H, H-6b), 1,29–1,22 (m, 1H, H-3b), 0,91 (s, 3H, H-14), 0,81 (d,  $J = 6,4$  Hz, 3H, H-15)

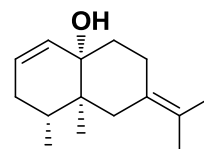
$^{13}\text{C}$  (101 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 29

Composé : Erémophila-1,7(11)-dién-10 $\alpha$ -ol (**568**)

Indice de rétention : HP-1 : 1687

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.) : 220  $[M]^{+}$  (3), 202 (100), 187 (60), 173 (4), 159 (53), 145 (32), 131 (20), 123 (17), 119 (14), 109 (34), 95 (32), 81 (14), 67 (14), 55 (14), 41 (16)



$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  5,45–5,33 (m, 2H, H-1, H-2), 2,44 (d,  $J = 14,3$  Hz, 1H, H-6a), 2,36–2,22 (m, 1H, H-8a), 2,22–2,15 (m, 1H, H-8b), 2,14–2,08 (m, 1H, H-6b), 1,90–1,77 (m, 2H, H-4, H-3a), 1,68 (t,  $J = 1,6$  Hz, 3H, H-12), 1,67–1,64 (m, 2H, H-9ab), 1,63 (t,  $J = 1,6$  Hz, 3H, H-13), 1,57 (dt,  $J = 7,3, 2,1$  Hz, 1H, H-3b), 0,83 (s, 3H, H-14), 0,79 (d,  $J = 6,6$  Hz, 3H, H-15)

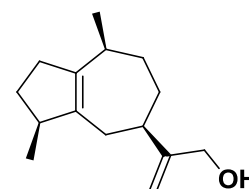
$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 29

Composé : Guaia-1(5),11-dién-12-ol (**573**)

Indice de rétention : HP-1 : 1722

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>46</sup>

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.) : 220  $[M]^{+}$  (36), 189 (100), 165 (19), 163 (23), 159 (22), 147 (54), 145 (53), 133 (52), 131 (40), 123 (30), 121 (40), 119 (30), 107 (68), 105 (58), 95 (46), 93 (59), 91 (79), 81 (44), 79 (52), 77 (37), 67 (21), 55 (26), 41 (27)



$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  5,02 (q,  $J = 1,6$  Hz, 1H, H-13a), 4,88 (t,  $J = 1,2$  Hz, 1H, H-13b), 3,86 (s, 2H, H-12), 2,57 (dq,  $J = 11,1, 5,3$  Hz, 1H, H-4), 2,48 (dddt,  $J = 14,9, 8,8, 5,6, 2,6$  Hz,

1H, H-2a), 2,30–2,12 (m, 4H, H-10, H-6a, H-2b, H-7), 2,08 (d,  $J = 15,3$  Hz, 1H, H-6b), 2,02 (dddd,  $J = 12,6, 9,3, 8,4, 5,9$  Hz, 1H, H-3b), 1,64 (dddd,  $J = 16,4, 6,9, 6,1, 3,6$  Hz, 2H, H-8ab), 1,60–1,53 (m, 2H, H-9ab), 1,34 (ddt,  $J = 12,6, 9,1, 5,0$  Hz, 1H, H-3b), 1,02 (d,  $J = 7,2$  Hz, 3H, H-14), 0,98 (d,  $J = 6,9$  Hz, 3H, H-15)

$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 30

## Références

- (1) Maffei M. *Vetiveria: The Genus Vetiveria*; CRC Press **2002**.
- (2) Surburg H., Panten J. In *Common Fragrance and Flavor Materials*; Wiley-VCH, Ed. 2006, p 7.
- (3) Belhassen E., Baldovini N., Brevard H., Meierhenrich U., Filippi J.-J., Unravelling the Scent of Vetiver: Identification of Character Impact Compounds, *Chem. Biodiversity*, **2014**, *11*, 1821.
- (4) Belhassen E., Filippi J.-J., Brévard H., Joulain D., Baldovini N., Volatile constituents of Vetiver. A review, *Flavour Fragr. J.*, **2015**, *30*, 26.
- (5) IFRA, Vetiver in Haiti, <http://www.ifraorg.org/en-us/sustainability/article/49#.W7Q3tHszbiW>, **2012**.
- (6) Firmenich Visits Haiti to Reinforce Commitment to the Vetiver-producing Region, *Perfum. Flavor.*, **2013**, <https://www.perfumerflavorist.com/networking/news/company/Firmenich-Visits-Haiti-to-Reinforce-Commitment-to-the-Vetiver-Producing-Region-201459641.html>.
- (7) Givaudan Partners with Vetiver Growers to Strengthen Supply from Haiti, *Perfum. Flavor.*, **2013**, <https://www.perfumerflavorist.com/networking/news/company/Givaudan-Partners-with-Vetiver-Growers-to-Strengthen-Supply-from-Haiti-235075381.html>.
- (8) Adams R. P., Habte M., Park S., Dafforn M. R., Preliminary comparison of vetiver root essential oils from cleansed (bacteria- and fungus-free) versus non-cleansed (normal) vetiver plants, *Biochem. Syst. Ecol.*, **2004**, *32*, 1137.
- (9) Massardo D. R., Senatore F., Alifano P., Del Giudice L., Pontieri P., Vetiver oil production correlates with early root growth, *Biochem. Syst. Ecol.*, **2006**, *34*, 376.
- (10) Filippi J.-J., Belhassen E., Baldovini N., Brevard H., Meierhenrich U. J., Qualitative and quantitative analysis of vetiver essential oils by comprehensive two-dimensional gas chromatography and comprehensive two-dimensional gas chromatography/mass spectrometry, *J. Chromatogr., A*, **2013**, *1288*, 127.
- (11) Weyerstahl P., Marschall H., Splittgerber U., Wolf D., Surburg H., Constituents of Haitian vetiver oil, *Flavour Fragr. J.*, **2000**, *15*, 395.
- (12) Maurer B., Fracheboud M., Grieder A., Ohloff G., Sesquiterpenoid C12 ketones from *Vetiveria zizanioides* essential oil, *Helv. Chim. Acta*, **1972**, *55*, 2371.
- (13) Pfau A. S., Plattner P., Volatile plant constituents. IV. Constitution of the azulenes, *Helv. Chim. Acta*, **1936**, *19*, 858.
- (14) Marshall J. A., Johnson P. C., Structure of .beta.-vetivone and related vetivane sesquiterpenes, *J. Am. Chem. Soc.*, **1967**, *89*, 2750.
- (15) Sell C. In *The Chemistry of Fragrances: From Perfumer to Consumer (2)*; Sell, C. S., Ed.; The Royal Society of Chemistry: 2006, p 24.
- (16) Filippi J.-J., Norsesquiterpenes as markers of overheating in Indonesian vetiver oil, *Flavour Fragr. J.*, **2014**, *29*, 137.
- (17) Champagnat P., Figueredo G., Chalchat J.-C., Carnat A.-P., Bessière J.-M., A Study on the Composition of Commercial *Vetiveria zizanioides* Oils from Different Geographical Origins, *J. Essent. Oil Res.*, **2006**, *18*, 416.
- (18) St. Pfau A., Plattner P. A., Etudes sur les matières végétales volatiles X. Sur les vétivones, constituants odorants des essences de vétiver, *Helv. Chim. Acta*, **1939**, *22*, 640.
- (19) Pfau A. S., Plattner P. A., Volatile plant materials. XI. The constitution of  $\beta$ -vetivone, *Helv. Chim. Acta*, **1940**, *23*, 768.
- (20) Marshall J. A., Andersen N. H., Johnson P. C., A stereoselective synthesis of hydroazulenes. Grounds for structure revision of the vetivane sesquiterpenes, *J. Am. Chem. Soc.*, **1967**, *89*, 2748.

- (21) Weyerstahl P., Marschall H., Splittgerber U., Wolf D., Analysis of the polar fraction of Haitian vetiver oil, *Flavour Fragr. J.*, **2000**, *15*, 153.
- (22) Mookherjee B. D., Trenkle R. W., Wilson R. A., *Indian Perfumer*, **1992**, *36*, 234.
- (23) Spreitzer H., Piringer I., Holzer W., Widhalm M., Structure/Odor Relationships of (-)- and (+)- $\beta$ -Vetivone, and Their Demethyl Derivatives, *Helv. Chim. Acta*, **1998**, *81*, 2292.
- (24) Maurer B., Sesquiterpenoide ketone mit interessanten riechstoffeigenschaften aus Reunion Vetiverol, *Seifen Öle Fette Wachse*, **1980**, *106*, 347.
- (25) Weyerstahl P., Marschall H., Splittgerber U., Wolf D., 1,7-Cyclogermacra-1(10),4-dien-15-al, a sesquiterpene with a novel skeleton, and other sesquiterpenes from Haitian vetiver oil, *Flavour Fragr. J.*, **2000**, *15*, 61.
- (26) Weyerstahl P., Marschall H., Splittgerber U., Wolf D., New cis-Eudesm-6-ene Derivatives from Vetiver Oil, *Liebigs Annalen*, **1997**, *1997*, 1783.
- (27) Jirovetz L., Nikiforov A., Woidich D., Braun D., Buchbauer G., Olfaktometrie und analytik von vetiverolen und vetiverduftstoffen, *Seifen Ole Fette Wachse*, **1990**, *116*.
- (28) Girard A., Sandulesco G., Sur une nouvelle série de réactifs du groupe carbonyle, leur utilisation à l'extraction des substances cétoniques et à la caractérisation microchimique des aldéhydes et cétones, *Helv. Chim. Acta*, **1936**, *19*, 1095.
- (29) Niebler J., Zhuravlova K., Minceva M., Buettner A., Fragrant Sesquiterpene Ketones as Trace Constituents in Frankincense Volatile Oil of *Boswellia sacra*, *J. Nat. Prod.*, **2016**, *79*, 1160.
- (30) Bokel H.-H., Marschall H., Weyerstahl P., Terpenes and terpene derivatives. XIII. Synthesis of ( $\pm$ )-8,9-dehydroasterolide, *Liebigs Annalen der Chemie*, **1982**, *1982*, 73.
- (31) Marshall J. A., Schaeffer D. J., Synthesis of Bicyclo[4.4.0]decanones and Bicyclo[3.3.1]nonanones via the Wichterle Reaction, *J. Org. Chem.*, **1965**, *30*, 3642.
- (32) Weyerstahl P., Marschall H., Degenkolb P., Lebada P., Synthesis of rac-(E)-Opposita-4(15),7(11)-dien-12-al, *Eur. J. Org. Chem.*, **1999**, *1999*, 675.
- (33) Adams R. P. *Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy*. 4th Ed.; Allured Pub. Corp., **2007**.
- (34) Iwata C., Yamada M., Fusaka T., Miyashita K., Nakamura A., Tanaka T., Fujiwara T., Tomita K.-I., Total Synthesis of (+/-)-Solavetivone and Aglycone A<sub>3</sub>. Regio- and Stereo-Selective Birch Reduction of 6, 10-Dimethyl-2-hydroxyspiro [4.5] deca-6,9-dien-8-one, *CHEMICAL & PHARMACEUTICAL BULLETIN*, **1987**, *35*, 544.
- (35) van Beek T. A., Joulain D., The essential oil of patchouli, *Pogostemon cablin*: A review, *Flavour Fragr. J.*, **2018**, *33*, 6.
- (36) Yasuhiro S., Yuriko I., Mika K., Kazuhiro M., Hisakatsu I., Koichiro S., New eudesmane- type sesquiterpenoids and other volatile constituents from the roots of *Gynura bicolor* DC, *Flavour Fragr. J.*, **2011**, *26*, 55.
- (37) Nagano H., Torihata A., Matsushima M., Hanai R., Saito Y., Baba M., Tanio Y., Okamoto Y., Takashima Y., Ichihara M., Gong X., Kuroda C., Tori M., Chemical and Genetic Study of *Ligularia cyathiceps* in Yunnan Province of China, *Helv. Chim. Acta*, **2009**, *92*, 2071.
- (38) Fang N., Yu S., Mabry T. J., Abboud K. A., Simonsen S. H., Terpenoids from *Ageratina saltillensis*, *Phytochemistry*, **1988**, *27*, 3187.
- (39) Qin Y., Xu C., Ma T., Zhou Z., Wang Q., Chen J., Application of carboxyl maltose iron injection in treating pulmonary emphysema, Jiangsu Shenlong Pharmaceutical Co., Ltd., Peop. Rep. China . CN106008165A, **2016**.
- (40) Yu Z., Jianmin Y., Zhongwen L., Jingkai D., Handong S., Eudesmane sesquiterpenes from *Laggera pterodonta*, *Phytochemistry*, **1997**, *44*, 459.
- (41) Upadhyay R. K., Misra L. N., Singh G., Sesquiterpene alcohols of the copane series from essential oil of *Ocimum americanum*, *Phytochemistry*, **1991**, *30*, 691.

- (42) Peter W., Helga M., Katrin T., C. S. G., Constituents of the essential oil from the rhizomes of *Hedychium gardnerianum* Roscoe, *Flavour Fragr. J.*, **1998**, *13*, 377.
- (43) Kasali A. A., Ekundayo O., Paul C., König W. A., epi-Cubebanes from *Solidago canadensis*, *Phytochemistry*, **2002**, *59*, 805.
- (44) Tomi F., Bighelli A., Casanova J., Carbon-13 Chemical Shift Assignment of  $\beta$ -Cedrene and Some Derivatives, *Spectroscopy Letters*, **1993**, *26*, 1661.
- (45) Brock N. L., Dickschat J. S., Enantioselective Synthesis of the Unnatural Enantiomers of the Fungal Sesquiterpenoids Acorenone and Trichoacorenol, *Eur. J. Org. Chem.*, **2011**, *2011*, 5167.
- (46) Nii H., Furukawa K., Iwakiri M., Kubota T., A new sesquiterpene carboxylic acid from *Lindera glauca* (Sieb. et Zucc.) blume, *Nippon Nogei Kagaku Kaishi*, **1983**, *57*, 725.
- (47) Filippi J.-J., Cocolo N., Meierhenrich U., Peak-bridges due to in-column analyte transformations as a new tool for establishing molecular connectivities by comprehensive two-dimensional gas chromatography-mass spectrometry, *J. Chromatogr., A*, **2015**, *1383*, 134.

## Chapitre Vb : Etude approfondie de la composition chimique des acétates de vétivéryle

### Vb.1. Contexte et considération générale

Bien que l'huile essentielle de vétiver soit largement utilisée dans les compositions de parfums, une partie importante de cette essence est traditionnellement transformée en acétate de vétivéryle<sup>1</sup>. Divers dérivés de l'essence de vétiver sont connus et parfois commercialisés. Cependant, l'acétate de vétivéryle est le seul produit ayant une réelle importance économique et il entre aussi bien dans la formule de parfums domestiques que dans la composition de parfums de luxe.<sup>2</sup> De manière surprenante, l'acétate de vétivéryle a très peu été étudié par le passé,<sup>3,4</sup> si bien qu'aucune caractérisation chimique détaillée de ses constituants n'a été encore publiée. Dans un contexte où l'acétate de vétivéryle est actuellement examiné par les autorités de régulation européennes, pour déterminer son impact toxicologique en tant qu'ingrédient de parfum,<sup>5</sup> il est particulièrement crucial d'établir une composition chimique plus précise afin de poursuivre les évaluations toxicologiques requises.

Traditionnellement, l'acétate de vétivéryle est fabriqué pour fournir aux parfumeurs une substance odorante de type « vétiver » mais offrant une tonalité différente de l'huile essentielle.<sup>1</sup> Par conséquent, la plupart des entreprises du secteur des parfums ont produit ou produisent toujours de l'acétate de vétivéryle en utilisant leur propre procédé en interne. La composition chimique des huiles essentielles de vétiver varie en fonction de leur origine géographique (Haïti, Java, Bourbon, Brésil, Chine, San Salvador, Madagascar),<sup>6,7</sup> mais celle-ci dépend également des paramètres utilisés lors de l'hydrodistillation.<sup>8</sup> Après plus d'un siècle d'analyse chimique, il est désormais bien établi que les alcools sesquiterpéniques prédominent généralement dans les essences d'Haïti et Bourbon, alors que les essences indonésiennes sont particulièrement riches en hydrocarbures.<sup>6,7,9</sup> Les acétates de vétivéryle peuvent ainsi être préparés à partir de n'importe quel type d'huile essentielle de vétiver, mais celles présentant des teneurs élevées en alcools sont généralement préférées comme substrat de départ. En outre, une extraction sélective de ces alcools est parfois réalisée avant l'acétylation afin de préparer une fraction de l'essence appelée vétivérol (n° CAS 68129-81-7). Dans ce cas, les alcools sesquiterpéniques sont isolés de l'essence par succinylation ou boratation,<sup>10</sup> et régénérés à partir de leur forme succinate ou borate par saponification pour donner une fraction odorante composée quasi exclusivement d'alcools primaires et secondaires. Le vétivérol est ensuite



acétylé pour donner de l'acétate de vétiverol (n° CAS 62563-80-8). Ainsi, l'acétate de vétivéryle peut ainsi atteindre une complexité moléculaire en tout point comparable à celle de l'essence de vétiver. Cependant, comme un grand nombre de dérivés sesquiterpéniques tels que les hydrocarbures, les aldéhydes, les cétones et les alcools tertiaires sont des constituants communs à la fois de l'acétate de vétivéryle et de l'huile essentielle de vétiver, leur identification est presque évidente, à condition que les bibliothèques de spectre de masse soient suffisamment complètes et fiables.

Alors que l'essence de vétiver est désormais bien décrite, les autorités réglementaires demandent aux entreprises du secteur des arômes et parfums, notamment dans le cadre de REACH, de fournir une description aussi précise que possible de la composition chimique des acétates de vétivéryle.<sup>5</sup> Dans ce contexte, il est même surprenant de constater que de nombreux professionnels du domaine, y compris les fournisseurs de produits chimiques,<sup>11</sup> certains ouvrages spécialisés<sup>12</sup> et les organisations mondiales de parfums<sup>13</sup> indiquent toujours que l'acétate de vétivéryle est le résultat de l'acétylation d'un seul composé appelé "vétivérol", dont le squelette azulénique, initialement mal caractérisé, a été réfuté il y a plusieurs décennies<sup>14</sup> (Figure 33).

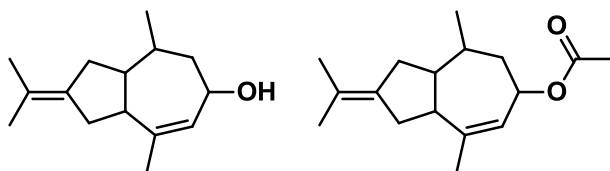


Figure 33. Structures erronées du vétivérol et de l'acétate de vétivéryle.<sup>14</sup>

L'évaluation toxicologique des acétates de vétivéryle, comme celle de nombreux autres ingrédients de parfum, revêt bien sûr une importance cruciale pour la sécurité des consommateurs, mais nécessite également d'être à même de connaître précisément l'identité et la composition chimique de la substance soumise à l'évaluation toxicologique. Dans ce contexte, il a donc été nécessaire de procéder à une étude approfondie de divers acétates de vétivéryle et de donner une composition chimique détaillée de ces substances.

Ainsi, dans le cadre de notre étude sur les matières premières à odeur boisée et des études réalisées par notre groupe sur les huiles essentielles de vétiver (Chapitre VA),<sup>6</sup> la GC × GC-FID/MS est apparue comme la technique la plus appropriée pour obtenir une caractérisation précise de nos échantillons, en particulier pour une analyse quantitative fiable de ces mélanges complexes. Ainsi, nous rapportons une étude détaillée de l'acétate de

vétivéryle, incluant des échantillons commerciaux ainsi qu'une série d'acétates de vétivéryle produits dans notre laboratoire, en se basant sur une méthodologie analytique systématique utilisant le fractionnement d'échantillons, les transformations chimiques et l'analyse chromatographique avec différentes techniques de chromatographie en phase gazeuse. Le but principal de cette étude est de fournir la caractérisation qualitative et quantitative la plus précise possible des acétates de vétivéryle, en ciblant principalement la fraction ester dans laquelle se trouve la plupart des constituants encore inconnus. Pour tenter de répondre aux questions réglementaires concernant l'innocuité de l'acétate de vétivéryle en tant qu'ingrédient de parfum, l'ensemble des données analytiques obtenues ici permet de fournir une première estimation de l'impact toxicologique des esters en appliquant des outils informatisés. De plus, ces résultats analytiques nous ont amenés à rationaliser la manière dont le procédé d'acétylation peut influencer les propriétés olfactives de la substance.

## Vb.2. Identification des esters de l'acétate de vétivéryle

En dépit de sa fabrication traditionnelle et de son utilisation dans la parfumerie, l'acétate de vétivéryle a été rarement étudié par le passé. D'un point de vue chimique, sa similarité avec l'essence de vétiver est évidente en raison de sa filiation, la plupart des alcools présents dans l'essence, au moins les alcools primaires et secondaires, sont transformés en acétates au cours du processus de fabrication. L'identification des esters dans l'acétate de vétivéryle n'est cependant pas aussi simple qu'on pourrait s'y attendre puisque les acétates issus de ces alcools sesquiterpéniques sont susceptibles d'éluer dans une zone chromatographique assez peu étendue (que ce soit sur les phases stationnaires polaires ou apolaires). De plus, en raison de leurs relations biosynthétiques, ces esters fournissent souvent des spectres de masse similaires qui ne diffèrent que par l'abondance relative de leurs fragments. Dans un article publié en 1989, Cazaussus et al.<sup>3</sup> détectent 92 constituants dans un échantillon d'acétate de vétivéryle par analyse GC-MS en utilisant à la fois l'ionisation chimique positive et négative. En pratique, l'ionisation chimique constitue un bon moyen de visualiser les ions moléculaires qui sont souvent absents en impact électronique pour les dérivés acétates. Cependant, seuls neuf de ces constituants ont été identifiés.

Au cours de cette étude, il était donc particulièrement important de procéder à une identification détaillée des esters sesquiterpéniques dans l'acétate de vétivéryle avant d'explorer davantage d'autres aspects tels que l'impact toxicologique et les propriétés

olfactives. Ainsi, la GC × GC nous a permis de produire des chromatogrammes bien mieux résolus que ceux habituellement obtenus par chromatographie gazeuse classique. En termes de composition chimique, les constituants communément partagés par l'huile essentielle de vétiver et l'acétate de vétivéryle (hydrocarbures, alcools, aldéhydes et cétones) ont donc été identifiés par comparaison directe des deux substances (Figure 34).

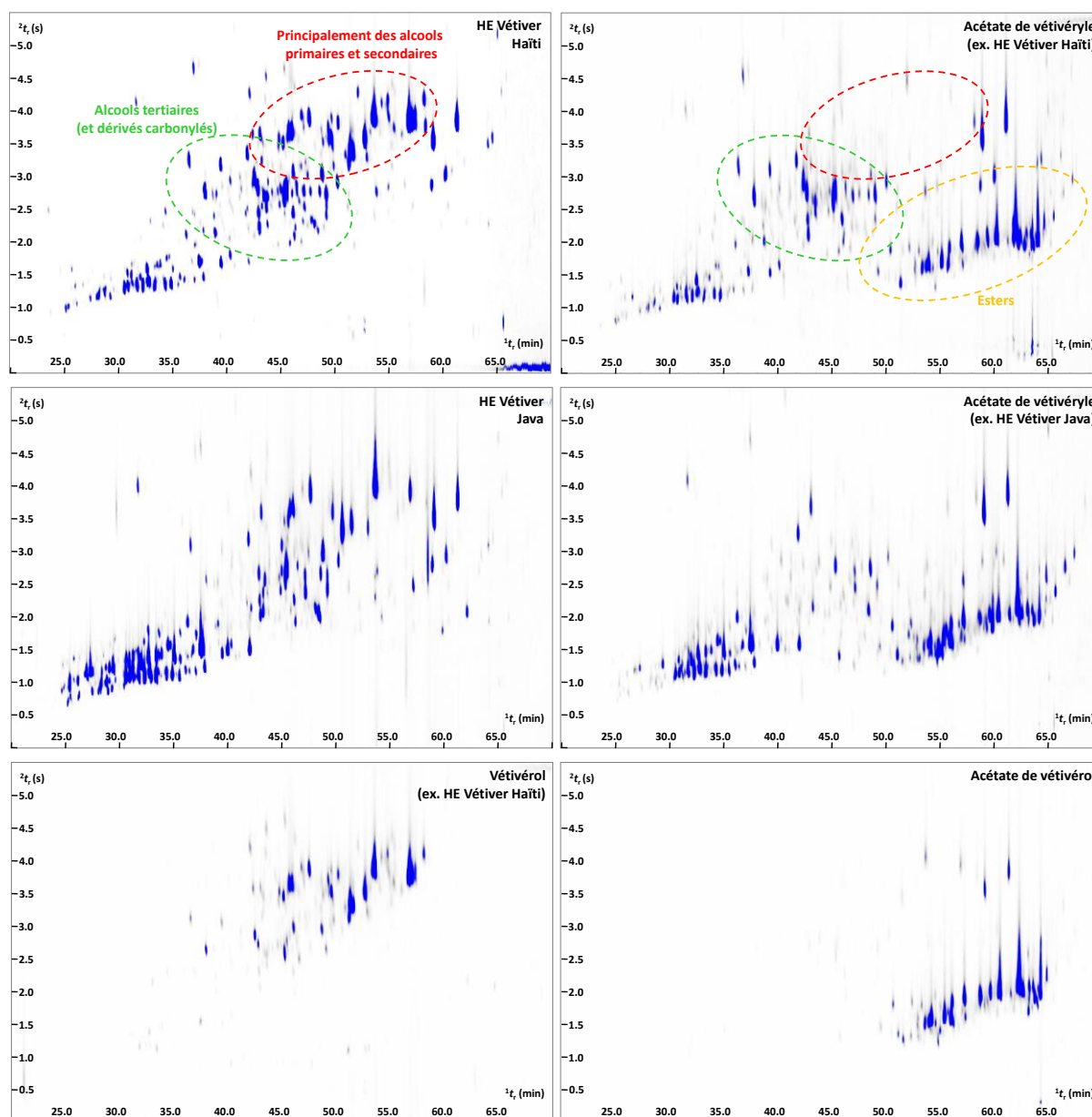


Figure 34. Chromatogrammes GC × GC des huiles essentielles de vétiver (en haut et au milieu à gauche), du vétivérol ex. essence de vétiver Haïti (en bas à gauche), ainsi que des trois principaux types d'acétate de vétivéryle commerciaux, à partir de l'essence de vétiver type Haïti (en haut à droite), de l'essence de vétiver type Java (au milieu à droite) et du vétivérol (en bas à droite). Ces six chromatogrammes 2D montrent clairement la conversion en esters des alcools primaires et secondaires (cercle rouge) des essences de vétiver, situés dans la partie supérieure du chromatogramme, tandis que les alcools tertiaires situés dans la région centrale restent généralement intacts ou peuvent se déshydrater en hydrocarbures au cours du processus de fabrication. Pour une analyse chromatographique 2D détaillée des huiles essentielles de vétiver, voir Chapitre Va précédent.

Cependant, l'identification des esters exige un travail analytique plus approfondi. Afin de parvenir à leur identification, nous avons opté pour une méthodologie analytique systématique combinant 1) un fractionnement d'échantillon au moyen de méthodes conventionnelles (chromatographie sur colonne) et 2) l'utilisation de transformations chimiques telles que la saponification et/ou l'acétylation des alcools parents. Nous avons ensuite 3) procédé à l'isolement des constituants pertinents par GC semi-préparative et à la caractérisation de leur structure par RMN, pour enfin, 4) fournir une identification non ambiguë des produits préparés/isolés de l'acétate de vétivéryle par GC–MS et/ou GC × GC–MS.

#### Vb.2.1. Identification des esters à travers leur dégradation sur le modulateur

Dans une étude antérieure, nous avons démontré comment la GC × GC pouvait, dans des cas très spécifiques, établir des filiations moléculaires existant entre les constituants volatils dans des extraits naturels.<sup>15</sup> Un exemple particulièrement frappant a été observé pour deux alcools identifiés dans l'essence de vétiver, appelés vétivols, le spirovétiva-1(10),7(11)-dién-2 $\alpha$ -ol (**581**) et l' $\alpha$ -isonootkatol (**583**). Dans des conditions de modulation thermique, ces alcools allyliques fragiles subissent une déshydratation partielle au cours de l'analyse. Ces transformations thermiques génèrent une série de ponts chromatographiques, visibles sur le chromatogramme 2D, entre les pics des hydrocarbures sesquiterpéniques et leurs alcools parents.<sup>15</sup> En application directe de cette observation, certains acétates allyliques ont montré un comportement similaire par élimination du groupement acétate lors de l'analyse par GC × GC–MS. Bien que formés en quantité très limitée, on observe des hydrocarbures dans la partie inférieure du chromatogramme 2D, lesquels sont parfaitement alignés avec le pic de leur ester parent sur la colonne de deuxième dimension (Figure 35 et Figure 36). Cependant, l'absence de pont longitudinal avec les hydrocarbures dans la première partie du chromatogramme 2D indique que la dégradation se produit surtout lorsque ces esters labiles traversent le jet chaud du modulateur (295 °C). Ainsi, un examen attentif des spectres de masse associés aux hydrocarbures formés a fourni des indices décisifs pour assurer la localisation correcte des principaux acétates allyliques sur le chromatogramme 2D.

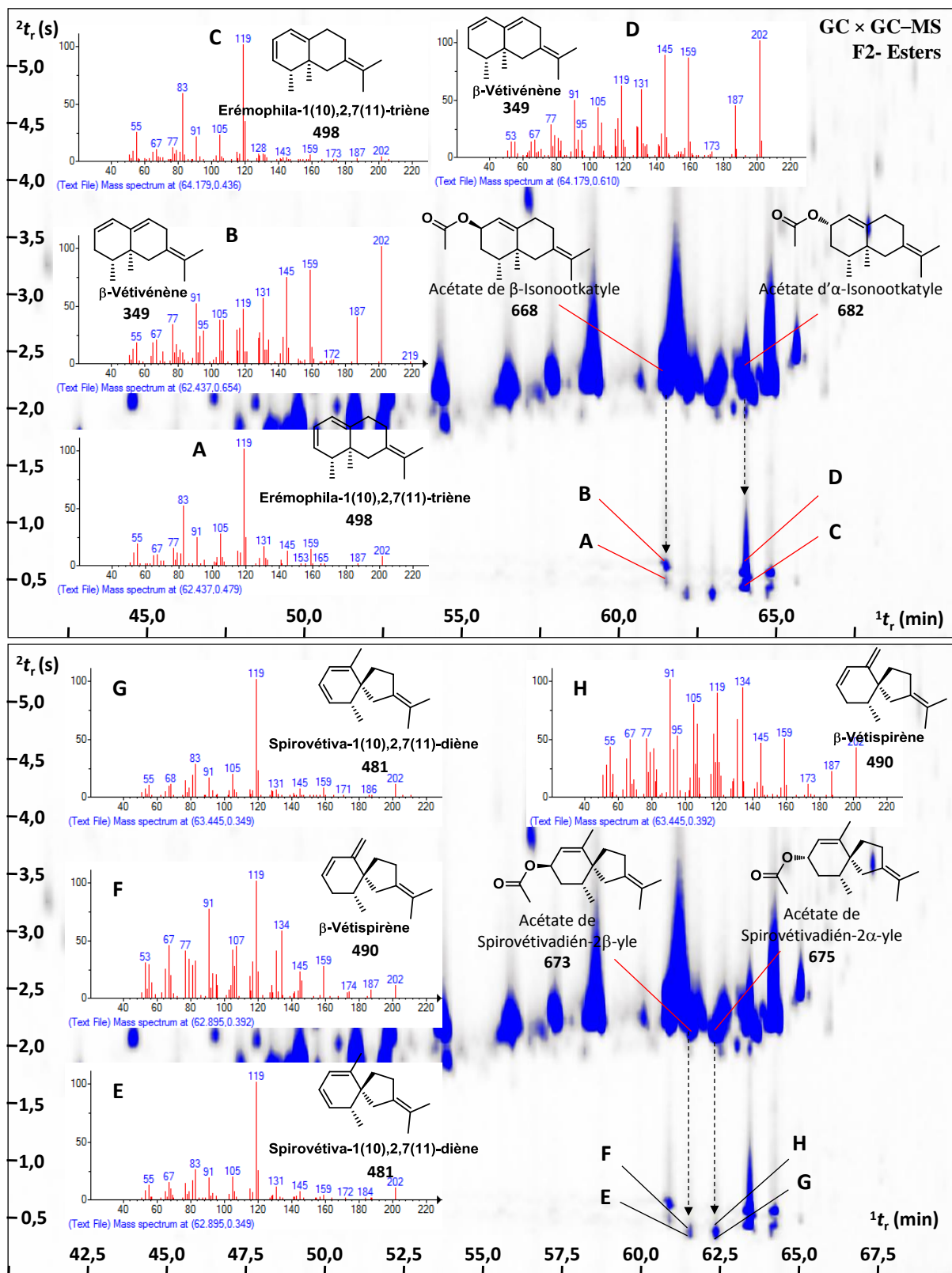


Figure 35. Dégradation mineure des acétates d'isonootkatyle **668** et **682** (en haut) et des acétates de spirovétivadién-2-yle **673** et **675** (en bas) en hydrocarbures correspondants. Ces quatre esters ont également été identifiés par synthèse chimique à partir de leurs alcools parents.

Par exemple, les deux épimères de l'acétate d'isonootkatyle (**668** et **682**) donnent, durant leur dégradation au passage au niveau du modulateur, l'érémophila-1(10),2,7(11)-triène (**498**) et le  $\beta$ -vétivénène (**349**), identifiables grâce à leurs spectres de masse (Figure 35). Au total, six acétates allyliques ont pu être localisés sur le chromatogramme 2D après observation de ces dégradations thermiques (Figure 35 et Figure 36).

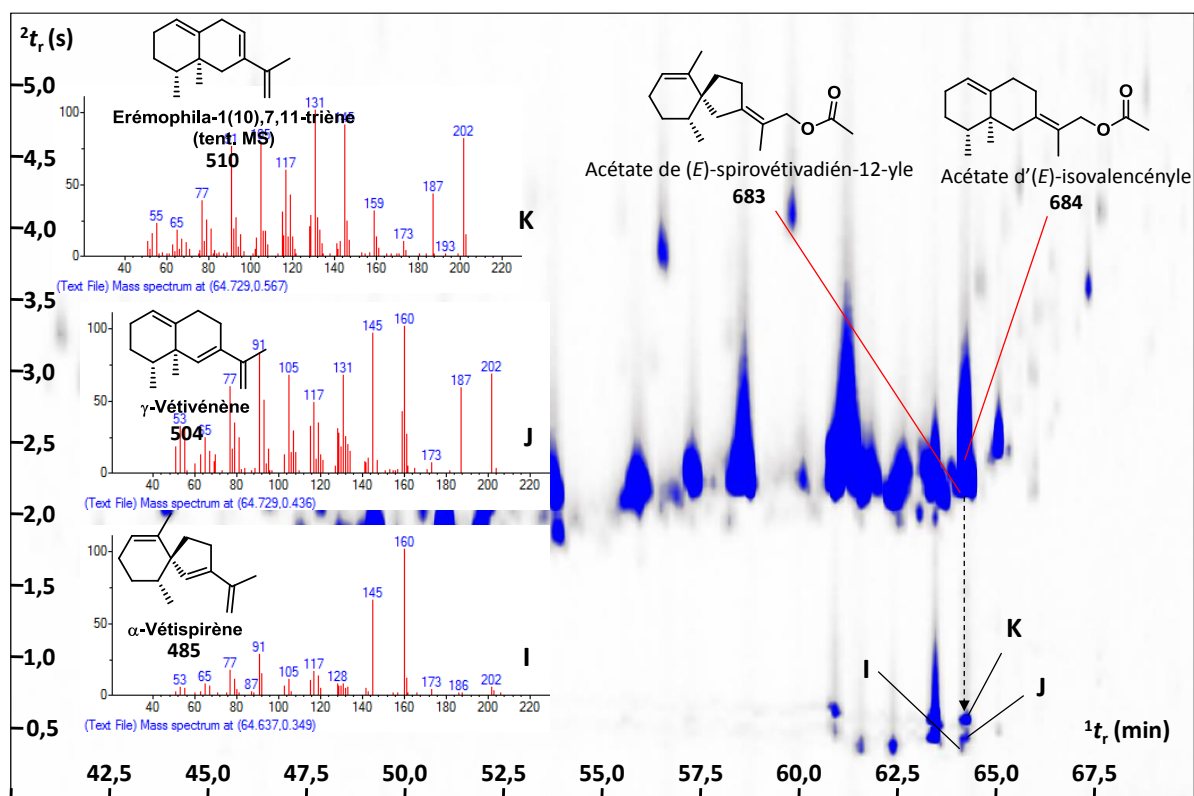


Figure 36. Dégradation mineure dans le modulateur de l'acétate de (*E*)-spirovétivadién-12-yle (**683**) et de l'acétate de (*E*)-isovalencényle (**684**). L'identification repose principalement sur la position de l' $\alpha$ -vétispirène (**485**) pour **684** et du  $\gamma$ -vétivénène (**504**) pour **683**. En outre, l'érémophila-1(10),7,11-triène (**510**) a été identifié provisoirement à partir de la dégradation de **684**.

Ce phénomène s'est avéré particulièrement utile dans l'identification des structures épimériques. En effet, les épimères  $\beta$ -orientés respectifs de l' $\alpha$ -isonootkatol (**583**) et du spirovétiva-1(10),7(11)-dién-2 $\alpha$ -ol (**581**), tous deux constituants naturels mineurs des huiles essentielles de vétiver, ont fourni les esters correspondants (**668** et **673**) lors de l'acétylation et les hydrocarbures associés sont formés durant leur passage dans le jet chaud du modulateur (Figure 35).

## Vb.2.2. Identification des acétates via leurs alcools parents

Afin d'en apprendre davantage sur la composition chimique de l'acétate de vétivéryle, un échantillon représentatif (ex. huile essentielle de vétiver Haïti ; échantillon commercial obtenu à Charabot, Grasse) a été séparé par chromatographie sur colonne de gel de silice en cinq fractions de polarité différente (Figure 37). La fraction ester (F2, 98:2, E.P./Et<sub>2</sub>O) a ensuite été chromatographiée sur gel de silice cette fois-ci imprégné au nitrate d'argent afin d'obtenir différentes sous-fractions contenant les esters à identifier.

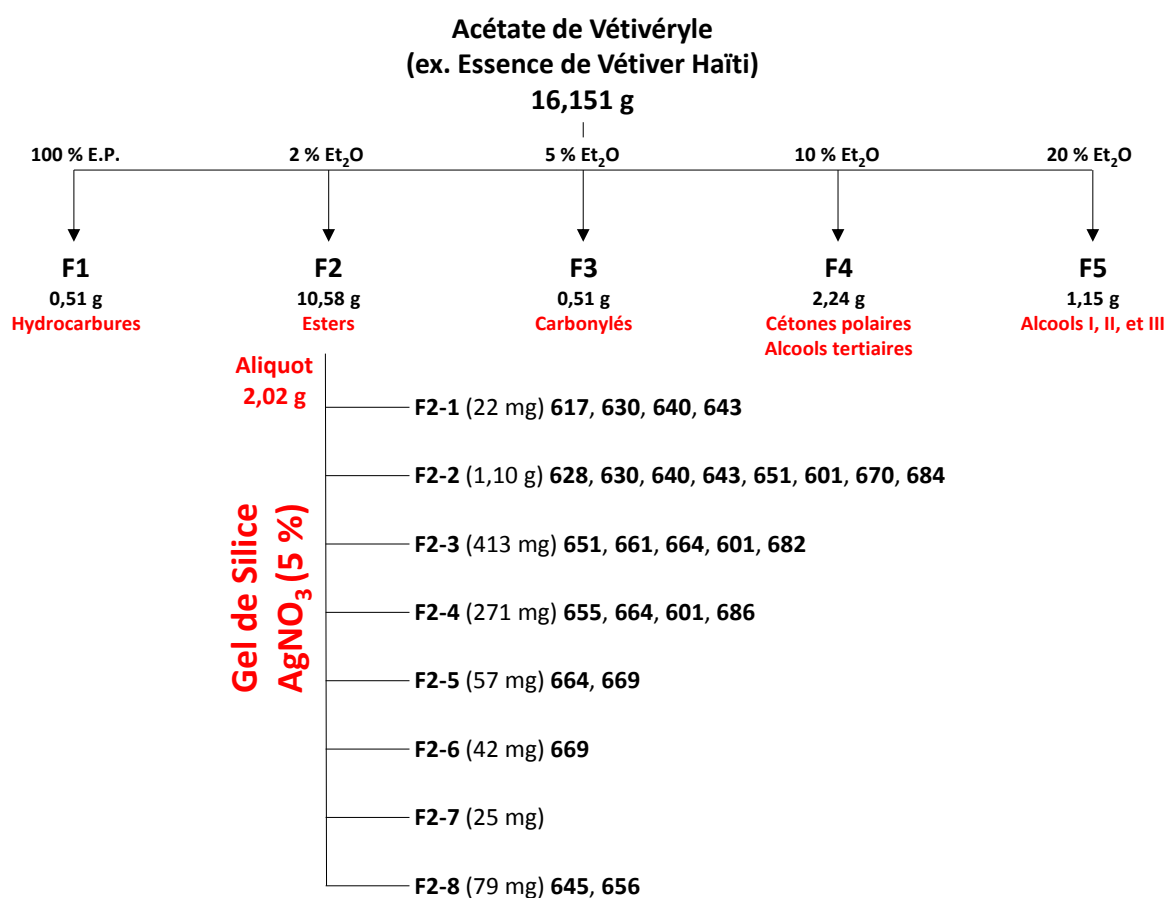


Figure 37. Schéma de fractionnement de l'acétate de vétivéryle (ex. huile essentielle de vétiver Haïti ; Charabot) obtenu sur colonne ouverte de gel de silice. La fraction F2 riche en esters a ensuite été chromatographiée sur gel de silice imprégné au nitrate d'argent afin de séparer le plus d'esters possibles.

Toutes les fractions ont été analysées par GC et GC-MS pour déterminer rapidement leur composition chimique. Lorsqu'elles étaient suffisamment enrichies en un ou plusieurs ester(s) particulier(s), les sous-fractions ont finalement été soumises à une étape de saponification afin de récupérer le ou les alcool(s) correspondant(s). Ainsi, on a pu en déduire la nature du ou des esters initiaux (Figure 38).

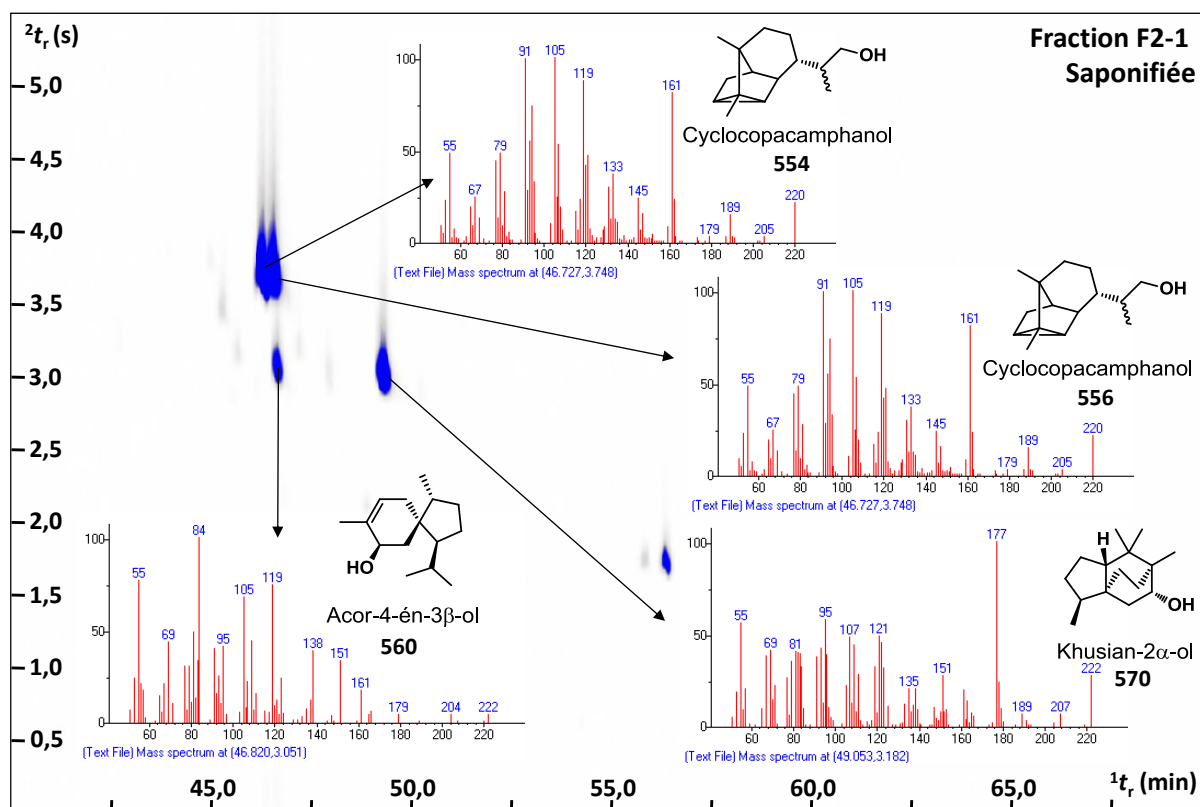
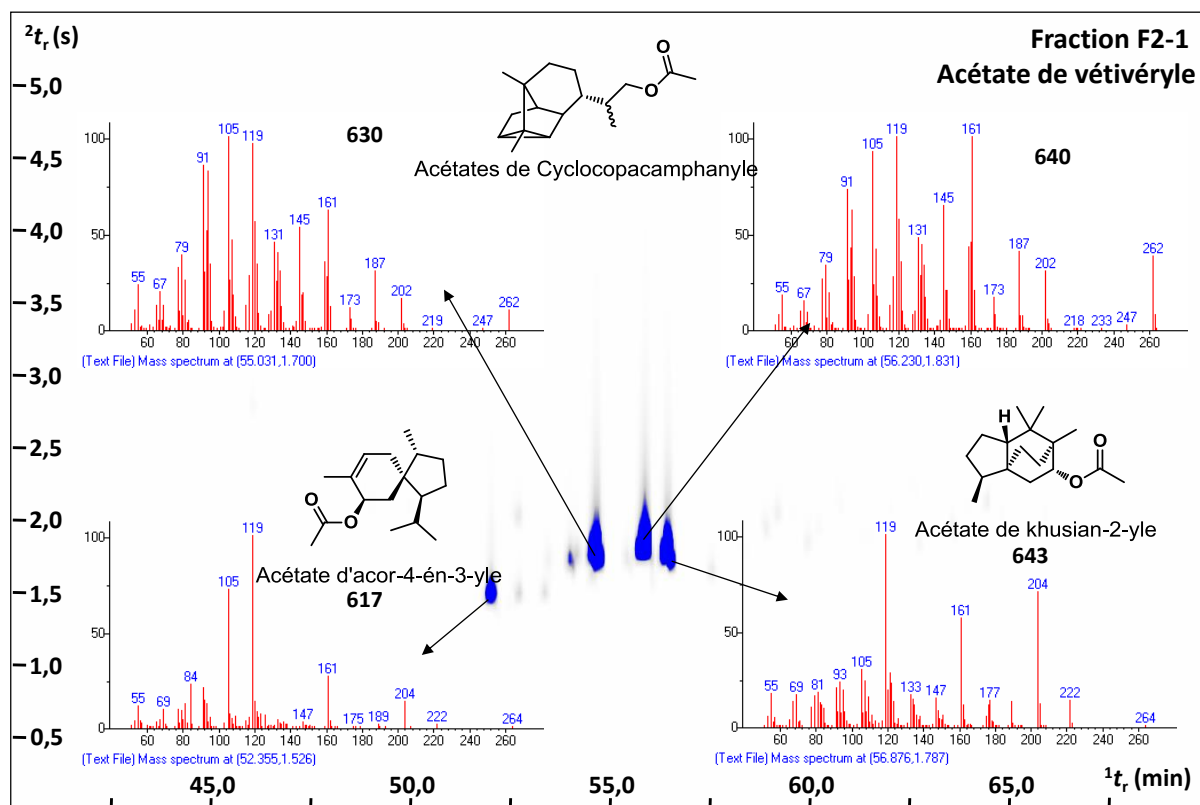


Figure 38. Identification des esters par saponification. La sous-fraction d'ester F2.1 contenait principalement l'acétate d'acorényle **617**, les deux acétates de cyclopacamphanylé épimériques **630** et **640**, et l'acétate de khusian-2-yle **643** (en haut) dont la présence a été confirmée par identification de leurs alcools parents (bas).



De fait, cette procédure de fractionnement et de saponification a conduit à l'identification indirecte de tous les esters majeurs de notre échantillon, parmi lesquels, on identifie les deux acétates de cyclocopacamphanyle **630** et **640**, les trois isomères des acétates de ziza-6(13)-én-3-yle **644**, **651**, et **660**, l'acétate de khusian-2 $\alpha$ -yle (**643**), l'acétate de vétisélinényle (**664**), l'acétate de khusimyle (**601**) et l'acétate de (*E*)-isovalencényle (**684**).

### Vb.2.3. Identification des acétates après isolement par GC semi-préparative et/ou synthèse chimique

Parallèlement à l'identification des acétates par saponification, la plupart des esters majeurs ont été isolés par chromatographie en phase gazeuse semi-préparative. Les structures des composés ont entièrement été caractérisées par RMN. Ainsi, les esters tels que l'acétate d'acor-4-én-3 $\beta$ -yle (**617**), l'acétate d'ylangén-15-yle (**628**), les deux acétates de cyclocopacamphanyle (**630** et **640**) et l'acétate de khusian-2 $\alpha$ -yle (**643**) ont été isolés par GC semi-préparative à partir de la même sous-fraction F2-1. L'acétate de préziza-7(15)-én-12-yle (**669**) a été directement isolé, presque pur, à partir de la sous fraction F2-6 éluant tardivement sur colonne au nitrate d'argent. Le processus global de fractionnement combiné à l'utilisation de la GC semi-préparative a permis d'isoler 14 esters (Schéma 23).

De plus, plusieurs acétates sesquiterpéniques ont été soit synthétisés individuellement à partir de leurs alcools parents, lesquels ont été isolés à partir de l'huile essentielle de vétiver, soit obtenus sous forme de mélange avec d'autres esters de diverses fractions d'huile essentielle de vétiver ou d'autres essences (tels que **610**, **634**, **639**, **646** et **647**). Dans plusieurs cas, des synthèses spécifiques ont servi de preuve à l'identification correcte d'esters pour une famille donnée (Partie Exp.). Par exemple, l'acétate d'isokhusimyle (**661**) et l'acétate de khusimyle (**601**) ont été synthétisés en deux étapes, après extraction de l'acide isozizanoïque et de l'acide zizanoïque, à partir d'une essence de vétiver Java (Figure 39). Dans ces expériences particulières, il a également été possible de détecter des acétates mineurs aux côtés des composés principaux. Ainsi, les épimères correspondants, à savoir l'acétate de 2-*épi*-isokhusimyle (**672**) et l'acétate de 2-*épi*-khusimyle (**680**), ont été identifiés sans ambiguïté par spectrométrie de masse, malgré leur plus faible abondance.

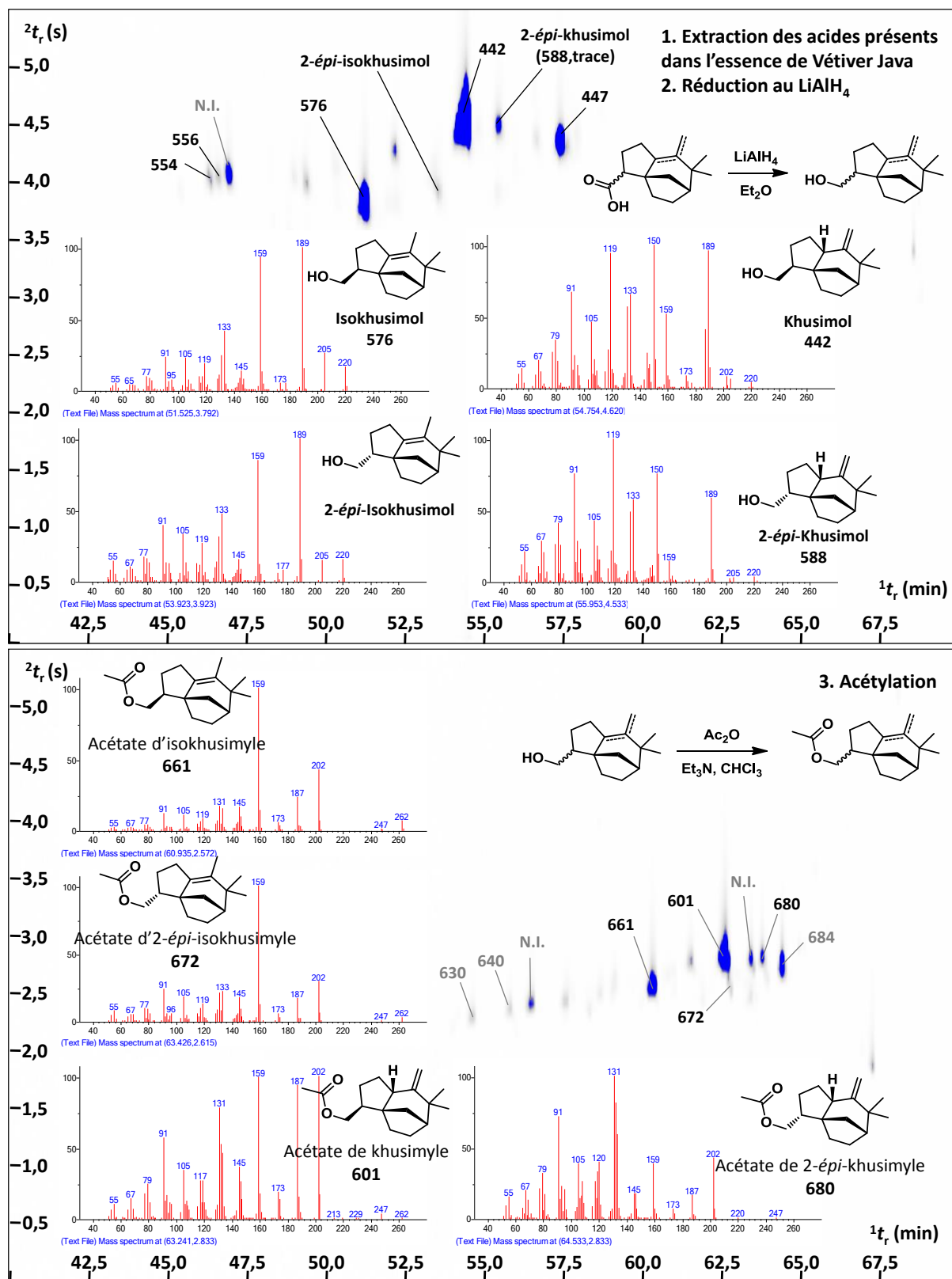


Figure 39. Synthèse et identification des acétates de zizaényle. L'acétate de khusimyle (601) et l'acétate d'isokhusimyle (661) ainsi que leurs épimères respectifs (672 et 680) ont été préparés en deux étapes après avoir extrait les acides zizaanoïques de l'essence de vétiver type Java. L'identification des quatre isomères a été établie grâce à la distribution de leurs alcools parents sur le chromatogramme 2D (en haut).

De même, la réduction au  $\text{LiAlH}_4$  et l'acétylation subséquente d'une fraction cétonique contenant principalement de la nootkatone (**387**), de la  $\beta$ -vétivone (**450**) et de l' $\alpha$ -vétivone (**452**) ont confirmé l'identification de l'acétate d' $\alpha$ -nootkatyle (**671**), des deux acétates de spirovétivadiényle (**673** et **675**), ainsi que les deux acétates d'isonootkatyle **668** et **682**. Les principaux composés, à savoir l'acétate de spirovétivadién-2 $\alpha$ -yle (**675**) et l'acétate d' $\alpha$ -isonootkatyle (**682**), ont ensuite été isolés du mélange par chromatographie sur colonne sur gel de silice imprégné de nitrate d'argent. De plus, certains esters ont été soit synthétisés individuellement, soit isolés par GC semi-préparative pour une meilleure caractérisation de leur structure. Ainsi, l'acétate d'isokhusimyle (**661**) a été synthétisé individuellement en trois étapes à partir d'un mélange d'acide zizanoïque et d'acide isoizizanoïque converti en ce dernier (Partie Exp.). L'acétate d' $\alpha$ -nootkatyle (**671**) a également été synthétisé par un procédé de réduction/acétylation en deux étapes à partir de la nootkatone (**387**). De plus, les deux acétates de 12-nor-ziza-6(13)-én-2-yle **615** et **621** étaient déjà disponibles grâce aux travaux précédents.<sup>16</sup> Les acétates **611**, **618** et **638** ont été obtenus par acétylation, catalysée à la DMAP, d'alcools tertiaires préalablement isolés de l'huile essentielle de vétiver. L'acétylation de l'huile essentielle de bois de *Callitris pancheri* (Chapitre II) a permis d'identifier plusieurs esters supplémentaires dérivés d'alcools tertiaires (**610**, **639**, **646** et **647**). Conjointement, toutes ces références chimiques nous ont permis d'établir l'emplacement correct des principaux esters sur le chromatogramme 2D soit à l'aide d'analyse individuelle, soit par co-injection (Figure 40). Au total, 23 esters ont été isolés et leurs structures ont été nouvellement caractérisées ou confirmées par des études antérieures.<sup>16-28</sup> Les données RMN du  $^{13}\text{C}$  respectives sont données dans le Tableau 32 (partie exp. pour les données spectrales complètes). De plus, 20 esters supplémentaires ont été soit synthétisés à partir de référence d'alcool connue, soit identifiés provisoirement sur la base de leurs spectres de masse, mais n'ont pas pu être isolés (Schéma 23).

### Vb.3. Considérations chimiques concernant le procédé de fabrication

Visuellement, les échantillons d'acétate de vétivéryle peuvent être facilement différenciés par GC  $\times$  GC. Dans une étude antérieure, il a été démontré que les acétates de vétiver produits par voie enzymatique se distinguent clairement de leurs homologues chimiques, puisque seuls les alcools primaires sont acétylés par la lipase sélectionnée.<sup>29</sup>

Tableau 32. Description RMN du <sup>13</sup>C des esters isolés de l'acétate de vétivéryle ou synthétisés.

	Acétate de 12-nor-ziza-6(13)-én-2β-ytle CAS 124601-88-3	Acétate de acor-4-én-3-ytle	Acétate de 12-nor-ziza-6(13)-en-2α-ytle CAS 1639989-33-5	Acétate d'ylangén-15-ytle CAS RN Faux	Acétate de cyclocopacamphanyle A	Acétate de valérianytle CAS 20489-46-7	Acétate de cyclocopacamphanyle B	Acétate de khusian-2-ytle	Acétate d'(E)-élématrinytle CAS 82003-95-0	Acétate d'α-eudesmytle CAS 67996-62-7	Acétate de ziza-6(13)-én-3α-ytle	Acétate de β-funébrén-14-ytle	Acétate de (E)-oppositadiénytle	Acétate d'isokhusimytle CAS 52771-11-6	Acétate de vétisélinénytle CAS 77429-54-0	Acétate de khusimytle CAS 61474-33-7	Acétate de prézizaén-12-ytle CAS 352457-48-8	Acétate de valencén-12-ytle CAS 64166-15-0	Acétate d'α-nootkatytle CAS 1574613-79-8	Acétate de spirovétivadién-2α-ytle CAS 39850-94-7	Acétate d'α-isonootkatytle CAS 2055033-75-3	Acétate d'(E)-isovalencénytle CAS 352461-71-3	Acétate d'(E)-eudesma-4(15),7(11)-dién-12-ytle CAS 58757-95-2
#C	615	617	621	628	630	638	640	643	645	646	651	655	656	661	664	601	669	670	671	675	682	684	686
1	55,85	46,11	53,88	37,41	40,65	120,43	40,43	38,69	149,61	38,21	53,93	35,03	39,82	52,13	41,83	53,37	52,44	120,79	121,16	121,86	120,83	120,54	41,76
2	82,40	34,75	77,20	30,28	31,59	26,28	31,59	73,93	110,50	23,39	48,24	63,10	20,54	45,27	24,01	44,64	45,03	26,29	70,94	69,36	70,93	26,22	23,76
3	28,46	71,37	28,69	121,31	19,52	27,56	19,53	34,79	112,58	121,49	82,40	151,68	36,35	26,80*	37,50	26,73	26,54	27,53	33,01*	34,20	33,44	27,76	37,02
4	23,92	132,04	22,68	143,03	22,28	41,47	22,33	25,82	147,51	135,05	33,17*	27,57	147,91	26,78*	150,08	25,10	23,10	41,29	39,31	36,79	38,47	40,51	150,87
5	47,12	126,51	46,95	50,87	24,21	38,00	23,98	31,15	52,89	46,69	46,36	32,73	60,01	140,78	45,06	48,60	55,96	38,23	38,32	49,80	40,90	41,08	50,38
6	156,38	31,67*	156,06	44,75*	44,24	40,57	44,08	41,38	32,03	24,57	154,06	54,57	36,12	128,69	26,03	156,40	37,74	45,60	44,70	37,43	42,30	43,01	29,00
7	40,50	52,34	40,49	44,69*	38,26	42,07	36,88	40,41	138,85	47,46	40,37	42,45	135,38	40,48	137,62	40,38	162,04	37,41	41,02	136,18	129,05	137,49	139,38
8	48,90	24,38*	48,54	21,80	21,85	29,05	22,15	35,28	25,82	22,31	49,03	31,39	28,92	48,13	120,45	49,36	48,49	33,67	33,03*	30,63	31,39	31,87	25,90
9	26,07	31,73*	25,49	36,23	28,70	32,99	28,78	24,49	40,36	40,26	26,22*	19,30	39,29	24,31	42,23	25,57	29,70	33,09	32,57	36,27	33,76	34,48	42,32
10	30,78	40,71	21,79	39,58	43,70	143,04	43,60	53,29	40,15	32,46	33,07*	61,46	44,29	34,18	34,67	33,24	33,24	142,59	147,14	145,27	147,79	142,92	36,38
11	35,47	28,28	37,55	32,46	33,51	84,59	33,79	39,14	121,00	84,59	36,18	33,96	129,48	39,38	40,41	35,86	40,79	149,38	149,92	120,69	123,02	122,59	121,11
12	-	20,56	-	19,66*	68,03	23,63	68,76	26,58	65,05	23,81	16,81	21,86	70,30	65,92	67,55	67,83	67,60	66,07	109,14	21,09*	20,17	65,19	65,13
13	105,97	24,34*	105,97	20,13	16,88	23,58	15,83	20,90*	16,48	23,75	105,92	35,11	14,47	13,52	16,47	105,56	32,28	110,55	20,91	21,15*	20,23	16,79	16,63
14	28,74	16,16	28,51	19,67*	19,65	18,64	19,65	17,71	17,10	15,74	28,53	66,18	18,63	28,55	17,27	28,54	27,25	18,40	18,03	20,30	17,32	17,63	15,99
15	26,21	19,82	25,49	66,94	10,43	15,96	10,48	16,45	25,02	21,28	26,35*	107,65	106,18	25,30	106,86	26,08	106,45	15,85	15,37	17,05	15,66	16,08	105,83
16	170,91	170,14	171,29	170,00	170,31	169,72	170,30	170,05	170,31	169,61	170,15	170,11	170,02	171,53	170,07	171,56	170,23	169,79	170,06	169,95	170,09	170,31	170,33
17	21,49	20,81	21,37	20,55	20,54	22,14	20,57	20,90*	20,62	22,08	20,93	20,62	20,54	21,21	20,55	21,22	20,65	20,50	21,04	21,08*	21,04	20,60	20,65
Ref	[27] <sup>a</sup>	-	[16] <sup>a</sup>	[26] <sup>b</sup>	-	[22] <sup>c</sup>	-	-	[25] <sup>b,e</sup>	[18] <sup>d</sup>	-	-	-	[17] <sup>b</sup>	[24] <sup>c</sup>	[19] <sup>a</sup>	[19] <sup>a</sup>	[21] <sup>b</sup>	[23] <sup>a</sup>	[20] <sup>f</sup>	[20] <sup>f</sup>	[19]	[28] <sup>f</sup>

Données disponibles provenant d'études antérieures : <sup>a</sup> RMN du <sup>1</sup>H et du <sup>13</sup>C. <sup>b</sup> MS et RMN du <sup>1</sup>H. <sup>c</sup> RMN du <sup>1</sup>H seulement. <sup>d</sup> MS seulement. <sup>e</sup> MS signalé mais ne correspond pas à nos données. <sup>f</sup> Composé rapporté mais aucune donnée MS ou RMN associée. \* Attribution des carbones difficiles.

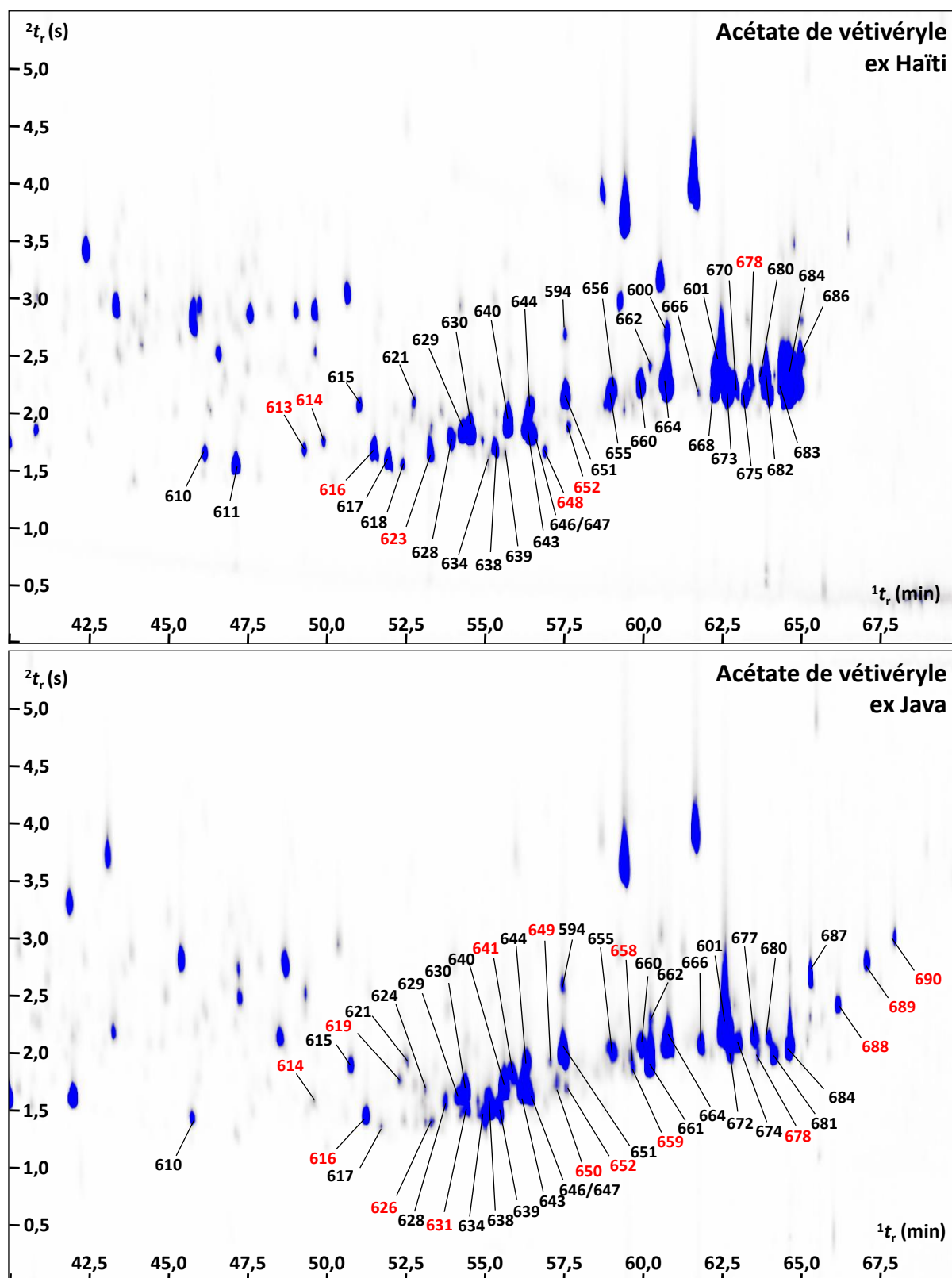


Figure 40. Identification des esters dans les acétates de vétivéryle par analyse GC  $\times$  GC-MS. Acétate de vétivéryle (ex. HE vétiver Haïti) obtenu par acétylation catalysée par DMAP (en haut). Dans ces conditions, presque tous les alcools tertiaires sont acétylés tels que **610**, **611**, **618**, **634**, **638**, **639**, **646** et **647**. Acétate de vétivéryle (ex. HE vétiver Java) (en bas). Les esters inconnus apparaissent en rouge.

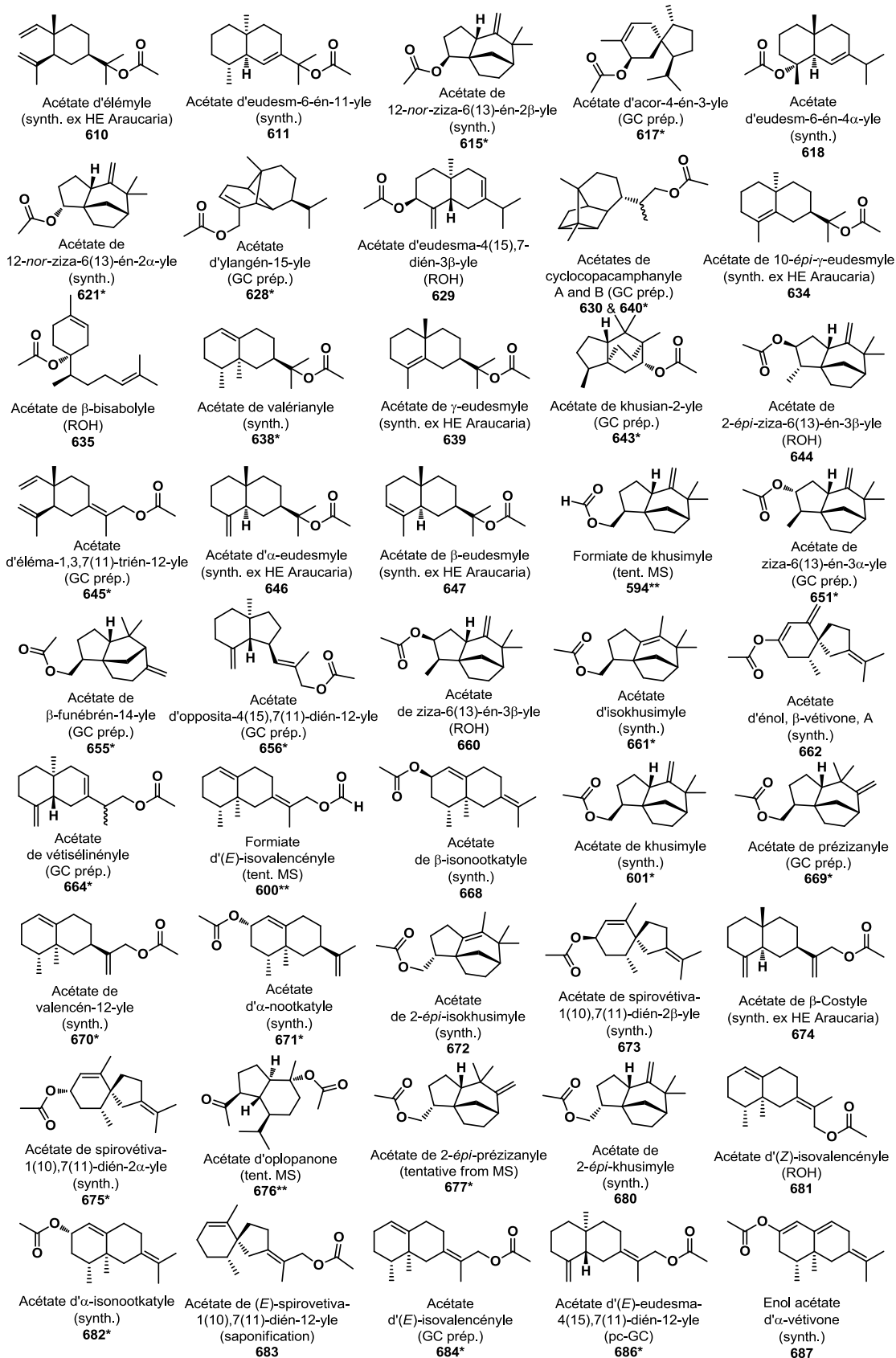


Schéma 23. Principaux esters identifiés dans les acétates de vétivéryle. Les esters marqués d'un astérisque ont été entièrement caractérisés par RMN (Partie Exp.). Les composés marqués d'un double astérisque ont été provisoirement identifiés sur la base de leur spectre de masse uniquement.

Dans le contexte actuel, il est crucial d'examiner plus en détail un plus grand nombre d'échantillons, notamment les produits commerciaux. De plus, l'origine de l'huile essentielle de vétiver de départ est un paramètre crucial, impactant directement la composition finale de la substance obtenue. Ainsi, l'acétate de vétivéryle issue d'une essence de vétiver Java est généralement caractérisé par la présence concomitante de l'acétate d'isokhusimyle (**661**) et par l'absence d'acétates allyliques fragiles tels que **668**, **673**, **675** et **682**. Les acétates de vétivéryle obtenus à partir d'essences haïtiennes sont beaucoup plus complexes et à maints égards comparables à l'essence de vétiver Haïti. Néanmoins, leur composition varie considérablement d'un échantillon à l'autre, en fonction du procédé utilisé pour leur fabrication. Bien que l'acétylation de l'essence puisse être effectuée facilement avec du chlorure d'acétyle au niveau du laboratoire, l'anhydride acétique (Ac<sub>2</sub>O) est toujours préféré pour les applications industrielles en raison de son faible coût et de sa réactivité modérée (pas de dégagement d'HCl corrosif pendant la réaction). Comme mentionné précédemment, les entreprises de la parfumerie utilisent en réalité différents procédés pour préparer leur acétate de vétivéryle. Dans son 44<sup>ème</sup> amendement, l'*International Fragrance Association (IFRA)*<sup>30</sup> mentionne que :

*« Acetylated vetiver oil (Vetiveryl acetate) should only be used as a fragrance ingredient if produced by methods that lead to a reduction in allergenic materials, like the ones outlined below (acetylation methods using acetic anhydride):*

- without catalyst, at a temperature not exceeding 120 °C.*
- with ortho phosphoric acid at room temperature.*
- with sodium acetate in toluene at reflux temperature.*

*The first two products can be used in their crude form after the usual procedures, but may be further purified. In the last case, distillation is necessary. Another method accepted is an enzymatic acetylation process. »*

Bien qu'un procédé de fabrication implique plusieurs étapes de transformation chimique et de purification, ces recommandations spécifient clairement des méthodes acceptées pour la conversion des alcools sesquiterpéniques en leurs esters correspondants. En effet, à l'échelle du laboratoire, l'acétylation peut être réalisée en présence d'une base organique telle que la triéthylamine, éventuellement additionnée à une quantité catalytique de DMAP (4-(N,N)-Diméthylaminopyridine) pour une réaction plus efficace et plus propre. Cependant, la présence potentielle de substances allergisantes dans le produit final exclut l'utilisation de telles bases organiques en vue d'une exploitation commerciale. Ainsi, la

méthode la plus simple consiste à effectuer l'acétylation de l'essence de vétiver sans aucun catalyseur ou base organique (méthode A).

Par conséquent, il faut habituellement utiliser le réactif en excès pour terminer la conversion des alcools sesquiterpéniques en esters correspondants (n° CAS 72230-87-6, huile essentielle de vétiver acétylée). Conformément aux recommandations de l'IFRA, le seul catalyseur accepté pour effectuer l'acétylation est l'acide *ortho*-phosphorique (méthode B). Cependant, dans ces conditions drastiques, diverses réactions secondaires sont susceptibles de se produire, favorisant dans une certaine mesure la dégradation des esters allyliques fragiles et modifiant éventuellement la teneur initiale en aldéhydes et cétones épimérisables. Avec la méthode C, l'utilisation du toluène nécessite une distillation finale pour éliminer toute trace de solvant dans le produit final. La plupart du temps, la distillation est effectuée jusqu'à la déterpénation complète de la substance, c'est-à-dire jusqu'à distillation des hydrocarbures (*Vetiveria zizanioides* ext., acétylé; n° CAS 84082-84-8). Enfin, le procédé le plus complexe implique l'extraction des alcools sesquiterpéniques de l'essence par estérification soit avec de l'acide borique,<sup>31</sup> soit avec des anhydrides cycliques tels que les anhydrides succiniques ou phtaliques.<sup>10</sup> Le vétivérol (n° CAS 68129-81-7) est obtenu après régénération des alcools, puis celui-ci est transformé en acétate de vétivérol (n° CAS 62563-80-8) en utilisant l'une des trois méthodes susmentionnées, de préférence la méthode A.

Afin de mieux comprendre comment le procédé de fabrication et en particulier la méthode d'acétylation peut influencer la composition chimique finale des acétates de vétivéryle, nous avons étudié des échantillons fabriqués en laboratoire avec différents paramètres à partir d'un même échantillon d'essence de vétiver Haïti. Dans un premier essai, l'huile essentielle a été mis à réagir avec trois équivalents d'Ac<sub>2</sub>O à reflux dans du chloroforme (méthode A). La réaction a entraîné la conversion des alcools primaires et secondaires présents en esters correspondants. Cependant, la plupart des alcools tertiaires sont restés intacts, comme on peut le voir clairement sur le chromatogramme 2D (Figure 41B). Lorsque l'acétylation a été réalisée en présence de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> à température ambiante (méthode B), l'analyse GC × GC a clairement montré une dégradation presque complète des alcools et des esters allyliques les plus fragiles, accompagnée d'une isomérisation partielle de composés spécifiques tels que les acétates d'(*E/Z*)-isovalencényle (**681** et **684**) et 11,12,13-trinor-eudesm-5-én-7-ones (**402** et **403**) (Figure 41C). Pour tenter de reproduire la méthode C à l'échelle du laboratoire, l'huile essentielle de vétiver a été acétylée avec deux équivalents d'Ac<sub>2</sub>O/AcONa à reflux dans le toluène. Afin de se conformer aux recommandations de l'IFRA, le solvant a été évaporé et l'acétate de vétivéryle brut a été distillé sous vide (généralement, des colonnes de distillation à



haute efficacité sont généralement utilisées à l'échelle industrielle) pour fournir une substance quasi dépourvue d'hydrocarbures sesquiterpéniques (Figure 41D).

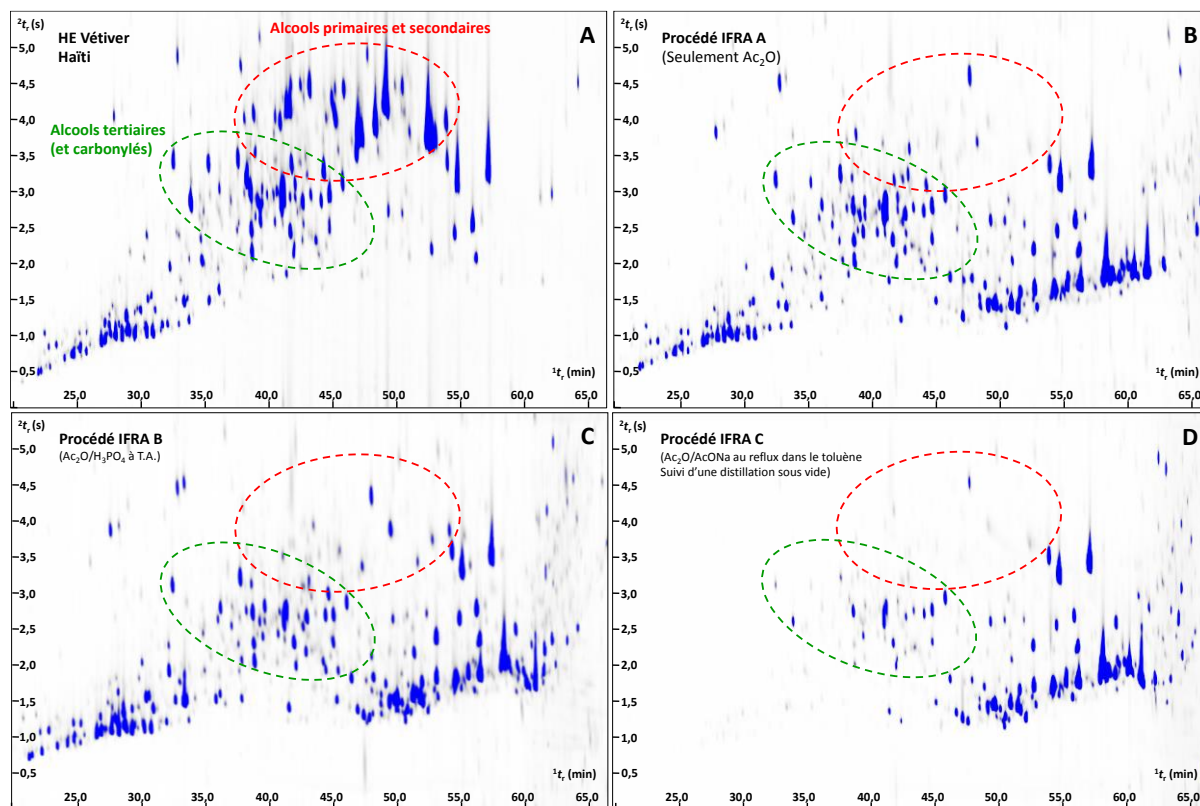


Figure 41. Acétates de vétivéryle préparés en laboratoire à partir d'un même échantillon d'huile essentielle de vétiver Haïti (A) selon les trois procédés recommandés par l'IFRA (B, C, et D).

Des expériences supplémentaires impliquant des bases organiques ont été réalisées afin d'étudier leur impact sur la réaction. Ainsi, lorsque l'acétylation a été effectuée avec 2 équivalents d' $\text{Ac}_2\text{O}/\text{TEA}$  et des quantités catalytiques de DMAP (méthode D, voir partie Exp.), plusieurs alcools tertiaires ont été convertis en esters ( $m/z = 264$ ). Dans ce cas, et comme observé pour la méthode B, nous avons également détecté des composés avec des ions moléculaires à  $m/z = 260$ , éluant principalement à la fin du chromatogramme. Ainsi, les composés **662** et **687** ont été identifiés provisoirement comme étant des énol-acétates, dérivant de l'acétylation des principales cétones de l'essence de vétiver (Partie Exp.). La formation de ces composés a été confirmée lors d'une tentative d'acétylation de ces cétones avec  $\text{Ac}_2\text{O}$  en présence de  $\text{H}_3\text{PO}_4$  mais ces énol-acétates n'ont pas été isolés. Tous les acétates de vétivéryle préparés en laboratoire, ainsi que les acétates commerciaux, ont ensuite été analysés par  $\text{GC} \times \text{GC-FID}$  afin de quantifier leurs constituants.

## Vb.4. Quantification par GC × GC–FID des constituants des acétates de vétivéryle

Afin de quantifier les constituants de nos échantillons d'acétate de vétivéryle, nous avons opté pour la même méthodologie analytique employée pour l'ensemble des matières premières étudiées précédemment. Puisque la GC × GC s'est avérée être efficace pour effectuer la quantification des constituants de l'essence de vétiver (Chapitre VA),<sup>6</sup> nous avons appliqué la même méthodologie à nos échantillons d'acétate de vétivéryle, fabriqués en laboratoire ou d'origine commerciale. Leur composition chimique détaillée est donnée dans le Tableau 33.

Même si tous les constituants n'ont pas été complètement séparés, la GC × GC a permis d'obtenir une distribution claire de chaque famille d'analyte dans des régions distinctes du chromatogramme 2D, de telle sorte que les esters, identifiés ou non, ont pu être quantifiés simplement sur la base de leur formule moléculaire respective. Dans le cas des acétates, même si l'ion moléculaire n'est pas toujours visible, il peut être déduit du fragment [M-60] présent dans la plupart des spectres de masse. Par ailleurs, leur identification correcte en tant que formiate ou acétate est, la plupart du temps, confirmée par leur emplacement spécifique sur le chromatogramme 2D. En comparaison avec les essences de vétiver,<sup>6</sup> la dégradation des esters dans le modulateur est tellement limitée que l'utilisation des modes d'injection spécifiques tels que le *pulsed splitless* ou l'utilisation d'un *PTV* n'a pas été nécessaire. Il est à noter que tous les acétates de vétivéryle préparés en laboratoire ne fournissent pas un pourcentage d'identification aussi élevé que ceux obtenus dans le cas d'échantillons industriels. On peut estimer que nos échantillons préparés en laboratoire contiennent en réalité des quantités plus élevées de substances non volatiles que dans les échantillons commerciaux, probablement parce que les étapes de purification sont bien mieux contrôlées à l'échelle industrielle.

En général, l'analyse GC × GC des acétates de vétivéryle a permis de quantifier de manière fiable leurs constituants, supérieure à bien des égards à ce que la GC–FID conventionnelle peut apporter. De plus, la distribution sur le chromatogramme 2D des analytes a également permis de réaliser un profilage chimique rapide mais efficace puisque l'absence ou la présence de composés spécifiques a permis de retracer simultanément l'origine de l'essence de vétiver de départ ainsi que le procédé de fabrication.

Tableau 33. Composition chimique des échantillons d'acétate de vétivéryle déterminés par GC × GC-FID.

#	Composé	Classe chimique	Famille	MM g/mol	#C	#H	#O	#Ph	FRR <sup>a</sup>	t <sub>r</sub> (min)	t <sub>r</sub> (s)	RI HP-5 <sup>b</sup> (progr.)	RI HP-1 <sup>c</sup> (lin.)	VAc CH530 <sup>d</sup> (ex Haïti)		VAc R095 <sup>d</sup> (ex Java)		VAc R071 <sup>d</sup> (ex Haïti)		VAc R451 <sup>d</sup> (ex Haïti)		Acétyver CH <sup>d</sup>		VAc Lab <sup>e</sup> Ac <sub>2</sub> O only (méthode A)		Vac Lab <sup>e</sup> H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> catal. (méthode B)		VAc Lab <sup>e</sup> AcONa/PhMe (méthode C)		VAc Lab <sup>e</sup> TEA/DMAP (méthode D)		
														g/100g	Ecart Type	g/100g	Ecart Type	g/100g	Ecart Type	g/100g	Ecart Type	g/100g	Ecart Type	g/100g	Ecart Type	g/100g	Ecart Type	g/100g	Ecart Type	g/100g	Ecart Type	g/100g
456	91 105 117 119 132 145 173 188	Inconnus H		188	14	20	0	0	0,941	24,58	1,35	1378	1342	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,02	0,001	-	-	-	-	-	-	
6	<i>α</i> -Ylangène	Hydrocarbures	Copaanes	204	15	24	0	0	0,959	25,04	0,83	1387	1372	0,05	0,012	-	-	-	-	-	-	-	-	0,17	0,003	-	-	-	-	0,07	0,009	
459	Cyclocopacamphène (tent. MS)	Hydrocarbures	Cyclocopacamphanes	204	15	24	0	0	0,959	25,31	0,83	1393	1368	0,02	0,008	0,01	0,006	-	-	-	-	-	-	0,06	0,005	-	-	-	-	0,02	0,016	
461	Déhydronigritène	Hydrocarbures	Nigritanes	188	14	20	0	0	0,941	25,59	1,44	1398	1361	-	-	-	-	-	-	-	-	0,03	0,002	0,04	0,001	-	-	-	-	-	-	
460	119 134 159 187 202	Inconnus H		202	15	22	0	0	0,947	25,59	1,13	1398	1377	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,02	0,000	-	-	-	-	-	-	
8	<i>β</i> -Élémane	Hydrocarbures	Elémanes	204	15	24	0	0	0,959	25,95	1,18	1404	1388	0,03	0,008	0,02	0,016	-	-	-	-	-	-	0,05	0,002	0,04	0,030	-	-	0,03	0,003	
463	<i>α</i> -Funébrène	Hydrocarbures	Funébranes	204	15	24	0	0	0,959	26,14	0,92	1407	1381	-	-	0,01	0,012	0,03	0,003	-	-	-	-	0,05	0,001	0,07	0,045	-	-	0,01	0,010	
464	<i>trans</i> -12-nor-Zizaène	Hydrocarbures	Zizaanes	190	14	22	0	0	0,954	26,69	1,18	1416	1378	0,05	0,012	0,04	0,026	0,04	0,002	-	-	-	-	0,10	0,004	-	-	-	-	0,01	0,013	
465	Nigritène A	Hydrocarbures	Nigritanes	190	14	22	0	0	0,954	27,15	1,22	1423	1388	-	-	0,11	0,043	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
142	Acora-3,7(14)-diène	Hydrocarbures	Acoranes	204	15	24	0	0	0,959	27,33	0,96	1426	1409	0,05	0,011	0,01	0,013	-	-	-	-	-	-	0,08	0,003	0,07	0,037	-	-	0,04	0,002	
204	Cascarilladiène	Hydrocarbures	Eudesmanes	204	15	24	0	0	0,959	27,97	1,00	1436	1415	0,04	0,002	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,08	0,048	-	-	0,04	0,008	
467	<i>β</i> -Funébrène	Hydrocarbures	Funébranes	204	15	24	0	0	0,959	28,15	1,05	1439	1413	0,11	0,015	0,04	0,038	-	-	-	-	-	-	0,21	0,022	0,14	0,046	-	-	0,08	0,013	
469	91 105 120 133 148 161 175 190	Inconnus H		190	14	22	0	0	0,954	28,61	1,26	1446	1421	0,05	0,010	0,02	0,015	-	-	-	-	-	-	0,08	0,007	0,07	0,030	-	-	-	-	
471	<i>β</i> -Cédrene	Hydrocarbures	Cédranes	204	15	24	0	0	0,959	28,70	1,18	1448	1419	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
603	6-épi- <i>α</i> -Cubébène	Hydrocarbures	Cubébanes	204	15	24	0	0	0,959	28,70	1,09	1448	1416	0,12	0,014	0,06	0,020	-	-	-	-	-	-	0,20	0,033	0,01	0,009	-	-	0,08	0,013	
16	Guaia-6,9-diène	Hydrocarbures	Guaianes	204	15	24	0	0	0,959	29,25	1,00	1457	1449	0,07	0,003	0,03	0,003	-	-	-	-	-	-	0,06	0,001	0,06	0,028	-	-	0,04	0,009	
474	91 105 119 133 161 175 190	Inconnus		190	14	22	0	0	0,954	29,25	1,26	1457	1431	0,04	0,003	0,36	0,021	-	-	-	-	-	-	0,07	0,001	0,09	0,036	-	-	-	-	
477	Acora-3,9-diène	Hydrocarbures	Acoranes	204	15	24	0	0	0,959	29,53	1,13	1461	1442	0,02	0,003	0,02	0,006	-	-	-	-	-	-	0,03	0,001	0,03	0,023	-	-	-	-	
478	Prézizaène	Hydrocarbures	Prézizaanes	204	15	24	0	0	0,959	30,54	1,18	1477	1446	0,44	0,012	0,61	0,054	0,14	0,001	-	-	-	-	0,62	0,010	0,81	0,150	-	-	0,30	0,033	
479	105 119 134 161 175 190	Inconnus H		190	14	22	0	0	0,954	30,54	1,48	1477	1457	0,06	0,004	0,00	0,007	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
481	Spirovétiva-1(10),2,7(11)-triène	Hydrocarbures	Vétispiranes	202	15	22	0	0	0,947	30,81	1,35	1481	1462	0,16	0,030	0,29	0,027	-	-	0,05	0,007	0,02	0,006	0,09	0,001	0,29	0,043	0,02	0,00	0,10	0,030	
480	Zizaène	Hydrocarbures	Zizaanes	204	15	24	0	0	0,959	30,90	1,13	1483	1451	0,25	0,009	0,48	0,121	0,02	0,002	-	-	-	-	0,41	0,003	0,31	0,077	-	-	0,13	0,043	
604	93 105 119 161 204	Inconnus H		204	15	24	0	0	0,959	31,18	1,13	1487	-	-	-	0,08	0,010	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
482	91 131 145 159 187 202	Inconnus H		202	15	22	0	0	0,947	31,18	1,31	1487	1466	0,07	0,007	0,06	0,050	-	-	-	-	-	-	-	-	0,05	0,016	-	-	0,04	0,017	
483	91 105 119 159 175 190	Inconnus H		190	14	22	0	0	0,954	31,18	1,48	1487	-	-	0,03	0,004	0,05	0,024	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,013	
484	3-Isopropyl-6-méthyl-2-(3-méthylcyclo pent-2-ényl)-3,4-dihydro-2H-pyrane	Ethers		220	15	24	1	0	0,868	31,27	1,18	1488	1452	0,05	0,002	0,09	0,015	0,04	0,003	-	-	-	-	0,05	0,002	0,04	0,013	-	-	0,07	0,005	
149	<i>α</i> -Curcumène	Hydrocarbures	Bisabolanes	202	15	22	0	0	0,947	31,36	1,57	1490	1424	0,02	0,004	0,08	0,015	0,03	0,000	-	-	-	-	0,06	0,003	0,04	0,012	-	-	-	-	
332	11,12,13-trinor-Erérophil-1(10)-én-7-one	Cétones	Erémophilanes	178	12	18	1	0	0,830	31,64	4,05	1494	1439	0,09	0,007	0,21	0,007	-	-	-	-	-	-	0,15	0,008	0,11	0,004	-	-	0,11	0,022	
28	<i>α</i> -Amorphène	Hydrocarbures	Amorphanes	204	15	24	0	0	0,959	31,73	1,18	1496	1475	1,15	0,012	1,37	0,014	0,47	0,007	0,05	0,005	0,02	0,002	1,09	0,010	2,56	0,031	0,01	0,00	0,93	0,132	
485	<i>α</i> -Vétispirène	Hydrocarbures	Vétispiranes	202	15	22	0	0	0,947	32,00	1,31	1500	1479	0,04	0,001	0,93	0,009	0,03	0,002	0,13	0,016	-	-	0,02	0,006	0,65	0,069	0,01	0,01	0,03	0,007	
486	4 $\alpha$ ,7-Epoxy-10 $\beta$ H-spirovétiva-2,11(12)-diène	Ethers	Vétispiranes	218	15	22	1	0	0,856	32,10	1,96	1501	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,03	0,002	0,07	0,030	-	-	-	-	
488	<i>cis</i> -Eudesma-6,11-diène	Hydrocarbures	Eudesmanes	204	15	24	0	0	0,959	32,28	1,22	1504	1480	0,43	0,009	2,03	0,019	0,63	0,003	0,08	0,007	0,02	0,002	1,04	0,014	3,35	0,077	0,05	0,00	0,47	0,056	
34	$\delta$ -Sélinène	Hydrocarbures	Eudesmanes	204	15	24	0	0	0,959	32,28	1,09	1504	1485	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
490	<i>β</i> -Vétispirène	Hydrocarbures	Vétispiranes	202	15	22	0	0	0,947	32,65	1,44	1508	1485	0,76	0,008	1,73	0,025	0,36	0,163	0,24	0,006	0,07	0,003	0,49	0,017	1,44	0,794	0,04	0,01	0,57	0,155	
491	$\gamma$ -Amorphène	Hydrocarbures	Cadinanes	204	15	24	0	0	0,959	32,74	1,22	1510	1487	0,37	0,004	0,59	0,027	0,28	0,145	0,03	0,007	-	-	0,46	0,024	1,01	0,725	0,07	0,01	0,29	0,065	
492	4-épi-Cubébol	Alcools III	Cubébanes	222	15	26	1	0	0,879	32,92	2,18	1512	1488	0,03	0,001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
493	$\delta$ -Amorphène	Hydrocarbures	Amorphanes	204	15	24	0	0	0,959	33,38	1,18	1518	1500	0,21	0,060	1,08	0,039	0,40	0,004	0,03	0,002	0,02	0,002	0,07	0,008	1,83	0,123	0,02	0,00	0,33	0,031	
494	79 93 105 131 145 159 187 202	Inconnus H		202	15	22	0	0	0,947	33,38	1,48	1518	-	-	0,07	0,000	0,59	0,028	0,08	0,007	0,16	0,017	0,01	0,009	0,03	0,014	0,47	0,064	-	-	0,20	0,016
496	Erémophila-1(10),2,11-triène <sup>d</sup>	Hydrocarbures	Erémophilanes	202	15	22	0	0	0,947	33,56	1,53	1521	-	-	0,05	0,000	0,02	0,008	0,03	0,001	0,00	0,004	-	-	0,02	0,014	-	-	0,03	0,008		
498	Erémophila-1(10),2,7(11)-triène	Hydrocarbures	Erémophilanes	202	15	22	0	0	0																							

#	Composé	Classe chimique	Famille	MM g/mol	#C	#H	#O	#Ph	FRR <sup>a</sup>	t <sub>r</sub> (min)	t <sub>r</sub> (s)	RI HP-5 <sup>b</sup> (progr.)	RI HP-1 <sup>c</sup> (lin.)	VAc CH530 <sup>d</sup> (ex Haïti)		VAc R095 <sup>d</sup> (ex Java)		VAc R071 <sup>d</sup> (ex Haïti)		VAc R451 <sup>d</sup> (ex Haïti)		Acétyver CH <sup>d</sup>		VAc Lab <sup>e</sup> Ac <sub>2</sub> O only (méthode A)		Vac Lab <sup>e</sup> H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> catal. (méthode B)		VAc Lab <sup>e</sup> AcONa/PhMe (méthode C)		VAc Lab <sup>e</sup> TEA/DMAP (méthode D)			
														g/100g	Ecart Type	g/100g	Ecart Type	g/100g	Ecart Type	g/100g	Ecart Type	g/100g	Ecart Type	g/100g	Ecart Type	g/100g	Ecart Type	g/100g	Ecart Type	g/100g	Ecart Type	g/100g	Ecart Type
520	13-nor-Eudesm-5-én-11-one A	Cétones	Eudesmanes	206	14	22	1	0	0,857	38,79	2,66	1589	-	0,09	0,002	0,03	0,001	-	-	-	-	-	-	0,03	0,000	-	-	-	-	-	-	-	-
521	Ylangan-4β-ol	Alcools III	Ylanganes	222	15	26	1	0	0,879	38,88	2,27	1590	1539	0,10	0,005	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
229	Eudesm-6-én-5α-ol, Gynurénol <sup>f</sup>	Alcools III	Eudesmanes	222	15	26	1	0	0,879	38,97	2,05	1592	1562	0,25	0,006	-	-	-	-	-	-	-	-	0,05	0,012	0,07	0,004	0,04	0,02	0,12	0,009		
405	13-nor-Eudesm-5-én-11-one B	Cétones	Eudesmanes	206	14	22	1	0	0,857	39,15	2,75	1594	1552	0,14	0,018	-	-	-	-	-	-	-	-	0,04	0,023	-	-	0,03	0,00	-	-		
404	15-nor-Prézizaan-7-one	Cétones	Prézizaanes	206	14	22	1	0	0,857	39,15	2,57	1594	1546	-	-	0,08	0,005	0,08	0,001	-	-	0,01	0,009	0,08	0,016	0,08	0,004	-	-	-	-		
524	Eudesma-5,7-dién-11-ol, Gynuradiénol	Alcools III	Eudesmanes	220	15	24	1	0	0,868	39,52	3,09	1599	1567	0,45	0,005	0,07	0,003	0,09	0,003	-	-	0,07	0,001	0,12	0,002	-	-	0,03	0,00	0,07	0,004		
607	187 202	Inconnus H		202	15	22	0	0	0,947	39,61	1,53	1600	1576	0,27	0,006	0,07	0,003	-	-	-	-	0,03	0,002	-	-	0,02	0,001	0,03	0,004	0,03	0,00	0,13	0,026
523	131 145 159 187 202 (isomère β-Vétivénène)	Inconnus H		202	15	22	0	0	0,947	39,61	1,53	1600	1579	-	-	1,54	0,058	0,07	0,002	0,12	0,015	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
526	81 93 105 119 161 204	Inconnus H		204	15	24	0	0	0,959	40,44	1,66	1610	-	0,16	0,004	0,08	0,005	0,15	0,002	-	-	-	-	0,13	0,004	0,71	0,019	0,01	0,00	0,09	0,004		
407	13-nor-Spirovétiva-1(10),6-dién-11-one	Cétones	Vétispiranes	204	14	20	1	0	0,844	40,44	2,83	1610	1577	0,18	0,036	0,17	0,009	0,20	0,005	-	-	-	-	0,20	0,019	0,17	0,001	0,03	0,00	0,14	0,015		
528	6α,12-Epoxy-7βH-10αH,11βH-spiroax-4-ène	Ethers	Spiroaxanes	220	15	24	1	0	0,868	40,80	1,48	1614	-	0,04	0,002	0,06	0,003	0,04	0,003	-	-	-	-	0,03	0,000	0,03	0,001	-	-	-	-		
411	13-nor-cis-Eudesm-6-én-11-one	Cétones	Eudesmanes	178	12	18	1	0	0,830	41,35	2,57	1620	1583	0,05	0,002	0,11	0,008	0,08	0,002	0,03	0,002	-	-	0,10	0,003	0,05	0,002	-	-	0,03	0,025		
529	Amorph-4-én-1α-ol épimère	Inconnus		222	15	26	1	0	0,879	41,90	2,31	1627	1616	0,10	0,016	0,05	0,002	0,06	0,003	-	-	-	-	0,08	0,001	-	-	0,02	0,00	0,05	0,027		
412	15-nor-Funébran-3-one	Cétones	Funébranes	206	14	22	1	0	0,857	41,90	2,92	1627	1572	0,07	0,005	0,08	0,001	-	-	-	-	-	-	0,05	0,006	0,05	0,004	-	-	0,06	0,006		
352	13-nor-Erérophil-9-én-11-one	Cétones	Erémophilanes	206	14	22	1	0	0,857	42,00	2,66	1628	1596	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,09	0,002	-	-	0,02	0,00	-	-		
413	Khusimone	Cétones	Zizaanes	204	14	20	1	0	0,844	42,00	3,27	1628	1575	0,53	0,010	0,58	0,017	0,63	0,008	0,05	0,003	0,05	0,002	0,53	0,012	0,55	0,010	0,07	0,00	0,46	0,028		
530	77 105 131 145 159 187 202	Inconnus H		202	15	22	0	0	0,947	42,09	1,63	1629	1605	-	-	0,70	0,053	-	-	-	-	-	-	-	-	0,41	0,019	-	-	-	-		
531	12-nor-Ziza-6(13)-én-2β-ol	Alcools II	Zizaanes	206	14	22	1	0	0,857	42,27	4,27	1631	1584	-	-	-	-	-	-	-	-	0,04	0,000	-	-	-	-	-	-	-	-		
534	Eudesm-4(15)-én-5β-ol	Alcools III	Eudesmanes	222	15	26	1	0	0,879	42,73	2,92	1637	1607	1,41	0,039	-	-	0,15	0,001	-	-	0,21	0,006	0,04	0,006	0,11	0,009	0,05	0,00	0,05	0,013		
414	13-nor-Spirovétiva-1(10),7-dién-11-one	Cétones	Vétispiranes	204	14	20	1	0	0,844	42,91	3,14	1639	1600	0,12	0,060	-	-	0,07	0,002	-	-	0,03	0,001	0,10	0,002	0,05	0,001	0,14	0,11	0,07	0,003		
535	trans-Eudesm-6-én-4β-ol	Alcools III	Eudesmanes	222	15	26	1	0	0,879	43,00	2,75	1640	1603	1,25	0,038	-	-	0,20	0,001	0,07	0,001	0,17	0,006	0,79	0,007	0,04	0,001	0,09	0,11	0,54	0,014		
78	10-épi-γ-Eudesmol	Alcools III	Eudesmanes	222	15	26	1	0	0,879	43,10	2,35	1641	1606	0,36	0,014	0,03	0,002	0,12	0,002	0,05	0,001	0,04	0,001	0,27	0,005	0,05	0,002	0,05	0,00	0,13	0,002		
536	Junénol	Alcools II	Eudesmanes	222	15	26	1	0	0,879	43,19	2,14	1642	1609	0,52	0,014	-	-	0,17	0,005	0,04	0,003	0,02	0,002	0,51	0,008	-	-	0,05	0,01	-	-		
537	59 145 185 218	Inconnus		218	15	22	1	0	0,856	43,19	3,66	1642	1613	0,21	0,007	0,88	0,181	0,52	0,018	0,03	0,002	0,06	0,002	0,06	0,002	0,16	0,031	0,04	0,00	-	-		
538	Eudesma-4(15),7-dién-11-ol	Alcools III	Eudesmanes	220	15	24	1	0	0,868	43,37	3,23	1644	1611	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,04	0,001	0,04	0,031	0,04	0,00	0,03	0,028		
539	91 107 135 150 177 205 220 (Oplopénone, tent.)	Inconnus		220	15	24	1	0	0,868	43,37	2,14	1644	1621	-	-	0,43	0,035	-	-	-	-	-	-	-	-	0,09	0,007	-	-	-	-		
89	γ-Eudesmol	Alcools III	Eudesmanes	222	15	26	1	0	0,879	43,55	2,66	1646	-	0,21	0,012	-	-	0,15	0,002	-	-	0,06	0,003	0,19	0,006	0,10	0,007	0,06	0,02	0,11	0,003		
542	Amorph-4-én-1α-ol	Alcools III	Amorphanes	222	15	26	1	0	0,879	43,83	2,44	1649	-	0,26	0,009	-	-	0,07	0,001	-	-	0,03	0,001	0,26	0,004	-	-	0,08	0,00	0,15	0,007		
541	12-nor-Ziza-6(13)-én-2α-ol	Alcools II	Zizaanes	206	14	22	1	0	0,857	43,83	4,53	1649	1601	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
543	trans-Eudesm-6-én-11-ol (tent.)	Alcools III	Eudesmanes	222	15	26	1	0	0,879	43,83	2,62	1649	1614	0,38	0,013	-	-	-	-	-	-	-	-	0,09	0,001	-	-	0,04	0,02	0,03	0,001		
545	81 91 105 123 147 220	Inconnus		220	15	24	1	0	0,868	43,92	3,09	1651	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,04	0,001	-	-	-	-	-	-		
418	13-nor-Erérophila-1(10),6-dién-11-one	Cétones	Erémophilanes	206	14	22	1	0	0,857	44,01	2,83	1652	1617	0,14	0,002	0,16	0,007	0,15	0,002	0,05	0,002	0,01	0,011	0,21	0,005	0,12	0,004	0,02	0,03	0,12	0,004		
608	187 202	Inconnus		202	14	18	1	0	0,832	44,93	3,01	1662	-	-	-	0,03	0,003	0,07	0,002	-	-	-	-	0,07	0,001	-	-	0,03	0,00	-	-		
419	α-Funébrén-15-al	Aldéhydes	Funébranes	218	15	22	1	0	0,856	45,02	2,48	1663	1623	-	-	-	-	0,09	0,016	-	-	-	-	0,10	0,002	0,06	0,004	0,03	0,00	0,08	0,012		
549	Amorph-4-én-10α-ol	Alcools III	Amorphanes	222	15	26	1	0	0,879	45,11	2,79	1664	1633	0,15	0,000	-	-	0,09	0,015	-	-	-	-	0,09	0,029	-	-	0,03	0,00	0,05	0,001		
551	Bisabola-3(15),10-dién-7-ol	Alcools III	Bisabolanes	222	15	26	1	0	0,879	45,48	2,40	1669	-	0,08	0,007	-	-	-	-	-	-	-	-	0,06	0,008	-	-	0,26	0,19	-	-		
104	Valérianol	Alcools III	Erémophilanes	222	15	26	1	0	0,879	45,48	2,66	1669	1638	1,64	0,096	-	-	0,36	0,086	0,14	0,004	0,36	0,010	-	-	0,07	0,021	-	-	0,85	0,076		
609	69 79 91 107 121 136 177 187 202 220	Inconnus		220	15	24	1	0	0,868	45,48	2,79	1669	1637	-	-	0,68	0,026	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
362	α-Cadinol	Alcools III	Cadinanes	222	15	26	1	0	0,879	45,48	2,66	1669	1638	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,18	0,058	-	-	0,15	0,18	-	-		
107	α-Eudesmol	Alcools III	Eudesmanes	222	15	26	1	0	0,879	45,75	2,83	1672	-	0,72	0,059	-	-	-	-	0,06	0,005	0,14	0,004	0,62	0,026	-	-	0,24	0,01	0,28	0,083		
108	β-Eudesmol	Alcools III	Eudesmanes	222	15	26	1	0	0,879	45,75	2,89	1672	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
554	Cyclocopacamphanol A	Alcools I	Cyclocopacamphanes	220	15	24	1	0	0,868	45,94	3,70	1674	1642	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
610	Acétate de β-élémyle	Esters	Elémynes	264	17	28	2	0	0,814	45,94	1,39	1674	1662	-	-	0,27	0,012	0,62	0,003	-	-	-	-	0,02	0,000	0,58	0,015	0,08	0,00	0,28	0,017		
553	7,15-Epoxyprézizaane	Ethers	Prézizaanes	220	15	24	1	0	0,868	46,03	1,87	1675	-	0,11	0,005	-	-	-	-	0,03	0,000	-	-	-	-	0,03	0,001	-	-	0,08	0,004		
559	7-épi-α-Eudesmol	Alcools III	Eudesmanes	222	15	26	1	0	0,879	46,21	2,70	1677	-	-</																			

#	Composé	Classe chimique	Famille	MM g/mol	#C	#H	#O	#Ph	FRR <sup>a</sup>	t <sub>r</sub> (min)	t <sub>r</sub> (s)	RI HP-5 <sup>b</sup> (progr.)	RI HP-1 <sup>c</sup> (lin.)	VAc CH530 <sup>d</sup> (ex Haïti)		VAc R095 <sup>d</sup> (ex Java)		VAc R071 <sup>d</sup> (ex Haïti)		VAc R451 <sup>d</sup> (ex Haïti)		Acétyver CH <sup>d</sup>		VAc Lab <sup>e</sup> Ac <sub>2</sub> O only (méthode A)		VAc Lab <sup>e</sup> H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> catal. (méthode B)		VAc Lab <sup>e</sup> AcONa/PhMe (méthode C)		VAc Lab <sup>e</sup> TEA/DMAp (méthode D)	
														g/100g	Ecart Type	g/100g	Ecart Type	g/100g	Ecart Type	g/100g	Ecart Type	g/100g	Ecart Type	g/100g	Ecart Type	g/100g	Ecart Type	g/100g	Ecart Type	g/100g	Ecart Type
439	13-nor-Eudesma-4,6-diène-11-one	Cétones	Eudesmanes	204	14	20	1	0	0,844	50,43	2,92	1726	1688	0,53	0,009	0,33	0,015	0,56	0,006	0,17	0,002	0,09	0,002	0,33	0,008	0,37	0,008	0,29	0,00	0,63	0,038
615	Acétate de 12-nor-Ziza-6(13)-én-2β-yle	Esters	Zizaanes	248	16	24	2	0	0,791	50,89	1,92	1731	1699	0,25	0,005	0,41	0,015	0,39	0,005	0,60	0,007	0,41	0,012	0,23	0,006	0,27	0,006	0,14	0,01	0,28	0,065
616	91 105 119 133 147 161 189 204 [M-60]	Ester inconnus		264	17	28	2	0	0,814	51,35	1,39	1736	1715	-	-	0,56	0,024	0,82	0,017	0,85	0,014	-	-	0,04	0,001	0,56	0,005	0,16	0,00	0,75	0,070
575	1,7-Cyclogermacra-1(10),4-diène-15-ol	Alcools I	Cyclogermacranes	220	15	24	1	0	0,868	51,44	2,53	1737	-	0,04	0,002	-	-	-	-	-	-	0,04	0,001	0,05	0,002	-	-	0,04	0,00	-	-
578	77 94 121 162 218 (Acoradiénal isomère, tent.)	Inconnus		218	15	22	1	0	0,856	51,44	2,53	1737	1699	0,07	0,002	0,07	0,003	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,06	0,006	
441	Vétisélinénol	Alcools I	Eudesmanes	220	15	24	1	0	0,868	51,71	3,49	1740	1705	-	-	-	-	-	-	0,08	0,003	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
617	Acétate d'acor-4-én-3-yle	Esters	Acoranes	264	17	28	2	0	0,814	51,80	1,39	1741	1725	0,40	0,006	-	-	0,55	0,008	-	-	0,63	0,022	0,38	0,047	0,27	0,014	0,32	0,00	0,63	0,043
618	Acétate d'eudesm-6-én-4α-yle	Esters	Eudesmanes	264	17	28	2	0	0,814	51,80	1,31	1741	1723	-	-	-	-	0,29	0,006	-	-	-	-	-	-	-	-	0,20	0,00	0,19	0,036
619	119 145 173 188 233 248	Ester inconnus		248	16	24	2	0	0,791	51,99	1,92	1743	-	0,08	0,003	0,06	0,002	0,09	0,008	-	-	-	-	0,09	0,003	0,07	0,006	0,11	0,10	0,05	0,044
620	79 91 105 119 131 145 187 202 [M-60]	Ester inconnus		262	17	26	2	0	0,804	52,35	1,74	1747	-	-	-	0,26	0,015	0,13	0,008	-	-	-	-	0,03	0,001	-	-	-	-	-	
582	Oplopanone	Cétones	Oplopananes	238	15	26	2	0	0,800	52,45	4,45	1748	1710	0,37	0,009	-	-	-	-	-	-	0,17	0,006	0,38	0,021	-	-	0,10	0,09	0,10	0,012
621	Acétate de 12-nor-Ziza-6(13)-én-2α-yle	Esters	Zizaanes	248	16	24	2	0	0,791	52,63	1,92	1750	1719	0,15	0,003	0,25	0,011	0,26	0,002	0,37	0,007	0,25	0,006	0,18	0,004	0,18	0,004	0,11	0,00	0,20	0,039
622	10-Acétaxy-7,10-époxyalvialane (tent.)	Esters	Daucanes	280	17	28	3	0	0,751	52,90	1,70	1754	1731	-	-	-	-	0,14	0,005	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
623	81 91 105 119 133 161 204 264	Ester inconnus		264	17	28	2	0	0,814	53,00	1,35	1755	-	-	-	-	-	0,14	0,005	-	-	-	-	0,11	0,005	-	-	-	-	0,53	0,070
583	α-Isonootkatol	Alcools I	Erémophilanes	220	15	24	1	0	0,868	53,09	3,70	1756	1725	-	-	-	-	-	-	-	-	0,05	0,002	0,10	0,002	-	-	-	-	-	-
624	91 93 105 119 131 145 159 187 202 [M-60]	Ester inconnus		262	17	26	2	0	0,804	53,18	1,57	1757	1737	-	-	-	0,22	0,010	0,35	0,010	0,30	0,022	-	-	-	-	0,09	0,00	-	-	
625	81 93 105 121 133 145 159 187 202 [M-60]	Ester inconnus		262	17	26	2	0	0,804	53,18	1,70	1757	1729	-	-	0,23	0,010	0,16	0,004	0,26	0,002	0,21	0,009	0,10	0,002	0,11	0,003	0,07	0,00	0,20	0,013
626	105 119 134 161 189 204 [M-60] (épimère de 631)	Ester inconnus		264	17	28	2	0	0,814	53,36	1,39	1759	-	-	-	0,22	0,016	0,21	0,036	-	-	-	-	0,02	0,001	0,14	0,016	0,03	0,01	-	-
627	79 81 91 105 119 131 145 187 202 [M-60]	Ester inconnus		262	17	26	2	0	0,804	53,55	1,87	1761	-	0,17	0,003	0,09	0,003	0,25	0,006	0,41	0,001	0,29	0,010	0,14	0,004	0,20	0,004	0,13	0,00	0,17	0,018
628	Acétate d'ylangén-15-yle	Esters	Copaanes	264	17	28	2	0	0,814	53,82	1,61	1764	1742	0,49	0,018	0,42	0,021	0,73	0,004	1,03	0,021	0,95	0,025	0,41	0,005	0,44	0,014	0,34	0,01	0,52	0,048
442	Khusimol	Alcools I	Zizaanes	220	15	24	1	0	0,868	54,00	4,14	1766	1724	-	-	-	-	-	-	-	-	0,12	0,007	0,13	0,002	-	-	0,20	0,01	-	-
444	10-épi-Acora-3,11-diène-15-al	Aldéhydes	Acoranes	218	15	22	1	0	0,856	54,10	2,79	1767	1728	0,27	0,008	0,17	0,004	0,13	0,001	-	-	-	-	0,19	0,023	-	-	0,17	0,02	0,23	0,018
629	Acétate d'eudesma-4(15),7-diène-3β-yle	Esters	Eudesmanes	264	17	28	2	0	0,814	54,19	1,66	1768	1740	0,43	0,038	0,32	0,020	0,68	0,024	0,96	0,044	0,55	0,057	-	-	0,43	0,004	0,33	0,08	0,64	0,033
630	Acétate de cyclocopacamphan-12-yle A	Esters	Cyclocopacamphanes	262	17	26	2	0	0,804	54,46	1,70	1771	1747	1,44	0,034	1,31	0,062	1,93	0,064	3,18	0,012	2,66	0,092	1,68	0,028	1,32	0,040	0,97	0,08	1,52	0,083
631	105 119 134 161 189 204 [M-60] (épimère de 626)	Ester inconnus		264	17	28	2	0	0,814	54,55	1,48	1772	-	-	-	0,26	0,020	0,23	0,041	-	-	-	-	0,13	0,001	0,17	0,051	0,06	0,00	-	-
632	93 105 119 161 204 [M-60]	Ester inconnus		264	17	28	2	0	0,814	54,83	1,61	1775	-	-	-	0,12	0,009	0,05	0,040	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
633	91 105 119 145 161 187 202 262	Ester inconnus		262	17	26	2	0	0,804	54,83	2,05	1775	1754	0,16	0,006	0,18	0,004	0,24	0,006	0,34	0,010	0,28	0,010	-	-	-	-	0,12	0,00	0,16	0,008
634	Acétate de 10-épi-γ-eudesmyle	Esters	Eudesmanes	264	17	28	2	0	0,814	55,01	1,44	1777	1765	-	-	0,31	0,014	0,29	0,084	-	-	-	-	0,02	0,004	0,28	0,084	0,04	0,02	0,15	0,007
635	Acétate de β-bisabolyle	Esters	Bisabolanes	264	17	28	2	0	0,814	55,10	1,35	1778	1764	0,13	0,003	0,14	0,004	0,11	0,009	0,24	0,003	0,26	0,010	0,11	0,006	0,06	0,006	0,09	0,01	-	-
636	91 105 119 133 159 187 202 262	Ester inconnus		262	17	26	2	0	0,804	55,20	1,26	1779	-	-	-	0,47	0,035	-	-	0,10	0,001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
587	91 107 161 179 219 234	Inconnus		234	15	22	2	0	0,777	55,20	2,88	1779	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,12	0,001	-	-	0,18	0,07	-	-	
637	79 91 105 119 134 187 202 [M-60]	Ester inconnus		262	17	26	2	0	0,804	55,29	1,87	1780	-	0,13	0,005	-	-	0,16	0,019	0,31	0,004	0,20	0,014	0,08	0,002	0,14	0,004	-	-	0,19	0,010
638	Acétate de valérianyle	Esters	Erémophilanes	264	17	28	2	0	0,814	55,29	1,48	1780	1762	-	-	0,83	0,032	0,74	0,050	-	-	0,07	0,003	-	-	0,76	0,117	0,15	0,07	0,44	0,059
639	Acétate de γ-eudesmyle	Esters	Eudesmanes	264	17	28	2	0	0,814	55,47	1,53	1782	1766	-	-	0,62	0,056	0,31	0,005	-	-	-	-	0,01	0,000	0,14	0,006	0,06	0,00	0,11	0,013
640	Acétate de cyclocopacamphan-12-yle B	Esters	Cyclocopacamphanes	262	17	26	2	0	0,804	55,65	1,70	1785	1761	1,55	0,035	1,51	0,144	2,16	0,037	3,45	0,023	2,87	0,095	1,44	0,036	1,48	0,043	1,15	0,02	1,66	0,078
641	91 105 118 131 145 159 187 202 262	Ester inconnus		262	17	26	2	0	0,804	55,84	1,83	1787	-	-	-	0,50	0,059	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
642	69 91 105 118 132 145 159 187 202 262	Ester inconnus		262	17	26	2	0	0,804	55,93	1,74	1788	-	-	-	0,14	0,011	0,20	0,006	-	-	-	-	-	-	0,25	0,006	-	-	-	-
643	Acétate de khusian-2-yle	Esters	Hélifolanes	264	17	28	2	0	0,814	56,30	1,70	1792	1766	0,70	0,015	2,27	0,111	1,77	0,049	1,69	0,022	0,81	0,020	0,86	0,026	1,20	0,042	0,84	0,00	1,01	0,206
644	Acétate de 2-épi-ziza-6(13)-én-3β-yle (majoritaire)	Esters	Zizaanes	262	17	26	2	0	0,804	56,39	1,92	1793	1766	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
645	Acétate d'(E)-éléma-1,3,7(11)-triène-12-yle	Esters	Elémanes	262	17	26	2	0	0,804	56,39	1,92	1793	1771	0,52	0,037	0,77	0,035	0,78	0,010	1,11	0,014	0,87	0,041	0,37	0,006	0,56	0,005	0,33	0,01	0,63	0,145
646	Acétate d'α-eudesmyle	Esters	Eudesmanes	264	17	28	2	0	0,814	56,48	1,57	1794	1780	-	-	-	-	0,63	0,033	-	-	0,08	0,002	0,04	0,001	0,54	0,029	0,02	0,02	0,60	0,175
647	Acétate de β-eudesmyle	Esters	Eudesmanes	264	17	28	2	0	0,814	56,48	1,70	1794	1775	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,19	0,02	-	-
648	93 105 119 134 161 289 204 [M-60]	Ester inconnus		264	17	28	2	0	0,814	56,85	1,44	1798	-	-	-	-	0,28	0,147	-	-	-	-	0,04	0,001	0,07	0,004	0				



Comme mentionné ci-dessus, le procédé peut être facilement reconnu en ciblant les composés présents ou absents. Par exemple, les essences acétylées en présence d'H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (méthode B) sont généralement dépourvues d'acétates allyliques fragiles tels que les acétates d'isonootkatyle (**668** et **682**), et les acétates de spirovétivadiényle (**673** et **675**). A maints égards, l'acétate de vétivéryle préparé avec la méthode B ressemble à l'acétate de vétivéryle obtenu à partir de l'huile essentielle de vétiver Java, à l'exception d'une faible quantité d'acétate d'isokhusimyle (**661**). Les acétates de vétivéryle produits avec la méthode C (Ac<sub>2</sub>O/AcONa dans le toluène) sont généralement caractérisés par l'absence ou la quasi absence d'hydrocarbures sesquiterpéniques dans la première partie du chromatogramme. Les acétates de vétivéryle produits avec la méthode A ont fourni les chromatogrammes les plus complexes. En effet, les alcools primaires et secondaires habituellement présents dans l'huile essentielle de vétiver se transforment en esters, alors que les autres constituants ne sont pratiquement pas impactés par la réaction. Finalement, les échantillons d'acétate de vétivérol présentent un chromatogramme 2D où seuls les esters sont présents, ou bien, dans certains cas (en particulier si l'échantillon est vieux), de faibles quantités d'hydrocarbures, d'alcools et de cétones peuvent également être détectées.

#### Vb.5. Considérations toxicologiques

L'acétate de vétivéryle est un ingrédient très courant de la parfumerie et, à ce titre, il entre dans de nombreuses compositions. Cependant, il fait actuellement l'objet d'une évaluation en ce qui concerne son innocuité comme ingrédient de parfums et de cosmétiques. Des premiers tests de sensibilisation cutanée ont suggéré un léger potentiel d'irritation de l'acétate de vétivéryle lorsqu'il est évalué à l'état pur.<sup>5</sup> En 2014, le Comité Scientifique Européen pour la Sécurité des Consommateurs (SCCS) a publié un document détaillant son avis sur l'acétate de vétivéryle, proposant ainsi des actions à mener pour mieux évaluer l'impact toxicologique de cette substance.<sup>33</sup> Ce document contient des commentaires spécifiques qui doivent être abordés dans le cadre de cette étude :

*« - Vetiver oils of different origin (India, Indonesia, Haiti, Brazil etc.) may have a different composition. The quality of commercial vetiver oils may differ considerably since several varieties of the grass vetiveria zizaniodes exist and since fresh as well as air dried roots of the grass are distilled that may vary with producer. Therefore the vetiveryl acetate prepared*

*from different vetiver oils may have a different composition. Concentration ranges of various constituents of vetiveryl acetate should be provided.*

*- Ca. 100 constituents with a concentration of >0.01% are present in vetiveryl acetate, but identification of only constituents (corresponding to 60% of the mixture) is described, leaving ca. constituents unknown. Thus, more than 40% of the vetiveryl acetate is composed of the unknown ca. 88 constituents.*

*- No documentation was provided for characterisation and quantification of the substances present in vetiveryl acetate.*

*- By polar/apolar GC, the GC peaks cannot be characterised as acetate, ketone or sesquiterpene. The method of determining acetate, ketone or sesquiterpene in vetiveryl acetate is not described. »*

Suite à nos analyses, il est maintenant possible de répondre à ces quatre points. Tout d'abord, seules deux variétés de *Chrysopogon zizanioides* sont connues : le cultivar sauvage originaire d'Inde du Nord (connu sous le nom de « *Khus* ») et la variété monoclonale stérile cultivée dans le monde entier dans les régions tropicales et subtropicales du globe, laquelle est utilisée pour la production d'huile essentielle de vétiver. D'autres espèces telles que *Chrysopogon nigriflora*, aussi appelé vétiver africain,<sup>34</sup> n'ont pas d'importance économique pour l'industrie du parfum. Les différences de composition chimique observées dans les huiles essentielles de vétiver sont donc principalement influencées par les paramètres pédoclimatiques (principalement le sol et le climat) et, en outre, par le procédé de distillation. Ainsi, plusieurs « origines » de l'huile essentielle de vétiver sont connues, mais très peu sont actuellement utilisées pour la production d'acétate de vétivéryle (Haïti, Indonésie, Brésil, Bourbon et Chine).

Dans ce contexte, cette étude aurait dû être étendue à un ensemble plus vaste d'acétates commerciaux de vétiver afin d'obtenir un aperçu plus complet de la variabilité de leur composition chimique. Cependant, toutes les données analytiques rapportées ici concernent les acétates de vétivéryle préparés à partir des types d'huile essentielle de vétiver les plus importants, à savoir le vétiver Haïti et Java. Dans l'ensemble, plus de 230 constituants ont été détectés dans l'ensemble des échantillons. Bien qu'environ 30 esters restent indéterminés, ces composés inconnus ne représentent que 1,0 à 5,6 % de la composition chimique. Les autres constituants indéterminés tels que les hydrocarbures (jusqu'à 6,5 % dans l'acétate de vétivéryle ex type Java) ou les dérivés oxygénés (dans l'acétate de vétivéryle ex type Haïti) sont communément partagés avec les huiles essentielles de vétiver.



SCCS commentaire suite :

« - *Composition of vetiveryl acetate prepared by acetylation of alcohols of vetiver oil (vetiverol) will be different from that prepared by acetylation of whole vetiver oil.*

- *No information is provided on the composition of various batches of vetiveryl acetate used in the submitted studies except that the ester content (varying from 46 to 99%) has been provided for some batches.*

- *It will not be possible to assess the toxicity profile of the constituents reported without chemical structure and CAS No. of the constituents of vetiveryl acetate. »*

Les premières données toxicologiques sur « l'acétate de vétiver » ont été rapportées dans une monographie par Oppodyke et al. dès 1974.<sup>35</sup> Plus récemment, une autre étude visait à présenter les résultats des tests de génotoxicité pour une sélection d'huiles essentielles, dont l'acétate de vétivéryle.<sup>36</sup> Cependant, l'identification correcte de l'extrait est ici encore discutable puisque les auteurs décrivent leur échantillon d'acétate de vétivéryle comme une huile essentielle de vétiver mais le numéro d'enregistrement CAS de la substance testée correspond à celui de l'acétate de vétivérol (n° CAS 62563-80-8), par ailleurs donné comme étant obtenu à partir d'une huile essentielle de vétiver Java.

Sans aucun doute, l'évaluation précise des propriétés toxicologiques de tout produit chimique nécessite généralement son évaluation au moyen d'expérimentations animales et/ou d'essais in vitro. Cependant, la tâche est évidemment très exigeante, en particulier, dans le cas de mélanges complexes tels que les extraits naturels, si chaque constituant doit être isolé et testé expérimentalement. En guise d'approche pour répondre à ce défi, des méthodes alternatives d'évaluation des risques pour les substances non cancérigènes, à l'aide de modèles informatiques basés sur l'étude des relations structure-activité (SAR), ont été développées. L'une des méthodes non expérimentales les plus populaires consiste à déterminer un seuil de risque toxicologique (*Threshold of toxicological concern* ; TTC) lorsque l'exposition à la substance est faible.<sup>37</sup> Par conséquent, en l'absence de donnée de toxicité spécifique, l'évaluation des risques peut être estimée pour toute molécule après examen de sa structure en utilisant l'arbre de décision établi par Cramer et al. en 1978.<sup>38</sup> Cette méthode donne un moyen de classer les produits chimiques en trois classes (I, II et III) en définissant un niveau de risque toxicologique à mesure que le numéro de la classe augmente, établissant ainsi un maximum d'absorption *per-capita* pour le produit chimique évalué (30,0, 9,0 et 1,5 µg/kg/jour). La classification de Cramer est désormais une approche très courante et pratique pour fournir une estimation raisonnable des niveaux de risque toxicologique, et a depuis été améliorée et mis en

œuvre dans des applications informatiques telles que Toxtree ou la QSAR Toolbox de l'OCDE.<sup>39</sup> Une parfaite connaissance des esters constituant l'acétate de vétivéryle était donc une étape obligatoire pour fournir une première évaluation de leurs TTCs respectifs via leurs structures. En effet, une simple méthode de lecture croisée aurait consisté à considérer que chaque alcool sesquiterpénique présent dans l'essence de vétiver, serait simplement transformé en son ester correspondant. Cependant, comme présenté ci-dessus, la composition réelle de l'acétate de vétivéryle, notamment en ce qui concerne sa fraction ester dépend de l'huile essentielle utilisée au départ et du procédé utilisé pour sa fabrication. Dans une étude précédente, Bhatia et al. ont évalué la performance des deux logiciels susmentionnés.<sup>40</sup> Pour un même ensemble de 1016 ingrédients parfumés analysés individuellement, les deux logiciels ont généralement fourni des réponses satisfaisantes par rapport à celles données par un expert. Cependant, des écarts notables ont été observés pour quelques classes de produits chimiques tels que les hétérocycles, les amines et les lactones. En outre, il a été démontré que les interprétations erronées par les logiciels de certaines règles énoncées par Cramer peuvent éventuellement conduire à une mauvaise attribution de classe. Dans notre cas, et comme suggéré précédemment par Bhatia et al., les questions relatives aux terpènes dans l'arbre de décision (au niveau des questions Q16 et Q17) sont particulièrement cruciales lors de l'évaluation des constituants de l'acétate de vétivéryle. Ayant identifié et quantifié la plupart des esters principaux, leurs structures ont donc été traitées avec Toxtree 3.1.0. Au total, 43 esters se sont vu attribuer une classe Cramer en première instance. A des fins de comparaison, leurs alcools correspondants, qui sont tous des constituants naturels de l'huile essentielle de vétiver, ont également été évalués (Tableau 34).

Sauf dans le cas de particularités structurales spécifiques, la question principale pour la plupart des esters est donc de déterminer si la molécule peut être hydrolysée en un alcool terpénique commun (Q17), lequel ne correspond pas aux catégories énumérées par Q18. Si la réponse est oui, alors la molécule tombe dans la classe Cramer I, la moins problématique. Dans ce contexte, la classification pertinente des esters et des alcools par Toxtree est quelque peu discutable. Par exemple, les acétates d' $\alpha$ - et  $\beta$ -eudésmyle (**646** et **647**) ont tous deux été classés comme Cramer III, tandis que leurs alcools correspondants, qui sont des constituants très courants des huiles essentielles, ont été eux-mêmes affectés à la classe Cramer III. Une autre différence a été observée pour les acétates de zizaén-3-yle **644**, **651** et **660**, tous affectés à la classe Cramer II, alors que les alcools correspondants ont été reconnus comme des « terpènes communs » par le logiciel, et classés comme Cramer I (Tableau 35).

Tableau 34. Estimation des classes de Cramer avec Toxtree 3.1.0 pour les esters identifiés et leurs alcools parents.

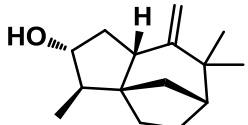
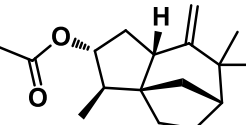
#	Ester (ROAc)	Classe		Classe Cramer	Raison probable de la divergence/commentaire
		Cramer	Alcool (ROH)		
610	Acétate de $\beta$ -élémyle	I	$\beta$ -Elémol	III	Mauvaise interprétation de Q16 pour l'alcool
611	Acétate de <i>cis</i> -eudesm-6-én-11-yle	III	<i>cis</i> -Eudesm-6-én-11-ol	III	
615	Acétate de 12-nor-ziza-6(13)-én-2 $\beta$ -yle	III	12-nor-Ziza-6(13)-én-2 $\beta$ -ol	III	
617	Acétate d'acor-4-én-3-yle	I	Acor-4-én-3-ol	I	
618	Acétate d'eudesm-6-én-4 $\alpha$ -yle	III	Eudesm-6-én-4 $\alpha$ -ol	III	
621	Acétate de 12-nor-ziza-6(13)-én-2 $\alpha$ -yle	III	12-nor-Ziza-6(13)-én-2 $\alpha$ -ol	III	
628	Acétate d'ylangén-15-yle	III	Ylangén-15-ol	III	
629	Acétate d'eudesma-4(15),7-dién-3 $\beta$ -yle	II	Eudesma-4(15),7-dién-3 $\beta$ -ol	I	Mauvaise interprétation de Q17 pour ROAc
630	Acétate de cyclocopacamphan-12-yle A	I	Cyclocopacamphan-12-ol A	I	
634	Acétate de 10- <i>épi</i> - $\gamma$ -eudesmyle	III	10- <i>épi</i> - $\gamma$ -Eudesmol	III	Mauvaise interprétation de Q17 pour ROAc/ Q16 pour ROH
635	Acétate de $\beta$ -bisabolyle	I	$\beta$ -Bisabolol	III	Mauvaise interprétation de Q16 pour ROH
638	Acétate de valérianyle	III	Valérianol	III	Mauvaise interprétation de Q17 pour ROAc/ Q16 pour ROH
639	Acétate de $\gamma$ -eudesmyle	III	$\gamma$ -Eudesmol	III	Mauvaise interprétation de Q17 pour ROAc/ Q16 pour ROH
640	Acétate de cyclocopacamphan-12-yle B	I	Cyclocopacamphan-12-ol B	I	
643	Acétate de khusian-2-yle	I	Khusian-2-ol	I	
644	Acétate de 2- <i>épi</i> -ziza-6(13)-én-3 $\beta$ -yle	II	2- <i>épi</i> -Ziza-6(13)-én-3 $\beta$ -ol	I	Mauvaise interprétation de Q18 pour ROAc
645	Acétate de ( <i>E</i> )-éléma-1,3,7(11)-trién-12-yle	I	( <i>E</i> )-Eléma-1,3,7(11)-trién-12-ol	I	
646	Acétate de $\beta$ -eudesmyle	III	$\beta$ -Eudesmol	III	Mauvaise interprétation de Q17 pour ROAc/ Q16 pour ROH
647	Acétate d' $\alpha$ -eudesmyle	III	$\alpha$ -Eudesmol	III	Mauvaise interprétation de Q17 pour ROAc/ Q16 pour ROH
594	Formiate de khusimyle	III	Khusimol	I	
651	Acétate de ziza-6(13)-én-3 $\alpha$ -yle	II	Ziza-6(13)-én-3 $\alpha$ -ol	I	Mauvaise interprétation de Q18 pour ROAc
655	Acétate de funébrén-14-yle	I	Funébrén-14-ol	I	
656	Acétate de ( <i>E</i> )-oppositadiényle	I	( <i>E</i> )-Oppositadiénol	I	
660	Acétate de ziza-6(13)-én-3 $\beta$ -yle	II	Ziza-6(13)-én-3 $\beta$ -ol	I	Mauvaise interprétation de Q18 pour ROAc
661	Acétate d'isokhusimyle	I	Isokhusimol	I	
662	Enol acétate de $\beta$ -vétivone	II	$\beta$ -Vétivone	II	
664	Acétate de vétisélinényle	I	Vétisélinénol	I	
600	Formiate d'( <i>E</i> )-isovalencényle	III	( <i>E</i> )-Isovalencénol	I	
665	Enol acetate 13-nor-Eudesma-4,6-dién-11-one	III	13-nor-Eudesma-4,6-dién-11-one	III	
668	Acétate de $\beta$ -isonootkatyle	I	$\beta$ -Isonootkatol	I	
601	Acétate de khusimyle	I	Khusimol	I	
669	Acétate de prézizanyle	I	Prézizanol	I	
670	Acétate de valencén-12-yle	I	Valencén-12-ol	I	
671	Acétate d' $\alpha$ -nootkatyle	I	Nootkatol	I	
672	Acétate de 2- <i>épi</i> -isokhusimyle	I	2- <i>épi</i> -Isokhusimol	I	
673	Acétate de spirovétiva-1(10),7(11)-dién-2 $\beta$ -yle	I	Spirovétiva-1(10),7(11)-dién-2 $\beta$ -ol	I	
675	Acétate de spirovétiva-1(10),7(11)-dien-2 $\alpha$ -yle	I	Spirovétiva-1(10),7(11)-dién-2 $\alpha$ -ol	I	
677	Acétate de 2- <i>épi</i> -pézizanyle	I	2- <i>épi</i> -Prézizanol	I	
680	Acétate de 2- <i>épi</i> -khusimyle	I	2- <i>épi</i> -Khusimol	I	
681	Acétate de ( <i>Z</i> )-isovalencényle	I	( <i>Z</i> )-Isovalencénol	I	
682	Acétate d' $\alpha$ -isonootkatyle	I	$\alpha$ -Isonootkatol	I	
683	Acétate de ( <i>E</i> )-spirovétiva-1(10),7(11)-dién-12-yle	I	Spirovétiva-1(10),7(11)-dién-12-ol	I	
684	Acétate de ( <i>E</i> )-isovalencényle	I	( <i>E</i> )-Isovalencénol	I	
686	Acétate de ( <i>E</i> )-eudesma-4(15),7(11)-dién-12-yle	I	( <i>E</i> )-Eudesma-4(15),7(11)-dién-12-ol	I	
687	Enol acétate $\alpha$ -vétivone	III	$\alpha$ -Vétivone	III	

Enfin, il en va de même pour les deux vétivones **450** et **452** et la nootkatone (**387**), dont le mélange extrait de l'huile essentielle de vétiver est parfois désigné comme « Vétivérone ». Cette fraction cétonique a été reconnue comme étant non-toxique,<sup>5</sup> mais les cétones  $\alpha,\beta$ -insaturées se voient généralement attribuer une classe Cramer II ou III par le logiciel, en raison de leur caractère accepteur de Michael. Il apparaît ainsi que ces méthodes informatiques, pour une première évaluation toxicologique des dérivés sesquiterpéniques, peuvent conduire à des conclusions erronées.

Cette première évaluation toxicologique informatisée montre que la plupart des esters majoritaires sont classifiés comme Cramer I. Plus important encore, nous montrons ici que l'acétylation de l'huile essentielle de vétiver, effectuée conformément aux méthodes acceptées

par l'IFRA, n'apporte aucune molécule spécifique autre que les acétates. Les autres constituants sont communément partagés avec les huiles essentielles de vétiver. Étant donné que les acétates présents dans nos échantillons libèrent simplement leurs alcools correspondants lors d'une éventuelle hydrolyse et que l'essence de vétiver, elle-même, est considérée comme un ingrédient sûr (FDA 21CFR172.510), des propriétés similaires sont attendues de sa forme acétylée.

Tableau 35. Exemple de contradiction généré par Toxtree. Puisque l'alcool est classé comme un « terpène commun » (à gauche), son ester (à droite) doit de la même façon être classé comme tel, sans être classé dans aucune catégorie de la Q18.

 <p>Ziza-6(13)-en-3α-ol CAS # 28102-79-6</p>	 <p>Acétate de ziza-6(13)-en-3α-yle</p>
<p>Q1.Normal constituent of the body →No                      Q2.Contains functional groups associated with enhanced toxicity →No                      Q3.Contains elements other than C,H,O,N,divalent S →No                      Q5.Simply branched aliphatic hydrocarbon or a common carbohydrate →No                      Q6.Benzène derivative with certain substituents →No                      Q7.Heterocyclic →No                      Q16.Common terpene →Yes Class Low (Class I)</p>	<p>Q1.Normal constituent of the body →No                      Q2.Contains functional groups associated with enhanced toxicity →No                      Q3.Contains elements other than C,H,O,N,divalent S →No                      Q43.Possibly harmful divalent sulphur (not detected via Q3)... →No                      Q5.Simply branched aliphatic hydrocarbon or a common carbohydrate →No                      Q6.Benzène derivative with certain substituents →No                      Q42.Possibly harmful analogue of Benzène... →No                      Q7.Heterocyclic →No                      Q16.Common terpene →No                      Q17.Readily hydrolysed to a common terpene -alcohol, -aldehyde or -carboxylic acid →Yes                      Q18.One of the list (see explanation) →Yes Class Intermediate (Class II) 'Residue 1'                      Is the substance one of the following:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• (a) a vicinal diketone; or a ketone or ketal of a ketone attached to a terminal vinyl group</li> <li>• (b) a secondary alcohol or ester of a secondary alcohol attached to a terminal vinyl group</li> <li>• (c) allyl alcohol or its acetal, ketal or ester derivative</li> <li>• (cellbox) allyl mercaptan, an allyl sulphide, an allyl thioester or allyl amine</li> <li>• (e) acrolein, a methacrolein or their acetals</li> <li>• (f) acrylic or methacrylic acid</li> <li>• (g) an acetylenic compound</li> <li>• (h) an acyclic <i>aliphatic</i> (A) ketone, ketal or ketoalcohol with no other functional groups and with four or more carbons on either side of the keto group</li> <li>• (i) a substance in which the <i>functional groups</i> (E) are all <i>sterically hindered</i> (J)</li> </ul> <p>Q18 examines the terpenes and later the open-chain and mononuclear substances by reference) to determine whether they contain certain structural features generally thought to be associated with some enhanced toxicity.                      Q19.Open chain Yes 'Residue 2'                      Q20.Aliphatic with some functional groups (see explanation) Yes 'Residue 2'                      Q21.3 or more different functional groups No 'Residue 2'                      Q44.Free α,β-unsaturated heteroatom. No 'Residue 2'                      Q18.One of the list (see explanation) No Class Low (Class I) 'Residue 2'</p>

## Vb.6. Considérations olfactives

L'acétate de vétivéryle est un ingrédient polyvalent de l'industrie des parfums. Lorsqu'il est inclus dans une composition, il fournit d'excellentes propriétés fixatrices et des notes marquées de vétiver et de pamplemousse. L'acétylation de l'huile essentielle de vétiver a traditionnellement été réalisée dans la plupart des grandes entreprises de l'industrie du parfum. Comme souvent observé avec d'autres ingrédients à parfum, de telles transformations sont souvent le résultat d'expérience, lorsque les chimistes explorent de manière aléatoire la possibilité d'améliorer ou de modifier les propriétés olfactives d'un extrait naturel. Étonnamment, comprendre comment l'acétylation peut influencer sur les propriétés olfactives du vétiver n'a jamais été étudié. L'acétate de vétivéryle est surtout apprécié par les parfumeurs en raison de sa « note de vétiver propre ». Il a souvent été dit, plutôt qu'établi, que l'acétylation de l'essence de vétiver fournit une substance odorante adéquate, quand l'huile essentielle est elle-même souvent jugée soit trop terreuse (Haïti), soit trop fumée (Java). Dans un article publié en 1989, Cazaussus et al. affirment que l'acétylation « *améliore les qualités olfactives de l'essence, en raison de la plus forte volatilité de l'acétate* ». <sup>3</sup> De plus, Olhoff et al. ont déclaré que « *l'acétylation de l'essence de vétiver par l'anhydride acétique transforme principalement les alcools libres en leurs acetates correspondants, ce qui rend leur odeur moins terreuse et plus boisée, plus sèche, quelque peu tirant dans la direction du santal* » <sup>41</sup> Dans une approche plus prudente, Peter Weyerstahl et al. ont déclaré que « *la conversion industrielle de l'essence de vétiver en acétate de vétivéryle améliore les notes recherchées de vétiver tout en supprimant la désagréable tonalité de terre mouillée* ». <sup>42</sup> Il a également été démontré que l'acétate de vétivéryle développe une mauvaise odeur dans les parfums âgés. En 1995, Demole et al. ont indiqué que les esters sont susceptibles de se dégrader avec le temps au sein d'une composition alcoolique, entraînant la formation d'odeurs indésirables. <sup>4</sup> Ainsi, les expériences de vieillissement menées sur des solutions d'acétate de vétivéryle ont révélé la formation de produits d'auto-oxydation tels que le butène et l'acétaldéhyde, auxquels ces défauts ont été attribués.

Il y a quelques années, notre équipe a mené des recherches sur les composés d'impact odorants de l'huile essentielle de vétiver et de l'acétate de vétivéryle. <sup>16</sup> Comme on pouvait s'y attendre, l'huile essentielle de vétiver a révélé un profil organoleptique très complexe avec des dizaines de composés contribuant à son parfum à multiples facettes (Chapitre Va.3). Les constituants les plus puissants de cette essence ayant une forte activité odorante appartient à la

famille des cétones. Les deux ziza-6(13)-én-3-ones épimériques **425** et **435** ont été identifiées comme les substances odorantes les plus fortes, contribuant à un caractère typique vétiver (Chapitre Va). Fait intéressant, l'investigation olfactive parallèle de l'huile essentielle de vétiver et de l'acétate de vétivéryle a clairement montré que seuls les membres de la famille des zizaanes sont responsables des notes spécifiques et les plus recherchées, alors que les autres substances odorantes majeures contribuent à d'autres facettes. Dans l'huile essentielle de vétiver, les principaux alcools sont soit inodores, tels que le vétisélinénol (**441**) ou le khusimol (**442**), soit fournissent des notes puissantes de bois de santal ((*E*)-isovalencénol – **447**), d'agrumes-rosés ( $\beta$ -vétivol – **450** et  $\alpha$ -isonootkatol – **583**), et de pamplemousse (khusian-2-ol – **570**). De plus, la note humide-terreuse présente dans les essences de vétiver a été attribuée à la présence de géosmine, molécule détectée uniquement à l'état de traces dans les huiles essentielles de vétiver Haïti. Plus important encore, l'étude olfactive de l'acétate de vétivéryle révèle que les principaux esters sont généralement inodores ou contribuent très modérément à l'odeur globale. Seul l'acétate de 12-nor-ziza-6(13)-én-2 $\alpha$ -yle (**621**),<sup>16,43</sup> un ester mineur dont l'alcool parent est présent dans l'essence de vétiver, fournit une note de vétiver caractéristique, encore plus puissante que les deux zizaénones **425** et **435**.

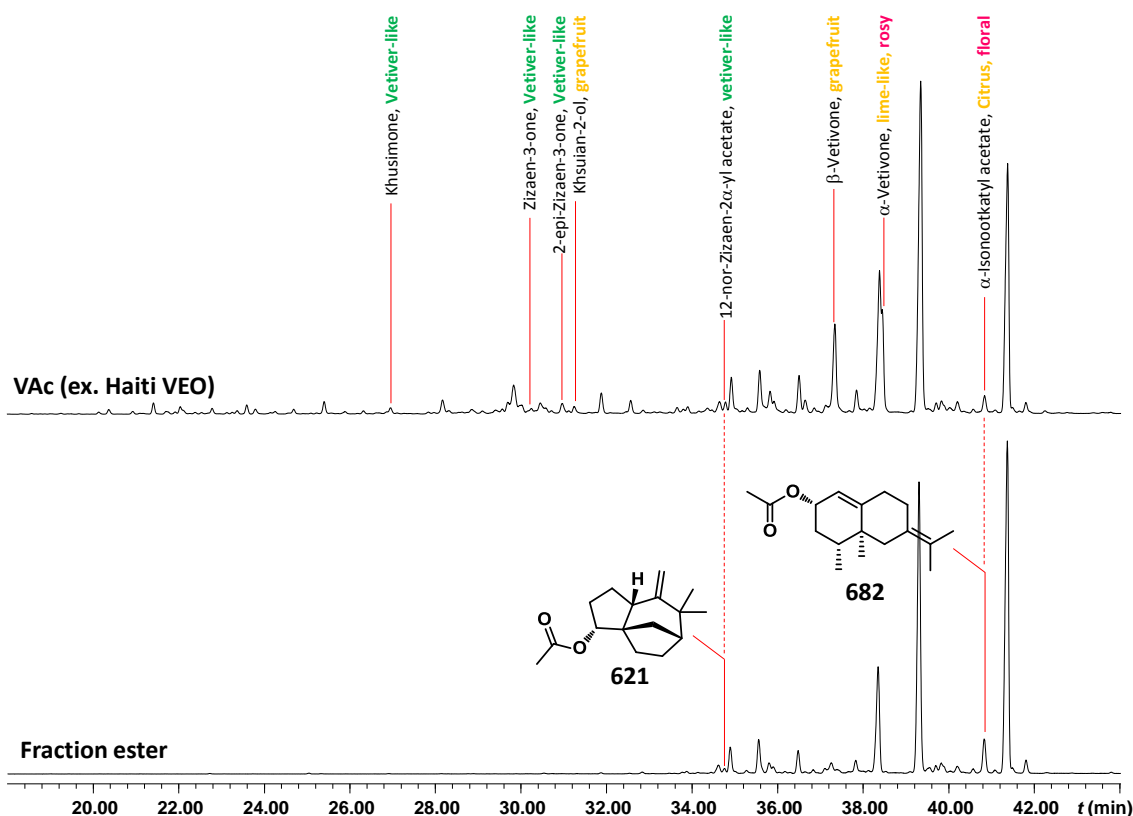


Figure 42. Analyses olfactives comparatives de l'acétate de vétivéryle (ex. HE vétiver Haïti) et de la fraction ester représentant les principaux composés odorants dans les deux chromatogrammes.

Dans le présent travail, il était bien sûr intéressant d'entrer dans les détails concernant les propriétés olfactives des esters. A cette fin, la fraction F2 contenant principalement des esters a été étudiée par GC–Olfactométrie (Figure 42). Ainsi, parmi tous les esters isolés, seuls **621** (0,12–0,37 %) et l'acétate d' $\alpha$ -isonootkatyle (**682**; 0,00–7,85 %) se sont révélés dégager des odeurs significatives, tandis que l'acétate de (*E*)-isovalencényle (**684**) fourni une note plutôt faible de bois de santal.

Il est donc possible de rationaliser que la fabrication de l'acétate de vétivéryle est en réalité capable de moduler l'odeur initiale de l'essence de vétiver en supprimant les notes apportées par les principaux alcools odorants, à savoir le ziza-6(13)-én-3 $\alpha$ -ol (**567**, vétiver), le khusian-2-ol (**570**, pamplemousse), l' $\alpha$ -isonootkatol (**583**, rosé-agrume), le  $\beta$ -vétivol (**581**, rosé) et l'(*E*)-isovalencénol (**447**, bois de santal). En outre, l'acétylation et les traitements ultérieurs (lavage alcalin, distillation) sont susceptibles de réduire l'impact des molécules odorantes indésirables telles que les dérivés phénoliques (note épicée/fumée) et la géosmine (terreuse-humide). En conséquence, les principales cétones d'impact telles que la 13-nor-spirovétiva-1(10),6-dién-11-one (**407**), la khusimone (**413**), les deux ziza-6(13)-én-3-ones (**425** et **435**) et les deux vétivones (**450** et **452**) peuvent développer leurs propres caractères olfactifs (Chapitre Va.3), généralement décrits par les parfumeurs comme une « note de vétiver propre » lorsqu'elles sont prises ensemble.

## Vb.7. Conclusion

L'ensemble du dispositif expérimental décrit ici nous a permis de fournir la première caractérisation approfondie de plusieurs échantillons d'acétate de vétivéryle. La GC  $\times$  GC apparaît de nouveau comme l'outil central pour étudier efficacement ces échantillons extrêmement complexes. Elle permet ainsi une identification sans précédent et une quantification efficace des différents constituants. Au total, vingt-trois esters ont été soit isolés, soit synthétisés à partir d'alcools références. Vingt constituants supplémentaires ont été identifiés par acétylation d'alcools présents dans les fractions d'huile essentielle de vétiver ainsi que d'autres huiles essentielles. Leur présence dans l'acétate de vétivéryle a pu être vérifiée par spectrométrie de masse. Enfin, cet ensemble de données nouvellement généré nous a permis d'évaluer l'impact du procédé de fabrication sur la composition chimique globale. Les échantillons fabriqués conformément aux recommandations de l'IFRA peuvent désormais

être facilement identifiés par un simple profilage chromatographique 2D. Il est important de noter que compte tenu de son évaluation finale en tant qu'ingrédient de parfum non-toxique, l'acétylation modifie en effet la composition chimique initiale de l'essence de vétiver mais n'apporte aucun composé spécifique autre que les acétates.



## Partie expérimentale : Partie Vb

Séparation et identification des constituants de l'acétate de vétivéryle (échantillon commercial)

L'acétate de vétiver ex Haïti (Charabot; 16,151 g) a d'abord été chromatographié sur gel de silice (300 g; 40–60  $\mu\text{m}$ ) en utilisant des solvants de polarité croissante, comme suit : F1, hydrocarbures, 0,51 g (E.P., 100 %), F2, esters, 10,83 g (E.P.:Et<sub>2</sub>O, 95:5), F3, aldéhydes et cétones, 0,51 g (E.P.:Et<sub>2</sub>O, 90:10), F4, alcools tertiaires et vétivones, 2,24 g (E.P.:Et<sub>2</sub>O, 80:20), F5, alcools tertiaires et cétones, 1,15 g (E.P.:Et<sub>2</sub>O, 40:60). La fraction F2 a ensuite été chromatographiée sur gel de silice imprégné de AgNO<sub>3</sub> (5 %, *m/m*) avec des solvants de polarité croissante de 100 % E.P. à 20 % d'Et<sub>2</sub>O dans de l'E.P.. Lorsque les fractions étaient suffisamment enrichies en un ester particulier ou lorsqu'elles présentaient une composition potentiellement intéressante, les sous-fractions ont été analysées par GC–MS pour référence, puis évaporées et finalement soumises à une saponification à l'aide de KOH 1M dans EtOH (0,04 mL/mg de substance, ~ 10 équiv.). Après 1 heure de réaction, 1 mL d'une solution saturée de NaHCO<sub>3</sub> est ajouté au mélange et le milieu est extrait avec 3  $\times$  1 mL de Et<sub>2</sub>O. La phase organique est séparée puis séchée sur MgSO<sub>4</sub> et enfin évaporée. Les alcools sesquiterpéniques résultants sont finalement identifiés par GC–MS sur la base de leur spectre de masse et de leur indice de rétention (RI) et par déduction de leurs esters correspondants.

Synthèse des acétates de vétivéryle « laboratoire »

Les acétates de vétivéryle ont été préparés à partir d'un même échantillon d'huile essentielle de vétiver Haïti en utilisant différentes méthodes afin d'étudier l'impact sur la composition finale. Les protocoles sélectionnés ont été inspirés par les trois méthodes indiquées dans le 44<sup>ème</sup> amendement de la norme IFRA relative à la fabrication d'acétate de vétivéryle (méthodes A, B et C)<sup>30</sup> ou rapidement développées dans notre laboratoire (méthode D).

Méthode A « sans catalyseur, à une température ne dépassant pas 120 °C » :

Dans un ballon bicol de 50 mL à fond rond placé sous atmosphère d'azote, l'huile essentielle de vétiver (5 g; représentant environ 3 g d'alcools ~ 15 mmol) est dissoute dans 15 mL de CHCl<sub>3</sub>. De l'anhydride acétique (Ac<sub>2</sub>O; 4,6 g; 45 mmol) est ensuite ajouté goutte à goutte au milieu. Le mélange réactionnel est agité pendant une nuit à reflux (62 °C). Le solvant est évaporé sous vide, puis le résidu est dilué dans 50 mL d'Et<sub>2</sub>O, lavé avec 2  $\times$  25 mL de

solution saturée de NaHCO<sub>3</sub>, 30 mL de saumure, puis séché sur MgSO<sub>4</sub> et finalement évaporé sous vide pour donner une huile orange-rougeâtre (~ 5 g).

Méthode B « avec H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> comme catalyseur à température ambiante » :

Dans un ballon bicol à fond rond de 25 mL, l'huile essentielle de vétiver (5 g; ~ 15 mmol d'alcools) est dissoute dans 5 mL de CHCl<sub>3</sub>. On ajoute ensuite goutte à goutte de l'Ac<sub>2</sub>O (3,06 g, 30 mmol) puis l'H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (90 µl; ~ 1,5 mmol) au mélange. Au bout de quelques minutes, le milieu devient noir et on laisse évoluer la réaction pendant une nuit à température ambiante. Le solvant est ensuite évaporé sous vide et le mélange est dilué avec 50 mL d'Et<sub>2</sub>O, lavé successivement avec 2 × 25 mL de solution saturée en NaHCO<sub>3</sub> et 25 mL de saumure, enfin séché sur MgSO<sub>4</sub>. Le résidu est évaporé pour donner l'acétate de vétivéryle sous forme d'une huile rougeâtre (~ 5 g).

Méthode C « avec AcONa comme catalyseur dans le toluène au reflux » :

Dans un ballon bicol à fond rond de 100 mL, l'huile essentielle de vétiver (5 g; ~ 15 mmol d'alcools) est dissoute dans 30 mL de toluène. L'acétate de sodium, préalablement séché au four (2,46 g, 30 mmol) est mis en suspension dans le mélange, puis de l'Ac<sub>2</sub>O (3,06 g, 30 mmol) est finalement ajouté goutte à goutte. On laisse la réaction évoluer au reflux (110 °C) et on contrôle l'évolution de la réaction par GC. Après conversion totale des alcools, le solvant est évaporé sous vide, le mélange brut est dilué avec 50 mL d'Et<sub>2</sub>O, lavé successivement avec 2 × 25 mL de solution saturée en NaHCO<sub>3</sub> et 25 mL de saumure. Le mélange est finalement séché sur MgSO<sub>4</sub> et évaporé pour donner de l'acétate de vétivéryle sous forme d'une huile brunâtre-rougeâtre (~ 5,7 g). Le produit brut est ensuite distillé à 110–120 °C dans un Kugelrohr placé sous vide ( $P = 1,2 \times 10^{-2}$  mbar) pour donner 3,7 g d'acétate de vétivéryle sans hydrocarbures sesquiterpéniques.

Méthode D (Ac<sub>2</sub>O/TEA/DMAP) :

Dans un ballon bicol à fond rond de 50 mL, la DMAP (366 mg; 3 mmol) est mise en suspension dans 10 mL de *n*-hexane, puis mélangée avec de l'Ac<sub>2</sub>O (3,06 g; 30 mmol). En parallèle, on mélange l'huile essentielle de vétiver (5 g; environ 15 mmol d'alcools) et la TEA (3,03 g; 30 mmol) dans 10 mL de *n*-hexane. On ajoute cette solution goutte à goutte au premier milieu. Le mélange est agité pendant une nuit et chauffé au reflux (68 °C). Le même traitement que celui décrit ci-dessus est appliqué pour récupérer l'acétate de vétivéryle (~ 5 g).

Synthèse des références

Plusieurs esters ont été synthétisés au cours de cette étude afin de servir de références analytiques dans les analyses GC–MS et GC × GC–MS. Les esters synthétisés ont été caractérisés par RMN 1D et 2D.

Acétate d'isokhusimyle **661** :

Un mélange d'acide isozizanoïque et zizanoïque est extrait à partir d'une essence de vétiver Java par extraction liquide-liquide en conditions alcalines (NaOH 1M)<sup>16</sup> (ce mélange a également servi de produit de départ pour la préparation des acétates représentés en Figure 38). Les deux acides sont grossièrement purifiés de l'extrait par précipitation sous forme de sels de cyclohexylammonium.<sup>44</sup> L'acide isozizanoïque et l'acide zizanoïque sont obtenus sous forme d'un mélange 40:60, tandis que d'autres acides, des phénols mineurs et des composants résiduels de l'huile essentielle sont restés dans les phases organiques. Une fois séparé et récupéré sous forme acide, 1 g du mélange est dissous sous agitation dans de l'acide formique (98 %; 80 mL) et chauffé entre 40–50 °C. La réaction a été contrôlée par GC. A la fin de la réaction (~ 1 jour), le mélange est extrait avec 3 × 50 mL de Et<sub>2</sub>O, les phases organiques sont combinées, séchées sur MgSO<sub>4</sub> et évaporées pour donner environ 1,0 g d'un mélange contenant > 90 % d'acide isozizanoïque. L'acide brut est ensuite réduit en alcool correspondant en utilisant du LiAlH<sub>4</sub> (290 mg) dans 20 mL d'Et<sub>2</sub>O anhydre pour donner l'isokhusimol brut (890 mg) avec une pureté d'environ 90 %. L'isokhusimol (**576**) est isolé par chromatographie sur colonne (gel de silice imprégné au AgNO<sub>3</sub>; 5 % *m/m*). Finalement, l'alcool est acétylé avec un mélange Ac<sub>2</sub>O/TEA pour donner l'acétate d'isokhusimyle **661**.

Acétate de spirovétiva-1(10),7(11)-dién-2 $\alpha$ -yle (**675**) et acétate de  $\alpha$ -isonootkatyle (**682**) :

Un mélange de 238 mg d' $\alpha$ - et  $\beta$ -vétivone (précédemment isolé de l'essence de vétiver) est réduit par du LiAlH<sub>4</sub> (120 mg) dans 5 mL Et<sub>2</sub>O, pour fournir un mélange contenant de l' $\alpha$ -isonootkatol (**583**) et du spirovétiva-1(10),7(11)-dién-2 $\alpha$ -ol (**581**) comme composés majeurs, avec un rendement presque quantitatif (229 mg). Le mélange d'alcools est acétylé en utilisant un mélange Ac<sub>2</sub>O/TEA et les esters sont finalement séparés par chromatographie sur colonne (gel de silice imprégné au AgNO<sub>3</sub>; 5 % *m/m*) en quantités suffisantes pour être caractérisés par RMN. Le mélange d'esters contient également des constituants mineurs tels que leurs épimères- $\beta$ , l'acétate de  $\beta$ -isonootkatyle (**668**), l'acétate de spirovétiva-1(10),7(11)-dién-2 $\beta$ -

yle (**673**), mais également l'acétate d' $\alpha$ -nootkatyle (**671**) (en raison d'une faible quantité de nootkatone (**387**) dans le mélange initial.)

Acétate d' $\alpha$ -nootkatyle (**671**) et acétate de valencén-12-yle (**670**) :

La nootkatone commerciale (218 mg; 1 mmol) est réduite avec du  $\text{LiAlH}_4$  (120 mg) dans 5 mL d' $\text{Et}_2\text{O}$  pour fournir presque quantitativement de l' $\alpha$ -nootkatol (**377**) (avec 5 % de  $\beta$ -nootkatol (**375**)). L' $\alpha$ -nootkatol (**377**) (210 mg; ~1 mmol) est finalement acétylé en utilisant la méthode D et purifié par chromatographie sur colonne pour donner 233 mg d'acétate d' $\alpha$ -nootkatyle (**671**). L'acétate de valencén-12-yle (**670**) est obtenu par acétylation du valencén-12-ol (**382**) préalablement isolé de l'essence de bois de *Callitropsis nootkatensis* (Chapitre IV).

Enols acétates d' $\alpha$ - (**687**) et  $\beta$ -vétivone (**662**) :

L'acétylation de 104 mg d'une fraction contenant les deux vétivones (**450** et **452**) est effectué avec un excès d' $\text{Ac}_2\text{O}$  en présence d'une quantité catalytique d' $\text{H}_3\text{PO}_4$  (adapté de la méthode B). Plusieurs esters avec un poids moléculaire de 260 g/mol ont été détectés dans le mélange final après traitement mais n'ont pas pu être isolés avec une pureté suffisante pour être caractérisés par RMN. **662** et **687** ont donc été classés comme inconnus.

Synthèse des acétates d'alcool tertiaire (DMAP nécessaire) :

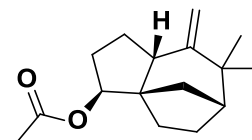
A des fins d'identification, l'acétylation des huiles essentielles riches en alcools tertiaires a constitué un bon moyen d'obtenir des esters de référence. Ainsi, l'acétylation de l'huile essentielle de bois *Callitris pancheri* (Chapitre II) a permis l'identification par spectrométrie en masse de l'acétate de  $\beta$ -élémyle (**610**), de l'acétate de  $\gamma$ -eudesmyle (**639**), de l'acétate d' $\alpha$ -eudesmyle (**646**), de l'acétate de  $\beta$ -eudesmyle (**647**) et de l'acétate de  $\beta$ -costyle (**674**) dans l'acétate de vétivéryle. De même, l'acétylation de l'essence de bois de Gaïac (Chapitre I) a permis de réfuter la présence des acétates de guaiyle et de bulnesyle. L'acétate de *cis*-eudesm-6-én-11-yle (**611**), l'acétate d'eudesm-6-én-4 $\alpha$ -yle (**618**) et l'acétate de valérianyle (**638**) ont été synthétisés à partir de leurs alcools (eux-mêmes isolés de l'huile essentielle de vétiver – Chapitre Va) en utilisant la méthode D. Malheureusement, ni **611** ni **618** n'ont pu être isolés en raison de quantités insuffisantes, ou en raison d'une instabilité thermique spécifique dans le cas de **611**.

Descriptions des différents esters isolés :Composé : Acétate de 12-nor-ziza-6(13)-én-2β-yle (**615**)Indice de rétention : VF-1ms/Wax : 1628/2166Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 248  $[M]^{++}$  (0), 206 (3), 189 (16), 188 (100), 173 (83), 159 (18), 145 (93), 133 (31), 132 (30), 131 (28), 119 (35), 117 (39), 105 (22), 91 (35), 79 (16), 67 (11), 55 (9), 43 (29)

$^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4,99–4,95 (1H, m, H-2), 4,78 (1H, dd,  $J = 1,9, 1,5$  Hz, H-13a), 4,62 (1H, dd,  $J = 1,9, 1,4$  Hz, H-13b), 2,78–2,71 (1H, m, H-5), 2,11–2,02 (4H, m, H-3a, H-17), 1,93 (1H, dt,  $J = 11,1, 2,1$  Hz, H-11a), 1,82–1,74 (2H, m, H-4a, H-8), 1,70–1,40 (5H, m, H-3b, H-4b, H-9ab, H-11b), 1,28–1,18 (1H, m, H-10a), 1,11 (3H, s, H-15), 1,09–1,03 (4H, m, H-14, H10b)

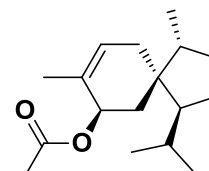
$^{13}\text{C}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) voir Tableau 32

Composé : Acétate d'acor-4-én-3β-yle (**617**)Indice de rétention : VF-1ms/Wax : 1650/2094Données spectroscopiques :

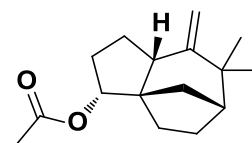
EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 264  $[M]^{+}$  (1), 222 (6), 204 (29), 189 (5), 161 (45), 147 (5), 136 (6), 133 (6), 123 (12), 119 (100), 109 (8), 105 (59), 91 (18), 84 (28), 69 (10), 55 (12), 43 (20).

$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  5,67 (1H, t,  $J = 6,1$  Hz, H-3), 5,44 (1H, tt,  $J = 4,0, 1,4$  Hz, H-5), 2,10 (1H, h,  $J = 7,3$  Hz, H-10), 1,94–1,86 (1H, m, H-11), 1,91 (1H, ddd,  $J = 13,9, 6,1, 1,1$  Hz, H-2a), 1,83 (1H, m, H-6a), 1,77–1,70 (2H, m, H-9a, H-2b), 1,74 (3H, s, H-17), 1,69 (3H, m, H-15), 1,64–1,53 (2H, m, H-6b, H-8a), 1,36–1,30 (1H, m, H-8b), 1,16–1,10 (1H, m, H-9b), 0,85 (3H, d,  $J = 6,7$  Hz, H-13), 0,83 (3H, d,  $J = 6,8$  Hz, H-14), 0,81 (3H, d,  $J = 6,8$  Hz, H-12)

$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 32

Composé : Acétate de 12-nor-ziza-6(13)-én-2α-yle (**621**)Indice de rétention : VF-1ms/Wax : 1648/2199Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 248  $[M]^{++}$  (0), 206 (36), 188 (49), 173 (53), 159 (12), 145 (88), 135 (29), 131 (25), 119 (100), 118 (80), 117 (60), 105 (29), 91 (46), 79 (21), 77 (17), 67 (15), 55 (12), 43 (41)



$^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5,08 (1H, dd,  $J = 9,2, 8,2$  Hz, H-2), 4,80 (1H, dd,  $J = 2,2, 1,2$  Hz, H-13a), 4,58 (1H, t,  $J = 1,6$  Hz, H-13b), 2,48–2,39 (1H, m, H-5), 2,21 (1H, dtd,  $J = 13,4, 9,3, 6,2$  Hz, H-3a), 2,05 (3H, s, H-17), 1,79–1,74 (1H, m, H-11a), 1,74–1,63 (3H, m, H-4ab, H-8), 1,53 (1H, dd,  $J = 11,3, 4,6$  Hz, H-11b), 1,47–1,40 (3H, m, H-9ab, H-3b, H-10a), 1,07 (6H, s, H-14, H-15), 1,10–1,04 (1H, m, H-10b)

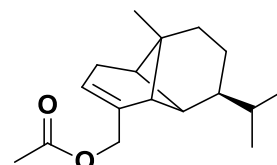
$^{13}\text{C}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) voir Tableau 32

Composé : Acétate d'ylangén-15-yle (**628**)

Indice de rétention : VF-1ms/Wax : 1668/2158

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 262  $[\text{M}]^{+}$  (1), 220 (2), 202 (21), 187 (10), 177 (20), 159 (100), 145 (11), 131 (22), 118 (32), 117 (27), 105 (25), 93 (20), 91 (28), 79 (10), 69 (6), 55 (7), 43 (24)



$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  5,59 (1H, tp,  $J = 2,7, 1,3$  Hz, H-3), 4,59 (2H, qq,  $J = 11,2, 1,6$  Hz, H-15), 2,26 (2H, dt,  $J = 5,4, 1,9$  Hz, H-2), 2,10–2,05 (1H, m, H-1), 1,87 (1H, d,  $J = 1,1$  Hz, H-6), 1,84 (1H, d,  $J = 1,1$  Hz, H-5), 1,82 (3H, s, H-17), 1,77 (1H, dd,  $J = 8,2, 1,9$  Hz, H-9a), 1,74–1,65 (2H, m, H-9b, H-7), 1,62–1,59 (1H, m, H-8a), 1,57–1,49 (2H, m, H-11, H-8b), 0,95 (3H, s, H-14), 0,94 (3H, d,  $J = 6,7$  Hz, H-12), 0,93 (3H, d,  $J = 6,7$  Hz, H-13)

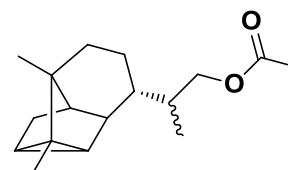
$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 32

Composé : Acétate de cyclocopacamphanyle A (**630**)

Indice de rétention : VF-1ms/Wax : 1672/2169

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 262  $[\text{M}]^{+}$  (50), 247 (5), 202 (45), 187 (65), 173 (21), 161 (100), 160 (37), 159 (52), 145 (69), 134 (32), 133 (43), 131 (51), 120 (50), 119 (87), 107 (37), 105 (82), 94 (60), 91 (62), 79 (29), 67 (14), 55 (19), 43 (56)



$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  4,21 (1H, dd,  $J = 10,9, 3,9$  Hz, H-12a), 3,87 (1H, dd,  $J = 10,9, 7,0$  Hz, H-12b), 1,77–1,65 (3H, m, H-8a, H-6, H-11), 1,70 (3H, s, H-17), 1,63 (1H, dd,  $J = 10,6, 1,4$  Hz, H-2a), 1,42–1,36 (1H, m, H-7), 1,37–1,30 (1H, m, H-8b), 1,27 (1H, d,  $J = 1,6$  Hz, H-1), 1,21 (2H, dd,  $J = 11,0, 3,8$  Hz, H-9ab), 1,02 (1H, d,  $J = 10,6$  Hz, H-2b), 0,98 (3H, s, H-15), 0,94 (3H, d,  $J = 6,6$  Hz, H-13), 0,85 (1H, dq,  $J = 5,4, 1,4$  Hz, H-3), 0,76 (3H, s, H-14), 0,62 (1H, dt,  $J = 5,3, 1,4$  Hz, H-5)

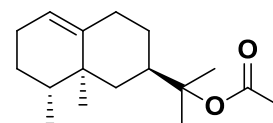
$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 32

Composé : Acétate de valérianyle (**638**)

Indice de rétention : VF-1ms/Wax : 1689/2149

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 264  $[M]^{+}$  (0), 204 (34), 189 (15), 175 (3), 161 (100), 147 (12), 135 (25), 119 (16), 107 (15), 105 (19), 93 (14), 91 (16), 79 (11), 77 (7), 67 (5), 55 (6), 43 (16)



$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  5,38–5,32 (1H, m, H-1), 2,33 (1H, tt,  $J = 12,6, 3,0$  Hz, H-7), 2,29–2,19 (1H, m, H-9a), 2,07 (1H, ddd,  $J = 14,0, 4,3, 2,7$  Hz, H-9b), 2,05–1,96 (1H, m, H-2a), 1,95–1,88 (1H, m, H-2b), 1,87 (1H, dt,  $J = 12,5, 2,7$  Hz, H-6a), 1,70 (3H, s, H-17), 1,68–1,65 (1H, m, H-8a), 1,45–1,41 (2H, m, H-3a, H-4), 1,39 (3H, s, H-12), 1,37 (3H, s, H-13), 1,37–1,29 (1H, m, H-3b), 1,08–0,96 (1H, qd,  $J = 12,3, 4,2$  Hz, H-8b), 0,93 (3H, s, H-14), 0,91–0,85 (1H, m, H-6b), 0,86 (3H, d,  $J = 6,2$  Hz, H-15)

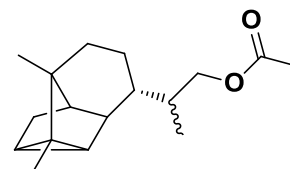
$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 32

Composé : Acétate de cyclocopacamphanyl B (**640**)

Indice de rétention : VF-1ms/Wax : 1686/2192

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 262  $[M]^{+}$  (50), 202 (33), 187 (45), 173 (16), 161 (100), 160 (40), 159 (41), 145 (57), 133 (37), 131 (41), 120 (48), 119 (78), 107 (34), 105 (73), 94 (55), 91 (53), 79 (25), 67 (12), 55 (16), 43 (47)



$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  4,19 (1H, dd,  $J = 10,9, 3,5$  Hz, H-12a), 3,89 (1H, dd,  $J = 10,9, 6,9$  Hz, H-12b), 1,72 (3H, s, H-17), 1,72–1,61 (4H, m, H-6, H-2a, H-11, H-8a), 1,37–1,33 (2H, m, H-8b, H-7), 1,29–1,18 (2H, m, H-9ab), 1,15 (1H, d,  $J = 1,6$  Hz, H-1), 1,03 (1H, d,  $J = 10,6$  Hz, H-2b), 0,98 (3H, s, H-15), 0,90 (3H, d,  $J = 6,8$  Hz, H-13), 0,87 (1H, dd,  $J = 5,4, 1,4$  Hz, H-3), 0,76 (3H, s, H-14), 0,61 (1H, dt,  $J = 5,3, 1,4$  Hz, H-5)

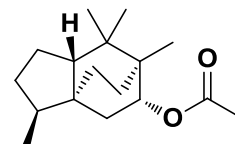
$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 32

Composé : Acétate de khusian-2-yle (**643**)

Indice de rétention : VF-1ms/Wax : 1691/2172

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 264  $[M]^{+}$  (0), 222 (22), 204 (98), 189 (20), 177 (16), 176 (14), 161 (66), 147 (16), 133 (20), 121 (28), 119 (100), 107 (23), 105 (27), 93 (22), 81 (16), 69 (16), 55 (19), 43 (38)



$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  5,30 (1H, ddd,  $J = 9,7, 5,6, 2,5$  Hz, H-2), 2,16 (1H, ddd,  $J = 12,9, 9,7, 3,1$  Hz, H-1a), 1,91–1,80 (1H, m, H-8a), 1,76 (3H, s, H-17), 1,77–1,68 (1H, m, H-4a), 1,41–1,30 (3H, m, H-5a, H-7, H-9a), 1,29–1,20 (2H, m, H-4b, H-9b), 1,15 (2H, dd,  $J = 12,7, 5,6$  Hz, H-10, H-1b), 1,06 (1H, ddt,  $J = 12,6, 10,7, 1,7$  Hz, H-5b), 0,92–0,85 (1H, m, H-8b), 0,85 (3H, s, H-12), 0,78 (3H, s, H-13), 0,76 (3H, s, H-15), 0,74 (3H, d,  $J = 7,2$  Hz, H-14)

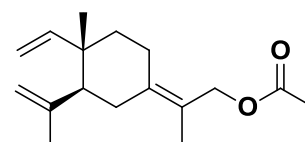
$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 32

Composé : Acétate d'(*E*)-éléma-1,3,7(11)-trién-12-yle (**645**)

Indice de rétention : VF-1ms/Wax : 1699/2244

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 262  $M^{+}$  (0), 202 (12), 187 (24), 159 (26), 147 (16), 145 (22), 134 (49), 133 (28), 131 (24), 121 (24), 120 (20), 119 (100), 108 (17), 107 (19), 106 (18), 105 (48), 93 (79), 91 (48), 79 (22), 77 (25), 67 (11), 55 (16), 43 (30)



$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  5,70 (1H, dd,  $J = 17,5, 10,8$  Hz, H-1), 4,92 (1H, dd,  $J = 11,9, 1,3$  Hz, H-2a), 4,92–4,86 (2H, m, H-3a, H-2b), 4,70 (1H, d,  $J = 11,7$  Hz, H-12a), 4,69–4,64 (1H, m, H-3b), 4,63 (1H, dd,  $J = 11,7, 0,9$  Hz, H-2b), 2,53 (1H, dtd,  $J = 14,2, 4,1, 2,0$  Hz, H-8a), 2,39 (1H, dt,  $J = 11,9, 1,6$  Hz, H-6a), 2,02–1,90 (2H, m, H-6b, H-5), 1,91–1,83 (1H, m, H-8b), 1,72 (3H, s, H-17), 1,68 (3H, dd,  $J = 1,4, 0,8$  Hz, H-13), 1,66 (3H, dd,  $J = 1,4, 0,7$  Hz, H-15), 1,41–1,38 (2H, m, H-9), 0,99 (3H, s, H-14)

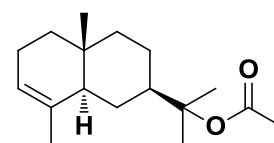
$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 32

Composé : Acétate d' $\alpha$ -eudesmyle (**646**)

Indice de rétention : VF-1ms/Wax : 1703/2153

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 264  $[M]^{+}$  (2), 204 (76), 189 (93), 175 (20), 161 (100), 149 (26), 147 (17), 133 (29), 122 (26), 107 (37), 105 (27), 93 (31), 91 (29), 81 (24), 79 (20), 67 (13), 55 (14), 43 (37)



$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  5,40–5,34 (1H, m, H-3), 2,18–2,05 (1H, m, H-2a), 2,03–1,91 (2H, m, H-7, H-2b), 1,84–1,76 (2H, m, H-5, H-6b), 1,71 (3H, s, H-17), 1,64 (3H, dq,  $J = 3,0$ ,



1,5 Hz, H-15), 1,52–1,46 (1H, m, H-8a), 1,45 (3H, s, H-12), 1,44 (3H, s, H-13), 1,43–1,40 (1H, m, H-8b), 1,38–1,35 (1H, m, H-9a), 1,33–1,29 (2H, m, H-1ab), 1,07 (1H, dd,  $J = 8,5, 5,0$  Hz, H-9b), 1,03 (1H, d,  $J = 12,1$  Hz, H-6b), 0,82 (3H, s, H-14)

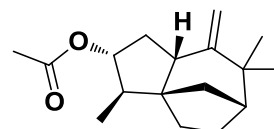
$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 32

Composé : Acétate de ziza-6(13)-én-3 $\alpha$ -yle (**651**)

Indice de rétention : VF-1ms/Wax : 1705/2253

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 262  $[\text{M}]^{+}$  (0), 202 (61), 187 (31), 174 (5), 173 (5), 159 (42), 145 (17), 133 (71), 132 (77), 131 (100), 130 (20), 119 (17), 108 (18), 105 (24), 93 (26), 91 (29), 79 (16), 77 (15), 67 (9), 55 (11), 43 (37)



$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  4,84 (1H, ddd,  $J = 7,7, 6,3, 2,2$  Hz, H-3), 4,80 (1H, dd,  $J = 2,1, 1,2$  Hz, H-13a), 4,62 (1H, t,  $J = 1,8$  Hz, H-13b), 2,44–2,35 (1H, m, H-5), 2,13 (1H, ddd,  $J = 13,8, 7,6, 6,5$  Hz, H-4a), 1,82 (1H, qd,  $J = 7,6, 2,3$  Hz, H-2), 1,76–1,71 (1H, m, H-4b), 1,70 (3H, s, H-17), 1,70–1,61 (2H, m, H-11a, H-10a), 1,63–1,57 (1H, m, H-8), 1,47–1,39 (2H, m, H-9ab), 1,13 (1H, dd,  $J = 11,3, 4,7$  Hz, H-11b), 1,02 (3H, s, H-14), 1,00 (3H, s, H-15), 0,98 (3H, d,  $J = 7,5$  Hz, H-12), 0,86–0,82 (1H, m, H-10b)

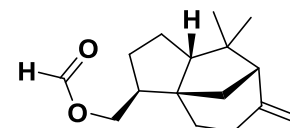
$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 32

Composé : Acétate de  $\beta$ -funébrén-14-yle (**655**)

Indice de rétention : VF-1ms/Wax : 1722/2278

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 262  $[\text{M}]^{+}$  (1), 202 (56), 187 (24), 174 (32), 159 (100), 146 (19), 145 (23), 133 (36), 131 (33), 119 (49), 117 (29), 111 (19), 106 (38), 105 (42), 104 (40), 93 (37), 91 (66), 79 (26), 77 (23), 69 (36), 55 (17), 43 (49)



$^1\text{H}$  (400 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  4,71 (1H, q,  $J = 2,0$  Hz, H-15a), 4,65 (1H, q,  $J = 2,0$  Hz, H-15b), 3,99 (1H, dd,  $J = 11,0, 9,4$  Hz, H-14a), 3,78 (1H, dd,  $J = 11,1, 6,4$  Hz, H-14b), 2,57 (1H, d,  $J = 5,2$  Hz, H-2), 2,24–2,17 (2H, m, H-4ab), 2,01 (1H, dtd,  $J = 13,7, 9,1, 1,5$  Hz, H-8a), 1,71 (3H, s, H-17), 1,65–1,49 (4H, m, H-10, H-1a, H-5a, H-7), 1,37 (1H, d,  $J = 11,1$  Hz, H-1b), 1,27 (1H, ddd,  $J = 13,7, 8,2, 2,8$  Hz, H-8b), 1,22–1,05 (3H, m, H-5b, H-9ab), 1,00 (3H, d,  $J = 0,4$  Hz, H-13), 0,91 (3H, s, H-12)

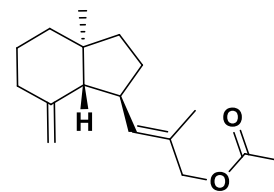
$^{13}\text{C}$  (101 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 32

Composé : Acétate d'opposita-4(15),7(11)-dién-12-yle (**656**)

Indice de rétention : VF-1ms/Wax : 1725/2277

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 262 [M]<sup>++</sup> (0), 247 (1), 220 (19), 202 (16), 187 (100), 173 (6), 159 (19), 133 (31), 119 (11), 107 (18), 93 (23), 91 (24), 80 (20), 79 (29), 67 (9), 55 (9), 43 (31)



<sup>1</sup>H (500 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ 5,35 (1H, dq,  $J = 9,3, 1,3$  Hz, H-7), 4,85 (1H, q,  $J = 1,9$  Hz, H-15a), 4,58 (1H, q,  $J = 1,9$  Hz, H-15b), 4,54–4,44 (2H, m, H-12), 2,88–2,77 (1H, m, H-6), 2,26–2,17 (1H, m, H-3a), 2,03–1,90 (1H, m, H-8a), 1,89–1,79 (1H, m, H-3b), 1,66 (3H, s, H-17), 1,65 (3H, d,  $J = 1,4$  Hz, H-13), 1,65–1,57 (2H, m, H-5, H-1a), 1,55–1,46 (1H, m, H-2), 1,48–1,40 (1H, m, H-9a), 1,32 (1H, ddd,  $J = 11,1, 6,7, 1,9$  Hz, H-8b), 1,31–1,23 (1H, m, H-9b), 1,16 (1H, td,  $J = 12,3, 5,7$  Hz, H-1b), 0,70 (3H, s, H-14)

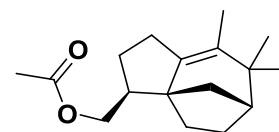
<sup>13</sup>C (126 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) voir Tableau 32

Composé : Acétate d'isokhusimyle (**661**)

Indice de rétention : VF-1ms/Wax : 1743/2265

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 262 [M]<sup>++</sup> (9), 202 (46), 187 (25), 173 (6), 159 (100), 145 (15), 133 (14), 131 (14), 119 (7), 105 (9), 91 (10), 79 (4), 67 (2), 43 (11)



<sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 4,01 (1H, dd,  $J = 10,8, 6,2$  Hz, H-12a), 3,83 (1H, dd,  $J = 10,9, 9,1$  Hz, H-12b), 2,19 (2H, ddq,  $J = 8,5, 5,7, 1,4$  Hz, H-4), 2,17–2,11 (1H, m, H-2), 2,04 (3H, s, H-17), 1,89 (1H, dd,  $J = 7,3, 5,3$  Hz, H-8), 1,82–1,72 (2H, m, H-3a, H-9a), 1,72–1,66 (1H, m, H-10a), 1,66–1,55 (3H, m, H-11, H3b, H-9b), 1,43 (3H, t,  $J = 1,3$  Hz, H-13), 1,42–1,36 (2H, m, H-11b, H-10b), 0,98 (3H, s, H-14), 0,96 (3H, s, H-15)

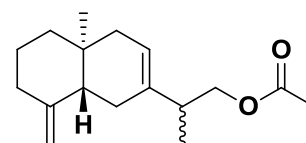
<sup>13</sup>C (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) voir Tableau 32

Composé : Acétate de vétisélinényle (**664**)

Indice de rétention : VF-1ms/Wax : 1746/2305

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 262 [M]<sup>++</sup> (0), 202 (100), 187 (57), 173 (22), 159 (23), 145 (27), 133 (21), 131 (25), 121 (15), 119 (15), 105 (26), 91 (25), 79 (17), 67 (8), 43 (28)



$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  5,30 (1H, dtd,  $J = 5,3, 2,2, 1,1$  Hz, H-8), 4,87 (1H, q,  $J = 1,7$  Hz, H-15a), 4,65 (1H, q,  $J = 1,8$  Hz, H-15b), 4,08 (1H, dd,  $J = 10,8, 7,3$  Hz, H-12a), 3,99 (1H, dd,  $J = 10,8, 7,0$  Hz, H-12b), 2,38 (1H, q,  $J = 7,1$  Hz, H-11), 2,31 (1H, ddd,  $J = 13,2, 4,2, 2,3$  Hz, H-3a), 1,99–1,86 (3H, m, H-6a, H-3b, H-5), 1,85–1,73 (2H, m, H-9ab), 1,71 (3H, s, H-17), 1,52–1,46 (2H, m, H-2ab), 1,41 (1H, dq,  $J = 13,1, 2,9$  Hz, H-1a), 1,13 (1H, td,  $J = 12,9, 5,0$  Hz, H-1b), 0,93 (3H, d,  $J = 7,0$  Hz, H-13), 0,76 (3H, s, H-14)

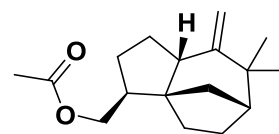
$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 32

Composé : Acétate de khusimyle (**601**)

Indice de rétention : VF-1ms/Wax : 1767/2352

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 262 [ $\text{M}$ ] $^{+}$  (0), 247 (3), 202 (100), 187 (86), 173 (17), 159 (89), 146 (23), 145 (30), 133 (38), 132 (41), 131



(65), 119 (23), 117 (23), 105 (27), 91 (47), 79 (21), 77 (15), 67 (13), 55 (11), 43 (35)

$^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4,73 (1H, t,  $J = 1,8$  Hz, H-13a), 4,58 (1H, t,  $J = 1,8$  Hz, H-13b), 4,10 (1H, dd,  $J = 10,8, 6,6$  Hz, H-12a), 3,91 (1H, dd,  $J = 10,8, 7,7$  Hz, H-12b), 2,45 (1H, ddq,  $J = 10,1, 6,1, 2,0$  Hz, H-5), 2,06–2,02 (1H, m, H-2), 2,05 (3H, s, H-17), 1,92–1,82 (2H, m, H-3a, H-11a), 1,78 (1H, t,  $J = 5,3$  Hz, H-8), 1,72–1,61 (1H, m, H-4a), 1,59–1,51 (1H, m, H-4b), 1,51–1,43 (3H, m, H-10a, H-11b, H-9a), 1,42–1,32 (2H, m, H-3b, H-9b), 1,06 (3H, s, H-14), 1,03 (3H, s, H-15), 1,01–0,93 (1H, m, H-10b)

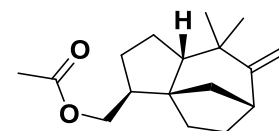
$^{13}\text{C}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) voir Tableau 32

Composé : Acétate de préziza-7(15)-én-12-yle (**669**)

Indice de rétention : VF-1ms/Wax : 1768/2357

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 262 [ $\text{M}$ ] $^{+}$  (0), 203 (13), 202 (73), 187 (55), 173 (22), 159 (58), 145 (42), 133 (41), 132 (65), 131 (100), 119



(33), 117 (27), 108 (34), 107 (24), 105 (34), 95 (20), 93 (30), 91 (48), 81 (16), 79 (26), 77 (18), 67 (16), 55 (12), 43 (42)

$^1\text{H}$  (400 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  4,79 (2H, dd,  $J = 19,7, 1,7$  Hz, H-15), 4,03 (1H, dd,  $J = 10,9, 7,0$  Hz, H-12a), 3,79 (1H, dd,  $J = 10,9, 7,8$  Hz, H-12b), 2,77 (1H, dd,  $J = 6,3, 4,8$  Hz, H-8), 1,97–1,89 (1H, m, H-2), 1,85–1,74 (2H, m, H-3a, H-10), 1,71 (3H, s, H-17), 1,68–1,61 (1H, m, H-9a), 1,59–1,49 (2H, m, H-9b, H-11), 1,45–1,32 (3H, m, H-5, H-4ab), 1,24–1,15 (2H, m, H-11b, H-3b), 1,08 (3H, s, H-13), 1,08–0,99 (1H, m, H-10b), 1,03 (3H, s, H-14)

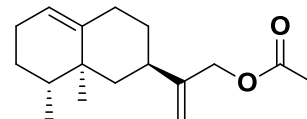
$^{13}\text{C}$  (101 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 32

Composé : Acétate de valencén-12-yle (**670**)

Indice de rétention : VF-1ms/Wax : 1781/2372

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 262  $[\text{M}]^{+}$  (8), 247 (6), 202 (56), 187 (89), 174 (19), 173 (18), 161 (100), 160 (42), 159 (45), 145 (74), 131 (57), 119 (47), 107 (38), 105 (61), 91 (63), 79 (45), 67 (17), 55 (18), 43 (42)



$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  5,34 (1H, dd,  $J = 5,0, 2,5$  Hz, H-1), 5,04 (1H, q,  $J = 1,4$  Hz, H-13a), 4,89 (1H, p,  $J = 1,1$  Hz, H-13b), 4,66–4,50 (2H, m, H-12ab), 2,30–2,15 (2H, m, H-7, H-9a), 2,02 (1H, ddd,  $J = 14,1, 4,1, 2,6$  Hz, H-9b), 2,00–1,97 (1H, m, H-2a), 1,95 (1H, dt,  $J = 12,7, 2,7$  Hz, H-6a), 1,91–1,85 (1H, m, H-2b), 1,75–1,71 (1H, m, H-8a), 1,71 (3H, s, H-17), 1,43–1,28 (3H, m, H-3ab, H-4), 1,18 (1H, dtd,  $J = 13,7, 12,3, 4,2$  Hz, H-8b), 0,99 (1H, t,  $J = 12,7$  Hz, H-6b), 0,88 (3H, d,  $J = 0,6$  Hz, H-14), 0,81 (3H, d,  $J = 6,3$  Hz, H-15)

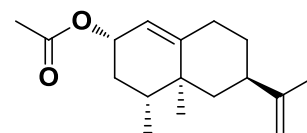
$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 32

Composé : Acétate d' $\alpha$ -nootkatyle (**671**)

Indice de rétention : VF-1ms/Wax : 1768/2377

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 262  $[\text{M}]^{+}$  (1), 220 (43), 202 (62), 187 (40), 177 (12), 161 (39), 159 (49), 145 (46), 131 (56), 119 (100), 105 (52), 91 (43), 79 (19), 77 (20), 67 (11), 55 (13), 43 (25)



$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  5,54 (1H, ddt,  $J = 10,2, 6,6, 2,2$  Hz, H-2), 5,42 (1H, q,  $J = 1,8$  Hz, H-1), 4,80–4,76 (2H, m, H-12), 2,16–2,04 (2H, m, H-9a, H-7), 1,95 (1H, ddd,  $J = 14,0, 4,1, 2,5$  Hz, H-9b), 1,80–1,77 (1H, m, H-6a), 1,76 (3H, s, H-17), 1,75–1,73 (1H, m, H-3a), 1,67–1,63 (1H, m, H-8a), 1,62 (3H, t,  $J = 1,2$  Hz, H-13), 1,51 (1H, td,  $J = 12,6, 10,1$  Hz, H-3b), 1,35 (1H, dqd,  $J = 13,7, 6,9, 2,3$  Hz, H-4), 1,13 (1H, dtd,  $J = 13,8, 12,4, 4,2$  Hz, H-8b), 0,89 (1H, t,  $J = 12,7$  Hz, H-6b), 0,81 (3H, s, H-14), 0,67 (3H, d,  $J = 6,9$  Hz, H-15)

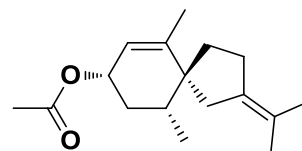
$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 32

Composé : Acétate de spirovétiva-1(10),7(11)-dién-2 $\alpha$ -yle (**675**)

Indice de rétention : VF-1ms/Wax : 1786/2369

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 262  $[M]^{+}$  (0), 202 (57), 187 (36), 159 (26), 145 (16), 134 (20), 131 (17), 119 (100), 105 (22), 91 (24), 83 (26), 67 (13), 55 (11), 43 (15)



$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  5,63–5,53 (2H, m, H-1, H-2), 2,41–2,27 (3H, m, H-6a, H-8ab), 2,24 (1H, dp,  $J = 16,5, 1,7$  Hz, H-6b), 2,06–2,01 (1H, m, H-3a), 1,87 (3H, s, H-17), 1,79 (1H, ddd,  $J = 13,8, 9,4, 6,3$  Hz, H-9a), 1,71–1,67 (9H, m, H-12, H-13, H-14), 1,66–1,55 (3H, m, H-3b, H-4, H-9b), 0,98 (3H, d,  $J = 6,6$  Hz, H-15)

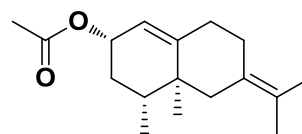
$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 32

Composé : Acétate d' $\alpha$ -isonootkatyle (**682**)

Indice de rétention : VF-1ms/Wax : 1801/2393

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 262  $[M]^{+}$  (0), 203 (18), 202 (100), 187 (57), 159 (62), 145 (55), 131 (44), 119 (66), 105 (30), 95 (14), 91 (29), 83 (20), 77 (15), 67 (9), 55 (11), 43 (19)



$^1\text{H}$  (400 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  5,57 (1H, tdd,  $J = 8,6, 4,4, 2,1$  Hz, H-2), 5,45 (1H, dq,  $J = 3,6, 2,0$  Hz, H-1), 2,72 (1H, dd,  $J = 13,0, 2,5$  Hz, H-6a), 2,61 (1H, ddt,  $J = 12,7, 4,8, 2,4$  Hz, H-8a), 2,25–2,11 (1H, m, H-9a), 2,02 (1H, ddd,  $J = 13,8, 4,8, 2,3$  Hz, H-9b), 1,83–1,78 (1H, m, H-3a), 1,76 (3H, s, H-17), 1,74–1,66 (1H, m, H-8b), 1,62 (3H, s, H-13), 1,60 (3H, s, H-12), 1,58–1,53 (1H, m, H-3b), 1,45 (1H, ddd,  $J = 13,2, 6,4, 1,6$  Hz, H-4), 1,36 (1H, d,  $J = 13,2$  Hz, H-6b), 0,80 (3H, s, H-14), 0,75 (3H, d,  $J = 6,5$  Hz, H-15)

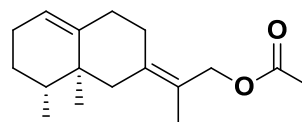
$^{13}\text{C}$  (101 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 32

Composé : Acétate d' $(E)$ -isovalencényle (**684**)

Indice de rétention : VF-1ms/Wax : 1812/2394

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 262  $[M]^{+}$  (0), 262 (0), 202 (100), 187 (69), 173 (8), 160 (36), 159 (33), 145 (32), 131 (25), 119 (21), 117 (18), 105 (24), 91 (24), 79 (12), 77 (11), 55 (9), 43 (20)



$^1\text{H}$  (400 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  5,32 (1H, dt,  $J = 4,8, 2,2$  Hz, H-1), 4,73 (1H, d,  $J = 11,7$  Hz, H-12a), 4,64 (1H, dd,  $J = 11,8, 1,2$  Hz, H-12b), 2,82–2,72 (2H, m, H-6a, H-8a), 2,38–2,26 (1H, m, H-9a), 2,13–2,07 (1H, m, H-9b), 2,05–1,96 (1H, m, H-2a), 1,93–1,84 (1H, m, H-2b),

1,82–1,73 (1H, m, H-8b), 1,74 (3H, t,  $J = 1,3$  Hz, H-13), 1,70 (3H, s, H-17), 1,51–1,31 (4H, m, H-6b, H-4, H-3ab), 0,85 (3H, s, H-14); 0,85 (3H, d,  $J = 6,8$  Hz, H-15)

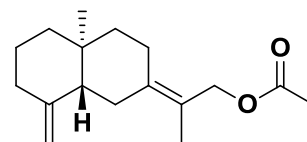
$^{13}\text{C}$  (101 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 32

Composé : Acétate d'(*E*)-eudesma-4(15),7(11)-dién-12-yle (**686**)

Indice de rétention : VF-1ms/Wax : 1822/2445

Données spectroscopiques :

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 262  $[\text{M}]^{+}$  (0), 203 (16), 202 (78), 187 (100), 174 (15), 173 (17), 159 (26), 145 (30), 131 (32), 121 (22), 105 (26), 95 (14), 93 (28), 91 (33), 79 (24), 77 (16), 43 (23)



$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  4,93 (1H, q,  $J = 1,6$  Hz, H-15a), 4,85 (1H, d,  $J = 11,7$  Hz, H-12a), 4,77 (1H, d,  $J = 11,6$  Hz, H-12b), 4,67 (1H, q,  $J = 1,6$  Hz, H-15b), 2,71 (1H, ddt,  $J = 14,3, 4,7, 2,5$  Hz, H-8a), 2,64 (1H, dd,  $J = 10,7, 2,1$  Hz, H-6a), 2,34 (1H, ddt,  $J = 13,1, 4,2, 2,0$  Hz, H-3a), 2,02–1,91 (2H, m, H-8b, H-3b), 1,89–1,84 (1H, m, H-6b), 1,83 (3H, s, H-17), 1,83–1,81 (3H, m, H-13), 1,84–1,79 (1H, m, H-5), 1,65 (1H, qt,  $J = 13,4, 4,3$  Hz, H-2a), 1,60–1,52 (1H, m, H-2b), 1,49 (1H, ddd,  $J = 12,8, 4,5, 2,8$  Hz, H-9a), 1,41 (1H, ddt,  $J = 13,2, 4,3, 2,3$  Hz, H-1a), 1,26 (1H, td,  $J = 13,4, 4,2$  Hz, H-9b), 1,18 (1H, d,  $J = 4,5$  Hz, H-1b), 0,87 (3H, s, H-14)

$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ ) voir Tableau 32

## Références

- (1) Arnaudo J. F., Delbecq C., Perichet C., Bouillet S. In *Natural Flavors and Fragrances*; American Chemical Society: 2005; Vol. 908, p 21.
- (2) Surburg H., Panten J. In *Common Fragrance and Flavor Materials*; Wiley-VCH, Ed. 2006, p 7.
- (3) Cazaussus A., Roze P. Y., Sellier N., Positive and negative chemical ionization GC/MS and GC/MS/MS for chromatographic studies of vetiveryl acetate. Use of MS/MS for the differentiation of isomeric sesquiterpenes, *Chromatographia*, **1989**, 28, 579.
- (4) Demole E. P., Holzner G. W., Youssefi M. J., Malodor formation in alcoholic perfumes containing vetiveryl acetate and vetiver oil, *Perfum. Flavor.*, **1995**, 20, 35.
- (5) SCCP, Opinion on Vetivery acetate, European Commission, **2006**.
- (6) Filippi J.-J., Belhassen E., Baldovini N., Brevard H., Meierhenrich U. J., Qualitative and quantitative analysis of vetiver essential oils by comprehensive two-dimensional gas chromatography and comprehensive two-dimensional gas chromatography/mass spectrometry, *J. Chromatogr., A*, **2013**, 1288, 127.
- (7) Champagnat P., Figueredo G., Chalchat J.-C., Carnat A.-P., Bessière J.-M., A Study on the Composition of Commercial *Vetiveria zizanioides* Oils from Different Geographical Origins, *J. Essent. Oil Res.*, **2006**, 18, 416.
- (8) Filippi J.-J., Norsesquiterpenes as markers of overheating in Indonesian vetiver oil, *Flavour Fragr. J.*, **2014**, 29, 137.
- (9) ISO4716:2013, Essential oil of vetiver [*Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty, syn. *Vetiveria zizanioides* (L.) Nash], **2013**.
- (10) Paillat L., Périchet C., Pierrat J.-P., Lavoine S., Filippi J.-J., Meierhenrich U. J., Fernandez X., Purification of vetiver alcohols and esters for quantitative high-performance thin-layer chromatography determination in Haitian vetiver essential oils and vetiver acetates, *J. Chromatogr., A*, **2012**, 1241, 103.
- (11) Sigma-Aldrich, Vetiver acetate, Java; ref. 62563-80-8.
- (12) Burdock G. A. *Fenaroli's Handbook of Flavor Ingredients, 6th Edition* Boca Raton, **2009**.
- (13) Bhatia S. P., McGinty D., Letizia C. S., Api A. M., Fragrance material review on vetiverol, *Food Chem. Toxicol.*, **2008**, 46 Suppl 11, S297.
- (14) Belhassen E., Filippi J.-J., Brévard H., Joulain D., Baldovini N., Volatile constituents of Vetiver. A review, *Flavour Fragr. J.*, **2015**, 30, 26.
- (15) Filippi J.-J., Cocolo N., Meierhenrich U., Peak-bridges due to in-column analyte transformations as a new tool for establishing molecular connectivities by comprehensive two-dimensional gas chromatography-mass spectrometry, *J. Chromatogr., A*, **2015**, 1383, 134.
- (16) Belhassen E., Baldovini N., Brevard H., Meierhenrich U., Filippi J.-J., Unravelling the Scent of Vetiver: Identification of Character Impact Compounds, *Chem. Biodiversity*, **2014**, 11, 1821.
- (17) Maurer B., Flavoring 7,7-dimethyl-6-methylenetricyclo[6.2.1.0<sup>1,5</sup>]undecan-2-one and derivatives, Firmenich, S.A.. DE2350388A1, **1974**.
- (18) Adams R. P. *Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy. 4th Ed.*; Allured Pub. Corp., **2007**.
- (19) Weyerstahl P., Marschall H., Splittgerber U., Wolf D., Surburg H., Constituents of Haitian vetiver oil, *Flavour Fragr. J.*, **2000**, 15, 395.
- (20) Maurer B., Fracheboud M., Grieder A., Ohloff G., Sesquiterpenoid C12 ketones from *Vetiveria zizanioides* essential oil, *Helv. Chim. Acta*, **1972**, 55, 2371.
- (21) Bohlmann F., Zdero C., Silva M., Two further eremophilane derivatives from *Tessaria absynthioides*, *Phytochemistry*, **1977**, 16, 1302.
- (22) Rohmer M., Schwartz A.-C., Anton R., Sesquiterpenes from essential oil of *Amyris balsamifera*, *Phytochemistry*, **1977**, 16, 773.

- (23) Wilson C. W., Shaw P. E., Synthesis of nootkatone from valencene, *J. Agric. Food Chem.*, **1978**, 26, 1430.
- (24) Miller R. B., Frincke J. M., Stereospecific total synthesis of (+-)-vetiselinenol, *J. Org. Chem.*, **1981**, 46, 2972.
- (25) Iwamuro H., Kawarazaki T., Matsubara Y., Hydration and lead tetraacetate oxidation of a mixture of  $\beta$ - and  $\gamma$ -elemenes, *Nippon Kagaku Kaishi*, **1982**, 436.
- (26) Bohlmann F., Ludwig G. W., Jakupovic J., King R. M., Robinson H., New spirosequiterpene lactones, germacranolides, and eudesmanolides from *Wunderlichia mirabilis*, *Liebigs Ann. Chem.*, **1984**, 228.
- (27) Sakurai K., Kitahara T., Mori K., A Simple Preparation of (—)-Khusimone (1) Using Electrochemical Decarboxylative Acetylation, *Agr. Biol. Chem.*, **1989**, 53, 1449.
- (28) Vig O. P., Anand R. C., Sharma S. D., Sharma M. L., Terpenoids. LXXXVI. Synthesis of trans-8-methylene-10-methyl-2-isopropylidenedecalin, *J. Indian Chem. Soc.*, **1975**, 52, 859.
- (29) Notar Francesco I., Filippi J.-J., Antoniotti S., Sustainable Manufacture of a Valuable Fragrance Ingredient: Lipase-Catalyzed Acylation of Vetiver Essential Oil and Chemoselectivity between Sesquiterpene Alcohols, *ChemPlusChem*, **2017**, 82, 407.
- (30) IFRA, Standards 44th Amendment CoP, **2009**.
- (31) Anderson J. R., O'Brien K. G., Reuter F. H., Esterification of tertiary alcohols with boric acid, *J. Appl. Chem.*, **1952**, 2, 241.
- (32) Cachet T., Brevard H., Chaintreau A., Demyttenaere J., French L., Gassenmeier K., Joulain D., Koenig T., Leijts H., Liddle P., Loesing G., Marchant M., Merle P., Saito K., Schippa C., Sekiya F., Smith T., IOFI recommended practice for the use of predicted relative-response factors for the rapid quantification of volatile flavouring compounds by GC–FID, *Flavour Fragr. J.*, **2016**, 31, 191.
- (33) SCCS, Opinion on vetiveryl acetate (fragrance ingredient), European Commission, *Luxembourg*, **2014**.
- (34) Champagnat P., Figueredo G., Chalchat J.-C., Bessière J.-M., Essential Oil Composition of *Vetiveria nigritana* from Mali, *J. Essent. Oil Res.*, **2006**, 18, 647.
- (35) Opdyke D. L. J., Fragrance raw materials monographs: Vetiver acetate, *Food Cosmet. Toxicol.*, **1974**, 12, 1011.
- (36) Sinha S., Jothiramajayam M., Ghosh M., Mukherjee A., Evaluation of toxicity of essential oils palmarosa, citronella, lemongrass and vetiver in human lymphocytes, *Food Chem. Toxicol.*, **2014**, 68, 71.
- (37) Munro I. C., Ford R. A., Kennepohl E., Sprenger J. G., Correlation of structural class with no-observed-effect levels: A proposal for establishing a threshold of concern, *Food Chem. Toxicol.*, **1996**, 34, 829.
- (38) Cramer G. M., Ford R. A., Hall R. L., Estimation of toxic hazard—A decision tree approach, *Food Cosmet. Toxicol.*, **1976**, 16, 255.
- (39) Api A. M., Belsito D., Bruze M., Cadby P., Calow P., Dagli M. L., Dekant W., Ellis G., Fryer A. D., Fukayama M., Griem P., Hickey C., Kromidas L., Lalko J. F., Liebler D. C., Miyachi Y., Politano V. T., Renskers K., Ritacco G., Salvito D., Schultz T. W., Sipes I. G., Smith B., Vitale D., Wilcox D. K., Criteria for the Research Institute for Fragrance Materials, Inc. (RIFM) safety evaluation process for fragrance ingredients, *Food Chem. Toxicol.*, **2015**, 82, S1.
- (40) Bhatia S., Schultz T., Roberts D., Shen J., Kromidas L., Marie Api A., Comparison of Cramer classification between Toxtree, the OECD QSAR Toolbox and expert judgment, *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, **2015**, 71, 52.
- (41) Ohloff G., Pickenhagen W. *Scent and Chemistry*; Wiley, **2012**.
- (42) Weyerstahl P., Marschall H., Splittgerber U., Wolf D., Analysis of the polar fraction of Haitian vetiver oil, *Flavour Fragr. J.*, **2000**, 15, 153.



- (43) Filippi J.-J., Belhassen E., Baldovini N., Brevard H., WO2015001227A1, **2015**.  
(44) Maurer B., US4142997, **1979**.

## Chapitre VI : L'huile essentielle d'Agarwood : L'essence des dieux – *Aquilaria* sp.

### VI.1. Considérations générales

L'agarwood ou bois d'agar est un bois précieux de couleur sombre, chargé en résine odorante provenant d'arbres du genre *Aquilaria* qui regroupe au moins vingt espèces connues d'arbres tropicaux. Ces arbres, dont la hauteur varie de 6 à 20 mètres, vivent dans les basses forêts tropicales d'Asie du Sud-Est de manière dispersée, à l'abri de la canopée en dessous de 850 mètres d'altitude et à des températures supérieures à 20 °C. Leurs feuilles sont vert foncé avec des fleurs peu abondantes. D'un point de vue phylogénétique, *Aquilaria* est une angiosperme dicotylédone appartenant à la famille des Thymelaeaceae.<sup>1,2</sup> Les différentes espèces d'*Aquilaria* sont fortement similaires et sont souvent confondues entre elles. Elles sont également confondues avec des espèces appartenant à un genre voisin, *Gyrinops*.<sup>3</sup> Seul un expert peut les différencier en examinant minutieusement leurs détails foliaires et floraux. Par conséquent, beaucoup de braconniers font passer le bois des *Gyrinops* pour du bois d'*Aquilaria* pour le vendre en poudre ou en copeaux.

Surnommé *The Wood of the Gods*, *Liquid gold* ou encore *King of incense*, l'agarwood possède de multiples appellations à travers le monde : calambac, *aloeswood*, *eaglewood*, bois de gélose, *gaharu* en Malaisie, *kanankoh*, *jinkoh* au Japon, *kyara*, *agalocha*, *agaru* en Inde, *chen-xiang* en Chine et enfin *oud* au Moyen-Orient.<sup>1-3</sup> La résine qui en est extraite est riche en molécules odorantes mais elle n'est retrouvée que dans les parties infectées de l'arbre. En effet, cette sécrétion pathologique due à la réaction immunitaire de l'arbre face aux infections bactériennes et fongiques qui font généralement suite à une agression physique (attaque d'éléphant, blessure, feu, etc.) ou biologique (insectes xylophages). Certains de ces champignons et insectes font parfois la richesse des bois d'Agar. Plus l'arbre est vieux (75 ans ou plus) et plus il est infecté, et plus l'agarwood obtenu est riche en composés odorants. Cette particularité fait la rareté de l'agarwood, et par conséquent, explique le prix très élevé des bois d'Agar de qualité « premium ». Un agarwood de qualité peut facilement dépasser les 100 000 \$/kg, cependant il est extrêmement difficile de s'en procurer.<sup>4</sup>

Originaire des forêts tropicales d'Asie du Sud-Est, l'agarwood est fortement demandé dans les pays amateurs d'encens et de fumigations tels que le Japon, la Chine, l'Inde ou encore les pays du Golfe. Le bois est brûlé à l'occasion de fêtes religieuses, baptêmes, mariages,

séances de prières ou lors de rituels de purification. Selon les croyances du lieu, la fumée engendrée permet de chasser les mauvais esprits et surtout de parfumer toute une pièce. Plus le bois est rare et précieux, plus il est gardé pour une occasion spéciale. D'un autre côté, le bois d'agar est fortement utilisé en médecine traditionnelle (chinoise, arabe et *ayurveda* en Inde). Ses consommateurs lui attribuent des propriétés analgésiques, antispasmodiques, antirhumatismales, anti-stress, détoxifiantes, cicatrisantes, aphrodisiaques, pour n'en citer que quelques-unes.<sup>3</sup> L'essence d'agarwood est quant à elle l'une des substances les plus prisées et fait actuellement l'objet d'un regain d'intérêt certain dans l'industrie du parfum. On en retrouve par exemple dans *Oud Royal* d'Armani Privé et *M7 Oud Absolu* d'Yves Saint Laurent.<sup>4</sup>

## VI.2. Situation économique et écologique des espèces d'*Aquilaria*

Depuis les années 1970, la surexploitation des arbres du genre *Aquilaria* donnant le bois d'agar fait que ces espèces sont menacées de disparition sur l'essentiel de leur aire naturelle de répartition.<sup>5,6</sup> Le commerce illégal du bois d'agar menace également le genre qui est victime d'une déforestation intensive. On note que le genre *Aquilaria* est éteint dans de nombreuses régions d'Asie et il est menacé ou quasi éteint dans plusieurs pays dont la Malaisie, plusieurs régions d'Indonésie, la Thaïlande et le Myanmar.<sup>2</sup> Même les arbres non infectés ne produisant pas d'agarwood sont coupés pour être vendus. Plusieurs parcs nationaux du Kalimantan, en Indonésie, ainsi que certaines réserves naturelles nationales sont illégalement exploitées. Les espèces d'*Aquilaria* y sont presque éteintes uniquement à cause de l'exploitation forestière illégale. Ainsi, le genre *Aquilaria* a été retenu prioritaire pour la sauvegarde de ces espèces lors d'une étude de la FAO, *Food and Agriculture Organization of the United Nations*, en collaboration avec l'APFORGEN (Programme de ressources génétiques forestières pour l'Asie et le Pacifique) sur les ressources génétiques forestières d'Asie du Sud-Est.<sup>7,8</sup> Neuf espèces d'*Aquilaria* sont sur la liste rouge de l'IUCN.<sup>9</sup> Le Tableau 36 ci-après montre les espèces en danger critique d'extinction (en rouge) et les espèces vulnérables (en jaune). *Aquilaria* sp. (signifiant *species pluralis* soit plusieurs espèces) est aussi sur l'annexe II de la CITES.<sup>5,6</sup>

Vingt-et-une espèces sont identifiées aujourd'hui comme productrices d'agarwood. Le plus précieux provient d'*Aquilaria crassna* dit *eaglewood*, et le plus répandu vient d'*Aquilaria malaccensis*. *Aquilaria agallocha* est présumée être une variante ou sous-espèce et son statut est non résolu, mais le terme est très répandu comme synonyme d'*Aquilaria malaccensis*.<sup>1,10</sup>

À l'état sauvage, seulement 7 % des arbres produisent de l'agarwood. Plusieurs plantations se sont donc développées et la société Asia Plantation Capital (APC) est le plus gros cultivateur d'*Aquilaria* et ainsi, le plus gros producteur mondial d'agarwood.<sup>11</sup>

Tableau 36. Situation écologique des différentes espèces du genre d'*Aquilaria*.<sup>8</sup>

Espèce	Origine	Espèce	Origine
<i>Aquilaria apiculata</i>	Philippines	<i>Aquilaria khasiana</i>	Inde
<i>Aquilaria baillonii</i>	Cambodge	<i>Aquilaria malaccensis</i>	Asie du Sud-Est, Inde
<i>Aquilaria banaense</i>	Viêt Nam	<i>Aquilaria microcarpa</i>	Indonésie, Singapour
<i>Aquilaria beccariana</i>	Indonésie, Malaisie	<i>Aquilaria parvifolia</i>	
<i>Aquilaria brachyantha</i>		<i>Aquilaria rostrata</i>	Malaisie
<i>Aquilaria citrinacarpa</i>	Philippines	<i>Aquilaria rugosa</i>	
<i>Aquilaria crassna</i>	Asie du Sud-Est, Nouvelle-Guinée	<i>Aquilaria sinensis</i>	Chine
<i>Aquilaria cumingiana</i>	Indonésie, Philippines	<i>Aquilaria subintegra</i>	Thaïlande
<i>Aquilaria decemcostata</i>	Indonésie, Philippines	<i>Aquilaria urdanetensis</i>	Philippines
<i>Aquilaria filaria</i>	Philippines, Nouvelle-Guinée	<i>Aquilaria yunnanensis</i>	Chine
<i>Aquilaria hirta</i>	Indonésie, Malaisie		

L'agarwood est produit en blessant artificiellement l'arbre avec des haches ou en perçant des trous dans le tronc de l'arbre. Des champignons et diverses substances inconnues sont alors inoculés. Les arbres sont ensuite exploités entre sept et quinze ans d'âge. Toutefois, la qualité du bois reste largement inférieure à celle produite par des arbres vieux de plusieurs décennies (20 à 50 ans) et infectés naturellement par certains champignons et larves d'insectes xylophages.

Le marché des produits issus de l'agarwood est évalué à 4 500 tonnes par an.<sup>2</sup> Ce chiffre n'inclut évidemment pas le commerce illégal et la contrebande au niveau des zones frontalières (Kalimantan, Sumatra, Nouvelle-Guinée, ports de Jakarta et Surabaya). Le braconnage est, par ailleurs, fortement combattu par l'armée ou encore par l'AFCD (Agriculture, Fisheries and Conservation Department) à Hong Kong et les braconniers peuvent être emprisonnés ou abattus. Singapour est le plus grand ré-exportateur de bois d'agar d'Indonésie et les principaux pays acheteurs sont le Japon, la Chine, l'Arabie Saoudite et les Emirats Arabes Unis.<sup>5</sup>

### VI.3. Étude antérieure de la composition chimique de l'essence d'Agarwood

Parmi les méthodes d'obtention pour produire l'essence d'agarwood, l'hydrodistillation reste la méthode la plus utilisée par les populations locales. Toute nouvelle technologie ou technique d'extraction avancée (extraction par CO<sub>2</sub> supercritique, hydrodiffusion, ASE, micro-ondes, ultrasons, etc.) reste inaccessible et trop coûteuse pour les pays d'Asie producteurs d'agarwood.

D'un point de vue chimique, plusieurs études antérieures ont cherché à mettre en évidence les composés odorants des extraits d'agarwood. Les premières recherches sur sa composition chimique ont été menées par Ichikawa et Heiken en 1939 qui identifient la benzylacétone.<sup>12</sup> S'en suit une série importante d'études de plusieurs laboratoires, asiatiques notamment. Toutefois, les principales avancées sont à mettre au crédit des équipes de recherche des sociétés Firmenich et Takasago ainsi qu'à des équipes de recherche universitaire japonaises.<sup>10,13-21</sup> Ainsi, l'essence de bois d'agar est un mélange complexe de sesquiterpènes, de chromones et de composés aromatiques volatils. Un article de revue détaillé liste les différents composés identifiés dans les extraits d'agarwood.<sup>10</sup>

A ce jour, plus de 150 composés volatils ont été identifiés dans le bois d'agar et ses sous-produits. Les eudesmanes sont les principaux squelettes sesquiterpéniques. De plus, des eudesmanes furaniques sont découverts pour la première fois dans l'essence d'agar et ont ainsi été nommés agarofuranes. Certains squelettes sesquiterpéniques sont spécifiquement retrouvés dans des qualités précises d'agarwood. Les guaïanes, par exemple, sont retrouvés majoritairement dans le *kanankoh*, un agarwood de haute qualité.<sup>22</sup> Il en est de même pour les prézizaanes qui sont des marqueurs du bois d'agar d'Indonésie.<sup>10</sup> L'identification précise des vétispiranes et les éremophilanes est plus difficile. En effet, nous avons vu dans les chapitres précédents que les essences de Vétiver et de bois de cèdre jaune d'Alaska sont quasi exclusivement composés d'éremophilanes ayant leurs méthyles #4 et #5 en position *trans* par rapport au groupement isopropyle en #7 (Schéma 24). On a noté également que l'huile essentielle de bois de *C. pancheri* contient, quant à elle, une majorité d'éremophilanes *cis* (Chapitre II).

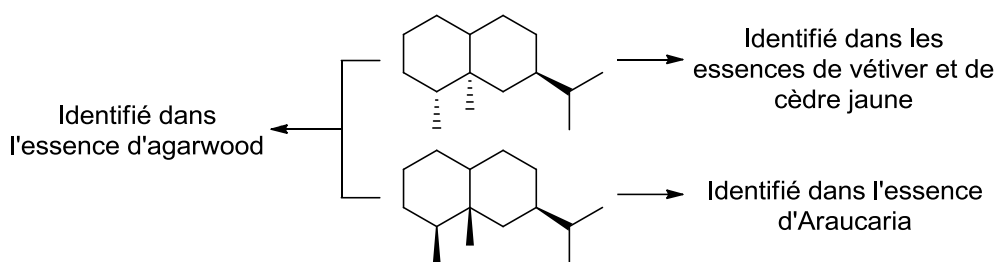


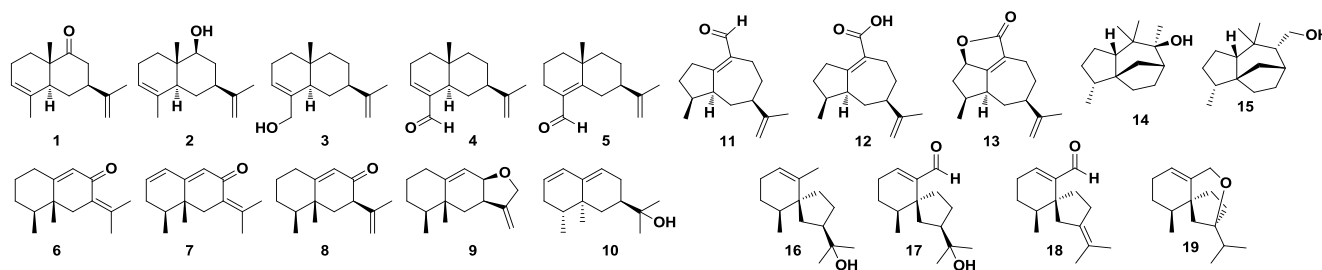
Schéma 24. Structures des érémophilanes identifiés dans les essences de Vétiver, de bois de *C. nootkatensis*, *C. pancheri* et d'agarwood.

Ces observations se révèlent être utiles puisque dans le cas de l'essence d'agarwood, les érémophilanes identifiés existent sous les deux formes. Ces résultats ont été confirmés par synthèse.<sup>23</sup> Par ailleurs, des études ont cherché à montrer que les propriétés psychoactives que l'on prête à l'agarwood seraient reliées à la présence d'un dérivé vetispirane spécifique.<sup>24</sup>

D'après les études antérieures, au total plus de quarante chromones ont été identifiées dans les extraits d'agar. Les plus oxydées seraient à l'origine de la note chaude sucrée persistante qui se dégage quand le bois d'agar est chauffé ou brûlé. De surcroît, plusieurs composés aromatiques volatils ont été identifiés dans les fumées mais aussi dans l'huile essentielle et ils semblent provenir de la dégradation des chromones et des lignines du bois d'Agar. Roman Kaiser (Givaudan) a établi le profil de l'odeur de l'agarwood chauffé à 160 °C évoluant d'un caractère fleuri, boisé et balsamique vers des notes plus lourdes, phénoliques et animales.<sup>25</sup> Par ailleurs, un nombre important de dérivés aromatiques volatils n'appartenant pas à la famille des chromones a été identifié dans l'agarwood. En lien avec les études olfactives effectuées au cours de cette thèse, il apparaît que ces dérivés aromatiques sont susceptibles de contribuer fortement à l'odeur globale de ces extraits (essences, extraits solvants, fumées).

Parmi les 145 molécules identifiées dans l'agarwood, plusieurs dérivés aromatiques et plus de 20 dérivés sesquiterpéniques ont été décrits comme contribuant à l'odeur de l'agarwood (Tableau 37). Malgré tout, la littérature paraît peu fiable pour bon nombre d'entre elles. On note également que les études traitant de l'aspect olfactif sont en nombre restreint. Ces mêmes études, ayant pourtant permis la description des propriétés olfactives des principales molécules, ne se sont pas soumises à l'évaluation des constituants isolés ou en mélange par GC-O.<sup>17,23</sup> L'isolement d'un composé d'un extrait naturel ne garantit pas l'absence d'éventuelles impuretés qui pourraient fausser l'évaluation sensorielle et, par ailleurs, l'évaluation en mode statique ne permet généralement pas 1) de s'affranchir de ces éventuelles contaminations et 2) de déterminer l'impact de ces mêmes molécules sur l'odeur globale de l'extrait étudié.

Bien que l'essence d'agarwood soit sujette à une très mauvaise traçabilité, en raison du marché illégal et du nombre important d'espèces, il est rare, voire impossible, de connaître l'origine géographique et botanique de l'extrait que l'on se procure. Notre objectif est donc d'identifier les molécules odorantes précédemment décrites comme importantes pour l'essence d'agarwood, de confirmer ou de réfuter leurs propriétés sensorielles et d'identifier éventuellement de nouvelles molécules odorantes. Pour cela, une essence d'agarwood ayant un profil analytique GC-MS et olfactif satisfaisants a été achetée auprès de la société Barosyl au au mois de mars 2017 au prix de 2500 € les 100 g (Nice). L'essence était vieille de plus de 10 ans mais nous a permis de mener une première étude exploratoire.

Tableau 37. Composés identifiés comme odorants dans les extraits d'agarwood.<sup>10</sup>

# <sup>a</sup>	Composé	Odeur reportée dans la littérature
1	Sélina-3,11-dién-9-one	Fraîche, sucrée, fait penser aux fleurs qui éclosent
2	Sélina-3,11-dién-9-ol	Boisée, sucrée, assez faible
3	Sélina-3,11-dién-15-ol	Florale, herbeuse, mentholée
4	Sélina-3,11-dién-15-al	Florale, boisée, nuance de bois de santal fumé
5	Sélina-4,11-dién-15-al	Mentholée type menthe pouliot
6	Dihydrokaranone	Fortement boisée, légèrement camphrée, note de fumigation, intense
7	Karanone	Boisée, type ambre, élégante
8	Eremophila-9,11-dien-8-one = Néopétasane	Sucrée, boisée, type dihydrokaranone, très orientale, caractère de fumigation
9	8,12-Epoxyéremophila-9,11(13)-diène	Agréable boisée à caractère de vetiver
10	Déhydrojinkoh éréamol	Boisée, légèrement balsamique, amère
11	(-)-Guaia-1(10),11-dién-14-al	Agréable, type b-damascenone, boisée, touche de camphre
12	Acide (-)-Guaia-1(10),11-dién-14-ique	Boisée faible, harmonise les autres composés par chauffage
13	(-)-Guaia-1(10),11-dién-15,2-olide	Puissante, persistante, boisée, note sucrée
14	Jinkohol	Boisée extrêmement forte
15	Jinkohol II	Boisée, légèrement camphrée, typique agarwood quand chauffée
16	Agarospinol	Épicée, poivrée, boisée
17	Oxo-agarospinol	Boisée, balsamique
18	Spirovétiva-1(10),7(11)-dién-14-al	Boisée, sucrée, fumée, phénolique, typique agarwood, assez faible
19	7,14-EpoxySpirovétiva-1(10)-ène	Presque inodore

<sup>a</sup> Numérotation utilisée uniquement pour ce tableau et n'est pas reliée à la numérotation de la thèse.

## VI.4. Analyse GC–MS et GC × GC–MS de l'essence d'agarwood

La première analyse menée par GC–MS nous a permis de remarquer que cette essence n'a rien à envier à la complexité moléculaire de l'essence de vétiver (Chapitre V). En effet, en se basant sur l'analyse GC–MS on détecte la présence d'une soixantaine de composés (Figure 43).

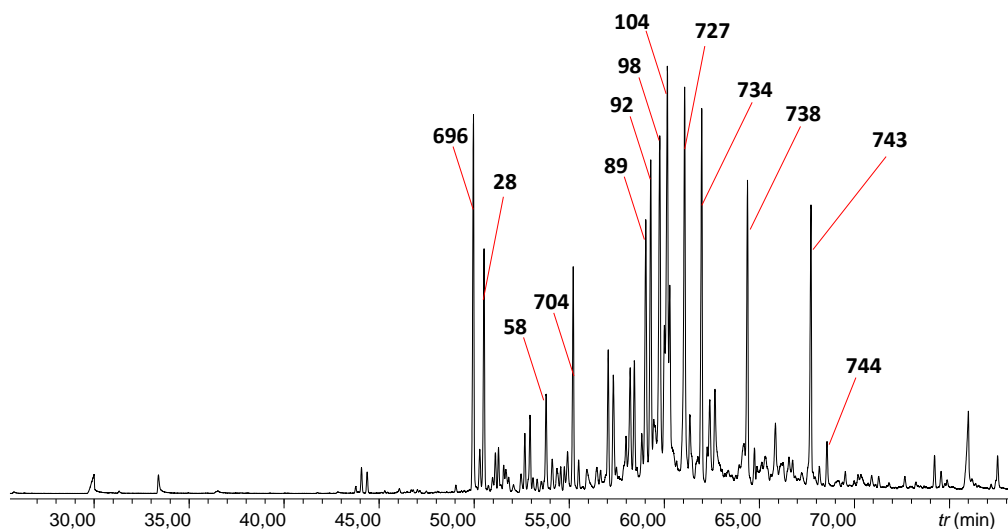


Figure 43. Analyse GC–MS sur colonne apolaire (HP-1) de l'échantillon d'huile essentielle d'agarwood.

En effectuant une analyse croisée de cette essence et des autres matières premières étudiées dans cette thèse, nous pouvons identifier sans trop de problèmes certains composés majoritaires de notre échantillon (Schéma 25). On confirme par cette analyse que l'essence d'agarwood est composée en très grande partie de sesquiterpènes dont les squelettes majoritaires sont des vétispiranes, des eudesmanes, des cadinanes et des éremophilanes. Par comparaison de leur spectre de masse et de leur indice de rétention, nous identifions l' $\alpha$ -amorphène (**28**), le  $\delta$ -cadinène (**45**), le 10-*épi*- $\gamma$ -eudesmol (**87**), le  $\gamma$ -eudesmol (**89**), l'agarospirol (**92**), le jinkoh-éremol (**98**), le valérianol (**104**), l' $\alpha$ -eudesmol (**107**), le  $\beta$ -eudesmol (**108**) et le déhydrojinkoh-éremol (**369**) dans notre échantillon d'agarwood. De plus, à l'aide des spectres de masse et des indices de rétention (quand ils étaient disponibles) des composés rapportés dans les extraits d'agarwood, nous identifions le  $\beta$ -agarofurane (**696**), le 7,14-époxy Spirovétiva-1,10(14)-diène (**704**), le 7,14-époxy Spirovétiv-1(10)-ène (**708**), le déhydrovalencénol (**727**, alias l'éremophila-1(10),8-diène-11-ol), l'isobaimuxinal (**734**), le Spirovétiva-1(10),7(11)-diène-14-al (**738**), la dihydrokaranone (**743**) et la karanone (**744**). Dans



l'optique de faciliter l'identification des composés odorants contribuant à l'odeur globale de l'extrait, il a donc été nécessaire de se tourner vers des techniques séparatives avancées telles que la chromatographie bidimensionnelle intégrale couplée à la spectrométrie de masse GC × GC-MS mais également de fractionner l'huile essentielle afin de simplifier les profils chromatographiques obtenus.

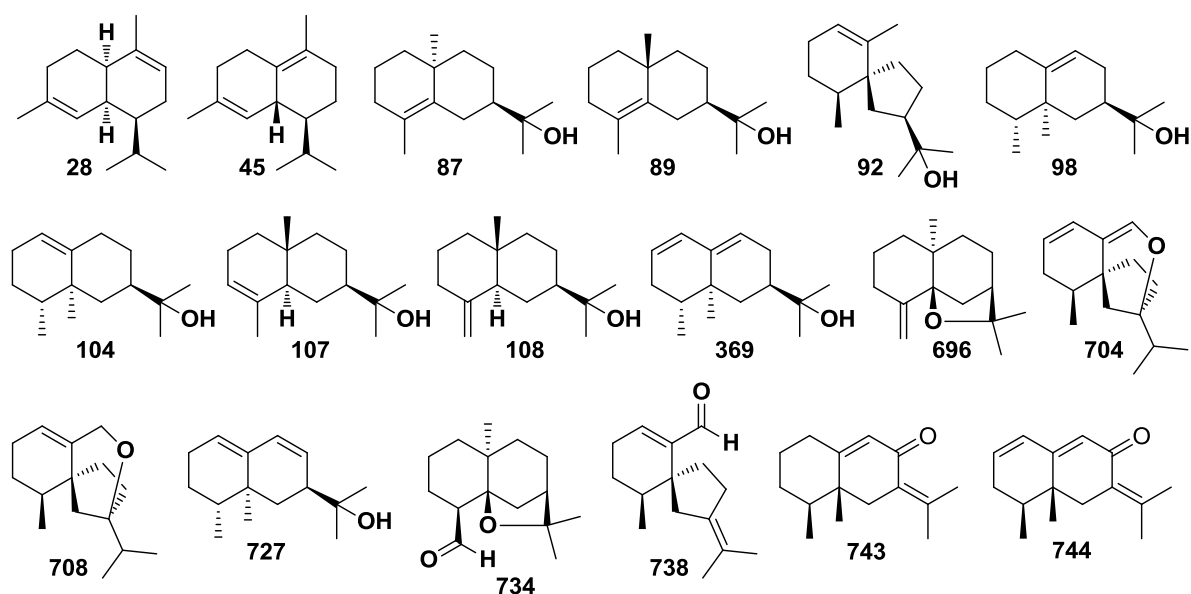


Schéma 25. Composés majoritaires identifiés dans notre essence d'agarwood.

A partir de ce chromatogramme bidimensionnel il a été possible de détecter plus de 192 pics ( $S/N > 10$ ). En se basant sur leurs propriétés spectroscopiques et sur le travail de fractionnement et d'isolement, 77 constituants ont ainsi été caractérisés. Nous pouvons observer que cette essence est composée en grande partie d'alcools et plus particulièrement d'alcools tertiaires (Figure 44 – Zone verte). L'analyse qualitative permet de mettre en évidence la présence de composés communs aux différentes matières premières à l'étude dans cette thèse. On identifie notamment le 10-épi- $\gamma$ -eudesmol (**87**), le  $\gamma$ -eudesmol (**89**), le 4,5-di-*épi*-jinkoh érémol (**90**), l'agarospirol (**92**), le  $\tau$ -cadinol (**357**), l'hinésol (**160**), le cubénol (**358**), le  $\tau$ -muurolol (**359**), le jinkoh érémol (**98**), le valérianol (**104**), l' $\alpha$ -cadinol (**362**), l' $\alpha$ - (**107**) et le  $\beta$ -eudesmol (**108**), mais aussi le sélinén-4 $\alpha$ -ol (**164**) et le déhydrojinkoh érémol (**369**). On trouve également dans cette essence le spiroaxène (**528**), l'eudesm-6-én-4 $\beta$ -ol (**535**), l'amorph-4-én-1 $\alpha$ -ol (**542**), l'ylangén-15-ol (**548**) et la  $\beta$ -vétivone (**450**), lesquels ont seulement été identifiés dans l'essence de vétiver. On relève également à l'état de trace de la nootkatone (**387**) et l' $\alpha$ -vétivone (**452**). De plus, on note la présence de composés uniques à cette essence qui

sont principalement localisés dans la zone d'éluion des éthers (Figure 44 – Zone marron), des aldéhydes/cétones (Figure 44 – Zone orange) et dans la zone supérieure aux alcools tertiaires identifiés (Figure 44 – Zone verte).

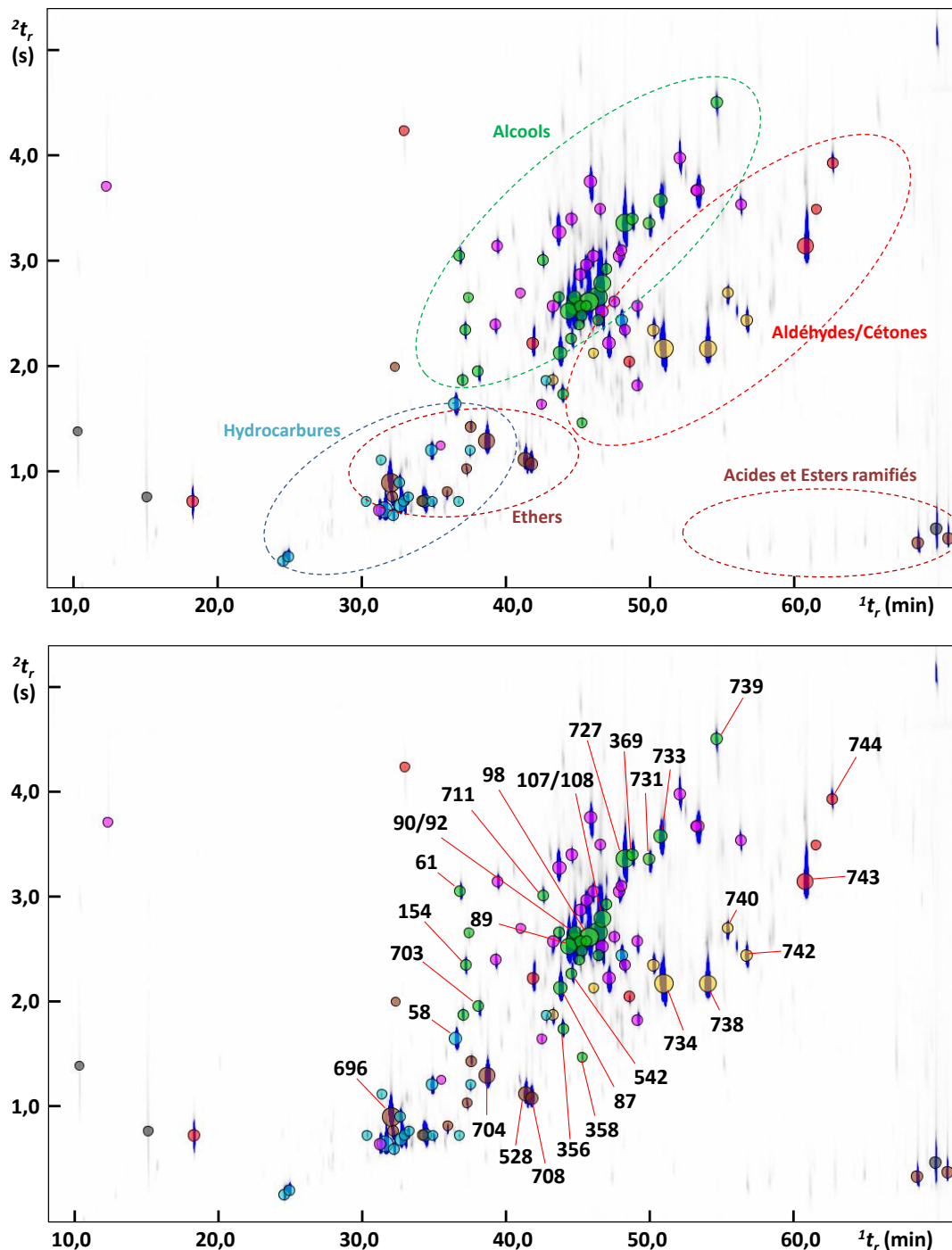


Figure 44. Analyse GC  $\times$  GC-MS obtenue pour notre échantillon d'huile essentielle d'agarwood. Sur le premier chromatogramme, on montre les différentes zones d'éluion des familles de molécules identifiées dans l'essence, le second pointe principalement les composés majoritaires de l'essence ainsi que les molécules isolées et caractérisées par RMN. Les hydrocarbures apparaissent sous la forme de cercle bleu foncé, les aldéhydes sont en orange, les esters et les éthers sont en marrons, les acides en noir, les cétones en rouge, les alcools sont affichés en vert et les inconnus en rose.

Les composés encore inconnus (Figure 44 en rose) n'ont pas été identifiés dans les matières premières au programme de cette thèse et ils éluent majoritairement dans la zone d'élution des alcools secondaires et primaires.

L'étude étant toujours en cours, nous ne rapportons ici qu'une rapide quantification en GC × GC-MS de notre échantillon. Les résultats obtenus jusqu'à présent sont résumés en Tableau 38. Cette première analyse nous permet de constater que les alcools tertiaires représentent plus de 36 % de cet échantillon. Les éthers et les aldéhydes représentent également une part importante de l'essence, 12,04 % et 10,90 % respectivement. Toutefois, on remarque que seulement 77 % des constituants de l'essence sont détectés (% relatif). Une partie des molécules présentes dans cet échantillon doit être des composés lourds non visualisés dans ces conditions analytiques. De plus, on note que 10,39 % des composés sont encore inconnus ou, du moins, non identifiables sur la base de leurs spectres de masse et indices de rétention. Nous avons donc tout naturellement entrepris un fractionnement avancé de l'essence d'une part afin d'isoler les constituants décrits précédemment comme odorants et d'autre part d'améliorer notre connaissance de cette essence. La GC × GC-MS nous a permis de visualiser la présence ou l'absence des composés décrits comme « odorants ». Toutefois, dans le but d'évaluer olfactivement ces molécules, il était important de procéder au fractionnement de cette essence afin de simplifier au maximum notre échantillon, voire d'isoler les composés cibles.

Tableau 38. Analyse GC × GC–MS effectuée sur l'essence d'agarwood.

#	RI <sup>a</sup> Calc.	RI <sup>b</sup> Litt.	Composé <sup>b</sup>	Classe Chimique	Famille	<sup>1</sup> tr (min)	<sup>2</sup> tr (s)	Volume	% <sup>c</sup> relatif
691	901		Acide pentanoïque	Acides		11,30	1,48	116366	0,03
692	1066		<b>60</b> 73 87	Inconnus A		13,15	3,79	262446	0,08
693	1165	1167	Acide octanoïque	Acides		15,73	0,87	363993	0,11
694	1252		4-Phényl-2-butanone	Cétones		18,68	0,83	1383732	0,40
6	1380	1373	α-Ylangène	Hydrocarbures	Ylanganes	24,49	0,26	1006580	0,29
7	1388	1374	α-Coapène	Hydrocarbures	Copaanes	24,86	0,31	753238	0,22
21	1469	1452	α-Humulène	Hydrocarbures	Humulanes	29,84	0,83	250889	0,07
695	1482		91 105 133 <b>189</b> 204	Inconnus		30,67	0,74	1715334	0,50
149	1483	1479	α-Curcumène	Hydrocarbures	Bisabolanes	30,77	1,22	229296	0,07
28	1488	1483	α-Amorphène	Hydrocarbures	Amorphanes	31,04	0,74	10504974	3,05
696	1494		β-Agarofurane	Ethers	Eudesmanes	31,41	1,00	19086340	5,54
333	1495	1481	4,10-Epoxyuurolane	Ethers	Muurolanes	31,51	0,87	607597	0,18
37	1496	1492	δ-Sélinène	Hydrocarbures	Eudesmanes	31,60	0,70	587215	0,17
697	1498	1491	10,11-Epoxyalaménène	Ethers	Cadinanes	31,69	2,09	113160	0,03
490	1501	1493	β-Vétispirène	Hydrocarbures	Vétispiranes	31,97	1,00	1097626	0,32
491	1502	1495	γ-Amorphène	Hydrocarbures	Amorphanes	32,06	0,78	2201343	0,64
39	1505	1500	α-Muuroène	Hydrocarbures	Muurolanes	32,24	0,83	857676	0,25
698	1505		4-( <i>p</i> -Méthoxyphényl)-2-butanone (tent. MS)	Cétones		32,24	4,31	231826	0,07
41	1508	1498	α-Sélinène	Hydrocarbures	Eudesmanes	32,52	0,87	410914	0,12
44	1521	1517	<i>cis</i> -dihydroAgarofurane	Ethers	Eudesmanes	33,44	0,83	581218	0,17
45	1523	1522	δ-Cadinène	Hydrocarbures	Cadinanes	33,63	0,83	3368342	0,98
346	1528	1528	Calaménène	Hydrocarbures	Cadinanes	34,00	1,31	1843317	0,54
48	1529	1527	Erémophila-1(10),7(11)-diène	Hydrocarbures	Erémophilanes	34,09	0,83	408903	0,12
699	1537		81 91 105 121 <b>205</b> 220	Inconnus		34,64	1,35	86702	0,03
508	1541	1529	Késsane	Ethers	Guaianes	35,01	0,92	459164	0,13
58	1549	1544	α-Calacorène	Hydrocarbures	Cadinanes	35,56	1,74	2594722	0,75
60	1551	1545	Séline-3,7(11)-diène	Hydrocarbures	Eudesmanes	35,75	0,83	202260	0,06
61	1552	1548	Elémol	Alcools III	Elémanes	35,84	3,14	765100	0,22
700	1555		3,6-Epoxyfarnesa-1,10-diène-7-ol épimère A	Alcools III	Farnésanes	36,03	1,96	509966	0,15
154	1557	1561	( <i>E</i> )-Nérolidol	Alcools III	Farnésanes	36,21	2,44	857215	0,25
701	1558		6α,12-Epoxy-7βH-10αH,11βH-spiroax-4-ène (épimère inconnu)	Ethers	Spiroaxanes	36,30	1,13	374850	0,11
702	1560		15-nor-Eudesm-4-én-11-ol	Alcools III	Eudesmanes	36,39	2,75	345402	0,10
349	1561	1554	β-Vétivénène	Hydrocarbures	Erémophilanes	36,49	1,31	348952	0,10
64	1562	1548	α-Agarofurane	Ethers	Eudesmanes	36,58	1,53	463992	0,13
703	1568		3,6-Epoxyfarnesa-1,10-diène-7-ol épimère B	Alcools III	Farnésanes	37,04	2,05	751908	0,22
704	1576		7,14-EpoxySpirovétiva-1,10(14)-diène	Ethers	Vétispiranes	37,59	1,39	10926527	3,17
705	1583		98 149 164 189 <b>207</b> 222	Inconnus		38,15	2,48	648471	0,19
706	1584		<b>93</b> 107 122 135 159 202	Inconnus		38,24	3,23	704256	0,20
707	1603		91 111 <b>126</b> 131 145 162 202 220	Inconnus		39,72	2,79	306271	0,09
528	1607		6α,12-Epoxy-7βH-10αH,11βH-spiroax-4-ène	Ethers	Spiroaxanes	40,08	1,22	5913344	1,72
708	1611		7,14-EpoxySpirovétiv-1(10)-ène	Ethers	Vétispiranes	40,45	1,18	3174407	0,92

#	RI <sup>a</sup> Calc.	RI <sup>b</sup> Litt.	Composé <sup>b</sup>	Classe Chimique	Famille	<sup>1</sup> tr (min)	<sup>2</sup> tr (s)	Volume	% <sup>c</sup> relatif
709	1612	1607	β-Oplopénone	Cétones		40,55	2,31	1828356	0,53
710	1619		67 79 91 105 119 147 <b>159</b> 187 202 220	Inconnus		41,10	1,74	367421	0,11
711	1620		Copabornéol	Alcools III	Copaanes	41,19	3,09	807421	0,23
354	1622	1622	Corocalène	Hydrocarbures	Cadinanes	41,38	1,96	385580	0,11
712	1628		Spirovétiva-1(10),7(11)-dién-14-al (isomère ?)	Aldéhydes	Vétispiranes	41,84	1,96	953965	0,28
713	1628		<b>59</b> 67 79 107 123 147 161 189 207 222	Inconnus		41,84	2,66	1168039	0,34
535	1632		Eudesm-6-én-4β-ol	Alcools III	Eudesmanes	42,21	2,75	828249	0,24
714	1632		<b>59</b> 83 91 105 <b>119</b> 120 <b>121</b> 131 145 159 187 202	Inconnus		42,21	3,36	4074197	1,18
87	1633	1622	10-épi-γ-Eudesmol	Alcools III	Eudesmanes	42,30	2,22	5157215	1,50
356	1635	1627	1-épi-Cubénoïl	Alcools III	Cubébanes	42,48	1,83	1059776	0,31
89	1640	1630	γ-Eudesmol	Alcools III	Eudesmanes	42,85	2,62	12259453	3,56
542	1642		Amorph-4-én-1α-ol	Alcools III	Amorphanes	43,04	2,35	830087	0,24
715	1642		55 77 91 <b>109</b> 121 149 177 202 220	Inconnus		43,04	3,49	1152864	0,33
90	1644		4,5-di-épi-Jinkoh Erémol	Alcools III	Erémophilanes	43,22	2,75	3312409	0,96
92	1644	1646	Agarospinol	Alcools III	Vétispiranes	43,22	2,66	17960102	5,21
357	1647	1638	τ-Cadinol	Alcools III	Cadinanes	43,50	2,48	387345	0,11
160	1648	1640	Hinésoïl	Alcools III	Vétispiranes	43,59	2,66	1378858	0,40
716	1648		55 91 105 119 <b>161</b> 187 202 220, proche sélina-3,11-dién-6α-ol	Inconnus		43,59	2,96	1208157	0,35
358	1649	1645	Cubénoïl	Alcools III	Cubébanes	43,68	1,57	362215	0,11
359	1649	1640	τ-Muuroloïl	Alcools III	Muurolanes	43,68	2,57	705542	0,20
360	1653	1644	α-Muuroloïl	Alcools III	Muurolanes	43,96	2,66	992527	0,29
717	1653		59 81 105 133 <b>147</b> <b>162</b> (220 ou 222)	Inconnus		43,96	3,05	1961795	0,57
98	1655		Jinkoh-érémol	Alcools III	Erémophilanes	44,14	2,70	20112154	5,84
548	1656		Ylangén-15-ol	Alcools I	Ylanganes	44,24	3,84	2894425	0,84
718	1658		Spirovétiva-1(10),7(11)-dién-14-al (isomère ?)	Aldéhydes	Vétispiranes	44,42	2,22	418164	0,12
719	1658		<b>59</b> 91 105 133 147 162 220	Inconnus		44,42	3,14	1173027	0,34
104	1661	1656	Valérianoïl	Alcools III	Erémophilanes	44,70	2,75	23931152	6,95
362	1662	1652	α-Cadinol	Alcools III	Cadinanes	44,79	2,53	511774	0,15
720	1663		55 67 79 <b>93</b> 108 119 133 164 187 205	Inconnus		44,88	3,57	928461	0,27
721	1665		<b>55</b> 59 67 81 93 109 123 149 161 189 204	Inconnus		44,97	2,62	2202848	0,64
107	1665	1652	α-Eudesmol	Alcools III	Eudesmanes	44,97	2,88	13502182	3,92
108	1665	1649	β-Eudesmol	Alcools III	Eudesmanes	44,97	2,88		
164	1668		Sélin-11-én-4α-ol	Alcools III	Eudesmanes	45,25	3,01	686875	0,20
722	1670		77 <b>91</b> 105 119 133 175 218	Inconnus		45,44	2,31	3094169	0,90
723	1674		55 82 91 <b>109</b> 125 222	Inconnus		45,80	2,70	829293	0,24
724	1678		55 67 77 93 105 <b>121</b> 131 145 159 187 202 220	Inconnus		46,08	3,14	1494365	0,43
367	1680	1675	Cadalène	Hydrocarbures	Cadinanes	46,27	2,53	1737687	0,50
725	1680		<b>59</b> 91 105 119 147 162 220	Inconnus		46,27	3,18	482007	0,14
726	1682		59 79 93 107 119 137 <b>161</b> 189 204 222	Inconnus		46,45	2,44	745686	0,22
727	1682		déhydroValérianoïl	Alcools III	Erémophilanes	46,45	3,44	17429990	5,06
728	1685		Acorénone épimère	Cétones	Acoranes	46,73	2,14	618427	0,18
369	1687		déhydroJinkoh-érémol	Alcools III	Erémophilanes	46,91	3,49	1849304	0,54
729	1692		55 91 <b>108</b> 121 147 218	Inconnus		47,28	1,92	724787	0,21

#	RI <sup>a</sup> Calc.	RI <sup>b</sup> Litt.	Composé <sup>b</sup>	Classe Chimique	Famille	<sup>1</sup> tr (min)	<sup>2</sup> tr (s)	Volume	% <sup>c</sup> relatif
730	1692		<b>59</b> 81 105 119 147 161 204 222	Inconnus		47,28	2,66	1077058	0,31
731	1700		Eudesma-4,11-dién-9 $\alpha$ -ol	Alcools II	Eudesmanes	48,02	3,44	1544905	0,45
732	1703		<b>95</b> 107 133 147 176 218	Aldéhydes	Oppositanes	48,30	2,44	1253333	0,36
733	1708		Spirovétiva-7(11),10(14)-dién-1 $\beta$ -ol	Alcools I	Vétispiranes	48,76	3,66	4767322	1,38
734	1710		Isobaimuxinal	Aldéhydes	Eudesmanes	48,94	2,27	19750936	5,73
735	1722		55 68 77 91 109 <b>123</b> 136 161 179 194 204 222	Inconnus		49,96	4,05	1720970	0,50
736	1734		81 95 109 <b>123</b> 133 147 176 187 220	Inconnus		51,06	3,75	984505	0,29
737	1735		79 91 107 131 145 <b>159 187 202</b> 220 épimère A	Inconnus		51,16	3,75	2892216	0,84
738	1742		Spirovétiva-1(10),7(11)-dién-14-al	Aldéhydes	Vétispiranes	51,80	2,27	12792361	3,71
739	1748		Erémophila-9,11-dién-12-ol	Alcools I	Erémophilanes	52,36	4,58	1229175	0,36
740	1756		Séлина-3,11-dién-14-al	Aldéhydes	Eudesmanes	53,09	2,79	1058795	0,31
741	1765		79 91 107 131 145 <b>159 187 202</b> 220 épimère B	Inconnus		53,92	3,62	1039457	0,30
742	1769		Séлина-4,11-dién-14-al	Aldéhydes	Eudesmanes	54,29	2,53	1518940	0,44
743	1814		Dihydrokaranone	Cétones	Erémophilanes	58,08	3,23	9660214	2,80
450	1822	1822	$\beta$ -Vétivone	Cétones	Vétispiranes	58,72	3,57	281559	0,08
744	1836		Karanone	Cétones	Erémophilanes	59,83	4,01	921589	0,27
745	1923	1921	Palmitate de méthyle	Esters		65,27	0,44	1408016	0,41
746	1956	1959	Acide hexadécanoïque	Acides		66,47	0,57	2020443	0,58
747	1986	1992	Palmitate d'éthyle	Esters		67,21	0,48	1426850	0,41
748	2155		<b>55 67 81 82</b> 96 109 123 136 202 262	Inconnus		71,73	2,66	326893	0,09
						Total Alcools III			36,74
						Total Alcools II			0,45
						Total Alcools I			2,58
						Total Cétones			4,31
						Total Aldéhydes			10,90
						Total Ethers			12,04
						Total Acides			0,72
						<b>Total</b>			<b>67,72</b>
						Total Inconnus			10,39

<sup>a</sup> Indices de rétentions (RI) calculés par comparaison d'une série d'*n*-alcanes de C7–C24 via l'analyse GC  $\times$  GC–MS sur colonne VF-5ms. <sup>b</sup> Les principaux ions sont affichés pour les composés inconnus (les pics de base sont écrits en gras) et composés identifiés sur la base de leur spectre de masse et leur indice de rétention (RI) à partir des banques MS. <sup>c</sup> Quantification relative menée par GC  $\times$  GC–MS sur un seul échantillon d'huile essentielle d'agarwood.

## VI.5. Isolement et caractérisation des composés cibles

Pour étudier plus en détail la composition chimique de l'huile essentielle d'agarwood, celle-ci a été fractionnée sur une colonne de gel de silice classique en appliquant un gradient de solvant de polarité croissante pour une séparation optimale. Au total, vingt-trois fractions ont été obtenues et analysées par GC-MS sur phase stationnaire apolaire (HP-1) afin d'avoir une vision d'ensemble des composés séparés et de procéder à leur isolement. Lorsque c'était nécessaire, les fractions ont été à nouveau séparées sur gel de silice cette fois imprégné de nitrate d'argent. Les fractions et sous-fractions suffisamment enrichies en composés cibles ont été soumises à la GC semi-préparative afin de procéder à leur isolement. Un schéma de fractionnement résume la méthodologie adoptée (Figure 45).

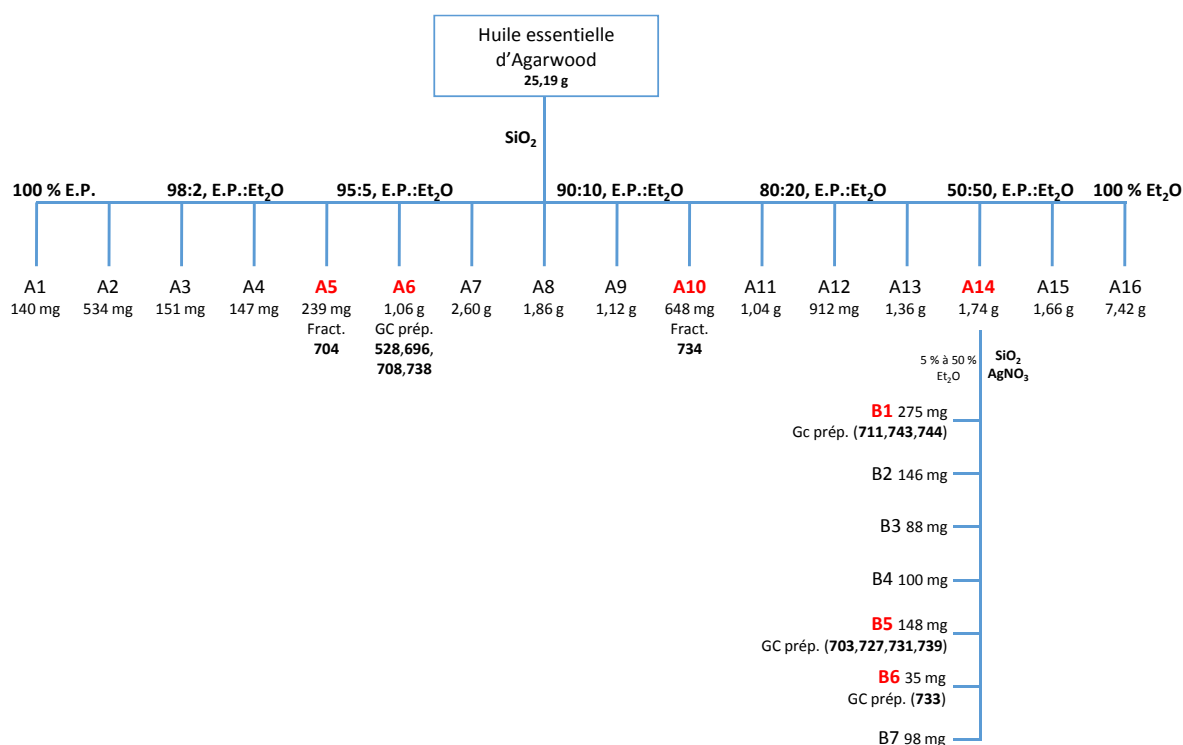


Figure 45. Méthodologie de fractionnement de notre échantillon d'huile essentielle d'agarwood.

Ainsi, la combinaison d'un fractionnement avancé de l'essence et l'utilisation de la GC semi-préparative a permis d'isoler le  $\beta$ -agarofurane (**696**), le 7,14-époxySpirovétiv-1(10)-ène (**708**), le déhydrovalencénol (**727**), le Spirovétiva-7(11),10(14)-dién-1 $\beta$ -ol (**733**), le Spirovétiva-1(10),7(11)-dién-14-al (**738**), l'éremophila-9,11-dién-12-ol (**739**), la

dihydrokaranone (**743**) et la karanone (**744**) déjà identifiés dans l'essence d'agarwood.<sup>10</sup> La fraction A5 contenant le 7,14-époxy Spirovétiva-1,10(14)-diène (**704**) a été directement soumise à l'analyse RMN. De façon similaire, l'isobaimuxinal (**734**) a été caractérisé par RMN à partir de la fraction A10. Ce fractionnement nous a permis de caractériser pour la première fois dans l'essence d'agarwood le spiroaxène (**528**), déjà présent dans l'essence de vétiver (Chapitre V), mais aussi un dérivé du nérolidol, le 3,6-époxyfarnésène-1,10-diène-7-ol (**703**) déjà décrit comme composé synthétique.<sup>26</sup> On note également la présence d'un composé **700** possédant un spectre de masse équivalent à celui de **703**. Toutefois, nous n'avons pas pu l'isoler. On caractérise également le copabornéol (**711**), déjà identifié dans plusieurs extraits naturels,<sup>27</sup> et l'eudesma-4,11-diène-9 $\beta$ -ol (**731**), déjà identifiés dans les espèces de *Marsupella*.<sup>28</sup> Ces deux composés sont décrits pour la première fois dans l'essence d'agarwood.

Au final, cette première investigation des fractions de l'essence d'agarwood a permis d'isoler quatorze composés dont deux encore jamais décrits dans cette essence. Toutefois, sur les dix-neuf composés « odorants » cibles (Tableau 37) nous isolons seulement trois odorants potentiels dont le spirovétiva-1(10),7(11)-diène-14-al (**738**), la karanone (**744**) et la dihydrokaranone (**743**), auquel se rajoute le déhydrojinkoh-érémol (**359**) isolé de l'essence de cyprès jaune d'Alaska (Chapitre IV). Afin de donner une première approche olfactive de cette essence, nous avons dans un premier temps mis en place un protocole AEDA pour notre échantillon et dans un second temps nous avons évalué olfactivement les quatre composés cibles isolés.

#### VI.6. Etude olfactive de l'essence d'agarwood et de ses fractions

La détermination des notes odorantes dans l'essence et ses fractions a été réalisée grâce à la GC–O et à la GC–O/MS. Le protocole AEDA a été mené par trois panélistes à partir d'une concentration initiale à 30,0 mg/mL dans le MTBE. Le Tableau 39 résume cette étude.

Ainsi, l'étude olfactométrique effectuée sur notre échantillon d'huile essentielle a permis de révéler une complexité olfactive extrêmement importante. En effet, plus de 50 zones odorantes communes aux panélistes sont détectées. Sachant que l'huile essentielle d'agarwood est connue pour ses notes animales, fumées et boisées,<sup>29</sup> il n'était pas étonnant de retrouver en nombre ces notes dans l'essence.



Tableau 39. Description olfactive partielle des constituants actifs de l'essence d'agarwood.

#	RI <sup>a</sup>	RI <sup>b</sup>	Composé <sup>b</sup>	Description de l'odeur <sup>c</sup>	Log <sub>2</sub> (FD) <sup>d</sup>			
	Calc.	Litt.			P1	P2	P3	M.A. <sup>d</sup>
1	869	869	2-Méthylfuran-3-thiol	Grillée, viande, noix	3	3	2	2,7
2	908	905	2-Furfurylthiol	Café, grillée	1	0	0	0,3
3	1058			Cuir, animale	0	4	5	3,0
4	1087	1087	Guaiacol	Fumée, phénolique, grillée	4	5	5	4,7
5	1099			Métallique, lourde	6	-	-	6,0
6	1110			Champignon, terreuse	1	3	3	2,3
7	1123			Agarwood, fruit pourri	7	7	8	7,3
8	1157	1165	4-Ethylphénol	Cuir	4	3	3	3,3
9	1186			Phénolique, animale	-	2	3	2,5
10	1210			Métallique	3	3	3	3,0
11	1245		Benzylacétone	Fruitée, balsamique, note de tête de l'agarwood	10	3	9	7,3
12	1249		4-Propylphénol	Cuir	10	10	7	9,0
13	1312		-	Riz cuit, métallique, friture	2	0	1	1,0
14	1328		-	Agarwood, fruit pourri, cannelle	4	6	7	5,7
15	1340		-	Champignon	0	-	3	1,5
16	1347		-	Poudrée, fruitée	7	4	2	4,3
17	1357	1356	Eugénol	Clou de girofle, épicée	5	4	4	4,3
18	1367		-	Clou de girofle, épicée	4	1	2	2,3
19	1391	1383	β-Damascénone	Fruitée, sucrée, prune	4	5	-	4,5
20	1398		-	Animale, indolique	2	4	4	3,3
21	1414		-	Herbeuse, <i>Pelargonium</i>	5	0	3	2,7
22	1426		-	Herbe, verte, moisie	2	2	1	1,7
23	1438		-	Marine, menthe	0	-	1	0,5
24	1450	1448	(E)-Isoeugénol	Clou de girofle, épicée	0	7	7	4,7
25	1470		-	Lait chaud, noix de coco, crémeuse	2	2	4	2,7
26	1494		-	Fruitée, poudrée, note de tête de l'agarwood	2	-	-	2,0
27	1502		Frambinone	Fruitée, bonbon	8	5	5	6,0
28	1539		-	Clou de girofle, eugénol	4	4	3	3,7
29	1548		Acide olibanique	Encens	3	2	3	2,7
30	1572		-	Fruitée, vétiver	2	2	1	1,7
31	1576		-	Fruitée, poudrée, type β-ionone	1	-	1	1,0
32	1606		-	Encens	0	0	1	0,3
33	1615		-	Fleur blanche	1	-	3	2,0
34	1640		-	Camphrée, patchouli	3	-	3	3,0
35	1653		-	Pamplemousse	-	1	2	1,5
36	1666		-	Muguet, florale	4	1	5	3,3
37	1683		-	Pamplemousse, amer, vétiver	4	4	3	3,7
38	1688		-	Camphrée, patchouli	4	3	2	3,0
39	1706		-	Fruit pourri, verte	2	1	5	2,7
40	1710		-	Fruitée, abricot sec, bois de gaïac	0	5	4	3,0
41	1728		-	Poivrée, rosée	-	11	12	11,5
42	1737		-	Sèche, fleurie, type jasmone	1	1	1	1,0
43	1742		-	Pamplemousse	0	1	1	0,7
44	1764		-	Myrrhe, type jasmone	5	-	7	6,0
45	1782		-	Rosée, type β-vétivone, bulnesol	7	2	6	5,0
46	1810		-	Myrrhe, champignon	5	-	6	5,5
47	1833		-	Sèche, boisée, animale	0	-	2	1,0
48	1847		dihydroKaranone	Rosée, note de fond de l'agarwood	12	2	13	9,0
49	1861		-	Myrrhe, type jasmone, anisée	8	-	7	7,5
50	1871		Karanone	Vétiver, boisée, agrume	1	-	4	2,5
51	1956		-	Friture, lourde, aldéhydée	2	1	2	1,7
52	1970		-	Musquée, type ambrettolide	4	2	2	2,7
53	2004		-	Friture, grasse, rance	1	-	1	1,0

<sup>a</sup> Indices de rétention (RI) calculés sur une série de *n*-alcanes en C7-C24 sur colonne DB-5. <sup>b</sup> Les composés ont été identifiés sur la base de leur spectre de masse, leur indice de rétention (RI) versus littérature ou par co-injection de composé de référence disponible dans le commerce ou de produit isolé. <sup>c</sup> Le protocole AEDA a été mené par trois panélistes afin d'évaluer les constituants d'impact odorant dans l'essence. <sup>d</sup> La moyenne arithmétique (M.A.) de Log<sub>2</sub>(FD) est donnée lorsque l'odeur est perçue par au moins 2 juges sur 3 sauf dans le cas de la note #5 qui influence beaucoup l'odeur du panéliste 1.

A la différence d'un bois de Santal où les deux composés majoritaires sont les composés odorants d'impact, on remarque ici qu'un nombre important de molécules est à l'origine de la complexité de l'odeur de l'essence d'agarwood. Alors que les notes animales, de cuir, épicées et fumées dominent la première partie du chromatogramme, les notes fleuries et agrumes sont présentes dans la seconde partie.

Parmi toutes ces odeurs, la note la plus importante dans ce mélange complexe est une odeur poivrée, légèrement rosée ( $\log_2(\text{FD})$  11,5), déjà identifiée dans l'essence de *C. pancheri*. Comme pour l'essence de *C. pancheri*, le panéliste P1 ne perçoit pas cette odeur poivrée et celle-ci n'a malheureusement pas pu être identifiée. En plus de cette note poivrée, on détecte une note de cuir puissante, que l'on attribue au 4-propylphénol ( $\log_2(\text{FD})$  9,0), mais aussi une note rosée qui définit en partie la note de fond de l'essence d'agarwood. L'odeur rosée a été attribuée à la présence de la dihydrokaranone (**743**,  $\log_2(\text{FD})$  9,0). Nous décrivons **743** comme ayant une odeur puissante de rose avec des nuances de citron-vert. Notre description est significativement différente de celle apportée par Ishihara et al. qui définissent **743** comme étant fortement boisée, camphrée avec une note de fumigation et de citron.<sup>10</sup> En plus de **743**, la karanone (**744**) dont l'impact est significativement moins prononcé que la dihydrokaranone (**743**) est décrite comme ayant une odeur boisée, vétiver avec des nuances d'agrumes. Cette cétone a été décrite comme étant élégante boisée, ambrée.<sup>10</sup> Parmi les autres molécules citées comme odorantes, on rapporte que le déhydrojinkoh éremol (**359**) décrit comme boisé/balsamique, le spirovétiva-1(10),7(11)-dién-14-al (**738**) décrit comme boisé/sucré/fumée typique de l'agarwood, et le spirovétiv-1(10)-ène (**708**) sont complètement inodores. Il est à noter que nous avons évalué olfactivement les composés à partir des fractions et des produits isolés purs.

## VI.7. Conclusion

Les prémices de ce travail nous permettent de montrer une complexité moléculaire et olfactive particulièrement importante pour notre échantillon d'agarwood. D'un point de vue chimique, cette essence est constituée de dérivés aromatiques, de sesquiterpènes et certains acides gras. Toutefois, notre investigation par GC × GC indique la présence de plus de 190 composés dont les sesquiterpènes sont les composés majoritaires. La recherche des odorants

d'impact de cet extrait nous a permis de démontrer que le déhydrojinkoh éremol, le spirovétiva-1(10),7(11)-dién-14-al et le 7,14-époxy Spirovétiv-1(10)-ène sont inodores et ne contribuent en rien à l'odeur caractéristique de notre échantillon. Nous définissons la dihydrokaranone et le 4-propylphénol comme les composés odorants d'impact de cet extrait. Il est important de noter que la note poivrée/rosée reste encore à identifier. Enfin, les descripteurs olfactifs avancés pour la dihydrokaranone et, dans une moindre mesure, de la karanone ne sont pas cohérents avec ceux de la littérature.

L'isolement et la caractérisation des composés « odorants » cibles ainsi que l'identification des notes typique agarwood et de la puissante note poivrée/rosée sont actuellement en cours.

## Partie expérimentale : Partie VI

Fractionnement de l'essence d'agarwood

25,19 g d'huile essentielle d'agarwood ont été fractionnés selon le protocole décrit en Figure 45. La fraction A14 (1,74 g) a été séparée sur gel de silice imprégné d'AgNO<sub>3</sub> (5 %, *m/m*) en plusieurs sous-fractions. Celles-ci ont été à nouveau fractionnées sur gel de silice imprégné d'AgNO<sub>3</sub> (5 %, *m/m*). Les sous-fractions significatives ont été regroupées pour être exploitées en GC semi-préparative. Les fractions A5, A6 et A10 ont été directement soumises à la GC prép..

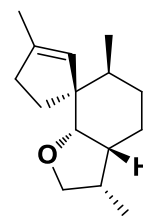
Description des produits isolés

Composé : Spiroaxène (**528**)

Indice de rétention : RI HP-1 : 1584

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>30</sup>

<sup>1</sup>H (400 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ 5,16 (h, *J* = 1,7 Hz, 1H), 3,87 (dd, *J* = 8,9, 7,9 Hz, 1H), 3,62 (d, *J* = 3,1 Hz, 1H), 3,39 (dd, *J* = 9,9, 7,8 Hz, 1H), 2,51–2,37 (m, 1H), 2,27–2,12 (m, 3H), 2,07–1,94 (m, 1H), 1,90 (ddt, *J* = 13,8, 7,0, 3,6 Hz, 1H), 1,66 (q, *J* = 1,3 Hz, 3H), 1,61 (td, *J* = 5,8, 3,0 Hz, 1H), 1,41 (dq, *J* = 9,5, 3,1 Hz, 1H), 1,27 (tt, *J* = 6,9, 3,2 Hz, 2H), 1,14 (tt, *J* = 11,4, 3,0 Hz, 2H), 0,91 (d, *J* = 6,9 Hz, 3H), 0,73 (d, *J* = 6,9 Hz, 3H)



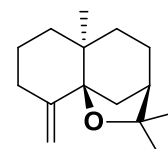
<sup>13</sup>C (101 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ 142,73, 126,84, 87,84, 71,65, 56,73, 40,48, 38,12, 36,98, 35,07, 33,53, 31,25, 22,38, 16,95, 16,84, 11,95

Composé : β-Agarofurane (**696**)

Indice de rétention : RI HP-1 : 1466

Données spectroscopiques :

<sup>1</sup>H (400 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ 4,75 (dt, *J* = 51,1, 1,7 Hz, 2H), 2,81–2,65 (m, 1H), 2,16 (dddd, *J* = 14,7, 12,4, 4,5, 2,3 Hz, 2H), 1,99 (td, *J* = 13,3, 4,4 Hz, 1H), 1,76 (td, *J* = 13,3, 6,9 Hz, 1H), 1,64 (q, *J* = 3,7 Hz, 1H), 1,60–1,37 (m, 5H), 1,32 (s, 3H), 1,22–1,15 (m, 1H), 1,14 (s, 3H), 1,11 (q, *J* = 2,9 Hz, 1H), 0,86 (s, 3H)



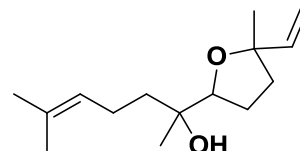
$^{13}\text{C}$  (101 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  151,30, 107,25, 87,35, 81,35, 44,16, 40,40, 38,54, 35,51, 34,30, 34,27, 31,09, 25,27, 23,86, 23,27, 22,49

Composé : 3,6-époxyfarnesa-1,10-diène-7-ol (**703**)

Indice de rétention : RI HP-1 : 1558

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>26</sup>

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 238  $[\text{M}]^{++}$  (1), 223 (2), 187 (1), 155 (6), 138 (16), 127 (11), 111 (22), 109 (100), 108 (14), 93 (24), 83 (12), 81 (13), 69 (68), 55 (24), 43 (43), 41 (30)



$^1\text{H}$  (400 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  5,85 (1H, dd,  $J = 17,4, 10,8$  Hz, H-2), 5,26 (1H, tt,  $J = 7,3, 1,5$  Hz, H-10), 5,14 (1H, dd,  $J = 17,4, 1,5$  Hz, H-1a), 4,87 (1H, dd,  $J = 10,8, 1,5$  Hz, H-1b), 3,74 (1H, dd,  $J = 8,5, 6,3$  Hz, H-6), 2,34 (1H, dq,  $J = 12,4, 6,6, 6,0$  Hz, H-9a), 2,13 (1H, dq,  $J = 13,1, 6,4$  Hz, H-9b), 1,90–1,81 (1H, m, H-5a), 1,72–1,63 (2H, m, H-4a, H-8a), 1,68 (3H, d,  $J = 1,4$  Hz, H-12), 1,60 (3H, d,  $J = 1,2$  Hz, H-13), 1,57–1,51 (1H, m, H-5b), 1,48–1,39 (2H, m, H-4b, H-8b), 1,29 (3H, s, H-14), 1,20 (3H, s, H-15)

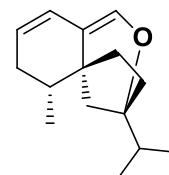
$^{13}\text{C}$  (101 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  144,94, 131,15, 125,57, 111,34, 85,34, 82,51, 72,63, 38,48, 38,19, 26,31, 26,13, 25,89, 24,38, 22,68, 17,70

Composé : 7,14-Epoxy Spirovétiva-1,10(14)-diène (**704**)

Indice de rétention : RI HP-1 : 1553

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>13</sup>

$^1\text{H}$  (400 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  6,33 (s, 1H), 5,94 (dd,  $J = 9,7, 2,9$  Hz, 1H), 5,44–5,36 (m, 1H), 2,28 (ddt,  $J = 17,1, 5,4, 2,6$  Hz, 1H), 2,04–1,97 (m, 2H), 1,87–1,75 (m, 2H), 1,67 (dd,  $J = 13,7, 6,9$  Hz, 1H), 1,64–1,55 (m, 2H), 1,23–1,15 (m, 1H), 1,14–1,09 (m, 1H), 1,01 (d,  $J = 7,0$  Hz, 6H), 0,91 (d,  $J = 7,0$  Hz, 3H)



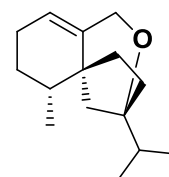
$^{13}\text{C}$  (101 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  141,33, 123,72, 118,81, 118,50, 89,88, 45,40, 40,87, 40,82, 36,49, 35,86, 34,37, 31,22, 18,00, 17,79, 17,51

Composé : 7,14-Epoxy Spirovétiva-1(10)-ène (**708**)

Indice de rétention : RI HP-1 : 1589

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>13</sup>

$^1\text{H}$  (400 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  4,98 (d,  $J = 4,5$  Hz, 1H), 4,11–3,95 (m, 1H), 3,84 (d,  $J = 12,8$  Hz, 1H), 1,69–1,55 (m, 3H), 1,46–1,39 (m, 1H), 1,35–1,27 (m,



$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  1,28–1,20 (m, 3H), 1,13–1,03 (m, 3H), 0,99 (d,  $J = 11,0$  Hz, 1H), 0,89 (d,  $J = 6,8$  Hz, 3H), 0,83 (d,  $J = 6,8$  Hz, 3H), 0,59 (d,  $J = 6,8$  Hz, 3H)

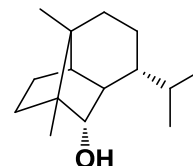
$^{13}\text{C}$  (101 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  116,68, 87,19, 67,14, 47,76, 41,92, 36,60, 35,18, 34,56, 32,24, 29,50, 24,31, 18,49, 17,88, 16,15

Composé : Copabornéol (**711**)

Indice de rétention : RI HP-1 : 1598

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>31</sup>

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 222 [ $\text{M}]^{+}$  (8), 207 (15), 204 (44), 191 (20), 189 (21), 179 (22), 161 (100), 135 (17), 133 (17), 119 (40), 109 (77), 105 (41), 95 (72), 93 (34), 91 (33), 81 (36), 67 (24), 55 (25), 41 (34)



$^1\text{H}$  (500 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  3,28 (1H, s, H-5), 2,01 (1H, ddd,  $J = 12,9, 9,0, 3,8$  Hz, H-3a), 1,71–1,63 (1H, m, H-2a), 1,50 (1H, d,  $J = 5,2$  Hz, H-1), 1,38–1,29 (3H, m, H-11, H-6, H-8a), 1,27–1,23 (1H, m, H-9a), 1,22–1,17 (2H, m, H-2b, H-3b), 1,14–1,10 (1H, m, H-9b), 1,09–1,04 (2H, m, H-7, H-8b), 0,91 (3H, d,  $J = 6,7$  Hz, H-12), 0,86 (3H, d,  $J = 6,7$  Hz, H-13), 0,84 (3H, s, H-15), 0,80 (3H, s, H-14)

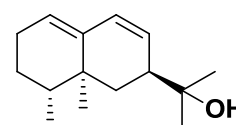
$^{13}\text{C}$  (126 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  85,86, 52,40, 50,27, 49,34, 49,09, 41,82, 32,27, 29,19, 26,42, 25,35, 24,02, 21,11, 20,70, 19,90, 13,65

Composé : déhydroValérianol (**727**)

Indice de rétention : RI HP-1 : 1654

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>13</sup>

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 220 [ $\text{M}]^{+}$  (1), 202 (4), 187 (3), 162 (100), 147 (70), 133 (12), 119 (23), 106 (33), 105 (56), 91 (43), 77 (10), 59 (83)



$^1\text{H}$  (400 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  6,12 (1H, dd,  $J = 10,1, 2,7$  Hz, H-8), 5,75 (1H, d,  $J = 10,1$  Hz, H-9), 5,42 (1H, t,  $J = 3,9$  Hz, H-1), 2,30–2,19 (1H, m, H-7), 2,09–1,99 (2H, m, H-2ab), 1,86 (1H, ddd,  $J = 12,6, 5,2, 1,5$  Hz, H-6a), 1,54–1,47 (1H, m, H-3a), 1,44–1,34 (2H, m, H-4, H-3b), 1,05 (3H, s, H-12), 1,03 (3H, s, H-13), 1,03–0,98 (1H, m, H-6b), 0,94 (3H, s, H-14), 0,85 (3H, d,  $J = 6,5$  Hz, H-15)

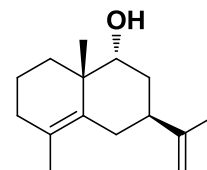
$^{13}\text{C}$  (101 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  141,58, 130,76, 126,24, 124,18, 72,20, 45,39, 39,11, 36,39, 35,80, 27,92, 27,18, 26,36, 26,08, 18,14, 15,87

Composé : Eudesma-4,11-dién-9 $\alpha$ -ol (**731**)

Indice de rétention : RI HP-1 : 1677

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>28</sup>

EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 220 [M]<sup>+</sup> (56), 202 (22), 187 (22), 176 (42), 161 (36), 147 (26), 145 (25), 133 (20), 123 (100), 119 (30), 109 (51), 105 (52), 97 (67), 91 (48), 81 (59), 79 (35), 67 (24), 55 (23), 44 (32), 41 (32)



<sup>1</sup>H (400 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  4,82 (2H, d,  $J = 12,0$  Hz, H-12ab), 3,20 (1H, dd,  $J = 11,4, 4,3$  Hz, H-9), 2,62–2,50 (1H, m, H-6a), 1,96–1,75 (5H, m, H-3a, H-7, H-6b, H-3b, H-1a), 1,72–1,67 (1H, m, H-8a), 1,66 (3H, s, H-13), 1,55 (3H, s, H-15), 1,51 (3H, ddt,  $J = 9,7, 4,9, 2,1$  Hz, H-2ab, H-8b), 1,39 (1H, ddd,  $J = 12,6, 10,0, 5,4$  Hz, H-1b), 1,05 (3H, s, H-14)

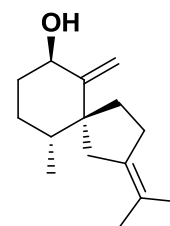
<sup>13</sup>C (101 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  149,27, 133,84, 127,18, 109,17, 78,70, 43,76, 40,53, 36,61, 36,37, 33,38, 30,48, 20,81, 19,92, 19,25, 18,02

Composé : Spirovétiva-7(11),10(14)-dién-1 $\beta$ -ol (**733**)

Indice de rétention : RI HP-1 : 1684

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>13</sup>

<sup>1</sup>H (400 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  5,08 (s, 1H), 4,85 (d,  $J = 1,5$  Hz, 1H), 4,03 (dd,  $J = 6,9, 3,9$  Hz, 1H), 2,39–2,18 (m, 4H), 2,08–2,00 (m, 1H), 1,82 (dtdd,  $J = 11,7, 8,6, 5,8, 3,5$  Hz, 2H), 1,65 (d,  $J = 1,9$  Hz, 3H), 1,64–1,63 (m, 1H), 1,62 (s, 3H), 1,45 (tdd,  $J = 12,1, 7,4, 3,4$  Hz, 2H), 1,20–1,12 (m, 1H), 0,78 (d,  $J = 6,9$  Hz, 3H)



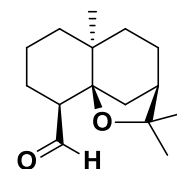
<sup>13</sup>C (101 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  154,48, 135,15, 120,80, 108,26, 72,45, 52,16, 40,58, 38,50, 35,97, 33,14, 29,10, 28,19, 21,16, 20,98, 16,07

Composé : Isobaimuxinal (**734**)

Indice de rétention : RI HP-1 1671

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>14</sup>

<sup>13</sup>C (101 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  205,83, 85,25, 81,79, 51,27, 43,22, 38,36, 37,55, 35,71, 35,44, 30,16, 24,84, 24,10, 23,02, 22,89, 20,05



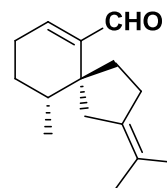
Composé : Spirovétiva-1(10),7(11)-dién-14-al (**738**)

Indice de rétention : RI HP-1 : 1717

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>13</sup>

<sup>1</sup>H (400 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ 9,25 (s, 1H), 6,04 (t, *J* = 3,9 Hz, 1H), 3,05–2,93 (m, 1H), 2,58–2,46 (m, 1H), 2,43–2,26 (m, 2H), 2,24 (d, *J* = 16,1 Hz, 1H), 1,82 (dddd, *J* = 20,1, 7,7, 6,0, 3,7 Hz, 1H), 1,77–1,68 (m, 1H), 1,65–1,60 (m, 6H), 1,48 (ddd, *J* = 8,8, 4,4, 1,6 Hz, 1H), 1,43–1,40 (m, 1H), 1,38–1,34 (m, 1H), 1,11 (dp, *J* = 12,7, 6,1 Hz, 1H), 0,72 (d, *J* = 6,9 Hz, 3H)

<sup>13</sup>C (101 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ 194,01, 151,88, 146,52, 136,28, 120,19, 47,04, 37,23, 36,72, 36,06, 29,81, 26,47, 24,49, 21,20, 21,08, 15,52



Composé : Erémophila-9,11-diène-12-ol (**739**)

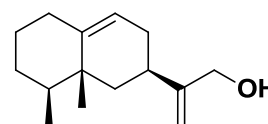
Indice de rétention : RI HP-1 : 1725

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>13</sup>

EIMS (70 eV) *m/z* (int. rel.): 220 [M]<sup>++</sup> (14), 205 (29), 187 (26), 161 (24), 147 (49), 145 (37), 131 (38), 121 (33), 119 (27), 105 (100), 93 (36), 91 (61), 79 (31), 77 (27), 67 (15), 55 (21), 41 (26)

<sup>1</sup>H (400 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ 5,38 (1H, dt, *J* = 6,2, 1,9 Hz, H-9), 5,09–4,84 (2H, m, H-13ab), 3,88 (2H, s, H-12ab), 2,27–2,15 (2H, m, H-7, H-1a), 2,02–1,86 (4H, m, H-6a, H-8ab, H-1b), 1,73–1,60 (2H, m, H-2a, H-4), 1,43–1,26 (3H, m, H-3ab, H-2b), 1,18 (1H, t, *J* = 13,0 Hz, H-6b), 0,90 (3H, m, H-14), 0,74 (3H, d, *J* = 6,7 Hz, H-15)

<sup>13</sup>C (101 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ 154,05, 146,32, 118,51, 107,65, 65,34, 40,59, 39,01, 33,90, 32,71, 32,39, 31,68, 29,62, 20,90, 15,92



Composé : dihydroKaranone (**743**)

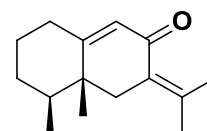
Indice de rétention : RI HP-1 : 1780

Données spectroscopiques : En accord avec la littérature<sup>32</sup>

EIMS (70 eV) *m/z* (int. rel.): 218 [M]<sup>++</sup> (100), 203 (28), 189 (6), 175 (30), 162 (33), 161 (82), 147 (68), 133 (22), 121 (20), 119 (19), 105 (21), 91 (32), 77 (20), 67 (9), 55 (10), 41 (23)

<sup>1</sup>H (400 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ 5,91 (t, *J* = 1,2 Hz, 1H), 2,68 (d, *J* = 13,7 Hz, 1H), 2,27 (d, *J* = 2,1 Hz, 3H), 1,96 (d, *J* = 13,7 Hz, 1H), 1,91–1,79 (m, 2H), 1,55 (d, *J* = 1,4 Hz, 3H), 1,49–1,38 (m, 1H), 1,24–0,99 (m, 4H), 0,71 (d, *J* = 2,5 Hz, 3H), 0,67 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H)

<sup>13</sup>C (101 MHz, Benzène-*d*<sub>6</sub>) δ 190,74, 166,35, 141,08, 128,67, 127,06, 42,55, 41,84, 41,32, 32,42, 30,73, 26,73, 22,71, 21,74, 16,04, 15,50

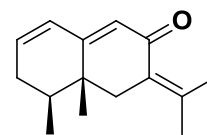




Composé : Karanone (744)

Indice de rétention : RI HP-1 : 1795

Données spectroscopiques :



EIMS (70 eV)  $m/z$  (int. rel.): 216  $[M]^{+•}$  (100), 201 (34), 173 (20), 159 (25), 145 (26), 133 (18), 131 (22), 128 (22), 115 (23), 105 (23), 91 (30), 77 (22), 65 (12), 53 (10), 41 (22)

$^1\text{H}$  (400 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  5,93 (s, 1H), 5,82 (dd,  $J = 9,8, 2,6$  Hz, 1H), 5,69 (ddd,  $J = 9,6, 5,5, 2,6$  Hz, 1H), 2,70 (d,  $J = 13,6$  Hz, 1H), 2,33 (d,  $J = 2,2$  Hz, 3H), 1,93 (d,  $J = 13,6$  Hz, 1H), 1,75–1,61 (m, 2H), 1,56 (d,  $J = 1,6$  Hz, 3H), 1,44–1,35 (m, 1H), 0,76 (d,  $J = 0,9$  Hz, 3H), 0,63 (d,  $J = 6,8$  Hz, 3H)

$^{13}\text{C}$  (101 MHz, Benzène- $d_6$ )  $\delta$  190,45, 159,29, 148,09, 143,14, 136,19, 128,71, 126,95, 40,05, 38,65, 37,77, 32,45, 23,16, 22,32, 15,44, 14,34

## Références

- (1) Rogers Z. S., A World Checklist of Thymelaeaceae, *Missouri Botanical Garden, St. Louis*, **2009**.
- (2) Mohamed R. *Agarwood - Science Behind the Fragrance*; Springer Singapore, **2016**.
- (3) Gratzfeld J., Tan B., Agarwood - saving a precious and threatened resource, *Botanic Gardens Conservation International*, **2008**, 5.
- (4) Piper I., <http://www.bbc.com/travel/story/20170306-the-scent-thats-pricier-than-gold>, **2017**.
- (5) CITES, Report on NDF of agarwood for sustainability harvest in Indonesia, <https://cites.org/eng/node/17934>, **2009**.
- (6) CoP16 C.-. Convention on international trade in endangered species of wild fauna and flora - Proposed guidance for making non-detriment findings for agarwood-producing species, **2013**.
- (7) Loc H. T., Luu N. D. T., Conservation and use of *Aquilaria crassna* in Vietnam : A case study, *Forestry Research Support Programme for Asia and the Pacific*, **2002**.
- (8) T L.-a., Hong L., Rao R., H.C S., S. E. D. *Forest genetic resources conservation and management. Proceeding for Asia Pacific Forest Genetic Resources Programme (APFORGEN)*, **2004**.
- (9) list I. r., <https://www.iucnredlist.org/search?query=Agarwood&searchType=species>.
- (10) Naef R., The volatile and semi-volatile constituents of agarwood, the infected heartwood of *Aquilaria* species: a review, *Flavour Fragr. J.*, **2011**, 26, 73.
- (11) <https://www.finance-sales.fr/wp-content/uploads/APC/apc-bois-d-agar-brochure.pdf>.
- (12) Ichikawa N., Yo H., On the Odorous Principles of *Liguum Aloe*, *Nippon Kagaku Kaishi*, **1939**, 60, 1247.
- (13) Näf R., Velluz A., Brauchli R., Thommen W., Agarwood oil (*Aquilaria agallocha* Roxb.). Its composition and eight new valencane-, eremophilane- and vetispirane- derivatives, *Flavour Fragr. J.*, **1995**, 10, 147.
- (14) Näf R., Velluz A., Thommen W., Brauchli R., Sigwart C., Gaudin J.-M., New compounds identified in agarwood (*Aquilaria agallocha* Roxb.), *Flavour Fragr. J.*, **1993**, 8, 307.
- (15) Näf R., Velluz A., Busset N., Gaudin J.-M., New nor-sesquiterpenoids with 10-epi-eudesmane skeleton from agarwood (*Aquilaria agallocha* Roxb.), *Flavour Fragr. J.*, **1992**, 7, 295.
- (16) Nakanishi T., Yamagata E., Yoneda K., Miura I., Jinkohol, a prezizane sesquiterpene alcohol from agarwood, *Phytochemistry*, **1981**, 20, 1597.
- (17) Nakanishi T., Yamagata E., Yoneda K., Nagashima T., Kawasaki I., Yoshida T., Mori H., Miura I., Three fragrant sesquiterpenes of agarwood, *Phytochemistry*, **1984**, 23, 2066.
- (18) Ishihara M., Masatsugu Y., Uneyama K., Preparation of (–)-guaia-1(10),11-dien-15,2-olide and (–)-2 $\alpha$ -hydroxyguaia-1(10),11-dien-15-oic acid, fragrant sesquiterpenes in agarwood (*Aquilaria agallocha* Roxb.), *Tetrahedron*, **1992**, 48, 10265.
- (19) Ishihara M., Tsuneya T., Uneyama K., Guaiane sesquiterpenes from agarwood, *Phytochemistry*, **1991**, 30, 3343.
- (20) Ishihara M., Tsuneya T., Shiga M., Uneyama K., Three sesquiterpenes from agarwood, *Phytochemistry*, **1991**, 30, 563.
- (21) Yoneda K., Yamagata E., Nakanishi T., Nagashima T., Kawasaki I., Yoshida T., Mori H., Miura I., Sesquiterpenoids in two different kinds of agarwood, *Phytochemistry*, **1984**, 23, 2068.
- (22) Ishihara M., Tsuneya T., Uneyama K., Components of the Volatile Concentrate of Agarwood, *J. Essent. Oil Res.*, **1993**, 5, 283.
- (23) Ishihara M., Tsuneya T., Uneyama K., Fragrant sesquiterpenes from agarwood, *Phytochemistry*, **1993**, 33, 1147.

- (24) Ueda J.-y., Imamura L., Tezuka Y., Tran Q. L., Tsuda M., Kadota S., New sesquiterpene from Vietnamese agarwood and its induction effect on brain-derived neurotrophic factor mRNA expression in vitro, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2006**, *14*, 3571.
- (25) Kaiser R., In Meaningful Scents around the World, *Verlag Helvetica Chimica Acta: Zürich*, **2006**, 59.
- (26) Holmes D. S., Ashworth D. M., Robinson J. A., The Bioconversion of (3RS,E)- and (3RS,Z)-Nerolidol into Oxygenated Products by *Streptomyces cinnamonensis*. Possible Implications for the Biosynthesis of the Polyether Antibiotic Monensin A?, *Helv. Chim. Acta*, **1990**, *73*, 260.
- (27) Kolbe M., Westfelt L., Copaborneol, the major sesquiterpene alcohol in *Pinus sylvestris* wood and sulfate turpentine, *Acta Chem. Scand.*, **1967**, *21*, 585.
- (28) Martins Adio A., Paul C., König W. A., Muhle H., Volatile components from European liverworts *Marsipella emarginata*, *M. aquatica* and *M. alpina*, *Phytochemistry*, **2002**, *61*, 79.
- (29) Pripdeevech P., Khummueng W., Park S.-K., Identification of Odor-active Components of Agarwood Essential Oils from Thailand by Solid Phase Microextraction-GC/MS and GC-O, *J. Essent. Oil Res.*, **2011**, *23*, 46.
- (30) Weyerstahl P., Marschall H., Splittgerber U., Wolf D., New Sesquiterpene Ethers from Vetiver Oil, *Liebigs Annalen*, **1996**, *1996*, 1195.
- (31) Garms S., Köllner T. G., Boland W., A Multiproduct Terpene Synthase from *Medicago truncatula* Generates Cadalane Sesquiterpenes via Two Different Mechanisms, *J. Org. Chem.*, **2010**, *75*, 5590.
- (32) Schenato R. A., dos Santos É. M., Tenius B. S. M., Costa P. R. R., Caracelli I., Zukerman-Schpector J., A practical and efficient preparation of (–)-(4aS,5R)-4,4a,5,6,7,8-hexahydro-4a,5-dimethyl-2(3H)-naphthalenone: a key intermediate in the synthesis of (–)-dehydrofukinone, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2001**, *12*, 579.

## Conclusion

Tout au long de cette thèse, nous nous sommes appliqués à réaliser l'étude analytique de six matières premières à odeur boisée couramment utilisées par l'industrie de la parfumerie, incluant également une étude sur l'acétate de vétivéryle et sur le Clearwood™, l'équivalent biosynthétique de l'essence de Patchouli. Ces travaux se sont appuyés sur l'utilisation de techniques analytiques modernes de chromatographie. Le pouvoir de séparation et de résolution de la chromatographie en phase gazeuse bidimensionnelle intégrale nous a permis une meilleure compréhension des échantillons à l'étude et de les quantifier de façon précise. Grâce à la chromatographie en phase gazeuse semi-préparative nous avons pu isoler les composés minoritaires présents dans ces mélanges complexes que sont les huiles essentielles. Toutefois, que ce soit par distillation, par fractionnement sur gel de silice, par extraction liquide/liquide, ou encore par d'autres procédés, la préparation de l'échantillon n'est pas à négliger et fait partie intégrante du processus d'isolement des composés. Enfin, la chromatographie en phase gazeuse couplée à l'olfactométrie nous a permis d'une part, d'évaluer la puissance des composés présents dans les essences via des protocoles de type AEDA et d'autre part, de déterminer l'odeur des composés isolés.

Ainsi, à la fin de ces trois années de thèse, nous dressons une composition chimique précise de l'essence de bois de gaïac, de l'essence de bois d'araucaria, de l'essence de patchouli et de son équivalent biosynthétique le Clearwood™, de l'essence de bois de cyprès jaune d'Alaska, de l'essence de Vétiver et de son équivalent acétylé, ainsi qu'une étude préliminaire de l'essence d'agarwood. L'ensemble des travaux analytiques a conduit à l'isolement et la caractérisation de plus de 185 molécules, principalement sesquiterpéniques. La rationalisation des voies potentielles de formation, biosynthétiques ou chimiques, des composés isolés et identifiés dans ces essences boisées nous ont permis d'appuyer les résultats analytiques obtenus mais aussi de proposer des synthèses simples à partir de précurseurs naturellement présents dans ces extraits.

D'un point de vue olfactif, nous donnons une description olfactive pour l'ensemble de ces matières premières. Il ressort de ces études que deux classes d'odorants constituent et définissent la famille des boisés. D'une part, les sesquiterpènes apportent généralement aux essences des notes fleuries, d'agrumes ou typiques de l'essence comme les zizaénones dans le vétiver ou le patchoulol pour le patchouli. D'autre part, les dérivés aromatiques, tels que le 4-

isopropylphénol ou la vanilline, sont très importants pour l'odeur globale de ces extraits. Ainsi, la famille des boisés peut être définie par la présence quasi exclusive de dérivés sesquiterpéniques et par la présence de dérivés phénoliques, issus de la dégradation de la matrice végétale, la lignine.

Dans l'optique de valoriser ces extraits et leurs écarts, ces résultats sont une base solide pour définir, dans un premier temps, les molécules odorantes d'intérêt et, dans un second temps, pour définir des voies potentielles d'accès à ces molécules-cibles. Toutefois, l'immense richesse olfactive de ces essences n'a pas été exploitée dans son intégralité (cas de l'agarwood par exemple). En effet, nous pensons que des composés naturels et odorants présents à l'état de trace peuvent être très intéressants dans l'optique d'une future valorisation.

La famille des boisés n'a pas encore délivrée tous ses secrets.

## Partie expérimentale

Chromatographie en phase gazeuse équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (GC-FID) sous contrôle d'une station de travail Agilent ChemStation D.02.00

- Modèle : Agilent 6890A
- Colonne capillaire : RTX-5 (10 m × 180 µm ; 0,1 µm)
- Gaz vecteur : H<sub>2</sub>
- Programmation de température : 120 °C à 250 °C (10 °C /min)
- Injection : 0,1–1 µL
- Injecteur split/splitless

Couplage Chromatographie en phase gazeuse–Spectrométrie de masse/Olfactométrie (GC-MS/O) sous contrôle d'une station de travail Agilent ChemStation D.02.00

- Modèle : Agilent 6890A/5973A-phaser OP275
- Colonnes capillaires : VF-1ms (50 m × 250 µm ; 0,25 µm), VF-5ms (30 m × 250 µm ; 0,5 µm), HP-Innowax (30 m × 250 µm ; 0,2 µm)
- Ration FID/O ~1/10
- Gaz vecteur : He
- Diviseur d'effluents : Splitter Gerstel graphpack cross-3D
- Programmation de température variable, usuellement 100 °C (5 min isoth.) à 250 °C (10 °C/min)
- Injection : 1 µL
- Injecteur split/splitless

Couplage Chromatographie en phase gazeuse–Olfactométrie/FID

- Modèle : Shimadzu GC – 2010/OP275
- Colonne capillaire : DB-5 (50 m × 320 µm ; 0,5µm)
- Diviseur d'effluents : Splitter Shimadzu purge
- Ration FID/O ~1/10
- Gaz vecteur : N<sub>2</sub>
- Programmation de température : 100 °C à 250 °C (5 °C/min)
- Injection : 1 µL
- Injecteur split/splitless

Couplage Chromatographie en phase gazeuse bidimensionnelle intégrale–MS/FID sous contrôle d'une station de travail Agilent ChemStation E.01.00

- Modèle : Agilent 6890N/5973N équipé d'un kit Zoex type 2
- Colonne capillaire apolaire #1 : VF-5ms (30 m × 250 µm ; 0,2 µm)
- Colonne capillaire polaire #2 : DB-Wax (1,25 m × 100 µm ; 0,1 µm)
- Gaz vecteur : He
- Programmation de température #1 (MS)

Colonne #1 : 60 °C (10 °C/min) – 140 °C (1 °C/min) – 188 °C (2 °C/min) – 200 °C (20 °C/min) – 250 °C

Colonne #2 : 60 °C (10 °C/min) – 140 °C (1,25 °C/min) – 150 °C (3 °C/min) – 250 °C

- Programmation de température #2 (FID)  
Colonne #1 : 40 °C (10 °C/min) – 140 °C (1 °C/min) – 188 °C (2 °C/min) – 200 °C (20 °C/min) – 250 °C  
Colonne #2 : 60 °C (10 °C/min) – 140 °C (1,25 °C/min) – 150 °C (3 °C/min) – 250 °C
- Injection : 0,3 µL
- Injecteur split/splitless

Chromatographie en phase gazeuse semi-préparative–FID couplée à un collecteur de fraction (PFC) sous contrôle d'une station de travail Chemstation Rev A.10.02/Gerstel Maestro 1.3.8.14

- Modèle : Agilent 6890Plus
- Collecteur de fraction Gerstel PFC
- Ration FID/PFC ~92/8
- Colonnes capillaires : HP-1 (30 × 530 µm ; 5,0 µm), ZB-5 (30 m × 530 µm ; 3,0 µm), HP-Innowax (30 m × 530 µm ; 1,0 µm)
- Gaz vecteur : H<sub>2</sub>
- Programmation de température variable en fonction des analytes à séparer
- Injection : 1,0 µL
- Injecteur split/splitless
- Nombres de run 200 et 500, échantillon ~40–60 mg/mL

Résonance magnétique nucléaire : 400 MHz

- Modèle : Bruker AVANCE III nanoHD spectrometer
- Sonde : Dual BBO ATMA
- Tubes RMN 5 mm Norell<sup>®</sup> 500 MHz
- Solvants utilisés : Benzène-*d*<sub>6</sub>, CDCl<sub>3</sub>, DMSO-*d*<sub>6</sub>

Résonance magnétique nucléaire : 500 MHz

- Modèle : BRUKER DRX 500
- Sondes : 5 mm PADUL <sup>13</sup>C-<sup>1</sup>H Z-GRD et 5 mm PHTXI <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C/<sup>15</sup>N Z-GRD (inverse)
- Tubes RMN 5 mm Norell<sup>®</sup> 500 MHz pour les composés 2 mg–10 mg
- Tubes RMN 2,5 mm Norell<sup>®</sup> microbore
- Solvants utilisés : Benzène-*d*<sub>6</sub>, CDCl<sub>3</sub>, DMSO-*d*<sub>6</sub>