

THÈSE

PRÉSENTÉE A

L'UNIVERSITÉ BORDEAUX 1

ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES CHIMIQUES

Par Emilie PETIT

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR

SPÉCIALITÉ : **CHIMIE ORGANIQUE**

**Réactivité de Polyphénols du Vin sous Conditions Oxydantes –
Hémisynthèse des Mongolicaines, et d'Adduits entre Polyphénols
et Thiols Odorants**

Directeur de recherche : Pr. Stéphane QUIDEAU

Soutenue le 29 novembre 2013

Après avis de :

Mme CHEYNIER, Véronique Directrice de Recherche INRA, Montpellier
Mme ESCRIBANO, Maria Teresa Professeur, Université Salamanque

Rapporteur
Rapporteur

Devant la commission d'examen formée de :

M. DARRIET, Philippe Professeur, Université Bordeaux 2
Mme CHEYNIER, Véronique Directrice de Recherche INRA, Montpellier
Mme ESCRIBANO, Maria Teresa Professeur, Université Salamanque
M. QUIDEAU, Stéphane Professeur, Université Bordeaux 1

Président
Rapporteur
Rapporteur
Directeur de thèse

*à mon chéri ;
à mes parents ;
à mes frères et sœurs ;
à mes amis ;*

*pour le soutien qu'ils m'ont apporté,
et pour leur présence tout au long de ces années.*

Remerciements

Déjà trois ans se sont écoulés... Il est difficile de se dire que cette expérience enrichissante est déjà sur le point de se terminer, et pourtant... Différentes personnes m'ont accompagnée pendant cette période et je tiens à les remercier.

Tout d'abord, je tiens à remercier la personne sans qui ces travaux n'auraient pas vu le jour, Monsieur le Professeur Stéphane QUIDEAU, pour m'avoir accueillie au sein de son laboratoire, pour la confiance qu'il m'a accordée pendant ces trois années ainsi que pour le partage de ses connaissances à la fois chimiques et œnologiques.

Je souhaite ensuite exprimer toute ma gratitude à Madame le Docteur Véronique CHEYNIER et à Madame le Professeur Maria Teresa ESCRIBANO pour avoir accepté d'évaluer mes travaux effectués lors de cette thèse, ainsi qu'à Monsieur le Professeur Philippe DARRIET pour avoir accepté de présider le jury.

J'aimerais par ailleurs souligner la contribution du Conseil Interprofessionnel du Vin de Bordeaux (CIVB) en tant que financeur de ces recherches et, en particulier, Monsieur Laurent CHARLIER.

Mes remerciements s'adressent aussi à Rémi JACQUET, l'expert des ellagitannins et des HPLC du laboratoire, qui m'a épaulée tout au long de ces trois années, et, en particulier, lors des périodes où les instruments d'analyses n'en faisaient qu'à leur tête ; à Axelle GRELARD, Cécile COURREGES, Vanessa ZHENDRE et Estelle MORVAN qui m'ont aidée dans les caractérisations RMN des produits ; à l'équipe du CESAMO et au service de Spectrométrie de Masse de l'IECB. Merci également à Michael JOURDES et Dorothee LEFEUVRE pour leurs travaux qui m'ont permis d'avancer dans mes recherches.

Bien entendu, je tiens à remercier chaleureusement tous les membres de l'IECB que j'ai eu la chance de rencontrer. Mes premières pensées vont à Mélanie, avec qui j'ai partagé le laboratoire pendant plus de deux ans, pour sa bonne humeur, son goût musical (enfin pas tout !) et ses danses endiablées, ses fous rires et surtout pour son écoute et son aide (je viendrai « te visiter » très bientôt j'espère !), et à Gloria (et l'Italie est là !) qui a pris le relais avec succès. Par ta gentillesse, ta bonne humeur, ton rire (très !) communicatif et nos discussions « de filles », tu as su enjoliver mes journées pendant cette dernière année de thèse. Merci également aux inséparables Romain et Cyril, la team de la chimie des iodes, à Hélène et Tien, la probe team, pour leur bonne humeur, leur gentillesse et leur soutien sans lesquels ces trois années n'auraient pas été ce qu'elles ont été. Merci aussi à Guillaume « le chimiste », pour son écoute, sa disponibilité, et son amitié qui a commencé depuis déjà plusieurs années ; ainsi qu'à Guillaume « le biologiste », pour ses blagues et nos pauses cafés souvent nécessaires ; ainsi qu'aux filles Claire et Juliette, qui, pour elles aussi ces trois années sont finies.

Je remercie également mes parents, mes frères et sœurs, Fabrice et Régine ainsi que tous les membres de ma famille pour leur soutien et pour avoir cru en moi ainsi que mes amis, et tout particulièrement l'équipe bordelaise, Sarah, Audrey, Quentin et Thomas, qui m'a permis de souvent décompresser.

Enfin, mes plus sincères remerciements vont à Florian, qui me soutient depuis maintenant dix années, sans qui je ne serais sûrement pas arrivée jusque là. Pendant ces trois ans, tu as su comprendre et respecter mon travail, partager mes joies et mes tristesses et être toujours à l'écoute.

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE	21
CHAPITRE I : LE VIN ET L'ELEVAGE EN FUT DE CHENE.....	31
I. PRESENTATION DES TANNINS ET DES AROMES DU VIN	31
1. <i>Présentation générale des tannins.....</i>	<i>31</i>
a. Historique	31
b. Classification des tannins.....	32
i. Les tannins hydrolysables.....	32
ii. Les tannins condensés.....	35
iii. Les phlorotannins.....	36
c. Propriétés des tannins.....	37
i. Protection des plantes.....	37
ii. Phénomènes d'astringence et d'amertume	38
iii. Activités biologiques et pharmacologiques	38
2. <i>Les tannins du chêne</i>	<i>40</i>
a. Localisation	40
b. Structure.....	41
c. Teneur.....	42
3. <i>Les tannins du raisin</i>	<i>43</i>
a. Localisation	44
b. Structure.....	45
c. Teneur.....	46
4. <i>Les arômes du vin</i>	<i>47</i>
a. Composants principaux des arômes du vin	48
b. Les arômes soufrés	50
i. Le 3-sulfanyl hexan-1-ol (3-SH).....	52
ii. Le 2-furanmethanethiol (2-FMT)	52
II. L'OXYDATION	53
1. <i>Incidence sur la qualité du vin</i>	<i>53</i>
2. <i>Oxydation des composés phénoliques.....</i>	<i>54</i>

3.	<i>Oxydations enzymatique et chimique</i>	56
a.	Oxydation enzymatique.....	56
b.	Oxydation chimique.....	58
4.	<i>Réactivité des polyphenols en condition oxydante</i>	61
5.	<i>Utilisation d'antioxydants</i>	63
III.	EVOLUTION DES TANNINS DANS LE VIN.....	64
1.	<i>Hydrolyse des ellagitannins</i>	64
2.	<i>Hémisynthèse</i>	65
a.	Réactivité de la vescalagine et de la castalagine.....	66
b.	Flavano-vescalagine: formation de tannins complexes.....	68
c.	Anthocyano-vescalagine: influence sur la couleur du vin.....	70
d.	Autres exemples.....	70
3.	<i>Formation de dérivés oxydés</i>	71
	CHAPITRE II : OXYDATION DES DERIVES D'ELLAGITANNIN	79
I.	INTRODUCTION.....	79
II.	OXYDATION DE L'ACUTISSIMINE A.....	79
1.	<i>Résultats antérieurs : isolation de la mongolicaïne A</i>	79
2.	<i>Isolation du composé 103</i>	81
3.	<i>Identification du composé 103</i>	83
a.	Caractérisation du composé 103.....	83
b.	Mécanisme de formation du composé 103.....	85
III.	OXYDATION DE L'ACUTISSIMINE B.....	87
1.	<i>Isolation des composés 104 et 105</i>	87
2.	<i>Identification du composé 104</i>	89
a.	Caractérisation du composé 104.....	89
b.	Mécanisme de formation du composé 104.....	91
c.	Comparaison avec les résultats de la littérature.....	92
3.	<i>Identification du composé 105</i>	96
a.	Caractérisation du composé 105.....	96
b.	Mécanisme de formation du composé 105.....	97
IV.	CONCLUSION.....	99

CHAPITRE III : INFLUENCE DES POLYPHENOLS SUR DES COMPOSES SOUFRES ODORANTS	
DU VIN	107
I. HEMISYNTHESE DE THIO-ELLAGITANNINS.....	107
1. <i>Cas du 2-furanmethanethiol (2-FMT)</i>	107
a. Hémisynthèse de la vescalagine-2-FMT	107
b. Caractérisation de l'adduit 106	108
2. <i>Cas du 3-sulfanylhexan-1-ol (3-SH)</i>	109
a. Séparation des énantiomères (R)-3-SH et (S)-3-SH	109
b. Hémisynthèse de la vescalagine-3-SH	112
c. Caractérisation des adduits 114 et 115	113
II. OXYDATION DE LA CATECHINE EN PRESENCE D'AROMES SOUFRES.....	115
1. <i>Oxydation en présence du 2-FMT</i>	117
a. Oxydation en solution aqueuse	117
b. Caractérisation des adduits formés.....	118
i. Monoadduit-2' 116	118
ii. Monoadduit-5' 117	121
iii. Diadduit-2',5' 118	123
c. Mécanisme de formation des adduits 116 , 117 et 118	125
d. Oxydation en solution modèle du vin.....	127
e. Influence de l'oxygène	128
f. Oxydation de la (—)-épicatéchine en présence du 2-FMT	131
i. En solution aqueuse	132
ii. En solution modèle du vin	133
2. <i>Oxydation en présence du 3-SH</i>	134
a. Oxydation en solution aqueuse	134
b. Caractérisation des adduits formés.....	136
i. Monoadduit-2' 126	136
ii. Monoadduit-5' 127	138
iii. Diadduit-2',5' 125a	139
c. Oxydation enzymatique en présence de la tyrosinase	141
3. <i>Résultats obtenus dans la littérature</i>	142
III. OXYDATION DU METHYLGALLATE EN PRESENCE D'AROMES SOUFRES.....	144

1.	<i>Oxydation du méthylgallate en présence du 2-FMT</i>	145
a.	Oxydation en solution aqueuse	145
b.	Oxydation au pH du vin	145
2.	<i>Oxydation du méthylgallate en présence du 3-SH</i>	146
IV.	OXYDATION DE LA CASTALAGINE ET DE LA VESCALAGINE EN PRESENCE D'AROMES SOUFRES.....	147
3.	<i>Oxydation de la (—)-castalagine en présence du 2-FMT</i>	148
a.	Etude analytique	148
b.	Isolation des adduits.....	149
c.	Caractérisation des adduits.....	150
i.	Monoadduit 134	150
ii.	Diadduit 135	152
iii.	Triadduit 136	154
d.	Mécanisme de formation des adduits.....	154
4.	<i>Oxydation de la (—)-vescalagine en présence du 2-FMT</i>	157
5.	<i>Oxydation de la (—)-castalagine en présence du 3-SH</i>	159
a.	Etude analytique	159
b.	Isolation des adduits.....	160
c.	Caractérisation du monoadduit 137	160
6.	<i>Etude de l'oxydation de la (—)-vescalagine en présence du 3-SH</i>	162
V.	CONCLUSION.....	164
	CONCLUSION GENERALE	171
	PARTIE EXPERIMENTALE	179
I.	GENERALITES.....	179
1.	<i>Conditions expérimentales</i>	179
2.	<i>Techniques d'analyses</i>	180
a.	Chromatographie liquide haute performance (CLHP).....	180
i.	Générale	180
ii.	Méthodes utilisées.....	180
b.	Résonance magnétique nucléaire (RMN)	187
c.	Spectrométrie de masse (SM).....	187
d.	Infra-rouge (IR).....	187
e.	Pouvoir rotatoire	187

II. SYNTHÈSE ET CARACTÉRISATION	188
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	259

Abréviations et Formules

%	pourcentage
¹³ C	carbone 13
¹ H	proton 1
2-FMT	2-FuranMethaneThiol
3-SH	3-SulfanylHexan-1-ol
AcOEt	acétate d'éthyle
°C	degré celsius
cf.	confer.
CH ₂ Cl ₂	dichlorométhane
CHCl ₃	chloroforme
CLHP	Chromatographie Liquide Haute Performance
CL/SM	Chromatographie Liquide couplée à la Spectrométrie de Masse
cm	centimètre
COSY	COrelated SpectroscopY
d	doublet
dd	doublet dédoublé
D ₂ O	eau déterrée
DEPT	Distortion less Enhancement by Polarisation Transfert
DIC	carbodiimide
DMAP	4-diméthylaminopyridine
DP _m	Degré de polymérisation moyen
éq.	équivalent(s)
ESI	Electrospray Source Ionisation
Et ₂ O	éther diéthylique
EtOH	éthanol
FeCl ₃	trichlorure de fer
FD	Field Desorption

g	grammes
h	heures
H ₂ O ₂	péroxyde d'hydrogène
H ₂ O	eau
HCl	acide chlorhydrique
HCOOH	acide formique
HHDP	HexaHydroxyDiPhenoyl
HMBC	Heteronuclear Multiple Bonding Connectivity
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Correlation
HPCP	HydroxyPhenylCycloPentenone
HRMS	High Resolution Mass Spectrometry
Hz	Hertz
iPrOH	isopropanol
IR	Infra-Rouge
K ₂ CO ₃	carbonate de potassium
L	litre
LRMS	Low Resolution Mass Spectrometry
MeOH	méthanol
Me ₂ SO ₄	sulfate de diméthyle
mg	milligrammes
MgSO ₄	sulfate de magnésium
min	minutes
mL	millilitres
mm	millimètre
mmol	millimole
mol	mole
N ₂	diazote
Na ₂ SO ₄	dithionite de sodium
ng	nanogrammes

nm	nanomètre
NHTP	NonaHydroxyTerPhenoyl
O ₂	oxygène
ppm	partie par million
t	triplet ou temps
t.a.	température ambiante
TFA	acide trifluoroacétique
THF	Tétrahydrofurane
t _R	temps de rétention
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
s	singulet ou secondes
SM	Spectrométrie de Masse
µm	micromètre
µg	microgramme
UV	UltraViolet

INTRODUCTION GENERALE

Depuis des millénaires, le vin et la vigne ont marqué de leur empreinte des civilisations et des paysages. Aujourd'hui, le vin est devenu un des emblèmes de la culture française, de ses traditions et de sa gastronomie. Depuis la fin du XIX^{ème} siècle, de nombreuses équipes de recherche scientifique se sont intéressées à ce breuvage complexe en essayant d'appréhender ses qualités et ses défauts et de comprendre l'origine de ses propriétés afin de l'améliorer.

Parmi les composés du vin, on retrouve une famille de polyphénols très abondante, les tannins. Ces molécules suscitent un grand intérêt de part leurs propriétés biologiques et leur implication dans l'évolution des qualités organoleptiques du vin. Par exemple, les tannins seraient à l'origine du fameux « French paradox », phénomène selon lequel la consommation modérée du vin réduirait les risques de maladies cardio-vasculaires. Ils sont aussi responsables du phénomène d'astringence et d'assèchement en bouche, ressentis lors de la dégustation de certains vins.

Les tannins présents dans le vin peuvent provenir soit du raisin, dans ce cas, on parle de tannins condensés, soit du bois de chêne utilisé lors de l'élevage en barrique, appelés tannins hydrolysables. Ces deux types de molécules vont évoluer en solution hydroalcoolique acide comme le vin et en présence d'oxygène tout au long des étapes de vinification, du pressurage jusqu'à la conservation en bouteille. Ces changements moléculaires vont ainsi avoir une influence plus ou moins importante sur la composition et la qualité du vin. Il est donc intéressant d'étudier ces molécules dans des conditions semblables à celle du vin afin d'identifier ces changements et de comprendre leur mécanisme et leur impact sur le vin.

Cette thèse a été réalisée en partenariat avec le laboratoire de Chimie Appliquée du Professeur Pierre-Louis Teissedre de l'Institut des Sciences de la Vigne et du Vin de Bordeaux (ISVV) dans le cadre d'un programme d'étude sur « la Maîtrise du niveau d'oxygénation des vins et d'élevage à l'aide de bois de chêne - Recherche de l'optimum de la qualité tannique des vins au niveau gustatif ». Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à la réactivité de polyphénols du vin sous conditions oxydantes afin d'isoler et de caractériser de nouvelles molécules susceptibles de se former dans le vin. Notre équipe a d'ailleurs identifié un bon nombre de composés se formant dans le vin et impactant plus ou moins les qualités organoleptiques. Par exemple, les anthocyano-ellagitannins, qui sont formés par condensation entre un tannin hydrolysable du chêne et une anthocyane provenant du raisin, sont en partie liés aux changements de la couleur du vin rouge.

Dans ce mémoire, deux aspects sont examinés. Le premier est l'étude de l'oxydation de deux tannins complexes, les acutissimines A et B. Ces deux molécules naturelles, présentes aussi bien dans le vin que dans certaines plantes, sont formées à partir d'un monomère de tannins

condensés, la catéchine, et d'un ellagitannin C-glucosidique extrait du bois de chêne par le vin lors de l'élevage en barrique, la vescalagine. Dans le vin, ces composés polypyrogalloliques sont susceptibles de consommer l'oxygène apporté au vin lors des étapes d'élevage et de stockage en bouteille et ainsi d'évoluer vers des dérivés oxydés plus complexe. Dans cette partie, nous nous intéresserons donc à l'évolution de ces deux composés vers des molécules oxydées plus complexes en condition oxydante afin de comprendre le mécanisme d'oxydation mis en jeu lors de ces réactions.

Le deuxième aspect étudié lors de cette thèse concerne l'évaluation des conséquences de la présence de certains polyphénols dans le vin sur des composés aromatiques soufrés. Dans ce contexte, deux types de polyphénols ont été étudiés, des composés catécholiques, la catéchine et l'épicatéchine, monomères de tannins condensés, et des composés pyrogalloliques, le méthylgallate et deux tannins hydrolysables, la castalagine et la vescalagine. Leur comportement et leur réactivité chimiques seront décrits dans des milieux différents, en condition acide avec l'hémisynthèse de thio-ellagitannins, et en condition oxydante avec formation d'adduits à partir des catéchols/pyrogallols oxydés, afin d'identifier de nouveaux composés susceptibles de se former dans le vin et participant à la perte de certains arômes soufrés odorants.

La partie expérimentale, regroupant les protocoles et techniques utilisés ainsi que la description structurale des composés synthétisés, fait l'objet du dernier chapitre de ce mémoire.

Les résultats présentés dans ma thèse ont fait l'objet de :

➤ Deux communications par voie d'affichage :

E. Petit, R. Jacquet, M. Jourdes, S. Quideau, « Oxidation of flavano-ellagitannins: From acutissimins to mongolicains », Oeno 2011, Bordeaux, France (15-17 juin **2011**).

E. Petit, R. Jacquet, D. Deffieux, S. Quideau, « Chemical studies of the oxidation of wine-related catechols and pyrogallols », XXVIth International Conference on Polyphenols (ICP), Florence, Italie (22-26 juillet **2012**).

➤ Une communication orale:

E. Petit, « Etude chimique de l'oxydation du vin : cas des pyrogallols », Journée de Chimie du Grand-Sud-Ouest (GSO), Société Chimique de France (SCF), Pessac, France (30 novembre **2012**).

➤ Deux Publications :

Petit, E.; Lefeuvre, D.; Jacquet, R.; Pouységu, L.; Deffieux, D.; Quideau, S. Remarkable Biomimetic Chemoselective Aerobic Oxidation of Flavano-Ellagitannins Found in Oak-Aged Wine. *Ang. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 11530-11533.

Petit, E.; Jacquet, R.; Pouységu, L.; Deffieux, D.; Quideau, S. Reactivity of wine polyphenols under oxidation conditions : hemisynthesis of adducts between polyphenols and odoriferous aromatic thiols. *En préparation*.

Chapitre I

Le vin et l'élevage en fût de chêne



CHAPITRE I : Le vin et l'élevage en fût de chêne

I. PRESENTATION DES TANNINS ET DES AROMES DU VIN

1. PRESENTATION GENERALE DES TANNINS

a. Historique

Les tannins sont connus depuis la plus haute Antiquité. Au Moyen Âge, on extrayait les tannins de l'écorce de chênes ou de châtaigniers pour transformer les peaux animales brutes en cuir. En effet, la peau desséchée sans aucune préparation pourrit aisément, s'imprègne d'eau avec facilité, et se détruit par un frottement répété. Pour y remédier, les peaux étaient immergées dans un bain tannant, appelé fosse à « tan », où elles acquièrent une résistance à l'hydrolyse et à la putréfaction (Figure 1). Ces caractéristiques sont obtenues grâce à la combinaison chimique irréversible entre le collagène, protéine présente dans la peau, et la substance tannante. En effet, grâce aux caractéristiques structurales des molécules tannantes (unités polyol, phénol, catéchol,...), des liaisons hydrogènes, ioniques et/ou covalentes se forment entre cette protéine et les tannins lors du tannage.¹

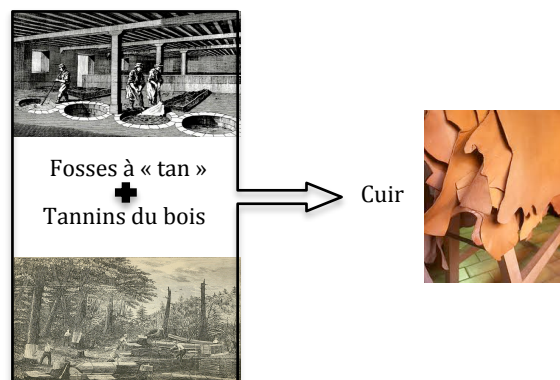


Figure 1. Utilisation des tannins pour la formation du cuir.

D'un point de vue structural, la première description chimique des tannins végétaux est redevable au chimiste allemand Emil Fischer dans les premières décennies du XX^{ème} siècle. L'invention de la chromatographie sur papier durant la Seconde Guerre Mondiale permit à Bate-Smith de mener un travail considérable dans l'identification de tannins chez les plantes. Il y aurait actuellement un millier de tannins naturels dont la structure a été déterminée de manière non ambiguë.²

Les tannins ne sont pas utilisés que pour le tannage du cuir, mais aussi pour d'autres propriétés chimiques et biologiques qui seront développées dans la suite de ce chapitre.

b. Classification des tannins

Les tannins végétaux sont des polyphénols, définis par Haslam comme des molécules solubles dans l'eau, possédant une masse molaire comprise entre 500 et 4000 Da, 12 à 16 groupements phénoliques et 5 à 7 cycles aromatiques par 1000 unités de masse molaire.³ La dénomination polyphénols est cependant aujourd'hui utilisée de façon usuelle pour désigner également des molécules phénoliques de faible masse moléculaire ne possédant pas de propriétés tannantes. C'est pourquoi, notre équipe a apporté une nouvelle définition, décrivant le terme polyphénol comme pouvant être utilisé pour définir des métabolites secondaires de plantes dérivés exclusivement de la voie de biosynthèse des phénylpropénoïdes dérivés de l'acide shikimique et/ou de celles des polycétides, et structuralement composés de plus d'un cycle phénolique et dépourvus de groupes fonctionnels azotés dans leur structure primaire.⁴

Les tannins sont classés de différentes façons suivant leurs structures, leurs propriétés chimiques et/ou leur biosynthèse. La classification basée sur les caractéristiques structurales et les propriétés chimiques regroupe trois classes (Figure 2). La première catégorie réunit les tannins hydrolysables qui ont la particularité d'être hydrolysés par un traitement chimique (eau chaude acidifiée) ou enzymatique (les tannases). Cette famille inclut les ellagitannins et les gallotannins produisant respectivement l'acide ellagique et l'acide gallique lors de leur hydrolyse. Les tannins formés par des unités monomériques de flavanols, comme la catéchine, sont appelés tannins condensés ou proanthocyanidines.^{2,5-6} Depuis peu, une nouvelle famille de tannins isolés d'algues marines a été mise en évidence par Sailer et *al.*, les phlorotannins.⁷

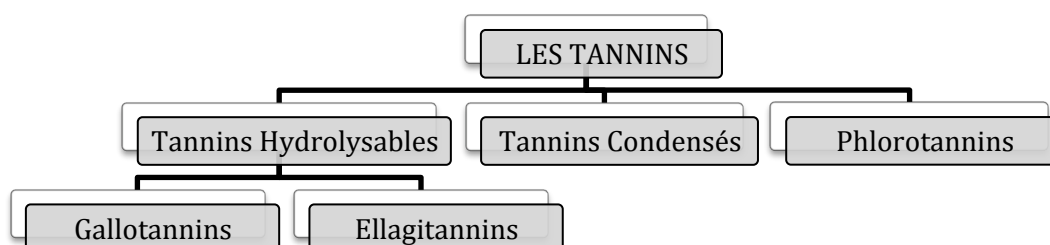


Figure 2. Classification des tannins.

i. Les tannins hydrolysables

Les tannins hydrolysables possèdent tous un noyau polyol, dans la majorité des cas le D-glucose mais aussi, entre autres, le D-hamamelose, l'acide shikimique et l'acide quinique. Le polyol est acylé par des unités galloyles, comme dans le cas du 1-O-galloyl- β -D-glucopyranose (**2**), ou β -Glucogallin, qui est le plus simple des gallates glucosylés connus (Figure 3). Ce dernier est d'ailleurs utilisé comme unité galloyl donneur dans la biosynthèse du 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl- β -D-glucose (**3**), ou β -PGG, qui est connu pour être un précurseur direct dans la biosynthèse des deux sous-classes de tannins hydrolysables, les gallotannins et les ellagitannins (Figure 3).^{4, 8-9}

Les gallotannins résultent de la galloylation du β -PGG (**3**) et sont caractérisés par la présence d'une ou plusieurs unités digalloyls liées entre elles par une liaison *mé*ta-depsidiques (Figure 3). Les gallotannins complexes peuvent contenir jusqu'à 10 résidus galloyls, et même parfois plus. La plupart des gallotannins porteurs d'une unité galloyl sur le centre anomérique de leur unité D-glucose ont une configuration β , comme le 4-*O*-digalloyl-1,2,3,6-tetra-*O*-galloyl- β -D-glucopyranose (**4**) (Figure 3).^{5,10-11} Cependant, quelques composés naturels peuvent avoir une configuration α .²

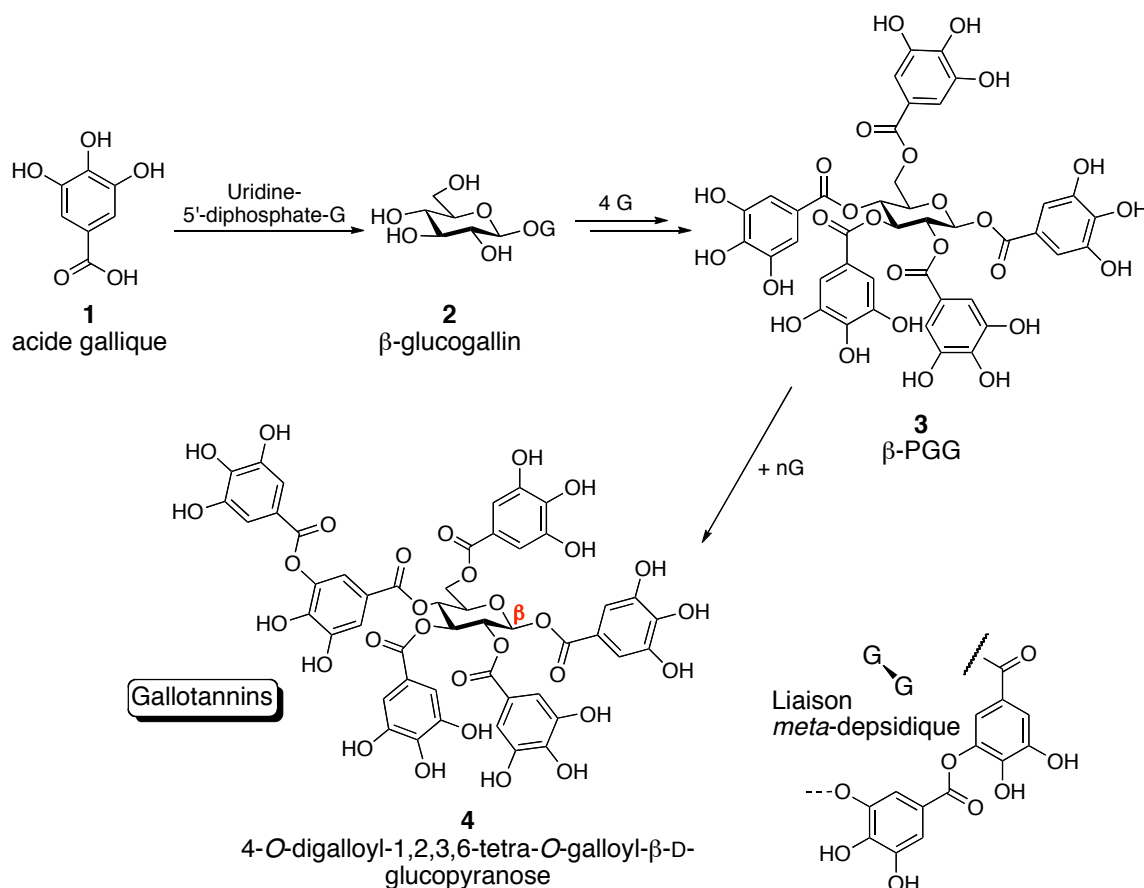


Figure 3. Structure des gallotannins.

La deuxième sous-famille appartenant aux tannins hydrolysables est le groupe des ellagitannins. Il représente un plus grand nombre de composés que les gallotannins. Ils sont aussi formés à partir du β -PGG (**3**), qui va subir un couplage oxydatif intra- ou intermoléculaire permettant la création de liaisons biaryliques C-C et éther diaryliques C-O entre des résidus galloyls voisins. La formation d'une connexion intramoléculaire amène à la formation d'une unité biarylique à chiralité axiale spécifique des ellagitannins, l'hexahydroxydiphényle ou HHDP (Figure 4). La pentasubstitution de l'unité polyol autorise plusieurs couplages entre les résidus galloyls en position relative 1,2 ou 1,3 pour former des esters hexahydroxydiphényles. La molécule peut donc être mono- ou bis-HHDP, les autres hydroxyles étant libres ou estérifiés par l'acide gallique. La stéréochimie de l'unité polyol va déterminer à la fois quels résidus galloyls sont susceptibles de former le motif HHDP, mais aussi, l'atropoisomérisation de ce motif biarylique chiral. En effet, la conformation chaise 4C_1 la plus favorable du polyol autorise quasi-

exclusivement la formation de l'unité (S)-HHDP en positions 2,3 ou 4,6 comme dans le cas de la tellimagrandine I (**5**).¹² Cependant, des unités 1,6-, 2,4-, ou 3,6-HHDP, de configuration R ou S, ont déjà été observées, comme dans le cas de la geraniine (**6**), qui possède une unité 3,6-(R)-HHDP (Figure 4).¹³⁻¹⁴ Ces unités sont obtenues à partir de la conformation chaise ⁴C₁ du glucopyranose la moins stable.⁴ Comme dans le cas des gallotannins, le centre anomérique de l'unité polyol des ellagitannins est majoritairement de configuration β, toutefois, quelques exemples de configuration α ont été isolés dans la nature comme la Heterophylliin A (**7**)¹⁵ (Figure 4). Le cycle pyranique de l'unité polyol peut être aussi retrouvé sous sa forme ouverte dans certaines structures d'ellagitannins, comme la vescalagine (**8**).^{2, 4, 16-19}

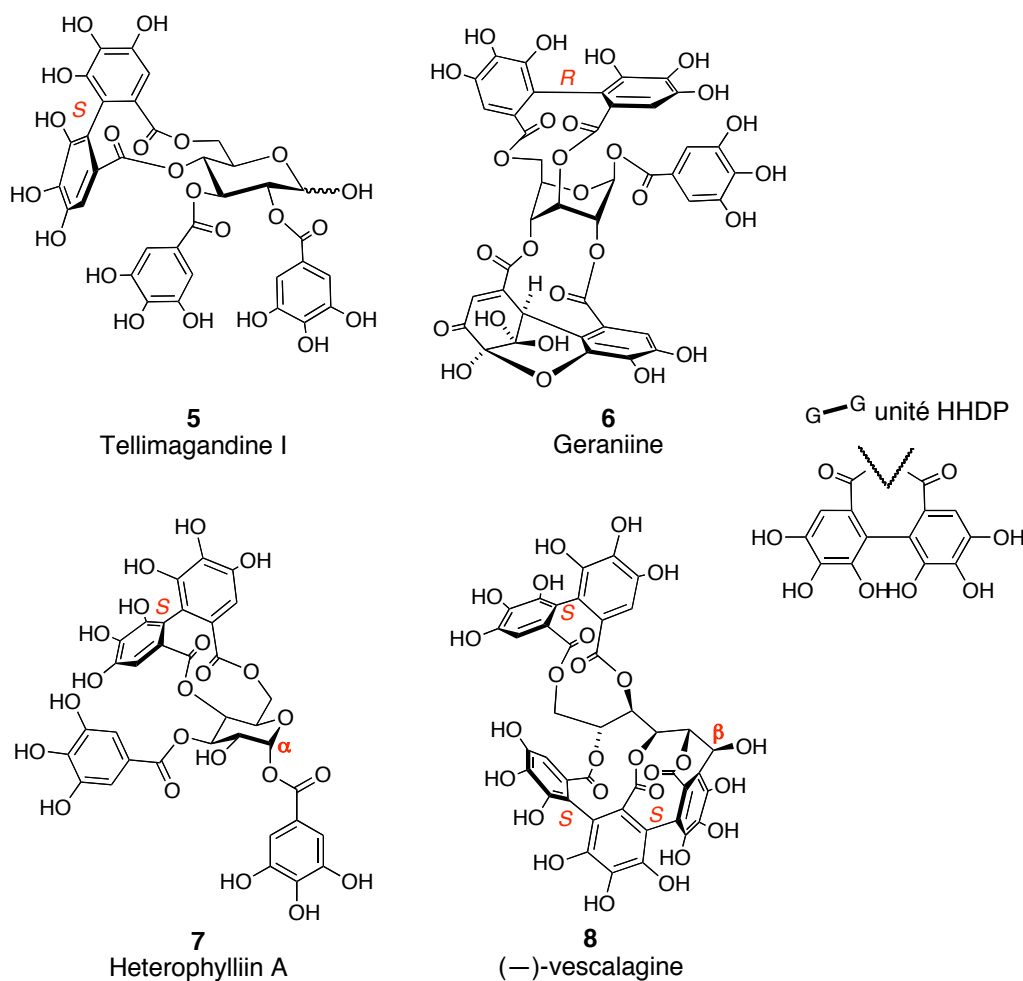


Figure 4. Exemple de structure de 4 ellagitannins.

Parmi les tannins hydrolysables, on retrouve une troisième sous-famille appelée tannins complexes. Ils désignent les tannins comportant à la fois les caractéristiques d'un ellagitannin ou d'un gallotannin (sucre + unités galloyls) et celles d'une unité flavonoïde. Par exemple, l'acutissimine A (**9**) est un tannin complexe composé d'une unité nonahydroxytriphényle ou NHTP, la vescalagine (**8**), liée par le carbone C-1 de sa chaîne glucose à une unité flavan-3-ol, la catéchine, en position C-6 du cycle A (Figure 5).^{2, 20}

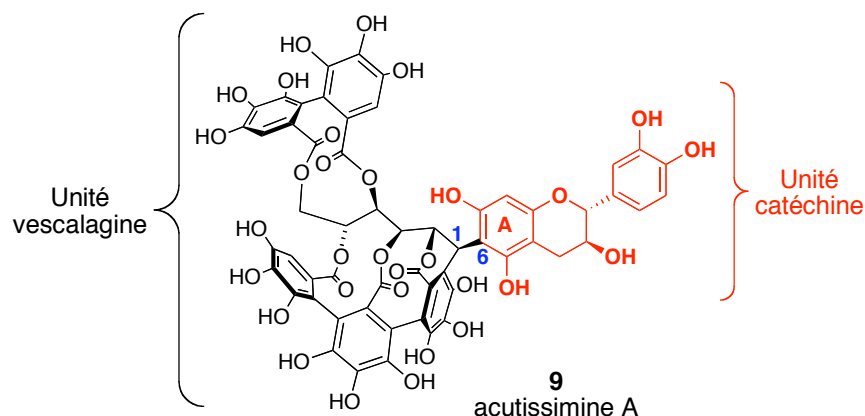


Figure 5. Structure d'un tannin complexe, l'acutissimine A (9).

ii. Les tannins condensés

Les tannins condensés sont très largement répandus dans le règne végétal, comme dans les fruits, les baies et les graines. Ils sont utilisés en tant qu'agents tannants pour la peau des animaux et ont un rôle déterminant dans la saveur et l'astringence des thés, vins et jus de fruits. Les tannins condensés sont des proanthocyanidines oligomériques ou polymériques, constitués par couplage entre des monomères, les flavan-3-ols. Les structures varient selon la nature du flavan-3-ol de départ et des unités d'extension, selon le degré de polymérisation, mais aussi selon la position et la stéréochimie de la liaison entre ces unités. Les principales unités monomériques sont la (+)-catéchine (**10**), la (—)-épicatéchine (**11**), la (+)-gallocatéchine (**12**) et la (—)-épigallocatéchine (**13**) (Figure 6). Chimiquement, les flavan-3-ols sont très réactifs du fait du caractère électrophile de leur carbone C-4, qui réagit avec les carbones nucléophiles C-6 ou C-8 du cycle A, toujours en position *trans* par rapport au groupe hydroxyle en position 3 (Figure 6). La répétition du même mécanisme conduit à la formation d'oligomères et de polymères.^{5,21}

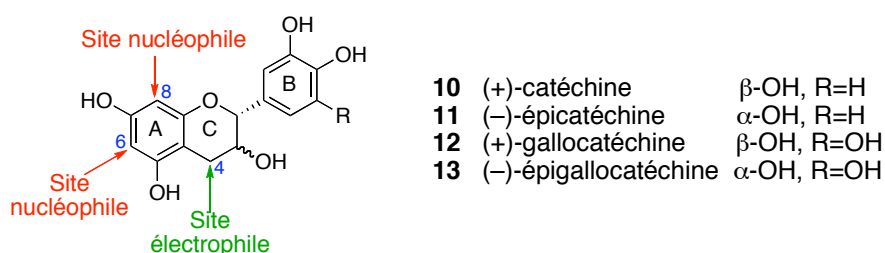


Figure 6. Structure et réactivités des principaux monomères de proanthocyanidines.

Les dimères les plus simples sont les procyanidines B-1 (**14**), B-2 (**15**), B-3 (**16**) et B-4 (**17**), c'est-à-dire des proanthocyanidines constituées de deux unités catéchine et/ou épicatéchine liées en C-4 \rightarrow C-8 selon une configuration α (B-3 et B-4) ou β (B-1 et B-2) (Figure 7). Ces procyanidines existent à l'état libre et ont une très large distribution chez les plantes.^{5,21}

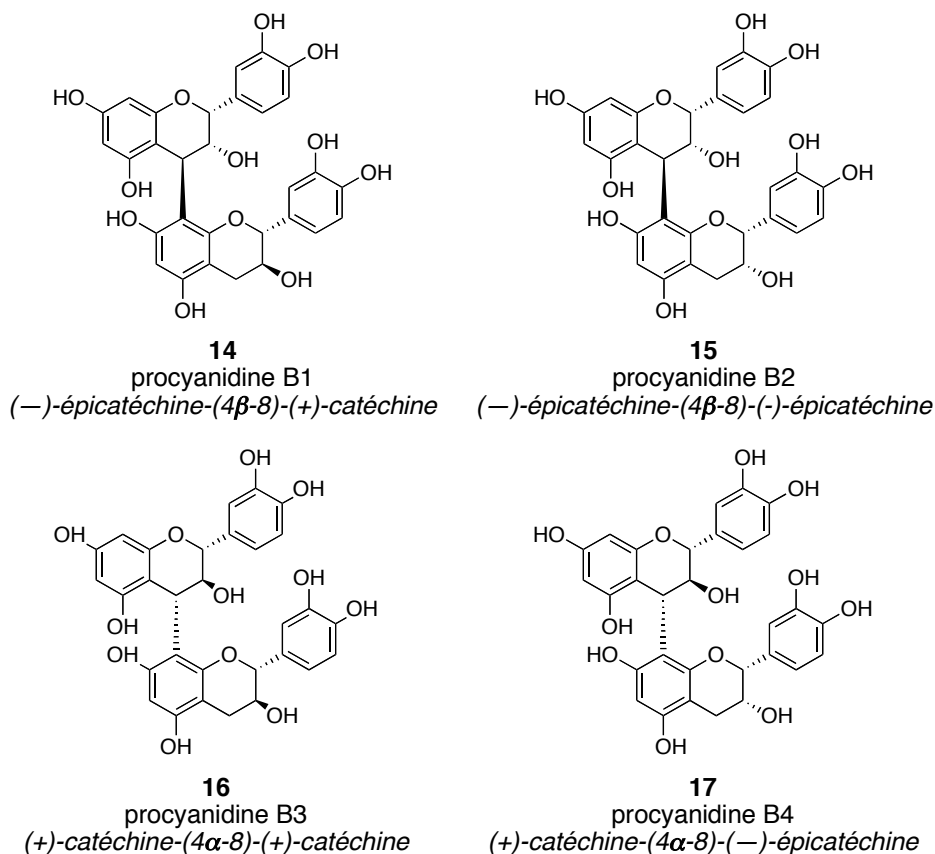


Figure 7. Structure dimérique des procyanidines B1 (**14**), B2 (**15**), B3 (**16**) et B4 (**17**).

Les tannins condensés sont aussi abondants sous la forme d'oligomères, entre 3 et 10 unités flavanols, avec des masses moléculaires allant de 900 à 3000 g/mol et, sous la forme de polymères où le nombre d'unités monomériques peut atteindre 50 avec une masse moléculaire supérieure à 3000 g/mol.^{5, 21}

iii. Les phlorotannins

Les phlorotannins sont des tannins isolés d'algues brunes, les *Phéophytes*. Ils sont constitués d'unités monomériques de type phloroglucinol (**18**) (1,3,5-trihydroxybenzène), liés par des liaisons diaryléthers et/ou biaryliques. Une structure typique est celle du fucofuroeckol (**19**) isolé d'*Eisenia arborea* (Figure 8).⁷ Des études ont montré que ces composés ont des effets antidiabétiques, antioxydants, antibactériens, radioprotectifs et anti-VIH.²²

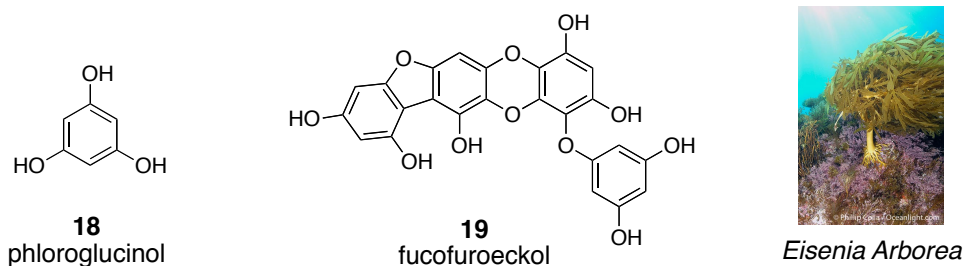


Figure 8. Structure d'un phlorotannin, le fucofuroeckol (**19**).

c. Propriétés des tannins

Les tannins ont plusieurs effets connus dans la protection des plantes, dans les phénomènes d'amertume et d'astringence de certains fruits et, dans les activités biologiques et pharmacologiques. Ces différents rôles sont essentiellement dus à trois propriétés principales des tannins :²³

- leur aptitude à complexer les ions métalliques (fer, manganèse, vanadium, cuivre).
- leur capacité à piéger les radicaux libres.
- leur habilité à complexer des molécules, comme les protéines et les polysaccharides.

Dans cette partie, trois rôles principaux des tannins seront brièvement décrits : leurs rôles dans la protection des plantes, leurs rôles dans le phénomène d'astringence de certains fruits et jus, et leurs rôles dans certaines activités biologiques comme l'activité antioxydante. D'autres propriétés biologiques connues des tannins, comme l'activité anti-tumorale²⁴⁻²⁵ ou l'activité antivirale,²⁶⁻²⁸ ne seront pas décrites ici.

i. Protection des plantes

Les tannins sont largement distribués dans le règne végétal. Ils sont impliqués dans divers rôles fonctionnels dans les plantes incluant la protection contre les pathogènes microbiens et les animaux herbivores (antibiotique et action répulsive), et la protection contre les radiations solaires (UV-B).²³

L'action répulsive des tannins chez les herbivores vient de leur particularité à pouvoir complexer certaines protéines riches en prolines, comme les protéines salivaires appelées PRP (Proline-Rich Proteins).^{23, 29-31} Ces protéines sont situées sur l'enveloppe cornée et sont les protéines salivaires les plus abondantes. La conformation ouverte des PRP autorise la formation d'interactions hydrophobes, de liaisons hydrogènes, voire de liaisons covalentes avec les tannins. Cette complexation tannin-protéines salivaires est responsable des sensations d'astringence et d'amertume en bouche. Dans le cas des plantes, ces sensations ont un effet répulsif sur les herbivores (sensation de « mauvais goût »), et par conséquent, ce phénomène va avoir un effet protecteur contre certains prédateurs.

Les tannins ont aussi la particularité de protéger les plantes contre certains microorganismes, en augmentant leur résistance aux pathogènes ou en protégeant les tissus essentiels, comme le bois contre le pourrissement. L'action antimicrobienne des tannins peut être due à l'inactivation d'adhésine microbienne, d'enzymes et/ou de protéines de transport.³² En 1991, Scalbert a répertorié 33 variétés de microorganismes sensibles à la présence des tannins parmi les levures, les bactéries et les champignons.³³

Les tannins protègent aussi les plantes contre les dommages de l'ADN causés par les radiations solaires (UV-B). Cette particularité est due à l'activité antioxydante des tannins polyphénoliques. Les polyphénols peuvent agir sur certaines enzymes responsables de la formation de radicaux et/ou capturer directement les radicaux libres formés. Dans ce cas, deux mécanismes sont possibles.³⁴ Le premier est basé sur la capacité des groupements hydroxyles des phénols à donner un atome d'hydrogène à un radical libre (« hydrogen-atom transfer »). Dans ce cas, les tannins bloquent les réactions radicalaires en chaîne. L'efficacité de l'action antioxydante va dépendre essentiellement de la vitesse de transfert de l'atome d'hydrogène du phénol au radical (pKa) et de la stabilité du radical phénoxy généré (délocalisation électronique, liaison hydrogène). Le second mécanisme possible est le transfert d'un électron du phénol au radical, avec formation d'un cation radical $\text{ArOH}^{*\cdot}$. Dans ce processus, l'activité antioxydante va dépendre du potentiel d'ionisation du (poly)phénol : plus le potentiel d'ionisation est bas et plus le transfert électronique sera facile (Figure 9).⁴

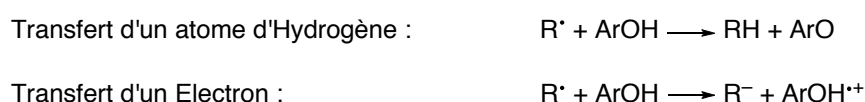


Figure 9. Mécanismes impliqués dans l'activité antioxydante des (poly)phénols des plantes.

ii. Phénomènes d'astringence et d'amertume

Comme nous l'avons vu précédemment, les tannins sont capables de former des complexes avec des macromolécules comme les protéines salivaires riches en proline (PRP).⁴⁰⁻⁴⁰ Les sensations d'astringence et d'amertume, phénomènes d'assèchement en bouche, sont associées à la précipitation de ces protéines complexées aux tannins.^{36-37, 41} Cette particularité est présente lors de la dégustation de fruits ou de jus. Par exemple, lors de la dégustation du thé, la sensation d'astringence peut être diminuée par l'ajout de lait, contenant une protéine riche en proline, la caséine. Celle-ci peut complexer les tannins présents dans le thé et ainsi diminuer leur complexation avec les PRP de la bouche et donc la sensation d'astringence.⁴²

iii. Activités biologiques et pharmacologiques

Activités dans les plantes médicinales

Les tannins sont populaires pour leurs vertus thérapeutiques qui sont reconnues par les médecines traditionnelles orientale, africaine ou sud-américaine, utilisant leurs sources végétales pour traiter des maladies comme les diarrhées, les ulcères gastriques ou encore les brûlures. Dans le Tableau 1 sont représentées des propriétés pharmacologiques de tannins présents dans différentes plantes utilisées en médecine traditionnelle asiatique.⁴³⁻⁴⁴







Plantes		Tannins	Activités pharmacologiques
	<i>Geranium thunbergii</i>	Geraniine	– Antidiarrhéique – Action stomachique
	<i>Agrimonia pilosa</i>	Agrimoniine	– Hémostatique – Antidiarrhéique – Anti-cancéreux
	<i>Punica granatum</i>	Granatine B	– Anthelminthique
	<i>Sanguisorba officinalis</i>	Sanguine	– Hémostatique – Antidiarrhéique
	<i>Castanea crenata</i>	Acutissimines	– Energisant – Antitussif – Traitement des rougeurs
	<i>Geum japonicum</i>	Gemine	– Diurétique

Tableau 1. Activités pharmacologiques de tannins présents chez certaines plantes médicinales.

Activité antioxydante⁴⁵⁻⁴⁶

Les radicaux libres sont connus pour être impliqués dans de nombreuses pathologies comme le vieillissement, le cancer, la maladie de Parkinson, les maladies auto-immunes et bien d'autres. Les tannins, par la présence de nombreux groupements hydroxyles, peuvent céder des hydrogènes. Cela leur confère une activité antioxydante car ils vont pouvoir piéger les radicaux libres et ainsi bloquer les réactions en chaîne causant des dommages irréversibles dans l'organisme.^{4, 23, 45-46} D'ailleurs, la consommation de thé, jus de fruits, vin, chocolat ou soja a été mise en avant au cours des vingt dernières années pour la prévention de nombreuses pathologies, en raison de l'activité antioxydante avérée des tannins présents dans ces breuvages.⁴⁷⁻⁴⁸ L'inhibition de la peroxydation des LDL (low-density lipoproteins) par les tannins est à l'origine du fameux « French paradox », phénomène selon lequel la consommation modérée de vin réduirait les risques de maladies cardio-vasculaires.⁴⁹⁻⁵¹ Parmi les tannins, la famille des ellagitannins a montré une plus grande activité antioxydante que les polyphénols à plus faible masse moléculaire comme les tannins condensés. En effet, ils possèdent un plus grand potentiel à capturer les radicaux. Parmi eux, on retrouve la geraniine (**6**),¹⁴ l'acide mallotusinique (**20**)⁵² et la corilagine (**21**),⁵³ (Figure 10), qui peuvent céder un radical hydrogène aux peroxydes et ainsi, empêcher la peroxydation des lipides en piégeant les radicaux libres.^{4, 54}

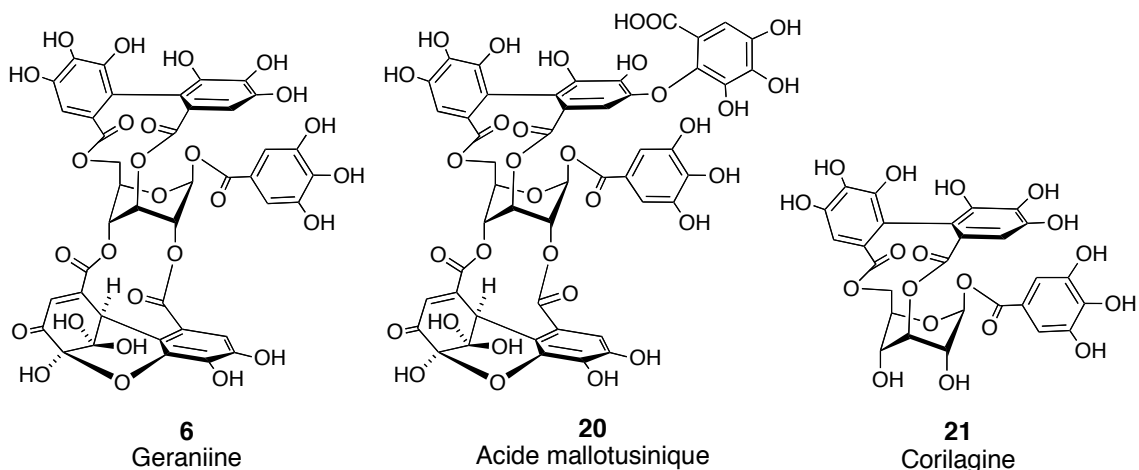


Figure 10. Structure de la geraniine (6), l'acide mallotusinique (20) et la corilagine (21).

2. LES TANNINS DU CHENE

Le chêne est utilisé en tonnellerie pour la fabrication des fûts utilisés lors de la maturation et du vieillissement de certains vins. La qualité œnologique du bois dépend tout d'abord de ses propriétés physiques, notamment l'étanchéité ainsi que la porosité à l'air selon la structure et le grain du bois. Cette qualité est en outre estimée par sa composition chimique, et en particulier sa teneur en composés aromatiques jouant sur la qualité olfactive du vin, la sensation d'astringence et la rudesse.⁵⁵⁻⁵⁶ Seules les espèces appartenant à celles des chênes blancs sont utilisées en tonnellerie, de par leur étanchéité importante. Il s'agit principalement des espèces européennes *Quercus robur* (chêne pédonculé) et *Quercus petraea* (chêne rouvre), et de l'espèce d'Amérique du Nord *Quercus alba*, utilisé notamment pour l'élevage des bourbons (Figure 11).



Quercus robur



Quercus petraea



Quercus alba

Figure 11. Espèces des chênes utilisés pour la fabrication des barriques.

Durant la dernière étape de vinification (élevage en fût de chêne), certains composés sont extraits du bois par le vin, solution hydroalcoolique. Parmi ces composés, se trouvent les tannins.

a. Localisation

Le tronc d'un chêne est composé de plusieurs couches. On distingue quatre couches différentes (Figure 12): l'écorce assurant la protection du bois, le cambium marquant une limite entre le bois et l'écorce, l'aubier, la couche périphérique du bois formée dans l'année, qui comporte des cellules vivantes transportant la sève brute des racines aux feuilles, et le bois de

cœur ou duramen, constitué de cellules mortes, qui est la partie du bois considéré comme la plus résistante. Seul le bois de cœur ou duramen est utilisé dans la fabrication des barriques. C'est dans cette partie du bois de chêne qu'ont été isolés les principaux tannins du bois.⁵⁷⁻⁶³

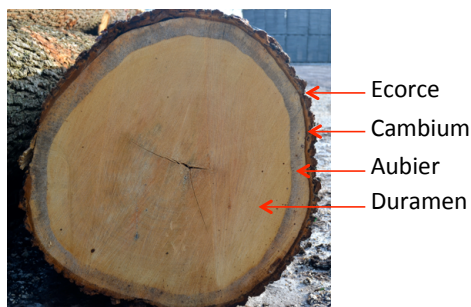


Figure 12. Coupe transversale d'un tronc de chêne.

b. Structure

Les principaux tannins retrouvés dans le bois de chêne utilisé en tonnellerie appartiennent à la famille des tannins hydrolysables, les ellagitannins *C*-glucosidiques.^{57-59, 61-62} On retrouve principalement deux ellagitannins, la vescalagine (**8**) et son épimère, la castalagine (**22**), isolées et caractérisées pour la première fois en 1967 par Mayer *et al.*^{16-18, 63} Ces deux molécules sont les ellagitannins majoritaires du bois de cœur de chêne puisqu'elles représentent 40 à 60 % de son poids, la castalagine étant en général plus abondante que son isomère.⁵⁷ Leur structure est formée par une chaîne glucose ouverte, acylée en position 4 et 6 par une unité hexahydroxydiphényle (HHDP), et acylée en position 2, 3, et 5 par une unité nonahydroxyterphényle (NHTP), avec une liaison *C*-glucosidique entre le carbone C-1 du glucose et la position 2' de l'unité trihydroxyphényle (Figure 13).

Plus tard, la présence de quatre ellagitannins dimériques et de deux formes pentosylées a été mise en évidence. Il s'agit de la grandinine (**23**) (vescalagine-lyxose),⁶⁴ la roburine E (**24**) (vescalagine-xylose),⁶⁵ la roburine A (**25**) (vescalagine-vescalagine),⁶⁵⁻⁶⁶ la roburine D (**26**) (vescalagine-castalagine),⁶⁵ la roburine B (**27**) (vescalagine-vescalagine-lyxose)⁶⁵ et la roburine C (**28**) (vescalagine-vescalagine-xylose)⁶⁵ (Figure 13). Ces six ellagitannins sont présents en plus faible quantité que les monomères vescalagine et castalagine dans les espèces de chêne *Quercus robur*, *Quercus petraea* et *Quercus alba*.⁶²

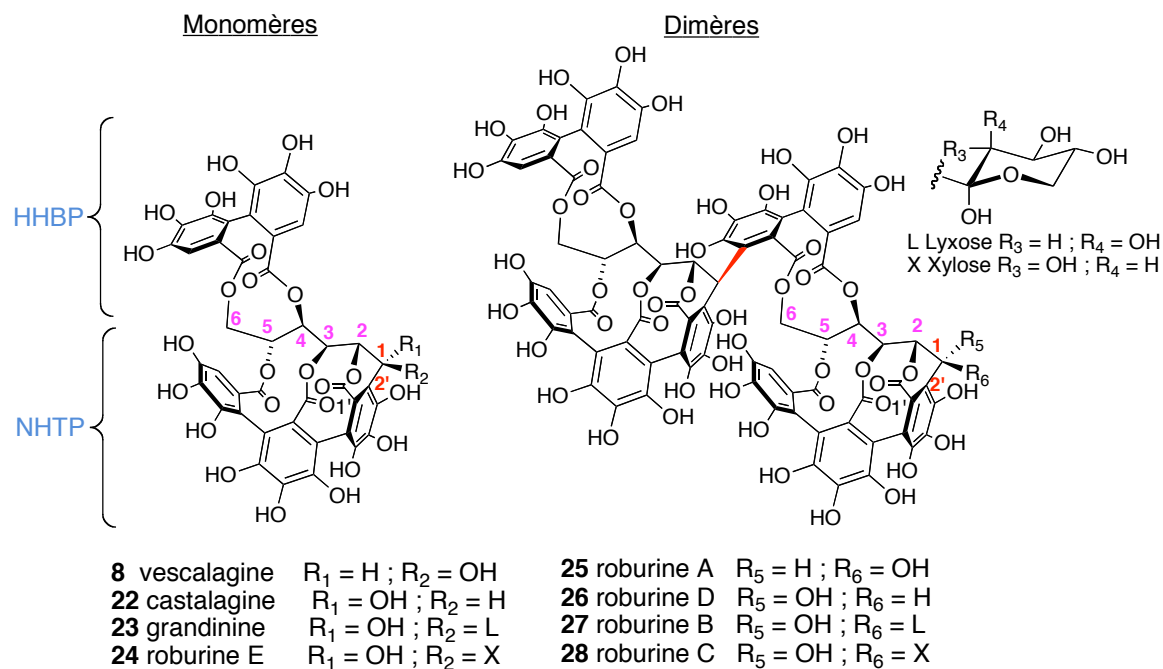


Figure 13. Structure des huit ellagitannins majoritaires identifiés dans le bois de chêne.

c. Teneur

Les extractibles majoritaires du bois de cœur des chênes *Quercus robur*, *Quercus petraea* et *Quercus alba*, les ellagitannins, représentent 33 à 87 mg/g de bois de cœur sec. Leur teneur dans le bois va dépendre de la nature du bois (*Quercus robur*, *Quercus petraea* et *Quercus alba*), de la provenance géographique et des processus de fabrication des barriques (séchage du bois, chauffage des douelles, ...).⁶⁷⁻⁷⁰ Les trois espèces de chênes utilisées en tonnellerie possèdent les huit ellagitannins précédemment énoncés (Tableau 2). La vescalagine et la castalagine sont les ellagitannins majoritaires, présents en proportion différente. Les deux chênes européens *Quercus robur* et *Quercus petraea* renferment 20 % des ellagitannins dimères, tandis que ceux du chêne américain *Quercus alba* renferment presque exclusivement des ellagitannins monomères (> 99 %). Le chêne *Quercus robur* est l'espèce possédant le plus d'ellagitannins avec 87,4 mg/g de bois de cœur sec, le double par rapport aux chênes *Quercus petraea* (39,1 mg/g bois) et *Quercus alba* (33 mg/g bois).⁶²

	Ellagitannins	Quercus robur	Quercus petraea	Quercus alba
Monomères	Vescalagine	26,7	8,7	3,8
	Castalagine	30,1	12,4	26,4
	Grandinine	8,5	5,8	traces
	Roburine E	4	4,7	2,8
Dimères	Roburine A	8,7	2,4	traces
	Roburine B	3,6	2,6	traces
	Roburine C	3,5	2,1	traces
	Roburine D	2,3	0,4	0
	Total	87,4	39,1	33

Tableau 2. Ellagitannins de bois de cœur de 3 chênes utilisés en tonnellerie (mg/g bois).⁶²

Les ellagitannins du bois de chêne se solubilisent rapidement dans le vin logé en barrique, puisqu'en 3 mois, la teneur maximale est atteinte.⁶² Dans le Tableau 3 sont regroupés les résultats d'une étude portant sur des dosages effectués sur plusieurs vins rouges, variant par l'origine du vin (Espagne, France), le type et le temps d'élevage du vin (cuve en inox, barrique). Comme on peut s'y attendre, les vins rouges élevés en cuve en inox ne possèdent aucun ellagitannin. Dans le cas de l'élevage en fût, les barriques neuves cèdent plus d'ellagitannins aux vins que les barriques usagées. La nature du chêne utilisé pour la fabrication des barriques a aussi une influence sur la teneur en ellagitannins totaux dans les vins. Les vins rouges élevés en barriques fabriquées à partir du chêne *Quercus robur* possèdent plus d'ellagitannins C-glucosidiques que dans les deux autres cas, ce qui est cohérent par rapport à la teneur en ellagitannins obtenus dans les extraits secs de bois (Tableau 2). Cette étude montre aussi que la teneur en ellagitannins est importante au début de l'élevage (2 mois), puis elle diminue au cours des mois (Tableau 3). Ces résultats suggèrent que les ellagitannins, sous leur forme native, subissent de rapides transformations, diminuant leur teneur totale dans le vin.⁶²

Origine	Type d'élevage	Ellagitannins totaux (mg/L)
	Cuve inox (4 mois)	0
Espagne (Rioja) millésime 1993	Barriques usagées (4 mois)	4
	Barrique neuves- <i>Quercus alba</i> (4 mois)	5,8
	Barrique neuves- <i>Quercus robur</i> (4 mois)	94,2
	Barrique neuves- <i>Quercus petraea</i> (4 mois)	66,7
France (Saint-Emilion) millésime 1992	Barrique neuves- <i>Quercus petraea</i> (2 mois)	119,8
	Barrique neuves- <i>Quercus petraea</i> (6 mois)	40,3
France (Médoc) millésime 1992	Barrique neuves- <i>Quercus petraea</i> (6 mois)	47,5
	Barrique neuves- <i>Quercus petraea</i> (18 mois)	31,2

Tableau 3. Dosage des ellagitannins totaux dans différents échantillons de vins rouges.⁶²

3. LES TANNINS DU RAISIN

Les tannins sont aussi présents dans les raisins sous forme de tannins condensés ou proanthocyanidines. Leur teneur dans la baie de raisin et dans le vin varie en fonction de nombreux facteurs comme le cépage, la géographie, le millésime et les méthodes de vinification.

Dans cette partie, la localisation dans le raisin, la structure, et la teneur des tannins condensés, et plus particulièrement des monomères et des oligomères dans les raisins et le vin, seront décrites.

a. Localisation

Le raisin, à l'origine même du vin, est constitué de quatre parties principales : la rafle, la pellicule, les pépins et la pulpe (Figure 14) :⁷⁰

- les rafles (3 à 6 % de la grappe), rattachées aux sarments de la vigne.
- La pellicule (7 à 10 %), couleur blanche ou rouge suivant la variété du raisin.
- Les pépins (0 à 6 %), localisés au centre de la baie.
- La pulpe (83 à 91 %), pratiquement incolore quelle que soit la nature du cépage.

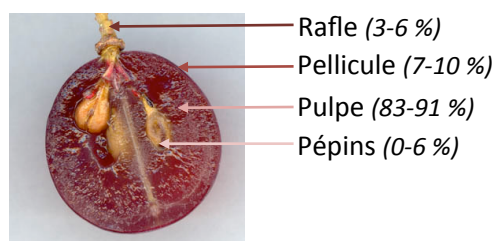


Figure 14. Coupe transversale d'un raisin.

Les monomères des tannins du raisin, ainsi que les oligomères, sont principalement localisés dans les pépins, mais on les retrouve aussi dans la peau et la rafle.⁷¹⁻⁷² Dans le Tableau 4 sont représentés les pourcentages de monomères et des oligomères de différents cépages dans les différentes parties du raisin.⁷¹ Notons également qu'il y a aussi des tannins condensés sous forme de polymères dans la pulpe du raisin.

Cépage	Nature	Rafle	Pépins	Pellicules	Pulpe
Cabernet Sauvignon	Monomères (C/EC) ¹	10 %	83 %	7 %	traces
	Oligomères	18 %	68 %	14 %	traces
Merlot	Monomères (C/EC) ¹	9 %	80 %	11 %	traces
	Oligomères	21 %	56 %	23 %	traces
Pinot Noir	Monomères (C/EC) ¹	4 %	94 %	2 %	traces
	Oligomères	9 %	86 %	5 %	traces

Tableau 4. Pourcentage des monomères et oligomères de tannins condensés de trois cépages français dans les différentes parties du raisin. ¹C = (+)-catéchine, EC = (—)-épicatéchine.⁷¹

Dans les pépins, les tannins sont présents dans les enveloppes externes sous les cellules épidermiques. Dans les pellicules, ils se trouvent sous forme libre dans les vacuoles ou liés aux protéines et aux polysaccharides des membranes vacuolaires et des parois cellulaires. Suivant la partie du raisin étudiée, la composition en tannins présente certaines différences. Alors que les pellicules contiennent des formes dihydroxylées (procyanidines) et trihydroxylées (prodelphinidines) sur le cycle B,⁷³ les pépins ne contiennent que des formes dihydroxylées.⁷⁴

Le degré de polymérisation moyen (DPM) varie entre les tannins des pellicules et les tannins des pépins. En effet, les tannins extraits des pellicules présentent un DPM d'environ 30 tandis que ceux extraits des pépins ont un DPM d'environ 10.⁷³⁻⁷⁴

b. Structure

Les tannins condensés sont formés à partir d'unités monomériques, les flavan-3-ols, présents dans le raisin. Les différents monomères trouvés dans les pépins de raisin *Vitis vinifera* sont la (+)-catéchine (**10**) et la (–)-épicatéchine (**11**). Cette dernière peut aussi être présente sous la forme estérifiée par l'acide gallique en position C-3 (**29**) (Figure 15).⁷³⁻⁸¹

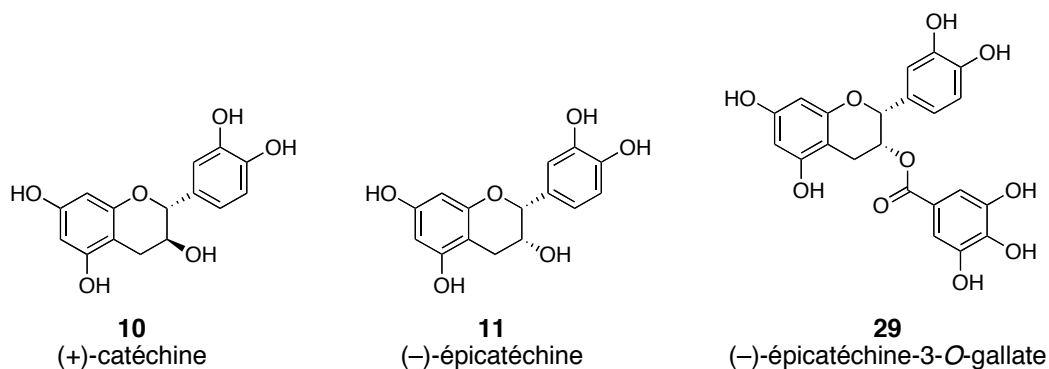
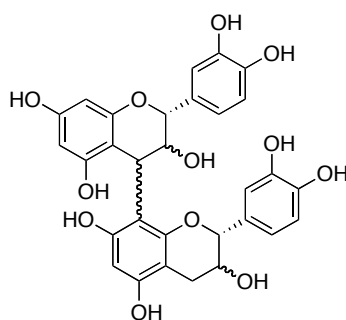


Figure 15. Structure des différentes unités monomériques des tannins condensés présents dans le raisin *Vitis vinifera*.

Les dimères les plus présents dans le raisin sont les procyanidines de type B. Elles sont formées par des unités catéchine et/ou épicatéchine liées entre elles par une liaison interflavane de type C-4 → C-8. Sur la Figure 16 sont représentés les 4 principaux dimères retrouvés dans le raisin *Vitis vinifera*. Les procyanidines B1 et B4 sont formées par condensation d'une unité épicatéchine et d'une unité catéchine. Les procyanidines B2 et B3 sont formées par deux unités catéchines ou deux unités épicatéchine. Les procyanidines B1 et B2 peuvent aussi exister sous la forme gallate, par estérification de l'unité épicatéchine par l'acide gallique.⁷⁵⁻⁷⁸



- 14** procyanidine B1: (–)-épicatéchine-(4β-8)-(+)-catéchine
15 procyanidine B2: (–)-épicatéchine-(4β-8)-(-)-épicatéchine
16 procyanidine B3: (+)-catéchine-(4α-8)-(+)-catéchine
17 procyanidine B4: (+)-catéchine-(4α-8)-(-)-épicatéchine

Figure 16. Structure des procyanidines B1-B4 (**14-17**).

Les trimères C1 (**30**) et T2 (**31**) sont aussi retrouvés dans les pépins de raisin.^{75, 77-78, 80} Ils sont également formés d'unités monomériques de flavan-3-ols liées par une liaison interflavane (Figure 17). Les procyanidines sont aussi abondantes sous les formes oligomériques et polymériques avec un degré de polymérisation moyen (D_{Pm}) variable suivant la localisation dans le raisin, la variété et la maturation.⁷³⁻⁷⁴

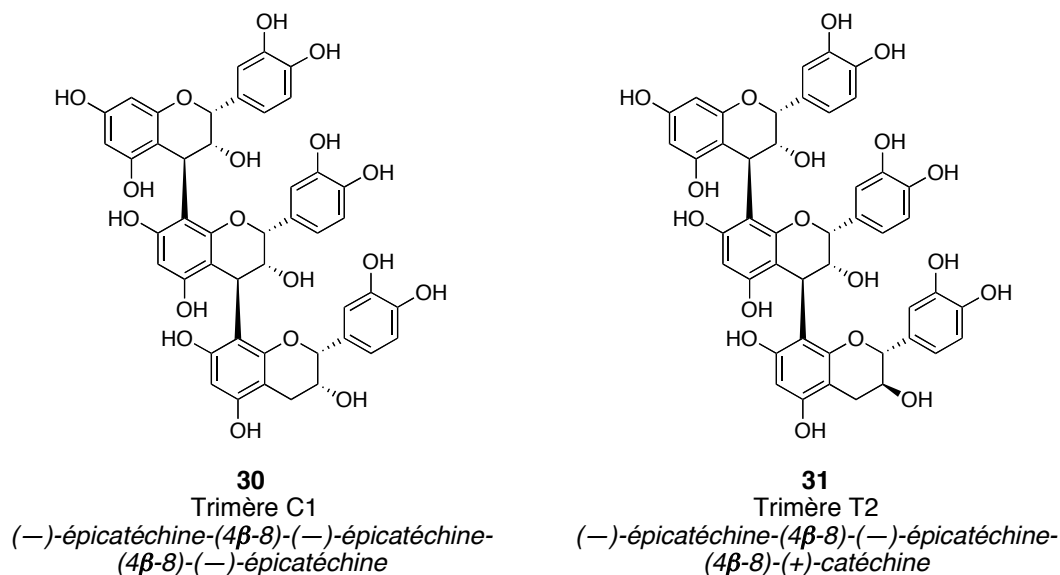


Figure 17. Structure des trimères C1 (**30**) et T2 (**31**).

c. Teneur

La teneur des tannins dans les raisins dépend de plusieurs facteurs : la nature du cépage, la localisation dans le raisin, les conditions climatiques, le lieu géographique et la maturité des baies.⁷⁹ Dans cette partie, la teneur en monomères, en dimères et en trimères de tannins dans les raisins et dans le vin, issus de la variété *Vitis vinifera*, sera décrite.

Dans la plupart des cas, la catéchine (**10**) et l'épicatéchine (**11**) sont les deux flavanols les plus présents dans les baies de raisin. Parmi les dimères, la procyanidine B2 (**15**) est souvent la plus abondante dans le raisin. Chira *et al.* ont étudié la quantité de tannins dans deux cépages, le Cabernet Sauvignon et le Merlot, et dans deux millésimes, 2006 et 2007.⁸⁰ Cette étude a montré une faible différence dans la teneur en tannin dans les deux cépages mais, une différence notable entre les deux millésimes (Tableau 5).

Tannins		Variétés		Millésime	
		Cabernet Sauvignon	Merlot	2006	2007
Monomère	Catéchine	12,9 %	8,2 %	6,8 %	14,4 %
	Epicatéchine	6,8 %	8,3 %	5,5 %	9,6 %
	Epicatéchine-gallate	1,4 %	1,7 %	0,6 %	2,4 %
Tannin condensé	Procyanidine B1	2,5 %	1,9 %	3,8 %	0,7 %
	Procyanidine B2	3,9 %	2,8 %	1,1 %	5,6 %
	Procyanidine B3	1,6 %	0,9 %	1,1 %	1,4 %
	Procyanidine B4	2,0 %	1,7 %	0,5 %	3,2 %
	Trimères	1,2 %	2,1 %	1,5 %	1,8 %
%G		26,9 %	21,7 %	14,4 %	34,2 %

Tableau 5. Teneur en monomères, dimères et trimères de tannins condensés de deux cépages et de deux millésimes dans les pépins de raisin (% d'extrait sec).⁸⁰

L'équipe de Fuleki et Da Silva a aussi décrit la teneur de tannins dans les pépins des cépages Merlot et Cabernet Sauvignon dans la région de Ontario dans le Canada.⁷⁸ Si l'on compare les valeurs obtenues par ces deux équipes, Tableau 5 et Tableau 6, on peut remarquer une légère différence dans la teneur en tannins, qui est sûrement due à la région et au climat. Dix autres cépages de différentes variétés, *Vitis vinifera*, hybrides et *Vitis labrusca*, ont aussi été étudiés par cette équipe (Tableau 6).⁷⁸ Pour les variétés *Vitis vinifera*, les monomères sont toujours majoritaires (14,1-43,7 %) ainsi que pour les variétés *Vitis labrusca* (9,5-15,5 %). Par contre, ce n'est pas toujours le cas pour les variété hybrides : les dimères sont plus abondants dans les cépages de Baco Noir et Maréchal Foch (14-29 %). Dans tous les cas, les dimères gallates et les trimères sont peu abondants dans les pépins (0,5-8,4 %).⁷⁸

	Cépages	Couleur	Monomères	Dimères	Dimères gallates	Trimères
<i>Vitis vinifera</i>	Cabernet Franc	Rouge	23,2 %	16,9 %	4,3 %	2,6 %
	Cabernet Sauvignon	Rouge	12,5 %	9,5 %	1,1 %	3,2 %
	Merlot	Rouge	14,3 %	9,7 %	3,7 %	2,3 %
	Pinot Noir	Rouge	43,7 %	23,5 %	4,1 %	8,4 %
	Chardonnay	Blanc	14,1 %	12,6 %	1,7 %	0,9 %
hybride	Baco Noir	Rouge	20,4 %	29,2 %	5,4 %	5,3 %
	Maréchal Foch	Rouge	8,8 %	14,1 %	2,4 %	1 %
	Vincent	Rouge	43,9 %	23,8 %	5,4 %	2,8 %
<i>Vitis labrusca</i>	Concord	Rouge	12,5 %	9,8 %	1,3 %	1 %
	Elvira	Blanc	9,5 %	4,5 %	0,7 %	0,5 %
	Niagara	Blanc	15,5 %	4,9 %	1 %	1,7 %

Tableau 6. Teneur en tannins dans les pépins de différents cépages (% d'extrait sec).⁷⁸

4. LES AROMES DU VIN

Le vin peut présenter une très grande diversité de tonalités aromatiques dans des registres de finesse et de complexité variable. L'arôme résulte du mélange complexe d'une multitude de substances odorantes variant selon la nature du vin, la variété des cépages, les processus de fabrication, de maturation et de conservation. Les arômes du vin peuvent être classés en trois classes selon leur origine.

Les "arômes variétaux", ou "arômes primaires", proviennent de la matière végétale. Ils peuvent naître de tous les éléments de la grappe de raisin. Il existe dans la baie de raisin des précurseurs d'arômes inodores qui sont à même de libérer des molécules volatiles soit par action mécanique, soit par action chimique ou biochimique.

Les arômes secondaires portent aussi le nom d'arômes fermentaires, car ils sont produits par le travail des levures sur les moûts, lors des différents types de macération et lors des fermentations alcoolique et malolactique.

Enfin, les arômes tertiaires correspondent à l'évolution des composants aromatiques au cours de l'élevage du vin en fût, puis en bouteille. Ils forment un faisceau de parfums que les dégustateurs appellent "bouquet".

a. Composants principaux des arômes du vin

De nombreux travaux de recherche ont permis l'identification, le dosage et la caractérisation de différents constituants aromatiques du vin, permettant de les classer dans plusieurs familles : les alcools et les esters, les terpènes, les pyrazines, les C13-norisoprénoides et les composés soufrés volatiles.⁸¹

Les alcools et les esters sont les composés volatils les plus présents dans le vin, toutefois, ils participent peu à la perception olfactive du vin. Comme la majorité des composés volatils du vin, ils sont formés pendant la fermentation alcoolique. Parmi les esters, on retrouve les acétates et les esters éthyliques qui contribuent à une note fruitée dans les vins (Figure 18). Par exemple, l'acétate d'éthyle (**32**) est présent dans les vins entre 50 et 150 mg/L et il contribue à un arôme de vernis. Le 3-méthylbut-1-yl éthanoate ou acétate d'isoamyle (**33**), moins présent dans les vins (0,5 à 10 mg/L), contribue à l'arôme de banane. Parmi les alcools, on retrouve, entre autres, le propan-1-ol (**34**), le 2-méthyl-1-propanol (**35**), le 2-méthylbutan-1-ol (**36**) et le 3-méthyl-1-butanol (**37**).⁸¹

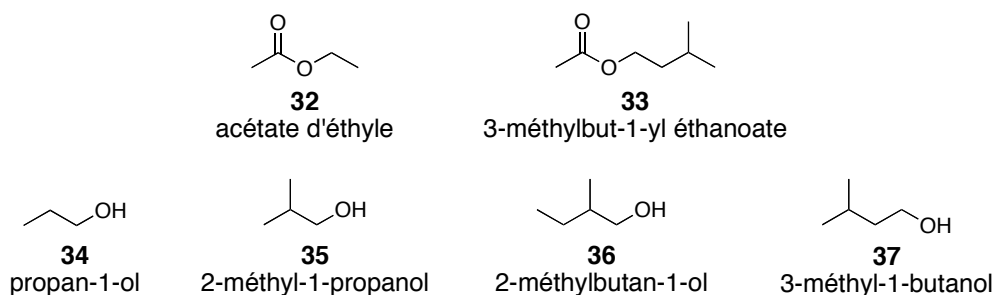


Figure 18. Exemple d'esters et d'alcools volatils présents dans le vin.

Les terpènes participent au caractère floral et à l'arôme d'agrumes dans les vins. Ils sont présents dans la peau des raisins et sont libérés dans le vin pendant la fermentation alcoolique. Ils ont été identifiés comme prédominants dans différentes variétés comme le Muscat et le Riesling. Par exemple, on retrouve le 3,7-diméthyl-1,6-octa-3-ène-3-ol (**38**), plus connu sous le nom de linalol, avec une odeur de muguet, le (2E)-3,7-diméthyl-1,6-octa-2,6-dien-1-ol ou géraniol (**39**), avec un arôme de rose, ou encore le 3,5-diméthyl-1,6-octa-3-ène-1-ol ou citronellol (**40**), avec un arôme de citronnelle (Figure 19).⁸¹⁻⁸²

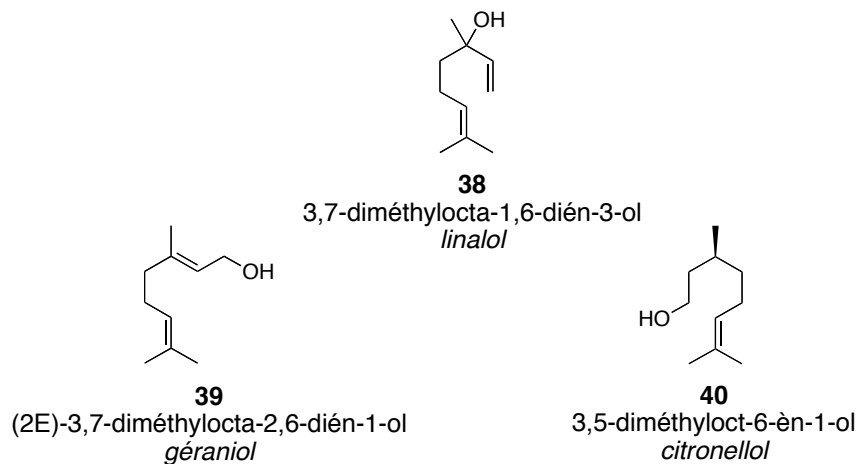


Figure 19. Exemple de trois terpènes présents dans le vin.

Dans les années 1960, Buttery et *al.* ont identifié pour la première fois, le 3-isobutyl-2-méthoxy-pyrazine (IBMP) (**41**) dans les graines de poivre (Figure 20).⁸³ Par la suite, il a été identifié dans le vin provenant des cépages Cabernet Sauvignon et Sauvignon blanc⁸⁴ et du Merlot et Cabernet Franc⁸⁵. Cette molécule est responsable des arômes verts du vin, herbacé ou végétal, amenant un caractère désagréable dans le vin. Elle évoque le poivron vert et l'asperge avec des nuances plus ou moins terreuses. Deux autres alkylméthoxy-pyrazines, le 2-sec-butyl-3-méthoxy-pyrazine (SBMP) (**42**) et le 3-isopropyl-2-méthoxy-pyrazine (IPMP) (**43**) sont aussi retrouvés dans le vin mais en plus faible quantité que l'IBMP (Figure 20).⁸¹

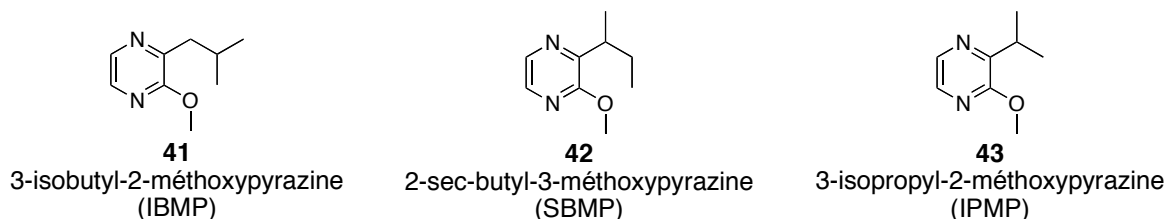


Figure 20. Exemple de méthoxy-pyrazines présents dans le vin.

Les C₁₃-norisoprénoïdes viennent des pigments des raisins, les caroténoïdes. Ils peuvent contribuer à un arôme important dans beaucoup de vins blancs et rouges comme le Chardonnay, le Riesling, le Sémillon, le Sauvignon blanc, le Cabernet Sauvignon et la Syrah.⁸¹ Parmi ces composés, le β-damascénone (**44**), à odeur complexe de fleurs, fruits et compotes de pommes cuites, a été identifié dans le Riesling, le Muscat et, plus tard, dans de nombreuses autres variétés (Figure 21).⁸⁶ Le 1,1,6-triméthyl-1,2-dihydronaphtalène (TDN) (**45**), formé au cours du vieillissement des vins, amène un arôme de kérosène dans les vins vieux de Riesling (Figure 21).⁸¹

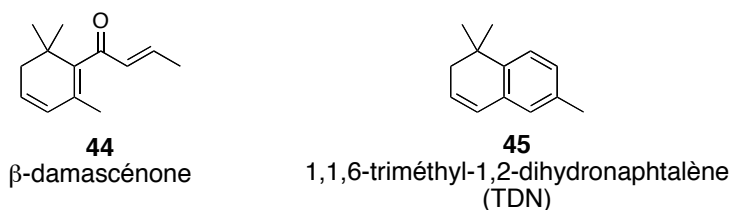


Figure 21. Exemple de C₁₃-norisoprénoïdes présents dans le vin.

Les thiols volatils constituent une famille chimique prépondérante dans l'arôme de nombreux vins. Ils possèdent des seuils de perception olfactive très faibles, inférieurs à la centaine de ng/L. Malgré ces concentrations faibles, ils ont un impact majeur sur le profil aromatique global des vins. Dans le cadre de cette thèse, nous nous intéresserons uniquement à cette famille d'arômes, de part sa réactivité chimique liée à la fonction thiol libre.

b. Les arômes soufrés

Les composés soufrés de type thiols, mercaptans (dénommés sulfanyls selon la règle de nomenclature IUPAC), participent à la complexité aromatique des vins. Plusieurs thiols très odorants ont été identifiés dans différents cépages, amenant des nuances herbacées, fruitées, empyreumatiques telles que le poivron, le buis, l'eucalyptus, le pamplemousse, le fruit de la passion, le fumée, la viande rôtie et bien d'autres. Dans le Tableau 7 sont représentés différents thiols identifiés dans les vins issus de *Vitis vinifera*.⁸⁷⁻⁸⁸

Structure Chimique	Nom	Odeur	Seuil de perception (ng/L)	Concentration dans le vin (ng/L)
<p>46</p>	4-sulfanyl-4-méthylpentan-2-one (4-SMP)	Buis, Genêt	0,8 ⁸⁹	Jusqu'à 400 ^{89-93 90, 91, 92}
<p>47</p>	3-sulfanylhexyl acétate (3-SHA)	Buis, Fruit de la passion, Zeste de pamplemousse	4,2 ⁹³⁻⁹⁴	0-777 ^{89, 92, 93}
<p>48</p>	3-sulfanylhexan-1-ol (3-SH)	Fruit de la passion, Pamplemousse, Zeste d'agrumes	60 ^{89, 94}	Jusqu'à 13000 ^{89, 92, 95}
<p>49</p>	4-sulfanyl-4-méthylpentan-2-ol (4-SMPOH)	Zeste d'agrumes	55 ⁹⁵	0-90 ^{89, 92, 95}
<p>50</p>	3-sulfanyl-3-méthylbutan-1-ol (3-SMB)	Poireau cuit	1500 ⁹⁵	0-1300 ^{89, 92, 95}
<p>51</p>	2-méthyl-3-furanthiol	Viande	2,8-4 ⁹⁶⁻⁹⁷	0-145 ⁹⁶⁻⁹⁸
<p>52</p>	2-furanmethanethiol (2-FMT)	Café grillé	0,4 ⁹⁷	0-140 ^{97, 99-100}

Tableau 7. Quelques thiols volatils identifiés dans les vins issus de *Vitis vinifera*.

La première molécule, découverte comme composant caractéristique de l'arôme de vin blanc de Sauvignon, est le 4-sulfanyl-4-méthylpentan-2-one (4-SMP) (**46**), un arôme variétal.^{92, 101} Le 4-SMP est un composé très odorant, dont les arômes rappellent le buis et le genêt (Tableau 7). Plus tard, Tominaga et *al.* ont identifié le 4-SMP dans d'autres cépages de vins blancs comme le Gewurztraminer, le Pinot gris et blanc, le Riesling, le Sylvaner, le Colombard, le Sémillon et le Muscat avec des concentrations pouvant aller jusqu'à 100 ng/L.⁸⁹ En 1997, Guth et *al.* ont démontré l'impact olfactif du 4-SMP dans les vins blancs de Scheurebe, avec une teneur très importante pouvant aller jusqu'à 400 ng/L.⁹⁰⁻⁹¹

Deux autres composés volatils soufrés variétaux, le 3-sulfanylhexan-1-ol acétate (3-SHA) (**47**) et le 3-sulfanylhexan-1-ol (3-SH) (**48**) ont été identifiés dans une large gamme de vins blancs, comme le Sauvignon blanc,^{92-93, 95} le Sémillon,^{89, 94} le petit et gros Manseng,⁸⁹ de vins rouges comme le Merlot, le Cabernet Sauvignon^{98, 102} et dans des vins rosés de Provence et de Bordeaux.¹⁰³⁻¹⁰⁴ Ces deux molécules sont les composés soufrés odorants les plus répandus dans les vins et sont présents avec des teneurs élevées (Tableau 7). Le 3-SHA et le 3-SH sont présents sous leurs deux formes énantiomériques R et S. Dans le Sauvignon et le Sémillon, le 3-SH est retrouvé en proportion racémique avec un seuil de perception proche pour les deux énantiomères (50-60 ng/L), mais avec des propriétés olfactives différentes, un arôme de pamplemousse et zestes d'agrumes pour le (R)-3-SH et un arôme de fruit de la passion pour le (S)-3-SH.⁹⁴ Pour le 3-SHA, la forme énantiomérique S est prédominante dans ces deux cépages (70 %), mais elle a un seuil de perception inférieur à la forme R (9 ng/L pour R et 2,5 ng/L pour S). Le (R)-3-SHA a plutôt une odeur de fruit de la passion, tandis que le (S)-3-SHA a une odeur de buis.⁹⁴

D'autres composés contribuent qualitativement à l'arôme des vins. Par exemple, le 4-sulfanyl-4-méthylpentan-2-ol (4-SMPOH) (**49**) apporte un arôme de zeste d'agrumes dans les vins issus de Sauvignon blanc, Gewurztraminer, Muscat et Sémillon.^{89, 92, 95} Le 3-sulfanyl-3-méthylbutan-1-ol (3-SMB) (**50**) a été identifié dans les vins Gewurztraminer, Pinot gris et blanc, Riesling, Muscat, Sylvaner, Sémillon et Sauvignon blanc avec un arôme de poireau cuit.^{89, 92, 95} La présence du 2-méthyl-3-furanthiol (**51**), composé odorant évoquant la viande cuite, a été rapportée dans les vins rouges de Bordeaux avec un seuil de perception de 2,8 à 4 ng/L en solution modèle.⁹⁶⁻⁹⁸ Un autre thiol, le 2-furanmethanethiol (2-FMT) ou furfurylthiol (**52**), au puissant caractère odorant de café grillé (0,4 ng/L) a été identifié dans les vins blancs issus du Sauvignon, Sémillon, petit Manseng et Chardonnay,^{97, 100} les vins rouges issus du Merlot, Cabernet Sauvignon et Cabernet Franc^{97, 99-100} et, en plus grande quantité, dans les Champagnes.⁹⁷

Dans le cadre de nos recherches, nous nous sommes intéressés à deux thiols en particuliers, le 3-SH, un thiol variétal, et le 2-FMT, un thiol tertiaire.

i. Le 3-sulfanyl hexan-1-ol (3-SH)

Comme nous l'avons vu précédemment, le 3-sulfanylhexan-1-ol (**48**) est un des composés volatils soufrés odorants les plus présents dans les vins. C'est un arôme variétal formé pendant la fermentation alcoolique.¹⁰⁵ Plusieurs voies de formation possibles ont été décrites (Figure 22). En 1998, Tominaga et *al.* ont montré que la libération des thiols volatils odorants pendant la fermentation alcoolique était due à la dégradation des composés *S*-cysténylés correspondants par les levures.¹⁰⁶ En effet, la conversion du précurseur cysténylé du 3-SH, le *S*-(3-hexan-1-ol)-*L*-cystéine (Cys-3SH) (**55**) en 3-SH, dans les moûts de vins rosés de Bordeaux (Merlot et Cabernet Sauvignon), est comprise entre 0,6 et 10,2 %.¹⁰⁷ Puis, quelques années plus tard, un autre précurseur a été mis en évidence, le (E)-hex-2-enal (**54**).¹⁰⁸⁻¹⁰⁹ Cependant, une étude dans un cépage bourguignon, le melon B., a montré que la libération du 3-SH était plus importante en présence de Cys-3SH qu'en présence de (E)-hex-2-enal.¹⁰⁹ En 2008, Subileau et *al.* soulignent qu'il existe un autre précurseur, le *S*-(3-hexan-1-ol)glutathion (G-3SH) (**53**), qui est le précurseur majeur du 3-SH dans le vin.¹¹⁰ En fait, le G-3SH est considéré à la fois comme précurseur direct et comme pro-précurseur (dégradation du G-3SH en Cys-3SH pendant la fermentation).¹¹¹⁻¹¹² Ces différents précurseurs proviennent des raisins (essentiellement localisés dans la peau) et sont libérés dans le jus par extraction.¹¹³⁻¹¹⁷ Les concentrations des précurseurs d'arômes dans les moûts varient en fonction du cépage et de nombreux autres paramètres (maturation des raisins, quantité d'oxygène, procédés de vinifications, etc.).^{88, 108, 118-}

125

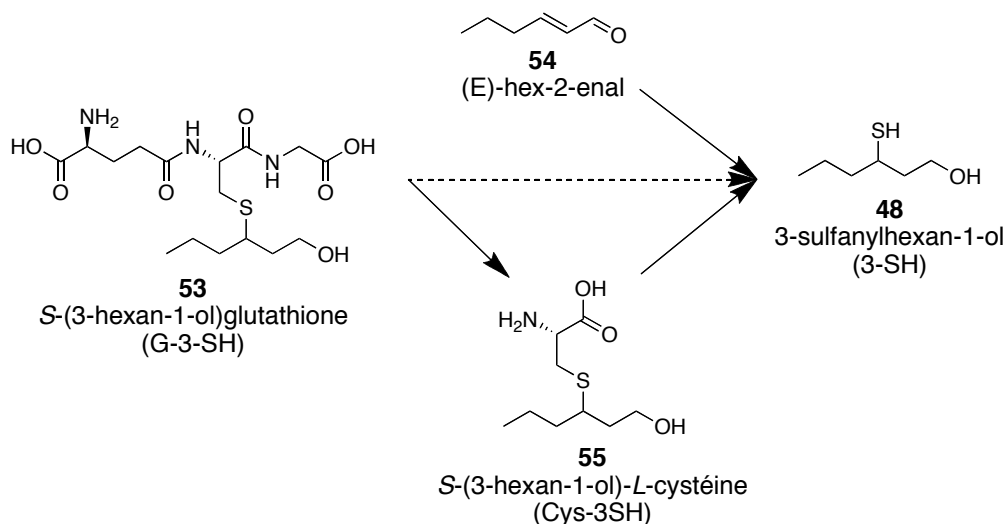


Figure 22. Voies possibles pour la formation du 3-SH (**48**) dans le vin.

ii. Le 2-furanmethanethiol (2-FMT)

Le 2-furanmethanethiol (**52**) fait partie de la catégorie des arômes tertiaires. Il est retrouvé essentiellement dans les vins fermentés ou élevés en fût de chêne, apportant un arôme de café grillé au vin. Des études ont montré l'absence du 2-FMT dans les vins provenant des

cuves en inox et une proportion plus élevée dans les vins élevés en barriques neuves plutôt qu'élevés dans des barriques usagées.⁹⁹⁻¹⁰⁰ En 2001, Blanchard et *al.* ont mis en évidence une corrélation entre la présence du 2-FMT dans le vin et le furan-2-carbaldéhyde ou furfural (**56**), composé présent dans le chêne (Figure 23).¹⁰⁰ Ce composé est extrait du bois par le vin pendant l'élevage en fût de chêne, et, par l'intermédiaire des levures, il va former de nouveaux composés comme le 2-FMT. Le furfural est un composé synthétisé dans le bois en grande quantité lors du chauffage des douelles, à partir des composés glucidiques du bois (pentoses) par réaction de Maillard.¹²⁵

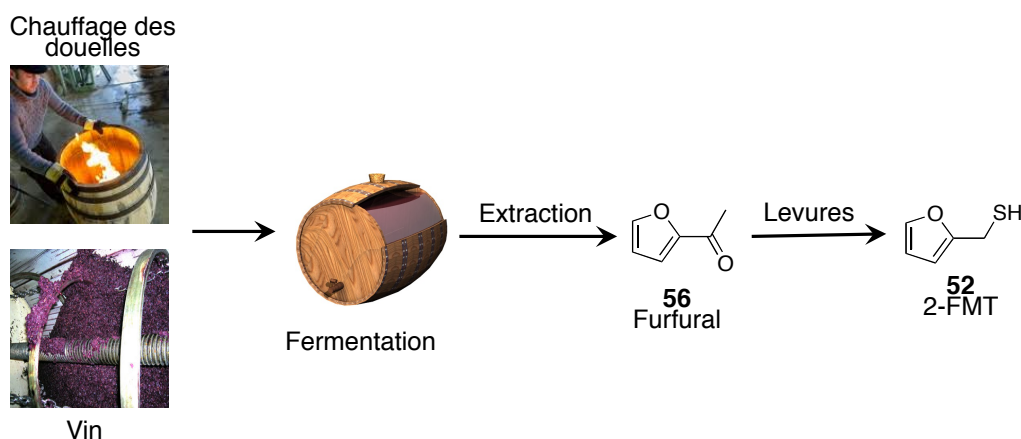


Figure 23. Formation du 2-FMT à partir du furfural dans le vin.

La teneur du vin en 2-FMT va dépendre de plusieurs facteurs comme la nature du bois utilisé pour la fabrication de la barrique,¹²⁶ le temps de maturation du vin dans la barrique¹²⁷ ou la température et le temps de chauffage des douelles.¹²⁵

II. L'OXYDATION

L'oxydation du vin se fait tout au long des étapes de vinification jusqu'à la conservation en bouteille. Une oxydation poussée est plutôt défavorable alors qu'une dissolution lente et continue d'oxygène est susceptible de jouer un rôle positif dans l'évolution de la couleur et de la saveur des vins. Dans le cas des vins rouges, une oxygénation ménagée contribue à la stabilisation de la couleur et à la diminution de l'astringence.¹²⁸ En revanche, la qualité des vins blancs est généralement altérée par une exposition à l'oxygène.¹²⁹⁻¹³²

1. INCIDENCE SUR LA QUALITE DU VIN

Les propriétés sensorielles des vins sont plus ou moins affectées pendant les étapes de vinification et lors du stockage. L'oxydation des composés du vin peut avoir pour conséquence une perte de saveur et d'arôme,¹³²⁻¹³³ un changement de couleur,¹³⁴⁻¹³⁵ une diminution de l'astringence^{130, 135} et une perte des valeurs nutritionnelles du vin.¹²⁹

Les travaux de De Beer et *al.* ont montré que l'oxydation cause une diminution significative du nombre total de phénols et d'anthocyanes, accompagnée d'une capacité

antioxydante totale diminuée, d'un changement de la couleur et d'une diminution de l'arôme de prune et de fruits rouges pour les vins rouges issus d'un cépage d'Afrique du Sud, le Pinotage.¹³⁴ En effet, un changement de couleur est observé en même tant qu'une augmentation des pyranoanthocyanines et de dérivés de pigments, formés par réactions de condensation de l'acétaldéhyde (produit d'oxydation de l'éthanol) et de polyphénols, ou par cycloadditions entre les anthocyanes et les flavanols induit par l'acétaldéhyde. Ces phénomènes sont accompagnés par une diminution de l'astringence des vins, due à la formation d'adduits tannin-anthocyanes.^{130, 135}

Dans le cas des vins blancs, l'oxygénation a un effet néfaste sur l'arôme amenant à une odeur de végétaux cuits.¹³¹ La présence de saveurs non souhaitées dans le vin est souvent attribuée à certains composés aromatiques comme le méthional, arôme de pomme de terre, le phénylacétaldéhyde, arôme de miel et rose fanée, le sotolon,¹³⁶ arôme de noix et de curry, ainsi qu'à d'autres composés connus ou encore inconnus à ce jour.¹³⁷ La concentration de certains arômes souhaités, les thiols variétaux, est aussi influencée par le processus d'oxydation. Le 4-sulfanyl-4-methylpentan-2-one (4-SMP) (**46**) et le 3-sulfanylhéxan-1-ol (3-SH) (**48**) sont des composants clés dans l'arôme de fruit de la passion, de pamplemousse, de buis et de genêt dans les vins Sauvignon blanc. Leur concentration peut diminuer jusqu'à 114 ng/L et 5,1 ng/L respectivement, après 24 mois de stockage en bouteille, suivant la nature du bouchon. La nature du bouchon et donc la quantité d'oxygène qui va diffuser, va avoir une influence sur la qualité aromatique du vin.¹³⁸⁻¹³⁹

L'oxygénation des vins blancs est aussi responsable du brunissement oxydatif qui est dû à la formation d'oligomères et de polymères de phénols. Ce processus sera plus détaillé dans la suite de cette partie.

2. OXYDATION DES COMPOSES PHENOLIQUES

Les composés phénoliques sont les principaux constituants du vin impliqués dans les phénomènes d'oxydation.¹⁴⁰ En effet, lorsque l'oxygène est additionné au vin, une diminution des phénols, comme la catéchine (**10**), l'épicatéchine (**11**), l'acide caftarique (**57**) ou les anthocyanes, est observée.¹³⁵ La réactivité de ce type de molécule est en partie liée à la présence de la fonction phénol, qui présente un caractère légèrement acide ($pK_a \approx 10$). La force de cette acidité varie en fonction de la nature et de la position des substituants sur le noyau aromatique. Par exemple, les noyaux catéchols, possédant deux hydroxyles en ortho l'un de l'autre, ont un pK_a autour de 9,5,¹⁴¹ tandis que les noyaux pyrogallols, possédant trois unités hydroxyles en ortho les uns des autres, possèdent un pK_a autour de 8,4.¹⁴²⁻¹⁴³ Suivant le pH du milieu, ces composés phénoliques seront plus ou moins sous la forme d'ions phénolates.¹⁴⁴ A pH basique (9-10), ils seront en partie sous forme d'anions phénolates tandis qu'à pH acide, comme dans le cas du vin (pH =3-4), ils seront plutôt sous leur forme phénolique.¹⁴⁰

En effet, en milieu basique, les phénols vont former des anions phénolates ArO^- qui peuvent s'oxyder en radicaux phénoxy ArO^\bullet (potentiel d'oxydation $E = -0,6 - 0,3 \text{ V}$). Ces espèces peuvent ensuite réagir avec d'autres radicaux amenant à la formation de liaisons carbone-carbone ou carbone-oxygène (Figure 24). En condition acide, l'oxydation des phénols ne passe pas par l'anion phénolate ArO^- , mais par un cation radical phénoxy $\text{ArOH}^{+\bullet}$ formé par transfert électronique ($E = 1,0 - 1,4 \text{ V}$). Cet intermédiaire est rapidement déprotoné en radical ArO^\bullet . Celui-ci peut ensuite réagir comme précédemment pour former des produits de couplage.¹⁴⁵

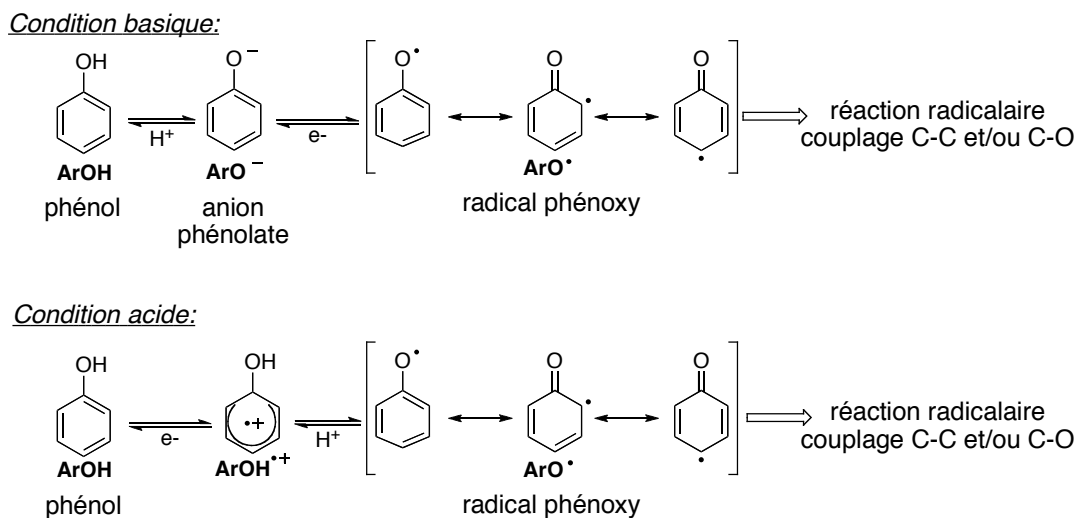


Figure 24. Réactivité des phénols en condition basique ou acide

Dans le cas des catéchols et des pyrogallols, la déhydrogénation oxydative va amener à la formation d'ortho-quinones et d' α -hydroxy-ortho-quinones (Figure 25). Les unités catéchols et pyrogallols peuvent former un radical phénoxy, comme dans le cas des phényles monohydroxylés, qui, dans ce cas, est stabilisé par des liaisons hydrogènes formées avec les groupements hydroxyles situés ortho.¹⁴⁶⁻¹⁴⁷ Ce radical est facilement déprotoné en semiquinone, qui, par perte d'un électron, forme la quinone résultante. Cette espèce électrophile peut ensuite intervenir dans des réactions de Diels Alder, des réactions nucléophiles et/ou électrophiles.⁴

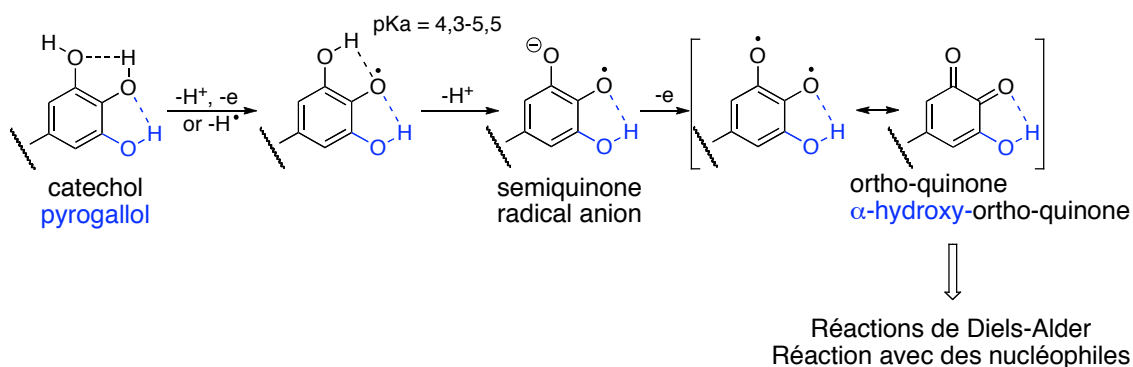


Figure 25. Déhydrogénation oxydative des catéchols et pyrogallols.

3. OXYDATIONS ENZYMATIQUE ET CHIMIQUE

L'oxygène est absorbé par les vins tout au long des étapes de vinification et de conservation. La solubilité de l'oxygène de l'air dans les vins est de l'ordre de 6 mL/L à température ambiante soit 8,4 mg/L d'oxygène dissous. Par exemple, lors de l'élevage en barrique, la quantité d'oxygène dissous dans les vins est de l'ordre de 0,2 mg/L à 0,4 mg/L par an.¹⁴⁸⁻¹⁴⁹ La quantité d'oxygène dissous lors de la mise en bouteille varie de 0,3 à 2,1 mg/L tandis que cette valeur peut atteindre la saturation (8,4 à 9,8 mg/L) après un transvasement du vin à l'aide d'une pompe.¹⁴⁴

La capacité totale d'absorption d'oxygène des vins est très élevée, elle est comprise entre 80 mg/L pour les vins blancs et 800 mg/L dans le cas des vins rouges.¹⁵⁰ Au fur et à mesure que l'oxygène va être dissous dans le vin, celui-ci est consommé par les composés du vin par des processus biochimiques, sous l'action d'enzymes, et/ou par des processus chimiques. Bien que ces deux phénomènes puissent se produire simultanément, la première voie prédomine très largement dans les moûts, qui sont le siège d'une activité enzymatique intense, alors que la seconde se révèle plutôt au cours de la maturation et du vieillissement des vins, c'est-à-dire lorsque les enzymes ne sont plus actives.

a. Oxydation enzymatique

L'oxydation enzymatique se fait essentiellement dans les moûts du raisin. Elle est responsable du brunissement des vins. Les enzymes responsables de l'oxydation des composés phénoliques sont appelées oxydoréductases (E.C. 1). Parmi elles, on retrouve les enzymes utilisant l'oxygène comme électroaccepteur et les noyaux catéchols comme électrodonneur (E.C. 1.10.3). Dans cette famille sont répertoriées les catéchol oxydases (E.C. 1.10.3.1), comme la tyrosinase, ayant à la fois une activité crésolase (formation de catéchol à partir de phénol monohydroxylés) et une activité catécholase, les laccases (E.C. 1.10.3.2), qui catalysent l'oxydation des para-hydroquinones en para-benzoquinones, et les ortho-aminophenoloxydases (E.C. 1.10.3.4). Les monophénol oxydases (E.C. 1.14.18.1) sont aussi des oxydoréductases qui peuvent agir sur les phénols, avec incorporation ou réduction d'une molécule d'oxygène. Ainsi, elles peuvent hydroxyler les phénols. Enfin, la dernière catégorie des oxydoréductases est la famille des peroxydases (E.C. 1.11.1), qui utilisent le peroxyde d'hydrogène comme électroaccepteur pour oxyder les phénols avec formation d'une molécule d'eau. Parmi toutes ces enzymes, deux activités principales sont à retenir, l'hydroxylation de phénols par l'activité monophénol oxydase et la formation de quinones par l'activité diphénol oxydase.¹⁴⁶

Les oxydoréductases les plus importantes impliquées dans les étapes de vinification, responsables du brunissement, sont les polyphénols oxydases (PPO), nommées catéchols

oxydases ou tyrosinases (E.C. 1.10.3.1) et laccases (E.C. 1.10.3.2), et les peroxydases (POD). Les PPO sont des enzymes contenant du cuivre.¹⁵¹ La tyrosinase est naturellement produite par les baies et peut catalyser l'oxydation des phénols et des catéchols.^{140, 151} Les laccases sont produites par les moisissures et sont capables d'oxyder un grand nombre de substrats, notamment les 1,2- et 1,4-dihydroxybenzenes. Les POD sont des enzymes contenant du fer. Le brunissement des fruits causé par l'activité des POD est insignifiant mais des chercheurs ont montré qu'elles augmentent la dégradation des polyphénols lorsqu'elles sont en présence de PPO.¹⁵²

Le brunissement enzymatique issu de l'oxydation des moûts est fortement corrélé avec la présence des hydroxycinnamates, comme l'acide caftarique (**57**) et l'acide *p*-coumarique (**58**) (Figure 26),¹⁵³ et est favorisé par la présence de flavan-3-ols possédant des unités catéchols ou pyrogallols.¹⁵⁴⁻¹⁵³ En présence de PPO et d'acide caftarique, l'oxydation de phénols, comme la (+)-catéchine (**10**), la (—)-épicatéchine (**11**), la (—)-épicatéchine gallate (**29**) et les procyanidines, est augmentée et, de même, l'oxydation de l'acide caftarique (**57**) est favorisée par la présence de ces flavan-3-ols.¹⁵⁴

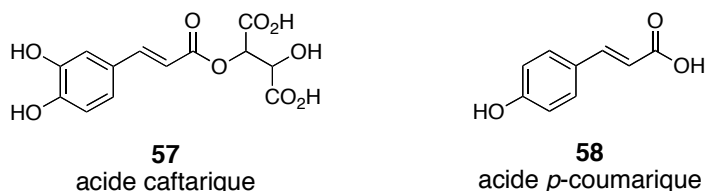


Figure 26. Structure de l'acide caftarique (**57**) et de l'acide *p*-coumarique (**58**).

D'un point de vue mécanistique, les hydroxycinnamates, comme les composés **57** et **58**, sont oxydés en benzoquinones lors de la libération des PPO dans le moût, c'est-à-dire lors du broyage des raisins. Celles-ci vont ensuite participer à des réactions grâce à leurs propriétés électroniques et d'oxydoréduction.¹⁵⁴

En agissant comme oxydant, les benzoquinones vont oxyder les composés ayant un potentiel d'oxydoréduction inférieur, comme ceux des polyphénols, de l'acide ascorbique et du dioxyde de soufre (SO₂). Par exemple, il a été montré que la quinone provenant de l'oxydation de l'acide caftarique réagit avec la catéchine en présence de PPO amenant à la formation de produits condensés.¹⁵⁴ De même, les composés possédant une unité catéchol et/ou pyrogallol, comme les flavanols, peuvent être oxydés en quinones en présence de ces benzoquinones. Ces quinones peuvent ensuite réagir avec d'autres unités flavanols, formant des dimères. Ce processus est susceptible de se répéter plusieurs fois, fournissant des oligomères voire des polymères de composés phénoliques (Figure 27). Ces réactions en chaîne conduisent finalement à la formation de pigments bruns, dont les plus polymérisés précipitent.

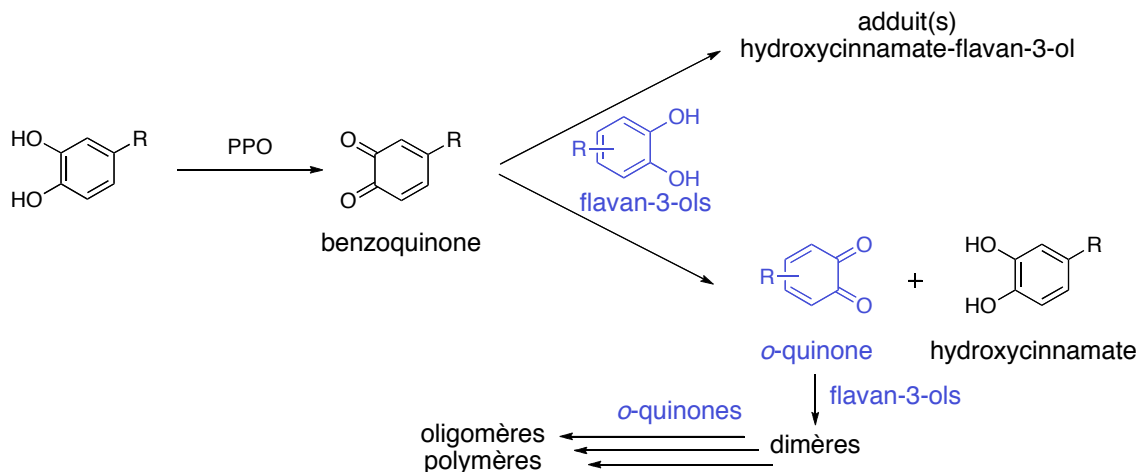


Figure 27. Formation de produits condensés entre les hydroxycinnamates et les flavan-3-ols en condition oxydante enzymatique.

En tant que composés électrophiles, les benzoquinones peuvent aussi participer à des réactions avec des nucléophiles.¹⁵² Lorsque l'acide caftarique (**57**) est oxydé en quinone **59** en présence de PPO, le glutathion (**60**), possédant un thiol libre, va réagir rapidement avec celle-ci pour former un produit incolore et stable, l'acide 2-S-glutathionylcaftarique (« Grape Reaction Product », GRP) (**61**) (Figure 28).¹⁵³ Le glutathion va donc piéger ces molécules quinoniques et donc permettre vraisemblablement de limiter le brunissement oxydatif.

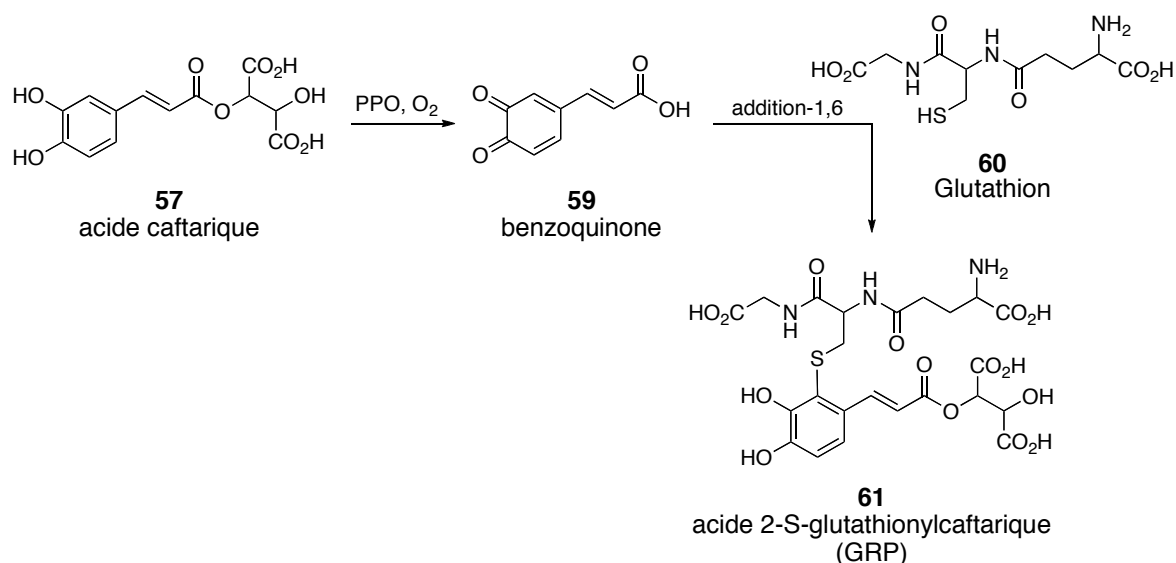


Figure 28. Formation de l'acide 2-S-glutathionylcaftarique (**61**).

Dans les vins blancs, toutes les oxydations enzymatiques ne sont pas néfastes. Une faible concentration en polyphénols et une haute teneur en GRP (**61**) stabilisent le vin.¹⁵¹ Dans le cas des vins rouges, l'impact de l'oxydation enzymatique pendant la vinification est limité.¹⁴⁶

b. Oxydation chimique

L'oxydation chimique se fait lors de la fermentation des moûts, la maturation et la conservation du vin, c'est-à-dire à partir du moment où les enzymes ne sont plus actives. L'oxydation chimique fait intervenir les espèces réactives de l'oxygène et, a priori, des métaux de

transition. Parmi les espèces réactives de l'oxygène, on retrouve l'anion radical superoxyde $O_2^{\cdot-}$, formé par réduction de l'oxygène à l'état triplet et, qui, au pH du vin (pH = 3-4), est sous la forme de radical hydroperoxyde HO_2^{\cdot} . Le transfert d'un second électron produit le peroxyde O_2^{2-} , qui est sous forme de peroxyde d'hydrogène H_2O_2 dans le vin. La réduction amène à la formation du radical oxygéné le plus réactif, le radical hydroxyle HO^{\cdot} . Celui-ci peut aussi être formé en présence du peroxyde d'hydrogène et du fer(II) par la réaction de Fenton. Enfin le produit final de la réduction de l'oxygène est l'eau (Figure 29).¹⁴⁷

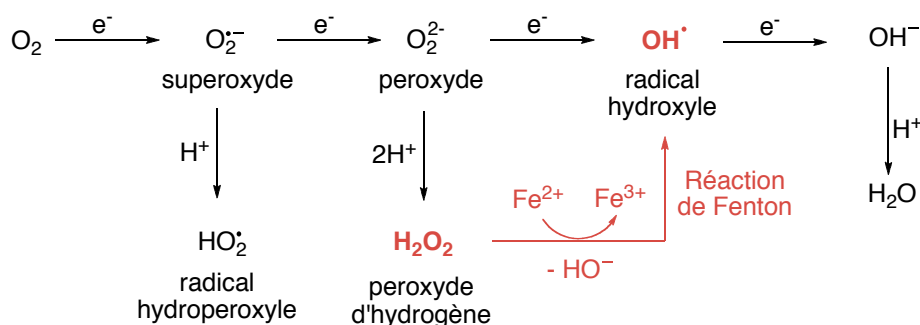


Figure 29. Réduction de l'oxygène.

Les métaux de transitions peuvent jouer un rôle crucial dans l'oxydation chimique du vin. Leur présence dans le vin est essentiellement due à une contamination du sol et des équipements utilisés pendant la vinification. Le fer est retrouvé à des concentrations comprises entre 0 et 5 mg/L et le cuivre entre 0,1 et 0,3 mg/L.^{70, 159} Ils ont à la fois un rôle d'activation de l'oxygène et un rôle de catalyseur des réactions d'oxydations. En effet, l'oxygène ne réagit pas facilement avec les phénols et la présence de métaux de transition, comme le fer et le cuivre, facilite la formation de radicaux phénoxy et de quinones dans le vin.¹⁴⁷

Plusieurs mécanismes sont possibles pour l'oxydation chimique des polyphénols dans le vin. Le premier mécanisme fait intervenir l'oxygène moléculaire à l'état fondamental triplet (3O_2), qui lui confère un comportement diradicalaire.¹⁵⁷⁻¹⁶⁰ Sous cette forme, l'oxygène peut participer à l'oxydation des polyphénols en quinones en captant deux électrons et deux atomes d'hydrogènes, formant une molécule de peroxyde d'hydrogène.¹⁴⁴ Cette autoxydation peut être initiée par la présence de fer (Figure 30).¹⁶² Celui-ci, sous sa forme oxydée (Fe^{3+}), catalyse l'étape d'initiation de l'autoxydation des catéchols, permettant la formation d'une *o*-quinone et/ou d'une semiquinone protonée. Le fer(II) formé peut réagir avec une molécule d'oxygène pour générer des ions fer(III) et l'anion radical superoxyde $O_2^{\cdot-}$. Ce dernier peut ensuite former le radical hydroperoxyde HO_2^{\cdot} en milieu acide. La semiquinone protonée obtenue lors de l'étape d'initiation peut alors réagir avec l'oxygène ou le radical hydroperoxyde pour former l'*o*-quinone correspondante. Les quinones peuvent ensuite réagir comme composé électrophile lors de la phase de propagation (Figure 30).

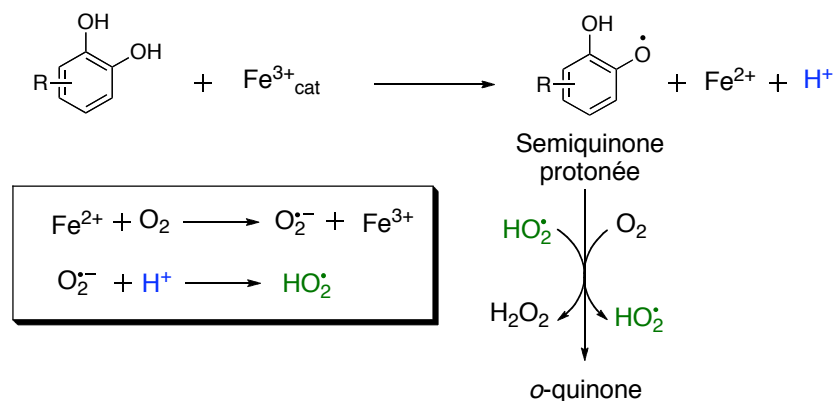


Figure 30. Autoxydation des polyphénols en présence d'oxygène et de fer.

Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 en présence d'ions ferreux (Fe^{2+}), va former le radical hydroxyle (HO^\bullet) par la célèbre réaction de Fenton (Figure 31).^{147, 163-164} Ce radical est une espèce très réactive avec un temps de demi-vie très court (inférieur à 10^{-10} s). Il est capable d'oxyder facilement les phénols et toutes autres molécules qui l'entourent.¹⁶⁵⁻¹⁶⁶ Dans le cas des catéchols, le radical hydroxyle capte un atome d'hydrogène pour former une molécule d'eau et la semiquinone. Celle-ci va ensuite réagir comme vu précédemment pour former la quinone correspondante (Figure 31).¹⁶⁷ Dans le cas du vin, le radical hydroxyle ne réagit pas sélectivement avec les composés phénoliques. De part sa grande réactivité, il va réagir avec les premières molécules qu'il rencontre, c'est-à-dire celles qui sont les plus abondantes dans le vin. Par exemple, il va oxyder l'éthanol, les sucres et/ou les acides en aldéhydes et cétones correspondantes.^{147, 162}

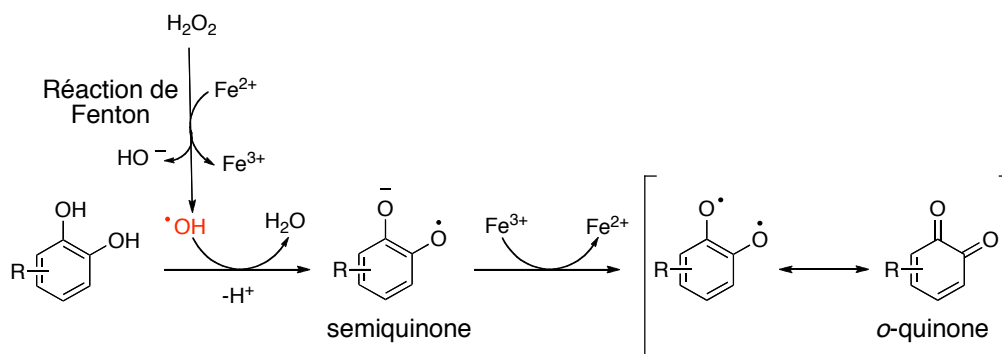


Figure 31. Oxydation des catéchols en présence de fer et de peroxyde d'hydrogène

Un autre mécanisme possible pour l'oxydation des polyphénols en quinones est la formation de complexe avec les ions ferriques (Fe^{3+}).¹⁶² En solution aqueuse, les ions ferriques et ferreux ne sont pas libres, mais sous forme hexahydratée ($[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$ et $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$). L'eau peut-être substituée par de meilleurs ligands, comme les catéchols. Au pH compris entre 1 et 4, le fer (III) forme un complexe bleu-vert avec le catéchol par élimination de deux molécules d'eau. Cependant, ce complexe est instable et le catéchol est oxydé en 1,2-benzoquinone. Par contre, l'élimination du fer (II) amène à la formation du radical phénoxy, qui va ensuite former la quinone comme vu précédemment (Figure 32).¹⁶²

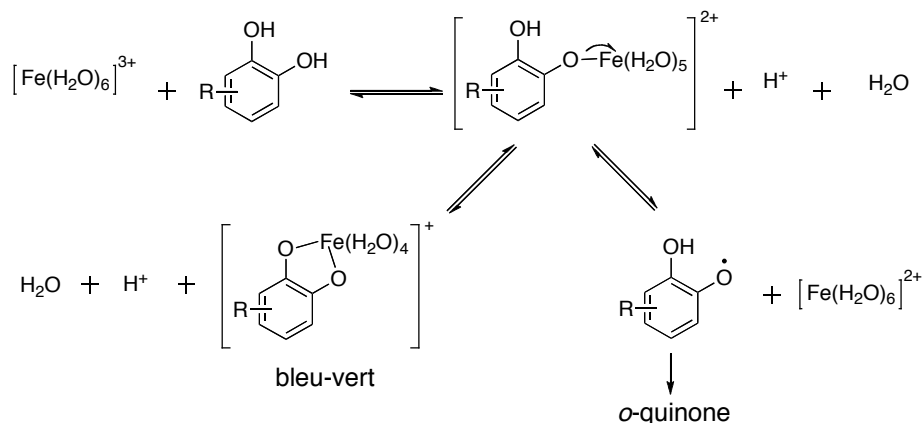


Figure 32. Complexation des phénols et du fer.¹⁶²

Les quinones, formées par ces différentes voies d'oxydation vont réagir avec les composés du vin pour conduire à la formation d'une grande diversité de produits, via des réactions d'oxydation, de Diels Alder, nucléophiles ou électrophiles.^{4, 144}

4. REACTIVITE DES POLYPHENOLS EN CONDITION OXYDANTE

L'oxydation des polyphénols du vin amène à la formation de deux types de produits : les polymères (comme dans le cas de l'oxydation enzymatique), qui sont responsables du brunissement, et des nouveaux adduits, qui vont impacter plus ou moins sur les qualités organoleptiques du vin. Plusieurs nouveaux composés provenant de la condensation entre les polyphénols oxydés et d'autres molécules ont été découverts. Des équipes de recherche ont montré que l'ajout d'acide pyruvique (**64**) ou d'acétaldéhyde (**67**) dans un vin rouge jeune amène à la formation de nouveaux composés de type pyranoanthocyanes, les vitisins A (**65**) et B (**68**). Ces molécules sont formées par condensation de l'acide pyruvique (**64**) ou de l'acétaldéhyde (**67**) avec une anthocyane, la malvidine-3-*O*-glucoside (**62**) (Figure 33).¹⁶⁸⁻¹⁶⁹ Ces adduits sont plus stables que les anthocyanes de départ et vont donc participer à la stabilisation de la couleur du vin.¹⁷⁰⁻¹⁷²

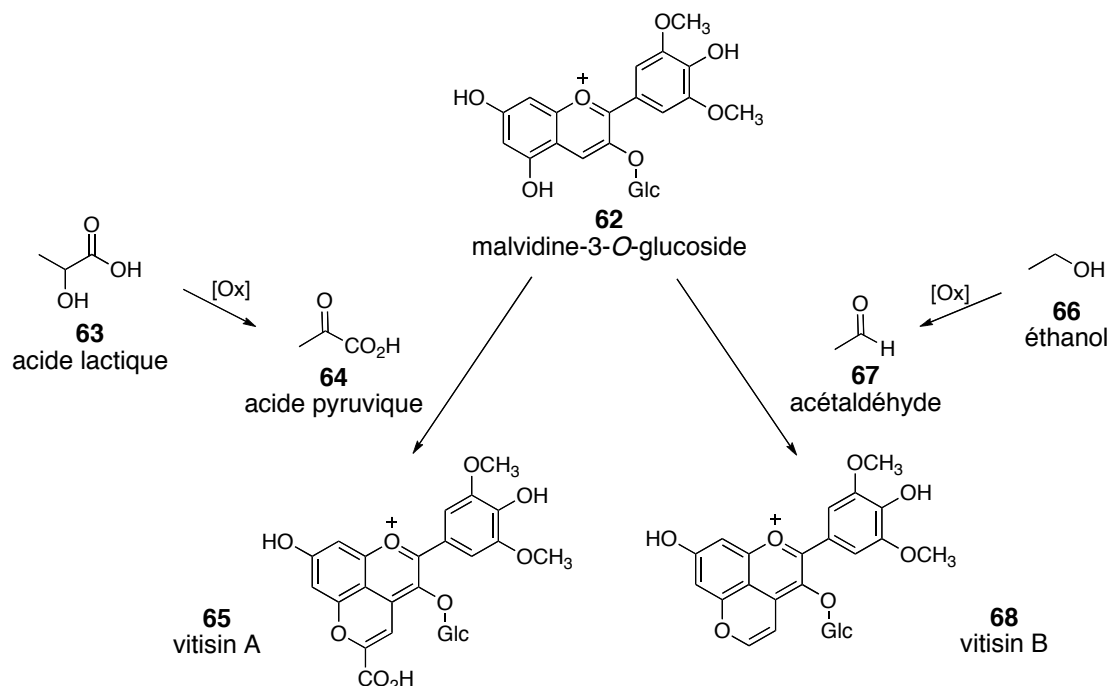


Figure 33. Formation des vitisins A (65) et B (68).

L'oxydation de molécules du vin comme l'éthanol (66) en acétaldéhyde 67 ou l'acide tartrique en acide glyoxylique (69), amène à la formation de tannins pontés. En effet, ces aldéhydes interviennent dans les réactions de condensation entre deux flavanols et/ou entre un flavanol et un anthocyane. Par exemple, la condensation entre deux unités catéchine (10), via l'acide glyoxylique, amène à la formation d'un dimère ponté de type 72 (Figure 34). Ces dimères formés peuvent, en condition oxydante, évoluer vers des ions xanthylium (73), pouvant être impliqués dans le brunissement et le changement de couleur des vins (Figure 34).¹⁷³⁻¹⁷⁴

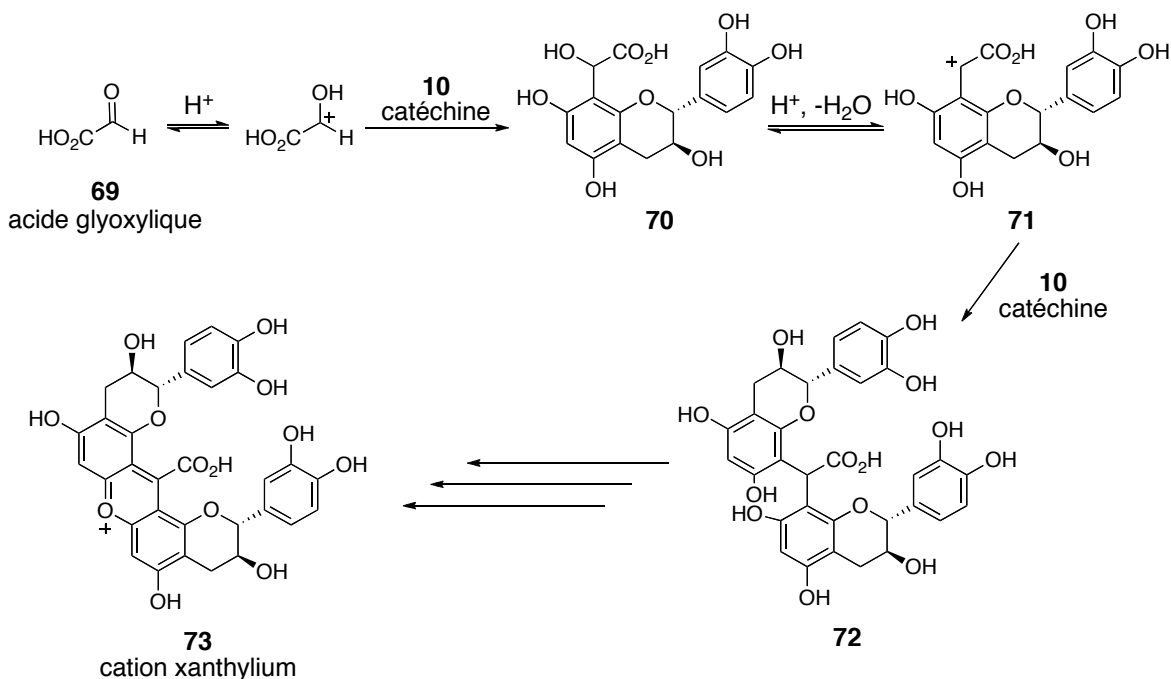


Figure 34. Formation d'un dimère ponté 72 et d'un ion xanthylium 73 en présence d'acide glyoxylique (69) et de catéchine (10).

Des dimères pontés peuvent aussi se former entre les anthocyanes et les flavanols en condition oxydante. La catéchine (**10**) peut être substituée en position 8 par l'aldéhyde **67**, pour former un dimère ponté coloré **76** en présence de la malvidine-3-*O*-glucoside (**62**) (Figure 35).¹⁷⁵

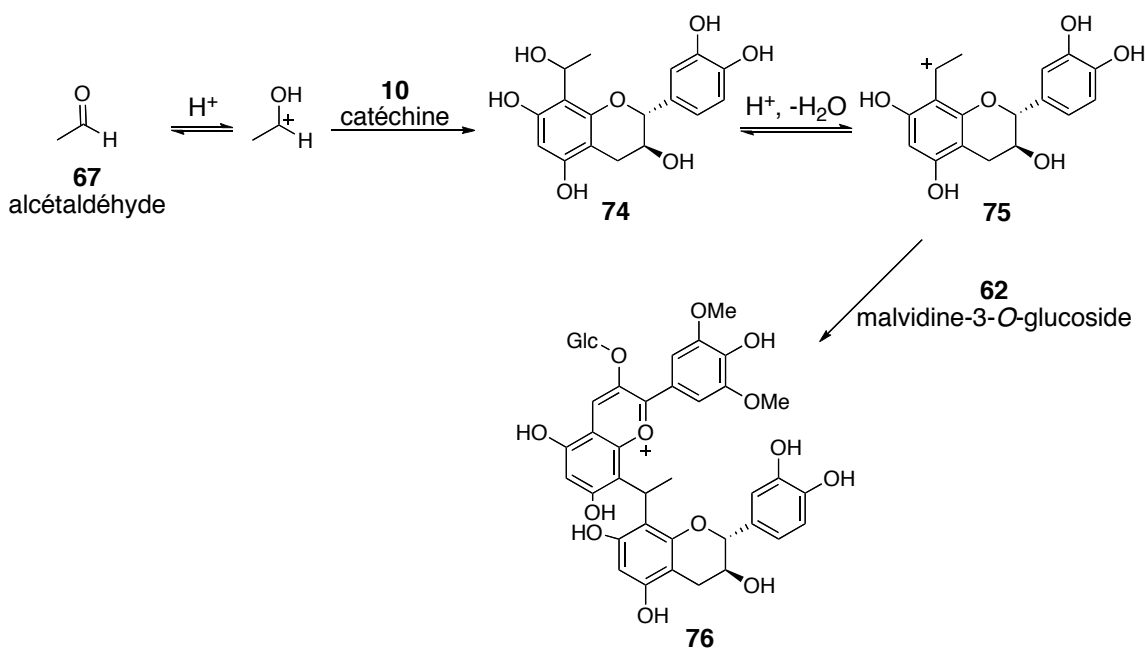


Figure 35. Formation de dimères anthocyanin-flavanols **76** en présence d'acétaldéhyde **67**.

5. UTILISATION D'ANTIOXYDANTS

Le dioxyde de soufre est couramment utilisé pour prévenir les phénomènes d'oxydation dans les vins. En effet, la concentration en dioxyde de soufre dans le vin influence celle des polyphénols. En présence d'une concentration faible de SO_2 et sous micro-oxygénation, on observe une diminution de la concentration en monomères d'anthocyanes et en flavan-3-ols et une augmentation de la concentration des pigments colorés et des tannins avec une coloration plus rouge. En revanche, si la concentration en SO_2 est élevée, ces changements sont limités. Le dioxyde de soufre va réguler la concentration en polyphénols et va contrôler la couleur et l'astringence du vin.¹⁷⁶

Cependant, l'addition de dioxyde de soufre dans les vins cause des allergies chez certains individus sensibles aux sulfites. Des études ont montré que d'autres composés pouvaient avoir un rôle antioxydant et donc pouvaient remplacer le dioxyde de soufre.¹⁷⁷ Un de ces composés est l'acide ascorbique.¹⁷⁸ En effet, l'acide ascorbique a montré une plus grande activité que le dioxyde de soufre dans la résistance des vins blancs à l'oxydation.¹⁴⁶ Cependant, plusieurs études ont montré que l'acide ascorbique pouvait aussi avoir un rôle prooxydant suivant sa teneur dans le vin, et son utilisation est autorisée en France sous réglementations en présence de dioxyde de soufre.¹⁷⁹

III. EVOLUTION DES TANNINS DANS LE VIN

Depuis plusieurs années, notre équipe de recherche s'intéresse à l'évolution des tannins dans le vin et notamment à l'évolution des ellagitannins *C*-glucosidiques provenant du bois de chêne.

Les ellagitannins *C*-glucosidiques, présents dans le bois de chêne, diffusent facilement dans les solutions hydroalcooliques comme le vin (solution aqueuse à 12 % d'éthanol). Toutefois, leur présence dans les vins élevés en fût de chêne n'est pas systématique et est parfois difficilement décelable. Par exemple, la comparaison des teneurs en vescalagine (**8**) et en castalagine (**22**) d'un vin logé en barrique pendant douze mois, et une solution hydroalcoolique placée dans les mêmes conditions montrent une très grande différence (21-25 mg/L pour la solution modèle et 0-5 mg/L dans le vin).⁶¹ Plusieurs hypothèses ont été formulées pour expliquer cette différence.

1. HYDROLYSE DES ELLAGITANNINS

La concentration en ellagitannins *C*-glucosidiques dans les vins augmente au cours des premiers mois d'élevage des vins en fût de chêne, puis elle diminue régulièrement, alors que dans un même temps la concentration en acide ellagique (**79**) libre augmente constamment.¹⁸⁰ Cette constante augmentation de la production d'acide ellagique peut être expliquée par l'hydrolyse de l'unité 4,6-hexahydroxydiphényle (HHDP) des ellagitannins *C*-glucosidiques. Par exemple, lors de l'hydrolyse de la vescalagine (**8**) ou de la castalagine (**22**), l'acide ellagique est libéré, ainsi qu'un autre composé, la vescaline (**77**) ou la castaline (**78**) (Figure 36). Ces deux dernières ont été identifiées dans les extraits de bois de chêne et dans le bois de cœur du châtaignier.^{61, 181} Cette décomposition de la vescalagine (**6**) en vescaline (**77**) et de la castalagine (**20**) en castaline (**78**) peut être une des raisons expliquant la diminution de ces deux composés dans le vin au cours du vieillissement. Les six autres ellagitannins *C*-glucosidiques présents dans le vin (Figure 13) sont aussi susceptibles de subir cette même décomposition, amenant à l'élimination du motif HHDP.

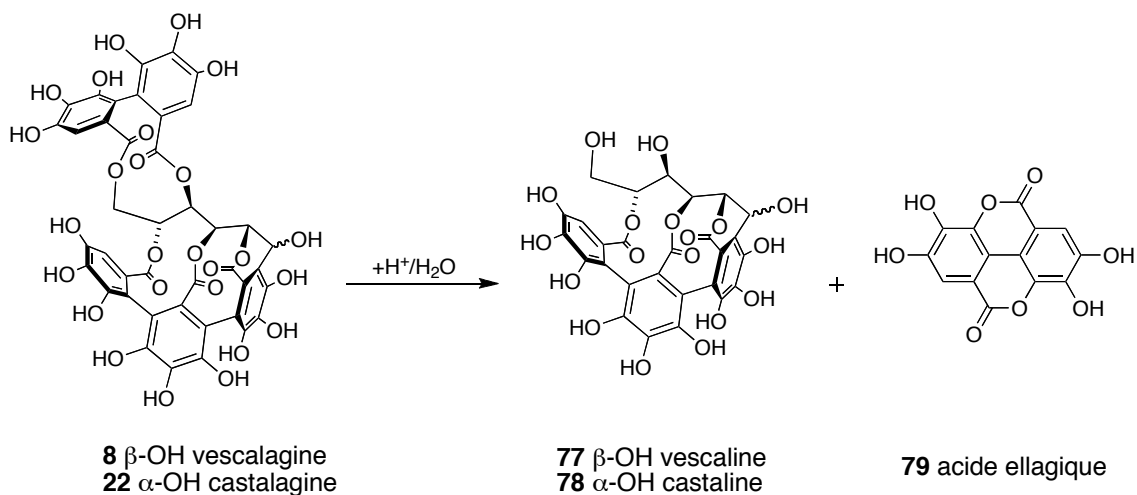


Figure 36. Hydrolyse de la vescalagine (**8**) et de la castalagine (**22**) conduisant à la formation de l'acide ellagique (**79**), la vescaline (**77**) et la castaline (**78**).

2. HEMISYNTHESE

L'hémisynthèse de nouveaux composés peut aussi expliquer la diminution des monomères d'ellagitannins C-glucosidiques natifs dans le vin. Par exemple, la formation de dimères, comme les roburines A-D (**24-28**)⁶⁵⁻⁶⁶, peut se faire à partir de la condensation de monomères, comme la vescalagine (**8**) et la castalagine (**22**). D'ailleurs, l'équipe de Moutounet et Scalbert a démontré que la roburine A (**25**) peut provenir de la dimérisation de la vescalagine en milieu acide (Figure 37).¹⁸⁰ La dimérisation des monomères peut donc influencer la teneur de ces tannins dans le chêne et dans le vin.

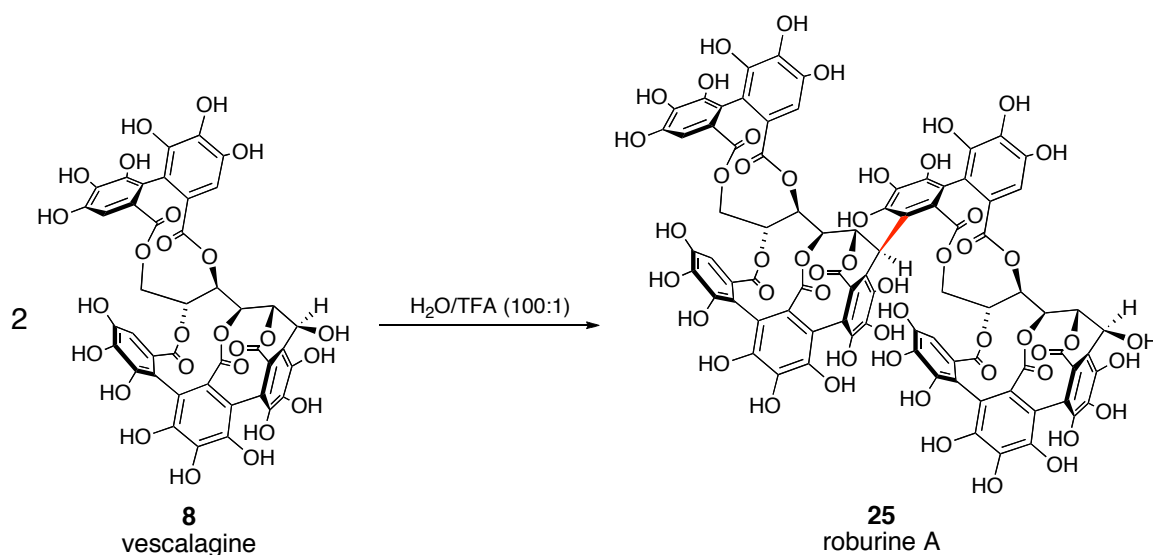


Figure 37. Dimérisation de la vescalagine (**8**) en roburine A (**25**) en milieu acide.

Dans ce contexte, la diminution de la teneur en ellagitannins C-glucosidiques dans le vin peut être aussi liée à la condensation de certaines molécules du vin sur ces tannins. Depuis plusieurs années, notre équipe de recherche s'intéresse à ce type de réaction, afin de comprendre les phénomènes liés à la disparition des ellagitannins C-glucosidiques dans le vin au cours du vieillissement, et afin de voir l'influence des ellagitannins sur les propriétés

organoleptiques du vin. Des réactions de substitutions nucléophiles entre la vescalagine/castalagine et les nucléophiles du vin ont été étudiées.²⁴⁻²⁵ Par ces études, une différence de réactivité a été mise en évidence entre la vescalagine (**8**) et son épimère, la castalagine (**22**).^{25, 182}

a. Réactivité de la vescalagine et de la castalagine

En solution hydroalcoolique acide comme le vin (pH = 3-4), la vescalagine (**8**) peut subir une déshydroxylation de l'alcool benzylique pour conduire à la formation du carbocation benzylique **80**, relativement stable. Celui-ci subit ensuite l'attaque d'un nucléophile, de manière stéréosélective, conservant l'orientation α de la liaison C-H (Figure 38).²⁵ Dans le cas de la castalagine (**22**), nous n'observons pas ce phénomène, la castalagine demeurant inerte dans les mêmes conditions.

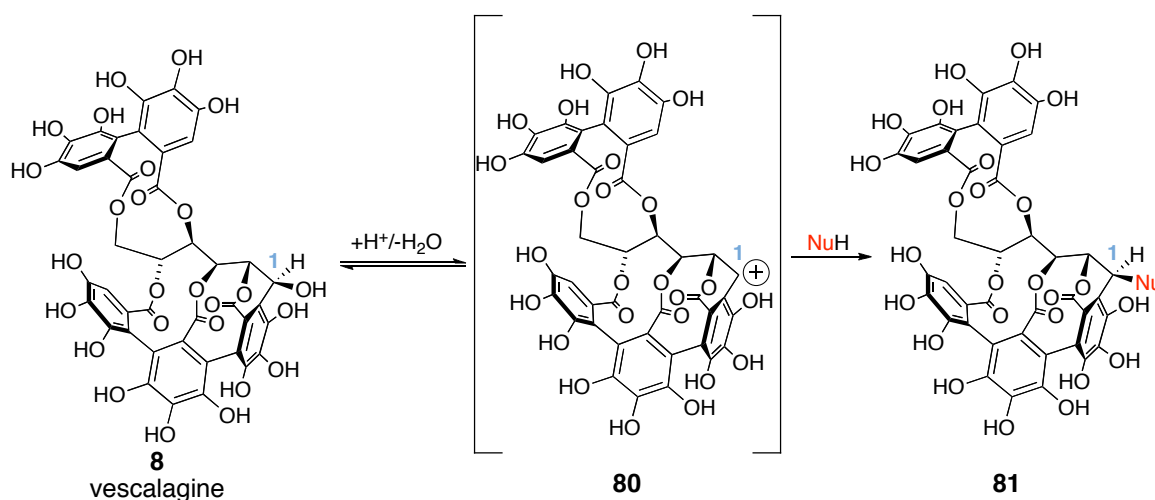


Figure 38. Mécanisme général proposé.

Pour expliquer le mécanisme réactionnel de ces substitutions nucléophiles et pour comprendre la différence de réactivité entre la vescalagine et son épimère, la castalagine, des études de modélisation ont été faites.^{25, 182-183}

Tout d'abord, ces études ont permis d'expliquer la rétention de configuration du carbone C-1. En effet, cela peut paraître surprenant que l'attaque nucléophile sur un carbocation plan n'amène pas à une racémisation. Pourtant, la majorité des tannins complexes synthétisés et/ou isolés à ce jour ont une orientation β de leur substituant sur le carbone C-1. Les calculs de modélisation moléculaire sur le carbocation **80** issu de la déshydroxylation de la vescalagine ont permis de rationaliser ce contrôle stéréochimique. Les différences entre les deux faces du carbocation résident dans des critères stériques et électroniques. Tout d'abord, la face α est plus encombrée, en raison du repliement du cycle III de l'unité NHTP. De plus, l'orbitale de la face avant (β) est plus électro-déficiente (couleur bleu foncé) que celle de la face arrière (α). L'attaque nucléophile sera donc orientée exclusivement sur la face β (Figure 39).^{25, 182-183}

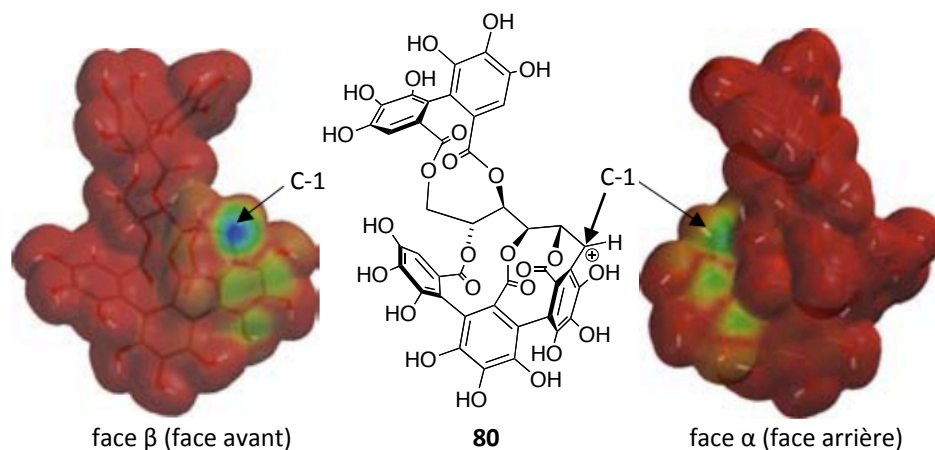


Figure 39. Représentation graphique de l'orbitale de plus basse énergie (BV/LUMO) du carbocation **80**.

Les travaux de Viriot et de Vivas avaient déjà remarqué la différence de réactivité entre la vescalagine (**8**) et son épimère la castalagine (**22**), expliquant la différence d'abondance entre ces deux composés dans le bois de chêne.^{180, 184} Il a aussi été établi lors des travaux de thèse de M. Jourdes que la condensation de la castalagine avec des nucléophiles du vin, comme la catéchine, ne se produit pas.¹⁸³

La vescalagine et la castalagine se distinguent par la seule orientation du groupe hydroxyle de leur fonction alcool benzylique sur le carbone C-1 (orientation β sur la vescalagine et orientation α sur la castalagine). Des calculs ont montré que l'alcool de la vescalagine se situe vers l'extérieur et que la face β est la moins encombrée. Dans le cas de la castalagine, l'alcool est situé à l'intérieur de la structure, participant à une liaison hydrogène intramoléculaire O-1...HOC-3' de 2,21 Å, avec un angle de 146° (Figure 40). La participation de l'alcool à cette liaison hydrogène diminue la basicité du site et défavorise la protonation. De plus, ce groupement hydroxyle a une orientation pseudo-équatoriale dans le cas de la castalagine, tandis que, dans le cas de la vescalagine, il a une orientation pseudo-axiale, exigeant plus d'énergie par rapport au cycle lactonique à 6 chaînons et donc favorisant, dans ce cas, la formation du carbocation **80** (Figure 41). Ces résultats montrent que la formation du carbocation en position 1 est défavorisée dans le cas de la castalagine, expliquant sa non-réactivité.^{25, 183}

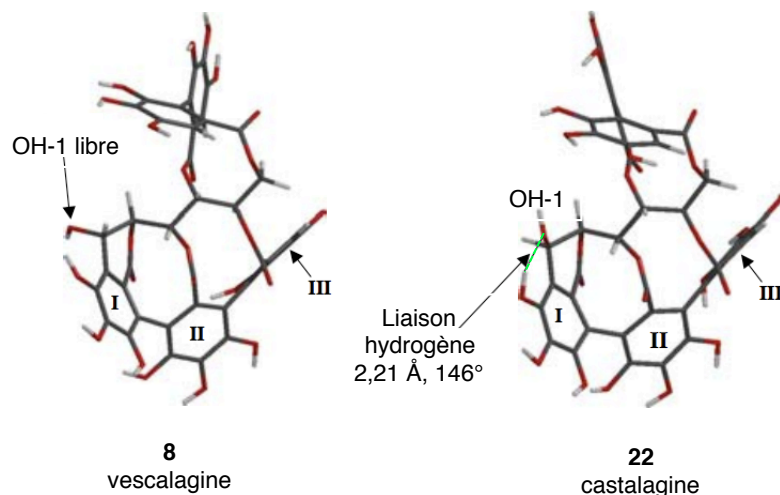


Figure 40. Représentation des conformères de plus basse énergie de la vescalagine (**8**) et de la castalagine (**22**).

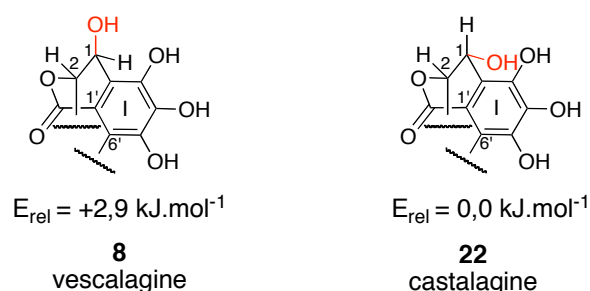


Figure 41. Représentation de l'orientation du groupe OH-1 par rapport au cycle lactonique à 6 chaînons de la vescalagine et de la castalagine.

b. Flavano-vescalagine: formation de tannins complexes

Il existe de nombreux nucléophiles dans le vin dont la catéchine (**10**) et l'épicatéchine (**11**), flavan-3-ols provenant du raisin, pouvant réagir avec le carbocation **80**. Comme nous l'avons vu précédemment (cf. Chapitre I. I.3.), ces deux molécules possèdent chacune deux sites nucléophiles susceptibles de réagir avec la vescalagine en milieu acide. D'ailleurs, Ishimaru et *al.* ont émis l'hypothèse que les acutissimines A (**9**) et B (**82**), isolées du chêne *Quercus acutissima*, provenaient de la condensation de la catéchine (**10**) et de la vescalagine (**8**).²⁰ Les travaux de M. Jourdes ont depuis confirmé cette hypothèse.²⁴

Dans ces travaux, la vescalagine (**8**) a été mise en présence soit de la catéchine (**10**), soit de l'épicatéchine (**11**) en milieu organique en catalyse acide. Ces conditions ont permis d'isoler et de caractériser deux composés connus, les acutissimines A (**9**) et B (**82**) avec un rendement total de 87 %²⁴ et deux nouveaux composés, les épiacutissimines A (**83**) et B (**84**) avec 78 % de rendement (Figure 42).²⁵ Dans les deux cas, les isomères A sont formés préférentiellement par rapport aux isomères B (75 :25 et 67 :33). D'ailleurs, les acutissimines A et B ont été isolés du bois de *Quercus acutissima* avec des proportions similaires (81 :19).²⁰ Ce ratio peut s'expliquer par le plus grand caractère nucléophile et par la plus grande accessibilité du centre C-8 de la catéchine et de l'épicatéchine par rapport au centre C-6.

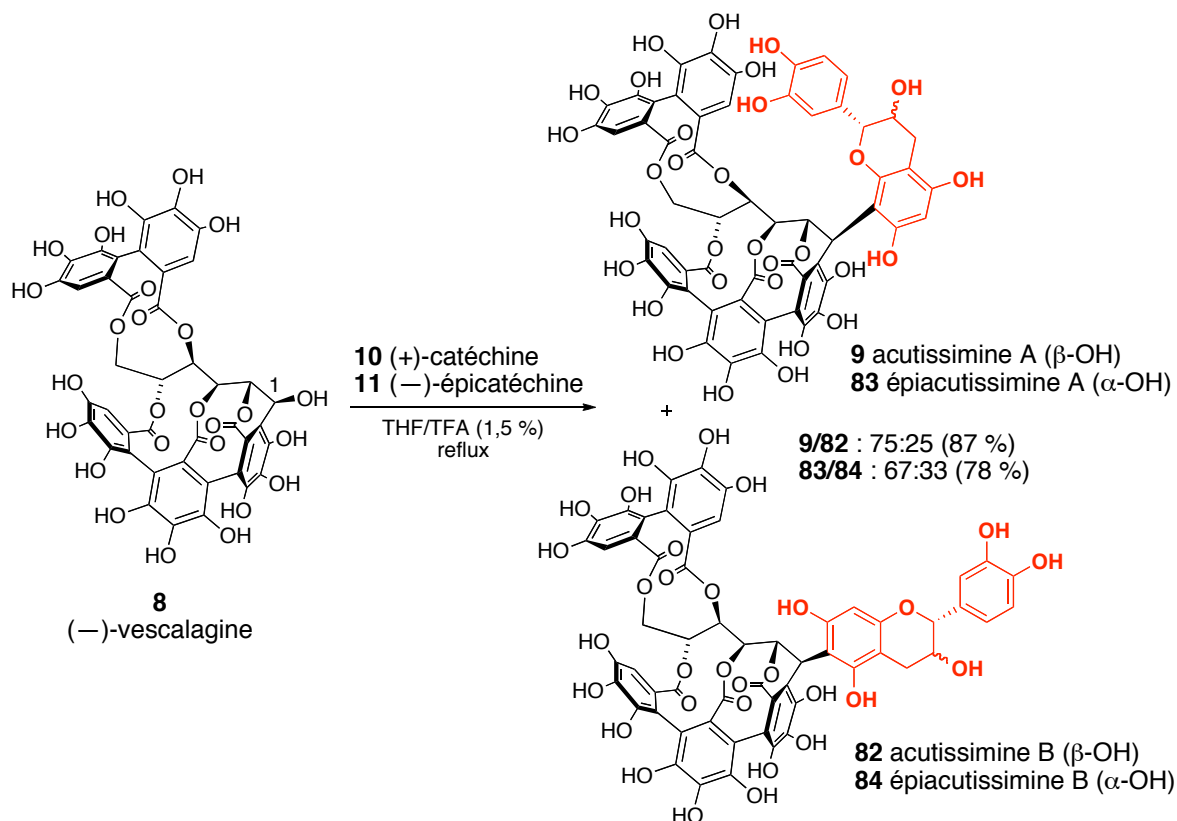


Figure 42. Hémisynthèse des acutissimines A (**9**) et B (**82**) et des épiacutissimines A (**83**) et B (**84**) en milieu organique.

Dans les quatre cas, l'orientation β du substituant sur le carbone C-1 est conservée (Figure 42). La stéréochimie est déduite par la faible constante de couplage observée par RMN ^1H entre les protons H-1 et H-2 de la chaîne glucose ($< 2\text{Hz}$). En effet, d'après la théorie de Karplus, une faible constante de couplage entre deux protons voisins correspond à un angle dièdre de 90° entre ces deux protons, ce qui est observé uniquement lorsque le H-1 a une orientation α .¹⁸⁵

La formation des acutissimines A et B a été clairement montrée par CLHP en milieu modèle du vin après une période de 25 jours, l'acutissimine A étant toujours le composé majoritaire.²⁴ Par ailleurs, les acutissimines A et B, ainsi que les épiacutissimines A et B ont été identifiées et quantifiées dans un vin rouge de Bordeaux élevé en fût pendant 18 mois, ce qui confirme la formation de ces deux composés dans le vin (Tableau 8).^{24, 186}

Composés	Concentrations
Vescalagine	$2,20 \pm 0,15$
Castalagine	$8,10 \pm 0,31$
Acutissimine A	$0,40 \pm 0,03$
Acutissimine B	$0,28 \pm 0,02$
Epiacutissimine A	$0,30 \pm 0,02$
Epiacutissimine B	$0,35 \pm 0,02$

Tableau 8. Estimation quantitative d'ellagitannins et de flavano-ellagitannins dans un vin rouge de Bordeaux de 2001 élevés en barrique (mg/L).¹⁸⁶

c. Anthocyano-vescalagine: influence sur la couleur du vin

Les anthocyanes sont des pigments provenant du raisin et participant à la couleur du vin. Ils sont instables à certains pH et peuvent être responsables de l'instabilité de la couleur des vins. Depuis plusieurs années, des études sont réalisées afin de comprendre le changement de couleur du vin au cours de l'élevage en barrique (de rouge à des teintes tuilées). Plusieurs phénomènes ont été énoncés pour expliquer cette variation tels que la complexation des anthocyanes avec des métaux, des phénomènes physiques de co-pigmentation ou alors des réactions chimiques entre les anthocyanes et des composés électrophiles/nucléophiles du vin.

Dans ce contexte, notre équipe a montré que des réactions chimiques entre les anthocyanes et les ellagitannins *C*-glucosidiques ont un impact sur la couleur de ces pigments.^{25, 187} La condensation de la vescalagine et de pigments, tels que la malvidine (**84**) ou l'oénine (**60**), permet la formation de composés ayant de nouvelles caractéristiques physicochimiques (Figure 43). Dans le cas de la malvidine, pigment de couleur rouge, un tannin complexe de couleur violet, la malvidine-vescalagine (**85**), se forme et est isolé avec 25 % de rendement. La réaction entre l'oénine, pigment rouge, et la vescalagine amène à la formation d'un autre tannin complexe, l'oénine-vescalagine (**86**), de couleur violette (Figure 43). Des études cinétiques et thermodynamiques UV/Visible ont permis d'étudier ce changement de couleur entre ces pigments et ces dérivés de pigments formés.¹⁸⁷

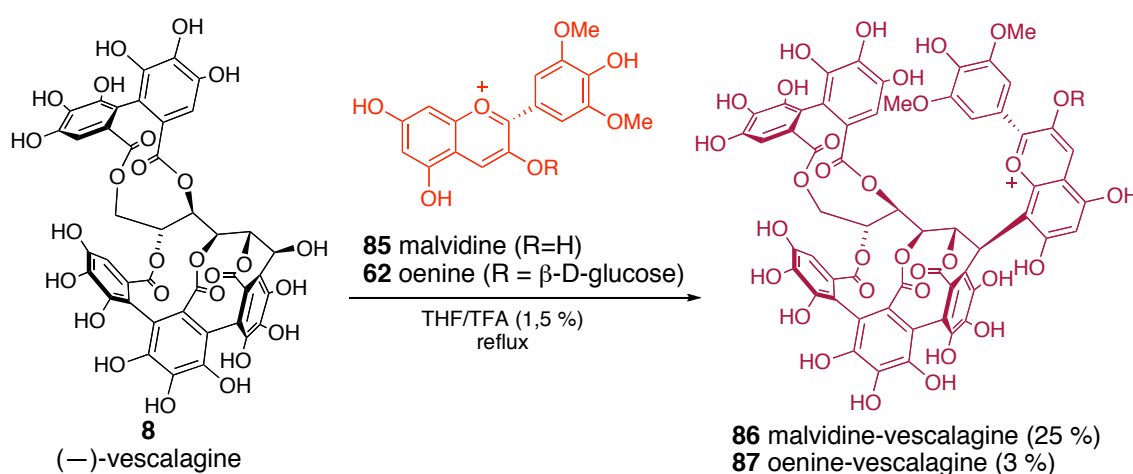


Figure 43. Hémisynthèse d'anthocyano-vescalagine.

d. Autres exemples

D'autres adduits formés à partir de la vescalagine et d'autres nucléophiles du vin ont été synthétisés par notre équipe. Par exemple, en milieu organique légèrement acidifié, l'adduit β-1-*O*-ethylvescalagine (**88**) est formé par substitution nucléophile de l'éthanol sur le carbone glucosidique C-1 de la vescalagine (**8**) (Figure 44). Ce composé a ainsi pu être identifié dans un vin rouge de Bordeaux élevé en fût de chêne.¹⁸⁶ Un autre composé, présent dans le vin à hauteur de 3-24 mg/L, le glutathion (**60**), possède un groupement thiol libre nucléophile. La substitution

de ce composé sur la vescalagine conduit à la formation de la β -1-S-glutathionyl vescalagine (**89**) avec un rendement isolé de 51 % (Figure 44).²⁵

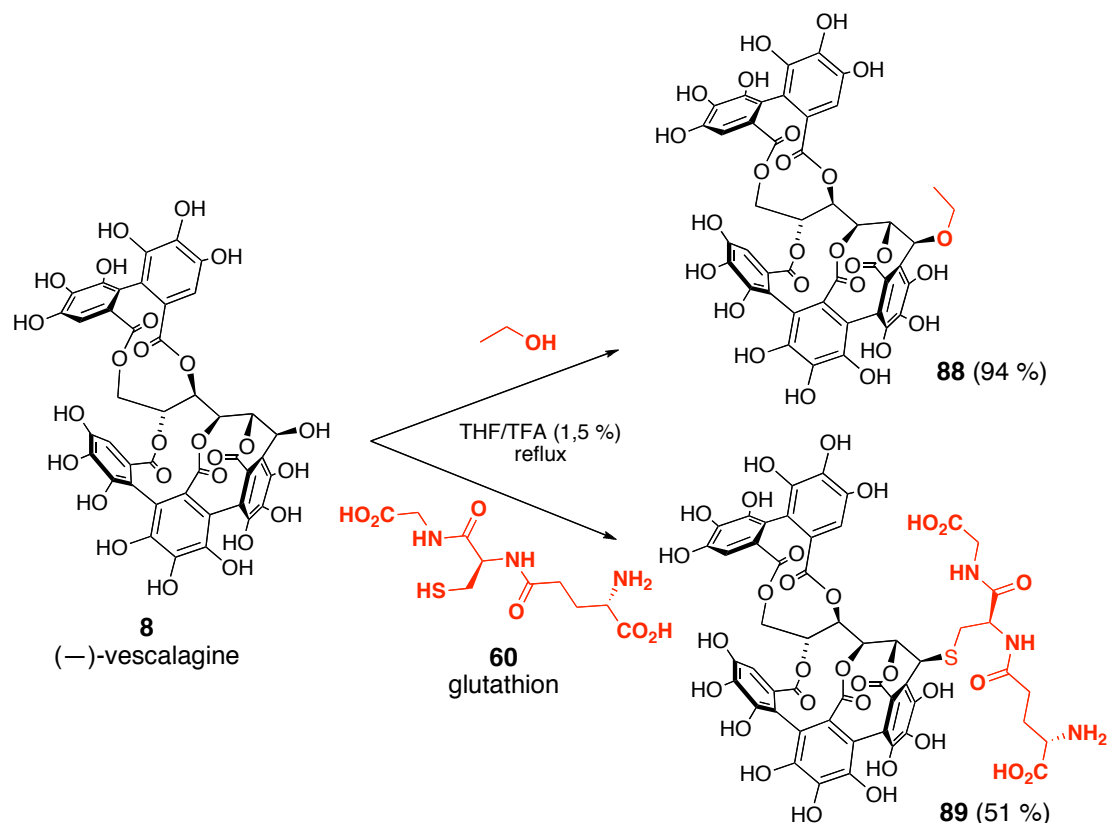


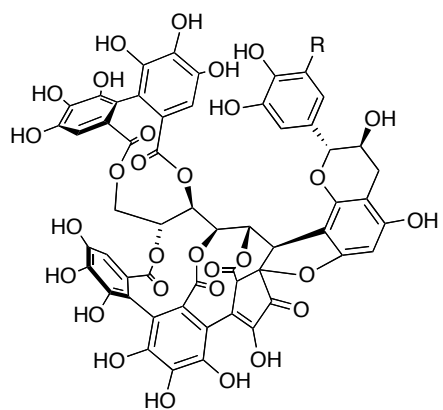
Figure 44. Hémisynthèse de la β -1-O-ethylvescalagine (**88**) et de la β -1-S-glutathionyl vescalagine (**89**).

3. FORMATION DE DERIVES OXYDES

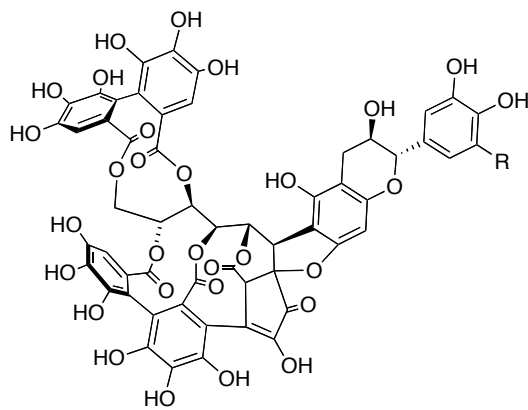
Les ellagitannins *C*-glucosidiques sont constitués de 5 noyaux pyrogallols qui, en condition acide oxygénée comme le vin, sont susceptibles d'être oxydés en α -hydroxy-*ortho*-quinones. Ces espèces électrophiles peuvent ensuite réagir avec d'autres molécules pour former des tannins complexes ou des structures oxydées.

Plusieurs ellagitannins isolés dans les plantes présentent une unité *o,m*-hydroxyphénylcyclopenténone (HPCP) remplaçant le cycle galloyl I. Ce motif est supposé provenir de l'oxydation d'analogues galloylés. Par exemple, l'équipe de Nonaka et *al.* a isolé la mongolicaïne A (**90**), présentant une unité HPCP, en même temps que l'acutissimine A (**9**) de *Quercus mongolica*. Ils ont émis l'hypothèse que l'acutissimine A pourrait être le précurseur direct de la mongolicaïne A.¹⁸⁸ D'autres composés, présentant une unité flavanol et un motif HPCP, ont été isolés de différentes plantes. On retrouve la mongolicaïne B (**91**), isolée du bois de 5 chênes *Quercus* et d'un châtaignier, possédant un dérivé catéchine,¹⁸⁸ les psidinines A-C (**92-94**), isolées du bois de *Psidium guajava* L., avec un dérivé gallocatéchine,¹⁸⁹ les malabathrins E (**95**) et F (**96**), isolées de *Melastoma malabathricum* L., avec un dérivé épicatechine,¹⁹⁰ le camelliatannin F (**97**), isolé de *Camellia japonica* L., avec un dérivé épicatechine.¹⁹¹ Les

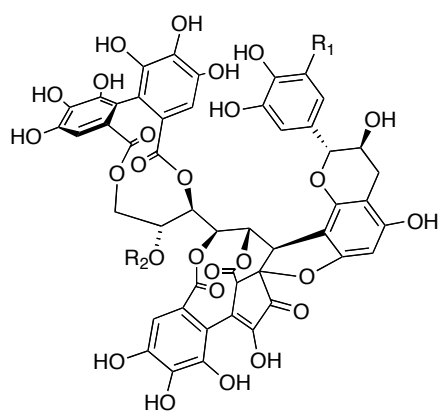
Castacrenines E (**98**) et G (**99**), isolées de *Castanea crenata* ont aussi une unité HPCP et un groupement galloyl ou l'acide ellagique en position 1 (Figure 45).¹⁹²



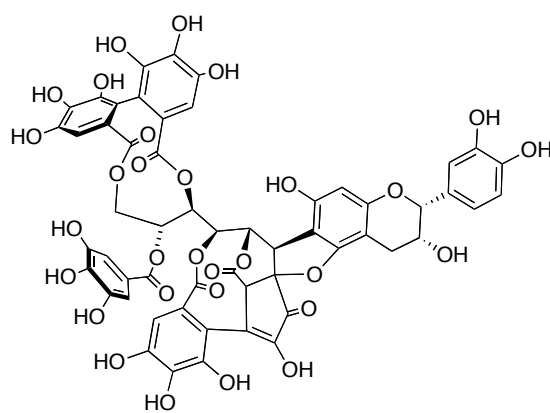
90 R = H mongolicaïne A
92 R = OH psidinine A



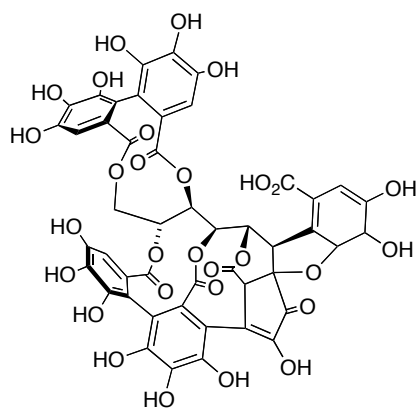
91 R = H mongolicaïne B
93 R = OH psidinine B



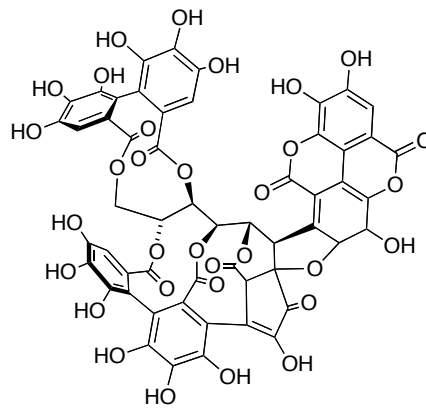
94 R1 = OH, R2 = G psidinine C
95 R1 = H, R2 = G malabathrine E
97 R1 = H, R2 = H camelliatannin F



96 malabathrine F



98 castacrenine E



99 castacrenine G

Figure 45-2. Exemples de dérivés d'ellagitannins comportant le motif HPCP.

La structure d'autres composés naturels, comme la rhoipteleanine H (**100**),¹⁹³ le camelliatannin G (**101**),¹⁹¹ et la psiguavine (**102**)¹⁹⁴, présentent des unités encore plus oxydées, qui dérivent sans doute également de l'oxydation de tannins complexes (Figure 46).

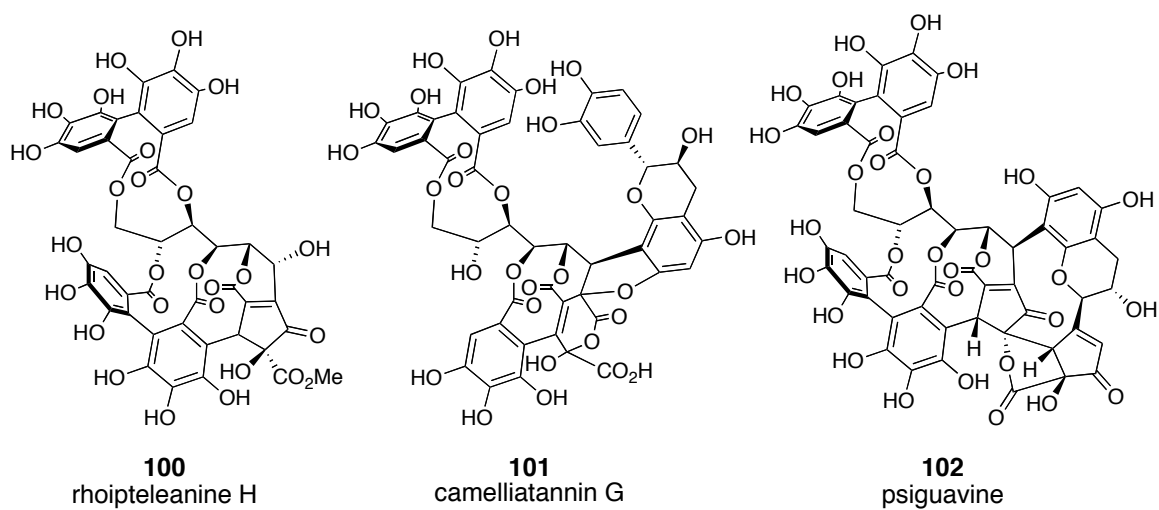
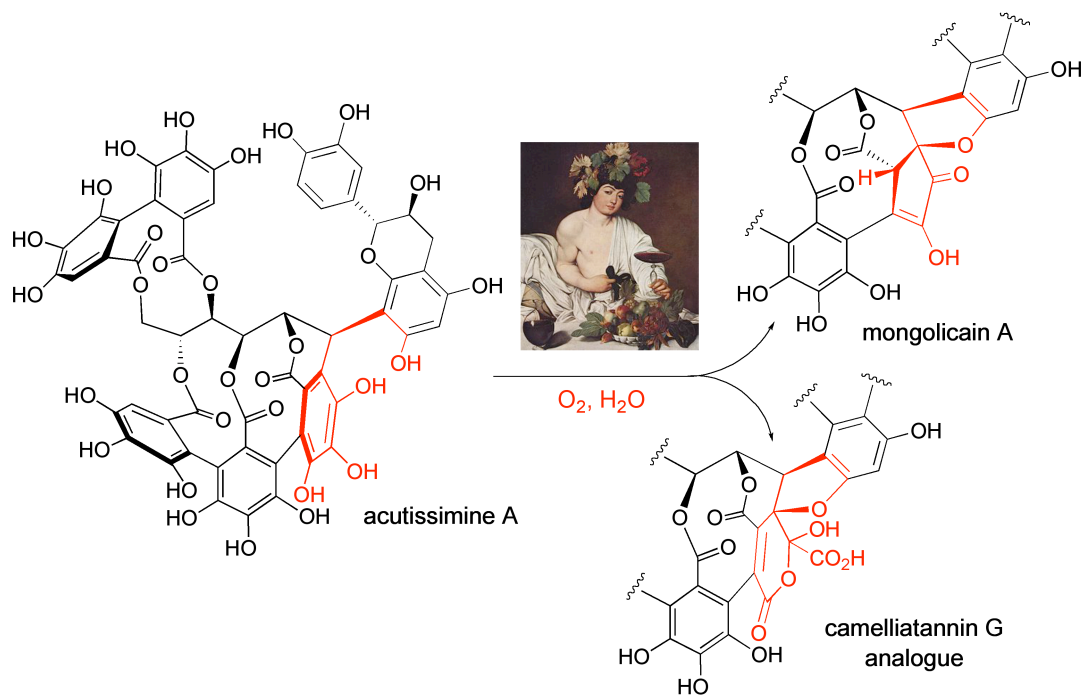


Figure 46. Exemples de dérivés d'ellagitannins présentant des unités oxydées.

Chapitre II

Oxydation des dérivés d'ellagitannin



CHAPITRE II : Oxydation des dérivés d'ellagitannin

I. INTRODUCTION

Les tannins complexes, comme les flavano-ellagitannins, sont formés dans le vin au cours du vieillissement en fût de chêne. Ces polyphénols sont relativement stables, mais ont cependant tendance à s'oxyder, donnant naissance à de nouvelles molécules pouvant avoir un impact organoleptique sur le vin. Dans ce contexte, nous avons étudié l'oxydation de deux tannins complexes, les acutissimines A (**9**) et B (**82**) provenant de la condensation de la vescalagine (**8**) et de la catéchine (**10**) (cf. Figure 40, Chapitre I). En effet, ces deux composés ont été retrouvés dans le vin rouge élevé en fût de chêne¹⁸⁶ et, de plus, l'un d'entre eux, l'acutissimine A, présente un intérêt biologique prometteur puisqu'il a été reconnu comme agent anticancéreux potentiel.²⁴ Enfin, la bonne disponibilité des réactifs (vescalagine (**8**), que nous purifions du chêne, et la catéchine (**10**), commerciale), ainsi que le bon rendement (87 %) et la rapidité relative (7 h) de la réaction d'hémisynthèse des acutissimines, en font des substrats aisément accessibles.²⁴

II. OXYDATION DE L'ACUTISSIMINE A

1. RESULTATS ANTERIEURS : ISOLATION DE LA MONGOLICAÏNE A

L'oxydation de l'acutissimine A (**9**) a été étudiée dans notre laboratoire lors de la thèse de Dorothée Lefeuvre.¹⁹⁵ Ces travaux ont permis de montrer que l'oxydation de l'acutissimine A, en milieu aqueux ouvert à l'air, conduit à la formation de deux composés majoritaires **90** et **103** (Figure 47). L'un d'entre eux, isolé avec un rendement de 22 %, est la mongolicaïne A (**90**), composé naturel isolé pour la première fois de *Quercus mongolica* par l'équipe de Nonaka et *al.* (Figure 48).¹⁸⁸ Cette même équipe avait émis l'hypothèse que l'acutissimine A pouvait être le précurseur direct de la mongolicaïne A, de par leur structure et la présence de ces deux composés dans *Quercus mongolica*. Les résultats obtenus par Dorothée Lefeuvre ont depuis confirmé cette hypothèse.

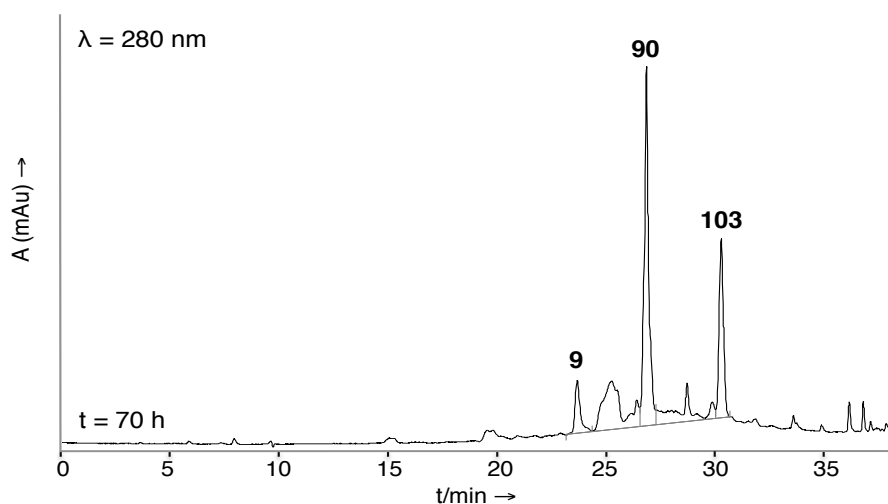


Figure 47. Chromatogramme CLHP de l'oxydation de l'acutissimine A (**9**) à l'air à t = 70 h (méthode 1).¹⁹⁵

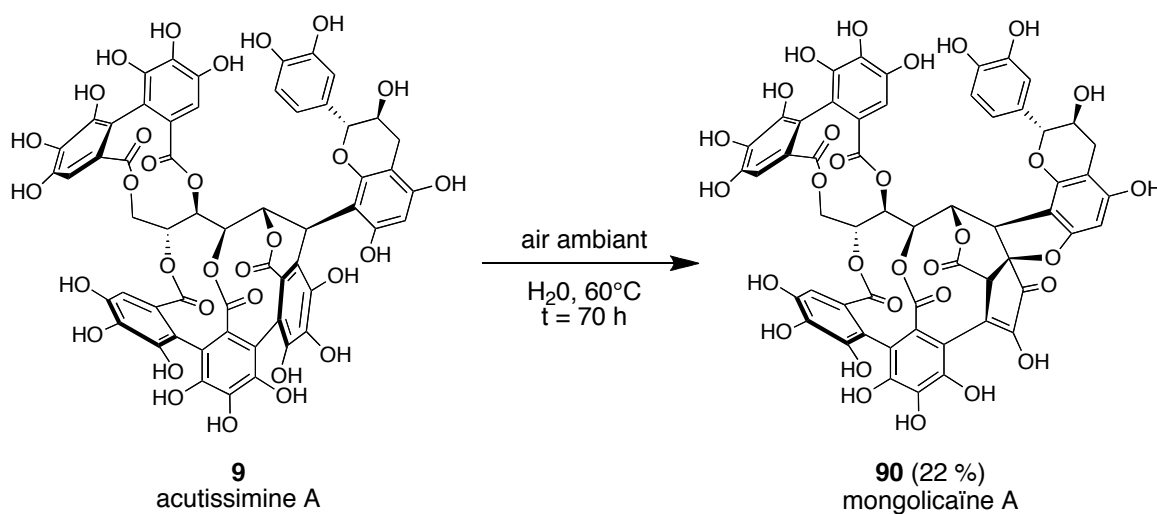


Figure 48. Oxydation de l'acutissimine A (**9**) en mongolicaïne A (**90**).

Durant ces travaux, cette réaction a aussi été testée en condition modèle du vin.¹⁹⁵ Pour cela, l'acutissimine A (**9**) a été mise en solution modèle du vin (solution aqueuse, EtOH 12 % v/v, acide tartrique 5 g/L, pH = 3,2) pendant 4 mois à température ambiante et à l'air libre. La mongolicaïne A (**90**), caractérisée par un pic m/z 1177 en spectrométrie de masse en mode positif et son temps de rétention en CLHP (Figure 49), se forme majoritairement. Cette réaction d'oxydation de l'acutissimine A (**9**) est donc susceptible de se faire dans le vin.

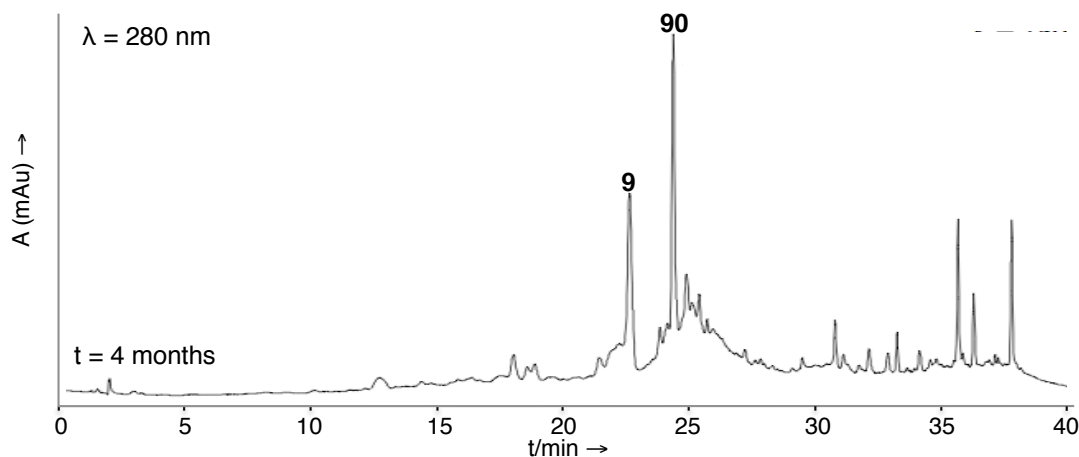


Figure 49. Chromatogramme CLHP de l'oxydation de l'acutissimine A (**9**) en mongolicaïne A (**90**) en solution modèle du vin.¹⁹⁵

Lors de ces travaux, un deuxième composé majoritaire **103** se formant lors de l'oxydation de l'acutissimine A (**9**) n'a pas pu être isolé suffisamment pur pour sa caractérisation. Le but de cette première partie de mes travaux était donc de trouver une nouvelle méthode pour l'isoler et l'identifier.

2. ISOLATION DU COMPOSE **103**

Lors de l'oxydation de l'acutissimine A, la mongolicaïne A (**90**) se forme ainsi qu'un autre composé majoritaire donnant un signal en spectrométrie de masse en mode positif à m/z 1237. Le suivi réactionnel par CLHP analytique de la réaction d'oxydation de l'acutissimine A montre que le composé d'intérêt **103** se forme avant la mongolicaïne A, puis il diminue au fur et à mesure que la réaction progresse (Figure 50).

L'objectif étant d'isoler et de caractériser ce composé, une étude analytique par CLHP a été faite afin de choisir le moment le plus opportun pour stopper la réaction, c'est-à-dire, le moment où le composé **103** est plus ou moins à son pic d'abondance dans le milieu réactionnel. Comme on peut le voir sur la Figure 50, le produit **103** semble être favorisé cinétiquement puisqu'il se forme dès le début de la réaction d'oxydation. Au fur et à mesure que la réaction progresse, l'intensité du pic du composé **103** n'évolue plus, et finalement semble diminuer. Dans un même temps, la mongolicaïne A (**90**), qui serait donc favorisée thermodynamiquement, continue à se former, jusqu'à disparition quasi totale de l'acutissimine A (**9**) à $t = 70$ h. Nous avons donc choisi d'arrêter la réaction d'oxydation de l'acutissimine A entre $t = 20$ h et $t = 42$ h, moment où le composé **103** est majoritaire par rapport aux autres produits formés.

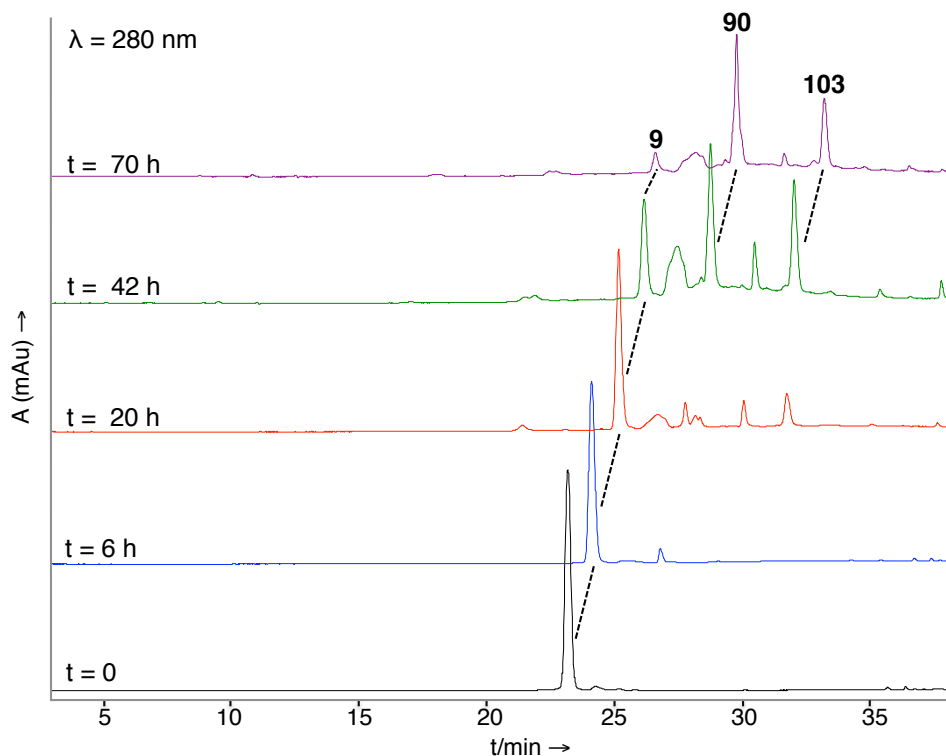


Figure 50. Chromatogramme CLHP du suivi de l'oxydation de l'acutissimine A (**9**) (méthode 1).

L'acutissimine A est donc solubilisée dans de l'eau Milli-Q, puis laissée à l'air libre à 60°C pendant 33 heures sous agitation (Figure 51). Le milieu réactionnel est ensuite lyophilisé, puis, une première purification par CLHP semi-préparative est faite (méthode 2). A la suite de celle-ci, le composé **103** est récupéré avec quelques impuretés. Une seconde purification par CLHP semi-préparative (méthode 3) a donc été nécessaire pour isoler le composé **103** pur (Figure 52). Après ces différentes étapes de purification, le composé **103** a été obtenu avec un rendement isolé de 11 % (Figure 53).

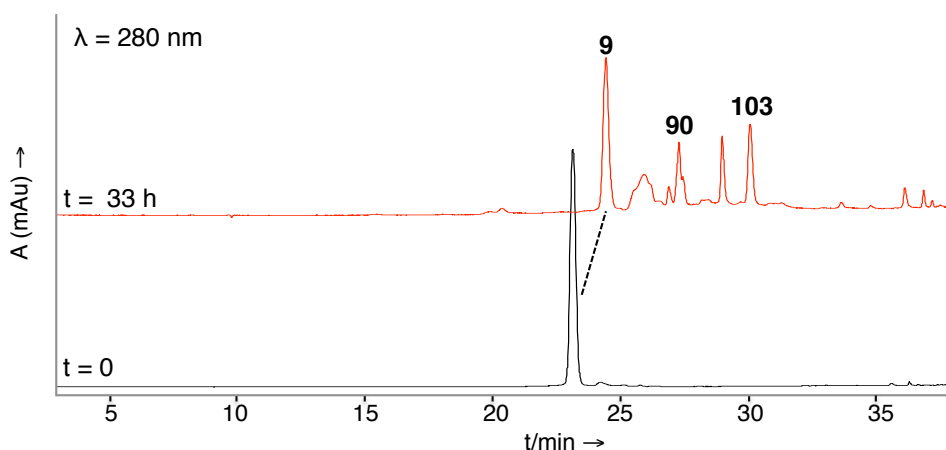


Figure 51. Chromatogramme CLHP de l'oxydation de l'acutissimine A (**9**) à l'air (méthode 1).

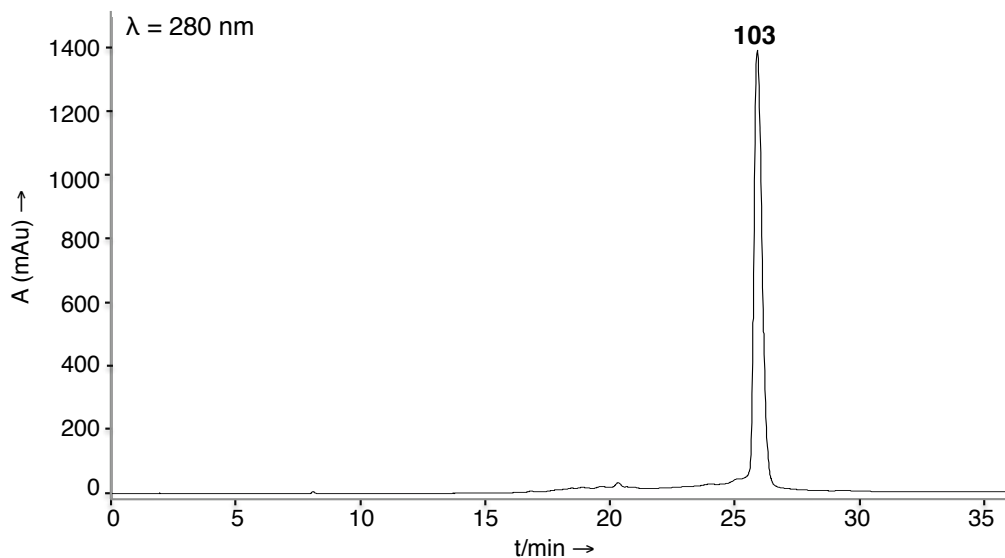


Figure 52. Chromatogramme CLHP analytique du composé **103** après purification par CLHP semi-préparative (méthode 4).

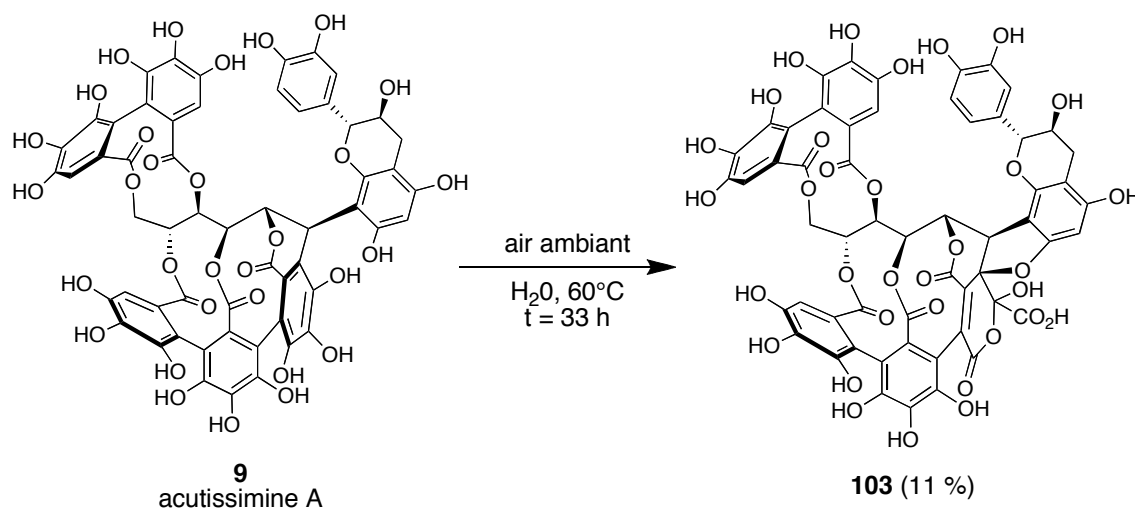


Figure 53. Oxydation de l'acutissimine A (**9**) en composé **103**.

3. IDENTIFICATION DU COMPOSE **103**

a. Caractérisation du composé **103**

La caractérisation du composé **103** a été réalisée par RMN. Les signaux ^1H et ^{13}C caractéristiques de l'acutissimine A (**9**) ont bien été retrouvés en RMN.²⁴ Parmi eux, l'observation par HMBC d'une corrélation entre le proton glucosidique H-1 de l'unité vescalagine et le carbone C-8'a de l'unité catéchine prouve la conservation de la liaison vescalagine-catéchine par le sommet 8' (Figure 57), tandis que la faible constante de couplage entre les protons glucosidiques H-1 et H-2 ($J < 1$ Hz), qui apparaissent comme des singulets en RMN ^1H , confirme que la réaction d'oxydation a conservé l'orientation β de cette liaison (Figure 54).¹⁸⁵

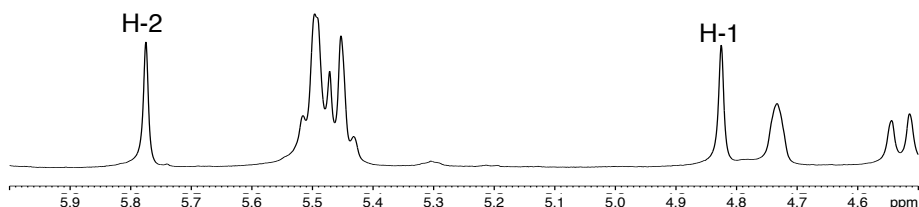


Figure 54. Zoom RMN ^1H du composé **103**.

Les signaux obtenus en analyse RMN ^{13}C montrent un changement au niveau du cycle galloyl I par rapport à celui de l'acutissimine A. La caractérisation de celui-ci s'est avérée plus difficile que dans le cas de la mongolicaïne A, car aucun proton n'est présent sur ce cycle. Cependant, les résonances de six carbones ont pu être attribuées à deux carbonyles à δ 167,7 et 163,1 ppm, deux carbonnes- sp^3 oxygénés à δ 99,2 et 86,6 ppm, et deux carbonnes insaturés doublement substitués à δ 130,2 et 139,3 ppm (Figure 55). Les déplacements chimiques de ces carbones corrèlent avec une unité de type δ -lactone hémiacétalique retrouvée dans un composé naturel isolé de *Camellia japonica* L., le camelliatannin G (**101**).¹⁹¹ Ce flavano-ellagitannin diffère par l'absence du cycle galloyl III en position 5 du sucre (Figure 56).¹⁹¹ Cependant, les corrélations en HMBC du composé **103** montrent une différence entre le cycle I de **101** et celui de **103**. En effet, le proton H-1 corrèle en ^2J avec le carbone $\text{C}_I\text{-5}'$ (δ 86,6 ppm), et en ^3J avec les carbonnes $\text{C}_I\text{-2}'$ (δ 99,2 ppm) et $\text{C}_I\text{-4}'$ (δ 139,3 ppm) (Figure 57). Ce dernier est donc situé en β de H-1 et non en ϵ (couplage en ^5J), comme sur le camelliatannin G (**101**). Le cycle galloyl I du composé **103** n'est donc que régioisomère de celui proposé par Han et *al.* pour le camelliatannin G (**101**).¹⁹¹

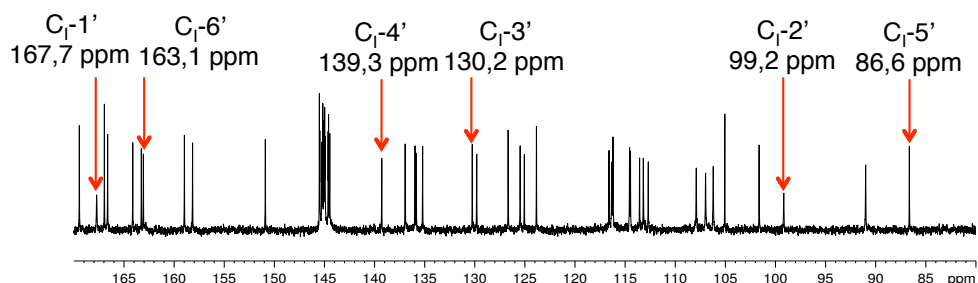


Figure 55. Zoom du spectre ^{13}C du composé **103**.

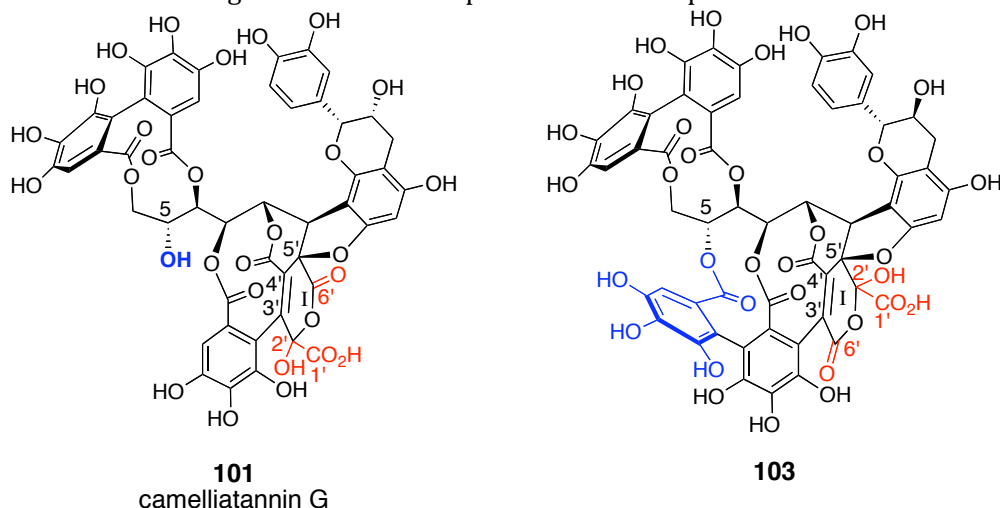
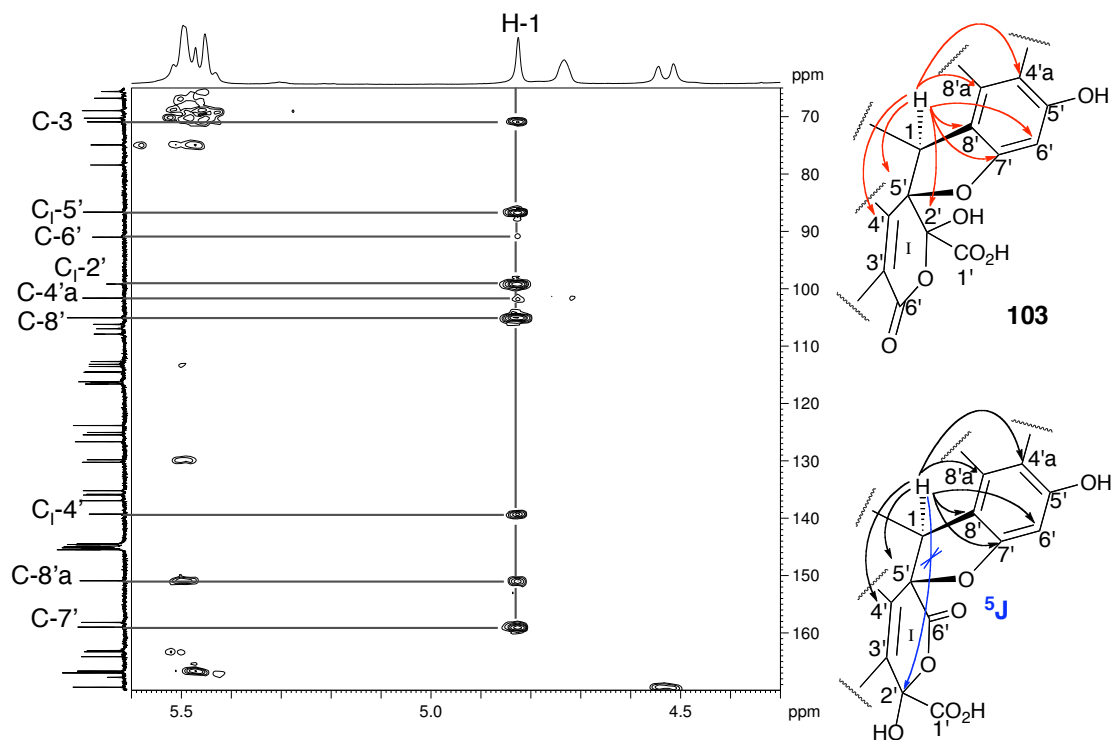


Figure 56. Structure du camelliatannin G (**101**) et du composé **103**.



b. Mécanisme de formation du composé **103**

L'oxydation du cycle galloyl I de l'acutissimine A permet la formation d'une α -hydroxy-*ortho*-quinone **A**. On peut noter que tous les autres cycles galloyls de l'acutissimine A sont certainement aussi en équilibre avec leur forme *ortho*-quinonique, obtenue aisément par oxydation. Cependant, dans le cas du cycle I, la proximité de l'unité flavanol permet une addition-1,6 nucléophile diastérosélective de l'hydroxyle OH-7 du cycle A, piégeant sélectivement l'électrophile **A**. La déhydrogénation de l'intermédiaire **B** amène à la formation d'une tricétone **C**. La partie 2,3-dicétone de **C** peut subir l'attaque du peroxyde d'hydrogène, résultant de la réduction de l'oxygène, permettant un clivage oxydatif du cycle.¹⁹⁶ L'intermédiaire **D** formé est alors composé d'un diacide et d'une cétone β,γ -éthylénique. Le cycle se referme pour former l'unité δ -lactone hémiacétalique de l'analogue du camelliatannin G **103** (Figure 58).

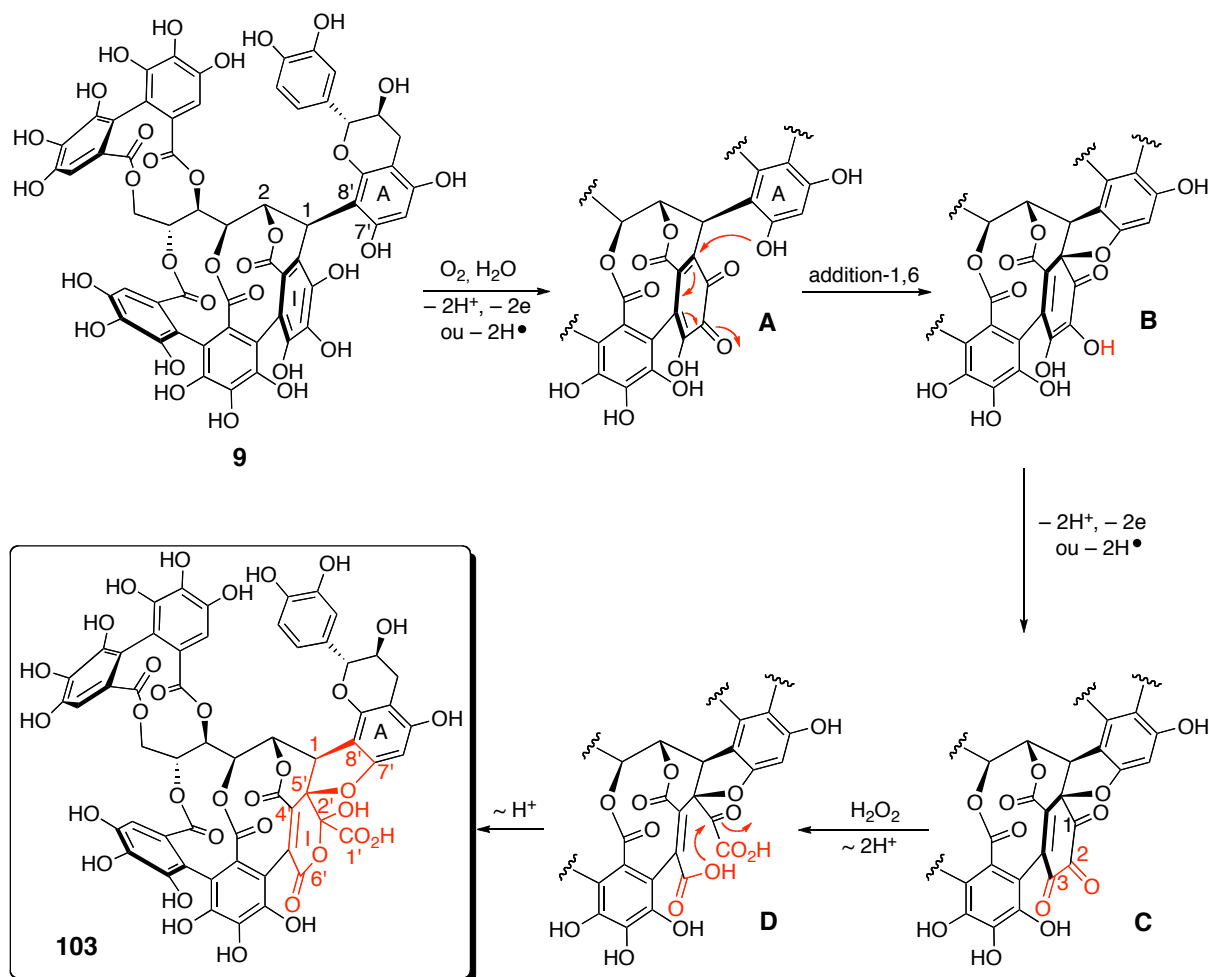


Figure 58. Mécanisme d'oxydation de l'acutissimine A (**9**) conduisant à l'analogue de camelliatannin G **103**.

Ce même mécanisme peut aussi bien amener à la formation du cycle galloyl I du même type que celui du camelliatannin G (**101**) (Figure 56). Dans ce cas, le clivage oxydatif de l'intermédiaire **C** en présence du peroxyde d'hydrogène se fait sur l'unité 1,2-dicétone (Figure 59). L'intermédiaire **E** peut ensuite cycliser pour former l'unité δ -lactone hémiacétalique **F**. Cependant, les données RMN que nous avons obtenues pour le composé **103**, notamment les corrélations en HMBC (Figure 57), confirment le clivage oxydatif sur l'unité 2,3-dicétone de l'intermédiaire **C** (Figure 58).

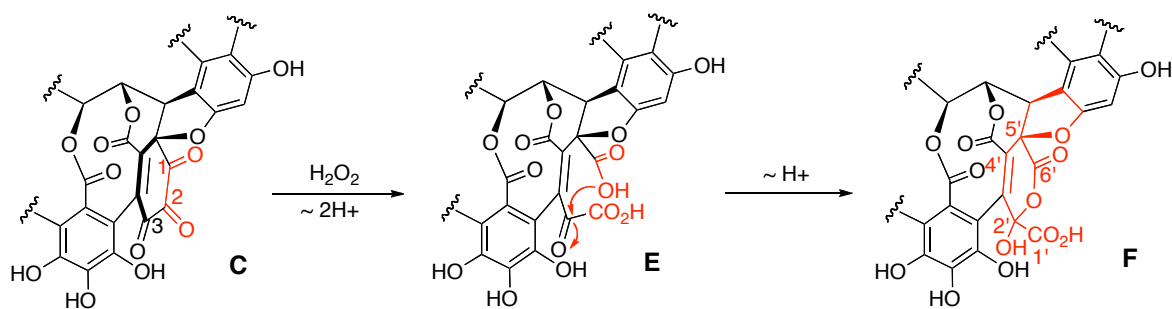


Figure 59. Mécanisme du clivage oxydatif sur l'unité 1,2-dicétone de l'intermédiaire **C** en δ -lactone hémiacétalique **F**.

III. OXYDATION DE L'ACUTISSIMINE B

1. ISOLATION DES COMPOSES 104 ET 105

Dans un second temps, nous avons étudié l'oxydation d'un deuxième flavano-ellagitannin, l'acutissimine B (**82**). Celle-ci est solubilisée dans de l'eau Milli-Q, puis laissée sous agitation à l'air ambiant à 60°C. La réaction a été suivie par CLHP analytique et par CLHP-SM (méthode 1), afin d'identifier les produits majoritaires, ainsi que leur masse moléculaire. Comme on peut le voir sur le chromatogramme CLHP (Figure 60), le milieu réactionnel est plus complexe que dans le cas de l'oxydation de l'acutissimine A. Cependant, deux composés se forment majoritairement (**104** et **105**). L'analyse par spectrométrie de masse indique un signal m/z 1177 pour le composé **104**, comme pour la mongolicaïne, et un signal m/z 1237 pour le composé **105**, comme pour l'analogue du camelliatannin G **103** isolé lors de l'oxydation de l'acutissimine A. Même après 9 jours de réaction, l'acutissimine B n'est pas totalement consommée et l'intensité de son pic n'évolue plus.

Si on compare le suivi réactionnel de l'oxydation de l'acutissimine A (Figure 50) et celui de l'acutissimine B (Figure 60), on peut remarquer que l'oxydation de l'acutissimine B est beaucoup plus lente. L'oxydation de l'acutissimine B n'est pas totale après 9 jours tandis que celle de l'acutissimine A est quasi totale au bout de 70 heures.

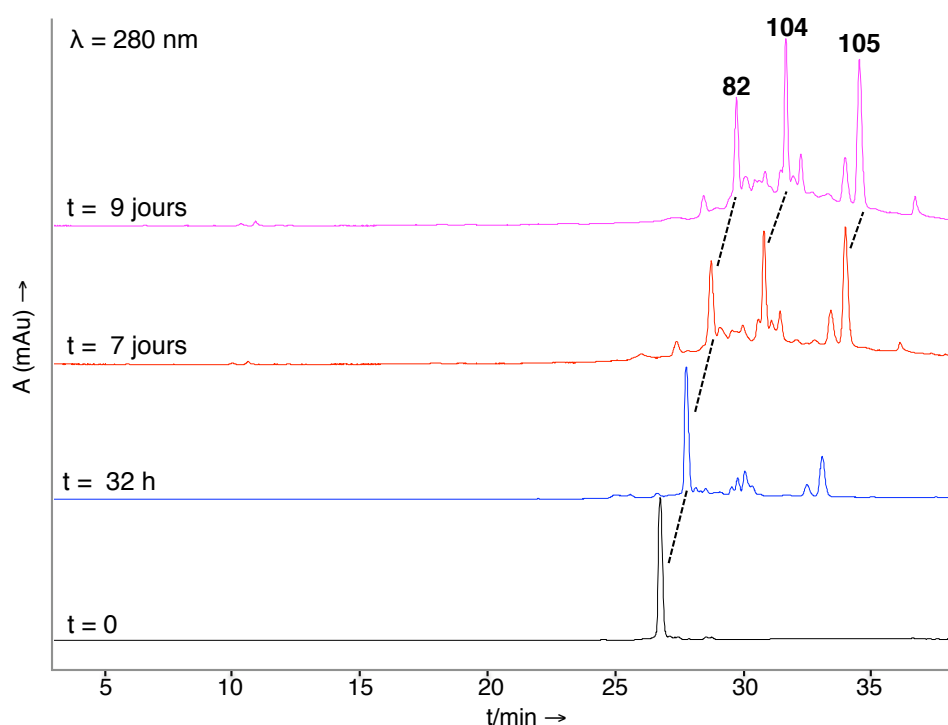


Figure 60. Chromatogramme CLHP de l'oxydation de l'acutissimine B (**82**) (méthode 1).

Afin d'isoler les composés **104** et **105**, nous avons alors décidé de réaliser la même réaction à l'échelle préparative en la stoppant après 6 jours de réaction (temps à partir duquel la consommation de l'acutissimine B n'évolue plus et le milieu se complexifie) (Figure 61). Pour

cela, l'acutissimine B est solubilisée dans de l'eau Milli-Q, puis laissée sous agitation à l'air à 60 °C pendant 6 jours. Le milieu réactionnel est ensuite lyophilisé puis, une première purification par CLHP semi-préparative est faite (méthode 3), suivie d'une seconde pour isoler chacun des deux composés d'intérêt purs (méthode 5). Les composés **104** et **105** ont chacun été isolés avec un rendement de 5 % (Figure 62). Ce faible rendement peut être expliqué par, d'une part, la complexité du milieu réactionnel et, d'autre part, la difficulté de la séparation des produits sur CLHP semi-préparative. Le composé **104** est obtenu avec une faible impureté d'après le chromatogramme CLHP obtenu après purification (Figure 63), non visible lors des analyses par RMN et SM. Le composé **105** est isolé pur d'après les résultats obtenus par CLHP (Figure 64), par RMN et par SM.

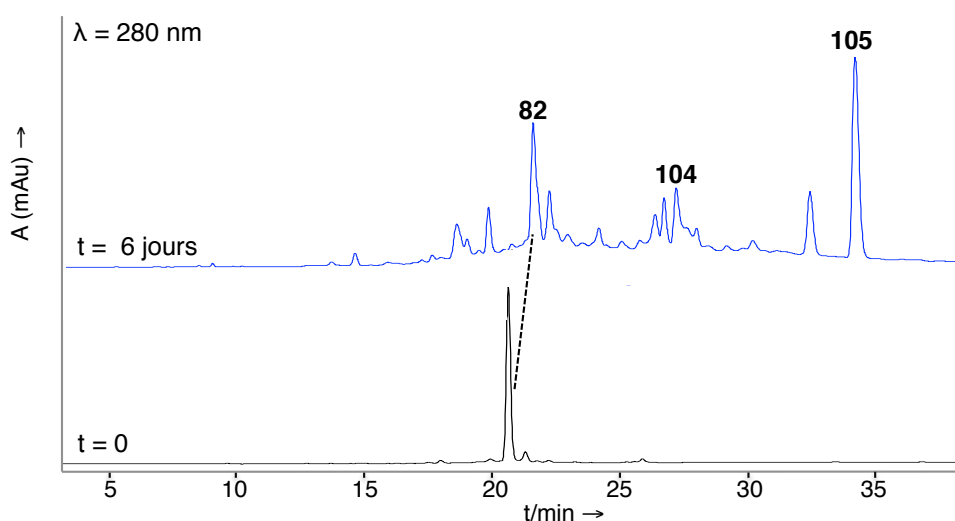


Figure 61. Chromatogramme CLHP de l'oxydation de l'acutissimine B (**82**) (méthode 4).

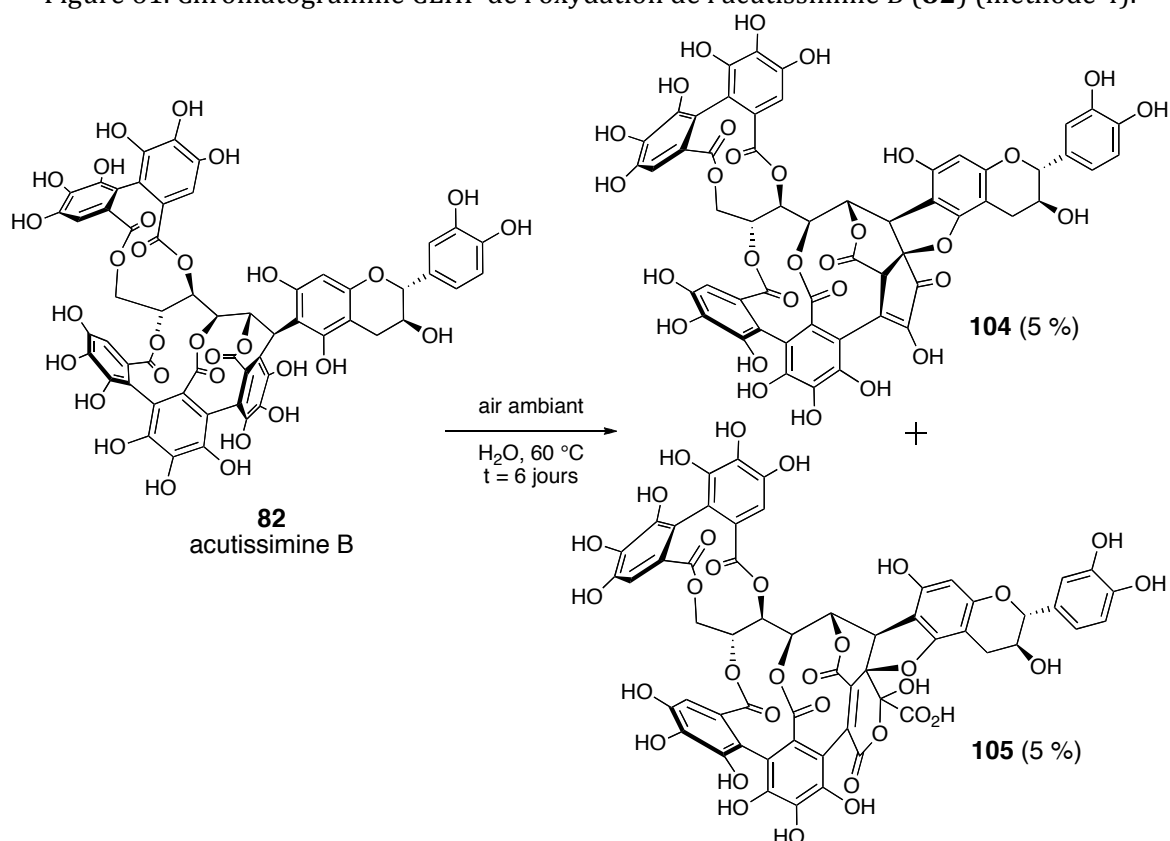


Figure 62. Oxydation de l'acutissimine B en composés **104** et **105**.

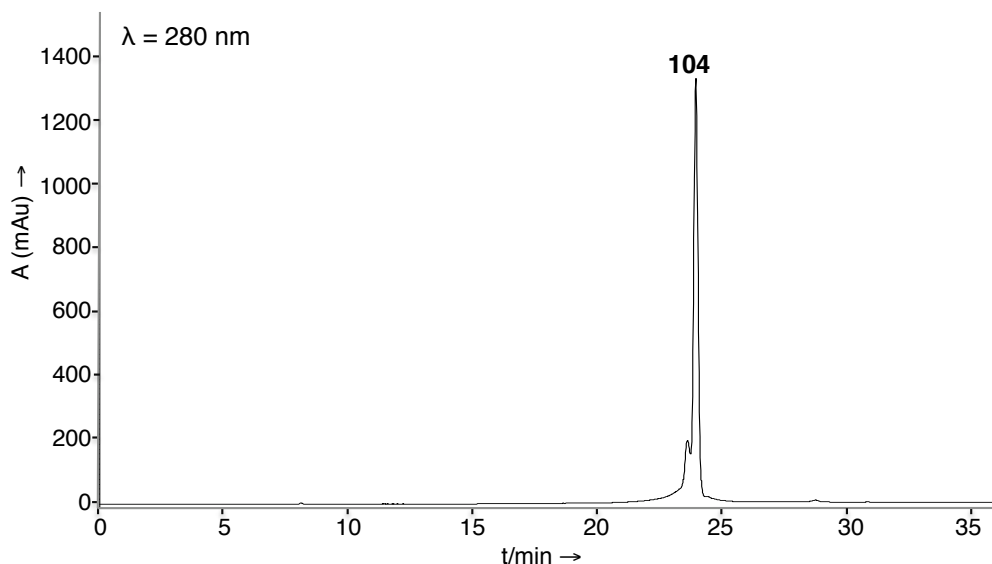


Figure 63. Chromatogramme CLHP du composé **104** après purification par CLHP semi-préparative (méthode 4).

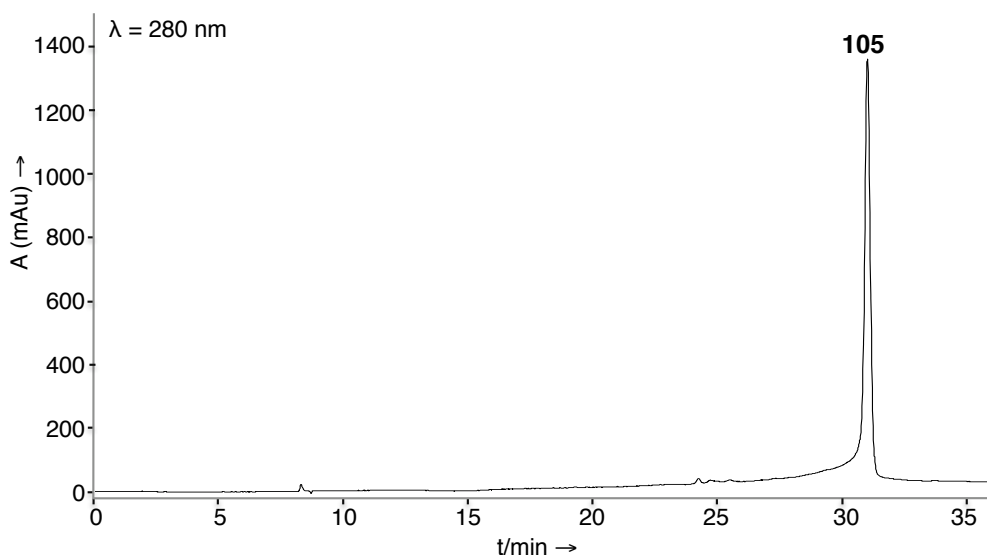


Figure 64. Chromatogramme CLHP du composé **105** après purification par CLHP semi-préparative (méthode 4).

2. IDENTIFICATION DU COMPOSE **104**

a. Caractérisation du composé **104**

La caractérisation du composé **104** a été réalisée par analyse RMN. Les signaux caractéristiques de l'acutissimine B (**82**) ont été retrouvés sur les spectres RMN ^1H et ^{13}C du composé **104**.²⁴ Parmi eux, l'observation par HMBC d'une corrélation entre le proton glucosidique H-1 et le carbone C-4'a de la partie catéchine prouve la conservation de la liaison vescalagine-catéchine par le sommet 6' (Figure 67), tandis que la faible constante de couplage entre les protons H-1 et H-2 ($J < 1$ Hz), qui apparaissent comme des singulets en RMN ^1H , confirme que la réaction d'oxydation a conservé l'orientation β de cette liaison (Figure 65).¹⁸⁵

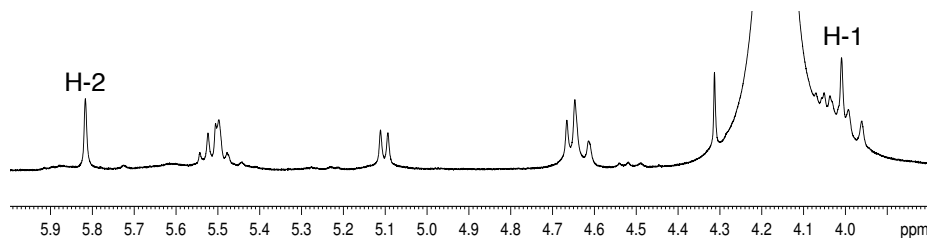


Figure 65. Zoom RMN ^1H du composé **104**.

Comme dans le cas de la mongolicaïne A,¹⁹⁵ on observe un changement des signaux au niveau du cycle galloyl I, qui est sous forme d'une cyclopentenone. Sur le spectre RMN ^{13}C , l'apparition de cinq nouvelles résonances est observée, qui ont été assignées à une cétone α,β -insaturée à δ 196.8 ppm, à deux carbones insaturés à δ 149.0 et 140.2 ppm, à un carbone- sp^3 oxygéné à δ 89.1 ppm, et à un carbone- sp^3 lié à un atome d'hydrogène à δ 50.5 ppm (Figure 66). Les corrélations obtenues en HMBC entre le proton H-1 (δ 4,01 ppm) de la chaîne glucose et trois carbones du cycle I nous permet d'identifier les carbones $\text{C}_{\text{I}-1'}$ (δ 50,5 ppm), $\text{C}_{\text{I}-4'}$ (δ 196,8 ppm) et $\text{C}_{\text{I}-5'}$ (δ 89,1 ppm) (Figure 67). Un nouveau signal est également observé en RMN ^1H à δ 4,31 ppm, corrélant en HSQC avec le carbone $\text{C}_{\text{I}-1'}$ (δ 50,5 ppm) et, en HMBC, avec les quatre autres carbones du cycle I, $\text{C}_{\text{I}-2'}$ (δ 140,2 ppm), $\text{C}_{\text{I}-3'}$ (δ 149,0 ppm), $\text{C}_{\text{I}-4'}$ (δ 196,8 ppm) et $\text{C}_{\text{I}-5'}$ (δ 89,1 ppm) (Figure 67). L'attribution de ces cinq carbones et de ce proton nous permet d'identifier la structure du composé **104** comme étant celle proposée ci-dessous (Figure 67).

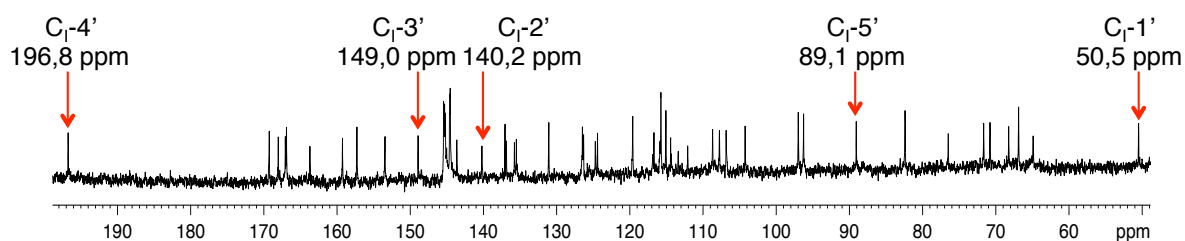


Figure 66. Zoom du spectre ^{13}C du composé **104**.

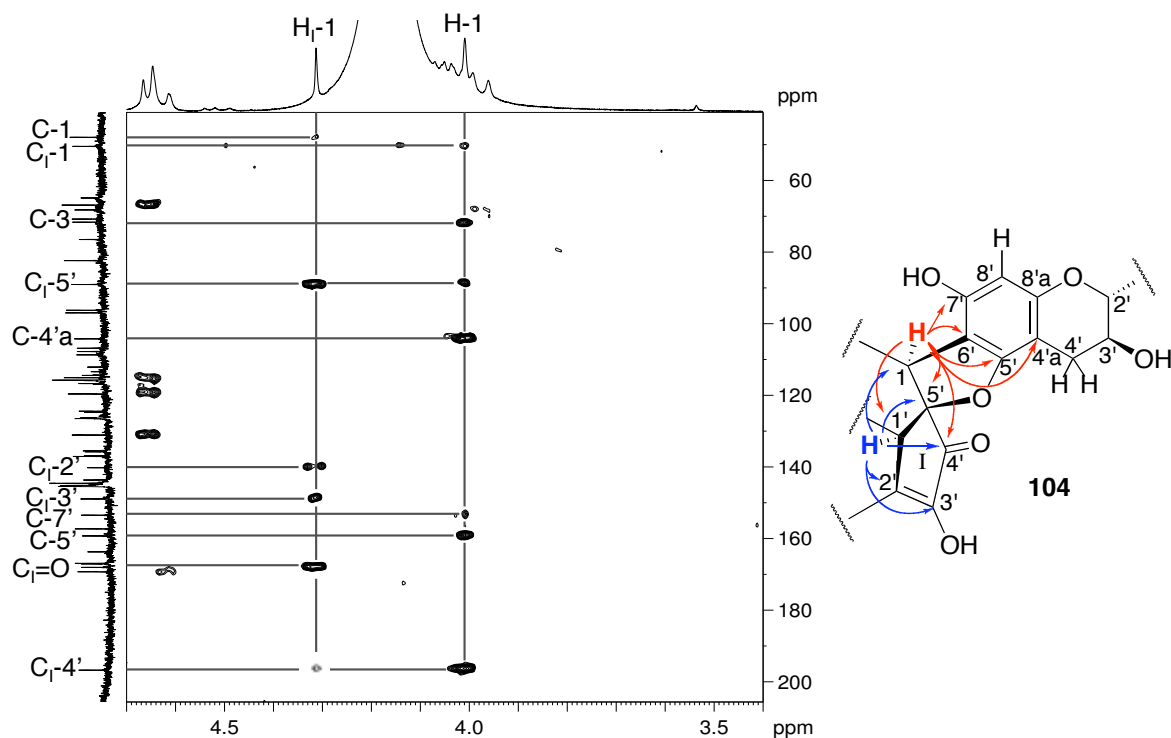


Figure 67. Zoom du spectre HMBC du composé **104**.

b. Mécanisme de formation du composé **104**

Le mécanisme proposé pour l'oxydation de l'acutissimine B en composé **104** est similaire à celui amenant à la formation de la mongolicaïne A à partir de l'oxydation de l'acutissimine A.¹⁹⁵ Un motif *o,m*-hydroxyphenylcyclopenténone (HPCP) est formé à partir du cycle I de l'unité vescalagine et du cycle A de l'unité catéchine (Figure 68). La réaction commence par une déhydrogénation du cycle galloyl I pour former l' α -hydroxy-*ortho*-quinone **G**, qui va subir une addition-1,6 nucléophile diastéréosélective du groupement hydroxyle OH-5' du cycle A de la partie catéchine pour former l'intermédiaire **H**. Le tautomérisation amène à la 1,2-dicétone **H'**, qui peut ensuite être attaquée par une molécule d'eau au niveau du groupe carbonyle a priori le plus électrophile. L'hydrate résultant **I** peut subir une contraction de cycle pour former le cyclopenténole **J**, qui par tautomérisation forme l'acide α -céto-carboxylique **J'**. La décarboxylation de celui-ci amène au enediol **K**, qui va être déhydrogéné en 1,2-dicétone **L**. Une dernière tautomérisation conduit au composé **104**.

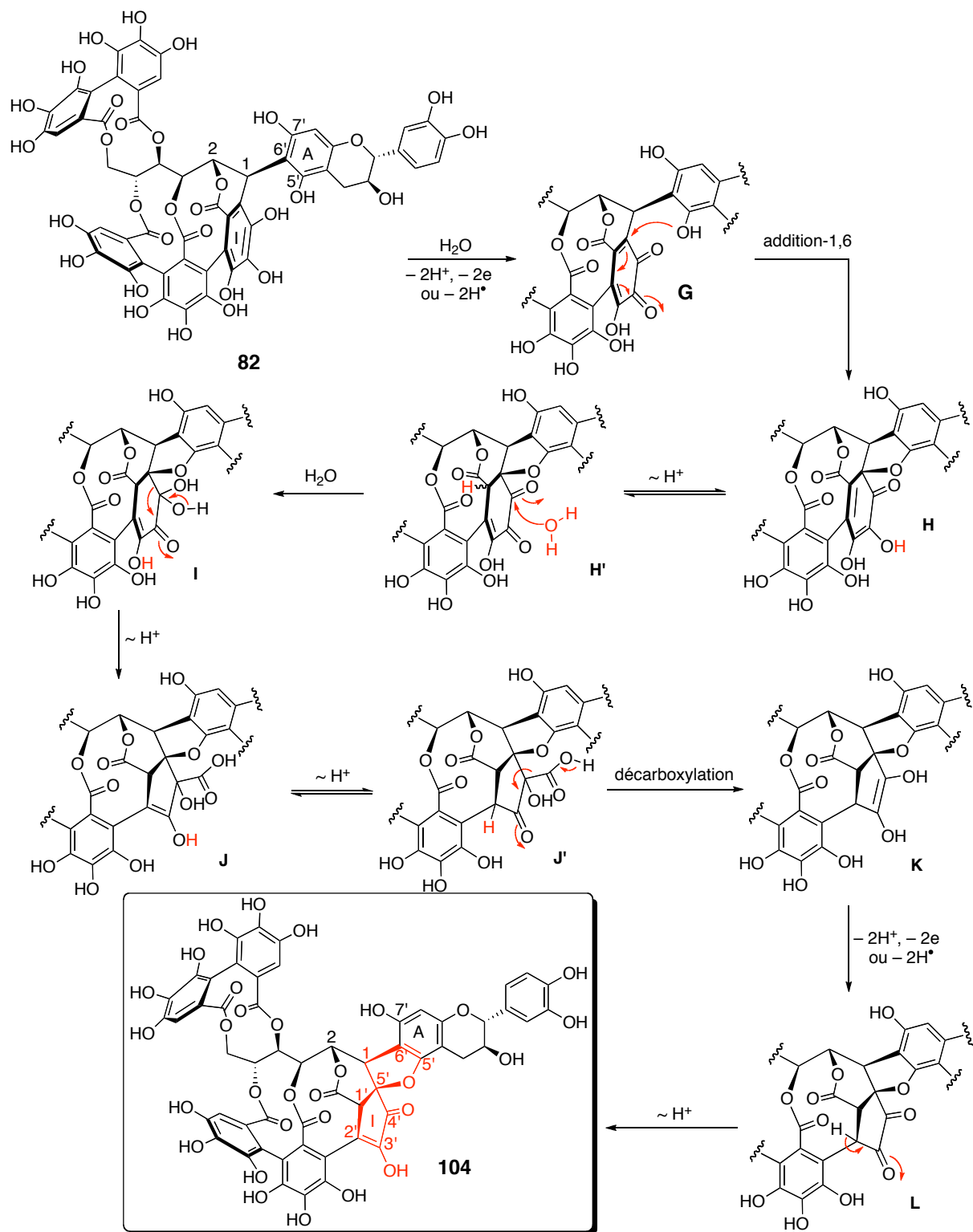
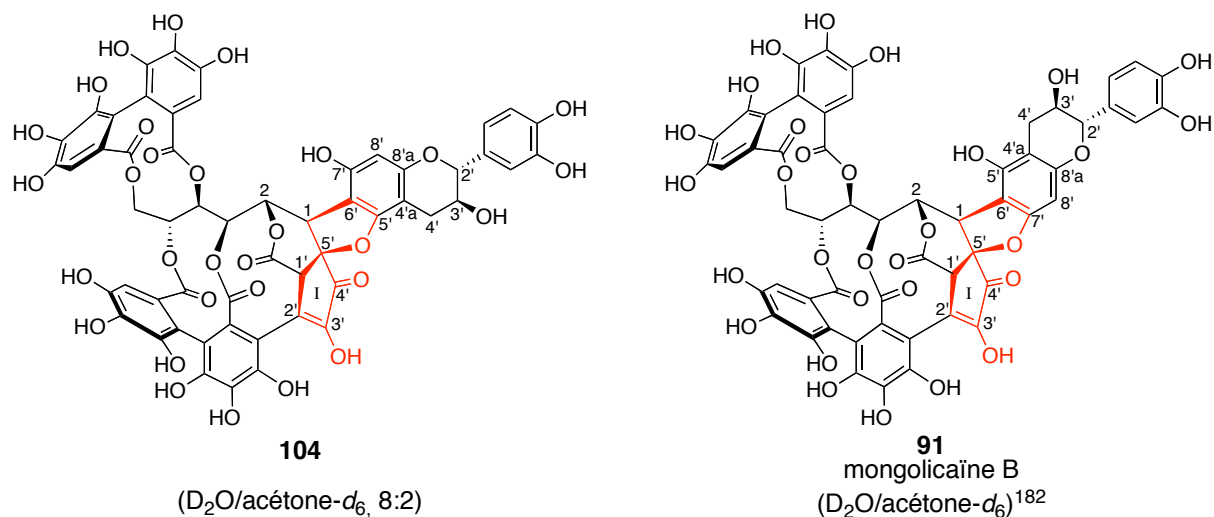


Figure 68. Mécanisme d'autoxydation de l'acutissimine B (**82**) en composé **104**.

c. Comparaison avec les résultats de la littérature

Les spectres RMN obtenus pour le composé **104** ont été comparés aux résultats obtenus par Nonaka *et al.* pour la mongolicaïne B (**91**) isolée des espèces *Quercus* et *Castanopsis* (Figure 69).¹⁸⁸ Des différences ont été trouvées au niveau de l'attribution de certains carbones, notamment au niveau de la position de l'éther cyclique, se trouvant en position 7' dans leur cas, comme pour la mongolicaïne A, et en position 5' dans notre cas.



		104 (δ , ppm)	Mongolicaïne B (91) (δ , ppm)
Glucose	1	47,9	48,1
	2	76,5	76,8
Cycle I	1'	50,1	50,7
	2'	140,2	140,1
	3'	149,0	149,2
	4'	196,8	196,0
	5'	89,1	89,3
Catéchine	2'	82,4	82,7
	3'	66,9	67,2
	4'	27,5	27,6
	4'a	104,3	96,5
	5'	159,3	157,5
	6'	96,3	104,5
	7'	153,4	159,5
	8'	97,0	97,2
	8'a	157,3	153,6

Figure 69. Comparaison des déplacements chimiques obtenus en RMN ¹³C de la mongolicaïne B (**91**)¹⁸⁸ et du composé **104**.

Dans le cas de l'acutissimine A (**9**), liaison vescalagine-catéchine par le sommet 8', un seul groupement hydroxyle est présent en α de la position 8', le OH-7', donc la formation de l'éther cyclique de la mongolicaïne A (**90**) ne peut se faire qu'avec le sommet 7'. Par contre, dans le cas de l'acutissimine B, liaison vescalagine-catéchine par le sommet 6', deux groupements

hydroxyles sont présents, en positions 5' et 7' (Figure 70). Il y a donc deux possibilités pour la formation de l'éther cyclique, soit l'attaque du groupement hydroxyle en 5', formant le composé **104** que nous avons isolé, soit par celui en position 7', amenant à la structure de la mongolicaïne B proposée par Nonaka et *al.*¹⁸⁸. Les données RMN que nous avons obtenues pour le composé **104** indiquent la formation de l'éther sur le sommet 5'. En effet, le carbone 5' a été identifié premièrement, par son déplacement chimique à δ 159,3 ppm, en accord avec la résonance d'un carbone situé en α d'un éther cyclique, et, deuxièmement, par son couplage en HMBC avec les protons H-4' de l'unité catéchine (δ 2,54 et 2,82 ppm) (Figure 71). Le carbone C-7', plus blindé (δ 153,4 ppm), corrèle en HMBC avec le proton H-8' (δ 6,15 ppm) (Figure 72). Tous ces résultats confirment la structure proposée pour le composé **104** mais, cela soulève une interrogation sur la validité de la structure proposée par Nonaka et *al.* pour la mongolicaïne B (**91**).

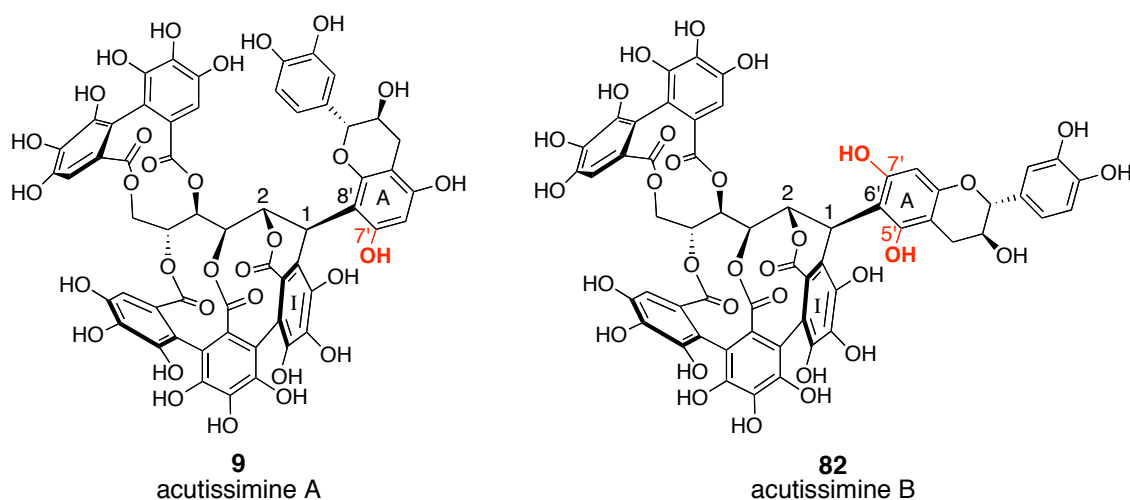


Figure 70. Comparaison structurale des acutissimines A et B.

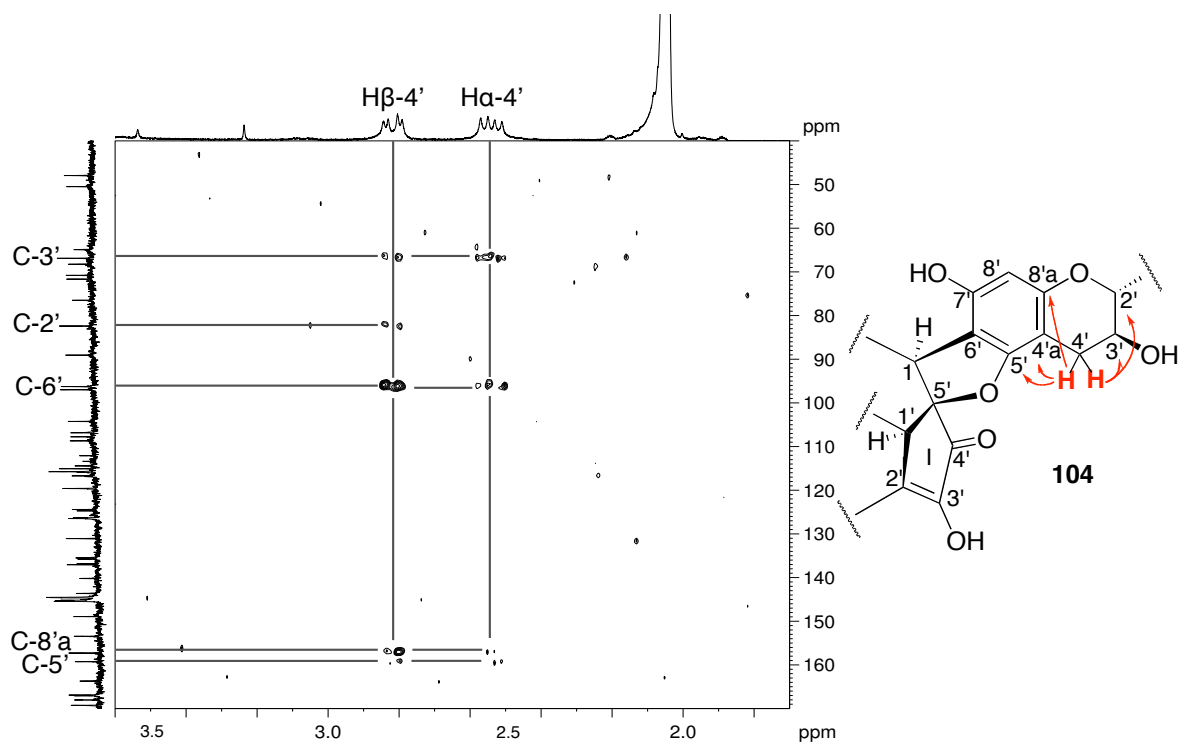


Figure 71. Zoom HMBC du composé **104** montrant les corrélations H-4'/carbones.

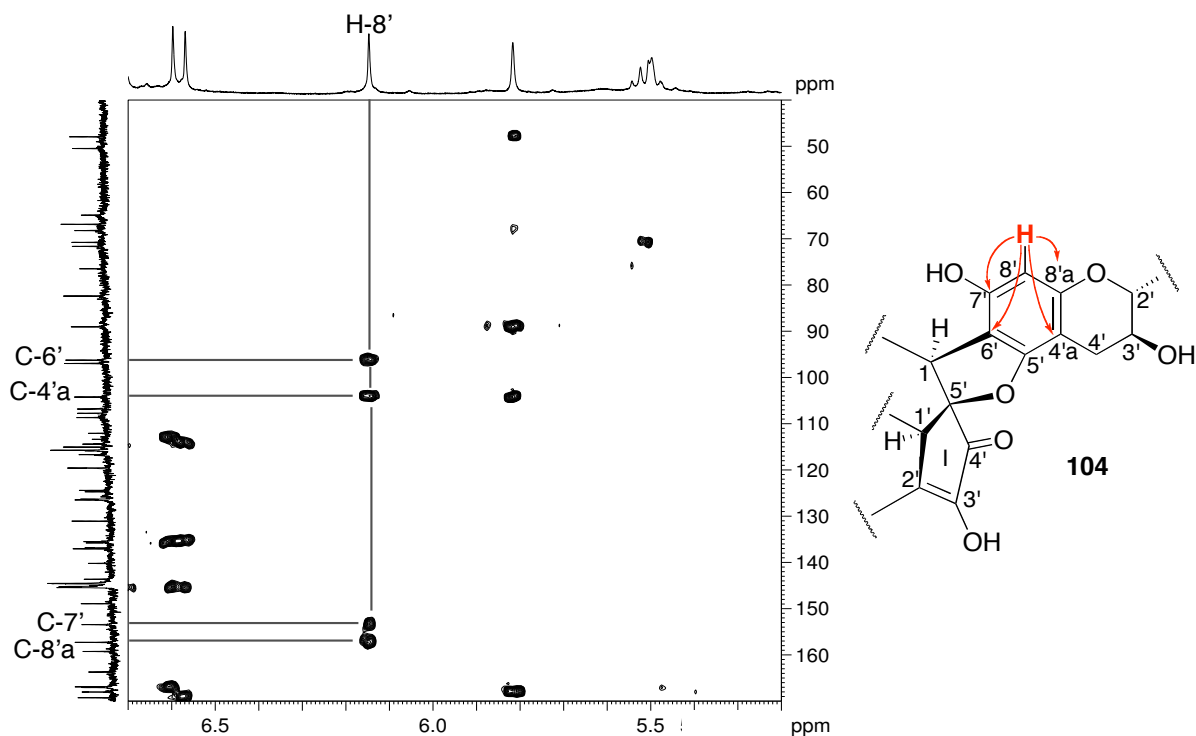


Figure 72. Zoom HMBC du composé **104** montrant les corrélations H-8'/carbones.

D'autres composés naturels, possédant une unité HPCP et une liaison vescalagine-flavanol sur le sommet 6' comme la mongolicaïne B, ont été isolés. Par exemple, la psidinine B (**93**), isolée de *Psidium guajava* L., possède une unité flavanol de type gallocatéchine.¹⁸⁹ La liaison éther entre le cycle I et l'unité flavanol se trouve au niveau de la position 7' du cycle A, comme dans le cas de la mongolicaïne B proposée par Nonaka et *al.* (Figure 73).¹⁸⁸ Cependant la caractérisation de ce produit a été faite d'après les résultats obtenus par Nonaka et *al.* pour la mongolicaïne B (**92**).¹⁸⁸ Un autre exemple de composé naturel, la malabathrine F (**96**), isolée de *Melastoma malabathricum* L., possède une unité épicatechine.¹⁹⁰ Ce composé possède une liaison éther entre le cycle I et le sommet 5' de l'unité flavanol, comme pour le composé **104** que nous avons isolé. Cette liaison a été confirmée par RMN ¹³C puisqu'ils observent un déblindage du carbone C-4a', situé en α de C-5', caractéristique de la formation de la liaison éther en C-5'. Ces résultats sont en accord avec la structure de la mongolicaïne B que nous proposons (**104**) (Figure 73).

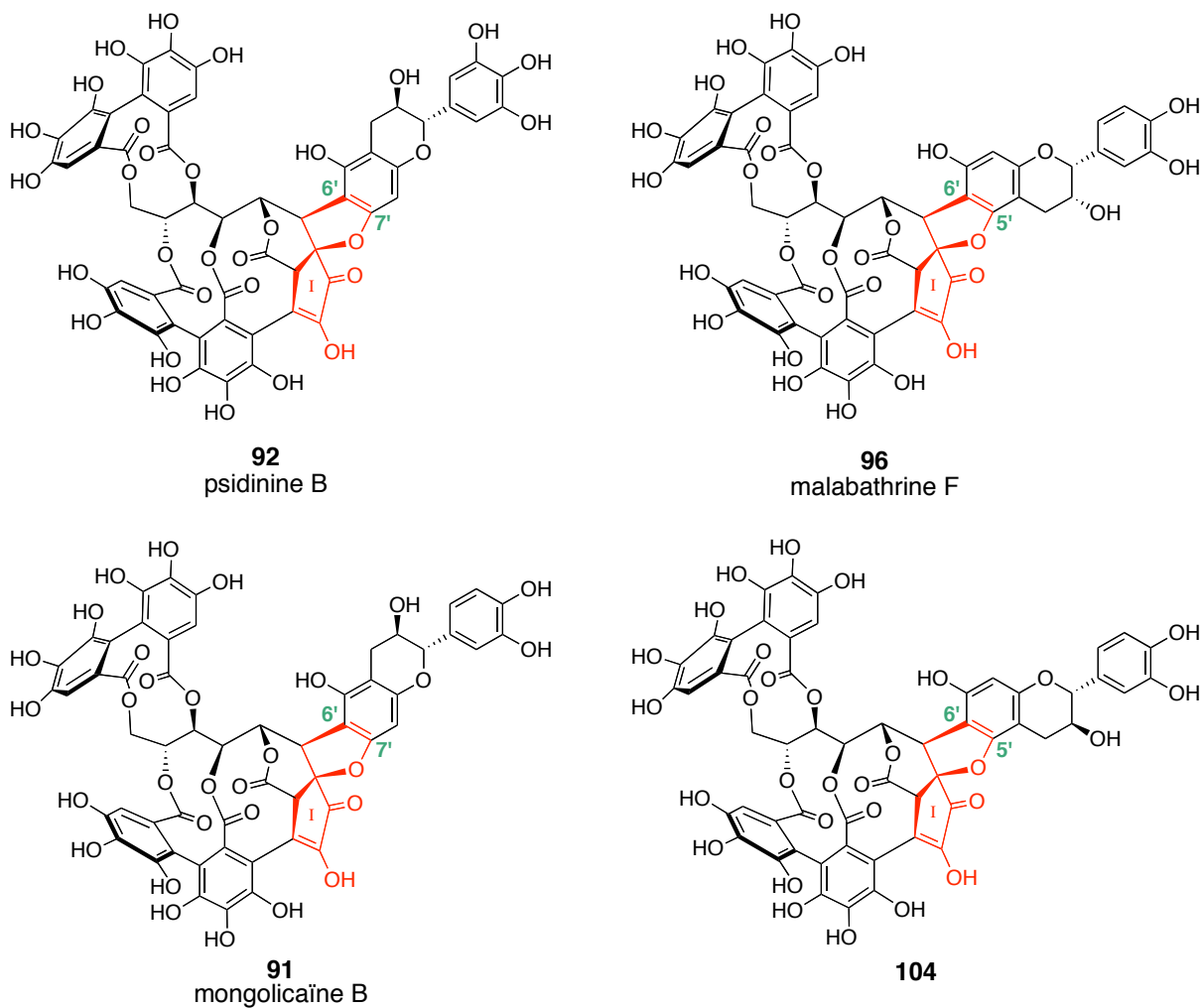


Figure 73. Structure de la psidinine B, la malabathrine F et du composé **104**.

3. IDENTIFICATION DU COMPOSE **105**

a. Caractérisation du composé **105**

La caractérisation du composé **105** a également été réalisée par RMN. Les signaux ^1H et ^{13}C caractéristiques de l'acutissimine B (**82**) ont bien été retrouvés ainsi que la liaison vescalagine-catéchine par le sommet 6' et l'orientation β de cette liaison.^{24, 185}

Comme pour les composés précédents, un changement est observé au niveau du cycle galloyl I de la partie vescalagine. L'absence de signaux en RMN ^1H au niveau du cycle I rend la caractérisation de ce composé plus complexe. Cependant, les résonances de six carbones ont pu être attribuées à deux carbonyles à δ 168,3 et 163,7-163,1 ppm, deux carbones- sp^3 oxygénés à δ 97,2 et 86,6 ppm, et deux carbones insaturés doublement substitués à δ 130,0 et 140,4 ppm (Figure 74), comme dans le cas de l'analogue du camelliatannin G **103** isolé précédemment. Les déplacements chimiques de ces carbones ainsi que les corrélations obtenues en HMBC entre le proton glucosidique H-1 et les carbones $\text{C}_1\text{-2}'$ (δ 97,2 ppm), $\text{C}_1\text{-4}'$ (δ 140,4 ppm) et $\text{C}_1\text{-5}'$ (δ 86,6 ppm) (Figure 75), corroborent avec la présence d'une unité δ -lactone hémiacétalique comme dans le cas du composé **103**. Le composé **105** est donc aussi un analogue du camelliatannin G.

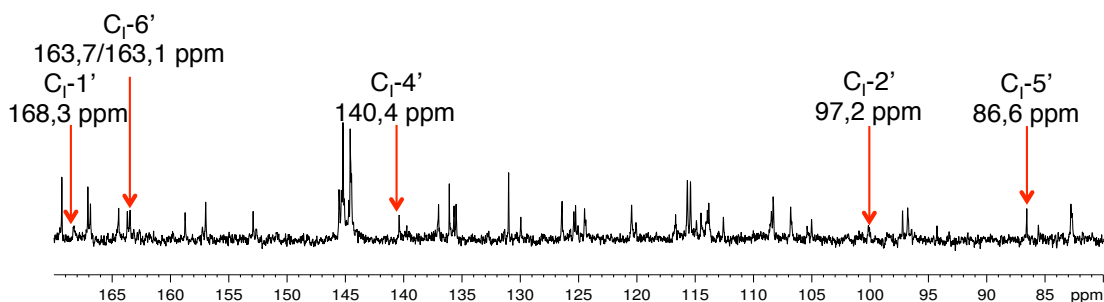


Figure 74. Zoom du spectre ^{13}C du composé **105**.

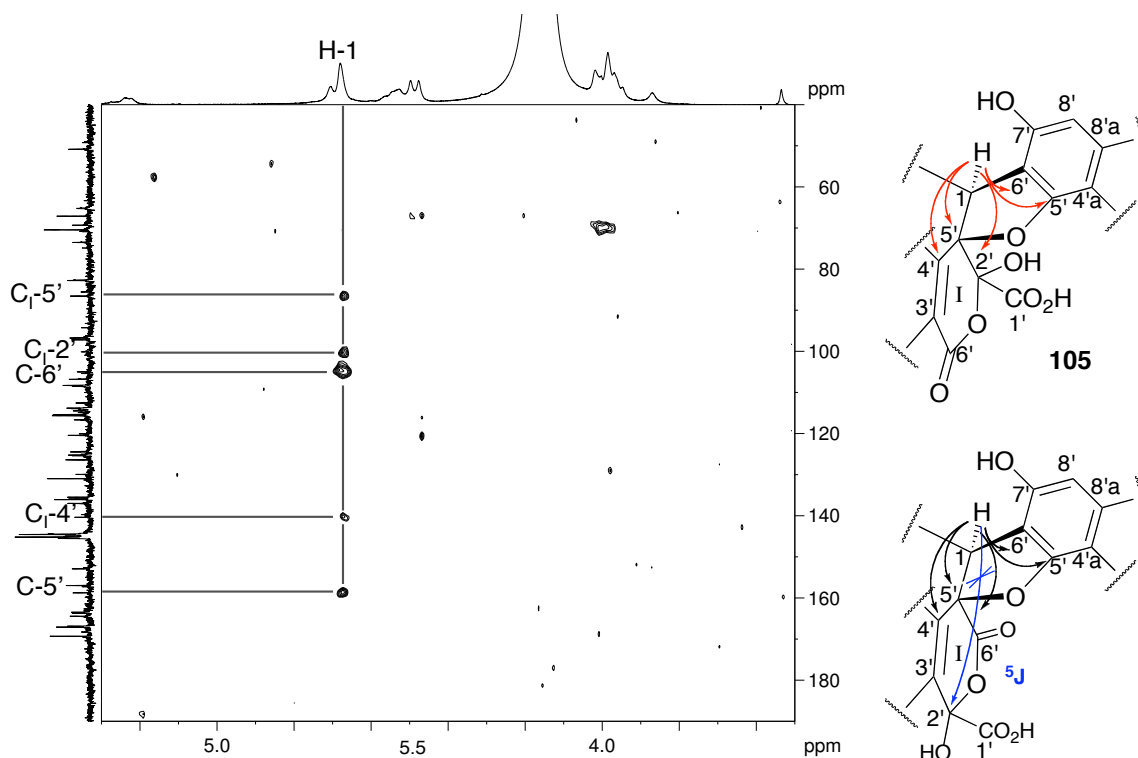


Figure 75. Zoom HMBC du composé **105** montrant les corrélations avec le proton H-1.

b. Mécanisme de formation du composé **105**

Le mécanisme de formation de l'analogue du camelliatannin G **105** à partir de l'acutissimine B est le même que celui du composé **103** formé par oxydation de l'acutissimine A (Figure 58). Par contre, dans ce cas, l'addition-1,6 se fait comme dans le cas de la formation du composé **104**, au niveau du groupement hydroxyle OH-5' du cycle A de la catéchine et non au niveau du OH-7' (Figure 76). D'ailleurs, on peut remarquer que les mécanismes d'oxydation de l'acutissimine B amenant à la formation des composés **104** et **105** ont un intermédiaire commun **H**, qui est oxydé soit en *ortho*-quinone dans le cas du composé **104**, soit en tricétone dans le cas du composé **105**.

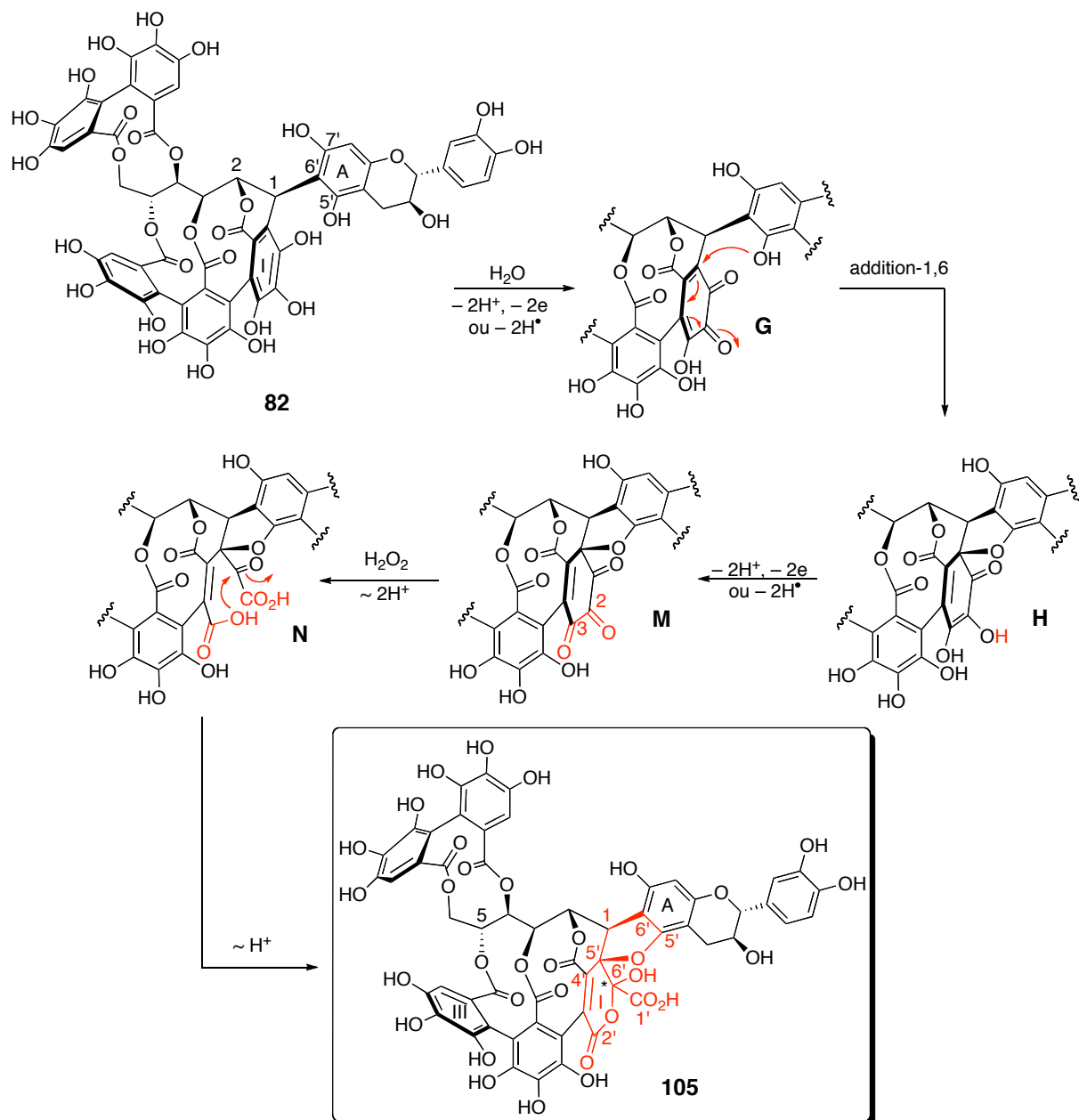


Figure 76. Mécanisme d'oxydation de l'acutissimine B (**82**) conduisant à l'analogue du camelliatannin G **105**.

IV. CONCLUSION

Lors du vieillissement en fût de chêne, des composés, comme les ellagitannins, sont extraits du bois par le vin. Des réactions vont ensuite se produire entre ces composés et les molécules présentes initialement dans le vin, formant de nouvelles molécules susceptibles de subir elles aussi des transformations chimiques.

La condensation de la vescalagine (**8**) et de la catéchine (**10**) amène à la formation de deux flavano-ellagitannins, les acutissimines A (**9**) et B (**82**). Lors de cette étude, nous avons montré que l'oxydation de chacun des deux produits de condensation conduit majoritairement à deux produits : un possédant une unité HPCP, la mongolicaïne A (**90**) ou le composé **104** et, un avec une unité δ -lactone hémiacétalique, l'analogue du camelliatannin G **103** ou **105** (Figure 77 et Figure 78). Cependant, le comportement de ces deux régioisomères en condition oxydante n'est pas le même car on a pu constater que la réaction d'oxydation de l'acutissimine A est plus rapide, moins complexe et quasi totale, ce qui n'est pas le cas de l'oxydation de l'acutissimine B.

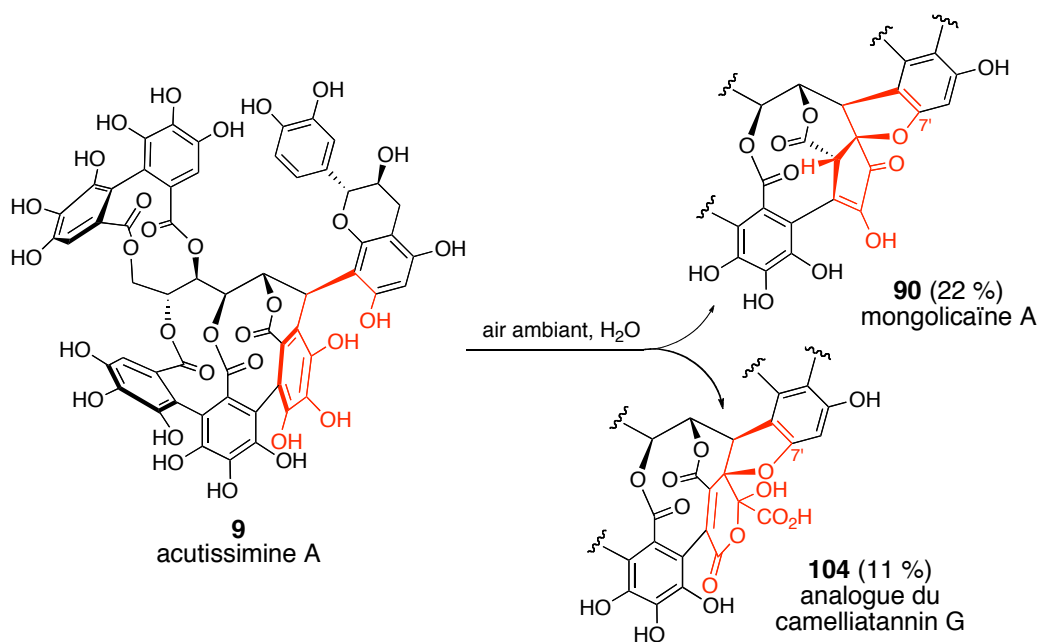


Figure 77. Oxydation de l'acutissimine A (**9**) en mongolicaïne A (**90**) et en analogue du camelliatannin G **104**.

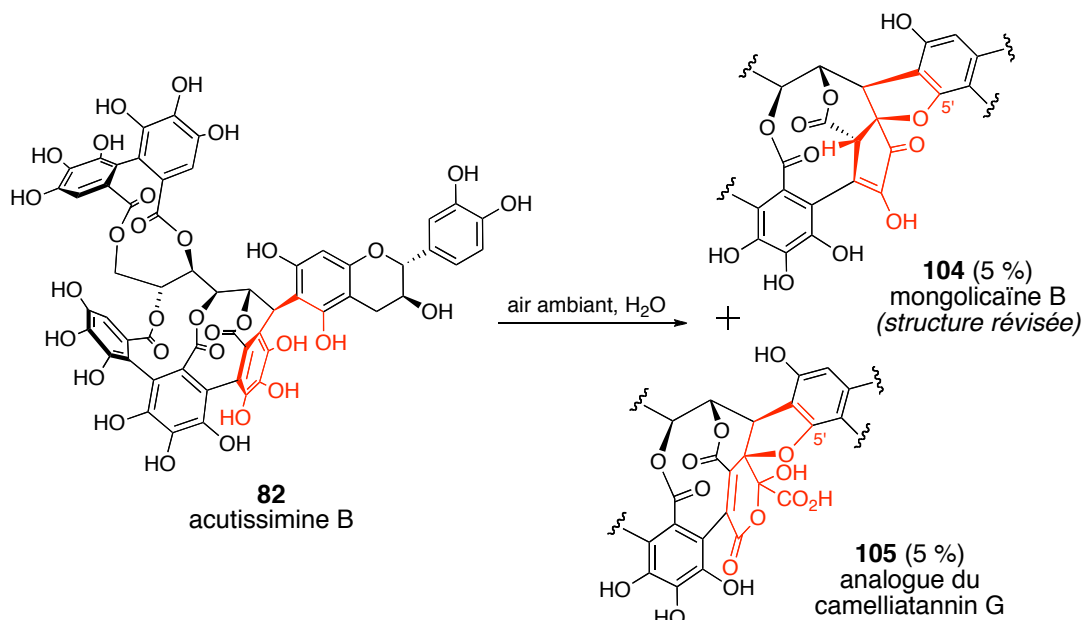


Figure 78. Oxydation de l'acutissimine B (**82**) en composés **104** et **105**.

Comme nous l'avons évoqué précédemment, un noyau catéchol ou galloyl est facilement oxydable en *ortho*-quinone ou α -hydroxy-*ortho*-quinone (cf. Chapitre I. II.1). Lorsque la vescalagine est en solution oxydante (O_2), tous les cycles galloyls sont donc susceptibles de s'oxyder, et chaque galloyl peut donc exister sous la forme réduite phénolique ou sous une forme oxydée, comme une α -hydroxy-*ortho*-quinone ou une semiquinone. Le même phénomène doit se produire pour les acutissimines A et B, auquel vient s'ajouter l'oxydation du cycle B, noyau catéchol, de la partie catéchine.

Malgré la grande réactivité de ces *ortho*-quinones susceptibles de se former lors de l'oxydation des acutissimines, seuls deux produits majoritaires sont observés. La sélectivité de cette réaction s'explique par le piégeage du cycle galloyl I sous sa forme *ortho*-quinonique, par attaque nucléophile du groupement hydroxyle OH-5' du cycle A de la catéchine, dans le cas de la série B, ou OH-7', dans le cas de la série A. La déhydrogénation du cycle galloyl I en *ortho*-quinone et l'attaque intramoléculaire sont donc deux étapes clés dans la formation des composés **90**, **103**, **104** et **105**. L'intermédiaire obtenu, **B** pour la série A ou **H** pour la série B, est un intermédiaire commun aux deux composés majoritairement formés (**90** et **103** ou **104** et **105**). Une autre étape clé mise en jeu lors de la formation des analogues de camelliatannin G, est le clivage oxydatif de la dicétone, puisqu'il définit la régiochimie de l'unité δ -lactone hémiacétalique formée (Figure 79).

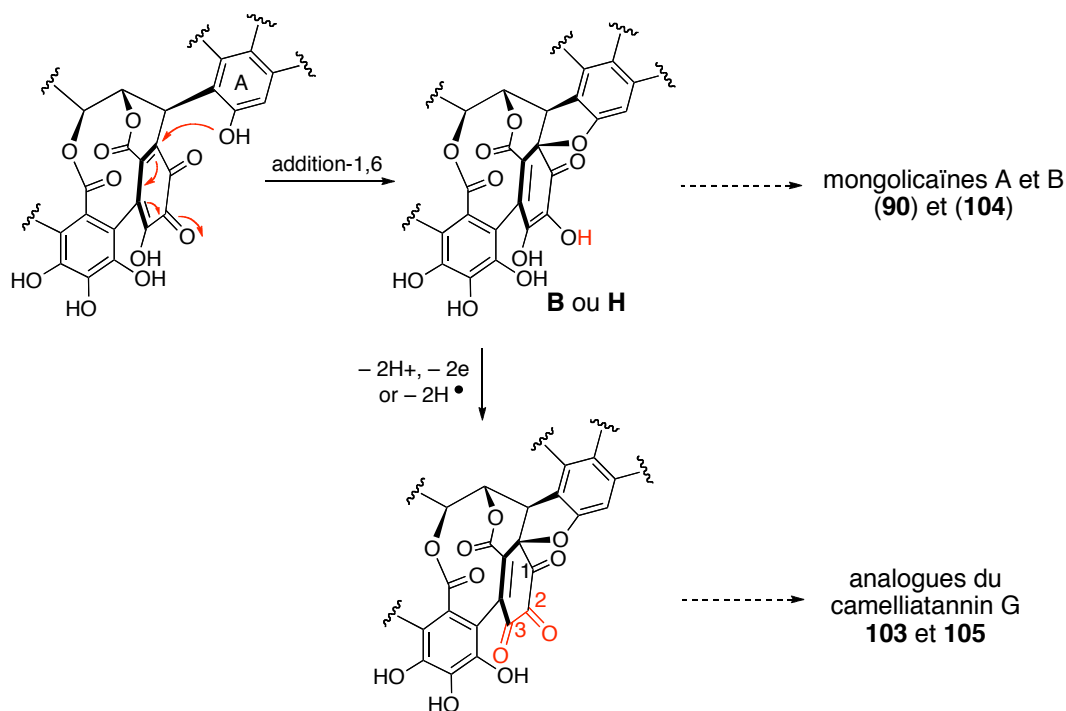


Figure 79. Etapes clés du mécanisme de formation des composés **90**, **103-105**.

Au cours de l'élevage du vin en fût de chêne, ces produits d'oxydation sont donc à même de se former par oxydation ménagée. En effet, l'efficacité et la rapidité de l'oxydation phénolique des acutissimines A et B peut paraître étonnante car la déhydrogénation des unités catéchols ou pyrogallols en présence d'oxygène triplet est considérée comme un processus lent (« spin-interdite »).¹⁶² Cependant, cette réaction peut être activée en présence de métaux de transition (Fe^{3+}/Fe^{2+} , Cu^{2+}/Cu^+) ou par autoxydation initiée par des traces de ces métaux de transitions, par la lumière, ou par la présence de phénolates avec lesquels l'oxygène peut réagir rapidement (cf. Chapitre I. II.3).

Chapitre III

Influence des polyphénols sur des composés soufrés odorants du vin



CHAPITRE III : Influence des polyphénols sur des composés soufrés odorants du vin

Les tannins du vin influencent les qualités organoleptiques des vins, qui évoluent tout au long des étapes de vinification. Parmi elles, on retrouve l'arôme, qui est le résultat de la combinaison de plusieurs composés odorants (cf. Chapitre I. I.4.). Dans ce chapitre, nous montrerons que certains polyphénols du vin, comme les flavan-3-ols et les pyrogallols, ont notamment une influence sur les composés soufrés odorants. Pour cela, deux voies ont été étudiées : l'hémisynthèse de thio-ellagitannins à partir de la vescalagine en condition acide et la formation d'adduits en condition oxydante entre des polyphénols possédant une unité catéchol ou pyrogallol, et des arômes volatils soufrés présents dans le vin.

Pour cette étude, nous avons sélectionné deux thiols volatils d'intérêt de par leur impact sur l'arôme des vins et leur réactivité chimique: le 2-furanmethanethiol ou 2-FMT (**52**), apportant un arôme de café grillé dans les vins fermentés ou élevés en fût de chêne,^{94, 97, 99-100} et le 3-sulfanylhexan-1-ol ou 3-SH (**48**), contribuant à une note fruitée dans les vins jeunes^{89, 92, 94-95} (cf. Chapitre I. I.4.b.) (Figure 80).

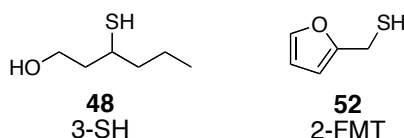


Figure 80. Structures du 3-SH et du 2-FMT.

I. HEMISYNTHESE DE THIO-ELLAGITANNINS

Depuis plusieurs années, notre équipe a mis en évidence la réactivité d'un ellagitannin *C*-glucosidique, la vescalagine, en condition acide en présence de nucléophiles du vin. Plusieurs nouveaux composés ont pu ainsi être synthétisés et caractérisés, comme les anthocyano-ellagitannins, les flavano-ellagitannins, et bien d'autres (cf. Chapitre I. IV.2). Les deux thiols d'intérêt choisis pour cette étude ont la particularité d'être des composés nucléophiles de par la présence du groupement thiol. Nous avons donc étudié la formation de thio-ellagitannins en condition acide entre les deux composés soufrés choisis et la vescalagine.

1. CAS DU 2-FURANMETHANETHIOL (2-FMT)

a. Hémisynthèse de la vescalagine-2-FMT

La vescalagine (**8**) et le 2-FMT (**52**) sont mis en solution dans du THF acidifié avec 1 % de TFA, puis le milieu est mis sous agitation à reflux pendant 15 heures. La réaction est suivie par CLHP analytique (méthode 6). Comme on peut le voir sur le chromatogramme de la Figure 81, la

vescalagine est totalement consommée après 15 heures et un seul produit est formé. L'analyse par CL/SM en mode négatif indique un signal m/z 1029, correspondant à la masse $[M-H]^{-1}$ de l'adduit vescalagine-2-FMT attendu. La purification par CLHP semi-préparative (méthode 7) a permis d'isoler le composé **106** avec un rendement de 76 %, nous permettant par la suite de le caractériser (Figure 82).

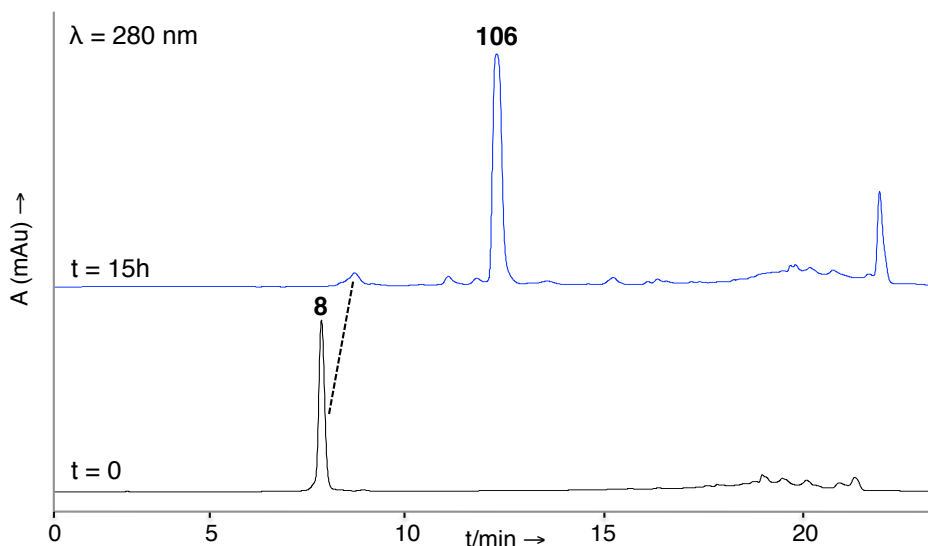


Figure 81. Chromatogramme CLHP de la réaction d'hémisynthèse du composé **106** formé entre la vescalagine (**8**) et le 2-FMT (**52**) (méthode 6).

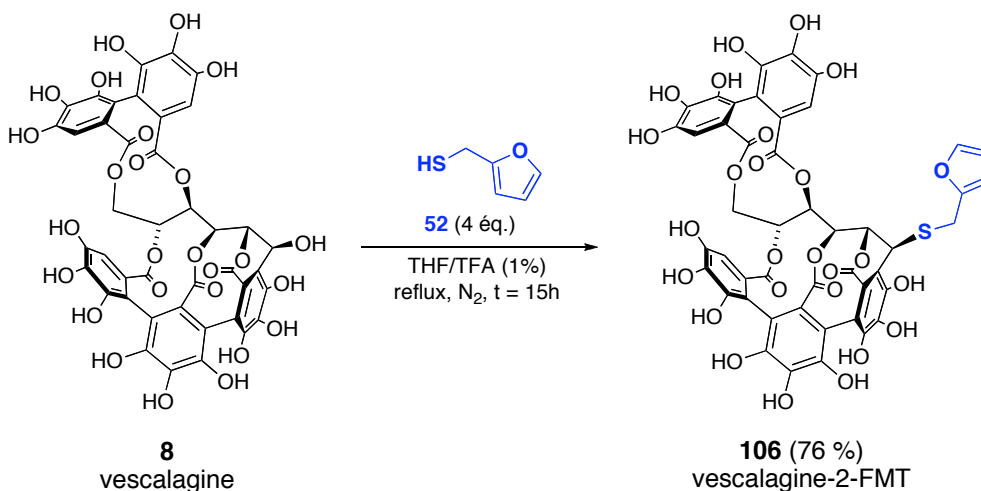


Figure 82. Hémisynthèse de la vescalagine-2-FMT (**106**).

b. Caractérisation de l'adduit **106**

La caractérisation du composé **106** a été réalisée par RMN. Les signaux caractéristiques de la vescalagine ont bien été retrouvés. En RMN 1H , cinq nouveaux protons ont été attribués à l'unité 2-FMT de l'adduit **106**. De même, cinq signaux en RMN ^{13}C ont été attribués à C-1'' (δ 28,4 ppm), C-2'' (δ 151,7 ppm), C-3'' (δ 108,7 ppm), C-4'' (δ 111,2 ppm) et C-5'' (δ 143,1 ppm) de l'unité 2-FMT, grâce à leur déplacement chimique, ainsi qu'aux corrélations obtenues en RMN à deux dimensions (Figure 83).

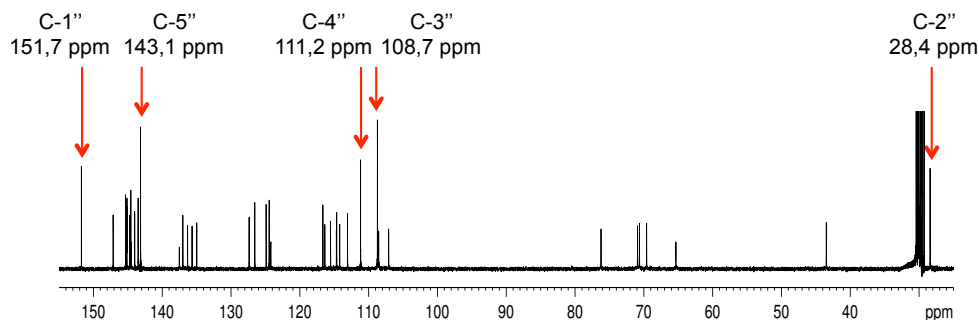


Figure 83. Zoom du spectre ^{13}C du composé **106**.

L'observation en HMBC d'une corrélation entre le proton H-1 de la chaîne glucose de l'unité vescalagine et le carbone C-1'' de la partie 2-FMT prouve la formation de la liaison thiol-vescalagine au niveau du carbone C-1 (Figure 84). La conservation de l'orientation β de cette liaison est prouvée par la faible valeur de la constante de couplage ($J < 1$ Hz) obtenue pour les protons glucosidiques H-1 et H-2 de l'unité vescalagine.¹⁸⁵

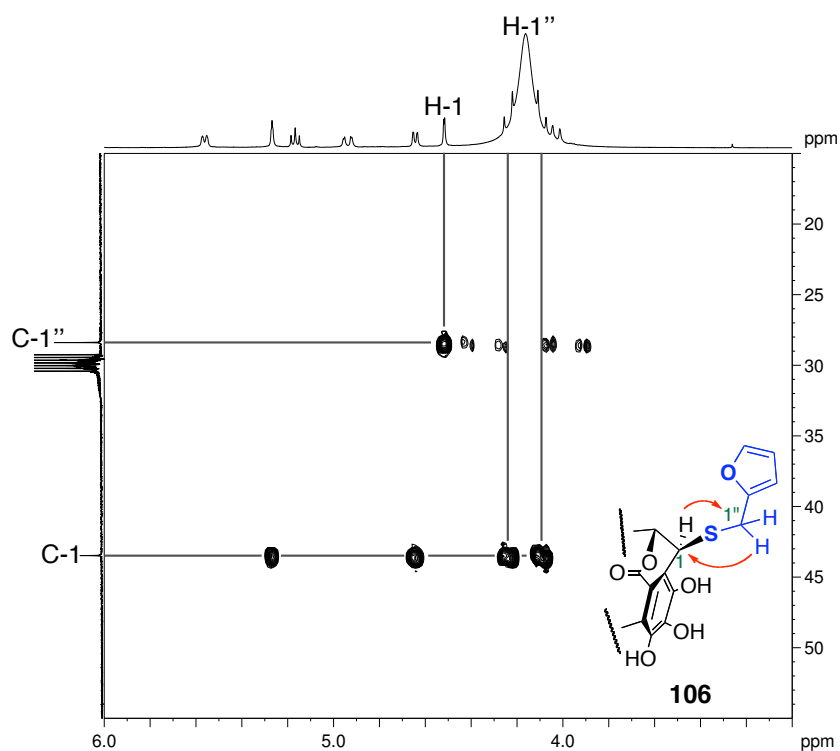


Figure 84. Zoom du spectre HMBC du composé **106** montrant les corrélations H-1/C-1'' et H-1''/C-1.

2. CAS DU 3-SULFANYLHEXAN-1-OL (3-SH)

a. Séparation des énantiomères (R)-3-SH et (S)-3-SH

Afin de faciliter la caractérisation des adduits formés entre la vescalagine et le 3-SH en condition acide, nous avons décidé de séparer les deux énantiomères du 3-SH, disponible commercialement en mélange racémique. Pour cela, le couplage entre le 3-SH et différentes copules chirales a été réalisé en présence d'un agent de couplage, le N,N'-

diisopropylcarbodiimide ou DIC, et d'une base, la 4-diméthylaminopyridine ou DMAP (Figure 85). Les copules testées pour cette séparation sont soit des acides aminés, soit l'acide mandélique. Nous les avons choisies car, premièrement, elles possèdent une fonction acide carboxylique libre permettant le couplage avec la fonction alcool du 3-SH, puis, parce qu'elles sont visibles à la longueur d'onde utilisée en analyse et en purification sur CLHP chirale (λ 254 nm). Les différents composés ainsi que les rendements obtenus par cette réaction de couplage sont représentés ci-dessous (Figure 86). Les diastéréoisomères **107** à **112** ont ensuite été analysés par CLHP chirale afin d'évaluer la capacité de leur séparation. Parmi ces composés, les diastéréoisomères **110** se sont révélés les meilleurs candidats pour la séparation chirale (Figure 87). La séparation à l'échelle préparative nous a d'ailleurs permis d'isoler chaque diastéréoisomère en grande quantité (plusieurs centaines de milligrammes). Par hydrolyse du lien ester en solution aqueuse à 25 % v/v de méthanol en présence d'hydroxyde de lithium, chacun des deux énantiomères a pu être isolé. Leur pouvoir rotatoire a ainsi été mesuré et comparé avec les valeurs décrites dans la littérature, afin d'identifier la stéréochimie de chaque énantiomère.¹⁹⁷ Cependant, la colonne utilisée pour la séparation des diastéréoisomères **110** s'est avérée de moins en moins efficace au fur et à mesure des purifications, jusqu'à, finalement, qu'il n'y ait plus aucune séparation des diastéréoisomères **110**. Nous avons donc cherché une nouvelle méthode pour séparer les énantiomères du 3-SH en quantité suffisante.



Figure 85. Réaction de couplage du 3-SH avec une copule chirale.

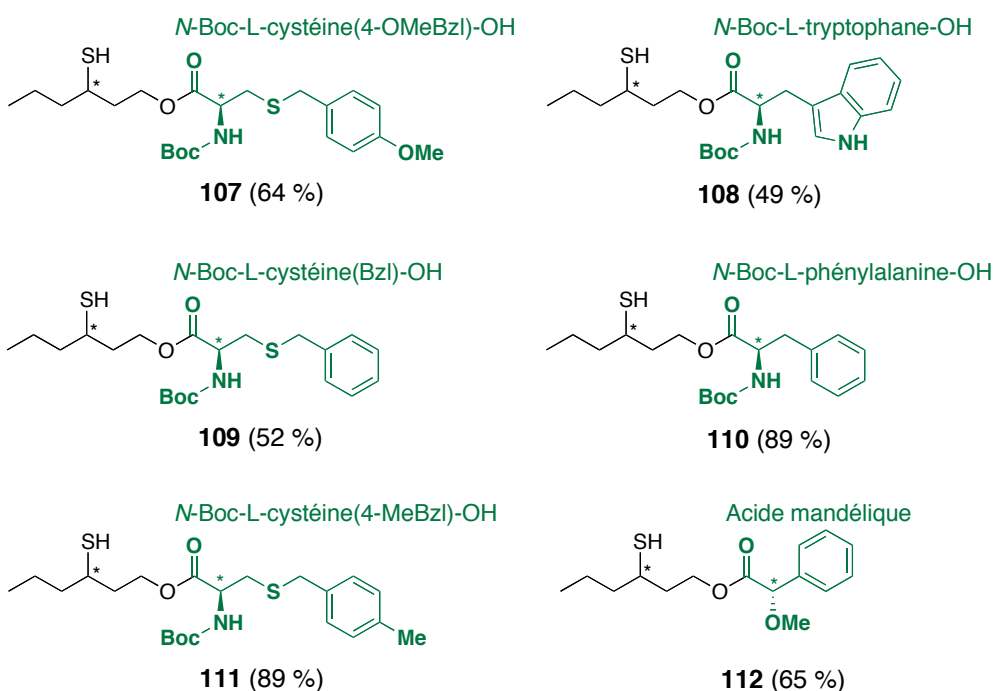


Figure 86. Diastéréoisomères obtenus après couplage entre le 3-SH et différentes copules chirales.

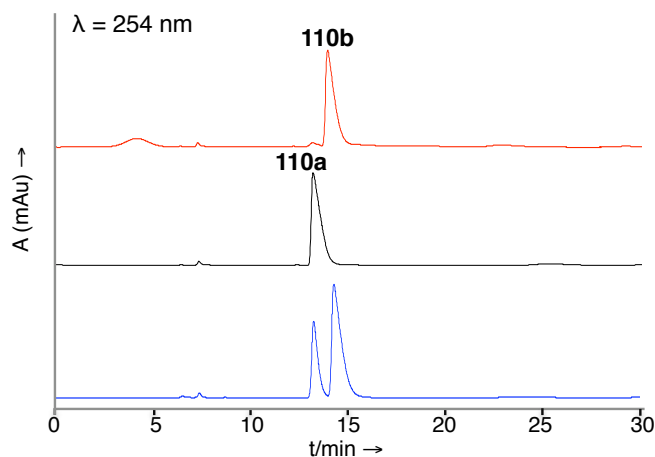


Figure 87. Chromatogramme CLHP des diastéréoisomères **110** obtenus après purification sur CLHP semi-préparative chirale (méthode 8).

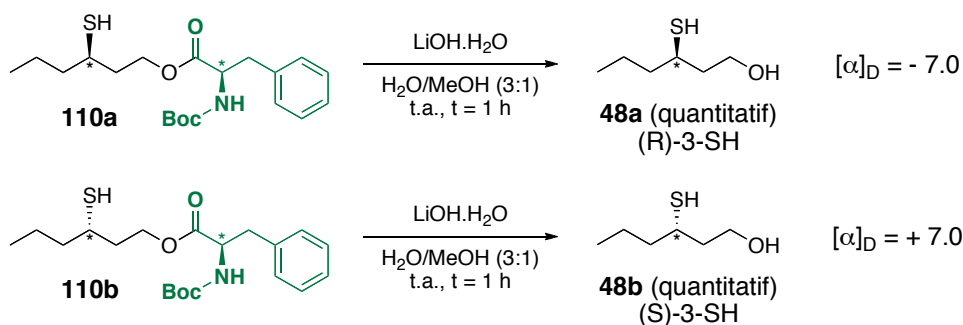


Figure 88. Hydrolyse des diastéréoisomères **110**.

Afin de trouver une nouvelle méthode pour séparer les énantiomères du 3-SH, nous avons réalisé le même couplage en présence de 4 équivalents de la copule *N*-Boc phénylalanine afin de former à la fois un lien ester avec la fonction alcool et un lien thioester avec la fonction thiol libre du 3-SH. Les deux diastéréoisomères **113** sont ainsi obtenus et isolés avec 76 % de rendement (Figure 89). Après séparation sur CLHP semi-préparative (méthode 10), chaque diastéréoisomère **113** a pu être isolé séparément (Figure 90). L'hydrolyse du composé **113a** amène à la formation de l'énantiomère (R)-3-SH et celle du composé **113b** à la formation de l'énantiomère (S)-3-SH (Figure 91).

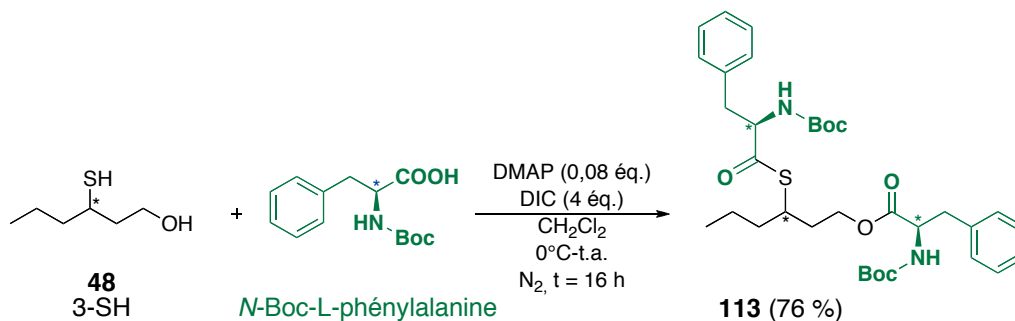


Figure 89. Couplage du 3-SH (**48**) et de la *N*-Boc-L-phénylalanine amenant à la formation des diastéréoisomères **113**.

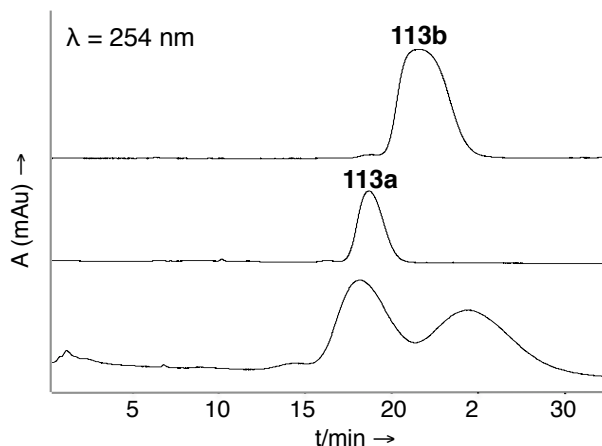


Figure 90. Chromatogramme CLHP des diastéréoisomères **113** obtenus après purification sur CLHP semi-préparative chirale (méthode 11).

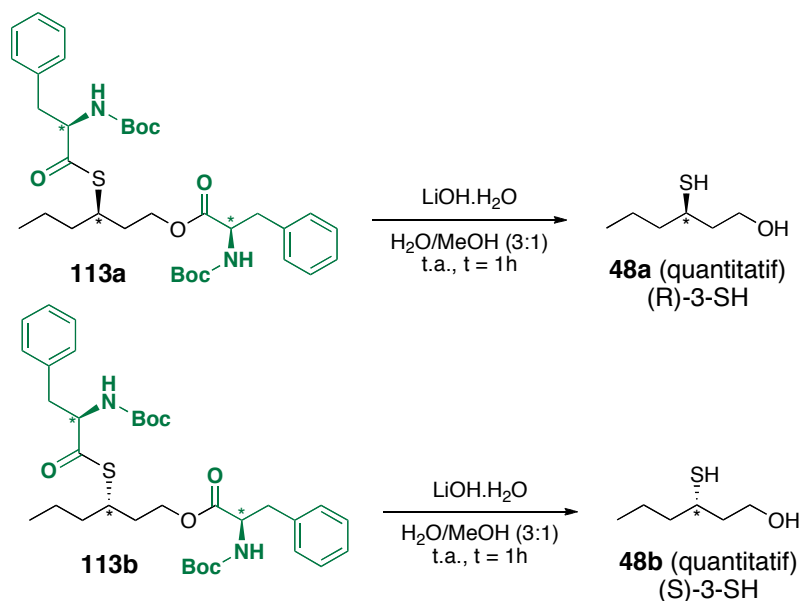


Figure 91. Hydrolyse des diastéréoisomères **113**.

b. Hémisynthèse de la vescalagine-3-SH

Après séparation des énantiomères du 3-SH, l'hémisynthèse des composés vescalagine-3-SH **114** et **115** a été réalisée. Dans les mêmes conditions que pour l'hémisynthèse de la vescalagine-2-FMT **106**, la vescalagine (**8**) est solubilisée dans une solution de THF acidifié avec 1 % de TFA. Le (R)-3-SH, dans le cas du composé **114**, ou le (S)-3-SH, dans le cas du composé **115**, est ensuite ajouté à la solution qui est chauffée à 50°C pendant 21 heures. Dans les deux cas, la vescalagine est totalement consommée et un seul produit est formé (Figure 92, même résultat pour le composé **115**). Après purification sur CLHP semi-préparative (méthode 7), les adduits vescalagine-(R)-3-SH (**114**) et vescalagine-(S)-3-SH (**115**) ont été isolés avec 71 % et 53 % de rendement, respectivement (Figure 93).

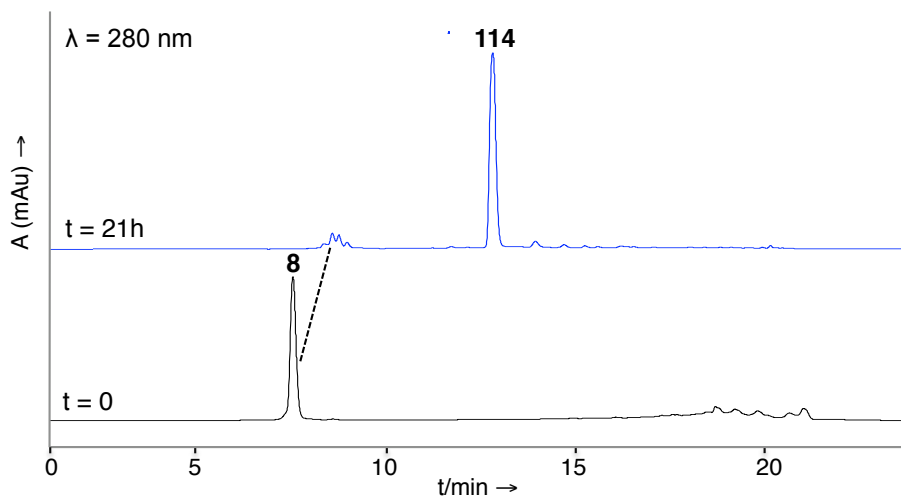


Figure 92. Chromatogramme CLHP de la réaction d'hémisynthèse de la vescalagine-(R)-3-SH (**114**) (méthode 6).

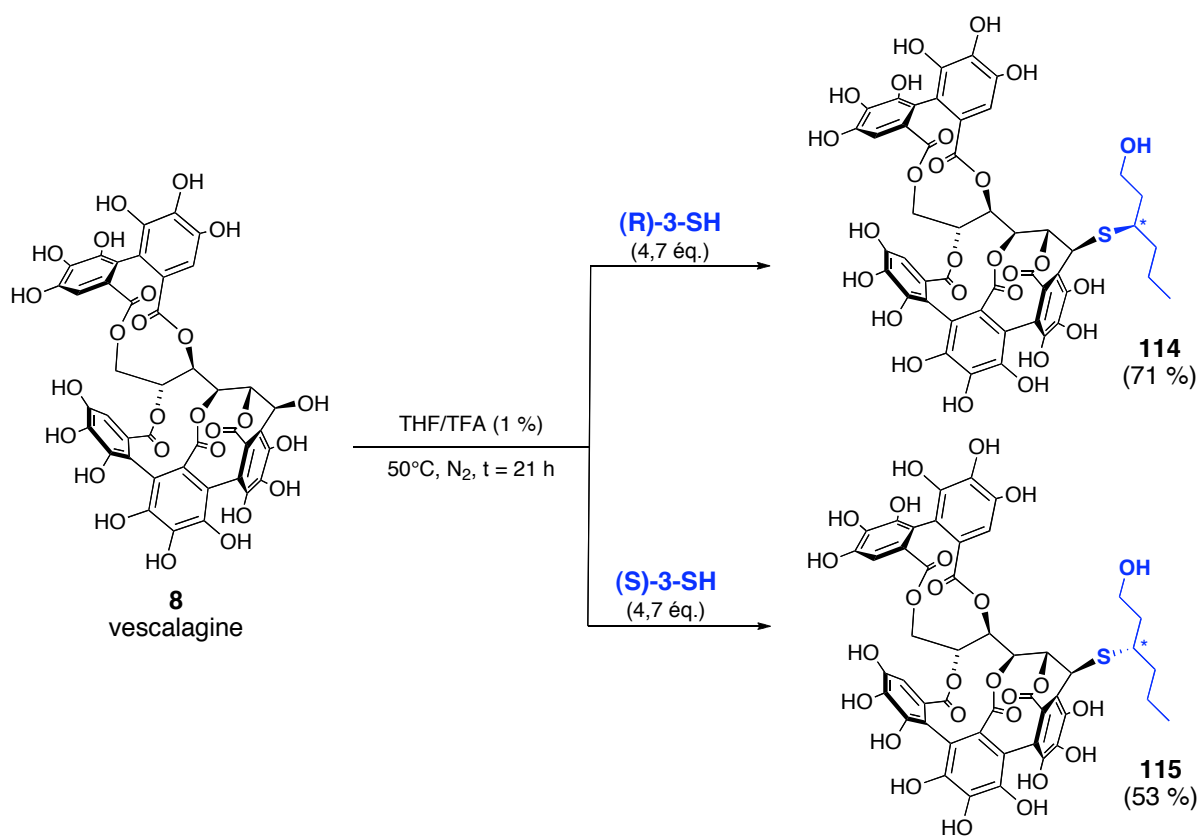


Figure 93. Hémisynthèse des thio-ellagitannins **114** et **115**.

c. Caractérisation des adduits **114** et **115**

La caractérisation des composés **114** et **115** a été réalisée par RMN. Dans les deux cas, nous obtenons les mêmes résultats. Les signaux caractéristiques de la vescalagine sont bien retrouvés ainsi que les signaux caractéristiques du 3-SH. En effet, sur le spectre RMN ¹³C des composés **114** et **115**, six signaux correspondant aux carbones de l'unité 3-SH ont pu être attribués grâce à leur déplacement chimique (Figure 94), ainsi qu'aux corrélations observées en RMN à deux dimensions.

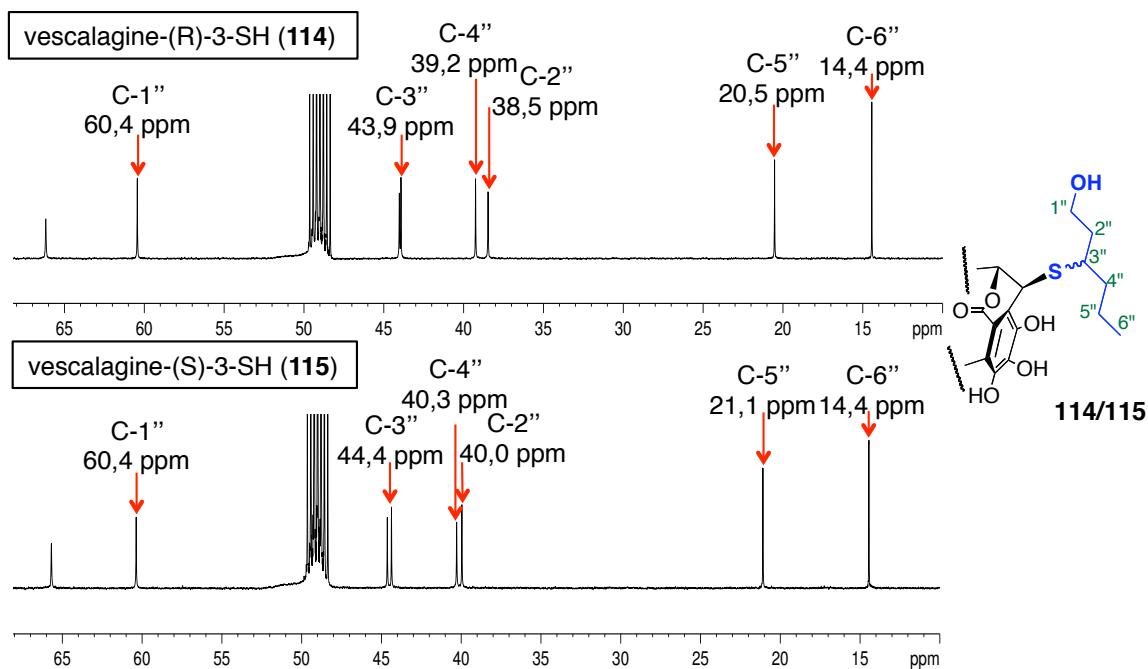


Figure 94. Zoom du spectre ^{13}C des composés **114** et **115**.

L'observation en HMBC (Figure 95 et Figure 96) d'une corrélation entre le proton glucosidique H-1 de la partie vescalagine (δ 4,29/4,39 ppm) et le carbone C-3'' de la partie 3-SH (δ 43,9/44,4 ppm) prouve la formation de la liaison entre le thiol et le carbone C-1 de la vescalagine. Notons que le 3-SH possède une autre partie nucléophile, le groupement hydroxyle en C-1''. Nous aurions donc pu observer l'apparition du produit correspondant, ce qui n'est pas le cas. Le groupement thiol ayant un caractère nucléophile plus important que l'alcool, est le seul à réagir avec la vescalagine. La faible constante de couplage obtenue entre les protons glucosidiques H-1 et le H-2 ($J = 1,5$ Hz), confirme la conservation de l'orientation β de cette liaison.¹⁸⁵

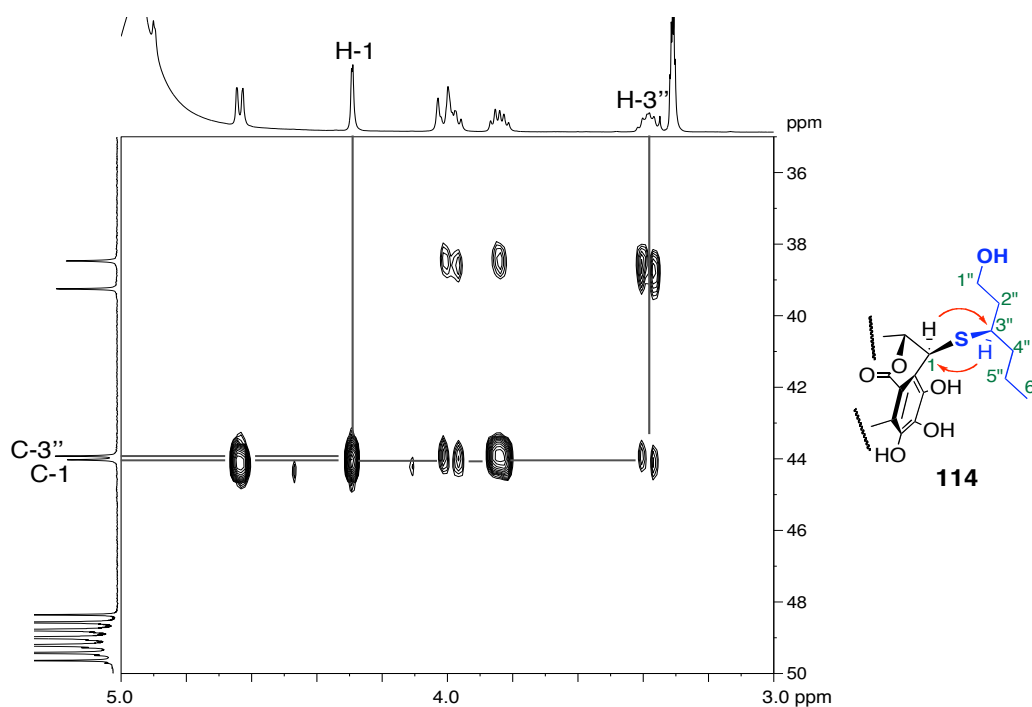


Figure 95. Zoom du spectre HMBC du composé **114** montrant les corrélations H-1/C-3'' et H-3''/C-1.

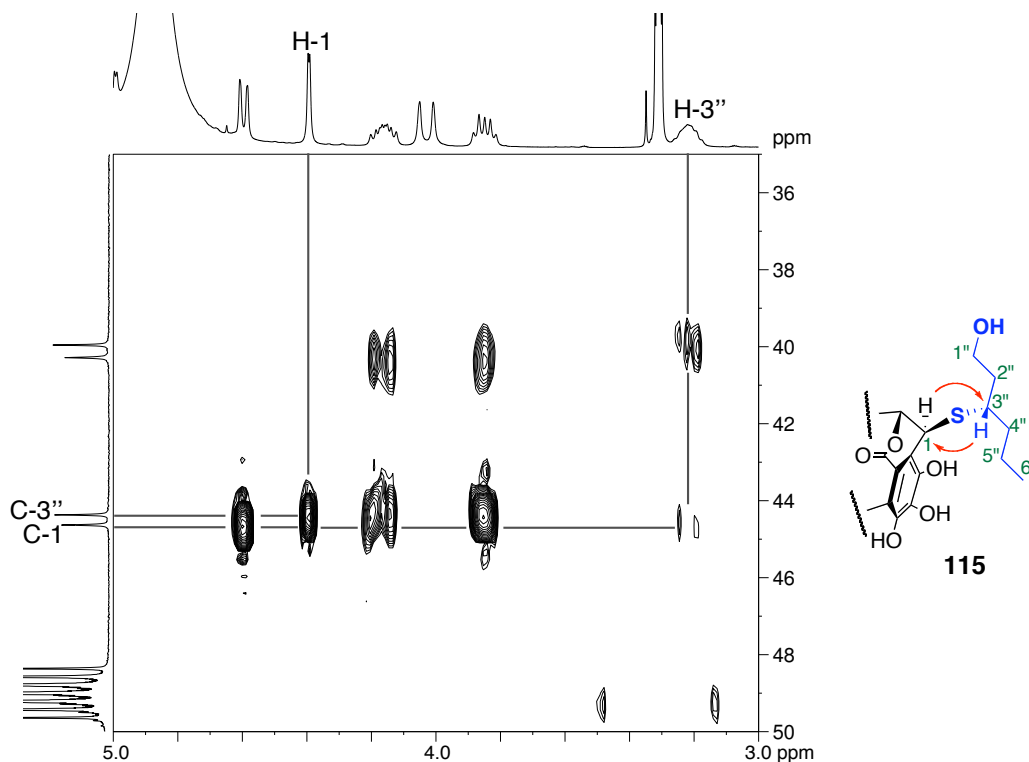


Figure 96. Zoom du spectre HMBC du composé **115** montrant les corrélations H-1/C-3'' et H-3''/C-1.

Depuis plusieurs années, notre équipe a montré que la vescalagine, ellagitannin C-glucosidique, pouvait réagir avec les nucléophiles du vin en condition légèrement acide. En effet, dans ces conditions, la vescalagine forme un carbocation par perte du groupement hydroxyle en position 1 de la chaîne glucosidique. Puis, celui-ci peut réagir avec différents nucléophiles par substitution nucléophile. Dans ce contexte, l'hémisynthèse de trois nouveaux composés thio-ellagitannins a été effectuée en présence de la vescalagine et de trois composés soufrés aromatiques présents dans le vin, le 2-FMT, le (R)-3-SH et le (S)-3-SH. Ces composés sont tout aussi susceptibles de se former dans le vin puisque celui-ci est un milieu acide (pH = 3-4).

II. OXYDATION DE LA CATECHINE EN PRESENCE D'AROMES SOUFRES

Les composés phénoliques sont des composés très réactifs en condition oxydante, comme en présence d'oxygène et/ou en présence de métaux (fer, cuivre), et/ou en présence d'enzymes oxydases (cf. Chapitre I. III). Par cette réactivité, ils vont participer à l'évolution des qualités organoleptiques du vin. D'ailleurs, depuis plusieurs années, il a été décrit que les composés possédant une unité catéchol ont une influence sur les arômes du vin en condition oxydante chimique ou enzymatique.¹⁸⁸⁻²⁰⁴ Dans ce contexte, nous avons décidé d'étudier l'influence d'un flavan-3-ols du raisin, la catéchine, sur certains composés volatils soufrés odorants du vin. En effet, ce polyphénol possédant une unité 1,2-dihydroxybenzène, est susceptibles de former une espèce électrophile très réactive en condition oxydante, appelée *ortho*-quinone. Cette entité peut ensuite réagir avec les nucléophiles du vin notamment via des réactions d'addition-1,4 ou -1,6

conjuguée de type Michael sur les positions 2', 5' ou 6' du cycle B de la catéchine ou de l'épicatéchine (Figure 97).

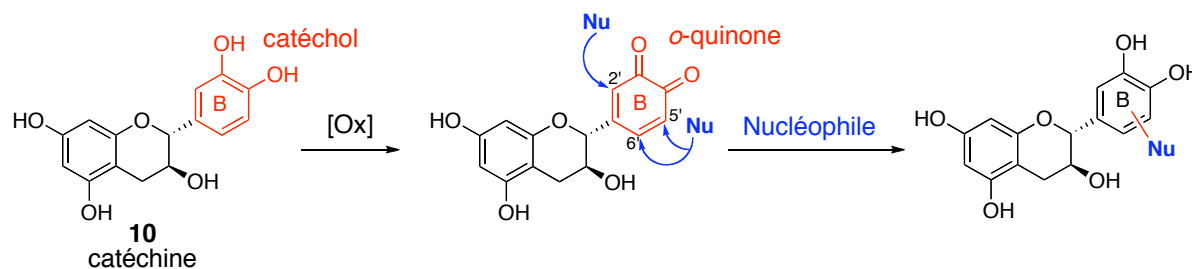


Figure 97. Déhydrogénation oxydative de la catéchine en *ortho*-quinone.

Certains arômes présents dans le vin présentent un caractère nucléophile, comme les deux thiols choisis pour cette étude, le 2-FMT et le 3-SH. Ces deux composés, par la présence de la fonction thiol libre, peuvent réagir avec l'*o*-quinone du cycle B de ce flavan-3-ol. Afin d'étudier l'influence de ce polyphénol sur ces deux composés soufrés odorants et ainsi identifier les adduits pouvant se former, nous avons choisi de travailler dans des conditions d'oxydation chimique. Pour cela, le solvant de réaction utilisé est de l'eau Milli-Q avec 4 % de THF pour solubiliser totalement la catéchine, ou une solution tampon. Plusieurs agents oxydants ont été testés : le periodate de sodium (NaIO_4), le ferricyanure de potassium ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$),²⁰⁵⁻²⁰⁶ et le trichlorure de fer (FeCl_3).²⁰⁰⁻²⁰⁷ Parmi ces trois réactifs, celui qui s'est avéré le plus efficace pour la formation des adduits thio-catéchine est le trichlorure de fer. En effet, dans le cas de l'oxydation au periodate de sodium, le substrat de départ réagit totalement mais la formation d'adduits thio-catéchine n'est pas observée. Dans le cas du ferricyanure de potassium, utilisé en présence d'hydroxyde de potassium (KOH) et de carbonate de sodium (Na_2CO_3),²⁰⁵ le milieu réactionnel est complexe. Dans la suite de ce chapitre, les réactions d'oxydation seront donc réalisées en présence du trichlorure de fer comme agent oxydant.

Une étude préliminaire a aussi été réalisée afin de déterminer le nombre d'équivalents du thiol et du fer(III) nécessaires à cette réaction. Il est primordial de ne pas ajouter plus de deux équivalents de l'agent oxydant en début de réaction et de respecter un ordre précis dans l'ajout des réactifs. En effet, dans cette réaction, il est important d'ajouter en premier le nucléophile dans la solution contenant le composé catéchol car les quinones qui vont se former lors de l'ajout du fer(III), vont être immédiatement capturées par le nucléophile déjà présent dans le milieu. La formation des adduits thio-catéchol sera ainsi plus favorable.

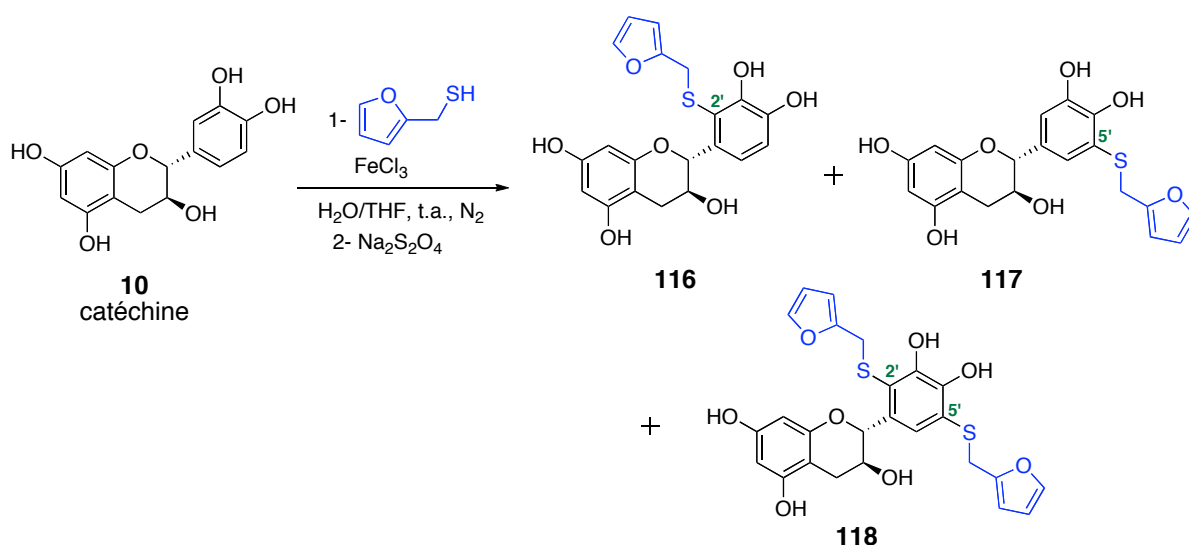
Lors de ces réactions, un agent réducteur, le dithionite de sodium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$), est aussi utilisé à la fin de chaque réaction afin de réduire les quinones encore présentes dans le milieu et de stopper toute réaction d'oxydation.

1. OXYDATION EN PRESENCE DU 2-FMT

a. Oxydation en solution aqueuse

L'oxydation chimique de la catéchine (**10**) est réalisée dans une solution aqueuse neutre (eau Milli-Q) saturée avec un gaz inerte (N_2), permettant de diminuer la quantité d'oxygène dissous de 8 à 0,7 mg/L (mesures effectuées à l'aide d'une sonde PreSens Fibox PSt3 fonctionnant avec un complexe de ruthénium). Ces conditions ont été choisies pour limiter l'oxydation chimique du noyau catéchol par l'oxygène. Les réactions d'oxydation se feront donc essentiellement grâce à l'agent oxydant ajouté à la réaction, le trichlorure de fer ($FeCl_3$).

Dans un premier temps, la réaction est réalisée en présence de deux équivalents du 2-FMT et de deux équivalents du trichlorure de fer. Très rapidement (5 minutes), la formation de trois adduits catéchine-2-FMT est observée dans le milieu. Cependant, après 2 heures de réaction, le milieu n'évolue plus malgré une conversion non totale de la catéchine (50 %). La purification sur colonne de silice, puis sur CLHP semi-préparative, a permis d'isoler et de caractériser trois adduits. Les monoadduits **116** et **117** sont obtenus avec 8 % et 3 % de rendement, respectivement, et le diadduit **118** avec 29 % de rendement (Figure 98).



Conditions	116	117	118
2-FMT (2 éq.), $FeCl_3$ (2 éq.) t = 2 h	8 %	3 %	29 %
2-FMT (8 éq.), $FeCl_3$ (5 éq.) t = 5 h	-	-	58 %

Figure 98. Oxydation de la catéchine en présence du 2-FMT (rendements après purification).

Afin de favoriser la formation des adduits isolés, nous avons décidé de faire des ajouts successifs du thiol et du fer(III) jusqu'à consommation totale de la catéchine. Pour cela, un premier ajout du 2-FMT et du $FeCl_3$ est fait dans une solution aqueuse contenant la catéchine, comme décrit précédemment (deux équivalents de chaque). Après un temps de réaction de 1

heure, l'addition de deux équivalents du thiol et un seul équivalent du fer(III) est effectuée. Puis, toutes les heures, cette addition est réalisée jusqu'à disparition totale de la catéchine. Au total, 8 équivalents du 2-FMT et 5 équivalents du FeCl₃ ont été nécessaires pour que la réaction soit totale. Dans ce cas, seul le diadduit **118** est formé avec un rendement de 58 % (Figure 98).

Lors de ces ajouts successifs, nous utilisons pour le premier ajout 2 équivalents de fer (III), puis, par la suite, un seul équivalent de fer(III). En effet, l'oxydation du catéchol de la catéchine en *ortho*-quinone nécessite la réduction de deux ions Fe³⁺ (cf. Chapitre I. II.2). Nous avons observé que lorsqu'un seul ajout du thiol et du fer(III) est réalisé (deux équivalents), la moitié de la catéchine réagit (50 %). Donc lors des ajouts successifs suivants, il n'est pas nécessaire d'utiliser deux équivalents du trichlorure de fer par rapport à la quantité initiale de substrat. De plus, nous avons observé que l'ajout de plus d'un équivalent de l'agent oxydant lors des additions successives a pour conséquence la diminution du rendement des différents adduits thio-catéchines formés (dégradation, formation de polymères, réactions secondaires ?).

b. Caractérisation des adduits formés

i. Monoadduit-2' **116**

Après isolation des différents adduits formés, leur caractérisation complète a été faite afin d'identifier la position du 2-FMT sur le cycle B de la catéchine. Les signaux de la catéchine ont bien été retrouvés sur les spectres RMN ¹H et ¹³C du monoadduit **116**. La disparition d'un proton sur le cycle B de la catéchine (H-2') ainsi que l'apparition des signaux caractéristiques du 2-FMT sur le spectre ¹H (H-1'', H-3''-5'') et ¹³C (C-1''-5'') confirme la présence du thiol sur le cycle B de la catéchine (Figure 100). De plus, une corrélation en HMBC est observée entre un carbone du cycle B de la catéchine, le C-2' (δ 120,3 ppm), et le proton H-1'' (δ 4,11 ppm) de l'unité 2-FMT, prouvant la liaison entre les deux unités catéchine et 2-FMT (Figure 101).

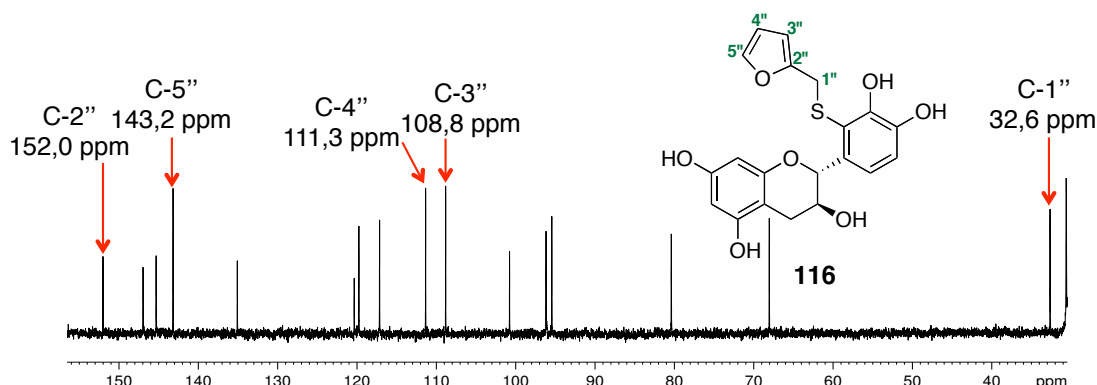


Figure 99. Zoom du spectre ¹³C du monoadduit **116**.

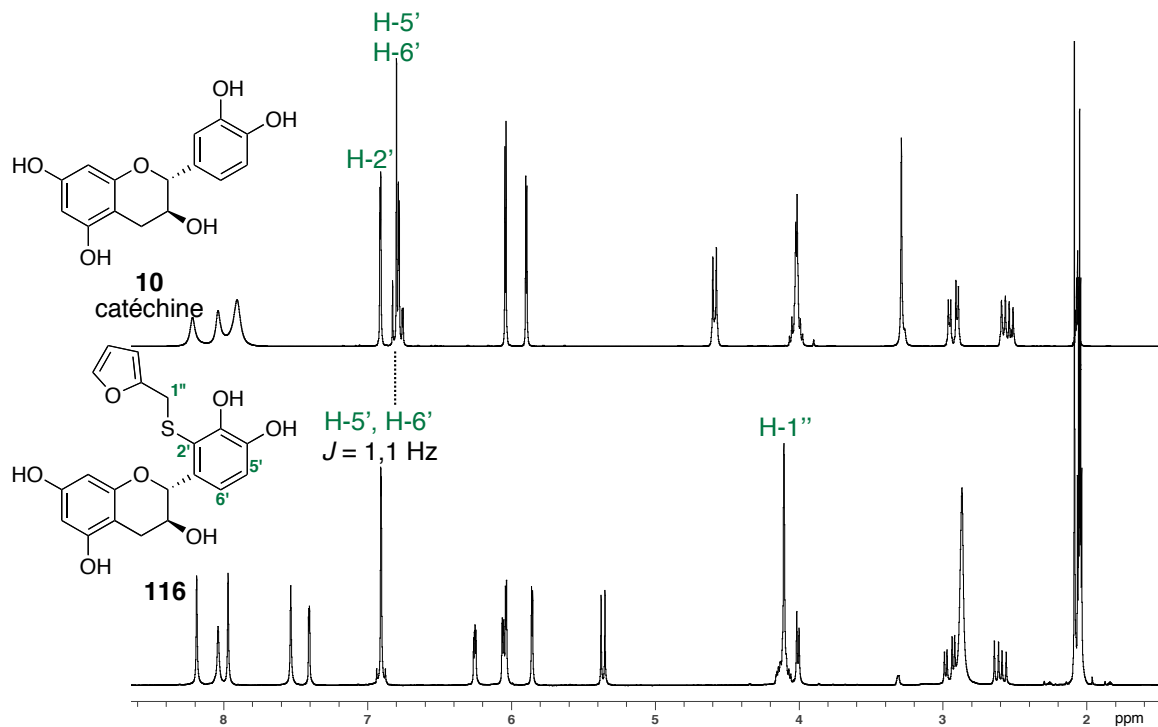


Figure 100. Comparaison des spectres ^1H de la catéchine et du monoadduit **116**.

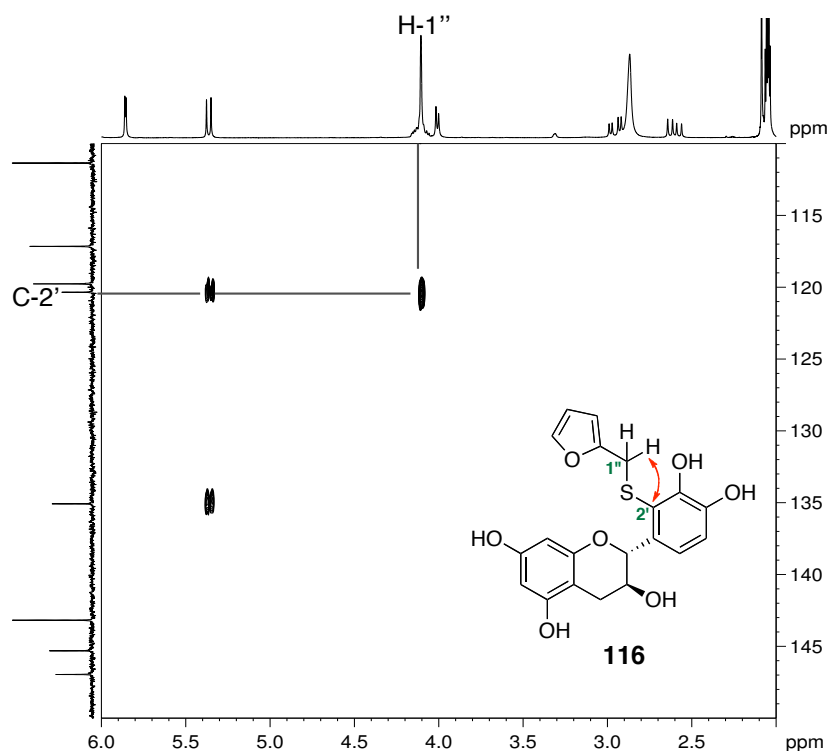


Figure 101. Zoom du spectre HMBC du monoadduit **116** montrant la corrélation H-1''/C-2'.

Pour confirmer la présence du 2-FMT en position 2' du cycle B de la catéchine, nous avons décidé d'effectuer la tétraméthylation du monoadduit **116** afin de réaliser une expérience RMN à deux dimensions, appelée COSY long-range (délai = 300 ms).²⁰⁸ Celle-ci permet d'observer des corrélations à longue distance de type ^5J , voire ^6J , entre deux protons. Dans notre cas, nous nous intéressons aux couplages faibles existants entre les protons des groupements méthoxy en positions 3' et 4' du cycle B et les protons aromatiques de ce même cycle.

Pour former le composé tétraméthylé **119**, le composé **116** est solubilisé dans l'acétone puis, est mis sous agitation en présence d'une base, K_2CO_3 , et du diméthylsulfate sous atmosphère inerte pendant 8 jours. Après purification sur silice, le composé **119** est obtenu avec un rendement de 52 % (Figure 102).

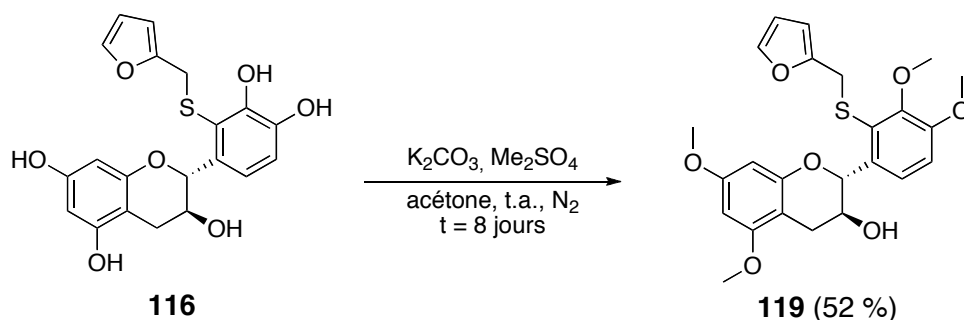


Figure 102. Tétraméthylation du monoadduit **116**.

Sur le spectre RMN 2D COSY long-range du composé **119**, une corrélation en 5J entre les protons du groupement méthoxy en position 4' du cycle B de l'unité catéchine (δ 3,88 ppm) et le proton H-5' de ce même cycle (δ 6,94 ppm) est observée (Figure 103). Par contre, aucune corrélation n'est observée entre le groupement méthoxy en position 3' (δ 3,92 ppm) et les protons aromatiques du cycle B. Ces observations corroborent avec une addition du 2-FMT en position 2' du cycle B de la catéchine et confirme la structure du monoadduit **116**.

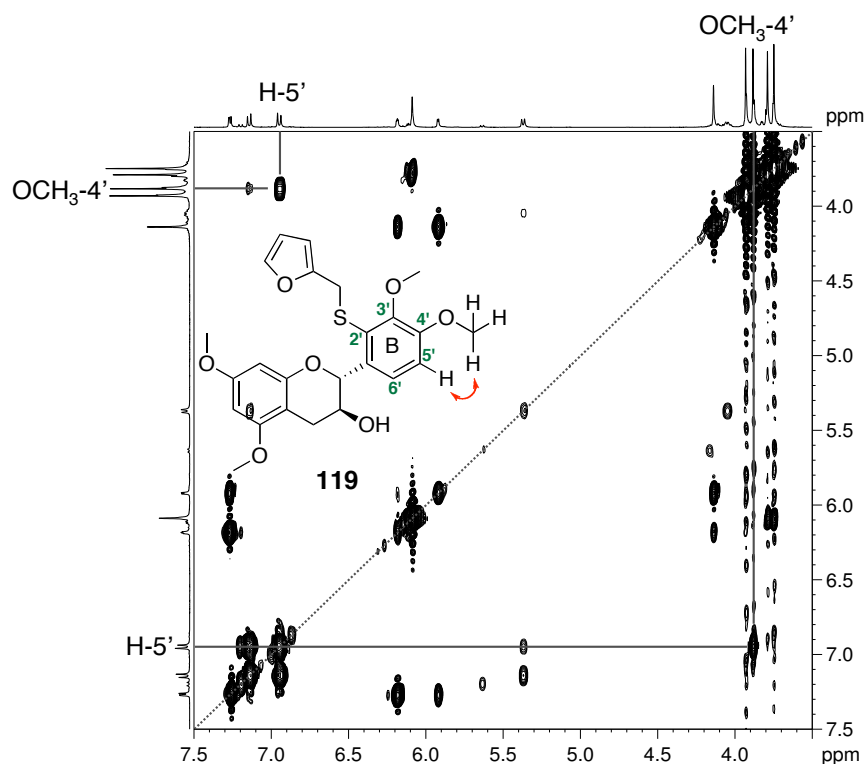


Figure 103. Zoom du spectre COSY long-range du composé **119**.

Sur le spectre RMN ^1H du monoadduit-2' **116**, les signaux des protons H-5' et H-6' (δ 6,90 ppm) du cycle B apparaissent sous la forme d'un seul doublet ($J = 1,1$ Hz). Par contre, dans le cas du composé tétraméthylé **119**, on observe deux doublets distincts à δ 6,94 et 7,14 ppm. La valeur de la constante de couplage obtenue pour ces deux doublets ($J = 8,6$ Hz) correspond à celle attendue pour des protons situés en ortho l'un de l'autre, ce qui est le cas des protons H-5' et H-6' (Figure 104). Ces données, ainsi que celles énoncées ci-dessus, confirment l'addition du 2-FMT en position 2' du cycle B de la catéchine pour le monoadduit **116**.

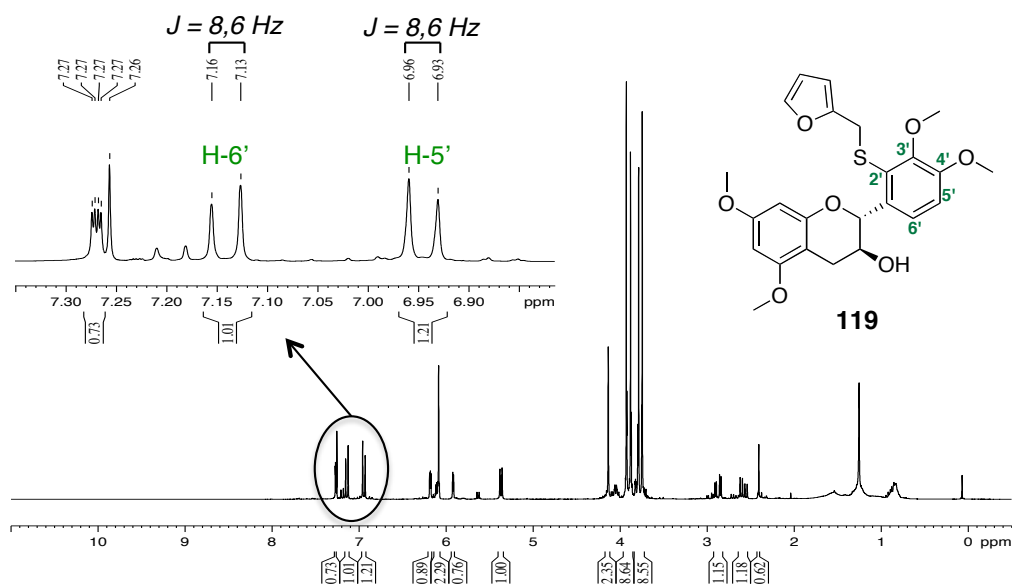


Figure 104. Zoom du spectre ^1H du composé **119**.

ii. Monoadduit-5' **117**

Comme dans le cas du monoadduit **116**, la caractérisation du composé **117** a été faite. Les signaux de la catéchine ainsi que ceux du 2-FMT ont été retrouvés sur les spectres RMN ^1H et ^{13}C du composé **117**. Les résultats obtenus confirment qu'il y a eu une seule addition du 2-FMT sur la catéchine. En effet, sur le spectre RMN ^1H , deux protons sur trois sont présents sur le cycle B de la catéchine et, en spectrométrie de masse, la masse obtenue pour le monoadduit **117** (m/z 401, $[\text{M}-\text{H}]^-$) corrobore avec une monoaddition du 2-FMT sur la catéchine. De plus, une corrélation en HMBC est observée entre un carbone du cycle B de la catéchine, le C-5' (δ 120,9 ppm), et le proton H-1'' de l'unité 2-FMT (δ 4,11 ppm), prouvant le lien entre l'unité catéchine et le 2-FMT (Figure 105).

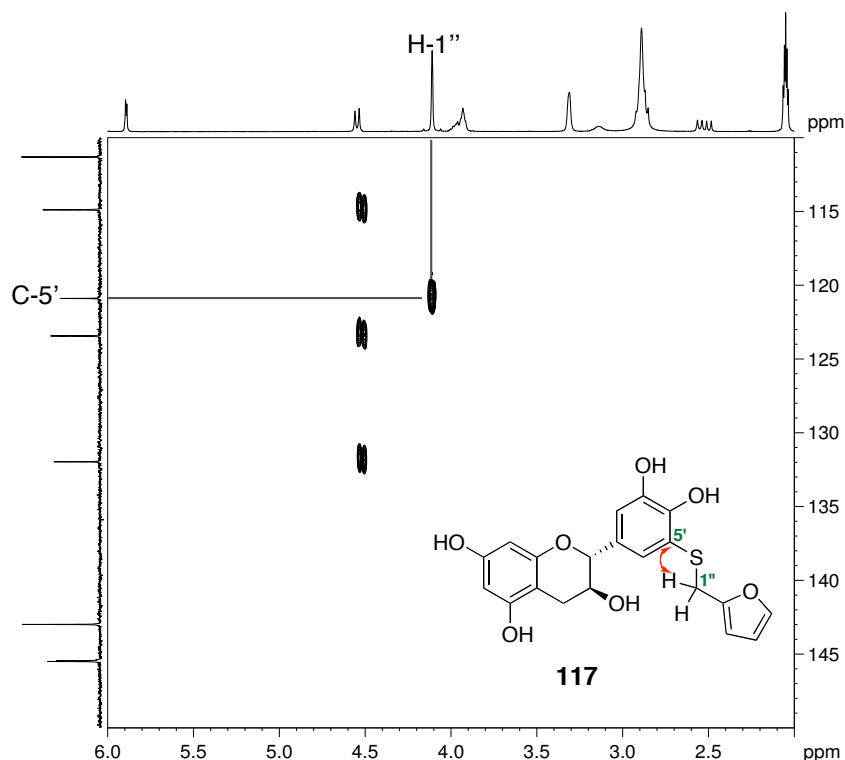


Figure 105. Zoom du spectre HMBC du monoadduit **117** montrant la corrélation H-1''/C-5'.

La tétraméthylation du monoadduit **117** a également été faite dans les mêmes conditions que précédemment afin d'obtenir le composé **120** avec 80 % de rendement (Figure 106). L'expérience RMN COSY long-range de ce composé montre une corrélation en 5J entre les protons du groupement méthyl en position 3' du cycle B (δ 3,86 ppm) et le proton H-2' de ce même cycle (δ 6,86 ppm) (Figure 107). Par contre, aucune corrélation n'est observée entre le groupement méthoxy en position 4' (δ 3,86 ppm) et le proton H-5' en ortho. Cela indique que la position 5' ne possède pas de proton et donc que l'unité 2-FMT s'est additionnée sur cette position dans le cas du monoadduit **117**. Ces résultats sont aussi appuyés par ceux obtenus en analyse par RMN 1H du composé **120** (Figure 108). En effet, les deux doublets à δ 6,86 et 6,93 ppm, correspondant aux protons H-2' et H-6' du cycle B de la catéchine, ont une constante de couplage $J = 1,7$ Hz, coïncidant à une valeur de couplage pour des protons situés en méta l'un de l'autre. L'association de ces données RMN nous confirme la structure du monoadduit-5' **117**.

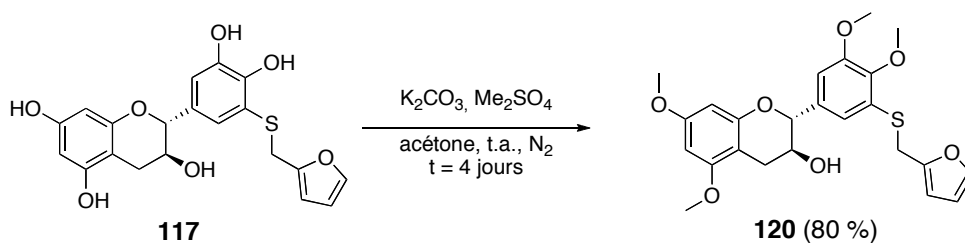


Figure 106. Tétraméthylation du monoadduit **117**.

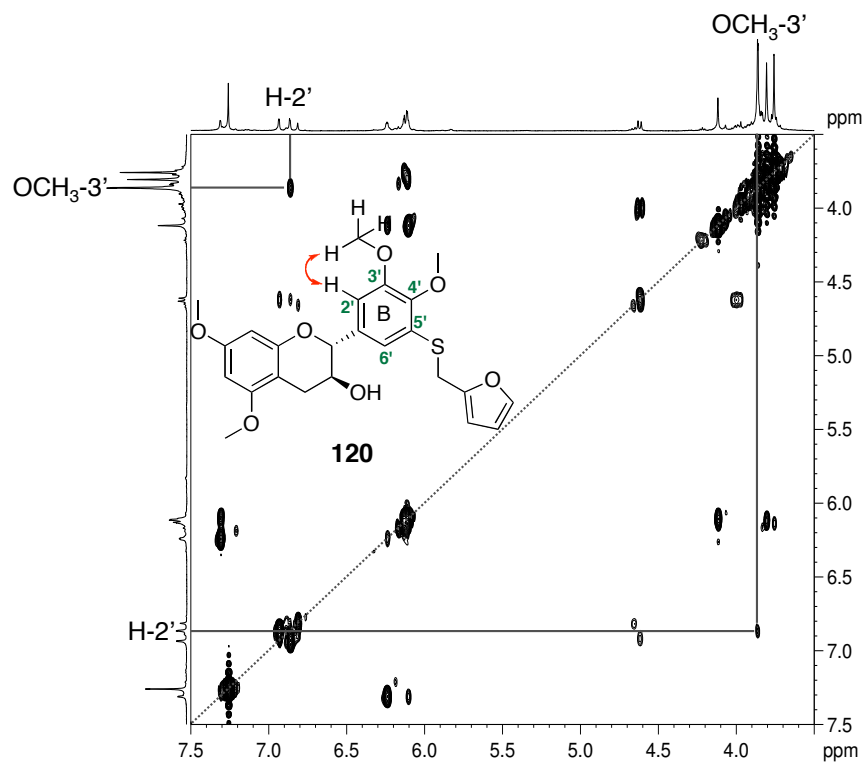


Figure 107. Zoom du spectre COSY long-range du composé **120**.

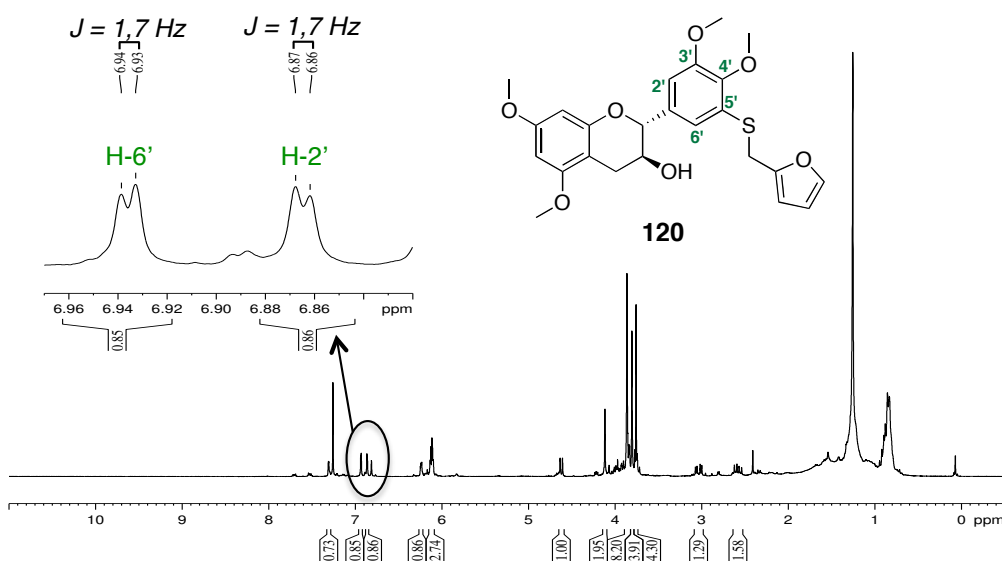


Figure 108. Zoom du spectre ^1H du composé **120**.

iii. Diadduit-2',5' **118**

La caractérisation RMN du composé **118** a été également faite. Comme pour les monoadduits **116** et **117**, les signaux caractéristiques de la catéchine ainsi que ceux du 2-FMT ont été retrouvés sur les spectres RMN ^1H et ^{13}C . Un changement est observé au niveau du cycle B de l'unité catéchine. Un seul groupement CH est présent, ce qui signifie que la catéchine a subi une double addition du 2-FMT. Ceci est confirmé par la présence de deux signaux pour chaque proton et chaque carbone de l'unité 2-FMT (Figure 109 et Figure 110), et par spectrométrie de masse (m/z 537, $[\text{M}+\text{Na}]^+$).

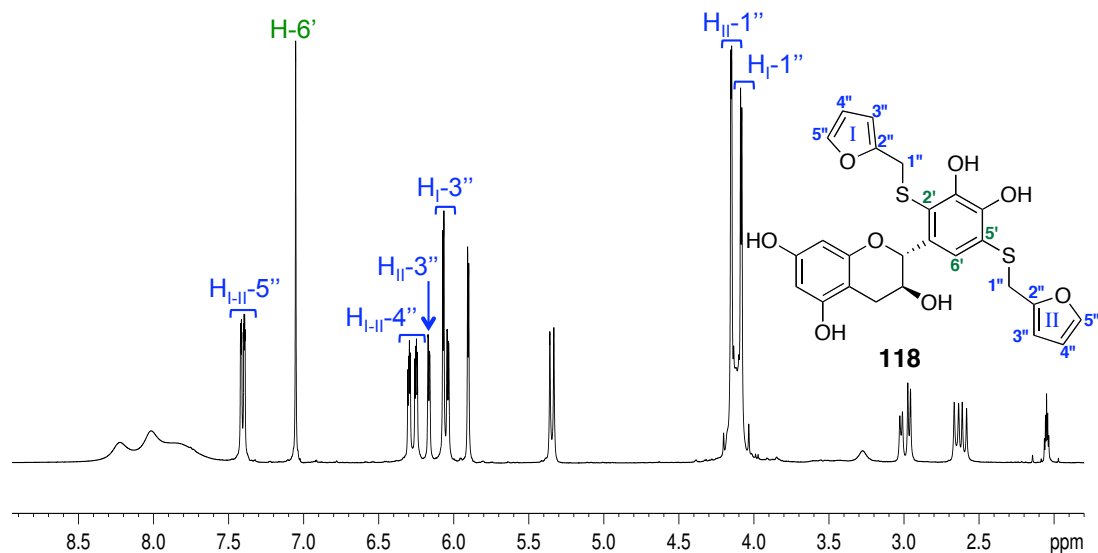


Figure 109. Zoom du spectre ^1H du diadduit **118**.

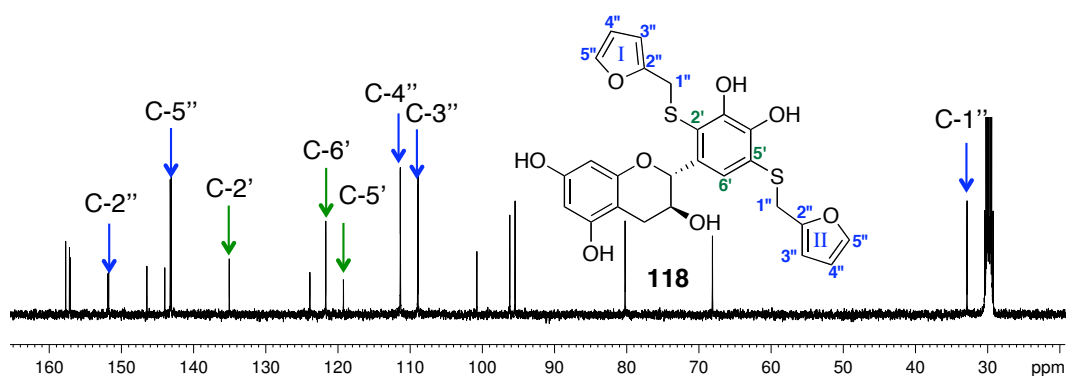


Figure 110. Zoom du spectre ^{13}C du diadduit **118**.

D'après les spectres RMN obtenus pour le diadduit **118**, il semblerait que les deux thiols se soient positionnés en 2' et 5' du cycle B de la catéchine. Pour confirmer cela, nous avons une fois encore procédé à la tétraméthylation des groupements hydroxyles phénoliques du composé **118**, afin de réaliser une expérience RMN COSY long-range comme pour les monoadduits **116** et **117**. Le composé **121** est obtenu dans les mêmes conditions que précédemment avec un rendement isolé de 47 % (Figure 111). Comme nous l'attendions, aucune corrélation n'est observée entre les protons des groupements méthoxy en position 3' et 4' et le proton du cycle B sur le spectre COSY long-range du composé **121**. Cela signifie que les deux positions en α des groupements méthoxy (2' et 5') ne possèdent pas de proton libre. Le proton H-6' du cycle B ne corrèle pas avec les groupements méthoxy puisqu'ils sont trop loin les uns des autres (couplage en ^6J) (Figure 112). Le 2-FMT s'est donc additionné en 2' et 5' du cycle B de la catéchine pour former le diadduit **118**.

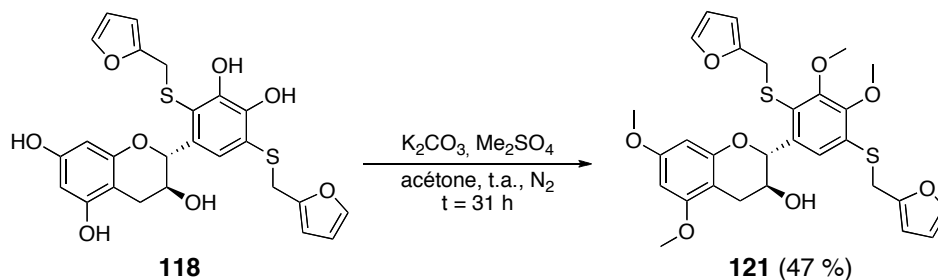


Figure 111. Tétraméthylation du diadduit **118**.

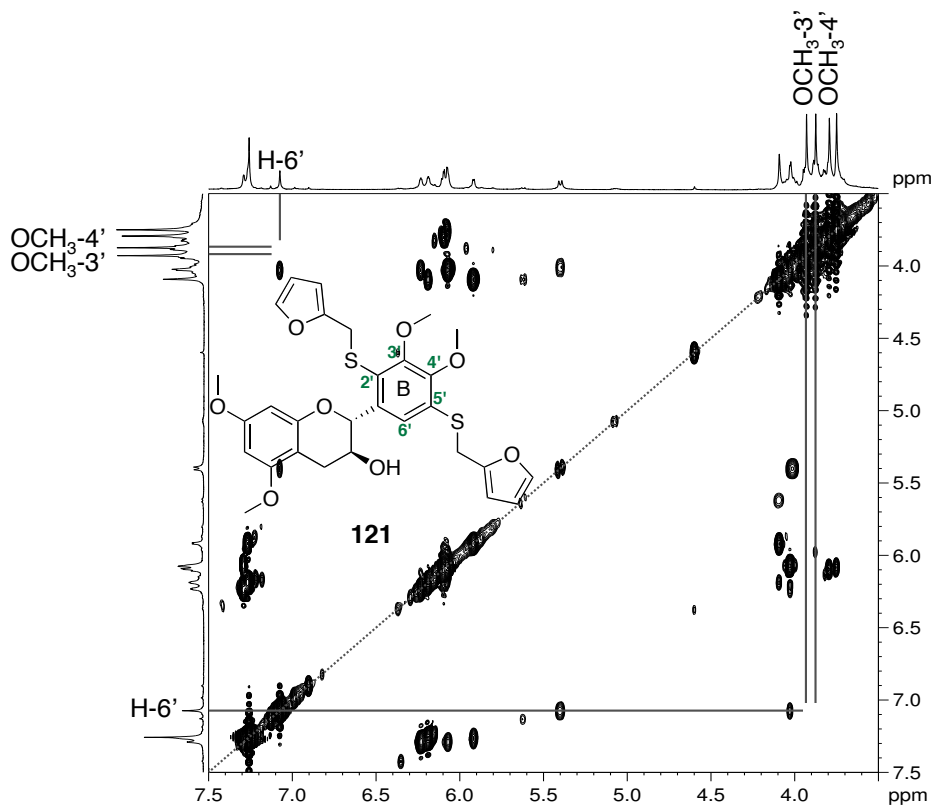


Figure 112. Zoom du spectre COSY long-range du composé **121**.

c. Mécanisme de formation des adduits **116**, **117** et **118**

En présence de fer, l'unité catéchol de la catéchine va former le radical phénoxy **O** qui va facilement perdre un proton ($pK_a = 4,3-5,5$) et par réduction du fer(III) en ion ferreux, va former la quinone **Q** (Figure 116) (cf. Chapitre I. II). Une fois cette quinone formée, différentes additions nucléophiles de type Michael peuvent se produire (1,4 et/ou 1,6). En présence du 2-FMT, trois positions sont alors susceptibles de subir cette addition : les positions 2', 5' et/ou 6'. Dans nos conditions, nous observons que l'addition-1,6 en position 2' et/ou 5'.

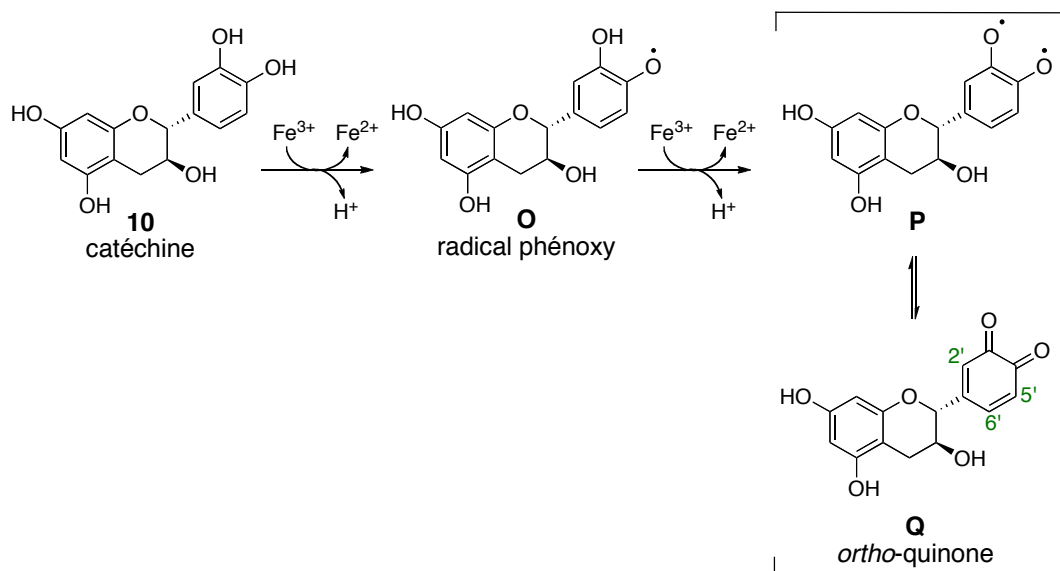


Figure 113. Déhydrogénation oxydative de la catéchine en *ortho*-quinone.

L'attaque nucléophile 1,6 du 2-FMT en 2' de l'*ortho*-quinone **Q**, amène, après prototropie, à la formation du monoadduit-2' **116**. Ce dernier peut aussi former la quinone **S**, qui va subir l'addition-1,6 du 2-FMT en position 5', formant le diadduit-2',5' **118** (Figure 114). Le mécanisme de formation amenant au monoadduit-5' **117** se déroule de la même façon, avec une addition-1,6 en position 5' de l'*ortho*-quinone **Q** (Figure 115). Le diadduit-2',5' peut aussi se former à partir de ce monoadduit avec une seconde addition-1,6 du 2-FMT en position 2' de la quinone **U**.

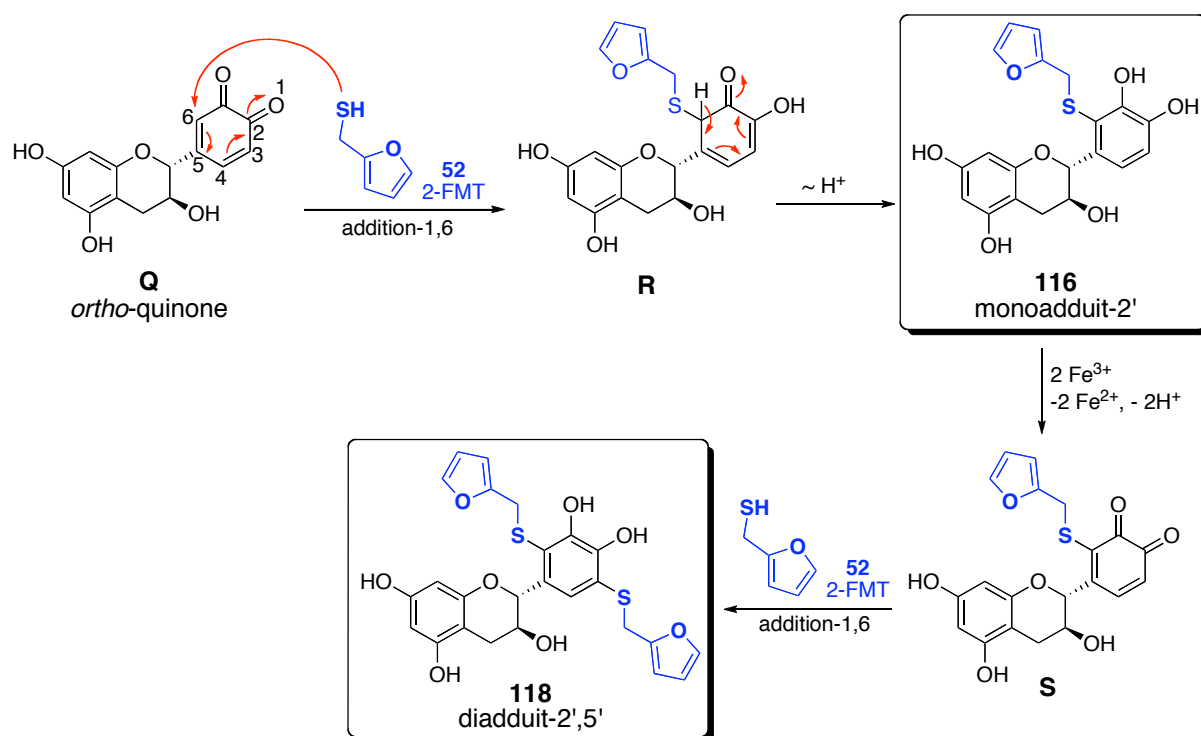


Figure 114. Mécanisme de formation du monoadduit-2' **116** et du diadduit-2',5' **118**.

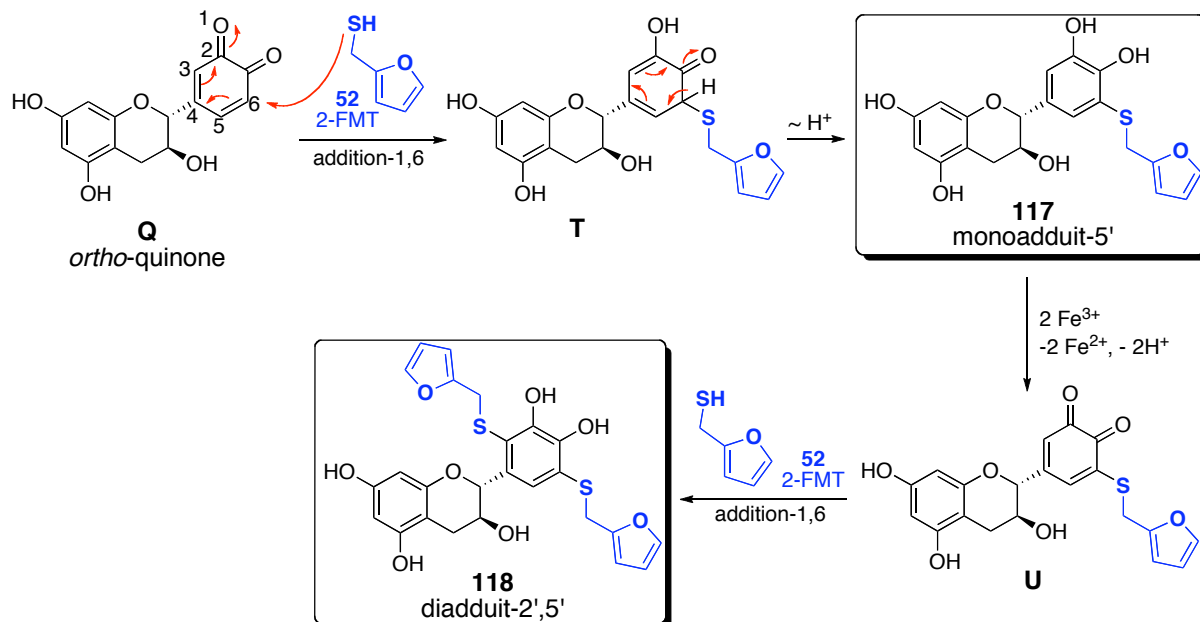
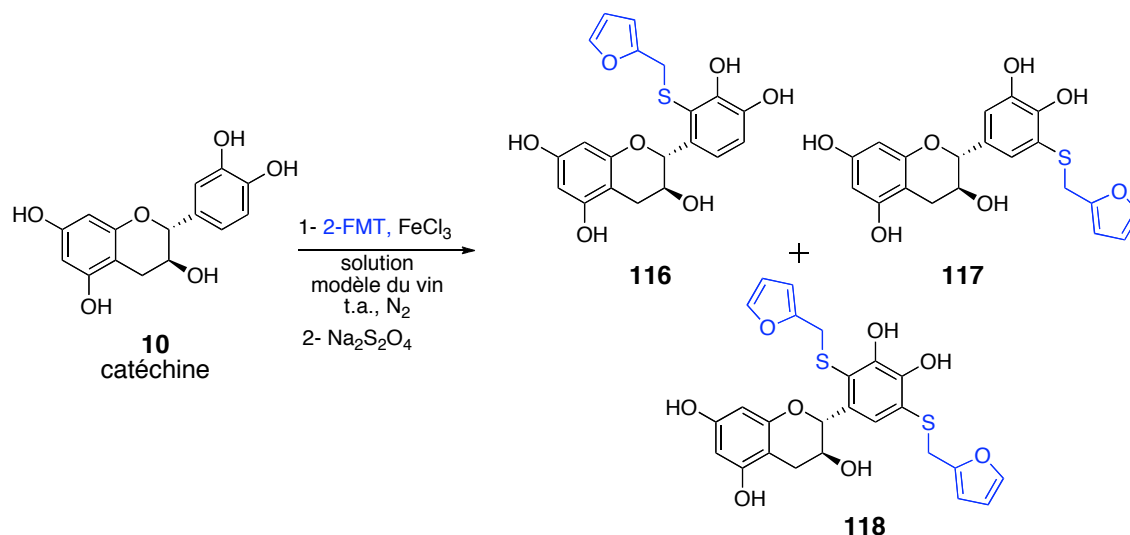


Figure 115. Mécanisme de formation du monoadduit-5' **117** et du diadduit-2',5' **118**.

d. Oxydation en solution modèle du vin

Les trois adduits formés lors de l'oxydation chimique de la catéchine en présence du 2-FMT en milieu aqueux étant isolés et caractérisés, nous avons réalisé la même réaction en solution modèle du vin (solution aqueuse à 12 % v/v d'éthanol, 5 g/L d'acide tartrique, pH = 3,55) car il est intéressant de voir l'influence de ce milieu sur la formation de ces trois adduits **116-118**.

Dans ces conditions, en présence de 2 équivalents du 2-FMT et du $FeCl_3$, au bout de 2 heures de réaction, la catéchine n'est pas convertie totalement (48 %), comme dans le cas de l'oxydation de la catéchine en solution aqueuse classique. Seuls deux adduits sont formés et isolés avec 6 % de rendement pour le monoadduit **116** et 12 % de rendement pour le diadduit **118**. Le monoadduit **117** n'est observé qu'à l'état de trace (Figure 116). Comme précédemment, pour que la catéchine soit totalement convertie, des ajouts successifs du thiol et du fer(III) sont réalisés. Il est alors nécessaire d'ajouter au total 10 équivalents du 2-FMT et 6 équivalents du $FeCl_3$ avec un temps de réaction de 23 heures. Après purification, seuls les deux adduits **116** et **118** sont isolés avec 6 % et 23 % de rendement, respectivement (Figure 116).



Conditions	116	117	118
2-FMT (2 éq.), FeCl ₃ (2 éq.) t = 2 h	6 %	traces	12 %
2-FMT (10 éq.), FeCl ₃ (6 éq.) t = 23 h	6 %	-	23 %

Figure 116. Oxydation de la catéchine en présence du 2-FMT en solution modèle du vin (rendements après purification).

En solution modèle du vin, la réaction est donc plus lente et les rendements obtenus pour les trois adduits précédemment isolés sont inférieurs à ceux obtenus lors de l'oxydation de la catéchine en solution aqueuse classique. Deux hypothèses peuvent expliquer cette différence. La première est la présence d'autres molécules, comme l'acide tartrique ou l'éthanol, en solution modèle du vin, qui peuvent réagir comme nucléophiles avec les quinones formées. La deuxième possibilité est la différence de pH entre les deux milieux étudiés. En condition aqueuse classique, le pH est neutre, tandis qu'en solution modèle du vin, le pH est acide (pH = 3,55 ici). Les ions phénolates, impliqués dans l'oxydation des catéchols, sont peu présents en condition acide et donc la formation des quinones puis des thio-ellagitannins est moins favorisée qu'à pH neutre. Cependant, dans les deux conditions étudiées, nous observons la formation des mêmes adduits avec seulement une addition-1,6 nucléophile du 2-FMT sur le cycle B de la catéchine.

e. Influence de l'oxygène

Les réactions décrites précédemment en solution aqueuse et en solution modèle du vin, ont été effectuées dans des milieux désoxygénés sous atmosphère inerte (N₂). Ceci a permis d'appauvrir le milieu en oxygène en diminuant la quantité d'oxygène dissous de 8 mg/L à 0,7 mg/L (mesures effectuées à l'aide d'une sonde PreSens Fibox PSt3 fonctionnant avec un complexe de ruthénium). Les noyaux catéchols étant aussi susceptibles d'être oxydés en présence d'oxygène (cf. Chapitre I. III), nous avons voulu tester l'influence de l'oxygène sur la formation des 3 adduits isolés précédemment. Pour cela, trois réactions sont réalisées en solution aqueuse: une réaction sous atmosphère inerte (N₂) ; une réaction saturée en oxygène

par bullage d'oxygène dans le milieu tout au long de la réaction ; et enfin, une réaction ouverte à l'air ambiant et donc en contact avec l'oxygène (Figure 117). Au bout de 2 jours de réaction à température ambiante, aucune réaction ne se produit. Pour activer la réaction, les milieux sont chauffés à 60°C pendant 12 jours. Aucune évolution n'est observée et aucun des 3 adduits isolés précédemment en présence de fer (III) n'est formé. L'analyse RMN ^1H des trois milieux réactionnels révèle que, dans les trois cas, les signaux de la catéchine (H-2, H-4, H-6, H-8, H-2', H-5' et H-6') et du 2-FMT sont retrouvés majoritairement (Figure 118). Pourtant, l'analyse de l'eau utilisée pour ces réactions (H₂O Milli-Q) indique la présence de trace de fer (26 µg/L) (cf. Chapitre IV. Partie expérimentale). Cela paraît donc étonnant qu'aucune trace de réaction d'oxydation ne soit observée dans les trois cas.

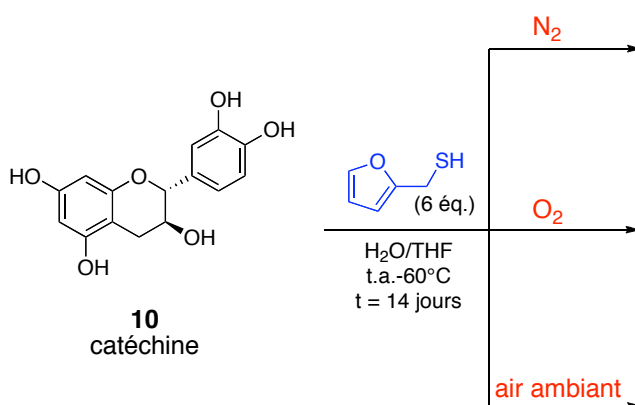


Figure 117. Etude de l'oxydation de la catéchine en présence du 2-FMT.

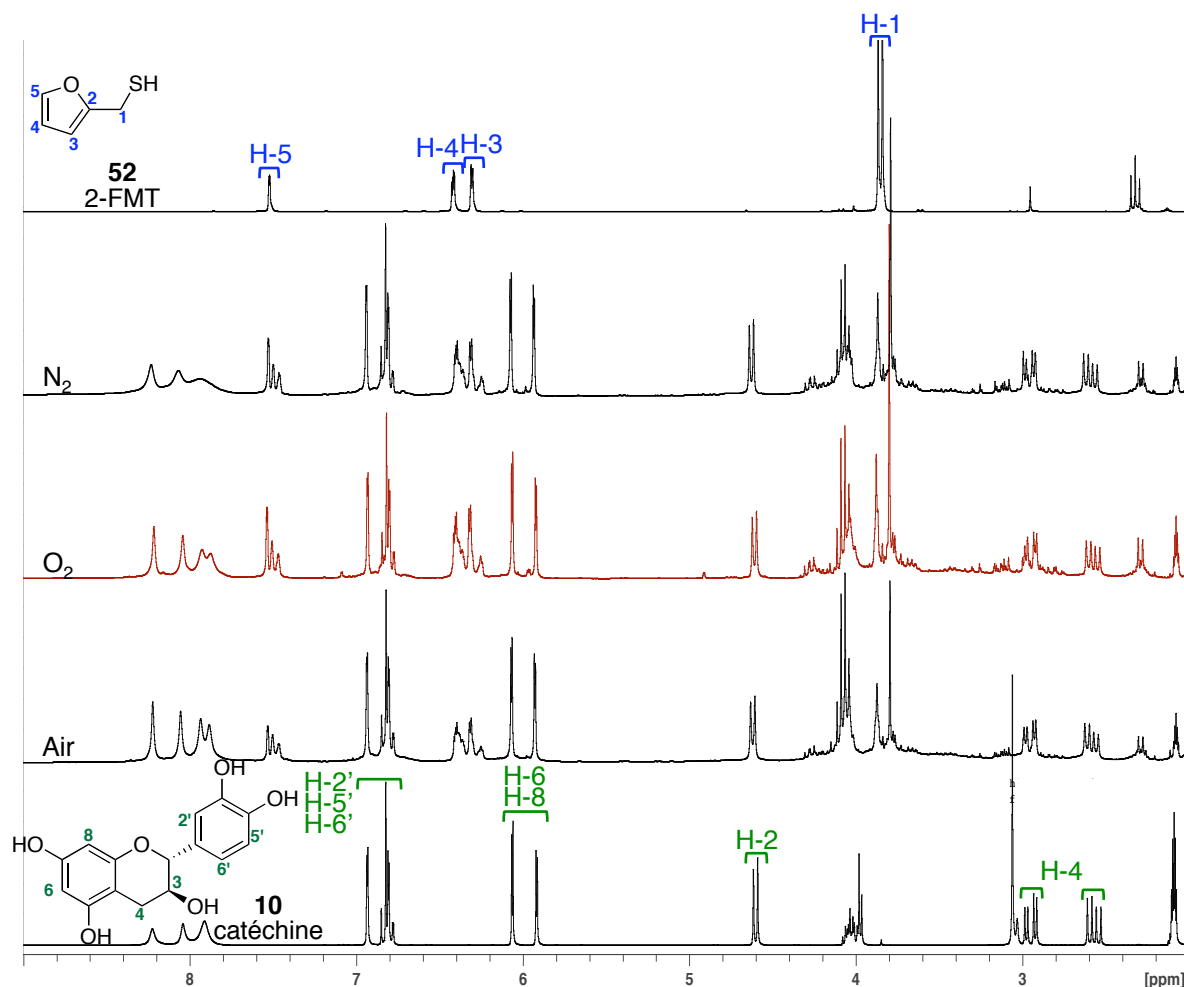


Figure 118. Comparaison des spectres RMN ^1H des milieux réactionnels des trois réactions d'oxydation de la catéchine en présence du 2-FMT (acétone- d_6).

L'oxydation de la catéchine au fer(III) paraît donc plus efficace que l'oxydation en présence d'oxygène. Pour activer la réaction d'oxydation de la catéchine en présence d'oxygène, la réaction est lancée en solution aqueuse saturée en oxygène, en présence d'une quantité catalytique de fer (III) (10 %). Les monoadduits **116** et **117** et le diadduit **118** sont isolés avec seulement 3 %, 3 % et 4 % de rendement, respectivement (Figure 119). Nous obtenons donc 10 % d'adduits thio-catéchine avec 10 % de trichlorure de fer présents dans le milieu. Seul le fer semble intervenir dans la formation des adduits thio-catéchols. Pourtant lors de l'oxydation des catéchols en présence de fer(III), celui-ci est réduit en fer(II), qui peut ensuite catalyser l'oxydation de la catéchine en présence d'oxygène (Figure 30, cf. Chapitre I. II). Cependant, nous n'observons pas ce mécanisme ici.

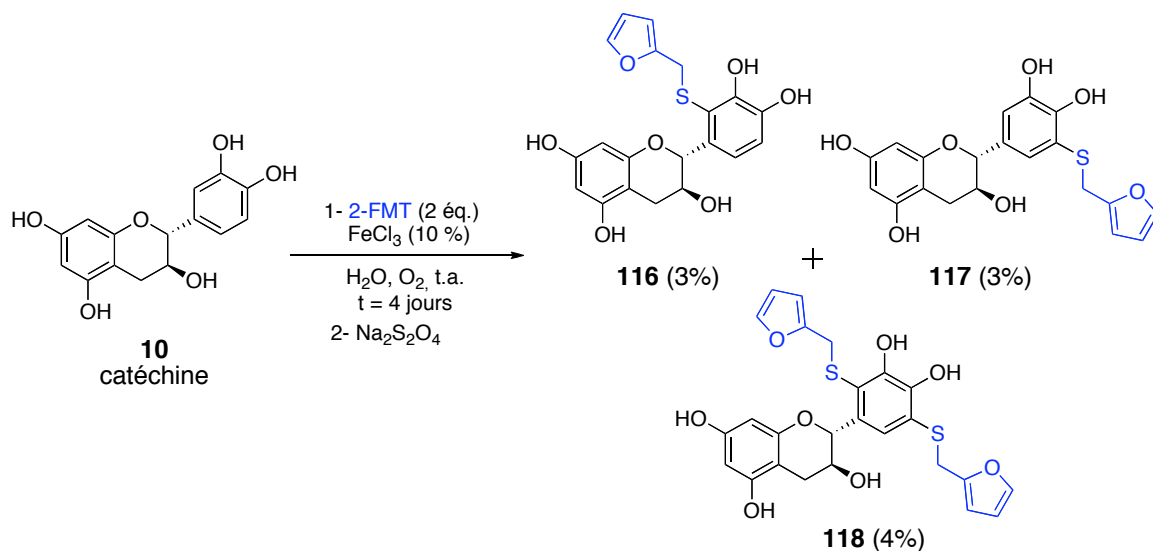


Figure 119. Oxydation de la catéchine en présence de 2-FMT, d'oxygène et d'une quantité catalytique de fer(III).

Pour conclure, l'oxydation chimique de la catéchine en présence du fer (III) et du 2-FMT amène à la formation de trois adduits, le monoadduit-2', le monoadduit-5' et le diadduit-2',5'. Seules deux positions du cycle B de la catéchine subissent l'addition du thiol, les positions 2' et 5', ce qui signifie que l'addition nucléophile de type Michael se produit seulement en 1,6. Ces adduits sont formés aussi bien en solution aqueuse qu'en solution modèle du vin. Cependant, en solution modèle du vin, la réaction est plus lente et les adduits thio-catéchine sont isolés avec des rendements inférieurs à ceux obtenus en solution aqueuse classique. De plus, les résultats obtenus lors de l'étude de l'oxydation de la catéchine en présence de fer et/ou d'oxygène portent à croire que le trichlorure de fer joue un rôle crucial dans la formation de ces adduits thiolés, puisque aucune réaction n'est observée sans fer(III), même en présence d'oxygène.

f. Oxydation de la (–)-épicatéchine en présence du 2-FMT

La (–)-épicatéchine (**11**), flavan-3-ol du vin, est l'épimère de la (+)-catéchine (**10**) au niveau de la fonction alcool en position 3 du cycle C. Sur l'épicatéchine, la liaison avec la fonction hydroxyle est orientée en α tandis que, sur la catéchine, elle est orientée en β . Par contre, le noyau catéchol de ces deux molécules, le cycle B, ne présente aucune différence (Figure 120). Cette molécule est donc aussi susceptible de réagir avec les composés soufrés odorants en condition oxydante pour former des adduits thio-catéchol.

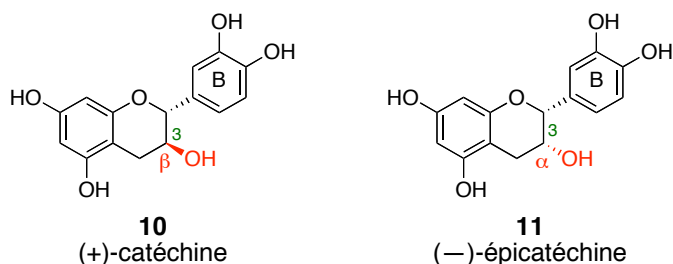
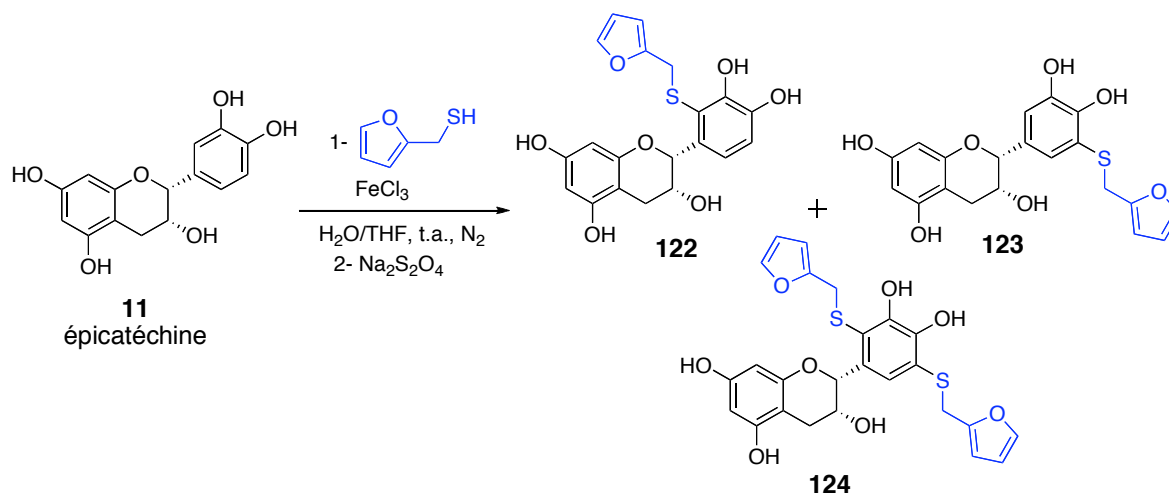


Figure 120. Structure de la catéchine et de l'épicatéchine.

Dans la littérature, il est dit que l'épicatéchine (**11**) est plus oxydable que la catéchine (**10**).²⁰⁹ Nous avons donc voulu vérifier cela pour la formation des adduits thio-catéchols dans les conditions oxydantes chimiques utilisées précédemment (FeCl₃, eau Milli-Q ou solution modèle du vin), en présence de l'arôme soufré 2-FMT (**52**).

i. En solution aqueuse

La (—)-épicatéchine (**11**) est mise en solution aqueuse (eau Milli-Q), appauvrie en oxygène, en présence du 2-FMT et du trichlorure de fer à température ambiante sous atmosphère inerte (N₂). En présence de 2 équivalents du thiol et de l'agent oxydant, seulement 68 % de l'épicatéchine est convertie, ce qui est légèrement supérieur au résultat obtenu avec la catéchine dans les mêmes conditions (57 %). Trois adduits sont isolés, les monoadduits-2' et 5' (**122-123**) avec 5 % et 3 % de rendement, respectivement, et le diadduit-2',5' (**124**) avec 9 % de rendement (Figure 121). Comme dans le cas de la catéchine, nous avons fait des ajouts successifs du thiol et du fer(III) jusqu'à consommation totale de l'épicatéchine. Un premier ajout de 2 équivalents du 2-FMT puis du FeCl₃ est effectué, puis, après 2 heures de réaction, l'addition de 2 équivalents du thiol et 1 équivalent de l'agent oxydant est faite toutes les heures jusqu'à disparition totale de l'épicatéchine dans le milieu réactionnel. Pour cela, il est nécessaire d'utiliser au total 8 équivalents du 2-FMT et 5 équivalents du FeCl₃, comme lors de l'oxydation de la catéchine. Dans ce cas, seul le diadduit **124** est isolé avec 39 % de rendement (Figure 121).

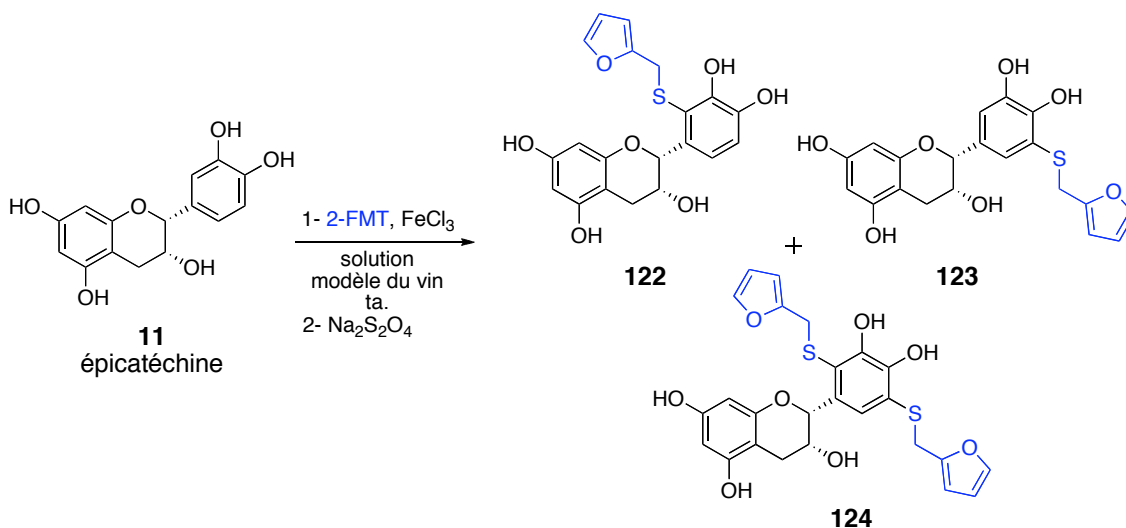


Conditions	122	123	124
2-FMT (2 éq.), FeCl ₃ (2 éq.) t = 2 h	5 %	3 %	9 %
2-FMT (8 éq.), FeCl ₃ (5 éq.) t = 5 h	-	-	39 %

Figure 121. Oxydation de l'épicatéchine en présence du 2-FMT (rendements après purification).

ii. En solution modèle du vin

L'oxydation de l'épicatéchine en présence du 2-FMT et du trichlorure de fer a aussi été réalisée en solution modèle du vin. Dans ce cas, avec conversion non totale ou totale de l'épicatéchine, seul le diadduit-2',5' **124** est isolé avec 6 % et 23 % de rendement, respectivement (Figure 122). La formation des deux monoadduits **122** et **123** n'a été observée qu'à l'état de trace, ne nous permettant pas de les isoler.



Conditions	122	123	124
2-FMT (2 éq.), FeCl ₃ (2 éq.) t = 2 h	<i>traces</i>	<i>traces</i>	6 %
2-FMT (8 éq.), FeCl ₃ (5 éq.) t = 5 h	<i>traces</i>	<i>traces</i>	23 %

Figure 122. Oxydation de l'épicatéchine en solution modèle du vin en présence du 2-FMT (rendements après purification).

Si on compare les résultats obtenus lors de l'oxydation de l'épicatéchine avec ceux obtenus lors de l'oxydation de la catéchine en présence du 2-FMT (Figure 98 et Figure 116), l'addition nucléophile du thiol sur le noyau catéchol se fait sur les mêmes positions (2' et 5') et nous obtenons les mêmes adduits thiolés. Cependant, ces adduits formés sont obtenus avec des rendements inférieurs dans le cas de l'oxydation de l'épicatéchine en solution aqueuse classique et en solution modèle du vin. On peut supposer que ces résultats peuvent être dus soit à une réactivité plus faible de l'épicatéchine par rapport à la catéchine pour ces réactions d'oxydation (mais nous observons un taux de conversion du substrat similaire dans les deux cas, voire légèrement supérieur dans le cas de l'épicatéchine), soit, au contraire, que l'épicatéchine est plus réactive et, donc, que d'autres composés plus complexes, différents des adduits thiolés, se forment dans le milieu (oligomères, polymères). Cette dernière hypothèse, la plus probable, corrobore avec les résultats obtenus dans la littérature.¹⁹⁹

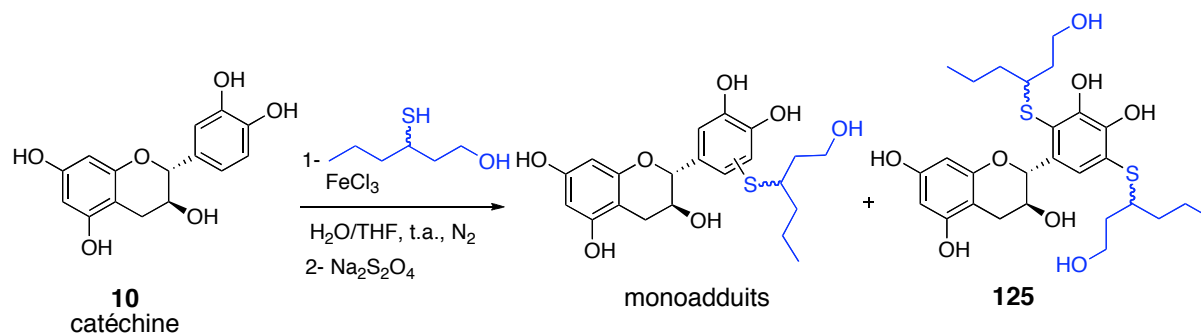
2. OXYDATION EN PRESENCE DU 3-SH

Un autre thiol présent plus abondamment dans les vins a été choisi pour cette étude, le 3-sulfanylhéxan-1-ol ou 3-SH (**48**) (cf. Chapitre I. I.4.b.i.). C'est un thiol secondaire, formé lors de la fermentation alcoolique, qui est présent dans le vin sous ses deux formes énantiomériques (R) et (S). Dans un premier temps, nous avons étudié l'oxydation chimique de la catéchine en présence d'un mélange racémique du 3-SH, puis nous avons isolé les adduits thio-catéchines en présence de l'énantiomère (R)-3-SH.

a. Oxydation en solution aqueuse

Comme lors de l'oxydation de la catéchine en présence du 2-FMT, nous avons réalisé la réaction en solution aqueuse classique, c'est-à-dire dans de l'eau Milli-Q appauvrie en oxygène, à température ambiante sous atmosphère inerte (N₂). Tout d'abord, la catéchine est mise en solution en présence de 2 équivalents du 3-SH (**48**) et du trichlorure de fer. La réaction est stoppée après 2 heures de réaction par ajout du dithionite de sodium. Après purification, 43 % de catéchine est récupérée. Dans ces conditions de réaction, la catéchine n'est donc pas totalement convertie, comme dans le cas de son oxydation en présence du 2-FMT. La formation de monoadduits et de diadduits est observée. Cependant, après purification sur CLHP semi-préparative, seul le diadduit **125** est isolé avec 18 % de rendement. L'utilisation du 3-SH en mélange racémique amène à la formation de diastéréoisomères, ce qui complexifie la purification des différents adduits formés (Figure 123). D'ailleurs, lors des analyses RMN du diadduit **125**, nous avons observé un mélange des quatre diastéréoisomères **125a-125d** (Figure 124).

Des ajouts successifs du 3-SH et du trichlorure de fer ont été réalisés afin de convertir totalement la catéchine. Pour cela, un premier ajout composé de deux équivalents du thiol et du fer(III) est fait, puis après 2 heures de réaction, l'addition de deux équivalents du 3-SH puis 1 équivalent de FeCl₃ est effectuée toutes les heures. Au total, l'utilisation de huit équivalents du 3-SH et cinq équivalents du fer(III) est nécessaire pour que la réaction soit totale. Comme précédemment, seul le diadduit **125** est isolé avec 59 % de rendement (Figure 123).



Conditions	monoadduits	125
3-SH (2 éq.), FeCl ₃ (2 éq.) t = 2 h	<i>Traces</i>	18 %
3-SH (8 éq.), FeCl ₃ (5 éq.) t = 5 h	<i>traces</i>	59 %

Figure 123. Oxydation de la catéchine en présence de 3-SH. (rendements après purification).

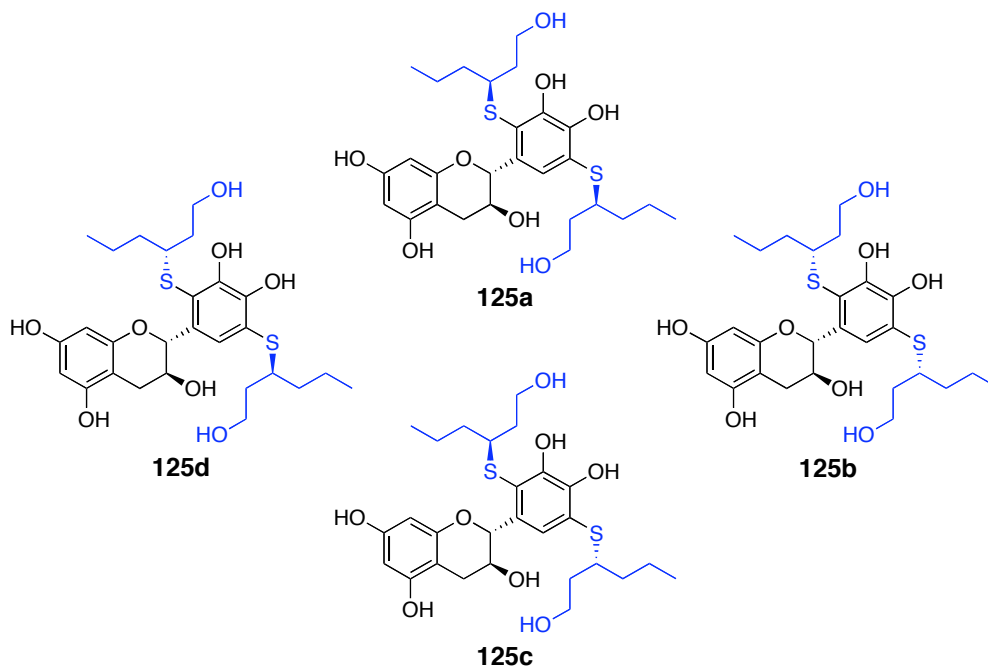


Figure 124. Structure des 4 diastéréoisomères 125.

Afin de simplifier la réaction et afin d'isoler et caractériser tous les adduits thiolés formés, nous avons réalisé la même réaction avec un seul énantiomère du 3-SH, le (R)-3-SH, purifiés comme précédemment décrit (cf. Chapitre III. I.2.a). Pour cela, nous avons stoppé la réaction après l'ajout de seulement 2 équivalents du thiol et du fer (III), afin de favoriser la formation des monoadduits. Après purification sur CLHP préparative, les monoadduits **126** et **127** sont isolés avec 9 % et 2 % de rendement, respectivement, et le diadduit **125a** est isolé avec 21 % de rendement (Figure 125).

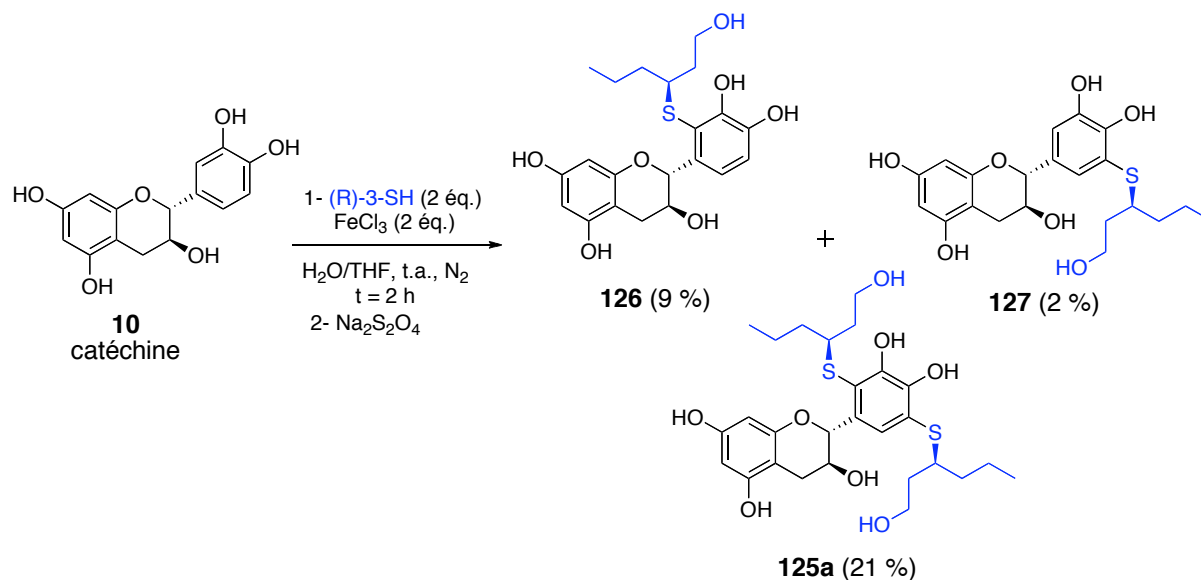


Figure 125. Oxydation de la catéchine en présence du (R)-3-SH.

b. Caractérisation des adduits formés

i. Monoadduit-2' 126

La caractérisation complète du monoadduit **126** a été faite afin d'identifier la position du (R)-3-SH sur la catéchine. Les résultats obtenus en spectrométrie de masse (m/z 445, $[M+Na]^+$) ainsi qu'en RMN confirment la présence d'une seule unité 3-SH sur la catéchine. Sur le spectre RMN ¹H du monoadduit **126**, nous observons la disparition d'un proton aromatique du cycle B de la catéchine. De plus, l'observation d'une corrélation en HMBC entre le proton H-3'' de l'unité thiol (δ 3,37 ppm) et le carbone à δ 120,2 ppm situé sur le cycle B de l'unité catéchine confirme l'addition du (R)-3-SH sur le noyau catéchol (Figure 126). Les données RMN ont été comparées avec celles obtenues pour le monoadduit-2' **116** formé entre la catéchine et le 2-FMT. Les déplacements chimiques ainsi que les corrélations obtenues en RMN à deux dimensions sont similaires. L'addition du thiol semble donc s'être aussi faite en 2' du cycle B de la catéchine.

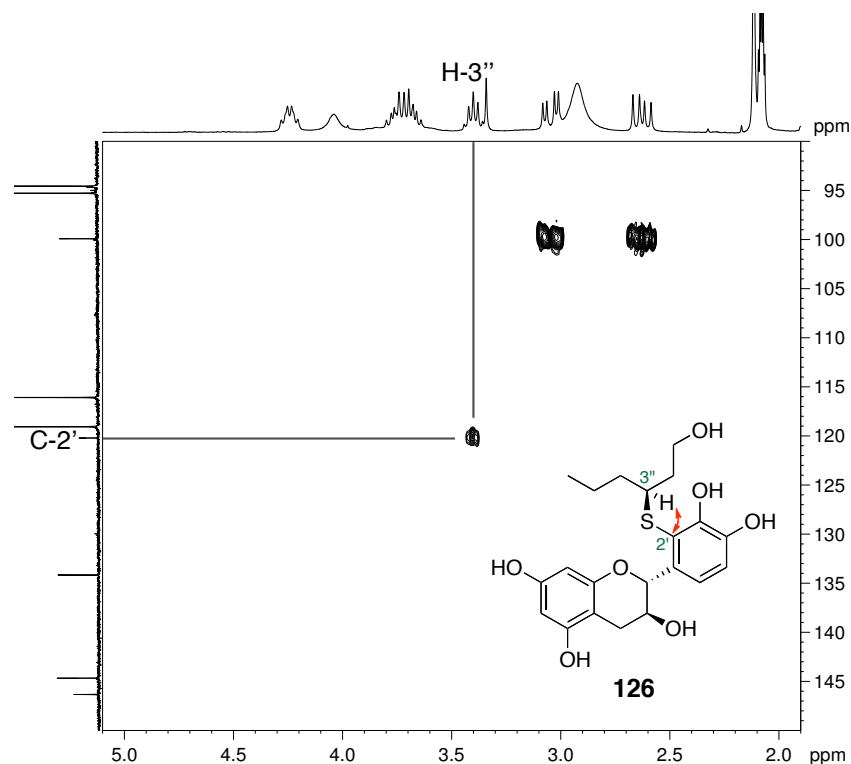


Figure 126. Zoom du spectre HMBC du monoadduit **126** montrant la corrélation H-3''/C-2'.

De plus, sur le spectre RMN ^1H du monoadduit **126**, dans la région des protons aromatiques, on observe un signal caractéristique d'un système AB ($\delta = 6,90$ et $6,96$ ppm) avec une constante de couplage caractéristique pour deux protons situés en ortho l'un de l'autre ($J = 8,4$ Hz) (Figure 127). La seule possibilité est donc que ces deux protons soient les protons H-5' et H-6' du cycle B et que le 3-SH se soit additionné en 2' de ce même cycle. Toutes ces données confirment donc la structure du monoadduit **126**.

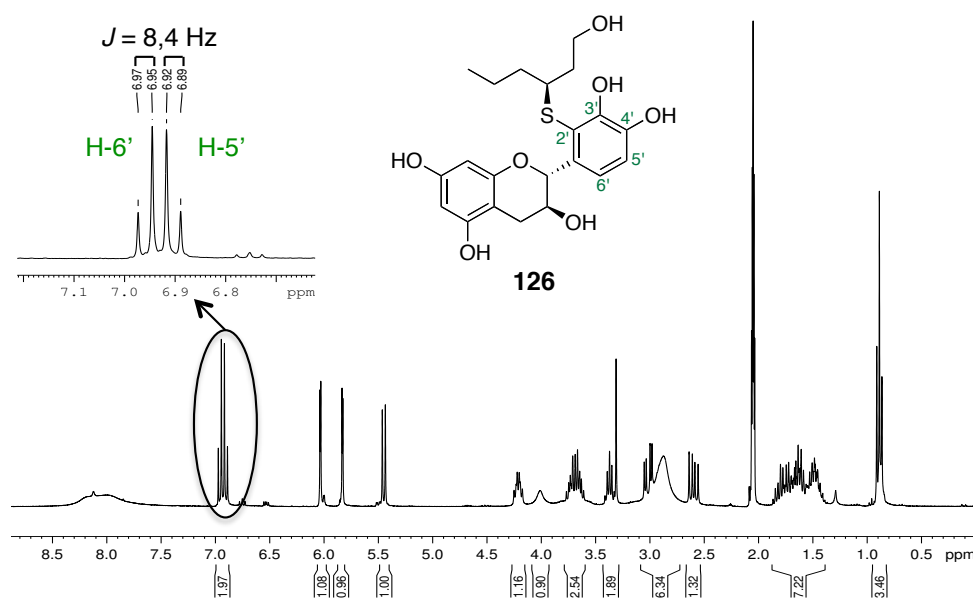


Figure 127. Zoom du spectre ^1H du monoadduit **126**.

ii. Monoadduit-5' 127

Comme pour le monoadduit **126**, la caractérisation du monoadduit **127** a également été faite. L'analyse par spectrométrie de masse indique que ce composé est aussi un monoadduit (m/z 445, $[M+Na]^+$). L'analyse RMN du composé **127** a été réalisée afin d'identifier la position du (R)-3-SH sur la catéchine. Comme pour le monoadduit **126**, on remarque la disparition d'un proton aromatique du cycle B de la catéchine sur le spectre RMN 1H . De plus, une tache de corrélation en HMBC est présente entre le proton H-3'' de l'unité thiol (δ 3,22 ppm) et le carbone à δ 119.9 ppm du cycle B de l'unité catéchine (Figure 128). Les données RMN ont été comparées avec celles obtenues pour le monoadduit-5' **117** formé entre la catéchine et le 2-FMT. Les déplacements chimiques ainsi que les corrélations obtenues en RMN à deux dimensions sont similaires. Toutes ces données portent à croire que le (R)-3-SH s'est aussi additionné sur la position 5' du cycle B de la catéchine.

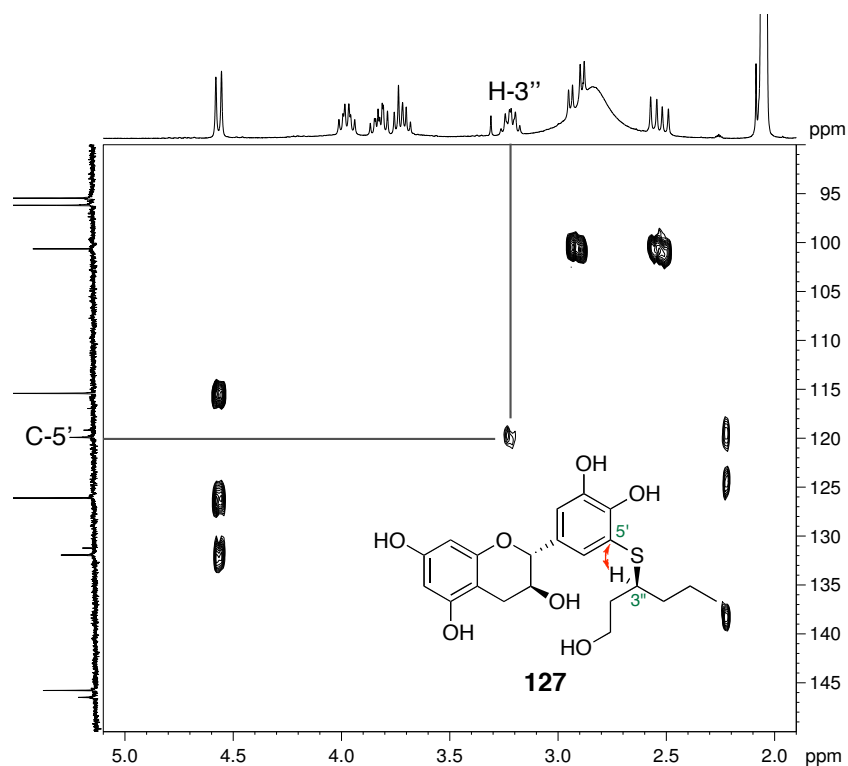


Figure 128. Zoom du spectre HMBC du monoadduit **127** montrant la corrélation H-3''/C-5'.

De plus, deux doublets à δ 6.89 et 7.00 ppm avec une constante de couplage $J = 1,9$ Hz, sont observés sur le spectre RMN 1H du composé **127**. Ces signaux sont caractéristiques de deux protons aromatiques situés en méta l'un de l'autre. La seule possibilité est que c'est deux signaux correspondent aux protons H-2' et H-6' du cycle B de la catéchine (Figure 129). L'addition du thiol s'est donc bien faite en position 5' de l'unité catéchine dans le cas du monoadduit **127**.

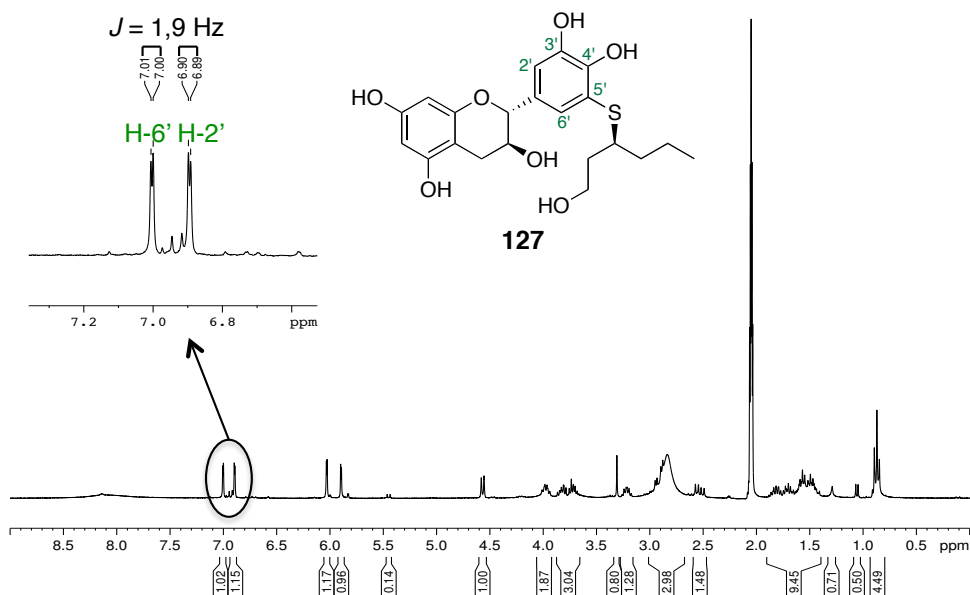


Figure 129. Zoom du spectre ^1H du monoadduit **127**.

iii. Diadduit-2',5' **125a**

Comme pour les monoadduits **126** et **127**, la caractérisation du composé **125a** a également été faite afin d'identifier les positions du (R)-3-SH sur la catéchine. L'analyse par spectrométrie de masse (m/z 577, $[\text{M}+\text{Na}]^+$) ainsi que les données RMN corroborent avec une diaddition du thiol sur la catéchine. En effet, un seul proton aromatique est présent sur le cycle B de la catéchine sur le spectre RMN ^1H (Figure 130). De plus, tous les signaux RMN ^1H et ^{13}C correspondant aux unités 3-SH sont doublés.

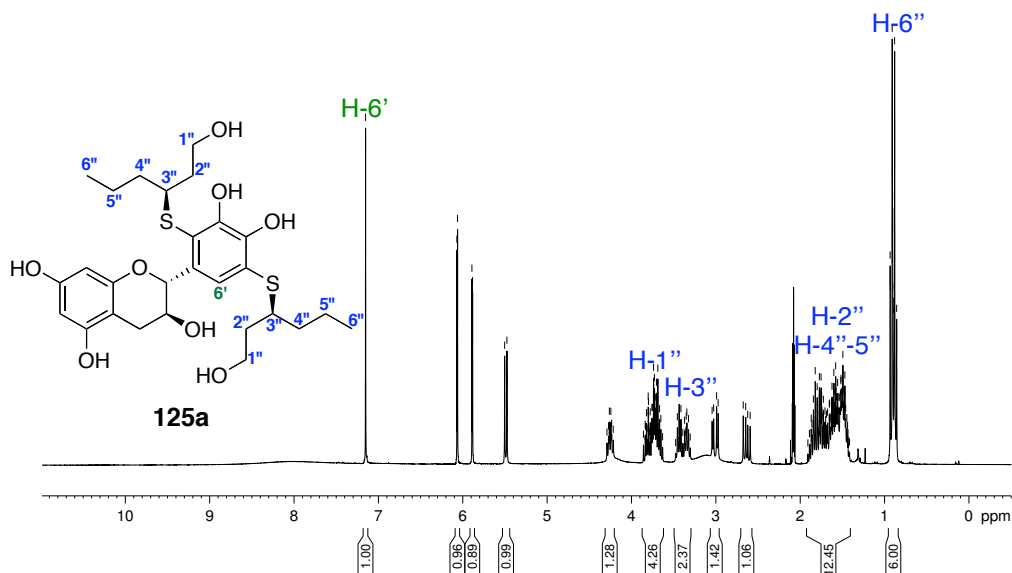


Figure 130. Zoom du spectre ^1H du diadduit **125a**.

Pour identifier l'emplacement des unités 3-SH sur la catéchine, la tétraméthylation du diadduit **125a** a été faite, afin de réaliser une expérience RMN COSY long-range, comme dans le cas du diadduit **118** formé lors de l'oxydation de la catéchine en présence du 2-FMT. Pour cela, le diadduit **125a** est mis en solution dans l'acétone à température ambiante sous atmosphère inerte (N₂), puis la base K₂CO₃ et le diméthyle sulfate sont ajoutés au milieu. Après 26 heures de réaction, l'adduit tétraméthylé **128** est isolé avec 13 % de rendement (Figure 131).

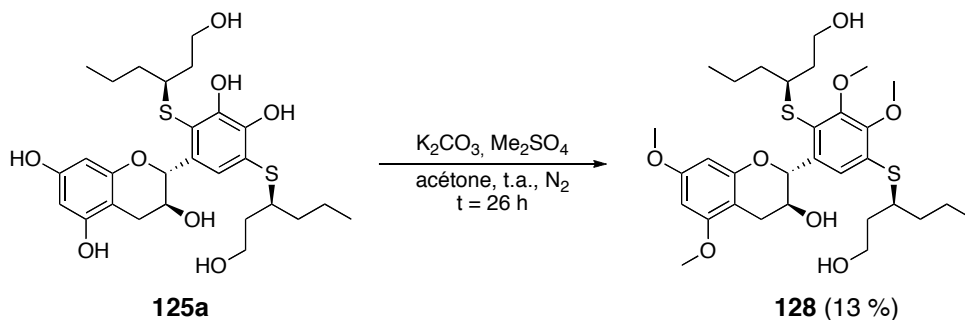


Figure 131. Tétraméthylation du diadduit **125a**.

L'expérience RMN COSY long-range de **128** ne révèle aucune corrélation entre les groupements méthoxy en 3' et 4' du cycle B de la catéchine et le proton aromatique de ce même cycle (Figure 132). Cela signifie que les deux positions 2' et 5' situées en α de ces groupements méthoxy (corrélation en ⁵J) ne possèdent aucun proton aromatique et donc que le (R)-3-SH s'est additionné sur ces deux positions du cycle B, comme dans le cas du diadduit **118**. Toutes ces données confirment donc la structure proposée pour le diadduit **125a**.

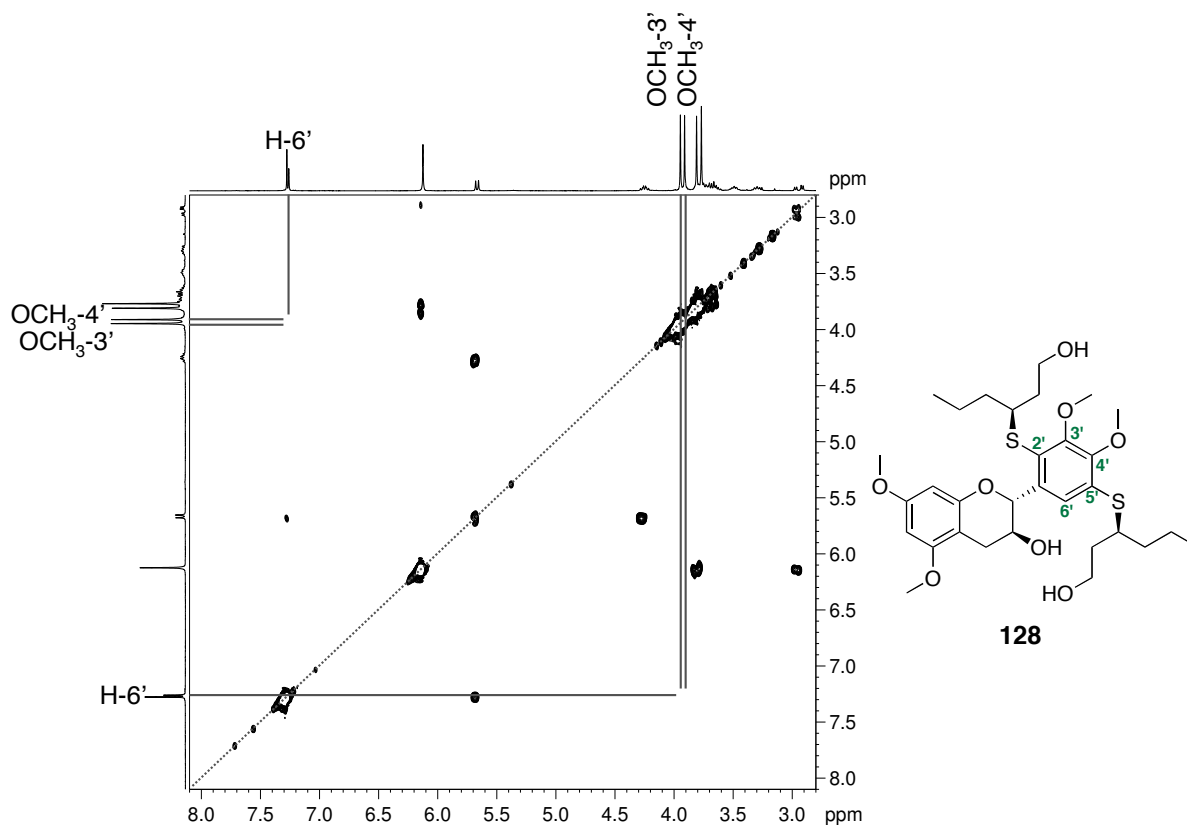


Figure 132. Zoom du spectre COSY long-range du composé **128**.

c. Oxydation enzymatique en présence de la tyrosinase

Dans un même temps, nous avons étudié l'oxydation enzymatique de la catéchine en présence du 3-SH. Pour cela, la tyrosinase (EC 1.14.18.1), enzyme naturellement produite dans les baies de raisin appartenant à la famille des catéchols oxydases, a été choisie. Cette enzyme est connue pour sa capacité à oxyder les phénols et les catéchols. En effet, comme les PolyPhénols Oxydases ou PPO présentes dans le raisin, elle est capable d'hydroxyler les phénols en catéchols grâce à son activité monophénol oxydase et/ou d'oxyder les noyaux catéchols en quinones grâce à son activité diphénol oxydase (cf. Chapitre I. II.3).^{140, 151, 204-206} Dans notre cas, nous nous intéressons uniquement à son activité diphénol oxydase.

La réaction est réalisée dans les conditions optimales pour l'activité de la tyrosinase, c'est-à-dire, dans un tampon phosphate à pH = 7 à 30°C.²¹³ La catéchine est mise en solution dans ce tampon puis 2 équivalents du 3-SH (**48**) sont ajoutés au milieu, suivi de l'addition de la tyrosinase (4068 unités) (Figure 133). Le suivi de la réaction est réalisé par chromatographie sur couche mince (CCM) et par CLHP analytique (méthode 6). Après 27 heures de réaction, aucune réaction n'est observée entre la catéchine et le 3-SH, donc 2 équivalents du 3-SH (**48**) et la tyrosinase (4068 unités) sont ajoutés au milieu qui est ouvert à l'air. Sur le suivi par CCM, on peut voir l'apparition d'une tâche correspondant au diadduit **125**, mais qui reste minoritaire par rapport à celle de la catéchine. Après 6 jours de réaction, une nouvelle addition du thiol et de l'enzyme est faite puisque la réaction n'évolue plus. La réaction est stoppée après 8 jours. Le milieu réactionnel est ensuite analysé par CLHP analytique et par CL/SM pour identifier les produits formés par leur temps de rétention et leur masse. Les résultats obtenus confirment la formation de deux monoadduits et d'un diadduit, correspondant aux trois adduits thiolés isolés précédemment (Figure 134). Cependant, la catéchine reste le composé majoritaire (45 %). La réaction étant réalisée à l'échelle analytique, nous n'avons pas pu isoler les différents adduits. Néanmoins, les rendements ont pu être évalués par CLHP : 13 et 16 % pour les monoadduits et 26 % pour le diadduit **125** avec un taux de conversion de la catéchine de 55 %.

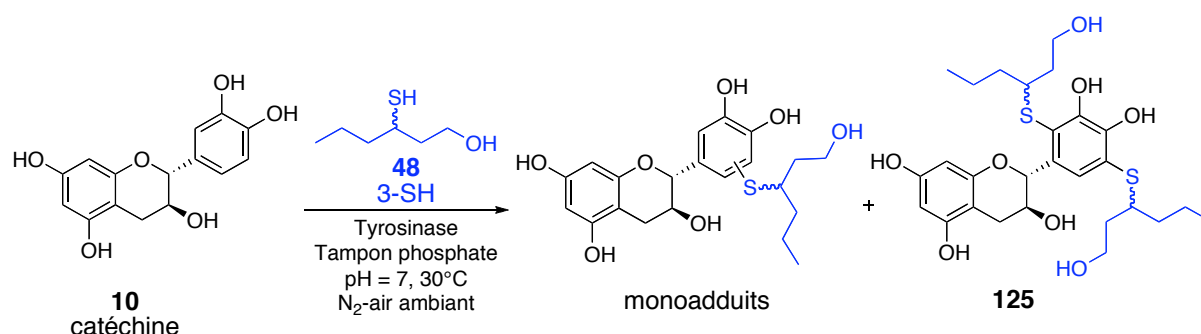


Figure 133. Oxydation enzymatique de la catéchine en présence de la tyrosinase et du 3-SH.

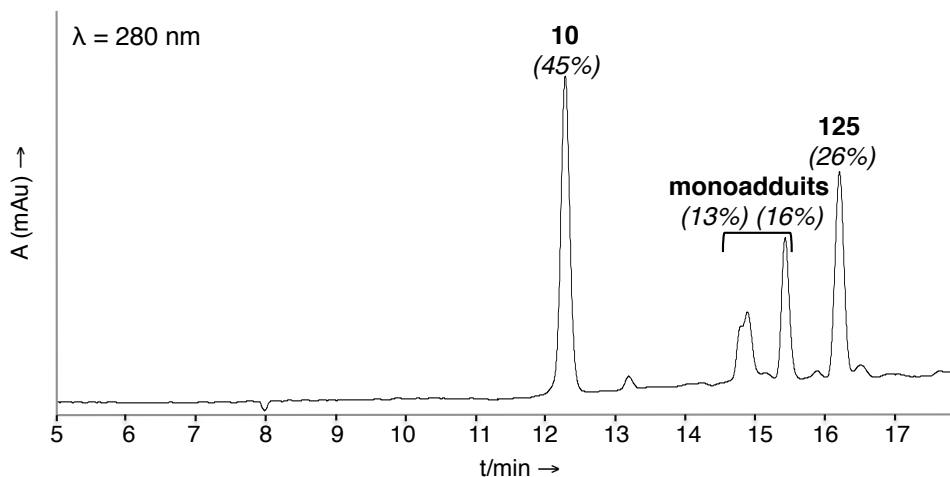


Figure 134. Chromatogramme CLHP de la réaction d'oxydation enzymatique de la catéchine en présence du 3-SH (méthode 6).

Dans les conditions enzymatiques utilisées, nous obtenons la formation des mêmes adduits qu'en condition chimique (même temps de rétention et même masse). La formation du diadduit reste majoritaire par rapport aux monoadduits. Cependant, la réaction est plus lente que celle effectuée en solution aqueuse en présence de fer(III) et la catéchine n'est pas totalement convertie.

3. RESULTATS OBTENUS DANS LA LITTERATURE

Depuis plusieurs années, l'oxydation de catéchols du vin en présence de composés soufrés odorants a été décrite et notamment, des équipes ont travaillé sur l'oxydation de catéchols, y compris la catéchine et l'épicatéchine, en présence du 2-FMT (**52**)^{200, 202} et du 3-SH (**48**).¹⁹²⁻²⁰² Lors de ces études, il a été montré que l'épicatéchine était plus réactive que la catéchine en condition oxydante et que le 2-FMT était un meilleur nucléophile que le 3-SH.^{200, 202} Néanmoins, aucun adduit n'a été isolé et caractérisé entre ces flavan-3-ols et le 2-FMT à ce jour. Dans le cas du 3-SH, des adduits formés à partir de la catéchine ou de l'épicatéchine ont été isolés par Nikolantonaki et *al.*²⁰¹ Pour cela, ils ont travaillé en condition oxydante enzymatique en présence de PPO en solution modèle du vin. Trois adduits thiolés ont été identifiés lors de l'oxydation de la catéchine (Figure 135) et de l'épicatéchine (Figure 136). Les mêmes adduits que nous avons isolés sont obtenus dans le cas de l'oxydation de l'épicatéchine en présence du 3-SH (monoadduits en 2' et 5' et diadduit en 2',5'). Cependant, dans le cas de la catéchine, nous ne sommes pas en accord avec la structure du monoadduit-6' et du diadduit-5',6' qu'ils proposent (Figure 135). Dans notre cas, nous observons uniquement des additions-1,6 nucléophiles du 3-SH en position 2' et 5' du cycle B, confirmées par les différentes expériences RMN réalisées.

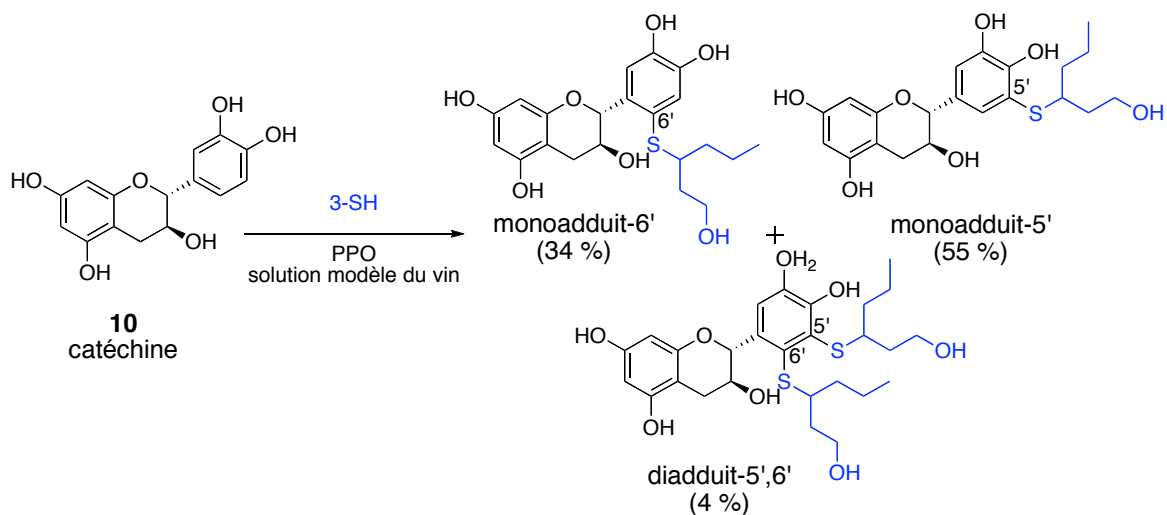


Figure 135. Résultats de l'oxydation de la catéchine en présence du 3-SH obtenus par Nikolantonaki et *al.*²⁰¹

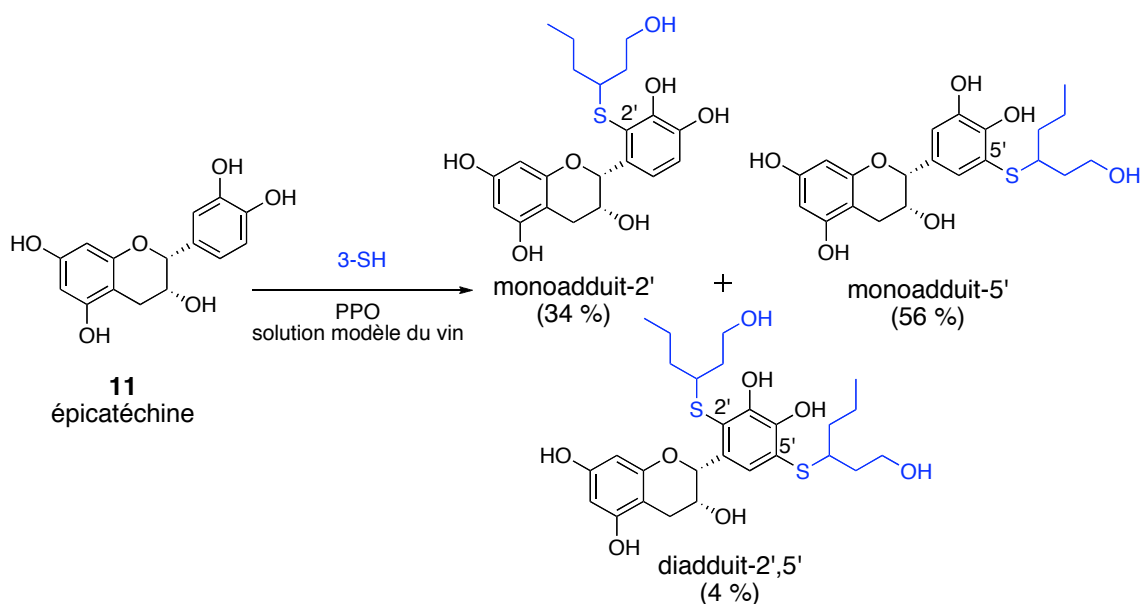


Figure 136. Résultats de l'oxydation de l'épicatechine en présence du 3-SH obtenus par Nikolantonaki et *al.*²⁰¹

Les conditions enzymatiques utilisées par cette équipe (PPO) conduisent à la formation très majoritaire des monoadduits par rapport aux diadduits (89-90%/4%).²⁰¹ En condition chimique (Fe^{II} , H_2O_2), ils ont montré que la formation des diadduits devenait majoritaire. Ceci est en accord avec nos résultats puisque le diadduit est formé préférentiellement par rapport aux monoadduits dans nos conditions. Les conditions enzymatiques seraient donc plus favorables à la formation des monoadduits tandis que les conditions chimiques en présence de fer sembleraient être plutôt favorables à la formation des diadduits. Cette hypothèse reste à confirmer par une étude plus poussée puisque nous avons obtenu le diadduit majoritaire par rapport aux monoadduits dans les conditions enzymatiques que nous avons testées (tyrosinase).

III. OXYDATION DU METHYLGALLATE EN PRESENCE D'AROMES SOUFRES

Comme pour la catéchine, nous avons étudié l'influence d'un composé pyrogallolique simple, le méthylgallate, en présence des deux arômes soufrés volatils, le 2-furanmethanethiol et le 3-sulfanylhéxan-1-ol, en condition oxydante. En effet, les noyaux pyrogallols sont tout aussi susceptibles de former des quinones, et plus exactement, des α -hydroxy-*ortho*-quinones qui peuvent capter les composés nucléophiles (Figure 137).

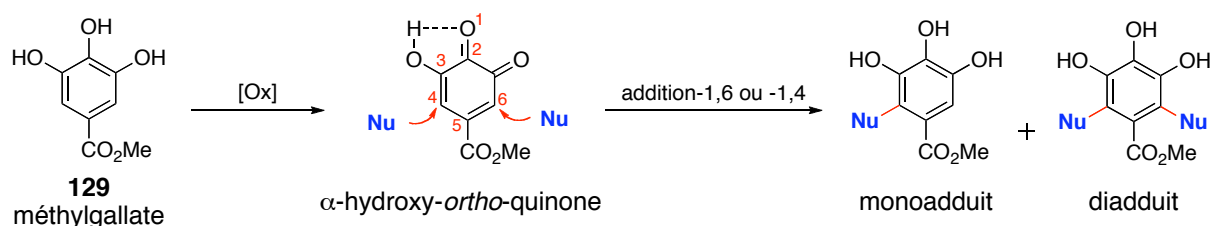


Figure 137. Oxydation du méthylgallate en présence d'un nucléophile.

Pour cette oxydation, une étude préliminaire a été faite afin de choisir les meilleures conditions pour la formation et la caractérisation des adduits thio-pyrogallols. Deux agents oxydants ont été testés : le trichlorure de fer (FeCl₃) et le ferricyanure de potassium (K₃Fe(CN)₆). Comme dans le cas de l'oxydation de la catéchine, le trichlorure de fer s'est montré plus efficace pour l'isolation des adduits formés entre le thiol et le méthylgallate. En effet, en présence du ferricyanure de potassium en présence de d'hydroxyde de potassium (KOH) et de carbonate de sodium (Na₂CO₃), le milieu réactionnel est plus complexe.¹⁹⁹ Cette étude a aussi montré l'importance de l'ordre d'addition des réactifs : le thiol doit être ajouté en premier dans la solution aqueuse du substrat, puis l'agent oxydant en second. Dans le cas contraire, la formation des adduits thio-méthylgallate est limitée. De plus, nous avons fait une étude sur le nombre d'équivalents du fer(III) nécessaires à cette oxydation. En présence de 4 équivalents de fer(III) ou plus, le milieu réactionnel se dégrade, tandis qu'avec 2 équivalents de fer(III), la formation des adduits est favorisée, comme dans le cas des adduits thio-catéchine.

Pour conclure sur cette étude, les meilleures conditions pour isoler et caractériser les adduits formés lors de l'oxydation du méthylgallate en présence d'arômes soufrés odorants sont :

- l'utilisation du trichlorure de fer comme agent oxydant,
- l'utilisation de seulement 2 équivalents de l'agent oxydant,
- l'ajout du nucléophile en premier, puis l'ajout de l'agent oxydant.

Enfin, un agent réducteur, le dithionite de sodium (Na₂S₂O₄), est ajouté au milieu réactionnel à la fin de chaque réaction d'oxydation pour stopper toutes réactions d'oxydations secondaires qui pourraient avoir pour conséquence la dégradation des produits d'intérêt ou la formation de produits secondaires non voulus.

1. OXYDATION DU METHYLGALLATE EN PRESENCE DU 2-FMT

a. Oxydation en solution aqueuse

Le méthylgallate est mis en solution aqueuse (H₂O Milli-Q) appauvrie en oxygène (0,7 mg/L d'oxygène dissous) sous atmosphère inerte à température ambiante, puis 2 équivalents du 2-FMT puis du trichlorure de fer sont ajoutés au milieu. La formation des adduits d'intérêt est tout de suite observée après l'ajout de l'agent oxydant. Après 1 heure de réaction, le milieu n'évolue plus. Après purification sur silice, le monoadduit **130** et le diadduit **131** sont isolés avec 4 % et 10 % de rendement, respectivement (Figure 138). Dans ces conditions, le substrat de départ n'est pas converti totalement (64 %). Comme dans le cas de l'oxydation de la catéchine, des ajouts successifs du thiol et du fer(III) sont alors réalisés. Pour une conversion totale du méthylgallate, il est nécessaire d'ajouter au total 12 équivalents du 2-FMT et 7 équivalents du FeCl₃. Dans ces conditions, seul le diadduit **131** est isolé avec 72 % de rendement (Figure 138). L'isolation de ces deux adduits a permis leur caractérisation complète (cf. Partie expérimentale).

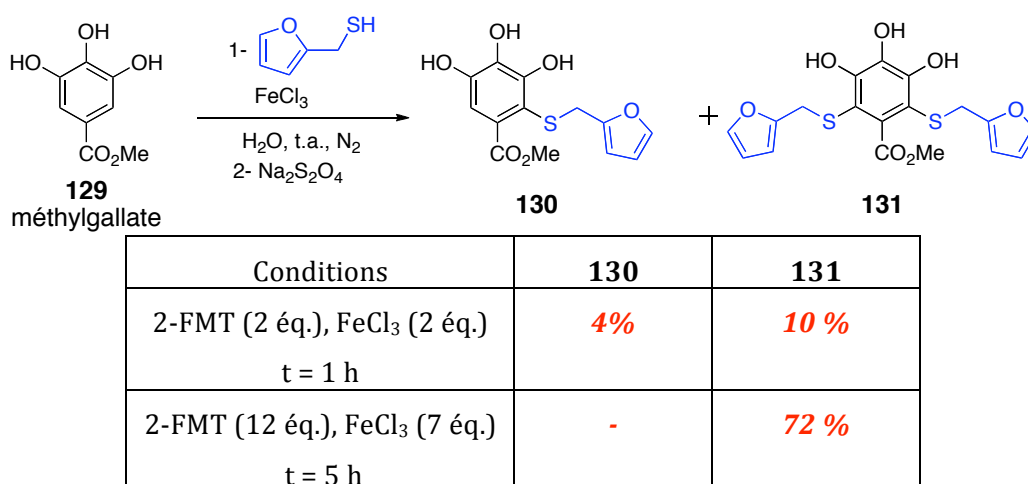


Figure 138. Oxydation du méthylgallate en présence du 2-FMT (rendements après purification).

b. Oxydation au pH du vin

La réaction d'oxydation du méthylgallate en présence du 2-FMT a aussi été réalisée dans un tampon au pH du vin (pH = 3-4) afin d'étudier l'influence du pH sur la formation des adduits thio-méthylgallate. Pour cela, le méthylgallate est mis en solution dans un tampon citrate à pH = 3,8 sous atmosphère inerte (N₂) à température ambiante. Le 2-FMT puis le trichlorure de fer sont ensuite ajoutés au milieu (2 équivalents). Comme dans le cas précédent, le méthylgallate n'est pas converti totalement donc des ajouts successifs sont réalisés jusqu'à ce que la réaction soit totale. Pour cela, il est nécessaire d'utiliser 12 équivalents du thiol et 7 équivalents de l'agent oxydant. Dans ce cas, seul le diadduit **131** est isolé avec 79 % de rendement (Figure 139), ce qui est légèrement supérieur au rendement obtenu précédemment en condition oxydante aqueuse classique (Figure 138). Ici, le monoadduit n'est observé qu'à l'état de trace.

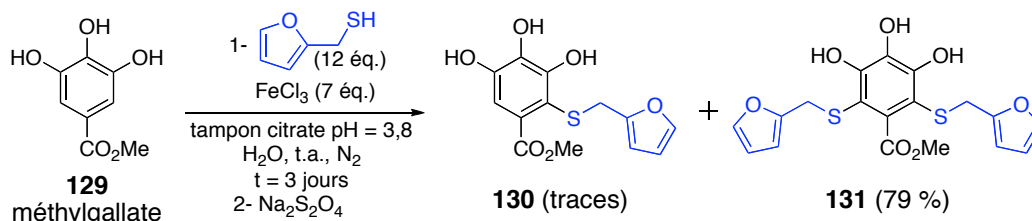
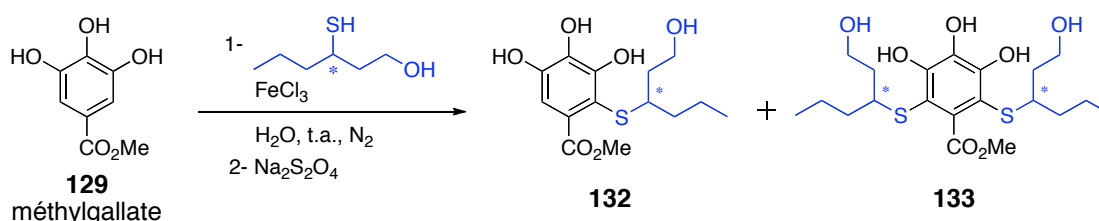


Figure 139. Oxydation du méthylgallate en présence du 2-FMT à pH = 3,8.

Pour conclure, la réaction d'oxydation du méthylgallate à pH acide (pH = 3,8) est plus lente que celle en condition aqueuse classique (pH ≈ 7), mais le rendement obtenu pour le diadduit **131** est légèrement supérieur (79 %/72 %).

2. OXYDATION DU METHYLGALLATE EN PRESENCE DU 3-SH

Dans les mêmes conditions que l'oxydation en présence du 2-FMT en solution aqueuse, la réaction d'oxydation du méthylgallate (**129**) a été réalisée en présence d'un autre composé sulfuré odorant présent dans le vin, le 3-SH, en mélange racémique. En présence de 2 équivalents du thiol et du trichlorure de fer, le monoadduit **132** et le diadduit **133** sont isolés avec 12 % et 19 % de rendement, respectivement, avec un taux de conversion de 40 % du méthylgallate. Lors des ajouts successifs du thiol et du fer jusqu'à conversion totale du substrat, le monoadduit **132** et le diadduit **133** sont obtenus avec 17 % et 41 % de rendement, respectivement (Figure 140).



Conditions	132	133
3-SH (2 éq.), FeCl ₃ (2 éq.) t = 1 h	12%	19 %
3-SH (10 éq.), FeCl ₃ (6 éq.) t = 4 h	17 %	41 %

Figure 140. Oxydation du méthylgallate en présence du 3-SH (rendements après purification).

Dans ce cas, on peut remarquer que le méthylgallate est convertie plus rapidement qu'en présence du 2-FMT puisque seulement 10 équivalents du 3-SH et 6 équivalents du fer sont nécessaires contre 12 équivalents du thiol et 7 équivalents du fer dans le cas de l'oxydation en présence du 2-FMT. Cependant, les rendements totaux obtenus dans les deux cas pour les adduits thio-méthylgallate sont similaires (68 %/72 %). Cependant, lors de l'oxydation totale du méthylgallate en présence du 3-SH, nous isolons le monoadduit et le diadduit tandis qu'en présence du 2-FMT, nous isolons seulement le diadduit. Cela peut-être dû à une plus grande réactivité du 2-FMT, thiol primaire, qui présente un caractère nucléophile plus grand que le 3-SH, thiol secondaire.

Pour conclure, l'oxydation chimique du méthylgallate en présence du 2-FMT ou du 3-SH amène à la formation d'un monoadduit et d'un diadduit. Ces adduits sont formés par réaction d'addition-1,4 ou -1,6 nucléophile du thiol sur la quinone formée lors de l'oxydation du noyau pyrogallol du méthylgallate. L'oxydation en présence du 2-FMT semble plus lente que celle en présence du 3-SH, cependant, les rendements obtenus pour les thio-méthylgallate sont similaires avec une préférence pour la formation du diadduit. L'étude de l'oxydation du méthylgallate au pH proche de celui du vin a montré qu'à pH acide, la réaction est plus lente mais les rendements obtenus pour les adduits thiolés sont légèrement supérieurs (79 % contre 72 % pour le diadduit **131**).

IV. OXYDATION DE LA CASTALAGINE ET DE LA VESCALAGINE EN PRESENCE D'AROMES SOUFRES

Comme pour la catéchine et le méthylgallate, nous avons étudié l'influence de deux ellagitannins *C*-glucosidiques identifiés dans le vin, présentant des unités pyrogallols comme le méthylgallate. Comparée à celle des catéchols, l'influence des composés possédant des unités pyrogallols sur les arômes du vin n'a que très peu été étudiée. Pourtant, ces polyphénols sont tout aussi susceptibles de capter certains arômes du vin et donc d'influencer les qualités organoleptiques comme nous l'avons vu précédemment lors de l'oxydation d'un pyrogallol simple, le méthylgallate. C'est pour cela que nous avons décidé de faire cette étude avec deux polypyrogallols, la (—)-castalagine (**22**) et son épimère, la (—)-vescalagine (**8**). Ces deux composés possèdent chacun cinq groupements galloyles susceptibles de former des α -hydroxy-*ortho*-quinones en condition oxydante (cycles I à V) (Figure 141). Une fois ces électrophiles formés, les thiols nucléophiles peuvent réagir avec ces espèces très réactives par additions-1,4 ou -1,6 nucléophiles, comme dans le cas de la catéchine et du méthylgallate.²¹⁴ Plusieurs adduits thio-ellagitannins sont alors susceptibles de se former, impliquant seulement les unités galloyles III à V car ce sont les seules possédant une position libre (Figure 141).

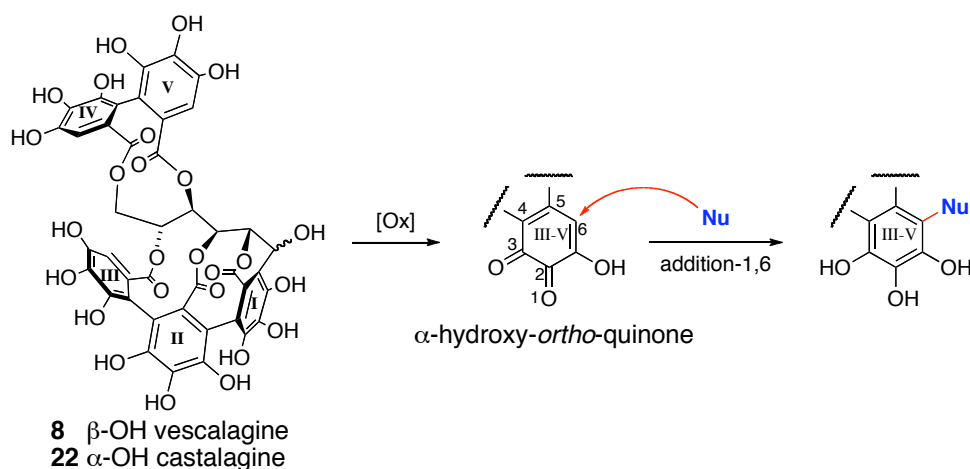


Figure 141. Réaction d'oxydation de la vescalagine et de la castalagine en présence d'un nucléophile.

Le but de ces travaux est donc d'isoler et de caractériser les adduits formés entre ces ellagitannins et les deux thiols d'intérêt, le 2-furanmethanethiol et le 3-sulfanylhexan-1-ol. Pour cela, les mêmes conditions de réaction utilisées pour l'oxydation de la catéchine et du méthylgallate ont été utilisées (FeCl_3 , H_2O Milli-Q appauvrie en oxygène, température ambiante, sous atmosphère inerte, traitement réducteur avec le dithionite de sodium en fin de réaction).

3. OXYDATION DE LA (—)-CASTALAGINE EN PRESENCE DU 2-FMT

a. Etude analytique

Tout d'abord nous avons étudié l'oxydation de la castalagine à l'échelle analytique, en présence du 2-FMT et du trichlorure de fer. Pour cela, la castalagine (**22**) est mise en solution aqueuse appauvrie en oxygène sous atmosphère inerte (N_2). La réaction est suivie par CLHP et CL/SM (méthode 6) afin d'identifier les différents adduits formés. La consommation quasi-totale de la castalagine nécessite des additions successives de 2 équivalents du thiol et de l'agent oxydant toutes les heures. Au total, 10 équivalents du 2-FMT et du fer sont utilisés avec un temps de réaction de 8 h. Comme on peut le voir sur le chromatogramme obtenu par CLHP (Figure 142), il y a premièrement formation de 3 produits, correspondant en analyse CL/SM à la masse des monoadduits (m/z 1069, $[\text{M}+\text{Na}]^+$), puis formation des diadduits (m/z 1181, $[\text{M}+\text{Na}]^+$) et du triadduit (m/z 1293, $[\text{M}+\text{Na}]^+$).

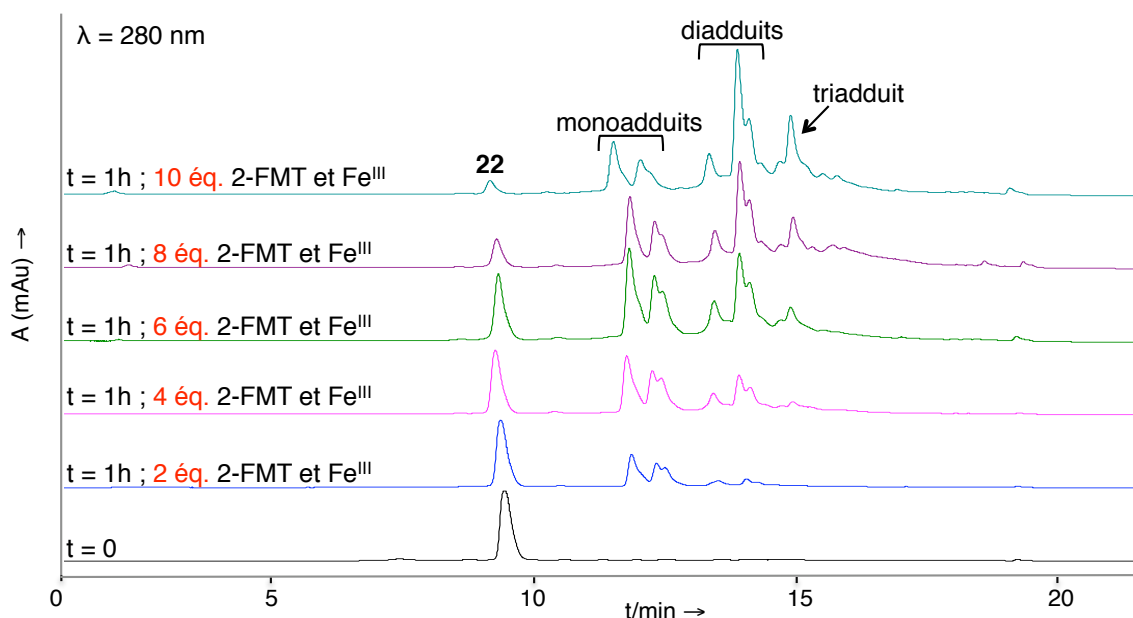


Figure 142. Chromatogramme CLHP de la réaction d'oxydation de la castalagine en présence du 2-FMT et de FeCl_3 (méthode 6).

b. Isolation des adduits

Afin d'isoler les adduits formés pour les caractériser, nous avons réalisé la même réaction dans les mêmes conditions à l'échelle préparative. La séparation des différents adduits s'est avérée difficile, mais, après deux purifications successives sur CLHP semi-préparative (méthode 11), les trois adduits majoritaires ont pu être isolés purs (Figure 143). Le monoadduit **134**, le diadduit **135** et le triadduit **136** sont isolés avec 12 %, 19 % et 4 % de rendement, respectivement (Figure 144). Ces trois composés ont ainsi pu être caractérisés afin de déterminer la position des thiols sur le motif castalagine.

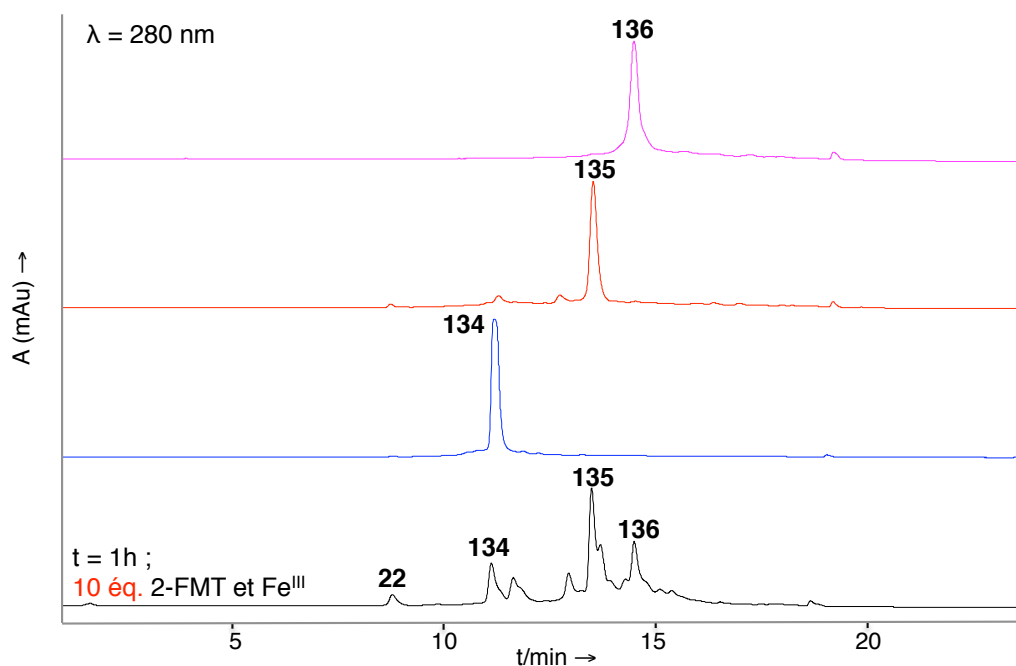


Figure 143. Chromatogramme CLHP des trois adduits isolés après purification par CLHP semi-préparative (méthode 6).

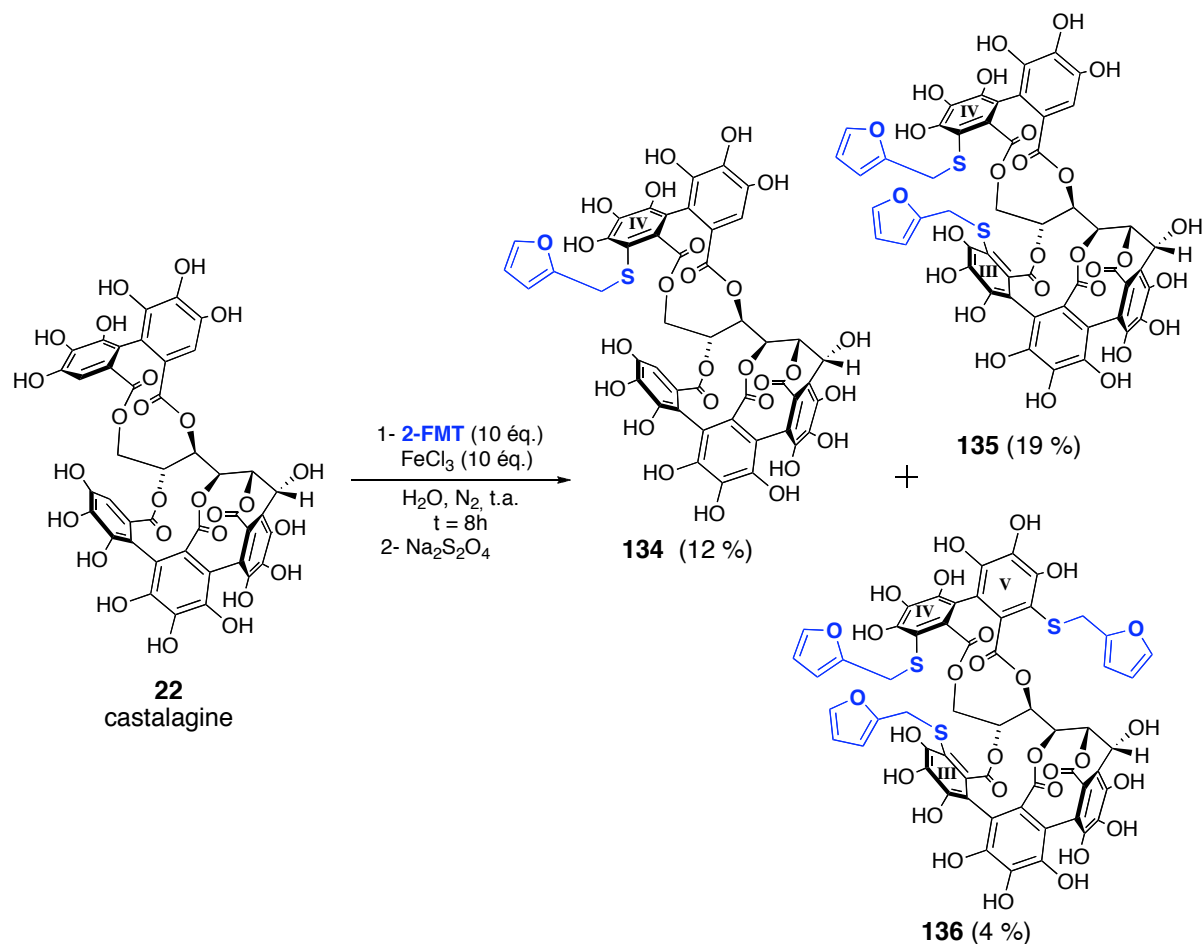


Figure 144. Oxydation de la castalagine en présence du 2-FMT.

c. Caractérisation des adduits

i. Monoadduit 134

Après isolation du composé **134**, la caractérisation complète de celui-ci a été faite afin de déterminer sa structure exacte. L'analyse par spectrométrie de masse en mode positif donne un signal m/z 1069, ce qui correspond à la masse de la castalagine substituée par un seul 2-FMT ($[M+Na]^+$). De plus, les analyses RMN ¹H et ¹³C corroborent avec une monoaddition du thiol sur la castalagine. En effet, sur le spectre ¹H du composé **134**, on retrouve les signaux caractéristiques d'une seule unité 2-FMT (H-3'', H-4'' et H-5'') ainsi que deux protons H-2' sur trois sur les cycles pyrogallols de l'unité castalagine (Figure 145). Tous ces résultats nous indiquent donc que le composé **134** est un monoadduit, avec un seul groupement 2-FMT sur la castalagine.

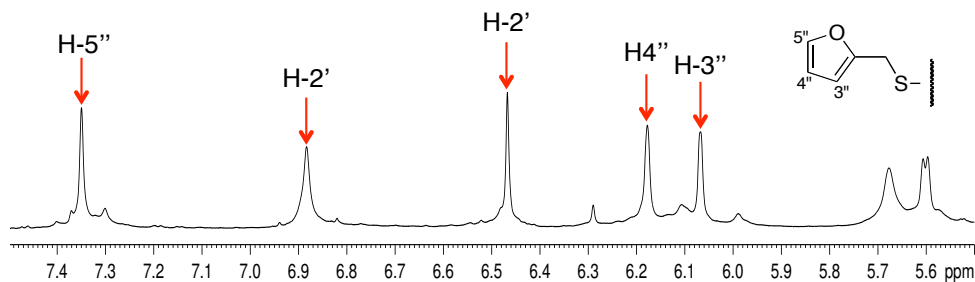


Figure 145. Zoom du spectre RMN ^1H du composé **134**.

Le monoadduit **134** a trois structures possibles car trois positions sont possibles sur la castalagine pour l'addition nucléophile du 2-FMT : position 2' sur le cycle galloyl III, sur le cycle galloyl IV ou sur le cycle galloyl V (Figure 146).

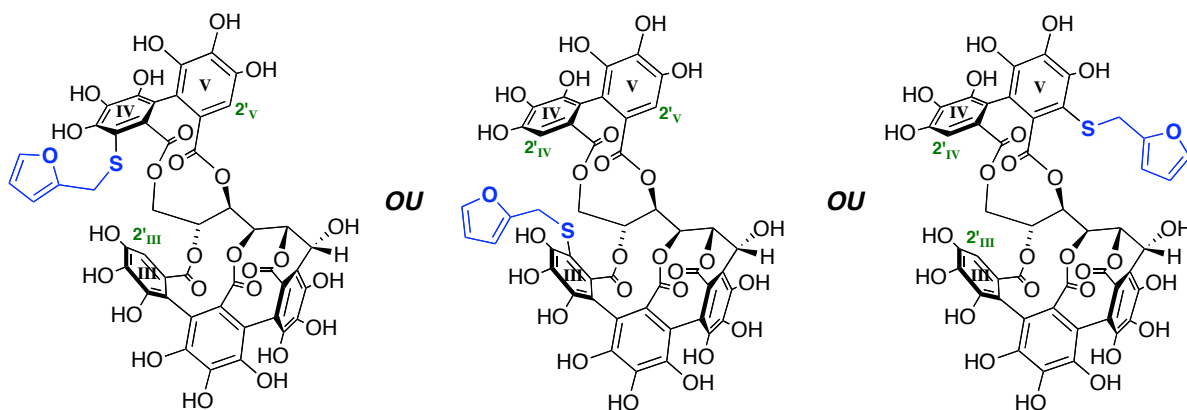


Figure 146. Structure des trois monoadduits possibles.

Pour identifier la structure du composé **134**, l'expérience RMN HMBC a été réalisée afin d'identifier les positions des deux protons aromatiques libres H-2' sur l'unité castalagine. Le proton H-2' à δ 6,47 ppm corrèle avec le carbonyle à δ 167,2 ppm, lui-même corrélant avec le proton H-5 de la chaîne glucose (δ 5,50 ppm) (Figure 147). La seule possibilité est que ce carbonyle soit positionné sur le cycle pyrogallolique III, et donc, que le proton H-2' à δ 6,47 ppm aussi. Le thiol ne s'est donc pas additionné sur ce cycle. De la même façon, le second proton H-2' à δ 6,88 ppm corrèle avec le carbonyle à δ 166,4 ppm, lui-même corrélant avec le proton glucosidique H-4 à δ 5,25 ppm (Figure 147). Ce carbonyle et ce proton H-2' appartiennent donc au cycle V, qui n'a donc pas subi d'attaque nucléophile du thiol. En tenant compte de ces données, nous pouvons conclure que le 2-FMT est situé sur le cycle IV de la castalagine dans le cas du monoadduit **134** et donc sa structure est celle proposée ci-dessous (Figure 147).

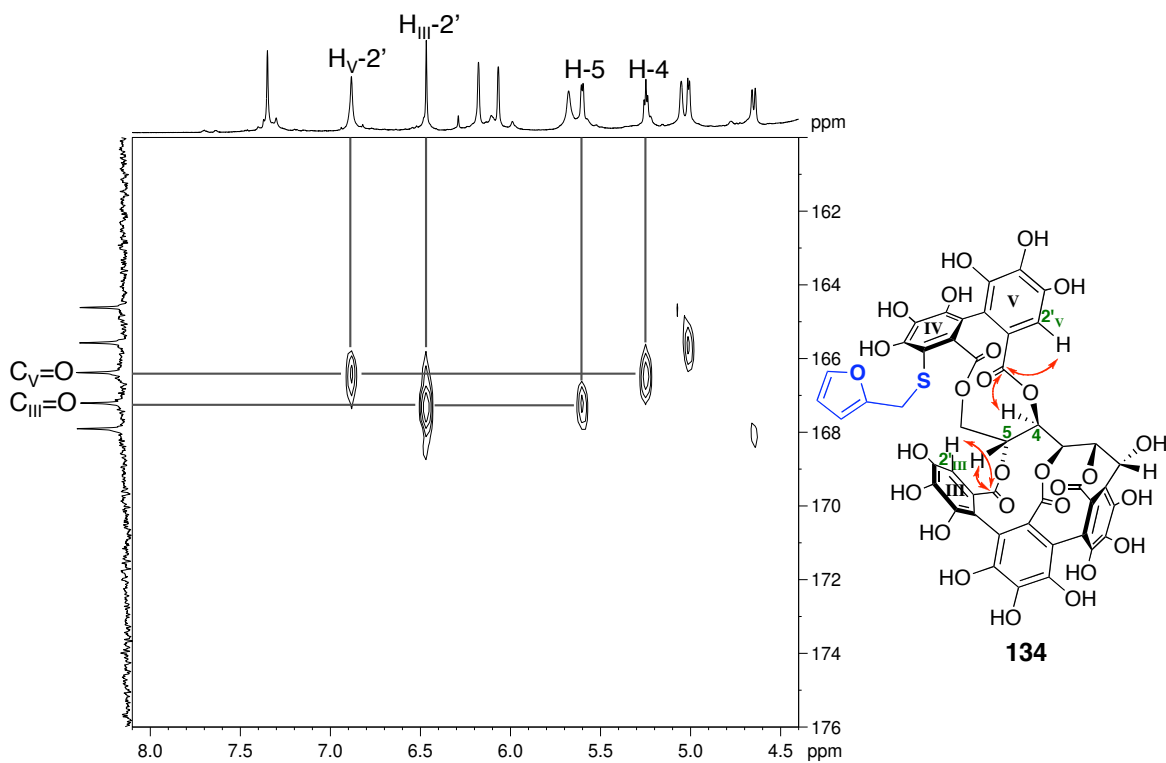


Figure 147. Zoom du spectre HMBC du monoadduit **134**.

ii. Diadduit 135

Après isolation du diadduit **135**, nous avons également voulu le caractériser et, plus particulièrement, trouver la position exacte des unités 2-FMT sur la castalagine. Tout d'abord, nous avons fait l'analyse par spectrométrie de masse en mode positif, qui confirme la double addition du 2-FMT sur la castalagine (m/z 1181, $[M+Na]^+$). De plus, le spectre RMN 1H du composé **135** montre les signaux caractéristiques du groupement 2-FMT en double (H-3'', H-4'' et H-5''), ainsi que la présence d'un seul proton aromatique H-2' présent sur les cycles galloyls (Figure 148). Tout ceci confirme que le composé **130** est un diadduit avec deux groupements 2-FMT sur l'unité castalagine.

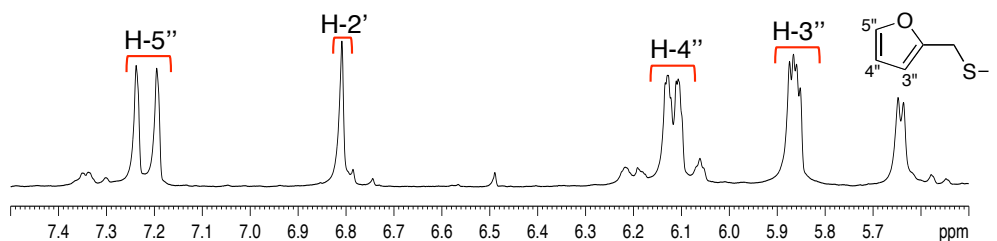


Figure 148. Zoom du spectre RMN 1H du composé **135**.

Comme pour le monoadduit **134**, trois structures sont possibles pour le diadduit **135** : la double addition sur les cycles III et IV, ou sur les cycles IV et V, ou enfin, sur les cycles III et V (Figure 149).

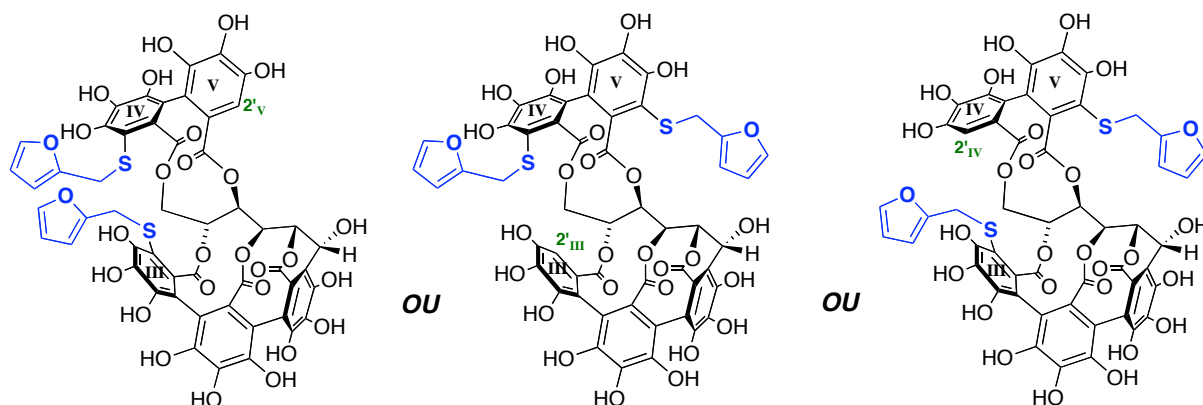


Figure 149. Structure des trois monoadduits possibles.

Comme précédemment, une expérience RMN HMBC a été réalisée afin de déterminer la position des thiols sur l'unité castalagine. Le proton H-2' aromatique libre à δ 6,80 ppm corrèle avec le carbonyle à δ 166,5 ppm, corrélant lui-même avec le H-4 de la chaîne glucose (δ 5,19 ppm) (Figure 150). Cela signifie que le carbonyle à δ 166,5 ppm est situé sur le cycle V, ainsi que le proton H-2' libre. Il n'y a donc pas eu d'addition nucléophile sur le cycle galloyl V. Il ne reste alors qu'une solution, le diadduit **135** correspond à l'addition nucléophile du 2-FMT sur les cycles III et IV (Figure 150).

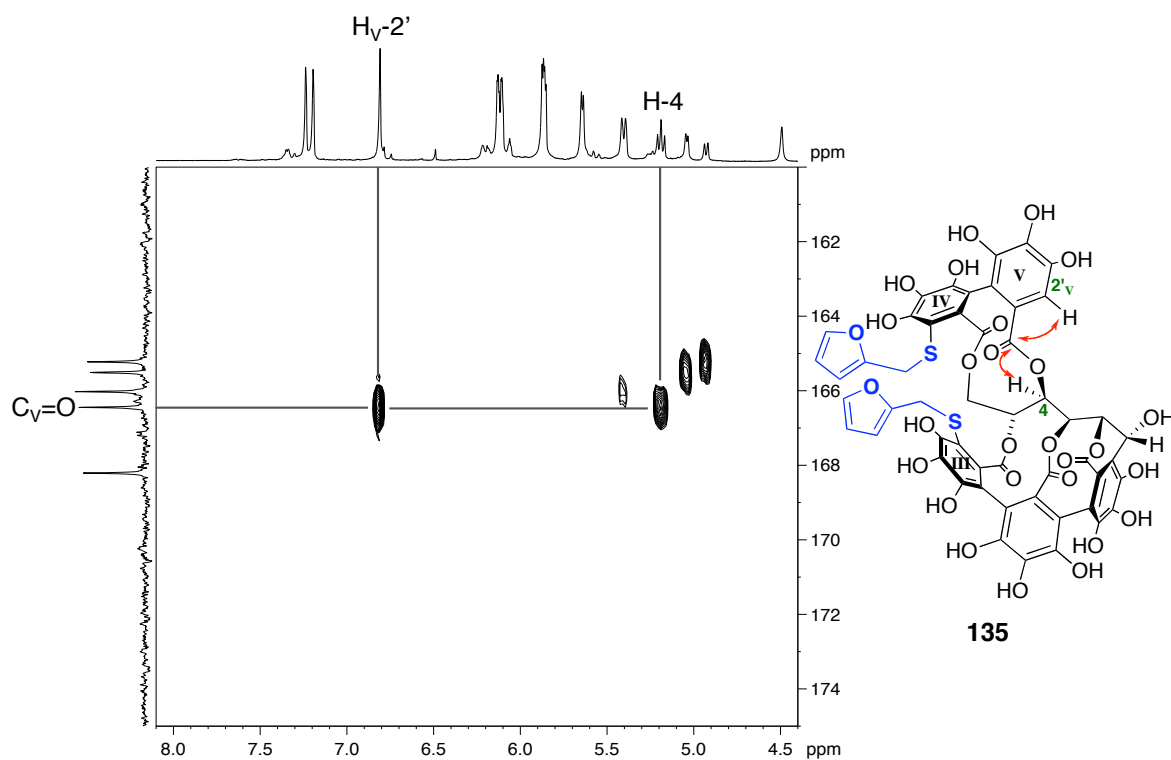


Figure 150. Zoom du spectre HMBC du diadduit **135**.

iii. Triadduit 136

La structure du triadduit **136** est paradoxalement moins difficile à élucider que celle du monoadduit **134** et du diadduit **135**, car l'addition du 2-FMT sur l'unité castalagine n'est possible que sur trois positions (cycles galloyls III, IV et V). Pour confirmer la tri-addition du thiol, l'analyse par spectrométrie de masse du composé **136** a été réalisée. La masse obtenue correspond à celle attendue pour le triadduit (m/z 1293, $[M+Na]^+$). De plus, sur le spectre RMN 1H du composé **136**, on peut observer trois signaux pour chaque proton caractéristiques de l'unité 2-FMT ainsi que l'absence de signaux correspondant à un proton aromatique positionné sur un cycle galloyl (δ 6,50-7,00 ppm) (Figure 151). La structure du triadduit **136** est donc celle proposée ci-dessous (Figure 152).

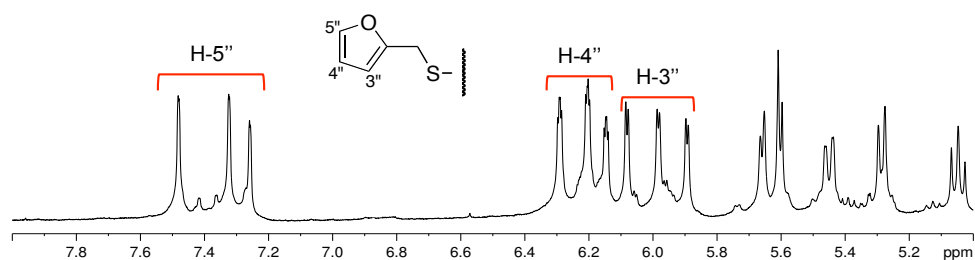


Figure 151. Zoom du spectre RMN 1H du composé **136**.

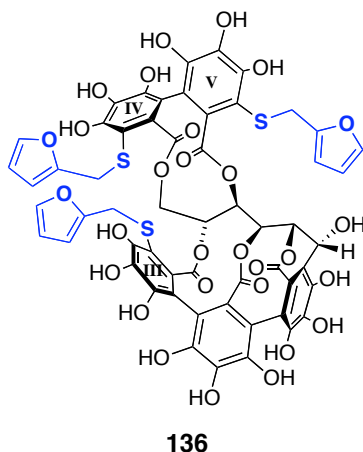


Figure 152. Structure du composé **136**.

d. Mécanisme de formation des adduits

Lors de ces travaux de thèse, nous avons pu isoler les trois adduits majoritaires formés lors de l'oxydation de la castalagine en présence du 2-FMT en condition oxydante. Parmi ces adduits, on retrouve un monoadduit substitué par le 2-FMT sur le cycle IV, un diadduit substitué sur les cycles III et IV et un triadduit substitué sur les cycles III, IV et V. La formation de ces trois adduits résulte de l'oxydation des noyaux pyrogallols de la castalagine en α -hydroxy-ortho-quinones qui, par leur propriété électrophile, vont être capturées par le 2-FMT, nucléophile. Dans les conditions utilisées, la quinone est formée par réduction d'un ion Fe^{3+} et déhydrogénation pour donner le radical phénoxy **V**. Celui-ci va aussi subir la perte d'un électron et d'un hydrogène pour former, après réarrangement, la quinone **W**. Celle-ci, électrophile, est

ensuite attaquée par une addition-1,6 nucléophile du thiol pour former le composé **X**, qui, après prototropie, amène au monoadduit **134** isolé précédemment (Figure 153). On peut supposer que le diadduit **135** peut provenir directement de la formation de la quinone **Y** résultant de l'oxydation du cycle pyrogallol III du monoadduit **134**. De même, le diadduit **135** peut être oxydé sur son cycle III puis, après addition nucléophile du 2-FMT, former le triadduit **136** (Figure 153).

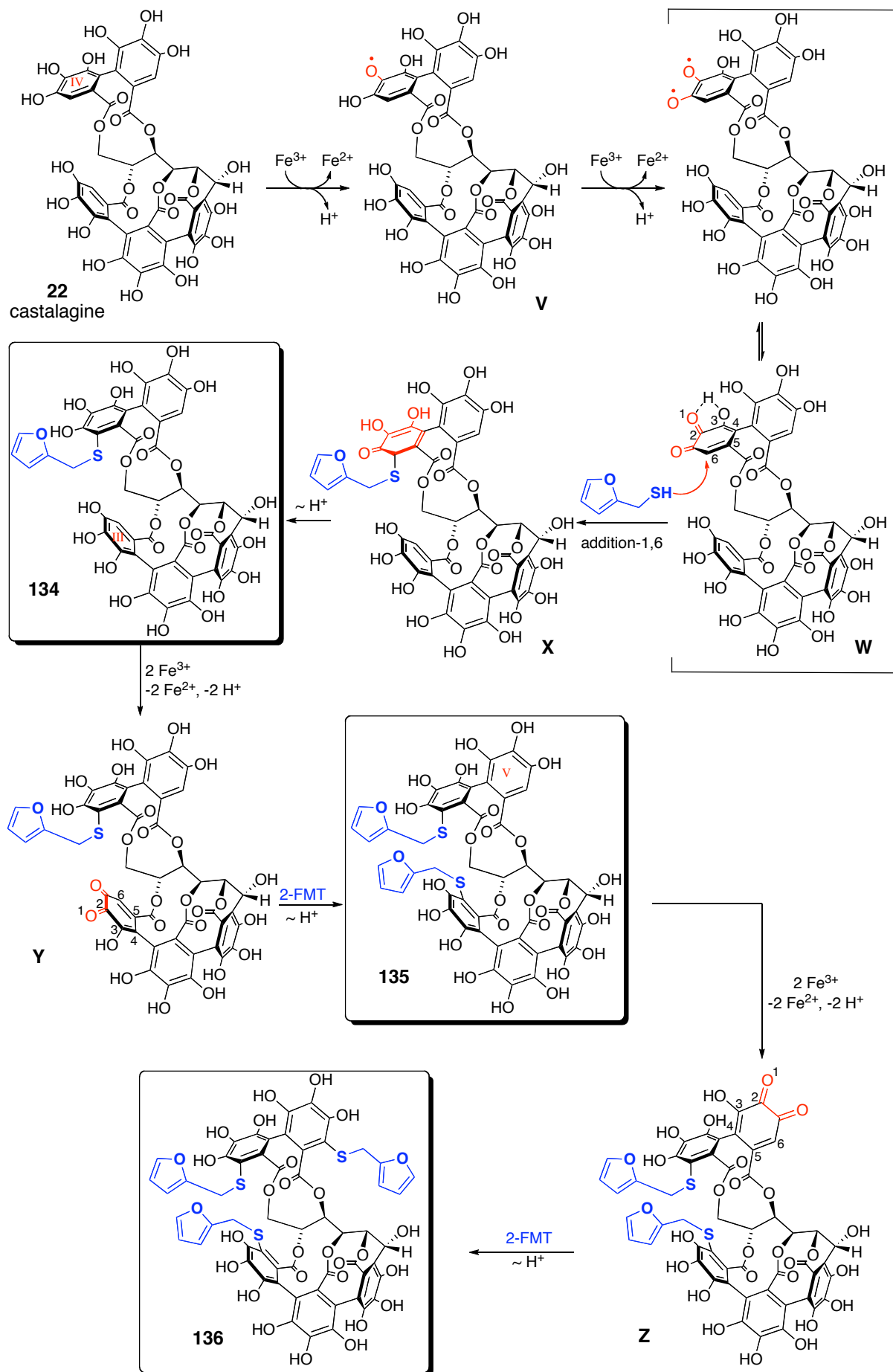


Figure 153. Mécanisme de formation proposé pour les adduits **134**, **135** et **136**.

4. OXYDATION DE LA (—)-VESCALAGINE EN PRESENCE DU 2-FMT

L'étude de l'oxydation de l'épimère de la castalagine, la (—)-vescalagine (**8**), a aussi été faite en présence du 2-FMT dans les mêmes conditions que précédemment. Comme dans le cas de la castalagine, 7 adduits sont susceptibles de se former puisque les cycles galloyls III, IV et V peuvent tous les trois subir l'attaque nucléophile du 2-FMT (Figure 154). En effet, l'oxydation des cycles pyrogalloliques III, IV et V en quinones correspondantes, suivie de l'attaque nucléophile du 2-FMT sur ces électrophiles peut amener à la formation de 3 monoadduits, 3 diadduits et/ou un triadduit. Pour vérifier leur formation, les mêmes conditions d'oxydation de la castalagine ont été utilisées, c'est-à-dire que l'eau Milli-Q utilisée comme solvant de réaction est appauvrie en oxygène, que la réaction se fait à température ambiante sous atmosphère inerte (N_2) et qu'un agent réducteur, le dithionite de sodium, est ajouté au milieu en fin de réaction.

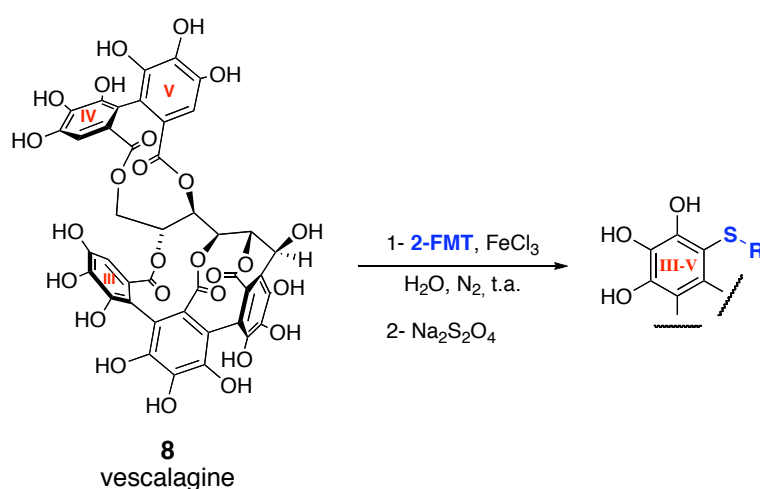


Figure 154. Oxydation de la vescalagine en présence du 2-FMT.

La vescalagine est mise en solution aqueuse, puis, 2 équivalents du 2-FMT et de l'agent oxydant, le trichlorure de fer, sont ajoutés au milieu. La réaction est suivie par CLHP analytique et pas CL/SM afin d'identifier les produits formés (Figure 155). Comme dans le cas de l'oxydation de la castalagine, il est nécessaire de faire des ajouts successifs du thiol et du fer pour que la vescalagine soit consommée quasi-totalement. Pour cela, 10 équivalents des deux réactifs sont nécessaires. Comme on peut le voir sur le chromatogramme du suivi de la réaction (Figure 155), l'oxydation de la vescalagine en présence du 2-FMT se déroule comme celle de la castalagine, avec formation de différents adduits. Cependant, le milieu réactionnel se complexifie au fur et à mesure des ajouts successifs du thiol et du trichlorure de fer.

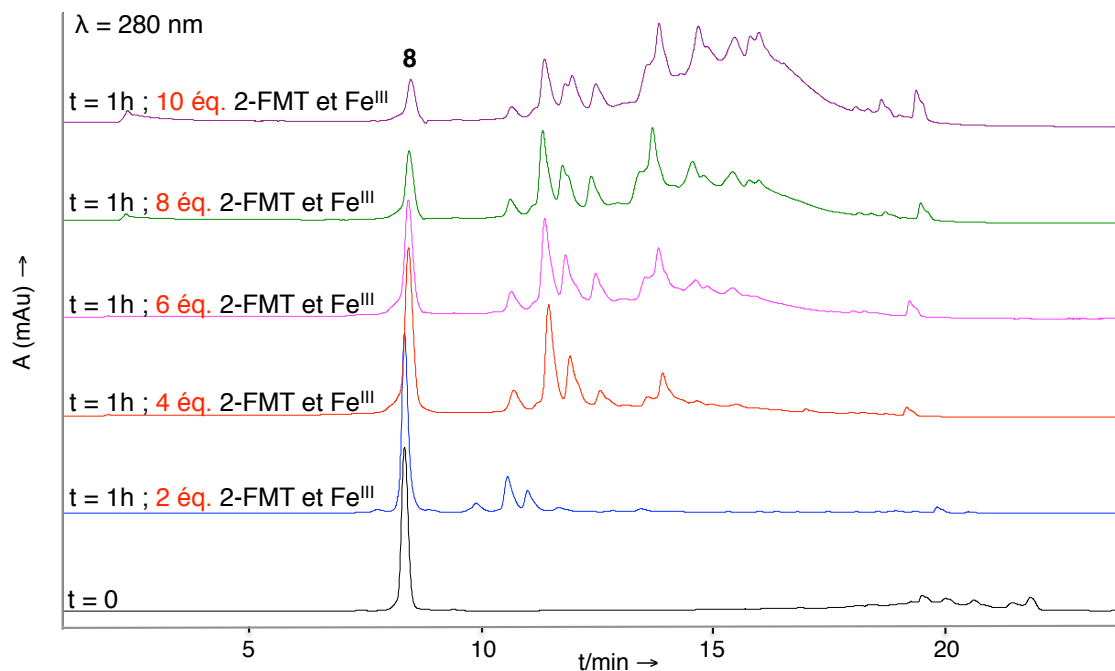


Figure 155. Chromatogramme CLHP de la réaction d'oxydation de la vescalagine en présence du 2-FMT et du FeCl_3 (méthode 6).

Pour identifier les différents adduits formés, l'analyse par CL/SM a été réalisée. Les résultats obtenus confirment la formation de trois monoadduits (m/z 1047, $[\text{M}+\text{Na}]^+$), ainsi que trois diadduits (m/z 1159, $[\text{M}+\text{Na}]^+$) (Figure 156). Le signal m/z du triadduit n'est pas observé ici.

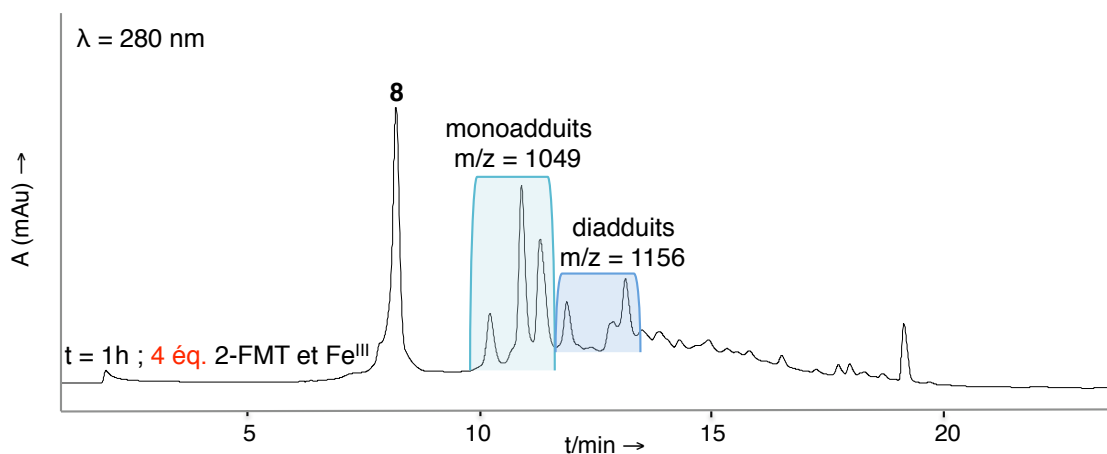


Figure 156. Chromatogramme CLHP de la réaction d'oxydation de la vescalagine en présence du 2-FMT avec les résultats obtenus en CL/SM (méthode 6).

La réaction d'oxydation de la vescalagine a ensuite été réalisée à l'échelle préparative comme dans le cas de la castalagine. Cependant, les essais de purification sur CLHP semi-préparative ne nous ont pas permis d'isoler les adduits en quantité suffisante pour les caractériser. Cependant le suivi du milieu réactionnel par CLHP et CL/SM nous a permis de confirmer que les cycles pyrogallols III-V de la vescalagine, comme dans le cas de son épimère, la castalagine, sont capables de s'oxyder en quinones et ainsi réagir avec un nucléophile soufré, le 2-FMT.

5. OXYDATION DE LA (—)-CASTALAGINE EN PRESENCE DU 3-SH

Après avoir étudié l'oxydation de la castalagine et de la vescalagine en présence du 2-FMT, nous nous sommes intéressés à l'oxydation de ces deux composés en présence d'un autre thiol, le 3-SH. Comme précédemment, les réactions d'oxydation sont réalisées en solution aqueuse (eau Milli-Q) appauvrie en oxygène à température ambiante sous atmosphère inerte. L'agent oxydant utilisé est le trichlorure de fer et, en fin de chaque réaction, un agent réducteur, le dithionite de sodium, est ajouté au milieu.

a. Etude analytique

Comme pour le 2-FMT, nous avons tout d'abord étudié l'oxydation de la castalagine à l'échelle analytique, en présence d'un énantiomère du 3-SH, le (S)-3-SH (**48b**), isolé comme décrit au début de ce chapitre (cf. Chapitre III. I.2.a). Des études préliminaires ont montré qu'il est nécessaire de faire des ajouts successifs de 2 équivalents du thiol et du fer(III) toutes les heures pour une plus grande conversion de la castalagine. Cependant, au delà de l'ajout de 8 équivalents du 3-SH et du FeCl_3 , le milieu réactionnel se complexifie, ce qui n'était pas le cas lors de l'oxydation de celle-ci en présence du 2-FMT. Cela peut être dû à la présence de la fonction alcool libre du 3-SH qui est aussi susceptible de réagir en tant que nucléophile avec les quinones. Nous avons alors décidé de ne pas ajouter plus de 8 équivalents de ces deux réactifs dans le milieu, même si la castalagine n'est pas complètement convertie (Figure 157). Le suivi de la réaction par CLHP et CL/SM nous a permis d'identifier trois monoadduits (m/z 1067, $[\text{M}+\text{H}]^+$), trois diadduits (m/z 1199, $[\text{M}+\text{H}]^+$) et un triadduit (m/z 1332, $[\text{M}+\text{H}]^+$) (Figure 157).

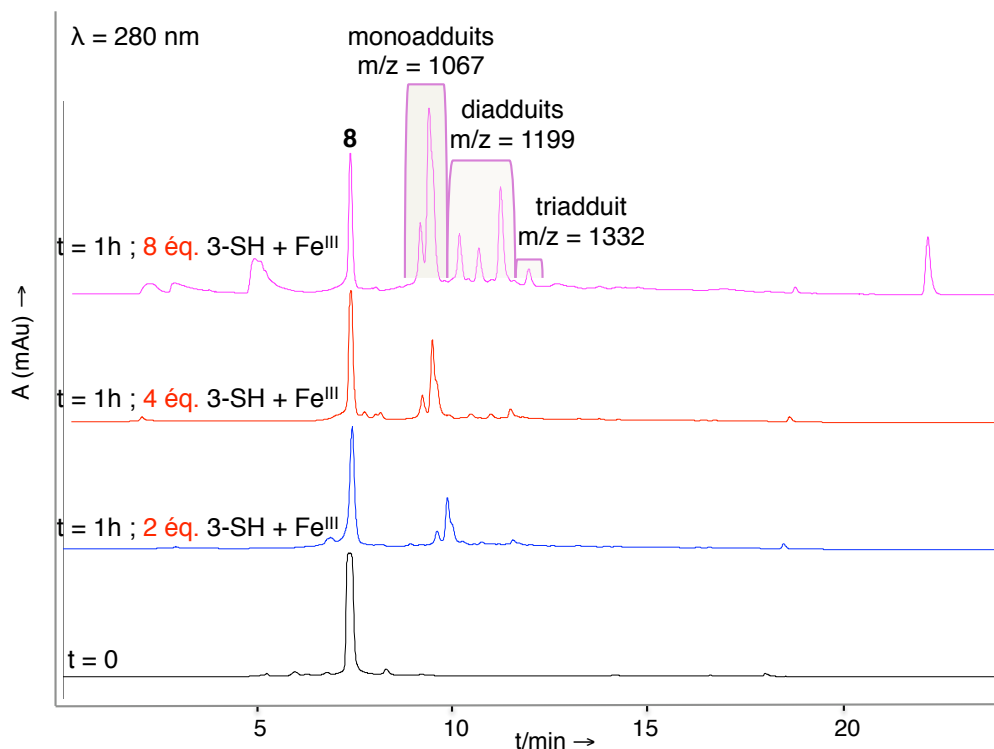


Figure 157. Chromatogramme CLHP de la réaction d'oxydation de la castalagine en présence du (S)-3-SH (méthode 6).

b. Isolation des adduits

Afin de caractériser les adduits formés lors de l'oxydation de la castalagine en présence du (S)-3-SH, la même réaction a été réalisée dans les mêmes conditions à l'échelle préparative (Figure 158). Comme précédemment, la réaction est stoppée après l'ajout total de 8 équivalents du thiol et du fer(III). La purification par CLHP semi-préparative (méthode 12) nous a permis d'isoler le monoadduit majoritaire **137** avec un rendement isolé de 9 % (Figure 159). Malheureusement, les essais de purification par CLHP ne nous ont pas permis d'isoler les autres adduits formés lors de cette réaction.

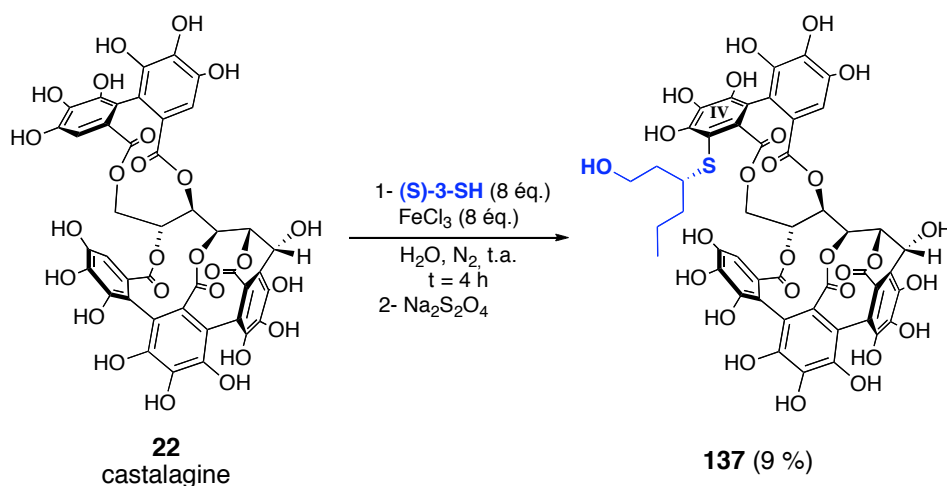


Figure 158. Oxydation de la castalagine en présence du (S)-3-SH et de fer(III).

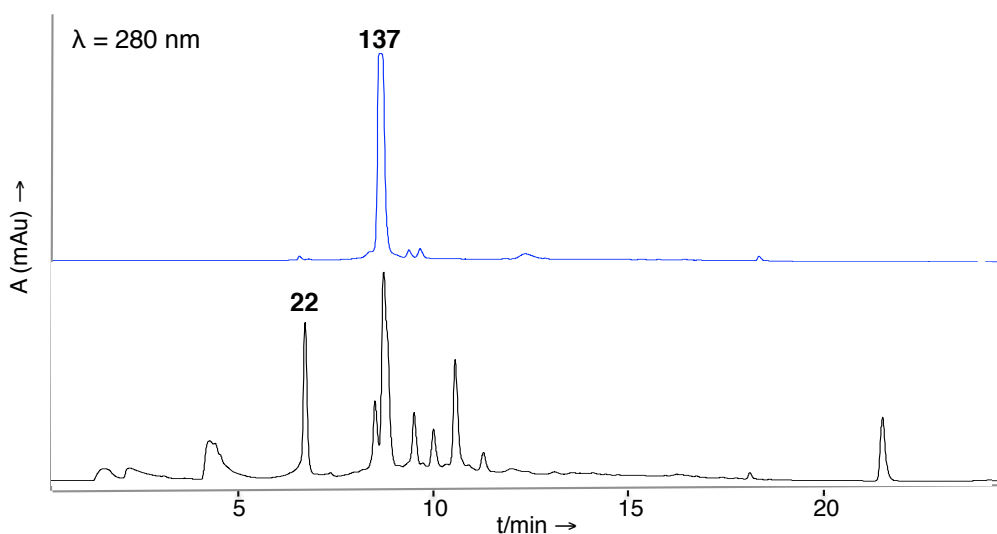


Figure 159. Chromatogramme CLHP du monoadduit **137** isolés après purification par CLHP semi-préparative (méthode 6)

c. Caractérisation du monoadduit **137**

Après isolation du composé **137**, la caractérisation complète de celui-ci a été faite afin de déterminer sa structure exacte. Les résultats obtenus en analyse par spectrométrie de masse, m/z 1067 ($[M+H]^+$) et m/z 1089 ($[M+Na]^+$), indiquent que le composé **137** est un monoadduit. De plus, l'analyse par RMN corrobore avec la monoaddition du (S)-3-SH sur la castalagine. En

effet, sur le spectre RMN ^1H du composé **137**, on retrouve les signaux caractéristiques de seulement deux protons aromatiques H-2' sur trois (δ 6,88 et 6,67 ppm) (Figure 160). Aussi, les signaux caractéristiques d'une seule unité 3-SH sont présents sur les spectres RMN ^1H et ^{13}C du composé **137**.

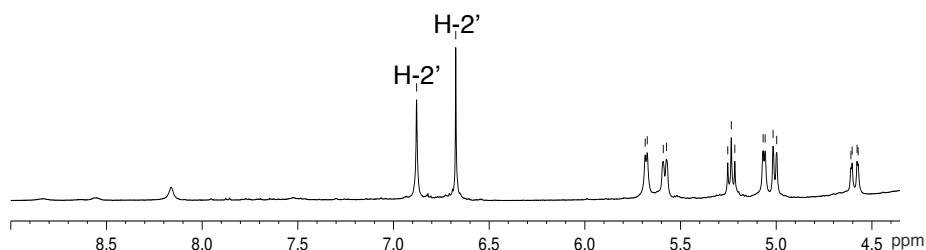


Figure 160. Zoom du spectre RMN ^1H du composé **137**.

Comme pour le monoadduit **134** formé entre la castalagine et le 2-FMT, trois structures sont possibles pour le monoadduit **137**: l'addition nucléophile du (S)-3-SH peut se faire en position 2' du cycle galloyl III, du cycle galloyl IV ou du cycle galloyl V (Figure 161).

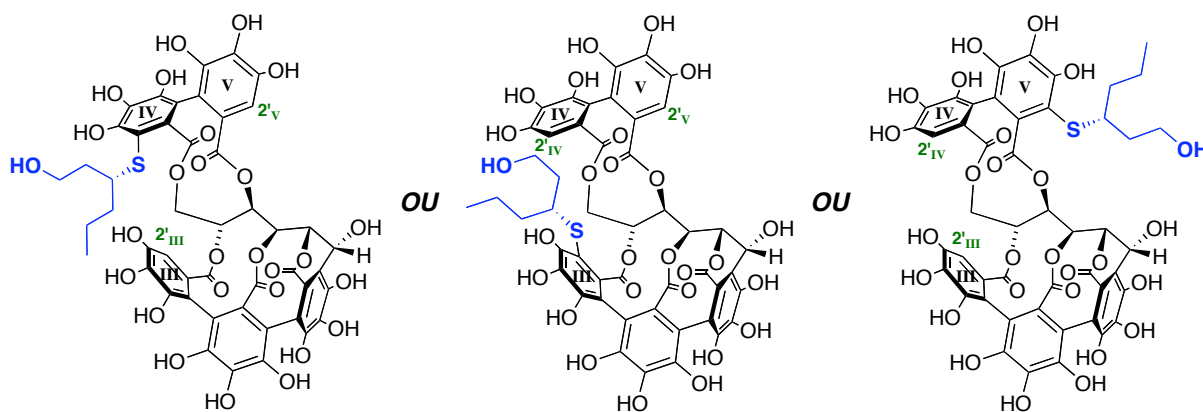


Figure 161. Structures possibles pour le monoadduit **137**.

Comme pour le monoadduit **134** isolé lors de l'oxydation de la castalagine en présence du 2-FMT, l'expérience RMN HMBC a été réalisée afin d'identifier la position du (S)-3-SH sur la castalagine. Pour cela, il a fallu identifier la position des protons aromatiques H-2' (δ 6,88 et 6,67 ppm) observés sur le spectre RMN ^1H . En HMBC, le proton H-2' à δ 6,67 ppm corrèle avec le carbonyle à δ 167,2 ppm, lui-même corrélant avec le proton glucosidique H-5 de l'unité castalagine (δ 5,58 ppm) (Figure 162). La seule possibilité est que ce carbonyle soit positionné sur le cycle pyrogallol III, et donc, que le proton H-2' à δ 6,67 ppm aussi. Le thiol ne s'est donc pas additionné sur le cycle III de la castalagine. De la même façon, le second proton H-2' à δ 6,88 ppm corrèle avec le carbonyle à δ 166,3 ppm, lui-même corrélant avec le proton glucosidique H-4 à δ 5,23 ppm (Figure 162). Ce carbonyle et ce proton H-2' appartiennent donc au cycle V de la castalagine, qui n'a donc pas subi d'attaque nucléophile du thiol. En tenant compte de ces informations, nous pouvons donc conclure que le (S)-3-SH est situé sur le cycle IV de la castalagine, comme dans le cas du monoadduit **133**, et que la structure du composé **137** est celle proposée ci-dessous (Figure 162).

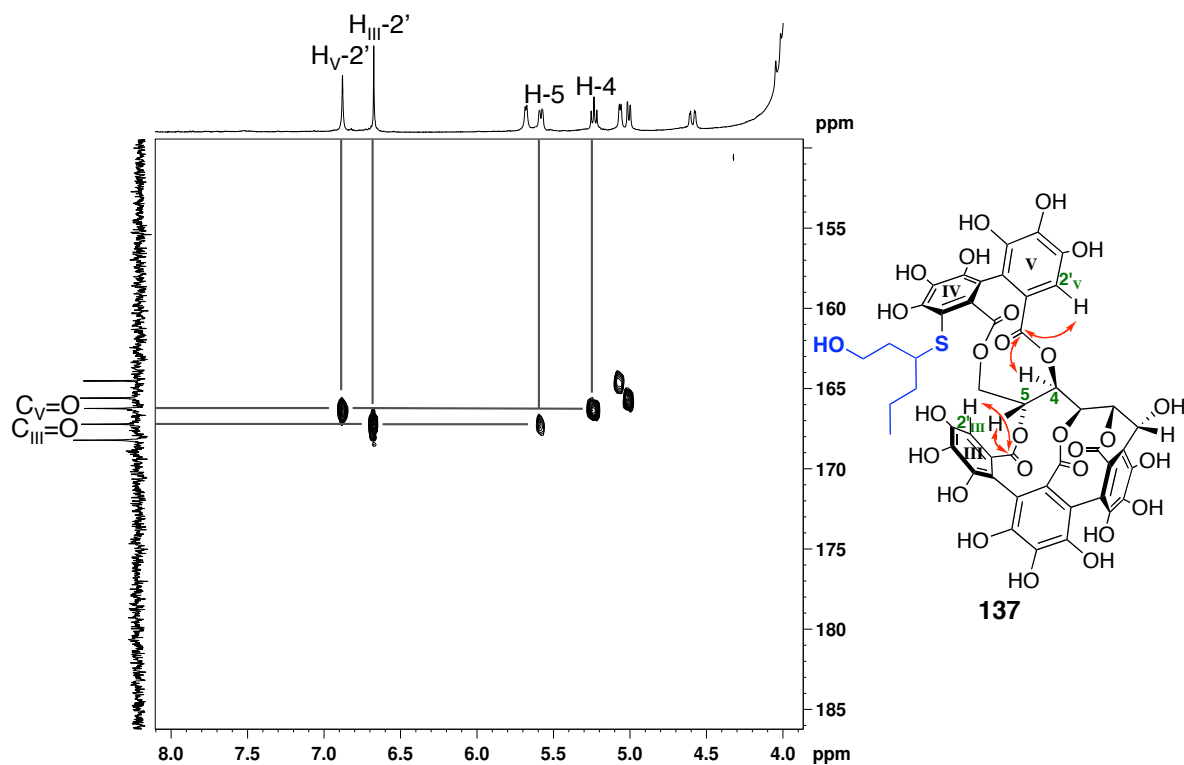


Figure 162. Zoom du spectre HMBC du monoadduit **137**.

6. ETUDE DE L'OXYDATION DE LA (—)-VESCALAGINE EN PRESENCE DU 3-SH

En parallèle, nous avons étudié l'oxydation de la vescalagine en présence du (S)-3-SH dans les mêmes conditions que précédemment. Comme pour la castalagine, des ajouts successifs de 2 équivalents du (S)-3-SH et du trichlorure de fer dans le milieu sont faits. Après l'ajout de 8 équivalents du thiol et du fer(III), le milieu devient complexe. La réaction d'oxydation est alors stoppée après ajout total de 8 équivalents du (S)-3-SH et du FeCl₃. L'analyse du milieu réactionnel par CL/SM confirme la présence des monoadduits et des diadduits vescalagine-(S)-3-SH (Figure 164).

Comme dans le cas de l'oxydation de la vescalagine en présence du 2-FMT, les adduits formés n'ont pas pu être isolés. Cependant, cette étude a permis d'identifier les monoadduits et les diadduits thiolés et donc de confirmer que la vescalagine est tout aussi susceptible de s'oxyder en quinone et de réagir avec le (S)-3-SH en condition oxydante.

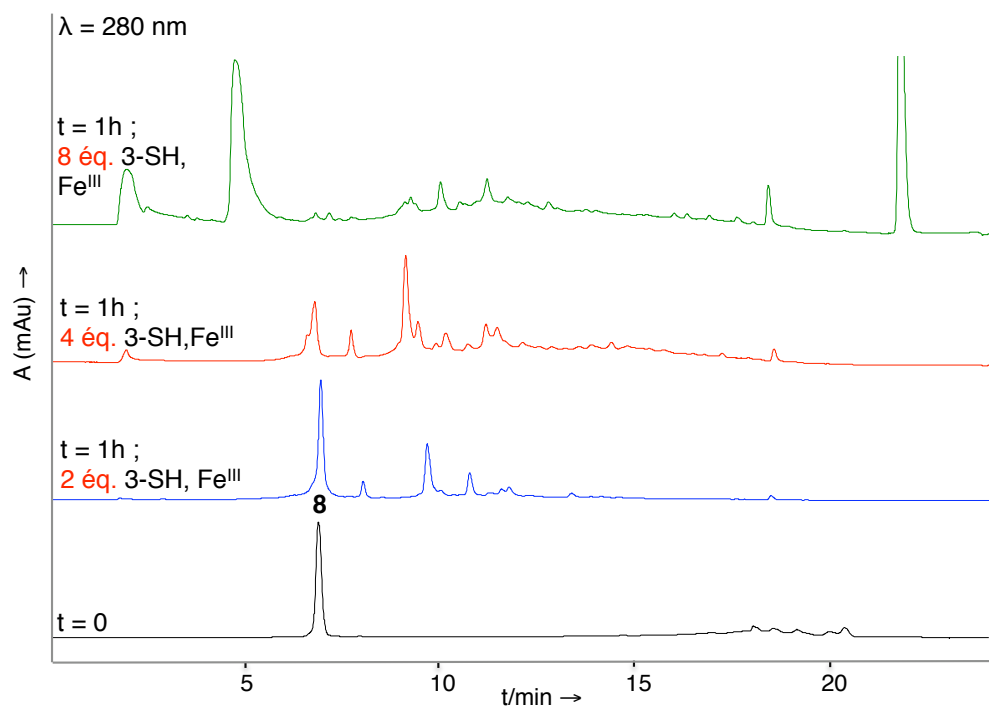


Figure 163. Chromatogramme CLHP de la réaction d'oxydation de la vescalagine en présence du (S)-3-SH (méthode 6).

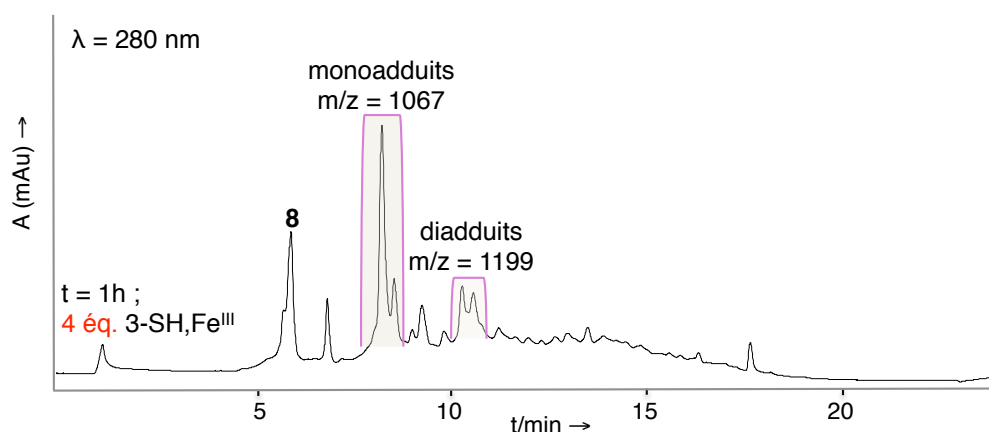


Figure 164. Chromatogramme CLHP de la réaction d'oxydation de la vescalagine en présence du (S)-3-SH avec les résultats obtenus en CL/SM (méthode 6).

Pour conclure, nous avons montré que les deux ellagitannins *C*-glucosidiques étudiés, la vescalagine et la castalagine, forment des adduits avec les deux thiols d'intérêt choisis, le 2-FMT et le (S)-3-SH. D'ailleurs, l'isolation et la caractérisation des adduits majoritaires formés entre la castalagine et le 2-FMT ou le (S)-3-SH ont pu être réalisées dans les conditions d'oxydation chimique utilisées. Ces deux composés polypyrogalloliques sont donc tout aussi susceptibles de capter les arômes soufrés en condition oxydante. De même, on peut supposer que les six autres ellagitannins *C*-glucosidiques identifiés dans le vin, la grandinine (**23**), et les roburines A-E (**24-28**) (Cf. Figure 13, Chapitre I), possédant des noyaux pyrogallols, peuvent aussi influencer les quantités de composés soufrés odorants dans le vin en condition oxydante.

V. CONCLUSION

Lors des étapes de vinification, du vieillissement en barrique et du stockage en bouteille, les molécules du vin évoluent, amenant à des modulations des qualités organoleptiques du vin. Parmi elles, on retrouve l'arôme du vin qui est une association de plusieurs composés présents dans le vin (cf. Chapitre I. I.4). Des études ont montré que certains composés, appartenant à la famille des polyphénols, et plus particulièrement, à ceux des catéchols, ont un impact sur les molécules aromatiques du vin.¹⁷⁸⁻¹⁸⁴ Dans ce contexte, nous avons étudié l'influence de deux types de polyphénols sur deux composés soufrés volatils odorants présents dans le vin, le 3-SH et le 2-FMT : un polyphénol possédant une unité catéchol, la catéchine, et des composés pyrogalloliques plus ou moins complexes, le méthylgallate et deux ellagitannins *C*-glucosidiques. Deux voies ont été envisagées pour cette étude puisque le vin est à la fois une solution aqueuse légèrement acide (pH = 3-4) où il peut se produire des réactions de substitutions nucléophiles,^{15, 162-163} et aussi une solution aqueuse oxygénée où il peut se passer des réactions d'oxydations amenant à la formation de nouveaux composés.¹⁷⁸⁻¹⁸⁴

Dans un premier temps, nous avons montré la réactivité de la vescalagine, ellagitannin *C*-glucosidique, sur les deux thiols d'intérêt choisis, le 3-SH et le 2-FMT, en milieu légèrement acide. Par réaction de substitution nucléophile de type SN_1 ,^{25, 182-183} trois nouvelles molécules ont ainsi pu être synthétisées avec de bons rendements : la (—)-vescalagine-2-FMT (**113**), la (—)-vescalagine-(*R*)-3-SH (**114**) et la (—)-vescalagine-(*S*)-3-SH (**115**) (Figure 165). Par cette étude, nous avons montré que la perte d'arôme soufré dans le vin pouvait être en partie due à la formation de nouveaux composés, les thio-ellagitannins, en présence de la vescalagine en condition légèrement acide comme le vin.

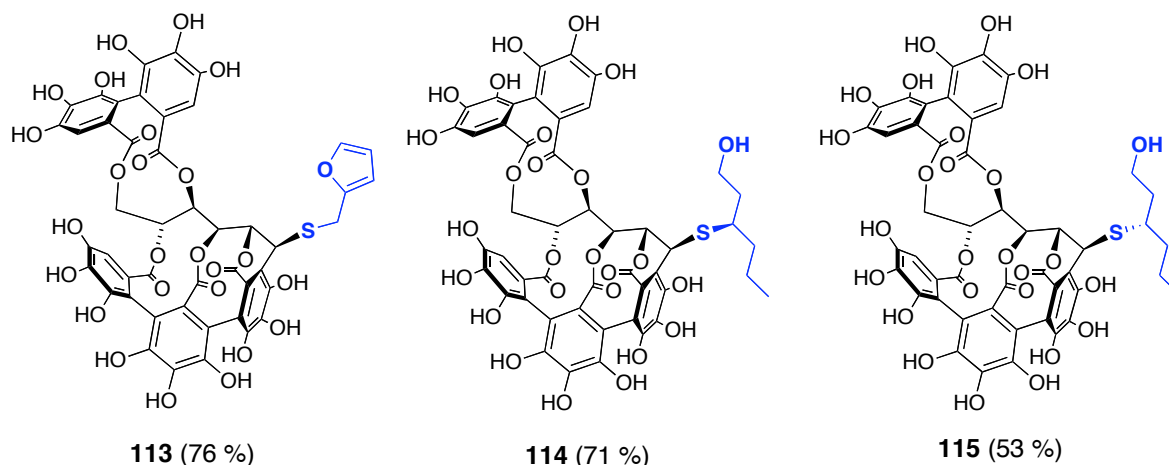


Figure 165. Structure des trois thio-ellagitannins **113**, **114** et **115**.

Dans ce chapitre, nous nous sommes aussi intéressés à l'influence de certains tannins sur ces deux composés aromatiques soufrés en condition oxydante. Pour cela, nous avons choisi un monomère de tannins condensés, la catéchine, flavan-3-ol possédant un noyau catéchol, et deux types de pyrogallol, le méthylgallate et deux ellagitannins *C*-glucosidiques, la vescalagine et la

castalagine, extraites du bois par le vin lors de l'élevage en fût de chêne. Ces composés phénoliques s'oxydent pour donner des espèces électrophiles très réactives, des ortho-quinones. Ces entités vont ensuite réagir avec les nucléophiles du vin, comme les composés soufrés odorants, via des réactions d'addition conjuguée (Figure 166).⁴ Afin d'identifier les adduits pouvant se former entre la catéchine/méthylgallate/vescalagine/castalagine et les deux thiols d'intérêt, le 3-SH et le 2-FMT, nous avons choisi de travailler avec une oxydation chimique en présence de fer(III).

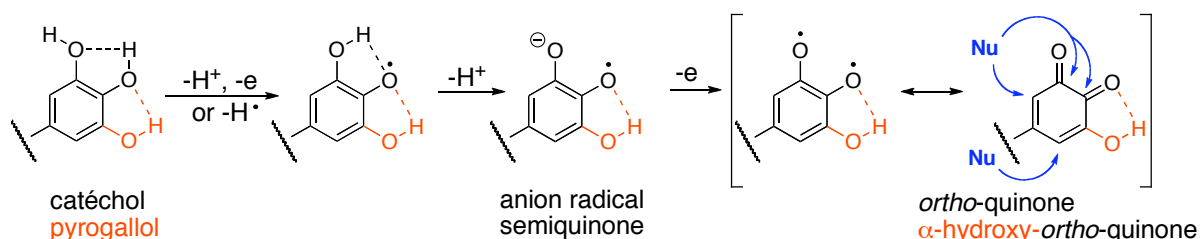


Figure 166. Déhydrogénation oxydative de phénols de type catéchol et pyrogallol en dérivés quinoniques.⁴

Tout d'abord, nous avons étudié l'oxydation chimique de la catéchine en présence du 2-FMT et du 3-SH. Dans les deux cas, nous avons isolé trois adduits: le monoadduit-2', le monoadduit-5' et le diadduit-2',5' (Figure 167). Seules deux positions du cycle B de la catéchine sont donc substituées par le thiol, les positions 2' et 5', ce qui signifie que l'addition nucléophile de type Michael se produit seulement en 1,6. Pour la conversion totale de la catéchine et pour obtenir de meilleurs rendements, il a été nécessaire de faire des ajouts successifs de thiol et de fer(III), nous amenant à l'isolation d'un seul composé, le diadduit-2',5' avec un rendement de 58-59 %. La réactivité des deux thiols pour ces réactions semble donc être équivalentes car nous obtenons des rendements similaires.

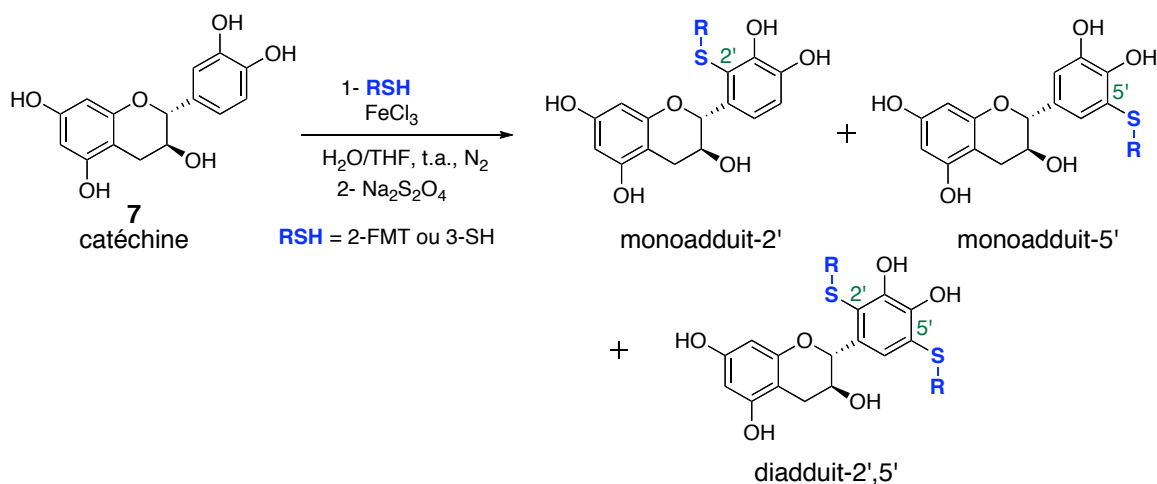


Figure 167. Oxydation chimique de la catéchine en présence du 2-FMT et du (R)-3-SH.

Ces adduits sont aussi bien formés en solution aqueuse qu'en solution modèle du vin. Cependant, en condition du vin, la réaction est plus lente et donne des rendements isolés inférieurs à ceux obtenus en solution aqueuse pour les trois adduits. Ceci peut-être dû à la

présence d'autres molécules dans le milieu, comme l'acide tartrique et l'éthanol, qui complexifie la réaction.

Dans la littérature, il est dit qu'un autre flavan-3-ol du raisin, la (—)-épicatéchine, est plus réactive que la catéchine, son épimère.²⁰⁹ Pour vérifier cela dans les conditions oxydantes que nous avons utilisées, nous avons testé la réaction entre le 2-FMT et ce composé catécholique. Comme dans le cas de la catéchine, trois adduits sont formés, le monoadduit-2', le monoadduit-5' et le diadduit-2',5'. Cependant, les rendements sont inférieurs à ceux obtenus lors de l'oxydation de la catéchine dans les mêmes conditions. Ces résultats peuvent être expliqués par une réactivité plus élevée de l'épicatéchine induisant la formation d'autres composés plus complexes non isolés lors de ces études (oligomères, polymères).

L'oxydation de la catéchine a aussi été testée en présence d'une enzyme, la tyrosinase, et du 3-SH pour comparer avec les résultats obtenus lors de l'oxydation chimique en présence du trichlorure de fer. Effectivement, nous avons mis en évidence la formation des mêmes adduits, le monoadduit-2', le monoadduit-5' et le diadduit-2',5'. Cependant, ces conditions semblent être moins efficaces pour la formation des adduits thio-catéchine.

Notre étude a aussi montré que la présence du fer dans le milieu sous la forme FeCl₃ est nécessaire pour l'oxydation de la catéchine et la formation de ces adduits. Ici, la catéchine ne réagit pas en présence d'oxygène seul.

Dans un second temps, nous avons étudié l'oxydation d'un composé pyrogallolique simple, le méthylgallate en présence du 2-FMT et du 3-SH dans les mêmes conditions d'oxydation. Cette étude a permis d'isoler quatre nouveaux composés, deux monoadduits et deux diadduits. Les rendements obtenus pour la formation de ces adduits thiolés sont supérieurs à ceux obtenus lors de l'oxydation de la catéchine dans les mêmes conditions. Cela appuie l'hypothèse que les noyaux pyrogallols sont à priori plus facilement oxydables en quinones que les noyaux catéchols et donc, qu'ils sont plus à même de réagir avec les composés soufrés. De plus, cette étude a permis de montrer que la formation des adduits thio-méthylgallate est plus lente à pH acide mais que les rendements obtenus pour ces adduits sont légèrement supérieurs.

Pour finir, nous avons étudié l'oxydation chimique de deux polypyrogallols plus complexe, la vescalagine et la castalagine, en présence du 2-FMT et du (S)-3-SH. Dans le cas de la castalagine, en présence du 2-FMT ou du (S)-3-SH, sept adduits sont formés (trois monoadduits, trois diadduits et un triadduit). Dans les deux cas, nous avons réussi à isoler les adduits majoritaires, c'est-à-dire, le monoadduit **134**, le diadduit **135**, le triadduit **136**, formés entre la castalagine et le 2-FMT (Figure 168), et le monoadduit **137**, formé entre la castalagine et le (S)-3-SH (Figure 169).

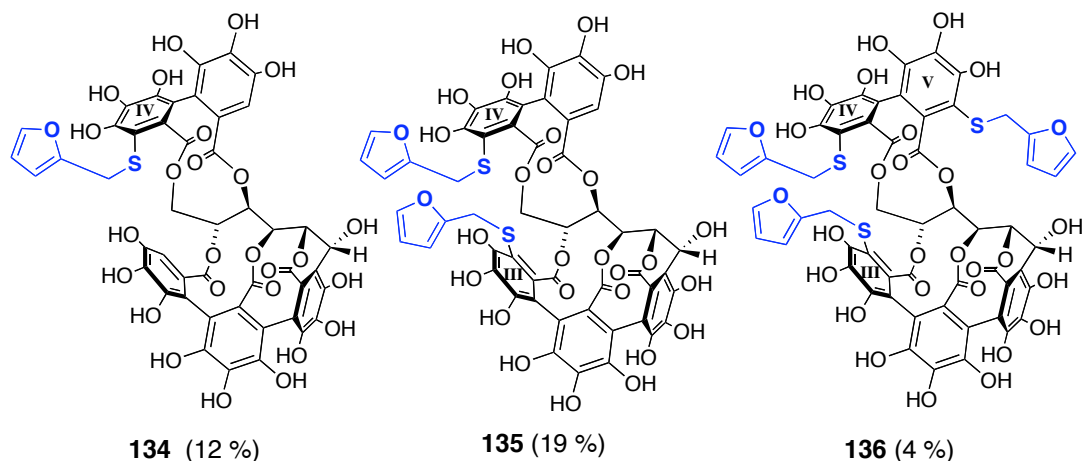


Figure 168. Structure des trois adduits isolés lors de l'oxydation de la castalagine en présence du 2-FMT.

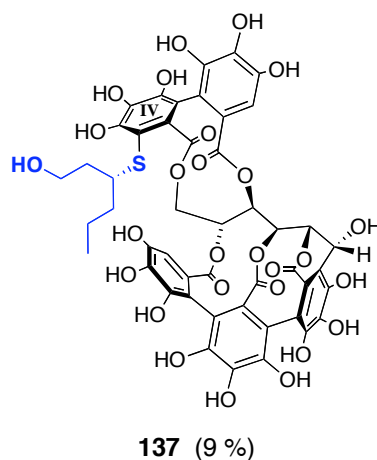


Figure 169. Structure de l'adduit isolé lors de l'oxydation de la castalagine en présence du (S)-3-SH.

Nous pouvons remarquer que les structures des monoadduits **134** et **137** sont similaires puisque le thiol s'est additionné sur le même cycle pyrogallol de la castalagine (cycle IV). Ces deux produits étant les monoadduits majoritaires, on peut supposer que la quinone résultant de l'oxydation du cycle IV est plus réactive vis-à-vis de l'addition nucléophile des deux arômes soufrés (disponibilité spatiale ?).

L'oxydation de la vescalagine en présence du 2-FMT et du (S)-3-SH a aussi montré la formation de différents adduits (monoadduits et diadduit), cependant, ils n'ont pas pu être isolés en quantité suffisante pour les caractériser car le milieu réactionnel était plus complexe que celui de l'oxydation de la castalagine. Cette différence peut être due à une plus grande réactivité de la vescalagine par rapport à son épimère la castalagine, dans les conditions oxydantes que nous avons utilisées.

CONCLUSION GENERALE

Dans un premier temps, l'oxydation de deux dérivés de la vescalagine, les acutissimines A et B, a été étudiée en condition oxydante. Quatre molécules ont ainsi pu être identifiées. L'oxydation de l'acutissimine A amène à la formation de la mongolicaïne A (**90**), composé naturel isolé pour la première fois de *Quercus mongolica*, et un nouveau composé analogue du camelliatannin G (**103**). Dans le cas de l'oxydation de l'acutissimine B, il y a aussi formation de deux composés, le composé **104**, qui s'avère être la mongolicaïne B (structure révisée) et un autre analogue du camelliatannin G, le composé **105**. La formation de ces quatre composés fait intervenir à la fois le cycle A de la partie catéchine et le cycle pyrogallol I de la partie vescalagine. En effet, ces deux types de composés ainsi générés lors de l'autoxydation des acutissimines sont formés à partir d'un intermédiaire réactionnel commun qui résulte de l'addition-1,6 nucléophile d'un groupement hydroxyle du cycle A de la catéchine sur le cycle pyrogallol I de l'unité vescalagine. Dans le cas des mongolicaïnes, une unité *o,m*-hydroxyphenylcyclopentenone est ainsi formée et, dans le cas des analogues du camelliatannin G, il s'agit d'une unité δ -lactone hémiacétalique. Ces composés sont tout aussi susceptibles de se former dans le vin puisque celui-ci est oxygéné tout au long des étapes de vinification, d'élevage, de mise en bouteille et de conservation. D'ailleurs, des travaux précédents effectués dans notre unité de recherche ont montré la présence des mongolicaïnes A et B dans une fraction ellagique de vin rouge élevé en fût de chêne.¹⁹⁵

En plus de l'étude de la réactivité chimique de ces deux flavano-ellagitannins présents dans le vin en condition oxydante, notre étude a aussi permis d'établir une voie probable de biosynthèse des mongolicaïnes A et B dans les plantes ainsi qu'un mécanisme réactionnel pouvant expliquer la présence de structure oxydée plus complexe comme celle du camelliatannin G.

Dans un deuxième temps, les travaux de cette thèse ont été consacrés à l'étude de l'influence des tannins sur les composés soufrés odorants volatils du vin en condition oxydante. Pour cela, une oxydation chimique en solution aqueuse appauvrie en oxygène a été choisie en présence du trichlorure de fer. Celle-ci nous a permis d'isoler des adduits formés entre des composés catécholiques, comme la catéchine, ou des composés pyrogalloliques, comme le méthylgallate, la vescalagine et la castalagine, et deux thiols présents dans le vin, le 2-furanmethanethiol (**52**) et le 3-sulfanylhexan-1-ol (**48**).

Lors de l'oxydation des deux flavanols en présence du 2-FMT ou du 3-SH, trois adduits sont formés, deux monoadduits et un diadduit. La caractérisation de ces composés a permis de montrer que seules deux positions du cycle catéchol sont mises en jeu et donc qu'il y a seulement une addition-1,6 nucléophile des composés soufrés sur les *ortho*-quinones formées

lors de l'oxydation de la catéchine ou de l'épicatéchine. Cette même réaction en solution modèle du vin ou en condition enzymatique en présence de la tyrosinase amène aussi à la formation de ces trois composés.

Une étude sur la formation de ces adduits a révélé que l'agent oxydant utilisé lors de ces études d'oxydation (Fe^{3+}) est un réactif nécessaire à la formation de ces trois composés, puisque, sans lui, aucune réaction d'oxydation ne se déroule, même en présence d'oxygène.

Dans un même temps, la réaction d'oxydation de composés pyrogalloliques été étudiée dans les mêmes conditions d'oxydation chimique en présence du 2-furamethanethiol (2-FMT) ou du 3-sulfanylhéxan-1-ol (3-SH). L'oxydation de ces deux ellagitannins C-glucosidiques amène à la formation de 7 adduits résultant de l'addition nucléophile du thiol sur les cycles pyrogallols oxydés en α -hydroxy-*ortho*-quinone. Dans le cas de l'oxydation de la castalagine, les trois adduits majoritaires **134-136** formés en présence du 2-FMT ont pu être isolés et caractérisés ainsi que le monoadduit majoritaire **137** formé en présence du (S)-3-SH. Les monoadduits **134** et **137** résultent de l'addition nucléophile du thiol sur le cycle IV de l'unité castalagine, le diadduit **135**, sur les cycles III et IV et le triadduit **136** sur les cycles III, IV et V. L'oxydation de la vescalagine n'a pas permis l'isolation d'adduits comme dans le cas de la castalagine, puisque la réaction de celle-ci en présence du 2-FMT ou du 3-SH amène à un milieu plus complexe, sûrement dû à une réactivité plus élevée de la vescalagine par rapport à son épimère. Cependant, l'étude analytique a confirmé la formation des monoadduits et des diadduits dans ces mêmes conditions de réaction.

En parallèle, nous avons aussi montré que la vescalagine pouvait capter le 2-FMT ou le 3-SH par substitution nucléophile en condition légèrement acide pour former des thio-ellagitannins.

L'influence de certains polyphénols sur les composés aromatiques soufrés a déjà été décrite dans la littérature, cependant, les noyaux pyrogallols comme ceux de la vescalagine et de la castalagine ont été très peu étudiés. Ces travaux de thèse ont donc permis de montrer que les composés pyrogalloliques, comme les composés catécholiques, peuvent aussi bien s'oxyder en quinones et ainsi capter les arômes soufrés présents dans le vin. De plus, en condition acide, ils peuvent aussi réagir avec ces composés et ainsi participer à la disparition de certains composés odorants participants à l'arôme du vin.

Pour conclure, le vin est un milieu complexe qui évolue tout au long des étapes de vinification. Il est à la fois un milieu légèrement acide ($\text{pH} = 3-4$) et un milieu oxydant (oxygène, métaux de transition), autorisant de nombreuses réactions chimiques participant à la modification des qualités organoleptiques du vin. Afin de comprendre et de contrôler ces modifications, il est intéressant d'étudier les réactions chimiques pouvant se produire dans ce breuvage. Par ces travaux, nous avons montré que deux flavano-ellagitannins, se formant par

condensation de la vescalagine et de la catéchine, pouvaient s'autoxyder en composés plus complexes, analogues de molécules naturelles isolées de plantes. Aussi, nous avons montré qu'en condition oxydante, les polyphénols du vin possédant une unité catéchol et/ou pyrogallol peuvent participer à la perte de composants soufrés odorants du vin, ainsi qu'en condition acide dans le cas de la vescalagine. Ces composés présents dans le vin peuvent donc être en partie responsables de l'évolution des qualités organoleptiques du vin, notamment de son arôme.

Partie Expérimentale



PARTIE EXPERIMENTALE

I. GENERALITES

1. CONDITIONS EXPERIMENTALES

La (—)-vescalagine (**8**) et la (—)-castalagine (**22**) sont extraites du cœur du bois de chêne *Quercus robur* et sont purifiées comme décrit précédemment.²⁴⁻²⁵ La (+)-catéchine (**10**), la (—)-épicatéchine (**11**), le trichlorure de fer, le dithionite de sodium et le 2-FMT (**52**) sont des produits commerciaux obtenus chez Sigma Aldrich (Saint-Quentin Fallavier, France). Le 3-SH (**48**), mélange racémique, est un produit commercial obtenu chez Lancaster (Bischheim, France). La tyrosinase est obtenue chez Sigma Aldrich (2034 U/mg). Les solvants devant être purifiés pour les réactions sont soit distillés sur sodium/benzophénone sous argon (THF), ou sur carbonate de potassium sous argon (acétone) juste avant utilisation, soit obtenus sur un système de purification de solvant (SPS) (CH₂Cl₂, THF). L'eau Milli-Q (millipore, 18,2 MΩ.cm) est utilisée pour les réactions ainsi que pour les analyses par CLHP et CLHP/SM et les purifications semi-préparatives par CLHP. Le méthanol, l'isopropanol (iPrOH) et l'hexane utilisés pour les analyses et les purifications par CLHP sont de qualité CLHP et sont obtenus chez Sigma Aldrich. Les solvants méthanol (MeOH), éther diéthylique (Et₂O), acétate d'éthyle (AcOEt), chloroforme (CHCl₃), dichlorométhane (CH₂Cl₂) sont obtenus chez Sigma Aldrich. Les réactions sensibles à l'eau et/ou à l'oxygène sont effectuées sous atmosphère inerte (N₂ ou Ar), dans une verrerie préalablement flammée et un solvant dégazé avec un gaz inerte (N₂ ou Ar). Les évaporations sont conduites sous pression réduite à des températures inférieures à 40°C. L'avancement des réactions est suivi soit par CLHP, soit par chromatographie sur couche mince (CCM) obtenus à partir de plaques de gel de silice 60F₂₅₄ de chez Merck. Les composés sont visualisés avec une lampe UV (λ 254 nm) et révélés avec une solution éthanoïque d'acide phosphomolibdenique (10 % v/v). L'analyse de traces de fer et de cuivre dans l'eau Milli-Q a été réalisée par le Service Commun des Laboratoires (SCL), Laboratoire de Bordeaux, Pessac. Aucune trace de cuivre n'a été détectée et le fer a été détecté à 26 µg/L.

2. TECHNIQUES D'ANALYSES

a. Chromatographie liquide haute performance (CLHP)

i. Générale

Le suivi des réactions par CLHP a été réalisé sur un appareil SpectraSystem Thermo équipé d'un dégazeur SCM 1000, de pompes P1000 XR, d'un passeur d'échantillon AS 3000 et d'un détecteur UV-visible 6000 LP à barrette de diodes (200-600 nm), piloté par le logiciel d'acquisition ChromQuest. Le débit utilisé était de 1 mL/min, le volume injecté était de 20 µL et la longueur utilisée était de λ 280 nm.

La purification des réactions par CLHP semi-préparative a été réalisée sur un appareil système Varian ProStar muni de têtes de pompes 25 SS et d'un détecteur UV-visible 320 à 2 longueurs d'onde (λ 260 et 280 nm), en utilisant un débit variant de 6 mL/min à 16 mL/min. Le volume injecté était de 1mL avec une boucle d'injection de 2 mL.

ii. Méthodes utilisées

Méthode 1

Appareil : système THERMO-FINNIGAN

Débit: 1,0 mL/min

Température : ambiante

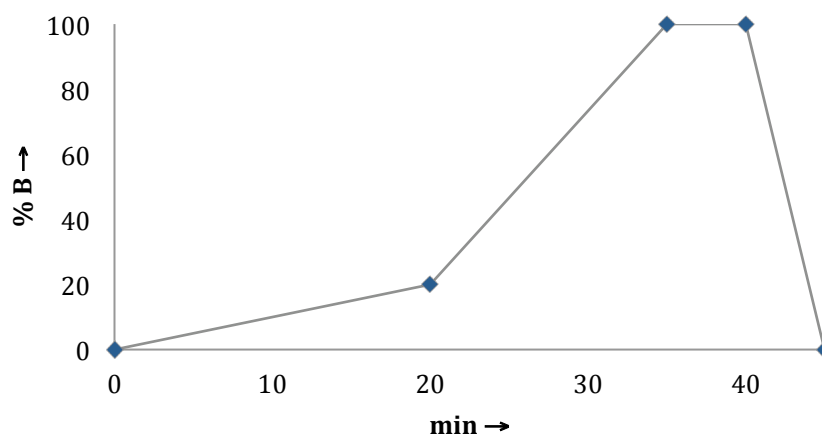
Volume injecté : 20 µL

Colonne : Macherey-Nagel Pyramid C-18 (4,6 x 250 mm, 5 µm)

Détection : 280 nm

Solvant : A : H₂O + 0,1 % HCOOH; B : MeOH + 0,1 % HCOOH

Gradient :
de 0 à 20 % de B en 20 min
de 20 à 100 % de B en 15 min
100 % de B pendant 5 min
de 100 à 0 % de B en 5 min



Méthode 2

Appareil : système VARIAN

Débit: 16,0 mL/min

Température : ambiante

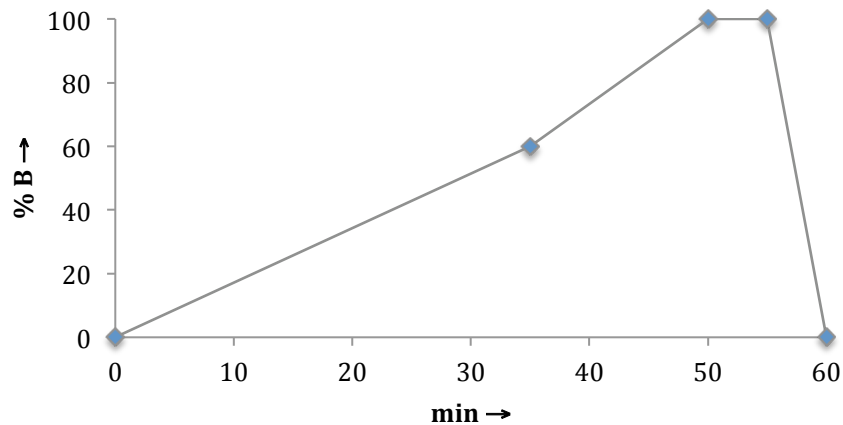
Volume injecté : 1 mL

Colonne : Merck Lichrospher RP-18 (25 x 250 mm, 5 μ m)

Détection : 280 nm

Solvant : A : H₂O + 0,1 % HCOOH; B : MeOH + 0,1 % HCOOH

Gradient :
de 0 à 60 % de B en 35 min
de 60 à 100 % de B en 15 min
100 % de B pendant 5 min
de 100 à 0 % de B en 5 min



Méthode 3

Appareil : système VARIAN

Débit: 6,0 mL/min

Température : ambiante

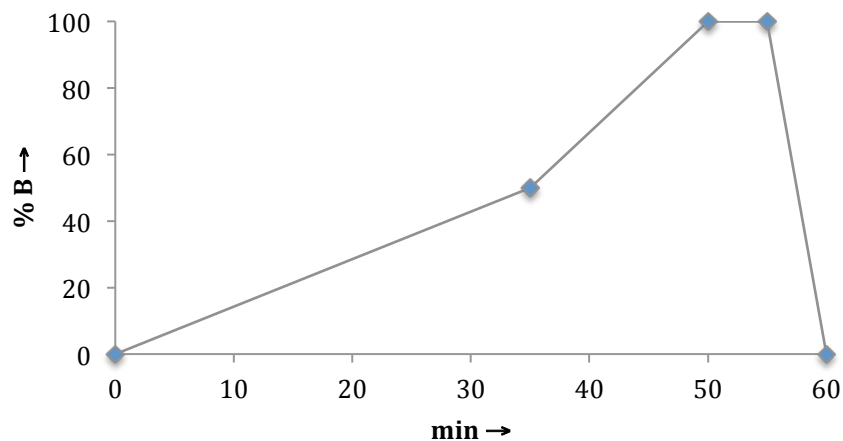
Volume injecté : 1 mL

Colonne : Macherey-Nagel Pyramid C-18 (10 x 250 mm, 5 μ m)

Détection : 280 nm

Solvant : A : H₂O + 0,1 % HCOOH; B : MeOH + 0,1 % HCOOH

Gradient :
de 0 à 50 % de B en 35 min
de 50 à 100 % de B en 15 min
100 % de B pendant 5 min
de 100 à 0 % de B en 5 min



Méthode 4

Appareil : système THERMO-FINNIGAN

Débit: 1,0 mL/min

Température : ambiante

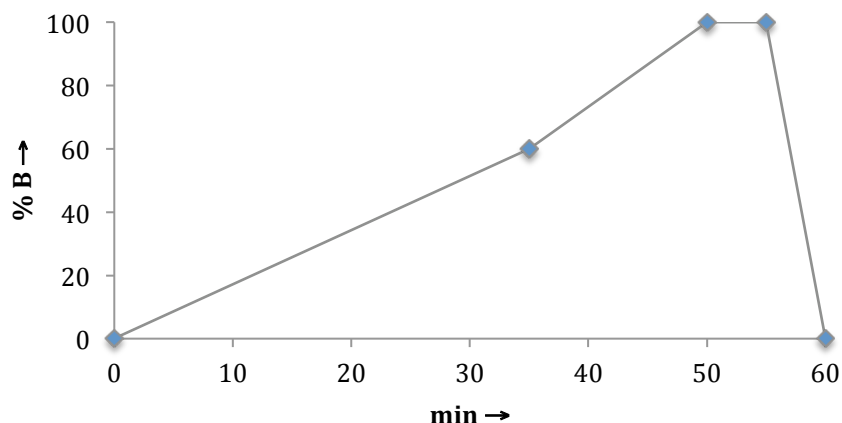
Volume injecté : 20 μ L

Colonne : Macherey-Nagel Pyramid C-18 (4,6 x 250 mm, 5 μ m)

Détection : 280 nm

Solvant : A : H₂O + 0,1 % HCOOH; B : MeOH + 0,1 % HCOOH

Gradient :
de 0 à 60 % de B en 35 min
de 60 à 100 % de B en 15 min
100 % de B pendant 5 min
100 à 0 % de B pendant 5 min



Méthode 5

Appareil : système VARIAN

Débit: 16,0 mL/min

Température : ambiante

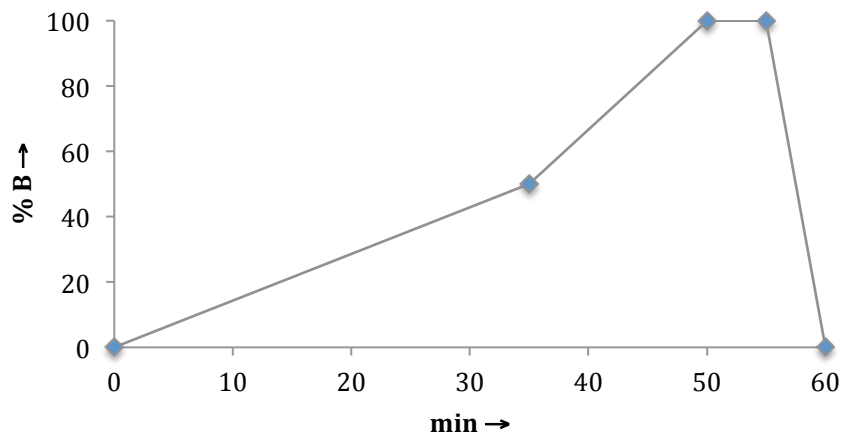
Volume injecté : 1 mL

Colonne : Merck Lichrospher RP-18 (25 x 250 mm, 5 μ m)

Détection : 280 nm

Solvant : A : H₂O + 0,1 % HCOOH; B : MeOH + 0,1 % HCOOH

Gradient :
de 0 à 50 % de B en 35 min
de 50 à 100 % de B en 15 min
100 % de B pendant 5 min
de 100 à 0 % de B en 5 min



Méthode 6

Appareil : système THERMO-FINNIGAN

Débit: 1,0 mL/min

Température : ambiante

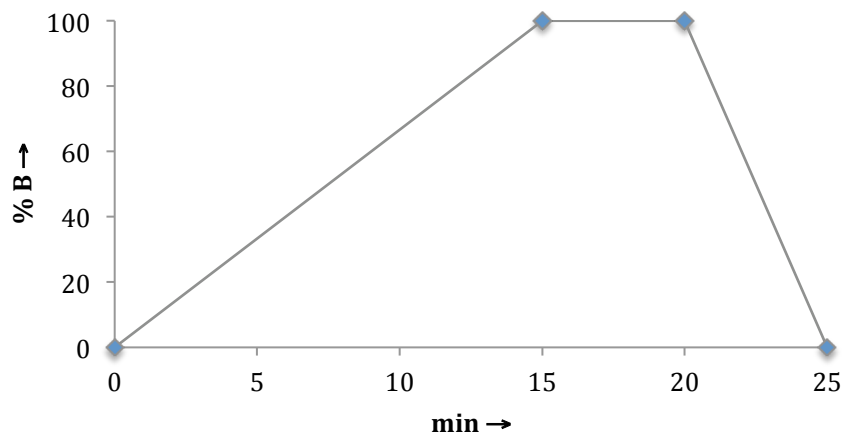
Volume injecté : 20 μ L

Colonne : Macherey-Nagel Pyramid C-18 (4,6 x 250 mm, 5 μ m)

Détection : 280 nm

Solvant : A : H₂O + 0,1 % HCOOH; B : MeOH + 0,1 % HCOOH

Gradient : de 0 à 100 % de B en 15 min
100 % de B pendant 5 min
de 100 à 0 % de B en 5 min



Méthode 7

Appareil : système VARIAN

Débit: 16,0 mL/min

Température : ambiante

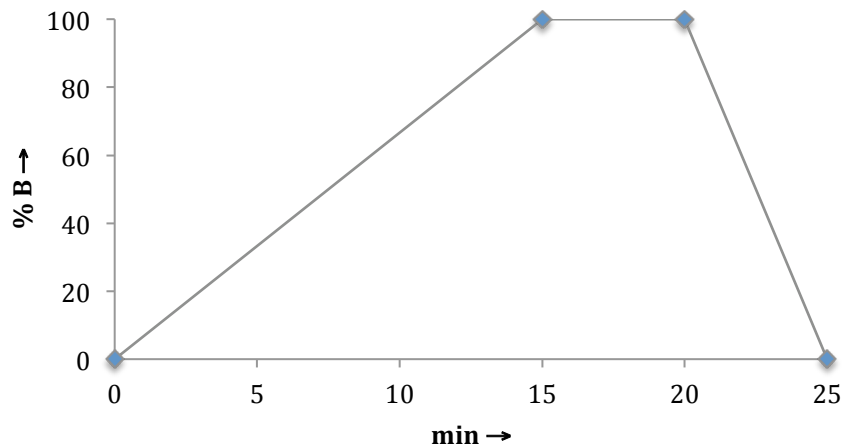
Volume injecté : 1 mL

Colonne : Macherey-Nagel Pyramid C-18 (21 x 250 mm, 5 μ m)

Détection : 280 nm

Solvant : A : H₂O + 0,1 % HCOOH; B : MeOH + 0,1 % HCOOH

Gradient : de 0 à 100 % de B en 15 min
100 % de B pendant 5 min
de 100 à 0 % de B en 5 min



Méthode 8

Appareil : système THERMO-FINNIGAN
Débit: 0,5 mL/min
Température : ambiante
Volume injecté : 20 µL
Colonne : CHIRALPAK® OJ-H (4,6 x 250 mm, 5 µm)
Détection : UV 254 nm
Solvant : hexane/isopropanol (98 :2)
Gradient : isocratique

Méthode 9

Appareil : système VARIAN
Débit: 10,0 mL/min
Température : ambiante
Volume injecté : 1 mL
Colonne : CHIRALPAK® OJ-H (20 x 250 mm, 5 µm)
Détection : UV 254 nm
Solvant : hexane/isopropanol (98 :2)
Gradient : isocratique

Méthode 10

Appareil : système VARIAN
Débit: 15,0 mL/min
Température : ambiante
Volume injecté : 1 mL
Colonne : CHIRALPAK® AS-H (20 x 250 mm, 5 µm)
Détection : UV 254 nm
Solvant : hexane/isopropanol (9 :1)
Gradient : isocratique

Méthode 11

Appareil : système THERMO-FINNIGAN
Débit: 0,5 mL/min
Température : ambiante
Volume injecté : 20 µL
Colonne : CHIRALPAK® AS-H (4,6 x 250 mm, 5 µm)
Détection : UV 254 nm
Solvant : hexane/isopropanol (9 :1)
Gradient : isocratique

Méthode 12

Appareil : système VARIAN

Débit: 16,0 mL/min

Température : ambiante

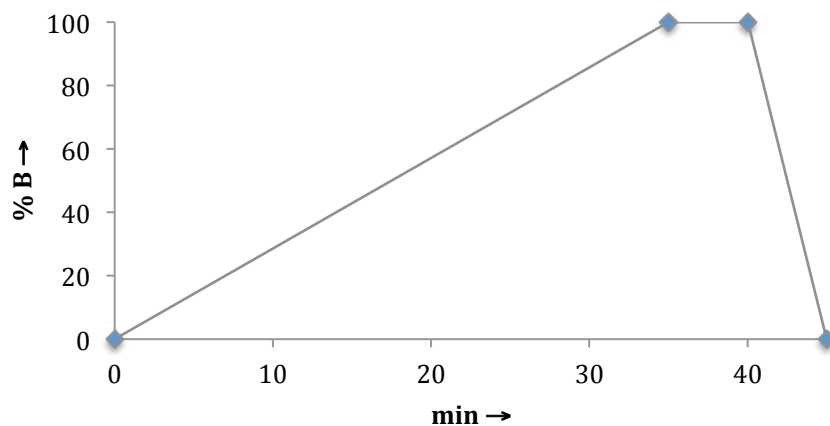
Volume injecté : 1 mL

Colonne : Macherey-Nagel Pyramid C-18 (21 x 250 mm, 5 µm)

Détection : 280 nm

Solvant : A : H₂O + 0,1 % HCOOH; B : MeOH + 0,1 % HCOOH

Gradient : de 0 à 100 % de B en 35 min
100 % de B pendant 5 min
de 100 à 0 % de B en 5 min



Méthode 13

Appareil : système VARIAN

Débit: 16,0 mL/min

Température : ambiante

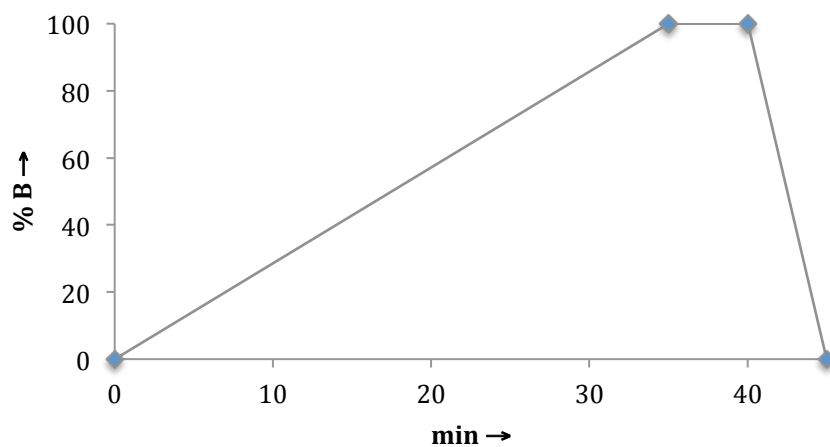
Volume injecté : 1 mL

Colonne : Merck Lichrospher RP-18 (25 x 250 mm, 5 µm)

Détection : 280 nm

Solvant : A : H₂O + 0,1 % HCOOH; B : MeOH + 0,1 % HCOOH

Gradient : de 0 à 100 % de B en 35 min
100 % de B pendant 5 min
de 100 à 0 % de B en 5 min



Méthode 14

Appareil : système VARIAN

Débit: 16,0 mL/min

Température : ambiante

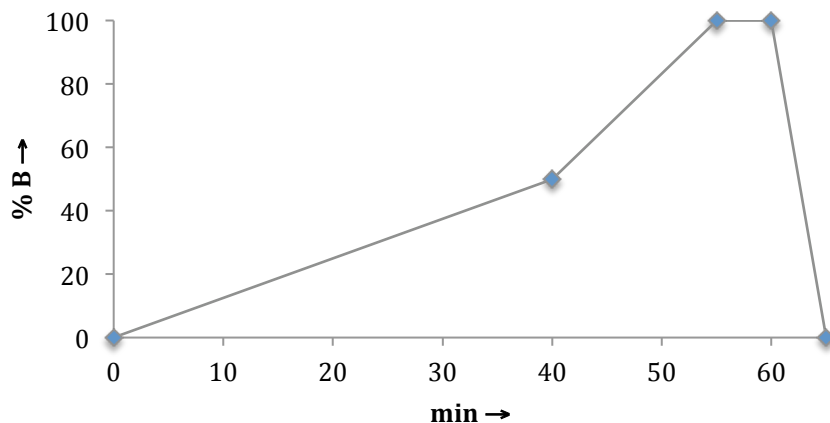
Volume injecté : 1 mL

Colonne : Macherey-Nagel Pyramid C-18 (21 x 250 mm, 5 µm)

Détection : 280 nm

Solvant : A : H₂O + 0,1 % HCOOH; B : MeOH + 0,1 % HCOOH

Gradient :
de 0 à 50 % de B en 40 min
de 50% à 100 % de B en 5 min
100 % de B pendant 5 min
de 100 à 0 % de B en 5 min



Méthode 15

Appareil : système VARIAN

Débit: 16,0 mL/min

Température : ambiante

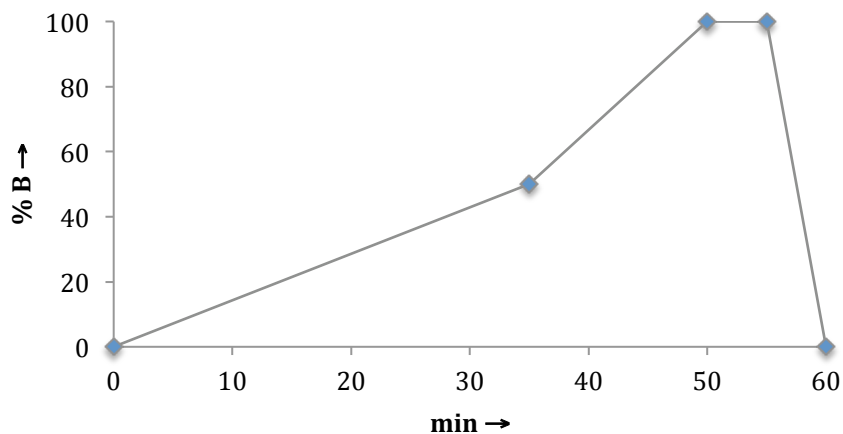
Volume injecté : 1 mL

Colonne : Macherey-Nagel Pyramid C-18 (21 x 250 mm, 5 µm)

Détection : 280 nm

Solvant : A : H₂O + 0,1 % HCOOH; B : MeOH + 0,1 % HCOOH

Gradient :
de 0 à 50 % de B en 35 min
de 50% à 100 % de B en 15 min
100 % de B pendant 5 min
de 100 à 0 % de B en 5 min



b. Résonance magnétique nucléaire (RMN)

Les spectres RMN ^1H sont enregistrés dans le solvant indiqué sur un appareil Bruker Avance II 300 MHz ou Bruker DPX 400 MHz ou 700 MHz. La valeur des déplacements chimiques (δ) est exprimée en parti par million (ppm), par rapport au signal résiduel du solvant utilisé comme référence interne (D_2O : δ 4,79 ppm ; acétone- d_6 : δ 2,05 ppm ; $\text{MeOD-}d_4$: δ 3,31 ppm, CDCl_3 : δ 7,26 ppm).²¹⁵ La valeur des constantes de couplages (J) sont données en Hertz (Hz) par ordre croissant. Les abréviations suivantes sont utilisées pour décrire la multiplicité des signaux : s (singulet), d (doublet), dd (doublet dédoublé), t (triplet), q (quadruplet), m (massif complexe ou multiplet).

Les spectres RMN du carbone ^{13}C sont enregistrés dans le solvant indiqué sur un appareil Bruker Avance II 300 MHz (à 75,5 MHz) ou DPX 400 MHz (à 100 MHz). La multiplicité des signaux du carbone est déterminée par des expériences DEPT 135 (CH et CH_3 positifs, CH_2 négatifs). La valeur des déplacements chimiques (δ) est exprimée en partie par millions (ppm), par rapport au signal résiduel du solvant utilisé comme référence interne (acétone d_6 : δ 206,26 ppm ; $\text{MeOD-}d_4$: δ 49,00 ppm ; CDCl_3 : δ 77,16 ppm).²¹⁵ Les connectivités structurales sont déterminées par des expériences HMQC/HSQC, HMBC, COSY et TOCSY.

L'expérience RMN COSY long-range a été réalisée avec un délai de 300 ms²⁰⁸ et les expériences HMBC avec une constante 13 de 2, 4, 7, 8 ou 10 Hz.

c. Spectrométrie de masse (SM)

Les analyses basse résolution (LRMS) et haute résolution (HRMS) ont été réalisées par ionisation par électroébulisation (ESI, ElectroSpray Ionisation) ou par désorption de champs (Field Desorption, FD) en mode positif ou négatif par le laboratoire de spectrométrie de masse du Centre d'Etude Structurale et d'Analyse des Molécules Organiques (CESAMO) de l'Université de Bordeaux 1, et par le laboratoire de spectrométrie de masse de l'Institut Européen de Chimie et Biologie (IECB) de Pessac.

d. Infra-rouge (IR)

Les spectres infra-rouge ont été enregistrés sur un spectromètre FT-IR Bruker Equinox (Zn/Se).

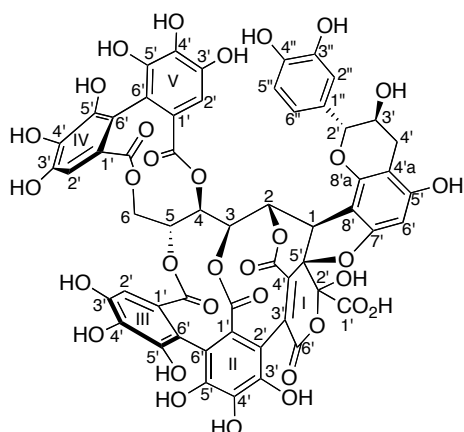
e. Pouvoir rotatoire

Les pouvoirs rotatoires ont été mesurés sur un polarimètre ADP 220 Bellingham Stanley.

II. SYNTHÈSE ET CARACTÉRISATION

103

Camelliatannin G analogue



- MM: 1236.87 g.mol⁻¹
- Formula: C₅₆H₃₆O₃₃
- Yellowish amorphous powder

A solution of acutissimin A (**9**, 179 mg, 0.15 mmol) in water (130 mL) was heated at 60°C and kept in ambient air under stirring. The reaction progress was monitored by HPLC (method 1). It was decided to stop the reaction after 33 h, after which time the formation of camelliatannin G analogue **103** as a major product was still predominant over that mongolicain A (**90**). The reaction mixture was then evaporated to furnish a brown solid residue. This residue was dissolved in water and purified by a first semi-preparative HPLC (method 2), followed by a second semi-preparative HPLC (method 3), to furnish, after freeze-drying, **103** as a yellowish amorphous powder (21 mg, 11 %).

$t_R = 25.90$ min (method 4).

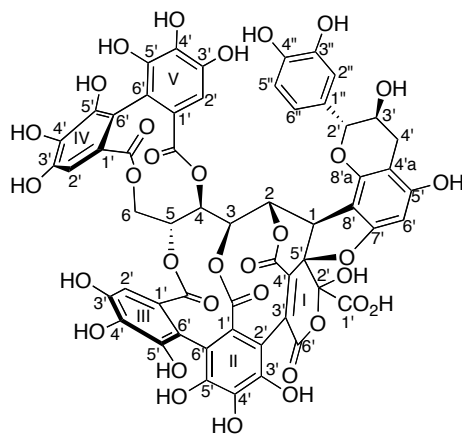
¹H NMR [400 MHz, acetone-*d*₆/D₂O (8:2)] δ 2.24 (dd, $J = 4.2, 17.8$ Hz, 1 H, H α -4'), 2.69 (d, $J = 17.8$ Hz, 1 H, H β -4'), 4.02 (d, $J = 12.5$ Hz, 1 H, H α -6), 4.51 (d, $J = 11.8$ Hz, 1 H, H β -6), 4.71 (s, 1 H, H-3'), 4.81 (s, 1 H, H-1), 5.46 (m, 4 H, H-3, H-4, H-5, H-2'), 5.76 (s, 1 H, H-2), 6.01 (s, 1 H, H-6'), 6.50 (d, $J = 8.2$ Hz, 1 H, H-6''), 6.53 (s, 1 H, H_{IV}-2'), 6.64 (s, 1 H, H_{III}-2'), 6.65 (m, 2 H, H-2'', H-5''), 7.09 (1s, 1 H, H_V-2') ppm.

¹³C NMR [100 MHz, acetone-*d*₆/D₂O (8:2)] δ 169.4 (C_{IV}=O), 167.7 (C_I-4'), 167.0 (C_{III}=O), 166.6 (C_V=O), 164.1 (C_I=O), 163.3 (C_{II}=O), 163.1 (C_I-6'), 159.0 (C-7'), 158.1 (C-5'), 150.9 (C-8'a), 145.5, 145.4, 145.3, 145.2, 145.1, 145.0, 144.9, 144.6 (C_[II-V]-3', C_[II-V]-5'), 144.6, 144.5 (C-3'', C-4''), 139.3 (C_I-4'), 136.9 (C_V-4'), 136.0 (C_{III}-4'), 135.8 (C_{II}-4'), 135.2 (C_{IV}-4'), 130.2 (C_I-3'), 129.8 (C-1''), 126.7, 125.5, 125.0 (C_[II-IV]-1'), 123.8 (C_V-1'), 116.6 (C_V-6'), 116.3 (C-5''), 116.2 (C-6''), 114.6 (C_{IV}-6'), 114.5 (C_{II}-2'/C_{II}-6'), 113.5 (C_{III}-6'), 113.2 (C-2''), 112.7 (C_{II}-2'/C_{II}-6'), 107.9 (C_{III}-2'), 107.0 (C_V-2'), 106.2 (C_{IV}-2'), 105.1, (C-8'), 101.6 (C-4'a), 99.2 (C_I-2'), 91.0 (C-6'), 86.6 (C_I-5'), 78.4 (C-2'), 74.9 (C-2), 70.9 (C-3), 70.3 (C-5), 68.9 (C-4), 66.8 (C-3'), 65.6 (C-6), 50.4 (C-1), 23.8 (C-4') ppm.

LRMS *m/z* (relative intensity): 1237 ([M+H]⁺, 5), 1259 ([M+Na]⁺, 100).

HRMS (ESIMS) calcd for C₅₆H₃₅O₃₃Na₂ 1281.0850 found 1281.0868.

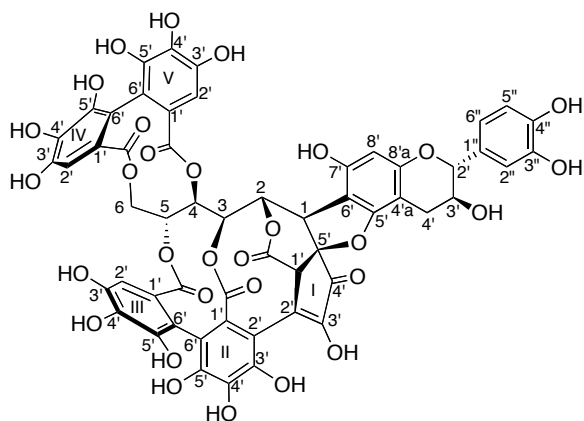
IR (ZnSe): $\nu_{\max} = 3418, 1741, 1632$ cm⁻¹.



NMR signal assignments of Camelliatannin G analogue **103** in acetone-*d*₆/D₂O (8:2) 400 MHz.

Position	δ_{H} mult (J, Hz)	δ_{C}	HSQC	HMBC
Glucose				
1	4.81 s	50.4	C-1	C-3, C-4'a, C-6', C-7', C-8', C-8'a, C _I -2', C _I -4', C _I -5', H-2, H-3
2	5.76 s	74.9	C-2	C-1, C-4, C-8', C _I -5', C _I =O, H-3, H-4
3	5.46 m	70.9	C-3	C-1, C-2, C-4, C-5, C _{II} =O, H-1
4	5.46 m	68.9	C-4	C-2, C-5, H-3, H-5, H-6
5	5.46 m	70.3	C-5	C-4, C _V =O, H-3, H-4, H-6
6	α 4.02 d ($J = 12.5$ Hz) β 4.51 d ($J = 11.8$ Hz)	65.6	C-6	C-4, C-5
Aromatics				
1' _[III-IV]		126.7, 125.5, 125.0		
1' _V		123.8		H _V -2'
2' _I		99.2		H-1
2' _{II} , 6' _{II}		112.7, 114.5		
2' _{III}	6.64 s	107.9	C _{III} -2'	C _{III} -3', C _{III} -4', C _{III} -5', C _{III} -6', C _{III} =O
2' _{IV}	6.53 s	106.2	C _{IV} -2'	C _{IV} -3', C _{IV} -4', C _{IV} -5', C _{IV} -6', C _{IV} =O
2' _V	7.09 s	107.0	C _V -2'	C _V -3', C _V -4', C _V -5', C _V -6', C _V =O
3' _I		130.2		
3' _[II-V] 5' _[II-V]		145.5, 145.4, 145.3, 145.2, 145.1, 145.0, 144.9, 144.6		H _{[III-V]}} -2'
4' _I		139.3		H-1
4' _{II}		135.8		
4' _{III}		136.0		H _{III} -2'
4' _{IV}		135.2		H _{IV} -2'

4' _v		136.9		H _v -2'
5' _I		86.6		H-1, H-2
6' _{II}		112.7		
6' _{III}		113.5		H _{III} -2'
6' _{IV}		114.6		H _{IV} -2'
6' _v		116.6		H _v -2'
Carbonyls				
C _I =O		164.1		H-2
C _{II} =O		163.3		H-3
C _{III} =O		167.0		H _{III} -2'
C _{IV} =O		169.4		H-6, H _{IV} -2'
C _v =O		166.6		H-4, H _v -2'
1' _I		167.7		
6' _I		163.1		
Catechin				
2'	5.46 m	78.4	C-2'	C-1", H-4', H-2", H-6"
3'	4.71 s	66.8	C-3'	C-4'a, H-2', H-4'
4'	α 2.24 dd ($J = 4.2, 17.8$ Hz) β 2.69 d ($J = 17.8$ Hz)	23.8	C-4'	C-2', C-3', C-4'a, C-5', C-8'a
4'a		101.6		H-1, H-4', H-6'
5'		158.1		H-4', H-6'
6'	6.01 s	91.0	C-6'	C-4'a, C-5', C-6', C-7', C-8', C-8'a, H-1
7'		159.0		H-1, H-6'
8'		105.1		H-1, H-2, H-6'
8'a		150.9		H-1, H-4'
1"		129.8		H-2', H-2"/H-5"
2"	6.65 m	113.2	C-2"	C-2', C-1", C-3", C-6", H-2"/H-5", H-6"
3"		144.6		H-2"/H-5"
4"		144.5		H-6"
5"	6.65 m	116.2	C-5"	C-2', C-1", C-3", C-6", H-2"/H-5", H6"
6"	6.50 d ($J = 8.2$ Hz)	116.3	C-6"	C-2', C-2", C-4"



- MM: 1176.86 g.mol⁻¹
- Formula: C₅₅H₃₆O₃₀
- Beige amorphous powder

A solution of acutissimin B (**82**, 183 mg, 0.15 mmol) in water (130 mL) was heated at 60 °C and kept in ambient air under stirring for 6 days, after which time HPLC monitoring (method 1) indicated no further evolution of the reaction mixture. This mixture was then evaporated to furnish a brown solid residue. This residue was dissolved in water and purified by a first semi-preparative HPLC (method 2), followed by a second semi-preparative HPLC (method 3), to furnish, after freeze-drying, compounds **104** (8 mg, 5 %) and camelliatannin G analogue **105** (9 mg, 5 %).

t_R = 23.90 min (method 4).

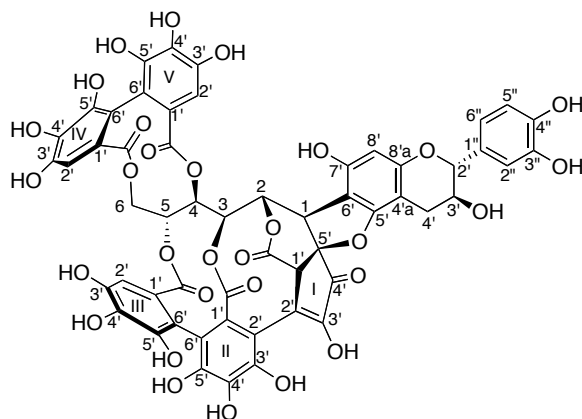
¹H NMR [400 MHz, acetone-*d*₆/D₂O (8:2)] δ 2.54 (dd, J = 8.3, 16.0 Hz, 1 H, H α -4'), 2.82 (dd, J = 5.4, 16.0 Hz, 1 H, H β -4'), 3.98 (d, J = 12.8 Hz, 1 H, H α -6), 4.01 (s, 1 H, H-1), 4.04 (d, J = 5.7 Hz, 1 H, H-3'), 4.31 (s, 1 H, H_I-1'), 4.63 (d, J = 13.8 Hz, 1 H, H β -6), 4.66 (d, J = 7.6 Hz, 1 H, H-2'), 5.10 (d, J = 7.2 Hz, 1 H, H-3), 5.49 (d, J = 7.6 Hz, 1 H, H-5), 5.53 (d, J = 8.1 Hz, 1 H, H-4), 5.82 (s, 1 H, H-2), 6.15 (s, 1 H, H-8'), 6.57 (s, 1 H, H_{IV}-2'), 6.60 (s, 1 H, H_{III}-2'), 6.71 (dd, J = 1.9, 8 Hz, 1 H, H-6''), 6.78 (d, J = 8.1 Hz, 1 H, H-5''), 6.87 (1s, 2H, H_V-2', H-2'') ppm.

¹³C NMR [100 MHz, acetone-*d*₆/D₂O (8:2)] δ 196.8 (C_I-4'), 169.3 (C_{IV}=O), 168.1 (C_I=O), 167.1 (C_{III}=O), 166.9 (C_V=O), 163.7 (C_{II}=O), 159.3 (C-5'), 157.3 (C-8'a), 153.4 (C-7'), 149.0 (C_I-3'), 145.4 (C_{II}-3'/C_{IV}-3'), 145.3 (C_{III}-3'), 144.6 (C_V-3'), 145.0 (C-3''/C-4''), 144.6-144.5 (C_{II-VI}-5'), 140.2 (C_I-2'), 137.1 (C_{II}-4'), 136.9 (C_V-4'), 135.8 (C_{III}-4'), 135.5 (C_{IV}-4'), 131.0 (C-1''), 126.5, 126.3, 124.7, 124.4 (C_{II-IV}-1'), 119.6 (C-6''), 116.9 (C_V-6'), 115.8 (C-5''), 115.1 (C-2''), 114.4 (C_{IV}-6'), 113.4 (C_{III}-6'), 112.1 (C_{II}-6'), 108.7 (C_V-2'), 107.8 (C_{III}-2'), 106.8 (C_{IV}-2'), 104.3 (C-4'a), 97.0, (C-8'), 96.3 (C-6'), 89.1 (C_I-5'), 82.4 (C-2'), 76.5 (C-2), 71.6 (C-3), 70.8 (C-5), 68.2 (C-4), 66.9 (C-3'), 64.9 (C-6), 50.5 (C_I-1'), 47.9 (C-1), 27.5 (C-4') ppm.

LRMS m/z (relative intensity): 1177 ([M+H]⁺, 45), 1199 ([M+Na]⁺, 100).

HRMS (ESIMS): calcd for C₅₅H₃₆O₃₀Na 1199.1183 found 1199.1179.

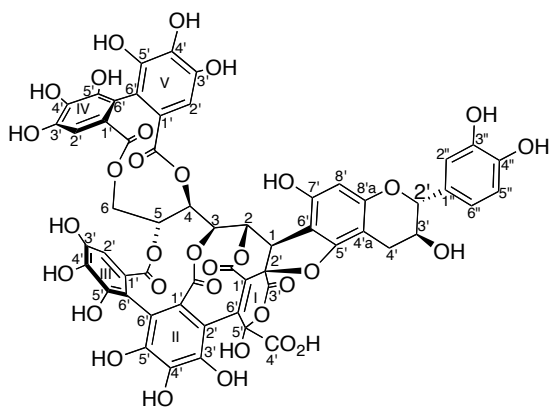
IR (ZnSe): ν_{max} = 3409, 1731, 1622 cm⁻¹.



NMR signal assignments of compound **104** in acetone- d_6 /D $_2$ O (8:2) 400 MHz.

Position	δ_H mult (J , Hz)	δ_C	HSQC	HMBC
Glucose				
1	4.01 s	47.9	C-1	C-3, C-4'a, C-5', C-7', C _I -1', C _I -4', C _I -5', H-2, H-3, H _I -1'
2	5.82 s	76.5	C-2	C-1, C-4, C-4'a, C _I -5', C _I =O, H-4
3	5.10 d (J = 7.2 Hz)	71.6	C-3	C-1, C-5, C _{II} =O, H-1
4	5.53 d (J = 8.1 Hz)	68.2	C-4	C-5, H-2, H-6
5	5.49 d (J = 7.6 Hz)	70.8	C-5	C _{III} =O, H-4, H-3
6	α 3.98 d (J = 12.8 Hz) β 4.63 d (J = 13.8 Hz)	64.9	C-6	C-4, C _{IV} =O
Aromatics				
1' _I	4.31 s	50.5	C _I -1'	C-1, C _I -2', C _I -3', C _I -4', C _I -5', C _I =O, H-1
1' _[II-V]		124.4, 124.7, 126.3, 126.5		
2' _I		140.2		H _I -1'
2' _{II}		143.6		
2' _{III}	6.60 s	107.8	C _{III} -2'	C-6'', C _{III} -3', C _{III} -4', C _{III} -5', C _{III} -6', C _{III} =O
2' _{IV}	6.57 s	106.8	C _{IV} -2'	C _{IV} -3', C _{IV} -4', C _{IV} -6', C _{IV} =O
2' _V	6.87 s	108.7	C _V -2'	C _V -3', C _V -4', C _V -6', C _V =O
3' _I		149.0		H _I -1'
3' _{II}		145.4		
3' _{III}		145.3		H _{III} -2'
3' _{IV}		145.4		H _{IV} -2'
3' _V		144.6		H _V -2'
4' _{II}		137.1		
4' _{III}		135.8		H _{III} -2'
4' _{IV}		135.5		H _{IV} -2'

4' _v		136.9		H _v -2'
5' _I		89.1		H-1, H-2, H _I -1'
5' _[II-V]		144.5 -144.6		H _{III} -2', H _{IV} -2', H _V -2'
6' _{II}		112.1		
6' _{III}		113.4		H _{III} -2'
6' _{IV}		114.4		H _{IV} -2'
6' _v		116.9		H _v -2'
Carbonyls				
C _I =O		168.1		H-2, H _I -1'
C _{II} =O		163.7		H-3
C _{III} =O		167.1		H _{III} -2'
C _{IV} =O		169.3		H-6, H _{IV} -2' _{IV}
C _v =O		166.9		H-5, H _v -2'
4' _I		196.8		H-1
Catechin				
2'	4.66 d (<i>J</i> = 7.6 Hz)	82.4	C-2'	C-3', C-1'', C-2'', C-6'', H-2'', H-4'
3'	4.04 d (<i>J</i> = 5.7 Hz)	66.9	C-3'	H-2', H-4'
4'	α 2.54 d (<i>J</i> = 16.0, 8.3 Hz) β 2.82 dd (<i>J</i> = 16.0, 5.4 Hz)	27.5	C-4	C-2', C-3', C-4'a, C-5', C-6', C-8'a, H-2'
4'a		104.3		H-2', H-3', H-4', H-8'
5'		159.3		H-1, H-4'
6'		96.3		H-8'
7'		153.4		H-1, H-8'
8'	6.15 s	97.0	C-8'	C-4'a, C-6', C-7', C-8'a
8'a		157.3		H-4', H-8'
1''		131.0		H-2'', H-5''
2''	6.87 s	115.1	C-2''	C-2', C-3'', C-4'', C-6'', H-2', H-6''
3''		145.0		H-5'', H-6''
4''		145.0		H-5'', H-6''
5''	6.78 d (<i>J</i> = 8.1 Hz)	115.8	C-5''	C-1'', C-3'', C-4'', H-2''
6''	6.71 dd (<i>J</i> = 8.0, 1.9 Hz)	119.6	C-6''	C-2'', C-3'', C-4'', H-2', H-2''



- MM: 1236.87 g.mol⁻¹
- Formula: C₅₆H₃₆O₃₃
- Off-beige amorphous powder

A solution of acutissimin B (**82**, 183 mg, 0.15 mmol) in water (130 mL) was heated at 60 °C and kept in ambient air under stirring for 6 days, after which time HPLC monitoring (method 1) indicated no further evolution of the reaction mixture. This mixture was then evaporated to furnish a brown solid residue. This residue was dissolved in water and purified by a first semi-preparative HPLC (method 2), followed by a second semi-preparative HPLC (method 3), to furnish, after freeze-drying, mongolicain B (**104**) (8 mg, 5 %) and camelliatannin G analogue **105** (9 mg, 5 %).

t_R = 31.00 min (method 4).

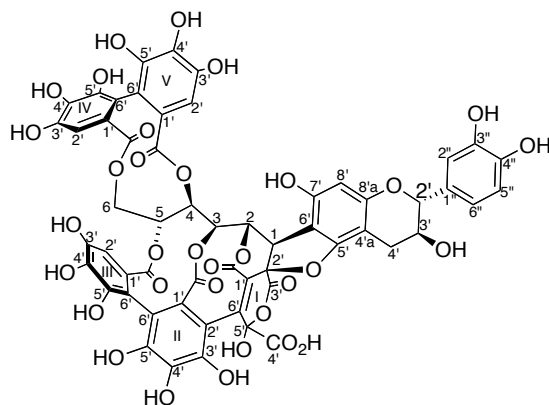
¹H NMR [400 MHz, acetone-*d*₆/D₂O (8:2)] δ 2.44 (m, 1 H, H-4'), 3.01 (m, 1 H, H-4'), 3.95 (m, 2 H, H-6, H-3'), 4.49 (d, J = 8.2 Hz, 1 H, H-2'), 4.69 (m, 2 H, H-1, H-6), 5.48 (m, 3 H, H-3, H-4, H-5), 5.8 (s, 1 H, H-2), 6.01 (br s, 1 H, H-8'), 6.58 (s, 1 H, H_{IV}-2'), 6.67 (s, 1 H, H_{III}-2'), 6.75 (m, 2 H, H-5'', H-6''), 7.00 (s, H_V-2') ppm.

¹³C NMR [100 MHz, acetone-*d*₆/D₂O (8:2)] δ 169.3 (C_{IV}=O), 168.3 (C_I-1'), 167.1 (C_V=O), 166.9 (C_{III}=O), 164.5 (C_I=O), 163.5, 163.7 (C_I-6', C_{II}=O), 158.7 (C-5'), 157.0 (C-8'a), 152.9 (C-7'), 145.6 (C-4''), 145.3 (C-3''), 145.1-145.3 (C_[II-IV]-3'), 144.5-144.7 (C_[II-IV]-5'), 140.4 (C_I-4'), 137.0 (C_V-4'), 136.1 (C_{III}-4'), 135.7 (C_{II}-4'), 135.5 (C_{IV}-4'), 131.0 (C-1''), 130.0 (C_I-3'), 126.4, 125.4, 125.3, 124.5 (C_[II-IV]-1'), 120.4 (C-6''), 116.7 (C_V-6'), 115.7 (C-5''), 115.4 (C-2''), 114.9, 112.6 (C_{II}-2', C_{II}-6'), 114.5 (C_{IV}-6'), 113.8 (C_{III}-6'), 108.5 (C_V-2'), 108.3 (C_{III}-2'), 106.8 (C_{IV}-2'), 105.0 (C-6'), 100.2 (C-4'a), 97.2 (C_I-2'), 96.8, (C-8'), 86.6 (C_I-5'), 82.8 (C-2'), 74.9 (C-3), 73.5 (C-2), 70.5 (C-5), 69.4 (C-4), 67.1 (C-3'), 65.2 (C-6), 50.9 (C-1), 28.4 (C-4') ppm.

LRMS m/z (relative intensity): 1259 ([M+Na]⁺, 100), 1237 ([M+H]⁺, 5).

HRMS (ESIMS): HRMS m/z calcd. for C₅₆H₃₅O₃₃Na₂ 1281.0850 found 1281.0839.

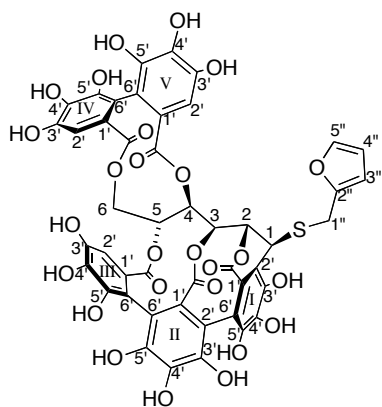
IR (ZnSe): ν_{max} = 3401, 1740, 1645 cm⁻¹.



NMR signal assignments of camelliatannin G analogue **105** in acetone- d_6 /D $_2$ O (8:2) 400 MHz.

Position	δ H mult (J, Hz)	δ C	HSQC	HMBC
Glucose				
1	4.69 m	50.9	C-1	C-4, C-5', C-6', C _I -2', C _I -4', C _I -5', H-2
2	5.88 s	73.5	C-2	C-1, C-4, C-4a, C-6', C _I -5', C _I =O
3	5.53 m	74.9	C-3	
4	5.43 m	69.4	C-4	H-1, H-2, H-6
5	5.46 m	70.5	C-5	H-4, H-6
6	4.69 m 3.95 m	65.2	C-6	C-5
Aromatics				
1' _[II-V]		124.5, 125.3, 125.4, 126.4		
2' _I		97.2		H-1
2' _{III}	7.00 s	108.3	C2' _{III}	C _{III} -3', C _{III} -4', C _{III} -5', C _{III} -6', C _{III} =O
2' _{IV}	6.58 s	106.8	C2' _{IV}	C _{IV} -3', C _{IV} -4', C _{IV} -5', C _{IV} -6', C _{IV} =O
2' _V	6.67 s	108.5	C2' _V	C _V -3', C _V -4', C _V -5', C _V -6', C _V =O
3' _I		130.0		
3' _[II-V]		145.1-145.3		H _[III-V] -2'
4' _I		140.4		H-1
4' _{II}		135.7		
4' _{III}		136.1		H _{III} -2'
4' _{IV}		135.5		H _{IV} -2'
4' _V		137.0		H _V -2'
5' _I		86.6		H-1, H-2
5' _[II-V]		144.5-144.7		H _[III-V] -2'
2' _{II} , 6' _{II}		112.6, 114.9		
6' _{III}		113.8		H _{III} -2'

6' _{IV}		114.5		H _{IV} -2'
6' _V		116.7		H _V -2'
Carbonyls				
1' _I		168.3		
C _I =O		164.5		H-2
C _{II} =O, 6' _I		163.5, 163.7		
C _{III} =O		166.9		H _{III} -2'
C _{IV} =O		169.3		H _{IV} -2'
C _V =O		167.1		H _V -2'
Catechin				
2'	4.49 d (<i>J</i> = 8.2 Hz)	82.8	C-2'	C-3', C-6"
3'	3.95 m	67.1	C-3'	H-2'
4'	2.44 m, 3.01 m	28.4	C-4'	
4'a		100.2		H-1, H-8'
5'		158.7		H-1
6'		105.0		H-1, H-2, H-8'
7'		152.9		H-8'
8'	6.01 s	96.8	C-8'	C-4'a, C-6', C-7', C-8'a
8'a		157.0		H-8'
1"		131.0		H-5", H-6"
2"	6.89 s	115.4	C-2"	C-2', C-3", C-4", C-6", H-6"
3"		145.3		H-2", H-5", H-6"
4"		145.6		H-2", H-5", H-6"
5"	6.75 m	115.7	C-5"	C-1", C-3", C-4", H-6"
6"	6.75 m	120.4	C-6"	C-2', C-2", C-3", C-4", H-2"



- MM: 1030.78 g.mol⁻¹
- Formula: C₄₆H₃₀O₂₆S
- Brown amorphous powder

To a stirred solution of (-)-vescalagin (**8**, 36 mg, 0.038 mmol) in dry THF/TFA (10 mL/100 μ L) at 60 °C was added 2-FMT (**52**, 16 μ L, 0.154 mmol). The reaction was stirred under nitrogen atmosphere for 15 hours, after which time HPLC monitoring (method 6) indicated completion of the reaction. The solvent was evaporated under reduced pressure to give a pinkish powder. The residue was dissolved in water and purified by a semi-preparative HPLC (method 7) to furnish, after freeze-drying, compound **106** (30.5 mg, 76 %).

t_R = 11.54 min (method 6).

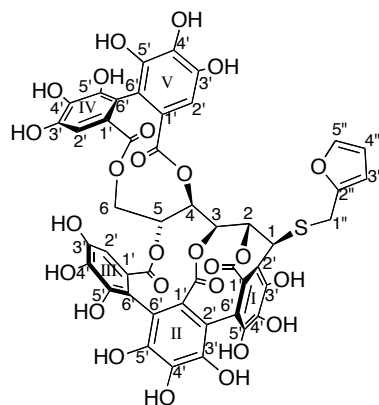
¹H NMR [400 MHz, MeOD-*d*₄]: δ 4.01 (d, J = 12.5 Hz, 1H, H β -6), 4.15 (m, 2H, H-1''), 5.50 (s, 1H, H-1), 4.63 (d, J = 7.1 Hz, 1H, H-3), 4.93 (d, J = 11.0 Hz, 1H, H α -6), 5.15 (t, J = 7.2 Hz, 1H, H-4), 5.25 (s, 1H, H-2), 5.55 (d, J = 7.4 Hz, 1H, H-5), 6.27 (m, 1H, H-4''), 6.34 (m, 1H, H-3''), 6.58 (s, 1H, H_{IV}-2'), 6.66 (s, 1H, H_V-2'), 6.73 (s, 1H, H_{III}-2'), 7.40 (s, 1H, H-5'') ppm.

¹³C NMR [100 MHz, MeOD-*d*₄]: δ 169.2 (C_{IV}=O), 167.1 (C_{III}=O), 166.6 (C_V=O), 165.4 (C_{II}=O), 164.7 (C_I=O), 151.7 (C-2''), 147.1, 144.7, 144.6, 144.5, 144.0 (C_{III-VI}-3', C_{II-III}-5'), 145.3 (C_{III}-5'), 145.1, 145.1 (C_{IV-VI}-5'), 143.5 (C_I-3'), 143.1 (C-5''), 137.5, 134.9 (C_{I-III}-4'), 137.0 (C_V-4'), 136.3 (C_{III}-4'), 135.7 (C_{IV}-4'), 127.4 (C_{II}-1'), 126.5 (C_{IV}-1'), 124.9 (C_{III}-1'), 124.5 (C_V-1'), 124.2 (C_I-1'), 116.6 (C_I-2'), 116.4 (C_V-6'), 115.5, 114.7, 113.1 (C_{II}-2', C_{I-III}-6'), 114.6 (C_{IV}-6'), 114.2 (C_{III}-6'), 111.2 (C-4''), 108.7 (C-3''), 108.7 (C_V-2'), 108.5, 106.4 (C_{III}-2'), 107.1 (C_{IV}-2'), 76.2 (C-2), 70.9 (C-5), 70.6 (C-3), 69.6 (C-4), 65.3 (C-6), 43.5 (C-1), 28.4 (C-1'') ppm.

LRMS *m/z* (relative intensity): 514 ([M-2H]²⁻, 100), 1029 ([M-H]⁻, 70).

HRMS (ESIMS): HRMS *m/z* calcd. for C₄₆H₂₉O₂₆S 1029.0662 found 1029.0688.

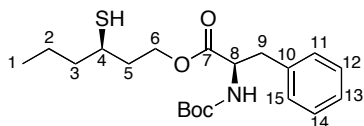
IR (ZnSe): ν_{max} = 3393, 1734, 1179 cm⁻¹.



NMR signal assignments of vescalagin-Smethylfuran **106** in MeOD-*d*₄ 400 MHz.

Position	δ H mult. (J en Hz)	δ C	HSQC	HMBC
Glucose				
1	4.50 s	43.5	C-1	H-2, H-3, H-1'', C-3, C _I -1', C _I -2', C _I -3', C-1''
2	5.25 s	76.2	C-2	H-4, C-1, C-4, C _I -2', C _I -3', C _I =O
3	4.63 d (<i>J</i> = 7.1 Hz)	70.6	C-3	H-1, H-4, H-5, C-1, C-4, C-5, C _{II} =O
4	5.15 t (<i>J</i> = 7.2 Hz)	69.6	C-4	H-2, H-3, H-5, H β -6, C-2, C-4, C-5, C _V =O
5	5.55 d (<i>J</i> = 7.4 Hz)	70.9	C-5	H-3, H-4, H-6, C-4, C-6, C _{III} =O
6	α 4.01 d (<i>J</i> = 12.5 Hz) β 4.93 d (<i>J</i> = 11 Hz)	65.3	C-6	H-5, C-4, C-5, C _{IV} =O
Aromatics				
1' _I		124.2		H-1
1' _{II}		127.4		
1' _{III}		124.9		H _{III} -2'
1' _{IV}		126.5		H _{IV} -2'
1' _V		124.5		H _V -2'
2' _I		116.6		H-1, H-2
2' _{II} , 6' _[I-II]		115.5, 114.7, 113.1		
2' _{III}	6.73 s	108.5	C _{III} -2'	C _{III} -1', C _{III} -4', C _{III} -5', C _{III} -6', C _{III} =O
2' _{IV}	6.58 s	107.1	C _{IV} -2'	C _{IV} -1', C _{IV} -4', C _{IV} -5', C _{IV} -6', C _{IV} =O
2' _V	6.66 s	108.7	C _V -2'	C _V -1', C _V -4', C _V -5', C _V -6', C _V =O
3' _I		143.5		H-1, H-2
3' _[III-V] , 5' _[I-II]		147.1, 144.7, 144.6, 144.5, 144.0		
4' _[I-II]		134.9, 137.5		

4' _{III}		136.3		H _{III} -2'
4' _{IV}		135.7		H _{IV} -2'
4' _V		137.0		H _V -2'
5' _{III}		145.3		H _{III} -2'
5' _[IV-V]		145.1, 145.1		H _V -2', H _{IV} -2'
6' _{III}		114.2		H _{III} -2'
6' _{IV}		114.6		H _{IV} -2'
6' _V		116.4		H _V -2'
Carbonyls				
C _I =O		164.7		H-2
C _{II} =O		165.4		H-3
C _{III} =O		167.1		H-5, H _{III} -2'
C _{IV} =O		169.2		H-6, H _{IV} -2'
C _V =O		166.6		H-4, H _V -2'
2-FMT				
1"	4.15 m	28.4	C-1"	H-1, C-1, C-2", C-3", C-5"
2"		151.7		H-1", H-3", H-4", H-5"
3"	6.34 m	108.7	C-3"	H-5", H-1", C-2", C-4", C-5"
4"	6.27 m	111.2	C-4"	H-3", C-2", C-5"
5"	7.40 s	143.1	C-5"	H-1", H-3", H-4", C-2", C-3"

110a**(R)-((R)-3-mercaptohexyl)2-(tert-butoxycarbonylamino)-3phenylpropanoate**

- MM: 381.53 g.mol⁻¹
- Formula: C₂₀H₃₁NO₄S
- Colorless oil

To an ice-cold stirred solution of 3-SH (**48**, 3.76 g, 0.28 mol), *N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-L-phenylalanine (7.50 g, 0.28 mol) and DMAP (34 mg, 2.8 × 10⁻⁴ mol) in dry CH₂Cl₂ (200 mL) was added DIC (8.7 mL, 0.056 mol). The reaction mixture was stirred at room temperature under nitrogen atmosphere overnight. The solution was concentrated until dryness, and then dissolved in Et₂O (100 mL). The resulting suspension was filtrated and the solid was washed Et₂O (3 × 100 mL). The filtrate was washed with 0.5M aqueous HCl (3 × 100 mL) and brine (3 × 100 mL), dried over MgSO₄, filtered and evaporated to dryness to get the crude product, which was purified by column chromatography, eluting with cyclohexane-AcOEt (98:2 to 9:1), to yield mixture of compounds **110a** and **110b** as a colorless oil (9.5 g, 89 %). The residue was dissolved in Hexane-IPrOH mixture (98:2) and purified by a semi-preparative HPLC (method 9) to furnish, after evaporation of solvents, pure diastereoisomers **110a** and **110b**.

R_f = 0.4 (cyclohexane-ACoEt, 9:1).

t_R = 14.34 min (method 8).

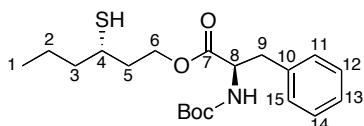
¹H NMR [300 MHz, CDCl₃]: δ 0.93 (t, *J* = 6.9 Hz, 3H, H-1), 1.31 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H, H-2), 1.44 (s, 9H, CH₃-Boc), 1.52 (m, 2H, H-3), 1.97 (m, 2H, H-5), 2.72 (m, 1H, H-4), 3.08 (d, *J* = 6.1 Hz, 2H, H-9), 4.28 (m, 2H, H-6), 4.57 (m, 1H, H-8), 5.02 (m, 1H, NH-8), 7.29, 7.16 (m, 5H, H-11, H-12, H-13, H-14, H-15) ppm.

¹³C NMR [75 MHz, CDCl₃]: δ 172.0 (C-7), 155.1 (C_{Boc}=O), 136.0 (C-10), 129.4 (C-11, C-15), 128.6 (C-12, C-14), 127.1 (C-13), 80.0 (C-Boc), 63.1 (C-6), 54.6 (C-8), 41.3 (C-3), 38.6 (C-9), 37.6 (C-5), 37.3 (C-4), 28.3 (CH₃-Boc), 20.1 (C-2), 13.7 (C-1) ppm.

LRMS *m/z* (relative intensity): 404 ([M+Na]⁺, 100).

HRMS (ESIMS): HRMS *m/z* calcd. for C₂₀H₃₁O₄NNaS 404.1866 found 404.1862.

IR (ZnSe): ν_{max} = 2958, 2928, 1715, 1167 cm⁻¹.

110b**(R)-((S)-3-mercaptohexyl)2-(tert-butoxycarbonylamino)-3phenylpropanoate**

- MM: 381.53 g.mol⁻¹
- Formula: C₂₀H₃₁NO₄S
- Colorless oil

To an ice-cold stirred solution of 3-SH (**48**, 3.76 g, 0.28 mol), *N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-L-phenylalanine (7.50 g, 0.28 mol) and DMAP (34 mg, 2.8 × 10⁻⁴ mol) in dry CH₂Cl₂ (200 mL) was added DIC (8.7 mL, 0.056 mol). The reaction mixture was stirred at room temperature under nitrogen atmosphere overnight. The solution was concentrated until dryness, and then dissolved in Et₂O (100 mL). The resulting suspension was filtrated and the solid was washed Et₂O (3 × 100 mL). The filtrate was washed with 0.5M aqueous HCl (3 × 100 mL) and brine (3 × 100 mL), dried over MgSO₄, filtered and evaporated to dryness to get the crude product, which was purified by column chromatography, eluting with Cyclohexane-AcOEt (98:2 to 9:1), to yield mixture of compounds **110a** and **110b** as a colorless oil (9,5 g, 89 %). The residue was dissolved in Hexane-IPrOH mixture (98:2) and purified by a semi-preparative HPLC (method 9) to furnish, after evaporation of solvents, pure diastereoisomers **110a** and **110b**.

R_f = 0.4 (cyclohexane-ACoEt, 9:1).

t_R = 15.80 min (method 8).

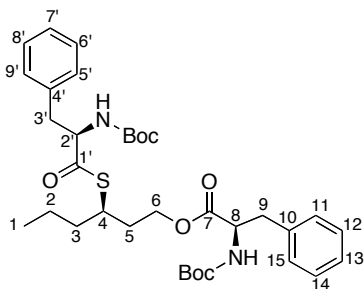
¹H NMR [300 MHz, CDCl₃]: δ 0.93 (t, *J* = 6.9 Hz, 3H, H-1), 1.37 (m, 2H, H-2), 1.44 (s, 9H, CH₃-Boc), 1.52 (m, 2H, H-3), 1.99 (m, 2H, H-3), 2.77 (m, 1H, H-4), 3.09 (d, *J* = 5.9 Hz, 2H, H-9), 4.31 (m, 2H, H-6), 4.58 (m, 1H, H-8), 5.01 (m, 1H, NH-8), 7.29, 7.16 (m, 5H, H-11, H-12, H-13, H-14, H-15) ppm.

¹³C NMR [75 MHz, CDCl₃]: δ 172.0 (C-7), 155.1 (C_{Boc}=O), 136.2 (C-10), 129.4 (C-11, C-15), 128.7 (C-12, C-14), 127.1 (C-13), 80.0 (C-Boc), 63.2 (C-6), 54.6 (C-8), 41.3 (C-3), 38.6 (C-9), 37.7 (C-5), 37.3 (C-4), 28.4 (CH₃-Boc), 20.2 (C-2), 13.8 (C-1) ppm.

LRMS *m/z* (relative intensity): 404 ([M+Na]⁺, 100).

HRMS (ESIMS): HRMS *m/z* calcd. for C₂₀H₃₁O₄NNaS 404.1866 found 404.1862.

IR (ZnSe): ν_{max} = 2958, 2928, 1715, 1167 cm⁻¹.

113a**(R)-((R)-3-((R)-2-(tert-butoxycarbonylamino)-3-phenylpropanoylthio)hexyl) 2-(tert-butoxycarbonylamino)-3-phenylpropanoate**

- MM: 628.82 g.mol⁻¹
- Formula: C₃₄H₄₈N₂O₇S
- Colorless oil

To an ice-cold stirred solution of 3-SH (**48**, 0.47 g, 3.49 mmol), *N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-*L*-phenylalanine (3.7 g, 13.98 mmol) and DMAP (34 mg, 0.280 mmol) in dry CH₂Cl₂ (200 mL) was added DIC (2.2 mL, 13.98 mmol). The reaction mixture was stirred at room temperature under nitrogen atmosphere overnight. The solution was concentrated until dryness, and then dissolved in Et₂O (25 mL). The resulting suspension was filtrated and the solid was washed Et₂O (3 × 25 mL). The filtrate was washed with 0.5M aqueous HCl (3 × 25 mL) and brine (3 × 25 mL), dried over MgSO₄, filtered and evaporated to dryness to get the crude product, which was purified by column chromatography, eluting with cyclohexane-AcOEt (9:1), to yield mixture of compounds **113a** and **113b** as a colorless oil (1.68 g, 76%). The residue was dissolved in Hexane-IPrOH mixture (9:1) and purified by a semi-preparative HPLC (method 10) to furnish, after evaporation of solvents, pure diastereoisomers **113a** and **113b**.

R_f = 0.7 (cyclohexane-ACoEt, 7:3).

t_R = 18.41 min (method 11).

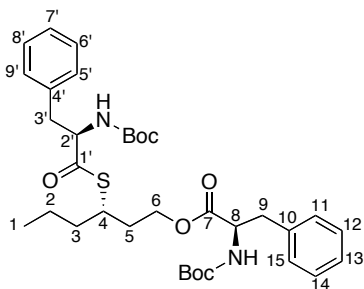
¹H NMR [300 MHz, CDCl₃]: δ 0.87 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H, H-1), 1.28 (m, 2H, H-2), 1.39 (s, 18H, CH₃-Boc), 1.49 (m, 2H, H-3), 1.80 (m, 2H, H-5), 3.08 (m, 4H, H-9, H-3'), 3.53 (m, 1H, H-4), 4.11 (m, 2H, H-6), 4.57 (m, 2H, H-8, H-2'), 5.15 (m, 2H, NH-8, NH-2'), 7.20 (m, 10H, H-11, H-12, H-13, H-14, H-15, H-5', H-6', H-7', H-8', H-9') ppm.

¹³C NMR [75 MHz, CDCl₃]: δ 200.3 (C-1'), 171.5 (C-8), 155.0, 154.8 (C_{Boc}=O), 136.1, 135.7 (C-11, C-4'), 129.2 (C-11, C-15, C-5', C-9'), 128.4, 128.3 (C-12, C-14, C-6', C-8'), 126.9, 126.8 (C-13, C-7') 79.9, 79.5 (C-Boc), 62.6 (C-6), 61.2 (C-8), 54.4 (C-2'), 40.7 (C-4), 38.2 (C-9, C-3'), 36.7 (C-3), 33.5 (C-5), 28.1 (CH₃-Boc), 19.8 (C-2), 13.6 (C-1) ppm.

LRMS *m/z* (relative intensity): 629 ([M+H]⁺, 100).

HRMS (FDMS): HRMS *m/z* calcd. for C₃₄H₄₉O₇S₁ 629.3260 found 629.3248.

IR (ZnSe): ν_{max} = 2957, 2929, 1714, 1165 cm⁻¹.

113b**(S)-((R)-3-((R)-2-(tert-butoxycarbonylamino)-3-phenylpropanoylthio)hexyl) 2-(tert-butoxycarbonylamino)-3-phenylpropanoate**

- MM: 628.82 g.mol⁻¹
- Formula: C₃₄H₄₈N₂O₇S
- Colorless oil

To an ice-cold stirred solution of 3-SH (**48**, 0.47 g, 3.49 mmol), *N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-*L*-phenylalanine (3.7 g, 13.98 mmol) and DMAP (34 mg, 0.280 mmol) in dry CH₂Cl₂ (200 mL) was added DIC (2.2 mL, 13.98 mmol). The reaction mixture was stirred at room temperature under nitrogen atmosphere overnight. The solution was concentrated until dryness, and then dissolved in Et₂O (25 mL). The resulting suspension was filtrated and the solid was washed Et₂O (3 × 25 mL). The filtrate was washed with 0.5 M aqueous HCl (3 × 25 mL) and brine (3 × 25 mL), dried over MgSO₄, filtered and evaporated to dryness to get the crude product, which was purified by column chromatography, eluting with cyclohexane-AcOEt (9:1), to yield mixture of compounds **113a** and **113b** as a colorless oil (1.68 g, 76 %). The residue was dissolved in hexane-*i*PrOH mixture (9:1) and purified by a semi-preparative HPLC (method 10) to furnish, after evaporation of solvents, pure diastereoisomer **113a** and **113b**.

R_f = 0.7 (cyclohexane-AcOEt, 7:3).

t_R = 21.33 min (method 11).

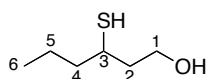
¹H NMR [300 MHz, CDCl₃]: δ 0.89 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, H-1), 1.31 (m, 2H, H-2), 1.41 (s, 18H, CH₃-Boc), 1.50 (m, 2H, H-3), 1.84 (m, 2H, H-5), 3.06 (m, 4H, H-9, H-3'), 3.58 (m, 1H, H-4), 4.12 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H, H-6), 4.61 (m, 2H, H-8, H-2'), 5.23 (m, 2H, NH-8, NH-2'), 7.22 (m, 10H, H-11, H-12, H-13, H-14, H-15, H-5', H-6', H-7', H-8', H-9') ppm.

¹³C NMR [75 MHz, CDCl₃]: δ 200.3 (C-1'), 171.6 (C-8), 155.0, 154.9 (C_{Boc}=O), 136.1, 135.8 (C-11, C-4'), 129.2 (C-11, C-15, C-5', C-9'), 128.4, 128.3 (C-12, C-14, C-6', C-8'), 126.8, 126.7 (C-13, C-7') 79.8, 79.5 (C-Boc), 62.6 (C-6), 61.2 (C-8), 54.4 (C-2'), 40.6 (C-4), 38.2 (C-9, C-3'), 36.8 (C-3), 33.4 (C-5), 28.1 (CH₃-Boc), 19.7 (C-2), 13.6 (C-1) ppm.

LRMS *m/z* (relative intensity): 629 ([M+H]⁺, 100).

HRMS (FDMS): HRMS *m/z* calcd. for C₃₄H₄₉O₇S₁ 629.3260 found 629.3248.

IR (ZnSe): ν_{max} = 2957, 2929, 1714, 1165 cm⁻¹.



- MM: 134.24 g.mol⁻¹
- Formula: C₆H₁₄OS
- Colorless oil
- CAS number: 51755-83-0

To a stirred suspension of diastereoisomer **113a** (923 mg, 1.47 mmol) in MeOH/H₂O (3:1, 40 mL) was added LiOH•H₂O (431 mg, 10.26 mmol). The reaction mixture was stirred at room temperature for 1 hour, after which time MeOH was evaporated. The resulting residue was diluted in 50 mL of H₂O and was extracted with ACoEt (3 × 50 mL), dried over MgSO₄, filtered and evaporated to dryness to get the enantiomer **48a** (197 mg, quantitative).

The diastereoisomer **113b** was hydrolyzed according to the same protocole, giving the enantiomer **48b**.

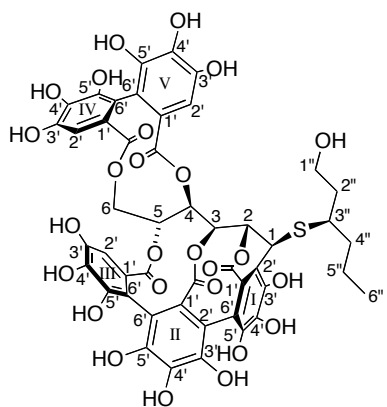
Rf = 0.3 (cyclohexane-ACoEt, 7:3).

¹H NMR [300 MHz, CDCl₃]: δ 0.84 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H, H-6), 1.39 (m, 4H, H-4, H-5), 1.85 (m, 2H, H-2), 2.86 (m, 1H, H-3), 3.31 (ls, 1H, OH), 3.70 (m, 2H, H-1) ppm.

¹³C NMR [75 MHz, CDCl₃]: δ 60.0 (C-1), 41.4 (C-4), 41.2 (C-2), 37.3 (C-3), 20.0 (C-5), 13.6 (C-6) ppm.

[α]_D = +0.7 (S)-3-SH (α = +0.035, c = 1, CHCl₃).

[α]_D = -0.7 (R)-3-SH (α = -0.035, c = 1, CHCl₃).



- MM: 1050.85 g.mol⁻¹
- Formula: C₄₇H₃₈O₂₆S
- White amorphous powder

To a stirred solution of (–)-vescalagin (**8**, 46 mg, 0.049 mmol) in dry THF/TFA (15 mL/150 μ L) at 50 °C was added (R)-3SH (**48a**, 31 mg, 0.230 mmol). The reaction was stirred under nitrogen atmosphere for 24 hours, after which time HPLC monitoring (method 6) indicated completion of the reaction. The solvent was evaporated under reduced pressure to give a white solid. The residue was dissolved in water and purified by a semi-preparative HPLC (method 7) to furnish, after freeze-drying, compound **114** (36 mg, 71 %).

t_R = 13.38 min (method 6).

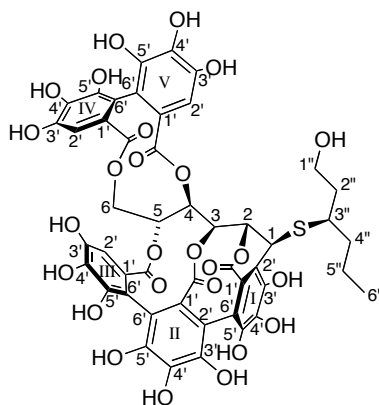
¹H NMR [400 MHz, MeOD-*d*₄]: δ 0.92 (t, J = 7.3 Hz, 3H, H-6''), 1.55 (m, 2H, H-5''), 1.77 (m, 3H, H-2'', H-4''), 2.06 (m, 1H, H-2''), 3.37 (m, 1H, H-3''), 3.84 (m, 1H, H-1''), 3.99 (m, 2H, H β -6, H-1''), 4.29 (d, J = 1.5 Hz, 1H, H-1), 4.64 (d, J = 7.6 Hz, 1H, H-3), 4.92 (dd, J = 2.2, 13.0 Hz, 1H, H α -6), 5.21 (t, J = 7.2 Hz, 1H, H-4), 5.30 (s, 1H, H-2), 5.59 (d, J = 7.4 Hz, 1H, H-5), 6.56 (s, 1H, H_{IV}-2'), 6.75 (s, 1H, H_V-2'), 6.76 (s, 1H, H_{III}-2') ppm.

¹³C NMR [100 MHz, MeOD-*d*₄]: δ 170.5 (C_{IV}=O), 168.0 (C_{III}=O), 167.3 (C_V=O), 166.7 (C_I=O), 166.0 (C_{II}=O), 147.9, 146.1, 146.0, 145.9, 145.2, 144.9, 144.8, 144.6 (C_[III-V]-3', C_[II-V]-5'), 144.3 (C_I-3'), 139.0, 136.0 (C_[II-III]-4'), 138.5 (C_V-4'), 137.6 (C_{III}-4'), 136.9 (C_{IV}-4'), 127.9, 127.0 (C_[II, IV]-1'), 125.1 (C_{III}-1'), 124.6 (C_V-1'), 124.2 (C_I-1'), 118.6 (C_I-2'), 117.2 (C_V-6'), 116.0, 115.1, 113.9 (C_{II}-2', C_[I-III]-6'), 115.5 (C_{IV}-6'), 115.1 (C_{III}-6'), 109.4 (C_V-2', C_{III}-2'), 107.8 (C_{IV}-2'), 77.2 (C-2), 71.7 (C-5), 71.4 (C-3), 70.5 (C-4), 66.2 (C-6), 60.4 (C-1''), 44.0 (C-1), 43.9 (C-3''), 39.2 (C-4''), 38.5 (C-2''), 20.5 (C-5''), 14.4 (C-6'') ppm.

LRMS m/z (relative intensity): 1073 ([M+Na]⁺, 100).

HRMS (ESIMS): HRMS m/z calcd. for C₄₇H₃₈O₂₆NaS 1073.1264 found 1073.1286.

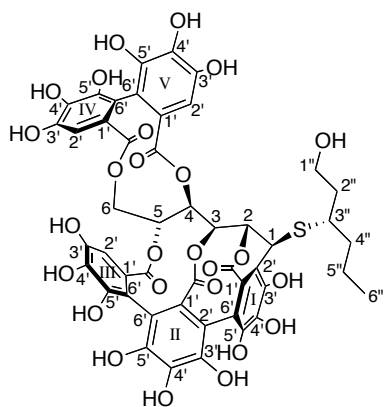
IR (ZnSe): ν_{max} = 3405, 1737, 1177 cm⁻¹.



NMR signal assignments of vescalagin-(R)-3SH **114** in MeOD-*d*₄ 400 MHz.

Position	δ H mult. (<i>J</i> , Hz)	δ C	HSQC	HMBC
Glucose				
1	4.29 d (<i>J</i> = 1.5 Hz)	44.0	C-1	H-2, H-3, H-3'', C-3, C _I -1', C _I -2', C _I -3', C _I =O, C-3''
2	5.30 s	77.2	C-2	H-4, C-1, C-4, C _I -2', C _I -3', C _I =O
3	4.64 d (<i>J</i> = 7.6 Hz)	71.4	C-3	H-1, H-5, C-1, C-4, C-5, C _{II} =O
4	5.19 t (<i>J</i> = 7.2 Hz)	70.5	C-4	H-2, H-3, H-6, C-2, C-5, C _V =O
5	5.59 d (<i>J</i> = 7.4 Hz)	71.7	C-5	H-3, H-4, H-6, C-3, C-6, C _{III} =O
6	α 4.92 dd (<i>J</i> = 2.2, 13.0 Hz) β 3.99 m	66.2	C-6	H-5, C-4, C-5, C _{IV} =O
Aromatics				
1' _I		124.2		H-1
1' _{III}		125.1		H _{III} -2'
1' _V		124.6		H _V -2'
1' _[III,IV]		127.0, 127.9		
2' _I		118.6		H-1, H-2
2' _{III}	6.76	109.4	C _{III} -2'	C _{III} -1', C _{III} -4', C _{III} -6', C _{III} =O
2' _{IV}	6.56	107.8	C _{IV} -2'	C _{IV} -4', C _{IV} -6', C _{IV} =O
2' _V	6.75	109.4	C _V -2'	C _V -1', C _V -4', C _V -6', C _V =O
2' _{II} , 6' _{I-II}		113.9, 115.1, 116.0		
3' _I		144.3		H-1, H-2
3' _[III-V] , 5' _[I-V]		144.6, 144.8, 144.9, 145.2, 145.9, 146.0, 146.1, 147.9,		H _{III} -2', H _{IV} -2', H _V -2'
4' _{I-II}		136.0, 139.0		
		206		

4' _{III}		137.6		H _{III} -2'
4' _{IV}		136.9		H _{IV} -2'
4' _V		138.5		H _V -2'
6' _{III}		115.1		H _{III} -2'
6' _{IV}		115.5		H _{IV} -2'
6' _V		117.2		H _V -2'
Carbonyls				
C _I =O		166.7		H-1, H-2
C _{II} =O		166.0		H-3
C _{III} =O		168.0		H-5, H _{III} -2'
C _{IV} =O		170.5		H-6, H _{IV} -2'
C _V =O		167.3		H-4, H _V -2'
(R)-3-SH				
1"	3.99 m, 3.84 m	60.4	C-1"	H-2", H-3", C-2", C-3"
2"	2.06 m, 1.77 m	38.5	C-2"	H-1", H-3", H-4", C-1", C-3", C-4"
3"	3.37 m	43.9	C-3"	H-1, H-1", H-2", H-4", H-5", C-1, C-1", C-2", C-5"
4"	1.77 m	39.2	C-4"	H-2", H-5", H-6", C-2", C-3", C-5", C-6"
5"	1.55 m	20.5	C-5"	H-3", H-4", H-6", C-3", C-4", C-6"
6"	0.92 t (<i>J</i> = 7.3 Hz)	14.4	C-6"	H-4", H-5", C-4", C-5"



- MM: 1050.85 g.mol⁻¹
- Formula: C₄₇H₃₈O₂₆S
- White amorphous powder

To a stirred solution of (-)-vescalagin (**8**, 46 mg, 0.049 mmol) in dry THF/TFA (15 mL/150 μ L) at 50 °C was added (S)-3SH (**48b**, 31 mg, 0.230 mmol). The reaction was stirred under nitrogen atmosphere for 21 hours, after which time HPLC monitoring (method 6) indicated completion of the reaction. The solvent was evaporated under reduced pressure to give a white solid. The residue was dissolved in water and purified by a semi-preparative HPLC (method 7) to furnish, after freeze-drying, compound **115** (27.5 mg, 53 %).

t_R = 12.82 min (method 6).

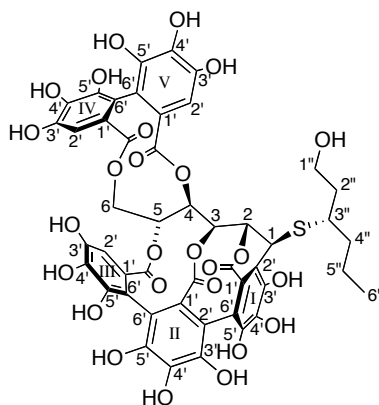
¹H NMR [400 MHz, MeOD-*d*₄]: δ 0.95 (t, *J* = 6.7 Hz, 3H, H-6''), 1.66 (m, 4H, H-5'', H-4''), 1.86 (m, 1H, H-2''), 2.06 (m, 1H, H-2''), 3.22 (m, 1H, H-3''), 3.85 (m, 1H, H-1''), 4.03 (m, 1H, H β -6), 4.16 (m, 1H, H-1''), 4.39 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H, H-1), 4.59 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H, H-3), 5.01 (dd, *J* = 2.3, 13.0 Hz, 1H, H α -6), 5.17 (s, 1H, H-2), 5.22 (t, *J* = 6.8 Hz, 1H, H-4), 5.65 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H, H-5), 6.57 (s, 1H, H_{IV}-2'), 6.75 (s, 1H, H_V-2'), 6.81 (s, 1H, H_{III}-2') ppm.

¹³C NMR [100 MHz, MeOD-*d*₄]: δ 170.3 (C_{IV}=O), 168.2 (C_{III}=O), 167.3 (C_V=O), 166.5 (C_I=O), 165.9 (C_{II}=O), 147.9, 146.1, 146.0, 145.3, 145.1, 145.0, 144.9, 144.6 (C_[III-V]-3', C_[II-V]-5'), 144.4 (C_I-3'), 139.0, 136.0 (C_[II-III]-4'), 138.2 (C_V-4'), 137.7 (C_{III}-4'), 137.1 (C_{IV}-4'), 128.1 (C_{II}-1'), 126.9 (C_{IV}-1'), 125.2 (C_{III}-1'), 124.8 (C_V-1'), 124.5 (C_I-1'), 117.6 (C_I-2'), 116.9 (C_V-6'), 115.8, 115.2, 114.0 (C_{II}-2', C_[II-III]-6'), 115.8 (C_{IV}-6'), 115.4 (C_{III}-6'), 109.5 (C_{III}-2'), 109.2 (C_V-2'), 108.3 (C_{IV}-2'), 76.7 (C-2), 72.2 (C-5), 71.3 (C-3), 70.7 (C-4), 65.7 (C-6), 60.4 (C-1''), 44.6 (C-1), 44.4 (C-3''), 40.3 (C-2''), 40.0 (C-4''), 21.1 (C-5''), 14.4 (C-6'') ppm.

LRMS *m/z* (relative intensity): 1073 ([M+Na]⁺, 100).

HRMS (ESIMS): HRMS *m/z* calcd. for C₄₇H₃₈O₂₆NaS 1073.1264 found 1073.1286.

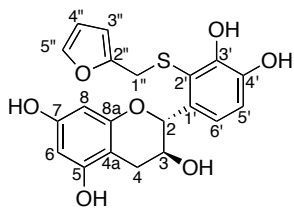
IR (ZnSe): ν_{\max} = 3405, 1737, 1177 cm⁻¹.



NMR signal assignments of vescalagin-(S)-3SH **115** in MeOD-*d*₄ 400 MHz.

Position	δ H mult. (<i>J</i> , Hz)	δ C	HSQC	HMBC
Glucose				
1	4.39 d (<i>J</i> = 1.5 Hz)	44.6	C-1	H-2, H-3, H-3'', C-2, C-3, C _I -1', C _I -2', C _I -3', C-3''
2	5.17 s	76.7	C-2	H-1, H-3, H-4, C-1, C-4, C _I -2', C _I =O
3	4.59 d (<i>J</i> = 7.2 Hz)	71.3	C-3	H-1, H-5, C-1, C-2, C-4, C-5, C _{II} =O
4	5.22 t (<i>J</i> = 6.8 Hz)	70.7	C-4	H-2, H-3, H-5, H-6, C-2, C-5, C _V =O
5	5.65 d (<i>J</i> = 6.8 Hz)	72.2	C-5	H-3, H-4, H-6, C-3, C-4, C-6, C _{III} =O
6	α 5.01 dd (<i>J</i> = 2.3, 13.0 Hz) β 4.03 d (<i>J</i> = 12.5 Hz)	65.7	C-6	H-5, C-4, C-5, C _{IV} =O
Aromatics				
1' _I		124.5		H-1
1' _{II}		128.1		
1' _{III}		125.2		H _{III} -2'
1' _{IV}		126.9		H _{IV} -2'
1' _V		124.8		H _V -2'
2' _I		117.6		H-1, H-2
2' _{III}	6.81 s	109.5	C _{III} -2'	C _{III} -1', C _{III} -4', C _{III} -5', C _{III} -6', C _{III} =O
2' _{IV}	6.57 s	108.3	C _{IV} -2'	C _{IV} -1', C _{IV} -4', C _{IV} -5', C _{IV} -6', C _{IV} =O
2' _V	6.75 s	109.2	C _V -2'	C _V -1', C _V -4', C _V -5', C _V -6', C _V =O
2' _{II} , 6' _[I-III]		114.0, 115.2, 116.9		
3' _I		144.4		H-1
3' _[II-V] , 5' _[I-V]		144.6, 144.9, 145.0, 145.1, 145.3, 147.9		H _{III} -2', H _{IV} -2', H _V -2'
4' _[I-III]		136.0, 139.0		
		209		

4' _{III}		137.7		H _{III} -2'
4' _{IV}		137.1		H _{IV} -2'
4' _V		138.2		H _V -2'
6' _{III}		115.4		H _{III} -2'
6' _{IV}		115.8		H _{IV} -2'
6' _V		116.9		H _V -2'
Carbonyls				
C _I =O		166.5		H-2
C _{II} =O		165.9		H-3
C _{III} =O		168.2		H-5, H _{III} -2'
C _{IV} =O		170.3		H-6, H _{IV} -2'
C _V =O		167.3		H-4, H _V -2'
(S)-3-SH				
1"	4.16 m, 3.85 m	60.4	C-1"	H-2", H-3", C-2", C-3"
2"	2.07 m, 1.86 m	40.3	C-2"	H-1", C-1", C-3", C-4"
3"	3.22 m	44.4	C-3"	H-1, H-1", H-2", H-4", H-5", C-1, C-1" C-4", C-5"
4"	1.66 m	40.0	C-4"	H-2", H-3", H-5", H-6", C-3", C-5"
5"	1.66 m	21.1	C-5"	H-3", H-4", H-6", C-3", C-4", C-6"
6"	0.95 t (<i>J</i> = 6.7 Hz)	14.4	C-6"	H-5", C-4", C-5"



- MM: 402.42 g.mol⁻¹
- Formula: C₂₀H₁₈O₇S
- Pink oil

To a stirred solution of (+)-catechin (**10**, 317 mg, 1.09 mmol) in water (30 mL) and dry THF (2 mL) was added 2-FMT (**52**, 225 μ L, 2.18 mmol) and, drop by drop, ferric chlorid (354 mg, 2.18 mmol) in solution in 2 mL of water. The reaction mixture was stirred at room temperature under nitrogen atmosphere for 2 h, after which time Na₂S₂O₄ was added to the solution. Then, this solution was extracted by AcOEt (3 \times 65 mL), and the resulting organic phase was washed with brine (200 mL), dried over MgSO₄, filtered and evaporated to dryness to obtain yellow oil. The crude product was purified by silica gel column chromatography, eluting with CH₂Cl₂-MeOH (95:5), to furnish pure diadduct **118** (162 mg, 29 %) and a mixture of monoadducts **116** and **117**. This mixture was dissolved in H₂O-MeOH (1:1) and purified by a semi-preparative HPLC (method 12) to furnish, after freeze-drying, compounds **116** (35 mg, 8 %) and **117** (11 mg, 3 %).

R_f = 0.5 (CH₂Cl₂-MeOH, 9:1).

t_R = 14.51 min (method 6).

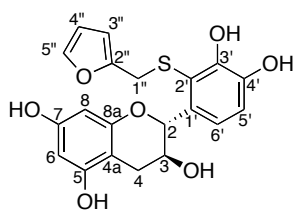
¹H NMR [300 MHz, acetone-*d*⁶]: δ 2.60 (dd, *J* = 8.7, 16.0 Hz, 1H, H α -4), 2.95 (dd, *J* = 5.5, 16.0 Hz, 1H, H β -4), 4.00 (m, 1H, H-3), 4.11 (ls, 2H, H-1''), 5.36 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, H-2), 5.86 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, H-6), 6.04 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, H-8), 6.06 (d, *J* = 2.7 Hz, 1H, H-3''), 6.25 (m, 1H, H-4''), 6.90 (d, *J* = 1.1 Hz, 2H, H-5', H-6'), 7.40 (dd, *J* = 0.8, 1.8 Hz, 1H, H-5'') ppm.

¹³C NMR [75 MHz, acetone-*d*⁶]: δ 157.7 (C-7), 157.2 (C-5), 152.0 (C-2''), 146.9 (C-3'), 145.3 (C-4'), 143.2 (C-5''), 135.1 (C-1'), 120.3 (C-2'), 119.8, 117.1 (C-5', C-6'), 111.3 (C-4''), 108.8 (C-3''), 100.8 (C-4a), 96.2 (C-8), 95.4 (C-6), 80.4 (C-2), 68.0 (C-3), 32.6 (C-1''), 29.4 (C-4) ppm.

LRMS *m/z* (relative intensity): 401 ([M-H]⁻, 100).

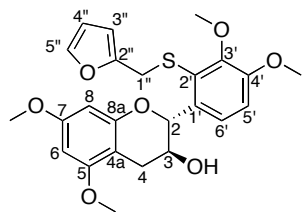
HRMS (ESIMS): HRMS *m/z* calcd. for C₂₀H₁₇O₇S 401.0690 found 401.0692.

IR (ZnSe): ν_{\max} = 3373, 1608, 1142 cm⁻¹.



NMR signal assignments of compound **116** in acetone-*d*₆ 300 MHz.

Position	δ H mult. (J, Hz)	δ C	HSQC	HMBC
Catechin				
2	5.36 d ($J = 8.0$ Hz)	80.4	C-2	H-3, H-4, H-5'/6', C-3, C-1', C-2'
3	4.00 m	68.0	C-3	H-2, H-4, C-2, C-4
4	α 2.60 dd ($J = 8.7, 16.0$ Hz) β 2.95 dd ($J = 5.5, 16.0$ Hz)	29.4	C-4	H-3, C-2, C-3, C-4a, C-5
4a		100.8		H-4, H-6, H-8
5		157.2		H-4, H-6
6	5.86 d ($J = 2.2$ Hz)	95.4	C-6	H-8, C-4a, C-5, C-8
7		157.7		H-8
8	6.04 d ($J = 2.3$ Hz)	96.2	C-8	H-6, C-4a, C-6, C-7
8a				
1'		135.1		H-2, H-6'
2'		120.3		H-2, H-5', H-1''
3'		146.9		H-5'/6'
4'		145.3		H-5'/6'
5'/6'	6.90 d ($J = 1.1$ Hz)	119.8, 117.1	C-5', C-6'	C-2, C-1', C-2', C-3', C-4'
2-FMT				
1''	4.11 s	32.6	C-1''	C-2', C-1'', C-3''
2''		152.0		H-1''
3''	6.06 d ($J = 2.7$ Hz)	108.8	C-3''	H-1'', H-5'', C-5''
4''	6.25 dd ($J = 1.9, 3.1$ Hz)	111.3	C-4''	
5''	7.40 dd ($J = 0.8, 1.8$ Hz)	143.2	C-5''	H-3'', C-3''

(2*R*,3*S*)-2-(2-(furan-2-ylmethylthio)-3,4-dimethoxyphenyl)-5,7-dimethoxychroman-3-ol

- MM: 458.52 g.mol⁻¹
- Formula: C₂₄H₂₆O₇S
- Beige oil

To a stirred solution of compound **116** (26 mg, 0.065 mmol) in dry acetone (1 mL), were added potassium carbonate (54 mg, 0.390 mmol) and dimethyl sulfate (155 μ L, 1.615 mmol). The reaction mixture was stirred at room temperature under nitrogen atmosphere for 8 days. The mixture was evaporated under vacuum and, the resulting residue was dissolved in H₂O and neutralized with a solution of hydrochloric acid 1M. The mixture was extracted by AcOEt (3 \times 10 mL), and the resulting organic phase was washed with brine (30 mL), dried over MgSO₄, filtered and evaporated under vacuum to obtain yellow oil. The residue was purified by silica gel column chromatography, eluting with CHCl₃-MeOH (100:0 to 9:1), to furnish pure compound **119** (15.5 mg, 52 %).

R_f = 0.95 (CH₂Cl₂-MeOH, 95:5).

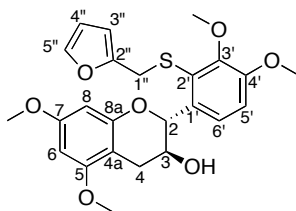
¹H NMR [300 MHz, CDCl₃]: δ 2.60 (dd, *J* = 8.7, 16.0 Hz, 1H, H α -4), 2.95 (dd, *J* = 5.5, 16.0 Hz, 1H, H β -4), 3.75 (s, 3H, CH₃-5), 3.79 (s, 3H, CH₃-7), 3.88 (s, 3H, CH₃-4'), 3.92 (s, 3H, CH₃-3'), 4.05 (m, 1H, H-3), 4.14 (s, 2H, H-1''), 5.37 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H, H-2), 5.92 (dd, *J* = 0.7, 3.2 Hz, 1H, H-3''), 6.09 (s, 2H, H-6, H-8), 6.18 (dd, *J* = 1.9, 3.2 Hz, 1H, H-4''), 6.96 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H, H-5'), 7.14 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H, H-6'), 7.27 (dd, *J* = 0.8, 1.9 Hz, 1H, H-5'') ppm.

¹³C NMR [75 MHz, CDCl₃]: δ 159.8 (C-7), 158.9 (C-5), 155.6 (C-8a), 153.0 (C-4'), 151.5 (C-2''), 150.6 (C-3'), 142.2 (C-5''), 134.4 (C-1'), 128.6 (C-2'), 122.7 (C-6'), 113.3 (C-5'), 110.5 (C-4''), 107.9 (C-3''), 101.6 (C-4a), 93.1, 91.9 (C-6, C-8), 79.3 (C-2), 67.7 (C-3), 60.7 (CH₃-3'), 56.1 (CH₃-4'), 55.6 (CH₃-5), 55.5 (CH₃-7), 31.9 (C-1''), 27.6 (C-4) ppm.

LRMS *m/z* (relative intensity): 459 ([M+H]⁺, 100).

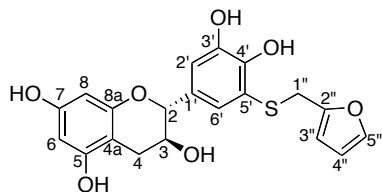
HRMS (ESIMS): HRMS *m/z* calcd. for C₂₄H₂₇O₇S 459.1472 found 459.1471.

IR (ZnSe): ν_{\max} = 2921, 1619, 1146 cm⁻¹.



NMR signal assignments of compound **119** in CDCl₃ 300 MHz.

Position	δ H mult. (J, Hz)	δ C	HSQC	HMBC
Catechin				
2	5.37 d ($J = 7.4$ Hz)	79.3	C-2	H-4, H-2', C-3, C-4, C-8a, C-1', C-2', C-6'
3	4.05 m	67.7	C-3	H-2, H-4
4	α 2.58 dd ($J = 8.1, 16.3$ Hz) β 2.73 dd ($J = 5.2, 16.3$ Hz)	27.6	C-4	H-2, H-6/8, C-2, C-3, C-5, C-4a, C-8a
4a		101.6		H-4, H-6/8
5		158.9		H-4, CH ₃ -5
OCH ₃ -5	3.75 s	55.6	CH ₃ -5	C-5
6, 8	6.09 s	91.9, 93.1	C-6, C-8	H-6, H-8, C-4, C-7, C-4a, C-6, C-8, C-8a
7		158.8		H-6/8, CH ₃ -7
OCH ₃ -7	3.79 s	55.5	CH ₃ -7	C-7
8a		155.6		H-2, H-4, H-6/8
1'		134.4		H-2, H-5'
2'		128.6		H-2, H-5', H-6', H-1''
3'		150.6		H-5', H-6', CH ₃ -3'
OCH ₃ -3'	3.92 s	60.7	CH ₃ -3'	C-3'
4'		153.0		H-5', H-6', CH ₃ -4'
OCH ₃ -4'	3.88 s	56.1	CH ₃ -4'	C-4', C-5'
5'	6.94 d ($J = 8.6$ Hz)	113.3	C-5'	CH ₃ -3', C-1', C-2', C-3', C-4'
6'	7.14 d ($J = 8.6$ Hz)	122.7	C-6'	H-2, C-2, C-2', C-3', C-4'
2-FMT				
1''	4.14 s	31.9	C-1''	C-2', C-2'', C-3''
2''		151.5		H-1'', H-3'', H-4'', H-5''
3''	5.92 dd ($J = 0.7, 3.2$ Hz)	107.9	C-3''	H-1'', H-4'', H-5'', C-2'', C-4'', C-5''
4''	6.18 dd ($J = 1.9, 3.2$ Hz)	110.5	C-4''	H-3'', H-5'', C-2'', C-3'', C-5''
5''	7.27 dd ($J = 0.8, 1.9$ Hz)	142.2	C-5''	H-3'', H-4'', C-2'', C-3'', C-4''



- MM: 402.42 g.mol⁻¹
- Formula: C₂₀H₁₈O₇S
- Pink oil

To a stirred solution of (+)-catechin (**10**, 317 mg, 1.09 mmol) in water (30 mL) and dry THF (2 mL) was added 2-FMT (**52**, 225 μ L, 2.18 mmol) and, drop by drop, ferric chlorid (354 mg, 2.18 mmol) in solution in 2 mL of water. The reaction mixture was stirred at room temperature under nitrogen atmosphere for 2 h, after which time Na₂S₂O₄ was added to the solution. The mixture was extracted by AcOEt (3 \times 65 mL), and the resulting organic phase was washed with brine (200 mL), dried over MgSO₄, filtered and evaporated under vacuum to obtain yellow oil. This crude product was purified by silica gel column chromatography, eluting with CH₂Cl₂-MeOH (95:5) to furnish pure diadduct **118** (162 mg, 29 %) and a mixture of monoadducts **116** and **117**. This mixture was dissolved in water/MeOH (1:1) and purified by a semi-preparative HPLC (method 12) to furnish, after freeze-drying, monoadducts **116** (35 mg, 8 %) and **117** (11 mg, 3 %).

R_f = 0.5 (CH₂Cl₂-MeOH, 9:1).

t_R = 14.96 min (method 6).

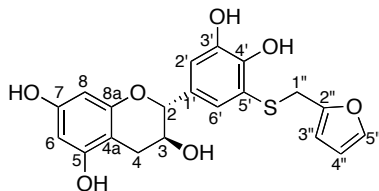
¹H NMR [300 MHz, acetone-*d*₆]: δ 2.52 (dd, *J* = 8.0, 16.1 Hz, 1H, H α -4), 2.89 (dd, *J* = 5.5, 15.6 Hz, 1H, H β -4), 3.97 (m, 1H, H-3), 4.11 (ls, 2H, H-1''), 4.55 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H, H-2), 5.89 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, H-6), 6.03 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, H-8), 6.14 (m, 1H, H-3''), 6.29 (m, 1H, H-4''), 6.88 (m, 2H, H-2', H-6'), 7.43 (m, 1H, H-5'') ppm.

¹³C NMR [75 MHz, acetone-*d*₆]: δ 157.8 (C-7), 157.3 (C-8a), 156.7 (C-5), 152.2 (C-2''), 145.5, 145.4 (C-3', C-4'), 143.0 (C-5''), 132.0 (C-1'), 123.4, 114.9 (C-2', C-6'), 120.9 (C-5'), 111.3 (C-4''), 108.7 (C-3''), 100.5 (C-4a), 96.2 (C-8), 95.3 (C-6), 82.4 (C-2), 68.3 (C-3), 30.9 (C-1''), 28.8 (C-4) ppm.

LRMS *m/z* (relative intensity): 401 ([M-H]⁻, 100).

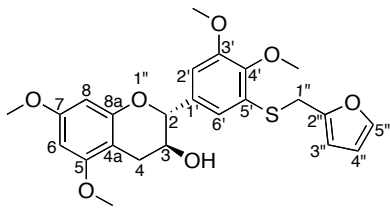
HRMS (ESIMS): HRMS *m/z* calcd. for C₂₀H₁₇O₇S 401.0690 found 401.0692.

IR (ZnSe): ν_{\max} = 3360, 1603, 1144 cm⁻¹.



NMR signal assignments of compound **117** in acetone-*d*₆ 300 MHz

Position	δ H mult. (J, Hz)	δ C	HSQC	HMBC
Catechin				
2	4.55 d ($J = 7.3$ Hz)	82.4	C-2	H-2'/6', C-3, C-4, C-5, C-1', C-2'/6'
3	3.97 m	68.3	C-3	H-2
4	α 2.52 dd ($J = 8.0, 16.1$ Hz) β 2.89 dd ($J = 5.5, 15.6$ Hz)	28.8	C-4	H-2, C-5
4a		100.5		H-6, H-8
5		156.7		H-2, H-4, H-6
6	5.89 d ($J = 2.2$ Hz)	95.3	C-6	H-8, C-4a, C-5, C-8
7		157.8		
8	6.03 d ($J = 2.3$ Hz)	96.2	C-8	H-6, C-4a, C-6, C-8a
8a		157.3		H-8
1'		132.0		H-2
2', 6'	6.88 m	123.4, 114.9	C-2', C-6'	H-2, H-2'/6', C-2, C-2', C-3', C-4', C-5', C-6'
3', 4'		145.5, 145.4		H-2'/6'
5'		120.9		H-2'/6', H-1''
2-FMT				
1''	4.11 ls	30.9	C-1''	C-5', C-2'', C-3''
2''		152.2		H-1'', H-3'', H-5''
3''	6.14 m	108.7	C-3''	H-1'', H-5'', C-2''
4''	6.29 m	111.3	C-4''	
5''	7.43 m	143.0	C-5''	C-2'', C-3''



- MM: 458.52 g.mol⁻¹
- Formula: C₂₄H₂₆O₇S
- Beige oil

To a stirred solution of compound **117** (9 mg, 0.022 mmol) in dry acetone (1 mL), were added potassium carbonate (18.6 mg, 0.134 mmol) and dimethyl sulfate (53 μ L, 0.559 mmol). The reaction mixture was stirred at room temperature under nitrogen atmosphere for 15 h, after which time TLC analysis indicated no evolution of the reaction. The mixture was evaporated under vacuum and the resulting residue was dissolved in water and neutralized with a solution of hydrochloric acid 1M. The mixture was extracted by AcOEt (3 \times 10 mL), and the resulting organic phase was washed with brine (30 mL), dried over MgSO₄, filtered and evaporated under vacuum to obtain yellow oil. The residue was purified by silica gel column chromatography, eluting with CHCl₃-MeOH (100:0 to 9:1), to furnish pure compound **120** (8 mg, 80 %).

R_f = 0.95 (CH₂Cl₂-MeOH, 95:5).

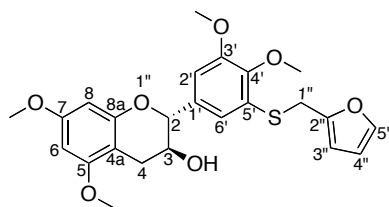
¹H NMR [300 MHz, CDCl₃] : δ 2.58 (dd, *J* = 8.9, 16.4 Hz, 1H, H α -4), 3.04 (dd, *J* = 5.7, 16.4 Hz, 1H, H β -4), 3.76 (s, 3H, CH₃-7), 3.81 (s, 3H, CH₃-5), 3.86 (s, 3H, CH₃-4'), 3.86 (s, 3H, CH₃-3'), 3.98 (m, 1H, H-3), 4.12 (s, 2H, H-1''), 4.62 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, H-2), 6.13 (m, 3H, H-6, H-8, H-3''), 6.24 (m, 1H, H-4''), 6.86 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H, H-2'), 6.93 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H, H-6'), 7.31 (d, *J* = 1.0 Hz, 1H, H-5'') ppm.

¹³C NMR [75 MHz, CDCl₃] δ 159.9 (C-7), 158.9 (C-5), 155.2 (C-8a), 153.2 (C-3'), 151.0 (C-2''), 147.5 (C-4'), 142.3 (C-5''), 134.1 (C-1'), 130.0 (C-5'), 120.5 (C-6'), 110.6 (C-4''), 109.7 (C-2'), 108.1 (C-3''), 101.7 (C-4a), 93.1, 92.1 (C-6, C-8), 81.7 (C-2), 68.4 (C-3), 60.5 (CH₃-3'), 56.1 (CH₃-4'), 55.7 (CH₃-5), 55.5 (CH₃-7), 29.8 (C-1''), 27.6 (C-4) ppm.

LRMS *m/z* (relative intensity): 459 ([M+H]⁺).

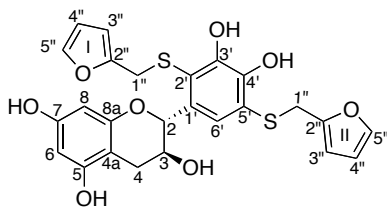
HRMS (ESIMS): HRMS *m/z* calcd. for C₂₄H₂₇O₇S 459.1472 found 459.1470.

IR (ZnSe): ν_{\max} = 2926, 1593, 1145 cm⁻¹.



NMR signal assignments of compound **120** in CDCl₃ 300 MHz.

Position	δ H mult. (J, Hz)	δ C	HSQC	HMBC
Catechin				
2	4.62 d ($J = 8.2$ Hz)	81.7	C-2	H-4, H-2', H-6', C-3, C-4, C-1', C-2', C-6'
3	3.98 m	68.4	C-3	H-2, H-4
4	α 3.04 dd ($J = 5.7, 16.4$ Hz) β 2.58 dd ($J = 8.9, 16.4$ Hz)	27.6	C-4	H-2, C-2, C-3, C-4a, C-5, C-8a
4a		101.7		H-4, H-6, H-8
5		158.9		H-4, OCH ₃ -5
OCH ₃ -5	3.81 s	55.7	CH ₃ -5	C-5
6, 8	6.13 m	92.1, 93.1	C-6, C-8	H-6, H-8, C-4a, C-6, C-7, C-8, C-8a
7		159.9		H-6, H-8, OCH ₃ -7
OCH ₃ -7	3.76 s	55.5	CH ₃ -7	C-7
8a		155.2		H-4, H-6, H-8
1'		134.1		H-2
2'	6.86 d ($J = 1.7$ Hz)	109.7		H-2, H-6', C-2, C-3', C-4', C-6'
3'		153.2		H-2', OCH ₃ -3'
OCH ₃ -3'	3.86 s	60.5	CH ₃ -3'	C-3'
4'		147.5		H-2', H-6', OCH ₃ -4'
OCH ₃ -4'	3.86 s	56.1	CH ₃ -4'	C-4'
5'		130.8	C-5'	H-1''
6'	6.93 d ($J = 1.7$ Hz)	120.5	C-6'	H-2, H-2', C-2, C-2', C-4'
2-FMT				
1''	4.12 s	29.7	C-1''	C-5', C-2'', C-3''
2''		151.0		H-1'', H-3'', H-5''
3''	6.13 m	108.1	C-3''	H-1'', H-5'', C-2''
4''	6.24 m	110.6	C-4''	H-5''
5''	7.31 d ($J = 1.0$ Hz)	142.3	C-5''	C-2'', C-3'', C-4''



- MM: 514.57g.mol⁻¹
- Formula: C₂₅H₂₂O₈S₂
- Brown powder

In aqueous solution: To a stirred solution of (+)-catechin (**10**, 101 mg, 0.348 mmol) in water (20 mL) and dry THF (1 mL) were added 2-FMT (**52**, 72 μ L, 0.696 mmol) and, drop by drop, ferric chlorid (113 mg, 0.696 mmol) in solution in 3 mL of water. The reaction mixture was stirred at room temperature under nitrogen atmosphere for 1h, after which time TLC analysis indicated no evolution of the reaction. The conversion of (+)-catechin is not total, so, 2-FMT (**52**, 72 μ L, 0.696 mmol) and ferric chlorid (56.3 mg, 0.347 mmol) in 1 mL of water, were added. These additions were repeated to a total conversion of (+)-catechin (one more). The reaction was stopped after 5 hours after which time Na₂S₂O₄ was added to the solution. The mixture was extracted by AcOEt (3 \times 50 mL), and the resulting organic phase was washed with brine (150 mL), dried over MgSO₄, filtered and evaporated under vacuum to obtain yellow oil. The residue was purified by silica gel column chromatography, eluting with CH₂Cl₂-MeOH (100:0 to 9:1), to furnish pure compound **118** (103 mg, 58 %).

In wine solution: To a stirred solution of (+)-catechin (**10**, 100 mg, 0.343 mmol) in wine solution (20 mL, aqueous solution 12% v/v EtOH, 5 g/L tartaric acid, pH = 3,55) and dry THF (1 mL) were added 2-FMT (**52**, 72 μ L, 0.696 mmol) and, drop by drop, ferric chlorid (113 mg, 0,696 mmol) in solution in 3 mL of water. The reaction mixture was stirred at room temperature under nitrogen atmosphere for 1 hour, after which time TLC analysis indicated no evolution of the reaction. The conversion of (+)-catechin is not total, so, 2-FMT (**52**, 72 μ L, 0.696 mmol) and ferric chlorid (56.3 mg, 0.347 mmol) in 3 mL of water, were added. These additions were repeated to a total conversion of (+)-catechin (twice more). The reaction was stopped after 5 hours after which time Na₂S₂O₄ was added to the solution. The mixture was extracted by AcOEt (3 \times 50 mL), and the resulting organic phase was washed with brine (150 mL), dried over MgSO₄, filtered and evaporated under vacuum to obtain yellow oil. The residue was purified by silica gel column chromatography, eluting with CH₂Cl₂-MeOH (100:0 to 9:1), to furnish pure compound **118** (103 mg, 58 %).

R_f = 0.5 (CH₂Cl₂-MeOH 9:1).

t_R = 15.65 min (method 6).

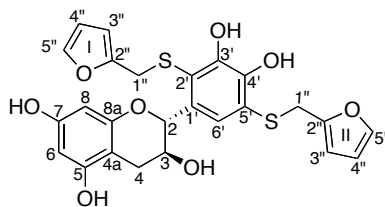
¹H NMR [300 MHz, acetone-*d*⁶]: δ 2.60 (dd, J = 8.9, 16.0 Hz, 1H, H α -4), 2.98 (dd, J = 5.5, 16.0 Hz, 1H, H β -4), 4.09 (d, J = 4.3 Hz, 1H, H_I-1''), 4.12 (m, 1H, H-3), 4.16 (d, J = 3.6 Hz, 1H, H_{II}-1''), 5.33 (d, J = 8.2 Hz, 1H, H-2), 5.88 (d, J = 2.2 Hz, 1H, H-6), 6.05 (m, 2H, H-8, H_I-3''), 6.17 (d, J = 3.1 Hz, 1H, H_{II}-3''), 6.26 (m, 1H, H_I-4''), 6.30 (m, 1H, H_{II}-4''), 7.05 (s, 1H, H-6'), 7.41 (m, 2H, H_I-5'', H_{II}-5'') ppm.

¹³C NMR [75 MHz, acetone-*d*⁶]: δ 157.7 (C-7), 157.2 (C-8a), 157.1 (C-5), 151.8, 151.9 (C_I-2'', C_{II}-2''), 146.5 (C-3'), 144.0 (C-4'), 143.2, 143.1 (C_I-5'', C_{II}-5''), 135.1 (C-6'), 123.9 (C-1'), 121.7 (C-2'), 119.2 (C-5'), 111.3, 111.4 (C_I-4'', C_{II}-4''), 108.8, 109.0 (C_I-3'', C_{II}-3''), 100.8 (C-4a), 96.2 (C-8), 95.5 (C-6), 80.2 (C-2), 68.1 (C-3), 32.9 (C_I-1''), 30.1 (C_{II}-1''), 29.5 (C-4) ppm.

LRMS *m/z* (relative intensity): 537 ([M+Na]⁺, 100).

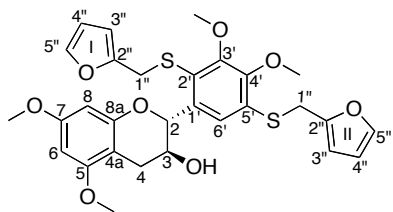
HRMS (ESIMS): calcd for C₂₅H₂₂O₈NaS₂ 537.0651 found 537.0648.

IR (ZnSe): ν_{\max} = 3377, 1607, 1142 cm⁻¹.



NMR signal assignments of compound **118** in acetone-*d*₆ 300 MHz.

Position	δ H mult. (J, Hz)	δ C	HSQC	HMBC
Catechin				
2	5.33 d ($J = 8.2$ Hz)	80.2	C-2	H-4, H-6', C-3, C-4, C-2', C-5'
3	4.12 m	68.1	C-3	H-2, H-4, C-1', C-5'
4	α 2.60 dd ($J = 8.9, 16.0$ Hz) β 2.98 dd ($J = 5.5, 16.0$ Hz)	29.5	C-4	H-2, C-2, C-3, C-4a, C-5
4a		100.8		H-4, H-6, H-8
5		157.1		H-4, H-6
6	5.88 d ($J = 2.2$ Hz)	95.5	C-6	H-8, C-4a, C-5, C-8, C-8a
7		157.7		H-8
8	6.05 m	96.2	C-8	H-6, C-4a, C-6, C-7
8a		157.2		H-6
1'		123.9		H-2', H-3
2'		135.1		H-2
3'		146.5		H-6'
4'		144.0		H-6'
5'		119.2		H-6', H-2, H-3
6'	7.05 s	121.7	C-6'	C-2, C-1', C-3', C-4', C-5'
2-FMT				
1'' _I	4.09 d ($J = 4.3$ Hz)	32.9	C _I -1''	C-2'', C-3''
1'' _{II}	4.16 d ($J = 3.6$ Hz)	30.1	C _{II} -1''	C-2'', C-3''
2'' _[I-II]		151.8, 151.9	C _[I-II] -2''	H-1'', H-3'', H-4'', H-5''
3'' _I	6.05 m	108.8, 109.0	C _I -3''	H-1'', H-4'', H-5'', C-2'', C-4'', C-5''
3'' _{II}	6.17 d ($J = 3.1$ Hz)	108.8, 109.0	C _{II} -3''	H-1'', H-4'', H-5'', C-2'', C-4'', C-5''
4'' _I	6.26 m	111.3, 111.4	C _I -4''	H-1'', H-4'', H-5'', C-2'', C-4'', C-5''
4'' _{II}	6.30 m	111.3, 111.4	C _{II} -4''	H-3'', H-5'', C-2'', C-3'', C-5''
5'' _[I-II]	7.41 m	143.1, 143.2	C _[I-II] -5''	H-3'', H-4'', C-2'', C-3'', C-4''

(2R,3S)-2-(2,5-bis(furan-2-ylmethylthio)-3,4-dimethoxyphenyl)-5,7-dimethoxychroman-3-ol

- MM: 570.67 g.mol⁻¹
- Formula: C₂₉H₃₀O₈S₂
- Black oil

To a stirred solution of compound **118** (18.5 mg, 0.036 mmol) in dry acetone (1 mL), were added potassium carbonate (29.6 mg, 0.214 mmol) and dimethyl sulfate (85 μ L, 0.893 mmol). The reaction mixture was stirred at room temperature under nitrogen atmosphere for 31 h. The mixture was evaporated under vacuum and, the resulting residue was dissolved in water and neutralized with a solution of hydrochloric acid 1M. The mixture was extracted by AcOEt (3 \times 50 mL), and the resulting organic phase was washed with brine (150 mL), dried over MgSO₄, filtered and evaporated under vacuum to obtain yellow oil. The residue was purified by silica gel column chromatography, eluting with CHCl₃-MeOH (100:0 to 95:5), to furnish pure compound **121** (10 mg, 47 %).

R_f = 0.9 (CH₂Cl₂-MeOH, 95:5).

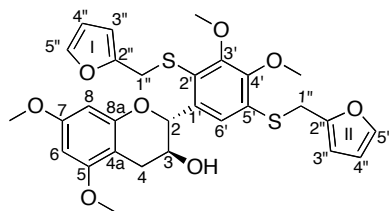
¹H NMR [400 MHz, CDCl₃]: δ 2.60 (dd, J = 8.0, 16.4 Hz, 1H, H α -4), 2.85 (dd, J = 5.2, 16.4 Hz, 1H, H β -4), 3.75, 3.69 (s, 6H, CH₃-5, CH₃-7), 3.87 (s, 3H, CH₃-3'), 3.93 (s, 3H, CH₃-4'), 4.02 (m, 3H, H-3, H-1''), 4.09 (s, 2H, H-1''), 5.40 (d, J = 7.4 Hz, 1H, H-2), 5.92 (d, J = 2.0 Hz, 1H, H-3''), 6.09 (m, 3H, H-6, H-8, H-3''), 6.19 (m, 1H, H-4''), 6.23 (m, 1H, H-4''), 7.07 (s, 1H, H-6'), 7.29 (m, 2H, H-5'') ppm.

¹³C NMR [100 MHz, CDCl₃]: δ 159.9, 158.9 (C-5, C-7), 155.4 (C-8a), 154.4 (C-3'), 151.2 (C-2''), 150.7 (C-4'), 150.5 (C-2''), 142.3 (C-5''), 138.1 (C-1'), 132.8 (C-5'), 126.1 (C-2'), 121.5 (C-6'), 110.6 (C-4''), 110.5 (C-4''), 108.2 (C-3''), 108.0 (C-3'') 101.5 (C-4a), 93.0, 91.9 (C-6, C-8), 79.2 (C-2), 67.8 (C-3), 60.8 (CH₃-4'), 60.5 (CH₃-3'), 55.6, 55.5 (CH₃-7, CH₃-5), 32.1 (C-1''), 29.0 (C-1''), 27.5 (C-4) ppm.

LRMS *m/z* (relative intensity): 593 ([M+Na]⁺, 100).

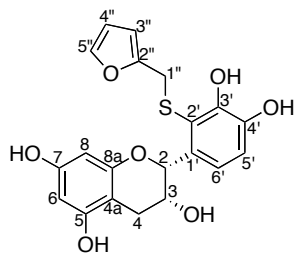
HRMS (ESIMS): calcd for C₂₉H₃₀O₈NaS₂ 593.1274 found 593.1282.

IR (ZnSe): ν_{\max} = 2952, 1462, 1123 cm⁻¹.



NMR signal assignments of compound **121** in CDCl₃ 400 MHz.

Position	δ H mult. (J, Hz)	δ C	HSQC	HMBC
Catechin				
2	5.40 d ($J = 7.4$ Hz)	79.2	C-2	H-6', C-3, C-1', C-2', C-6'
3	4.02 m	67.8	C-3	H-2, H-4
4	α 2.60 dd ($J = 8.0, 16.4$ Hz) β 2.85 dd ($J = 5.2, 16.4$ Hz)	27.5	C-4	C-3, C-4a, C-8a
4a		101.5		H-4, H-6, H-8
5, 7		158.9, 159.9		H-6, H-8, OCH ₃ -5, OCH ₃ -7
OCH ₃ -5, OCH ₃ -7	3.75 s, 3.79 s	55.5, 55.6	CH ₃ -5, CH ₃ -7	C-5, C-7
6, 8	6.09 m	91.9, 93.0	C-6, C-8	H-6, H-8, C-4a, C-5, C-6, C-8, C-8a, C-7
8a		155.4		H-4, H-6, H-8
1'		138.1		H-2
2'		126.1		H-2, H-6', H-1''
3'		154.4		OCH ₃ -3'
OCH ₃ -3'	3.87 s	60.8	CH ₃ -3'	C-3'
4'		150.7		H-6', OCH ₃ -4'
OCH ₃ -4'	3.93 s	60.5	CH ₃ -4'	C-4'
5'		132.8		H-6', H-1''
6'	7.07 s	121.5	C-6'	H-2, C-2, C-2', C-4', C-5'
2-FMT				
1''	4.09 s, 4.02 m	29.0, 32.0	C-1''	C-2', C-5', C-2'', C-3''
2''		150.5, 151.2		H-1'', H-3'', H-5''
3''	5.92 d ($J = 2.0$ Hz) 6.09 m	108.0, 108.2	C-3''	H-1'', H-4'', H-5'' C-2'', C-4'', C-5''
4''	6.19 m, 6.23 m	110.5, 110.6	C-4''	H-3'', H-5'', C-3'', C-5''
5''	7.29 m	142.3, 142.3	C-5''	H-3'', H-4'', C-2'', C-3'', C-4''



- MM: 402.42 g.mol⁻¹
- Formula: C₂₀H₁₈O₇S
- Brown amorphous powder

To a stirred solution of (—)-epicatechin (**11**, 90 mg, 0.310 mmol) in water (25 mL) were added 2-FMT (**52**, 64 μL, 0.620 mmol) and, drop by drop, ferric chlorid (101 mg, 0.620 mmol) in solution in 2 mL of water. The reaction mixture was stirred at room temperature under nitrogen atmosphere for 1h, after which time Na₂S₂O₄ was added to the solution. The mixture was extracted by AcOEt (3 × 30 mL), and the resulting organic phase was washed with brine (100 mL), dried over MgSO₄, filtered and evaporated under vacuum to obtain orange oil. The residue was dissolved in water and purified by a semi-preparative HPLC (method 12) to furnish, after freeze-drying, monoadducts **122** (6 mg, 5 %) and **123** (4 mg, 3 %), and diadduct **124** (14 mg, 9 %).

R_f = 0.4 (CH₂Cl₂-MeOH, 9:1).

t_R = 13.90 min (method 6).

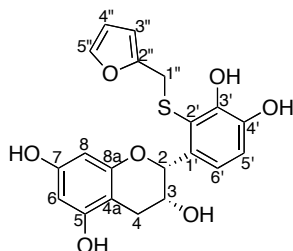
¹H NMR [300 MHz, acetone-*d*⁶]: δ 2.81 (m, 2H, H-4), 4.07 (m, 3H, H-3, H-1''), 5.26 (s, 1H, H-2), 5.89 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, H-6), 6.02 (m, 2H, H-8, H-3''), 6.24 (dd, *J* = 1.9, 3.1 Hz, 1H, H-4''), 6.89 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, H-5'), 7.17 (dd, *J* = 0.4, 8.4 Hz, 1H, H-6'), 7.38 (dd, *J* = 0.8, 1.9 Hz, 1H, H-5'') ppm.

¹³C NMR [75 MHz, acetone-*d*⁶]: δ 157.7 (C-7), 157.6 (C-8a), 157.5 (C-5), 152.1 (C-2''), 147.1 (C-3'), 145.1 (C-4'), 143.1 (C-5''), 135.0 (C-1'), 120.5 (C-6'), 116.4 (C-5'), 117.9 (C-2'), 111.4 (C-4''), 108.7 (C-3''), 99.7 (C-4a), 96.2 (C-8), 95.8 (C-6), 77.6 (C-2), 65.8 (C-3), 31.9 (C-1''), 29.7 (C-4) ppm.

LRMS *m/z* (relative intensity): 459 ([M+H]⁺).

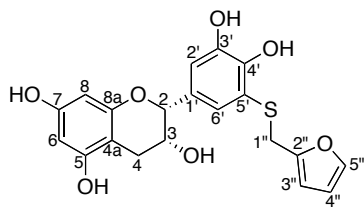
HRMS (ESIMS): HRMS *m/z* calcd. for C₂₄H₂₇O₇S 459.1472 found 459.1470.

IR (ZnSe): ν_{max} = 2926, 1593, 1145 cm⁻¹.



NMR signal assignments of compound **122** in acetone-*d*₆ 300 MHz.

Position	δ H mult. (J, Hz)	δ C	HSQC	HMBC
Epicatechin				
2	5.26 s	77.6	C-2	H-4, H-6', C-4, C-1', C-2', C-6'
3	4.07 m	65.8	C-3	H-4
4	2.81 m	29.7	C-4	H-2, C-2, C-3, C-4a, C-5
4a		99.7		H-4, H-6, H-8
5		157.5		H-4, H-6
6	5.89 d ($J = 2.3$ Hz)	95.8	C-6	H-8, C-4a, C-5, C-8
7		157.7		H-8
8	6.02 m	96.2	C-8	H-6, C-4a, C-6, C-7
8a		157.6		
1'		135.0		H-2, H-5'
2'		117.9		H-2, H-5', H-6', H-1''
3'		147.1		H-5', H-6'
4'		145.1		H-5', H-6'
5'	6.89 d ($J = 8.4$ Hz)	116.4	C-5'	C-1', C-2', C-3', C-4'
6'	7.17 dd ($J = 0.4, 8.4$ Hz)	120.5	C-6'	H-2, C-2, C-2', C-3', C-4'
2-FMT				
1''	4.07 m	31.9	C-1''	C-2', C-2'', C-3''
2''		152.1	C-2''	H-1'', H-3'', H-5''
3''	6.02 m	108.7	C-3''	H-1'', H-5'', C-2'', C-4'', C-5''
4''	6.24 dd ($J = 1.9, 3.1$ Hz)	111.4	C-4''	H-3'', C-5''
5''	7.38 dd ($J = 0.8, 1.9$ Hz)	143.1	C-5''	H-3'', H-4'', C-2'', C-3''



- MM: 402.42 g.mol⁻¹
- Formula: C₂₀H₁₈O₇S
- Brown amorphous powder

To a stirred solution of (—)-epicatechin (**11**, 90 mg, 0.310 mmol) in water (25 mL) were added 2-FMT (**52**, 64 μL, 0.620 mmol) and, drop by drop, ferric chlorid (101 mg, 0.620 mmol) in solution in 2 mL of water. The reaction mixture was stirred at room temperature under nitrogen atmosphere for 1h, after which time Na₂S₂O₄ was added to the solution. The mixture was extracted by AcOEt (3 × 30 mL), and the resulting organic phase was washed with brine (100 mL), dried over MgSO₄, filtered and evaporated under vacuum to obtain orange oil. The residue was dissolved in water and purified by a semi-preparative HPLC (method 12) to furnish, after freeze-drying, monoadducts **122** (6 mg, 5 %) and **123** (4 mg, 3 %), and diadduct **124** (14 mg, 9 %).

R_f = 0.4 (CH₂Cl₂-MeOH, 9:1).

t_R = 14.39 min (method 6).

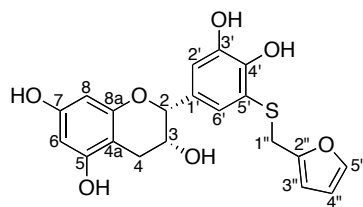
¹H NMR [300 MHz, acetone-*d*⁶]: δ 2.73 (dd, *J* = 3.2, 16.6 Hz, 1H, H α -4), 2.86 (dd, *J* = 4.4, 16.6 Hz, 1H, H β -4), 4.11 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H, H-1''), 4.19 (m, 1H, H-3), 4.86 (s, 1H, H-2), 5.92 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, H-6), 6.02 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, H-8), 6.15 (dd, *J* = 0.7, 3.2 Hz, 1H, H-3''), 6.29 (dd, *J* = 1.9, 3.2 Hz, 1H, H-3'''), 6.98 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H, H-6'/H-8'), 7.02 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H, H-6'/H-8'), 7.44 (dd, *J* = 0.8, 1.9 Hz, 1H, H-5'') ppm.

¹³C NMR [75 MHz, acetone-*d*⁶]: δ 157.6 (C-7, C-8a), 157.0 (C-5), 152.3 (C-2''), 145.2 (C-3'), 145.1 (C-4'), 143.0 (C-5''), 132.2 (C-1'), 123.2, 115.1 (C-2', C-6'), 120.6 (C-5'), 111.3 (C-4''), 108.7 (C-3''), 99.7 (C-4a), 96.2 (C-8), 95.7 (C-6), 79.1 (C-2), 66.9 (C-3), 31.2 (C-1''), 28.9 (C-4) ppm.

LRMS *m/z* (relative intensity): 459 ([M+H]⁺).

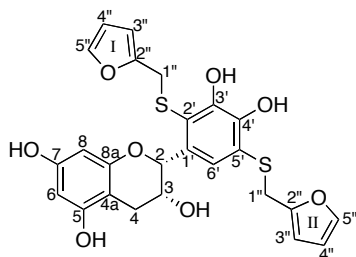
HRMS (ESIMS): HRMS *m/z* calcd. for C₂₄H₂₇O₇S 459.1472 found 459.1470.

IR (ZnSe): ν_{\max} = 2926, 1593, 1145 cm⁻¹.



NMR signal assignments of compound **123** in acetone-*d*₆ 300 MHz.

Position	δ H mult. (J, Hz)	δ C	HSQC	HMBC
Epicatechin				
2	4.86 s	79.1	C-2	H-4, H-2', H-6', C-4, C-1', C-2', C-6'
3	4.19 m	66.9	C-3	H-4
4	α 2.73 dd ($J = 3.2, 16.6$ Hz) β 2.86 dd ($J = 4.4, 16.6$ Hz)	28.9	C-4	H-2, C-2, C-3, C-4a, C-5
4a		99.7		H-4, H-6, H-8
5		157.0		H-4, H-6
6	5.92 d ($J = 2.3$ Hz)	95.7	C-6	H-8, C-4a, C-5, C-8
7		157.6		H-8
8	6.02 d ($J = 2.3$ Hz)	96.2	C-8	H-6, C-4a, C-6, C-7
8a		157.6		
1'		132.2		H-2
2'	6.98 d ($J = 2.0$ Hz)	123.2	C-2'	H-2, H-6', C-2, C-3', C-4', C-6'
3'		145.2		H-2', H-6'
4'		145.1		H-2', H-6'
5'		120.6		H-1''
6'	7.02 d ($J = 2.0$ Hz)	115.1	C-6'	H-2, H-2', C-2, C-2', C-3', C-4'
2-FMT				
1''	4.11 d ($J = 1.9$ Hz)	31.2	C-1''	C-5', C-2'', C-3''
2''		152.3	C-2''	H-1'', H-3'', H-5''
3''	6.15 dd ($J = 0.7, 3.2$ Hz)	108.7	C-3''	H-1'', C-2'', C-5''
4''	6.29 dd ($J = 1.9, 3.2$ Hz)	111.3	C-4''	H-5'', C-5''
5''	7.44 dd ($J = 0.8, 1.9$ Hz)	143.0	C-5''	H-3'', H-4'', C-2'', C-4''



- MM: 514.57 g.mol⁻¹
- Formula: C₂₅H₂₂O₈S₂
- Brown amorphous powder

In aqueous solution: To a stirred solution of (–)-epicatechin (**11**, 90 mg, 0.310 mmol) in water (20 mL) were added 2-FMT (**52**, 64 μL, 0.620 mmol) and, drop by drop, ferric chlorid (104 mg, 0.620 mmol) in solution in 3 mL of water. The reaction mixture was stirred at room temperature under nitrogen atmosphere for 1 h, after which time TLC analysis indicated no evolution of the reaction. The conversion of epicatechin is not total, so, 2-FMT (**52**, 64 μL, 0.620 mmol) and ferric chlorid (52 mg, 0.310 mmol) in 1 mL of water, were added. These additions were repeated every hour to a total conversion of epicatechin (twice more). The reaction was stopped after 5 hours, after which time Na₂S₂O₄ was added to the solution. The mixture was extracted by AcOEt (3 × 50 mL), and the resulting organic phase was washed with brine (150 mL), dried over MgSO₄, filtered and evaporated under vacuum to obtain yellow oil. The residue was purified by silica gel column chromatography, eluting with CH₂Cl₂-MeOH (100:0 to 9:1), to furnish pure compound **124** (62 mg, 39 %).

In wine solution: To a stirred solution of (–)-epicatechin (**11**, 90 mg, 0.310 mmol) in wine solution (20 mL, aqueous solution 12% v/v EtOH, 5 g/l tartaric acid, pH = 3.57) were added 2-FMT (**52**, 64 μL, 0.620 mmol) and, drop by drop, ferric chlorid (104 mg, 0.620 mmol) in solution in 2 mL of water. The reaction mixture was stirred at room temperature under nitrogen atmosphere for 1 h, after which time TLC analysis indicated no evolution of the reaction. The conversion of epicatechin is not total, so, 2-FMT (**52**, 64 μL, 0.620 mmol) and ferric chlorid (52 mg, 0.310 mmol) in 1 mL of water, were added. These additions were repeated every hour to a total conversion of epicatechin (twice more). The reaction was stopped after 5 h, after which time Na₂S₂O₄ was added to the solution. The mixture was extracted by AcOEt (3 × 30 mL), and the resulting organic phase was washed with brine (90 mL), dried over MgSO₄, filtered and evaporated under vacuum to obtain orange oil. The residue was purified by silica gel column chromatography, eluting with CH₂Cl₂-MeOH (100:0 to 9:1), to furnish pure compound **124** (37 mg, 23 %).

R_f = 0.6 (CH₂Cl₂-MeOH, 9:1).

t_R = 15.09 min (method 6).

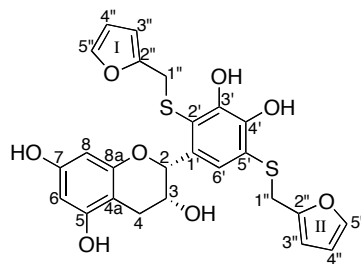
¹H NMR [300 MHz, acetone-*d*⁶]: δ 2.82 (dd, *J* = 3.1 Hz, 2H, H-4), 4.04 (s, 1H, H_I-1''), 4.47 (m, 1H, H-3), 4.17 (s, 1H, H_{II}-1''), 5.21 (s, 1H, H-2), 5.93 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, H-6), 6.00 (d, *J* = 3.2 Hz, 1H, H_I-3''), 6.03 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, H-8), 6.24 (m, 3H, H_{II}-3'', H-4''), 6.31 (m, 1H, H-4''), 7.35 (s, 1H, H-6'), 7.38 (dd, *J* = 0.8, 1.8 Hz, 1H, H_I-5''), 7.44 (dd, *J* = 0.8, 1.8 Hz, 1H, H_{II}-5'') ppm.

¹³C NMR [75 MHz, acetone-*d*⁶]: δ 157.7 (C-7), 157.5 (C-8a), 157.4 (C-5), 151.9 (C_{II}-2''), 151.7 (C_I-2''), 146.6 (C-3'), 143.9 (C-4'), 143.2 (C_I-5''), 143.1 (C_{II}-5''), 135.0 (C-1'), 123.2 (C-5'), 122.4 (C-6'), 116.7 (C-2'), 111.4 (C_I-4'', C_{II}-4''), 108.9 (C_{II}-3''), 109.0 (C_I-3''), 99.6 (C-4a), 96.2 (C-8), 95.8 (C-6), 77.4 (C-2), 65.7 (C-3), 32.1 (C_I-1''), 30.4 (C_{II}-1''), 29.6 (C-4) ppm.

LRMS *m/z* (relative intensity): 537 ([M+Na]⁺, 100).

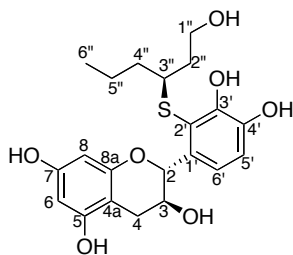
HRMS (ESIMS): calcd for C₂₅H₂₂O₈NaS₂ 537.0651 found 537.0648.

IR (ZnSe): ν_{max} = 3377, 1607, 1142 cm⁻¹.



NMR signal assignments of compound **124** in acetone- d_6 300 MHz.

Position	δ H mult. (J, Hz)	δ C	HSQC	HMBC
Epicatechin				
2	5.21 s	77.4	C-2	H-4, H-6', C-4, C-1', C-2', C-6'
3	4.07 m	65.7	C-3	H-4, C-4a
4	2.82 d ($J = 3.1$ Hz)	29.6	C-4	H-2, C-2, C-3, C-4a, C-5, C-1'
4a		99.6		H-3, H-4, H-6, H-8
5		157.4		H-4, H-6
6	5.93 d ($J = 2.3$ Hz)	95.8	C-6	H-8, C-4a, C-5, C-8
7		157.7		H-8
8	6.03 d ($J = 2.3$ Hz)	96.2	C-8	H-6, C-4a, C-6, C-7
8a		157.5		
1'		135.0		H-2, H-4, H-6'
2'		116.7		H-2, H-6', H-1''
3'		146.6		H-6'
4'		143.9		H-6'
5'		123.2		H-6', H-1''
6'	7.35 s	122.4	C-6'	H-2, C-2, C-1', C-2', C-3', C-4', C-5'
2-FMT				
1'' _I	4.04 s	32.1	C-1''	C-2', C-2'', C-3'', C-5''
1'' _{II}	4.17 s	30.4	C-1''	C-5', C-2'', C-3'', C-5''
2'' _I		151.7	C-2''	H-1'', H-3'', H-4'', H-5''
2'' _{II}		151.9	C-2''	H-1'', H-3'', H-4'', H-5''
3'' _I	6.00 d ($J = 3.2$ Hz)	108.9	C-3''	H-1'', H-5'', C-2'', C-4'', C-5''
3'' _{II}	6.24 m	109.0	C-3''	H-1'', H-5'', C-2'', C-4'', C-5''
4'' _[I-II]	6.31 m, 6.24 m	111.4	C-4''	H-3'', H-5'', C-2'', C-5''
5'' _I	7.38 dd ($J = 0.8, 1.8$ Hz)	143.2	C-5''	H-1'', H-3'', H-4'', C-2'', C-3'', C-4''
5'' _{II}	7.44 dd ($J = 0.8, 1.8$ Hz)	143.1	C-5''	H-1'', H-3'', H-4'', C-2'', C-3'', C-4''



- MM: 422.49 g.mol⁻¹
- Formula: C₂₁H₂₆O₇S
- Pale brown oil

To a stirred solution of (+)-catechin (**10**, 100 mg, 0.344 mmol) in water (25 mL) and dry THF (1 mL) were added (R)-3-SH (**48a**, 94 μ L, 0.689 mmol) and, drop by drop, ferric chlorid (112 mg, 0.689 mmol) in solution in 3 mL of water. The reaction mixture was stirred at room temperature under nitrogen atmosphere for 2h, after which time Na₂S₂O₄ was added to the solution. The mixture was extracted by AcOEt (3 \times 30 mL), and the resulting organic phase was washed with brine (100 mL), dried over MgSO₄, filtered and evaporated under vacuum to obtain yellow oil. The residue was dissolved in water and purified by a semi-preparative HPLC (method 12) to furnish, after freeze-drying, monoadducts **126** (13 mg, 9 %) and **127** (3 mg, 2 %), and diadduct **125a** (41 mg, 21 %).

R_f = 0.25 (CH₂Cl₂-MeOH, 9:1).

t_R = 14.51 min (method 6).

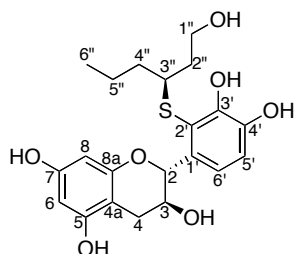
¹H NMR [300 MHz, acetone-*d*₆]: δ 0.89 (m, 3H, H-6''), 1.47 (m, 2H, H-5''), 1.71 (m, 4H, H-2'', H-4''), 2.60 (dd, J = 9.0, 16.0 Hz, 1H, H α -4), 3.02 (dd, J = 5.6, 16.0 Hz, 1H, H β -4), 3.37 (m, 1H, H-3''), 3.69 (m, 2H, H-1''), 4.21 (m, 1H, H-3), 5.45 (d, J = 8.4 Hz, 1H, H-2), 5.83 (d, J = 2.1 Hz, 1H, H-6), 6.03 (d, J = 2.2 Hz, 1H, H-8), 6.90 (m, 1H, H-5'), 6.96 (m, 1H, H-6') ppm.

¹³C NMR [75 MHz, acetone-*d*₆]: δ 156.8 (C-7), 156.4 (C-5), 156.3 (C-8a), 146.3, 144.7 (C-3', C-4'), 134.2 (C-1'), 120.2 (C-2'), 119.1 (C-5'), 116.1 (C-6'), 99.9 (C-4a), 95.3 (C-8), 94.6 (C-6), 79.4 (C-2), 66.9 (C-3), 59.3 (C-1''), 47.0 (C-3''), 36.6 (C-4''), 36.5 (C-2''), 28.9 (C-4), 19.7 (C-5''), 13.4 (C-6'') ppm.

LRMS *m/z* (relative intensity): 445 ([M+Na]⁺, 100).

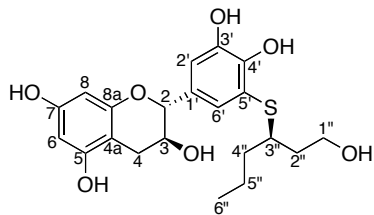
HRMS (ESIMS): calcd for C₂₁H₂₆O₇NaS 445.1291 found 445.1289.

IR (ZnSe): ν_{\max} = 3373, 1608, 1142 cm⁻¹.



NMR signal assignments of compound **126** in acetone-*d*₆ 300 MHz.

Position	δ H mult. (J, Hz)	δ C	HSQC	HMBC
Catechin				
2	5.45 d ($J = 8.4$ Hz)	79.4	C-2	H-4, C-4, C-8a, C-1', C-2'
3	4.21 m	66.9	C-3	H-4
4	α 2.60 dd ($J = 9.0, 16.0$ Hz) β 3.02 dd ($J = 5.6, 16.0$ Hz)	28.9	C-4	H-2, C-2, C-3, C-4a, C-8a
4a		99.9		H-4
5		156.4		H-6
6	5.83 d ($J = 2.1$ Hz)	94.6	C-6	C-5
7		156.8		H-8
8	6.03 d ($J = 2.2$ Hz)	95.3	C-8	C-7
8a		156.3		H-2, H-4
1'		134.2		H-2, H-6'
2'		120.2		H-2, H-5', H-3''
3'		146.3		H-5', H-6'
4'		144.7		H-5', H-6'
5'	6.90 d ($J = 8.4$ Hz)	119.1	C-5'	C-2', C-3', C-4'
6'	6.96 d ($J = 8.4$ Hz)	116.1	C-6'	C-1', C-3', C-4'
(R)-3-SH				
1''	3.69 m	59.3	C-1''	H-2'', H-3'', C-2'', C-3''
2''	1.71 m	36.5	C-2''	H-1'', H-3'', C-1'', C-3'', C-4''
3''	3.37 m	47.0	C-3''	H-1'', H-2'', H-4'', C-2', C-1'', C-2'', C-4'', C-5''
4''	1.71 m	36.6	C-4''	H-2'', H-3'', H-5'', H-6'', C-3'', C-5''
5''	1.47 m	19.7	C-5''	H-3'', H-4'', H-6'', C-4'', C-6''
6''	0.89 m	13.4	C-6''	H-5'', C-4'', C-5''



- MM: 422.49 g.mol⁻¹
- Formula: C₂₁H₂₆O₇S
- Pale brown oil

To a stirred solution of (+)-catechin (**10**, 100 mg, 0.344 mmol) in water (25 mL) and dry THF (1 mL) were added (R)-3-SH (**48a**, 94 μ L, 0.689 mmol) and, drop by drop, ferric chlorid (112 mg, 0.689 mmol) in solution in 3 mL of water. The reaction mixture was stirred at room temperature under nitrogen atmosphere for 2h, after which time Na₂S₂O₄ was added to the solution. The mixture was extracted by AcOEt (3 \times 30 mL), and the resulting organic phase was washed with brine (100 mL), dried over MgSO₄, filtered and evaporated under vacuum to obtain yellow oil. The residue was dissolved in water and purified by a semi-preparative HPLC (method 12) to furnish, after freeze-drying, monoadducts **126** (13 mg, 9 %) and **127** (3 mg, 2 %), and diadduct **125a** (41 mg, 21 %).

R_f = 0.25 (CH₂Cl₂-MeOH, 9:1).

t_R = 14.96 min (method 6).

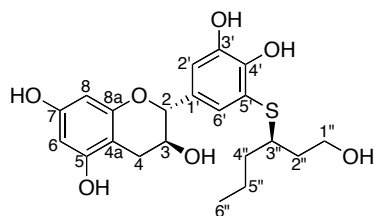
¹H NMR [400 MHz, acetone-*d*₆]: δ 0.87 (t, J = 7.1 Hz, 3H, H-6''), 1.48 (m, 2H, H-5''), 1.57 (m, 2H, H-4''), 1.69 (m, 2H, H-2''), 2.53 (dd, J = 8.5, 16.1 Hz, 1H, H α -4), 2.91 (dd, J = 5.5, 16.1 Hz, 1H, H β -4), 3.22 (m, 1H, H-3''), 3.77 (m, 2H, H-1''), 3.97 (m, 1H, H-3), 4.57 (d, J = 7.8 Hz, 1H, H-2), 5.90 (d, J = 2.2 Hz, 1H, H-6), 6.03 (d, J = 2.2 Hz, 1H, H-8), 6.89 (d, J = 1.9 Hz, 1H, H-2'), 7.00 (d, J = 1.9 Hz, 1H, H-6') ppm.

¹³C NMR [100 MHz, acetone-*d*₆]: δ 157.8 (C-7), 157.2 (C-5), 156.8 (C-8a), 146.5 (C-3'), 145.8 (C-4'), 131.9 (C-1'), 126.1 (C-6'), 119.9 (C-5'), 115.4 (C-2'), 100.6 (C-4a), 96.2 (C-8), 95.4 (C-6), 82.4 (C-2), 68.4 (C-3), 60.2 (C-1''), 46.8 (C-3''), 38.2 (C-4''), 37.8 (C-2''), 28.9 (C-4), 20.4 (C-5''), 14.3 (C-6'') ppm.

LRMS *m/z* (relative intensity): 445 ([M+Na]⁺, 100).

HRMS (ESIMS): calcd for C₂₁H₂₆O₇NaS 445.1291 found 445.1289.

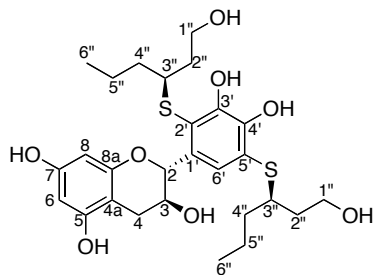
IR (ZnSe): ν_{\max} = 3360, 1603, 1144 cm⁻¹.



NMR signal assignments of compound **127** in acetone- d_6 400 MHz.

Position	δ H mult. (J, Hz)	δ C	HSQC	HMBC
Catechin				
2	4.57 d ($J = 7.8$ Hz)	82.4	C-2	H-4, H-2', H-6', C-3, C-4, C-8a, C-1', C-2', C-6'
3	3.97 m	68.4	C-3	H-2, H-4
4	α 2.53 dd ($J = 8.5, 16.1$ Hz) β 2.91 dd ($J = 5.5, 16.1$ Hz)	28.9	C-4	H-2, C-2, C-3, C-4a, C-8a
4a		100.6		H-4, H-6, H-8
5		157.2		
6	5.90 d ($J = 2.2$ Hz)	95.4	C-6	H-8, C-4a, C-8, C-8a
7		157.8		H-8
8	6.03 d ($J = 2.2$ Hz)	96.2	C-8	H-6, C-4a, C-6, C-7
8a		156.8		H-2, H-4, H-6
1'		131.9		H-2
2'	6.89 d ($J = 1.9$ Hz)	115.4	C-2'	H-2, H-6', C-2, C-3', C-6'
3'		146.5		H-2'
4'		145.8		H-6'
5'		119.9		H-3''
6'	7.00 d ($J = 1.9$ Hz)	126.1	C-6'	H-2, H-2', C-2, C-2', C-4'
(R)-3-SH				
1''	3.77 m	60.2	C-1''	H-2'', C-2'', C-3''
2''	1.69 m	37.8	C-2''	H-1'', C-1'', C-3''
3''	3.22 m	46.8	C-3''	H-1'', H-2'', C-5'', C-4'', C-5''
4''	1.57 m	38.2	C-4''	H-3'', H-6'', C-5''
5''	1.48 m	20.4	C-5''	H-3'', H-4'', H-6''
6''	0.87 t ($J = 7.1$ Hz)	14.3	C-6''	C-4'', C-5''

125a

(2R,3S)-2-(3,4-dihydroxy-5-((R)-1-hydroxyhexan-3-ylthio)-2-((S)-1-hydroxyhexan-3-ylthio)phenyl)chroman-3,5,7-triol

- MM: 554.72 g.mol⁻¹
- Formula: C₂₇H₃₈O₈S₂
- Off-white amorphous powder

To a stirred solution of (+)-catechin (**10**, 100 mg, 0.344 mmol) in water (25 mL) and dry THF (1 mL), were added (R)-3-SH (**48a**, 94 μL, 0.689 mmol) and, drop by drop, ferric chlorid (112 mg, 0.689 mmol) in solution in 3 mL of water. The reaction mixture was stirred at room temperature under nitrogen atmosphere for 2h, after which time Na₂S₂O₄ was added to the solution. The mixture was extracted by AcOEt (3 × 30 mL), and the resulting organic phase was washed with brine (100 mL), dried over MgSO₄, filtered and evaporated under vacuum to obtain yellow oil. The residue was dissolved in water and purified by a semi-preparative HPLC (method 12) to furnish, after freeze-drying, monoadducts **126** (13 mg, 9 %) and **127** (3 mg, 2 %), and diadduct **125a** (41 mg, 21 %).

R_f = 0.25 (CH₂Cl₂-MeOH, 9:1).

t_R = 15.65 min (method 6).

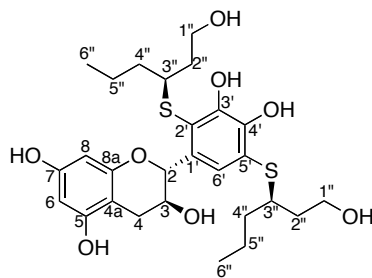
¹H NMR [300 MHz, acetone-*d*₆]: δ 0.87 (m, 6H, H-6''), 1.63 (m, 12H, H-2'', H-4'', H-5''), 2.60 (dd, J = 8.7, 16.0 Hz, 1H, H_α-4), 2.98 (dd, J = 5.5, 16.0 Hz, 1H, H_β-4), 3.32 (m, 1H, H₂'-3''), 3.41 (m, 1H, H₅'-3''), 3.72 (m, 4H, H-1''), 4.22 (m, 1H, H-3), 5.46 (d, J = 8.0 Hz, 1H, H-2), 5.86 (d, J = 2.1 Hz, 1H, H-6), 6.04 (d, J = 2.2 Hz, 1H, H-8), 7.12 (s, 1H, H-6') ppm.

¹³C NMR [75 MHz, acetone-*d*₆]: δ 157.7 (C-7), 157.2 (C-8a), 157.1 (C-5), 147.1 (C-3'), 145.4 (C-4'), 134.8 (C-1'), 124.1 (C-6'), 122.6 (C-5'), 120.4 (C-2'), 100.7 (C-4a), 96.2 (C-8), 95.4 (C-6), 80.0 (C-2), 67.8 (C-3), 60.2 (C₅'-1''), 60.1 (C₂'-1''), 47.7 (C₅'-3''), 45.6 (C₂'-3''), 38.2 (C₂'-4''), 37.9, 37.6 (C₂'-2'', C₅'-2''), 37.4 (C₅'-4''), 29.4 (C-4), 20.6 (C₅'-5''), 20.4 (C₂'-5''), 14.2, 14.3 (C₂'-6'', C₅'-6'') ppm.

LRMS *m/z* (relative intensity): 577 ([M+Na]⁺, 100).

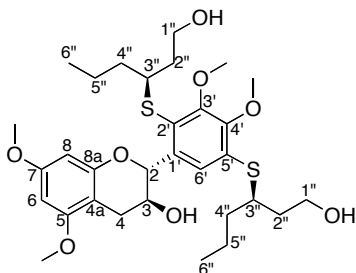
HRMS (ESIMS): calcd for C₂₇H₃₈O₈NaS₂ 577.1900 found 577.1904.

IR (ZnSe): ν_{max} = 3359, 2957, 1142 cm⁻¹.



NMR signal assignments of compound **125a** in acetone- d_6 300 MHz.

Position	δ H mult. (J, Hz)	δ C	HSQC	HMBC
Catechin				
2	5.46 d ($J = 8.0$ Hz)	80.0	C-2	H-3, H-4, H-6', C-3, C-4, C-5, C-1', C-2', C-6'
3	4.22 m	67.8	C-3	H-2, C-2, C-4a, C-1'
4	α 2.60 dd ($J = 8.7, 16.0$ Hz) β 2.98 dd ($J = 5.5, 16.0$ Hz)	29.4	C-4	H-2, C-2, C-4a, C-8a, C-1'
4a		100.7		H-3, H-4, H-6, H-8
5		157.1		H-2
6	5.86 d ($J = 2.1$ Hz)	95.4	C-6	H-8, C-4a, C-8, C-8a
7		157.7		H-8
8	6.04 d ($J = 2.2$ Hz)	96.2	C-8	H-6, C-4a, C-6, C-7
8a		157.2		H-4, H-6
1'		134.8		H-2, H-3, H-4
2'		120.4		H-2, H-6', H-3''
3'		147.1		H-6'
4'		145.4		H-6'
5'		122.6		H-6', H-3''
6'	7.12 s	124.1	C-6'	H-2, C-2, C-2', C-3', C-4', C-5'
(R)-3-SH				
1'' (2'')	3.72 m	60.1	C-1''	H-2'', H-3'', C-2'', C-3''
1'' (5'')	3.72 m	60.2	C-1''	H-2'', H-3'', C-3''
2''	1.63 m	37.6, 37.9	C-2''	H-1'', H-4'', C-1'', C-3'', C-4''
3'' (2'')	3.32 m	45.6	C-3''	H-1'', H-2'', C-2', C-1'', C-4'', C-5''
3'' (5'')	3.41 m	47.7	C-3''	H-1'', H-2'', C-2', C-1'', C-4'', C-5''
4'' (2'')	1.63 m	38.2	C-4''	H-2'', H-3'', H-5'', H-6'', C-2'', C-5'', C-6''
4'' (5'')	1.63 m	37.4	C-4''	H-2'', H-3'', H-5'', H-6'', C-2'', C-5'', C-6''
5'' (2'')	1.63 m	20.4	C-5''	H-3'', H-4'', H-6'', C-4'', C-6''
5'' (5'')	1.63 m	20.6	C-5''	H-3'', H-4'', H-6'', C-4'', C-6''
6''	0.87 m	14.2, 14.3	C-6''	H-4'', H-5'', C-4'', C-5''

(3*S*,3'*R*)-3,3'-(5-((2*R*,3*S*)-3-hydroxy-5,7-dimethoxychroman-2-yl))-2,3-dimethoxy-1,4-phenylene)bis(sulfanediyl)dihexan-1-ol

- MM: 610.82 g.mol⁻¹
- Formula: C₃₁H₄₆O₈S₂
- Dark oil

To a stirred solution of compound **125a** (36 mg, 0.065 mmol) in dry acetone (1 mL), were added potassium carbonate (53.8 mg, 0.389 mmol) and dimethyl sulfate (155 μ L, 1.625 mmol). The reaction mixture was stirred at room temperature under nitrogen atmosphere for 26 h. The mixture was evaporated under vacuum and, the resulting residue was dissolved in H₂O and neutralized with a solution of hydrochloric acid 1M. The mixture was extracted by AcOEt (3 \times 5 mL), and the resulting organic phase was washed with brine (15 mL), dried over MgSO₄, filtered and evaporated under vacuum to obtain yellow oil. The residue was purified by silica gel column chromatography, eluting with CHCl₃-MeOH (95:5 to 9:1), to furnish pure compound **128** (5 mg, 13 %).

R_f = 0.7 (CH₂Cl₂-MeOH, 95:5).

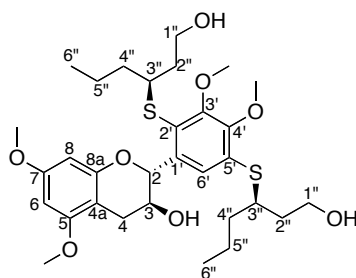
¹H NMR [300 MHz, CDCl₃]: δ 0.91 (m, 6H, H-6''), 1.50 (m, 8H, H-4'', H-5''), 1.78 (m, 4H, H-2''), 2.69 (dd, *J* = 7.9, 16.4 Hz, 1H, H α -4), 2.94 (dd, *J* = 5.2, 16.4 Hz, 1H, H β -4), 3.32, 3.49 (m, 2H, H-3''), 3.67 (m, 4H, H-1''), 3.75 (s, 3H, CH₃-7), 3.81 (s, 3H, CH₃-5), 3.91 (s, 3H, CH₃-4'), 3.95 (s, 3H, CH₃-3'), 4.25 (m, 1H, H-3), 5.67 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H, H-2), 6.12 (s, 2H, H-6, H-8), 7.26 (s, 1H, H-6') ppm.

¹³C NMR [75 MHz, CDCl₃]: δ 160.0 (C-7), 159.0 (C-5), 155.4 (C-8a), 154.7 (C-3'), 151.5 (C-4'), 138.1 (C-1'), 133.0 (C-5'), 127.4 (C-2'), 123.1 (C-6'), 101.4 (C-4a), 93.0, 92.0 (C-6, C-8), 79.0 (C-2), 67.8 (C-3), 60.9 (CH₃-3'), 60.6 (CH₃-4'), 60.5, 60.4 (C-1''), 55.6 (CH₃-5), 55.5 (CH₃-7), 47.0, 43.5 (C-3''), 38.2, 37.9 (C-2''), 37.4, 37.3 (C-2'), 27.4 (C-4), 20.3, 20.1 (C-5''), 14.1, 14.0 (C-6)

LRMS *m/z* (relative intensity): 609([M-H]⁺, 100).

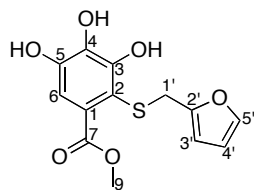
HRMS (ESIMS): calcd for C₃₁H₄₅O₈S₂ 609.2550 found 609.2554.

IR (ZnSe): ν_{\max} = 3376, 1606, 1140 cm⁻¹.



NMR signal assignments of compound **128** in CDCl₃ 300 MHz.

Position	δ H mult. (J, Hz)	δ C	HSQC	HMBC
Catechin				
2	5.67 d ($J = 7.3$ Hz)	79.0	C-2	H-4, H-6', C-3, C-4, C-8a, C-1', C-2', C-6'
3	4.25 m	67.8	C-3	H-2, H-4
4	α 2.69 dd ($J = 7.9, 16.4$ Hz) β 2.94 dd ($J = 5.2, 16.4$ Hz)	27.4	C-4	H-2, H-6, H-8, C-2, C-3, C-4a, C-5, C-8a
4a		101.4		H-4, H-6, H-8
5		159.0		H-4, OCH ₃ -5
OCH ₃ -5, OCH ₃ -7	3.75 s, 3.81 s	55.5, 55.6	CH ₃ -5, CH ₃ -7	C-5, C-7
7		160.0		H-6, H-8, OCH ₃ -7
6, 8	6.12 s	92.0, 93.0	C-6, C-8	H-6, H-8, C-4, C-4a, C-6, C-7, C-8, C-8a
8a		155.4		H-2, H-4, H-6, H-8
1'		138.1		H-2
2'		127.4		H-2, H-6'
3'		154.7		H-6', OCH ₃ -3'
OCH ₃ -3'	3.95 s	60.9	CH ₃ -3'	C-3'
4'		151.5		H-6', OCH ₃ -4'
OCH ₃ -4'	3.91 s	60.6	CH ₃ -4'	C-4'
5'		133.0		H-6'
6'	7.26 s	123.1	C-6'	H-2, C-2, C-2', C-3', C-4', C-5'
(R)-3SH				
1''	3.67 m	60.4, 60.5	C-1''	H-2'', H-3'', C-2'', C-3''
2''	1.78 m	37.9, 38.2	C-2''	H-1'', H-3'', C-1''
3''	3.32 m, 3.49 m	43.5, 47.0	C-3''	H-1'', H-4'', H-5'', C-1'', C-2'', C-4''
4''	1.50 m	37.3, 37.4	C-4''	H-3'', H-5'', H-6'', C-3'', C-5''
5''	1.50 m	20.1, 20.3	C-5''	H-4'', H-6'', C-3'', C-4'', C-6''
6''	0.91 m	14.0, 14.1	C-6''	H-5'', C-4'', C-5''



- MM: 296,30 g.mol⁻¹
- Formula: C₁₃H₁₂O₆S
- Yellow oil

To a stirred solution of methyl 3,4,5-trihydroxybenzoate (**129**, 102 mg, 0.554 mmol) in water (25 mL) were added 2-FMT (**52**, 114 μ l, 1.109 mmol) and, drop by drop, ferric chlorid (300 mg, 1.109 mmol) in solution in 3 mL of water. The reaction mixture was stirred at room temperature under nitrogen atmosphere for 1h30, after which time Na₂S₂O₄ was added to the solution. The mixture was extracted by AcOEt (3 \times 50 mL, and the resulting organic phase was washed with brine (150 mL), dried over MgSO₄, filtered and evaporated under vacuum to obtain a yellow oil. The residue was purified by silica gel column chromatography eluting with a CHCl₃-MeOH mixture (100:0 to 90:10, v/v) to furnish pure compound **130** (6 mg, 4 %) and **131** (23 mg, 10 %).

Rf = 0.30 (CHCl₃-MeOH, 95:5).

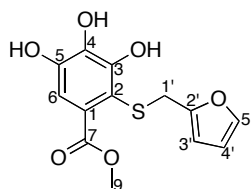
¹H NMR [300 MHz, acetone-*d*₆]: δ 3.81 (s, 3H, H-9), 4.07 (s, 2H, H-1'), 6.01 (dd, J = 0.6, 3.2 Hz, 1H, H-3'), 6.25 (m, 1H, H-4'), 6.92 (s, 1H, H-6), 7.42 (dd, J = 0.8, 1.9 Hz, 1H, H-5') ppm.

¹³C NMR [75 MHz, acetone-*d*₆]: δ 167.8 (C-7), 151.9 (C-2'), 148.2 (C-4), 146.9 (C-5), 143.2 (C-5'), 136.1 (C-1), 128.8 (C-3), 111.3 (C-4'), 110.8 (C-6), 109.5 (C-2), 108.8 (C-3'), 52.2 (C-9), 33.5 (C-1') ppm.

LRMS *m/z* (relative intensity): 319 ([M+Na]⁺, 100).

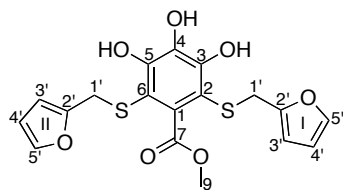
HRMS (ESIMS): calcd for C₁₃H₁₂O₆NaS 319.0243 found 319.0346.

IR (ZnSe): ν_{\max} = 3362, 2917, 1704, 1234 cm⁻¹.



NMR signal assignments of compound **130** in acetone-*d*₆ 300 MHz.

Position	δ H mult. (J, Hz)	δ C	HSQC	HMBC
Methylgallate				
1		136.1		H-6
2		109.5		H-6
3		128.8		H-6
4		148.2		
5		146.9		H-6
6	6.92 s	110.8	C-6	C-1, C-2, C-3, C-5, C-7
7		167.8		H-6
9	3.81 s	52.2	C-9	C-7
2-FMT				
1'	4.07 s	33.5	C-1'	C-2', C-3'
2'		151.9		H-1', H-3', H-4', H-5'
3'	6.01 dd (<i>J</i> = 0.6, 3.2 Hz)	108.8	C-3'	H-1', H-4', H-5', C-2', C-3', C-5'
4'	6.25 d (<i>J</i> = 1.9, 3.2 Hz)	111.3	C-4'	H-3', H-5', C-2', C-3', C-5'
5'	7.42 dd (<i>J</i> = 0.8, 1.9 Hz)	143.2	C-5'	H-3', H-4', C-2', C-3', C-4'



- MM: 408,45 g.mol⁻¹
- Formula: C₁₈H₁₆O₇S₂
- Yellow oil

In aqueous solution: To a stirred solution of methyl 3,4,5-trihydroxybenzoate (**129**, 100 mg, 0.543 mmol) in water (20 mL) were added 2-FMT (**52**, 112 μ L, 1.090 mmol) and, drop by drop, ferric chlorid (182 mg, 1.122 mmol) in solution in 3 mL of water. The reaction mixture was stirred at room temperature under nitrogen atmosphere for 1 h, after which time TLC analysis indicated no evolution. The conversion of methyl 3,4,5-trihydroxybenzoate is not total so, 2-FMT (**52**, 112 μ L, 1.090 mmol) and ferric chlorid (91 mg, 0,561 mmol) in 1 mL of water were added. These additions were repeated every hour to a total conversion of methyl 3,4,5-trihydroxybenzoate (4 times more). The reaction was stopped after 8 hours, after which time Na₂S₂O₄ was added to the solution. The mixture was extracted by AcOEt (3 \times 50 mL), and the resulting organic phase was washed with brine (150 mL), dried over MgSO₄, filtered and evaporated under vacuum to obtain yellow oil. The residue was purified by silica gel column chromatography eluting with a CHCl₃-MeOH mixture (99:1 to 90:10, v/v) to furnish pure compound **131** (159 mg, 72 %).

In citrate buffer, pH = 3.8: To a stirred solution of methyl 3,4,5-trihydroxybenzoate (**129**, 102 mg, 0.554 mmol) in citrate buffer (pH = 3.8, 20 mL) were added 2-FMT (**52**, 114 μ L, 1,108 mmol) and, drop by drop, ferric chlorid (185 mg, 1.140 mmol) in solution in 2 mL of citrate buffer. The reaction mixture was stirred at room temperature under nitrogen atmosphere for 40h, after which time TLC analysis indicated no evolution of the reaction. The conversion of methyl 3,4,5-trihydroxybenzoate is not total so, 2-FMT (**52**, 114 μ L, 1,108 mmol) and ferric chlorid (93 mg, 0.573 mmol) in solution in 2 mL of citrate buffer were added. These additions were repeated every hour to a total conversion of methyl 3,4,5-trihydroxybenzoate (4 times more). The reaction was stopped after 76 hours, after which time Na₂S₂O₄ was added to the solution. The mixture was extracted by AcOEt (3 \times 50 mL), and the resulting organic phase was washed with brine (150 mL), dried over MgSO₄, filtered and evaporated under vacuum to obtain yellow oil. The residue was purified by silica gel column chromatography eluting with a CHCl₃-MeOH mixture (100:0 to 90:10, v/v) to furnish pure compound **131** (178 mg, 79 %).

R_f = 0.20 (CHCl₃-MeOH, 95:5).

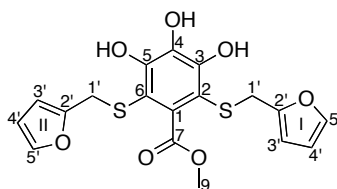
¹H NMR [400 MHz, acetone-*d*₆]: δ 3.82 (s, 3H, H-9), 3.99 (s, 4H, H-1'), 6.05 (d, J = 2.8 Hz, 2H, H-3'), 6.17 (m, 2H, H-4'), 7.43 (dd, J = 0.7, 1.8 Hz, 2H, H-5'), 7.91 (ls, 2H, OH-3, OH-5), 8.05 (ls, 1H, OH-4) ppm.

¹³C NMR [100 MHz, acetone-*d*₆]: δ 168.1 (C-7), 151.6 (C-2'), 149.3 (C-3, C-5), 143.2 (C-5'), 139.9 (C-1), 134.9 (C-3, C-5), 133.7 (C-4), 111.4 (C-4'), 108.9 (C-3'), 107.6 (C-2, C-6), 52.3 (C-9), 33.2 (C-1') ppm.

LRMS *m/z* (relative intensity): 431 ([M+Na]⁺, 100).

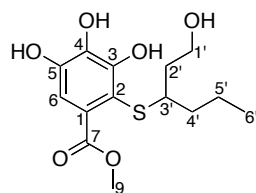
HRMS (ESIMS): calcd for C₁₈H₁₆O₇NaS₂ 431.0241 found 431.0229.

IR (ZnSe): ν_{\max} = 3385, 1727 cm⁻¹.



NMR signal assignments of compound **131** in acetone- d_6 400 MHz.

Position	δ H mult. (J, Hz)	δ C	HSQC	HMBC
Methylgallate				
1		139.9		
2 ; 6		107.6		OH-4, C-9
3 ; 5		149.3		OH-3, OH-4, OH-5
4		133.7		OH-3, OH-5
OH-4	8.05 s			C-2, C-3, C-5, C-6
OH-3 ; OH-5	7.91 s	134.9		C-3, C-4, C-5
7		168.1		H-9
9	3.82 s	52.3	C-9	C-2, C-6, C-7
2-FMT				
1'	3.99 s	33.2	C-1'	H-3', C-2'
2'		151.6		H-1', H-3', H-4', H-5'
3'	6.05 d ($J = 2.8$ Hz)	108.9	C-3'	H-5', C-1', C-2', C-5'
4'	6.17 m	111.4	C-4'	H-5', C-2', C-5'
5'	7.43 dd ($J = 0.7, 1.8$ Hz)	143.2	C-5'	H-3', H-4', C-2', C-3', C-4'



- MM: 316,37 g.mol⁻¹
- Formula: C₁₄H₂₀O₆S
- Brown oil

To a stirred solution of methyl 3,4,5-trihydroxybenzoate (**129**, 104 mg, 0.565 mmol) in water (25 mL) were added 3-sulfanylhexan-1-ol (**48**, 162 μ L, 1.135 mmol) and, drop by drop, ferric chloride (189 mg, 1.135 mmol) in solution in 2 mL of water. The reaction mixture was stirred at room temperature under nitrogen atmosphere for 30 min, after which time TLC analysis indicated no evolution of the reaction. The conversion of methyl 3,4,5-trihydroxybenzoate is not total so, 3-sulfanylhexan-1-ol (**48**, 162 μ L, 1.135 mmol) and ferric chloride (95 mg, 0.567 mmol) in solution in 2 mL of water were added. These additions were repeated every 30 min to a total conversion of methyl 3,4,5-trihydroxybenzoate (3 times more). The reaction was stopped after 3 hours, after which time Na₂S₂O₄ was added to the solution. The mixture was extracted by AcOEt (3 \times 55 mL), and the resulting organic phase was washed with brine (150 mL), dried over MgSO₄, filtered and evaporated under vacuum to obtain yellow oil. The residue was dissolved in water/MeOH mixture (1 mL, 1:1) and purified by a first semi-preparative HPLC (method 13) to furnish, after evapoaration, compound **132** (31 mg, 17 %) and compound **133** (103 mg, 41 %).

R_f = 0.30 (CHCl₃-MeOH, 9:1).

t_R = 14.78 min (method 6).

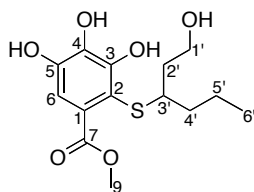
¹H NMR [300 MHz, acetone-*d*₆]: δ 0.84 (t, J = 7.1 Hz, 3H, H-6'), 1.49 (m, 4H, H-4', H-5'), 1.82 (m, 2H, H-2'), 3.27 (m, 1H, H-3'), 3.72 (m, 2H, H-1'), 3.81 (s, 3H, H-7), 6.87 (s, 1H, H-6) ppm.

¹³C NMR [75 MHz, acetone-*d*₆]: δ 168.2 (C-7), 148.4 (C-3), 146.7 (C-5), 136.1 (C-4), 129.6 (C-1), 110.4 (C-6), 109.9 (C-2), 60.1 (C-1'), 52.1 (C-8), 47.9 (C-3'), 37.6 (C-4'), 36.9 (C-2'), 20.1 (C-5'), 14.3 (C-6') ppm.

LRMS *m/z* (relative intensity): 339 ([M+Na]⁺, 100).

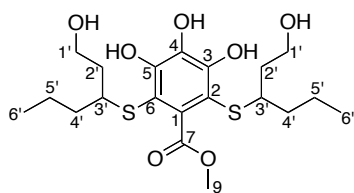
HRMS (ESIMS): calcd for C₁₄H₂₀O₆NaS 339.0873 found 339.0870.

IR (ZnSe): ν_{\max} = 3339, 2957, 1712, 1226 cm⁻¹.



NMR signal assignments of compound **132** in acetone-*d*₆ 300 MHz.

Position	δ H mult. (J, Hz)	δ C	HSQC	HMBC
Methylgallate				
1		129.6		
2		109.9		
3		148.4		
4		136.1		H-6
5		146.7		H-6
6	6.87 s	110.4	C-6	C-4, C-5, C-7
7		168.2		H-6, H-9
9	3.81 s	52.1	C-9	C-7
3-SH				
1'	3.72 m	60.1	C-1'	H-2', C-3'
2'	1.82 m	36.9	C-2'	C-1', C-3', C-4'
3'	3.27 m	47.9	C-3'	H-1', H-2', H-4', C-5'
4'	1.49 m	37.6	C-4'	H-2', H-5', H-6', C-3', C-5'
5'	1.49 m	20.1	C-5'	H-3', H-4', H-6', C-4', C-6'
6'	0.84 t (<i>J</i> = 7,1 Hz)	14.3	C-6'	H-5', C-4', C-5'



- MM: 448,59 g.mol⁻¹
- Formula: C₂₀H₃₂O₇S₂
- Brown oil

To a stirred solution of methyl 3,4,5-trihydroxybenzoate (**129**, 104 mg, 0.565 mmol) in water (25 mL) were added 3-sulfanylhexasan-1-ol (**48**, 162 μL, 1.135 mmol) and, drop by drop, ferric chloride (189 mg, 1.135 mmol) in solution in 2 mL of water. The reaction mixture was stirred at room temperature under nitrogen atmosphere for 30 min, after which time TLC analysis indicated no evolution of the reaction. The conversion of methyl 3,4,5-trihydroxybenzoate is not total so, 3-sulfanylhexasan-1-ol (**48**, 162 μL, 1.135 mmol) and ferric chloride (95 mg, 0.567 mmol) in solution in 2 mL of water were added. These additions were repeated every 30 min to a total conversion of methyl 3,4,5-trihydroxybenzoate (3 times more). The reaction was stopped after 3 hours, after which time Na₂S₂O₄ was added to the solution. The mixture was extracted by AcOEt (3 × 55 mL), and the resulting organic phase was washed with brine (150 mL), dried over MgSO₄, filtered and evaporated under vacuum to obtain yellow oil. The residue was dissolved in water/MeOH mixture (1 mL, 1:1) and purified by a first semi-preparative HPLC (method 13) to furnish, after evapoaration, compound **132** (31 mg, 17 %) and compound **133** (103 mg, 41 %).

R_f = 0.30 (CHCl₃-MeOH, 9:1).

t_R = 17.17 min (method 6).

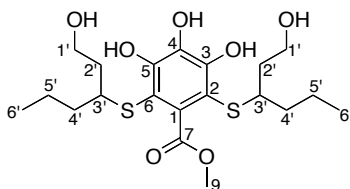
¹H NMR [300 MHz, acetone-*d*₆]: δ 0.86 (m, 6H, H-6'), 1.49 (m, 8H, H-4', H-5'), 1.81 (m, 4H, H-2'), 3.24 (m, 2H, H-3'), 3.74 (m, 4H, H-1'), 3.83 (s, 3H, H-7) ppm.

¹³C NMR [75 MHz, acetone-*d*₆]: δ 168.4 (C-7), 149.0 (C-3, C-5), 140.0 (C-1), 134.0 (C-4), 108.1 (C-2, C-6), 60.1 (C-1'), 52.1 (C-8), 47.5 (C-3'), 37.6 (C-4'), 36.7 (C-2'), 20.0 (C-5'), 14.2 (C-6') ppm.

LRMS *m/z* (relative intensity): 471 ([M+Na]⁺, 100).

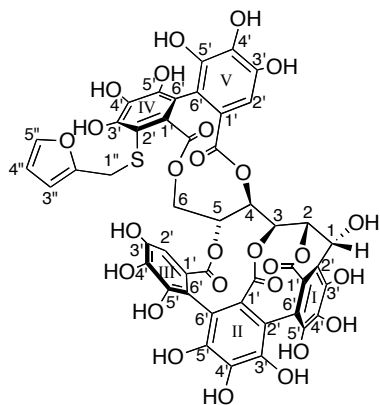
HRMS (ESIMS): calcd for C₂₀H₃₂O₇NaS₂ 471.1482 found 471.1475.

IR (ZnSe): ν_{max} = 3369, 2957, 1722 cm⁻¹.



NMR signal assignments of compound **133** in acetone- d_6 300 MHz.

Position	δ H mult. (J,Hz)	δ C	HSQC	HMBC
Methylgallate				
1		140.0		H-8
2 ; 6		108.1		H-3'
3 ; 5		149.0		
4		134.0		
7		168.4		H-9
9	3.83 s	52.1	C-9	C-1, C-7
3-SH				
1'	3.74 m	60.1	C-1'	H-2', H-3', C-2', C-3'
2'	1.81 m	36.7	C-2'	H-1', H-3', H-4', C-1', C-3', C-4'
3'	3.24 m	47.5	C-3'	H-1', H-2', H-4', H-5', C-2, C-6, C-1', C-2', C-4', C-5'
4'	1.49 m	37.6	C-4'	H-2', H-3', H-5', H-6', C-2', C-3', C-5', C-6'
5'	1.49 m	20.0	C-5'	H-3', H-4', H-6', C-3', C-4', C-6'
6'	0.86 m	14.2	C-6'	H-4', H-5', C-4', C-5'



- MM: 1046.07 g.mol⁻¹
- Formula: C₄₆H₃₀O₂₇S
- Brown amorphous powder

To a solution of (—)-castalagin (**22**, 114 mg, 0.122 mmol) in water (10 mL) were added 2-FMT (**52**, 25 μL, 0.244 mmol) and, drop by drop, ferric chlorid (40 mg, 0.244 mmol) in water (2 mL). The reaction mixture was stirred at room temperature under nitrogen atmosphere for 2h, after which time HPLC monitoring (method 6) indicated no further evolution of the reaction mixture. The conversion of (—)-castalagin is not total so, 2-FMT (**52**, 25 μL, 0.244 mmol) and, drop by drop, ferric chlorid (40 mg, 0.244 mmol) in water (2 mL) were added 4 times. The reaction was stopped after 8 hours, after which time Na₂S₂O₄ was added to the solution and the mixture was freeze-dried. The resulting residue was dissolved in water (1 mL) and purified by a first semi-preparative HPLC (method 14) followed by a second semi-preparative HPLC (method 14), to furnish, after freeze-drying, monoadduct **134** (15 mg, 12 %), diadduct **135** (28 mg, 19 %) and triadduct **136** (6 mg, 4 %).

t_R = 11.09 min (method 6).

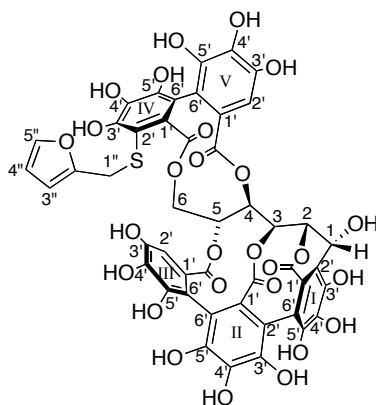
¹H NMR [700 MHz, acetone-*d*₆/D₂O (8:2)]: δ 4.17 (m, 2H, H-1''), 4.17 (m, 1H, H α -6), 4.65 (d, J = 12.1 Hz, 1H, H β -6), 5.01 (d, J = 6.7 Hz, 1H, H-3), 5.05 (s, 1H, H-1), 5.25 (t, J = 7.0 Hz, 1H, H-4), 5.60 (d, J = 6.7 Hz, 1H, H-5), 5.67 (s, 1H, H-2), 6.07 (s, 1H, H-3''), 6.18 (s, 1H, H-4''), 6.47 (s, 1H, H_{III}-2'), 6.88 (s, 1H, H_V-2'), 7.35 (s, 1H, H-5'') ppm.

¹³C NMR [100 MHz, acetone-*d*₆/D₂O (8:2)]: δ 167.9 (C_{IV}=O), 167.2 (C_{III}=O), 166.4 (C_V=O), 165.6 (C_{II}=O), 164.6 (C_I=O), 150.7 (C-2''), 147.5, 146.7, 145.4, 145.2, 145.1, 144.7, 144.4, 144.0, 143.7 (C_[I-V]-3', C_[I-V]-5'), 143.1 (C-5''), 137.0 (C_V-4'), 136.5 (C_{III}-4'), 137.9, 134.8, 134.0, 133.4, 127.4, 124.8, 123.5, 121.8 (C_[I-V]-1', C_[I-II, IV]-4'), 115.6 (C_V-6'), 114.7 (C_{III}-6'), 116.0, 115.4, 114.5, 114.3, 112.7 (C_[I-III]-2', C_[I-II, IV]-6'), 111.3 (C-4''), 109.5 (C-3''), 108.7 (C_{III}-2'), 108.5 (C_V-2'), 105.9 (C_{IV}-2'), 74.1 (C-1), 71.0 (C-5), 69.3 (C-4), 67.0 (C-2), 66.3 (C-3), 65.7 (C-6), 33.6 (C-1'') ppm.

LRMS m/z (relative intensity): 1069 ([M+Na]⁺, 100).

HRMS (ESIMS): calcd for C₄₆H₃₀O₂₇NaS 1069.0587 found 1069.0597.

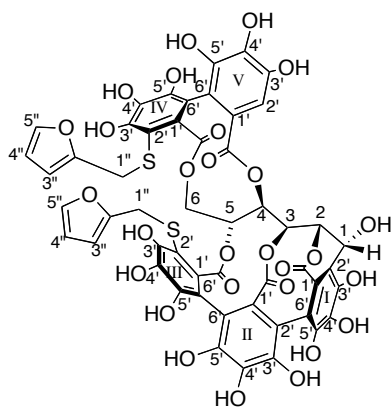
IR (ZnSe): ν_{max} = 3403, 1629, 1192 cm⁻¹.



NMR signal assignments of monoadduct **134** in acetone- d_6 /D $_2$ O (8:2) 700/400 MHz.

Position	δ H mult. (J, Hz)	δ C	HSQC	HMBC
Glucose				
1	5.05 s	74.1	C-1	H-4
2	5.67 s	67.0	C-2	H-3
3	5.01 d ($J = 6.7$ Hz)	66.3	C-3	H-4, H-5, C-2, C-4, C-5, C _{II} =O
4	5.25 t ($J = 7.0$ Hz)	69.3	C-4	H-3, H-5, H-6, C-1, C-3, C-5, C _V =O
5	5.60 d ($J = 6.7$ Hz)	71.0	C-5	H-3, H-4, H-6, C-3, C-4, C _{III} =O
6	α 4.17 m β 4.65 d ($J = 12.1$ Hz)	65.7	C-6	C-4, C-5, C _{IV} =O
Aromatics				
1' [I-V], 4' [II-IV]		121.8, 123.5, 124.8, 127.4, 133.4, 134.0, 134.8, 137.9		
2' [I-III], 6' [I-II, IV]		112.7, 114.3, 114.5, 115.4, 116.0		
2' _{III}	6.47 s	108.7	C _{III} -2'	C _{III} -4', C _{III} -6', C _{III} =O
2' _{IV}		105.9		H-1''
2' _V	6.88 s	108.5	C _V -2'	C _V -4', C _V -6', C _V =O
3' [I-V], 5' [I-V]		143.7, 144.0, 144.4, 144.7, 145.1, 145.2, 145.4, 146.7, 146.7, 147.5		
4' _{III}		136.5		H _{III} -2'
4' _V		137.0		H _V -2'
6' _{III}		114.7		H _{III} -2'
6' _V		115.6		H _V -2'
Carbonyls				
C _I =O		164.6		
C _{II} =O		165.6		H-3

$C_{III}=0$		167.2		H-5, H _{III} -2'
$C_{IV}=0$		167.9		H-6, H-1"
$C_V=0$		166.4		H-4, H _V -2'
2-FMT				
1"	4.17 m	33.6	C-1"	C _{IV} -2', C-2", C-3"
2"		150.7		H-1", H-3", H-4", H-5"
3"	6.07 s	109.5	C-3"	H-1", H-4", H-5", C-2", C-4", C-5"
4"	6.18 s	111.3	C-4"	H-3", H-5", C-2", C-3", C-5"
5"	7.35 s	143.1	C-5"	H-3", H-4", C-2", C-3", C-4"



- MM: 1158.93 g.mol⁻¹
- Formula: C₅₁H₃₄O₂₈S₂
- Brown amorphous powder

To a solution of (—)-castalagin (**22**, 114 mg, 0.122 mmol) in water (10 mL) were added 2-FMT (**52**, 25 μL, 0.244 mmol) and, drop by drop, ferric chlorid (40 mg, 0.244 mmol) in water (2 mL). The reaction mixture was stirred at room temperature under nitrogen atmosphere for 2h, after which time HPLC monitoring (method 6) indicated no further evolution of the reaction mixture. The conversion of (—)-castalagin is not total so, 2-FMT (**52**, 25 μL, 0.244 mmol) and, drop by drop, ferric chlorid (40 mg, 0.244 mmol) in water (2 mL) were added 4 times. The reaction was stopped after 8 hours, after which time Na₂S₂O₄ was added to the solution and the mixture was freeze-dried. The resulting residue was dissolved in water (1 mL) and purified by a first semi-preparative HPLC (method 14) followed by a second semi-preparative HPLC (method 14), to furnish, after freeze-drying, monoadduct **134** (15 mg, 12 %), diadduct **135** (28 mg, 19 %) and triadduct **136** (6 mg, 4 %).

t_R = 12.76 min (method 6).

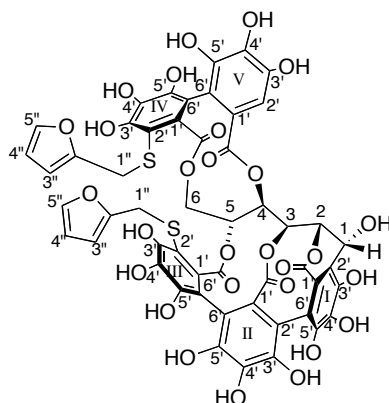
¹H NMR [400 MHz, acetone-*d*₆/D₂O (8:2)]: δ 3.78 (m, 4H, H-1''), 4.12 (d, J = 12.7 Hz, 1H, H α -6), 4.36 (d, J = 11.3 Hz, 1H, H β -6), 4.93 (d, J = 7.9 Hz, 1H, H-3), 5.04 (d, J = 4.8 Hz, 1H, H-1), 5.19 (t, J = 8.0 Hz, 1H, H-4), 5.40 (d, J = 8.6 Hz, 1H, H-5), 5.64 (d, J = 4.5 Hz, 1H, H-2), 5.86 (m, 2H, H-3''), 6.12 (m, 2H, H-4''), 6.80 (s, 1H, H ν -2'), 7.22 (d, J = 17.2 Hz, 2H, H-5'') ppm.

¹³C NMR [100 MHz, acetone-*d*₆/D₂O (8:2)]: δ 168.2 (C_{IV}=O), 166.5 (C_V=O), 166.0 (C_{III}=O), 165.6 (C_I=O), 165.3 (C_{II}=O), 150.9, 150.6 (C-2''), 145.1 (C_V-3'), 147.5, 147.2, 146.6, 146.1, 145.9, 144.8, 144.7, 144.5, 143.7 (C_[I-IV]-3', C_[I-V]-5'), 142.8, 142.7 (C-5''), 137.0 (C_V-1'), 137.7, 134.8, 134.3, 133.7, 132.7, 131.1, 126.1, 123.0, 122.0 (C_[I-IV]-1', C_[I-V]-4'), 115.4 (C_V-6'), 114.9 (C_I-2'), 115.5, 114.1, 113.1, 111.7, 111.2 (C_{II}-2', C_[I-IV]-6'), 111.0 (C-4''), 108.9, 108.6 (C-3''), 108.5 (C_V-2'), 108.4, 106.4 (C_[III-IV]-2'), 73.7 (C-1), 70.1 (C-5), 67.5 (C-4), 66.6 (C-2), 66.0 (C-3), 65.1 (C-6), 32.9, 32.6 (C-1'') ppm.

LRMS m/z (relative intensity): 1181 ([M+Na]⁺, 100).

HRMS (ESIMS): calcd for C₅₁H₃₄O₂₈NaS₂ 1181.0570 found 1181.0616.

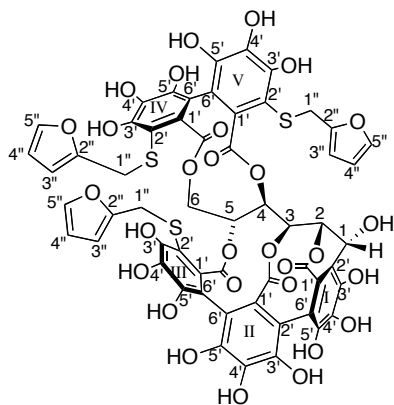
IR (ZnSe): ν_{max} = 3386, 1743, 1190 cm⁻¹.



NMR signal assignments of diadduct **135** in acetone-*d*₆/D₂O (8:2) 400 MHz.

Position	δ H mult. (J,Hz)	δ C	HSQC	HMBC
Glucose				
1	5.04 d ($J = 4.8$ Hz)	73.7	C-1	H-4, C-2, C _I -2', C _I =O
2	5.64 d ($J = 4.5$ Hz)	66.6	C-2	H-1, H-3, C-3, C _I -2'
3	4.93 d ($J = 7.9$ Hz)	66.0	C-3	H-2, H-5, C-2, C-5, C _{II} =O
4	5.19 t ($J = 8.0$ Hz)	67.5	C-4	H-6, C-1, C-5, C _V =O
5	5.40 d ($J = 8.6$ Hz)	70.1	C-5	H-3, H-4, H-6, C-3, C _{III} =O
6	α 4.12 d ($J = 12.7$ Hz) β 4.36 d ($J = 11.3$ Hz)	65.1	C-6	C-4, C-5
Aromatics				
1' _V		137.0		H _V -2'
1' _[I-IV] , 4' _[I-V]		137.7, 134.8, 134.3, 133.7, 132.7, 131.1, 126.1, 123.0, 122.0		
2' _I		114.9		H-1, H-2
2' _{II} , 6' _[I-IV]		115.5, 114.1, 113.1, 111.7, 111.2		
2' _[III-IV]		108.4, 106.4		H-1''
2' _V	6.80 s	108.5	C _V -2'	C _V -1', C _V -3', C _V -6', C _V =O
3' _[I-IV] , 5' _[I-V]		143.7, 144.7, 144.8, 145.9, 146.1, 146.6, 147.2, 147.5		
3' _V		145.1		H _V -2'
6' _V		115.4		H _V -2'
Carbonyls				
C _I =O		165.6		H-1
C _{II} =O		165.3		H-3

$C_{III=O}$		166.0		H-5
$C_{IV=O}$		168.2		
$C_V=O$		166.5		H-4, H _V -2'
<hr/>				
2-FMT				
<hr/>				
1"	3.78 m	32.9, 32.6	C-1"	$C_{III-IV-2'}$, C-2", C-3"
2"		150.9, 150.6		H-1", H-3", H-4", H-5"
3"	5.86 m	108.9, 108.6	C-3"	H-1", H-4", H-5", C-2", C-4", C-5"
4"	6.12 m	111.0	C-4"	H-3", H-5", C-2", C-3", C-5"
5"	7.22 d ($J = 17.2$ Hz)	142.8, 142.7	C-5"	H-3", H-4", C-2", C-3", C-4"
<hr/>				



- MM: 1271.08 g.mol⁻¹
- Formula: C₅₆H₃₈O₂₉S₃
- Brown amorphous powder

To a solution of (—)-castalagin (**22**, 114 mg, 0.122 mmol) in water (10 mL) were added 2-FMT (**52**, 25 μL, 0.244 mmol) and, drop by drop, ferric chlorid (40 mg, 0.244 mmol) in water (2 mL). The reaction mixture was stirred at room temperature under nitrogen atmosphere for 2h, after which time HPLC monitoring (method 6) indicated no further evolution of the reaction mixture. The conversion of (—)-castalagin is not total so, 2-FMT (**52**, 25 μL, 0.244 mmol) and, drop by drop, ferric chlorid (40 mg, 0.244 mmol) in water (2 mL) were added 4 times. The reaction was stopped after 8 hours, after which time Na₂S₂O₄ was added to the solution and the mixture was freeze-dried. The resulting residue was dissolved in water (1 mL) and purified by a first semi-preparative HPLC (method 14) followed by a second semi-preparative HPLC (method 14), to furnish, after freeze-drying, monoadduct **134** (15 mg, 12 %), diadduct **135** (28 mg, 19 %) and triadduct **136** (6 mg, 4 %).

t_R = 14.28 min (method 6).

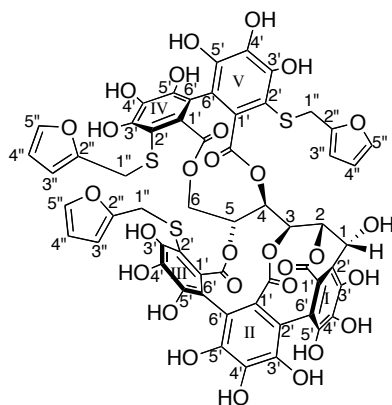
¹H NMR [400 MHz, acetone-*d*₆/D₂O (8:2)]: δ 3.87 (m, 6H, H-1''), 4.14 (m, 1H, H α -6), 4.48 (dd, J = 2.4, 12.0 Hz, 1H, H β -6), 5.05 (t, J = 8.6 Hz, 1H, H-4), 5.29 (d, J = 8.2 Hz, 1H, H-1), 5.45 (dd, J = 1.5, 9.2 Hz, 1H, H-5), 5.60 (d, J = 4.8 Hz, 1H, H-2), 5.89 (d, J = 3.0 Hz, 1H, H-3''), 5.98 (d, J = 3.0 Hz, 1H, H-3'''), 6.08 (d, J = 3.2 Hz, 1H, H-3'''), 6.14 (dd, J = 2.0, 3.1 Hz, 1H, H-4''), 6.20 (dd, J = 1.9, 3.0 Hz, 1H, H-4''), 6.29 (dd, J = 2.0, 3.0 Hz, 1H, H-4''), 7.26 (d, J = 1.2 Hz, 1H, H-5''), 7.32 (d, J = 0.9 Hz, 1H, H-5''), 7.48 (d, J = 1.0 Hz, 1H, H-5'') ppm.

¹³C NMR [100 MHz, acetone-*d*₆/D₂O (8:2)]: δ 167.7 (C_{IV}=O), 166.6 (C_V=O), 165.9 (C_{III}=O), 165.3 (C_I=O), 165.2 (C_{II}=O), 151.4, 151.2, 151.0 (C-2''), 147.7, 147.6, 146.8, 146.7, 146.6, 146.2, 144.9, 144.4, 143.4 (C_{II-VI}-3', C_{II-VI}-5'), 143.4, 143.1, 142.8 (C-5''), 137.7, 135.0, 134.9, 134.4, 133.8, 132.5, 131.4, 129.9, 126.4, 122.5 (C_{II-VI}-1', C_{II-VI}-4'), 115.8, 115.8, 115.5, 113.8, 113.5, 113.2, 112.1 (C_{II-VI}-2', C_{II-VI}-6'), 111.4, 111.2 (C-4''), 109.0, 108.9, 108.7 (C-3''), 108.3, 107.4, 106.2 (C_{III-VI}-2'), 73.5 (C-3), 70.2 (C-5), 69.6 (C-4), 66.7 (C-2), 66.1 (C-1), 64.9 (C-6), 33.1, 32.8, 32.1 (C-1'')

LRMS m/z (relative intensity): 1293 ([M+Na]⁺, 100).

HRMS (ESIMS): calcd for C₅₆H₃₈O₂₉NaS₃ 1293.0553 found 1293.0538.

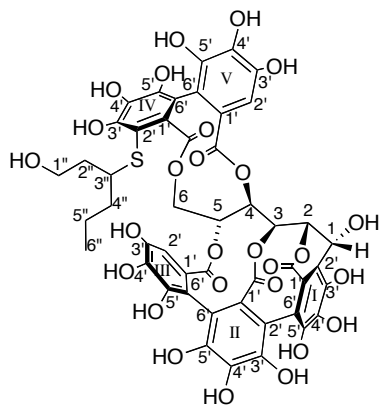
IR (ZnSe): ν_{max} = 3406, 1738, 1192 cm⁻¹.



NMR signal assignments of triadduct **131** in acetone-*d*₆/D₂O (8:2) 400 MHz.

Position	δ H mult. (J,Hz)	δ C	HSQC	HMBC
Glucose				
1	5.29 d ($J = 8.2$ Hz)	66.1	C-1	H-2, C-2, C _I =O
2	5.60 d ($J = 4.8$ Hz)	66.7	C-2	H-1, H-3, C-1, C-3,
3	5.66 d ($J = 5.1$ Hz)	73.5	C-3	H-2, H-4, C-2, C-4, C _{II} =O
4	5.05 t ($J = 8.6$ Hz)	69.6	C-4	H-3, H-5, C-3, C-5, C _V =O
5	5.45 dd ($J = 1.5, 9.2$ Hz)	70.2	C-5	H-4, H-6, C-4, C-6, C _{III} =O
6	α 4.14 m β 4.48 dd ($J = 2.4, 12.0$ Hz)	64.9	C-6	H-5, C-5
Aromatics				
1' [I-V], 4' [I-V]		122.5, 126.4, 129.9, 131.4, 132.5, 133.8, 134.4, 134.9, 135.0, 137.7		
2' [III-V]		106.2, 107.4, 108.3		H-1''
2' [I-II], 6' [I-V]		112.1, 113.2, 113.5, 113.8, 115.5, 115.8, 115.8		
3' [I-V], 5' [I-V]		143.4, 144.4, 144.9, 146.2, 146.6, 146.7, 146.8, 147.6, 147.7		
Carbonyls				
C _I =O		165.3		H-1
C _{II} =O		165.2		H-3
C _{III} =O		165.9		H-5
C _{IV} =O		167.7		
C _V =O		166.6		H-4
2-FMT				
1''	3.87 m	32.1, 32.8, 33.1	C-1''	C _{III} -2', C _{IV} -2', C _V -2', C-2'', C-3''

2"		151.0, 151.2, 151.4		H-1", H-3", H-4", H-5"
3"	6.08 d ($J = 3.2$ Hz) 5.98 d ($J = 3.0$ Hz) 5.89 d ($J = 3.0$ Hz)	108.7, 109.0, 109.1	C-3"	H-1", H-4", H-5", C-2", C-4", C-5"
4"	6.29 dd ($J = 2.0, 3.0$ Hz) 6.20 dd ($J = 1.9, 3.0$ Hz) 6.14 d ($J = 2.0, 3.1$ Hz) 7.48 d ($J = 1.0$ Hz)	111.2, 111.4	C-4"	H-3", H-5", C-2", C-3", C-5"
5"	7.32 d ($J = 0.9$ Hz) 7.26 d ($J = 1.2$ Hz)	142.8, 142.9, 143.1	C-5"	H-3", H-4", C-2", C-3", C-4"



- MM: 1066.85 g.mol⁻¹
- Formula: C₄₇H₃₈O₂₇S
- Brown amorphous powder

To a solution of (—)-castalagin (**22**, 101 mg, 0.108 mmol) in water (10 mL) were added 2-FMT (**52**, 30 mg, 0.223 mmol) and, drop by drop, ferric chlorid (35 mg, 0.216 mmol) in water (1 mL). The reaction mixture was stirred at room temperature under nitrogen atmosphere for 1h, after which time HPLC monitoring indicated no further evolution of the reaction mixture. The conversion of (—)-castalagin is not total so, 2-FMT (**52**, 30 mg, 0.223 mmol) and, drop by drop, ferric chlorid (35 mg, 0.216 mmol) in water (1 mL) were added 3 times. The reaction was stopped after 4 hours, after which time Na₂S₂O₄ was added to the solution and the mixture was freeze-dried. The resulting residue was dissolved in water (1 mL) and purified by a semi-preparative HPLC (method 15), to furnish, after freeze-drying, monoadduct **137** (10 mg, 9 %).

t_R = 8.64 min (method 6).

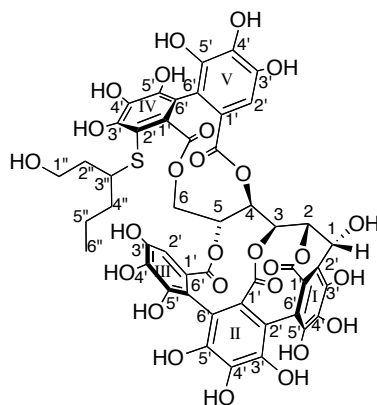
¹H NMR [400 MHz, acetone-*d*₆/D₂O (8:2)]: δ 0.73 (m, 3H, H-6''), 1.37 (m, 4H, H-4'', H-5''), 1.65 (m, 1H, H-2''), 1.91 (m, 1H, H-2''), 3.25 (m, 1H, H-3''), 3.76 (m, 2H, H-1''), 4.03 (m, 1H, H-α-6), 4.32 (dd, *J* = 2.3, 12.7 Hz, 1H, H-β-6), 5.01 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H, H-3), 5.06 (d, *J* = 4.2 Hz, 1H, H-1), 5.27 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H, H-4), 5.58 (d, *J* = 6.6 Hz, 1H, H-5), 5.68 (d, *J* = 4.3 Hz, 1H, H-2), 6.67 (s, 1H, H_{III}-2'), 6.88 (s, 1H, H_V-2') ppm.

¹³C NMR [100 MHz, acetone-*d*₆/D₂O (8:2)]: δ 168.2 (C_{IV}=O), 167.2 (C_{III}=O), 166.3 (C_V=O), 165.6 (C_{II}=O), 164.5 (C_I=O), 147.3, 146.7, 146.1, 145.3, 145.0, 144.7, 144.4, 144.0, 143.6 (C_[I-V]-3', C_[I-V]-5'), 136.9 (C_V-4'), 136.4 (C_{III}-4'), 137.7, 134.8, 134.0, 133.6, 127.4, 124.9, 123.6, 121.9 (C_[I-V]-1', C_[I-II, IV]-4'), 115.6 (C_V-6'), 114.3 (C_{III}-6'), 116.0, 115.4, 114.4, 114.3, 112.7 (C_[I-III]-2', C_[I-II, IV]-6'), 108.6 (C_{III}-2'), 108.5 (C_V-2'), 106.9 (C_{IV}-2'), 74.0 (C-1), 70.6 (C-5), 69.0 (C-4), 67.2 (C-2), 66.4 (C-3), 65.9 (C-6), 60.0 (C-1''), 46.9 (C-3''), 36.9 (C-4''), 36.8 (C-2''), 19.7 (C-5''), 14.1 (C-6'') ppm.

LRMS *m/z* (relative intensity): 1067 ([M+H]⁺, 100), 1089 ([M+Na]⁺, 90).

HRMS (ESIMS): calcd for C₄₇H₃₆O₂₇S 532.0587 found 532.0595.

IR (ZnSe): ν_{max} = 3405, 1627, 1193 cm⁻¹.



NMR signal assignments of monoadduct **137** in acetone- d_6 /D $_2$ O (8:2) 400 MHz.

Position	δ H mult. (J, Hz)	δ C	HSQC	HMBC
Glucose				
1	5.06 d ($J = 4.2$ Hz)	74.0	C-1	H-4, C-2, C _I =O
2	5.68 d ($J = 4.3$ Hz)	67.2	C-2	H-1, H-3, C-3
3	5.01 d ($J = 7.6$ Hz)	66.4	C-3	H-2, H-4, C-2, C-5, C _{II} =O
4	5.27 t ($J = 7.4$ Hz)	69.0	C-4	H-5, C-1, C-3, C-5, C _V =O
5	5.58 d ($J = 6.6$ Hz)	70.6	C-5	H-3, H-4, H-6, C-4, C _{III} =O
6	α 4.03 m β 4.32 dd ($J = 2.3, 12.7$ Hz)	65.9	C-6	C-5
Aromatics				
1' [I-V], 4' [II-IV]		121.9, 123.6, 124.9, 127.4, 133.6, 134.0, 134.8, 137.7		
2' [I-III], 6' [I-II, IV]		112.7, 114.3, 114.4, 115.4, 116.0		
2' _{III}	6.67 s	108.6	C _{III} -2'	C _{III} -4', C _{III} -6', C _{III} =O
2' _{IV}		106.9		
2' _V	6.88 s	108.5	C _V -2'	C _V -4', C _V -6', C _V =O
3' [I-V], 5' [I-V]		143.6, 144.0, 144.4, 144.7, 145.0, 145.3, 146.1, 146.7, 147.3		
4' _{III}		136.4		H _{III} -2'
4' _V		136.9		H _V -2'
6' _{III}		114.3		H _{III} -2'
6' _V		115.6		H _V -2'
Carbonyls				
C _I =O		164.5		H-1

C _{II} =0		165.6		H-3
C _{III} =0		167.2		H-5, H _{III} -2'
C _{IV} =0		168.2		
C _V =0		166.3		H-4, H _V -2'

(S)-3-SH

1"	3.76 m	60.0	C-1"	H-2", C-3"
2"	1.91 m, 1.65 m	36.8	C-2"	C-1", C-3"
3"	3.25 m	46.9	C-3"	H-1", H-2", H-4", H-5"
4"	1.37 m	36.9	C-4"	H-6", C-3"
5"	1.37 m	19.7	C-5"	H-6", C-3", C-6"
6"	0.73 t ($J = 7.2$ Hz)	14.1	C-6"	H-5", C-4", C-5"

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Degache, E.; Hans, H.-L. Le cuir : chimie, mécanique et sensualité. Le chrome et ses complexes pour le tannage des peaux. *L'actualité chimique* **2006**, *293*, 3-10.
- [2] Khanbabaee, K.; Van Ree, T. Tannins : Classifications and Definition. *Nat. Prod. Rep.* **2001**, *18*, 641-649.
- [3] E. Haslam Plant Polyphenols – Vegetable Tannins Revisited Chemistry and Pharmacology of Natural Products. Cambridge, University Press, 1989, 9.
- [4] Quideau, S.; Deffieux, D.; Douat-Casassus, C.; Pouységou, L. Plant polyphenols-Chemical properties, biological activities, and synthesis. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 586-621.
- [5] Bruneton, J. Tanins. In *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales*. 4e Ed.; Lavoisier, Paris, **2009**, 370-404.
- [6] Kashiwada, Y.; Nonaka, G.-I.; Nishioka, I.; Chang, J.-J.; Lee, K.-H. Antitumor Agents, 129. Tannins and Related Compounds as Selective Cytotoxic Agents. *J. Nat. Prod.* **1992**, *55*, 1033-1043.
- [7] Sailler, G.; Glombitza, K.W.; Phloretols and fucophloretols from the brown alga *Cystophora retroflexa*. *Phytochemistry* **1999**, *50*, 869-881.
- [8] Niemetz, R.; Gross, G.G. Enzymology of gallotannin and ellagitannin biosynthesis. *Phytochemistry* **2005**, *66*, 2001-2011.
- [9] Gross, G.G. From lignins to tannins: Forty years of enzyme studies on the biosynthesis of phenolic compounds. *Phytochemistry* **2008**, *69*, 3018-3031.
- [10] Okuda, T.; Yoshida, T.; Hatano, T. Hydrolyzable tannins and related polyphenols. *Fortschr. Chem. Org. Naturst.* **1995**, *66*, 1-117.
- [11] Kashiwada, Y.; Nonaka, G.; Nishioka, I. Tannins and Related Compounds. XXIII. Rhubarb (4) : Isolation and Structures of New Classes of Gallotannins. *Chem. Pharm. Bull.* **1984**, *32*, 3461-3470.
- [12] Wilkins, C. K.; Bohm, B. A. Ellagitannins from *Tellima grandiflora*. *Phytochemistry* **1976**, *15*, 211-214.
- [13] Haddock, E. A.; Gupta, R. K.; Haslam, E. The metabolism of gallic acid and hexahydroxydiphenic acid in plants. Part 3. Esters of (*R*)- and (*S*)-hexahydroxydiphenic acid and dehydrohexahydroxydiphenic acid with D-glucopyranose (¹³C₄ and related conformations). *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1982**, 2535-2545.

-
- [14] Okuda, T.; Yoshida, T.; Hatano, T. Constituents of *Geranium thunbergii* Sieb. et Zucc. Part 12. Hydrated stereostructure and equilibration of geraniin. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1982**, 9-14.
- [15] Yoshida, T.; Jin, Z.-X.; Okuda, T. Heterophyllins A, B, C, D and E, Ellagitannins Monomers and Dimers from *Corylus heterophylla* Fisch. *Chem. Pharm. Bull.* **1991**, *39*, 49-54.
- [16] Mayer, W.; Gabler, W.; Riester, A.; Korger, H. Die isolierung von castalagin, vescalagin, castalin und vescalin. *Liebigs Ann. Chem.* **1967**, *707*, 177-181.
- [17] Mayer, W.; Seitz, H.; Jochims, J.C.; Schauerte, K.; Schilling, G. Struktur des Vescalagins. *Liebigs Ann. Chem.* **1971**, *751*, 60-68.
- [18] Nonaka, G.; Sakai, T.; Tanaka, T.; Mihashi, K.; Nishioka, I. Tannins and related compounds. XCVII. Structure revision of C-glucosidic ellagitannins, castalagin, vescalagin, casuarinin and stachyurin, and related hydrolysable tannins. *Chem. Pharm. Bull.* **1990**, *38*, 2151-2156.
- [19] Quideau, S.; Feldman, K. S. Ellagitannin Chemistry. *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 475-503.
- [20] Ishimaru, K.; Nonaka, G. I.; Nishioka, I. : Tannins and related compounds. LV. Isolation and characterisation of acutissimins A and B, novel tannins from *Quercus* and *Castanea* species. *Chem. Pharm. Bull.* **1987**, *35*, 602-610.
- [21] Ferreira, D.; Nel, R. J. J.; Bekker, R. Condensed Tannins. In *Comprehensive Natural Products Chemistry. Vol. 3. Carbohydrates and Their Derivatives Including Tannins, Cellulose, and Related Lignings*. Ed. Pinto, B. M., Elsevier, Oxford, **1999**, pp. 747-797.
- [22] Li, Y.-X.; Wijesekara, I.; Li, Y.; Kim, S.-K. 2011. Phlorotannins as bioactive agents from brown algae. *Process Biochemistry* **2011**, *46*, 2219-2224.
- [23] Haslam, E. Natural Polyphenols (Vegetable Tannins) as Drugs : Possible Modes of Action. *J. Nat. Prod.*, **1996**, *59*, 205-215.
- [24] Quideau S.; Jourdes, M.; Saucier, C.; Glories, Y.; Pardon, P.; Baudry, C. DNA topoisomérase inhibitor acutissimin A and other flavano-ellagitannins in red wine. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 6012-6014.
- [25] Quideau, S.; Jourdes, M.; Lefeuvre, D.; Montaudon, D.; Saucier, C.; Glories, Y.; Pardon, P.; Pourquier P. The chemistry of wine polyphenolic C-glycosidic ellagitannins targeting human topoisomerase II. *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 6503-6513.
- [26] Fukuchi, K.; Sakagami, H.; Okuda, T.; Hatano, T.; Tanuma, S.; Kitajima, K.; Inoue, Y.; Inoue, S.; Ishikawa, S.; Nonoyama, M.; Konno, K. Inhibition of Herpes simplex virus infection by tannins and related compounds, *Antiviral Research* **1989**, *11*, 285-298.

-
- [27] Nakashima, H.; Murakami, T.; Yamamoto, N.; Sakagami, H.; Tanuma, S.; Hatano, T.; Yoshida, T.; Okuda, T. Inhibition of human immunodeficiency viral replication by tannins and related compounds. *Antiviral Research* **1992**, *18*, 91-103.
- [28] Kakiuchi, N.; Hattori, M.; Namba, T. Inhibitory effect of tannins on reverse transcriptase from RNA tumor virus. *J. Nat. Prod.* **1985**, *48*, 614-621.
- [29] Soares, S. I.; Gonçalves, R. M.; Fernandes, I.; Mateus, N.; De Freitas, V. Mechanistic Approach by Which Polysaccharides α -Amylase/Procyanidin Aggregation. *J. Agric. Food Chem.* **2009**, *57*, 4352-4358.
- [30] De Freitas, V.; Mateus, N. Structural Feature of Procyanidin Interactions with Salivary Proteins. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 940-945.
- [31] Siebert, K.J. Effects of protein-polyphenol interactions on beverage haze, stabilisation, and analysis. *J. Agric. Food Chem.* **1999**, *47*, 353-362.
- [32] Cowan, M. M. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin. Microbiol. Rev.* **1999**, *12*, 564-582.
- [33] Scalbert, A. Antimicrobial Properties of Tannins. *Phytochemistry* **1991**, *30*, 3875-3883.
- [34] Wright, J. S.; Johnson, E. R.; DiLabio, G. A. Predicting the Activity of Phenolic Antioxidants: Theoretical Method, Analysis of Substituent Effects, and Application to Major Families of Antioxidants. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 1173-1183.
- [35] Hagerman, A. E.; Butler, L. G. The specificity of pro-anthocyanidin-protein interactions. *J. Biol. Chem.* **1981**, *256*, 4494-4497.
- [36] Bate-Smith, E.C. Flavonoid compounds in foods. *Adv. Food Res.*, **1954**, *5*, 261-300.
- [37] Bennick A. Interaction of Plant Polyphenols with Salivary Proteins. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* **2002**, *13*, 184-196.
- [38] Obreque-Slier, E.; López-Solís, R.; Peña-Neira, A.; Zamora-Marín, F. Tannin-protein interaction is more closely associated with astringency than tannin-protein precipitation : experience with two oenological tannins and gelatin. *Int. J. Food Sci. Tech.* **2010**, *45*, 2629-2636.
- [39] Haslam, E. Polyphenol-Protein Interactions. *Biochem. J.* **1974**, *139*, 285-288.
- [40] Sarni-Manchado, P.; Cheynier, V.; Moutounet M. Interactions of grape seed tannins with salivary proteins. *J. Agric. Food Chem.* **1999**, *47*, 42-47.
- [41] Gawel, R. Red wine astringency : a review. *Aust. J. Grape Wine Res.* **1998**, *4*, 74-95.

-
- [42] Luck, G.; Liao, H.; Murray, N.J.; Grimmer, H.R.; Warminski, E.E.; Williamson, M.P. Polyphenols, astringency and proline-rich proteins. *Phytochemistry* **1994**, *37*, 357-371.
- [43] Okuda, T.; Yoshida, T.; Hatano, T.; Ito, H. Ellagitannins renewed the concept of tannins. In *Chemistry and biology of ellagitannins. An understanding class of bioactive plant polyphenols*. Ed. Quideau, S., World Scientific, Singapore, **2009**, 1-54.
- [44] Okuda, T.; Yoshida, T.; Hatano, T. Ellagitannins as active constituents of medicinal plants. *Planta Medica* **1989**, *55*, 117-122.
- [45] Okuda, T. Novel Aspects of Tannins – Renewed Concepts and Structure-Activity Relationships. *Curr. Org. Chem.* **1999**, *3*, 609-622.
- [46] Dangles, O. Antioxidant Activity of Plant Phenols : Chemical Mechanisms and Biological Significance. *Curr. Org. Chem.* **2012**, *16*, 692-714.
- [47] Dreosti, I. E. Antioxydant polyphenols in tea, cocoa, and wine. *Nutrition* **2000**, *16*, 692-694.
- [48] Richelle, M.; Tavazzi, I.; Offord, E. Comparison of the Antioxidant Activity of Commonly Consumed Polyphenolic Beverages (Coffee, Cocoa, and Tea) Prepared per Cup Serving. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 3438-3442.
- [49] Renaud, S. C.; Guéguen, R.; Siest, G.; Salamon, R. Wine, Beer, and Mortality in Middle-aged Men from Eastern France. *Arch. Intern. Med.* **1999**, *159*, 1865-1870.
- [50] Tomera, J. F. Current knowledge of the health benefits and disadvantages of wine consumption. *Trends Food Sci. Tech.* **1999**, *10*, 129-138.
- [51] Dudley, J. I.; Lekli, I.; Mukherjee, S.; Das, M.; Bertelli, A. A. A.; Das, D. K. Does White Wine Quality for French Paradox ? Comparison of the Cardioprotective Effects of Red and White Wines and Their Constituents : Resveratrol, Tyrosol, and Hydroxytyrosol. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 9362-9373.
- [52] Okuda, T.; Seno, K. Tannins of leaf of *Mallotus japonicus*. *J. Chem. Soc. Jp.* **1981**, 671-677.
- [53] Schmidt, O. T.; Schmidt, D. T. Über das Vorkommen von Corilagin in Myrobalanen XV. Mitteilung über natürliche Gerbstoffe. *Liebigs Ann. Chem.* **1952**, *578*, 31-33.
- [54] Okuda, T.; Yoshida, T.; Hatano, T.; Ito, H. Ellagitannins Renewed the Concept of Tannins. In *Chemistry and Biology of Ellagitannins – An understanding Class of Bioactive Plant Polyphenols*. Quideau, S., Ed.; World Scientific Publishing : Singapore, **2009**, Chapter 1, pp. 1-54

-
- [55] Michel, J.; Jourdes, M.; Silva, M. A.; Giodanengo, T.; Mourey, N.; Teissedre, J.-L. Impact of Concentration of Ellagitannins in Oak Wood on Their Levels and Organoleptic Influence in Red Wine. *J. Agric. Food Chem.* **2011**, *59*, 5677-5683.
- [56] Boidron, J.N.; Chatonnet, P.; Pons, M. Influence du bois sur certaines substances odorantes des vins. *Cannais. Vigne Vin* **1988**, *22*, 275-294.
- [57] Masson, G.; Puech, J.-L.; Moutounet, M. : Localization of the ellagitannins in the tissues of *Quercus robur* and *Quercus petraea* woods. *Phytochemistry* **1994**, *37*, 1245-1249.
- [58] Masson, G.; Puech, J.-L.; Moutounet, M. Composition chimique du bois de chêne de tonnellerie. *Bull. O.I.V.* **1996**, 634-657.
- [59] Scalbert, A.; Monties, B.; Janin, G. Tannins in Wood: Comparison of Different Estimation Methods. *J. Agric. Food Chem.* **1989**, *37*, 1324-1329.
- [60] Bate-Smith E. C. Detection and Determination of Ellagitannins. *Phytochemistry* **1972**, *11*, 1153-1156.
- [61] Moutounet, M.; Rabier, P.; Puech, J.-L.; Verette, E.; Barillère, J.-M. Analysis by HPLC of Extractable Substances in Oak Wood. Application to a Chardonnay Wine. *Sci. Aliment.* **1989**, *9*, 35-51.
- [62] Vivas, N.; Glories, Y.; Bourgeois, G.; Vitry, C. Les ellagitannins de bois de cœur de différentes espèces de chênes (*Quercus sp.*) et de châtaignier (*Castanea sativa* Mill.). Dosage dans les vins rouges élevés en barriques. *J. Sci. Tech. Tonnellerie* **1996**, *2*, 25-49.
- [63] Mayer, W.; Seitz, H.; Jochims, J.C. Struktur des Castalagins. *Liebigs Ann. Chem.* **1969**, *721*, 186-194.
- [64] Nonaka, G.; Ishimaru, K.; Azuma, R.; Ishimatsu, M.; Nishioka, I. Tannins and Related Compounds. LXXXV. Structures of Novel C-Glycosidic Ellagitannins, Grandinin and Pterocarbinins A and B. *Chem. Pharm. Bull.* **1989**, *37*, 2071-2077.
- [65] Hervé du Penhoat, C. L. M.; Michon, V. M. F.; Peng, S.; Viriot, C.; Scalbert, A.; Gage, D. Structural elucidation of new dimeric ellagitannins from *Quercus robur* L. Roburins A- E. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1991**, 1653-1660.
- [66] Hervé du Penhoat, C. L. M.; Michon, V. M. F.; Ohassan, A.; Peng, S.; Scalbert, A.; Gage, D. Roburin A, a dimeric ellagitannin from heartwood of *Quercus robur*. *Phytochemistry* **1991**, *30*, 329-332.
- [67] Doussot, F.; De Jéso, B.; Quideau, S.; Pardon, P. Extractives Content in Cooperage Oak Wood during natural Seasoning and Toasting; Influence of tree Species, Geographic Location, and Single-Tree Effects. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 5955-5961.

-
- [68] Cadahía, E.; Varea, S.; Muñoz, L.; Fernández de Simón, B.; García-Vallejo, M. C. Evolution of Ellagitannins in Spanish, French, and American Oak Woods during Natural Seasoning and Toasting. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 3677-3684.
- [69] Alañon, M.E.; Castro-Vázquez, L.; Díaz-Maroto, M.C.; Gordon, M.H.; Pérez-Coello, M.S. A study of the antioxidant capacity of oak wood used in wine ageing and the correlation with polyphenol composition. *Food Chem.* **2011**, *128*, 997-1002.
- [70] Cabanis, J.C.; Cabanis, M.T.; Cheynier, V.; Teissedre, P.-L. Table de composition. In *Œnologie : Fondements Scientifiques et Technologiques*. Flanzky, C., Ed.; Tech & Doc-Lavoisier : Paris, **1998**, Chapter , pp 321-331.
- [71] Bourzeix, M.; Weyland, D.; Heredia, H. Etude des catéchines et des procyanidols de la grappe de raisin, du vin et d'autres dérivés de la vigne. *Bull. de l'O.I.V.* **1986**, *59*, 1171-1254.
- [72] Dumon, M.C.; Michaud, J.; Masquelier, J. Dosage des procyanidols des pépins de raisin de cépages rouges et blancs du Bordelais. *Bull. de l'O.I.V.* **1991**, *64*, 533-542.
- [73] Souquet, J.-M.; Cheynier, V.; Brossaud, F.; Moutounet, M.; Polymeric Proanthocyanidins from Grape Skins. *Phytochemistry*, **1996**, *43*, 509-512.
- [74] Prieur, C.; Rigaud, J.; Cheynier, V.; Moutounet, M. Oligomeric and Polymeric Procyanidins from Grape Seeds. *Phytochemistry* **1994**, *36*, 781-784.
- [75] Monagas, M.; Gomez-Cordoves, C.; Bartolome, B.; Laureano, O.; Ricardo Da Silva, J. Monomeric, oligomeric, and polymeric flavan-3-ol composition of wines and grapes from *Vitis vinifera* L. Cv. Graciano, Tempranillo, and cabernet Sauvignon. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 6475-6481.
- [76] Obreque-Slier, E.; Pena-Neira, A.; Lopez-Solis, R.; Zamora-Marin, F.; Ricardo Da Silva, J.; Laureano, O. Comparative study of the phenolic composition of seeds and skins from Carmenere and Cabernet Sauvignon grape varieties (*Vitis vinifera* L.) during ripening. *J. Agric. Food Chem.* **2010**, *58*, 3591-3599.
- [77] Escribano-Bailón, T.; Gutiérrez-Fernández, Y.; Rivas-Gonzalo, J.; Santos-Buelga, C. Characterization of Procyanidins of *Vitis vinifera* Variety Tinta del País Grape Seeds. *J. Agric. Food Chem.* **1992**, *40*, 1794-1799.
- [78] Fuleki, T.; Da Silva, R. M. J. Catechin and Procyanidin Composition of Seeds from Grape Cultivars Grown in Ontario. *J. Agric. Food Chem.* **1997**, *45*, 1156-1160.
- [79] Shi, J.; Yu, J.; Pohorly, J. E.; Kakuda, Y. Polyphenols in Grape Seeds – Biochemistry and Functionality. *J. Med. Food* **2003**, *6*, 291-299.

-
- [80] Chira, K.; Schmauch, G.; Saucier, C.; Fabre, S.; Teissedre, P.-L. Grape Variety Effect on Proanthocyanidin Composition and Sensory Perception of Skin and Seed Tannin Extracts from Bordeaux Wine Grapes (Cabernet Sauvignon and Merlot) for Two Consecutive Vintages (2006 and 2007). *J. Agric. Food Chem.* **2009**, *57*, 454-553.
- [81] Ebeler, S.E.; Thorngate, J. H. Wine Chemistry and Flavor: Looking into the Crystal Glass. *J. Agric. Food Chem.* **2009**, *57*, 8098-8108.
- [82] Marais, J. Terpenes in the Aroma of Grapes and Wines: A Review. *S. Afr. J. Enol. Vitic.* **1983**, *4*, 49-58.
- [83] Buttery, R. G.; Seifert, R. M.; Guadagni, D. G.; Ling, L. C. Characterization of Some Volatile Constituents of Bell Peppers. *J. Agric. Food Chem.* **1969**, *17*, 1322-1327.
- [84] Lacey, M. J.; Allen, M. S.; Harris, R. L. N.; Brown, W. V. Methoxypyrazines in Sauvignon blanc Grapes and Wines. *Am. J. Enol. Vitic.* **1991**, *42*, 103-108.
- [85] Roujou de Boube, D.; Van Leeuwen, C.; Dubourdieu, D. Organoleptic Impact of 2-Methoxy-3-isobutylpyrazine on Red Bordeaux and Loire Wines. Effect of Environmental Conditions on Concentrations in Grapes during Ripening. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 4830-4834.
- [86] Sefton, M. A.; Skouroumounis, G. K.; Elsey, G. M.; Taylor, D. K. Occurrence, Sensory Impact, Formation, and Fate of Damascenone in Grapes, Wines, and Other Foods and Beverages. *J. Agric. Food Chem.* **2011**, *59*, 9717-9746.
- [87] Roland, A.; Schneider, R.; Razungles, A.; Cavelier, F. Varietal Thiols in Wine: Discovery, Analysis and Applications. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 7355-7376.
- [88] Coetzee, C.; du Toit, W. J. A comprehensive review on Sauvignon blanc aroma with focus on certain positive volatile thiols. *Food Res. Int.* **2012**, *45*, 287-298.
- [89] Tominaga, T.; Baltenweck-Guyot, R.; Peyrot des Gachons, C.; Dubourdieu, D. Contribution of Volatile Thiols to the Aromas of White Wines Made From Several *Vitis vinifera* Grape Varieties. *Am. J. Enol. Vitic.* **2000**, *51*, 178-181.
- [90] Guth, H. Identification of Character Impact Odorants of Different White Wine Varieties. *J. Agric. Food Chem.* **1997**, *45*, 3022-3026.
- [91] Guth, H. Quantitation and Sensory Studies of Character Impact Odorants of Different White Wine Varieties. *J. Agric. Food Chem.* **1997**, *45*, 3027-3032.
- [92] Tominaga, T.; Murat, M. L.; Dubourdieu, D. Development of a Method for Analyzing the Volatile Thiols Involved in the Characteristic Aroma of Wines Made from *Vitis vinifera* L. Cv. Sauvignon blanc. *J. Agric. Food Chem.* **1998**, *46*, 1044-1048.

-
- [93] Tominaga, T.; Darriet, P.; Dubourdieu, D. Identification de l'acétate de 3-mercaptohexanol, composé à forte odeur de buis, intervenant dans l'arôme des vins de Sauvignon. *Vitis* **1996**, *35*, 207-210.
- [94] Tominaga, T.; Niclass, Y.; Frérot, E.; Dubourdieu, D. Stereoisomeric Distribution of 3-Mercaptohexan-1-ol and 3-Mercaptohexyl Acetate in Dry and Sweet White Wines Made from *Vitis vinifera* (var. Sauvignon Blanc and Semillon). *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 7251-7255.
- [95] Tominaga, T.; Furrer, A.; Henry, R.; Dubourdieu, D. Identification of new volatile thiols in the aroma of *Vitis vinifera* L. var. Sauvignonblanc wines. *Flavour Frag. J.* **1998**, *13*, 159-162.
- [96] Bouchilloux, P.; Darriet, P.; Dubourdieu, D. Identification d'un thiol fortement odorant, le 2-méthyl-3-furanthiol, dans les vins. *Vitis* **1998**, *37*, 177-180.
- [97] Tominaga, T.; Dubourdieu, D. A Novel Method for Quantification of 2-Methyl-3-furanthiol and 2-Furanmethanethiol in Wines Made from *Vitis vinifera* Grape Varieties. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 29-33.
- [98] Kotseridis, Y.; Baumes, R. Identification of Impact Odorants in Bordeaux Red Grape Juice, in the Commercial Yeast Used for Its Fermentation, and in the Produced Wine. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 400-406.
- [99] Tominaga, T.; Blanchard, L.; Darriet, P.; Dubourdieu, D. A Powerful Aromatic Volatile Thiol, 2-Furanmethanethiol, Exhibiting Roast Coffee Aroma in Wines Made from Several *Vitis vinifera* Grape Varieties. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 1799-1802.
- [100] Blanchard, L.; Tominaga, T.; Dubourdieu, D. Formation of Furfurylthiol Exhibiting a Strong Coffee Aroma during Oak Barrel Fermentation from Furfural by Toasted Staves. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 4833-4835.
- [101] Darriet, P.; Tominaga, T.; Lavigne, V.; Boidron, J. N.; Dubourdieu, D. Identification of a powerful aromatic component of *Vitis vinifera* L. var. Sauvignon wines: 4-Mercapto-4-méthylpentan-2-one. *Flavour Frag. J.* **1995**, *10*, 385-392.
- [102] Bouchilloux, P.; Darriet, P.; Henry, R.; Lavigne-Cruège, V.; Dubourdieu, D. Identification of Volatile and Powerful Odorous Thiols in Bordeaux red Wine Varieties. *J. Agric. Food Chem.* **1998**, *46*, 3095-3099.
- [103] Masson, G.; Schneider, R. Key Compounds of Provence Rosé Wine Flavor. *Am. J. Enol. Vitic.* **2009**, *60*, 116-122.
- [104] Murat, M.L.; Tominaga, T.; Dubourdieu, D. Mise en évidence de composés clefs dans l'arôme des vins rosés et clarets de Bordeaux. *J. Int. Sci. Vigne Vin* **2001**, *35*, 99-105.

-
- [105] Murat, M.L.; Masneuf, I.; Darriet, P.; Lavigne, V.; Tominaga, T.; Dubourdieu, D. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* Yeast Strains on the Liberation of Volatile Thiols in Sauvignon blanc Wine. *Am. J. Enol. Vitic.* **2001**, *52*, 136-139.
- [106] Tominaga, T.; Peyrot des Gachons, C.; Dubourdieu, D. A New Type of Flavor Precursors in *Vitis Vinifera* L. cv. Sauvignon Blanc: S-Cysteine Conjugates. *J. Agric. Food. Chem.* **1998**, *46*, 5215-5219.
- [107] Murat, M.L.; Tominaga, T.; Dubourdieu, D. Assessing the Aromatic Potential of Cabernet Sauvignon et Merlot Musts Used to Produce Rose Wine by Assessing the Cysteinylated Precursor of 3-Mercaptohexan-1-ol. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 5412-5417.
- [108] Wakabayashi, H.; Wakabayashi, M.; Eisenreich, W.; Engel, K.H. Stereochemical Course of the Generation of 3-Mercaptohexanal and 3-Mercaptohexanol by β -Lyase-Catalysed Cleavage of Cysteine Conjugates. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 110-116.
- [109] Schneider, R.; Charrier, F.; Razungles, A.; Baumes, R. Evidence for an alternative biogenetic pathway leading to 3-mercaptohexanol and 4-mercapto-4-methylpentan-2-one in wines. *Anal. Chim. Acta* **2006**, *563*, 58-64.
- [110] Subileau, M.; Schneider, R.; Salmon, J.M.; Degryse, E. New Insights on 3-Mercaptohexanol (3MH) Biogenesis in Sauvignon Blanc Wines: Cys-3MH and (E)-Hexen-2-al Are Not the Major Precursors. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 9230-9235.
- [111] Grant-Preece, P. A.; Pardon, K. H.; Capone, D. L.; Cordente, A. G.; Sefton, M. A.; Jeffery, D. W.; Elsey, G. M. Synthesis of Wine Thiol Conjugates and Labeled Analogues: Fermentation of the Glutathione Conjugate of 3-Mercaptohexan-1-ol Yields the Corresponding Cysteine Conjugate and Free Thiol. *J. Agric. Food Chem.* **2010**, *58*, 1383-1389.
- [112] Roland, A.; Schneider, R.; Le Guernevé, C.; Razungles, A.; Cavelier, F. Identification and quantification by LC-MS/MS of a new precursor of 3-mercaptohexan-1-ol (3MH) using stable isotope dilution assay: Elements for understanding the 3MH production in wine. *Food Chem.* **2010**, *121*, 847-855.
- [113] Roland, A.; Schneider, R.; Charrier, F.; Cavelier, F.; Rossignol, M.; Razungles, A. Distribution of varietal thiol precursors in the skin and the pulp of Melon B. and Sauvignon Blanc grapes. *Food Chem.* **2011**, *125*, 139-144.
- [114] Roland, A.; Vialaret, J.; Moniatte, M.; Rigou, P.; Razungles, A.; Schneider, R. Validation of a nonliquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the identification and the accurate quantification by isotopic dilution of glutathionylated and cysteinylylated precursors of 3-mercaptohexan-1-ol and 4-mercapto-4-methylpenatn-2-one in white grape juices. *J. Chromatogr. A* **2010**, *1217*, 1626-1635.

-
- [115] Capone, D. L.; Sefton, M. A.; Hayasaka, Y.; Jeffery, D. W. Analysis of Precursors to Wine Odorant 3-Mercaptohexan-1-ol Using HPLC-MS/MS: Resolution and Quantification of Diastereoisomers of 3-S-Cysteinylhexan-1-ol and 3-S- Glutathionylhexan-1-ol. *J. Agric. Food Chem.* **2010**, *58*, 1390-1395.
- [116] Peyrot des Gachons, C.; Tominaga, T.; Dubourdieu, D. Localization of S-Cysteine Conjugates in the Berry: Affect of Skin Contact on Aromatic Potential of *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon blanc Must. *Am. J. Enol. Vitic.* **2002**, *53*, 144-146.
- [117] Ugliano, M.; Kwiatkowski, M.; Vidal, S.; Capone, D.; Siebert, T.; Dieval, J.B.; Aagaard, O.; Waters, E. J. Evolution of 3-Mercaptohexanol, Hydrogen Sulfide, and Methyl Mercaptan during Bottle Storage of Sauvignon blanc Wines. Effect of Glutathione, Copper, Oxygen Exposure, and Closure-Derived Oxygen. *J. Agric. Food Chem.* **2011**, *59*, 2564-2572.
- [118] Kobayashi, H.; Takase, H.; Kaneko, K.; Tanzawa, F.; Takata, R.; Suzuki, S.; Konno, T. Analysis of S-3-(Hexan-1-ol)-Glutathione and S-3-(Hexan-1-ol)-L-Cysteine in *Vitis vinifera* L. cv. Koshu for Aromatic Wines. *Am. J. Enol. Vitic.* **2010**, *61*, 176-185.
- [119] Thibon, C.; Cluzet, S.; Merillon, J. M.; Darriet, P.; Dubourdieu, D. 3-Sulfanylhexanol Precursor Biogenesis in Grapevine Cells: The Stimulating Effect of *Botrytis cinerea*. *J. Agric. Food Chem.* **2011**, *59*, 1344-1351.
- [120] Roland, A.; Vialaret, J.; Razungles, A.; Rigou, P.; Schneider, R. Evolution of S-Cysteinylated and S-Glutathionylated Thiol Precursors during Oxidation of Melon B. and Sauvignon blanc Musts. *J. Agric. Food Chem.* **2010**, *58*, 4406-4413.
- [121] Thibon, C.; Dubourdieu, D.; Darriet, P.; Tominaga, T. Impact of noble rot on the aroma precursor of 3-sulfanylhexanol content in *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon blanc and Semillon grape juice. *Food Chem.* **2009**, *114*, 1359-1364.
- [122] Thibon, C.; Shinkaruk, S.; Tominaga, T.; Bennetau, B.; Dubourdieu, D. Analysis of the diastereoisomers of the cysteinylated aroma precursor of 3-sulfanylhexanol in *Vitis vinifera* grape must by gas chromatography coupled with ion trap tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* **2008**, *1183*, 150-157.
- [123] Swiegers, J. H.; Capone, D. L.; Pardon, K. H.; Elsey, G. M.; Sefton, M. A.; Francis, I. L.; Pretorius, I. S. Engineering volatile thiol release in *Saccharomyces cerevisiae* for improved wine aroma. *Yeast* **2007**, *24*, 561-574.
- [124] Peyrot des Gachons, C.; Tominaga, T.; Dubourdieu, D. Measuring the Aromatic Potential of *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon Blanc Grapes by Assaying S-Cysteine Conjugates, Precursors of the Volatile Thiols Responsible for Their Varietal Aroma. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 3387-3391.

-
- [125] Boidron, J.M.; Chatonnet, M.; Pons, M. Influence du bois sur certaines substances odorantes des vins. *Conn. Vigne Vin* **1988**, *22*, 275-294.
- [126] Cerdan, T.G.; Mozaz, S. R.; Azpilicueta, C. A. Volatile composition of aged wine in used barrels of French oak and of American oak. *Food Res. Int.* **2002**, *35*, 603-610.
- [127] Jarauta, I.; Cacho, J.; Ferreira, V. Concurrent Phenomena Contributing to the Formation of the Aroma of Wine during Aging in Oak Wood: An Analytical Study. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 4166-4177.
- [128] Del Carmen Llaudy, M.; Canals, R.; Gonzalez-Manzano, S.; Canal, J. M.; Santos-Buelga, C.; Zamora, F. Influence of Micro-Oxygenation Treatment before Oak Aging on Phenolic Compounds Composition, Astringency, and Color of Red Wine. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 4246-4252.
- [129] Sioumis, N.; Kallithraka, S.; Tsoutsouras, E.; Makris, D. P.; Kefalas, P. Browning development in white wines : dependence on compositional parameters and impact on antioxidant characteristics. *Eur. Food Res. Technol.* **2005**, *220*, 326-330.
- [130] Atanasova, V.; Fulcrand, H.; Cheynier, V.; Moutounet, M. Effect of oxygenation on polyphenol changes occurring in the course of wine-making. *Anal. Chim. Acta* **2002**, *458*, 15-27.
- [131] Escudero, A.; Asensio, E.; Cacho, J.; Ferreira, V. Sensory and chemical changes of young white wines stored under oxygen. An assessment of the role played by aldehydes and some other important odorants. *Food Chem.* **2002**, *77*, 325-331.
- [132] Ferreira, V.; Escudero, A.; Fernandez, P.; Cacho, J. F. Changes in the profile of volatile compound in wines stored under oxygen and their relationship with the browning process. *Z. Lebensm Unters Forsch A* **1997**, *205*, 392-396.
- [133] Simpson, R. F. Aroma and compositional changes in wine with oxidation, storage and ageing. *Vitis* **1978**, *17*, 274-287.
- [134] De Beer, D.; Joubert, J.; Marais, J.; Manley, M. Effect of Oxygenation During Maturation on Phenolic Composition, Total Antioxidant capacity, Colour and Sensory Quality of Pinotage Wine. *S. Afr. J. Enol. Vitic.* **2008**, *29*, 13-25.
- [135] Castellari, M.; Matricardi, L.; Arfelli, G.; Galassi, S.; Amati, A. Level of single bioactive phenolics in red wine as a function of the oxygen supplied during storage. *Food Chem.* **2000**, *69*, 61-67.
- [136] Pons, A.; Lavigne, V.; Landais, Y.; Darriet, P.; Dubourdieu, D. Distribution and Organoleptic Impact of Sotolon Enantiomers in Dry White Wines.

-
- [137] Silva Ferreira, A. C. ; Guedes de Pinho, P.; Rodrigues, P.; Hogg, T. Kinetics of Oxidative Degradation of White Wines and How They Are Affected by Selected Technological Parameters. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 5919-5924.
- [138] Lopes, P.; Silve, M. A.; Pons, A.; Tominaga, T.; Lavigne, V.; Saucier, C.; Darriet, P.; Teissedre, P.-L.; Dubourdieu, D. Impact of Oxygen Dissolved at Bottling and Transmitted through Closures on the Composition and Sensory Properties of a Sauvignon Blanc Wine during Bottle Storage. *J. Agric. Food Chem.* **2009**, *57*, 10261-10270.
- [139] Lopes, P.; Saucier, C.; Teissedre, P.-L.; Glories, Y. Main Routes of Oxygen Ingress through Different Closures into Wine Bottles. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 5167-5170.
- [140] Singleton, V. L. Oxygen with Phenols and Related Reactions in Musts, Wines, and Models Systems : Observations and Practical Implications. *Am. J. Enol. Vitic.* **1987**, *38*, 69-77.
- [141] Cren-Olivé, C.; Hapiot, P.; Pinson, J.; Rolando, C. Free Radical Chemistry of Flavan-3-ols : Determination of Thermodynamic Parameters and of Kinetic Reactivity from Short (ns) to Long (ms) Time Scale. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 14027-14038.
- [142] Kim, H.-s.; Chund, T.D.; Kim, H. Voltametric determination of the pKa of various acids in polar aprotic solvents using 1,4-benzoquinone. *J. Electroanal. Chem.* **2001**, *498*, 209-215.
- [143] Perron, N. R.; Brumaghim, J. L. A Review of the Antioxidant Mechanisms of Polyphenol Compounds Related to Iron Binding. *Cell. Biochem. Biophys.* **2009**, *53*, 75-100.
- [144] Cheynier, V.; Fulcrand, H. Oxydation des polyphénols dans les moûts et les vins. In *Œnologie – Fondements scientifiques et technologiques*. Flanzy, C. Ed; Lavoisier Technique et Documentation : Paris, **1998**, Chapter 13, pp. 581-596.
- [145] Quideau, S.; Pouységu, L.; Deffieux, D. Chemical and Electrochemical Oxidative Activation of Arenol Derivatives for Carbon-Carbon Bond Formation. *Curr. Org. Chem.* **2004**, *8*, 113-148.
- [146] Oliveira, C. M.; Silva Ferreira, A. C.; De Freitas, V.; Silva, A. M. S. Oxidation mechanisms occurring in wines. *Food Res. Int.* **2011**, *44*, 1115-1126.
- [147] Waterhouse, A. L.; Laurie, V. F. Oxidation of Wine Phenolics : A Critical Evaluation and Hypotheses. *Am. J. Enol. Vitic.* **2006**, *57*, 306-313.
- [148] Teissedre, P.-L. Oxygène et composés phénoliques : de la barrique aux copeaux. *Biofutur* **2008**, *294*, 40-43.
- [149] Vivas, N. Modélisation et calcul du bilan des apports d'oxygène au cours de l'élevage des vins rouges. III- Interprétation des bilans et maîtrise des apports d'oxygène. *Progr. Agri. Vitic.* **116**, 16-18.

-
- [150] Moutounet, M. Vidal, J.C. La mesure de l'oxygène dissous au chai : nouveau critère de l'assurance qualité ? *L'innovation en viticulture/œnologie* **2005**, 51-54.
- [151] Li, H.; Guo, A.; Wang, H. Mechanisms of oxidative browning of wine. *Food Chem.* **2008**, *108*, 1-13.
- [152] Robards, K.; Prenzler, P. D.; Tucker, G.; Swatsitang, P.; Glover, W. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chem.* **1999**, *66*, 401-436.
- [153] Cheynier, V. F.; Trousdale, E. K.; Singleton, V. L.; Salgues, M. J.; Wylde, R. Characterization of 2-S-glutathioylcaftaric acid and its hydrolysis in relation to grape wines. *J. Agric. Food Chem.* **1986**, *34*, 217-221.
- [154] Cheynier, V.; Basire, N.; Rigaud, J. Mechanism of *trans*-Caffeoyltartaric Acid and Catechin Oxidation in Model Solutions Containing Grape Polyphenoloxidase. *J. Agric. Food Chem.* **1989**, *37*, 1069-1071.
- [155] Cheynier, V.; Osse, C.; Rigaud, J. Oxidation of grape juice phenolic compounds in model solution. *J. Food Sci.* **1988**, *53*, 1729-1732.
- [156] Fernández-Zurbano, P.; Ferreira, V.; Peña, C.; Escudero, A.; Serrano, F.; Cacho, J. Prediction of Oxidative Browning in Wine Wines as a Function of Their Chemical Composition. *J. Agric. Food Chem.* **1995**, *43*, 2813-2817.
- [157] Cheynier, V.; Rigaud, J.; Souquet, J.-M.; Duprat, F.; Moutounet, M. Must Browning in Relation to the Behavior of Phenolic Compounds During Oxidation. *Am. J. Enol. Vitic.* **1990**, *41*, 346-349.
- [158] Saucier, C. T.; Waterhouse, A. Synergetic Activity of Catechin and other Antioxidants. *J. Agric. Food Chem.* **1999**, *47*, 4491-4494.
- [159] Lasanta, C.; Caro, I.; Pérez, L. Theoretical model for iron exchange of iron (III) in chelating resins : Application to metal ion removal from wine. *Chem. Eng. Sci.* **2005**, *60*, 3477-3486.
- [160] Choe, E.; Min, D. B. Chemistry and Reactions of Reactive Oxygen Species in Foods. *J. Food Sci.* **2005**, *70*, 142-159.
- [161] Gardes-Albert, M.; Bonnefont-Rousselot, D.; Abedinzadeh, Z.; Jore, D. Espèces réactives de l'oxygène. Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? *Actualité chimique.* **2003**, *Nov-Dec*, 91-96.
- [162] Danilewicz, J. C. Review of Reaction Mechanisms of Oxygen and Proposed Intermediate reduction Products in Wine : Central Role of Iron and Copper. *Am. J. Enol. Vitic.* **2003**, *54*, 73-85.

-
- [163] Fenton, H. J. H. Oxidation of tartaric acid in the presence iron. *J. Chem. Soc.* **1894**, 75, 1-11.
- [164] Haber, F.; Weiss, J. J. The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by iron salts. *Proc. R. Soc. London* **1934**, 147, 332-351.
- [165] Babuponnusami, A.; Muthukumar, K. Advanced oxidation of phenol: A comparison between Fenton, electro-Fenton, sono-electro-Fenton and photo-electro-Fenton processes. *Chem. Eng. J.* **2012**, 183, 1-9.
- [166] Zazo, J. A.; Casas, J. A.; Mohedano, A. F.; Gilarranz, M. A.; Rodríguez, J. J. Chemical Pathway and Kinetics of Phenol Oxidation by Fenton's Reagent. *Environ. Sci. Technol.* **2005**, 39, 9295-9302.
- [167] Ricardo da Silva, J. M.; Darmon, N.; Fernandez, Y.; Mitjaliva, S. Oxygen Free Radical Scavenger Capacity in Aqueous Models of Different Procyanidins from Grape Seeds. *J. Agric. Food Chem.* **1991**, 39, 1549-1552.
- [168] Morata, A.; Calderón, F.; González, M.C.; Gómez-Cordovés, M.C.; Suárez, J.A. Formation of the highly stable pyranoanthocyanins (vitisins A and B) in red wines by the addition of pyruvic acid and acetaldehyde. *Food Chem.* **2007**, 100, 1144-1152.
- [169] Fulcrand, H.; Benabdeljalil, C.; Rigaud, J.; Cheynier, V.; Moutounet, M. A New Class Of Wine Pigments Generated by Reaction Between Pyruvic Acid and Grape Anthocyanins. *Phytochemistry* **1998**, 47, 1401_1407.
- [170] Bakker, J.; Bridle, P.; Honda, T.; Kuwano, H.; Saito, N.; Terahara, N.; Timberlake, C. F. Identification of an anthocyanin occurring in some red wines. *Phytochemistry* **1997**, 44, 1375-1382.
- [171] Bakker, J.; Timberlake, C. F. Isolation, Identification and Characterization of New Color-Stable Anthocyanins Occurring in Some Red Wines. *J. Agric. Food Chem.* **1997**, 45, 35-43.
- [172] Sarni-Manchado, P.; Fulcrand, H.; Souquet, J.-M.; Cheynier, V.; Moutounet, M. Stability and Color of Unreported Wine Anthocyanin-derived Pigments. *J. Food. Sci.* **1996**, 61, 938-941.
- [173] Es-Safi, N.-E.; Le Guernevé, C.; Cheynier, V.; Moutounet, M. New Phenolic Compounds Formed by Evolution of (+)-Catechin and Glyoxylic acid in Hydroalcoholic Solution and Their Implication in Color Changes of Grape-Derived Foods. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, 48, 4233-4240.
- [174] Fulcrand, H.; Duenas, M.; Salas, E.; Cheynier, V. Phenolic reactions during winemaking and aging. *Am. J. Enol. Vitic.* **2006**, 57, 289-297.

-
- [175] Rivas-Gonzalo, J. C.; Bravo-Haro, S.; Santos-Buelga, C. Detection of Compounds Formed through the Reaction of Malvidin 3-Monoglucoside and Catechin in the Presence of Acetaldehyde. *J. Agric. Food Chem.* **1995**, *43*, 1444-1449.
- [176] Tao, J.; Dykes, S. I.; Kilmartin, P. A. Effect of SO₂ Concentration on Polyphénol Development during Red Wine Micro-oxygenation. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 6104-6109.
- [177] Spagna, G.; Barbagallo, R. N.; Pifferi, P. G. Fining Treatments of White Wines by Means of Polymeric Adjuvants for Their Stabilization against Browning. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 4619-4627.
- [178] Bradshaw, M. P.; Prenzler, P. D.; Scollary, G. R. Ascorbic Acid-Induced Browning of (+)-Catechin In a Model Wine System. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 934-939.
- [179] Ribéreau-Gayon, P.; Dubourdieu, D.; Donèche, B.; Lonvaud, A. The microbiology of wine and vinifications. In *Handbook of enology* (2nd ed.). Ed; John Wiley and Sons Ltd : Chichester, England, **2006**, vol.1.
- [180] Viriot, C.; Scalbert, A.; Hervé de Penhoat, C. L. M.; Moutounet, M. Ellagitannins in woods of sessile oak and sweet chesnut. Dimerization and hydrolysis during wood aging. *Phytochemistry* **1994**, *36*, 1253-1260.
- [181] Tanaka, T.; Ueda, N.; Shinohara, H.; Nonaka, G.I.; Fujioka, T.; Mihashi, K.; Kouno, I. C-glycosidic ellagitannin metabolites in the heartwood of japanese chesnut tree (*Castanea crenata* SIEB. et ZUCC.). *Chem. Pharm. Bull.* **1996**, *44*, 2236-2242.
- [182] Jourdes, M.; Lefeuvre, D.; Quideau, S. C-glycosidic ellagitannins and their influence on wine chemistry. In *Chemistry and Biology of Ellagitannins - An underestimated Class of Bioactive Plant Polyphenols*. Quideau, S., Ed; World Scientific Publishing: Singapore, **2009**, Chapter 9, pp. 320-365.
- [183] Jourdes, M.: Réactivité, synthèse, couleur et activité biologique d'ellagitannins C-glycosidiques et flavano-ellagitannins, Bordeaux 1, **2003**.
- [184] Vivas, N.; Laguerre, M.; Glories, Y.; Bourgeois, G.; Vitry, C. Structure simulation of two ellagitannins from *Quercus robur* L. *Phytochemistry*, **1995**, *39*, 1193-1199.
- [185] Karplus, M. Vicinal Proton Coupling in Nuclear Magnetic Resonance. *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 2870-2871.
- [186] Saucier, C.; Jourdes, M.; Glories, Y.; Quideau, S. Extraction, Detection, and Quantification of Flavano-Ellagitannins and Ethylvescalagin in Bordeaux Red Wine Aged in Oak Barrels. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 7349-7354.

-
- [187] Chassaing, S.; Lefeuvre, D.; Jacquet, R.; Jourdes, M.; Ducasse, L.; Galland, S.; Grelard, A.; Saucier, C.; Teissedre, P.-L.; Dangles, O.; Quideau, S. : Physicochemical studies of the new anthocyano-ellagitannins hybrid pigments : about the origin of the influence of oak C-glycosidic ellagitannins on wine color. *Eur. J. Org. Chem.*, **2010**, 55-63.
- [188] Nonaka, G. I.; Ishimaru, K.; Mihashi, K.; Iwase, Y.; Ageta, M.; Nishioka, I. : Tannins and related compounds. LXIII. Isolation and characterisation of mongolicains A and B, novel tannins from *Quercus* and *Castanopsis* species. *Chem. Pharm. Bull.* **1988**, *36*, 857-869.
- [189] Tanaka, T.; Ishida, N.; Ishimatsu, M.; Nonaka, G.; Nishioka, I. Tannins, and Related Compounds. CXVI. Six New Complex Tannins, Guajavins, Psidinins and Psiguavin from the Bark of *Psidium guajava* L. *Chem. Pharm. Bull.* **1992**, *40*, 2092-2098.
- [190] Yoshida, T.; Nakata, F.; Hosotani, K.; Nitta, A.; Okuda, T. Tannins, and Related Compounds. CXVI. Three New Complex Tannins from *Melastoma malabathricum* L. *Chem. Pharm. Bull.* **1992**, *40*, 1727-1732.
- [191] Han, L.; Hatano T.; Yoshida, T.; Okuda, T. : Tannins of Theaceous plants. V. Camelliatannins F, G and H, three new tannins from *Camellia japonica* L. *Chem. Pharm. Bull.* **1994**, *42*, 1399-1409.
- [192] Tanaka, T.; Ueda, N.; Shinohara, H.; Nonaka, G.; Kouno, I. Four New C-Glycosidic Ellagitannins, Castacrenins D-G, from Japanese Chestnut Wood (*Castanea crenata* Sieb. et Zucc.). *Chem. Pharm. Bull.* **1997**, *45*, 1751-1755.
- [193] Jiang, Z.-H.; Tanaka, T.; Kouno, I. Three Novel C-Glucosidic Ellagitannins, Rhoipteleans H, I, and J, from *Rhoiptelea chiliantha*. *J. Nat. Prod.* **1999**, *62*, 425-429.
- [194] Tanaka, T.; Ishida, N.; Ishimatsu, M.; Nonaka, G.; Nishioka, I. Tannins, and Related Compounds. CXVI. Six New Complex Tannins, Guajavins, Psidinins and Psiguavin from the Bark of *Psidium guajava* L. *Chem. Pharm. Bull.* **1992**, *40*, 2092-2098.
- [195] Lefeuvre, D.: Réactions de substitution nucléophile et d'oxydation des ellagitannins C-arylglycosidiques, Bordeaux 1, **2006**.
- [196] Ogata, Y.; Sawaki, Y.; Shiroyama, M. Oxidative Cleavage of α -Ketols and Related Ketones with Alkaline Hydrogen Peroxide. *J. Org. Chem.* **1977**, *42*, 4061-4066.
- [197] Scafato, P.; Colangelo, A.; Rosini, C. A New Efficient Enantioselective Synthesis of (+)-*cis*-2-Methyl-4-Propyl-1,3-Oxathiane, a Valuable Ingredient for the Aroma of Passion Fruit. *Chirality* **2009**, *21*, 176-182.
- [198] Dufour, C.; Bayonove, C. L. Interaction between Wine Polyphenols and Aroma Substances. An Insight at the Molecular Level. *J. Agric. Food Chem.* **1999**, *47*, 678-684.

-
- [199] Laurie, F. V.; Zuniga, M.; Carrasco-Sanchez, V.; Santos, L. S.; Canete, A.; Olea-Azar, C.; Ugliano, M.; Agosin, E. Reactivity of 3-sulfanyl-1-hexanol and catechol-containing phenolics *in vitro*. *Food Chem.* **2012**, *131*, 1510-1516.
- [200] Nikolantonaki, M.; Waterhouse, A. L. A method to quantify quinone reaction rates with wine relevant nucleophiles : a key to the understanding of oxidative loss of varietal thiols. *J. Agric. Food Chem.* **2012**, *60*, 8484-8491.
- [201] Nikolantonaki, M.; Jourdes, M.; Shinoda, K.; Teissedre, P.-L.; Quideau, S.; Darriet, P. Identification of Adducts between Odoriferous Volatile Thiol and Oxidized Grape Phenolic Compounds : Kinetics Study of Adducts Formation under Chemical and Enzymatic Oxidation Conditions. *J. Agric. Food Chem.* **2012**, *60*, 2647-2656.
- [202] Nikolantonaki, M.; Chichuc, I.; Teissedre, P.-L.; Darriet, P. Reactivity of volatile thiols with polyphenols in wine-model medium : Impact of oxygen, iron, and sulfure dioxide. *Anal. Chim. Acta* **2010**, *660*, 102-109.
- [203] Fujimoto, A.; Masuda, T. Chemical Interaction between Polyphenols and a Cysteiny Thiol under Radical Oxidation Conditions. *J. Agric. Food Chem.* **2012**, *60*, 5142-5151.
- [204] Oszmianski, J.; Cheynier, V.; Moutounet, M. Iron-Catalyzed Oxidation of (+)-Catechin in Model Systems. *J. Agric. Food Chem.* **1996**, *44*, 1712-1715.
- [205] Abakumov, G. A.; Vavilina, N. N.; Kurskii, Y. A.; Nevodchikov, V. I.; Cherkasov, V. K.; Shavyrin, A. S. The formation and thermal decomposition of 4-hydroperoxy-2-hydroxy-3,4,6-triisopropylcyclohexa-2,5-dienone. *Russ Chem. Bull. Int. Ed.* **2003**, *52*, 1847-1853.
- [206] Li, G.; Zhang, H.; Sader, F.; Vadhavkar, N.; Njus, D. Oxidation of 4-Methylcatechol : Implications for the oxidation of Catecholamines. *Biochem.* **2007**, *46*, 6978-6983.
- [207] Khokhar, S.; Owusu Apenten, R. K. Iron binding characteristics of phenolic compounds : some tentative structure-activity relations. *Food Chem.* **2003**, *81*, 133-140.
- [208] Pouységu, L.; Sylla, T.; Garnier, T.; Rojas, L. B.; Charris, J.; Deffieux, D.; Quideau, S. Hypervalent iodine-mediated oxygenative phenol dearomatization reactions. *Tetrahedron* **2010**, *66*, 5908-5917.
- [209] Teissedre, P.-L. Oxygène et composés phénoliques : de la barrique aux copeaux. *Biofutur* **2008**, *294*, 40-43.
- [210] Duckworth, H. W.; Coleman, J. E. Physicochemical and Kinetic Properties of Mushroom Tyrosinase. *J. Biol. Chem.* **1970**, *7*, 1613-1625.

-
- [211] Sánchez-Ferrer, A.; Rodríguez-López, J. N.; García-Cánovas, F.; García-Carmona, F. Tyrosinase : a comprehensive review of its mechanism. *Biochim. Biophys. Acta* **1995**, *1247*, 1-11.
- [212] Rodríguez-López, J. N.; Lorena, F. G.; Peñalver, M. J.; García-Ruiz, P. A.; Varón, R.; Martínez-Ortíz, F.; García-Cánovas, F.; Tudela, J. Tyrosinase action on monophenols : evidence for direct enzymatic release of o-diphenol. *Biochim. Biophys. Acta* **2001**, *1548*, 238-256.
- [213] Janse van Rensburg, W.; Ferreira, D.; Malan, E.; Steenkamp, J. A. Tyrosinase catalysed biphenyl construction from flavan-3-ol substrates. *Phytochemistry* **2000**, *53*, 285-292.
- [214] Quideau, S.; Feldman, K. S.; Appel, H. M. Chemistry of Galloyl-Derived *o*-Quinones : Reactivity toward Nucleophiles. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 4982-4983.
- [215] Gottlieb, H. E.; Kotlyar, V.; Nudelman, A. NMR Chemical Shifts of Common Laboratory Solvents as Trace impurities. *J. Org. Chem.*, **1997**, *62*, 7512-7515.

Résumé : Le vin est un milieu complexe qui évolue tout au long des étapes de vinification. Pour mieux appréhender ses qualités et ses défauts, de nombreuses équipes de recherche s'intéressent à la compréhension de la chimie du vin. Dans ce contexte, le sujet de ce mémoire concerne l'étude de l'évolution chimique de certaines molécules polyphénoliques du vin sous conditions oxydantes et/ou acides, afin d'isoler et de caractériser de nouveaux composés susceptibles de se former dans le vin. Deux aspects sont examinés. Le premier concerne l'oxydation de deux flavano-ellagitannins, les acutissimines A et B, formées à partir d'un monomère de tannins condensés, la catéchine, et d'un ellagitannin C-glucosidique, la vescalagine, extraite du bois de chêne par le vin lors de l'élevage en barrique. Cette étude a permis d'isoler les mongolicaines A et B et deux analogues du camelliatannin G et de mettre en évidence leur formation par un mécanisme d'autoxydation. Le deuxième aspect concerne l'évaluation des conséquences de la présence de certains polyphénols dans le vin sur les composés thiolés odorants. Leur comportement et leur réactivité chimiques sont décrits dans des milieux différents, avec l'hémisynthèse de thio-ellagitannins sous conditions acides, et la formation d'adduits thio-catéchols et thio-pyrogallols sous conditions oxydantes, transformations chimiques pouvant occasionner la perte des odeurs et arômes du vin dus aux composés thiolés odorants.

Mots-clés : vin, oxydation, polyphénols, thiols odorants, flavanols, ellagitannins.

Title : Reactivity of Wine Polyphenols under Oxidative Conditions – Hemisynthesis of Mongolicains and Adducts between Polyphenols and Odorous Thiols.

Abstract : The wine is a complex medium that evolves throughout the different stages of the wine making process. To understand both the qualities and defects of wine, numerous research team worldwide investigate the chemistry of wine. In this context, the subject of this thesis concerns the study of the chemical evolution of some wine polyphenolic molecules under oxidizing and/or acidic conditions in the aim of isolating and characterizing new compounds likely formed in wine. Two aspects are examined. The first one is the study of the oxidation of two flavano-ellagitannins, acutissimins A and B, formed from a monomer of condensed tannins, catechin, and a C-glucosidic ellagitannin, vescalagin, extracted from oak wood by the wine solution during its aging in barrels. This study led to the isolation of mongolicains A and B and two analogues of camelliatannin G, and revealed their formation according to an autoxydation mechanism. The second aspect of this work concerns the consequences of the presence in wine of some polyphenols on wine odorous thiols. Their chemical behavior and reactivity are described in different media, with the hemisynthesis of thio-ellagitannins under acidic conditions, and the formation of thio-catechol and thio-pyrogallol adducts under oxidizing conditions, chemical transformations that could explain the loss of odors and aromas due to wine odorous thiols.

Keywords : wine, oxidation, polyphenols, odorous thiols, flavanols, ellagitannins
