

UQAC

Université du Québec
à Chicoutimi

MÉMOIRE
PRÉSENTÉ À
L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À CHICOUTIMI
COMME EXIGENCE PARTIELLE
DE LA MAÎTRISE EN RESSOURCES RENOUVELABLES

PAR
JEAN-FRANÇOIS BILODEAU
B. Sc. (CHIMIE)

HÉMISYNTHÈSE DES BALSACONES A, B, C ET D'ANALOGUES
À PARTIR DE PRÉCURSEURS BIOSOURCÉS

2020

RÉSUMÉ

Au cours des dernières décennies, plusieurs souches bactériennes ont développé des résistances face aux antibiotiques. C'est notamment le cas de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) qui a développé des mécanismes de résistance. L'apparition des bactéries multirésistantes a motivé la recherche de nouveaux composés issus de métabolites secondaires des plantes. L'usage des bourgeons de *Populus balsamifera* L. en médecine traditionnelle autochtone, pour traiter les blessures, a mené à l'investigation de cette matrice végétale par le Laboratoire d'analyse et de séparation des essences végétales (LASEVE). Ces travaux ont mené à l'isolement de trois nouveaux composés: les balsacones A, B et C ayant une activité antibiotique contre *S. aureus*. Malheureusement, ces molécules sont présentes en faibles quantités dans les bourgeons de *P. balsamifera* L., leur purification est également fastidieuse et coûteuse. Cependant, les dihydrochalcones (DHCs), précurseurs de ces balsacones, sont beaucoup plus abondantes dans les bourgeons.

À la suite de ces constats, ce projet de maîtrise avait comme objectif principal le développement d'une méthode d'hémisynthèse des balsacones A, B et C à partir de leurs précurseurs biosourcés. La voie de synthèse a été développée par alkylation de Friedel-Crafts, sans protection, entre des DHCs et des alcools allyliques synthétisés à partir de leurs acides correspondants en deux étapes. Les balsacones A, B et C ont été synthétisées avec des rendements d'alkylation de 70, 51 et 56 % respectivement. Par la suite, cinq nouveaux analogues ont également été synthétisés avec des rendements d'alkylation de 40 à 63 % et de 21 % pour un produit secondaire de double alkylation.

Les huit molécules obtenues ont été soumises à des tests antibactériens contre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et 10 souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline (SARMs). Les balsacones A, B et C ainsi que l'analogue A ont démontré une activité antibiotique contre *S. aureus* et les SARMs avec des CMI₉₀ ≤ 10 µM. Les analogues B, C et D ont également montré des activités modérées contre les différents SARMs avec des CMI₉₀ ≤ 29 µM. Au contraire, l'analogue E n'a pas montré d'activité contre les bactéries testées. Ces résultats ont permis d'observer une relation structure-activité permettant de suggérer des pistes prometteuses pour la synthèse de nouveaux analogues.

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ.....	i
TABLE DES MATIÈRES.....	ii
LISTE DES FIGURES.....	iv
LISTE DES TABLEAUX.....	vi
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	vii
REMERCIEMENTS.....	ix
CHAPITRE 1 - INTRODUCTION.....	1
1.1 PROBLÉMATIQUE.....	2
1.2 OBJECTIFS.....	6
CHAPITRE 2 - REVUE DE LITTÉRATURE.....	7
2.1 RÉTROSYNTHÈSE EXPLICATIVE.....	8
2.2 LES ACIDES ET ALCOOLS ALLYLIQUES.....	9
2.2.1. Considérations générales.....	9
2.2.2. La biosynthèse des alcools allyliques.....	10
2.2.3. Stratégie de synthèse des alcools allyliques.....	12
2.3 LES DIHYDROCHALCONES.....	13
2.3.1. Considérations générales.....	13
2.3.2. La biosynthèse des DHCs.....	14
2.3.3. La synthèse totale des DHCs.....	17
2.3.4. Les DHCs de la forêt boréale.....	18
2.4 LES ALKYLATIONS DE FRIEDEL-CRAFTS.....	22
2.4.1. Considérations générales.....	22
2.4.2. Stratégie de synthèse des balsacones et leurs analogues par alkylation de Friedel-Crafts.....	25
CHAPITRE 3 - ARTICLE SCIENTIFIQUE.....	27
3.1 RÉSUMÉ DE L'ARTICLE.....	28
3.2 ARTICLE - EXPLORING THE BIOMASS-DERIVED CHEMICAL SPACE EMERGING FROM NATURAL DIHYDROCHALCONES THROUGH THE SINGLE-STEP HEMISYNTHESIS OF ANTIBACTERIAL BALSACONES....	29
CHAPITRE 4 - PARTIE EXPÉRIMENTALE.....	47
4.1 GÉNÉRAL.....	48
4.1.1. Matériel végétal.....	49

4.2	EXTRACTION ET ISOLATION DES DHCS	49
4.3	EXTRACTION ET ISOLATION DE L'ASÉBOTINE (34)	52
4.4	HYDROLYSE DE L'ASÉBOTINE (34).....	53
4.5	SYNTHÈSE DES ALCOOLS ALLYLIQUES DÉRIVÉS CINNAMIQUES	54
4.6	SYNTHÈSE DES BALSACONES ET ANALOGUES	57
4.7	TESTS ANTIBIOTIQUES	65
CHAPITRE 5 - AVANCEMENT DES TRAVAUX		67
5.1	CHIMIE.....	68
5.1.1.	Extraction et isolation de l'asébotine (34)	68
5.1.2.	Extraction et isolation des DHCs.....	68
5.1.3.	Hydrolyse de l'asébotine (34).....	69
5.1.4.	Identification d'espèces végétales contenant les DHCs	70
5.1.5.	Formes des intermédiaires d'alkylation de FC	70
5.1.6.	Produits secondaires d'alkylation de FC	71
5.1.7.	Dégradation des analogues D (82) et E (83).....	76
5.2	TESTS BIOLOGIQUES	79
5.2.1.	Activités antibactériennes.....	79
5.2.2.	Relation structure-activité.....	81
CHAPITRE 6 - CONCLUSION ET PERSPECTIVES		84
6.1	CONCLUSION	85
6.2	PERSPECTIVES.....	87
BIBLIOGRAPHIE		89
ANNEXES		100
ANNEXE 1 - SPECTRES RMN		101
ANNEXE 2 - MÉCANISMES RÉACTIONNELS		128
ANNEXE 3 - RÉSULTATS DES TESTS ANTIBACTÉRIENS		130
ANNEXE 4 - SPECTRES RMN ¹ H DÉGRADATION		133

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Peuplier baumier (<i>Populus balsamifera</i> L.)	5
Figure 2 : Structure des balsacones A (1), B (2) et C (3)	6
Figure 3 : Rétrosynthèse des balsacones et analogues	8
Figure 4 : Principaux acides cinnamiques et leurs alcools correspondants	10
Figure 5 : Principales voies biosynthétiques des monolignols	11
Figure 6 : Stratégie de synthèse des différents alcools allyliques à partir de leurs acides respectifs	12
Figure 7 : Squelette de base des dihydrochalcones	13
Figure 8 : Dihydrochalcones d'intérêt pour la présente étude	14
Figure 9 : Voies de biosynthèses proposées pour plusieurs dérivés DHCs hydroxylés, glycosylés et méthylés	16
Figure 10 : Voie de synthèse totale pour différentes dihydrochalcones	18
Figure 11 : Structures de différentes DHCs isolées du <i>Myrica gale</i> L., de l' <i>Empetrum</i> <i>nigrum</i> L. et du <i>Populus balsamifera</i> L.	19
Figure 12 : Structures des balsacones A (1) à U2 (75b)	21
Figure 13 : Première alkylation de Friedel-Crafts (FC) du chlorure d'amyle (77) et du benzène (76) en utilisant AlCl ₃	22
Figure 14 : Schéma de base de l'alkylation de FC classique	22
Figure 15 : Mécanisme d'alkylation de FC classique	24
Figure 16 : Stratégie de synthèse des balsacones et analogues par alkylation de FC	25
Figure 17 : Schematic representation of the single-step hemisynthesis of balsacones 1 from renewable, polyfunctional, bio-sourced precursors vs. multistep synthesis of balsacones 1 from non-renewable petrochemicals	31
Figure 18 : Hypothetical Brønsted acid activation of the conjugated quinone methide obtained upon dehydration of 4-hydroxycinnamyl alcohol (3a)	35
Figure 19 : Structure of the product 4 resulting from a double alkylation-cyclization sequence	38
Figure 20 : Schéma de fractionnement des bourgeons de <i>Populus balsamifera</i> L.	50
Figure 21 : Structure de la 2',4',6'-trihydroxy-4-méthoxydihydrochalcone (32)	51
Figure 22 : Structure de la 2',4',6'-trihydroxydihydrochalcone (29)	51
Figure 23 : Structure de l'asébotine (34)	53
Figure 24 : Structure de la 4,2',6'-trihydroxy-4'-méthoxydihydrochalcone (33)	54

Figure 25 : Structure de l'alcool <i>p</i> -coumarylique (10)	55
Figure 26 : Structure de l'alcool <i>p</i> -méthoxycinnamylique (13)	56
Figure 27 : Structure de l'alcool coniférylique (11)	57
Figure 28 : Structure de la balsacone A (1)	59
Figure 29 : Structure de la balsacone B (2)	59
Figure 30 : Structure de la balsacone C (3)	60
Figure 31 : Structure de l'analogue A (79).....	61
Figure 32 : Structure de l'analogue B (80).....	62
Figure 33 : Structure de l'analogue C (81).....	63
Figure 34 : Structure de l'analogue D (82) et de l'analogue E (83)	65
Figure 35 : Hydrolyse de l'asébotine (34)	69
Figure 36 : Structures possibles d'intermédiaires d'alkylation de FC.....	71
Figure 37 : Structure de la balsacone K (65) et de la balsacone F (59).....	72
Figure 38 : Mécanismes proposés pour la formation de la balsacone F (59) et de la balsacone K (65) à partir de la balsacone A (1)	74
Figure 39 : Dégradation de l'analogue D (82).....	77

LISTE DES TABLEAUX

Table 1 :	Initial attempts to produce balsacone A (1a) following a Friedel-Crafts alkylation protocol in the presence of 2,3,4,5-tetrafluorophenylboronic acid	34
Table 2 :	PTSA catalyzed synthesis of balsacones A, B, C and analogues	37
Table 3 :	Antibacterial activity of compounds 1a-g and 4	40
Tableau 4 :	Méthode d'hydrolyse de l'asébotine (34)	70
Tableau 5 :	Activité antibactérienne des balsacones (1-3) ainsi que des analogues (79-83) contre <i>S. aureus</i> et des SARMs	80

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AcOEt	Acétate d'éthyle
Acétone- <i>d</i> 6	Acétone deutérée
ACN	Acétonitrile
AlBr ₃	Bromure d'aluminium
AlCl ₃	Chlorure d'aluminium
AlCl ₄ ⁻	Ion tétrachloroaluminate
APTS	Acide para-toluène sulfonique
BCl ₃	Trichlorure de bore
BF ₃	Trifluorure de bore
BnCl	Chlorure de benzyle
br d	Broad doublet
C	Carbone
CCM	Chromatographie sur couche mince
CDCl ₃	Chloroforme deutéré
CHCl ₃	Chloroforme
CH ₃ I	Iodométhane
CK ₂ O ₃	Carbonate de potassium
CLHP	Chromatographie en phase liquide à haute performance
CMI	Concentration minimale inhibitrice
COA	Coenzyme A
COSY	Correlation Spectroscopy
d	Doublet
dd	Doublet de doublet
DCM	Dichlorométhane
DHCs	Dihydrochalcones
DIBAL-H	Hydruure de diisobutylaluminium
EtOH	Éthanol
Et ₃ N	Triéthylamine
Et ₃ SiH	Triéthylsilane
Eq	Équivalent
FC	Friedel-Crafts
FeCl ₃	Chlorure de fer (III)
g	Gramme
GaCl ₃	Trichlorure de gallium
H	Hydrogène
H ₂	Dihydrogène
HF	Fluorure d'hydrogène
H ₂ O	Eau
H ₃ PO ₄	Acide phosphorique
H ₂ SO ₄	Acide sulfurique
HCl	Acide chlorhydrique
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond
HRMS	High Resolution Mass Spectra
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Correlation

K_2CO_3	Carbonate de potassium
kg	Kilogramme
KOH	Hydroxyde de potassium
LASEVE	Laboratoire d'analyse et de séparation des essences végétales
$LiAlH_4$	Tétrahydroaluminat de lithium
m	Multiplet
M	Molaire
MeOD	Méthanol deutéré
MeOH	Méthanol
MHz	Mégahertz
min	Minute
mmol	Millimole
$Mo(CO)_6$	Hexacarbonyle de molybdène
MOM	Méthoxyméthyles
MOMCl	Chlorométhoxyméthane
NaCl	Chlorure de sodium
$NaHCO_3$	Bicarbonate de sodium
NaOH	Hydroxyde de sodium
Na_2SO_4	Sulfate de sodium
OMS	L'Organisation mondiale de la Santé
Pd/C	Palladium sur charbon
PLP2a	Protéine de liaison à la pénicilline 2a
R_f	Rapport frontal
RMN	Résonance magnétique nucléaire
SARM	<i>Staphylococcus Aureus</i> résistant à la méticilline
$SbCl_5$	Pentachlorure d'antimoine
S_N2	Substitution nucléophile bimoléculaire
$SnCl_4$	Chlorure d'étain (IV)
TA	Température ambiante
$TiCl_4$	Tétrachlorure de titane
TR	Temps de Rétention
s	Singulet
$Sc(OTf)_3$	Trifluorométhanesulfonate de scandium (III)
THF	Tétrahydrofuranne
TMS :	Tétraméthylsilane
μM :	Micromolaire
UV :	Ultraviolet
$ZnCl_2$:	Chlorure de zinc
$\delta+$:	Delta + (charge partielle positive)
$-CF_3$:	Groupe trifluorométhyle
$-NO_2$:	Groupe nitro
$-SO_3H$:	Groupe acide sulfonique

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, j'aimerais remercier mon directeur de recherche, le professeur André Pichette, qui m'a permis de travailler sur ce projet stimulant au sein de son Laboratoire d'analyse et de séparation des essences végétales (LASEVE). Je remercie également mon codirecteur, le professeur Jean Legault, pour son soutien et celle de son équipe de biochimistes. C'est grâce à leur travail acharné à la recherche de financement que ce projet a pu porter fruit.

Je remercie particulièrement le professeur Jérôme Alsarraf qui m'a partagé sa passion pour la chimie de synthèse organique et son expertise étendue dans ce domaine. Son soutien et ses précieux conseils ont été grandement appréciés tout au long de mon projet de maîtrise. Je souhaite également remercier François Simard, chargé de cours, pour son soutien, ses conseils et le partage de ses connaissances inégalées des balsacones et de leur isolation.

Un grand merci à Lorry J. Déry, assistante de recherche de François Simard, qui m'a gracieusement fourni ses fractions enrichies en asébotine provenant du *Kalmia augustifolia* L. Lorry a également isolé de l'asébotine à partir du *K. augustifolia* L. et certaines DHCs provenant des bourgeons de *Populus balsamifera* L. avec l'aide de plusieurs stagiaires. Merci également aux stagiaires qui ont participé à la purification de ces précurseurs, soit Camille Chauveau, Louis Gonzales et Antoine Abouardham. Sans l'aide de ces personnes, ce projet n'aurait pas pu avancer aussi rapidement.

J'aimerais remercier Clément Gommenginger qui a participé à la synthèse de différents alcools allyliques, à la purification de l'asébotine ainsi qu'à son hydrolyse, au cours de son stage au LASEVE.

Un merci particulier à Catherine Dussault, assistante de recherche du professeur Jean Legault, pour les tests antibactériens effectués sur *E. coli*, *S. aureus* et 10 souches de SARMS.

Je tiens à remercier tous mes collègues et amis du LASEVE, de la maîtrise et du baccalauréat, qui m'ont tenu compagnie au cours de ces études supérieures. Un merci spécial à Anne Ardaillou pour m'avoir transféré des spectres RMN en période de confinement.

Un grand merci à Hirlse Dufour pour son aide à la mise en page du mémoire.

Finalement, un immense merci à mes parents, Richard et Lise, qui m'ont soutenu tout au long de ce processus de retour aux études.

CHAPITRE 1

INTRODUCTION

1.1 PROBLÉMATIQUE

L'humanité tente depuis longtemps de lutter contre les infections avec les moyens dont elle dispose, selon l'époque. À l'ère médiévale (du 5^e au 15^e siècle), l'hospitalisation d'un soldat était souvent plus dangereuse qu'une bataille au front. Un patient avec des blessures mineures pouvait facilement contracter une infection mortelle due aux conditions d'hygiène médiocres et aux risques élevés de propagation entre les individus. Le nettoyage des instruments chirurgicaux était inexistant, six patients pouvaient occuper un même lit d'hôpital et les traitements favorisaient la propagation des infections virales et bactériennes. C'est seulement au début des années 1900 que l'hygiène fut grandement améliorée. Durant cette époque, la santé publique a effectivement pu jouir de multiples avancements, tels que l'utilisation du savon devenant répandu, la pasteurisation du lait, l'apparition de systèmes de traitement des eaux et des égouts ainsi que le début de la chloration des réserves d'eau potable. Les travaux de Robert Koch sur l'anthrax prouvèrent que les bactéries sont des agents infectieux spécifiques. Le concept d'aseptisation chirurgicale, introduit par Joseph Lister, fait chuter le taux de mortalité post-amputation de 45 à 15 %. Le nettoyage des hôpitaux, de même que le lavage des mains et des nouveaux patients deviennent des pratiques courantes. Malgré ces nombreux avancements, le taux de mortalité des patients ayant contracté une pneumonie, la tuberculose ou une infection des plaies, reste relativement élevé (Smith *et al.* 2012; Wright 2019).

En 1928, Alexandre Fleming découvre le potentiel antibactérien d'une souche rare de moisissure de *Penicillium notatum*; ultérieurement le principe actif fut identifié comme étant la pénicilline. Cette découverte mena à l'ère des antibiotiques au cours des années 40 avec le développement de nombreux antibactériens (Landmarks 1999). Malheureusement, certaines souches de bactéries ont développé des mécanismes de résistance au cours des années d'utilisation d'antibiotiques classiques. Ces mécanismes variés sont, par exemple, la destruction de la partie active des antibiotiques β -lactame par l'action de β -lactamases, l'apparition de pompes permettant l'évacuation des médicaments à l'extérieur des bactéries, la formation d'une barrière protectrice extracellulaire par sécrétion, etc. (Aminov 2010). Bien

que ces phénomènes de résistance soient un processus naturel, la mauvaise utilisation d'antibiotiques chez l'homme et les animaux accélère leur apparition. L'Organisation mondiale de la Santé (OMS) stipule que le phénomène de résistance antibactérienne augmente de façon alarmante partout à travers le monde. Des maladies infectieuses, précédemment enrayerées, refont surface et deviennent de plus en plus difficiles à traiter avec des antibiotiques auparavant efficaces (WHO 2019). Au Canada, depuis 2019, 26 % de toutes les infections sont devenues résistantes aux antibactériens et les projections prévoient une hausse jusqu'à 40 % d'ici 2050. Il s'agit d'une forte augmentation qui pourrait avoir un impact négatif sur la santé publique, la qualité de vie ainsi que sur l'économie (Wright 2019).

L'une de ces bactéries particulièrement résistantes est le *Staphylococcus aureus*. Cette bactérie peut causer des infections de la peau, des tissus mous et des voies respiratoires pouvant mener à un choc septique ou même à la mort (Nichol *et al.* 2011). En effet, *S. aureus* était à l'origine de nombreux décès avant l'avènement des antibiotiques avec un taux de mortalité des patients infectés de l'ordre de 80 % (Sheagren 1984). La commercialisation de la pénicilline enraya le problème pour une courte durée. Cependant, dès 1942 les premières souches résistantes à la pénicilline ont été identifiées comme produisant la pénicillinase (enzyme nommée la β -lactamase). Pour lutter contre ces nouvelles souches, une pénicilline semi-synthétique résistante aux pénicillinases fut mise au point en 1960, la méticilline. Mais dès 1961, des souches de SARMs firent leur apparition. Ces souches se sont dotées d'une protéine de liaison aux β -lactamines, la PLP2a (protéine de liaison à la pénicilline) qui inhibe tous les antibiotiques à noyaux β -lactames disponibles en 2010. Les infections de SARMs doivent être traitées avec des antibiotiques moins efficaces, entre autres la vancomycine (Tattevin 2011), ce qui provoque un temps d'hospitalisation plus long, de même qu'une augmentation du coût des traitements et du taux de mortalité par rapport aux souches non résistantes de *S. aureus* (Cosgrove *et al.* 2005).

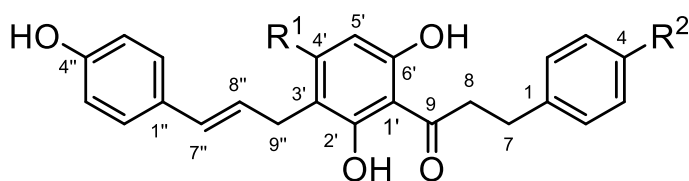
De nouvelles classes d'antibiotiques doivent être découvertes afin de lutter efficacement contre la menace grandissante des bactéries multirésistantes. Plusieurs plantes et animaux sont actuellement à l'étude pour tenter de trouver des antibactériens qui pourraient offrir de nouveaux mécanismes d'action, induisant l'apparition de souches résistantes à une vitesse inférieure à celle des antibiotiques actuellement disponibles (Coates *et al.* 2011).

L'une des plantes récemment étudiées est le peuplier baumier (*Populus balsamifera* L., figure 1), qui est un grand arbre feuillu de la famille des salicacées et qui peut atteindre 35 m de hauteur (Marie-Victorin *et al.* 2002). Il s'agit d'un arbre indigène de l'Amérique du Nord à croissance rapide, préférant les sols humides et possédant une excellente tolérance au froid. Considéré comme étant le feuillu le plus nordique, sa longévité moyenne est de 70 ans et il peut tolérer le sel et la pollution (Pépinière Aux Arbres Fruitiers, 2019). Ses feuilles vert foncé sont largement ovées, sa floraison est printanière et ses bourgeons sont volumineux, glabres et résineux. La résine de ses bourgeons dégage une odeur aromatique (Marie-Victorin *et al.* 2002). Son bois mou est utilisé pour la fabrication de matériaux de construction et par l'industrie forestière. Ses bourgeons étaient utilisés par plusieurs tribus amérindiennes pour traiter différentes maladies de la peau ou pour soigner les coupures, les plaies et les ecchymoses (Moerman 2009; Uprety *et al.* 2012). La présence de divers flavonoïdes dans la composition de propolis, échantillonnées aux quatre coins du globe, suggère l'utilisation des bourgeons de peuplier pour la fabrication de la propolis (Vardar-Ünlü *et al.* 2008; Salatino *et al.* 2011). La propolis est un sous-produit des abeilles utilisé pour assainir la ruche et lutter contre les envahisseurs (Salatino *et al.* 2011). Ces différentes utilisations par les peuples autochtones ainsi que par les abeilles ont suggéré la présence de composés antibactériens dans les bourgeons de peuplier (Moerman 2009; Uprety *et al.* 2012).



Figure 1. Peuplier baumier (*Populus balsamifera* L.).
(Ministère Ressources naturelles Canada, 2020).

C'est à la suite de ces constats que les chercheurs du Laboratoire d'analyse et de séparation des essences végétales (LASEVE) se sont intéressés à l'identification des métabolites secondaires responsables du potentiel antibactérien des bourgeons de *Populus balsamifera* L. Le LASEVE s'est donné comme mission la découverte des principes actifs à l'origine de l'usage thérapeutique traditionnel des plantes boréales. En 2013, les travaux du laboratoire ont permis l'identification de trois nouveaux dérivés dihydrochalcones (DHCs), principaux responsables de l'activité antibactérienne des bourgeons de peuplier baumier. Ces composés, nommés balsacones (figure 2) A (1), B (2) et C (3), ont montré une forte activité contre le *Staphylococcus aureus* avec des concentrations minimales inhibitrices (CMI) variant de 3,1 à 6,3 μM (Lavoie *et al.* 2013). La poursuite de ces travaux a permis au LASEVE de découvrir 19 autres dérivés DHCs, présents en plus faibles quantités dans les bourgeons, mais dont près de la moitié ont montré des activités contre le *S. aureus* et/ou différentes souches de SARMs (Simard 2013; Simard *et al.* 2016).



- 1** R¹ = OCH₃ R² = OH (balsacone A)
2 R¹ = OH R² = OCH₃ (balsacone B)
3 R¹ = OH R² = H (balsacone C)

Figure 2. Structure des balsacones A (**1**), B (**2**) et C (**3**).
(Lavoie *et al.* 2013).

Bien que les résultats de ces travaux soient encourageants, un problème majeur s'impose afin de poursuivre le développement biopharmaceutique des balsacones. Leur isolation est ardue et ces molécules sont présentes seulement en faibles quantités dans les bourgeons de *P. balsamifera*. Une voie de synthèse totale a été développée pour les balsacones B (**2**) et C (**3**), mais celle-ci est fastidieuse et offre de faibles rendements (Burmaoğlu 2017). Une méthode de synthèse alternative doit être mise au point afin d'obtenir ces composés d'intérêt à moindre coût.

1.2 OBJECTIFS

Les objectifs du présent projet de maîtrise sont :

- De développer une méthode d'hémisynthèse des balsacones A (**1**), B (**2**) et C (**3**) à partir de substrats biosourcés (ex : *P. balsamifera*).
- D'utiliser la méthode développée pour la synthèse de nouveaux analogues.
- D'identifier des espèces végétales riches en dihydrochalcones afin de disposer de précurseurs biosourcés et diversifiés.

CHAPITRE 2

REVUE DE LITTÉRATURE

2.1 RÉTROSYNTHÈSE EXPLICATIVE

Il y a plus de 50 ans, (Eyton *et al.* 1965) avaient proposé une voie de biosynthèse pour la formation des néoflavonoïdes. Cette voie passait notamment par l'alkylation d'unités phénoliques, par des pyrophosphates cinnamiques (ou leurs équivalents biologiques), au lieu de l'acylation impliquant la cinnamoyl co-enzyme A, suggérée précédemment (Harborne 1964; Eyton *et al.* 1965). Vingt-cinq ans plus tard, (Conserva *et al.* 1990) proposaient la cinnamylation directe de DHCs par des alcools allyliques pour expliquer la biosynthèse de la balsacone B (**2**) ainsi que plusieurs flavonoïdes présents dans différentes parties de *Iryanthera laevis* Markgr. Conserva et ses collaborateurs (Conserva *et al.* 1990) avaient soupçonné l'existence de la balsacone B (**2**) sans avoir été en mesure de l'isoler. Suivant la découverte des balsacones A (**1**), B (**2**) et C (**3**) présentes dans les bourgeons de *P. balsamifera*, (Lavoie *et al.* 2013) proposent également la cinnamylation des DHCs comme voie biosynthétique possible de ces composés (Conserva *et al.* 1990; Lavoie *et al.* 2013).

Ainsi, la stratégie d'hémisynthèse envisagée passe par l'alkylation de Friedel-Crafts de DHCs et d'alcools allyliques pour l'obtention des balsacones A (**1**), B (**2**), C (**3**) et de différents analogues (figure 3).

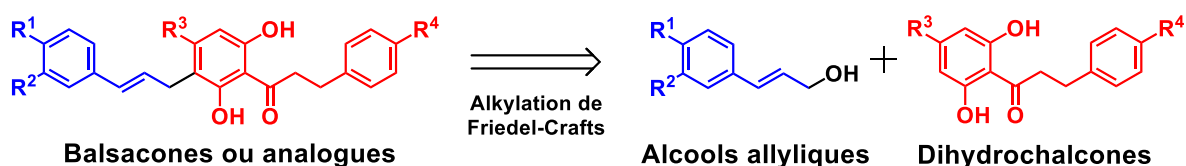


Figure 3. Rétrosynthèse des balsacones et analogues.
(Simard *et al.* 2014; Simard *et al.* 2016).

2.2 LES ACIDES ET ALCOOLS ALLYLIQUES

2.2.1. Considérations générales

Les alcools allyliques aromatiques sont des métabolites secondaires possédant une fonction alcool située sur le carbone voisin (dénommé carbone allylique) d'une double liaison C=C (Gunawardena 2019); celle-ci est conjuguée avec le cycle aromatique. Les alcools allyliques aromatiques ou dérivés cinnamiques (figure 4, **10** à **12**), également appelés monolignols, sont principalement utilisés par les plantes pour la fabrication des lignines par polymérisation (Boerjan *et al.* 2003). Ces polymères sont utilisés pour solidifier les parois cellulaires végétales et pour les rendre imperméables; elles protègent les polysaccharides des parois contre la dégradation microbienne et procure une résistance à la pourriture. Leur biosynthèse est également stimulée par des stress biotiques et abiotiques (Vanholme *et al.* 2010). Les alcools cinnamylique (**9**), *p*-coumarylique (**10**), coniférylique (**11**), synapylique (**12**) et *p*-méthoxycinnamylique (**13**) sont rarement présents à l'état d'alcools libres dans les plantes, malgré que (**10**) à (**12**) sont des monomères des lignines. On retrouve plutôt leurs acides correspondants, soit les acides : cinnamique (**4**) (Hoskins 1984); *p*-coumarique (**5**) (Pei *et al.* 2016); férulique (**6**) (Silva et Batista 2017) sinapique (**7**) (Chen 2016) et plus rarement *p*-méthoxycinnamique (**8**) (Hidalgo *et al.* 2015). Ces acides sont présents dans différents fruits, légumes et céréales (Hoskins 1984; Chen 2016; Pei *et al.* 2016; Silva et Batista 2017). Plusieurs de ces acides ont des activités thérapeutiques variées telles que antioxydantes, anti-inflammatoires, antimutagènes, anti-ulcères et anticancéreuses (Chen 2016; Pei *et al.* 2016; Silva et Batista 2017).

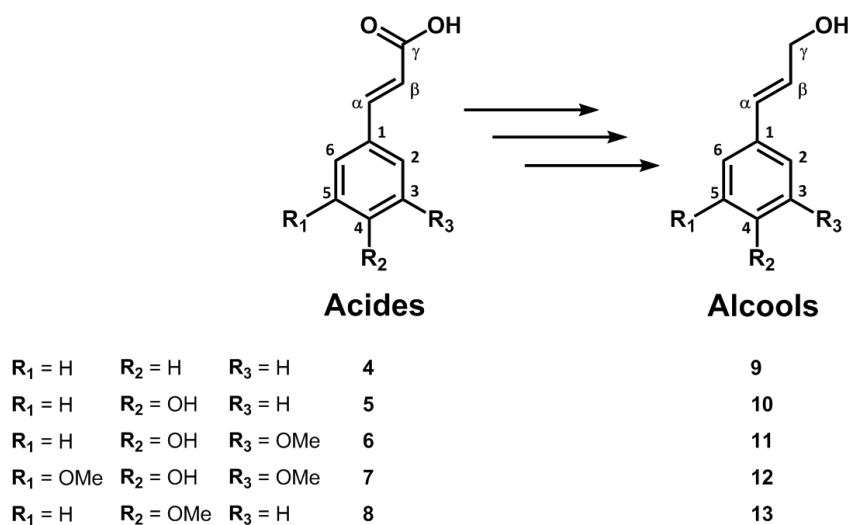


Figure 4. Principaux acides cinnamiques et leurs alcools correspondants.

(4) Acide cinnamique; (5) acide *p*-coumarique; (6) acide férulique; (7) acide sinapique; (8) acide *p*-méthoxycinnamique; (9) alcool cinnamylique; (10) alcool *p*-coumarylique; (11) alcool coniférylique; (12) alcool sinapylique et (13) alcool *p*-méthoxycinnamylique.

Figure inspirée de (Quideau et Ralph 1992).

2.2.2. La biosynthèse des alcools allyliques

La biosynthèse des alcools allyliques aromatiques (monolignols) fait partie du même réseau phénylpropanoïde que les DHCs (Ibdah *et al.* 2018). Vanholme et ses collaborateurs (Vanholme *et al.* 2010) proposent une voie de biosynthèse (figure 5) à partir de l'acide aminée L-phénylalanine (14) pour synthétiser l'acide cinnamique (4) par l'action de l'enzyme PAL, suivie de l'ajout d'une fonction hydroxyle en position C-4 par la C4H pour obtenir l'acide *p*-coumarique (5), ensuite la Coenzyme A (CoA) intervient par l'action de l'enzyme 4CL pour synthétiser le *p*-coumaroyl-CoA (15). Le *p*-coumaroyl-CoA est subséquemment réduit par l'action de la CCR pour obtenir le *p*-coumaraldéhyde (16), suivie d'une seconde réduction par l'enzyme CAD pour synthétiser l'alcool *p*-coumarylique (10) représentant le monolignol H des lignines. La biosynthèse des alcools coniférylique (11) et sinapylique (12) (monolignols S et G respectivement) est également illustrée à la figure 5 (Vanholme *et al.* 2010).

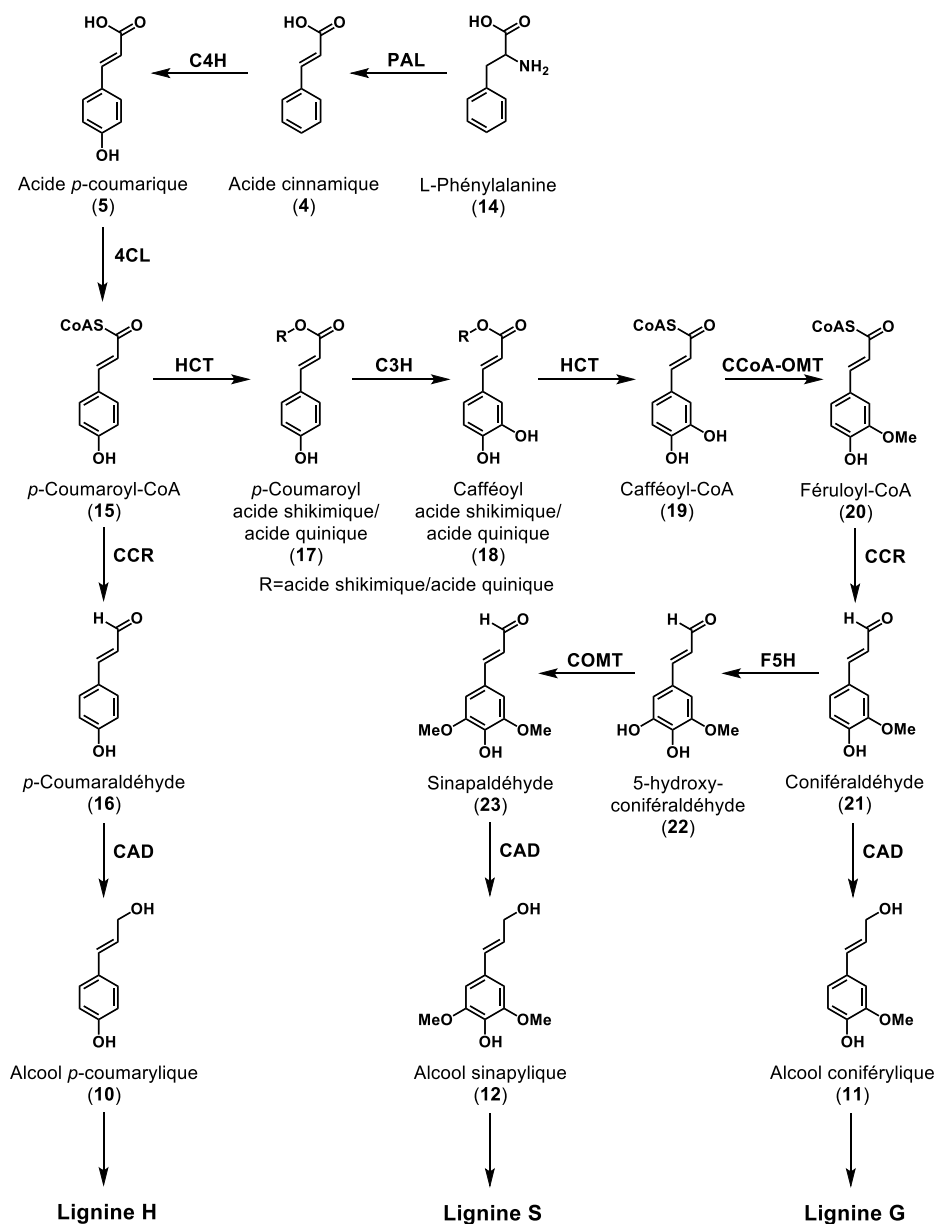


Figure 5. Principales voies biosynthétiques des monolignols.

Alcool *p*-coumarylique (10), alcool conférylique (11) et alcool sinapylique (12);

PAL, phenylalanine ammonia-lyase; **C4H**, cinnamate 4-hydroxylase; **4CL**, 4-coumarate : CoA ligase; **C3H**, *p*-coumarate 3-hydroxylase; **HCT**, *p*-hydroxycinnamoyl-CoA: quinate/shikimate *p*-hydroxycinnamoyltransferase; **CCoAOMT**, cafféoyl-CoA O-methyltransferase; **CCR**, cinnamoyl-CoA reductase; **F5H**, ferulate 5-hydroxylase; **COMT**, caffeic acid O-methyltransferase; **CAD**, cinnamyl alcohol dehydrogenase.

Figure inspirée de (Vanholme *et al.* 2010).

2.2.3. Stratégie de synthèse des alcools allyliques

La stratégie de synthèse des alcools allyliques (figure 6, **9** à **13**) est effectuée en deux étapes simples et assez bien documentées. Il s'agit d'utiliser les acides correspondants (**4** à **8**), plus abondants et biosourcés, pour procéder à leur estérification (**24** à **28**) suivie de la réduction des esters correspondants en alcools (**9** à **13**) par deux réductions successives. L'estérification (figure 6, i) des acides dérivés cinnamiques (**4** à **8**) est effectuée en utilisant un acide de Brønsted en quantité catalytique, tel que l'acide Para-Toluène Sulfonique (APTS) (Burmaoğlu 2017) ou l'acide sulfurique (H₂SO₄) dans un excès de MeOH (Moussouni *et al.* 2011) ou d'EtOH (Li *et al.* 2009) au reflux, pour l'obtention des esters méthyliques (**24** à **28**) ou éthyliques respectivement, par une réaction d'estérification de Fischer (Fischer et Speier 1895; Quideau et Ralph 1992). La seconde réaction est la réduction (figure 6, ii) des esters (**24** à **28**) en alcools (**9** à **12**), le réducteur le plus utilisé est le DIBAL-H (Quideau et Ralph 1992; Burmaoğlu 2017; Konrádová *et al.* 2017) dans du toluène anhydre à 0 °C pendant 1 h 30, pour l'obtention des alcools correspondants (Quideau et Ralph 1992). La réaction peut également être effectuée à -78 °C dans le dichlorométhane (DCM) (Burmaoğlu 2017; Konrádová *et al.* 2017) ou en utilisant LiAlH₄/BnCl dans du THF à TA (Wang *et al.* 2009). L'ester est d'abord réduit en aldéhyde pour ensuite subir une seconde réduction en alcool.

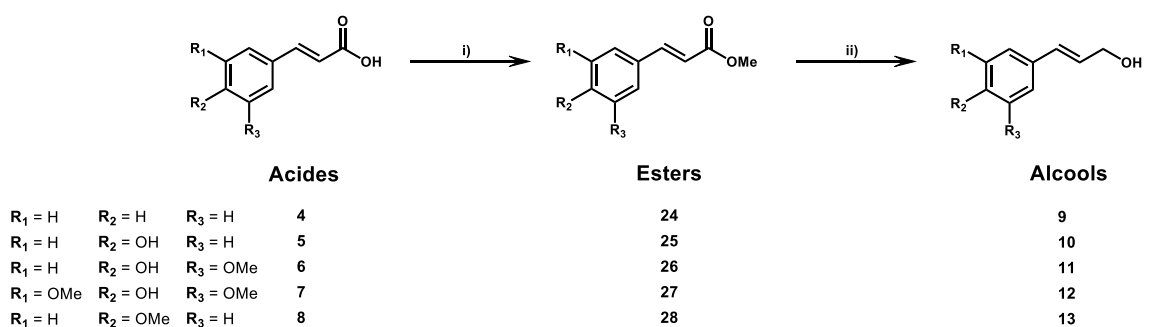


Figure 6. Stratégie de synthèse des différents alcools allyliques à partir de leurs acides respectifs.

- i) APTS, MeOH, reflux, 17 h (Burmaoğlu 2017); ii) DIBAL-H, toluène anhydre, 0 °C, 1 h 30 (Quideau et Ralph 1992); (**24**) méthyl cinnamate; (**25**) méthyl 4-hydroxycinnamate; (**26**) méthyl ferulate; (**27**) méthyl sinapate; (**28**) méthyl 4-méthoxycinnamate.

2.3 LES DIHYDROCHALCONES

2.3.1. Considérations générales

Les DHCs sont des métabolites secondaires appartenant à la sous-classe chalcone des flavonoïdes présents dans divers végétaux (Panche *et al.* 2016). Ce sont des flavonoïdes à chaîne ouverte possédant un squelette benzyle acétophénone (Rivière 2016) et les cycles aromatiques A et B sont liés ensemble par un système carbonyle à trois carbones α , β -saturé (figure 7) (Ibdah *et al.* 2018). Ce sont des composés structurellement proches des flavanones, flavanols, chalcones et rétrochalcones (Rivière 2016). Ils diffèrent toutefois des chalcones par l'absence d'une double liaison entre les carbones α et β de la chaîne carbonée (Panche *et al.* 2016).

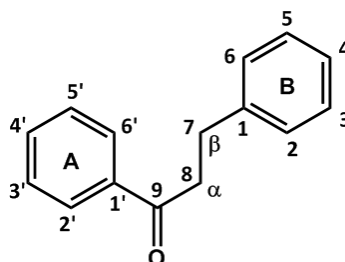


Figure 7. Squelette de base des dihydrochalcones.

Figure inspirée de (Ibdah *et al.* 2018).

Les DHCs affichent une grande variabilité de substitutions hydroxyles et méthoxyles (figure 7) (Ibdah *et al.* 2018) : elles sont présentes dans les plantes sous forme simple, O-glycosylées, parfois C-glycosylées, C-benzylées, prénylées (Rivière 2016) et même hydroxycinnamylées (Lavoie *et al.* 2013). À ce jour, 256 DHCs naturelles ont été identifiées dans plus de 46 familles de plantes. Ces métabolites secondaires sont produits dans diverses parties des plantes en réponse à des stress biologiques ou environnementaux. Les DHCs suscitent l'intérêt de la communauté scientifique en raison de leurs diverses activités

biologiques, telles que : édulcorants, anti-inflammatoires, antioxydants, antimicrobiens, antispasmodiques et cytotoxiques (Rivière 2016).

Les DHCs d'intérêt pour la présente étude sont illustrées à la figure 8, il s'agit : de la 2',4',6'-trihydroxydihydrochalcone (**29**) isolée des bourgeons de *Populus balsamifera* L. (Lavoie *et al.* 2013), de la phlorétine (**30**) ainsi que de son glycoside la phloridzine (**31**), toutes deux isolées du bois ou des fruits des espèces *Malus* (Hoshino *et al.* 1996; Gupte et Buolamwini 2009; Ibdah *et al.* 2018), de la 2',4',6'-trihydroxy-4-méthoxydihydrochalcone (**32**) isolée des bourgeons de peuplier baumier, de la 4,2',6'-trihydroxy-4'-méthoxydihydrochalcone (**33**) également isolée des bourgeons de *Populus balsamifera* L. (Lavoie *et al.* 2013) et de son glycoside, l'asébotine (**34**) isolé du *Kalmia augustifolia* L. (Harborne 2019).

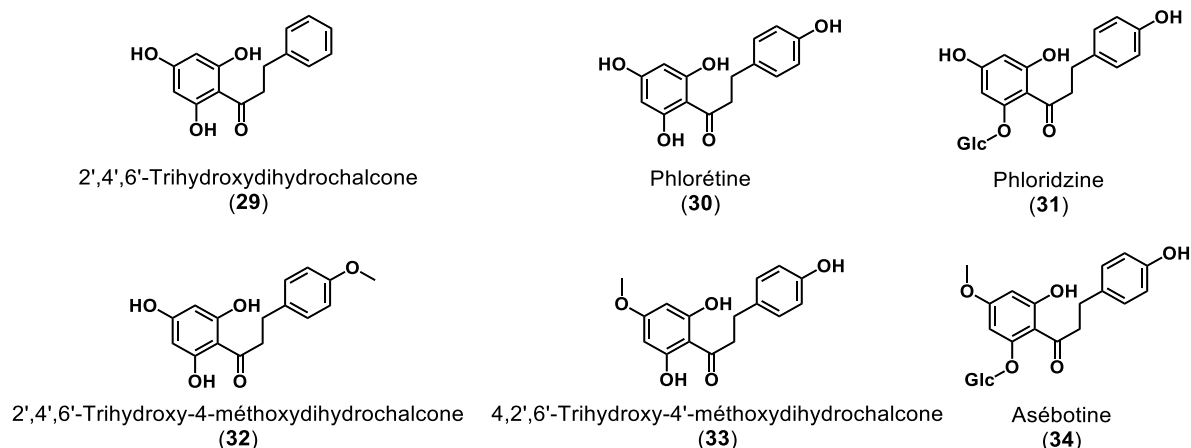


Figure 8. Dihydrochalcones d'intérêt pour la présente étude.
(Nkengfack *et al.* 2001; Lavoie *et al.* 2013; Cui *et al.* 2019).

2.3.2. La biosynthèse des DHCs

La biosynthèse des DHCs fait partie d'un vaste réseau phénylpropanoïde produisant plusieurs métabolites secondaires, tels que les flavonoïdes, les acides phénoliques, les lignines, les stilbènes et les lignanes. Ibdah et ses collaborateurs (Ibdah *et al.* 2018) proposent

une voie de biosynthèse (figure 9) à partir de l'acide aminée L-phénylalanine (**14**) pour synthétiser l'acide cinnamique (**4**) par l'action de la PAL, suivie de l'ajout d'un groupement hydroxyle par la C4H pour obtenir l'acide *p*-coumarique (**5**), pour ensuite faire intervenir la Coenzyme A (CoA) par l'action de la 4CL pour synthétiser le *p*-coumaroyl-CoA (**15**). Ces premières étapes sont identiques à celles utilisées pour la biosynthèse des alcools dérivés cinnamyls (figure 5). La double liaison du *p*-coumaroyl-CoA (figure 9, **15**) est réduite par la HCDBR en *p*-dihydrocoumaroyl-CoA (**37**), suivie de l'utilisation de l'enzyme CHS conjointement avec trois malonyl-CoA pour obtenir la phlorétine (**30**); (Ibdah *et al.* 2018) suggèrent que les autres DHCs, substituées en position C-4, seraient biosynthétisées suivant la formation de la phlorétine (**30**) par l'usage de différentes enzymes. C'est à partir de cette supposition que la figure 9 a été réalisée proposant une voie de biosynthèse pour chacune des DHCs utilisées dans la présente étude, soit : la 2',4',6'-trihydroxydihydrochalcone (**29**), la phlorétine (**30**), la 2',4',6'-trihydroxy-4-méthoxydihydrochalcone (**31**), la 4,2',6'-trihydroxy-4'-méthoxydihydrochalcone (**32**) et son glycoside, l'asébotine (**33**) (Ibdah *et al.* 2018). Il est également à noter que (Yan *et al.* 2005) ont utilisé une voie de biosynthèse similaire à l'aide de souche de levure *Saccharomyces cerevisiae* génétiquement modifiée pour la synthèse de différents dérivés flavanones.

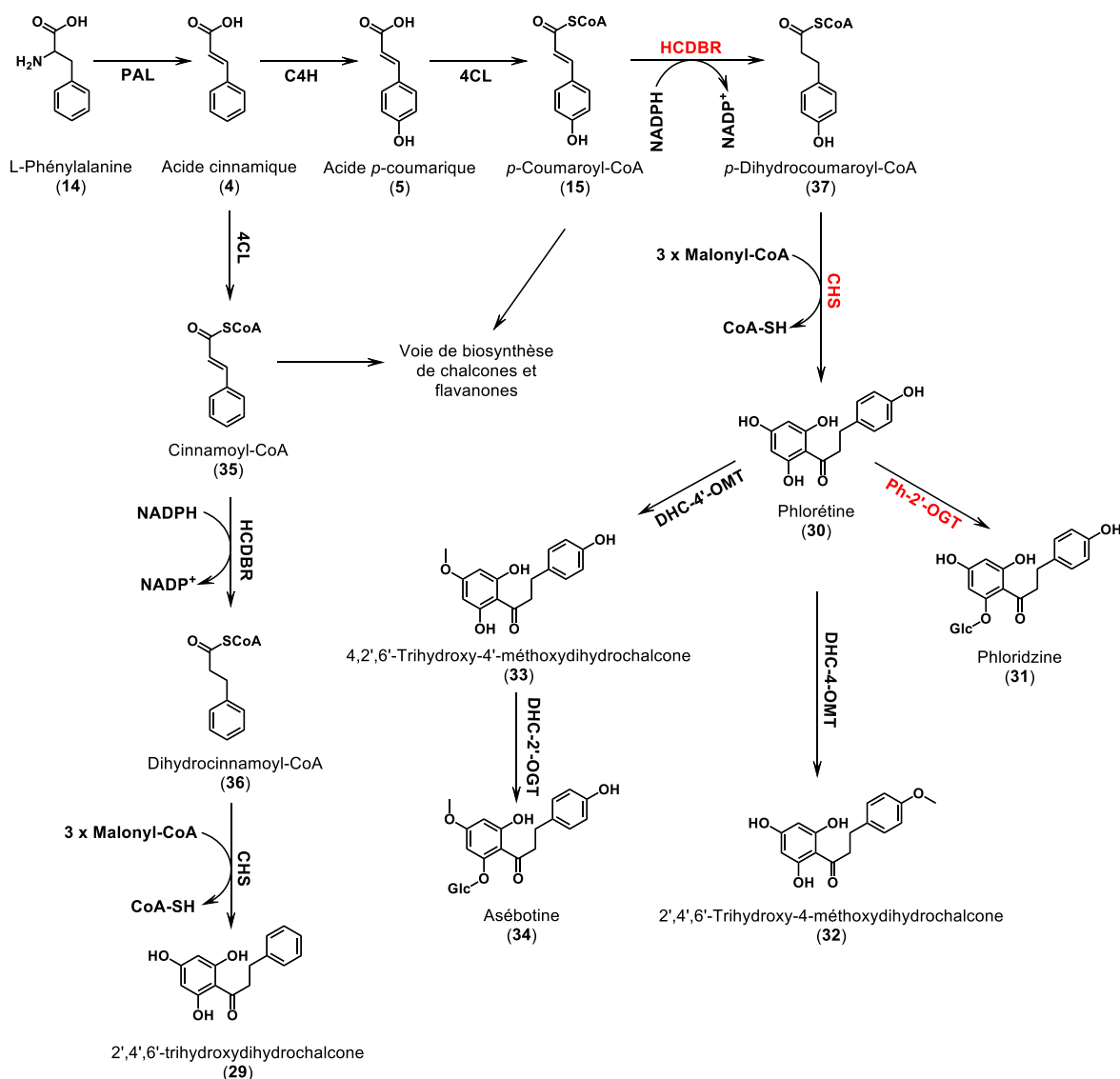


Figure 9. Voies de biosynthèses proposées pour plusieurs dérivés DHCs hydroxylés, glycosylés et méthylés.

PAL, phenylalanine ammonia-lyase; **CH4**, cinnamate 4-hydroxylase; **4CL**, 4-coumarate : CoA ligase; **HCDBR**, hydroxycinnamoyl-CoA double-bound reductase; **CHS**, chalcone synthase; **Ph-2'-OGT**, phloretin-2'-O-glycosyltransferase; **OMT**, O-methyltransferase et **DHC-2'-OGT**, dihydrochalcone-2'-O-glycosyltransferase.

Les gènes/enzymes marqués en rouge ont été caractérisés biochimiquement à partir de *Malus*.

Figure inspirée de (Ibdah *et al.* 2018).

2.3.3. La synthèse totale des DHCs

La synthèse totale des DHCs découle de la synthèse des flavanones qui est bien documentée (Sato *et al.* 2006; Wang *et al.* 2013; Nguyen *et al.* 2015). Elle est effectuée en quatre étapes, dont les trois premières sont communes avec la synthèse des flavanones et des chalcones, alors que la quatrième étape est la réduction de la double liaison pour transformer la chalcone en DHC (Burmaoğlu 2017; Jesus *et al.* 2017; Hu *et al.* 2018).

La première étape consiste en la protection des fonctions hydroxyles d'un trihydroxyacétophénone ou dérivé méthylé (figure 10, **37** et **38**), par des groupements méthoxyméthyles (MOM) en position C-4 et/ou C-6 en utilisant du chlorométhoxyméthane (MOMCl) avec une base telle que K_2CO_3 dans l'acétone à TA (Nguyen *et al.* 2015), par une réaction de substitution nucléophile bimoléculaire (S_N2) (Vollhardt et Schore 2009). Il existe différents groupements protecteurs pouvant être utilisés pour la protection des polyphénols, tels que les groupements benzyles (Sato *et al.* 2006), benzoates, acétates et éthers de 2-méthoxyéthoxyméthyles (SynArchive 2019), mais le MOM est le plus largement utilisé pour la synthèse de flavonoïdes (Wang *et al.* 2013; Nguyen *et al.* 2015; Burmaoğlu 2017).

La seconde réaction est une condensation de Claisen-Schmidt entre le trihydroxyacétophénone ou dérivé méthylé protégé (**39** et **40**) et un benzaldéhyde, substitué en para ou non (**41** à **43**), en milieu basique (Burmaoğlu 2017). L'acétophénone est d'abord déprotoné pour former un ion énolate qui attaque ensuite l'aldéhyde pour former un aldol; il s'ensuit une déprotonation du carbone en α de la cétone par la base, pour former une double liaison après déshydratation, produisant les différents dérivés méthoxyméthoxyhydroxychalcones (**44** à **47**) (Levy 2019). La troisième étape est une déprotection des groupements MOM par hydrolyse acide dans l'EtOH (Nguyen *et al.* 2015) ou dans le MeOH (Wang *et al.* 2013; Burmaoğlu 2017), menant aux dérivés hydroxychalcones (**48** à **51**). La quatrième et dernière étape est la réduction de la double liaison des carbones α et β ainsi que la déprotection des groupements benzyles en position C-4 du cycle B des chalcones (**49** et **51**). Ceci peut être effectué en une seule étape en utilisant Et_3SiH comme réducteur

catalysé par du Pd/C dans un mélange AcOEt/MeOH à TA pour l'obtention des DHCs voulues (**29**, **30**, **32** et **33**). Cette méthode est reconnue pour être plus rapide, sans danger d'explosion et pour offrir de meilleurs rendements (Santra *et al.* 2013; Jesus *et al.* 2017) que la méthode classique de réduction des alcènes et/ou déprotection de groupements benzyles utilisant du gaz H₂ catalysé au Pd/C dans le MeOH (Huang *et al.* 2015; Burmaoğlu 2017).

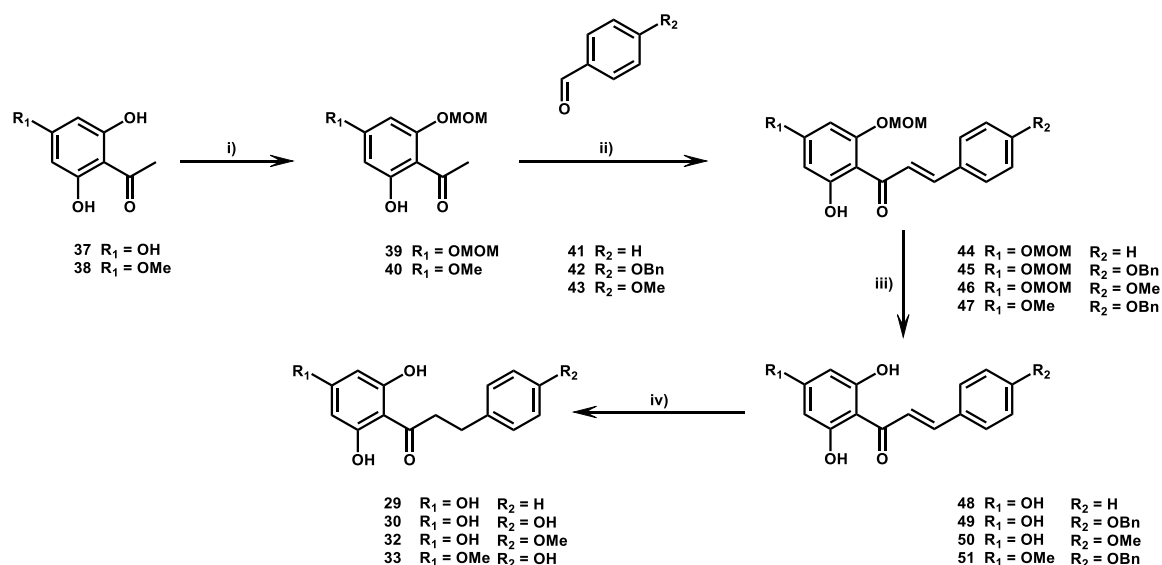


Figure 10. Voie de synthèse totale pour différentes dihydrochalcones.

i) MOMCl, K₂CO₃, acétone, TA (Nguyen *et al.* 2015); ii) benzaldéhyde ou *p*-méthoxybenzaldéhyde ou 4-benzyloxybenzaldéhyde, KOH, MeOH, 25°C (Burmaoğlu 2017); iii) HCl (aq.), EtOH, TA (Nguyen *et al.* 2015); iv) Et₃SiH, Pd/C, EtOAc, MeOH, TA (Jesus *et al.* 2017).

2.3.4. Les DHCs de la forêt boréale

La forêt boréale est une source sous exploitée de composés bioactifs. Effectivement, peu d'études sont menées sur les plantes qu'elle contient. Malgré tout, quelques DHCs (figure 9) ont déjà été identifiées en provenance de différentes plantes, notamment la phlorétine (**30**) et son glycoside, la phloridzine (**31**), qui sont présents dans différentes variétés de *Malus*. C'est le cas pour le *Malus pumila* Mill. (pommier nain) (Cui *et al.* 2019), qui est répandu à travers la forêt boréale (Marie-Victorin *et al.* 2002). La phlorétine (**30**) et

la phloridzine (**31**) peuvent être présentes dans les fruits, les fleurs, les feuilles et les branches de cet arbre (Cui *et al.* 2019). La phloridzine (**31**) est utilisée comme antidiabétique pour sa capacité à réduire le glucose sanguin (Ehrenkranz *et al.* 2005). Les parties aériennes du *Kalmia augustifolia* L. contiennent de l'asébotine (**34**) (Harborne 2019). Il s'agit d'un glycoside de la 4,2',6'-trihydroxy-4'-méthyldihydrochalcone (**33**) qui peut également être isolé à partir du *Guibourtia tessmannii*, utilisé en médecine traditionnelle africaine pour traiter la gonorrhée et l'hypertension, pour prévenir l'avortement et en tant qu'anthelminthique (Nkengfack *et al.* 2001).

La myrigalone A (figure 11, **52**) est une DHC isolée du fruit de l'arbuste *Myrica gale* L. (Myrique baumier) qui possède des propriétés phytotoxiques contre les plantes envahissantes (Marie-Victorin *et al.* 2002; Popovici *et al.* 2011). Deux autres DHCs sont présentes dans les fruits de *Empetrum nigrum* L. (camarine noire); il s'agit de la 2',4'-dihydroxy- α,β -dihydrochalcone (**53**) et de la 2'-méthoxy-4'-hydroxy- α,β -dihydrochalcone (**54**). Ces DHCs possèdent des activités antimicrobiennes (Krasnov *et al.* 2000; Marie-Victorin *et al.* 2002; Jurikova *et al.* 2016).

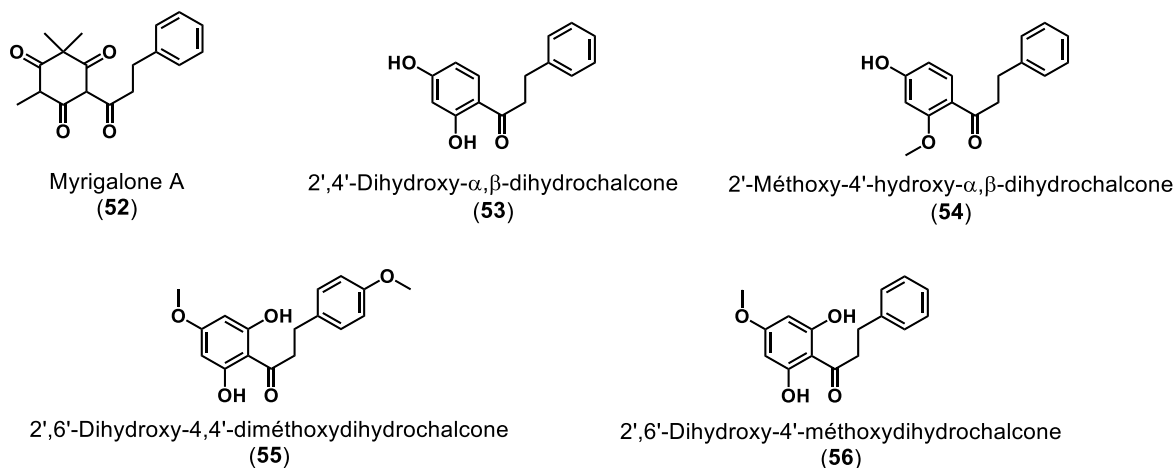


Figure 11. Structures de différentes DHCs isolées du *Myrica gale* L., de *Empetrum nigrum* L. et du *Populus balsamifera* L. (Krasnov *et al.* 2000; Popovici *et al.* 2011; Lavoie *et al.* 2013).

Le genre *Populus* contient la plus grande variété de DHCs, dont les bourgeons du *Populus balsamifera* L. qui contiennent la 2',4',6'-trihydroxydihydrochalcone (**29**); la 2',4',6'-trihydroxy-4-méthoxydihydrochalcone (**32**); la 4,2',6'-trihydroxy-4'-méthoxydihydrochalcone (**33**); la 2',6'-dihydroxy-4,4'-diméthoxydihydrochalcone (**55**) et la 2',6'-dihydroxy-4'-méthoxydihydrochalcone (**56**) (Lavoie *et al.* 2013). Une majorité de ces DHCs seraient également présentes dans le *Populus trichocarpa* Torr. et Gray, une espèce de peuplier du littoral du Pacifique (Christov *et al.* 2006). Le *P. balsamifera* L. contient également les balsacones A (figure 12, **1**) à U2 (**75b**) qui sont des dérivés dihydrochalcones hydroxycinnamylés (Lavoie *et al.* 2013; Simard *et al.* 2014; Simard *et al.* 2015; Simard *et al.* 2016).

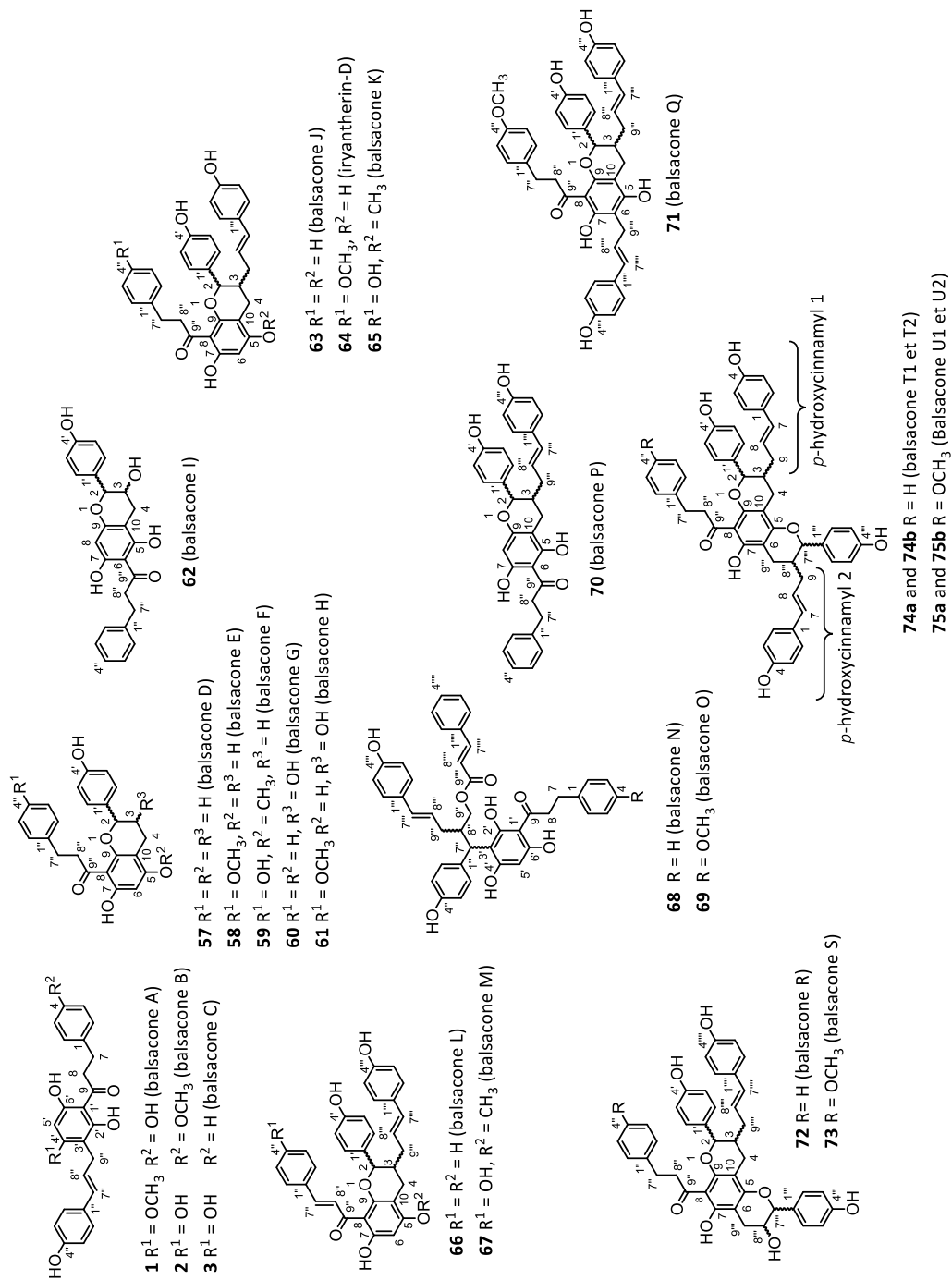


Figure 12. Structures des balsacones A (1) à U2 (75b).

Figure inspirée de (Simard *et al.* 2016).

2.4 LES ALKYLATIONS DE FRIEDEL-CRAFTS

2.4.1. Considérations générales

Les alkylations de FC de composés aromatiques représentent l'une des réactions les plus utilisées en chimie de synthèse organique pour la création d'une liaison C-C sur des aromatiques (Bandini et Umani-Ronchi 2009). C'est en 1887 que Charles Friedel et James Mason Crafts procédèrent à la synthèse de l'amylobenzène (figure 13, **78**) à partir du chlorure d'amylobenzène (**77**) et du benzène (**76**) en utilisant l'acide de Lewis AlCl_3 . Il s'agit de la première utilisation d'un acide de Lewis en synthèse organique et le premier exemple d'alkylation de FC, nommé d'après leurs inventeurs (Rueping et Nachtsheim 2010b).

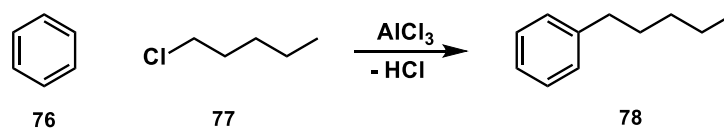


Figure 13. Première alkylation de Friedel-Crafts (FC) du chlorure d'amylobenzène (**77**) et du benzène (**76**) en utilisant AlCl_3 .

Développé par Friedel et Crafts (Rueping et Nachtsheim 2010b).

L'alkylation de FC classique peut être décrite comme étant la réaction d'un composé aromatique avec un halogénure d'alkyle catalysé par un acide de Lewis pour l'obtention d'un composé aromatique alkylé (figure 14).

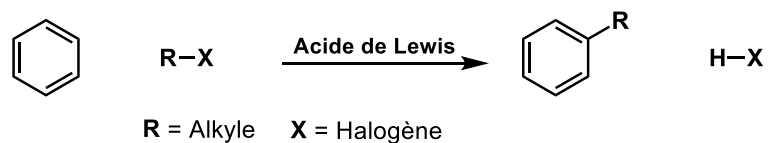


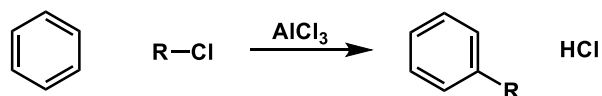
Figure 14. Schéma de base de l'alkylation de FC classique. (Ashenhurst 2019).

Le mécanisme d'alkylation de FC classique, décrit à la figure 15, s'explique en trois étapes. La première étape est l'activation de l'électrophile par l'acide de Lewis : l'halogénure d'alkyle attaque l'acide de Lewis pour former un complexe avec le métal, ce qui affaiblit la liaison alkyle halogène, il s'ensuit l'élimination de l'ion AlCl_4^- et la formation du carbocation; pour les halogénures d'alkyle primaire, l'étape suivante serait effectuée directement sur le complexe formé (sur le δ^+) sans formation d'un carbocation. La seconde étape est l'attaque de l'électrophile activée par le cycle aromatique, brisant l'aromaticité et formant un intermédiaire de Wheland (Boga *et al.* 2014). La troisième étape est la déprotonation du carbone alkylé par une base faible pour régénérer l'aromaticité du cycle (Ashenhurst 2019).

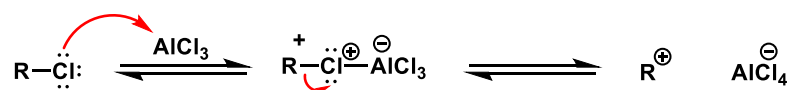
Les alkylations de FC comportent certaines limitations :

1. Certains carbocations, de trois carbones et plus, peuvent subir un réarrangement par déplacement d'hydrure (Farmer 2019), notamment en raison de la nature plus stable d'un carbocation secondaire versus un carbocation primaire (Ashenhurst 2019).
2. Les alkylations de FC sont défavorisées si le cycle aromatique est désactivé (Vuković *et al.* 2017; Farmer 2019) par des groupements tels que $-\text{CF}_3$, $-\text{NO}_2$, $-\text{SO}_3\text{H}$, etc. (Ashenhurst 2019).
3. Les produits formés par alkylation de FC sont plus réactifs que les composés de départ, puisqu'un substituant alkyle active le cycle aromatique le rendant de plus en plus réactif, ce qui cause des polyalkylations (Farmer 2019).

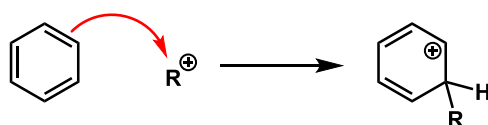
Mécanisme d'alkylation de Friedel-Crafts classique



Étape 1: Activation de l'électrophile par l'acide de Lewis



Étape 2: Attaque de l'électrophile activé par l'aromatique



Étape 3: Déprotonation du carbone pour régénérer l'aromaticité

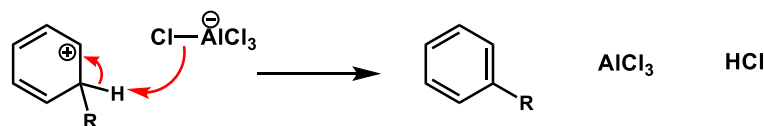


Figure 15. Mécanisme d'alkylation de FC classique.

(Ashenhurst 2019).

Durant une période de plus de 100 ans après la première alkylation de FC, ces réactions étaient limitées à l'utilisation d'halogénures d'alkyles toxiques et des quantités stœchiométriques d'acides de Lewis ou d'acides de Brønsted menant à de grandes quantités de sels comme sous-produits. C'est en 1996 que la première publication d'une méthode catalytique d'alkylation de FC, utilisant des alcools benzyliques et allyliques (Rueping et Nachtsheim 2010b), à vue le jour par (Tsuchimoto *et al.* 1996b) en utilisant $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ en tant qu'acide de Lewis résistant au produit secondaire formé, soit l'eau, remplaçant ainsi les sels d'halogènes. La même année, ce groupe publia un article traitant de la benzylation FC réductive d'arèncarbaldéhydes, utilisant du propane-1,2-diol et $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ comme catalyseur (Tsuchimoto *et al.* 1996a). L'année d'après, (Shimizu *et al.* 1997) ont publié la première méthode d'alkylation de FC catalytique utilisant des styrènes avec $\text{Mo}(\text{CO})_6$ comme

catalyseur. En 2006, (Mertins *et al.* 2006) procèdent à la benzylation de FC d'arène et d'hétéroarènes avec des acétates de benzyles. Peu de temps après, (Wang *et al.* 2008) effectuent la benzylation de FC d'arènes utilisant différents éthers de benzyles avec FeCl₃ comme catalyseur. Une multitude de nouvelles méthodes employant divers acides de Lewis tels que : AlBr₃, GaCl₃, FeCl₃, SbCl₅, TiCl₄, ZnCl₂, SnCl₄, BCl₃, BF₃, acides boroniques (McCubbin *et al.* 2010a; Ricardo *et al.* 2015a) et acides de Brønsted tels que : HF, H₃PO₄, H₂SO₄ (Bandini et Umani-Ronchi 2009), benzènesulfonique et l'APTS (Sanz *et al.* 2006), suivirent dans les dernières décennies.

2.4.2. Stratégie de synthèse des balsacones et leurs analogues par alkylation de Friedel-Crafts

La stratégie de synthèse des balsacones et analogues (figure 16), passe par une alkylation de FC entre un alcool allylique et une DHC. La méthode sera optimisée pour la synthèse de la balsacone A (**1**) par l'alkylation de FC de l'alcool *p*-coumarylique (**10**) et de la 4,2',6'-trihydroxy-4'-méthoxydihydrochalcone (**33**). Cette dernière peut facilement être obtenue par hydrolyse acide de l'asébotine (**34**), qui est un glycoside abondant dans le *Kalmia augustifolia* L. (Harborne 2019). Une fois la méthode optimisée pour la synthèse de la balsacone A (**1**), celle-ci pourra être utilisée pour la synthèse des balsacones B (**2**) et C (**3**) par alkylation de FC de l'alcool *p*-coumarylique (**10**) avec la 2',4',6'-trihydroxy-4-méthoxydihydrochalcone (**32**) ou la 2',4',6'-trihydroxydihydrochalcone (**29**), respectivement toutes deux isolées des bourgeons de *Populus balsamifera* L. (Lavoie *et al.* 2013). Ensuite, de nouveaux analogues seront créés avec les différents alcools allyliques et DHCs disponibles.



Figure 16. Stratégie de synthèse des balsacones et analogues par alkylation de FC.

En premier lieu, l'alkylation de FC sera tentée sans l'utilisation classique de groupements protecteurs, notamment en utilisant l'acide 2,3,4,5-tetrafluorophénylboronique dans du DCM à TA. Cet acide catalyse la réaction en formant un complexe avec l'alcool allylique, qui résulte en la perte de la fonction alcool, formant un intermédiaire méthylène quinone très réactif ou un carbocation qui est attaqué par le cycle aromatique le plus riche en électrons de la DHC, formant la balsacone ou l'analogue voulu après le rétablissement de l'aromaticité, suite à la perte d'un proton (McCubbin *et al.* 2010a; Ricardo *et al.* 2015a). Si ce catalyseur ne s'avère pas adéquat pour les substrats utilisés, d'autres catalyseurs pourront être envisagés tels que : des acides de Brønsted (Sanz *et al.* 2006), du chlorure d'or (III) (Rao et Chan 2008), des catalyses au calcium (Niggemann et Meel 2010), etc. Si les rendements d'alkylation de FC ne sont pas assez élevés, même après optimisation, les méthodes classiques de protection de polyphénols devront être testées, telles que : O-benzylation (Kuwano et Kusano 2008), O-acétylation (Lugemwa *et al.* 2013), O-méthoxyméthylation (Hoarau et Pettus 2003), tert-butyldiméthylsilylation (Burmaoğlu 2017), etc.

CHAPITRE 3

ARTICLE SCIENTIFIQUE

3.1 RÉSUMÉ DE L'ARTICLE

La préparation de molécules bioactives à partir de substrats issus de la biomasse est une approche pertinente pour remplacer les ressources fossiles. Bien que les produits naturels possèdent des patrons de substitution facilitant l'accès aux molécules polyfonctionnelles, seules quelques familles de composés biosourcés ont été valorisées de cette manière. Des dihydrochalcones renouvelables et des alcools cinnamyliques ont été combinés dans une hémisynthèse rapide des balsacones A, B et C. Un protocole d'une seule étape d'alkylation de Friedel-Crafts catalysé par un acide de Brønsted sans métaux ou groupements protecteurs a permis la préparation de ces composés antibactériens. De plus, de nouveaux analogues étaient facilement accessibles grâce à la diversité des précurseurs biosourcés.

Mots clés : Espace chimique dérivé de la biomasse - Synthèse durable - Synthèse sans groupement protecteur - Produits naturels – Dihydrochalcones – Antibiotiques.

3.2 ARTICLE - EXPLORING THE BIOMASS-DERIVED CHEMICAL SPACE EMERGING FROM NATURAL DIHYDROCHALCONES THROUGH THE SINGLE-STEP HEMISYNTHESIS OF ANTIBACTERIAL BALSACONES

Jérôme Alsarraf, Jean-François Bilodeau, Jean Legault, François Simard and André Pichette**

Centre de recherche sur la Boréale (CREB), Laboratoire d'analyse et de séparation des essences végétales (LASEVE), Département des sciences fondamentales, Université du Québec à Chicoutimi, 555 boulevard de l'Université, Chicoutimi (Qc), Canada, G7H 2B1.

Corresponding Authors

jerome1_alsarraf@uqac.ca, +1 418 545 5011 ext. 2273 (J. Alsarraf)

andre_pichette@uqac.ca, +1 418 545 5011 ext. 5081 (A. Pichette)

Keywords: Biomass-derived chemical space, sustainable synthesis, protective-group-free synthesis, natural products, dihydrochalcones, antibiotics.

ABSTRACT: The preparation of bioactive molecules from biomass substrates is a relevant approach to replace fossil resources. The substitution patterns of natural products facilitate the access to polyfunctional molecules; yet, only few families of bio-sourced compounds have been valued in this way. Renewable dihydrochalcones and cinnamyl alcohols were combined in an expedient hemisynthesis of balsacones A, B, and C. These potent antibacterial compounds were prepared following a single-step Brønsted acid catalyzed metal- and protective-group-free Friedel-Crafts alkylation protocol. Novel analogues were also readily accessible relying on the diversity of bio-sourced precursors.

INTRODUCTION

While today's chemical industry is still mainly based on fossil feedstock, the depletion of these non-renewable resources combined with the environmental impacts of the oil industry urges the development of biorefineries for the sustainable production of organic chemicals.(Okkerse et van Bekkum 1999; Clark *et al.* 2006) Currently, the scope of

biorefineries in mainly focused on biofuels. Yet, the high production volumes of biofuels rose concerns about the sustainability of this biomass utilization and it is considered that biorefineries should also target chemicals with higher added-value.(Liu *et al.* 2015) Interestingly, biomass-derived building blocks, and more specifically wood-based chemicals – or xylochemicals – display diverse heteroatom substitution patterns that are lacking in fossil resources.(Vandenbroucke et Largeau 2007) Therefore, building blocks from wood or plants have been involved in the synthesis of bioactive natural products(Stubba *et al.* 2015; Kühlborn *et al.* 2019; Kühlborn *et al.* 2020) and fine chemicals,(Kühlborn *et al.* 2017) and the expansion of the chemical space that is accessible from biomass is drawing increasing attention.(Brun *et al.* 2017)

Balsacones **1** (Figure 17) are a family of cinnamylated dihydrochalcones isolated recently from the buds of *Populus balsamifera*.(Lavoie *et al.* 2013; Simard *et al.* 2014) Their original scaffold displayed attractive anti-microbial properties especially against the gram-positive pathogen *Staphylococcus aureus* and its methicillin resistant counterparts (MRSA).(Simard *et al.* 2015) Interestingly, a preliminary investigation on the mechanism of action of balsacone C showed that it did not induce resistance on treated MRSA.(Côté *et al.* 2019) As the increase in antibiotic resistance has become a central preoccupation worldwide, the development of new classes of antibiotics that circumvent resistance mechanisms is urgently needed.(Chellat *et al.* 2016) Balsacones also featured potent anti-psoriatic properties on an *in vitro* psoriatic skin model.(Bélanger *et al.* 2020) However, the tedious purification procedures and low isolation yields of balsacones restrained the perspectives of further applications. For this reason, the development of a synthetic route to these compounds appeared as a valid alternative for their production.

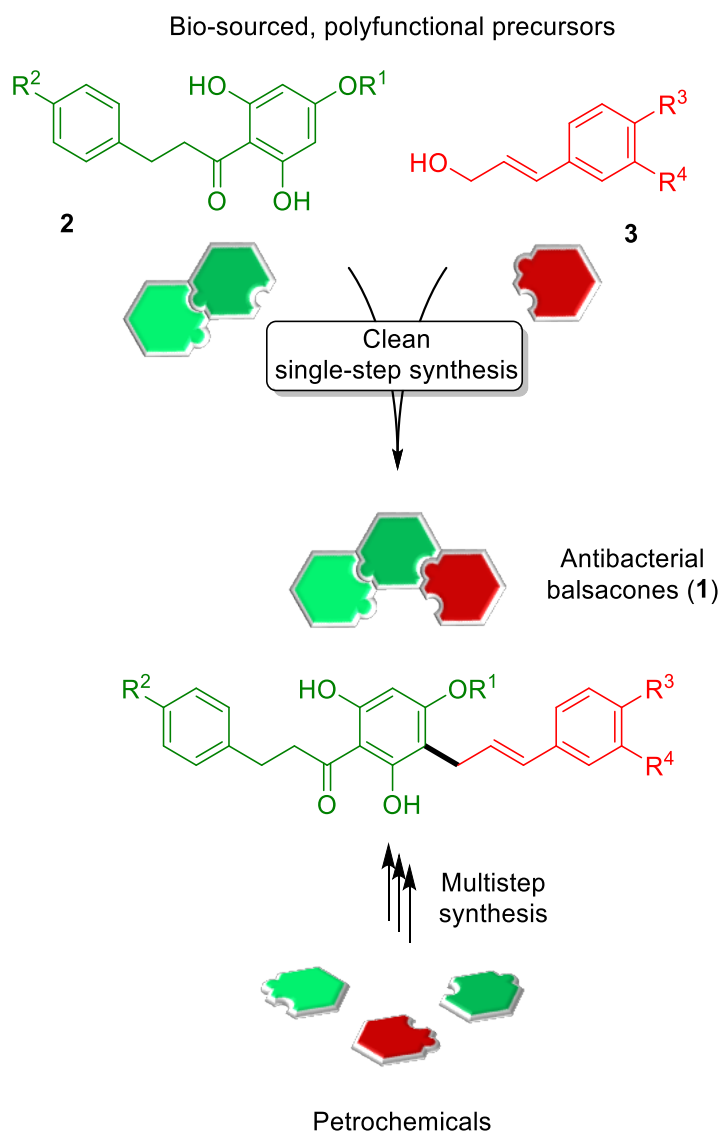


Figure 17. Schematic representation of the single-step hemisynthesis of balsacones **1** from renewable, polyfunctional, bio-sourced precursors vs. multistep synthesis of balsacones **1** from non-renewable petrochemicals.

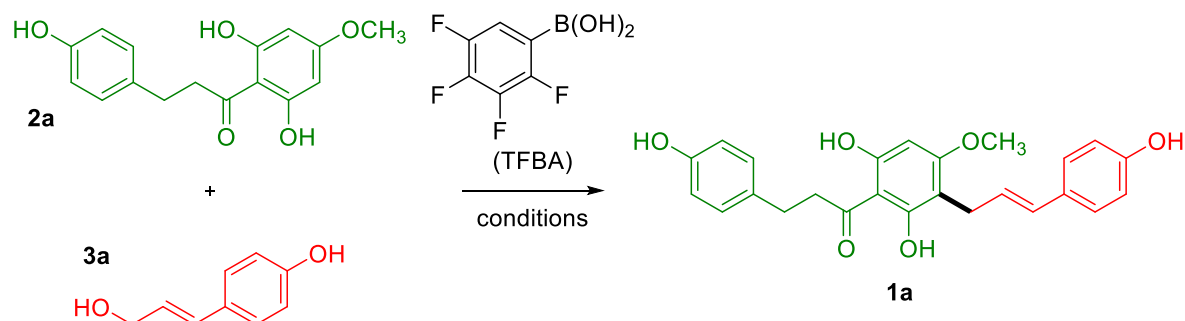
The direct cinnamylation of dihydrochalcones is a plausible biosynthetic route to balsacones.(Conserva *et al.* 1990) Nevertheless, the construction of a dihydrochalcone scaffold from petrochemicals would likely rely on tedious synthetic sequences(Burmaoğlu 2017) including protection steps, differentiation of phenol functions and a Friedel-Crafts acylation using harmful reagents.(Clark 1999) On the other hand, several dihydrochalcones **2**

are abundant in various plant extracts(Rivière 2016; Stompor *et al.* 2019) or readily accessible by the microbial or catalytic transformation of naturally occurring flavanones.(Krishnamurty et Sathyanarayana 1989) For instance, neohesperidin dihydrochalcone, a sweetener that is widely used in food industry, is obtained by hydrogenation of neohesperidin, a flavanone that represent more than 25 % of dry fruits from some *Citrus aurantium* cultivars.(Río *et al.* 1997) Dihydrochalcones could therefore be appealing polyfunctional primary frameworks for the hemisynthesis of balsacones and analogues.(Morrison et Hergenrother 2014) Besides, allyl alcohols have recently emerged as valuable sustainable reagents for alkylation reactions.(Bandini et Tragni 2009) They are greener options than the corresponding allyl halides for Friedel-Crafts alkylation as their production saves an halogenation step using harmful reagents and their catalytic conversion generates water as the only by-product.(Constable *et al.* 2007) More specifically, cinnamyl alcohols **3** are either naturally available or easily obtained from their ubiquitous carboxylic acid counterparts following a straightforward esterification/reduction sequence.(Quideau et Ralph 1992) For these reasons, the synthesis of balsacones appeared as a relevant case study for the expansion of the biomass-derived chemical space to previously untapped precursors. It would combine naturally occurring dihydrochalcones and bio-sourced cinnamyl alcohols under green conditions to produce promising bioactive molecules. The protective-group-free and dehydrative nature of the process would translate into a 100 % Carbon Economy (CE) and a 96 % Atom Economy (AE).(Sheldon 2018) Besides, the broad spectrum of functionalization patterns available on the readily available starting materials could lead to the discovery of novel analogues displaying improved biological activities, as Nature remains a fundamental source of structural diversity for drug discovery.(von Nussbaum *et al.* 2006; Newman et Cragg 2012; Rodrigues *et al.* 2016) In this perspective, the valorization of biomass-derived building blocks would also be a powerful tool for the determination of structure-activity relationships. Herein we demonstrate that balsacones and analogues can be readily prepared from renewable starting materials following a sustainable, room temperature, catalytic, protective-group- and metal-free single-step Friedel-Crafts alkylation procedure.

RESULTS AND DISCUSSION

Our first objective was to establish the first synthesis of balsacone A (**1a**) using dihydrochalcone **2a**. **2a** was isolated from the buds of *P. balsamifera* and could also be obtained quantitatively by acidic hydrolysis of asebotin, an abundant constituent of *Kalmia latifolia*.(El-Naggar *et al.* 1980) Several catalytic methods have been described during the past few years for Friedel-Crafts alkylations involving allyl alcohols.(Rueping *et al.* 2010a) We initially focused our efforts on the recent work from the groups of McCubbin(McCubbin *et al.* 2010a) and Hall(Ricardo *et al.* 2015a) who developed an efficient Friedel-Crafts alkylation protocol using various allyl alcohols in the presence of a catalytic amount of 2,3,4,5-tetrafluorophenylboronic acid (TFBA) in chlorinated solvents or in a mixture of hexafluoroisopropanol (HFIP) and nitromethane (Table 1). However, when dihydrochalcone **2a** was treated with 4-hydroxycinnamyl alcohol (**3a**) in the presence of TFPBA in dichloromethane, only traces of balsacone A (**1a**) were observed on the chromatographic monitoring of the reaction after 16 h of agitation at room temperature (Table 1, entry 1). The yield did not exceed 45 % (Table 1, entry 4) even in the best tested conditions, *ie* when the transformation was conducted in refluxing chloroform for 4 days and with a catalytic loading as high as 40 mol%. These underwhelming results highlighted the challenge of transposing a well-established method to unprotected natural substrates. As both unreacted substrates **2a** and **3a** were cleanly reisolated after the reaction, the poor solubility of dihydrochalcone **2a** in chlorinated solvents could be responsible for the low recorded conversion. The phenol functions of **2a** could also act as Lewis bases that are likely to interact with the Lewis acid catalyst and could thus disrupt the catalytic mechanism.

Table 1. Initial attempts to produce balsacone A (**1a**) following a Friedel-Crafts alkylation protocol in the presence of 2,3,4,5-tetrafluorophenylboronic acid



Entry	Ratio 2a:3a	Catalyst (mol%)	Solvent	Temp.	Time (h)	Yield ^a (%)
1	1:1	10	CH ₂ Cl ₂	RT	16	n.d. ^b
2	1:1	20	(CH ₂ Cl) ₂	Reflux	3.5	19
3	2:1	40	HFIP/CH ₃ NO ₂	RT	168	9 ^c
4	4:1	40	CHCl ₃	Reflux	96	45

^a Isolated Yield; ^b only traces of **1a** were observed on the HPLC analysis of the crude mixture; ^c yield estimated by HPLC analysis of the crude mixture.

We thus considered a methodological adjustment taking these hypotheses into account. The use of 4-toluenesulfonic acid (PTSA) appeared as a relevant alternative to TFBA as Friedel-Crafts alkylations have already been described using this catalyst in polar solvents such as acetonitrile. (Sanz *et al.* 2006) Besides, allyl alcohols have become relatively general in dehydrative alkylation processes, but very few examples using 4-hydroxycinnamyl alcohol (**3a**) have been reported. (Shibuya *et al.* 2014) While a cationic intermediate is generated upon dehydration of other allyl alcohols, a quinone methide would be obtained from **3a**. As PTSA is a stronger Brønsted acid than TFBA ($pK_a = 0.90$ for PTSA (Kütt *et al.* 2006) vs. 6.00 for TFBA (Ricardo *et al.* 2015a) in DMSO), it could be a more suitable

activator for 4-hydroxycinnamyl alcohol **3a**. The putative quinone methide intermediate resulting from the dehydration of alcohol **3a** could, in turn, be activated by protonation, giving rise to a more electrophilic cationic counterpart (Figure 18).(Poss et Belter 1988)

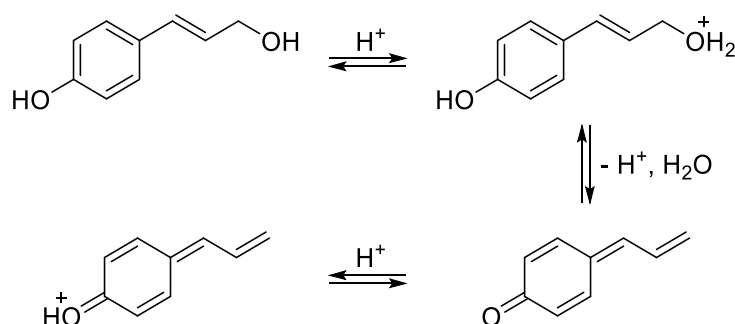
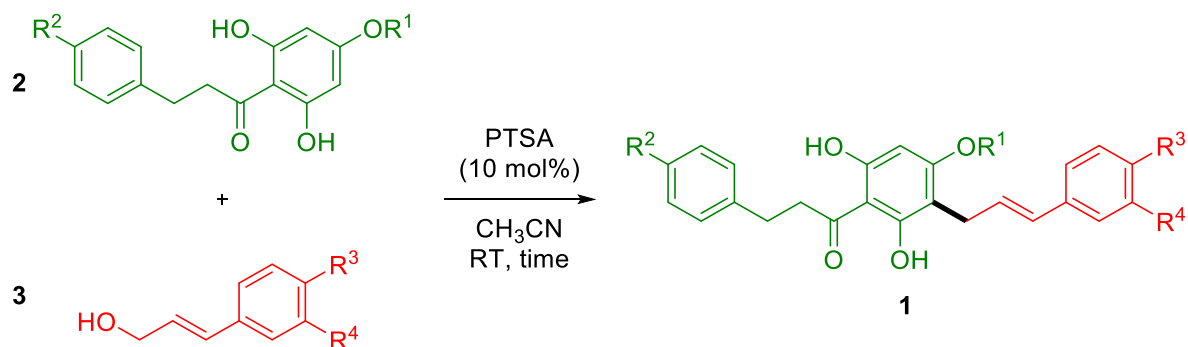


Figure 18. Hypothetical Brønsted acid activation of the conjugated quinone methide obtained upon dehydration of 4-hydroxycinnamyl alcohol (**3a**) according to ref.(Poss et Belter 1988)

Pleasingly, the substrates appeared to be highly soluble in acetonitrile enabling for the reaction to be carried out at high concentration. This solvent switch also improved the procedure as acetonitrile is considered as a far better option than chloroform or nitromethane in terms of safety and environmental impacts.(Alder *et al.* 2016; Prat *et al.* 2016) Dihydrochalcone **2a** and allyl alcohol **3a** reacted smoothly in equimolar proportions in the presence of 5 mol% of PTSA, affording the desired alkylation product in an encouraging 25 % yield after 30 minutes of agitation at room temperature (Table 2, entry 1). As the HPLC-MS monitoring of the reaction showed the presence of undesired polyalkylation by-products, the molar ratio **2a:3a** was increased to 2:1 (Table 2, entry 2) and 4:1 (Table 2, entry 3) raising the yield to 65 % after flash chromatography on reverse-phase silica gel using water and methanol as the eluent. Only traces of product were observed in the presence of 2.5 mol% of PTSA (Table 2, entry 5), defining a limitation to the protocol. On the other hand, increasing the catalytic loading to 10 mol% brought the yield to 70 % (Table 2, entry 4). The remaining 30 % were attributed to double alkylation side-reactions that depleted the amount of alcohol **3a** available to react with dihydrochalcone **2a**. The corresponding side-products were not isolated but unambiguously observed on the HPLC-MS monitoring of the reaction

with M/Z values of 551 [M – H]⁻ corresponding to the addition of two 4-hydroxycinnamyl moieties onto the dihydrochalcone scaffold. Nevertheless, a Reaction Mass Efficiency (RME)(Sheldon 2018) of 47 % was calculated considering that 79 % of the unreacted dihydrochalcone were recovered after chromatography. An attempt to replace acetonitrile by ethyl acetate led to a slower reaction providing 55 % of balsacone A after 25 h at room temperature (Table 2, entry 6) making ethyl acetate another suitable solvent for the transformation. However, the method was extended using acetonitrile as it provided higher conversions in shorter reaction times. The synthesis of balsacones B (**1b**) and C (**1c**) was carried out using dihydrochalcones **2b-c** isolated from the buds of *P. balsamifera* (Table 2, entries 7 and 8). The expected products were obtained in 51 and 56 % yields, respectively, which was considered as satisfying given that the procedure was conducted directly on unprotected natural products and that the main part of the unreacted dihydrochalcones **2b-c** was reisolated after chromatography.

Table 2. PTSA catalyzed synthesis of balsacones A, B, C and analogues

Entry	R ¹ , R ² (2)	R ³ , R ⁴ (3)	2:3 ^a	Time (h)	Product (yield) ^b
1 ^c	CH ₃ , OH (2a)	OH, H (3a)	1:1	0.5	1a (25 %)
2 ^c	CH ₃ , OH (2a)	OH, H (3a)	2:1	1.5	1a (34 %)
3 ^c	CH ₃ , OH (2a)	OH, H (3a)	4:1	6	1a (65 %)
4	CH ₃ , OH (2a)	OH, H (3a)	4:1	2	1a (70 %)
5 ^d	CH ₃ , OH (2a)	OH, H (3a)	4:1	24	1a (< 5 %)
6 ^e	CH ₃ , OH (2a)	OH, H (3a)	4:1	25	1a (55 %)
7 ^f	H, OCH ₃ (2b)	OH, H (3a)	4:1	2	1b (51 %)
8	H, H (2c)	OH, H (3a)	4:1	2	1c (56 %)
9 ^f	H, OH (2d)	OH, H (3a)	4:1	2	1d (56 %)
10	CH ₃ , OH (2a)	O CH ₃ , H (3b)	4:1	2	1e (63 %)
11 ^g	CH ₃ , OH (2a)	H, H (3c)	4:1	2	1f (40 %)
12	CH ₃ , OH (2a)	OH, O CH ₃ (3d)	4:1	2	1g (45 %) ^h

^a Molar ratio; ^b isolated yield; ^c performed with 5 mol% of catalyst; ^d performed with 2.5 mol% of catalyst; ^e performed in ethyl acetate instead of acetonitrile; ^f performed with 20 mol% of catalyst; ^g performed under reflux; ^h 21 % of dialkylation product **4** were also isolated.

We then wondered if our protocol could be expanded to the preparation of unnatural balsacone analogues using additional bio-sourced starting materials. Phloretin (**2d**) was selected as another representative example of renewable dihydrochalcone as it is readily obtained upon hydrolysis of its glucoside counterpart phloridzin, a major constituent of *Malus domestica* (apple tree) representing up to 14 % of dry leaves.(Gosch *et al.* 2010) Besides, an early study reported by Thaysen and Morris showed that treating apple seeds during 15 min in refluxing water provided directly crystalline phloridzin in a yield as high as 8 % of fresh seed weight.(Woodcock 1947) Phloretin (**2d**), featuring four unprotected hydroxyl groups, yielded 56 % of the novel balsacone analogue **1d** (entry 9). In the same fashion, 4-methoxycinnamyl alcohol (**3b**) reacted smoothly with dihydrochalcone **2a** affording the original derivative **1e** in 63 % yield (entry 10). Cinnamyl alcohol (**3c**) required heating to provide the expected alkylation product **1f** in a lower 40 % yield that was attributed to the lower reactivity of the substrate. Finally, coniferyl alcohol (**3d**) – obtained from ferulic acid – led to the formation of the alkylation product **1g** in a moderate 45 % yield. This was explained by the formation of a by-product **4** (Figure 19) resulting from a double alkylation-cyclization sequence. Interestingly, **4** is structurally related to other naturally occurring balsacones that also display appealing antibacterial properties.(Simard *et al.* 2015) While further optimization would be needed to improve the sequence leading to **4**, its formation indicated that such complex derivatives could also be readily accessible from the same renewable starting materials in a one-pot cascade reaction.

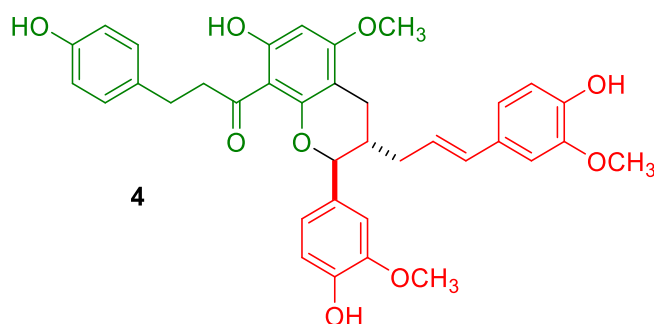


Figure 19. Structure of the product **4** resulting from a double alkylation-cyclization sequence.

Antibacterial activity of balsacones **1a-c** and analogues **1d-g** was evaluated *in vitro* against gram-negative *E. coli* and gram-positive *S. aureus* using gentamycin as a positive control. The results, presented in Table 3, are expressed as the minimal concentration inhibiting ninety percent of bacterial growth (MIC₉₀). As previously reported for isolated natural products,(Lavoie *et al.* 2013; Simard *et al.* 2014) the balsacones **1a-c** synthesized in this work (Table 3, entries 1-3) are active against *S. aureus* with MIC₉₀ ranging from 5 to 5.7 μ M and inactive against *E. coli*. As suggested with analogue **1d**, derived from phloretin, the nature of the dihydrochalcone scaffold seemed to have limited impact on the antibacterial activity of the corresponding alkylation product (Table 3, entry 4). In contrast, the substitution on the cinnamyl moiety had a higher influence on the biological activity. Indeed, suppression of the 4-hydroxy function (compound **1f**) decreased the activity (Table 3, entry 6) and its substitution by a methoxy group (compound **1e**) induced a loss of activity (Table 3, entry 5). These preliminary observations are promising as they indicate that the pharmacological properties of balsacones can be tuned by modulating the functionalization pattern of their precursors and encourage us to pursue our pharmaco-modulation efforts.

Table 3. Antibacterial activity of compounds **1a-g** and **4**

Entry	Product	MIC ₉₀ (μM) ^a	
		<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
1	1a	> 50	5 ± 1
2	1b	> 50	5.3 ± 0.5
3	1c	> 50	5.7 ± 0.9
4	1d	> 50	7.5 ± 0.7
5	1e	> 50	> 50
6	1f	> 50	36 ± 9
7	1g	> 50	16.5 ± 0.7
8	4	> 50	> 50
9 ^b	gentamycin	0.042 ± 0.001	0.06 ± 0.01

^a MIC₉₀ values ± SD (n = 3) are representative of two different experiments; ^b gentamycin was used as a positive control.

CONCLUSION

In summary, we demonstrated that balsacones can be readily prepared from naturally occurring dihydrochalcones and bio-sourced allyl alcohols following a mild, catalytic, single-step, metal- and protective-group-free Friedel-Crafts alkylation protocol. As preliminary illustrated with analogues **1d-g** and **4**, this strategy based on the expansion of the biomass-derived chemical space granted a straightforward access to several derivatives relying on the diversity of naturally occurring polyfunctional substrates. In turn, we believe that this sustainable approach could pave the way to the discovery of novel analogues with improved pharmacological properties. The synthesis of a library of derivatives from bio-sourced precursors and the detailed study of their structure-activity relationships are currently

ongoing in our labs and will be published in due course. The optimization of the one-pot cascade reaction leading to polyalkylation products such as **4** is also in progress to explore another dimension of the chemical space stemming from natural dihydrochalcones.

ASSOCIATED CONTENT

Supporting Information. The supporting information is available free of charge.

Experimental procedures, spectroscopic data, ^1H and ^{13}C NMR spectra of new compounds.

AUTHOR INFORMATION

Corresponding Authors

Prof Jérôme Alsarraf: jerome1_alsarraf@uqac.ca

Prof André Pichette: andre_pichette@uqac.ca

Author Contributions

All authors have given approval to the final version of the manuscript.

ACKNOWLEDGMENT

C. Dussault (UQAC) is gratefully acknowledged for biological assays.

ABBREVIATIONS

HPLC, high performance liquid chromatography; MS, mass spectrometry; NMR, nuclear magnetic resonance.

REFERENCES

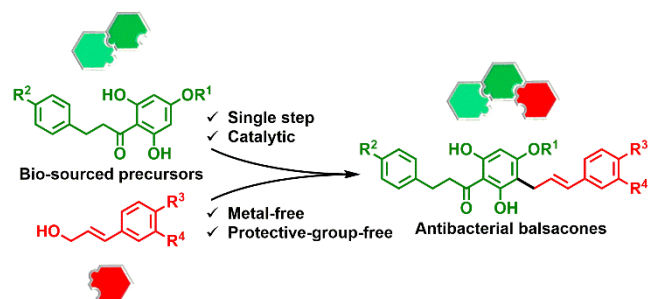
1. Okkerse, C.; van Bekkum, H., From fossil to green. *Green Chem.* **1999**, *1*, 107-114.
2. Clark, J. H.; Budarin, V.; Deswarte, F. E. I.; Hardy, J. J. E.; Kerton, F. M.; Hunt, A. J.; Luque, R.; Macquarrie, D. J.; Milkowski, K.; Rodriguez, A.; Samuel, O.; Tavener, S. J.; White, R. J.; Wilson, A. J., Green chemistry and the biorefinery: a partnership for a sustainable future. *Green Chem.* **2006**, *8*, 853-860.
3. Liu, J.; Mooney, H.; Hull, V.; Davis, S. J.; Gaskell, J.; Hertel, T.; Lubchenco, J.; Seto, K. C.; Gleick, P.; Kremen, C.; Li, S., Systems integration for global sustainability. *Science* **2015**, *347*, 1258832.
4. Vandenbroucke, M.; Largeau, C., Kerogen origin, evolution and structure. *Org. Geochem.* **2007**, *38*, 719-833.
5. Stubba, D.; Lahm, G.; Geffe, M.; Runyon, J. W.; Arduengo III, A. J.; Opatz, T., Xylochemistry—Making Natural Products Entirely from Wood. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 14187-14189.
6. Kühlbörn, J.; Konhäuser, M.; Groß, J.; Wich, P. R.; Opatz, T., Xylochemical Synthesis of Cytotoxic 2-Aminophenoxazinone-Type Natural Products Through Oxidative Cross Coupling. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2019**, *7*, 4414-4419.
7. Kühlbörn, J.; Groß, J.; Opatz, T., Making natural products from renewable feedstocks: back to the roots? *Nat. Prod. Rep.* **2020**, *37*, 380-424.
8. Kühlbörn, J.; Danner, A.-K.; Frey, H.; Iyer, R.; Arduengo, A. J.; Opatz, T., Examples of xylochemistry: colorants and polymers. *Green Chem.* **2017**, *19*, 3780-3786.
9. Brun, N.; Hesemann, P.; Esposito, D., Expanding the biomass derived chemical space. *Chem. Sci.* **2017**, *8*, 4724-4738.
10. Lavoie, S.; Legault, J.; Simard, F.; Chiasson, É.; Pichette, A., New antibacterial dihydrochalcone derivatives from buds of *Populus balsamifera*. *Tetrahedron Lett.* **2013**, *54*, 1631-1633.
11. Simard, F.; Legault, J.; Lavoie, S.; Pichette, A., Balsacones D-I, dihydrocinnamoyl flavans from *Populus balsamifera* buds. *Phytochemistry* **2014**, *100*, 141-149.
12. Simard, F.; Gauthier, C.; Chiasson, É.; Lavoie, S.; Mshvildadze, V.; Legault, J.; Pichette, A., Antibacterial Balsacones J–M, Hydroxycinnamoylated Dihydrochalcones from *Populus balsamifera* Buds. *J. Nat. Prod.* **2015**, *78*, 1147-1153.

13. Côté, H.; Pichette, A.; Simard, F.; Ouellette, M.-E.; Ripoll, L.; Mihoub, M.; Grimard, D.; Legault, J., Balsacone C, a New Antibiotic Targeting Bacterial Cell Membranes, Inhibits Clinical Isolates of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Without Inducing Resistance. *Front. Microbiol.* **2019**, *10*, 2341.
14. Chellat, M. F.; Raguž, L.; Riedl, R., Targeting Antibiotic Resistance. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 6600-6626.
15. Bélanger, A.; Grenier, A.; Simard, F.; Gendreau, I.; Pichette, A.; Legault, J.; Pouliot, R., Dihydrochalcone Derivatives from *Populus balsamifera* L. Buds for the Treatment of Psoriasis. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, 256.
16. Conserva, L. M.; Yoshida, M.; Gottlieb, O. R.; Martinez V, J. C.; Gottlieb, H. E., Iryantherins, lignoflavonoids of novel structural types from the myristicaceae. *Phytochemistry* **1990**, *29*, 3911-3918.
17. Burmaoğlu, S., Total Syntheses of Balsacone B and Balsacone C. *J. Turk. Chem. Soc. A Chem.* **2017**, 725-725.
18. Clark, J. H., Green chemistry: challenges and opportunities. *Green Chem.* **1999**, *1*, 1-8.
19. Rivière, C., Chapter 7 - Dihydrochalcones: Occurrence in the Plant Kingdom, Chemistry and Biological Activities. In *Studies in Natural Products Chemistry*, Atta ur, R., Ed. Elsevier: 2016; Vol. 51, pp 253-381.
20. Stompor, M.; Broda, D.; Bajek-Bil, A., Dihydrochalcones: Methods of Acquisition and Pharmacological Properties—A First Systematic Review. *Molecules* **2019**, *24*, 4468.
21. Krishnamurty, H. G.; Sathyanarayana, S., Catalytic Transfer Hydrogenation, A Facile Conversion of Hydroxyflavanones Into Hydroxydihydrochalcones. *Synth. Commun.* **1989**, *19*, 119-123.
22. Río, J. A. D.; Fuster, M. D.; Sabater, F.; Porras, I.; García-Lidón, A.; Ortuño, A., Selection of citrus varieties highly productive for the neohesperidin dihydrochalcone precursor. *Food Chem.* **1997**, *59*, 433-437.
23. Morrison, K. C.; Hergenrother, P. J., Natural products as starting points for the synthesis of complex and diverse compounds. *Nat. Prod. Rep.* **2014**, *31*, 6-14.
24. Bandini, M.; Tragni, M., π -Activated alcohols: an emerging class of alkylating agents for catalytic Friedel–Crafts reactions. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 1501-1507.

25. Constable, D. J. C.; Dunn, P. J.; Hayler, J. D.; Humphrey, G. R.; Leazer, J. J. L.; Linderman, R. J.; Lorenz, K.; Manley, J.; Pearlman, B. A.; Wells, A.; Zaks, A.; Zhang, T. Y., Key green chemistry research areas—a perspective from pharmaceutical manufacturers. *Green Chem.* **2007**, *9*, 411-420.
26. Quideau, S.; Ralph, J., Facile large-scale synthesis of coniferyl, sinapyl, and *p*-coumaryl alcohol. *J. Agr. Food Chem.* **1992**, *40*, 1108-1110.
27. Sheldon, R. A., Metrics of Green Chemistry and Sustainability: Past, Present, and Future. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2018**, *6*, 32-48.
28. von Nussbaum, F.; Brands, M.; Hinzen, B.; Weigand, S.; Häbich, D., Antibacterial Natural Products in Medicinal Chemistry—Exodus or Revival? *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 5072-5129.
29. Newman, D. J.; Cragg, G. M., Natural Products As Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. *J. Nat. Prod.* **2012**, *75*, 311-335.
30. Rodrigues, T.; Reker, D.; Schneider, P.; Schneider, G., Counting on natural products for drug design. *Nat. Chem.* **2016**, *8*, 531-541.
31. El-Naggar, S. a. F.; El-Feraly, F. S.; Foos, J. S.; Doskotch, R. W., Flavonoids From the Leaves of *Kalmia latifolia*. *J. Nat. Prod.* **1980**, *43*, 739-751.
32. Rueping, M.; Nachtsheim, B. J., A review of new developments in the Friedel-Crafts alkylation – From green chemistry to asymmetric catalysis. *Beilstein J. Org. Chem.* **2010**, *6*, DOI:10.3762/bjoc.6.6.
33. McCubbin, J. A.; Hosseini, H.; Krokhin, O. V., Boronic Acid Catalyzed Friedel-Crafts Reactions of Allylic Alcohols with Electron-Rich Arenes and Heteroarenes. *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 959-962.
34. Ricardo, C. L.; Mo, X.; McCubbin, J. A.; Hall, D. G., A Surprising Substituent Effect Provides a Superior Boronic Acid Catalyst for Mild and Metal-Free Direct Friedel-Crafts Alkylations and Prenylations of Neutral Arenes. *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 4218-4223.
35. Sanz, R.; Martínez, A.; Miguel, D.; Álvarez-Gutiérrez, J. M.; Rodríguez, F., Brønsted Acid-Catalyzed Nucleophilic Substitution of Alcohols. *Adv. Synth. Catal.* **2006**, *348*, 1841-1845.
36. Shibuya, R.; Lin, L.; Nakahara, Y.; Mashima, K.; Ohshima, T., Dual Platinum and Pyrrolidine Catalysis in the Direct Alkylation of Allylic Alcohols: Selective Synthesis of Monoallylation Products. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 4377-4381.

37. Kütt, A.; Leito, I.; Kaljurand, I.; Sooväli, L.; Vlasov, V. M.; Yagupolskii, L. M.; Koppel, I. A., A Comprehensive Self-Consistent Spectrophotometric Acidity Scale of Neutral Brønsted Acids in Acetonitrile. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 2829-2838.
38. Poss, A. J.; Belter, R. K., Vitamin C in organic synthesis: reaction with *p*-hydroxybenzyl alcohol derivatives. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 1535-1540.
39. Prat, D.; Wells, A.; Hayler, J.; Sneddon, H.; McElroy, C. R.; Abou-Shehada, S.; Dunn, P. J., CHEM21 selection guide of classical- and less classical-solvents. *Green Chem.* **2016**, *18*, 288-296.
40. Alder, C. M.; Hayler, J. D.; Henderson, R. K.; Redman, A. M.; Shukla, L.; Shuster, L. E.; Sneddon, H. F., Updating and further expanding GSK's solvent sustainability guide. *Green Chem.* **2016**, *18*, 3879-3890.
41. Gosch, C.; Halbwirth, H.; Stich, K., Phloridzin: Biosynthesis, distribution and physiological relevance in plants. *Phytochemistry* **2010**, *71*, 838-843.
42. Woodcock, D., Isolation of Phloridzin from Apple Seeds. *Nature* **1947**, *159*, 100-100.

FOR TABLE OF CONTENTS USE ONLY



Synopsis: The biomass-derived chemical space was expanded to previously untapped precursors and target molecules through the sustainable synthesis of antibacterial balsacones from natural dihydrochalcones and bio-sourced cinnamyl alcohols.

CHAPITRE 4

PARTIE EXPÉRIMENTALE

4.1 GÉNÉRAL

Sauf sous indications contraires, tous les produits de départ ont été achetés de sources commerciales (Sigma-Aldrich, Carbosynth), tous les DHCs, acides ou alcools allyliques achetés sont certifiés de sources végétales et ont été utilisés tels que reçus, sans purification supplémentaire. Les solvants anhydres ont été fournis par Sigma-Aldrich, les solvants ACS par Fisher et ils furent utilisés tels que reçus. Toutes les réactions ont été effectuées sous atmosphère d'argon, en utilisant des solvants anhydres, sauf sous indications contraires. Le suivi des réactions a été effectué par chromatographie sur couche mince (CCM) en utilisant des feuilles d'aluminium prélaquées de gel de silice phase normale 60 F₂₅₄ 0,25 mm et de gel de silice phase inverse 60 RP-18 F₂₅₄S 0,25 mm fourni par Silicycle. Les CCMs en phases normales ont été visualisées sous UV₂₅₄ ou avec des révélateurs de H₂SO₄ (20 % dans MeOH) sous UV₃₆₅ comme pour les CCMs en phase inverses. Les purifications par chromatographie éclair ont été effectuées à l'aide d'un système de chromatographie liquide à basse pression (Büchi) C-620 équipé d'un collecteur de fraction Büchi C-660 utilisant des colonnes de silice 60 (15-40 µm) ou C-18 (17 %) (40 -63 µm) provenant de Silicycle. Les purifications par chromatographie en phase liquide haute performance (CLHP) préparatives ont été effectuées à l'aide d'un système de chromatographie liquide préparatif Shimadzu LC-20AP équipé d'une colonne Kinetex 5 µ XB-C18 100 A NewColumn 250 X 21,2 mm, d'un échantillonneur automatique SIL-10AP Shimadzu et d'un collecteur de fractions FRC-10A Shimadzu. Les chromatogrammes CLHP analytiques ont été obtenus en utilisant un système CLHP Agilent 1100 équipé d'un détecteur UV-Vis à 210, 254, 280 et 365 nm et d'un détecteur de masse à 2000 V à un débit de 1 mL/min. Les colonnes utilisées étaient une Kinetex 5 µ de biphényle 100 A NewColumn et une Kinetex 5 µ XB-C18 100 A NewColumn de 250 X 4,6 mm. Les spectres RMN ont été enregistrés dans l'acétone-d₆, le méthanol-d₄, le chloroforme-d ou le diméthylsulfoxyde-d₆ en utilisant un spectromètre Bruker Avance 400 à 400,13 MHz (¹H) ou 100,61 MHz (¹³C). Les déplacements chimiques ont été signalés en ppm par rapport au TMS ou au pic résiduel de solvant en l'absence de TMS (MeOD δ_{H/C} 3,31/49,0 ppm; DMSO-d₆ δ_{H/C} 2,50/39,5 ppm)

(Fulmer *et al.* 2010). Les constantes de couplage J sont rapportées en Hertz (Hz) et les multiplicités avec les abréviations suivantes : s, singulet; d, doublet; t, triplet; q, quadruplet; m, multiplet. Les spectres HRMS ont été enregistrés sur un spectromètre de masse Agilent 6224 MS-TOF équipé d'une source d'électropulvérisation.

4.1.1. Matériel végétal

Les parties aériennes du kalmia à feuilles étroites (*Kalmia augustifolia* L.) ainsi que les bourgeons du peuplier baumier (*Populus balsamifera* L.) ont été récoltés dans la région du Saguenay–Lac-Saint-Jean, Québec.

4.2 EXTRACTION ET ISOLATION DES DHCS

Une masse de 50 g de bourgeons humides de *Populus balsamifera* L. est extraite au reflux avec de l'EtOH 95 % (3 X 100 mL); les extraits combinés sont évaporés par évaporateur rotatif pour l'obtention de l'extrait brut humide (17 g). 10 g de cet extrait ont été soumis à quatre étapes de fractionnements chromatographiques : une première sur colonne Diaion ® phase inverse avec éluant (MeOH/H₂O) : 1 L de (80 : 20); 1 L de (85 : 15); 0,5 L de (90 : 10) et 0,25 L de (100 : 0) pour l'obtention de quatre fractions (**F1-F4**). Ensuite, la fraction **F2** (2,0959 g) a été soumise à une séparation par chromatographie éclair sur colonne de gel de silice avec éluant (CHCl₃/MeOH) : 0,7 L de (80 : 1); 1,375 L de (40 : 1); 1,275 L de (20 : 1) et 0,750 L de (10 : 1) pour l'obtention de quatre fractions (**F2a-d**); la fraction **F2b** (0,4861 g), contenant les précurseurs, a été soumise à un fractionnement par chromatographie éclair sur gel C-18 (ACN/H₂O) gradient 30 à 70 % ACN, pendant 35 minutes, pour l'obtention de deux fractions (**F2b1-2**). La fraction **F2b2** (0,4102 g) a par la suite été purifiée par CLHP préparative (MeOH/H₂O 60 :40 isocratique) avec 21 injections de 85 µL à concentration de 229.7 mg/mL, pendant 30 minutes à un débit de 20 mL/min, pour l'obtention de trois fractions purifiées : **F2b2a** (TR = 16,2 min); 21,5 mg (0,22 % p/p de l'extrait brut humide) de la 4,2',6'-trihydroxy-4'-methoxydihydrochalcone (**33**), **F2b2b**

(TR = 17,1 min); 107 mg (1,07 % p/p de l'extrait brut humide) du 2',4',6'-trihydroxydihydrochalcone (**29**), **F2b2c** (TR = 22,1 min); 88,6 mg (0,89 % p/p de l'extrait brut humide) du 2',4',6'-trihydroxy-4-méthoxydihydrochalcone (**32**) (figure 20) (Lavoie *et al.* 2013).

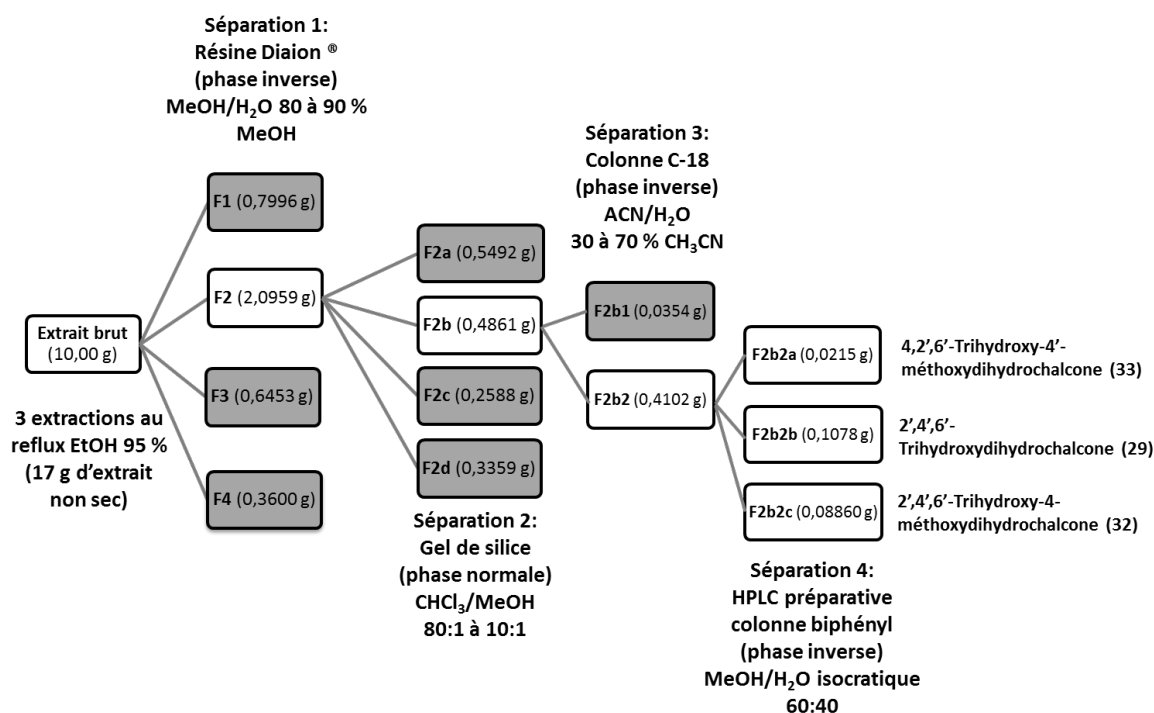


Figure 20. Schéma de fractionnement des bourgeons de *Populus balsamifera* L.

2',4',6'-Trihydroxy-4-méthoxydihydrochalcone (32) : (88,6 mg; 0,89 % p/p de l'extrait brut humide) obtenus sous forme de poudre blanche jaunâtre (figure 21). RMN ¹H (400 MHz, C₃D₆O) : δ 7.18 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, H-2/H-6), 6.82 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, H-3/H-5), 5.95 (s, 2H, H-3'/H-5'), 3.73 (s, 3H, OMe), 3.40 – 3.30 (m, 2H, H-8), 2.96 – 2.85 (m, 2H, H-7); RMN ¹³C (100 MHz, C₃D₆O) : δ 205.3 (C-9), 165.4 (C-4'), 165.2 (C-2'/C-6'), 158.8 (C-4), 134.6 (C-1), 130.13 (C-2/C-6), 114.5 (C-3/C-5), 105.1 (C-1'), 95.8 (C-3'/C-5'), 55.3 (OMe), 46.6 (C-8), 30.5 (C-7). Les données spectrales RMN ¹H et ¹³C sont en accord avec celles de la littérature (Lavoie *et al.* 2013).

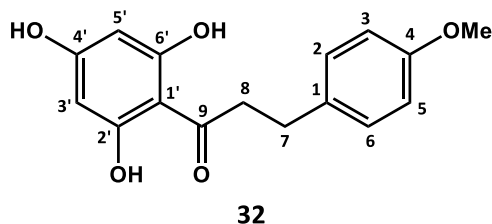


Figure 21. Structure de la 2',4',6'-trihydroxy-4-méthoxydihydrochalcone (**32**).

2',4',6'-Trihydroxydihydrochalcone (29) : (107 mg; 1,07 % p/p de l'extrait brut humide) obtenus sous forme de poudre blanche jaunâtre (figure 22). RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) : δ 7.36 – 7.24 (m, 4H, H-3/H-5; H-2/H-6), 7.22 – 7.14 (m, 1H, H-4), 5.94 (s, 2H, H-3'/H-5'), 3.44 – 3.36 (m, 2H, H-8), 3.03 – 2.95 (m, 2H, H-7); RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) : δ 205.2 (C-9), 165.4 (C-4'), 165.3 (C-2'/C-6'), 142.9 (C-1), 129.3 (C-2/C-6), 129.2 (C-3/C-5), 126.6 (C-4), 105.1 (C-1'), 95.8 (C-3'/C-5'), 46.4 (C-8), 31.3 (C-7). Les données spectrales RMN ^1H et ^{13}C sont en accord avec celles de la littérature (Lavoie *et al.* 2013).

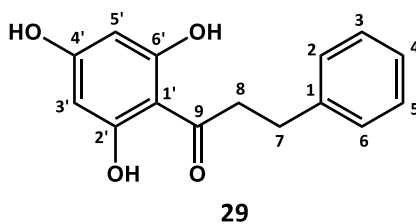


Figure 22. Structure de la 2',4',6'-trihydroxydihydrochalcone (**29**).

4.3 EXTRACTION ET ISOLATION DE L'ASÉBOTINE (34)

Les parties aériennes de *Kalmia augustifolia* L. sont d'abord séchées et broyées. Par la suite, 284 g de poudre sont extraits au reflux avec de l'EtOH 95 % (3 X 300 mL). Les extraits combinés sont ensuite évaporés sous vide et resolubilisés dans de l'eau (80 mL) pour être extraits avec de l'AcOEt jusqu'à perte de coloration de la phase organique. Les phases organiques sont regroupées, séchées au Na₂SO₄, filtrées et évaporées sous vide. L'extrait combiné (30 g) est soumis à une chromatographie éclair phase inverse sur résine Diaion® avec éluant 40-100 % de MeOH dans l'eau pour l'obtention de cinq fractions (**F1-5**). La fraction **F3** (8,5 g) fut soumise à une chromatographie éclair phase inverse sur gel C-18 avec éluant 35-70 % de MeOH dans l'eau pour l'obtention de l'asébotine (figure 23, **34**) (2,4 g; 0,85 % p/p de la masse végétale sèche; 8 % p/p de l'extrait AcOEt), sous forme de cristaux orange. Le suivi CCM est effectué dans (CHCl₃/MeOH/H₂O 55 : 15 : 1) avec révélation au H₂SO₄, lumière visible et UV 365 nm ($R_f = 0,68$). RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) : δ 7.06 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, H-2/H-6), 6.68 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, H-3/H-5), 6.30 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, H-3'), 6.12 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, H-5'), 5.08 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H, H-1''), 3.90 (dd, $J = 12.1, 2.1$ Hz, 1H, H-2''), 3.81 (s, 3H, OCH₃), 3.68 (dd, $J = 12.1, 6.0$ Hz, 1H, H-3''), 3.56 – 3.41 (m, 4H, H-8, protons du sucre), 3.39 – 3.33 (m, 2H, protons du sucre), 2.88 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H, H-7); RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD) : δ 206.9 (C-9), 167.4 (C-4'), 167.2 (C-2'), 161.9 (C-6'), 156.4 (C-4), 133.8 (C-1), 130.4 (C-2/C-6), 116.1 (C-3/C-5), 107.6 (C-1'), 102.2 (C-1''), 96.5 (C-3'), 94.8 (C-5'), 78.5 (C-5''), 78.5 (C-2''), 74.7 (C-3''), 71.2 (C-4''), 62.5 (C-6''), 56.1 (OCH₃), 47.1 (C-8), 30.7 (C-7). Les données spectrales RMN ¹H et ¹³C sont en accord avec celles de la littérature (Nkengfack *et al.* 2001).

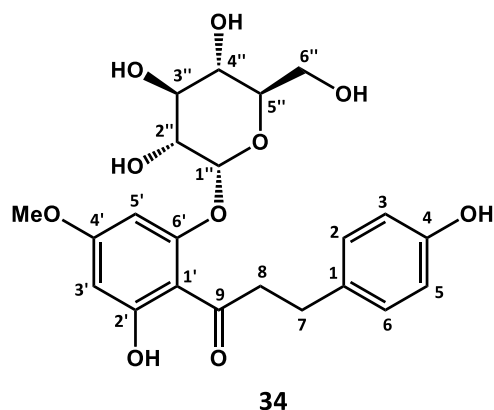


Figure 23. Structure de l'asébotine (**34**).

4.4 HYDROLYSE DE L'ASÉBOTINE (**34**)

4,2',6'-Trihydroxy-4'-méthoxydihydrochalcone (33**)** : 2,4 g (5,3 mmol) d'asébotine (**34**) sont dissous dans une solution de HCl (23,2 mL; 1,25 M) et d'EtOH anhydre (16,1 mL). Le mélange est agité au reflux pendant deux heures jusqu'à hydrolyse totale. Le suivi de la réaction est effectué par CCM avec (CHCl₃/MeOH 9 : 1) avec révélation au H₂SO₄, lumière visible et UV 365 nm ($R_f = 0,67$). Une fois la réaction terminée, le mélange réactionnel est refroidi dans un bain de glace et neutralisé par l'addition d'une solution aqueuse saturée de NaHCO₃ (200 mL). De l'eau est ajoutée jusqu'à solubilité complète du NaHCO₃. Le mélange est extrait avec de l'AcOEt (3 X 150 mL), puis séché au Na₂SO₄, concentré et évaporé à sec (Gupte et Buolamwini 2009) pour l'obtention du 4,2',6'-trihydroxy-4'-methoxydihydrochalcone (figure 24, **33**) en tant que solide jaune (1,5 g, 99 %). RMN ¹H (400 MHz, C₃D₆O) : δ 7.10 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H, H-2/H-6), 6.75 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H, H-3/H-5), 5.99 (s, 2H, H-3'/H-5'), 3.79 (s, 3H, OCH₃), 3.40 – 3.32 (m, 2H, H-8), 2.93 – 2.85 (m, 2H, H-7); RMN ¹³C (100 MHz, C₃D₆O) : δ 205.8 (C-9), 166.9 (C-4'), 165.2 (C-2'/C-6'), 156.4 (C-4), 133.4 (C-1), 130.2 (C-2/C-5), 116.0 (C-3/C-5), 105.7 (C-1'), 194.4 (C-3'/C-5'), 55.8 (OCH₃), 47.0 (C-8), 30.5 (C-7). Les données des spectres RMN ¹H et ¹³C sont en accord avec celles de la littérature (Lavoie *et al.* 2013).

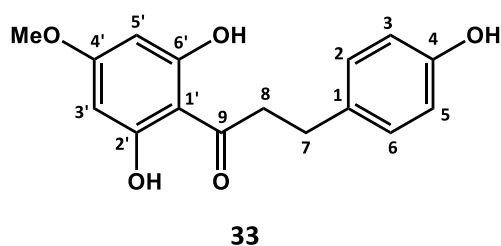


Figure 24. Structure de la 4,2',6'-trihydroxy-4'-méthoxydihydrochalcone (**33**).

4.5 SYNTHÈSE DES ALCOOLS ALLYLIQUES DÉRIVÉS CINNAMIQUES

Méthode générale A :

Estérification : L'acide *p*-toluenesulfonique monohydrate (APTS) (0,40 g; 2,1 mmol) est ajouté à une solution de dérivé d'acide cinnamique (12,2 mmol) dans du MeOH (40 mL). Le mélange réactionnel est agité au reflux pendant la nuit. Le suivi de la réaction est effectué par CCM avec éluant (hexane/AcOEt 7 : 3) à UV 254 nm. Une fois la réaction terminée, le mélange est neutralisé par l'addition d'une solution aqueuse saturée de NaHCO₃ (60 mL), pour être extraite avec de l'AcOEt (3 X 100 mL). Les extraits organiques combinés sont ensuite séchés au Na₂SO₄, filtrés et évaporés à sec pour l'obtention l'ester méthylique du dérivé d'acide cinnamique sous forme d'un solide blanc (11,3 mmol, 93 %) (Burmaoğlu 2017).

Réduction : La réduction est souvent effectuée sur une petite quantité d'esters. L'ester méthylique du dérivé d'acide cinnamique (5,56 mmol) est dissous dans du toluène anhydre (40 mL), sous argon, puis la solution est refroidie dans un bain de glace avec agitation. L'hydruure de diisobutylaluminium (DIBAL-H) (23,5 mL d'une solution de 1 M dans le toluène) est introduit au goutte-à-goutte avec une ampoule à addition pendant 10 minutes. Après l'addition, l'agitation du mélange se poursuit pendant 1 h 30 dans le bain de glace. Le suivi de la réaction est effectué par CCM avec (CHCl₃/MeOH 9 : 1) à UV 254 nm. Une fois la réaction terminée, le mélange est neutralisé par l'addition goutte-à-goutte de MeOH (10 mL) pour ensuite être ramené à TA en agitant. Une solution aqueuse

saturée de NaCl est ajoutée au mélange jusqu'à éclaircissement de l'émulsion. De l'eau est ajoutée et la fraction aqueuse est extraite à l'AcOEt (4 x 75 mL). Les extraits combinés sont séchés au Na₂SO₄, filtrés, évaporés à sec (Quideau et Ralph 1992) pour être soumis à une purification par chromatographie éclair sur gel de silice avec 20-40 % AcOEt dans l'hexane, pour l'obtention du dérivé d'alcool cinnamylique sous forme de poudre blanche (4,61 mmol; 83 %).

Alcool *p*-coumarylique (10) : Synthétisé avec la **méthode générale A** à partir de l'acide *p*-coumarique (**5**) (2,00 g; 12,2 mmol). Pour l'obtention de l'alcool *p*-coumarylique (figure 25, **10**) sous forme de poudre blanche (692 mg, 77 % de rendement sur 2 étapes). RMN ¹H (400 MHz, C₃D₆O) : δ 8.39 (s, 1H, Ar OH), 7.28 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-2/H-6), 6.81 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-3/H-5), 6.52 (br d, *J* = 15.9 Hz, 1H, H-7), 6.22 (dt, *J* = 15.9, 5.5 Hz, 1H, H-8), 4.20 (d, *J* = 5.1 Hz, 2H, H-9), 3.79 (s, 1H, OH); RMN ¹³C (100 MHz, C₃D₆O) : δ 157.8 (C-4), 130.1 (C-7), 129.8 (C-1), 128.4 (C-2/C-6), 127.9 (C-8), 116.2 (C-3/C-5), 63.5 (C-9). Les données des spectres RMN ¹H et ¹³C sont en accord avec celles de la littérature (Quideau et Ralph 1992).

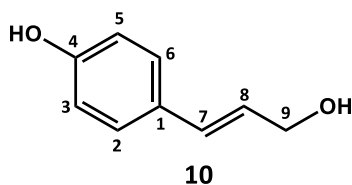


Figure 25. Structure de l'alcool *p*-coumarylique (**10**).

Alcool *p*-méthoxycinnamylique (13) : Synthétisé avec la **méthode générale A** à partir de l'acide *p*-coumarique (**4**) (2,00 g; 12,2 mmol). Spécificités : méthylation de la fonction phénolique du méthyl 4-hydroxycinnamate (**24**) (1,0936 g; 6,14 mmol), (**24**) est dissous dans de l'acétone anhydre (33 mL) sous argon. Après solubilisation complète, du K₂CO₃ anhydre (1,2724 g; 9,21 mmol) ainsi que du CH₃I (570 μL; 9,24 mmol) sont ajoutés et la solution est chauffée au reflux avec agitation pendant 20 heures. Le suivi de la réaction

est effectué par CCM avec (hexane/AcOEt 8 : 2). Une fois la réaction terminée, l'excédent de CH_3I est neutralisé par l'ajout (12,4 mL) d'une solution de KOH (0,5 M dans du MeOH). Les solvants sont partiellement évaporés, 40 mL d'eau sont ajoutés et la phase aqueuse est extraite avec AcOEt (4 x 40 mL); les fractions organiques sont ensuite regroupées, séchées au Na_2SO_4 et évaporées sous vide pour l'obtention du méthyl 4-méthoxycinnamate (**28**) (1,400 g; 7,29 mmol non purifié). La réduction de (**28**) est effectuée par la **méthode générale A** avec une masse initiale d'esters de (0,503 g; 2,76 mmol), la purification est effectuée par chromatographie éclair sur gel de silice avec éluant 5-35 % d'AcOEt dans l'hexane pour l'obtention de l'alcool *p*-méthoxycinnamylique (figure 26, **13**) sous forme de poudre blanche (294 mg, 77 % sur 3 étapes). RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_2\text{D}_6\text{SO}$) : δ 7.35 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H, H-2/H-6), 6.88 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H, H-3/H-5), 6.47 (br d, $J = 16.0$ Hz, 1H, H-7), 6.21 (dt, $J = 16.0, 5.3$ Hz, 1H, H-8), 4.81 (t, $J = 5.5$ Hz, 1H, OH), 4.15 – 4.03 (m, 2H, H-9), 3.74 (s, 3H, OMe); RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{C}_2\text{D}_6\text{SO}$) : δ 156.6 (C-4), 129.5 (C-1), 128.3 (C-7), 128.2 (C-8), 127.3 (C 2/C-6), 114.0 (C-3/C-5), 61.6 (C-9), 55.1 (OMe). Les données des spectres RMN ^1H et ^{13}C sont en accord avec celles de la littérature (Srisook *et al.* 2017).

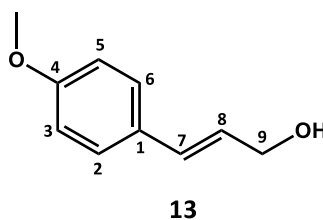


Figure 26. Structure de l'alcool *p*-méthoxycinnamylique (**13**).

Alcool coniférylique (11) : Synthétisé avec la **méthode générale A** à partir de l'acide férulique (**6**) (0,501 mg; 2,58 mmol). Spécificités : purification par chromatographie éclair sur gel de silice avec éluant 15-50 % d'AcOEt dans l'hexane pour l'obtention de l'alcool coniférylique (figure 27, **11**) sous forme de poudre blanche (0,329 g; 62 % en 2 étapes). RMN ^1H (400 MHz, MeOD) : δ 7.00 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H, H-2), 6.84 (dd, $J = 8.1, 1.5$ Hz, 1H, H-6), 6.73 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, H-5), 6.50 (br d, $J = 15.8$ Hz, 1H, H-7), 6.19 (dt, $J = 15.8, 5.9$ Hz, 1H, H-8), 4.19 (d, $J = 5.9$ Hz, 2H, H-9), 3.86 (s, 3H, OMe); RMN ^{13}C (100 MHz, MeOD) : δ 149.1 (C-3), 147.5 (C-4), 132.1 (C-7), 130.6 (C-1), 127.0 (C-8), 121.0 (C-6), 116.2 (C-5), 110.4 (C-2), 63.9 (C-9), 56.3 (OMe). Les données des spectres RMN ^1H et ^{13}C sont en accord avec celles de la littérature (Quideau et Ralph 1992).

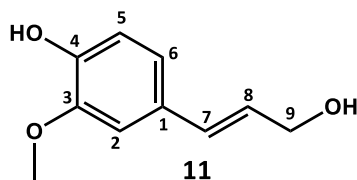


Figure 27. Structure de l'alcool coniférylique (**11**).

4.6 SYNTHÈSE DES BALSACONES ET ANALOGUES

Alkylations de Friedel-Crafts

Méthode générale A d'alkylation de FC : L'alcool allylique (0,0867 mmol) est pesé directement dans un ballon de 10 mL, la DHC (0,347 mmol) est ajoutée au ballon, suivie de l'ACN anhydre (1,9 mL). Après solubilisation complète des réactifs, 100 μL (10 % mol de catalyseur) d'une solution de 1 mL de ACN anhydre contenant (0,0873 mmol) d'APTS sont ajoutés et le mélange est agité à TA pendant 2 h. Le suivi de la réaction est effectué par CCM phase inverse dans ($\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$ 45 : 55) avec révélation au H_2SO_4 (UV 365 nm), pour valider la conversion complète de l'alcool allylique. Une fois la réaction terminée, de l'AcOEt (4 mL) est ajouté au mélange, suivi d'une solution aqueuse saturée de NaHCO_3 (6 mL); la phase aqueuse est diluée avec de l'eau et extraite avec de l'AcOEt (4 x 15 mL). Les phases

organiques sont regroupées, séchées au Na_2SO_4 et évaporées à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif dans un bain de $30\text{ }^\circ\text{C}$. L'évaporat est ensuite soumis à une chromatographie éclair phase inverse sur silice C-18 avec gradient 50-90 % de MeOH dans l'eau. Les spectres RMN 1D (^1H et ^{13}C) ainsi que RMN 2D (COSY, DEPT 135, HSQC et HMBC) ont été générés et analysés pour confirmer la structure de molécules finales synthétisées.

Méthode générale B d'alkylation de FC : Identique à la **méthode générale A d'alkylation de FC**, à l'exception du volume d'ACN anhydre (3,9 mL) et de la charge catalytique (20 % mol de catalyseur), le mélange réactionnel est chauffé à $50\text{ }^\circ\text{C}$ pour solubiliser les réactifs et ramené à TA avant l'ajout du catalyseur.

Méthode générale C d'alkylation de FC : Identique à la **méthode générale B d'alkylation de FC** à l'exception du volume d'ACN anhydre (5,9 mL).

Balsacone A (1) : Synthétisée à partir de l'alcool *p*-coumarylique (**10**) (0,0131 g; 0,0867 mmol) et de la 4,2',6'-trihydroxy-4'-méthoxydihydrochalcone (**33**) (0,100 g; 0,347 mmol) avec la **méthode générale A d'alkylation de FC** pour l'obtention de la balsacone A (figure 28, **1**) sous forme de poudre blanche rougeâtre (25,5 mg; 70 %). $R_f = 0,34$ ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 9 : 1); RT = 25,412 min. (CLHP-MS, colonne biphényle, 50-100 % MeOH dans l'eau durant 40 min); HRMS (ESI) m/z calculé pour $\text{C}_{25}\text{H}_{23}\text{O}_6$ [M-H] $^-$ 419,1500; trouvé 419,1505; RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) : δ 7.18 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, H-2''/H-6''), 7.10 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H, H-2/H-6), 6.80 – 6.71 (m, 4H, H-3/H-5; H-3''/H-5''), 6.31 (br d, $J = 15.8$ Hz, 1H, H-7''), 6.16 (s, 1H, H-5'), 6.15 – 6.07 (m, 1H, H-8''), 3.83 (s, 3H, OMe), 3.43 – 3.35 (m, 4H, H-9''; H-8), 2.94 – 2.86 (m, 2H, H-7); RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) : δ 206.1 (C-9), 164.3 (C-4'), 163.7 (C-2'), 161.5 (C-6'), 157.3 (C-4''), 156.4 (C-4), 133.4 (C-1), 130.5 (C-1''), 130.2 (C-2/C-6), 130.0 (C-7''), 127.9 (C-2''/C-6''), 126.2 (C-8''), 116.1 (C-3/C-5), 116.0 (C-3''/C-5''), 107.5 (C-3'), 105.5 (C-1'), 91.3 (C-5'), 56.0 (OMe), 47.1 (C-8), 30.6 (C-7), 26.1 (C-9''). Les données spectrales RMN ^1H et ^{13}C sont en accord avec celles de la littérature (Lavoie *et al.* 2013).

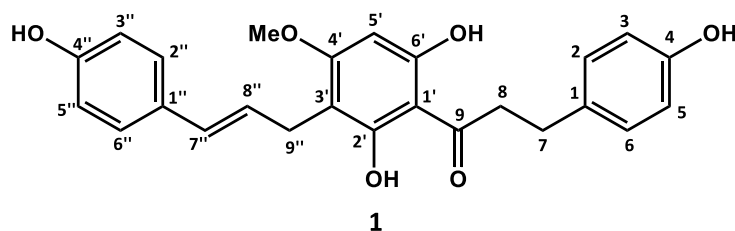


Figure 28. Structure de la balsacone A (**1**).

Balsacone B (2) : Synthétisée à partir de l'alcool *p*-coumarylique (**10**) (0,0131 g; 0,0867 mmol) et de la 2',4',6'-trihydroxy-4-methoxydihydrochalcone (**32**) (0,100 g; 0,347 mmol) avec la **méthode générale B d'alkylation de FC**. Spécificités : purification par chromatographie éclair phase inverse sur silice C-18 avec gradient 66-74 % MeOH dans l'eau pour l'obtention de la balsacone B (figure 29, **2**) sous forme de poudre blanche jaunâtre (18,7 mg; 51 %). $R_f = 0.36$ ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 9 : 1); RT = 27,554 min. (CLHP-MS, colonne biphényle, 50-100 % MeOH dans l'eau sur 40 min); HRMS (ESI) m/z calculé pour $\text{C}_{25}\text{H}_{23}\text{O}_6$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 419.1500, trouvé 419,1501; RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) : δ 7.19 (d, $J = 7.5$ Hz, 4H, H-2/H-6; H-2''/H-6''), 6.83 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, H-3/H-5), 6.74 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, H-3''/H-5''), 6.34 (br d, $J = 15.8$ Hz, 1H, H-7''), 6.17 (dt, $J = 15.8, 6.5$ Hz, 1H, H-8''), 6.11 (s, 1H, H-5'), 3.74 (s, 3H, OMe), 3.42 (d, $J = 6.5$ Hz, 2H, H-9''), 3.40 – 3.32 (m, 2H, H-8), 2.97 – 2.87 (m, 2H, H-7); RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) : δ 205.6 (C-9), 165.1 (C-2'), 162.8 (C-4'), 160.8 (C-6'), 158.9 (C-4), 157.3 (C-4''), 134.7 (C-1), 130.6 (C-1''), 130.2 (C-2/C-6), 130.0 (C-7''), 127.9 (C-2''/C-6''), 126.3 (C-8''), 116.1 (C-3''/C-5''), 114.6 (C-3/C-5), 106.5 (C-3'), 105.1 (C-1'), 95.1 (C-5'), 55.4 (OMe), 46.8 (C-8), 30.6 (C-7), 26.2 (C-9''). Les données spectrales RMN ^1H et ^{13}C sont en accord avec celles de la littérature (Lavoie *et al.* 2013).

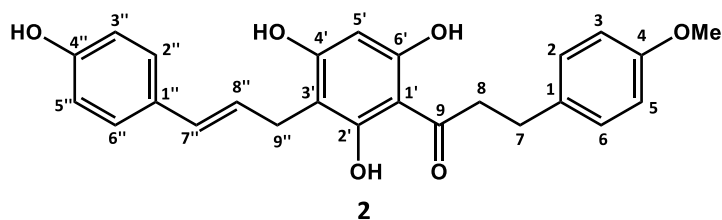


Figure 29. Structure de la balsacone B (**2**).

Balsacone C (3) : Synthétisée à partir de l'alcool *p*-coumarylique (**10**) (0,0131 g; 0,0867 mmol) et de la 2',4',6'-trihydroxydihydrochalcone (**29**) (0,0898 g; 0,348 mmol) avec la **méthode générale A d'alkylation de FC**. Spécificités : purification par chromatographie éclair phase inverse sur silice C-18 avec gradient 65-73 % MeOH dans l'eau pour l'obtention de la balsacone C (figure 30, **3**) sous forme de poudre blanche jaunâtre (19,0 mg; 56 %). $R_f = 0.36$ ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 9 : 1); RT = 26,670 min. (CLHP-MS, colonne biphényle, 50-100 % MeOH pendant 40 min); HRMS (ESI) m/z calculé pour $\text{C}_{24}\text{H}_{21}\text{O}_5$ [M-H]⁻ 389.1394, trouvé 389.1392; RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) : δ 7.31 – 7.21 (m, 4H, H-2/H-6; H-3/H-5), 7.20 – 7.11 (m, 3H, H-4; H-2''/H-6''), 6.74 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, H-3''/H-5''), 6.34 (br d, $J = 15.8$ Hz, 1H, H-7''), 6.18 (dt, $J = 15.8, 6.5$ Hz, 1H, H-8''), 6.11 (s, 1H, H-5'), 3.50 – 3.34 (m, 4H, H-9''; H-8), 2.98 (m, 2H, H-7); RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) : δ 205.2 (C-9), 165.1 (C-2'), 163.2 (C-4'), 161.3 (C-6'), 157.3 (C-4''), 143.0 (C-1), 130.6 (C-1''), 129.9 (C-7''), 129.3 (C-2/C-6), 129.1 (C-3/C-5), 127.9 (C-2''/C-6''), 126.6 (C-4), 126.5 (C-8''), 116.1 (C-3''/C-5''), 106.3 (C-3'), 105.0 (C-1'), 95.2 (C-5'), 46.5 (C-8), 31.5 (C-7), 26.2 (C-9''). Les données spectrales RMN ^1H et ^{13}C sont en accord avec celles de la littérature (Lavoie *et al.* 2013).

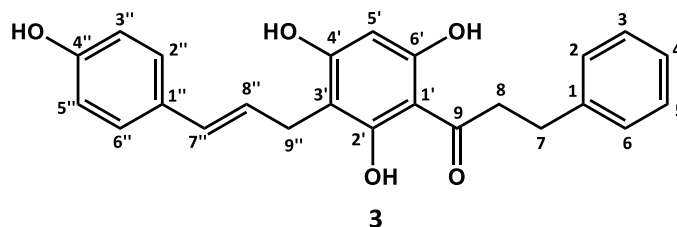


Figure 30. Structure de la balsacone C (**3**).

Analogue A (79) : Synthétisé à partir de l'alcool *p*-coumarylique (**10**) (0,0133 g; 0,0886 mmol) et de la phlorétine (**30**) (0,0986 g; 0,359 mmol) avec la **méthode générale C d'alkylation de FC**. Spécificités : purification par chromatographie éclair phase inverse sur silice C-18 avec gradient 58-63 % MeOH dans l'eau pour l'obtention de l'analogue A

(figure 31, **79**) en tant que poudre blanche orangée (20,8 mg; 57 %). $R_f = 0,72$ ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 8 : 2), RT = 25,904 min. (CLHP-MS, colonne C-18, 45-95 % MeOH dans l'eau pendant 50 min); HRMS (ESI) m/z calculé pour $\text{C}_{24}\text{H}_{21}\text{O}_6$ [M-H]⁻ 405,1344; trouvé 405,1351; RMN ¹H (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) : δ 7.18 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H, (H-2''/H-6'')), 7.09 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, H-2/H-6), 6.79 – 6.70 (m, 4H, H-3/H-5; H-3''/H-5''), 6.33 (br d, $J = 15.8$ Hz, 1H, H-7''), 6.16 (dt, $J = 15.8, 6.5$ Hz, 1H, H-8''), 6.10 (s, 1H, H-5'), 3.45 – 3.38 (m, 2H, H-9''), 3.38 – 3.31 (m, 2H, H-8), 2.93 – 2.84 (m, 2H, H-7); RMN ¹³C (100 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) : δ 205.7 (C-9), 165.1 (C-2'), 162.8 (C-4'), 160.8 (C-6'), 157.3 (C-4''), 156.4 (C-4), 133.5 (C-1), 130.6 (C-1''), 130.2 (C-2/C-6), 130.0 (C-7''), 127.9 (C-2''/C-6''), 126.3 (C-8''), 116.1 (C-3''/C-5''), 116.0 (C-3/C-5), 106.5 (C-3'), 105.1 (C-1'), 95.0 (C-5'), 47.0 (C-8), 30.7 (C-7), 26.2 (C-9'').

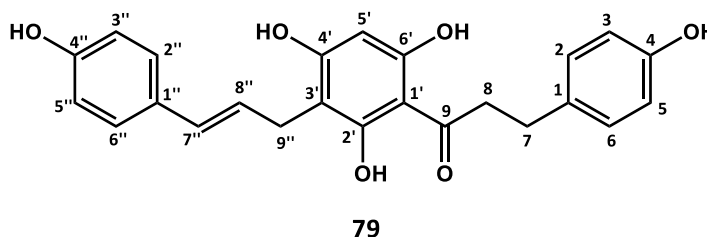


Figure 31. Structure de l'analogue A (**79**).

Analogue B (80) : Synthétisé à partir de l'alcool *p*-méthoxycinnamylique (**13**) (0,0145 g; 0,0883 mmol) et de la 4,2',6'-trihydroxy-4'-méthoxydihydrochalcone (**33**) (0,100 g; 0,347 mmol) avec la **méthode générale A d'alkylation de FC**. Spécificités : purification par chromatographie éclair phase inverse sur silice C-18 avec gradient 72-78 % MeOH dans l'eau pour l'obtention de l'analogue B (figure 32, **80**) sous forme de poudre blanche jaunâtre (24,0 mg; 63 %). $R_f = 0,60$ ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 9 : 1); RT = 38,944 min. (CLHP-MS, colonne C-18, 45-95 % MeOH dans l'eau pendant 50 min); HRMS (ESI) m/z calculé pour $\text{C}_{26}\text{H}_{25}\text{O}_6$ [M-H]⁻ 433,1657; trouvé 433,1634; RMN ¹H (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) : δ 7.26 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H, H-2''/H-6''), 7.10 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H, H-2/H-6), 6.82 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H, H-3''/H-5''), 6.75 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H, H-3/H-5), 6.33 (br d, $J = 15.8$ Hz, 1H, H-7''),

6.24 – 6.08 (m, 2H, H-5'; H-8''), 3.82 (s, 3H, 4'-OMe), 3.75 (s, 3H, 4''-OMe), 3.45 – 3.32 (m, 4H, H-9''; H-8), 2.94 – 2.83 (m, 2H, H-7); RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) : δ 205.7 (C-9), 164.4 (C-4'), 163.8 (C-2'), 161.7 (C-6'), 159.7 (C-4''), 156.4 (C-4), 133.5 (C-1), 131.6 (C-1''), 130.2 (C-2/C-6), 129.8 (C-7''), 127.8 (C-2''/C-6''), 127.0 (C-8''), 116.0 (C-3/C-5), 114.6 (C-3''/C-5''), 107.3 (C-3'), 105.5 (C-1'), 91.4 (C-5'), 56.0 (4'-OMe), 55.5 (4''-OMe), 47.1 (C-8), 30.6 (C-7), 26.1 (C-9'').

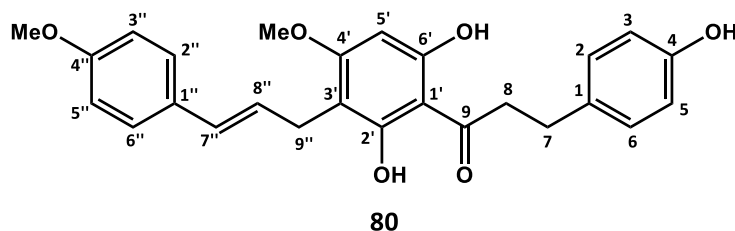


Figure 32. Structure de l'analogue B (**80**).

Analogue C (81) : Synthétisé à partir de l'alcool cinnamique (**9**) (0,0132 g; 0,0984 mmol) et de la 4,2',6'-trihydroxy-4'-méthoxydihydrochalcone (**33**) (0,113 g; 0,392 mmol) avec la **méthode générale A d'alkylation de FC**. Spécificités : charge catalytique (20 % mol de catalyseur), réaction au reflux, purification par chromatographie éclair phase inverse sur silice C-18 avec gradient 72-82 % MeOH dans l'eau pour l'obtention de l'analogue C (figure 33, **81**) sous forme de poudre blanche jaunâtre (15,9 mg; 40 %). $R_f = 0,51$ ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 9 : 1); RT = 39,861 min. (CLHP-MS, colonne C-18, 45-95 % MeOH dans l'eau pendant 50 min); HRMS (ESI) m/z calculé pour $\text{C}_{25}\text{H}_{23}\text{O}_5$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 403,1551; trouvé 403,1552; RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) : δ 7.33 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H, H-2''/H-6''), 7.25 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H, H-3''/H-5''), 7.15 (t, $J = 7.2$ Hz, 1H, H-4''), 7.10 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, H-2/H-6), 6.75 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, (H-3/H-5), 6.40 (br d, $J = 15.9$ Hz, 1H, H-7''), 6.33 (dt, $J = 15.9, 5.8$ Hz, 1H, H-8''), 6.18 (s, 1H, H-5'), 3.84 (s, 3H, OMe), 3.43 (d, $J = 5.8$ Hz, 2H, H-9''), 3.41-3.34 (m, 2H, H-8), 2.95-2.86 (m, 2H, H-7); RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) : δ 206.4 (C-9), 164.4 (C-4'), 163.8 (C-2'), 161.6 (C-6'), 156.4 (C-4),

138.9 (C-1''), 133.4 (C-1), 130.3 (C-7''), 130.2 (C-2/C-6), 129.4 (C-8''), 129.3 (C-3''/C-5''), 127.5 (C-4''), 126.7 (C-2''/C-6''), 116.0 (C-3/C-5), 107.1 (C-3'), 105.5 (C-1'), 91.4 (C-5'), 56.0 (OMe), 47.1 (C-8), 30.6 (C-7), 26.2 (C-9'').

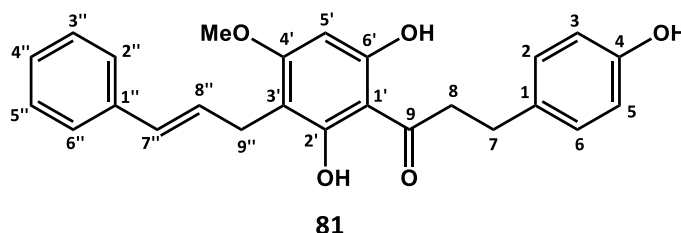


Figure 33. Structure de l'analogue C (**81**).

Analogue D (82) : Synthétisé à partir de l'alcool coniférylique (**11**) (0,0158 g; 0,0877 mmol) et de la 4,2',6'-trihydroxy-4'-méthoxydihydrochalcone (**33**) (0,100 g; 0,347 mmol) avec la **méthode générale A d'alkylation de FC**. Spécificités : charge catalytique (20 % mol de catalyseur), chromatographie éclair phase inverse sur silice C-18 (gradient 65-73 % MeOH dans l'eau pour l'analogue D [**82**], ensuite 73-90 % MeOH dans l'eau pour l'analogue E [**83**]), pour l'obtention de l'analogue D (figure 34, **82**) sous forme de poudre blanche jaunâtre (18,1 mg; 45 %). $R_f = 0,47$ (CHCl₃/MeOH 9 : 1); RT = 32,882 min. (CLHP-MS, colonne C-18, 45-95 % MeOH dans l'eau pendant 50 min), HRMS (ESI) m/z calculé pour C₂₆H₂₅O₇ [M-H] 449,1606; trouvé 449,1605; RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) : δ 7.05 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H, H-2/H-6), 6.86 (d, $J = 0.8$ Hz, 1H, H-6''), 6.76 – 6.64 (m, 4H, H-2''; H-3/H-5; H-3''), 6.22 (br d, $J = 15.7$ Hz, 1H, H-7''), 6.13 – 6.05 (m, 1H, H-8''), 6.04 (s, 1H, H-5'), 3.83 (s, 3H, 4'-OMe), 3.81 (s, 3H, 5''-OMe), 3.41 – 3.34 (m, 4H, H-9''; H-8) le signal du multiplet chevauche celui du solvant CD₃OD (confirmé avec le spectre 2D HSQC), 2.91 – 2.80 (m, 2H, H-7); RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD) : δ 207.1 (C-9), 165.1 (C-4'), 164.0 (C-2'), 162.5 (C-6'), 156.5 (C-4), 149.0 (C-5''), 146.7 (C-4''), 134.0 (C-1), 131.9 (C-1''), 130.5 (C-7''), 130.4 (C-2/C-6), 127.0 (C-8''), 120.3 (C-2''), 116.2 (C-3/C-5), 116.1 (C-3''), 110.1 (C-6''), 107.6 (C-3'), 105.6 (C-1'), 91.2 (C-5'), 56.3 (5''-OMe), 56.1 (4'-OMe), 47.7 (C-8), 31.5 (C-7), 26.3 (C-9'').

Analogue E (83) : Sous forme de poudre blanche jaunâtre (5,5 mg; 21 %) (figure 34, **83**). $R_f = 0,58$ ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 10 : 1), RT = 41,287 min. (CLHP-MS, colonne C-18, 45-95 % MeOH dans l'eau pendant 50 min); HRMS (ESI) m/z calculé pour $\text{C}_{36}\text{H}_{35}\text{O}_9$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 611,2287; trouvé 611,2287; RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) : δ 13.91 (s, 1H, 7-OH), 7.18 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H, H-6'), 7.04 – 6.96 (m, 2H, H-2'; H-6'''), 6.92 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, H-3'), 6.81 (dd, $J = 8.1, 1.5$ Hz, 1H, H-2'''), 6.75 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, H-3'''), 6.62 (s, 4H, H-2''/H-6''; H-3''/H-5''), 6.30 (br d, $J = 15.7$ Hz, 1H, H-7'''), 6.10 (s, 1H, H-6), 6.07 – 5.96 (m, 1H, H-8'''), 4.83 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H, H-2), 3.87 (s, 3H, 5-OMe), 3.84 (s, 3H, 5'''-OMe), 3.78 (s, 3H, 5'-OMe), 3.25 – 3.06 (m, 2H, H-8''), 2.87 (dd, $J = 15.7, 3.9$ Hz, 1H, H-4 équatorial), 2.77 – 2.67 (m, 2H, H-7''), 2.35 (dd, $J = 15.7, 11.2$ Hz, 1H, H-4 axial), 2.31 – 2.26 (m, 1H, H-3), 2.24 – 2.16 (m, 1H, H-9''' b), le second signal multiplet (H-9''' a) chevauche celui du solvant $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$ (confirmé à l'aide du spectre 2D HSQC); RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) : δ 205.6 (C-9''), 166.1 (C-7), 164.1 (C-5), 158.3 (C-9), 156.2 (C-4''), 148.7 (C-5'), 148.4 (C-5'''), 147.9 (C-4'), 146.9 (C-4'''), 132.9 (C-7'''), 132.7 (C-1''), 131.5 (C-1'), 130.6 (C-1'''), 129.8 (C-2''/C-6''), 124.9 (C-8'''), 121.7 (C-2'), 120.4 (C-2'''), 115.8 (C-3''/C-5''), 115.7 (C-3'), 115.7 (C-3'''), 111.7 (C-6'), 109.8 (C-6'''), 105.9 (C-8), 102.9 (C-10), 92.7 (C-6), 84.5 (C-2), 56.3 (5'-OMe), 56.3 (5-OMe), 56.2 (5'''-OMe), 46.3 (C-8''), 37.9 (C-3), 36.3 (C-9'''), 30.4 (C-7''), 26.2 (C-4).

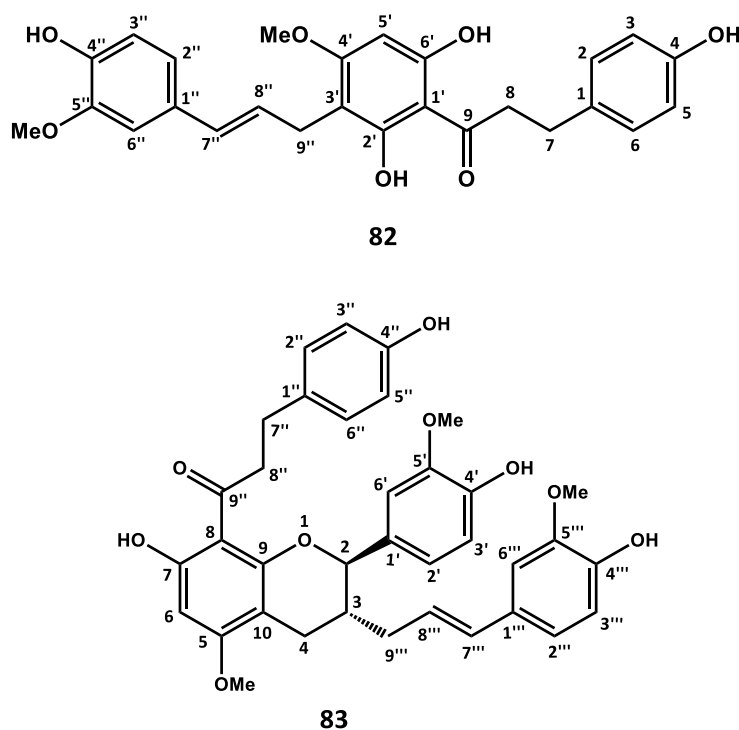


Figure 34. Structure de l'analogue D (**82**) et de l'analogue E (**83**).

4.7 TESTS ANTIBIOTIQUES

Les tests antibiotiques ont été effectués en utilisant la méthode de microdilution modifiée de (Banfi *et al.* 2003; Lavoie *et al.* 2013). Notamment, les bactéries à croissance exponentielle ont étéensemencées dans des microplaques transparentes à fond plat de 96 puits (BD Falcon) à une concentration de 5×10^3 pour *E. coli* (ATCC 25922) ou de 25×10^3 pour *S. aureus* (ATCC 25923) et les 10 SARMs (obtenus de l'hôpital de Chicoutimi, numérotés de 1 à 10) par puit dans 100 μL de bouillon nutritif (BD). Les solutions mères, de composés antibactériens testés, ont été préparées dans du DMSO (Sigma-Aldrich). Un gradient de 8 concentrations à une demi de chaque composé testé dans du DMSO (Sigma-Aldrich) avec des concentrations maximales de 50 μM pour les antibactériens à tester et de 0.625 $\mu\text{g/ml}$ pour la gentamicine ont ensuite été ajoutées à 100 μL de suspension bactérienne. La concentration finale de DMSO dans le milieu de culture a été maintenue à 0,1% (v/v) pour

éviter la toxicité du solvant. Les puits témoins sans traitement et les témoins solvants ont été préparés avec uniquement du milieu de culture et une suspension bactérienne. Les plaques ont été incubées de 18 à 24 heures à 37°C. L'absorbance a été mesurée sur un lecteur automatisé à 96 plaques ou un spectrophotomètre MultiskanGO (Thermo, Labsystems) en utilisant une longueur d'onde de 600 nm avec une densité optique de 1 pour 8×10^8 bactéries/ml pour *E. coli* et une densité optique de 0.5 pour 1×10^8 bactéries/mL pour *S. aureus* ainsi que les SARMs. L'activité antibiotique est exprimée en tant que concentration minimale inhibant 90 % de la croissance bactérienne (CMI₉₀, µM) avec la gentamicine utilisée comme contrôle positif, sous forme de sulfate de gentamicine (Sigma-Aldrich). Chaque CMI₉₀ a été déterminée trois fois dans deux expériences différentes (Banfi *et al.* 2003; Lavoie *et al.* 2013).

CHAPITRE 5

AVANCEMENT DES TRAVAUX

5.1 CHIMIE

5.1.1. Extraction et isolation de l'asébotine (34)

Au cours de ce projet de maîtrise, l'asébotine (34) a été isolée à partir des parties aériennes du *Kalmia augustifolia* L. 284 g de parties aériennes ont été extraits avec l'EtOH 95 % au reflux, l'évaporat fut ensuite solubilisé dans l'eau pour être soumis à des extractions liquide/liquide avec de l'AcOEt, suivi d'une chromatographie éclair phase inverse sur résine Diaion® et d'une seconde chromatographie éclair phase inverse sur gel C-18 pour l'obtention de l'asébotine (34) (2,4 g; 0,85 % de rendement massique). L'identité et la pureté du produit ont été confirmées par comparaison des données spectrales RMN ¹H et ¹³C avec celles de la littérature (Nkengfack *et al.* 2001). Ce rendement pourrait probablement être amélioré puisque cette méthode d'isolation a été développée pour le « screening » phytochimique général du kalmia par Lorry J. Déry; une méthode ciblée pour l'asébotine (34) pourrait augmenter le rendement massique. L'asébotine (34) peut également être recristallisée dans l'acétonitrile.

5.1.2. Extraction et isolation des DHCs

Les DHCs : 2',4',6'-trihydroxydihydrochalcone (29), 2',4',6'-trihydroxy-4-méthoxydi-hydrochalcone (32) et 4,2',6'-trihydroxy-4'-méthoxydihydrochalcone (33) ont été isolées à partir des bourgeons *Populus balsamifera* L. 50 g de bourgeons (non secs) ont été extraits dans l'éthanol 95 % au reflux, ensuite 10 g/17 g d'évaporat visqueux ont été soumis à trois fractionnements par chromatographie éclair : un premier en phase inverse sur résine Diaion®, un second en phase normale sur gel de silice et un dernier en phase inverse sur gel C-18. La fraction contenant les DHCs est soumise à une purification par HPLC préparative pour l'obtention de 21,5 mg (0,22 % p/p de l'extrait brut humide) de la 4,2',6'-trihydroxy-4'-methoxydihydrochalcone (33); 107 mg (1,07 % p/p de l'extrait brut humide) de la 2',4',6'-trihydroxydihydrochalcone (29) et 88,6 mg (0,89 % p/p de l'extrait brut humide) de la 2',4',6'-trihydroxy-4-methoxydihydrochalcone (32). L'étape de

purification par CLHP préparative peut être évitée en faisant des recristallisations répétées dans l'acétonitrile; la 2',4',6'-trihydroxy-4-méthoxydihydrochalcone (**32**) cristallise facilement, le mélange restant peut être soumis à une chromatographie éclair. Cette méthode alternative pourrait être encore optimisée.

5.1.3. Hydrolyse de l'asébotine (**34**)

L'asébotine (**34**) est hydrolysée quantitativement en 2',4',6'-trihydroxy-4-méthoxydihydrochalcone (**33**) dans l'EtOH anhydre au reflux avec du HCl 1,25 M, en utilisant la méthode décrite par (Gupte et Buolamwini 2009). La réaction est complétée en 2 heures avec un rendement isolé de 99 % (tableau 4), le suivi de la réaction est effectué par CCM (figure 35). Un essai d'hydrolyse enzymatique a également été tenté sur l'asébotine (**34**) en utilisant une enzyme β -glucosidase avec la procédure décrite par (Hoshino *et al.* 1996), malgré l'augmentation de la durée de réaction à 2 jours et l'ajout d'enzyme à mi-parcours, le rendement d'hydrolyse est moindre, soit 21 %. Le rendement a été évalué par RMN ^1H en comparant les protons en méta du cycle aromatique A de l'asébotine (**34**) à 6,13 et 6,10 ppm avec leur équivalent déglycosylé valant 2 protons à 6,00 ppm. L'inefficacité de l'hydrolyse enzymatique peut être expliquée, en partie, par la détérioration probable de l'enzyme β -glucosidase qui était stockée au réfrigérateur depuis plusieurs années.

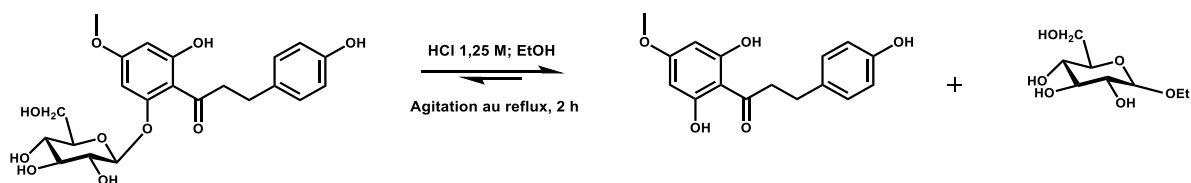


Figure 35. Hydrolyse de l'asébotine (**34**).
(Gupte et Buolamwini 2009).

Tableau 4. Méthode d'hydrolyse de l'asébotine (**34**)

Essais	Type d'hydrolyse	Conditions	Rendement (%)
1	Acide	Reflux/ 2 h	99
2	Enzymatique	55 °C/ 2 j	21*

* Rendement évalué par RMN ¹H sur le mélange asébotine/dihydrochalcone

5.1.4. Identification d'espèces végétales contenant les DHCs

Bien qu'une recherche approfondie de la littérature ait été menée pour tenter d'identifier des espèces boréales contenant les DHCs (**29** et **32**), aucune espèce contenant de plus grandes quantités de ces DHCs que les bourgeons de *Populus balsamifera* L. n'a pu être identifiée. Le *Kalmia augustifolia* L. constitue une source importante d'asébotine (**34**) hydrolysable pour obtenir des quantités appréciables de la DHC (**33**) (Harborne 2019). Peu de recherches sont effectuées sur les espèces issues de la forêt boréale. Des travaux futurs du LASEVE pourraient permettre de découvrir des sources plus abondantes des DHCs (**29** et **32**) dans les années à venir, sous forme de glycoside ou non. La synthèse totale des DHCs est décrite au chapitre 2.3.3; celle-ci constitue la meilleure alternative à l'isolation actuelle pour l'obtention des composés (**29** et **32**) à moindre coût.

5.1.5. Formes des intermédiaires d'alkylation de FC

La théorie initiale était que l'intermédiaire réactionnel d'alkylation de FC impliquant l'alcool *p*-coumraylique (**10**) était une méthylène quinone (figure 36, **85**). Pour valider cette hypothèse, un test de compétition entre les alcools (**10** et **13**) a été réalisé à concentration égale avec un arène riche en électrons et une quantité catalytique d'acide 2,3,4,5-tetrafluorophénylboronique. Si tel qu'attendu l'intermédiaire de l'alcool (**10**) était sous forme de méthylène quinone (**85**), le produit majoritairement formé aurait été le produit impliquant l'alcool (**13**) puisque celle-ci possède un intermédiaire cationique chargé (**84**) donc plus

réactif qu'une méthylène quinone. Le résultat était non sélectif : les deux produits étaient formés à la même vitesse, le mélange réactionnel contenait la même concentration des deux produits formés même avant la consommation complète des alcools (**10** et **13**). Ce résultat suggère que l'intermédiaire réactionnel de l'alcool (**10**) est sous forme cationique (**86**) puisqu'il est aussi réactif que l'intermédiaire (**84**). D'autres réplicats pourraient être effectués pour confirmer cette hypothèse.

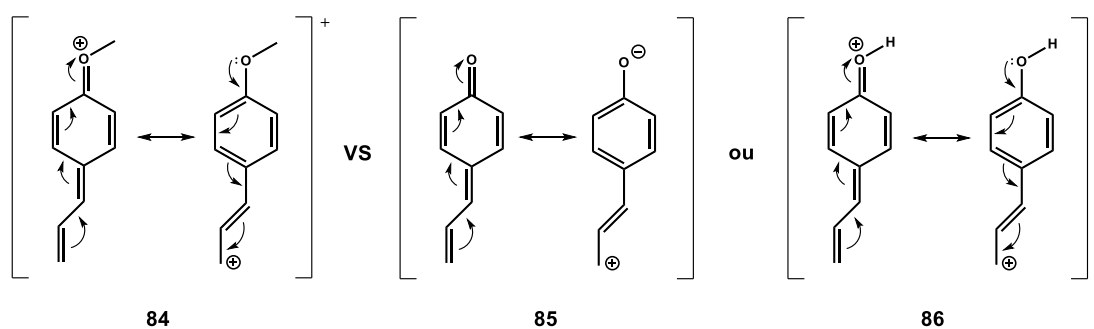


Figure 36. Structures possibles d'intermédiaires d'alkylation de FC.

5.1.6. Produits secondaires d'alkylation de FC

Les résultats d'alkylation de FC sont décrits dans l'article scientifique (chapitre 3); cette section portera sur des informations supplémentaires concernant les différents produits secondaires d'alkylation de FC. L'optimisation de la méthode d'alkylation de FC a été effectuée sur la synthèse de la balsacone A (**1**). Le produit secondaire majeur a été détecté par CLHP-MS, possédant un ion moléculaire de $[M-H]^+ = 551$; cette masse correspondait avec celle d'un produit de double alkylation. La balsacone A (**1**) $[M-H]^+ = 419$ ayant potentiellement subi une deuxième alkylation. L'hypothèse initiale était que la seconde alkylation surviendrait sur la seconde position méta du cycle aromatique A de la 2',4',6'-trihydroxy-4-méthoxydihydrochalcone (**33**). Si tel était le cas, le spectre RMN 1H aurait été presque identique à celui de la balsacone A (**1**), mais avec des intégrations doublées pour la portion hydroxycinnamylée, en raison de la symétrie ainsi que de l'absence du proton en méta de la DHC nouvellement substituée. Après isolation de ce produit secondaire, les

spectres RMN ^1H et ^{13}C ne correspondaient pas au produit escompté. Effectivement, le spectre RMN ^1H possédait plus de signaux protons que prévu; il y avait présence d'une seule liaison alcénique, des protons supplémentaires dans la région des CH ainsi que des CH_2 non aromatiques et le proton en méta de la DHC était encore présent. Ceci suggère que la seconde alkylation ne s'était pas produite à l'endroit prévu et qu'il y avait présence d'un cycle non aromatique. François Simard avait noté une étroite ressemblance avec les spectres protons des balsacones naturelles J (**63**) à M (**67**). Après comparaison des déplacements chimiques des spectres RMN ^1H et ^{13}C de la molécule isolée avec ceux de la balsacone K (figure 37, **65**), l'identité de la molécule isolée a pu être confirmée comme étant la balsacone K (**65**) (Simard *et al.* 2015). Des traces de balsacone F (figure 37, **59**) ont également été détectées dans le mélange réactionnel par chromatogramme CLHP-MS, notamment par comparaison du temps de rétention, de la signature UV et de la masse de l'ion moléculaire (m/z) de $[\text{M-H}]^- = 419$ avec ceux d'un standard de la balsacone F (**59**). La balsacone F (**59**) est une forme cyclisée de la balsacone A (**1**) (Simard *et al.* 2014). Une autre signature d'ion moléculaire à $[\text{M-H}]^- = 419$ était présente, mais ce produit secondaire n'a jamais pu être isolé avec une pureté adéquate pour confirmer sa structure. Cependant, nous soupçonnons qu'il pourrait s'agir d'un produit d'O-alkylation de l'une des fonctions hydroxyles en ortho (les deux positions formeraient le même produit) du cycle aromatique A de la 2',4',6'-trihydroxy-4-méthoxydihydrochalcone (**33**).

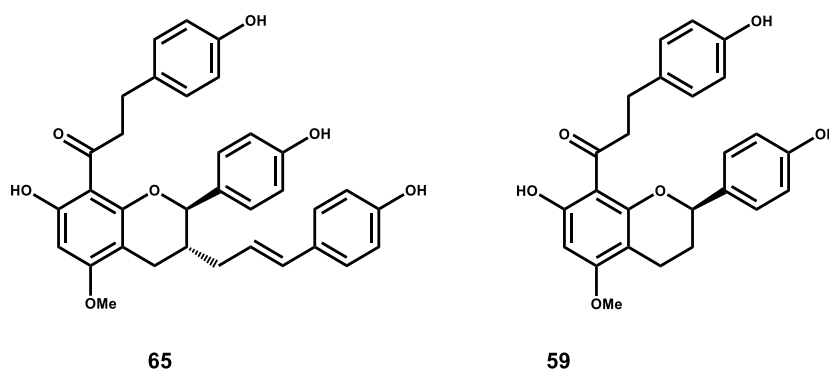


Figure 37. Structure de la balsacone K (**65**) et de la balsacone F (**59**).
(Simard *et al.* 2014; Simard *et al.* 2015).

La découverte de la présence des balsacones K (**65**) et F (**59**) nous a permis de mieux comprendre les mécanismes de formation de ces produits secondaires. Ainsi, nous croyons que ces deux molécules suivent des mécanismes similaires. Le mécanisme proposé pour la formation de la balsacone F (**59**) est illustré à la figure 38 **a**). En premier lieu, la double liaison en C-8'' attaque un proton, créant une charge positive en C-7''. Ensuite, l'hydroxyle en C-4'' forme une double liaison avec le carbone C-4'' causant un déplacement d'électrons vers le carbone C-7'', pour en stabiliser la charge positive, formant une méthylène quinone. La charge partielle positive en C-7'', par résonance, est subséquentement attaquée par l'hydroxyle en C-2' causant ainsi une cyclisation intramoléculaire. La dernière étape consiste en la stabilisation de la charge positive sur l'oxygène, notamment par le vol de son proton par la base conjuguée de l'APTS, soit l'anion tosylate, formant ainsi la balsacone F (**59**) et une molécule d'APTS.

Le mécanisme proposé pour la formation de la balsacone K (**65**) est illustré à la figure 38 **b**). Ce mécanisme est presque identique à celui de formation de la balsacone F (**59**), mis à part la première étape. La double liaison en C-8'' attaque un cation intermédiaire de la réaction d'alkylation de FC (ex : **84** et **86**) causant une seconde alkylation sur le carbone C-8'', créant une charge positive en C-7''. Ensuite, l'hydroxyle en C-4'' forme une double liaison avec le carbone C-4'' causant un déplacement d'électrons vers le carbone C-7'', pour en stabiliser la charge positive, formant une méthylène quinone. La charge partielle positive en C-7'', par résonance, est subséquentement attaquée par l'hydroxyle en C-2' causant ainsi une cyclisation intramoléculaire. La dernière étape consiste en la stabilisation de la charge positive sur l'oxygène, notamment par le vol de son proton par la base conjuguée de l'APTS, soit l'anion tosylate, formant ainsi la balsacone K (**65**) et une molécule d'APTS.

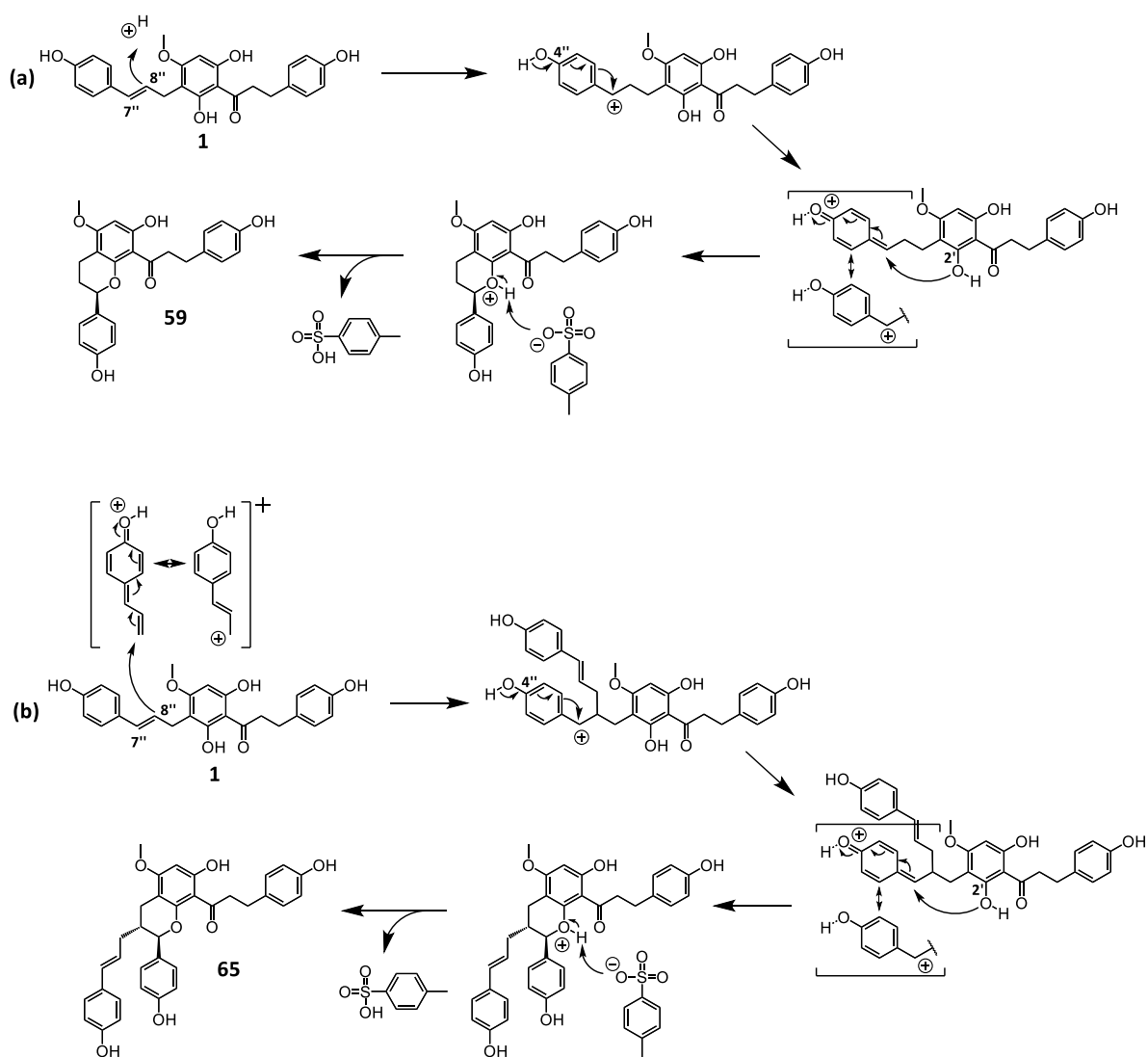


Figure 38. Mécanismes proposés pour la formation de la balsacone F (**59**) et de la balsacone K (**65**) à partir de la balsacone A (**1**).

La voie (a) formerait la balsacone F (**59**),
la voie (b) formerait la balsacone K (**65**).

La balsacone F (**59**) fut le produit majoritaire à une seule occasion, soit lors d'un essai avec ratio DHC/alcool allylique de 3 : 1, avec 40 mol % de catalyseur d'acide boronique dans du CHCl_3 au reflux; le solvant s'était évaporé durant la nuit. Ceci suggère que la formation de la balsacone F (**59**) pourrait être encouragée par l'utilisation d'une quantité réactive d'acide avec du chauffage. Cette hypothèse est appuyée par des données provenant de la littérature, reportant la cyclisation de composés phénoliques hydroxycinnamylés en condition

acide avec chauffage (Jain 1975). Pour former la balsacone K (**65**) comme produit majoritaire, il serait préférable d'introduire la balsacone A (**1**) avec l'alcool *p*-coumarylique (**10**) ainsi qu'une quantité catalytique d'APTS (10 % mol) dans l'acétonitrile.

La présence de trois hydroxyles sur le cycle aromatique A des DHCs (**29**), (**30**) et (**32**) serait responsable de la formation d'une plus grande variété de produits secondaires. Notamment en raison de la présence d'un hydroxyle supplémentaire en para du cycle A, ce qui causerait la formation de deux produits de cyclisation, deux produits de double alkylation et deux produits d'O-alkylation. Les chromatogrammes CLHP-MS des différents mélanges réactionnels impliquant ces trois DHCs semblent appuyer cette théorie puisque des signatures supplémentaires ont été détectées avec des ions moléculaires (m/z) de $[M-H]^- = 419$ et $[M-H]^- = 551$. La présence d'une plus grande quantité de produits secondaires a amplement complexifié l'isolation des produits finaux issus de ces DHCs, forçant l'utilisation de gradients MeOH/H₂O plus étroits lors des purifications par chromatographie éclair en phase inverse. Ceci explique également les rendements d'isolation plus faibles pour ces différents produits.

5.1.7. Dégradation des analogues D (82) et E (83)

À la suite d'un séjour de 48 heures dans l'acétone- d_6 à une concentration de 75 mM, l'analogue D (figure 39, **82**) semblait montrer des signes de dégradation avancée. Tout d'abord, un dépôt brun était présent au fond du tube RMN ; pourtant le composé sec était de couleur jaune pâle. Deuxièmement, la comparaison de spectres RMN 1H de l'analogue D (**82**) durant la première heure versus après 48 heures dans l'acétone- d_6 (figure 39, **a**) affiche des différences notables. Le spectre RMN 1H après deux jours montre la présence de plusieurs signaux supplémentaires dans la région des aromatiques, des alcènes, des méthoxyles ainsi que dans celle des alcanes (Silverstein *et al.* 2014). Troisièmement, le chromatogramme de CLHP-MS de l'analogue D (**82**) après son séjour dans l'acétone- d_6 , affiche plusieurs composés différents (figure 39, **b**). Une partie du composé initial semblait toujours présent à RT = 27,767 min ; $[M-H]^- = 449,2$. La signature $[M-H]^- = 465,1$ revient à trois reprises : à RT = 18,958 min, à RT = 19,632 min et à RT = 21,191 min. Ces trois masses pourraient correspondre à des produits d'oxydation du composé initial $[M+O-H]^-$. Il est à noter que le dépôt brun au fond du tube RMN n'a pas pu être analysé et que le spectre RMN 1H ainsi que le chromatogramme CLHP-MS de l'analogue D (**82**) après son temps de séjour dans l'acétone- d_6 , sont tous deux très dilués. Ainsi, une partie importante du mélange n'a pas pu être analysé, principalement dû à des contraintes de temps; il s'agit donc d'analyses préliminaires. L'analogue E (**83**) semblait également afficher des signes de dégradation modérée après un séjour de 24 heures dans l'acétone- d_6 à une concentration plus faible de 13 mM (annexe 4).

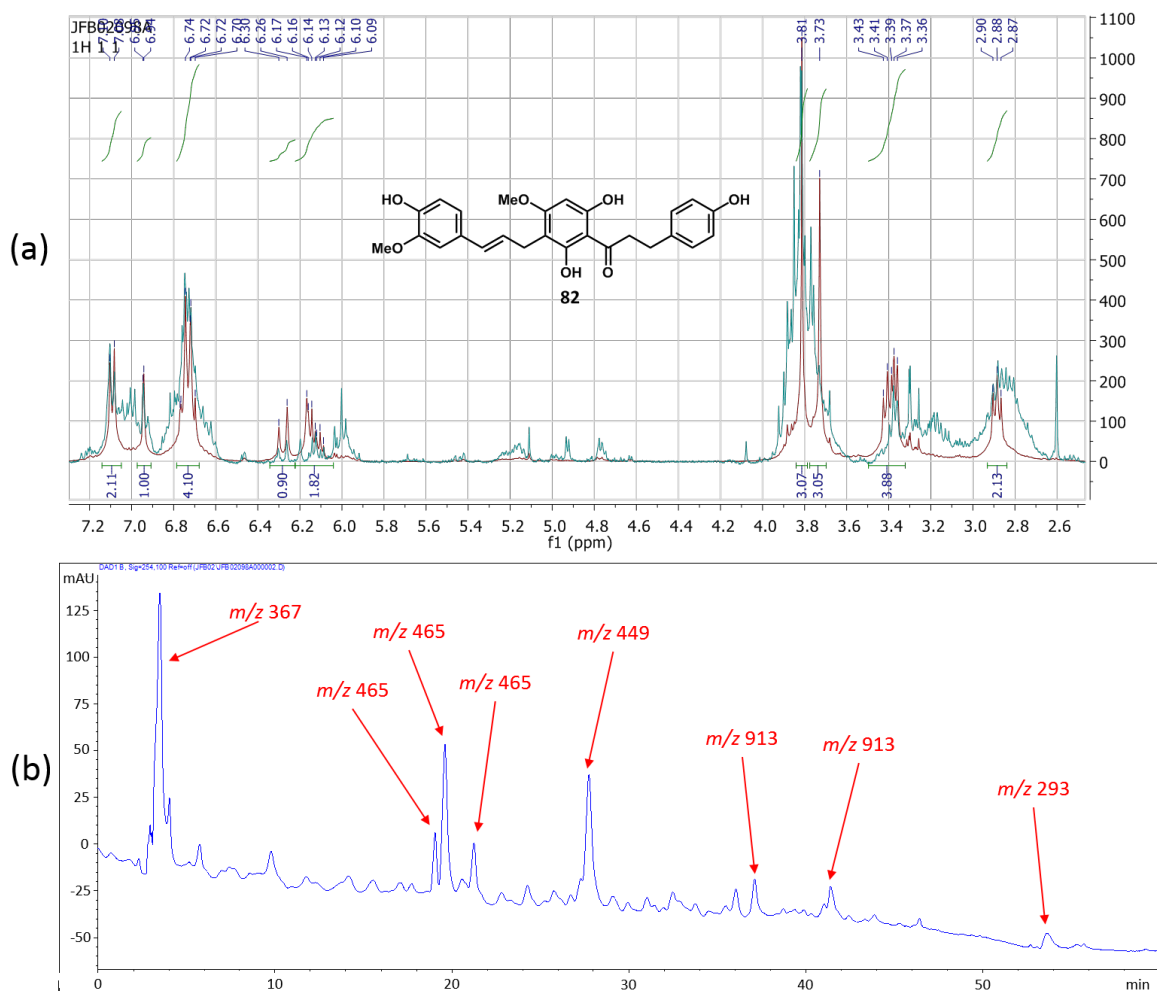


Figure 39. Dégradation de l'analogue D (**82**).

a) comparaison des spectres RMN ¹H protons de l'analogue D (**82**) après 1 heure (en rouge : grossissement 1x) avec celui après un séjour de 48 heures dans l'acétone-*d*₆ (en vert : grossissement 4x);

b) chromatogramme CLHP-MS (ionisation négative) de l'analogue D (**82**) après 48 heures dans l'acétone-*d*₆ (colonne C-18, 45-95 % ACN dans l'eau durant 50 min, ensuite 95 % pendant 10 min).

Ces résultats préliminaires ont permis d'émettre des hypothèses quant aux causes possibles de dégradation. Premièrement, la détérioration rapide dans les solvants aprotiques pourrait être reliée à des interactions intramoléculaires et à des échanges de protons entre les molécules pouvant devenir plus fréquentes à haute concentration. Les solvants protiques pourraient stabiliser les fonctions hydroxyles et méthoxyles, par la formation de liens

hydrogène avec celles-ci, limitant leur réactivité et le potentiel de dégradation. La réactivité du groupement dérivé hydroxycinnamyle pourrait être à l'origine de la dégradation de ces produits par des mécanismes similaires à ceux décrits à la figure 38. Ainsi, la présence d'un second groupement électrodonneur sur la portion hydroxycinnamylée pourrait avoir un impact négatif sur la stabilité des composés (**82** et **83**).

Les analogues D (**82**) et E (**83**) ont été synthétisés de nouveau sans l'utilisation de l'acétone. MeOD a été utilisé comme solvant pour les analyses RMN; (**82**) semblait montrer des signes de dégradation mineure après 48 heures dans le MeOD à une concentration de 20 mM. En raison de contraintes de temps et de quantités de réactifs, la dégradation de (**82**) dans le MeOD n'a pas pu être évaluée à concentration aussi élevée que dans l'acétone-d₆ (annexe 4). En revanche, ces résultats semblent en accord avec les hypothèses émises quant aux causes possibles de dégradation. Il est à noter que les analogues D (**82**) et E (**83**) ont été synthétisés à partir de l'alcool coniférylique (**11**); l'instabilité des composés formés à partir de cet alcool explique peut-être pourquoi de tels analogues ne sont pas présents à l'état naturel. Pour le moment, rien ne semble indiquer que les balsacones naturelles A (**1**) à U2 (**75b**) seraient susceptibles à des dégradations similaires, mais par mesures préventives des tests de dégradation pourraient être envisagés sur ces molécules. Pour bien vérifier ces suppositions, il serait nécessaire de faire des essais supplémentaires de dégradation dans différents solvants à concentration égale et avec plus de répétitions.

5.2 TESTS BIOLOGIQUES

5.2.1. Activités antibactériennes

Cette sous-section portera sur les tests antibactériens effectués contre le *S. aureus* et 10 souches de SARMs. Les résultats portant sur les SARMs ne sont pas inclus dans l'article scientifique (chapitre 3), en raison de résultats contradictoires pour les balsacones A (1) et B (2) par rapport à ceux déjà publiés (Simard *et al.* 2016).

Les balsacones synthétiques (1 à 3) ainsi que les analogues (79 à 83) ont été soumis à des tests antibactériens *in vitro* contre *Escherichia coli* (Gram négative) et *Staphylococcus aureus* (Gram positive) ainsi que 10 souches de SARMs, avec la gentamicine comme contrôle positif en utilisant la méthode de microdilution modifiée de (Banfi *et al.* 2003; Simard *et al.* 2016). Les résultats, représentatifs de deux expériences, exprimés en concentration minimale inhibant 90 % de la croissance bactérienne (CMI₉₀, µM), sont présentés dans le tableau 5.

Tableau 5. Activité antibactérienne des balsacons (1-3) ainsi que des analogues (79-83) contre *S. aureus* et des SARMs

Composé	Activité antibactérienne (MIC ₉₀ , µM)*											
	SARMs											
<i>E. coli</i>	<i>S.aureus</i>	#1	#2	#3	#4	#5	#6	#7	#8	#9	#10	
Balsacone A (1)	> 50	3,0 ± 0,8	0,90 ± 0,06	1,0 ± 0,2	0,9 ± 0,1	0,8 ± 0,1	< 0,391	0,89 ± 0,06	1,1 ± 0,2	0,9 ± 0,1	0,94 ± 0,07	1,4 ± 0,2
Balsacone B (2)	> 50	5,2 ± 0,8	8,5 ± 0,7	6,4 ± 0,4	5,8 ± 0,6	7,5 ± 0,4	6 ± 1	7,0 ± 0,9	6,2 ± 0,6	6,6 ± 0,3	7 ± 2	8,0 ± 0,5
Balsacone C (3)	> 50	5,7 ± 0,7	7,7 ± 0,9	6,0 ± 0,7	5,9 ± 0,3	7 ± 1	6,6 ± 0,2	7,7 ± 0,9	5,5 ± 0,4	7,0 ± 0,7	8 ± 1	5,3 ± 0,3
Analogue A (79)	> 50	8,9 ± 0,9	9 ± 1	8,4 ± 0,6	10 ± 2	8 ± 1	10 ± 2	9,0 ± 0,3	7,0 ± 0,5	9 ± 2	11 ± 1	9,5 ± 0,4
Analogue B (80)	> 50	> 50	24 ± 4	17 ± 2	15 ± 1	29 ± 3	24 ± 2	20 ± 2	13 ± 1	19 ± 2	28 ± 3	8,1 ± 0,5
Analogue C (81)	> 50	28 ± 7	22 ± 4	19 ± 2	12 ± 1	18 ± 2	23 ± 3	19 ± 2	13 ± 1	21 ± 1	20 ± 3	9 ± 1
Analogue D (82)	> 50	19 ± 4	17 ± 2	14 ± 1	17 ± 1	19 ± 1	12 ± 3	16 ± 1	15 ± 2	21 ± 1	17 ± 3	16 ± 1
Analogue E (83)	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50
Gentamicine**	0,049 ± 0,002	0,06 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,037 ± 0,005	0,06 ± 0,01	0,078 ± 0,004	0,057 ± 0,008	0,053 ± 0,006	0,045 ± 0,005	0,07 ± 0,01	0,071 ± 0,007	0,067 ± 0,009

* Valeurs MIC₉₀ ± DS (n = 2) représentatives de deux différentes expériences.

** Gentamicine a été utilisé comme témoin positif.

Aucun des composés testés n'était actif contre *E. coli* avec des CMI₉₀ supérieures à 50 µM (tableau 5). La balsacone A (**1**) est le composé le plus actif contre *S. aureus* avec une CMI₉₀ de 3,0 ± 0,8 µM et des CMI₉₀ variant de < 0,391 à 1,4 ± 0,2 µM pour les différents SARMS. Les balsacones B (**2**) et C (**3**) démontrent également de bonnes activités avec des CMI₉₀ ≤ 8,5 µM contre *S. aureus* et tous les SARMS. Parmi les analogues, le composé le plus prometteur est l'analogue A (**79**) avec des CMI₉₀ ≤ 11 µM pour *S. aureus* et les différents SARMS. Les analogues D (**82**), C (**81**) ainsi que B (**80**) ont montré des activités modérées contre tous les SARMS avec des CMI₉₀ ≤ 19, 28 et 29 µM respectivement. En revanche (**80**) est inactif contre *S. aureus*. L'analogue E (**83**) est inactif contre toutes les souches de bactéries testées.

5.2.2. Relation structure-activité

Selon les données publiées précédemment (Lavoie *et al.* 2013 ; Simard *et al.* 2016), les balsacones A (**1**) ainsi que B (**2**) devraient démontrer des activités inférieures à la balsacone C (**3**) contre *S. aureus*, en raison de la présence d'une fonction méthoxyle en position C-4' et C-4 respectivement. Les résultats présentés au tableau 5 ne sont pas en accord avec ceux précédemment publiés : la balsacone A (**1**) a une CMI₉₀ inférieure à celles des balsacones B (**2**) et C (**3**) contre *S. aureus*. En outre, (**1**) est plus active sur toutes les souches de SARMS que pour *S. aureus*, tandis qu'elle n'avait aucune activité contre les SARMS et *S. aureus* lors d'une étude précédente (Simard *et al.* 2016). La balsacone B (**2**) a des différences similaires puisqu'elle est active contre tous les SARMS dans la présente étude, alors qu'elle était beaucoup moins active dans l'étude précédente avec des concentrations minimales inhibitrices (CMI) variantes de 13 à 50 µM. Effectivement, (**2**) ne démontrait aucune activité contre *S. aureus* précédemment (Simard *et al.* 2016), mais affichait une activité plus importante lors de l'étude de (Lavoie *et al.* 2013) avec une CMI de 6,3 µM. Une possibilité pour expliquer la forte activité de (**1**) dans la présente étude serait la présence d'impuretés issues du *Kalmia augustifolia* L. ou de produits secondaires d'alkylations qui pourraient influencer l'activité contre *S. aureus* et les SARMS. Pour vérifier

ces hypothèses, il serait nécessaire de tester plusieurs échantillons synthétiques des balsacones A (**1**), B (**2**) et C (**3**) ainsi que des échantillons naturels de ces balsacones, pour pouvoir valider la reproductibilité des résultats obtenus avec un nombre de réplicats plus élevé.

Comme mentionné dans l'article (chapitre 3), la nature des DHCs a un impact plus restreint sur l'activité antibactérienne des produits d'alkylation, tandis que les substitutions sur la portion cinnamylée ont une plus grande influence sur l'activité biologique. Ce constat pourrait être validé avec d'autres DHCs telles que (**29** à **32**) par alkylation avec les alcools (**9**, **11** à **13**). La présence d'un groupement méthoxyle à la position C-5'' de l'analogue D (**82**), a pour effet de réduire considérablement l'activité, mais cette réduction n'est pas aussi marquée qu'avec la suppression de la fonction hydroxyle en position C-4'' de l'analogue C (**81**) ou sa substitution par un groupement méthoxyle pour l'analogue B (**80**). Cependant, bien que (**80**) ne soit pas actif contre *S. aureus*, il montre une activité modérée contre toutes les souches de SARMs. La présence d'un groupement hydroxyle en position C-4'' semble avoir un impact bénéfique sur l'activité antibactérienne. Par contre, l'encombrement de la position C-4'' ou C-5'' par un méthoxyle ou la suppression de l'hydroxyle C-4'' auraient tous pour effet de réduire considérablement l'activité antibactérienne. Simard et ses collaborateurs (Simard *et al.* 2016) avaient émis l'hypothèse selon laquelle le potentiel donneur de liaisons hydrogène de certains groupements hydroxyles, présents sur les balsacones, pourrait être crucial pour interagir efficacement avec leurs cibles bactériennes. Les résultats obtenus, lors de la présente étude, semblent en accord avec cette supposition. Évidemment, cette hypothèse reste à être validée par la caractérisation des cibles moléculaires responsables de l'activité antibiotique des balsacones.

Finalement, l'étude structure-activité de (Simard *et al.* 2016) démontre que la présence d'une insaturation entre les carbones C-7'' et C-8'' des balsacones L (**66**) ainsi que M (**67**) aurait pour effet d'augmenter l'activité par rapport à leur dérivé saturé, soit les balsacones J (**63**) et K (**65**) respectivement. Ceci suggère que les dérivés chalcones des DHCs (**29** à **33**), soit (**48** et **50**), pourraient être utilisés pour synthétiser des analogues des

balsacones présentant des potentiels d'activités supérieures contre les SARMs. Certains dérivés chalcones pourraient être obtenus à partir de leurs équivalents flavanones, parfois plus abondants dans les plantes (Panche *et al.* 2016), par simple ouverture du cycle C en conditions basiques (Stompor *et al.* 2013) ou par synthèse totale en trois étapes (chapitre 2.3.3).

CHAPITRE 6

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

6.1 CONCLUSION

L'objectif principal de ce projet de maîtrise, consistant à développer une méthode d'hémisynthèse des balsacones A (**1**), B (**2**) ainsi que C (**3**) à l'aide de substrats biosourcés, a été atteint. Cette voie passe par la synthèse d'alcools allyliques, à partir de leurs acides correspondants (**5** et **6**), en procédant à leur estérification suivie de la réduction des esters formés pour l'obtention des alcools (**10** et **11**) avec des rendements globaux pour deux étapes de 77 et 62 % respectivement. L'alcool (**13**) a requis une étape supplémentaire, soit la méthylation du phénol en C-4 de l'ester (**24**), en raison de l'indisponibilité de son acide correspondante (**8**) au moment de cette synthèse, avec un rendement global de 77 % pour trois étapes de synthèses. La DHC (**33**) a été obtenue par l'hydrolyse de l'asébotine (**34**), isolée du *Kalmia augustifolia* L., avec un rendement d'isolation de 0,85 % (p/p à partir des parties aériennes séchées). Ce rendement pourrait être amélioré par l'élaboration d'une méthode de purification spécifiquement optimisée pour le composé (**34**). Les DHCs (**29** et **32**) ont été isolées à partir des bourgeons non séchés de *Populus balsamifera* L. avec des rendements de 1,07 et 0,89 % respectivement (p/p de l'extrait brut humide). La DHC (**30**) ainsi que l'alcool (**9**) et les acides dérivés cinnamiques (**5** et **6**) proviennent tous de sources commerciales (isolés à partir de substrats végétaux). L'étape clef de cette méthode est l'alkylation de Friedel-Crafts entre un alcool allylique et une DHC, sans l'utilisation de groupements protecteurs, dans de l'ACN en utilisant l'APTS comme catalyseur avec de l'eau comme sous-produit majoritaire de la réaction. Grâce à cette voie, les balsacones A (**1**), B (**2**) et C (**3**) ont été synthétisées avec respectivement des rendements d'alkylation de 70, 51 et 56 %. Les produits d'alkylation ainsi que les DHCs en excès sont isolés par extraction liquide/liquide suivie d'une chromatographie éclair sur colonne C-18. Il s'agit de la première synthèse de la balsacone A (**1**) rapportée à ce jour et les rendements d'alkylation des balsacones B (**2**) et C (**3**) sont supérieurs à ceux rapportés avec l'utilisation de groupements protecteurs (Burmaoğlu 2017), sans avoir recours aux étapes de protection et de déprotection.

L'objectif secondaire, consistant à utiliser la méthode pour la synthèse de nouveaux analogues, a également été atteint. Ainsi, la versatilité de la voie de synthèse a pu être validée par l'utilisation des alcools allyliques (**9**, **10**, **11** et **13**) pour la synthèse des nouveaux analogues A à E (**79** à **83**) avec des rendements d'alkylation de 57, 63, 40, 45 et 21 % respectivement. Le composé (**83**) est un produit secondaire de double alkylation issu de la synthèse de (**82**). La majorité des différents produits de synthèse a démontré des activités antibactériennes contre *S. aureus* et 10 souches de SARMs. Les balsacones A (**1**), B (**2**), C (**3**) et l'analogue A (**79**) ont démontré de fortes activités contre *S. aureus* et les SARMs avec des $CMI_{90} \leq 3,0$; 8,5 ; 8,0 et 10 μM respectivement. Tandis que les analogues B, C et D (**80** à **82**) ont montré des activités modérées contre les différents SARMs avec des $CMI_{90} \leq 29$, 28 et 19 μM respectivement. Ainsi, une relation structure-activité a pu être établie, démontrant l'importance déterminante de la présence d'une portion hydroxycinnamylée pour l'activité antibactérienne. La suppression, la substitution par un groupement méthoxyle ou la présence d'un méthoxyle voisin de la fonction hydroxyle en C-4'', ont toutes pour effet une considérable réduction de l'activité contre *S. aureus* et les différents SARMs. Tel que suggéré par (Simard *et al.* 2016), le potentiel donneur de liaisons hydrogène de certains groupements hydroxyles présents sur les balsacones et leurs analogues pourrait être crucial pour interagir efficacement avec leurs cibles bactériennes. La synthèse des analogues A à E (**79** à **83**) a également permis de soupçonner la dégradation des analogues D (**82**) et E (**83**) dans l'acétone- d_6 . Cette dégradation pourrait dépendre de la présence de groupements électrodonneurs sur la portion cinnamylée, les molécules avec deux groupements s'avéreraient instables (**82** et **83**). La nature du solvant ainsi que la concentration pourraient également avoir un impact. Il ne s'agit que de résultats préliminaires; plusieurs essais supplémentaires seraient nécessaires pour confirmer ces hypothèses.

Le deuxième objectif secondaire de ce projet, consistant à identifier de nouvelles espèces végétales contenant les DHCs, n'a pas été atteint. Effectivement, malgré une recherche poussée de la littérature, aucune nouvelle espèce contenant plus de DHCs (**29** et/ou **32**) que les bourgeons de *Populus balsamifera* L., n'a pu être identifiée. Peu d'études sont effectuées sur les espèces végétales de la forêt boréale, ainsi les informations à

ce sujet sont limitées. Des plantes locales contenant ces DHCs ou leurs dérivés glycosylés pourraient être identifiées dans les années à venir. Une voie de synthèse pour ces DHCs ainsi que pour leurs analogues chalcones est proposée au chapitre 2.3.3. La synthèse totale de ces précurseurs semble être la solution la plus prometteuse pour une synthèse efficace des balsacones et analogues à partir de ces flavonoïdes.

6.2 PERSPECTIVES

Les perspectives sont vastes : en premier lieu, les alcools (**9**, **11** et **13**) devraient être testés avec d'autres DHCs, telles que (**29**, **30** et **32**) pour la création de nouveaux analogues. Ceci permettrait de confirmer ou d'infirmer la relation structure-activité proposée. D'autres alcools allyliques portant différents groupements fonctionnels, tel que NH₂, pourraient également être utilisés avec différentes DHCs pour la création de nouveaux analogues. La synthèse des balsacones cyclisées D à I (**57** à **62**), ainsi que de multiples dérivés inédits, serait facilement envisageable en milieu acide avec chauffage à partir de leurs analogues non cyclisés (Jain 1975). Les produits de la polyalkylation tels que (**63** à **75b**), ainsi que divers composés similaires, pourraient être synthétisés à partir de leurs précurseurs monoalkylés ou directement avec diverses DHCs. L'élucidation du mécanisme d'action des balsacones fournirait des informations supplémentaires pouvant orienter l'optimisation structurale des balsacones et de leurs analogues en vue de maximiser leurs activités thérapeutiques.

Deuxièmement, la relation structure-activité établie par (Simard *et al.* 2016) démontre que l'utilisation de chalcones au lieu des DHCs, pour la synthèse de composés antibiotiques, n'aurait pas d'impacts négatifs sur l'activité antibactérienne des balsacones ou des analogues formés contre *S. aureus* et les SARMS. Au contraire, la présence d'une portion cinnamoylée ou hydroxycinnamoylée en position C-8 des balsacones L (**66**) et M (**67**) serait bénéfique pour l'activité antibactérienne en comparaison avec leurs dérivés non cinnamoylés (**63** et **65**) respectivement. Ainsi, l'utilisation des analogues chalcones des DHCs (**29** à **33**), soit (**48** et **50**), serait envisageable pour la synthèse de balsacones dérivées présentant des activités

antibiotiques supérieures aux composés déjà existants. Dans cette optique, la synthèse des analogues chalcones de **(29)** et **(32)** pourrait être effectuée en seulement trois étapes (chapitre 2.3.3). Ce constat suggère que les dérivés flavanones ainsi que d'autres flavonoïdes seraient utilisables pour la synthèse de nouveaux composés possédant des potentiels antibactériens.

Finalement, il serait prudent de vérifier si les balsacones naturelles A **(1)** à U2 **(75b)** sont susceptibles à des dégradations similaires aux analyses préliminaires effectuées sur les analogues D **(82)** et E **(83)** pour ainsi comprendre les conditions de dégradation afin d'éviter les mauvaises conditions de stockage.

BIBLIOGRAPHIE

Alder CM, Hayler JD, Henderson RK, Redman AM, Shukla L, Shuster LE et Sneddon HF. 2016. Updating and further expanding GSK's solvent sustainability guide. *Green Chemistry*, 18 : 3879-3890.

Aminov RI. 2010. A brief history of the antibiotic era: lessons learned and challenges for the future. *Frontiers in microbiology*, 1 : 134-134.

Ashenhurst J. 2019. EAS Reactions (3) – Friedel-Crafts Acylation and Friedel-Crafts Alkylation. <https://www.masterorganicchemistry.com/2018/05/17/friedel-crafts-alkylation-acylation/>

Bandini M et Tragni M. 2009. π -Activated alcohols: an emerging class of alkylating agents for catalytic Friedel–Crafts reactions. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 7 : 1501-1507.

Bandini M et Umani-Ronchi A. 2009. Catalytic asymmetric Friedel-Crafts alkylations. Wiley-VCH, Weinheim, une ressource en ligne (xvi, 301 p.).

Banfi E, Scialino G et Monti-Bragadin C. 2003. Development of a microdilution method to evaluate Mycobacterium tuberculosis drug susceptibility. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 52 : 796-800.

Bélanger A, Grenier A, Simard F, Gendreau I, Pichette A, Legault J et Pouliot R. 2020. Dihydrochalcone Derivatives from Populus balsamifera L. Buds for the Treatment of Psoriasis. *International Journal of Molecular Sciences*, 21 : 256.

Boerjan W, Ralph J et Baucher M. 2003. Lignin biosynthesis. *Annu Rev Plant Biol*, 54 : 519-546.

Boga C, Del Vecchio E, Tozzi S, Forlani L, Monari M, Micheletti G et Zanna N. 2014. First isolation of a Wheland intermediate in the azo-coupling reaction, its X-ray crystal structure determination and products from its evolution. *ARKIVOC: Online Journal of Organic Chemistry* : 51-S12.

Brun N, Hesemann P et Esposito D. 2017. Expanding the biomass derived chemical space. *Chemical Science*, 8 : 4724-4738.

Burmaoğlu S. 2017. Total Syntheses of Balsacone B and Balsacone C. *Journal of the Turkish Chemical Society, Section A: Chemistry* : 725-725.

Chellat MF, Raguž L et Riedl R. 2016. Targeting Antibiotic Resistance. *Angewandte Chemie International Edition*, 55 : 6600-6626.

Chen C. 2016. Sinapic Acid and Its Derivatives as Medicine in Oxidative Stress-Induced Diseases and Aging. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 10 p.

Christov R, Christov R, Trusheva B, Popova M, Bankova V et Bertrand M. 2006. Chemical composition of propolis from Canada, its antiradical activity and plant origin. *Natural product research*, 20 : 531-536.

Clark JH. 1999. Green chemistry: challenges and opportunities. *Green Chemistry*, 1 : 1-8.

Clark JH, Budarin V, Deswarte FEI, Hardy JJE, Kerton FM, Hunt AJ, Luque R, Macquarrie DJ, Milkowski K, Rodriguez A, Samuel O, Tavener SJ, White RJ et Wilson AJ. 2006. Green chemistry and the biorefinery: a partnership for a sustainable future. *Green Chemistry*, 8 : 853-860.

Coates AR, Halls G et Hu Y. 2011. Novel classes of antibiotics or more of the same?, Oxford, UK, p. 184-194.

Conserva LM, Yoshida M, Gottlieb OR, Martinez V JC et Gottlieb HE. 1990. Iryantherins, lignoflavonoids of novel structural types from the myristicaceae. *Phytochemistry*, 29 : 3911-3918.

Constable DJC, Dunn PJ, Hayler JD, Humphrey GR, Leazer JJJ, Linderman RJ, Lorenz K, Manley J, Pearlman BA, Wells A, Zaks A et Zhang TY. 2007. Key green chemistry research areas—a perspective from pharmaceutical manufacturers. *Green Chemistry*, 9 : 411-420.

Cosgrove SE, Qi Y, Kaye KS, Harbarth S, Karchmer AW et Carmeli Y. 2005. The Impact of Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus* Bacteremia on Patient Outcomes: Mortality, Length of Stay, and Hospital Charges. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 26 : 166-174.

Côté H, Pichette A, Simard F, Ouellette M-E, Ripoll L, Mihoub M, Grimard D et Legault J. 2019. Balsacone C, a New Antibiotic Targeting Bacterial Cell Membranes, Inhibits Clinical Isolates of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Without Inducing Resistance. *Frontiers in microbiology*, 10 p.

Cui L, Hou X, Li W, Leng Y, Zhang Y, Li X, Hou Y, Liu Z et Kang W. 2019. Dynamic changes of secondary metabolites and tyrosinase activity of *Malus pumila* flowers. *BMC Chemistry*, 13 : 1-8.

Ehrenkranz JRL, Lewis NG, Ronald Kahn C et Roth J. 2005. Phlorizin: a review. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 21 : 31-38.

El-Naggar SaF, El-Ferally FS, Foos JS et Doskotch RW. 1980. Flavonoids From the Leaves of *Kalmia latifolia*. *Journal of Natural Products*, 43 : 739-751.

Eyton WB, Ollis WD, Fineberg M, Gottlieb OR, Salignac de Souza Guimarães I et Taveira Magalhães M. 1965. The neoflavanoid group of natural products—II.: The

examination of Machaerium scleroxylon and some biogenetic proposal regarding the neoflavanoids. *Tetrahedron*, 21 : 2697-2705.

Farmer S, Reush, W. 2019. The Friedel-Crafts Alkylation and Acylation of Benzene. Consulté le 20 juin 2019, <https://courses.lumenlearning.com/suny-mcc-organicchemistry/chapter/the-friedel-crafts-alkylation-and-acylation-of-benzene/>

Fischer E et Speier A. 1895. Darstellung der Ester. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, 28 : 3252-3258.

Gosch C, Halbwirth H et Stich K. 2010. Phloridzin: Biosynthesis, distribution and physiological relevance in plants. *Phytochemistry*, 71 : 838-843.

Gunawardena G. 2019. Allylic Carbon. Consulté le 13 juin 2019, <http://www.ochempal.org/index.php/alphabetical/a-b/allylic-carbon/>

Gupte A et Buolamwini JK. 2009. Synthesis and biological evaluation of phloridzin analogs as human concentrative nucleoside transporter 3 (hCNT3) inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett*, 19 : 917-921.

Harborne JB. 1964. *Biochemistry of Phenolic Compounds*. Academic Press.

Harborne JB. 2019. *The Flavonoids : advances in research since 1980* / edited by J. B. Harborne.

Hidalgo W, Kai M et Schneider B. 2015. 4-Methoxycinnamic acid – An unusual phenylpropanoid involved in phenylphenalenone biosynthesis in *Anigozanthos preissii*. *Phytochemistry*, 117 : 476-481.

Hoarau C et Pettus TRR. 2003. Strategies for the Preparation of Differentially Protected ortho-Prenylated Phenols. *Synlett : accounts and rapid communications in synthetic organic chemistry* : 127-137.

Hoshino K, Taniguchi M, Ueoka H, Ohkuwa M, Chida C, Morohashi S et Sasakura T. 1996. Repeated utilization of β -glucosidase immobilized on a reversibly soluble-insoluble polymer for hydrolysis of phloridzin as a model reaction producing a water-insoluble product. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 82 : 253-258.

Hoskins JA. 1984. The occurrence, metabolism and toxicity of cinnamic acid and related compounds. *J Appl Toxicol*, 4 : 283-292.

Hu C, Zhou Z, Xiang Y, Song X, Wang H, Tao K et Ye X. 2018. Design, synthesis and anti-inflammatory activity of dihydroflavonol derivatives. *Medicinal Chemistry Research*, 27 : 194-205.

Huang Y, Gan H et Guo K. 2015. Total Synthesis of Evelynin B and Taccabulin D. *Journal of Chemical Research*, 39 : 458-461.

Ibdah M, Martens S et Gang DR. 2018. Biosynthetic Pathway and Metabolic Engineering of Plant Dihydrochalcones. *J Agric Food Chem*, 66 : 2273-2280.

Jain AC. 1975. Cinnamylation studies of 5,7-dihydroxy-2-methylisoflavone and chromone. p. 511-516.

Jesus AR, Vila-Viçosa D, Machuqueiro M, Marques AP, Dore TM et Rauter AP. 2017. Targeting Type 2 Diabetes with C-Glucosyl Dihydrochalcones as Selective Sodium Glucose Co-Transporter 2 (SGLT2) Inhibitors: Synthesis and Biological Evaluation. *J Med Chem*, 60 : 568-579.

Jurikova T, Mlcek J, Skrovankova S, Balla S, Sochor J, Baron M et Sumczynski D. 2016. Black Crowberry (*Empetrum nigrum* L.) Flavonoids and Their Health Promoting Activity. *Molecules*, 21 : 1685.

Konrádová D, Kozubíková H, Doležal K et Pospíšil J. 2017. Microwave-Assisted Synthesis of Phenylpropanoids and Coumarins: Total Synthesis of Osthol. *European Journal of Organic Chemistry*, 5204-5213.

Krasnov E, Ermilova E, Kadyrova T, Raldugin V, Bagryanskaya I, Gatilov Y, Druganov A, Semenov A et Tolstikov G. 2000. Phenolic Components of *Empetrum nigrum* Extract and the Crystal Structure of One of Them. *Chemistry of Natural Compounds*, 36 : 493-496.

Krishnamurty HG et Sathyanarayana S. 1989. Catalytic Transfer Hydrogenation, A Facile Conversion of Hydroxyflavanones Into Hydroxydihydrochalcones. *Synthetic Communications*, 19 : 119-123.

Kühlborn J, Groß J et Opatz T. 2020. Making natural products from renewable feedstocks: back to the roots? *Natural Product Reports*.

Kühlborn J, Konhäuser M, Groß J, Wich PR et Opatz T. 2019. Xylochemical Synthesis of Cytotoxic 2-Aminophenoxazinone-Type Natural Products Through Oxidative Cross Coupling. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 7 : 4414-4419.

Kühlborn J, Danner A-K, Frey H, Iyer R, Arduengo AJ et Opatz T. 2017. Examples of xylochemistry: colorants and polymers. *Green Chemistry*, 19 : 3780-3786.

Kütt A, Leito I, Kaljurand I, Sooväli L, Vlasov VM, Yagupolskii LM et Koppel IA. 2006. A Comprehensive Self-Consistent Spectrophotometric Acidity Scale of Neutral Brønsted Acids in Acetonitrile. *The Journal of Organic Chemistry*, 71 : 2829-2838.

Kuwano R et Kusano H. 2008. Benzyl Protection of Phenols under Neutral Conditions: Palladium-Catalyzed Benzylations of Phenols. *Organic Letters*, 10 : 1979-1982.

Landmarks ACSIHC. 1999. Discovery and Development of Penicillin. Consulté le 6 mai 2019, <https://www.acs.org/content/acs/en/education/whatischemistry/landmarks/flemingpenicillin.html>

Lavoie S, Legault J, Simard F, Chiasson É et Pichette A. 2013. New antibacterial dihydrochalcone derivatives from buds of *Populus balsamifera*. *Tetrahedron Letters*, 54 : 1631-1633.

Levy IJ. 2019. Claisen-Schmidt Condensation Preparation of Dibenzalacetone. Consulté le 10 juin 2019, <http://math-cs.gordon.edu/courses/organic/claisenSchmidt.html>

Li NG, Shi ZH, Tang YP, Li BQ et Duan JA. 2009. Highly efficient esterification of ferulic acid under microwave irradiation. *Molecules*, 14 : 2118-2126.

Liu J, Mooney H, Hull V, Davis SJ, Gaskell J, Hertel T, Lubchenco J, Seto KC, Gleick P, Kremen C et Li S. 2015. Systems integration for global sustainability. *Science*, 347 : 1258832.

Lugemwa F, Shaikh K et Hochstedt E. 2013. Facile and Efficient Acetylation of Primary Alcohols and Phenols with Acetic Anhydride Catalyzed by Dried Sodium Bicarbonate. *Catalysts*, 3 : 954-965.

Marie-Victorin, Alexandre, Brouillet L, Hay S, Goulet I, Rouleau E, Blondeau M, Cayouette J et Labrecque J. 2002. *Flore laurentienne*. G. Morin, Boucherville, Québec, xv, 1093 p.

McCubbin JA, Hosseini H et Krokhn OV. 2010a. Boronic Acid Catalyzed Friedel-Crafts Reactions of Allylic Alcohols with Electron-Rich Arenes and Heteroarenes. *The Journal of Organic Chemistry*, 75 : 959-962.

McCubbin JA, Hosseini H et Krokhn OV. 2010b. Boronic Acid catalyzed friedel-crafts reactions of allylic alcohols with electron-rich arenes and heteroarenes. *J Org Chem*, 75 : 959-962.

Mertins K, Iovel I, Kischel J, Zapf A et Beller M. 2006. Gold-Catalyzed Benzylolation of Arenes and Heteroarenes. *Advanced Synthesis & Catalysis*, 348 : 691-695.

Ministère Ressources naturelles Canada. Service canadien des forêts. 2020. Consulté le 4 novembre 2020, <http://aimfc.rncan.gc.ca/>.

Moerman DE. 2009. *Native American medicinal plants : an ethnobotanical dictionary*. Timber Press, Portland, Or., 799 p.

Morrison KC et Hergenrother PJ. 2014. Natural products as starting points for the synthesis of complex and diverse compounds. *Natural Product Reports*, 31 : 6-14.

Moussouni S, Saru M-L, Ioannou E, Mansour M, Detsi A, Roussis V et Kefalas P. 2011. Crude peroxidase from onion solid waste as a tool for organic synthesis. Part II: oxidative dimerization–cyclization of methyl p-coumarate, methyl caffeate and methyl ferulate. *Tetrahedron Letters*, 52 : 1165-1168.

Newman DJ et Cragg GM. 2012. Natural Products As Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. *Journal of Natural Products*, 75 : 311-335.

Nguyen V, Dong L, Wang SC et Wang Q. 2015. The First Total Synthesis of Sophoflavescenol, Flavenochromane C, and Citrusinol. *European Journal of Organic Chemistry* : 2297-2302.

Nichol KA, Adam HJ, Hussain Z, Mulvey MR, McCracken M, Mataseje LF, Thompson K, Kost S, Lagacé-Wiens PRS, Hoban DJ et Zhanel GG. 2011. Comparison of community-associated and health care-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Canada: results of the CANWARD 2007–2009 study. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 69 : 320-325.

Niggemann M et Meel MJ. 2010. Calcium-catalyzed Friedel-Crafts alkylation at room temperature. *Angew Chem Int Ed Engl*, 49 : 3684-3687.

Nkengfack AE, Van Heerden FR, Fuendjiep V et Fomum ZT. 2001. Asebotin, a dihydrochalcone glucoside from *Guibourtia tessmannii*. *Fitoterapia*, 72 : 834-836.

Okkerse C et van Bekkum H. 1999. From fossil to green. *Green Chemistry*, 1 : 107-114.

Panche AN, Diwan AD et Chandra SR. 2016. Flavonoids: an overview. *J Nutr Sci*, 5 : e47.

Pei K, Ou J, Huang J et Ou S. 2016. p-Coumaric acid and its conjugates: dietary sources, pharmacokinetic properties and biological activities. *J Sci Food Agric*, 96 : 2952-2962.

Pépinière Aux Arbres Fruitiers. 2019. Peuplier baumier - *Populus balsamifera* - Zone 1a. Consulté le 14 mai 2019, <http://www.arbres-fruitiers.ca/nos-arbres/arbre-forestier-indigene/peuplier-baumier-populus-balsamifera-zone-1a>

Popovici J, Bertrand C, Jacquemoud D, Bellvert F, Fernandez M, Comte G et Piola F. 2011. An Allelochemical from *Myrica gale* with Strong Phytotoxic Activity against Highly Invasive *Fallopia x bohémica* Taxa. *Molecules*, 16 : 2323-2333.

Poss AJ et Belter RK. 1988. Vitamin C in organic synthesis: reaction with p-hydroxybenzyl alcohol derivatives. *The Journal of Organic Chemistry*, 53 : 1535-1540.

Prat D, Wells A, Hayler J, Sneddon H, McElroy CR, Abou-Shehada S et Dunn PJ. 2016. CHEM21 selection guide of classical- and less classical-solvents. *Green Chemistry*, 18 : 288-296.

Quideau S et Ralph J. 1992. Facile large-scale synthesis of coniferyl, sinapyl, and p-coumaryl alcohol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40 : 1108-1110.

Rao W et Chan PW. 2008. Gold-catalysed allylic alkylation of aromatic and heteroaromatic compounds with allylic alcohols. *Org Biomol Chem*, 6 : 2426-2433.

Ricardo CL, Mo X, McCubbin JA et Hall DG. 2015a. A Surprising Substituent Effect Provides a Superior Boronic Acid Catalyst for Mild and Metal-Free Direct Friedel–Crafts Alkylations and Prenylations of Neutral Arenes. *Chemistry – A European Journal*, 21 : 4218-4223.

Ricardo CL, Mo X, McCubbin JA et Hall DG. 2015b. A surprising substituent effect provides a superior boronic acid catalyst for mild and metal-free direct Friedel–Crafts alkylations and prenylations of neutral arenes. *Chemistry*, 21 : 4218-4223.

Río JAD, Fuster MD, Sabater F, Porras I, García-Lidón A et Ortuño A. 1997. Selection of citrus varieties highly productive for the neohesperidin dihydrochalcone precursor. *Food Chemistry*, 59 : 433-437.

Rivière C. 2016. Chapter 7 - Dihydrochalcones: Occurrence in the Plant Kingdom, Chemistry and Biological Activities. Dans : Atta ur R éd. *Studies in Natural Products Chemistry*. Elsevier, p. 253-381.

Rodrigues T, Reker D, Schneider P et Schneider G. 2016. Counting on natural products for drug design. *Nature Chemistry*, 8 : 531-541.

Rueping M et Nachtsheim BJ. 2010a. A review of new developments in the Friedel–Crafts alkylation - From green chemistry to asymmetric catalysis. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 6 : 6.

Rueping M et Nachtsheim BJ. 2010b. A review of new developments in the Friedel–Crafts alkylation - From green chemistry to asymmetric catalysis. *Beilstein Jijrnal of Organic Chemistry*, 6 : 6.

Salatino A, Fernandes-silva CC, Righi AA et Salatino MLF. 2011. Propolis research and the chemistry of plant products. *Natural Product Reports*, 28 : 925-936.

Santra A, Santra A, Ghosh T et Misra AK. 2013. Removal of benzylidene acetal and benzyl ether in carbohydrate derivatives using triethylsilane and Pd/C. *Beilstein J Org Chem*, 9 : 74-78.

Sanz R, Martínez A, Miguel D, Álvarez-Gutiérrez JM et Rodríguez F. 2006. Brønsted Acid-Catalyzed Nucleophilic Substitution of Alcohols. *Advanced Synthesis & Catalysis*, 348 : 1841-1845.

Sato S, Akiya T, Nishizawa H et Suzuki T. 2006. Total synthesis of three naturally occurring 6,8-di-C-glycosylflavonoids: phloretin, naringenin, and apigenin bis-C-beta-D-glucosides. *Carbohydr Res*, 341 : 964-970.

Sheagren JN. 1984. *Staphylococcus aureus*. The persistent pathogen (first of two parts). *N Engl J Med*, 310 : 1368-1373.

Sheldon RA. 2018. Metrics of Green Chemistry and Sustainability: Past, Present, and Future. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 6 : 32-48.

Shibuya R, Lin L, Nakahara Y, Mashima K et Ohshima T. 2014. Dual Platinum and Pyrrolidine Catalysis in the Direct Alkylation of Allylic Alcohols: Selective Synthesis of Monoalkylation Products. *Angewandte Chemie International Edition*, 53 : 4377-4381.

Shimizu I, Khien K, Nagatomo M, Nakajima T et Yamamoto A. 1997. Molybdenum-catalyzed aromatic substitution with olefins and alcohols. *Chemistry Letters* : 851-852.

Silva E et Batista R. 2017. Ferulic Acid and Naturally Occurring Compounds Bearing a Feruloyl Moiety: A Review on Their Structures, Occurrence, and Potential Health Benefits. p. 580-616.

Silverstein RM, Webster FX, Kiemle DJ et Bryce DL. 2014. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. Wiley.

Simard F. 2013. Isolement, caractérisation et évaluation de l'activité antibactérienne de dérivés de dihydrochalcones hydroxycinnamylés issus de bourgeons de *populus balsamifera* L. Thèse de doctorat, Université du Québec à Chicoutimi, 268 p.

Simard F, Legault J, Lavoie S et Pichette A. 2014. Balsacones D-I, dihydrocinnamoyl flavans from *Populus balsamifera* buds. *Phytochemistry*, 100 : 141-149.

Simard F, Gauthier C, Legault J, Lavoie S, Mshvildadze V et Pichette A. 2016. Structure elucidation of anti-methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) flavonoids from balsam poplar buds. *Bioorg Med Chem*, 24 : 4188-4198.

Simard F, Gauthier C, Chiasson É, Lavoie S, Mshvildadze V, Legault J et Pichette A. 2015. Antibacterial Balsacones J–M, Hydroxycinnamoylated Dihydrochalcones from *Populus balsamifera* Buds. *Journal of Natural Products*, 78 : 1147-1153.

Smith PW, Watkins K et Hewlett A. 2012. Infection control through the ages. *AJIC: American Journal of Infection Control*, 40 : 35-42.

Srisook E, Palachot M, Mankhong S et Srisook K. 2017. Anti-inflammatory Effect of *Etlingera pavieana* (Pierre ex Gagnep.) R.M.Sm. Rhizomal Extract and Its Phenolic Compounds in Lipopolysaccharide-Stimulated Macrophages. *Pharmacogn Mag*, 13 : S230-S235.

Stompor M, Broda D et Bajek-Bil A. 2019. Dihydrochalcones: Methods of Acquisition and Pharmacological Properties—A First Systematic Review. *Molecules*, 24 : 4468.

Stompor M, Potaniec B, Szumny A, Zieliński P, Żońnierczyk AK et Anioł M. 2013. Microbial synthesis of dihydrochalcones using *Rhodococcus* and *Gordonia* species. *Journal of Molecular Catalysis B, Enzymatic*, 97 : 283-288.

Stubba D, Lahm G, Geffe M, Runyon JW, Arduengo III AJ et Opatz T. 2015. *Xylochemistry—Making Natural Products Entirely from Wood*. *Angewandte Chemie International Edition*, 54 : 14187-14189.

SynArchive. 2019. Protecting groups. Consulté le 11 juin 2019, <https://www.synarchive.com/protecting-group/>

Tattevin P. 2011. Les infections à *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) d'acquisition communautaire. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 41 : 167-175.

Tsuchimoto T, Hiyama T et Fukuzawa S-i. 1996a. Scandium(III) trifluoromethanesulfonate-catalysed reductive Friedel–Crafts benzylation of aromatic compounds using arenecarbaldehydes and propane-1,3-diol. *Chemical Communications* : 2345-2346.

Tsuchimoto T, Tobita K, Hiyama T et Fukuzawa S-i. 1996b. Scandium(III) Triflate Catalyzed Friedel-Crafts Alkylation with Benzyl and Allyl Alcohols. *Synlett*, 1996 : 557-559.

Uprety Y, Asselin H, Dhakal A et Julien N. 2012. Traditional use of medicinal plants in the boreal forest of Canada: review and perspectives. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 8 : 7.

Vandenbroucke M et Largeau C. 2007. Kerogen origin, evolution and structure. *Organic Geochemistry*, 38 : 719-833.

Vanholme R, Demedts B, Morreel K, Ralph J et Boerjan W. 2010. Lignin Biosynthesis and Structure. *Plant Physiology*, 153 : 895.

Vardar-Ünlü G, Silici S et Ünlü M. 2008. Composition and in vitro antimicrobial activity of *Populus* buds and poplar-type propolis. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24 : 1011-1017.

Vollhardt KPC et Schore NE. 2009. *Traité de chimie organique*. De Boeck, Bruxelles, xxviii, 1334 p.

von Nussbaum F, Brands M, Hinzen B, Weigand S et Häbich D. 2006. Antibacterial Natural Products in Medicinal Chemistry—Exodus or Revival? *Angewandte Chemie International Edition*, 45 : 5072-5129.

Vuković VD, Richmond E, Wolf E et Moran J. 2017. Catalytic Friedel–Crafts Reactions of Highly Electronically Deactivated Benzylic Alcohols. *Angewandte Chemie International Edition*, 56 : 3085-3089.

Wang B-Q, Xiang S-K, Sun Z-P, Guan B-T, Hu P, Zhao K-Q et Shi Z-J. 2008. Benzylation of arenes through FeCl₃-catalyzed Friedel–Crafts reaction via C–O activation of benzyl ether. *Tetrahedron Letters*, 49 : 4310-4312.

Wang X, Li X, Xue J, Zhao Y et Zhang Y. 2009. A novel and efficient procedure for the preparation of allylic alcohols from α,β -unsaturated carboxylic esters using LiAlH₄/BnCl. *Tetrahedron Letters*, 50 : 413-415.

Wang Z, Yang L, Yang X et Zhang X. 2013. Advances in the First Total Synthesis of Natural Flavonoids. *Synthetic Communications*, 43 : 3093-3114.

WHO. 2019. Antibiotic resistance. Consulté le 6 mai 2019, <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance>

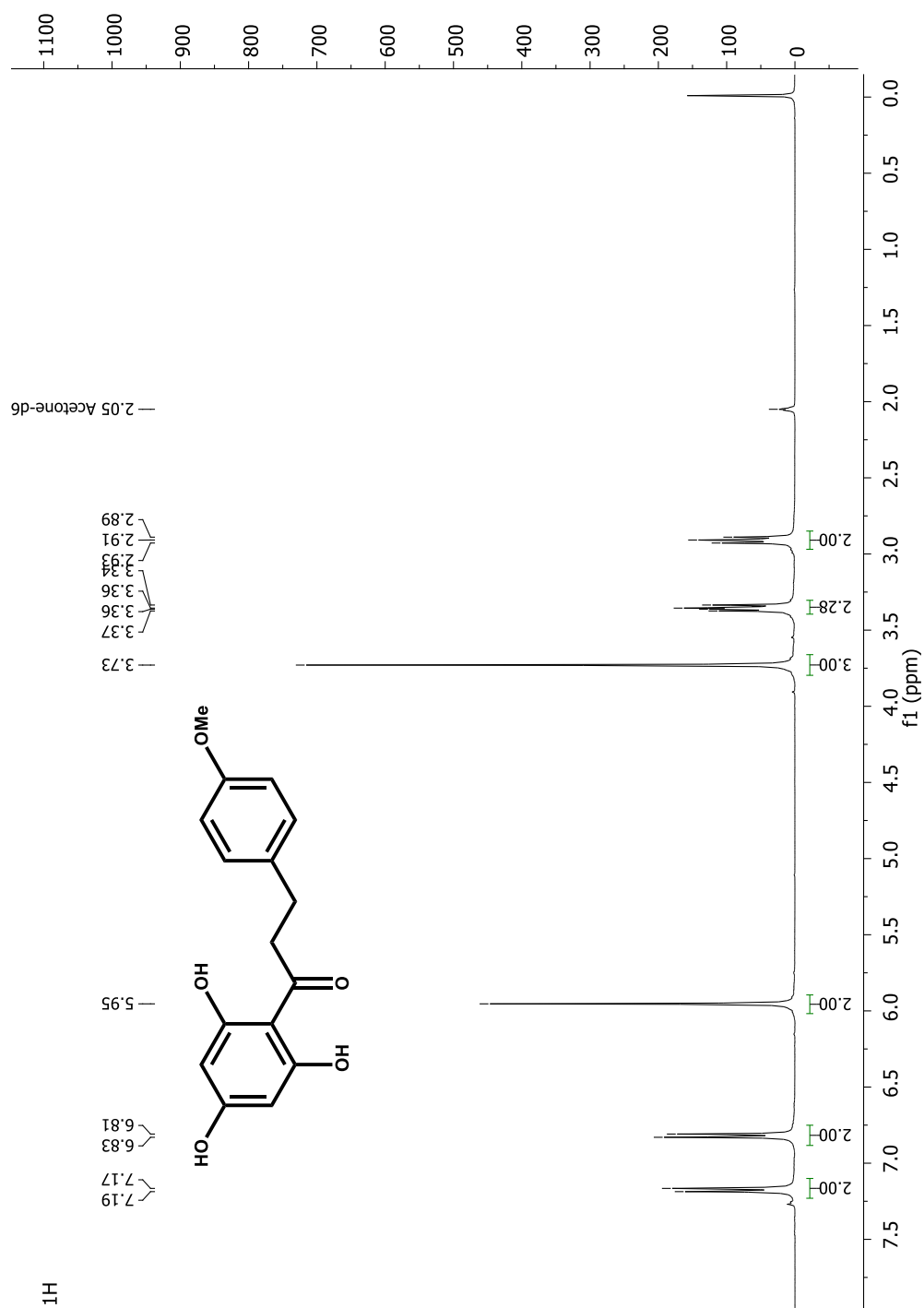
Woodcock D. 1947. Isolation of Phloridzin from Apple Seeds. *Nature*, 159 : 100-100.

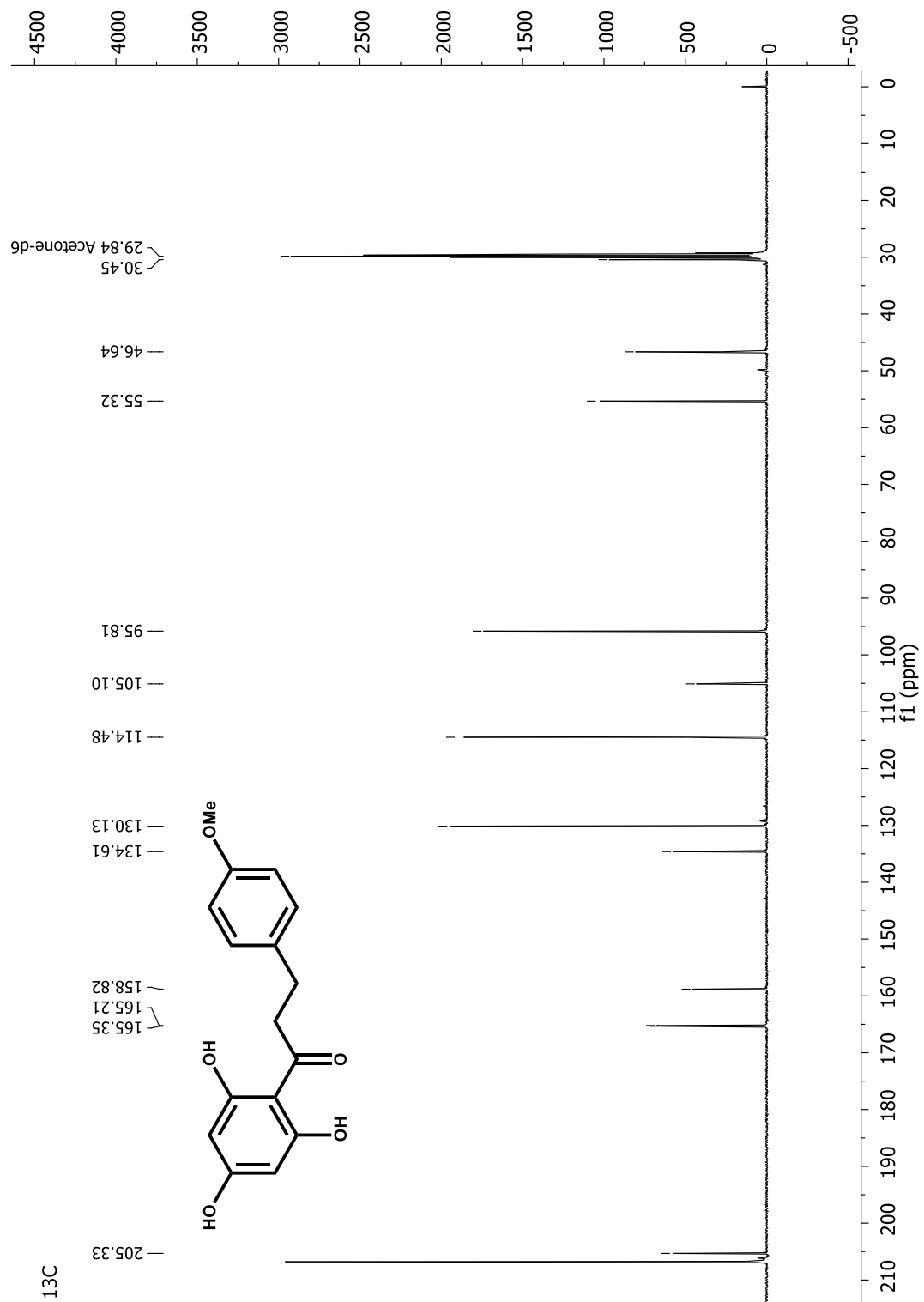
Wright G. 2019. Antibiotic-resistant infections could destroy our way of life: New report. *Academic Journalism Society*.

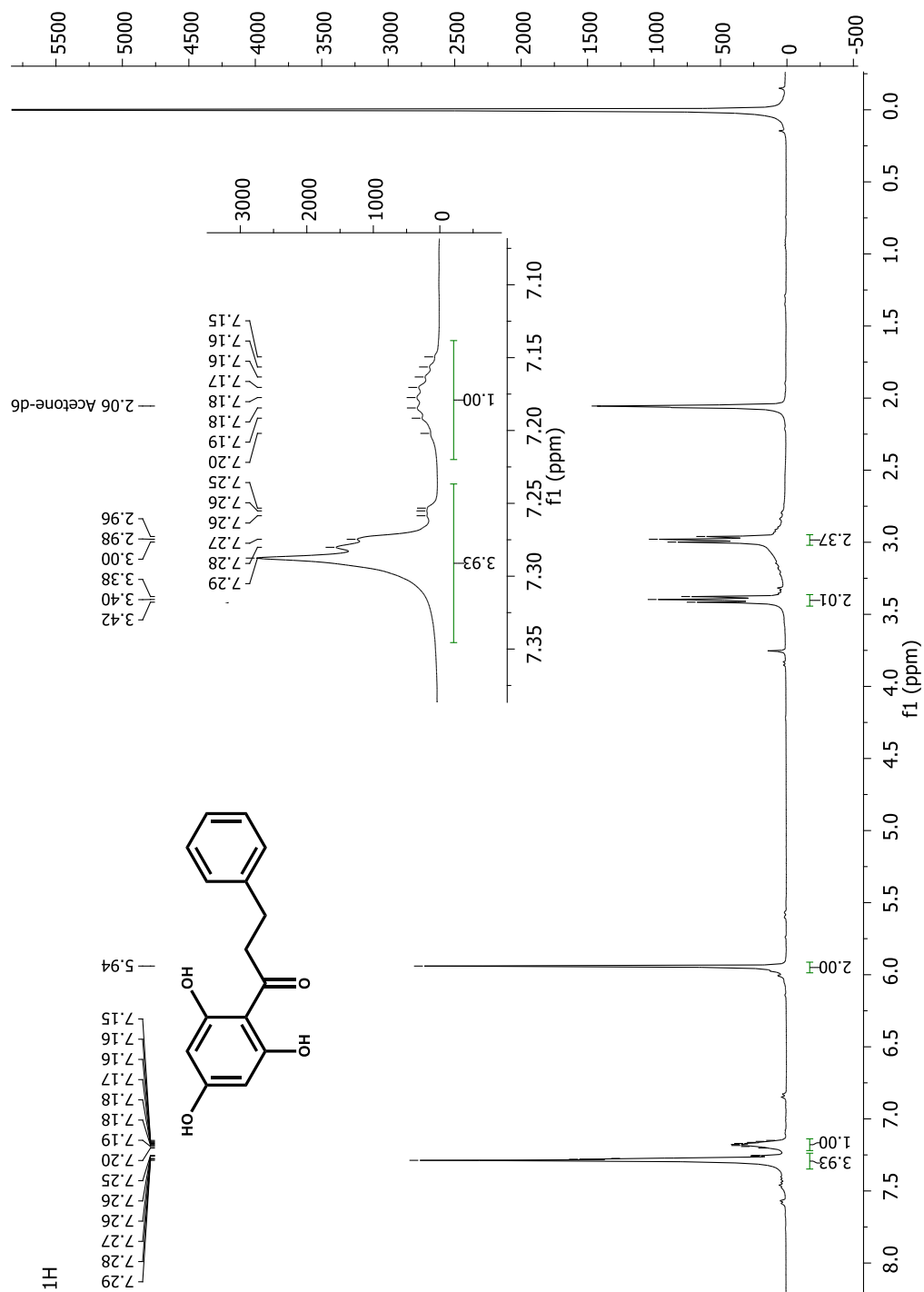
Yan Y, Kohli A et Koffas MAG. 2005. Biosynthesis of natural flavanones in *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied and environmental microbiology*, 71 : 5610-5613.

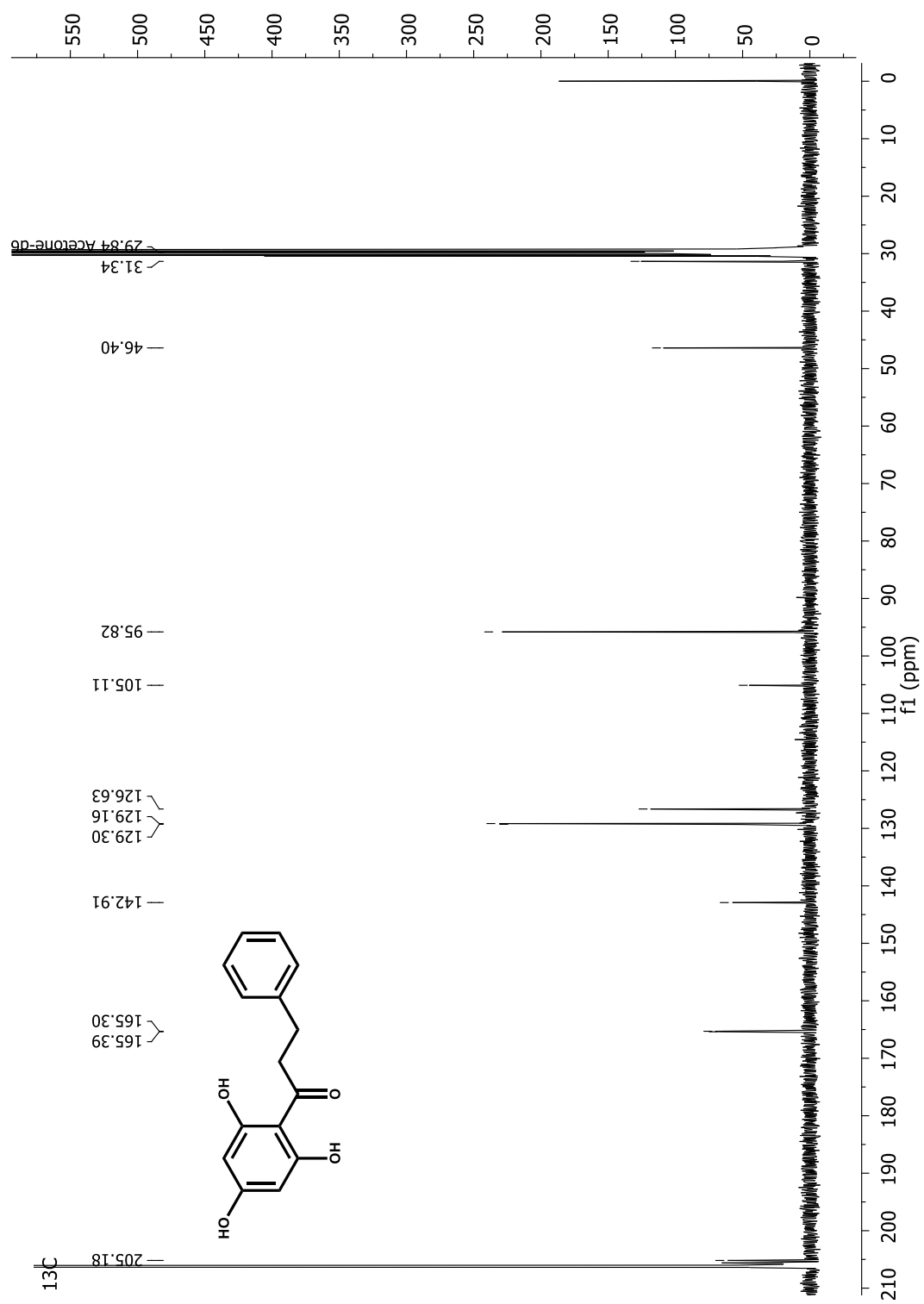
ANNEXES

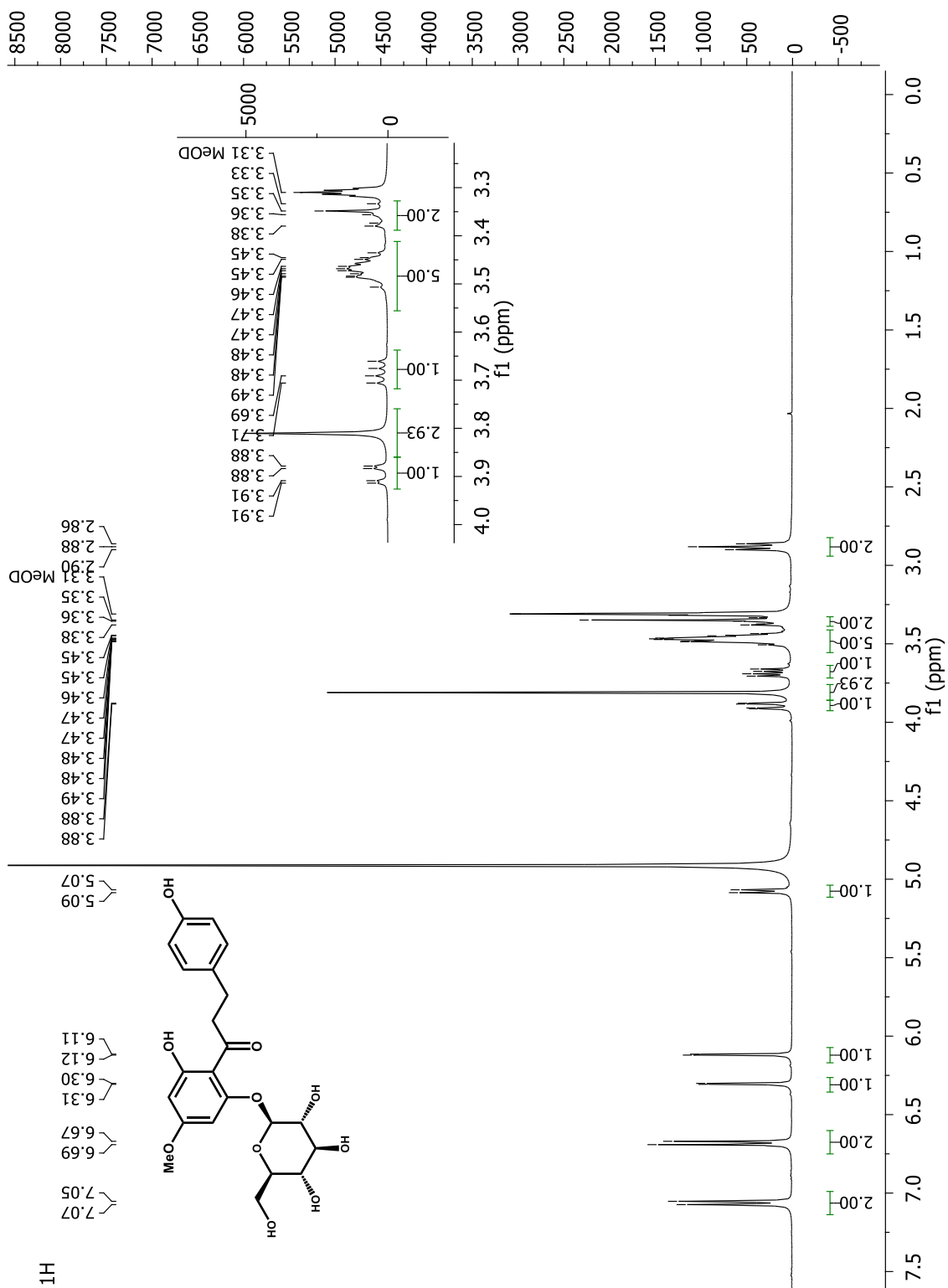
ANNEXE 1 - SPECTRES RMN

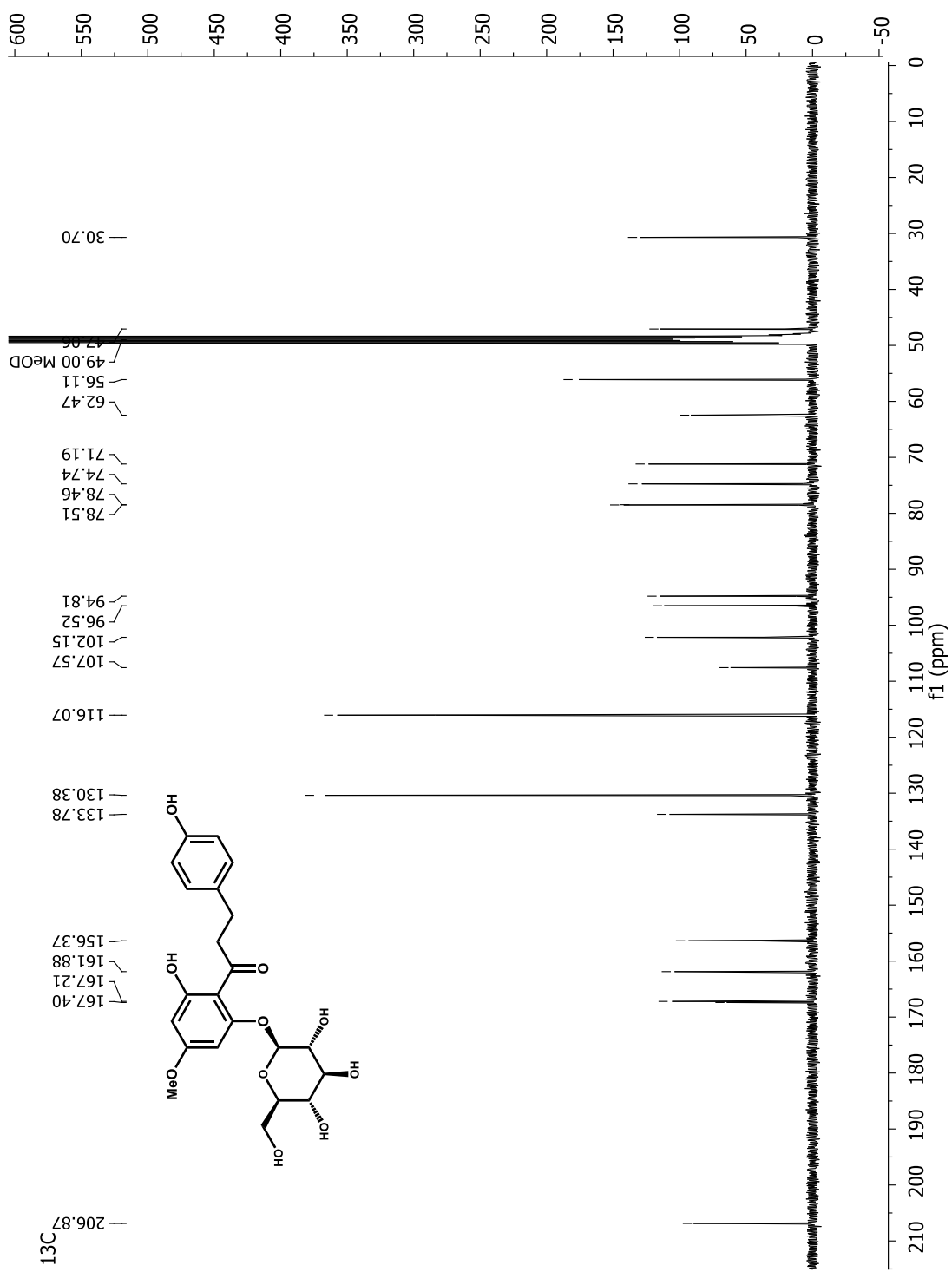
2',4',6'-Trihydroxy-4-méthoxydihydrochalcone (**32**) RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$)

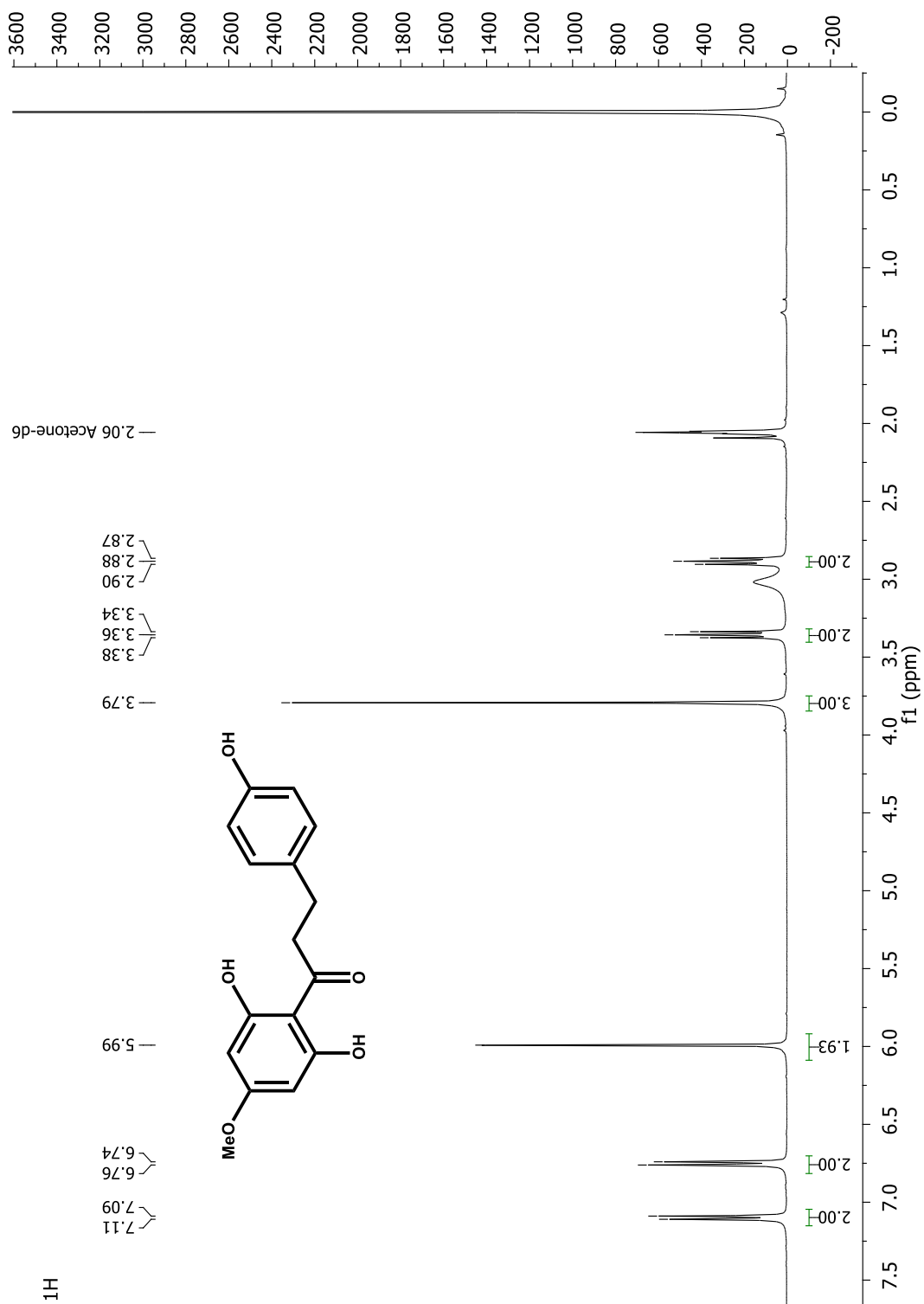
2',4',6'-Trihydroxy-4-méthoxydihydrochalcone (**32**) RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$)

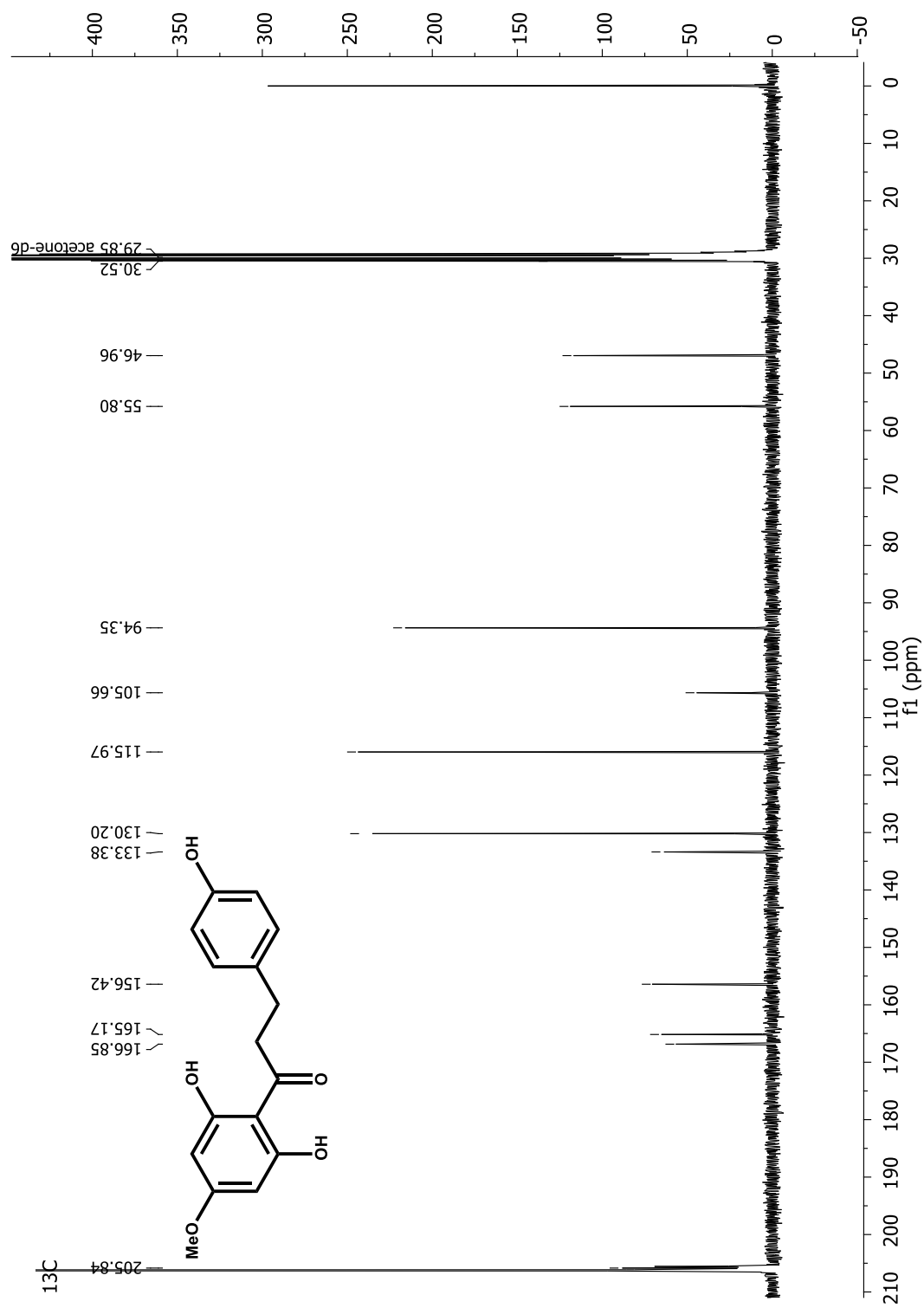
2',4',6'-Trihydroxydihydrochalcone (**29**) RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$)

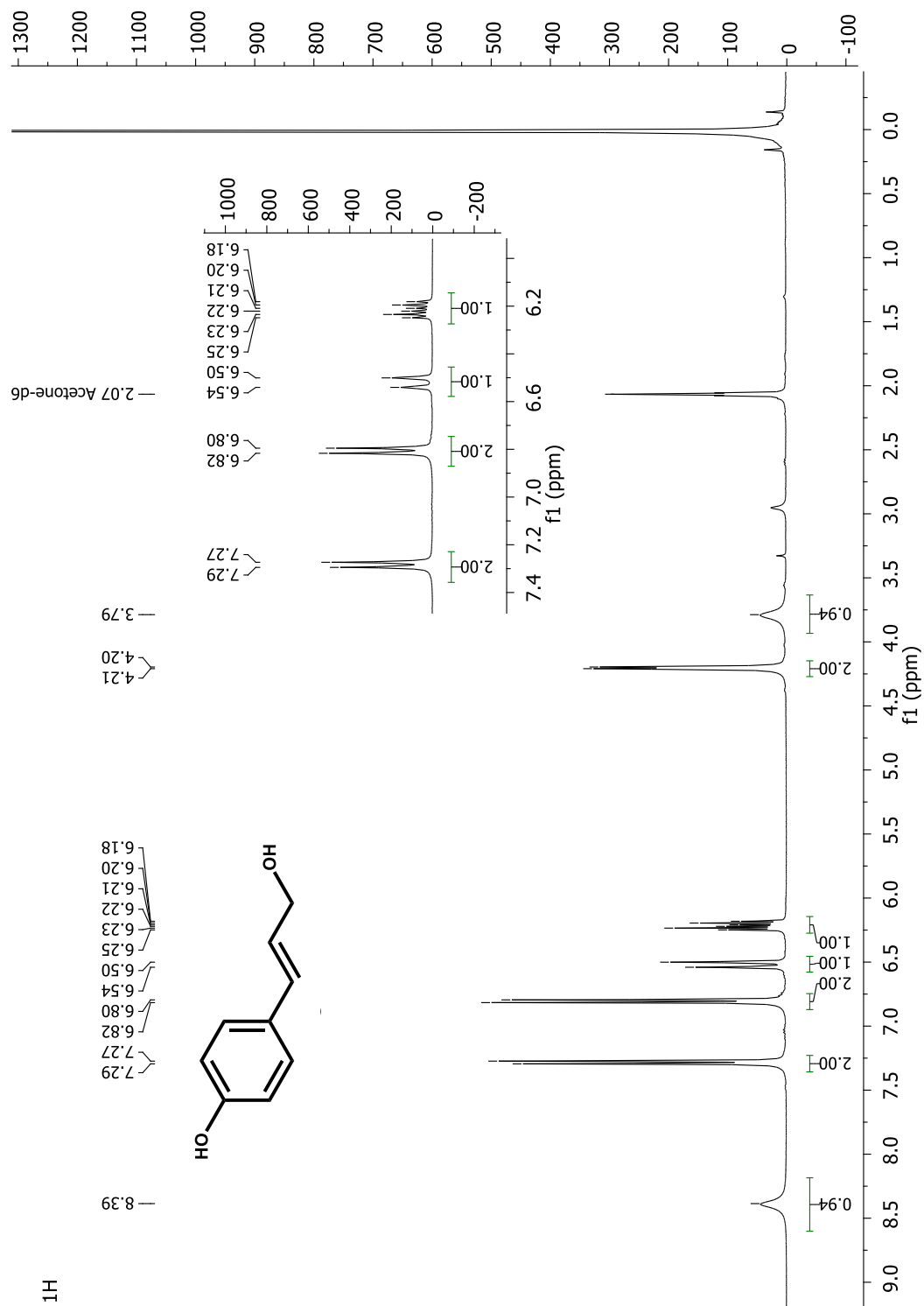
2',4',6'-Trihydroxydihydrochalcone (**29**) RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$)

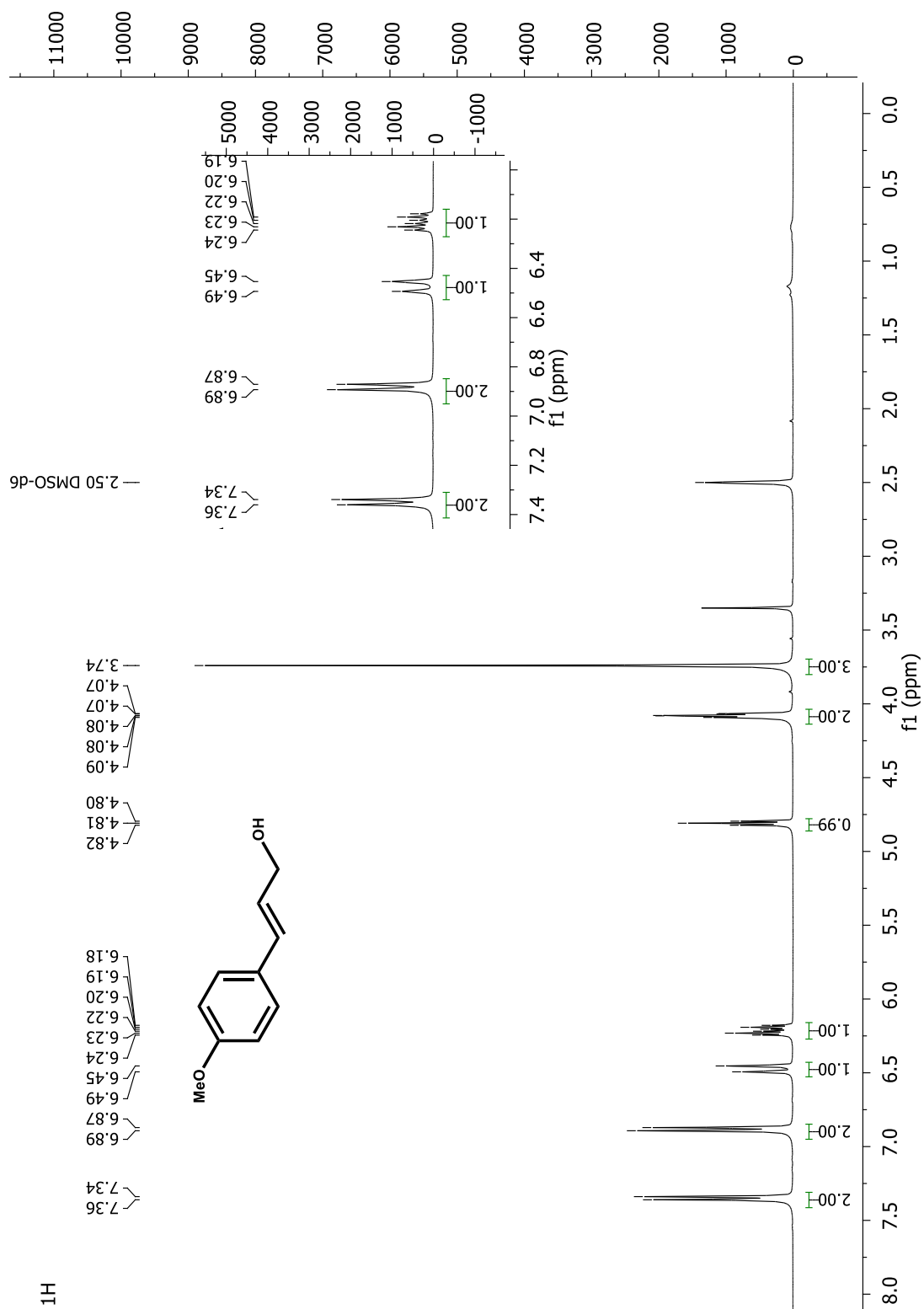
Asébotine (**34**) RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD)

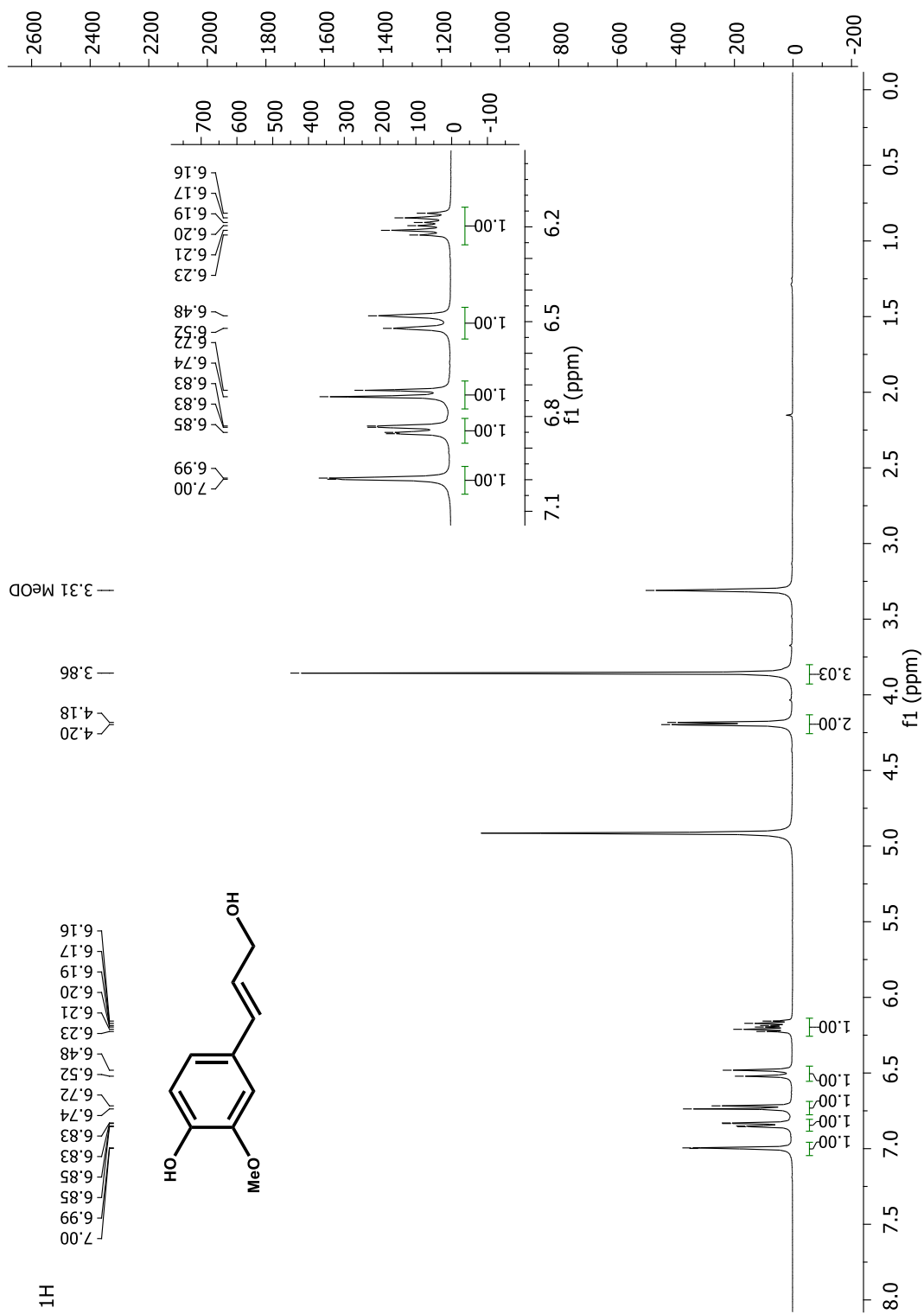
Asébotine (**34**) RMN ^{13}C (100 MHz, CD_3OD)

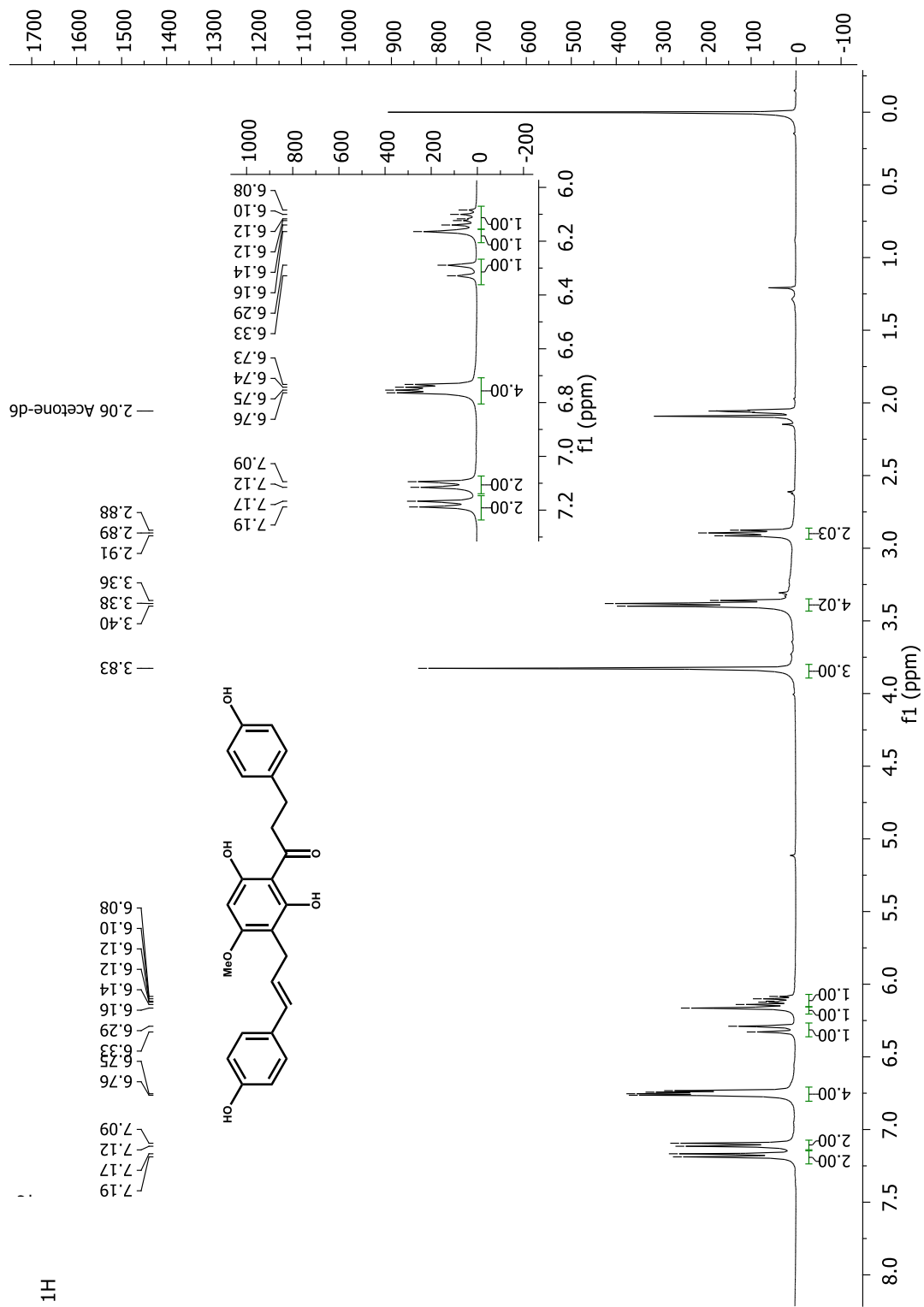
4,2',6'-Trihydroxy-4'-methoxydihydrochalcone (**33**) RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$)

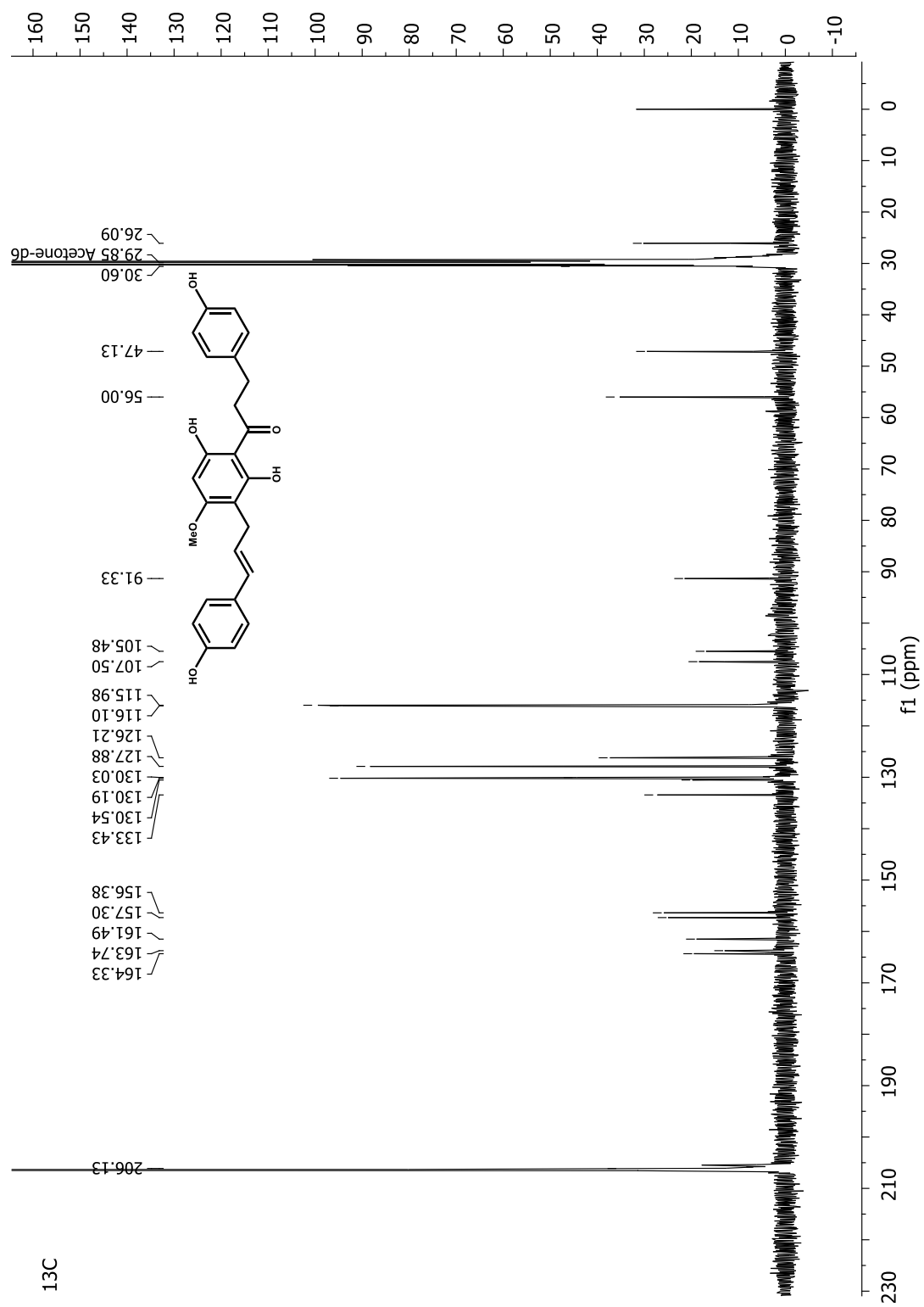
4,2',6'-Trihydroxy-4'-methoxydihydrochalcone (**33**) RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$)

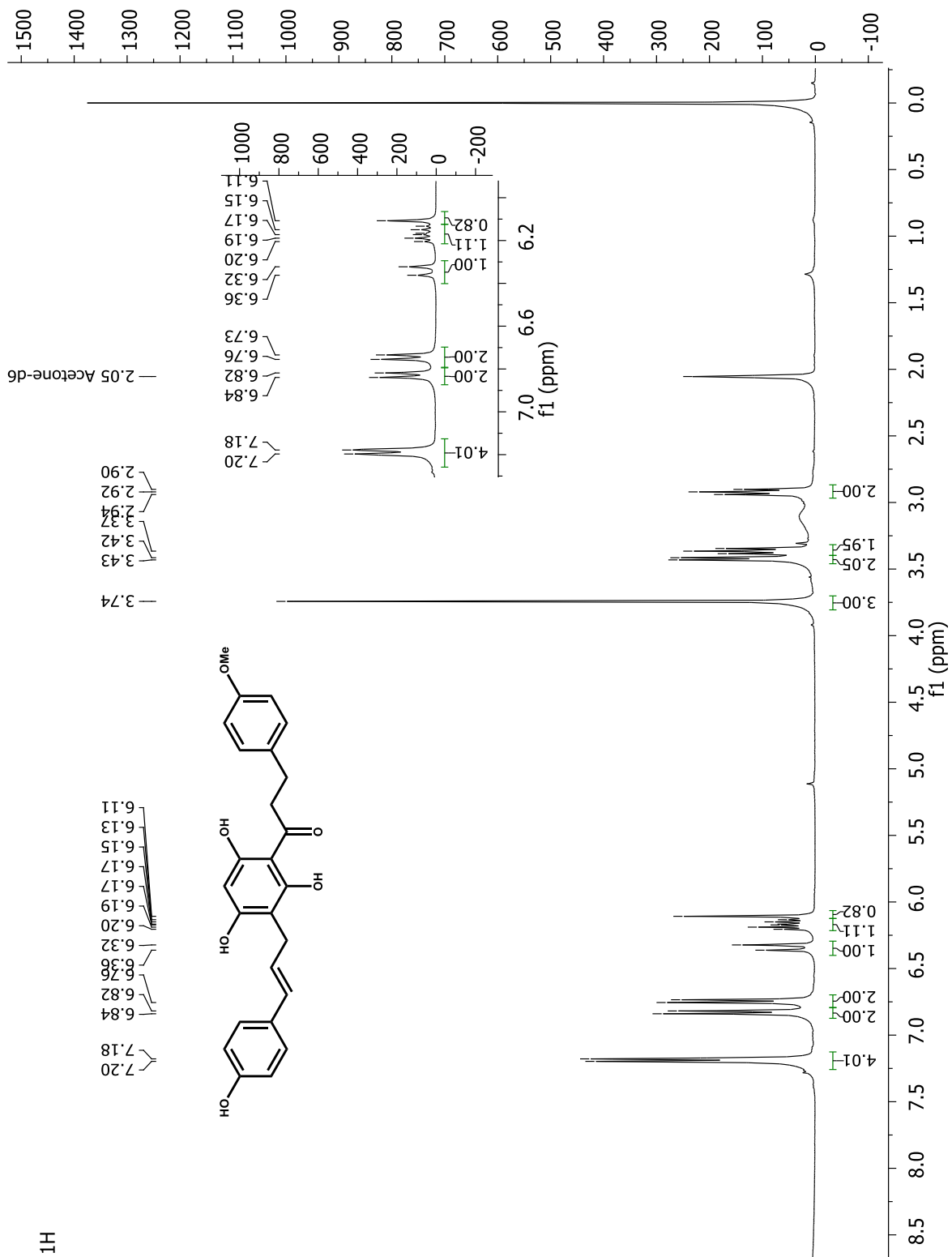
Alcool *p*-coumarylique (**10**) RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$)

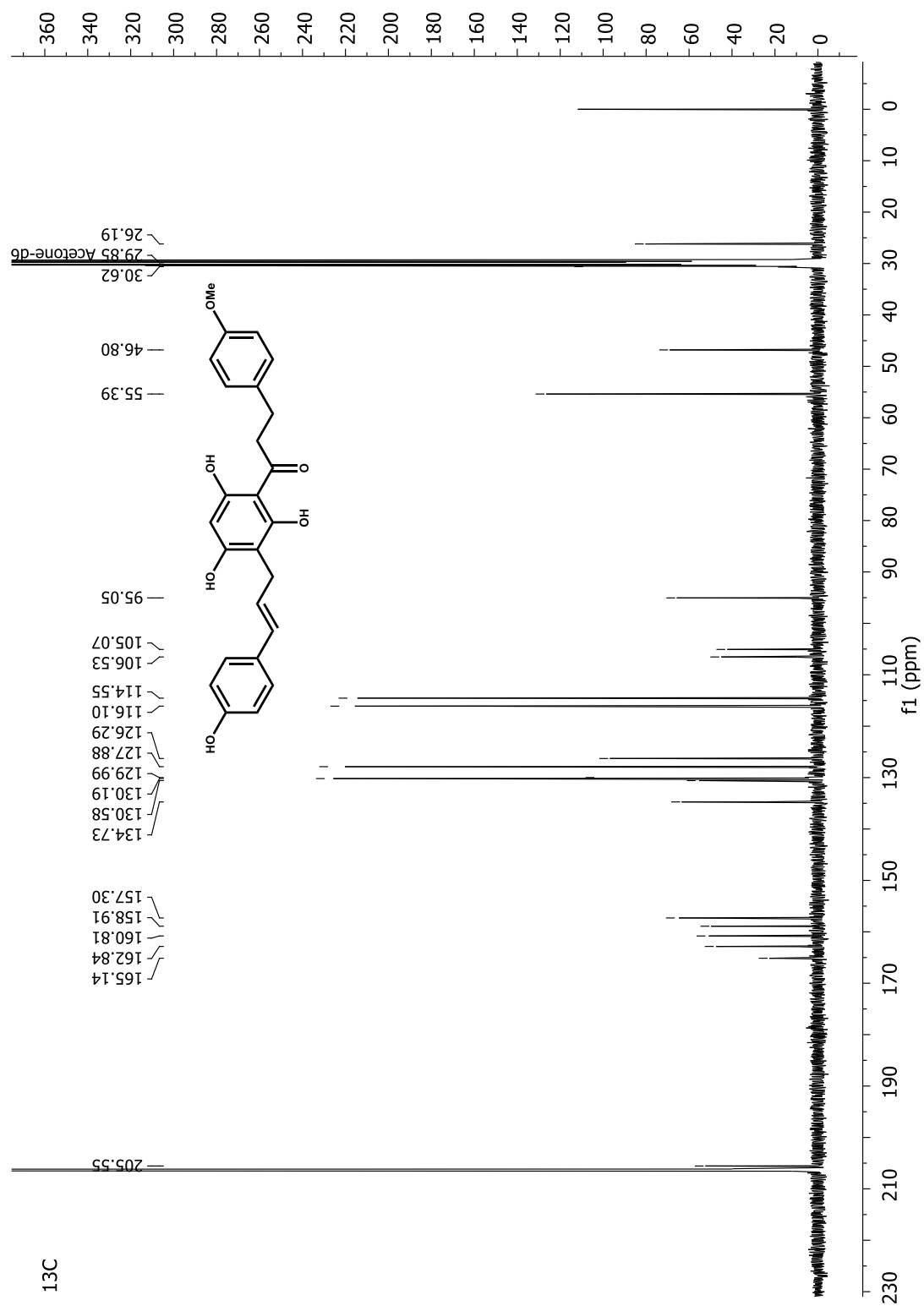
Alcool *p*-méthoxycinnamylique (**13**) RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_2\text{D}_6\text{SO}$)

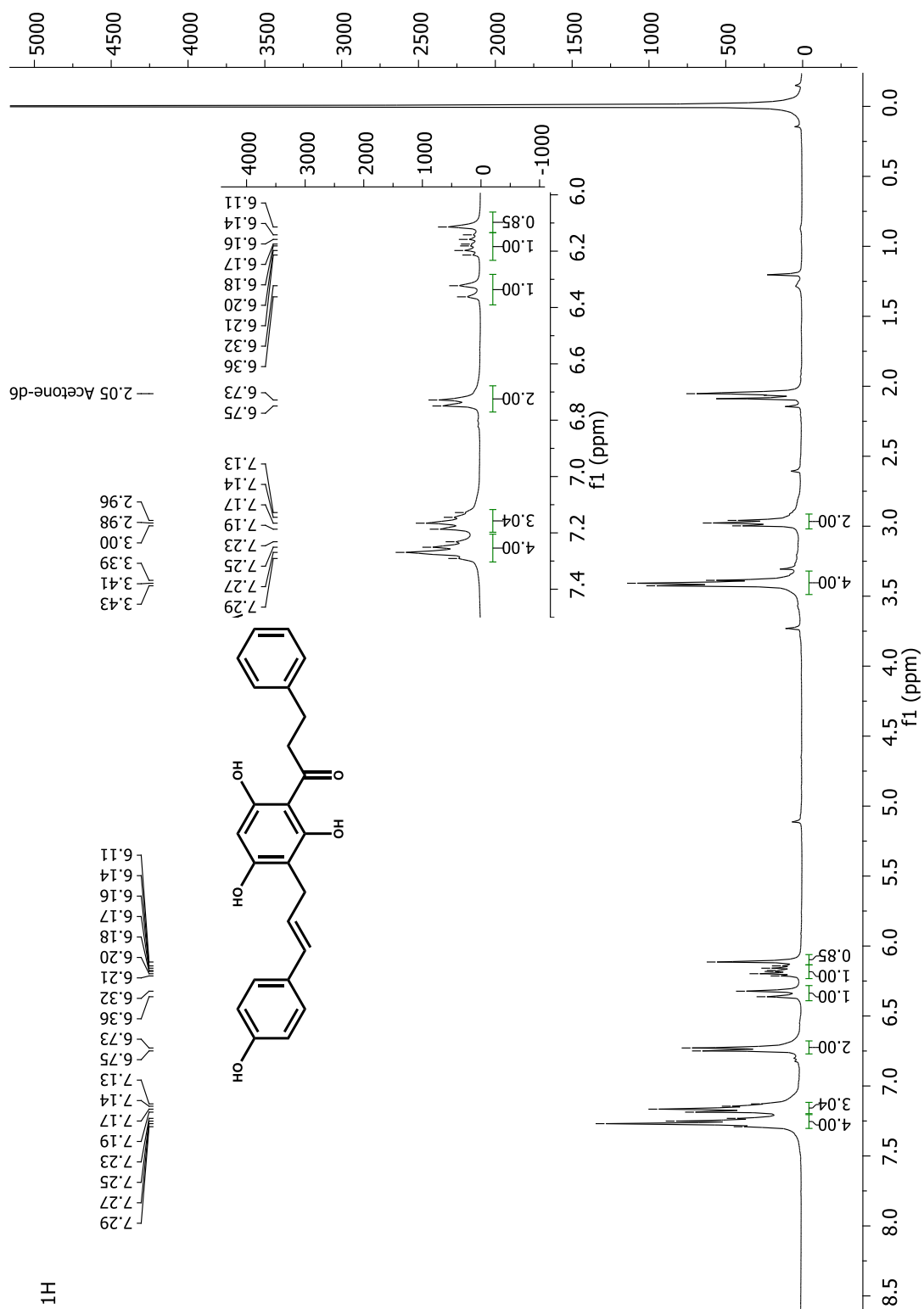
Alcool coniférylique (11) RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD)

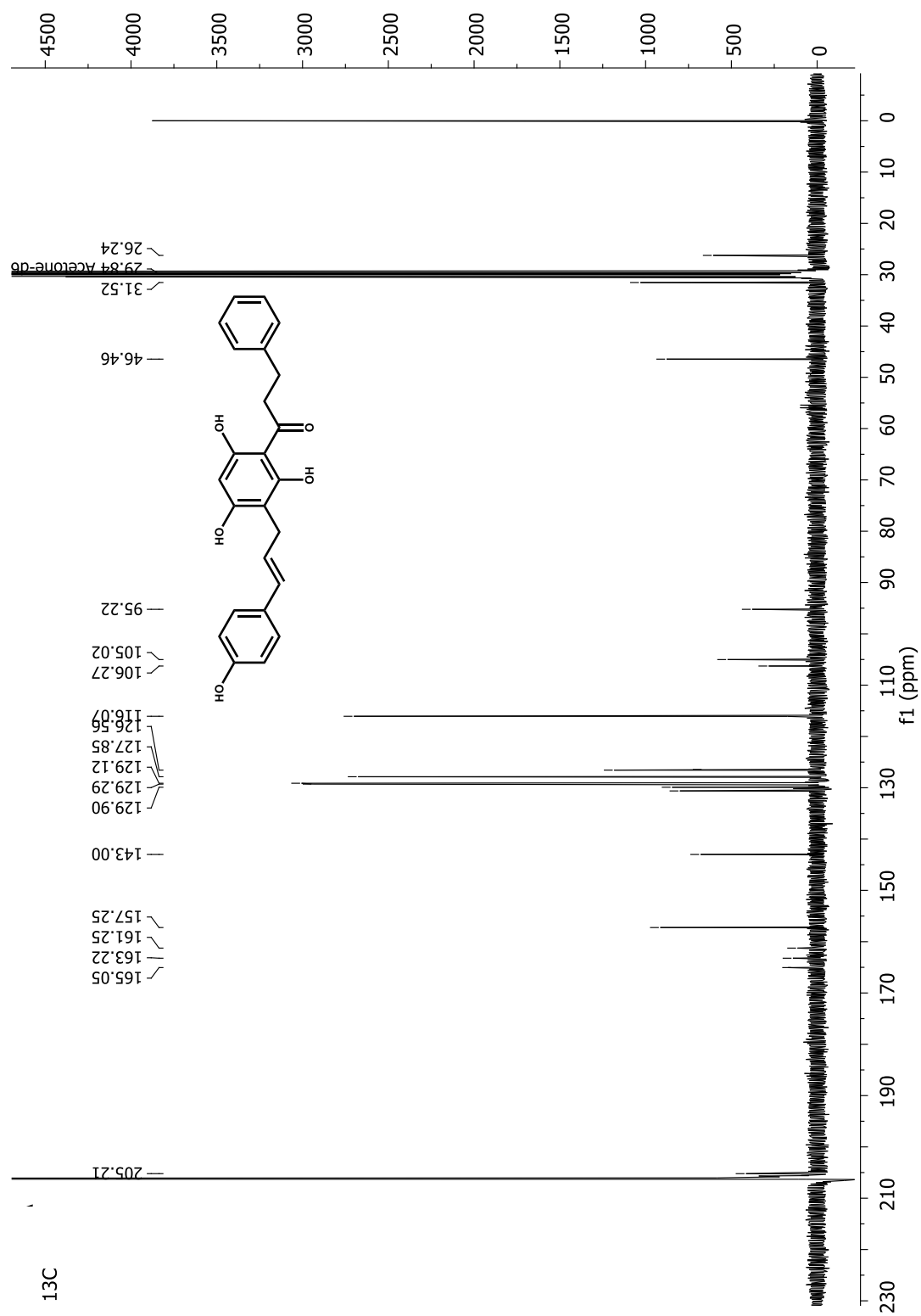
Balsacone A (1) RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$)

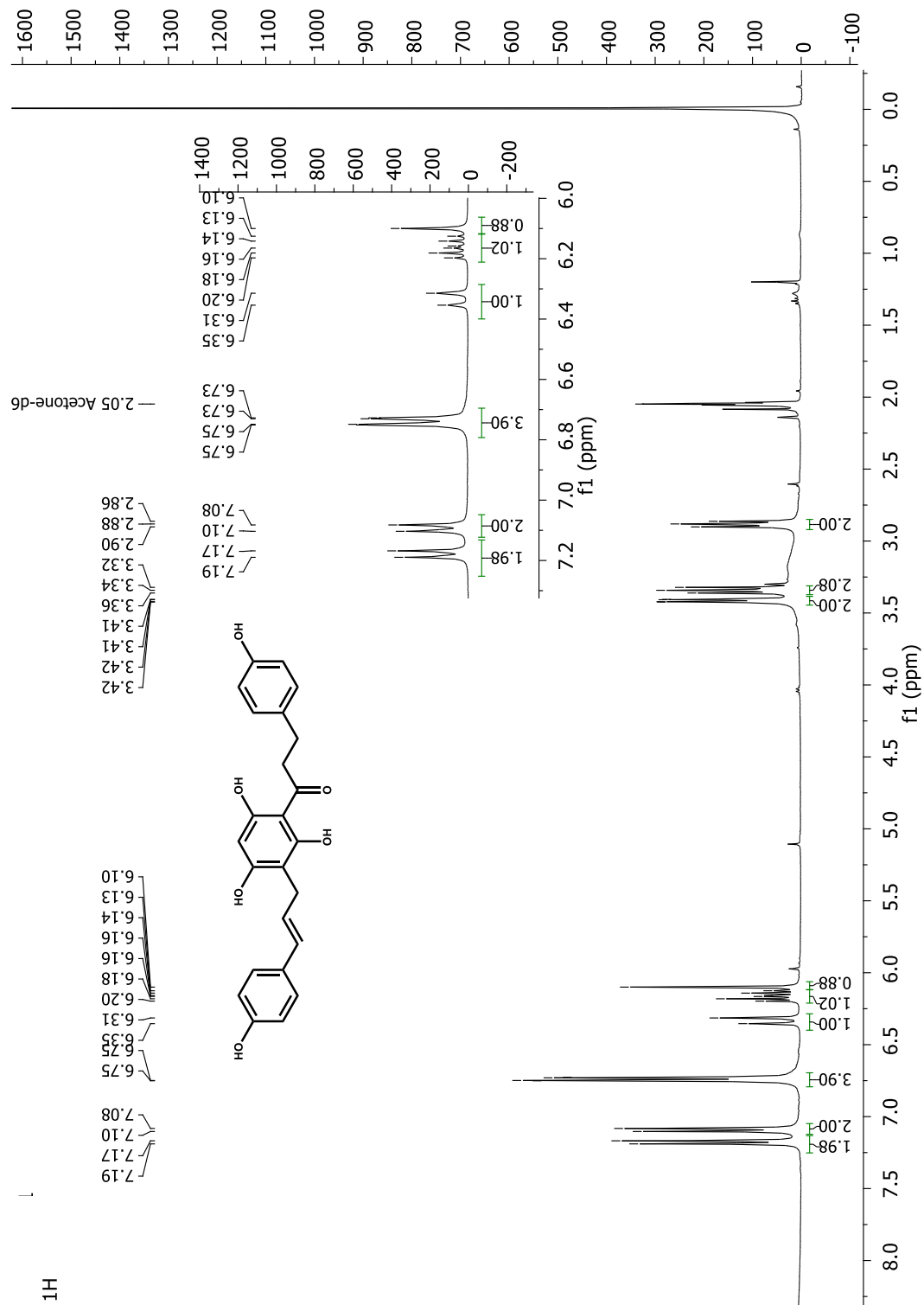
Balsacone A (1) RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$)

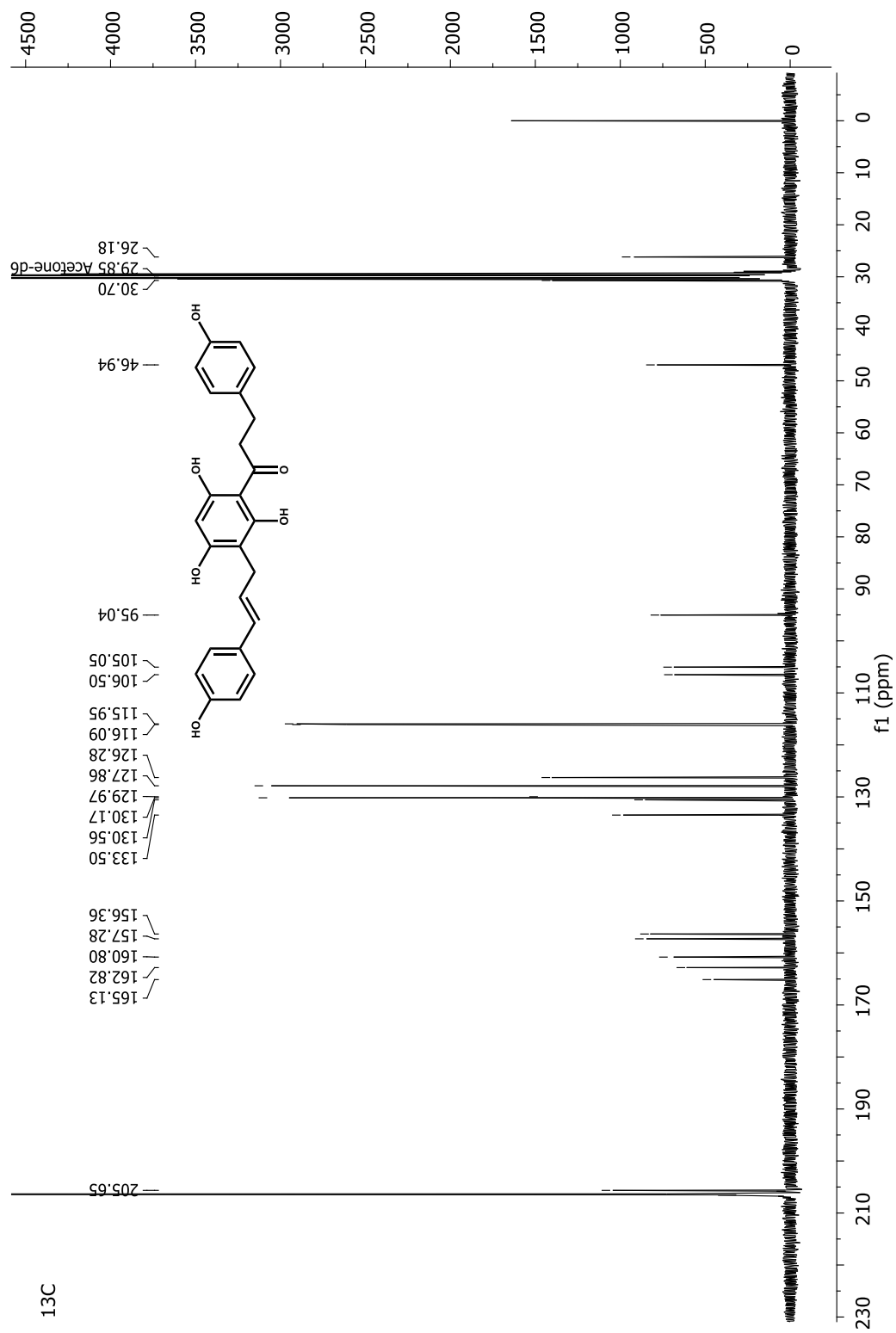
Balsacone B (2) RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$)

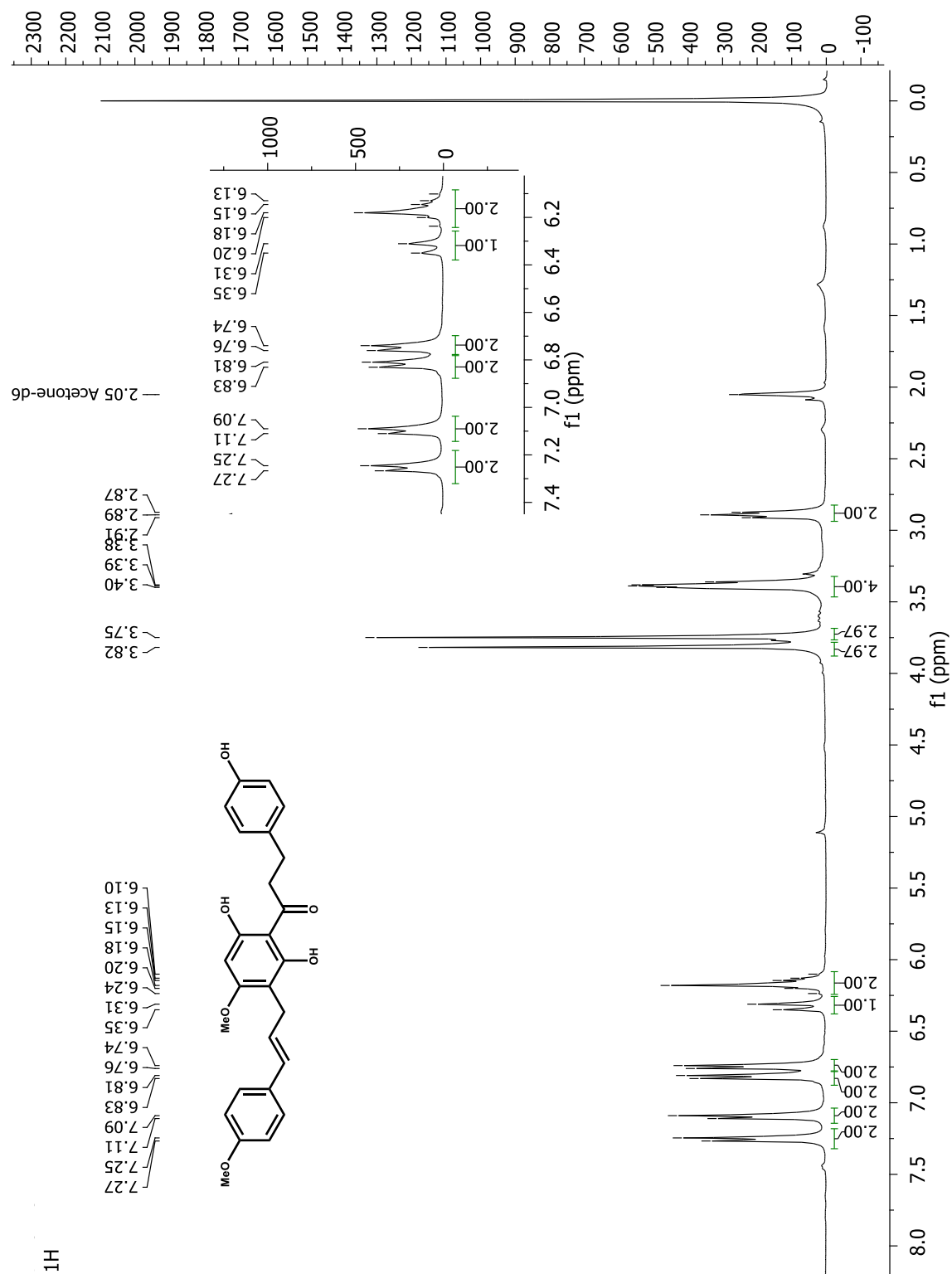
Balsacone B (2) RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$)

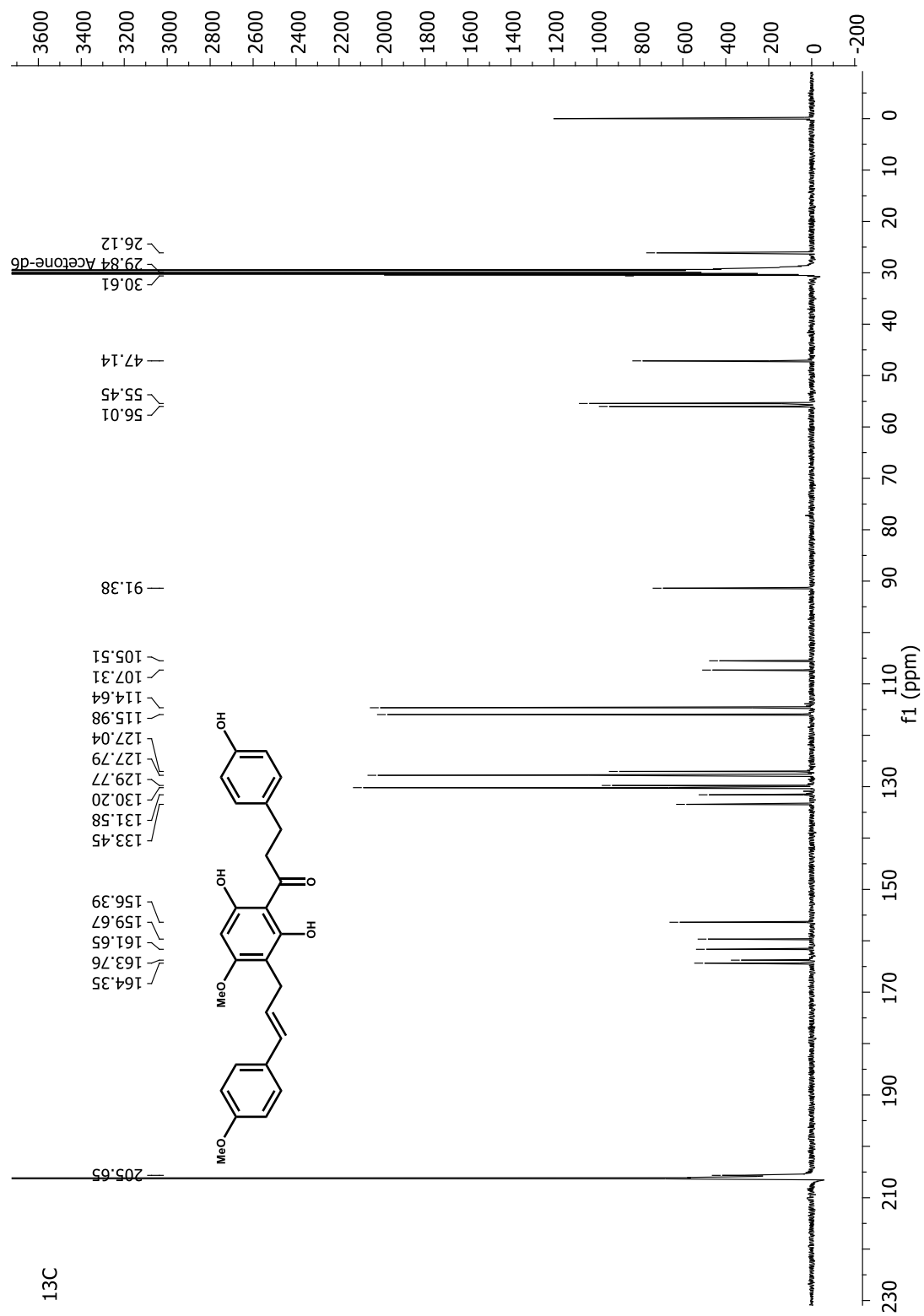
Balsacone C (3) RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$)

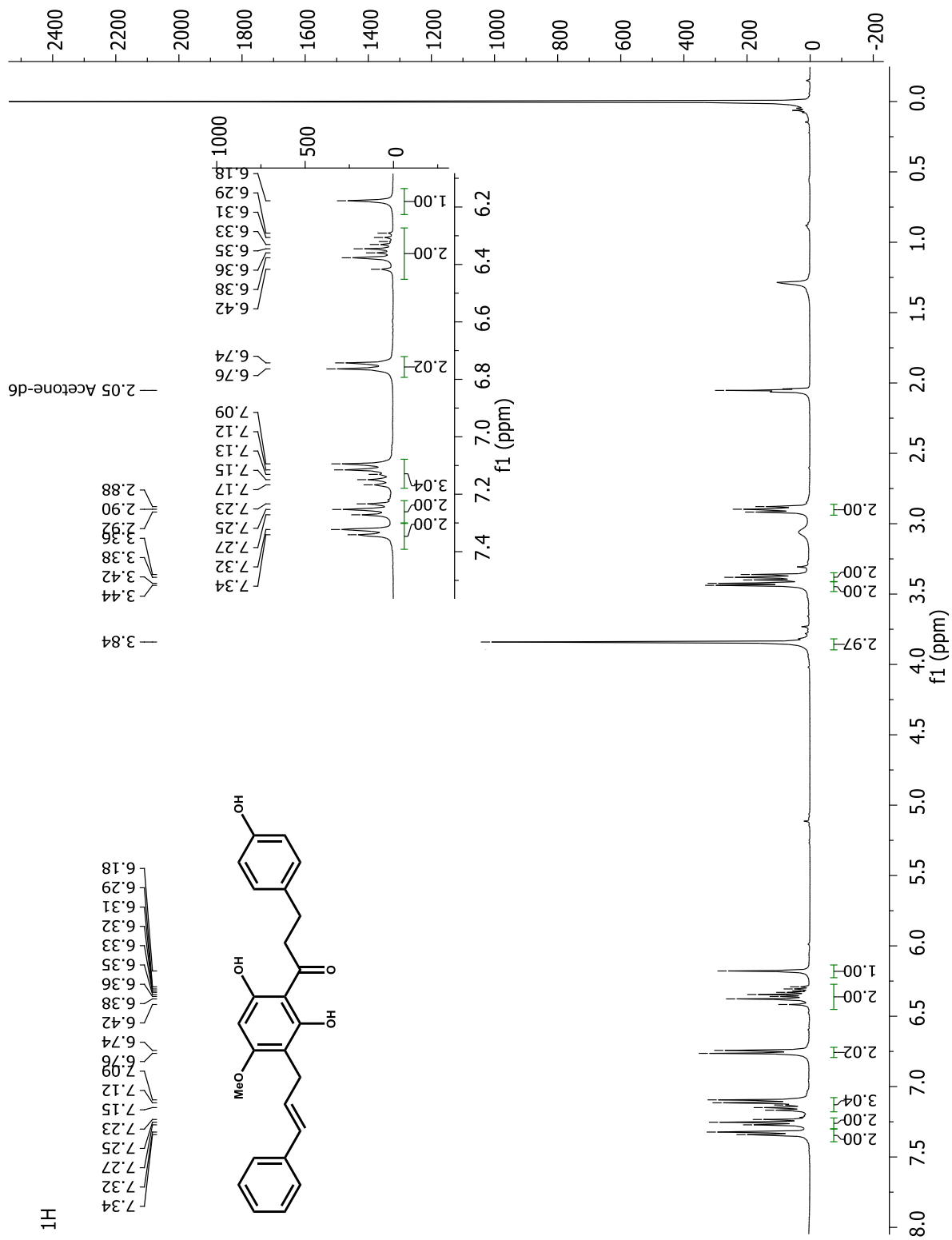
Balsacone C (3) RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$)

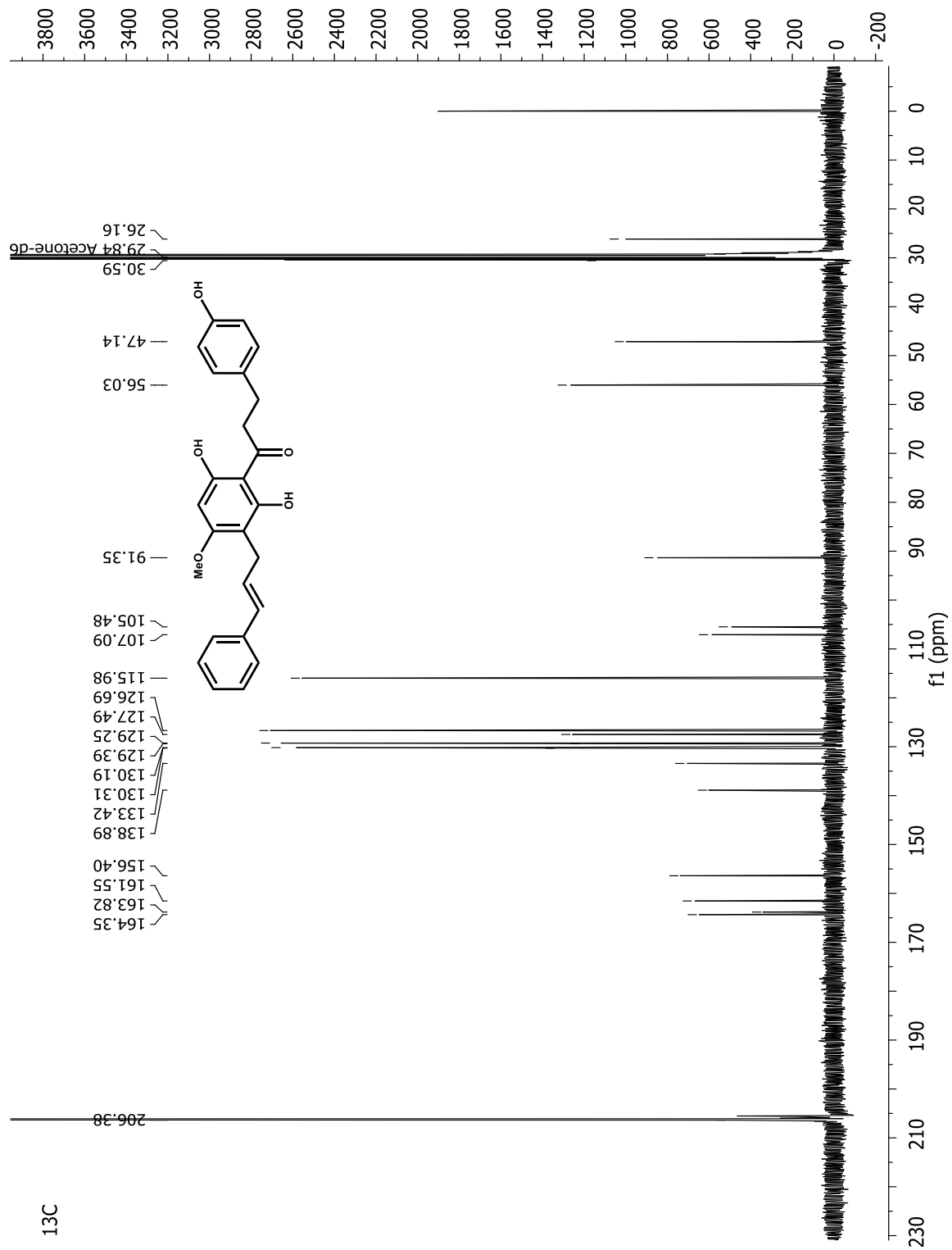
Analogue A (**79**) RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$)

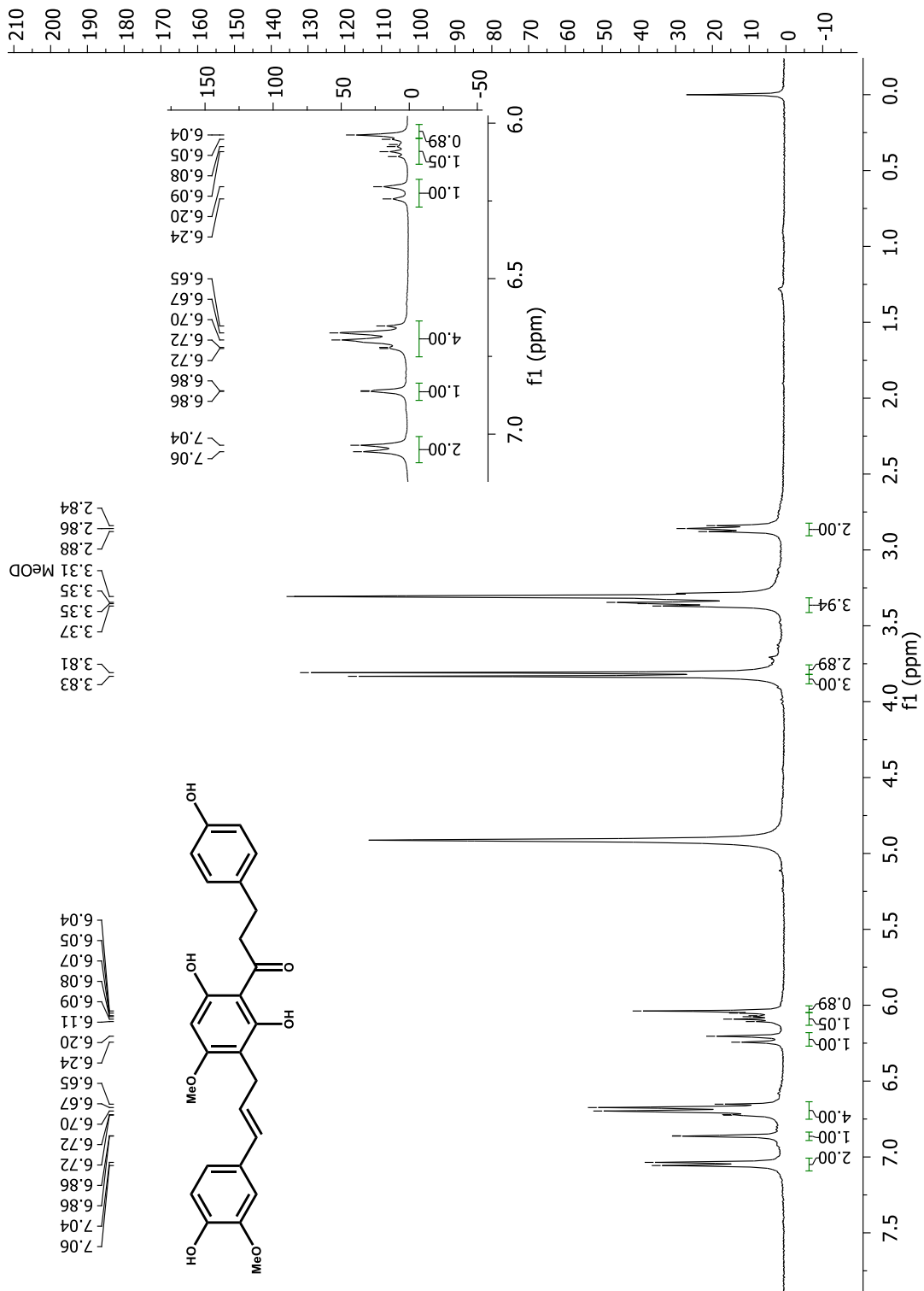
Analogue A (**79**) RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$)

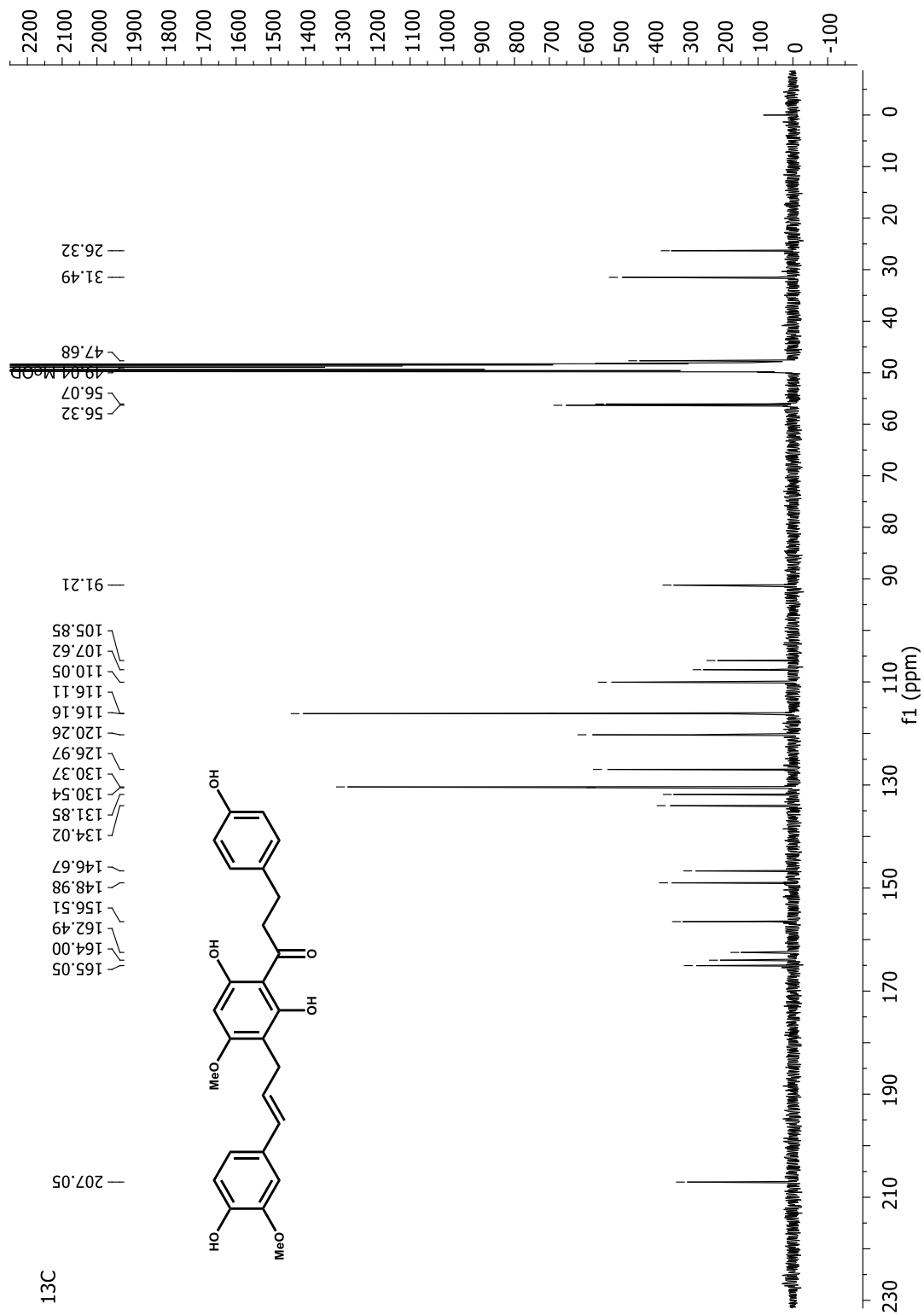
Analogue B (**80**) RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) ^1H

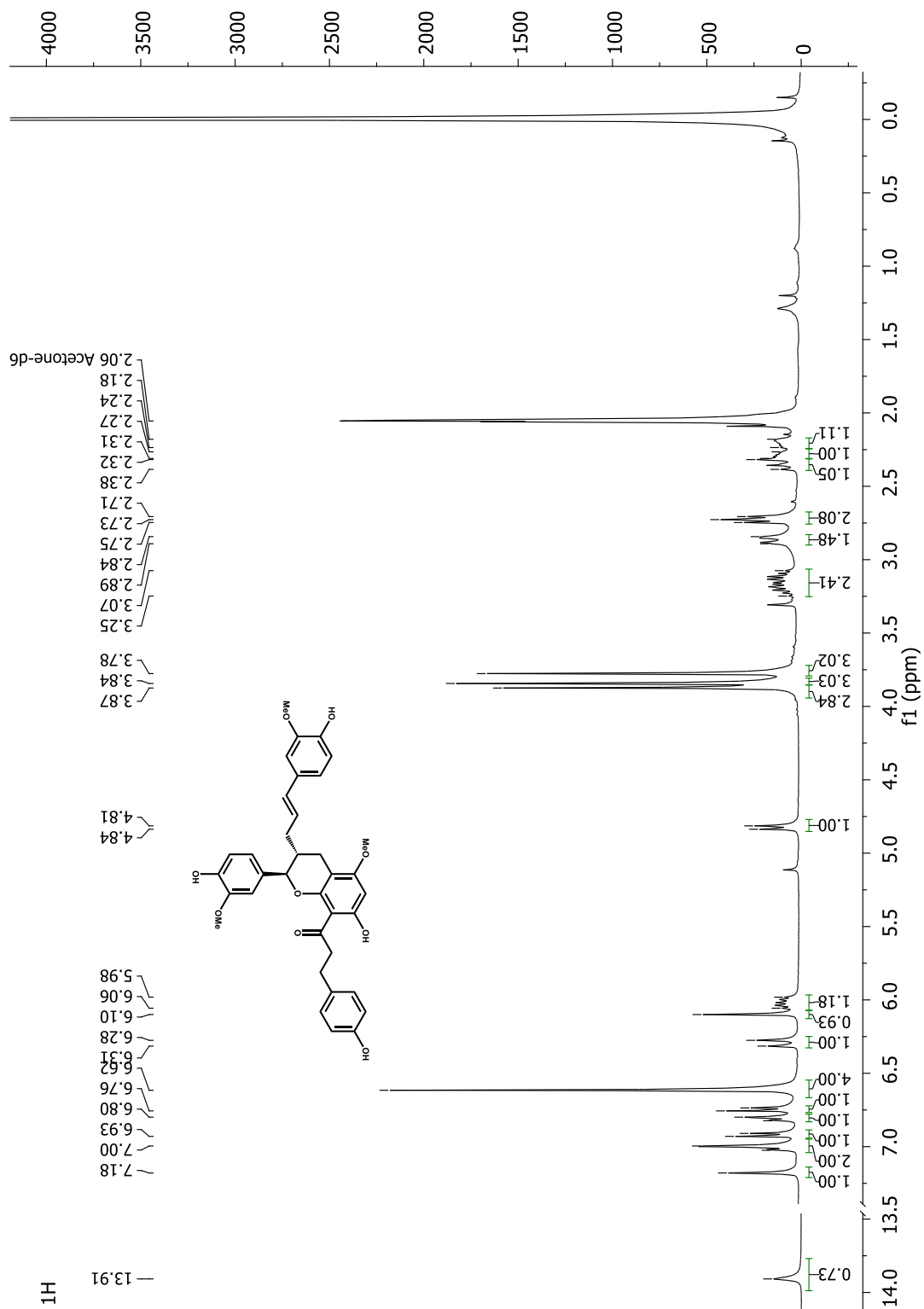
Analogue B (**80**) RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$)

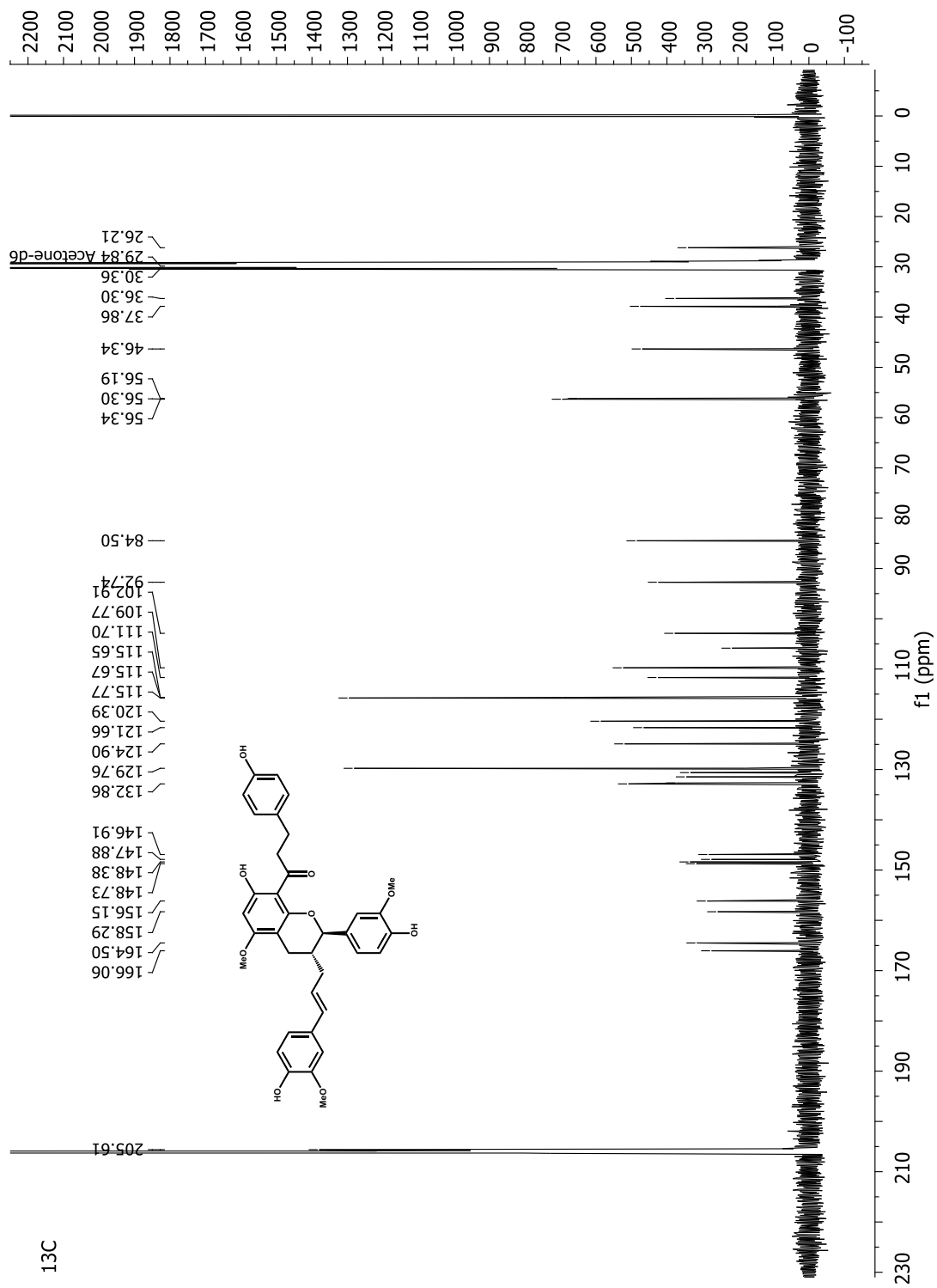
Analogue C (**81**) RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$)

Analogue C (**81**) RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$)

Analogue D (**82**) RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD)

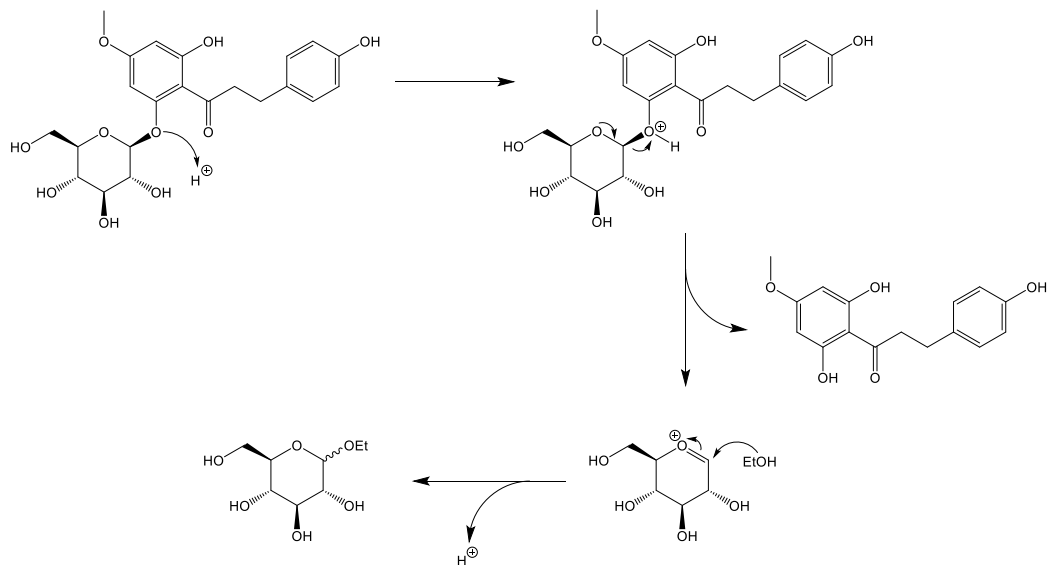
Analogue D (**82**) RMN ^{13}C (100 MHz, CD_3OD)

Analogue E (**83**) RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$)

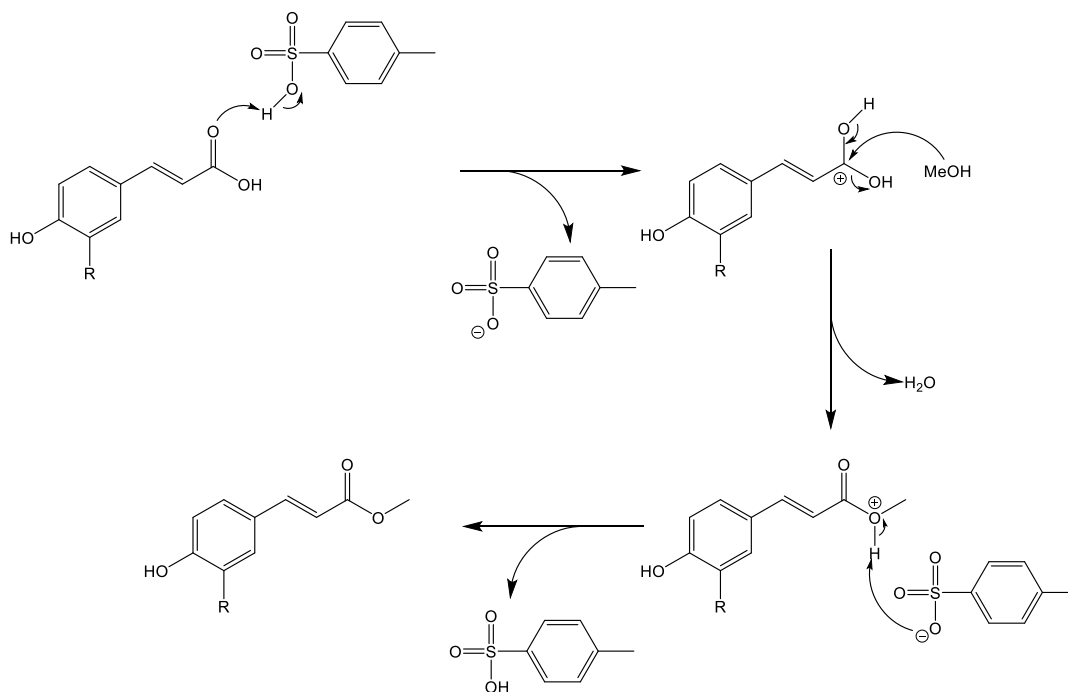
Analogue E (**83**) RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$)

ANNEXE 2 - MÉCANISMES RÉACTIONNELS

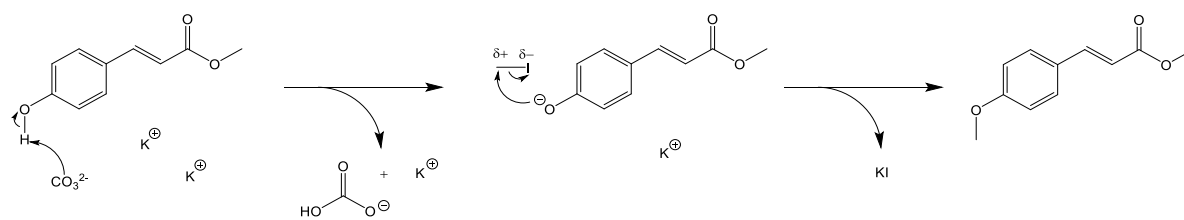
Hydrolyse acide de l'acébotine (**34**) dans l'EtOH



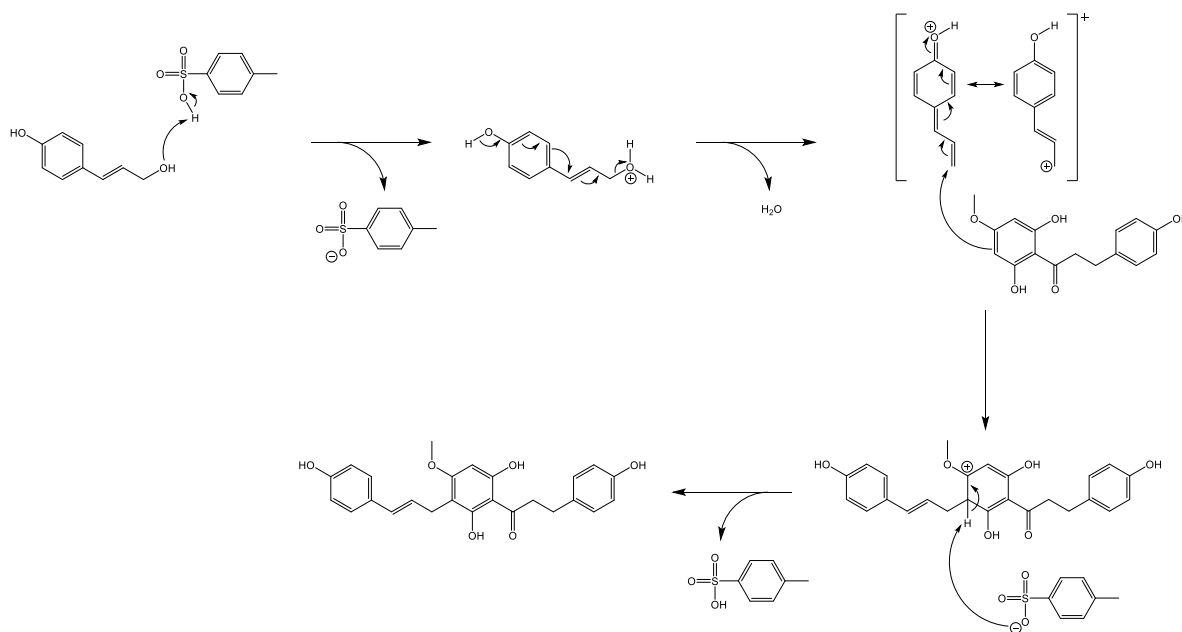
Estérification catalytique des alcools allyliques par l'APTS dans le MeOH



Méthylation basique du méthyl 4-hydroxycinnamate (**24**) par l'iodométhane dans l'acétone



Alkylation de FC de la DHC (**33**) avec l'alcool *p*-coumarylique (**10**) catalysé par l'APTS



ANNEXE 3 - RÉSULTATS DES TESTS ANTIBACTÉRIENS

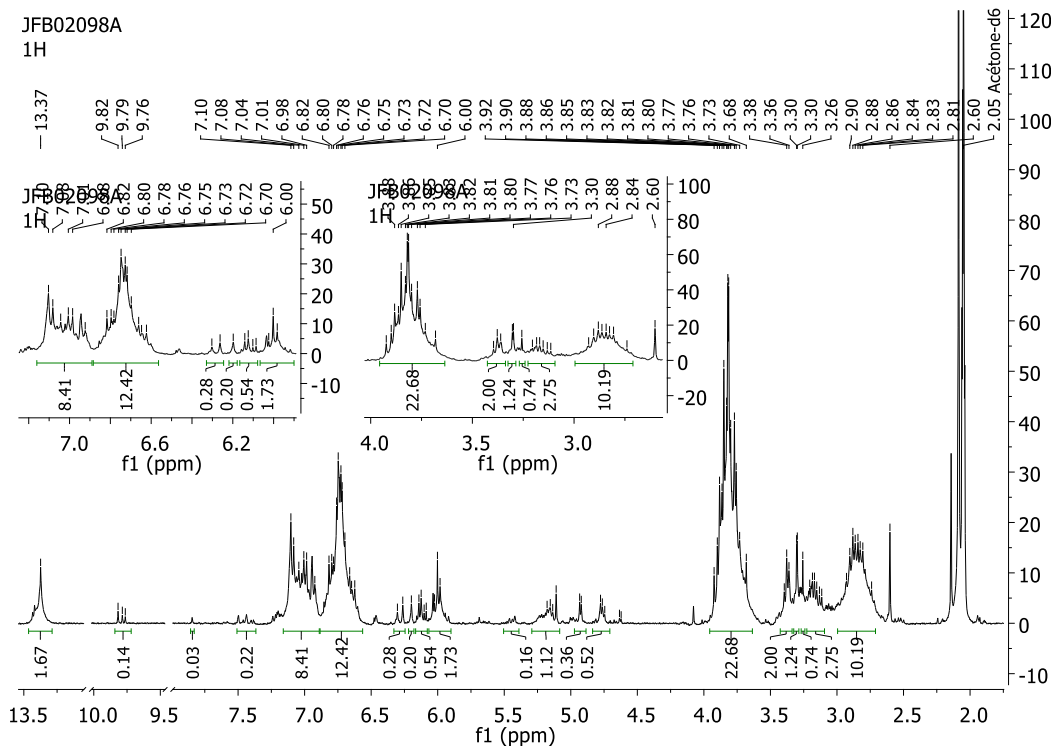
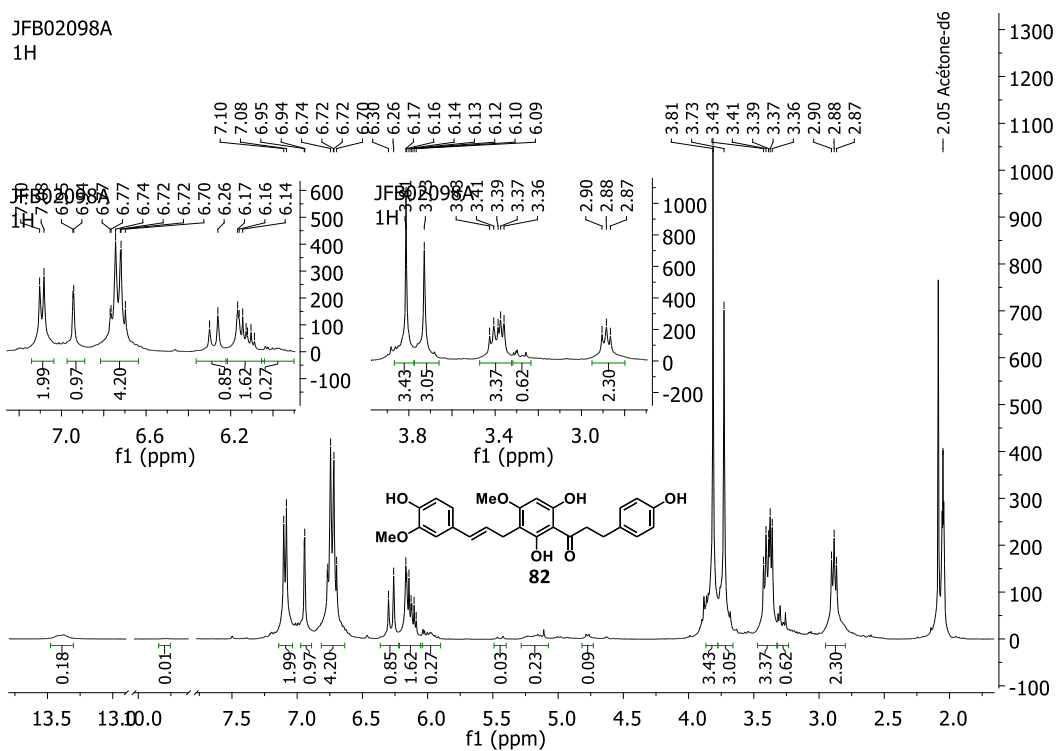
IC50		IC50		IC50		IC50		IC50		IC50		IC50	
Échantillons	E. coli	S. aureus	S. aureus	SARM1	SARM1	SARM1	SARM1	SARM2	SARM2	SARM2	SARM2	SARM2	SARM2
Balsacone A (1)	>50 µM	2,1 ± 0,4 µM	4,3 ± 0,8 µM	0,44 ± 0,01 µM	0,99 ± 0,08 µM	0,99 ± 0,08 µM	0,99 ± 0,08 µM	0,41 ± 0,02 µM	0,41 ± 0,02 µM	0,41 ± 0,02 µM	0,41 ± 0,02 µM	1,2 ± 0,2 µM	1,2 ± 0,2 µM
Balsacone B (2)	>50 µM	4 ± 1 µM	4,9 ± 0,7 µM	5,3 ± 0,6 µM	5,3 ± 0,6 µM	5,3 ± 0,6 µM	5,3 ± 0,6 µM	4,1 ± 0,4 µM	4,1 ± 0,4 µM	4,1 ± 0,4 µM	4,1 ± 0,4 µM	6,7 ± 0,2 µM	6,7 ± 0,2 µM
Balsacone C (3)	>50 µM	4,9 ± 1,0 µM	4,9 ± 1,0 µM	5,1 ± 0,6 µM	5,1 ± 0,6 µM	5,1 ± 0,6 µM	5,1 ± 0,6 µM	4,4 ± 0,6 µM	4,4 ± 0,6 µM	4,4 ± 0,6 µM	4,4 ± 0,6 µM	4,7 ± 0,4 µM	4,7 ± 0,4 µM
Analogue A (79)	>50 µM	6,3 ± 0,6 µM	5,7 ± 0,4 µM	7,0 ± 0,5 µM	7,0 ± 0,5 µM	7,0 ± 0,5 µM	7,0 ± 0,5 µM	6,3 ± 0,2 µM	6,3 ± 0,2 µM	6,3 ± 0,2 µM	6,3 ± 0,2 µM	7,2 ± 0,4 µM	7,2 ± 0,4 µM
Analogue B (80)	>50 µM	>50 µM	37 ± 3 µM	6,0 ± 0,9 µM	6,0 ± 0,9 µM	6,0 ± 0,9 µM	6,0 ± 0,9 µM	4,4 ± 0,6 µM	4,4 ± 0,6 µM	4,4 ± 0,6 µM	4,4 ± 0,6 µM	12 ± 1 µM	12 ± 1 µM
Analogue C (81)	>50 µM	14 ± 3 µM	7 ± 2 µM	6,3 ± 1,0 µM	6,3 ± 1,0 µM	6,3 ± 1,0 µM	6,3 ± 1,0 µM	6,1 ± 0,6 µM	6,1 ± 0,6 µM	6,1 ± 0,6 µM	6,1 ± 0,6 µM	8 ± 1 µM	8 ± 1 µM
Analogue D (82)	>50 µM	17 ± 7 µM	11,6 ± 0,5 µM	14 ± 2 µM	14 ± 2 µM	14 ± 2 µM	14 ± 2 µM	10,0 ± 0,6 µM	10,0 ± 0,6 µM	10,0 ± 0,6 µM	10,0 ± 0,6 µM	9,4 ± 0,9 µM	9,4 ± 0,9 µM
Analogue E (83)	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM
Gentamicine	0,0208 ± 0,0001 µg/ml	0,045 ± 0,009 µg/ml	0,046 ± 0,008 µg/ml	0,040 ± 0,006 µg/ml	0,037 ± 0,007 µg/ml	0,037 ± 0,007 µg/ml	0,037 ± 0,007 µg/ml	0,029 ± 0,003 µg/ml	0,029 ± 0,003 µg/ml	0,029 ± 0,003 µg/ml	0,029 ± 0,003 µg/ml	0,028 ± 0,004 µg/ml	0,028 ± 0,004 µg/ml
IC90		IC90		IC90		IC90		IC90		IC90		IC90	
Échantillons	E. coli	S. aureus	S. aureus	SARM1	SARM1	SARM1	SARM1	SARM2	SARM2	SARM2	SARM2	SARM2	SARM2
Balsacone A (1)	>50 µM	2,78 ± 0,56 µM	5,2 ± 1,0 µM	0,496 ± 0,013 µM	1,3 ± 0,1 µM	1,3 ± 0,1 µM	1,3 ± 0,1 µM	0,51 ± 0,02 µM	0,51 ± 0,02 µM	0,51 ± 0,02 µM	0,51 ± 0,02 µM	1,5 ± 0,34 µM	1,5 ± 0,34 µM
Balsacone B (2)	>50 µM	5 ± 1 µM	5,3 ± 0,5 µM	7,5 ± 0,90 µM	7,5 ± 0,90 µM	7,5 ± 0,90 µM	7,5 ± 0,90 µM	5,2 ± 0,5 µM	5,2 ± 0,5 µM	5,2 ± 0,5 µM	5,2 ± 0,5 µM	7,6 ± 0,3 µM	7,6 ± 0,3 µM
Balsacone C (3)	>50 µM	5,6 ± 0,5 µM	5,7 ± 0,9 µM	7,33 ± 0,82 µM	7,33 ± 0,82 µM	7,33 ± 0,82 µM	7,33 ± 0,82 µM	5,3 ± 0,7 µM	5,3 ± 0,7 µM	5,3 ± 0,7 µM	5,3 ± 0,7 µM	6,7 ± 0,6 µM	6,7 ± 0,6 µM
Analogue A (79)	>50 µM	10,3 ± 1,01 µM	7,5 ± 0,7 µM	10,3 ± 0,8 µM	10,3 ± 0,8 µM	10,3 ± 0,8 µM	10,3 ± 0,8 µM	8,5 ± 0,3 µM	8,5 ± 0,3 µM	8,5 ± 0,3 µM	8,5 ± 0,3 µM	8,35 ± 0,96 µM	8,35 ± 0,96 µM
Analogue B (80)	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	7 ± 1 µM	7 ± 1 µM	7 ± 1 µM	7 ± 1 µM	26,8 ± 2,2 µM	26,8 ± 2,2 µM
Analogue C (81)	>50 µM	20,5 ± 3,7 µM	35,5 ± 9,4 µM	19,9 ± 3,1 µM	22 ± 4 µM	22 ± 4 µM	22 ± 4 µM	15,2 ± 1,5 µM	15,2 ± 1,5 µM	15,2 ± 1,5 µM	15,2 ± 1,5 µM	22,3 ± 3,2 µM	22,3 ± 3,2 µM
Analogue D (82)	>50 µM	20,8 ± 7,9 µM	16,5 ± 0,7 µM	18,9 ± 2,9 µM	15,4 ± 1,7 µM	15,4 ± 1,7 µM	15,4 ± 1,7 µM	15,8 ± 0,9 µM	15,8 ± 0,9 µM	15,8 ± 0,9 µM	15,8 ± 0,9 µM	13,1 ± 1,2 µM	13,1 ± 1,2 µM
Analogue E (83)	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM
Gentamicine	0,046 ± 0,0003 µg/ml	0,062 ± 0,012 µg/ml	0,06 ± 0,01 µg/ml	0,073 ± 0,011 µg/ml	0,067 ± 0,012 µg/ml	0,067 ± 0,012 µg/ml	0,067 ± 0,012 µg/ml	0,037 ± 0,004 µg/ml	0,037 ± 0,004 µg/ml	0,037 ± 0,004 µg/ml	0,037 ± 0,004 µg/ml	0,037 ± 0,006 µg/ml	0,037 ± 0,006 µg/ml

	IC50	IC50	IC50	IC50	IC50	IC50	IC50	IC50	IC50	IC50	IC50	IC50
Échantillons	SAMR3	SARM3	SARM4	SARM4	SARM5	SARM5	SARM5	SARM6	SARM6	SARM6	SARM6	SARM6
Balsacone A (1)	<0,391 µM	1,0 ± 0,1 µM	<0,391 µM	0,9 ± 0,2 µM	<0,391 µM	<0,391 µM	<0,391 µM	<0,391 µM	<0,391 µM	<0,391 µM	<0,391 µM	0,96 ± 0,06 µM
Balsacone B (2)	5 ± 1 µM	4,4 ± 0,3 µM	3,6 ± 0,1 µM	5,5 ± 0,3 µM	4 ± 2 µM	6,23 ± 0,03 µM	6,23 ± 0,03 µM	4 ± 1 µM	4 ± 1 µM	4 ± 1 µM	4 ± 1 µM	5,7 ± 0,1 µM
Balsacone C (3)	5,0 ± 0,9 µM	5,46 ± 0,07 µM	6,1 ± 0,1 µM	4,4 ± 0,3 µM	6,1 ± 0,1 µM	6,16 ± 0,03 µM	6,16 ± 0,03 µM	5,2 ± 0,3 µM	5,2 ± 0,3 µM	5,2 ± 0,3 µM	5,2 ± 0,3 µM	4,5 ± 0,9 µM
Analogue A (79)	8 ± 3 µM	10 ± 1 µM	6,8 ± 0,9 µM	6,8 ± 0,9 µM	8 ± 2 µM	7,6 ± 0,9 µM	7,6 ± 0,9 µM	7,0 ± 0,4 µM	7,0 ± 0,4 µM	7,0 ± 0,4 µM	7,0 ± 0,4 µM	6,53 ± 0,08 µM
Analogue B (80)	4,7 ± 0,5 µM	9,4 ± 0,8 µM	4,2 ± 0,3 µM	7,0 ± 0,8 µM	9 ± 1 µM	12,7 ± 0,6 µM	12,7 ± 0,6 µM	11 ± 1 µM	11 ± 1 µM	11 ± 1 µM	11 ± 1 µM	8,6 ± 0,6 µM
Analogue C (81)	6,9 ± 0,4 µM	7,1 ± 0,6 µM	6,1 ± 0,6 µM	6,5 ± 0,7 µM	8 ± 1 µM	14 ± 2 µM	14 ± 2 µM	5,1 ± 0,3 µM	5,1 ± 0,3 µM	5,1 ± 0,3 µM	5,1 ± 0,3 µM	8,2 ± 1,0 µM
Analogue D (82)	13,2 ± 0,6 µM	10,0 ± 0,8 µM	12,9 ± 0,7 µM	8,7 ± 0,2 µM	10 ± 3 µM	9 ± 2 µM	9 ± 2 µM	15 ± 2 µM	15 ± 2 µM	15 ± 2 µM	15 ± 2 µM	8,5 ± 0,7 µM
Analogue E (83)	>50 µM	<0,391 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	48 ± 4 µM	48 ± 4 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM
Gentamicine	0,046 ± 0,004 µg/ml	0,06 ± 0,02 µg/ml	0,041 ± 0,003 µg/ml	0,0461 ± 0,0009 µg/ml	0,025 ± 0,007 µg/ml	0,041 ± 0,002 µg/ml	0,041 ± 0,002 µg/ml	0,018 ± 0,002 µg/ml	0,018 ± 0,002 µg/ml	0,018 ± 0,002 µg/ml	0,018 ± 0,002 µg/ml	0,029 ± 0,003 µg/ml
Échantillons	IC90	IC90	IC90	IC90	IC90	IC90	IC90	IC90	IC90	IC90	IC90	IC90
	SAMR3	SARM3	SARM4	SARM4	SARM5	SARM5	SARM5	SARM6	SARM6	SARM6	SARM6	SARM6
Balsacone A (1)	0,38 ± 0,08 µM	1,4 ± 0,2 µM	0,4 ± 0,1 µM	1,1 ± 0,2 µM	<0,391 µM	<0,391 µM	<0,391 µM	0,47 ± 0,04 µM	0,47 ± 0,04 µM	0,47 ± 0,04 µM	0,47 ± 0,04 µM	1,3 ± 0,08 µM
Balsacone B (2)	5,6 ± 0,6 µM	5,9 ± 0,5 µM	4,8 ± 0,2 µM	10,2 ± 0,5 µM	5,1 ± 2,6 µM	6,8 ± 0,03 µM	6,8 ± 0,03 µM	4,9 ± 1,6 µM	4,9 ± 1,6 µM	4,9 ± 1,6 µM	4,9 ± 1,6 µM	9,04 ± 0,21 µM
Balsacone C (3)	5,8 ± 0,6 µM	5,9 ± 0,02 µM	7,8 ± 1,6 µM	7,5 ± 0,6 µM	6,5 ± 0,1 µM	6,7 ± 0,2 µM	6,7 ± 0,2 µM	9,6 ± 0,5 µM	9,6 ± 0,5 µM	9,6 ± 0,5 µM	9,6 ± 0,5 µM	5,8 ± 1,2 µM
Analogue A (79)	8,9 ± 3,3 µM	11,6 ± 0,6 µM	6,8 ± 0,9 µM	9,3 ± 1,2 µM	10 ± 2 µM	9,6 ± 1,1 µM	9,6 ± 1,1 µM	10,6 ± 0,6 µM	10,6 ± 0,6 µM	10,6 ± 0,6 µM	10,6 ± 0,6 µM	7,37 ± 0,09 µM
Analogue B (80)	10 ± 1 µM	19,0 ± 1,7 µM	13,1 ± 0,8 µM	44,3 ± 5,2 µM	18,8 ± 3,1 µM	29,6 ± 1,4 µM	29,6 ± 1,4 µM	28,2 ± 3,2 µM	28,2 ± 3,2 µM	28,2 ± 3,2 µM	28,2 ± 3,2 µM	12,6 ± 0,9 µM
Analogue C (81)	11,4 ± 0,7 µM	9,9 ± 0,9 µM	12,8 ± 1,3 µM	22,3 ± 2,5 µM	25 ± 4 µM	20,4 ± 2,5 µM	20,4 ± 2,5 µM	19 ± 1 µM	19 ± 1 µM	19 ± 1 µM	19 ± 1 µM	18 ± 2 µM
Analogue D (82)	19,3 ± 0,9 µM	14,1 ± 1,1 µM	20,8 ± 1,2 µM	17,9 ± 0,4 µM	13 ± 4 µM	10,5 ± 2,1 µM	10,5 ± 2,1 µM	20 ± 2 µM	20 ± 2 µM	20 ± 2 µM	20 ± 2 µM	11,5 ± 0,9 µM
Analogue E (83)	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM
Gentamicine	0,062 ± 0,005 µg/ml	0,07 ± 0,02 µg/ml	0,088 ± 0,006 µg/ml	0,067 ± 0,001 µg/ml	0,033 ± 0,01 µg/ml	0,080 ± 0,005 µg/ml	0,080 ± 0,005 µg/ml	0,038 ± 0,004 µg/ml	0,038 ± 0,004 µg/ml	0,038 ± 0,004 µg/ml	0,038 ± 0,004 µg/ml	0,067 ± 0,007 µg/ml

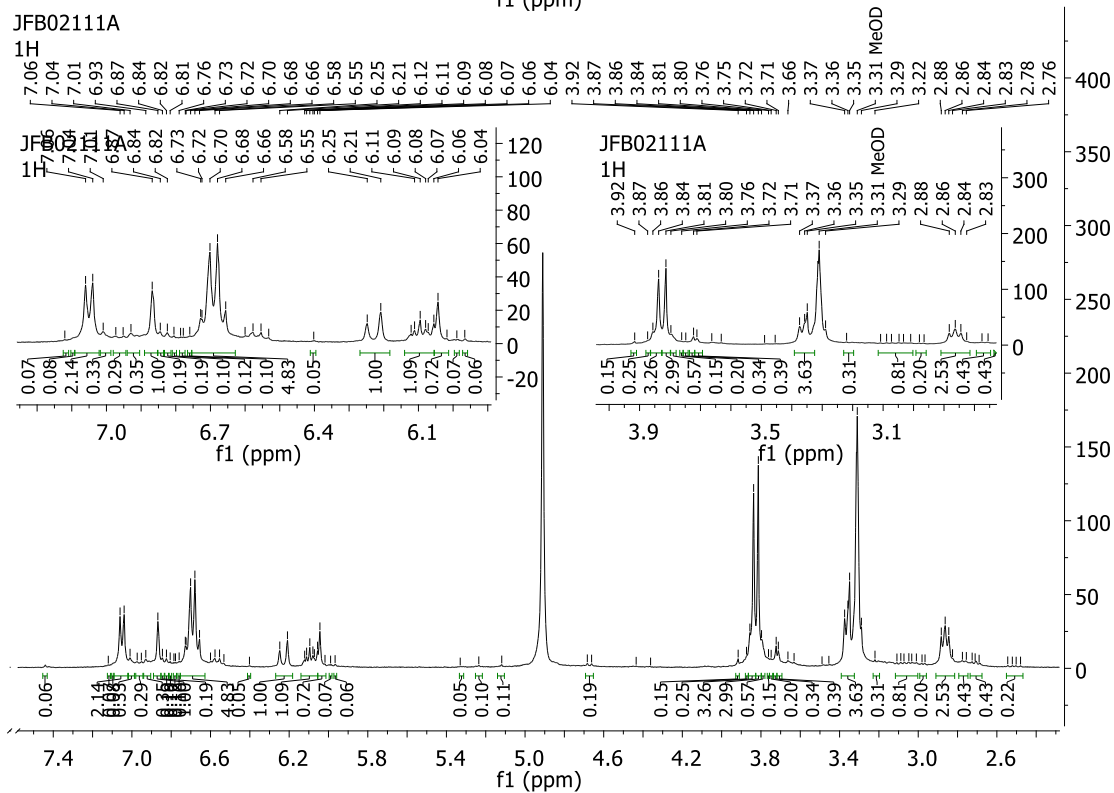
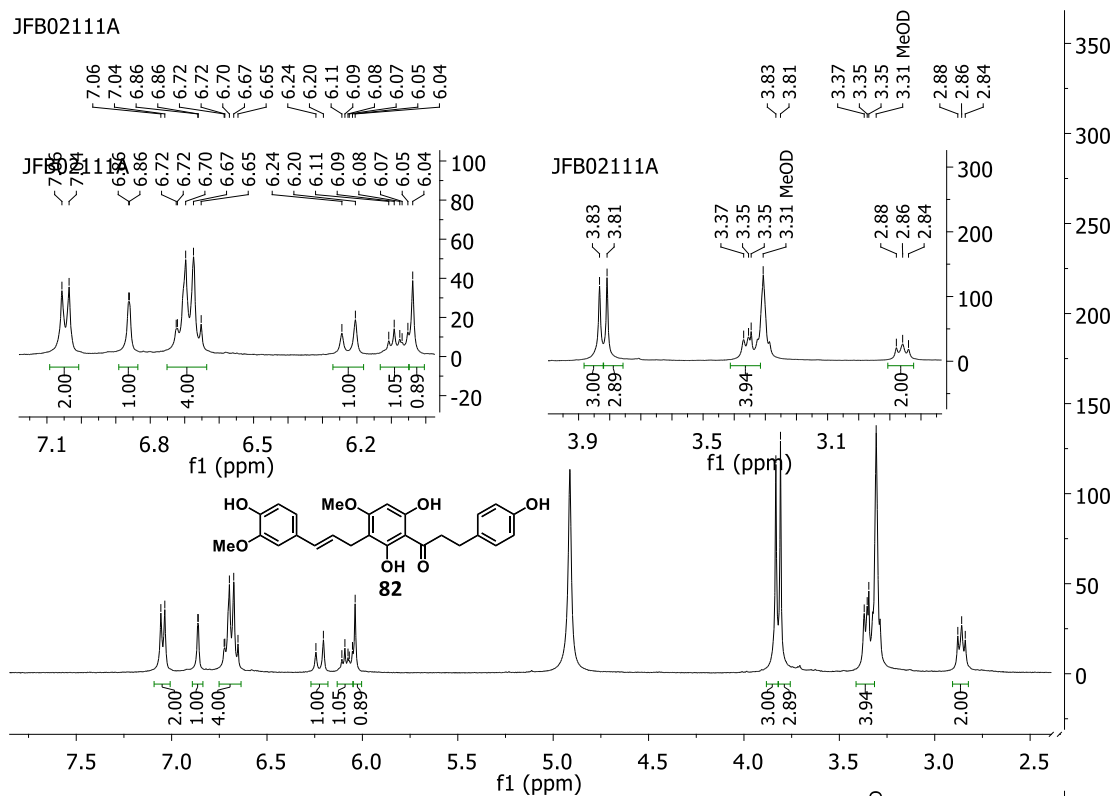
	IC50	IC50	IC50	IC50	IC50	IC50	IC50	IC50	IC50	IC50
Échantillons	SARM7	SARM7	SARM8	SARM8	SARM8	SARM9	SARM9	SARM9	SARM9	SARM10
Balsacone A (1)	0,47 ± 0,07 µM	1,46 ± 0,04 µM	<0,391 µM	5,2 ± 0,7 µM	6,06 ± 0,07 µM	6,3 ± 0,5 µM	10 ± 2 µM	9,5 ± 0,6 µM	11,1 ± 0,4 µM	8,9 ± 0,6 µM
Balsacone B (2)	5,0 ± 0,7 µM	5,0 ± 0,6 µM	5,7 ± 0,6 µM	7 ± 2 µM	8 ± 2 µM	10 ± 2 µM	12 ± 2 µM	8,1 ± 0,8 µM	>50 µM	>50 µM
Balsacone C (3)	5,46 ± 0,05 µM	4,1 ± 0,6 µM	7 ± 2 µM	10 ± 1 µM	9,5 ± 0,6 µM	10 ± 2 µM	12 ± 2 µM	11,1 ± 0,4 µM	0,053 ± 0,010 µg/ml	0,067 ± 0,009 µM
Analogue A (79)	6,03 ± 0,09 µM	6,09 ± 0,06 µM	7 ± 2 µM	10 ± 1 µM	9,5 ± 0,6 µM	10 ± 2 µM	12 ± 2 µM	8,1 ± 0,8 µM	0,053 ± 0,010 µg/ml	0,067 ± 0,009 µM
Analogue B (80)	5,7 ± 0,2 µM	7,6 ± 0,5 µM	10 ± 1 µM	7,42 ± 0,06 µM	10,0 ± 0,9 µM	8 ± 1 µM	14 ± 4 µM	11,1 ± 0,4 µM	0,053 ± 0,010 µg/ml	0,067 ± 0,009 µM
Analogue C (81)	6,8 ± 0,2 µM	6,8 ± 0,6 µM	7,42 ± 0,06 µM	12,0 ± 0,7 µM	9,4 ± 0,2 µM	14 ± 4 µM	>50 µM	>50 µM	0,053 ± 0,010 µg/ml	0,067 ± 0,009 µM
Analogue D (82)	13 ± 1 µM	7,7 ± 0,8 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	0,053 ± 0,010 µg/ml	0,067 ± 0,009 µM
Analogue E (83)	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	0,053 ± 0,010 µg/ml	0,067 ± 0,009 µM
Gentamicine	0,025 ± 0,003 µg/ml	0,029 ± 0,003 µg/ml	0,05 ± 0,01 µg/ml	0,05 ± 0,01 µg/ml	0,051 ± 0,006 µg/ml	0,059 ± 0,009 µM	0,059 ± 0,009 µM	0,053 ± 0,010 µg/ml	0,053 ± 0,010 µg/ml	0,067 ± 0,009 µM
	IC90	IC90	IC90	IC90	IC90	IC90	IC90	IC90	IC90	IC90
Échantillons	SARM7	SARM7	SARM8	SARM8	SARM8	SARM9	SARM9	SARM9	SARM9	SARM10
Balsacone A (1)	0,67 ± 0,3 µM	1,59 ± 0,002 µM	0,48 ± 0,04 µM	5,9 ± 0,3 µM	1,4 ± 0,2 µM	0,47 ± 0,04 µM	5,7 ± 0,6 µM	7,8 ± 2,8 µM	1,4 ± 0,1 µM	1,4 ± 0,2 µM
Balsacone B (2)	5,7 ± 0,3 µM	6,7 ± 0,8 µM	5,9 ± 0,3 µM	7,4 ± 1,2 µM	7,3 ± 0,2 µM	8,5 ± 0,7 µM	11,3 ± 0,8 µM	7,4 ± 1,3 µM	7,8 ± 2,8 µM	8 ± 1 µM
Balsacone C (3)	5,8 ± 0,1 µM	5,2 ± 0,7 µM	7,4 ± 1,2 µM	9,3 ± 2,0 µM	6,5 ± 0,1 µM	8,5 ± 0,7 µM	11,3 ± 0,8 µM	10,4 ± 1,5 µM	7,4 ± 1,3 µM	5,3 ± 0,4 µM
Analogue A (79)	7,3 ± 0,9 µM	6,68 ± 0,09 µM	9,3 ± 2,0 µM	21,1 ± 2,5 µM	7,8 ± 1,9 µM	11,3 ± 0,8 µM	30 ± 4 µM	26,3 ± 1,7 µM	10,4 ± 1,5 µM	9,5 ± 0,5 µM
Analogue B (80)	9,4 ± 0,4 µM	15,9 ± 0,9 µM	21,1 ± 2,5 µM	18,9 ± 0,2 µM	17,5 ± 1 µM	30 ± 4 µM	18 ± 3 µM	22,4 ± 2,2 µM	26,3 ± 1,7 µM	8,1 ± 0,8 µM
Analogue C (81)	10,1 ± 0,4 µM	15,3 ± 1,5 µM	18,9 ± 0,2 µM	25,9 ± 1,6 µM	24 ± 2 µM	18 ± 3 µM	18 ± 5 µM	16,2 ± 0,6 µM	22,4 ± 2,2 µM	8,8 ± 1,8 µM
Analogue D (82)	20 ± 2 µM	9,5 ± 1,1 µM	25,9 ± 1,6 µM	>50 µM	15,8 ± 0,3 µM	18 ± 5 µM	>50 µM	>50 µM	16,2 ± 0,6 µM	16 ± 1 µM
Analogue E (83)	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM	>50 µM
Gentamicine	0,031 ± 0,003 µg/ml	0,059 ± 0,007 µg/ml	0,063 ± 0,013 µg/ml	0,063 ± 0,013 µg/ml	0,076 ± 0,009 µg/ml	0,069 ± 0,004 µg/ml	0,069 ± 0,004 µg/ml	0,073 ± 0,010 µg/ml	0,073 ± 0,010 µg/ml	0,078 ± 0,004 µM

ANNEXE 4 - SPECTRES RMN ¹H DÉGRADATION

Analogue D (**82**) RMN ¹H (400 MHz, C₃D₆O) après 1 h et après 48 h (75 mM).



Analogue D (**82**) RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) après 1 h et après 48 h (20 mM).



Analogue E (**83**) RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) après 1 h et après 24 h (13 mM).

