



HAL
open science

Modifications chimiques d'extraits naturels de plantes alpines : approche orientée vers la diversité

Aurélien Beato

► **To cite this version:**

Aurélien Beato. Modifications chimiques d'extraits naturels de plantes alpines : approche orientée vers la diversité. Biochimie [q-bio.BM]. Université Grenoble Alpes [2020-..], 2022. Français. NNT : 2022GRALV085 . tel-04074705

HAL Id: tel-04074705

<https://theses.hal.science/tel-04074705v1>

Submitted on 19 Apr 2023

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.

THÈSE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ GRENOBLE ALPES

École doctorale : CSV- Chimie et Sciences du Vivant

Spécialité : Chimie Biologie

Unité de recherche : Département de Pharmaco chimie Moléculaire

**Modifications chimiques d'extraits naturels de plantes alpines :
approche orientée vers la diversité**

**Chemically-engineered extracts of alpine plants : diversity-oriented
approach**

Présentée par :

Aurélien BEATO

Direction de thèse :

Marine PEUCHMAUR
MCF, Université Grenoble Alpes
Benjamin BOUCHERLE
Université Grenoble Alpes

Directrice de thèse

Co-encadrant de thèse

Rapporteurs :

Sandy DESRAT
CHARGE DE RECHERCHE HDR, CNRS délégation Ile-de-France Sud
Ludovic MAILLARD
MAITRE DE CONFERENCE HDR, Université de Montpellier

Thèse soutenue publiquement le **6 décembre 2022**, devant le jury composé de :

Marine PEUCHMAUR MAITRE DE CONFERENCES HDR, Université Grenoble Alpes	Directrice de thèse
Sandy DESRAT CHARGE DE RECHERCHE HDR, CNRS délégation Ile-de-France Sud	Rapporteur
Ludovic MAILLARD MAITRE DE CONFERENCE HDR, Université de Montpellier	Rapporteur
Sylvie DUCKI PROFESSEUR DES UNIVERSITES, Université Clermont Auvergne	Examinatrice
Jean-François POISSON PROFESSEUR DES UNIVERSITES, Université Grenoble Alpes	Président
Denis SERAPHIN PROFESSEUR DES UNIVERSITES, Université d'Angers	Examineur

Invités :

Benjamin BOUCHERLE
MAITRE DE CONFERENCE, Université Grenoble Alpes



Remerciements

Je voudrais tout d'abord remercier les deux directeurs du Département de Pharmacochimie Moléculaire de l'Université Grenoble Alpes et de son groupe de recherche MedChem devenu COMET qui se sont succédés durant la période de mes travaux, M. Ahcène BOUMENDJEL et M. Yung-Sing WONG, pour leur accueil au sein de leurs locaux, pour leur confiance en faveur de la réalisation de ce projet et pour l'ensemble des discussions et événements en rapport avec le sujet de ma thèse et son déroulement que nous avons pu partager.

Mes remerciements les plus profonds et sincères vont à ma directrice de thèse, Mme Marine PEUCHMAUR, et à mon co-encadrant de thèse, M. Benjamin BOUCHERLE, envers qui les sujets de remerciements sont nombreux et variés. Entre autres, je veux les remercier de m'avoir donné l'opportunité de réaliser ce travail durant les six mois de stage de 3^{ème} année de cursus ingénieur/2^{ème} année de master puis durant les trois ans (plus trois mois) de thèse et de m'avoir aidé à la préparation du concours de l'EDCSV, sans quoi ce stage dont le sujet m'avait déjà séduit à l'époque n'aurait pas pu se poursuivre en thèse de doctorat. De plus, y compris durant les périodes de contraintes professionnelles ou personnelles, durant lesquelles les possibilités de s'entretenir de l'avancée des travaux furent restreintes, mes superviseurs ont toujours su garder un lien de contact avec moi. Enfin, les discussions que nous avons eu à propos des résultats des manipulations et les conseils sur celles en cours et à prévoir ainsi que leur complicité au quotidien dans leur travail auront toujours été une source d'énergie positive et de motivation pour poursuivre dans mes travaux de thèse tandis que d'autres discussions au sujet de ma volonté de devenir chercheur avec et non une part d'enseignement (que j'ai pu expérimenté durant la thèse au travers de l'encadrement de TP et de TD) m'ont permis d'ouvrir mon esprit à la possibilité de postuler plus tard comme enseignant-chercheur et non plus seulement comme chercheur.

Mes remerciements vont également à l'Ecole Doctorale Chimie et Sciences de la Vie de l'UGA et à son directeur, M. Guy ROYAL, ainsi qu'au ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche pour le financement de cette thèse par contrat doctoral, sans lequel la poursuite de ces travaux au-delà du stage n'aurait pas été possible.

J'adresse mes remerciements les plus respectueux aux différents membres du jury de soutenance comprenant les deux rapporteurs, M. Sandy DESRAT et M. Ludovic MAILLARD, et les trois examinateurs, Mme Sylvie DUCKI, M. Jean-François POISSON et M. Denis SÉRAPHIN, pour l'intérêt qu'ils ont porté au sujet de cette thèse en acceptant de me faire l'honneur d'évaluer ce travail ainsi qu'à ceux des Comités de Suivi Individuel, M. Pierre CHALARD, à nouveau M. Jean-François POISSON et M. Jean-Luc ROCHEBLAVE, pour les échanges que nous avons pu avoir durant ces points d'étapes qui furent riches en suggestions et idées pour l'orientation des travaux alors en cours.

Je remercie toutes les personnes en lien avec les différents plateaux d'analyses de l'ICMG qui furent d'une aide toujours bienvenue et précieuse pour la réalisation des analyses ou la résolution des problèmes constatés pour certaines d'entre-elles, dont Mme Marie-Carmen MOLINA, ingénieure d'étude en charge de l'appareillage RMN du DPM ainsi que Mme Amélie DURAND et M. Rodolphe GUERET, personnels technique support du plateau de spectrométrie de masse de l'ICMG.

Je remercie l'ensemble du personnel informatique passé ou actuel du DPM, M. Antoine FORTUNE, Mme Khanh-Chi NGUYEN-PHAM et M. Jean-Marc SACHE, qui m'ont sauvé plus d'une fois de grands et handicapants problèmes informatiques.

Remerciements

Je remercie l'ensemble des membres permanents du DPM pour leur bonne humeur au quotidien et les moments passés lors des sorties de la JD²PM, des repas (devenus trop rares après l'apparition du coronavirus) ou du travail, qui m'auront permis de me sentir rapidement intégré et à l'aise au sein du laboratoire, avec le personnel administratif, Mme Pascale BATTISTONI et Angèle NICOLE (toutes deux d'une constante grande gentillesse et d'un secours inestimable pour l'ensemble des démarches administratives), le personnel du 2^{ème} étage/de l'équipe NOVA que j'aurai le plus côtoyé, Mme et M. Véronique BLANC-MARQUIS, Luc CHOISNARD (que je remercie en particulier pour la formation en statistique qu'il m'a délivré), Benoît CHOVELON, Florence DUMAS, Emmanuelle FIORE, Annabelle GEZE, Valérie GUIEU, Michaël HENRY, Farid OUKACINE, Sandrine PERRIER, Éric PEYRIN, Corinne RAVELET et David WARTHER, et le personnel du 3^{ème} étage /reste de l'équipe COMET que j'aurai aimé côtoyé de manière toute aussi proche hors réunions scientifiques et événements du labo, Mme et M. Isabelle BAUSSANE, Philippe DELAIR (qui m'a donné l'opportunité d'encadrer sur un semestre entier un groupe de TD en chimie organique), Martine DEMEUNYNCK (que je remercie pour le cours de chimie hétérocyclique qu'elle m'a donné avec Basile PERES et Sabine CHIERICI et à qui je souhaite une bonne et tranquille retraite), Romain HAUDECOEUR, Marie-Ange LESPINASSE, Basile PERES (que je remercie également pour le cours de chimie hétérocyclique et qui m'aura fait découvrir malgré lui, au détour de l'un de ces cours, une grande saga vidéoludique), Aline THOMAS, Cécile VANHAVERBEKE, Pierre VERHAEGHE et à nouveau Yung-Sing WONG, plus tous les autres permanents que j'ai peut-être omis, ce dont je m'excuse si c'est le cas.

Je remercie tous les doctorants, stagiaires et post-doctorants que j'ai pu croisé durant toute la période de cette thèse pour tous les moments passés ensemble, avec une mention spéciale pour celles et ceux qui ont eu les mêmes encadrants que moi dont Jérémy (mon voisin de bureau et de paillasse durant deux ans et demi, dont le départ à la fin de son doctorat m'a laissé un petit vide pendant quelques temps ainsi que pas mal de bons souvenirs à l'image de son « j'ai pas le temps ! »), Margot et Pierrick (qui m'ont aidé pour certaines manipulations qui auront été un gain de temps précieux pour mes travaux), Alix, Amine, Charlotte, Christia, Matis, Séverin et Sofiane qui s'ajoutent à Auriane, Bamba, Blandine, Brayon, Clément, Emile, Essohanam, Farda, Feras, Isaac, Jordan, Juliette, Kim, Laurine, Leticia, Lorena, Maël, Maëlys, Mathieu, Megan, Morgane, Nagi, Pascal, Pauline, Rim, Silvia, en espérant n'avoir, là aussi, oublié personne au passage.

Comme cette thèse représente l'ultime formation avant mon passage complet dans la vie active (probablement comme chercheur en contrat post-doctoral pour commencer), je tiens à remercier l'ensemble des professeurs que j'ai pu avoir durant ma vie et plus particulièrement ceux de physique-chimie puis de chimie et de chimie organique qui m'ont transmis la passion de la chimie, qui m'ont apporté les connaissances nécessaires sans lesquelles je n'aurai jamais pu entreprendre une thèse et qui m'ont encouragé dans cette voie, c'est-à-dire M. MARGAIN, Mme AUBERT, Mme GOURY, M. VIGNE, Mme BURILLER, Mme MARÇON, Mme WERNSDORFER, M. TROIN, M. CANET, à nouveau M. CHALARD et Mme DUCKI, ainsi que Mme RIPOCHE et Mme THOMAS.

Enfin et bien sûr, je tiens à remercier toute ma famille avec mes parents, qui n'ont jamais compté leurs efforts pour m'aider à aller jusqu'aux bout de mes études dans les meilleures dispositions possibles et qui, avec ma sœur, mon beau-frère et mes trois nièces, ont tous été pour moi une source de soutien morale indéfectible pour cette thèse et plus généralement pour l'ensemble de mes études durant toutes ces années où il ne fût pas toujours simple d'avoir du temps à passer ensemble.

« C'est le temps que tu as perdu pour ta
rose qui fait ta rose importante. »

Le Petit Prince, Antoine de Saint-Exupéry

A ceux de mes proches qui se sont éteints ces dernières années et aux côtés de qui j'aurai voulu être plus souvent dans leurs derniers temps ou leur ultime voyage :

Mamie Beato, Mamie Paillet,
mon grand-oncle Raymond et ma grande-tante Aimé dite « Ninette »,
mon parrain et « tonton » Pierre-Yves,
et mon Chatounet.

Résumé de la thèse

Modifications chimiques d'extraits naturels de plantes alpines : approche orientée vers la diversité

L'industrie du médicament a, depuis longtemps, puisé dans la diversité et la complexité moléculaires naturelles pour développer de nouveaux principes actifs : entre 1981 et 2019, près de la moitié des médicaments approuvés par la FDA (Food and Drug Administration) sont inspirés de sources végétales (molécules naturelles ou analogues). L'intérêt pour les plantes utilisées en médecine traditionnelle a été souligné par l'attribution du prix Nobel à Youyou Tu en 2015 pour ses travaux sur les substances naturelles issues de plantes de la pharmacopée traditionnelle chinoise.

L'engouement des chimistes de synthèse pour la synthèse orientée vers la diversité (DOS) a entraîné le développement de méthodologies analogues pour la diversification des produits naturels, afin d'augmenter de façon considérable la complexité de ces molécules. Ces modifications chimiques réalisées jusqu'à présent directement sur un extrait, c'est-à-dire sur un mélange complexe de molécules, peuvent se heurter à différents problèmes, notamment la décomposition de certains composés ou l'excès de réactifs restant dans le mélange final qui limitent ensuite les possibilités d'analyses bioguidées, nécessaires à l'isolement des molécules actives. Dans ce projet, on se propose de résoudre ces difficultés en combinant pour la première fois différentes approches : en particulier, la modification chimique d'extraits naturels sera associée à de la synthèse sur support solide (notamment pour simplifier les étapes de pré-purification).

Après mise au point, cette méthodologie sera appliquée aux extraits de plantes alpines, une flore peu étudiée et qui présente une particularité intéressante en termes de capacité d'adaptation laissant présager des applications potentielles très attrayantes.

Ce projet combine des facettes variées de la chimie : extraction de produits naturels de plantes (phytochimie), modifications de ces extraits par synthèse chimique, à travers des réactions variées (synthèse en solution et sur support solide), purification des extraits par bioguidage, suite aux évaluations biologiques réalisées par nos collaborateurs, pour finalement isoler et caractériser de nouvelles structures originales. Afin de développer toute cette méthodologie, les premières étapes du projet, qui constitueront la majeure partie de ces travaux de thèse, consisteront en une preuve de concept réalisée sur des mélanges peu complexes.

Mots-clés : composés dérivés de produits naturels, extraction de plantes alpines, synthèse sur support solide, extraits élaborés chimiquement.

Chemically engineered extracts of alpine plants: diversity-oriented approach

For a long time, the drug industry has drawn on nature's molecular diversity and complexity to develop new active ingredients: between 1981 and 2019, almost half of the drugs approved by the Food and Drug Administration (FDA) were inspired by plant sources (natural molecules or analogues). The interest in plants used in traditional medicine was highlighted by the award of the Nobel Prize to Youyou Tu in 2015 for her work on natural substances from plants of the traditional Chinese pharmacopoeia.

Résumé de la thèse

The enthusiasm of synthetic chemists for diversity-oriented synthesis (DOS) has led to the development of analogous methodologies for the diversification of natural products, in order to dramatically increase the complexity of these molecules. These chemical modifications performed so far directly on an extract, i.e. on a complex mixture of molecules, can face various problems, such as the decomposition of some compounds or the excess of reagents remaining in the final mixture, which then limit the possibilities of bioguided analyses, necessary for the isolation of the active molecules. In this project, we propose to solve these difficulties by combining different approaches for the first time: in particular, the chemical modification of natural extracts will be associated with solid-phase synthesis (specially to simplify the pre-purification steps).

After its development, this methodology will be applied to extracts from alpine plants, a little-studied flora that presents an interesting feature in terms of adaptability, suggesting very attractive potential applications.

This project combines various facets of chemistry: extraction of natural products from plants (phytochemistry), modification of these extracts by chemical synthesis, through various reactions (synthesis in solution and on a solid support), purification of the extracts by bioguidance, following the biological evaluations carried out by our collaborators, to finally isolate and characterize new original structures. In order to develop this methodology, the first steps of the project, which will constitute the major part of this thesis work, will consist of a proof-of-concept carried out on low complexity mixtures.

Keywords: natural products-like compounds, alpine plants extraction, solid-phase synthesis, chemically engineered extracts.

Table des matières

Remerciements.....	5
Résumé de la thèse.....	9
Table des matières.....	11
Liste des abréviations.....	19
Table des figures.....	23
Table des schémas.....	29
Table des tableaux.....	35
Introduction générale.....	37
Chapitre 1 : les produits naturels dans la recherche de molécules bioactives	39
Introduction.....	39
I. Le processus de recherche et développement d'un nouveau médicament	39
II. Historique de la découverte de médicaments dans les produits naturels.....	41
II.A. Une source privilégiée depuis l'Antiquité	41
II.B. L'essor des techniques de synthèse et le recul des produits naturels.....	45
II.C. Le retour en force des produits naturels	49
III. Différences entre les composés bioactifs naturels et les composés bioactifs de synthèse	53
IV. Les techniques actuelles de recherche de composés bioactifs issus ou inspirés de produits naturels.....	55
IV.A. Technique sans modification des produits naturels : étude biologique d'extraits naturels	55
IV.B. Techniques avec modification des produits naturels	57
IV.B.1. Dérivatisation de produits naturels	57
IV.B.2. Simplification de la structure des produits naturels.....	58
IV.B.3. Synthèse orientée vers la diversité à partir d'un produit naturel	59
V. Modification chimique d'extraits naturels : la technique au cœur de la thèse	63
V.A. Principe de la modification chimique d'extraits naturels	63
V.B. Exemples d'application des CEE/DEE pour la découverte de composés bioactifs	65
V.B.1. Sans modification de la structure carbonée.....	65
V.B.2. Avec modification de la structure carbonée	78
V.C. Avantages et inconvénients de la modification chimique d'extraits naturels.....	84
Conclusion	86
Chapitre 2 : présentation générale de la méthodologie de modification chimique d'extraits naturels avec utilisation d'un support solide	89
Introduction.....	89
I. Vue d'ensemble	89
II. La synthèse sur support solide	91
III. Détails pratiques de la méthodologie.....	93
III.A. Méthode de travail de la preuve de concept de la méthodologie	93
III.B. Plans de synthèse des dérivés d'isocoumarine avec un support solide	95

Table des matières

III.B.1. Voie de synthèse « Sonogashira » des dérivés d'isocoumarine.....	95
III.B.2. Voie de synthèse « clic » des dérivés d'isocoumarine	97
III.C. Description détaillée des étapes du plan de synthèse des dérivés d'isocoumarine selon la voie « Sonogashira »	98
III.C.1. Réaction de Williamson avec le bromure de propargyle	98
III.C.2. Couplage de Sonogashira	99
IV. Les isocoumarines.....	101
IV.A. Historique	101
IV.B. Caractéristiques des isocoumarines.....	103
IV.B.1. Désignation et nomenclature	103
IV.B.2. Propriétés physiques et analytiques.....	103
IV.C. Les isocoumarines dans la nature	104
IV.D. Synthèse et applications des isocoumarines.....	105
IV.D.1. Synthèse avec utilisation d'un alcyne	105
IV.D.2. Autres exemples de réactions	108
IV.D.3. Propriétés biologiques des isocoumarines	110
V. Les 1,2,3-triazoles	112
V.A. Historique	112
V.B. Caractéristiques des 1,2,3-triazoles	115
V.C. Synthèse et applications des 1,2,3-triazoles	116
V.C.1. Synthèse avec utilisation d'un azoture.....	116
V.C.2. Propriétés pharmacologiques des 1,2,3-triazoles	121
Conclusion	124
Chapitre 3 : travail préparatoire pour la preuve de concept de la méthodologie	127
Introduction.....	127
I. Réaction de Williamson sur des composés monohydroxylés	127
I.A. Conditions expérimentales et choix des composés monohydroxylés pour les tests de synthèse de la preuve de concept.....	127
I.B. Synthèse préalable de la (Z)-2-(4-hydroxybenzylidène)benzofuran-3(2H)-one.....	129
I.C. Réaction de Williamson sur les monophénols choisis pour la preuve de concept .	130
I.D. Réactions de Williamson avec d'autres composés monohydroxylés	131
II. Propargylation de composés avec un unique groupement fonctionnel autre qu'un hydroxyle.....	132
II.A. Propargylation d'acides carboxyliques.....	132
II.B. Propargylation d'amines	134
II.C. Propargylation d'autres types de composés.....	136
II.D. Bilan des différentes réactions de propargylation sur d'autres groupements fonctionnels.....	137
III. Mise au point de la réaction de Williamson sur des composés polyhydroxylés	138
IV. Propargylation d'un mélange de composés avec une seule fonction	145
V. Préparation de l'acide 2-halogénobenzoïque greffé sur support solide.....	151
VI. Synthèse de l'acide 2-(3-azidoprop-1-yn-1-yl)benzoïque greffé sur support solide....	152

Table des matières

VI.A.	Synthèse sur support solide de l'acide 2-(3-azidoprop-1-yn-1-yl)benzoïque	152
VI.B.	Synthèse en solution de l'acide 2-(3-azidoprop-1-yn-1-yl)benzoïque	158
VI.C.	Greffage de l'acide 2-(3-azidoprop-1-yn-1-yl)benzoïque sur support solide.....	162
Conclusion		165
Chapitre 4 : preuve de concept de la méthodologie avec la voie de synthèse « Sonogashira »		
.....		167
Introduction.....		167
I.	Tests du plan de synthèse en solution avec un exemple d'éther de propargyle de monophénol.....	167
I.A.	Premières tentatives de couplage de Sonogashira avec le 4-propargyloxyanisole.	167
I.B.	Résolution du problème de réactivité du couplage de Sonogashira avec le 4-propargyloxyanisole	169
I.C.	Cyclisation électrophile du produit du couplage avec le 4-propargyloxyanisole	172
II.	Tests du plan de synthèse sur support solide avec plusieurs exemples d'éthers de propargyle de monophénols	173
II.A.	Synthèse sur support solide avec le 4-propargyloxyanisole	173
II.B.	Synthèse sur support solide avec l'aurone propargylée	176
II.C.	Synthèse sur support solide avec un mélange de 4-propargyloxyanisole et d'aurone propargylée	177
III.	Tests du plan de synthèse avec des acides carboxyliques et des amines	179
III.A.	Premiers essais sur support solide avec un ester de propargyle et des propargylamines.....	179
III.B.	Essais en solution avec des propargylamines	180
IV.	Tests du plan de synthèse sur support solide avec enchaînement des étapes de réactions avec un composé monofonctionnalisé	182
V.	Tests du plan de synthèse avec un mélange de produits de la réaction de Williamson sur un ou plusieurs polyphénols	185
V.A.	Premières tentatives de synthèse sur support solide avec des mélanges artificiels de produits naturels	185
V.B.	Tentatives de synthèse avec un seul polyphénol.....	188
VI.	Recherche de voies de synthèse alternatives du produit de couplage intermédiaire.	190
Conclusion		191
Chapitre 5 : preuve de concept de la méthodologie avec la voie de synthèse « clic ».....		193
Introduction.....		193
I.	Tests du plan de synthèse en solution avec des exemples d'éthers de propargyle de monophénols purs	193
I.A.	Contextualisation des tests du plan de synthèse en solution	193
I.B.	Synthèse en solution avec des éthers de propargyle de monophénols séparés.....	194
II.	Tests du plan de synthèse sur support solide avec des exemples d'éthers de propargyle de monophénols	196
II.A.	Synthèse sur support solide avec des éthers de propargyle seuls ou en mélange	196
II.B.	Synthèse sur support solide avec enchaînement d'étapes, avec des monophénols en mélange	199

Table des matières

III.	Tests du plan de synthèse sur support solide avec des polyphénols	201
III.A.	Premiers tests avec des polyphénols	201
III.B.	Tests avec une quantité stœchiométrique de catalyseur au cuivre	202
	Conclusion	208
	Chapitre 6 : application de la méthodologie sur un exemple d'extrait naturel	209
	Introduction.....	209
I.	Préparation de l'extrait de peaux d'orange.....	209
I.A.	Extraction et élimination de sucres	209
I.B.	Modifications préliminaires de l'extrait.....	212
I.B.1.	Etude de la déglycosylation de l'extrait.....	212
I.B.2.	Etude de la <i>O</i> -déméthylation de l'extrait	213
II.	Synthèse de dérivés d'isocoumarine selon la voie « clic » avec l'extrait de peaux d'orange	217
II.A.	Tentatives initiales de synthèse avec les extraits <i>O</i> -déméthylés et non <i>O</i> -déméthylés	217
II.B.	Tentatives de synthèse avec un extrait dégraissé.....	224
II.C.	Tentative de synthèse après étude de la propargylation de l'extrait.....	228
	Conclusion	231
	Conclusion générale et perspectives	233
	Partie expérimentale	237
	Materials and general methods	237
	General procedure A1 for the addition of propargyl on monofunctionalized compounds in acetone	237
	General procedure A2 for the addition of propargyl on monofunctionalized compounds in DMF	237
	General procedure A3 for the addition of propargyl on polyfunctionalized compounds	238
	General procedure B1 for the Sonogashira coupling.....	238
	General procedure B2 for the solid-phase Sonogashira coupling	238
	General procedure C1 for the cyclisation with CuBr ₂	238
	General procedure C2 for the solid-phase cyclisation with CuBr ₂ or CuCl ₂	238
	General procedure C3 for the solid-phase cyclisation with ICl	239
	General procedure C4 for the resin cleavage with TFA.....	239
	General procedure D1 for the copper-catalyzed azide-alkyne cycloaddition (CuAAC)	239
	General procedure D2 for the solid-phase copper-catalyzed azide-alkyne cycloaddition (CuAAC) with propargylyed products from monofunctionalized compounds	239
	General procedure D3 for the solid-phase copper-catalyzed azide-alkyne cycloaddition (CuAAC) with propargylyed products from polyfunctionalized compounds	239
	General procedure E for the “one-pot” solid-phase synthesis of 3-((1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-1 <i>H</i> -isochromen-1-one derivatives with hydroxylated compounds.....	239
	(<i>Z</i>)-2-(4-hydroxybenzylidene)benzofuran-3(2 <i>H</i>)-one 2	240
	4-propargyloxyanisole 7	240
	(<i>Z</i>)-2-(4-propargyloxybenzylidene)benzofuran-3(2 <i>H</i>)-one 8	241
	3-methoxy-4-(propargyloxy)benzaldehyde 9	241

Table des matières

(3 <i>E</i>)-4-(3-methoxy-4-(2-propyn-1-yloxy)phenyl)-3-buten-2-one 10	241
4-hydroxy-4-(3-methoxy-4-(2-propyn-1-yloxy)phenyl)-3-butan-2-one 11	242
Propargyloxycyclohexane 13	242
Propargyloxymethylbenzene 14	242
Propargyl 4-methoxybenzoate 18	243
Propargyl pivalate 19	243
Propargyl cinnamate 20	243
4-methoxy- <i>N</i> -propargylaniline 28	244
4-methoxy- <i>N,N</i> -dipropargylaniline 29	244
<i>N,N</i> -diisopropylpropargylamine 30	244
Benzylidipropargylamine 32	245
<i>N</i> -methyl- <i>N</i> -propargylaniline 33	245
3,4-dimethoxystyrene 35	245
<i>N</i> -benzyl- <i>N</i> -methylpropargylamine 36	246
Benzyl propargyl sulfide 40	246
2-propargyloxyphenol 42	246
1,2-dipropargyloxybenzene 43	247
Addition of propargyl on caffeic acid 44	247
Addition of propargyl on gallic acid 45	247
Addition of propargyl on quercetin 46	247
Addition of propargyl on a mixture of seven compounds with different functional groups	248
Addition of propargyl on a mixture of carboxylic acids.....	248
Addition of propargyl on a mixture of amines.....	249
Addition of propargyl on a mixture of hydroxylated and sulfanylated compounds.....	250
Polymer-bound 2-iodobenzoic acid 56	250
Polymer-bound 2-(3-hydroxyprop-1-yn-1-yl)benzoic acid 59	251
3-(hydroxymethyl)-1 <i>H</i> -isochromen-1-one 60	251
Polymer-bound 2-(3-chloroprop-1-yn-1-yl)benzoic acid 62	251
3-(chloromethyl)-1 <i>H</i> -isochromen-1-one 63	252
Methyl 2-(3-hydroxyprop-1-yn-1-yl)benzoate 70	252
Methyl 2-(3-(tosyloxy)prop-1-yn-1-yl)benzoate 69	252
Methyl 2-(3-azidoprop-1-yn-1-yl)benzoate 71	253
2-(3-azidoprop-1-yn-1-yl)benzoic acid 72	253
Polymer-bound 2-(3-azidoprop-1-yn-1-yl)benzoic acid 65	254
3-(azidomethyl)-1 <i>H</i> -isochromen-1-one 66	254
(<i>Z</i>)-3-(2-azidoethylidene)isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-one 67	255
Methyl 2-[(4-methoxyphenyl)ethynyl]benzoate 74	255
Methyl 2-(hept-1-yn-1-yl)benzoate 75	256
1-methoxy-4-[[3-(4-tolyl)prop-2-yn-1-yl]oxy]benzene 76	256
Methyl 2-[3-(4-methoxyphenoxy)prop-1-yn-1-yl]benzoate 73	256
4-bromo-3-(4-methoxyphenoxy)methyl-1 <i>H</i> -isochromen-1-one 78	257

Table des matières

(<i>E</i>)-3-[1-bromo-2-(4-methoxyphenoxy)ethylidene]-2-benzofuran-1(3 <i>H</i>)-one 79	257
3-((4-methoxyphenoxy)methyl)-1 <i>H</i> -isochromen-1-one 81	258
4-chloro-3-(4-methoxyphenoxy)methyl-1 <i>H</i> -isochromen-1-one 83	258
4-iodo-3-(4-methoxyphenoxy)methyl-1 <i>H</i> -isochromen-1-one 84	259
(<i>E</i>)-3-[1-iodo-2-(4-methoxyphenoxy)ethylidene]-2-benzofuran-1(3 <i>H</i>)-one 85	259
(<i>Z</i>)-4-bromo-3-((4-((3-oxobenzofuran-2(3 <i>H</i>)-ylidene)methyl)phenoxy)methyl)-1 <i>H</i> - isochromen-1-one 87	259
Solid-phase synthesis of 4-bromo-3-(4-methoxyphenoxy)methyl-1 <i>H</i> -isochromen-1-one 78 and (<i>Z</i>)-4-bromo-3-((4-((3-oxobenzofuran-2(3 <i>H</i>)-ylidene)methyl)phenoxy)methyl)-1 <i>H</i> - isochromen-1-one 87 in mixture	260
(4-bromo-1-oxo-1 <i>H</i> -isochromen-3-yl)methyl 4-methoxybenzoate 90	260
Dimethyl 2,2'-[(benzylazanediyl)bis(prop-1-yne-3,1-diyl)]dibenzoate 99	261
Methyl 2-{3-[methyl(phenyl)amino]prop-1-yn-1-yl}benzoate 103	261
Methyl 2-{3-[benzyl(methyl)amino]prop-1-yn-1-yl}benzoate 104	261
Addition of propargyl on an artificial mixture of polyfunctionalized products	262
Addition of propargyl on a mixture of gallic acid, caffeic acid and quercetin	262
1-benzyl-4-((4-methoxyphenoxy)methyl)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazole 113	263
Methyl 2-(3-(4-((4-methoxyphenoxy)methyl)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-yl)prop-1-yn-1- yl)benzoate 114	263
4-bromo-3-((4-((4-methoxyphenoxy)methyl)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-1 <i>H</i> - isochromen-1-one 115	263
Methyl (<i>Z</i>)-2-(3-(4-((4-((3-oxobenzofuran-2(3 <i>H</i>)-ylidene)methyl)phenoxy)methyl)-1 <i>H</i> - 1,2,3-triazol-1-yl)prop-1-yn-1-yl)benzoate 117	264
(<i>Z</i>)-4-bromo-3-((4-((4-((3-oxobenzofuran-2(3 <i>H</i>)-ylidene)methyl)phenoxy)methyl)-1 <i>H</i> - 1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-1 <i>H</i> -isochromen-1-one 118	265
Methyl 2-(3-(4-((4-formyl-2-methoxyphenoxy)methyl)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-yl)prop-1-yn-1- yl)benzoate 120	265
4-((1-((4-bromo-1-oxo-1 <i>H</i> -isochromen-3-yl)methyl)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-yl)methoxy)-3- methoxybenzaldehyde 121	266
3-((4-((4-methoxyphenoxy)methyl)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-1 <i>H</i> -isochromen-1-one 125	266
Solid-phase synthesis of 4-bromo-3-((4-((4-methoxyphenoxy)methyl)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1- yl)methyl)-1 <i>H</i> -isochromen-1-one 115 and (<i>Z</i>)-4-bromo-3-((4-((4-((3-oxobenzofuran-2(3 <i>H</i>)- ylidene)methyl)phenoxy)methyl)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-1 <i>H</i> -isochromen-1-one 118 in mixture	267
Solid-phase synthesis of 4-bromo-3-((4-((4-methoxyphenoxy)methyl)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1- yl)methyl)-1 <i>H</i> -isochromen-1-one 115 , (<i>Z</i>)-4-bromo-3-((4-((4-((3-oxobenzofuran-2(3 <i>H</i>)- ylidene)methyl)phenoxy)methyl)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-1 <i>H</i> -isochromen-1-one 119 and 4-((1-((4-bromo-1-oxo-1 <i>H</i> -isochromen-3-yl)methyl)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-yl)methoxy)-3- methoxybenzaldehyde 121 in mixture	267
Solid-phase synthesis of 3-((1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-1 <i>H</i> -isochromen-1-one) derivatives with quercetin 46	268
Solid-phase synthesis of 3-((1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-1 <i>H</i> -isochromen-1-one) derivatives with caffeic acid 44	268

Table des matières

Solid-phase synthesis of 3-((1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-1 <i>H</i> -isochromen-1-one derivatives with caffeic acid 44 , gallic acid 45 and quercetin 46 in mixture.....	269
Solid-phase synthesis of 3-((1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-4-iodo-1 <i>H</i> -isochromen-1-one derivatives with caffeic acid 44 , gallic acid 45 and quercetin 46 in mixture.....	269
Extraction from orange peels	270
Enrichment in polyphenolic metabolites of the extract of orange peels by Vacuum Liquid Chromatography (VLC)	270
Defatting of the extract of orange peels by Vacuum Liquid Chromatography (VLC).....	270
<i>O</i> -demethylation of the enriched extract of orange peels with BBr ₃	270
Addition of propargyl on the <i>O</i> -demethylated extract of orange peels	272
Addition of propargyl on the enriched extract of orange peels with 1 equivalent of propargyl bromide (unoptimized procedure).....	272
Addition of propargyl on the enriched extract of orange peels.....	273
Addition of propargyl on the partially defatted extract of orange peels.....	274
Solid-phase synthesis of 3-((1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-1 <i>H</i> -isochromen-1-one derivatives with a polyphenol-enriched extract of orange peels	274
Références bibliographiques	275
Annexe A : Tableau récapitulatif des règnes, familles et genres d'êtres vivants chez qui des isocoumarines ont été identifiées	299
Annexe B : chromatogrammes LC-MS associés aux manipulations décrites dans le tableau 6	301

Liste des abréviations

Ac : acétate
AChE : acétylcholineestérase
ACN : acétonitrile
ADME : Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion
ADN : acide désoxyribonucléique
Alk : alkyle
AH : acide
AMM : autorisation de mise sur le marché
ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé
APCI : ionisation chimique à pression atmosphérique
APTS : acide para-toluènesulfonique
Ar : aryle
ARN : acide ribonucléique
B⁻ : base
BChE : butylcholineestérase
BIOS : synthèse biologiquement orientée
Bn : benzyle
Bu : butyle
C : concentration
cat. : catalytique
CCM/TLC : chromatographie sur couche mince/thin layer chromatography
CDB : Convention sur la Diversité Biologique
CEE : Chemically Engineered Extract
CoA : co-enzyme A
COSY : COrelated SpectroscopY
Cp* : pentaméthylcyclopentadiényle
CuAAC : copper(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition
Cy: cyclohexyle
DBU : 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undéc-7-ène
DCC : dicyclohexylcarbodiimide
DCE : 1,2-dichloroéthane
DCM : dichlorométhane
DCU : dicyclohexylurée
DEAD : azodicarboxylate de diéthyle
DEE : Diversity Enhanced Extract
DIBAL : hydrure de diisobutylaluminium
DIC : diisopropylcarbodiimide
DIPEA : diisopropyléthylamine
DIU : diisopropylurée
DMAP : 4-diméthylaminopyridine
DMF : *N,N*-diméthylformamide
DMSO : diméthylsulfoxyde
DOS : synthèse orientée vers la diversité
DPM : Département de Pharmacochimie Moléculaire
DRX : diffractométrie de rayons X
DTBMP : 2,6-di-*tert* butyl-4-méthylpyridine
DTS : diverted total synthesis

Liste des abréviations

E⁺ : électrophile
EDTA : acide éthylènediaminetétraacétique
EI : Ionisation électronique
Et : éthyle
éq. : équivalent
ESI : ionisation par électrospray
FDA : Food and Drug Administration
GC : chromatographie en phase gazeuse
Gly : glycine
HMPA : hexaméthylphosphoramide
HOMO : plus haute orbitale occupée
HPLC : chromatographie liquide haute performance
HSQC : Heteronuclear Single Quantum Coherence
i : *iso*
IC₅₀ : concentration inhibitrice médiane
ICMG : Institut de Chimie Moléculaire de Grenoble
IR : infrarouge
LC : chromatographie en phase liquide
LEEM : Les Entreprises du médicament
LUMO : plus basse orbitale vacante
Nb : nombre
N.D. : non déterminé
NPLC : Natural-Product-Like Compound
t : *tert*
tol : tolyle
m : *méta*
m/v : masse sur volume
m-CPBA : acide métachloroperbenzoïque
Me : méthyle
MPEG : polyéthylène glycone monométhyle éther
MS : spectre de masse
o : *ortho*
p : *para*
PEG : polyéthylène glycol
Ph : phényle
Piv : pivaloyle
Pr : propyle
PS : polystyrène
PSSC : protein structure similarity clustering
R&D : recherche et développement
Rdt : rendement
Rf : rapport frontal
RMN/NMR : résonance magnétique nucléaire/nuclear magnetic resonance
SAM : S-adénosylméthionine
SPE : extraction solide-liquide
T° : température
T.A. : température ambiante
TBAF : iodure de tétrabutylammonium
TBAI : iodure de tétrabutylammonium
Tf : triflate

Liste des abréviations

TFA : acide trifluoroacétique
THF : tétrahydrofurane
TMAD : tétraméthylazodicarboxamide
TMS : triméthylsilyle
TOS : target oriented synthesis
Ts : tosylate
UGA : Université Grenoble Alpes
UV : ultraviolet
v/v : volume sur volume
VIH : virus de l'immunodéficience humaine
VLC : Vacuum Liquid Chromatography
W-E : week-end

Table des figures

Figure 1 : processus de recherche et développement d'un nouveau médicament (durées en moyenne) [2]	40
Figure 2 : de gauche à droite, portraits de Hippocrate, Théophraste, Dioscoride, Pline l'Ancien et Galien	42
Figure 3 : portrait de Paracelse	43
Figure 4 : portraits d'Antoine Lavoisier (à gauche) et de Friedrich Serturmer (à droite)	44
Figure 5 : structures des premiers produits naturels découverts.....	44
Figure 6 : structure de la pénicilline G	45
Figure 7 : portraits de Felix Hoffmann (à gauche) et Arthur Eichengründ (à droite)	45
Figure 8 : structure d'exemples de produits naturels synthétisés par R. B. Woodward	46
Figure 9 : structure du paclitaxel.....	48
Figure 10 : graphique du "cycle du hype" [21].....	50
Figure 11 : structure de l'artémisinine et d'un exemple d'ivermectine	52
Figure 12 : de gauche à droite, représentation des coordonnées des composantes principales pour les produits de synthèse combinatoire, les produits naturels et les principes actifs [25]	55
Figure 13 : dérivatisation de l'artémisinine [17,34]	58
Figure 14 : structures de l'halichondrine B et de l'éribuline.....	59
Figure 15 : approches possibles pour la génération d'une diversité de structure globale [38]	61
Figure 16 : structures des produits naturels sur lesquels le groupe de Hergenrother a réalisé une DOS [42–45]	61
Figure 17 : composés bioactifs formés lors de la formation d'un CEE par éthanolyse d'un extrait de <i>Lamium amplexicaule</i> L. et activité sur la β -glucosidase [79].....	75
Figure 18 : composés formés caractérisés lors de la formation d'un CEE par hydrolyse acide d'un extrait de <i>Panax notoginseng</i> (Burkill) F.H.Chen et structure de la dammarane [80]	75
Figure 19 : formation d'un CEE par hydrolyse acide d'un extrait de <i>Panax ginseng</i> C.A.Mey et activité contre la protéase du VIH-1 et une lignée de cellules cancéreuses du côlon [81,82]	76
Figure 20 : structure de la phytolaccagénine [83]	76
Figure 21 : composés bioactifs formés lors de la formation d'un CEE par hydrolyse acide d'un extrait de <i>Gynostemma pentaphyllum</i> (Thunb.) Makino et activité sur une lignée de cellules cancéreuses du sein et la PPL [84]	77
Figure 22 : composés obtenus lors de la formation d'un CEE par acétylation d'un extrait de <i>Spicaria elegans</i> et activité sur les lipopolysaccharides [86]	78
Figure 23 : domaines de la chimie impliqués dans la méthodologie de modification chimique d'extrait naturel avec utilisation d'un support solide	90
Figure 24 : projet de méthodologie de modification d'extrait naturel avec utilisation d'un support solide.....	91
Figure 25 : démarche suivie pour la preuve de concept de la méthodologie	95
Figure 26 : structures d'une isocoumarine (à gauche) et d'une coumarine (à droite).....	101
Figure 27 : de gauche à droite, portrait de Vogel, Guibourt, Gerhardt et Perkin.....	102
Figure 28 : portrait de Bamberger	102
Figure 29 : structure générale d'une isocoumarine et sa numérotation.....	103
Figure 30 : équilibre cyclique-acyclique d'une isocoumarine	103
Figure 31 : structure d'un 3-ylidène phthalide	104
Figure 32 : exemples de dérivés d'isocoumarines caractérisés dans la nature	105
Figure 33 : structure de l'oosponol	110

Table des figures

Figure 34 : quelques exemples de dérivés d'isocoumarine biologiquement actifs.....	111
Figure 35 : structure de l'isocoumarindole	112
Figure 36 : structures d'un 1,2,3-triazole et d'un 1,2,4-triazole	112
Figure 37 : structures du 1-méthyl-6-diméthylaminobenzotriazole, du benzotriazole et du phénazotriazole.....	114
Figure 38 : portrait de Huisgen	114
Figure 39 : histogramme du nombre d'articles citant au moins un exemple de 1,2,3-triazole selon Scifinder au 31 juillet 2022 en fonction de l'année de publication de l'article.....	115
Figure 40 : tautomères d'un 1,2,3-triazole.....	115
Figure 41 : numérotation d'un 1,2,3-triazole et d'un benzotriazole.....	115
Figure 42 : hybride de métronidazole et de pyridine reliés par un 1,2,3-triazole.....	122
Figure 43 : hybride de coumarine et de tacrine reliés par un 1,2,3-triazole	122
Figure 44 : taxobactam et antibiotiques avec lesquels il est commercialisé en association, comme antibiotique.....	124
Figure 45 : rufinamide.....	124
Figure 46 : structure des premiers exemples utilisés pour la réaction de Williamson.....	128
Figure 47 : structure des autres exemples de composés hydroxylés utilisés.....	128
Figure 48 : structures des exemples d'acides carboxyliques utilisés.....	133
Figure 49 : structure des exemples d'amines utilisées	134
Figure 50 : structures des nouveaux exemples de polyphénols utilisés.....	139
Figure 51 : chromatogramme de l'analyse LC-MS en mode ESI+ du produit brut de propargylation de l'acide caféique.....	140
Figure 52 : structures du cafféate de propargyle 50 du (<i>E</i>)-3-(3,4-bis(propargyloxy)phényl)acrylate de propargyle 48	140
Figure 53 : chromatogramme de l'analyse LC-MS en mode ESI+ du produit brut de propargylation de l'acide gallique.....	140
Figure 54 : structures du galléate de propargyle 52 du 3,4,5-tripropargyloxybenzoate de propargyle 50	140
Figure 55 : chromatogramme de l'analyse LC-MS en mode ESI- du produit brut de propargylation de la quercétine.....	141
Figure 56 : structure du 2-(3,4-bis(prop-2-yn-1-yloxy)phényl)-3,5,7-tris(prop-2-yn-1-yloxy)-4 <i>H</i> -chromen-4-one 51	141
Figure 57 : structure des composés du mélange artificiel préparé pour l'étude de propargylation.....	146
Figure 58 : spectre RMN du proton du produit brut de la propargylation du mélange d'acides carboxyliques en présence de carbonate de potassium (CDCl ₃ , 400 MHz).....	149
Figure 59 : spectre RMN du proton du produit brut de la propargylation du mélange d'amines en présence de carbonate de potassium (CDCl ₃ , 400 MHz)	150
Figure 60 : structures de la résine de Wang et de la résine de Wang bromée.....	151
Figure 61 : chromatogramme de l'analyse LC-MS en mode ESI+ du mélange de produits obtenus à l'issue de l'application du plan de synthèse de la voie « Sonogashira sur un mélange de plusieurs éthers de propargyle (en bleu, produit formé avec la 4-propargyloxyanisole 7 ; en jaune, produits formés avec l'aurone propargylée 8)	178
Figure 62 : structures des constituants du mélange artificiel complexe de produits naturels	185
Figure 63 : chromatogramme de l'analyse LC-MS en mode ESI+ (en haut) et ESI- (en bas) du mélange de produits obtenus à l'issue de la propargylation du mélange artificiel de produits naturels dans les conditions initiales (1,2 éq de bromure de propargyle et 4 éq de K ₂ CO ₃ par composé du mélange, acétone, 65 °C, nuit) (en orange, produits formés avec la quercétine	

Table des figures

46 ; en bleu, produits formés avec la rutine 109 ; en vert, produits formés avec l'acide rosmarinique 110).....	186
Figure 64 : chromatogramme de l'analyse LC-MS en mode ESI+ (en haut) et ESI- (en bas) du mélange artificiel de produits naturels avant sa propargylation (en orange, quercétine 46 ; en bleu, rutine 109 ; en vert, acide rosmarinique 110)	186
Figure 65 : chromatogramme de l'analyse LC-MS en mode ESI+ du mélange de produits obtenus à l'issue de la propargylation du mélange simplifié de produits naturels dans les conditions initiales (1,2 éq de bromure de propargyle et 4 éq de K ₂ CO ₃ par composé du mélange, acétone, 65 °C, nuit) (en rose, produit formé avec l'acide caféique 44 ; en rouge, produit formé avec l'acide gallique 45 ; en orange, produits formés avec la quercétine 46)	187
Figure 66 : spectre RMN du proton du produit brut obtenu couplage de Sonogashira entre le 2-iodobenzoate de méthyle et le mélange de produits propargylés de la quercétine (CDCl ₃ , 400 MHz)	189
Figure 67 : structure du 2-(3-hydroxyprop-1-yn-1-yl)benzoate de méthyle 70	190
Figure 68 : chromatogramme de l'analyse LC-MS en mode ESI+ du produit brut de la cyclisation en présence de bromure de cuivre(II) pour la synthèse sur support solide avec un mélange de 4-propargyloxyanisole 7 et d'aurone propargylée 8	198
Figure 69 : chromatogramme de l'analyse LC-MS en mode ESI+ du produit brut de la cyclisation en présence de bromure de cuivre(II) pour la synthèse sur support solide avec un mélange de 4-propargyloxyanisole 7 , d'aurone propargylée 8 et de vanilline propargylée 9	199
Figure 70 : chromatogramme de l'analyse LC-MS en mode ESI+ du produit brut de la cyclisation en présence de bromure de cuivre(II) pour la synthèse sur support solide avec un mélange de 4-méthoxyphénol 7 , d'aurone 8 et de vanilline 9	201
Figure 71 : chromatogramme de l'analyse LC-MS en mode ESI+ (en haut) et ESI- (en bas) du produit brut du clivage au TFA sur le support solide utilisé pour la synthèse avec la quercétine 46 (I* : produit de cyclisation du substrat greffé initial)	203
Figure 72 : structures en accord avec les masses détectées pour les produits issus de la synthèse sur la quercétine monopropargylée après cyclisation au TFA	203
Figure 73 : structure de l'EDTA disodique.....	204
Figure 74 : chromatogramme de l'analyse LC-MS en mode ESI+ (en haut) et ESI- (en bas) du produit brut du clivage au TFA sur le support solide utilisé pour la synthèse avec l'acide caféique 44	204
Figure 75 : structures en accord avec les masses détectées pour les produits issus de la synthèse avec l'acide caféique après cyclisation au TFA	205
Figure 76 : chromatogramme de l'analyse LC-MS en mode ESI+ (en haut) et ESI- (en bas) du produit brut du clivage au TFA sur le support solide utilisé pour la synthèse avec un mélange d'acide caféique 44 , d'acide gallique 45 et de quercétine 46 (en rose, produits formés avec des dérivés propargylés de l'acide caféique 44 ; en rouge, produits formés avec des dérivés propargylés de l'acide gallique 45 ; en orange, produits formés avec des dérivés propargylés de la quercétine 46)	206
Figure 77 : structures en accord avec les masses détectées pour les produits issus de la synthèse sur la 3,4,5-trispropargyloxybenzoate de propargyle 53 après cyclisation au TFA	206
Figure 78 : chromatogramme de l'analyse LC-MS en mode ESI+ du produit brut de la tentative de cyclisation en présence de bromure de cuivre(II) sur le support solide utilisé pour la synthèse avec un mélange d'acide caféique 44 , d'acide gallique 45 et de quercétine 46	207
Figure 79 : chromatogramme de l'analyse LC-MS en mode ESI+ (en haut) et ESI- (en bas) du produit brut de la cyclisation en présence de monochlorure d'iode sur le support solide utilisé pour la synthèse avec un mélange d'acide caféique 44 , d'acide gallique 45 et de quercétine 46	

Table des figures

(en rose, produits formés avec des dérivés propargylés de l'acide caféique 44 ; en rouge, produits formés avec des dérivés propargylés de l'acide gallique 45)	207
Figure 80 : structures en accord avec les masses détectées pour les produits issus de la synthèse sur l'acide caféique monopropargylé après cyclisation au monochlorure d'iode .	208
Figure 81 : structures en accord avec les masses détectées pour les produits issus de la synthèse sur l'acide gallique monopropargylé après cyclisation au monochlorure d'iode ..	208
Figure 82 : spectre RMN du proton de l'extrait brut de peaux d'orange (DMSO, 400 MHz)	210
Figure 83 : superposition des spectres RMN du proton de l'extrait enrichi en flavonoïdes de peaux d'orange (en rouge) et de l'extrait d'origine (en turquoise) (MeOD, 400 MHz).....	211
Figure 84 : chromatogramme de l'analyse LC-MS en mode ESI+ de l'extrait enrichi en flavonoïdes de peaux d'orange (T = tétraméthoxyflavone, P = pentaméthoxyflavone, Hex = hexaméthoxyflavone, Hep = heptaméthoxyflavone)	211
Figure 85 : métabolites secondaires détectés dans l'extrait de peaux d'orange traité par VLC [68,351]	212
Figure 86 : chromatogramme de l'analyse LC-MS en mode ESI+ de l'extrait enrichi en flavonoïdes de peaux d'orange après déglycosylation avec les masses [M+H] ⁺ observées pour les nouveaux pics	213
Figure 87 : de haut en bas, chromatogrammes de l'analyse LC-MS en mode ESI+ de l'extrait enrichi en flavonoïdes de peaux d'orange après O-déméthylation avec 1,25 ; 1 ; 0,75 et 0,5 équivalents de tribromure de bore	214
Figure 88 : produits de la coupure inter-osidique de la poncirine et de la O-déméthylation de l'hespéridine.....	215
Figure 89 : de gauche à droite, produit de la coupure inter-osidique de l'hespéridine, de la O-déméthylation de l'hespéridine et de la O-déméthylation de la poncirine.....	216
Figure 90 : structure de l'ériodictyol 136	217
Figure 91 : chromatogramme de l'analyse LC-MS en mode ESI- du produit brut du clivage au TFA sur support solide utilisé pour la tentative de synthèse avec l'extrait enrichi en flavonoïdes et propargylé de peaux d'orange	218
Figure 92 : structure des produits les plus probables à l'issue de la cyclisation par clivage au TFA avec de l'hespéridine monopropargylé.....	219
Figure 93 : chromatogramme de l'analyse LC-MS en mode ESI+ (en haut) et en ESI- (en bas) du produit brut du clivage au TFA de la première moitié du support solide utilisé pour la tentative de synthèse avec l'extrait enrichi en flavonoïdes et propargylé de peaux d'orange	220
Figure 94 : chromatogramme de l'analyse LC-MS en mode ESI+ (en haut) et en ESI- (en bas) du produit brut du clivage au TFA de la deuxième moitié du support solide utilisé pour la tentative de synthèse avec l'extrait enrichi en flavonoïdes et propargylé de peaux d'orange	221
Figure 95 : spectre RMN du proton pour la fraction B1 (CDCl ₃ , 400 MHz).....	222
Figure 96 : spectre RMN du proton pour la fraction B3 (CDCl ₃ , 400 MHz).....	223
Figure 97 : spectres RMN du proton pour les produits récupérés dans les phases au méthanol (en bas) et au cyclohexane (en haut) après l'extraction liquide-liquide biphasique sur l'extrait enrichi en flavonoïdes de peaux d'orange (MeOD, 400 MHz).....	225
Figure 98 : de haut en bas, spectres RMN du proton pour les produits récupérés dans les fractions MeOH-H ₂ O 1:2, 2:1 et 1:0 après la VLC sur l'extrait enrichi en flavonoïdes de peaux d'orange (MeOD, 400 MHz)	226
Figure 99 : chromatogramme de l'analyse LC-MS en mode ESI+ du produit récupéré dans la fraction MeOH-H ₂ O 2:1 après la VLC sur l'extrait enrichi en flavonoïdes de peaux d'orange	226

Table des figures

Figure 100 : spectre RMN du proton du second produit purifié après colonne de chromatographie sur le produit brut du clivage au TFA du support solide utilisé pour la synthèse avec l'extrait dégraissé et propargylé de peaux d'orange (CDCl ₃ , 400 MHz).....	228
Figure 101 : de haut en bas, chromatogrammes de l'analyse LC-MS en mode ESI+ de l'extrait enrichi en flavonoïdes de peaux d'orange après propargylation avec 1 ; 1,5 ; 2 ; 4 et 10 équivalents de bromure de propargyle	230
Figure 102 : structures de composés et de familles de composés biosynthétisées favorablement chez les plantes de haute altitude.....	234
Figure 103 : de gauche à droite, parties aériennes de <i>Trifolium alpinum</i> L., <i>Astragalus onobrychis</i> L., <i>Astragalus monspessulanus</i> L. [357]	235

Table des schémas

Schéma 1 : synthèse de l'acide acétylsalicylique par acétylation de l'acide salicylique.....	45
Schéma 2 : simplification de la superstolide A [34]	59
Schéma 3 : DOS à partir de la fumagilline [46]	62
Schéma 4 : DOS de dérivés de tétrahydroquinoléine et de benzopyrane [47]	63
Schéma 5 : formation d'un CEE par synthèse de cycles pyrazoles à partir d'extraits de <i>Polygonum ferrugineum</i> Wedd., <i>Matricaria recutita</i> L. et <i>Chrysanthemum indicum</i> L. [49,53,54]	66
Schéma 6 : formation d'un CEE par réaction avec de l'hydrazine à partir de la chaetoglobosine B d'un extrait de fermentation de <i>Chaetomium madrasense</i> [55].....	67
Schéma 7 : formation d'un CEE par synthèse de pyridazinones à partir de croto lactones d'un extrait de <i>Pueraria montana</i> var. <i>lobata</i> (Willd.) Maesen et activité sur des lignées de cellules cancéreuses de la prostate [56]	67
Schéma 8 : formation d'un CEE par synthèse de α -pyridones à partir de α -pyrones d'une solution de fermentation d'une bactérie du genre <i>Streptomyces</i> [57]	68
Schéma 9 : formation d'un CEE par traitement à la solution d'ammoniaque d'une solution de fermentation de <i>Aspergillus flavus</i> et activité sur l' α -glucosidase [58].....	68
Schéma 10 : formation d'un CEE par synthèse de 5-(éthoxyméthyl)-furan-2-carbaldéhyde oxime à partir de fructose d'un extrait de <i>Paspalum dilatatum</i> Poir. [59].....	69
Schéma 11 : formation d'un CEE par synthèse d'un cycle pyrazole à partir de curcuminoïdes d'un extrait de <i>Curcuma longa</i> L. [60].....	69
Schéma 12 : formation d'un CEE par synthèse d'un cycle imidazole à partir de tanshinones d'un extrait de <i>Salvia miltiorrhiza</i> Bunge et activité contre des lignées de cellules cancéreuses [61]	69
Schéma 13 : formation d'un CEE par synthèse de quinoxalinetanshinones à partir de tanshinones d'un extrait de <i>Salvia miltiorrhiza</i> Bunge [62].....	70
Schéma 14 : formation de CEE par réaction de Bucherer-Bergs à partir (de haut en bas) des extraits de <i>Curcuma zedoaria</i> (Christm.) Roscoe, <i>Paeonia suffruticosa</i> Andrews et <i>Zingiber officinale</i> Roscoe et activité sur AKR1B1 [63–65]	70
Schéma 15 : formation d'un CEE par bromation d'un extrait de <i>Conium maculatum</i> L. et activité sur l'acétylcholine estérase [66]	71
Schéma 16 : formation d'un CEE par bromination d'huile essentielle de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. [67]	71
Schéma 17 : formation de CCE par bromation d'extraits de <i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck et de <i>Curcuma longa</i> L. [68]	72
Schéma 18 : produits des différents CEE formés par halogénéation d'un extrait de <i>Arrabidaea brachypoda</i> (DC.) Bureau [69].....	72
Schéma 19 : formation d'un CEE par fluoration d'extraits de <i>Artemisia dracuncululus</i> L. et de <i>Ocimum basilicum</i> L. et activité sur la tyrosinase [70].....	73
Schéma 20 : principe de formation de CEE par sulfonylation avec du chlorure de p-toluènesulfonyle [71]	73
Schéma 21 : formation d'un CEE par sulfonylation d'extraits d' <i>Urtica urens</i> L. et d' <i>Origanum vulgare</i> L. avec du chlorure de benzènesulfonyle et activité sur les glucosidases [72,73]	74
Schéma 22 : composés formés lors de la formation d'un CEE hydrolyse acide d'un extrait de <i>Gentiana macrophylla</i> Pall. riche en gentiopicroside et activité sur la production macrophagique de monoxyde d'azote [85]	77
Schéma 23 : formation d'un CEE par oxydation d'une solution de fermentation d'un actinomycète [87]	78

Table des schémas

Schéma 24 : composés obtenus lors de la formation d'un DEE sur un extrait de <i>Curcuma zedoaria</i> (Christm.) Roscoe et activité sur la réponse immunitaire de cellules de drosophile [88]	79
Schéma 25 : formation d'un DEE par époxidation d'un extrait de <i>Alpinia galanga</i> (L.) Willd. et activité antiparasitaire [90]	80
Schéma 26 : composés bioactifs obtenus lors de la formation d'un DEE par déglucosylation et réaction de Pictet-Spengler avec de la tryptamine sur des extraits de <i>Cornus officinalis</i> Torr. ex Dur, de <i>Gardenia jasminoides</i> J.Ellis et de <i>Swertia japonica</i> (Roem. & Schult.) (Makino) et activité sur la production de IL-10 et CTLA-4 [91,92].....	81
Schéma 27 : composés bioactifs sur la production de CTLA-4 et PD-L1 obtenus lors de la formation d'un DEE par tentative de déglucosylation et réaction de Pictet-Spengler avec des dérivés de tryptamine ou de tryptophane sur un extrait de <i>Cornus officinalis</i> Torr. ex Dur. [92]	82
Schéma 28 : composés bioactifs obtenus lors de la formation d'un DEE par réduction, réaction de Mitsunobu et réaction de Mizoroki-Heck sur l'atractylénolide II d'un extrait d' <i>Atractylodes japonica</i> Koidz. ex Kitam. et sur un extrait de <i>Cyperus rotundus</i> L. [93]	83
Schéma 29 : composés bioactifs obtenus lors de la formation d'un DEE par réaction de Knoevenagel sur une solution de fermentation de <i>Eurotium rubrum</i> [94,95]	84
Schéma 30 : formation des dérivés d'isocoumarine à l'aide d'un support solide selon le plan de synthèse décrit dans la publication de référence [118].....	96
Schéma 31 : formation des dérivés d'isocoumarines liées à des produits naturels hydroxylés à l'aide d'un support solide [118]	97
Schéma 32 : voie de synthèse de dérivés de 3-((1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-yl)méthyl)-1 <i>H</i> -isochromen-1-one avec utilisation d'un support solide	98
Schéma 33 : mécanisme de la synthèse d'éther par réaction de Williamson	98
Schéma 34 : mécanisme de la réaction secondaire concurrente d'élimination lors d'une réaction de Williamson avec un agent alkylant non primaire	99
Schéma 35 : bilan du couplage de Sonogashira	99
Schéma 36 : mécanisme du couplage de Sonogashira [129–131].....	100
Schéma 37 : bilan du couplage de Glaser	101
Schéma 38 : synthèse de la coumarine réalisée par Perkin [143]	102
Schéma 39 : première synthèse de l'isocoumarine réalisée par Bamberger et Kitschelt [144]	102
Schéma 40 : synthèse réalisée par Castro et Stephens [122,123].....	105
Schéma 41 : synthèses d'isocoumarines réalisées par Sakamoto (en haut) [167] et par Tao et Heck (en bas) [168].....	106
Schéma 42 : synthèse d'isocoumarine par couplage de Sonogashira et cyclisation électrophile	106
Schéma 43 : synthèses d'isocoumarines réalisées par Oliver et Gandour [161].....	107
Schéma 44 : synthèses d'isocoumarines réalisées par Sashida (en haut) [179] et par le groupe de Zhao (en bas) [180].....	107
Schéma 45 : autres voies de synthèse possibles d'isocoumarines via une cyclisation électrophile [167,181–184].....	107
Schéma 46 : synthèse d'isocoumarine réalisée par le groupe de Uchiyama [185]	108
Schéma 47 : synthèses d'isocoumarines réalisées par les groupes de Kajita et Prakash [186,187]	108
Schéma 48 : synthèses d'isocoumarines réalisées par le groupe de Ueura (en haut) [188] et par le groupe de Li (en bas) [189]	108
Schéma 49 : synthèse d'isocoumarine réalisée par le groupe de Cherry [190]	109
Schéma 50 : synthèse d'isocoumarine réalisée par Roy et Sarkar [191]	109

Table des schémas

Schéma 51 : synthèse d'isocoumarine réalisée par le groupe de Suzuki [192]	109
Schéma 52 : synthèse d'isocoumarine réalisée par le groupe de Izumi [193]	109
Schéma 53 : synthèse d'isocoumarine réalisée par le groupe de Kavala [194].....	109
Schéma 54 : synthèse du 1-oxyle de 2-phénylbenzotriazole réalisée par Zinine en 1860 [216]	113
Schéma 55 : synthèse d'un benzotriazole réalisée par Ladenburg en 1876 [218]	113
Schéma 56 : synthèse du 4,5-diméthyl-2-phényl-1,2,3(2 <i>H</i>)triazole à partir de diméthylphénylosazone avec oxydation réalisée par von Pechmann en 1888 [219]	113
Schéma 57 : synthèse d'un 1,2,3-triazole réalisée par Michael en 1893 [222]	113
Schéma 58 : synthèse de deux 1,2,3-triazoles réalisée par Dimroth et Pfister en 1910 [223]	113
Schéma 59 : mécanismes possibles pour la cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen entre un azoture et un alcyne terminal	116
Schéma 60 : principe de la synthèse de 1,2,3-triazoles 1,4-disubstituées par CuAAC	117
Schéma 61 : cycles catalytiques les plus décrits de la CuAAC [243]	119
Schéma 62 : principe de la synthèse de 1,2,3-triazoles 1,5-disubstituées par RuAAC	120
Schéma 63 : possibilités de synthèse de 1,2,3-triazole 1,4-disubstituée par cycloaddition azoture-alcyne catalysée par un métal [251–254].....	120
Schéma 64 : possibilités de synthèse de 1,2,3-triazole 1,5-disubstituée par cycloaddition azoture-alcyne catalysée par un métal [255–257].....	121
Schéma 65 : principe de la synthèse de 4,5,6,7,8,9-hexahydro-1 <i>H</i> -cyclooctatriazole par SPAAC [258]	121
Schéma 66 : possibilités de synthèse de 1,2,3-triazoles 1,5-disubstitués avec emploi d'une base [259,260]	121
Schéma 67 : exemples d'utilisation de 1,2,3-triazole comme bioisostère [265–269].....	123
Schéma 68 : mécanisme de synthèse de l'aurone 2 par condensation de Claisen-Schmidt [279]	129
Schéma 69 : mécanisme de synthèse de l'aurone 2 par condensation de Knoevenagel	130
Schéma 70 : réaction de Williamson sur le 4-méthoxyphénol 1	130
Schéma 71 : réaction de Williamson sur l'aurone 2	131
Schéma 72 : réaction de Williamson sur la vanilline 3	131
Schéma 73 : réaction de Williamson sur le menthol 4	132
Schéma 74 : réaction de Williamson sur le cyclohexanol 5	132
Schéma 75 : réaction de Williamson sur l'alcool benzylique 6	132
Schéma 76 : propargylation de l'acide anisique 15	133
Schéma 77 : propargylation de l'acide pivalique 16	133
Schéma 78 : propargylation de l'acide cinnamique 17	133
Schéma 79 : propargylation de la 4-anisidine 21	134
Schéma 80 : propargylation de la <i>N,N</i> -diisopropylamine 22	134
Schéma 81 : propargylation de la benzylamine 23	135
Schéma 82 : propargylation de la <i>N</i> -méthylaniline 24	135
Schéma 83 : tentative de propargylation de la <i>N</i> -méthylhomovératrylamine 25	135
Schéma 84 : mécanisme de l'élimination de Hofmann à partir de la <i>N</i> -(3,4- diméthoxyphényl)- <i>N</i> -methylprop-2-yn-1-amine 34 dans les conditions de la propargylation	136
Schéma 85 : propargylation de la benzylméthylamine 26	136
Schéma 86 : tentative de propargylation de la 2'-aminoacétophénone 27	136
Schéma 87 : propargylation du benzylmercaptan 39	137
Schéma 88 : réaction de Williamson sur le catéchol 41	138

Table des schémas

Schéma 89 : greffage sur résine de Wang d'acide 2-iodobenzoïque 55 par formation d'un sel de césium	152
Schéma 90 : clivage d'acide 2-iodobenzoïque greffé sur résine de Wang 56	152
Schéma 91 : plan initial pour la synthèse de l'azoture greffé sur support solide 65	153
Schéma 92 : couplage de Sonogashira entre l'acide 2-iodobenzoïque greffé sur support solide 56 et le bromure de propargyle	153
Schéma 93 : couplage de Sonogashira entre l'acide 2-iodobenzoïque greffé sur support solide 56 et le tosylate de propargyle	154
Schéma 94 : couplage de Sonogashira entre l'acide 2-iodobenzoïque greffé sur support solide 56 et l'alcool propargylique suivi d'un clivage au TFA de la résine obtenue 59	154
Schéma 95 : tentatives de tosylation de l'acide 2-(3-hydroxyprop-1-yn-1-yl)benzoïque greffé sur support solide 59	155
Schéma 96 : mécanisme de la réaction d'Appel sur l'acide 2-(3-hydroxyprop-1-yn-1-yl)benzoïque greffé sur résine 59 avec du tétrabromure de carbone.....	156
Schéma 97 : tentative de bromation de l'acide 2-(3-hydroxyprop-1-yn-1-yl)benzoïque greffé sur support solide 59 par réaction d'Appel avec du tétrabromure de carbone.....	156
Schéma 98 : tentative de bromation de l'acide 2-(3-hydroxyprop-1-yn-1-yl)benzoïque greffé sur support solide 59 avec du tribromure de phosphore	157
Schéma 99 : chloration de l'acide 2-(3-hydroxyprop-1-yn-1-yl)benzoïque greffé sur support solide 59 par réaction d'Appel avec de l'hexachloroéthane suivi d'un clivage au TFA de la résine obtenue 62	157
Schéma 100 : tentative de substitution sur l'acide 2-(3-chloroprop-1-yn-1-yl)benzoïque greffé sur support solide 62 avec de l'azoture de sodium dans du DMF avec chauffage.....	157
Schéma 101 : substitution sur l'acide 2-(3-chloroprop-1-yn-1-yl)benzoïque greffé sur support solide 62 avec de l'azoture de sodium et du TBAI dans du DMF avec chauffage suivi d'un clivage au TFA de la résine obtenue 65	158
Schéma 102 : plan initial pour la synthèse de l'acide 2-(3-azidoprop-1-yn-1-yl)benzoïque 71	158
Schéma 103 : couplage de Sonogashira entre le 2-iodobenzoate de méthyle et un dérivé de propargyle avec un groupe partant	159
Schéma 104 : couplage de Sonogashira entre le 2-iodobenzoate de méthyle et l'alcool propargylique	159
Schéma 105 : tentative de tosylation du 2-(3-hydroxyprop-1-yn-1-yl)benzoate de méthyle 70 avec du chlorure de tosyle et de la pyridine	159
Schéma 106 : tentative de tosylation du 2-(3-hydroxyprop-1-yn-1-yl)benzoate de méthyle 70 avec du chlorure de tosyle et de la triéthylamine	160
Schéma 107 : mécanisme de la tosylation du 2-(3-hydroxyprop-1-yn-1-yl)benzoate de méthyle 70 avec du chlorure de tosyle, de la potasse, de la triéthylamine et de l'hydrochlorure de triméthylamine [330]	161
Schéma 108 : tosylation du 2-(3-hydroxyprop-1-yn-1-yl)benzoate de méthyle 70 avec du chlorure de tosyle, de la potasse, de la triéthylamine et de l'hydrochlorure de triméthylamine	161
Schéma 109 : substitution sur le tosylate 69 avec de l'azoture de sodium [331,332]	161
Schéma 110 : saponification de l'ester 65	162
Schéma 111 : tentatives de greffage sur résine de Wang d'acide 2-(3-azidoprop-1-yn-1-yl)benzoïque 72 par formation d'un sel alcalin.....	162
Schéma 112 : cyclisation du 2-(3-azidoprop-1-yn-1-yl)benzoate de méthyle 71 avec du TFA et du tribromure d'indium	163
Schéma 113 : greffage sur résine de Wang d'acide 2-(3-azidoprop-1-yn-1-yl)benzoïque 72 par estérification de Steglich.....	163

Table des schémas

Schéma 114 : mécanisme du greffage sur résine de Wang d'acide 2-(3-azidoprop-1-yn-1-yl)benzoïque 72 par estérification de Steglich.....	164
Schéma 115 : couplage de Sonogashira entre le 2-bromobenzoate de méthyle et le 4-propargyloxyanisole 7 dans les conditions de Zhang et al. [336]	168
Schéma 116 : couplages de Sonogashira entre le 2-bromobenzoate de méthyle et entre ce même substrat et le 4-éthynylanisole et le 1-heptyne, dans les conditions de Zhang et al. [336]	168
Schéma 117 : couplage de Sonogashira entre le 4-iodotoluène et le 4-propargyloxyanisole 7 dans les conditions de Zhang <i>et al.</i> [336].....	168
Schéma 118 : produit 77 de l'homocouplage de Glaser du 4-propargyloxyanisole 7	169
Schéma 119 : cyclisation du composé 73 avec du bromure de cuivre(II).....	172
Schéma 120 : couplage de Sonogashira entre l'acide 2-iodobenzoïque greffé sur support solide 56 et le 4-propargyloxyanisole 7	174
Schéma 121 : cyclisation du composé greffé sur support solide 80 par clivage au TFA.....	174
Schéma 122 : cyclisation du composé greffé sur support solide 80 avec du bromure de cuivre(II).....	174
Schéma 123 : cyclisation du composé greffé sur support solide 80 avec du chlorure de cuivre(II)	175
Schéma 124 : cyclisation du composé greffé sur support solide 80 avec du monochlorure d'iode.....	175
Schéma 125 : couplage de Sonogashira entre l'acide 2-iodobenzoïque greffé sur support solide 56 et l'aurone propargylée 8 , suivi de la cyclisation de la résine obtenue 86 avec du bromure de cuivre(II).....	177
Schéma 126 : couplage de Sonogashira entre l'acide 2-iodobenzoïque greffé sur support solide 56 et un mélange de 4-propargyloxyanisole 7 et d'aurone propargylée 8 , suivi de la cyclisation avec du bromure de cuivre(II)	178
Schéma 127 : couplage de Sonogashira entre l'acide 2-iodobenzoïque greffé sur support solide 56 et le 4-méthoxybenzoate de propargyle 18 , suivi de la cyclisation de la résine obtenue 89 avec du bromure de cuivre(II)	179
Schéma 128 : tentatives de couplage de Sonogashira entre l'acide 2-iodobenzoïque greffé sur support solide 56 et la 4-méthoxy- <i>N</i> -propargylaniline 28 ainsi qu'entre le même substrat et la <i>N,N</i> -diisopropylpropargylamine 30	180
Schéma 129 : couplage de Sonogashira entre l'acide 2-iodobenzoïque greffé sur support solide 56 et la benzyldipropargylamine 32 ainsi qu'entre ce même substrat et la <i>N</i> -méthyl- <i>N</i> -propargylaniline 33 , suivi de la cyclisation en présence de bromure de cuivre(II)	180
Schéma 130 : couplage de Sonogashira entre le 2-iodobenzoate de méthyle et la benzyldipropargylamine 32 suivi d'une cyclisation en présence de bromure de cuivre(II) ..	181
Schéma 131 : tentative de couplage de Sonogashira entre le 2-iodobenzoate de méthyle et la 4-méthoxy- <i>N</i> -propargylaniline 28	181
Schéma 132 : couplage de Sonogashira entre le 2-iodobenzoate de méthyle et la <i>N</i> -méthyl- <i>N</i> -propargylaniline 33 et entre ce même substrat et la benzylméthylpropargylamine 36	182
Schéma 133 : tentatives de cyclisation des composés 99 et 100 en présence de bromure de cuivre(II).....	182
Schéma 134 : propargylation du 4-méthoxyphénol 1 ou de l'acide <i>p</i> -anisique 15 enchaînée avec un couplage de Sonogashira sur l'acide 2-iodobenzoïque greffé sur support solide 56 puis suivie d'une cyclisation en présence de bromure de cuivre(II)	183
Schéma 135 : réaction de Williamson sur le 4-méthoxyphénol 1 enchaînée avec un couplage de Sonogashira avec le 2-iodobenzoate de méthyle, avec utilisation de K ₂ CO ₃ comme unique base	184

Table des schémas

Schéma 136 : tentative d'éthérisation par réaction de Mitsunobu entre le 2-(3-hydroxyprop-1-yn-1-yl)benzoate de méthyle 64 et le 4-méthoxyphénol 1	191
Schéma 137 : tentative d'éthérisation par utilisation catalytique de monohydrate d'APTS entre le composé 70 et le menthol 4	191
Schéma 138 : réaction « clic » entre l'azoture de benzyle et le 4-propargyloxyanisole 7	193
Schéma 139 : réaction "clic" entre l'azoture 71 et le 4-propargyloxyanisole 7	194
Schéma 140 : cyclisation du composé 114 en présence de bromure de cuivre(II)	194
Schéma 141 : réaction "clic" entre l'azoture 71 et l'aurone propargylée 8 suivie d'une cyclisation en présence de bromure de cuivre(II).....	195
Schéma 142 : réaction "clic" entre l'azoture 71 et la 3-méthoxy-4-(propargyloxy)benzaldéhyde 9 suivie d'une cyclisation en présence de bromure de cuivre(II)	196
Schéma 143 : réaction « clic » entre l'azoture greffé sur support solide 60 et le 4-propargyloxyanisole 7 suivi d'une cyclisation en présence de bromure de cuivre(II).....	197
Schéma 144 : cyclisation de la résine 123 par clivage au TFA	197
Schéma 145 : réaction « clic » entre l'azoture greffé sur support solide 65 et un mélange de 4-propargyloxyanisole 7 et d'aurone propargylée 8 suivi d'une cyclisation en présence de bromure de cuivre(II)	198
Schéma 146 : réaction « clic » entre l'azoture greffé sur support solide 65 et un mélange 4-propargyloxyanisole 7 , d'aurone propargylée 8 et de 3-méthoxy-4-(propargyloxy)benzaldéhyde 9 suivi d'une cyclisation en présence de bromure de cuivre(II)	199
Schéma 147 : enchaînement de la réaction de Williamson sur le 4-méthoxyphénol 1 et de la réaction « clic » sur l'azoture greffé sur support solide 65	200
Schéma 148 : réaction de Williamson sur un mélange de 4-méthoxyphénol 1 , d'aurone 2 et de vanilline 3 enchaîné avec une réaction « clic » sur l'azoture greffé sur support solide 65 et suivi d'une cyclisation en présence de bromure de cuivre(II).....	201
Schéma 149 : déroulement de la synthèse sur support solide avec l'extrait enrichi en flavonoïdes de peaux d'orange	221
Schéma 150 : proposition de synthèse alternative sur support solide de dérivés d'isocoumarine.....	235
Schéma 151 : proposition de synthèse sur support solide de dérivés d'indole et de benzothiophène [358,359].....	236

Table des tableaux

Tableau 1 : comparaison des caractéristiques physico-chimiques des principes actifs, des produits naturels et des produits de chimie combinatoire	53
Tableau 2 : bilan des réactions de Williamson sur des composés hydroxylés.....	129
Tableau 3 : bilan des réactions de propargylation d'acides carboxyliques	137
Tableau 4 : bilan des réactions de propargylation d'amines primaires.....	138
Tableau 5 : bilan des réactions de propargylation d'amines secondaires.....	138
Tableau 6 : conditions testées pour l'optimisation de la réaction de Williamson sur la quercétine 49	145
Tableau 7 : résultats des tests de propargylation sur le mélange artificiel d'après les analyses LC-MS (conditions : 1 éq de bromure de propargyle, 1 éq de base, DMF, T.A., nuit)	147
Tableau 8 : résultats des tests de propargylation sur les mélanges artificiels simplifiés d'après les analyses RMN du proton et LC-MS (conditions : 1 éq de bromure de propargyle, 1 éq de base, DMF, T.A., nuit)	147
Tableau 9 : résultats des manipulations d'optimisation du couplage de Sonogashira avec le 4-propargyloxyanisole 7	169
Tableau 10 : rendements de la synthèse sur support solide avec le 4-propargyloxyanisole 9 pour les conditions de cyclisation permettant de former des produits halogénés.....	176
Tableau 11 : résultats des tests d'enchaînement de la propargylation et du couplage de Sonogashira sur support solide avec un composé monofonctionnalisé (noir = non appliqué)	184
Tableau 12 : glycosides de polyphénol détectés par LC-MS dans l'extrait de peaux d'orange après propargylation avec variation du nombre d'équivalents de bromure de propargyle .	230

Introduction générale

Depuis que l'Homme a commencé à exploiter les plantes de son environnement proche pour traiter ses problèmes de santé, les produits naturels ont toujours occupé une place importante comme source de nouveaux composés bioactifs destinés à servir de principes actifs de médicament malgré la concurrence avec les composés de synthèse depuis le XIXe siècle et l'émergence de la chimie organique. Ces dernières années, plusieurs techniques de recherche de composés bioactifs associant utilisation de produits naturels et exploitation de réactions de synthèse organique ont été mises au point afin de varier les moyens d'accéder à des produits bioactifs originaux. Parmi eux, la méthodologie qui fait l'objet des travaux de cette thèse est celle de la modification chimique d'extraits naturels qui consiste, pour faire simple, en l'application de réactions de synthèse sur un extrait de plante dans le but de générer de la diversification de structure sur les produits naturels constituant l'extrait et par conséquent de former de nouveaux composés potentiellement bioactifs parmi les produits de l'extrait ainsi modifié.

Pour cette thèse, nous nous sommes donnés pour objectif de travailler à l'élaboration d'une nouvelle manière de mettre en œuvre cette méthodologie en utilisant un support solide, ce qui doit permettre de remédier aux inconvénients concernant la purification de l'extrait modifié et l'évaluation de l'activité biologique de ces constituants qui ont déjà pu être décrits par les précédents groupes ayant travaillé sur le sujet. Pour atteindre cet objectif, il est nécessaire de réaliser une preuve de concept de l'ensemble de la méthodologie qui se basera en pratique sur la synthèse de dérivés d'isocoumarine avant de pouvoir réaliser des applications sur des extraits produits à partir de plantes récoltées aux abords d'un jardin botanique en lien avec l'Université Grenoble Alpes et issues de la flore alpine.

Le présent manuscrit relate le contexte dans lequel s'inscrit le sujet de la thèse et le travail sur la preuve de concept de cette méthodologie qui a, dans les faits, constitué l'intégralité du travail réalisé. Les deux premiers chapitres sont essentiellement bibliographiques. Le premier dépeint un historique de l'utilisation des produits naturels à des fins pharmaceutiques et un état de l'art de la recherche de nouveaux composés bioactifs en partant des produits naturels. Le second pose les bases de la méthodologie que nous souhaitons mettre en place et de sa preuve de concept et présente les deux plans de synthèse de dérivés d'isocoumarine qui ont été testés pour la construction de cette dernière. Les quatre chapitres suivants détaillent quant à eux l'ensemble des manipulations pratiques de cette thèse : le chapitre 3 se concentre sur le travail préliminaire indispensable pour pouvoir ensuite réaliser la construction de la preuve de concept, les chapitres 4 et 5 expliquent en détail la démarche suivie pour tenter d'établir une preuve de concept de la méthodologie avec chacun des deux plans de synthèse précédemment décrits et pour terminer, le sixième et dernier chapitre dévoilera les résultats respectifs de l'application de ces deux plans de synthèse sur un premier extrait naturel très accessible et décrit qui n'est pas issu de la flore alpine, à savoir un extrait méthanolique de peaux d'orange.

Chapitre 1 : les produits naturels dans la recherche de molécules bioactives

Introduction

Un produit naturel est un composé chimique qui peut se trouver dans la nature en étant produit par un organisme vivant. N'importe quel produit naturel peut donc ne pas forcément être d'origine naturelle puisqu'il est aujourd'hui possible de les obtenir sans faire d'extraction en laboratoire, en effectuant une synthèse totale - soit en construisant complètement cette molécule par une suite de réactions impliquant des composés simples souvent issus de la pétrochimie - ou par hémisynthèse, c'est-à-dire en produisant ce produit naturel à partir d'un autre produit naturel plus simple. Mais que ce soit des composés obtenus par la voie de l'extraction ou par celle synthétique, les produits naturels ainsi que les composés qui en dérivent ou qui en sont inspirés occupent une place de choix dans l'industrie pharmaceutique puisque, comme nous le verrons ultérieurement, plus de la moitié des médicaments mis sur le marché pendant ces quarante dernières années ont un principe actif qui entre dans les catégories citées. Il n'y a donc rien d'étonnant à ce que les produits naturels fassent l'objet de recherches actives dans le domaine de la découverte de médicaments et que cela ait généré de nombreuses méthodologies de travail pour parvenir à des composés bioactifs originaux provenant de sources naturelles ou synthétisés à partir de ces derniers.

Dans cette partie, nous allons aborder la question de la place des produits naturels dans la découverte de médicaments et les techniques de découvertes des produits naturels (et leurs dérivés) bioactifs et en particulier la modification chimique d'extraits naturels qui fait l'objet de cette thèse. Mais avant cela, il peut être intéressant de dire un mot sur comment se déroule l'ensemble du processus de recherche et de développement d'un nouveau médicament, depuis la mise au point des molécules bioactives au laboratoire jusqu'à la mise sur le marché du médicament. On se limitera ici à la description du processus pour un médicament dit princeps puisque pour un médicament générique, c'est-à-dire un médicament identique ou équivalent au princeps produit après expiration du brevet de ce dernier ou en l'absence d'un tel brevet, la démarche présente quelques différences. Décrire cette démarche nous permettra de mieux comprendre l'avancement de l'étude thérapeutique de certains composés cités dans les exemples.

I. Le processus de recherche et développement d'un nouveau médicament

L'ensemble du processus de recherche et développement d'un nouveau médicament (**Figure 1**), qui prend généralement dans une fourchette de dix à quinze ans [1], est une démarche encadrée par la loi qui doit garantir que ce médicament puisse remplir la fonction thérapeutique attendue tout en ayant écarté la possibilité d'un quelconque effet indésirable dangereux pour la santé du patient à court ou long terme.

Chapitre 1 : les produits naturels dans la recherche de molécules bioactives

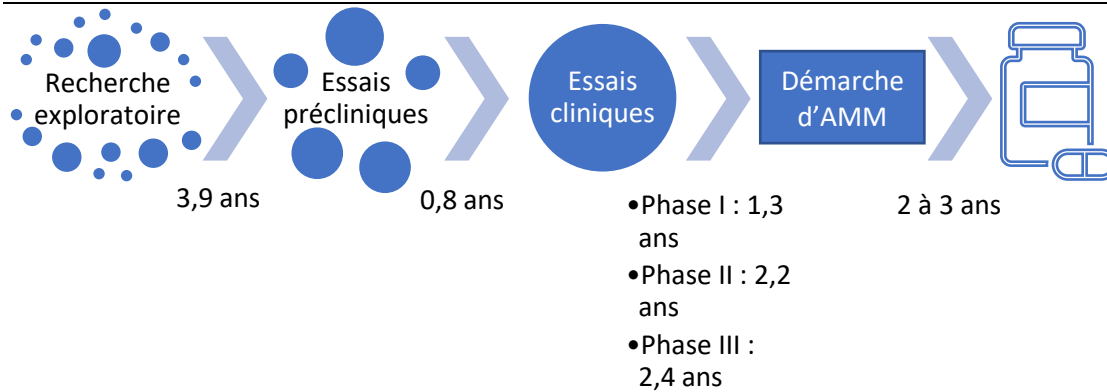


Figure 1 : processus de recherche et développement d'un nouveau médicament (durées en moyenne) [2]

Avant tout, il convient donc de faire une longue recherche exploratoire consistant en la synthèse ou l'extraction de molécules qui constitueront une bibliothèque (contenant aux alentours de 10000 molécules [2]) qui sera ensuite criblée pour ne retenir que les constituants qui affichent une activité biologique jugée suffisante contre la cible qu'on a auparavant défini. C'est également au cours de cette étape que sont déposés les brevets pour les molécules bioactives originales assurant l'exclusivité de leur exploitation.

Lors du deuxième stade, celui des essais précliniques, les molécules candidates subissent de nouveaux tests pour préciser leurs interactions avec le milieu biologique. D'abord, ce sont des tests de pharmacologie expérimentale qu'on effectue dans un premier temps *in vitro* soit sur un système biologique isolé de son environnement naturel comme de simples cellules, puis *in vivo*, sur des animaux [3]. Ces tests sont simplement des essais d'efficacité des molécules candidates ainsi qu'une première étude pharmacocinétique [2]. A cela s'ajoutent des études toxicologiques où les effets secondaires des possibles futurs traitements sont établis ainsi que des études pharmacocinétiques pour déterminer comment le composé est absorbé, distribué, métabolisé et excrété par l'organisme (ce qu'on retrouve souvent sous l'acronyme ADME dans la littérature) [2,3]. Les essais précliniques sont le stade le plus court de tout le processus avec une durée moyenne de 0,8 ans [2].

Lorsque les résultats des essais précliniques sont revenus positifs, ce qui est le cas pour une molécule candidate sur dix, l'ensemble des candidats restants peut être testé sur l'organisme humain au cours d'essais cliniques en milieu hospitalier et dans des cabinets médicaux. Ces essais sont divisés en trois phases dont le passage dans chacune d'entre elles est conditionné à la survenue de la phase précédente [2] :

- En phase I, on cherche à voir si le principe actif est bien toléré par l'organisme et à expliciter son activité pharmacologique et son devenir après absorption par l'organisme en administrant sous surveillance étroite à des volontaires sains des doses de plus en plus importantes du médicament. Cette phase est en général la plus rapide des essais cliniques avec une durée moyenne de 1,3 an.
- En phase II, on détermine la dose de médicament qui offre le meilleur rapport entre l'effet thérapeutique et les effets secondaires en l'administrant sur un petit groupe de patients malades. C'est la phase la plus périlleuse des essais cliniques car à ce moment, il y a seulement 31 % de probabilité de passer de la phase II à la phase III et également la phase la plus onéreuse avec près de 317 millions de dollars dépensés par nouveau médicament. Cette phase dure en moyenne 2,2 ans.
- En phase III, on élargit le groupe de patients malades testés à plusieurs centaines ou milliers et on se rapproche le plus possible des conditions dans lesquelles les médicaments candidats sont destinés à être utilisés. Durant ces tests, on compare ces médicaments à ceux déjà existant ou à un placebo en termes d'efficacité du traitement et de sécurité. On

Chapitre 1 : les produits naturels dans la recherche de molécules bioactives

regarde aussi si ce médicament peut interagir avec d'autres traitements pris par les patients et quelles en sont les conséquences pour l'organisme, quelles précautions d'emploi sont à prendre pour l'administration et quelle forme est la plus adaptée pour ce médicament. C'est la phase la plus longue des essais cliniques puisqu'elle dure en moyenne 2,4 ans.

La dernière étape avant la mise sur le marché du médicament est l'approbation administrative. Un dossier est constitué avec l'ensemble des données accumulées durant les essais cliniques et est soumis aux autorités de sécurité du médicament des territoires visés afin d'obtenir une autorisation de mise sur le marché (AMM). Ces organismes évaluent les résultats des essais cliniques et suivant leur appréciation, ils peuvent soit rejeter ce médicament, soit demander un complément d'information à son sujet, soit délivrer l'AMM [1,2]. Par la suite, le prix réglementaire de vente du médicament et son taux de remboursement sont fixés. Toutes ces démarches administratives prennent 2 à 3 ans [2].

Le médicament peut alors être mis à disposition mais cette mise sur le marché n'est jamais définitive car il reste en permanence sous surveillance des autorités de sécurité du médicament. Des études de pharmacovigilance doivent être réalisées régulièrement par ces autorités et par la firme vendeuse pour mettre à jour le rapport bénéfice/risque et évaluer de possibles effets secondaires à long terme [1,2]. Si un effet nocif pour la santé du patient dans des conditions normales d'utilisation ou un effet thérapeutique déficient est constaté, un retrait du marché peut intervenir [1].

Maintenant que les conditions générales de recherche et développement des médicaments sont posées, nous pouvons parler du contexte plus spécifique des produits naturels bioactifs, en commençant par une contextualisation historique qui nous permettra de mieux comprendre quels enjeux se cachent derrière leur utilisation à des fins thérapeutiques pour le domaine de la santé et l'industrie pharmaceutique.

II. Historique de la découverte de médicaments dans les produits naturels

II.A. Une source privilégiée depuis l'Antiquité

Pendant très longtemps, l'histoire de l'utilisation des produits naturels à des fins thérapeutiques s'est confondue avec l'exploitation des ressources naturelles par les populations locales. De fait et de tout temps, l'homme s'est reporté sur la nature pour trouver les moyens de traiter les maladies dont il pouvait être atteint : pour illustrer cela, on peut citer une étude de 2017 sur l'analyse de la dentition d'un fossile d'homme de Néandertal trouvé à El Sidron, en Espagne [4]. D'une part, les chercheurs ont pu constater que cet homme souffrait d'un abcès dentaire encore visible sur sa mâchoire. D'autre part, l'analyse ADN de la plaque dentaire a révélé la présence de l'ADN de la moisissure du genre *Penicillium*, bactérie à l'origine d'un antibiotique bien connu à savoir la pénicilline, ainsi que celle de bourgeons de peuplier, qui contiennent notamment de la salicine pouvant être métabolisée par le foie en acide salicylique, aujourd'hui connu pour ses propriétés antalgiques. Les auteurs de cette étude y voient là des preuves que ces hommes préhistoriques pouvaient se servir de certaines ressources naturelles en vue de se soigner.

Les plus anciens documents mentionnant l'usage pharmaceutique de plantes nous viennent des civilisations égyptiennes et mésopotamiennes : on a pu retrouver des écritures égyptiennes sur les observations des effets thérapeutiques de certaines plantes datant au plus tôt de 2900 avant notre ère et des tablettes cunéiformes de Mésopotamie produite vers -2600 relatant les propriétés de substances issues d'un millier de plantes [5–8]. A l'image des

Chapitre 1 : les produits naturels dans la recherche de molécules bioactives

égyptiens, toutes les grandes civilisations antiques ont apporté leur contribution à ce savoir botanique et pharmacologique : les chinois sont à l'origine de nombreux ouvrages dont celui avec la plus grande ancienneté avérée, le *Wu Shi Er Bing Fang*, date de vers -1100 ; certains de ces ouvrages sont exploités en médecine traditionnelle chinoise [5–8]. Du côté des civilisations gréco-romaines, chez qui le développement des connaissances en utilisation des plantes médicales est véritablement devenu rationnel, on peut citer les écrits de (**Figure 2**) [5–8] :

- Hippocrate (-460 à -377), inventeur de la médecine et dont le *Corpus Hippocraticum* relate l'utilisation de mélanges de plantes pour le traitement de certaines maladies ;
- Théophraste (III^e siècle avant notre ère), considéré comme un pionnier de la botanique avec son inventaire raisonné des plantes et sa description de l'utilité médicinale de certaines d'entre elles ;
- Dioscoride (II^e siècle de notre ère), qui a voyagé avec l'armée romaine et répertorié les plantes qu'il a pu observer durant ces périples ainsi que leur conservation et leur utilisation à titre médicinale ;
- Pline l'Ancien (I^e siècle de notre ère), romain qui compila l'ensemble des connaissances de son temps sur les végétaux, leurs caractéristiques botaniques et leurs utilisations dans son *Histoire naturelle*, souvent considéré comme la première encyclopédie.



Figure 2 : de gauche à droite, portraits de Hippocrate, Théophraste, Dioscoride, Pline l'Ancien et Galien

Mais celui qui exerça la plus grande influence sur le monde de la médecine dans l'Antiquité est sans aucun doute le grec Galien (III^e siècle de notre ère) qui a pratiqué la pharmacie et la médecine à Rome et qui fût un auteur prolifique. On lui attribue en effet une trentaine d'ouvrages de médecine où il détaille par exemple la formulation et la prescription de drogues complexes composés parfois de dizaines de plantes différentes et, à l'occasion, exotiques qui font partie intégrante de ce qu'on a appelé plus tard le galénisme ou, plus vulgairement, la théorie des humeurs [5–7]. Cette doctrine énonce que l'ensemble des pathologies sont provoquées par le déséquilibre d'une ou plusieurs de quatre substances présentes dans l'organisme de chaque patient appelées humeurs (le sang, la bile, l'atrabile et le flegme) et que pour les rééquilibrer, il convient d'utiliser une plante associée à un élément (air, feu, terre, eau) qui s'oppose à l'humeur dominante responsable de la maladie [9]. Le galénisme régira la médecine pendant environ un millénaire.

Les connaissances générées par les civilisations gréco-romaines sont ensuite perpétuées et enrichies par les arabes à partir du VIII^e siècle, qui y ajoutent en plus de leurs propres connaissances celles des chinois et des indiens, inconnues jusqu'alors en Europe [5–8]. C'est à cette époque que sont créées les premières pharmacies privées. L'une des contributions les plus significatives provient de Avicenne (XI^e siècle) qui rassembla l'ensemble de ces savoirs dans son encyclopédie *Canon Medicinæ*, un livre qui influença les pratiques de la médecine sur les six siècles suivants [5–8]. Les travaux de Ibn al-Baitar sont également importants puisqu'on peut en retenir plusieurs ouvrages de références qui furent traduits dans les langues occidentales dont le *Corpus des simples* [6].

Chapitre 1 : les produits naturels dans la recherche de molécules bioactives

A la même époque, en Occident, les monastères d'Europe de l'Ouest continuent à faire vivre l'héritage des connaissances des civilisations antiques [5,7]. Mais au siècle suivant, une rupture avec la médecine galéniste est entreprise avec le suisse allemand Paracelse (**Figure 3**) qui rejette cette dernière et prône à sa place l'explication des maladies et de leur traitement par des phénomènes chimiques ainsi que l'utilisation de drogues minérales ou végétales moins complexes que celles héritées de Galien, tel que des remèdes à base de métaux lourds à petite dose ou d'extraits de plantes locales [6,10]. Cependant, si le paracelsisme ou théorie des signatures remplace petit à petit le galénisme, les sciences pharmaceutiques restent une discipline largement empirique et on se contente encore de dire que tel essence d'une plante peut avoir un effet sur telle maladie [6].



Figure 3 : portrait de Paracelse

L'avènement de la chimie moderne à la suite des travaux d'Antoine Lavoisier (**Figure 4**) et de ses contemporains à la fin du XVIII^e siècle et au début du XIX^e siècle permettent de franchir un pas déterminant pour l'utilisation des produits naturels à des fins thérapeutiques puisqu'on parvient à partir de cette époque à isoler à partir des plantes médicinales des substances pures chimiquement à l'origine des propriétés bioactives de ces plantes. Le premier exemple de produit naturel à avoir été isolé est la morphine, un composé extrait du pavot à opium (*Papaver somniferum* L.) par l'allemand Friedrich Serturmer en 1816 (**Figure 4**), qui fût identifié comme le responsable des propriétés analgésiques de la plante et qui accessoirement constitue le premier membre découvert d'une grande famille de produits naturels azotés, les alcaloïdes [5–8,11]. Par la suite, les apothicaires et pharmaciens se détournent de l'utilisation des extraits de plantes bruts pour se concentrer sur l'isolement de produits naturels, qui se sont multipliées durant tout le XIX^e siècle et dont beaucoup d'entre eux font partie des alcaloïdes toujours beaucoup exploités de nos jours [11]. Ont été ainsi successivement isolées l'émétine et la strychnine en 1817, la brucine et la caféine en 1819, la quinine en 1820, la coniine en 1826, la codéine en 1833 ainsi que l'atropine et la papavérine en 1848 (**Figure 5**) [6]. Mais bien sûr, ces découvertes de produits naturels pharmacologiquement intéressants s'étendent rapidement au-delà des alcaloïdes : on peut noter entre autres l'isolement du salicyaldéhyde de la reine-des-prés (*Spiraea ulmaria* (L.) Maxim.) en 1839 ou celle de la digitoxine à partir de la digitale pourpre (*Digitalis purpurea* L.) en 1867 (**Figure 5**) [6]. De plus, les progrès théoriques et pratiques dans la détermination des structures moléculaires dans la seconde moitié du XIX^e siècle permettent de rendre plus concrète la composition des produits naturels au-delà de leurs formules brutes : la coniine fût le premier produit naturel dont la structure a été caractérisée en 1870 [6].



Figure 4 : portraits d'Antoine Lavoisier (à gauche) et de Friedrich Serturner (à droite)

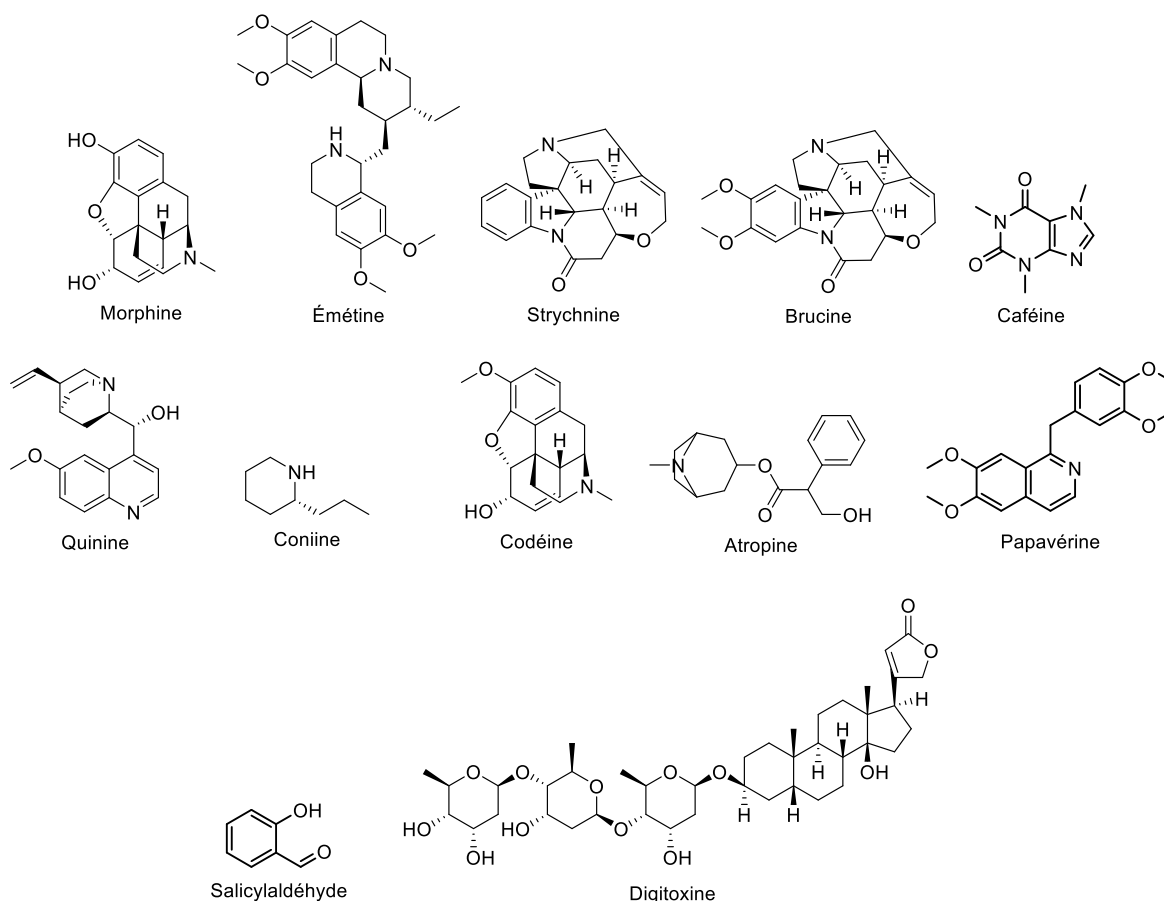
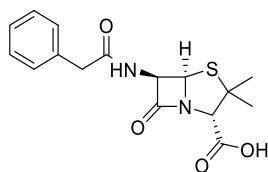


Figure 5 : structures des premiers produits naturels découverts

Avec des progrès continus concernant aussi bien les procédés d'extraction et d'isolement que la caractérisation de la structure moléculaire et de l'activité biologique, les produits naturels découverts au XX^e siècle sont de plus en plus complexes du point de vue structural et diversifiés sur le plan de leurs sources d'origine. Ainsi, la découverte (accidentelle) en 1929 par Alexander Fleming de la pénicilline G (**Figure 6**), produite par la moisissure *Penicillium chrysogenum*, et le développement de son usage thérapeutique par Howard Walter Florey et Ernst Boris Chain ont constitué une grande avancée dans la mise au point d'antibiotiques et de nouveaux médicaments en général, à tel point que Fleming, Florey et Chain furent récompensés du prix Nobel de médecine en 1945 pour leurs travaux [6–8,11]. Dès lors, les efforts des recherches académique et industrielle de produits naturels se sont plus concentrés sur la caractérisation de métabolites issues de bactéries ou de mycètes et sur le développement de nouveaux antibiotiques [6–8,11]. Après la seconde guerre mondiale et jusqu'aux années 1990, toutes les grandes compagnies pharmaceutiques possédaient leur

Chapitre 1 : les produits naturels dans la recherche de molécules bioactives

propre programme de recherches de produits naturels pouvant servir de principes actifs [7,11,12].



Pénicilline G

Figure 6 : structure de la pénicilline G

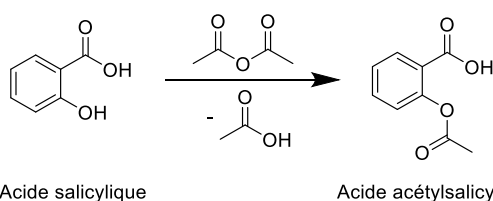
Cependant, comme le montre le paragraphe suivant, l'essor et le développement de la chimie de synthèse et de techniques associées va entraîner une perte de vitesse dans l'investigation de nouveaux produits naturels.

II.B. L'essor des techniques de synthèse et le recul des produits naturels

A la fin du XIX^e siècle, la chimie de synthèse organique montra qu'elle pouvait apporter des solutions pour la médecine conjointement avec la recherche des produits naturels : en 1898, la société pharmaceutique Bayer dépose un brevet sur la synthèse de l'acide acétylsalicylique à partir de l'acide salicylique de la reine-des-prés (**Schéma 1**) [6,7]. Le procédé de synthèse de cette molécule, mieux connu sous le nom commercial d'Aspirine[®], est traditionnellement attribué à Felix Hoffmann (**Figure 7**) bien qu'il soit en réalité parvenu à cette molécule sous la direction d'Arthur Eichengrün (**Figure 7**) [6]. La mise sur le marché de l'Aspirine[®] comme antalgique et anti-inflammatoire a rencontré un incroyable succès qui perdure toujours aujourd'hui puisqu'il s'agit de l'un des médicaments les plus consommés au monde et de tous les temps [6].



Figure 7 : portraits de Felix Hoffmann (à gauche) et Arthur Eichengrün (à droite)



Acide salicylique

Acide acétylsalicylique

Schéma 1 : synthèse de l'acide acétylsalicylique par acétylation de l'acide salicylique

Mais l'utilisation de techniques de synthèse organique de plus en plus nombreuses et sophistiquées au fil du temps ne permet pas seulement d'imaginer de nouveaux composés originaux inexistant à l'état naturel et aux propriétés pharmaceutiques affirmées : elle a progressivement permis d'obtenir des produits naturels déjà caractérisés sans nécessairement partir d'une source naturelle. A ce titre, l'ensemble des travaux de l'américain Robert Burns Woodward représente une avancée des plus importantes pour la synthèse organique. D'une part, Woodward a posé les jalons de l'exploitation de certaines des techniques d'analyses les plus modernes de son temps à des fins de détermination structurale en publiant dans les années 1940 une série d'articles sur l'application de la spectroscopie ultraviolette afin d'élucider

Chapitre 1 : les produits naturels dans la recherche de molécules bioactives

la structure de produits naturels. D'autre part, Woodward est parvenu à synthétiser un grand nombre de produits naturels à la structure tridimensionnelle définie, notamment en systématisant une approche rationnelle au moyen de la compréhension du mécanisme des réactions. De cette manière, il débouche sur la synthèse totale de la quinine (**Figure 5**) en 1944, de la cortisone (**Figure 8**) en 1951, de la strychnine (**Figure 5**) en 1954, de la réserpine en 1958 ou encore de la colchicine en 1965 (**Figure 8**). Mais le travail le plus impressionnant de Woodward reste la synthèse totale de la vitamine B12 (**Figure 8**) qu'il a réalisé en collaboration avec le suisse Albert Eschenmoser et avec l'aide d'une centaine de doctorants et post-doctorants, qui fût achevée en 1973 après plus d'une décennie de recherche et dont les deux approches proposées à l'époque par ces chercheurs constituent toujours aujourd'hui les seules prouvées pour synthétiser ce produit naturel. L'ensemble des contributions de Woodward lui valurent le prix Nobel de chimie en 1965.

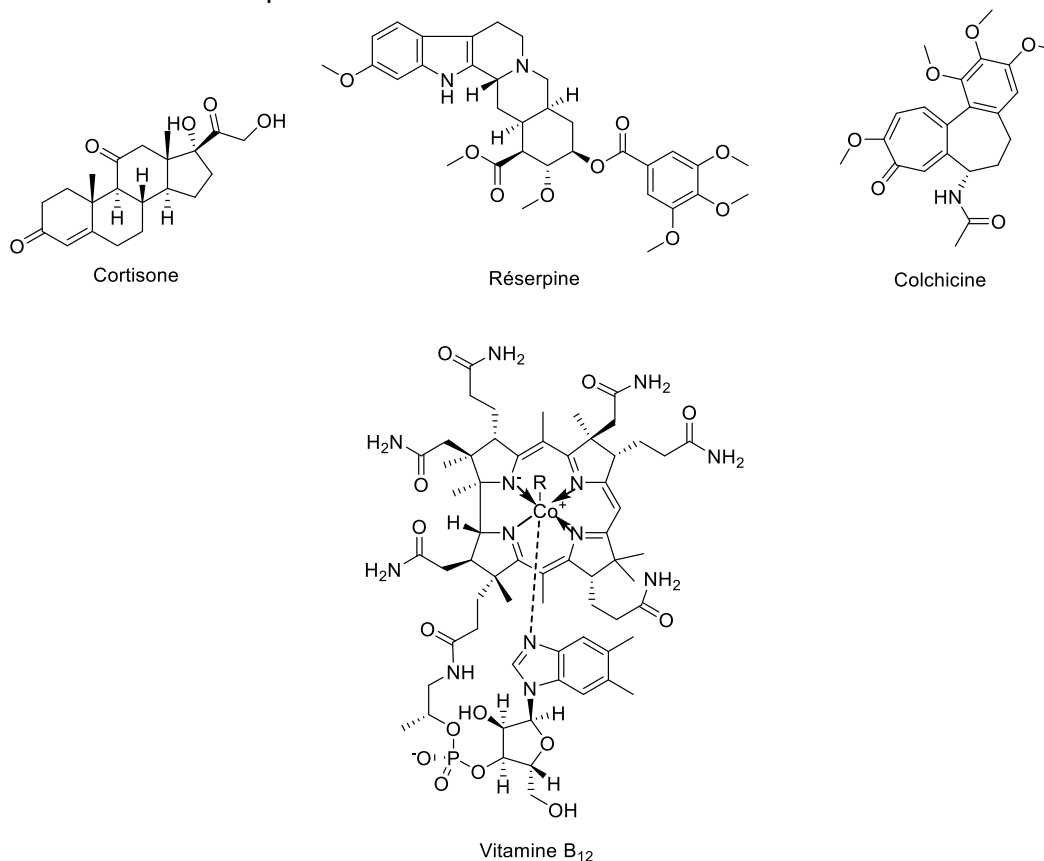


Figure 8 : structure d'exemples de produits naturels synthétisés par R. B. Woodward

Dans ce contexte, les produits naturels sont restés pendant longtemps le principal fournisseur de nouveaux principes actifs pour le domaine thérapeutique : jusque dans les années 1990, 80 % des principes actifs de médicaments étaient des produits naturels ou des analogues inspirés de ces derniers [13]. Mais durant cette décennie et la suivante, les grands groupes pharmaceutiques ont choisi de privilégier les recherches sur les molécules synthétiques, certains d'entre eux n'hésitant pas à supprimer leurs programmes de recherche de produits naturels. Seules les universités et les start-ups continuèrent alors ce type d'investigations [12].

Ce changement de paradigme de l'industrie pharmaceutique s'explique avant tout par l'apparition conjointe entre la deuxième moitié des années 1980 et la première moitié des années 1990 de deux techniques pour lesquelles un grand potentiel pour la recherche de nouveaux composés bioactifs a été prédit [7,11–15] :

- D'une part, la chimie combinatoire, une technique de synthèse qui permet de construire rapidement une bibliothèque de molécules qui peut être ensuite étudiée sur le plan

Chapitre 1 : les produits naturels dans la recherche de molécules bioactives

bioactif. Pour résumer schématiquement, au lieu de faire réagir une seule molécule A avec une seule molécule B comme dans une synthèse classique, la réaction s'exerce ici entre un ensemble de molécules qu'on peut noter A_1, A_2, \dots, A_n (séparées ou en mélange) et un autre ensemble noté cette fois B_1, B_2, \dots, B_m (également séparées ou en mélange). Les molécules formant chaque ensemble ont en commun une même caractéristique : à titre d'exemple, cela peut être une fonction comme un acide carboxylique ou un alcool. On a alors $n \times m$ réactions en parallèle dont le résultat est l'obtention d'un ensemble de $n \times m$ produits $A_{\{1;2;\dots;n\}}B_{\{1;2;\dots;m\}}$. On peut par la suite faire une sélection dans cette bibliothèque du ou des produits ayant le meilleur potentiel thérapeutique sur la base d'évaluations biologiques adaptées.

- D'autre part, les techniques de criblage à haut-débit, qui consistent à réaliser des tests biologiques sur un nombre le plus élevé possible de molécules (jusqu'à 200000 tests par jour au milieu des années 2000 [12]) et qui viennent en complément de la chimie combinatoire. Le gain de temps (et d'argent) offert par ces techniques pour l'investigation de nouveaux principes actifs, intéresse particulièrement l'industrie pharmaceutique dans un contexte qui va être détaillé plus bas.

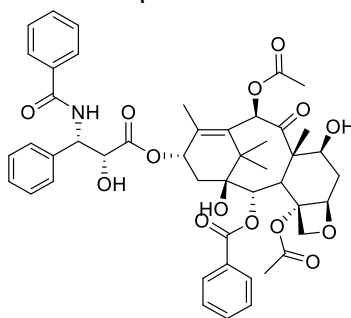
Certes, les extraits naturels pourraient très bien être étudiés par criblage à haut-débit mais cela est toujours plus compliqué à faire que pour une bibliothèque de molécules obtenues par synthèse combinatoire. Les échantillons pouvant être utilisés lors des criblages doivent avoir certaines exigences comme ne pas être trop visqueux, ne pas avoir de composés colorés ou fluorescents, ne pas avoir une faible solubilité dans le solvant, ne pas pouvoir interagir avec les réactifs de dosage, s'agréger ou se décomposer. Des conditions que les extraits naturels ne respectent pas toujours. De plus, l'activité biologique de certains extraits ou son absence peuvent également se révéler être de faux négatifs ou positifs car pour l'un, l'extrait contient un composé qui est bien bioactif mais qui est trop peu concentré pour que cela soit détecté par criblage à haut-débit et car dans l'autre, cette activité peut résulter de l'effet synergique de plusieurs composés qui, une fois séparés, ne sont plus efficaces contre la même cible biologique. Par conséquent, pour pouvoir les examiner ainsi, les extraits doivent auparavant être préparés et fractionnés selon des procédés parfois lourds et qui font perdre un temps précieux [7,13]. Quand on ajoute à cela le fait qu'on retrouve souvent un même composé dans des extraits de plusieurs espèces différentes, la probabilité d'avoir des résultats satisfaisants pour le criblage d'un extrait naturel est faible [16].

A côté de cela, le délaissement des recherches sur les extraits par rapport à celles sur les principes actifs de synthèse a de nombreuses autres raisons :

- Le contexte économique de l'industrie pharmaceutique n'est pas étranger à ce changement de stratégie : jusqu'au début des années 2000, les grandes firmes transnationales affichaient une très forte croissance des ventes et de leur chiffre d'affaires alors que ces bons chiffres ne reposent souvent que sur quelques médicaments « blockbuster ». Le passage dans le domaine public du brevet du médicament d'origine, qui conduit au développement et à la mise sur le marché de médicaments génériques dont la prescription est encouragée pour réduire les coûts du système de santé, peut entraîner une chute des revenus sur ce médicament jusqu'à 80 %. Dans ce contexte, les entreprises vendant des médicaments « de marque » sont en forte concurrence avec celles de médicaments génériques et subissent une grande pression de leurs actionnaires pour maintenir un bon bilan économique. Ceci intensifie la compétition entre ces firmes et les pousse entre autres à aller plus vite et plus fort dans le développement de nouveaux médicaments [13].

Chapitre 1 : les produits naturels dans la recherche de molécules bioactives

- Comme cela vient juste d'être dit, avec ou sans criblage à haut-débit, un extrait dont un des composés a montré un effet bioactif intéressant doit être fractionné selon des procédés bio-guidés pour isoler à terme le composé bioactif. Cette étape indispensable, tout comme la caractérisation, consomme du temps et l'ensemble est alors en général incompatible avec les priorités des services R&D des firmes de l'industrie pharmaceutique [14].
- Le caractère supposé nouveau d'un produit naturel isolé peut être contredit après sa caractérisation : on peut alors se retrouver avec un composé qui a déjà été isolé d'un autre extrait et qui ne peut potentiellement pas être breveté [14].
- La démarche de découverte et de conservation de nouveaux produits naturels est coûteuse en plus d'être chronophage et seules les plus grandes compagnies pharmaceutiques et la recherche académique peuvent se permettre de dépenser autant d'argent dans ce type de programme [14].
- Aujourd'hui, si on souhaite faire de la synthèse sur des produits naturels purs, il est plus simple d'isoler les produits qui nous intéressent par nous-même à partir des sources adéquates que de les commander auprès d'un fournisseur ou d'un autre laboratoire : on estime que seulement 10 % de tous les produits naturels sont disponibles prêts à l'emploi chez les producteurs de produits chimiques et les instituts publics de recherche [17].
- Dans la mesure où le composé de l'extrait qui nous intéresse est présent en faible quantité, obtenir des quantités suffisantes pour balayer une grande variété d'actions biologiques impose forcément de consommer une masse importante de matière première... et une masse encore plus gigantesque au moment de l'exploitation industrielle si la synthèse totale ne peut pas être mise au point rapidement, ce qui est problématique à long terme pour la conservation de l'espèce exploitée [7]. Un exemple célèbre où ce genre de problème s'est présenté est celui du paclitaxel ou taxol (**Figure 9**), un composé utile comme anticancéreux qui, avant la mise au point de sa synthèse totale, était extrait de l'écorce d'if du Pacifique (*Taxus bravifolia* Nutt.) avec un très faible rendement [7,13]. Son extraction à partir de l'écorce causa alors rapidement problème dans les années 1990 car rien que pour satisfaire la demande américaine annuelle, il aurait fallu abattre 360000 arbres et ce alors que l'if du Pacifique n'arrive à maturité qu'au bout de deux siècles [17].



Paclitaxel / Taxol

Figure 9 : structure du paclitaxel

- L'association métabolite - espèce d'origine nécessite une bonne identification de l'espèce exploitée, ce qui peut s'avérer difficile pour les plantes : plusieurs dénominations synonymes peuvent exister pour une même espèce et les différences morphologiques et anatomiques entre deux espèces différentes peuvent être infimes [7].
- La composition chimique d'un extrait d'une même espèce peut être instable et varier selon divers facteurs comme le lieu de prélèvement, la qualité du sol de culture, le climat, les conditions de stockage. De même, suivant les méthodes utilisées, l'extraction et le traitement des extraits obtenus peuvent dégrader certains composés. Enfin, les composés

Chapitre 1 : les produits naturels dans la recherche de molécules bioactives

isolés pourraient très bien ne pas venir de la plante étudiée mais de sources contaminantes tel qu'un champignon ou une bactérie vivant sur la plante [7].

- La complexité de la structure d'un produit naturel inédit fait que l'établissement de relations structure-activité et l'identification de pharmacophores au sein de cette structure sont difficiles, là où pour un produit bioactif synthétique, ce type d'analyse structurale est plus aisé dans la mesure où ce composé peut résulter d'une réflexion sur la structure que l'on souhaite avoir en vue d'avoir tel activité biologique particulière [14].
- Les cibles biologiques sur lesquelles se concentrent le plus les recherches chez les firmes industrielles ont changé et ne sont plus autant qu'avant en rapport avec les maladies infectieuses pour lesquelles les produits naturels sont généralement porteurs de solutions robustes [15] ;
- Le souci de plus en plus croissant des Etats de contrôler et préserver leur biodiversité est devenu un frein à la recherche sur les produits naturels malgré un accord des Nations Unies signé en 1992 et appliqué l'année suivante, la Convention sur la Diversité Biologique (CDB) qui prône la conservation de la biodiversité, l'exploitation des ressources génétiques associées et le partage juste et équitable des bénéfices découlant de cette exploitation. Cette convention place l'ensemble de toutes les ressources génétiques sous la protection des Etats et leur a donné un outil pour légiférer sur l'exploitation des ressources naturelles à des fins thérapeutiques sans pour autant entraver la recherche de nouveaux métabolites bioactifs. Malgré cet accord, certains Etats ont encore une politique trop restrictive sur l'accès des ressources et le partage des bénéfices en raison de leur méfiance vis-à-vis de la bioprospection et de ses possibles abus ou car leurs attentes de résultats en termes de nouveaux médicaments produits à partir de produits naturels se sont révélées décevantes. Ces politiques ont encouragé de grandes firmes pharmaceutiques à abandonner leurs programmes de recherches sur les produits naturels et ce malgré un nouveau protocole signé à Nagoya en 2010 [7,15].
- Le fait que de nouveaux produits naturels qui n'ont pas été modifiés par la synthèse puissent être sujet à un brevet est controversé : un produit naturel à visée médicamenteuse qui a été breveté empêche d'autres personnes que ses « inventeurs » de pouvoir mener des études complémentaires sur le mécanisme d'action biologique précis ou les essais cliniques du produit naturel en question, pourtant utiles lorsque celles menées par les découvreurs ne sont pas suffisamment poussés. Mais les organismes délivrant les brevets cherchent à lutter contre ces abus : le United States Patent and Trademark Office a publié en 2014 un guide de consignes pour les revendications de brevets de produits naturels thérapeutiques, soulignant que la preuve d'une « différence marquée » d'un phénomène – l'expression d'une maladie et de ses symptômes par exemple – par application du produit naturel doit être faite [7,11].

Malgré les bénéfices apparents de ce changement de stratégie et les espérances du secteur pharmaceutique, les résultats n'ont pas été par la suite à la hauteur de leur attente et depuis plusieurs années, les produits naturels connaissent un retour en grâce.

II.C. Le retour en force des produits naturels

Après une quinzaine d'années d'une stratégie de découverte de principes actifs de médicament résolument tournée vers la chimie combinatoire de synthèse et le criblage à haut-débit dont on estime que son apogée a été atteint en 2001 [17], les articles publiés sur la situation des produits naturels et leurs bénéfices dans ce type de recherche à partir de 2004-2005 [14,15,18] indiquent clairement que ces derniers effectuent leur retour au premier plan dans la recherche de nouveaux principes actifs.

Chapitre 1 : les produits naturels dans la recherche de molécules bioactives

Il faut dire qu'avec la méthodologie adoptée depuis les années 1990 par l'industrie pharmaceutique, la découverte de nouveaux principes actifs est tombée au plus bas du point de vue de la diversité : comme Newman le fait remarquer, entre 1981 et 2006, une seule nouvelle entité chimique - soit, rappelons-le, une nouvelle molécule comprenant un fragment bioactif qui n'a été identifié auparavant dans aucun autre principe actif - ayant obtenu son AMM dans le monde entier est issue d'une librairie obtenue par chimie combinatoire [19]. Même si les statistiques en matière de recherche pharmaceutique ne remettent pas totalement en cause la pertinence d'utiliser la chimie combinatoire et le criblage à haut-débit pour débusquer de nouveaux principes actifs, cette stratégie s'est révélée aussi décevante que son potentiel était grand. La mise en pratique de cette stratégie n'est d'ailleurs pas étrangère à ces mauvais résultats : ainsi, les bibliothèques de molécules investiguées ont été formées en utilisant souvent des procédés similaires de synthèse, d'où une faible diversité de composés produits, des résultats de criblage similaires entre plusieurs bibliothèques de molécules [7,20] et un taux d'attrition (pourcentage des molécules de la bibliothèque qui n'est pas conservé) qui est déjà très élevé à l'issue du criblage [7]. De plus, les critères de sélection des molécules sur la base des résultats du criblage sont uniquement en rapport avec l'intensité de l'activité biologique de la molécule testée sur la cible et non avec leurs propriétés pharmacocinétiques qui sont souvent mauvaises [7,20].

En fait, ce qui semble s'être passé avec cette stratégie peut être schématisé selon une courbe caractéristique d'un concept appelé « cycle du hype » ou « cycle de Gartner » (**Figure 10**). En se basant sur ce concept, après une première phase dite de « lancement de la technologie » qui correspond ici aux premiers criblages à haut-débit vers 1994, les promesses de cette technologie génèrent des attentes et un emballement de la communauté qui deviennent disproportionnées jusqu'à atteindre un pic, ici vers 2001. Puis, les désillusions liées aux résultats éloignés des objectifs fixés avec cette technologie et l'analyse de ses défauts entraînent un désintérêt jusqu'à un point à partir duquel ceux qui persévèrent dans son utilisation introduisent des améliorations qui ramènent de la visibilité. Ce regain d'intérêt est aussi apporté par les progrès qu'ont connu de leur côté les méthodes analytiques comme avec le développement de bibliothèques de données d'analyse de composés connus avec lesquelles peuvent être comparées celles de l'extrait. De cette manière, il est ainsi possible d'identifier au sein du mélange complexe qu'est un extrait naturel tout ou partie de ses constituants sans même avoir à faire de séparation dessus, c'est-à-dire effectuer une déréplication. Enfin, lors de la dernière phase, la technologie améliorée est désormais plus rodée et mieux appliquée et sa visibilité atteint un plateau, à un niveau cependant inférieur à celui du pic de la phase d'emballement [17].

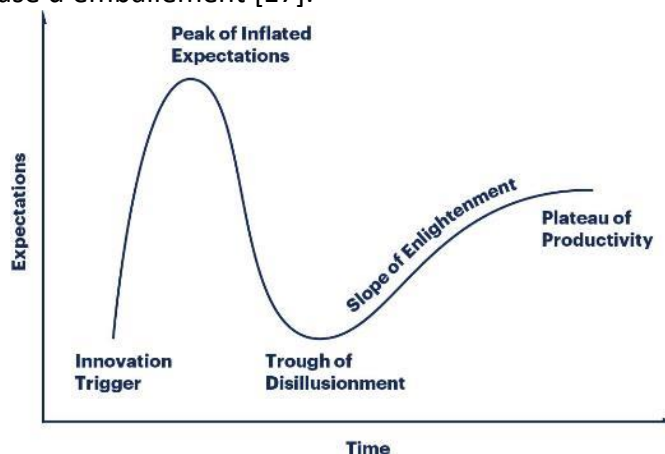


Figure 10 : graphique du "cycle du hype" [21]

Chapitre 1 : les produits naturels dans la recherche de molécules bioactives

Face à ce constat d'espoirs déçus, la stratégie de recherche de principes actifs par criblage à haut-débit a pu être améliorée de plusieurs manières avec l'essor des techniques de synthèse orientées vers la diversité (voir à ce propos la section consacrée à la synthèse orientée vers la diversité) [11,13,19], la recherche de synthèse de structures dégageant des propriétés bioactives similaires à celles des médicaments du marché [13,14] et l'apport des dernières innovations en chimie analytique [11,14].

Néanmoins, une remise en lumière des produits naturels pour la recherche de composés bioactifs inédits est de nouveau de mise et plusieurs arguments vont dans ce sens. Tout d'abord, les nombreuses études sur les différences entre les produits naturels bioactifs et ceux de synthèse (qui seront discutées plus loin dans ce chapitre) indiquent toutes que les caractéristiques physico-chimiques des produits naturels bioactifs se rapprochent le plus de celles d'un médicament. Et, comme la nature fait bien les choses, l'évolution a fait que sont biosynthétisés des composés aux propriétés bioactives optimisées car ces composés remplissent le plus souvent une fonction biologique [7,18]. De plus, on estime aujourd'hui que seules 15 % de toutes les espèces végétales soit environ 60000 plantes ont été étudiées en phytochimie et 6 % des plantes ont subi un examen pharmacologique, ce qui a par la suite mené au développement de 135 médicaments différents [7,20]. En sachant que l'Union International pour la Conservation de la Nature a estimé en 2015 qu'ont été identifiées environ 310000 plantes, le nombre de traitements médicamenteux qu'on pourrait tirer de ce règne au total est à près de 700 produits différents [7,20]. En outre, comme tous les métabolites des plantes déjà étudiées n'ont pas été testés sur toutes les cibles biologiques connues à ce jour et comme ces constatations doivent être élargies aux quelques deux millions d'espèces d'êtres vivants dont l'étude phytochimique a été réalisée pour seulement 5 % d'entre eux, on peut dire que ce réservoir de futurs médicaments est encore plus gigantesque [7,12].

Une modification du paradigme de l'industrie pharmaceutique vers une meilleure intégration des produits naturels ne pourra que renforcer la position de ces derniers dans la mesure où ils restent un important fournisseur et inspirateur de substances à visées thérapeutiques : si on se base sur la dernière version de l'étude de David J. Newman et Gordon M. Cragg concernant la place des produits naturels comme source de nouveaux médicaments, entre le 1^{er} janvier 1981 et le 30 septembre 2019, plus de 67 % de tous les nouveaux médicaments approuvés par les autorités de santé ont un principe actif en totalité ou en partie issu, dérivé ou inspiré de produits naturels. Si on entre plus dans les détails, 23 % de ces médicaments sont un ou des produits naturels purs ou en mélange et non altérés, 33 % sont des dérivés de produits naturels ou des molécules avec un pharmacophore qu'on peut retrouver sur des produits naturels, et plus de 22 % sont des molécules partiellement ou totalement synthétiques et inspirées de produits naturels [22].

Mais pour que ce changement de stratégie soit réellement efficace et pérenne, quelques améliorations et changements importants seront à effectuer : tout d'abord, la logique actuelle plus que centenaire qui est de développer en priorité des médicaments où le principe actif est une seule molécule doit pouvoir être moins privilégiée, au bénéfice des extraits naturels dans la mesure où l'effet bioactif de ces derniers peut être dû à une combinaison de plusieurs molécules en synergie, comme en phytothérapie où cela est déjà exploité [7]. Les techniques analytiques doivent continuer à être améliorées afin de faciliter toujours plus la séparation des composés intéressants des extraits et la compatibilité avec les technologies de criblages à haut-débit [11,20]. Plusieurs écueils seront aussi à éviter comme un manque d'attention aux conditions de culture des matières premières : pour que les résultats des études biologiques et pharmacologiques ne soient pas faussés et pour que les médicaments produits avec les

Chapitre 1 : les produits naturels dans la recherche de molécules bioactives

extraits soient sûrs pour le patient, il est logiquement important de vérifier que les bonnes pratiques agricoles des fournisseurs soient respectés pour éviter de se retrouver avec des extraits contenant des polluants toxiques pour l'homme comme des pesticides ou des métaux lourds [7].

L'espoir s'avère néanmoins immense pour la résolution des grandes problématiques de santé en s'appuyant plus sur des composés issus de plantes ou d'autres êtres vivants pas forcément inédits mais dont les métabolites secondaires, leurs caractéristiques et leurs possibilités d'exploitation pharmaceutiques méritent d'être étudiées plus en détail. Ceci peut être illustré par un événement récent dans la communauté scientifique : en 2015, le prix Nobel de médecine fût attribué d'une part à la chinoise Tu Youyou et d'autre part à l'irlandais William C. Campbell et au japonais Satoshi Omura. La première a caractérisé dans les années 1970 la structure de l'artémisinine (**Figure 11**) à partir d'un extrait d'armoise annuelle (*Artemisia annua* L.), une plante bien connue en ethnopharmacologie puisqu'utilisée en médecine traditionnelle chinoise pour le traitement des fièvres. Les deux suivants ont quant à eux découvert un premier composé d'une famille de molécules appelées avermectines, isolé de la bactérie *Streptomyces avermitilis* [23]. Ces deux composés ont constitué une vraie avancée : la structure de l'artémisinine est à la base des antipaludiques les plus récents et les plus efficaces à ce jour tandis que les avermectines sont des vermifuges performants contre la cécité des rivières et la filariose lymphatique, deux maladies parasitaires surtout présentes dans les régions chaudes et tropicales [23]. Cette nouvelle stratégie de recherche pourrait aussi avoir des répercussions positives pour l'accessibilité des médicaments : bien que le prix d'un médicament dépend également d'autres facteurs comme des coûts engagés dans le développement du médicament et dans le marketing par exemple, en privilégiant les plantes utilisées en médecine traditionnelle comme recommandé par l'Organisation mondiale de la santé (OMS), matière première en général peu chère, nous pourrions avoir des médicaments vendus à des prix plus bas et donc plus accessibles, en particulier pour les populations de pays en développement qui n'ont le plus souvent pas la possibilité de pouvoir se procurer la médecine produite dans les pays industrialisés [7].

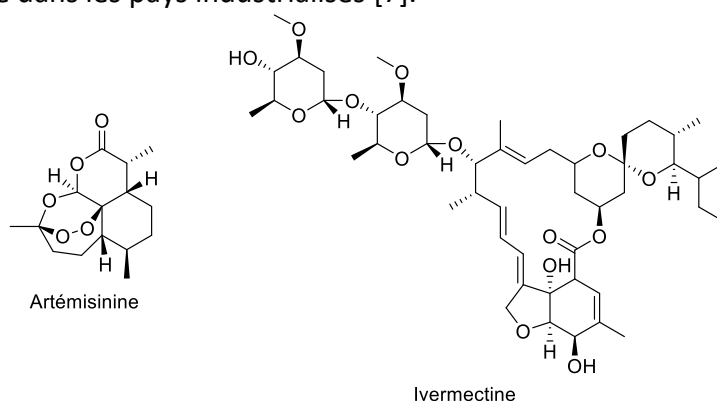


Figure 11 : structure de l'artémisinine et d'un exemple d'ivermectine

Le manque de réussite d'une stratégie de recherche de principes actifs concentrée sur la synthèse organique par rapport à une autre exploitant les produits naturels nous interroge légitimement sur les raisons pour lesquelles un produit naturel serait plus à même de pouvoir être utilisé comme composé thérapeutique par rapport à un produit issu d'une réaction de synthèse et indisponible à l'état naturel. Nous allons dans la partie suivante voir quelles différences il est possible d'observer dans les produits bioactifs naturels et synthétiques et en quoi ces caractéristiques physico-chimiques peuvent influencer sur leur action biologique.

III. Différences entre les composés bioactifs naturels et les composés bioactifs de synthèse

Plusieurs études se sont intéressées aux différences qui existent entre les produits naturels^a et les composés de synthèse obtenus par chimie combinatoire et les ont comparés avec ceux déjà exploités comme principes actifs [24–27]. En plus de ces articles et parties d'ouvrages, un dernier article aborde l'analyse des fonctions présentes dans les produits naturels et leur comparaison avec celles qu'on peut retrouver dans les produits synthétiques [28].

A partir de toutes ces analyses structurales et physico-chimiques, de nombreuses différences entre produits naturels et produits de synthèse, résumées dans le **tableau 1**, ont été mises en évidence [24–27] :

Tableau 1 : comparaison des caractéristiques physico-chimiques des principes actifs, des produits naturels et des produits de chimie combinatoire

Propriété	Principes actifs de médicaments	Produits naturels	Produits de chimie combinatoire
Masse moléculaire moyenne	340	414	393
Nb moyen de centres chiraux	1,2 à 2,3	3,2 à 6,2	0,1 à 0,4
Nb moyen de liaisons rotatives	5,6 à 10,7	4,4 à 11,1	6,4 à 8,0
Nb moyen d'insaturations	8,0	8,8	12,0
Nb moyen d'insaturations hors cycles aromatiques	4,7	6,3	5,4
Nb moyen de cycles	2,6	4,1	3,2
Nb moyen de systèmes de cycles fusionnés	0,75	0,47	0,85
Nb d'atomes de carbone aromatique par atome cyclique	0,55	0,31	0,8
Nb moyen d'atomes d'oxygène	4,03	5,90	2,77
Nb moyen d'atomes d'azote	1,87	0,84	2,69
Nb moyen d'atomes de soufre	0,23	0,03	0,45
Nb moyen d'atomes halogénés	0,34	0,02	0,80
Ratio moyen d'hétéroatomes intra-/extracycliques	0,54	0,65	0,63
Nb moyen de donneurs de liaison H	1,9	2,6	1,0
Nb moyen d'accepteurs de liaison H	5,7	6,8	5,5
clogP*	2,2	2,4	4,3

* logP calculé.

^a Les bases de données de produits naturels utilisées pour ces études comprennent aussi bien des métabolites primaires (carbohydrates, acides aminées...) que secondaires (polyphénols, alcaloïdes...)

Chapitre 1 : les produits naturels dans la recherche de molécules bioactives

En regardant les données de ce tableau, on peut voir que les produits naturels se rapprochent plus des principes actifs que les composés de synthèse combinatoire sur un bon nombre de points :

- sur la masse moléculaire où, si la valeur moyenne pour les produits naturels est moins proche de celle des principes actifs de médicaments que pour les produits de chimie combinatoire, la distribution des valeurs pour les principes actifs épouse plus celle des produits naturels [25] ;
- sur la présence de centres chiraux, une des caractéristiques les plus importantes puisqu'une molécule cherchant à interagir avec une cible biologique agira d'autant mieux qu'elle aura beaucoup de centres stéréogènes [25,26] ;
- sur la rigidité des liaisons covalentes, autrement dit la présence de liaisons multiples pour lesquels la rotation des substituants n'est pas possible, qui peut aussi influencer sur l'efficacité de l'action d'un médicament car plus ces liaisons sont rigides, plus l'affinité entre la molécule et la cible biologique visée sera forte [26] ;
- sur le nombre d'insaturations, autre critère permettant de juger de la rigidité, si on inclut les cycles aromatiques, principal fournisseur de rigidité pour les produits de synthèse combinatoire [25] ;
- sur la présence d'éléments donneurs de liaison hydrogène, qui augmentent les possibilités d'interaction entre le principe actif et l'enzyme/protéine/récepteur ciblé et influe sur la facilité de passage de la membrane plasmique et donc sur l'absorption du composé dans l'organisme [25,26] ;
- sur les propriétés lipophiles avec une valeur moyenne de logP (avec P le coefficient de partage eau/octanol) alignée sur celle des composés médicamenteux [25].

En revanche, les produits issus de synthèse par chimie combinatoire sont plus proches des principes actifs par rapport aux produits naturels sur :

- les cycles et plus précisément sur le nombre total de cycles et sur le nombre total de systèmes de cycles liés entre eux, gage d'une meilleure rigidité [25,26] ;
- la présence d'éléments accepteurs de liaison hydrogène avec les mêmes conséquences que pour les éléments donneurs de liaison hydrogène [25,26] ;
- la composition en hétéroatomes et notamment l'azote, le soufre et les halogènes qui sont aussi plus fréquents dans les bibliothèques combinatoires que dans les produits naturels [25].

Conséquence des différences dans la composition élémentaire entre les produits naturels et ceux de chimie combinatoire, les fonctions présentes dans ces deux familles diffèrent grandement : Ertl et Schuhmann ont montré tout d'abord que les fonctions des produits naturels sont dans leur grande majorité uniquement oxygénées comme par exemple les alcools, des composés carbonylés classiques ou α,β -insaturés, les époxydes et les acides étheroxysulfoniques. En revanche, les amines primaires aliphatiques, les étheroxydes, les cétones aromatiques, les bromes, les aldimes secondaires aromatiques, les carbamates et les amines α,β -insaturées sont observés aussi bien dans les produits naturels que synthétiques tandis que certains autres groupements sont plus fréquents à l'état synthétique que naturel : entrent dans ce cas de figure les amines (notamment tertiaires), les sulfures, les fluors, les sulfones et sulfonamides, les chlores, les nitros, les carbamides, les nitriles et les thiones aromatiques [28].

Pour les hétérocycles, une autre publication de Ertl et Schuhmann arrive au même type de conclusion que pour les groupements fonctionnels : les produits naturels possèdent le plus souvent des hétérocycles uniquement oxygénés quand les hétérocycles azotés restent plus présents dans les produits synthétiques [29]. Cette considération est plutôt un avantage pour

Chapitre 1 : les produits naturels dans la recherche de molécules bioactives

les applications thérapeutiques car les hétérocycles ont une influence sur de nombreux paramètres pharmacologiques et, par conséquent, sur la puissance de la molécule comme principe actif [30]. Et en regardant les structures de la base de données moléculaires ChEMBL qui regroupe près de deux millions de composés bioactifs, on peut constater que les hétérocycles avec azote sont plus présents que ceux sans azote [31].

Avec l'ensemble de ces différences, il n'est pas difficile de comprendre que la diversité induite par ces propriétés sera aussi d'un ordre différent entre les produits naturels et ceux de synthèse. Pour visualiser cette diversité de composés, une analyse statistique en composantes principales peut être réalisée comme l'ont d'ailleurs fait Feher et Schmidt. En regardant la **figure 12**, on voit que pour les produits issus de synthèse combinatoire se dessine une zone peu étendue et centrée sur l'origine du repère. Pour les produits naturels et les principes actifs, en revanche, cette zone est bien plus étalée, ce qui témoigne d'une plus grande diversité de structure [25].

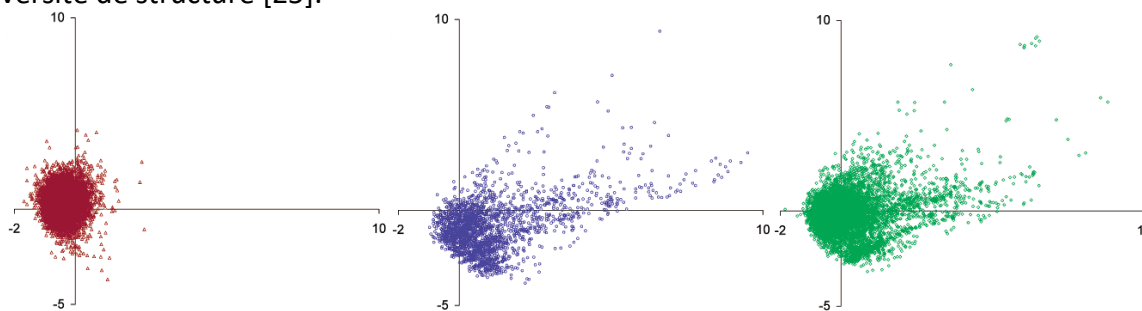


Figure 12 : de gauche à droite, représentation des coordonnées des composantes principales pour les produits de synthèse combinatoire, les produits naturels et les principes actifs [25]

Finalement, la comparaison des produits naturels et synthétiques avec ceux déjà commercialisés en tant que médicaments a montré aujourd'hui que les sources naturelles restent le meilleur fournisseur de composés chimiques pour le développement de traitements thérapeutiques. Le retour au premier plan des produits naturels dans la recherche pharmaceutique a conduit à mettre au point de nombreuses techniques d'investigation de ces composés et de leurs propriétés biologiques, ce à quoi nous allons à présent nous intéresser.

IV. Les techniques actuelles de recherche de composés bioactifs issus ou inspirés de produits naturels

Fruits de l'héritage de siècles de recherche de la cause de l'effet thérapeutique des plantes médicinales traditionnelles et de l'évolution des techniques de chimie générale, de nombreuses approches sont aujourd'hui à notre disposition pour parvenir à la découverte de nouveaux produits naturels et dérivés de produits naturels bioactifs. Le choix a été fait dans cette partie de présenter les plus emblématiques d'entre elles et selon que ces techniques mènent à des produits naturels bioactifs qui n'ont pas été modifiés après obtention ou, au contraire, selon que les composés bioactifs proviennent d'une modification de produits naturels. Bien entendu, puisque la technique de modification chimique d'extrait est celle sur laquelle repose cette thèse, elle sera détaillée plus longuement dans une partie distincte.

IV.A. Technique sans modification des produits naturels : étude biologique d'extraits naturels

Etudier des extraits d'origine naturelle est le moyen historique pour obtenir de nouveaux produits naturels bioactifs *via* une méthodologie de recherche rodée puisque nombre de composés bioactifs exploités comme principes actifs de médicaments dans le passé et de nos jours ont été découverts de cette manière.

Chapitre 1 : les produits naturels dans la recherche de molécules bioactives

La première étape de la méthodologie consiste à tester l'action de ou des extrait(s) envers la cible biologique qu'on souhaite atteindre. Pour ce faire, il convient de sélectionner les espèces qu'on veut étudier et ici, plusieurs démarches sont possibles [17] :

- choisir au hasard les espèces en fonction de leur disponibilité ;
- choisir selon des critères ethnopharmacologiques en s'intéressant aux applications médicales traditionnelles des espèces ;
- choisir selon des critères chimiosystématiques en sélectionnant des espèces d'une même famille pour lesquelles nous savons que sont biosynthétisés certains produits ou familles de produits avec une activité biologique bien précise (ex. : choisir des plantes de la famille *Papaveraceae*, réputées pour la production d'alcaloïdes aux propriétés hypnotiques) ;
- choisir selon des critères écologiques en observant quelles sont les interactions entre l'espèce et son environnement (ex. : sécrétion de venin par un insecte contre un agresseur) ;
- choisir selon une approche informatique en se basant sur les activités biologiques prédites par ordinateur pour des espèces déjà étudiées sur le plan phytochimique.

Les sources naturelles utilisées aujourd'hui pour la recherche de produits bioactifs sont, encore en premier lieu, les plantes puis les mycètes et des bactéries fréquemment cultivés en laboratoire [17]. A cela, on peut ajouter plusieurs groupes qui restent à cette heure peu étudiés et donc avec un grand potentiel de découverte de composés intéressants pharmacologiquement [32] :

- les espèces du monde marin pour lesquelles l'intérêt ne cesse de grandir et qui ont déjà permis de découvrir plusieurs produits naturels utilisés comme principe actif de médicament ;
- des microorganismes peu ou pas cultivés en laboratoire qui représenteraient 99 % de toutes les espèces dans le cas des bactéries ;
- les endophytes, des microorganismes vivant en colonies au sein des plantes sans leur nuire ;
- les bryophytes, un groupe de plantes non vascularisées qui comprend notamment les hépatiques, les mousses et les anthocérotes, peu exploités jusqu'à présent car ce sont de petites plantes à partir desquelles il est difficile de produire des extraits de bonne qualité.

Lorsque la sélection est faite et que les extraits ont été produits, il reste avant de faire le test biologique à définir la stratégie à suivre pour identifier le ou les composés bioactifs. Là encore, il existe plusieurs possibilités [17] :

- par fractionnement bio-guidé : après un premier test biologique sur l'extrait brut pour vérifier qu'il soit bien bioactif en lui-même, on effectue une séparation (par chromatographie sur colonne ou par HPLC préparative par exemple) en plusieurs fractions sur lesquelles on effectue le même test que précédemment. Selon les résultats obtenus, on ne conserve que les fractions dont l'activité biologique est suffisamment importante selon nos critères et on renouvelle le cycle de fractionnements et de tests jusqu'à ne plus avoir que des fractions bioactives où on ne retrouve dans chacune d'elles qu'un composé pur. Il s'agit de la stratégie la plus employée de nos jours ;
- par profilage métabolique : en analysant de manière compréhensive, qualitativement et quantitativement les métabolites de l'extrait par des analyses de spectres de masse et RMN [33] et en corrélant ces données avec les résultats des tests biologiques pour identifier les composés bioactifs déjà décrits dans la littérature et déterminer des effets synergétiques entre les composants de l'extrait ;
- par isolement phytochimique directe : cela revient à passer l'extrait sur colonne de chromatographie par exemple pour isoler les métabolites qui y sont contenus. On peut

Chapitre 1 : les produits naturels dans la recherche de molécules bioactives

utiliser cette démarche si on souhaite plutôt caractériser la composition chimique de l'extrait et identifier de nouveaux produits naturels ;

- par fractionnement guidé synergiquement : cette stratégie est proche du fractionnement bioguidé à la différence que l'on regarde également les interactions synergétiques entre les composés en identifiant les produits naturels pouvant agir ensemble par synergie contre la cible biologique ;
- par une approche guidée par le métabolisme : on recherche par cette approche des composés bioactifs qui ne sont pas forcément présents dans l'extrait de départ mais qui sont issus d'une transformation métabolique de composés de cet extrait par le corps humain ou des microorganismes.

Au moment des tests biologiques, les technologies de criblage peuvent être utilisées malgré les inconvénients de cette technique avec les extraits naturels qui ont été mentionnés plus haut [17].

A l'issue de la mise en pratique de la stratégie de recherche adoptée, on doit emprunter deux chemins pour l'étape suivante : d'un côté, il faut déterminer la structure du produit naturel isolé par analyses RMN, de masse et DRX puis réaliser sa synthèse totale, ce qui peut parfois amener à corriger la structure initialement proposée avec les premières analyses de caractérisation voire à en proposer une nouvelle. D'un autre côté, il faut préciser le mode d'action de ce produit naturel sur la cible biologique [17].

Enfin, si les caractéristiques pharmacologiques du produit naturel bioactif sont insuffisantes pour que ce produit soit exploitable en tant que principe actif, il est souvent nécessaire de recourir à la synthèse de composés dérivés ou analogues à ce produit naturel comme nous le verrons un peu plus bas [17].

IV.B. Techniques avec modification des produits naturels

IV.B.1. Dérivatisation de produits naturels

Lorsqu'un premier produit naturel bioactif a pu être extrait, pour le rendre plus exploitable pour une application thérapeutique, il se peut qu'on ait besoin d'améliorer la sélectivité ou la force de ce composé contre la cible biologique visée, d'améliorer ses paramètres pharmacocinétiques, de réduire sa toxicité ou une réaction métabolique qu'il peut subir. Pour cela, il peut être souvent fructueux de repartir de la structure de ce composé et de lui faire subir une dérivatisation pour produire de nouvelles molécules avec une potentielle amélioration des propriétés à la clé. Ceci constitue par ailleurs l'étape finale d'un bon nombre de programmes de recherche de produits naturels bioactifs [17].

Un cas emblématique de dérivatisation d'un produit naturel certes bioactif mais qui devait être optimisé n'est autre que l'artémisinine. Après qu'elle fût découverte par l'équipe de Tu Youyou, les tests biologiques sur cette molécule ont montré que bien qu'elle avait un fort pouvoir antipaludique, elle était peu efficace en tant que principe actif de médicament. En effet, la biodisponibilité de ce composé ne dépasse pas les 10 % [17]. De plus, ce composé ne peut pas être administré par voie orale et est aussi insoluble dans l'eau que dans les milieux gras [34]. Pour améliorer cette solubilité, plusieurs dérivés d'artémisinine ont été mis au point par des réactions impliquant toutes la conversion du carbonyle de la fonction lactone (**Figure 13**) : celui-ci peut être réduit en hydroxyle pour donner la dihydroartémisinine, bien plus soluble avec une biodisponibilité de 85 % mais pas forcément plus pratique à administrer puisqu'elle a été commercialisée en suppositoire par la suite [17]. A partir de ce dernier composé, une réaction de Williamson donne des composés plus lipophiles et autant biodisponibles, l'artéméther et l'artééther, ce dernier ayant été mis sur le marché sous forme injectable [17,34]. Une estérification de la dihydroartémisinine avec l'acide succinique mène

Chapitre 1 : les produits naturels dans la recherche de molécules bioactives

quant à elle à l'artésunate, soluble dans l'eau et aussi commercialisé tel quel ou sous forme de sel de sodium [34]. Mais un autre problème se pose avec ces dérivés de dihydroartémisinine qui sont instables à cause des possibilités d'hydrolyse sur l'ester ou l'éther-oxyde [34]. Pour avoir des composés plus stables, il a fallu remplacer la fonction oxygénée déjà modifiée par une fonction azotée : deux dérivés ont été synthétisés de cette manière, l'artémiside et l'artémisone. Ce dernier, également bien soluble dans l'eau et pouvant être facilement purifié, était en phase III des essais cliniques en 2016 [34].

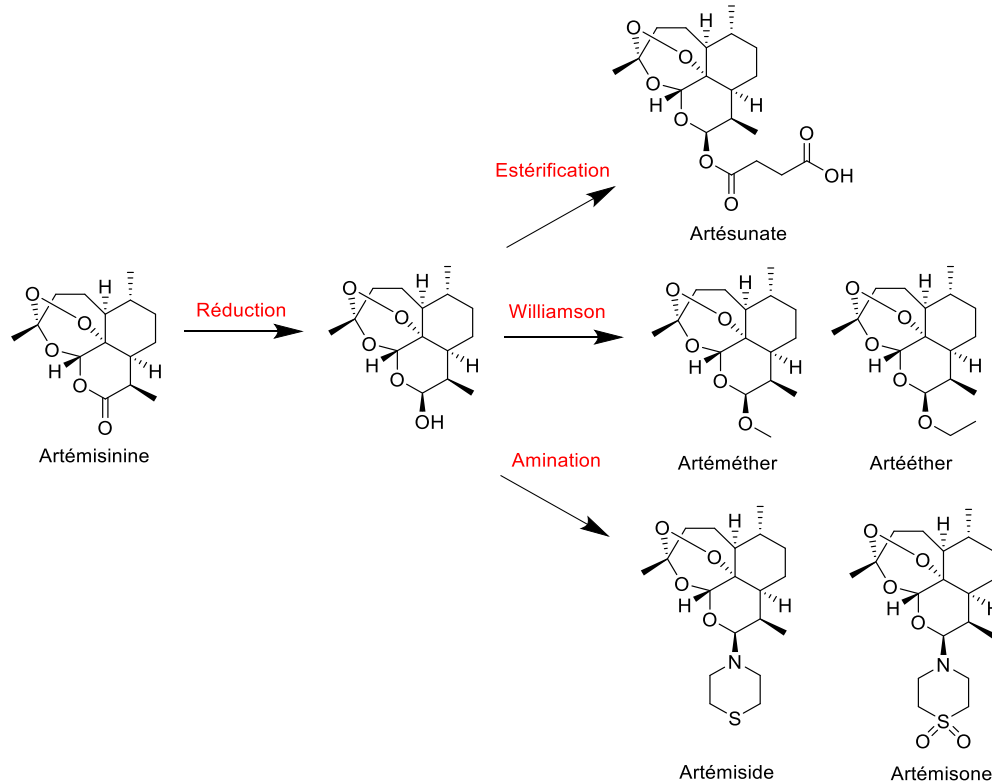


Figure 13 : dérivatisation de l'artémisinine [17,34]

IV.B.2. Simplification de la structure des produits naturels

Bien qu'un produit naturel puisse avoir démontré un effet biologique suffisamment important pour pouvoir être appliqué pour un usage pharmaceutique en théorie, la rareté de sa source naturelle, une quantité nécessaire pour cette application jugée trop élevée, une synthèse trop longue et complexe pour être rentable à échelle industrielle ou des caractéristiques physico-chimiques défavorables comme une masse moléculaire élevée peuvent être autant d'obstacles à son application en pratique. Dans ce cas, en recherchant des composés bioactifs proches du produit naturel qui ne conserve qu'une partie de la structure moléculaire à l'origine de l'activité biologique, on peut arriver à un dérivé de produit naturel qui soit commercialisable tout en étant autant voire plus actif [17,34].

Le cas de l'halichondrine B (**Figure 14**) est un bon exemple de produit naturel dont la simplification de sa structure s'est avérée utile. Ce composé cytotoxique sur de nombreuses lignées de cellules cancéreuses à un niveau nanomolaire fût découvert en 1985 dans un extrait de l'éponge marine *Halichondria okadae*. Malgré d'excellents résultats en essais cliniques, ce produit naturel n'était pas commercialisable pour deux raisons : tout d'abord, sa teneur dans la source naturelle est extrêmement faible car on ne peut isoler que 12,5 mg de ce produit à partir de 600 kg d'éponges marines alors qu'il faudrait avoir entre 1 et 5 kg d'halichondrine B pour produire le médicament en quantité suffisante pour répondre à la demande chaque année. Ensuite, la structure très élaborée de cette molécule rend sa synthèse au niveau industrielle pas du tout rentable. C'est alors que le groupe de recherche de Yoshito Kishi qui

Chapitre 1 : les produits naturels dans la recherche de molécules bioactives

travaillait sur la synthèse totale de l'halichondrine B eût l'idée d'évaluer l'activité cytotoxique des composés intermédiaires obtenus puis de synthétiser des analogues simplifiés. Parmi eux, l'éribuline (**Figure 14**) se montre tout aussi efficace que l'halichondrine B contre des lignées de cellules cancéreuses y compris chimiorésistantes. Ce composé nécessite moitié moins d'étapes pour le synthétiser, a une structure moins complexe et a une masse moléculaire inférieure de 35 % par rapport à l'halichondrine B. Son sel de mésylate a obtenu une AMM aux Etats-Unis en 2010 pour le traitement du cancer du sein métastasé [17,34].

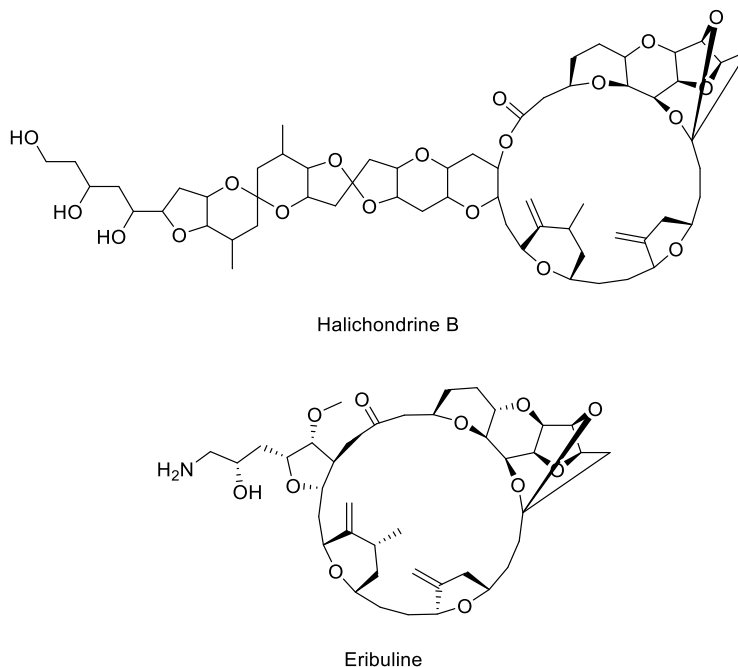


Figure 14 : structures de l'halichondrine B et de l'éribuline

La simplification de la structure du produit naturel n'est pas nécessairement aussi importante pour être productive : la superstolide A (**Schéma 2**) est un composé extrait d'une autre éponge de mer, *Neosiphonia superstes*, avec un solide effet antitumoral à des concentrations nanomolaires et avec une complexité structurale trop grande pour être synthétisée industriellement et ne pouvant être extraite de l'éponge qu'avec un très faible rendement. Or, en tronquant la partie décaline d'un cycle pour n'en garder qu'un cyclohexène, l'activité cytotoxique du composé obtenu est multipliée par 8,5 contre la lignée HT-29 de cellules cancéreuses colorectales. En revanche, toute autre modification sur la partie macrolactone entraîne une baisse de cet effet bioactif [34].

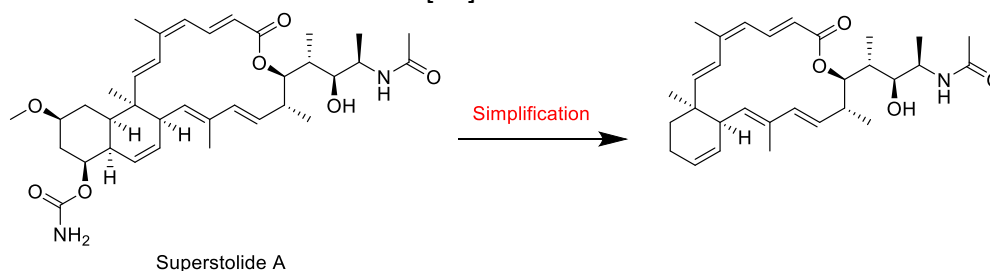


Schéma 2 : simplification de la superstolide A [34]

IV.B.3. Synthèse orientée vers la diversité à partir d'un produit naturel

IV.B.3.i. Principe de la synthèse orientée vers la diversité

La notion de synthèse orientée vers la diversité (« diversity-oriented synthesis » en anglais ou DOS) a fait son apparition en 2000 avec les travaux du biochimiste américain Stuart L. Schreiber [35]. Une synthèse orientée vers la diversité consiste à former des molécules qui soient les plus diversifiées possible de par leurs structures, le tout se faisant en réalisant le

Chapitre 1 : les produits naturels dans la recherche de molécules bioactives

moins d'étapes de synthèse [36]. Dans la pratique, pour que la synthèse reste à des niveaux acceptables de rendement, ce nombre d'étapes est en général limité à cinq [37–39].

Le but visé avec la synthèse orientée vers la diversité diffère grandement de celui de la chimie combinatoire : avec cette dernière, on cherche à produire un grand nombre de molécules ayant une similarité sur une partie de leur structure qui est décrite et réputée pour ses propriétés bioactives, c'est-à-dire un bon nombre de composés compris dans un espace chimique assez restreint. En revanche, avec une DOS, on préfère synthétiser des molécules avec une complexité structurale aussi importante qu'en chimie combinatoire mais avec un nombre de structures différentes maximisé (une plus grande diversité structurale), sans que l'une d'entre elles soit spécialement privilégiée. L'espace chimique occupé par l'ensemble de la bibliothèque moléculaire est alors important, chaque composé étant relativement éloigné des autres et étant situé dans des parties de l'espace chimique qui étaient peu ou pas explorées jusqu'alors [38].

Cette différence d'objectif de synthèse a une conséquence concrète pour l'élaboration d'un plan de synthèse suivant ces stratégies : pour la synthèse d'un composé ciblé (« target-oriented synthesis » ou TOS) comme pour celle combinatoire, on a l'habitude de faire une analyse rétrosynthétique. Avec une DOS, puisque ce n'est pas une structure particulière qui est visée, une analyse rétrosynthétique ne peut pas être appliquée ici. Afin de construire un plan de synthèse, il convient dans ce cas de faire une analyse de synthèse dite prospective (ou « forward synthesis analysis » en anglais) : ce concept comprend l'analyse de ce que la réaction entre plusieurs composés de départ peut donner comme produit en se basant sur la connaissance des réactions pouvant entrer en jeu [37,38,40].

En réalisant une DOS, les composés obtenus possèdent une diversité structurale de trois types :

- Une diversité de blocs constitutifs : il s'agit de la manière la plus simple de générer de la diversité structurale puisqu'il suffit pour cela d'ajouter différents fragments moléculaires sur une même structure centrale. Cette diversification sera d'autant plus grande qu'il y a un grand nombre de groupements fonctionnels sur lesquels il est possible de faire cette addition de bloc constitutifs et qu'il y a la possibilité d'ajouter sur ces premiers blocs d'autres fragments moléculaires. Ce type de diversité n'est pas propre à la DOS car on peut très bien l'avoir par de la synthèse combinatoire [38].
- Une diversité stéréochimique : pour peu que la ou les réactions à la base de la DOS s'y prêtent, les produits obtenus à l'issue de la synthèse peuvent différer par leur diastéréoisomérisation ou énantiomérisation à la suite de la création de nouveaux centres stéréogènes au cours de la ou des réactions. Comme pour la diversité de blocs constitutifs, il est possible de pratiquer de la diastéréo/énantiodivergence *via* la chimie combinatoire [37,38].
- Une diversité de structure globale : comme son nom l'indique, ce type de diversité s'exprime par la différence entre les structures des composés synthétisés. Il s'agit de l'élément de diversité caractéristique de la DOS qui la distingue des synthèses combinatoires. Pour avoir de la diversité de structure globale *via* une DOS, deux approches sont possibles (**Figure 15**) : la première est une approche basée sur les réactifs, où un même substrat de départ réagit au cours de réactions parallèles avec des réactifs différents, ce qui entraîne des changements distincts dans la structure. La seconde est quant à elle basée sur le substrat, où on utilise cette fois plusieurs substrats ayant entre eux une partie structurale commune et un élément distinctif habituellement nommé σ qui, en fonction de sa composition donnant des propriétés réactives différentes, pré-encode le résultat de la réaction qui se fait toujours avec les mêmes réactifs [37,38].

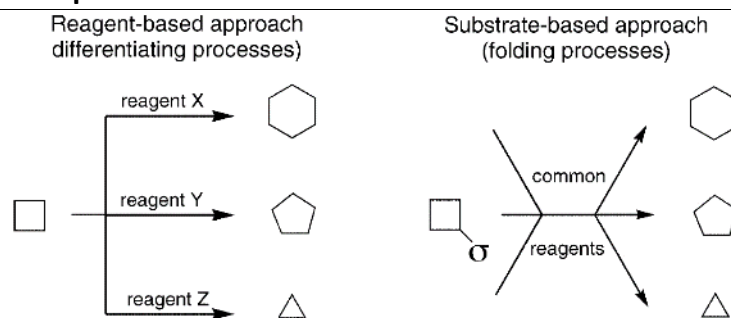


Figure 15 : approches possibles pour la génération d'une diversité de structure globale [38]

Si la diversité de la bibliothèque de molécules obtenue à la fin de la synthèse est par conséquent mieux assurée qu'avec des procédés de chimie combinatoire, il y a tout de même une contrepartie à cet avantage : la taille de ces bibliothèques est généralement plus petite que celles générées par synthèse combinatoire [39].

Parmi les autres contraintes qu'impose le choix d'une DOS, celle-ci ne peut se faire que sur la base de réactions déjà décrites dans la littérature (puisque la stratégie se construit selon une analyse prospective), de préférence applicables sur le plus grand nombre de substrats possibles, compatibles avec une large variété de groupements fonctionnels accessibles, robustes et permettant d'avoir un haut rendement afin de garantir une exploitabilité optimale de la bibliothèque de produits synthétisés pour les tests biologiques [39].

IV.B.3.ii. Exemples d'applications pour la recherche de composés bioactifs

Depuis son apparition, la DOS a montré à de nombreuses reprises qu'elle pouvait être une solution intéressante pour la production de nouvelles bibliothèques de molécules utilisables pour l'investigation de composés bioactifs originaux, à partir de produits naturels ou en s'inspirant de ces derniers [41].

Pour ce qui est de la constitution des bibliothèques de molécules, dans la mesure où on veut les construire à partir d'un produit naturel non modifié, une démarche impliquant la génération d'une diversité de structures globales basée sur les réactifs est sans aucun doute la plus facile à appliquer. Les travaux entrepris par le groupe de recherche de Paul J. Hergenrother ont permis de réaliser des DOS sur plusieurs produits naturels bien connus comme l'acide gibbérélique, l'adrénostérone, la quinine, la lycorine, l'acide abiétique ou la sinoméline (**Figure 16**) [42–45]. Cependant, bien que les molécules formées durant ces travaux soient pertinentes pour la recherche de composés bioactifs puisqu'elles possèdent plus d'atomes de carbone sp^3 et de centre stéréogènes que les bibliothèques de molécules commerciales, aucun test biologique n'a été entrepris sur l'une de ces bibliothèques.

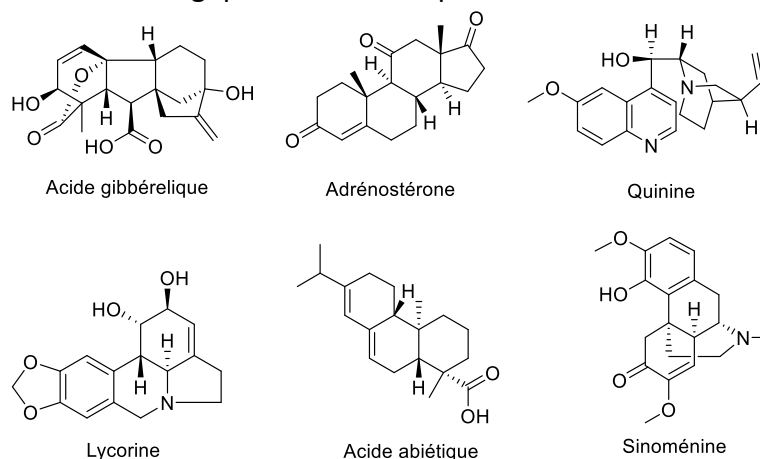
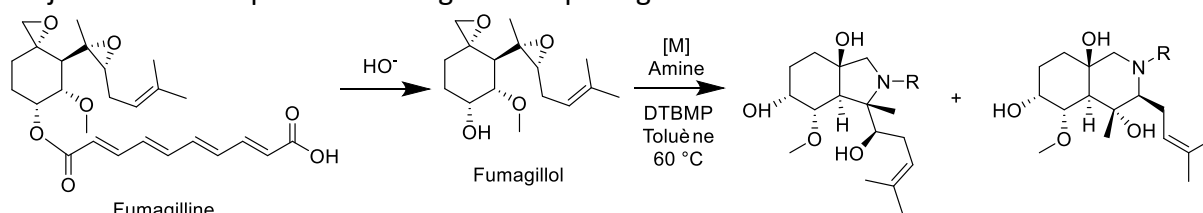


Figure 16 : structures des produits naturels sur lesquels le groupe de Hergenrother a réalisé une DOS [42–45]

Chapitre 1 : les produits naturels dans la recherche de molécules bioactives

Pour augmenter les possibilités de diversifications sur la structure, il n'est pas rare que le substrat de départ subisse une première réaction de modification visant juste à rendre accessible de nouveaux sites réactifs. Bradley R. Balthaser *et al.* ont ainsi, dans un premier temps, converti par saponification un composé présent dans la solution de fermentation du champignon *Aspergillus fumigatus*, la fumagilline (**Schéma 3**), en son équivalent hydroxylé, le fumagillol [46]. Puis la diversification du fumagillol s'est faite *via* une fermeture d'hétérocycle azoté par réaction sur les époxydes d'une gamme d'amines primaires et secondaires, une réaction catalysée par un complexe métallique avec des triflates, en présence de 2,6-di-*tert* butyl-4-méthylpyridine (DTBMP) et dans le toluène qui mène à la formation d'un perhydroisoindole d'un côté et d'une perhydroisoquinoléine de l'autre. Les quelques exemples de protection du groupement hydroxyle généré lors de la saponification préalable ont montré une synthèse de la perhydroisoquinoléine plus importante voire une inversion de la régiosélectivité de la fermeture de l'hétérocycle lorsque le perhydroisoindole est formé majoritairement à partir du fumagillol non protégé.



Quant aux bibliothèques de composés construites par DOS avec une activité biologique qui a pu être prouvée, un exemple emblématique parmi d'autres est celui donné par Atul Kumar *et al.* qui ont voulu produire de nouveaux composés antituberculeux inspirés de produits naturels avec la DOS d'une bibliothèque de tétrahydroquinoléines et de benzopyranes (**Schéma 4**) [47]. Selon le procédé utilisé, un aldéhyde aromatique (dans le cas des tétrahydroquinoléines) ou du salicylaldéhyde (dans le cas des benzopyranes) et des dérivés d'aniline réagissent *in situ* en présence d'un dérivé cellulosique d'acide sulfonique comme catalyseur pour former une *N*-arylimine acidifiée jouant le rôle de diénophile riche en électrons. Ce composé intermédiaire peut ensuite servir à une réaction d'aza-Diels-Alder avec une oléfine activée pour arriver aux structures finales visées, sous la forme de deux diastéréoisomères *cis* et *trans*. Le tout est réalisé soit dans l'acétonitrile, soit dans l'eau, ce dernier permettant cependant de favoriser la diastéréosélectivité en faveur de l'isomère *cis*. Tous les composés synthétisés dans cet exemple, ou plus précisément au moins un des isomères de chacun d'entre eux, sont en mesure d'inhiber *Mycobacterium tuberculosis*, la bactérie responsable de la tuberculose.

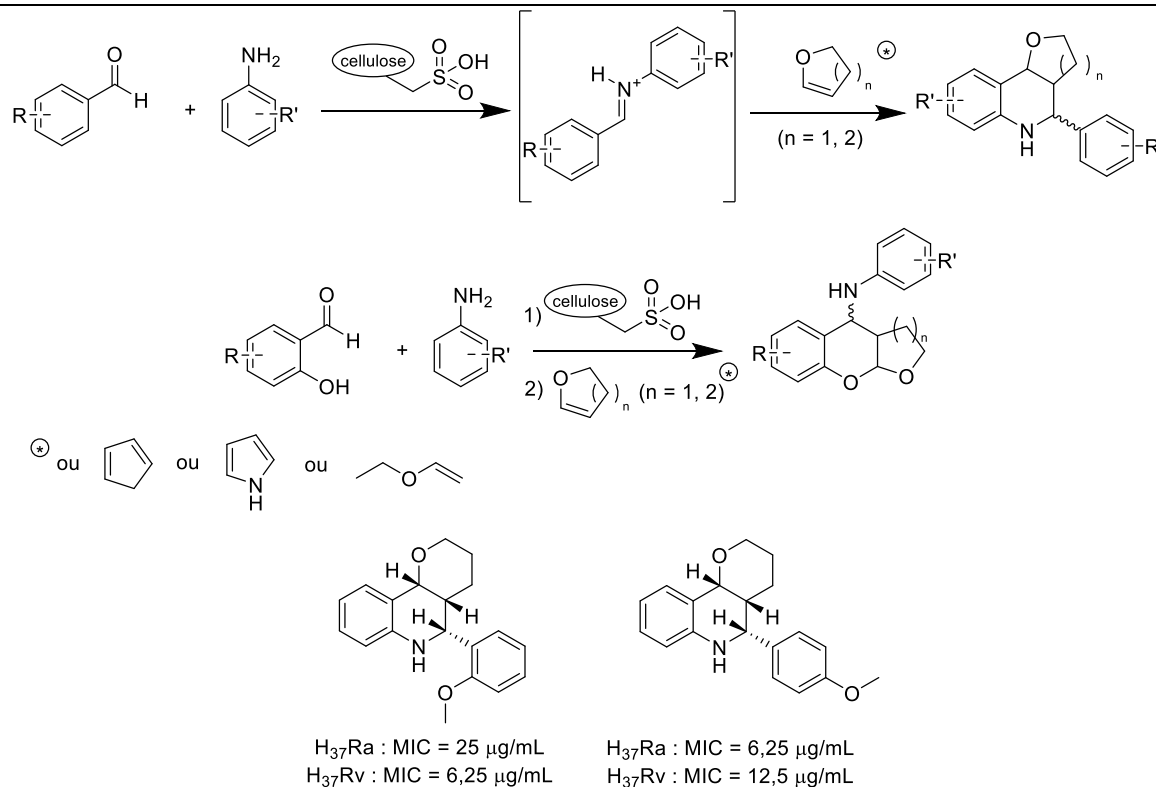


Schéma 4 : DOS de dérivés de tétrahydroquinoléine et de benzopyrane [47]

V. Modification chimique d'extraits naturels : la technique au cœur de la thèse

Bien que cette technique récente n'ait pas encore permis de déboucher sur un principe actif de médicament commercialisé, la modification chimique d'extrait naturel est une technique de recherche de dérivés de produits naturels bioactifs avec un potentiel fort. En effet, cette technique au principe simple a conduit, par l'application de réactions variées, à la création de bibliothèques de molécules diverses desquelles il a toujours été possible de ressortir un ou des candidats pour le développement de médicaments originaux.

V.A. Principe de la modification chimique d'extraits naturels

La technique de modification chimique d'extraits naturels a été imaginée comme un moyen innovant de parvenir à de nouvelles molécules aux structures diversifiées et à visée pharmaceutique à partir des produits naturels dès le début des années 2000, sans être toutefois appliquée en pratique à ce moment-là. Geoffrey A. Cordell, qui a consacré en 2002 une revue sur la place des produits naturels dans la découverte de principes actifs, a écrit que « l'un des aspects les plus importants de la recherche de principes actifs est la présentation d'une sélection diverse de composés à une matrice biologique, dans le but de rechercher une réponse. Donc l'une des visions que nous devons considérer pour les produits naturels est que leur structure peut être diversifiée. [...] Un extrait méthanolique de plante peut contenir 300 à 500 composés, par conséquent, une autre approche est de faire de la chimie sur les extraits de plantes tels que des réductions, des oxydations et des réactions hydrolytiques sous différentes conditions pour se procurer une nouvelle gamme entière de composés d'un extrait pour une évaluation biologique. »^b [48]

^b « We have seen that one of the most important aspects of drug discovery is the presentation of a diverse selection of compounds to a biological matrix in order to look for a response. Thus, one of the visions that we must hold for natural products is that their structures can be diversified. [...] A methanolic plant extract may contain 300–500 compounds, therefore another approach is to do chemistry on the plant extracts, such as

Chapitre 1 : les produits naturels dans la recherche de molécules bioactives

Cependant, cette technique n'a commencé à faire son apparition pratique qu'en 2007 sous le terme de « chemically-engineered extract » (CEE) avec les travaux entrepris par une équipe de l'Université Nationale de Rosario, en Argentine, composée notamment de Ivana Ayelen Ramallo et Ricardo Luis Eugenio Furlan [49]. Selon le raisonnement utilisé par cette équipe pour son explication, cette technique part du principe qu'un extrait naturel est comme une bibliothèque de molécules avec un grand nombre de composés possédant des structures variées et le plus souvent non caractérisées. En se basant sur un extrait pour lequel des études biologiques ont déjà été menées, les composés non caractérisés seront toujours des composés avec lesquels il n'a pas été possible d'établir une quelconque activité biologique. Afin de les rendre bioactifs, une chose qui peut être faite est de les modifier au niveau de leurs groupements fonctionnels. Cette technique prend aussi en compte les différences constatées entre les molécules d'origine naturelle et celles mises sur le marché comme principes actifs. Comme dit plus haut, les premiers ont une plus grande diversité de structures tandis que les seconds possèdent une plus grande variété de fonctions considérées comme pouvant apporter des propriétés pharmacologiques, tels que des groupes sulfurés ou halogénés [24,25,50].

Afin d'obtenir des molécules plus susceptibles d'être exploitées comme composés bioactifs tout en tirant profit de leur diversité de structure, la technique d'obtention des CEE consiste à provoquer sur le plus grand nombre de composés possible d'un extrait naturel une réaction transformant un type de groupement fonctionnel fréquemment rencontré dans la nature comme les hydroxyles ou les carbonyles en un autre type de groupement fonctionnel « non-naturel » fréquemment présents dans les principes actifs de médicaments. Le résultat de cette manipulation est par conséquent le passage d'une bibliothèque de molécules pour la plupart non bioactives à une autre bibliothèque de molécules de composition très différente et avec une activité biologique potentiellement augmentée par rapport à la première. Les molécules composant cet extrait modifié gardant la structure globale des produits naturels de départ, ils peuvent être regroupés sous le nom de « Natural Product-Like Compounds » (NPLC). C'est ce nouveau mélange de composés qui est ensuite exploité pour la recherche de composés thérapeutiques originaux. Pour en extraire les molécules les plus prometteuses en ce qui concerne leur activité biologique vis-à-vis d'une cible préalablement définie, il reste à effectuer la séparation des constituants de ce mélange en passant par des procédés de fractionnements bio-guidés [51].

On pourrait alors rapprocher cette technique de celle appelée « library from library » déjà décrite auparavant dans la littérature et qui consiste aussi en la modification des constituants d'une bibliothèque de molécules par réaction sur son ensemble [52], la principale différence venant de la connaissance des constituants de la bibliothèque qui n'est au mieux que partiel dans l'extrait naturel.

D'autre part, même s'il peut arriver qu'on parle d'un CEE comme d'un extrait diversifié, les réactions permettant la préparation de ce type d'extrait modifié ne peuvent pas entrer dans la catégorie des réactions de synthèse orienté vers la diversité. En ne s'attaquant qu'aux groupements fonctionnels par des réactions simples pour l'halogénéation ou la sulfonylation par exemple, on ne peut que générer une diversité de blocs constitutifs et stéréochimique. En revanche, comme toutes les réactions exploitées pour préparer un CEE ne génèrent aucune rupture ou création de liaison C-C, il est impossible de produire une quelconque diversité de

reductions, oxidations, and hydrolytic reactions under different conditions to afford a whole new range of metabolites from an extract for biological evaluation. »

Chapitre 1 : les produits naturels dans la recherche de molécules bioactives

structure globale puisque le squelette des composés de l'extrait de départ n'est ici pas modifié. Par conséquent, en s'en tenant aux différences entre la chimie combinatoire et la DOS [35,38,39], il est plus pertinent de dire que la préparation d'un CEE consiste en la création d'une bibliothèque de molécules par application d'une réaction de chimie combinatoire sur un extrait naturel.

Pour modifier un extrait naturel avec une réaction de DOS sur le principe des CEE, il faut attendre 2014 et des travaux menés par l'équipe de Haruhisa Kikuchi de l'Université du Tohoku à Sendai, au Japon, et la première mention du terme de « diversity-enhanced extracted » (DEE). Ce type d'extrait est défini par Kikuchi comme étant un extrait modifié obtenu par application sur un extrait naturel d'une réaction qui ne permet plus seulement la modification de fonctions des composés de départ et la création de centres stéréogènes mais provoque aussi un changement de la structure carbonée moléculaire en créant de nouvelles liaisons C-C, c'est-à-dire par application d'une réaction de DOS. Une autre différence entre les DEE et les CEE avec l'inclusion de la DOS est le fait que les réactions utilisées pour les DEE sont moins variées et plus rudes à mettre en œuvre que celles exploitées pour les CEE [51].

Comme la partie suivante va le montrer, les applications pratiques de ces deux techniques de découverte de nouvelles molécules bioactives innovantes ont déjà permis à de nombreuses reprises de dénicher des molécules à visée potentiellement thérapeutique contre un bon nombre de cibles biologiques, à partir de sources naturelles variées, principalement des plantes mais pas seulement, et suivant des modifications diverses.

V.B. Exemples d'application des CEE/DEE pour la découverte de composés bioactifs

V.B.1. Sans modification de la structure carbonée

V.B.1.i. Formation de groupements azotés

Beaucoup d'exemples de CEE concernent la formation de groupements azotés sur les composés de l'extrait de départ. Par ailleurs, le premier exemple de réaction de préparation de CEE est la génération d'un cycle pyrazole à partir d'une flavone par réaction de la cétone α,β -insaturée caractéristique de cet hétérocycle avec de l'hydrazine suivant un mécanisme incluant une addition du type Michael, la réaction entraînant au passage la rupture de l'hétérocycle oxygéné et une déshydratation. Dans la première publication de l'équipe de Furlan et Ramallo à l'origine de la technique, cette réaction appliquée à un extrait *n*-butanolique (remis en solution à 2 % en masse sur volume (m/v)) de *Polygonum ferrugineum* Wedd., une plante herbacée appartenant au genre des renouées. Un fractionnement bioguidé a permis de mettre en évidence par analyse HPLC avec un détecteur à barrette de diodes un pyrazole formé en partant de la 5-hydroxy-6,7-diméthoxyflavone (**Schéma 5**) et affichant une activité inhibitrice contre la levure *Candida albicans* [49]. Cette équipe a effectué la même réaction sur un extrait de camomille vraie (*Matricaria recutita* L.) en solution à 2 % m/v et en a tiré un nouveau pyrazole probablement synthétisé à partir de l'apigénine, une flavone qui, avant la rupture hétérocyclique, a également subi par l'hydrazine une réduction par réaction de Wolff-Kischner [53]. Ce pyrazole a présenté par rapport à son précurseur une activité inhibitrice accrue sur la tyrosinase ($IC_{50} = 187,4 \mu\text{M}$ pour l'apigénine et $28,2 \mu\text{M}$ pour le pyrazole). D'autres équipes ont également exploité cette réaction pour préparer des CEE comme Taizong Wu *et al.* qui l'ont exercée sur un extrait de chrysanthème d'Inde (*Chrysanthemum indicum* L.) mis en solution à 2 % m/v. Ici quatre pyrazoles (dont celui formé avec l'apigénine) (**Schéma 5**) ont été isolés avec une activité inhibitrice contre l'agrégation du peptide β -amyloïde [54].

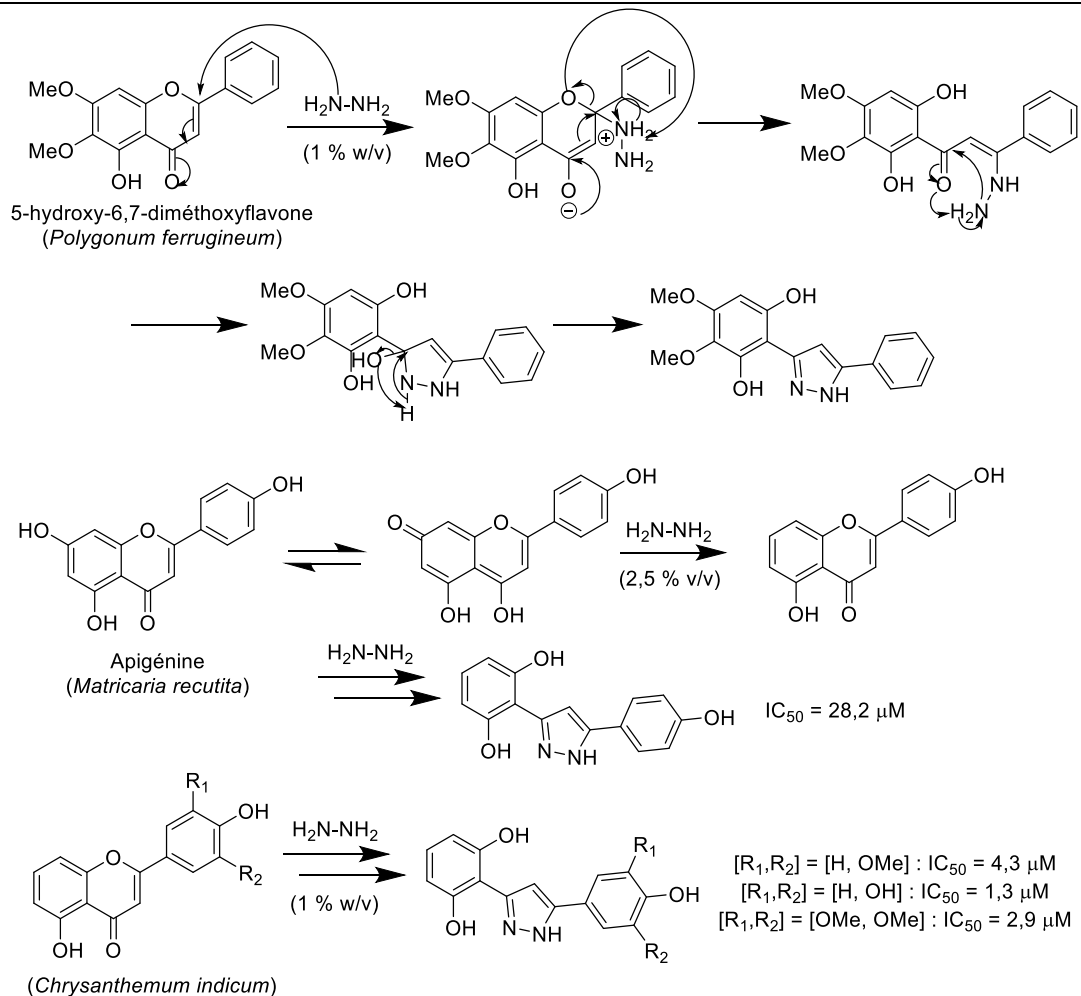


Schéma 5 : formation d'un CEE par synthèse de cycles pyrazoles à partir d'extraits de *Polygonum ferrugineum* Wedd., *Matricaria recutita* L. et *Chrysanthemum indicum* L. [49,53,54]

De même, Qingfeng Guo *et al.* ont mis à profit la modification d'extrait par réaction avec de l'hydrazine pour une application sur un extrait de fermentation de la moisissure *Chaetomium madrasense* mis en solution à 3 % m/v et qui, après réaction, a été ensuite analysé notamment par LC-MS [55]. En présence de pipéridine qui joue un rôle catalytique d'après les auteurs, la chaetoglobosine B contenue dans l'extrait à l'acétate d'éthyle de la solution de fermentation a été en partie convertie en trois composés inédits baptisés chaetoglobosine B1, B2 et B3 (**Schéma 6**). La réaction appliquée a conduit à la formation d'un cycle dihydropyridazinol sur le premier, d'un cycle pyridazine sur le second et d'un cycle 4H-1,2,3-oxadiazine lié par une double liaison et un autre cycle 4,5-dihydro-1,2,3-oxadiazole sur le troisième. Cependant, l'étude de leurs propriétés biologiques n'a permis de dégager qu'une faible activité antiproliférative.

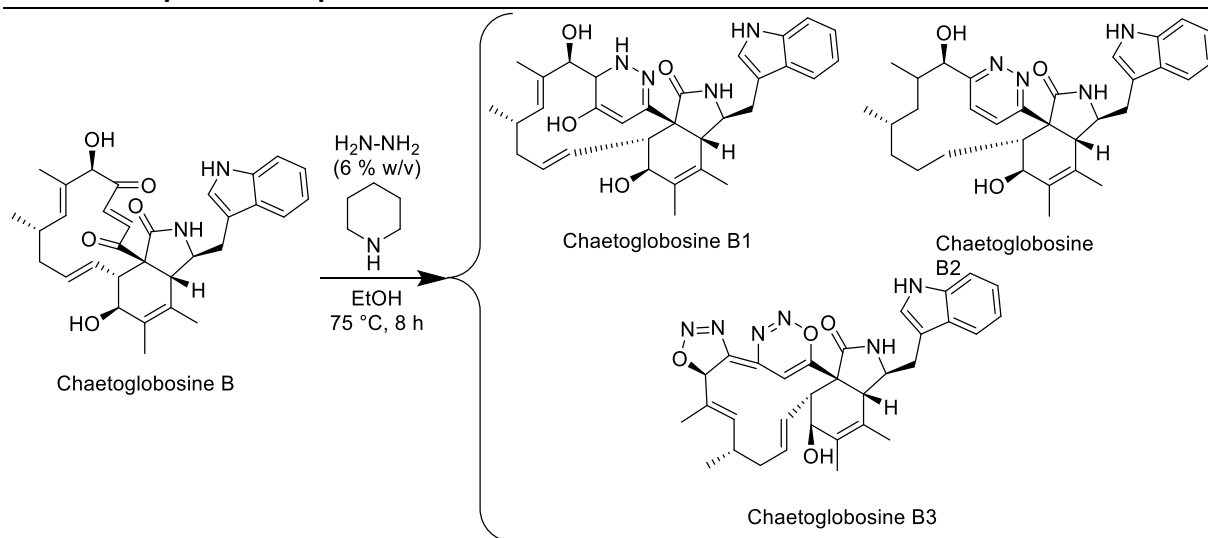


Schéma 6 : formation d'un CEE par réaction avec de l'hydrazine à partir de la chaetoglobosine B d'un extrait de fermentation de *Chaetomium madrasense* [55]

Jian-Long Zhang *et al.* ont appliqué la réaction avec l'hydrazine sur des extraits de *Radix puerariae*, des racines séchées d'une variété d'une plante médicinale traditionnelle chinoise appelé kudzu (*Pueraria montana* var. *lobata* (Willd.) Maesen) en solution à 2,7 % m/v [56]. Les métabolites visés cette fois-ci furent les isoflavones qui donne des dérivés de pyrazole selon un mécanisme identique au précédent mais également des dérivés de crotonolactone à partir desquels il peut se former des 4,5-dihydro-3(2H)-pyridazinones (**Schéma 7**). Treize composés différents dont deux 4,5-dihydro-3(2H)-pyridazinones ont été isolés après modification de l'extrait analysé par HPLC avec détecteur à barrette de diodes et ont été testés pour leur capacité d'inhibition de lignées de cellules cancéreuses de la prostate. Les deux 4,5-dihydro-3(2H)-pyridazinones caractérisées ont montré la meilleure action contre ces cibles.

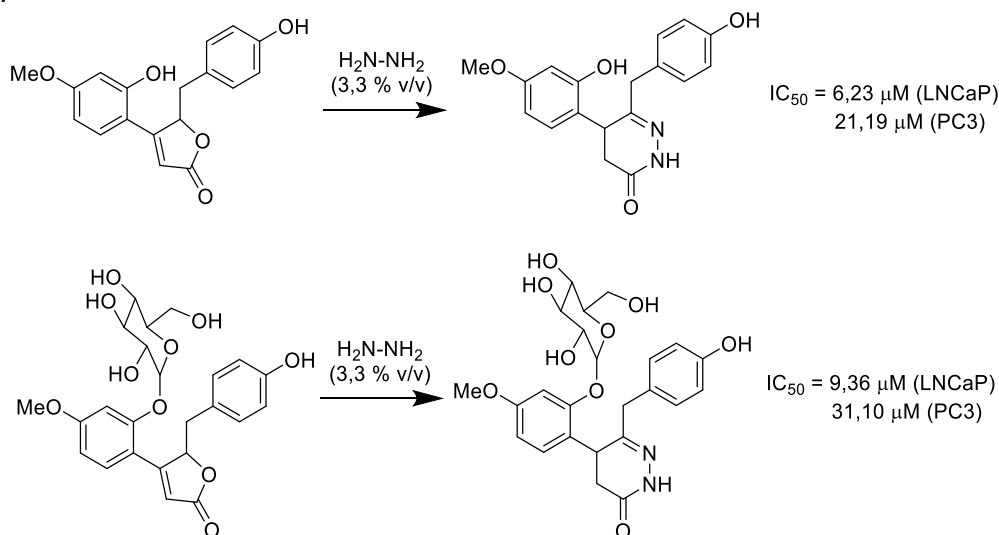


Schéma 7 : formation d'un CEE par synthèse de pyridazinones à partir de crotonolactones d'un extrait de *Pueraria montana* var. *lobata* (Willd.) Maesen et activité sur des lignées de cellules cancéreuses de la prostate [56]

De manière similaire à cette dernière réaction sur les dérivés de crotonolactone, Weiming Zhu *et al.* ont traité par une solution d'ammoniaque un extrait enrichi en α -pyrones (**Schéma 8**) réalisé à partir d'une solution de fermentation d'une bactérie du genre *Streptomyces* vivant avec l'algue verte *Enteromorpha prolifera* (O.F.Müller) J.Agardh [57]. L'extrait ainsi modifié et analysé par LC-MS a donné accès en particulier à quatre α -pyridones inhibant l'expression génique de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa*.

Chapitre 1 : les produits naturels dans la recherche de molécules bioactives

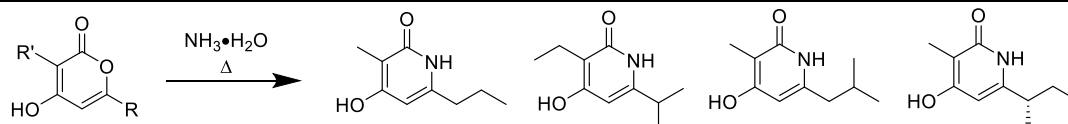


Schéma 8 : formation d'un CEE par synthèse de α -pyridones à partir de α -pyrones d'une solution de fermentation d'une bactérie du genre *Streptomyces* [57]

Ce même groupe de recherche a également appliqué ce traitement d'ammoniacal sur une solution de fermentation d'*Aspergillus flavus*, une bactérie endophytique vivant sur l'arbre *Garcinia multiflora* Champ. ex Benth. : cette fois-ci, sept composés dont trois alcaloïdes inédits ont été caractérisés (**Schéma 9**) [58]. Ces composés furent formés à partir de l'acide α -cyclopiazonique (α -CPA) ou de l'acide kojique contenus dans la solution de fermentation. Seuls les nouveaux composés produits en partant du α -CPA affichent une activité biologique, en l'occurrence un pouvoir inhibiteur contre l' α -glucosidase de la levure *Saccharomyces cerevisiae*, avec une intensité améliorée par rapport au parent.

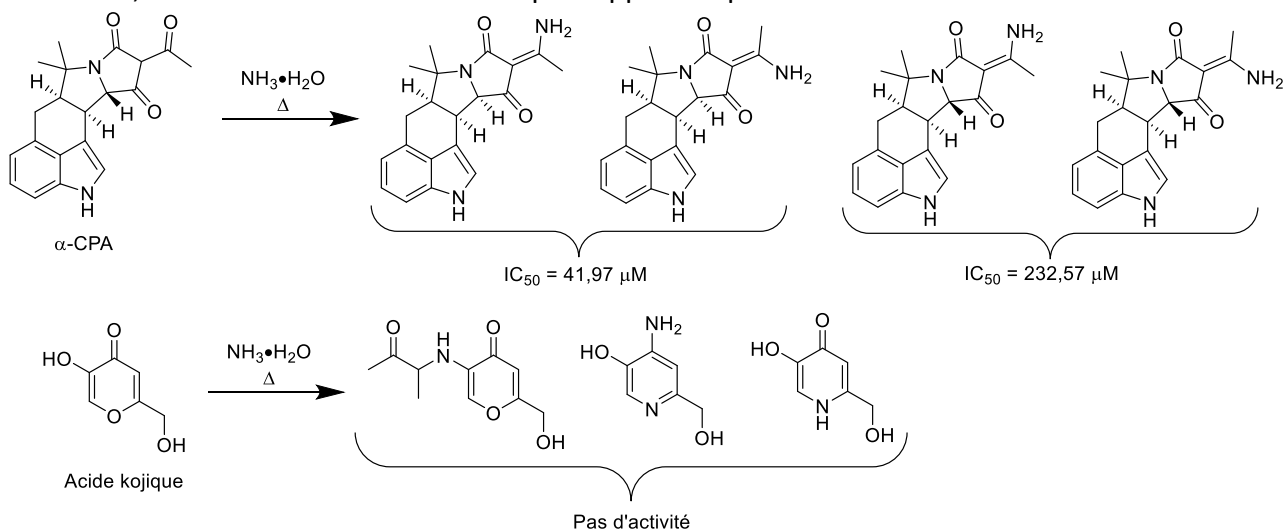


Schéma 9 : formation d'un CEE par traitement à la solution d'ammoniacal d'une solution de fermentation de *Aspergillus flavus* et activité sur l' α -glucosidase [58]

Toujours concernant les réactions de modification d'extrait visant à introduire des atomes d'azote, Ramallo *et al.* ont cherché à faire réagir une palette de douze extraits méthanoliques et vingt-trois huiles essentielles avec de l'hydrazine monohydrate d'une part et avec de l'hydroxylamine chlorhydrique d'autre part [59] afin de caractériser, après analyse du résultat par bioautographie sur plaque CCM, des composés pouvant agir sur le parasite *Trypanosoma cruzi* en agissant sur son bromodomaine. Les résultats les plus prometteurs furent obtenus avec l'extrait d'herbe de Dallis (*Paspalum dilatatum* Poir.) modifié par l'hydroxylamine chlorhydrique mais son fractionnement bio-guidé fût relativement décevant sur l'origine de cette inhibition. En effet, celle-ci est assurée par le 5-(éthoxyméthyl)-furan-2-carbaldéhyde oxime présent dans l'extrait modifié sous forme d'un mélange de ses deux isomères *Z* et *E* et provenant du fructose de l'extrait (**Schéma 10**) ayant préalablement subi une suite de réactions séquentielles sous l'effet du solvant d'extraction. Entre ces deux isomères, la forme *E* montre les meilleurs résultats de toxicité contre le parasite.

Chapitre 1 : les produits naturels dans la recherche de molécules bioactives

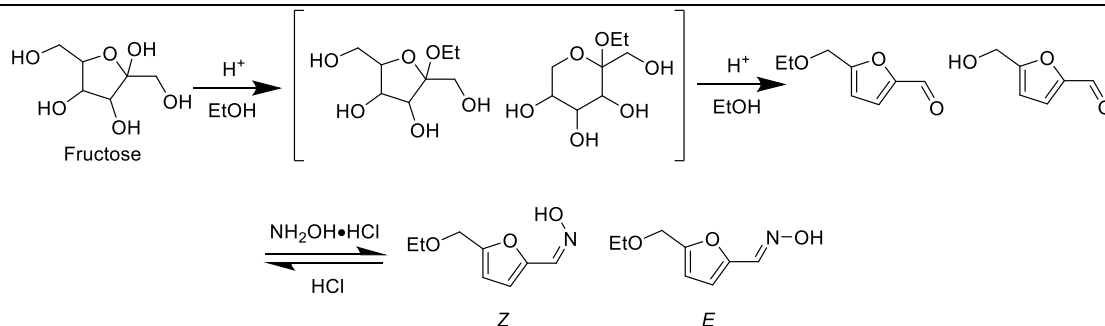


Schéma 10 : formation d'un CEE par synthèse de 5-(éthoxyméthyl)-furan-2-carbaldéhyde oxime à partir de fructose d'un extrait de *Paspalum dilatatum* Poir. [59]

Plusieurs autres exemples répertoriés de réactions avec introduction d'atomes d'azote font part d'une modification sur des composés 1,2-dicarbonylés : Jie Wu *et al.* ont modifié un extrait de curcuma (*Curcuma longa* L.) enrichi en curcuminoïdes par réaction avec du chlorhydrate de *p*-chlorophénylhydrazine dans le but de synthétiser des composés possédant un cycle central pyrazole (Schéma 11) [60]. Deux composés en particulier ont montré une activité antivirale intéressante contre le virus respiratoire syncytial (RSV) avec une intensité supérieure à celle du produit naturel parent le plus proche des composés de départ, la curcumine.

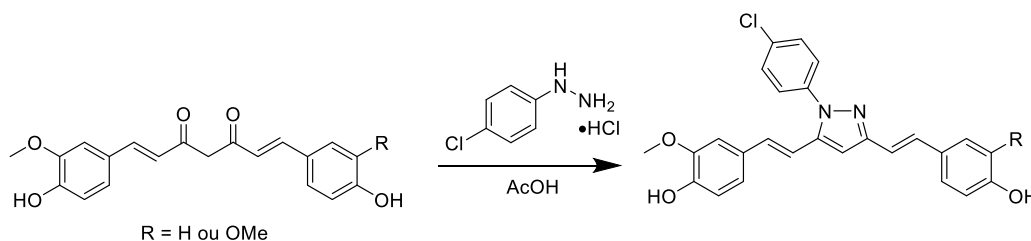


Schéma 11 : formation d'un CEE par synthèse d'un cycle pyrazole à partir de curcuminoïdes d'un extrait de *Curcuma longa* L. [60]

Zhe-Rui Zhang *et al.* ont traité un extrait de sauge chinoise (*Salvia miltiorrhiza* Bunge) enrichi en tanshinones avec du benzaldéhyde et de l'acétate d'ammonium qui vont agir une nouvelle fois sur la partie 1,2-dicarbonylée (Schéma 12) [61]. Des onze composés isolés comportant un nouveau cycle imidazole fusionné avec le reste de la structure, un seul a montré un effet inhibiteur significatif à faible concentration contre deux lignées de cellules cancéreuses du sein et une lignée de cellules cancéreuses du poumon.

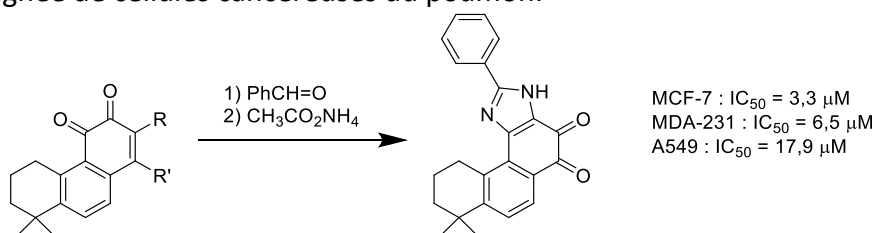


Schéma 12 : formation d'un CEE par synthèse d'un cycle imidazole à partir de tanshinones d'un extrait de *Salvia miltiorrhiza* Bunge et activité contre des lignées de cellules cancéreuses [61]

Yafang Tan *et al.* ont effectué une synthèse de composés semblables à l'exemple précédent en cherchant à obtenir des quinoxlinetanshinones à partir des tanshinones par réaction avec de l'éthanediamine dans l'éthanol anhydre [62]. Appliquée une nouvelle fois à l'extrait de racines séchées de *Salvia miltiorrhiza* Bunge, cette réaction a donné lieu ensuite à la caractérisation de six quinoxlinetanshinones (Schéma 13) possédant d'importantes propriétés de liaison à l'ADN.

Chapitre 1 : les produits naturels dans la recherche de molécules bioactives

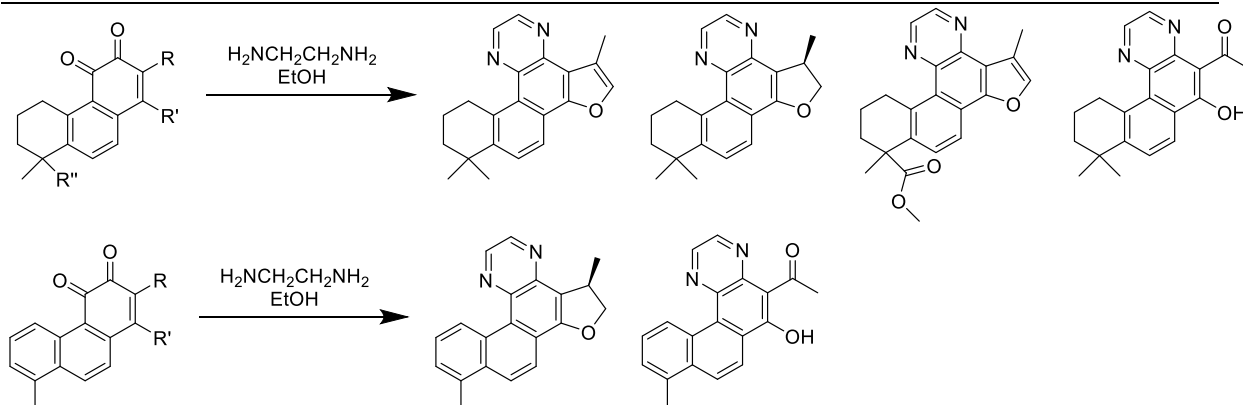


Schéma 13 : formation d'un CEE par synthèse de quinoxalinetanshinones à partir de tanshinones d'un extrait de *Salvia miltiorrhiza* Bunge [62]

Enfin, à plusieurs reprises, Keisuke Tomohara *et al.* ont modifié des extraits naturels par la réaction de Bucherer-Bergs. Cette réaction fût d'abord appliquée sur un extrait à l'acétate d'éthyle de racines de zédoaire (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe) [63] : après notamment une analyse de l'extrait modifié sur plaque CCM, un seul nouveau composé dérivé de la curcuménone en fût déduit (**Schéma 14**). Une autre application sur deux autres extraits obtenus avec le même solvant d'extraction a donné des résultats plus prolifiques [64] : avec un extrait d'écorces de racines de pivoines arbustives (*Paeonia suffruticosa* Andrews), deux nouveaux hydantoïnes furent formés à partir du paéonol tandis qu'avec un extrait de rhizomes séchés de gingembre (*Zingiber officinale* Roscoe), pas moins de sept nouveaux hydantoïnes et carbamates cycliques furent caractérisés. Trois de ces composés furent vraisemblablement synthétisés à partir du [6]-gingérol et les quatre autres en partant du [10]-gingérol. Une étude d'activité biologique de l'ensemble de ces composés sur l'inhibition de l'aldose réductase AKR1B1 n'est publiée qu'en 2020 [65] : au final, seul le composé issu de l'extrait modifié de *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe et un des deux provenant de celui de *Paeonia suffruticosa* Andrews affichent une activité inhibitrice contre cette enzyme, alors que leurs composés d'origine se sont montrés inactifs.

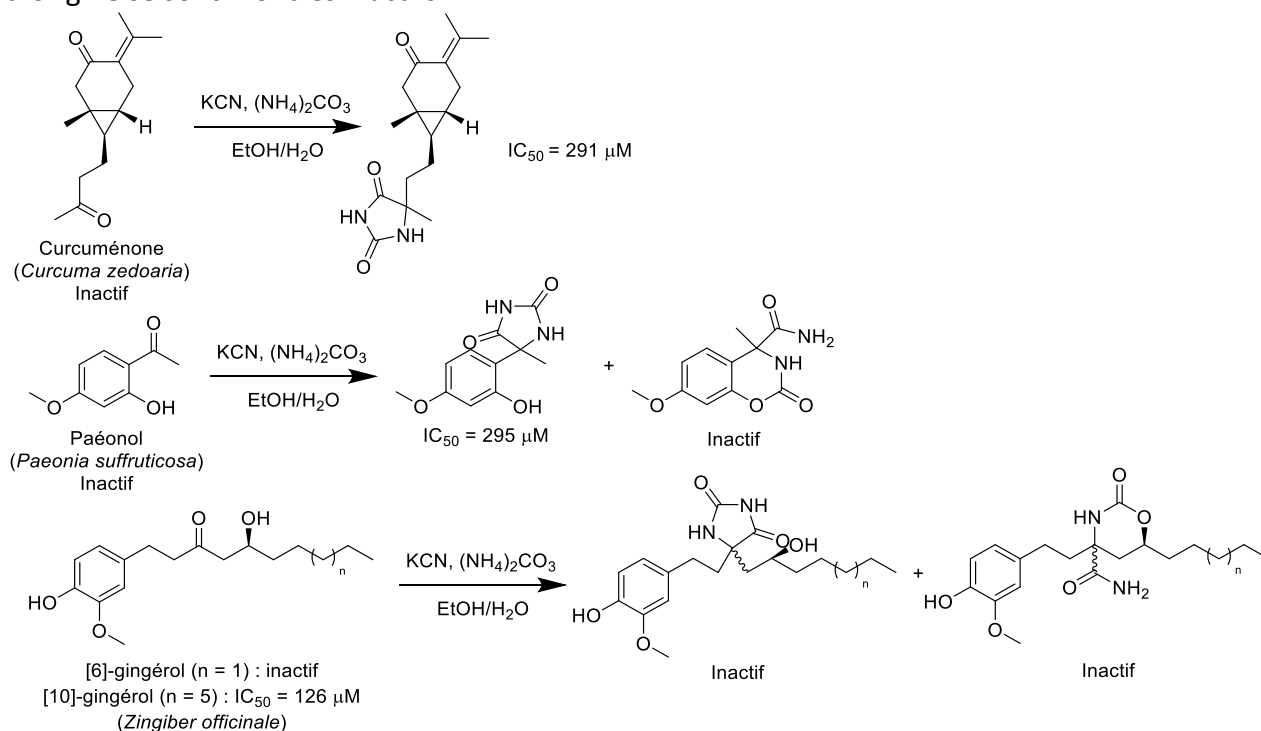


Schéma 14 : formation de CEE par réaction de Bucherer-Bergs à partir (de haut en bas) des extraits de *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe, *Paeonia suffruticosa* Andrews et *Zingiber officinale* Roscoe et activité sur AKR1B1 [63–65]

Chapitre 1 : les produits naturels dans la recherche de molécules bioactives

V.B.1.ii. Ajout d'atomes d'halogène

L'intégration d'atomes d'halogène dans la structure des composés figure en bonne place dans les réactions exploitées pour la production de CEE. La quasi-totalité des exemples proviennent de l'équipe de Ramallo et Furlan. Le premier exemple de ce type de CEE date de 2011 : une dizaine d'extraits de plantes ont subi une réaction de bromation au moyen de dibrome [66]. Parmi eux, un seul a donné un composé avec un effet bioactif : la modification sur l'extrait modifié de la grande ciguë (*Conium maculatum* L.), et plus précisément sur le 8-méthoxysporalène qui y est présent (**Schéma 15**) a conduit à la synthèse d'un produit tribromé possédant la capacité d'inhiber l'acétylcholine estérase, mis en évidence par bioautographie sur plaque CCM.

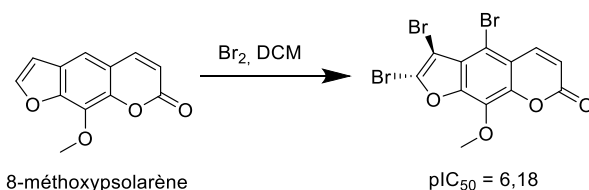


Schéma 15 : formation d'un CEE par bromation d'un extrait de *Conium maculatum* L. et activité sur l'acétylcholine estérase [66]

Ce même groupe a ensuite élargi l'application de cette réaction sur dix-sept huiles essentielles, dans le but d'identifier un nouvel inhibiteur de xanthine oxydase [67]. L'huile essentielle modifiée de fenouil commun (*Foeniculum vulgare* Mill.) fut celle avec le plus fort effet inhibiteur sur cette enzyme. Cet effet bioactif provient de la 2-bromo-1-(4-méthoxyphényl)propan-1-one (**Schéma 16**) qui a probablement été synthétisée en partant de l'anéthol.

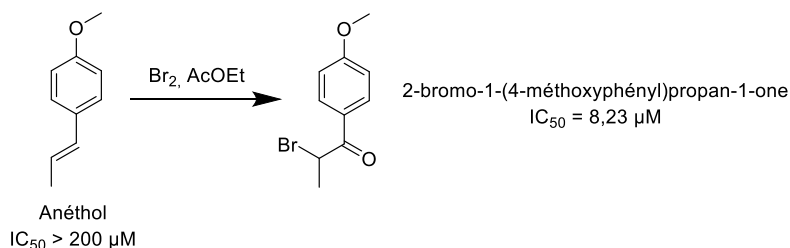


Schéma 16 : formation d'un CEE par bromation d'huile essentielle de *Foeniculum vulgare* Mill. [67]

Davide Righi, Jean-Luc Wolfender, Emerson F. Queiroz *et al.* ont également procédé en 2019 à la bromation de deux extraits, en l'occurrence un extrait méthanolique de peaux d'orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) et un autre de *Curcuma longa* L., selon un procédé moins dangereux que celui nécessitant du dibrome [68]. Dans ce cas-ci, l'extrait est mis à réagir avec du peroxyde d'hydrogène et une solution de bromure de sodium dans de l'acide acétique puis analysé par LC-MS. Le résultat fût l'obtention de trois composés bromés pour l'un (générés en partant de l'hésperidine ou de la poncirine) et de trois autres composés pour le second extrait (**Schéma 17**). A noter que des conditions initiales plus fortes de bromation sur l'extrait de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck a donné cinq autres composés bromés qui proviennent probablement d'une dégradation des flavonoïdes. Ont été ensuite testées pour tous ces composés les propriétés d'inhibition de croissance des bactéries *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* ainsi que celles de la lignée de cellules cancéreuses du sein BT-20 uniquement pour les composés caractérisés de l'extrait modifié de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck. La totalité de ces tests ont été positifs, cependant, les valeurs de CMI et de IC₅₀ déterminées par ces tests se révèlent trop élevées pour les rendre compétitifs avec les principes actifs déjà existants sur le marché.

Chapitre 1 : les produits naturels dans la recherche de molécules bioactives

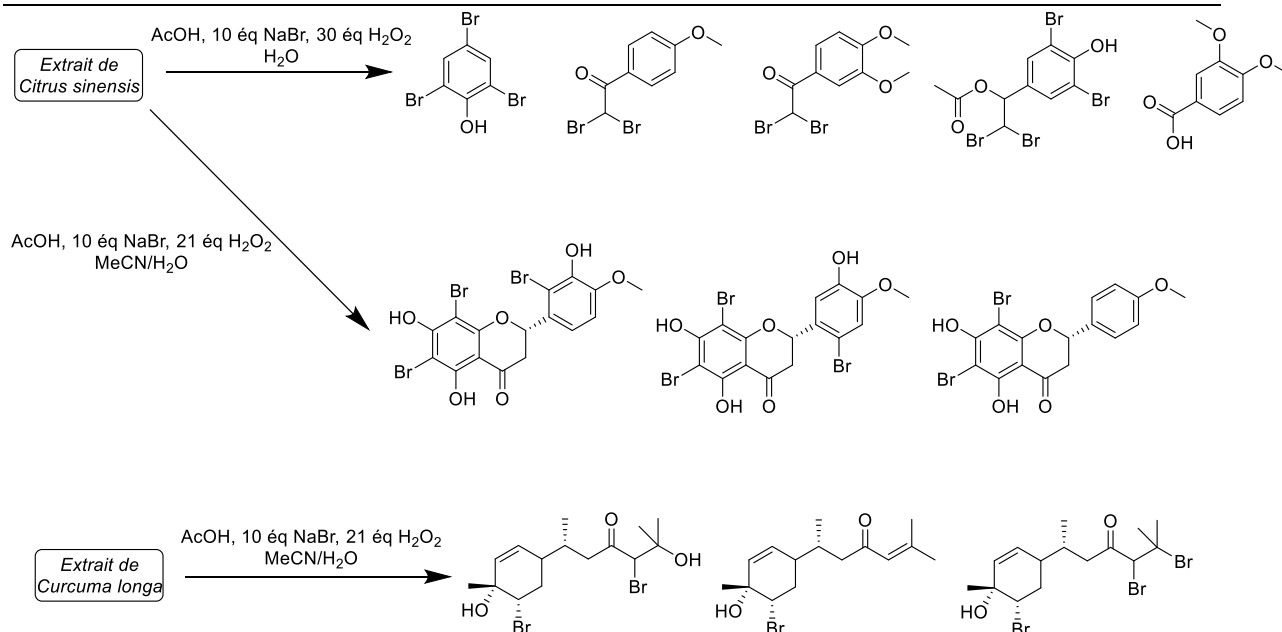
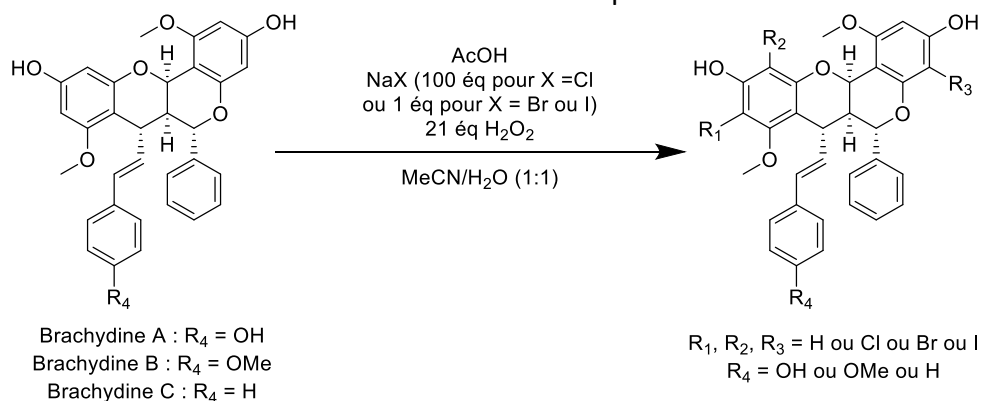


Schéma 17 : formation de CCE par bromation d'extraits de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck et de *Curcuma longa* L. [68]

Wolfender, Queiroz et d'autres collaborateurs ont par la suite appliqué la même réaction de bromation sur un extrait de racines séchées de *Arrabidaea brachypoda* (DC.) Bureau, obtenu avec du dichlorométhane, et l'ont même élargie à l'utilisation des équivalents chloré et iodé du bromure de sodium (**Schéma 18**) [69]. Dans les faits, sur l'ensemble de ces réactions, les brachydines A, B et C de cet extrait ont pu être convertis en seize produits halogénés différents dont quinze d'entre eux présentent une activité antiparasitaire, en majorité du même ordre de grandeur que les brachydines, contre *Leishmania amazonensis*. En revanche, au contraire des brachydines, ces composés présentent aussi des propriétés inhibitrices contre un autre parasite, *Trypanosoma cruzi*. De plus, l'incorporation d'atomes halogénés sur la structure des brachydines a entraîné une diminution de leur cytotoxicité et par conséquent une augmentation de la sélectivité de leur action contre les parasites.



NaX	R1	R2	R3	R4	NaX	R1	R2	R3	R4
NaBr	H	Br	Br	OH	Nal	H	I	I	OH
NaBr	Br	Br	Br	OH	Nal	H	I	H	H
NaBr	H	Br	H	OMe	Nal	H	H	I	OMe
NaBr	H	Br	Br	OMe	Nal	H	I	I	OMe
NaBr	H	Br	Br	H	Nal	H	I	I	H
NaBr	Br	Br	Br	OMe	NaCl	H	Cl	H	OMe
NaBr	Br	Br	Br	H	NaCl	H	Cl	H	H
					NaCl	H	Cl	Cl	OMe

Schéma 18 : produits des différents CEE formés par halogénéation d'un extrait de *Arrabidaea brachypoda* (DC.) Bureau [69]

Chapitre 1 : les produits naturels dans la recherche de molécules bioactives

Un dernier exemple d'halogénéation, plus précisément de fluoration, a été rapporté une nouvelle fois par l'équipe de recherche de l'université de Rosario [70]. Pour ce faire, un ensemble de douze huiles essentielles ont réagi avec du Selectfluor®. En sondant l'effet inhibiteur sur la tyrosinase de ces huiles essentielles modifiées par bioautographie sur plaque CCM, les deux qui ont montré la plus importante hausse de cet effet bioactif sont ceux provenant de l'estragon (*Artemisia dracunculus* L.) et du basilic (*Ocimum basilicum* L.). L'effet inhibiteur de ces deux extraits s'est révélé provenir de la même nouvelle molécule, la 4-allyl-4-fluorocyclohexa-2,5-diénone (**Schéma 19**) qui fût synthétisée à partir du méthyl chavicol.

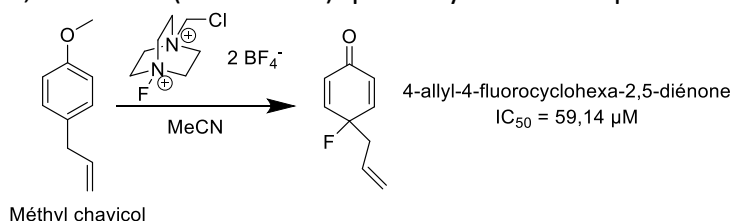


Schéma 19 : formation d'un CEE par fluoration d'extraits de *Artemisia dracunculus* L. et de *Ocimum basilicum* L. et activité sur la tyrosinase [70]

V.B.1.iii. Ajouts de groupements soufrés

Quelques modifications chimiques d'extraits naturels concernent l'addition de groupements possédant des atomes de soufre. Le groupe de l'université de Rosario a, à trois reprises, exploité une réaction de tosylation pour préparer un CEE : dans le premier article relatif à ce sujet, du chlorure de tosyloyle et du carbonate de potassium furent utilisés pour former un tosylate ou un tosylamide à partir des groupements hydroxyles et amines primaires et secondaires sur les composés de onze extraits (**Schéma 20**) [71]. Parmi ces derniers, les extraits modifiés de *Solanum diflorum* Vell., de laiteron maraîcher (*Sonchus oleraceus* L.) et de *Brassica rapa* L. ont montré un effet bioactif en tant d'inhibiteur de β -glucosidase. Mais de manière étonnante, aucune étude de caractérisation des composés à l'origine de cette activité dans ces extraits n'a été entreprise par la suite.

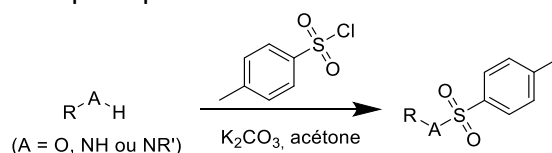


Schéma 20 : principe de formation de CEE par sulfonylation avec du chlorure de *p*-toluènesulfonyloyle [71]

Deux autres études de ce même groupe sur la sulfonylation d'un extrait naturel vont quant à elles plus loin : dans ces deux publications, la même réaction est réalisée avec du chlorure de benzènesulfonyloyle à la place du chlorure de tosyloyle. Lorsqu'elle a été appliquée à un extrait de petite ortie (*Urtica urens* L.), un composé disulfoné issu de cet extrait modifié et obtenu en partant de l'histamine (**Schéma 21**) a été identifié comme inhibiteur de β -glucosidase. Cette même réaction a été appliquée à l'huile essentielle d'origan (*Origanum vulgare* L.), ce qui a permis de former deux inhibiteurs d' α -glucosidase, le benzènesulfonyloyle thymol et le benzènesulfonyloyle carvacrol, obtenus à partir de deux composés présents en haute teneur dans cette huile essentielle (**Schéma 21**) [72].

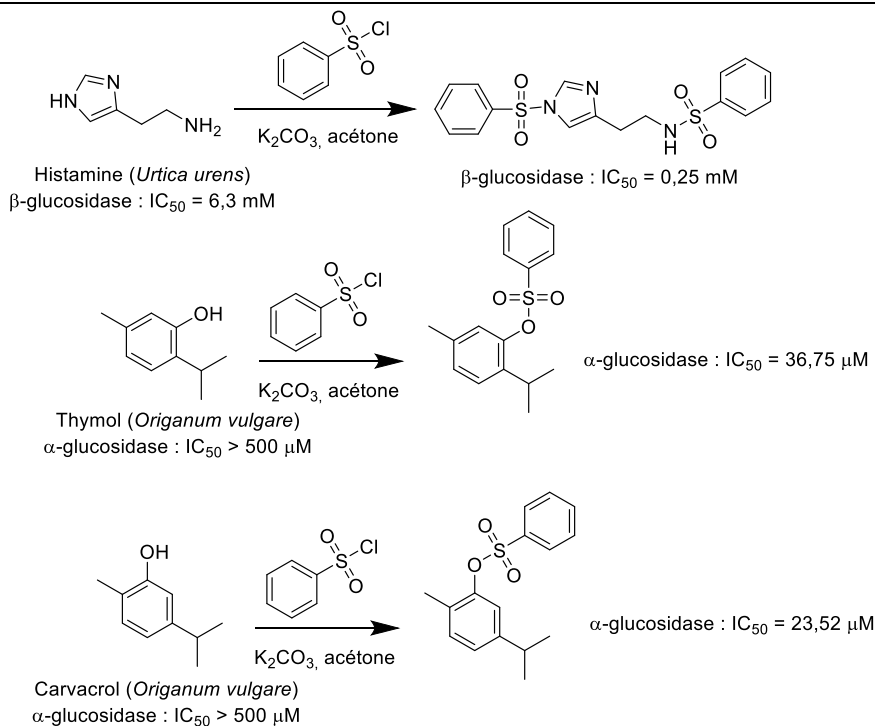


Schéma 21 : formation d'un CEE par sulfonation d'extraits d'*Urtica urens* L. et d'*Origanum vulgare* L. avec du chlorure de benzènesulfonyle et activité sur les glucosidases [72,73]

Mis à part ces trois publications sur la sulfonation d'extrait, les seuls autres exemples de modification soufrée d'extrait naturel consistent tous en la sulfatation de polysaccharides qui a été mise au point par Bimalendu Ray *et al.* en 2013 [74] pour le traitement de son de riz asiatique (*Oryza sativa* L.), extrait au DMF puis sulfaté en présence d'un mélange de DMF et d'oléum. Ce procédé a été reproduit en 2019 sur les fruits de la châtaigne d'eau chinoise (*Eleocharis dulcis* (Burm.f.) Trin. ex Hensch.), de l'enveloppe de racine de *Plantago ovata* Forssk., les fleurs de *Moringa oleifera* Lam., de la poudre dépigmentée de l'algue *Enteromorpha compressa* L. et sur une autre espèce d'algue du genre *Spirogyra* [75]. En 2015, le même groupe de recherche a renouvelé la réaction mais en remplaçant l'oléum comme agent de sulfatation par un complexe de pyridine et de trioxyde de soufre. Ces conditions ont été utilisées sur de la poudre dépigmentée de l'algue *Scinaia hatei* Børgesen [76] puis plus tard sur de l'enveloppe de racine de *Plantago ovata* Forssk. [77] et de la gomme de *Anogeissus latifolia* (Roxb. ex DC.) Wall. ex Guill. & Perr. [78]. De cette manière et après avoir ensuite soumis l'extrait à plusieurs cycles de méthylation suivi d'une analyse GC-MS, il a pu être montré que les polysaccharides extraits se voient substitués tout ou partie de leurs groupements hydroxyles par des sulfates. Suivant les exemples, les polysaccharides sulfatés obtenus par cette voie de synthèse ont révélé une activité antivirale contre le cytomégalovirus humain, contre le cytomégalovirus de la souris et du cochon d'Inde ou contre les Herpès Simplex Virus 1 et 2 [74–78].

V.B.1.iv. Rupture de liaisons carbone-hétéroatome

Il existe quelques exemples de modification d'extraits dont la réaction a simplement consisté en la rupture d'une liaison covalente entre un atome de carbone et un hétéroatome, l'ensemble de ces exemples concernant la rupture d'une liaison C-O glycosidique afin de produire de nouveaux composés alcooliques et phénoliques notamment. En 2012, Ramallo *et al.* se sont essayés à une éthanololyse sur plusieurs extraits de plantes en présence d'hydroxylamine chlorhydrique [79]. Deux inhibiteurs de β -glucosidase mis en évidence par bioautographie sur plaque CCM ont été produits par ce procédé avec l'extrait de *Lamium amplexicaule* L. : ils ont été identifiés comme étant le *p*-coumarate d'éthyle et l'apigénine

Chapitre 1 : les produits naturels dans la recherche de molécules bioactives

(Figure 17). Bien qu'ils aient déjà été caractérisés, ces composés ne sont pas présents dans l'extrait brut de cette plante et ce fût la première fois que leur effet inhibiteur de β -glucosidase fût établi.

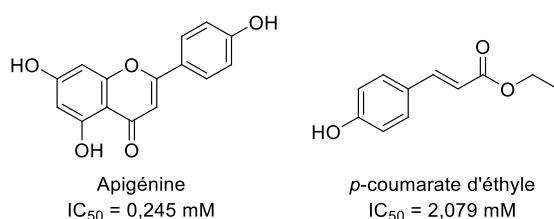


Figure 17 : composés bioactifs formés lors de la formation d'un CEE par éthanolyse d'un extrait de *Lamium amplexicaule* L. et activité sur la β -glucosidase [79]

Mais le plus grand nombre d'exemples de modification par rupture de liaison carbone-hétéroatome a consisté en une hydrolyse acide de différents glycosides présents dans l'extrait dans le but de récupérer des aglycones potentiellement inédits. Le premier d'entre eux date même de 2004 soit avant la définition des CEE : Rong-Wei Teng *et al.* ont procédé à l'hydrolyse acide d'un extrait éthanolique de racines de notoginseng (*Panax notoginseng* (Burkill) F.H.Chen) avec de l'acide acétique, ce qui a donné cinq nouveaux glycosides ayant en commun un même aglycone, plus précisément un triterpène dont la structure est calquée sur celle de la dammarane (Figure 18) [80]. Mais aucune étude biologique n'a été menée sur ces glycosides à l'époque de la publication, ni après.

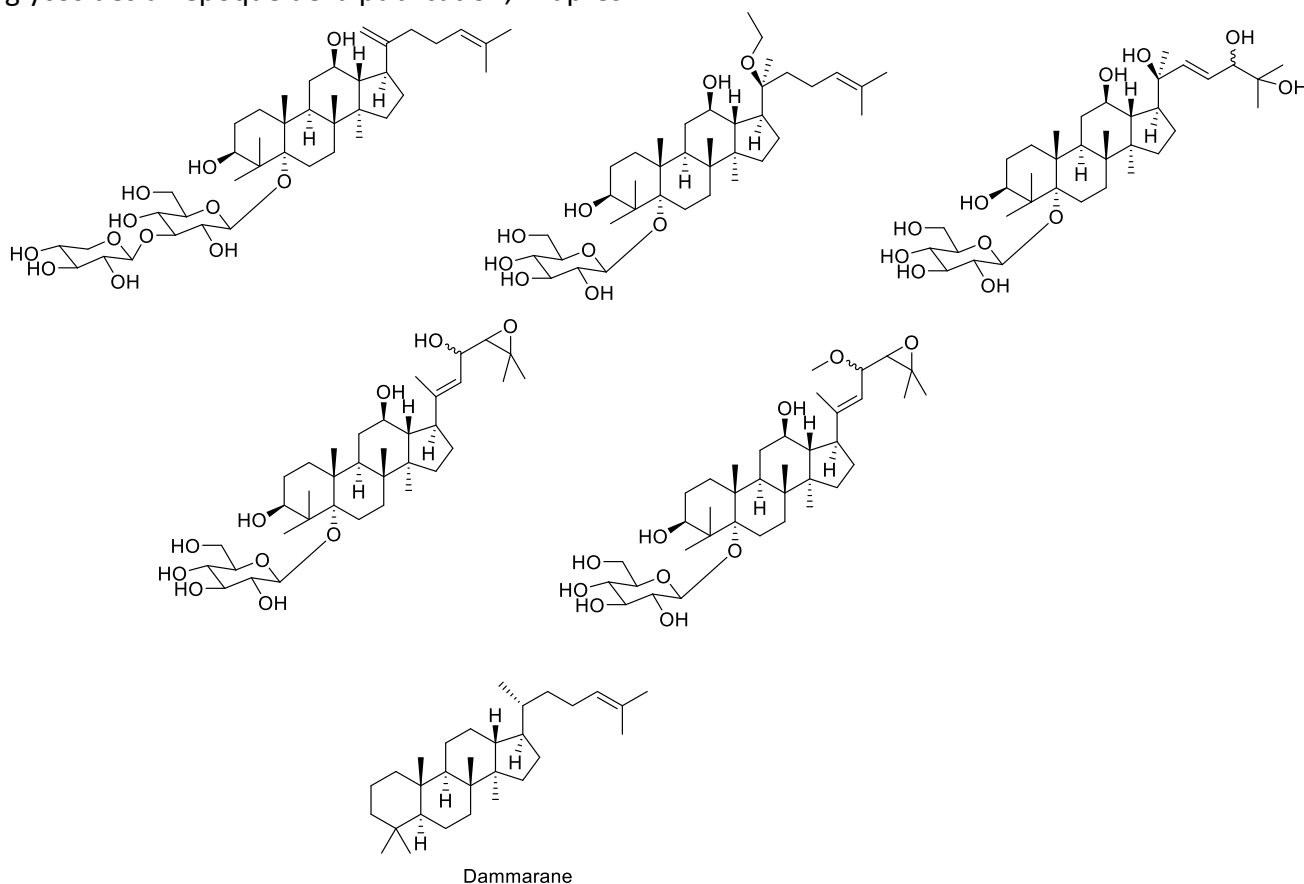


Figure 18 : composés formés caractérisés lors de la formation d'un CEE par hydrolyse acide d'un extrait de *Panax notoginseng* (Burkill) F.H.Chen et structure de la dammarane [80]

La première étude biologique d'un hydrolysats acide d'extrait naturel intervient en 2009 : Ying Wei *et al.* ont réalisé une hydrolyse acide par l'acide chlorhydrique sur un extrait de racines de ginseng (*Panax ginseng* C.A.Mey), à la suite de quoi furent caractérisés six triterpénoïdes dont trois jamais isolés auparavant. Quatre d'entre eux [81], le (20*R*)-20,25-époxy-dammaran-2-ène-6 α ,12 β -diol, le (20*R*)-20,25-époxy-3-méthyl-28-nordammaran-2-ène-6 α ,12 β -diol,

Chapitre 1 : les produits naturels dans la recherche de molécules bioactives

l'isodéhydroprotopanaxatriol et l'acide oléanolique (**Figure 19**) ont affiché une activité inhibitrice contre la protéase du VIH-1. Ce ne fût pas la seule activité mise en évidence sur cet hydrolysats : Wei Li *et al.* ont démontré que six autres triterpénoïdes possèdent des propriétés cytotoxiques contre une lignée de cellule cancéreuse du côlon [82]. Mais l'effet antiprolifératif de ces composés est moins fort que pour l'hydrolysats lui-même ce qui témoigne d'une cytotoxicité synergétique entre ces différents triterpénoïdes.

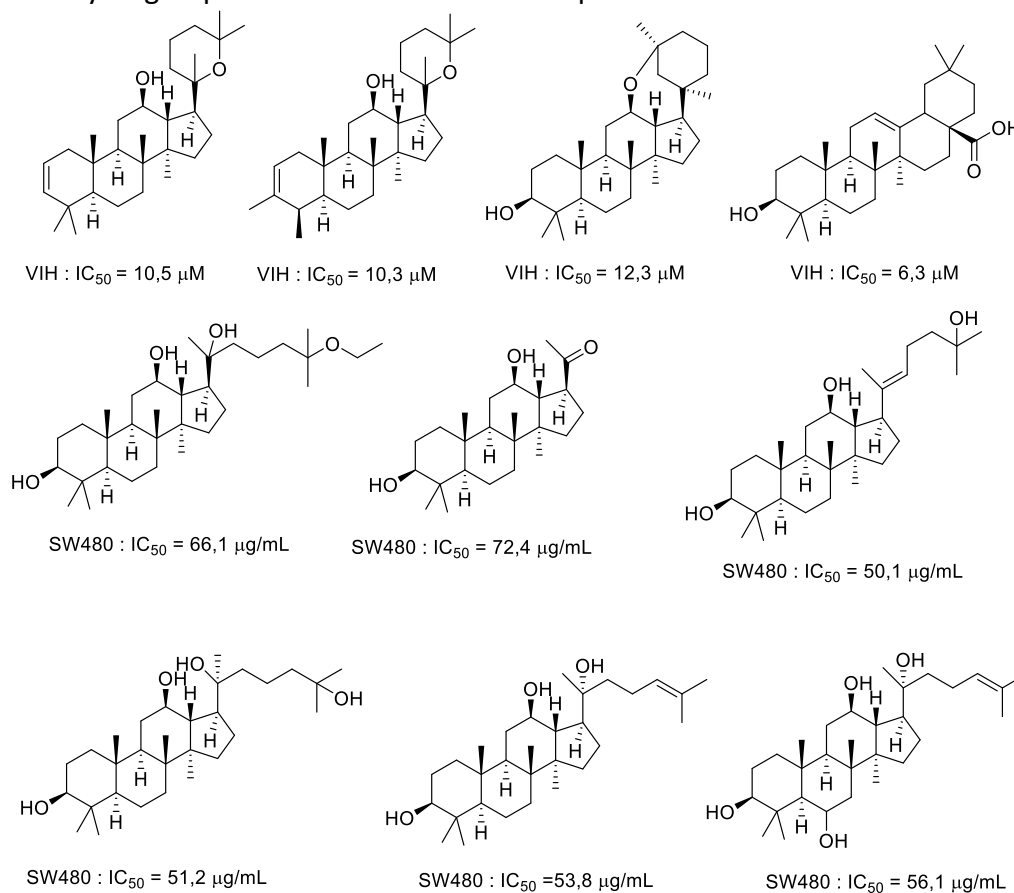


Figure 19 : formation d'un CEE par hydrolyse acide d'un extrait de *Panax ginseng* C.A.Mey et activité contre la protéase du VIH-1 et une lignée de cellules cancéreuses du côlon [81,82]

En 2010, Melina Di Liberto *et al.* ont appliqué une hydrolyse acide par l'acide chlorhydrique sur un extrait *n*-butanolique de belombra (*Phytolacca dioica* L.), ce qui a mené, après bioautographie sur plaque CCM puis fractionnement bio-guidé, à la caractérisation dans l'extrait modifié de la phytolaccagénine (**Figure 20**), un composé certes déjà connu mais qui a montré à cette occasion des capacités d'inhibition contre deux mycètes du genre *Candida* [83].

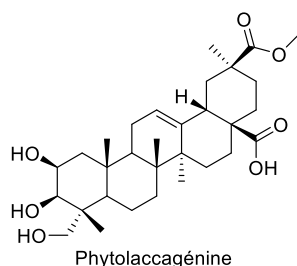


Figure 20 : structure de la phytolaccagénine [83]

Un autre exemple de ce type qui est intéressant d'un point de vue pharmaceutique est donné par Ming-Sheng Bai *et al.* : trois composés, le 21,23-lactonacide (23S)-3 β -hydroxydammar-20,24-dièn-21-oïque (composé inédit), le 21,23-lactonacide (20S,23R)-3 β ,20 β -dihydroxydammar-24-dièn-21-oïque et le (20S,24S)-20,24-époxydammarane-3 β ,12 β ,25-triol

Chapitre 1 : les produits naturels dans la recherche de molécules bioactives

(deux composés déjà caractérisés) ont été isolés d'un hydrolysate acide d'un extrait commercial de jiaogulan (*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino) enrichi en saponines (**Figure 21**) [84]. Le premier composé peut agir contre une lignée de cellules cancéreuses du sein tandis que les deux autres sont en mesure d'inhiber la lipase pancréatique porcine (PPL).

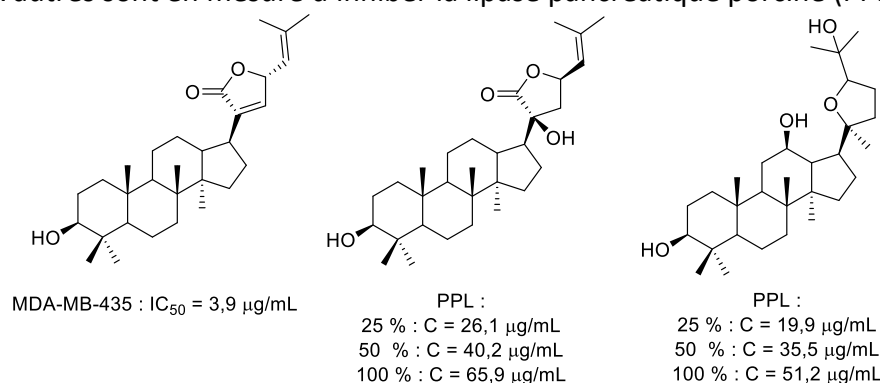


Figure 21 : composés bioactifs formés lors de la formation d'un CEE par hydrolyse acide d'un extrait de *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino et activité sur une lignée de cellules cancéreuses du sein et la PPL [84]

Enfin, Rong Huang *et al.* ont effectué l'hydrolyse d'un extrait éthanolique de *Gentiana macrophylla* Pall. riche en séco-iridoïdes et une nouvelle fois au moyen d'une solution d'acide chlorhydrique [85]. Les analyses HPLC avec détection UV des extraits ainsi modifiés suivi de leur partition par colonne de chromatographie a conduit à l'isolement de six composés provenant de cette modification d'extrait au total : deux composés inédits ont été synthétisés comme un mélange d'énantiomères tandis que les quatre autres ont été identifiés comme étant la swerimiléginine G (présente sous la forme d'un couple d'énantiomères), la 4-hydroxyindan-1-one, l'érythrocentaurine et la swerimiléginine E (**Schéma 22**). La structure de ces composés et la présence de substituant méthoxy fait dire aux auteurs de la publication que certains de ces produits pourraient ne pas être le résultat de l'hydrolyse et des réactions de réarrangement et d'oxydation qui ont suivi ou, au contraire, pourraient être des artéfacts générés durant la séparation par colonne de chromatographie en raison de l'utilisation de méthanol comme éluant. L'ensemble de ces composés n'est cependant pas présent dans l'extrait de départ et possède une activité inhibitrice de la production pathologique de monoxyde d'azote par les macrophages.

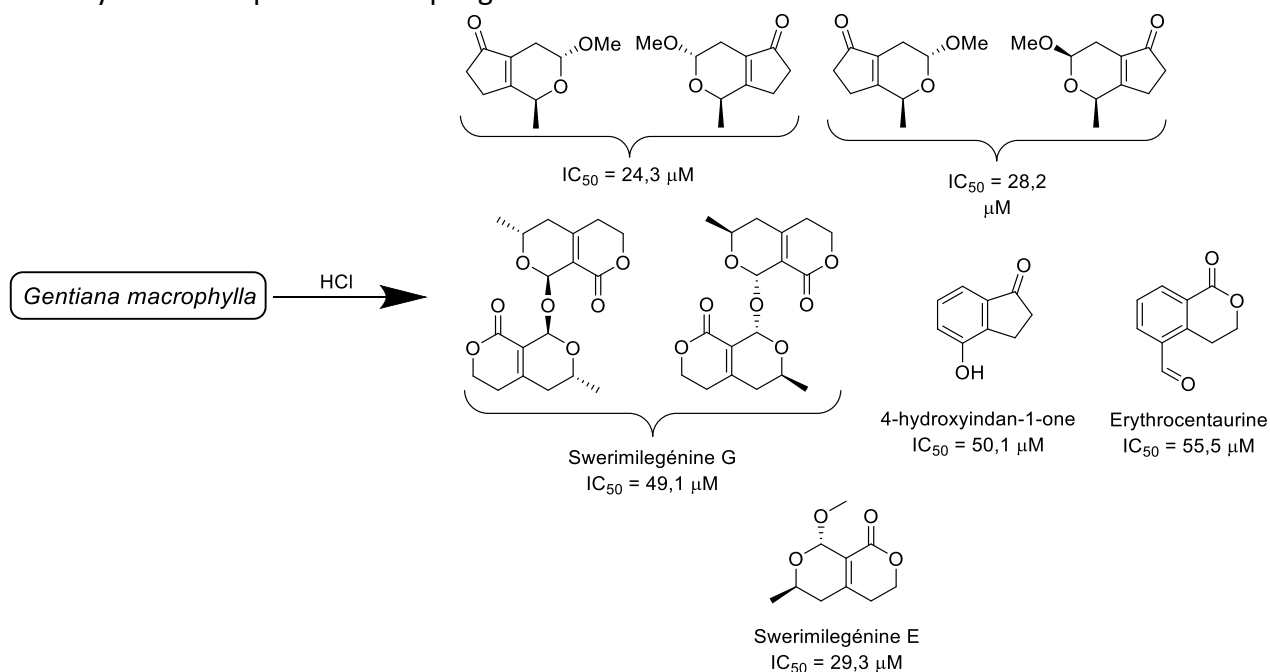


Schéma 22 : composés formés lors de la formation d'un CEE hydrolyse acide d'un extrait de *Gentiana macrophylla* Pall. riche en gentiopicroside et activité sur la production macrophagique de monoxyde d'azote [85]

Chapitre 1 : les produits naturels dans la recherche de molécules bioactives

V.B.1.v. Réactions diverses

En plus de toutes les possibilités de modifications chimiques d'extraits déjà répertoriées et qu'on peut ranger dans différentes catégories, deux dernières publications présentent des réactions plus diverses. Zhenjian Lin *et al.* ont réalisé en 2015 l'acétylation des hydroxyles présents dans un extrait de la levure *Spicaria elegans*, à partir duquel ont pu être synthétisés quatre nouveaux composés baptisés spicarines A à D (**Figure 22**) [86]. Seules les spicarines C et D peuvent inhiber l'inflammation provoquée par les lipopolysaccharides, composés que l'on retrouve sur la membrane externe des bactéries à Gram négatif.

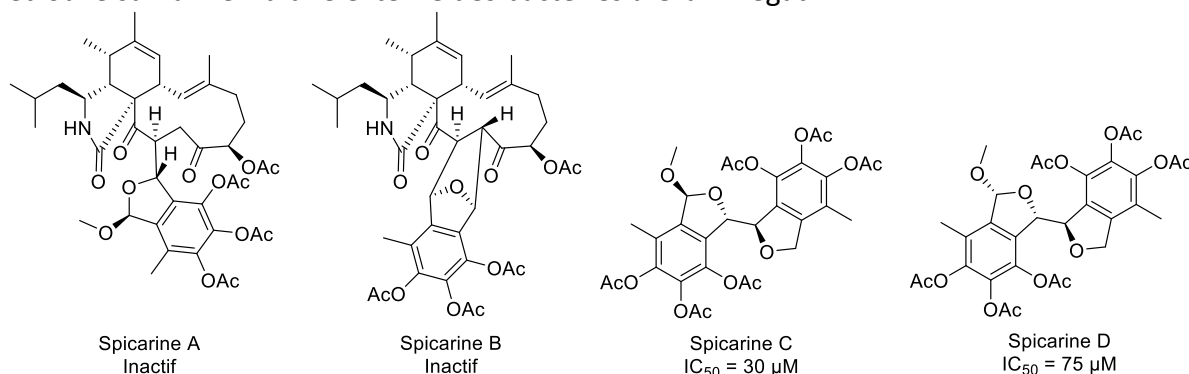


Figure 22 : composés obtenus lors de la formation d'un CEE par acétylation d'un extrait de *Spicaria elegans* et activité sur les lipopolysaccharides [86]

D'autre part, Tatsuro Kawamura *et al.* ont réalisé sur trois solutions de fermentation d'une bactérie du groupe des actinomycètes trois réactions simples différentes, à savoir une oxydation par le périodinate de Dess-Martin, une époxydation avec le *m*-CPBA et une réduction par le tétrahydruroborate de sodium [87]. Seule la première a permis de dégager après analyse LC-MS un nouveau composé intéressant, la C38OX6 qui est synthétisé par oxydation de la téléocidine B4 (**Schéma 23**). Les tests biologiques effectués sur cette nouvelle molécule ont montré une activité inhibitrice de la protéine XIAP (« X-linked inhibitor of apoptosis »).

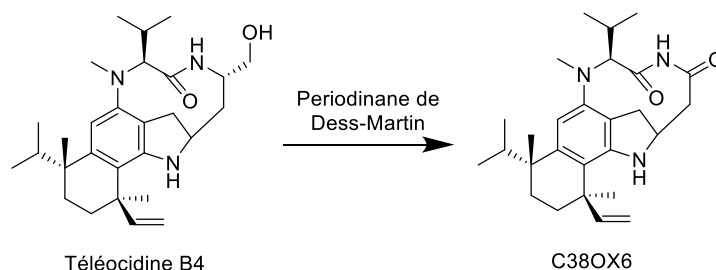


Schéma 23 : formation d'un CEE par oxydation d'une solution de fermentation d'un actinomycète [87]

V.B.2. Avec modification de la structure carbonée

Bien que d'autres publications que celles du groupe de Kikuchi désignent leur cas de modification chimique d'un extrait comme étant un DEE, si on s'en tient à la définition donnée par Kikuchi pour différencier les DEE des CEE, à savoir la génération d'une diversité au niveau de la structure carbonée en plus des diversités de blocs constitutifs et de stéréochimie qu'on peut retrouver dans tous les CEE, les travaux du groupe « inventeur » sont quasiment les seuls pouvant vraiment se prévaloir de l'appellation de DEE [51,88].

Le premier exemple de préparation décrit par Kikuchi *et al.* date de 2014 : il consista en une transannulation en deux temps, d'abord en transformant les doubles liaisons des composés de départ en époxydes par réaction avec le méthyl(trifluorométhyl)dioxirane (généralisé *in situ* à partir de 1,1,1-trifluoroacétone et d'oxone) puis en provoquant une réaction sur ces époxydes avec un acide de Lewis, le lanthane triflate, ce qui doit entraîner une ouverture de cycle sur la structure carbonée du composé et donc la génération de diversité de structure globale [88].

Chapitre 1 : les produits naturels dans la recherche de molécules bioactives

Un extrait méthanolique de racines de *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe a servi pour cette suite de réactions et a donné, après analyse HPLC de l'extrait modifié et fractionnement par colonnes de chromatographie classique et flash, sept nouveaux composés de structure inédite dont deux proviennent du curcuménol, quatre de la curdione et un de la curcuménone (**Schéma 24**). A une concentration de 100 μM , deux d'entre eux peuvent réduire de près de moitié la réponse immunitaire innée chez des cellules de drosophile sans aucune cytotoxicité à cette concentration [89].

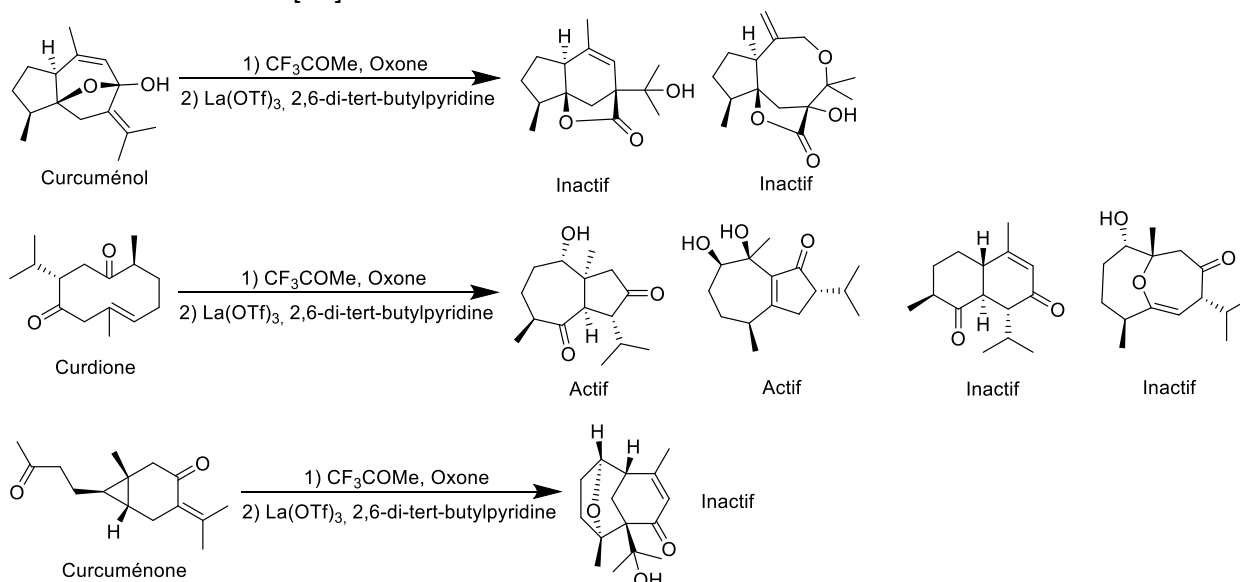


Schéma 24 : composés obtenus lors de la formation d'un DEE sur un extrait de *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe et activité sur la réponse immunitaire de cellules de drosophile [88]

Un autre exemple de modification d'extrait par époxydation n'a été répertorié qu'en 2021 par Melanny Ika Sulistyowaty et *al.*. Cette fois-ci, c'est le dioxirane (également formé *in situ* avec du peroxomonosulfate de potassium et de l'acétone) qui provoque l'époxydation sur un extrait méthanolique partitionné à l'acétate d'éthyle de rhizomes de grand galanga (*Alpinia galanga* (L.) Willd.) [90]. De l'extrait modifié, analysé par HPLC sous détection UV, ont pu être isolées dix molécules différentes dont six inédites **a** à **f** avec comme structure de base celle du 4-(3-méthoxypropyl)phénol ainsi que de l'hydroquinone, du 4-hydroxy-(4-hydroxyphényl)méthoxy)benzaldéhyde, de la *cis*-4-hydroxymelléine et un triépoxyde d'humulène (**Schéma 25**). L'étude des propriétés de ces composés contre des parasites des genres *Leishmania*, *Plasmodium* et *Trypanosoma* n'a permis de déterminer une activité significative que pour un seul des nouveaux composés, le 4-[(1*R*,2*S*)-2-chloro-1-hydroxy-3-méthoxypropyl]phénol **b** et pour l'hydroquinone.

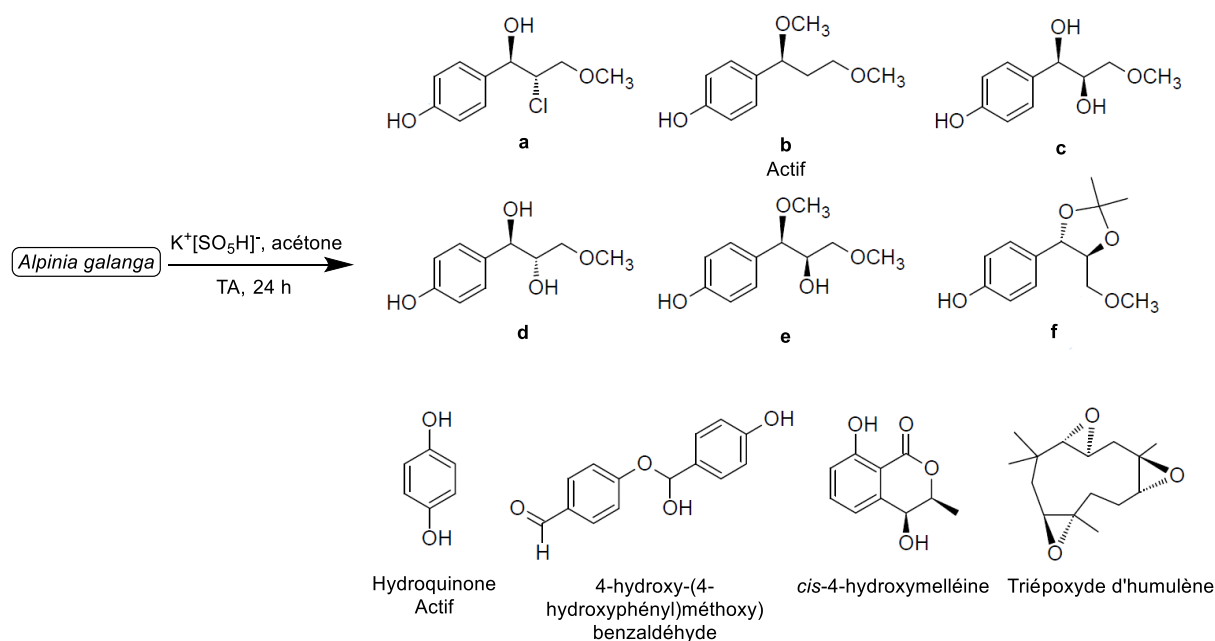


Schéma 25 : formation d'un DEE par époxidation d'un extrait de *Alpinia galanga* (L.) Willd. et activité antiparasitaire [90]

En 2016, Kikuchi *et al.* cherchèrent à synthétiser à partir d'iridoïdes de nouveaux composés contenant un fragment indole dans sa structure [91]. Ici, le but était de provoquer une réaction de Pictet-Spengler sur les glycosides d'iridoïde des extraits méthanoliques enrichis en iridoïdes (préalablement débarrassés de l'ensemble des oses) afin de former des dérivés de β -carboline par utilisation de tryptamine avec du triflate de bismuth comme catalyseur. En pratique, lorsque ce procédé de synthèse a été appliqué à des extraits de cornouiller officinal (*Cornus officinalis* Torr. ex Dur.), de jasmin du Cap (*Gardenia jasminoides* J.Ellis) et de *Swertia japonica* (Roem. & Schult.) (Makino), respectivement quatre, sept et un composés originaux ont été générés mais seulement quatre d'entre eux ont été décrits comme les produits d'une réaction de Pictet-Spengler. Les autres sont, quant à eux, plutôt le résultat d'un simple ajout sur la structure des produits naturels de départ d'un motif tryptamine sur lequel la réaction de Pictet-Spengler ne s'est pas produite. Lors de tests biologiques sur leur capacité à inhiber l'expression des gènes codant les protéines « cytotoxique T-lymphocyte-associated protein 4 » (CTLA-4) et interleukine 10 (IL-10), cinq d'entre eux (**Schéma 26**) entraînent une baisse de la production de IL-10 et parmi ces derniers, deux ont aussi été en mesure de provoquer une baisse de la production de CTLA-4 [92].

Chapitre 1 : les produits naturels dans la recherche de molécules bioactives

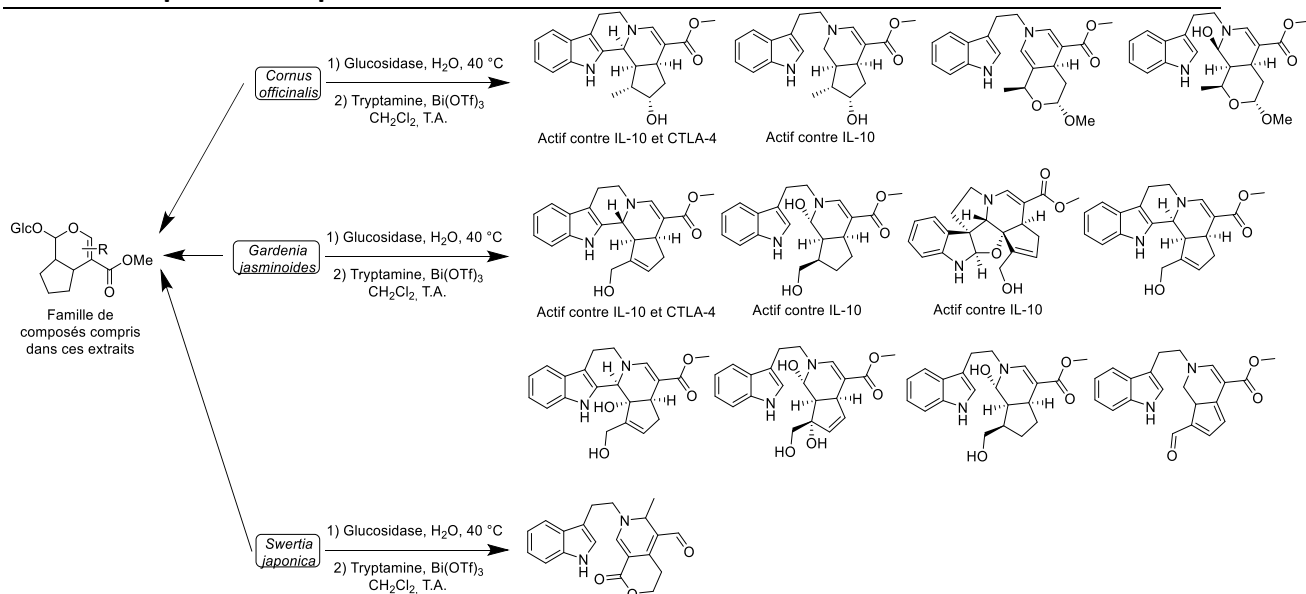


Schéma 26 : composés bioactifs obtenus lors de la formation d'un DEE par déglucosylation et réaction de Pictet-Spengler avec de la tryptamine sur des extraits de *Cornus officinalis* Torr. ex Dur., de *Gardenia jasminoides* J.Ellis et de *Swertia japonica* (Roem. & Schult.) (Makino) et activité sur la production de IL-10 et CTLA-4 [91,92]

Ce travail a été approfondi par le même groupe comme le rapporte un autre article sur le sujet paru en 2021, en utilisant pour la dernière réaction des dérivés de tryptamine portant différents substituants sur le cycle phényle et en se limitant à l'extrait de *Cornus officinalis* Torr. ex Dur., dans le but de former des dérivés du composé doublement actif mis en évidence qui sont ensuite testés sur CTLA-4 et aussi sur PD-L1, une autre protéine régulatrice du système immunitaire [92]. Les meilleurs résultats furent obtenus, en utilisant comme dérivé de tryptamine celui portant le substituant le plus encombrant, la 5-benzyloxytryptamine (**Schéma 27**). L'optimisation de la structure de ce composé s'est ensuite poursuivie : après un clivage par hydrogénation de son groupement benzyloxy, l'alcool produit subit une réaction de Williamson avec du bromure de cyclohexylméthyle, du 2-bromométhyl)naphthalène ou du bromure de *p*-méthoxy/chloro/nitrobenzyle. C'est avec le dernier de ces réactifs que le composé alors synthétisé affiche les résultats les plus satisfaisants sur cette série. L'effet bioactif a encore pu être amélioré pour les composés équivalents issus de la préparation du DEE avec le même extrait et l'utilisation de dérivés de tryptophane comme le 5-(*p*-nitrobenzyl)oxy-*L*-tryptophane méthyle ester et le 5-(*p*-nitrobenzyl)oxy-*L*-tryptophanol.

Chapitre 1 : les produits naturels dans la recherche de molécules bioactives

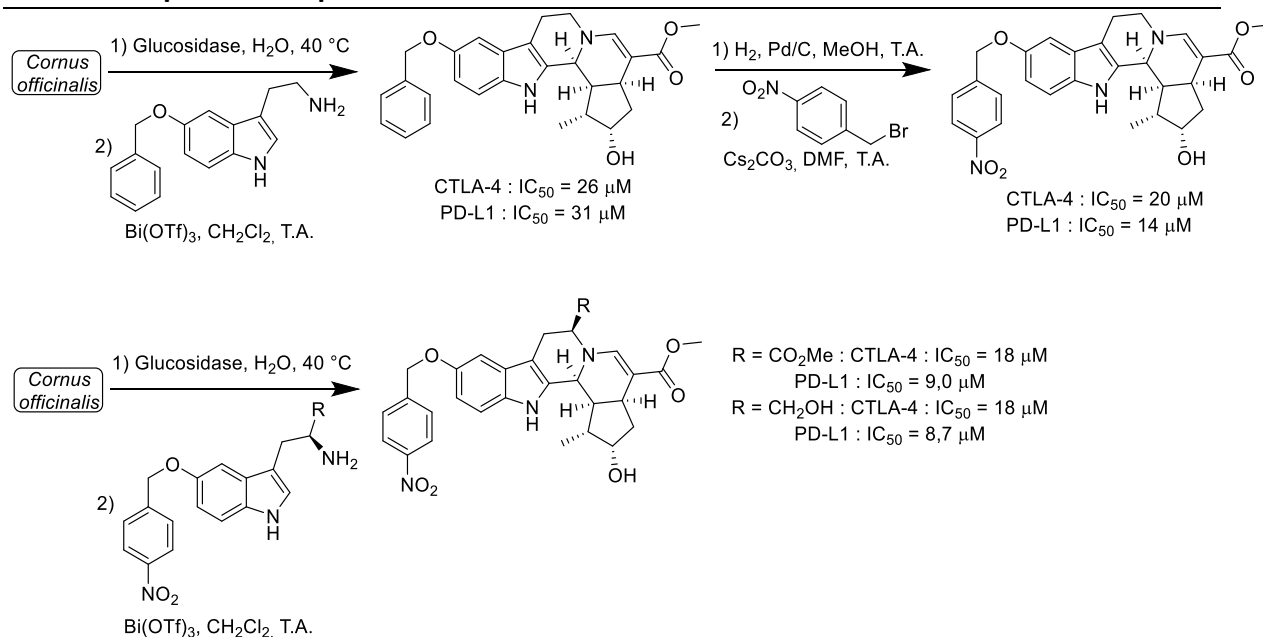


Schéma 27 : composés bioactifs sur la production de CTLA-4 et PD-L1 obtenus lors de la formation d'un DEE par tentative de déglucosylation et réaction de Pictet-Spengler avec des dérivés de tryptamine ou de tryptophane sur un extrait de *Cornus officinalis* Torr. ex Dur. [92]

En 2019, l'exemple de DEE rapporté par Kikuchi *et al.* concerna cette fois-ci la synthèse de molécules partiellement dérivées de terpénoïdes, les méroterpénoïdes [93]. Pour cela, les extraits de plantes contenant des terpénoïdes sont réduits sur leurs carbonyles en alcools (homo)allyles par le DIBAL puis ces alcools forment des étheroxydes avec le 3-hydroxy-4-iodobenzoate de méthyle par réaction de Mitsunobu. Pour former des méroterpénoïdes phénoliques, il reste alors à effectuer une fermeture de cycle intramoléculaire par réaction de Mizoroki-Heck. Un schéma de synthèse similaire a aussi été appliqué pour la synthèse de méroterpénoïdes de type pyrone en remplaçant le 3-hydroxy-4-iodobenzoate de méthyle par le 4-hydroxy-3-iodo-6-méthyl-2H-pyran-2-one. Les extraits méthanoliques de souchet rond (*Cyperus rotundus* L.), de *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe, de *Curcuma longa* L. et de *Atractylodes japonica* Koidz. ex Kitam. ont été exploités pour la réalisation de ces DEE. Avec la première possibilité de modification, pas moins de seize composés originaux ont été caractérisés et avec la deuxième voie de modification, seuls neuf nouveaux composés ont pu être isolés. Parmi tous ces produits, deux possèdent une activité biologique. Un méroterpénoïde phénolique formé à partir de l'atractylénolide II contenu dans l'extrait de *Atractylodes japonica* Koidz. ex Kitam. (**Schéma 28**) peut supprimer l'activité d'une enzyme spécifique aux ostéoclastes, la « tartrate-resistant acid phosphatase » ou TRAP, sans aucune cytotoxicité. Un méroterpénoïde de type pyrone venant de l'extrait modifié de *Cyperus rotundus* L. affiche, quant à lui, des résultats positifs de cytotoxicité envers la lignée de cellules KAI3 infectée par le virus de Epstein-Barr et de cellules T MT-2, impliquée respectivement dans des formes de lymphome et de leucémie.

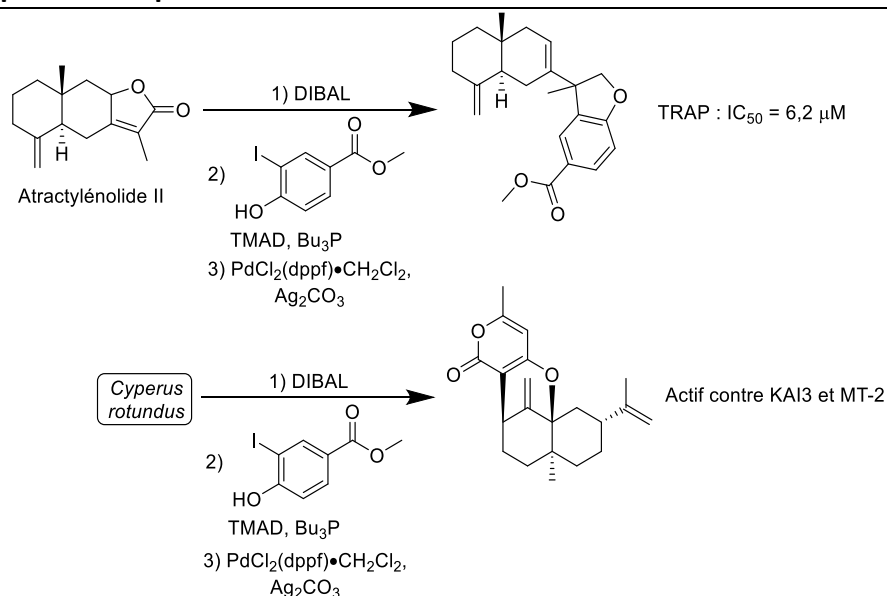


Schéma 28 : composés bioactifs obtenus lors de la formation d'un DEE par réduction, réaction de Mitsunobu et réaction de Mizoroki-Heck sur l'atractylénolide II d'un extrait d'*Atractylodes japonica* Koidz. ex Kitam. et sur un extrait de *Cyperus rotundus* L. [93]

Un dernier exemple de modification chimique d'extrait qui engendre une nouvelle liaison carbone-carbone et donc un changement de la structure carbonée globale peut être ajouté aux précédents même si la réaction à l'origine de cette modification n'apporte pas de diversité de structure carbonée. Hitoshi Kamauchi *et al.* ont rapporté la synthèse de dérivés de coumarine à partir de dérivés d'hydroquinones contenues dans un extrait de fermentation du mycète d'origine marine *Eurotium rubrum* via une condensation de Knoevenagel avec du malonate de diéthyle suivi d'une lactonisation [94]. Trois nouveaux dérivés de coumarine (**Schéma 29**) ont été caractérisés et ont montré leur capacité à inhiber la tyrosinase ainsi que la lignée de cellules B16 à l'origine de mélanomes. Ce même groupe de recherche a ensuite légèrement varié les conditions de la condensation de Knoevenagel sur le même extrait dans le but d'obtenir des dimères de coumarine en remplaçant le malonate de diéthyle par du 1,3-acétonedicarboxylate d'éthyle [95]. Avec ces nouvelles conditions, cinq composés furent détectés en HPLC puis isolés et une nouvelle fois, tous possèdent une bonne activité inhibitrice d'ordre micromolaire contre la tyrosinase.

Chapitre 1 : les produits naturels dans la recherche de molécules bioactives

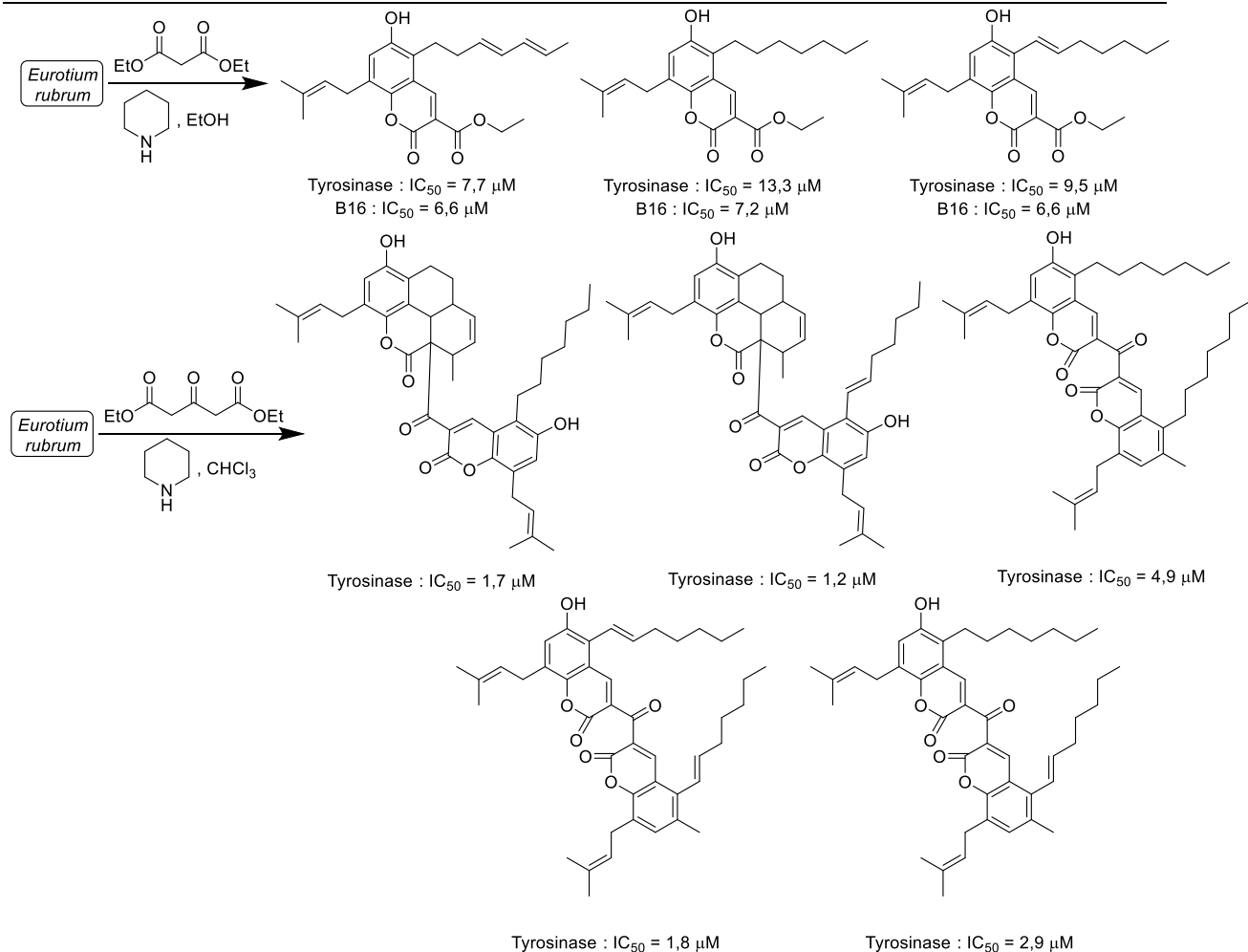


Schéma 29 : composés bioactifs obtenus lors de la formation d'un DEE par réaction de Knoevenagel sur une solution de fermentation de *Eurotium rubrum* [94,95]

V.C. Avantages et inconvénients de la modification chimique d'extraits naturels

La méthodologie de la modification chimique d'extraits naturels montre par les exemples présents dans la littérature des avantages utiles pour la découverte de nouveaux composés bioactifs à visée thérapeutique. Mais la liste des inconvénients de cette technique est aussi longue et beaucoup d'entre eux sont liés au fait qu'il s'agit d'une technique encore récente qui nécessite des améliorations.

Tout d'abord, l'originalité de cette technique provient principalement des composés qui sont formés sous l'effet de la modification chimique et ce pour plusieurs raisons : avec l'ensemble des exemples présentés, on peut voir qu'une grande variété de réactions peuvent se prêter à cette technique, que ce soit des réactions élémentaires comme une halogénéation, une oxydation ou une réduction ou des réactions plus élaborées telles que la réaction de Pictet-Spengler. De plus, on peut dire que presque tous les produits naturels peuvent être modifiés par cette approche, même ceux qui sont présents en très faible teneur dans l'extrait de départ [51]. En particulier avec ces composés rares, la modification chimique peut conduire à la formation de produits dont l'obtention est plus difficile par l'intermédiaire d'autres approches de synthèse plus classiques [51]. Et dans le cas des DEE où la synthèse orientée vers la diversité est pleinement intégrée par l'utilisation de réactions impliquant une diversité structurale, la modification chimique représente une nouvelle approche synthétique pour former des produits à la structure globale inédite du fait de la création en cours de réaction de nouvelles liaisons carbone-carbone [88].

Chapitre 1 : les produits naturels dans la recherche de molécules bioactives

Ensuite, au contraire d'autres approches que nous avons pu voir plus haut où il est nécessaire de connaître auparavant la cible biologique avec laquelle on veut interagir, ce qui nécessite d'avoir des données de cristallographie par rayons X par exemple, celle consistant à modifier chimiquement l'extrait n'impose pas nécessairement d'avoir des informations sur cette cible biologique [59].

Au niveau des avantages pratiques, on peut souligner que la technique de modification chimique d'extrait se fait par une synthèse one-pot, ce qui limite les étapes de traitement et par conséquent minimise les pertes de matière de l'extrait de départ et augmente l'efficacité de la réaction [61]. D'autre part, on peut souvent observer par cette méthode la formation de composés possédant une structure aussi nouvelle qu'inattendue par la conversion de produits naturels minoritaires voire non caractérisés jusqu'à présent ou par la survenue en plus de la réaction visée d'autres plus imprévues [51]. Ces composés à la formation inopinée qu'on pourrait très bien ne jamais concevoir par des procédés traditionnels sont alors autant d'éléments bienvenus pour la recherche de composés potentiellement actifs.

Mais ces composés non espérés représentent par la même occasion une contrainte de cette approche : comme leur structure n'a jamais été observée avant, n'ayant pas autant de recul sur les attentes en terme de propriétés analytiques par rapport à un produit dont on connaît au moins en partie la structure, il se peut qu'on puisse passer à côté de ces produits ou mal les caractériser et ce d'autant plus qu'ils peuvent se trouver en faible quantité dans le mélange final [63]. De plus, dans le cas où l'extrait de départ n'aurait pas été caractérisé au niveau de sa composition, la possibilité de se méprendre sur l'origine d'un produit présent après modification est réelle car le composé d'origine qui a permis de l'obtenir et qui peut alors avoir été identifié comme un produit naturel peut être en réalité un produit artéfact résultant d'une première modification d'un véritable produit naturel durant l'extraction, par exemple sous l'effet de l'utilisation d'un solvant particulier.

Cependant, le principal désavantage de la modification chimique d'extrait est pour plusieurs raisons la complexité du mélange final, plus importante en nombre de composés présents que le mélange de départ, qui peut être génératrice de problèmes. Plus le mélange a de constituants différents, plus leur séparation, leur isolement sera logiquement compliquée bien que dans certains articles, il est noté que le passage du mélange à travers deux ou trois colonnes de chromatographie successives peut donner un résultat satisfaisant [88,91,93]. Cela n'est en soit pas le problème le plus gênant car on pourrait très bien d'abord faire un test biologique sur ce mélange et nous concentrer ensuite sur la séparation du ou des composés bioactifs du reste du mélange final. Mais en plus d'éliminer des composés qui resteront toujours intéressants à étudier ne serait-ce que pour les caractériser, faire un test biologique sur l'extrait modifié brut n'est d'aucune aide dans le cas présent : souvent, les réactions de modification chimique impliquent l'utilisation d'un réactif en large excès pour être efficaces. Si la proportion entre la quantité de ce réactif en excès et celle des composés synthétisés est importante, on peut avoir un effet de dilution. La conséquence est alors que les résultats des tests biologiques se retrouvent faussés car plus un composé est dilué, plus son effet bioactif sera moindre. Dans le pire des cas, un composé nouvellement formé dans l'extrait modifié pourrait voir son activité biologique totalement occultée à cause de l'effet de dilution. En plus de cela, suivant le type de réactif en excès qu'on utilise, la simple présence dans le milieu d'un reste de ce réactif qui peut être toxique vis-à-vis de la cible examinée peut également dénaturer les résultats des tests biologiques. Le plus gros problème de séparation est donc ici celui entre les restes de réactifs utilisés et des composés de l'extrait modifié.

Chapitre 1 : les produits naturels dans la recherche de molécules bioactives

A l'heure actuelle, aucune solution n'a été apportée en pratique pour surmonter ces problèmes de séparation mais plusieurs idées ont été énoncées par différents auteurs. Pour séparer les réactifs en excès du reste du mélange modifié, le mieux serait de ne plus réaliser cette technique de synthèse dans un système monophasique traditionnel mais plutôt dans un système polyphasique : ainsi, les techniques de synthèse utilisant un support solide (ce qui constitue une partie de la technique développée dans le cadre de cette thèse) ou de chimie fluorée pourraient à l'avenir être des alliés précieux [51,96]. Pour faciliter la séparation entre composés formés dans l'extrait modifié, une chose qui pourrait être faite avant la modification serait le préfractionnement de l'extrait en plusieurs solutions par chromatographie, de sorte à avoir des mélanges moins complexes. Néanmoins, ce qui peut s'avérer une bonne idée pour la séparation risque de compliquer l'évaluation biologique : en préfractionnant l'extrait, des métabolites présents en faible concentration dans l'extrait peuvent être séparés dans plusieurs fractions, ce qui revient mécaniquement à abaisser la teneur de ces métabolites dans les différentes fractions. Les composés modifiés pourraient en conséquence ne pas révéler d'activité biologique dans les fractions alors que ce même effet pourrait très bien être détecté en se limitant à un seul extrait non préfractionné. En effectuant de manière incorrecte ou abusive un préfractionnement préalable de l'extrait avant réaction, on peut ainsi diminuer nos chances de trouver par modification chimique de nouveaux composés bioactifs [96].

Ces réponses imparfaites ou non encore expérimentées aux problèmes qu'on peut rencontrer avec la modification chimique d'extrait pose la question de la pertinence de cette approche pour la découverte de potentiels nouveaux principes actifs de médicaments. En fait, cette technique est certainement l'une des plus adaptées vis-à-vis de produits naturels qu'on n'arrive pas ou difficilement à obtenir seul par la synthèse, à cause d'une structure trop complexe, ou par l'isolement d'un extrait, à cause d'une trop faible teneur de ce métabolite. En revanche, pour des composés qui sont parmi les composés majoritaires de l'extrait, une modification chimique d'extrait n'est peut-être pas la meilleure technique à adopter car si on adapte nos conditions de réaction de sorte à assurer la conversion de ce composé, on peut éventuellement rendre ces conditions trop dures pour des composés minoritaires du mélange de départ et donc dégrader le milieu et faire perdre de son efficacité à la modification chimique. En clair, dans la mesure où ce composé est facilement isolable du reste de l'extrait, il vaut mieux réaliser des réactions de modification suivi de tests biologiques sur ce métabolite pur et privilégier en conséquence la technique de modification chimique d'extrait à des mélanges où aucune séparation facile et satisfaisante d'un composé quelconque n'est possible [51].

Conclusion

Aujourd'hui, alors qu'ils ont été pendant longtemps à la base de la recherche de nouveaux principes actifs et après une courte période où les composés purement synthétiques ont été priorisés sous l'influence notable du développement de la chimie combinatoire et des technologies de criblage à haut-débit, les produits naturels et leurs dérivés restent une source de composés bioactifs précieuse pour le domaine de la santé. Il faut dire que la comparaison des caractéristiques des produits naturels avec ceux des produits de synthèse et des principes actifs de médicaments démontre que les produits naturels sont bien plus proches de ce qu'on a coutume d'attendre d'une substance médicamenteuse qu'on ne pourrait le penser au premier abord. Pourtant, il n'y a rien d'étonnant à cela quand on a à l'esprit que les métabolites sont le résultat à l'échelle phytochimique de l'évolution des êtres vivants et de l'adaptation à leur environnement et qu'ils peuvent de ce fait remplir une grande palette de fonctions biologiques. Ces dernières années, la manière d'aborder la recherche de nouveaux composés bioactifs à partir des produits naturels a pu se développer de multiples manières,

Chapitre 1 : les produits naturels dans la recherche de molécules bioactives

que ce soit de façon classique, en étudiant les métabolites biosynthétisés par des êtres vivants inexplorés ou en influençant l'activation des voies de biosynthèse chez ces êtres, ou de manière plus sophistiquée par la génération de dérivés de produits naturels.

La présente thèse a pour sujet l'une de ces techniques, la modification chimique d'extrait naturel, dont le but ultime sera de l'appliquer à des représentants de la flore alpine. Cette technique qui consiste à former une bibliothèque de molécules structurellement diverses et potentiellement bioactives par réaction sur l'extrait, association de l'exploitation des ressources phytochimiques avec des procédés classiques de synthèse, somme de nombreux avantages dont ceux intrinsèques à la phytochimie et à la chimie de synthèse à savoir la possibilité de développement de DOS, de l'augmentation des centres stéréogènes et de celle de la complexité structurale. De plus, cette technique a l'avantage de pouvoir donner des produits originaux qui n'ont jamais été étudiés et de générer une bibliothèque de molécules pouvant être testée biologiquement en moins de temps par rapport aux techniques de synthèse combinatoires. En revanche, le défaut majeur de ce procédé concerne les difficultés de séparation du mélange final obtenu qui contient en plus des produits formés des restes de réactifs en excès utilisés pour la synthèse, ce qui rend ce mélange incompatible en l'état avec les tests biologiques.

Pour remédier à cet inconvénient, la méthodologie de modification chimique d'extrait naturel développé durant cette thèse va exploiter l'utilisation d'un support solide et s'attachera, une fois qu'elle aura été mise au point, à être appliquée à des extraits de plantes alpines, plantes présentant potentiellement des métabolites intéressants, peu exploitées et faisant l'objet de travaux de phytochimie et métabolomique dans notre équipe de recherche. La pertinence de ces apports aux techniques de modification chimique d'extraits naturels et la présentation schématique puis concrète de la méthodologie projetée pour cette thèse vont être maintenant abordés dans le chapitre suivant.

Chapitre 2 : présentation générale de la méthodologie de modification chimique d'extraits naturels avec utilisation d'un support solide

Introduction

Ainsi que nous venons de le voir dans le chapitre précédent, les techniques de modification chimique d'extraits naturels, par l'alliance de la phytochimie, porte d'entrée vers des composés de structure moléculaire plus diverse, avec la chimie organique, regroupant les possibilités de synthèse de groupements fonctionnels non-naturels, peuvent être une voie des plus intéressantes dans la recherche de nouvelles molécules aux propriétés biologiques. Cependant, toutes les réalisations pratiques de modification chimique d'extraits naturels ont dans le même temps mis en évidence les défauts de ce type de voie de synthèse de nouvelles molécules bioactives, en particulier sur le plan de la complexité du mélange de composés obtenus en toute fin de procédé et de l'analyse chimique et biologique qu'il peut en être fait. Tant que ce type de défauts n'aura pas pu être éliminé ou au moins contenu, les techniques en question n'auront que des applications pratiques assez limitées.

L'objet de cette partie sera d'abord d'expliquer en quoi consiste la méthodologie de modification chimique d'extraits naturels que nous cherchons à mettre au point en mettant l'accent sur les concepts qui sont utilisés afin de tenter de répondre aux problématiques que pose la mise en pratique de ce type de technique. Ensuite, après la théorie sur la méthodologie viendront les détails pratiques avec notamment l'explication de la méthode de travail que nous avons suivie pour construire la preuve de concept puis les plans de synthèse sur lesquels on s'appuiera et ce après avoir détaillé les caractéristiques, propriétés et applications des pharmacophores visés durant ce travail.

I. Vue d'ensemble

Si on s'intéresse aux différents domaines de la chimie auxquels touche la méthodologie de modification chimique d'extraits naturels qui constitue la base du travail de cette thèse, celle-ci en combine quatre différentes (**Figure 23**) :

- la synthèse en phase solide car notre méthodologie prévoit l'incorporation de nouveaux fragments moléculaires sous une forme greffée à un support solide, ce qui constitue un avantage considérable de ce projet comme cela sera expliqué en détail plus loin ;
- la phytochimie, étant donné que l'investigation sur les nouveaux composés bioactifs se fait ici sur des extraits naturels de plantes ;
- la synthèse orientée vers la diversité (DOS) puisque la méthodologie de modification chimique d'extrait naturel qu'on cherche à mettre au point aura pour objectif d'obtenir, en partant d'un milieu déjà d'une grande complexité en termes de nombre de molécules différentes, une « bibliothèque » moléculaire qui soit la plus grande et la plus diversifiée possible ;
- la conception moléculaire basée sur les fragments parce qu'ici et contrairement à ce qui a été fait jusqu'à maintenant en matière de modification chimique d'extrait naturel, la constitution de cette bibliothèque de molécules ne se fera plus totalement par sérendipité, en cherchant à appliquer une réaction changeant la structure des composés sans toujours

Chapitre 2 : présentation générale de la méthodologie de modification chimique d'extraits naturels avec utilisation d'un support solide

rechercher une structure particulière renommée pour son action biologique. En effet, la modification chimique se fera ici de manière semi-rationnelle et comporte l'incorporation de pharmacophores, c'est-à-dire de fragments choisis pour leurs potentiels effets thérapeutiques décrits dans la littérature.

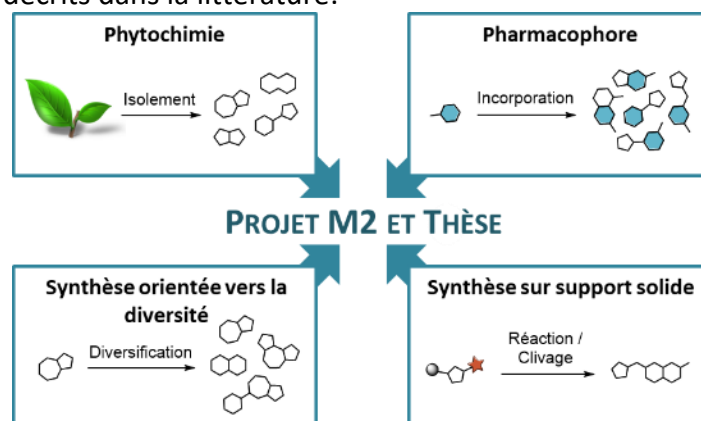


Figure 23 : domaines de la chimie impliqués dans la méthodologie de modification chimique d'extrait naturel avec utilisation d'un support solide

Une fois qu'il sera au point, le plan de cette technique de modification chimique d'extrait naturel alliant ces quatre composantes de la chimie doit se présenter de la manière suivante (Figure 24) :

- Avant tout, il se peut que l'extrait qu'on a choisi de modifier chimiquement ne possède que peu ou aucun composé avec des groupements fonctionnels qui se prêtent au type de réaction que l'on souhaite faire. Pour résoudre ce problème, dans un premier temps, l'extrait choisi pourra subir une ou des première(s) modification(s) chimique(s) de sorte à former les sites réactifs adéquats. Cette première étape peut éventuellement aussi avoir pour rôle d'augmenter au préalable la diversité de structure des composés présents.
- Ensuite, la réaction sur support solide à proprement parler intervient : le fragment réactif greffé sur la résine est ensuite mis à réagir avec les composés (d'ores et déjà modifiés ou non) de l'extrait. Cette réaction peut générer de la diversification de structure globale des composés si le composé en question a plusieurs sites réactifs.
- Pour séparer les produits greffés sur la résine des restes de réactifs, qui peuvent avoir été utilisés en excès, de possibles produits de dégradation et des produits naturels qui pourraient n'avoir pas réagi, on effectuera une filtration du milieu réactionnel. Le support solide sera lavé et rincé avec différents solvants, en jouant sur ses propriétés de gonflement afin d'évacuer des pores les résidus de composés non désirés. Après ce traitement, le support solide sera finalement séché.
- A ce stade du procédé, si la réaction n'est pas totale entre le fragment greffé et les produits naturels, il pourrait alors rester sur les billes de support solide du substrat qui n'aurait pas réagi et qui peut par conséquent générer différents types de composés supplémentaires (formation de sous-produit après clivage, réaction parasite en cas de modification supplémentaire sur les produits greffés à la résine...) qui peuvent ajouter de la diversité dans le milieu final mais qui peuvent aussi ne pas forcément être désirables. Pour surmonter ou au moins contourner ce problème, une étape dite de capping peut être éventuellement réalisée de sorte soit à rendre les sites réactifs de ce substrat inopérant, soit à prévenir tout clivage de ce fragment initial, soit à ajouter à la structure de ce fragment un élément « chimiquement discriminant » favorisant la séparation de ce composé avec les produits recherchés.
- La résine est alors clivée, et les différents composés liés au support solide sont décrochés et solubilisés dans la solution qui a servi au clivage. Une nouvelle filtration suivie de lavages

Chapitre 2 : présentation générale de la méthodologie de modification chimique d'extraits naturels avec utilisation d'un support solide

amène à la collecte d'un filtrat dans lequel se trouve alors un mélange des différents produits naturels modifiés avec, suivant les cas, le fragment de départ « cappé » et clivé.

- Enfin, la dernière étape consiste en une suite de fractionnements bio-guidés de ce mélange de produits naturels modifiés pour obtenir à terme une ou plusieurs molécule(s) pure(s) bioactive(s). Les tests biologiques effectués seront prioritairement en accord avec l'activité ciblée par le pharmacophore choisi.

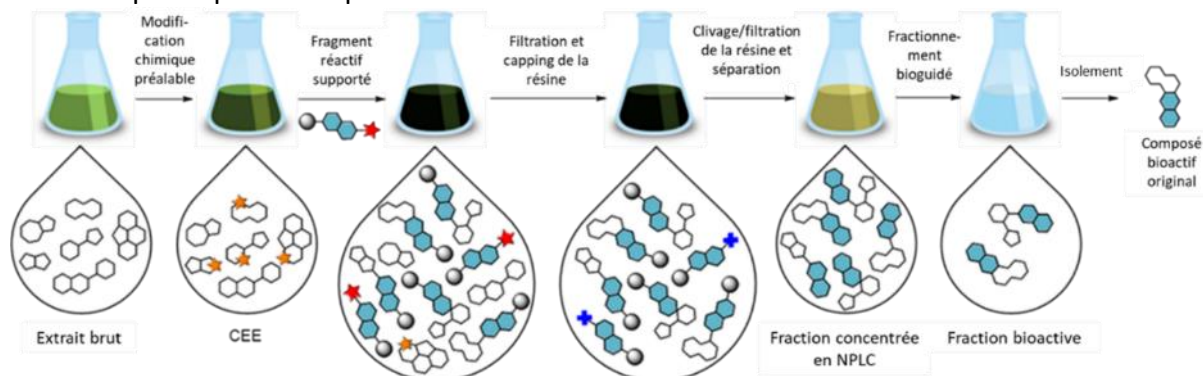


Figure 24 : projet de méthodologie de modification d'extrait naturel avec utilisation d'un support solide

Dans le cadre de notre projet, un aspect supplémentaire que nous souhaiterions mettre en place pour cette méthodologie serait la possibilité de faire un épuisement de l'extrait en un certain type de métabolite : après avoir identifié les produits naturels constituant l'extrait et déduit les différences de réactivité de ces composés par rapport aux réactions successives qu'on voudrait appliquer, on peut commencer par mettre en œuvre le plan de synthèse en appliquant les conditions expérimentales les plus douces pour, au final, n'effectuer la modification chimique avec l'aide du support solide que sur le ou les composés les plus réactifs. Puis, après la fin de la synthèse et la filtration de la suspension de support solide, le filtrat qui contient le reste des métabolites de l'extrait est analysé pour contrôler l'évolution de sa composition et est réutilisé pour de nouveaux cycles de synthèse avec du support solide préparé non encore consommé et dans des conditions expérimentales qui vont dépendre de la composition de ce filtrat. Si les composés dont on souhaite la modification y sont toujours présents, les conditions expérimentales ne changent pas. En revanche, si le filtrat se révèle être épuisé en ces mêmes composés, les conditions expérimentales peuvent être durcies afin de pouvoir faire réagir d'autres métabolites plus difficilement modifiables que les premiers visés.

Parmi les domaines de la chimie qui viennent d'être cités, les particularités de la synthèse sur support solide méritent qu'on s'y arrête plus longuement pour mettre en évidence les points positifs justifiant leur exploitation pour la méthodologie de modification chimique d'extrait naturel.

II. La synthèse sur support solide

La synthèse sur support solide consiste à utiliser une matrice solide de polymère (en pratique, le plus souvent, des billes de résine) insoluble dans les solvants usuels de chimie organique et inerte par rapport aux conditions de réaction qu'on souhaite utiliser pour y lier un premier motif. Une fois la synthèse complétée, le produit final peut alors être détaché de la matrice de polymère par clivage.

Ce procédé de synthèse organique a été mis au point par l'américain Robert Bruce Merrifield qui communiqua pour la première fois sur le sujet en 1963 [97] et qui recevra le prix Nobel de chimie pour le développement de cette méthode de synthèse en 1984. Les premières utilisations de la synthèse sur support solide décrite par Merrifield sont les méthodes de

Chapitre 2 : présentation générale de la méthodologie de modification chimique d'extraits naturels avec utilisation d'un support solide

synthèse de peptides en phase solide (aussi communément appelés SPPS pour « solid-phase peptide synthesis ») [97].

Rapidement, cette nouvelle méthode de synthèse fût élargie à l'obtention d'autres chaînes oligomères ou polymères naturelles comme les oligonucléotides [98], ou les polysaccharides [99]. A partir de 1972, un nouvel élargissement des applications de la synthèse sur support à celle de molécules de plus petite taille est décrit par les canadiens Clifford Clarke Leznoff et Jack Y. Wong [100]. Cependant, la popularité de la synthèse sur support solide n'augmentera réellement dans la communauté scientifique qu'à partir de l'émergence de la chimie combinatoire dans les années 1990.

Aujourd'hui, la synthèse sur support solide constitue une alternative assez populaire pour faire de la synthèse organique dans un milieu autre qu'en solution classique et près de 60 ans après les premiers travaux de Merrifield, une quantité considérable de connaissances et d'applications en synthèse a été établie, comme le montre le grand nombre de revues d'articles relatant les possibilités de synthèse de différentes familles de molécules au moyen d'un support solide [101–111] et d'ouvrages spécialisés sur le sujet général de la synthèse sur support solide [112–116].

L'utilisation d'un support solide implique l'utilisation de plusieurs notions primordiales pour la bonne mise en œuvre des réactions dont la plus importante est le gonflement de la résine. En effet, les billes de résine étant des enchevêtrements de chaînes polymériques, elles sont de volume contracté à sec. Pour rendre le plus accessible possible les sites réactifs de ces billes et faciliter la diffusion des réactifs à travers la résine, il est donc impératif d'utiliser un solvant dans lequel ces chaînes puissent s'expanser [117], ce qui explique qu'en pratique, les billes de résine doivent être au préalable mises en suspension dans ce solvant pour les faire gonfler. La plupart des résines existantes ont de mauvaises propriétés de gonflement dans les solvants les plus protiques comme les alcools ou l'eau, le gonflement étant au contraire optimal dans d'autres solvants comme le DMF, le dichlorométhane ou le toluène.

Un autre paramètre important à considérer est le taux de fonctionnalisation ou loading, qui s'exprime en mmol/g et peut être de deux types qui diffèrent en plus de leur définition par la méthode de calcul. Le loading dit théorique s'obtient en divisant la quantité molaire du substrat qu'on cherche à ajouter à la structure de la résine par greffage dans le cas d'une réaction totale par la masse de la résine obtenue en fin de réaction. Cette dernière masse nécessite de prendre en compte avec attention la variation de masse provoquée par la réaction de greffage en l'additionnant à celle de la résine de départ de la manipulation. Quant au loading dit expérimental, qui caractérise la quantité de substrat qui a pu être effectivement greffé par gramme de résine, ce dernier peut être déterminé au moyen d'un clivage du substrat sur une quantité définie, par dosage acide-base ou colorimétrique [117]. Par le premier moyen cité, après avoir mesuré la masse de l'échantillon de résine sur lequel on effectue le clivage, il suffit de déterminer la masse du produit sec de clivage puis d'en déduire la quantité molaire de ce produit et enfin de diviser cette valeur par celle de la masse de résine utilisée pour le clivage afin d'avoir le loading expérimental.

Suivant l'usage qu'on souhaite faire du support solide, le polymère utilisé à cette fin peut être choisi en fonction du taux de réticulation des chaînes de polymère. Il est ainsi possible de prendre une résine de type « gel » avec de faibles taux de réticulation (compris entre 0,5 et 2 %), parmi lesquelles on retrouve les résines de Merrifield, de Wang et de Rink, une résine dite « macroporeuse » avec de très forts taux de réticulation (supérieur ou égal à 20 %) ou une résine à squelette linéaire, sans réticulation du polymère.

Chapitre 2 : présentation générale de la méthodologie de modification chimique d'extraits naturels avec utilisation d'un support solide

L'utilisation d'un support solide apporte de nombreux avantages pour la pratique de synthèses de chimie organique parmi lesquelles une simplification et une accélération des étapes de purification et d'isolement ; la possibilité de faire les réactions avec un large excès de réactif en solution ; une toxicité moins grande ou encore un moins grand risque de réaction intermoléculaire [117].

Ces avantages s'accompagnent de plusieurs inconvénients importants à prendre en compte pour l'utilisation des supports solides [117], au premier lieu desquels l'impossibilité physique d'un suivi traditionnel par plaque CCM de l'avancement de la réaction directement avec le support solide. En effet, il est ici nécessaire de passer par un clivage d'un échantillon de la résine et d'utiliser le produit alors obtenu pour nos analyses CCM. D'autres méthodes d'étude de l'avancement d'une réaction sur support solide n'exigeant pas la réalisation d'une plaque CCM sont aussi possibles, comme par le séchage de la résine suivi d'un bilan de masse ou par une analyse colorimétrique, IR ou RMN à l'angle magique.

Quant aux autres inconvénients pratiques de l'utilisation d'un support solide, ceux-ci concernent l'analyse directe du contenu du support solide par les moyens d'analyse les plus habituels, des étapes qui sont quelquefois supplémentaires pour la réalisation de la synthèse, des conditions réactionnelles parfois différentes d'en solution et l'obligation d'une agitation douce avec un rotateur par exemple.

Dans le cadre de la mise au point de notre méthodologie, l'utilisation d'un support solide permet en premier lieu de répondre aux problèmes de séparation entre les produits naturels modifiés d'une part et l'excès restant des réactifs de départ ainsi que les produits de l'extrait d'origine qui n'ont pas réagi et des sous-produits éventuels d'autre part. En effet, la réaction de synthèse se produira ici entre le fragment réactif supporté et les constituants « sensibles » au type de réaction qu'on veut faire dans l'extrait originel. De sorte que seuls des produits naturels modifiés seront fixés au support solide et pourront ainsi être isolés plus facilement du reste des composés de l'extrait. En plus de cette séparation simplifiée, la pertinence de l'utilisation d'un support solide est posée par sa compatibilité avec les réactifs utilisés en large excès et, plus spécifiquement concernant le type de réaction qu'on souhaite faire, par la favorisation des cyclisations intramoléculaires dans ce type de milieu réactionnel [117]. En plus de cela, certaines résines utilisées peuvent répondre à des problématiques de synthèse en lien avec la chimie verte car elles peuvent être régénérées et donc recyclées, ce qui sera le cas pour le support solide dont on se servira dans le cadre de cette thèse [117].

III. Détails pratiques de la méthodologie

III.A. Méthode de travail de la preuve de concept de la méthodologie

La première étape de ce développement méthodologique de modification d'extraits sur support solide est de démontrer la faisabilité de l'ensemble du processus en établissant une preuve de concept.

Celle-ci se compose de plusieurs phases successives de tests, chacune visant à valider un aspect différent de notre méthodologie (**Figure 25**) :

- 1) dans un premier test, la faisabilité de toutes les réactions doit être vérifiée. Le moyen le plus rapide de s'assurer que toutes les étapes de synthèse donnent le produit espéré est d'effectuer l'ensemble de ces étapes en solution en partant d'un réactif qui soit au plus proche du substrat qui sera greffé au support solide et de plusieurs exemples de composés purs et simples jouant le rôle des dérivés de produits naturels, sur lesquels la modification ne peut se faire qu'en un seul endroit avec un groupement fonctionnel. Par exemple, dans

Chapitre 2 : présentation générale de la méthodologie de modification chimique d'extraits naturels avec utilisation d'un support solide

le cas de notre premier plan de synthèse, comme nous l'expliquerons juste après, il s'agira de faire réagir du 2-iodobenzoate de méthyle avec un seul et unique éther de propargyle en vue de former un dérivé d'isocoumarine ;

- 2) puis, le procédé imaginé avec le support solide peut être mis en œuvre sur les mêmes exemples de composés purs, pour valider le plan de synthèse avec un support solide. Dans notre cas, l'éther de propargyle pur réagira avec de l'acide 2-iodobenzoïque greffé sur résine de Wang ;
- 3) pour prouver que la réalisation du plan de synthèse sur support solide projeté est compatible avec la présence d'un milieu réactionnel complexe, toutes les étapes de synthèse sont appliquées sur un mélange de composés réactifs, c'est-à-dire présentant le groupement fonctionnel nécessaire à la liaison avec le substrat greffé sur support solide (soit plusieurs éthers de propargyle pour nous). Ce groupement aura été préalablement introduit sur chaque composé qui aura ensuite été purifié ;
- 4) ensuite, on cherchera à adopter exactement la même démarche que celle que l'on aura à mettre en œuvre lorsqu'on travaillera sur des extraits naturels. Pour ce faire, nous partons d'un mélange composé des produits précédents mais avant introduction du groupement fonctionnel nécessaire à la réaction avec le substrat du support solide, soit entre autres des composés hydroxylés, en ce qui nous concerne. Sur ce mélange est d'abord appliqué la réaction de modification préalable permettant de former les dérivés réactifs (les éthers de propargyle). Puis, sans faire aucune purification intermédiaire sur ce mélange réactionnel, l'étape de réaction sur support solide est réalisée. Enfin, le reste du plan de synthèse peut être fait exactement comme dans les phases précédentes ;
- 5) en parallèle, des tests sont effectués en partant d'un seul composé avec plusieurs groupements fonctionnels pouvant être fonctionnalisés puis ajoutés au substrat greffé sur support solide (comme un polyphénol) puis, si le résultat est satisfaisant, un mélange de plusieurs composés polyfonctionnalisés peut être utilisé.
- 6) enfin, le plan de synthèse peut être appliqué sur un extrait naturel modèle, dont la composition phytochimique a déjà pu être caractérisé auparavant. Si la composition ne se prête pas ou peu à l'ajout du pharmacophore qu'on envisage de faire (soit, pour nous, si les métabolites de l'extrait ne contiennent que des groupements méthoxys et non hydroxyles), une modification préalable de cet extrait (par *O*-déméthylation ici) peut être effectuée en amont pour augmenter le nombre de fonctions recherchées.

Chapitre 2 : présentation générale de la méthodologie de modification chimique d'extraits naturels avec utilisation d'un support solide

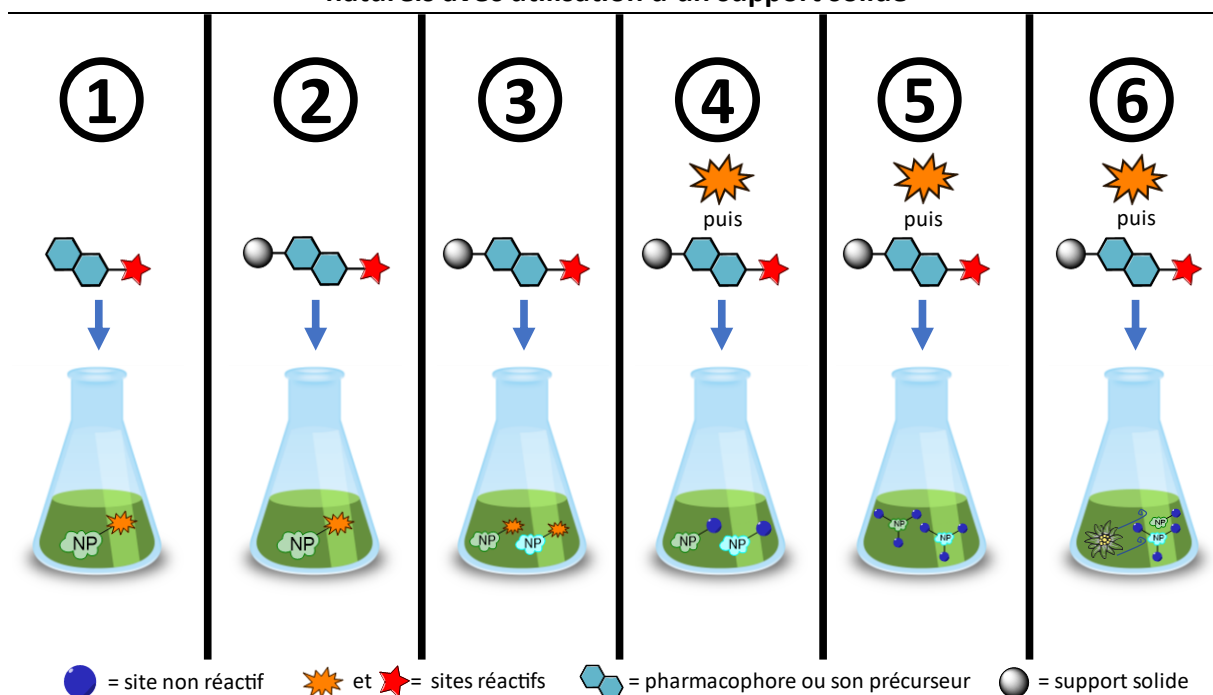


Figure 25 : démarche suivie pour la preuve de concept de la méthodologie

De manière plus concrète, la preuve de concept de notre méthodologie puis les applications qui la suivent doivent se focaliser sur la conversion d'un groupement fonctionnel qui est fréquent au sein des produits naturels en un autre groupement fonctionnel qui peut réagir dans le cadre des étapes de synthèse qu'on souhaite faire sur support solide. Tel que nous avons projeté le travail de construction de la preuve de concept de cette méthodologie au départ, les groupements fonctionnels qui ont été choisis sont les hydroxyles qui sont ceux parmi les plus fréquents dans les produits naturels : l'analyse informatique de la structure des 186000 molécules enregistrées dans une base de données de référence, *The Dictionary of Natural Products*, montre que plus de 61 % de ces composés possèdent des hydroxyles aliphatiques et environ 28 % ont des hydroxyles aromatiques [28]. La conversion de ces hydroxyles se fera en éthers de propargyle, avec donc un alcyne terminal pour lequel les possibilités de réactions organiques sont multiples (couplage de Sonogashira, cycloaddition, réaction de Favorskii, synthèse par réaction « clic » de 1,2,3-triazole...).

En passant ensuite par plusieurs autres étapes de synthèse impliquant l'utilisation d'un support solide, cette modification préalable d'alcools et phénols en éthers de propargyle doit conduire à la synthèse sur les alcynes terminaux d'un pharmacophore que nous allons désormais présenter en détail, l'isocoumarine.

III.B. Plans de synthèse des dérivés d'isocoumarine avec un support solide

III.B.1. Voie de synthèse « Sonogashira » des dérivés d'isocoumarine

Afin de réaliser la preuve de concept, nous avons cherché à synthétiser des molécules qui soient des dérivés d'isocoumarine. Pour le premier des deux plans de synthèse qui ont été étudiés, nous sommes parti d'une méthode sur support solide décrite en 2009 [118]. Cette synthèse est calquée sur les nombreuses méthodes de synthèse d'isocoumarines se terminant par une lactonisation et se fait en trois grandes étapes (**Schéma 30**) :

- la première étape est une étape préparatoire consistant à greffer au support solide un fragment moléculaire sur lequel est présent un site réactif. L'acide 2-bromobenzoïque est transformé en sel de carboxylate de césium qui peut être mis à réagir avec le support solide, une résine de Wang bromée.

Chapitre 2 : présentation générale de la méthodologie de modification chimique d'extraits naturels avec utilisation d'un support solide

- Puis la deuxième étape est un couplage de Sonogashira classique entre l'acide 2-bromobenzoïque greffé et un alcyne terminal. Par cette réaction de couplage, on apporte les derniers éléments de ce qui forme une structure précurseur à celle de l'isocoumarine qui doit ensuite être cyclisée.
- Enfin, la troisième étape est celle de la cyclisation électrophile de la structure précédente sur le modèle de celles déjà décrites dans la littérature. L'activation de la triple liaison par l'électrophile et la formation de l'hétérocycle caractéristique de l'isocoumarine s'accompagnent du clivage de la résine au niveau de l'ester et par conséquent de la libération de la molécule nouvellement formée. Le substituant ajouté en position 4 de l'isocoumarine dépend de l'agent électrophile dont on s'est servi pour la cyclisation. Ainsi, l'utilisation de bromure ou de chlorure de cuivre(II) donneront une 4-bromoisocoumarine ou une 4-chloroisocoumarine. Et l'usage de monochlorure d'iode ou de diiode aura pour résultat la formation d'une 4-iodoisocoumarine. En revanche, en utilisant du TFA, l'isocoumarine n'aura aucun substituant en position 4.

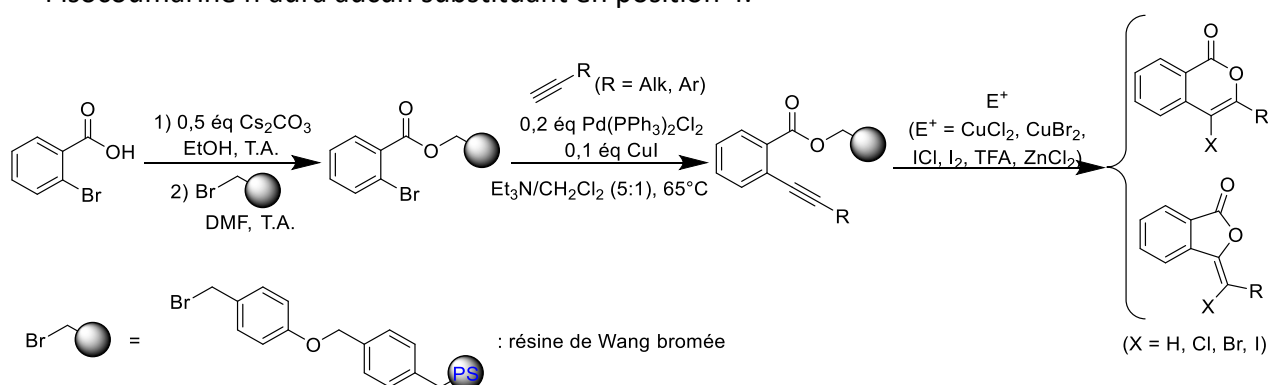


Schéma 30 : formation des dérivés d'isocoumarine à l'aide d'un support solide selon le plan de synthèse décrit dans la publication de référence [118]

Avec cette méthode de synthèse de dérivés d'isocoumarine, trois grands avantages peuvent être mis en avant : premièrement, ce procédé est très modulable sur les substituants de l'isocoumarine puisque, outre la nature du substituant en position 4 et bien sûr celui ajouté en position 3, l'ensemble des réactions ont été décrites sur des dérivés d'acide 2-bromobenzoïque portant d'autres substituants sur différentes positions du cycle ou fusionné avec un second cycle, comme cela est dit dans l'article de référence [118], voire même sur des hétérocycles greffés (acide 2-bromonicotinique et acide 3-bromo-2-thénoïque). Deuxièmement, hormis dans le cas du TFA, un grand avantage de cette méthodologie est que pour que la cyclisation et le clivage puissent avoir lieu, il est impératif d'avoir sur la structure du produit à cycliser la triple liaison, ce qui implique que la réaction de couplage de Sonogashira entre le substrat et l'alcyne s'est produite. Et troisièmement, si le réactif de cyclisation est un de ceux conduisant à la formation d'une isocoumarine 4-halogénée, le clivage de la résine est suivi de la régénération de ses sites réactifs par des halogénures dont la nature est la même que celle ajoutée sur l'isocoumarine et dépend du réactif exact utilisé. Cependant, ce recyclage de la résine n'est pas possible lorsque l'étape de cyclisation se fait au moyen d'un acide fort, soit le TFA dans notre cas.

Une remarque importante est à faire concernant la régiosélectivité des produits obtenus puisque selon l'alcyne couplé au fragment greffé et les conditions expérimentales de la cyclisation, aussi bien la cyclisation 6-*endo*-dig donnant le dérivé d'isocoumarine 3-substitué que celle 5-*exo*-dig amenant à former un dérivé de 3-ylidène phthalide peuvent survenir. Quelques exemples donnés dans la publication montrent que malgré des conditions de cyclisation devant normalement donner une 4-halogénoisocoumarine, la possibilité de

Chapitre 2 : présentation générale de la méthodologie de modification chimique d'extraits naturels avec utilisation d'un support solide

formation de dérivés d'isocoumarine sans halogénure en position 4 existe. Ce qui peut être un problème de sélectivité de la réaction de cyclisation pourra être utilisé à notre avantage dans notre méthodologie comme source de diversification de la structure des produits de la synthèse bien que, pour ses propriétés biologiques, le type de produit qu'on visera tout particulièrement sera bien des dérivés d'isocoumarine.

La possibilité du recyclage de la résine est une des raisons qui nous a amenés au choix de la synthèse de dérivés d'isocoumarine pour notre stratégie. Parmi les deux arguments en faveur de ce choix, on peut citer les propriétés biologiques diverses et variées des isocoumarines et le fait que cette synthèse sur support solide a été développée par ma directrice de thèse : au commencement de la preuve de concept, la mise en œuvre des différentes étapes de synthèse devait ainsi permettre de rendre plus efficace et par conséquent moins longue la phase du travail consacrée à la construction de la preuve de concept.

Dans le cadre du travail de cette thèse, étant donné que les produits naturels ne sont en général pas pourvus de fonction alcyne terminale, il est naturellement nécessaire de mettre en œuvre une étape de modification préalable des composés de départ afin d'y introduire une triple liaison terminale. Une réaction qui permet d'ajouter aisément cette triple liaison sur certains groupements fonctionnels usuels comme des amines, des acides carboxyliques ou des alcools est une simple réaction d'alkylation ou plus précisément de propargylation après déprotonation du groupement fonctionnel. Dans le cas des groupements hydroxyles que nous visons prioritairement, cette réaction peut être aussi appelée réaction de Williamson (Schéma 31).

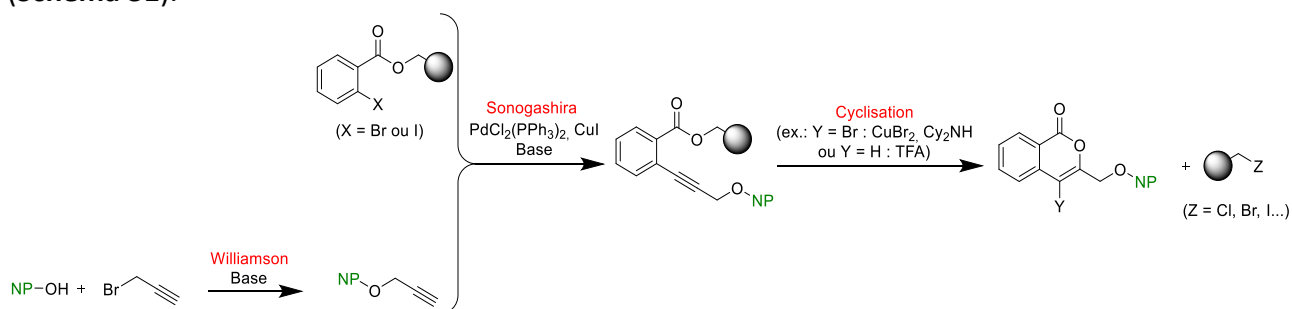


Schéma 31 : formation des dérivés d'isocoumarines liées à des produits naturels hydroxylés à l'aide d'un support solide [118]

III.B.2. Voie de synthèse « clic » des dérivés d'isocoumarine

L'autre plan de synthèse sur lequel nous avons travaillé pour la preuve de concept de notre méthodologie envisage l'intégration de la synthèse d'un autre hétérocycle, à savoir un 1,2,3-triazole. Plusieurs explications peuvent être données pour justifier la synthèse de cet hétérocycle : d'abord, en passant par la méthode de synthèse des 1,2,3-triazoles qui est la plus courante aujourd'hui, à savoir par réaction « clic » au moyen d'une CuAAC, la synthèse de cet hétérocycle sera parfaitement orthogonale, c'est-à-dire que la réaction ne touchera qu'au niveau des propargyles ajoutés sur la structure du composé cible sans altérer le reste de sa structure moléculaire [119]. D'autre part, ainsi que cela sera expliqué après, ce groupement qui est absent à l'état naturel n'altère en rien les potentielles propriétés bioactives de la molécule, d'autant qu'il fait partie intégrante de la structure de plusieurs composés bioactifs qui sont à un stade avancé d'essais cliniques voire qui sont déjà commercialisés en tant que principe actif de médicament. Enfin, comme cet hétérocycle va servir de lien entre le produit naturel et l'isocoumarine, le travail réalisé ici pour sa synthèse pourra être réutilisé plus tard et adapté à l'ajout d'autres pharmacophores à la structure des métabolites.

Chapitre 2 : présentation générale de la méthodologie de modification chimique d'extraits naturels avec utilisation d'un support solide

L'intégration d'un 1,2,3-triazole intermédiaire entre l'isocoumarine et le produit naturel n'entraîne qu'une modification partielle du premier plan de synthèse présenté : une seule des étapes de synthèse a été changée de manière à prendre en compte la synthèse de ce nouvel hétérocycle.

Comme précédemment, ce plan de synthèse comporte trois étapes de réaction (**Schéma 32**), la première et la dernière étape étant inchangées. Dans la deuxième étape, le substrat greffé sur la résine est maintenant l'acide 2-(3-azidoprop-1-yn-1-yl)benzoïque. La mise en réaction des éthers de propargyle avec ce substrat en présence soit d'un catalyseur au cuivre(I) comme l'iodure de cuivre et d'une base (conditions qui seront presque toujours utilisées dans le cadre de ce travail), soit d'un catalyseur au cuivre(II) tel que le sulfate de cuivre et d'un réducteur doux comme l'acide ascorbique ou l'ascorbate de sodium provoque une réaction « clic » par CuAAC.

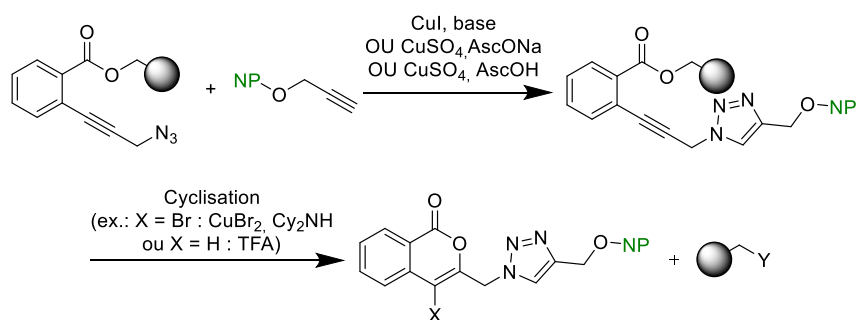


Schéma 32 : voie de synthèse de dérivés de 3-((1H-1,2,3-triazol-1-yl)méthyl)-1H-isochromen-1-one avec utilisation d'un support solide

Si presque tous les avantages et inconvénients du premier plan de synthèse que nous avons pu noter ont toujours cours avec ce nouveau plan de synthèse, néanmoins, on peut également pointer un désavantage important à prendre en considération. La structure moléculaire du substrat permettant sa cyclisation est présente dès le départ sur la résine, ce qui peut occasionner un problème si l'étape de la réaction « clic » devait ne pas être totale : dans cette configuration-là, quelques soient les conditions expérimentales choisies pour la dernière étape de la cyclisation, celle-ci conduirait à avoir après réaction le mélange attendu de tous les produits de cyclisation où le produit naturel a pu être ajouté et aussi les produits de la cyclisation du substrat greffé sur lequel la réaction « clic » ne se serait pas produite. Cela nécessite de faire plus attention que pour le premier plan de synthèse à ce que l'étape la plus critique, celle de la réaction « clic », puisse se dérouler sur tous les sites réactifs disponibles de la résine préparée.

III.C. Description détaillée des étapes du plan de synthèse des dérivés d'isocoumarine selon la voie « Sonogashira »

III.C.1. Réaction de Williamson avec le bromure de propargyle

La réaction de Williamson, nommée en l'honneur du chimiste britannique Alexander William Williamson qui l'a découverte en 1851 [120], constitue la méthode de référence pour la synthèse de groupement éther. Elle consiste en une substitution nucléophile bimoléculaire avec la déprotonation en milieu basique d'un alcool ou d'un phénol suivi de l'attaque de l'anion généré sur un agent alkylant, un tosylate ou un mésylate par exemple (**Schéma 33**).

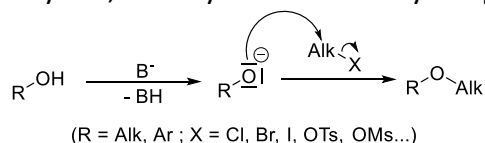


Schéma 33 : mécanisme de la synthèse d'éther par réaction de Williamson

Chapitre 2 : présentation générale de la méthodologie de modification chimique d'extraits naturels avec utilisation d'un support solide

Cette synthèse d'éther est particulièrement efficace lorsque l'atome de carbone portant le groupe partant sur l'agent alkylant est un atome primaire. En revanche, avec un carbone secondaire ou tertiaire, cette réaction de substitution nucléophile entre en compétition avec une réaction d'élimination sur l'agent alkylant (**Schéma 34**) dû à l'arrachage par l'anion d'un proton en position alpha de la liaison C-groupe partant de l'agent alkylant [121].

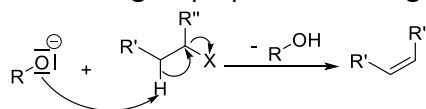


Schéma 34 : mécanisme de la réaction secondaire concurrente d'élimination lors d'une réaction de Williamson avec un agent alkylant non primaire

Parmi les paramètres pouvant influencer l'efficacité de la synthèse de Williamson, on peut citer bien sûr la force du groupe partant, la température de réaction ou encore la force nucléophile de l'alcoolate ou phénolate obtenu après déprotonation [121]. Mais quelques autres paramètres permettent d'agir sur la capacité de dissociation de l'alcoolate et du phénolate et de son contre-ion pour augmenter la quantité d'anion libre dans le milieu réactionnel et ainsi favoriser son attaque sur l'agent alkylant : cette capacité de dissociation peut dépendre de la taille du contre-ion associé à l'alcoolate ou au phénolate, de la polarité du solvant réactionnel [121]. De ce fait, il est plus aisé de faire une réaction de Williamson dans un solvant polaire qui permet une bonne dissociation comme le DMF, l'acétone ou le THF et lorsque le réactif de déprotonation donne un cation de grand rayon atomique tel que du carbonate de potassium ou de césium.

III.C.2. Couplage de Sonogashira

La réaction de couplage de Sonogashira constitue le moyen le plus classique de coupler un halogénure d'aryle ou de vinyle avec un alcyne vrai et nécessite à cette fin l'emploi de deux catalyseurs, l'un au palladium qui est l'élément chimique de référence pour les réactions de couplage catalysées et l'autre au cuivre, le plus souvent de l'iodure de cuivre (**Schéma 35**).

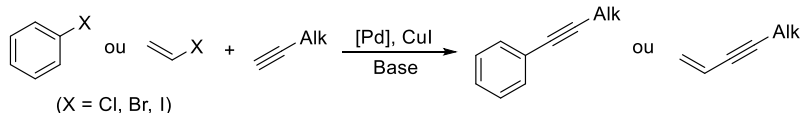


Schéma 35 : bilan du couplage de Sonogashira

Plusieurs travaux précurseurs ont précédé ceux de Sonogashira et Hagihara pour ce type de couplage : l'implication de composés cuivrés a été notamment utilisée pour le couplage de Castro-Stephens [122–124] (voir à ce propos la partie IV.D.1.i de ce chapitre sur les méthodes de synthèse des isocoumarines) et l'usage de catalyseurs au palladium pour le couplage d'alcyne a déjà été relaté de manière indépendante par l'américain Richard Frank Heck (prix Nobel de chimie 2010) accompagné de Harold Andrew Dieck [125] et par l'italien Luigi Cassar [126], avec en plus respectivement une base organique et inorganique. Cependant, parmi les problèmes notés sur ces réactions précurseurs, le couplage de Castro-Stephens nécessite un emploi de réactif cuivré en quantité stœchiométrique pour former l'acétylure de cuivre nécessaire à une telle réaction d'où des risques sanitaires et une dépense économique pouvant être importante. Quant aux travaux de Heck et de Cassar, leurs réactions de couplage imposaient des conditions réactionnelles poussées comme un chauffage intense pour pouvoir être réalisés avec efficacité [127,128]. En alliant l'utilisation d'un catalyseur au palladium et d'un catalyseur au cuivre, les travaux de Sonogashira et Hagihara ont donc permis d'opérer ce couplage de manière plus douce mais aussi plus sûre et plus accessible par la synthèse *in situ* et non à part d'un acétylure de cuivre favorisant le couplage avec l'halogénure d'aryle en lui-même.

Chapitre 2 : présentation générale de la méthodologie de modification chimique d'extraits naturels avec utilisation d'un support solide

Le cycle catalytique de la réaction de couplage de Sonogashira (**Schéma 36**) [129,130] reste sujet à débat mais de façon générale, cette réaction peut être décrite par l'association de deux cycles catalytiques, chacun impliquant l'un des deux réactifs métallisés. Le cycle du catalyseur au cuivre, qui est le plus débattu, traduit la formation *in situ* de l'acétylure de cuivre : l'atome métallique du réactif cuivré, dans notre cas l'iodure de cuivre, commence par former un complexe par interaction avec une orbitale π de la triple liaison de l'alcyne. Ce complexe a pour effet d'affaiblir la liaison C-H terminal de l'alcyne, rendant plus labile l'atome d'hydrogène associé à cette liaison. Ce proton peut alors être arraché au moyen d'une base (habituellement une base aminée comme la triéthylamine) et être remplacé par l'ion Cu^+ , donnant alors l'acétylure de cuivre qui est l'autre vrai réactif du couplage. L'autre cycle, celui du catalyseur au palladium, implique une espèce où l'atome de palladium doit être au degré d'oxydation 0 pour être réactif, ce qui peut demander suivant le composé au palladium utilisé l'activation d'un pré-catalyseur initialement au degré d'oxydation +II, ce qui passe souvent par l'utilisation d'une amine qui joue donc un double rôle dans le cadre de cette réaction. Après activation du catalyseur et une première étape classique d'addition oxydante avec l'halogénure d'aryle, ce complexe réagit par transmétallation avec l'acétylure de cuivre, l'alcyne remplaçant un halogénure servant de ligand dans le complexe qui, à son tour, reforme l'espèce réactive catalytique avec l'ion Cu^+ aussi libéré par cette étape. L'aryle couplé avec l'alcyne est enfin formé et libéré du complexe au palladium par une dernière étape d'élimination réductrice.

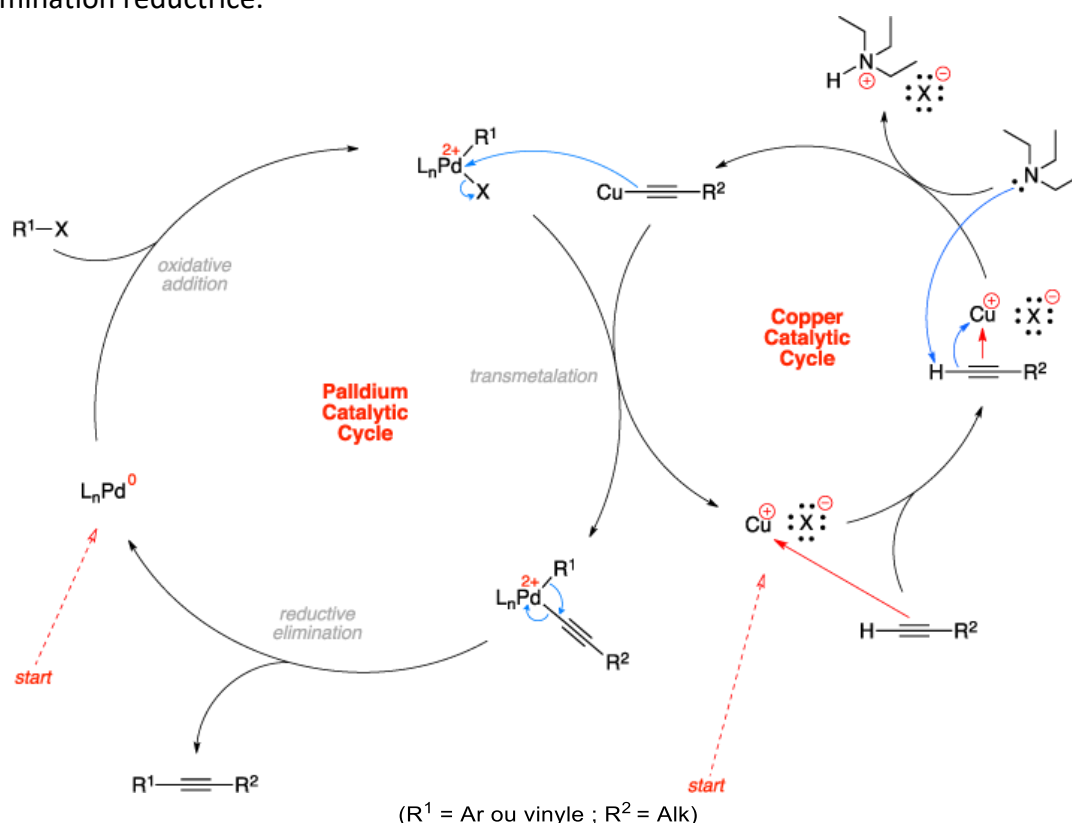


Schéma 36 : mécanisme du couplage de Sonogashira [129–131]

Si cette réaction se montre facile à mettre en œuvre et souvent efficace dans des conditions douces, elle souffre tout de même dans les conditions classiques de réaction d'un grand défaut, sa sensibilité à l'air ambiant. D'une part, certains catalyseurs peuvent facilement s'oxyder, en particulier le plus utilisé pour ce type de réaction, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$. Ce problème peut être évité en employant d'autres catalyseurs du même type et tout aussi efficaces comme $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$. D'autre part, si l'atmosphère environnante dans lequel a lieu la réaction n'est

Chapitre 2 : présentation générale de la méthodologie de modification chimique d'extraits naturels avec utilisation d'un support solide

pas suffisamment inerte, une réaction parasite d'homocouplage de l'alcyne aussi appelé couplage de Glaser [132] peut se produire lorsqu'un catalyseur à base de cuivre est utilisé (**Schéma 37**). Ce risque d'homocouplage peut être contourné en imposant un environnement strictement inerte par rapport à l'oxygène ou en se mettant dans des conditions sans usage de cuivre, ce qui a été expérimenté à de nombreuses reprises sans qu'aucune des conditions rapportées n'ait atteint la popularité du duo originel palladium-cuivre [127,128,130].

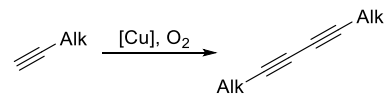


Schéma 37 : bilan du couplage de Glaser

Maintenant que nous avons expliqué dans le détail ces premières réactions et avant d'aborder ce qui a été fait en pratique pour la preuve de concept de notre méthodologie, nous allons nous intéresser de manière large aux deux hétérocycles dont la synthèse est à la base de cette preuve de concept, en détaillant leurs caractéristiques physico-chimiques, leurs découvertes ainsi que leurs voies de synthèse et leurs utilisations historiques et actuelles, ce qui sera l'occasion de traiter en détail de la synthèse d'une isocoumarine par réaction de cyclisation électrophile (voir partie IV.D.1.ii.) et celle d'un 1,2,3-triazole par réaction de cycloaddition entre un azoture et un alcyne catalysée par le cuivre (voir partie V.C.1.ii.a).

IV. Les isocoumarines

Comme son nom l'indique, l'isocoumarine, qui fait partie des δ -lactones ou lactones cycliques, est un isomère de la coumarine (**Figure 26**). Selon une revue récente datant de 2016 [133], approximativement 350 exemples de dérivés de cette molécules présentes à l'état naturel ont été répertoriés ; une revue traitant des isocoumarines synthétisées par les mycètes indique qu'entre 2000 et 2019, 307 dérivés ont été caractérisés chez des espèces de ce règne [134]. Une autre revue parue en 2021 parle quant à elle d'environ un millier de dérivés naturels d'isocoumarine et de dihydroisocoumarine isolés jusqu'à présent [135]. Toutes ces données laissent cependant à penser que cette famille de produits naturels oxygénés reste actuellement petite en taille en comparaison avec d'autres de structure générale proche dont les coumarines et les flavonoïdes qui comptent respectivement environ 1300 et 6000 composés différents identifiés [136,137].

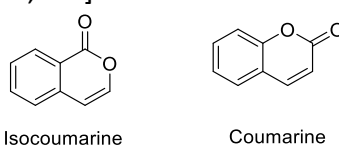


Figure 26 : structures d'une isocoumarine (à gauche) et d'une coumarine (à droite)

Cependant, depuis l'identification et la caractérisation des premiers exemples et surtout depuis l'augmentation de l'intérêt pour cette classe de molécules présentant des propriétés biologiques intéressantes ces cinquante dernières années, les isocoumarines sont devenues un sujet d'importance dans la recherche en chimie organique et médicinale.

IV.A. Historique

La coumarine a été isolée pour la première fois en 1820 par le chimiste allemand Heinrich August von Vogel à partir de la fève de tonka et du mélilot officinal (**Figure 27**) [138]. La même année, le pharmacien français Nicolas Jean-Baptiste Gaston Guibourt (**Figure 27**) isole également ce composé de la fève de Tonka et après avoir corrigé certaines observations expérimentales de Vogel [139] lui attribuera le nom de coumarine au cours d'une séance à l'Académie royale de médecine [140,141]. Cette dénomination provient de *Coumarouna odorata* Aubl., un des noms binominaux utilisés à l'époque pour le gaïac de Cayenne, l'arbre

Chapitre 2 : présentation générale de la méthodologie de modification chimique d'extraits naturels avec utilisation d'un support solide

sur lequel pousse les fèves de Tonka [139]. Charles Gerhardt (**Figure 27**) donna le premier la bonne formule brute de la coumarine, $C_9H_6O_2$, en 1845 dans son *Précis de chimie organique* [142]. Quant à sa synthèse, il faudra attendre 1868 pour qu'elle soit réalisée pour la première fois par Sir William Henry Perkin (**Figure 27**), par réaction entre le salicyaldéhyde et l'anhydride acétique en présence d'acétate de sodium anhydre (**Schéma 38**) [143].



Figure 27 : de gauche à droite, portrait de Vogel, Guibourt, Gerhardt et Perkin

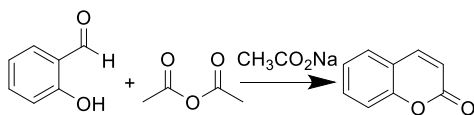


Schéma 38 : synthèse de la coumarine réalisée par Perkin [143]

La première mention du nom de l'isomère de la coumarine n'interviendra qu'en 1892 lorsqu'elle fût synthétisée par Eugen Bamberger et Max Kitchelt (**Figure 28**) [144]. Ici, l'isocoumarine a été obtenue en trois étapes (**Schéma 39**) : tout d'abord, avec l'oxydation de la 1,2-naphtoquinone avec de l'hypochlorite de calcium qui donne de l'acide *o*-carboxyphénylglycérique. Celui-ci a ensuite réagi avec de l'acide chlorhydrique à chaud pour produire l'acide 3-isocoumarincarboxylique qu'il ne reste plus qu'à transformer en son sel d'argent correspondant avant décarboxylation pour former l'isocoumarine.



Figure 28 : portrait de Bamberger

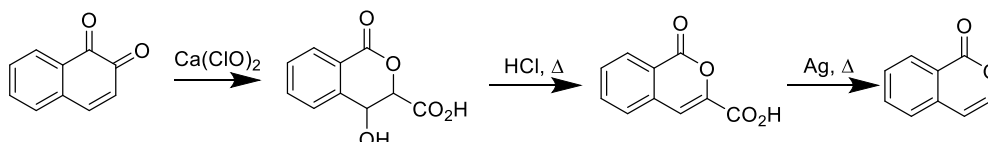


Schéma 39 : première synthèse de l'isocoumarine réalisée par Bamberger et Kitchelt [144]

Après cette première synthèse, d'autres grands noms de la chimie de la fin du XIX^e siècle et du début du XX^e siècle se sont penchés sur l'élaboration de méthodes efficaces de synthèse de cette molécule ou de ses dérivés [145–148]. Mais ce n'est qu'au sortir de la deuxième guerre mondiale, avec l'évolution des connaissances et des techniques de synthèse et

Chapitre 2 : présentation générale de la méthodologie de modification chimique d'extraits naturels avec utilisation d'un support solide

d'analyse que les dérivés d'isocoumarine ont commencé à être synthétisés avec variété de structures et efficacité [149], et à être de plus en plus isolées de sources naturelles [150]. Une émergence de la recherche sur les isocoumarines qui s'est encore accélérée avec l'apparition des réactions de couplage utilisant des catalyseurs à base de palladium à partir des années 1970 [151]. En revanche, jusqu'aux années 2000, les activités biologiques étudiées sur cette famille de composés sont encore peu variées et alors pas forcément des plus intéressantes pour des applications à but thérapeutique.

Cependant, depuis le début du XXI^e siècle, d'innombrables études biologiques ont été menées sur les isocoumarines naturelles et synthétiques, et les synthèses de molécules de ce groupe ont continué à se perfectionner. Ainsi, les dérivés d'isocoumarine constituent aujourd'hui une famille de molécules de grand intérêt pour les domaines de la chimie organique et de la chimie médicinale comme composés intermédiaires de synthèse et comme candidats potentiels pour des traitements thérapeutiques innovants. De ce fait, ces dernières années, les revues sur leurs occurrences à l'état naturel [133,134], leur synthèse [152–157] et les activités biologiques des produits naturels de cette famille [133,154] se sont multipliées et un livre général sur les isocoumarines a même été publié [158].

IV.B. Caractéristiques des isocoumarines

IV.B.1. Désignation et nomenclature

Bien que le mot isocoumarine soit le plus simple et le plus courant pour désigner les molécules de cette famille, le nom officiel selon la nomenclature donnée par l'IUPAC est 1*H*-isochromen-1-one [159,160]. D'autres noms possibles mais rarement utilisés pour appeler les isocoumarines sont 1*H*-2-benzopyran-1-one et 3,4-benzo-2-pyrone (**Figure 29**) [158].

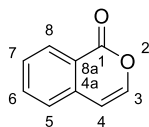


Figure 29 : structure générale d'une isocoumarine et sa numérotation

IV.B.2. Propriétés physiques et analytiques

Une caractéristique physico-chimique des isocoumarines qui mérite d'être soulignée est le fait qu'elles soient en équilibre avec une forme acyclique comprenant un acide carboxylique ainsi qu'une cétone ou un aldéhyde (**Figure 30**). Cependant, cette forme acyclique n'est jamais observée en pratique car la forme cyclique est la plus stable d'un point de vue thermodynamique dans tous les types de milieux, y compris ceux biologiques, ce qui explique que les réactions de cyclisation pour former le cycle lactone de l'isocoumarine soient favorables [133,158].

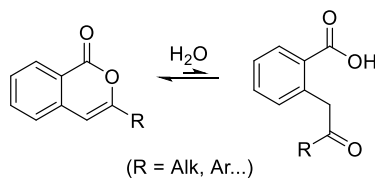
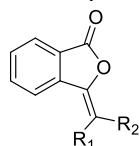


Figure 30 : équilibre cyclique-acyclique d'une isocoumarine

La caractérisation des isocoumarines n'est pas toujours des plus évidentes en raison du fait que la synthèse de ce type de molécule donne dans de nombreux cas un 3-ylidène phthalide (**Figure 31**) avec lequel il peut être rapidement confondu. Cependant, avec les techniques usuelles d'analyse, il est possible de distinguer sans aucune hésitation une isocoumarine d'un 3-ylidène phthalide. L'élément de distinction le plus visible est apporté par une analyse IR : une isocoumarine aura une bande correspondant au carbonyle avec un nombre d'onde compris

Chapitre 2 : présentation générale de la méthodologie de modification chimique d'extraits naturels avec utilisation d'un support solide

entre 1750 et 1710 cm^{-1} alors que pour un phthalide, cette bande sera plus haute, entre 1800 et 1770 cm^{-1} [158,161]. En RMN du proton, la distinction est moins évidente dans le cas de l'isocoumarine non substituée en position 4 car le proton à cette position de l'isocoumarine peut être détecté comme un singulet entre 7,0 et 6,3 ppm alors que celui du 3-ylidène phthalide sera entre 7,0 et 5,0 ppm, sous forme de singulet, de doublet ou de triplet suivant leur environnement chimique [158]. En RMN du carbone 13, il est également possible de différencier les isocoumarines des phthalides en s'intéressant au carbone du groupement carbonyle : le déplacement du signal correspondant à cet atome sera vers 165 ppm pour une isocoumarine et entre 170 et 180 ppm pour un phthalide [158].



(R₁, R₂ = H, Alk...)

Figure 31 : structure d'un 3-ylidène phthalide

IV.C. Les isocoumarines dans la nature

Depuis la découverte des premiers exemples de produits naturels dérivés des isocoumarines, des représentants de cette famille de molécules ont été caractérisés à partir d'une large variété de sources naturelles. En effet, il a été possible d'en retrouver aussi bien dans des plantes et des mycètes (moisissures, lichens et autres champignons) que dans des bactéries, des éponges marines, des phéromones et venins d'insectes. Néanmoins, en dehors des règnes des plantes et des mycètes, les occurrences restent rares. Le tableau en **annexe A** résume les familles et genres dans lesquelles ont pu être caractérisés des dérivés d'isocoumarine jusqu'à présent.

En ce qui concerne les molécules trouvées, contrairement à l'équivalent coumarine, l'isocoumarine non-substituée n'est pas présente à l'état naturel [133]. La majorité des isocoumarines naturelles caractérisées possèdent un substituant en position 3. En revanche, la présence de substituants en position 4, 5 et 7 est plus rare [133]. Certains dérivés naturels présentent une structure avec un ou des cycles fusionnés avec la structure de base de l'isocoumarine ou ont été détectés sous forme de dimère.

Le rôle des isocoumarines dans la nature reste encore aujourd'hui mal connu, les études à ce sujet étant rares. Cependant, plusieurs observations intéressantes peuvent être faites sur leurs fonctions biologiques. Ainsi, beaucoup de dérivés d'isocoumarine sont synthétisés à des fins défensives vis-à-vis d'espèces nuisibles : l'oospolactone (**Figure 32**), qu'on retrouve chez un champignon lignivore (*Gloeophyllum sepiarium*) possède une activité antifongique contre de nombreuses moisissures [162]. D'autre part, les plants de carottes (*Daucus carota* subsp. *sativus* (Hoffm.) Schübl. & G.Martens) peuvent synthétiser une dihydroisocoumarine, la 6-méthoxymélléine, pour contrer l'infection du microchampignon *Chaetomium globosum* durant plusieurs jours [163]. De plus, beaucoup de dérivés biosynthétisés par les mycètes servent d'agents pathogènes pour infecter les plantes : par exemple, la diaporthine (**Figure 32**) est synthétisée par le champignon parasite *Endothia parasitica* qui est responsable du chancre, une maladie chez les espèces de la famille du châtaignier (*Castanea*) qui mène à leur dépérissement [164]. Enfin, puisque des dérivés d'isocoumarine ont pu être caractérisés dans des sécrétions défensives de certaines espèces d'insecte comme la fourmi ponérine australienne (*Rhytidoponera metallica*), il est probable que ces composés, à l'image de la mélléine, remplissent une fonction irritante contre les prédateurs de ces fourmis [150].

Chapitre 2 : présentation générale de la méthodologie de modification chimique d'extraits naturels avec utilisation d'un support solide

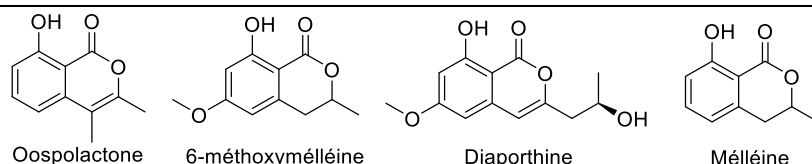


Figure 32 : exemples de dérivés d'isocoumarines caractérisés dans la nature

IV.D. Synthèse et applications des isocoumarines

Ces dernières décennies, la recherche autour de la synthèse de dérivés d'isocoumarine substitués et non-substitués a donné naissance à une grande variété de voies possibles. L'ensemble de celles données - de façon non exhaustive^c - dans ce qui suit montre les voies de synthèse les plus couramment décrites dans la littérature pour l'obtention d'isocoumarines.

IV.D.1. Synthèse avec utilisation d'un alcyne

IV.D.1.i. Couplage de Castro-Stephens et de Sonogashira

La plupart des méthodes de synthèse utilisées aujourd'hui se basent sur la réaction entre un dérivé d'acide benzoïque halogéné et un alcyne pouvant ensuite donner lieu, directement en cascade ou par une autre réaction, à une cyclisation conduisant à former la lactone caractéristique de l'isocoumarine. Le premier exemple historique de ce type de synthèse a été rapporté en 1963 et consiste en une réaction entre l'acide 2-iodobenzoïque et un acétylide cuivré [122,123]. La première partie de la réaction qui est un couplage entre ces deux réactifs (la deuxième étant une cyclisation) portera plus tard le nom de couplage de Castro-Stephens. Cependant, le résultat de cette réaction est le plus souvent la formation d'un alkyldène phthalide à l'exception du cas où l'alcyne est le *n*-propyne puisqu'alors, un mélange d'isocoumarine et de phthalide est obtenu (**Schéma 40**) [124]. L'affirmation de la pertinence de ce type de réaction pour la synthèse d'isocoumarine ne viendra qu'en 1980 lorsque Gunes Batu et Robert Stevenson montrent qu'avec un temps de réaction plus long et le remplacement de la pyridine par du DMF, la formation de l'isocoumarine (par rapport à celle du phthalide) peut être favorisée voire exclusive [166].

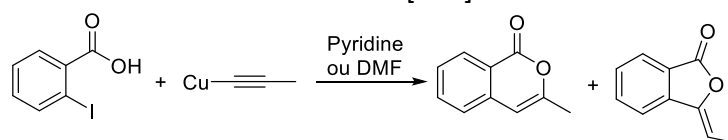


Schéma 40 : synthèse réalisée par Castro et Stephens [122,123]

La découverte du couplage de Sonogashira dans les années 1970, dans lequel le complexe cuivre-alcyne n'est plus formé préalablement à la réaction de couplage comme pour le couplage de Castro-Stephens mais *in situ*, a permis de populariser cette voie de synthèse. En 1986, l'équipe de Takao Sakamoto a synthétisé des isocoumarines en deux étapes avec d'abord un couplage de Sonogashira d'un 2-halogénobenzoate d'éthyle dans des conditions classiques puis une cyclisation du composé intermédiaire (**Schéma 41**) [167]. Finalement, la première synthèse d'isocoumarine pour laquelle les conditions permettent de faire en cascade le couplage de Sonogashira et la cyclisation fût réalisée par l'équipe de Weijin Tao et Richard Frank Heck en 1989 [168].

^c Pour avoir une vue d'ensemble plus large et exhaustive des possibilités actuelles de synthèse des isocoumarines, voir en premier lieu le livre [158] mais également les revues traitant de ces synthèses [151–156,165]

Chapitre 2 : présentation générale de la méthodologie de modification chimique d'extraits naturels avec utilisation d'un support solide

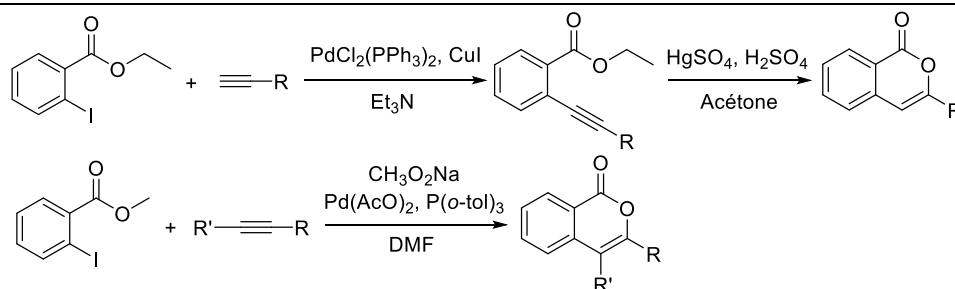


Schéma 41 : synthèses d'isocoumarines réalisées par Sakamoto (en haut) [167] et par Tao et Heck (en bas) [168].

IV.D.1.ii. Cyclisation électrophile d'un 2-alkynylbenzoate d'alkyle ou d'un acide 2-alkynylbenzoïque

Depuis le développement du couplage de Sonogashira, les méthodes de synthèse d'isocoumarines impliquant cette réaction sont aujourd'hui nombreuses, la variété des méthodes provenant des conditions de la cyclisation qui suit le couplage. Parmi celles-ci, l'une des plus pratiques est la cyclisation électrophile, qui peut elle-même se faire selon des conditions expérimentales diverse et variées. Le nombre de possibilités pour ce type de réaction de synthèse des isocoumarines est d'ailleurs tellement grande qu'elle a fait l'objet d'un article de revue les répertoriant [169]. Dans ce type de réaction (**Schéma 42**), l'électrophile forme un complexe avec les deux atomes de carbone de la triple liaison. Ensuite, l'atome d'oxygène du groupement carbonyle effectue une attaque nucléophile sur l'un des carbones activés qui mène à la formation du cycle lactone. La cyclisation est favorisée par l'élimination du groupement lié à l'ester ou de l'hydrogène de l'acide carboxylique avec l'aide du contre-ion de l'électrophile de départ.

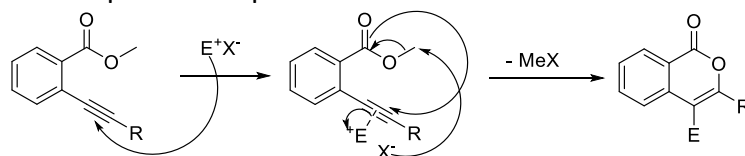


Schéma 42 : synthèse d'isocoumarine par couplage de Sonogashira et cyclisation électrophile

Du point de vue de la régiosélectivité de la cyclisation, dans l'absolu, celle-ci est possible sur les deux atomes de carbone de la triple liaison si on se base sur les règles de Baldwin qui détaillent les fermetures de cycles favorables et en déduisent une nomenclature permettant de les décrire [170]. Celle qui nous intéresse et qui mène à l'isocoumarine est appelée 6-*endo*-dig car elle permet de former un cycle à six chaînons par attaque sur un atome de carbone entraînant la cassure de l'une de ses liaisons qui se retrouve à l'intérieur du cycle nouvellement formé (d'où *endo*) et qui était une triple liaison au départ donc avec une géométrie linéaire, digonale (d'où *dig*). Dans l'autre cas possible, la cyclisation est dite 5-*exo*-dig et conduit à un 3-ylidène phthalide (**Figure 31**). La régiosélectivité de la cyclisation est définie par l'environnement des carbones de la triple liaison : le site le plus favorable à l'attaque nucléophile du carbonyle sera logiquement celui possédant les substituants les plus électroattracteurs. De plus, d'après certains articles sur le sujet, des considérations orbitales pourraient aussi entrer en ligne de compte [161] mais aucune étude approfondie n'a été menée.

La synthèse d'isocoumarines passant par une cyclisation électrophile est répertoriée pour la première fois en 1984 dans un article de Michael A. Oliver et Richard D. Gandour où la 4-bromo-3-phénylisocoumarine est synthétisée à partir du 2-(2-phényléthynyl)benzoate de méthyle par bromation avec du dibrome (**Schéma 43**) [161]. Puis par la suite, les possibilités de cyclisation électrophile se sont multipliées (diiodure, iodure d'hydrogène, chlorure d'iode, chlorure de 4-nitrophénylesulfényle, chlorure de phénylsélénényle, bromure/chlorure de

Chapitre 2 : présentation générale de la méthodologie de modification chimique d'extraits naturels avec utilisation d'un support solide

cuivre(II), APTS, trifluorométhanesulfanylamide), permettant de former une grande variété de dérivés d'isocoumarine seules ou conjointement avec des 3-ylidène phthalides [171–178], ce qui a contribué à réellement populariser cette voie de synthèse.

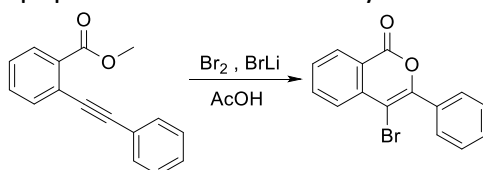


Schéma 43 : synthèses d'isocoumarines réalisées par Oliver et Gandour [161]

IV.D.1.iii. Autres moyens de cyclisation d'un 2-alkynylbenzoate d'alkyle ou d'un acide 2-alkynylbenzoïque

En dehors de la réaction de cyclisation électrophile, d'autres réactifs se sont montrés efficaces pour former la lactone de l'isocoumarine à partir de la cyclisation d'un acide 2-alkynylbenzoïque ou d'un 2-alkynylbenzoate d'alkyle. La plupart d'entre eux sont des catalyseurs métalliques. Par exemple, des complexes au palladium tel que PdCl₂(MeCN)₂ peuvent favoriser la cyclisation 6-*endo*-dig d'un acide 2-alkynylbenzoïque (**Schéma 44**) [179]. De plus, l'utilisation de certains complexes au palladium peut nous faire accéder à d'autres réactions de couplage : après cyclisation d'un 2-alkynylbenzoate de tertibutyle en présence de PdCl₂ et de dioxygène dans le DMSO, un intermédiaire ionique de type complexe organo-palladié en position 4 peut être utilisé pour ajouter en cascade, par un couplage de Mizoroki-Heck, un acrylate ou un styrène [180].

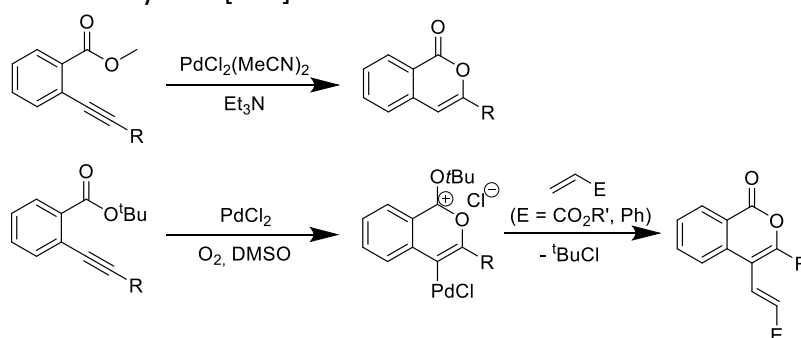


Schéma 44 : synthèses d'isocoumarines réalisées par Sashida (en haut) [179] et par le groupe de Zhao (en bas) [180]

En remplacement du palladium, l'argent peut également servir de catalyseur pour la cyclisation d'acide 2-alkynylbenzoïque mais l'isocoumarine est alors obtenue en mélange avec le 3-ylidène phthalide correspondant, et ce dernier est souvent le produit majoritaire en fonction de l'espèce catalytique et du solvant utilisés (**Schéma 45**) [181,182]. Des complexes à base d'or [183], de rhodium [184] ou des composés à base de mercure [167] constituent aussi des catalyseurs alternatifs pour cette cyclisation mais là encore, en fonction du composé de départ, les conditions opératoires doivent être optimisées pour s'assurer de la formation majoritaire de l'isocoumarine.

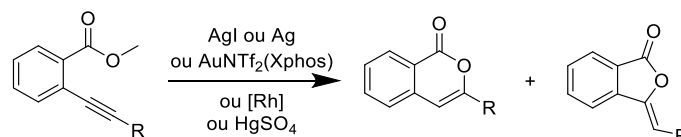


Schéma 45 : autres voies de synthèse possibles d'isocoumarines via une cyclisation électrophile [167,181–184]

En ce qui concerne des réactions de lactonisation sans utilisation de métaux, une simple réaction acido-basique avec un acide 2-alkynylbenzoïque est possible comme l'ont montré Uchiyama *et al.* (**Schéma 46**) [185], à condition que le composé de départ soit mis en présence d'un acide fort et que cette réaction se fasse à température ambiante. Au contraire, une

Chapitre 2 : présentation générale de la méthodologie de modification chimique d'extraits naturels avec utilisation d'un support solide

réaction de cyclisation impliquant une base faible et faite avec chauffage entraînera majoritairement la cyclisation 5-*exo*-dig.

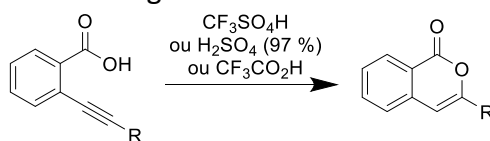


Schéma 46 : synthèse d'isocoumarine réalisée par le groupe de Uchiyama [185]

IV.D.1.iv. Réactions diverses impliquant un alcyne

Quelques exemples de synthèse d'isocoumarines n'impliquant ni une réaction de couplage ni une cyclisation d'un composé 2-alkynylbenzénique, mais utilisant tout de même un alcyne existent. Parmi celles-ci, on peut citer l'addition décarbonylative catalysée d'un alcyne disubstitué sur un anhydride phtalique (**Schéma 47**) [186,187]. Un avantage non négligeable de cette réaction catalytique est que si l'alcyne a deux substituants différents, une seule des deux isocoumarines possibles est formée régiospécifiquement.

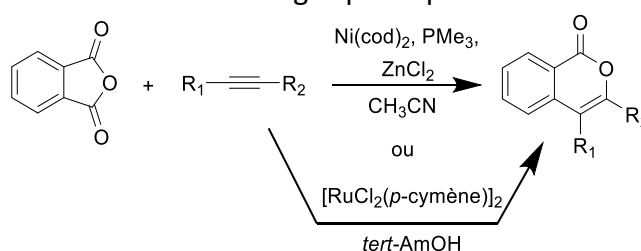


Schéma 47 : synthèses d'isocoumarines réalisées par les groupes de Kajita et Prakash [186,187]

D'autre part, plusieurs voies de synthèse d'isocoumarines par couplage oxydatif direct *via* une activation de liaison C-H ont été décrites à partir d'un alcyne disubstitué, de dérivés d'acide benzoïque ou de composés proches et d'un catalyseur au rhodium. Ce type de réaction est de plus en plus populaire pour la synthèse de composés hétérocycliques car des conditions douces peuvent suffire pour faire ces réactions sans prévoir de pré-fonctionnalisation des réactifs de départ et en limitant la formation des sous-produits [157]. Des isocoumarines 3,4-disubstituées sont ainsi générées avec de bons voire de très bons rendements (50 à 93 %) (**Schéma 48**) [188,189].

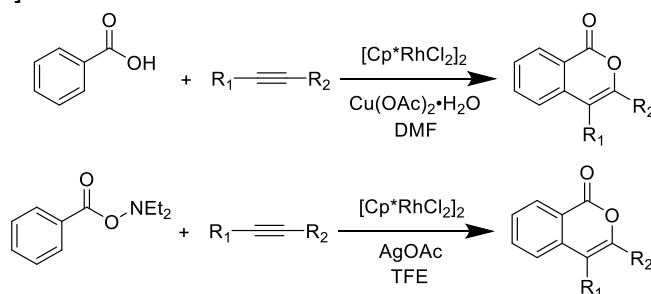


Schéma 48 : synthèses d'isocoumarines réalisées par le groupe de Ueura (en haut) [188] et par le groupe de Li (en bas) [189]

IV.D.2. Autres exemples de réactions

D'autres méthodes de synthèse d'isocoumarines ont pu être mises au point ces dernières années impliquant la formation d'un composé intermédiaire comprenant un allène. Parmi elles, on peut citer celle décrite par Cherry *et al.*, où ont lieu en tandem un couplage de Stille et une cyclisation du composé intermédiaire obtenu en présence d'un catalyseur au palladium (**Schéma 49**) [190].

Chapitre 2 : présentation générale de la méthodologie de modification chimique d'extraits naturels avec utilisation d'un support solide

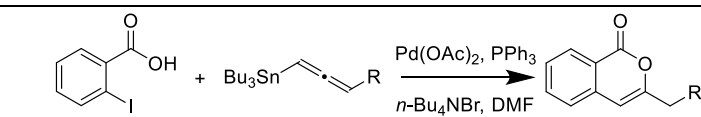


Schéma 49 : synthèse d'isocoumarine réalisée par le groupe de Cherry [190]

Il est aussi possible de former une 3-chloroisocoumarine à partir de 3-trichlorométhylphtalide, comme l'ont montré Roy et Sarkar, en ouvrant l'hétérocycle à 5 chaînons par usage d'acide acétique et de zinc puis en formant l'hétérocycle à 6 chaînons par réaction du composé intermédiaire avec de l'acétate de mercure(II) (**Schéma 50**) [191].

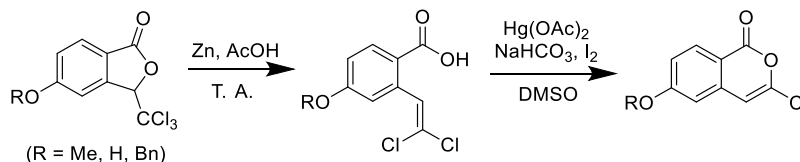


Schéma 50 : synthèse d'isocoumarine réalisée par Roy et Sarkar [191]

Suzuki *et al.* ont rapporté en 2005 la synthèse d'isocoumarines 3-substituées à partir d'un γ -cétoaldéhyde. Pour ce faire, le composé de départ est placé en milieu basique pour déplacer l'équilibre céto-énolique vers la formation de l'énol. La réaction de lactonisation oxydative peut alors être réalisée par utilisation d'un catalyseur à l'iridium accompagné de pivalaldéhyde pour sa régénération. La formation de l'isocoumarine comme produit majoritaire s'accompagne ici de celle du γ -cétoalcool correspondant (**Schéma 51**) [192].

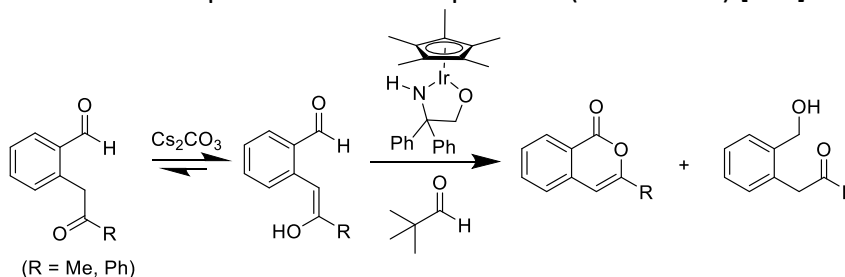


Schéma 51 : synthèse d'isocoumarine réalisée par le groupe de Suzuki [192]

Parmi les autres types de composés pouvant être utilisés pour la synthèse d'isocoumarines, les alcènes figurent aussi en bonne place. Une isocoumarine non substituée peut être obtenue en trois temps : après un couplage de Heck en présence d'acétate de palladium, on effectue une acétalisation sur l'un des atomes de carbone de l'alcène avec du propylène glycol en présence de chlorure de palladium, puis un traitement par l'acide chlorhydrique donne l'isocoumarine attendue (**Schéma 52**) [193].

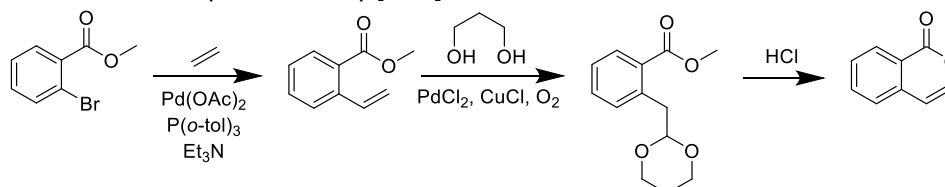


Schéma 52 : synthèse d'isocoumarine réalisée par le groupe de Izumi [193]

Enfin, plusieurs voies de synthèse utilisant les 1,3-dicétones ont pu être découvertes dont celle rapportée en 2012 par Kavala *et al.* dans laquelle le substrat de départ est cette fois-ci est le 2-iodo-N-phénylbenzamide (**Schéma 53**) [194].

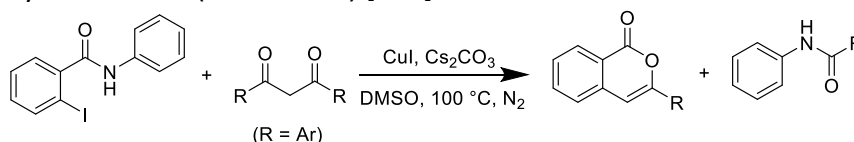


Schéma 53 : synthèse d'isocoumarine réalisée par le groupe de Kavala [194]

Chapitre 2 : présentation générale de la méthodologie de modification chimique d'extraits naturels avec utilisation d'un support solide

IV.D.3. Propriétés biologiques des isocoumarines

Malgré le fait que le nombre de composés appartenant à la famille des isocoumarines reste encore aujourd'hui réduit par rapport à d'autres familles de biocomposés oxygénés, les isocoumarines ont su dévoiler au gré des études une large palette d'effets biologiques.

Dans de très rares cas, l'activité biologique de ces composés s'est avérée être néfaste pour l'homme. Parmi ces exemples, on peut évoquer le cas de l'oosponol (**Figure 33**), produit par des champignons comme *Oospora astringenes* et *Gloeophyllum striatum* [150,195]. Si ce composé peut inhiber la β -dopamine hydroxylase, impliquée dans plusieurs troubles de santé comme l'alcoolisme [196], le tabagisme [197] ou la maladie d'Alzheimer [198], et être aussi efficace contre les bactéries potentiellement pathogènes comme *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* [199], il est également allergène après plusieurs contacts successifs [200]. On peut également citer comme autre exemple celui de plusieurs 3-alkoxy-4-chloroisocoumarines qui ont la capacité d'inhiber la palmitoyl-protéine thioestérase 1 chez le parasite *Toxoplasma gondii*, favorisant ainsi son invasion des cellules humaines et, par conséquent, la survenue de la toxoplasmose [201].

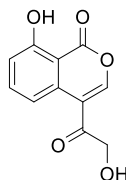


Figure 33 : structure de l'oosponol

Mais le plus souvent, les activités biologiques des dérivés d'isocoumarine sont bénéfiques à bien des égards pour l'homme et peuvent, par conséquent, donner lieu à des applications à visées thérapeutiques. Parmi les effets intéressants de ces isocoumarines pour le domaine pharmaceutique (**Figure 34**), on peut trouver entre autres :

- des activités antibiotiques comme dans le cas de la gymnopalyne A, extraite d'un champignon du genre *Gymnopus*. Ce dérivé, qui constitue un des seuls exemples naturels halogénés et présentant une chaîne acétylénique, a notamment montré une activité inhibitrice contre des bactéries des genres *Pseudomonas* et *Nocardia* [202] ;
- des propriétés antifongiques avec par exemple la 3-bromoisocoumarine et la 3-(1H-tétrazol-1-yl)isocoumarine, synthétisées par Simic *et al.* en partant d'anhydride homophtalique. Ces deux dérivées peuvent inhiber plusieurs levures du genre *Candida* [203] ;
- des actions antiallergiques avec les thunberginols A et B. Ces deux composés sont obtenus à partir de feuilles d'*Hydrangeae Dulcis Folium*. Yoshikawa *et al.* ont étudié notamment l'effet de ces deux composés sur la contraction trachéenne du cochon d'Inde induite par un antigène ou par l'histamine. Dans le cas de réactions provoquées par un antigène, les thunberginols A et B peuvent totalement inhiber les contractions à partir de concentrations de l'ordre du nanomolaire [204] ;
- des activités cytotoxiques avec encore une fois les thunberginols A et B ainsi que le thunberginol A triméthyl éther pour lesquelles une activité contre la lignée de cellules M1 impliquée dans la leucémie myéloïde chez la souris a été observée [205] ;
- des propriétés anti-inflammatoires avec le polygonolide qui peut être extrait de la renouée poivre d'eau (*Polygonum hydropiper* (L.) Spach) et qui inhibe chez le rat la réaction inflammatoire cutanée provoquée par l'injection intradermale d'un sérum provenant d'un autre animal et l'injection intraveineuse d'antigènes [206] ;
- des activités anti-neurodégénératives puisqu'une famille de 3-alkoxy-4-chloroisocoumarines et de 3-alkoxy-7-alkylamino-4-chloroisocoumarines a prouvé sa

Chapitre 2 : présentation générale de la méthodologie de modification chimique d'extraits naturels avec utilisation d'un support solide

- capacité à inhiber, chez la lignée de cellules humaines HEK293, la production de peptides amyloïdes β , en particulier pour les composés JLK-2 et JLK-6 [207,208] ;
- des caractères antiprotozoaires comme avec la 3-(4-fluorophényl)isocoumarine qui, parmi une gamme d'isocoumarines 3-substituées synthétisées par Khan *et al.*, présente l'activité la plus forte contre le parasite *Leishmania major* [209] ;
 - des fonctions protectrices des poumons avec une famille de 3-alkoxy-7-amino-4-chloroisocoumarines et de 7-alkylamino-4-chloro-3-propoxyisocoumarines synthétisées par Kerrigan *et al.* et qui ont la capacité d'inhiber la leucocyte élastase humaine [210,211] ;
 - des effets vasoprotecteurs comme pour une famille de 3-alkoxyisocoumarines synthétisées par Heynekamp *et al.* pour lesquelles a été testée la capacité à inhiber la cholestérol estérase pancréatique. Parmi eux, la 4-chloro-3-(4-cyclohexylbutoxy)isocoumarine a donné les résultats les plus probants [212] ;
 - des propriétés antalgiques avec par exemple plusieurs séries de 4-alkyl-3-carbonylisocoumarines obtenues par Poonam Yadav et Nalini V. Purohit. Parmi eux, la 4-éthyl-3-(morpholine-4-carbonyl)isocoumarine, la 3-(3,5-diméthyl-1H-pyrazole-1-carbonyl)-4-méthylisocoumarine et la 4-méthylisocoumarine-3-acide carboxylique(3'-phénylallylidène)-hydrazide ont donné les meilleurs résultats lors de tests de résistance à la douleur chez la souris [213,214].

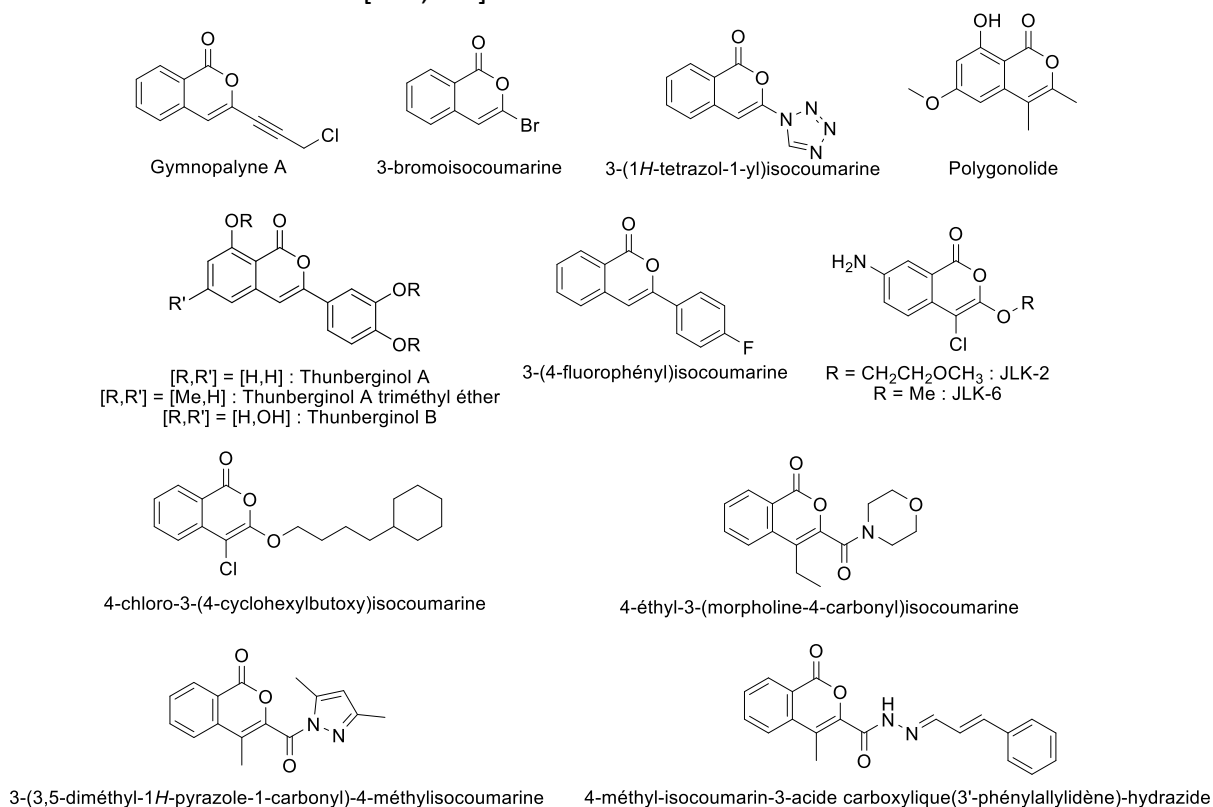
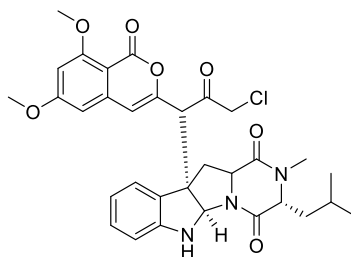


Figure 34 : quelques exemples de dérivés d'isocoumarine biologiquement actifs

L'activité biologique d'une isocoumarine peut être améliorée suivant la présence sur la structure de certains groupements importants : Shabir *et al.*, qui ont répertoriées au sein d'une revue l'ensemble des isocoumarines naturelles bioactives isolées entre 2017 et 2020, affirment dans leur étude que l'élément structural pouvant avoir le plus d'influence sur l'activité du composé est la présence en position 8 d'un groupement hydroxyle libre, qui permettrait notamment d'améliorer l'activité antitumorale, ou d'un glycone dans une moindre mesure. Les autres substituants ou caractéristiques d'isocoumarine pouvant faire varier la force d'une activité biologique (quel qu'elle soit et contre n'importe quel cible) sont ensuite, par ordre d'importance décroissante [135] :

Chapitre 2 : présentation générale de la méthodologie de modification chimique d'extraits naturels avec utilisation d'un support solide

- une chaîne carbonée en position 3 de longueur comprise entre 1 et 5 atomes de carbone ;
- la présence sur cette même chaîne d'une ou deux insaturations ;
- un cycle aromatique en position 3 qui est non substitué ou substitué par un groupement hydroxyle ;
- une chaîne peptidique en position 3 ayant des groupements azotés sur ses chaînes latérales ;
- un halogène à n'importe quelle position.
- la constitution du composé sous forme d'un dimère ou d'un hybride (où l'isocoumarine est en association avec un autre pharmacophore comme dans le cas de l'isocoumarindole (**Figure 35**)).



Isocoumarindole

Figure 35 : structure de l'isocoumarindole

V. Les 1,2,3-triazoles

Un triazole est un hétérocycle aromatique à cinq chaînons contenant trois atomes d'azote et deux doubles liaisons. Les triazoles existent en deux séries d'isomères où les atomes d'azote peuvent être disposés dans des positions différentes donnant leur numérotation : les 1,2,3-triazoles et les 1,2,4-triazoles (**Figure 36**). Les triazoles, quel que soit l'isomère considéré, ne font pas partie des composés d'origine naturelle. Cependant, les améliorations intervenues dans la synthèse des 1,2,3-triazoles et notamment la cycloaddition par chimie « clic » ont provoqué une explosion de leur popularité dans le domaine de la synthèse organique depuis une vingtaine d'années.

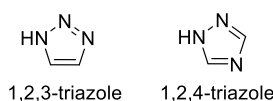


Figure 36 : structures d'un 1,2,3-triazole et d'un 1,2,4-triazole

De même, en nombre de molécules synthétisés, alors que 1400 composés différents de ce type ont été comptabilisés en 1948 [215], une interrogation dans la base de données de Scifinder permet de dénombrer près de 367000 dérivés hydrogénés ou non-hydrogénés de 1,2,3-triazole synthétisés au 31 juillet 2022. En conséquence de cette montée en popularité, les 1,2,3-triazoles sont également devenus un pharmacophore intéressant à bien des égards pour l'industrie pharmaceutique.

V.A. Historique

Avec le recul qu'on peut avoir aujourd'hui concernant les travaux effectués au XIX^e siècle, on peut dire que la première synthèse d'un triazole qui a pu être réalisée est survenue en 1860 avec des travaux menés par le russe Nikolai Zinine (**Schéma 54**) [216]. Cependant, à une époque où les connaissances en matière de chimie moléculaire étaient balbutiantes et celles en chimie atomique parfois erronées, Zinine n'a pas pu établir la formation du dérivé de triazole [215]. Ce n'est qu'en 1899 qu'il a été montré que le produit obtenu par Zinine était du 1-oxyde de 2-phénylbenzotriazole, par un article de Alfred Werner et Edmund Stiasny (**Schéma 54**) [217].

Chapitre 2 : présentation générale de la méthodologie de modification chimique d'extraits naturels avec utilisation d'un support solide

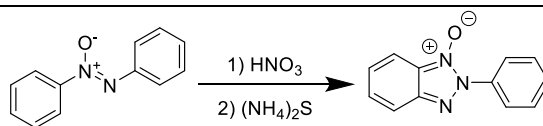


Schéma 54 : synthèse du 1-oxyde de 2-phénylbenzotriazole réalisée par Zinine en 1860 [216]

Il faut attendre 1876 pour voir apparaître la première mention de la structure du 1,2,3-triazole, grâce au travail de l'allemand Albert Ladenburg (**Schéma 55**) [218] même si initialement, la structure obtenue a été attribuée à un cycle 1,2-diazole et une fonction amine.

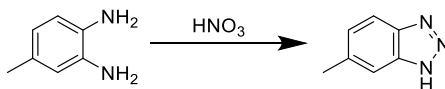


Schéma 55 : synthèse d'un benzotriazole réalisée par Ladenburg en 1876 [218]

Cependant, à ce stade, toutes les tentatives de synthèse de 1,2,3-triazole sont en fait celles de dérivés de benzotriazole. La première synthèse d'un 1,2,3-triazole non fusionné n'aura lieu qu'en 1888 avec Hans von Pechmann (**Schéma 56**) [219]. Mais celui-ci n'en porte pas encore le nom puisque von Pechmann donnera à ce cycle le nom de triazone qu'il révisera dès 1891 pour parler de triazole [220] en s'alignant sur une dénomination donnée en 1886 par le suédois Johan Adolf Bladin pour les 1,2,4-triazoles [221].

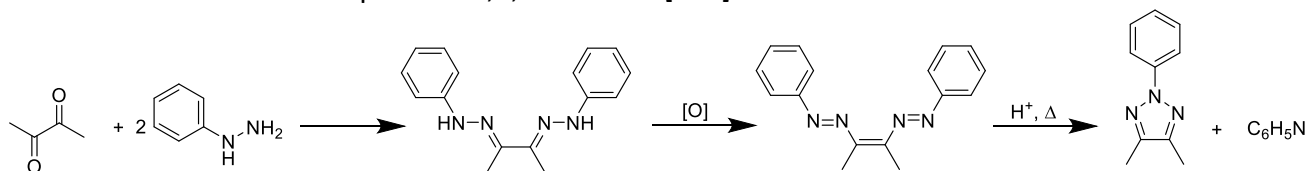


Schéma 56 : synthèse du 4,5-diméthyl-2-phényl-1,2,3(2H)triazole à partir de diméthylphénylosazone avec oxydation réalisée par von Pechmann en 1888 [219]

En 1893, le premier article relatant la synthèse de dérivés de 1,2,3-triazole selon un procédé précurseur de la cycloaddition de Huisgen puis de la chimie « clic » a été publié par l'américain Arthur Michael (**Schéma 57**) [222]. Plus tard, en 1910, les allemands Otto Dimroth et Karl Pfister parviendront de la même manière à la synthèse de 1,2,3-triazoles plus simples par réaction de l'azoture d'hydrogène ou de l'azoture de phényle sur de l'acétylène (**Schéma 58**) [223].

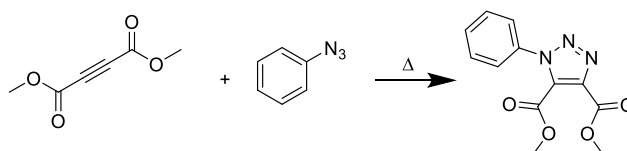


Schéma 57 : synthèse d'un 1,2,3-triazole réalisée par Michael en 1893 [222]

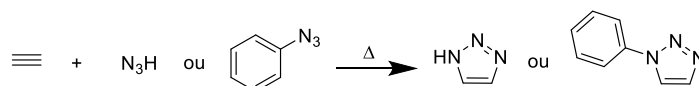


Schéma 58 : synthèse de deux 1,2,3-triazoles réalisée par Dimroth et Pfister en 1910 [223]

Au sortir de la deuxième guerre mondiale, les triazoles, à la popularité jusqu'alors discrète, connaissent un premier intérêt croissant de la part de la communauté chimique en raison de propriétés intéressantes de certains d'entre eux pour l'industrie photographique (**Figure 37**) [215,224]. Les applications dans le domaine agroalimentaire prennent aussi de l'importance, en particulier pour les 1,2,4-triazoles qui présentent souvent de bonnes propriétés herbicides et fongicides [224,225]. Une autre raison de cette popularisation est l'émergence de la cycloaddition 1,3-dipolaire ou cycloaddition de Huisgen, du nom de l'allemand Rolf Huisgen (**Figure 38**) qui en a largement expliqué le mécanisme ainsi que les applications possibles en

Chapitre 2 : présentation générale de la méthodologie de modification chimique d'extraits naturels avec utilisation d'un support solide

synthèse à partir du début des années 1960 [226–228]. Dès lors, cette dernière réaction devient la voie de synthèse la plus utilisée [229].

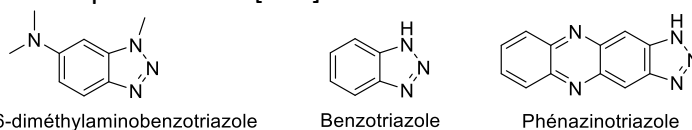


Figure 37 : structures du 1-méthyl-6-diméthylaminobenzotriazole, du benzotriazole et du phénazinotriazole



Figure 38 : portrait de Huisgen

Mais malgré cette hausse de popularité, la variété des applications pharmaceutiques possibles des 1,2,3-triazoles mettra du temps à être connue : certes, dès une revue de 1948, des propriétés analgésiques, antipyrétiques ou bactériostatiques ont été répertoriées pour quelques dérivés [215], mais il a tout de même fallu attendre les années 1980 pour avoir une première véritable vue d'ensemble des propriétés biologiques des 1,2,3-triazoles [215,230]. A cette époque, en revanche, cette famille de composés est déjà bien connue comme précurseur pour la synthèse d'autres hétérocycles plus réputés dans le secteur pharmaceutique [229,230].

Cependant et enfin, c'est bel et bien la cycloaddition catalysée ayant donné naissance au concept de chimie « clic » qui, par les améliorations qu'elle représente en comparaison avec la cycloaddition de Huisgen (améliorations discutées plus bas), a entraîné une accélération encore plus importante des recherches sur les 1,2,3-triazoles, à tel point qu'aujourd'hui, cette famille de composés constitue les plus étudiés des azoles, qui sont eux-mêmes considérés comme les hétérocycles les plus prometteurs pour le domaine médical [231]. Pour s'en convaincre, on peut observer le nombre d'articles scientifiques et de brevets traitant d'au moins un composé comportant un cycle 1,2,3-triazole depuis 1901 (bien que des articles de ce genre existent avant 1901) : avec l'émergence de la chimie « clic » à partir du début des années 2000, la hausse du nombre d'articles est considérable, jusqu'à atteindre un palier ces dernières années (**Figure 39**).

Chapitre 2 : présentation générale de la méthodologie de modification chimique d'extraits naturels avec utilisation d'un support solide

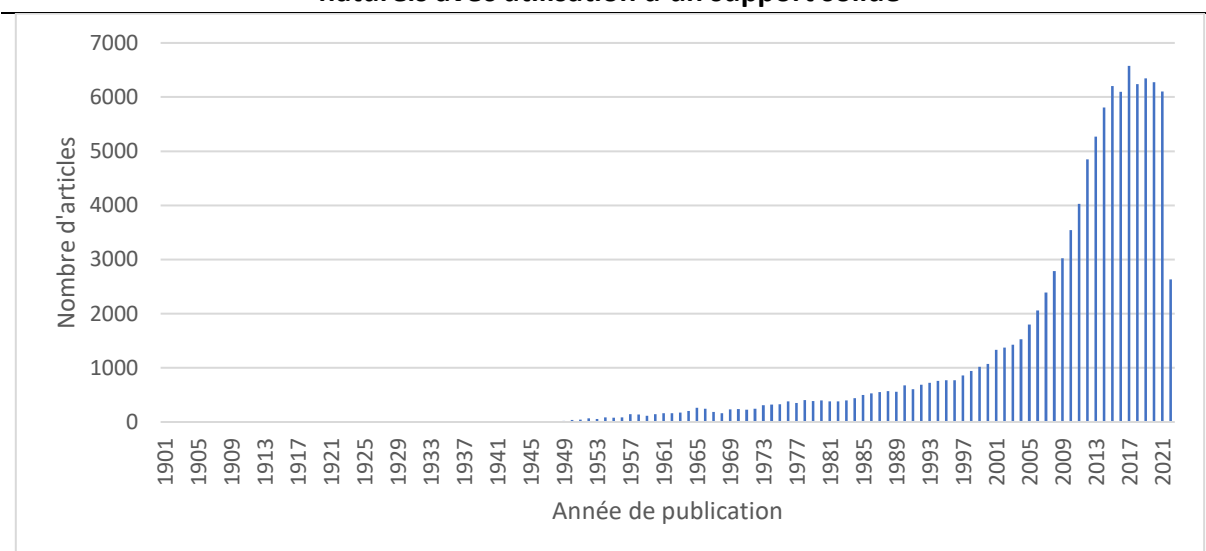


Figure 39 : histogramme du nombre d'articles citant au moins un exemple de 1,2,3-triazole selon Scifinder au 31 juillet 2022 en fonction de l'année de publication de l'article

V.B. Caractéristiques des 1,2,3-triazoles

Les 1,2,3-triazoles, parfois nommés ν -triazole (avec ν pour « vicinal »), peuvent exister sous deux formes tautomériques suivant la position de l'atome d'azote non pris dans une double liaison du cycle et pouvant par conséquent se lier à un atome d'hydrogène ou à un substituant : $1H$ ou $2H$ -1,2,3-triazole (**Figure 40**).

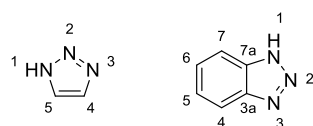
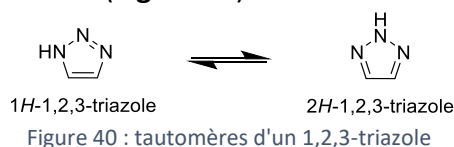


Figure 41 : numérotation d'un 1,2,3-triazole et d'un benzotriazole

Les 1,2,3-triazoles sont des composés particulièrement stables, pouvant résister à une hydrolyse aussi bien en conditions acides que basiques, à des réactions d'oxydo-réduction douces ou plus dures et aux dégradations métaboliques [231,232]. Par contre, la stabilité de cet hétérocycle est affectée lorsqu'il est lié à un groupe électroattracteur [231]. Les 1,2,3-triazoles présentent un aspect aromatique ainsi qu'un moment dipolaire important (entre 5,2 D et 5,6 D suivant le dérivé étudié), ce qui les rend propices à la formation de liaisons de type « π -stacking » et hydrogène [232]. Enfin, au niveau des propriétés acido-basiques, lorsque l'atome d'hydrogène lié à un azote n'est pas substitué, les 1,2,3-triazoles sont des espèces amphotères avec des valeurs de pK_a sur les sites acides (de 2,53 à 9,4) et basiques (de 2,27 à des valeurs pouvant être inférieures à 1) [230] qui les classent parmi les acides faibles et les bases faibles et qui sont tels que ces composés ne sont pas protonés et seulement parfois déprotonés à pH physiologique [232].

Sur le plan des caractéristiques analytiques, celles effectuées en RMN peuvent être particulièrement utiles pour différencier la position des substituants et/ou le(s) tautomère(s) présent(s) dans le milieu. Pour différencier les tautomères d'un 1,2,3-triazole qui n'est substitué que sur l'atome d'azote non-porteur d'une insaturation, un spectre du proton est suffisant : le tautomère $2H$ étant symétrique, les deux protons portés par des atomes de

Chapitre 2 : présentation générale de la méthodologie de modification chimique d'extraits naturels avec utilisation d'un support solide

carbone donnent un unique signal, au contraire du tautomère 1H où chacun de ces protons aura son propre signal.

V.C. Synthèse et applications des 1,2,3-triazoles

V.C.1. Synthèse avec utilisation d'un azoture

V.C.1.i. Cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen entre un azoture et un alcyne

Aujourd'hui, la méthode de synthèse des 1,2,3-triazoles qui est de loin la plus utilisée est la cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen. Pour ce faire, il faut d'un côté un azoture, dipôle à trois atomes possédant deux charges et un système de 4 électrons π et de l'autre une molécule ayant un système de 2 électrons π , le dipolarophile qui est ici un alcyne [233,234]. Le mécanisme de cette réaction, qui a été discuté après les travaux de Huisgen mais qui est aujourd'hui largement accepté par la communauté scientifique, présente des similitudes avec celui de la réaction de Diels-Alder puisqu'il s'agit d'un mécanisme concerté : l'attaque du dipôle sur l'alcyne entraîne la rupture de l'une de ses liaisons π , ce qui provoque à son tour une attaque sur l'autre extrémité du dipôle (**Schéma 59**) [233,234].

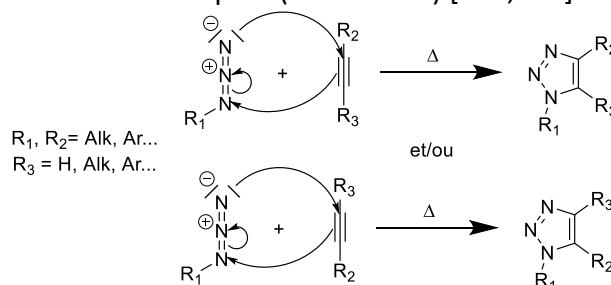


Schéma 59 : mécanismes possibles pour la cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen entre un azoture et un alcyne terminal

D'un point de vue orbitalaire, le type d'interaction générant la cycloaddition dépend du type d'alcyne que l'on utilise : si cet alcyne est lié à un groupe donneur d'électrons, ce sera la plus basse orbitale moléculaire inoccupée (LUMO) de ce dipolarophile qui fera l'interaction avec la plus haute orbitale moléculaire occupée (HOMO) de l'azoture. A l'inverse, avec un alcyne portant un groupe accepteur d'électrons, la cycloaddition aura lieu par interaction entre la HOMO de l'alcyne et la LUMO du dipôle [233,235,236].

Cette réaction présente comme avantage indéniable celui de pouvoir former des 1,2,3-triazoles avec une grande variété de substituants sans que ces derniers ne soient affectés par la réaction [229]. De plus, comme on peut le voir d'après son mécanisme, cette réaction est optimale concernant l'économie d'atome et nécessite des conditions réactionnelles simples qui se limitent à un chauffage dans le cas présent. Enfin, le plus souvent, cette réaction est peu influencée par la polarité du solvant, ce qui la rend compatible avec l'ensemble des solvants courants de synthèse [233].

Malgré tout, bien que cette réaction a grandement contribué à populariser la synthèse des 1,2,3-triazoles, la version non catalysée de la cycloaddition 1,3-dipolaire a d'indéniables inconvénients limitant son champ d'application : avant tout, cette réaction n'est pas régiospécifique puisqu'elle génère un mélange des régioisomères 1,4 et 1,5-disubstitués si on utilise un alcyne non terminal et non symétrique [209,229,233,235–237]. Cependant, par l'emploi d'alcyne avec un substituant encombré, le régioisomère 1,4-disubstitué peut tout de même être favorisé [229,233]. De plus, les températures nécessaires à la bonne survenue de la cycloaddition peuvent monter à une centaine de degrés voire au-delà, ce qui peut générer des dégradations du côté des azotures les plus fragiles et, suivant le type de substituant employé sur ce même azoture, un réarrangement de ces substituants suivie de la formation d'un 2H-1,2,3-triazole pas forcément désiré au lieu du tautomère 1H [229,234,237]. Un

Chapitre 2 : présentation générale de la méthodologie de modification chimique d'extraits naturels avec utilisation d'un support solide

dernier désavantage qu'on peut citer est le manque d'efficacité dont souffre ce type de réaction dans sa mise en œuvre, une cycloaddition 1,3-dipolaire pouvant parfois prendre plusieurs jours.

V.C.1.ii. Cycloaddition catalysée entre un azoture et un alcyne (chimie « clic »)

V.C.1.ii.a. Cycloaddition catalysée par le cuivre (CuAAC)

Une première version catalysée de la cycloaddition entre un azoture et un alcyne a fait son apparition en 2002 par la publication indépendante et concomitante de deux articles relatant la synthèse de 1,2,3-triazoles catalysée par le cuivre (« Copper Azide-Alkyne Cycloaddition » en anglais ou CuAAC) (**Schéma 60**) [238,239].

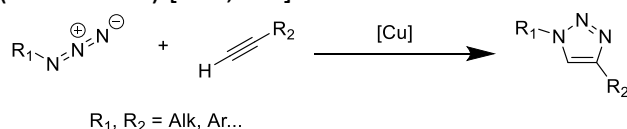


Schéma 60 : principe de la synthèse de 1,2,3-triazoles 1,4-disubstitués par CuAAC

L'émergence de cette technique fût non seulement une avancée des plus significatives pour la synthèse des 1,2,3-triazoles mais aussi pour la chimie organique en général : en effet, la CuAAC a été le point de départ de la popularisation de la notion de chimie dite « clic », théorisée par Sharpless à la même période. Ce dernier a défini la chimie « clic » comme un ensemble de réactions compatibles avec l'utilisation de produits naturels, permettant d'assembler entre eux par le biais de liaisons impliquant un hétéroatome des entités moléculaires de petite taille, de sorte à former des composés utiles de manière rapide, efficace et reproductible et ce, que ce soit sur de petites ou de grandes échelles de quantités de matière [240]. Une liste de critères a été établie pour déterminer si une réaction peut être considérée comme relevant de la chimie « clic » [241] :

- une enthalpie libre de réaction supérieure à 50 kJ/mol ;
- un groupement fonctionnel formé par cette réaction qui soit insensible à toutes les autres conditions réactionnelles et qui peut permettre à son tour la synthèse d'autres structures moléculaires ou la génération de nouvelles propriétés qui ne sont pas accessibles en temps normal ;
- une insensibilité aux conditions de la réaction de tous les groupements fonctionnels autres que ceux impliqués dans ladite réaction ;
- une formation du groupement fonctionnel visé qui ne soit pas entravée par une architecture moléculaire particulière de l'un des réactifs ;
- une réaction sélective, propre et orthogonale à température ambiante ainsi que favorisée par la formation de complexes de coordination, régio-/stéréosélective et indépendante des conditions environnementales telles que la présence d'eau ou de dioxygène ambiant.

Dans une moindre mesure, d'autres critères peuvent permettre de faire entrer une réaction dans la catégorie de celles de la chimie « clic » comme un rendement aisément élevé, la formation de sous-produits inoffensifs, l'aspect modulaire de la réaction et sa largesse d'application, la simplicité du traitement et de l'isolement des produits (si possible sans usage de techniques de chromatographie) et son faible coût financier. Et bien que la CuAAC ne satisfasse pas à tous ces critères, elle en remplit la majorité. En effet, on peut par exemple affirmer au sujet de cette réaction en rapport avec certains de ces critères que [241,242] :

- l'enthalpie libre de cette réaction a été établie à 52 kcal/mol soit 218 kJ/mol ;
- en dehors de la CuAAC, aussi bien un alcyne qu'un azoture restent stables à l'issue de la plupart des réactions organiques ;

Chapitre 2 : présentation générale de la méthodologie de modification chimique d'extraits naturels avec utilisation d'un support solide

- bien que, dans son état d'oxydation +I, le cuivre peut se coordonner avec un bon nombre de groupements fonctionnels, il n'entraîne pas par lui-même de conversion ou de transformation définitive ;
- cette réaction est bel et bien régiospécifique et orthogonale à bon nombre d'autres réactions classiques ;
- cette réaction se montre économique, notamment par rapport à la consommation de catalyseur car suivant les ligands présents sur le catalyseur au cuivre, la cycloaddition est effectivement accélérée pour une quantité de catalyseur pouvant descendre jusqu'à 0,0001 % molaire.

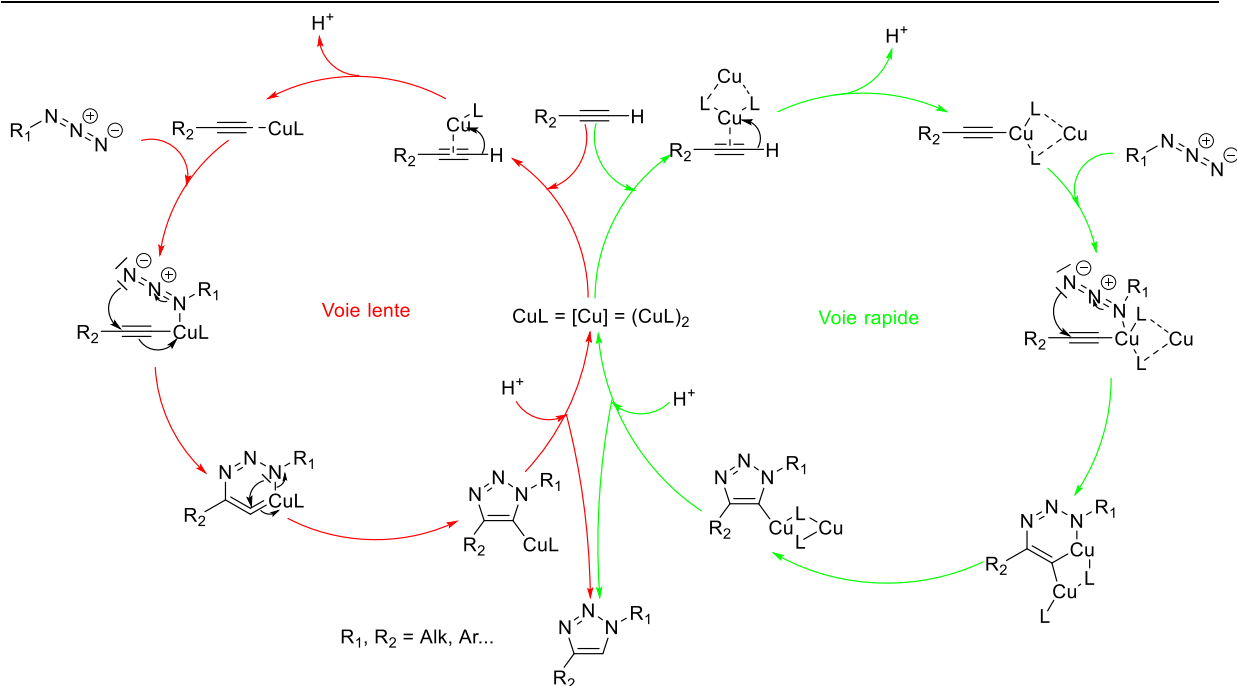
En revanche, comme nous le verrons plus bas, quelques critiques peuvent être émises sur la sensibilité à l'oxygène et la stabilité de certains groupements fonctionnels vis-à-vis d'autres réactifs courants de la CuAAC, en fonction du type de catalyseur cuivré utilisé.

La mise au point de la CuAAC a constitué une immense amélioration de la cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen sur plusieurs points majeurs :

- la CuAAC est une réaction environ 10^7 fois plus rapide que la version non-catalysée de la cycloaddition et ce, même sans ligand auxiliaire sur le composé cuivré et à température ambiante. Ce taux d'accélération peut encore être amélioré lorsque la réaction est effectuée sous micro-onde ou avec chauffage [242] ;
- le chauffage n'est plus une condition indispensable pour arriver à la formation des 1,2,3-triazoles [242] ;
- enfin, le principal avantage concernant la régioisométrie des 1,2,3-triazoles formés par cette voie de synthèse est que seul le triazole 1,4-disubstitué est obtenu (**Schéma 60**).

Du point de vue mécanistique, la description précise de la CuAAC a donné lieu à la confrontation de plusieurs hypothèses qui sont toujours en discussion aujourd'hui. Cependant, les études cinétiques et quantiques concernant cette réaction ont permis de mettre en avant deux mécanismes possibles qui sont les plus largement acceptés de nos jours [243]. L'un est un mécanisme lent n'impliquant qu'un seul atome de cuivre quand l'autre, plus rapide, se produit *via* un double complexe à deux atomes de cuivre (**Schéma 61**). Dans les deux cas, la première étape est la complexation du catalyseur au cuivre(I) avec la triple liaison de l'alcyne, ce qui a pour effet de rendre le proton terminal de cet alcyne bien plus labile, avec une baisse du pK_a de l'ordre de 10. A la place de ce proton s'additionne le complexe qui gagne alors un degré d'oxydation. Intervient ensuite l'azoture qui est activé par coordination de l'atome d'azote substitué avec le seul atome de cuivre du complexe (dans le cas du mécanisme lent) ou avec celui possédant le ligand également coordonné avec l'autre atome de cuivre (dans le cas du mécanisme rapide). La deuxième liaison C-N, avec une barrière énergétique d'activation aussi beaucoup plus basse que pour la première, est plus facilement formée, ce qui conduit à la contraction du métallacycle et à la formation effective du triazole. Il ne reste plus qu'une dernière étape d'élimination réductrice pour avoir le composé recherché et le catalyseur régénéré par protonation du cuprate de triazole. Le cycle catalytique favorisé lors de la formation du triazole semble beaucoup dépendre du type de ligand impliqué dans le complexe : ainsi, si le mécanisme rapide avec deux centres cuivrés est présent dans la plupart des exemples de CuAAC, il existe un équilibre entre ce mécanisme et celui lent à un seul centre cuivré lorsque le catalyseur comprend un ligand multidentate [244].

Chapitre 2 : présentation générale de la méthodologie de modification chimique d'extraits naturels avec utilisation d'un support solide



Une spécificité de la CuAAC vient de la variété des composés cuivrés qui peuvent être utilisés comme catalyseur, qui présentent tous des préférences d'application selon les avantages et les inconvénients qu'ils induisent :

- On peut utiliser une source directe de cuivre au degré d'oxydation +I comme CuI, CuBr ou encore CuOAc. Comme avec ces catalyseurs, le cuivre est déjà dans l'état d'oxydation permettant la réaction catalysée, il n'est pas nécessaire d'utiliser d'agent oxydo-réducteur. Cependant, ce type de catalyseur requiert l'emploi d'une base aminée ou un chauffage du milieu réactionnel pour permettre la formation du cuprate d'alcyne. De plus, la mauvaise solubilité de CuI et CuBr en milieu aqueux limite l'usage de cette voie à des milieux organiques assez polaires comme l'acétonitrile, le THF, l'acétone ou encore le DMSO. Et, comme dans le cas des conditions classiques du couplage du Sonogashira, le solvant choisi doit être préalablement dégazé sous peine d'avoir des réactions parasites à la cycloaddition générées par la présence d'oxygène dans le milieu, au premier rang desquelles le couplage de Glaser.
- On peut aussi prendre un catalyseur au cuivre de degré d'oxydation +II, dont le plus classique est CuSO₄. Dans ces conditions, pour former l'espèce cuivrée active de degré d'oxydation +I, il est impératif d'utiliser dans le même temps un agent réducteur qui est généralement l'ascorbate de sodium. De cette manière, le composé cuivré formé réagit immédiatement avec l'alcyne pour former le cuprate, ce qui rend le milieu réactionnel moins sensible aux réactions parasites générées par l'oxygène. De plus, cette voie de synthèse peut être réalisée en milieu aqueux, en association avec un alcool. En plus de rendre ces conditions intéressantes pour les applications sur des biomolécules, elles peuvent faciliter l'isolement des composés formés et l'obtention de hauts rendements [242]. En revanche, la présence d'un réducteur dans le milieu réactionnel peut provoquer des dégradations sur la structure de l'un ou de tous les réactifs, ce qui nous impose d'être attentifs aux types de composés sur lesquels on cherche à effectuer la cycloaddition.
- Enfin, si l'usage de composés cuivrés oxydés posent des problèmes ou des contraintes dans ce qu'on veut faire, on peut utiliser du cuivre à l'état élémentaire, sous forme de copeaux ou de nanoparticules, conjointement avec un agent oxydant comme le sulfate de cuivre

Chapitre 2 : présentation générale de la méthodologie de modification chimique d'extraits naturels avec utilisation d'un support solide

pour pouvoir former l'espèce active au degré d'oxydation +I nécessaire à la réaction. Ces conditions présentent l'avantage indéniable de faciliter l'isolement des produits vis-à-vis du cuivre. Cependant, cette voie de synthèse n'est souvent pas la plus efficace puisqu'elle peut nécessiter des temps de réaction plus longs par rapport aux deux précédentes.

V.C.1.ii.b. Autres exemples de cycloaddition catalysée

Parmi les autres voies de cycloaddition catalysée qui ne sont pas étudiées en pratique durant cette thèse, la plus populaire est celle catalysée au ruthénium (« Ruthenium azide-alkyne cycloaddition » en anglais ou RuAAC). Avec un catalyseur encombré comme $\text{Cp}^*\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2$, cette voie conduit aussi à la synthèse régiospécifique de 1,2,3-triazoles mais contrairement à la CuAAC, celles-ci sont 1,5-disubstitués [245] (**Schéma 62**). De plus, toujours à l'opposé de la CuAAC, la RuAAC permet de faire réagir des alcynes non terminaux. Mais cette réaction souffre de plus de défauts que la CuAAC comme, par exemple, un rendement plus dépendant des conditions réactionnelles ou un risque de dégradation de certains composés par le catalyseur [243,246].

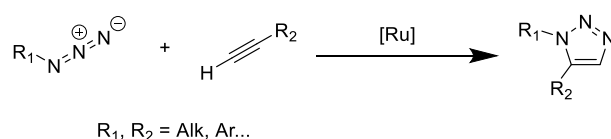


Schéma 62 : principe de la synthèse de 1,2,3-triazoles 1,5-disubstitués par RuAAC

En dehors de la CuAAC et de la RuAAC, d'autres réactions de cycloaddition entre un azoture et un alcyne, dont beaucoup catalysées en présence ou non d'un métal, ont été rapportées et bien qu'elles soient plus rares dans les applications, elles ont tout de même fait l'objet de plusieurs revues [247–250]. Pour former de manière régiospécifique des triazoles 1,4-disubstitués sans utiliser de complexe au cuivre(I), connu pour ses propriétés rédox toxiques, d'autres métaux qui ont pu être utilisés à cette occasion ont été l'argent [251], le nickel [252], le zinc [253] ou l'or [254] (**Schéma 63**).

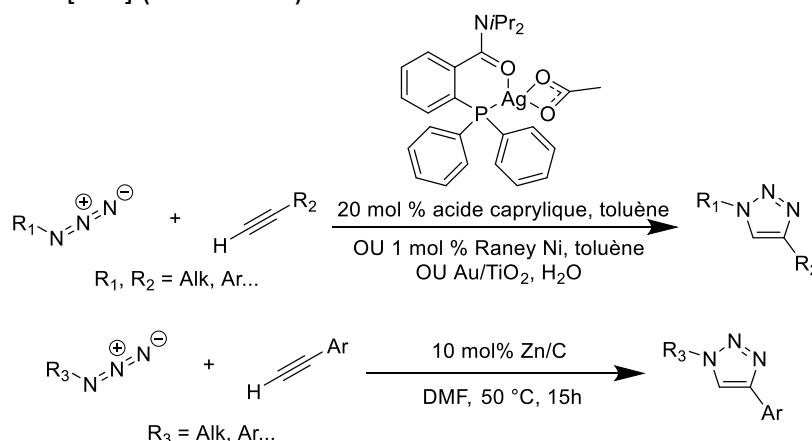


Schéma 63 : possibilités de synthèse de 1,2,3-triazole 1,4-disubstituée par cycloaddition azoture-alcyne catalysée par un métal [251–254]

Quant aux triazoles 1,5-disubstitués, d'autres catalyseurs au nickel [255] ou au zinc [256] ainsi que des catalyseurs avec un métal de la famille des lanthanides comme ceux au samarium [257] peuvent être utiles à leur formation régiospécifique (**Schéma 64**).

Chapitre 2 : présentation générale de la méthodologie de modification chimique d'extraits naturels avec utilisation d'un support solide

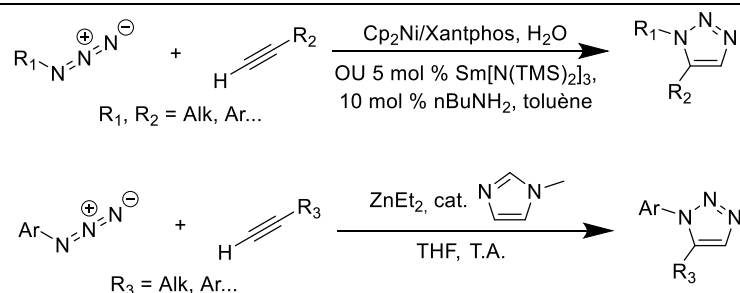


Schéma 64 : possibilités de synthèse de 1,2,3-triazole 1,5-disubstituée par cycloaddition azoture-alcyne catalysée par un métal [255–257]

A côté de ces exemples-ci, on peut aussi retrouver dans la littérature d'autres réactions de cycloaddition entre alcyne et azoture pour lesquelles l'emploi d'un métal n'a pas été nécessaire. Parmi eux, l'exemple le plus connu est certainement celui de la cycloaddition « favorisée par la tension » (« strain-promoted azide-alkyne cycloaddition » ou SPAAC) impliquant entre autres des dérivés de cyclooctyne : ce cycle particulier à la géométrie très contrainte du fait de la présence de la triple liaison au sein même de ce cycle se montre être très réactif avec les azotures sans qu'il n'y ait besoin d'employer un quelconque réactif pour provoquer la cycloaddition (**Schéma 65**) [258].

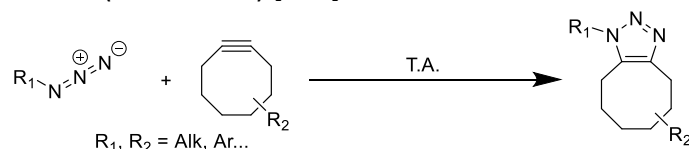


Schéma 65 : principe de la synthèse de 4,5,6,7,8,9-hexahydro-1H-cyclooctatriazole par SPAAC [258]

Quelques méthodes de cycloaddition en 1,2,3-triazole 1,5-disubstitué favorisée par l'emploi d'une base ont également été décrites. L'une d'entre elles part d'un triméthylsilyl alcyne et d'un azoture d'aryle et utilise du tert-butoxyde de potassium en quantité stœchiométrique comme base [259] quand un autre article relate la synthèse de 1,5-diaryl-1,2,3-triazoles avec emploi catalytique d'hydroxyde de tétrabutylammonium [260] (**Schéma 66**).

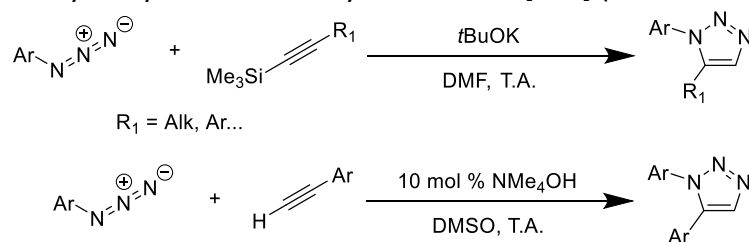


Schéma 66 : possibilités de synthèse de 1,2,3-triazoles 1,5-disubstitués avec emploi d'une base [259,260]

V.C.2. Propriétés pharmacologiques des 1,2,3-triazoles

Comme conséquence de la popularité de la synthèse des 1,2,3-triazoles par la voie de la CuAAC ces dernières années, cet hétérocycle a été intensément étudié d'un point de vue pharmacologique et de nombreuses propriétés ont pu être dégagées.

Entre autres, de nombreux exemples de dérivés de 1,2,3-triazole où le rôle de cet hétérocycle est clairement de servir de lien entre deux groupements moléculaires possédant une activité biologique ont été rapportés. Parmi ces exemples, il est possible de mentionner celui de dérivés de métronidazole, un composé utilisé comme traitement contre un parasite pathogène, l'amibiase. Une série de dérivés de ce composé, portant un cycle 1,2,3-triazole en lien en position 4 avec différents substituants polaires utilisés pour améliorer les caractéristiques antiparasitaires et mis au point par Beena Negi *et al.*, ont ainsi révélé une

Chapitre 2 : présentation générale de la méthodologie de modification chimique d'extraits naturels avec utilisation d'un support solide

activité inhibitrice contre ce parasite avec l'effet le plus fort pour le composé avec le triazole portant une *o*-pyridine comme substituant polaire (**Figure 42**) [261].

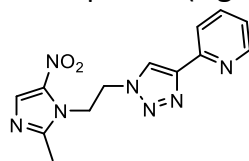


Figure 42 : hybride de métronidazole et de pyridine reliés par un 1,2,3-triazole

Un autre exemple intéressant où un 1,2,3-triazole peut servir d'élément de liaison au sein d'une molécule hybride de deux pharmacophores qu'on peut trouver est chez une série d'hybrides de coumarine et de tacrine synthétisés par Zahra Najafi *et al.* qui peuvent agir comme inhibiteurs de l'acétylcholinestérase et de la butyrylcholinestérase, ce qui leur confère un caractère neuroprotecteur [262]. L'effet inhibiteur de certains des composés, parfois de l'ordre nanométrique se trouve être le meilleur effet inhibiteur pour le composé **A** dans le cas de AChE et pour le composé **B** dans celui de BChE (**Figure 43**).

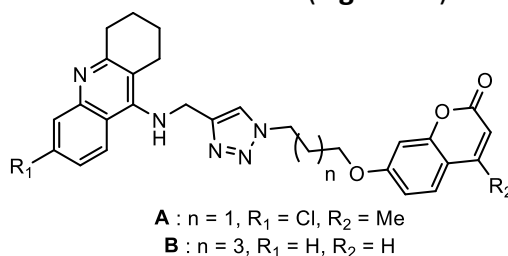


Figure 43 : hybride de coumarine et de tacrine reliés par un 1,2,3-triazole

A côté de cette utilisation comme élément de lien entre groupements bioactifs, une autre exploitation spécifique à des fins pharmacologiques des 1,2,3-triazoles concerne son aptitude à servir de bioisostère, c'est-à-dire sa capacité à remplacer d'autres groupements fonctionnels bioactifs avec des propriétés physico-chimiques similaires tout en améliorant l'activité biologique de la molécule. Ces propriétés ont d'ailleurs été documentées au travers de plusieurs revues au sujet des 1,2,3-triazoles [232,263,264] et l'utilisation la plus réputée des 1,2,3-triazoles dans ce cadre-ci est en tant de bioisostère de liaisons amide grâce aux nombreuses ressemblances physico-chimiques entre ces deux structures (taille, moment dipolaire et nombre de sites donneurs/accepteurs de liaison hydrogène proches) [232,264,265], bien que cet hétérocycle ne peut pas toujours être utilisé à cette fin en raison de son incompatibilité avec les protéines structurées en hélices alpha. En plus des amides, d'autres groupements fonctionnels peuvent être substitués par cet hétérocycle dans le même but. Il peut en être ainsi pour les liaisons ester [266], les acides carboxyliques [267], les doubles liaisons de chaîne alkyle [268] ou encore d'autres hétérocycles [269] (**Schéma 67**).

Chapitre 2 : présentation générale de la méthodologie de modification chimique d'extraits naturels avec utilisation d'un support solide

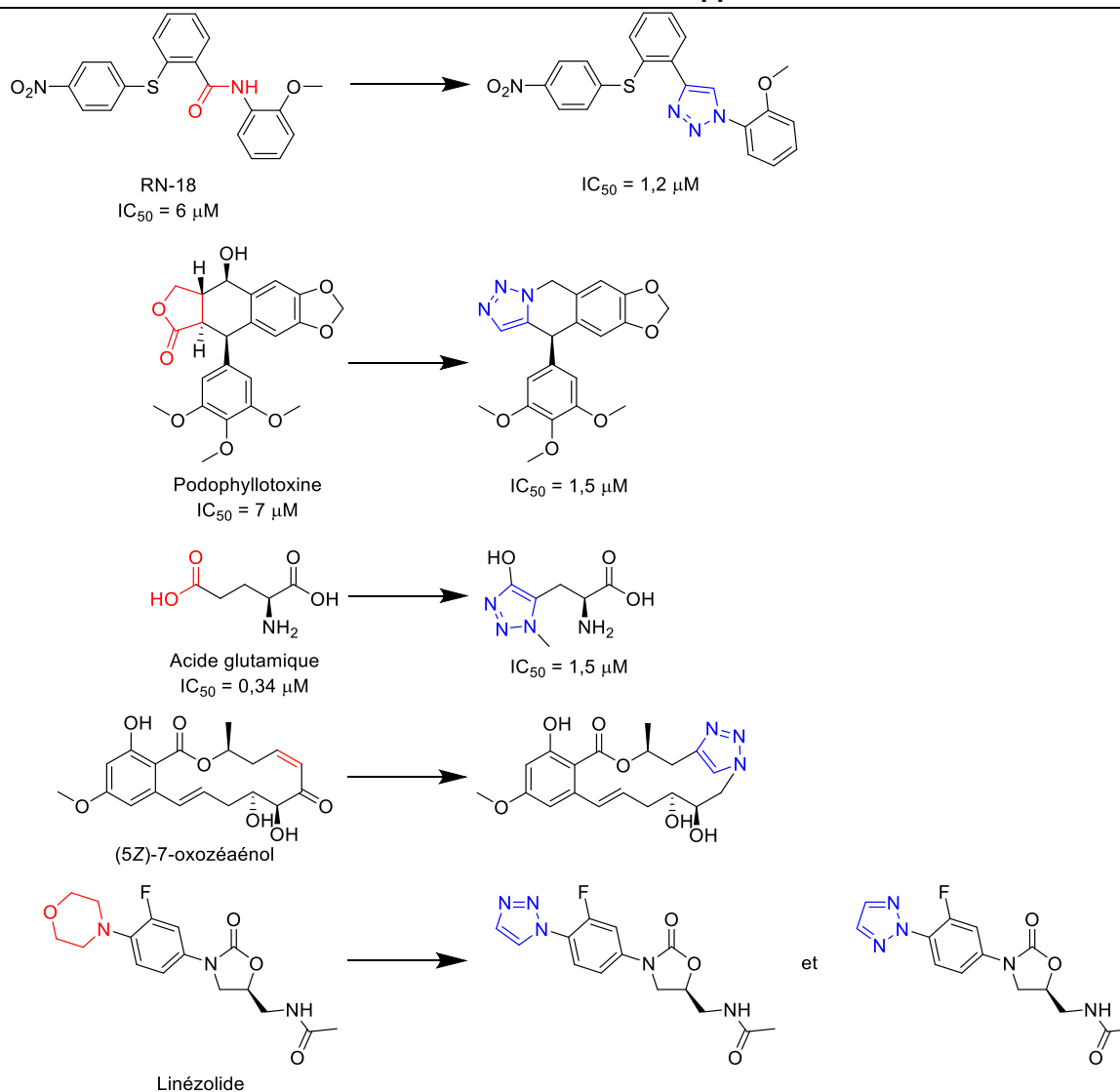


Schéma 67 : exemples d'utilisation de 1,2,3-triazole comme bioisostère [265–269]

En dehors du rôle de lien entre molécules bioactives ou de bioisostère que les 1,2,3-triazoles peuvent donc remplir, des activités biologiques au potentiel thérapeutique indéniable ont été également mise en évidence pour des molécules où un 1,2,3-triazole apporte sa contribution à l'activité biologique du composé, ce qui a parfois conduit pour les meilleurs d'entre eux à une mise sur le marché en tant que principe actif de médicament. Ainsi, parmi les quelques exemples de ce type, le meilleur d'entre eux est celui du tazobactam (**Figure 44**), un inhibiteur de β -lactamase. Deux médicaments commercialisés en solution pour administration intraveineuse utilisent le tazobactam sous la forme de son sel sodique en tant que sensibilisant pour les souches bactériennes visées, en association avec un antibiotique. Le premier d'entre eux, autorisé en 1993 pour le marché américain, est une association avec une uréidopénicilline, la pipéracilline (aussi sous forme sodique) (**Figure 44**), un antibiotique à large spectre et efficace contre un grand nombre de bactéries à Gram négatif [270,271]. Quant au second, autorisé en 2014 aux Etats-Unis et en 2015 dans l'Union Européenne et commercialisé sous le nom de Zerbaxa[®] par Merck, il s'agit d'une combinaison avec une céphalosporine, le ceftolozane (ici sous forme de sulfate) (**Figure 44**) qui est un antibiotique plus ciblé sur les infections urinaires et les pneumonies acquises en milieu hospitalier [272–274].

Chapitre 2 : présentation générale de la méthodologie de modification chimique d'extraits naturels avec utilisation d'un support solide

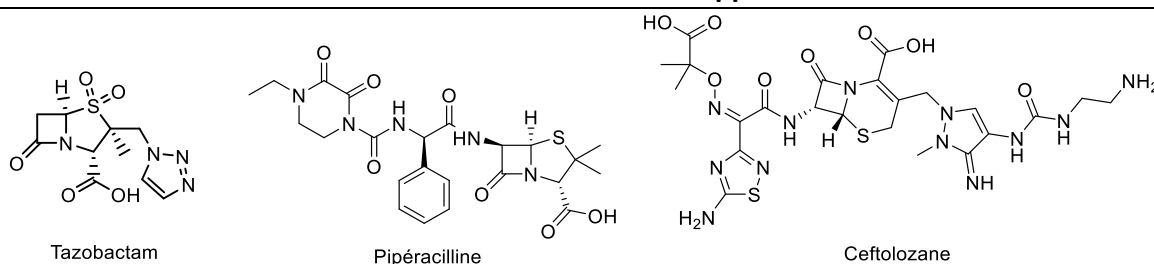
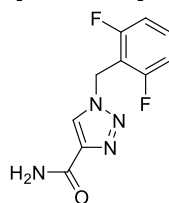


Figure 44 : tazobactam et antibiotiques avec lesquels il est commercialisé en association, comme antibiotique

Un autre principe actif de médicament qui contient un 1,2,3-triazole au sein de sa structure est le rufinamide (**Figure 45**) qui a reçu une AMM européenne en 2007 puis américaine en 2008, où il est maintenant commercialisé respectivement sous les noms de Inovelon[®] et de Banzel[®] par l'entreprise japonaise Eisai, sous la forme de comprimés pelliculés ou d'une suspension buvable [275–277]. Ce médicament est utilisé en tant que traitement adjuvant contre les désordres épileptiques dû au syndrome de Lennox-Gastaut, une forme d'épilepsie infantile particulièrement rare et sévère [276–278].



Rufinamide

Figure 45 : rufinamide

Conclusion

Pour remédier aux inconvénients concernant la présence de composés gênants dans le milieu de l'extrait modifié en facilitant la purification et l'isolement des produits naturels modifiés, la méthodologie de modification chimique d'extraits naturels développés durant cette thèse va exploiter l'utilisation d'un support solide. Ainsi, nous pouvons lier les constituants d'un extrait à ce support et y effectuer les réactions que l'on souhaite tout en éliminant les réactifs en excès dans le milieu réactionnel. De cette manière, une fois que les produits formés ont été clivés de sur le support solide, le mélange final obtenu ne doit contenir que ces produits naturels modifiés et peut alors être testé biologiquement.

Comme la démarche de modification chimique d'extraits naturels avec utilisation d'un support solide n'a jamais été réalisée avant cette thèse, avant d'envisager une application à des extraits de plantes alpines, il est nécessaire de pouvoir prouver qu'une telle méthode est bien réalisable en pratique et peut donner les résultats escomptés. Le travail de thèse commencera donc par la construction d'une preuve de concept sur tout le processus de la méthodologie décrit plus haut, qui passe d'abord par l'application de l'ensemble des réactions entrant en ligne de compte dans la synthèse du pharmacophore sur des exemples de mélanges artificiels. Ce n'est qu'ensuite que ce même schéma de synthèse pourra être utilisé sur un premier extrait modèle qui est d'ores et déjà caractérisé dans la littérature et qui permettra de voir si aucune perturbation ne survient en passant à un milieu bien plus complexe. D'un point de vue pratique, deux plans de synthèse ont été étudiés : dans le premier d'entre eux, le pharmacophore dont on visait la synthèse était simplement une isocoumarine, un hétérocycle connu pour avoir un grand éventail de différentes activités biologiques décrites dans la littérature et dont la synthèse sera effectuée au moyen d'un support solide suivant une méthode connue et modulable pour cet hétérocycle. Dans l'autre plan de synthèse, la

Chapitre 2 : présentation générale de la méthodologie de modification chimique d'extraits naturels avec utilisation d'un support solide

synthèse de l'isocoumarine est conjointe à celle d'un autre hétérocycle, un 1,2,3-triazole qui, dans notre cas, jouera essentiellement le rôle d'intermédiaire de liaison entre l'isocoumarine et le produit naturel ainsi modifié.

Avant d'évoquer les manipulations qui entrent dans la construction de la preuve de concept, le chapitre suivant nous conduira à traiter de ce qui a été entrepris pour la préparation du travail de la preuve de concept, concernant l'étude de la propargylation de différents groupements fonctionnels et en particulier les hydroxyles d'une part et la préparation du support solide d'autre part.

Chapitre 3 : travail préparatoire pour la preuve de concept de la méthodologie

Introduction

Quel que soit le plan de synthèse parmi les deux que nous avons décrit dans le précédent chapitre, la construction de la preuve de concept de cette méthodologie nécessite deux travaux préliminaires en rapport avec la préparation des composés impliqués pour les étapes de synthèse réalisées sur support solide.

Puisque la première étape du plan de synthèse est à chaque fois une propargylation initiale des composés de départ, l'étude de la propargylation de différents groupements fonctionnels va être maintenant expliquée. Cela nous permettra a minima de mettre en évidence les différences de réactivité et par conséquent d'avoir une idée de l'approche à effectuer pour appliquer la stratégie de synthèse décrite auparavant sur un extrait naturel en cherchant à l'épuiser en teneur d'une certaine catégorie de composés. Il est important de consacrer une partie du travail préparatoire à la synthèse de composés propargylés dont surtout des éthers de propargyle à partir de réactifs hydroxylés mais aussi des esters de propargyle, des amines propargylés ou encore un sulfure de propargyle pour prendre en compte les différents nucléophiles potentiellement présents dans un milieu complexe. Pour certains des éthers de propargyle dont la synthèse aura été parmi les plus performantes, les synthétiser sous une forme pure nous conduira aussi à les réutiliser pour les premières étapes de la preuve de concept où la réalisation de la modification préliminaire que constitue la propargylation n'est pas encore prise en compte.

En plus de ce travail, comme certaines des étapes des plans de synthèse proposés dans ce manuscrit nécessitent l'emploi d'un substrat greffé à un support solide, il nous faut également préparer la résine servant de support solide en cherchant à y greffer le substrat désiré, soit l'acide 2-iodobenzoïque dans le cas du premier plan de synthèse, soit l'acide 2-(3-azidoprop-1-yn-1-yl)benzoïque dans le cas du second.

I. Réaction de Williamson sur des composés monohydroxylés

I.A. Conditions expérimentales et choix des composés monohydroxylés pour les tests de synthèse de la preuve de concept

Les conditions expérimentales de la réaction de Williamson telles qu'elles ont été choisies au début de ce travail préparatoire sont des conditions assez classiques pour ce type de synthèse, avec l'usage de bromure de propargyle, en présence de carbonate de potassium (K_2CO_3) comme base et d'acétone en guise de solvant. La force de la base utilisée pour ces conditions initiales ne peut permettre a priori la déprotonation que de certains hydroxyles : lorsque l'on s'intéresse aux pK_a des composés exploités, celui du carbonate de potassium se situe à 12, ce qui rend la déprotonation des hydroxyles aromatiques favorable puisque leur pK_a est généralement aux alentours de 10 mais pas celle des hydroxyles aliphatiques pour lesquelles le pK_a est entre 15 et 17. Pour ces derniers, des bases avec un pK_a plus élevé pourront être utilisées.

Les premiers composés soumis à la réaction de Williamson sont des molécules où le seul groupement fonctionnel présent est l'hydroxyle. Parmi ceux-ci, trois composés retenus pour nos essais dont la synthèse de Williamson s'est révélé efficace ont été ensuite exploités pour

Chapitre 3 : travail préparatoire pour la preuve de concept de la méthodologie

les premières étapes de la preuve de concept de chacun des deux plans de synthèse (**Figure 46**) :

- le 4-méthoxyphénol **1**, un composé qui n'est pas un produit naturel mais qui est commercial et peu cher, qui présente une structure des plus simples parmi les phénols et qui est moins toxique par rapport à son parent, le phénol ;
- le (Z)-2-(4-hydroxybenzylidène)benzofuran-3(2H)-one **2**, une molécule appartenant à une famille de produits naturels appelée auronés^d qui se caractérise au niveau structural par une benzofuranone liée à un benzylidène au moyen d'une double liaison carbone-carbone ;
- la vanilline **3**, autre exemple de produit naturel accessible qui se trouve être un dérivé de phénol avec un groupement hydroxyle légèrement encombré par un groupement méthoxy en *ortho* de l'hydroxyle. D'où une opportunité pour voir si l'encombrement du site sur lequel la modification structurale du composé de départ se fait impacte ou non les étapes de synthèse sur support solide.

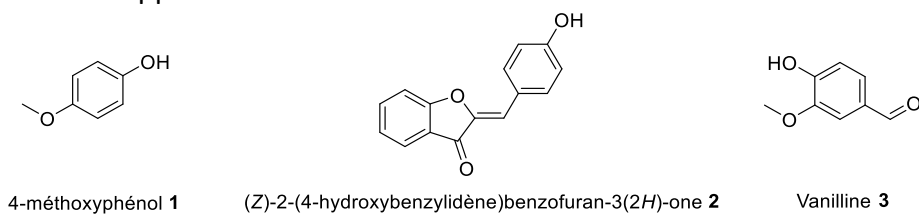


Figure 46 : structure des premiers exemples utilisés pour la réaction de Williamson

En plus de ces quelques composés, d'autres molécules monohydroxylés ont également été exploitées pour la formation de leurs éthers de propargyle associés dans le but d'illustrer les différences de réactivité des familles distinctes de composés hydroxylés et ainsi mettre en évidence les possibilités d'épuisement quand le temps sera venu de manipuler sur des extraits naturels. Ces composés sont ici des composés hydroxylés aliphatiques comme le menthol **4**, le cyclohexanol **5** et l'alcool benzylique **6** (**Figure 47**).

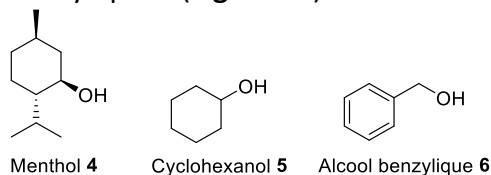


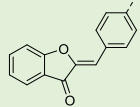
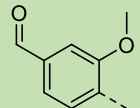
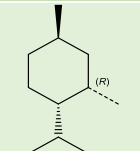
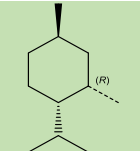
Figure 47 : structure des autres exemples de composés hydroxylés utilisés

Le bilan de toutes ces réactions de Williamson, qui seront détaillées par la suite, est résumé dans le **tableau 2** avec les conditions expérimentales testées ayant permis de synthétiser le composé avec le meilleur rendement.

^d Nom qui sera utilisé pour désigner le composé **2** par la suite

Chapitre 3 : travail préparatoire pour la preuve de concept de la méthodologie

Tableau 2 : bilan des réactions de Williamson sur des composés hydroxylés

R-OH	Nb éq HC≡C-CH ₂ -Br	Base (Nb éq.)	Solvant	Conditions réactionnelles	Rdt
4-MeOPh	1,2	K ₂ CO ₃ (4)	Acétone	Reflux, nuit	94 %
	1,2	K ₂ CO ₃ (4)	Acétone	Reflux, nuit	97 %
	1,2	K ₂ CO ₃ (4)	Acétone	Reflux, nuit	62 %
	1,2	K ₂ CO ₃ (4)	Acétone	Reflux, nuit	0 %
	1,1	NaH (1,1)	THF	1) NaH, reflux, 1,5 h 2) TBAI, HC≡C-CH ₂ -Br, T.A., 2,5 h	0 %
Cy	1,2	K ₂ CO ₃ (4)	Acétone	Reflux, nuit	0 %
Cy	1	NaH (1,25)	THF	T.A., 3 h	0 %
Cy	1,3	NaH (1,1)	DMF	T.A., nuit	0 %
Cy	1	<i>n</i> -BuLi (1,1)	THF	1 éq HMPA, T.A., nuit	17 %
Bn	1,2	K ₂ CO ₃ (4)	Acétone	Reflux, nuit	0 %
Bn	1,2	NaH (1,2)	THF	T.A., 24 h	57

I.B. Synthèse préalable de la (Z)-2-(4-hydroxybenzylidène)benzofuran-3(2H)-one

La (Z)-2-(4-hydroxybenzylidène)benzofuran-3(2H)-one **2**, qui est non commerciale, peut être synthétisée en une seule étape. La première méthode utilisée pour cette formation préliminaire d'aurone, qui avait déjà été réalisée au sein du DPM par d'autres manipulateurs, consistait en une mise en solution de 3-coumaranone et de 4-hydroxybenzaldéhyde (en léger excès) dans l'eau, le tout étant chauffé à reflux et sans emploi d'un quelconque autre réactif [279]. Dans ces conditions réactionnelles, la 3-coumaranone peut être considérée comme en équilibre avec sa forme énol avec laquelle il est possible de faire ensuite une condensation de Claisen-Schmidt sur la 4-hydroxybenzaldéhyde selon le mécanisme présenté en schéma 68. La première fois que ce protocole a été appliqué, l'aurone recherchée a été obtenue sans que, conformément à ce protocole, il ne soit nécessaire de procéder à une purification ultérieure après traitement du mélange réactionnel puisque l'aurone a été formée sans aucune impureté. A noter qu'ici, la synthèse de l'aurone est stéréosélective puisque seul l'isomère (Z), l'isomère le plus stable thermodynamiquement des deux [279], est formé. La détermination de l'isomère peut se faire simplement par l'analyse des données du spectre RMN du proton car pour l'isomère (Z), le singulet correspondant au proton vinylique de la molécule se situe à 6,83 ppm tandis que pour l'isomère (E), ce même singulet devrait être vers 6,90 ppm [280].

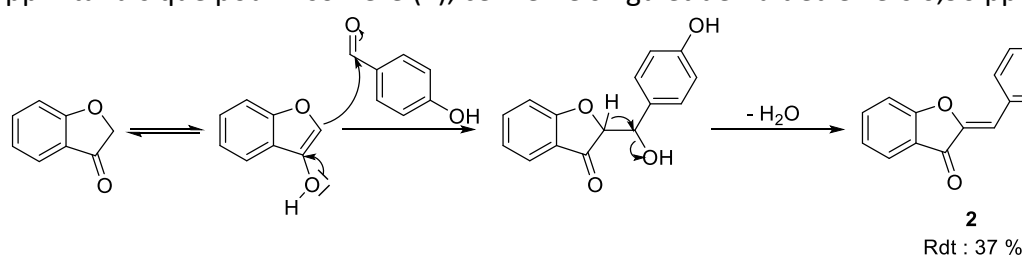


Schéma 68 : mécanisme de synthèse de l'aurone **2** par condensation de Claisen-Schmidt [279]

Chapitre 3 : travail préparatoire pour la preuve de concept de la méthodologie

Le seul bémol à cette méthode qui pouvait être mise en avant était un rendement assez faible à 37 % soit bien moins que celui affiché dans la publication de référence qui s'établissait à 84 %. Cependant, la formation de l'aurone pure n'a jamais pu être reproduite ensuite par cette voie de synthèse : toutes les fois suivantes où ce même protocole a été mis en application, un reste de 4-hydroxybenzaldéhyde demeurait comme impureté avec l'aurone sans qu'il soit possible de les séparer par chromatographie sur colonne de gel de silice ou par recristallisation.

Une autre option pour la synthèse de l'aurone a alors été tentée : cette dernière prévoit une mise en réaction de la 3-coumaranone avec la 4-hydroxybenzaldéhyde dans des conditions moins vertes mais déjà largement utilisée au DPM pour la synthèse d'autres aurones. Dans ce cas-ci, la réaction se fait en présence d'un très large excès de 20 équivalents d'alumine sous forme neutre [281,282], dans du dichlorométhane à température ambiante. Dans ces conditions, la réaction est décrite comme étant une condensation de Knoevenagel (dont le mécanisme est décrit en **schéma 69**) en raison de l'utilisation de l'alumine et de son caractère basique [281,283]. Cette fois, grâce à un traitement du mélange réactionnel différent de la méthode initiale de synthèse mais plus efficace à mettre en œuvre, la réaction a été satisfaisante : l'aurone souhaitée a pu être formée et un spectre RMN du proton réalisé sur le produit brut a démontré la pureté de l'aurone formée. Qui plus est, le produit souhaité a été obtenu avec un rendement largement supérieur (75 %) à celui calculé pour la voie de synthèse « verte ».

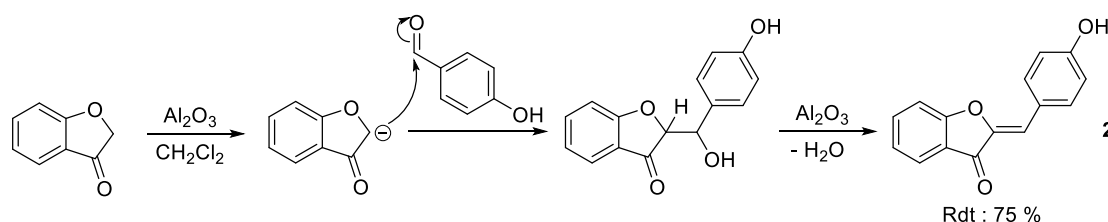


Schéma 69 : mécanisme de synthèse de l'aurone **2** par condensation de Knoevenagel

I.C. Réaction de Williamson sur les monophénols choisis pour la preuve de concept

Le produit de la réaction de Williamson sur le 4-méthoxyphénol **1**, à savoir le 4-propargyloxyanisole **7** (**Schéma 70**), a été répertorié dans la littérature à de nombreuses reprises, avec l'utilisation de bromure de propargyle (réactif le plus couramment utilisé), de chlorure de propargyle, d'alcool propargylique ou même de tosylate de propargyle. Le résultat expérimental de notre synthèse du 4-propargyloxyanisole **7** avec du bromure de propargyle nous a permis d'obtenir un excellent rendement de 94 %, ce qui se situe dans la fourchette haute celles indiqués dans les références qui peuvent varier de 60 à 97 %.

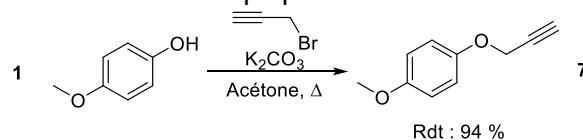


Schéma 70 : réaction de Williamson sur le 4-méthoxyphénol **1**

Au contraire de l'exemple précédent, le produit de la réaction de Williamson sur l'aurone **2**, la (Z)-2-(4-propargyloxybenzylidene)benzofuran-3(2H)-one **8** (**Schéma 71**), n'a pour sa part visiblement jamais été décrit. La synthèse de ce composé dans les conditions initialement choisies fût aussi tout à fait satisfaisante, avec un rendement de 97 %.

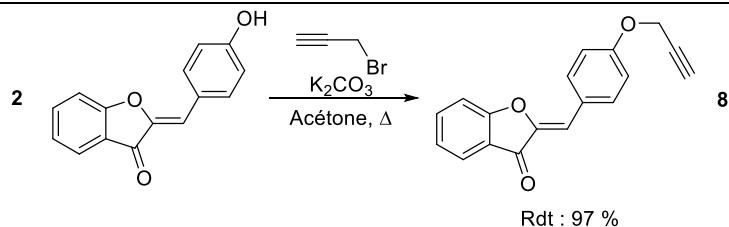


Schéma 71 : réaction de Williamson sur l'aurone 2

La réaction de Williamson entre la vanilline **3** et un dérivé de propargyle a été abondamment relayée dans la littérature avec des conditions réactionnelles globalement identiques aux nôtres : la quasi-totalité des occurrences de cette réaction se sont faites avec du bromure de propargyle ou du carbonate de potassium et soit du DMF, soit de l'acétone comme solvant. Dans notre cas, le déroulement de la manipulation n'a pas été aussi simple que dans les exemples précédents : si la réaction a pu être complète en cinq heures seulement, il a pu être constaté par plaque CCM que le produit formé souhaité n'était pas seul puisque deux autres tâches de forte intensité étaient révélées. La séparation de ces trois composés par chromatographie sur colonne de gel de silice a permis de tous les identifier par RMN du proton (**Schéma 72**) :

- l'éther de propargyle de la vanilline, le 3-méthoxy-4-(propargyloxy)benzaldéhyde **9** a rapidement été identifié et est bien le produit majoritaire de la réaction avec un rendement de 62 % (alors que dans la littérature, la synthèse de ce composé a toujours été décrit comme totale ou quasi-totale dans ces conditions) ;
- le deuxième produit isolé a été déterminé comme étant le (3*E*)-4-[3-méthoxy-4-(2-propyn-1-yloxy)phényl]-3-buten-2-one **10**, un carbonyle α-β insaturé déjà caractérisé mais jamais décrit comme possible sous-produit de la réaction de Williamson en question, qui est le résultat de la crotonisation de l'acétone utilisé ici comme solvant réactionnel avec le 3-méthoxy-4-(propargyloxy)benzaldéhyde. Ce produit fût le plus minoritaire des trois produits purifiés, avec un rendement de 1 % ;
- le troisième produit est le produit de l'aldolisation de l'acétone sur la vanilline propargylée, soit la 4-hydroxy-4-(3-méthoxy-4-(prop-2-yn-1-yloxy)phényl)butan-2-one **11**. Ce produit n'a jamais été décrit et a été étonnamment formé en plus grande quantité que l'énone avec un rendement de 24 %.

Etant donné la survenue d'une aldolisation et d'une crotonisation de la 3-méthoxy-4-(propargyloxy)benzaldéhyde **9** malgré la base qui n'est pas la plus habituelle pour ce type de réaction, la pertinence de l'utilisation de l'acétone comme solvant réactionnel dans ce cas précis doit être posée.

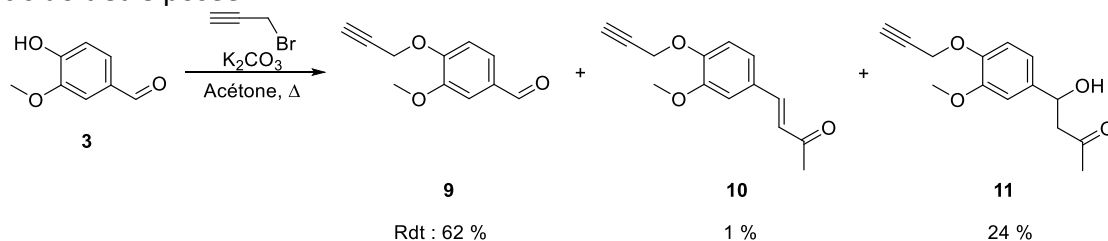


Schéma 72 : réaction de Williamson sur la vanilline **3**

I.D. Réactions de Williamson avec d'autres composés monohydroxylés

Avec le menthol **4** (**Schéma 73**), peu de références décrivent la réaction de Williamson avec le bromure de propargyle : les quelques publications qui s'y rapportent relatent la synthèse dans des conditions plus fortes que les nôtres avec de l'hydruure de sodium comme base et parfois avec emploi de TBAI, ces deux réactifs associés donnant un alcoolate de tétrabutylammonium qui est un composé avec un contre-ion fortement polarisé, ce qui facilite la dissociation du sel

Chapitre 3 : travail préparatoire pour la preuve de concept de la méthodologie

et, par conséquent, améliore le caractère nucléophile de l'alcoolate pour la substitution [284]. La synthèse de l'éther de menthylpropargyle **12** a été tentée suivant l'un de ces derniers protocoles, en présence donc de TBAI et de NaH comme base, dans le THF, ce qui devait permettre d'atteindre un rendement de 55 % pour cette réaction si on s'en tient aux données de la publication de référence [284]. Mais si le spectre RMN du proton du produit brut laissait percevoir par la présence de certains des signaux du produit d'arrivée que l'éther de propargyle visé était formé, le produit est quand même resté ultra minoritaire par rapport au menthol de départ, ce qui le rend non caractérisable.

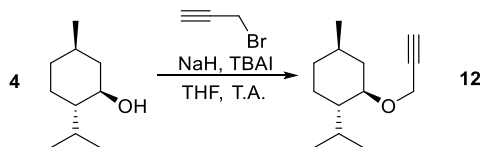


Schéma 73 : réaction de Williamson sur le menthol **4**

Pour la réaction de Williamson entre le cyclohexanol **5** (Schéma 74) et le bromure de propargyle, une nouvelle fois, les références sont peu nombreuses sur cette réaction et, comme pour le menthol, les conditions expérimentales décrites sont plus dures que celles que nous utilisons, avec de l'hydrure de sodium voire du *n*-butyllithium en guise de base. Les rendements reportés pour cette réaction n'ont jamais été très élevés, pouvant aller de 27 à 55 %. Deux protocoles alternatifs issus pour l'un d'une publication et pour l'autre d'un brevet, avec utilisation de NaH et soit de THF [285], soit de DMF [286] ne furent pas concluantes. Un dernier protocole alternatif aux conditions encore plus fortes a été testé, avec comme base du *n*-butyllithium, dans le THF et en présence de HMPA. Ce dernier a pour rôle d'aider à dissocier le sel de lithium formé durant la déprotonation et ainsi favoriser la S_N2 à la base de la réaction de Williamson [287]. Cette fois-ci, la formation de l'éther de propargyle associé, le propargyloxycyclohexane **13**, a pu être réalisée avec un rendement faible de 16 % après purification par colonne de chromatographie.

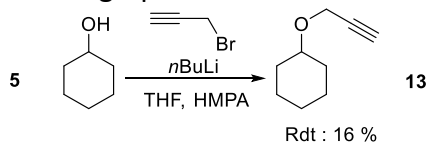


Schéma 74 : réaction de Williamson sur le cyclohexanol **5**

Enfin, dans le cas de la réaction de Williamson avec l'alcool benzylique **6** (Schéma 75), les conditions expérimentales décrites de la synthèse sont très diverses, celles avec l'hydrure de sodium comme base étant parmi les plus fréquentes. Une nouvelle fois, c'est en passant par des conditions réactionnelles plus fortes que la réaction a pu être provoquée : en utilisant de l'hydrure de sodium et du THF, l'éther de benzylpropargyle a été obtenu à l'issue de la purification avec un rendement de 57 %.

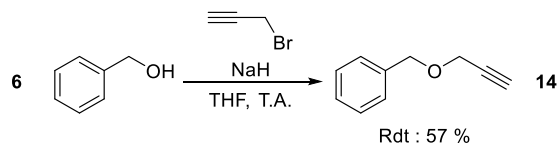


Schéma 75 : réaction de Williamson sur l'alcool benzylique **6**

II. Propargylation de composés avec un unique groupement fonctionnel autre qu'un hydroxyle

II.A. Propargylation d'acides carboxyliques

En plus de celles faites sur des molécules possédant des fonctions alcool ou phénol, d'autres manipulations de propargylation ont été réalisées sur un certain nombre de composés portant un seul groupement fonctionnel qui est soit un acide carboxylique, soit une amine, soit un

Chapitre 3 : travail préparatoire pour la preuve de concept de la méthodologie

thiol. La différence de réactivité qui pourra se dégager de ces exemples de propargylation pourront être un élément supplémentaire à exploiter dans la démarche d'épuisement de l'extrait. De plus, ces manipulations pourront être utiles pour ensuite étudier la compatibilité des réactions suivantes dans le plan de synthèse avec d'autres groupements fonctionnels.

En ce qui concerne la propargylation d'acides carboxyliques non hydroxylés, trois composés ont été pris comme exemples : l'acide anisique **15**, l'acide pivalique **16** et enfin l'acide cinnamique **17** (Figure 48).

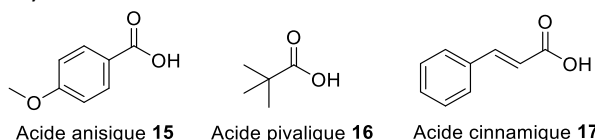


Figure 48 : structures des exemples d'acides carboxyliques utilisés

Pour la réaction de propargylation avec l'acide anisique **15** qui donne par conséquent le 4-méthoxybenzoate de propargyle **18** (Schéma 76), une seule publication relate la synthèse avec le bromure de propargyle [288] dans des conditions réactionnelles similaires aux nôtres en utilisant du K_2CO_3 dans l'acétone mais sans indication d'un rendement ou de données de caractérisation. Cette réaction fût efficace avec un rendement de 87 %. Comme avec les phénols, les conditions initiales de la propargylation semblent donc tout à fait adaptées aux acides carboxyliques aromatiques.

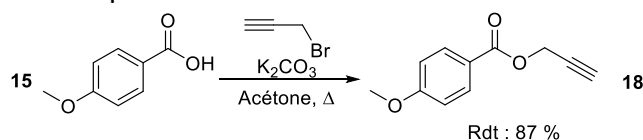


Schéma 76 : propargylation de l'acide anisique **15**

Concernant la réaction de propargylation avec l'acide pivalique **16** (Schéma 77), aucune référence n'a été trouvée décrivant la synthèse avec le bromure de propargyle. Dans nos conditions classiques, la propargylation de l'acide pivalique n'a pas été d'une grande productivité : cette réaction n'a donné qu'un rendement de 24 %. Ainsi, comme avec les exemples de composés hydroxylés aromatiques et aliphatiques que nous avons évoqués précédemment, la propargylation avec du carbonate de potassium pour base convient moins pour la conversion d'acides carboxyliques aliphatiques que pour celle d'acides carboxyliques aromatiques.

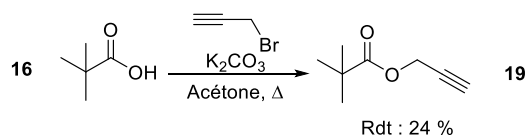


Schéma 77 : propargylation de l'acide pivalique **16**

Dans le cas de la propargylation de l'acide cinnamique **17** (Schéma 78), là encore, seule une publication décrit la même synthèse avec le bromure de propargyle et du carbonate de potassium mais avec un mélange de DMF et de toluène comme solvant réactionnel [289]. Ici, la propargylation de l'acide cinnamique avec le bromure de propargyle et le carbonate de potassium dans l'acétone fût non-productive, aucune conversion du composé de départ en son dérivé propargylé ayant été observée.

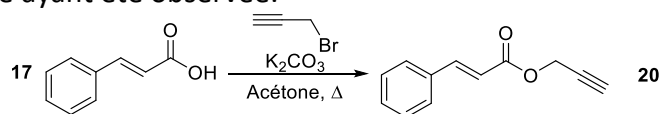


Schéma 78 : propargylation de l'acide cinnamique **17**

II.B. Propargylation d'amines

La propargylation a également été appliquée sur plusieurs exemples d'amines aussi bien aliphatiques qu'aromatiques, tant primaires que secondaires. Parmi celles-ci, la 4-anisidine **21**, la *N,N*-diisopropylamine **22**, la benzylamine **23**, la *N*-méthylaniline **24**, la *N*-méthylhomovératrylamine **25**, la benzylméthylamine **26** et la 2'-aminoacétophénone **27** (Figure 49) font l'objet d'une étude de leur propargylation.

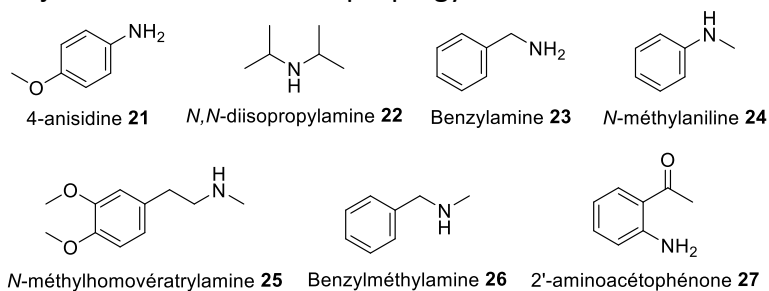


Figure 49 : structure des exemples d'amines utilisées

La synthèse de la 4-méthoxy-*N*-propargylaniline **28** en partant de la 4-anisidine **21** et de quatre équivalents de bromure de propargyle (Schéma 79) a été souvent décrite dans les publications et les brevets où, généralement, les conditions réactionnelles sont proches des nôtres et donnent des rendements de 20 à 98 % même si ceux à moins de 50 % sont très rares. Un détail important à relever sur cet exemple de propargylation est que, de par sa nature d'amine primaire, la 4-anisidine peut aussi être dipropargylée pour donner la 4-méthoxy-*N,N*-dipropargylaniline **29**. Quelques publications le décrivent comme étant un co-produit avec la 4-méthoxy-*N*-propargylaniline et quelques autres le citent comme le seul produit engendré par cette réaction. En ce qui nous concerne, les deux produits possibles ont été formés avec un rendement de 30 % pour la 4-méthoxy-*N,N*-dipropargylaniline **29** et de 53 % pour la 4-méthoxy-*N*-propargylaniline **28** que nous recherchions.

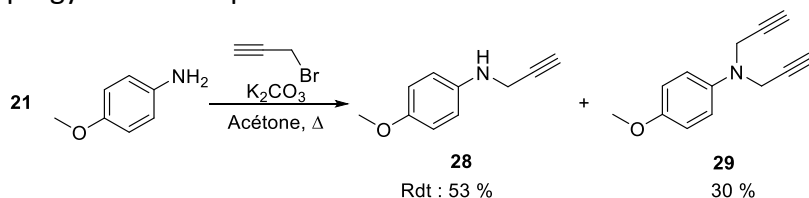


Schéma 79 : propargylation de la 4-anisidine **21**

Pour ce qui est de la synthèse de la *N,N*-diisopropylpropargylamine **30** à partir de la *N,N*-diisopropylamine **22** et du bromure de propargyle (Schéma 80), le peu de références qui font part de cette réaction donnent des conditions variées pour les bases (carbonate de potassium ou de césium, hydruure de sodium) et les solvants réactionnels (THF, acétone, acétonitrile). Avec K_2CO_3 dans l'acétone, notre manipulation a permis de former la *N,N*-diisopropylpropargylamine **30** avec un rendement de 41 %.

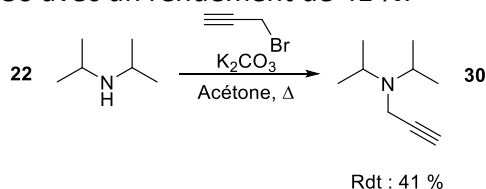


Schéma 80 : propargylation de la *N,N*-diisopropylamine **22**

La propargylation de la benzylamine **23** (Schéma 81) a, elle, été abondamment relayée dans la littérature scientifique, avec le carbonate de potassium le plus souvent et avec des rendements allant de 40 à 89 % dans ces conditions. Vu que la benzylamine est une amine primaire, on peut s'attendre, en plus de la synthèse de la *N*-benzylpropargylamine **31** souhaitée, à celle d'un produit dipropargylé, la *N,N*-benzylidipropargylamine **32**, ce que

Chapitre 3 : travail préparatoire pour la preuve de concept de la méthodologie

quelques publications décrivent par ailleurs [290–293]. Cette possibilité de propargylation multiple s'est vérifiée en pratique avec nos conditions initiales de propargylation : un seul produit a pu être isolé et a été identifié comme étant le produit dipropargylé, la *N,N*-benzyldipropargylamine **32**, synthétisée avec un rendement de 38 %.

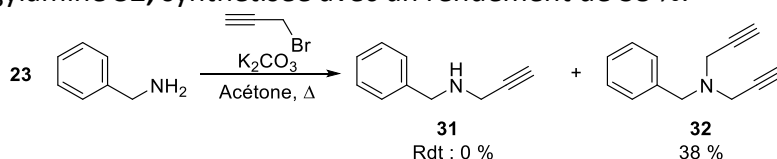


Schéma 81 : propargylation de la benzylamine **23**

La propargylation de la *N*-méthylaniline **24** en *N,N*-méthylpropargylaniline **33** à l'aide de bromure de propargyle (**Schéma 82**) a été fréquemment relatée : selon ces références, elle a été le plus souvent réalisée avec du carbonate de potassium [294–296] comme base mais aussi plus rarement avec du méthyllithium [297], du *n*-butyllithium [298] ou de la potasse [299], avec des rendements de 14 à 98 %, même si ceux inférieurs à 75 % sont rares. En pratique, avec K_2CO_3 , de l'acétone et en chauffant à reflux, cette réaction a été capable de nous donner la *N,N*-méthylpropargylaniline **33** avec un bon rendement de 79 %.

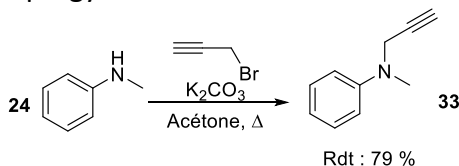


Schéma 82 : propargylation de la *N*-méthylaniline **24**

Dans le cas de la propargylation de la *N*-méthylhomovératrylamine **25** (**Schéma 83**), un seul article parle de cette réaction mais celle-ci ne s'est pas faite dans un milieu traditionnel en solution et sa description est très sommaire [300]. Dans nos conditions habituelles de propargylation, une fois la synthèse terminée et le spectre RMN du proton du produit purifié réalisé, des changements ont bien été observés entre le spectre du produit obtenu et celui du composé initial mais ne correspondent pas au produit **34** attendu, l'interprétation des données du spectre de la molécule d'arrivée permettant notamment d'identifier des signaux caractéristiques d'un alcène terminal. Cette interprétation du spectre et sa comparaison avec la littérature a débouché sur l'identification du 3,4-diméthoxystyrène **35**, probable produit d'une élimination de Hofmann causée par l'usage du bromure de propargyle en excès provoquant, par polypropargylation, la formation d'un ion ammonium quaternaire qui peut alors jouer le rôle de groupe partant (**Schéma 84**). L'élimination de Hofmann est ici d'autant plus favorisée que le produit d'arrivée est une molécule conjuguée. Cette réaction parasite nous montre bien que pour les amines, toutes ne sont pas compatibles avec la réaction de propargylation en présence de K_2CO_3 puisque seules certaines amines aliphatiques à chaîne courte pourront donner les produits attendus sans dégradation.

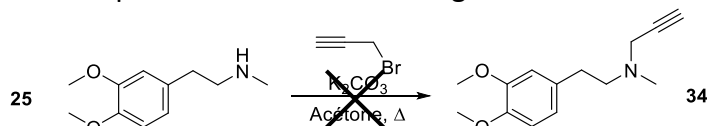


Schéma 83 : tentative de propargylation de la *N*-méthylhomovératrylamine **25**

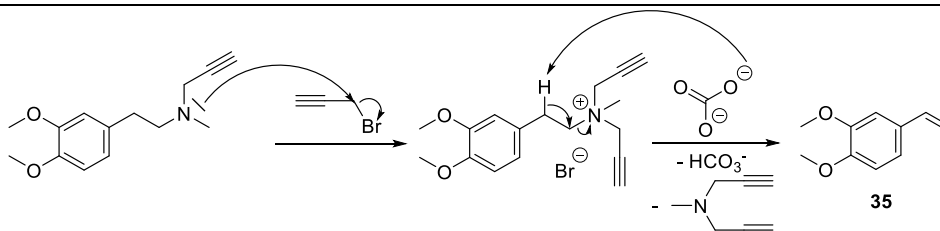


Schéma 84 : mécanisme de l'élimination de Hofmann à partir de la *N*-(3,4-diméthoxyphényl)-*N*-méthylprop-2-yn-1-amine **34** dans les conditions de la propargylation

Avec la benzylméthylamine **26**, le produit propargylé **36** correspondant porte le nom de pargyline et sa synthèse par propargylation avec du bromure de propargyle (**Schéma 85**) a été détaillée dans plusieurs articles avec soit du carbonate de potassium, soit de la triéthylamine, soit de l'hydruire de sodium pour des rendements compris entre 41 et 91 % [301–303]. Dans notre cas, la synthèse de la *N*-benzyl-*N*-méthylprop-2-yn-1-amine **36** avec les conditions originelles de propargylation n'a pas été d'une grande efficacité, avec un rendement de 35 %.

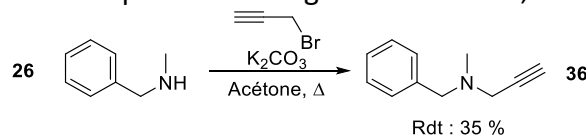


Schéma 85 : propargylation de la benzylméthylamine **26**

Enfin, concernant la réaction de propargylation de la 2'-aminoacétophénone **27** à l'aide de bromure de propargyle (**Schéma 86**), les références sont très rares et donnent toutes les mêmes conditions réactionnelles : K_2CO_3 et DMF, le tout étant chauffé à 60 °C pendant 24 h [304,305]. Parmi ces références, un seul rendement a été rapporté, à 65 %. Comme pour l'exemple de la 4-anisidine et de la benzylamine, une propargylation multiple sur la 2'-aminoacétophénone donnant la 2'-(*N,N*-dipropargyl)aminoacétophénone **38** est possible mais dans toutes les références, seul est caractérisé le produit monopropargylé, la 2'-(*N*-propargyl)aminoacétophénone **37**, que l'on essaie aussi de former de manière exclusive. De plus, la synthèse s'étant faite ici beaucoup plus tard dans le travail de thèse, à un moment où nous avons déjà fait l'optimisation de la réaction sur les composés polyhydroxylés, les conditions réactionnelles appliquées ici sont quasiment identiques à celles données dans les références à l'exception de la durée laissée pour la manipulation, toujours sur une durée d'une nuit. Malheureusement, dans ces dernières conditions, rien ne s'est passé, aussi bien la formation du produit monopropargylé **37** souhaité que celui dipropargylé **38** moins désiré.

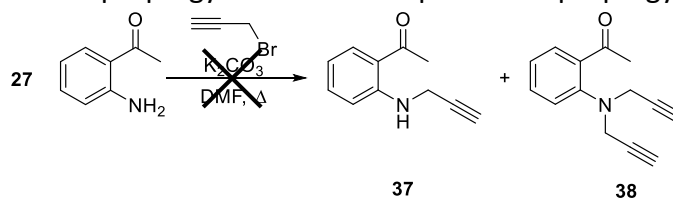


Schéma 86 : tentative de propargylation de la 2'-aminoacétophénone **27**

II.C. Propargylation d'autres types de composés

En dehors des acides carboxyliques et des amines, seul un autre composé appartenant à la famille des thiols a été propargylé. Ce composé fait aussi partie des produits naturels puisqu'il s'agit du benzylmercaptan **39** (**Schéma 87**). La propargylation de ce thiol pour former le sulfure de benzylpropargyle **40** (**Schéma 87**) a été décrite à plusieurs reprises dans la littérature scientifique et les conditions données sont variées : en particulier, la base utilisée était suivant les cas du sodium, de la potasse, de la soude, du carbonate de potassium ou encore de la triéthylamine. Avec les quelques références relatant la synthèse avec le carbonate de potassium, jamais un rendement n'a été précisé.

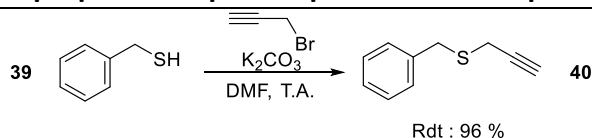


Schéma 87 : propargylation du benzylmercaptan **39**

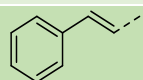
En pratique, la synthèse du sulfure de benzylpropargyle **40**, comme dans le cas de la 2'-aminoacétophénone, a été effectuée avec du carbonate de potassium comme base mais dans du DMF et non de l'acétone. Cette propargylation n'a causé aucune difficulté et fût même très efficace car nous avons pu obtenir un excellent rendement de 96 %. Même si d'autres exemples de thiols que le benzylmercaptan mériteraient d'être exploités pour illustrer d'avantage la propargylation sur ce type de composé, l'efficacité de la réaction sur un thiol, qui plus est aliphatique, montre bien qu'en comparaison avec le composé hydroxylé équivalent au thiol, ce dernier semble plus facilement transformable.

II.D. Bilan des différentes réactions de propargylation sur d'autres groupements fonctionnels

Si on devait faire un bilan de toutes les réactions de propargylation qui ont été faites sur des composés ayant d'autres groupements fonctionnels qu'un ou plusieurs hydroxyles (**Tableaux 3 à 5**), les conclusions ne sont pas très différentes de celles qu'on avait déjà pu tirer auparavant. En effet, les produits formés à partir de composés aromatiques sont plus faciles à synthétiser que ceux dérivés de composés aliphatiques, ce qui constitue un critère de sélection des métabolites qu'on pourrait choisir de faire réagir en priorité lorsqu'il sera question de travailler sur des extraits naturels avec une démarche d'épuisement de ces derniers. Parmi les exemples de molécules sur lesquelles la propargylation a été tentée, une exception doit être mise en avant avec les thiols même si un seul composé de ce genre a été utilisé : avec un pK_a nettement inférieur à celui des alcools (de 10 à 11 pour les thiols contre de 16 à 18 pour les alcools), même des thiols aliphatiques peuvent être aisément convertis en sulfure de propargyle, ce que montre d'ailleurs le bon rendement de notre réaction de propargylation appliquée sur le benzylmercaptan.

Avec les exemples de propargylation réalisés sur des amines, dans la mesure où on pourrait éventuellement avoir à manipuler des extraits naturels contenant ce type de molécules parmi ses métabolites et où cet extrait aurait été entièrement caractérisé, deux choses vont devoir être prises en compte au moment de réaliser la première étape de notre plan de synthèse : d'abord, si certaines de ces amines sont primaires, il peut être éventuellement intéressant d'adapter les conditions réactionnelles de la propargylation pour limiter au mieux le risque de propargylation multiple sur la même fonction amine de ces composés. Et ensuite, il nous faut être conscient qu'en travaillant sur des extraits où des amines aliphatiques avec un proton en position β du groupement fonctionnel ont été identifiées, une élimination d'Hofmann est possible et par conséquent, nous ne pourrions pas faire la synthèse attendue avec ces produits naturels spécifiques.

Tableau 3 : bilan des réactions de propargylation d'acides carboxyliques

R-CO ₂ H	Nb éq. HC≡C-CH ₂ -Br	Base (Nb éq.)	Solvant	Conditions réactionnelles	Rendement
4-MeOPh	1,2	K ₂ CO ₃ (4)	Acétone	Reflux, W-E	87 %
Piv	1,2	K ₂ CO ₃ (4)	Acétone	Reflux, nuit	24 %
	1	K ₂ CO ₃ (4)	Acétone	Reflux, nuit	24 %

Chapitre 3 : travail préparatoire pour la preuve de concept de la méthodologie

Tableau 4 : bilan des réactions de propargylation d'amines primaires

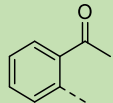
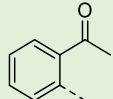
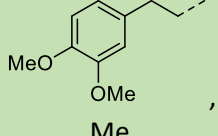
R-NH ₂	Nb éq. HC≡C-CH ₂ -Br	Base (Nb éq.)	Solvant	Conditions réactionnelles	Nb propargyles ajoutés	Rendement
4-MeOPh	1,2	K ₂ CO ₃ (4)	Acétone	Reflux, nuit	1	53 %
4-MeOPh	1,2	K ₂ CO ₃ (4)	Acétone	Reflux, nuit	2	30 %
Bn	1,2	K ₂ CO ₃ (4)	Acétone	Reflux, W-E	1	0 %
Bn	1,2	K ₂ CO ₃ (4)	Acétone	Reflux, W-E	2	38 %
	1,2	K ₂ CO ₃ (1,2)	DMF	T.A., nuit	1	0 %
	1,2	K ₂ CO ₃ (1,2)	DMF	T.A., nuit	2	0 %

Tableau 5 : bilan des réactions de propargylation d'amines secondaires

R-NH-R'	Nb éq. HC≡C-CH ₂ -Br	Base (Nb éq.)	Solvant	Conditions réactionnelles	Rendement
<i>i</i> -Pr, <i>i</i> -Pr	1,2	K ₂ CO ₃ (4)	Acétone	Reflux, nuit	41 %
Ph, Me	1,2	K ₂ CO ₃ (4)	Acétone	Reflux, W-E	79 %
	1,2	K ₂ CO ₃ (4)	Acétone	Reflux, W-E	0 %
Bn, Me	1,2	K ₂ CO ₃ (4)	Acétone	Reflux, nuit	35 %

III. Mise au point de la réaction de Williamson sur des composés polyhydroxylés

En même temps que les premières manipulations de synthèse de Williamson sur les composés monohydroxylés, une autre manipulation du même genre avait été réalisée sur un premier exemple de composé avec plusieurs hydroxyles, le catéchol **41** (Schéma 88), avec lequel on cherche à former le 2-propargyloxyphénol **42**. Le rapport dans la littérature scientifique de cette réaction est assez rare, avec de grandes différences de rendement qui peuvent facilement s'expliquer par le fait que le 2-propargyloxyphénol **42** n'est bien sûr pas le seul produit de cette réaction. En effet, il est possible de former en plus le 1,2-dipropargyloxybenzène **43**, ce qui est d'ailleurs décrit dans quelques-uns des articles [306,307].

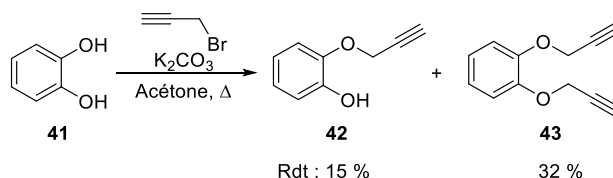


Schéma 88 : réaction de Williamson sur le catéchol **41**

Les conditions réactionnelles qui ont été utilisées dans notre cas pour la synthèse du 2-propargyloxyphénol **42** impliquent les mêmes réactifs que ceux déjà utilisés pour les phénols mais en suivant néanmoins un protocole de la littérature qui devait normalement nous permettre de limiter le mieux possible la formation du produit dipropargylé : le carbonate de

Chapitre 3 : travail préparatoire pour la preuve de concept de la méthodologie

potassium est utilisé en excès plus important que précédemment, avec six équivalents de base, tandis que le bromure de propargyle est en quantité équimolaire avec le catéchol. Avec ce protocole, le produit monopropargylé **42** et celui dipropargylé **43** ont été tous les deux obtenus mais avec une majorité de 1,2-dipropargyloxybenzène et avec des rendements décevants pour les deux produits, à respectivement 15 % et de 32 %.

Par la suite, des réactions de propargylation furent appliquées sur trois exemples de composés de la famille des polyphénols qui est la famille de composés sur laquelle nous souhaitons pouvoir appliquer en premier lieu l'ensemble de notre stratégie de modification chimique lorsqu'il s'agira de travailler sur des extraits naturels. Ces trois polyphénols – l'acide caféique **44**, l'acide gallique **45** et la quercétine **46** (**Figure 50**) – sont tous d'origine naturelle et ont tous un nombre différent de sites réactifs sur lesquels une propargylation est possible, dont des fonctions carboxyles.

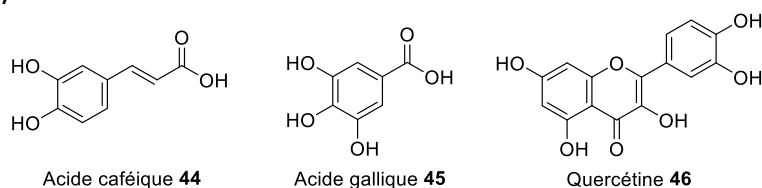


Figure 50 : structures des nouveaux exemples de polyphénols utilisés

Concernant la méthode de travail sur les manipulations impliquant ces produits naturels, le but ici ne sera pas de pouvoir isoler un ou plusieurs des produits de propargylation car étant donné le nombre de composés propargylés qu'on peut synthétiser en prenant en compte tous les degrés de propargylation possibles, une séparation des composés du mélange de produits de propargylation serait de toute façon délicate. La finalité de ces manipulations est par conséquent surtout de vérifier si la propargylation est bien réalisable sur ces molécules polyhydroxylées et si oui, de déterminer de manière qualitative quels produits ont pu être formés. Dans ces conditions, nous nous baserons surtout sur les données produites par les analyses LC-MS réalisées sur les milieux réactionnels de chacune des manipulations décrites ci-après.

Pour l'acide caféique **44**, la réaction de propargylation correspondante est décrite dans deux publications [308,309] dans des conditions similaires entre elles et assez inhabituelles : si l'utilisation de carbonate de sodium n'a rien d'atypique, c'est le solvant réactionnel qui est ici l'HMPA et la présence en quantité catalytique d'iodure de potassium qui sortent de l'ordinaire pour ce type de réaction. Et visiblement, dans ces conditions-ci, seul l'ester de propargyle correspondant, le cafféate de propargyle **47** (**Figure 52**), serait obtenu, les deux hydroxyles n'étant pas impactés. Avec nos conditions réactionnelles et notre protocole habituels (quatre équivalents de carbonate de potassium, 1,2 équivalent de bromure de propargyle, dans l'acétone à reflux), nous avons pu remarquer une perte substantielle de produit : même s'il ne s'agit pas ici d'un produit purifié, nous avons obtenu en masse moins de la moitié de ce qui était attendu. Après avoir fait faire l'analyse LC-MS de ce produit brut (**Figure 51**), seul un composé possédant une masse correspondante à celle du produit provenant d'une propargylation complète de l'acide caféique sur son acide carboxylique et ses deux phénols, dénommé (*E*)-3-(3,4-bis(propargyloxy)phényl)acrylate de propargyle **48** (**Figure 52**), a été détecté.

Chapitre 3 : travail préparatoire pour la preuve de concept de la méthodologie

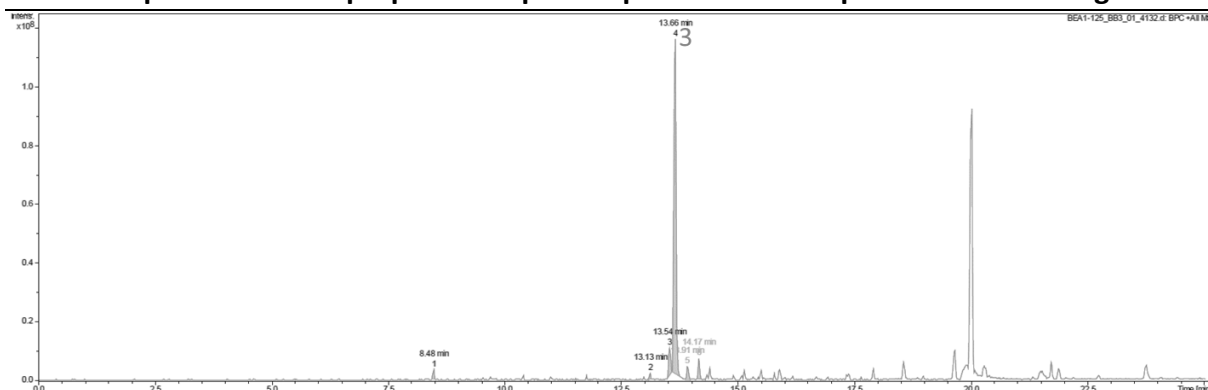


Figure 51 : chromatogramme de l'analyse LC-MS en mode ESI+ du produit brut de propargylation de l'acide caféique

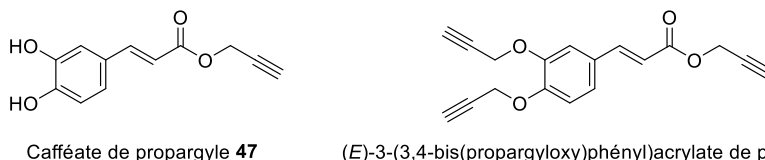


Figure 52 : structures du cafféate de propargyle **50** du (E)-3-(3,4-bis(propargyloxy)phényl)acrylate de propargyle **48**

Avec l'acide gallique **45**, il a été possible de trouver trois références pour la réaction de propargylation correspondante dont l'une qui est commune avec une référence déjà répertoriée pour le cas de l'acide caféique **44** [308] : comme dans le cas précédent, le produit obtenu ici est l'ester de propargyle associé à l'acide gallique, le galléate de propargyle **49**. Les deux autres publications ainsi qu'un brevet donnent des conditions plus proches de celles que nous avons l'habitude d'utiliser alors avec du carbonate de potassium et soit un mélange de DMF et de toluène, soit de l'acétone pour solvant. D'après ces publications, ces conditions conduisent toujours à la réaction de Williamson sur les trois hydroxyles aromatiques de la molécule et parfois à l'estérification de l'acide carboxylique [310,311]. Avec les mêmes conditions de propargylation qu'avec l'acide caféique, à nouveau, une perte de masse significative a été enregistrée. Et l'analyse LC-MS de ce produit (**Figure 53**) a une nouvelle fois montré que seul un composé totalement propargylé, le 3,4,5-tripropargyloxybenzoate de propargyle **50** (**Figure 54**), a été détecté.

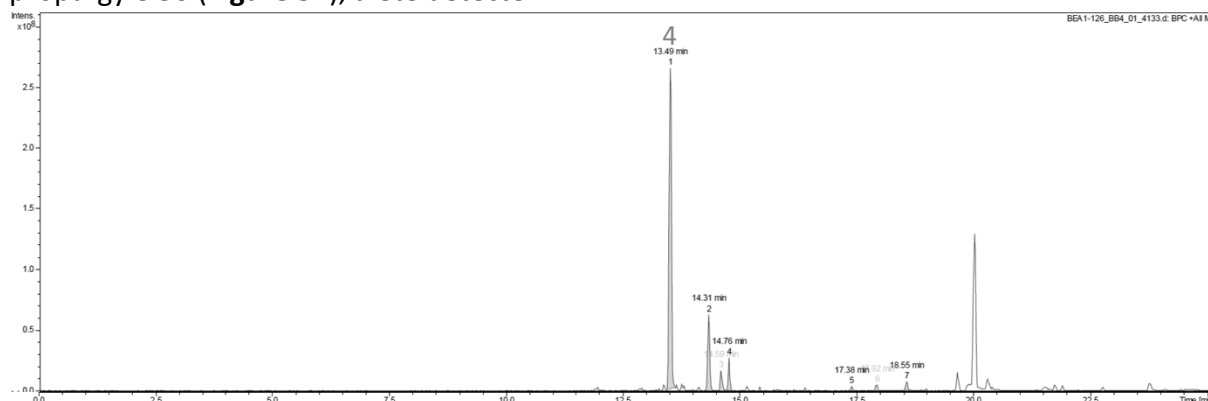


Figure 53 : chromatogramme de l'analyse LC-MS en mode ESI+ du produit brut de propargylation de l'acide gallique

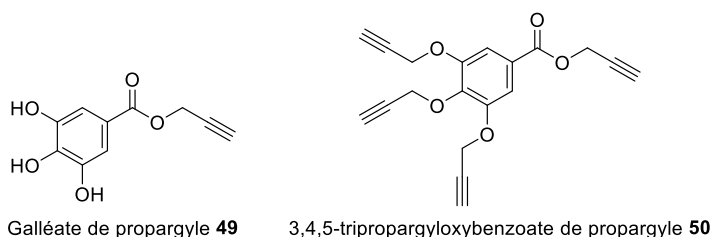


Figure 54 : structures du galléate de propargyle **52** du 3,4,5-tripropargyloxybenzoate de propargyle **50**

Chapitre 3 : travail préparatoire pour la preuve de concept de la méthodologie

Enfin, pour la synthèse de Williamson entre le bromure de propargyle et la quercétine **46**, une seule référence existe à ce sujet, un brevet enregistré en Chine [312]. Dans ce brevet, la réaction est décrite dans des conditions réactionnelles très proches des nôtres, avec pour seules différences l'usage de DMF comme solvant et le fait que tous les réactifs soient au même nombre d'équivalents. Si on en croit ce qui est écrit dans ce brevet, curieusement, seul un produit de propargylation aurait été formé ou tout du moins isolé par colonne de chromatographie : un produit monopropargylé sur lequel la réaction de Williamson a été seulement effective sur l'hydroxyle en position 7 de la quercétine. Avec les conditions de la réaction de Williamson déjà exploitées avec les deux autres exemples de composés polyhydroxylés, nous avons dû encore faire face à une grande perte de produit. En LC-MS (**Figure 55**), si le produit **51** résultant d'une propargylation sur les cinq hydroxyles de la quercétine (**Figure 56**) a bien été détecté, deux espèces de quercétine dipropargylée, deux autres espèces de quercétine tripropargylée ainsi qu'une seule espèce de quercétine tétrapropargylée ont aussi été décelées par ces analyses.

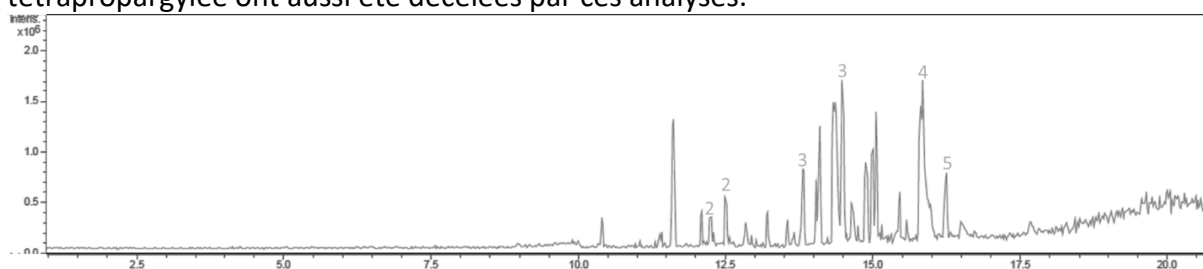
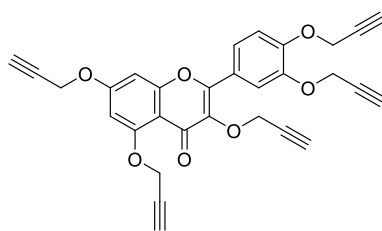


Figure 55 : chromatogramme de l'analyse LC-MS en mode ESI- du produit brut de propargylation de la quercétine



2-(3,4-bis(prop-2-yn-1-yloxy)phényl)-3,5,7-tris(prop-2-yn-1-yloxy)-4H-chromen-4-one **51**

Figure 56 : structure du 2-(3,4-bis(prop-2-yn-1-yloxy)phényl)-3,5,7-tris(prop-2-yn-1-yloxy)-4H-chromen-4-one **51**

Les résultats de ces trois dernières manipulations ont fait apparaître deux problèmes d'ordre pratique : d'une part, avec le protocole et les conditions réactionnelles de la synthèse de Williamson que nous utilisons depuis les premières manipulations de ce genre, le traitement associé n'est visiblement pas adapté à la présence de polyphénols dans le milieu, les pertes de masse à la fin du traitement du mélange réactionnel étant toujours conséquentes. Une raison que nous pouvons avancer à ce problème-ci et qui découle de nos observations expérimentales est un possible phénomène d'adsorption des composés de départ et/ou des produits d'arrivée sur le carbonate de potassium : au moment de filtrer notre mélange réactionnel pour éliminer l'excès non dissous de K_2CO_3 , nous avons pu voir qu'avec les trois derniers exemples de polyphénols, le résidu, qui est normalement de couleur blanche, avait pris la couleur du mélange réactionnel (couleur qui peut être dû à la déprotonation des hydroxyles phénoliques voire, étant donné les conditions réactionnelles non inertes, à leur oxydation en quinone). Aucun lavage de ce résidu avec un solvant organique usuel n'a permis de débarrasser le résidu de cette couleur et une tentative de neutralisation de la base avec du TFA n'a pas été plus concluante. Un dernier traitement a été envisagé avec une neutralisation plus douce, soit avec une solution aqueuse de chlorure d'ammonium mais ce type de traitement nécessiterait de faire ensuite une extraction, ce qui nous fait courir le risque de perdre aussi de la matière qui subsisterait en phase aqueuse (et ce, en prévision de l'utilisation

Chapitre 3 : travail préparatoire pour la preuve de concept de la méthodologie

de cette méthodologie sur des mélanges de produits naturels très complexes et de polarité variée), raison pour laquelle ce traitement n'a finalement pas été mis en œuvre.

D'autre part, l'analyse LC-MS des produits de ces trois dernières réactions ont mis en évidence un degré de propargylation trop grand pour qu'il soit satisfaisant vis-à-vis de ce qu'on souhaite faire avec nos composés de départ en terme de modifications structurales : en effet, dans la mesure où le composé sur lequel on applique l'ensemble de nos réactions de synthèse possède plusieurs sites réactifs, notre volonté est de se limiter autant que possible à la propargylation d'un seul de ces sites réactifs et à ce que le reste de la structure moléculaire demeure inchangé. Etant donné les conditions expérimentales de la réaction de Williamson que nous appliquions alors et qui favorisait un haut degré global de propargylation avec entre autres un fort excès de base et un chauffage à reflux, nous devions aussi modifier ces conditions réactionnelles de sorte à abaisser le degré global de propargylation. Pour avoir une meilleure flexibilité dans l'optimisation de la réaction de Williamson sur des composés polyphénoliques, l'ensemble des manipulations qui s'y rapportent ont été réalisées avec le polyphénol modèle qui comprend le plus grand nombre de sites réactifs parmi ceux alors utilisés, soit la quercétine **46**.

Tout d'abord, nous nous sommes efforcés de trouver des conditions réactionnelles avec lesquelles la perte de matière serait moins importante. Dans cette optique, un test de stabilité de la quercétine **46** dans les conditions utilisées pour la synthèse de Williamson, où le protocole habituel a été reproduit à l'identique à l'exception de l'usage du bromure de propargyle qui n'est pas présent dans cette manipulation, a démontré l'inadaptation de ce protocole pour les polyphénols. Après une nuit de chauffage du mélange réactionnel contenant la quercétine et le carbonate de potassium, ce chauffage a été coupé, ce qui a provoqué un virement progressif de la couleur du milieu réactionnel du jaune, couleur de la quercétine de départ, au vert foncé, ce qui ne laissait rien présager de bon quant à la stabilité de la quercétine dans ce milieu. Cette crainte s'est vite vérifiée après filtration du milieu réactionnel, évaporation du filtrat sous pression réduite et réalisation d'un spectre RMN du proton sur le produit brut obtenu (qui avait gardé cette couleur vert foncé) : l'ensemble des signaux attribués à la quercétine ont disparu. Ce résultat montre qu'en plus d'un possible phénomène d'adsorption des produits et des composés de départ sur l'excès de base non solubilisé, l'ensemble du protocole de traitement participe aux pertes substantielles de masse constatées en étant à l'origine d'une instabilité des composés valorisables du milieu. Par conséquent, pour limiter au maximum ces pertes de masse, il nous faut changer la manière dont la propargylation et en particulier son traitement sont effectués.

De nouvelles conditions réactionnelles ont été trouvées dans l'unique référence relatant la propargylation de la quercétine, le brevet chinois qui a déjà été cité plus haut [312]. En plus de changer de solvant pour du DMF et de n'utiliser qu'un équivalent de carbonate de potassium (celui de bromure de propargyle restant à 1), le traitement du milieu réactionnel est lui aussi totalement différent : ici, le mélange est traité par extraction à l'éther suivi d'un lavage à l'eau et à la saumure, ce qui nous a permis de récupérer plus de produit. Pour encore augmenter la masse de produit récupéré, la phase aqueuse précédente a de nouveau été extraite à l'éther après avoir été acidifiée au moyen d'une solution d'acide chlorhydrique à 36 %. La composition des produits extraits dans ces deux phases a été vérifiée par RMN du proton, ce qui a donné des spectres identiques, après quoi ils ont été rassemblés et analysés en LC-MS. Ces analyses ont également donné de meilleurs résultats concernant le nombre de produits différents formés dans le milieu et le degré de propargylation moyen de ces produits : ont été détectés ici quatre produits monopropargylés, six molécules dipropargylés, trois composés tripropargylés, un produit tétrapropargylé et le dérivé totalement propargylé de la

Chapitre 3 : travail préparatoire pour la preuve de concept de la méthodologie

quercétine, le 2-(3,4-bipropargyloxyphényl)-3,5,7-tripropargyloxy-4H-chromen-4-one. On peut aussi noter la présence d'un pic avec une masse correspondant à celle de la quercétine, ce qui laisse suggérer que la consommation du réactif de départ n'a pas été totale avec le changement de solvant et de protocole expérimental. Mais même si notre souhait était que la totalité de la quantité de quercétine engagé dans la manipulation réagisse, le chromatogramme de cette expérience montre néanmoins que celle restante n'est pas l'espèce majoritaire parmi l'ensemble des produits détectés. Quoi qu'il en soit, avec ces nouvelles conditions, le degré de propargylation moyen par composé détecté^{ef} a pu être abaissé d'un point, à 2,12 (ligne 2 du **tableau 6**) alors qu'il a été calculé à 3,16 avec les conditions réactionnelles d'origine et le protocole initial (ligne 1).

Par la suite, en partant des mêmes conditions réactionnelles tirées du brevet chinois, différents paramètres de la réaction de Williamson ont été changés pour l'optimiser et abaisser un peu plus le degré de propargylation global. Ainsi, l'impact de la concentration du composé de départ dans le milieu réactionnel, de la dilution du bromure de propargyle avant ajout au goutte-à-goutte au milieu réactionnel, du nombre d'équivalents de ce réactif et bien sûr de la température et de la durée de la réaction ont été étudiés. L'ensemble des expériences d'optimisation de la propargylation sont résumées dans le **tableau 6** avec le nombre d'occurrences de chaque type de dérivés propargylés de quercétine détecté au moyen d'analyses LC-MS (dont les chromatogrammes annotés avec les dérivés propargylés détectés sont présentés en **annexe B**).

Concernant l'étude de la variation de la concentration en composé de départ dans le milieu réactionnel, en reprenant les conditions réactionnelles telles que décrites dans le brevet et en diluant la quercétine dans le milieu réactionnel pour passer de 1 à 0,066 mol/L (ligne 3), le degré de propargylation moyen par composé détecté est passé de 2,12 à 1,83. En dessous de cette valeur de concentration, l'influence de ce paramètre sur la propargylation de la quercétine ne se fait plus sentir : en comparant les résultats donnés avec les manipulations où la concentration en quercétine dans le milieu réactionnel est à 0,055 mol/L ou à 0,0066 mmol/L (lignes 4 et 8), cette valeur est de 1,60 dans le premier cas et de 1,91 dans le deuxième.

Ensuite, la dilution préalable du bromure de propargyle avant ajout au milieu réactionnel a également permis d'influencer à la baisse le degré de propargylation moyen de la quercétine : en gardant une concentration en quercétine du même ordre de grandeur, le degré moyen de propargylation est passé de 1,83 à 1,60 entre les expériences des lignes 3 et 4. Pour les manipulations suivantes, le bromure de propargyle sera ainsi dorénavant toujours ajouté au goutte-à-goutte au milieu réactionnel après avoir été dilué dans du solvant réactionnel de façon à avoir une concentration en ce réactif de l'ordre de 1 mol/L.

Puis, pour l'étude de l'influence de la durée de réaction sur le degré de propargylation, sur une manipulation de propargylation de la quercétine programmée pour la nuit, plusieurs prélèvements du milieu réactionnel ont été réalisés, traités et analysés par LC-MS. Les observations faites sur cette manipulation sont assez évocatrices : une durée très courte de réaction de quinze minutes (ligne 5) ne permet de former que de la quercétine

^e Calculé par la somme des produits du **nombre de propargyle d'un type de produit** par son **nombre d'occurrences en LC-MS**, le tout divisé par le nombre de produits différents détecté (exemple pour la ligne 1 du **tableau 6** : $(0 \times 0 + 0 \times 1 + 2 \times 2 + 2 \times 3 + 1 \times 4 + 1 \times 5)/(0 + 0 + 2 + 2 + 1 + 1) = 3,16$)

^f Il aurait pu être plus pertinent de comparer les résultats de ces manipulations en regardant la proportion de chaque type de produit de propargylation à l'aide des aires sous les pics correspondants à ces composés sur les chromatogrammes. Néanmoins, les résultats obtenus par ce moyen ont parfois été grandement différents suivant qu'on regarde l'analyse en mode d'ionisation ESI+ ou ESI-, raison pour laquelle les comparaisons ont été au final faites sur le degré de propargylation moyen par composé détecté.

Chapitre 3 : travail préparatoire pour la preuve de concept de la méthodologie

monopropargylée en faible quantité. De plus, trop peu de composés différents sont formés pour que cela soit acceptable, avec seulement deux dérivés propargylés distincts de quercétine obtenus avec cette manipulation-là. Les résultats les plus satisfaisants furent notés avec les prélèvements réalisés une et cinq heures après le début de la réaction (lignes 6 et 7), pour lesquels on retrouve des résultats similaires à ceux de l'expérience de la ligne 4. Pour le reste du mélange réactionnel, laissé à agiter pendant une nuit (ligne 8), le degré moyen de propargylation est l'un des meilleurs calculés à ce stade de l'optimisation.

Les deux derniers paramètres restants ont été conjointement modifiés : pour réduire le risque de former des dérivés de quercétine avec un degré de propargylation important, le nombre d'équivalents de bromure de propargyle a été abaissé à un seul pour que ce ne soit plus le réactif en excès. En plus de cela, l'influence de la température a aussi été étudiée sur la cinétique de la réaction avec deux expériences du même acabit que celle décrite par les lignes 5 à 8, tournant pendant quatre heures au maximum et avec plusieurs prélèvements à différents moments de la réaction. Une de ces deux manipulations est effectuée à température ambiante (lignes 11 à 13) et l'autre à 40 °C (lignes 14 à 17). Après analyse par LC-MS et interprétation des chromatogrammes et des spectres de masse des prélèvements et du produit de fin de réaction, les résultats obtenus avec le prélèvement après deux heures de réaction pour le mélange réactionnel laissé à température ambiante (ligne 12) nous ont paru plus adaptés car ces conditions semblaient être le meilleur compromis entre un degré moyen de propargylation suffisamment haut, des conditions permettant de former un nombre déjà conséquent de composés propargylés qui soient en majorité des dérivés mono- et dipropargylés sans avoir à faire chauffer même modérément le milieu réactionnel et un temps de réaction ni trop court ni trop long. Le grand défaut de ces conditions optimisées pour la propargylation des composés polyhydroxylés est qu'un reste important du composé de départ subsiste dans le milieu final comme le montre le chromatogramme associé à la ligne 12 en **annexe B** (a posteriori, si on veut ajouter comme critère de sélection celle du taux de conversion du polyphénol initial, les conditions des lignes 15 ou, dans une moindre mesure, 13 semblent plus indiquées). Cependant, dans la pratique, étant donné que l'on souhaite travailler sur des extraits naturels, ce problème de réactivité du polyphénol de départ peut être corrigé en se plaçant dans une démarche d'épuisement de l'extrait vis-à-vis des composés qu'on veut faire réagir : si jamais après avoir réalisé l'ensemble de la synthèse sur résine avec l'extrait propargylé, nous avons repéré par analyse LC-MS des restes de certains métabolites non propargylés dans le filtrat récolté après synthèse, il nous suffira de refaire une étape de propargylation sur ce filtrat, dans les mêmes conditions que précédemment puis de réengager la substance obtenue dans un nouveau cycle de synthèse sur support solide avec un autre lot de résine préparé. Ainsi, on peut espérer que les composés les plus réactifs soient récupérés lors du premier cycle puis ensuite les composés de moins en moins réactifs et nécessitant des conditions plus dures.

Les conditions de propargylation pour les polyphénols et autres composés avec plusieurs hydroxyles (ou carboxyles) nous conduisent pour la suite à adapter la façon de mener la réaction de propargylation en fonction du type de composé qu'on veut faire réagir : ces conditions seront ainsi utilisées telles quelles pour des molécules polyfonctionnelles. En revanche, si nous ne devons avoir dans le milieu de départ que des composés ne possédant qu'un seul groupement fonctionnel visé, puisqu'aucun contrôle du degré de propargylation n'est nécessaire et dans la mesure où on veut engager tout de suite le produit formé en synthèse sur support solide et non le purifier avant, le mélange réactionnel peut être laissé à réagir pendant plus longtemps jusqu'à disparition du composé substrat de départ. Ce dernier cas sera cependant hautement improbable pour ce qui est des extraits naturels.

Chapitre 3 : travail préparatoire pour la preuve de concept de la méthodologie

Tableau 6 : conditions testées pour l'optimisation de la réaction de Williamson sur la quercétine 49

N°	Nb éq* bromure de propargyle	Bromure de propargyle dilué avant ajout ?	Nb éq* K ₂ CO ₃	Solvant	C (mol/L)	T° (°C)	Durée	Nb de composés détectés avec n propargyles					
								0	1	2	3	4	5
1	1,2	Non	4	Acétone	0,33	65	Nuit	0	0	2	2	1	1
2	1,2	Non	1	DMF	1	65	Nuit	1	4	6	3	1	1
3	1,2	Non	1	DMF	0,066	65	Nuit	0	5	3	2	1	0
4	1,2	Oui	1	DMF	0,055	65	Nuit	1	3	3	2	1	0
5	1,2	Oui	1	DMF	0,0066	65	15 min	1	2	0	0	0	0
6	1,2	Oui	1	DMF	0,0066	65	1 h	1	3	3	1	0	0
7	1,2	Oui	1	DMF	0,0066	65	5 h	1	3	3	2	0	0
8	1,2	Oui	1	DMF	0,0066	65	Nuit	1	3	4	3	1	0
9	1	Oui	1	DMF	0,066	TA	W-E	0	1	5	2	1	0
10	1	Oui	1	DMF	0,033	TA	W-E	0	1	3	2	1	0
11	1	Oui	1	DMF	0,066	TA	1 h	1	1	0	0	0	0
12	1	Oui	1	DMF	0,066	TA	2 h	1	1	3	1	0	0
13	1	Oui	1	DMF	0,066	TA	4 h	1	3	3	1	0	0
14	1	Oui	1	DMF	0,066	40	1 h	1	5	3	2	0	0
15	1	Oui	1	DMF	0,066	40	2 h	0	3	3	2	0	0
16	1	Oui	1	DMF	0,066	40	3 h	0	3	3	3	1	0
17	1	Oui	1	DMF	0,066	40	4 h	0	4	3	2	2	0

* Par rapport à la quercétine et non par rapport à son nombre de fonctions hydroxyles.

IV. Propargylation d'un mélange de composés avec une seule fonction

Afin d'avoir une meilleure vue d'ensemble des différences de réactivité de groupements fonctionnels classiques lors d'une réaction de propargylation et de voir dans quelle mesure une stratégie d'épuisement d'un extrait naturel lors des étapes de synthèse sur support solide permettrait de sélectionner les groupements fonctionnels de départ qui seront visés en priorité, nous avons entrepris l'étude de la propargylation sur un mélange de plusieurs composés, le plus souvent commerciaux (mélange réalisé dans du DMF en pratique). Tous ces composés ont pu être identifiés comme des produits naturels et portent chacun un seul groupement fonctionnel sur lequel la modification peut se faire et qui est de nature et d'environnement différent d'une molécule à l'autre.

Parmi les molécules qui ont été sélectionnées pour cette étude (**Figure 57**), la majorité sont certaines de celles que nous avons déjà eu l'occasion d'exploiter lors des manipulations individuelles de réaction de Williamson ou de propargylation : ainsi, comme exemple de composé phénolique, notre choix s'est porté sur l'aurone **2**. Pour les alcools aliphatiques, c'est le menthol **4** qui a été retenu. Dans les composés que nous connaissons déjà, il y a également une amine aliphatique primaire, la benzylamine **23**, une amine aromatique, la 2'-aminoacétophénone **27** et le seul thiol que nous avons utilisé jusqu'à maintenant, le benzylmercaptan **39**. Avec eux ont aussi été sélectionnés une amine aliphatique secondaire, la pipéridine **52**, et deux acides carboxyliques dont l'un aliphatique, l'acide palmitique **53**, et l'autre aromatique, l'acide benzoïque **54**.

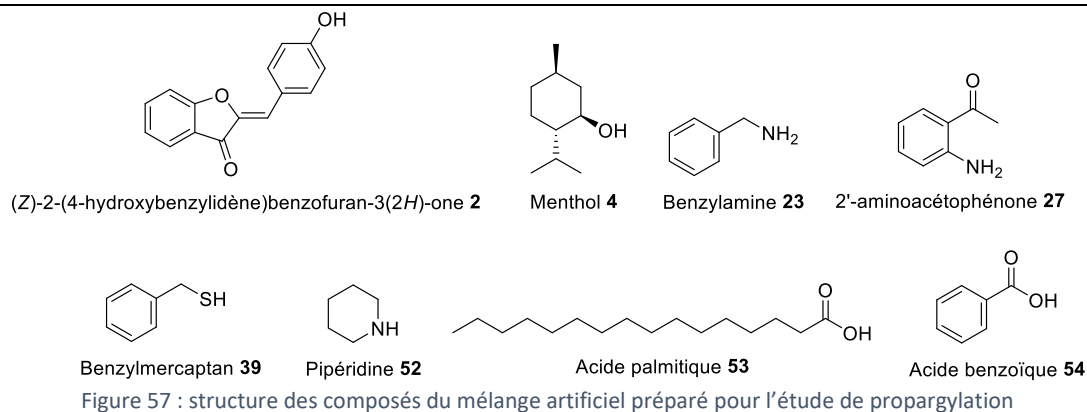


Figure 57 : structure des composés du mélange artificiel préparé pour l'étude de propargylation

Pour l'étude de la propargylation de ce mélange artificiel, plusieurs bases avec des pK_a bien distincts ont été utilisées à hauteur de 1,2 équivalents dans des manipulations en parallèle : la triéthylamine ($pK_a \sim 11$), le carbonate de potassium ($pK_a = 12$), le DBU (pK_a estimé à 12), de l'hydroxyde de potassium ($pK_a = 16$) et de l'hydrure de sodium ($pK_a = 37$). Dans chacune de ces manipulations, 1,2 équivalents de bromure de propargyle ont été ajoutés au goutte-à-goutte au mélange réactionnel après avoir été dilué dans un peu de DMF. Après une nuit d'agitation, un échantillon du mélange réactionnel a été directement envoyé pour analyse LC-MS afin de voir si des masses correspondantes à ceux des produits propargylés attendus ont été détectées et si celles des composés de départ subsistent.

Cependant, l'interprétation des résultats fût des plus délicates dès le départ avec l'analyse du mélange artificiel initial : en effet, bien que tous les composés de ce mélange soient présents à la même concentration dans la solution, seules certains de ces composés ont été repérés en LC-MS. Ce fût le cas de l'aurone **2**, du menthol **4**, de la 2'-aminoacétophénone **27** et de l'acide palmitique **53**, ce qui causera problème pour savoir si la propargylation des composés non cités ici est totale ou non avec l'ensemble des bases testées.

Parmi ces tests, celui avec le DBU fût le moins compliqué à analyser puisqu'aucun des produits propargylés qu'il était possible de former n'a été détecté aussi par LC-MS que par RMN du proton. De plus, parmi les composés de départ, seuls l'aurone **2** et l'acide palmitique **53** ont été repéré. Tout indique donc que non seulement, le DBU n'est pas une base adaptée pour la propargylation de quelque groupement fonctionnel que ce soit mais est même une base qui entraîne une dégradation du milieu de départ.

Les quatre autres bases testées pour la propargylation de ce mélange ont en revanche permis de la faire sur au moins un des composés de départ : la présence de ces derniers et des produits propargylés correspondants, telle que cela a pu être déterminé au moyen des analyses LC-MS, est résumée dans le **tableau 7**. Malheureusement, l'ensemble des résultats combinés ne sont pas satisfaisants pour conclure quoi que ce soit sur la propargylation du mélange artificiel et son évolution avec l'utilisation d'une base de plus en plus forte. Plusieurs incohérences peuvent être notées comme le fait qu'un produit propargylé ait été formé avec certaines bases et pas avec d'autres pourtant plus fortes (cas de l'aurone **2**) ou bien le fait que certains des constituants du départ du mélange ne soient plus détectés après propargylation sans que le produit attendu ne le soit pour les bases plus faibles et qu'ils restent au contraire présents dans le milieu avec des bases plus fortes (cas de l'acide palmitique **53**). En plus de cela, il a parfois été noté des écarts de masse du mélange brut de produits de propargylation conséquents entre celle expérimentale et celle théorique : en effet, avec le carbonate de potassium, la potasse et l'hydrure de sodium, ces écarts ont été calculés respectivement à 28 %, 9 % et 15 % dans l'hypothèse de la conservation de la masse théorique. En revanche, la masse du produit brut expérimental dans le cas de la triéthylamine est cohérente avec la

Chapitre 3 : travail préparatoire pour la preuve de concept de la méthodologie

valeur théorique attendue. Plusieurs facteurs peuvent expliquer ces écarts de masse, notamment le fait que certains composés sont volatiles ou n'ont pas réagi.

Tableau 7 : résultats des tests de propargylation sur le mélange artificiel d'après les analyses LC-MS (conditions : 1 éq de bromure de propargyle, 1 éq de base, DMF, T.A., nuit)

Composé de départ	Visible avec Et ₃ N	Réaction avec Et ₃ N	Visible avec K ₂ CO ₃	Réaction avec K ₂ CO ₃	Visible avec KOH	Réaction avec KOH	Visible avec NaH	Réaction avec NaH
2	✓	X	✓	✓	✓	✓	✓	X
4	✓	X	X	X	✓	X	X	X
23	X	X	X	✓ (2*)	X	✓ (2*)	X	✓ (2*)
27	X	X	X	X	X	X	X	X
39	X	X	X	X	X	X	X	X
52	✓	?**	?**	?**	?**	?**	?**	?**
53	✓	X	X	X	✓	X	✓	X
54	X	X	X	X	X	X	X	X

* Détection uniquement du produit dipropargylé.

** Impossibilité de démontrer la présence ou l'absence des produits recherchés en raison de la volatilité de la pipéridine **52** et de son dérivé propargylé.

Pour essayer de voir plus clair sur les différences de propargylation de ces composés, il nous a semblé judicieux de faire une déconvolution des constituants de ce mélange en les séparant en trois mélanges : le premier regroupe l'aurone **2**, le menthol **4** et le benzylmercaptan **39**, le deuxième réunit les amines (benzylamine **23**, 2'-aminoacétophénone **27** et pipéridine **52**) et le dernier rassemble l'acide palmitique **53** et l'acide benzoïque **54**. Les tests de propargylation ont de nouveau été effectués sur ces trois mélanges, avec les mêmes bases que précédemment à l'exception du DBU. Les résultats de l'ensemble de tests sont compilés dans le **tableau 8**.

Tableau 8 : résultats des tests de propargylation sur les mélanges artificiels simplifiés d'après les analyses RMN du proton et LC-MS (conditions : 1 éq de bromure de propargyle, 1 éq de base, DMF, T.A., nuit)

Type de mélange	Composé de départ	Visible avec Et ₃ N	Réaction avec Et ₃ N	Visible avec K ₂ CO ₃	Réaction avec K ₂ CO ₃	Visible avec KOH	Réaction avec KOH	Visible avec NaH	Réaction avec NaH
Alcool/ phénol/ thiol	2	✓	X	✓	✓	X	✓	✓	✓
	4	✓	X	✓	X	✓	X	✓	X
	39	✓	X	✓	X	✓	X	✓	X
Amines	23	X	✓ (2*)	X	✓ (2*)	X	✓ (2*)	X	✓ (2*)
	27	X	✓ (2*)	✓	X	X	X	X	X
	52	?**	?**	?**	?**	?**	?**	?**	?**
Acides carboxyliques	53	X	✓	X	✓	✓	X	X	✓
	54	X	✓	X	✓	X	✓	X	✓

* Détection uniquement du produit dipropargylé.

** Impossibilité de démontrer la présence ou l'absence des produits recherchés en raison de la volatilité de la pipéridine **52** et de son dérivé propargylé.

Etant donné que les mélanges sont désormais réduits à deux ou trois composés, il nous est possible de les analyser par RMN du proton en plus des analyses LC-MS de sorte à en déduire leur composition avant et après propargylation, par comparaison des données à celles de la littérature : tous les composés de départ comme ceux d'arrivée y sont référencés, à l'exception de l'éther de propargyle provenant de l'aurone **2** et des produits de la propargylation de la 2'-aminoacétophénone **27**. Cependant, à nouveau, tous les composés de

Chapitre 3 : travail préparatoire pour la preuve de concept de la méthodologie

départ n'ont pas pu être caractérisés en LC-MS : sur le mélange des acides carboxyliques, seul l'acide palmitique a été détecté. En ce qui concerne le mélange des trois amines, la pipéridine et la 2'-aminoacétophénone ont été détectées au contraire de la benzylamine. Et sur le mélange des composés hydroxylés et du thiol **39**, les données des analyses LC-MS n'ont permis d'identifier que l'aurone **2**. En revanche, les spectres RMN du proton de ces trois mélanges de départ ont permis de retrouver un plus grand nombre de ces composés : avec le mélange des acides carboxyliques, les deux constituants ont pu être distingués sans souci. Avec le mélange des amines, tous les composés de départ n'ont pas pu être retrouvés : des signaux pouvant être attribués à la 2'-aminoacétophénone **27** et à la benzylamine **23** sont ainsi visibles, au contraire des signaux de la pipéridine **52** qui sont tous absents. Cela n'est cependant pas étonnant car pour pouvoir préparer l'échantillon nécessaire à l'analyse RMN, il fallait évaporer à sec un prélèvement de la solution de départ, ce qui a logiquement entraîné l'évaporation de la pipéridine quand on connaît son point d'ébullition à 106 °C, plus faible que celui du solvant de la solution, le DMF ($T_{\text{éb}} = 153$ °C). Enfin, avec le mélange de composés hydroxylés et du thiol **39**, la très bonne résolution des signaux de l'aurone **2** a eu tendance à écraser les autres signaux, rendant compliquée l'identification de ceux associés au menthol **4** et au benzylmercaptan **39**.

Après propargylation, ce sont aussi surtout des spectres RMN du proton et des bilans de masse qui ont permis de déterminer s'il y a eu propargylation des constituants de ces mélanges et si elle a été totale. Dans le cas du mélange des acides carboxyliques, avec le carbonate de potassium, le benzoate de propargyle et le palmitate de propargyle ont ainsi été synthétisés quantitativement sur la base de ces deux aspects analytiques (spectre RMN du proton en **Figure 58**). En revanche, dans les cas des trois autres bases, l'analyse détaillée des spectres RMN du proton ainsi que les bilans de masse se sont montrés moins clairs avec notamment un excès de masse important pour la manipulation effectuée avec la triéthylamine et des spectres RMN du proton moins bien résolus pour cette même manipulation ainsi que celle avec l'hydruire de sodium, ce qui a compliqué l'interprétation même si nous sommes tout de même parvenus à trouver les signes d'une propargylation sur les deux acides carboxyliques. Enfin, avec la potasse, les données suggèrent que seul l'acide palmitique a été propargylé au contraire de l'acide benzoïque.

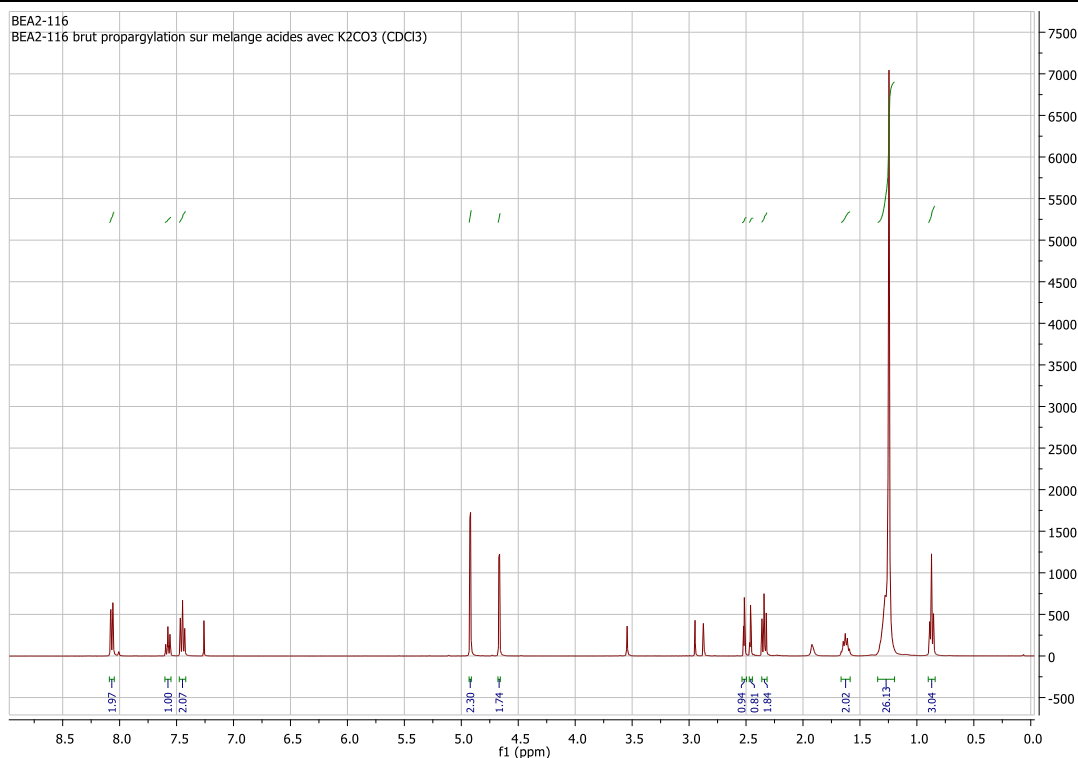


Figure 58 : spectre RMN du proton du produit brut de la propargylation du mélange d'acides carboxyliques en présence de carbonate de potassium (CDCl₃, 400 MHz)

En ce qui concerne le mélange des trois amines, à nouveau, plusieurs issues différentes sont à distinguer : avec le carbonate de potassium, nous avons pu constater que seule une dipropargylation de la benzylamine **23** s'est produite et ce de manière quantitative en se basant sur le bilan de masse de cette manipulation et sur le spectre RMN du proton du produit brut obtenu (reproduit en **Figure 59**). Il a aussi été possible d'observer que, comme en partant de ce composé seul, rien ne s'est produit sur la 2'-aminoacétophénone **27**, ce qui favorise une dipropargylation de la benzylamine **23** au détriment de sa monopropargylation. En ce qui concerne la pipéridine **52**, aucune information ne peut être déduite quel que soit le type d'analyse en raison de la petite taille de ce composé et de son dérivé propargylé et de leur volatilité comme déjà dit plus haut ($T_{\text{éb}} = 37\text{ °C}$ à une pression de 3 torr [313] et $157,6\text{ °C}$ à pression atmosphérique pour l'analogue propargylé [314]). Avec la potasse et l'hydrure de sodium, les mêmes conclusions qu'avec le carbonate de potassium peuvent être données malgré un léger excès de masse dû à des traces de DMF visibles en RMN. Enfin, avec la triéthylamine, un sous-produit non identifié en RMN du proton ne permet pas de conclure sur l'aspect quantitatif de la propargylation de la benzylamine **23** en se basant sur ce type d'analyse ainsi que sur le bilan de masse, cependant, les deux produits dipropargylés **32** et **38** ont été détectés en LC-MS.

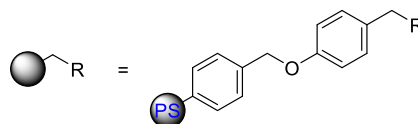
Chapitre 3 : travail préparatoire pour la preuve de concept de la méthodologie

propargylation de l'acide palmitique **53** en palmitate de propargyle n'est pas survenue avec la potasse et a été totale avec le carbonate de potassium et l'hydrure de sodium. Enfin, la dernière incohérence qu'on peut noter pour les tests de propargylation sur les mélanges artificiels simplifiés est que, dans le mélange des amines, la propargylation de la 2'-aminoacétophénone **27** pour donner un produit dipropargylé n'a été que partielle lorsque la base était du carbonate de potassium alors qu'avec toutes les autres bases testées et notamment la triéthylamine, la propargylation sur ce même composé a été totale.

Deux dernières remarques importantes qu'on peut faire est que, d'une part, nous avons connu des difficultés à détecter la présence de certains des composés choisis pour les mélanges artificiels, en particulier en LC-MS et y compris dans les mélanges de départ qui ne devraient normalement causer aucun problème, d'où une gêne dans l'interprétation des différentes analyses. D'autre part, la tendance qui semblait se dégager après les tests de propargylation sur le premier mélange, à savoir que plus la base utilisée était forte, plus le nombre de composés différents pouvant être touchés durant la réaction de propargylation était grand, n'a pas été confirmé par les tests effectués sur les trois mélanges simplifiés. Au vu des résultats de ces derniers tests, nous pouvons plutôt voir une différence de réactivité suivant que l'on utilise une base organique, ce qui est le cas ici uniquement pour la triéthylamine, ou une base minérale, ce qui correspond dans notre cas au carbonate de potassium, à la potasse et à l'hydrure de sodium. Une différence de réactivité qui entraîne surtout une sélectivité de la propargylation vis-à-vis des alcools, phénols et thiols puisqu'aucune propargylation n'a été constatée avec la triéthylamine, au contraire d'avec les autres bases.

V. Préparation de l'acide 2-halogénobenzoïque greffé sur support solide

Pour pouvoir réaliser l'ensemble des réactions décrites dans la voie « Sonogashira » de notre plan de synthèse sur support solide, il est nécessaire de le préparer en y greffant un substrat qui sera ici de l'acide 2-halogénobenzoïque, comme dans la publication de référence sur laquelle s'appuie ce procédé [118]. Le support solide est la résine de Wang (**Figure 60**), une des résines les plus courantes pour le greffage d'acides carboxyliques. Ce support solide, mis au point par Su-Sun Wang en 1972 [315] et qui porte aussi le nom plus générique de résine d'alcool *p*-benzyloxybenzyle, se compose d'une matrice à base de chaînes de polystyrène et avec de faibles taux de réticulations, ce qui place cette résine parmi les supports solides de type gel. Le greffage de notre acide sur cette résine se fait simplement au moyen d'une estérification tandis que son clivage ne nécessite que l'emploi d'un acide très fort, l'acide trifluoroacétique (TFA).



Résine de Wang : R = OH
Résine de Wang bromée : R = Br

Figure 60 : structures de la résine de Wang et de la résine de Wang bromée

Sur le plan expérimental, pour greffer de l'acide 2-halogénobenzoïque sur de la résine, nous avons repris le procédé décrit dans la publication de référence de la synthèse de dérivés d'isocoumarine avec un support solide. Ce procédé est l'une des deux techniques utilisées de manière générale pour greffer des acides carboxyliques sur ce type de résine : pour cela, nous effectuons une déprotonation de l'acide 2-halogénobenzoïque avec du carbonate de césium, dans de l'éthanol à température ambiante, pour avoir un carboxylate de césium (**Schéma 89**). Puis ce sel est mis à réagir avec de la résine de Wang sous sa forme bromée, cette résine ayant

Chapitre 3 : travail préparatoire pour la preuve de concept de la méthodologie

été au préalable mise à gonfler dans du DMF afin que l'accessibilité des sites réactifs du support solide soit optimale. Il est alors censé se produire une simple réaction de substitution à l'issue de laquelle le carboxyle est lié au support solide sous la forme d'un ester.

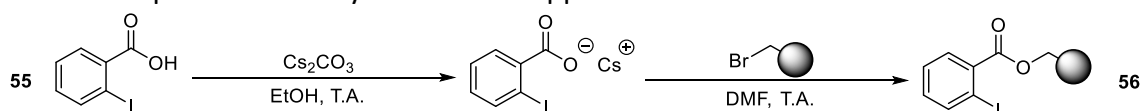


Schéma 89 : greffage sur résine de Wang d'acide 2-iodobenzoïque **55** par formation d'un sel de césium

Bien que le choix d'un composé au césium pour faire passer un acide carboxylique sous sa forme de sel alcalin de carboxylate ne soit pas le plus courant, celui-ci est logique au vu de ce qu'on souhaite faire ici : puisque le greffage de cet acide sur support solide a lieu en milieu hétérogène, il est naturel de disposer d'un sel alcalin qui soit d'une nature physico-chimique le plus proche possible de celle de la résine (qu'on peut qualifier de lipophile). Ce sel alcalin sera d'autant plus compatible avec la résine que le contre-ion aura un rayon atomique de plus grande taille, ce qui fait qu'un sel de césium est mieux indiqué pour ce type de manipulation d'un sel de lithium, de potassium ou de sodium [316]. De plus, un sel alcalin à base de césium aura une meilleure capacité à se dissocier par rapport aux autres sels alcalins, ce qui favorise la présence dans le milieu réactionnel à une haute concentration d'ions carboxylates dissociés qui sont l'espèce réactive [316]. C'est d'ailleurs aussi pour faciliter cette dissociation qu'un solvant polaire comme le DMF est utilisé pour cette réaction de greffage.

Une fois que la manipulation de greffage est terminée, il faut calculer le loading expérimental et à cette fin, il est nécessaire de déterminer quelle quantité d'acide 2-halogénobenzoïque a pu venir se greffer sur le support solide pour une masse donnée de la résine préparée d'arrivée. Pour cela, après avoir prélevé une masse précise de la résine préparée, celle-ci est agitée pendant une heure dans un mélange de TFA et de dichlorométhane (**Schéma 90**). Puis la résine est filtrée et lavée au dichlorométhane et le filtrat est évaporé à sec. La masse du produit obtenu est mesurée, ce qui permet de calculer le loading expérimental en mmol/g.

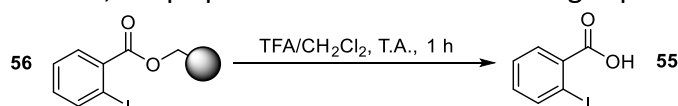


Schéma 90 : clivage d'acide 2-iodobenzoïque greffé sur résine de Wang **56**

En cherchant par cette méthode à greffer le plus souvent de l'acide 2-iodobenzoïque **55** sur de la résine de Wang de sorte à avoir la résine préparée **56**, nous sommes arrivés à un greffage efficace : avec une résine de Wang bromée commercial ayant un loading annoncé par le fabricant à 0,84 mmol/g, le meilleur loading expérimental était de 0,66 mmol/g, ce qui reviendrait à dire que de l'acide 2-iodobenzoïque a pu être greffé sur la grande majorité des sites réactifs présents sur cette résine.

VI. Synthèse de l'acide 2-(3-azidoprop-1-yn-1-yl)benzoïque greffé sur support solide

VI.A. Synthèse sur support solide de l'acide 2-(3-azidoprop-1-yn-1-yl)benzoïque

L'acide 2-(3-azidoprop-1-yn-1-yl)benzoïque nécessaire pour la préparation du support solide de la voie « clic » de notre plan de synthèse n'étant pas un composé commercial, ni un composé ayant déjà été synthétisé auparavant, une tâche supplémentaire qui nous est imposée dans ce travail préparatoire consiste ici en la synthèse préliminaire de ce substrat.

Lors de nos premières réflexions à ce sujet, le projet était alors de le former directement sur support solide, à partir de l'acide 2-iodobenzoïque greffé sur résine de Wang. La synthèse de ce fragment sur support solide devait être a priori assez simple et relativement rapide

Chapitre 3 : travail préparatoire pour la preuve de concept de la méthodologie

(Schéma 91) : on part de l'acide 2-iodobenzoïque greffé sur lequel on fait un couplage de Sonogashira avec un dérivé de propargyle. Puis, si le groupement porté en bout de chaîne du propargyle n'est pas un groupe partant, une étape intermédiaire consistera en sa formation. Enfin, une réaction de substitution avec un agent d'azidation comme l'azoture de sodium doit conduire à la synthèse de l'azoture voulu.

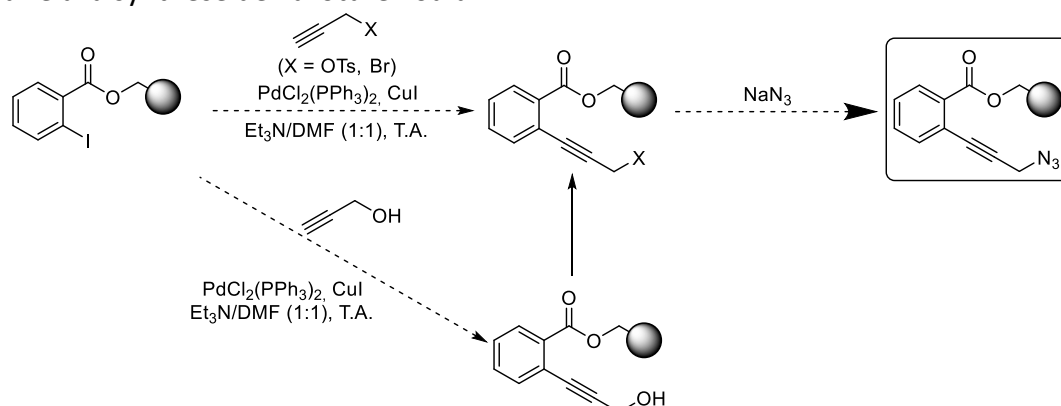


Schéma 91 : plan initial pour la synthèse de l'azoture greffé sur support solide 65

Bien que la voie de synthèse la plus rapide aurait consisté en le couplage de Sonogashira entre l'acide 2-iodobenzoïque greffé **56** et de l'azoture de propargyle, ce n'est pas ce choix que nous avons retenu car ce composé qui est non commercial est beaucoup plus dangereux à synthétiser et à manipuler, avec un fort risque d'explosion [317].

Dans la mesure où nous souhaitons aller vers la méthode de synthèse la plus rapide en nous évitant une étape supplémentaire de formation d'un groupe partant, nous avons cherché à faire un couplage de Sonogashira entre l'acide 2-iodobenzoïque greffé sur résine **56** et un propargyle portant déjà un groupe partant. Et puisque nous avons utilisé à de nombreuses reprises du bromure de propargyle pour des réactions de Williamson ou plus largement de propargylation, nous avons projeté de faire ce couplage avec ce même réactif.

Bien que la présence d'un groupe partant sur la structure du dérivé de propargyle pouvait rendre compliqué le couplage de Sonogashira à cause des conditions basiques qui sont en général nécessaires pour mener à bien la réaction, plusieurs exemples de publications décrivent le couplage avec du bromure de propargyle et un dérivé d'iodobenzène portant en position *ortho* un carbonyle, un carboxyle ou un ester [318–321]. Cependant, dans tous ces exemples, un troisième réactif est toujours présent de sorte à ce que soit fait dans le même temps le couplage de Sonogashira du côté de l'alcyne terminal et une substitution à l'autre extrémité du dérivé de propargyle. Dans les faits, en utilisant les mêmes espèces catalytiques que d'habitude ($\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ et CuI) et de la triéthylamine comme base, en faisant la manipulation dans le DMF (Schéma 92), le couplage devant donner le produit greffé **57** ne fût pas effectif : après clivage d'un échantillon de la résine soumise à cette réaction, le spectre RMN du proton du produit de clivage fût identique à celui de l'acide 2-iodobenzoïque **56**.

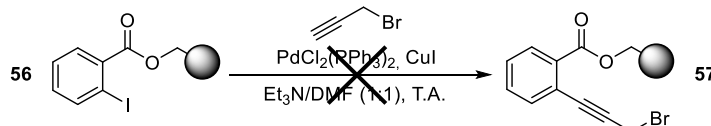


Schéma 92 : couplage de Sonogashira entre l'acide 2-iodobenzoïque greffé sur support solide **56** et le bromure de propargyle

La même manipulation a été ensuite tentée avec un dérivé de propargyle où le groupe partant serait alors différent : il a été possible de trouver un autre dérivé commercial de propargyle avec le tosylate de propargyle (Schéma 93). Hélas, la conclusion fût la même avec ce groupe différent, aucun couplage conduisant au produit **58** n'étant survenu dans ce dernier cas.

Chapitre 3 : travail préparatoire pour la preuve de concept de la méthodologie

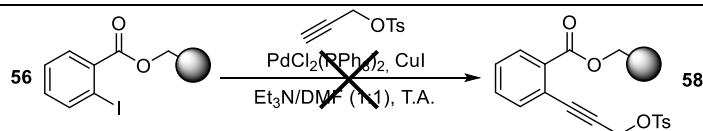


Schéma 93 : couplage de Sonogashira entre l'acide 2-iodobenzoïque greffé sur support solide **56** et le tosylate de propargyle

Ces résultats négatifs nous obligent à allonger le plan de synthèse du fragment azidé d'une étape en faisant d'abord un couplage de Sonogashira entre l'acide 2-iodobenzoïque greffé **56** sur support solide et cette fois-ci l'alcool propargylique, l'hydroxyle alors ajouté étant ensuite converti en un bon groupe partant, lui-même en capacité d'être substitué par un azoture.

Le couplage de Sonogashira entre l'acide 2-iodobenzoïque greffé sur support solide **56** et l'alcool propargylique permettant de synthétiser le composé greffé **59** (Schéma 94) est loin d'être inconnu puisqu'il avait déjà été appliqué en solution sur le 2-iodobenzoate de méthyle selon un protocole expérimental de synthèse provenant de la littérature [322] et qui avait donné de bons résultats en termes de rendement de réaction. Ce protocole a été repris et adapté à l'utilisation d'un support solide contenant l'acide 2-iodobenzoïque comme fragment greffé. Le passage d'un milieu homogène à un milieu hétérogène n'a pas été source de problèmes sur le déroulement de la réaction de couplage. Après application de la réaction au support solide et clivage d'un échantillon, les données tirées du spectre RMN du proton et du spectre de masse du produit brut de clivage ont montré aussi bien la présence du dérivé d'isocoumarine **60** que de celui de phthalide **61** en proportion 4:1 et ont par conséquent confirmé l'addition de l'alcool propargylique sur le cycle aromatique du fragment greffé. Ces analyses ainsi que le bilan de masse effectué sur le produit de clivage laissent entendre que l'intégralité du substrat de départ **56** a été consommé et que la réaction a été totale, bien que sur ce dernier point, le clivage d'un plus grand échantillon de résine permettrait de pouvoir l'affirmer avec une plus grande certitude.

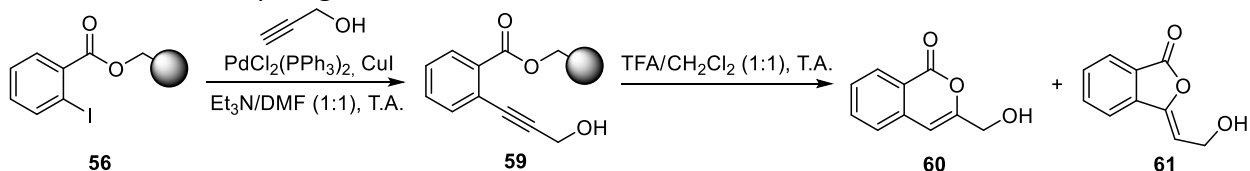


Schéma 94 : couplage de Sonogashira entre l'acide 2-iodobenzoïque greffé sur support solide **56** et l'alcool propargylique suivi d'un clivage au TFA de la résine obtenue **59**

Reste alors à faire réagir l'hydroxyle en bout en chaîne afin d'arriver à l'azoture espéré. Dans toutes nos tentatives de conversion de l'alcool en groupe partant, nous nous sommes attachés à former un groupement tosylate capable d'être substitué par un azoture dans des conditions douces que nous souhaitons privilégier lorsqu'on travaille avec un support solide.

Deux méthodes de tosylation de l'acide 2-(3-hydroxyprop-1-yn-1-yl)benzoïque greffé **59** ont été testées : la première tentative, inspirée d'un brevet [323], a consisté en une réaction à 0°C avec le chlorure de tosylate et de la potasse en guise de base, dans le dichlorométhane (Schéma 95). La seconde tentative, reprenant un protocole d'un article écrit justement pour des manipulations utilisant un support solide [324], s'est faite avec des conditions plus classiques pour ce type de réaction : la base est ici de la pyridine, le solvant réactionnel du THF et la réaction se fait intégralement à température ambiante (Schéma 95). Dans les deux cas, le spectre RMN du proton réalisé sur le produit brut du clivage de contrôle suivant la fin de la réaction conduit à identifier un produit de cyclisation formé avec le fragment greffé présent à l'issue de l'étape de couplage de Sonogashira avec l'alcool propargylique. Après réflexion, il nous a paru possible que ce résultat n'était pas forcément le signe que la réaction de tosylation était un échec mais peut-être le résultat d'une instabilité du tosylate dans les conditions de

Chapitre 3 : travail préparatoire pour la preuve de concept de la méthodologie

clivage au TFA. C'est pourquoi nous avons vérifié si la réaction de tosylation avait bien eu lieu soit en continuant simplement la synthèse de l'azoture sur le support solide, soit en effectuant après tosylation une cyclisation au bromure de cuivre(II). Mais quelle que soit la méthode employée, les composés obtenus n'étaient pas ceux attendus dans le cas où la tosylation avait réussi. Nous en avons alors conclu que toutes nos tentatives de tosylation directement sur support solide furent des échecs.

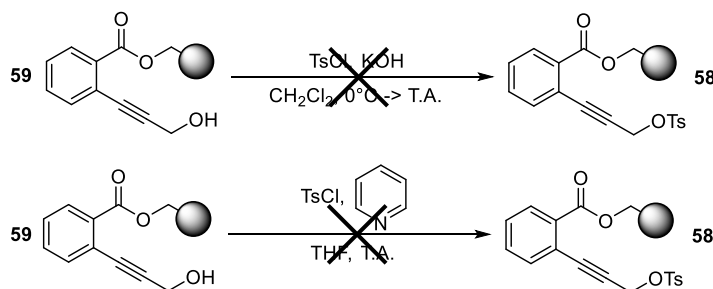


Schéma 95 : tentatives de tosylation de l'acide 2-(3-hydroxyprop-1-yn-1-yl)benzoïque greffé sur support solide 59

A partir de ce moment-là, il nous a semblé plus efficace de se concentrer en priorité sur la synthèse en solution du fragment azidé dont l'avancée à chaque étape de la synthèse sera plus facilement observable et qui nous permettra d'avoir plus de liberté sur les conditions expérimentales mises en application pour chacune de ces étapes, quitte à rajouter une étape supplémentaire de greffage du fragment sur le support solide. Pour autant, les recherches concernant la synthèse de ce substrat directement sur la résine n'ont pas été totalement abandonnées puisque nous avons cherché un moyen de convertir l'alcool de l'acide 2-(3-hydroxyprop-1-yn-1-yl)benzoïque greffé 59 en un autre type de groupe partant.

Toutes les tentatives de conversion de l'acide 2-(3-hydroxyprop-1-yn-1-yl)benzoïque greffé sur résine 59 que nous avons alors tenté étaient dans le but de synthétiser un halogénure. Devant des difficultés techniques d'accès aux réactifs permettant de mettre en pratique les méthodes les plus courantes d'halogénéation et dans une volonté de privilégier des méthodes qui soient suffisamment douces pour ne pas risquer de dégrader la résine, la voie d'halogénéation qui a été mise en œuvre en priorité est celle de la réaction d'Appel, du nom du chimiste allemand Rolf Appel qui l'a découverte en 1975 [325]. Cette réaction nécessite pour ce faire de la triphénylphosphine et un réactif source d'halogénure, soit du tétrachlorure de carbone ou de l'hexachloroéthane si on souhaite faire un chlorure, soit du tétrabromure de carbone dans le cas de la synthèse d'un bromure ou soit du iodométhane si on veut synthétiser un iodure. Si on s'intéresse au mécanisme de cette réaction (**Schéma 96**), la triphénylphosphine commence par arracher un halogénure de l'autre réactif pour donner un sel d'halogénure de triphénylphosphonium. Le réactif halogéné, désormais devenu un anion, peut agir comme base et déprotoner l'alcool qui, sous sa forme alcoolate, sera en mesure d'attaquer le phosphonium en se substituant à l'halogénure. Ce dernier ion peut enfin effectuer une ultime attaque de substitution nucléophile sur l'atome de carbone portant l'ancien groupement hydroxyle, ce qui donne à la fois la synthèse de l'halogénure visé et la libération d'oxyde de triphénylphosphine, sous-produit de la réaction.

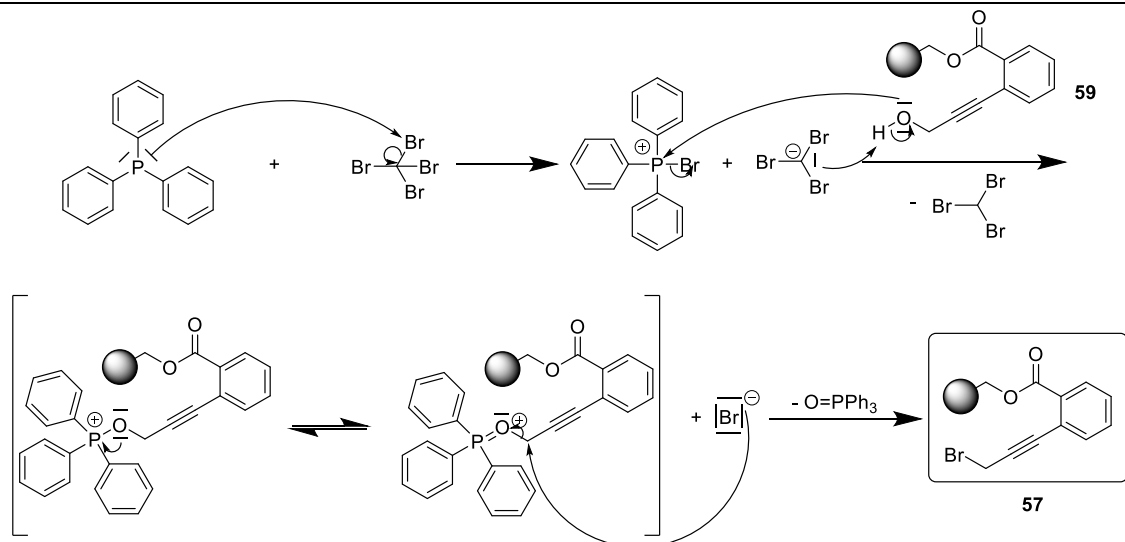


Schéma 96 : mécanisme de la réaction d'Appel sur l'acide 2-(3-hydroxyprop-1-yn-1-yl)benzoïque greffé sur résine **59** avec du tétrabromure de carbone

Notre première tentative de réaction d'Appel sur l'acide 2-(3-hydroxyprop-1-yn-1-yl)benzoïque greffé **59** a été réalisée avec du tétrabromure de carbone, dans du THF à température ambiante (**Schéma 97**) selon un protocole tiré de la littérature qui permettait justement de synthétiser un substrat azidé greffé sur résine de Wang, à partir d'un chlorure [326]. Cependant, cette tentative de bromation ne fût pas concluante : après clivage, l'analyse par RMN du proton du produit brut de clivage récupéré n'a pas permis de mettre en évidence une variation du déplacement chimique du signal associé au groupement $-CH_2-$ du substrat qui aurait été le seul vrai indicateur de la survenue de la synthèse et celle par LC-MS a confirmé que ce produit de clivage contenait seulement des composés venant de la cyclisation du substrat de départ de cette étape.

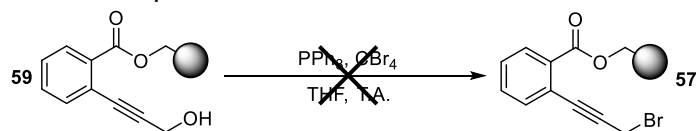


Schéma 97 : tentative de bromation de l'acide 2-(3-hydroxyprop-1-yn-1-yl)benzoïque greffé sur support solide **59** par réaction d'Appel avec du tétrabromure de carbone

Plus tard, une autre tentative de bromation a été réalisée avec une méthode un peu plus habituelle avec l'utilisation seule de tribromure de phosphore, ce qui avait déjà pu être appliqué en solution sur une molécule très proches de la nôtre greffée d'après un article qui a été trouvé à ce sujet [327]. Mais en faisant la réaction dans du dichlorométhane, à température ambiante et pendant une nuit entière (**Schéma 98**), les résultats furent pour le moins surprenant : après les lavages de la résine et le clivage d'une partie de celle-ci, nous avons vu sur le spectre RMN du proton du produit brut de clivage évaporé à sec qu'aucun des signaux constitutifs des produits de cyclisation attendus après bromation ou même ceux qu'on pourrait avoir si cette réaction ne s'était pas produite ne furent présents, que ce soient avec les signaux des protons aromatiques ou les autres. De même, la plaque CCM de ce produit brut de clivage a montré l'absence de tout composé visible sous lampe UV. On pourrait donc en déduire que les conditions de bromation sur notre résine préparée avec du tribromure de bore sont trop fortes, au point qu'elles ont entraîné de fait un clivage du substrat du support solide.

Chapitre 3 : travail préparatoire pour la preuve de concept de la méthodologie

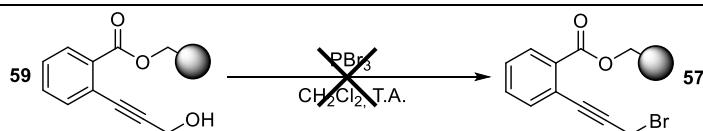


Schéma 98 : tentative de bromation de l'acide 2-(3-hydroxyprop-1-yn-1-yl)benzoïque greffé sur support solide **59** avec du tribromure de phosphore

Après l'échec de la bromation par réaction d'Appel, nous avons tenté la même réaction en suivant scrupuleusement le protocole de l'article et en reprenant à l'identique les réactifs utilisés, afin de faire une chloration avec de l'hexachloroéthane (**Schéma 99**). Avec ces dernières conditions, cette fois-ci, il a été possible de substituer l'alcool **59** avec un chlorure comme l'ont confirmé des analyses RMN du proton et GC-EI-MS après clivage, analyses qui ont également permis de conclure en l'absence de produits de cyclisation de la résine de départ **59** de cette réaction, signe que l'intégralité de ce substrat a été consommé. Dans le produit de clivage obtenu, l'isocoumarine **63** est majoritaire par rapport au phthalide **64**, ces deux composés étant en proportion 2:1. Enfin, encore une fois, bien que le clivage d'un échantillon plus important serait plus représentatif pour juger du caractère total ou non de la réaction, le bilan de masse effectué sur notre produit de clivage peut suggérer que la chloration a bien été totale. Cependant, il y a deux grands inconvénients à cette synthèse : d'une part, nous avons pu noter que la manipulation n'était pas toujours reproductible malgré un suivi des plus rigoureux de l'intégralité du protocole. En rééditant la même réaction sur plusieurs lots différents d'acide 2-(3-hydroxyprop-1-yn-1-yl)benzoïque greffé sur résine **59**, nous avons parfois dû reprendre la manipulation à plusieurs fois pour parvenir à faire la substitution. D'autre part, malgré de nombreux lavages de la résine qui auraient dû permettre d'éliminer la totalité des restes de réactifs et des sous-produits en principe, une analyse GC-EI-MS du produit du clivage de la résine a montré que de l'oxyde de triphénylphosphine était toujours présent dans le système.

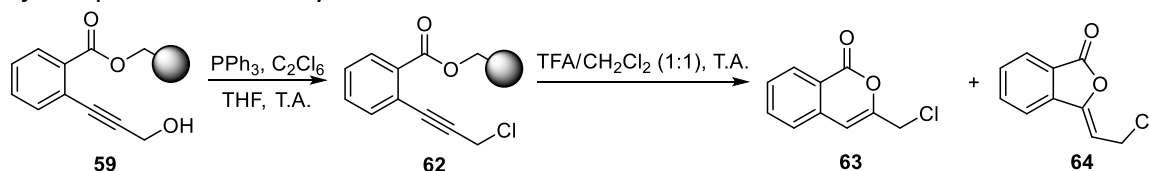


Schéma 99 : chloration de l'acide 2-(3-hydroxyprop-1-yn-1-yl)benzoïque greffé sur support solide **59** par réaction d'Appel avec de l'hexachloroéthane suivi d'un clivage au TFA de la résine obtenue **62**

Avec ce nouveau groupe partant sur la structure de notre substrat, nous pouvions alors passer à la substitution par un azoture. La publication précédemment citée décrit pour cette étape l'utilisation conjointe de TBAI avec l'azoture de sodium, probablement dans un but d'interconversion du chlorure en iodure, soit en un halogénure meilleur groupe partant pour une réaction de substitution. Nous souhaitons tout de même voir si l'utilisation de cet autre réactif était indispensable pour pouvoir substituer l'azoture au chlorure et nous avons alors suivi un autre protocole également appliqué sur support solide [328] bien que la substitution ait été faite dans ce cas-là sur un bromure et non sur un chlorure. Cependant, en faisant cette réaction dans du DMF et en chauffant à 75 °C pendant une nuit (**Schéma 100**), le résultat fût négatif, aucun changement n'ayant été constaté sur l'état de ce qui a été récupéré après clivage par rapport au départ de cette étape de synthèse et ce, aussi bien par RMN du proton que par analyse GC-EI-MS faite sur le produit brut de clivage.

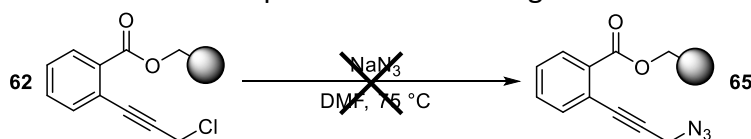


Schéma 100 : tentative de substitution sur l'acide 2-(3-chloroprop-1-yn-1-yl)benzoïque greffé sur support solide **62** avec de l'azoture de sodium dans du DMF avec chauffage

Chapitre 3 : travail préparatoire pour la preuve de concept de la méthodologie

Par la suite, nous sommes revenus sur la publication qui nous avait déjà permis de faire la chloration, dans laquelle la substitution en azoture est effectuée avec de l'azoture de sodium et du TBAI, toujours dans du DMF mais avec un chauffage un peu moins fort à 65°C pendant une journée complète (**Schéma 101**). Avec ces dernières conditions, la formation de l'azoture n'a pas souffert de quelconques difficultés et durant le contrôle après clivage d'un échantillon de cette résine, le spectre RMN du proton du produit brut correspondant a clairement indiqué la survenue de la substitution avec la consommation de tout le substrat initial **62**. De plus, pour les analyses de masses, seules celles coïncidant avec les masses des produits de cyclisation espérés ont été détectées. A noter que dans le produit de clivage obtenu par l'emploi de TFA avec cette résine, l'isocoumarine **66** et le phthalide **67** ont été formés en proportion 1:1.

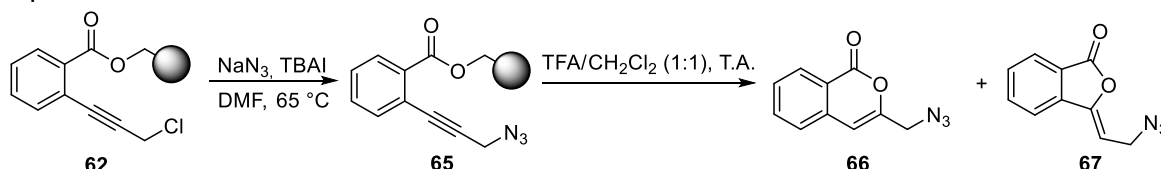


Schéma 101 : substitution sur l'acide 2-(3-chloroprop-1-yn-1-yl)benzoïque greffé sur support solide **62** avec de l'azoture de sodium et du TBAI dans du DMF avec chauffage suivi d'un clivage au TFA de la résine obtenue **65**

Bien que nous soyons finalement parvenus à synthétiser directement sur la résine le substrat souhaité, un bémol est tout de même à constater, à savoir que la comparaison du spectre RMN du proton du produit brut de clivage d'une résine où le fragment a été synthétisé *in situ* avec celle du produit brut de clivage d'une résine où le fragment entier a été greffé après synthèse en solution met en évidence dans le premier cas un grand nombre de signaux qui ne peuvent pas être attribués à l'un des groupements de protons des produits de cyclisation. Ce constat peut laisser supposer que par la synthèse directe sur le support solide du substrat, la pureté des produits obtenus après cyclisation est moindre malgré les lavages de la résine à chaque étape de la synthèse.

VI.B. Synthèse en solution de l'acide 2-(3-azidoprop-1-yn-1-yl)benzoïque

La synthèse en solution de l'acide 2-(3-azidoprop-1-yn-1-yl)benzoïque a été planifiée de la même manière que celle sur support solide (**Schéma 102**) en partant du 2-iodobenzoate de méthyle pour éviter toute éventuelle réaction parasite sur l'acide carboxylique. Nous ferons d'abord un couplage de Sonogashira avec un dérivé de propargyle possédant un groupe partant qui sera ensuite substitué par l'azoture. Puis une étape supplémentaire de déprotection de l'ester est mise en œuvre pour pouvoir former l'acide carboxylique souhaité.

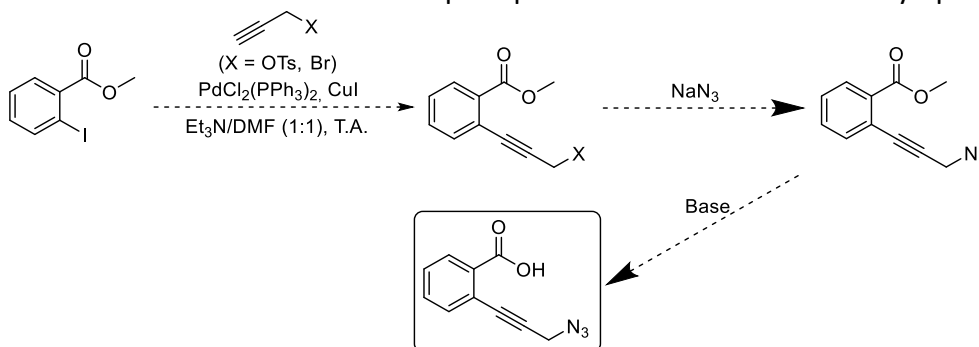


Schéma 102 : plan initial pour la synthèse de l'acide 2-(3-azidoprop-1-yn-1-yl)benzoïque **71**

Pour le couplage de Sonogashira sur le 2-iodobenzoate de méthyle, les conditions classiques avec usage de triéthylamine et de DMF, tous deux en mélange équimolaire, ont été réutilisées ici. Deux essais avec différents réactifs propargylés possédant un groupe partant ont été effectués, l'un avec du bromure de propargyle et l'autre avec du tosylate de propargyle (**Schéma 103**). Malheureusement, la synthèse des produits de couplage respectifs

Chapitre 3 : travail préparatoire pour la preuve de concept de la méthodologie

68 et **69** a rapidement viré à l'échec : après une nuit laissée pour la réaction et à l'issue du traitement des milieux réactionnels, seule la présence de l'halogénure d'aryle initial a été notée quelle que soit la méthode d'analyse.

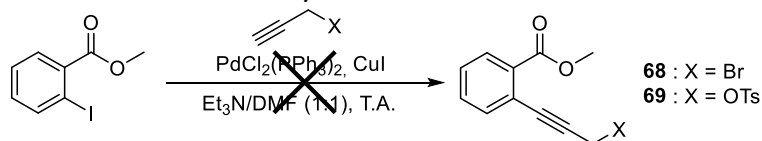


Schéma 103 : couplage de Sonogashira entre le 2-iodobenzoate de méthyle et un dérivé de propargyle avec un groupe partant

L'échec de toutes ces tentatives de couplage de Sonogashira ayant été constaté, nous sommes dans l'obligation de procéder en deux temps pour former un composé sur lequel faire la substitution en azoture. Un couplage de Sonogashira entre le 2-iodobenzoate de méthyle et l'alcool propargylique permettra d'ajouter sur la structure du substrat de départ la triple liaison complétant le motif précurseur de l'isocoumarine ainsi qu'un groupement hydroxyle en bout de chaîne sur lequel pourra ensuite intervenir une réaction de conversion de ce groupement fonctionnel en un groupe partant.

La formation du composé **70** par couplage de Sonogashira entre le 2-iodobenzoate de méthyle et l'alcool propargylique a été réalisée suivant un protocole et des conditions expérimentales décrites dans la littérature (**Schéma 104**) [322]. Cependant, étant donné qu'on cherche à avoir une masse de produit de couplage de l'ordre de plusieurs grammes, utiliser une moins grande quantité des deux catalyseurs nécessaires pour ce couplage peut être particulièrement intéressant d'un point de vue économique. En divisant leurs quantités par trois en comparaison avec les données de la publication, à 0,01 équivalent de catalyseur au palladium et à 0,02 équivalent de catalyseur au cuivre, le couplage de Sonogashira peut toujours être appliqué efficacement sur une nuit avec un rendement de 76 %. En dessous de ces quantités de catalyseur, la durée de réaction est très sensiblement allongée : avec 0,005 équivalents de $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ et 0,01 équivalents de CuI , la synthèse de l'alcool couplé **70** n'a été complète qu'au bout de cinq jours de réaction. Mais cette lenteur n'a pas eu d'impact sur le rendement de la réaction, qui est resté identique.

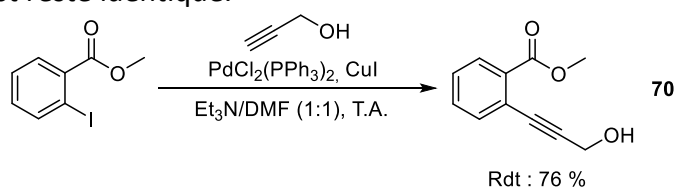


Schéma 104 : couplage de Sonogashira entre le 2-iodobenzoate de méthyle et l'alcool propargylique

L'étape la plus délicate de la synthèse de notre composé azidé est sans conteste celle consistant à former sur le produit de couplage **70** un bon groupe partant. Dans le cas de la synthèse en solution, nous nous sommes limités à tenter de synthétiser le tosylate **69**. La première tentative de tosylation en solution a été faite selon des conditions similaires à celles de l'ultime test réalisé sur support solide, avec du chlorure de tosylate, de la pyridine comme base et du THF comme solvant réactionnel (**Schéma 105**) [324]. Cependant, le produit recherché n'a pas pu être formé dans ces conditions réactionnelles.

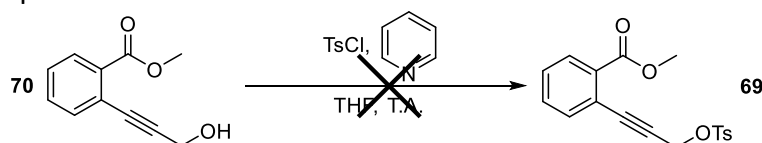


Schéma 105 : tentative de tosylation du 2-(3-hydroxyprop-1-yn-1-yl)benzoate de méthyle **70** avec du chlorure de tosylate et de la pyridine

Chapitre 3 : travail préparatoire pour la preuve de concept de la méthodologie

D'autres conditions pour la tosylation tirées de la littérature ont été testées, avec pour principale différence que la base est à présent de la triéthylamine (**Schéma 106**). Après une nuit de réaction, le produit **69** recherché a bien été synthétisé mais sans que la tosylation ne soit complète et avec un faible rendement de seulement 20 %, ce qui nous a poussé à chercher le moyen d'optimiser cette étape de synthèse de sorte à ce qu'elle soit complète. En allongeant à 24 h la durée de réaction, nous avons pu à nouveau observer le produit **69** attendu, tandis que celle de notre réactif limitant de départ **70**, reste encore présente pour le milieu réactionnel, signe que la réaction n'est encore pas arrivée à son terme. Cette réaction constituant une forme de substitution et malgré les rapports donnés dans la littérature au sujet de la préparation de ce type de groupe partant qui se fait le plus souvent à froid, le mélange en question a ensuite été mis à reflux pendant une nouvelle journée entière. Mais ce changement en cours de route d'une condition expérimentale n'a fait qu'empirer la situation car le tosylate est instable à haute température et s'est totalement dégradé dans le milieu.

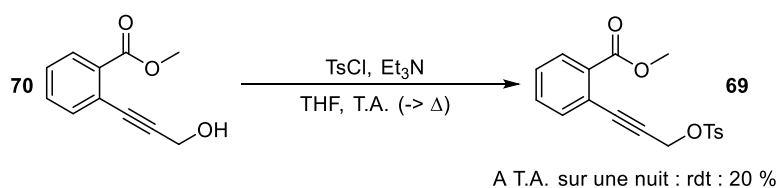


Schéma 106 : tentative de tosylation du 2-(3-hydroxyprop-1-yn-1-yl)benzoate de méthyle **70** avec du chlorure de tosyloyle et de la triéthylamine

En recherchant un autre nouveau protocole pour la tosylation du 2-(3-hydroxyprop-1-yn-1-yl)benzoate de méthyle **70**, nous avons pu trouver des conditions plus inhabituelles [329] avec de la potasse comme base (en excès à trois équivalents) mais aussi de la triéthylamine et de l'hydrochlorure de triméthylamine, tous deux en quantité catalytique (à 0,1 équivalent chacun). L'utilité de tous ces réactifs est clairement expliquée à l'aide du mécanisme établi de cette méthode de tosylation qu'on peut retrouver dans le premier article la relatant [330] (**Schéma 107**). En premier lieu, la triéthylamine et le chlorhydrate de triméthylamine s'échangent le chlorhydrate au sein d'un équilibre favorable à la formation de triméthylamine qui présente une basicité moins forte par rapport à la triéthylamine ($pK_a = 9,87$ contre $10,78$). Cet échange de chlorhydrate représente une bonne méthode de synthèse de triméthylamine qui est un composé sous forme gazeuse à température ambiante et non liquide comme la triéthylamine. La potasse conduit ensuite à régénérer la triéthylamine normale en capturant à son tour le chlorhydrate. La triméthylamine nouvellement formée peut substituer le groupe partant du chlorure de tosyloyle pour donner un sel de chlorure d'ammonium plus réactif que le chlorure de tosyloyle de départ. On peut noter ici que du fait de l'encombrement plus important de la triéthylamine, la formation du chlorure d'ammonium avec cette amine-ci sera moins favorable qu'avec la triméthylamine, d'où l'intérêt d'utiliser ce dernier. Le sel généré peut enfin être engagé à proprement parler dans la tosylation sur l'alcool, en suivant le mécanisme habituel de cette réaction. Le sous-produit formé ici sera alors l'hydrochlorure de triméthylamine qui a été régénéré et qui peut être réutilisé pour de nouveaux cycles de réaction.

Chapitre 3 : travail préparatoire pour la preuve de concept de la méthodologie

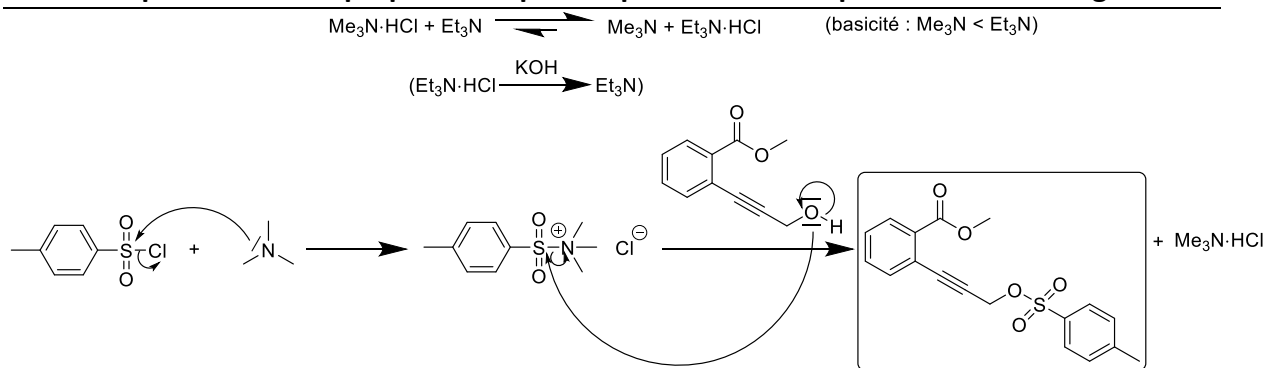


Schéma 107 : mécanisme de la tosylation du 2-(3-hydroxyprop-1-yn-1-yl)benzoate de méthyle **70** avec du chlorure de tosyloyle, de la potasse, de la triéthylamine et de l'hydrochlorure de triméthylamine [330]

Nous avons cherché à appliquer ce protocole à la synthèse du tosylate **69**, en restant à température ambiante et en agitant le milieu réactionnel pendant une nuit (**Schéma 108**). Dans ces conditions, les améliorations ont été sensibles mais pas encore satisfaisantes avec la synthèse du composé souhaité avec un faible rendement de 27 %. En revanche, en abaissant la température de réaction à 0 °C, la tosylation est enfin suffisamment productive pour notre projet : à l'issue de la purification, le tosylate **69** attendu a pu être obtenu avec un rendement de 76 %.

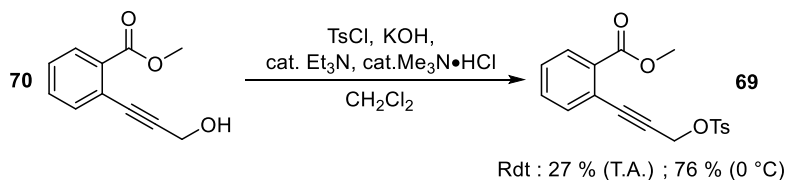


Schéma 108 : tosylation du 2-(3-hydroxyprop-1-yn-1-yl)benzoate de méthyle **70** avec du chlorure de tosyloyle, de la potasse, de la triéthylamine et de l'hydrochlorure de triméthylamine

Et maintenant qu'un bon groupe partant a pu être formé sur la structure de notre fragment à greffer, il ne reste plus qu'à le substituer en l'azoture **71**. Là encore, plusieurs essais ont été nécessaires pour parvenir à une substitution avec un rendement suffisamment élevé. Un premier protocole utilisant de l'azoture de sodium dans le DMF, à température ambiante [331] a conduit au composé **71** recherché avec un rendement de 37 % après une nuit de réaction (**Schéma 109**). Ce rendement a pu être ensuite grandement amélioré à 87 % avec un autre protocole où le solvant est un mélange en proportion 2:1 de méthanol et d'eau et où le milieu réactionnel est légèrement chauffé à 35 °C pendant deux heures [332].

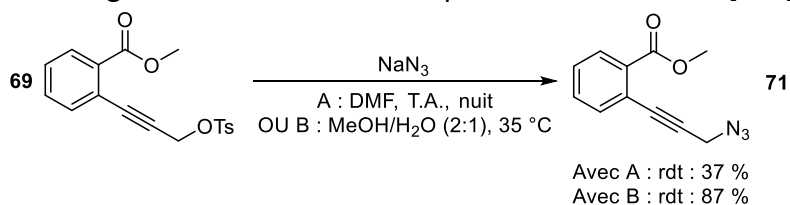


Schéma 109 : substitution sur le tosylate **69** avec de l'azoture de sodium [331,332]

Pour pouvoir ensuite faire le greffage de ce fragment sur support solide, il est impératif de convertir l'ester du composé **71** en son acide carboxylique **72** par une méthode des plus classiques avec une saponification de l'ester en présence d'hydroxyde de sodium (**Schéma 110**). La réaction a été effective et totale en cinq heures. Cependant, la purification par chromatographie sur colonne de gel de silice a été difficile, de sorte d'un greffage direct sur résine du produit brut de cette manipulation a été envisagée par la suite.

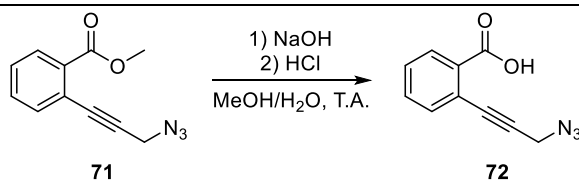


Schéma 110 : saponification de l'ester **65**

VI.C. Greffage de l'acide 2-(3-azidoprop-1-yn-1-yl)benzoïque sur support solide

Après la synthèse du nouveau fragment azidé, ce dernier peut maintenant être greffé sur la résine de Wang. Les premiers essais se basent sur ce qui a déjà été entrepris pour le greffage de l'acide 2-iodobenzoïque, en passant de l'acide à son sel alcalin avant de le faire réagir avec la résine dans sa version bromée. Ici, deux sels alcalins ont été testés : d'un côté, le sel de césium provenant d'une déprotonation de l'acide carboxylique **72** avec du carbonate de césium (**Schéma 111**) et de l'autre, le sel de sodium résultant de la saponification du 2-(3-azidoprop-1-yn-1-yl)benzoate de méthyle **71** sans faire ensuite l'acidification pour revenir à l'acide carboxylique (**Schéma 111**).

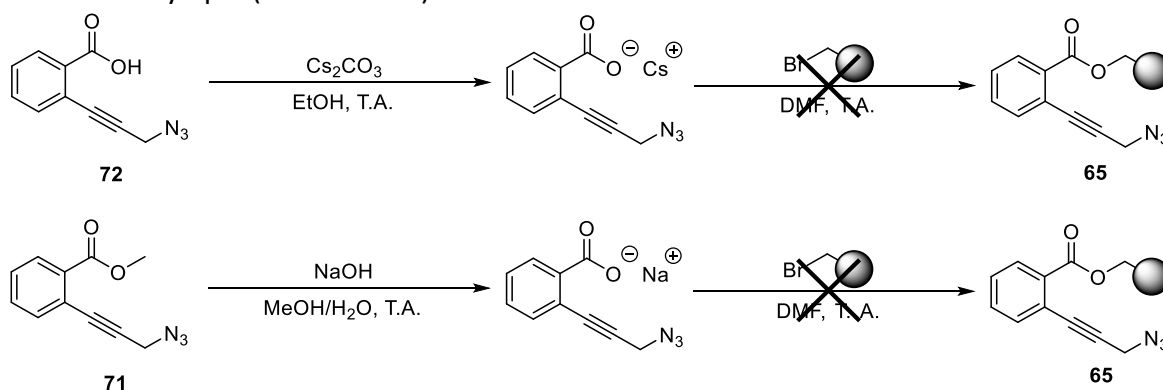


Schéma 111 : tentatives de greffage sur résine de Wang d'acide 2-(3-azidoprop-1-yn-1-yl)benzoïque **72** par formation d'un sel alcalin

Dans les deux cas, cette étape de greffage ne s'est pas déroulée comme espérée : d'abord, sur le plan des observations expérimentales, nous avons pu voir un assombrissement progressif du mélange réactionnel, phénomène qui n'était jamais présent lorsqu'il était question de greffer de l'acide 2-iodobenzoïque **55** de la même manière. Ensuite et surtout, lors du contrôle de la survenue du clivage, le spectre RMN du proton ne nous a pas permis à lui seul de vérifier si le greffage a été réussi ou non, un doute étant présent sur la variation du déplacement chimique du singulet associé au groupement $-CH_2-$ compris entre la triple liaison et le groupement azoture sous l'effet de la cyclisation par clivage au TFA, qui peut constituer le meilleur élément discriminant de la survenue de la cyclisation et donc du greffage qui le précède.

Pour vérifier si la cyclisation induit une variation du déplacement chimique de ce groupement $-CH_2-$, nous avons alors cherché à faire la cyclisation de l'azoture **71** en isocoumarine **66** en solution, en essayant avec seulement du TFA, dans du dichlorométhane et en se plaçant à température ambiante [333], ce qui n'a pas donné de résultat positif puisque rien ne s'est passé pendant la manipulation. Pour parvenir à faire cette réaction, il est nécessaire d'avoir un additif en plus de l'acide, ce qui est d'ailleurs une différence intéressante par rapport aux conditions de cyclisation sur support solide même si dans ce dernier cas, l'usage seul de TFA peut aussi conduire à former un dérivé de phthalide. Nous avons alors trouvé un protocole de cyclisation de ce type de structure où un équivalent de tribromure d'indium était utilisé en plus du TFA et du dichlorométhane [334] (**Schéma 112**). Avec ces conditions, la cyclisation fût très efficace (réaction terminée en deux heures) et productive (rendement de 74 %). De plus,

Chapitre 3 : travail préparatoire pour la preuve de concept de la méthodologie

l'analyse du produit purifié a confirmé d'une part l'identité de l'isocoumarine et d'autre part l'invariabilité du déplacement chimique du singulet du seul groupement $-CH_2$.

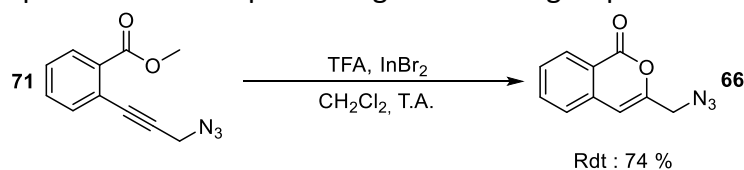


Schéma 112 : cyclisation du 2-(3-azidoprop-1-yn-1-yl)benzoate de méthyle **71** avec du TFA et du tribromure d'indium

Nous avons donc par la suite pu conclure que notre tentative de greffage du fragment azidé avec passage par un sel alcalin a été un échec. En plus de cela, l'analyse par RMN du proton du filtrat récupéré par la filtration et les lavages de la résine utilisée pour cette manipulation a montré une dégradation du composé : le spectre a affiché ici un grand nombre de signaux mais aucun d'entre eux ne correspond à un de ceux du produit qu'on a cherché à greffer.

Par la suite, une autre méthode qui permet de fixer la molécule souhaitée sur le support solide sans que cela soit sujet à une dégradation a été recherchée. En regardant une publication dans laquelle un azoture assez similaire au nôtre était greffé sur le même type de résine [335], nous nous sommes penchés sur la manière dont le greffage est effectué dans cet article, qui est l'autre grande technique de greffage d'acide carboxylique sur résine de Wang avec une estérification dite de Steglich.

Cette méthode d'estérification nécessite un agent de couplage de la famille des carbodiimides comme le dicyclohexylcarbodiimide (DCC) ou, comme ce sera le cas ici, le diisopropylcarbodiimide (DIC) et un catalyseur, la 4-diméthylaminopyridine (DMAP). De plus, dans notre cas, le support solide utilisé est alors de la résine de Wang avec des groupements hydroxyles sur les sites réactifs (**Schéma 113**). Le mécanisme de cette réaction d'estérification (**Schéma 114**) débute par une déprotonation de l'acide carboxylique au moyen de la DMAP catalytique. Le carboxylate correspondant attaque ensuite l'atome de carbone centrale du carbodiimide, ce qui conduit à former une *O*-acylurée qui reprend alors le proton capturé par le DMAP pour être sous forme neutre. A ce stade, le groupement fonctionnel synthétisé possède une réactivité comparable à celui d'un anhydride d'acide et permet d'ailleurs de former rapidement un amide par réaction avec une amine. En revanche, une estérification avec cet intermédiaire réactionnel et un alcool est plus lent et parfois suffisamment pour qu'une réaction parasite se produise avec un 1,3-réarrangement de la *O*-acylurée donnant une *N*-acylurée qui n'est pas réactive avec les alcools. Le DMAP catalytique permet de supprimer ce réarrangement : en tant qu'amine, ce composé va agir comme un agent de transfert de l'acyle pour former un amide intermédiaire activé (ainsi qu'une urée comme sous-produit) qui peut réagir rapidement avec l'alcool de sorte à générer l'ester.

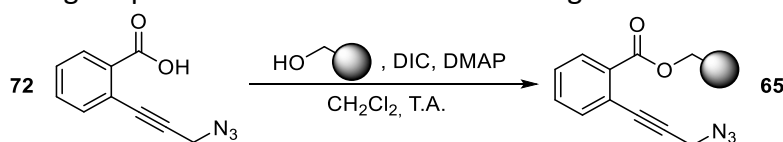


Schéma 113 : greffage sur résine de Wang d'acide 2-(3-azidoprop-1-yn-1-yl)benzoïque **72** par estérification de Steglich

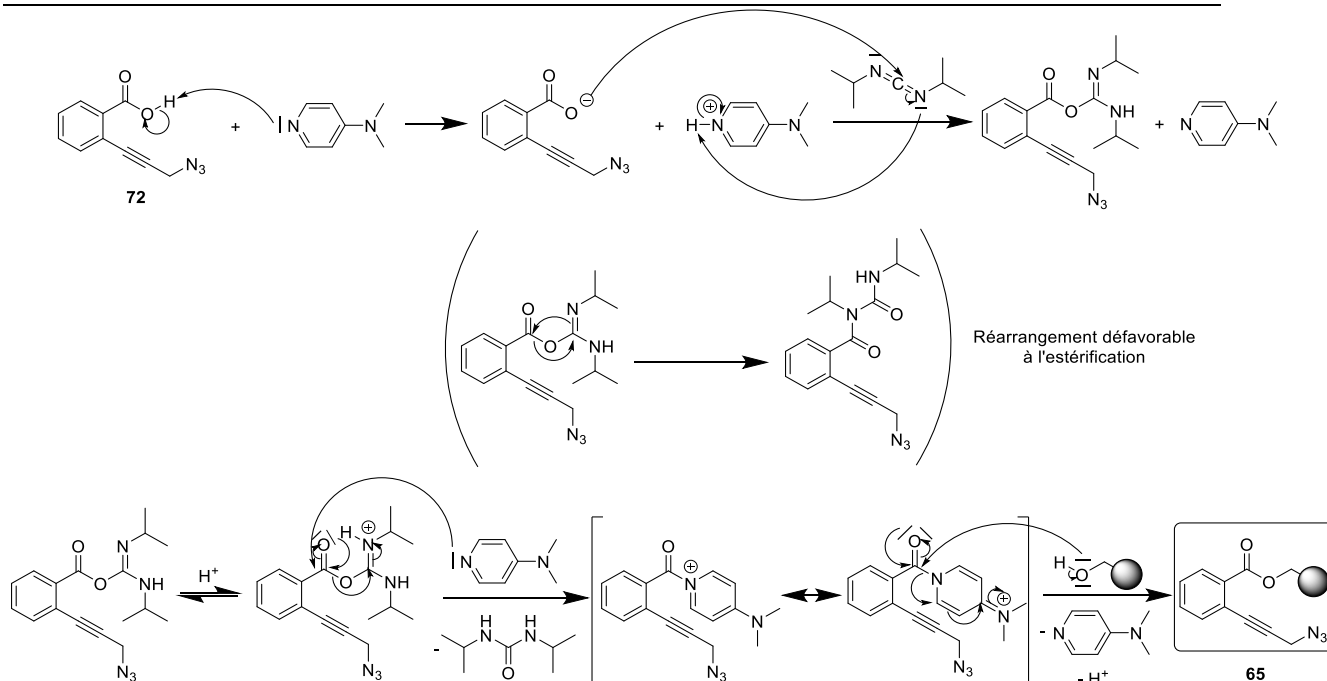


Schéma 114 : mécanisme du greffage sur résine de Wang d'acide 2-(3-azidoprop-1-yn-1-yl)benzoïque **72** par estérification de Steglich

Si cette méthode d'estérification peut se faire aussi bien en solution qu'en synthèse sur support solide, il y a quand même des différences de manipulation suivant le milieu dans lequel on se trouve pour faire cette synthèse : alors qu'en solution, l'habitude est d'utiliser du DCC pour la formation de la *O*-acylurée intermédiaire, seul le DIC est utilisé lorsqu'on travaille sur support solide et ce pour deux raisons d'ordre pratique. La première tient à la facilité de manipulation du DIC qui est conditionné sous forme liquide alors que le DCC se présente sous la forme d'un solide cireux avec un faible point de fusion à 34 °C. La deuxième raison vient des caractéristiques physico-chimiques du sous-produit de la réaction : avec le DCC, le sous-produit formé est la dicyclohexylurée (DCU), une urée sous forme solide qui est peu soluble dans la majorité des solvants organiques et insoluble dans l'eau, ce qui peut considérablement compliquer son élimination de sur la résine lors de la filtration et des lavages de cette dernière. Au contraire, avec le DIC, c'est la diisopropylurée (DIU), liquide à température ambiante et aussi bien plus soluble dans la plupart des solvants usuels, qui est produite, ce qui en fait un sous-produit aisément plus éliminable du milieu du support solide.

L'application du protocole expérimental de l'estérification de Steglich sur notre acide carboxylique **72** a enfin permis de le greffer sur la résine de Wang : arrivé à l'étape du clivage au TFA de la résine et à l'analyse par RMN du proton, la superposition parfaite de tous les signaux du spectre du dérivé d'isocoumarine **66** synthétisée précédemment avec certains de ceux du spectre du produit brut de clivage de la résine préparée nous a convaincus de la présence de l'isocoumarine dans ce milieu et donc de la survenue du greffage de l'acide 2-(3-azidoprop-1-yn-1-yl)benzoïque **72** par estérification de Steglich. D'autres observations expérimentales nous ont orientés vers la formation conjointe de l'isocoumarine et du phthalide **67** venant de la cyclisation 5-*exo*-dig de ce même fragment : d'abord, une plaque CCM réalisée sur le produit brut de clivage montre deux tâches de *R_f* très proches, signe de la formation de deux composés différents mais cependant très ressemblants. De plus, en RMN du proton sont visibles certains signaux associés à des protons non aromatiques qui sont cohérents avec la présence d'un dérivé de phthalide dans le milieu. Enfin, en analyse LC-MS, des composés ayant une valeur de masse là aussi cohérente par rapport à la masse molaire des produits attendus ont été détectés à deux temps de rétention distincts.

Chapitre 3 : travail préparatoire pour la preuve de concept de la méthodologie

Le greffage sur support solide de ce substrat au moyen d'une estérification de Steglich nous a permis d'y lier une importante quantité de fragment : ainsi, sur une résine où le loading était annoncé à 1,29 mmol/g par le fournisseur, le loading expérimental a pu atteindre une valeur de 1,07 mmol/g.

Conclusion

Lors du travail préliminaire à la construction de la preuve de concept de notre méthodologie, il a été question d'une part de synthétiser des dérivés propargylés de composés (ceux-ci étant le plus souvent des produits naturels) avec un ou plusieurs groupements fonctionnels classiques dont les hydroxyles qui représentent notre cible privilégiée. Ces manipulations nous ont permis de former des éthers de propargyle purs en quantité importante et qui vont pouvoir être exploités pour d'autres manipulations entrant dans la construction de la preuve de concept. De plus, nous avons pu logiquement constater que dans des conditions de propargylation de force moyenne, les hydroxyles aromatiques sont plus facilement touchés par rapport à ceux aliphatiques. Un constat qui est partagé pour les acides carboxyliques et les amines. En revanche, pour les thiols, même des composés aliphatiques pourraient être aisément convertis en dérivés propargylés. Toutes ces fonctions sont compatibles avec l'étape initiale des plans de synthèse, à l'exception des amines aliphatiques avec un proton disponible en position bêta du groupement fonctionnel qui sont susceptibles d'être dégradée par élimination d'Hofmann. Cependant, si les études individuelles de propargylation peuvent suggérer que la force de la base oriente le degré d'efficacité de la réaction, celles de mélanges artificiels élaborés avec ces mêmes composés de départ mettent logiquement en évidence que le caractère minéral ou organique de la base de la réaction a aussi son importance pour sélectionner les types de composés qu'on souhaite faire réagir en priorité.

L'analyse de la propargylation de polyphénols a montré que les conditions originelles de la réaction, qui ne nous avaient pas causé de problème particulier avec des molécules monofonctionnalisées, n'étaient pas adaptées pour de tels composés. L'optimisation des conditions réactionnelles qui a suivi nous aura permis entre autres de favoriser la formation de produits avec de faibles degrés de propargylation.

D'autre part, durant ce travail préliminaire, le support solide indispensable à la réalisation des étapes de synthèse se déroulant en phase solide a été préparé pour chacun des deux plans de synthèse différents. Avec l'acide 2-iodobenzoïque, un greffage sur résine de Wang *via* la conversion du substrat en un sel alcalin suffit tandis qu'avec l'acide 2-(3-azidoprop-1-yn-1-yl)benzoïque, deux manières d'arriver au substrat greffé sur résine sont possibles : soit par la synthèse du substrat en solution suivi de son greffage par estérification de Steglich, soit par sa synthèse directement sur le support solide. Néanmoins, pour des raisons de pureté des produits récupérés après clivage ou cyclisation et aussi en raison de difficultés de réalisation de la synthèse *in situ* sur résine, c'est la méthode de la synthèse du fragment en solution suivi de son greffage qui a été privilégiée.

Et maintenant que l'ensemble des réactifs préliminaires ont été formés, il est possible de procéder à la construction de la preuve de concept de notre méthodologie de modification chimique d'extraits naturels avec utilisation d'un support solide. Mais, ainsi que les deux chapitres suivants l'expliqueront, le plan de synthèse passant par un couplage de Sonogashira n'aura pas été totalement efficient au contraire de l'autre plan de synthèse conduisant à synthétiser des dérivés combinés d'isocoumarine et de 1,2,3-triazole en effectuant notamment une réaction « clic » qui aura connu plus d'aboutissements sur le plan expérimental.

Chapitre 4 : preuve de concept de la méthodologie avec la voie de synthèse « Sonogashira »

Introduction

Afin que nous puissions ensuite appliquer notre méthodologie de modification chimique sur un premier exemple d'extrait naturel, il nous faut réaliser une preuve de concept de la stratégie de synthèse de dérivés d'isocoumarine qui nous permettra d'abord de démontrer la faisabilité de l'ensemble des étapes de synthèse en effectuant des essais de synthèse avec un seul composé à la fois par manipulation, en solution dans un premier temps puis sur support solide. Ensuite, le travail qui suit cette première phase de construction de la preuve de concept aura pour but de prouver la compatibilité de notre démarche de synthèse avec un milieu composé de plusieurs molécules réactives avec potentiellement plus d'un site réactif.

Enfin, dans ce chapitre sera également abordée la question de la compatibilité de notre plan de synthèse avec d'autres groupements fonctionnels que les hydroxyles que nous avons privilégiés pour cette preuve de concept, avec plusieurs exemples de synthèse tentés sur un acide carboxylique et quelques amines.

I. Tests du plan de synthèse en solution avec un exemple d'éther de propargyle de monophénol

I.A. Premières tentatives de couplage de Sonogashira avec le 4-propargyloxyanisole

Pour les premières manipulations de la preuve de concept, le but qu'on cherche à atteindre est de prouver que l'ensemble de toutes les réactions décrites pour parvenir à la synthèse de dérivés d'isocoumarine soient bien compatibles avec l'utilisation d'éthers de propargyle comme réactifs, le plan de synthèse de l'article de référence dont s'inspire ce travail n'ayant été appliqué que sur des exemples d'alcynes terminaux où le groupement caractéristique n'est pas impliqué au sein d'un éther-oxyde [118]. Pour avoir un suivi le plus facile possible du déroulé des réactions successives et pour éviter d'avoir à utiliser trop de support solide préparé, le premier moyen de tester la faisabilité de nos étapes de synthèse est de faire en solution l'équivalent de ce qui pourra être fait sur support solide.

En ce qui concerne le couplage de Sonogashira, le composé halogéné qui jouera le rôle du substrat greffé sur support solide sera ici le 2-bromobenzoate de méthyle et l'éther de propargyle qu'on cherchera à coupler à ce substrat sera le 4-propargyloxyanisole **7** que nous avons synthétisé lors du travail préparatoire. Les conditions réactionnelles utilisées pour le couplage de Sonogashira sont reprises d'un article scientifique de Zhang *et al.* réalisant ce couplage de façon classique (**Schéma 115**) [336] : outre le catalyseur au cuivre qui est l'un des plus courants, la base qui a été prise ici est du DIPEA et le solvant réactionnel, du DMF. La réaction fût réalisée, avec chauffage à 65 °C pendant une nuit. Cependant, la plaque CCM faite pour contrôler l'avancée de la réaction ne révéla jamais rien d'autre que le 2-bromobenzoate de méthyle de départ. Ce constat fût confirmé après analyse par RMN du proton du produit brut résultant de cette manipulation.

Chapitre 4 : preuve de concept de la méthodologie avec la voie de synthèse
« Sonogashira »

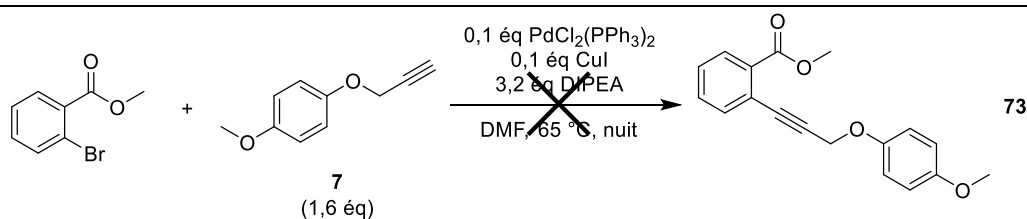


Schéma 115 : couplage de Sonogashira entre le 2-bromobenzoate de méthyle et le 4-propargyloxyanisole **7** dans les conditions de Zhang et al. [336]

Durant la toute première manipulation de ce type, du 4-propargyloxyanisole **7** synthétisé au préalable mais non purifié a été utilisé, ce qui a conduit à un échec du couplage. Afin de vérifier qu'une impureté présente n'en soit pas responsable, nous avons cherché à reproduire la même manipulation avec du 4-propargyloxyanisole **7** pur. Mais le résultat est revenu exactement au même, avec l'échec du couplage et l'unique présence du 2-bromobenzoate de méthyle dans le milieu final.

L'échec de ce couplage n'est ici pas dû à l'emploi de 2-bromobenzoate de méthyle dans les conditions réactionnelles alors exploitées : deux tests de couplage réalisés avec d'un côté le 2-bromobenzoate de méthyle et de l'autre soit du 4-éthynylanisole, soit du 1-heptyne (deux alcynes terminaux commerciaux) donnèrent les produits de couplage attendus (**Schéma 116**). De même, la compatibilité du 4-propargyloxyanisole **7** avec la possibilité de faire un couplage de Sonogashira n'est pas en cause puisque nous sommes parvenus à coupler cet éther de propargyle avec du 4-iodotoluène (**Schéma 117**).

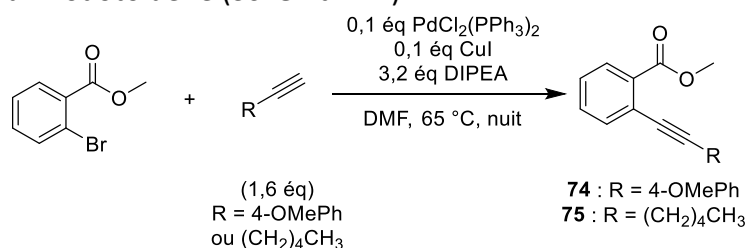


Schéma 116 : couplages de Sonogashira entre le 2-bromobenzoate de méthyle et entre ce même substrat et le 4-éthynylanisole et le 1-heptyne, dans les conditions de Zhang et al. [336]

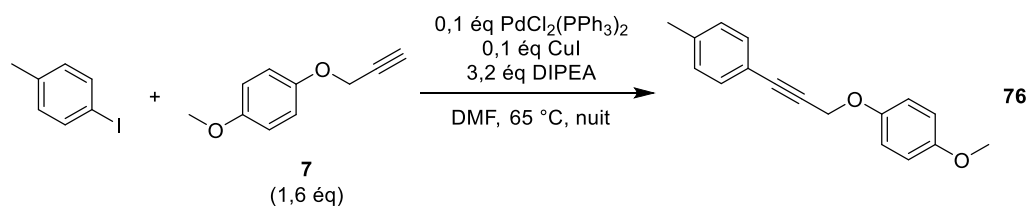
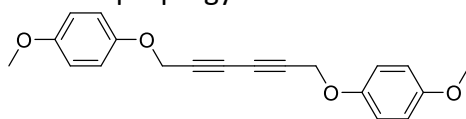


Schéma 117 : couplage de Sonogashira entre le 4-iodotoluène et le 4-propargyloxyanisole **7** dans les conditions de Zhang et al. [336]

En parallèle, nous avons réalisé un test de stabilité du 4-propargyloxyanisole **7** dans les conditions de notre couplage : ce composé a été placé en présence de tous les réactifs et catalyseurs de cette réaction, à l'exception du 2-bromobenzoate de méthyle. Deux manipulations de ce type ont été effectuées, l'une à température ambiante et l'autre à 65 °C. Le résultat fût différent entre ces deux cas : à température ambiante, comme l'ont montré les analyses RMN du proton, la disparition du signal associé au groupement CH du propargyle accompagné de la subsistance de l'ensemble des autres signaux du méthoxy, du cycle aromatique et du CH₂ du propargyle (sous forme de singulet au lieu d'un doublet) permet d'identifier le produit **77** de l'homocouplage de Glaser (**Schéma 118**). En dehors de ces signaux, d'autres sont encore présents, notamment dans la zone des aromatiques, et sont probablement liés à des produits de dégradation. A l'opposé, avec la manipulation chauffée à

Chapitre 4 : preuve de concept de la méthodologie avec la voie de synthèse « Sonogashira »

65 °C, seuls des signaux de produits de dégradation sont observés et aussi bien le composé de départ que le produit **77** de l'homocouplage de Glaser sont absents du milieu, ce qui semble indiquer une instabilité de l'éther de propargyle dans des conditions de chauffage.



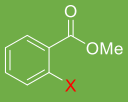
1,6-bis(4-méthoxyphénoxy)hexa-2,4-diyne **77**

Schéma 118 : produit **77** de l'homocouplage de Glaser du 4-propargyloxyanisole **7**

I.B. Résolution du problème de réactivité du couplage de Sonogashira avec le 4-propargyloxyanisole

A la suite de ces tests de stabilité, il a fallu rechercher des conditions réactionnelles dans lesquelles le couplage de Sonogashira peut se faire entre le 2-bromobenzoate de méthyle et le 4-propargyloxyanisole **7** sans qu'on ait à craindre la dégradation de ce dernier. L'ensemble des manipulations qui ont été faites à cet effet est résumé dans le **tableau 9**.

Tableau 9 : résultats des manipulations d'optimisation du couplage de Sonogashira avec le 4-propargyloxyanisole **7**

Ligne		Nb d'éq composé 7	Nb d'éq PdCl ₂ (PPh ₃) ₂	Nb d'éq CuI	Base/solvant	Conditions de réaction	Proportion composés 73/77	Rdt
1	Br (1 éq)	1,6	0,1	0,1	DIPEA (3,2 éq)/DMF	65 °C, nuit	0:0	0 %
2	Br (1 éq)	1,6	0,1	0,1	Et ₃ N (3,2 éq)/DMF	65 °C, nuit	0:0	0 %
3	Br (1 éq)	1,6	0,1	0,1	Et ₃ N (3,2 éq)/DMF	170 °C, 1 h*	0:0	0 %
4	Br (1 éq)	1,6	0,1	0,1	Et ₃ N	65 °C, 2 h	0:0	0 %
5	Br -> I (1 éq)**	1,6	0,1	0,1	Et ₃ N (3,2 éq)/DMF	65 °C, nuit	0:0	0 %
6	I (2 éq)	1	0,05	0,1	<i>i</i> Pr ₂ NH (3 éq)/THF	T.A., nuit	10:1	13 %
7	I (1 éq)	1	0,05	0,1	<i>i</i> Pr ₂ NH/THF (1:1)	T.A., nuit	2,5:1	62 %
8	I (1 éq)	1	0,05	0,1	<i>i</i> Pr ₂ NH/DMF (1:1)	T.A., nuit	2:1	63 %
9 * ³	I (1 éq)	1	0,05	0,1	<i>i</i> Pr ₂ NH/DMF (1:1)	T.A., nuit	1,5:1	33 %
10 * ⁴	I (1 éq)	1	0,05	0,1	<i>i</i> Pr ₂ NH/DMF (1:1)	T.A., nuit	10:1	53 %
11	I (1 éq)	1,6	0,1	0,1	Et ₃ N (3,2 éq)/DMF	65 °C, nuit	40:1	14 %
12	I (1 éq)	1	0,05	0,1	Et ₃ N/DMF (1:1)	T.A., nuit	5:3	41 %

* Chauffage par micro-ondes.

** Transformation du groupe partant du 2-bromobenzoate de méthyle par réaction avec du KI (1 éq).

*³ Manipulation faite avec du 4-propargyloxyanisole **7** non pur.

*⁴ Manipulation faite avec du 4-propargyloxyanisole **7** non pur, avec un bullage préalable du solvant réactionnel à l'azote et un placement du milieu réactionnel sous atmosphère inerte.

Le premier changement qui a été fait dans les conditions expérimentales du couplage par rapport aux conditions initiales (ligne 1 du **tableau 9**) concerne la base aminée : en regardant dans les revues au sujet du couplage de Sonogashira, nous avons pu voir que la DIPEA est moins fréquemment utilisée que la triéthylamine, de loin la base la plus courante. C'est donc naturellement que nous avons voulu faire un test de couplage avec le même protocole que le précédent mais en remplaçant le DIPEA par la triéthylamine (ligne 2). Cependant, ce changement de base n'eût aucun effet positif sur le déroulé de la réaction, seul du 2-bromobenzoate de méthyle a été retrouvé en fin de manipulation.

Chapitre 4 : preuve de concept de la méthodologie avec la voie de synthèse « Sonogashira »

Après cet échec, nous nous sommes demandé si la cause de l'inefficacité du couplage n'était pas des conditions réactionnelles insuffisamment dures malgré le chauffage. Pour vérifier cette hypothèse, nous avons voulu refaire la même manipulation que celle de la ligne 2, en ne modifiant juste que la méthode de chauffage du milieu réactionnel : au lieu d'un chauffage classique, nous avons voulu tester le chauffage du mélange réactionnel par micro-ondes, à 170 °C pendant une heure (ligne 3). Mais une nouvelle fois, aucune amélioration n'est à noter avec cette méthode de chauffage et l'utilisation des micro-ondes a par la suite été abandonnée.

Une autre hypothèse que nous avons explorée est la possibilité d'augmenter la quantité de base au point de s'affranchir de l'utilisation d'un solvant : pour cela, en gardant le reste des conditions réactionnelles initiales, nous avons utilisé la triéthylamine à la fois comme base du couplage et solvant réactionnel (ligne 4). Néanmoins, le résultat observé fût le même que pour les manipulations précédentes avec l'échec du couplage.

Une dernière hypothèse que nous avons voulu examiner est la nature de l'halogénure présent sur le 2-halogénobenzoate de méthyle. Afin d'augmenter la réactivité du composé bromé, nous avons d'abord cherché à convertir le 2-bromobenzoate de méthyle en son équivalent iodé par un échange d'halogénure en faisant réagir le substrat avec de l'iodure de potassium dans du DMF pendant cinq minutes. Puis le mélange réactionnel est immédiatement engagé dans le couplage de Sonogashira avec le 4-propargyloxylanisole **7** selon les mêmes conditions réactionnelles que précédemment (ligne 5). Mais le résultat n'a pas été différent de celui obtenu sans faire d'échange d'halogénure (ligne 2).

Devant toutes ces manipulations infructueuses, nous avons changé de stratégie pour parvenir à provoquer le couplage de Sonogashira souhaité en se mettant en quête d'autres conditions réactionnelles, en ayant comme exigence que dans ces conditions-là, la manipulation a pu être appliquée pour un couplage entre du 2-iodobenzoate de méthyle et un éther de propargyle aromatique. Une publication de Jean-Philippe Krieger *et al.* a alors été trouvée, où l'éther de propargyle en question est un composé de beaucoup plus grande taille et pour lequel les conditions réactionnelles sont assez différentes de celles d'avant [337]. D'abord, ici, nous nous plaçons en excès de substrat et non plus de 4-propargyloxylanisole **7**. Ensuite, si le nombre d'équivalents en base aminée est quasiment identique, cette base n'est plus une amine tertiaire mais secondaire, la diisopropylamine. Le solvant réactionnel est à présent du THF et non plus du DMF. Du côté des catalyseurs, le seul changement est une quantité plus faible de catalyseur au palladium. Enfin, la réaction de couplage se déroule à température ambiante. L'application de ces conditions au 2-iodobenzoate de méthyle et au 4-propargyloxylanisole **7** (ligne 6) a enfin permis d'arriver au produit **73** souhaité. Cependant, ces conditions réactionnelles appelaient encore à des améliorations, le rendement de 13 % obtenu étant trop faible pour être satisfaisant.

Un autre problème qui s'est présenté ici (mais qui sera heureusement absent ensuite pour les manipulations sur support solide) est la formation du sous-produit d'homocouplage de Glaser **77** malgré un dégazage préalable du solvant. La formation de ce produit a été gênante pour la caractérisation du composé de couplage avec, en raison d'une différence de R_f trop faible entre ce composé et le produit qui nous intéresse, leur séparation au moyen d'une colonne de chromatographie s'est toujours révélée difficile voire impossible. Néanmoins, le produit recherché **73** est celui qui est formé très majoritairement entre les deux : en comparant les valeurs d'intégration des signaux caractéristiques du sous-produit d'homocouplage **77** avec ceux des signaux représentatifs du produit attendu **73** sur le spectre RMN du proton du

Chapitre 4 : preuve de concept de la méthodologie avec la voie de synthèse « Sonogashira »

produit traité par chromatographie, on peut estimer que pour une molécule du produit voulu, il s'est formé 0,1 molécule du sous-produit.

Par la suite, le seul grand changement que nous avons eu à faire pour augmenter de manière suffisante le rendement de la réaction de couplage a été au niveau de la proportion entre la base et le solvant, en passant à un mélange équivolumique de THF et de diisopropylamine (ligne 7). Par la même occasion, nous en avons aussi profité pour redescendre à un le nombre d'équivalents de 2-iodobenzoate de méthyle. Dans ces conditions, le rendement a pu être multiplié par quatre, pour atteindre 62 %. Là encore, nous ne pouvons que constater la formation du sous-produit d'homocouplage de Glaser **77** dans des proportions plus fortes qu'auparavant, avec 0,4 molécule du sous-produit synthétisé présent dans le produit après chromatographie pour une molécule du composé attendu du couplage de Sonogashira et ce malgré le dégazage du solvant.

Pour pouvoir ensuite être en accord avec le solvant réactionnel choisi pour les manipulations utilisant le support solide qui, dans notre cas, possède de meilleures propriétés de gonflement dans le DMF que dans le THF, nous avons testé le couplage de Sonogashira avec comme solvant un mélange équivolumique de DMF et de diisopropylamine (ligne 8). L'efficacité de la réaction avec cet autre solvant n'a quasiment pas été affectée, le rendement obtenu s'élevant alors à 63 %. Mais une nouvelle fois et en dépit du dégazage du solvant réactionnel, le sous-produit d'homocouplage de Glaser **77** est aussi présent au côté du produit de couplage **73** et dans des proportions encore plus importantes qu'avec le THF : ici, il a été calculé que 0,5 molécule du produit parasite a été formé pour une molécule du produit souhaité. Cependant, ce sont bien ces dernières conditions qui ont été retenues pour les manipulations sur support solide qui suivront.

En plus de ces manipulations d'amélioration du couplage de Sonogashira, deux autres expériences (lignes 9 et 10) nous ont renseignés sur une difficulté qu'il faudra prendre en compte pour la synthèse sur support solide : en renouvelant la manipulation avec les conditions précédentes mais en utilisant cette fois-là du 4-propargyloxyanisole **7** qui n'a pas été purifié après sa synthèse (ligne 9), nous avons constaté une division de près de moitié du rendement de la réaction à 33 %. Cela laisserait dire qu'en cet état des choses, notre voie de synthèse appliquée aux extraits naturels risque fort d'être délicate à mettre en œuvre pour le couplage de Sonogashira dans la mesure où après l'étape de propargylation, il ne sera pas possible de procéder à une purification de l'extrait modifié, sous peine de perdre une partie peut-être substantielle des composés à valoriser. En plus de cela, la formation du sous-produit d'homocouplage de Glaser **77** est ici relativement plus favorable que pour les manipulations précédentes, avec 0,66 molécule du sous-produit généré pour une molécule du produit de couplage. Cependant, en ce qui concerne le 4-propargyloxyanisole **7**, en se plaçant dans des conditions strictement inertes (dégazage du solvant et réaction sous atmosphère d'azote) (ligne 10), l'efficacité de la réaction est plus forte mais avec un rendement qui reste inférieur à celui de la manipulation avec l'éther de propargyle pur, à 53 %. De plus, ces conditions totalement inertes ont logiquement réduit la compétition avec l'homocouplage de Glaser du 4-propargyloxyanisole **7** avec seulement 0,1 molécule de ce composé synthétisé pour une molécule du produit de couplage.

Enfin, si cette suite de manipulations a permis de conclure que les conditions de la ligne 8 sont visiblement les meilleures pour faire le couplage de Sonogashira, avec les changements faits d'une manipulation à une autre qui ont parfois été multiples, on peut encore s'interroger sur l'influence de l'halogénure présent comme groupe partant sur le substrat. En conséquence,

Chapitre 4 : preuve de concept de la méthodologie avec la voie de synthèse « Sonogashira »

nous avons repris les conditions de la publication de Zhang *et al.* réalisées avec la triéthylamine et nous avons remplacé le 2-bromobenzoate de méthyle par son équivalent iodé (ligne 11). Avec ce nouveau substrat et contrairement à celui bromé, le couplage a été possible mais avec cependant un faible rendement qui traduit une faible pertinence de ces conditions-ci pour la suite. En revanche, un point positif (bien qu'anecdotique pour la suite) de ces conditions est que si le sous-produit d'homocouplage **77** a également été obtenu, ce fût dans des proportions très faibles avec 0,025 molécules du diyne pour une molécule du produit de couplage synthétisé.

Une autre interrogation qu'on pouvait avoir est celle sur la productivité du couplage suivant la base utilisée, dans les conditions finales retenues : nous avons tenté de répondre à cette question avec la même manipulation que pour la ligne 8 mais en reprenant la triéthylamine comme base aminée de la réaction (ligne 12). Avec cette différence au niveau des conditions réactionnelles, le couplage n'a pas été aussi productif, avec un rendement de 41 % soit une quantité en baisse d'un tiers en comparaison avec la manipulation effectuée avec la diisopropylamine. De plus, la proportion entre la formation du produit de couplage et celle du sous-produit d'homocouplage de Glaser **77** est l'une des plus minces de ces manipulations, avec 0,6 molécule du sous-produit formé pour une molécule du composé recherché.

I.C. Cyclisation électrophile du produit du couplage avec le 4-propargyloxyanisole

Maintenant que le produit recherché du couplage de Sonogashira entre le 2-iodobenzoate de méthyle et le 4-propargyloxyanisole **7** a enfin pu être formé, une dernière réaction est nécessaire pour parvenir au dérivé d'isocoumarine souhaité avec la cyclisation électrophile. Après recherches bibliographiques, seul un brevet a été trouvé relatant la synthèse en solution d'une 4-bromoisocoumarine à partir d'un composé proche de ceux qu'on veut utiliser, selon des conditions similaires à celles de notre publication de référence pour la synthèse sur support solide et elles-mêmes tirées d'un autre article scientifique [118,175,338]. Ici, du bromure de cuivre(II) est utilisé en compagnie d'hydrobromure de dicyclohexylamine en quantité catalytique, ce dernier composé ayant comme possible rôle celui de catalyseur de transfert de phase (hypothèse la plus probable) ou de source supplémentaire d'ions halogénures pouvant entraîner à leur tour la cyclisation [175].

Dans la pratique, nous avons repris les mêmes conditions réactionnelles pour les appliquer au produit de couplage **73** précédent en vue de la synthèse du dérivé d'isocoumarine **78** (Schéma 119), à un détail près qui est que nous avons utilisé de la dicyclohexylamine neutre et non son hydrobromure en raison d'une meilleure accessibilité commerciale.

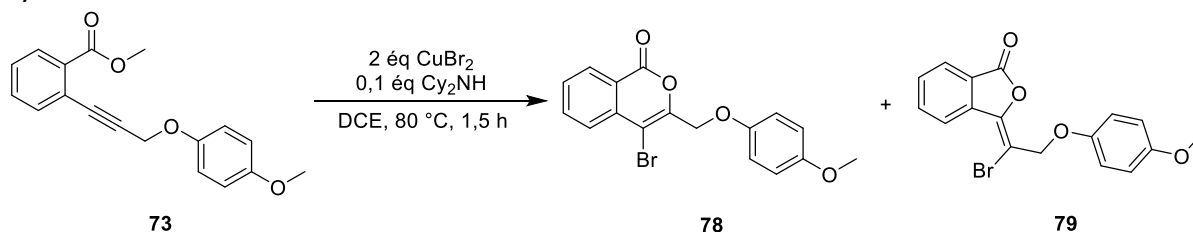


Schéma 119 : cyclisation du composé **73** avec du bromure de cuivre(II)

Au moment où nous avons réalisé cette manipulation, nous nous sommes contentés de vérifier par les moyens d'analyse classique si la cyclisation s'est bien produite et si par conséquent, le produit attendu a bien été formé. En vertu de quoi, après les analyses RMN du proton et LC-MS faites sur le produit brut, aucune purification ou traitement ultérieur n'a été effectué et donc aucun rendement n'a été déterminé pour cette réaction-ci.

Chapitre 4 : preuve de concept de la méthodologie avec la voie de synthèse « Sonogashira »

Après traitement du mélange réactionnel (notamment par filtration sur un lit de célite) et obtention du produit brut, l'interprétation du spectre RMN du proton a donné de premières indications positives sur la survenue de la réaction. En revanche, les signaux de départ et notamment le singulet à 3,84 ppm qui correspond au groupement -CH₃ porté par l'ester initial sont toujours présents, preuve que la cyclisation n'a pas été totale. Ce qui peut probablement s'expliquer par la courte durée de réaction appliquée lors de ce premier test. La comparaison des intégrales de ces derniers signaux caractéristiques avec ceux des signaux les plus distinguables de l'isocoumarine **78** et du phthalide **79** visés nous renseigne aussi sur le taux de conversion du produit de couplage **73** en produits de cyclisation : ainsi pouvons-nous estimer qu'environ 70 % du composé de départ a été converti en l'un ou l'autre des produits attendus. Enfin, par la comparaison des intégrales des signaux des deux produits de cyclisation, nous pouvons affirmer que l'isocoumarine **78** est ici l'espèce majoritaire formée, dans une proportion de 2,5:1 par rapport au phthalide **79**.

Le produit brut de la réaction a aussi été analysé par spectre de masse pour confirmer la survenue de la cyclisation. Cependant, dans le mode d'ionisation le plus classique, le mode ESI, la masse correspondant aux produits recherchés **78** ou **79** n'a pas été détectée. En revanche, avec un mode d'ionisation plus doux, soit en mode APCI, cette masse a bien pu être repérée avec une allure de massif isotopique cohérente avec la présence d'un atome de brome sur la structure de la molécule. De même, la masse du produit de couplage d'origine **73**, avec une valeur de m/z à 297 pour [M+H]⁺ n'est pas présente en ESI+ mais est bien détectée en APCI+, ce qui confirme que dans les conditions prises pour la synthèse en solution, la cyclisation électrophile n'a pas été totale.

II. Tests du plan de synthèse sur support solide avec plusieurs exemples d'éthers de propargyle de monophénols

II.A. Synthèse sur support solide avec le 4-propargyloxyanisole

Après l'application en solution des étapes de synthèse pouvant nécessiter l'utilisation du substrat greffé sur support solide, étant donné que des conditions expérimentales ont permis d'arriver à la formation des différents composés intermédiaires et finaux de manière satisfaisante, ces mêmes conditions expérimentales ont été par la suite appliquées avec l'acide 2-iodobenzoïque greffé sur résine de Wang **56** que nous avons préparé précédemment et en gardant l'exemple d'éther de propargyle pur que nous avons déjà utilisé tout à l'heure, le 4-propargyloxyanisole **7**.

Pour le couplage de Sonogashira (**Schéma 120**), les conditions expérimentales sont dans les faits une combinaison des meilleures conditions trouvées pour faire la réaction en solution et de celles déjà données dans la publication modèle pour la synthèse d'isocoumarine sur support solide [118] : ainsi, pour être en cohérence avec ce qui a pu être fait dans l'article, l'éther de propargyle **7** est utilisé avec un large excès de dix équivalents (ce nombre étant ici calculé en se référant à la quantité de substrat greffé utilisé, en s'aidant de la valeur du loading expérimental de la résine préparée déterminée antérieurement). Concernant les catalyseurs, ce sont aussi les quantités données dans la publication de référence qui sont prises avec 0,2 équivalent de catalyseur au palladium et 0,1 équivalent de catalyseur au cuivre. On pourra d'ailleurs noter que les proportions en quantité de ces deux catalyseurs sont inversées par rapport à ce qu'on avait en solution. Enfin, pour ce qui est de la base et du solvant, ce sont les espèces et les proportions volumiques des meilleures conditions testées en solution qui ont été choisis avec un mélange équiquomique de diisopropylamine et de DMF.

Chapitre 4 : preuve de concept de la méthodologie avec la voie de synthèse « Sonogashira »

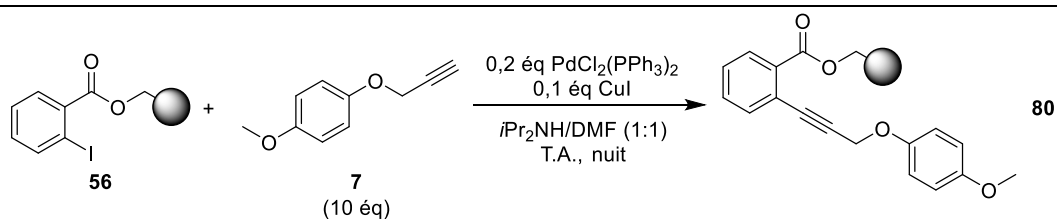


Schéma 120 : couplage de Sonogashira entre l'acide 2-iodobenzoïque greffé sur support solide **56** et le 4-propargyloxyanisole **7**

Après avoir mis en œuvre ce couplage, nous avons procédé au clivage d'une petite partie de la résine, dans un mélange de TFA et de dichlorométhane (**Schéma 121**). L'analyse du produit brut évaporé de ce clivage par RMN du proton a livré un résultat positif sur la survenue du couplage. De plus, ce clivage a visiblement conduit à la formation exclusive du dérivé d'isocoumarine **81** correspondant avec un rendement de 17 % pour les deux étapes du couplage et du clivage, au détriment du dérivé de phthalide **82**. D'autre part, il nous est aussi possible d'observer sur ces spectres qu'aucun des signaux identifiés comme provenant des protons de l'acide 2-iodobenzoïque de départ n'est présent.

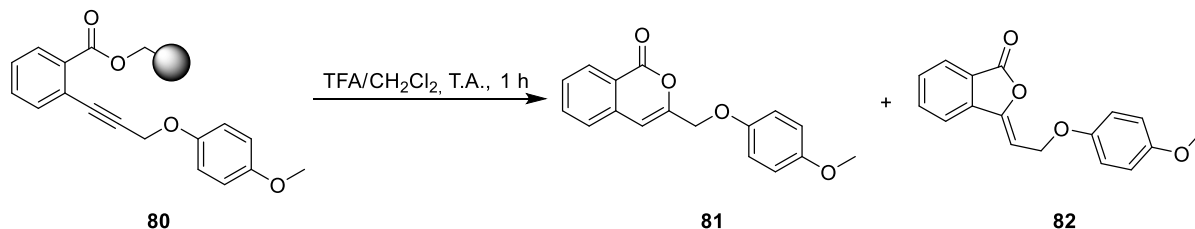


Schéma 121 : cyclisation du composé greffé sur support solide **80** par clivage au TFA

Ensuite, l'étape de la cyclisation du composé alors porté par le support solide avec le bromure de cuivre(II) (**Schéma 122**) s'est faite selon des conditions expérimentales similaires à celles déjà exploitées pour la réalisation en solution, avec toujours en plus du réactif principal (avec un nombre d'équivalent doublé par rapport à en solution) de la dicyclohexylamine en quantité catalytique, dans le DCE chauffé à reflux. L'application de cette réaction n'a donné lieu à aucune complication et le résultat obtenu par RMN du proton à partir du produit brut de la cyclisation laisse entendre que cette réaction s'est bien produite et que l'isocoumarine **78** visée est le produit majoritaire.

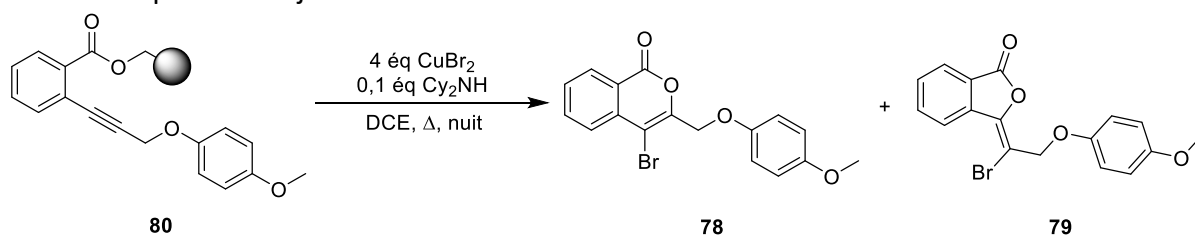


Schéma 122 : cyclisation du composé greffé sur support solide **80** avec du bromure de cuivre(II)

Pour essayer de déterminer la proportion exacte d'isocoumarine et de phthalide qui ont pu être synthétisés, nous avons réalisé une séparation des constituants du produit brut par chromatographie sur colonne de gel de silice. Cette colonne nous a permis, en dépit d'un Rf très proche pour les tâches des composés formant ce produit brut, de les séparer malgré une plus faible pureté pour le produit le plus polaire extrait de la colonne. Grâce aux données des spectres RMN de ces deux produits qui nous ont permis de faire la distinction entre isocoumarine et phthalide, en liaison avec ce qu'il est possible de remarquer sur les spectres des composés décrits dans la publication de référence [118], le plus polaire des deux produits a été désigné comme le dérivé de phthalide **79**, et celui le moins polaire comme le dérivé d'isocoumarine **78**. Le bilan de masse de cette manipulation montre que l'isocoumarine **78**

Chapitre 4 : preuve de concept de la méthodologie avec la voie de synthèse « Sonogashira »

constitue le produit majoritaire de la réaction puisqu'il a été obtenu en quantité quatre fois plus importante par rapport au phthalide **79**. Ainsi, le rendement de l'ensemble de la synthèse sur support solide est de 34 % pour le dérivé d'isocoumarine et seulement 8 % pour le dérivé de phthalide.

Ces manipulations de synthèse sur support solide ont aussi été l'occasion de déterminer si nous pouvions avoir des différences de réactivité selon l'agent de cyclisation que nous pourrions être amené à utiliser. Après avoir renouvelé le couplage de Sonogashira entre l'acide 2-iodobenzoïque greffé sur support solide **56** et le 4-propargyloxylanisole **7**, nous avons réalisé la cyclisation du produit alors généré en fin de couplage avec les deux conditions qui n'ont pas encore été exploitées. L'une de ces conditions est quasiment identique à ce que nous avons pu faire pour la synthèse de dérivé de 4-bromoisocoumarine car afin de former des 4-chloroisocoumarine, la seule différence vient de la nature de l'agent de cyclisation, le chlorure de cuivre(II) (**Schéma 123**). Naturellement, le protocole expérimental ne change pas entre l'utilisation de ces deux réactifs. Mais en fin de réaction, le résultat de la synthèse est distinct de la synthèse avec le bromure de cuivre(II), seule l'isocoumarine **83** visée ayant été observée. Quant au rendement pour l'ensemble des étapes de synthèse sur support solide, il est assez proche de celui calculé pour l'obtention de son équivalent en 4-bromoisocoumarine, avec une valeur de 39 %.

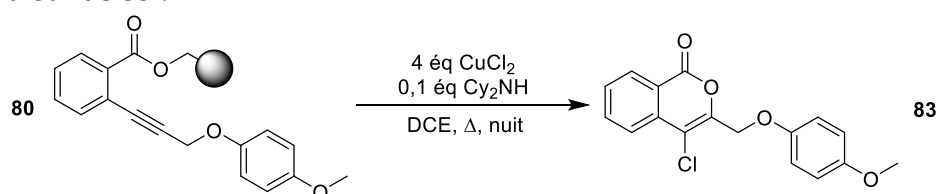


Schéma 123 : cyclisation du composé greffé sur support solide **80** avec du chlorure de cuivre(II)

Pour la cyclisation en vue de former une 4-iodoisocoumarine (**Schéma 124**), l'agent de cyclisation est le monochlorure d'iode et le solvant du dichlorométhane. Mais l'issue de cette manipulation fût la moins favorable d'entre toutes les conditions de cyclisation pour la synthèse de l'isocoumarine : aussi bien l'isocoumarine **84** recherchée que le phthalide **85** ont été formés et ce avec des rendements très faibles de 4 % pour l'isocoumarine et 10 % pour le phthalide.

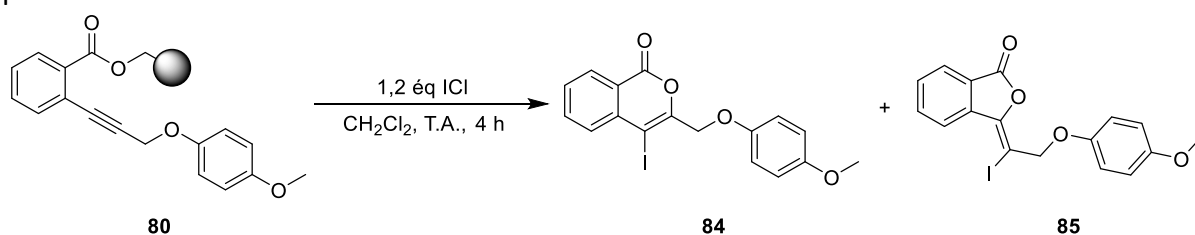


Schéma 124 : cyclisation du composé greffé sur support solide **80** avec du monochlorure d'iode

En faisant le bilan des manipulations de synthèse sur support solide se terminant par une cyclisation qui implique l'utilisation d'un agent électrophile halogéné (**Tableau 10**), on peut postuler une tendance suivant le type d'agent de cyclisation qu'on exploite : plus le rayon atomique de l'atome halogéné qu'on souhaite ajouter au produit cyclisé est grand, plus la cyclisation se déroulera selon le type 5-*exo*-dig pour donner le dérivé de phthalide correspondant et donc moins la cyclisation de type 6-*endo*-dig conduisant à la formation du dérivé d'isocoumarine ciblé sera présente. Cette tendance pourrait être liée directement à la présence d'un atome d'oxygène en position bêta du produit de couplage intermédiaire : en effet, si nous regardons l'ensemble des synthèses relatives pour notre article principal de référence [118], rares sont les alcynes (dont aucun d'entre eux n'est un éther de propargyle

Chapitre 4 : preuve de concept de la méthodologie avec la voie de synthèse « Sonogashira »

pour rappel) qui ont donné un mélange de dérivés d'isocoumarine et de phthalide et encore, cette situation ne s'est produite que pour les conditions censées générer des produits iodés, ce qui rejoint en partie les déductions faites sur nos manipulations. Ce même article et d'autres références [175,176,339] où il est possible de comparer la cyclisation avec le bromure de cuivre(II) et le chlorure de cuivre(II) livrent deux autres constatations intéressantes : dans toutes ces publications, le sous-produit susceptible d'être obtenu en plus de la 4-halogénoisocoumarine est non pas un dérivé de phthalide comme ce fût le cas pour nous mais le même dérivé d'isocoumarine sans halogénure en position 4. Et de la même manière que ce que nous avons observé, les rendements sont plus élevés pour la formation des 4-chloroisocoumarine que pour celles des 4-bromoisocoumarines.

Tableau 10 : rendements de la synthèse sur support solide avec le 4-propargyloxyanisole **9** pour les conditions de cyclisation permettant de former des produits halogénés

Conditions de cyclisation	4-isocoumarine		(3E)-3-ylidènephthalide		Proportion isocoumarine /phthalide
	N° Composé	Rdt	N° Composé	Rdt	
TFA/CH ₂ Cl ₂ (1:1), T.A.	81	17 %	82	0 %	1:0
CuCl ₂ , cat. Cy ₂ NH, DCE, Δ	83	39 %		0 %	1:0
CuBr ₂ , cat. Cy ₂ NH, DCE, Δ	78	34 %	79	8 %	4,25:1
ICl, CH ₂ Cl ₂ , T.A.	84	4 %	85	10 %	1:2,5

Pour la suite de nos manipulations sur support solide qui nécessiteront de faire une cyclisation sans que ce soit un clivage au TFA, parmi les conditions testées, nous avons choisi d'utiliser celles qui représentent le meilleur compromis entre la synthèse la plus productive possible du dérivé d'isocoumarine visé et l'obtention d'un minimum de dérivé de phthalide qui, bien que n'étant pas le pharmacophore que nous souhaitons former en priorité, peut tout de même être une possibilité de synthèse intéressante, ne serait-ce que pour faire de la synthèse orientée vers la diversité. C'est pourquoi nous nous sommes toujours tenus par la suite à l'exploitation des conditions nécessitant du bromure de cuivre(II).

II.B. Synthèse sur support solide avec l'aurone propargylée

Avant de pouvoir envisager un test de synthèse sur support solide de dérivés avec un mélange de plusieurs éthers de propargyle, il est intéressant de réaliser une manipulation supplémentaire avec un autre seul éther de propargyle qui fera ensuite partie du mélange avec le 4-propargyloxyanisole **7**. Pour cette expérience, notre choix s'est porté sur l'aurone propargylée **8** pour avoir un premier exemple d'application de notre plan de synthèse sur un dérivé de produit naturel et aussi pour essayer de voir dans le même temps si la taille de l'éther de propargyle qu'on cherche à faire réagir a une influence quelconque sur le déroulement des étapes de synthèse sur support solide. En ce qui concerne les conditions expérimentales exploitées (**Schéma 125**), elles sont bien sûr les mêmes que pour le 4-propargyloxyanisole et la cyclisation a été effectuée de manière à pouvoir former des produits bromés.

Chapitre 4 : preuve de concept de la méthodologie avec la voie de synthèse « Sonogashira »

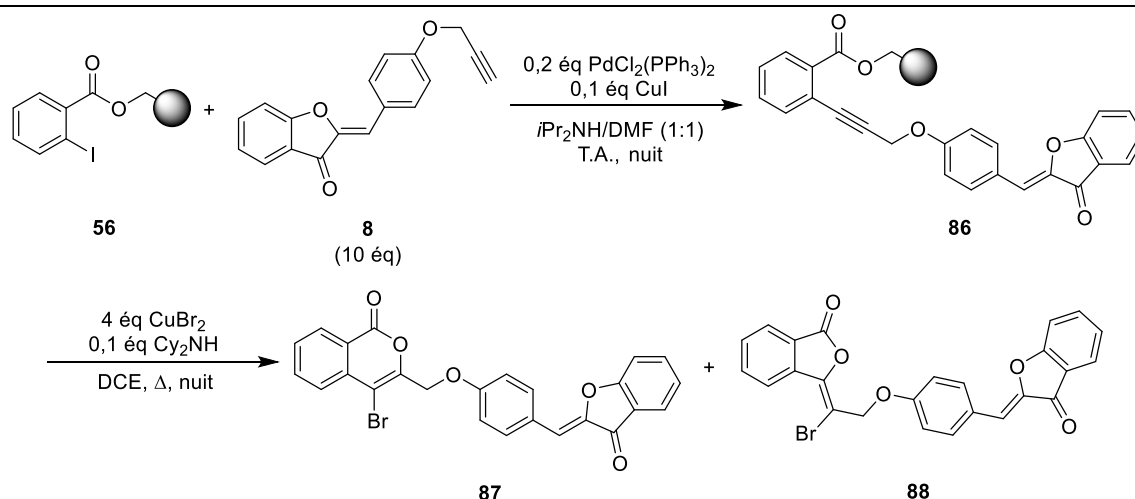


Schéma 125 : couplage de Sonogashira entre l'acide 2-iodobenzoïque greffé sur support solide **56** et l'aurone propargylée **8**, suivi de la cyclisation de la résine obtenue **86** avec du bromure de cuivre(II)

Sur le plan pratique, si le couplage de Sonogashira n'a souffert d'aucun problème particulier, il a été compliqué de tirer des enseignements détaillés de la cyclisation au bromure de cuivre(II). Après avoir effectué une plaque CCM du produit brut de cyclisation, nous pouvions tout de même dire que les deux types de produits possibles **87** et **88** ont probablement été synthétisés, la plaque CCM dévoilant deux tâches avec des Rf proches et d'une couleur visible à l'œil nu, caractéristique des aurones.

Cependant, contrairement au cas du 4-propargyloxyanisole **7**, la séparation des deux composés d'intérêt de ce produit brut par chromatographie sur colonne de gel de silice fût des plus délicates en raison, d'une part, des difficultés générales de purification des isocoumarines et des phthalides que nous avons déjà signalées plus haut et en raison, d'autre part, de difficultés supplémentaires de purification par colonne de chromatographie qui sont inhérentes aux aurones. La conséquence est que nous avons été dans l'incapacité d'obtenir des produits avec l'un ou l'autre des deux composés qui nous intéresse seulement ou des produits où l'un de ces composés domine, l'analyse en RMN du proton des deux fractions que nous avons pu récupérer donnant des spectres quasiment identiques. Tout juste peut-on donner une valeur du rendement de la synthèse combinée des deux types de composés attendus, qui s'élève à 39 %, ce qui est une valeur du même ordre que celle calculée pour le 4-propargyloxyanisole **7**. Les produits récupérés ont tout de même été envoyés en analyse de masse, ce qui nous a permis de confirmer la cyclisation en composés bromés.

Dans notre volonté de parvenir à isoler à l'état pur au moins l'un des deux composés qu'il est possible de former à partir de l'aurone propargylée **8**, nous avons réitéré la démarche précédente jusqu'à la séparation par colonne de chromatographie, ce qui nous a permis d'isoler sous une forme pure l'isocoumarine **87** ciblée, avec un rendement de 16 % pour l'ensemble de la synthèse sur support solide.

II.C. Synthèse sur support solide avec un mélange de 4-propargyloxyanisole et d'aurone propargylée

Comme nous avons pu constater la formation des produits souhaités aussi bien avec le 4-propargyloxyanisole **7** qu'avec l'aurone propargylée **8**, nous pouvions passer à la prochaine étape de la preuve de concept qui doit montrer que notre méthodologie peut être appliquée à un mélange de plusieurs composés propargylés prêts à réagir avec le substrat greffé sur support solide **56**. Pour ce faire, nous avons simplement renouvelé la démarche de synthèse déjà entreprise dans le cas du 4-propargyloxyanisole **7** et dans celui de l'aurone propargylée

Chapitre 4 : preuve de concept de la méthodologie avec la voie de synthèse « Sonogashira »

8, que nous avons donc appliqué au mélange équimolaire de ces deux molécules. Les conditions pour le couplage de Sonogashira aussi bien que pour la cyclisation demeurent inchangées (**Schéma 126**).

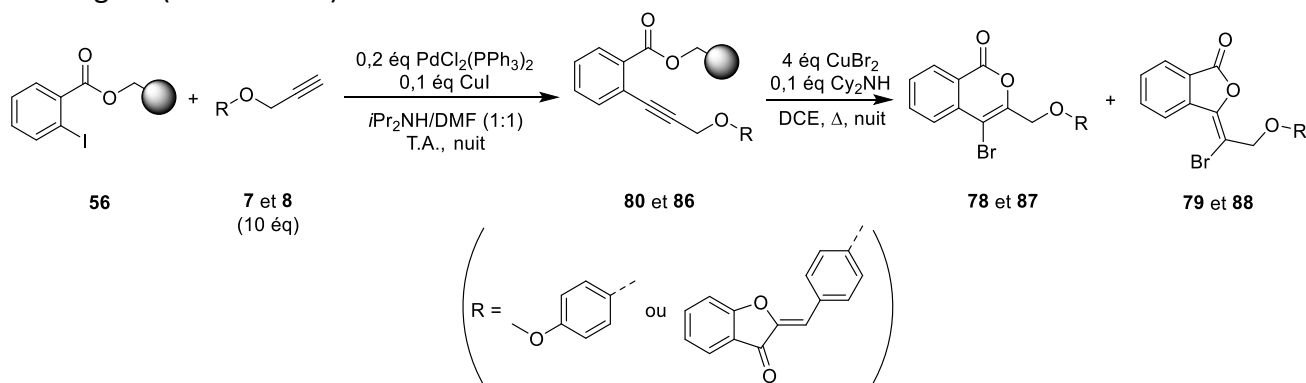


Schéma 126 : couplage de Sonogashira entre l'acide 2-iodobenzoïque greffé sur support solide **56** et un mélange de 4-propargyloxyanisole **7** et d'aurone propargylée **8**, suivi de la cyclisation avec du bromure de cuivre(II)

La mise en œuvre de la synthèse sur support solide avec ce mélange n'a causé aucun souci particulier tant pour l'étape du couplage de Sonogashira que pour celui de la cyclisation. Pour ce qui est des résultats de cette manipulation, au moment où cette dernière a été réalisée, nous nous sommes surtout concentrés attachés à valider la possibilité de réaction sur un mélange en se limitant à une analyse qualitative des résultats obtenus. C'est ainsi que nous avons effectué une analyse de la composition du produit brut obtenu à l'issue de la cyclisation sur plaque CCM dont le résultat a été comparé avec les produits de références obtenus par les synthèses précédentes réalisées de manière indépendante sur chacun des produits. Cette plaque a révélé quatre tâches principales dont deux de couleur jaune vif visible à l'œil nu et avec des valeurs de R_f identiques à ceux des quatre différents produits de référence. En faisant l'hypothèse d'une réactivité équivalente pour toutes les étapes de la synthèse avec les deux éthers de propargyle, l'observation de tous les composés visés a conduit à estimer le rendement de cette manipulation à 22%. Plus tard, l'analyse LC-MS de ce même mélange de produits de cyclisation (**Figure 61**) a conduit à l'identification à deux temps de rétention distincts de la masse attendue pour les produits de cyclisation formés à partir de l'aurone propargylée **8** ainsi qu'une seule pouvant être celle d'un produit de cyclisation synthétisé en partant du 4-propargyloxyanisole **7**. Néanmoins, l'ensemble de ces résultats indique que notre méthodologie est bel et bien compatible avec la présence d'un milieu comprenant un premier mélange simple, en l'occurrence ici avec les deux éthers de propargyle utilisés aussi bien séparément qu'en mélange.

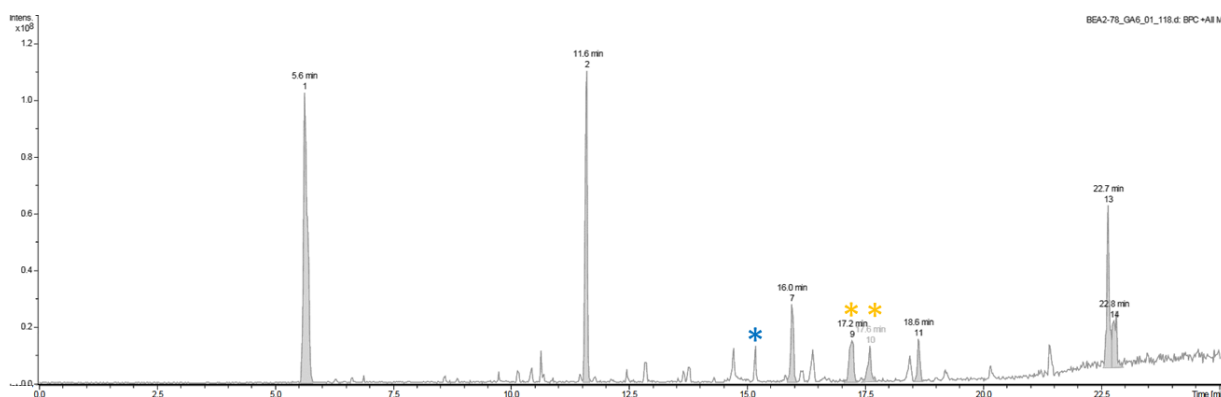


Figure 61 : chromatogramme de l'analyse LC-MS en mode ESI+ du mélange de produits obtenus à l'issue de l'application du plan de synthèse de la voie « Sonogashira sur un mélange de plusieurs éthers de propargyle (en bleu, produit formé avec la 4-propargyloxyanisole **7** ; en jaune, produits formés avec l'aurone propargylée **8**)

III. Tests du plan de synthèse avec des acides carboxyliques et des amines

III.A. Premiers essais sur support solide avec un ester de propargyle et des propargylamines

Bien que nous nous soyons concentrés sur la synthèse de dérivés d'isocoumarine avec des éthers de propargyle synthétisés à partir d'alcools ou de phénols, nous avons également tenté de faire réagir plusieurs autres composés propargylés produits à partir soit d'un acide carboxylique soit d'une amine pour étudier l'étendue des possibilités données par nos réactions de synthèse sur support solide.

Dans les faits, un seul ester de propargyle formé à partir d'un acide carboxylique a été testé sur ce plan de synthèse : il s'agit de l'ester de propargyle que nous avons synthétisé en plus grande quantité lors du travail préparatoire, le 4-méthoxybenzoate de propargyle **18** (Schéma 127). Comme avec les éthers de propargyle, les conditions expérimentales du couplage de Sonogashira et de la cyclisation sur support solide que nous avons appliquées sont les mêmes que pour les précédentes manipulations.

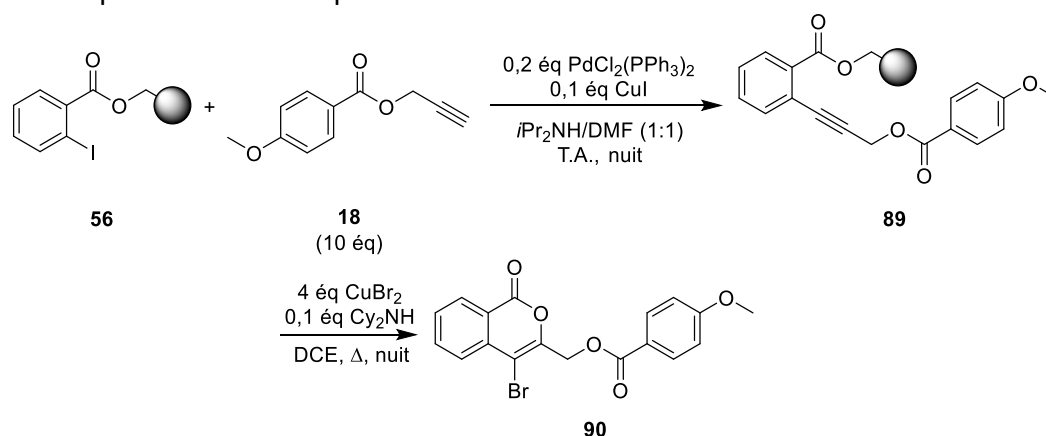


Schéma 127 : couplage de Sonogashira entre l'acide 2-iodobenzoiïque greffé sur support solide **56** et le 4-méthoxybenzoate de propargyle **18**, suivi de la cyclisation de la résine obtenue **89** avec du bromure de cuivre(II)

Les résultats de cette synthèse après la cyclisation avec le bromure de cuivre(II) diffèrent de ce qui a pu être réalisé avec les éthers de propargyle : tout d'abord, les analyses CCM et RMN du proton montrent que seul le dérivé d'isocoumarine **90** est obtenu après purification. De plus, le rendement est ici particulièrement élevé puisqu'il a été calculé à 88 %. Ce seul exemple de synthèse avec un ester de propargyle montre visiblement une bonne compatibilité de notre voie de synthèse « Sonogashira » avec les composés présentant initialement une fonction acide carboxylique.

En dehors de cet exemple-ci, toutes les autres tentatives de synthèse de dérivés d'isocoumarine avec notre support solide ont été effectuées sur des amines propargylées, suivant les conditions habituelles utilisées pour le couplage de Sonogashira et la cyclisation en produits bromés (Schéma 128). Or, avec deux des propargylamines qui ont été utilisées ici, la 4-méthoxy-*N*-propargylaniline **28** et la *N,N*-diisopropylpropargylamine **30**, il s'est avéré que le couplage de Sonogashira avec notre substrat greffé est impossible. Un résultat qui est d'autant plus surprenant que pour prendre l'exemple de la *N,N*-diisopropylpropargylamine **30**, plusieurs exemples de couplage de Sonogashira en solution ont été relatés dans la littérature pour cette propargylamine dont deux avec un composé très similaire au nôtre, le 4-iodobenzoate d'éthyle, même si dans ces derniers cas, la réaction avait lieu à 60 °C et dans de l'acétonitrile [340,341].

Chapitre 4 : preuve de concept de la méthodologie avec la voie de synthèse « Sonogashira »

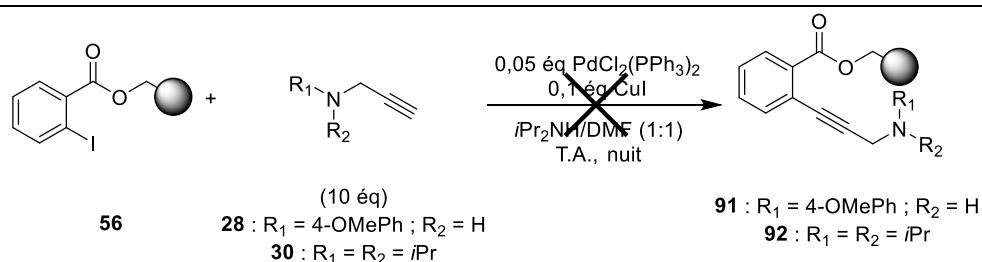


Schéma 128 : tentatives de couplage de Sonogashira entre l'acide 2-iodobenzoylé greffé sur support solide **56** et la 4-méthoxy-*N*-propargylaniline **28** ainsi qu'entre le même substrat et la *N,N*-diisopropylpropargylamine **30**

Si, avec la benzyldipropargylamine **32** comme avec la *N*-méthyl-*N*-propargylaniline **33** (Schéma 129), le couplage de Sonogashira s'est bien produit, la cyclisation a ensuite donné un résultat inattendu. En effet, la purification finale a conduit à l'isolement d'un seul composé pour la manipulation avec la benzyldipropargylamine **32** et de deux pour celle avec la *N*-méthyl-*N*-propargylaniline **33**. En observant les spectre RMN du proton générés à partir de ces produits, nous nous sommes aperçus que le seul composé obtenu en partant de la benzyldipropargylamine **32** est identique à l'un des deux produits récupérés de l'autre manipulation citée. De plus, l'ensemble de ces spectres ne correspondent pas du tout à celui de l'un des composés d'arrivée espérés. Leur identité et leur origine n'ont pas pu être déterminé avec certitude à ce jour mais étant donné que ces différents composés ont été obtenus à l'issue d'une cyclisation avec du bromure de cuivre(II) qui ne donne normalement rien en cas d'échec lors de l'étape précédente du couplage de Sonogashira, l'hypothèse la plus probable concernant l'origine de ces produits est qu'ils sont le résultat d'une dégradation d'autres produits issus de la cyclisation.

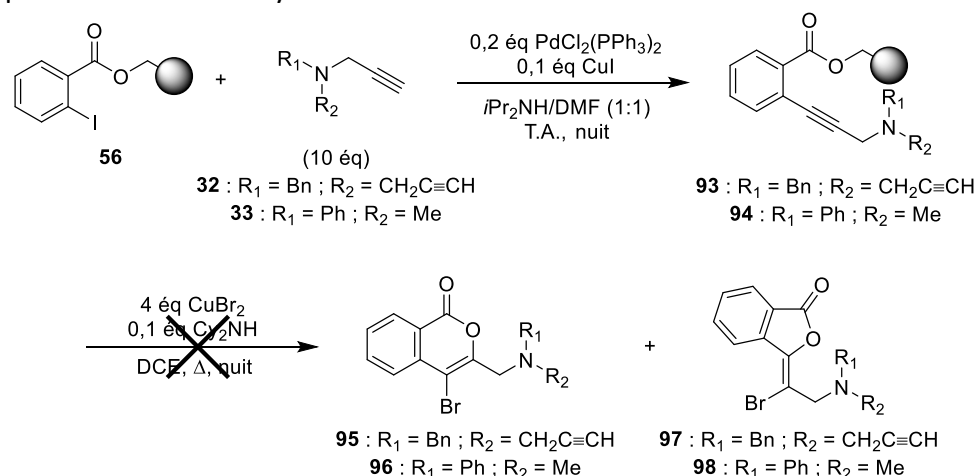


Schéma 129 : couplage de Sonogashira entre l'acide 2-iodobenzoylé greffé sur support solide **56** et la benzyldipropargylamine **32** ainsi qu'entre ce même substrat et la *N*-méthyl-*N*-propargylaniline **33**, suivi de la cyclisation en présence de bromure de cuivre(II)

III.B. Essais en solution avec des propargylamines

Pour voir si les échecs de synthèse avec les deux exemples précédents de propargylamine durant l'étape du couplage de Sonogashira étaient à lier au fait d'utiliser un support solide ou si cela était plutôt dû à une incompatibilité de ces composés avec la possibilité de cette réaction en présence d'un 2-iodobenzoylé, nous avons voulu refaire en solution ces réactions.

Au cours de ces manipulations, quatre des propargylamines que nous avons synthétisées précédemment ont pu être testées et parmi elles, une seule a livré un résultat positif sur l'étape du couplage de Sonogashira puis sur celle de la cyclisation, à savoir la benzyldipropargylamine **32**. Après le couplage de Sonogashira et une purification par colonne de chromatographie, les analyses RMN du proton et MS ont montré que seul le composé **99**

Chapitre 4 : preuve de concept de la méthodologie avec la voie de synthèse « Sonogashira »

issu d'un double couplage de Sonogashira, a été formé avec un rendement de 43 % (**Schéma 130**). Par la suite, la cyclisation de ce produit avec du bromure de cuivre(II) semble s'être produit comme l'indique l'analyse de masse du produit brut de cette réaction. Mais faute d'avoir entrepris une purification, nous n'avons pas déterminé si la cyclisation s'est faite en 6-*endo*-dig pour donner la double 4-bromoisocoumarine **100** et/ou en 5-*exo*-dig pour conduire au diphthalide **101** (**Schéma 130**).

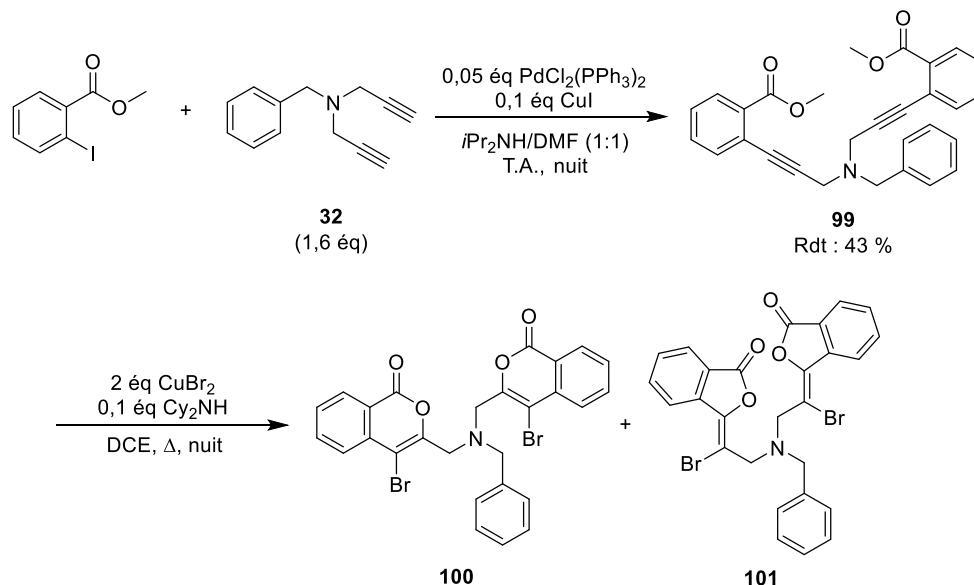


Schéma 130 : couplage de Sonogashira entre le 2-iodobenzoate de méthyle et la benzyldipropargylamine **32** suivi d'une cyclisation en présence de bromure de cuivre(II)

En dehors de cet exemple, toutes les autres tentatives de synthèse à partir de propargylamines ont échoué, à différents endroits du plan de synthèse suivant les cas. Dans celui de la 4-méthoxy-*N*-propargylaniline **28** (**Schéma 131**), c'est l'étape du couplage de Sonogashira qui fût un échec, comme sur support solide, puisque cette propargylamine s'est avérée manifestement incompatible pour cette réaction dans nos conditions expérimentales en raison d'une dégradation de ce réactif en cours de manipulation, seul du 2-iodobenzoate de méthyle ayant pu être récupéré à la fin.

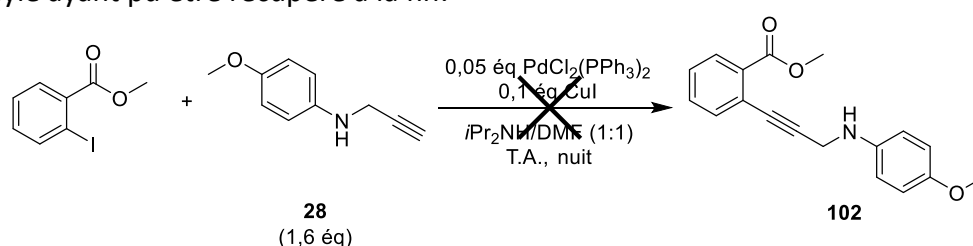


Schéma 131 : tentative de couplage de Sonogashira entre le 2-iodobenzoate de méthyle et la 4-méthoxy-*N*-propargylaniline **28**

Au contraire, avec les deux amines aliphatiques tertiaires utilisées pour ces tests, la *N*-méthyl-*N*-propargylaniline **33** et la benzylméthylpropargylamine **36** (**Schéma 132**), le couplage de Sonogashira a été effectif car il a été possible d'isoler les produits souhaités respectifs **103** et **104**. Les rendements de ces deux couplages, calculé à 40 % pour le composé **103** et à 39 % pour le composé **104**, sont malgré tout inférieurs à ce que nous avons pu avoir pour les couplages en solution avec des éthers de propargyle. En plus du produit voulu, les différents sous-produits d'homocouplage **105** et **106** ont également été synthétisés durant ces manipulations.

Chapitre 4 : preuve de concept de la méthodologie avec la voie de synthèse
« Sonogashira »

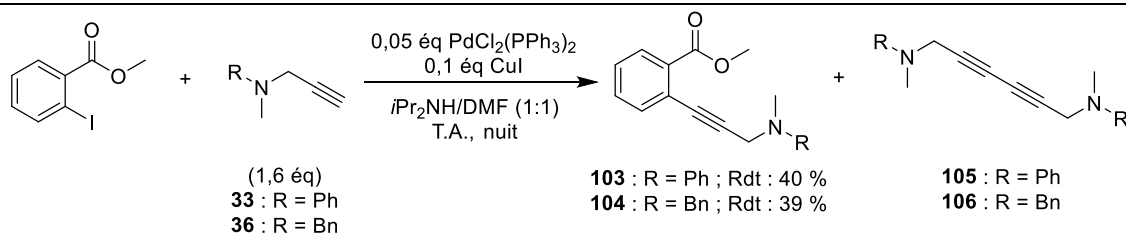


Schéma 132 : couplage de Sonogashira entre le 2-iodobenzoate de méthyle et la *N*-méthyl-*N*-propargylaniline **33** et entre ce même substrat et la benzylméthylpropargylamine **36**

En revanche, la cyclisation séparée de ces deux produits de couplage avec du bromure de cuivre(II) (**Schéma 133**) n'ont pas abouti à la synthèse des dérivés d'isocoumarine visés, ni celles des dérivés de phthalides.

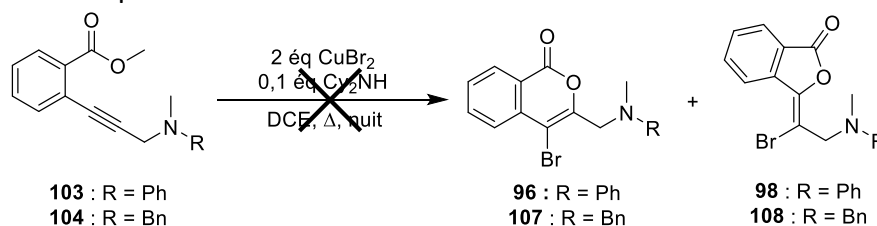


Schéma 133 : tentatives de cyclisation des composés **99** et **100** en présence de bromure de cuivre(II)

Au final, comme cela a été montré pour l'ensemble des manipulations réalisées avec des propargylamines, l'élargissement de notre plan de synthèse initial à l'utilisation d'amines non tertiaires n'est, au contraire des acides carboxyliques, pas possible pour cause d'une mauvaise réactivité de certaines propargylamines lors de l'étape du couplage de Sonogashira et, pour presque toutes celles avec lesquelles ce couplage se produit tout de même, d'une instabilité manifeste des produits de couplage intermédiaires dans les conditions de la cyclisation permettant de former des composés bromés.

IV. Tests du plan de synthèse sur support solide avec enchaînement des étapes de réactions avec un composé monofonctionnalisé

Avant de tester la compatibilité de la voie de synthèse « Sonogashira » avec l'utilisation de composés polyfonctionnalisés, il faut montrer que les étapes réactionnelles sur support solide restent possibles en partant d'un milieu réactionnel non purifié de la réaction de Williamson sur un ou plusieurs monophénols, ce qui revient à enchaîner propargylation et couplage de Sonogashira au cours de la même démarche manipulative que celle que nous aurons à suivre avec des extraits naturels.

Sur le plan pratique, nous avons effectué tous les essais de synthèse avec enchaînement avec le monophénol dont le dérivé propargylé nous a servi pour les premiers tests de la preuve de concept, le 4-méthoxyphénol **1**, ainsi qu'avec le seul acide carboxylique exploité pour les précédents essais sur le couplage de Sonogashira, l'acide *p*-anisique **15**. En partant de l'un ou l'autre de ces deux composés, nous avons mis en œuvre différentes manipulations de synthèse se différenciant par les couples base de propargylation/base de couplage : dans certaines d'entre elles, ces bases sont strictement distinctes tandis que pour d'autres, une base et sa quantité consommée sont communes aux deux réactions enchaînées afin de simplifier la transition entre les deux étapes, en n'ayant plus à ajouter que les catalyseurs pour le couplage de Sonogashira. En dehors de ces variations sur les bases, la propargylation s'est toujours faite dans des conditions expérimentales quasiment similaires à celles optimisées pour les polyphénols (un équivalent de bromure de propargyle, un équivalent de carbonate de potassium dans du DMF ou un mélange équimoléculaire de base aminée et de DMF, à

Chapitre 4 : preuve de concept de la méthodologie avec la voie de synthèse « Sonogashira »

température ambiante jusqu'à conversion totale du composé de départ en son dérivé propargylé) (**Schéma 134**). Une fois la propargylation complète, le mélange réactionnel est évaporé jusqu'à ne plus avoir que la moitié du volume initial puis est directement utilisé avec la résine **56** gonflée au préalable dans du DMF pour l'étape de couplage de Sonogashira, là aussi dans les conditions habituelles. Enfin, une fois la résine lavée et la bonne survenue du couplage contrôlée par clivage d'une fraction de la résine au TFA puis analyse par RMN du proton du produit brut de clivage obtenu, on peut poursuivre la synthèse par la cyclisation au bromure de cuivre(II).

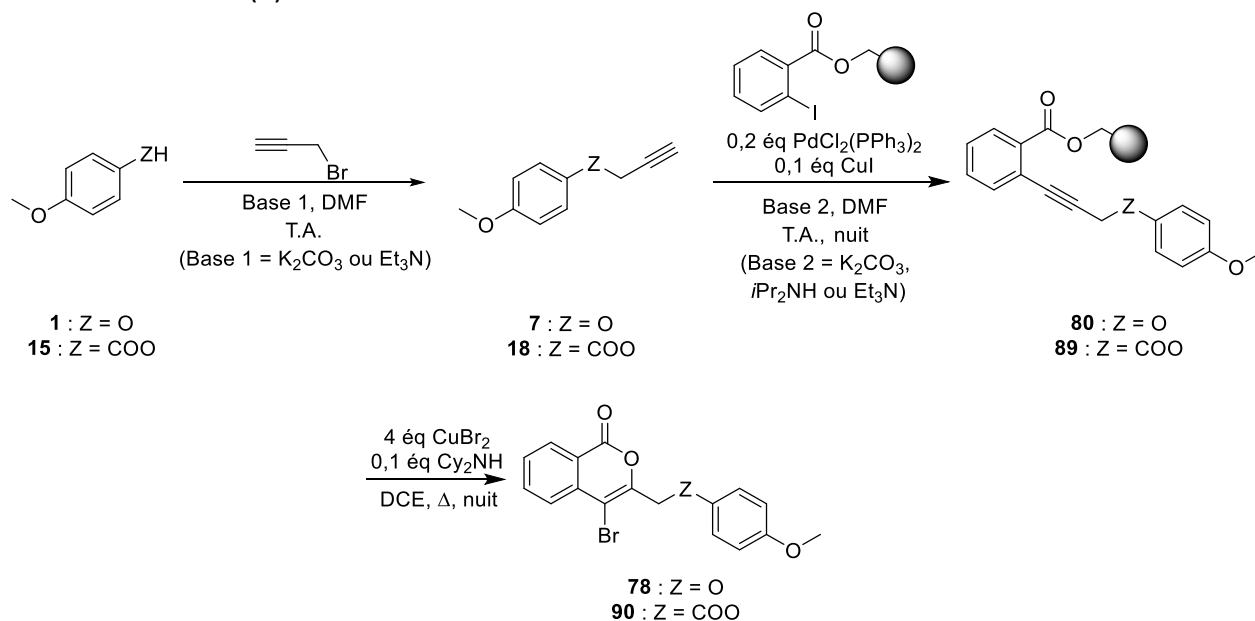


Schéma 134 : propargylation du 4-méthoxyphénol **1** ou de l'acide *p*-anisique **15** enchaînée avec un couplage de Sonogashira sur l'acide 2-iodobenzoïque greffé sur support solide **56** puis suivie d'une cyclisation en présence de bromure de cuivre(II)

L'ensemble des couples de bases testés et les résultats des manipulations associées sont rassemblés dans le **tableau 11**. Comme nous pouvons le voir, les résultats les plus positifs ont été obtenus avec l'acide *p*-anisique **15** : les deux manipulations pour lesquelles la propargylation a été effectuée en présence de carbonate de potassium et le couplage de Sonogashira au moyen d'une base aminée classique (lignes 5 et 6) n'ont causé aucun problème pour le couplage de Sonogashira. De même, la cyclisation avec le bromure de cuivre(II) qui a suivi a logiquement eu lieu, bien que la formation des produits finaux de cyclisation n'a pu être confirmée avec certitude que grâce à des analyses RMN du proton. En revanche, le troisième et dernier essai tenté avec cet acide carboxylique, pour lequel la propargylation comme le couplage ont été réalisés avec de la triéthylamine en mélange équimolaire avec le DMF n'a même pas permis d'aboutir à l'ester de propargyle **18** visé pour la fin de la première étape malgré une différence de pK_a pourtant nettement favorable à sa formation ($pK_a = 10,75$ pour la triéthylamine et $4,75$ pour l'acide *p*-anisique **15**). Comme le résultat de la synthèse avec l'enchaînement des conditions initiales des réactions de propargylation et de couplage s'est révélé être positif (ligne 5), nous avons par la suite uniquement repris ces conditions-ci pour l'application sur un ou plusieurs polyphénols, dans la mesure où elles conduiraient à au moins faire réagir des polyphénols avec des acides carboxyliques sur leurs structures.

Chapitre 4 : preuve de concept de la méthodologie avec la voie de synthèse « Sonogashira »

Tableau 11 : résultats des tests d'enchaînement de la propargylation et du couplage de Sonogashira sur support solide avec un composé monofonctionnalisé (noir = non appliqué)

Ligne	Z	Base 1	Base 2	Propargylation	Couplage de Sonogashira	Cyclisation	Proportion isocoumarine/phthalide
1	O	K ₂ CO ₃	<i>i</i> Pr ₂ NH	✓	X		
2	O	K ₂ CO ₃	Et ₃ N	✓	X		
3	O	Et ₃ N	Et ₃ N	✓	X		
4	O	K ₂ CO ₃	K ₂ CO ₃	✓	✓	✓	7,5:1
5	COO	K ₂ CO ₃	<i>i</i> Pr ₂ NH	✓	✓	✓	1:0
6	COO	K ₂ CO ₃	Et ₃ N	✓	✓	✓	1:0
7	COO	Et ₃ N	Et ₃ N	X			

Cependant, les résultats des tests d'enchaînement de la propargylation et du couplage sont plus mitigés avec le 4-méthoxyphénol **1** : les trois essais avec les mêmes exemples de conditions expérimentales que pour l'acide carboxylique (lignes 1 à 3) n'ont pas conduit au couplage du 4-propargyloxyanisole **7** avec l'acide 2-iodobenzoïque greffé sur support solide **56**. Pire, dans le cas de l'enchaînement des deux premières étapes du plan de synthèse en présence de la seule triéthylamine (ligne 3) qui a été mise en œuvre à plusieurs reprises, la propargylation n'a pas été reproductible d'une fois sur l'autre.

En plus de ces trois exemples de conditions communes avec l'autre composé de départ, d'autres ont été testées pour ce phénol, où un équivalent de carbonate de potassium a servi à la fois pour la réaction de Williamson et le couplage de Sonogashira (ligne 4). Dans cette dernière configuration, il a été possible d'appliquer les deux réactions enchaînées et ensuite de parvenir à former les produits de cyclisation souhaités malgré l'apparition des mêmes difficultés d'analyse qu'avec les cas les plus favorables pour l'acide *p*-anisique **15**. Ces difficultés nous ont d'ailleurs conduit à considérer au départ que les produits de la cyclisation ne s'étaient pas formés et que, comme ce cas n'est censé arriver que si le couplage de Sonogashira n'a pas été effectif avant, cette dernière réaction ne fût pas non plus efficace. Pour vérifier le plus facilement possible si l'enchaînement de la propargylation et du couplage ont bien pu se produire, nous avons reproduit cette dernière manipulation d'enchaînement en solution, sans chercher ensuite à faire une cyclisation du composé de couplage intermédiaire **73** (Schéma 135). Cette manipulation en solution s'est conclue positivement par l'obtention du produit de couplage souhaité, obtenu avec un rendement de 38 % après purification, ce qui confirme qu'avec du carbonate de potassium comme base commune pour les deux réactions, il est possible de les enchaîner. Cela nous a amené à regarder à nouveau l'ensemble des résultats et analyses pour le pendant de cette manipulation sur support solide, ce qui nous a finalement permis de conclure en la confirmation de la survenue de toutes les étapes du plan de synthèse dans les conditions de la ligne 4.

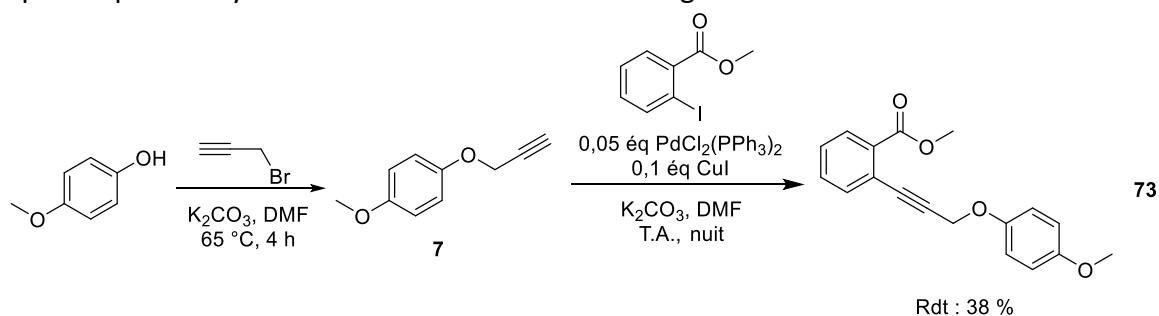


Schéma 135 : réaction de Williamson sur le 4-méthoxyphénol **1** enchaînée avec un couplage de Sonogashira avec le 2-iodobenzoate de méthyle, avec utilisation de K₂CO₃ comme unique base

V. Tests du plan de synthèse avec un mélange de produits de la réaction de Williamson sur un ou plusieurs polyphénols

V.A. Premières tentatives de synthèse sur support solide avec des mélanges artificiels de produits naturels

Bien qu'il ait été possible de faire réagir un premier mélange de deux composés en vue de former des dérivés de 4-bromoisocoumarine en prenant comme exemple notre mélange de 4-propargyloxyanisole **7** et d'aurone propargylée **8**, cette manipulation souffrait de plusieurs faiblesses pour la preuve de concept. En particulier, les composés pris comme exemples sont d'une grande simplicité avec une seule fonction réactive chacun et ces deux éthers de propargyle ont été synthétisés au préalable, de manière séparée, avant d'avoir été purifiés et d'avoir été mis en mélange, ce qui sera impossible à faire avec un extrait naturel.

En conséquence, pour renforcer la preuve de concept sur la pertinence de l'application de ce plan de synthèse sur un mélange plus complexe de molécules, nous avons projeté de faire cette application sur un nouveau mélange artificiel qui n'est pas constitué de produits propargylés au préalable mais d'un ensemble de différents composés en quantités équimolaires et identifiés comme des métabolites primaires et secondaires fréquents dans les extraits de plantes. La liste des constituants de ce mélange artificiel (**Figure 62**) est directement tiré des travaux d'un précédent doctorant de l'équipe ayant travaillé sur une thématique de phytochimie [342]. Ce mélange se compose ainsi de trois polyphénols, l'acide caféique **44**, l'acide gallique **45** et la quercétine **46**, auxquels s'ajoutent un glycoside dérivé de ce dernier, la rutine **109**, et un ester dérivé de l'acide caféique, l'acide rosmarinique **110**. Au côté de ces cinq métabolites secondaires sont aussi présents deux métabolites primaires, l'acide palmitique **53** et le D-glucose **111**.

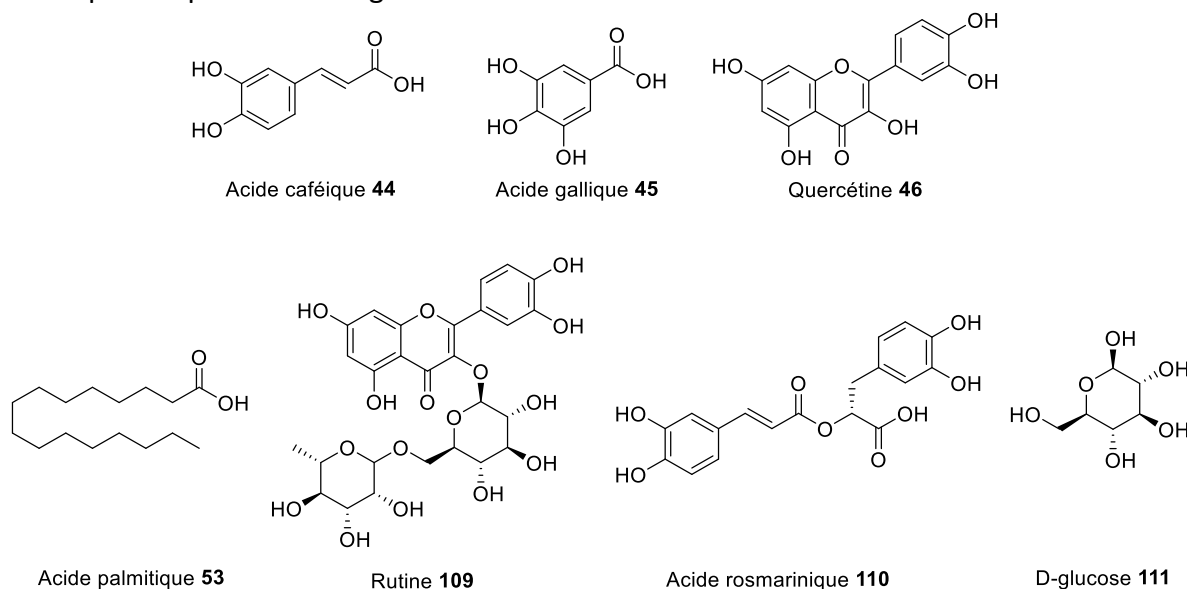


Figure 62 : structures des constituants du mélange artificiel complexe de produits naturels

Pour la propargylation de ce mélange artificiel, cette manipulation ayant été réalisée chronologiquement avant que nous travaillions sur l'optimisation des conditions de propargylation des polyphénols, cette réaction a été appliquée dans les conditions initiales, c'est-à-dire avec quatre équivalents^g de carbonate de potassium et 1,2 équivalent^h de bromure de propargyle, dans de l'acétone chauffé à reflux pendant une nuit. Une fois l'étape

^g Par composé constituant le mélange artificiel

^h Même remarque que pour le carbonate de potassium

Chapitre 4 : preuve de concept de la méthodologie avec la voie de synthèse « Sonogashira »

de la propargylation terminée, l'analyse du produit de la réaction a mis en avant un premier problème à savoir que tous les composés du mélange artificiel n'ont pas donné de molécules dérivées propargylées. Si ce résultat n'est pas étonnant pour certains des constituants de ce mélange au vu de leur structure et de la force de la base utilisée pour la déprotonation précédant la propargylation en elle-même, d'autres différences de réactivité ont plus de quoi interroger : dans les faits, seules des masses pouvant être celles de produits propargylés dérivés de la quercétine **46**, de la rutine **109** et de l'acide rosmarinique **110** ont été détectés en LC-MS (**Figure 63**). En revanche, en plus du D-glucose **111** et malgré la présence sur chacun d'entre eux d'un acide carboxylique, les acides caféique **44**, gallique **45** et palmitique **53** n'ont manifestement rien donné comme produits propargylés. De plus, cette propargylation n'a pas été totale pour tous les composés qui ont pu réagir puisque les masses de la rutine **109** et de l'acide rosmarinique **110** de départ sont aussi détectées en LC-MS à l'issue de la réaction. Dans le détail, avec la quercétine **46**, deux produits, l'un tétrapropargylé et l'autre pentapropargylé ont été formés. Il a été possible de synthétiser avec la rutine **109** deux produits monopropargylés, un produit dipropargylé, un produit tripropargylé et un produit tétrapropargylé. Quant à l'acide rosmarinique **110**, celui-ci a donné deux composés monopropargylés et un dernier composé tétrapropargylé. Mais une explication au fait que nous ne voyons pas des produits pour tous les composés du mélange artificiel pourrait être d'ordre technique : l'analyse du mélange artificiel d'origine en LC-MS (**Figure 64**) ne permis pas de retrouver les sept composés. Seules les masses des trois produits naturels **46**, **109** et **110** qui ont pu donner des composés propargylés également détectés par LC-MS ont été repérées.

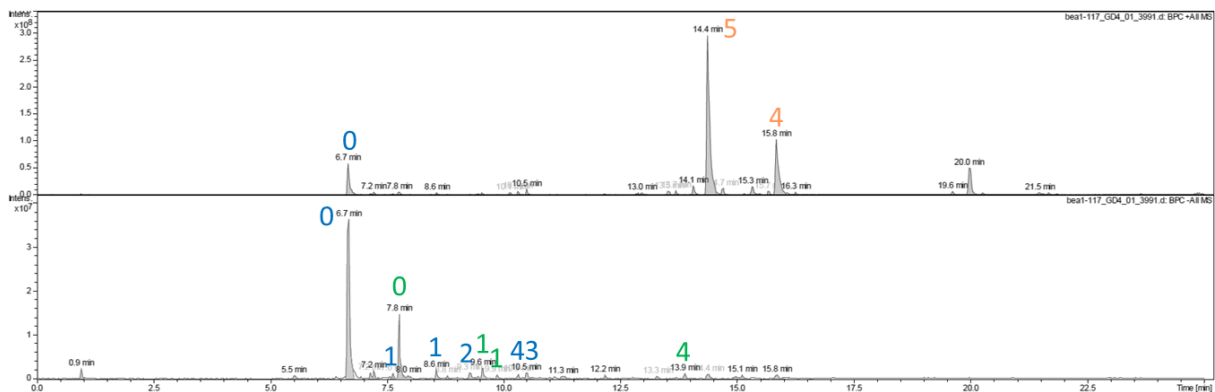


Figure 63 : chromatogramme de l'analyse LC-MS en mode ESI+ (en haut) et ESI- (en bas) du mélange de produits obtenus à l'issue de la propargylation du mélange artificiel de produits naturels dans les conditions initiales (1,2 éq de bromure de propargyle et 4 éq de K_2CO_3 par composé du mélange, acétone, 65 °C, nuit) (en orange, produits formés avec la quercétine **46** ; en bleu, produits formés avec la rutine **109** ; en vert, produits formés avec l'acide rosmarinique **110**)

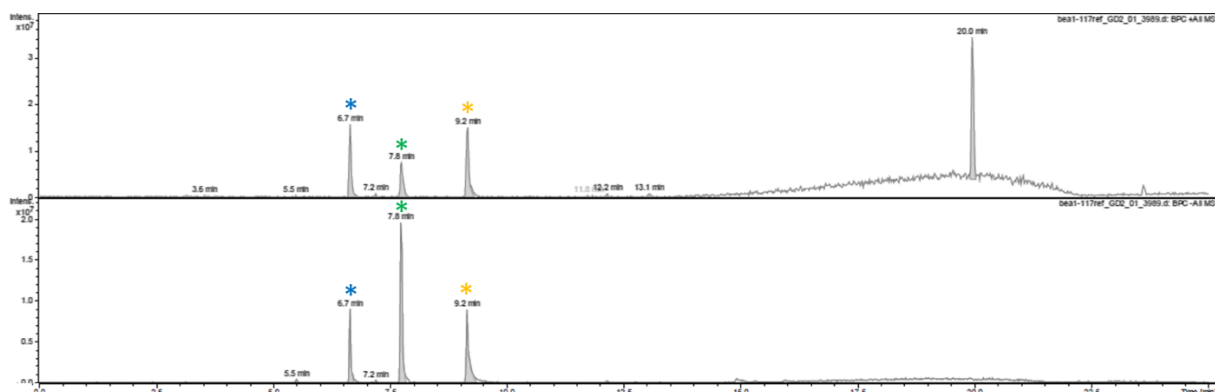


Figure 64 : chromatogramme de l'analyse LC-MS en mode ESI+ (en haut) et ESI- (en bas) du mélange artificiel de produits naturels avant sa propargylation (en orange, quercétine **46** ; en bleu, rutine **109** ; en vert, acide rosmarinique **110**)

Chapitre 4 : preuve de concept de la méthodologie avec la voie de synthèse « Sonogashira »

Ce mélange artificiel a ensuite été directement engagé dans la première étape de synthèse sur support solide, celle du couplage de Sonogashira pour lequel ont été appliquées les mêmes conditions habituelles avec l'utilisation de 0,2 équivalent de catalyseur au palladium et de 0,1 équivalent d'iodure de cuivre, le tout étant fait dans un mélange équimolaire de diisopropylamine et de DMF. Malheureusement, après cette manipulation et le clivage au TFA d'un échantillon de la résine d'arrivée, l'analyse du produit brut de ce clivage en LC-MS n'a conduit à la détection d'aucun possible produit de synthèse qui aurait été obtenu en partant de l'une des molécules du mélange artificiel complexe.

A ce stade, notre réflexion nous a conduit à penser que le nombre de paramètres en lien avec le couplage de Sonogashira qui n'ont pas encore été étudiés au moment de cette manipulation comme la différence de réactivité de ces composés durant l'étape de propargylation ou encore la compétition entre les composés propargylés alors formés durant l'étape du couplage de Sonogashira est trop grand pour que nous puissions expliquer aisément ce qui s'est passé tout au long de la synthèse. La manipulation sur ce mélange artificiel est d'autant plus difficile qu'il contient beaucoup de composés différents. Nous avons par conséquent convenu qu'il était plus pertinent de d'abord travailler sur un mélange artificiel simplifié ne contenant qu'une partie des composés du mélange précédent avant de revenir sur ce dernier en fonction des résultats que nous aurions alors obtenus.

Pour ce mélange artificiel simplifié, nous avons retenu les trois polyphénols que nous avons déjà cités dans le travail préparatoire : l'acide caféique **44**, l'acide gallique **45** et la quercétine **46**. La propargylation a été effectuée en appliquant à nouveau les conditions données pour le premier mélange artificiel. Cette fois-ci, l'analyse du mélange formé à l'issue de la propargylation a été bien plus aisée puisque nous avons été en capacité de repérer dans les données d'analyse LC-MS du mélange propargylé (**Figure 65**) des masses pouvant correspondre à celles de produits possibles en partant des trois polyphénols. Cependant, les degrés de propargylation déduits des masses notées comme étant celles de possibles produits de cette étape de synthèse se révèlent être élevées : avec l'acide caféique **44**, seul le composé dérivé propargylé sur l'intégralité de ses sites réactifs, le (*E*)-3-(3,4-bis(propargyloxy)phényl)acrylate de propargyle **48**, est présent. De même pour l'acide gallique **45** dont seul le dérivé complètement propargylé, le 3,4,5-tripropargyloxybenzoate de propargyle **50**, a été détecté. Enfin, en ce qui concerne la quercétine **46**, son dérivé totalement propargylé, le 2-(3,4-bis(prop-2-yn-1-yloxy)phényl)-3,5,7-tris(prop-2-yn-1-yloxy)-4*H*-chromen-4-one **51**, ainsi qu'un composé tétrapropargylés sont présents dans ce milieu.

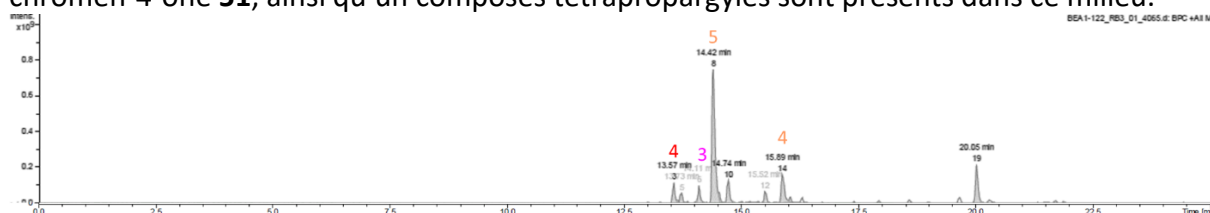


Figure 65 : chromatogramme de l'analyse LC-MS en mode ESI+ du mélange de produits obtenus à l'issue de la propargylation du mélange simplifié de produits naturels dans les conditions initiales (1,2 éq de bromure de propargyle et 4 éq de K₂CO₃ par composé du mélange, acétone, 65 °C, nuit) (en rose, produit formé avec l'acide caféique **44** ; en rouge, produit formé avec l'acide gallique **45** ; en orange, produits formés avec la quercétine **46**)

Par la suite, le couplage de Sonogashira sur support solide de ce mélange simplifié propargylé, dans les mêmes conditions que précédemment, n'a conduit de nouveau à la réaction d'aucun des composés détectés après propargylation avec l'acide 2-iodobenzoïque greffé sur support solide **56**, ce qui nous interroge encore sur les causes de la défaillance de cette étape avec des composés polyfonctionnels comme ceux de nos mélanges artificiels. L'échec de cette manipulation nous oblige à aller plus loin dans la déconvolution du mélange artificiel en

Chapitre 4 : preuve de concept de la méthodologie avec la voie de synthèse « Sonogashira »

cherchant à faire réagir de manière séparée les trois polyphénols du mélange précédent dans l'espoir de dégager un début d'explication à l'impossibilité constatée de la synthèse en partant de plusieurs composés avec plus d'un groupement fonctionnel réactif.

V.B. Tentatives de synthèse avec un seul polyphénol

Pour effectuer les tentatives de synthèse en partant d'un seul polyphénol à la fois, étant donné que nous avons toujours à notre disposition les mélanges de produits de propargylation de l'acide caféique **44**, de l'acide gallique **45** et de la quercétine **46** dans les conditions initiales (voir la partie III pour ce qui est la composition de ces mélanges de produits), ce sont ces trois derniers qui ont été repris pour appliquer les étapes de synthèse sur support solide à proprement parler. Malheureusement, quel que soit le cas pris en compte, le couplage de Sonogashira s'est de nouveau soldé par un échec, l'analyse du produit brut de clivage de la résine obtenu en fin de couplage n'indiquant que la présence d'acide 2-iodobenzoïque **55**.

Ne parvenant également pas à dégager un début d'explication à l'échec de ces couplages avec des polyphénols propargylés, il nous a semblé nécessaire d'effectuer des manipulations similaires de cette même réaction en solution sur chacun des exemples de polyphénol exploité pour voir si ces échecs sont à mettre directement en lien avec le fait de les effectuer sur support solide ou à défaut pour que, en ayant une plus grande facilité à observer le déroulement de la réaction, nous puissions disposer de pistes de recherches pour déterminer la cause de l'impossibilité de ce couplage avec ce type de composé.

Ainsi, le reste du mélange de dérivés propargylés de la quercétine a été utilisé et le couplage en solution a été tentée dans nos conditions habituelles pour ce type de milieu (un équivalent en 2-iodobenzoate de méthyle et en mélange de composés propargylés de la quercétine, 0,2 équivalent en catalyseur au palladium, 0,1 équivalent en iodure de cuivre, dans un mélange équivolémique de diisopropylamine et de DMF). Mais l'unique identification du 2-iodobenzoate de méthyle dans le spectre RMN du proton du produit brut obtenu en fin de réaction (**Figure 66**) ainsi que la masse de produit final qui est demeuré très proche de celle du substrat de départ nous oriente vers l'impossibilité manifeste de ce couplage dans ces conditions.

Chapitre 4 : preuve de concept de la méthodologie avec la voie de synthèse « Sonogashira »

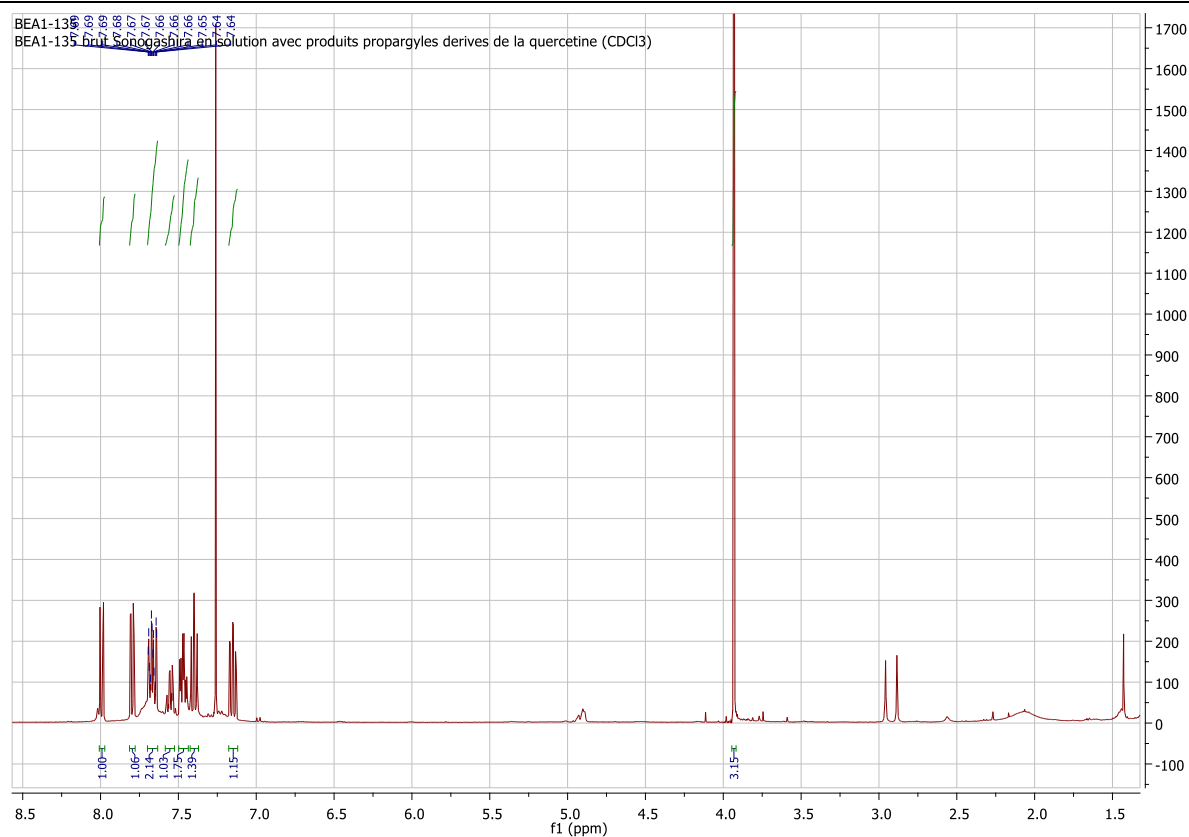


Figure 66 : spectre RMN du proton du produit brut obtenu couplage de Sonogashira entre le 2-iodobenzoate de méthyle et le mélange de produits propargylés de la quercétine (CDCl_3 , 400 MHz)

Après avoir émis l'hypothèse d'une possible dégradation des polyphénols propargylés lors des premières observations de la **figure 66**, plusieurs manipulations ont été ensuite mises en place pour tenter de déterminer si les produits propargylés de polyphénol peuvent être dégradés vis-à-vis de l'un ou plusieurs des réactifs. Pour ces manipulations-là, nous nous sommes seulement occupés du cas de la quercétine. Dans une première série de manipulations, le mélange de produits propargylés de ce dernier polyphénol est mis en présence de l'intégralité des autres réactifs du couplage de Sonogashira à l'exception du 2-iodobenzoate de méthyle. Pour chacune de ces trois manipulations ainsi mises en œuvre, une base différente parmi trois usuelles pour le couplage – la diisopropylamine, la DIPEA et la triéthylamine – est exploitée. Dans les trois variantes testées, en fin de manipulation, l'allure générale du spectre RMN du proton semblait mettre en évidence la dégradation des dérivés propargylés de quercétine dans les conditions du couplage de Sonogashira. En effet, la disparition conjointe du « massif » de doublets présent dans la zone vers 4,5-5 ppm et de celui de triplets situé vers 2-2,5 ppm, qui proviennent des propargyles qui ont été ajoutés à la quercétine, et la non-apparition d'un « massif » de singulets vers 4,5-5 ppm (qui serait signe de présence de produits du couplage de Glaser) pourraient constituer des indications de la dégradation de ce milieu. De plus, la zone des protons aromatiques a radicalement changé d'aspect par rapport à ce qui était observé dans le milieu de départ. Néanmoins, en analysant a posteriori l'ensemble de ces résultats, il apparaît que le bilan massique était trop faible pour que ces interprétations soient valables en raison d'une perte de produit importante. Une vérification s'impose donc concernant la dégradation éventuelle des produits de départ ou un problème d'extraction durant le traitement du mélange réactionnel.

Dans une seconde série de manipulations, nous avons mis le mélange brut des dérivés propargylés de la quercétine en présence soit des catalyseurs habituels de ce couplage, soit

Chapitre 4 : preuve de concept de la méthodologie avec la voie de synthèse « Sonogashira »

en présence de l'une des bases aminées usuelles de cette même réaction. Dans l'une ou l'autre de ces configurations, le spectre RMN du proton de tous les produits bruts récupérés à l'issue de ces tests ne montre aucun signe de survenue d'une quelconque réaction ou dégradation. Les résultats de ces deux séries de tests pourraient vouloir dire par conséquent que les problèmes que nous avons toujours noté durant le couplage de Sonogashira avec les polyphénols ne provient pas d'une réaction de ces derniers et de leurs dérivés propargylés avec l'un des réactifs du couplage mais d'une incompatibilité manifeste avec l'association des deux catalyseurs et de la base aminée et donc avec les conditions expérimentales traditionnelles de ce couplage.

Par la suite, nous avons essayé de contourner ce problème en faisant une nouvelle tentative de synthèse de dérivés d'isocoumarine sur support solide avec un unique dérivé propargylé de quercétine (provenant d'une partition du mélange des composés propargylés par colonne de chromatographie) et dans les conditions habituelles du couplage. Cette alternative n'a pas eu d'effet sur la survenue du couplage qui fût toujours un échec mais néanmoins, la cause de cette dernière n'est pas une dégradation du polyphénol propargylé d'après les analyses faites sur le filtrat du milieu réactionnel dans lequel a été fait le couplage.

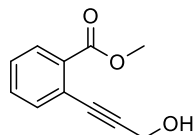
Au final, nous n'avons pu que constater l'impossibilité de mettre en œuvre le plan de synthèse de dérivés d'isocoumarine sur des composés polyfonctionnels propargylés en raison de l'incapacité à faire le couplage de Sonogashira sur ce type de molécules, dû à leur fragilité vis-à-vis de la combinaison de l'ensemble des réactifs du couplage.

VI. Recherche de voies de synthèse alternatives du produit de couplage intermédiaire

Face aux difficultés progressivement rencontrées durant la construction de la preuve de concept avec la voie de synthèse « Sonogashira » dès lors que nous avons constaté l'étendue des problèmes concernant l'étape du couplage, nous avons essayé quelques alternatives à cette réaction pour la synthèse de la structure précurseur de l'isocoumarine et du phthalide que nous souhaitons obtenir en fin de manipulation.

Le moyen le plus logique consisterait en fait à inverser la réaction d'éthérisation et celle de couplage, en commençant par faire un couplage de Sonogashira avec un dérivé de propargyle simple portant en bout de chaîne un groupement fonctionnel réactif sur lequel nous pouvons y ajouter le composé hydroxylé souhaité.

Avant de pouvoir envisager ce type de réaction sur support solide, pour pouvoir vérifier la faisabilité de ce qu'on souhaite faire, toutes nos tentatives ont été réalisées en solution. Dans ce contexte, c'est le 2-(3-hydroxyprop-1-yn-1-yl)benzoate de méthyle **70** (Figure 67) qui servira de produit de couplage pour faire l'éthérisation sur son hydroxyle libre. Sa synthèse a déjà été abordée dans le chapitre 3 sur les travaux préparatoires.



2-(3-hydroxyprop-1-yn-1-yl)benzoate de méthyle **70**

Figure 67 : structure du 2-(3-hydroxyprop-1-yn-1-yl)benzoate de méthyle **70**

A partir de cet alcool couplé, deux procédés différents d'éthérisation ont été tentés. La première est une réaction de Mitsunobu dans des conditions classiques avec notamment l'utilisation de triphénylphosphine et de DEAD. Ayant trouvé des conditions dans la littérature

Chapitre 4 : preuve de concept de la méthodologie avec la voie de synthèse « Sonogashira »

qui permettaient de faire réagir un composé similaire au 2-(3-hydroxyprop-1-yn-1-yl)benzoate de méthyle **70** avec des phénols [343], nous avons testé cette réaction avec le 4-méthoxyphénol **1** (**Schéma 136**). Malheureusement, après plusieurs tentatives, cette manipulation a toujours été un échec.

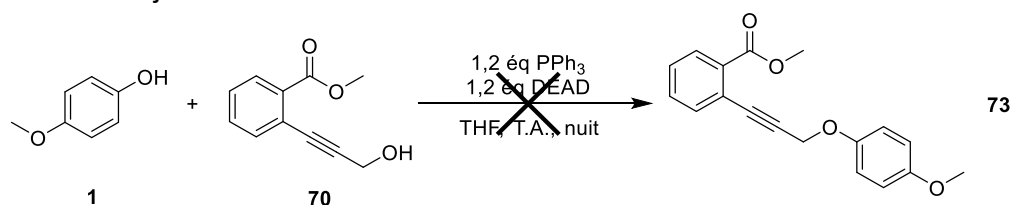


Schéma 136 : tentative d'éthérisation par réaction de Mitsunobu entre le 2-(3-hydroxyprop-1-yn-1-yl)benzoate de méthyle **64** et le 4-méthoxyphénol **1**

Le deuxième procédé d'éthérisation que nous avons essayé est plus singulier et implique des conditions expérimentales plus « vertes » puisque n'utilisant pas de métal ou d'halogène, avec seulement du monohydrate d'APTS à hauteur de 0,05 équivalent pour faire office de catalyseur, la réaction se faisant dans de l'acétonitrile chauffé à reflux [344]. Bien que dans l'article relatant cette réaction, tous les alcools propargyliques couplés qui ont été utilisés étaient toujours substitués entre l'hydroxyle et la triple liaison, nous avons choisi cette voie d'éthérisation car elle avait été appliquée sur l'un des composés hydroxylés aliphatiques avec lequel il nous avait été impossible de synthétiser son dérivé en éther de propargyle durant le travail préparatoire, le menthol **4**, ce qui rend ces conditions intéressantes pour élargir la gamme de composés qu'on pourrait faire réagir en vue de la synthèse de dérivés d'isocoumarine. C'est d'ailleurs sur ce composé que nous avons voulu tester cette façon de faire l'éthérisation en gardant toutes les conditions de l'article (**Schéma 137**). Hélas, le test se solda par un échec, le menthol **4** et le 2-(3-hydroxyprop-1-yn-1-yl)benzoate de méthyle **70** ne réagissant pas entre eux, même après une nuit complète laissée pour la synthèse.

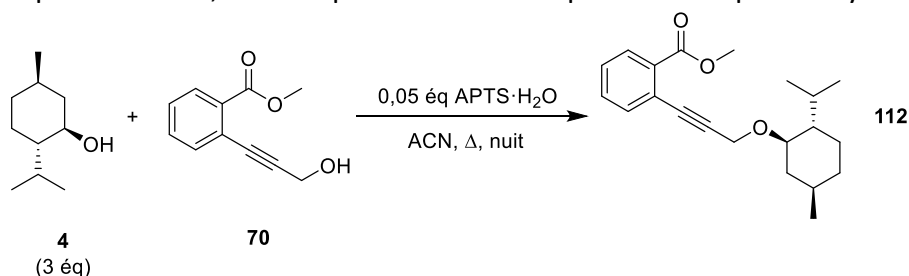


Schéma 137 : tentative d'éthérisation par utilisation catalytique de monohydrate d'APTS entre le composé **70** et le menthol **4**

Conclusion

La construction de la preuve de concept de notre méthodologie de modification chimique d'extraits naturels suivant notre plan de synthèse de dérivés d'isocoumarine avec utilisation d'un support solide nous a permis de former aussi bien des dérivés d'isocoumarine 4-halogénés en effectuant un couplage de Sonogashira suivi d'une cyclisation électrophile, en partant d'un milieu simple avec un ou deux éthers de propargyle purs ne possédant aucune autre fonction. De plus, cette même voie de synthèse a également pu être appliquée sur un ester de propargyle pur obtenu à partir d'un acide carboxylique.

Ce plan de synthèse souffre cependant de plusieurs défauts importants qui rendent compliquée son application sur des extraits de plantes : d'abord, en partant d'un composé sur lequel on effectue l'étape de propargylation qui est enchaînée directement avec celle du couplage de Sonogashira sur support solide, c'est-à-dire en ayant la démarche manipulative qui sera celle suivie pour l'application sur les extraits naturels, il n'a pas toujours été possible

Chapitre 4 : preuve de concept de la méthodologie avec la voie de synthèse « Sonogashira »

d'aller au terme de la séquence synthétique suivant le composé de départ et les conditions expérimentales de ces deux réactions. D'autre part, le couplage de Sonogashira s'est révélé incompatible avec tout polyphénol propargylé dans les conditions initiales que nous avons testées, ce qui est particulièrement gênant puisqu'il s'agit d'une famille de produits naturels fréquents dans les extraits naturels, en particulier ceux de plantes alpines, que nous voudrions faire réagir en priorité. Les amines propargylées ne semblent également pas pouvoir donner les dérivés d'isocoumarine correspondants voulus, soit en raison d'un couplage de Sonogashira infructueux, soit en raison d'une cyclisation non concluante. Bien que ces solutions n'aient pas été essayées durant le temps de cette thèse, deux correctifs pourraient être apportées à ces manipulations pour tenter d'aller plus loin dans cette preuve de concept : d'une part, puisque l'enchaînement de la réaction de Williamson et du couplage de Sonogashira avec le carbonate de potassium comme seule et unique base fonctionne, il pourrait être intéressant de tester ces mêmes conditions enchaînées sur un ou plusieurs polyphénols. D'autre part, des conditions alternatives de couplage de Sonogashira sans utilisation de composés cuivrés pourraient être expérimentées pour tenter de s'affranchir des problèmes de réactivité rencontrés durant la preuve de concept en plus de limiter les risques d'homocouplage de Glaser et d'être moins contraint vis-à-vis de la nécessité de conditions inertes pour la mise en application de cette réaction.

La preuve de concept basée sur ce premier plan de synthèse et les difficultés rencontrées durant sa construction seront à mettre en perspective avec ce qui a été réalisée avec l'autre plan de synthèse de dérivés d'isocoumarine qui comprend notamment la réalisation d'une réaction « clic » entraînant l'ajout d'un 1,2,3-triazole et qui est abordée dans le chapitre suivant. Le choix d'intégrer dans ce second plan de synthèse celle de cet hétérocycle azoté par la méthode la plus accessible doit nous permettre de ne pas rencontrer les problèmes croisés découlant du couplage de Sonogashira auquel elle se substitue tout en pouvant toujours exploiter le travail déjà effectué pour la propargylation et la cyclisation. Et comme nous allons le voir, avec cet autre plan de synthèse, la preuve de concept a pu être poussée plus loin qu'avec le premier.

Chapitre 5 : preuve de concept de la méthodologie avec la voie de synthèse « clic »

Introduction

Bien qu'il nous ait été possible de réaliser le plan de synthèse de dérivés d'isocoumarine avec des éthers de propargyle purs, l'impossibilité de pouvoir faire la démarche en partant de composés polyhydroxylés et en enchaînant l'étape de propargylation et celle du couplage de Sonogashira nous oblige à l'annoter pour persévérer dans la construction de la preuve de concept de notre méthodologie de modification chimique d'extraits naturels. C'est pourquoi, pour des raisons qui ont été évoquées dans le chapitre 2, la synthèse de dérivés combinés d'isocoumarine et de 1,2,3-triazole a également été étudié.

Ce chapitre va s'attacher à relater l'ensemble des manipulations qui ont été réalisées avec le second plan de synthèse sur des milieux artificiels (éther de propargyle pur, monophénol, polyphénol), d'abord intégralement en solution puis ensuite avec l'utilisation de l'acide 2-(3-azidoprop-1-yn-1-yl)benzoïque greffé sur support solide **65**.

I. Tests du plan de synthèse en solution avec des exemples d'éthers de propargyle de monophénols purs

I.A. Contextualisation des tests du plan de synthèse en solution

Comme avec le premier plan de synthèse, la preuve de concept de notre méthodologie avec ce second plan de synthèse de dérivés combinés d'isocoumarine et de 1,2,3-triazole impose de commencer avec des tests de synthèse en solution pour vérifier que toutes les étapes ne causent aucun souci d'ordre technique ou chimique durant leur réalisation.

Pour ce qui est des conditions réactionnelles utilisées pour la réaction « clic », comme lors de l'étape du couplage de Sonogashira de la stratégie de synthèse précédente, de l'iodure de cuivre est utilisé, ce qui doit nous permettre de mieux appréhender l'utilisation de ce réactif en tant que catalyseur avec l'expérience des différents tests de la première stratégie de synthèse. Dans les faits, ces conditions réactionnelles, qui nécessitent aussi de la triéthylamine et du THF, ont été tirées d'une publication utilisée pour une réaction « clic » entre le 4-propargyloxyanisole **7** et de l'azoture de benzyle (**Schéma 138**) [345]. Cette manipulation ne constituait qu'un premier essai pour ce type de réaction et n'a aucun lien avec les manipulations réalisées dans le cadre de la preuve de concept en dehors de celui de voir si une réaction « clic » avec de l'iodure de cuivre comme catalyseur peut être réussi. Au passage, cela fût le cas lors de cette expérience préliminaire, avec l'obtention de 4-[(4-méthoxyphénoxy)méthyl]-1-(phénylméthyl)-1H-1,2,3-triazole **113** avec un bon rendement de 65 %.

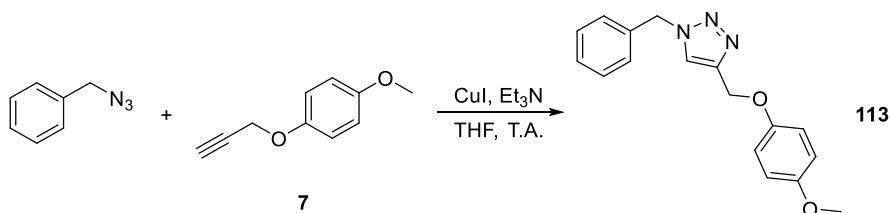


Schéma 138 : réaction « clic » entre l'azoture de benzyle et le 4-propargyloxyanisole **7**

I.B. Synthèse en solution avec des éthers de propargyle de monophénols séparés

De la même manière que précédemment, les tests de la première phase du travail de la preuve de concept, à savoir ceux de réaction « clic » en solution avec le 2-(3-azidoprop-1-yn-1-yl)benzoate de méthyle **71** ont été réalisés avec plusieurs éthers de propargyle purs provenant du travail préparatoire, plus précisément le 4-propargyloxyanisole **7**, l'aurone propargylée **8** et la 3-méthoxy-4-(propargyloxy)benzaldéhyde **9**. Quant à l'étape de cyclisation qui suit, à nouveau, les conditions de cette réaction ont été limitées à celles utilisant le bromure de cuivre(II) pour former de nouveaux dérivés d'isocoumarine bromé en position 4 [338].

Lors du premier test de réaction « clic » en solution qui a été réalisé avec le 4-propargyloxyanisole **7** (Schéma 139), aucun problème particulier n'a été rencontré lors de la mise en œuvre de la synthèse ou lors de la purification. Le 2-(3-(4-(4-méthoxyphénoxy)méthyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)prop-1-yn-1-yl)benzoate de méthyle **114** a été formé avec un excellent rendement après purification de 96 %.

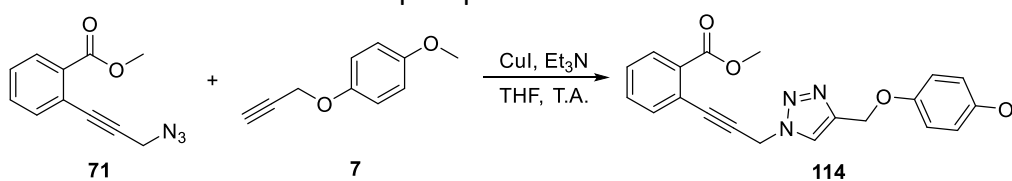


Schéma 139 : réaction "clic" entre l'azoture **71** et le 4-propargyloxyanisole **7**

Pour la réaction terminale de la cyclisation au bromure de cuivre(II) de ce produit **114** (Schéma 140), comme dans la voie de synthèse « Sonogashira », la plaque CCM du mélange réactionnel a révélé deux tâches de Rf très proches tandis que le spectre RMN du proton du produit brut montre également la présence des deux produits de cyclisation attendus avec l'isocoumarine **115** comme produit majoritaire (la proportion entre celui-ci et le phthalide **116** étant d'environ 4:1). Par la suite, la purification du produit brut qui a suivi a donné uniquement un de ces deux composés sous une forme complètement pure et caractérisable. L'analyse de son spectre RMN du proton, conjuguée à l'expérience que nous avons pour la différenciation des dérivés d'isocoumarine et ceux de phthalide, nous ont convaincus que ce produit est bel et bien la 4-bromoisocoumarine attendue **115**, dont le rendement a été calculé à 17 %. Ce faible rendement ne peut pas être dû au manque de réactivité de l'intermédiaire **114**, celui-ci n'étant plus présent dans le milieu d'arrivée alors que la masse de produit récupéré est cohérente avec celle attendue, mais plutôt et très probablement à un problème de purification (qu'on retrouve régulièrement pour ce type de composé lors de purification par colonne de chromatographie).

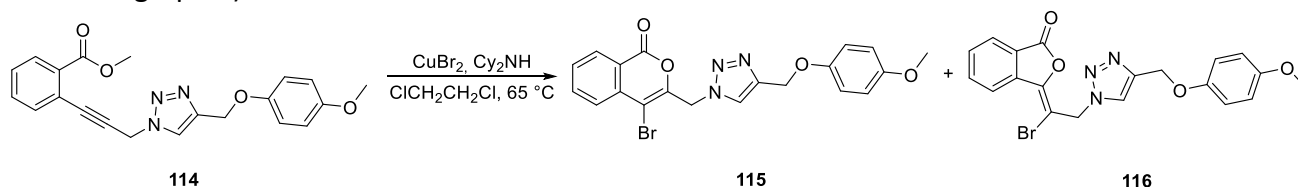


Schéma 140 : cyclisation du composé **114** en présence de bromure de cuivre(II)

Au sujet des résultats de ce test, on peut remarquer que la proportion de l'isocoumarine par rapport à l'autre produit non purifié (8 mg d'isocoumarine contre 4 mg de l'autre produit, en partant de 39 mg du composé intermédiaire **114**) montre que l'isocoumarine **115** est certainement le produit majoritaire de la cyclisation malgré un faible rendement, ce qui rejoint ce que nous avons déjà observé avec le premier plan de synthèse dans ces conditions de cyclisation.

Chapitre 5 : preuve de concept de la méthodologie avec la voie de synthèse « clic »

Pour la réaction « clic » entre l'azoture **71** et l'aurone propargylée **8** (Schéma 141), le produit recherché **117** fût obtenu sans encombre et avec également un rendement élevé à 80 %. De même, pour la cyclisation au bromure de cuivre(II) (Schéma 141), le même phénomène que dans le cas du 4-propargyloxyanisole **7** s'est produit, avec l'obtention de deux produits, dont le plus polaire qui a pu être purifié et qui a été caractérisé comme étant le produit ciblé dérivé d'isocoumarine **118**, et le plus apolaire, avec un Rf encore très proche du premier, de tel sorte qu'il n'a pas pu être totalement isolé mais pour lequel on peut quand même émettre l'hypothèse que ce soit le dérivé de phthalide **119**. Le rendement de cette étape s'élève à 30 % pour l'isocoumarine qui a été obtenue en proportion encore plus importante que dans la configuration avec le 4-propargyloxyanisole **7** : 31 mg de ce produit a été recueilli contre seulement 3 mg de l'autre produit impur.

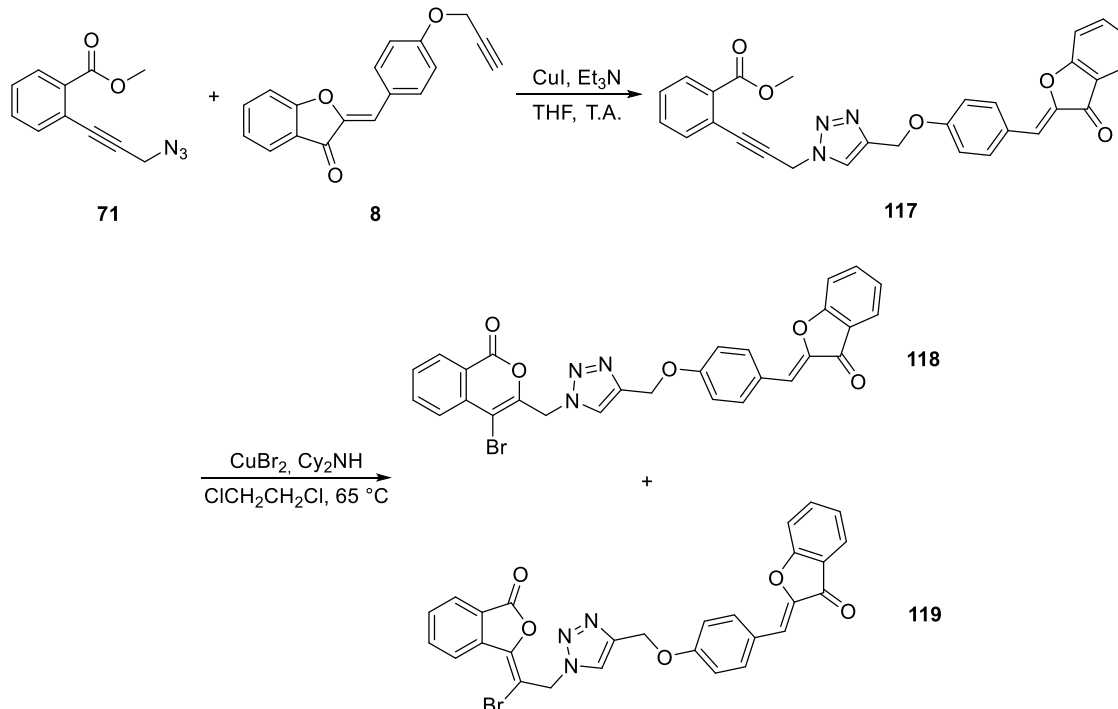


Schéma 141 : réaction "clic" entre l'azoture **71** et l'aurone propargylée **8** suivie d'une cyclisation en présence de bromure de cuivre(II)

Avec le 3-méthoxy-4-(propargyloxy)benzaldéhyde **9**, la synthèse du produit de la réaction « clic » **120** correspondant (Schéma 142) a été tout aussi simple qu'avec les deux exemples d'éthers de propargyle purs avec un rendement à 69 %. La réalisation du plan de synthèse avec cet éther de propargyle se distingue aussi par le résultat de l'étape de cyclisation (Schéma 142) : la purification par chromatographie sur colonne de gel de silice du produit brut alors obtenu n'a permis d'obtenir qu'un seul produit, sous forme pure. L'analyse par RMN du proton de ce produit a conduit à le caractériser comme la 4-bromoisocoumarine souhaitée **121**, formée avec un rendement de 39 %.

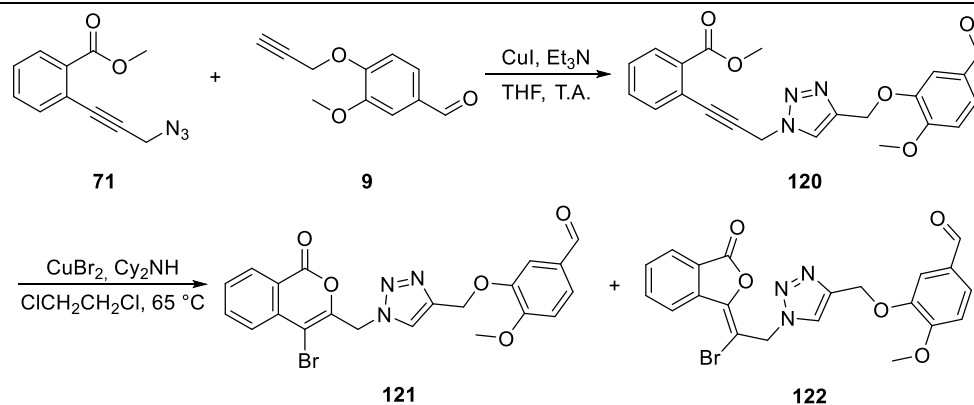


Schéma 142 : réaction "clic" entre l'azoture **71** et la 3-méthoxy-4-(propargyloxy)benzaldéhyde **9** suivie d'une cyclisation en présence de bromure de cuivre(II)

II. Tests du plan de synthèse sur support solide avec des exemples d'éthers de propargyle de monophénols

II.A. Synthèse sur support solide avec des éthers de propargyle seuls ou en mélange

Toutes les étapes de ce plan de synthèse ayant pu être appliquées en solution sur les trois exemples d'éther de propargyle retenus, la stratégie de synthèse a été exécutée sur support solide. Le passage d'un milieu en solution à un milieu avec un support solide ne nécessite que quelques adaptations : il faut effectuer un gonflement préalable avant réaction de la résine **65** portant le substrat azidé dans le même solvant réactionnel que celui de l'étape de synthèse précédente, la réaction de Williamson et un excès plus grand d'éther de propargyle est utilisé par rapport aux manipulations réalisées en solution (5 équivalents de ce réactif par rapport à l'azoture greffé sur support solide contre 1,5 équivalents en solution). Comme avec la synthèse en solution, les conditions de cyclisation utilisées seront toujours celles devant donner la 4-bromoisocoumarine, avec utilisation de bromure de cuivre(II) à hauteur de 4 équivalents par rapport au loading expérimental de la résine, accompagné de 0,1 équivalent de dicyclohexylamine.

La démarche entreprise à ce stade de la preuve de concept diffère un peu de ce qui a été fait pour la voie de synthèse « Sonogashira » : ici, nous avons cherché à appliquer le plan de synthèse sur un seul éther de propargyle pur puis sur un mélange contenant deux des trois exemples d'éther de propargyle et enfin sur un mélange de tous ces composés modèles.

Pour le test de synthèse sur support solide avec un seul éther de propargyle pur, le choix s'est porté sur le plus simple des trois exemples, le 4-propargyloxyanisole **7** (Schéma 143). L'étape de la réaction « clic » fût tout aussi aisée à mettre en œuvre que lors du test en solution et son bon déroulement a pu être vérifié après clivage d'un échantillon de la résine récupérée à l'issue de cette réaction et analyse du produit obtenu en RMN du proton. Quant à l'étape de la cyclisation, celle-ci a causé les mêmes résultats qu'en solution avec l'obtention d'un mélange de deux produits visibles sur plaque CCM. La séparation a été tentée par chromatographie sur colonne de gel de silice et a permis d'avoir un seul des deux produits sous forme pure, identifié comme le dérivé d'isocoumarine **115** visé qui est à nouveau le composé majoritaire. Les analyses ont aussi confirmé que, pour cette manipulation, le substrat initial qui aurait été cyclisé sans réagir sur son azoture n'est pas présent et donc que l'intégralité de ce substrat a été converti lors de la réaction « clic ».

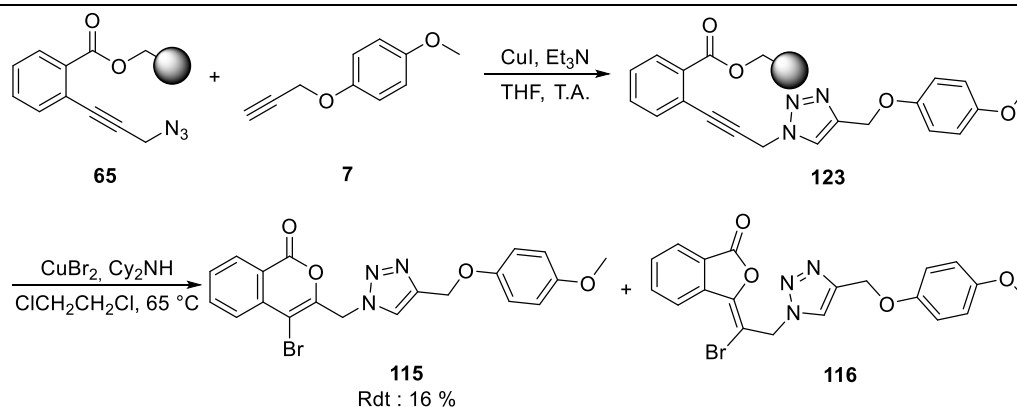


Schéma 143 : réaction « clic » entre l'azoture greffé sur support solide **60** et le 4-propargyloxyanisole **7** suivi d'une cyclisation en présence de bromure de cuivre(II)

En parallèle, un autre lot de la résine **123** produit de la réaction « clic » avec le 4-propargyloxyanisole **7** a été clivé au TFA (**Schéma 144**) et a livré un résultat significativement différent celui de la cyclisation au bromure de cuivre(II) : ainsi, seul le dérivé de phthalide **125** a été synthétisé et isolé tandis que le dérivé d'isocoumarine **124** est visiblement absent du produit brut de clivage. Après purification, le rendement s'élève à 25 % pour le dérivé de phthalide attendu.

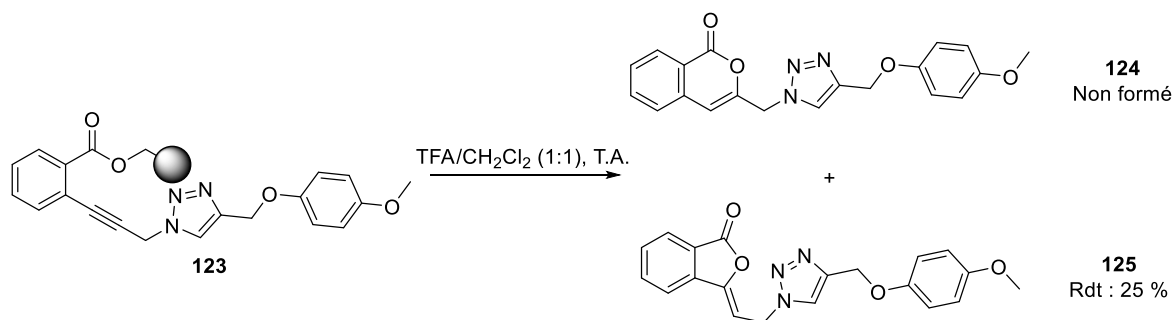


Schéma 144 : cyclisation de la résine **123** par clivage au TFA

Ensuite, concernant l'application de cette synthèse de dérivés combinés d'isocoumarine et de triazole sur un premier mélange de deux éthers de propargyle purs, nous avons exploité à nouveau le 4-propargyloxyanisole **7** avec en plus l'aurone propargylée **8** (**Schéma 145**). Au moment de l'étape de la CuAAC, la réaction s'est visiblement produite sur les deux composés cibles. Le spectre RMN du proton du produit brut de clivage nous permet de repérer des signaux caractéristiques des deux composés de départ. L'évaluation de la survenue ou non de la réaction de cyclisation ne fût pas des plus faciles : sur plaque CCM ont pu être distinguées trois tâches qui correspondraient aux deux produits de cyclisation possibles avec l'aurone propargylée **8** et à au moins l'un des deux produits accessibles avec le 4-propargyloxyanisole **7**, ce dernier étant probablement le dérivé d'isocoumarine si on se base sur son Rf. Malgré les valeurs de Rf toujours très proches entre ces trois tâches, nous avons tenté une séparation par chromatographie sur colonne de gel de silice qui n'a cependant pas permis de faire ressortir de la colonne l'un des composés sous une forme pure. Nous ne pouvions donc surtout nous appuyer que sur les données de l'analyse LC-MS réalisée sur le produit brut d'avant chromatographie (**Figure 68**) pour juger de la survenue de la manipulation. Ces données ont levé les derniers doutes sur la survenue de la cyclisation : aussi bien pour les produits de cyclisation possibles avec le 4-propargyloxyanisole **7** que pour ceux accessibles avec l'aurone propargylée **8**, les masses correspondantes à ces produits avec des profils isotopiques cohérents ont été détectées à deux reprises. Cependant, il nous est ici impossible de dire si chaque masse détectée correspond à un dérivé d'isocoumarine ou à un dérivé de phthalide, ni d'évaluer d'un point de vue quantitatif la formation des quatre produits attendus en fin de

Chapitre 5 : preuve de concept de la méthodologie avec la voie de synthèse « clic »

procédé. En revanche, la 4-bromoisocoumarine dérivée du substrat greffé qui n'aurait pas réagi lors de la réaction « clic » n'a pas été détecté.

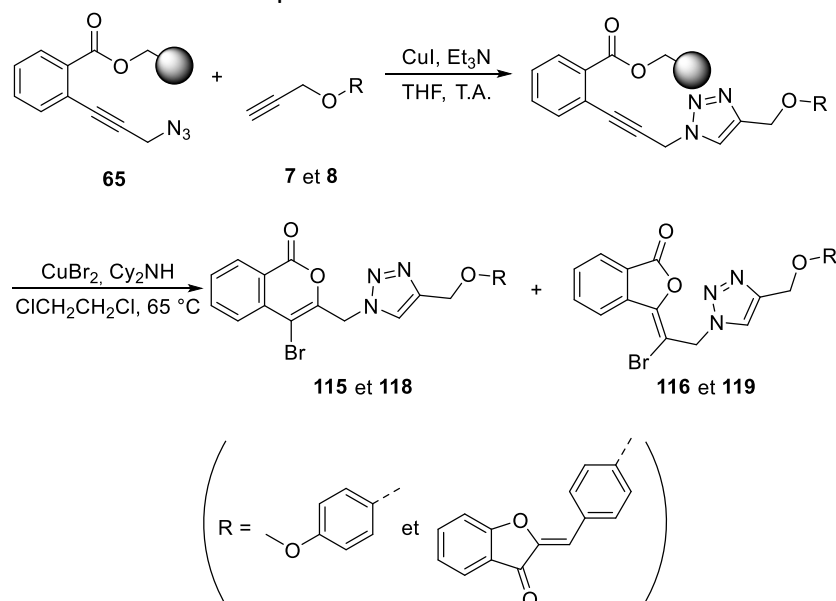


Schéma 145 : réaction « clic » entre l'azoture greffé sur support solide **65** et un mélange de 4-propargyloxyanisole **7** et d'aurone propargylée **8** suivi d'une cyclisation en présence de bromure de cuivre(II)

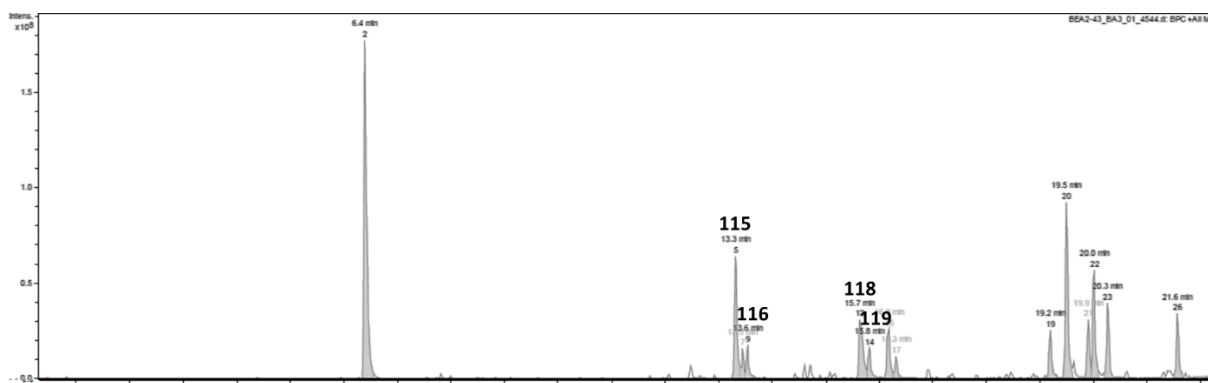


Figure 68 : chromatogramme de l'analyse LC-MS en mode ESI+ du produit brut de la cyclisation en présence de bromure de cuivre(II) pour la synthèse sur support solide avec un mélange de 4-propargyloxyanisole **7** et d'aurone propargylée **8**

Enfin, la même démarche a été reproduite en ajoutant le 3-méthoxy-4-(propargyloxy)benzaldéhyde **9** au mélange précédent (**Schéma 146**). Le déroulement des étapes de synthèse sur support solide fût similaire au cas précédent : l'analyse par RMN du proton du produit brut obtenu après réaction « clic » et clivage au TFA de la résine n'a pas soulevé de problème concernant l'apparente survenue de cette étape avec les trois composés du mélange. Puis à l'issue de l'étape de cyclisation au bromure de cuivre(II), nous avons été à nouveau obligé de nous baser sur les données des analyses LC-MS (**Figure 69**) pour conclure sur la survenue ou non de la fin du plan de synthèse. Les trois types de produits attendus par rapport au milieu de départ sont bien présents même si un seul des deux composés formés avec la 4-propargyloxyanisole **7** a été détecté alors que pour chacun des deux autres éthers de propargyle du mélange, la masse correspondante aux produits visés a été détectée à deux reprises. De plus, la masse du fragment cyclisé en 4-bromoisocoumarine sans conversion de l'azoture en 1,2,3-triazole n'a pas été repérée lors de cette analyse LC-MS.

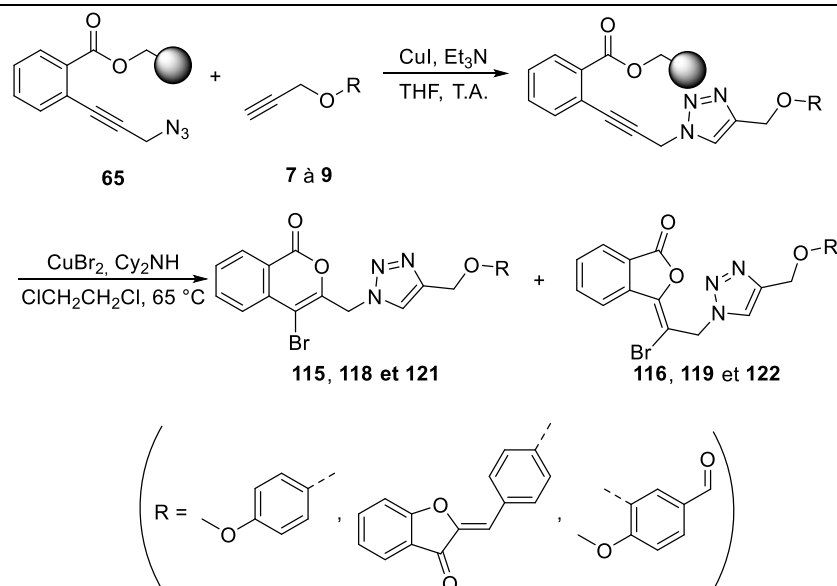


Schéma 146 : réaction « clic » entre l'azoture greffé sur support solide **65** et un mélange 4-propargyloxyanisole **7**, d'aurone propargylée **8** et de 3-méthoxy-4-(propargyloxy)benzaldéhyde **9** suivi d'une cyclisation en présence de bromure de cuivre(II)

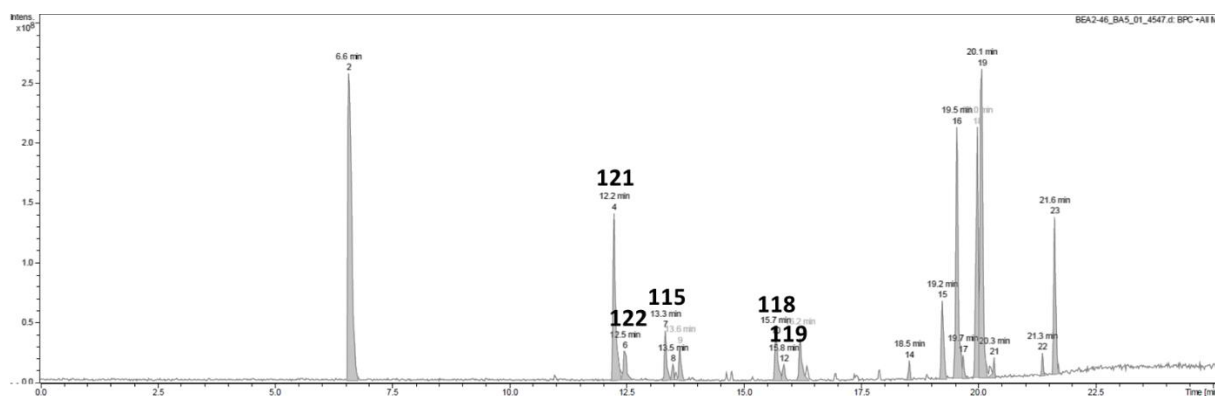


Figure 69 : chromatogramme de l'analyse LC-MS en mode ESI+ du produit brut de la cyclisation en présence de bromure de cuivre(II) pour la synthèse sur support solide avec un mélange de 4-propargyloxyanisole **7**, d'aurone propargylée **8** et de vanilline propargylée **9**

II.B. Synthèse sur support solide avec enchaînement d'étapes, avec des monophénols en mélange

Après avoir validé le fait que le plan de synthèse proposé est bien réalisable sur support solide avec un ou plusieurs éthers de propargyle purs, il nous faut reproduire cette même démarche en partant non plus de composés propargylés synthétisés au préalable mais en démarrant de composés hydroxylés cibles sur lesquelles on effectue d'abord la propargylation avant d'enchaîner directement et sans un quelconque traitement intermédiaire par la réaction « clic » sur support solide, c'est-à-dire ce que l'on appliquera quand nous devrons travailler sur des extraits naturels. Ce travail nous conduira à vérifier que, par ce changement dans la manière de mettre en pratique le plan de synthèse, rien ne soit modifié concernant la survenue de la réaction « clic » sur support solide, clairement l'étape la plus critique de tout le plan de synthèse.

Pour cette phase de la preuve de concept, le projet est de partir d'un seul composé du mélange, soit le 4-méthoxyphénol **1** (Schéma 147) dans un premier temps. Puis nous appliquons la réaction de Williamson avec les conditions optimisées mises au point lors du travail préparatoire. Comme aucun polyphénol n'est présent dans le milieu de départ, nous pouvons laisser la réaction tourner durant une nuit pour avoir une propargylation qui soit la plus efficace possible. Puis le volume du mélange réactionnel est réduit à sa moitié par évaporation sous pression réduite et ce qui en reste est utilisée pour la réaction « clic » avec

Chapitre 5 : preuve de concept de la méthodologie avec la voie de synthèse « clic »

le substrat greffé sur support solide **65**. Comme précédemment, ces deux étapes de synthèse sont réalisées dans un seul et même solvant, le DMF, afin de simplifier l'enchaînement de ces deux étapes tout en bénéficiant d'un bon gonflement de la résine dans le milieu réactionnel. Quant aux étapes qui suivent la réaction « clic », elles demeurent inchangées.

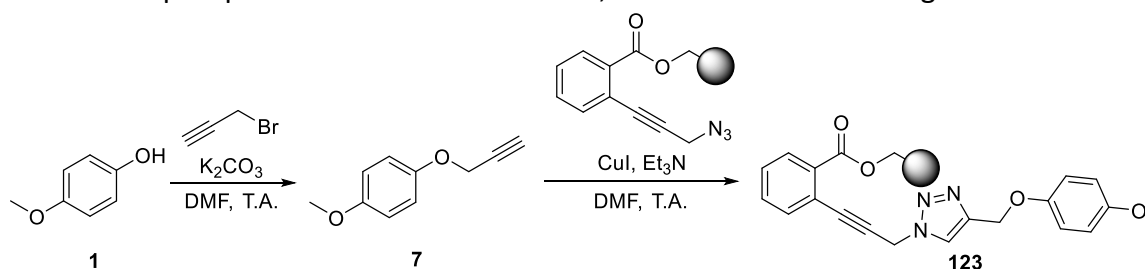


Schéma 147 : enchaînement de la réaction de Williamson sur le 4-méthoxyphénol **1** et de la réaction « clic » sur l'azoture greffé sur support solide **65**

Lors de la mise en œuvre de cette démarche, si la propargylation du composé phénolique de départ n'a pas causé de souci particulier et a été contrôlée comme étant réussie, la réaction « clic » avec l'azoture greffé sur support solide **65** a été possible en s'abstenant d'effectuer un quelconque traitement chimique intermédiaire du milieu réactionnel entre la fin de la propargylation et le début de la réaction « clic ». En effet, tout traitement exploité afin de neutraliser les restes d'espèces ioniques formées par l'intermédiaire des réactifs de propargylation (notamment une solution aqueuse saturée de chlorure d'ammonium, utilisée durant les premiers essais de cette manipulation) a pour conséquence d'inhiber toute possibilité de réaction « clic » à partir du milieu réactionnel de la première étape de synthèse.

Nous avons ensuite renouvelé la manipulation avec un mélange équimolaire des trois composés monophénoliques correspondants aux éthers de propargyle qui nous ont servi d'exemples jusqu'à maintenant, le 4-méthoxyphénol **1**, l'aurone **2** et la vanilline **3** (**Schéma 148**). Là encore, après la propargylation réalisée sur une nuit et avant d'engager le mélange réactionnel dans la réaction « clic » avec le substrat greffé sur support solide **65**, le milieu réactionnel est évaporé jusqu'aux alentours de la moitié de son volume initial. Après la CuAAC et la cyclisation au bromure de cuivre(II), le produit brut recueilli à la fin de cette dernière étape est directement passé en analyse LC-MS, sans tentative de séparation des produits d'intérêt le constituant. D'une part, la masse correspondante à celle d'un produit de cyclisation bromé du fragment greffé de départ qui n'aurait pas réagi durant la réaction « clic » n'est pas présente et d'autre part, des masses parmi celles attendues pour les produits visés ont bien été détectées bien que leur variété soit moins riche que dans le cas de la manipulation faite avec le mélange des composés préalablement purifiés. Seul un des deux produits possibles en démarrant de l'aurone **2** ou de la vanilline **3** sont décelables en LC-MS (**Figure 70**) et au contraire, il n'y a aucune occurrence d'un produit de cyclisation obtenu à partir du 4-méthoxyphénol **1**. Cependant, cette dernière remarque peut peut-être s'expliquer par la plus faible sensibilité du détecteur de l'appareillage utilisé pour ces analyses vis-à-vis du 4-méthoxyphénol **1** et de ses composés dérivés formés durant les différentes étapes du plan de synthèse, ce que nous avons déjà constaté avant et ce qui risque de s'avérer problématique pour l'analyse de mélanges plus complexes comprenant des composés qui souffrent eux-mêmes d'une mauvaise détection en LC-MS. En tout cas, cette absence n'est pas due aux conditions dans lesquelles la réaction « clic » a été appliquée : d'autres manipulations de ce type avec les mêmes conditions d'enchaînement de la propargylation et de la réaction « clic » mais avec des conditions de cyclisation donnant des produits non halogénés ont conduit à détecter lors des analyses LC-MS les trois valeurs de masse attendues pour les produits formés en partant des trois monophénols.

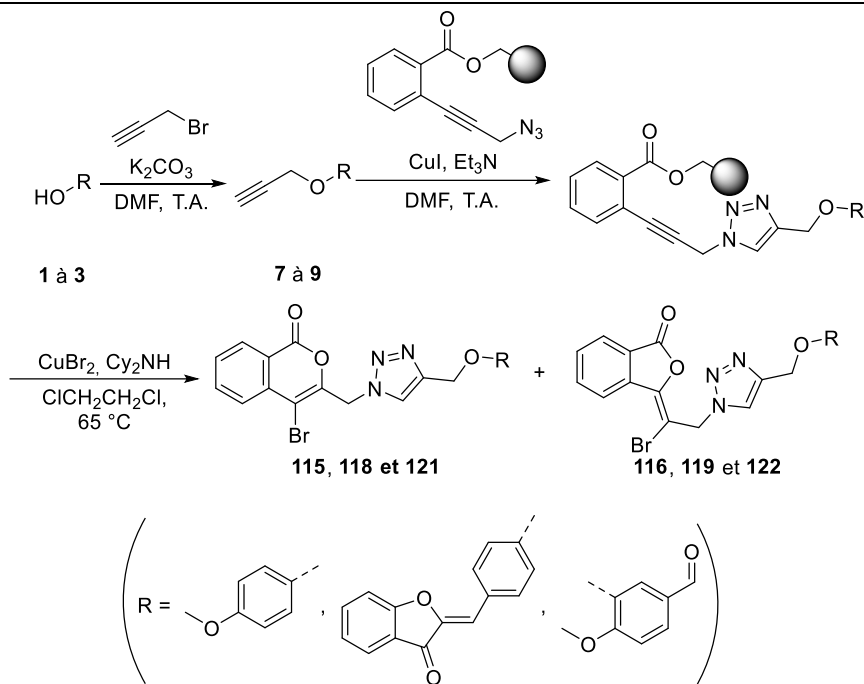


Schéma 148 : réaction de Williamson sur un mélange de 4-méthoxyphénol **1**, d'aurone **2** et de vanilline **3** enchaîné avec une réaction « clic » sur l'azoture greffé sur support solide **65** et suivi d'une cyclisation en présence de bromure de cuivre(II)

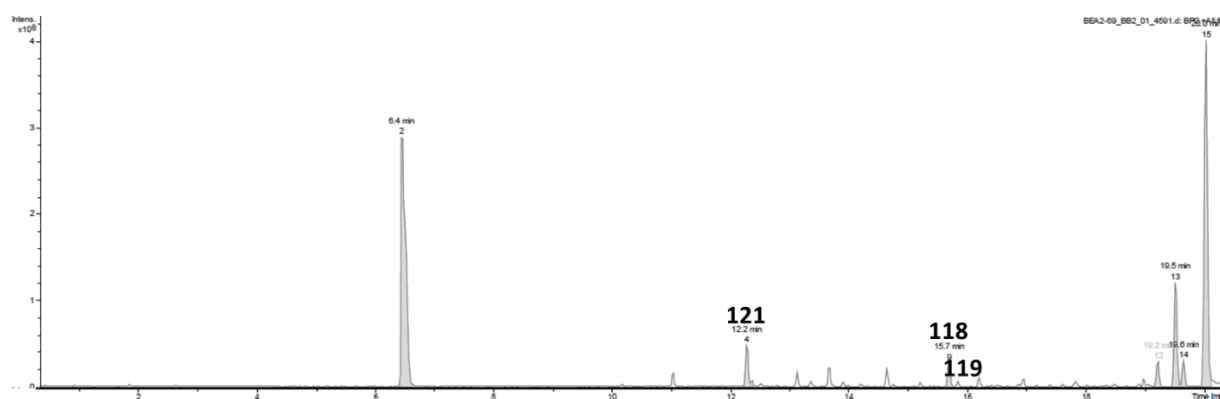


Figure 70 : chromatogramme de l'analyse LC-MS en mode ESI+ du produit brut de la cyclisation en présence de bromure de cuivre(II) pour la synthèse sur support solide avec un mélange de 4-méthoxyphénol **7**, d'aurone **8** et de vanilline **9**

III. Tests du plan de synthèse sur support solide avec des polyphénols

III.A. Premiers tests avec des polyphénols

Après être parvenu à appliquer le plan de synthèse sur un mélange de plusieurs composés avec un seul hydroxyle aromatique sur lequel adjoindre le combiné isocoumarine - 1,2,3-triazole, il nous faut mettre à exécution la même démarche sur des polyphénols, en commençant à travailler sur un seul composé puis en partant sur un mélange de plusieurs polyphénols. Une phase de construction de la preuve de concept qui est importante puisque, pour rappel, lors du travail effectué sur la voie de synthèse « Sonogashira », c'est justement durant les tests sur des polyphénols que nous avons eu les problèmes les plus conséquents.

Pour les premiers tests de synthèse avec l'acide 2-(3-azidoprop-1-yn-1-yl)benzoïque greffé sur résine **65** et en partant d'un unique polyphénol, nous avons choisi l'acide caféique **44** et la quercétine **46**. Après avoir fait la propargylation de l'un ou l'autre de ces polyphénols selon les conditions optimisées, le milieu réactionnel a été évaporé à la moitié de son volume avant d'être utilisé pour la réaction « clic » sur support solide. Comme auparavant, la vérification de la survenue de cette réaction s'est faite par clivage au TFA d'un échantillon de la résine suivi au minimum d'une analyse LC-MS du produit brut de clivage récupéré. Cependant, malgré

plusieurs essais, jamais nous ne sommes alors parvenus à lier un dérivé propargylé de l'un de ces polyphénols au substrat greffé sur support solide. Le fait que la réaction « clic » n'a pas pu se produire en partant de deux exemples de polyphénol de structure distincte nous laisse à penser qu'il y a une incompatibilité de ces composés de départ et de leurs dérivés propargylés avec la CuAAC dans nos conditions habituelles. Mais pour en être sûr, il faut vérifier que ce ne soit pas plutôt les conditions réactionnelles spécifiques que nous utilisons qui empêchent la cycloaddition de se produire et que ce phénomène peut survenir quel que soit les conditions réactionnelles de la CuAAC.

Pour cela, d'autres conditions réactionnelles tirées d'une publication qui nous avait déjà servi pour le greffage du substrat azidé sur la résine de Wang ont été évaluées, en se limitant à la seule quercétine **46** comme polyphénol testé [335]. Dans cette publication, le catalyseur utilisé est du sulfate de cuivre pentahydraté et pour réduire le cuivre à l'état d'oxydation +I afin que la CuAAC puisse avoir lieu, de l'acide ascorbique est aussi consommé. Ce changement de catalyseur n'a rien produit sur la survenue de la réaction « clic » avec les dérivés propargylés de la quercétine, ce qui nous permet de noter que ce n'est pas l'espèce catalytique exploitée en elle-même qui est en cause et que l'origine des problèmes rencontrés ici serait donc plutôt situé du côté des polyphénols.

L'incompatibilité des polyphénols et de leurs dérivés propargylés avec la CuAAC dans les conditions que nous avons appliquées pourrait vraisemblablement s'expliquer par une interaction entre les composés du milieu réactionnel de la propargylation et le catalyseur au cuivre qui inhibe toute possibilité de réaction « clic ». L'interaction à l'origine de l'inhibition de cette réaction pourrait être une chélation de l'ion cuivre avec certains des motifs portés par ces polyphénols. Bien que dans la littérature, la chélation d'ions cuivre avec des polyphénols soient surtout rapportés pour des ions au stade d'oxydation +II [346–348], il nous a semblé intéressant de vérifier si c'est bien ce phénomène qui est à l'origine de nos problèmes. Pour l'illustrer, nous avons utilisé un mélange équimolaire de la quercétine **46** et des trois molécules monohydroxylés de référence avec lesquelles nous étions parvenus à faire la réaction « clic » à la suite de leur propargylation, soit le 4-méthoxyphénol **1**, l'aurone **2** et la vanilline **3**. Après clivage d'un échantillon de résine et analyse par RMN du proton du produit brut alors formé, le spectre ne révéla que les signaux liées aux produits de cyclisation synthétisés à partir de l'acide 2-(3-azidoprop-1-yn-1-yl)benzoïque qui n'aurait pas réagi sur son azoture.

III.B. Tests avec une quantité stœchiométrique de catalyseur au cuivre

Une solution qui peut nous aider à surmonter les difficultés évoquées est d'utiliser une plus grande quantité d'iodure de cuivre que le 0,1 équivalent dont on se contentait jusqu'à présent. Si utiliser une quantité stœchiométrique d'un catalyseur peut s'apparenter à du gaspillage à première vue, cela n'est pourtant pas si inhabituel lorsqu'on cherche à réaliser la synthèse par réaction « clic » d'un 1,2,3-triazole en phase solide : de nombreux exemples de CuAAC réussies avec un, deux voire cinq équivalents de catalyseur au cuivre en attestent dans la littérature [349].

C'est ce que nous avons fait en partant de la quercétine **46** et en changeant uniquement le nombre d'équivalents de l'iodure de cuivre qui passe à 5,1 équivalents par rapport au support solide préparé, les conditions de la propargylation (conditions optimisées pour les polyphénols avec C = 0,065 mol/L, 1 éq de bromure de propargyle et de carbonate de potassium, DMF, T.A., 2 h) et le reste de celles de la CuAAC (3 éq de triéthylamine, DMF, T.A., nuit) restant identiques. Et après avoir ensuite clivé l'intégralité de la résine utilisée au TFA, nous sommes enfin parvenu à un résultat positif pour cette manipulation grâce aux

Chapitre 5 : preuve de concept de la méthodologie avec la voie de synthèse « clic »

informations données par l'analyse LC-MS du produit brut de ce clivage (**Figure 71**) : quatre masses pouvant être celles de produits synthétisés à partir de dérivés propargylés de la quercétine ont été détectées dont deux de ces masses peuvent correspondre à celles de produits finaux obtenus avec de la quercétine monopropargylée (**Figure 72**) tandis que les deux autres seraient des produits issus de la synthèse avec de la quercétine dipropargylée. En revanche, malgré l'importante quantité de catalyseur utilisé, le substrat cyclisé sans aucune réaction au niveau de sa fonction azoture a également été détecté. A noter que la masse de produit de clivage a été supérieure à celle attendue : en partant pour la réaction « clic » de 21 mg d'un lot de résine **65** avec un loading expérimental de 1,07 mmol/g, alors qu'on pouvait s'attendre à avoir 15 mg de produit brut dans le cas où la réaction « clic » a eu lieu de manière totale avec uniquement des dérivés monopropargylés de la quercétine **46**, ce sont finalement 21 mg de produit de clivage qui ont été recueillis, ce qui peut peut-être s'expliquer par la présence d'impuretés en quantité non négligeable et par la petite quantité manipulée de résine.

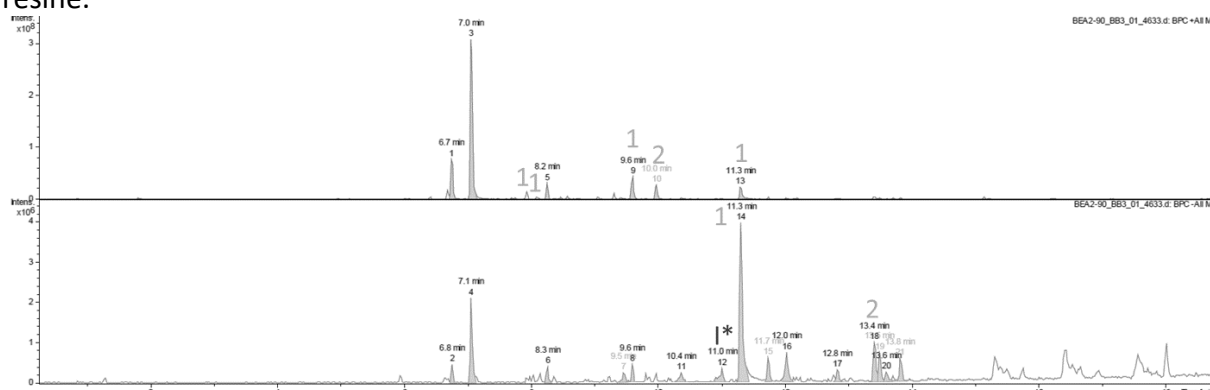


Figure 71 : chromatogramme de l'analyse LC-MS en mode ESI+ (en haut) et ESI- (en bas) du produit brut du clivage au TFA sur le support solide utilisé pour la synthèse avec la quercétine **46** (* : produit de cyclisation du substrat greffé initial)

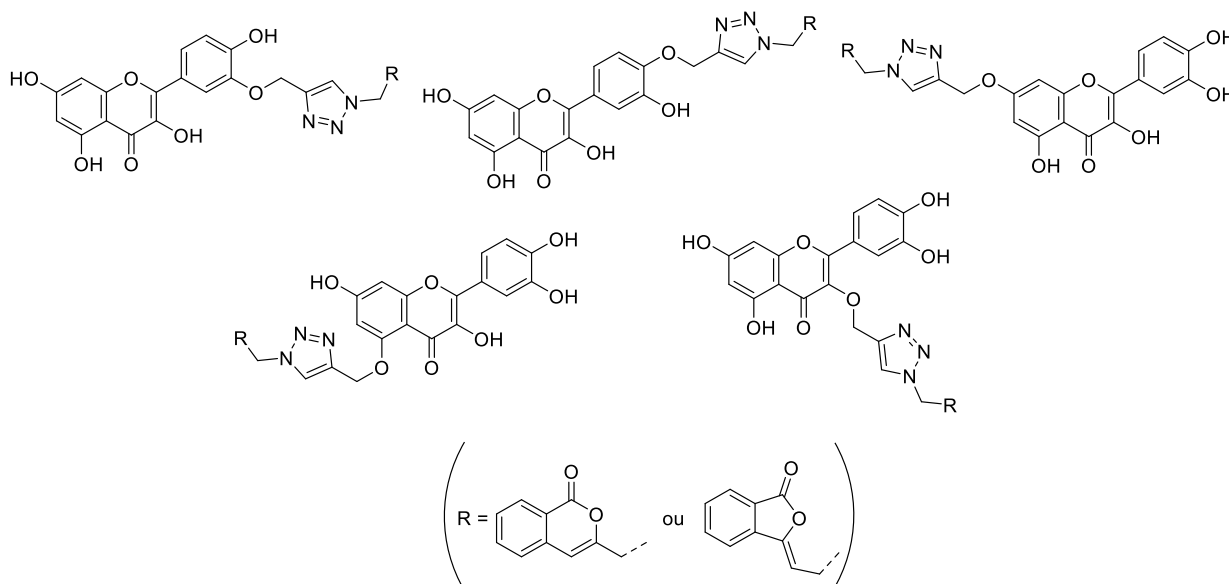
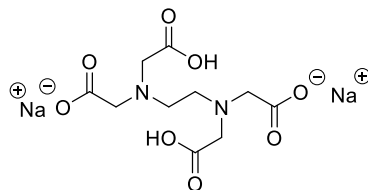


Figure 72 : structures en accord avec les masses détectées pour les produits issus de la synthèse sur la quercétine monopropargylée après cyclisation au TFA

Si le passage d'une quantité catalytique de cuivre à une quantité stœchiométrique nous permet donc d'enfin parvenir à faire réagir un exemple de polyphénol propargylé avec l'azoture greffé sur support solide **65** par réaction « clic », ce changement n'est pas sans conséquence sur le traitement du support solide suivant la CuAAC. Vu l'excès d'iodure de cuivre qui a été utilisé, il est probable que ces ions cuivre(I) restent présents sur la structure des composés formés après cycloaddition. De plus, il est possible que ces ions se nichent

Chapitre 5 : preuve de concept de la méthodologie avec la voie de synthèse « clic »

également au sein de la matrice de polymère structurant la résine. Pour éliminer ces impuretés, il est essentiel de faire un lavage de ce support solide en supplément de ceux que nous avons l'habitude de réaliser, avec un fort agent chélatant capable de se complexer avec des ions cuivrés. Dans notre cas, cet agent chélatant est de l'EDTA disodique (**Figure 73**) qu'on prépare en solution aqueuse saturée et dans laquelle on peut mettre à agiter la résine après cycloaddition pendant plusieurs minutes avant de la filtrer et de reprendre les lavages classiques avec les solvants usuels pour le traitement de ce type de milieu.



EDTA disodique

Figure 73 : structure de l'EDTA disodique

Ensuite et de même, nous avons repris la manipulation de synthèse avec l'enchaînement de la propargylation et de la cycloaddition en partant de l'acide caféique **44** avec les mêmes conditions de cyclisation que pour la quercétine **46** et avec une quantité stœchiométrique d'iodure de cuivre. Là encore, plusieurs produits synthétisés avec de l'acide caféique **44** ont été formés d'après les données d'analyse LC-MS sur le produit brut du clivage de la résine utilisée pour cette manipulation (**Figure 74**) : au total, deux masses correspondant à celles de produits générés entre le substrat greffé et de l'acide caféique monopropargylé (**Figure 75**) et une troisième pouvant être celle d'un composé formé avec un dérivé dipropargylé d'acide caféique ont été décelées par cette analyse. Par contre, contrairement au cas de la quercétine **46**, aucune trace du substrat originel cyclisé et non réagi durant la réaction « clic » n'a été détecté en LC-MS. Et du côté des masses, celle de produit brut de clivage obtenu expérimentalement (18 mg en clivant ce qui était au départ de la réaction « clic » 20 mg du même lot de résine **65** que celui utilisé pour la quercétine **46**) est une nouvelle fois supérieure à celle attendue en théorie (9 mg dans l'hypothèse où la CuAAC ne s'est produite qu'avec des dérivés monopropargylés d'acide caféique **44**) et ce pour les mêmes raisons que celles précédemment évoquées.

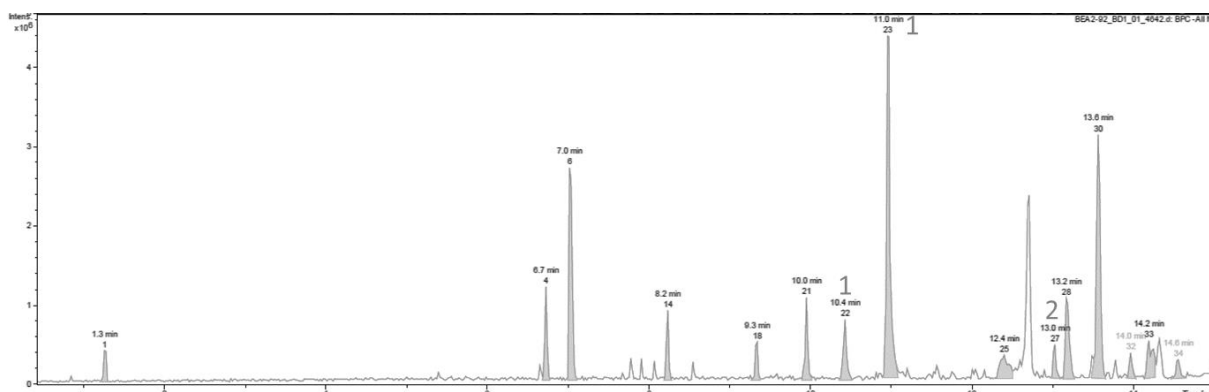


Figure 74 : chromatogramme de l'analyse LC-MS en mode ESI+ (en haut) et ESI- (en bas) du produit brut du clivage au TFA sur le support solide utilisé pour la synthèse avec l'acide caféique **44**

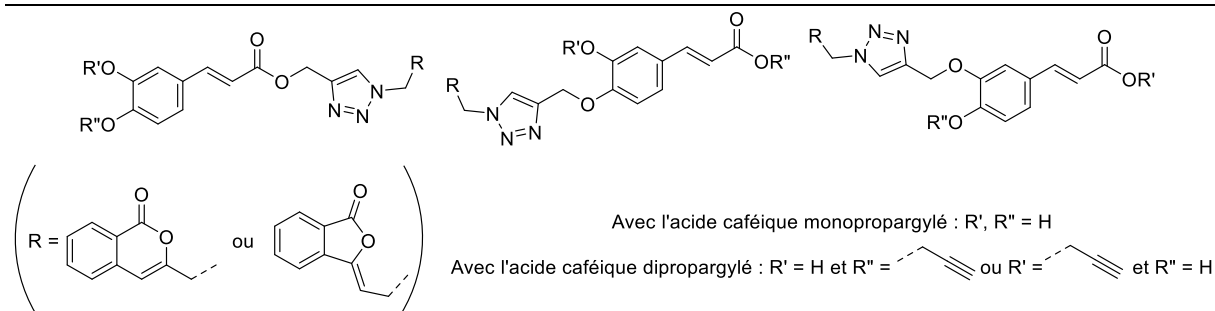


Figure 75 : structures en accord avec les masses détectées pour les produits issus de la synthèse avec l'acide caféique après cyclisation au TFA

Pour boucler cette phase de la preuve de concept, il reste à étudier la faisabilité du plan de synthèse sur un mélange de plusieurs polyphénols en gardant toujours les dernières conditions prises pour la réaction « clic ». Ce mélange équimolaire se compose à nouveau d'acide caféique **44** et de quercétine **46** mais aussi d'acide gallique **45**. Cette manipulation de synthèse sur support solide avec ce mélange est également l'occasion de faire une étude que nous n'avons pas pu faire jusqu'alors en raison des problèmes rencontrés pour la réaction « clic », à savoir regarder la compatibilité de toutes les conditions de cyclisation avec la présence de polyphénols sur la structure des composés alors fixés au support solide. Après la cycloaddition, la moitié de la résine a été clivée au TFA, ce qui conduit à trouver dans le produit brut de clivage des composés formés à partir de dérivés propargylés des trois polyphénols initiaux, selon les analyses LC-MS (**Figure 76**). Dans le détail, avec la quercétine **46**, deux produits de cyclisation ont été détectés, l'un issu d'une cycloaddition avec un dérivé monopropargylé (**Figure 72**) et un autre synthétisé à partir d'un dérivé dipropargylé. Pour l'acide caféique **44**, cinq composés différents ont été détectés dont deux formés avec des dérivés monopropargylés et les trois autres générés à partir de dérivés dipropargylés. Et avec l'acide gallique **45**, trois produits ont été détectés dont deux qui auraient été synthétisés avec le dérivé totalement propargylé de ce polyphénol, le 3,4,5-trispropargyloxybenzoate de propargyle **50** (**Figure 77**), le dernier ayant été formé en partant de l'un de ses dérivés dipropargylés. A noter que le produit de cyclisation formé à partir du substrat greffé resté inchangé par la réaction « clic » n'est pas présent ici.

Chapitre 5 : preuve de concept de la méthodologie avec la voie de synthèse « clic »

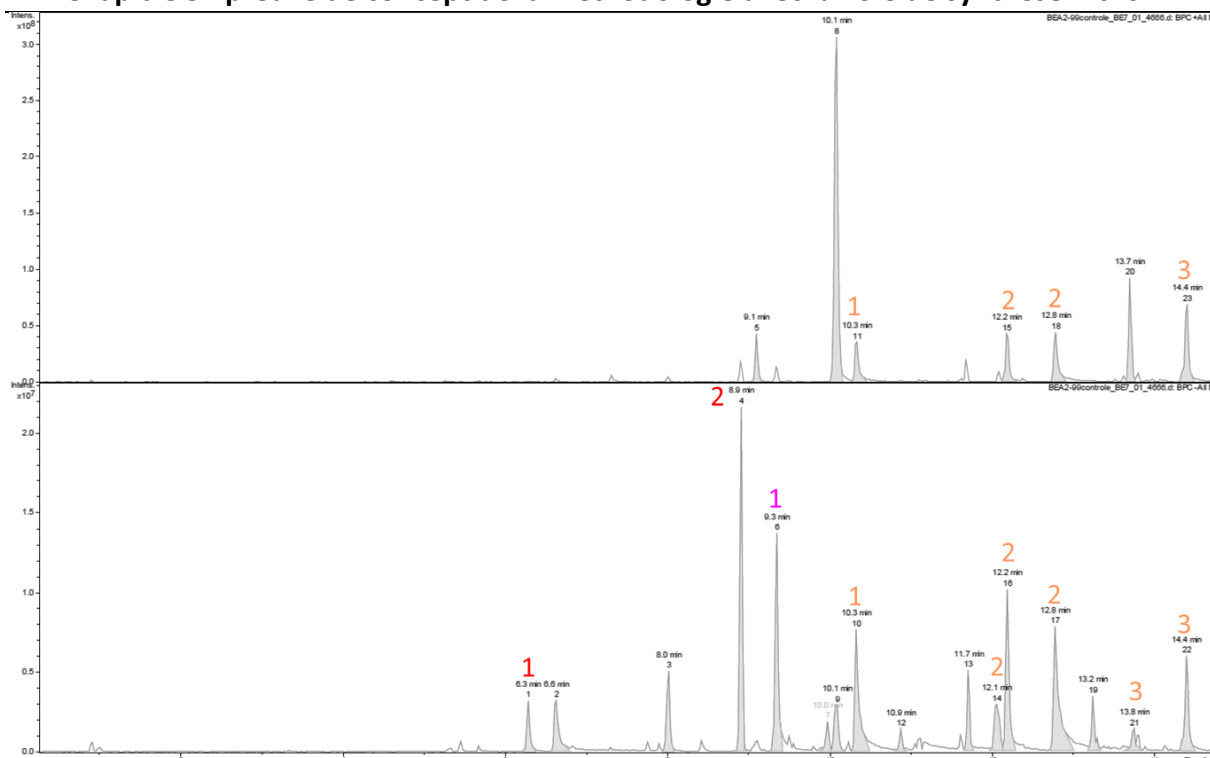


Figure 76 : chromatogramme de l'analyse LC-MS en mode ESI+ (en haut) et ESI- (en bas) du produit brut du clivage au TFA sur le support solide utilisé pour la synthèse avec un mélange d'acide caféique **44**, d'acide gallique **45** et de quercétine **46** (en rose, produits formés avec des dérivés propargylés de l'acide caféique **44** ; en rouge, produits formés avec des dérivés propargylés de l'acide gallique **45** ; en orange, produits formés avec des dérivés propargylés de la quercétine **46**)

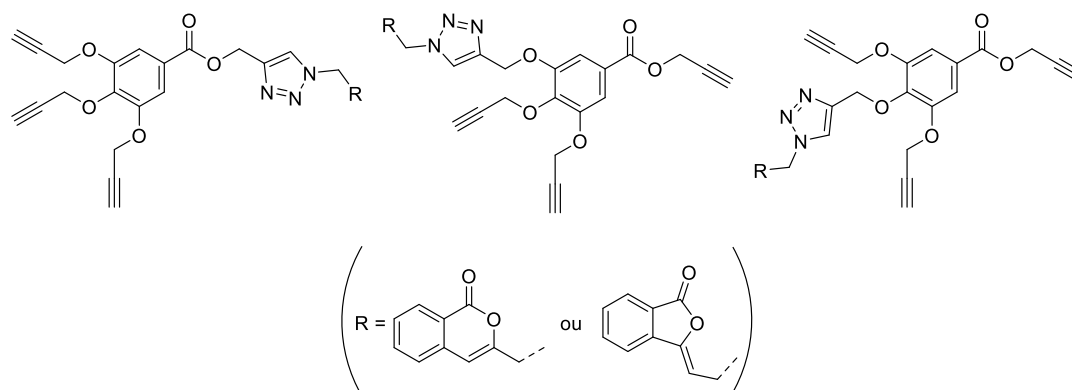


Figure 77 : structures en accord avec les masses détectées pour les produits issus de la synthèse sur la 3,4,5-trispropargyloxybenzoate de propargyle **53** après cyclisation au TFA

Si le clivage au TFA d'une partie de la résine nous a permis sans grande surprise de parvenir au résultat escompté, il ne fût pas de même avec le reste de la résine de cette même manipulation qui a été mis à réagir avec du bromure de cuivre(II) afin de synthétiser des produits bromés. L'analyse du produit brut de cette cyclisation par LC-MS (**Figure 78**) ne permet pas de trouver une seule masse pouvant être celle d'un produit de cyclisation attendu avec un dérivé propargylé des polyphénols du mélange de départ, ni de détecter celle du fragment greffé de départ qui aurait cyclisé mais qui n'aurait pas réagi durant la CuAAC. Cet échec peut s'expliquer ici par la possible complexation du bromure de cuivre(II) avec les polyphénols liés au substrat greffé, comme avec le catalyseur cuivré de la réaction « clic », et ce bien que nous ayons toujours employé cet agent électrophile de cyclisation en excès. Il est cependant nécessaire d'ajouter que bien que la réaction n'a pas produit les composés attendus, elle a tout de même permis de décrocher du support solide tout ce qui avait été greffé dessus : pour preuve, un clivage au TFA sur la résine ayant subi toutes les étapes de

Chapitre 5 : preuve de concept de la méthodologie avec la voie de synthèse « clic »

synthèse jusqu'à la cyclisation au bromure de cuivre(II) n'a permis de recueillir aucun composé.

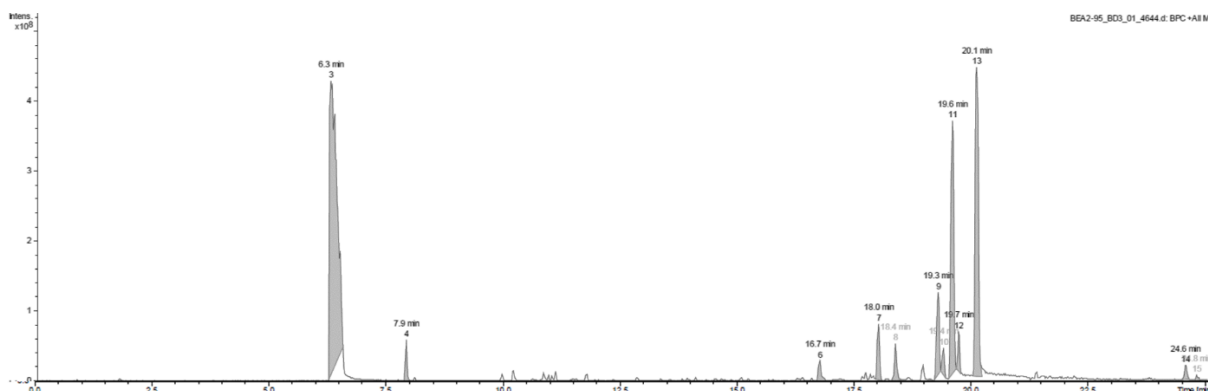


Figure 78 : chromatogramme de l'analyse LC-MS en mode ESI+ du produit brut de la tentative de cyclisation en présence de bromure de cuivre(II) sur le support solide utilisé pour la synthèse avec un mélange d'acide caféique **44**, d'acide gallique **45** et de quercétine **46**

La manipulation a été reprise depuis le début avec un nouveau lot de résine préparé et cette fois-là, les conditions de cyclisation devant conduire à l'obtention de composés iodés, donc avec utilisation de monochlorure d'iode, ont été appliquées. Avec cet agent de cyclisation, il a été possible d'accéder à des produits de cyclisation parmi ceux espérés. Mais les résultats sont légèrement moins valorisants qu'avec le TFA : aucune masse d'un composé qui aurait été formé en partant de la quercétine **46** n'a été détecté lors de l'analyse LC-MS (**Figure 79**). Pour l'acide caféique **44**, un produit synthétisé avec un de ses dérivés monopropargylés (**Figure 80**) et trois autres formés à partir de dérivés dipropargylés ont été repérés. Quant au cas de l'acide gallique **45**, quatre composés différents détectés ont une masse cohérente avec ceux de certains produits de cyclisation iodé attendus dont un seul pourrait avoir été formé avec un dérivé monopropargylé (**Figure 81**), tout le reste pouvant provenir de réactions avec des dérivés dipropargylés.

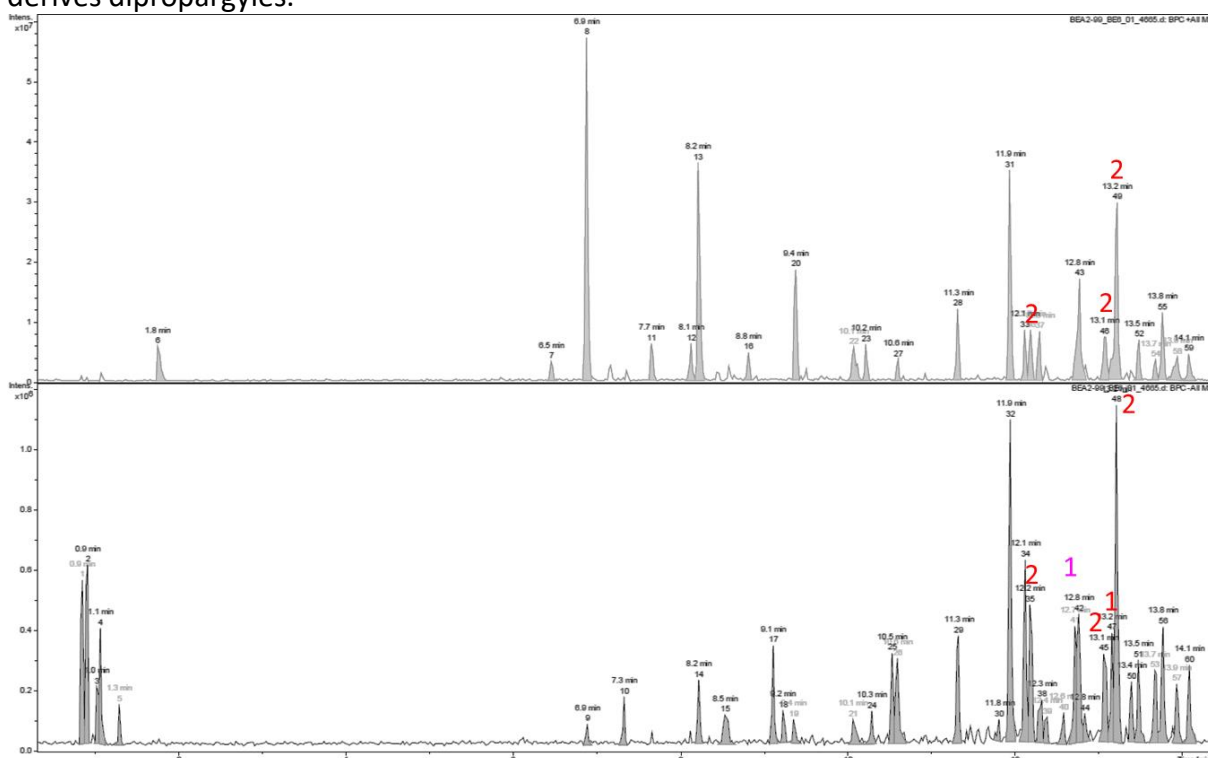


Figure 79 : chromatogramme de l'analyse LC-MS en mode ESI+ (en haut) et ESI- (en bas) du produit brut de la cyclisation en présence de monochlorure d'iode sur le support solide utilisé pour la synthèse avec un mélange d'acide caféique **44**, d'acide gallique **45** et de quercétine **46** (en rose, produits formés avec des dérivés propargylés de l'acide caféique **44** ; en rouge, produits formés avec des dérivés propargylés de l'acide gallique **45**)

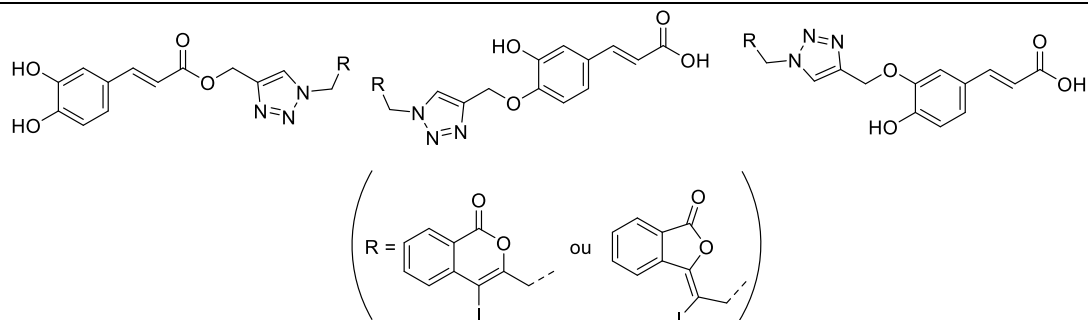


Figure 80 : structures en accord avec les masses détectées pour les produits issus de la synthèse sur l'acide caféique monopropargylé après cyclisation au monochlorure d'iode

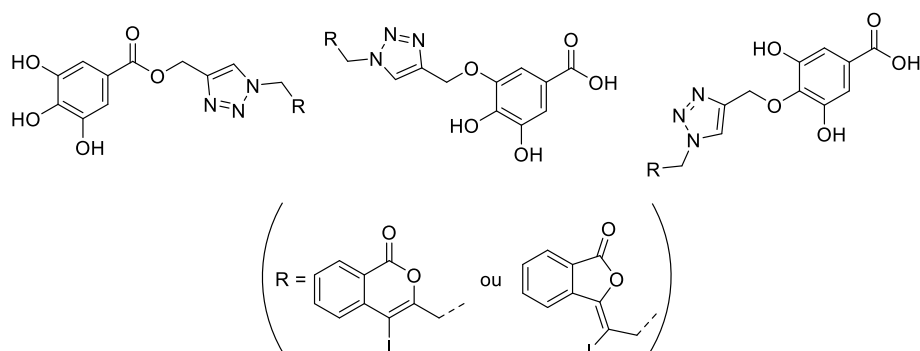


Figure 81 : structures en accord avec les masses détectées pour les produits issus de la synthèse sur l'acide gallique monopropargylé après cyclisation au monochlorure d'iode

Conclusion

Au contraire de ce qui s'est produit avec l'autre plan de synthèse de dérivés d'isocoumarine, la présence d'un 1,2,3-triazole entre cette isocoumarine et le ou les composé(s) qu'on souhaite modifier nous a permis d'aboutir à la formation des produits voulus dans toutes les manipulations réalisées sur un milieu artificiel bien qu'à nouveau, des difficultés se soient présentées pour l'étape de la réaction « clic » dans des conditions habituelle. En effet, si cette étape n'a présenté aucun souci lorsqu'il s'est agi de faire réagir un ou des éther(s) de propargyle pur(s) ou après l'avoir directement enchaînée à la suite de la propargylation d'un composé monohydroxylé, la cycloaddition a été impossible avec des polyphénols propargylés et il est même apparu que la présence de ce type de composé empêche aussi toute réaction avec des éthers de propargyle a priori compatibles, provenant de molécules avec un seul hydroxyle. Ce problème a malgré tout pu être résolu en utilisant une quantité stœchiométrique du catalyseur au cuivre nécessaire pour que la CuAAC puisse se produire et non plus une quantité catalytique. Les manipulations faites sur les polyphénols nous ont aussi permis de dégager des différences concernant les conditions possibles pour la dernière étape de cyclisation qui sont plus restreintes dans le cas des polyphénols.

Maintenant qu'avec ce plan de synthèse-ci, nous avons pu accéder à des dérivés d'isocoumarine en partant d'exemples de polyphénols, il reste à compléter la preuve de concept par l'application de ce même ensemble de réactions sur un premier extrait naturel d'une plante qui ne sera pas issue de la flore alpine mais dont la composition phytochimique est connue, documentée et peut contenir certaines des mêmes familles de produits naturels que celles que nous aimerions retrouver dans des extraits de plantes alpines. En ce qui nous concerne, cet extrait sera préparé à partir de peaux d'orange, qui contiennent un nombre important de flavonoïdes, une classe de métabolites secondaires qui est aussi fréquente dans les extraits naturels de plantes montagnardes.

Chapitre 6 : application de la méthodologie sur un exemple d'extrait naturel

Introduction

Une fois que la faisabilité des plans de synthèse de dérivés d'isocoumarine à la base de la preuve de concept de notre méthodologie a été confirmée par utilisation d'un ou des composés avec un seul ou plusieurs sites réactifs, cette preuve de concept doit maintenant être appliquée sur un premier extrait naturel.

Pour ce premier test, nous avons choisi un extrait produit à partir de peaux d'orange (fruits de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck). Cet extrait provenant d'une matière première facile d'accès possède un profil phytochimique décrit, avec une concentration riche en flavonoïdes, une famille de polyphénols retrouvée en haute teneur dans les plantes de montagne que nous souhaitons étudier à terme [350]. De plus, ce même extrait a déjà été exploité à des fins de modification chimique par bromation [68].

Dans ce chapitre, l'application de la voie de synthèse « clic » sur l'extrait de peaux d'orange sera abordée, de même que la production préalable de cet extrait. En plus de cela, dans le but d'augmenter les possibilités de synthèse de dérivés d'isocoumarine sur les métabolites de cet extrait, l'étude de plusieurs modifications préalables dont la déglycosylation et la O-déméthylation sera aussi détaillée.

I. Préparation de l'extrait de peaux d'orange

I.A. Extraction et élimination de sucres

Pour pouvoir préparer l'extrait de peaux d'orange, nous nous sommes basés sur le protocole donné dans la publication relatant sa modification chimique sauf pour ce qui est de la fourniture en matière première [68]. Nous avons d'abord pelé des oranges achetées dans le commerce (issues de l'agriculture biologique) en prenant soin de conserver la couche extérieure orange de la peau, la flavédo, ainsi que sa couche intérieure blanche, l'albédo. Nous avons également fait attention à ce qu'aucun morceau de pulpe d'orange ne subsiste sur ces pelures. Il ne reste alors plus qu'à les sécher et les broyer avant de procéder à l'extraction à proprement parler.

Pour cette extraction, la poudre de peaux d'orange séchées a été mise à macérer une nuit à température ambiante et sous agitation mécanique, dans du méthanol, à raison de cent grammes de matière première pour un litre de solvant. Une filtration suivie d'une évaporation sous pression réduite donnent alors un extrait brut d'aspect brillant et visqueux. Une analyse RMN du proton de cet extrait brut affiche un spectre très ressemblant à celui que les auteurs de la publication ont obtenu avec une poudre commerciale de peaux d'orange (**Figure 82**) [68]. La présence en forte quantité de composés de la famille des sucres dans cet extrait a été mise en évidence par un très grand nombre de signaux dans une zone aux alentours de 3-4 ppm. Le rendement massique de cette extraction s'élève en moyenne à 30 % en masse.

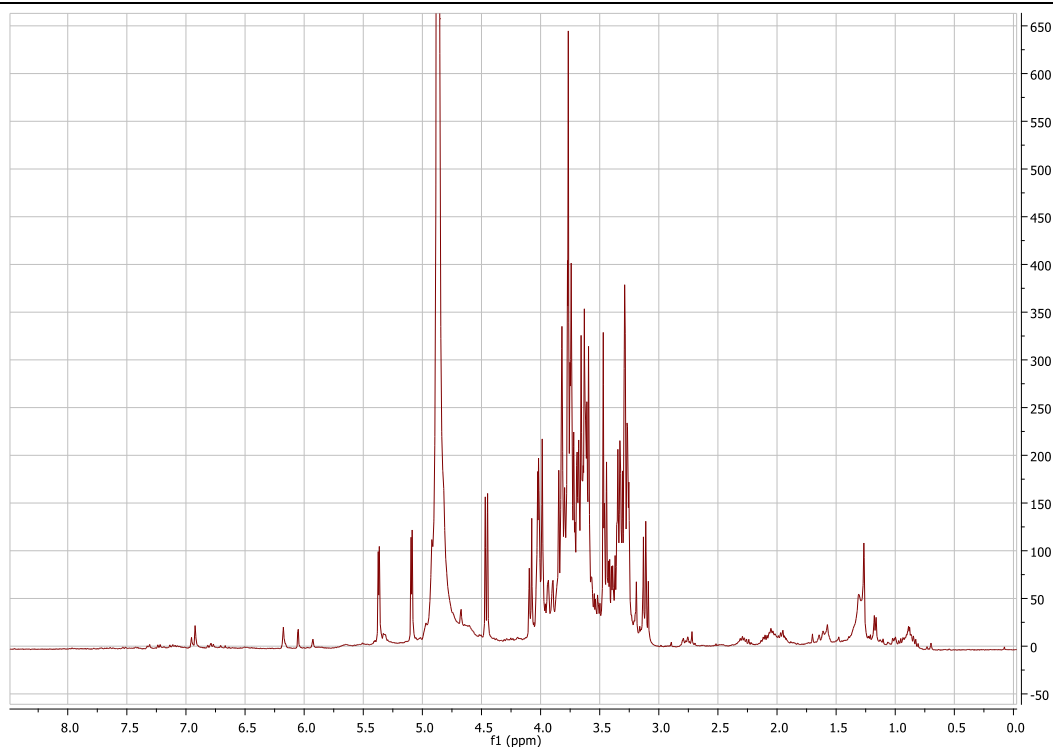


Figure 82 : spectre RMN du proton de l'extrait brut de peaux d'orange (DMSO, 400 MHz)

Les sucres de l'extrait brut ont été séparés du reste des composés au moyen d'une chromatographie liquide sous vide (ou « Vacuum Liquid Chromatography » (VLC) en anglais). Cette technique de séparation consiste en une colonne de chromatographie raccordée à un système de collecte des fractions sous vide. Dans notre cas, la VLC a été réalisée en phase inverse avec de la silice C18 pour phase stationnaire. L'élution s'est faite en deux étapes : dans un premier temps, l'eau a permis d'éluer les sucres puis, dans un second temps, une élution au méthanol permet de récupérer les métabolites d'intérêt. Au final, 71 % de la masse de l'extrait brut a été retrouvée dans la fraction aqueuse tandis que la fraction méthanolique représente 18 % de la masse initiale. Cette dernière, qui se présente après évaporation sous une forme mat, non visqueuse et à la couleur orange moins prononcée est la seule sur laquelle a été effectué de nouvelles analyses.

Le spectre RMN du proton a montré une diminution du nombre de signaux présents dans la zone entre 3 et 4 ppm qui indique une bonne séparation entre sucres et métabolites d'intérêt (**Figure 83**). Une analyse LC-MS a été également faite dans des conditions similaires à celles de la publication de référence [68] : en comparant les résultats de ces analyses (**Figure 84**) avec les données de l'article, nous avons pu identifier aisément les composés contenus dans l'extrait. Tout d'abord, trois composés venant de la famille des glycosides de flavanone ont été identifiés : l'héspéridine **126** qui est le métabolite secondaire majoritaire de cet extrait, la naringine **127** et la poncirine **128** (**Figure 85**). Ensuite, plusieurs métabolites de la famille des flavones ont été caractérisés suivant leurs masses, avec une tétraméthoxyflavone **129**, trois pentaméthoxyflavones **130** à **132**, deux hexaméthoxyflavones dont **133** et une heptaméthoxyflavone. La structure de certains de ces polyméthoxyflavones peut même être déduite (**Figure 85**)ⁱ en se basant sur une autre publication de référence [351]. Enfin, à côté de ces flavonoïdes, deux derniers métabolites, un cyclopeptide nommé citrusine III **134** ainsi que de la limonine **135** (**Figure 85**) ont été détectés en très faible quantité.

ⁱ La structure moléculaire exacte n'a pas pu être décrite avec précision pour certains des hexaméthoxyflavones et pour l'heptaméthoxyflavone en se basant sur la publication de référence en question [351]

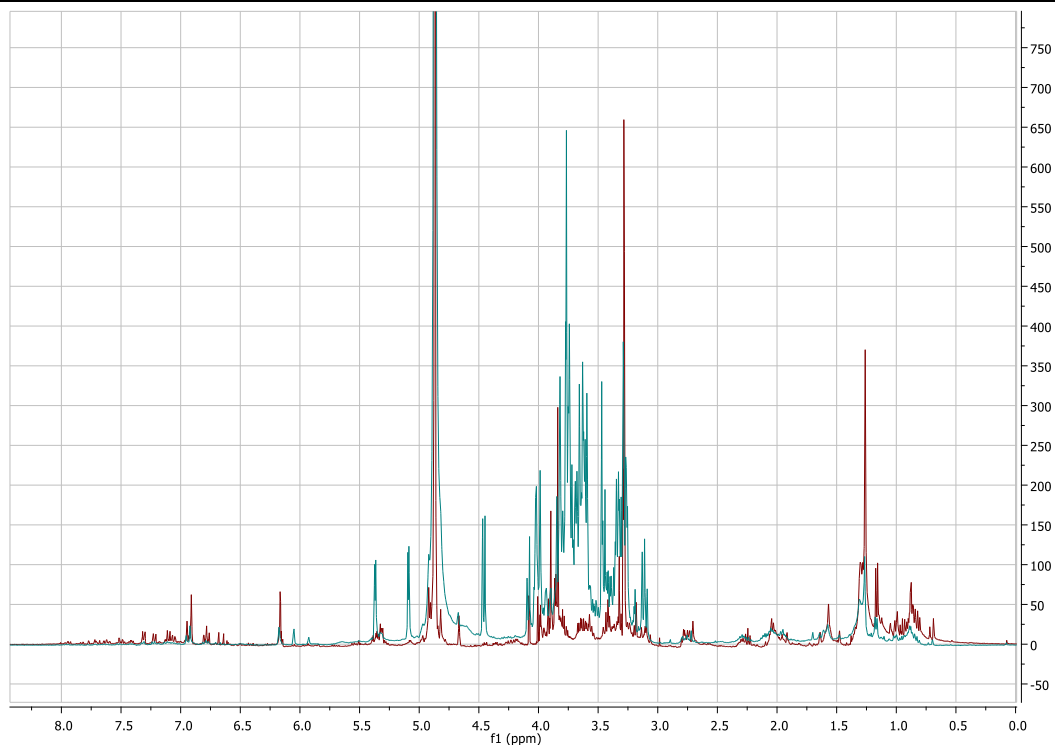


Figure 83 : superposition des spectres RMN du proton de l'extrait enrichi en flavonoïdes de peaux d'orange (en rouge) et de l'extrait d'orange (en turquoise) (MeOD, 400 MHz)

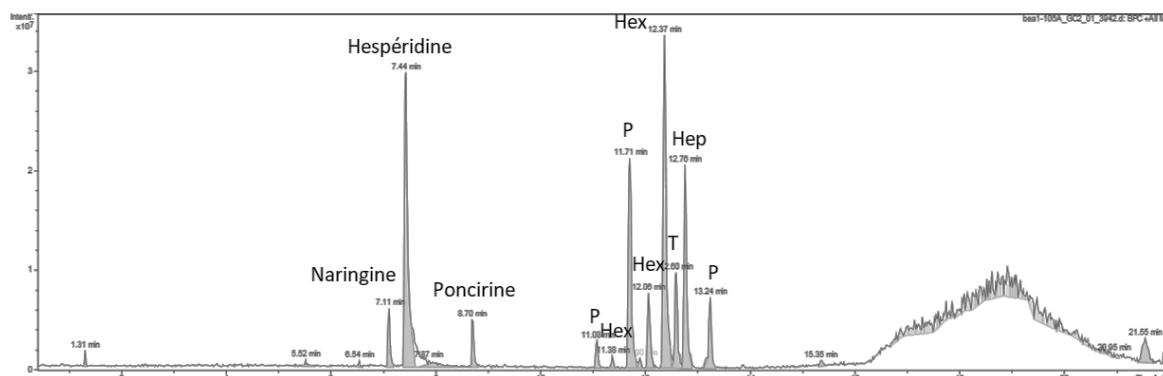


Figure 84 : chromatogramme de l'analyse LC-MS en mode ESI+ de l'extrait enrichi en flavonoïdes de peaux d'orange (T = tétraméthoxyflavone, P = pentaméthoxyflavone, Hex = hexaméthoxyflavone, Hep = heptaméthoxyflavone)

Chapitre 6 : application de la méthodologie sur un exemple d'extrait naturel

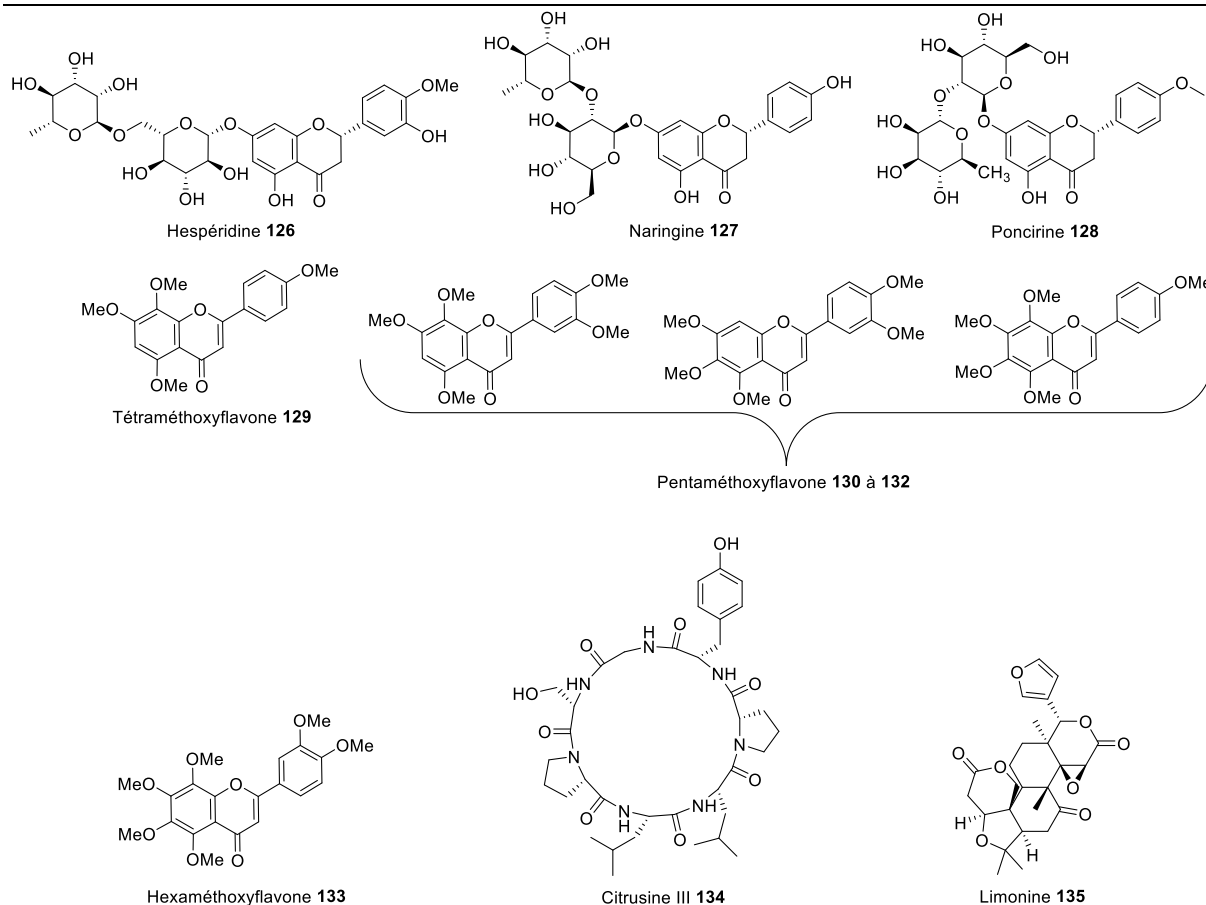


Figure 85 : métabolites secondaires détectés dans l'extrait de peaux d'orange traité par VLC [68,351]

I.B. Modifications préliminaires de l'extrait

I.B.1. Etude de la déglycosylation de l'extrait

Comme nous pouvons le voir dans la section précédente, la composition phyto-chimique de l'extrait de peaux d'orange n'autorise a priori pas beaucoup de modifications possibles en faisant une propargylation dans les conditions douces habituelles : seuls les hydroxyles des parties aglycone des trois glycosides **126** à **128** et éventuellement quelques sites de la citrusine III **134** pourraient probablement être convertis en éthers de propargyle. Si on se limite aux groupements fonctionnels les plus susceptibles d'être touchés (soit ici les hydroxyles aromatiques) et en additionnant toutes les possibilités de produits propargylés qu'il est possible de faire avec les composés de la **figure 85**, nous serions alors en mesure de ne pouvoir synthétiser que huit éthers de propargyle différents. Pour augmenter le nombre de possibilités de propargylation sur les métabolites de cet extrait, il semblait judicieux d'y effectuer une modification préliminaire afin de dégager de nouveaux sites réactifs. L'un des deux axes possibles de modification préalable de l'extrait se concentre sur les glycosides de flavanone en faisant une déglycosylation. L'objectif est ici double : pouvoir former un nouvel hydroxyle qui soit facilement convertible en éther de propargyle sur les aglycones de chacun des trois glycosides cités et réduire la taille des molécules qu'on souhaite faire réagir sur support solide pour diminuer le risque de gêne stérique entre le substrat greffé et le composé propargylé et ainsi augmenter la probabilité de survenue des réactions impliquant les éthers de propargyle.

Le choix de l'extrait de peaux d'orange se prête particulièrement bien à des essais de déglycosylation puisque nous avons pu trouver un article [352] rapportant une déglycosylation enzymatique sur ce même extrait par de la β -glucosidase. Logiquement, nous avons alors voulu reproduire le protocole de la publication pour tenter de faire la

Chapitre 6 : application de la méthodologie sur un exemple d'extrait naturel

déglycosylation, la seule variation qui y a été apportée ici étant que la β -glucosidase utilisée est commerciale et a été elle-même extraite d'amandes. Les données d'analyse alors générées à partir du produit brut de cette manipulation de déglycosylation (**Figure 86**) furent troublantes : d'un côté, les trois pics du chromatogramme identifiés comme ceux des glycosides de flavonones **126** à **128** sont désormais absents et les pics des polyméthoxyflavones n'ont pas été affectés par la réaction. Mais de l'autre côté, les masses des aglycones que nous devrions alors obtenir après déglycosylation ne sont pas non plus présents. Seuls deux nouveaux pics sont apparus sur le chromatogramme mais ces pics, avec des masses respectives de 255 et 281, ne peuvent pas être associées à l'une des aglycones ni même à un éventuel autre produit de cette réaction, ces deux pics ayant été retrouvés dans d'autres chromatogrammes de manipulations totalement différentes.

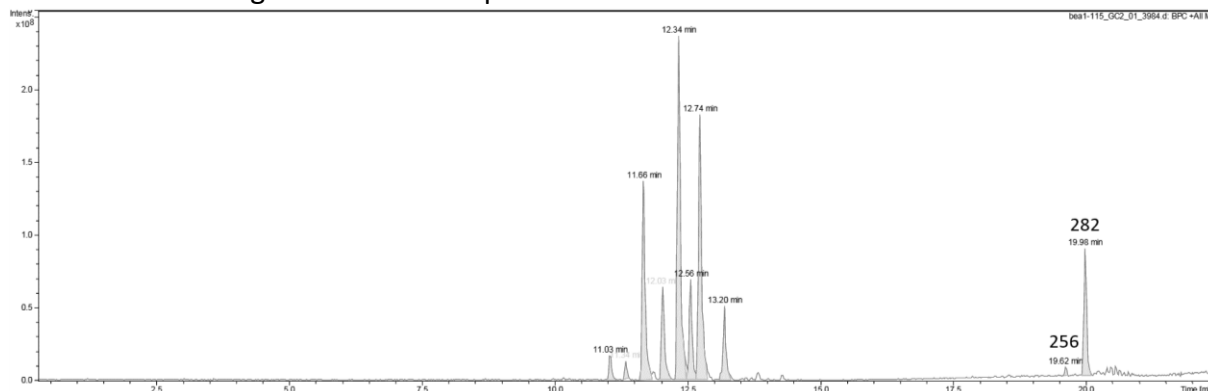


Figure 86 : chromatogramme de l'analyse LC-MS en mode ESI+ de l'extrait enrichi en flavonoïdes de peaux d'orange après déglycosylation avec les masses $[M+H]^+$ observées pour les nouveaux pics

Ce test de déglycosylation enzymatique sur l'extrait de peaux d'orange fût l'unique manipulation de ce genre que nous avons entreprise. Néanmoins, ainsi qu'en témoigne ce qui est transcrit dans la section suivante, le travail sur la *O*-déméthylation des polyméthoxyflavones de l'extrait peut aussi conduire à une déglycosylation chimique des glycosides de flavanone.

I.B.2. Etude de la *O*-déméthylation de l'extrait

Vu que l'extrait de peaux d'orange comporte en haute teneur de nombreuses polyméthoxyflavones avec pour chacune d'entre elles au moins quatre groupements fonctionnels méthoxy, il peut être particulièrement intéressant de pouvoir accéder à ces potentiels sites d'addition de pharmacophore en les convertissant en hydroxyles. Pour cela, nous avons étudié la possibilité de faire une *O*-déméthylation des substituants aryle sur l'extrait par l'une des voies chimiques les plus classiques, avec utilisation de tribromure de bore.

Pour faire la *O*-déméthylation de l'extrait de peaux d'orange, nous avons repris en partie deux protocoles expérimentaux qui avaient été réalisés pour des flavonoïdes similaires aux nôtres [353,354]. Les conditions réactionnelles données sont très simples puisqu'elles ne nécessitent pas d'autre réactif que du tribromure de bore en solution dans du dichlorométhane, qui est aussi le solvant réactionnel. Une particularité importante de ce protocole est que la quantité de tribromure de bore qui est utilisée est calculée non pas en nombre d'équivalents du substrat à traiter mais en nombre d'équivalents par groupement méthoxy porté par ce substrat, en l'occurrence 1,25 équivalents par groupement. Pour déterminer en pratique la quantité de tribromure de bore qu'il nous faut consommer pour les besoins de la manipulation, afin de simplifier les calculs, nous avons considéré que l'extrait de peaux d'orange n'était composé que de la polyméthoxyflavone la plus substituée, soit

Chapitre 6 : application de la méthodologie sur un exemple d'extrait naturel

l'heptaméthoxyflavone, ce qui revient à devoir utiliser 8,75 équivalents de BBr_3 . Cet *O*-déméthylation se fait à 45 °C pendant une durée de quatre heures.

La *O*-déméthylation dans ces conditions réactionnelles a livré des résultats qui furent totalement positifs : d'une part sur le chromatogramme donné par l'analyse LC-MS du produit brut obtenu à l'issue de la réaction (**Figure 87**), aucun des pics précédemment identifiés comme ceux des polyméthoxyflavones n'est désormais présent après réaction. D'autre part, plusieurs composés ont été détectés avec des masses qui pourraient correspondre à ceux des flavones complètement *O*-déméthylés dont deux tétrahydroxyflavones, deux pentahydroxyflavones et une hexahydroxyflavone.

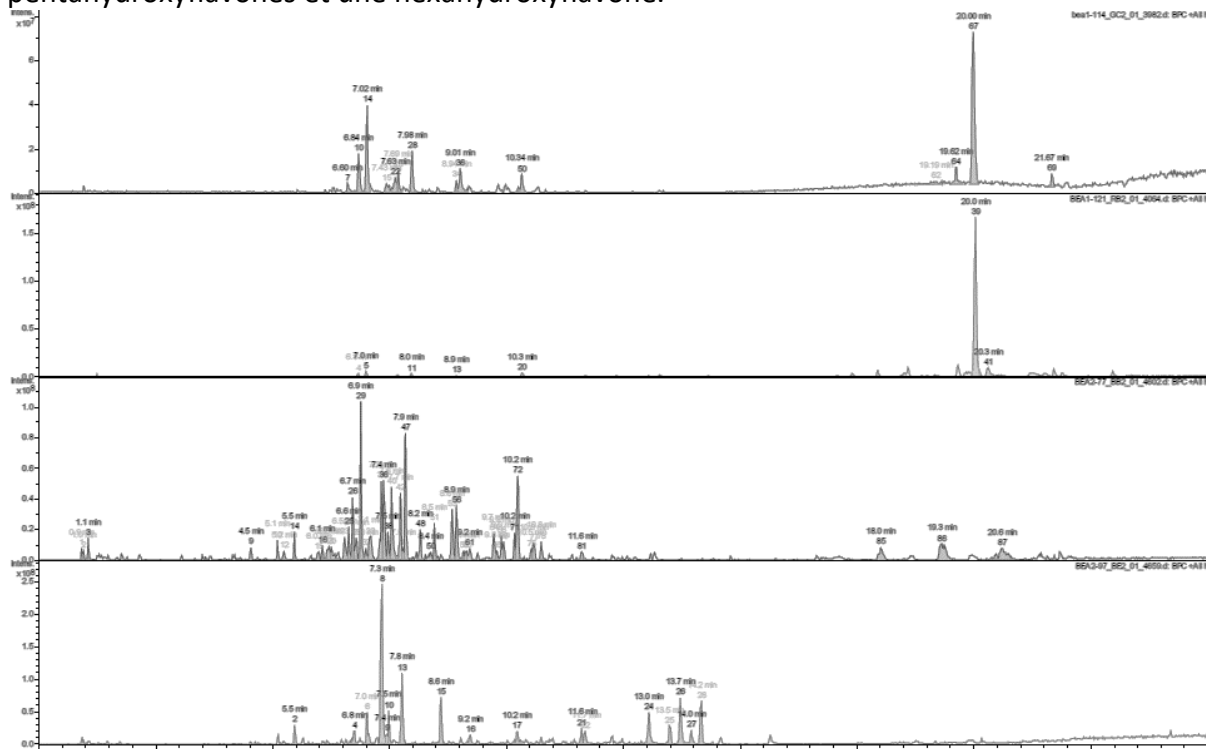


Figure 87 : de haut en bas, chromatogrammes de l'analyse LC-MS en mode ESI+ de l'extrait enrichi en flavonoïdes de peaux d'orange après *O*-déméthylation avec 1,25 ; 1 ; 0,75 et 0,5 équivalents de tribromure de bore

Dans le même temps, quelques autres valeurs de masses notables ont été détectées : nous avons ainsi pu voir deux masses correspondant à celle d'une trihydroxyméthoxyflavanone, une autre masse pouvant être celle d'une dihydroxyméthoxyflavanone et une dernière qui pourrait être celle d'une tétrahydroxyflavanone. Et il se trouve que ces masses correspondent aussi respectivement à ceux des aglycones de l'héspéridine et de la poncirine pour les deux premières et à celui du même aglycone de l'héspéridine qui aurait été complètement *O*-déméthylé. Il est donc tout à fait possible qu'en plus de la *O*-déméthylation visée, l'emploi de tribromure de bore a également provoqué une déglycosylation sur les glycosides de flavanone, ce qui est surprenant car aucune des méthodes de déglycosylation chimique qu'il est possible de trouver dans la littérature ne font mention de ce réactif. La probabilité de la survenue de cette déglycosylation est corroborée par l'absence des glycosides initiaux dans les données d'analyse LC-MS et aussi par la présence de plusieurs masses pouvant respectivement être celles de composés issus de la déglycosylation partielle de la poncirine et de l'héspéridine *O*-déméthylée avec un seul des deux oses qui aurait été éliminé (**Figure 88**).

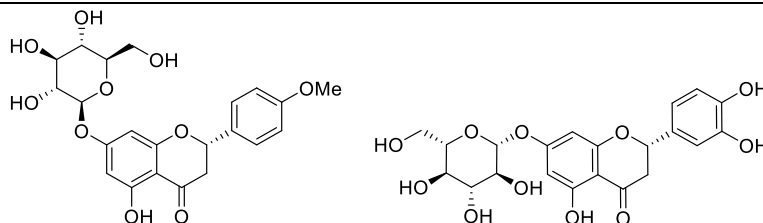


Figure 88 : produits de la coupure inter-osidique de la poncirine et de la *O*-déméthylation de l'hespéridine

Si cette manipulation de *O*-déméthylation s'est révélée satisfaisante dans le sens où nous sommes ici en mesure de cliver l'intégralité des fonctions méthoxy présentes sur les polyméthoxyflavones, ce qui augmente le nombre d'hydroxyles réactifs, celle-ci souffre d'un inconvénient majeur : ces conditions nécessitent de consommer un volume assez important de solution commerciale de tribromure de bore. C'est pourquoi il nous faut optimiser cette réaction de *O*-déméthylation en jouant sur le nombre d'équivalents de tribromure de bore utilisé pour arriver à une valeur qui nous permettra de moins consommer de ce réactif et ainsi déterminer où se trouve la frontière entre la consommation totale et celle partielle des métabolites de l'extrait. De plus, le clivage de l'intégralité de ces groupements ne contribue pas à augmenter la diversité des composés dans l'extrait modifié. Jouer sur la quantité de réactif utilisé nous permettra éventuellement de voir pour quel nombre d'équivalents de tribromure de bore seule une partie des méthoxy de ces métabolites est touchée.

La manipulation de *O*-déméthylation a été reproduite à plusieurs reprises avec le même protocole que la fois précédente mais en abaissant à chaque fois le nombre d'équivalents de tribromure de bore par groupement méthoxy à cliver de 0,25, jusqu'à avoir un nombre d'équivalents pour lequel on constate que la *O*-déméthylation ne se produit pas sur la totalité des méthoxys des polyméthoxyflavones. Dans l'absolu, quatre nouvelles manipulations sont à prévoir avec une consommation respective de 1 ; 0,75 ; 0,5 et 0,25 équivalents de tribromure de bore par groupement à faire réagir. Si on refait le même calcul que précédemment pour l'extrait de peaux d'orange, cela revient à utiliser par rapport à cet extrait 7 puis 5,25 puis 3,5 et enfin 1,75 équivalents de tribromure de bore.

Avec un équivalent de tribromure de bore par groupement méthoxy à cliver, comme avec les conditions initiales, l'ensemble des glycosides et des polyméthoxyflavones est totalement consommé et certains types de polyhydroxyflavones déjà relevées ont aussi été détectées ici avec une tétrahydroxyflavone et deux pentahydroxyflavones, de même que les aglycones des trois glycosides. En revanche, les deux composés précédents partiellement déglycosylés ne sont pas présents, pas plus que d'autres produits de déglycosylation partielle. De plus, bien que le chromatogramme obtenu par LC-MS avec le produit résultant de cette manipulation présente des similitudes avec celui généré pour le produit de la *O*-déméthylation avec 1,25 équivalents de BBr_3 par groupement à cliver, on peut noter un plus grand nombre de pics pour de grands temps de rétention et au contraire un nombre moins important de pics pour de plus petits temps de rétention (**Figure 87**). Cependant, aucune des masses associées à ces nouveaux pics n'a pu être attribuée à un produit possible de la *O*-déméthylation.

Avec 0,75 équivalent de tribromure de bore utilisé par méthoxy, le chromatogramme du produit obtenu témoigne encore d'une *O*-déméthylation qui a consommé tous les métabolites de l'extrait (**Figure 87**). Néanmoins, du point de vue de son allure générale, ce chromatogramme est étrangement plus proche du résultat obtenu avec 1,25 équivalents de tribromure de bore par groupement que celui acquis avec un seul équivalent de ce même réactif. Dans le détail de la composition de cet extrait modifié, pour ce qui est des polyméthoxyflavones qui ont été complètement déméthylées, une tétrahydroxyflavone ainsi que trois pentahydroxyflavones et deux hexaméthoxyflavones ont été détectées en LC-MS. En

Chapitre 6 : application de la méthodologie sur un exemple d'extrait naturel

dehors de ces composés, la présence de tous les aglycones des glycosides, aussi bien déméthylés que non déméthylés, celles des deux composés précédemment cités dans la **figure 88** et de l'héspéridine partiellement déglycosylée, avec un seul des deux oses qui subsiste, a été décelée dans cet extrait modifié.

Ce n'est finalement que pour la manipulation effectuée avec 0,5 équivalent de tribromure de bore par groupement à cliver que nous avons pu observer en LC-MS un reste des flavonoïdes de départ dans l'extrait ainsi modifié, les trois glycosides de flavanone **126** à **128** et tous les polyméthoxyflavones ayant été détectés (**Figure 87**). De plus, nous pouvons voir une masse de valeur cohérente avec celle de l'héspéridine, l'aglycone de l'héspéridine, une autre dont la valeur pourrait être celle de la déglycosylation partielle d'un seul des deux oses de la même héspéridine et deux dernières dont les valeurs peuvent correspondre à l'héspéridine et à la poncirine *O*-déméthylées (**Figure 89**). Du côté des possibles produits générés à partir des polyméthoxyflavones, seules des produits résultant de la *O*-déméthylation de flavones avec cinq ou sept méthoxys au départ ont été détectés avec une trihydroxydiméthoxyflavone, une dihydroxytriméthoxyflavone, une hydroxytétraméthoxyflavone, deux trihydroxytétraméthoxyflavones et une hydroxyhexaméthoxyflavone.

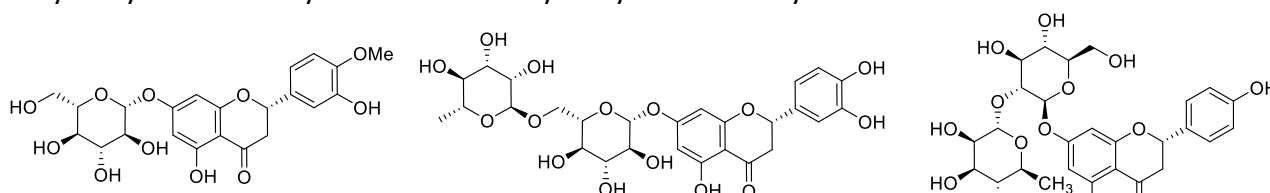


Figure 89 : de gauche à droite, produit de la coupure inter-osidique de l'héspéridine, de la *O*-déméthylation de l'héspéridine et de la *O*-déméthylation de la poncirine

En bref, si on souhaite pouvoir convertir la totalité des flavonoïdes de l'extrait de peaux d'orange en composés déméthylés et/ou déglycosylés, faire la manipulation avec 0,75 équivalents de tribromure de bore par groupement à cliver nous donnerait un résultat semblable à celui de la manipulation réalisée avec 1,25 équivalents du même réactif, soit une économie substantielle de ce produit. Cependant, si nous souhaitons travailler ensuite avec un extrait modifié comprenant des métabolites partiellement déméthylés en plus de ceux qui le sont entièrement, il nous est possible d'abaisser encore un peu le nombre d'équivalents de ce réactif.

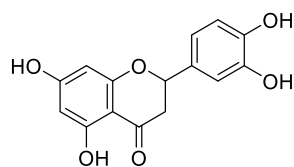
Une fois ce travail fait, nous pouvons objectivement pointer les failles de cette étude : comme cela a été dit, le calcul de la quantité effective de réactif qui a été utilisé pour ces manipulations s'est fait ici en considérant que l'extrait de peaux d'orange n'était constitué que d'heptaméthoxyflavone, alors qu'aucune des polyméthoxyflavones n'est le composé majoritaire. Cependant, tout calcul des quantités de réactifs pour modifier un extrait est compliqué du fait qu'il est rare qu'un seul métabolite domine la composition phyto-chimique au point qu'on peut considérer les autres comme négligeables. Si on veut avoir une valeur limite du nombre d'équivalents de tribromure de bore pour la *O*-déméthylation totale de l'extrait qui ne dépend pas d'un seul métabolite, le mieux serait de doser la teneur en groupements méthoxy ou en flavonoïdes dans l'extrait. Dans ce dernier cas, nous serions alors dans l'obligation de ne plus calculer le nombre d'équivalents de tribromure de bore selon le nombre de méthoxys à cliver mais plutôt selon la teneur totale en flavonoïdes dans ce même extrait.

II. Synthèse de dérivés d'isocoumarine selon la voie « clic » avec l'extrait de peaux d'orange

II.A. Tentatives initiales de synthèse avec les extraits *O*-déméthylés et non *O*-déméthylés

Après s'être assuré que notre plan de synthèse d'isocoumarine selon la voie « clic » était bel et bien applicable avec un mélange simple de composés hydroxylés, il ne restait plus qu'à réaliser l'ensemble de ces réactions sur l'extrait de peaux d'orange et, dans la mesure du possible, à isoler un ou plusieurs composés alors formés pour pouvoir valoriser la preuve de concept de notre méthodologie.

Sur le plan purement pratique, la réalisation des étapes de synthèse, depuis la propargylation de l'extrait jusqu'à la cyclisation, ne change pas par rapport à ce qui a été fait avec un ou des composé(s) modèle(s) si ce n'est pour le nombre d'équivalents en extrait qui est fixé arbitrairement en équivalent en le composé avec la plus haute teneur dans l'extrait soit l'hespéridine **126** ou, dans le cas d'un extrait *O*-déméthylé, son aglycone entièrement déméthylé, l'ériodyctiol **136** (Figure 90). En revanche, l'analyse des produits bruts de cyclisation en fin de plan de synthèse diffère un peu. Dans un premier temps, après avoir appliqué l'étape de cyclisation sur la résine utilisée pour la manipulation de synthèse ou avec un clivage au TFA de tout ou partie de cette résine après réaction « clic », nous effectuons une analyse du produit brut alors obtenu par RMN du proton pour déterminer si le spectre alors généré correspond en tout point à celui du substrat de départ qui aurait été seulement cyclisé ou ne contient aucun composé organique reconnaissable, ce qui signe l'échec de la synthèse. Si ce spectre ne ressemble pas à celui du substrat cyclisé, une analyse de ce même produit brut en LC-MS est réalisée. Vu la complexité de ce milieu qu'est l'extrait de peaux d'orange et celle potentielle du mélange de produits que nous sommes en droit d'attendre, les masses détectées durant ces analyses sont comparées avec celles issues de simulations réalisées avec le logiciel Datawarrior. Pour faire ces simulations, nous avons compilé l'ensemble des composés caractérisés de l'extrait de peaux d'orange ainsi que leurs dérivés déglycosylés et/ou *O*-déméthylés puis, au moyen d'une fonction dédiée du logiciel, nous avons généré l'intégralité des produits possibles pour toutes les étapes successives de la synthèse et nous avons fait calculer les masses exactes correspondant à ces produits. Pour que l'interprétation des données LC-MS sur la manipulation soit la moins compliquée possible, on commence par la comparaison des données pour le produit brut de clivage/cyclisation et on remonte les étapes analysables du plan de synthèse avec l'extrait propargylé puis l'extrait de départ avant propargylation. L'analyse du filtrat récupéré après l'étape de réaction « clic » peut, à l'occasion, être aussi utile pour juger de l'épuisement ou non de l'extrait en certains composés.



Eriodyctiol **136**

Figure 90 : structure de l'ériodyctiol **136**

Dans notre volonté de vouloir toucher des flavonoïdes sans glycone et avec des possibilités de synthèse les plus nombreuses possibles, un premier essai de synthèse a d'abord été réalisé sur l'extrait *O*-déméthylé avec 0,5 équivalent de tribromure de bore, avec une quantité stœchiométrique d'iodure de cuivre (à 5,1 équivalents). La *O*-déméthylation de l'extrait de peaux d'orange n'ayant été que partielle, cela peut présenter l'avantage d'augmenter les

Chapitre 6 : application de la méthodologie sur un exemple d'extrait naturel

possibilités de synthèse à partir des composés constituants de l'extrait. Mais à l'issue de l'application du plan de synthèse qui s'est terminé par un clivage au TFA d'une partie de la résine utilisée, nous n'avons pu trouver aucune masse détectée pouvant être celle d'un produit final qu'il est possible de former en partant d'un composé caractérisé de l'extrait *O*-déméthylé de départ dans le produit brut de cyclisation. De plus, la masse du produit issu de la cyclisation du substrat greffé d'origine sans réaction au niveau de son azoture est, quant à elle, bien présente.

Par la suite, nous avons jugé plus pertinent de travailler à l'avenir sur l'extrait enrichi en flavonoïdes qui n'aurait subi aucune réaction préparatoire de déglycosylation et/ou de *O*-déméthylation pour avoir une composition de départ qui soit plus simple à analyser et pour pouvoir surveiller le plus facilement possible son évolution au fil du plan de synthèse. Ainsi, les possibilités de synthèse à partir de cet extrait seront beaucoup plus restreintes puisque parmi les composés identifiés, seuls les trois glycosides de flavonoïde **126** à **128** sont susceptibles d'être propargylés et par conséquent d'entrer dans notre plan de synthèse. Mais dans l'hypothèse où avec nos conditions habituelles de propargylation, seuls les hydroxyles présents sur la partie aglycone de ces glycosides peuvent être touchés, et en sachant que ces glycosides (en particulier l'hespéridine **126**) sont parmi les composés majoritaires de l'extrait, la probabilité de former à partir de ces glycosides et en quantité conséquente des produits attendus est plus grande, ce qui peut rendre plus aisée l'analyse par LC-MS du milieu final et l'isolement d'au moins un produit.

En reprenant la démarche précédente et en l'appliquant donc à un extrait de peaux d'orange juste enrichi en flavonoïdes, après le clivage de l'intégralité de la résine par du TFA, les résultats de l'analyse LC-MS du produit brut ont plus été de nature à nous donner satisfaction (**Figure 91**) : par deux fois a été détectée une masse qui peut être celle de produits obtenus à partir d'hespéridine qui aurait été monopropargylée. D'ailleurs, ce dernier composé intermédiaire a été détecté dans le prélèvement du milieu réactionnel en fin d'étape de propargylation et a de nouveau été repéré dans le filtrat récupéré après la CuAAC sur support solide, ce qui laisserait dire qu'il n'y a pas eu épuisement de ces composés.

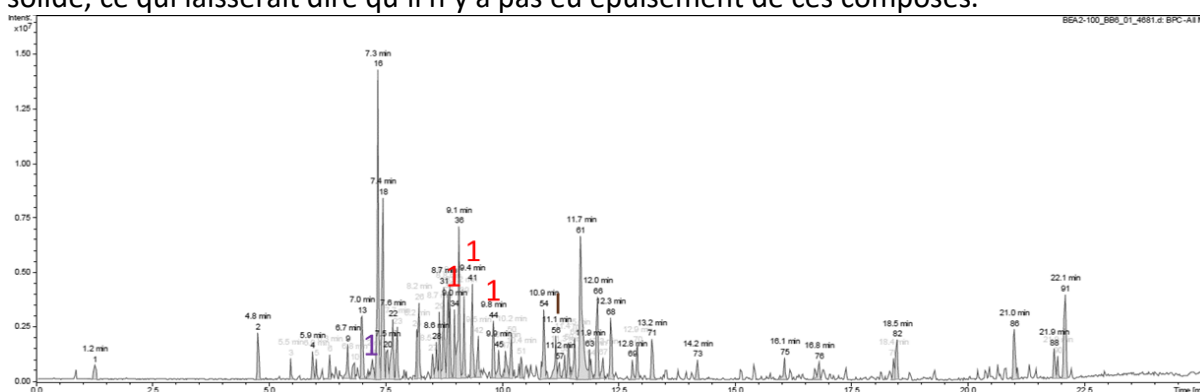


Figure 91 : chromatogramme de l'analyse LC-MS en mode ESI- du produit brut du clivage au TFA sur support solide utilisé pour la tentative de synthèse avec l'extrait enrichi en flavonoïdes et propargylé de peaux d'orange

En admettant que l'hespéridine **126** puisse être propargylée sur les deux hydroxyles de la partie aglycone et qu'après réaction « clic » et cyclisation par clivage au TFA, l'isocoumarine et le phthalide peuvent aussi bien être formés l'un comme l'autre, les structures de ces produits peuvent être déduites comme décrit dans la **figure 92**. Deux autres masses intéressantes ont également été décelées dans le produit brut de clivage : une pouvant être celle d'un composé engendré avec de la poncirine monopropargylée et une autre qui pourrait provenir de la synthèse à partir d'hespéridine tripropargylée. Cependant, dans le cas de ces deux masses, celles des produits propargylés intermédiaires n'ont jamais été détectés, ni avant ni après l'étape de la cycloaddition. Enfin, les produits de cyclisation formés avec le fragment greffé

Chapitre 6 : application de la méthodologie sur un exemple d'extrait naturel

d'origine qui n'aurait pas réagi pendant l'étape de la réaction « clic » est aussi présent dans le produit brut de clivage.

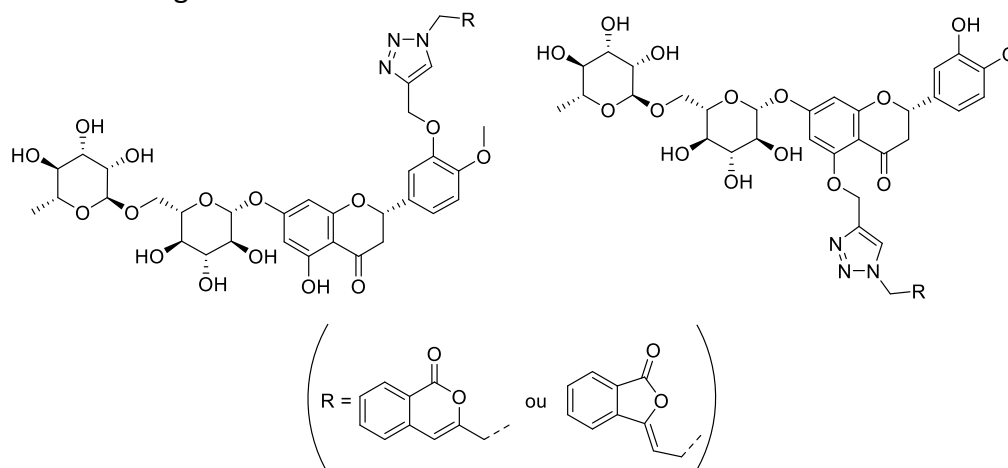


Figure 92 : structure des produits les plus probables à l'issue de la cyclisation par clivage au TFA avec de l'hespéridine monopropargylé

Notre souhait étant de diversifier autant que possible les possibilités de synthèse d'isocoumarine selon la voie « clic » en cherchant à former différents dérivés halogénés en position 4, nous avons ensuite cherché à reproduire la manipulation précédente en utilisant du monochlorure d'iode pour l'étape de cyclisation afin de pouvoir synthétiser des dérivés de 4-iodoisocoumarine. La manipulation a été un peu complexifiée car nous avons également profité de cette manipulation pour mettre en pratique la démarche d'épuisement de l'extrait qu'on souhaite intégrer à la méthodologie : après un cycle de réaction « clic » sur un premier lot de résine puis la filtration et la récupération de ce filtrat, celui-ci est réutilisé pour un second cycle de réaction « clic » avec un nouveau lot de résine et sans nouvel ajout de réactif.

Malheureusement, les résultats affichés avec cette manipulation n'ont pas du tout été à la hauteur de nos attentes. Sur les chromatogrammes des analyses LC-MS faites sur les deux produits bruts de cyclisation distincts, peu de pics sont à signaler. Et en regardant les masses associées à ces pics, aucune d'entre elles ne peut être celle d'un produit qu'on aurait généré à partir d'un glycoside propargylé de l'extrait. Seules six masses détectées pour le produit brut de cyclisation avec la résine du premier cycle de réaction « clic » et trois autres pour celui de la cyclisation avec la résine du second cycle sont paires, soit la bonne parité pour pouvoir être celle de produits formés avec l'azoture greffé sur résine. Et en calculant avec ces masses détectées celles des composés propargylés qui auraient pu former ces produits puis celles des composés de départ de toute cette synthèse, il a été impossible de relier un composé des produits bruts de cyclisation détectés par LC-MS avec un composé détecté dans le milieu réactionnel de la propargylation et avec un composé détecté dans l'extrait de peaux d'orange de départ. Au contraire, l'azoture cyclisé a été détecté dans les deux produits bruts de cyclisation. Enfin, en ce qui concerne l'épuisement de l'extrait, l'évolution de la composition en glycosides propargylés dans l'extrait modifié n'est que légère avec le premier cycle de CuAAC et inexistante après le second cycle.

Ces mauvais résultats lors de la manipulation impliquant l'utilisation de monochlorure d'iode pour la cyclisation nous a fait se poser la question de la compatibilité de cet électrophile dans le cadre de la modification chimique de produits naturels issus d'un extrait. Pour vérifier que le choix de ce réactif ne cause pas de problème dans nos synthèses, nous avons entrepris de refaire une manipulation de synthèse sur support solide avec l'extrait enrichi en flavonoïdes de peaux d'orange avec un seul et unique cycle de réaction « clic » et où le lot de support solide préparé utilisé pour cette étape est ensuite séparé en deux sous-lots de même masse.

Chapitre 6 : application de la méthodologie sur un exemple d'extrait naturel

L'un d'eux doit alors être clivé au TFA afin que le produit brut de clivage qui en découle nous serve de témoin (avec un résultat a priori proche de la première manipulation réussie dans ces conditions de cyclisation) et l'autre doit être cyclisé avec du ICl.

Cependant, durant cette manipulation, nous avons eu affaire à une succession de résultats inattendus qui a totalement bouleversé le cheminement que nous voulions suivre pour cette manipulation. Le produit brut du clivage du premier sous-lot de résine utilisé ici donna en analyse LC-MS un chromatogramme nettement moins fourni en nombre de pics par rapport à la manipulation de référence pour ces conditions de cyclisation (**Figure 93**). Il y a bien des pics en commun entre cette manipulation de référence et celle exposée ici mais aucun d'entre eux n'est associé à la masse d'un produit formé en partant d'un glycoside propargylé de l'extrait. En revanche, une douzaine de ces pics en commun sont associées à des masses paires, ce qui peut signifier que les composés alors détectés possèdent un nombre impair d'atomes d'azote et peuvent donc être potentiellement être des produits générés *via* notre plan de synthèse. Enfin, la masse du substrat cyclisé avec son azoture intact est également présente.

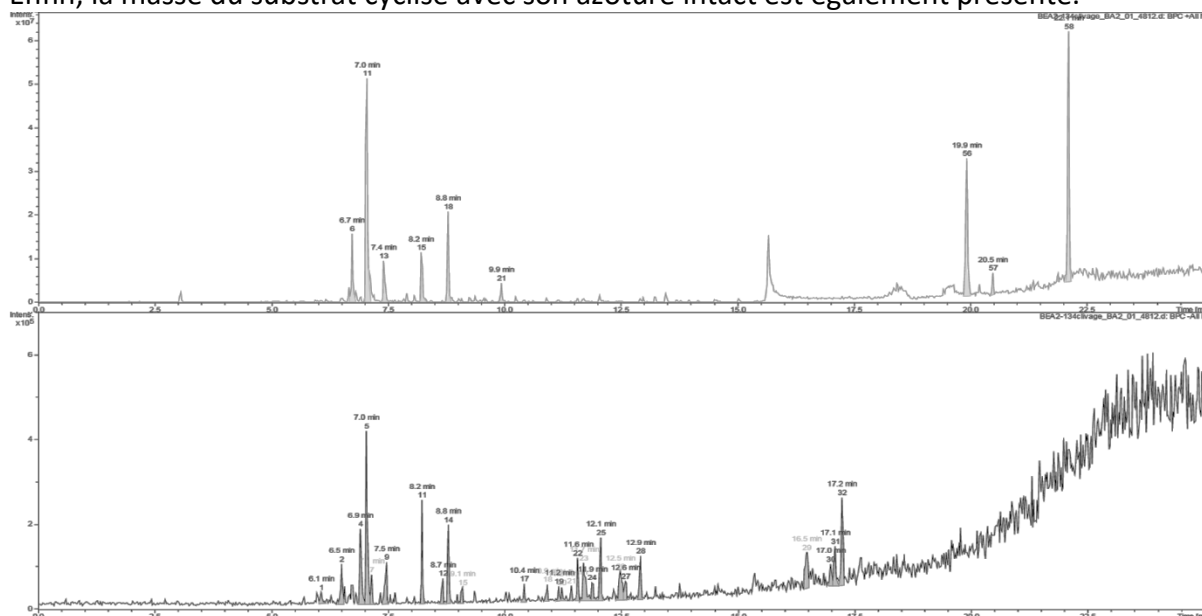


Figure 93 : chromatogramme de l'analyse LC-MS en mode ESI+ (en haut) et en ESI- (en bas) du produit brut du clivage au TFA de la première moitié du support solide utilisé pour la tentative de synthèse avec l'extrait enrichi en flavonoïdes et propargylé de peaux d'orange

Face à ces différences substantielles au niveau des analyses LC-MS qui semblait traduire un étonnant échec de la synthèse sur les glycosides **126** à **128** de l'extrait, il n'était plus question de faire la cyclisation du deuxième sous-lot de résine avec du monochlorure d'iode mais de voir ce qui a pu se passer pour que nous ne soyons pas capables de reproduire l'application de notre plan de synthèse sur l'extrait enrichi en flavonoïdes de peaux d'orange. Comme la réalisation du protocole expérimental n'a pas changé entre ces différentes manipulations, nous avons pensé qu'étant donné que notre substrat greffé a pu partiellement réagir avec d'autres composés que des glycosides propargylés, chercher à isoler quelques-uns de ces composés formés pourrait peut-être répondre à nos questions. Pour cela, nous devons avoir une quantité suffisante de produit brut de clivage pour pouvoir potentiellement avoir ensuite une quantité acceptable de produits isolés et purifiés afin d'être en capacité de faire sans trop de mal des analyses de caractérisation. Dans ce but, il convenait de finalement cliver le deuxième sous-lot de résine comme avec le premier, en utilisant du TFA.

Mais le clivage de cet autre sous-lot de résine n'a pas livré un produit brut avec exactement la même composition que celui généré à partir du premier sous-lot, comme cela a été constaté lors des analyses LC-MS (**Figure 94**). Ces différences observées entre ces deux produits de

Chapitre 6 : application de la méthodologie sur un exemple d'extrait naturel

clivage nous ont paru suffisamment importantes pour qu'on décide de ne finalement pas les rassembler avant d'essayer d'isoler des composés de ces produits bruts. Mais avec les faibles masses de produits bruts que nous avons alors en notre possession, nous craignons que le processus de purification sur ces produits de clivage ne conduise pas à des composés purs en suffisamment grande quantité pour pouvoir les caractériser.

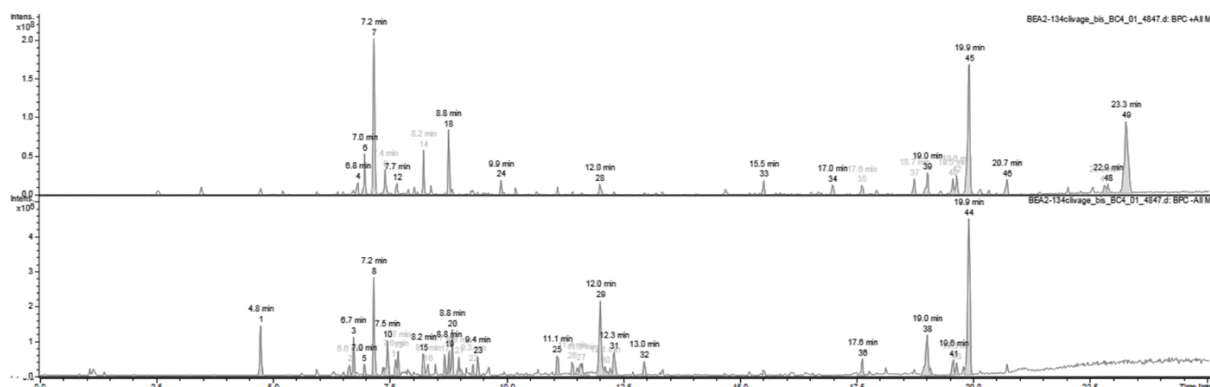


Figure 94 : chromatogramme de l'analyse LC-MS en mode ESI+ (en haut) et en ESI- (en bas) du produit brut du clivage au TFA de la deuxième moitié du support solide utilisé pour la tentative de synthèse avec l'extrait enrichi en flavonoïdes et propargylé de peaux d'orange

C'est pourquoi il nous a semblé nécessaire d'encore renouveler toute la démarche de synthèse précédente mais en clivant en une seule fois au TFA tout le lot de résine préparé. En fin de manipulation, l'analyse par LC-MS du produit brut de clivage de cette résine montre une composition quasiment identique à celle du second produit brut de la manipulation précédente, avec lequel il a ensuite été mélangé dans ce qu'on appellera pour la suite le produit brut B, le premier produit brut de clivage de la manipulation précédente étant noté comme le produit brut A (**Schéma 149**).

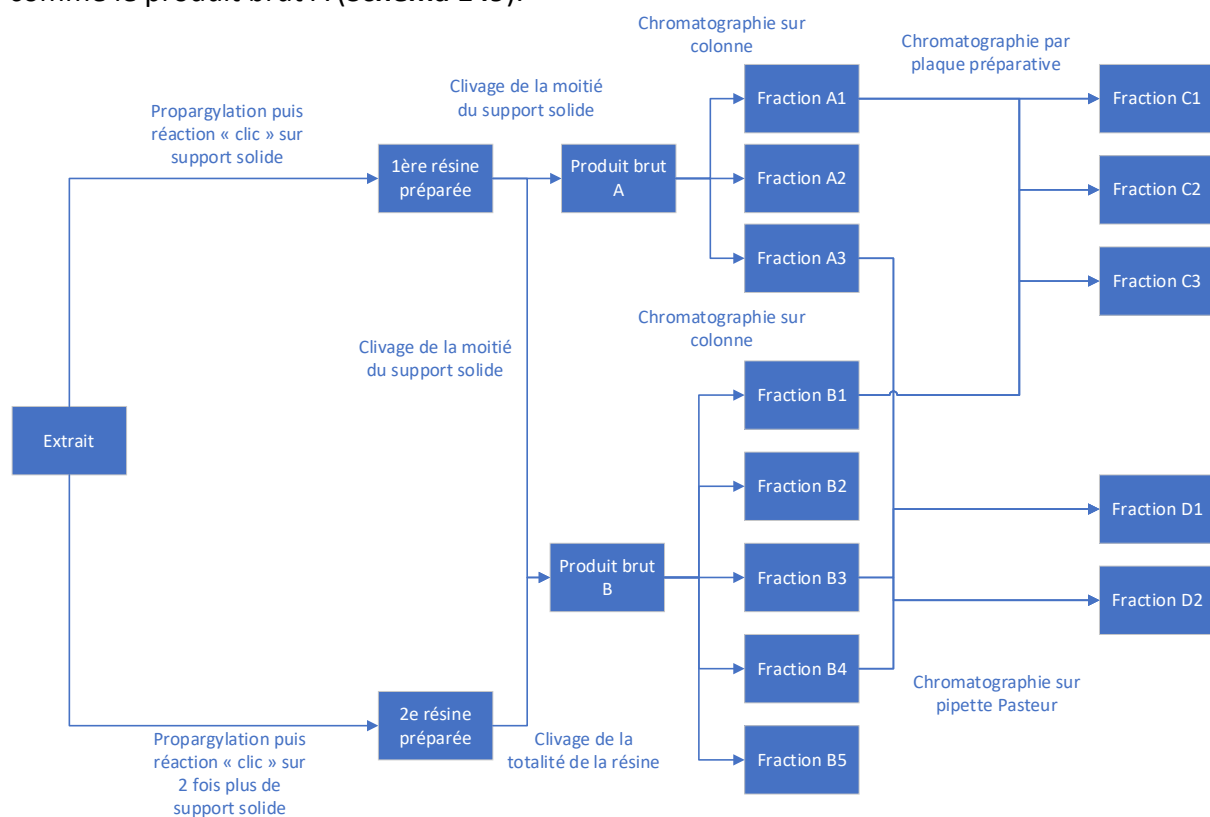


Schéma 149 : déroulement de la synthèse sur support solide avec l'extrait enrichi en flavonoïdes de peaux d'orange

Nous avons ensuite tenté une séparation des composés de ces produits bruts de clivage par chromatographie sur colonne de gel de silice. A partir du produit brut A, trois fractions notées

Chapitre 6 : application de la méthodologie sur un exemple d'extrait naturel

de A1 à A3 ont été obtenues tandis qu'avec le produit brut B, ce sont cinq fractions notées de B1 à B5 qui ont pu être séparés par cette colonne. Cependant, en regardant leur composition sur plaque CCM, aucune de ces fractions ne contient un composé sous forme pure. Et en faisant un spectre RMN du proton de chacune de ces fractions, seules certaines d'entre elles sont exploitables, les très faibles masses obtenues ayant souvent entraîné une mauvaise résolution des spectres dans des conditions d'analyse de routine. Sur ceux qui sont les mieux définis, parmi lesquelles les fractions B1 et B3 (**Figures 95 et 96**), on peut surtout remarquer la présence de signaux très peu déblindés et de très forte intensité pouvant être associés à des chaînes grasses, ce qui peut traduire soit la présence d'impuretés, soit que le substrat greffé au support solide a réagi avec des esters de propargyle provenant d'acides gras, une famille de composés fréquente dans les extraits naturels. Si on observe plus attentivement le spectre obtenu pour la fraction B1 (**Figure 95**), celui-ci contient certainement un produit de la cyclisation au TFA car les quatre signaux aromatiques distinguables ont des déplacements chimiques (7,96 ; 7,76 ; 7,69 ; 7,64 ppm), une multiplicité et une intégration cohérentes avec ce qui a toujours été observé pour les protons aromatiques provenant de l'isocoumarine/du phthalide et du triazole. Un doublet à 5,86 ppm et un triplet à 5,40 ppm intégrant respectivement pour un et deux H avec la même constante de couplage à 7,5 Hz nous font penser que le plus probable pour ce produit de cyclisation est qu'il s'agit d'un dérivé de phthalide.

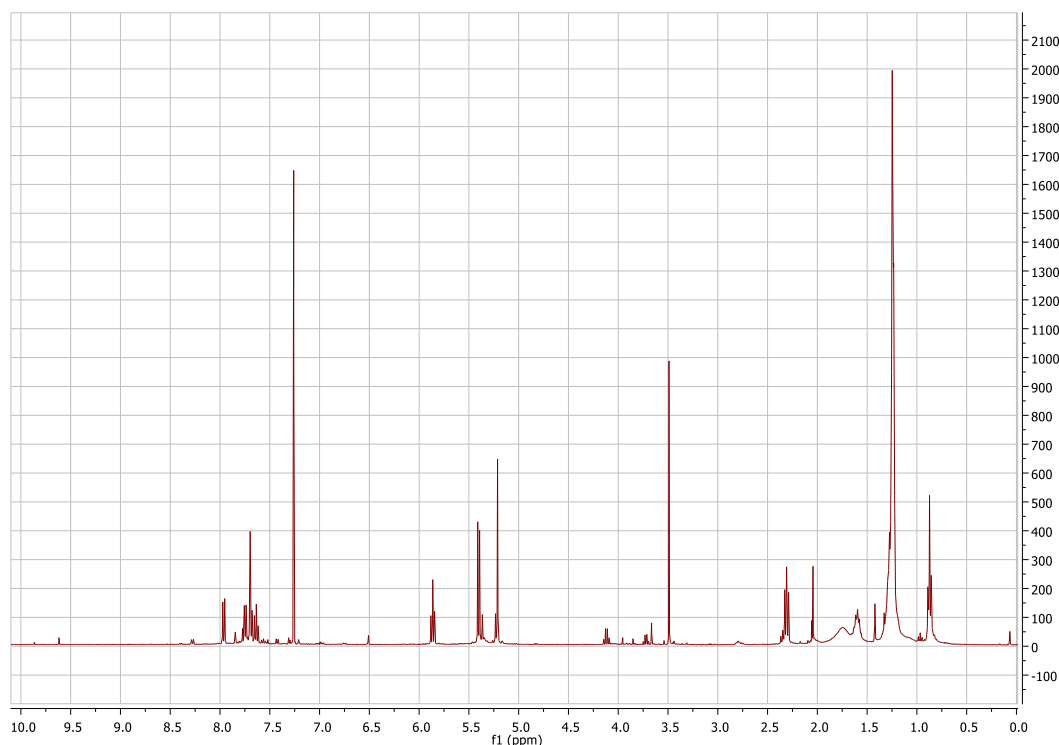


Figure 95 : spectre RMN du proton pour la fraction B1 (CDCl₃, 400 MHz)

Pour le spectre RMN du proton de la fraction B3 (**Figure 96**), l'ensemble des signaux déjà cités pour la **figure 95** est également présent ici, auxquels s'ajoute un nombre important d'autres signaux aromatiques dont certains d'entre eux se superposent. Mais étant donné l'aspect général de ce spectre et le manque de référence que nous avons à notre disposition pour une isocoumarine non halogénée liée à un triazole, il n'est pas possible d'effectuer des intégrations de ces signaux et des attributions qui soient des plus fiables et par conséquent de s'avancer sur la présence d'un dérivé d'isocoumarine parmi les composés de ce mélange-ci.

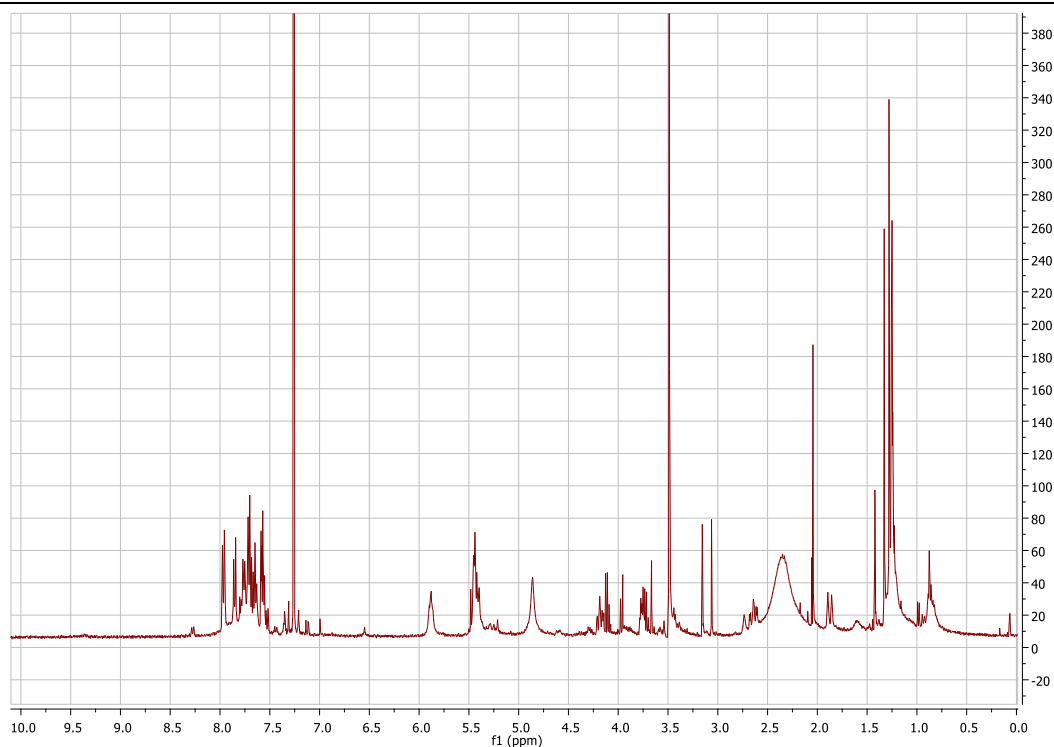


Figure 96 : spectre RMN du proton pour la fraction B3 (CDCl₃, 400 MHz)

L'allure globale de certains de ces spectres entre les fractions obtenues à partir des produits bruts A et B s'est révélée grandement similaire, ce qui nous a poussé à rassembler les premières fractions de chacun de ces produits bruts, A1 et B1 (**Figure 95**), ainsi que la fraction A3 avec B3 (**Figure 96**) et B4. Nous allons noter ces fractions rassemblées C et D.

Ces fractions rassemblées ont été à nouveau fractionnées par des procédés différents : la fraction C révélant sur plaque CCM des tâches très proches, il a été jugé plus utile de faire la séparation des composés le constituant grâce à une plaque CCM préparative. En revanche, pour la fraction D, la séparation a été réalisée *via* une mini colonne de chromatographie dans une pipette Pasteur. Le résultat a été l'obtention de trois fractions C1 à C3 à partir de C et de deux autres fractions D1 et D2 à partir de D. Mais les masses récupérées furent tellement faibles que dans les faits, il n'a été possible de mesurer une masse cohérente que pour l'une d'entre-elles, la fraction C1. En plus de cela, les analyses RMN du proton ont établi que des impuretés étaient toujours présentes dans toutes les fractions et que le niveau de résolution des spectres était mauvais pour tous. Au final, malgré les quantités importantes de réactifs engagées dans ces deux manipulations, nous avons été dans l'incapacité de pouvoir obtenir un composé pur qui soit caractérisable.

Cependant, en observant les signaux de certains des spectres RMN du proton de ces produits isolés, nous avons pu noter que la différence d'intensité entre les signaux les plus intenses, qu'on peut attribuer sans le moindre doute à des groupements de protons issus de chaînes grasses et ceux aromatiques, dont l'allure et le déplacement chimique sont similaires à ceux des protons aromatiques du substrat cyclisé, n'a pas bougé malgré la purification supplémentaire. Ce détail des spectres pourrait confirmer que la réaction « clic » a peut-être pu se faire en priorité avec des esters de propargyle provenant de la propargylation d'acides gras présents dans l'extrait de peaux d'orange, au détriment des glycosides de polyphénols, ce qui pourrait aussi expliquer notre incapacité à former les produits visés à partir de ces composés de départ jusqu'à maintenant. Cette supposée meilleure réactivité des esters « gras » de propargyle par rapport aux polyphénols propargylés est problématique sur plusieurs points : déjà, comme cela a été écrit précédemment, les acides gras ne sont pas la

Chapitre 6 : application de la méthodologie sur un exemple d'extrait naturel

famille de produits naturels qu'on projette de faire réagir en priorité pour la preuve de concept, cette famille étant plus commune à des extraits de plantes de tout type que les flavonoïdes et leurs glycosides. Ensuite, le suivi de la synthèse à partir des esters « gras » de propargyle est particulièrement délicat pour ne pas dire impossible : avec les dispositifs d'analyse LC-MS que nous avons à disposition sur le plateau des analyses de masse de l'ICMG, il n'a jamais été possible de détecter un seul acide gras dans l'extrait de peaux d'orange et un seul de leurs dérivés propargylés ensuite. Par conséquent, il est pertinent de chercher à appliquer le plan de synthèse sur un extrait de peaux d'orange où on aura pu éliminer suffisamment d'acides gras pour espérer former, au moins en partie, des composés provenant de la synthèse sur support solide avec des glycosides de flavanone.

II.B. Tentatives de synthèse avec un extrait dégraissé

Si les flavonoïdes sont les composés les plus aisément identifiables par analyse LC-MS de l'extrait de peaux d'orange, les manipulations réalisées sur ce même extrait et certaines données de ses spectres RMN ont aussi montré la présence importante d'acides gras, ce qui se montre problématique pour la mise en œuvre de l'application de notre stratégie de synthèse sur l'extrait. Nous avons alors recherché un moyen d'éliminer de l'extrait enrichi en flavonoïdes ces acides gras pour que la réaction « clic » ne puisse se faire que sur des flavonoïdes propargylés et non sur des esters de propargyle provenant de la propargylation des acides gras.

En premier lieu, nous avons voulu faire une partition de l'extrait enrichi en flavonoïdes au moyen d'une extraction liquide-liquide selon un système diphasique classique. L'extrait enrichi en flavonoïdes de peaux d'orange a été dissous dans le méthanol tandis le solvant d'extraction choisi qui doit nous permettre de capter les acides gras est le cyclohexane. Mais les résultats de cette extraction ne furent pas à la hauteur de nos attentes pour deux raisons : d'une part, bien que la manipulation n'ait pas causé de problème pratique particulier, les pertes de masse ont été extrêmement importantes dans ce système : à peine 9 % de la masse de départ de l'extrait est présente dans la phase au méthanol et seulement 1 % de cette même masse a été récupérée dans la phase au cyclohexane. De grandes pertes de masse qui peuvent s'expliquer entre autre par des difficultés de solubilisation de l'extrait à traiter ont ainsi observées dans ce système. D'autre part, chacune des deux phases contient des flavonoïdes et des acides gras même si la proportion d'acides gras par rapport aux flavonoïdes est plus faible dans la phase au méthanol (**Figure 97**). Pour limiter la perte de matière en flavonoïdes, nous avons tenté de les récupérer de ce qui a été extrait au cyclohexane par une nouvelle extraction liquide-liquide avec les mêmes solvants d'extraction. Mais celle-ci ne permit pas de résoudre le problème, seulement une partie des flavonoïdes ayant pu être transféré dans la nouvelle phase au méthanol, de même qu'une partie des acides gras, ce que nous souhaitons pourtant éviter.

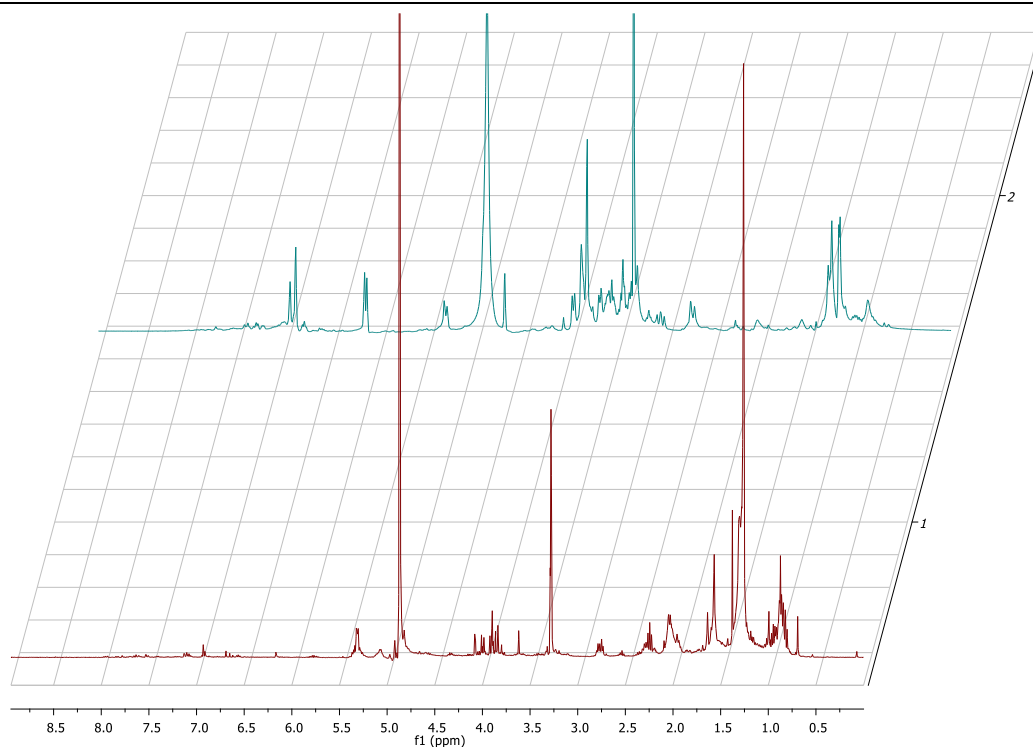


Figure 97 : spectres RMN du proton pour les produits récupérés dans les phases au méthanol (en bas) et au cyclohexane (en haut) après l'extraction liquide-liquide biphasique sur l'extrait enrichi en flavonoïdes de peaux d'orange (MeOD, 400 MHz)

Face à ces résultats décevants des extractions liquide-liquide pour l'élimination des acides gras, nous sommes revenus à l'extrait brut et à la VLC en essayant d'optimiser cette technique qui avait déjà permis de séparer les sucres du reste des métabolites de l'extrait. Pour cela et en cherchant à toujours éliminer ces sucres, la VLC est encore réalisée avec de l'eau et du méthanol en guise d'éluants mais les paliers d'élution sont plus progressifs : mélanges eau/méthanol en proportions 1/0, 2/1, 1/2, 0/1. Seules ces trois dernières fractions ont été évaporées et analysées, le premier palier d'élution (celui dans lequel les sucres doivent être présents) étant fait à l'identique par rapport au protocole initial.

Sur la masse cumulée de produit récupéré entre les trois dernières fractions, le passage de deux à quatre paliers d'élution n'a aucune incidence puisque 17 % de la masse de l'extrait brut de départ a été recueilli, soit à peu près autant qu'avec le protocole initial. Dans le détail, 3 % de la masse se retrouve dans la fraction obtenue avec deux tiers d'eau et un tiers de méthanol, 5 % se trouve dans celle générée avec un tiers d'eau et deux tiers de méthanol et 9 % est dans la fraction récupérée avec que du méthanol. Concernant la composition de ces fractions, la fraction « deux tiers d'eau - un tiers de méthanol » se montre assez riche en flavonoïdes et relativement pauvre en acides gras (**Figure 98**), celle « un tiers eau - deux tiers de méthanol » semble un peu plus riche en flavonoïdes et aussi moins pauvre en acides gras et la fraction récupérée avec seulement du méthanol présente le profil le moins intéressant des trois avec notamment une forte présence d'acides gras. Au vu des allures générales des spectres RMN du proton de ces trois fractions, même si la séparation entre les flavonoïdes et les acides gras n'a jamais été parfaite, le produit obtenu avec l'éluant contenant un tiers d'eau pour deux tiers de méthanol a livré le résultat le plus satisfaisant avec une concentration en acides gras nettement abaissée en comparaison avec l'extrait brut d'origine. De plus, si on effectue une analyse LC-MS sur ce produit dans les mêmes conditions qu'avec l'extrait initial (**Figure 99**), on retrouve les trois glycosides de flavanone **126** à **128** ainsi qu'une tétraméthoxyflavone et une pentaméthoxyflavone. D'autres pics ne correspondant pas à des composés identifiés précédemment ont aussi été détectés, ce qui a de quoi interpeller. Ce dernier aspect des résultats analytiques pose la question du renouvellement de cette manipulation afin de

Chapitre 6 : application de la méthodologie sur un exemple d'extrait naturel

vérifier si ce résultat se répète et ainsi s'affranchir d'un biais expérimental. Quoiqu'il en soit, cette fraction que nous appellerons par la suite « extrait dégraissé » est celle que nous avons retenue pour les applications pratiques de la méthodologie imposant un extrait avec moins d'acides gras.

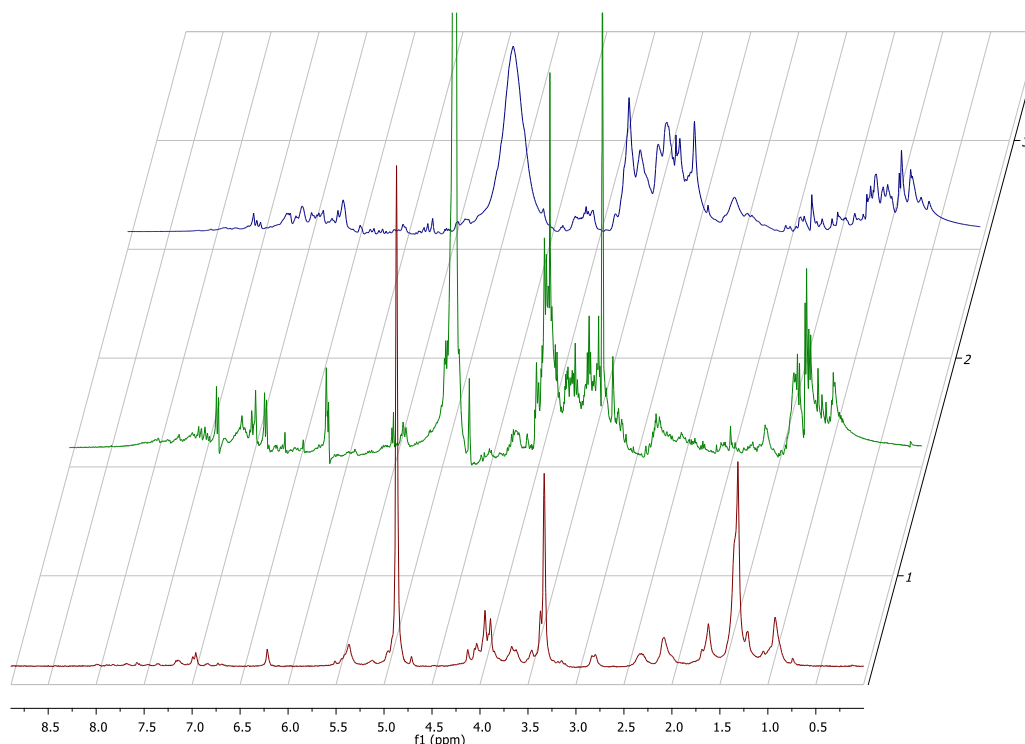


Figure 98 : de haut en bas, spectres RMN du proton pour les produits récupérés dans les fractions MeOH-H₂O 1:2, 2:1 et 1:0 après la VLC sur l'extrait enrichi en flavonoïdes de peaux d'orange (MeOD, 400 MHz)

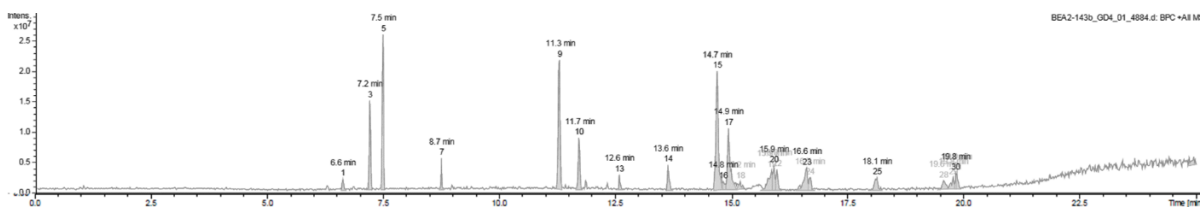


Figure 99 : chromatogramme de l'analyse LC-MS en mode ESI+ du produit récupéré dans la fraction MeOH-H₂O 2:1 après la VLC sur l'extrait enrichi en flavonoïdes de peaux d'orange

Après être parvenu à produire un extrait de peaux d'orange avec une teneur plus faible en acides gras, nous avons appliqué l'ensemble du protocole de synthèse sur cet extrait dégraissé avec un clivage au TFA pour la dernière étape de cyclisation et avec une démarche d'épuisement de cet extrait, en espérant qu'au cours du premier cycle de réaction « clic », ce qui reste d'acides gras qui aura été propargylé se lie au substrat greffé en priorité, au point de totalement ou presque totalement épuiser l'extrait en cette famille de composés. Ainsi, en reprenant le filtrat du premier cycle de CuAAC et en l'engageant dans un second cycle de synthèse sur support solide, on pourrait enfin parvenir à faire réagir des glycosides de flavonone propargylés. Mais les résultats qui ont découlé de cette expérience n'ont pas répondu à nos attentes : en LC-MS, aucun des deux produits bruts du clivage des lots distincts de résine utilisés ne possède un composé de masse correspondant à celle d'un produit provenant notamment de réactions avec un glycoside de flavonone propargylé. De plus, le fragment cyclisé non réagi durant l'étape de cycloaddition est présent dans ces deux produits et en analysant en RMN du proton les filtrats récupérés à l'issue des étapes de réaction « clic » sur support solide, les signaux caractéristiques des acides gras sont toujours distinguables sur le spectre, signe que l'extrait n'a toujours pas été épuisé en acides gras malgré un dégraissage préliminaire et plusieurs cycles de réaction.

Chapitre 6 : application de la méthodologie sur un exemple d'extrait naturel

Néanmoins, lorsque les deux produits bruts de clivage ont été analysés sur plaque CCM, nous avons pu voir que celui venant du clivage du lot de résine du deuxième cycle présentait plusieurs tâches distinguables avec une bonne intensité et des valeurs de R_f suffisamment différentes de celles d'autres tâches qui les suivent ou les précèdent. Une séparation par chromatographie sur colonne de gel de silice a alors été tentée sur ce second produit brut et a conduit à l'isolement de deux produits purs avec une très faible masse de l'ordre d'un milligramme chacun. L'analyse par RMN du proton sur le premier de ces produits purifiés n'exposa aucun signal pouvant être un de ceux d'un composé d'intérêt, ce qui rend ce produit-ci inexploitable. Au contraire, le deuxième produit présentait une assez bonne résolution (**Figure 100**) ainsi que des signaux aromatiques qui peuvent nous faire penser à ceux du substrat greffé par leur allure et leur nombre d'intégration. Un singulet à 6,55 ppm semblait indiquer qu'il pouvait s'agir d'un dérivé d'isocoumarine mais plusieurs particularités pouvaient être mises en évidence : d'abord, le déplacement des signaux aromatiques ne sont pas les mêmes que ceux observés habituellement pour ce type de produit et on constate une superposition de deux de ces signaux alors qu'il doit s'agir ici d'un produit non halogéné et que cette superposition de signaux aromatiques n'a été observée que pour des isocoumarines halogénées. De plus, il est impossible de retrouver le singulet du proton du 1,2,3-triazole qui se situe dans la même zone de déplacement chimique que les signaux aromatiques. Enfin, si les deux singulets correspondants aux groupements $-CH_2-$ devant se situer de part et d'autre du triazole n'ont pas été repérés, nous avons pu observer en revanche quatre signaux intégrant chacun pour un proton, de multiplicité complexe, sous forme de triplet de doublets ou de doublet de triplets. Ce spectre RMN du proton était de suffisamment bonne qualité pour qu'on cherche à caractériser cette molécule et ainsi apporter une réponse à ces observations. Mais après plusieurs analyses RMN du carbone en une et deux dimensions (HSQC et COSY) et même avec les dispositifs d'analyse RMN les plus optimisés à disposition, des incertitudes ont demeuré sur la structure de la molécule en question (utilisation d'un appareillage de fréquence 500 MHz au lieu de celui habituel de fréquence 400 MHz, utilisation d'un tube RMN de plus petit volume, expériences d'analyse de longue durée). Des analyses MS puis HRMS pouvaient nous laisser espérer avoir un début de réponse sur sa caractérisation mais si l'analyse MS a donné une masse de 486 unités pour la molécule qui n'entre pas en contradiction avec la possibilité que ce soit un produit issu de réactions sur un acide gras, l'analyse HRMS a délivré deux formules brutes possibles ($C_{29}H_{35}O_2N_5$ et $C_{31}H_{37}O_3N_2$) qui sont incohérentes au niveau des nombres d'atomes d'hydrogène et de carbone décomptés avec les données obtenues en RMN et qui posent question sur l'identité de ce produit. La première formule brute indiquerait que ce composé n'est pas le produit de la synthèse sur un acide gras tandis que la seconde laisserait même entendre que ce composé ne peut pas avoir de triazole sur sa structure et que, par conséquent, il ne peut s'agir d'un produit issu des réactions espérées de notre plan de synthèse. A la fin de cette thèse, ce composé isolé n'a ainsi toujours pas pu être caractérisé.

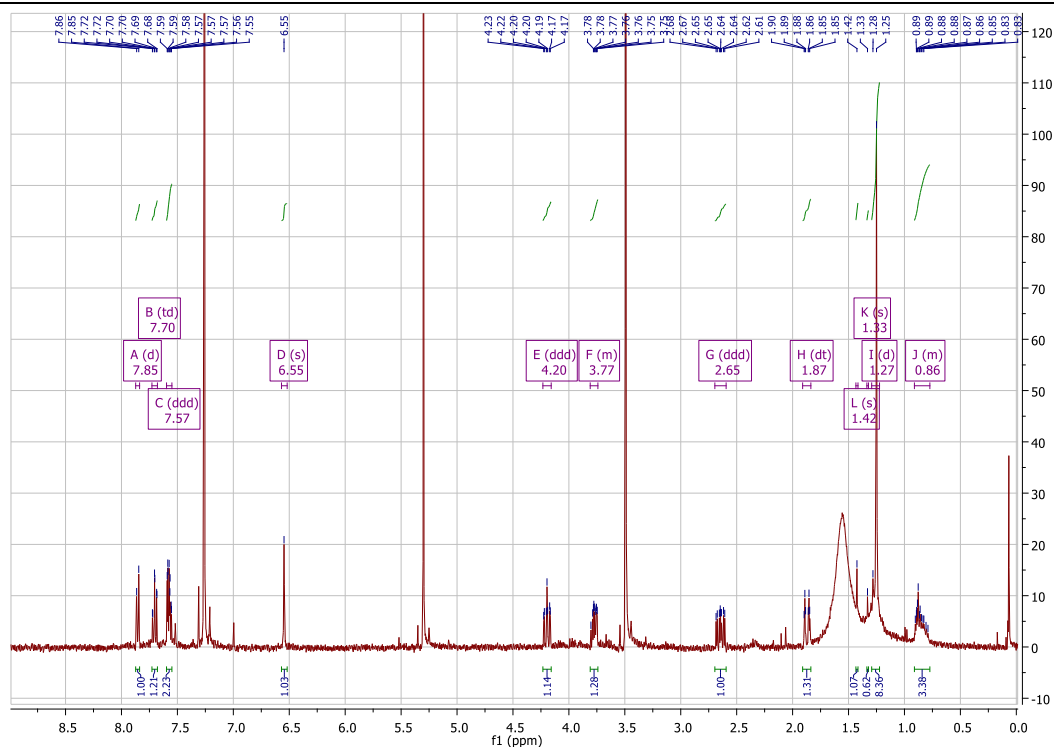


Figure 100 : spectre RMN du proton du second produit purifié après colonne de chromatographie sur le produit brut du clivage au TFA du support solide utilisé pour la synthèse avec l'extrait dégraissé et propargylé de peaux d'orange (CDCl_3 , 400 MHz)

II.C. Tentative de synthèse après étude de la propargylation de l'extrait

En cherchant d'autres explications aux problèmes rencontrés avec notre extrait que celle d'une trop grande teneur en acides gras couplée à une meilleure réactivité pour la réaction « clic », nous nous sommes demandés si ces difficultés pouvaient être aussi dus à une trop faible teneur en polyphénols propargylés. En effet, bien que les conditions optimisées de propargylation que nous avons mises au point permettent de limiter la formation de produits avec un trop haut degré de propargylation et préservent au mieux la structure globale des produits naturels d'origine, le défaut de ces conditions-ci est que la totalité des quantités de produits naturels qui peuvent être propargylés n'est pas consommée. Le corollaire de cela est que les produits formés par la propargylation sont en faible quantité et pour un type de produit propargylé avec un degré de propargylation donné, le nombre de produits différents de ce type est lui aussi faible. Pour l'illustrer à titre d'exemple, lorsque nous avons effectué la propargylation sur l'extrait dégraissé de peaux d'orange, il a été possible de former les deux dérivés monopropargylés d'hespéridine ainsi que deux dérivés de naringine, l'un monopropargylé et l'autre tripropargylé. Sur le chromatogramme des analyses LC-MS de cette manipulation (**Figure 101**), si on considère que le détecteur de l'appareillage a une sensibilité équivalente aux composés de départ et à leurs produits propargylés et donc que l'intensité des pics qui leur sont associés est proportionnelle à leur concentration dans le milieu, on peut conclure que l'intensité des pics de chacun des produits propargylés repérés n'est jamais supérieure celle de leur produit naturel d'origine et par conséquent, que la teneur en glycosides de polyphénol après propargylation reste supérieure à celles de leurs dérivés propargylés. Dans ces conditions, même si cela entre en opposition avec notre volonté de disposer de produits réactifs le moins modifiés possible après la première étape du plan de synthèse, durcir les conditions réactionnelles de cette première étape semble s'imposer pour rendre efficace la propargylation et augmenter les chances de générer des dérivés combinés d'isocoumarine et de 1,2,3-triazole à partir de glycosides de flavonone propargylés.

Chapitre 6 : application de la méthodologie sur un exemple d'extrait naturel

C'est pourquoi, en parallèle des manipulations de synthèse avec l'extrait dégraissé, nous avons réalisé quatre manipulations de propargylation avec l'extrait non dégraissé selon les conditions optimisées pour les polyphénols, en augmentant progressivement le nombre d'équivalents par rapport à l'extrait de bromure de propargyle pour étudier les moyens d'améliorer cette réaction. Comme toujours, l'analyse de l'extrait ainsi modifié a été faite par LC-MS (**Figure 101**). Et si l'évolution de la propargylation de l'extrait n'a pas été très franche en passant de 1 à 1,5 ou 2 équivalents de bromure de propargyle en induisant un plus grand nombre d'occurrences d'hespéridine monopropargylée, elle a été bien plus prononcée pour les manipulations faites avec 4 et 10 équivalents de ce réactif, comme cela est visible dans le **tableau 12**. Avec ces dernières manipulations, il a alors été possible de former non seulement plus de dérivés propargylés de l'hespéridine **126** dont encore principalement des monopropargylés mais aussi plusieurs produits de naringine avec un ou deux propargyles en plus sur leurs structures et un unique dérivé de poncirine monopropargylé. Cependant, certains de ces résultats ont de quoi surprendre car en connaissant la force de la base que l'on utilise à savoir le carbonate de potassium, nous ne devrions avoir la capacité de faire la propargylation que sur des hydroxyles aromatiques, c'est-à-dire ici tous ceux présents sur la partie aglycone des glycosides. Or certains résultats laissent entendre que des hydroxyles de la partie glycone de ces métabolites ont pu être touchés : en effet, en restant dans l'hypothèse précédente, avec de l'hespéridine **126** ou de la naringine **127**, nous n'aurions dû avoir que deux dérivés monopropargylés et un seul dérivé dipropargylé au maximum pour chacun de ces produits naturels. De plus et d'après les chromatogrammes associés à ces trois manipulations, si l'augmentation du nombre d'équivalents de bromure de propargyle a bien permis d'augmenter la consommation des glycosides de départ, elle n'a toujours pas conduit à la conversion de l'intégralité de ces composés de départ.

Chapitre 6 : application de la méthodologie sur un exemple d'extrait naturel

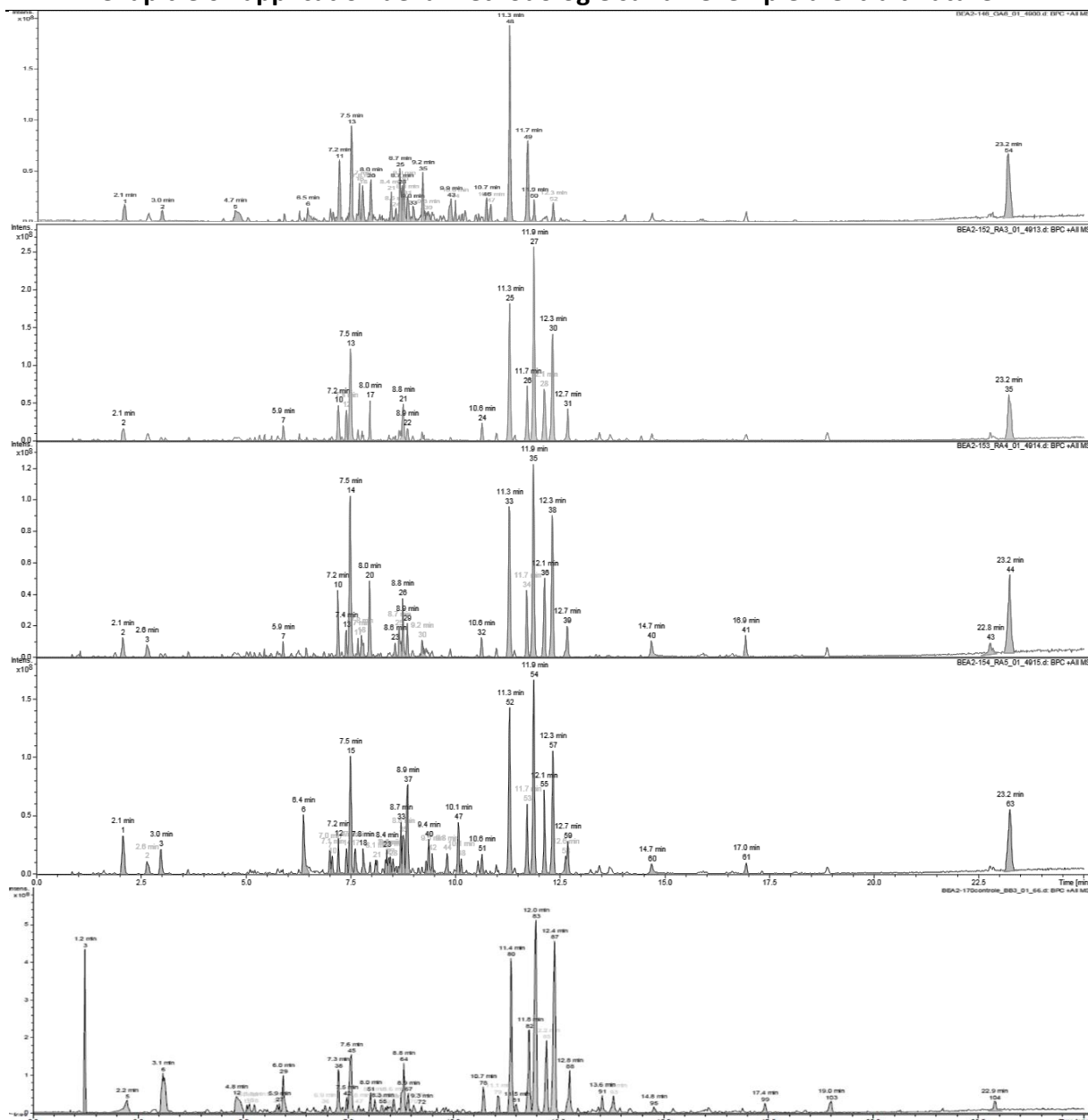


Figure 101 : de haut en bas, chromatogrammes de l'analyse LC-MS en mode ESI+ de l'extrait enrichi en flavonoïdes de peaux d'orange après propargylation avec 1 ; 1,5 ; 2 ; 4 et 10 équivalents de bromure de propargyle

Tableau 12 : glycosides de polyphénol détectés par LC-MS dans l'extrait de peaux d'orange après propargylation avec variation du nombre d'équivalents de bromure de propargyle

Nb éq HC≡C-CH ₂ -Br	Hespéridine avec n propargyle(s)					Naringine avec n propargyle(s)					Poncirine avec n propargyle(s)				
	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4
1,5	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
2	1	3	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
4	1	5	2	1	0	1	3	3	0	0	1	1	0	0	0
10	1	3	1	0	1	1	1	0	1	0	1	2	0	0	0

L'extrait modifié avec quatre équivalents de bromure de propargyle étant un de ceux qui possèdent la plus haute teneur en produits naturels propargylés, ce dernier a été utilisé pour un nouvel essai de synthèse sur résine avec les mêmes conditions de réaction « clic » et de cyclisation que précédemment et avec une tentative d'épuisement de cet extrait par la réalisation d'un deuxième cycle de cycloaddition. Mais les résultats affichés furent aussi décevants que celles des précédentes manipulations de ce type : en LC-MS, aucune masse parmi celles qui ont été détectées sur les produits bruts du clivage des deux lots distincts de

résine n'a conduit à identifier un constituant de ces produits bruts comme le résultat de la synthèse sur un glycoside de flavonone propargylé. A l'opposé, l'azoture cyclisé a été détecté au sein de ces deux produits bruts. De même, cette manipulation a aussi été réalisée avec l'extrait propargylé avec dix équivalents de bromure de propargyle et sans chercher à l'épuiser et les conclusions qui en ont été tirées furent similaires.

Conclusion

Pour compléter la preuve de concept de notre méthodologie de modification chimique d'extraits naturels avec utilisation d'un support solide, nous avons choisi d'appliquer les plans de synthèse étudiés précédemment sur un extrait de peaux d'orange enrichi en flavonoïdes, préparé par macération dans du méthanol suivi d'une VLC. En plus des flavonoïdes détectables par LC-MS soit trois glycosides majoritaires, seuls polyphénols réactifs en l'état dans le cadre de nos réactions de synthèse, et de nombreux polyméthoxyflavones, la présence d'acides gras a aussi été décelée par RMN du proton. Ces derniers ne sont, en revanche, pas détectés par LC-MS en raison d'un temps de rétention trop long dans des conditions d'analyse usuelles.

Au stade de l'écriture de ce manuscrit, l'application de la voie de synthèse « clic » de dérivés d'isocoumarine sur cet extrait n'a pas permis d'aboutir à la modification souhaitée des flavonoïdes : en utilisant une quantité stœchiométrique de catalyseur au cuivre par rapport à l'extrait, s'il a été visiblement possible de faire réagir des glycosides propargylés sur le substrat greffé sur support solide à une seule reprise, cet état de fait ne s'est pas reproduit lors d'autres manipulations du même genre et nous avons observé que ce sont les esters de propargyle dérivés des acides gras qui sont surtout en mesure de réagir. De plus, aucune des solutions que nous avons mis en œuvre jusqu'à maintenant pour résoudre ce problème, que ce soit la *O*-déméthylation préalable de l'extrait pour convertir les polyméthoxyflavones en composés hydroxylés réactifs, un dégraissage partiel de l'extrait pour abaisser la teneur en acides gras ou une augmentation du nombre d'équivalents en bromure de propargyle pour faciliter la propargylation des glycosides n'ont aidé à améliorer la réactivité vis-à-vis des polyphénols visés. Et à cela s'ajoute le fait que malgré une réactivité manifeste sur des esters de propargyle, la réaction « clic » ne se produit pas sur l'intégralité des sites réactifs du support solide préparé.

Deux solutions pourraient encore être exploitées pour essayer d'inverser la tendance actuelle : d'un côté, nous pourrions effectuer un plus grand nombre de cycles de synthèse sur support solide avec l'extrait de sorte à d'abord faire réagir les esters de propargyle provenant d'acides gras jusqu'à leur épuisement, après quoi le champ serait libre pour pouvoir lier les glycosides propargylés au substrat greffé sur support solide. Cette solution aurait l'avantage de pouvoir utiliser l'intégralité de l'extrait mais en contrepartie, une quantité importante de résine préparée serait consommée en proportion avec celle d'extrait, en particulier en cas de haute teneur en acides gras. D'un autre côté, nous pourrions pousser la modification préalable de l'extrait jusqu'à un dégraissage totale pour éliminer les acides gras. Si, dans ces dernières conditions, le problème de la compétition entre les acides gras et les flavonoïdes serait réglé, il est probable que ce dégraissage entraîne une perte de matière pouvant aller jusqu'à la perte totale de composés pourtant valorisables et présents en faible teneur dans l'extrait d'origine.

Conclusion générale et perspectives

L'ambition de ces travaux de thèse a été de construire une nouvelle méthodologie de modification chimique d'extraits naturels destinée à une application sur des extraits de plantes alpines, où l'innovation majeure par rapport à ce qui a déjà été rapporté dans la littérature est l'utilisation d'un support solide comme outil d'aide à la synthèse d'un pharmacophore sur la structure des produits naturels. Pour mettre au point cette méthodologie, les travaux se sont concentrés sur une preuve de concept qui, en pratique, repose sur la synthèse de dérivés d'isocoumarine en partant d'un substrat greffé sur support solide et de produits propargylés, formés le plus souvent à partir de composés hydroxylés.

Pour cette preuve de concept, deux plans de synthèse de dérivés d'isocoumarine ont été testés sur un ou plusieurs composés monopropargylé(s) pur(s) dans un premier temps puis sur des milieux comprenant différents composés mono- ou polyfonctionnalisés qui doivent être propargylés avant la synthèse sur support solide et enfin sur un exemple d'extrait naturel déjà caractérisé et facile à obtenir. Dans le premier de ces deux plans, l'isocoumarine et la molécule à modifier sont directement liés l'un à l'autre après notamment un couplage de Sonogashira tandis que dans l'autre, ce lien se fait par l'intermédiaire d'un 1,2,3-triazole. Ces deux plans de synthèse n'ont pas conduit à la même progression dans la construction de la preuve de concept : avec la voie de synthèse « Sonogashira », l'enchaînement de l'étape de propargylation et de celle du couplage de Sonogashira a pu être appliqué sans problème tandis que toute synthèse à partir de polyphénols a été impossible. En revanche, avec la voie de synthèse « clic », il a toujours été possible d'aller jusqu'au terme de la démarche aussi bien en partant de monophénols qu'avec des polyphénols. Néanmoins, en application sur un extrait de peaux d'orange, la synthèse de dérivés d'isocoumarine selon cette même voie est visiblement non quantitative et se produit surtout sur des acides gras, une famille de composés non recherchés a priori et pour laquelle nous avons des difficultés de détection en LC-MS, et ce au détriment des flavonoïdes, une famille de produits naturels que nous souhaiterions, au contraire, mettre en avant. Les problèmes de réactivité rencontrés pour les deux plans de synthèse et le temps nécessaire à la recherche de solutions pour les surmonter a fait que le travail de thèse n'a pas pu aller au-delà de la construction de cette preuve de concept, contrairement aux ambitions initiales. Et au stade de l'écriture de ce manuscrit, en incluant l'application de la méthodologie comme étape finale de la construction de la preuve de concept, celle-ci n'est pas encore tout à fait aboutie.

En conséquence, les perspectives qui sont ouvertes pour ce sujet de recherche sont nombreuses et variées : à court terme, ces perspectives consistent surtout en l'aboutissement de la preuve de concept, avec une application réussie reproductible sur l'extrait de peaux d'orange qui nécessitera de faire des adaptations concernant la constitution de l'extrait (dégraissage préliminaire avant les premières modifications) ou les différentes étapes de réaction intégrées au processus de la modification chimique lorsqu'il s'agit de l'application sur extrait naturel.

A moyen terme, une fois que la preuve de concept de la méthodologie sera bouclée, il sera alors enfin possible de l'appliquer sur des extraits naturels de plantes issues de la flore alpine, dont les particularités phytochimiques viennent des conditions environnementales dans lesquelles elles vivent. En effet, ces conditions hostiles, en particulier celles climatiques, qui peuvent agir de manière néfaste sur la plante et sa croissance induisent un stress abiotique, ce dont nous avons eu l'occasion de parler dans le premier chapitre. Dans le cas des plantes alpines, ce stress abiotique est surtout un stress oxydatif dû à des rayonnements du soleil

Conclusion générale et perspectives

(dont ceux ultraviolets) plus intenses à haute altitude qu'en plaine [350,355]. Les conséquences sont d'une part la favorisation de l'apparition d'espèces radicalaires libres délétères pour l'ADN de la plante et d'autre part, en lien avec la baisse des températures et de la teneur en dioxyde de carbone à haute altitude, un phénomène de ralentissement des processus de photosynthèse, qui est nommé photoinhibition [350,356]. Pour pallier à ces phénomènes, les plantes s'adaptent notamment en biosynthétisant des métabolites secondaires antioxydants, photoprotecteurs ou régulateurs de l'ensoleillement comme les flavonoïdes, les stilbènes, les lignanes ou les tannins ainsi que les alcaloïdes dérivés de tryptophane, des isoquinolizidines, des anthocyanines, des acides phénoliques, des carotènes ou encore l'acide ascorbique et le glutathion (**Figure 102**) [350,355]. Ce seront toutes ces familles de composés qu'on cherchera à faire réagir en priorité.

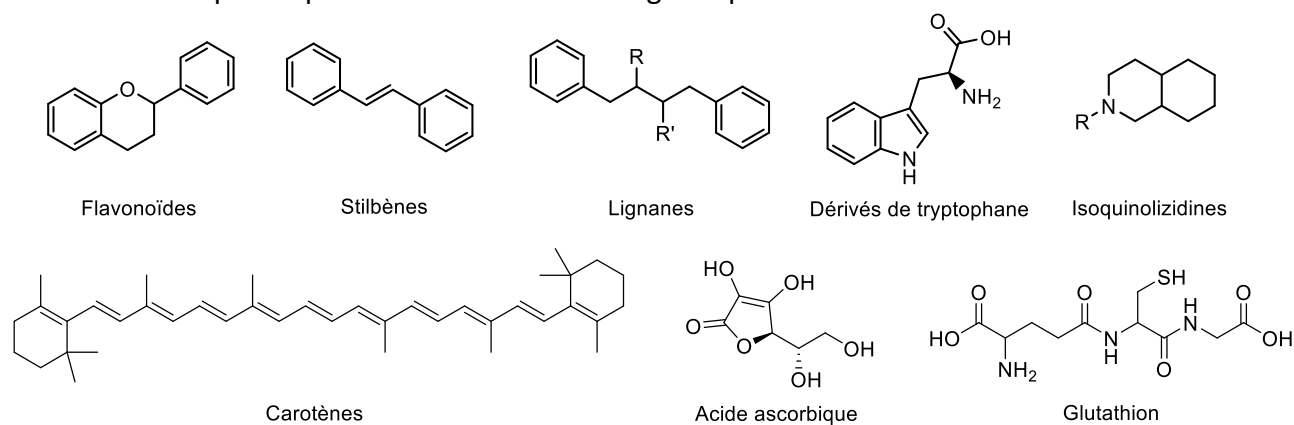


Figure 102 : structures de composés et de familles de composés biosynthétisées favorablement chez les plantes de haute altitude

De plus, les extraits naturels de plantes alpines sont d'autant plus un choix pertinent pour les applications finales que nous pouvons récolter ce type de plantes (avec l'aide de botanistes spécialisés dans cette flore pour la reconnaissance des espèces) dans les environs du Jardin du Lautaret, un jardin botanique spécialisé dans la culture d'espèces végétales montagnardes situé à une heure et demie de route du campus universitaire, au col du Lautaret, dans les Hautes-Alpes. Et bien que l'application sur ce type d'extrait n'ait pas pu se faire en pratique dans le temps de la thèse, une première réflexion a déjà été menée sur les extraits qui pourraient être utilisés en choisissant ceux de plantes alpines que le groupe de recherche de mes encadrants ont déjà caractérisés [357] et qui présentent un profil phytochimique intéressant pour la synthèse de dérivés d'isocoumarine selon la voie « clic ». En voulant manipuler des extraits naturels qui, comme pour l'extrait de peaux d'orange, possèdent une haute teneur en polyphénols et, à l'opposé de ce même extrait de peaux d'orange, une faible teneur en acides gras, notre choix s'était même déjà arrêté sur trois extraits : il s'agit de ceux éthanoliques de trèfle alpin (*Trifolium alpinum* L.), d'astragale faux-sainfoin (*Astragalus onobrychis* L.) et d'astragale de Montpellier (*Astragalus monspessulanus* L.) (**Figure 103**). Ces premières applications à des extraits de plantes alpines seront aussi l'occasion de tester la pertinence sur le plan pharmacologique de l'apport de cette méthodologie pour la découverte de nouveaux composés bioactifs par leur isolement au terme d'un fractionnement bioguidé des extraits alors modifiés.

Conclusion générale et perspectives



Figure 103 : de gauche à droite, parties aériennes de *Trifolium alpinum* L., *Astragalus onobrychis* L., *Astragalus monspessulanus* L. [357]

Enfin, sur le long terme, les axes de travail peuvent, là encore, s'articuler autour de deux points : le premier est la recherche d'une synthèse alternative de dérivés d'isocoumarine qui ne serait pas soumise aux problèmes rencontrés durant l'étape du couplage de Sonogashira ou de la réaction « clic ». Si on se tient au premier plan de synthèse présenté dans ce manuscrit, l'alternative la plus simple serait en quelque sorte d'inverser l'ordre de la survenue de la réaction de substitution et le couplage de Sonogashira sur l'ensemble de la voie de synthèse (**Schéma 150**) : de l'acide 2-(3-bromoprop-1-yn-1-yl)benzoïque greffé sur résine (substrat formé soit *in situ* sur le support solide, soit en solution avant greffage) serait mis à réagir avec les produits naturels de l'extrait dans les conditions de la réaction de Williamson pour donner la même structure intermédiaire que dans le premier plan de synthèse. Ne reste alors plus qu'à effectuer la cyclisation comme précédemment.

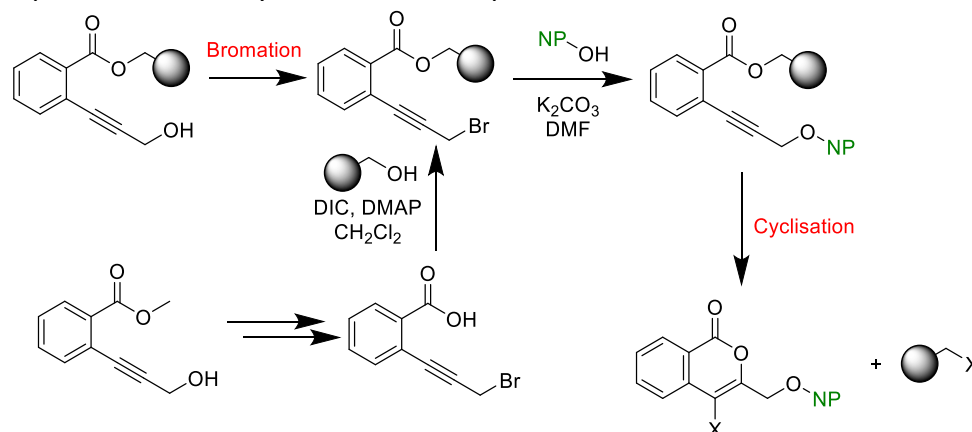


Schéma 150 : proposition de synthèse alternative sur support solide de dérivés d'isocoumarine

D'autre part, lorsque la synthèse de dérivés d'isocoumarine aura été largement éprouvée sur des extraits de plantes alpines (en ayant éventuellement réalisé au passage la synthèse de dérivés d'isocoumarine portant différents substituants sur la structure du pharmacophore), il pourra être question d'envisager l'ajout d'autres pharmacophores sur des produits naturels par cette même méthodologie, en regardant en priorité la synthèse d'hétérocycles qui nécessite un matériel proche de celui des isocoumarines et des phthalides. A titre d'exemple, nous pouvons nous inspirer de la synthèse sur support solide de dérivés d'indole ou de benzothiophènes qui ont pu être déjà décrits [358,359], qui peut être adapté à l'utilisation de la résine de Wang et qui peut nous permettre d'employer comme précédemment des éthers de propargyle (**Schéma 151**).

Conclusion générale et perspectives

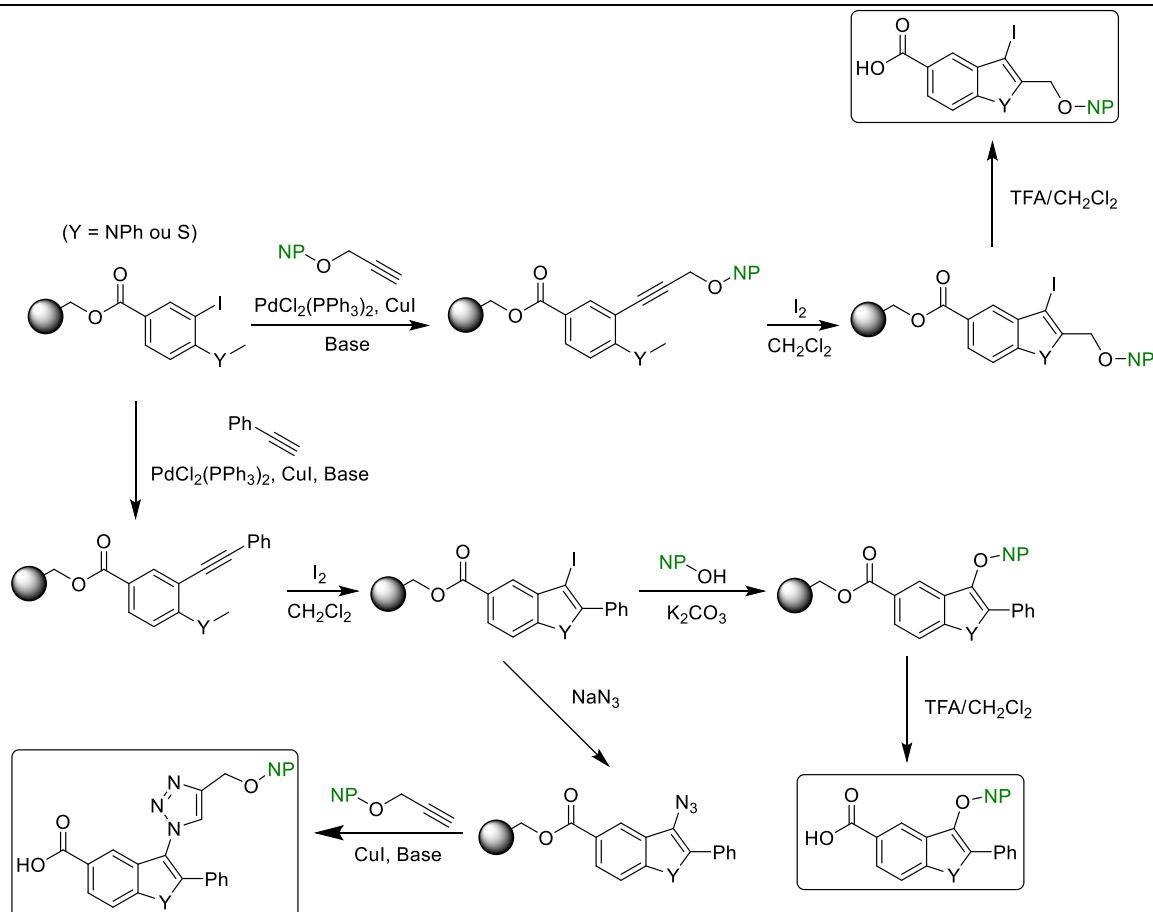


Schéma 151 : proposition de synthèse sur support solide de dérivés d'indole et de benzothiophène [358,359]

En bref, si le travail sur la technique de modification chimique d'extraits naturels avec utilisation d'un support solide s'est finalement concentré que sur des aspects purement méthodologiques et de synthèse organique générale, les enseignements qu'auront apporté l'ensemble des manipulations réalisées durant cette thèse ouvre un large champ des possibles pour de futures études sur cette méthodologie. Ces dernières contribueront probablement à terme à renforcer la pertinence de cette technique de synthèse de molécules bioactives originales qui a, par le passé, conduit à l'isolement de plusieurs produits naturels modifiés avec un important effet biologique et qui reste encore, à l'heure d'aujourd'hui, utilisée dans la durée que par un petit nombre de groupes de recherches.

Partie expérimentale

Materials and general methods

Commercially available reagents and solvents were obtained from BLDPharm, Carl Roth, Cooper, Eurisotop, Thermo Fisher Scientific, Merck, TCI and VWR and were used without further purification. Wang polystyrene resins were purchased from Merck and Carl Roth. The stirring of the solid-phase reactions was carried out on a rotator from Fisher Brand. The completion of the reactions in solution was monitored by analytical thin-layer chromatography (TLC) performed on silica gel ALUGRAM® Xtra SIL G / UV₂₅₄ (Macherey-Nagel) and were visualized under 254 nm light or by spraying with a solution of para-anisaldehyde (5 mL of para-anisaldehyde, 1 mL of AcOH and 5 mL of sulfuric acid in 90 mL of EtOH) or by spraying with a solution of cerium(IV) sulfate (10 g of cerium(IV) sulfate, 25 g of phosphomolybdic acid and 80 mL of sulfuric acid in 1 L of water) followed by heating. Column chromatographies were carried out on silica gel 60 M (0.04 – 0.063 mm, Macherey-Nagel). Preparative layer chromatography was carried out on silica gel 60 PF₂₅₄ containing gypsum (Merck). NMR spectra were recorded at the NanoBio chemistry platform (ICMG UAR 2607), on an Avance 400 MHz Bruker or an Avance III 500 MHz Bruker instrument, using CDCl₃, acetone-d₆ or CD₃OD solutions. Splitting patterns of ¹H spectra are designated as follows: s, singlet; d, doublet; t, triplet; q, quartet; m, multiplet; br, broad. Chemical shifts (δ) are reported in parts per million (ppm) relative to solvent signal (CDCl₃: δ = 7.26 ppm (¹H), 77.16 ppm (¹³C); acetone-d₆: δ = 2.05 ppm (¹H), 29.84 ppm and 206.26 ppm (¹³C); CD₃OD: δ = 3.31 ppm (¹H), 49.00 ppm (¹³C)) [360]. Mass spectra and LC-MS analysis were performed at the NanoBio chemistry platform (ICMG UAR 2607), on an amaZon speed Bruker instrument with a Kinetex C18 2.6 μ m 100 A Phenomenex column (150 x 3 mm) heated at 30 °C, by means of a linear gradient from 5 to 95% of eluent B in A over 20 min followed by a linear gradient from 95 % to 100% of eluent B in A over 5 min (flow rate: 0.6 mL/min). Eluent A: 0.1% aqueous formic acid; eluent B: acetonitrile/0.1% formic acid. Samples for mass spectra and LC-MS spectra were prepared at a concentration of 5.10⁻⁴ M with an injection volume of 1 μ L. For the LC-MS analysis, only the detected compounds which could have been identified are described in this experimental part. For the propargylation of polyphenol(s), the number of equivalents is in relation with the molar quantity of the studied molecule(s). For the *O*-demethylation of natural extracts, the molar amounts were estimated considering heptamethoxyflavone as the only constituent of the extract. For the solid-phase synthesis on *O*-demethylated extracts, the molar amounts were estimated considering eriodictyol as the only constituent of the extract. For the solid-phase synthesis on non-*O*-demethylated extracts, the molar amounts were estimated considering hesperidin as the only constituent of the extract.

General procedure A1 for the addition of propargyl on monofunctionalized compounds in acetone

To a stirred solution of the monofunctionalized compound (1 eq) in dry acetone was added anhydrous K₂CO₃ (4 eq). The mixture was stirred at r.t. for 5 min then propargyl bromide (80 wt. % in toluene, 1.2 eq) was added dropwise and the all was refluxed overnight. The reaction mixture was filtered and the filtrate was concentrated under reduced pressure. The obtained crude product was purified by silica gel column chromatography to afford the pure product.

General procedure A2 for the addition of propargyl on monofunctionalized compounds in DMF

The following procedure was adapted from [312]. To a stirred solution of the monofunctionalized compound (1 eq) in DMF (0.065 mol/L at the end of the preparation) was

Partie expérimentale

added anhydrous K_2CO_3 (4 eq). The mixture was stirred at r.t. for 5 min then propargyl bromide (80 wt. % in toluene, 1 eq) which was diluted in DMF was added dropwise. The reaction mixture was stirred at r.t. overnight and then was concentrated under reduced pressure and the obtained crude product was purified by silica gel column chromatography to afford the pure product.

General procedure A3 for the addition of propargyl on polyfunctionalized compounds

The following procedure was adapted from [312]. To a stirred solution of the monofunctionalized compound (1 eq) in DMF (0.065 mol/L at the end of the preparation) was added anhydrous K_2CO_3 (4 eq). The mixture was stirred at r.t. for 5 min then propargyl bromide (80 wt. % in toluene, 1 eq) which was diluted in DMF was added dropwise. The reaction mixture was stirred at r.t. for 2 h and then was concentrated under reduced pressure and the composition of the obtained crude product was analyzed by LC-MS.

General procedure B1 for the Sonogashira coupling

The following procedure was adapted from [337]. To a nitrogen-bubbled solution of methyl 2-iodobenzoate (1 eq) in DMF (3 mL) were successively added the propargyl derivative (1 eq), $PdCl_2(PPh_3)_2$ (0.05 eq), CuI (0.1 eq) and iPr_2NH (3 mL). The mixture was stirred at r.t. overnight and then the reaction mixture was diluted with Et_2O (10 mL) and washed with a saturated solution of NH_4Cl (25 mL) and water (2 X 25 mL). The recovered organic phase was dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated under reduced pressure. The obtained crude product was purified by silica gel column chromatography to afford the pure product.

General procedure B2 for the solid-phase Sonogashira coupling

The following procedure was adapted from [118]. Resin **56** (1 eq) was swollen in DMF (0.025 L/g of resin) in a fritted cartridge for 30 min and then the propargyl derivative (10 eq), $PdCl_2(PPh_3)_2$ (0.2 eq), CuI (0.1 eq) and iPr_2NH or Et_3N (0.025 L/g of resin) were successively added. The reaction mixture was stirred at r.t. overnight. The resin was filtered and washed with DMF (2 X 10 mL), H_2O/DMF (1:1, 2 X 10 mL), 5 % DIPEA in DMF (2 X 10 mL), MeOH (10 mL), DMF (10 mL), MeOH (2 X 10 mL) and CH_2Cl_2 (2 X 10 mL) and dried under vacuum. The completion of the coupling can be verified by the cleavage of a sample of resin with a solution of TFA and CH_2Cl_2 (1:1).

General procedure C1 for the cyclisation with $CuBr_2$

The following procedure was adapted from [338]. Methyl 2-(alk-1-ynyl)benzoate (1 eq) was suspended in anhydrous DCE (5 mL) and then $CuBr_2$ (2 eq) and dicyclohexylamine (0.1 eq) were added. The mixture was heated to 80 °C for 1.5 h. After cooling, the reaction mixture was diluted with EtOAc (10 mL), filtered on celite and the filtrate was concentrated under reduced pressure. The obtained crude product was purified by silica gel column chromatography to afford the pure product.

General procedure C2 for the solid-phase cyclisation with $CuBr_2$ or $CuCl_2$

The following procedure was adapted from [118]. Polymer-bound 2-(alk-1-ynyl)benzoate (1 eq) was swollen in anhydrous DCE (0.03 L/g of resin) in a fritted cartridge for 30 min, filtered and suspended in anhydrous DCE (0.03 L/g of resin) in a round-bottom flask. $CuBr_2$ or $CuCl_2$ (4 eq) and dicyclohexylamine (0.1 eq) were added to the suspension and the reaction mixture was stirred and heated to 65 °C overnight. After cooling, the resin was filtered and washed with CH_2Cl_2 (3 X 3 mL). The filtrate was filtered on celite and then concentrated under reduced pressure.

Partie expérimentale

General procedure C3 for the solid-phase cyclisation with ICl

The following procedure was adapted from [118]. Polymer-bound 2-(alk-1-ynyl)benzoate (1 eq) was swollen in CH₂Cl₂ (0.03 L/g of resin) in a fritted cartridge, filtered and resuspended in CH₂Cl₂ (0.03 L/g of resin). ICl (1.2 eq) was added to the suspension and the reaction mixture was stirred at r.t. overnight. The resin was filtered and washed with CH₂Cl₂ (3 X 3 mL). The filtrate was washed with an aqueous solution of Na₂S₂O₃, dried over MgSO₄, filtered successively on fritted glass and on celite and concentrated under reduced pressure.

General procedure C4 for the resin cleavage with TFA

The following procedure was adapted from [118]. A sample of resin (15 to 25 mg) was suspended in a solution of TFA and CH₂Cl₂ (1:1, 1 mL) in a fritted cartridge. The suspension was stirred at r.t. for 1 h. The resin was filtered and washed with CH₂Cl₂ (3 X 3 mL) and the filtrate was concentrated under reduced pressure.

General procedure D1 for the copper-catalyzed azide-alkyne cycloaddition (CuAAC)

The following procedure was adapted from [345]. To a nitrogen-bubbled solution of the azide (1 eq) in THF were successively added the alkyne (1.5 eq), CuI (0.1 eq) and Et₃N (1.2 eq). The mixture was stirred at r.t. overnight and then was diluted in EtOAc and washed with a saturated solution of NH₄Cl and brine. The recovered organic phase was dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The obtained crude product was purified by silica gel column chromatography to afford the pure product.

General procedure D2 for the solid-phase copper-catalyzed azide-alkyne cycloaddition (CuAAC) with propargylyed products from monofunctionalized compounds

Resin **65** (1 eq) was swollen in DMF or THF (0.05 L/g of resin) in a fritted cartridge for 30 min, filtered, suspended in DMF or THF (0.05 L/g of resin) and nitrogen-bubbling degassed for 5 min. Propargylyed product from monofunctionalized compound (5 eq), CuI (0.1 eq) and Et₃N (3 eq) were added to the suspension and the reaction mixture was stirred at r.t. overnight. The resin was filtered and washed with DMF or THF (2 X 5 mL), H₂O/DMF (1:1, 2 X 5 mL), 5 % DIPEA in DMF (2 X 5 mL), MeOH (5 mL), DMF (5 mL), MeOH (2 X 5 mL) and CH₂Cl₂ (2 X 5 mL) and dried under vacuum. The occurrence of the reaction can be verified by the cleavage of a sample of resin following the general procedure **C4**.

General procedure D3 for the solid-phase copper-catalyzed azide-alkyne cycloaddition (CuAAC) with propargylyed products from polyfunctionalized compounds

Resin **65** (1 eq) was swollen in DMF (0.05 L/g of resin) in a fritted cartridge for 30 min, filtered, suspended in DMF and nitrogen-bubbling degassed. Propargylyed product from polyfunctionalized compound (5 eq), CuI (5.1 eq) and Et₃N (3 eq) were added to the suspension and the reaction mixture was stirred at r.t. overnight. The resin was filtered and washed with DMF (2 X 5 mL), H₂O/DMF (1:1, 2 X 5 mL), 5 % DIPEA in DMF (2 X 5 mL), MeOH (5 mL), DMF (5 mL), MeOH (2 X 5 mL) and CH₂Cl₂ (2 X 5 mL) and dried under vacuum. Then a saturated solution of disodium EDTA (1 mL) and DMF (1 mL) were added to the resin and the suspension was stirred at r.t. for 10 min. The resin was filtered and washed with H₂O (3 X 2 mL), DMF (3 X 2 mL), MeOH (3 X 2 mL), CH₂Cl₂ (3 X 2 mL) and dried under vacuum. The occurrence of the reaction can be verified by the cleavage of a sample of resin following the general procedure **C4**.

General procedure E for the “one-pot” solid-phase synthesis of 3-((1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-1*H*-isochromen-1-one derivatives with hydroxylated compounds

Hydroxylated compounds (5 eq) were propargylyated in DMF following the general procedure **A2** or **A3**. After the end of the reaction time or the completion of the reaction, the reaction

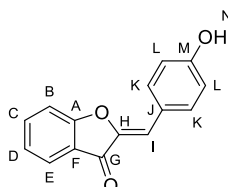
Partie expérimentale

mixture was concentrated on reduced pressure to the half of its initial volume. Then the solution was stirred in a fritted cartridge with previously DMF-swollen and filtered resin **65** (1 eq). The cycloaddition reaction and its treatment were realized following the general procedure **D3**. Then the cyclization reaction was realized following the general procedure **C2** (for 4-chloroisocoumarin or 4-bromoisocoumarin derivatives), **C3** (for 4-iodoisocoumarin derivatives) or **C4** (for 4-non-halogenated isocoumarin derivatives).

(Z)-2-(4-hydroxybenzylidene)benzofuran-3(2H)-one **2**

Formula: $C_{15}H_{10}O_3$

MW = 238.24 g/mol



1st method: The following procedure was adapted from [279]. A suspension of 3-coumaranone (536 mg, 4.0 mmol, 1 eq) and 4-hydroxybenzaldehyde (538 mg, 4.4 mmol, 1.1 eq) in water (10 mL) was prepared. The mixture was refluxed overnight. After completion, the mixture was cooled at r.t. and stirred for 1 h. Then the mixture was filtered and the solid was washed with water (2 X 10 mL) and dried to afford the desired compound (354 mg, yield: 37 %) as a yellow-orange solid. The product was pure enough to be used without any purification.

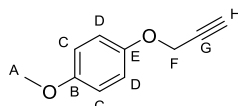
2nd method: The following procedure was adapted from [281,282]. 3-coumaranone (501 mg, 3.7 mmol, 1.05 eq) and 4-hydroxybenzaldehyde (433 mg, 3.5 mmol, 1 eq) were dissolved in CH_2Cl_2 (20 mL) and the obtained mixture was stirred at r.t. for 5 min. Al_2O_3 (7,24 g, 70 mmol, 20 eq) was added and the mixture was stirred at r.t. overnight. Then the mixture was filtered and the solid residue was washed with CH_2Cl_2 (2 X 20 mL). The filtrate was removed and the solid residue was suspended in acetone (40 mL), filtered and washed with acetone (5 X 20 mL). The filtrate was concentrated on reduced pressure to afford the desired compound (559 mg, yield: 75 %) as a yellow-orange solid. The product was pure enough to be used without any purification.

Rf = 0.41 (cyclohexane/EtOAc, 5:1); 1H NMR (400 MHz, acetone- d_6) δ (ppm): 7.93 (d, J = 5,8 Hz, 2H, H^K), 7.80-7.75 (m, 2H, H^C , H^E), 7.51-7.47 (m, 1H, H^B), 7.34-7.28 (m, 1H, H^D), 6.99 (d, J = 5,8 Hz, 2H, H^I), 6.83 (s, 1H, H^J). Analytical data were in accordance with the literature [361].

4-propargyloxyanisole **7**

Formula: $C_{10}H_{10}O_2$

MW = 162.19 g/mol



The compound was synthesized following the general procedure **A1** starting from 4-methoxyphenol (2.000 g, 16.1 mmol) in 60 mL of dry acetone. The purification of the crude oil by silica gel column chromatography (cyclohexane/EtOAc 98:2) afforded the desired compound (2.468 g, yield: 94 %) as a yellowish liquid.

Rf = 0.56 (cyclohexane/EtOAc 19:1); 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 6.96-6.91 (m, 2H, H^D), 6.88-6.82 (m, 2H, H^C), 4.64 (d, J = 2.4 Hz, 2H, H^F), 3.77 (s, 3H, H^A), 2.51 (t, J = 2.4 Hz, 1H, H^H). Analytical data were in accordance with the literature [362].

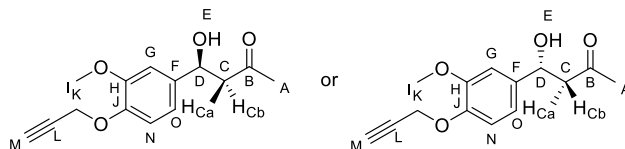
Partie expérimentale

$J = 2.3$ Hz, 2H, H^I), 3.90 (s, 3H, H^E), 2.53 (t, $J = 2.3$ Hz, 1H, H^L), 2.36 (s, 3H, H^A). Analytical data were in accordance with the literature [364].

4-hydroxy-4-(3-methoxy-4-(2-propyn-1-yloxy)phenyl)-3-butan-2-one **11**

Formula: C₁₄H₁₆O₄

MW = 248.28 g/mol

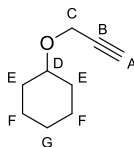


Rf = 0.22 (cyclohexane/EtOAc 2:1); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 6.99 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, H^N), 6.94 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H, H^G), 6.85 (dd, $J = 8.2, 2.0$ Hz, 1H, H^O), 5.09 (dd, $J = 9.1, 3.3$ Hz, 1H, H^D), 4.74 (d, $J = 2.4$ Hz, 2H, H^K), 3.87 (s, 3H, H^I), 2.91 (br. s, 1H, H^E), 2.88 (dd, $J = 17.5, 9.1$ Hz, 1H, H^{Ca}), 2.79 (dd, $J = 17.5, 3.3$ Hz, 1H, H^{Cb}), 2.49 (t, $J = 2.4$ Hz, 1H, H^M), 2.19 (s, 3H, H^A); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 209.2 (C^B), 150.0 (C^H), 146.3 (C^J), 137.1 (C^F), 117.8 (C^O), 114.5 (C^N), 109.5 (C^G), 78.7 (C^L), 75.9 (C^M), 69.8 (C^D), 57.0 (C^K), 56.0 (C^I), 52.1 (C^C), 30.9 (C^A); LC-MS (ESI-) m/z (%): 255 [M+Li]⁻ (16), 247 [M-H]⁻ (46), 229 [M-H₂O-H]⁻ (81), 207 (71), 191 (100); HRMS (ESI-) m/z calcd for C₁₄H₁₅O₄ [M-H]⁻: 247.0976, found: 247.0971.

Propargyloxycyclohexane **13**

Formula: C₉H₁₄O

MW = 138.21 g/mol



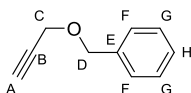
The following procedure was adapted from [365]. Cyclohexanol (400 mg, 4.0 mmol, 1 eq) and HMPA (0.7 mL, 4.0 mmol, 1 eq) were dissolved in dry THF (12 mL) and the solution was cooled at 0 °C. *n*-BuLi (2.5 M in toluene, 1.75 mL, 4.4 mmol, 1.1 eq) was added dropwise to the mixture and the reaction mixture was stirred at 0 °C for 5 min. Propargyl bromide (80 wt. % in toluene, 0.36 mL, 4.0 mmol, 1 eq) was slowly added. The mixture was stirred at r.t. overnight, quenched with water (5 mL) and then extracted with CH₂Cl₂ (3 X 25 mL). The combined organic phases were washed with brine (2 X 10 mL), dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude oil was purified by silica gel column chromatography (cyclohexane/CH₂Cl₂ 2:3) to afford the desired compound (90 mg, yield: 16 %) as a yellow oil.

Rf = 0.46 (cyclohexane/CH₂Cl₂ 2:3); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 4.17 (d, $J = 2.4$ Hz, 2H, H^C), 3.51-3.43 (m, 1H, H^D), 2.38 (t, $J = 2.4$ Hz, 1H, H^A), 1.95-1.88 (m, 2H, H^E), 1.77-1.69 (m, 2H, H^E), 1.57-1.49 (m, 1H, H^G), 1.33-1.20 (m, 5H, H^F, H^G). Analytical data were in accordance with the literature [365].

Propargyloxymethylbenzene **14**

Formula: C₁₀H₁₀O

MW = 146.19 g/mol



The following procedure was adapted from [303]. Benzylic alcohol (500 mg, 4.6 mmol, 1 eq) was dissolved in THF (5 mL) and the obtained solution was cooled at 0 °C. NaH (60 % dispersion in mineral oil, 223 mg, 5.6 mmol, 1.2 eq) was added and the solution was stirred for 5 min.

Partie expérimentale

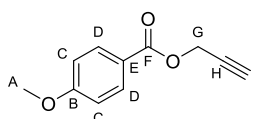
Then propargyl bromide (80 wt. % in toluene, 0.60 mL, 5.6 mmol, 1.2 eq) was added dropwise and the solution was stirred at r.t. for 24 h. Then the reaction was quenched with water (10 mL) and the two phases were separated. The aqueous phase was extracted with CH₂Cl₂ (3 X 25 mL). The combined organic phases were washed with brine (2 X 20 mL), dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by silica gel column chromatography (cyclohexane/EtOAc 1:0 to 19:1) to afford the desired compound (387 mg, yield: 57 %) as a yellow liquid.

R_f = 0.72 (cyclohexane/EtOAc 19:1); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.39-7.28 (m, 5H, H^F, H^G, H^H), 4.62 (s, 2H, H^D), 4.18 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H, H^C), 2.47 (t, *J* = 2.4 Hz, 1H, H^A). Analytical data were in accordance with the literature [362].

Propargyl 4-methoxybenzoate 18

Formula: C₁₁H₁₀O₃

MW = 190.20 g/mol



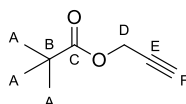
The compound was synthesized following the general procedure **A1** starting from *p*-anisic acid (1.500 g, 9.9 mmol) in 50 mL of dry acetone. The purification of the crude liquid by silica gel column chromatography (cyclohexane/EtOAc 9:1) afforded the desired compound (1.640 g, yield: 87 %) as a colourless liquid.

R_f = 0.80 (cyclohexane/EtOAc 5:1); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.05-7.99 (m, 2H, H^D), 6.95-6.89 (m, 2H, H^C), 4.89 (d, *J* = 2.5 Hz, 2H, H^G), 3.86 (s, 3H, H^A), 2.50 (t, *J* = 2.5 Hz, 1H, H^I). Analytical data were in accordance with the literature [366].

Propargyl pivalate 19

Formula: C₈H₁₂O₂

MW = 140.18g/mol



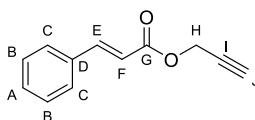
The compound was synthesized following the general procedure **A1** starting from pivalic acid (1.002 g, 9.8 mmol) in 50 mL of dry acetone. The purification of the crude liquid by silica gel column chromatography (cyclohexane/EtOAc 3:2 to 1:1) afforded the desired compound (0.337 g, yield: 24 %) as a yellow liquid.

R_f = 0.86 (cyclohexane/EtOAc 19:1); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 4.66 (d, *J* = 2.5 Hz, 2H, H^D), 2.44 (t, *J* = 2.5 Hz, 1H, H^F), 1.22 (s, 9H, H^A). Analytical data were in accordance with the literature [362].

Propargyl cinnamate 20

Formula: C₁₂H₁₀O₂

MW = 186.21 g/mol



The compound was synthesized following the general procedure **A1** starting from cinnamic acid (1.483 mg, 10 mmol) in 30 mL of dry acetone. The desired compound (456 mg, yield: 24

Partie expérimentale

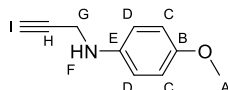
%) was obtained as a white-yellow solid after concentration under reduced pressure and was pure enough to be used without any purification.

Rf = 0.77 (cyclohexane/EtOAc 5:1); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.73 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H, H^{E}), 7.54-7.48 (m, 2H, H^{B}), 7.41-7.34 (m, 3H, H^{A} , H^{C}), 6.45 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H, H^{F}), 4.80 (d, $J = 2.4$ Hz, 2H, H^{H}), 2.53 (t, $J = 2.4$ Hz, 1H, H^{J}). Analytical data were in accordance with the literature [367].

4-methoxy-*N*-propargylaniline **28**

Formula: $\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{NO}$

MW = 161.20 g/mol



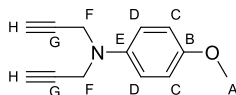
The compound was synthesized following the general procedure **A1** starting from *p*-anisidine (0.499 g, 4.1 mmol) in 50 mL of dry acetone. The purification of the crude liquid by silica gel column chromatography (eluent: cyclohexane/EtOAc, 9:1) afforded the desired compound (0.344 g, yield: 53 %) and 4-methoxy-*N,N*-dipropargylaniline **29** (by-product, 0.239 g, yield: 30 %) as two yellow liquids.

Rf = 0.61 (cyclohexane/EtOAc 5:1); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 6.85-6.80 (m, 2H, H^{C}), 6.70-6.65 (m, 2H, H^{D}), 3.90 (d, $J = 2.4$ Hz, 2H, H^{F}), 3.76 (s, 3H, H^{A}), 2.21 (t, $J = 2.4$ Hz, 1H, H^{H}). Analytical data were in accordance with the literature [368].

4-methoxy-*N,N*-dipropargylaniline **29**

Formula: $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{NO}$

MW = 199.25 g/mol

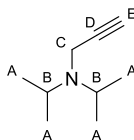


Rf = 0.84 (cyclohexane/EtOAc 5:1); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.01-6.95 (m, 2H, H^{C}), 6.89-6.83 (m, 2H, H^{D}), 4.04 (d, $J = 2.4$ Hz, 4H, H^{G}), 3.77 (s, 2H, H^{A}), 2.25 (t, $J = 2.3$ Hz, 2H, H^{H}). Analytical data were in accordance with the literature [369].

N,N-diisopropylpropargylamine **30**

Formula: $\text{C}_9\text{H}_{17}\text{N}$

MW = 139.24 g/mol



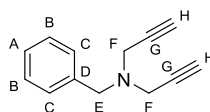
The compound was synthesized following the general procedure **A1** starting from diisopropylamine (1.006 g, 9.9 mmol) in 50 mL of dry acetone. The purification of the crude liquid by silica gel column chromatography (cyclohexane/EtOAc 1:0 to 9:1) afforded the desired compound (0.569 g, yield: 41 %) as a yellow liquid.

Rf = 0.42 (cyclohexane/EtOAc 19:1); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 3.42 (d, $J = 2.4$ Hz, 2H, H^{C}), 3.20 (hept, $J = 6.5$ Hz, 2H, H^{B}), 2.13 (t, $J = 2.4$ Hz, 1H, H^{E}), 1.10 (d, $J = 6.5$ Hz, 12H, H^{A}). Analytical data were in accordance with the literature [370].

Benzylpropargylamine 32

Formula: $C_{13}H_{13}N$

MW = 183.25 g/mol



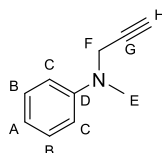
The compound was synthesized following the general procedure **A1** starting from benzylamine (1.994 g, 18.6 mmol) in 50 mL of dry acetone. The purification of the crude oil by silica gel column chromatography (cyclohexane/EtOAc 1:0 to 49:1) afforded the desired compound (1.291 g, yield: 38 %) as a yellow oil.

Rf = 0.44 (cyclohexane); 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 7.41-7.27 (m, 5H, H^A , H^B , H^C), 3.70 (s, 2H, H^E), 3.43 (d, $J = 2.4$ Hz, 4H, H^F), 2.28 (t, $J = 2.4$ Hz, 2H, H^H). Analytical data were in accordance with the literature [371].

N-methyl-*N*-propargylaniline 33

Formula: $C_{10}H_{11}N$

MW = 145.20 g/mol



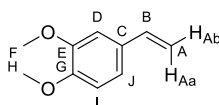
The compound was synthesized following the general procedure **A1** starting from *N*-methylaniline (1.507 g, 14.1 mmol) in 50 mL of dry acetone. The purification of the crude liquid by silica gel column chromatography (cyclohexane/EtOAc 29:1 to 19:1) afforded the desired compound (1.607 g, yield: 79 %) as a yellow liquid.

Rf = 0.86 (cyclohexane/EtOAc 19:1); 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 7.32-7.26 (m, 2H, H^B), 6.91-6.80 (m, 3H, H^A , H^C), 4.07 (d, $J = 2.4$ Hz, 2H, H^F), 2.99 (s, 3H, H^E), 2.19 (t, $J = 2.4$ Hz, 1H, H^H). Analytical data were in accordance with the literature [372].

3,4-dimethoxystyrene 35

Formula: $C_{10}H_{12}O_2$

MW = 164.20 g/mol



The compound was synthesized following the general procedure **A1** starting from *N*-methylhomoveratrylamine (2.002 g, 10.3 mmol) in 50 mL of dry acetone. The purification of the crude oil by silica gel column chromatography (cyclohexane/EtOAc 19:1 to 9:1) afforded the desired compound (41 mg, yield: 2 %) as a yellow oil.

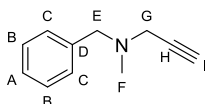
Rf = 0,21 (cyclohexane/EtOAc 19:1); 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 6.99-6.94 (m, 2H, H^D , H^J), 6.83 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, H^I), 6.67 (dd, $J = 17.6, 10.9$ Hz, 1H, H^B), 5.63 (dd, $J = 17.6, 0.8$ Hz, 1H, H^{Aa}), 5.16 (dd, $J = 10.9, 0.8$ Hz, 1H, H^{Ab}), 3.92 (s, 3H, H^F), 3.89 (s, 3H, H^H). Analytical data were in accordance with the literature [373].

Partie expérimentale

N-benzyl-*N*-methylpropargylamine **36**

Formula: C₁₁H₁₃N

MW = 159.23 g/mol



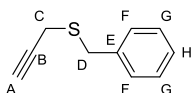
The compound was synthesized following the general procedure **A1** starting from *N*-benzylmethylamine (2.001 g, 16.6 mmol) in 50 mL of dry acetone. The purification of the crude oil by silica gel column chromatography (cyclohexane/EtOAc 9:1) afforded the desired compound (0.917 g, yield: 35 %) as a yellow liquid.

R_f = 0.46 (cyclohexane/EtOAc 9:1); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.37-7.24 (m, 5H, H^A, H^B, H^C), 3.59 (s, 2H, H^E), 3.32 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H, H^G), 2.36 (s, 3H, H^F), 2.28 (t, *J* = 2.4 Hz, 1H, H^I). Analytical data were in accordance with the literature [374].

Benzyl propargyl sulfide **40**

Formula: C₁₀H₁₀S

MW = 162.25 g/mol



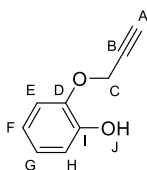
The compound was synthesized following the general procedure **A2** starting from benzyl mercaptan (0.12 mL, 1.0 mmol). The purification of the crude solid by silica gel column chromatography (petroleum ether/cyclohexane 1:0 to 0:1 then cyclohexane/EtOAc 9:1) afforded the desired compound (0.158 g, yield: 96 %) as a yellow liquid.

R_f = 0.27 (cyclohexane); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.30-7.13 (m, 5H, H^F, H^G, H^H), 3.76 (s, 2H, H^D), 2.96 (d, *J* = 2.6 Hz, 2H, H^C), 2.20 (t, *J* = 2.6 Hz, 1H, H^A). Analytical data were in accordance with the literature [375].

2-propargyloxyphenol **42**

Formula: C₉H₈O₂

MW = 148.16 g/mol



The following procedure was adapted from [306]. Catechol (502 mg, 4.55 mmol, 1 eq) and anhydrous K₂CO₃ (3.757 g, 27.1 mmol, 6 eq) were dissolved in dry acetone (12.5 mL) and the mixture was stirred and refluxed for 30 min. To this mixture was added propargyl bromide (80 wt. % in toluene, 0.49 mL, 4.55 mmol, 1 eq) dropwise for 2 h and the reaction mixture was refluxed overnight. After cooling, the reaction mixture was filtered and the solid was washed with acetone. The filtrate was concentrated under reduced pressure and then dissolved with CH₂Cl₂ (12.5 mL). This solution was washed with water (2 X 5 mL) and brine (5 mL). The organic phase was dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude oil was purified by silica gel column chromatography (cyclohexane/EtOAc 19.5:0.5 to 19:1) to afford 2-propargyloxyphenol **42** (0.102 g, yield: 15 %) and 1,2-dipropargyloxybenzene **43** (by-product, 0.269 g, yield: 32 %) as two yellowish liquids.

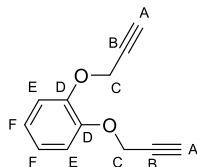
Partie expérimentale

R_f = 0.25 (cyclohexane/EtOAc 19:1); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.01-6.91 (m, 3H, H^E, H^F, H^H), 6.89-6.83 (m, 1H, H^G), 5.65 (s, 1H, H^I), 4.76 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H, H^C), 2.56 (t, *J* = 2.4 Hz, 1H, H^A). Analytical data were in accordance with the literature [376].

1,2-dipropargyloxybenzene 43

Formula: C₁₂H₁₀O₂

MW = 186.21 g/mol



R_f = 0.36 (cyclohexane/EtOAc 19:1); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.11-7.04 (m, 2H, H^F), 7.02-6.96 (m, 2H, H^E), 4.76 (d, *J* = 2.4 Hz, 4H, H^C), 2.51 (t, *J* = 2.4 Hz, 2H, H^A). Analytical data were in accordance with the literature [377].

Addition of propargyl on caffeic acid 44

Unoptimized protocol: The addition of propargyl was realized following the general procedure **A1** starting from caffeic acid (1.800 g, 10 mmol) in 30 mL of dry acetone. The concentration of the filtrate under reduced pressure afforded the crude product (977 mg) as a yellow orange solid. This product was analyzed by LC-MS and the occurrence of the reaction was confirmed by the comparison of the chromatogram of the crude product with the starting material one and by the comparison of the molecular peak values of the mass spectrum of the mixture compounds with calculated molecular weight of the theoretical possible products.

LC-MS (ESI+) t_R (min): 13.7 (*m/z* = 295 [M+H]⁺, compound **48**).

Addition of propargyl on gallic acid 45

Unoptimized protocol: The addition of propargyl was realized following the general procedure **A1** starting from gallic acid (1.700 g, 10 mmol) in 30 mL of dry acetone. The concentration of the filtrate under reduced pressure afforded the crude product (480 mg) as an orange solid. This product was analyzed by LC-MS and the occurrence of the reaction was confirmed by the comparison of the chromatogram of the crude product with the starting material ones and by the comparison of the molecular peak values of the mass spectrum of the mixture compounds with calculated molecular weight of the theoretical possible products.

LC-MS (ESI+) t_R (min): 13.5 (*m/z* = 323 [M+H]⁺, compound **50**).

Addition of propargyl on quercetin 46

Unoptimized protocol: The addition of propargyl was realized following the general procedure **A1** starting from quercetin (3.029 g, 10 mmol) in 30 mL of dry acetone. The concentration of the filtrate under reduced pressure afforded the crude product (962 mg) as a yellow solid. This product was analyzed by LC-MS and the occurrence of the reaction was confirmed by the comparison of the chromatogram of the crude product with the starting material ones and by the comparison of the molecular peak values of the mass spectrum of the mixture's compounds with calculated molecular weight of the theoretical possible products.

LC-MS (ESI+ and ESI-) t_R (min): 12.3 (*m/z* = 377 [M-H]⁻, dipropargyloxyquercetin), 12.9 (*m/z* = 377 [M-H]⁻, dipropargyloxyquercetin), 13.8 (*m/z* = 415 [M-H]⁻, tripropargyloxyquercetin), 14.5 (*m/z* = 415 [M-H]⁻, tripropargyloxyquercetin), 15.8 (*m/z* = 455 [M+H]⁺, tetrapropargyloxyquercetin), 16.3 (*m/z* = 491 [M-H]⁻, 493 [M+H]⁺, compound **51**).

Partie expérimentale

Optimized protocol: The addition of propargyl was realized following the general procedure **A3** starting from quercetin (41 mg, 0.13 mmol). The concentration of the filtrate under reduced pressure afforded the crude product (26 mg) as a yellow solid. This product was analyzed by LC-MS and the occurrence of the reaction was confirmed by the comparison of the chromatogram of the crude product with the starting material ones and by the comparison of the molecular peak values of the mass spectrum of the mixture's compounds with calculated molecular weight of the theoretical possible products.

LC-MS (ESI+ and ESI-) t_R (min): 10.3 ($m/z = 339 [M-H]^-$, 341 $[M+H]^+$, propargyloxyquercetin), 12.1 ($m/z = 377 [M-H]^-$, 379 $[M+H]^+$, dipropargyloxyquercetin), 12.2 ($m/z = 377 [M-H]^-$, 379 $[M+H]^+$, dipropargyloxyquercetin), 12.8 ($m/z = 377 [M-H]^-$, 379 $[M+H]^+$, dipropargyloxyquercetin), 14.4 ($m/z = 415 [M-H]^-$, 417 $[M+H]^+$, tripropargyloxyquercetin).

Addition of propargyl on a mixture of seven compounds with different functional groups

To a stirred sample (7.5 mL, 0.65 mmol for the addition of all the compounds, 1 eq) of a solution of benzyl mercaptan (58 μL , 0.49 mmol), benzoic acid (60 mg, 0.49 mmol), L-menthol (76 mg, 0.49 mmol), 2'-aminoacetophenone (60 μL , 0.49 mmol), benzylamine (54 μL , 0.49 mmol), piperidine (48 μL , 0.49 mmol), compound **2** (117 mg, 0.49 mmol) and palmitic acid (126 mg, 0.49 mmol) in DMF (45 mL) was added various bases (0.78 mmol). The mixture was stirred at r.t. for 5 min then propargyl bromide (80 wt. % in toluene, 85 μL , 1.2 eq) diluted in DMF (2.5 mL) was added dropwise. The mixture was stirred at r.t. overnight and concentrated under reduced pressure to afford the crude product as a yellow-orange solid. This product was analyzed by LC-MS and the occurrence of the reaction on the starting material was confirmed or not by the comparison of the chromatogram of the crude product with the starting material ones and by the comparison of the molecular peak values of the mass spectrum of the mixture compounds with calculated molecular weight of the theoretical possible products.

With Et₃N: m = 276 mg; LC-MS analysis did not show the formation of neither expected product.

With K₂CO₃: m = 180 mg; LC-MS (ESI+ and ESI-) t_R (min): 8.1 ($m/z = 184 [M+H]^+$, compound **32**), 14.9 ($m/z = 277 [M+H]^+$, compound **8**).

With KOH: m = 215 mg; LC-MS (ESI+ and ESI-) t_R (min): 8.1 ($m/z = 184 [M+H]^+$, compound **32**), 14.9 ($m/z = 277 [M+H]^+$, compound **8**).

With NaH: m = 179 mg; LC-MS (ESI+ and ESI-) t_R (min): 8.1 ($m/z = 184 [M+H]^+$, compound **32**).

Addition of propargyl on a mixture of carboxylic acids

To a stirred sample (4 mL, 0.33 mmol, 1 eq) of a solution of benzoic acid (99 mg, 0.81 mmol) and palmitic acid (208 mg, 0.81 mmol) in DMF (20 mL) was added various bases (0.39 mmol). The mixture was stirred at r.t. for 5 min then diluted propargyl bromide (80 wt. % in toluene, 42 μL , 1 eq) diluted in DMF (1 mL) was added dropwise. The mixture was stirred at r.t. overnight and concentrated under reduced pressure to afford the crude product (268 mg with Et₃N, 124 mg with K₂CO₃, 92 mg with KOH, 75 mg with NaH) as a white solid. This product was analyzed by NMR and LC-MS and the partial occurrence of the reaction was confirmed or not by the comparison of the chromatogram of the crude product with the starting material ones, by the comparison of the molecular peak values of the mass spectrum of the mixture compounds with calculated molecular weight of the theoretical possible products and by the comparison of the ¹H NMR spectrum with the literature [378,379]. ¹H NMR analysis indicated the formation of propargyl benzoate and propargyl palmitate when Et₃N, K₂CO₃.

Partie expérimentale

With Et₃N: m = 268 mg; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.04-7.99 (m, aromatic H from compound **54** and/or propargyl benzoate), 7.57-7.51 (m, aromatic H from compound **54** and/or propargyl benzoate), 7.43-7.38 (m, aromatic H from compound **54** and/or propargyl benzoate), 4.87 (d, *J* = 2.5 Hz, -CH₂- from propargyl benzoate), 4.62 (d, *J* = 2.5 Hz, -CH₂- from propargyl palmitate), 2.86 (t, *J* = 2.5 Hz, -C≡CH from propargyl benzoate), 2.48 (d, *J* = 2.5 Hz, -C≡CH from propargyl palmitate), 2.30 (t, *J* = 7.2 Hz, aliphatic H from compound **53** and/or propargyl palmitate), 1.62-1.53 (m, aliphatic H from compound **53** and/or propargyl palmitate), 1.42-1.38 (m, aliphatic H from compound **53** and/or propargyl palmitate), 1.31-1.16 (m, aliphatic H from compound **53** and/or propargyl palmitate), 0.82 (t, *J* = 7.2 Hz, aliphatic H from compound **53** and/or propargyl palmitate); LC-MS analysis did not show the formation of neither expected product.

With K₂CO₃: m = 124 mg; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.09-8.04 (m, aromatic H from propargyl benzoate), 7.60-7.55 (m, aromatic H from propargyl benzoate), 7.48-7.42 (m, aromatic H from propargyl benzoate), 4.92 (d, *J* = 2.5 Hz, -CH₂- from propargyl benzoate), 4.67 (d, *J* = 2.5 Hz, -CH₂- from propargyl palmitate), 2.51 (t, *J* = 2.5 Hz, -C≡CH from propargyl benzoate), 2.46 (d, *J* = 2.5 Hz, -C≡CH from propargyl palmitate), 2.34 (t, *J* = 7.2 Hz, aliphatic H from compound **53** and/or propargyl palmitate), 1.67-1.59 (m, aliphatic H from compound **53** and/or propargyl palmitate), 1.32-1.20 (m, aliphatic H from compound **53** and/or propargyl palmitate), 1.31-1.16 (m, aliphatic H from compound **53** and/or propargyl palmitate), 0.87 (t, *J* = 7.2 Hz, aliphatic H from compound **53** and/or propargyl palmitate); LC-MS analysis did not show the formation of neither expected product.

With KOH: m = 92 mg; ¹H NMR analysis gave an unexploitable spectra; LC-MS analysis did not show the formation of neither expected product.

With NaH: m = 75 mg; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.04-7.99 (m, aromatic H from compound **54** and/or propargyl benzoate), 7.57-7.51 (m, aromatic H from compound **54** and/or propargyl benzoate), 7.43-7.38 (m, aromatic H from compound **54** and/or propargyl benzoate), 4.87 (d, *J* = 2.5 Hz, -CH₂- from propargyl benzoate), 4.62 (d, *J* = 2.5 Hz, -CH₂- from propargyl palmitate), 2.86 (t, *J* = 2.5 Hz, -C≡CH from propargyl benzoate), 2.48 (d, *J* = 2.5 Hz, -C≡CH from propargyl palmitate), 2.30 (t, *J* = 7.2 Hz, aliphatic H from compound **53** and/or propargyl palmitate), 1.62-1.53 (m, aliphatic H from compound **53** and/or propargyl palmitate), 1.42-1.38 (m, aliphatic H from compound **53** and/or propargyl palmitate), 1.31-1.16 (m, aliphatic H from compound **53** and/or propargyl palmitate), 0.82 (t, *J* = 7.2 Hz, aliphatic H from compound **53** and/or propargyl palmitate); LC-MS analysis did not show the formation of neither expected product.

Addition of propargyl on a mixture of amines

To a stirred sample (4 mL, 0.33 mmol, 1 eq) of a solution of 2'-aminoacetophenone (60 μL, 0.54 mmol), benzylamine (59 μL, 0.54 mmol) and piperidine (54 μL, 0.54 mmol) in DMF (20 mL) was added various bases (0.39 mmol). The mixture was stirred at r.t. for 5 min then propargyl bromide (80 wt. % in toluene, 42 μL, 1 eq) diluted in DMF (1 mL) was added dropwise. The mixture was stirred at r.t. overnight and concentrated under reduced pressure to afford the crude product as a yellow-orange solid. This product was analyzed by NMR and LC-MS and the partial occurrence of the reaction was confirmed or not by the comparison of the chromatogram of the crude product with the starting material ones, by the comparison of the molecular peak values of the mass spectrum of the mixture compounds with calculated molecular weight of the theoretical possible products and by the comparison of the ¹H NMR spectrum with the literature [293,380,381]. ¹H NMR analysis only indicated the formation of compound **38** whatever the base used.

Partie expérimentale

With Et₃N: m = 108 mg; ¹H NMR analysis gave an unexploitable spectra; LC-MS (ESI+) t_R (min): 8.1 (*m/z* = 184 [M+H]⁺, compound **32**), 10.8 (*m/z* = 212 [M+H]⁺, compound **38**).

With K₂CO₃: m = 107 mg; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.66 (dd, *J* = 8.3, 1.1 Hz, aromatic H from compound **27**), 7.36-7.18 (m, aromatic H from compound **23** and **27** and **32**), 6.63-6.57 (m, aromatic H from compound **27**), 6.23 (br. s, NH from compound **27**), 3.65 (s, H from compound **23**), 3.38 (d, *J* = 2.3 Hz, -CH₂- from compound **32**), 2.53 (s, H from compound **27** or **32**), 2.23 (t, *J* = 2.3 Hz, -C≡CH from compound **32**), 1.76 (br. s, NH from compound **23**); LC-MS (ESI+) t_R (min): 8.1 (*m/z* = 184 [M+H]⁺, compound **32**).

With KOH: m = 95 mg; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.66 (dd, *J* = 8.3, 1.1 Hz, aromatic H from compound **27**), 7.36-7.18 (m, aromatic H from compound **23** and **27** and **32**), 6.63-6.57 (m, aromatic H from compound **27**), 3.65 (s, H from compound **23**), 3.38 (d, *J* = 2.3 Hz, -CH₂- from compound **32**), 2.53 (s, H from compound **27** or **32**), 2.23 (t, *J* = 2.3 Hz, -C≡CH from compound **32**); LC-MS (ESI+) t_R (min): 8.1 (*m/z* = 184 [M+H]⁺, compound **32**).

With NaH: m = 79 mg; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.66 (dd, *J* = 8.3, 1.1 Hz, aromatic H from compound **27**), 7.36-7.18 (m, aromatic H from compound **23** and **27** and **32**), 6.63-6.57 (m, aromatic H from compound **27**), 3.65 (s, H from compound **23**), 3.38 (d, *J* = 2.3 Hz, -CH₂- from compound **32**), 2.53 (s, H from compound **27** or **32**), 2.23 (t, *J* = 2.3 Hz, -C≡CH from compound **32**); LC-MS (ESI+) t_R (min): 8.1 (*m/z* = 184 [M+H]⁺, compound **32**).

Addition of propargyl on a mixture of hydroxylated and sulfanylated compounds

To a stirred sample (4 mL, 0.33 mmol, 1 eq) of a solution of benzyl mercaptan (64 μL, 0.54 mmol), L-menthol (84 mg, 0.54 mmol) and compound **2** (129 mg, 0.54 mmol) in DMF (20 mL) was added various bases (0.39 mmol). The mixture was stirred at r.t. for 5 min then propargyl bromide (80 wt. % in toluene, 42 μL, 1 eq) diluted in DMF (1 mL) was added dropwise. The mixture was stirred at r.t. overnight and concentrated under reduced pressure to afford the crude product as a yellow-orange solid. This product was analyzed by NMR and LC-MS and the partial occurrence of the reaction was confirmed or not by the comparison of the chromatogram of the crude product with the starting material ones, by the comparison of the molecular peak values of the mass spectrum of the mixture compounds with calculated molecular weight of the theoretical possible products and by the comparison of the ¹H NMR with the literature [284,382]. ¹H NMR analysis gave unexploitable spectrum whatever the base used.

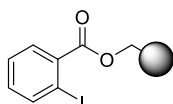
With Et₃N: m = 141 mg; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.66 (dd, *J* = 8.3, 1.1 Hz, aromatic H from compound **27**), 7.36-7.18 (m, aromatic H from compound **23** and **27** and **32**), 6.63-6.57 (m, aromatic H from compound **27**), 6.23 (br. s, NH from compound **27**), 3.65 (s, H from compound **23**), 3.38 (d, *J* = 2.3 Hz, -CH₂- from compound **32**), 2.53 (s, H from compound **27** or **32**), 2.23 (t, *J* = 2.3 Hz, -C≡CH from compound **32**), 1.76 (br. s, NH from compound **23**); LC-MS (ESI+) t_R (min): LC-MS analysis did not show the formation of neither expected product.

With K₂CO₃: m = 120 mg; LC-MS (ESI+) t_R (min): 14.9 (*m/z* = 277 [M+H]⁺, compound **8**).

With KOH: m = 81 mg; LC-MS (ESI+) t_R (min): 14.9 (*m/z* = 277 [M+H]⁺, compound **8**).

With NaH: m = 60 mg; LC-MS (ESI+) t_R (min): 14.9 (*m/z* = 277 [M+H]⁺, compound **8**).

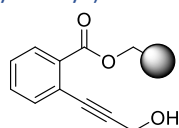
Polymer-bound 2-iodobenzoic acid **56**



Partie expérimentale

The following procedure was adapted from [118]. 2-iodobenzoic acid (0.833 g, 3.4 mmol, 4 eq) was dissolved in EtOH (30 mL) and Cs₂CO₃ (0.593 g, 1.7 mmol, 2 eq) was added portionwise. The mixture was stirred at r.t. for 3 h. Brominated Wang resin (batch loading 0.84 mmol/g, 1.000 g, 1 eq compared to the batch loading value) was swollen in DMF by stirring in a fritted cartridge. The carboxylate solution was concentrated and dried under reduced pressure. Then resulting solid was added to the suspension of resin and stirred at r.t. for 24 h. After filtration, the resin was washed with DMF (3 X 6 mL), H₂O (2 X 4 mL), DMF (6 mL), CH₂Cl₂ (2 X 6 mL), MeOH (2 X 6 mL) and CH₂Cl₂ (2 X 6 mL) and dried under vacuum. A sample of resin (24 mg) was cleaved following the general procedure **C4** to afford 2-iodobenzoic acid (4 mg) as a white solid and then determine the experimental loading of the resin (0.66 mmol/g; theoretical loading: 0.74 mmol/g; estimated yield for the crafting: 89 %).

Polymer-bound 2-(3-hydroxyprop-1-yn-1-yl)benzoic acid **59**

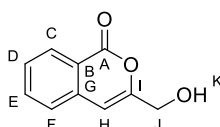


The compound was synthesized following the general procedure **B2** starting from resin **56** (experimental loading 0.66 mmol/g, 0.200 g, 1 eq), propargyl alcohol (77 μ L, 1.32 mmol) and Et₃N. A sample of the obtained resin (15 mg) was cleaved following the general procedure **C4** to afford a crude product as a white solid (2 mg). NMR analysis confirmed the presence of 3-(hydroxymethyl)-1*H*-isochromen-1-one **60** and (*Z*)-3-(2-hydroxyethylidene)isobenzofuran-1(3*H*)-one **61** (compound not totally characterized) in proportion 4:1 (experimental loading: 0.71 mmol/g; theoretical loading: 0.71 mmol/g; estimated yield for the totality of the protocol: quantitative).

3-(hydroxymethyl)-1*H*-isochromen-1-one **60**

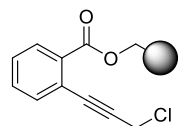
Formula: C₁₂H₈O₃

MW = 176.17 g/mol



¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 8.25 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H, H^C), 7.70 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H, H^E), 7.50 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H, H^D), 7.43 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H, H^F), 6.57 (s, 1H, H^H), 4.49 (s, 2H, H^I).

Polymer-bound 2-(3-chloroprop-1-yn-1-yl)benzoic acid **62**

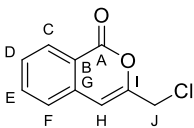


The following procedure was adapted from [326]. Resin **59** (experimental loading 0.66 mmol/g, 51 mg, 1 eq) was swollen in THF (1 mL), filtered and suspended in THF (1 mL). Hexachloroethane (39 mg, 0.17 mmol, 5 eq) and then PPh₃ (43 mg, 0.17 mmol, 5 eq) were added to the suspension and the reaction mixture was stirred at r.t. overnight. The resin was filtered and washed with THF (3 X 3 mL) and CH₂Cl₂ (3 X 3 mL). A sample of the obtained resin (15 mg) was cleaved following the general procedure **C4** to afford a crude product as a white solid (2 mg). NMR and GC-EI-MS analysis confirmed the presence of 3-(chloromethyl)-1*H*-isochromen-1-one **63** and (*Z*)-3-(2-chloroethylidene)isobenzofuran-1(3*H*)-one **64** (compound not totally characterized) in proportion 2:1 (experimental loading: 0.65 mmol/g; theoretical loading: 0.65 mmol/g; estimated yield for the totality of the protocol: quantitative).

3-(chloromethyl)-1*H*-isochromen-1-one **63**

Formula: C₁₂H₇ClO₂

MW = 194.61 g/mol

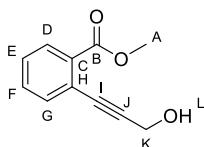


¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 8.06 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H, H^C), 7.60 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H, H^F), 7.54 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H, H^E), 7.44 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H, H^D), 6.61 (s, 1H, H^H), 4.44 (s, 2H, H^J).

Methyl 2-(3-hydroxyprop-1-yn-1-yl)benzoate **70**

Formula: C₁₁H₁₀O₃

MW = 190.20 g/mol



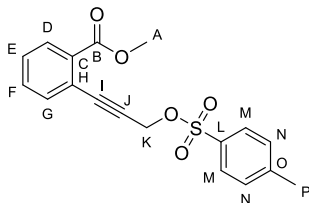
The following procedure was adapted from [322]. To a solution of methyl 2-iodobenzoate (3.202 g, 12.2 mmol, 1 eq) in a mixture of DMF and Et₃N (1:1, 26 mL) were added successively Pd(PPh₃)₂Cl₂ (0.086 g, 0.122 mmol, 0.01 eq), CuI (0.047 g, 0.247 mmol, 0.02 eq) and propargyl alcohol (2.13 mL, 36.6 mmol, 3 eq). The mixture was stirred at r.t. overnight and then was diluted with Et₂O (50 mL) and washed with a saturated solution of NH₄Cl (2 X 50 mL) and water (2 X 50 mL). The recovered organic phase was dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The obtained crude product (2.346 g) was purified by silica gel column chromatography with preparation of a solid deposit (cyclohexane/EtOAc 3:1) to afford the desired compound (1.776 g, yield: 76 %) as an orange oil.

R_f = 0.37 (cyclohexane/EtOAc 2:1); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.93 (dd, *J* = 7.8, 1.3 Hz, 1H, H^D), 7.55 (dd, *J* = 7.8, 1.3 Hz, 1H, H^G), 7.46 (td, *J* = 7.8, 1.3 Hz, 1H, H^F), 7.37 (td, *J* = 7.8, 1.3 Hz, 1H, H^E), 4.55 (s, 2H, H^K), 3.92 (s, 3H, H^A), 2.55 (br. s, 1H, H^L). Analytical data were in accordance with the literature [322].

Methyl 2-(3-(tosyloxy)prop-1-yn-1-yl)benzoate **69**

Formula: C₁₈H₁₆O₅S

MW = 344.38 g/mol



The following procedure was adapted from [329,330]. To a solution of compound **70** (3.353 g, 17.6 mmol) in CH₂Cl₂ (25 mL) cooled at 0 °C were successively added tosyl chloride (5.041 g, 26.4 mmol, 1.5 eq), KOH (2.969 g, 52.9 mmol, 3 eq), Et₃N (0.24 mL, 1.76 mmol, 0.1 eq) and Me₃N•HCl (0.170 g, 1.76 mmol, 0.1 eq). The mixture was stirred at 0 °C for 1 h and then was quenched by a 1 M HCl solution (20 mL) and after the separation of the phases, the aqueous one was extracted with CH₂Cl₂ (3 X 100 mL). The combined organic phases were washed with a saturated solution of brine (2 X 100 mL), dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The obtained crude product (6.225 g) was purified by silica gel column

Partie expérimentale

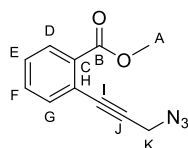
chromatography with preparation of a solid deposit (cyclohexane/EtOAc 5:1) to afford the desired compound (4.629 g, yield: 76 %) as a yellow solid.

Rf = 0.68 (cyclohexane/EtOAc, 2:1); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.93 (dd, $J = 7.7, 1.4$ Hz, 1H, H^{D}), 7.85 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H, H^{M}), 7.46 – 7.36 (m, 2H, $\text{H}^{\text{E}}, \text{H}^{\text{F}}$), 7.33 (dd, $J = 7.7, 1.4$ Hz, 1H, H^{G}), 7.30 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H, H^{N}), 5.00 (s, 2H, H^{K}), 3.89 (s, 3H, H^{A}), 2.37 (s, 3H, H^{P}); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 166.3 (C^{B}), 145.2 (C^{O}), 134.4 (C^{G}), 133.4 (C^{L}), 132.1 (C^{C}), 131.8 (C^{F}), 130.5 (C^{D}), 130.0 (2 X C^{N}), 128.9 (C^{E}), 128.3 (2 X C^{M}), 122.1 (C^{H}), 87.7 (C^{J}), 85.6 (C^{I}), 58.8 (C^{K}), 52.3 (C^{A}), 21.7 (C^{P}); MS (ESI+) m/z (%): 383 [$\text{M}+\text{K}$] $^+$ (23), 367 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$ (20), 362 [$\text{M}+\text{H}_2\text{O}$] $^+$ (100), 345 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ (19); HRMS (ESI+) m/z calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{O}_5\text{S}$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$: 345.0791, found: 345.0788.

Methyl 2-(3-azidoprop-1-yn-1-yl)benzoate 71

Formula: $\text{C}_{11}\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_2$

MW = 215.21 g/mol



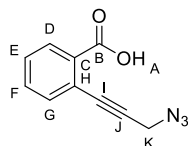
The following procedure was adapted from [332]. To a suspension of compound **69** (4.629 g, 14.3 mmol) in MeOH (10 mL) was added a solution of NaN_3 (1.396 g, 21.5 mmol, 1.5 eq) in water (5 mL). The mixture was stirred at 35 °C for 2 h. MeOH was evaporated at reduced pressure and the obtained aqueous solution was diluted with water (25 mL) and extracted with EtOAc (3 X 100 mL). The combined organic phases were washed with a saturated solution of brine (2 X 100 mL), dried over MgSO_4 , filtered and concentrated under reduced pressure. The obtained crude product (2.698 g) was purified by silica gel column chromatography (cyclohexane/EtOAc 9:1) to afford the desired compound (2.511 g, yield: 87 %) as an orange solid.

Rf = 0.54 (cyclohexane/EtOAc, 5:1); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.95 (dd, $J = 7.7, 1.2$ Hz, 1H, H^{D}), 7.59 (dd, $J = 7.7, 1.2$ Hz, 1H, H^{G}), 7.48 (td, $J = 7.7, 1.2$ Hz, 1H, H^{F}), 7.40 (td, $J = 7.7, 1.2$ Hz, 1H, H^{E}), 4.21 (s, 2H, H^{K}), 3.93 (s, 3H, H^{A}); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 166.5 (C^{B}), 134.8 (C^{G}), 132.2 (C^{H}), 131.9 (C^{F}), 130.6 (C^{D}), 128.6 (C^{E}), 122.6 (C^{C}), 86.3 (C^{I}), 86.1 (C^{J}), 52.4 (C^{A}), 40.9 (C^{K}); LC-MS (ESI+) m/z (%): 238 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$ (8), 233 [$\text{M}+\text{H}_2\text{O}$] $^+$ (50), 223 [$\text{M}+\text{Li}+\text{H}$] $^+$ (74), 216 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ (100), 188 (9), 173 (17), 156 (2); HRMS (ESI+) m/z calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{O}_2\text{N}_3$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$: 216.0768, found: 216.0766.

2-(3-azidoprop-1-yn-1-yl)benzoic acid 72

Formula: $\text{C}_{10}\text{H}_7\text{N}_3\text{O}_2$

MW = 201.18 g/mol



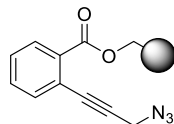
The following procedure was adapted from [383]. To a solution of compound **71** (0.050 g, 0.232 mmol) in MeOH (1.5 mL) was added a 1 M solution of NaOH (0.47 mL, 0.465 mmol, 2 eq) and water (1 mL). The mixture was stirred at r.t. for 5 h and then was evaporated at reduced pressure and a 1 M solution of HCl was added to the obtained residue until pH \leq 2. The aqueous solution was extracted with EtOAc (3 X 25 mL) and the combined organic phases were washed with a saturated solution of brine (2 X 20 mL), dried over MgSO_4 , filtered and concentrated under reduced pressure. The obtained crude product (0.060 g) was purified by

Partie expérimentale

silica gel column chromatography with preparation of a solid deposit (cyclohexane/EtOAc 2:1 to 0:1 and then EtOAc/MeOH 1:0 to 0:1) to afford the desired compound (6 mg, yield: 12 %) as a yellow solid.

R_f = 0.62 (cyclohexane/EtOAc, 1:1); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.10 (dd, *J* = 7.7, 1.3 Hz, 1H, H^D), 7.63 (dd, *J* = 7.7, 1.3 Hz, 1H, H^G), 7.54 (td, *J* = 7.7, 1.3 Hz, 1H, H^F), 7.45 (td, *J* = 7.7, 1.3 Hz, 1H, H^E), 4.22 (s, 2H, H^K); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 170.8 (C^B), 134.9 (C^G), 132.8 (C^F), 131.4 (C^D), 131.0 (C^H), 128.7 (C^E), 123.3 (C^C), 87.3 (C^J), 85.9 (C^I), 40.9 (C^K); LC-MS (ESI-) *m/z* (%): 200 [M-H]⁻ (100), 172 (4), 158 (2); HRMS (ESI-) *m/z* calcd for C₁₀H₆O₂N₃ [M-H]⁻: 200.0466, found: 200.0468.

Polymer-bound 2-(3-azidoprop-1-yn-1-yl)benzoic acid **65**



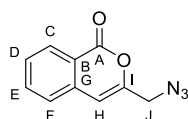
Starting from compound 72: The following procedure was adapted from [335,383]. Compound **72** was prepared as described above, starting from compound **71** and used without any purification. Wang resin (theoretical loading: 1,29 mmol/g, 0,546 g, 1 eq) was swollen in CH₂Cl₂ by stirring in a fritted cartridge for 2 h. The crude compound **72** (0.784 g, 3.6 mmol, 1 eq) was dissolved in CH₂Cl₂ (6 mL), DIC (0.38 mL, 2.5 mmol, 3.5 eq) and DMAP (43 mg, 0.35 mmol, 0.5 eq) were successively added to the swollen resin. The suspension was stirred at r.t. for 20 h. After filtration, the resin was washed with DMF (3 X 3 mL), MeOH (3 X 3 mL) and CH₂Cl₂ (3 X 3 mL) and dried under vacuum. A sample of the obtained resin (25 mg) was cleaved following the general procedure **C4** to afford a crude product as a white solid (8 mg). NMR analysis confirmed the presence of 3-(azidomethyl)-1*H*-isochromen-1-one **66** and (*Z*)-3-(2-azidoethylidene)isobenzofuran-1(3*H*)-one **67** in proportion 1:1 and then determine the experimental loading of the resin (1.04 mmol/g; theoretical loading: 1.04 mmol/g; estimated yield for the crafting and the cleavage: quantitative).

Starting from resin 61: The following procedure was adapted from [326]. Resin **62** (experimental loading 0.60 mmol/g, 0.937 g, 1 eq) was swollen in DMF (1 mL), filtered and suspended in DMF (10 mL). NaN₃ (0.365 g, 5.6 mmol, 10 eq) and TBAI (0.623 g, 1.7 mmol, 3 eq) were added to the suspension and the reaction mixture was stirred and heated to 65° C overnight. After cooling, the resin was filtered and washed with water (2 X 6 mL), DMF/water (1:1, 2 X 6 mL), DMF (2 X 6 mL), THF/water (1:1, 2 X 6 mL), THF (2 X 6 mL) and CH₂Cl₂ (2 X 6 mL). A sample of the obtained resin (15 mg) was cleaved following the general procedure **C4** to afford a crude product as a white solid (2 mg). NMR analysis confirmed the presence of 3-(azidomethyl)-1*H*-isochromen-1-one **66** and (*Z*)-3-(2-azidoethylidene)isobenzofuran-1(3*H*)-one **67** in proportion 1:1 (experimental loading: 0.59 mmol/g; theoretical loading: 0.59 mmol/g; estimated yield for the totality of the protocol: quantitative).

3-(azidomethyl)-1*H*-isochromen-1-one **66**

Formula: C₁₀H₇N₃O₂

MW = 201.18 g/mol



The following procedure was adapted from [334]. To a solution of compound **71** (0.100 g, 0.46 mmol) in CH₂Cl₂ (4 mL) was added TFA (1 mL) and InBr₃ (0.165 g, 0.46 mmol, 1 eq). The mixture was stirred at r.t. for 2 h. A 1.2 M solution of HCl was added (5 mL) and after separation of the

Partie expérimentale

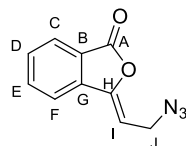
phases, the aqueous one was extracted with CH_2Cl_2 (2 X 20 mL). The combined organic phases were washed with water (2 X 20 mL) and a saturated solution of brine (2 X 20 mL), dried over MgSO_4 , filtered and concentrated under reduced pressure. The obtained crude product (0.082 g) was purified by silica gel column chromatography with preparation of a solid deposit (cyclohexane/EtOAc 5:1 to 3:1) to afford the desired compound (69 mg, yield: 74 %) as a white solid.

Rf = 0.46 (cyclohexane/EtOAc, 3:1); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.29 (d, J = 7.8 Hz, 1H, H^{C}), 7.74 (dd, J = 7.8, 7.8 Hz, 1H, H^{E}), 7.55 (dd, J = 7.8, 7.8 Hz, 1H, H^{D}), 7.45 (d, J = 7.8 Hz, 1H, H^{F}), 6.53 (s, 1H, H^{H}), 4.21 (s, 2H, H^{I}); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 161.9 (C^{A}), 151.4 (C^{I}), 136.5 (C^{G}), 135.2 (C^{E}), 130.0 (C^{F}), 129.0 (C^{C}), 126.0 (C^{D}), 121.0 (C^{B}), 105.1 (C^{H}), 51.6 (C^{J}); LC-MS (ESI+) m/z (%): 223 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$ (100), 219 [$\text{M}+\text{H}_2\text{O}$] $^+$ (32), 201 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ (86); HRMS (ESI+) m/z calcd for $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_2\text{N}_3$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$: 202.0611, found: 202.068.

(Z)-3-(2-azidoethylidene)isobenzofuran-1(3H)-one **67**

Formula: $\text{C}_{10}\text{H}_7\text{N}_3\text{O}_2$

MW = 201.18 g/mol

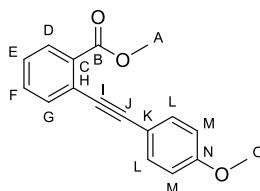


^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.09 (d, J = 7.3 Hz, 1H, H^{C}), 7.63 (d, J = 7.3 Hz, 1H, H^{F}), 7.55 (t, J = 7.3 Hz, 1H, H^{E}), 7.45 (t, J = 7.3 Hz, 1H, H^{D}), 5.30 (s, 1H, H^{H}), 4.21 (s, 2H, H^{I}).

Methyl 2-[(4-methoxyphenyl)ethynyl]benzoate **74**

Formula: $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_3$

MW = 266.29 g/mol



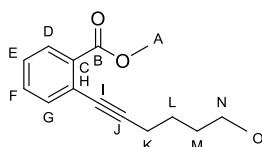
The following procedure was adapted from [336]. To a solution of methyl 2-bromobenzoate (0.099 g, 0.47 mmol, 1 eq) in DMF (3 mL) were successively added 4-ethynylanisole (0.074 g, 0.56 mmol, 1.2 eq), $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (0.033 g, 0.047 mmol, 0.1 eq), CuI (0.001 g, 0.047 mmol, 0.1 eq) and DIPEA (0.27 mL, 1.49 mmol, 3.2 eq). The mixture was stirred at 65 °C overnight. Then the reaction mixture was diluted with Et_2O (10 mL) and washed with a saturated solution of NH_4Cl (10 mL) and water (2 X 25 mL). The recovered organic phase was dried over MgSO_4 , filtered and concentrated under reduced pressure to afford the crude product (0.121 g) as a brown oil. ^1H NMR analysis confirmed the presence of the desired compound in the obtained crude product which was not purified.

Rf = 0.38 (cyclohexane/EtOAc 49:1); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.82-7.76 (m, 1H, H^{D}), 7.70-7.62 (m, 1H, H^{G}), 7.49-7.43 (m, 2H, H^{M}), 7.39-7.31 (m, 2H, H^{E} , H^{F}), 6.89-6.82 (m, 2H, H^{L}), 3.94 (s, 3H, H^{A}), 3.82 (s, 3H, H^{O}). Analytical data were in accordance with the literature [384].

Methyl 2-(hept-1-yn-1-yl)benzoate 75

Formula: C₁₅H₁₈O₂

MW = 230.31 g/mol



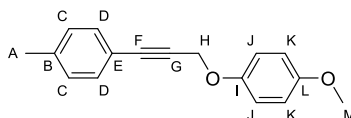
The following procedure was adapted from [336]. To a solution of methyl 2-bromobenzoate (0.103 g, 0.48 mmol, 1 eq) in DMF (3 mL) were successively added 1-heptyne (0.072 g, 0.75 mmol, 1.6 eq), PdCl₂(PPh₃)₂ (0.033 g, 0.047 mmol, 0.1 eq), CuI (0.009 g, 0.047 mmol, 0.1 eq) and DIPEA (0.27 mL, 1.49 mmol, 3.2 eq). The mixture was stirred at 65 °C overnight and then was diluted with Et₂O (10 mL) and washed with a saturated solution of NH₄Cl (10 mL) and water (2 X 25 mL). The recovered organic phase was dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to afford the crude product (0.215 g) as a brown viscous liquid. ¹H NMR analysis confirmed the presence of methyl 2-(hept-1-yn-1-yl)benzoate in the obtained crude product.

Rf = 0.51 (cyclohexane/EtOAc 19:1); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.81-7.75 (m, 1H, H^D), 7.67-7.61 (m, 1H, H^G), 7.52-7.45 (m, 1H, H^F), 7.40-7.30 (m, 1H, H^E), 3.92 (s, 3H, H^A), 1.70-0.70 (m, 11H, H^K, H^L, H^M, H^N, H^O). Analytical data were in accordance with the literature [385].

1-methoxy-4-{{[3-(4-tolyl)prop-2-yn-1-yl]oxy}benzene 76

Formula: C₁₇H₁₆O₂

MW = 252.31 g/mol



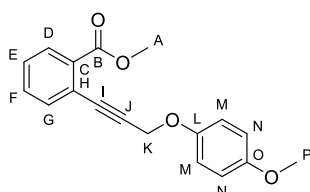
To a solution of 4-iodotoluene (0.052 g, 0.241 mmol, 1 eq) in DMF (1.5 mL) were successively added 4-propargyloxanisole (0.062 g, 0.38 mmol, 1.6 eq), PdCl₂(PPh₃)₂ (0.016 g, 0.023 mmol, 0.1 eq), CuI (0.006 g, 0.03 mol, 0.125 eq) and Et₃N (0.04 mL, 0.3 mmol, 1.25 eq). The mixture was stirred at r.t. for 4 h and then was diluted with Et₂O (10 mL) and washed with a saturated solution of NH₄Cl (10 mL) and water (2 X 25 mL). The recovered organic phase was dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The obtained crude product was purified by silica column chromatography (cyclohexane/EtOAc 19:1) to afford 1-methoxy-4-{{[3-(4-methylphenyl)prop-2-yn-1-yl]oxy}benzene (6 mg, yield: 23 %) as a yellow solid.

Rf = 0.49 (cyclohexane/EtOAc 19:1); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.33 (d, *J* = 7,9 Hz, 2H, H^D), 7.11 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H, H^C), 6.98 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H, H^J), 6.85 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H, H^K), 4.85 (s, 2H, H^H), 3.78 (s, 3H, H^M), 2.34 (s, 3H, H^A). Analytical data were in accordance with the literature [386].

Methyl 2-[[3-(4-methoxyphenoxy)prop-1-yn-1-yl]benzoate 73

Formula: C₁₈H₁₆O₄

MW = 296.32 g/mol



Partie expérimentale

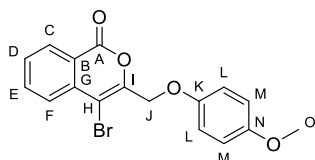
The compound was synthesized following the general procedure **B1** starting from 4-propargyloxylanisole (0.100 g, 0.62 mmol). The obtained crude product was purified by column chromatography with preparation of a solid deposit (cyclohexane/EtOAc 1:0 to 37:3) to afford the desired product (0.113 g, yield: 62 %) as a yellow solid.

Rf = 0.17 (cyclohexane/EtOAc 19:1); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.93 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, H^{D}), 7.53 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, H^{G}), 7.46 (dd, $J = 7.7, 7.7$ Hz, 1H, H^{F}), 7.37 (dd, $J = 7.7, 7.7$ Hz, 1H, H^{E}), 7.01 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H, H^{M}), 6.86 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H, H^{N}), 4.93 (s, 2H, H^{K}), 3.84 (s, 3H, H^{A}), 3.78 (s, 3H, H^{P}); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 166.7 (C^{B}), 154.5 (C^{O}), 152.2 (C^{L}), 134.5 (C^{G}), 132.2 (C^{C}), 131.8 (C^{F}), 130.5 (C^{D}), 128.4 (C^{E}), 123.0 (C^{H}), 116.4 (2 X C^{M}), 114.8 (2 X C^{N}), 89.5 (C^{J}), 85.7 (C^{I}), 57.7 (C^{K}), 55.8 (C^{P}), 52.2 (C^{A}); LC-MS (ESI+) m/z (%): 335 [$\text{M}+\text{K}$] $^+$ (88), 319 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$ (99), 312 [$\text{M}+\text{NH}_4$] $^+$ (99), 297 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ (100), 265 (52), 173 (18); HRMS (ESI+) m/z calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{O}_4$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$: 297.1121, found: 297.1123.

4-bromo-3-(4-methoxyphenoxy)methyl-1*H*-isochromen-1-one **78**

Formula: $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{BrO}_4$

MW = 361.19 g/mol



Solution protocol: The compound was synthesized following the general procedure **C1** starting from compound **73** (0.113 g, 0.38 mmol). 0.092 g of crude product was obtained as a dark brown solid. ^1H NMR and MS analysis confirmed the presence of the desired compound in the crude product which was not purified.

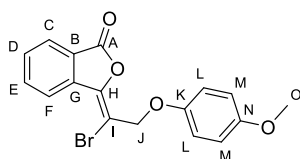
Solid-phase protocol: The compounds were synthesized following the general procedure **B2** for the Sonogashira coupling starting from resin **56** (experimental loading 0.57 mmol/g, 0.202 g), 4-propargyloxylanisole (0.189 g, 1.2 mmol) and $i\text{Pr}_2\text{NH}$ and the general procedure **C2** for the cyclization using CuBr_2 (0.104 g, 0.46 mmol). The obtained crude product was purified by silica gel column chromatography (cyclohexane/ CH_2Cl_2 1:2) to afford compounds **78** (14 mg, yield for the totality of the protocol: 34 %) and **79** (3 mg, yield for the totality of the protocol: 8 %) as two white solids.

Rf = 0.75 (cyclohexane/ CH_2Cl_2 1:4); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.33-8.28 (m, 1H, H^{C}), 7.90-7.80 (m, 2H, H^{E} , H^{F}), 7.65-7.58 (m, 1H, H^{D}), 6.98 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H, H^{L}), 6.86 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H, H^{M}), 5.10 (s, 2H, H^{J}), 3.78 (s, 3H, H^{O}); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 160.7 (C^{A}), 154.8 (C^{N}), 152.3 (C^{K}), 149.5 (C^{I}), 135.6 (C^{E}), 135.5 (C^{G}), 130.1 (C^{C}), 129.9 (C^{D}), 126.5 (C^{F}), 121.3 (C^{B}), 116.6 (2 X C^{L}), 114.9 (2 X C^{M}), 104.8 (C^{H}), 67.8 (C^{J}), 55.8 (C^{O}); MS (APCI): m/z (%): 363 (95), 361 [M] $^+$ (100); HRMS (ESI+) m/z calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_4\text{Br}$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$: 361.0070, found: 361.0066.

(*E*)-3-[1-bromo-2-(4-methoxyphenoxy)ethylidene]-2-benzofuran-1(3*H*)-one **79**

Formula: $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{BrO}_4$

MW = 361.19 g/mol



Rf = 0.83 (cyclohexane/ CH_2Cl_2 1:4); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.56 (dd, $J = 7.7, 1.0$ Hz, 1H, H^{C}), 7.97 (dd, $J = 7.7, 1.0$ Hz, 1H, H^{F}), 7.79 (td, $J = 7.7, 1.0$ Hz, 1H, H^{E}), 7.66 (td, $J = 7.7,$

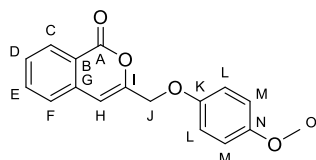
Partie expérimentale

1.0 Hz, 1H, H^D), 6.97 (d, $J = 9.1$ Hz, 2H, H^L), 6.82 (d, $J = 9.1$ Hz, 2H, H^M), 5.16 (s, 2H, H^J), 3.76 (s, 3H, H^O). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 165.2 (C^A), 154.7 (C^N), 151.8 (C^K), 137.5 (C^H), 135.0 (C^E), 131.3 (C^C), 126.2 (C^G), 126.1 (C^D), 125.3 (C^F), 116.7 (2 X C^L), 115.0 (C^B), 114.9 (2 X C^M), 107.1 (C^I), 68.2 (C^J), 55.8 (C^O); MS (ESI+): m/z (%): 380 (55), 378 [M+NH₄]⁺ (59), 363 (34), 361 [M+H]⁺ (34); HRMS (ESI+) m/z calcd for C₁₇H₁₄O₄Br [M+H]⁺: 361.0070, found: 361.0065.

3-((4-methoxyphenoxy)methyl)-1H-isochromen-1-one **81**

Formula: C₁₇H₁₄O₄

MW = 282.09 g/mol



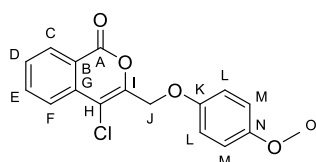
The compound was synthesized following the general procedure **B2** for the Sonogashira coupling starting from resin **56** (experimental loading 0.51 mmol/g, 0.200 g), 4-propargyloxyanisole (0.167 g, 1.02 mmol) and *i*Pr₂NH and the general procedure **C4** for the cleavage. The crude product was obtained from the cleavage of 100 mg of the obtained resin as a white solid (3 mg, yield for the totality of the protocol: 17 %) and was pure enough to be characterized without any purification.

Rf = 0.60 (cyclohexane/CH₂Cl₂ 1:4); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.29 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, H^C), 7.71 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H, H^F), 7.52 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H, H^E), 7.43 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, H^D), 6.94 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H, H^L), 6.86 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H, H^M), 6.63 (s, 1H, H^H), 4.48 (s, 2H, H^J), 3.78 (s, 3H, H^O).

4-chloro-3-(4-methoxyphenoxy)methyl-1H-isochromen-1-one **83**

Formula: C₁₇H₁₃ClO₄

MW = 316.74 g/mol



The compound was synthesized following the general procedure **B2** for the Sonogashira coupling starting from resin **56** (experimental loading 0.57 mmol/g, 0.150 g), 4-propargyloxyanisole (0.141 g, 0.86 mmol) and *i*Pr₂NH and the general procedure **C2** for the cyclization using CuCl₂ (0.047 g, 0.34 mmol). The crude product **83** was obtained as a white solid (11 mg, yield for the totality of the protocol: 39 %) and was pure enough to be characterized without any purification.

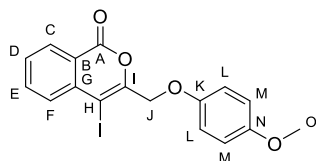
Rf = 0.60 (cyclohexane/CH₂Cl₂ 1:4); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.36-8.30 (m, 1H, H^C), 7.91-7.82 (m, 2H, H^E, H^F), 7.67-7.60 (m, 1H, H^D), 6.97 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H, H^L), 6.84 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H, H^M), 5.06 (s, 2H, H^J), 3.77 (s, 3H, H^O); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 160.6 (C^A), 154.8 (C^N), 152.3 (C^K), 148.5 (C^I), 135.5 (C^E), 134.9 (C^G), 130.2 (C^C), 129.9 (C^D), 124.1 (C^F), 121.3 (C^B), 116.6 (2 X C^L), 114.9 (2 X C^M), 114.7 (C^H), 65.8 (C^J), 55.8 (C^O); LC-MS (ESI+): m/z (%) 355 (23), 353 [M+K]⁺ (83), 341 (40), 339 [M+Na]⁺ (100), 319 (20), 317 [M+H]⁺ (45); HRMS (ESI+) m/z calcd for C₁₇H₁₄O₄Cl [M+H]⁺: 317.0575, found: 317.0571.

Partie expérimentale

4-iodo-3-(4-methoxyphenoxy)methyl-1*H*-isochromen-1-one **84**

Formula: C₁₇H₁₃O₄

MW = 408.19 g/mol



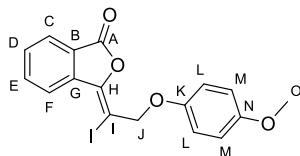
The compound was synthesized following the general procedure **B2** for the Sonogashira coupling starting from resin **56** (experimental loading 0.57 mmol/g, 0.150 g), 4-propargyloxylanisole (0.140 g, 0.85 mmol) and *i*Pr₂NH and the general procedure **C3** for the cyclization using ICl (0.10 mL, 0.10 mmol). The obtained crude product was purified by preparative thin-layer chromatography (cyclohexane/CH₂Cl₂ 1:4) to afford compounds **84** (2 mg, yield for the totality of the protocol: 4 %) and **85** (4 mg, yield for the totality of the protocol: 10 %) as two brown solids.

R_f = 0.22 (cyclohexane/CH₂Cl₂ 1:2); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.28 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, H^C), 7.81 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, H^F), 7.63-7.57 (m, 2H, H^D, H^E), 6.98 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H, H^I), 6.85 (d, *J* = 9.1 Hz, H^M), 5.16 (s, 2H, H^J), 3.77 (s, 3H, H^O); ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 161.2 (C^A), 154.8 (C^N), 152.3 (C^I), 151.8 (C^K), 137.3 (C^G), 135.9 (C^E), 131.2 (C^F), 130.0 (C^C), 129.9 (C^D), 121.0 (C^B), 116.7 (2 X C^L), 114.9 (2 X C^M), 79.9 (C^H), 71.4 (C^J), 55.9 (C^O); MS (ESI⁺): *m/z* (%): 447 [M+K]⁺ (30), 431 [M+Na]⁺ (23), 426 [M+H₂O]⁺ (100), 408 [M+H]⁺ (52); HRMS (ESI⁺) *m/z* calcd for C₁₇H₁₄O₄ [M+H]⁺: 408.9931, found: 408.9926.

(*E*)-3-[1-iodo-2-(4-methoxyphenoxy)ethylidene]-2-benzofuran-1(3*H*)-one **85**

Formula: C₁₇H₁₃O₄

MW = 408.19 g/mol

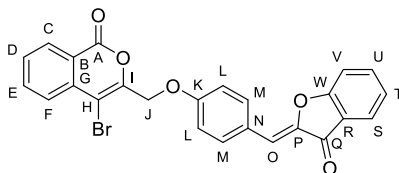


R_f = 0.36 (cyclohexane/CH₂Cl₂ 1:2) ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.84 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H, H^C), 7.97 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H, H^F), 7.80 (t, *J* = 7.7, 1H, H^E), 7.67 (t, *J* = 7.7, 1H, H^D), 6.96 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H, H^I), 6.83 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H, H^M), 5.16 (s, 2H, H^J), 3.75 (s, 3H, H^O); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 165.0 (C^A), 154.7 (C^N), 151.7 (C^K), 146.3 (C^H), 138.0 (C^G), 134.6 (C^E), 131.4 (C^C), 126.5 (C^B), 126.1 (C^D), 124.8 (C^F), 116.8 (2 X C^L), 114.8 (2 X C^M), 81.6 (C^I), 69.9 (C^J), 55.8 (C^O); MS (ESI⁺): *m/z* (%): 447 [M+K]⁺ (12), 431 [M+Na]⁺ (8), 426 [M+NH₄]⁺ (72), 408 [M+H]⁺ (34); HRMS (ESI⁺) *m/z* calcd for C₁₇H₁₄O₄ [M+H]⁺: 408.9931, found: 408.9926.

(*Z*)-4-bromo-3-((4-((3-oxobenzofuran-2(3*H*)-ylidene)methyl)phenoxy)methyl)-1*H*-isochromen-1-one **87**

Formula: C₂₅H₁₅BrO₅

MW = 475.29 g/mol



The compound was synthesized following the general procedure **B2** for the Sonogashira coupling starting from resin **56** (experimental loading 0.61 mmol/g, 0.202 g), compound **8** (0.169 g, 0.61 mmol, 5 eq) and *i*Pr₂NH and the general procedure **C2** for the cyclization using

Partie expérimentale

CuBr₂ (0.113 g, 0.51 mmol). The obtained crude product was purified by preparative thin-layer chromatography (cyclohexane/CH₂Cl₂ 1:4) to afford the desired compound (8 mg, yield for the totality of the protocol: 16 %) as a yellow solid.

R_f = 0.80 (cyclohexane/EtOAc 2:1); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.33 (dd, *J* = 7.9, 0.7 Hz, 1H, H^C), 7.96-7.84 (m, 4H, H^E, H^F, H^M), 7.81 (dd, *J* = 7.8, 0.8 Hz, 1H, H^S), 7.67-7.61 (m, 2H, H^D, H^U), 7.34 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, H^V), 7.22 (m, 1H, H^T), 7.11 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, H^L), 6.89 (s, 1H, H^O), 5.22 (s, 2H, H^J); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 184.8 (C^Q), 166.1 (C^W), 160.6 (C^A), 159.5 (C^K), 148.7 (C^I), 146.3 (C^P), 136.8 (C^U), 135.8 (C^E), 135.5 (C^G), 133.6 (2 X C^M), 130.2 (C^C), 130.1 (C^D), 126.7 (C^F), 126.3 (C^N), 124.8 (C^S), 123.5 (C^T), 122.0 (C^R), 121.4 (C^B), 115.6 (2 X C^L), 113.1 (C^V), 113.0 (C^O), 105.2 (C^H), 66.8 (C^J); MS (APCI) *m/z* (%): 477 [M+Na]⁺ (99), 475 [M+H]⁺ (100); HRMS (ESI+) *m/z* calcd for C₂₅H₁₆O₅Br [M+H]⁺: 475.0176, found: 475.0162.

Solid-phase synthesis of 4-bromo-3-(4-methoxyphenoxy)methyl-1*H*-isochromen-1-one **78** and (*Z*)-4-bromo-3-((4-((3-oxobenzofuran-2(3*H*)-ylidene)methyl)phenoxy)methyl)-1*H*-isochromen-1-one **87** in mixture

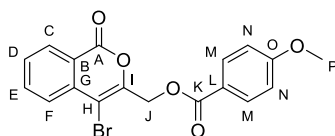
The synthesis was realized following the general procedure **B2** for the Sonogashira coupling starting from resin **56** (experimental loading 0.61 mmol/g, 0.200 g), 4-propargyloxyanisole (0.053 g, 0.31 mmol), compound **8** (0.084 g, 0.31 mmol) and *i*Pr₂NH and the general procedure **C2** for the cyclization using CuBr₂ (0.027 g, 0.12 mmol). The crude product (11 mg) was obtained as a brown solid. The occurrence of the synthesis of the expected two isocoumarin derivatives and of the two phthalides by-product was confirmed by the comparison of the different R_f values of the compounds of the crude product with the previous separated experiment ones and by LC-MS analysis of the crude product. No purification was made on these crude products.

LC-MS (ESI+) *t_r* (min): 15.2 (*m/z* = 361 [M+H]⁺ with ⁷⁹Br, 363 [M+H]⁺ with ⁸¹Br, compound **78** or **79**), 17.2 (*m/z* = 475 [M+H]⁺ with ⁷⁹Br, 477 [M+H]⁺ with ⁸¹Br, compound **87** or **88**), 17.6 (*m/z* = 475 [M+H]⁺ with ⁷⁹Br, 477 [M+H]⁺ with ⁸¹Br, compound **87** or **88**).

(4-bromo-1-oxo-1*H*-isochromen-3-yl)methyl 4-methoxybenzoate **90**

Formula: C₁₈H₁₃BrO₅

MW = 389.20 g/mol



The compound was synthesized following the general procedure **B2** for the Sonogashira coupling starting from resin **56** (experimental loading 0.61 mmol/g, 0.100 g), propargyl 4-methoxybenzoate (0.116 g, 0.61 mmol) and *i*Pr₂NH and the general procedure **C2** for the cyclization using CuBr₂ (0.056 g, 0.25 mmol). The crude product (21 mg, yield for the totality of the protocol: 88 %) was obtained as a brown solid and was pure enough to be characterized without any purification.

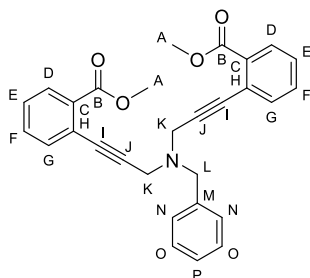
R_f = 0.60 (cyclohexane/CH₂Cl₂ 1:4); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.32 (dd, *J* = 7.9, 0.8 Hz, 1H, H^C), 8.07-8.01 (m, 2H, H^M), 7.87 (m, 2H, H^E, H^F), 7.63 (m, 1H, H^D), 6.95-6.89 (m, 2H, H^N), 5.42 (s, 2H, H^J), 3.86 (s, 3H, H^P); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 165.8 (C^K), 163.9 (C^A), 160.7 (C^O), 148.7 (C^I), 135.7 (C^E), 135.6 (C^G), 132.2 (2 X C^M), 130.2 (C^C), 130.0 (C^D), 126.7 (C^F), 121.7 (C^B), 121.4 (C^L), 113.9 (2 X C^N), 104.7 (C^H), 62.7 (C^J), 55.6 (C^P); LC-MS (ESI+): *m/z* (%): 431 (99), 429 [M+K+H]⁺ (100), 414 (89), 412 [M+Na]⁺ (90); HRMS (ESI+) *m/z* calcd for C₁₈H₁₇NO₅Br [M+NH₄]⁺: 406.0285, found: 406.0280.

Partie expérimentale

Dimethyl 2,2'-[(benzylazanediy)bis(prop-1-yne-3,1-diyl)]dibenzoate **99**

Formula: C₂₉H₂₅NO₄

MW = 451.51 g/mol



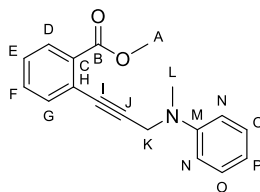
The compound was synthesized following the general procedure **B1** starting from benzyldipropargylamine (0.098 g, 0.53 mmol). The obtained crude product was purified by column chromatography with preparation of a solid deposit (cyclohexane/EtOAc 19:1 to 5:1) to afford the desired compound (0.104 g, yield: 43 %) as a brown oil.

Rf = 0.29 (cyclohexane/EtOAc 9:1); LC-MS (ESI+) *m/z* (%): 452 [M+H]⁺ (100); HRMS (ESI+) *m/z* calcd for C₂₉H₂₆NO₄ [M+H]⁺: 452.1856, found: 452.1845.

Methyl 2-{3-[methyl(phenyl)amino]prop-1-yn-1-yl}benzoate **103**

Formula: C₁₈H₁₇NO₂

MW = 279.33 g/mol



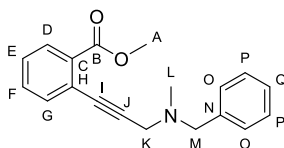
The compound was synthesized following the general procedure **B1** starting from *N*-benzyl-*N*-methylpropargylamine (0.103 g, 0.71 mmol). The obtained crude product was purified by column chromatography with preparation of a solid deposit (cyclohexane/EtOAc 19:1) to afford the desired compound (0.113 g, yield: 40 %) as a yellow oil.

Rf = 0.26 (cyclohexane/EtOAc 19:1); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.88 (dd, *J* = 7.7, 1.3 Hz, 1H, H^D), 7.47 (dd, *J* = 7.7, 1.3 Hz, 1H, H^G), 7.40 (td, *J* = 7.7, 1.3 Hz, 1H, H^F), 7.34-7.24 (m, 3H, H^E, H^O), 6.94 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H, H^N), 6.81 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H, H^P), 4.33 (s, 2H, H^K), 3.75 (s, 3H, H^A), 3.07 (s, 3H, H^L); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 166.9 (C^B), 149.4 (C^M), 134.5 (C^F), 132.2 (C^C), 131.6 (C^G), 130.3 (C^D), 129.2 (2 X C^O), 127.9 (C^E), 123.4 (C^H), 118.3 (C^P), 114.5 (2 X C^N), 90.4 (C^I), 82.9 (C^J), 52.1 (C^A), 43.6 (C^K), 38.9 (C^L); LC-MS (ESI+) *m/z* (%): 280 [M+H]⁺ (100), 248 (3), 173 (2); HRMS (ESI+) *m/z* calcd for C₁₈H₁₈NO₂ [M+H]⁺: 280.1332, found: 280.1331.

Methyl 2-{3-[benzyl(methyl)amino]prop-1-yn-1-yl}benzoate **104**

Formula: C₁₉H₁₉NO₂

MW = 293.36 g/mol



The compound was synthesized following the general procedure **B1** starting from benzylmethylpropargylamine (0.100 g, 0.63 mmol). The obtained crude product was purified

Partie expérimentale

by column chromatography with preparation of a solid deposit (cyclohexane/EtOAc 9:1 to 4:1) to afford the desired compound (0.071 g, yield: 39 %) as a yellow oil.

Rf = 0.30 (cyclohexane/EtOAc 4:1); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.93 (dd, $J = 7.7, 1.2$ Hz, 1H, H^{D}), 7.59 (dd, $J = 7.7, 1.2$ Hz, 1H, H^{G}), 7.47 (td, $J = 7.7, 1.2$ Hz, 1H, H^{F}), 7.43-7.27 (m, 6H, H^{E} , H^{O} , H^{P} , H^{Q}), 3.92 (s, 3H, H^{A}), 3.73 (s, 2H, H^{M}), 3.61 (s, 2H, H^{K}), 2.47 (s, 3H, H^{L}); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 166.9 (C^{B}), 138.4 (C^{N}), 134.6 (C^{F}), 131.7 (C^{G}), 130.4 (C^{D}), 129.5 (2 X C^{P}), 129.3 (C^{H}), 128.5 (2 X C^{O}), 127.8 (C^{E}), 127.4 (C^{Q}), 123.8 (C^{C}), 90.0 (C^{I}), 84.6 (C^{J}), 60.2 (C^{M}), 52.4 (C^{A}), 46.1 (C^{K}), 42.1 (C^{L}); LC-MS (ESI+) m/z (%): 316 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$ (82), 294 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ (100); HRMS (ESI+) m/z calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{NO}_2$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$: 294.1489, found: 294.1485.

Addition of propargyl on an artificial mixture of polyfunctionalized products

Unoptimized protocol: the addition of propargyl was realized following the general procedure **A1** starting from a mixture of D-glucose (21 mg, 0.11 mmol), gallic acid (19 mg, 0.11 mmol), caffeic acid (20 mg, 0.11 mmol), palmitic acid (29 mg, 0.11 mmol), rosmarinic acid (40 mg, 0.11 mmol), quercetin (34 mg, 0.11 mmol) and rutin (67 mg, 0.11 mmol) in 20 mL of dry acetone. The concentration of the filtrate under reduced pressure afforded the modified artificial mixture (282 mg) as a dark brown solid. This product was analyzed by LC-MS and the occurrence of the reaction on rutin, quercetin and rosmarinic acid was confirmed by the comparison of the chromatogram of the modified mixture with the starting one and by the comparison of the molecular peak values of the mass spectrum of the mixture compounds with calculated molecular weight of the theoretical possible products.

LC-MS (ESI+ and ESI-) t_{R} (min): 6.7 ($m/z = 609$ [$\text{M}-\text{H}$] $^-$, 611 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$, rutin), 7.6 ($m/z = 647$ [$\text{M}-\text{H}$] $^-$, 649 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$, propargyloxyrutin), 7.8 ($m/z = 359$ [$\text{M}-\text{H}$] $^-$, rosmarinic acid), 8.6 ($m/z = 647$ [$\text{M}-\text{H}$] $^-$, 649 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$, propargyloxyrutin), 9.3 ($m/z = 397$ [$\text{M}-\text{H}$] $^-$, propargyl rosmarinoate or propargyloxyrosmarinic acid), 9.6 ($m/z = 685$ [$\text{M}-\text{H}$] $^-$, 687 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$, dipropargyloxyrutin), 9.6 ($m/z = 397$ [$\text{M}-\text{H}$] $^-$, propargyl rosmarinoate or propargyloxyrosmarinic acid), 10.3 ($m/z = 763$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$, tetrapropargyloxyrutin), 10.5 ($m/z = 723$ [$\text{M}-\text{H}$] $^-$, 725 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$, tripropargyloxyrutin), 13.9 ($m/z = 511$ [$\text{M}-\text{H}$] $^-$, propargyl tripropargyloxyrosmarinoate or tetrapropargyloxyrosmarinic acid), 14.4 ($m/z = 493$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$, pentapropargyloxyquercetin), 15.9 ($m/z = 453$ [$\text{M}-\text{H}$] $^-$, 455 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$, tetrapropargyloxyquercetin).

Addition of propargyl on a mixture of gallic acid, caffeic acid and quercetin

Unoptimized protocol: the addition of propargyl was realized following the general procedure **A1** starting from a mixture of gallic acid (68 mg, 0.40 mmol), caffeic acid (72 mg, 0.40 mmol), quercetin (122 mg, 0.40 mmol) in 25 mL of dry acetone. The concentration of the filtrate under reduced pressure afforded the modified artificial mixture (166 mg) as a yellow brown solid. This product was analyzed by LC-MS and the occurrence of the reaction on all the polyphenols was confirmed by the comparison of the chromatogram of the modified mixture with the starting one and by the comparison of the molecular peak values of the mass spectrum of the mixture compounds with calculated molecular weight of the theoretical possible products.

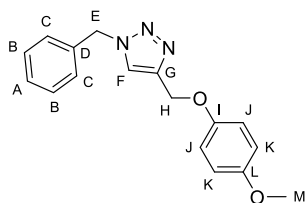
LC-MS (ESI+ and ESI-) t_{R} (min): 13.6 ($m/z = 323$ [M] $^+$, propargyl tripropargyloxygallate), 13.7 ($m/z = 295$ [M] $^+$, 239, propargyl dipropargyloxycaffeate), 15.2 ($m/z = 455$ [M] $^+$, tetrapropargyloxyquercetin), 14.4 ($m/z = 493$ [M] $^+$, pentapropargyloxyquercetin), 15.9 ($m/z = 455$ [M] $^+$, tetrapropargyloxyquercetin).

Partie expérimentale

1-benzyl-4-((4-methoxyphenoxy)methyl)-1*H*-1,2,3-triazole **113**

Formula: C₁₇H₁₇N₃O₂

MW = 295.34 g/mol



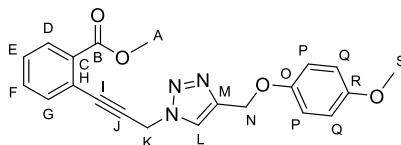
The compound was synthesized following the general procedure **D1** starting from benzyl azide (62.5 μ L, 0.5 mmol) and 4-propargyloxyanisole (125 mg, 0.77 mmol) in 5 mL of THF. The obtained crude solid (162 mg) was purified by silica gel column chromatography (cyclohexane/EtOAc 17:3 to 7:3) to afford the desired compound (96 mg, yield: 65 %) as a white solid.

Rf = 0.33 (cyclohexane/EtOAc, 7:3); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.53 (s, 1H, H^F), 7.42-7.35 (m, 3H, H^A, H^C), 7.31-7.27 (m, 2H, H^B), 6.93-6.87 (m, 2H, H^J), 6.85-6.79 (m, 2H, H^K), 5.54 (s, 2H, H^E), 5.16 (s, 2H, H^H), 3.76 (s, 3H, H^M). Analytical data were in accordance with the literature [345].

Methyl 2-(3-(4-((4-methoxyphenoxy)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)prop-1-yn-1-yl)benzoate **114**

Formula: C₂₁H₁₉N₃O₄

MW = 377.40 g/mol



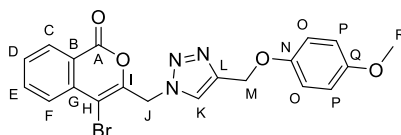
The compound was synthesized following the general procedure **D1** starting from compound **71** (31 mg, 0.14 mmol) and 4-propargyloxyanisole (33 mg, 0.21 mmol) in 5 mL of THF. The obtained crude solid (63 mg) was purified by silica gel column chromatography with preparation of a solid deposit (cyclohexane/EtOAc 2:1 to 1:1) to afford the desired compound (52 mg, yield: 96 %) as a white solid.

Rf = 0.52 (cyclohexane/EtOAc, 1:1); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.21 (s, 1H, H^I), 7.98 (dd, *J* = 7.7, 1.4 Hz, 1H, H^P), 7.56 (dd, *J* = 7.7, 1.4 Hz, 1H, H^G), 7.50 (td, *J* = 7.7, 1.4 Hz, 1H, H^F), 7.43 (td, *J* = 7.7, 1.4 Hz, 1H, H^E), 6.97-6.91 (m, 2H, H^P), 6.86-6.79 (m, 2H, H^Q), 5.46 (s, 2H, H^K), 5.20 (s, 2H, H^N), 3.88 (s, 3H, H^A), 3.76 (s, 3H, H^S); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 166.1 (C^B), 154.3 (C^R), 152.5 (C, C^O), 144.6 (C^M), 134.3 (C^G), 132.0 (C^F, C^C), 130.6 (C^D), 128.9 (C^E), 123.3 (C^H), 122.2 (C^I), 115.9 (2 X C^P), 114.7 (2 X C^Q), 86.1 (C^J), 84.9 (C^L), 62.8 (C^N), 55.7 (C^S), 52.4 (C^A), 41.1 (C^K); LC-MS (ESI+) *m/z* (%): 416 [M+K]⁺ (12), 400 [M+Na]⁺ (12), 378 [M+H]⁺ (100), 329 (4), 135 (6); HRMS (ESI+) *m/z* calcd for C₂₁H₂₀O₄N₃ [M+H]⁺: 378.1448, found: 378.1444.

4-bromo-3-((4-((4-methoxyphenoxy)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-1*H*-isochromen-1-one **115**

Formula: C₂₀H₁₆BrN₃O₄

MW = 442.27 g/mol



Partie expérimentale

Solution protocol: The compound was synthesized following the general procedure **C1** starting from compound **114** (39 mg, 0.103 mmol). The obtained crude solid (42 mg) was purified by silica gel column chromatography with preparation of a solid deposit (cyclohexane/EtOAc 2:1) to afford the desired compound (8 mg, yield: 18 %) as a brown solid.

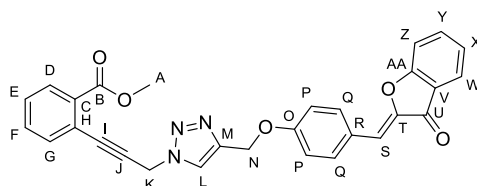
Solid-phase protocol: The compound was synthesized following the general procedure **D2** for the cycloaddition reaction starting from resin **65** (experimental loading 0.64 mmol/g, 0.241 g), 4-propaglyloxyanisole (0.127 g, 0.78 mmol), THF and the general procedure **C2** for the cyclization using CuBr₂ (0.139 g, 0.62 mmol). The obtained crude product was purified by silica gel column chromatography with solid deposit (cyclohexane/EtOAc 5:1) to afford the desired compound (11 mg, yield for the totality of the protocol: 16 %) as a pink solid.

Rf = 0.48 (cyclohexane/EtOAc, 1:1); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.30 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H, H^C), 7.90-7.84 (m, 3H, H^E, H^F, H^K), 7.67-7.62 (m, 1H, H^D), 6.94-6.89 (m, 2H, H^O), 6.85-6.79 (m, 2H, H^P), 5.70 (s, 2H, H^J), 5.16 (s, 2H, H^M), 3.76 (s, 3H, H^R); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 159.9 (C^A), 154.4 (C^Q), 152.4 (C^N), 146.3 (C^I), 144.6 (C^L), 136.0 (C^E), 135.1 (C^G), 130.5 (C^C), 130.3 (C^D), 127.0 (C^F), 125.2 (C^K), 121.2 (C^B), 116.1 (2 X C^O), 114.8 (2 X C^P), 105.3 (C^H), 62.8 (C^M), 55.8 (C^R), 51.4 (C^J), LC-MS (ESI+) *m/z* (%): 444 (100), 442 [M+H]⁺ (100); HRMS (ESI+) *m/z* calcd for C₂₀H₁₇O₄N₃Br [M+H]⁺: 442.0397, found: 442.0388.

Methyl (Z)-2-(3-(4-((3-oxobenzofuran-2(3H)-ylidene)methyl)phenoxy)methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)prop-1-yn-1-yl)benzoate **117**

Formula: C₂₉H₂₁N₃O₅

MW = 491.50 g/mol



The compound was synthesized following the general procedure **D1** starting from compound **71** (50 mg, 0.23 mmol) and compound **8** (96 mg, 0.35 mmol) in THF (7.5 mL). The obtained crude liquid (140 mg) was purified by silica gel column chromatography with preparation of a solid deposit (cyclohexane/EtOAc 3:1 to 1:2) to afford the desired compound (92 mg, yield: 80 %) as a yellow solid.

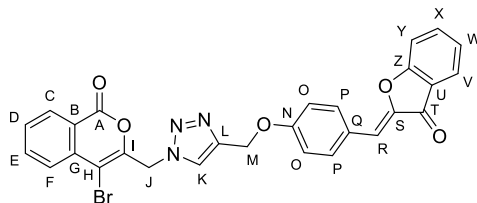
Rf = 0.44 (cyclohexane/EtOAc, 1:1); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.30 (s, 1H, H^L), 7.99 (dd, *J* = 7.7, 1.4 Hz, 1H, H^D), 7.90 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, H^Q), 7.81 (dd, *J* = 8.0, 1.2 Hz, 1H, H^W), 7.65 (td, *J* = 8.0, 1.2 Hz, 1H, H^Y), 7.57 (dd, *J* = 7.7, 1.4 Hz, 1H, H^G), 7.51 (td, *J* = 7.7, 1.4 Hz, 1H, H^F), 7.43 (td, *J* = 7.7, 1.4 Hz, 1H, H^E), 7.32 (dd, *J* = 8.0, 1.2 Hz, 1H, H^Z), 7.22 (td, *J* = 8.0, 1.2 Hz, 1H, H^X), 7.11 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, H^P), 6.88 (s, 1H, H^S), 5.48 (s, 2H, H^K), 5.32 (s, 2H, H^N), 3.89 (s, 3H, H^A); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 184.6 (C^U), 166.1 (C^B), 165.9 (C^{AA}), 159.7 (C^O), 146.1 (C^T), 143.8 (C^M), 136.7 (C^Y), 134.3 (C^G), 133.5 (2 X C^Q), 132.1 (C^F), 132.0 (C^C), 130.7 (C^D), 129.0 (C^E), 125.6 (C^R), 124.6 (C^W), 123.6 (C^L), 123.4 (C^X), 122.1 (C^V), 121.9 (C^H), 115.4 (2 X C^P), 113.2 (C^Z), 113.0 (C^S), 86.3 (C^J), 84.8 (C^I), 62.1 (C^N), 52.4 (C^A), 41.2 (C^K); LC-MS (ESI+) *m/z* (%): 492 [M+H]⁺ (51), 432 (21); HRMS (ESI+) *m/z* calcd for C₂₉H₂₂O₅N₃ [M+H]⁺: 492.1554, found: 492.1541.

Partie expérimentale

(Z)-4-bromo-3-((4-((4-((3-oxobenzofuran-2(3H)-ylidene)methyl)phenoxy)methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-1H-isochromen-1-one **118**

Formula: C₂₈H₁₈BrN₃O₅

MW = 556.37 g/mol



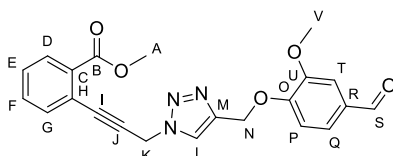
The compound was synthesized following the general procedure **C1** starting from compound **117** (92 mg, 0.19 mmol) and CuBr₂ (84 mg, 0.37 mmol). The obtained crude solid (118 mg) was purified by two successive silica gel column chromatography with preparation of a solid deposit (cyclohexane/EtOAc 5:1 to 1:5 and cyclohexane/EtOAc 2:1 to 1:1) to afford the desired compound (31 mg, yield for the totality of the protocol: 30 %) as a yellow solid.

R_f = 0.48 (cyclohexane/EtOAc, 1:1); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.31 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H, H^C), 7.91 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, H^P), 7.90-7.87 (m, 3H, H^F, H^F, H^K), 7.81 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, H^V), 7.67-7.62 (m, 2H, H^D, H^X), 7.33 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, H^Y), 7.22 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H, H^W), 7.08 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, H^O), 6.87 (s, 1H, H^R), 5.72 (s, 2H, H^J), 5.29 (s, 2H, H^M); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 184.7 (C^T), 166.0 (C^Z), 159.9 (C^A), 159.7 (C^N), 146.2 (C^I), 146.1 (C^S), 143.5 (C^L), 136.8 (C^X), 136.0 (C^E), 135.1 (C^G), 133.6 (2 X C^P), 132.2 (C^K), 130.5 (C^C), 130.3 (C^D), 127.0 (C^F), 125.8 (C^Q), 124.7 (C^V), 123.5 (C^W), 122.0 (C^U), 121.2 (C^B), 115.5 (2 X C^O), 113.3 (C^Y), 113.1 (C^R), 105.3 (C^H), 62.1 (C^M), 51.4 (C^J); LC-MS (ESI+) *m/z* (%): 596 (30), 594 [M+K]⁺ (23), 558 (100), 556 [M+H]⁺ (96); HRMS (ESI+) *m/z* calcd for C₂₈H₁₉O₅N₃Br [M+H]⁺: 556.0503, found: 556.0495.

Methyl 2-(3-(4-((4-formyl-2-methoxyphenoxy)methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)prop-1-yn-1-yl)benzoate **120**

Formula: C₂₂H₁₉N₃O₅

MW = 405.41 g/mol



The compound was synthesized following the general procedure **D1** starting from compound **71** (50 mg, 0.23 mmol) and 3-methoxy-4-(propargyloxy)benzaldehyde (66 mg, 0.35 mmol) in THF (7.5 mL). The obtained crude oil (111 mg) was purified by silica gel column chromatography with preparation of a solid deposit (cyclohexane/EtOAc 3:1 to 1:2) to afford the desired compound (66 mg, yield: 69 %) as a yellow solid.

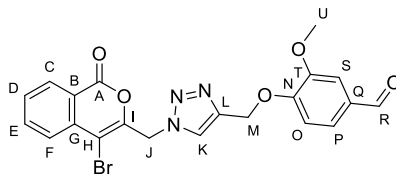
R_f = 0.29 (cyclohexane/EtOAc, 1:1); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9.78 (s, 1H, H^S), 8.25 (s, 1H, H^L), 7.92 (dd, *J* = 7.7, 1.3 Hz, 1H, H^D), 7.50 (dd, *J* = 7.7, 1.3 Hz, 1H, H^G), 7.44 (td, *J* = 7.7, 1.3 Hz, 1H, H^F), 7.40-7.33 (m, 3H, H^E, H^Q, H^T), 7.21 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, H^P), 5.41 (s, 2H, H^K), 5.35 (s, 2H, H^N), 3.84 (s, 3H, H^A), 3.82 (s, 3H, H^V); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 190.9 (C^S), 166.0 (C^B), 153.1 (C^O), 149.9 (C^U), 143.2 (C^M), 134.2 (C^G), 132.0 (C^F), 131.9 (C^C), 130.5 (C^D, C^R), 128.9 (C^E), 126.6 (C^Q), 123.8 (C^L), 122.0 (C^H), 112.6 (C^P), 109.2 (C^T), 86.1 (C^J), 84.7 (C^I), 62.8 (C^N), 55.9 (C^V), 52.2 (C^A), 41.1 (C^K); LC-MS (ESI+) *m/z* (%): 444 [M+K]⁺ (4), 428 [M+Na]⁺ (9), 406 [M+H]⁺ (100); HRMS (ESI+) *m/z* calcd for C₂₂H₂₀O₅N₃ [M+H]⁺: 406.1398, found: 406.1395.

Partie expérimentale

4-((1-((4-bromo-1-oxo-1*H*-isochromen-3-yl)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methoxy)-3-methoxybenzaldehyde **121**

Formula: C₂₁H₁₆BrN₃O₅

MW = 470.28 g/mol



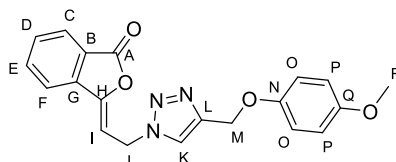
The compound was synthesized following the general procedure **C1** starting from compound **120** (60 mg, 0.15 mmol) and CuBr₂ (67 mg, 0.30 mmol). The obtained crude solid (76 mg) was purified by silica gel column chromatography with preparation of a solid deposit (cyclohexane/EtOAc 1:1) to afford the desired compound (27 mg, yield for the totality of the protocol: 45 %) as an off-white solid.

R_f = 0.27 (cyclohexane/EtOAc, 1:1); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9.81 (s, 1H, H^R), 8.25 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, H^C), 7.96 (s, 1H, H^K), 7.87-7.82 (m, 2H, H^E, H^F), 7.65-7.59 (m, 1H, H^D), 7.44-7.35 (m, 2H, H^P, H^S), 7.19 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, H^O), 5.68 (s, 2H, H^J), 5.35 (s, 2H, H^M), 3.88 (s, 3H, H^U); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 191.0 (C^R), 159.8 (C^A), 153.1 (C^N), 150.0 (C^T), 146.2 (C^I), 144.0 (C^L), 136.0 (C^E), 135.0 (C^G), 130.8 (C^Q), 130.5 (C^C), 130.2 (C^D), 126.9 (C^F), 126.8 (C^P), 124.3 (C^K), 121.1 (C^B), 112.8 (C^O), 109.4 (C^S), 105.3 (C^H), 62.9 (C^M), 56.1 (C^U), 51.3 (C^J), LC-MS (ESI-) *m/z* (%): 502 (100), 500 [M+CH₂OH]⁻ (42), 470 (100), 468 [M-H]⁻ (100); HRMS (ESI-) *m/z* calcd for C₂₁H₁₅O₅N₃Br [M-H]⁻: 468.0201, found: 468.0207.

3-((4-((4-methoxyphenoxy)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-1*H*-isochromen-1-one **125**

Formula: C₂₀H₁₇N₃O₄

MW = 363.37 g/mol



Starting from 4-propargyloxyanisole **7:** The compound was synthesized following the general procedure **D2** for the cycloaddition reaction starting from resin **65** (experimental loading 1.04 mmol/g, 99 mg), 4-propargyloxyanisole (0.127 g, 0.78 mmol), DMF and the general procedure **C4** for the cyclization. The obtained crude product (33 mg) was purified by silica gel column chromatography with solid deposit (cyclohexane/EtOAc 5:1 to 2:1) to afford the desired compound (10 mg, yield for the totality of the protocol: 25 %) as a yellow solid.

Starting from 4-methoxyphenol **1:** The compound was synthesized following the general procedure **E** starting from resin **65** (experimental loading 0.66 mmol/g, 51 mg), and 4-methoxyphenol (65 mg, 0.52 mmol). The cleavage of 15 mg of the obtained resin afforded the desired compound as a yellow solid (3 mg). No purification was made on this crude product.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.95 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, H^C), 7.75 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H, H^E), 7.72 (s, 1H, H^K), 7.68 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, H^F), 7.63 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H, H^D), 6.94 – 6.89 (m, 2H, H^O), 6.84 – 6.79 (m, 2H, H^P), 5.87 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H, H^I), 5.40 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H, H^J), 5.16 (s, 2H, H^M), 3.75 (s, 3H, H^R); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 165.9 (C, C^A), 154.4 (C, C^Q), 152.4 (C, C^N), 148.7 (C, C^H), 138.4 (C, C^G), 135.1 (CH, C^E), 131.3 (CH, C^D), 125.9 (CH, C^C), 125.0 (C, C^B), 123.1 (C, C^K),

Partie expérimentale

120.8 (CH, C^F), 116.0 (2 X CH, C^O), 114.8 (2 X CH, C^P), 99.9 (CH, C^I), 62.8 (CH₂, C^M), 55.8 (CH₃, C^R), 45.6 (CH₂, C^J).

Solid-phase synthesis of 4-bromo-3-((4-((4-methoxyphenoxy)methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-1H-isochromen-1-one **115** and (Z)-4-bromo-3-((4-((4-((3-oxobenzofuran-2(3H)-ylidene)methyl)phenoxy)methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-1H-isochromen-1-one **118** in mixture

The synthesis was realized following the general procedure **D2** for the cycloaddition reaction starting from resin **65** (experimental loading 1.04 mmol/g, 0.101 g), 4-propargyloxyanisole (43 mg, 0.27 mmol), compound **8** (65 mg, 0.24 mmol), THF and the general procedure **C2** for the cyclization using CuBr₂ (94 mg, 0.42 mmol) and DMF. After the cycloaddition reaction step, the occurrence of the reaction with all the propargylyed compounds was confirmed by NMR and LC-MS analysis on the product (12 mg) obtained by cleavage of a sample of resin (15 mg) following the general procedure **C4**. The cyclization step was realized with the remaining resin. The crude cyclization product (66 mg) was obtained as a dark green solid. This product was analyzed by ¹H NMR and LC-MS and the occurrence of the synthesis was verified by the comparison of the molecular peak values of the mass spectrum of the mixture compounds with calculated molecular weight of the theoretical possible products. ¹H NMR and LC-MS analyses confirmed the presence of expected cyclization compounds from the two propargyl ethers in the crude product.

LC-MS (ESI+ and ESI-) t_R (min): 13.3 (*m/z* = 440 [M-H]⁻ with ⁷⁹Br, 442 [M-H]⁻ with ⁸¹Br and [M+H]⁺ with ⁷⁹Br, 444 [M+H]⁺ with ⁸¹Br, compound **115**), 13.6 (*m/z* = 442 [M+H]⁺ with ⁷⁹Br, 444 [M+H]⁺ with ⁸¹Br, compound **116**), 15.7 (*m/z* = 554 [M-H]⁻ with ⁷⁹Br, 556 [M-H]⁻ with ⁸¹Br and [M+H]⁺ with ⁷⁹Br, 558 [M+H]⁺ with ⁸¹Br, compound **118**), 16.2 (*m/z* = 554 [M-H]⁻ with ⁷⁹Br, 556 [M-H]⁻ with ⁸¹Br and [M+H]⁺ with ⁷⁹Br, 558 [M+H]⁺ with ⁸¹Br, compound **119**).

Solid-phase synthesis of 4-bromo-3-((4-((4-methoxyphenoxy)methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-1H-isochromen-1-one **115**, (Z)-4-bromo-3-((4-((4-((3-oxobenzofuran-2(3H)-ylidene)methyl)phenoxy)methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-1H-isochromen-1-one **119** and 4-((1-((4-bromo-1-oxo-1H-isochromen-3-yl)methyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methoxy)-3-methoxybenzaldehyde **121** in mixture

Starting from the propargyl ethers: the synthesis was realized following the general procedure **D2** for the cycloaddition reaction starting from resin **65** (experimental loading 1.04 mmol/g, 0.151 g), 4-propargyloxyanisole (41 mg, 0.26 mmol), compound **8** (72 mg, 0.26 mmol), 3-methoxy-4-(propargyloxy)benzaldehyde (50 mg, 0.26 mmol), THF and the general procedure **C2** for the cyclization using CuBr₂ (139 mg, 0.62 mmol) and DMF. After the cycloaddition reaction step, the occurrence of the reaction with all the propargylyed compounds was confirmed by NMR and LC-MS analyses on the crude product (6 mg) obtained by cleavage of a sample of resin (21 mg) following the general procedure **C4**. The cyclization step was realized with the remaining resin. The crude cyclization product (112 mg) was obtained as a dark green solid. This product was analyzed by ¹H NMR and LC-MS and the occurrence of the synthesis was verified by the comparison of the molecular peak values of the mass spectrum of the mixture compounds with calculated molecular weight of the theoretical possible products. ¹H NMR and LC-MS analysis confirmed the presence of expected cyclization compounds from the three propargyl ethers in the crude product.

LC-MS (ESI+ and ESI-) t_R (min): 12.2 (*m/z* = 468 [M-H]⁻ with ⁷⁹Br, 470 [M-H]⁻ with ⁸¹Br and [M+H]⁺ with ⁷⁹Br, 472 [M+H]⁺ with ⁸¹Br, compound **121**), 12.5 (*m/z* = 470 [M+H]⁺ with ⁷⁹Br, 472 [M+H]⁺ with ⁸¹Br, compound **122**), 13.3 (*m/z* = 442 [M+H]⁺ with ⁷⁹Br, 444 [M+H]⁺ with ⁸¹Br, compound **115**), 15.7 (*m/z* = 554 [M-H]⁻ with ⁷⁹Br, 556 [M-H]⁻ with ⁸¹Br and [M+H]⁺ with ⁷⁹Br,

558 [M+H]⁺ with ⁸¹Br, compound **118**), 16.2 (*m/z* = 556 [M+H]⁺ with ⁷⁹Br, 558 [M+H]⁺ with ⁸¹Br, compound **119**).

Starting from the hydroxylated compounds: the synthesis was realized following the general procedure **E** starting from 4-methoxyphenol (11 mg, 0.088 mmol), compound **2** (21 mg, 0.086 mmol), vanillin (14 mg, 0.090 mmol), resin **65** (experimental loading 1.04 mmol/g, 0.050 g) and CuBr₂ (47 mg, 0.21 mmol). The crude cyclization product (62 mg) was obtained as a dark green solid. This product was analyzed by ¹H NMR and LC-MS and the occurrence of the synthesis was verified by the comparison of the molecular peak values of the mass spectrum of the mixture compounds with calculated molecular weight of the theoretical possible products. ¹H NMR and LC-MS analyses confirmed the presence of expected cyclization compounds from the three hydroxylated compounds in the crude product.

LC-MS (ESI+ and ESI-) *t_R* (min): 12.2 (*m/z* = 468 [M-H]⁻ with ⁷⁹Br, 470 [M-H]⁻ with ⁸¹Br and [M+H]⁺ with ⁷⁹Br, 472 [M+H]⁺ with ⁸¹Br, compound **121**), 15.7 (*m/z* = 554 [M-H]⁻ with ⁷⁹Br, 556 [M-H]⁻ with ⁸¹Br and [M+H]⁺ with ⁷⁹Br, 558 [M+H]⁺ with ⁸¹Br, compound **118**), 16.2 (*m/z* = 556 [M+H]⁺ with ⁷⁹Br, 558 [M+H]⁺ with ⁸¹Br, compound **119**).

Solid-phase synthesis of 3-((1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-1*H*-isochromen-1-one derivatives with quercetin **46**

The synthesis was realized following the general procedure **E** starting from quercetin (33 mg, 0.11 mmol) and resin **65** (experimental loading 1.07 mmol/g, 20 mg). The crude cyclization product (15 mg) was obtained as a yellow solid. This product was analyzed by ¹H NMR and LC-MS and the occurrence of the synthesis was verified by the comparison of the molecular peak values of the mass spectrum of the mixture compounds with calculated molecular weight of the theoretical possible products. ¹H NMR and LC-MS analyses confirmed the presence of expected cyclization compounds from propargylylated quercetin derivatives in the crude product.

LC-MS (ESI+ and ESI-) *t_R* (min): 7.9 (*m/z* = 542 [M+H]⁺, product of the synthesis with propargyloxyquercetin), 8.1 (*m/z* = 542 [M+H]⁺, product of the synthesis with propargyloxyquercetin), 9.6 (*m/z* = 542 [M+H]⁺, product of the synthesis with propargyloxyquercetin), 10.0 (*m/z* = 580 [M+H]⁺, product of the synthesis with dipropargyloxyquercetin), 11.3 (*m/z* = 540 [M-H]⁻, 542 [M+H]⁺, product of the synthesis with propargyloxyquercetin), 13.4 (*m/z* = 578 [M-H]⁻, product of the synthesis with dipropargyloxyquercetin).

Solid-phase synthesis of 3-((1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-1*H*-isochromen-1-one derivatives with caffeic acid **44**

The synthesis was realized following the general procedure **E** starting from caffeic acid (20 mg, 0.11 mmol), resin **65** (experimental loading 1.07 mmol/g, 20 mg) and a mixture of TFA and CH₂Cl₂ (1:1, 1 mL). The crude cyclization product (18 mg) was obtained as a whitish solid. This product was analyzed by ¹H NMR and LC-MS and the occurrence of the synthesis was verified by the comparison of the molecular peak values of the mass spectrum of the mixture compounds with calculated molecular weight of the theoretical possible products. ¹H NMR and LC-MS analyses confirmed the presence of expected cyclization compounds from propargylylated caffeic acid derivatives in the crude product.

LC-MS (ESI+ and ESI-) *t_R* (min): 10.4 (*m/z* = 418 [M-H]⁻, product of the synthesis with propargyloxycaffeic acid or propargyl caffeate), 11.0 (*m/z* = 418 [M-H]⁻, 420 [M+H]⁺, product of the synthesis with propargyloxycaffeic acid or propargyl caffeate), 13.0 (*m/z* = 456 [M-H]⁻, product of the synthesis with dipropargyloxycaffeic acid or propargyl propargyloxycaffeate).

Partie expérimentale

Solid-phase synthesis of 3-((1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-1*H*-isochromen-1-one derivatives with caffeic acid **44**, gallic acid **45** and quercetin **46** in mixture

The synthesis was realized following the general procedure **E** starting from quercetin (19 mg, 0.065 mmol), caffeic acid (11 mg, 0.064 mmol), gallic acid (11 mg, 0.064 mmol), resin **65** (experimental loading 0.94 mmol/g, 39 mg) and a mixture of TFA and CH₂Cl₂ (1:1, 1 mL, only on 20 mg of the obtained resin). The crude cyclization product (7 mg) was obtained as a yellow solid. This product was analyzed by ¹H NMR and LC-MS and the occurrence of the synthesis was verified by the comparison of the molecular peak values of the mass spectrum of the mixture compounds with calculated molecular weight of the theoretical possible products. ¹H NMR and LC-MS analyses confirmed the presence of expected cyclization compounds from propargylyed polyphenol derivatives in the crude product.

After propargylation: LC-MS (ESI+ and ESI-) *t_R* (min): 6.3 (*m/z* = 207 [M-H]⁻, propargyloxygallic acid or propargyl gallate), 8.9 (*m/z* = 245 [M-H]⁻, dipropargyloxygallic acid or propargyl propargyloxygallate), 9.3 (*m/z* = 217 [M-H]⁻, propargyloxycaffeic acid or propargyl caffeate), 10.3 (*m/z* = 339 [M-H]⁻, 341 [M+H]⁺, propargyloxyquercetin), 12.1 (*m/z* = 377 [M-H]⁻, dipropargyloxyquercetin), 12.2 (*m/z* = 377 [M-H]⁻, 379 [M+H]⁺, dipropargyloxyquercetin), 12.8 (*m/z* = 377 [M-H]⁻, 379 [M+H]⁺, dipropargyloxyquercetin), 13.8 (*m/z* = 415 [M-H]⁻, tripropargyloxyquercetin), 14.4 (*m/z* = 415 [M-H]⁻, 417 [M+H]⁺, tripropargyloxyquercetin).

After CuAAC and cleavage: LC-MS (ESI+ and ESI-) *t_R* (min): 10.4 (*m/z* = 418 [M-H]⁻, 420 [M+H]⁺, product of the synthesis with propargyloxycaffeic acid or propargyl caffeate), 11.0 (*m/z* = 418 [M-H]⁻, 420 [M+H]⁺, product of the synthesis with propargyloxycaffeic acid or propargyl caffeate), 11.3 (*m/z* = 540 [M-H]⁻, 542 [M+H]⁺, product of the synthesis with propargyloxyquercetin), 11.5 (*m/z* = 446 [M-H]⁻, 448 [M+H]⁺, product of the synthesis with propargyl propargyloxygallate or dipropargyloxygallic acid), 12.4 (*m/z* = 458 [M+H]⁺, product of the synthesis with dipropargyloxycaffeic acid or propargyl propargyloxycaffeate), 12.7 (*m/z* = 456 [M-H]⁻, 458 [M+H]⁺, product of the synthesis with dipropargyloxycaffeic acid or propargyl propargyloxycaffeate), 13.1 (*m/z* = 456 [M-H]⁻, 458 [M+H]⁺, product of the synthesis with dipropargyloxycaffeic acid or propargyl propargyloxycaffeate), 13.4 (*m/z* = 578 [M-H]⁻, 580 [M+H]⁺, product of the synthesis with dipropargyloxyquercetin).

Solid-phase synthesis of 3-((1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-4-iodo-1*H*-isochromen-1-one derivatives with caffeic acid **44**, gallic acid **45** and quercetin **46** in mixture

The synthesis was realized following the general procedure **E** starting from quercetin (19 mg, 0.065 mmol), caffeic acid (11 mg, 0.064 mmol), gallic acid (12 mg, 0.064 mmol), resin **65** (experimental loading 0.94 mmol/g, 40 mg) and ICl (1M in CH₂Cl₂, 45 μL, 0.045 mmol). The crude cyclization product (14 mg) was obtained as a yellow solid. This product was analyzed by ¹H NMR and LC-MS and the occurrence of the synthesis was verified by the comparison of the molecular peak values of the mass spectrum of the mixture compounds with calculated molecular weight of the theoretical possible products. ¹H NMR and LC-MS analyses confirmed the presence of expected cyclization compounds from propargylyed polyphenol derivatives in the crude product.

LC-MS (ESI+ and ESI-) *t_R* (min): 12.2 (*m/z* = 572 [M-H]⁻, 574 [M+H]⁺, product of the synthesis with propargyl propargyloxygallate or dipropargyloxygallic acid), 12.7 (*m/z* = 524 [M-H]⁻, product of the synthesis with propargyl caffeate or propargyloxycaffeic acid), 13.1 (*m/z* = 572 [M-H]⁻, 574 [M+H]⁺, product of the synthesis with propargyl propargyloxygallate or dipropargyloxygallic acid), 13.2 (*m/z* = 534 [M-H]⁻, product of the synthesis with propargyloxycaffeic acid or propargyl caffeate), 13.3 (*m/z* = 572 [M-H]⁻, 574 [M+H]⁺, product of the synthesis with propargyl propargyloxygallate or dipropargyloxygallic acid).

Extraction from orange peels

Peels from *Citrus sinensis* (L.) Osbeck fruits were dried and grinded into a yellow-orange powder. Powdered dried peels (200.27 g) were poured in a round-bottom flask and methanol (2 L) was added. The suspension was mechanically shaken at r.t. overnight and filtered with a Büchner funnel with filter paper. The filtrate was concentrated under reduced pressure to afford the crude extract as an orange paste (59.89 g, yield: 30 %).

Enrichment in polyphenolic metabolites of the extract of orange peels by Vacuum Liquid Chromatography (VLC)

The following procedure was adapted from [68]. Extract of orange peels (15.04 g) was dissolved in water (150 mL) with sonification until the total dissolution of the extract. The mixture was fractionated by VLC in a sintered glass column packed with 100 g of Chromabond® C₁₈ as the stationary phase (60 Å, Macherey-Nagel) using a two isocratic steps elution with H₂O 100 % (1.8 L) and then MeOH 100 % (2.25 L). The aqueous fraction was concentrated under reduced pressure to afford 10.64 g of sugars as a translucent and hygroscopic yellow solid (10.64 g, yield: 71 %). The methanolic fraction was evaporated under reduced pressure to afford a metabolite-rich extract as an orange solid (2.651 g, yield: 18 %). This last fraction was analyzed by LC-MS and the compounds were characterized by their mass spectrum, their retention time and their detection order comparing the data with the ones from [68].

LC-MS (ESI+ and ESI-) t_R (min): 7.1 ($m/z = 579$ [M-H]⁻, 581 [M+H]⁺, naringin), 7.4 ($m/z = 609$ [M-H]⁻, 611 [M+H]⁺, hesperidin), 8.7 ($m/z = 593$ [M]⁻, 595 [M+H]⁺, poncirin), 11.1 ($m/z = 373$ [M+H]⁺, pentamethoxyflavone), 11.7 ($m/z = 373$ [M+H]⁺, pentamethoxyflavone), 12.1 ($m/z = 403$ [M+H]⁺, hexamethoxyflavone), 12.4 ($m/z = 403$ [M+H]⁺, hexamethoxyflavone), 12.6 ($m/z = 343$ [M+H]⁺, tetramethoxyflavone), 12.8 ($m/z = 433$ [M+H]⁺, heptamethoxyflavone), 13.2 ($m/z = 373$ [M+H]⁺, pentamethoxyflavone).

Defatting of the extract of orange peels by Vacuum Liquid Chromatography (VLC)

The following procedure was adapted from [68]. Extract of *Citrus sinensis* peels (15.14 g) was dissolved in water (150 mL) with sonification until the total dissolution of the extract. The mixture was fractionated by VLC in a sintered glass column packed with 100 g of Chromabond® C₁₈ as the stationary phase (60 Å, Macherey-Nagel) using a four isocratic steps elution with H₂O 100 % (1.7 L), H₂O/MeOH 2:1 (750 mL), H₂O/MeOH 1:2 (750 mL) and then MeOH 100 % (750 mL). The three last methanolic fractions were evaporated under reduced pressure to afford three fractionated extracts as orange solids (respectively 0.499 g, 0.724 g, 1.425 g, yield: respectively 3 %, 5 %, 9%). All the evaporated fractions were analyzed by ¹H NMR. The fraction obtained with H₂O/MeOH 1:2 was also analyzed by LC-MS and the compounds were characterized by their mass spectrum, their retention time and their detection order comparing to [68].

LC-MS (ESI+ and ESI-) t_R (min): 7.1 ($m/z = 579$ [M-H]⁻, 581 [M+H]⁺, naringin), 7.4 ($m/z = 609$ [M-H]⁻, 611 [M+H]⁺, hesperidin), 8.7 ($m/z = 593$ [M-H]⁻, 595 [M+H]⁺, poncirin), 11.2 ($m/z = 373$ [M+H]⁺, pentamethoxyflavone), 11.7 ($m/z = 403$ [M+H]⁺, hexamethoxyflavone), 12.2 ($m/z = 515$ [M-H]⁻, limonine).

O-demethylation of the enriched extract of orange peels with BBr₃

The following procedure was adapted from [353,354]. Enriched extract of orange peels (250 mg, 0.58 mmol) was dissolved in DCM (5 mL after the addition of the BBr₃ solution) and BBr₃ (1 M in DCM, 2.0 to 5.0 mmol, 3.5 to 8.75 eq, 0.5 to 1.25 eq per -OMe group) was added carefully. The reaction mixture was heated at 40°C overnight and then quenched with MeOH (8 mL). The mixture was concentrated under reduced pressure to afford the modified extract

Partie expérimentale

as a dark brown solid. This product was analyzed by LC-MS and the occurrence of the reaction was confirmed by the comparison of the chromatogram of the modified extract with the starting enriched extract ones and by the comparison of the molecular peak values of the mass spectrum of the mixture compounds with calculated molecular weight of the theoretical possible products.

With 1.25 eq of BBr₃ per -OMe group: m = 377 mg; LC-MS (ESI+ and ESI-) t_R (min): 6.1 (*m/z* = 447 [M-H]⁻, 449 [M+H]⁺, isosakuranin), 7.4 (*m/z* = 449 [M-H]⁻, 451 [M+H]⁺, eriodictyol 7-*O*-glucoside), 7.5 (*m/z* = 317 [M-H]⁻, 319 [M+H]⁺, hexahydroxyflavone), 7.6 (*m/z* = 301 [M-H]⁻, 303 [M+H]⁺, pentahydroxyflavone or trihydroxymethoxyflavonone), 7.7 (*m/z* = 301 [M-H]⁻, 303 [M+H]⁺, pentahydroxyflavone or trihydroxymethoxyflavonone), 8.6 (*m/z* = 285 [M-H]⁻, 287 [M+H]⁺, tetrahydroxyflavone or dihydroxymethoxyflavonone), 8.9 (*m/z* = 287 [M-H]⁻, 289 [M+H]⁺, tetrahydroxyflavonone), 9.0 (*m/z* = 287 [M-H]⁻, 289 [M+H]⁺, tetrahydroxyflavonone), 9.2 (*m/z* = 285 [M-H]⁻, 287 [M+H]⁺, tetrahydroxyflavone or dihydroxymethoxyflavonone), 10.3 (*m/z* = 303 [M+H]⁺, pentahydroxyflavone or trihydroxymethoxyflavonone).

With 1 eq of BBr₃ per -OMe group: m = 344 mg; LC-MS (ESI+ and ESI-) t_R (min): 7.6 (*m/z* = 301 [M-H]⁻, 303 [M+H]⁺, pentahydroxyflavone or trihydroxymethoxyflavonone), 7.7 (*m/z* = 301 [M-H]⁻, 303 [M+H]⁺, pentahydroxyflavone or trihydroxymethoxyflavonone), 9.0 (*m/z* = 287 [M-H]⁻, 289 [M+H]⁺, tetrahydroxyflavonone), 9.2 (*m/z* = 285 [M-H]⁻, 287 [M+H]⁺, tetrahydroxyflavone or dihydroxymethoxyflavonone), 10.1 (*m/z* = 271 [M-H]⁻, 273 [M+H]⁺, trihydroxyflavonone), 10.3 (*m/z* = 301 [M-H]⁻, 303 [M+H]⁺, pentahydroxyflavone or trihydroxymethoxyflavonone), 18.1 (*m/z* = 387 [M-H]⁻, hydroxypentamethoxyflavone), 18.7 (*m/z* = 387 [M-H]⁻, hydroxypentamethoxyflavone).

With 0.75 eq of BBr₃ per -OMe group: m = 337 mg; LC-MS (ESI+ and ESI-) t_R (min): 6.1 (*m/z* = 447 [M-H]⁻, 449 [M+H]⁺, isosakuranin), 6.3 (*m/z* = 333 [M-H]⁻, 335 [M+H]⁺, heptahydroxyflavone), 6.5 (*m/z* = 317 [M-H]⁻, 319 [M+H]⁺, hexahydroxyflavone), 7.5 (*m/z* = 317 [M-H]⁻, 319 [M+H]⁺, hexahydroxyflavone), 7.6 (*m/z* = 301 [M-H]⁻, 303 [M+H]⁺, pentahydroxyflavone or trihydroxymethoxyflavonone), 7.4 (*m/z* = 449 [M-H]⁻, 451 [M+H]⁺, eriodictyol 7-*O*-glucoside), 7.7 (*m/z* = 463 [M-H]⁻, 465 [M+H]⁺, hesperetin 7-*O*-glucoside), 7.8 (*m/z* = 301 [M-H]⁻, 303 [M+H]⁺, pentahydroxyflavone or trihydroxymethoxyflavonone), 8.1 (*m/z* = 433 [M-H]⁻, 435 [M+H]⁺, prunin), 8.5 (*m/z* = 285 [M-H]⁻, 287 [M+H]⁺, tetrahydroxyflavone or dihydroxymethoxyflavonone), 8.9 (*m/z* = 287 [M-H]⁻, 289 [M+H]⁺, tetrahydroxyflavonone), 9.1 (*m/z* = 285 [M-H]⁻, 287 [M+H]⁺, tetrahydroxyflavone or dihydroxymethoxyflavonone), 9.9 (*m/z* = 271 [M-H]⁻, 273 [M+H]⁺, trihydroxyflavanone), 10.1 (*m/z* = 301 [M-H]⁻, 303 [M+H]⁺, pentahydroxyflavone or trihydroxymethoxyflavonone), 10.2 (*m/z* = 301 [M-H]⁻, 303 [M+H]⁺, pentahydroxyflavone or trihydroxymethoxyflavonone), 18.1 (*m/z* = 387 [M-H]⁻, hydroxypentamethoxyflavone).

With 0.5 eq of BBr₃ per -OMe group: m = 340 mg; LC-MS (ESI+ and ESI-) t_R (min): 7.1 (*m/z* = 579 [M-H]⁻, 581 [M+H]⁺, naringin), 7.4 (*m/z* = 609 [M-H]⁻, 611 [M+H]⁺, hesperidin), 7.7 (*m/z* = 463 [M-H]⁻, 465 [M+H]⁺, hesperetin 7-*O*-glucoside), 8.7 (*m/z* = 593 [M-H]⁻, 595 [M+H]⁺, poncirin), 10.2 (*m/z* = 301 [M-H]⁻, 303 [M+H]⁺, pentahydroxyflavone or trihydroxymethoxyflavonone), 10.4 (*m/z* = 329 [M-H]⁻, trihydroxydimethoxyflavone), 11.7 (*m/z* = 343 [M-H]⁻, 345 [M+H]⁺, dihydroxytrimethoxyflavone), 10.4 (*m/z* = 329 [M-H]⁻, trihydroxydimethoxyflavone), 11.6 (*m/z* = 373 [M+H]⁺, pentamethoxyflavone), 13.1 (*m/z* = 359 [M+H]⁺, trihydroxytrimethoxyflavone), 13.5 (*m/z* = 389 [M+H]⁺, hydroxyhexamethoxyflavone), 13.7 (*m/z* = 389 [M+H]⁺, hydroxypentamethoxyflavone), 13.9 (*m/z* = 329 [M+H]⁺, hydroxytrimethoxyflavone), 14.1 (*m/z* = 419 [M+H]⁺, hydroxyhexamethoxyflavone).

Addition of propargyl on the *O*-demethylated extract of orange peels

The addition of propargyl was realized following the general procedure **A1** starting from an extract of orange peels which was *O*-demethylated with 1.25 equivalent of BBr₃ (0.265 g, 1.3 mmol) in 30 mL of dry acetone. The concentration of the filtration under reduced pressure afforded the modified extract (0.257 g) as a dark brown solid. This product was analyzed by LC-MS and the occurrence of the reaction was confirmed by the comparison of the chromatogram of the modified extract with the starting enriched extract ones and by the comparison of the molecular peak values of the mass spectrum of the mixture compounds with calculated molecular weight of the theoretical possible products.

LC-MS (ESI+ and ESI-) *t_R* (min): 10.2 (*m/z* = 579 [M+H]⁺, tripropargyloxyhesperidin 7-*O*-glucoside or 623 [M-H]⁻, pentapropargyloxyprunin), 10.8 (*m/z* = 603 [M+H]⁺, tetrapropargyloxyeriodictyol 7-*O*-glucoside or 623 [M-H]⁻, pentapropargyloxyprunin), 12.4 (*m/z* = 653 [M-H]⁻, pentapropargyloxyhesperidin 7-*O*-glucoside), 12.9 (*m/z* = 677 [M-H]⁻, hexapropargyloxyeriodictyol 7-*O*-glucoside), 13.3 (*m/z* = 417 [M+H]⁺, dihydroxytripropargyloxyflavone), 13.6 (*m/z* = 439 [M+H]⁺, trihydroxydimethoxydipropargyloxyflavone), 13.7 (*m/z* = 493 [M+H]⁺, pentapropargyloxyflavone), 14.3 (*m/z* = 493 [M+H]⁺, pentapropargyloxyflavone or 537 [M-H]⁻, hydroxymethoxypentapropargyloxyflavone), 14.4 (*m/z* = 537 [M-H]⁻, hydroxymethoxypentapropargyloxyflavone or 547 [M+H]⁺, hexapropargyloxyflavone), 14.6 (*m/z* = 513 [M-H]⁻, hydroxydimethoxytetrapropargyloxyflavone or 523 [M-H]⁻, dihydroxypentapropargyloxyflavone), 14.6 (*m/z* = 425 [M+H]⁺, tetrahydroxymethoxydipropargyloxyflavone), 14.7 (*m/z* = 547 [M+H]⁺, hexapropargyloxyflavone), 14.8 (*m/z* = 493 [M+H]⁺, pentapropargyloxyflavone), 14.9 (*m/z* = 455 [M+H]⁺, hydroxytetrapropargyloxyflavone), 14.9 (*m/z* = 547 [M+H]⁺, hexapropargyloxyflavone), 15.3 (*m/z* = 551 [M-H]⁻, dimethoxypentapropargyloxyflavone or 561 [M-H]⁻, hydroxytetrapropargyloxyflavone), 15.4 (*m/z* = 463 [M+H]⁺, trihydroxymethoxytripropargyloxyflavone), 16.3 (*m/z* = 641 [M+H]⁺, pentapropargyloxyeriodictyol 7-*O*-glucoside), 20.0 (*m/z* = 563 [M+H]⁺, hexapropargyloxyflavone or tripropargyloxyisosakuranin).

Addition of propargyl on the enriched extract of orange peels with 1 equivalent of propargyl bromide (unoptimized procedure)

The addition of propargyl was realized following the general procedure **A1** starting from enriched extract of orange peels (0.501 g, 0.82 mmol) in 50 mL of acetone. The concentration of the filtration under reduced pressure afforded the modified extract (0.770 g) as a dark brown solid. This product was analyzed by LC-MS and the occurrence of the reaction was confirmed by the comparison of the chromatogram of the modified extract with the starting enriched extract ones and by the comparison of the molecular peak values of the mass spectrum of the mixture compounds with calculated molecular weight of the theoretical possible products.

LC-MS (ESI+ and ESI-) *t_R* (min): 7.4 (*m/z* = 609 [M-H]⁻, 611 [M+H]⁺, hesperidin), 9.7 (*m/z* = 725 [M+H]⁺, tripropargyloxyhesperidin or 769 [M-H]⁻, pentapropargyloxynaringin), 10.2 (*m/z* = 695 [M+H]⁺, tripropargyloxynaringin), 11.1 (*m/z* = 373 [M+H]⁺, pentamethoxyflavone), 11.4 (*m/z* = 403 [M+H]⁺, hexamethoxyflavone), 11.7 (*m/z* = 373 [M+H]⁺, pentamethoxyflavone), 11.9 (*m/z* = 343 [M+H]⁺, tetramethoxyflavone), 12.1 (*m/z* = 403 [M+H]⁺, hexamethoxyflavone), 12.4 (*m/z* = 403 [M+H]⁺, hexamethoxyflavone), 12.6 (*m/z* = 343 [M+H]⁺, tetramethoxyflavone), 12.8 (*m/z* = 433 [M+H]⁺, heptamethoxyflavone), 13.2 (*m/z* = 373 [M+H]⁺, pentamethoxyflavone).

Addition of propargyl on the enriched extract of orange peels

The addition of propargyl was realized following the general procedure **A3** starting from enriched extract of orange peels (0.100 g, 0.16 mmol) and propargyl bromide (9.2 mol/L in toluene, 0.24 to 1.6 mmol, 1 to 10 eq). The concentration of the filtration under reduced pressure afforded the modified extract as a dark brown solid. This product was analyzed by LC-MS and the occurrence of the reaction was confirmed by the comparison of the chromatogram of the modified extract with the starting enriched extract ones and by the comparison of the molecular peak values of the mass spectrum of the mixture compounds with calculated molecular weight of the theoretical possible products.

With 1 eq of propargyl bromide: LC-MS (ESI+ and ESI-) t_R (min): 5.2 ($m/z = 631$ [M-H]⁻, 633 [M+H]⁺, propargyloxyponcirin), 6.8 ($m/z = 649$ [M+H]⁺, propargyloxyhesperidin), 7.0 ($m/z = 579$ [M-H]⁻, 581 [M+H]⁺, naringin), 7.4 ($m/z = 609$ [M-H]⁻, 611 [M+H]⁺, hesperidin), 8.5 ($m/z = 617$ [M-H]⁻, 619 [M+H]⁺, propargyloxynaringin), 8.6 ($m/z = 593$ [M-H]⁻, 595 [M+H]⁺, poncirin), 8.7 ($m/z = 647$ [M-H]⁻, 649 [M+H]⁺, propargyloxyhesperidin), 8.8 ($m/z = 647$ [M-H]⁻, 649 [M+H]⁺, propargyloxyhesperidin), 11.0 ($m/z = 373$ [M+H]⁺, pentamethoxyflavone), 11.3 ($m/z = 403$ [M+H]⁺, hexamethoxyflavone), 11.6 ($m/z = 373$ [M+H]⁺, pentamethoxyflavone), 11.7 ($m/z = 515$ [M-H]⁻, limonine), 12.0 ($m/z = 403$ [M+H]⁺, hexamethoxyflavone), 12.3 ($m/z = 403$ [M+H]⁺, hexamethoxyflavone), 12.5 ($m/z = 343$ [M+H]⁺, tetramethoxyflavone), 12.7 ($m/z = 433$ [M+H]⁺, heptamethoxyflavone), 13.1 ($m/z = 373$ [M+H]⁺, pentamethoxyflavone).

With 1.5 eq of propargyl bromide: LC-MS (ESI+ and ESI-) t_R (min): 7.1 ($m/z = 579$ [M-H]⁻, 581 [M+H]⁺, naringin), 7.4 ($m/z = 609$ [M-H]⁻, 611 [M+H]⁺, hesperidin), 8.7 ($m/z = 593$ [M-H]⁻, 595 [M+H]⁺, poncirin), 8.8 ($m/z = 647$ [M-H]⁻, 649 [M+H]⁺, propargyloxyhesperidin), 10.6 ($m/z = 373$ [M+H]⁺, pentamethoxyflavone), 11.2 ($m/z = 373$ [M+H]⁺, pentamethoxyflavone), 11.7 ($m/z = 403$ [M+H]⁺, hexamethoxyflavone), 11.8 ($m/z = 403$ [M+H]⁺, hexamethoxyflavone), 12.1 ($m/z = 343$ [M+H]⁺, tetramethoxyflavone), 12.3 ($m/z = 515$ [M-H]⁻, limonine), 12.4 ($m/z = 433$ [M+H]⁺, heptamethoxyflavone), 12.7 ($m/z = 373$ [M+H]⁺, pentamethoxyflavone).

With 2 eq of propargyl bromide: LC-MS (ESI+ and ESI-) t_R (min): 7.1 ($m/z = 579$ [M-H]⁻, 581 [M+H]⁺, naringin), 7.4 ($m/z = 609$ [M-H]⁻, 611 [M+H]⁺, hesperidin), 8.7 ($m/z = 593$ [M-H]⁻, 595 [M+H]⁺, poncirin), 8.8 ($m/z = 647$ [M-H]⁻, 649 [M+H]⁺, propargyloxyhesperidin), 9.3 ($m/z = 647$ [M-H]⁻, 649 [M+H]⁺, propargyloxyhesperidin), 10.6 ($m/z = 373$ [M+H]⁺, pentamethoxyflavone), 11.2 ($m/z = 373$ [M+H]⁺, pentamethoxyflavone), 11.7 ($m/z = 403$ [M+H]⁺, hexamethoxyflavone), 11.8 ($m/z = 403$ [M+H]⁺, hexamethoxyflavone), 12.1 ($m/z = 343$ [M+H]⁺, tetramethoxyflavone), 12.3 ($m/z = 515$ [M+H]⁺, limonine), 12.4 ($m/z = 433$ [M+H]⁺, heptamethoxyflavone), 12.7 ($m/z = 373$ [M+H]⁺, pentamethoxyflavone).

With 4 eq of propargyl bromide: LC-MS (ESI+ and ESI-) t_R (min): 7.0 ($m/z = 647$ [M-H]⁻, 649 [M+H]⁺, propargyloxyhesperidin), 7.1 ($m/z = 579$ [M-H]⁻, 581 [M+H]⁺, naringin), 7.4 ($m/z = 609$ [M-H]⁻, 611 [M+H]⁺, hesperidin), 7.8 ($m/z = 617$ [M-H]⁻, 619 [M+H]⁺, propargyloxynaringin), 8.1 ($m/z = 647$ [M-H]⁻, 649 [M+H]⁺, propargyloxyhesperidin), 8.3 ($m/z = 731$ [M-H]⁻, tetrapropargyloxynaringin), 8.4 ($m/z = 687$ [M+H]⁺, dipropargyloxyhesperidin), 8.5 ($m/z = 617$ [M-H]⁻, 619 [M+H]⁺, propargyloxynaringin), 8.6 ($m/z = 733$ [M-H]⁻, tripropargyloxynaringin), 8.7 ($m/z = 647$ [M-H]⁻, 649 [M+H]⁺, propargyloxyhesperidin), 8.8 ($m/z = 593$ [M-H]⁻, 595 [M+H]⁺, poncirin), 8.9 ($m/z = 647$ [M-H]⁻, 649 [M+H]⁺, propargyloxyhesperidin), 9.3 ($m/z = 617$ [M-H]⁻, 619 [M+H]⁺, propargyloxynaringin), 8.4 ($m/z = 685$ [M-H]⁻, 687 [M+H]⁺, dipropargyloxyhesperidin), 9.7 ($m/z = 731$ [M-H]⁻, tetrapropargyloxynaringin), 9.8 ($m/z = 769$ [M-H]⁻, pentapropargyloxynaringin), 10.0 ($m/z = 685$ [M-H]⁻, 687 [M+H]⁺, dipropargyloxyhesperidin), 10.1 ($m/z = 631$ [M-H]⁻, 633 [M+H]⁺, propargyloxyponcirin), 10.5 ($m/z = 655$ [M-H]⁻, dipropargyloxynaringin), 10.6 ($m/z = 373$ [M+H]⁺, pentamethoxyflavone),

Partie expérimentale

11.2 ($m/z = 373$ [M+H]⁺, pentamethoxyflavone), 11.7 ($m/z = 403$ [M+H]⁺, hexamethoxyflavone), 11.8 ($m/z = 403$ [M+H]⁺, hexamethoxyflavone), 12.1 ($m/z = 343$ [M+H]⁺, tetramethoxyflavone), 12.3 ($m/z = 515$ [M-H]⁻, limonine), 12.4 ($m/z = 433$ [M+H]⁺, heptamethoxyflavone), 12.7 ($m/z = 373$ [M+H]⁺, pentamethoxyflavone).

With 10 eq of propargyl bromide: LC-MS (ESI+ and ESI-) t_R (min): 5.2 ($m/z = 631$ [M-H]⁻, 633 [M+H]⁺, propargyloxyponcirin), 6.2 ($m/z = 685$ [M-H]⁻, dipropargyloxyhesperidin), 7.1 ($m/z = 579$ [M-H]⁻, 581 [M+H]⁺, naringin), 7.4 ($m/z = 609$ [M-H]⁻, 611 [M+H]⁺, hesperidin), 8.4 ($m/z = 617$ [M-H]⁻, 619 [M+H]⁺, propargyloxynaringin), 8.7 ($m/z = 593$ [M-H]⁻, 595 [M+H]⁺, poncirin), 8.9 ($m/z = 647$ [M-H]⁻, 649 [M+H]⁺, propargyloxyhesperidin), 9.5 ($m/z = 761$ [M-H]⁻, tetrapropargyloxyhesperidin), 10.7 ($m/z = 373$ [M+H]⁺, pentamethoxyflavone), 11.0 ($m/z = 403$ [M+H]⁺, hexamethoxyflavone), 11.4 ($m/z = 373$ [M+H]⁺, pentamethoxyflavone), 11.5 ($m/z = 343$ [M+H]⁺, tetramethoxyflavone), 11.8 ($m/z = 403$ [M+H]⁺, hexamethoxyflavone), 11.9 ($m/z = 403$ [M+H]⁺, hexamethoxyflavone), 12.2 ($m/z = 343$ [M+H]⁺, tetramethoxyflavone), 12.3 ($m/z = 515$ [M-H]⁻, limonine), 12.4 ($m/z = 433$ [M+H]⁺, heptamethoxyflavone), 12.7 ($m/z = 373$ [M+H]⁺, pentamethoxyflavone).

Addition of propargyl on the partially defatted extract of orange peels

The addition of propargyl was realized following the general procedure **A3** starting from defatted extract of orange peels (fraction H₂O/MeOH 1:2, 0.265 g, 0.130 mmol). The concentration of the filtration under reduced pressure afforded the modified extract (0.402 g) as a dark brown solid. This product was analyzed by LC-MS and the occurrence of the reaction was confirmed by the comparison of the chromatogram of the modified extract with the starting enriched extract ones and by the comparison of the molecular peak values of the mass spectrum of the mixture compounds with calculated molecular weight of the theoretical possible products.

LC-MS (ESI+ and ESI-) t_R (min): 7.1 ($m/z = 579$ [M-H]⁻, 581 [M+H]⁺, naringin), 7.4 ($m/z = 609$ [M-H]⁻, 611 [M+H]⁺, hesperidin), 8.4 ($m/z = 617$ [M-H]⁻, 619 [M+H]⁺, propargyloxynaringin), 8.7 ($m/z = 593$ [M-H]⁻, 595 [M+H]⁺, poncirin), 8.8 ($m/z = 647$ [M-H]⁻, 649 [M+H]⁺, propargyloxyhesperidin), 8.9 ($m/z = 647$ [M-H]⁻, 649 [M+H]⁺, propargyloxyhesperidin), 9.4 ($m/z = 647$ [M-H]⁻, 649 [M+H]⁺, propargyloxyhesperidin), 11.2 ($m/z = 373$ [M+H]⁺, pentamethoxyflavone), 11.7 ($m/z = 403$ [M+H]⁺, hexamethoxyflavone), 12.2 ($m/z = 515$ [M-H]⁻, limonine), 12.3 ($m/z = 433$ [M+H]⁺, heptamethoxyflavone).

Solid-phase synthesis of 3-((1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-1*H*-isochromen-1-one derivatives with a polyphenol-enriched extract of orange peels

The synthesis was realized following the general procedure **E** starting from a polyphenol-enriched extract of orange peels (115 mg, 0.19 mmol), resin **65** (experimental loading 0.94 mmol/g, 40 mg) and a mixture of TFA and CH₂Cl₂ (1:1, 2 mL). The crude cyclization product (20 mg) was obtained as a brown solid. This product was analyzed by ¹H NMR and LC-MS and the occurrence of the synthesis was verified by the comparison of the molecular peak values of the mass spectrum of the mixture compounds with calculated molecular weight of the theoretical possible products.

LC-MS (ESI+ and ESI-) t_R (min): 7.2 ($m/z = 832$ [M-H]⁻, 834 [M+H]⁺, product of the synthesis with monopropargylated poncirine), 9.0 ($m/z = 848$ [M-H]⁻, 850 [M+H]⁺, product of the synthesis with monopropargylated hesperidine), 9.4 ($m/z = 848$ [M-H]⁻, 850 [M+H]⁺, product of the synthesis with monopropargylated hesperidine), 9.9 ($m/z = 848$ [M-H]⁻, 850 [M+H]⁺, product of the synthesis with monopropargylated hesperidine).

Références bibliographiques

1. L'AMM et Le Parcours Du Médicament - ANSM : Agence Nationale de Sécurité Du Médicament et Des Produits de Santé Available online: [https://www.ansm.sante.fr/Activites/Autorisations-de-Mise-sur-le-Marche-AMM/L-AMM-et-le-parcours-du-medicament/\(offset\)/2](https://www.ansm.sante.fr/Activites/Autorisations-de-Mise-sur-le-Marche-AMM/L-AMM-et-le-parcours-du-medicament/(offset)/2) (accessed on 12 May 2020).
2. LEEM Recherche et développement Available online: <https://www.leem.org/recherche-et-developpement> (accessed on 12 May 2020).
3. Commissioner, O. of the Learn About Drug and Device Approvals Available online: <https://www.fda.gov/patients/learn-about-drug-and-device-approvals> (accessed on 12 May 2020).
4. Weyrich, L.S.; Duchene, S.; Soubrier, J.; Arriola, L.; Llamas, B.; Breen, J.; Morris, A.G.; Alt, K.W.; Caramelli, D.; Dresely, V.; et al. Neanderthal Behaviour, Diet, and Disease Inferred from Ancient DNA in Dental Calculus. *Nature* **2017**, *544*, 357–361, doi:10.1038/nature21674.
5. Cragg, G.M.; Newman, D.J. Biodiversity: A Continuing Source of Novel Drug Leads. *Pure Appl. Chem.* **2005**, *77*, 7–24, doi:10.1351/pac200577010007.
6. Newman, D.J.; Cragg, G.M. Chapter 1. Natural Products as Drugs and Leads to Drugs: The Historical Perspective. In *RSC Biomolecular Sciences*; Buss, A.D., Butler, M.S., Eds.; Royal Society of Chemistry: Cambridge, 2009; pp. 3–27 ISBN 978-0-85404-193-0.
7. Bernardini, S.; Tiezzi, A.; Laghezza Masci, V.; Ovidi, E. Natural Products for Human Health: An Historical Overview of the Drug Discovery Approaches. *Nat. Prod. Res.* **2018**, *32*, 1926–1950, doi:10.1080/14786419.2017.1356838.
8. Dias, D.A.; Urban, S.; Roessner, U. A Historical Overview of Natural Products in Drug Discovery. *Metabolites* **2012**, *2*, 303–336, doi:10.3390/metabo2020303.
9. Histoire Des Plantes 1 : Hippocrate, Dioscoride, Galien Available online: <https://www.altheaprovence.com/histoire-des-plantes-hippocrate-dioscoride-galien/> (accessed on 23 March 2020).
10. Histoire Des Plantes 5 : Paracelse Available online: <https://www.altheaprovence.com/histoire-des-plantes-5-paracelse/> (accessed on 23 March 2020).
11. Li, F.; Wang, Y.; Li, D.; Chen, Y.; Dou, Q.P. Are We Seeing a Resurgence in the Use of Natural Products for New Drug Discovery? *Expert Opin. Drug Discov.* **2019**, *14*, 417–420, doi:10.1080/17460441.2019.1582639.
12. David, B.; Wolfender, J.-L.; Dias, D.A. The Pharmaceutical Industry and Natural Products: Historical Status and New Trends. *Phytochem. Rev.* **2015**, *14*, 299–315, doi:10.1007/s11101-014-9367-z.
13. Li, J.W.-H.; Vederas, J.C. Drug Discovery and Natural Products: End of an Era or an Endless Frontier? *Science* **2009**, *325*, 161–165, doi:10.1126/science.1168243.
14. Ortholand, J.-Y.; Ganesan, A. Natural Products and Combinatorial Chemistry: Back to the Future. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2004**, *8*, 271–280, doi:10.1016/j.cbpa.2004.04.011.
15. Koehn, F.E.; Carter, G.T. The Evolving Role of Natural Products in Drug Discovery. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2005**, *4*, 206–220, doi:10.1038/nrd1657.
16. Butler, M.S. The Role of Natural Product Chemistry in Drug Discovery. *J. Nat. Prod.* **2004**, *67*, 2141–2153, doi:10.1021/np040106y.
17. Grygorenko, O.O.; Volochnyuk, D.M.; Ryabukhin, S.V.; Judd, D.B. The Symbiotic Relationship Between Drug Discovery and Organic Chemistry. *Chem. – Eur. J.* **2020**, *26*, 1196–1237, doi:10.1002/chem.201903232.

Références bibliographiques

18. Paterson, I.; Anderson, E.A. The Renaissance of Natural Products as Drug Candidates. *Science* **2005**, *310*, 451–453, doi:10.1126/science.1116364.
19. Newman, D.J. Natural Products as Leads to Potential Drugs: An Old Process or the New Hope for Drug Discovery? *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 2589–2599, doi:10.1021/jm0704090.
20. Atanasov, A.G.; Waltenberger, B.; Pferschy-Wenzig, E.-M.; Linder, T.; Wawrosch, C.; Uhrin, P.; Temml, V.; Wang, L.; Schwaiger, S.; Heiss, E.H.; et al. Discovery and Resupply of Pharmacologically Active Plant-Derived Natural Products: A Review. *Biotechnol. Adv.* **2015**, *33*, 1582–1614, doi:10.1016/j.biotechadv.2015.08.001.
21. Hype Cycle Research Methodology Available online: <https://www.gartner.com/en/research/methodologies/gartner-hype-cycle> (accessed on 17 June 2020).
22. Newman, D.J.; Cragg, G.M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. *J. Nat. Prod.* **2020**, *83*, 770–803, doi:10.1021/acs.jnatprod.9b01285.
23. Shen, B. A New Golden Age of Natural Products Drug Discovery. *Cell* **2015**, *163*, 1297–1300, doi:10.1016/j.cell.2015.11.031.
24. Henkel, T.; Brunne, R.M.; Müller, H.; Reichel, F. Statistical Investigation into the Structural Complementarity of Natural Products and Synthetic Compounds. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 643–647, doi:10.1002/(SICI)1521-3773(19990301)38:5<643::AID-ANIE643>3.0.CO;2-G.
25. Feher, M.; Schmidt, J.M. Property Distributions: Differences between Drugs, Natural Products, and Molecules from Combinatorial Chemistry. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **2003**, *43*, 218–227, doi:10.1021/ci0200467.
26. Singh, S.B.; Culberson, J.C. Chapter 2: Chemical Space and the Difference Between Natural Products and Synthetics. In *Natural Product Chemistry for Drug Discovery*; 2009; pp. 28–43.
27. Lee, M.-L.; Schneider, G. Scaffold Architecture and Pharmacophoric Properties of Natural Products and Trade Drugs: Application in the Design of Natural Product-Based Combinatorial Libraries. *J. Comb. Chem.* **2001**, *3*, 284–289, doi:10.1021/cc000097l.
28. Ertl, P.; Schuhmann, T. A Systematic Cheminformatics Analysis of Functional Groups Occurring in Natural Products. *J. Nat. Prod.* **2019**, *82*, 1258–1263, doi:10.1021/acs.jnatprod.8b01022.
29. Ertl, P.; Schuhmann, T. Cheminformatics Analysis of Natural Product Scaffolds: Comparison of Scaffolds Produced by Animals, Plants, Fungi and Bacteria. *Mol. Inform.* **2020**, *39*, 2000017, doi:10.1002/minf.202000017.
30. Gomtsyan, A. Heterocycles in Drugs and Drug Discovery. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2012**, *48*, 7–10, doi:10.1007/s10593-012-0960-z.
31. Ertl, P. Intuitive Ordering of Scaffolds and Scaffold Similarity Searching Using Scaffold Keys. *J. Chem. Inf. Model.* **2014**, *54*, 1617–1622, doi:10.1021/ci5001983.
32. Li, G.; Lou, H.-X. Strategies to Diversify Natural Products for Drug Discovery. *Med. Res. Rev.* **2018**, *38*, 1255–1294, doi:10.1002/med.21474.
33. Clarke, C.J.; Haselden, J.N. Metabolic Profiling as a Tool for Understanding Mechanisms of Toxicity. *Toxicol. Pathol.* **2008**, *36*, 140–147, doi:10.1177/0192623307310947.
34. Yao, H.; Liu, J.; Xu, S.; Zhu, Z.; Xu, J. The Structural Modification of Natural Products for Novel Drug Discovery. *Expert Opin. Drug Discov.* **2017**, *12*, 121–140, doi:10.1080/17460441.2016.1272757.
35. Schreiber, S.L. Target-Oriented and Diversity-Oriented Organic Synthesis in Drug Discovery. *Science* **2000**, *287*, 1964–1969, doi:10.1126/science.287.5460.1964.
36. Wong, Y.-S. Synthèse Orientée Vers La Diversité Structurale Pour Explorer Le Vivant. *médecine/sciences* **2015**, *31*, 93–97, doi:10.1051/medsci/20153101018.

Références bibliographiques

37. Peuchmaur, M.; Wong, Y.-S. Expanding the Chemical Space in Practice: Diversity-Oriented Synthesis. *Comb. Chem. High Throughput Screen.* **2008**, *11*, 587–601, doi:10.2174/138620708785739916.
38. Burke, M.D.; Schreiber, S.L. A Planning Strategy for Diversity-Oriented Synthesis. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 46–58, doi:10.1002/anie.200300626.
39. Galloway, W.R.J.D.; Isidro-Llobet, A.; Spring, D.R. Diversity-Oriented Synthesis as a Tool for the Discovery of Novel Biologically Active Small Molecules. *Nat. Commun.* **2010**, *1*, 1–13, doi:10.1038/ncomms1081.
40. Spaller, M. Synthetic Strategies in Combinatorial Chemistry. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1997**, *1*, 47–53, doi:10.1016/S1367-5931(97)80107-X.
41. Cordier, C.; Morton, D.; Murrison, S.; Nelson, A.; O’Leary-Steele, C. Natural Products as an Inspiration in the Diversity-Oriented Synthesis of Bioactive Compound Libraries. *Nat. Prod. Rep.* **2008**, *25*, 719–737, doi:10.1039/B706296F.
42. Huigens III, R.W.; Morrison, K.C.; Hicklin, R.W.; Jr, T.A.F.; Richter, M.F.; Hergenrother, P.J. A Ring-Distortion Strategy to Construct Stereochemically Complex and Structurally Diverse Compounds from Natural Products. *Nat. Chem.* **2013**, *5*, 195–202, doi:10.1038/nchem.1549.
43. Tasker, S.Z.; Cowfer, A.E.; Hergenrother, P.J. Preparation of Structurally Diverse Compounds from the Natural Product Lycorine. *Org. Lett.* **2018**, *20*, 5894–5898, doi:10.1021/acs.orglett.8b02562.
44. Rafferty, R.J.; Hicklin, R.W.; Maloof, K.A.; Hergenrother, P.J. Synthesis of Complex and Diverse Compounds through Ring Distortion of Abietic Acid. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 220–224, doi:10.1002/anie.201308743.
45. Garcia, A.; Drown, B.S.; Hergenrother, P.J. Access to a Structurally Complex Compound Collection via Ring Distortion of the Alkaloid Sinomenine. *Org. Lett.* **2016**, *18*, 4852–4855, doi:10.1021/acs.orglett.6b02333.
46. Balthaser, B.R.; Maloney, M.C.; Beeler, A.B.; Porco, J.A.; Snyder, J.K. Remodelling of the Natural Product Fumagillol Employing a Reaction Discovery Approach. *Nat. Chem.* **2011**, *3*, 969–973, doi:10.1038/nchem.1178.
47. Kumar, A.; Srivastava, S.; Gupta, G.; Chaturvedi, V.; Sinha, S.; Srivastava, R. Natural Product Inspired Diversity Oriented Synthesis of Tetrahydroquinoline Scaffolds as Antitubercular Agent. *ACS Comb. Sci.* **2011**, *13*, 65–71, doi:10.1021/co100022h.
48. Cordell, G.A. Natural Products in Drug Discovery – Creating a New Vision. *Phytochem. Rev.* **2002**, *1*, 261–273, doi:10.1023/A:1026094701495.
49. Lopez, S.N.; Ramallo, I.A.; Sierra, M.G.; Zacchino, S.A.; Furlan, R.L.E. Chemically Engineered Extracts as an Alternative Source of Bioactive Natural Product-like Compounds. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2007**, *104*, 441–444, doi:10.1073/pnas.0608438104.
50. Ramallo, I.A.; Salazar, M.O.; Mendez, L.; Furlan, R.L.E. Chemically Engineered Extracts: Source of Bioactive Compounds. *Acc. Chem. Res.* **2011**, *44*, 241–250, doi:10.1021/ar100106n.
51. Oshima, Y.; Kikuchi, H. Developments toward the Production of Diverse Natural-Product-Like Compounds: Diversity-Oriented Synthesis and Diversity-Enhanced Extracts. *HETEROCYCLES* **2018**, *96*, 1509, doi:10.3987/REV-18-885.
52. Ostresh, J.M.; Husar, G.M.; Blondelle, S.E.; Dörner, B.; Weber, P.A.; Houghten, R.A. “Libraries from Libraries”: Chemical Transformation of Combinatorial Libraries to Extend the Range and Repertoire of Chemical Diversity. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1994**, *91*, 11138–11142, doi:10.1073/pnas.91.23.11138.
53. Solís, C.M.; Salazar, M.O.; Ramallo, I.A.; García, P.; Furlan, R.L.E. A Tyrosinase Inhibitor from a Nitrogen-Enriched Chemically Engineered Extract. *ACS Comb. Sci.* **2019**, *21*, 622–627, doi:10.1021/acscombsci.9b00064.

Références bibliographiques

54. Wu, T.; Jiang, C.; Wang, L.; Morris-Natschke, S.L.; Miao, H.; Gu, L.; Xu, J.; Lee, K.-H.; Gu, Q. 3,5-Diarylpyrazole Derivatives Obtained by Ammonolysis of the Total Flavonoids from *Chrysanthemum Indicum* Extract Show Potential for the Treatment of Alzheimer's Disease. *J. Nat. Prod.* **2015**, *78*, 1593–1599, doi:10.1021/acs.jnatprod.5b00156.
55. Guo, Q.; Chen, J.; Ren, Y.; Yin, Z.; Zhang, J.; Yang, B.; Wang, X.; Yin, W.; Zhang, W.; Ding, G.; et al. Hydrazine-Containing Heterocycle Cytochalasan Derivatives From Hydrazinolysis of Extracts of a Desert Soil-Derived Fungus *Chaetomium Madrasense* 375. *Front. Chem.* **2021**, *9*, 620589, doi:10.3389/fchem.2021.620589.
56. Zhang, J.-L.; Xu, W.; Zhou, Z.-R.; Li, J.; Jiang, L.-L.; Zhang, X.-X.; Jiang, R.-W. Antineoplastic Constituents from the Chemical Diversified Extract of *Radix Puerariae*. *Chem. Biodivers.* **2019**, *16*, e1800408, doi:10.1002/cbdv.201800408.
57. Du, Y.; Sun, J.; Gong, Q.; Wang, Y.; Fu, P.; Zhu, W. New α -Pyridones with Quorum-Sensing Inhibitory Activity from Diversity-Enhanced Extracts of a *Streptomyces* Sp. Derived from Marine Algae. *J. Agric. Food Chem.* **2018**, *66*, 1807–1812, doi:10.1021/acs.jafc.7b05330.
58. He, W.; Xu, Y.; Wu, D.; Wang, D.; Gao, H.; Wang, L.; Zhu, W. New Alkaloids from the Diversity-Enhanced Extracts of an Endophytic Fungus *Aspergillus Flavus* GZWMJZ-288. *Bioorganic Chem.* **2021**, *107*, 104623, doi:10.1016/j.bioorg.2020.104623.
59. Ramallo, I.A.; Alonso, V.L.; Rua, F.; Serra, E.; Furlan, R.L.E. A Bioactive *Trypanosoma Cruzi* Bromodomain Inhibitor from Chemically Engineered Extracts. *ACS Comb. Sci.* **2018**, *20*, 220–228, doi:10.1021/acscombsci.7b00172.
60. Jiang, R.-W.; Wu, J.; Tang, H.-J.; Xu, J.-J.; Ye, J.; Tian, H.-Y.; Li, Y.-L. Rapid Synthesis of Curcuminoid Pyrazoles with Antiviral Effects through One-Pot Combinatorial Modification of Total Curcuminoids. *Res. Rep. Med. Chem.* **2015**, *5*, 41–47, doi:10.2147/RRMC.S85727.
61. Zhang, Z.-R.; Li, J.-H.; Li, S.; Liu, A.-L.; Hoi, P.-M.; Tian, H.-Y.; Ye, W.-C.; Lee, S.M.-Y.; Jiang, R.-W. *In Vivo* Angiogenesis Screening and Mechanism of Action of Novel Tanshinone Derivatives Produced by One-Pot Combinatorial Modification of Natural Tanshinone Mixture from *Salvia Miltiorrhiza*. *PLoS ONE* **2014**, *9*, e100416, doi:10.1371/journal.pone.0100416.
62. Tan, Y.; Sun, X.; Dong, F.; Tian, H.; Jiang, R. Enhancing the Structural Diversity and Bioactivity of Natural Products by Combinatorial Modification Exemplified by Total Tanshinones. *Chin. J. Chem.* **2015**, *33*, 1084–1088, doi:10.1002/cjoc.201500276.
63. Tomohara, K.; Ito, T.; Hasegawa, N.; Kato, A.; Adachi, I. Direct Chemical Derivatization of Natural Plant Extract: Straightforward Synthesis of Natural Plant-like Hydantoin. *Tetrahedron Lett.* **2016**, *57*, 924–927, doi:10.1016/j.tetlet.2016.01.054.
64. Tomohara, K.; Ito, T.; Furusawa, K.; Hasegawa, N.; Tsuge, K.; Kato, A.; Adachi, I. Multiple Production of α,α -Disubstituted Amino Acid Derivatives through Direct Chemical Derivatization of Natural Plant Extracts: An Apparently Difficult but Successful Route. *Tetrahedron Lett.* **2017**, *58*, 3143–3147, doi:10.1016/j.tetlet.2017.06.087.
65. Tomohara, K.; Hasegawa, N.; Adachi, I.; Horino, Y.; Nose, T. Early Identification of Promiscuous Attributes of Aldose Reductase Inhibitors Using a DMSO-Perturbation Assay. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2020**, *30*, 126815, doi:10.1016/j.bmcl.2019.126815.
66. Méndez, L.; Salazar, M.O.; Ramallo, I.A.; Furlan, R.L.E. Brominated Extracts As Source of Bioactive Compounds. *ACS Comb. Sci.* **2011**, *13*, 200–204, doi:10.1021/co100073k.
67. García, P.; Ramallo, I.A.; Salazar, M.O.; Furlan, R.L.E. Chemical Diversification of Essential Oils, Evaluation of Complex Mixtures and Identification of a Xanthine Oxidase Inhibitor. *RSC Adv.* **2016**, *6*, 57245–57252, doi:10.1039/C6RA05373D.
68. Righi, D.; Marcourt, L.; Koval, A.; Ducret, V.; Pellissier, L.; Mainetti, A.; Katanaev, V.L.; Perron, K.; Wolfender, J.-L.; Queiroz, E.F. Chemo-Diversification of Plant Extracts Using

Références bibliographiques

- a Generic Bromination Reaction and Monitoring by Metabolite Profiling. *ACS Comb. Sci.* **2019**, *21*, 171–182, doi:10.1021/acscombsci.8b00132.
69. Neuenschwander, A.; Rocha, V.P.C.; Bastos, T.M.; Marcourt, L.; Morin, H.; da Rocha, C.Q.; Grimaldi, G.B.; de Sousa, K.A.F.; Borges, J.N.; Rivara-Minten, E.; et al. Production of Highly Active Antiparasitic Compounds from the Controlled Halogenation of the *Arrabidaea Brachypoda* Crude Plant Extract. *J. Nat. Prod.* **2020**, *83*, 2631–2640, doi:10.1021/acs.jnatprod.0c00433.
70. García, P.; Salazar, M.O.; Ramallo, I.A.; Furlan, R.L.E. A New Fluorinated Tyrosinase Inhibitor from a Chemically Engineered Essential Oil. *ACS Comb. Sci.* **2016**, *18*, 283–286, doi:10.1021/acscombsci.6b00004.
71. Salazar, M.O.; Ramallo, I.A.; Micheloni, O.; Sierra, M.G.; Furlan, R.L.E. Chemically Engineered Extracts: Bioactivity Alteration through Sulfonylation. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 5067–5070, doi:10.1016/j.bmcl.2009.07.038.
72. Salazar, M.O.; Osella, M.I.; Arcusin, D.E.J.; Lescano, L.E.; Furlan, R.L.E. New α -Glucosidase Inhibitors from a Chemically Engineered Essential Oil of *Origanum Vulgare* L. *Ind. Crops Prod.* **2020**, *156*, 112855, doi:10.1016/j.indcrop.2020.112855.
73. Salazar, M.O.; Micheloni, O.; Escalante, A.M.; Furlan, R.L.E. Discovery of a β -Glucosidase Inhibitor from a Chemically Engineered Extract Prepared through Sulfonylation. *Mol. Divers.* **2011**, *15*, 713–719, doi:10.1007/s11030-010-9301-2.
74. Ray, B.; Hutterer, C.; Bandyopadhyay, S.S.; Ghosh, K.; Chatterjee, U.R.; Ray, S.; Zeitträger, I.; Wagner, S.; Marschall, M. Chemically Engineered Sulfated Glucans from Rice Bran Exert Strong Antiviral Activity at the Stage of Viral Entry. *J. Nat. Prod.* **2013**, *76*, 2180–2188, doi:10.1021/np4003977.
75. Mukherjee, S.; Ghosh, K.; Hahn, F.; Wangen, C.; Strojan, H.; Müller, R.; Anand, N.; Ali, I.; Bera, K.; Ray, B.; et al. Chemically Sulfated Polysaccharides from Natural Sources: Assessment of Extraction-Sulfation Efficiencies, Structural Features and Antiviral Activities. *Int. J. Biol. Macromol.* **2019**, *136*, 521–530, doi:10.1016/j.ijbiomac.2019.05.005.
76. Ray, S.; Pujol, C.A.; Damonte, E.B.; Ray, B. Additionally Sulfated Xylomannan Sulfates from *Scinaia Hatei* and Their Antiviral Activities. *Carbohydr. Polym.* **2015**, *131*, 315–321, doi:10.1016/j.carbpol.2015.06.019.
77. Mukherjee, S.; Pujol, C.A.; Jana, S.; Damonte, E.B.; Ray, B.; Ray, S. Chemically Sulfated Arabinoxylans from *Plantago Ovata* Seed Husk: Synthesis, Characterization and Antiviral Activity. *Carbohydr. Polym.* **2021**, *256*, 117555, doi:10.1016/j.carbpol.2020.117555.
78. Jana, S.; Mukherjee, S.; Ribelato, E.V.; Darido, M.L.; Faccin-Galhardi, L.C.; Ray, B.; Ray, S. The Heparin-Mimicking Arabinogalactan Sulfates from *Anogeissus Latifolia* Gum: Production, Structures, and Anti-Herpes Simplex Virus Activity. *Int. J. Biol. Macromol.* **2021**, *183*, 1419–1426, doi:10.1016/j.ijbiomac.2021.05.107.
79. Ramallo, I.A.; Sierra, M.G.; Furlan, R.L.E. Discovery of β -Glucosidase Inhibitors from a Chemically Engineered Extract Prepared through Ethanolysis. *Med. Chem.* **2012**, *8*, 112–117.
80. Teng, R.-W.; Li, H.-Z.; Wang, D.-Z.; Yang, C.-R. Hydrolytic Reaction of Plant Extracts to Generate Molecular Diversity: New Dammarane Glycosides from the Mild Acid Hydrolysate of Root Saponins of *Panax Notoginseng*. *Helv. Chim. Acta* **2004**, *87*, 1270–1278, doi:10.1002/hlca.200490116.
81. Wei, Y.; Ma, C.-M.; Hattori, M. Anti-HIV Protease Triterpenoids from the Acid Hydrolysate of *Panax Ginseng*. *Phytochem. Lett.* **2009**, *2*, 63–66, doi:10.1016/j.phytol.2008.12.001.

Références bibliographiques

82. Li, W.; Yin, J.Y.; Cong, Z.Y.; Liu, Y.; Zhang, Y.; Li, Y.Y.; Meng, Q. Anti-Colon Carcinoma Cell Activity of Ginsenosides from the Acid Hydrolysate of *Panax Ginseng*. *Chem. Nat. Compd.* **2013**, *48*, 1017–1020, doi:10.1007/s10600-013-0453-z.
83. Liberto, M.D.; Svetaz, L.; Furlán, R.L.E.; Zacchino, S.A.; Delporte, C.; Novoa, M.A.; Asencio, M.; Cassels, B.K. Antifungal Activity of Saponin-Rich Extracts of *Phytolacca Dioica* and of the Sapogenins Obtained through Hydrolysis. *Nat. Prod. Commun.* **2010**, *5*, 1934578X1000500705, doi:10.1177/1934578X1000500705.
84. Bai, M.-S.; Gao, J.-M.; Fan, C.; Yang, S.-X.; Zhang, G.; Zheng, C.-D. Bioactive Dammarane-Type Triterpenoids Derived from the Acid Hydrolysate of *Gynostemma Pentaphyllum* Saponins. *Food Chem.* **2010**, *119*, 306–310, doi:10.1016/j.foodchem.2009.06.033.
85. Huang, R.; Hu, W.-Y.; Hou, S.-B.; Zhao, H.; Wang, X.; Chen, G. The Chemical Constituents of *Gentiana Macrophylla* Pall. under Acidic Condition Using Gentiopicroside-Rich Secoiridoids Extract. *Phytochem. Lett.* **2020**, *39*, 30–34, doi:10.1016/j.phytol.2020.07.004.
86. Lin, Z.; Ma, X.; Wei, H.; Li, D.; Gu, Q.; Zhu, T. Spicarins A–D from Acetylated Extract of Fungus *Spicaria Elegans* KLA03. *RSC Adv.* **2015**, *5*, 35262–35266, doi:10.1039/C5RA01923K.
87. Kawamura, T.; Matsubara, K.; Otaka, H.; Tashiro, E.; Shindo, K.; Yanagita, R.C.; Irie, K.; Imoto, M. Generation of ‘Unnatural Natural Product’ Library and Identification of a Small Molecule Inhibitor of XIAP. *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 4377–4385, doi:10.1016/j.bmc.2011.05.009.
88. Kikuchi, H.; Sakurai, K.; Oshima, Y. Development of Diversity-Enhanced Extracts of *Curcuma Zedoaria* and Their New Sesquiterpene-like Compounds. *Org. Lett.* **2014**, *16*, 1916–1919, doi:10.1021/ol5004324.
89. Kikuchi, H.; Sekiya, M.; Katou, Y.; Ueda, K.; Kabeya, T.; Kurata, S.; Oshima, Y. Revised Structure and Synthesis of Celastramycin A, A Potent Innate Immune Suppressor. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 1693–1695, doi:10.1021/ol9002306.
90. Sulistyowaty, M.I.; Uyen, N.H.; Suganuma, K.; Chitama, B.-Y.A.; Yahata, K.; Kaneko, O.; Sugimoto, S.; Yamano, Y.; Kawakami, S.; Otsuka, H.; et al. Six New Phenylpropanoid Derivatives from Chemically Converted Extract of *Alpinia Galanga* (L.) and Their Antiparasitic Activities. *Molecules* **2021**, *26*, 1756, doi:10.3390/molecules26061756.
91. Kikuchi, H.; Ichinohe, K.; Kida, S.; Murase, S.; Yamada, O.; Oshima, Y. Monoterpene Indole Alkaloid-Like Compounds Based on Diversity-Enhanced Extracts of Iridoid-Containing Plants and Their Immune Checkpoint Inhibitory Activity. *Org. Lett.* **2016**, *18*, 5948–5951, doi:10.1021/acs.orglett.6b03057.
92. Suzuki, Y.; Ichinohe, K.; Sugawara, A.; Kida, S.; Murase, S.; Zhang, J.; Yamada, O.; Hattori, T.; Oshima, Y.; Kikuchi, H. Development of Indole Alkaloid-Type Dual Immune Checkpoint Inhibitors Against CTLA-4 and PD-L1 Based on Diversity-Enhanced Extracts. *Front. Chem.* **2021**, *9*, 766107, doi:10.3389/fchem.2021.766107.
93. Kikuchi, H.; Kawai, K.; Nakashiro, Y.; Yonezawa, T.; Kawaji, K.; Kodama, Eiichi.N.; Oshima, Y. Construction of a Meroterpenoid-Like Compounds Library Based on Diversity-Enhanced Extracts. *Chem. – Eur. J.* **2019**, *25*, 1106–1112, doi:10.1002/chem.201805417.
94. Koyama, K.; Kamauchi, H.; Kinoshita, K. Coumarins with Anti-Melanogenesis Activities from a Chemically Engineered Extract of a Marine-Derived Fungus. *HETEROCYCLES* **2018**, *96*, 273, doi:10.3987/COM-17-13854.
95. Kamauchi, H.; Noji, M.; Kinoshita, K.; Takanami, T.; Koyama, K. Coumarins with an Unprecedented Tetracyclic Skeleton and Coumarin Dimers from Chemically Engineered Extracts of a Marine-Derived Fungus. *Tetrahedron* **2018**, *74*, 2846–2856, doi:10.1016/j.tet.2018.04.033.

Références bibliographiques

96. Ramallo, I.A.; Salazar, M.O.; García, P.; Furlan, R.L.E. Chapter 10 - Chemical Diversification of Natural Product Extracts. In *Studies in Natural Products Chemistry*; Atta-ur-Rahman, Ed.; Elsevier, 2019; Vol. 60, pp. 371–398.
97. Merrifield, R.B. Solid Phase Peptide Synthesis. I. The Synthesis of a Tetrapeptide. *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 2149–2154, doi:10.1021/ja00897a025.
98. Letsinger, R.L.; Mahadevan, V. Oligonucleotide Synthesis on a Polymer Support. *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 3526–3527, doi:10.1021/ja01093a058.
99. Schuerch, C.; Fréchet, J.M. Solid-Phase Synthesis of Oligosaccharides. I. Preparation of the Solid Support. Poly[p-(1-Propen-3-OI-1-YI)Styrene]. *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, *93*, 492–496, doi:10.1021/ja00731a031.
100. Leznoff, C.C.; Wong, J.Y. The Use of Polymer Supports in Organic Synthesis. The Synthesis of Monotrityl Ethers of Symmetrical Diols. *Can. J. Chem.* **1972**, *50*, 2892–2893, doi:10.1139/v72-463.
101. Cankařová, N.; Schütznerová, E.; Krchňák, V. Traceless Solid-Phase Organic Synthesis. *Chem. Rev.* **2019**, *119*, 12089–12207, doi:10.1021/acs.chemrev.9b00465.
102. Fülöpová, V.; Soural, M. Solid-Phase Synthesis of Heterocycles with α -Haloketones as the Key Building Blocks. *Synthesis* **2016**, *48*, 3684–3695, doi:10.1055/s-0035-1562519.
103. Abdildinova, A.; Kurth, M.J.; Gong, Y.-D. Heterocycles as a Peptidomimetic Scaffold: Solid-Phase Synthesis Strategies. *Pharmaceuticals* **2021**, *14*, 449, doi:10.3390/ph14050449.
104. Abdildinova, A.; Gong, Y.-D. Current Parallel Solid-Phase Synthesis of Drug-like Oxadiazole and Thiadiazole Derivatives for Combinatorial Chemistry. *ACS Comb. Sci.* **2018**, *20*, 309–329, doi:10.1021/acscombsci.8b00044.
105. Aparna, E.P.; Devaky, K.S. Advances in the Solid-Phase Synthesis of Pyrimidine Derivatives. *ACS Comb. Sci.* **2019**, *21*, 35–68, doi:10.1021/acscombsci.8b00172.
106. Krajčovičová, S.; Soural, M. Solid-Phase Synthetic Strategies for the Preparation of Purine Derivatives. *ACS Comb. Sci.* **2016**, *18*, 371–386, doi:10.1021/acscombsci.6b00061.
107. Králová, P.; Ručilová, V.; Soural, M. Polymer-Supported Syntheses of Heterocycles Bearing Oxazine and Thiazine Scaffolds. *ACS Comb. Sci.* **2018**, *20*, 529–543, doi:10.1021/acscombsci.8b00076.
108. Kaur, N.; Kishore, D. Nitrogen-Containing Six-Membered Heterocycles: Solid-Phase Synthesis. *Synth. Commun.* **2014**, *44*, 1173–1211, doi:10.1080/00397911.2012.760129.
109. Kaur, N.; Dwivedi, J.; Kishore, D. Solid-Phase Synthesis of Nitrogen-Containing Five-Membered Heterocycles. *Synth. Commun.* **2014**, *44*, 1671–1729, doi:10.1080/00397911.2013.773352.
110. Kaur, N.; Kishore, D. Solid-Phase Synthetic Approach Toward the Synthesis of Oxygen-Containing Heterocycles. *Synth. Commun.* **2014**, *44*, 1019–1042, doi:10.1080/00397911.2012.760131.
111. Kaur, N. Solid-Phase Synthesis of Sulfur Containing Heterocycles. *J. Sulfur Chem.* **2018**, *39*, 544–577, doi:10.1080/17415993.2018.1457673.
112. *Solid-Phase Synthesis of Nitrogenous Heterocycles*; Krchňák, V., Ed.; Topics in Heterocyclic Chemistry; Springer International Publishing: Cham, 2017; Vol. 52; ISBN 978-3-319-58615-1.
113. *Solid-Phase Organic Synthesis: Concepts, Strategies, and Applications*; Toy, P.H., Lam, Y., Eds.; John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, NJ, USA, 2011; ISBN 978-1-118-14164-9.
114. Zaragoza Dörwald, F. *Organic Synthesis on Solid Phase: Supports, Linkers, Reactions*; 1st ed.; Wiley, 2002; ISBN 978-3-527-30603-9.
115. *Linker Strategies in Solid-Phase Organic Synthesis*; Scott, P.J.H., Ed.; John Wiley & Sons, Ltd: Chichester, UK, 2009; ISBN 978-0-470-74904-3.

Références bibliographiques

116. *Peptide-Based Drug Discovery: Challenges and New Therapeutics*; Srivastava, V., Ed.; Drug Discovery; Royal Society of Chemistry: Cambridge, 2017; ISBN 978-1-78262-732-6.
117. Gouhier, G. Chimie Supportée Sur Phase Solide. *Tech. Ing.* **2018**, base documentaire : TIB610DUO.
118. Peuchmaur, M.; Lisowski, V.; Gandreuil, C.; Maillard, L.T.; Martinez, J.; Hernandez, J.-F. Solid-Phase Synthesis of Isocoumarins: A Traceless Halocyclization Approach. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 4158–4165, doi:10.1021/jo900281a.
119. McKay, C.S.; Finn, M.G. Click Chemistry in Complex Mixtures: Bioorthogonal Bioconjugation. *Chem. Biol.* **2014**, *21*, 1075–1101, doi:10.1016/j.chembiol.2014.09.002.
120. Williamson, Al. Ueber Die Theorie Der Aetherbildung. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1851**, *77*, 37–49, doi:10.1002/jlac.18510770104.
121. Williamson Ether Synthesis. In *Comprehensive Organic Name Reactions and Reagents*; John Wiley & Sons, Ltd, 2010; pp. 3026–3030 ISBN 978-0-470-63885-9.
122. Castro, C.E.; Stephens, R.D. Substitutions by Ligands of Low Valent Transition Metals. A Preparation of Tolanes and Heterocyclics from Aryl Iodides and Cuprous Acetylides. *J. Org. Chem.* **1963**, *28*, 2163, doi:10.1021/jo01043a050.
123. Stephens, R.D.; Castro, C.E. The Substitution of Aryl Iodides with Cuprous Acetylides. A Synthesis of Tolanes and Heterocyclics. *J. Org. Chem.* **1963**, *28*, 3313–3315, doi:10.1021/jo01047a008.
124. Castro, C.E.; Gaughan, E.J.; Owsley, D.C. Indoles, Benzofurans, Phthalides, and Tolanes via Copper(I) Acetylides. *J. Org. Chem.* **1966**, *31*, 4071–4078, doi:10.1021/jo01350a045.
125. Dieck, H.A.; Heck, F.R. Palladium Catalyzed Synthesis of Aryl, Heterocyclic and Vinylic Acetylene Derivatives. *J. Organomet. Chem.* **1975**, *93*, 259–263, doi:10.1016/S0022-328X(00)94049-X.
126. Cassar, L. Synthesis of Aryl- and Vinyl-Substituted Acetylene Derivatives by the Use of Nickel and Palladium Complexes. *J. Organomet. Chem.* **1975**, *93*, 253–257, doi:10.1016/S0022-328X(00)94048-8.
127. Chinchilla, R.; Nájera, C. The Sonogashira Reaction: A Booming Methodology in Synthetic Organic Chemistry. *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 874–922, doi:10.1021/cr050992x.
128. Chinchilla, R.; Nájera, C. Recent Advances in Sonogashira Reactions. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 5084, doi:10.1039/c1cs15071e.
129. Sonogashira, K.; Tohda, Y.; Hagihara, N. A Convenient Synthesis of Acetylenes: Catalytic Substitutions of Acetylenic Hydrogen with Bromoalkenes, Iodoarenes and Bromopyridines. *Tetrahedron Lett.* **1975**, *16*, 4467–4470, doi:10.1016/S0040-4039(00)91094-3.
130. Sonogashira Coupling. In *Comprehensive Organic Name Reactions and Reagents*; John Wiley & Sons, Ltd, 2010; pp. 2628–2635 ISBN 978-0-470-63885-9.
131. Sonogashira Cross-Coupling Available online: <https://www.name-reaction.com/sonogashira-cross-coupling> (accessed on 28 April 2022).
132. Glaser, C. Beiträge Zur Kenntniss Des Acetenylbenzols. *Berichte Dtsch. Chem. Ges.* **1869**, *2*, 422–424, doi:10.1002/cber.186900201183.
133. Saeed, A. Isocoumarins, Miraculous Natural Products Blessed with Diverse Pharmacological Activities. *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, *116*, 290–317, doi:10.1016/j.ejmech.2016.03.025.
134. Noor, A.O.; Almasri, D.M.; Bagalagel, A.A.; Abdallah, H.M.; Mohamed, S.G.A.; Mohamed, G.A.; Ibrahim, S.R.M. Naturally Occurring Isocoumarins Derivatives from Endophytic Fungi: Sources, Isolation, Structural Characterization, Biosynthesis, and Biological Activities. *Molecules* **2020**, *25*, 395, doi:10.3390/molecules25020395.

Références bibliographiques

135. Shabir, G.; Saeed, A.; El-Seedi, H.R. Natural Isocoumarins: Structural Styles and Biological Activities, the Revelations Carry on *Phytochemistry* **2021**, *181*, 112568, doi:10.1016/j.phytochem.2020.112568.
136. Venugopala, K.N.; Rashmi, V.; Odhav, B. Review on Natural Coumarin Lead Compounds for Their Pharmacological Activity. *BioMed Res. Int.* **2013**, *2013*, 1–14, doi:10.1155/2013/963248.
137. Panche, A.N.; Diwan, A.D.; Chandra, S.R. Flavonoids: An Overview. *J. Nutr. Sci.* **2016**, *5*, doi:10.1017/jns.2016.41.
138. von Vogel, H.A. De l'existence de l'acide benzoïque dans la fève de Tonka et dans les fleurs de mélilot. *J. Pharm. Sci. Accessoires* **1820**, *6*, 305–309.
139. Guibourt, N.J.-B.G. De la semence Tonka. In *Histoire abrégée des drogues simples*; 1820; pp. 160–161.
140. Société de pharmacie de Paris - Séance du 15 juin. *J. Chim. Médicale Pharm. Toxicol.* **1825**, *1*, 303–305.
141. Guibourt, N.J.-B.G. Semence ou fève Tonka. In *Histoire naturelle des drogues simples*; 1869; Vol. 3, pp. 376–378.
142. Gerhardt, C. Genre Coumarine. In *Précis de chimie organique*; 1845; pp. 105–106.
143. Perkin, W.H. VI.—On the Artificial Production of Coumarin and Formation of Its Homologues. *J Chem Soc* **1868**, *21*, 53–63, doi:10.1039/JS8682100053.
144. Bamberger, Eug.; Kitschelt, M. Ueberführung von Naphtalin in Isochinolin. (III. Mitteilung über β -Naphtochinon). *Berichte Dtsch. Chem. Ges.* **1892**, *25*, 1138–1147, doi:10.1002/cber.189202501176.
145. Fritsch, P. Synthesen in der Isocoumarin- und Isochinolinreihe. *Berichte Dtsch. Chem. Ges.* **1893**, *26*, 419–422, doi:10.1002/cber.18930260191.
146. Gabriel, S. Nitromethan und Phtalsäureanhydrid. *Berichte Dtsch. Chem. Ges.* **1903**, *36*, 570–579, doi:10.1002/cber.190303601110.
147. Dieckmann, W.; Meiser, W. Über Homophthalsäureester, Oxymethylenhomophthalsäureester und die aus ihm entstehenden Isocoumarin- und Isocarbostyryl-Derivate. *Berichte Dtsch. Chem. Ges.* **1908**, *41*, 3253–3269, doi:10.1002/cber.190804102277.
148. Bain, D.; Perkin, W.H.; Robinson, R. CCXXIII.—Some Derivatives of Isocoumarin and Isocarbostyryl. *J Chem Soc Trans* **1914**, *105*, 2392–2404, doi:10.1039/CT9140502392.
149. Barry, R.D. Isocoumarins. Developments Since 1950. *Chem. Rev.* **1964**, *64*, 229–260, doi:10.1021/cr60229a002.
150. Hill, R.A. Naturally Occurring Isocoumarins. In *Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe / Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*; Springer Vienna: Vienna, 1986; Vol. 49, pp. 1–78 ISBN 978-3-7091-8848-4.
151. Napolitano, E. The Synthesis of Isocoumarins over the Last Decade. A Review. *Org. Prep. Proced. Int.* **1997**, *29*, 631–664, doi:10.1080/00304949709355245.
152. Pal, S.; Chatare, V.; Pal, M. Isocoumarin and Its Derivatives: An Overview on Their Synthesis and Applications. *Curr. Org. Chem.* **2011**, *15*, 782–800, doi:10.2174/138527211794518970.
153. Ryabukhin, D.S.; Vasilyev, A.V. Synthesis of (Iso)Quinoline, (Iso)Coumarin and (Iso)Chromene Derivatives from Acetylene Compounds. *Russ. Chem. Rev.* **2016**, *85*, 637–665, doi:10.1070/RCR4550.
154. Saddiqa, A.; Usman, M.; Çakmak, O. Isocoumarins and 3,4-Dihydroisocoumarins, Amazing Natural Products: A Review. *Turk. J. Chem.* **2017**, *41*, 153–178, doi:10.3906/kim-1604-66.
155. Saikia, P.; Gogoi, S. Isocoumarins: General Aspects and Recent Advances in Their Synthesis. *Adv. Synth. Catal.* **2018**, *360*, 2063–2075, doi:10.1002/adsc.201800019.

Références bibliographiques

156. Saeed, A.; Haroon, M.; Muhammad, F.; Larik, F.A.; Hesham, E.-S.; Channar, P.A. Advances in Transition-Metal-Catalyzed Synthesis of 3-Substituted Isocoumarins. *J. Organomet. Chem.* **2017**, *834*, 88–103, doi:10.1016/j.jorganchem.2017.02.016.
157. Son, J.-Y.; Maeng, C.; Lee, P.H. Synthetic Methods of Isocoumarins and Phosphaisocoumarins through C-H Activation. *Bull. Korean Chem. Soc.* *n/a*, doi:10.1002/bkcs.11996.
158. Pal, S.; Pal, M. *Isocoumarin, Thiaisocoumarin and Phosphaisocoumarin*; Elsevier, 2019; ISBN 978-0-12-815411-3.
159. Moss, G.P.; Smith, P.A.S.; Tavernier, D. Glossary of Class Names of Organic Compounds and Reactivity Intermediates Based on Structure (IUPAC Recommendations 1995). *Pure Appl. Chem.* **1995**, *67*, 1307–1375, doi:10.1351/pac199567081307.
160. Isocoumarins. In *IUPAC Compendium of Chemical Terminology*; Nič, M., Jirát, J., Košata, B., Jenkins, A., McNaught, A., Eds.; IUPAC: Research Triangle Park, NC, 2009 ISBN 978-0-9678550-9-7.
161. Oliver, M.A.; Gandour, R.D. The Identity of 4-Bromo-3-Phenylisocoumarin. A Facile Preparation by Bromolactonization of Alkyl 2-(2-Phenylethynyl)Benzoates. *J. Org. Chem.* **1984**, *49*, 558–559, doi:10.1021/jo00177a038.
162. Nakajima, S.; Kawai, K.; Yamada, S.; Sawai, Y. Isolation of Oospolactone as Antifungal Principle of *Gloeophyllum Separium*. *Agric. Biol. Chem.* **1976**, *40*, 811–812, doi:10.1271/bbb1961.40.811.
163. Kurosaki, F.; Matsui, K.; Nishi, A. Production and Metabolism of 6-Methoxymellein in Cultured Carrot Cells. *Physiol. Plant Pathol.* **1984**, *25*, 313–322, doi:10.1016/0048-4059(84)90039-0.
164. Boller, A.; Gäumann, E.; Hardegger, E.; Kugler, F.; Naef-Roth, S.; Rosner, M. Welkstoffe und Antibiotika. 18. Mitteilung Diaporthin, ein Welketoxin aus Kulturen von *Endothia parasitica* (Murr.) And. *Helv. Chim. Acta* **1957**, *40*, 875–880, doi:10.1002/hlca.19570400337.
165. Ashraf, Z. Metal-Catalyzed Synthesis of Isocoumarin Derivatives (Microreview). *Chem. Heterocycl. Compd.* **2016**, *52*, 149–151, doi:10.1007/s10593-016-1849-z.
166. Batu, G.; Stevenson, R. Synthesis of Natural Isocoumarins, Artemidin and 3-Propylisocoumarin. *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 1532–1534, doi:10.1021/jo01296a044.
167. Sakamoto, T.; An-Naka, M.; Kondo, Y.; Yamanaka, H. Condensed Heteroaromatic Ring Systems. VIII: Synthesis of 3-Substituted Isocoumarins from *o*-Halobenzoic Acid Derivatives. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* **1986**, *34*, 2754–2759, doi:10.1248/cpb.34.2754.
168. Tao, W.; Silverberg, L.J.; Rheingold, A.L.; Heck, R.F. Alkyne Reactions with Arylpalladium Compounds. *Organometallics* **1989**, *8*, 2550–2559, doi:10.1021/om00113a006.
169. Soltani, Y.; Wilkins, L.C.; Melen, R.L. A Comparative Assessment of Modern Cyclization Methods of Substituted Alkynyl Esters, Ethers, and Acids. *Synlett* **2018**, *29*, 01–07, doi:10.1055/s-0036-1591862.
170. Baldwin, J.E.; Thomas, R.C.; Kruse, L.I.; Silberman, L. Rules for Ring Closure: Ring Formation by Conjugate Addition of Oxygen Nucleophiles. *J. Org. Chem.* **1977**, *42*, 3846–3852, doi:10.1021/jo00444a011.
171. Yao, T.; Larock, R.C. Synthesis of Isocoumarins and α -Pyrone via Iodocyclization. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 7401–7404, doi:10.1016/S0040-4039(02)01731-8.
172. Yao, T.; Larock, R.C. Synthesis of Isocoumarins and α -Pyrone via Electrophilic Cyclization. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 5936–5942, doi:10.1021/jo034308v.
173. Biagetti, M.; Bellina, F.; Carpita, A.; Stabile, P.; Rossi, R. New Procedures for the Selective Synthesis of 2(2*H*)-Pyrone Derivatives and 3-Aryl-4-Iodoisocoumarins. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 5023–5038, doi:10.1016/S0040-4020(02)00469-6.

Références bibliographiques

174. Rossi, R.; Carpita, A.; Bellina, F.; Stabile, P.; Mannina, L. Synthesis of 3-Arylisocoumarins, Including Thunbergins A and B, Unsymmetrical 3,4-Disubstituted Isocoumarins, and 3-Ylidenephthalides via Iodolactonization of Methyl 2-Ynylbenzoates or the Corresponding Carboxylic Acids. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 2067–2081, doi:10.1016/S0040-4020(03)00212-6.
175. Liang, Y.; Xie, Y.-X.; Li, J.-H. $Cy_2NH \cdot HX$ -Promoted Cyclizations of *o*-(Alk-1-Ynyl)Benzoates and (*Z*)-Alk-2-En-4-Ynoate with Copper Halides to Synthesize Isocoumarins and α -Pyrone. *Synthesis* **2007**, *2007*, 400–406, doi:10.1055/s-2006-958960.
176. Chin, L.-Y.; Lee, C.-Y.; Lo, Y.-H.; Wu, M.-J. Halocyclization of Methyl 2-Alkynylbenzoates to Isocoumarins Using Cupric Halides. *J. Chin. Chem. Soc.* **2008**, *55*, 643–648, doi:10.1002/jccs.200800095.
177. Le Bras, G.; Hamze, A.; Messaoudi, S.; Provot, O.; Le Calvez, P.-B.; Brion, J.-D.; Alami, M. Synthesis of Isocoumarin via PTSA-Catalyzed Annulation of Diarylalkynes. *Synthesis* **2008**, *2008*, 1607–1611, doi:10.1055/s-2008-1072575.
178. Li, Y.; Li, G.; Ding, Q. (Trifluoromethyl)Thiolation of 2-Alkynylbenzoates: An Efficient Route to 4-[(Trifluoromethyl)Thio]-1 *H* -Isochromen-1-Ones: (Trifluoromethyl)Thiolation of 2-Alkynylbenzoates. *Eur. J. Org. Chem.* **2014**, *2014*, 5017–5022, doi:10.1002/efoc.201402629.
179. Sashida, H. Palladium-Catalyzed Intramolecular Cyclization of *o*-Ethynylbenzoic Acids and *o*-Ethynylbenzamides: Preparation of Isocoumarins and Isoquinolin-1-Ones. *Synthesis* **1999**, *1999*, 1145–1148, doi:10.1055/s-1999-3522.
180. Zhao, P.; Chen, D.; Song, G.; Han, K.; Li, X. Palladium-Catalyzed Cascade Cyclization–Oxidative Olefination of *Tert* -Butyl 2-Alkynylbenzoates. *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 1579–1584, doi:10.1021/jo202228k.
181. Wakamatsu, T.; Ogawa, Y.; Maruno, M. Silver Catalyzed Cyclization of Alkynoic Acids: Efficient Synthesis of 3-Alkylidenephthalides, γ -Alkylidenebutenolides, and γ -Alkylidenebutyrolactones. *HETEROCYCLES* **1995**, *41*, 2587, doi:10.3987/COM-95-7228.
182. Bellina, F.; Ciucci, D.; Vergamini, P.; Rossi, R. Regioselective Synthesis of Natural and Unnatural (*Z*)-3-(1-Alkylidene)Phthalides and 3-Substituted Isocoumarins Starting from Methyl 2-Hydroxybenzoates. *Tetrahedron* **2000**, *56*, 2533–2545, doi:10.1016/S0040-4020(00)00125-3.
183. Feng, Y.; Jiang, X.; De Brabander, J.K. Studies toward the Unique Pederin Family Member Psymberin: Full Structure Elucidation, Two Alternative Total Syntheses, and Analogs. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 17083–17093, doi:10.1021/ja3057612.
184. Man, B.Y.-W.; Knuhtsen, A.; Page, M.J.; Messerle, B.A. Directing the Regioselectivity of Rhodium(I) Catalysed Cyclisation of 2-Alkynyl Benzoic Acids. *Polyhedron* **2013**, *61*, 248–252, doi:10.1016/j.poly.2013.06.010.
185. Uchiyama, M.; Ozawa, H.; Takuma, K.; Matsumoto, Y.; Yonehara, M.; Hiroya, K.; Sakamoto, T. Regiocontrolled Intramolecular Cyclizations of Carboxylic Acids to Carbon–Carbon Triple Bonds Promoted by Acid or Base Catalyst. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 5517–5520, doi:10.1021/ol062190+.
186. Kajita, Y.; Kurahashi, T.; Matsubara, S. Nickel-Catalyzed Decarbonylative Addition of Anhydrides to Alkynes. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 17226–17227, doi:10.1021/ja806569h.
187. Prakash, R.; Shekarrao, K.; Gogoi, S.; Boruah, R.C. Ruthenium-Catalyzed Decarbonylative Addition Reaction of Anhydrides with Alkynes: A Facile Synthesis of Isocoumarins and α -Pyrone. *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 9972–9974, doi:10.1039/C5CC03311J.
188. Ueura, K.; Satoh, T.; Miura, M. An Efficient Waste-Free Oxidative Coupling via Regioselective C–H Bond Cleavage: Rh/Cu-Catalyzed Reaction of Benzoic Acids with Alkynes and Acrylates under Air. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 1407–1409, doi:10.1021/ol070406h.

Références bibliographiques

189. Li, X.G.; Liu, K.; Zou, G.; Liu, P.N. Rhodium(III)-Catalyzed, C-H Activated Annulation to Form Isocoumarins and A-Pyrones Using the O-N Bond as an Internal Oxidant. *Adv. Synth. Catal.* **2014**, *356*, 1496–1500, doi:10.1002/adsc.201400200.
190. Cherry, K.; Parrain, J.-L.; Thibonnet, J.; Duchêne, A.; Abarbri, M. Synthesis of Isocoumarins and α -Pyrones via Tandem Stille Reaction/Heterocyclization. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 6669–6675, doi:10.1021/jo050638z.
191. Roy, H.N.; Sarkar, M.S. Rapid Access of Some Chloro-substituted Isocoumarins and Biological Activity Toward Some Pathogenic Systems. *Synth. Commun.* **2005**, *35*, 2177–2181, doi:10.1080/00397910500182416.
192. Suzuki, T.; Yamada, T.; Watanabe, K.; Katoh, T. Iridium-Catalyzed Oxidative Lactonization and Intramolecular Tishchenko Reaction of δ -Ketoaldehydes for the Synthesis of Isocoumarins and 3,4-Dihydroisocoumarins. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 2583–2585, doi:10.1016/j.bmcl.2005.03.043.
193. Izumi, T.; Nishimoto, Y.; Kohei, K.; Kasahara, A. Palladium-Catalyzed Synthesis of Isocoumarin and 1-Isoquinolinone Derivatives. *J. Heterocycl. Chem.* **1990**, *27*, 1419–1424, doi:10.1002/jhet.5570270544.
194. Kavala, V.; Wang, C.-C.; Barange, D.K.; Kuo, C.-W.; Lei, P.-M.; Yao, C.-F. Synthesis of Isocoumarin Derivatives via the Copper-Catalyzed Tandem Sequential Cyclization of 2-Halo-*N*-Phenyl Benzamides and Acyclic 1,3-Diketones. *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 5022–5029, doi:10.1021/jo300501j.
195. Yamamoto, I.; Nitta, K.; Yamamoto, Y. Studies on the Metabolic Products of *Oospora* Sp. (*Oospora Astringenes*): Part III. Chemical Structure of Oosponol. *Agric. Biol. Chem.* **1962**, *26*, 486–493, doi:10.1080/00021369.1962.10858006.
196. Mutschler, J.; Abbruzzese, E.; Witt, S.H.; Dirican, G.; Nieratschker, V.; Frank, J.; Grosshans, M.; Rietschel, M.; Kiefer, F. Functional Polymorphism of the Dopamine β -Hydroxylase Gene Is Associated With Increased Risk of Disulfiram-Induced Adverse Effects in Alcohol-Dependent Patients: *J. Clin. Psychopharmacol.* **2012**, *32*, 578–580, doi:10.1097/JCP.0b013e31825ddbe6.
197. Ella, E.; Sato, N.; Nishizawa, D.; Kageyama, S.; Yamada, H.; Kurabe, N.; Ishino, K.; Tao, H.; Tanioka, F.; Nozawa, A.; et al. Association between Dopamine Beta Hydroxylase Rs5320 Polymorphism and Smoking Behaviour in Elderly Japanese. *J. Hum. Genet.* **2012**, *57*, 385–390, doi:10.1038/jhg.2012.40.
198. Combarros, O.; Warden, D.R.; Hammond, N.; Cortina-Borja, M.; Belbin, O.; Lehmann, M.G.; Wilcock, G.K.; Brown, K.; Kehoe, P.G.; Barber, R.; et al. The Dopamine β -Hydroxylase -1021C/T Polymorphism Is Associated with the Risk of Alzheimer's Disease in the Epistasis Project. *BMC Med. Genet.* **2010**, *11*, 162, doi:10.1186/1471-2350-11-162.
199. Kovács, T.; Sonnenbichler, I.; Sonnenbichler, J. Total Synthesis of the Toxin Oosponol and of Structural Analogues and Investigation of Their Antibiotic Activities. *Liebigs Ann.* **1997**, *1997*, 773–777, doi:10.1002/jlac.199719970422.
200. Umezawa, H. Chemistry of Enzyme Inhibitors of Microbial Origin. *Pure Appl. Chem.* **1973**, *33*, 129–144, doi:10.1351/pac197333010129.
201. Child, M.A.; Hall, C.I.; Beck, J.R.; Ofori, L.O.; Albrow, V.E.; Garland, M.; Bowyer, P.W.; Bradley, P.J.; Powers, J.C.; Boothroyd, J.C.; et al. Small-Molecule Inhibition of a Depalmitoylase Enhances Toxoplasma Host-Cell Invasion. *Nat. Chem. Biol.* **2013**, *9*, 651–656, doi:10.1038/nchembio.1315.
202. Thongbai, B.; Surup, F.; Mohr, K.; Kuhnert, E.; Hyde, K.D.; Stadler, M. Gymnopalynes A and B, Chloropropynyl-Isocoumarin Antibiotics from Cultures of the Basidiomycete *Gymnopus* Sp. *J. Nat. Prod.* **2013**, *76*, 2141–2144, doi:10.1021/np400609f.

Références bibliographiques

203. Simic, M.; Paunovic, N.; Boric, I.; Randjelovic, J.; Vojnovic, S.; Nikodinovic-Runic, J.; Pekmezovic, M.; Savic, V. Functionalised Isocoumarins as Antifungal Compounds: Synthesis and Biological Studies. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**, *26*, 235–239, doi:10.1016/j.bmcl.2015.08.086.
204. Yoshikawa, M.; Uchida, E.; Chatani, N.; Murakami, N.; Yamahara, J. Thunberginols A, B, and F, New Antiallergic and Antimicrobial Principles from *Hydrangeae Dulcis Folium*. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* **1992**, *40*, 3121–3123, doi:10.1248/cpb.40.3121.
205. Umehara, K.; Matsumoto, M.; Nakamura, M.; Miyase, T.; Kuroyanagi, M.; Noguchi, H. Differentiation Inducing Activities of Isocoumarins from *Hydrangea Dulcis Folium*. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* **2000**, *48*, 566–567, doi:10.1248/cpb.48.566.
206. Furuta, T.; Fukuyama, Y.; Asakawa, Y. Polygonolide, an Isocoumarin from *Polygonum Hydropiper* Possessing Anti-Inflammatory Activity. *Phytochemistry* **1986**, *25*, 517–520, doi:10.1016/S0031-9422(00)85513-2.
207. Petit, A.; Bihel, F.; Costa, C.A. da; Pourquié, O.; Checler, F.; Kraus, J.-L. New Protease Inhibitors Prevent γ -Secretase-Mediated Production of A β 40/42 without Affecting Notch Cleavage. *Nat. Cell Biol.* **2001**, *3*, 507–511, doi:10.1038/35074581.
208. Peuchmaur, M.; Lacour, M.-A.; Sévalle, J.; Lisowski, V.; Touati-Jallabe, Y.; Rodier, F.; Martinez, J.; Checler, F.; Hernandez, J.-F. Further Characterization of a Putative Serine Protease Contributing to the γ -Secretase Cleavage of β -Amyloid Precursor Protein. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21*, 1018–1029, doi:10.1016/j.bmc.2012.11.045.
209. Khan, K.M.; Ahmed, S.; Khan, Z.A.; Zia-Ullah; Rani, M.; Choudhary, M.I.; Perveen, S. In Vitro Leishmanicidal Activity of 3-Substituted Isocoumarins: Synthesis and Structure Activity Relationship. *Med. Chem.* **2008**, *4*, 163–169, doi:10.2174/157340608783789130.
210. Kerrigan, J.E.; Oleksyszyn, J.; Kam, C.-M.; Selzler, J.; Powers, J.C. Mechanism-Based Isocoumarin Inhibitors for Human Leukocyte Elastase. Effect of the 7-Amino Substituent and 3-Alkoxy Group in 3-Alkoxy-7-Amino-4-Chloroisocoumarins on Inhibitory Potency. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 544–552, doi:10.1021/jm00003a017.
211. Pochet, L.; Frederick, R.; Masereel, B. Coumarin and Isocoumarin as Serine Protease Inhibitors. *Curr. Pharm. Des.* **2004**, *10*, 3781–3796, doi:10.2174/1381612043382684.
212. Heynekamp, J.J.; Hunsaker, L.A.; Vander Jagt, T.A.; Royer, R.E.; Deck, L.M.; Vander Jagt, D.L. Isocoumarin-Based Inhibitors of Pancreatic Cholesterol Esterase. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 5285–5294, doi:10.1016/j.bmc.2008.03.016.
213. Yadav, P.; Purohit, N.V. Synthesis and Biological Evaluation of Some Novel 3,4-Disubstituted Isocoumarins. *Indian J. Pharm. Sci.* **2011**, *73*, 171–178.
214. Yadav, P.; Purohit, N.V. Synthesis and Evaluation of Some Bioactive Compounds Having Oxygen and Nitrogen Heteroatom. *J. Chem. Sci.* **2013**, *125*, 165–173, doi:10.1007/s12039-012-0344-z.
215. Benson, F.R.; Savell, W.L. The Chemistry of the Vicinal Triazoles. *Chem. Rev.* **1950**, *46*, 1–68, doi:10.1021/cr60143a001.
216. Zinin, N. Ueber einige Derivate des Azoxybenzids. *Ann. Chem. Pharm.* **1860**, *114*, 217–227, doi:10.1002/jlac.18601140212.
217. Werner, Alf.; Stiasny, Edm. Ueber Nitroderivate des Azo-, Azoxy- und Hydrazo-Benzols. *Berichte Dtsch. Chem. Ges.* **1899**, *32*, 3256–3282, doi:10.1002/cber.18990320393.
218. Ladenburg, A. Derivate von Diaminen. *Berichte Dtsch. Chem. Ges.* **1876**, *9*, 219–223, doi:10.1002/cber.18760090166.
219. v. Pechmann, H. Ueber Osazone. *Berichte Dtsch. Chem. Ges.* **1888**, *21*, 2751–2762, doi:10.1002/cber.188802102103.

Références bibliographiques

220. v. Pechmann, H. Untersuchungen über Osotriazole: Entstehung, allgemeine und Eigenschaften und Constitution der Osotriazole. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1891**, 262, 265–277, doi:10.1002/jlac.18912620302.
221. Bladin, J.A. Ueber Verbindungen, welche sich vom Dicyanphenylhydrazin ableiten. III. *Berichte Dtsch. Chem. Ges.* **1886**, 19, 2598–2604, doi:10.1002/cber.188601902220.
222. Michael, A. Ueber Die Einwirkung von Diazobenzolimid Auf Acetylendicarbonsäuremethylester. *J. Für Prakt. Chem.* **1893**, 48, 94–95, doi:10.1002/prac.18930480114.
223. Dimroth, O.; Pfister, K. Über monosubstituierte Triazene und Versuche zur Darstellung des Triazens. *Berichte Dtsch. Chem. Ges.* **1910**, 43, 2757–2767, doi:10.1002/cber.19100430328.
224. Potts, K.T. The Chemistry of 1,2,4-Triazoles. *Chem. Rev.* **1961**, 61, 87–127, doi:10.1021/cr60210a001.
225. Morton, V.; Staub, T. A Short History of Fungicides. *APSnet Feature Artic.* **2008**, doi:10.1094/APSnetFeature-2008-0308.
226. Huisgen, R. Proceedings of the Chemical Society. October 1961. *Proc. Chem. Soc.* **1961**, 357, doi:10.1039/ps9610000357.
227. Huisgen, R. 1,3-Dipolar Cycloadditions. Past and Future. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1963**, 2, 565–598, doi:10.1002/anie.196305651.
228. Breugst, M.; Reissig, H. The Huisgen Reaction: Milestones of the 1,3-Dipolar Cycloaddition. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2020**, 59, 12293–12307, doi:10.1002/anie.202003115.
229. Gilchrist, T.L.; Gymer, G.E. 1,2,3-Triazoles. In *Advances in Heterocyclic Chemistry*; Elsevier, 1974; Vol. 16, pp. 33–85 ISBN 978-0-12-020616-2.
230. Wamhoff, H. 1,2,3-Triazoles and Their Benzo Derivatives. In *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*; Elsevier, 1984; pp. 669–732 ISBN 978-0-08-096519-2.
231. Bozorov, K.; Zhao, J.; Aisa, H.A. 1,2,3-Triazole-Containing Hybrids as Leads in Medicinal Chemistry: A Recent Overview. *Bioorg. Med. Chem.* **2019**, 27, 3511–3531, doi:10.1016/j.bmc.2019.07.005.
232. Hou, J.; Liu, X.; Shen, J.; Zhao, G.; Wang, P.G. The Impact of Click Chemistry in Medicinal Chemistry. *Expert Opin. Drug Discov.* **2012**, 7, 489–501, doi:10.1517/17460441.2012.682725.
233. Ajay Kumar, K. Comprehensive Review on Huisgen's Cycloaddition Reactions. *Int. J. ChemTech Res.* **2013**, 5, 3032–3050.
234. Elamari, H. Etudes sur la catalyse de la réaction de Huisgen et nouvelles applications synthétiques. phdthesis, Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2011.
235. Fan, W.-Q.; Katritzky, A.R. 1,2,3-Triazoles. In *Comprehensive Heterocyclic Chemistry II*; Elsevier, 1996; pp. 1–126 ISBN 978-0-08-096518-5.
236. *Click Triazoles*; Košmrlj, J., Ed.; Topics in Heterocyclic Chemistry; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2012; Vol. 28; ISBN 978-3-642-29428-0.
237. Dheer, D.; Singh, V.; Shankar, R. Medicinal Attributes of 1,2,3-Triazoles: Current Developments. *Bioorganic Chem.* **2017**, 71, 30–54, doi:10.1016/j.bioorg.2017.01.010.
238. Rostovtsev, V.V.; Green, L.G.; Fokin, V.V.; Sharpless, K.B. A Stepwise Huisgen Cycloaddition Process: Copper(I)-Catalyzed Regioselective "Ligation" of Azides and Terminal Alkynes. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 2596–2599, doi:https://doi.org/10.1002/1521-3773(20020715)41:14<2596::AID-ANIE2596>3.0.CO;2-4.
239. Tornøe, C.W.; Christensen, C.; Meldal, M. Peptidotriazoles on Solid Phase: [1,2,3]-Triazoles by Regiospecific Copper(I)-Catalyzed 1,3-Dipolar Cycloadditions of Terminal Alkynes to Azides. *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 3057–3064, doi:10.1021/jo011148j.

Références bibliographiques

240. Kolb, H.C.; Finn, M.G.; Sharpless, K.B. Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004–2021, doi:https://doi.org/10.1002/1521-3773(20010601)40:11<2004::AID-ANIE2004>3.0.CO;2-5.
241. Meldal, M.; Diness, F. Recent Fascinating Aspects of the CuAAC Click Reaction. *Trends Chem.* **2020**, *2*, 569–584, doi:10.1016/j.trechm.2020.03.007.
242. Meldal, M.; Tornøe, C.W. Cu-Catalyzed Azide–Alkyne Cycloaddition. *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 2952–3015, doi:10.1021/cr0783479.
243. Fantoni, N.Z.; El-Sagheer, A.H.; Brown, T. A Hitchhiker’s Guide to Click-Chemistry with Nucleic Acids. *Chem. Rev.* **2021**, *121*, 7122–7154, doi:10.1021/acs.chemrev.0c00928.
244. Buckley, B.R.; Heaney, H. Mechanistic Investigations of Copper(I)-Catalysed Alkyne–Azide Cycloaddition Reactions. In *Click Triazoles*; Košmrlj, J., Ed.; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2012; Vol. 28, pp. 1–29 ISBN 978-3-642-29428-0.
245. Zhang, L.; Chen, X.; Xue, P.; Sun, H.H.Y.; Williams, I.D.; Sharpless, K.B.; Fokin, V.V.; Jia, G. Ruthenium-Catalyzed Cycloaddition of Alkynes and Organic Azides. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 15998–15999, doi:10.1021/ja054114s.
246. Johansson, J.R.; Beke-Somfai, T.; Said Stålsmeden, A.; Kann, N. Ruthenium-Catalyzed Azide Alkyne Cycloaddition Reaction: Scope, Mechanism, and Applications. *Chem. Rev.* **2016**, *116*, 14726–14768, doi:10.1021/acs.chemrev.6b00466.
247. Gomes, R.S.; Jardim, G.A.M.; de Carvalho, R.L.; Araujo, M.H.; da Silva Júnior, E.N. Beyond Copper-Catalyzed Azide–Alkyne 1,3-Dipolar Cycloaddition: Synthesis and Mechanism Insights. *Tetrahedron* **2019**, *75*, 3697–3712, doi:10.1016/j.tet.2019.05.046.
248. Totobenazara, J.; Burke, A.J. New Click-Chemistry Methods for 1,2,3-Triazoles Synthesis: Recent Advances and Applications. *Tetrahedron Lett.* **2015**, *56*, 2853–2859, doi:10.1016/j.tetlet.2015.03.136.
249. Singh, M.S.; Chowdhury, S.; Koley, S. Advances of Azide–Alkyne Cycloaddition-Click Chemistry over the Recent Decade. *Tetrahedron* **2016**, *72*, 5257–5283, doi:10.1016/j.tet.2016.07.044.
250. Wang, C.; Ikhlef, D.; Kahlal, S.; Saillard, J.-Y.; Astruc, D. Metal-Catalyzed Azide–Alkyne “Click” Reactions: Mechanistic Overview and Recent Trends. *Coord. Chem. Rev.* **2016**, *316*, 1–20, doi:10.1016/j.ccr.2016.02.010.
251. McNulty, J.; Keskar, K.; Vemula, R. The First Well-Defined Silver(I)-Complex-Catalyzed Cycloaddition of Azides onto Terminal Alkynes at Room Temperature. *Chem. - Eur. J.* **2011**, *17*, 14727–14730, doi:10.1002/chem.201103244.
252. Surya Prakash Rao, H.; Chakibanda, G. Raney Ni Catalyzed Azide–Alkyne Cycloaddition Reaction. *RSC Adv* **2014**, *4*, 46040–46048, doi:10.1039/C4RA07057G.
253. Meng, X.; Xu, X.; Gao, T.; Chen, B. Zn/C-Catalyzed Cycloaddition of Azides and Aryl Alkynes. *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, *2010*, 5409–5414, doi:10.1002/ejoc.201000610.
254. Boominathan, M.; Pugazhenthiran, N.; Nagaraj, M.; Muthusubramanian, S.; Murugesan, S.; Bhuvanesh, N. Nanoporous Titania-Supported Gold Nanoparticle-Catalyzed Green Synthesis of 1,2,3-Triazoles in Aqueous Medium. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2013**, *1*, 1405–1411, doi:10.1021/sc400147r.
255. Kim, W.G.; Kang, M.E.; Lee, J.B.; Jeon, M.H.; Lee, S.; Lee, J.; Choi, B.; Cal, P.M.S.D.; Kang, S.; Kee, J.-M.; et al. Nickel-Catalyzed Azide–Alkyne Cycloaddition To Access 1,5-Disubstituted 1,2,3-Triazoles in Air and Water. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 12121–12124, doi:10.1021/jacs.7b06338.
256. Smith, C.D.; Greaney, M.F. Zinc Mediated Azide–Alkyne Ligation to 1,5- and 1,4,5-Substituted 1,2,3-Triazoles. *Org. Lett.* **2013**, *15*, 4826–4829, doi:10.1021/ol402225d.

Références bibliographiques

257. Hong, L.; Lin, W.; Zhang, F.; Liu, R.; Zhou, X. Ln[N(SiMe₃)₂]₃-Catalyzed Cycloaddition of Terminal Alkynes to Azides Leading to 1,5-Disubstituted 1,2,3-Triazoles: New Mechanistic Features. *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 5589, doi:10.1039/c3cc42534g.
258. Sletten, E.M.; Bertozzi, C.R. From Mechanism to Mouse: A Tale of Two Bioorthogonal Reactions. *Acc. Chem. Res.* **2011**, *44*, 666–676, doi:10.1021/ar200148z.
259. Wu, L.; Chen, Y.; Tang, M.; Song, X.; Chen, G.; Song, X.; Lin, Q. Potassium Tert-Butoxide Promoted Cycloaddition Reaction for the Synthesis of 1,5-Disubstituted 1,2,3-Triazoles from Aromatic Azides and Trimethylsilyl-Protected Alkynes. *Synlett* **2012**, *23*, 1529–1533, doi:10.1055/s-0031-1291042.
260. Kwok, S.W.; Fotsing, J.R.; Fraser, R.J.; Rodionov, V.O.; Fokin, V.V. Transition-Metal-Free Catalytic Synthesis of 1,5-Diaryl-1,2,3-Triazoles. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 4217–4219, doi:10.1021/ol101568d.
261. Negi, B.; Raj, K.K.; Siddiqui, S.M.; Ramachandran, D.; Azam, A.; Rawat, D.S. *In Vitro* Antiamoebic Activity Evaluation and Docking Studies of Metronidazole-Triazole Hybrids. *ChemMedChem* **2014**, *9*, 2439–2444, doi:10.1002/cmdc.201402240.
262. Najafi, Z.; Mahdavi, M.; Saeedi, M.; Karimpour-Razkenari, E.; Edraki, N.; Sharifzadeh, M.; Khanavi, M.; Akbarzadeh, T. Novel Tacrine-Coumarin Hybrids Linked to 1,2,3-Triazole as Anti-Alzheimer's Compounds: *In Vitro* and *in Vivo* Biological Evaluation and Docking Study. *Bioorganic Chem.* **2019**, *83*, 303–316, doi:10.1016/j.bioorg.2018.10.056.
263. Jiang, X.; Hao, X.; Jing, L.; Wu, G.; Kang, D.; Liu, X.; Zhan, P. Recent Applications of Click Chemistry in Drug Discovery. *Expert Opin. Drug Discov.* **2019**, *14*, 779–789, doi:10.1080/17460441.2019.1614910.
264. Bonandi, E.; Christodoulou, M.S.; Fumagalli, G.; Perdicchia, D.; Rastelli, G.; Passarella, D. The 1,2,3-Triazole Ring as a Bioisostere in Medicinal Chemistry. *Drug Discov. Today* **2017**, *22*, 1572–1581, doi:10.1016/j.drudis.2017.05.014.
265. Mohammed, I.; Kummetha, I.R.; Singh, G.; Sharova, N.; Lichinchi, G.; Dang, J.; Stevenson, M.; Rana, T.M. 1,2,3-Triazoles as Amide Bioisosteres: Discovery of a New Class of Potent HIV-1 Vif Antagonists. *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 7677–7682, doi:10.1021/acs.jmedchem.6b00247.
266. Imperio, D.; Pirali, T.; Galli, U.; Pagliai, F.; Cafici, L.; Canonico, P.L.; Sorba, G.; Genazzani, A.A.; Tron, G.C. Replacement of the Lactone Moiety on Podophyllotoxin and Steganacin Analogues with a 1,5-Disubstituted 1,2,3-Triazole via Ruthenium-Catalyzed Click Chemistry. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 6748–6757, doi:10.1016/j.bmc.2007.08.020.
267. Pippione, A.C.; Dosio, F.; Ducime, A.; Federico, A.; Martina, K.; Sainas, S.; Frølund, B.; Gooyit, M.; Janda, K.D.; Boschi, D.; et al. Substituted 4-Hydroxy-1,2,3-Triazoles: Synthesis, Characterization and First Drug Design Applications through Bioisosteric Modulation and Scaffold Hopping Approaches. *MedChemComm* **2015**, *6*, 1285–1292, doi:10.1039/C5MD00182J.
268. Goh, W.Y.L.; Chai, C.L.L.; Chen, A. Synthesis and Biological Studies of a Triazole Analogue of Resorcylic Acid Lactone LL-Z1640-2: Studies on Resorcylic Acid Lactone LL-Z1640-2. *Eur. J. Org. Chem.* **2014**, *2014*, 7239–7244, doi:10.1002/ejoc.201403010.
269. Genin, M.J.; Allwine, D.A.; Anderson, D.J.; Barbachyn, M.R.; Emmert, D.E.; Garmon, S.A.; Graber, D.R.; Grega, K.C.; Hester, J.B.; Hutchinson, D.K.; et al. Substituent Effects on the Antibacterial Activity of Nitrogen–Carbon-Linked (Azolyphenyl)Oxazolidinones with Expanded Activity Against the Fastidious Gram-Negative Organisms *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis*. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 953–970, doi:10.1021/jm990373e.
270. Piperacillin and Tazobactam Uses, Side Effects & Warnings Available online: <https://www.drugs.com/mtm/piperacillin-and-tazobactam.html> (accessed on 20 August 2021).

Références bibliographiques

271. Pipéracilline : substance active à effet thérapeutique Available online: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/piperacilline-6998.html> (accessed on 20 August 2021).
272. Ceftolozane and Tazobactam Uses, Side Effects & Warnings Available online: <https://www.drugs.com/mtm/ceftolozane-and-tazobactam.html> (accessed on 20 August 2021).
273. Ceftolozane : substance active à effet thérapeutique Available online: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/ceftolozane-24561.html> (accessed on 20 August 2021).
274. Zerbaxa Available online: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/zerbaxa> (accessed on 20 August 2021).
275. Autorisation - Minigraphie Inovelon Available online: <http://agence-prd.ansm.sante.fr/php/ecodex/extrait.php?specid=65037644> (accessed on 19 August 2021).
276. Banzel (Rufinamide) FDA Approval History Available online: <https://www.drugs.com/history/banzel.html> (accessed on 19 August 2021).
277. Inovelon Available online: <https://www.vidal.fr/medicaments/gammes/inovelon-31408.html> (accessed on 31 July 2022).
278. Banzel Available online: <https://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/drugInfo.cfm?setid=0a3fa925-1abd-458a-bd57-4ae780a1ef2d> (accessed on 19 August 2021).
279. Venkateswarlu, S.; Murty, G.N.; Satyanarayana, M. "On Water" Synthesis of Aurones: First Synthesis of 4,5,3',4',5'-Pentamethoxy-6-Hydroxyaurone from *Smilax Riparia*. *Arkivoc* **2017**, IV, 303–314, doi:10.24820/ark.5550190.p009.918.
280. Venkateswarlu, S.; Panchagnula, G.K.; Gottumukkala, A.L.; Subbaraju, G.V. Synthesis, Structural Revision, and Biological Activities of 4'-Chloroaurone, a Metabolite of Marine Brown Alga *Spatoglossum Variabile*. *Tetrahedron* **2007**, 63, 6909–6914, doi:10.1016/j.tet.2007.04.048.
281. Varma, R.S.; Varma, M. Alumina-Mediated Condensation. A Simple Synthesis of Aurones. *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 5937–5940, doi:10.1016/S0040-4039(00)61093-6.
282. Wang, S.; Xu, L.; Lu, Y.-T.; Liu, Y.-F.; Han, B.; Liu, T.; Tang, J.; Li, J.; Wu, J.; Li, J.-Y.; et al. Discovery of Benzofuran-3(2H)-One Derivatives as Novel DRAK2 Inhibitors That Protect Islet β -Cells from Apoptosis. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, 130, 195–208, doi:10.1016/j.ejmech.2017.02.048.
283. Texier-Boullet, F.; Foucaud, A. Knoevenagel Condensation Catalysed by Aluminium Oxide. *Tetrahedron Lett.* **1982**, 23, 4927–4928, doi:10.1016/S0040-4039(00)85749-4.
284. Rochet, P.; Vatèle, J.-M.; Goré, J. An Efficient Synthesis of Enantiopure 1-Alkoxy-1,2-Propadienes from Propargyl Bromide. *Synthesis* **1994**, 1994, 795–799, doi:10.1055/s-1994-25577.
285. Trost, B.M.; Xie, J.; Sieber, J.D. The Palladium Catalyzed Asymmetric Addition of Oxindoles and Allenes: An Atom-Economical Versatile Method for the Construction of Chiral Indole Alkaloids. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 20611–20622, doi:10.1021/ja209244m.
286. Veiseh, O.; Heidebrecht, R.; Wotton, P.; Oberli, M.; Miller, R. Compounds, Devices, and Uses Thereof 2018.
287. Dykstra, R.R. Hexamethylphosphoric Triamide. In *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*; John Wiley & Sons, Ltd, Ed.; John Wiley & Sons, Ltd: Chichester, UK, 2001; p. rh020 ISBN 978-0-471-93623-7.

Références bibliographiques

288. Zhang, L.; Jia, X.; Dong, J.; Chen, D.; Liu, J.; Zhang, L.; Wen, X. Synthesis and Evaluation of Novel Oleanolic Acid Derivatives as Potential Antidiabetic Agents. *Chem. Biol. Drug Des.* **2014**, *83*, 297–305, doi:10.1111/cbdd.12241.
289. Marinović, M.; Poje, G.; Perković, I.; Fontinha, D.; Prudêncio, M.; Held, J.; Pessanha de Carvalho, L.; Tandarić, T.; Vianello, R.; Rajić, Z. Further Investigation of Harmicines as Novel Antiplasmodial Agents: Synthesis, Structure–Activity Relationship and Insight into the Mechanism of Action. *Eur. J. Med. Chem.* **2021**, *224*, 113687, doi:10.1016/j.ejmech.2021.113687.
290. Pell, C.J.; Ozerov, O.V. Synthesis and Rh-Catalyzed Reductive Cyclization of 1,6-Enynes and 1,6-Diynes Containing Alkynylboronate Termini. *J. Organomet. Chem.* **2020**, *912*, 121143, doi:10.1016/j.jorganchem.2020.121143.
291. Singh, G.; Mangat, S.S.; Singh, J.; Arora, A.; Sharma, R.K. Synthesis of Polyfunctional Triethoxysilanes by ‘Click Silylation.’ *Tetrahedron Lett.* **2014**, *55*, 903–909, doi:10.1016/j.tetlet.2013.12.037.
292. Singh, G.; Singh, J.; Mangat, S.S.; Arora, A. Three-Step Pathway towards Bis(1,2,3-Triazolyl- γ -Propylsilatrane)s as Cu²⁺ Fluorescent Sensor, via ‘Click Silylation.’ *Tetrahedron Lett.* **2014**, *55*, 2551–2558, doi:10.1016/j.tetlet.2014.03.043.
293. Castillo, J.-C.; Orrego-Hernández, J.; Portilla, J. Cs₂CO₃-Promoted Direct *N*-Alkylation: Highly Chemoselective Synthesis of *N*-Alkylated Benzylamines and Anilines. *Eur. J. Org. Chem.* **2016**, *2016*, 3824–3835, doi:10.1002/ejoc.201600549.
294. Mendoza-Espinosa, D.; Negrón-Silva, G.; Lomas-Romero, L.; Gutiérrez-Carrillo, A.; Santillán, R. Facile One-Pot Synthesis of 1,2,3-Triazoles Featuring Oxygen, Nitrogen, and Sulfur Functionalized Pendant Arms. *Synth. Commun.* **2014**, *44*, 807–817, doi:10.1080/00397911.2013.833628.
295. Tayama, E.; Sugai, S. A Facile Method for the Stereoselective Preparation of (1*E*,3*E*)-4-Substituted-1-Amino-1,3-Dienes via 1,4-Elimination. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 6163–6166, doi:10.1016/j.tetlet.2007.06.140.
296. Calderone, J.A.; Santos, W.L. Copper(II)-Catalyzed Silylation of Activated Alkynes in Water: Diastereodivergent Access to *E*- or *Z*- β -Silyl- α,β -Unsaturated Carbonyl and Carboxyl Compounds. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 4154–4158, doi:10.1002/anie.201310695.
297. Dumont, J.L.; Chodkiewicz, W.; Cadiot, P. Amines acétyléniques : diarylpropargylamines, ynamines et diynamines. *Bull. Société Chim. Fr.* **1967**, *4*, 1197–1203.
298. Hoelzl, W.; Haap, W.; Koppold, J.; Ochs, D.; Petzold, K.; Schnyder, M. Dérivés d’acide 4-Amino-2-Butyne et Leur Utilisation Comme Agents Antimicrobiens 2002.
299. Shen, Q.; Zhang, L.; Zhou, Y.-R.; Li, J.-X. Oxidant-Dependent Cu-Catalyzed Alkynylation and Aminomethylation: C–H versus C–C Cleavage in TMEDA. *Tetrahedron Lett.* **2013**, *54*, 6725–6728, doi:10.1016/j.tetlet.2013.09.118.
300. Moriyama, K.; Yasuhara, Y.; Ota, H. Visualization of Protonation/Deprotonation of Active Pharmaceutical Ingredient in Solid State by Vapor Phase Amine-Selective Alkyne Tagging and Raman Imaging. *J. Pharm. Sci.* **2017**, *106*, 1778–1785, doi:10.1016/j.xphs.2017.03.006.
301. Xu, X.; Feng, H.; Van der Eycken, E.V. Microwave-Assisted Cu(I)-Catalyzed Synthesis of Unsymmetrical 1,4-Diamino-2-Butynes via Cross-A³-Coupling/Decarboxylative A³-Coupling. *J. Org. Chem.* **2021**, *86*, 14036–14043, doi:10.1021/acs.joc.1c00537.
302. Psiorz, M.D.D.-C.; Reiffen, M.D.D.-C.; Heider, J.D.D.-C.; Bomhard, A.D.D.-C.; Dammgen, J.D.; Lillie, C.D.; Kobinger, W.D.; Trach, V.D. Dérivés Du Benzocycloheptène, Médicament Contenant Ces Composés et Procédé de Leur Préparation. 1989.

Références bibliographiques

303. Li, H.-J.; Guillot, R.; Gandon, V. A Gallium-Catalyzed Cycloisomerization/Friedel-Crafts Tandem. *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 8435–8449, doi:10.1021/jo101709n.
304. Zhang, Z.; Fang, S.; Liu, Q.; Zhang, G. Microwave-Assisted Facile Synthesis of Furo[3,2-b]Indole Derivatives *via* Silver(I)-Mediated [3+2] Cycloaddition. *Adv. Synth. Catal.* **2012**, *354*, 927–932, doi:10.1002/adsc.201100767.
305. Wang, L.; Yao, M.; Fang, X.; Yao, X. 1,2-Disubstituted-4-Carbostyryl and Synthetic Method Thereof 2017.
306. Srinivasan, M.; Sankararaman, S.; Hopf, H.; Dix, I.; Jones, P.G. Syntheses and Structures of Isomeric [6.6]- and [8.8]Cyclophanes with 1,4-Dioxabut-2-Yne and 1,6-Dioxahexa-2,4-Diyne Bridges. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 4299–4303, doi:10.1021/jo015574g.
307. Yamamoto, M. Cyclisation of Phenol- and Enol-Acetylenes: Syntheses of 2,3-Dihydro-2-Methylene-1,4-Benzodioxins and -1,4-Benzoxazines. *J. Chem. Soc. Perkin 1* **1979**, 3161, doi:10.1039/p19790003161.
308. Pagoni, A.; Daliani, T.; Macegoniuk, K.; Vassiliou, S.; Berlicki, Ł. Catechol-Based Inhibitors of Bacterial Urease. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2019**, *29*, 1085–1089, doi:10.1016/j.bmcl.2019.02.032.
309. Roy, P.-P.; Faye, D.; Blanchard, S.; Cormier, M.; Doiron, J.A.; Surette, M.E.; Touaibia, M. New Caffeic Acid Phenylethyl Ester Analogs Bearing Substituted Triazole: Synthesis and Structure-Activity Relationship Study towards 5-Lipoxygenase Inhibition. *J. Chem.* **2017**, *2017*, 1–11, doi:10.1155/2017/2380531.
310. Harnoy, A.J.; Buzhor, M.; Tirosh, E.; Shaharabani, R.; Beck, R.; Amir, R.J. Modular Synthetic Approach for Adjusting the Disassembly Rates of Enzyme-Responsive Polymeric Micelles. *Biomacromolecules* **2017**, *18*, 1218–1228, doi:10.1021/acs.biomac.6b01906.
311. Rivière, B.; Defoort, B.; Lesamber, C.; Coqueret, X. Resine Durcissable Substitut Aux Resines Phenoliques Et Ses Applications 2017.
312. Shi, L.; Zhang, B.; Liu, S. Quercetin Dipolymer Derivative and Preparation Method and Application Thereof 2018.
313. Torregrosa, J.L.; Baboulene, M.; Speziale, V.; Lattes, A. Hydroboration d'amines Insaturees—II: Régio et Stéréosélectivité de l'hydroboration-Alkylation d'amines Acétyléniques. *Tetrahedron* **1982**, *38*, 2355–2363, doi:10.1016/0040-4020(82)87013-0.
314. 5799-75-7|1-(Prop-2-Yn-1-Yl)Piperidine|BLD Pharm Available online: <https://www.bldpharm.com/products/5799-75-7.html> (accessed on 20 July 2022).
315. Wang, S.-S. *p*-Alkoxybenzyl Alcohol Resin and *p*-Alkoxybenzyloxycarbonylhydrazide Resin for Solid Phase Synthesis of Protected Peptide Fragments. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 1328–1333, doi:10.1021/ja00785a602.
316. Gisin, B.F. The Preparation of Merrifield-Resins Through Total Esterification With Cesium Salts. *Helv. Chim. Acta* **1973**, *56*, 1476–1482, doi:10.1002/hlca.19730560503.
317. Almlöf, J.; Braathen, G.O.; Klæboe, P.; Nielsen, C.J.; Priebe, H.; Schei, S.H. The Vibrational Spectra, Molecular Structure and Conformations of Organic Azides: Part V. 3-Azidopropyne (Propargylazide). *J. Mol. Struct.* **1987**, *160*, 1–26, doi:10.1016/0022-2860(87)87001-1.
318. Russo, O.; Messaoudi, S.; Hamze, A.; Olivi, N.; Peyrat, J.-F.; Brion, J.-D.; Sicsic, S.; Berque-Bestel, I.; Alami, M. Three-Component One-Pot Process to Propargylic Amines and Related Amide and Sulfonamide Compounds: Application to the Construction of 2-(Aminomethyl)Benzofurans and Indoles. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 10671–10683, doi:10.1016/j.tet.2007.07.096.
319. Olivi, N.; Spruyt, P.; Peyrat, J.-F.; Alami, M.; Brion, J.-D. Tandem Amine Propargylation-Sonogashira Reactions: New Three-Component Coupling Leading to Functionalized

Références bibliographiques

- Substituted Propargylic Amines. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 2607–2610, doi:10.1016/j.tetlet.2004.01.141.
320. Zhong, J.; Hu, R.; Sang, J.; Rao, W. Gold(I)-Catalyzed Intramolecular [4 + 2] Cycloaddition of Ortho-(*N*-Tethered 1,6-Diynyl)Benzaldehydes to 3,4-Dihydrobenzo[*f*]Isoquinolin-1(2*H*)-Ones. *Tetrahedron Lett.* **2020**, *61*, 152200, doi:10.1016/j.tetlet.2020.152200.
321. Guo, C.-H.; Chen, D.-Q.; Chen, S.; Liu, X.-Y. Synthesis of Tetrasubstituted α,β -Unsaturated Aldehydes via Radical 1,4-Aryl Migration/Trifluoromethylthiolation Cascade Reaction of Aryl Propynyl Ethers. *Adv. Synth. Catal.* **2017**, *359*, 2901–2906, doi:10.1002/adsc.201700534.
322. Jammi, S.; Mouysset, D.; Siri, D.; Bertrand, M.P.; Feray, L. Theoretical Support for the Involvement of a Radical Pathway in the Formation of Allenylzincs from Propargyl Iodides and Dialkylzincs: Influence of Zinc Coordination. *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 1589–1603, doi:10.1021/jo302704g.
323. Zeller, M.; Jeanguenat, A. Dérivés de *N*-Sulfonylglycine Alkynyloxyphenemethyl Amide Microbicides 1999.
324. Lee, J.W.; Louie, Y.Q.; Walsh, D.P.; Chang, Y.-T. Nitrophenol Resins for Facile Amide and Sulfonamide Library Synthesis. *J. Comb. Chem.* **2003**, *5*, 330–335, doi:10.1021/cc0200890.
325. Appel, R. Tertiary Phosphane/Tetrachloromethane, a Versatile Reagent for Chlorination, Dehydration, and P-N Linkage. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1975**, *14*, 801–811, doi:10.1002/anie.197508011.
326. Goren, K.; Kehat, T.; Portnoy, M. Elucidation of Architectural Requirements from a Spacer in Supported Proline-Based Catalysts of Enantioselective Aldol Reaction. *Adv. Synth. Catal.* **2009**, *351*, 59–65, doi:10.1002/adsc.200800734.
327. Gou, F.-R.; Huo, P.-F.; Bi, H.-P.; Guan, Z.-H.; Liang, Y.-M. One-Pot Synthesis of Highly Substituted Aromatic Amine Derivatives via Pd-Catalyzed Aminobenzannulation Reaction. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 3418–3421, doi:10.1021/ol901265b.
328. Harju, K.; Vahermo, M.; Mutikainen, I.; Yli-Kauhaluoma, J. Solid-Phase Synthesis of 1,2,3-Triazoles via 1,3-Dipolar Cycloaddition. *J. Comb. Chem.* **2003**, *5*, 826–833, doi:10.1021/cc030110c.
329. Nakamura, I.; Takeda, K.; Sato, Y.; Terada, M. Rapid Access to Nitrogenous Heterobicycles via Rh^{III}-Catalyzed Isomerization from Alkynes to Allenes. *Chem. – Eur. J.* **2017**, *23*, 7686–7688, doi:10.1002/chem.201701704.
330. Yoshida, Y.; Sakakura, Y.; Aso, N.; Okada, S.; Tanabe, Y. Practical and Efficient Methods for Sulfonylation of Alcohols Using Ts(Ms)Cl/Et₃N and Catalytic Me₃H·HCl as Combined Base: Promising Alternative to Traditional Pyridine. *Tetrahedron* **1999**, *55*, 2183–2192, doi:10.1016/S0040-4020(99)00002-2.
331. Roy, S.; Bag, S.S.; Basak, A. Synthesis and Reactivity of Eneidyne–Nucleobase Hybrids: Effect of Intramolecular π -Stacking. *Tetrahedron* **2012**, *68*, 8600–8611, doi:10.1016/j.tet.2012.07.093.
332. Banert, K. Reaktionen Ungesättigter Azide, 7: Basenkatalysierte Bildung von Allenylaziden Aus Propargylaziden: Neue Synthesen Für 1,2,3-Triazole. *Chem. Ber.* **1989**, *122*, 1963–1967, doi:10.1002/cber.19891221022.
333. Habert, L.; Retailleau, P.; Gillaizeau, I. Rapid Synthesis of 3-Amino Isocoumarin Derivatives from Ynamides. *Org. Biomol. Chem.* **2018**, *16*, 7351–7355, doi:10.1039/C8OB02305K.
334. Dai, Y.; Ma, F.; Shen, Y.; Xie, T.; Gao, S. Convergent Synthesis of Kibdelone C. *Org. Lett.* **2018**, *20*, 2872–2875, doi:10.1021/acs.orglett.8b00901.
335. Wrobel, M.; Aubé, J.; König, B. Parallel Solid-Phase Synthesis of Diaryltriazoles. *Beilstein J. Org. Chem.* **2012**, *8*, 1027–1036, doi:10.3762/bjoc.8.115.

Références bibliographiques

336. Zhang, Q.; Shi, C.; Zhang, H.-R.; Wang, K.K. Synthesis of 6*H*-Indolo[2,3-*b*][1,6]Naphthyridines and Related Compounds as the 5-Aza Analogues of Ellipticine Alkaloids. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 7977–7983, doi:10.1021/jo000978e.
337. Krieger, J.-P.; Ricci, G.; Lesuisse, D.; Meyer, C.; Cossy, J. Harnessing C–H Activation of Benzhydroxamates as a Macrocyclization Strategy: Synthesis of Structurally Diverse Macrocyclic Isoquinolones. *Chem. - Eur. J.* **2016**, *22*, 13469–13473, doi:10.1002/chem.201602332.
338. De La Rosa, M.A.; Haydar, S.N.; Johns, B.A.; Velthuisen, E.J. Isoquinoline Compounds and Methods for Treating Hiv 2012.
339. Yanai, H.; Kawazoe, T.; Ishii, N.; Witulski, B.; Matsumoto, T. Regioselective Synthesis of 4-Aryl-1,3-Dihydroxy-2-Naphthoates through 1,2-Aryl-Migrative Ring Rearrangement Reaction and Their Photoluminescence Properties. *Chem. – Eur. J.* **2021**, *27*, 11442–11449, doi:10.1002/chem.202101459.
340. Nakamura, H.; Kamakura, T.; Ishikura, M.; Biellmann, J.-F. Synthesis of Allenes via Palladium-Catalyzed Hydrogen-Transfer Reactions: Propargylic Amines as an Allenyl Anion Equivalent. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 5958–5959, doi:10.1021/ja039175+.
341. Nakamura, H.; Ishikura, M.; Sugiishi, T.; Kamakura, T.; Biellmann, J.-F. Synthesis of Mono- and 1,3-Disubstituted Allenes from Propargylic Amines Viapalladium-Catalysed Hydride-Transfer Reaction. *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 1471–1477, doi:10.1039/B718298H.
342. Gori, A.; Boucherle, B.; Rey, A.; Rome, M.; Fuzzati, N.; Peuchmaur, M. Development of an Innovative Maceration Technique to Optimize Extraction and Phase Partition of Natural Products. *Fitoterapia* **2021**, *148*, 104798, doi:10.1016/j.fitote.2020.104798.
343. Prasada Rao Lingam, V.S.; Dahale, D.H.; Mukkanti, K.; Gopalan, B.; Thomas, A. Microwave-Assisted Claisen Rearrangement of Naphthyl 2-Propynyl Ethers: Synthesis of Naphthofurans. *Tetrahedron Lett.* **2012**, *53*, 5695–5698, doi:10.1016/j.tetlet.2012.08.053.
344. Sanz, R.; Martínez, A.; Álvarez-Gutiérrez, J.M.; Rodríguez, F. Metal-Free Catalytic Nucleophilic Substitution of Propargylic Alcohols. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, *2006*, 1383–1386, doi:10.1002/ejoc.200500960.
345. Doiron, J.; Soutan, A.H.; Richard, R.; Touré, M.M.; Picot, N.; Richard, R.; Čuperlović-Culf, M.; Robichaud, G.A.; Touaibia, M. Synthesis and Structure–Activity Relationship of 1- and 2-Substituted-1,2,3-Triazole Letrozole-Based Analogues as Aromatase Inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 4010–4024, doi:10.1016/j.ejmech.2011.05.074.
346. Boggess, R.K.; Martin, R.B. Copper(II) Chelation by Dopa, Epinephrine, and Other Catechols. *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 3076–3081, doi:10.1021/ja00844a026.
347. Jahagirdar, D.V.; Palaskar, N.G.; Patel, B.H. Studies of Copper(II) Chelates Of Hydroxyacetophenone and Its Substituted Derivatives in Dioxane-Water Mixtures. *Transit. Met. Chem.* **1989**, *14*, 213–216, doi:10.1007/BF01043798.
348. Mira, L.; Tereza Fernandez, M.; Santos, M.; Rocha, R.; Helena Florêncio, M.; Jennings, K.R. Interactions of Flavonoids with Iron and Copper Ions: A Mechanism for Their Antioxidant Activity. *Free Radic. Res.* **2002**, *36*, 1199–1208, doi:10.1080/1071576021000016463.
349. Castro, V.; Rodríguez, H.; Albericio, F. CuAAC: An Efficient Click Chemistry Reaction on Solid Phase. *ACS Comb. Sci.* **2016**, *18*, 1–14, doi:10.1021/acscombsci.5b00087.
350. Zidorn, C. Altitudinal Variation of Secondary Metabolites in Flowering Heads of the *Asteraceae*: Trends and Causes. *Phytochem. Rev.* **2010**, *9*, 197–203, doi:10.1007/s11101-009-9143-7.
351. Park, K.-I.; Park, H.-S.; Kim, M.-K.; Hong, G.-E.; Nagappan, A.; Lee, H.-J.; Yumnam, S.; Lee, W.-S.; Won, C.-K.; Shin, S.-C.; et al. Flavonoids Identified from Korean *Citrus Aurantium*

Références bibliographiques

- L. Inhibit Non-Small Cell Lung Cancer Growth *in Vivo* and *in Vitro*. *J. Funct. Foods* **2014**, *7*, 287–297, doi:10.1016/j.jff.2014.01.032.
352. Shin, K.-C.; Nam, H.-K.; Oh, D.-K. Hydrolysis of Flavanone Glycosides by β -Glucosidase from *Pyrococcus Furiosus* and Its Application to the Production of Flavanone Aglycones from Citrus Extracts. *J. Agric. Food Chem.* **2013**, *61*, 11532–11540, doi:10.1021/jf403332e.
353. Ravishankar, D.; Watson, K.A.; Greco, F.; Osborn, H.M.I. Novel Synthesised Flavone Derivatives Provide Significant Insight into the Structural Features Required for Enhanced Anti-Proliferative Activity. *RSC Adv.* **2016**, *6*, 64544–64556, doi:10.1039/C6RA11041J.
354. Chu, H.-W.; Wu, H.-T.; Lee, Y.-J. Regioselective Hydroxylation of 2-Hydroxychalcones by Dimethyldioxirane towards Polymethoxylated Flavonoids. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 2647–2655, doi:10.1016/j.tet.2004.01.023.
355. Alonso-Amelot, M.E. High Altitude Plants, Chemistry of Acclimation and Adaptation. In *Studies in Natural Products Chemistry*; Atta-ur-Rahman, Ed.; Bioactive Natural Products (Part N); Elsevier, 2008; Vol. 34, pp. 883–982.
356. Zlatev, Z.S.; J. C. Lidon, F.; Kaimakanova, M. Plant Physiological Responses to UV-B Radiation. *Emir. J. Food Agric.* **2012**, *24*, doi:10.9755/ejfa.v24i6.14669.
357. Gori, A. La Flore Alpine Comme Source de Composés Bioactifs. Thèse de doctorat, Université Grenoble Alpes, 2020.
358. Worlikar, S.A.; Neuenswander, B.; Lushington, G.H.; Larock, R.C. Highly Substituted Indole Library Synthesis by Palladium-Catalyzed Coupling Reactions in Solution and on a Solid Support. *J. Comb. Chem.* **2009**, *11*, 875–879, doi:10.1021/cc900057n.
359. Bui, C.T.; Flynn, B.L. Solid-Phase Synthesis of 2,3-Disubstituted Benzo[b]Thiophenes and Benzo[b]Selenophenes. *J. Comb. Chem.* **2006**, *8*, 163–167, doi:10.1021/cc050066w.
360. Gottlieb, H.E.; Kotlyar, V.; Nudelman, A. NMR Chemical Shifts of Common Laboratory Solvents as Trace Impurities. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 7512–7515, doi:10.1021/jo971176v.
361. Okombi, S.; Rival, D.; Bonnet, S.; Mariotte, A.-M.; Perrier, E.; Boumendjel, A. Discovery of Benzylidenebenzofuran-3(2H)-One (Aurones) as Inhibitors of Tyrosinase Derived from Human Melanocytes. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 329–333, doi:10.1021/jm050715i.
362. Achard, T.; Lepronier, A.; Gimbert, Y.; Clavier, H.; Giordano, L.; Tenaglia, A.; Buono, G. A Regio- and Diastereoselective Platinum-Catalyzed Tandem [2+1]/[3+2] Cycloaddition Sequence. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 3552–3556, doi:10.1002/anie.201007992.
363. Lenhart, J.A.; Ling, X.; Gandhi, R.; Guo, T.L.; Gerck, P.M.; Brunzell, D.H.; Zhang, S. “Clicked” Bivalent Ligands Containing Curcumin and Cholesterol As Multifunctional $\alpha\beta$ Oligomerization Inhibitors: Design, Synthesis, and Biological Characterization. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 6198–6209, doi:10.1021/jm100601q.
364. Singh, H.; Kumar, M.; Nepali, K.; Gupta, M.K.; Saxena, A.K.; Sharma, S.; Bedi, P.M.S. Triazole Tethered C₅-Curcuminoid-Coumarin Based Molecular Hybrids as Novel Antitubulin Agents: Design, Synthesis, Biological Investigation and Docking Studies. *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, *116*, 102–115, doi:10.1016/j.ejmech.2016.03.050.
365. Wardrop, D.J.; Fritz, J. Total Synthesis of (\pm)-Magnofargesin. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 3659–3662, doi:10.1021/ol0609053.
366. Wu, X.-F.; Darcel, C. Iron-Catalyzed One-Pot Oxidative Esterification of Aldehydes. *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, *2009*, 1144–1147, doi:10.1002/ejoc.200801176.
367. Maji, B.; Vedachalan, S.; Ge, X.; Cai, S.; Liu, X.-W. N-Heterocyclic Carbene-Mediated Oxidative Esterification of Aldehydes: Ester Formation and Mechanistic Studies. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 3016–3023, doi:10.1021/jo200275c.

Références bibliographiques

368. Brunel, P.; Monot, J.; Kefalidis, C.E.; Maron, L.; Martin-Vaca, B.; Bourissou, D. Valorization of CO₂: Preparation of 2-Oxazolidinones by Metal–Ligand Cooperative Catalysis with SCS Indenediide Pd Complexes. *ACS Catal.* **2017**, *7*, 2652–2660, doi:10.1021/acscatal.7b00209.
369. Dai, H.; Liu, G.; Zhang, X.; Yan, H.; Lu, C. Pyrrolylmethyl Functionalized *o*-Carborane Derivatives. *Organometallics* **2016**, *35*, 1488–1496, doi:10.1021/acs.organomet.6b00082.
370. Sugiishi, T.; Kimura, A.; Nakamura, H. Copper(I)-Catalyzed Substitution Reactions of Propargylic Amines: Importance of C(Sp)–C(Sp³) Bond Cleavage in Generation of Iminium Intermediates. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 5332–5333, doi:10.1021/ja9109055.
371. Tan, J.-F.; Bormann, C.T.; Perrin, F.G.; Chadwick, F.M.; Severin, K.; Cramer, N. Divergent Synthesis of Densely Substituted Arenes and Pyridines via Cyclootrimerization Reactions of Alkynyl Triazenes. *J. Am. Chem. Soc.* **2019**, *141*, 10372–10383, doi:10.1021/jacs.9b04111.
372. Rajagopal, B.; Chou, C.-H.; Chung, C.-C.; Lin, P.-C. Synthesis of Substituted 3-Indolylimines and Indole-3-Carboxaldehydes by Rhodium(II)-Catalyzed Annulation. *Org. Lett.* **2014**, *16*, 3752–3755, doi:10.1021/ol501618z.
373. Baader, S.; Ohlmann, D.M.; Gooßen, L.J. Isomerizing Ethenolysis as an Efficient Strategy for Styrene Synthesis. *Chem. – Eur. J.* **2013**, *19*, 9807–9810, doi:10.1002/chem.201301336.
374. Chauhan, D.P.; Varma, S.J.; Vijeta, A.; Banerjee, P.; Talukdar, P. A 1,3-Amino Group Migration Route to Form Acrylamidines. *Chem Commun* **2014**, *50*, 323–325, doi:10.1039/C3CC47182A.
375. Kaschula, C.H.; Hunter, R.; Stellenboom, N.; Caira, M.R.; Winks, S.; Ogunleye, T.; Richards, P.; Cotton, J.; Zilbeyaz, K.; Wang, Y.; et al. Structure–Activity Studies on the Anti-Proliferation Activity of Ajoene Analogues in WHCO1 Oesophageal Cancer Cells. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *50*, 236–254, doi:10.1016/j.ejmech.2012.01.058.
376. Loaiza, P.R.; Löber, S.; Hübner, H.; Gmeiner, P. Parallel Synthesis of Potent Dopaminergic *N*-Phenyltriazole Carboxamides Applying a Novel Click Chemistry Based Phenol Linker. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 5482–5487, doi:10.1016/j.bmc.2009.06.041.
377. Lewandowski, B.; Jarosz, S. Amino-Acid Templated Assembly of Sucrose-Derived Macrocycles. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 2532–2535, doi:10.1021/ol100749m.
378. Wilkins, L.C.; Lawson, J.R.; Wieneke, P.; Rominger, F.; Hashmi, A.S.K.; Hansmann, M.M.; Melen, R.L. The Propargyl Rearrangement to Functionalised Allyl-Boron and Borocation Compounds. *Chem. – Eur. J.* **2016**, *22*, 14618–14624, doi:10.1002/chem.201602719.
379. Sitnikov, N.S.; Sintsov, A.V.; Shchegravina, E.S.; Prokop, A.; Schmalz, H.G.; Fokin, V.V.; Fedorov, A.Yu. Synthesis and Antitumor Activity of 7-(Triazol-1-Yl)Pyrroloalcolchicine Derivatives. *Russ. Chem. Bull.* **2015**, *64*, 1362–1368, doi:10.1007/s11172-015-1018-z.
380. Wijtmans, M.; de Graaf, C.; de Kloe, G.; Istyastono, E.P.; Smit, J.; Lim, H.; Boonnak, R.; Nijmeijer, S.; Smits, R.A.; Jongejan, A.; et al. Triazole Ligands Reveal Distinct Molecular Features That Induce Histamine H₄ Receptor Affinity and Subtly Govern H₄/H₃ Subtype Selectivity. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 1693–1703, doi:10.1021/jm1013488.
381. Hess, W.; Burton, J.W. Palladium-Catalysed Cyclisation of *N*-Alkynyl Aminomalonates. *Chem. – Eur. J.* **2010**, *16*, 12303–12306, doi:10.1002/chem.201001951.
382. Todd, J.A.; Turner, P.; Ziolkowski, E.J.; Rendina, L.M. (2,2':6',2''-Terpyridine)Platinum(II) Complexes Containing (Thioalkyl)Dicarba-*Closo*-Dodecaborane(12) Ligands. *Inorg. Chem.* **2005**, *44*, 6401–6408, doi:10.1021/ic050265k.

Références bibliographiques

383. Benati, L.; Leardini, R.; Minozzi, M.; Nanni, D.; Spagnolo, P.; Strazzari, S.; Zanardi, G. Intramolecular Cyclization of Acyl Radicals onto the Azido Group: A New Radical Approach to Cyclized Lactams. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 3079–3081, doi:10.1021/ol026366t.
384. Shi, Y.; Roth, K.E.; Ramgren, S.D.; Blum, S.A. Catalyzed Catalysis Using Carbophilic Lewis Acidic Gold and Lewis Basic Palladium: Synthesis of Substituted Butenolides and Isocoumarins. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 18022–18023, doi:10.1021/ja9068497.
385. Hampl, V.; Wetzal, I.; Bracher, F.; Krauss, J. New Substituted Isocoumarins and Dihydroisocoumarins and Their Cytotoxic Activities. *Sci. Pharm.* **2011**, *79*, 21–30, doi:10.3797/scipharm.1011-10.
386. Alonso-Marañón, L.; Martínez, M.M.; Sarandeses, L.A.; Sestelo, J.P. Indium-Catalyzed Intramolecular Hydroarylation of Aryl Propargyl Ethers. *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13*, 379–387, doi:10.1039/C4OB02033B.
387. Arfan, M.; Ur Rahman, I.; Akhtan Khan, G. Naturally Occurring Isocoumarins. *J. Chem. Soc. Pak.* **1998**, *20*, 76–87.

Annexe A : Tableau récapitulatif des règnes, familles et genres d'êtres vivants chez qui des isocoumarines ont été identifiées

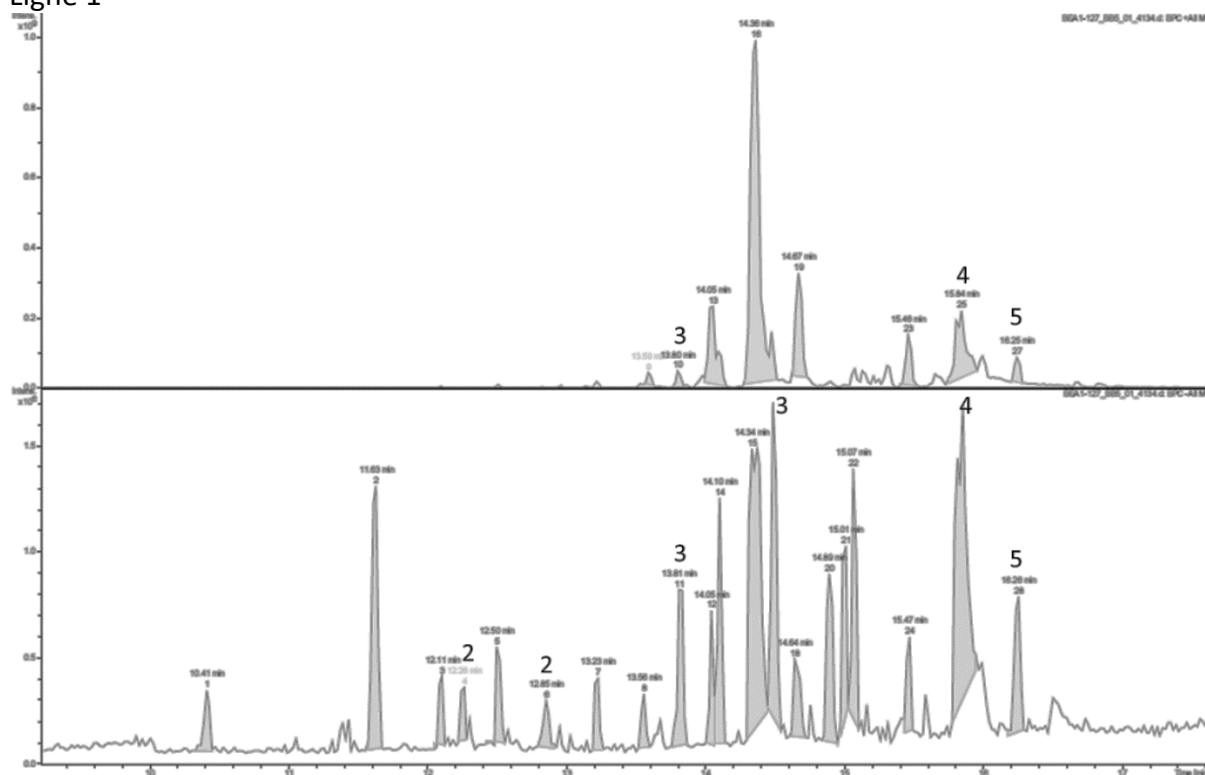
Sources : [133,150,158,387]

Familles de plantes (genres)	Familles de mycètes (genres)	Familles d'éponges marines (genres)
<ul style="list-style-type: none"> - Apiaceae (<i>Daucus</i>, <i>Coriandrum</i>, <i>Pituranthos</i>, <i>Pleurospermum</i>) - Bignoniaceae (<i>Tabebuia</i>) - Hydrangeaceae (<i>Hydrangea</i>) - Asteraceae (<i>Artemisia</i>, <i>Felicia</i>, <i>Anthemis</i>, <i>Chrysanthemum</i>, <i>Cirsium</i>, <i>Tithonia</i>, <i>Scorzonera</i>) - Rutaceae (<i>Citrus</i>, <i>Zanthoxylum</i>) - Moraceae (<i>Ficus</i>) - Rosaceae (<i>Agrimonia</i>) - Solanaceae (<i>Nicotiana</i>) - Salicaceae (<i>Homalium</i>) - Ranunculaceae (<i>Delphinium</i>) - Fabaceae (<i>Swartzia</i>, <i>Caesalpinia</i>, <i>Tessmannia</i>, <i>Cajanus</i>) - Clusiaceae (<i>Tovomitia</i>, <i>Montrouziera</i>) - Polygonaceae (<i>Polygonum</i>) - Myristicaceae (<i>Knema</i>) - Marchantiaceae (<i>Marchantia</i>) - Combretaceae (<i>Terminalia</i>) - Dipterocarpaceae (<i>Shorea</i>) - Eriocaulaceae (<i>Paepalanthus</i>) - Cactaceae (<i>Opuntia</i>) - Ephedraceae (<i>Ephedra</i>) - Ginkgoaceae (<i>Ginkgo</i>) - Lycopodiellaceae (<i>Lycopodiella</i>) - Geocalycaceae (<i>Heteroscyphus</i>) - Xyridaceae (<i>Xyris</i>) - Bignoniaceae (<i>Kigelia</i>) - Typhaceae (<i>Typha</i>) - Hypericaceae (<i>Hypericum</i>) 	<ul style="list-style-type: none"> - Ceratocystidaceae (<i>Ceratocystis</i>) - Nectriaceae (<i>Fusarium</i>) - Polyporaceae (<i>Lenzites</i>) - Trichocomaceae (<i>Aspergillus</i>, <i>Penicilium</i>, <i>Emericella</i>, <i>Talaromyces</i>, <i>Neosartorya</i>, <i>Eurotium</i>) - Davidiellaceae (<i>Cladosporium</i>) - Erysiphaceae (<i>Oospora</i>) - Pleosporaceae (<i>Cochiliobolus</i>, <i>Alternaria</i>, <i>Drechslera</i>, <i>Exserohilum</i>) - Peniophoraceae (<i>Peniophora</i>) - Cordycipitaceae (<i>Torrubiella</i>) - Marasmiaceae (<i>Marasmius</i>) - Gloeophyllaceae (<i>Gloeophyllum</i>) - Marasmiaceae (<i>Marasmiellus</i>) - Cortinariaceae (<i>Cortinarius</i>) - Cryphonectriaceae (<i>Endothia</i>) - Parmeliaceae (<i>Parmelia</i>, <i>Asahinea</i>) - Arthrodermataceae (<i>Nannizzia</i>) - Didymosphaeriaceae (<i>Paraphaeosphaeria</i>) - Icmadophilaceae (<i>Thamnolia</i>) - Bionectriaceae (<i>Sesquicillium</i>) - Chaetomiaceae (<i>Chaetomium</i>) - Hyponectriaceae (<i>Microdochium</i>) - Hyaloscyphaceae (<i>Lachnum</i>) - Valsaceae (<i>Phomopsis</i>, <i>Valsa</i>) - Dermateaceae (<i>Pezicula</i>) - Xylariaceae (<i>Halorosellinia</i>) - Glomerellaceae (<i>Colletotrichum</i>) - Amphisphaeriaceae (<i>Pestalotiopsis</i>) - Botryosphaeriaceae (<i>Guignardia</i>) - Mucoraceae (<i>Mucor</i>) - Leptosphaeriaceae (<i>Microsphaeropsis</i>) 	<ul style="list-style-type: none"> - Mycalidae (<i>Mycale</i>) - Irciniidae (<i>Psammocinia</i>, <i>Ircinia</i>) <p style="text-align: center;">Familles d'insectes (genres)</p> <ul style="list-style-type: none"> - Formicidae (<i>Componotus</i>, <i>Lasius</i>) - Tenebrionidae (<i>Apsena</i>) - Drepanidae (<i>Achlya</i>) - Blattidae (<i>Periplaneta</i>) <p style="text-align: center;">Familles de bactéries (genres)</p> <ul style="list-style-type: none"> - Enterobacteriaceae (<i>Xenorhabdus</i>) - Streptomycetaceae (<i>Streptomyces</i>) - Bacillaceae (<i>Bacillus</i>) - Paenibacillaceae (<i>Paenibacillus</i>) - Legionellaceae (<i>Legionella</i>)

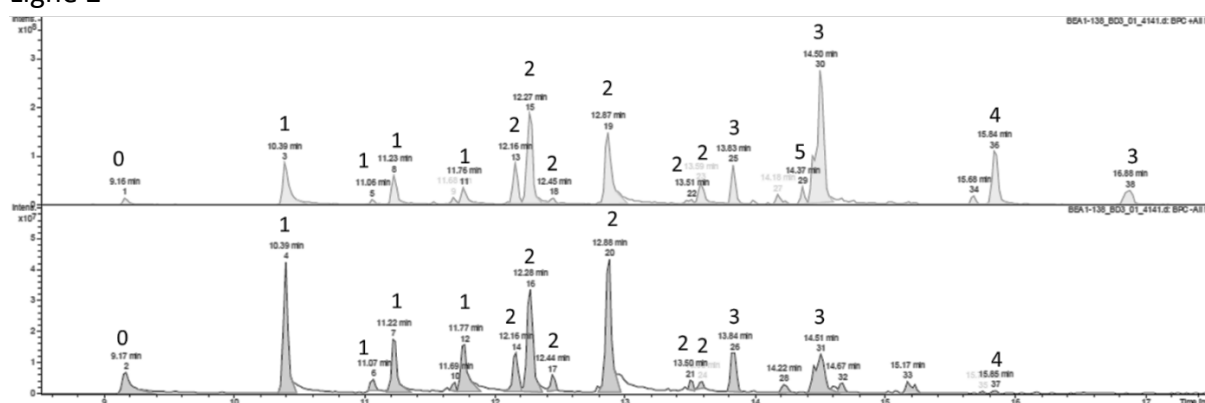
Annexe B : chromatogrammes LC-MS associés aux manipulations décrites dans le tableau 6

Note : pour chaque ligne, le chromatogramme en haut de l'image a été réalisée dans le mode d'ionisation ESI+ et celui en bas de l'image en mode d'ionisation ESI-. Les chiffres inscrits au-dessus des pics correspondent au nombre de propargyles qui ont pu être ajoutés à la structure en accord avec les valeurs de masse détectée pour ces pics. Ainsi, par exemple, si le pic porte le chiffre 0, le pic en question est celui de la quercétine de départ. Si le pic porte un chiffre 1, ce pic est celui d'un dérivé monopropargylé de la quercétine.

Ligne 1

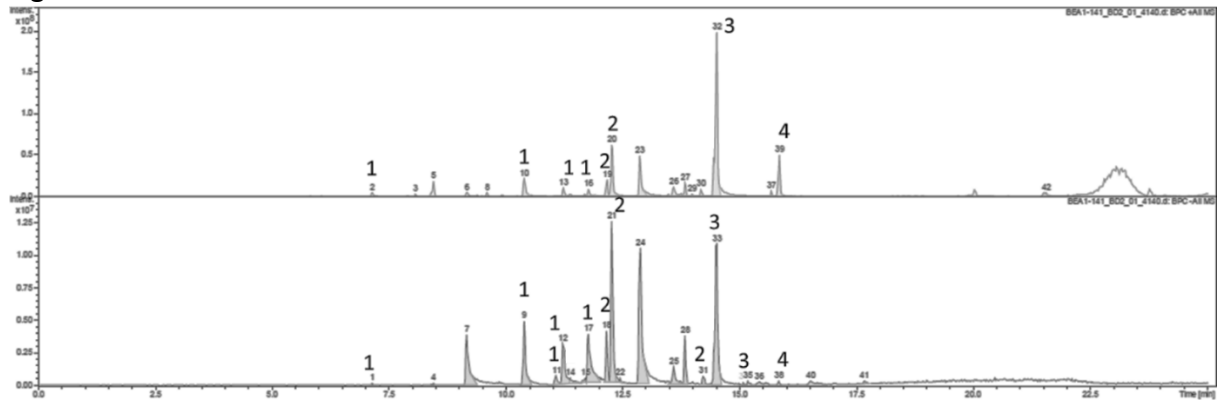


Ligne 2

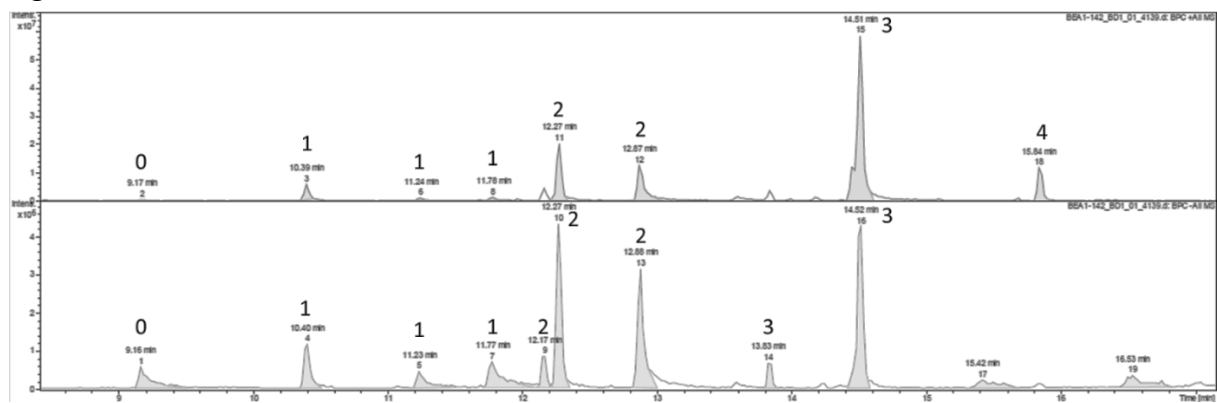


Annexe B : chromatogrammes LC-MS associés aux manipulations décrites dans le tableau 6

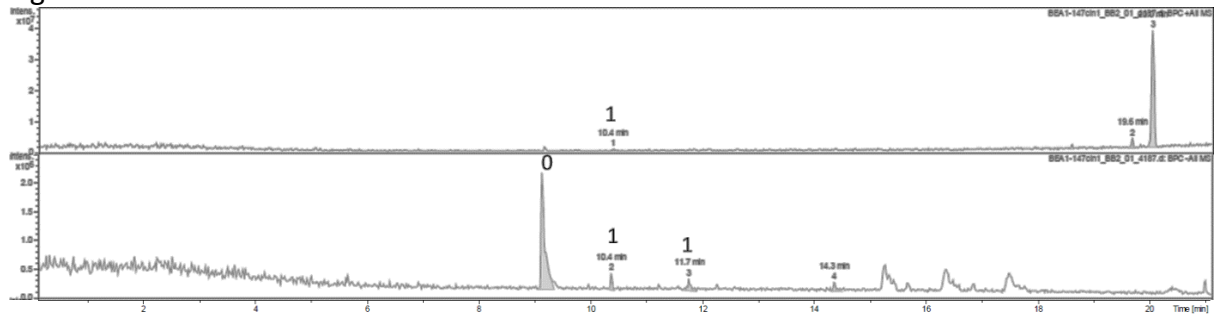
Ligne 3



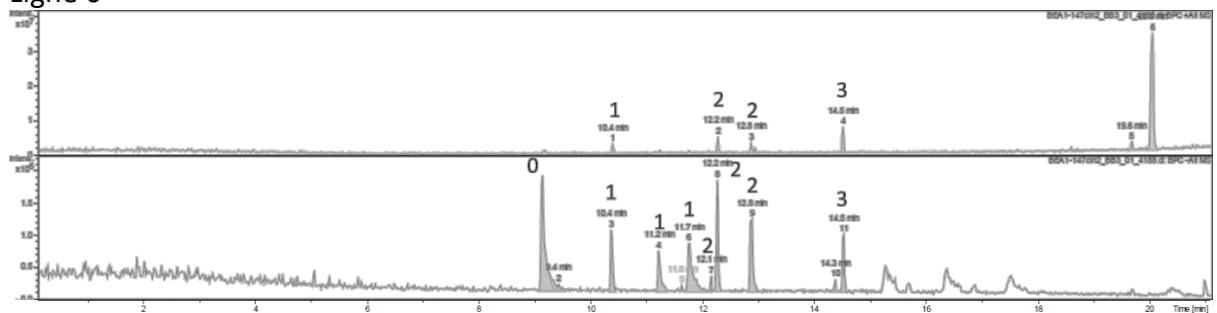
Ligne 4



Ligne 5

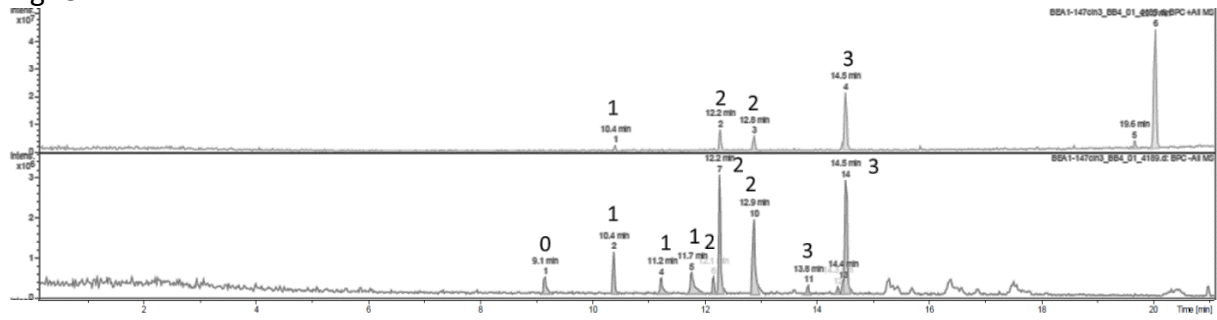


Ligne 6

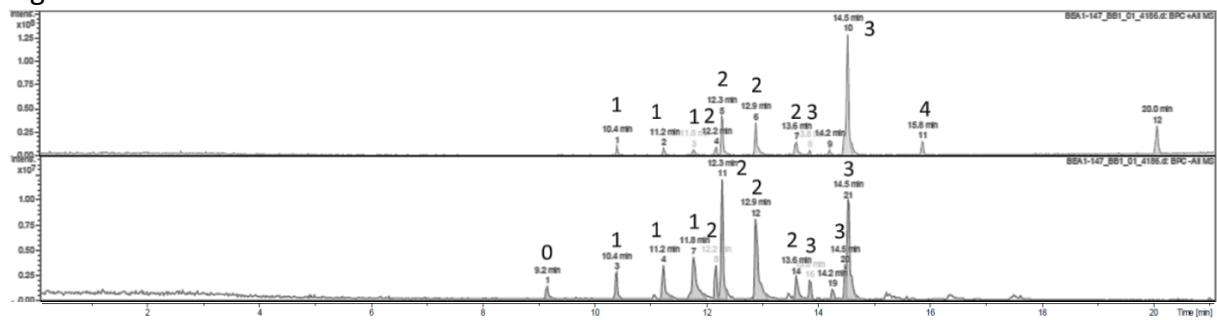


Annexe B : chromatogrammes LC-MS associés aux manipulations décrites dans le tableau 6

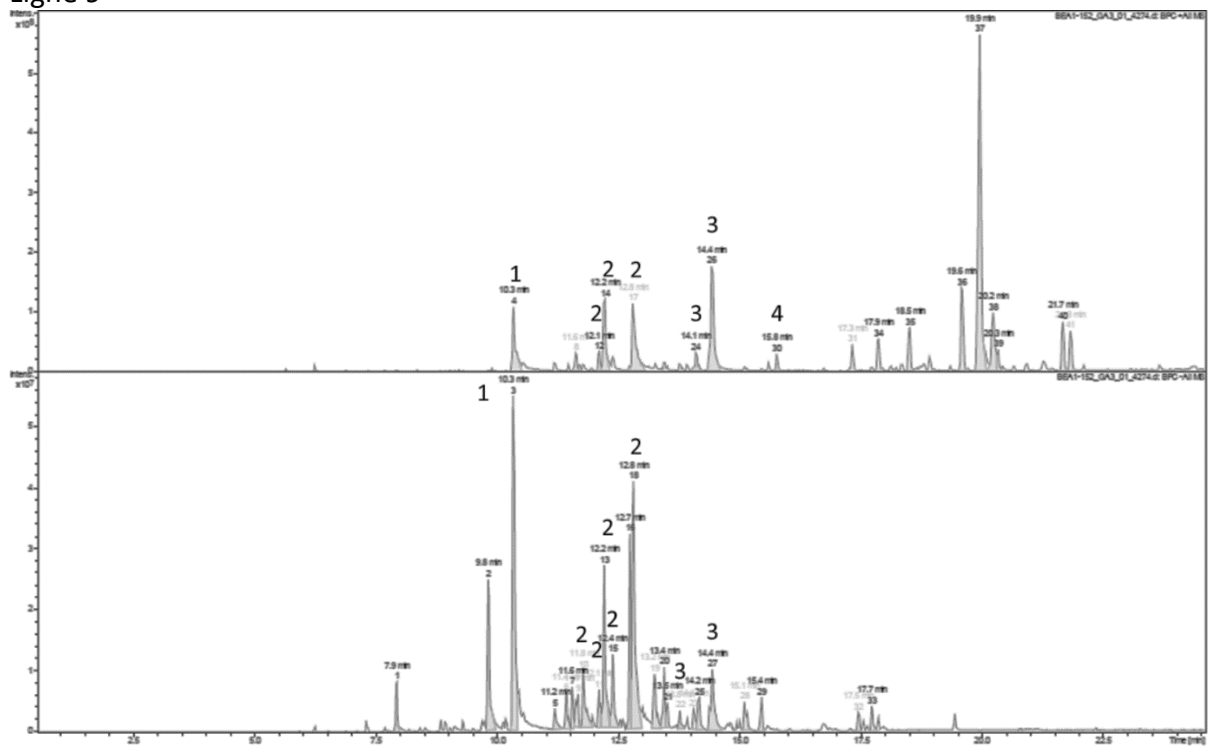
Ligne 7



Ligne 8

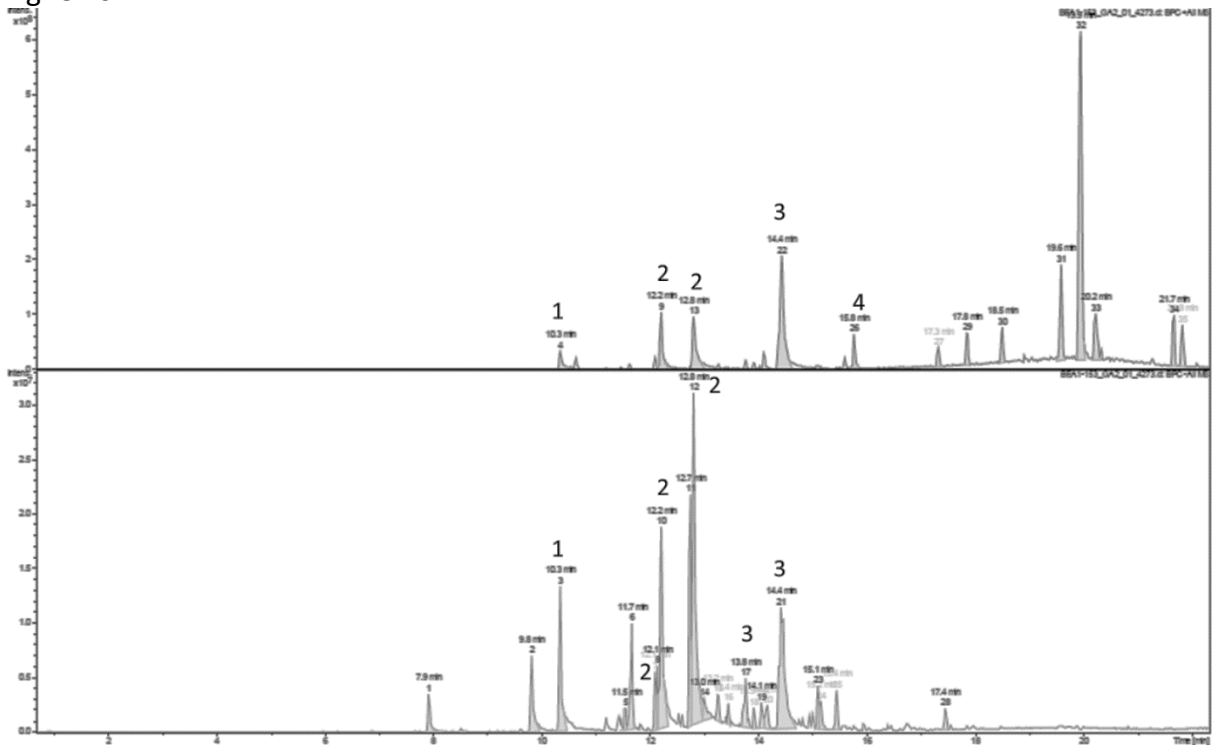


Ligne 9

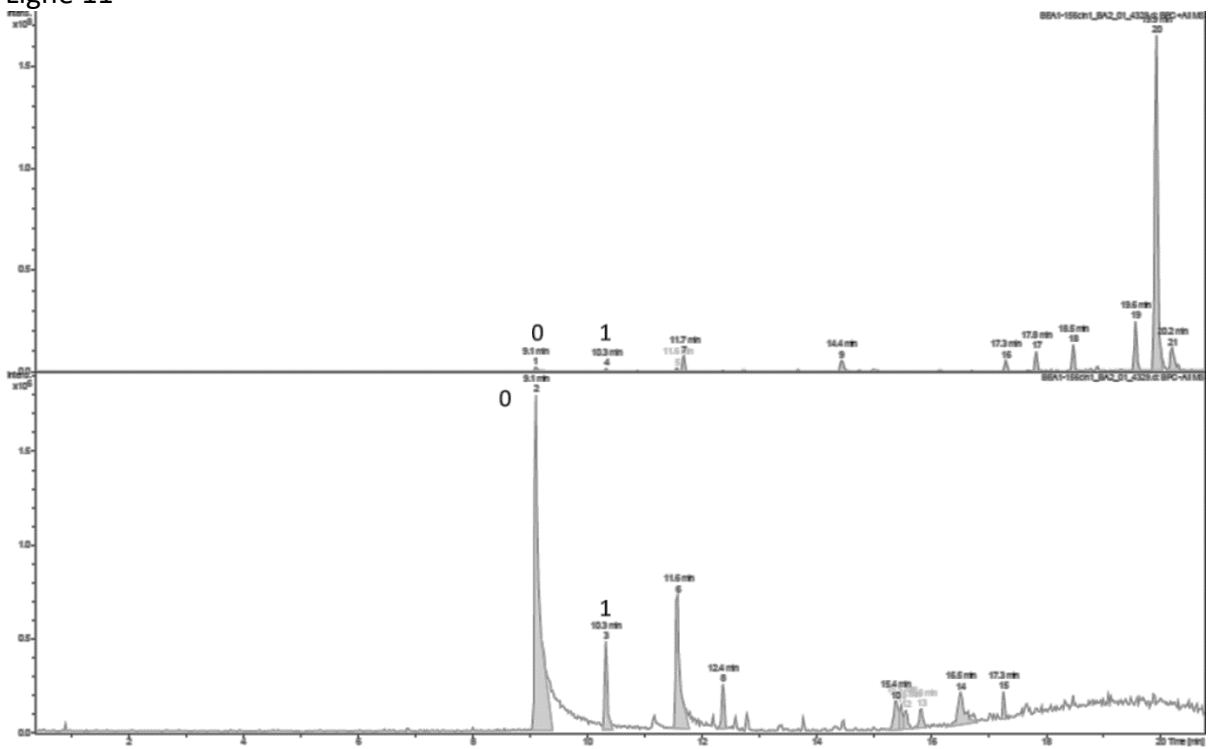


Annexe B : chromatogrammes LC-MS associés aux manipulations décrites dans le tableau 6

Ligne 10

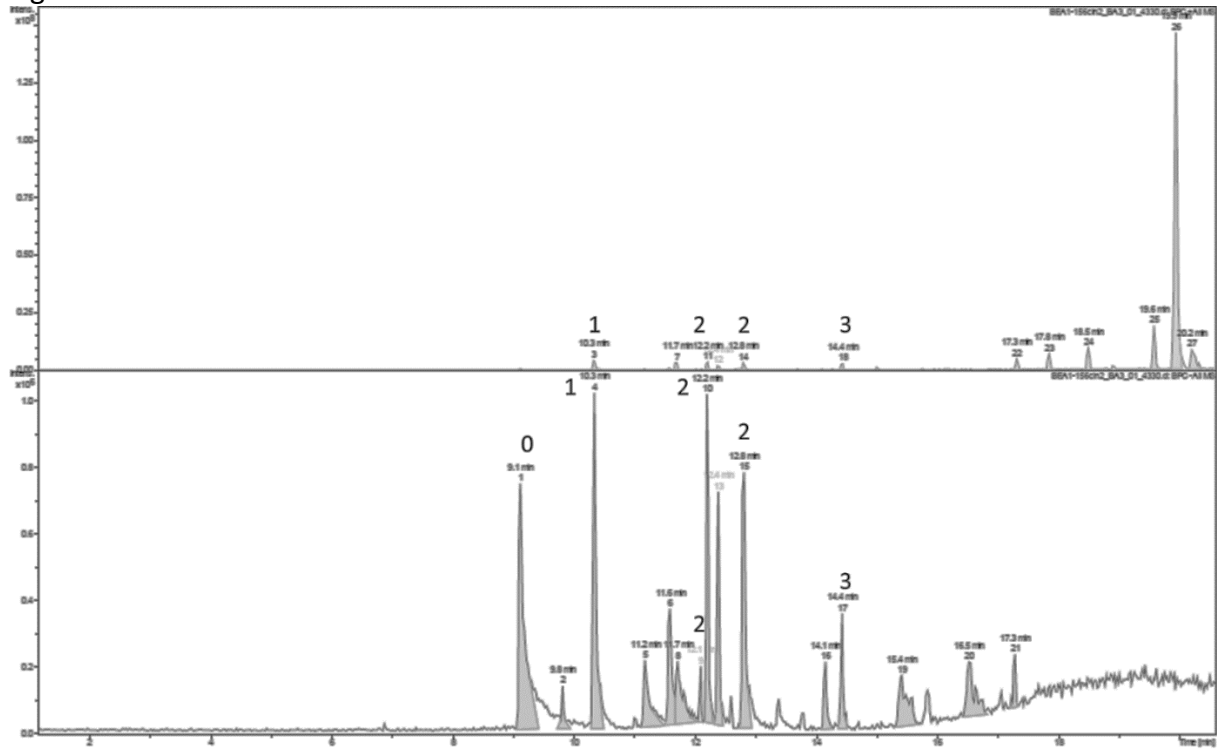


Ligne 11

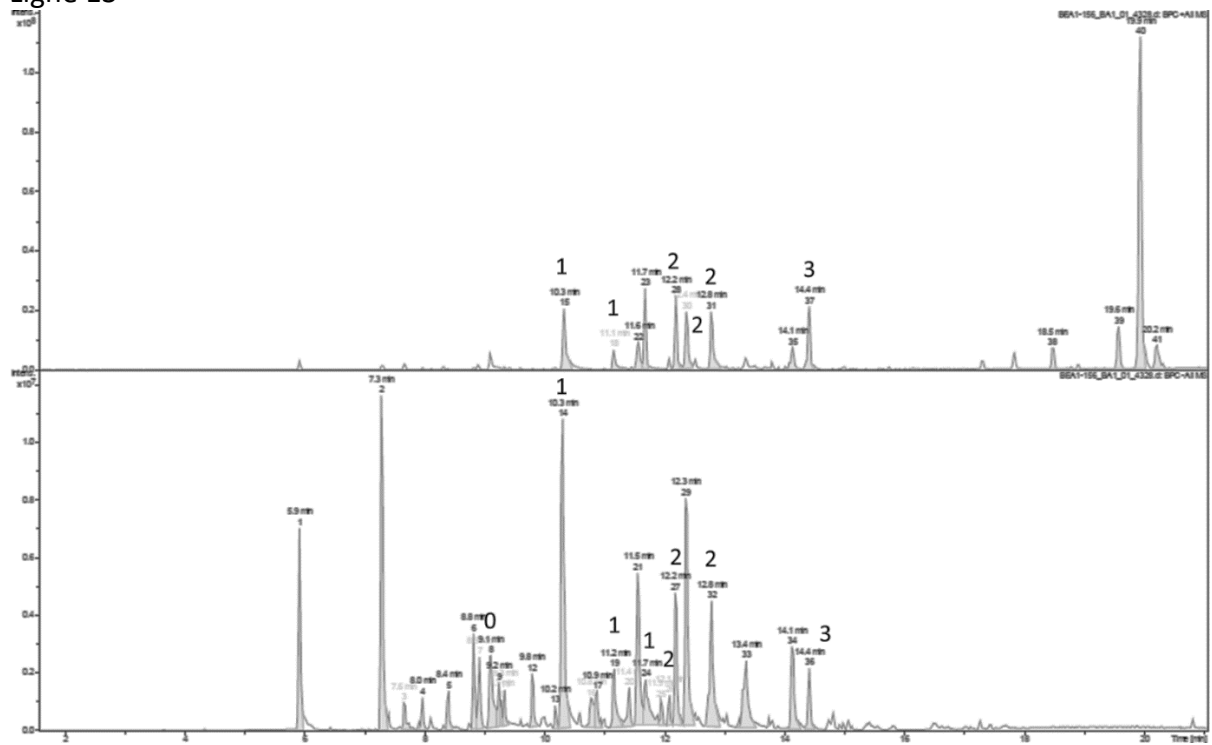


Annexe B : chromatogrammes LC-MS associés aux manipulations décrites dans le tableau 6

Ligne 12

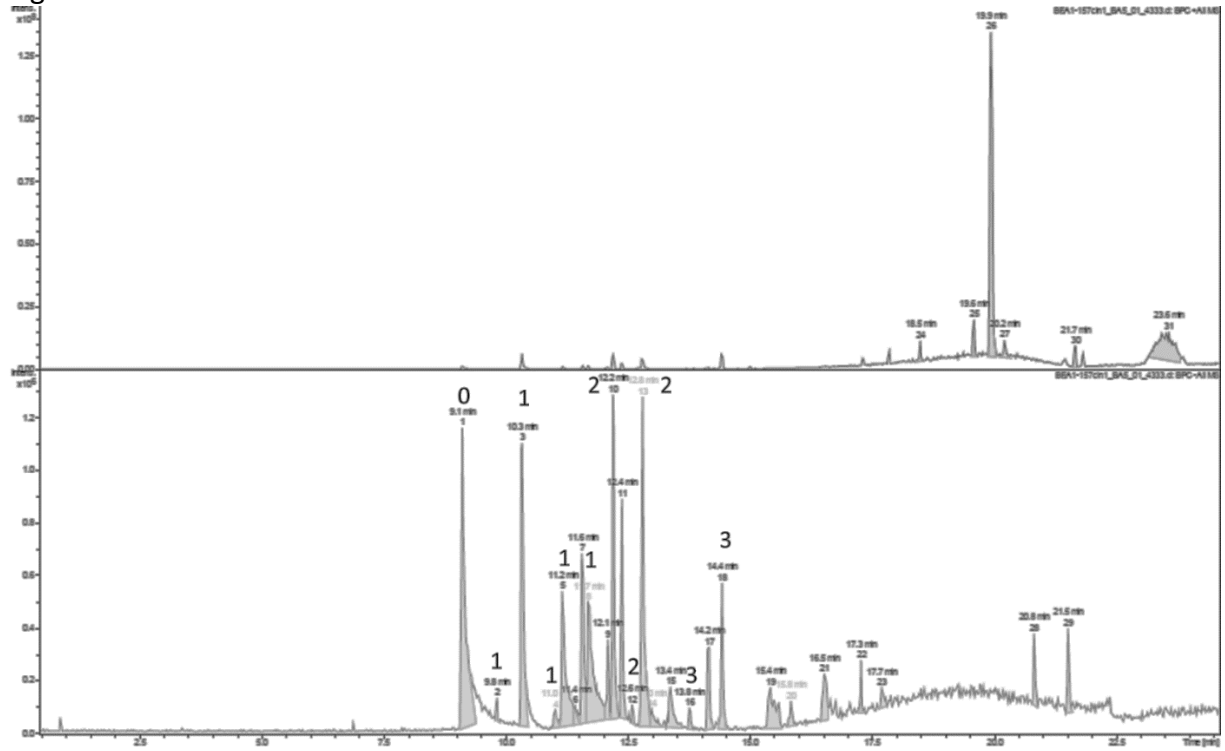


Ligne 13



Annexe B : chromatogrammes LC-MS associés aux manipulations décrites dans le tableau 6

Ligne 14



Ligne 15

