

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Mentouri de Constantine
Faculté des Sciences Exactes
Département de Chimie

N°d'ordre :
Série :

Thèse de Doctorat d'Etat

En Chimie Organique Option : Phytochimie

Etude Phytochimique des Plantes Médicinales Algériennes:
Rhantherium adpressum et Ononis angustissima

Présentée par : Mr Mohamed BOUHEROUM

Dirigé par : Pr. Samir BENAYACHE

Soutenue le : 04/12/2007

Devant le jury composé de :

<i>Président :</i>	<i>Mme BENAYACHE Fadila</i>	<i>Professeur à l'Université Mentouri de Constantine</i>
<i>Rapporteur :</i>	<i>Mr BENAYACHE Samir</i>	<i>Professeur à l'Université Mentouri de Constantine</i>
<i>Examineur :</i>	<i>Mr LAMARA Kadour</i>	<i>Professeur à l'Université L. Benmhidi Oum El Bouaghi</i>
<i>Examineur :</i>	<i>Mr BOUCHEMMA Hocine</i>	<i>Maître de Conférences à l'Univ. L. Benmhidi Oum El Bouaghi</i>
<i>Examineur :</i>	<i>Mr TENIOU Abderrahmane</i>	<i>Professeur à l'Université Mentouri de Constantine</i>
<i>Examineur :</i>	<i>Mr DENDOUGUI Hocine</i>	<i>Maître de Conférences Université Ouargla</i>

Remerciements

Ce travail a été effectué au Laboratoire VAREN (VALorisation des REssources Naturelles) de l'Université Mentouri de Constantine, sous la direction de Monsieur le Professeur Samir BENAYACHE. Je tiens à lui exprimer ma reconnaissance et ma gratitude tout particulièrement pour ses efforts, son soutien et ses encouragements. Je le remercie vivement de m'avoir accueilli dans son groupe et de m'avoir donné l'opportunité de me former en phytochimie. Je tiens à le remercier également de m'avoir donné la possibilité de présenter mes résultats.

J'aimerais également exprimer ma gratitude à Madame le Professeur Fadila BENAYACHE, d'avoir assuré la présidence du jury de thèse. Je tiens à la remercier pour ses conseils précieux.

Je remercie Messieurs les Professeurs *LAMARA Kadour* de l'Université L. Benmhidi Oum El Bouaghi et *TENIOU Abderrahmane* de l'Université Mentouri de Constantine, Messieurs les Docteurs *BOUCHEMMA Hocine* de l'Université L. Benmhidi Oum et *DENDOUGUI Hocine* de l'Université Ouargla, d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse.

J'aimerais également citer ici les personnes dont la collaboration a été essentielle pour plusieurs aspects de ce travail. Je remercie en particulier Monsieur le Docteur Ali DENDOUGUI, pour ces conseils précieux, et enfin Messieurs les Docteurs J. BERMEJO BARRERA et FRANCISCO LEON de l'Université Laguna de Tenerife (Espagne) pour leur aide précieuse.

Bien que la thèse soit fondamentalement un travail individuel, elle n'aurait pu être menée à bien sans une équipe de collègues qui contribuent au bon fonctionnement du Laboratoire, avec lesquels il est possible d'échanger conseils et suggestions, et qui assurent une atmosphère de travail donnant envie de se lever chaque matin. Je remercie pour cela tous mes anciens et actuels collègues du Département de Chimie.

Toute ma gratitude va enfin à ma famille, particulièrement ma mère, pour son soutien durant la réalisation de cette thèse.

Résumé

Les vertus médicinales attribuées aux plantes orientent les chercheurs sur la présence de principes actifs, ou autrement dit, les molécules appartenant à une classe chimique bien déterminée. Ces molécules qui proviennent du métabolisme secondaire des plantes, sont utilisées par l'homme dans son arsenal thérapeutique. Dans ce contexte, la *phytochimie* aborde la biogenèse des constituants actifs, leur isolement, et l'étude de leur structure chimique. Les recherches menées autour de cette thèse rentrent dans ce cadre et s'intéressent particulièrement à l'étude phytochimique des deux espèces *Rhantherium adpressum* et *Ononis angustissima* qui peuvent avoir une utilisation thérapeutique. L'objectif du présent travail est la détermination des structures des molécules isolées à partir de ces deux plantes Sahariennes.

Dans le premier chapitre de cette thèse, une description botanique des deux plantes, *Rhantherium adpressum* et *Ononis angustissima* est donnée en se rattachant surtout à leur composition chimique. Le deuxième chapitre est consacré à la présentation des caractéristiques biosynthétiques des principaux composés terpéniques, flavonoidiques et polyacétyléniques qu'on retrouve dans les plantes étudiées. La synthèse de plusieurs données bibliographiques concernant ces produits naturels a constitué une partie importante de ce chapitre. Dans le troisième chapitre sont reportés les protocoles et les techniques d'analyses utilisés et toutes les caractéristiques spectrales des produits isolés. Le quatrième chapitre concerne l'identification et la détermination des structures de certains composés isolés en utilisant des techniques spectrales de pointe, telles que la MS, RMN-¹H, RMN-¹³C, IR, UV, etc.

L'investigation phytochimique des extraits chloroformiques des plantes *Rhantherium* et *Ononis* a été entreprise. L'extrait butanolique de la plante *Rhantherium* a été aussi soumis à un criblage phytochimique. L'étude effectuée a abouti à l'isolement de quatorze composés, dont la structure a été établie au moyen de méthodes spectrales (UV, MS, IR, RMN-¹H, RMN-¹³C, etc.). Des références bibliographiques ont été requises pour la confirmation des structures déterminées.

L'extrait chloroformique de la plante *Rhantherium adpressum* a fourni sept composés, dont deux sesquiterpènes, deux stéroles, un triterpène et un dérivé polyacétylénique. Tous ces composés ont été isolés pour la première fois dans cette espèce.

L'extrait chloroformique de la plante *Ononis angustissima* a fourni aussi cinq produits flavonoidiques dont quatre appartiennent à la classe des flavones et un à la classe des phénols. Les quatre flavones isolées sont nouvelles dans l'espèce.

Par ailleurs, l'étude de l'extrait butanolique de la plante *Rhantherium adpressum* a permis d'isoler deux produits flavonoides dont un flavonol décrit pour la première fois dans cette espèce.

Abstract

The medicinal virtues plants orient the researchers on the presence of active principles, or the molecules belonging to a very determined chemical class. These molecules that come from the secondary metabolism of the plants are used by the human in this therapeutic arsenal. In this context, the phytochemistry approaches the active constituent's biogenèse, their isolation, and their chemical structures survey. The research around this thesis go in this setting and are especially interested in the phytochemical study of *Rhantherium adpressum* and *Ononis angustissima* species that may have a therapeutic use. The present work objective is the determination of the molecules structures isolated from these two Saharian plants.

In the first chapter of this thesis, a botanical description of the two plants, *Rhantherium adpressum* and *Ononis angustissima* is given. The second chapter is dedicated to the presentation of the biosynthetic characteristics of the main compounds such as terpenoids, flavonoids and polyacetylenes that one recovers in the studied plants. The synthesis of several bibliographic data concerning these natural products constituted a great part of this chapter. In the third chapter are reported the analysis protocols and techniques and all spectral features of isolated products. The fourth chapter concerns the identification of the isolated compounds structures using spectral techniques, such as the MS, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, IR, UV, etc.

The phytochemical investigation of the chloroformic extracts of the *Rhantherium* and *Ononis* plants has been undertaken. The butanolic extract of the *Rhantherium* plant has also been submitted to a phytochemical sifting. The done survey succeeded to the isolation of fourteen compounds, whose structures has been established by spectral means (UV, MS, IR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, etc.). Some bibliographic references have been required for the determined structure confirmation.

The chloroformic extract of the *Rhantherium adpressum* plant provided seven compounds; two of them are sesquiterpens, two sterols, one triterpene and one polyacetylene derivative. All these compounds have been isolated for the first time in this species.

The chloroformic extract of *Ononis angustissima* also provided five flavonoids, four of them belonging to the flavones class. They are isolated for the first time in this species.

Furthermore, the survey of the butanolic extract of the *Rhantherium adpressum* plant permitted to isolate two flavonoidic products, one of them is a flavonol which has been isolated for the first time in this species.

الملخص

الفضل الممنوح للنباتات يوجه الباحثين على تواجد المادة الفعالة بالأحرى الجزيئات التي تنتمي إلى أقسام كيميائية معينة . هذه الجزيئات الآتية من الأيض الثانوي للنباتات، استخدمت من طرف الإنسان في أسلحته الطبية. في هذا الإطار، كمياء النباتات تتعرض للمكونات الفعالة بيولوجيا، إلى فصلها و دراستها أو البحث عن الصيغ الكيميائية لها.

الأبحاث المنجزة حول هذه الرسالة تدخل في هذا الباب و تهتم خصوصا بالدراسة الكيميائية النباتية للنوعين/ *Rhantherium adpressum, Ononis angustissima* والتي يمكن أن يكون لها استخدام طبي.

الهدف من هذه الدراسة هو تحديد صيغ المركبات المفصولة ابتداء من النباتين الصحراويين المذكورتين آنفا. في الفصل الأول من هذه الأطروحة نقدم وصفا من منظور علم النبات للنباتين *Rhantherium adpressum, Ononis angustissima*

في الفصل الثاني حاولنا تقديم الخواص الإصطناع الحيوي لأهم المركبات المذكوره والتي تشتمل على التربينات، الفلافونيدات ومشتقات متعدد الأستيلين الموجودة في النباتين وكذا التخليق الحيوي لها الذي يشكل جزءا هاما منه. في الفصل الثالث قدمت خطط وتقنيات التحليل المستعملة و الخواص الطيفية للمركبات المفصولة.

في الفصل الرابع يهتم بتعيين و تحديد صيغ المركبات المفصولة باستعمال التقنيات الطيفية مثل مطيافية الكتلة و طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروترون و كربون 13 و طيف الأشعة تحت الحمراء و كذا طيف الأشعة فوق البنفسجي... الخ.

إن دراسة كيمياء النبات لمستخلص الكلوروفورمي للنباتين *Rhantherium adpressum, Ononis angustissima* و كذا مستخلص البيوتانولي للأولى أدت إلى تحديد البنية الجزيئية لمنتجات الأيض الثانوي لهاتين النباتتين. الدراسة المنجزة أدت إلى فصل أربعة عشر مركبا تم وضع صيغها باستعمال الطرق الطيفية (MS, RMN-¹H, RMN-¹³C, IR, U.V) ... إلخ) مع الأخذ بالمراجع لتأكيد المركبات المعينة.

المستخلص الكلوروفورمي لنبات *Rhantherium adpressum* أعطت دراسته إلى فصل سبعة مركبات هي سيسكيتربينين، استيرولين، تربين ثلاثي و مشتق متعدد الأستيلين بحيث يعتبر فصل لكل هذه المركبات بالنسبة إلى هذه النوع.

أعطت دراسته المستخلص الكلوروفورمي لنبات *Ononis angustissima* إلى فصل خمسة مركبات من بينها أربعة تنتمي إلى قسم الفلافونات فصلت لأول مرة في هذا الفصل وواحد إلى قسم الفينولات.

بالمقابل المستخلص البيوتانولي لنبات *Rhantherium adpressum* سمح لنا بفصل مركبين فلافونيين، أحدهما من قسم الفلافونولات.

Abréviation

Les références bibliographiques sont désignées en chiffres arabes placés entre crochets et sont regroupées en fin de chaque chapitre.

Les abréviations et notations utilisées dans ce document sont explicitées ci-dessous :

^{13}C	carbone 13
^1H	proton
COSY	C orrélation S pectroscopy
d	doublet
dd	doublet de doublet
Dept	D istortionless E nhancement by P olarisation T ransfert
EI	E lectronic I mpact
HMBC	H eteronuclear M ultiple B onding C onnectivity
HSQC	H eteronuclear S imple Q uantum C orrelation
IR	I nfrarouge
J (Hz)	constante de couplage exprimé en Hertz
RMN	R ésonance M agnétique N ucléaire
s	singulet
MS	M asse S pectrometry
t	triplet
UV	U ltra V iolet
CCM	C hromatographie C ouche M ince
V	V olume

Les unités couramment utilisées sont citées ci-dessous :

$^{\circ}\text{C}$	température en degrés Celsius
Å	Angström
g	gramme
cm^{-1}	1/centimètre
Hz	Hertz
MHz	MegaHertz
mg	milligramme
min	minute
ml	millilitre
ml/min	millilitre par minute
mm	millimètre
δ (ppm)	Déplacement chimique en partie par million
μm	micromètre
nm	nanomètre
msh	mesh

Sommaire

REMERCIEMENTS.....	ii
RESUME.....	iii
ABSTRACT.....	v
الملخص.....	vii
AVERTISSEMENT.....	ix
SOMMAIRE.....	x
LISTE DES FIGURES.....	xiii
LISTE DES TABLEAUX.....	xvi

INTRODUCTION GENERALE1

CHAPITRE 1

1. INTRODUCTION.....	7
I.2 ASPECTS BOTANIQUES.....	9
I.3 TAXONOMIE.....	11
I.3.1 LA FAMILLE DES COMPOSES.....	12
I.3.2 LA FAMILLE DES LEGUMINEUSES.....	13
I.4 LES TRAVAUX ANTERIEURS SUR LA PHYTOCHIMIE DU GENRE RHANTERIUM..	14
I.5 LES TRAVAUX ANTERIEURS SUR LA PHYTOCHIMIE DU GENRE ONONIS.....	15
I.6 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	19

CHAPITRE 2

II.1 INTRODUCTION.....	21
II.2 LES TERPENOIDES.....	22
II.2.1 CARACTERISTIQUES DES TERPENOIDES.....	22
II.2.2 CLASSES DES TERPENOIDES.....	23
II.2.3 BIOSYNTHESE DES TERPENOIDES.....	30
II.2.4 LE ROLE BIOACTIF DES TERPENOIDES.....	33
II.3 LES FLAVONOIDES.....	34
II.3.1 CLASSES DES FLAVONOIDES.....	35
II.3.2 BIOSYNTHESE DES FLAVONOIDES.....	42
II.3.3 LE ROLE BIOACTIF DES FLAVONOIDES.....	45
II.3.4 ETUDE CHIMIQUE DES FLAVONOIDES.....	47
II.3.4.1 Chromatographie.....	47
II.3.4.2 Spectroscopie UV.....	48
II.3.4.3 Spectrométrie de Masse.....	48

II.4 LES DERIVES POLYACETYLENIQUES.....	49
II.4.1 CARACTERISTIQUES DES POLYACETYLENES.....	49
II.4.2 BIOSYNTHESE DES POLYACETYLENES.....	52
II.4.3 LE ROLE BIOACTIF DES POLYACETYLENES.....	55
II.4.4 ETUDE CHIMIQUE DES POLYACETYLENES.....	59
II.5 CONCLUSION.....	59
II.6 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	60

CHAPITRE 3

III.1 INTRODUCTION.....	65
III.2 MATERIEL VEGETAL.....	65
III.3 METHODES PHYSICO-CHIMIQUES.....	66
III.3.1 POUVOIR ROTATOIRE ($[A]_D$)	66
III.3.2 SPECTRES ULTRAVIOLETS (UV).....	66
III.3.3 SPECTRES DE MASSE (MS)	66
III.3.4 SPECTRES DE RESONANCE MAGNETIQUE NUCLEAIRE (RMN).....	67
III.3.5 SPECTROSCOPIE INFRAROUGE (IR)	67
III.3.6 CHROMATOGRAPHIES	67
III.3.6.1 Chromatographie sur couche mince (CCM).....	67
III.3.6.2 Chromatographie sur colonne (CC).....	68
III.4 METHODES D'EXTRACTION	68
III.4.1 MACERATION	68
A- <i>Rhantherium Adpressum</i>	68
B- <i>Ononis Angustissima</i>	69
III.4.2 SEPARATION	69
A- <i>Rhantherium Adpressum</i>	70
B- <i>Ononis Angustissima</i> :	70
III.4.3 PURIFICATION.....	71
A- <i>Rhantherium Adpressum</i> (Extrait chloroformique)	71
B- <i>Ononis Angustissima</i> :	77
C- <i>Rhantherium Adpressum</i> (Extrait butanolique)	81
III.5 CONCLUSION.....	83

CHAPITRE 4

IV.1. INTRODUCTION	84
IV.2 COMPOSES DE LA PLANTE <i>RHANTHERIUM ADPRESSUM</i>: PHASE CHLOROFORMIQUE	84
IV.2.1 IDENTIFICATION DU PRODUIT R-VII.B.2 :	84
IV.2.2 IDENTIFICATION DU PRODUIT R-VIII.3.2	94
IV.2.3 IDENTIFICATION DU PRODUIT R-XI.5.2	104
IV.2.4 IDENTIFICATION DES COMPOSÉS R-XI.2.1 :	109
IV.2.5 IDENTIFICATION DU PRODUIT R-XVI.6.2:	116
IV.3 COMPOSES DE LA PLANTE <i>ONONIS ANGUSTISSIMA</i>: PHASE CHLOROFORMIQUE	124
IV.3.1 DÉTERMINATION DU COMPOSÉ F-β.1.....	124
IV.3.2 DÉTERMINATION DU COMPOSÉ F-IX.1.1.....	137
IV.3.3 DÉTERMINATION DU COMPOSÉ F-IX.1.2.2.....	144
IV.3.4 DÉTERMINATION DU COMPOSÉ F-XIV-4.2	149
IV.4 COMPOSE DE LA PLANTE <i>RHANTHERIUM ADPRESSUM</i>: PHASE BUTANOLIQUE	152
IV.4.1 DÉTERMINATION DU COMPOSÉ 8FB-3.1.....	152
IV.5 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	156
CONCLUSION GENERALE.....	158

Liste des Figures

Figure 1.1 : Régions Septentrionales d'Algérie.....	9
Figure 1.2: Espèce Plante <i>Rhantherium adpressum</i>	10
Figure 1.3 : Plantes <i>Ononis Angustissima</i> et <i>Ononis Natix L.</i>	11
Figure 1.4: Resorciniol et Dérivés	15
Figure 1.5 : Composé Pterocarpanes et dérivés	16
Figure 2.1 : Unité isoprène	23
Figure 2.2 : Exemples des monoterpènes	25
Figure 2.3 : Exemples de sesquiterpènes.....	26
Figure 2.4 : Exemple de sesquiterpène lactone.....	26
Figure 2.5 : Exemples de diterpènes	27
Figure 2.6 : Exemples de triterpènes.....	27
Figure 2.7 : Structure du noyau stérane.....	28
Figure 2.8: Exemples des stéroïdes.....	29
Figure 2.9 : Exemple de tétraterpènes.....	29
Figure 2.10 : Exemples de polyterpènes	30
Figure 2.11 : Biosynthèse de l'acide mévalonique 2 et de l'isoprényle pyrophosphate 3.....	31
Figure 2.12 : Biosynthèse des Terpénoides.....	32
Figure 2.13 : Biosynthèse des unités de base des différentes classes de terpénoides ..	33
Figure 2.14 : Flavone, Flavonol.....	36
Figure 2.15 : Les flavones : <i>Apigenine</i> et <i>Luteoline</i>	38
Figure 2.16 : Flavanone.....	39
Figure 2.17 : Isoflavone.....	39
Figure 2.18 : Chalcone, Aurone.....	40
Figure 2.19 : Amentoflavone	40
Figure 2.20 : Ion flavylum.....	41
Figure 2.21 : Hétéroside flavonoïdique.....	41
Figure 2.22 : Voie Shikimate de la biosynthèse des composés Phénoliques	43
Figure 2.23 : Biosynthèse des Flavonoïdes	44
Figure 2.24 : Fragmentation des Flavonoides.....	49
Figure 2.25 : Deux Polyacétylènes typiques de la plante <i>Atractylodes chinensis</i>	50
Figure 2.26 : Polyacétylènes typiques des espèces d' <i>Echinaceae</i>	51
Figure 2.27 : Polyacétylènes du genre <i>cotula A. L.</i>	52
Figure 2.28 : La structure chimique des Thiarubrines	52
Figure 2.29 : Biosynthèse générale de l'acide crepenynique via [1- ¹⁴ C] acetate [2- ¹⁴ C] malonate par microsomes.....	53
Figure 2.30 : Une voie vers les polyacétylènes via les homologues de CREP1.....	54
Figure 2.31 : Biosynthèse d'un polyacétylène Falcarintetranol	55
Figure 2.32 : Polyacétylènes de l'espèce <i>Artemisia monosperma</i>	56
Figure 2.33 : Structure des Falcarinols.....	58

Figure 3.1 : Etude de l'extrait brut de la plante <i>Rhantherium adpressum</i>	70
Figure 3.2 : Etude de l'extrait brut de la plante <i>Ononis angustissima</i>	71
Figure 3.3 : Processus de purification de la fraction R-VII.....	72
Figure 3.4 : Processus de purification de la fraction R-VIII	73
Figure 3.5 : Premier processus de purification de la fraction R-XI.....	75
Figure 3.6 : Deuxième processus de purification de la fraction R-XI	76
Figure 3.7 : Processus de purification de la fraction R-XVI.....	77
Figure 3.8 : Processus de purification de la fraction F-β.....	78
Figure 3.9 : Processus de purification de la fraction F-IX	79
Figure 3.10 : Processus de purification de la fraction F-XIV	80
Figure 3.11 : Etude de l'extrait brut n-Butanolique de la plante <i>Rhantherium Adpressum</i>	81
Figure 3.12 : Processus de purification de la fraction 8Fb	82

Figure 4.1 : Spectre RMN- ¹³ C et Dept du composé R-VII.b.2.....	85
Figure 4.2 : Spectre RMN- ¹ H dans le CDCl ₃ du composé R-VII.b.2.....	87
Figure 4.3 : Spectre COSY ¹ H- ¹ H du composé R-VII.b.2.....	89
Figure 4.4 : Spectre HSQC du composé R-VII.b.2.....	91
Figure 4.5 : Spectre HMBC du composé R-VII.b.2.....	92
Figure 4.6 : Structure du composé Spathuléol.....	93
Figure 4.7 : Spectre de masse du composé R-VIII.3.2.....	95
Figure 4.8 : Spectre RMN- ¹³ C du composé R-VIII.3.2.....	97
Figure 4.9 : Spectre RMN- ¹ H dans le CDCl ₃ du composé R-VIII.3.2.....	98
Figure 4.10 : Spectre RMN COSY- ¹ H- ¹ H du composé R-VIII.3.2.....	100
Figure 4.11 : Spectre RMN HSQC du composé R-VIII.3.2.....	101
Figure 4.12 : Spectre HMBC du composé R-VIII.3.2.....	102
Figure 4.13 : Structure du composé β-Eudesmol.....	104
Figure 4.14 : Spectre de masse du composé R-XI.5.2.....	105
Figure 4.15 : Spectre RMN- ¹ H 400 MHz dans CDCl ₃ de R-XI.5.2.....	107
Figure 4.16 : Structure des produits β-Sitostérol et le Stigmastérol.....	109
Figure 4.17 : Spectre de masse du composé R-XI.2.1.....	110
Figure 4.18 : Spectre RMN- ¹³ C 100 MHz dans CDCl ₃ de R-XI.2.1.....	112
Figure 4.19 : Spectre RMN- ¹ H 400 MHz dans CDCl ₃ de R-XI.2.1.....	114
Figure 4.20 : Structure du composé 16 β-Hydroxy Lupeolyl-3-Hexadecanoate.....	116
Figure 4.21 : Spectre de masse du composé R-XVI.6.....	117
Figure 4.22 : Spectre IR du composé R-XVI.6.2.....	118
Figure 4.23 : Spectre RMN- ¹ H du composé R-XVI.6.2.....	120
Figure 4.24 : Spectre COSY- ¹ H- ¹ H du composé R-XVI.6.2.....	122
Figure 4.25 : Spectre HMBC du composé R-XVI.6.2.....	123
Figure 4.26 : Structure du composé R-XVI.6.2.....	124
Figure 4.27 : Spectre RMN- ¹³ C, 100 MHz, dans CDCl ₃ du composé F-β.1.....	125
Figure 4.28 : Spectre RMN- ¹ H, 400 MHz, dans CDCl ₃ du composé F-β.1.....	127
Figure 4.29 : Spectres UV du composé F-β.1.....	130
Figure 4.30 : Spectre de Masse (EI) du composé F-β.1.....	132
Figure 4.31 : Fragments de MS du composé F-β.1.....	133
Figure 4.32 : Spectre HMBC, 400 MHz, dans CDCl ₃ du composé F-β.....	135
Figure 4.33 : Spectre NOESY, 400 MHz, dans CDCl ₃ du composé F-β.....	136
Figure 4.34 : Structure du composé F-β.....	136
Figure 4.35 : Spectre RMN- ¹ H du composé F-IX.1.1.....	139
Figure 4.36 : Spectres UV du composé F-IX.1.1.....	141
Figure 4.37 : Fragments de MS du composé F-IX.1.1.....	143
Figure 4.38 : Structure du composé F-IX.1.1.....	143
Figure 4.39 : Spectre RMN- ¹ H du composé F-IX.1.2.2.....	145
Figure 4.40 : Spectres UV du composé F-IX.1.2.2.....	148
Figure 4.41 : Structure du composé F-IX.1.2.2.....	149
Figure 4.42 : Spectre RMN- ¹ H dans MeOD du composé F-XVI.4.2.....	151
Figure 4.43 : Structure du composé F-XVI.4.2.....	152
Figure 4.44 : Spectre RMN- ¹ H dans MeOD du composé 8Fb3.1.....	154
Figure 4.45 : Structure du composé 8Fb3.1.....	155

Liste des Tableaux

Tableau 1.1 : Taxonomie de <i>Rhantherium Adpressum</i> et <i>Ononis Angustissima</i>	13
Tableau 1.2 : Valeur nutritive du <i>Rhantherium Suaveolens</i> et de quelques espèces pastorales	14
Tableau 1.3 : Flavonoïdes dans les espèces <i>Ononis</i>	17
Tableau 2.1 : Les différentes classes de terpénoïdes.....	24
Tableau 2.2: La couleur de quelques classes des flavonoïdes	35
Tableau 2.3 : Principales sources des flavonoïdes.....	36
Tableau 2.4: Différentes classes des flavonoïdes	37
Tableau 2.5 : Activité antimicrobienne de l'huile essentielle de <i>Bacharis Trinervis</i> .	57
Tableau 4.1 : Les résultats RMN- ¹ H, RMN- ¹³ C et Dept de R-VII.b.2	88
Tableau 4.2 : Corrélation HMBC et COSY (400MHz, CDCl ₃).....	93
Tableau 4.3 : Résultats du spectre de masse du composé R-VIII.3.....	96
Tableau 4.4 : Les résultats RMN- ¹ H, RMN- ¹³ C et Dept de R-VIII.3.2.....	99
Tableau 4.5 : Corrélation HMBC et COSY (400MHz, CDCl ₃)	103
Tableau 4.6 : Données du Spectre de masse du composé R-XI.5.2.....	106
Tableau 4.7 : Les résultats RMN- ¹ H, RMN- ¹³ C et Dept de R-XI.5.2	108
Tableau 4.8 : fragmentations du composé R-XI.2.1	111
Tableau 4.9 : Les résultats RMN ¹ H, ¹³ C et Dept de R-XI.2.1	115
Tableau 4.10: Résultats RMN Dept et IR de R-XVI.6.2	119
Tableau 4.11 : Les résultats RMN ¹ H, ¹³ C et Dept de R-XVI.6.2	121
Tableau 4.12 : Les Corrélations HMBC et COSY (400MHz, CDCl ₃)	123
Tableau 4.13 : RMN- ¹ H, RMN- ¹³ C et Dept de F-β.1	128
Tableau 4.14 : Spectre de masse du composé F-β.1	133
Tableau 4.15 : Corrélation HMBC et NOESY du composé F-β.1.....	134
Tableau 4.16 : Les résultats RMN- ¹ H, RMN- ¹³ C et Dept de F-IX.1.1	138
Tableau 4.17 : Spectre de masse du composé F-IX.1.1	142
Tableau 4.18 : Les résultats RMN ¹ H de F-IX.1.2.2.....	146
Tableau 4.19 : Les résultats RMN- ¹ H de F-XIV-4.2	150
Tableau 4.20 : Les résultats RMN- ¹ H de 8Fb-3.1	153
Schéma 3.1 : Système de solvants relatif à la figure 3.3	72
Schéma 3.2 : Système de solvants relatif à la figure 3.4	74
Schéma 3.3 : Système de solvants relatif à la figure 3.5	75
Schéma 3.4 : Système de solvants relatif à la figure 3.6.....	76
Schéma 3.5 : Système de solvants relatif à la figure 3.7	77
Schéma 3.6 : Système de solvants relatif à la figure 3.8	78
Schéma 3.7 : Système de solvants relatif à la figure 3.9	79
Schéma 3.8 : Système de solvants relatif à la figure 3.10.....	80
Schéma 3.9 : Système de solvants relatif à la figure 3.12	82

Schéma 4.1 : Série spectrale UV du composé F-β.1.....	129
Schéma 4.2 : Série spectrale UV du composé F-IX.1.1.....	140
Schéma 4.3 : Série spectrale UV du composé F-IX.1.2.2.....	147

La survie et la reproduction de toutes les espèces animales dépendent essentiellement :

- § de l'abondance et de la qualité de la nourriture,
- § de leur état de santé et de leur bien être,
- § des conditions de l'environnement.

Ainsi, pour l'homme, le maintien de sa santé et la recherche de son bien être représente la principale préoccupation.

L'homme et les plantes vivent côte à côte depuis des dizaines de milliers d'années. Il est habitué à consommer et à digérer différentes espèces de plantes, qui sont bien souvent appréciées pour leurs qualités aussi bien médicales que nutritives. Depuis longtemps, les hommes apprécient les vertus apaisantes et analgésiques des plantes.

Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques par exemple, décroît. La phytothérapie propose des remèdes naturels bien acceptés par l'organisme.

L'action de la phytothérapie sur l'organisme dépend de la composition des plantes. Ces dernières contiennent des dizaines, voire des centaines de substances chimiques. Souvent, déterminer en détail l'action d'une plante est très difficile.

Une plante n'est pas une recette magique dotée d'une action unique, mais un ensemble complexe pourvu de principes actifs qui ont une influence sur les différents systèmes de régulation du corps. En associant la recherche scientifique sur les constituants actifs, l'observation clinique et la connaissance traditionnelle des plantes, il est possible de dresser un inventaire de leurs usages thérapeutiques.

Les plus grandes firmes pharmaceutiques savent que les forêts tropicales, les champs et les haies abritent des sources potentielles de médicaments précieux. Elles investissent d'importants capitaux pour trouver de nouvelles substances afin de les commercialiser. La recherche dans ce domaine devient automatique et les entreprises pharmaceutiques auront bientôt la possibilité d'étudier des millions de substances chimiques par semaine [1]. De plus, les progrès de la biochimie et de l'analyse organique et pharmacologique, ainsi que de la physiologie végétale, ont permis de commencer un tri rationnel dans la masse des actions attribuées aux plantes, détruisant certaines légendes, mais établissant solidement certains usages anciens. Ces

produits, à structure chimique souvent complexe, sont très dispersés et très différents selon les espèces. Leur exploration, et notamment celle du monde végétal, est encore capitale à l'heure actuelle et réalisée souvent par [2] :

- *une étude phytochimique* qui consiste à rechercher des catégories de molécules dans les plantes en fonction de leur appartenance botanique.

- *une étude pharmacologique* (pharmacognosie vient du grec *pharmakon* : drogue, venin, poison et *gnosies* : connaissance) caractérisée par l'observation du comportement des plantes dans leur environnement naturel. Les interactions plantes plantes (allélopathie), plantes microorganismes, plantes insectes, plantes animaux sont associées à des signaux chimiques.

- *une étude ethnopharmacologique* qui consiste à recueillir des renseignements sur l'utilisation des plantes auprès des populations vivant encore près de la nature.

Les vertus médicinales attribuées aux plantes orientent les chercheurs dans ces trois domaines, sur la présence de principes actifs, donc des molécules appartenant à une classe chimique particulière. Tous les êtres vivants ont un *métabolisme primaire* qui fournit les molécules de base : acides nucléiques (ARN, ADN), lipides, protéines, etc. Les métabolites primaires sont produits en quantité élevée par les plantes et sont " à faible prix de revient ". Il existe aussi un *métabolisme secondaire* chez les plantes, c'est une exclusivité du monde végétal. Ces substances ne paraissent pas essentielles à la vie de la plante : on les appelle *les métabolites secondaires*. Les molécules qui proviennent du métabolisme secondaire des plantes, sont utilisées par l'homme dans son arsenal thérapeutique. Il existe plus de 200 000 métabolites secondaires classés selon leur appartenance chimique [2].

L'homme sélectionne ceux qui lui permettent de se défendre contre les agressions d'autres organismes vivants pathogènes (champignons, bactéries, virus, etc.) et de corriger ses troubles métaboliques.

A la croisée de deux domaines de recherche : la *pharmacognosie* qui est l'étude des matières premières et des substances naturelles à visée thérapeutique et la *phytochimie* qui aborde la biogenèse des constituants actifs, leur isolement, et l'étude de leur structure chimique, se situent les recherches qui sont réalisées au sein du Laboratoire VAREN : VAlorisation des REssources Naturelles (Université Mentouri de Constantine). Elles ont mis en évidence un large éventail des propriétés pharmacologiques de plusieurs plantes médicinales Algériennes. Un des sujets d'intérêts de notre groupe de recherche est d'identifier des substances biologiquement actives dans des plantes désertiques Algériennes utilisées dans la médecine traditionnelle. Il s'agit des plantes : *Rhantherium adpressum* et *Ononis angustissima* qui ont suscité notre intérêt. En effet, la flore algérienne avec plus de 3000 espèces est à ce jour peu explorée. Plusieurs plantes sahariennes fréquemment utilisées dans les pharmacopées traditionnelles, se sont vues reconnaître un effet thérapeutique au cours des siècles. Certaines d'entre elles ont fait l'objet d'études phytochimiques et ont abouti à l'isolement et à l'identification de principes actifs [3].

Dans le cadre de cette recherche, le choix des espèces étudiées ne résulte pas comme nous l'avons dit plus haut sur le fait du hasard, mais découle de divers critères. Le plus utilisé est celui de leur emploi en médecine traditionnelle ou populaire. Une autre possibilité est de considérer l'écosystème dans lequel se développent ces espèces végétales. La recherche des molécules dans ces plantes du désert obéit à cette logique.

En effet, la nature sablonneuse de leur sol, leur exposition aux rayons solaires a donc dû influencer le développement des mécanismes de protection, peut-être basés sur des métabolites secondaires spécifiques avec des caractéristiques chimiques et biologiques originales.

Sur la base de cette hypothèse, cette étude s'est attelée à l'investigation phytochimique des plantes *Rhantherium adpressum* (famille des *Compositae*) et *Ononis angustissima* (famille des *Leguminosae*) récoltées des régions de Ouargla et Bechar.

La famille *Compositae* (ou *Asteraceae*), est la plus importante des Angiospermes avec 25000 espèces et 1000 genres [4]. Particulièrement, elle renferme numériquement,

408 espèces en Algérie, réparties en 109 genres. La plante saharienne *Rhantherium adpressum* (Arfadj) du sud Algérien en est un exemple, dont la phytochimie est particulièrement intéressante. Elle a été utilisée traditionnellement avec une autre plante appelée *Haplophyllum tuberculatum* « Elfidjel » pour traiter les douleurs de l'estomac.

Les *Légumineuses* (ou *Fabaceae*) forment la troisième plus grande famille d'Angiospermes en nombre d'espèces (après les *Orchidaceae* et les *Asteraceae*) avec plus de 18000 espèces classées en 750 genres. Parmi celles-ci, une place particulière peut être accordée à l'*Ononis angustissima* présente dans les dayas des régions de Ouargla et Bechar. L'utilisation de cette plante dans un but médical est très mal documentée. Un genre de cette plante (*Ononis natrix*) a été employé pour traiter les diarrhées et quelques troubles urinaires et rhumatologiques [5].

De plus, les Composés et les Légumineuses renferment souvent :

- § des *terpénoides*, abondants dans les essences des plantes et des fleurs [6], ils sont généralement intenses chez les *Asteraceae* (*Compositae*) [7].
- § des *flavonoïdes*, abondants chez les plantes supérieures. Ils forment le groupe le plus varié contenant plus de 4000 structures, possédant tous l'enchaînement :
C-6-C-3-C-6.
- § des *polyacétylènes*, formant une importante classe du métabolisme secondaire présente dans des plusieurs espèces *Asteraceae* (*Compositae*).

Peu d'études pharmacologiques semblent avoir été effectuées sur ces espèces végétales. Notre intérêt s'est porté plus particulièrement sur les deux espèces endémiques *Rhantherium adpressum* (famille des *Compositae*) et *Ononis angustissima* (famille des *Leguminoaseae*). Cet intérêt est justifié par le fait que ces plantes n'ont pas fait l'objet d'études antérieures et sont complètement méconnues sur le plan phytochimique.

Le but de ce travail est également l'identification et la détermination des structures des molécules isolées appartenant particulièrement aux trois classes de produits naturels cités et pouvant avoir une utilisation thérapeutique.

Dans le premier chapitre de cette thèse, nous présentons une description botanique des deux plantes, *Rhantherium adpressum* et *Ononis angustissima* en se rattachant surtout aux études phytochimique sur le genres.

Le deuxième chapitre est consacré à la présentation des caractéristiques biosynthétiques des principaux composés terpéniques, flavonoidiques et polyacétyléniques qu'on retrouve dans les plantes étudiées. La synthèse de toutes les données bibliographiques concernant ces produits naturels nous a alors conduit à la formulation de notre hypothèse de travail : les plantes appartenant aux mêmes familles ou à des familles voisines et qui poussent dans le même biotope sont susceptibles de synthétiser les mêmes molécules chimiques. De plus, si ces substances sont particulièrement connues pour leur pouvoir thérapeutique, l'appui sur les critères chimiotaxonomiques pour étudier une espèce faisant partie de telles familles aura de fortes chances d'aboutir à l'isolement d'au moins un composé susceptible de nous intéresser.

Dans le troisième chapitre sont reportés les protocoles et les techniques d'analyses utilisés et toutes les caractéristiques spectrales des produits isolés.

Le quatrième chapitre concerne l'identification et la détermination des structures de certains composés isolés en utilisant des techniques spectrales de pointe, telles que la MS, RMN, (^1H , ^{13}C), IR, UV, etc.

Nous terminons par une conclusion générale dans laquelle nous situons notre contribution par rapport aux travaux analogues et nous donnons quelques perspectives jugées utiles pour ce travail.

Références Bibliographiques

- [1]: Encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparation, soins, 2^{ème} édition Larousse 2001.
- [2]: J.G. Fouché, A. Marquet, A. Hambuckers, « Les Plantes Médicinales : de la plante au médicament », Exposition temporaire du 19.09.2000 au 30.06.2000, Observatoire du Monde des Plantes, Sart-Tilman, B77. B-4000 Liège.
- [3]: P. Quezel, S. Santa, « Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tomme 1 et 2 Edition du centre national de la recherche scientifique, Paris, 1963, pp 33-239, 902-948.
- [4]: Abrégé de botanique, 1994, p : 203-204.
- [5]: A-F Barrero, J-F Sanchez, A. Barron, F. Corrales, I. Rodreguez, « Resorcinol Derivatives and other Components of Ononis Speciosa », Phytochemistry, 28 (1) 1989 p 161-164.
- [6]: S. Andrew, CH. Heathcock-JR , «Introduction à la chimie organique », Edition Marketing, Paris, 1986, p :401.
- [7]: J. Bruneton, « Plante toxique, végétaux dangereux pour l'homme et les animaux », Londers Editions Tec et Doc, New york-Paris 1996. p : 529.
- [8]: H. Dendougui, « Etude Métabolite Flavonoïdique et Terpénique de Quelques Genres des Plantes des Dayas du Sahara Algérien », thèse de Doctorat d'Etat, Université Mentouri de Constantine, 2002.

1. Introduction

Il y a environ 500000 plantes sur terre; 10000 d'entre elles, environ, possèdent des propriétés médicinales [1].

L'usage thérapeutique des plantes médicinales remonte en Afrique, aux temps les plus reculés. Les écrits égyptiens confirment que l'herboristerie était, depuis des millénaires, tenue en grande estime. Les techniques médicales mentionnées dans les différents manuscrits égyptiens et grecs constituent les bases de la pratique médicale classique dans le monde arabe.

Particulièrement en Algérie, les marchés regorgent de centaines de plantes médicinales différentes, sauvages ou cultivées localement. Certaines sont prescrites comme remèdes à usage domestique. D'autres sont mastiquées pour combattre la fatigue.

Tout en encourageant la recherche et l'étude des substances actives dans les plantes, leur structure, leur distribution, leur modification et les processus de transformation qui se produisent au cours de leur vie, la revalorisation de la phytochimie en Algérie pourrait aboutir à l'homologation de nouveaux médicaments à base de plantes qui sont très riches en métabolites secondaires.

Les plantes sahariennes algériennes par exemple, sont des plantes d'origine terrestre qui au cours de leur évolution se sont adaptées aux écosystèmes du sud algérien. Par leur position écologique et évolutive particulière, il est possible que ces plantes endémiques aient également sélectionné des métabolites secondaires spécifiques avec des caractéristiques chimiques et biologiques originales.

Sur la base de cette hypothèse, notre étude s'est attelée à l'investigation phytochimique de *Rhantherium adpressum*, et *Ononis angustissima* deux plantes présentes dans les régions sahariennes de l'Algérie.

Description et Classification Botanique des Plantes Étudiées

Parmi les critères de choix des plantes figure également celui de l'emploi en médecine traditionnelle ou populaire qui valorise l'expérience accumulée par les autochtones dans le monde entier, y compris dans notre pays.

Les observations du matériel végétal et son milieu lors de sa cueillette peuvent également donner des informations précieuses. Ainsi, une plante qui pousse dans un milieu tropical riche en microorganismes (champignons, bactéries, etc.) et parasites divers et qui ne présente aucun signe d'attaque par ces microorganismes, serait susceptible de produire des métabolites secondaires (substances chimiques synthétisées par les plantes) qui lui permettent de faire face à ces agressions. Une telle plante peut être une source inestimable de nouveaux produits possédant des activités biologiques intéressantes (antifongique, antibactérienne, anti-parasitaire ou antioxydant par exemple) [2].

De même, des espèces évoluant dans le même biotope sont susceptibles de synthétiser les mêmes molécules chimiques. Ainsi, des substances connues pour leur pouvoir thérapeutique, peuvent permettre en s'appuyant sur des critères chimiotaxonomiques d'aboutir à l'isolement d'un composé voisin susceptible d'être intéressant, dans la même famille ou le même genre que l'espèce à étudier.

Enfin, la grande diversité des métabolites secondaires synthétisés par les plantes constitue un énorme potentiel pour les phytochimistes de trouver de nouveaux produits. En effet, sur plus de 150 espèces végétales endémiques sahariennes, peu de travaux ont été consacrés à ses espèces.

Ce chapitre a pour but une meilleure connaissance chimiotaxonomique des espèces végétales récoltées.

I.2 Aspects botaniques

La flore saharienne apparaît comme très pauvre si l'on compare le petit nombre des espèces qui habitent ce désert à l'énormité de la surface qu'il couvre. L'étude de cette flore présente pourtant un intérêt considérable.

C'est pour le Sahara septentrional que le nombre total des espèces de plantes est le moins précis. Il n'atteindrait pas 500 espèces toujours avec la réserve que les espèces adventices et les pénétrations steppiques sont exclues de ce chiffre [1]. *Rhantherium adpressum* et *Ononis angustissima* sont des plantes endémiques du nord du Sahara septentrionale (Guardaia, Bechar, Biskra, Boussaâda, jusqu'à Beni Abbas, voir figure 1.1).

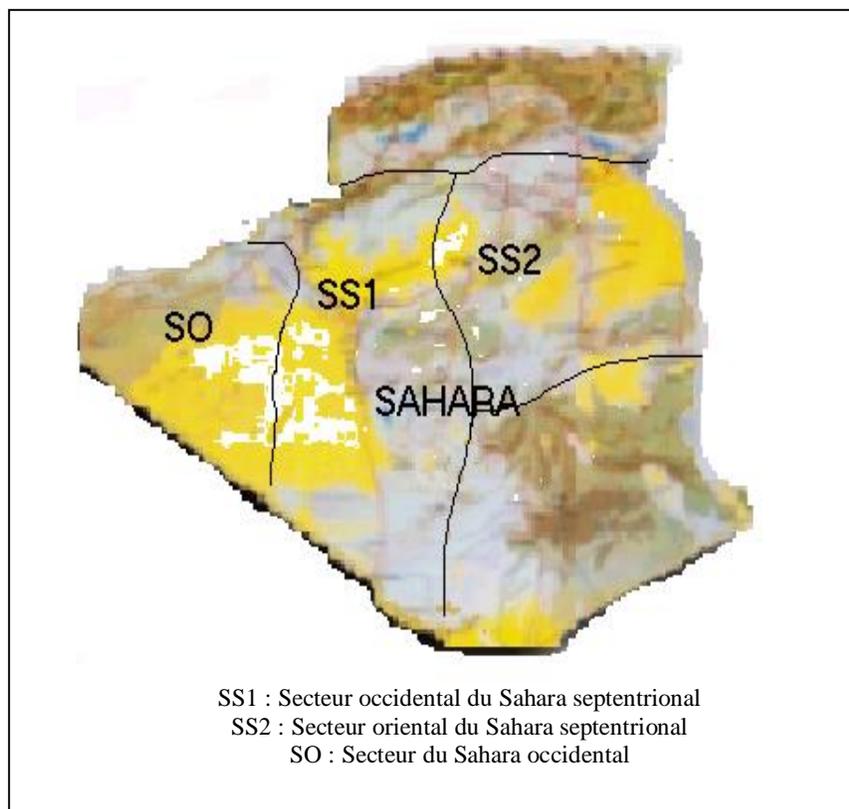


Figure 1.1 : Régions Septentrionales d'Algérie

Description et Classification Botanique des Plantes Étudiées

***Rhantherium adpressum* (Desf):** C'est un arbuste très ramifié, à tiges et feuilles revêtues de poils blanchâtres; les feuilles sont petites, alternées, un peu dentées, très caduques; à capitules hétérogames, multifides; à involucre sphérique formés de plusieurs rangs de bractées, coriaces, lancéolées, achaines étroits, prismatiques, à cinq côtés prolongées chacune en une soie qui est dilatée et plumeuse dans sa partie terminale. Cette plante endémique du nord africain a des fleurs jaunes et marginales ligulées [1].

Ses capitules de 10 à 15 mm de diamètre, à écailles obtuses étroitement appliquées, réceptacle ne présentant des paillettes que dans sa partie périphérique (voir figure 1.2).

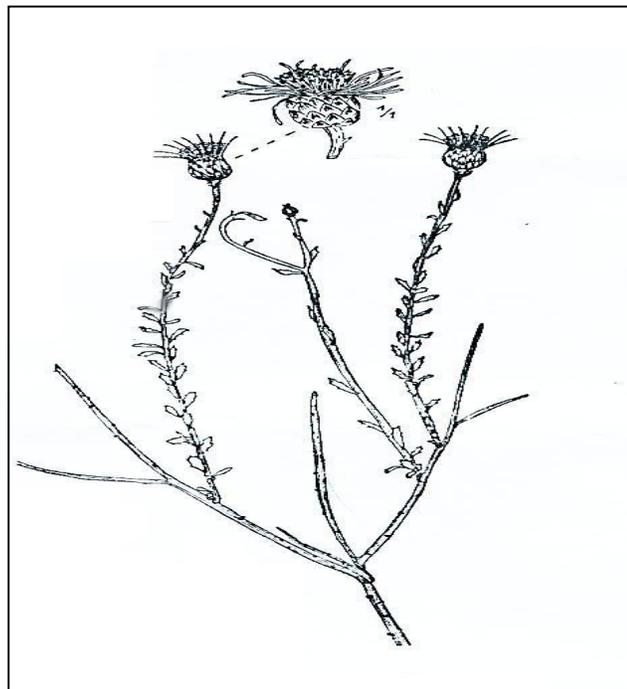


Figure 1.2: Espèce Plante *Rhantherium adpressum*

***Ononis angustissima* :** C'est une plante à fleurs jaunes aussi, sur des pédoncules allongés et réunis en grappes lâches; folioles étroites presque linéaires peu ou pas dentées; petits buissons à tiges très ramifiées à la base, à rameaux persistants après la floraison et devenant un peu épineux (voir figure 1.3 a). Nous notons que cette espèce

se rattache beaucoup à une autre plante du même genre dite : *Ononis natrix* L. (voir figure 1.3 b), en effet, la nomenclature de ce groupe est confuse [1].



Figure 1.3 a: *Ononis angustissima*



Figure 1.3 b: *Ononis natrix* L.

Figure 1.3 : Plantes *Ononis angustissima* et *Ononis natrix* L.

I.3 Taxonomie

Quand la classification des végétaux en s'appuyant sur les caractères morphologiques fait défaut, l'utilisation des métabolites secondaires pour les classer

en taxons sera utilisée. C'est ce qu'on appelle classification chimique ou chimiotauxonomique.

Le choix des noms, de genre et d'espèces posait un problème délicat. La nomenclature botanique nord-africaine souffrant actuellement d'une extrême confusion, due à de nombreux changements parfaitement arbitraires; il était donc nécessaire de revenir autant que possible à des systèmes de références [1].

Avant d'entreprendre une investigation phytochimique des espèces végétales données: *Rhantherium adpressum* et *Ononis angustissima*, il est nécessaire de définir leur taxonomie. Leur classification en familles établie selon P. Ozenda [1] est adoptée dans cette thèse (voir tableau 1.1). La taxonomie des deux espèces montre qu'elles appartiennent à la même classe (*Dicotylédones*) mais des familles différentes (*Compositae* et *Légumineosae* respectivement). Nous présentons dans ce qui suit les caractéristiques des deux familles.

I.3.1 La Famille des Composés

Dans une liste de 421 plantes appartenant à 100 familles, 13 familles comprennent plus de la moitié des plantes utilisées en médecine vétérinaire traditionnelle [3]. Il s'agit des familles suivantes : Asteraceae, Fabaceae, Rubiaceae, Solanaceae, Lamiaceae, Euphorbiaceae, Malvaceae, Cucurbitaceae, Amaranthaceae, Verbenaceae, Poaceae, Acanthaceae et Mimosaceae. La famille des Composés (synonyme Asteraceae) est une des plus grandes familles importantes des plantes (fleurissantes en particulier) avec approximativement 25000 espèces et une distribution mondiale [4].

Description et Classification Botanique des Plantes Étudiées

Tableau 1.1 : Taxonomie de *Rhnantherium adpressum* et *Ononis angustissima*

Taxonomie	<i>Rhnantherium adpressum</i>	<i>Ononis angustissima</i>
Embranchement	Spermatophyte	Spermatophyte
→ <i>Sous Embranchement</i>	Angiosperme	Angiosperme
Classe	Dicotylédone	Dicotylédone
→ <i>Sous classe</i>	Gamopétale	
Série	Epigone	
→ <i>Sous série</i>	Isostémone	
Ordre	Astérale	Rasale (Fabale)
Famille	Compositae (Asteraceae)	Légumineuseae (Fabaceae)
→ <i>Sous famille</i>	Tubuliflore	Papilionacée
Tribus	Inulée	trifoleae
Genre	Rhnantherium	Ononis
Espèce	adpressum	angustissima

La sous famille Astereae (Tubuliflore) inclut approximativement 3000 espèces dans presque 200 genres distribués en 14 tribus [4].

La classification de cette famille a été souvent contestée. Des études phytochimiques, des données botaniques, ainsi que la connaissance de la biogenèse des métabolites secondaires ont permis de clarifier la position importante de certains composés (terpénoides, flavonoides, polyacétylènes) dans cette famille [2].

I.3.2 La Famille des Légumineuses

Les légumineuses sont considérées comme des plantes améliorantes, leurs racines comportent des nodosités, des bactéries fixatrices de l'azote atmosphérique [5]. Cette famille renferme plus de 750 genres et 18000 espèces réparties entre trois sous-familles :

- Mimosacées
- Césalpinacées
- Papilionacées

Description et Classification Botanique des Plantes Étudiées

La famille des légumineuses est extrêmement riche en flavonoïdes, et celle des Papilionacées est caractérisée par la présence d'isoflavones, de rotenoïdes d'anthocyanines et de flavonol glycosylés. [6]

I.4 Les travaux antérieurs sur la phytochimie du genre *Rhnantherium*

L'endémicité du genre *Rhnantherium*, sa distribution géographique très restreinte et le peu d'études phytochimiques antérieures effectuées montrent que la probabilité d'obtenir de nouvelles molécules dans l'étude entreprise est grande.

Rhnantherium suaveolens : est une espèce voisine du *Rhnantherium adpressum*, Elle est localisée dans les ambiances bioclimatiques arides, sur un sol brun steppique à texture grossière avec voile éolien, elle s'étend surtout au sud de la chaîne de Orbata-Bouhedma (Tunisie) (endémique en Afrique du nord). Le tableau suivant (tableau 1.2) représente quelques valeurs nutritives de certaines espèces pastorales de l'Afrique du Nord incluant le genre *Rhnantherium suaveolens* [8].

Tableau 1.2 : Valeur nutritive du *Rhnantherium suaveolens* et de quelques espèces pastorales

Genre espèce	%MS				Ext n. az.	P	Ca	K	Na	MAD g/kg MS	UF/ Kg MS
	M.m	MC	MA	MG							
<i>Hyparrhenia hirta</i>	7.52	27.45		2.12						8.4	
<i>Lotus creticus</i>	1.7	3.1	2.6	0.6							
<i>Astragalus armatus</i>	6.3	38.1	12.9	3.4		0.14	0.98	0.49	0.09	65	0.21
<i>Rhnantherium suaveolens</i>	11.3	32.1	8.7	2.4	45.5	0.13	1.39	1.99	0.08	42	0.28
<i>Atractylis serratuloides</i>	13.4	34.4	6.6	5.4		0.09		1.39	0.13	25	0.19

MS : matière sèche ; M.m : matière minérale ; MC : matière cellulosique ; MA : matière azotée ; MG : matière grasse ; MAD : matière azotée digestible ; UF : Unité fourragère ; Ext. n.az. : Extrait non azoté ; P : Phosphore ; Ca: Calcium ; K : Potassium ; Na : Sodium

I.5 Les travaux antérieurs sur la phytochimie du genre *Ononis*

La tribu de l'espèce *Ononis* (trifoleae) appartient à la sous famille des papilionacées et contient les anthocyanines 3-glucosidés ou 3,5-diglucosidés [6].

Plusieurs travaux de recherches sur la composante chimique du genre *Ononis* ont été réalisés, nous recensons dans cette section les plus importants par rapport à notre étude.

Dans plusieurs travaux [9-12], il a été montré que les dérivés du resorcinol sont très communs dans ce genre de plante ainsi que les isoflavonoïdes.

L'espèce *Ononis Speciosa* renferme des composés connus, tels que : le β -sitosterol, L'ononitol, dérivés du resorcinol et des flavonoïdes (quercétine et deux isoflavonoïdes) [13]. Des études phytochimiques sur cette espèce ont montré la présence de flavonoïdes, terpénoïdes, stérols et des acides phénoliques [14].

L'étude de l'extrait n-hexanique des parties aériennes d'*Ononis natrix*, a permis de décrire neuf composés dont cinq dérivés resorcinol [15] (figure 1.4).

Des études supplémentaires sur la composition d'*Ononis natrix* ont mené à l'isolement et l'identification de cinq nouvelles 3,4-dihydroisocoumarines et un dérivé de l'acide orsellinique [16].

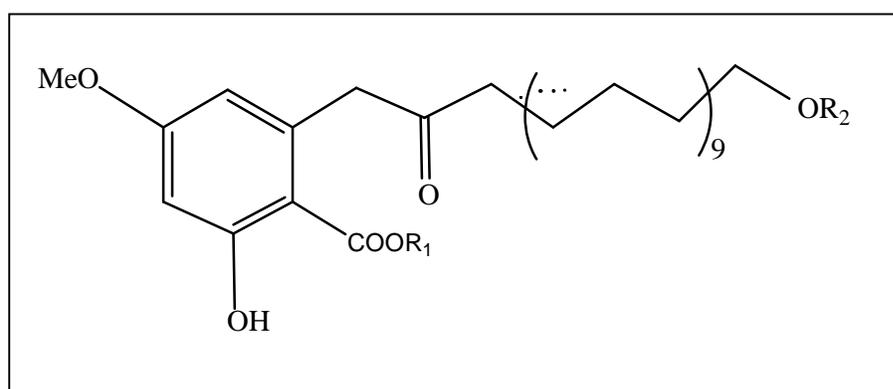


Figure 1.4: Resorcinol et Dérivés

Une étude de l'espèce *Ononis spinosa* a été faite et a conduit à la séparation d'un isoflavonoïde et le pterocarpan et ses dérivés [17, 18] (figure 1.5).

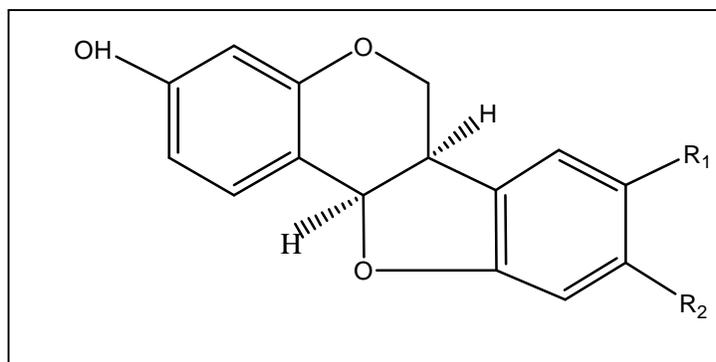


Figure 1.5 : Composé Pterocarpane et dérivés

Le genre *Ononis* (Fabaceae) en général, est représenté en Egypte par huit espèces. Plusieurs plantes de ce genre ont été utilisées dans le traitement de la jaunisse, les inflammations urinaires, et les calculs du rein. Récemment, plusieurs resorciroles alkylés ont été isolés de quatre espèces d'*Ononis* d'où ces composés naturels sont des inhibiteurs du glycerol-3-phosphate déhydrogénase. Une investigation antérieure des fleurs d'*Ononis vaginalis* a permis l'isolement de sept flavonoides dont l'eupatiline qui a une action cytotoxique [19].

Dans une autre référence bibliographique [20] des feuillets détachés d'*Ononis* (31 espèces et sous-espèces) ont été exposés à la lumière ultraviolette à courte longueur d'onde (254 nm) pour donner des quantités importantes d'isoflavonoides, phytoalexines pterocarpanes, et la medicarpine. D'autre part, les tissus des feuilles de toutes ces espèces : *Ononis omithopodioides*, *O. cristata* *O. fruticosa*, *O. pubescens* et *O. rotundifolia*, traitées de la même manière ont donné de petites quantités de pterocarpane fungitoxique, la maackiaine.

Les espèces *Ononis* méditerranéennes: *O. fruticosa*, *O. natrix subsp. ramosissima* et *O. tridentata* ont été analysées pour les flavonoides de leur exsudat. Plus de 20 flavonoides aglycones étaient identifiés dont certains sont des composés naturels rares. Parmi eux, l'*hypolaetine - 8, 3,4-trimethyl éther*, avait été trouvé seulement une fois auparavant. Les résultats sont présentés dans le tableau suivant [21] (Tableau 1.3).

Description et Classification Botanique des Plantes Étudiées

Tableau 1.3 : Flavonoïdes dans les espèces Ononis

Flavonoïde	O.f.	O.n.	O.n.+	O.n.□	O.n.□	O.n.#	O.r.	O.s.	O.sp.	O.sp.*	O.t.	O.v.
1- Flavone	1	2	3	4	1	5	5	6	7	5	1	8
Chrysin												X
Apigenin	X				X	X	X	X		X		X
Ap-7-Me(Genkwanin)	X					X	X			X		
Ap-4'-Me(Acacetin)	X						X			X		
Ap-7,4'-diMe	X									X		
Scutellarein-6-Me(Hispiludine)						X	X	X		X		
Scut-6,7-diMeCrismaritin)								X			X	X
Scut-6,4'-diMe (Pectolinarigenin)	X				X		X					
5-Scut-6, 7,4'6triMe (Salvigenin)	X						X				X	
Luteolin	X					X				X	X	
Lut-7-	X				X	X					X	
Lut-3'-Me (chryseriol)					X	X				X	X	
Lut-7,3'-diMe (velutin)						X				X	X	
Lut-3',4'-diMe										X		X
Lut-7,3',4'-triMe										X		
5,7,4'-triOH-6,8-diOMe					X							
5,4'-diOH-6,7, 8-triOMe			X		X							
5,7-diOH-6,8,4'- triOMe		X			X	X						
5-OH-6,7,8,4'-tetraOMe				X								
6-OH-luteolin-6-Me					X							
6-OH-lut-6,3'-diMe						X	X			X	X	
6-OH-lut-6,7,3'-triMe											X	
6-OH-lut-6, 3',4'-triMe												X
6-OH-lut-6,7, 3',4'-tetraMe											X	
Hypolaetin-8,3',4'-triMe					X							
5,3',4'-triOH-6,7,8-triOMe					X							
5,7,3'-triOH-6, ,8,4'-triOMe					X							
5, 4'-diOH-6,7,8,3'-tetraOMe					X						X	
5, 7-diOH-6, 8,3',4'-tetraOMe			X		X							
5,2',4'-triOH-6,7,8,5'-tetraOMe					X							

Description et Classification Botanique des Plantes Étudiées

Flavonoïde	O.f.	O.n.	O.n.+	O.n. \square .	O.n. \square .	O.n.#.	O.r.	O.s.	O.s.p.	O.sp.*.	O.t.	O.v.
2- Flavonole												
Quercétin	X							X		X		
Quercétin-3-glycoside	X											
Quercétagétin-3, 6,7-triME								X				
5,7,4'-triOH-3,6,8-triOMe										X		
5,7,4'-triOH-3,6,8,3'-tetraOMe										X		
3- Flavanones, Chalcones, dihydrochalcones				X								

O.f. : Ononis fruticosa ssp natrix	O.n. : Ononis natrix ssp hispanica	O.n.+ : Ononis natrix ssp natrix
O.n. \square : Ononis natrix ssp ramosissime ronindifolia	O.n.# : Ononis natrix (2 coll)	O.r. : Ononis
O.s. : Ononis sicula spinosa	O.sp. : Ononis speciosa	O.sp.* : Ononis
O.t. : Ononis tridentate	O.v. : Ononis vaginalis	

Tableau 1.3 (suite): Flavonoïdes dans les espèces Ononis

I.6 Références Bibliographiques

- [1]: P. Ozenda, « Flore de Sahara, Septentrional et Centrale », 1958, pp 486.
- [2]: F. Chaaib Kouri, « Investigation phytochimique d'une brosse à dents africaine *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Lam.) Zepernick et Timler (Syn. *Fagara zanthoxyloides* L.) (Rutaceae) », Thèse de doctorat, Faculté des sciences, Institut de Pharmacognosie et Phytochimie, Université de Lausanne, 2004.
- [3]: Kakule Kasonia, Michel Ansay, « Valorisation des ressources naturelles et culturelles pour le développement durable : Ethnomédecine vétérinaire de la région des Grands Lacs d'Afrique Centrale ».
- [4]: K. Bremer, cité dans Roland P. Roberts, « Phylogeny of *Ericameria*, *Chrysothamnus* and Related Genera (ASTERACEAE: Astereae) Based on Nuclear Riosomal DNA Sequence Data », Graduate Faculty of the Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College, (2002).
- [5]: B. Messali, « Systématique des spermaphytes », Edition : O.P.U. 1995, Alger, 53-54.
- [6]: J. B. Harborne, «Comparative Biochemistry of the Flavonoids», (1967), 161-168, Academic Press.
- [7]: M. Boussaid, N. Ben Fadhel, Y. Zaouali, A. Ben Salah, A. Abdelkefi, Projet intitulé : Protection de la diversité biologique en Tunisie à travers l'utilisation durable des plantes médicinales et aromatiques.
<http://www.iucn.org/places/medoffice/nabp/web/documents/>
- [8]: M. Boussaid, N. Ben Fadhel, M. Ben M'hamed, «Structure of vegetation in Northern and Central Tunisia and Protective Measures». Cah. Opt. Mediter., 1998, Vol. 38, 295-302.
- [9]: A. F. Barrero, E. Cabrera, I. Rodriguez, Eva M. Fernandez-Gallego, Phytochemistry, (1994), 35, 189-194.
- [10]: A. F. Barrero, E. Cabrera, I. Rodriguez, F. Pannelle, Phytochemistry, (1994), 35, 493-498.
- [11]: A. F. Barrero, J. F. Sanchez, F. Reyes, I. Rodriguez, Phytochemistry, (1991), 30, 641-43.
- [12]: A. F. Barrero, J. F Sanchez, et I.Rodriguez, Phytochemistry, (1990), 29, 1967-1969.

- [13]: A. F. Barrero, J. F. Sanchez, A. Barron, F. Corrales, I. Rodriguez, *Phytochemistry*, (1989), 28, 161-164.
- [14]: M. G. Rowan, P. D. G. Dean, *Phytochemistry*, (1972), 11, 3263 – 3265.
- [15]: L. Canedo, Jose M. Miguel Del Corral, A. San Feliciano, *Phytochemistry*, (1997), 44, 1559-1563.
- [16]: A. San Feliciano, Jose M. M. Del Corral, L. Canedo, M. Medarde, *Phytochemistry*, (1990), 29, 945-948.
- [17]: S. Kirmizigul, N. Goren, Shu-W. Yang, Geoffrey A. Cordell, C. Bozok-Johanson, *J. Nat. Prod.*, (1997), 60, 378-381.
- [18]: A. F. Barrero, E. Cabrera, I. Rodriguez Garcia, *Phytochemistry*, (1998), 48, 187-190.
- [19]: S. Abdel-Kader Maged, *J. Braz., Chem. Soc.*, (1997), 8, 637-639.
- [20]: J. L. Ingham, *Biochemical Systematics and Ecology*, (1982), 10, 233-237.
- [21]: E. Wollenwebera, M. Dörra, D. Riverab, J. N. Roitman, Verlag der Zeitschrift für Naturforschung, Tübingen · <http://www.znaturforsch.com> · D.

II.1 Introduction

Les Arabes avaient leurs spécialistes en médecine et en pharmacie : Abû Baker al-Razi ou Rhazès (865-925), Ibn Sina ou Avicenne (980-1037), Ibn al Baytar (1197-1248), etc. Ce sont eux qui ont donné à la pharmacie son caractère scientifique. Les traditions pharmaceutiques arabes passèrent en Europe et influencèrent profondément les grandes universités de l'époque du 9^e siècle. En effet, plusieurs livres et ouvrages contenant des listes de plusieurs préparations et plantes médicinales, ont servi de base à l'enseignement de la médecine dans ces universités [1]. Sur la même voie, des progrès de la biochimie et de l'analyse organique et pharmacologique, ainsi que de la physiologie végétale, ont permis un tri rationnel dans la masse des activités attribuées aux plantes. De nombreux principes actifs sont isolés des végétaux, tels des alcaloïdes: morphine (1805), strychnine et quinine (1818 et 1820), codéine, cocaïne, colchicine, et des hétérosides : digitaline (1868), ouabaïne, etc. [1].

En même temps, la physiologie progresse notablement à la suite des travaux de Claude Bernard (curares). Les travaux d'Eijkman et Funk sur une maladie par carence, le bériberi, sont à l'origine de la vitaminothérapie. Le développement de la chimie permet aussi de grands progrès en médecine : découverte du phénol et du chloral; synthèse de l'aspirine, des salicylates, etc. [1].

L'exploration des ressources naturelles, et notamment du monde végétal, reste d'une importance capitale jusqu'à l'heure actuelle. Les vertus médicinales attribuées aux plantes orientent les chimistes en particulier, sur la présence de molécules appartenant à une classe chimique particulière. Ces molécules peuvent provenir du métabolisme secondaire des plantes et sont utilisées par l'homme dans son arsenal thérapeutique. Elles remplissent des fonctions secondaires dans la cellule et font partie d'une des nombreuses classes ou familles de composés. Les hormones, les vitamines, les co-facteurs, les antibiotiques sont des exemples de métabolites secondaires. Ceux-ci peuvent être classés selon la voie biosynthétique par laquelle ils sont fabriqués. Ces molécules possèdent une ou plusieurs unités de base telle que l'unité isoprène, acétate et quelques autres unités peu complexes.

Les Composés Terpéniques, Flavonoidiques et Polyacétyléniques

Ce chapitre est consacré à l'étude biosynthétique des substances naturelles: *terpénoïdes*, *flavonoïdes* et *polyacétylènes* donnant des résultats encourageants pour la thérapie, et qui sont les métabolites rencontrés dans les espèces étudiées.

II.2 Les Terpénoïdes

Durant le 19^{ème} siècle, les chimistes, (en particulier le chimiste *Wallach*) ont mis en évidence un nombre important de structures, généralement provenant de végétaux (les huiles essentielles), qui pouvaient être formellement découpées en unités C5, appelées unités *isoprènes*. Ces composés, de formule générale $(C_5H_8)_n$ ont été nommés '*terpènes*', dont le nom étymologique vient de l'arbre de térébinthe [2].

Le chimiste *Ruzicka* proposa une nomenclature pour les terpènes en fonction du nombre d'atomes de carbones qui les constituent: les hémiterpènes en C5, les monoterpènes en C10, les sesquiterpènes en C15, les diterpènes en C20, les sesterpènes en C25, les triterpènes en C30, les tétraterpènes en C40 et les polyterpènes [2].

Il faut cependant noter que l'on distingue les terpénoïdes des terpènes: les terpénoïdes étant des dérivés terpéniques portant au moins un atome d'oxygène ou un hétéroatome.

II.2.1 Caractéristiques des Terpénoïdes

Le terme terpène inventé par Kekulé [3] vient à l'origine de l'huile de «térébenthine» qui a été utilisé pour tous les composés huileux volatils insolubles dans l'eau [3].

Les terpènes sont très diversifiés aussi bien du point de vue structural varié que du point de vue de leur activité biologique. Les composés de ce groupe, constitués uniquement des éléments: carbone, hydrogène et oxygène, représentent les constituants des huiles essentielles, résines, stéroïdes et des polymères [4]. L'huile, la plus connue et la plus abondante dans les essences des plantes et des fleurs est «*le camphre*» [3], en arabe «*kaphur*» signifiant craie ou blancheur de lune [5].

Ces composés qui constituent une famille de composés acycliques ou cycliques [6], sont généralement peu stables à la chaleur et sont sensibles aux phénomènes

Les Composés Terpéniques, Flavonoidiques et Polyacétyléniques

d'oxydation [7], ils sont très volatiles et sont considérés comme des substances assez énigmatiques, difficiles à étudier [8].

La très grande majorité des terpènes sont spécifiques du règne végétal [5] plusieurs sont isolés à partir des feuilles, de fruits, des grains, des racines et des écorces des dicotylédones [3], généralement intense chez les Asteraceae [9], on peut en rencontrer chez les animaux, phéromones et hormones juvéniles sesquiterpéniques des insectes, dans les organismes marins [5]. Les monoterpènes existent à l'état halogéné chez les algues et sont largement distribués chez les végétaux supérieurs: exemples d'ordre Astérales, Laurales [5].

Les terpènes constituent entre autre le principe odoriférant des végétaux. Cette odeur est due à la libération des molécules très volatiles contenant 10, 15, 20 atomes de carbones. Extraites, ces molécules sont employées comme condiment (girofle) ou comme parfum (rose, lavande). Nombre d'entre eux possèdent aussi des propriétés antiseptiques [10].

II.2.2 Classes des Terpénoides

Les terpénoides des plantes présentent une diversité structurelle et fonctionnelle remarquable. Ils ont une origine biosynthétique dérivé du précurseur «Isopentényl» et sont en majorité considérés comme des substances «lipophiles» [11]. Leur chaîne carbonée est constituée d'unités isoprènes (voir figure 1.1) à cinq atomes de carbones, assemblées d'abord en une chaîne insaturée qui est ensuite modifiée par oxydation, réduction ou élimination de carbone.

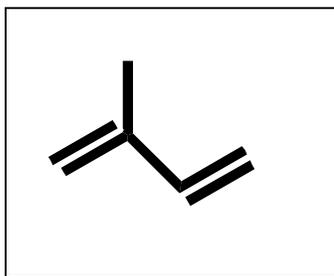


Figure 2.1 : Unité isoprène

Les Composés Terpéniques, Flavonoïdiques et Polyacétyléniques

L'assemblage des unités isopréniques donnent les différentes classes terpénoïdiques (voir tableau 2.1). Selon le nombre de ces entités, les terpènes sont classés [12] en mono terpènes à 10 carbones, sesquiterpènes à 15 carbones, diterpènes à 20 carbones, etc.

Tableau 2.1 : Les différentes classes de terpénoïdes

CLASSE	FORMULE CHIMIQUE	EXEMPLE
Isoprène	C_5H_8	
Monoterpènes	$C_{10}H_{16}$	Myrcène
Sesquiterpènes	$C_{15}H_{24}$	Farnésol
Diterpènes	$C_{20}H_{32}$	Terpinol
Triterpènes	$C_{30}H_{48}$	Squalène, Stérols
Tetraterpènes	$C_{40}H_{66}$	Carotène
Polyterpènes	$(C_5H_8)_n$	Caoutchouc

Les monoterpènes : ils constituent la majeure partie des huiles essentielles qui sont présentes en quantité chez environ 2000 espèces de 60 familles végétales [12] la figure 2.2 représentent quelques exemples de structure de ces dérivés. Ils sont rares chez les Légumineuses. Ils peuvent être linéaires, monocycliques (thymol, menthol) ou bicycliques (camphre). Les fonctions des monoterpènes sont multiples. Certains protègent les plantes des prédateurs, inhibent la multiplication des bactéries et/ou champignons.

Les Composés Terpéniques, Flavonoïdiques et Polyacétyléniques

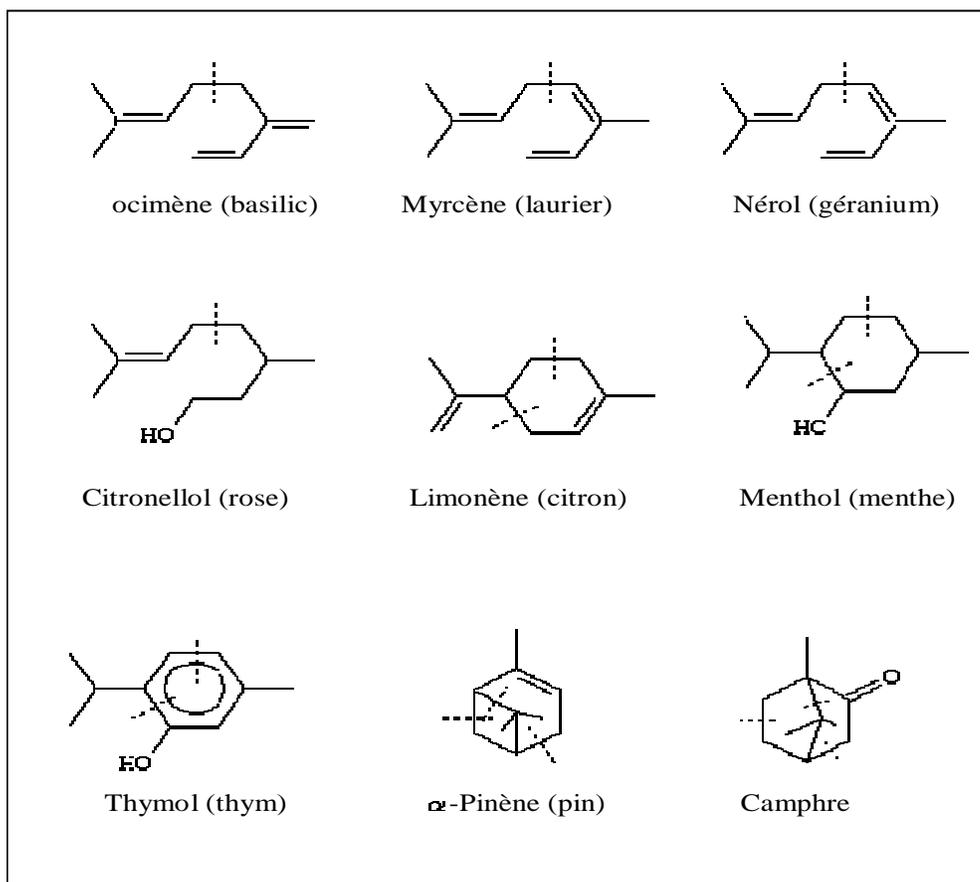


Figure 2.2 : Exemples des monoterpènes

Les sesquiterpènes : par rapport à la sous famille des monoterpènes, les sesquiterpènes offrent un plus grand nombre de possibilités de cyclisation, ce qui augmente la diversité structurale de façon considérable.

Les sesquiterpènes linéaires (acycliques) sont peu nombreux. Le Farnésol, très répandu dans le monde végétal (parfum) en est un exemple. Plus fréquents, sont les sesquiterpènes mono ou bicycliques (α -Bisabolene, Eudesmol, Spathulenol). L'acide abscissique, phytohormone présente entre autres dans les bourgeons et les graines en dormance, est un exemple de sesquiterpène monocyclique (voir figure 2.3).

La grande majorité de sesquiterpènes sont présents dans les huiles essentielles. On peut également rencontrer dans les plantes des lactones sesquiterpéniques (voir figure

Les Composés Terpéniques, Flavonoidiques et Polyacétyléniques

2.4) variées qui se rattachent toutes au produit de cyclisation cyclodécadiénylique, du 2 E, 6 E-farnésyl-pyrophosphate.

On connaît plus de 100 squelettes différents de structures sesquiterpéniques, ces diversités trouvent leur origine dans les potentialités réactionnelles de leur précurseur commun, le pyrophosphate de farnésyle (FPP) [5].

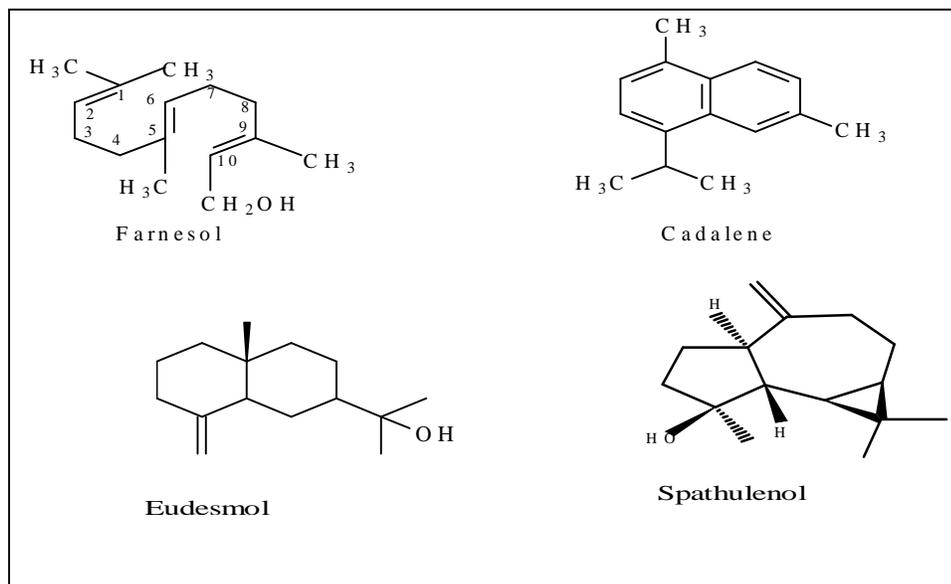


Figure 2.3 : Exemples de sesquiterpènes

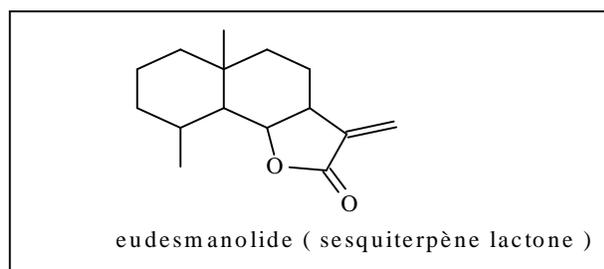


Figure 2.4 : Exemple de sesquiterpène lactone

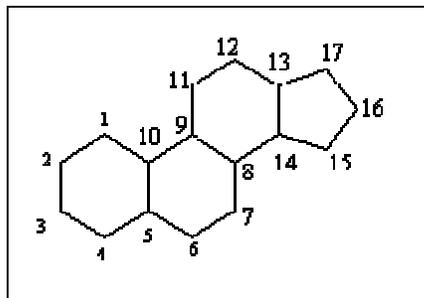


Figure 2.7 : Structure du noyau stérane

Tétra- ou penta cyclique, les triterpènes comprennent plusieurs groupes dont un grand nombre de composés possèdent une fonction importante sur le plan biologique. Les stérols par exemple, présentent également d'intéressantes activités anti-herbivores possédant un groupement hydroxyle caractéristique en C3.

Les stéroïdes humains sont des métabolites d'origine terpénique [13], distribués entièrement dans le règne végétal et animal, formés par une biosynthèse identique [14]. Ils sont des constituants des membranes des divers organites cellulaires de tous les êtres vivants à l'exception des procaryotes [7].

Les stéroïdes (voir figure 2.8) possèdent une structure commune qui est le squelette du noyau stérane [15].

Plusieurs hormones humaines sont des stéroïdes, les hormones sexuels œstradiols et les testostérones et les hormones surrénales (cortisone), le cholestérol est également un stéroïde, ainsi que la vitamine D [16].

Peu de stéroïdes végétaux, en dehors des sapogénines et des hétérosides cardiotoniques, ont un réel intérêt thérapeutique. Sur un plan phytochimique, on peut mentionner l'existence des ecdystéroïdes [5].

Abondant dans les végétaux et les animaux, les stéroïdes ont en commun une structure chimique comportant un squelette perhydrocyclopentanophénantrène [15] (avec une numérotation UICPA spécifique). Ils comportent généralement des méthyles en C-10 et C-13 et souvent une chaîne alkylée en C-17. Les Stérols (une classe des stéroïdes)

Les Composés Terpéniques, Flavonoidiques et Polyacétyléniques

comportent un hydroxyle en position C-3; ils sont biogénétiquement dérivés des triterpènes.

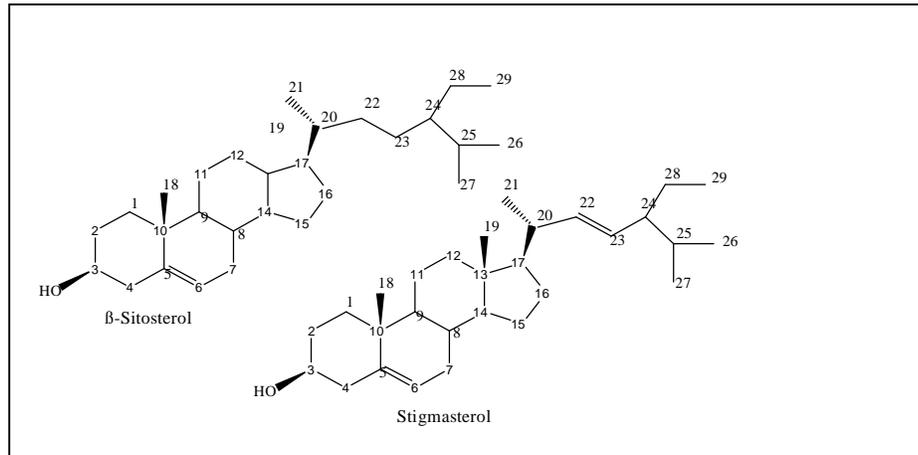


Figure 2.8: Exemples des stéroïdes

Tétraterpènes : Ce sont des composés biologiquement importants, présents dans les règnes animal et végétal. La charpente en C-40 se forme par l'assemblage en configuration cis de deux géranylgeranyl diphosphate avec une formation d'une nouvelle double liaison centrale (figure 2.9). Des déshydrogénations successives augmentent le nombre général des doubles liaisons et donc le système de conjugaison ce qui entraîne une intensification de la couleur des composés produits [9].

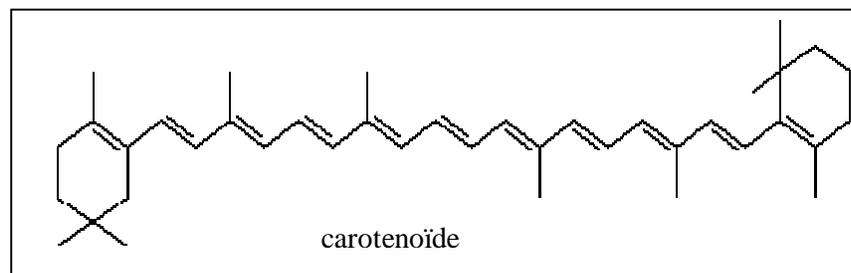


Figure 2.9 : Exemple de tétraterpènes

Les Composés Terpéniques, Flavonoidiques et Polyacétyléniques

Polyterpènes : Ils sont formés de 500 à plus de 5000 unités isoprènes en chaînes non ramifiées aux doubles liaisons de configuration cis. Ils sont présents dans environ 2000 espèces végétales et le caoutchouc en est un exemple. (Figure 2.10).

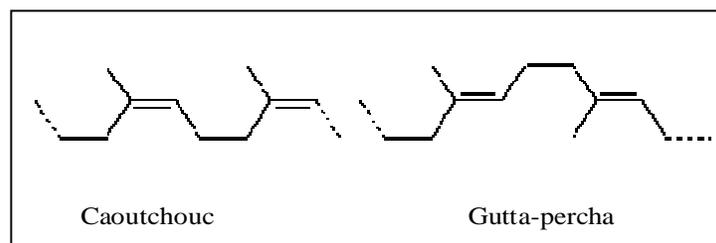


Figure 2.10 : Exemples de polyterpènes

II.2.3 Biosynthèse des Terpénoïdes

Les chimistes peuvent prendre exemple sur la nature, qui a su développer des processus extrêmement sélectifs mais aussi hautement efficaces. Beaucoup de biotransformations aboutissent à des molécules complexes. Pour arriver à synthétiser ces molécules complexes, la nature a développé deux grandes stratégies :

1. La première est de construire une molécule cible par une suite de réactions enzymatiques hautement efficace ;
2. La deuxième est d'utiliser des réactions en cascade. Pour illustrer cette deuxième stratégie, on peut prendre l'exemple de la biosynthèse des stéroïdes à partir de l'époxyde du squalène qui est transformé avec une haute sélectivité en lanostérol [17].

La synthèse de l'acide mévalonique (molécule cible) qui, à la base de tous les terpènes, suit le processus indiqué dans la figure 2.11. La réduction de trois chaînes acétyle sous forme d'acétyle CoA (1), aboutit à la libération d'acide mévalonique (2), qui par une déshydratation interne et une décarboxylation donne le pyrophosphate d'isoprenyle (3) qui peut s'isomériser en pyrophosphate de diméthylallyl (4).

Les Composés Terpéniques, Flavonoidiques et Polyacétyléniques

Comme nous l'avons vu précédemment, l'isoprène n'est pas l'unité active dans le milieu biologique. L'équivalent de cette entité est en fait l' isoprényle pyrophosphate (3), ou sa forme tautomère, le diméthyle allyle pyrophosphate (4). Le précurseur de ces deux molécules est l'acide mévalonique qui est, de ce fait, le tronc de l'arbre biosynthétique des terpènes en général schématisé de façon simplifiée dans la figure 2.12.

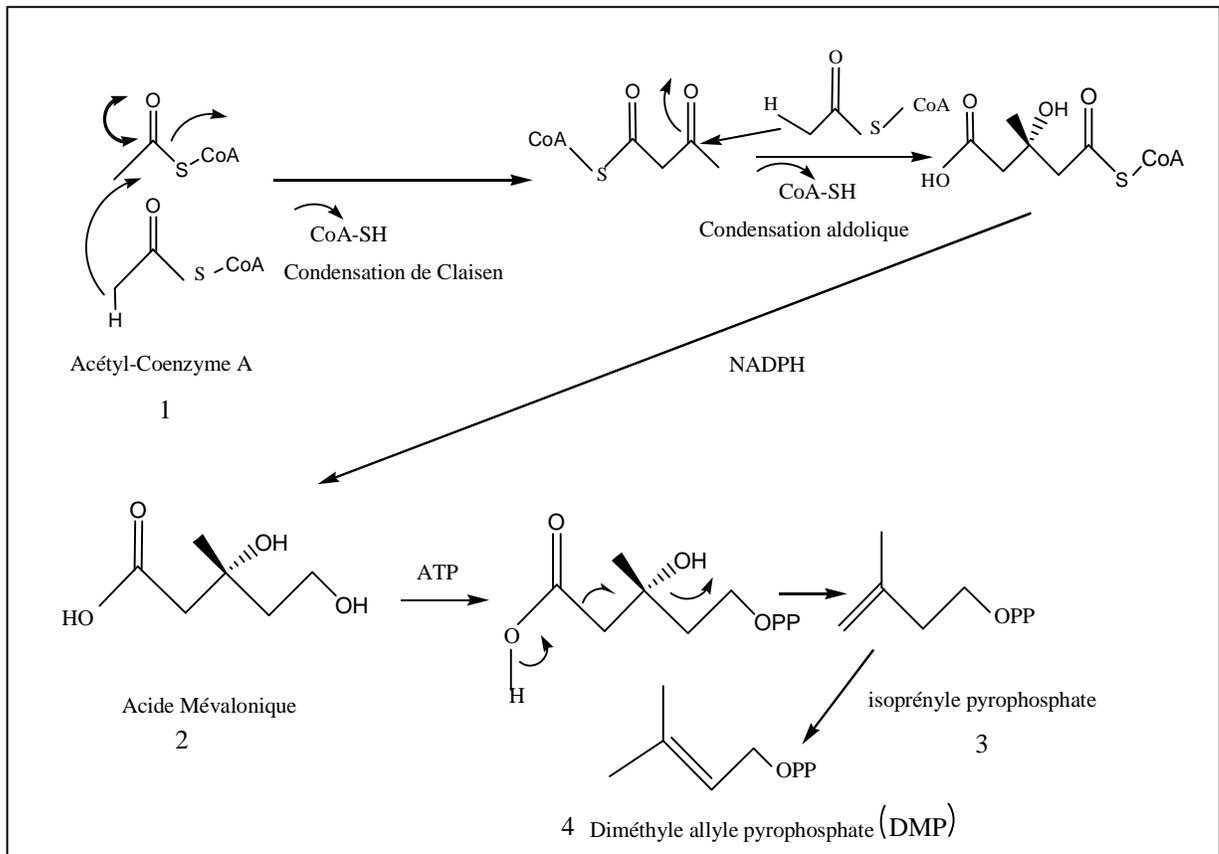


Figure 2.11 : Biosynthèse de l'acide mévalonique 2 et de l'isoprényle pyrophosphate 3

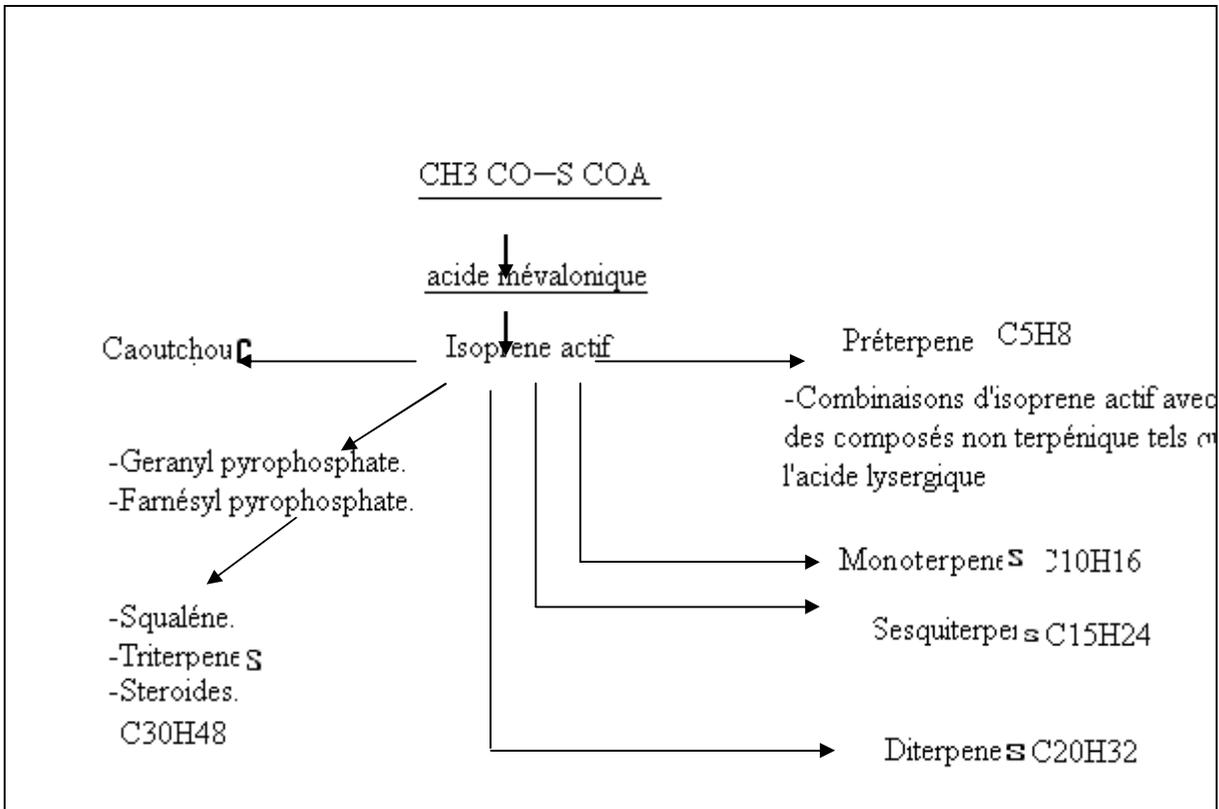


Figure 2.12 : Biosynthèse des Terpénoïdes

Par condensation d'une molécule diméthylallyle pyrophosphate (DMAP) avec une molécule (IPP) (4); on obtient le G.P.P. (en C-10) précurseur des monoterpènes. Une molécules de G.P.P. peut s'unir à une nouvelle molécules de I.P.P., et donner une molécule de F.P.P. (C-15) sesquiterpène, à laquelle s'ajoute une nouvelle unité en C-5 pour former une G.G.P (diterpènes en C-20) (voir figure 2.13). Deux molécules de F.P.P. peuvent se lier pour former un triterpène : le squalène (C-30).

Les Composés Terpéniques, Flavonoïdiques et Polyacétyléniques

A partir du squalène, se formeront, d'une part les stéroïdes, et d'autre part les triterpènes cycliques. L'addition d'unité en C-5 conduit au composé homologue en C-20, le G.P.P joue un rôle particulier dans la biosynthèse des caroténoïdes.

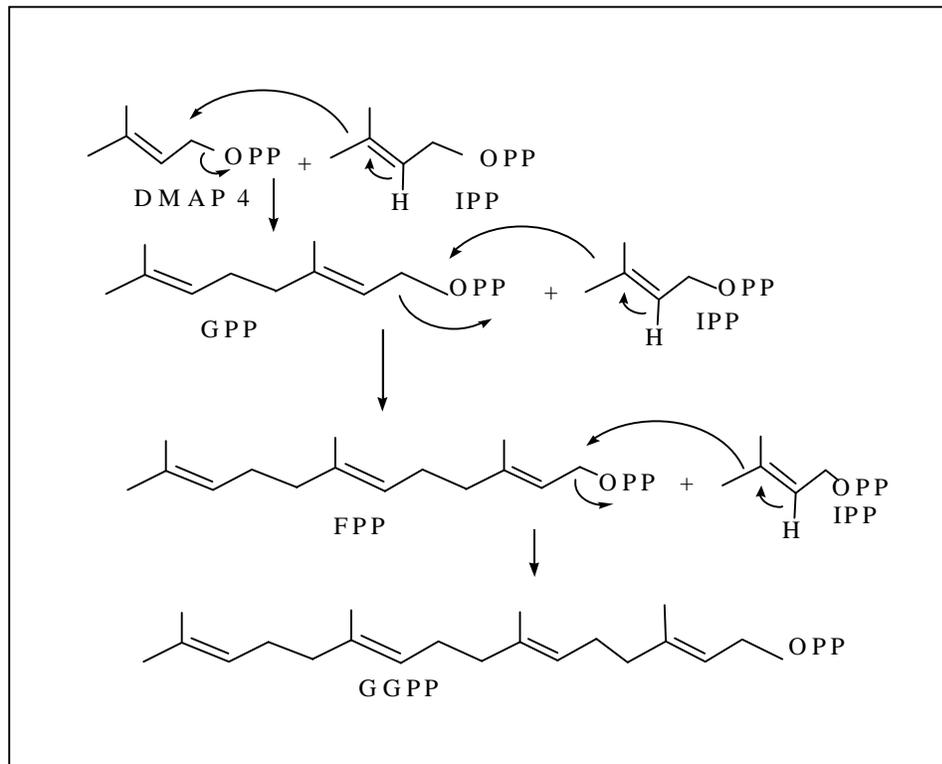


Figure 2.13 : Biosynthèse des unités de base des différentes classes de terpénoïdes

L'accrochage successif de nouvelles unités isopentenyl par exemple sur G.G.P.P fait apparaître des poly-isoprènes (polyterpènes), le caoutchouc, gutta-percha et le chiolé qui comportent plus de 2000 à 5000 résidus isoprènes, se situent au terme de cette suite de réactions biosynthétiques [5, 17].

II.2.4 Le Rôle Bioactif des Terpénoïdes

Les Composés Terpéniques, Flavonoidiques et Polyacétyléniques

Des investigations concernant les activités biologiques des mono- et des sesquiterpènes ont prouvé l'existence des effets suivants [18, 19]: anesthésique, antihistaminique (allergies), anti-rhumatismal, diurétique (β -eudesmol), insecticide, analgésique, toxique (sesquiterpènes) quelquefois, antibiotique, anti-inflammatoire, anti-cancéreux, irritant et calmant (mono- et sesquiterpènes).

Le β -Sitosterol et le Stigmastérol qui ont des structures assez similaires, sont présents généralement dans les membranes cellulaires des plantes. Le β -Sitosterol présente l'habilité de renforcer des membranes [20]. Il a été aussi noté qu'un mélange de β -Sitosterol et de stigmastérol présentait une activité antimutagénique [21].

Le Lupéol et le 19α -H-lupéol forment des composés anti-inflammatoires et anti-arthritiques importants [22]. D'autre part, il a été aussi montré que le Lupéol avait la propriété d'inhiber l'augmentation des cellules de la leucémie chez l'homme [23].

II.3 Les Flavonoïdes

Le terme flavonoïde est dérivé du mot grec « flavus » qui veut dire jaune [24]. Il rassemble une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols, leur fonction principale semble être la coloration des plantes (voir tableau 2.2).

Ils sont surtout abondants chez les plantes supérieures particulièrement dans certaines familles : Polygonacées, Rutacées, Légumineuses, Ombellifères et Composées, mais ils peuvent également se trouver dans le règne animal, les glandes à sécrétion odoriférante du castor, le propolis des abeilles (la Chrysin, la Quercétine, la Galangine) et dans les ailes des papillons [25, 26].

Les flavonoïdes sont présents dans les vacuoles sous forme d'hétérosides, dont la partie osidique est fréquemment le glucose ou le Rhamnose [27]. Ils jouent un rôle important dans les processus biologiques. Ils règlent la croissance de la plante par inhibition d'acide acétique de l'Auxin Indolyl Excytosis, et par énumération d'expression du gène, et ils peuvent influencer également et de manière différente sur d'autres cellules biologiques.

La concentration en flavonoïdes est maximale dans les organes jeunes et dans les tissus externes et aériens car la lumière stimule leur biosynthèse.

Tableau 2.2: La couleur de quelques classes des flavonoïdes

Flavonoïdes	Couleur	Références
Flavones, flavonols	Jaune	[25, 26]
Flavonones	Incolore Jaune	[25, 26]
Flavononols	Ivoire	[25, 26]
Isoflavones	Ne prennent pas une seule couleur	[26]
Chalcones et Aurones	Jaune	[25, 26]
Anthocyanidines	Rouge en milieu acide Bleu en milieu alcalin Violette, mauve, rose	[28]

Dans l'industrie pharmaceutique, la recherche de nouvelles herbes médicinales contenant des composés flavonoïdiques a beaucoup servi comme point de départ pour le développement de dérivés intéressants [29].

Les flavonoïdes sont un groupe de composés polyphénoliques, avec des structures chimiques diversifiées et caractéristiques. Plus de 4000 flavonoïdes différents appartiennent à des classes flavonoïdes incluant les flavonols, flavones, flavanones, catechins, anthocyanidines, isoflavones, dihydroflavonols, et chalcones [30, 31]. Les flavonoïdes font partie de l'alimentation humaine: nous les retrouvons dans les fruits (citron), les légumes et les boissons (thé, café, etc.) [31].

II.3.1 Classes des Flavonoïdes

On a déjà recensé plus de 800 flavonoïdes différents, essentiellement dans les fruits et les légumes (voir tableau 2.3) [32]. Les six classes des flavonoïdes

Les Composés Terpéniques, Flavonoïdiques et Polyacétyléniques

(flavanones, flavones, flavonols, isoflavones, anthocyanines et flavanes) varient dans leurs caractéristiques structurales par la diversité fonctionnelle autour de l'oxygénation de l'hétérocycle (voir tableau 2.4) [33].

Types d'aliments	Flavonoïdes /100 g
Fruits : Cerise, raisin, pomme, pêche	20-30 mg
Légumes : Epinards, laitue, céleri, chou	10-20 mg
Légumes secs : Fève, haricot, pois colorés	0,5-1 mg
Autres aliments : Cacao (fève de Calabar), thé, gland, châtaigne	20-30 mg
Plantes médicinales : Thym, origan, menthe, romarin	10-20 mg

Tableau 2.3 : Principales sources des flavonoïdes

Flavones, Flavonols : Ils représentent 80% des flavonoïdes connus, le noyau A est substitué par deux hydroxyyles phénoliques en C-5 et C-7 libres ou estérifiés. Le noyau B est dans 80% des cas substitué en 4' ou di substitué en 3' et 4' ou encore tri substitué en 3', 4' et 5'. Les positions 2', 6' ne sont qu'exceptionnellement substitués [10]. Les substituants sont des groupes –OH ou –OCH₃ [5]. La différence essentielle entre les flavones et les flavonols est la présence d'une oxygénation en C-3 dans les flavonols (voir figure 2.14) [13].

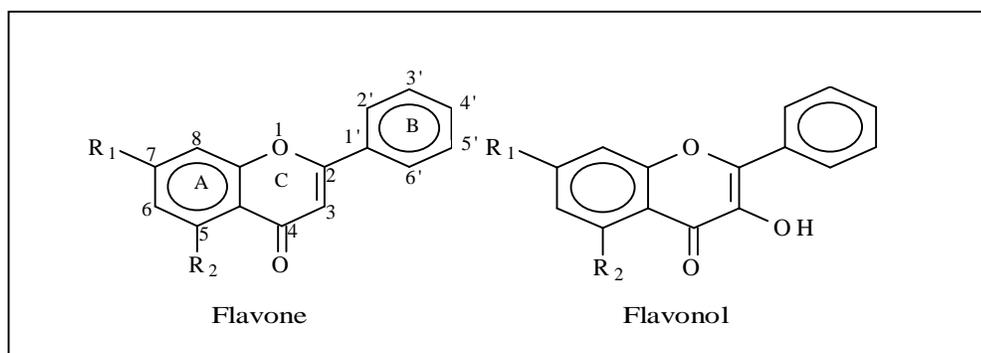


Figure 2.14 : Flavone, Flavonol

Les Composés Terpéniques, Flavonoïdiques et Polyacétyléniques

Tableau 2.4: Différentes classes des flavonoïdes

Flavonoïdes	3	5	6	7	8	2'	3'	4'	5'	6'
<u>Flavones</u>										
Apigénine	H	OH	H	OH	H	H	H	OH	H	H
Diosmétine	H	OH	H	OH	H	H	OH	OMe	H	H
Lutéoline	H	OH	H	OH	H	H	OH	OH	H	H
<u>Flavonols</u>										
Fiséline	OH	H	H	OH	H	H	OH	OH	H	H
Kaempférol	OH	OH	H	OH	H	H	H	OH	H	H
Morine	OH	OH	H	OH	OH	H	OH	OH	H	H
Myricétine	OH	OH	H	OH	H	H	OH	OH	OH	H
Quercétine	OH	OH	H	OH	H	H	OH	OH	H	H
<u>Isoflavones</u>										
Dadzéine	H	H	H	OH	H	H	H	OH	H	H
Genstéine	H	OH	H	OH	H	H	H	OH	H	H
Orobol	H	OH	H	OH	H	H	OH	OH	H	H
<u>Flavanones</u>										
Hespérétine	H	OH	H	OH	H	H	OH	OMe	H	H
Liquiritgénine	H	H	H	OH	H	H	H	OH	H	H
Naringénine	H	OH	H	OH	H	H	H	OH	H	H
<u>Flavanonols</u>										
Taxifoline	OH	OH	H	OH	H	H	OH	OH	H	H
<u>Anthocyanidines</u>										
Cyanidine	OH	OH	H	OH	H	H	OH	OH	H	H
Delphinidine	OH	OH	H	OH	H	H	OH	OH	OH	H
Malvidine	OH	OH	H	OH	H	H	OMe	OMe	OMe	H
Pelargonidine	OH	OH	H	OH	H	H	H	H	H	H
<u>Chalcones</u>										
Buteine	OH	H	H	H	H	OH	H	OH	H	H
Okonine	OH	H	H	H	H	OH	OH	OH	H	H
<u>Aurones</u>										
Maritimetine	H	H	OH	OH	H	H	OH	OH	H	H
Leptosidine	H	H	OH	OMe	H	H	OH	OH	H	H
<u>Biflavonoïdes</u>										
Amentoflavone	H	OH	H	OH	H	H	H	OH	H	H
	H	OH	H	OH	H	H	H	OH	H	H
<u>Hétérosides flavoniques</u>										
Lecontine	O-glu	H	H	OH	H	H	H	OH	H	H
Cytisoside	H	OH	H	OH	C-glu	H	H	OMe	H	H

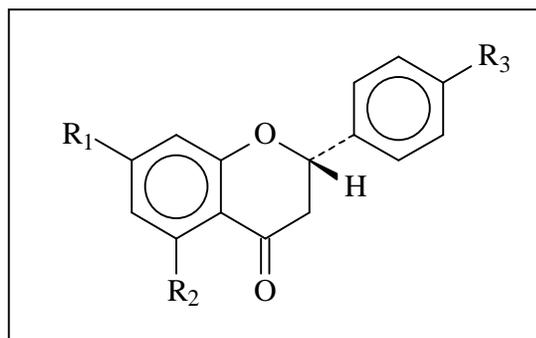


Figure 2.16 : Flavanone

Isoflavones (figure 2.17) : elles sont considérées comme des dérivés des flavones, elles ont le squelette du 3-phénylchromane comme la Génisteine 5, 7, 4'-trisubstitués. Les substituants sont des groupements OH [25]. Les isoflavonoïdes représentent une sous-classe importante et très distinctive des flavonoïdes. Ils ont une distribution très limitée dans le royaume des plantes et ils sont restreints à la sous-famille Papilionoideae des légumineuses [34].

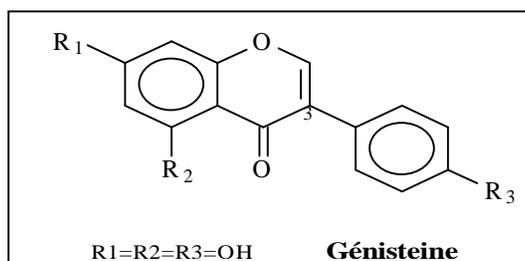


Figure 2.17 : Isoflavone

Chalcones, aures (figure 2.18) : Les chalcones sont dépourvues de l'hétérocycle central. Elles sont caractérisées par la présence d'un chaînon tricarboné cétonique. Le noyau B est assez fréquemment non substitué. Les Aures sont caractérisés par une structure de 2-benzylidène-coumaranone [5].

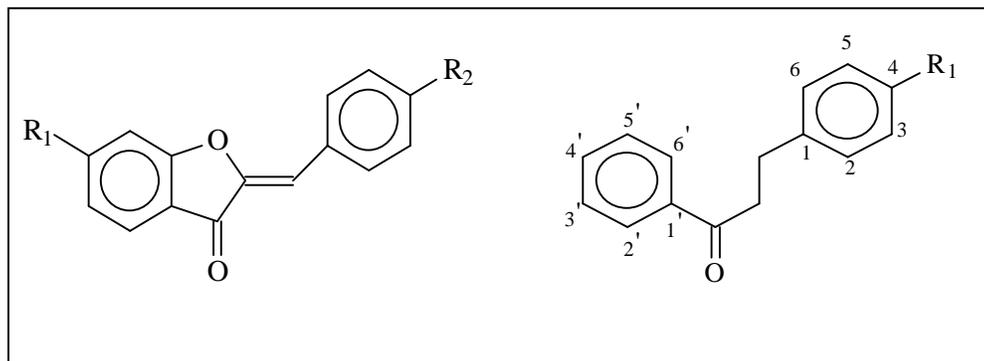


Figure 2.18 : Chalcone, Aurone

Biflavonoïdes : Les flavonoïdes peuvent se lier les uns aux autres, en particulier par leurs carbones, 6 ou 8 ils se forment alors un dimère, un biflavonoïde. La majorité des biflavonoïdes naturels sont des dimères de flavones et de flavanones, par exemple l'amentoflavone (figure 2.19). Les deux unités en question peuvent être ou non du même type (biflavones, biflavanones, flavone, flavonone) [5].

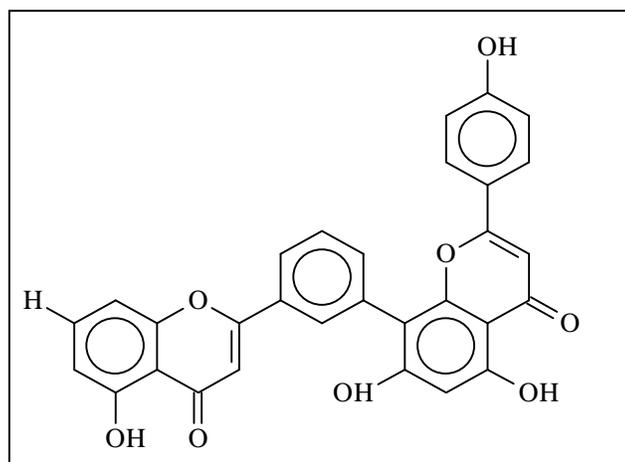


Figure 2.19 : Amentoflavone

Les anthocyanidines : Leur structure commune est caractérisée par le cation flavylum (figure 2.20) (2-phenylbenzo-pyrylium) portant des fonctions hydroxyles et/ou méthoxyles [5]. Les sucres sont pratiquement toujours fixés en position 3 ce qui

Les Composés Terpéniques, Flavonoïdiques et Polyacétyléniques

est indispensable à la stabilité de la molécule. Les anthocyanidines naturels peuvent être classées en trois sous groupes : Pelargonidine, cyanidine et delphinidine [5].

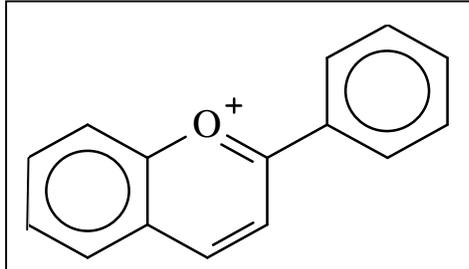


Figure 2.20 : Ion flavylium

Hétérosides flavonoïdiques (figure 2.21) : La partie osidique peut être mono, di ou trisaccharidique. Les monosaccharides sont formés avec le D-glucose, mais aussi avec le D-galactose, avec des pentoses ou avec des acides D-glucuroniques et D-galacturonique. Les liaisons entre la génine et l'ose peuvent se faire par l'un des hydroxyles phénoliques de la génine. Mais en règle générale, ce sont surtout l'hydroxylé en 7 des flavones et l'hydroxylé en 3 des flavonols qui sont impliqués [5].

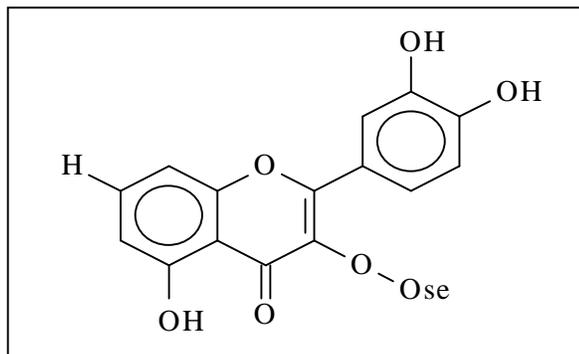


Figure 2.21 : Hétéroside flavonoïdique

II.3.2 Biosynthèse des Flavonoïdes

Les composés phénoliques forment un très vaste ensemble de substances. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction (par exemple, éther, ester, etc.).

Les composés phénoliques végétaux sont issus de deux grandes voies d'aromagenèse :

- 1- la voie la plus courante (voir figure 2.22) est celle qui, via le Shikimate (l'acide Shikimique), conduit à l'acide Benzoïque, Lignanes, Coumarines, flavonoïdes, etc.;
- 2- l'autre voie part de l'acétate-malonate et conduit par condensation répétée à des systèmes aromatiques (par exemple, Chromones, Isocoumarines, Quinones, etc.);

La pluralité structurale des composés phénoliques due à cette double origine biosynthétique est encore accrue par la possibilité, très fréquente, d'une participation simultanée du Shikimate et de l'acétate à l'élaboration de composés d'origine mixte (flavonoïdes, Stilbènes, Xanthones, etc.) [10].

Les flavonoïdes sont des pigments de la plante issus du métabolisme secondaire qui sont synthétisés à partir de la phénylalanine. La biosynthèse de ces derniers présente un intermédiaire commun (figure 2.23), une tétrahydroxychalcone à partir de laquelle se différencient plusieurs types de composés dont les plus importants sont les anthocyanes et les flavones [4]. Par ailleurs, la 4, 2',4',6'-tétrahydroxychalcone, formée par la chalcone synthase à partir du malonyl-CoA, un précurseur de la voie acétate-malonate, et du 4-coumaroyl-CoA, issu de la voie Shikimate (figure 2.22). Les flavonoïdes peuvent ensuite être modifiés par des réactions d'hydroxylation, méthylation, glycosylation et acylation [4].

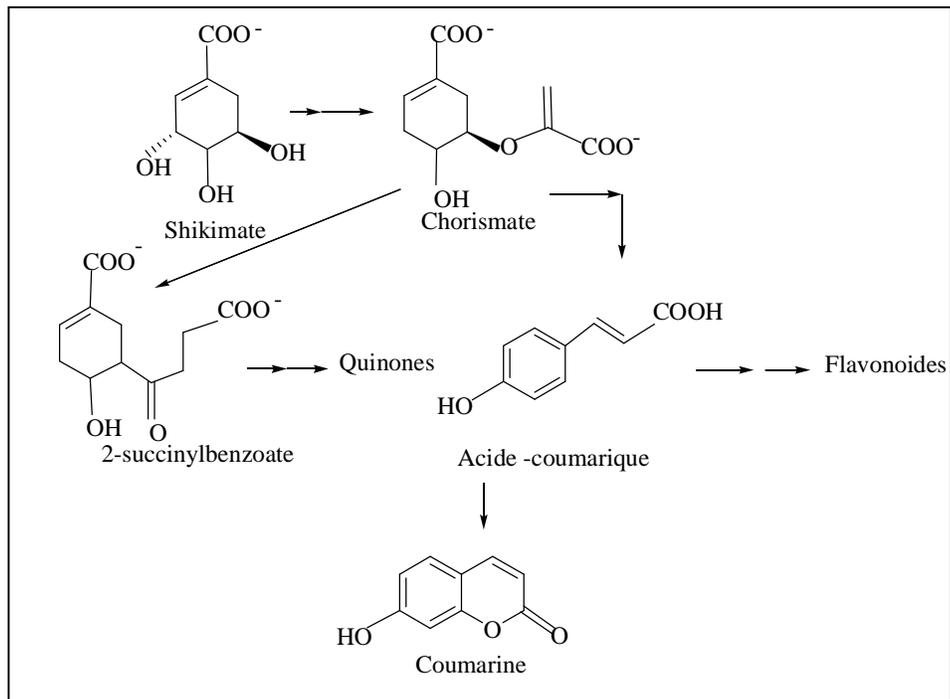


Figure 2.22 : Voie Shikimate de la biosynthèse des composés Phénoliques

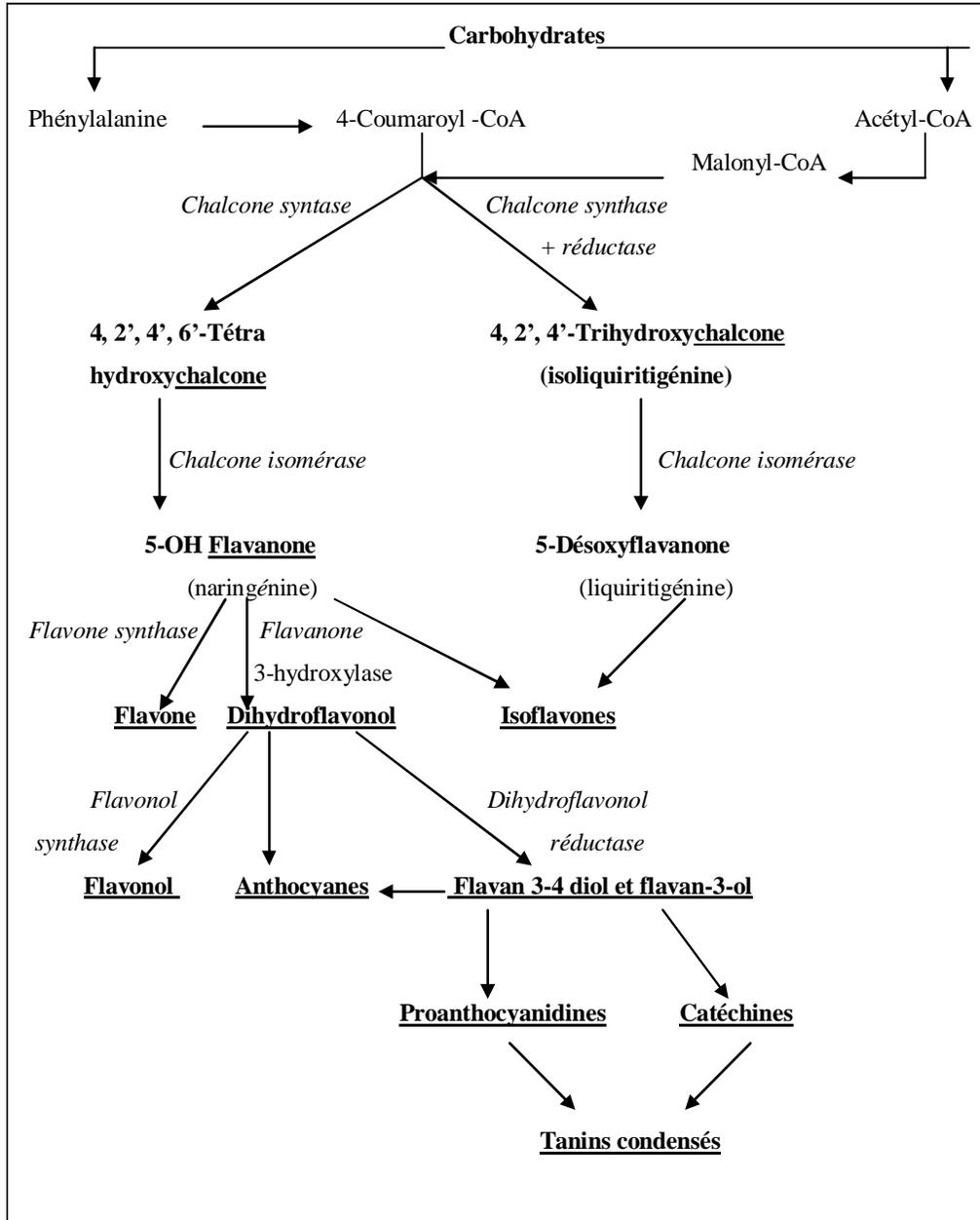


Figure 2.23 : Biosynthèse des Flavonoïdes

II.3.3 Le Rôle Bioactif des Flavonoïdes

Le rôle des flavonoïdes dans le monde végétal s'inscrit dans un contexte très large de relations entre une plante et son environnement assurées par des métabolites secondaires.

Leur rôle attractif ou répulsif des pollinisateurs est attribué à la couleur, la forme, l'odeur et le goût des fleurs. Les flavonoïdes sont avec les chlorophylles et les caroténoïdes les principaux facteurs de la coloration des plantes, et des ailes des papillons car ils agissent comme co-pigments.

Actuellement, il y a un intérêt général dans les effets des polyphénols diététiques sur la santé humaine, ils jouent un rôle important pour piéger les radicaux libres qui sont responsables d'un grand nombre de maladies dégénératives (Alzheimer, Parkinson) [35] mais également dans les mécanismes liés à l'apparition du cancer [35, 36]. En plus de la forte activité antioxydante in vitro de beaucoup de ces composés (4-oxo-flavones, anthocyanes, flavanes), ils semblent pouvoir jouer un rôle intéressant dans la prévention des maladies cardio-vasculaires : rôle des polyphénols associés aux fibres dans l'élimination du cholestérol, oxydation des lipoprotéines de faible densité (L.D.L), circulation sanguine [37, 38].

Les voies d'élimination du cholestérol dans l'organisme sont très particulières, puisque ce composé est éliminé par la voie fécale sous forme de stérols neutres ou acides (sels biliaires). Une ingestion suffisante de fibres alimentaires favorise l'élimination. En plus, les catéchines du thé ou les tanins du raisin inhibent l'absorption intestinale du cholestérol. Il a été aussi démontré que la rutine augmentait significativement l'excrétion fécale de l'acide biliaire [37].

Les flavonoïdes sont susceptibles de réagir avec la plupart des espèces réactives oxygénées. En fait, leur activité anti radicalaire nécessite :

- La structure ortho-diphénolique du cycle **B**, qui est essentielle à l'activité des flavonoïdes possédant un hétérocycle saturé;

Les Composés Terpéniques, Flavonoidiques et Polyacétyléniques

- La double liaison C₂-C₃ conjuguée avec la fonction 4-oxo, qui est responsable de la délocalisation d'électrons stabilisant le radical aroxylyl;
- Les hydroxyles en positions C-3 et C-5 dans le cycle A, qui permettent une activité anti radicalaire maximale.

Les trois éléments de structure décrits ci-dessus, sont des piègeurs efficaces des radicaux hydroxyles et peroxydes particulièrement impliqués dans la peroxydase lipidique. Les L.D.L. oxydées déclenchent la prolifération des cellules de la paroi artérielle et attirent des cellules sanguines (monocytes qui se transforment en macrophages). La modification oxydative qui touchent au départ les acides gras (peroxydase), peuvent aussi altérer les apoprotéines des L.D.L. Les flavonoïdes possèdent un caractère antioxydant qui peut chelater les métaux et moduler l'activité de nombreuses enzymes, en protégeant les L.D.L. vis à vis de l'oxydation ainsi qu'en intervenant au niveau des plaquettes et de la cholestérolémie [37].

Les flavonoïdes pourraient avoir un rôle bénéfique sur divers paramètres de la circulation sanguine. Etant donné le rôle des plaquettes dans le développement de l'athérosclérose et dans l'initiation de la thrombose, il est intéressant de noter que les flavonoïdes sont des inhibiteurs de l'adhésion, l'agrégation et de la sécrétion plaquetaires. Un autre aspect important concerne le rôle des flavonoïdes sur la résistance et la perméabilité vasculaire [37].

L'impact des flavonoïdes sur les parois vasculaires, ainsi que leurs propriétés anti-inflammatoires, sont à l'origine de l'utilisation en thérapeutique, comme vasculo-protecteurs et veino-toniques de diverses flavonoïdes naturels ou de synthèse [37].

Les études réalisées *in vitro* ou *in vivo* sur l'animal suggèrent que les flavonoïdes pourraient agir à tous les stades de la cancérogenèse. Au cours de la phase d'initiation, ils pourraient empêcher l'établissement de la lésion génotoxique par divers mécanismes : par une inhibition des mono oxygénases hépatiques impliquées dans l'activation des métaboliques des pro carcinogènes et /ou une activation des enzymes de conjugaison du foie qui sont responsables de la détoxification des xéno biotiques,

Les Composés Terpéniques, Flavonoidiques et Polyacétyléniques

par un piégeage direct du carcinogène, ou encore par une stimulation de l'éjection des carcinogènes hors de la cellule [37]. D'autre part, les flavonoides inhibent la croissance des lignées cellulaires cancéreuses en interférant avec les mécanismes de transduction des signaux mitogènes ou par d'autres mécanismes. [37].

Donc, les flavonoides sont des composés biologiquement actifs, possédant une activité chimio-préventive potentielle contre une large variété de maladies chroniques [36-40]. Citons par exemple l'apigénine qui est un flavonoïde diététique présent de façon abondante dans les fruits et les légumes et possédant une prévention thérapeutique contre plusieurs maladies cardiovasculaires ainsi que le cancer [41]. D'autres flavonoides comme l'*Eriodictyol*, le *Kaempférol*, la *Lutéoline*, la *rutine* et la *Taxifoline* sont bénéfiques pour les cellules des neurones contre le stress oxydatif [42-45].

Certains flavonoïdes (*Quercétine*, *Genistéine*, etc.) présentent des effets anti-tumeurs in vitro et inhibent le développement du cancer chimio-induit chez l'animal. C'est pourquoi leur participation dans la prévention des cancers avec d'autres micronutriments pourrait expliquer les effets protecteurs des fruits et des légumes [26, 42, 46]. Les isoflavones et flavones pourraient être plus particulièrement impliqués dans la prévention du cancer [26, 35, 47].

II.3.4 Etude Chimique des Flavonoides

II.3.4.1 Chromatographie

Les flavonoides sont présents dans la partie aérienne de la plante. La séparation des ces composés est réalisée par les méthodes chromatographiques telles que :

§ Chromatographie sur colonne : Cette méthode reste la technique la plus utilisée pour la séparation des produits isolés première purification et la séparation des produits isolés.

Les supports utilisés communément pour la séparation des flavonoides sont le gel de silice, l'alumine, la cellulose, le polyamide, le sephadex, etc. Ces adsorbants sont utilisés selon la spécificité des produits flavonoidiques.

Les Composés Terpéniques, Flavonoidiques et Polyacétyléniques

- § Chromatographie sur papier (Whatman) : C'est une technique qui convient pour la séparation des mélanges complexes de tous les types de flavonoides et leur glycosides.
- § Chromatographie préparative sur couches minces : C'est une technique voisine de la chromatographie sur papier, elle est également utilisée pour la séparation et la purification, son avantage est la rapidité et la sensibilité.

II.3.4.2 Spectroscopie UV

La spectroscopie de l'absorption U.V. [48, 49] est largement utilisée dans l'analyse structurale des flavonoides. Ses avantages majeurs sont:

- § seulement une toute petite quantité de matière est exigée pour l'analyse.
- § le matériel est disponible dans la plupart des laboratoires.
- § un grand taux d'information structurellement utile est produit.
- § la plupart des flavones et flavonoles expose deux bandes d'absorption majeures: la première bande -I est produite dans le rang 320–385 nm, la seconde bande –II dans le rang 250-285 nm.

II.3.4.3 Spectrométrie de Masse

La spectrométrie de masse (EI) des flavonoides (aglycones) est un outil valide qui sert à la détermination de leurs structures [49-52]. La plupart des flavonoides donnent des fragments d'ions moléculaires intenses. Généralement, les flavonoides aglycones montrent un pic majeur de $[M-H]^+$ et $[M-CH_3]^+$ lorsqu'il est méthoxylé. La fragmentation la plus empruntée pour l'identification du flavonoïde est celle qui implique la rupture du cycle A et cycle B (voir figure 2.24).

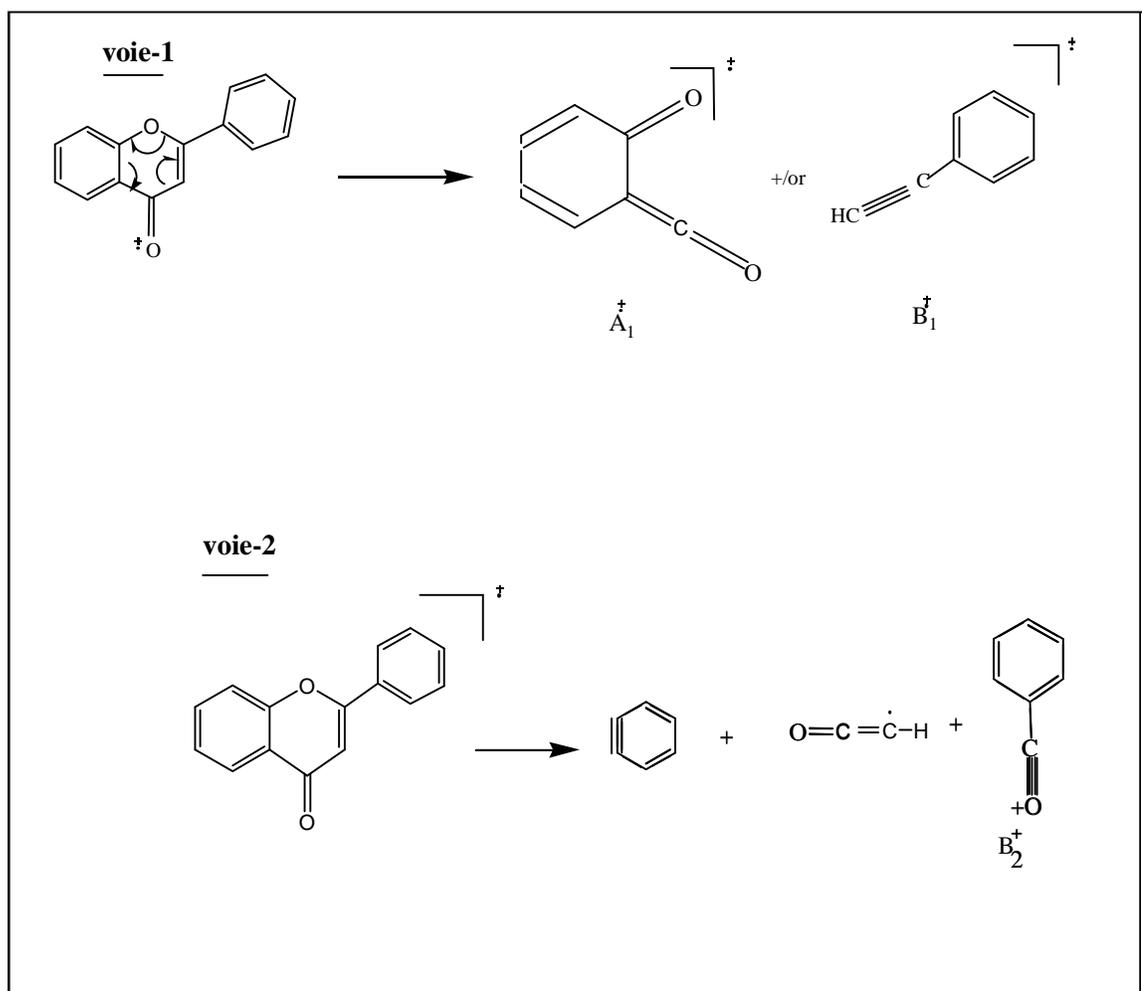


Figure 2.24 : Fragmentation des Flavones

II.4 Les Dérivés Polyacétyléniques

Les dérivés Polyacétyléniques sont des composés caractéristiques de la famille des Astéracées et quelques familles apparentées. Les polyacétylènes possèdent habituellement une chaîne carbonée en C17, C18, C15, C14, C13, C11, et C10.

II.4.1 Caractéristiques des Polyacétylènes

Les polyacétylènes forment une importante classe du métabolisme secondaire présent dans plusieurs espèces Asteraceae (synonyme Composés). Des études novatrices de

Les Composés Terpéniques, Flavonoidiques et Polyacétyléniques

Bohlmann (1988) et Bauer (2000) ont révélé beaucoup d'informations utiles au sujet de la structure, la chimie, et l'activité biologique de cette nouvelle classe de composés. Les pentaynènes et ses dérivés sont présents dans presque toutes les tribus d'Asteraceae et peuvent servir de marqueurs spécifiques pour cette famille [53]. On cite à titre d'exemple, la plante *Atractylodes chinensis* dont l'étude phytochimique a donné deux composés polyacétyléniques (voir figure 2.25) montrant des effets diurétiques et toxiques [54].

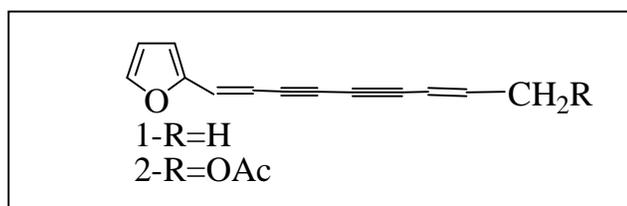


Figure 2.25 : Deux Polyacétylènes typiques de la plante *Atractylodes chinensis*

D'autre part, les dérivés polyacétyléniques ont été trouvés dans chacune des espèces *Echinacea* : l'amide acétylénique (E,Z,E)-N-isobutyl dodeca-2,4,10-triene-8-ynamide (1) est un composé important de *E. purpurea* [55], alors que le cétone (Z)-tetradeca-8-ene-11,13-diyn-2-one (2) est celui de *E. pallida* [56], et les amides diacétyléniques (E)-N-isobutyl undeca-2-ene-8,10-diynamid (5), (E)-N-isobutyl dodeca-2-ene-8,10-diynamide (6), (Z)-N-isobutyl undeca-2-ene-8,10-diynamide (7) sont trouvés dans *E. angustifolia* [57] (voir figure 2.26). Une autre étude signale la présence d'un mélange [58] complexe par extraction aux solvants critiques des racines fraîchement séchées d'*E. angustifolia* et comprenant plus de 12 amides acétyléniques différents.

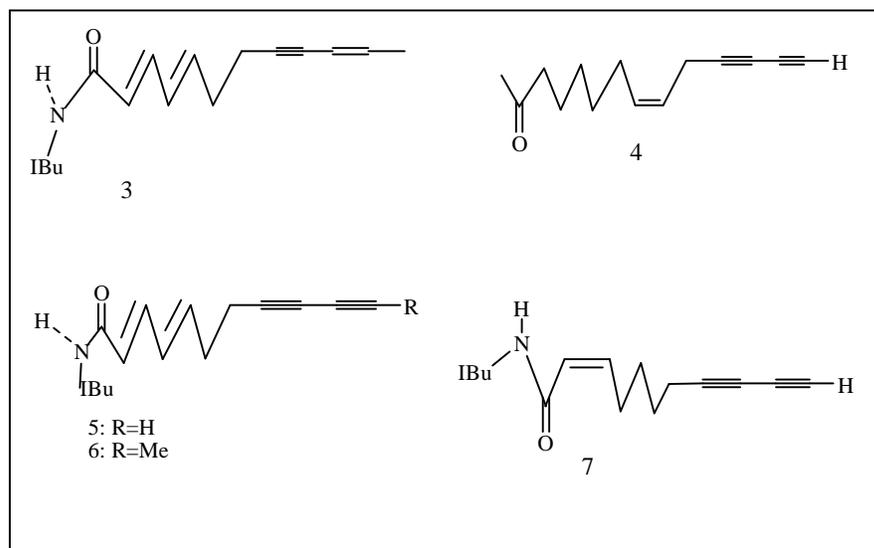
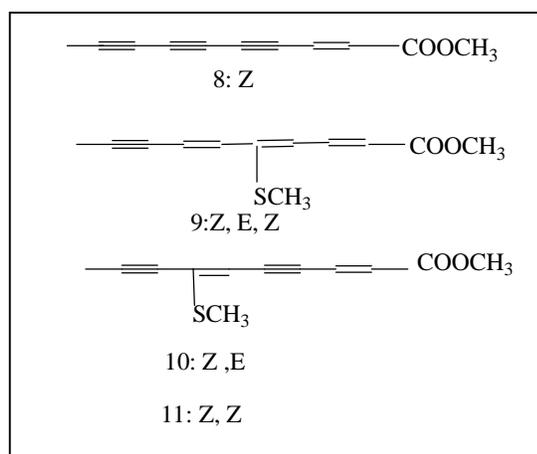


Figure 2.26 : Polyacétylènes typiques des espèces d' Echinaceae

Le genre *Anthemis* comprenant plus de 130 espèces est largement distribué dans la région méditerranéenne. La littérature indique que c'est l'un des genres de la famille des Asteraceae le plus étudié. Les Polyacétylènes, les flavonoides et les sesquiterpènes lactones sont les trois classes principales de métabolites secondaires du genre *Anthemis cotula* L. qui est une des neuf espèces *Anthemis* se trouvant en Serbie.

Les quatre acétylènes (8-11) de la figure 2.27 ont été isolés des racines de *A. cotula* connu sous le nom méthyl (E)-dec-2-en-4,6-diynoate (ester déhydromatricaria) (8) et ses dérivés du thioether (par exemple : 9-11) sont caractéristiques de le genre *Anthemis* [58].

Les Composés Terpéniques, Flavonoidiques et Polyacétyléniques

Figure 2.27 : Polyacétylènes du genre *cotula* A. L.

Notons aussi que les Thiarubrines (voir figure 2.28) qui ont une couleur rouge causée par la présence de la fonction 1,2-dithiins contiennent une partie acétylénique [59, 60].

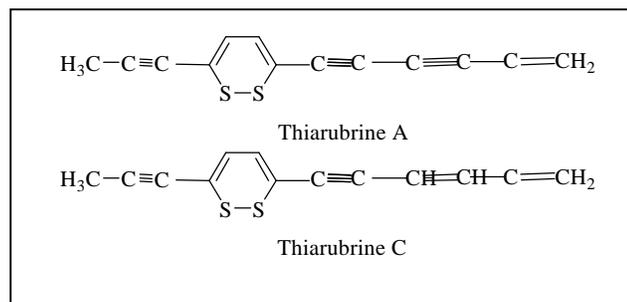


Figure 2.28 : La structure chimique des Thiarubrines

II.4.2 Biosynthèse des Polyacétylènes

La biosynthèse des polyacétylènes reste peu définie relativement à celles des terpénoïdes et des flavonoïdes. Cependant, il existe quelques travaux dans ce domaine pour déterminer une voie biosynthétique assez claire des dérivés polyacétyléniques.

Nous nous intéressons dans ce qui suit à l'étude de la biosynthèse générale de l'acide crépenyrique (figure 2.29) [61]. Des expériences montrent que le carbone radioactif [1-¹⁴C] acétate et [2-¹⁴C] malonate est le précurseur de l'acide crépenyrique. L'acétate agit comme une unité de départ et la chaîne carbonée libre, se trouvant

Les Composés Terpéniques, Flavonoidiques et Polyacétyléniques

presque chez tous les acétylènes naturels, est étendue par le malonate. L'acide oléique (C₁₈H₃₄O₂) étant le prédécesseur des composés acétyléniques naturels [61].

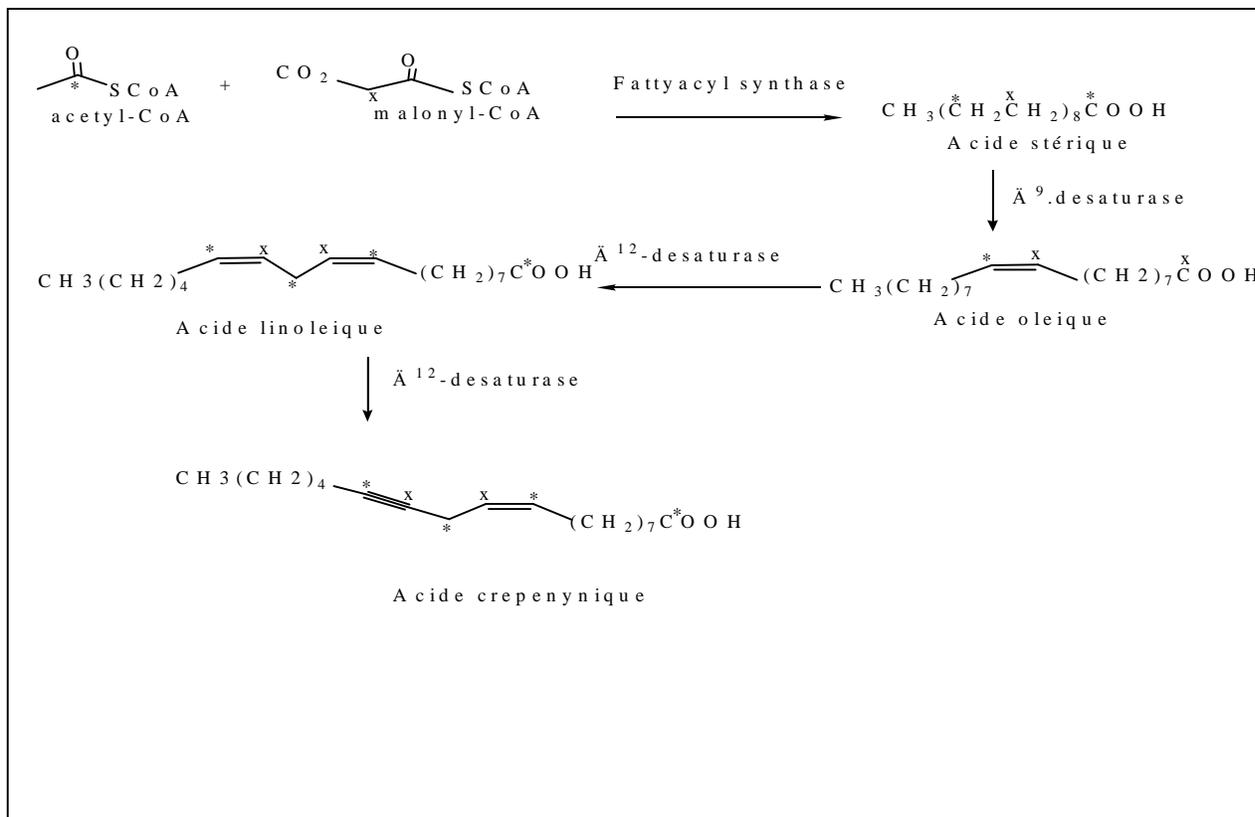


Figure 2.29 : Biosynthèse générale de l'acide crepenynique via [1-¹⁴C] acetate [2-¹⁴C] malonate par microsome

Les résultats d'autres études similaires montrent que les acides linoléiques, crépenynique et déhydrocrépenynique sont les précurseurs biosynthétiques des dérivés polyacétyléniques (figure 2.30) [61].

Les Composés Terpéniques, Flavonoidiques et Polyacétyléniques

Toutes ces expériences supportent l'hypothèse suivante: des séries de désaturations oxydatives dans le basidiomycète, catalysé par les homologues de CREP1 et d'autres enzymes comme le FAD2, conduisent à la conversion de l'acide linoléique à une variété de Polyacétylènes.

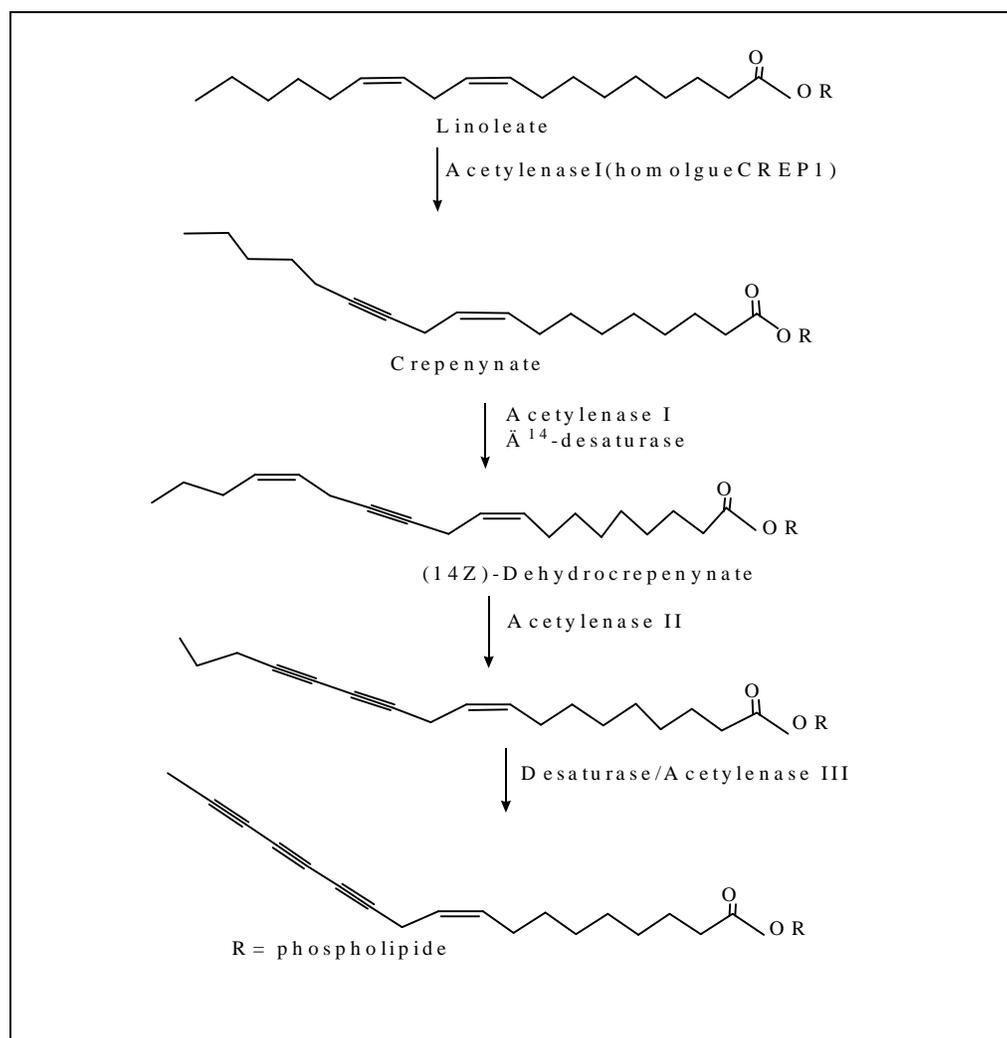


Figure 2.30 : Une voie vers les polyacétylènes via les homologues de CREP1.

Nous rapportons dans ce qui suit l'isolement d'un polyacétylène C-34 schématisé au niveau de la figure 2.31.

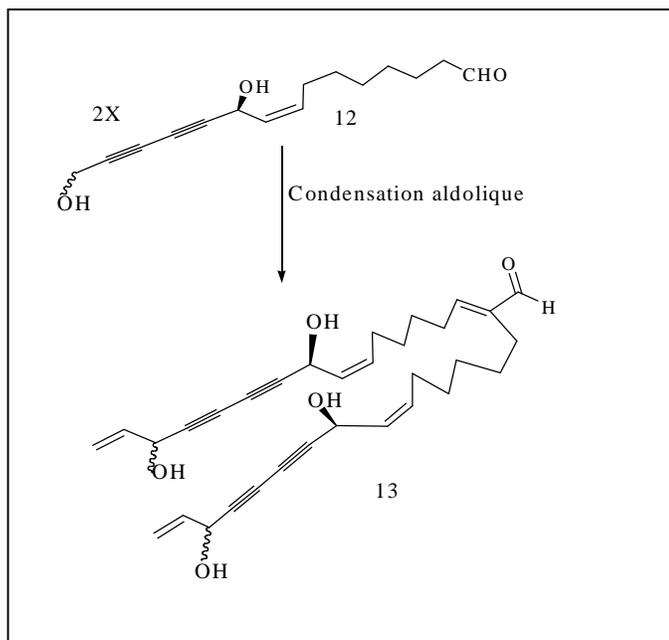


Figure 2.31 : Biosynthèse d'un polyacétylène Falcarin tetraol

Le composé (13) dans cette figure est particulier car il représente le premier polyacétylène avec une chaîne de longueur plus de 18 atomes de carbones. Une proposition de la biosynthèse de ce composé (13) est une condensation aldolique de deux molécules d'aldéhyde (12). L'intermédiaire (12) n'est pas connu, mais un autre aldéhyde polyacétylénique à 18 carbones a été isolée de l' *Sativa Pastinaca* (Apiaceae) [62, 63].

II.4.3 Le Rôle Bioactif des Polyacétylènes

Les composés acétyléniques isolés de la plante *Artemisia monosperma* sont connus pour leur activités contre les enzymes de l'oxygénase [64], il a été montré que les composés 14, 15 et 16 (dans la figure 2.32) sont capables d'inhiber les 12-lipoxygénase qui sont des enzymes impliquées dans beaucoup de désordres y compris le cancer, le psoriasis, l'athérosclérose, la polyarthrite rhumatoïde et l'épilepsie [65-69]. Le composé 15 a montré une activité dépendante de la dose inhibitrice par contre le composé 16 a révélé une activité qui dépend inversement de la dose inhibitrice [70].

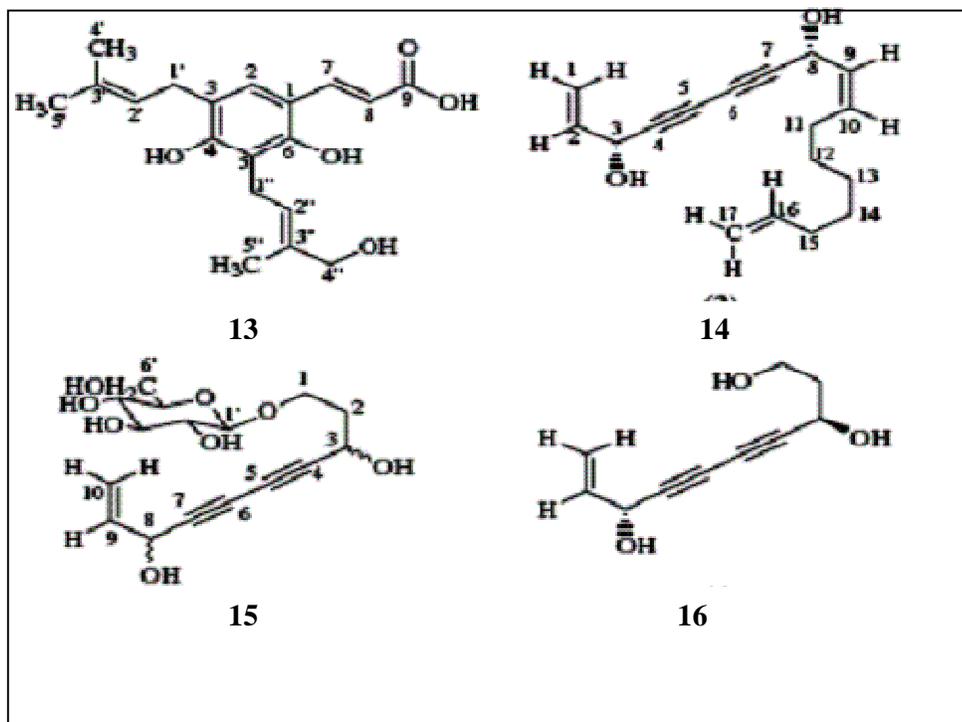


Figure 2.32 : Polyacétylènes de l'espèce *Artemisia monosperma*

C'est au professeur G.H.N Towers et à son équipe (Université de la Colombie Britannique, Canada) que l'on doit les premiers travaux qui mettent en évidence les propriétés photo toxiques des polyacétylènes et de leurs dérivés thiophènes.

Les travaux ont ensuite porté sur une molécule particulière, l'alpha-terthienyl (α -T), un thiophène présent en abondance dans l'oeillet d'Inde (*Tagetes SP*). Ce composé doit son action photo toxique à la production d'oxygène singulet (O_2) suite à l'activation par la lumière et les rayons UV. Ainsi excitée, la molécule d' α -T peut avoir des effets phagorépresseurs et ralentir la croissance des larves ou être carrément mortelle suivant l'espèce d'insecte avec laquelle elle entre en contact.

L' α -T démontre également des caractéristiques létales envers les larves de moustiques. Il est en effet facile de contrôler une population de larves de moustiques à des concentrations aussi faibles que 10 g par ha. L'efficacité remarquable de cette molécule envers les insectes nuisibles et son manque de toxicité pour les humains et

Les Composés Terpéniques, Flavonoidiques et Polyacétyléniques

autres organismes non visés permet d'envisager la mise au point d'un nouveau type d'insecticide [71].

Des composés du genre (C17-Esters) ont été isolés de l'huile essentielle extraite de la partie aérienne de la plante *Baccharis trinervis*, ils ont été considérés comme des constituants biogénétiques importants selon une étude montrant leurs activités antimicrobiennes [72] résumées dans le tableau 2.5. Notons aussi que le genre *Baccharis* en général a été largement utilisé en médecine populaire comme un antiseptique digestif, un antispasmodique et un diurétique [72].

Des études phytochimiques de ce genre ont montré la présence de dérivés polyacétyléniques comme méthyle (Z et E)-dec-2-en-4,6-diyanoate [72].

Tableau 2.5 : Activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Bacharis trinervis*.

MIC (mg/mL)							
Organisme	Contrôle	22.8	11.4	5.7	2.85	1.43	0.71
<i>S. aureus</i>	29 ^a	22	14	13	12	11	10
<i>E. coli</i>	22 ^b	18	15	11	10	9	8
<i>S. cholerae-suis</i>	22 ^b	23	15	11	10	9	8
<i>P. aeruginosa</i>	13 ^c	15	13	12	11	10	8
<i>C. albicans</i>	23 ^d	24	23	14	12	9	7

Diamètre des zones inhibiteurs (mm) à concentrations (mg/mL). Substances de contrôle positif (concentration): chloramphenicol (30 µg), amikacin (30 µg), ampicillin (10 µg) et intraconazole (160 µg).

D'autre part, un nouveau composé diacétylénique : le cis-pentadeca-6-ene-1,3-diyne-5,15-diol isolé de la plante (*Solanum melongena L.*) (Figure 2.33) a montré une activité fongique appréciable. De même, le composé (Z)-heptadeca-1,9-dien-4,6-diyne-3,8-diol (faltarindiol) identifié comme étant un composé fungitoxique et une phytoalexine dans la tomate dont les fruits et les feuilles sont infectées [73].

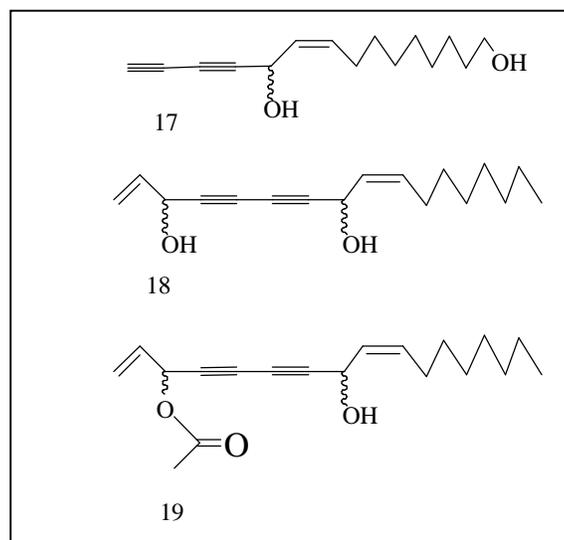


Figure 2.33 : Structure des Falcarinols

Dans une étude phytochimique des racines de la carotte, ont pu identifier l'existence des dérivés polyacétyléniques : le (Z)-heptadeca-1,9-dien-4,6-diyn-3-ol (Falcarinol), le Falcarindiol et le (Z)-3-acetoxy-heptadeca-1,9-dien-4,6-diyn-8-ol (Falcarindiol-3-acétate) (voir figure 2.33) grâce à la spectroscopie Raman en particulier. Ces composés sont la cause principale du goût amer des carottes [74].

Le Falcarinol a été signalé comme le polyacétylène le plus bioactif présent dans les carottes, et a montré une activité cytotoxique contre les cellules des tumeurs. Le Falcarinol dans les concentrations basses (35 µg/g de racine de la carotte lyophilisée) a un effet sur le développement de cancer du colon des rats. Finalement, le Falcarinol et Falcarindiol (voir figure 2.33) ont une activité fongicide sur la maladie de la résistance de plante [74, 75].

De même Estevez-Braun et ses collaborateurs ont isolés d'autres composés polyacétyléniques (en C17) de l'espèce *Salicifolium bupleurum*, une plante originaire des Îles Canaries. Le composé, 8S-heptadeca-2(Z), 9(Z)-diene-4,6-diyn-1,8-diol, est alors montré comme un inhibiteur des bactéries *S. aureus* et *B. subtilis* [76]. Ce même composé a été isolé de l'espèce *Bidens pilosa* (Brésil), utilisée dans la médecine traditionnelle pour le traitement de la fièvre malaria et certaines maladies du

Les Composés Terpéniques, Flavonoidiques et Polyacétyléniques

foie. Il a été montré que l'extrait brute des racines préparé avec l'éthanol (80%) possède une activité in vitro contre le plasmodium Falciparum liée à la présence des dérivés polyacétyléniques [77, 78].

D'autres dérivés polyacétyléniques isolées de l'espèce végétale *Rudbeckia hirta* ont montré des propriétés insecticides contre les larves des moustiques [79].

II.4.4 Etude Chimique des Polyacétylènes

Généralement, les fonctions chimiques servent généralement à caractériser des produits chimiques donnés. Ainsi les triples liaisons sont utilisées pour identifier les dérivés polyacétyléniques par spectroscopie IR et Raman.

Bien que la concentration des polyacétylènes dans les plantes, selon l'espèce individuelle est de l'ordre de 0.01-1.00 g / 100 g de matière fraîche, ils peuvent être détectés avec succès en utilisant la spectroscopie NIR Ft-Raman. Les spectres obtenus montrent des bandes fortes, dues aux triples liaisons, dans la région de 2200 cm⁻¹ [74].

II.5 Conclusion

L'exploration du monde végétal reste d'une importance capitale jusqu'à l'heure actuelle. Les vertus médicinales attribuées aux plantes orientent les chimistes en particulier, sur la présence de molécules appartenant à une classe chimique particulière telle que les *terpénoides*, les *flavonoides* et les *polyacétylènes*. Ces molécules peuvent provenir du métabolisme secondaire des plantes et sont utilisées par l'homme dans son arsenal thérapeutique. De plus, la synthèse de toutes les données bibliographiques concernant ces substances naturelles nous encourage à réaliser une étude phytochimique approfondie des espèces de plante choisies, et qui sont beaucoup utilisées en médecine traditionnelle, pour aboutir à l'isolement de ce type de composés susceptibles de nous intéresser.

Pour toutes ces raisons nous avons entrepris au cours de ce travail l'étude de deux plantes sahariennes *Ononis Angustissima* et *Rhantherium Adpressum*.

II.6 Références Bibliographiques

- [1]: J.G. Fouché, A. Marquet, A. Hambuckers, « Les Plantes Médicinales : de la plante au médicament », Exposition temporaire du 19.09.2000 au 30.06.2000, Observatoire du Monde des Plantes, Sart-Tilman, B77. B-4000 Liège.
- [2]: N. Soldermann, « Etude et développement du processus Tandem réaction de Diels-Alder/réarrangement de Ireland-Claisen: Application à la synthèse de la Juvabione », Thèse de Doctorat, Faculté des Sciences, Université de Neuchâtel, juin/ 2002.
- [3]: P. J. Teisseire, « Chimie des substances odorantes », Tec et Doc, Lavoisier, Paris, (1991), pp : 9,25-30,et 66-69.
- [4]: P. Laszlo, « Le savoir des plantes », Ellipses Edition Marketing, S. A., Paris, (2000), pp 116.
- [5]: J. Bruneton, « Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales ». 2^{ième} édition université de Paris- sud, France,(1993), pp 389-617.
- [6]: R. Perrin, J.P. Scharff, « Chimie industrielles », Deuxième édition, C Dunod, Paris, (1999), pp 813-764.
- [7]: R. Hubert, J.L. Multon, « Les arômes alimentaires », Edition Tec et Doc, Lavoisier, Paris, (1992), pp 25 –90.
- [8]: K. Peter et al, «Traité de chimie organique ». Université catholique de lonvin ; Edition de Boek et Larcier S. A., Paris, Bruxelles, 1999, pp : 148.
- [9]: J. Bruneton, « Plante toxique, végétaux dangereux pour l'homme et les animaux ». Londres Editions Tec et Doc, New-york, Paris, (1996), pp: 529, et 155
- [10]: J. Bruneton, Pharmacognosie, phytochimie plantes médicinales, 3^e Edition (1999).
- [11]: J. B. Harborne, F. A. Tomas-Barbaran, « Ecological Chemistry and Biochemistry of Plant Terpenoids », Oxford Science Publication, (1991).
- [12]: S. Louis, « Diversité Structurale et d'Activité Biologique des Albumines Entomotoxiques de type 1b des Graines de Légumineuses », Thèse de Doctorat, Institut National des Sciences Appliquées de Lyon, Février 2004.
- [13]: I. Raphel, « Natural products », Deuxième édition, Academic Press, INC.A laboratory guide, pp: 1-21, pp 169181.

Les Composés Terpéniques, Flavonoïdiques et Polyacétyléniques

- [14]: O. W. Charles, O. Gisvold, R.F. Doerge, «Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry», 7ième édition, J.B Lippincott company Philadelphia. Toronto, (1972), pp: 731, 776, 810.
- [15]: W. Klyne, « La Chimie des Stéroïdes », Gauthier-Villars, Paris, (1966) pp 28-29, 218.
- [16]: G. Clayden et Coll, « Chimie organique ». Edition de Boek, Paris, 2003, pp 1415-1415.
- [17]: R. Gerhard, « Métabolisme de végétaux, physiologie et biochimie », Press Polytechnique et Universitaire Romandes, Diffusion, Tec et Doc, France, (1993), pp 291–292.
- [18]: A. S. Veličković, M. S. Ristić, D. T. Veličković, S. N. Ilić and N. D. Mitić, J. Serb. Chem. Soc., (2003), 68(6), pp 435–445.
- [19]: Hsiou-Y. Ding, Yang-ch. Wu, and Hang-Ch. Lin, Journal of the Chinese Chemical Society, (2000), 47, pp 561-566.
- [20]: W. De-Eknamkul, B. Potduang, Phytochemistry, (2003), 62, 389-398.
- [21]: Jae-Chul LIM, Jong H. Park, M. Budesinsky, A. Kasal, Yeong-H. Han, Byung-S. Koo, Seung-I. Lee and Dong-U. Lee, Pharmaceutical Society of Japan, (2005).
- [22]: R. B. Agarwal, V.D. Rangari, Indian Journal of Pharmacology, (2003), 35, 384-387.
- [23]: Y. Aratanechemuge, H. Hibasami, K. Sanpin, H. Katsuzaki, K. Imai, and T. Komiya, Oncology Reports, (2004), 11, 289-292.
- [24]: C. Duval, R. Duval, « Dictionnaire de la Chimie et de ses Applications », Edition. Tec & Doc Lavoisier, Paris, (1978).
- [25]: J.B. Harborne, «Comparative Biochemistry of the Flavonoids», Edition Academic Press Inc London, (1967), pp 37-129.
- [26]: C. Remesy, C. Manach, C. Demigne, O. Texier, F. Regerat, « Médecine et Nutrition », (1996), 32, 18-27.
- [27]: S. Adrian, « Dictionnaire de Biochimie Alimentaire et de Nutrition », Edition Tec & Doc Lavoisier, Paris, (1981).
- [28]: C. Alis, G. Linden, « Abrégé en Biochimie Alimentaire », Edition Masson, Paris, (1994), pp 122.
- [29]: B. H. Havesteen, Pharmacology & Therapeutics, (2002), 96, pp 67-202.

Les Composés Terpéniques, Flavonoidiques et Polyacétyléniques

- [30]: N.C. Cook, S. Samman, *Journal of Nutritional Biochemistry*, (1996), 7, pp 66-76.
- [31]: G. Di Carlo, N. Mascolo, A. A. Izzo, F. Capasso, *Life Sciences*, (1999), 65, pp 337-353.
- [32]: G. Apfeldorfer, « *Traité de l'Alimentation et du Corps* », Edition. Flammarion, Paris, (1994), pp122
- [33]: T. Mabry, K. Markham, M.B. Thomas, « *The Systematic Identification of Flavonoids* », Edition. Springer-Verlag, New-York, (1970), pp 12-279.
- [34]: J.B. Harborne, *The Flavonoids*, Chapman et Hall (1988), pp: 125-204.
- [35]: M. Melidou, K. Riganakos, D. Galaris, *Free Radical Biology & Medicine*, (2005), 39, pp 1591-1600.
- [36]: Elio G.W.M. Schijlen, C.H. Ric de Vos, A. J. van Tunen, A. G. Bovy, *Phytochemistry*, (2004), 65, pp 2631-2648.
- [37]: C. Remesy, C. Manach, C. Demigne, O. Texier, F. Regeat, « *Polyphenols 96* », Edition INRA, Paris, (1998), pp 251-265.
- [38]: I. Erlund, *Nutrition Research*, (2004), 24, pp 851-874.
- [39]: K. E. Heim, A. R. Tagliaferro, D. J. Bobilya, *Journal of Nutritional Biochemistry*, (2002), 13, pp 572-584.
- [40]: Saskia A.B.E. Van Acker, Dirk-J. VanDenBerg, Michel N.J.L. Tromp, Dt Siri E.H. Grifioen, W. P. Van Bennekom, W. J.F. Van Der Vijgh, A. Bast, *Free Radical Biology & Medicine*, (1996), 20, pp 331-342.
- [41]: T. H. Khan, S. Sultana, *Toxicology*, (2006), 217, pp 206-212.
- [42]: J. B. Harborne, C. A. Williams, *Phytochemistry*, (2000), 55, pp 481-504.
- [43]: T. Walle, *Free Radical biology & Medicine*, (2004), 36, pp 829-837.
- [44]: Jeremy P. E. Spencer, M.I M. Abd EL Mohsen, C. Rice-Evans, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, (2004), 423, pp 148-161.
- [45]: Erlund, *Nutrition Research*, (2004), 24, pp 841-874.
- [46]: S. Zhang, X. Yang, R. A. Coburn, M. E. Morris, *Biochemical Pharmacology*, (2005), 70, pp 627-639.

Les Composés Terpéniques, Flavonoidiques et Polyacétyléniques

- [47]: D. F. Birt, S. Hendrich, W. Wang, *Pharmacology & Therapeutics*, (2001), 90, pp 157-177.
- [48]: K. R. Markham, « *Methods in Plant Biochemistry* », (1989), 1, Academic Press.
- [49]: J.B. Harborne, T.J. Marbry and H. Marbry, « *The Flavonoids Part 1* », (1975), Academic Press.
- [50]: R. E. Marcha, E. G. Lewars, C. J. Stadey, Xiu-S. Miaob, X. Zhaob, C. D. Metcalfe, *International Journal of Mass Spectrometry*, (2006), 248, pp 61–85.
- [51]: N. Es-Safi, L. Kerhoas, J. Einhorn, Paul-H. Ducrot, *International Journal of Mass Spectrometry*, (2005), 247, pp 93–100.
- [52]: R. E. March, Xiu-S. Miao, *International Journal of Mass Spectrometry*, (2004), 231, pp 157–167.
- [53]: F. Bohlmann, « *Chemistry and biology of naturally-occurring acetylenes and related compounds* », NOARC, Edition J. Lam, H. Breteler, T. Arnason, L. Hansen, Elsevier, New York, (1988), pp. 1-19.
- [54]: H-Y. Ding, Y-C. Wu, H-C. Lin, *Journal of the Chinese Chemical Society*, (2000), 47, pp 561-566.
- [55]: R. Bauer, « *Chemistry, pharmacology and clinical applications of Echinacea products* », In: Mazza G., Oomah B.D., Edition Herbs, Botanicals & Teas. Lancaster, Pennsylvania, (2000), pp. 45–73.
- [56]: S. E. Binns, J. F. Livesey, J. T. Arnason, B. R. Baum, *J. Agric. Food Chem.*, (2002), 50, pp. 3673-3687.
- [57]: R. Bauer, P. Remiger, H. Wagner, *Phytochemistry*, (1989), 28, pp. 505–508.
- [58]: L. Sun, K. A. Rezaei, F. Temelli, B. Ooraikul, *J. Agric. Food Chem.*, (2002), 50, pp. 3947-3953.
- [59]: H. E. Flores, J. M. Vivanco, V. M. Loyola-Vargas, *Trends in Plant Science Reviews*, (1999), 4, Elsevier Science, pp 220-226.
- [60]: S. S. De Viala, B. B. Brodie, E. Rodriguez, D. M. Ibson, *Journal of Nematology*, (1998), 30 (2), pp 192-200].
- [61]: F Bohlmann, T Burkhardt, & C Zdero: *Naturally Occurring Acetylenes*. London: Academic Press; (1973).
- [62]: P Metzger, E Casadevall, *Tetrahedron Lettre*, (1988), 29, pp 2831-2834.

Les Composés Terpéniques, Flavonoidiques et Polyacétyléniques

- [63]: P Metzger, E Casadevall E, *Phytochemistry*, (1989), 28, pp 2097-2104
- [64]: I. Vuckovic, L. Vijisi, V. Vajs, V. Tesevic, P. Janackovi, and S. Milosavljevi, J. Serb. Chem. Soc., (2006), 71(2), pp 127–133.
- [65]: M. Resch, J. Heilmann, A. Steigel, R. Bauer, *Planta Medica*, (2001), 67, pp. 437–442.
- [66]: J.H. Liu, S. Zschocke, E. Reininger, R. Bauer, *Planta Medica*, (1998), 64, pp. 525-529.
- [67]: T. Yoshimoto, Y. Takahashi, «Arachidonate 12-lipoxygenases», *Prostaglandins and Other Lipid Mediators*, (2002), pp. 68–69, pp. 245-262.
- [68]: D. Nie, K. V. Honn, *Cellular and Molecular Life Sciences*, (2002), 59, pp. 799-807.
- [69]: J. Virmani, E.N. Johnson, A.J.P. Klein-Szanto, C.D. Funk, *Cancer Letters*, (2001), 162, pp. 161-165.
- [70]: M. Stavri, C. H.J. Ford, F. Bucar, B. Streit, M. L. Hall, R. T. Williamson, K.T. Mathew, S. Gibbons, *Phytochemistry*, (2005), 66, pp 233-239.
- [71]: B.J.R Philogène, «L'utilisation des produits naturels dans la lutte contre les insectes : problèmes et perspectives : La hutte anti-acridienne ». Edition. AUPELF-UREF, John Libbey Eurotext, Paris, (1991), pp. 269-278.
- [72]: M. Rose, J. R. Albuquerque, E. B. Souza, M. Usileide, D.S. Lins, N. A.P. Nogueira, T. L. G. Lemos, E. R. Silveira, O. D. L. Pessoa, *Arkivoc*, (2004), (VI), pp 59-65.
- [73]: S. Imoto, Y. Ohta, *Plant Physiol.*, (1988), 86, pp 0171-0181.
- [74]: M. Baranska, H. Schulz, *The Royal Society of Chemistry Analyst*, (2005), 130, pp 855-859.
- [75]: M. Baranska, H. Schulz, R. Baranski, T. Nothnagel, L. P. Christensen, *J. Agric. Food Chem.*, (2005), 53, pp 6565-657.
- [76]: A. Estevez-Braun, R. Estevez-Reyes, L. M. Moujir, A. G. Ravelo, A. G. Gonzalez, *J. Nat. Prod.*, (1994), 57, pp 1178-1182.
- [77]: F.Q. Oliveira, V. Aandrade-Neto, A.U. Krettli, M.G.L. Bandao, *Journal of Ethnopharmacology*, (2004), 93, pp 39-42.
- [78]: M. M. Cowan, *Clinical Microbiology Reviews*, (1999), 12, pp 564-582.
- [79]: Almeida-Cortez, Shipley & Arnason, *Phytochemistry*, (1998), 46, pp 495-498.

III.1 Introduction

Les méthodes spectroscopiques sont utilisées pour la caractérisation des produits chimiques. Parmi les techniques utilisées pour les composés organiques, la spectrométrie de masse (MS) et la résonance magnétique nucléaire (RMN) sont les plus fréquemment utilisées ainsi que les spectroscopies Infrarouge (IR) et ultraviolette (UV).

Si le composé est un solide, il est possible de le caractériser par diffraction X. Bien que cette technique soit limitée aux poudres et aux cristaux, elle donne une image exacte de la structure du composé et de ce fait constitue une des techniques de caractérisation les plus puissantes. Dans ce chapitre, nous décrivons brièvement chacune de ces techniques. Nous présentons ensuite les protocoles expérimentaux et les caractérisations effectuées afin de déterminer les structures des composés isolés.

Les composés et les protocoles expérimentaux sont classés par ordre croissant par rapport au numéro que nous leur attribuons dans le chapitre suivant.

III.2 Matériel Végétal

Les plantes *Rhantherium adpressum* et *Ononis angustissima* ont été récoltées durant les mois de mai et d'avril des années 2003 et 1998, respectivement dans les régions de Ouargla et Bechar du sud Algérien. Après un tri grossier sur place, les plantes ont été suspendues pour séchage pendant plusieurs jours à l'extérieur, mais à l'abri de la lumière directe du soleil. Les plantes ont été déterminées par le professeur A. KAABECHE du département de biologie de l'Université de Sétif, et des échantillons de référence ont été déposés au niveau de l'herbarium de l'Université Mentouri de Constantine.

III.3 Méthodes Physico-chimiques

III.3.1 Pouvoir rotatoire ($[\alpha]_D$)

Le pouvoir rotatoire des composés présentant un ou plusieurs carbones asymétriques a été déterminé avec un polarimètre Perkin-Elmer modèle 343. La rotation α de la lumière polarisée des produits dissous dans du CHCl_3 ou du MeOH a été mesurée dans une cuve de 10 cm de long à température ambiante. La raie D (589 nm) d'une lampe à sodium a été utilisée comme source de lumière incidente. Le pouvoir rotatoire spécifique $[\alpha]_D$ est alors défini comme suit (en degrés):

$$[\alpha]_D = (\alpha \times 1000) / (l \times c) \text{ avec :}$$

α valeur mesurée (moyenne de 10 lectures)

l : longueur de la cuve en dm

c : concentration de la solution en mg/ml

Dans la description des constantes physiques des composés la concentration c a été exprimée en g/100 ml.

III.3.2 Spectres Ultraviolets (UV)

Les spectres UV des composés isolés ont été mesurés avec un spectrophotomètre UV/VIS Spectronic UNICAM Helios- α dans le Méthanol.

III.3.3 Spectres de Masse (MS)

Les spectres de masse (EIMS, HREIMS, FABMS et HRFABMS) des produits isolés ont été enregistrés en mode positif avec un spectromètre du modèle Micro mass Autospec (70 eV) (FAB) utilisé en impact électronique (EI, énergie e- 70 eV) ou en ionisation chimique (DCI, gaz ionisant NH_3).

III.3.4 Spectres de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

Les spectres RMN ont été mesurés à 300 ou 400 MHz (^1H) et 75 ou 100 MHz (^{13}C) avec des spectromètres : Avance 400 et Avance 300 du modèle Bruker AMX-400.

Les spectres NOE et DEPT, ainsi que les expériences bidimensionnelles NOESY, COSY, HSQC, HMBC et HSQC, ont été enregistrés à l'aide de séquences impulsives spécifiques fournies par Bruker. Les échantillons ont été dissous dans des solvants deutérés CD_3OD ou CDCl_3 . Les déplacements chimiques δ ont été exprimés en ppm par rapport au signal du tétraméthylsilane (TMS), utilisé comme référence interne.

III.3.5 Spectroscopie Infrarouge (IR)

Un spectromètre du type Shimadzu FTIR-8201PC est utilisé pour l'obtention des spectres IR, avec une résolution de 2 cm^{-1} . Les substances cristallines sont analysées dans des pastilles de KBr (puriss. p.a, Fluka, Buchs). Les bandes d'absorption sont données en longueur d'onde entre 4000 et 1000 cm^{-1} . Entre 4000 et 1000 cm^{-1} , toutes les bandes d'absorption sont décrites.

III.3.6 Chromatographies

III.3.6.1 CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE (CCM)

Les CCM sont effectuées au moyen de couches minces (0.2 mm d'épaisseur) avec gel de silice 60 F₂₅₄ (indicateur de fluorescence) sur aluminium (Merck) ou sur verre. Après élution dans le solvant donné, et selon les cas, les plaques sont révélées par une lampe UV (254 nm et/ou 366 nm) puis par révélation à l'aide d'une solution aqueuse d'acide sulfurique H_2SO_4 ou avec une solution d'anyaldehyde. Les plaques sont ensuite chauffées jusqu'à apparition de tâches de diverses couleurs sur la plaque CCM.

III.3.6.2 CHROMATOGRAPHIE SUR COLONNE (CC)

Des colonnes ouvertes sur gel de silice 60 (230-400 msh) ou gel de polyamide SC-6 ont été utilisées dans la première ou seconde étape de fractionnement de l'extrait chloroformique. La taille des colonnes, la granulométrie de la phase solide, le débit de la phase mobile et la taille des fractions ont été adaptés à la quantité et à la nature (extrait, fraction) des échantillons à séparer. Le choix des conditions d'éluion, le suivi de la séparation et le rassemblement final des fractions ont été effectués sur la base d'analyses par CCM. Dans le cas de :

III.4 Méthodes d'extraction

Après avoir séché les plantes à l'air libre, les feuilles et les fleurs sont extraites pour leur faire subir initialement la phase de macération dans laquelle nous procédons à la préparation des extraits bruts des plantes. Ensuite, dans un deuxième temps, les extraits bruts sont séparés en fractions par des méthodes chromatographiques qui doivent être éventuellement purifiées en dernière phase.

III.4.1 Macération

A- Rhantherium adpressum

Un poids de (950g) de la matière sèche (feuilles et fleurs) a été utilisé pour la macération avec le MeOH/H₂O (80/20, V/V) trois fois pendant 24h à température ambiante. La solution obtenue après filtration et concentration en ajoutant de l'eau distillée (300ml) a subi une extraction liquide- liquide avec des solvants organiques suivants:

- CHCl₃ (3x250 ml), après concentration à sec, l'extrait brut obtenu a eu une masse de 18g.
- AcOEt (2x250 ml), après concentration à sec, l'extrait brut obtenu est d'une masse de 8g.
- le n-butanol (3x250 ml), après concentration à sec, l'extrait brut obtenu est de 30g.

B- Ononis angustissima

Une macération de 500g de la plante sèche a été utilisée avec un système de solvant (MeOH/ H₂O, 70/30, V/V) trois fois. Chaque extraction a été effectuée pendant 24 heures. Une première séparation avec les solvants organiques :

- le chloroforme (4x250 ml). La phase organique a été concentrée à sec pour obtenir une masse de (18g).
- l'acétate d'éthyle (2x300 ml) et après concentration une masse de (9g) est obtenue.
- le n-butanol (3x300ml) et après évaporation nous avons obtenu une masse de (9g).

III.4.2 Séparation

Des colonnes ouvertes sur gel de silice 60 (230-400 msh) ou gel de polyamide SC-6 ont été utilisées dans la première ou la seconde étape de fractionnement des extraits chloroformique et n-butanolique successivement.

Les systèmes d'élution utilisés étaient composés de gradients n-Hexane/Acétate d'éthyle pour l'extrait chloroformique et le Toluene/Methanol pour l'extrait n-butanolique dans des proportions déterminées au préalable sur couche mince avant la séparation. L'extrait à fractionner est adsorbé sur une quantité de phase stationnaire correspondant à 2-3 fois sa masse et l'introduction de l'extrait a donc eu lieu sous forme solide.

A- *Rrhantherium adpressum*

Une colonne chromatographique a été utilisée pour la séparation de 12g de la phase chloroformique avec le système d'élution n-Hexane/Acétate d'éthyle. Elle a conduit à 24 fractions de R-I jusqu'à R-XXIV. Les fractions concernées par notre étude ont des pourcentages de systèmes d'élution qui varient de 8% à 40% comme l'indique la figure 3.1.

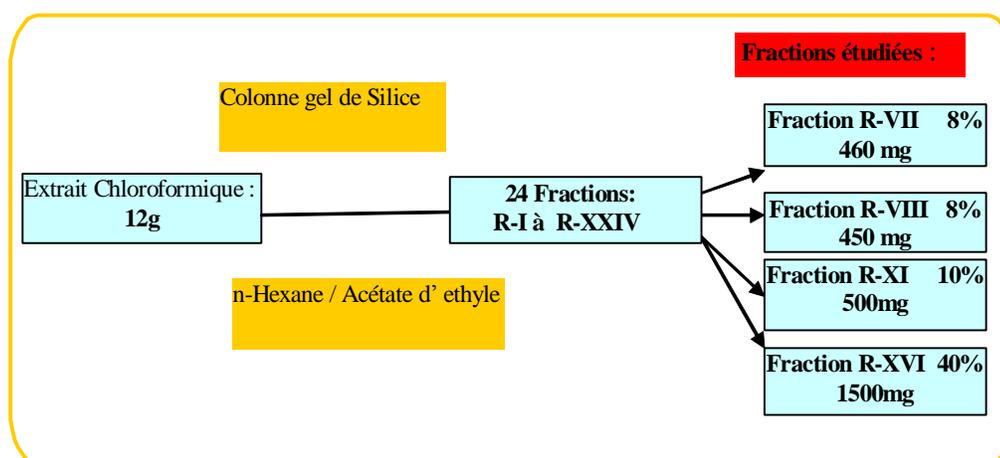


Figure 3.1 : Etude de l'extrait brut de la plante *Rhantherium adpressum*

B- *Ononis angustissima*:

Une colonne chromatographique a été utilisée pour la séparation de 7g de la phase chloroformique avec le système d'élution n-Hexane/ Acétate d'Ethyle donnant naissance à 17 fractions (de F-I jusqu'à F-XVII, voir figure 3.2).

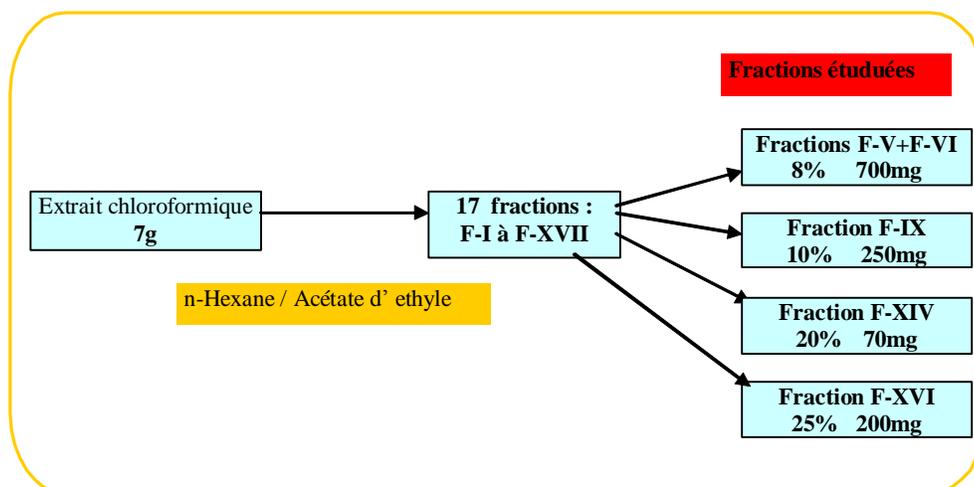


Figure 3.2 : Etude de l'extrait brut de la plante *Ononis angustissima*

III.4.3 Purification

Les analyses par chromatographie couches minces (CCM) sont effectuées avec des plaques de gel de silice (60 F254 Merck). Après développement, les plaques sont observées à la lumière du jour, et sous lampe UV à 254 et 366 nm. Pour le cas de la plante *Rrhantherium adpressum*,

Les plaques sont ensuite révélées par un des deux réactifs de détection, celui de l'anisaldehyde et l'acide sulfurique. Elles sont pulvérisées avec un de ces réactifs et chauffées jusqu'à apparition de tâches de diverses couleurs. Notons que la purification de certaines fractions de ces plantes a nécessité aussi des colonnes chromatographiques de séphadex (LH20). Les détails de cette phase concernant les deux plantes sont présentés dans ce qui suit :

A- *Rhantherium adpressum* (Extrait chloroformique)

La fraction R-VII (250mg) est séparée sur colonne gel de silice avec n-Hexane/Acétate d'Ethyle comme éluant pour la première fois, elle donne alors naissance à deux sous-fractions R-VII.b, R-VII.e (l'éluant a été n-Hexane). Une autre séparation sur couche

mince des deux fractions obtenues, dans le cas de R-VII.b l'éluant étant le Benzene/AcOEt (9/1, V/V), a donné le produit R-VII.b.2 de poids 5mg. Dans le cas de R-VII.e, l'éluant étant le n-Hexane/Dichloromethane/Acetate d'éthyle (14/2/1, V/V/V), le produit obtenu est R-VII.e.1 de poids 2mg (voir figure 3.3, schéma 3.1).

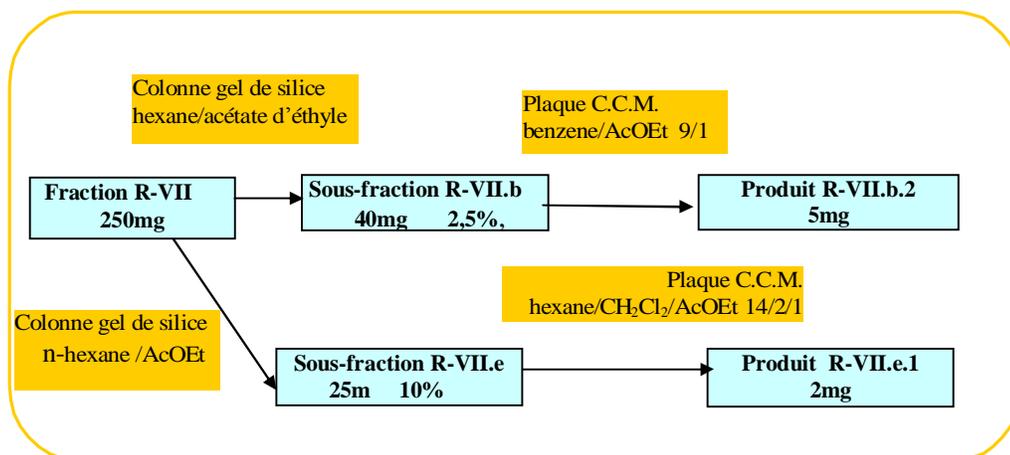


Figure 3.3 : Processus de purification de la fraction R-VII

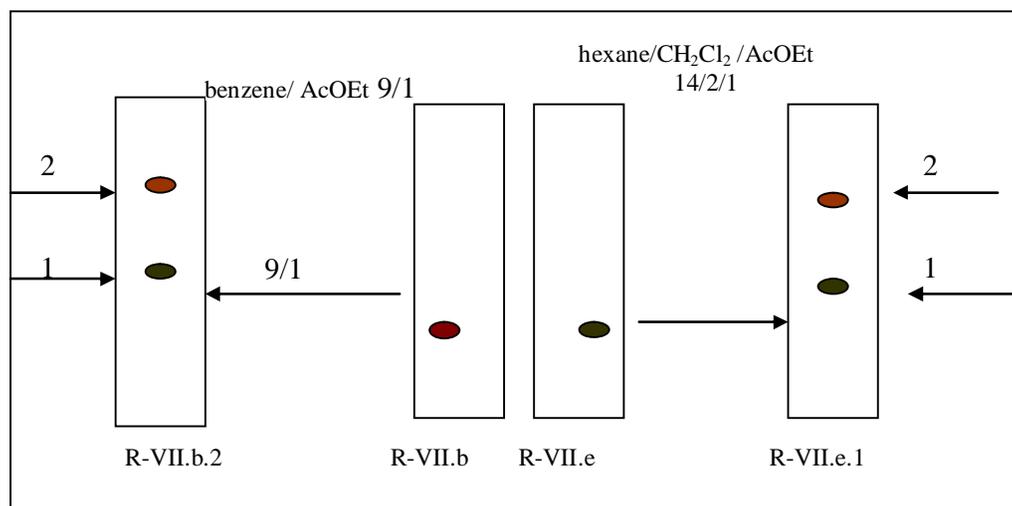


Schéma 3.1 : Système de solvants relatif à la figure 3.3

La fraction R-VIII est séparée sur couche mince (gel de silice) (Toluène/ AcOEt comme éluant (15/ 1, V/V)), elle donne naissance à deux sous-fractions R-VIII.1 et R-VIII.3.

La sous-fraction R-VIII.1 purifiée sur couche mince avec l'éluant Ether de Pétrole/Ether diéthylique/Chloroforme (10/3/1, V/V/V) mène au produit R-VIII.1.2 d'un poids de 2mg.

La sous-fraction R-VIII.3 purifiée sur couche mince avec l'éluant Ether de Pétrole/AcOEt (19/1, V/V) mène au produit R-VIII.3.2 avec un poids de 5mg (voir figure 3.4, schéma 3.2

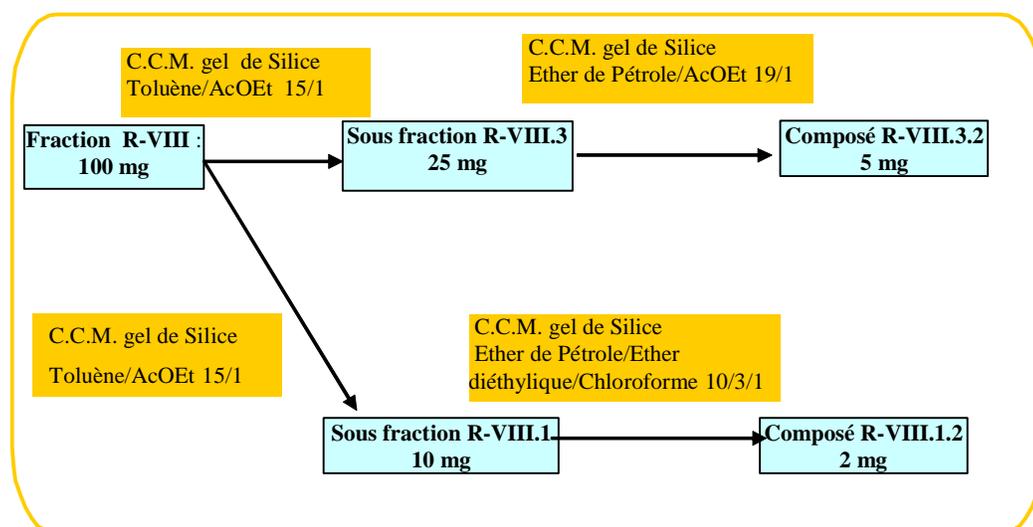


Figure 3.4 : Processus de purification de la fraction R-VIII

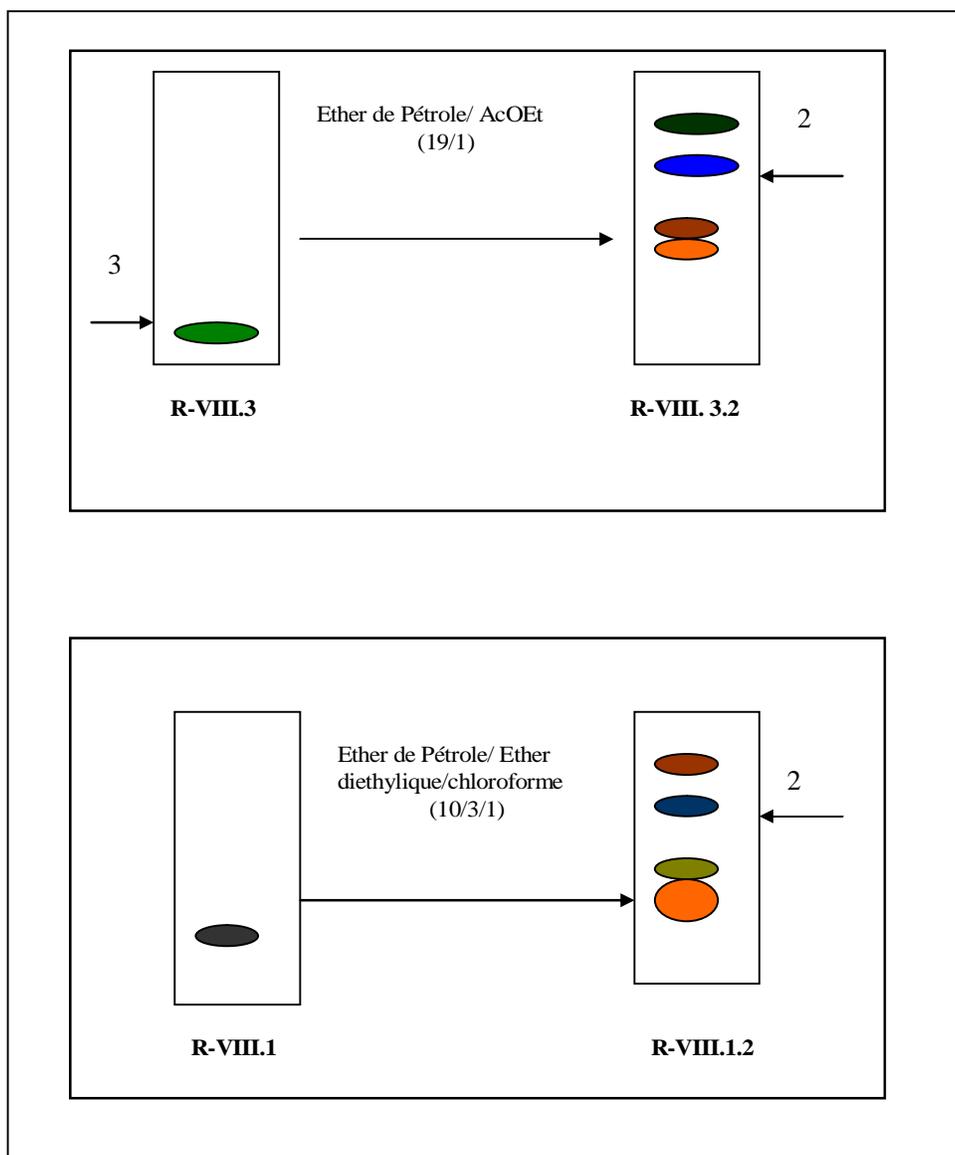


Schéma 3.2 : Système de solvants relatif à la figure 3.4

La fraction R-XI (300mg) est séparée sur colonne de gel de silice en utilisant comme éluant le système Ether de Pétrole/Acétone pour obtenir la sous-fraction R-XI.5 (dont

l'éluant a été à 5 % du système utilisé). Après purification sur plaque chromatographique couche mince et le toluène/AcOEt comme éluant, nous aboutissons au produit R-XI.5.2 avec un poids de 8mg (voir figure 3.5, schéma 3.3).

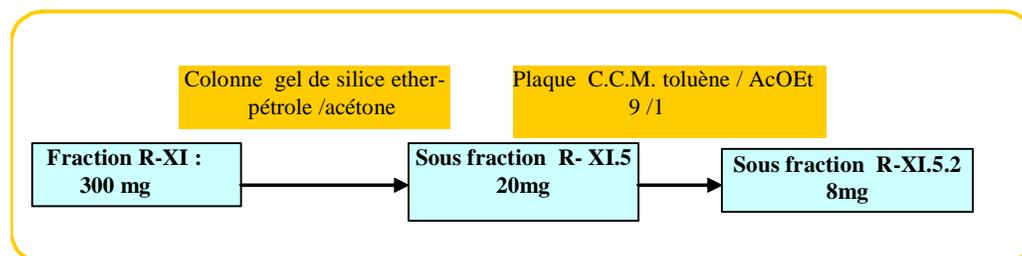


Figure 3.5 : Premier processus de purification de la fraction R-XI

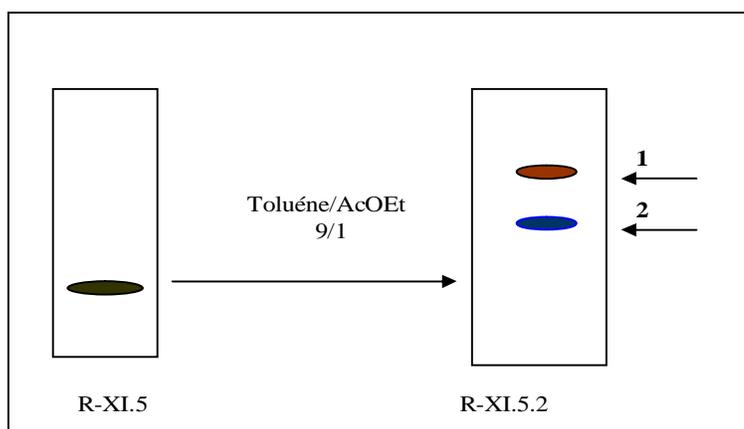


Schéma 3.3 : Système de solvants relatif à la figure 3.5

D'autre part, la même fraction R-XI (100mg) est séparée et purifiée sur couche mince en utilisant respectivement comme éluants Toluène/ CHCl_3 (2/1) et Toluène/AcOEt (9/1, V/V). Le produit obtenu est R-XI.2.1 de poids 4mg (voir figure 3.6, schéma 3.4).

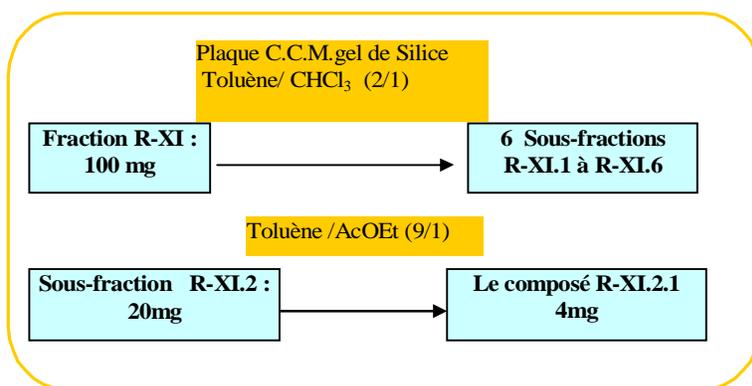


Figure 3.6 : Deuxième processus de purification de la fraction R-XI

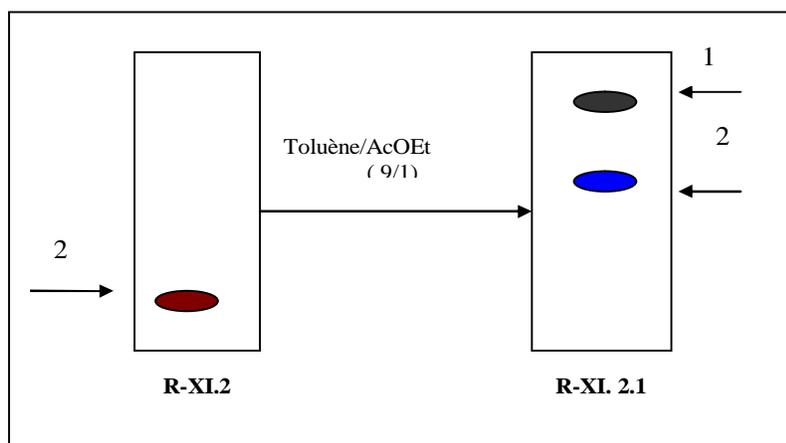


Schéma 3.4 : Système de solvants relatif à la figure 3.6

La fraction R-XVI (1,4g) est séparée sur colonne en utilisant le système d'élution n-Hexane/ Acétone pour obtenir la sous-fraction R-XVI.6 (20% du système d'élution).

Elle a été purifiée sur une colonne de séphadex LH20 avec le système d'éluion n-Hexane/ Dichloromethane/ Méthanol (2/1/1, V/V/V). Nous obtenons alors le produit R-XVI.6.2 de poids 230mg (voir figure 3.7, schéma 3.5).

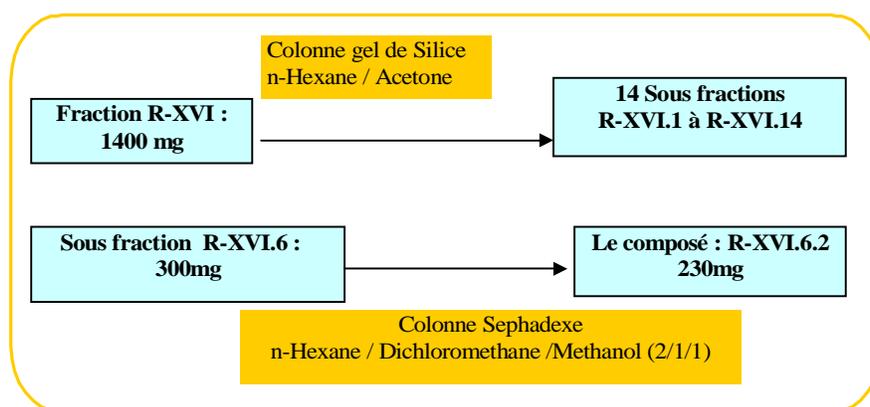


Figure 3.7 : Processus de purification de la fraction R-XVI

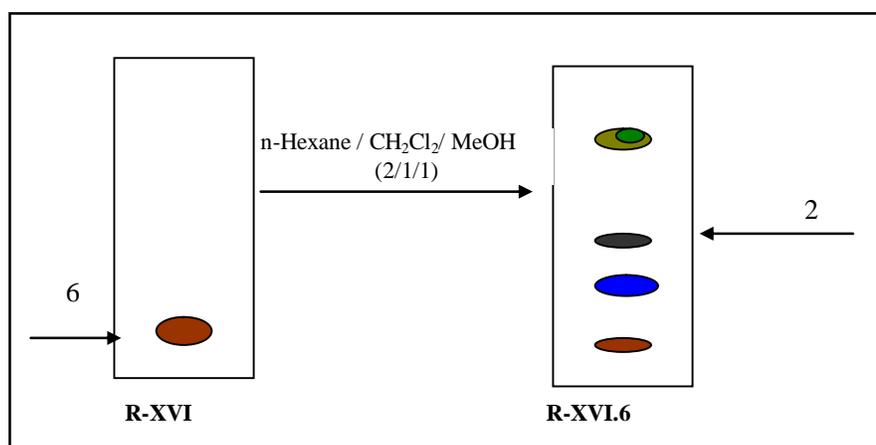


Schéma 3.5 : Système de solvants relatif à la figure 3.7

B- *Ononis angustissima* :

Les fractions F-V et F-VI sont mixées en une seule fraction désignée par F-β. Une séparation de 300mg sur plaque préparative élue avec le système Ether diéthylique/Toluène/Chloroforme (1/3/3, V/V/V). Après purification par une colonne de séphadex LH20 avec l'éluant Chloroforme/ Méthanol, (4/1, V/V) nous avons obtenu le produit F-β.1 d'un poids de 200mg (voir figure 3.8, schéma 3.6).

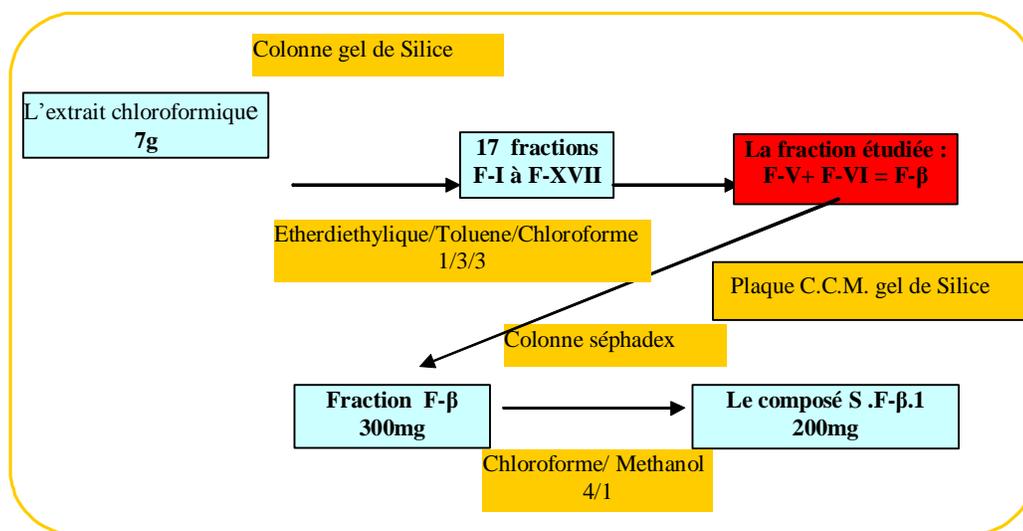


Figure 3.8 : Processus de purification de la fraction F-β

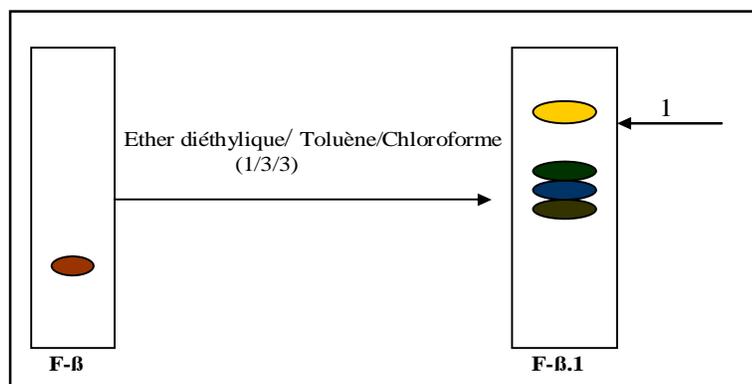


Schéma 3.6 : Système de solvants relatif à la figure 3.8

La fraction F-IX (100mg) est purifiée sur plaque couche mince en utilisant le système d'éluant Chloroforme/Acétone/Acide formique (95/5/1, V/V/V) pour obtenir trois sous-fractions. Nous procédons par la suite à la purification de la sous-fraction F-IX.1 avec l'éluant Toluène/AcOEt /Acide formique (50/20/5) afin d'obtenir le produit F-IX.1.1 et la sous-fraction F-IX.1.2. La purification de cette dernière sous fraction sur plaque C.C.M. et gel de silice en utilisant l'éluant Toluène/AcOEt/Acide formique (95/5/1) donne naissance au produit F-IX.1.2.2 (voir figure 3.9, schéma 3.7).

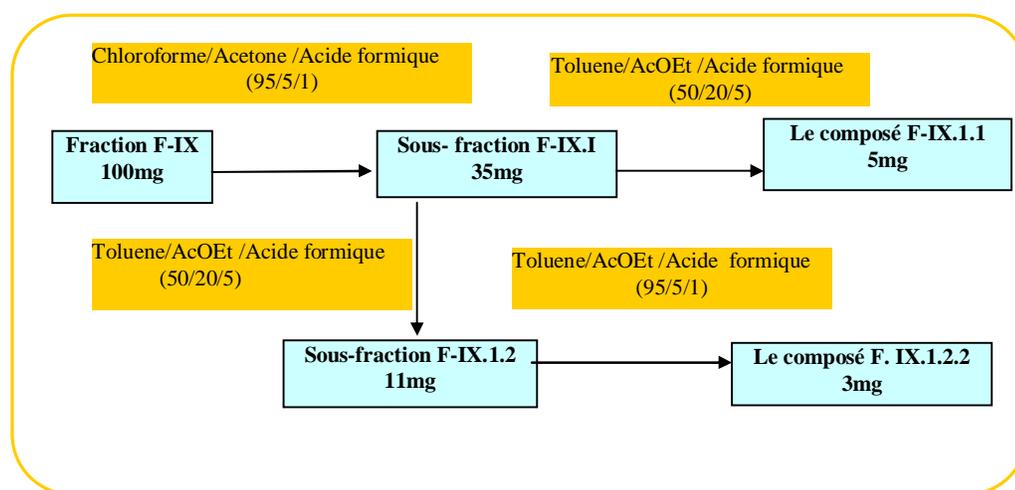


Figure 3.9 : Processus de purification de la fraction F-IX

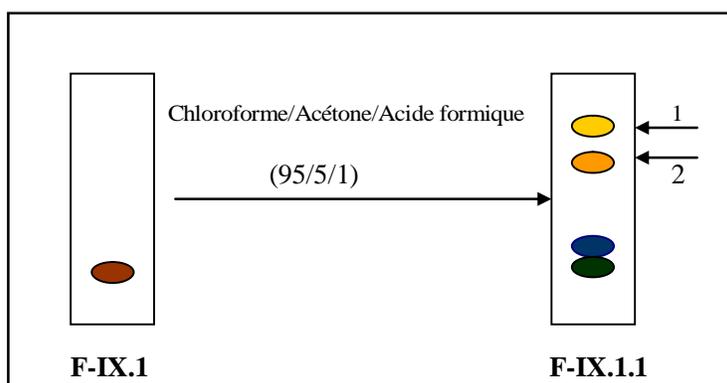


Schéma 3.7 : Système de solvants relatif à la figure 3.9

La fraction F-XIV (70mg) a été séparée sur plaque couche mince en utilisant le système d'éluant $\text{CHCl}_3/\text{AcOEt}$ (1/1, V/V) pour obtenir la sous-fraction F-XIV.4 (voir figure 3.10). Une purification sur plaque couche mince de cette sous-fraction en utilisant le

système Toluène/AcOEt /Acide formique (95/2.5/0.5, V/V/V) comme éluant a abouti au produit F-XIV.4.2 (schéma 3.8).

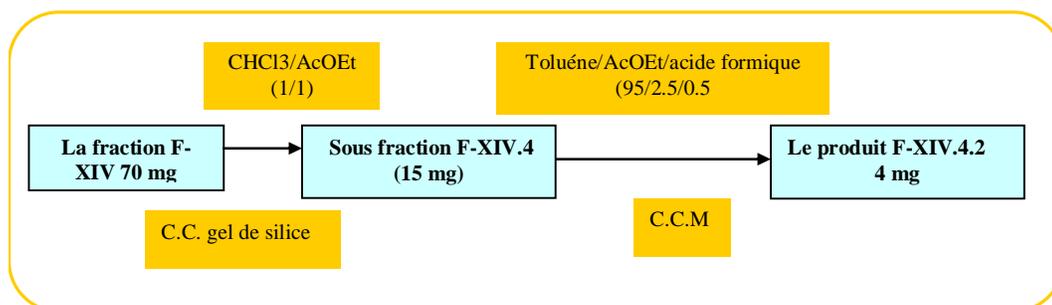


Figure 3.10 : Processus de purification de la fraction F-XIV

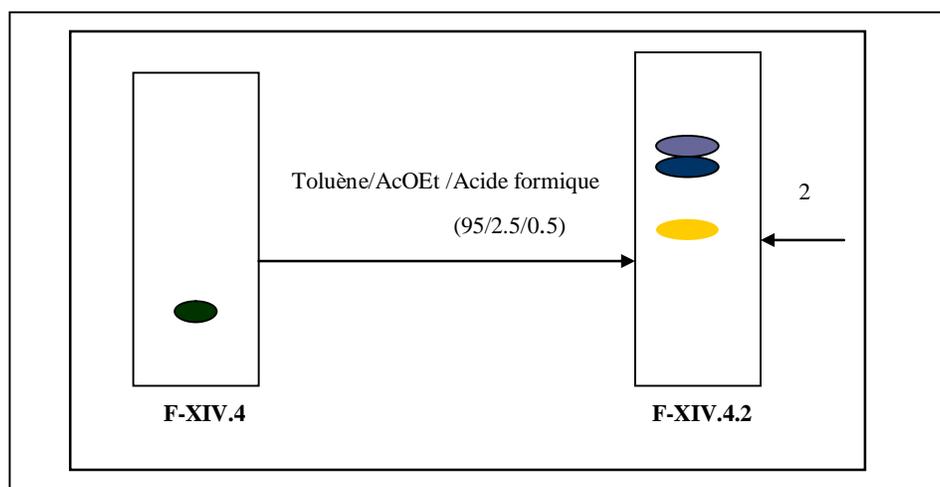


Schéma 3.8 : Système de solvants relatif à la figure 3.10

C- *Rhantherium adpressum* (Extrait butanolique)

Une colonne chromatographique a été utilisée pour la séparation de 15g de la phase n-Butanolique avec le système d'éluant Toluène/ MeOH. Elle a donné naissance à 9 fractions de 1F jusqu'à 9F. Une seule fraction est concernée par notre étude ayant pour pourcentage le système d'éluant 10% comme l'indique la figure 3.11.

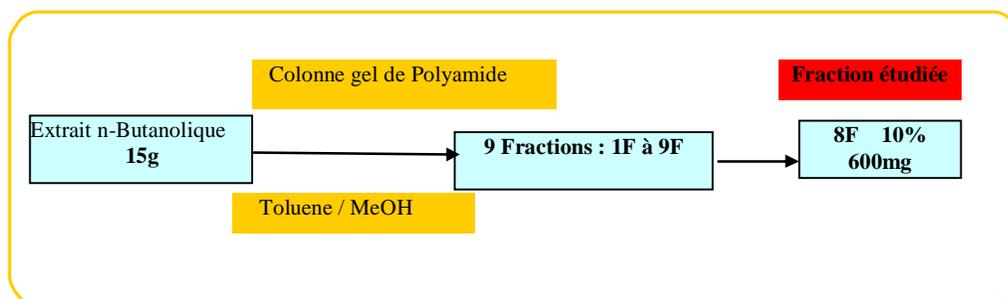


Figure 3.11 : Etude de l'extrait brut n-Butanolique de la plante *Rhantherium adpressum*

La fraction 8F (200 mg) a été séparée sur papier Wattman (N° 3) en utilisant le système d'éluion acide acétique (30%) pour obtenir trois sous-fractions (a, b, c). Une colonne de gel de silice avec le système d'éluion AcOEt/ MeOH/ H₂O (18/ 1/ 1) a été utilisé pour la séparation de la sous-fraction 8Fb en donnant naissance à 6 sous-fractions de 1 à 6 voir figure 3.12.

La séparation de la sous fraction 8Fb.3 a donné naissance à deux produits : 8Fb.3.1 qui a constitué un produit pur, et 8Fb.3.2 qui s'est avérée difficile à purifier (schéma 3.9).

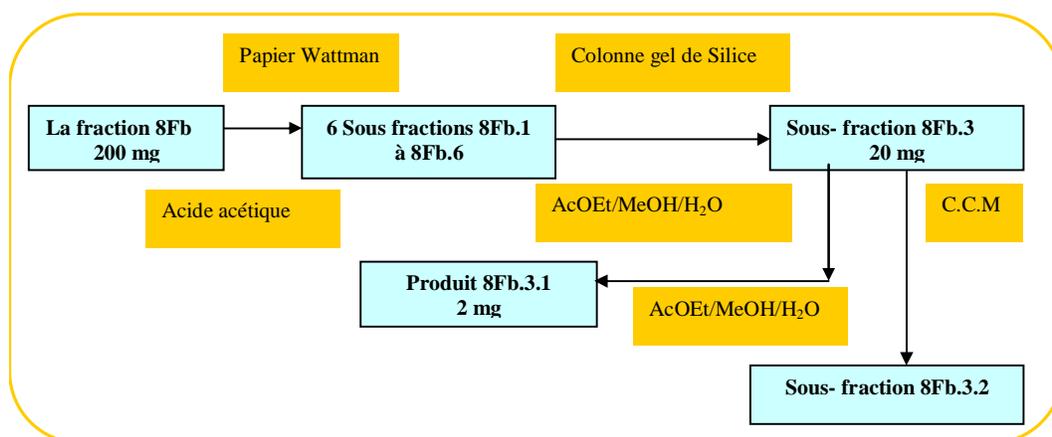


Figure 3.12 : Processus de purification de la fraction 8Fb

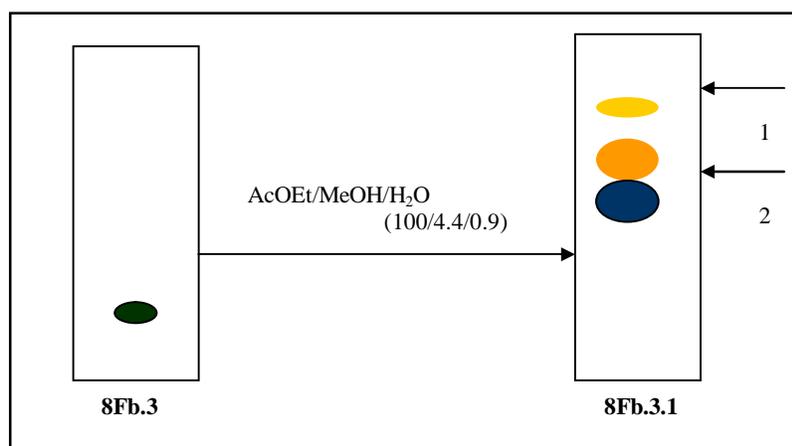


Schéma 3.9 : Système de solvants relatif à la figure 3.12

III.5 Conclusion

Nous avons résumé dans ce chapitre les techniques et les informations nécessaires à la compréhension des expériences réalisées.

La chromatographie (CC, CCM) est la technique utilisée pour la séparation et purification des produits isolés, qui sont au nombre de : Neuf de la première plante (*Rhantherium adpressum*), et cinq de la deuxième (*Ononis angustissima*).

La chromatographie couplée avec des méthodes de détection par spectrophotométrie UV et par spectrométrie de masse (MS) sont des techniques qui jouent un rôle important dans l'investigation phytochimique d'un extrait brut. Ces techniques ont été utilisées pour analyser les extraits chloroformiques et n-butanolique de *Rhantherium adpressum* et *Ononis angustissima*, afin d'avoir des indications sur la nature des constituants que l'on peut rencontrer chez ces espèces. Les résultats des analyses RMN/MS /UV /IR de ces extraits seront présentés dans le chapitre suivant.

IV.1. Introduction

Dans le présent travail, et dans le but d'isoler des composés actifs, deux extraits bruts de deux plantes de la flore Algérienne, choisies sur la base de leur utilisation en médecine traditionnelle, ont été préparés selon le protocole d'extraction standard décrit au chapitre précédent. Il s'agit dans notre cas des extraits chloroformique et butanolique de l'espèce *Rhantherium adpressum* et de l'extrait chloroformique de l'espèce *Ononis angustissima*. Ces derniers sont ensuite soumis à une série de tests chimiques utilisés en routine par notre laboratoire, afin de cibler rapidement notre but.

IV.2 Composés de la plante *Rhantherium adpressum*: Phase Chloroformique

Le choix de cette plante n'a pas été fait d'une manière fortuite puisqu'elle est endémique, utilisée dans la médecine populaire et n'a pas été étudiée auparavant. Elle a été récoltée dans la région de Ouargla durant la période mai 2003.

IV.2.1 Identification du produit R-VII.b.2 :

La détermination de la structure du composé isolé R-VII.b.2, en se basant sur les spectres RMN-¹H, RMN-¹³C et Dept., indiquent la présence de quinze atomes de carbones (voir tableau 4.1) dont:

- Ø Trois quaternaires, parmi lesquels un hybridé sp² et deux hybridé sp³ dont un est oxygéné
- Ø Quatre carbones CH sp³,
- Ø Cinq méthylènes, dont un hybridé sp²
- Ø Trois groupements méthyles.

L'analyse du spectre RMN-¹³C (Figure 4.1) a fourni plus d'indications. Celui-ci entre autres, indique la présence de deux signaux à $\delta = 106.0$ ppm et $\delta = 153.2$ ppm, caractéristiques des carbones éthyléniques, un signal à $\delta = 80.7$ ppm représentant un atome de carbone lié à un

groupement hydroxyle, trois signaux à $\delta=16.08$ ppm, $\delta= 25.8$ ppm et $\delta=28.4$ ppm correspondant aux groupes méthyles.

Tous ces résultats convergent vers une formule brute $C_{15}H_{24}O$ correspondant à un nombre d'insaturations égal à quatre. Si nous déduisons le groupement oléfinique, nous aboutissons à une structure sesquiterpenique tricyclique.

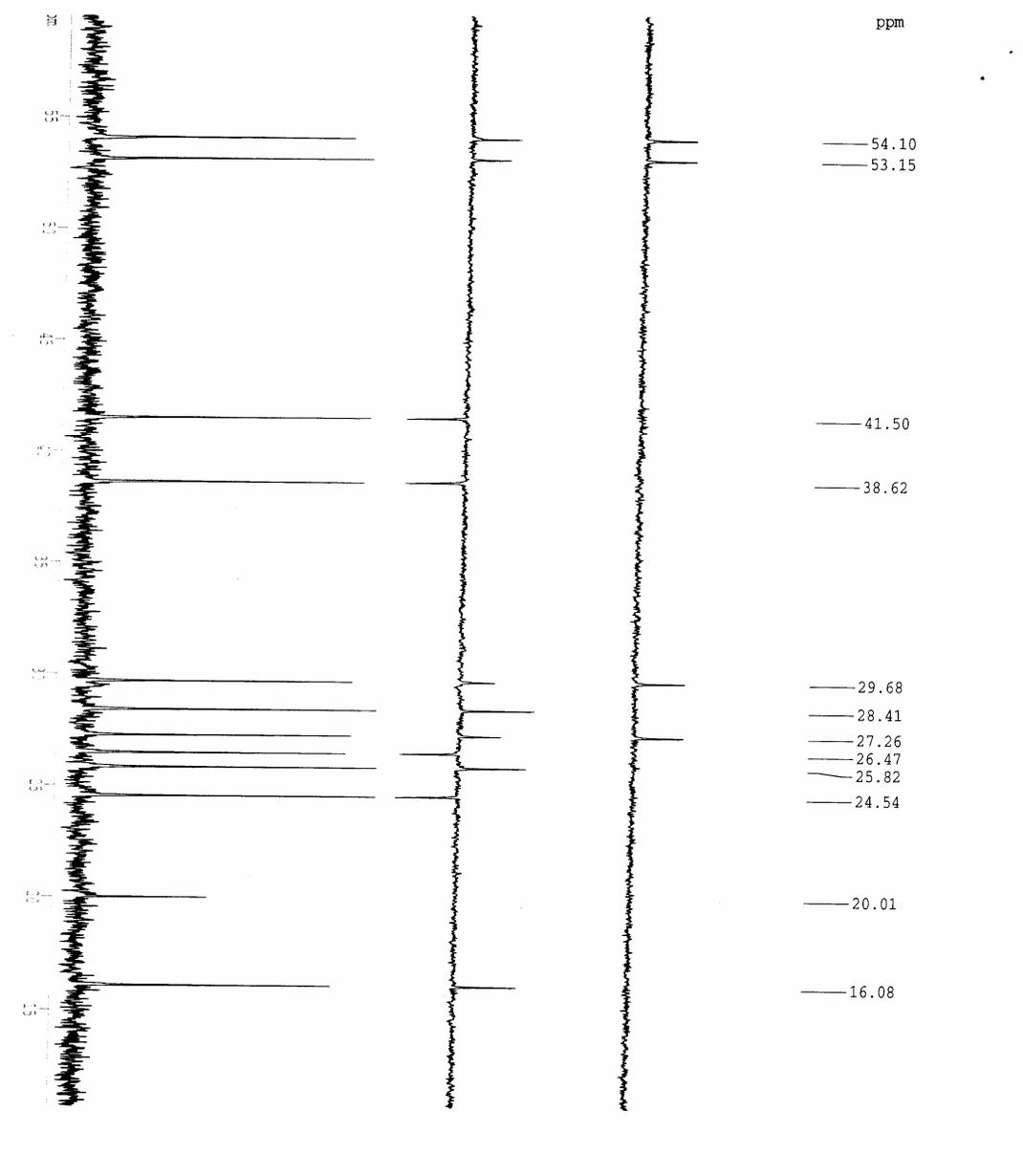


Figure 4.1 : Spectre RMN- ^{13}C et Dept du composé R-VII.b.2

L'étude du spectre RMN-¹H associé à R-VII.b.2 (Figure 4.2) a montré un profil qui a permis de mettre en évidence la présence de:

- Ø deux protons éthyléniques à $\delta = 4.65$ ppm et $\delta = 4.68$ ppm dans la région des champs faibles,
- Ø trois signaux singuliers à $\delta = 1.05$ ppm, $\delta = 1.07$ ppm et $\delta = 1.29$ ppm, leur intégrales correspondent à trois groupes méthyles (voir tableau 4.1),
- Ø un signal à $\delta = 0.48$ ppm son intégrale correspond à un proton comme doublet de doublets ($J = 12$ Hz, 10 Hz),
- Ø un autre signal à $\delta = 2.41$ ppm son intégrale correspond à un proton comme doublet de doublets ($J = 12$ Hz, 10 Hz).

Le signal 1H à champ fort $\delta = 0.48$ ppm (dd) couplé avec le signal 1H à $\delta = 2.41$ ppm (dd) semble correspondre à un système cyclopropanique intégré à la structure sesquiterpenique. Ces éléments convergent vers la structure du spathulenol. Ce qui est confirmé par les données de la littérature [1,2].

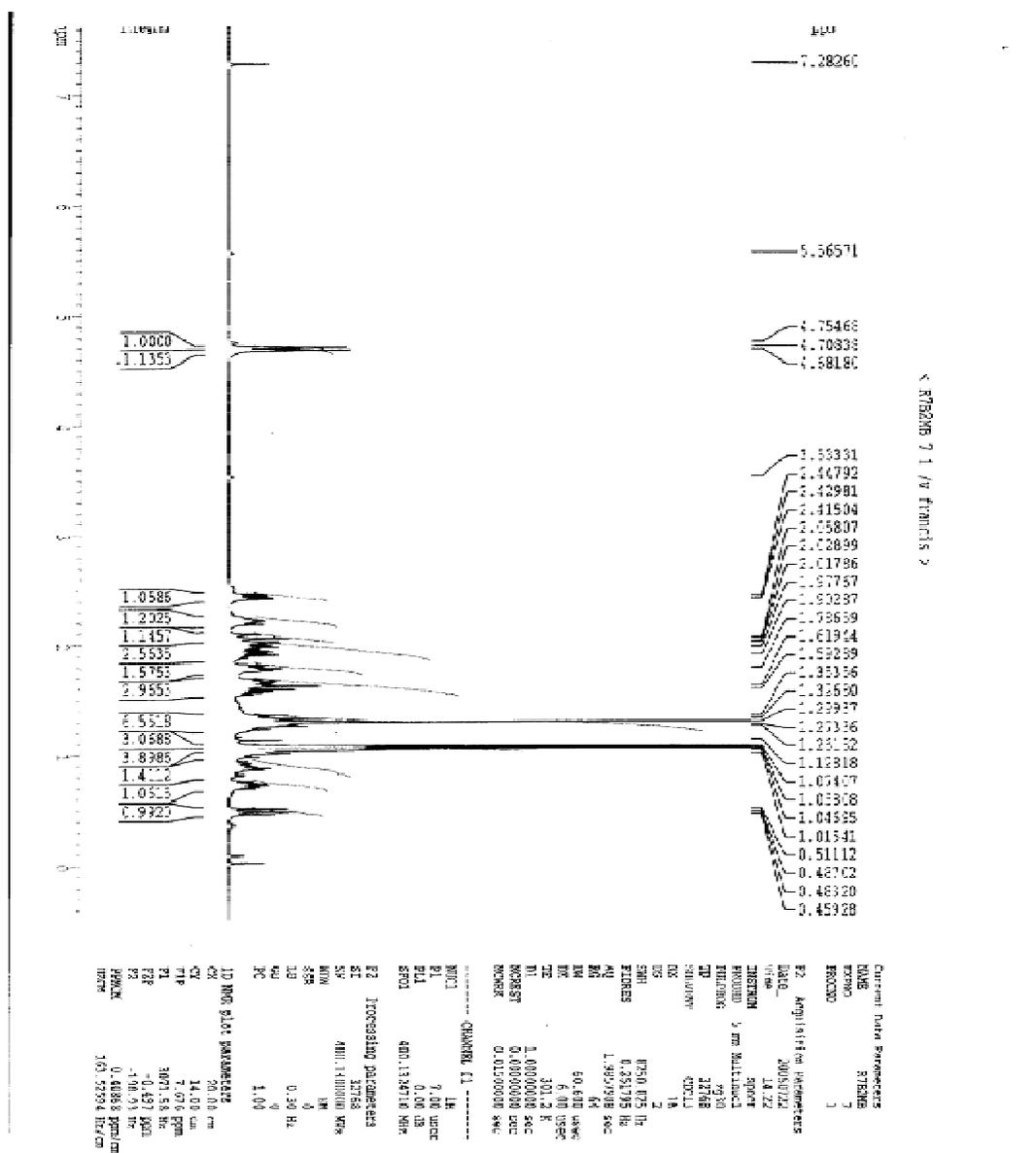


Figure 4.2 : Spectre RMN-¹H dans le CDCl₃ du composé R-VII.b.2

Tableau 4.1 : Les résultats RMN-¹H, RMN-¹³C et Dept de R-VII.b.2

Numéro du Proton	¹ H (δ ppm)	Multiplicité	¹³ C (δ ppm)	Dept
1 H	2.19	<i>m</i>	53.15	CH
2 H _α H _β	1.65 1.79	<i>m</i> <i>m</i>	26.47	CH ₂
3 H _α H _β	1.57 1.77	<i>m</i> <i>m</i>	41.50	CH ₂
4 ---	---	---	80.70	C
5 H	1.32	<i>dd J=12Hz, 10 Hz</i>	54.10	CH
6 H	0.47	<i>dd J=12Hz, 10 Hz</i>	29.68	CH
7 H	0.72	<i>m</i>	27.26	CH
8 H _α H _β	0.89 1.98	<i>m</i> <i>m</i>	24.54	CH ₂
9 H _α H _β	2.02 2.43	<i>m</i> <i>m</i>	38.62	CH ₂
10 ---	---	---	153.20	C
11 ---	---	---	20.01	C
12 3xH	1.04	<i>s</i>	16.08	CH ₃
13 3xH	1.06	<i>s</i>	28.41	CH ₃
14 3xH	1.29	<i>s</i>	25.82	CH ₃
15 H ₁ H ₂	4.67 4.69		106.0	CH ₂

L'attribution complète des signaux a été réalisée par l'analyse des spectres de corrélations homo nucléaires COSY, hétéro nucléaires HSQC et HMBC.

Ainsi, la corrélation COSY ¹H-¹H (Figure 4.3) montre que le proton à δ= 0.47 ppm (C₆-H) présente un couplage avec les protons à δ= 1.32 ppm et à δ= 0.72 ppm (C₅-H et C₇-H) qui apparaît sous forme doublet de doublet, intégrant un hydrogène (*J*=12 Hz, 10 Hz). La même corrélation montre aussi que le proton à δ= 1.32 ppm (C₅-H) présente un couplage avec les protons δ= 2.19 ppm, δ= 0.47 ppm (C₁-H et C₆-H) qui apparaît dans ce cas sous forme doublets de doublets intégrant un hydrogène (*J*=12 Hz, 10 Hz) (voir tableau 4.2).

La mesure du spectre de corrélations hétéro nucléaires HSQC (Figure 4.4) a conduit à l'établissement des connexions géminales RMN- ^1H - ^{13}C du composé R-VII.b.2. Il a ainsi pu être démontré que les protons éthyléniques localisés à $\delta= 4.65$ ppm et $\delta= 4.68$ ppm étaient attachés au carbone situé à $\delta=106.0$ ppm, attaché lui même à un carbone quaternaire à $\delta= 153.20$ ppm. Le spectre a montré également une corrélation entre le proton à $\delta= 0.47$ ppm et le carbone situé à $\delta= 29.68$ ppm permettant le positionnement de ce carbone en C6.

La mesure du spectre de corrélations hétéro nucléaires observées à longue distance HMBC (Figure 4.5) a montré les corrélations des trois protons à $\delta=1.29$ ppm et le carbone situé à $\delta= 28.41$ ppm constituant un groupement corrélé au carbone à $\delta=80.70$ ppm. Ceci a suggéré l'attachement d'un méthyle lié à un carbone quaternaire hydroxylé (voir tableau 4.2).

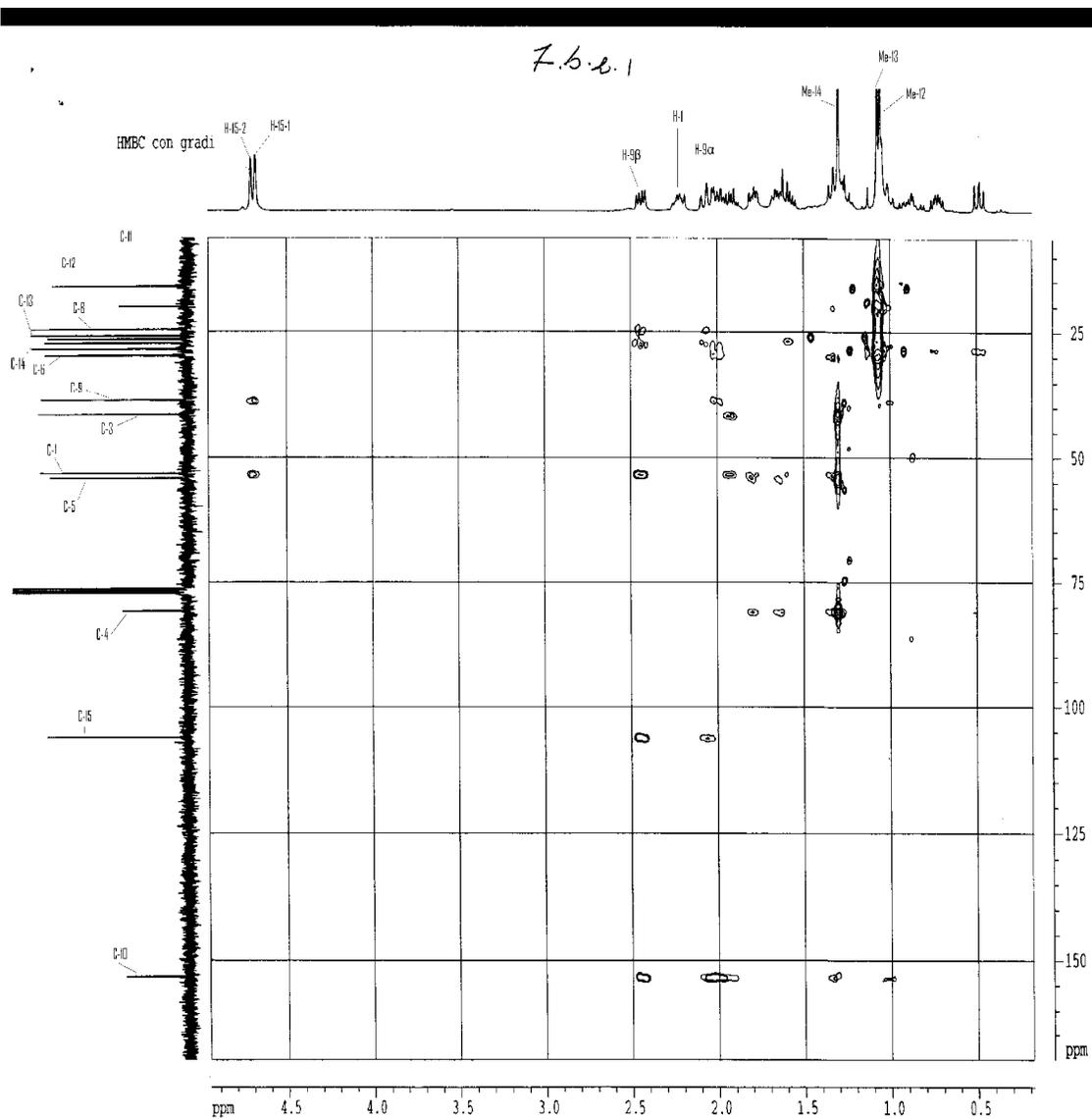


Figure 4.4 : Spectre HMBC du composé R-VII.b.2

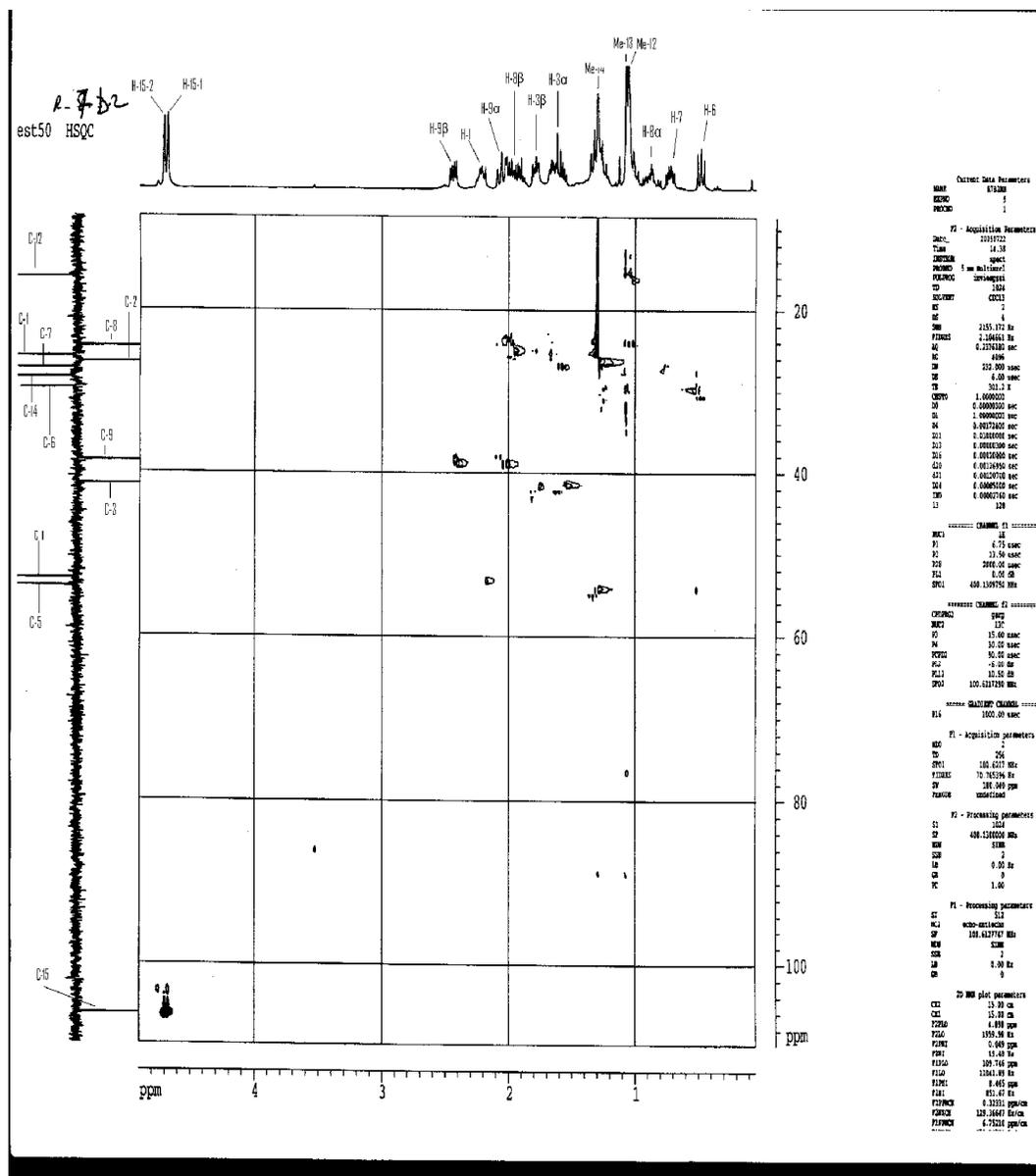


Figure 4.5 : Spectre HSQC du composé R-VII.b.2

Tableau 4.2 : Corrélation HMBC et COSY (400MHz, CDCl₃)

Proton	HMBC	COSY
H-5	C-1; C-6	H-1; H-6
H-6	C-5; C-7	H-5; H-7
H-7	C-6; C-8	H-6; H-8β; H-8α
H-15b	C-1; C-10	H-3β; H-3α
H-15α	C-10; C-9	
3xH-12	C-2; C-7; C-11	
3xH-13	C-2; C-7; C-11	
3xH-14	C-3; C-4; C-5	

Sur la base de ces résultats, nous attribuons donc à ce composé la structure de la figure 4.6 : qui celle du spathuléol.

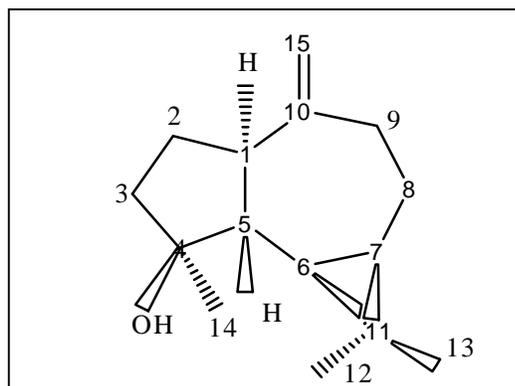


Figure 4.6 : Structure du composé Spathuléol

IV.2.2 Identification du produit R-VIII.3.2

Le spectre de masse obtenu par EI avec le produit R-VIII.3.2 (Figure 4.7) dans l'extrait chloroformique donne respectivement des ions moléculaires à $m/z= 222.2$ (5.76%) $[M]^+$ et pseudo moléculaires à $m/z= 223.2$ $[M+H]^+$, d'autres pics significatifs tels que, $m/z=204.18$ (9.27%) $[M-18]^+$ qui correspond à l'élimination d'une molécule d'eau (H_2O) et $m/z=164.15$ (45.17%) $[M-CH_3COCH_3]^+$, correspondant à l'élimination du substituant dans la position (7) (voir tableau 4.3).

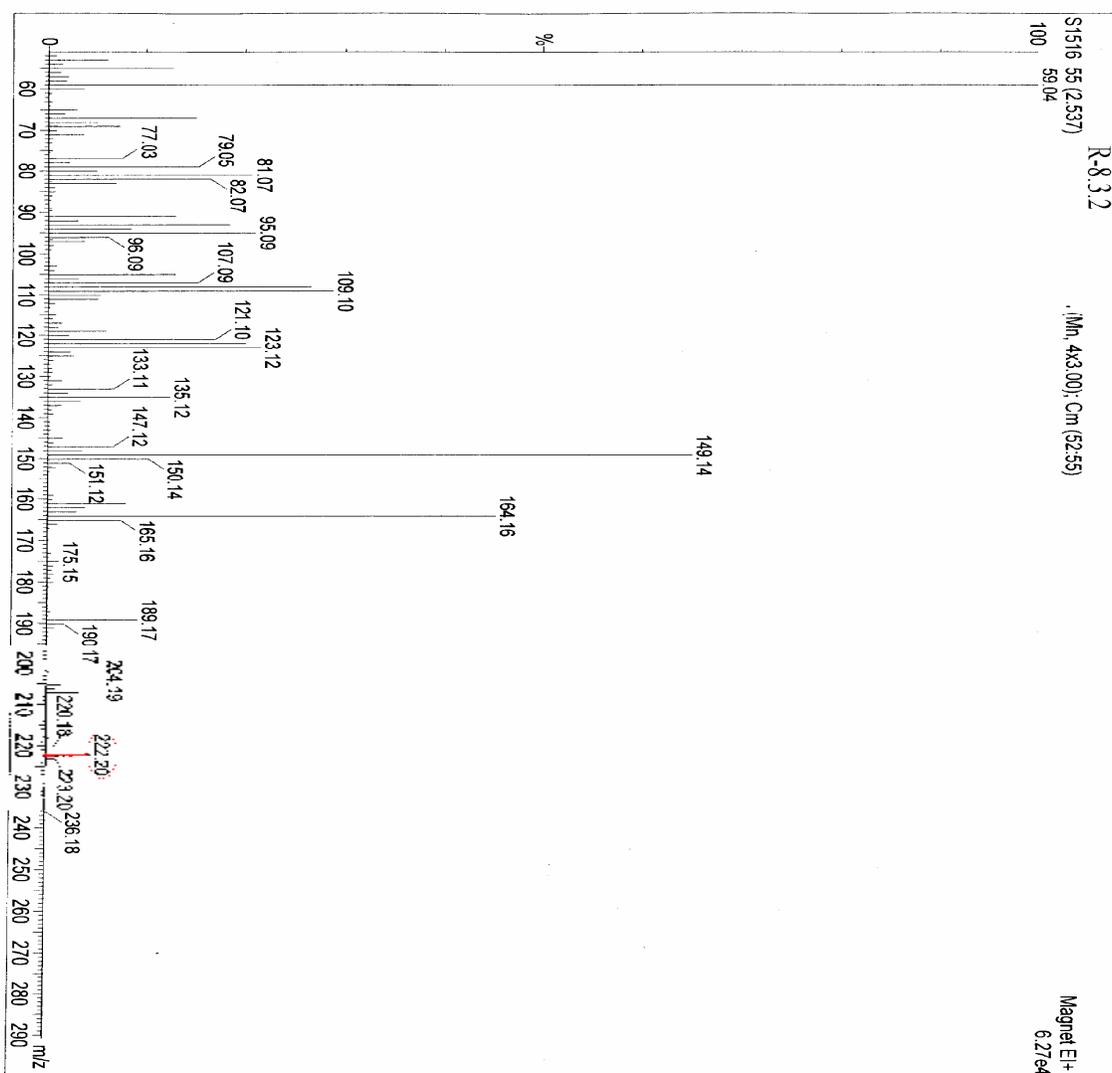


Figure 4.7 : Spectre de masse du composé R-VIII.3.2

Tableau 4.3 : Résultats du spectre de masse du composé R-VIII.3.

Fragements	<i>m/z</i>	%
[M] ⁺	222.20	4.55
[M-18] ⁺	204	5.76
[M-33] ⁺	189	9.27
[M-58] ⁺	164	45.17
[M-73] ⁺	149	65.05
[M-163] ⁺	59	100

Le spectre RMN-¹³C et les spectres Dept indiquent la présence de quinze atomes de carbones (voir tableau 4.4) dont:

- Ø Trois quaternaires, parmi lesquels un sp² à $\delta=151.1$ ppm, un sp³ à $\delta= 36,9$ ppm et un sp³ oxygéné à $\delta= 72,9$ ppm
- Ø Deux groupement CH sp³ à $\delta=41,2$ ppm et $\delta= 49,5$ ppm,
- Ø Sept méthylènes parmi lesquels, un sp² à $\delta=105,3$ ppm
- Ø Trois groupements méthyles.

L'analyse du spectre RMN-¹³C (Figure 4.8) a ainsi montré deux signaux à $\delta= 105.3$ ppm et $\delta=151.1$ ppm, caractéristiques des carbones éthyléniques, un signal à $\delta= 72.2$ ppm représentant un atome de carbone lié à un groupement hydroxyle, trois signaux à $\delta= 16.3$ ppm, $\delta= 27.2$ ppm, et $\delta 27.2$ ppm correspondant aux groupes méthyles CH₃ et deux signaux à $\delta= 49.5$ ppm et $\delta= 41.2$ ppm correspondant à deux groupements CH. Par ailleurs, les 15 signaux dénombrés ont permis d'attribuer à R-VIII.3.2 la formule C₁₅H₂₆O (voir tableau 4.4) correspondant à la présence de trois insaturations. Ainsi, si nous acceptons le groupement oléfinique nous aboutissons à une structure sesquiterpenique bicyclique.

L'étude du spectre RMN-¹H du composé R-VIII.3.2 (Figure 4.9) a montré un profil relativement simple et a permis de confirmer la présence du groupement oléfinique :

- Ø Deux protons à $\delta= 4.45$ ppm ($d, J=1.5$ Hz, H) et $\delta= 4.75$ ppm ($d, J=1.5$ Hz, H) dans la région des champs faibles caractérisant les protons éthyléniques, dont les constantes de couplage indiquent qu'ils ont une position relative vicinale,
- Ø Trois signaux sont visibles comme singulets à $\delta= 0.69$ ppm, $\delta= 1.20$ ppm et $\delta= 1.25$ ppm correspondant à trois groupes méthyles (voir tableau 4.4).

Le déplacement chimique du groupement méthyles à $\delta= 0.69$ ppm indique qu'il s'agit d'un méthyle angulaire conduisant ainsi à une structure de type eudesmane.

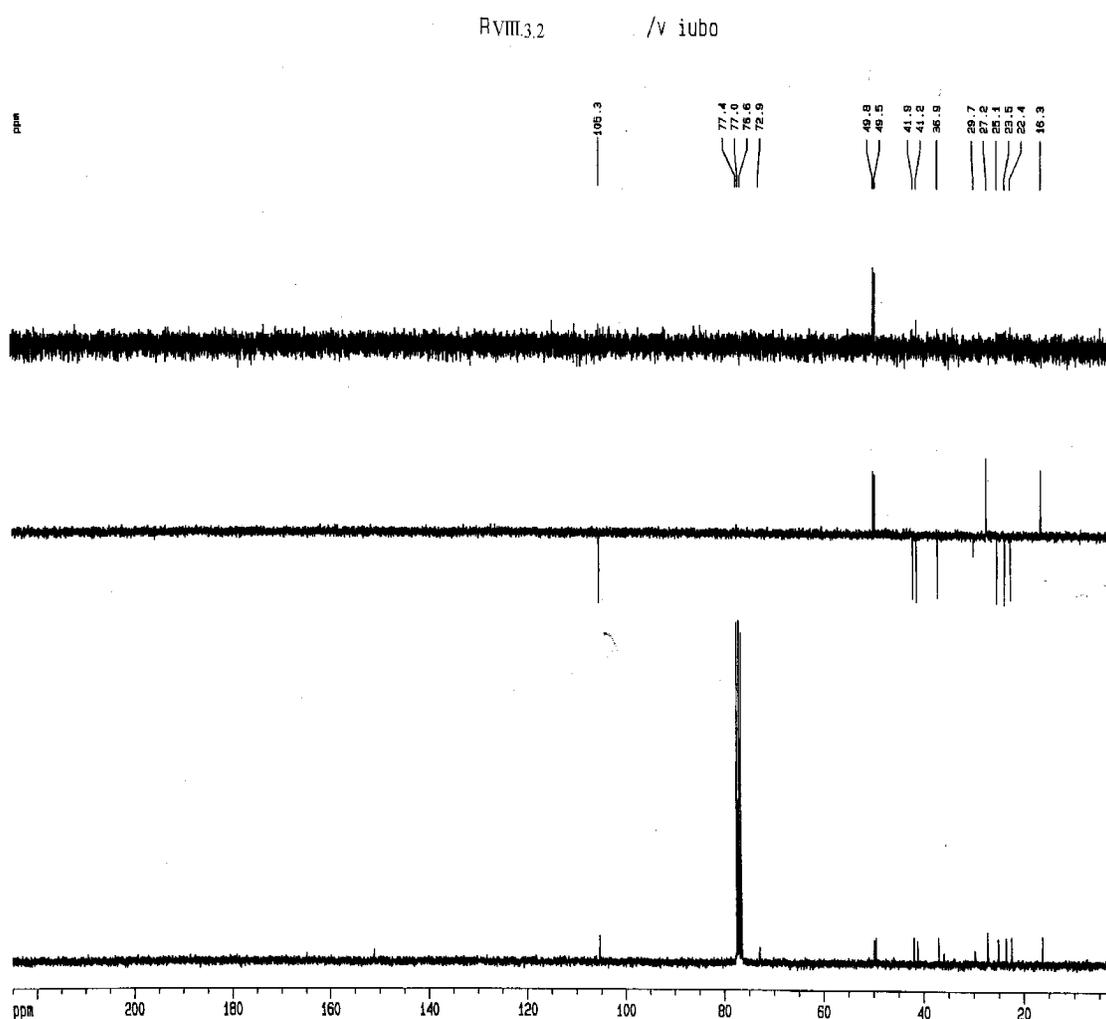


Figure 4.8 : Spectre RMN- ^{13}C du composé R-VIII.3.2

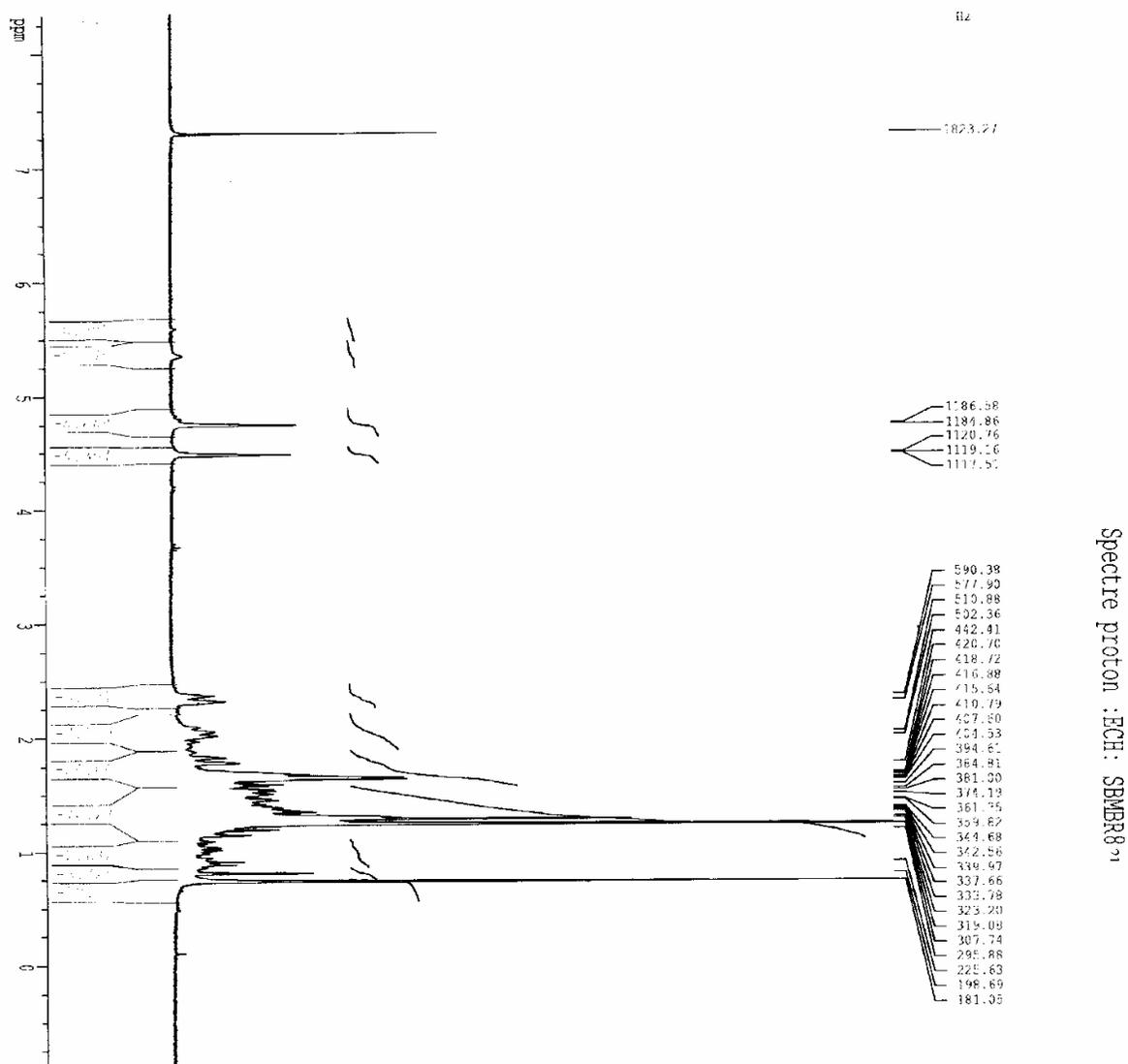
Figure 4.9 : Spectre RMN-¹H dans le CDCl₃ du composé R-VIII.3.2

Tableau 4.4 : Les résultats RMN-¹H, RMN-¹³C et Dept de R-VIII.3.2

Numéro du Proton	¹ H (δ ppm)	Multiplicité	¹³ C (δ ppm)	Dept
1 H _α	1.26	<i>m</i>	41.2	CH ₂
H _β	1.42	<i>m</i>		
2 H _α	1.62	<i>m</i>	23.5	CH ₂
H _β				
3 H _α	1.89	<i>m</i>	36.9	CH ₂
H _β	2.30	<i>m</i>		
4 ---	---	---	151.1	C
5 H	1.51	<i>dd J=12Hz,10Hz</i>	49.5	CH
6 H	1.58	<i>dd J=12Hz,10Hz</i>	41.9	CH ₂
7 H	1.76	<i>m</i>	49.8	CH
8 H _α	1.52	<i>m</i>	22.4	CH ₂
H _β				
9 H _α	1.26	<i>m</i>	27.2	CH ₂
H _β	1.52			
10 ---	---	---	35.9	C
11 ---	---	---	72.9	C
12 3xH	1.20	<i>s</i>	27.2	CH ₃
13 3xH	1.20	<i>s</i>	27.2	CH ₃
14 3xH	0.69	<i>s</i>	16.3	CH ₃
15 H _a	4.40	<i>d J= 1.5 Hz</i>	105.3	CH ₂
H _b	4.70	<i>d J= 1.5 Hz</i>		

L'attribution complète des signaux a été réalisée par l'analyse des spectres de corrélations homonucléaires COSY (Figure 4.10), hétéro nucléaires HSQC (Figure 4.11) et HMBC (Figure 4.12).

Ainsi dans l'expérience COSY les deux déplacements chimiques à $\delta = 4.45$ ppm ($J = 1.5$ Hz) et $\delta = 4.75$ ppm ($J = 1.5$ Hz), qui présentent entre eux un couplage, apparaissent sous forme de deux doublets intégrant chacun un proton éthylénique, ce qui caractérise un système AXX'.

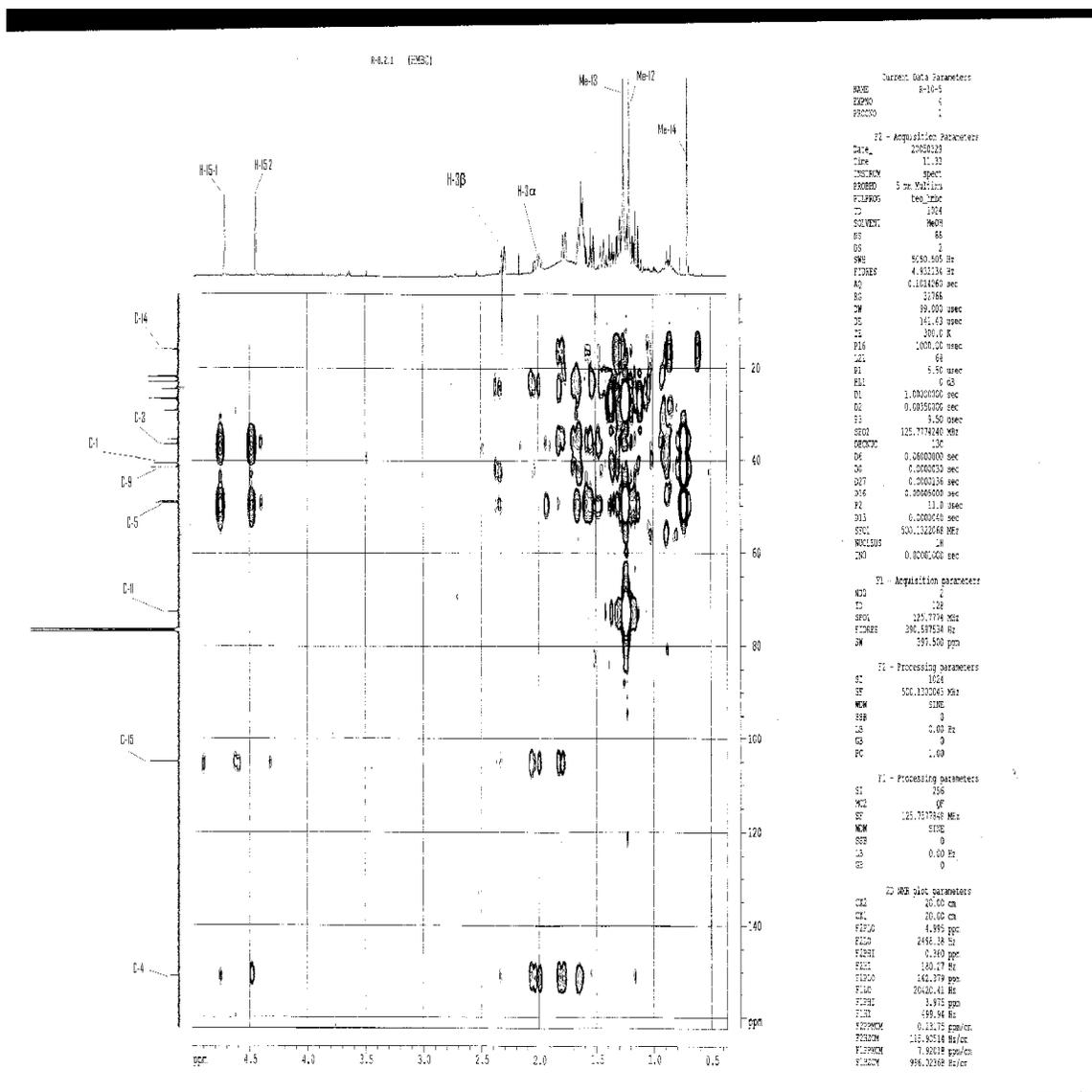


Figure 4.11 : Spectre RMN HSQC du composé R-VIII.3.2

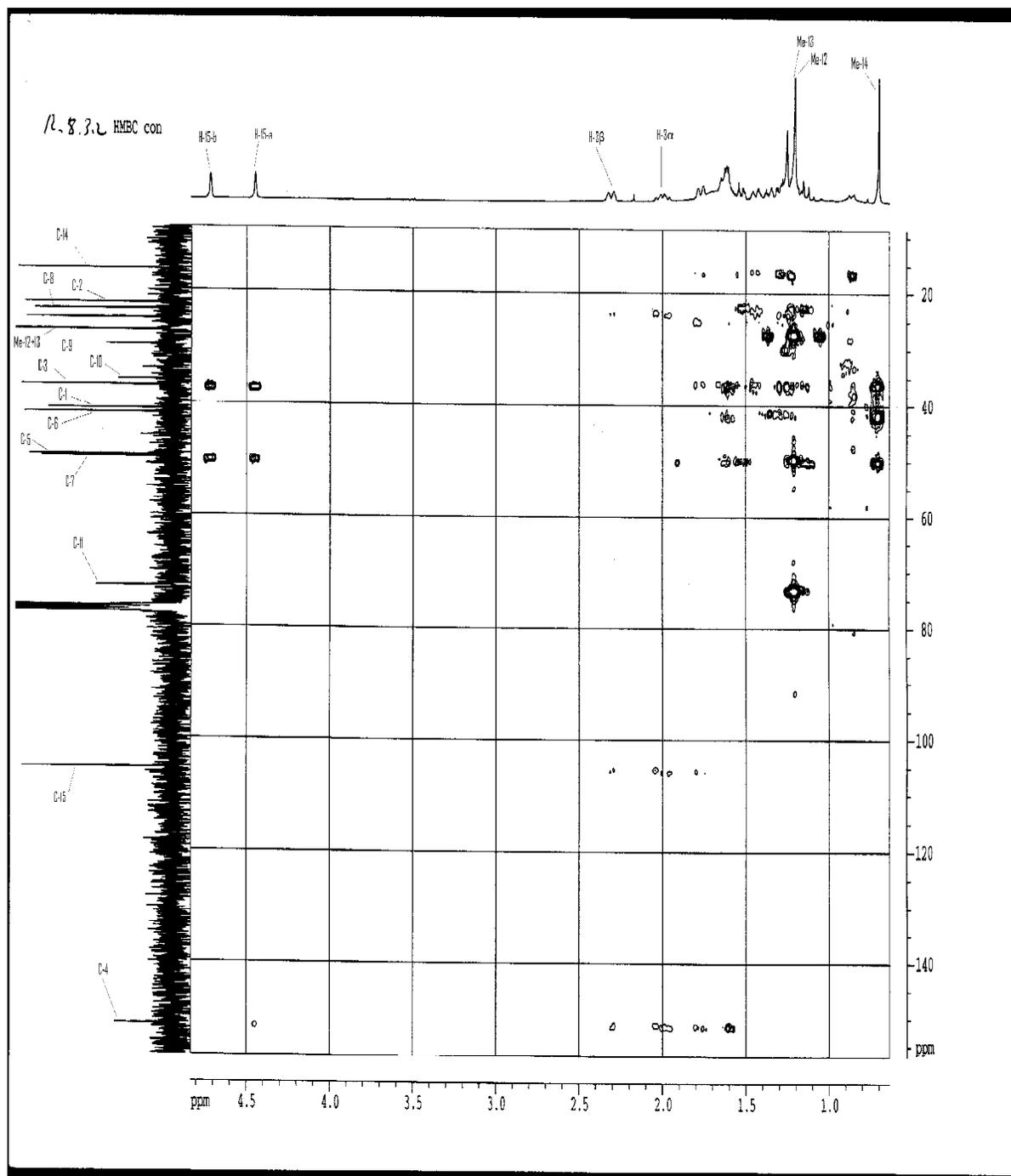


Figure 4.12 : Spectre HMBC du composé R-VIII.3.2

La mesure du spectre de corrélations hétéro nucléaires HSQC a conduit à l'établissement des connections géminales RMN-¹H, RMN-¹³C du composé R-VIII.3.2. Il a ainsi pu être démontré que les protons éthyléniques localisés à $\delta= 4.45$ ppm et $\delta= 4.75$ ppm étaient attachés au carbone situés à $\delta= 105.3$ ppm qui est attaché au carbone quaternaire à $\delta=151.1$ ppm.

La mesure du spectre de corrélations hétéro nucléaires observées à longue distance (HMBC) a montré les corrélations entre les protons à $\delta= 0.69$ ppm et le carbone situé à $\delta=35.9$ ppm (C-10) suggérant l'attachement d'un groupe méthyle à cet carbone, la corrélation avec le carbone C-1 et le carbone C-9, ainsi que les corrélations entre les protons à $\delta= 1.27$ ppm et le carbone situé à $\delta=72.9$ ppm confirmant la liaison du groupe hydroxyle au carbone C-11 qui est lié au carbone C-7. Une autre corrélation des protons à $\delta= 4.45$ ppm et $\delta= 4.75$ ppm avec le carbone C-3 à $\delta= 36.9$ ppm et le carbone C-5 à $\delta= 49.5$ ppm. (Voir Tableau 4.5)

Tableau 4.5 : Corrélation HMBC et COSY (400MHz, CDCl₃)

Proton	HMBC	COSY
H-5	C-15; C-10; C-6;	H-6 α ; H-6 β ; H-b15
H-3 α		H-3 β ; H-2 α ; H-2 β
H-15a	C-3; C-5	H-3 β ; H-3 α ; H-5
H-15b	C-3; C-5	H-3 β ; H-3 α
3xH-12	C-11; C-7	
3xH-13	C-11; C-7	

L'ensemble de ces observations conduit à la structure du β -Eudesmol confirmée par ailleurs par les comparaisons avec les données de la littérature pour ce composé. [2-4] (figure 4.13).

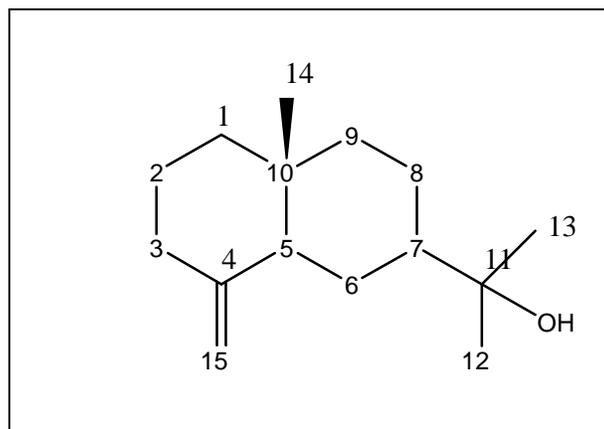


Figure 4.13 : Structure du composé β -Eudesmol

IV.2.3 Identification du produit R-XI.5.2

La détermination de la structure du composé isolé R-XI.5.2, en se basant sur les spectres MS, RMN- ^1H , RMN- ^{13}C et Dept, indiquent la présence de deux produits. En effet, dans le spectre de masse (MS, EI) (voir figure 4.14), nous retrouvons deux pics à $m/z= 414.37$ (78.30%) et $m/z= 412.35$ (65.70%).

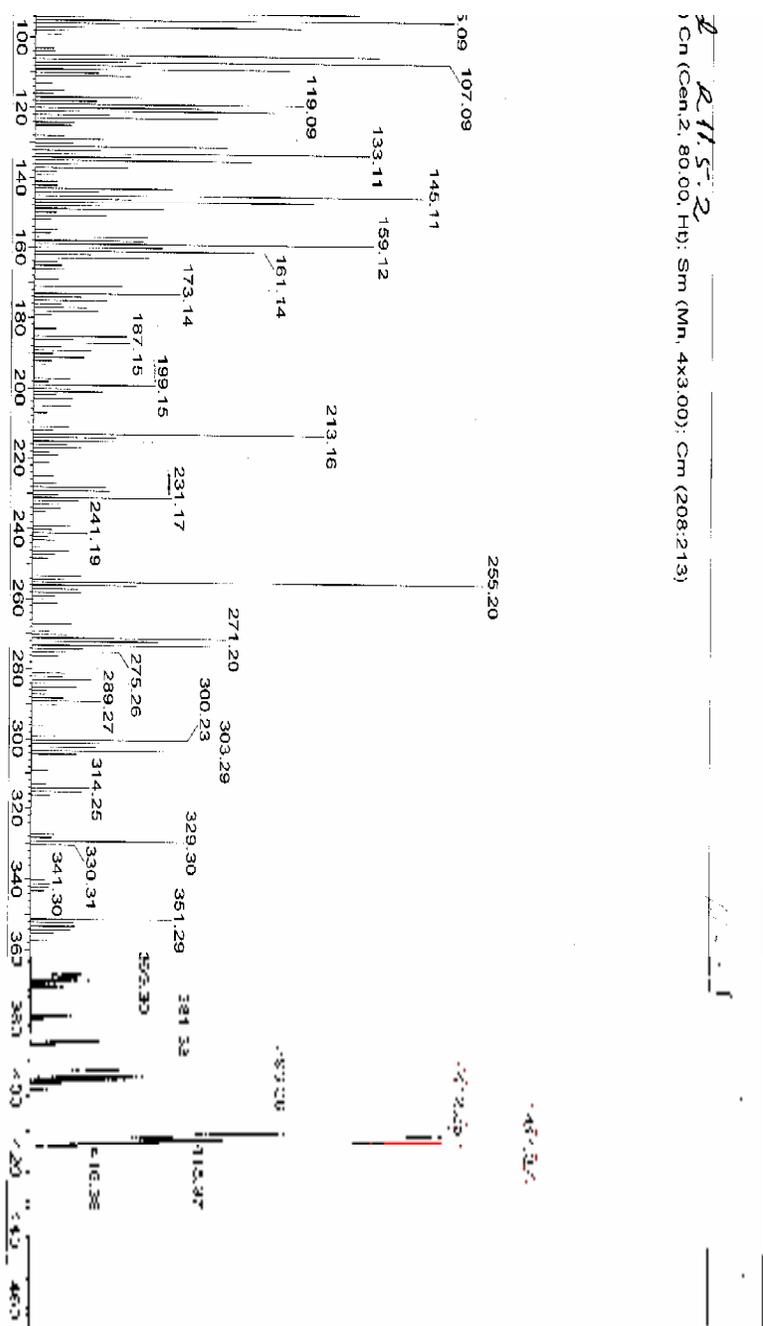


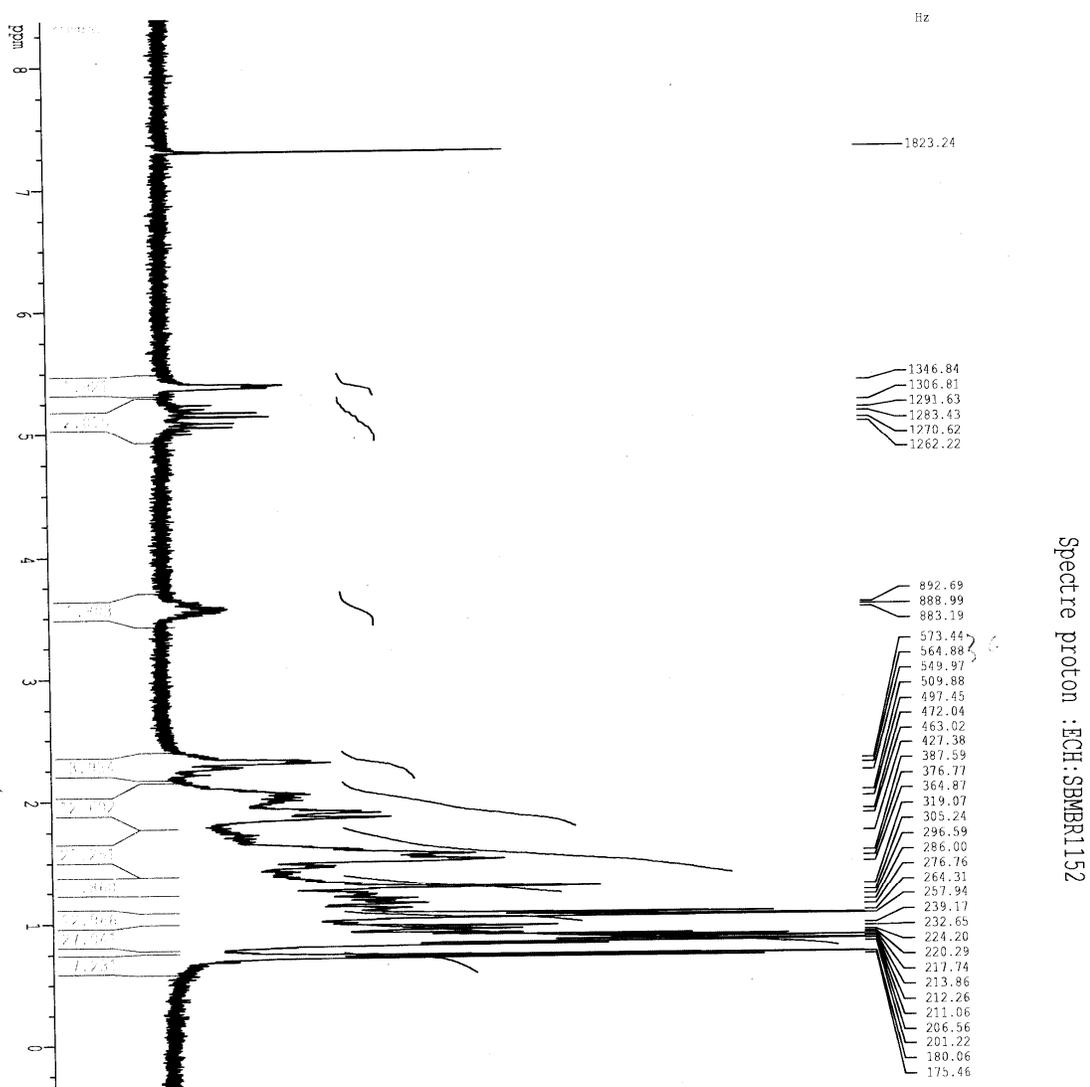
Figure 4.14 : Spectre de masse du composé R-XI.5.2

Tableau 4.6 : Données du Spectre de masse du produit R-XI.5.2

Fragments	m/z	%	Fragments	m/z	%
[M] ⁺	414.37	78.30	[M] ⁺	412.35	65.70
[M-18] ⁺	396.36	38.61	[M-15] ⁺	397.35	16.79
[M-15-18] ⁺	381.35	23.33	[M-18] ⁺	394.34	14.38
[M-C ₃ H ₈ O] ⁺	354.31	6.39	[M-15-18] ⁺	379.32	7.19
[M-C ₆ H ₁₃] ⁺	329.30	24.39	[M- C ₃ H ₇] ⁺	369.30	17.05
[M-C ₇ H ₁₆] ⁺	314.25	9.36	[M- C ₅ H ₁₀] ⁺	351.29	22.66
[M-C ₈ H ₁₅] ⁺	303.29	29.66	[M- C ₆ H ₁₀] ⁺	330.31	6.56
	288.27		[M- C ₆ H ₁₀ O] ⁺	314.25	9.36
	275.26	13.98		300.23	24.88
	273.21	29.56		271.20	30.90
	255.20	72.20		255.20	72.20
	231.27	22.22		231.27	46.29
	213.16	46.29		55.02	100
	55.02	100			

L'étude du spectre RMN-¹H dans le CDCl₃ montre (voir tableau 4.7 et figure 4.15) la présence de:

- Ø Deux doublets de doublets à $\delta= 5.05$ ppm, et $\delta=5.16$ ppm avec une intégrale de deux hydrogènes (2H) correspondant à une double liaison latérale des triterpènes tetracycliques de type stérol (liaison latérale (position C-22-C-23).
- Ø Un doublet à $\delta= 5.35$ ppm, ce déplacement chimique est dû au proton éthylénique (position C-5-C-6).
- Ø Un multiplet à $\delta= 3.53$ ppm correspondant à un proton porté par un carbone hydroxylé (carbone C-3 des stérols. Le pattern méthylique: deux doublets superposés (méthyles 26 et 27 à 0,78 et 0,80 ppm), un troisième doublet à 0,92 ppm (C-21) et un triplet à 0,87 ppm (C-29), indiquent que ces deux stérols correspondent au β -sitostérol et au stigmastérol.

Figure 4.15 : Spectre RMN- ^1H 400 MHz dans CDCl_3 de R-XI.5.2

Le spectre RMN-¹³C et les séquence Dept 135 et 90 (voir figure 4.16) confirment une fois de plus, la présence de deux doubles liaisons à $\delta=140.5$ ppm, $\delta=121.5$ ppm relatives au C-5–C-6 et à $\delta=129.0$ ppm et $\delta=138.1$ ppm relatif au C-22–C-23. Un autre déplacement chimique à $\delta=77.2$ ppm dû à la présence d'un hydroxyle lié à cet atome (voir tableau 4.7).

Une comparaison entre les intégrales de ces déplacements chimiques dans le spectre proton, nous permet de déduire la présence de deux produits qui sont le *β -Sitostérol* (33%) et le *Stigmastérol* (67%) (Figure 4.16), confirmée par l'apparition des deux pics du MS $m/z=414$ et $m/z=412$. Ces résultats sont conformes aux données de la littérature [5-8].

Tableau 4.7 : Les résultats RMN-¹H, RMN-¹³C et Dept de R-XI.5.2

Position	RMN- ¹ H δ ppm	Multiplicité	RMN ¹³ C δ ppm	Dept
C-3	4.48		77.2	CH
C-4- H _{α}	2.25	<i>d</i> (<i>J</i> = 4.2 Hz)	42.0	CH ₂
C-4-H _{β}	1.88	<i>d</i> (<i>J</i> = 8.6 Hz)		
C-5	---	---	140.5	C
C-6	5.35	large doublet	121.5	CH
C-18	0.67	<i>s</i>	12.0	CH ₃
C-19	1.0	<i>s</i>	20.84	CH ₃
C-20	2.02	<i>m</i>	36.3	CH
C-21	0.92	<i>d</i> (<i>J</i> = 8.5 Hz)	21.0	CH ₃
C-22	5.16	<i>dd</i> (<i>J</i> = 15.2, 8.2, Hz)	129.0	CH
C-23	5.02	<i>dd</i> (<i>J</i> = 15.2, 8.2 Hz)	138.1	CH
C-24	1.82	<i>m</i>	49.9	CH
C-25	1.56	<i>m</i>	31.7	CH
C-26	0.78	<i>d</i> (<i>J</i> = 6.4 Hz)	18.7	CH ₃
C-27	0.80	<i>d</i> (<i>J</i> = 6.5 Hz)	18.7	CH ₃
C-28	1.16	<i>m</i>	20.8	CH ₂
C-29	0.87	<i>t</i> (<i>J</i> = 6.8 Hz)	11.8	CH ₃

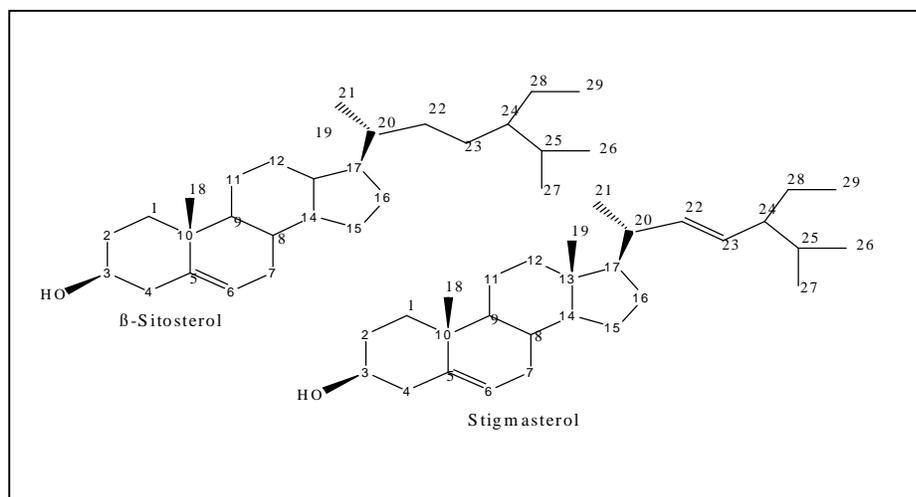


Figure 4.16 : Structure des produits β -Sitostérol et le Stigmastérol

IV.2.4 Identification des composés R-XI.2.1 :

Le spectre de masse (MS, EI) obtenu pour le produit R-XI.2.1 dans l'extrait chloroformique (Figure 4.17) donne respectivement des ions moléculaires $[M]^+$ à $m/z= 680.78$ (26.08%) et pseudo moléculaires $[M+H]^+$ à $m/z= 681.78$ (voir tableau 4.8).

La détermination de la structure du composé isolé R-XI.2.1, en se basant sur les spectres RMN- 1H , RMN- ^{13}C et Dept, indique la présence de quarante six atomes de carbones dont (voir tableau 4.9) :

- Ø Sept quaternaires : cinq sp^3 et deux sp^2 parmi lesquels une fonction ester
- Ø Sept groupes CH, parmi lesquels deux sp^3 oxygénés.
- Ø Vingt trois méthylènes, dont un sp^2 .
- Ø Huit groupements méthyles.

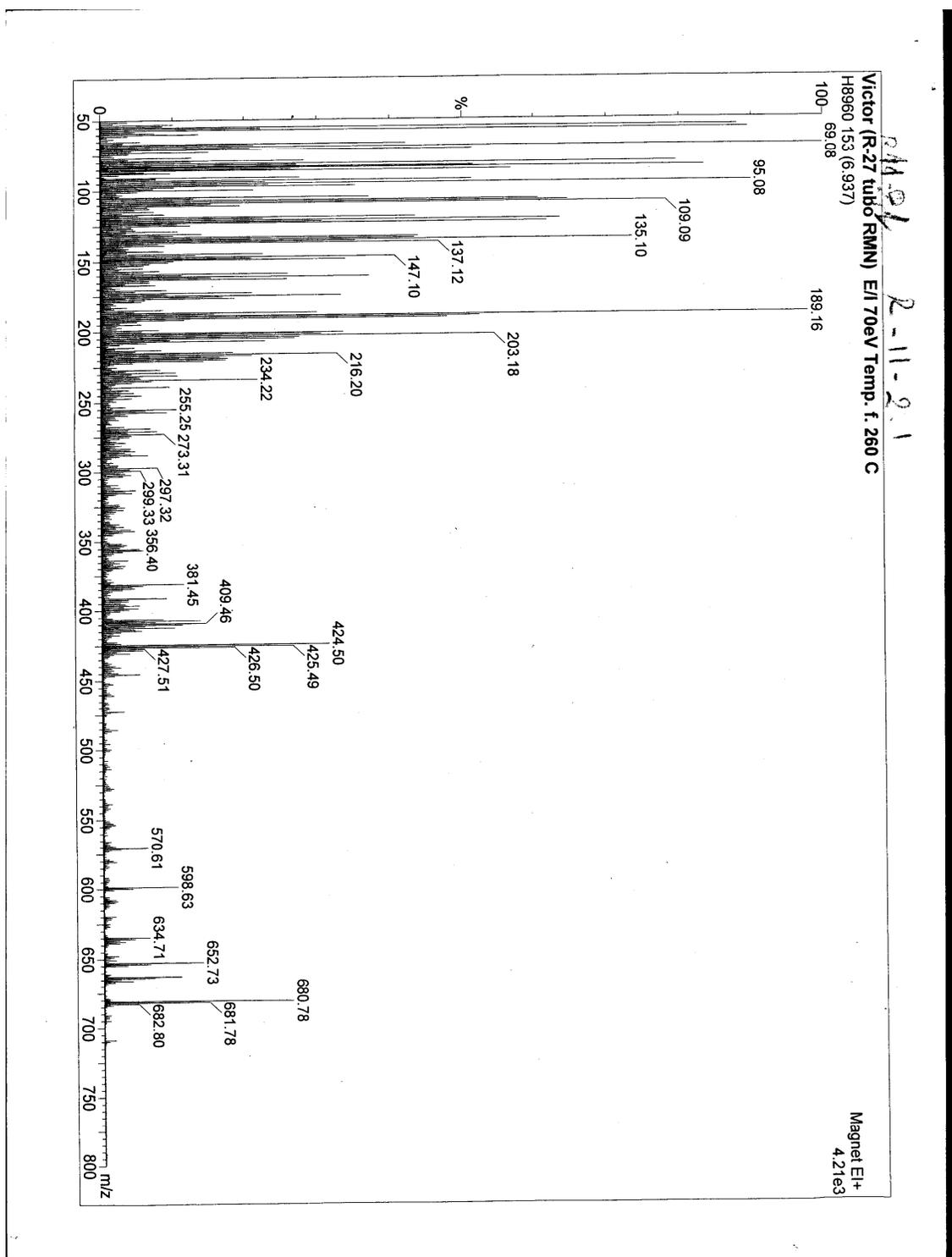


Figure 4.17 : Spectre de masse du composé R-XI.2.1

Tableau 4.8 : fragmentations du composé R-XI.2.1

Fragments	<i>m/z</i>	%
[M] ⁺	680.78	26.08
[M-28] ⁺	652.73	13.66
[M- C ₂ H ₆ O] ⁺	634.71	6.38
[M-C ₆ H ₁₀] ⁺	598.63	9.93
	425.51	24.96
	234.22	21.73
	216.20	32.91
	203.18	54.65
	189.16	97.51
	69.08	100

L'analyse du spectre RMN-¹³C (figure 4.18) montre :

- Ø Deux signaux à $\delta = 110.24$ ppm et $\delta = 150.36$ ppm, caractéristiques des carbones éthyléniques,
- Ø Un autre signal à $\delta = 174.15$ ppm, caractéristique d'un carbone carbonylé d'une fonction ester.
- Ø Deux signaux CH à $\delta = 77.74$ ppm et $\delta = 80.93$ ppm représentant deux atomes de carbones liés à un groupement oxygéné.

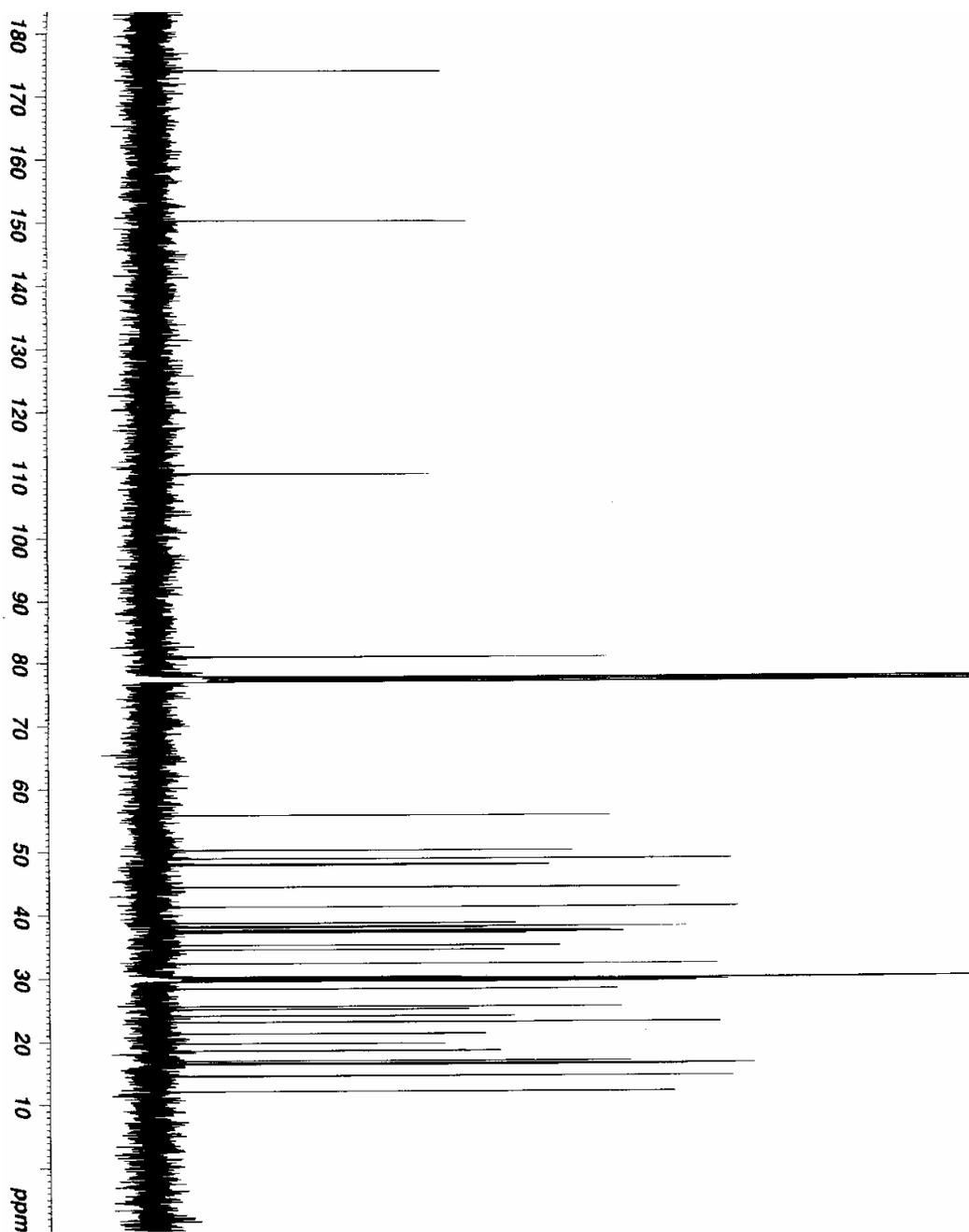


Figure 4.18 : Spectre RMN- ^{13}C 100 MHz dans CDCl_3 de R-XI.2.1

Ces données convergent vers une formule brute $C_{46}H_{80}O_3$ correspondant à la présence de sept insaturations et donc la présence d'un triterpène penta cyclique, l'insaturation exo cyclique nous oriente vers une structure de type lupeol possédant une fonction ester qui porte une chaîne latérale aliphatique de 14 atomes de carbones, en position 3.

L'étude du spectre RMN- 1H dans le $CDCl_3$ confirme (voir tableau 4.9, figure 4.19) la présence de:

- Ø Un doublet de doublet à $\delta = 4.48$ ppm, ce déplacement chimique avec une intégrale correspond à un seul proton (H-C-3).
- Ø Un autre déplacement chimique à $\delta = 3.62$ ppm avec une intégrale d'un proton lié un carbone hydroxylé (H-C-16).
- Ø Un signal est visible à $\delta = 2.45$ ppm comme multiplet avec une intégrale correspond à un proton (H-C-19).
- Ø Deux signaux sont aussi visibles à $\delta = 4.65$ ppm et $\delta = 4.52$ ppm à champs faibles dus aux protons éthyléniques.
- Ø Sept signaux qui sont visibles comme singulets à $\delta = 0.81$ ppm, $\delta = 0.85$ ppm, $\delta = 0.87$ ppm, $\delta = 1.00$ ppm, $\delta = 1.05$ ppm, $\delta = 1.70$ ppm correspondants aux groupes méthyles (CH_3).
- Ø Un huitième méthyle apparaissant comme triplet avec $J = 6.6$ Hz à $\delta = 0.87$ ppm [9].

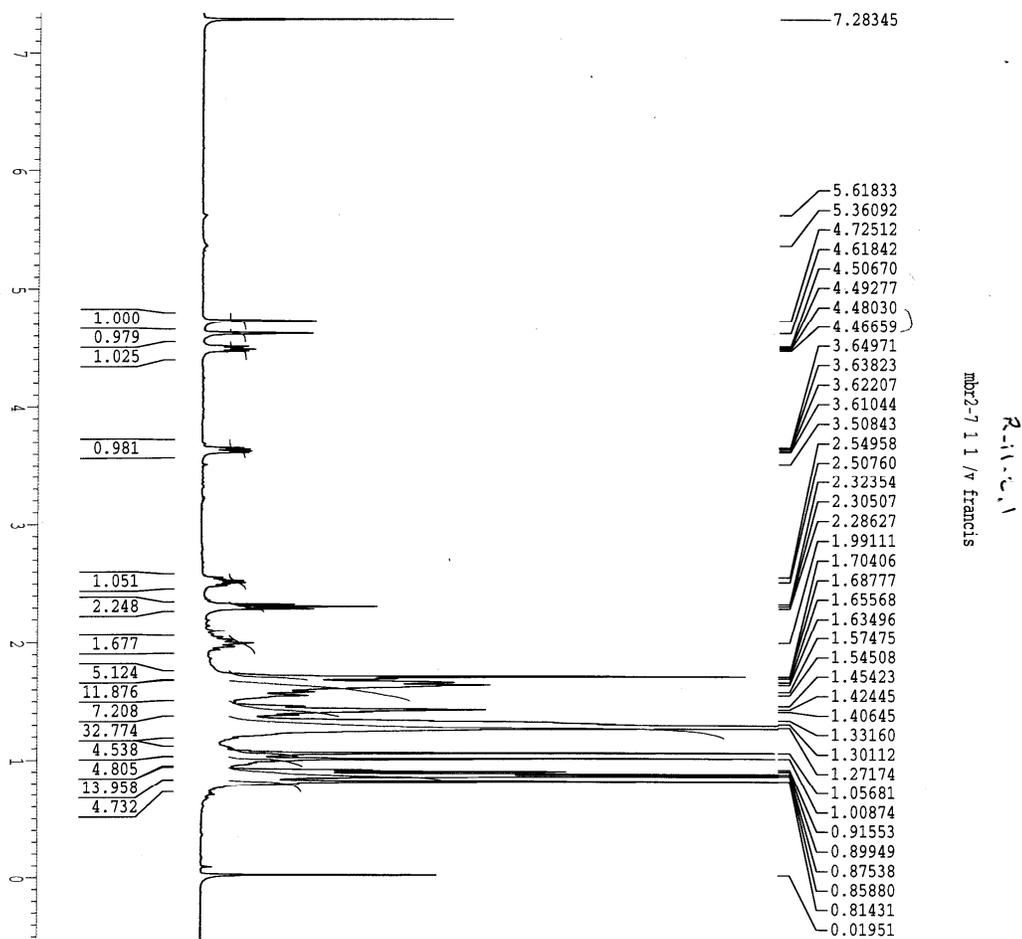
Figure 4.19 : Spectre RMN- ^1H 400 MHz dans CDCl_3 de R-XI.2.1

Tableau 4.9 : Les résultats RMN ^1H , ^{13}C et Dept de R-XI.2.1

Position	RMN- ^1H δ ppm, Multiplicité	RMN ^{13}C δ ppm	Dept	Position	RMN- ^1H δ ppm, Multiplicité	RMN ^{13}C δ ppm
C-1		38.22	CH ₂	C-30	1.70 s	19.70
C-2		24.11	CH ₂	C-1'		174.15
C-3	4.48 <i>dd</i> (<i>J</i> =4.6Hz, 11.1Hz)	80.93	CH	C-2'		35.25
C-4		37.62	C	C-3'		28.35
C-5		55.79	C	C-4'		23.09
C-6		18.57	CH ₂	(CH ₂) ₉	1.27 Large	29.57-30.27
C-7		34.56	CH ₂	C-15'		25.56
C-8		41.35	C	C-16'	0.87 t(<i>J</i> =6.6Hz)	14.1
C-9		48.98	CH			
C-10		37.62	C			
C-11		21.27	CH ₂			
C-12		24.11	CH ₂			
C-13		38.10	CH			
C-14		44.01	C			
C-15		37.25	CH ₂			
C-16	3.62 <i>dd</i> (<i>J</i> =4.6Hz, 10.5Hz)	77.11	CH			
C-17		44.46	C			
C-18		48.98	CH			
C-19	2.45 <i>m</i>	48.08	CH			
C-20		150.36	C			
C-21		29.66	CH ₂			
C-22		35.25	CH ₂			
C-23	0.85 <i>s</i>	29.57	CH ₃			
C-24	1.05 <i>s</i>	15.50	CH ₃			
C-25	0.85 <i>s</i>	16.59	CH ₃			
C-26	0.87 <i>s</i>	16.57	CH ₃			
C-27	1.00 <i>s</i>	16.57	CH ₃			
C-28	0.81 <i>s</i>	16.57	CH ₃			
C-29 Ha	4.65	110.24	CH ₂			
Hb	4.52 <i>d</i> (<i>J</i> =2.25Hz)					

Par ailleurs, les quarante et six signaux dénombrés et l'étude du spectre RMN- ^{13}C ont permis d'attribuer à R-XI.2.1, avec la confirmation de la littérature [9-11], la formule $\text{C}_{46}\text{H}_{80}\text{O}_3$ sous le nom *16 β -Hydroxy Lupeolyl- 3-Hexadecanoate*, comme l'indique la figure 4.20.

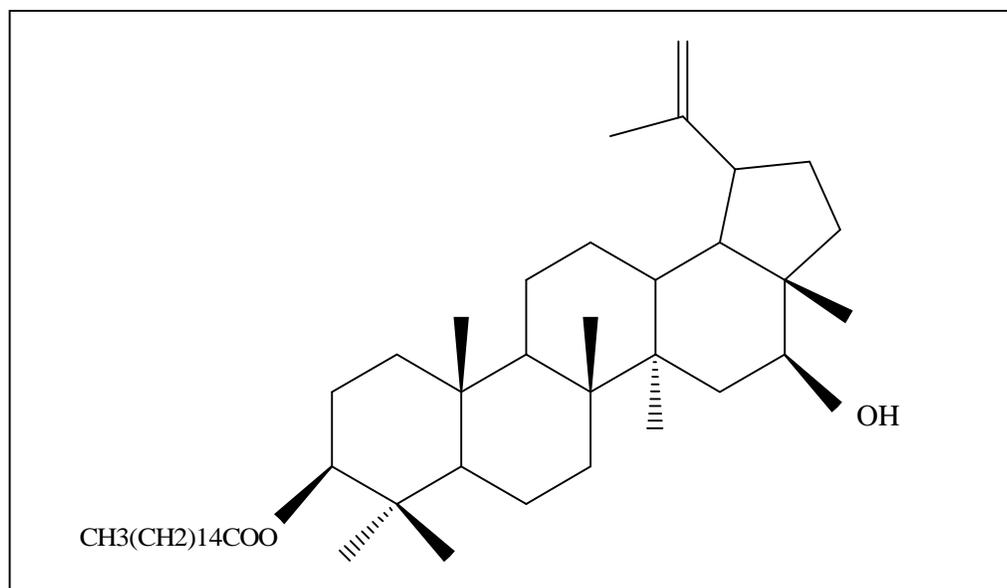


Figure 4.20 : Structure du composé 16 β -Hydroxy Lupeolyl-3-Hexadecanoate

IV.2.5 Identification du produit R-XVI.6.2:

L'analyse du spectre de masse obtenu par EI du produit R-XVI.6.2 (Figure 4.21) dans l'extrait chloroformique indique un ion moléculaire $[\text{M}]^+$ à $m/z = 214.08$ (38.71%) .

Les spectres RMN- ^{13}C et Dept indiquent la présence de 14 atomes de carbone dont :

Un groupement méthyle fortement blindé à $\delta = 4,6$ ppm,

- Ø Trois groupements CH_2 sp_3 à $\delta = 25,2$ et $32,4$ ppm et un troisième oxygéné à $\delta = 67,4$ ppm,
- Ø Quatre groupements CH dont deux sp_3 oxygénés à $\delta = 81,9$ et 70 ppm et deux sp_2 à $\delta = 145$ ppm et 110 ppm,

Ø Six carbones quaternaires acétyléniques (sp.) à $\delta = 73,6 ; 59 ; 64,9 ; 75,4 ; 78,2$ et $67,3$ respectivement. Le caractère acétylénique de ces carbones quaternaires est confirmé par ailleurs par la bande d'absorption observée en IR à $\nu = 2221,8 \text{ cm}^{-1}$, Ceci explique également la valeur très faible du déplacement chimique du groupement méthyle qui doit subir probablement l'influence du cône d'anisotropie d'un groupement acétylénique.

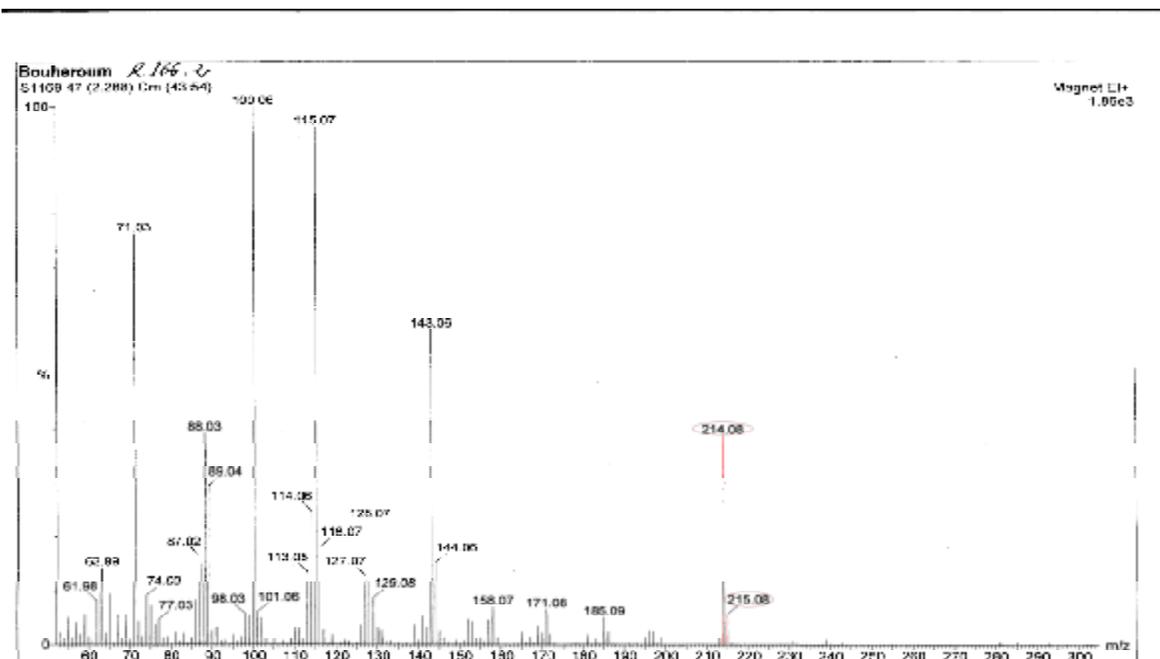


Figure 4.21 : Spectre de masse du composé R-XVI.6.2

Ces observations, ainsi que le pic moléculaire observé en SMIE $[M]^+$ à $m/z = 214$ nous oriente vers une formule brute de $C_{14}H_{14}O_2$ et la présence de huit insaturations. Six d'entre elles correspondent aux trois liaisons acétyléniques reliant les six carbones quaternaires sp, une septième correspond à la double liaison reliant les deux carbones CH^{sp^2} ($\delta = 145$ ppm et 110 ppm). La présence des deux groupements CH^{sp^3} oxygénés observés à $\delta = 81,9$ et 70 ppm, ajoutée à la forte bande d'absorption de valence de type C-O-C observée vers 1200 cm^{-1} indiquent que l'insaturation restante ne peut être attribuée qu'à un cycle de type oxyrane.

Le spectre IR (figure 4.22) confirme par ailleurs, en plus de la présence de liaisons acétyléniques et du cycle époxydique, la présence d'une double liaison, oléfinique et d'une fonction hydroxyle $\nu = 3409.9 \text{ cm}^{-1}$.

- Ø 3409 cm^{-1} (une large absorption) due à un groupement hydroxyle.
- Ø 2221 cm^{-1} due à la présence d'une triple liaison,
- Ø 1620 cm^{-1} (C=C)
- Ø 1078 cm^{-1} (C-O-C)

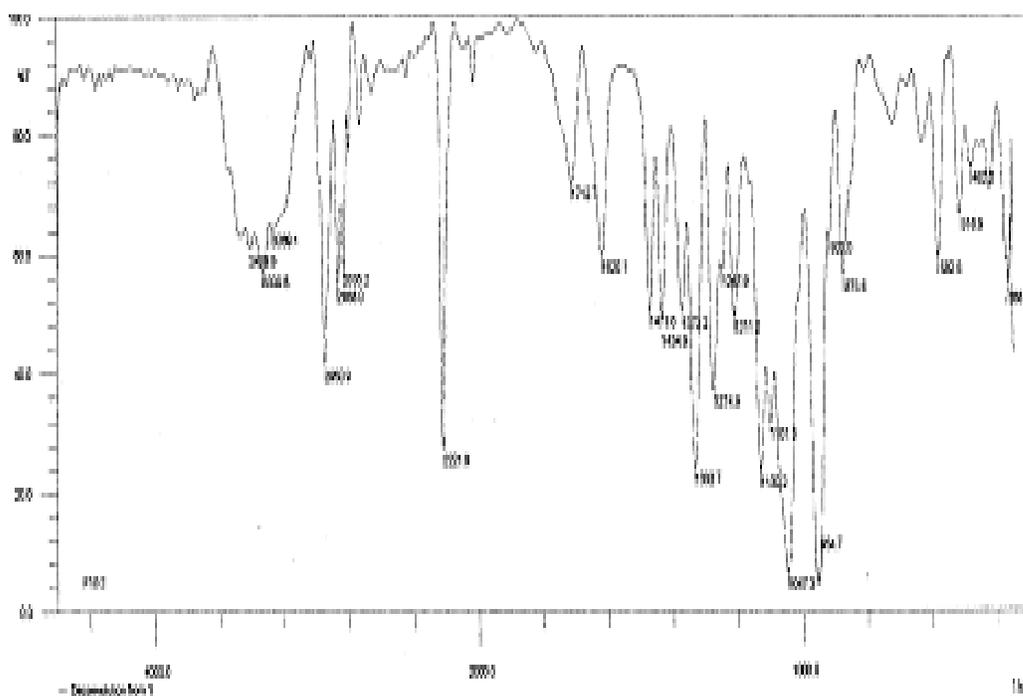
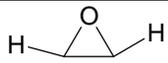


Figure 4.22 : Spectre IR du composé R-XVI.6.2

Le tableau ci-dessous (tableau 4.10) résume l'ensemble de ces données.

Tableau 4.10: Résultats RMN Dept et IR de R-XVI.6.2

		δ (ppm) ^{13}C , Dept	ν cm^{-1} (IR)
1		81,9 70	1078
2	$\text{C}\equiv\text{C}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}-\text{O}$	145 110	1620
3	$-\text{C}\equiv\text{C}-\text{CH}_3$	4,5	
4	$-\text{CH}_2\text{OH}$	67,4	3409
5	$-\text{C}\equiv\text{C}-$	59 67,3 64,9 73,6 75,4 78,2	2221
6	$-\text{CH}_2-\text{C}-$	25,2 32,4	2835, 2888 2950

Le spectre RMN- ^1H (figure 4.23, tableau 4.11) confirme les données ci-dessus en indiquant la présence du groupement méthyle voisin de la liaison acétylénique à $\delta = 2$ ppm. Les deux hydrogènes éthyléniques sont observés à $\delta = 6,48$ ppm [dd ($J = 5,5$ Hz ; 16.04 Hz)] et $\delta = 5,80$ ppm [dd ($J = 1,6$ Hz ; 16.04 Hz)]. Les valeurs des constantes de couplages indiquent que la double liaison a une configuration trans. Par ailleurs la multiplicité de ces couplages confirme que le proton à $\delta = 5,80$ ppm est voisin de la liaison acétylénique.

Tableau 4.11 : Les résultats RMN ^1H , ^{13}C et Dept de R-XVI.6.2

^{13}C δ ppm	^1H δ ppm	Multiplicité	^{13}C δ ppm	Dept
C-1	H _a 3,94 H _b 3,37	<i>m</i> <i>m</i>	67.4	CH ₂
C-2	H ₂ 1.67	<i>m</i>	25.2	CH ₂
C-3	H _a 2.11 H _b 1.46	<i>m</i> <i>m</i>	32.4	CH ₂
C-2'	H 3.35	<i>m</i>	81.9	CH
C-3'	H 3.55	<i>m</i>	70.0	CH
C-1''	H 6.48	<i>dd</i> (<i>J</i> = 16,04 5,5 Hz)	145.7	CH
C-2''	H 5.80	<i>dd</i> (<i>J</i> = 16,04 1.6 Hz)	110.1	CH
C-3''	---	---	73.6	C
C-4''	---	---	59.0	C
C-5''	---	---	64.9	C
C-6''	---	---	75.4	C
C-7''	---	---	78.2	C
C-8''	---	---	67.3	C
C-9''	H ₃ 1.97	<i>s</i>	4.6	CH ₃

Par ailleurs, le spectre COSY ^1H - ^1H (figure 4.24) montre l'existence des corrélations suivantes :

- Ø hydrogène époxydique à $\delta=3.55$ ppm avec un des protons éthyléniques à $\delta = 6.48$ ppm et avec le deuxième hydrogène époxydique à $\delta=3.35$ ppm. Ce dernier corrèle également avec un es CH₂ aliphatiques à $\delta=1.46$ ppm.
- Ø Deux signaux intégrant deux protons à $\delta= 3.37$ et $\delta= 3.94$ ppm qui apparaissent sous forme de multiplets qui couplent avec les protons $\delta=2.11$ ppm (H₂-C-2) et à $\delta=1.46$ ppm (H₂-C-3),

- Ø Deux autres signaux similaires apparaissant sous forme des multiplets et intégrant deux protons, le premier à $\delta=1.46$ ppm et le second à $\delta=2.11$ ppm en corrélation avec les protons $\delta=3.35$ ppm (H-C-2'), $\delta=1.67$ ppm (H₂-C-2) et $\delta=3.37$ ppm, $\delta=3.94$ ppm (H₂-C-1).

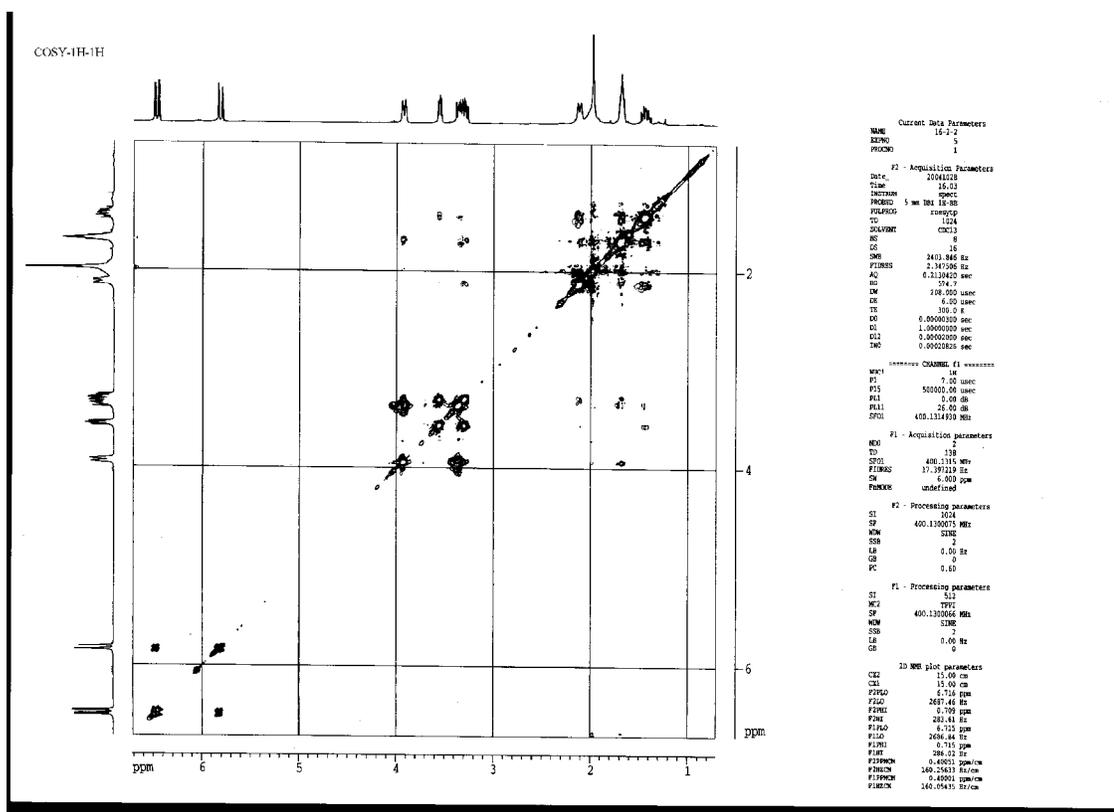


Figure 4.24 : Spectre COSY-¹H-¹H du composé R-XVI.6.2

Ces données permettent de situer la double liaison et l'enchaînement CH₂-CH₂CH₂OH de part et d'autre du cycle oxyrane.

Le spectre HMBC permet de mettre en évidence les corrélations représentées dans la figure 4.25 et le tableau 4.12.

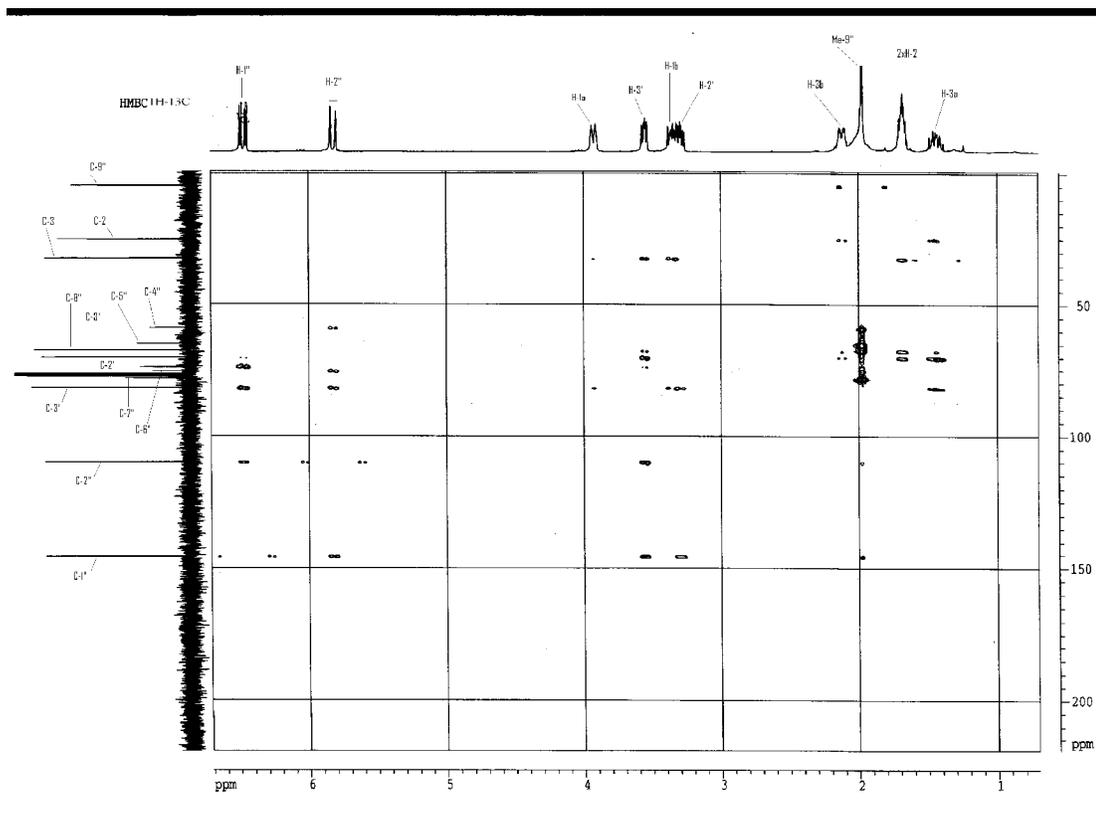


Figure 4.25 : Spectre HMBC du composé R-XVI.6.2

Tableau 4.12 : Les Corrélations HMBC et COSY (400MHz, CDCl₃)

Proton	HMBC	COSY
1- H _a	C-1; C-2	H ₂ ; H _{1b}
1- H _b	C-1; C-2	2x H ₂ ; H _{1a}
2- 2xH	C-1; C-3	2xH ₁ ; 2xH ₃
3- H _a	C-2; C-2'	2x H ₂ ; 2xH ₃
3- H _b	C-2; C-2'	2x H ₂ ; 2xH ₃
2'-H	C-3'; C-1'	H ₃ '; 2xH ₃ ; H ₁ '
3'-H	C-1''; C-2''; C-2'	H ₁ ''; H ₂ '
1''- H	C-2''; C-3'	H ₃ '; H ₂ ''; H ₂ ''
2''- H	C-1''; C-3'	H ₁ ''; H ₃ '
3xH ₉ ''	C-8''; C-7''; C-6''	---

Le composé en question R-XVI.6.2 possède deux carbones asymétriques (C-2', C-3') dont la valeur du pouvoir rotatoire est de $[\alpha]_D = +16^\circ$.

Sur la base de ces résultats, la structure du composé R-XVI.6.2, présentée ci-dessous (figure 4.26), a pu être établie comme : (+) 3-[3'- (nona- 1''-en-3'',5'',7''- trynyl) oxyran-2'-yl] propan- 1- ol

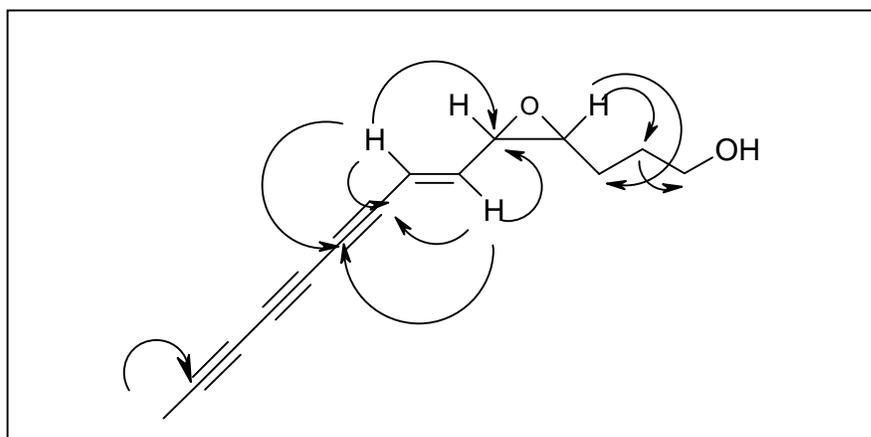


Figure 4.26 : Structure du composé R-XVI.6.2

IV.3 Composés de la plante *Ononis angustissima*: Phase Chloroformique

Plusieurs travaux ont été consacrés à l'étude des espèces du genre *Ononis* (*O. natrix*, *O. viscosa*, etc.) [12-21]. Ces travaux ont mis en évidence la présence d'isoflavonoïdes (pterocarpan phytoalexin, medicarpin) [16-20,22] et d'alkyles resorcinoïles [13,16-18,23-]. Nous exposons dans le cadre de ce travail, nos investigations concernant la détermination des structures des flavonoïdes isolés à partir de l'espèce *O. angustissima*.

IV.3.1 Détermination du composé F-β.1

La détermination de la structure du composé isolé F-β.1 est réalisée grâce aux données spectroscopiques MS, RMN- ^{13}C , RMN- ^1H et UV.

Le spectre RMN- ^{13}C (voir tableau 4.13, figure 4.27) permet en outre de mettre en évidence la présence des éléments suivants:

- Ø Neuf carbones quaternaires sp_2 dont sept oxygénés et un groupement carbonyle à $\delta = 182.7$ ppm,
- Ø Trois groupes méthoxyles à $\delta = 62.1, 61.5, 61.0$ ppm,
- Ø Six CH aromatiques.

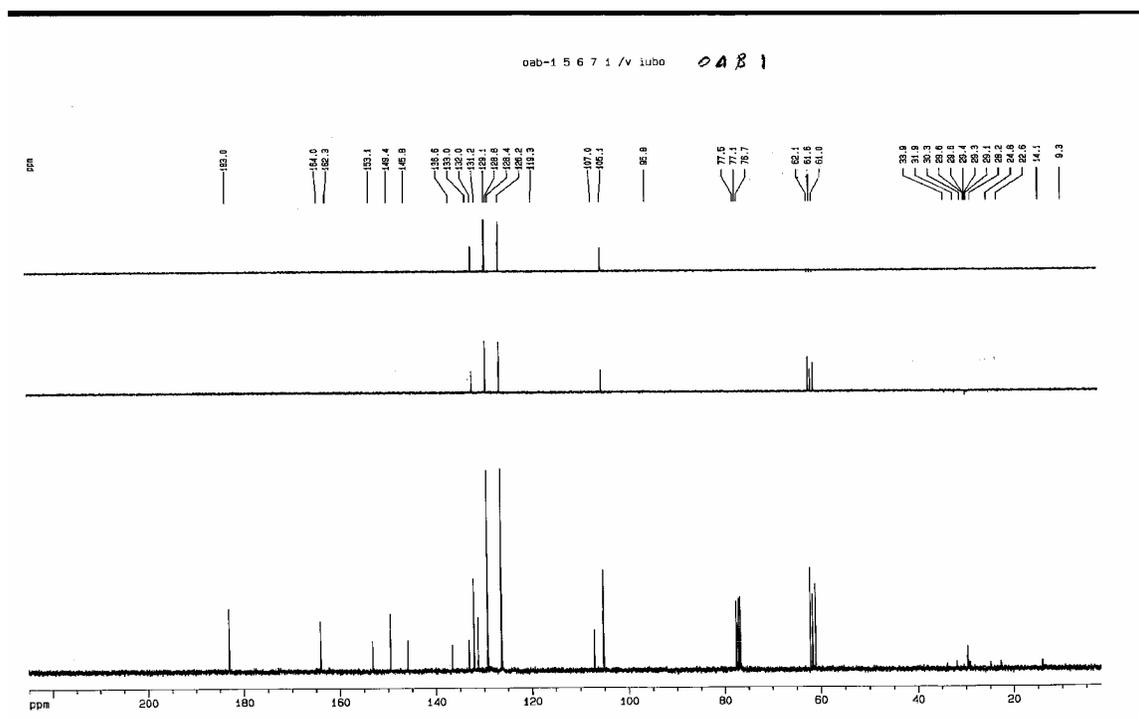


Figure 4.27 : Spectre RMN-¹³C, 100 MHz, dans CDCl₃ du composé F-β.1

Ce qui conduit à une formule brute de C₁₈H₁₆O₆ correspondant à onze insaturations. Ce nombre d'insaturation élevé ainsi que la nature des carbones impliqués dans cette structure, nous oriente vers un squelette de type flavonoïde polyméthoxylés. Ceci est confirmé par ailleurs, par le spectre UV dans le méthanol de ce composé qui donne une absorption à $\lambda_{\max}=339$ nm pour la bande I qui indique que ce composé est une flavone.

Le spectre RMN-¹H (Tableau 4.13, Figure 4.28) a permis de confirmer ces informations grâce aux signaux suivants :

- Ø Un singulet à $\delta = 6.65$ ppm correspondant à l'hydrogène C-3 de la flavone.
- Ø Trois singulets à $\delta = 3.92, 3.99$ et 4.09 ppm respectivement intégrant (3H) chacun Et correspondants à la présence de trois groupements méthoxyles,
- Ø Un multiplet d'intégration 2H aromatiques à $\delta = 7.88$ ppm.
- Ø Un multiplet d'intégration 3H aromatiques à $\delta = 7.48$ ppm. Ces deux derniers indiquent la présence d'un noyau aromatique monosubstitué dans la molécule flavonique.
- Ø Un singulet à $\delta = 12.56$ ppm correspondant à la présence d'un hydroxyle libre en position 5.

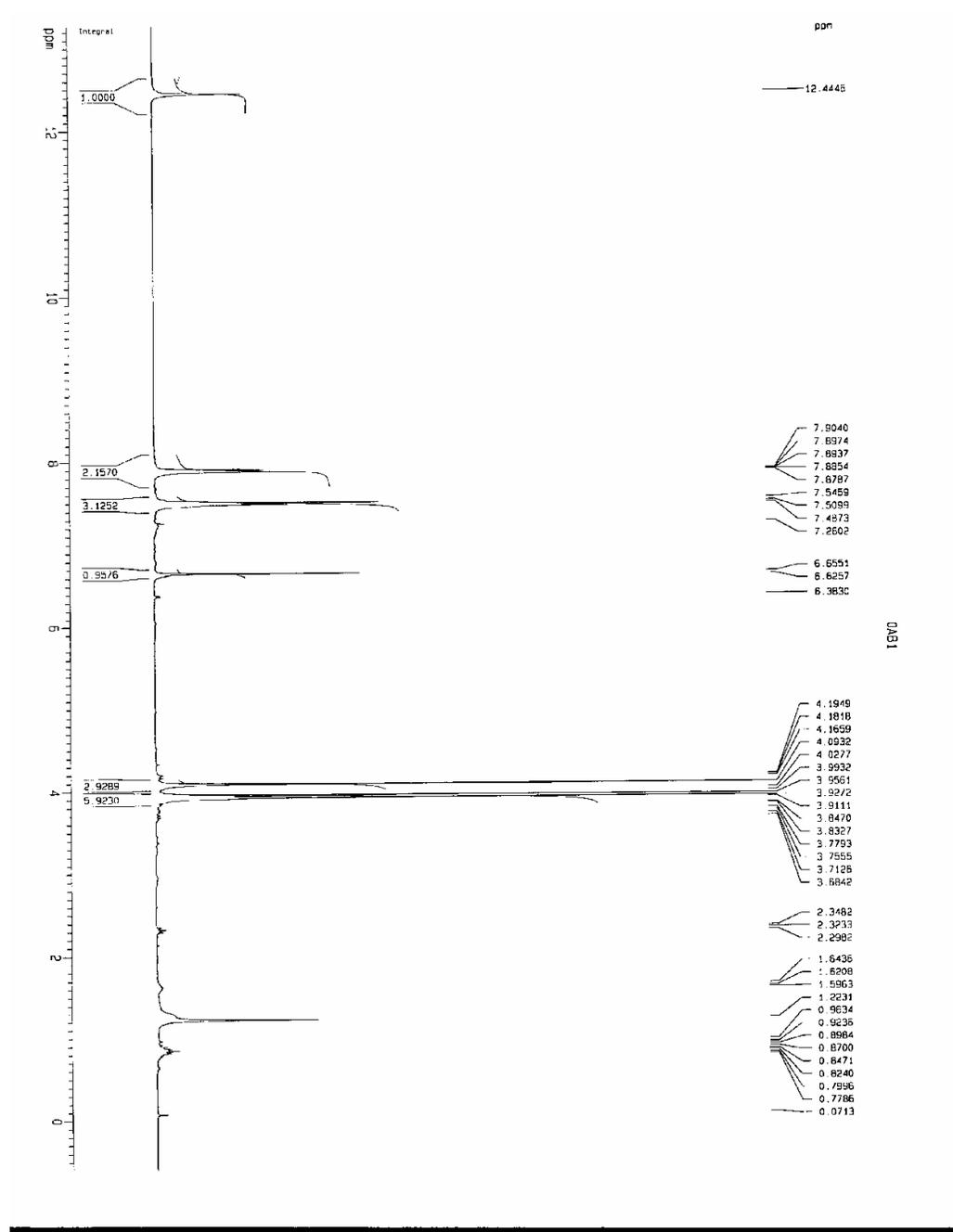


Figure 4.28 : Spectre RMN- ^1H , 400 MHz, dans CDCl_3 du composé F- β .1

Tableau 4.13 : RMN-¹H, RMN-¹³C et Dept de F-β.1

Position	RMN- ¹ H δ ppm	Multiplicité	RMN ¹³ C δ ppm	Dept
C-2	---	---	163.8	C
C-3	6.65	<i>s</i>	105.1	CH
C-4	---	---	182.8	C
C-5	---	---	149.4	C
C-6	---	---	136.6	C
C-7	---	---	131.2	C
C-8	---	---	153.1	C
C-9	---	---	145.8	C
C-10	---	---	107.0	C
C-1'	---	---	131.8	C
C-2'	H 7.88	<i>m</i>	126.0	CH
C-3'	H 7.48	<i>m</i>	128.9	CH
C-4'	H 7.50	<i>m</i>	131.0	CH
C-5'	H 7.48	<i>m</i>	128.9	CH
C-6'	H 7.88	<i>m</i>	126.0	CH
C-8-OMe	3xH 4.09	<i>s</i>	61.6	CH ₃
C-7-OMe	3xH 3.99	<i>s</i>	62.1	CH ₃
C-6-OMe	3xH 3.92	<i>s</i>	61.0	CH ₃

Les séries spectrales UV (voir schéma 4.1, figure 4.29) réalisées permettent la localisation des groupes hydroxyles (OH) et alkoxyles (OR) sur les noyaux A et B des flavonoïdes.

L'ajout d'une solution AlCl₃+HCl induit un déplacement bathochrome de la bande I (18 nm) dans le spectre UV de F-β.1 par rapport au spectre effectué dans le méthanol, ce qui montre la présence d'un groupe hydroxyle en position 5 avec une oxygénation en position 6.

L'addition de NaOAc, induit par un déplacement très faible de la bande II, par rapport au spectre dans le méthanol, ce qui indique la présence d'un groupe OR (OCH₃) en position 7.

Les données UV précisent ainsi les informations apportées par les spectres MS et RMN et permettent de définir la position du groupe hydroxyle en 5 et les groupes OCH₃ en positions 6, 7 et 8 sur la flavone F-β.1, dont la structure est donc le *5-hydroxy-6, 7,8-triméthoxyflavone* (*Alnetin*).

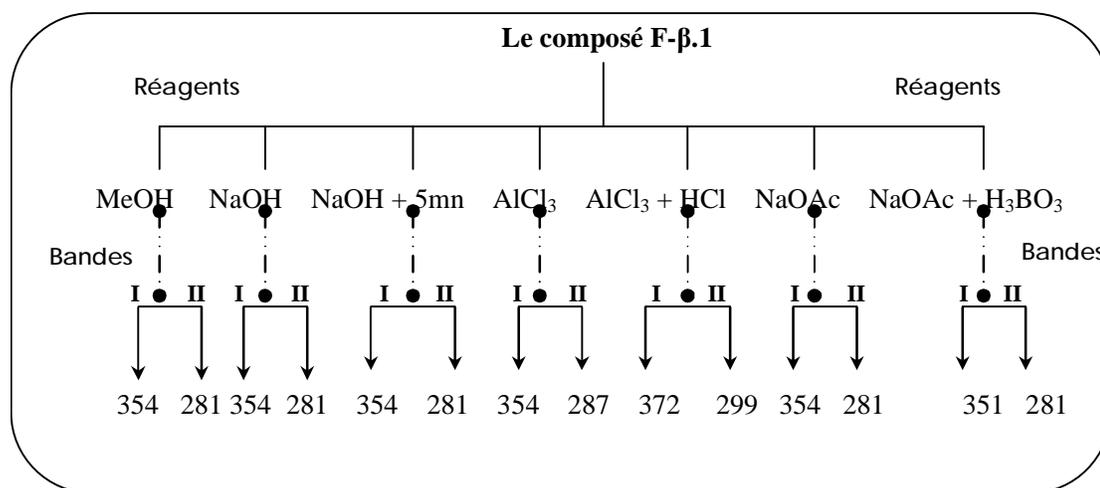
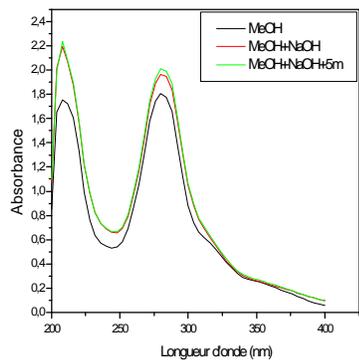
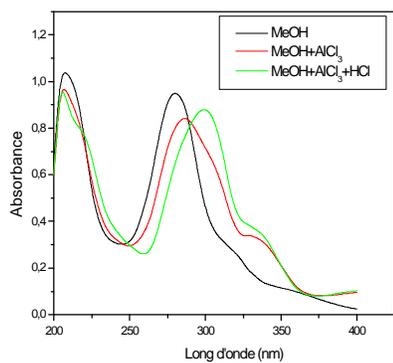


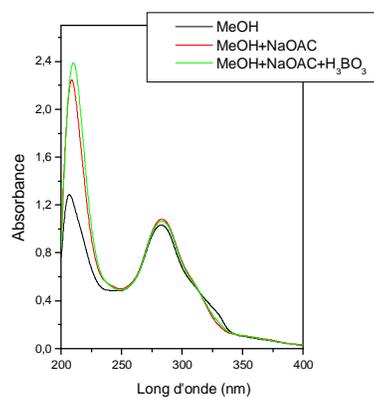
Schéma 4.1 : Série spectrale UV du composé F-β.1

Figure 4.29 : Spectres UV du composé F- β .1

Série 1



Série 2



Série 3

De plus les fragments observés en SMIE (figure 4.30, tableau 4.14) confortent la structure à déduire après, car la perte d'un méthyle est observée comme dans le cas des flavonoïdes aglycone méthoxylés. Il est également possible de déterminer le type de flavonoïde en étudiant les fragmentations au niveau du cycle C. La présence des ions à $m/z = 103$ ($^{1,3}B^+$), 211 ($^{1,3}A^+$) et 105 ($^{0,2}B^+$) dans le spectre MS montre ainsi qu'il s'agit d'une flavone contenant trois méthoxyles dans le cycle A mais dont le cycle B est non substitué (voir figure 4.31).

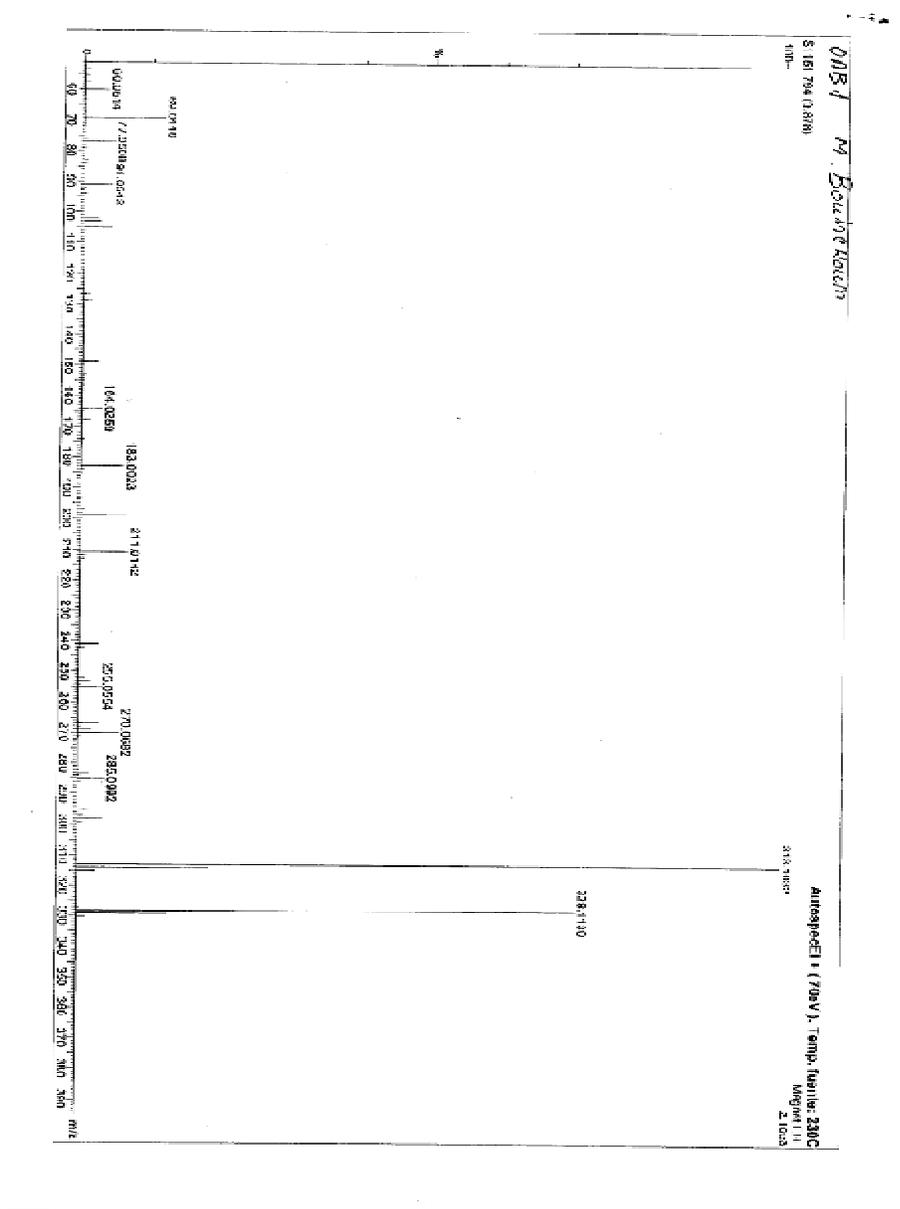


Figure 4.30 : Spectre de Masse (EI) du composé F-β.1

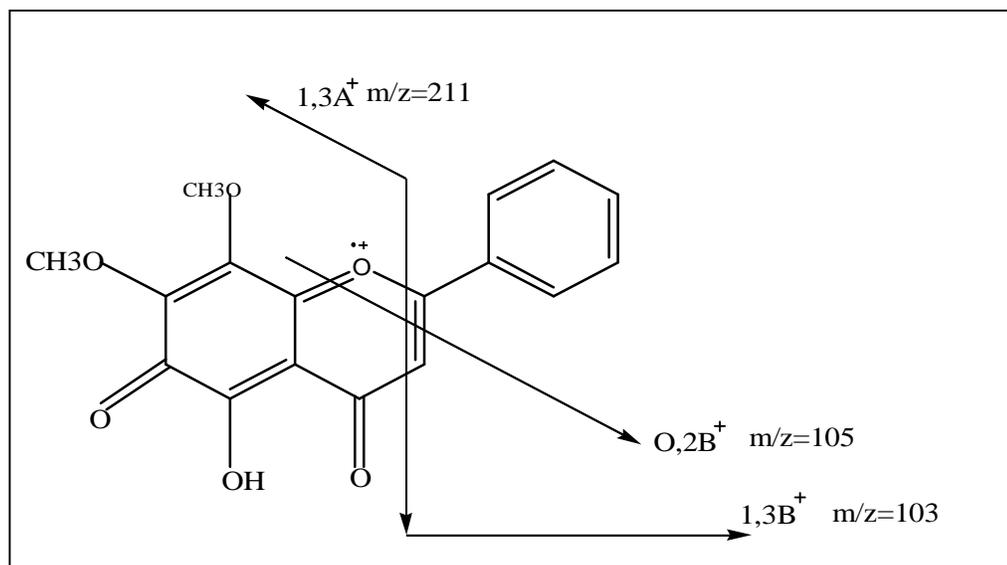


Figure 4.31 : Fragments de MS du composé F-β.1

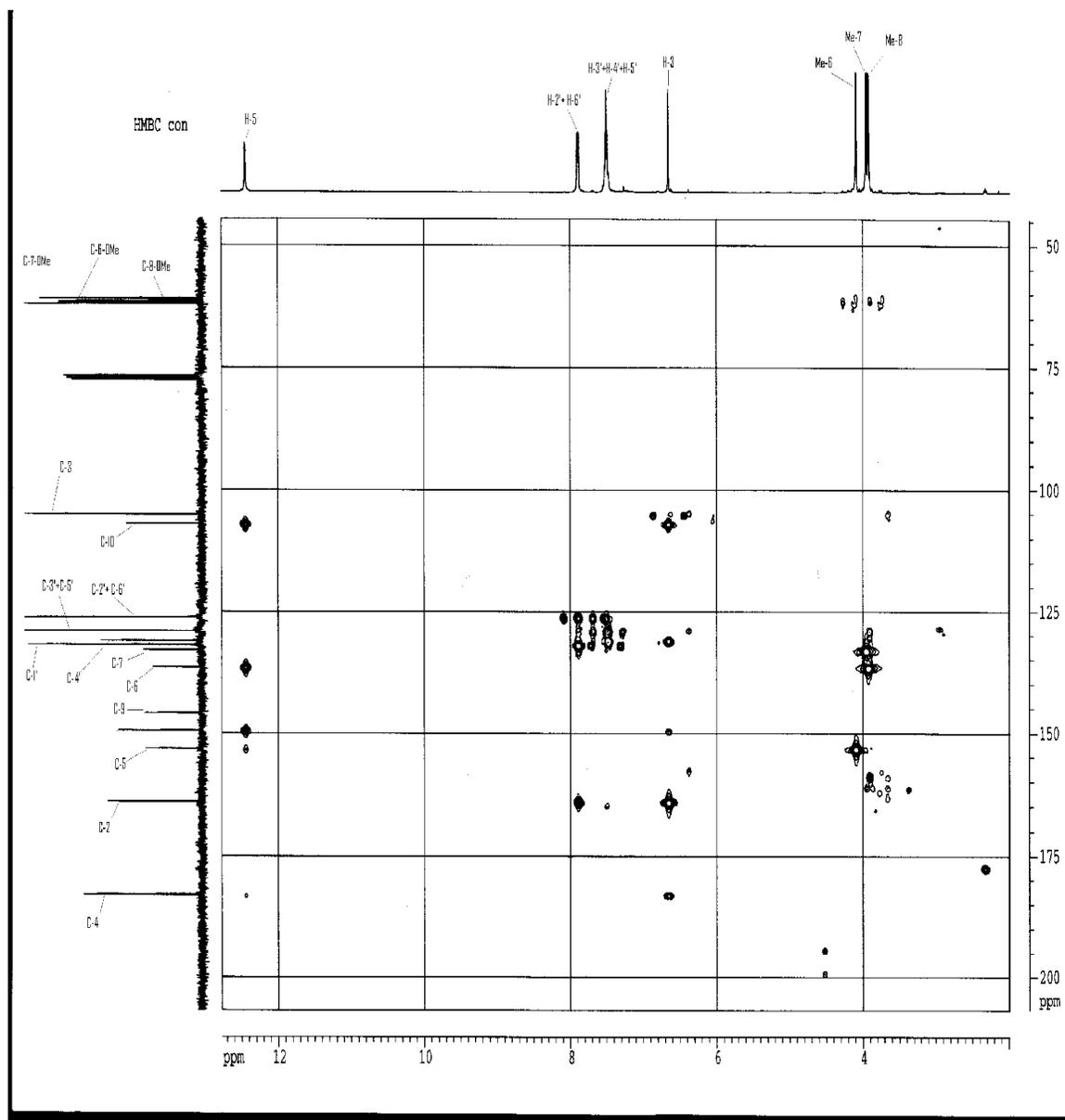
Tableau 4.14 : Spectre de masse du composé F-β.1

Fragments	<i>m/z</i>	%
[M] ⁺	328.11	69.52
[M-15] ⁺	313.10	100
[M+H-OCH ₃] ⁺	298.08	1.15
[M-43] ⁺	274.11	3.86
[M-58] ⁺	270.06	5.20
	255.05	3.29
	211.01	6.81
	183.00	6.19
	164.02	3.51
	115.04	1.03
	105.02	3.89
	103.04	2.33

La mesure du spectre de corrélations hétéro nucléaires HMBC (Figure 4.32) a conduit à l'établissement des connections géminales RMN-¹H et RMN-¹³C du composé F-β.1. Il a ainsi pu être démontré que le proton localisé à δ= 6.65 ppm était attaché au carbone situé à δ=105.0 ppm, attaché lui même à deux carbones quaternaires à δ= 163.8, 182.8 ppm. Le spectre a montré également une corrélation entre les protons à δ= 7.88 ppm et le carbone situé à δ= 126.0 ppm permettant le positionnement de ce carbone en C6 et les protons à δ= 7.48 ppm et le carbone situé à δ= 128.9 ppm. Le spectre a montré également une corrélation entre les protons localisés à δ= 3.92, 3.99, 4.09 ppm et les carbones situés à δ= 61.0, 62.1, 62.6 ppm respectivement (figure 4.32, Tableau 4.15). La mesure du spectre de corrélations homonucléaires observées à longue distance NOESY (Figure 4.33) a montré les corrélations du proton à δ=6.65 ppm et les protons δ= 7.88 ppm.

Tableau 4.15 : Corrélation HMBC et NOESY du composé F-β.1

Proton	HMBC	NOESY
H-3	C-2, C-3, C-4	H-2', H-6'
H-2',6'	C-2'; C-6'; C-3'; C-5', C-4'	
H-4'	C-4', C-2'; C-6'; C-3'; C-5'	
H-3',5'	C-3'; C-5', C-4', C-2'; C-6'	
3xH-6	C-6,	
3xH-7	C-7	
3xH-8	C-8	
OH-5	C-5, C-6, C-10	

Figure 4.32 : Spectre HMBC, 400 MHz, dans CDCl_3 du composé F- β

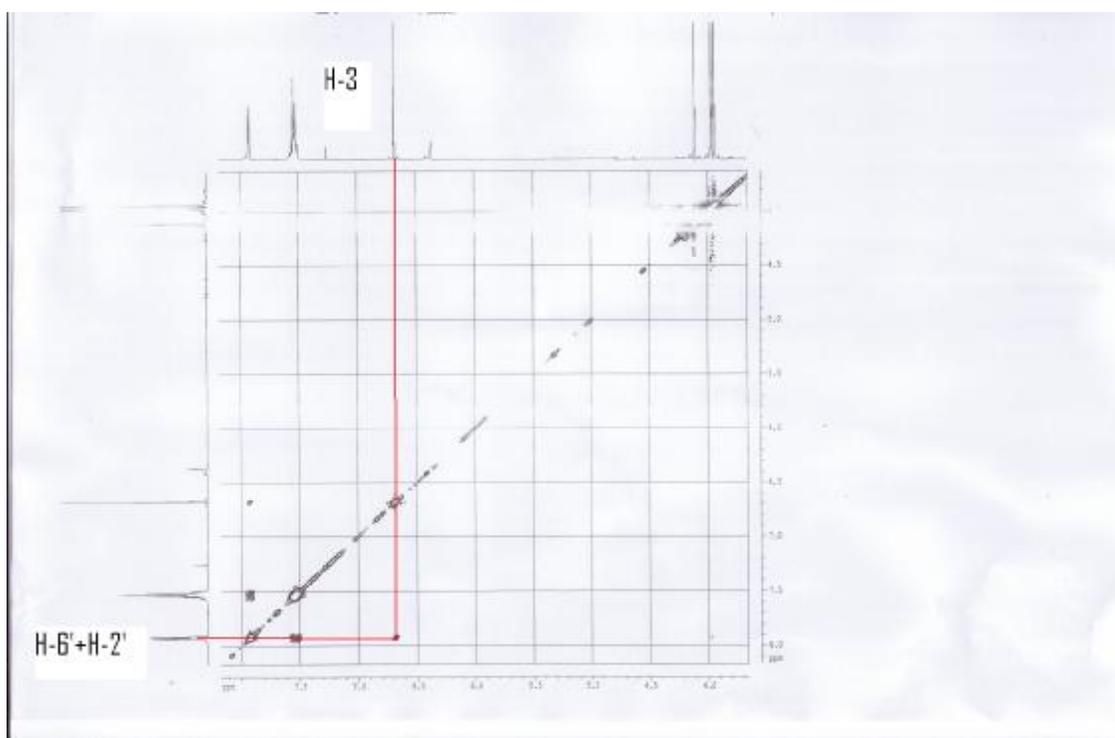


Figure 4.33 : Spectre NOESY, 400 MHz, dans CDCl_3 du composé F- β

Toutes ces informations et celles de la littérature [24] conduisent à la structure donnée en figure 4.34.

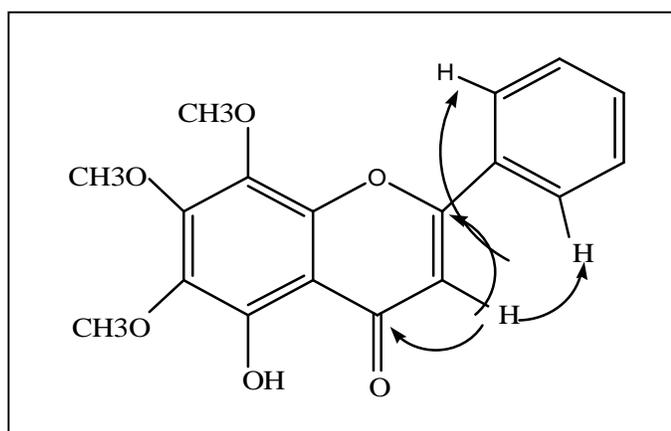


Figure 4.34 : Structure du composé F- β

IV.3.2 Détermination du composé F-IX.1.1

La détermination de la structure du composé isolé F-IX.1.1 s'est basée sur l'analyse des spectres MS, RMN-¹³C et UV

Le spectre MS montre un ion à $m/z = 298.07$ [M]⁺ représentant l'ion moléculaire de F-IX.1.1

De plus, le spectre RMN-¹³C permet de mettre en évidence la présence des éléments suivants (voir tableau 4.16) :

- Ø Huit carbones quaternaires sp² dont six oxygénés et un groupement carbonyle à $\delta = 182.7$ ppm,
- Ø Deux groupes méthoxyles à $\delta = 56.3$ 61.7 ppm,
- Ø Sept CH aromatiques.

Ce qui conduit à une formule brute de C₁₇H₁₄O₅ correspondant à onze insaturations. Ces données voisines du composé précédant nous orientent également vers un squelette de type flavonoïde polyméthoxylés un méthoxyl en moins que le composé précédant.

Ceci est confirmé par ailleurs par le spectre UV dans le méthanol de ce composé qui donne une absorption à $\lambda_{\max} = 346$ nm pour la bande I qui indique que ce composé est une flavone.

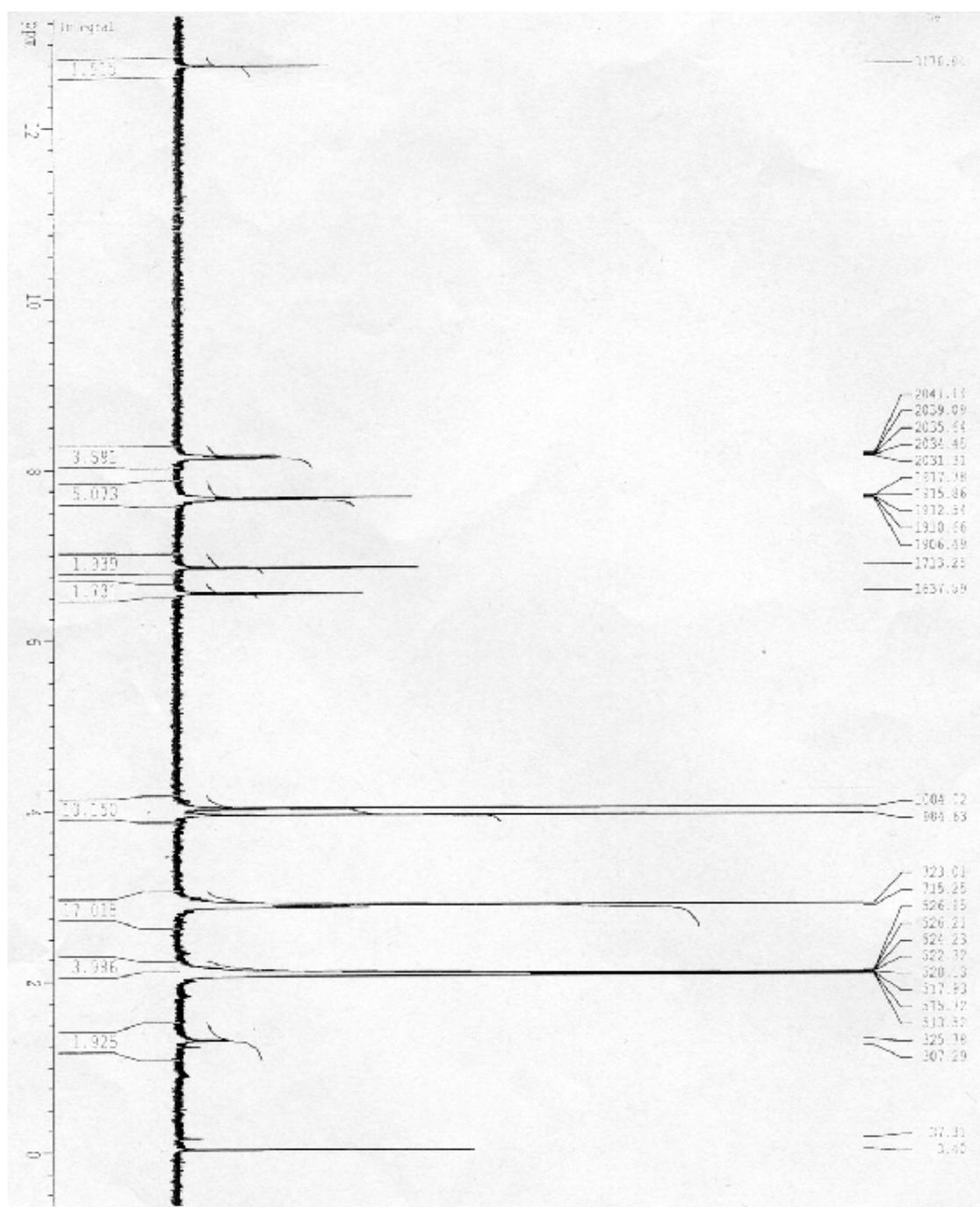
L'étude du spectre RMN-¹H du composé F-IX-1.1 (Tableau 4.16, Figure 4.35) a permis de mettre en évidence la présence de:

- Ø Deux groupes de trois protons visibles comme singulet à $\delta = 3.89$ et 3.90 ppm,
- Ø Un proton comme singulet à $\delta = 6.39$ ppm,
- Ø Un proton comme singulet à $\delta = 6.63$ ppm,
- Ø Trois protons à $\delta = 7.49$ ppm qui apparaissent comme multiplet.
- Ø Deux protons à $\delta = 7.89$ ppm qui apparaissent comme multiplet.
- Ø Un proton comme singulet à $\delta = 12.40$ ppm du C₅-O-H.

Position	RMN ¹ H δ ppm	Multiplicité	RMN ¹³ C δ ppm	Dept
----------	---------------------------------	--------------	----------------------------------	------

C-2			163.9	C
C-3	6.39	<i>s</i>	105.1	CH
C-4	---	---	182.7	C
C-5	---	---	104.9	C
C-6	---	---	158.7	C
C-7	---	---	149,4	C
C-8	H 6.63	<i>s</i>	95.6	CH
C-1'	---	---	131.9	C
C-2'	H 7.89	<i>m</i>	126.1	CH
C-3'	H 7.49	<i>m</i>	128.9	CH
C-4'	H 7.49	<i>m</i>	131.7	CH
C-5'	H 7.49	<i>m</i>	128.9	CH
C-6'	H 7.89	<i>m</i>	126.1	CH
C-7-OMe	3xH 3.89	<i>s</i>	56.3	CH ₃
C-6-OMe	3xH 3.90	<i>s</i>	61.7	CH ₃
C-9	---	---	149.4	C
C-10	---	---	129.1	C

Tableau 4.16 : Les résultats RMN-¹H, RMN-¹³C et Dept de F-IX.1.1

Figure 4.35 : Spectre RMN- ^1H du composé F-IX.1.1

Les séries spectrales UV (voir schéma 4.2) réalisées permettent la localisation des groupes hydroxyles (OH) et alkoxyes (OR) sur les noyaux A et B des flavonoides.

L'ajout post-colonne d'une solution AlCl_3+HCl induit un déplacement hypsochrome de la bande I (-22 nm) dans le spectre UV de F-IX.1.1 (Figure 4.36), ce qui montre la présence d'un ortho dihydroxy.

L'addition de NaOAc montre la présence d'un groupe OR (OCH_3) en position 7 sachant qu'il n'y a eu aucun déplacement de la bande II.

Les données UV précisent ainsi les informations apportées par les spectres MS et RMN et permettent de définir la position d'un groupe hydroxyle en 5 et deux groupes OCH_3 en positions 6 et 7 sur la flavone F-IX.1.1, qui est donc le *5-hydroxy-6,7-diméthoxyflavone* (*6,7-diméthoxybaicalein*).

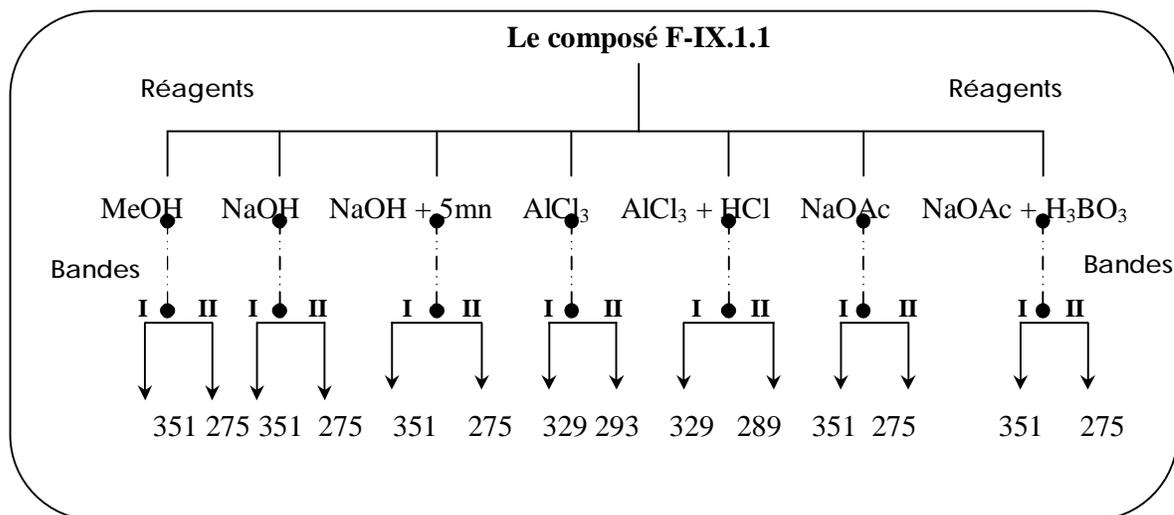
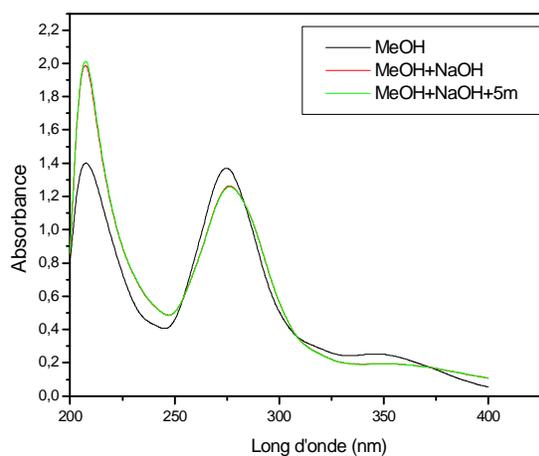
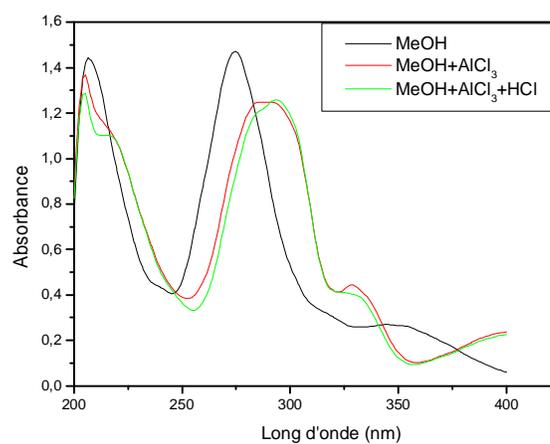


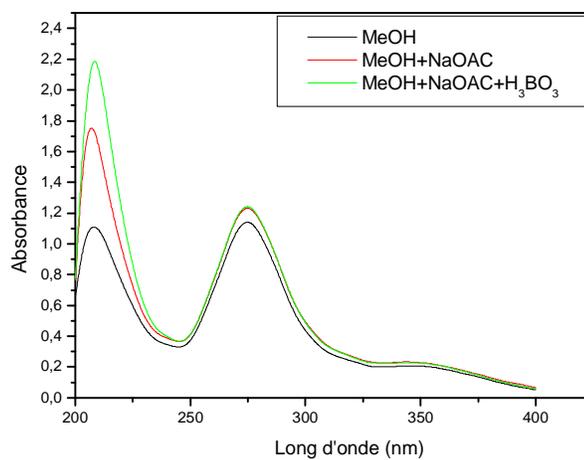
Schéma 4.2 : Série spectrale UV du composé F-IX.1.1



Série 1



Série 2



Série 3

Figure 4.36 : Spectres UV du composé F-IX.1

Le composé F-IX.1.1 est un flavonoïde non glycosylé. Il est possible de déterminer le type de flavonoïde et le degré d'oxydation des cycles A, B et C en fragmentant l'aglycone au niveau du cycle C. La présence des ions à $m/z = 102$ (1,3B+), 105 (1,3A+) dans le spectre M.S de F-IX.1.1 montre ainsi qu'il s'agit d'une flavone contenant deux groupes méthoxyles et un hydroxyle sur le cycle A mais le cycle B est non substitué (voir figure 4.37 et tableau 4.17).

Tableau 4.17 : Spectre de masse du composé F-IX.1.1

Fragments	m/z	%
[M] ⁺	298.07	45.38
[M-15] ⁺	283.05	100
[M-15-CO] ⁺	255.06	2
[M-15-C ₈ H ₆] ⁺	181.00	9.88
	153.01	16.32
	149.06	5.66
	125.02	5.05
	105.03	1.85
	102.04	4.43

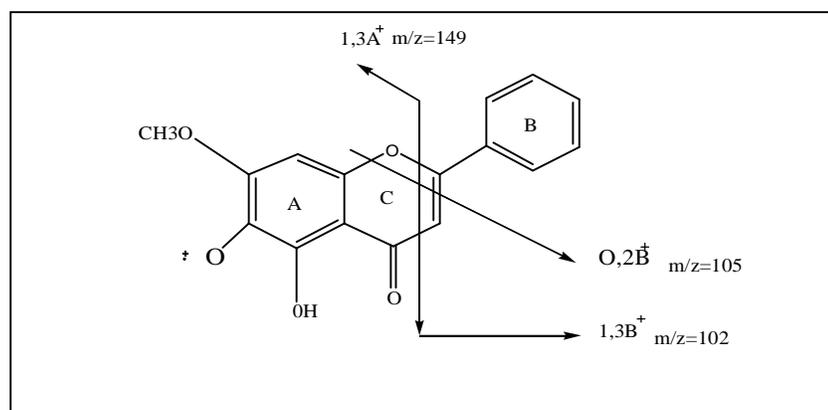


Figure 4.37 : Fragments de MS du composé F-IX.1.1

Les résultats des analyses évoqués nous permettent de déduire la structure ci-dessous pour le composé F-IX.1.1 (figure 4.38) en comparaison avec les données de la littérature [25-27].

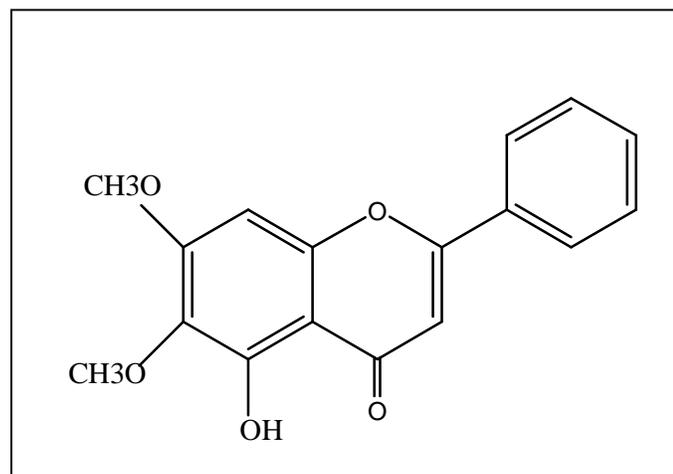


Figure 4.38 : Structure du composé F-IX.1.1

IV.3.3 Détermination du composé F-IX.1.2.2

La détermination de la structure du composé isolé F-IX.1.2.2 est basée sur l'analyse des spectres RMN-¹H et UV

L'étude du spectre RMN-¹H du composé F-IX-1.2.2 (Tableau 4.18, Figure 4.39) a permis de mettre en évidence la présence de:

- Ø Un proton comme singulet à $\delta= 6.48$ ppm,
- Ø Un proton comme singulet à $\delta= 6.70$ ppm,
- Ø Trois protons visibles comme singulets à $\delta= 4.10$ ppm,
- Ø Trois protons à $\delta= 7.65$ ppm qui apparaissent comme multiplet.
- Ø Deux protons à $\delta= 7.90$ ppm qui apparaissent comme multiplet.
- Ø Un proton comme singulet à $\delta= 12.50$ ppm du C₅-O-H.

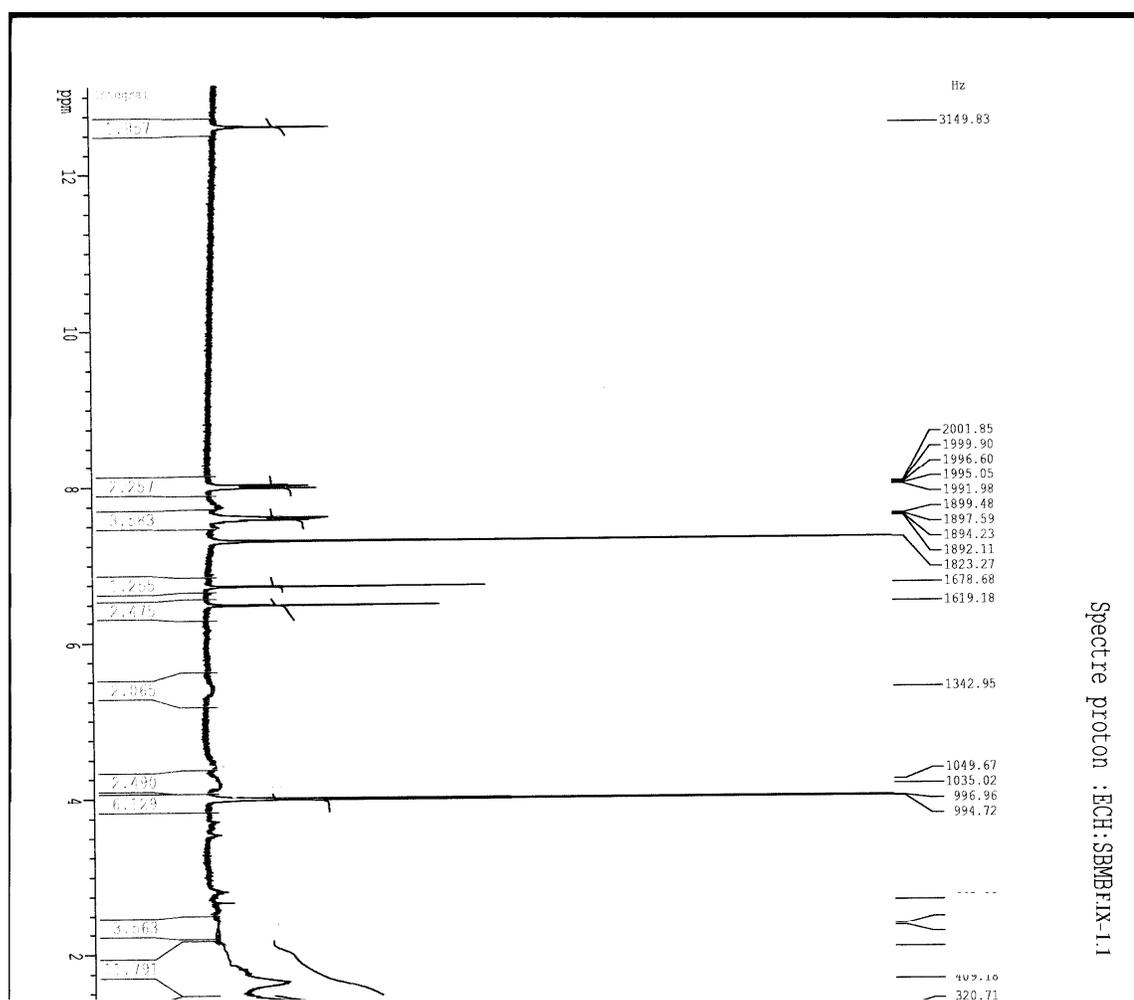
Figure 4.39 : Spectre RMN-¹H du composé F-IX.1.2.2

Tableau 4.18 : Les résultats RMN¹H de F-IX.1.2.2

Position	RMN ¹ H δ ppm	Multiplicité
C-2		
C-3	H 6.70	<i>s</i>
C-4	---	---
C-5	---	---
C-6	---	<i>s</i>
C-7	---	---
C-8	H 6.48	---
C-1'	---	---
C-2'	H 8.10	<i>m</i>
C-3'	H 7.70	<i>m</i>
C-4'	H 7.70	<i>m</i>
C-5'	H 7.70	<i>m</i>
C-6'	H 8.10	<i>m</i>
C-7-OMe	3xH 4.10	<i>s</i>
C-5-OH	H 12.5	<i>s</i>

Ce qui conduit à une formule brute de C₁₆H₁₂O₅ correspondant à onze insaturations. Ces données voisines du composé précédant nous orientent également vers un squelette de type flavonoïde polyméthoxylés (un méthoxyl en moins que le composé précédant).

Les séries spectrales UV (voir schéma 4.3) réalisées permettent la localisation des groupes hydroxyles (OH) et alkoxyles (OR) sur les noyaux A et B des flavonoïdes.

L'ajout post-colonne d'une solution AlCl₃+HCl induit un déplacement hypsochrome de la bande I (-27 nm) dans le spectre UV de F-IX.1.2.2 (Figure 4.40), ce qui montre la présence d'un ortho dihydroxyle.

L'addition de NaOAc montre la présence d'un groupe OR (OCH₃) en position 7 sachant qu'il n'y a eu aucun déplacement de la bande II.

Les données UV précisent ainsi les informations apportées par les spectres RMN et permettent de définir la position de deux groupes hydroxyles en 5 et 6 et un groupe OCH₃ en

position 7 sur la flavone F-IX.1.2.2, qui est donc le *5,6-dihydroxy-7-methoxyflavone* (*7-methoxybaicalein*).

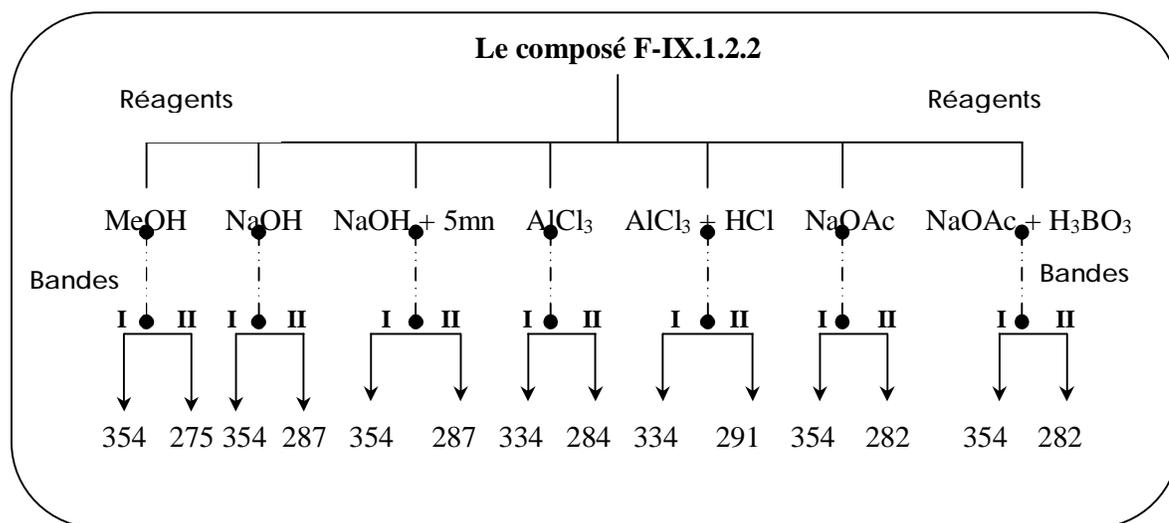
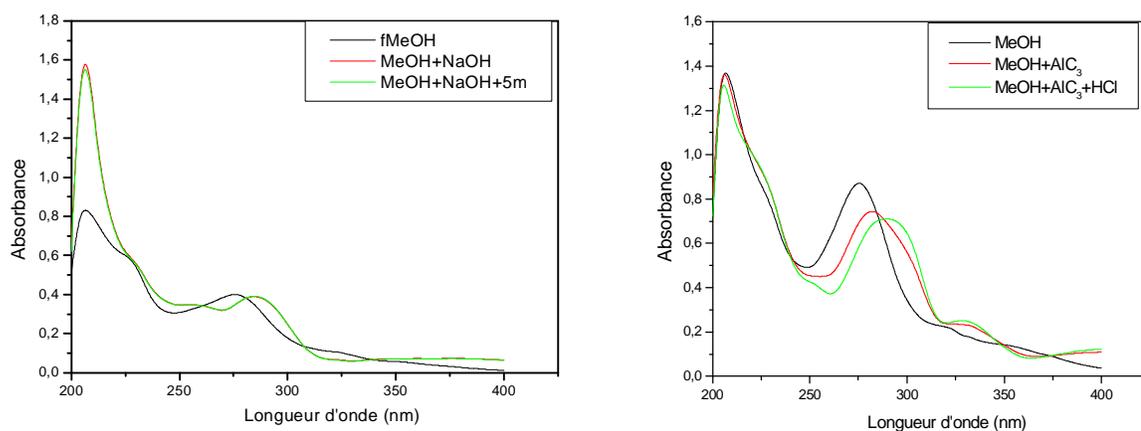
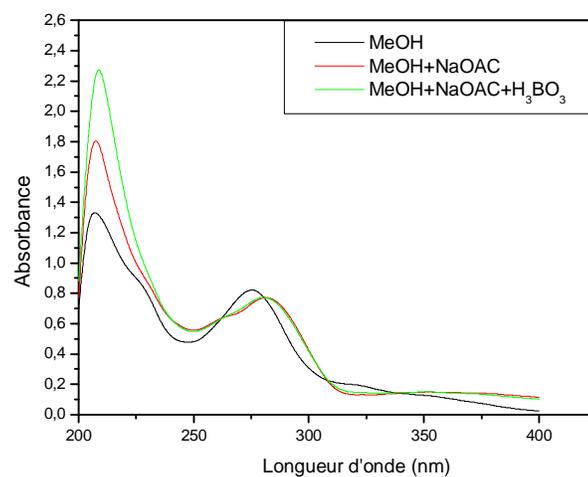


Schéma 4.3 : Série spectrale UV du composé F-IX.1.2.2



Série 1

Série 2



Série 3

Figure 4.40 : Spectres UV du composé F-IX.1.2.2

La structure du composé déduite à partir des résultats d'analyse obtenus et celles de la littérature [26-28] est donnée par la figure suivante (figure 4.41) :

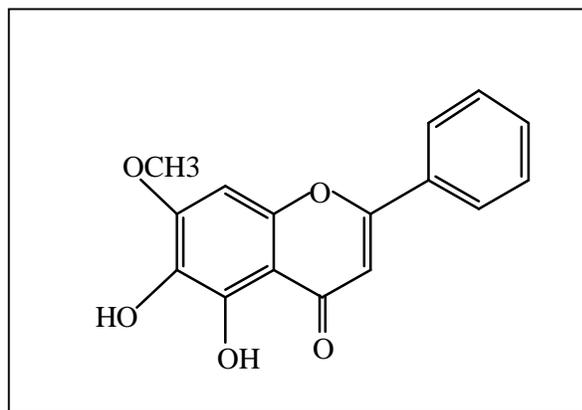


Figure 4.41 : Structure du composé F-IX.1.2.2

IV.3.4 Détermination du composé F-XIV-4.2

La détermination de la structure du composé isolé F-XIV-4.2 est basée sur l'analyse des spectres RMN-¹H et UV.

L'étude du spectre RMN-¹H du composé F-XIV-4.2 (Tableau 4.19, Figure 4.42) a permis de mettre en évidence la présence de:

- Ø Un proton à $\delta = 6.21$ ppm qui apparaît comme doublet dont la constante de couplage est $J = 2.0$ Hz,
- Ø Un proton à $\delta = 6.58$ ppm qui apparaît comme doublet dont la constante de couplage est $J = 2.0$ Hz,
- Ø Deux protons se présentant comme multiple à $\delta = 8.04$ ppm,
- Ø Trois protons se présentant comme multiplet à $\delta = 7.80$ ppm.

Tableau 4.19 : Les résultats RMN-¹H de F-XIV-4.2

Position	RMN ¹ H δ ppm	Multiplicité
C-2	---	----
C-3	---	----
C-4	---	---
C-5	---	---
C-6	H 6.21	<i>d</i> (<i>J</i> = 2.0Hz)
C-7	---	---
C-8	H 6.58	<i>d</i> (<i>J</i> = 2.0Hz)
C-1'	---	---
C-2'	H 8.04	<i>m</i>
C-3'	H 7.80	<i>m</i>
C-4'	H 7.80	<i>m</i>
C-5'	H 7.80	<i>m</i>
C-6'	H 8.04	<i>m</i>

Ce qui conduit à une formule brute de $C_{15}H_{10}O_5$ correspondant à onze insaturations. Ces données voisines du composé précédant et celles de la littérature [29], nous orientent également vers un squelette de type flavonoïde polyhydroxylés (un méthoxyl en moins que le composé précédant), qui est donc le *5,6-dihydroxyflavone* (*chrysin*) donné dans la figure suivante (figure 4.43).

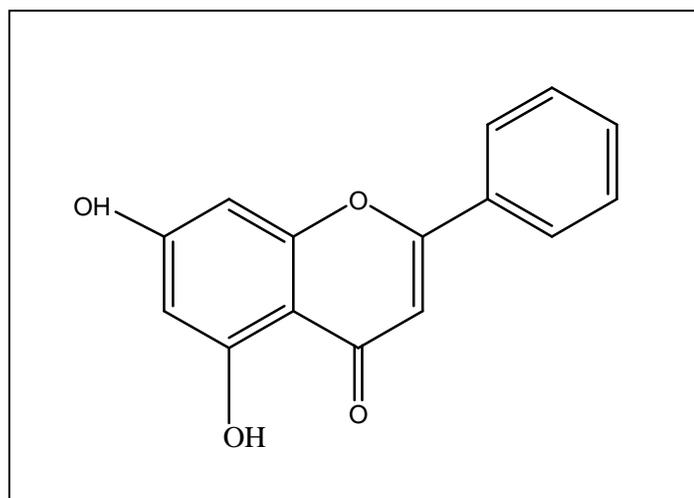


Figure 4.43 : Structure du composé F-XVI.4.2

IV.4 Composé de la plante *Rhantherium adpressum*: Phase butanolique

IV.4.1 Détermination du composé 8Fb-3.1

La détermination de la structure du composé isolé 8Fb-3.1 est basée sur l'analyse des spectres RMN- 1H .

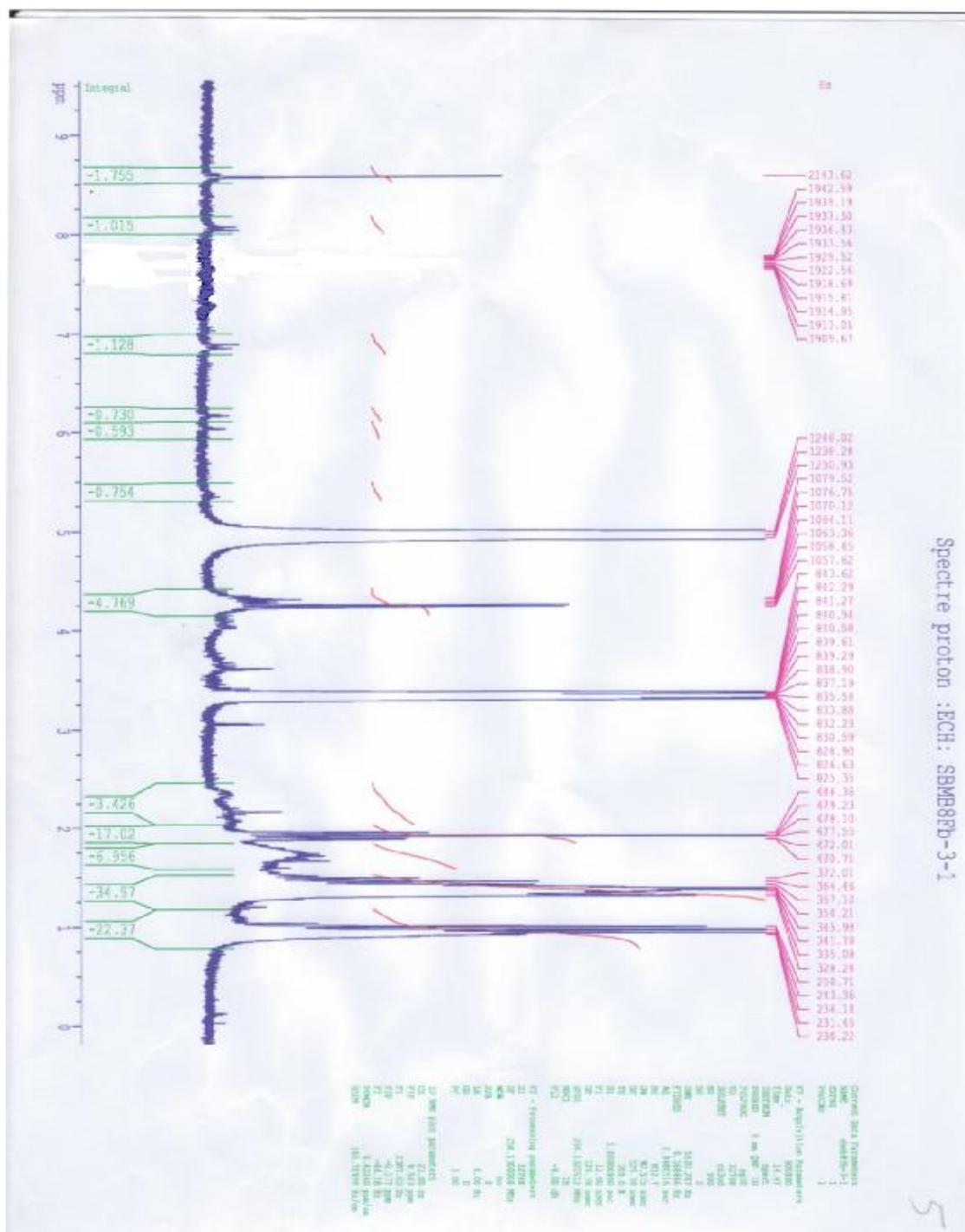
L'étude du spectre RMN- 1H du composé 8Fb-3.1 (Tableau 4.20, Figure 4.44) a permis de mettre en évidence la présence de:

- Ø Un proton à $\delta = 6.13$ ppm qui apparaît comme doublet dont la constante de couplage est $J = 2.1$ Hz,
- Ø Un proton à $\delta = 6.18$ ppm qui apparaît comme doublet dont la constante de couplage est $J = 2.1$ Hz, ce qui montre la position méta des protons.
- Ø Deux protons se présentant comme doublet à $\delta = 8.05$ ppm du aux protons, dont la constante de couplage est $J = 9.9$ Hz, ce qui montre la position ortho des protons

- Ø Deux protons se présentant comme doublet à $\delta = 6.88$ ppm, dont la constante de couplage est $J=9,9$ Hz.

Tableau 4.20 : Les résultats RMN-¹H de 8Fb-3.1

Position	RMN- ¹ H δ ppm	Multiplicité
C-2	---	----
C-3	---	----
C-4	---	---
C-5	---	---
C-6	H 6.18	<i>d</i> ($J= 2.1$ Hz)
C-7	---	---
C-8	H 6.13	<i>d</i> ($J= 2.1$ Hz)
C-1'	---	---
C-2'	H 8.05	<i>d</i> ($J= 9,9$ Hz)
C-3'	H 6,88	<i>d</i> ($J= 9,9$ Hz)
C-4'	---	---
C-5'	H 6,88	<i>d</i> ($J= 9,9$ Hz)
C-6'	H 8.05	<i>d</i> ($J= 9,9$ Hz)

Figure 4.44 : Spectre RMN-¹H dans MeOD du composé 8Fb3.1

Ce qui conduit à une formule brute de $C_{15}H_{10}O_6$. Ces données nous orientent également vers un squelette de type flavonoïde polyhydroxylés (voir figure 4.45), qui est donc le 3, 5, 7,4'-*tetrahydroxyflavonol* (*Kaempferol*) en comparaison avec celles de la littérature [30-32].

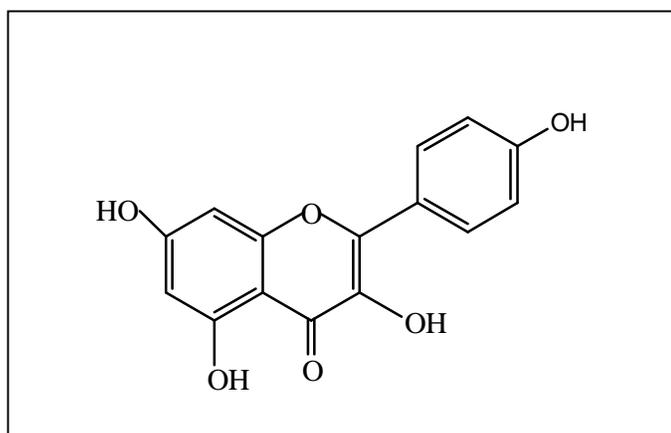


Figure 4.45 : Structure du composé 8Fb3.1

IV.5 Références Bibliographiques

- [1]: M. J.P. Ferreira, M. B. Constantin, P. Sartorelli, G. V. Rodrigues, R. Limberger, A. T. Henriques, M. J. Kato, V. P. Emerenciano, *Analytica Chemica Acta*, (2001), 447, pp 125-134.
- [2]: E. Mattoso, "Estudo de Fragrâncias Amadeiradas da Amazônia", Universidade Estadual de Campinas Instituto de Química, 2005.
- [3]: I.W. Kusuma, T. Ogawa, K.Itoh, S. Tachibana, *Pakistan Journal of Biological Sciences*, (2004), pp 1735-1747.
- [4]: G. T. Maatooq, *Zeitschrift fur Naturforschung C, Journal of Biosciences*, (2002), pp 654-659.
- [5]: Jae-C. LIM, J. H. Park, M. Budesinsky, A. Kasal, Yeong-H. Han, Byung-S. Koo, Seung-I. Lee, Dong-U. Lee, *Pharmaceutical Society of Japan*, (2005).
- [6]: A. Mandeau Ve. Masson, Jean-L. Menou, Ce. Debitus, *Biochemical Systematics and Ecology*, (2005), www.sciencedirect.com.
- [7]: W. De-Eknamkul, B. Potduang, *Phytochemistry*, (2003), 62, pp 389-398.
- [8]: R. Mekiou, "Recherche et Détermination Structurale des Métabolites Secondaires du Genre *Genista* (Fabaceae): G. Saharae, G. Fero", *Departement de Chimie*, (2005).
- [9]: T. Kundakovic, N. Fokialakis, P. Magiatis, N. Kovacevic, I. Chinou, *Chem. Pharm., Bull.*, (2004), 52, pp 1462-1465.
- [10]: Y. Aratanechemuge, H. Hibasami, K. Sanpin, H. Katsuaki, K. Imai, T. Komiya, *Oncology Reports*, (2004), 11, pp 289-292.
- [11]: A. de Sa Barreto, M. G. de Carvalha, I. de A. Nery, L. Gonzaga, M. A. C. Kaplan, J. *Braz. Chem. Soc.*, (1998), 11, pp 430-434.
- [12]: A. F. Barrero, E. Cabrera, I. Rodriguez, Eva M. Fernandez-Gallego, *Phytochemistry*, (1994), 35, 189-194.
- [13]: A. F. Barrero, E. Cabrera, I. Rodriguez, F. Palnelle, *Phytochemistry*, (1994), 35, 493-498.
- [14]: A. F. Barrero, J. F. Sanchez, F. Reyes, I. Rodriguez, *Phytochemistry*, 1991 30, 641-43.
- [15]: A. F. Barrero, J. F Sanchez, et I. Rodriguez, *Phytochemistry*, (1990), 29, 1967-1969.

- [16]: A. F. Barrero, J. F. Sanchez, A. Barron, F. Corrales, I. Rodriguez, *Phytochemistry*, (1989), 28, 161-164 [17]: M. G. Rowan, P. D. G. Dean, *Phytochemistry*, (1972), 11, 3263 – 3265.
- [18]: L. Canedo, Jose M. Miguel Del Corral, A. San Feliciano, *Phytochemistry*, (1997), 44, 1559-1563.
- [19]: A. San Feliciano, Jose M. M. Del Corral, L. Canedo, M. Medarde, *Phytochemistry*, (1990), 29, 945-94
- [20]: S. Kirmizigul, N. Goren, Shu-W. Yang, Geoffrey A. Cordell, C. Bozok-Johanson, J. Nat. Prod., (1997), 60, 378-381.
- [21]: A. F. Barrero, E. Cabrera, I. Rodriguez Garcia, *Phytochemistry*, (1998), 48, 187-190.
- [22]: J. L. Ingham, *Biochemical Systematics and Ecology*, (1982), 10, 233-237.
- [23]: S. Abdel-Kader Maged, *J. Braz., Chem. Soc.*, (1997), 8, 637-639.
- [24]: Yuan-Wah Leoug, Leslie J. Harrison, Graham J. Bennet, Azizol A. Kadir et Joseph D. Connolly, *Phytochemistry*, (1998), 47, pp 891-994.
- [25]: F. A. T. Barberán, F. Ferreres and F. Tomás baic, *Tetrahedron*, (1985), 41, pp. 5733-5740.
- [26]: Michael S. Y. Huen, Justin W. C. Leung, Wah Ng, W. S. Lui, Michelle N. S. Chan, J. Tze-Fei Wong and Hong Xue Michael S. Y. Huen, Justin W. C. Leung, Wah Ng, W. S. Lui, Michelle N. S. Chan, J. Tze-Fei Wong and Hong Xue, *Biochemical Pharmacology*, (2003), Volume 66, Issue 1, pp 125-132.
- [27]: K.K. Gupta, S.C. Tanga, K.L. Dhar, et C.K. Atal, *Phytochemistry*, (1983), 22, pp 314-315.
- [28]: Li Jin, Hai Sheng Chen, Zhao Bao Xiang, Shuang Liang, Yong Sheng Jin and Jian Guo Liu baic, *Chinese Chemical Letters*, (2007), 18, pp. 158-160.
- [29]: Lihu Yao, Nivedita Datta, Francisco A. Tomás-Barberán, Federico Ferreres, Isabel Martos et Riantong Singanusong, *Food Chemistry*, (2003), 81, pp. 159-168.
- [30]: H. Wagner, M. A. Iyengar and L. Hörhammer, *Phytochemistry*, (1972), 11, pp: 1518
- [31]: H. D. Zinsmeister and S. Bartl, *Phytochemistry*, 1971, 10, pp: 3129-3132
- [32]: Kin-ichi Oyama, Satoshi Kawaguchi, Kumi Yoshida et Tadao Kondo, *Tetrahedron Letters*, (2007), 48, pp: 6005-6009

Les progrès de la biochimie et de l'analyse organique et pharmacologique, ainsi que de la physiologie végétale, ont permis de commencer un tri rationnel dans la masse des actions attribuées aux plantes, détruisant certaines légendes, mais établissant solidement certains usages anciens. Ces produits, à structure chimique souvent complexe, sont très dispersés et très différents selon les espèces. Leur exploration, et notamment celle du monde végétal, sont encore capitales à l'heure actuelle.

Les chimistes sont au coeur de ces développements qui s'accroissent de plus en plus. Ils doivent être capables d'élaborer des synthèses efficaces de molécules de plus en plus complexes. On demande aux chimistes de modifier les structures des produits naturels afin d'élaborer des principes actifs supérieurs ayant un mode d'action très ciblé de façon à influencer les différents processus biologiques visés.

Dans le but de rechercher de nouveaux composés naturels à intérêt thérapeutique, les extraits bruts chloroformiques des plantes *Rhantherium adpressum* et *Ononis angustissima* ainsi que l'extrait butanolique de la première plante ont été soumis à un criblage phytochimique. Sur la base des résultats obtenus lors de ce screening, l'investigation phytochimique de ces extraits a été entreprise. Elle a abouti à l'isolement de neuf composés de la première plante et cinq composés de la deuxième plante. Leurs structures ont été établies au moyen de méthodes spectrales (UV, MS, IR, RMN-¹H, RMN-¹³C et RMN bidimensionnelle).

ü L'extrait chloroformique de la plante *Rhantherium adpressum* a fourni sept composés dont six sont identifiés comme suit :

ü (+)- 3[3'-(nona-1''-ene-3'',5'',7''-trynyl)oxyran-2'-yl]propan-1-ol,

ü 16 β -Hydroxy Lupeolyl-3-Hexadecanoate,

ü β -eudesmol et spathuléol (deux sesquiterpènes),

ü *B-sitostérol* et *stigmastérol* (deux stérols).

Les résultats obtenus dans cette phase d'identification ont été publiés dans [1].

L'extrait chloroformique de la plante *Ononis Angustissima* a fourni cinq composés dont quatre ont été identifiés comme des flavones qui sont nouveaux dans leur espèce :

ü 5-hydroxy-6,7,8-triméthoxyflavone (*Alnetin*),

ü 5-hydroxy-6,7-diméthoxyflavone (6,7-diméthoxybaicalein),

ü 5, 6-dihydroxy-7-methoxyflavone (7-methoxybaicalein),

ü 5, 7-dihydroxyflavone (chresin).

L'extrait butanolique de la plante *Rhantherium adpressum* a fourni deux composés flavoniques. Un d'entre eux a été identifié comme:

ü 3, 5, 7,4'-tetrahydroxyflavonol (kaempferol).

Les techniques de pointe utilisées dans cette étude ont montré leur apport inestimable dans le domaine de la recherche phytochimique. De plus, elle constitue un travail supplémentaire autour des études effectuées sur les plantes médicinales Sahariennes.

Des tests biologiques de certains composés sont en cours de réalisation en collaboration avec l'équipe du Prof. Bermejo Barrera de l'*Instituto de Productos Naturales Y Agrobiologia, University of Laguna, Tenerife, Espagne*.

Références bibliographiques

- [1]: M. Bouheroum, S. Benayache, F. Benayache, L. Zaiter, J.M. Barrera, L. Francisco, *Chemistry of Natural compounds*, (2007), 43, 1, pp: 110-111