

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

UNIVERSITE MENTOURI CONSTANTINE
FACULTE DES SCIENCES EXACTES
DEPARTEMENT DE CHIMIE

N° d'ordre.....

Série.....

THESE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de
Doctorat en Sciences
en Chimie organique
Option Phytochimie

Intitulé

**Etude des métabolismes terpénique et flavonique
d'espèces de la famille des composées, genres
Chrysanthemum et *Rhantherium*. Activité
Biologique.**

Sous la direction du professeur :
M BENAYACHE Samir

Par :
M^{elle} BENAÏSSA Ouahiba

Devant le jury :

M ^{me} BENAYACHE Fadila	Pr. Université Mentouri	Présidente
M BENAYACHE Samir	Pr. Université Mentouri	Rapporteur
M LEGSEIR Belkacem	Pr. Université Badji Mokhtar Annaba	Examineur
M BENKHALED Mohammed	Pr. Université El Hadj Lakhdar Batna	Examineur
M BENKOUIDER Abdelhamid	M.C. Université El Hadj Lakhdar Batna	Examineur
M ^{me} ZAMA Djamila	M.C. Université Mentouri	Examinatrice

Soutenue : 02/06/2011

Je Remercie Dieu

Le Tout Puissant Pour

Tout.....

Dédicace

Je dédie ce travail :

***A mon très cher père, je lui dédie avec fierté cette thèse qui reflète le fruit de l'éducation et de l'attention qu'il m'a tant réservé, je suis très reconnaissante et j'aurai tant aimé partager la joie de ma réussite avec lui.*

***A ma mère, pour tous les sacrifices et leur soutien moral, avec toute mon affection et ma reconnaissance; merci maman.*

A mes frères : pour leur soutien et leur amour.

A mes sœurs : pour leur soutien moral et pour leur amour et soins.

A tous mes amis et collègues

REMERCIEMENT

*Je tiens à exprimer mes sincères et vifs remerciements à M. le professeur **Samir BENAYACHE** mon directeur de thèse pour m'avoir accueillie dans le laboratoire de valorisation des ressources naturelles et synthèse des substances biologiquement actives et surtout pour la confiance qu'il m'a accordé dans la réalisation de ce travail, sa disponibilité, ses conseils éclairés et son concours constant dans cette thèse.*

*Mes remerciements s'adressent également à Madame **Fadila BENAYACHE**, professeur de l'université de Constantine, directeur du laboratoire de phytochimie et analyse physico-chimique et biologique pour son aide, ses conseils et pour l'honneur qu'elle me fait en acceptant de présider le jury de soutenance.*

*Mes vifs remerciements vont également à Monsieur le professeur **Mohammed BENKHALED** de l'université hadj Lakhdar; Batna pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de juger ce travail.*

*Je tiens à remercier Monsieur **Belkacem LEGSEIR**, professeur à l'université Badji Mokhtar, Annaba d'avoir accepté de juger ce travail.*

*Je suis sensible à l'honneur que me fait Monsieur **Abdelhamid BENKOUIDER**, Maitre de conférence à l'université hadj Lakhdar; Batna, en acceptant de juger ce travail.*

*J'exprime mes vifs remerciements à Madame **Djamila ZAMA**, Maitre de conférence, département de biologie, l'université Mentouri, Constantine de m'avoir fait l'honneur de faire partie de mon jury et aussi pour sa contribution très efficace et son aide pour ce qui des activités biologiques.*

*J'exprime toute ma reconnaissance, ma gratitude et mon profond attachement à **Don Jaime BERMEJO** professeur à « Instituto de Productos Naturales y Agrobiologia » de la Laguna (Tenerife-Espagne), pour son accueil, son extrême sollicitude et sa disponibilité constante durant mon séjour au sein de son laboratoire.*

*Je n'oublie pas non plus de remercier les autres membres de l'équipe de Don Jaime pour leur soutien et les facilités accordées pour la réalisation de ce travail : **Inaiki Ibrouard, Francisco Léon, Juan C. Hernández et Victor P. Garcia.***

*Ma reconnaissance va également à **Ali BENTAMEN**, Professeur à l'Université de Constantine pour son encouragement et son aide précieuse, ainsi que **Sabrina BICHA**, maître assistant à l'université Mentouri, Constantine dont la collaboration a été importante.*

*L'ensemble de mes collègues du laboratoire trouvera ici l'expression de toute ma sympathie, pour avoir su me soutenir et m'encourager au cours de ce travail. Je cite en particulier : **Mechhoud, Mohamed, Omar, Ouahiba, Ratiba, Hayet, Hanene, Laila, Zahia, Kaouthar, Hadj Soufiane et Abderhmène**. En dehors de cette équipe mais toujours dans le même institut, je remercie : **Nabila, Mouna, Halima, Ameer, Chawqui**.*

*Je tiens à remercier l'université **Hadj Lakhdar, Batna département de Médecine** pour les stages de courte durée qui m'ont été accordées afin de finaliser ma thèse. Je remercie également toutes les personnes de cette université, particulièrement **Mr Melekhsou, Nadia, Fouzia, Fatiha et Farida**.*

Je remercie toutes les personnes qui ont contribuées de près ou de loin à la réalisation de ce travail par un soutien moral ou matériel.

Note : Les références bibliographiques sont placées à la fin de chaque chapitre

ABREVIATIONS :

H₂O : Eau

AcOH : acide acétique

MeOH: Methanol

EtOH: Ethanol

H₂SO₄ : Acide sulfurique

AlCl₃ : Chlorure d'Aluminium

NaOH : Hydroxyle de Sodium

NaOAc : Acétate de Sodium

H₃BO₃ : Acide borique

HCl : Acide chlorhydrique

AcOEt : Acétate d'éthyle

CH₂Cl₂ : Dichloromethane

CHCl₃ : Chloroforme

CH₃COCH₃: Acétone

CDCl₃ : Chloroforme deutéré

CD₃OD : Méthanol deutéré

D₂O : Eau deutérée

CCM : Chromatographie sur Couche Mince

IR : Infra-Rouge

UV : Ultra-Violet

SMIE : Spectrométrie de Masse en mode Impact Electronique

ESI : Ionisation par électrospray

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

^1H : proton

^{13}C : carbone 13

DEPT: Distortionless Enhancement by Polarization Transfert

COSY: Correlated Spectroscopy

NOESY: Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy

ROESY: Rotating Fram Overhauser Effect Spectroscopy

HMBC: Heteronuclear Multiple Bonding Connectivity

HSQC: Heteronuclear Single Quantum Correlation

δ (ppm) : Déplacement chimique en partie par million

J (Hz) : Constante de couplage exprimé en hertz

s : singulet

d : doublet

dd : doublet de doublet

t : triplet

q : quadruplet

m : multiplet

Rf : Facteur de retardation.

m/z : Masse / charge électrique

IC₅₀ : Concentration Inhibitrice

ATP : adénosine Triphosphate

NADP : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate

NADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate réduite

Les unités couramment utilisées sont citées ci-dessous :

°C : température en degrés Celsius

eV : électron Volt

g : gramme

Hz : Hertz

MHz : Megahertz

mg : Milligramme

mn: Minute

ml : millilitre

µg : microgramme

% : Pourcentage

V : volume

m : mètre

cm : centimètre

nm : nanomètre

h : heure

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE	1
Références bibliographiques.....	4
CHAPITRE I : La famille des composées, les genres <i>Chrysanthemum</i> et <i>Rhantherium</i>.	
I. La famille des composées.....	5
I. 1. Généralités.....	5
I. 2. Description botanique.....	5
I. 3. Utilisation	6
I. 4. Le genre <i>Chrysanthemum</i>	7
I. 4. 1. Introduction	7
I. 4. 2. Description botanique du genre.....	8
I. 4. 3 Description géographique.....	8
I. 4. 4. Les métabolites secondaires chez le genre <i>Chrysanthemum</i>	8
I. 4. 4. A. les sesquiterpènes et les sesquiterpènes lactones.....	9
I. 4. 4. B. les flavonoïdes.....	14
I. 4. 4. C. Les stéroïdes.....	18
I. 4. 4. D. Les huiles essentielles.....	20
I. 4. 5. Propriétés pharmacologiques et biologiques du genre <i>Chrysanthemum</i>	27
I. 5. Le genre <i>Rhantherium</i>	29
I. 5. 1 Introduction	29
I. 5. 2. Description botanique du genre.....	29
I. 5. 3. Distribution géographique	29
I. 5. 4. Les métabolites secondaires du genre <i>Rhantherium</i>	30
I. 6. Conclusion.....	33
Références bibliographiques.....	34

CHAPITRE II : Les composés phénoliques et terpéniques

II. 1. Introduction	38
II. 2. Classement des métabolites secondaires	38
II. 2. 1 Les composés phénoliques	39
II. 2. 1. 1. Définition.....	39
II. 2. 1. 2. Structure	39
II. 2. 1. 3. Localisation	39
II. 2. 1. 4. Classification	40
II. 2. 1. A. Les acides phénoliques.....	41
II. 2. 1. A. 1. Définition.....	41
II. 2. 1. A. 2. Les différents types d'acides phénoliques.....	41
II. 2. 1. A. 3. Formation du noyau aromatique	44
II. 2. 1. A. 4. Propriétés thérapeutiques	46
II. 2. 1. B. Les coumarines	47
II. 2. 1. B. 1. Définition.....	47
II. 2. 1. B. 2. Répartition, localisation et classification.....	47
II. 2. 1. B. 3. La biosynthèse des coumarines	50
II. 2. 1. B. 4. Propriétés thérapeutiques	53
II. 2. 1. C. Les flavonoïdes.....	55
II. 2. 1. C. 1. Définition.....	55
II. 2. 1. C. 2. Nomenclature et classification	55
II. 2. 1. C. 3. La biosynthèse des flavonoïdes	58
II. 2. 1. C. 4. Répartition et localisation des flavonoïdes	59
II. 2. 1. C. 5. Propriétés des flavonoïdes	60
II. 2. 2. Les terpenoïdes	63
II. 2. 2. 1. Définition	63
II. 2. 2. 2. Structure	63
II. 2. 2. 3. Localisation et classification	64
II. 2. 2. A. Les sesquiterpènes.....	65
II. 2. 2. A. 1. Définition	65
II. 2. 2. A. 2. Répartition, localisation et classification	65

II. 2. 2. A.3. Biosynthèse des sesquiterpènes.....	66
II. 2. 2. A. 4. Propriétés biologiques des sesquiterpènes	68
II. 2. 2. B. Les stéroïdes	69
II. 2. 2. B.1. Définition.....	69
II. 2. 2. B. 2. Répartition, localisation et classification.....	69
II. 2. 2. B. 3. Propriétés biologiques des stéroïdes.....	70
II. 3. Conclusion.....	70
Références bibliographiques.....	71

CHAPITRE III

Travaux personnels

III. 1. Etude phytochimique de l'espèce <i>Chrysanthemum fontanesii</i>	76
III. 1. 1. Description botanique de l'espèce	76
III. 1. 2. Etude bibliographique.....	77
III. 1. 3. Matériel végétal	77
III. 1. 4. Extraction	77
III. 1. 5. Séparation et purification	79
III. 1. 5. A. Traitement de l'extrait chloroforme.....	79
III. 1. 5. A. 1. Chromatographie des fractions de l'extrait chloroforme.....	81
III. 1. 5. B. Traitement de l'extrait butanolique.....	85
III. 2. Etude phytochimique de l'espèce <i>Rhantherium suaveolens</i>	89
III. 2. 1. Description botanique de l'espèce	89
III. 2. 2. Etude bibliographique.....	90
III. 2. 3. Matériel végétal	92
III. 2. 4. Extraction	92
III. 2. 5. Séparation et purification	94
III. 2. 5. A. Traitement de l'extrait acétate d'éthyle	94
III. 2. 5. A. 1. Chromatographie des fractions de l'extrait acétate d'éthyle.....	96
III. 2. 5. B. Traitement de l'extrait chloroformique.....	100
III. 3. Conclusion.....	100
Références bibliographiques.....	101

CHAPITRE IV : Résultats et Discussions

IV. 1. Identification des produits de <i>Chrysanthemum fontanesii</i>	102
IV. 1. A. Identification des produits de la phase chloroformique	102
IV. 1. A. 1. Identification du composé W5-1	102
IV. 1. A. 2. Identification du composé F15-1	108
IV. 1. A. 3. Identification du composé F16-2	114
IV. 1. A. 4. Identification du composé F21-4	120
IV. 1. A. 5. Identification du composé F19-a	126
IV. 1. A. 6. Identification du composé F20-C1... ..	128
IV. 1. A. 7. Identification du composé F19-C2	139
IV. 1. B. Identification des produits de la phase butanolique.....	144
IV. 1. B. 1. Identification du composé F20-42.....	144
IV. 1. B. 2. Identification du composé F22-2	150
IV. 1. B. 3. Identification du composé F22-5	164
IV. 1. B. 4. Identification du composé F30-2-1	168
IV. 2. Identification des produits de <i>Rhantherium Suaveolens</i>	181
IV. 2. A. Identification des produits de la phase Acétate	181
IV. 2. A. 1. Identification du composé PF71	181
IV. 2. A. 2. Identification du composé RSO3-1	186
IV. 2. A. 3. Identification du composé RSC3-1.....	191
IV. 2. A. 4. Identification du composé 27C-1.....	196
IV. 2. A. 5. Identification du composé F9-4	203
IV. 2. A. 6. Identification du composé F13-A	205
IV. 2. B. Identification des produits de la phase chloroformique.....	216
IV. 2. 1. Identification du composé P(15-19)	216
IV. 3. Discussion.....	222
Références bibliographiques.....	230

CHAPITRE V : Activité biologique

V. 1. Activité antioxydante.....	234
V. 1. 1. Test antioxydant.....	234

V. 1. 1. 1. Matériel et méthode.....	234
V. 1. 1. 1. A. Principe	234
V. 1. 1. 1. B. Protocole.....	235
V. 1. 1. 2. Résultats et discussions.....	236
V. 1. 1. 3. Conclusion.....	238
V. 2. Activité antibactérienne.....	239
V. 2. 1. Test antibactérien.....	239
V. 2. 1. 1. Méthode.....	239
V. 2. 1. 2. Résultats.....	240
V. 2. 1. 3. Conclusion.....	240
Références bibliographiques	241
CONCLUSION GENERALE.....	242

INTRODUCTION
GENERALE

INTRODUCTION GENERALE :

Les végétaux ont toujours été employés par l'homme pour se soigner. Dans le monde, près de 80% de la population a recours aux plantes médicinales par manque d'accès aux médicaments prescrits mais aussi parce que les plantes ont pu démontrer une réelle efficacité [1].

Les vertus médicales de certaines plantes ont été prouvées depuis l'antiquité. Nous avons trouvé la trace de l'utilisation des plantes datant de 5 000 ans avant J.-C. en Chine, en Mésopotamie et en Egypte pour lesquelles 800 remèdes ont été décrits. Les vertus curatives d'un millier de plantes telles que le Pavot, la mandragore, ont été mentionnées sur des tablettes datant des civilisations babylonienne et sumérienne [2].

Vint ensuite l'apport des savants grecs, lorsque les observations cliniques des effets des plantes par **Hippocrate** confirmèrent les vertus des plantes médicinales provoquant ainsi un grand engouement des populations de l'époque pour ces remèdes.

De siècle en siècle, **Théophraste**, **Aristote** puis **Pline** et **Dioscoride** approfondirent la connaissance des plantes et de leurs propriétés. L'ouvrage de Dioscoride (I^{er} siècle av. J.-C.) décrit dans le « *De materia medica* » plus de cinq cents plantes et leur utilisation : il restera une référence jusqu'au 18^{ème} siècle. Il en sera de même des travaux de **Galien**, médecin de Marc-Aurèle, considéré comme le fondateur de la pharmacie [3, 4].

Au 11^{ème} siècle, l'honneur revenait aux savants musulmans pour leur contribution à l'épanouissement, le développement et l'enrichissement de l'arsenal thérapeutique végétal de l'époque : Citons comme exemple, Avicenne (**Ibn Sina**), médecin et philosophe (980-1037) qui inventa, le premier, un appareil de distillation à la vapeur appelé alambic, permettant l'extraction d'huiles essentielles pures de très nombreuses plantes. De nombreux ouvrages furent rédigés sur la méthodologie et l'extraction de ces huiles par Avicenne et ses disciples [5].

Notons aussi la contribution non négligeable émanant des cultures ancestrales venues des peuplades d'autres continents, comme les chamans d'Amérique ou d'Océanie, les druides celtiques, les sorciers africains, qui, en perpétuant les rites de leurs ancêtres, évoquaient les bienfaits de ces plantes.

Au début du 19^{ème} siècle, et après les progrès fulgurants de la botanique systématique (Linné, Jussieu et beaucoup d'autres), vint l'heure de la première édition de la Pharmacopée française (1818) et le règne des chimistes qui isolèrent une série impressionnante de molécules (morphine : 1817, codéine : 1832, acide salicylique et, dans la seconde moitié du XIX^{ème} siècle : quinine, strychnine, colchicine, cocaïne, éserine) [3, 4].

Signalons aussi la contribution de la pharmacopée africaine qui contrairement à la pharmacopée occidentale officialisée en formulaire ou codex, est qualifiée de traditionnelle car elle n'a pas été écrite et s'est perpétuée jusqu'à présent, de génération en génération par les guérisseurs et les féticheurs, par le biais de la transmission orale des connaissances et la pratique de l'art médicale. En effet, cette pharmacopée africaine, toujours presque exclusivement à base de drogues végétales, prend sa source non seulement dans la diversité des groupes humains, des langues, des coutumes et des techniques, mais aussi dans la diversité du climat, du sol et de la flore [6].

La flore algérienne qui fait partie de la flore africaine, estimée à plus 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, est caractérisée par sa diversité florale : méditerranéenne, saharienne et Paléo tropicale. Ces espèces sont pour la plupart spontanées avec un nombre non négligeable (15 %) d'espèces endémiques [7, 8]. C'est ce qui nous a encouragés à entreprendre ce travail afin de rechercher des molécules potentiellement actives.

Vu l'importance et la richesse de la famille des composées en métabolites secondaires, nous nous sommes intéressés à l'investigation phytochimique de deux plantes endémiques de cette famille, la première du genre *Chrysanthemum*, *Chrysanthemum fontanesii* (B.et R.) (espèce endémique pour le Nord Africain, n'a jamais fait l'objet d'étude auparavant) [9] et la deuxième du genre *Rhantherium*; *Rhantherium suaveolens* Desf ayant montré une richesse en dérivés polyacétyléniques [10-12].

L'étude consiste à effectuer l'extraction, l'isolement et l'identification de leurs métabolites secondaires ainsi que leur activité biologique.

Dans un premier chapitre, nous résumerons succinctement par une étude bibliographique, les connaissances botaniques et phytochimiques de la famille des composées, du genre *Chrysanthemum* et du genre *Rhantherium*. Nous développerons également les métabolites secondaires les plus connus et l'utilisation thérapeutique de ces deux genres.

Le second chapitre débutera par une synthèse bibliographique portant sur les métabolites secondaires notamment les composés phénoliques, les acides phénoliques, les coumarines et les flavonoïdes ainsi que les terpénoïdes. Cette étude inclura la définition et la classification de ces derniers, leur biosynthèse ainsi que leur activité biologique.

Le troisième chapitre sera consacré à l'étude phytochimique des espèces *Chrysanthemum fontanesii* et *Rhantherium suaveolens*. Pour chaque plante, nous détaillerons les étapes de fractionnement.

Dans le quatrième chapitre, nous décrirons l'identification des composés isolés dans le troisième chapitre, ainsi que la discussion des résultats obtenus.

Dans le dernier chapitre nous présenterons les résultats des tests biologiques sur les extraits de ces espèces. Nous finirons le tout par une conclusion générale qui essayera de faire le point sur les principaux résultats obtenus ainsi que les perspectives que ce travail a permis d'entrevoir.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES:

- [1] Adjanohoum. J. E; Aké-Assi. L; Floret. J. J; Guinko. S; Koumaré. M; Ahyi. A. M. R; Raynal. J, **1979**, *Médecine traditionnelle et Pharmacopée Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Mali*, 291, ACCT, Paris.
- [2] Fouché. J. G ; Marquet. A et Hambuckers. A, **2000**, *les plantes Médicinales de la plante au médicament*, Observatoire du Monde des Plantes Sart-Tilman.
- [3] Delaveau. P, **1982**, *Histoire et renouveau des plantes médicinales*, 383, Albin Michel, Paris.
- [4] Girre. L, **1985**, *Nouveau guide des vieux remèdes naturels*, 314, Ouest-France, Rennes.
- [5] <http://www.perso.orange.fr/medecorient/imfor.htm>.
- [6] Hertz. H, **1943**, *La forêt du Gabon*, Ed. Larose, Paris.
- [7] Gaussen. H et Leroy. H. F, **1982**, *Précis de botanique, végétaux supérieurs*, 426, 2^{ème} Ed.
- [8] Ozenda. P, **1977**, *Flore du Sahara*, 250-259, Ed CNRS, Paris. France,
- [9] Quezel. P and Santa. S, **1963**, *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques Méridionales*, Tome 1, C. N. R.S. Paris.
- [10] Oueslati. M. H; Ben Jannet. H; Abreu. P and Mighri. Z, **2004**, *J. Soc. Chim*, 14, 245.
- [11] Oueslati. M. H; Ben Jannet. H; Mighri. Z and Abreu. P, *Lipids*, **2005**, 40, 1075-1079.
- [12] Oueslati. M. H; Ben Jannet. H; Mighri. Z; Matthew. S and Abreu. P, **2007**, *Natural Product Research*, 21, 884.

CHAPITRE I

*LA FAMILLE DES
COMPOSEES, LES GENRES
CHRYSANTHEMUM ET
RHANTHERIUM*

I. LA FAMILLE DES COMPOSEES (ASTERACEES)

I. 1. GENERALITES

C'est la plus vaste famille de la division des spermatophytes avec près de 17 tribus, 1000 genres et au moins 25 000 espèces répandues à travers le monde [1, 2]. En Algérie elle compte environ 109 genres et plus de 408 espèces [3].

Les composées connaissent une distribution géographique mondiale, à l'exception de l'Antarctique. Elles s'acclimatent bien aux régions tropicales et subtropicales semi-arides, à la toundra alpine et arctique et aux régions tempérées. Elles sont, en revanche, peu présentes dans la forêt tropicale [1].

I. 2. DESCRIPTION BOTANIQUE

Les composées sont principalement des herbes, vivaces ou non, mais aussi des arbustes ou sous arbrisseaux, parfois des arbres, rarement des plantes aquatiques ou des plantes grimpantes ou encore des épiphytes, les feuilles sont le plus souvent alternes mais aussi opposées ou radiales, simples, ex-stipulées [2]. Les fleurs des composées sont toujours groupées en une inflorescence (groupe de fleurs sur la même tige) appelée tête ou capitule qui fonctionne comme une fleur unique. Chez la moitié des espèces, les petites fleurs centrales sont tubuleuses, en forme de minuscules disques, alors que celles de la périphérie ont des corolles en forme de languettes évasées vers l'extérieur, comme autant de pétales, qui attirent les insectes pollinisateurs. Les corolles sont entourées à la base de bractées. Le calice (ou Pappus) de chacune des fleurs du capitule est formé d'écailles ou de longs poils favorisant la dispersion des graines. Chez le pissenlit, le Pappus se compose de fines aigrettes qui permettent au fruit de flotter dans la brise [1, 2, 4].

Les pétales des capitules sont soudés à la base en une corolle tubulaire. Les anthères se rejoignent pour former un tube que traverse le style (partie médiane du pistil entre l'ovaire et le stigmate). Les anthères déversent le pollen dans le tube et le style s'allonge pour pousser le pollen hors du tube pollinique et le rendre accessible aux insectes pollinisateurs ou faciliter sa dispersion par le vent. Le stigmate (partie supérieure du pistil recevant le pollen) se rétracte après l'allongement du style pour éviter l'autopollinisation, ce qui arrive parfois lorsque le stigmate s'incurve dans le tube pollinique. Après la fécondation, le pistil portant l'ovaire de la fleur et d'autres éléments floraux se développe pour constituer un fruit à enveloppe dure et à graine unique [1, 2, 4].

- Type des fleurs

La famille des composées comprend des espèces à inflorescences très diversifiées, en dehors de la structure commune en capitule. Ces espèces diffèrent notamment par la forme de la corolle. Les tubuliflores, comme le chardon, se caractérisent par une corolle tubulaire terminée par un capitule en forme de disque très simple. Les étamines et le pistil ont un rôle purement fonctionnel. Les liguliflores, comme la chicorée et le pissenlit, ont une corolle de fleurs en languettes. Les étamines et le pistil ont un rôle fonctionnel. Tubulaire terminée par un capitule en forme de disque très simple. Les étamines et le pistil ont un rôle purement fonctionnel. Les radiées, comme le tournesol et la pâquerette, ont des capitules constitués de fleurs centrales cylindriques et de fleurs périphériques en languettes. La corolle est tubulaire à la base et évasée à la périphérie [1, 2, 4].

I. 3. UTILISATION

Cette vaste famille est économiquement importante, elle fournit des plantes alimentaires: La laitue est la plante la plus cultivée de la famille, suivie de l'artichaut, de l'endive, du salsifis, de la chicorée, de l'estragon et du tournesol. De nombreuses autres espèces ont une utilisation ornementale, telle que la marguerite, le dahlia, le zinnia, le cosmos, le chrysanthème et l'aster. Plusieurs espèces sont utilisées en pharmacie: l'Arnica (*Arnica montana* L.), la camomille (*Matricaria chamomilla* L et *Anthemis nobilis* L), le pied de chat (*Antennaria Dioca* Gartn), le tussilage (*Tussilago farfara* L) [2].

La famille des composées est anciennement connue pour ses propriétés médicinales et pharmacologiques et utilisée comme remède en médecine traditionnelle. Pour toutes ces raisons, nous nous sommes intéressées au genre *Chrysanthemum* et au genre *Rhantherium*.

I. 4. LE GENRE CHRYSANTHEMUM

I. 4. 1. INTRODUCTION

Le genre *Chrysanthemum* appartient à la famille des composées (Astéracées), sous famille tubiflore et tribu anthémideae [3]. Ce genre compte plus de 300 espèces dans le monde [5]. En Algérie, elle compte environ 20 espèces [3]. Les chrysanthèmes sont des plantes ornementales très appréciées pour leur belle floraison automnale. Elles sont cultivées depuis fort longtemps, notamment en Chine où on les connaît depuis trois siècles avant J.C. De nos jours, on peut trouver de nombreux cultivars de chrysanthèmes [6].

Les fleurs présentent une grande diversité de formes: fleurs simples, doubles, en pompons, ainsi qu'une grande palette de couleurs : blanc, jaune, bronze, rose, mauve, rouge, violet... (figure n° I.1) :

Figure n° I.1 : les différentes classes des fleurs du genre Chrysanthemum



Le chrysanthème est une plante dite « de jours courts », c'est-à-dire qu'elle ne peut fleurir que si la nuit est suffisamment longue.

Les horticulteurs peuvent obtenir des fleurs toute l'année, grâce à des dispositifs qui rétablissent les conditions de lumière nécessaires à la mise en fleurs (obscurcissement ou léger appoint de lumière). Il est aussi possible de provoquer la floraison pour une période très précise : le jour de la Toussaint par exemple.

I. 4. 2. DESCRIPTION BOTANIQUE DU GENRE

Ce sont des plantes à capitules hétérogames multiflores radiés ou discoïdes. Involucre hémisphériques ou déprimé. Bractées sur de nombreux rangs, appliquées-imbriquées; les externes plus courtes. Réceptacle ou bombé (très rarement conique), nu. Fleurs marginales femelles et fertiles; celles du disque hermaphrodites et fertiles. Anthères entières et obtuses à la base. Akènes glanduleux ou cylindriques, à 5-10 ; les marginaux souvent à trois angles [3].

I. 4. 3. DESCRIPTION GEOGRAPHIQUE

Le genre chrysanthème est largement répandu dans le monde entier à cause de ses propriétés ornementales et cosmopolites, elle est souvent cultivée dans les jardins pour ses qualités décoratives en variétés de couleurs. L'origine géographique du genre *chrysanthemum* est imputée à l'Europe et l'Asie mais celui-ci est également largement distribué en Afrique [5].

I. 4. 4. LES METABOLITES SECONDAIRES CHEZ LE GENRE CHRYSANTHEMUM

Un métabolite secondaire est une molécule, telle que les acides phénoliques, les flavonoïdes, les terpenoïdes et les alcaloïdes, que produisent les organismes en dehors des voies métaboliques strictement nécessaires à assurer la survie (on parle de métabolisme primaire dans ce cas). Cette gamme de composés est très développée chez les végétaux et constitue un moyen de lutte contre des concurrents écologiques (allélopathie) ou des prédateurs (production de substances toxiques ou de mauvais goût contre un herbivore).

Le genre *Chrysanthemum* est caractérisé par une diversité structurale en métabolites secondaires riche en composés de types : **terpéniques, flavonoïdes, stéroïdes, coumarines, pyréthrine, purines, lipides et en composés aliphatiques** [5].

Pour notre part, nous allons considérer les métabolites secondaires les plus distribuées dans les différentes espèces du genre *chrysanthemum* : les **sesquiterpènes**, les **flavonoïdes**, les **stéroïdes** et les **huiles essentielles**.

I. 4. 4. A. LES SESQUITERPENES

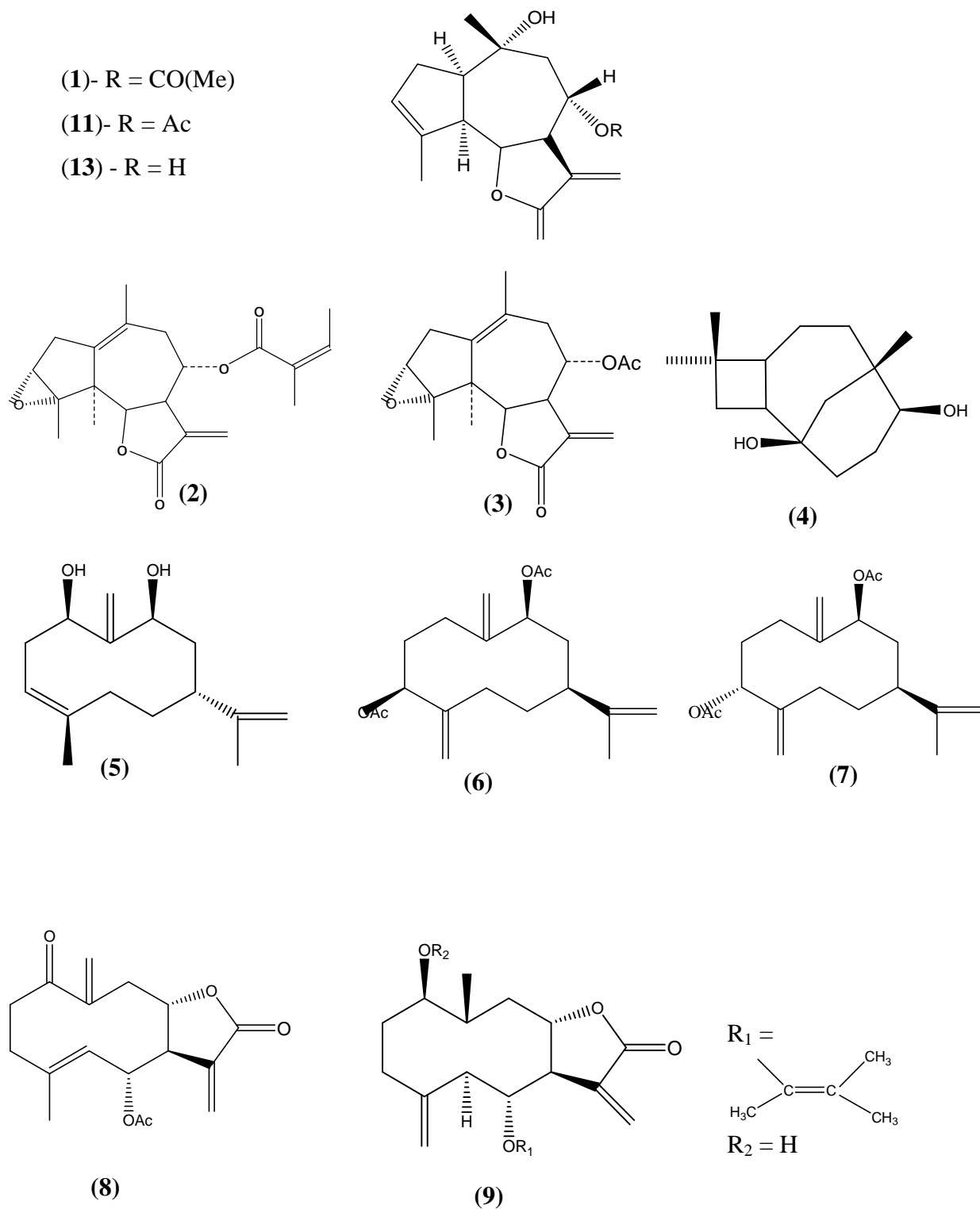
L'étude bibliographique du genre *Chrysanthemum* a montré que ce dernier est très riche en sesquiterpènes et sesquiterpènes lactones. Le tableau n° I.1 ci-après représente les produits isolés des extraits de quelques espèces du genre *Chrysanthemum*.

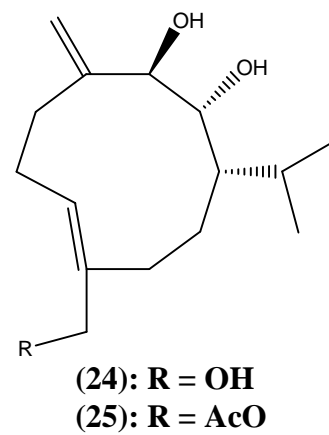
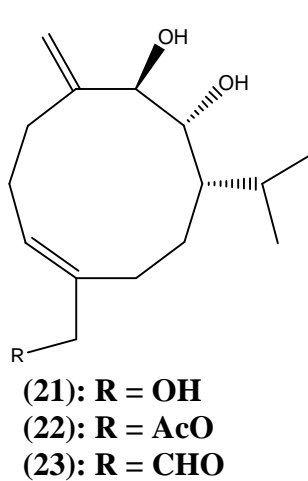
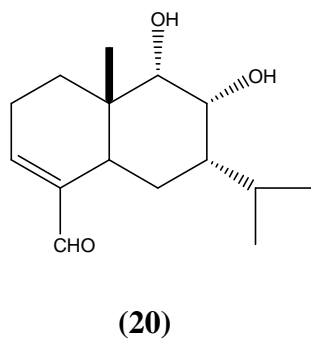
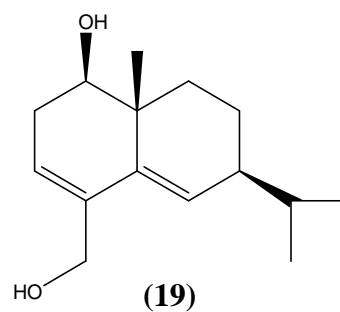
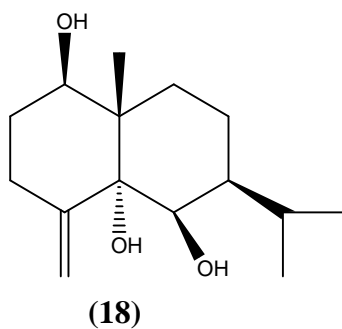
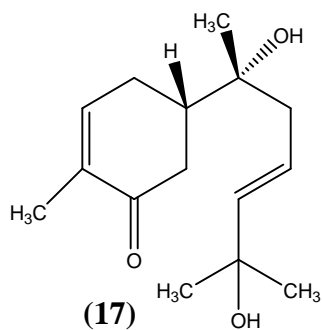
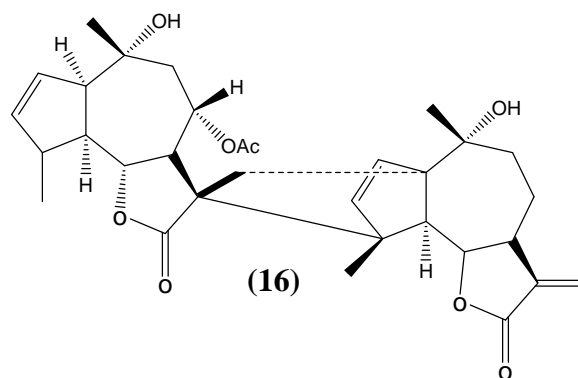
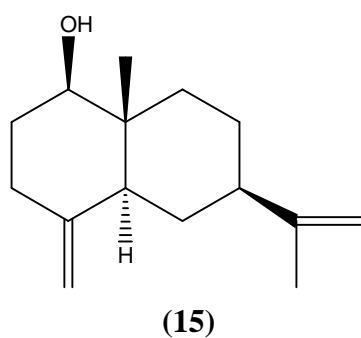
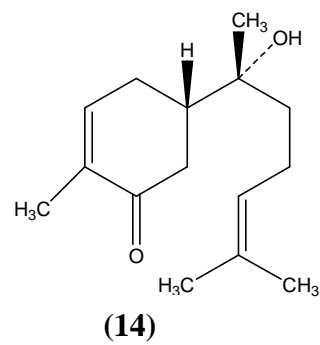
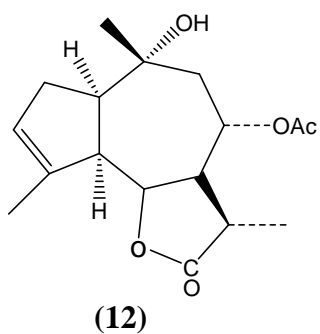
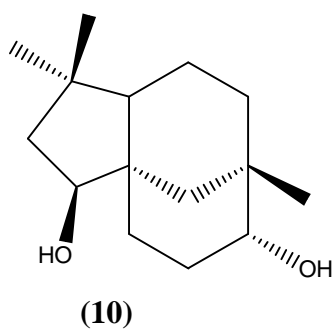
Tableau n° I.1: Les sesquiterpènes et sesquiterpènes lactones isolés du genre *chrysanthemum*

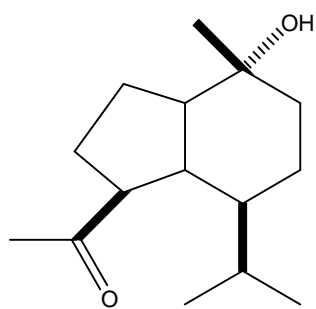
Composés	Espèces	Pourcentage des composés	Références
Angeloylcumambrine (1)	<i>C. oranatum</i>	0,01	7
	<i>C. indicum</i>	0,0055	8
Angeloylajadine (2)	<i>C. indicum</i>	0,0059	8
Arteglasine-A (3)	//	0,0008	8
Caryolane-1,9- β -diol (4)	//	-	9
Chrysanthediol-A (5)	<i>C. morifolium</i>	0,00046	10
Chrysanthediacetate-B (6)	//	0,0003	10
Chrysanthediacetate-C (7)	//	0,0004	10
Chrysanolide (8)	<i>C. cinerariaefolium</i>	0,0015	11
Chrysanine (9)	//	0,0011	11
Clovanediol (10)	<i>C. indicum</i>	-	9
Cumambrine-A (11)	<i>C. oranatum</i>	0,05	7
	<i>C. coronarium</i>	-	12
Dihydrocumambrine-A (12)	<i>C. coronarium</i>	-	12
Cumambrine-B (13)	<i>C. oranatum</i>	0,0075	7
Delobanone (14)	<i>C. indicum</i>	-	13
β -Dictyopterole (15)	<i>C. morifolium</i>	0,00016	10

Handeline (16)	<i>C. oranatum</i>	0,075	7
Indicumenone (17)	<i>C. indicum</i>	-	13
Kikkanol-A (18)	//	-	9
Kikkanol-B (19)	//	-	9
Kikkanol-C (20)	//	-	9
Kikkanol-D (21)	//	0,00065	9
Kikkanol-D-monoacetate (22)	//	0,00032	9
Kikkanol-E (23)	//	0,00098	9
Kikkanol-F (24)	//	0,00079	9
Kikkanol-F-monoacetate (25)	//	0,00148	9
Oplopanone (26)	//	-	9
Pyrethrosine (27)	<i>C. cinerariaefolium</i>	-	14
β -Cyclopyrethrosine (28)	<i>C. cinerariaefolium</i>	0,034	11
Dihydro- β -cyclopyrethrosine (29)	<i>C. cinerariaefolium</i>	-	11,15
<i>cis</i> -spiroketalenoether polyyne (30)	<i>C. indicum</i>	-	9
<i>trans</i> -spiroketalenoether polyyne (31)	<i>C. indicum</i>	-	9
Tatridine-A (32)	<i>C. cinerariaefolium</i>	0,00058	15
Tatridine-B (33)	//	0,00058	15
(11 <i>R</i>)-11,13-Dihydratatridine-A (34)	//	0,00208	15
(11 <i>R</i>)-11,13-Dihydratatridine-B (35)	//	0,001	15
(11 <i>R</i>)-6-O- β -D-Glucosyl-11,13-dihydratatridine-B (36)	//	0,0058	15

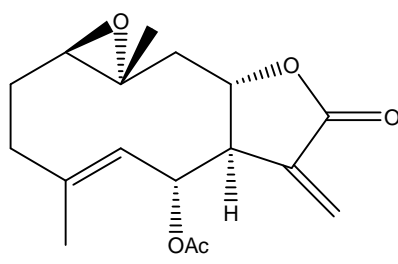
Les structures des différents composés isolés des espèces du genre *Chrysanthemum* cités dans le tableau n° I.1 sont présentées dans la figure suivante (figure n° I.2):

Figure n° I.2: les différentes structures sesquiterpéniques qui figurent dans le tableau n° I.1

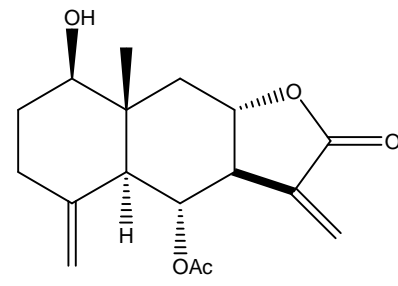




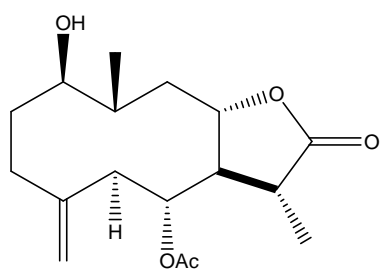
(26)



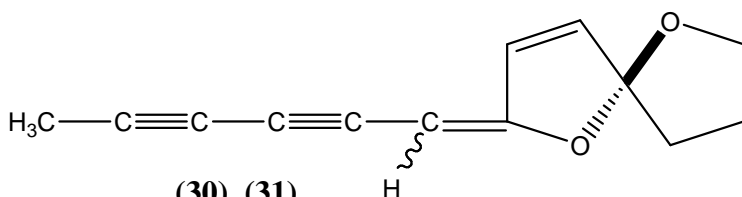
(27)



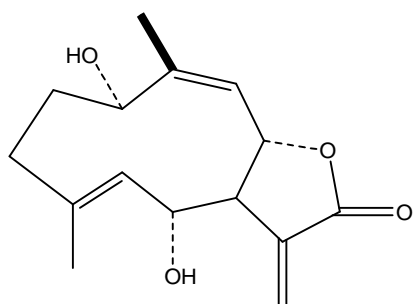
(28)



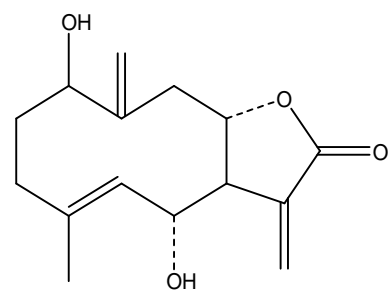
(29)



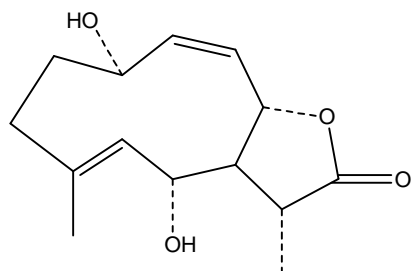
(30), (31)



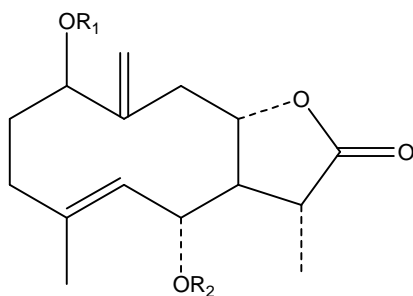
(32)



(33)



(34)



(35): $R_1 = R_2 = H$

(36): $R_1 = H, R_2 = D\text{-glucosyl}$

I. 4. 4. B. LES FLAVONOIDES

Les flavonoïdes sont des composés phénoliques très connus dans ce genre et jouent un rôle important dans le système de défense comme antioxydants.

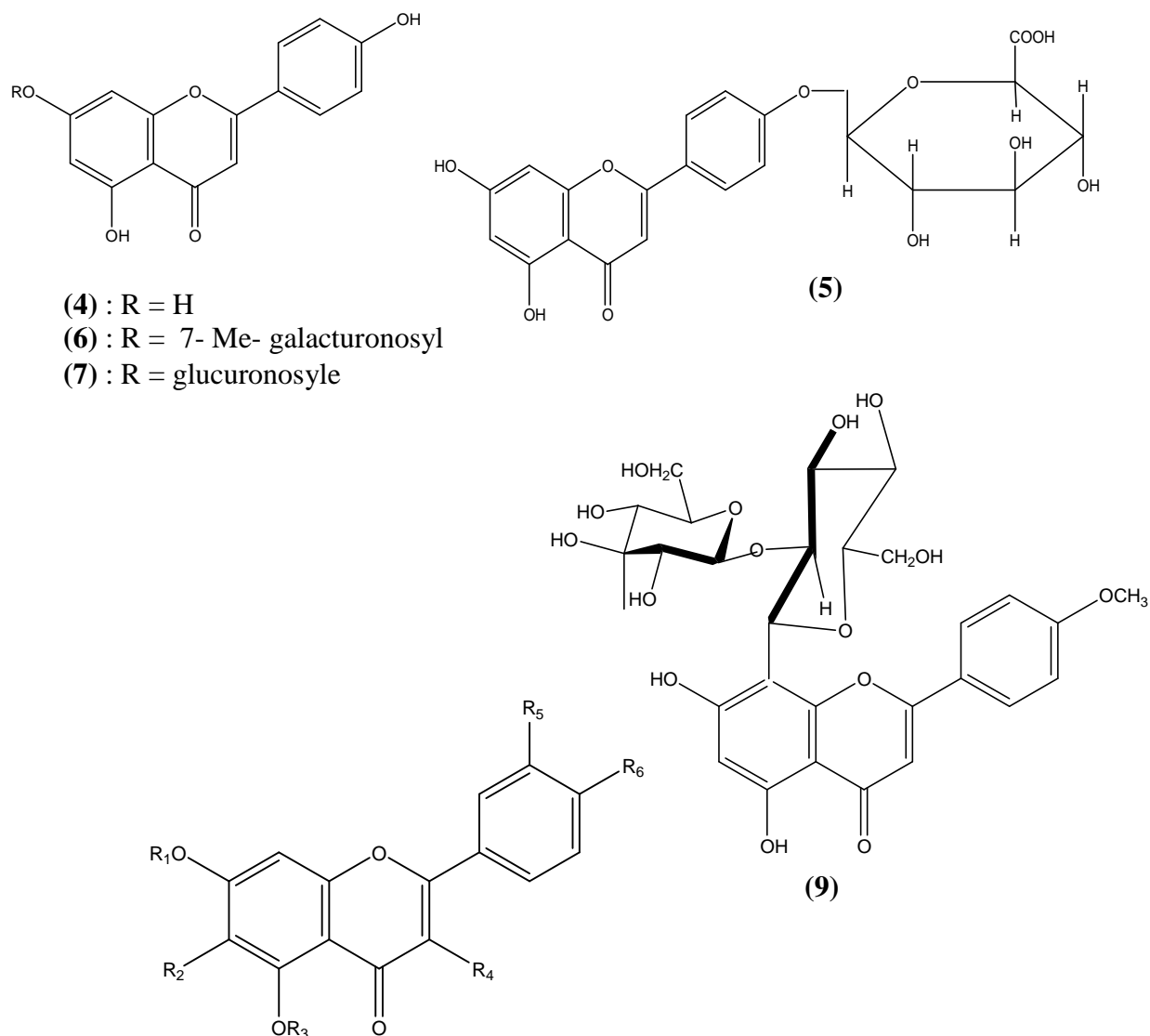
Les différents flavonoïdes qui sont isolés de plusieurs espèces du genre *chrysanthemum* sont rassemblés dans le tableau n ° I.2 :

Tableau n ° I.2: Les flavonoïdes isolés du genre Chrysanthemum

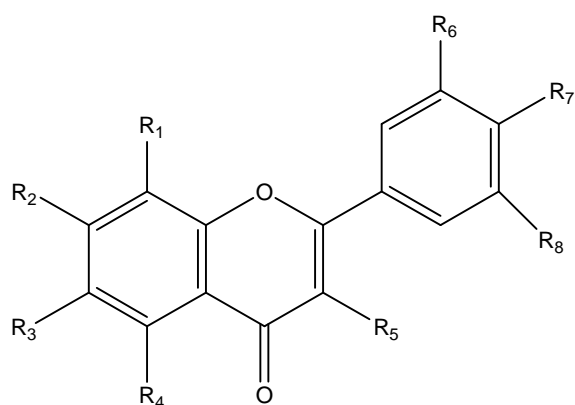
Composés	Espèces	Pourcentage des composés	Références
6-Hydroxy kaempférol-3, 7, 4'-trimethylether (tanetine) (1)	<i>C. parthenium</i>	-	16
Acacetin-7-O- β -D- C galactopyranoside (2)	<i>C. indicum</i>	0,006	17
	<i>C. morifolium</i>	0,0055	18
Acacetin-7-O-(6''-rhamnosyl)- β -D- glucopyranoside (3)	<i>C. morifolium</i>	0,0015	18
Apigenine (4)	<i>C. cinerariaefolium</i>	0,0092	19
	<i>C. morifolium</i>	-	18
Apigenine - 4'-glucuronide (5)	<i>C. cinerariaefolium</i>	-	19
Apigenine-7-galacturonic acid methyl ester (6)	<i>C. cinerariaefolium</i>	0,0108	19
Apigenine-7-glucuronic acid (7)	//	0,0058	19
Apigenine-7-O- β -D- galactopyranoside (8)	<i>C. morifolium</i>	0,0072	18
2''-glucosyl-8-C-glucosyl-4'-O- methylapigenine (9)	<i>C. viscidhirtum</i>	0,0018	20
Baicalin (10)	<i>C. morifolium</i>	0,0005	18

(+)-Catechine (11)	//	-	18
Chrysine (12)	//	-	18
Fisetine (13)	//	-	18
Flavone (14)	//	-	18
3-hydroxyflavone (15)	//	-	18
Flavanone (16)	//	-	18
7, 8-dihydroxyflavanone (17)	//	-	18
4', 5,7- trihydroxyflavanone (18)	//	-	18
Galangine (19)	//	-	18
Hesperidine (20)	//	-	18
Jaceidine (21)	<i>C. cinerariaefolium</i>	0,0017	15
Lutéoline (22)	<i>C. cinerariaefolium</i>	-	19
	<i>C. morifolium</i>	0,021	18
Luteolin-7-O- β -D-glucopyranoside (23)	<i>C. morifolium</i>	0,014	18
Morine (24)	//	-	18
Myricetine (25)	//	-	18
Quercetine (26)	//	0,0072	18

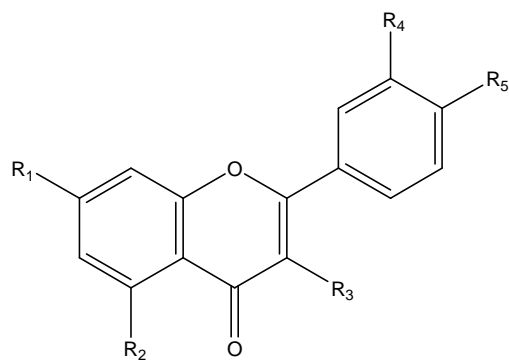
Les structures des flavonoïdes qui sont isolés des espèces du genre *Chrysanthemum* cités dans le tableau n° I.2 sont présentées dans la figure suivante (figure n° I.3):

Figure n° 1.3 : flavonoïdes isolés de quelques espèces du genre *chrysanthemum*

	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆
(1)	OMe	OH	OH	OMe	H	OMe
(2)	gal	H	H	H	H	OMe
(3)	Rha ¹⁻⁶ glu	H	H	H	H	OMe
(8)	gal	H	H	H	H	OH
(10)	glucuronyl	OH	H	H	H	H
(21)	H	OH	H	OMe	OMe	OH
(22)	H	H	H	H	OH	OH
(23)	glu	H	H	H	OH	OH
(26)	H	H	H	OH	OH	OH



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈
(12)	H	OH	H	OH	H	H	H	H
(13)	H	H	OH	H	OH	H	OH	H
(14)	H	H	H	H	H	H	H	H
(15)	H	H	H	H	OH	H	H	H
(17)	OH	OH	H	H	H	H	H	H
(24)	OH	H	OH	H	OH	OH	H	OH
(25)	H	OH	H	OH	OH	OH	OH	OH



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
(11)	OH	OH	OH	OH	OH
(16)	H	H	H	H	H
(18)	OH	OH	H	H	OH
(19)	OH	OH	OH	H	H
(20)	Rha ¹⁻⁶ glu	OH	H	OH	OMe

I. 4. 4. C. LES STEROIDES

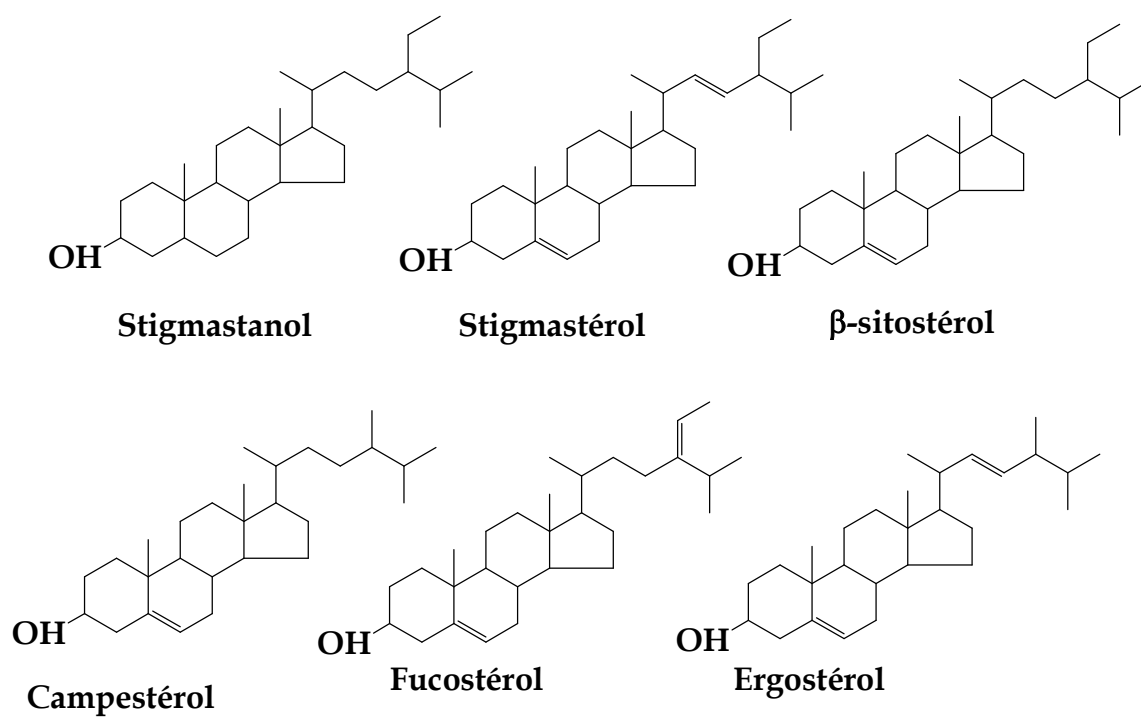
Les stérols très largement répandus dans le monde vivant, se rencontrent aussi bien chez les bactéries, les champignons, les plantes supérieures, les protozoaires, les métazoaires (spongiaires, madrépores, vers, mollusques...) que chez les algues. Nous n'allons citer dans ce chapitre que quelques exemples de stérols qui sont isolés du genre *Chrysanthemum* (tableau n ° I.3)

Tableau n ° I.3: Les stérols isolés du genre *chrysanthemum*.

Composés	Espèces	Pourcentage	Références
Campestérol et sitostérol	<i>C. parthenium</i> var. Aureum var. Schneeball	64,31-80,36 64,26-80,82	16
Fucostérol	//	1,79-8,01 2,06-8,33	16
Isofucostérol	//	0,56-6,12 1,21-5,24	16
Stanols	//	0,77-1,14 0,53-2,08	16
Stigmasterol	//	14,99-28,00 14,73-29,16	16

La figure n° I.4 représente les structures des stérols qui sont isolés des espèces du genre *Chrysanthemum*

Figure n° I.4: Structures chimiques des stérols isolées de quelques espèces du genre chrysanthemum



I. 4. 4. D. LES HUILES ESSENTIELLES

Les constituants principaux des huiles essentielles qui sont reportés pour les différentes espèces de *chrysanthemum* sont cités dans le tableau n° I.4.

Tableau n° I.4: les différents composés isolés des huiles essentielles du genre Chrysanthemum

Composés	Plantes	Pourcentage	Type de composé	Références
Δ^3 -Carène	<i>C. indicum</i> (FL, FE, PA)	0,2 ; 0,2 ; 0,8	Monoterpène	21
	<i>C. viscidhirtum</i>	0,9		22
(E)-β-Farnésene	<i>C. cinerariaefolium</i>	41,36	Sesquiterpène	23
	<i>C. coronarium</i>	8,4		24
1, 8-Cinéole	<i>C. japonese</i>	4,8	Monoterpène	25
	<i>C. indicum</i>	6,0		26
	<i>C. yoshinagantheum</i>	6,8		26
	<i>C. cuneifolium</i>	23,0		26
Ar-Curcumine	<i>C. indicum</i>	1,0	Sesquiterpène	26
	<i>C. yoshinagantheum</i>	-		26
	<i>C. cuneifolium</i>	-		26
Bornéol	<i>C. japonese</i>	1,5	Monoterpène	25
	<i>C. indicum</i>	3,0		26
	<i>C. yoshinagantheum</i>	-		26
	<i>C. cuneifolium</i>	2,5		26
Bornyl acétate	<i>C. japonese</i>	4,3	Monoterpène	25
	<i>C. indicum</i>	7,5		26
	<i>C. yoshinaganthum</i>	-		26
	<i>C. cuneifolium</i>	-		26
Cadinol	<i>C. cinerariaefolium</i>	0,785	Sesquiterpène	23
Calacolène	<i>C. indicum</i>	3,9	Sesquiterpène	26
	<i>C. yoshinaganthum</i>	-		26
	<i>C. cuneifolium</i>	-		26

Calamenène	<i>C. viscidhirtum</i>	0,3	Sesquiterpène	22
	<i>C. indicum</i>	0,6		26
	<i>C. yoshinaganthum</i>	-		26
	<i>C. cuneifolium</i>	-		26
Camphène	<i>C. japonese</i>	2,3	Monoterpène	25
	<i>C. indicum</i>	2,0		26
	<i>C. yoshinaganthum</i>	Trace		26
	<i>C. cuneifolium</i>	2,2		26
Camphre	<i>C. japonese</i>	60,0	Monoterpène	25
	<i>C. indicum</i>	0,6		26
	<i>C. yoshinaganthum</i>	Trace		26
	<i>C. cuneifolium</i>	14,7		26
Carane-4-ol	<i>C. indicum</i> (FL, FE, PA)	0,7; 0,3; 0,1	Monoterpène	21
Caryophyllène	<i>C. indicum</i> (FL, FE, PA)	0,4; 3,4; 3,7	Sesquiterpène	21
oxyde du Caryophyllène	<i>C. indicum</i>	3,8	Sesquiterpène	26
	<i>C. yoshinaganthum</i>	1,5		26
	<i>C. cuneifolium</i>	2,5		26
	<i>C. viscidhirtum</i>	2,4		22
Chrysanthénone	<i>C. japonese</i>	2,4	Monoterpène	25
	<i>C. indicum</i>	1,6		26
	<i>C. yoshinaganthum</i>	-		26
	<i>C. cuneifolium</i>	-		26
	<i>C. indicum</i> (FL, FE, PA)	5,2; 0,5; 5,9		21
cis-Chrysanthenyl acétate	<i>C. japonese</i>	0,8	Monoterpène	25
cis-Carveyl acétate	<i>C. japonese</i>	0,1	Monoterpène	25
Citronellyl acétate Germacrène D	<i>C. viscidhirtum</i>	0,6	Monoterpène	22
	<i>C. japonese</i>	6,7	Sesquiterpène	25
	<i>C. indicum</i>	8,5		26
	<i>C. yoshinaganthum</i>	10,6		26
	<i>C. cuneifolium</i>	7,7		26
	<i>C. cinerariaefolium</i>	Trace		24

β-Elémène	<i>C. japonense</i>	1,0	Sesquiterpène	25
	<i>C. indicum</i>	0,4		26
	<i>C. yoshinaganthum</i>	0,8		26
	<i>C. cuneifolium</i>	0,6		26
	<i>C. viscidhirtum</i>	2,4		22
Filifolone	<i>C. japonense</i>	0,4	Monoterpène	25
Géraniol	<i>C. viscidhirtum</i>	3,1	Monoterpène	22
oxyde d'humulène	<i>C. viscidhirtum</i>	0,6	Sesquiterpène	22
Isocaryophyllène	<i>C. cinerariaefolium</i>	0,71	Sesquiterpène	24
Limonène	<i>C. indicum</i>	-	Monoterpène	26
	<i>C. yoshinaganthum</i>	Trace		26
	<i>C. cuneifolium</i>	-		26
	<i>C. viscidhirtum</i>	21,8		22
	<i>C. japonense</i>	0,4		25
Linalol	<i>C. indicum</i>	0,7	Monoterpène	26
Linalol + thujone	<i>C. yoshinaganthum</i>	-	Monoterpène	26
	<i>C. cuneifolium</i>	-		26
	<i>C. indicum</i> (FL, FE, PA)	1,5; 0,5; 1,2		21
	<i>C. viscidhirtum</i>	1,2		22
	<i>C. japonense</i>	0,4		25
acétate de linalyl	<i>C. indicum</i>	1,5	Monoterpène	26
	<i>C. yoshinaganthum</i>	-		26
	<i>C. cuneifolium</i>	-		26
	<i>C. viscidhirtum</i>	0,6		22
	<i>C. japonense</i>	0,4		25
Myrcène	<i>C. indicum</i>	6,0	Monoterpène	26
	<i>C. yoshinaganthum</i>	0,2		26
	<i>C. cuneifolium</i>	2,2		26
	<i>C. indicum</i> (FL, FE, PA)	0,8		22
	<i>C. viscidhirtum</i>	0,8		22
	<i>C. coronarium</i>	31,9		24
	<i>C. japonense</i>	0,4		25
Myrténol	<i>C. indicum</i>	-	Monoterpène	26
	<i>C. yoshinaganthum</i>	54,8		26
	<i>C. cuneifolium</i>	Trace		26
Myrténal	<i>C. indicum</i>	-	Monoterpène	26
	<i>C. yoshinaganthum</i>	0,2		26
	<i>C. yoshinaganthum</i>	-		26
Nérolidol	<i>C. indicum</i>	2,8	Sesquiterpène	26

	<i>C. yoshinaganthum</i>	-		26
	<i>C. cuneifolium</i>	-		26
<i>o</i>-Cymène Z	<i>C. viscidhirtum</i>	0,2	Monoterpène	22
<i>p</i>-Cymène	<i>C. japonense</i>	0,4	Monoterpène	25
	<i>C. indicum</i>	0,9		26
	<i>C. yoshinaganthum</i>	Trace		26
	<i>C. cuneifolium</i>	Trace		26
	<i>C. indicum</i> (FL, FE, PA)	-		21
	<i>C. viscidhirtum</i>	0,9		22
Sabinène	<i>C. viscidhirtum</i>	3,9	Monoterpène	22
Spathuléol	<i>C. cinerariaefolium</i>	7,41	Sesquiterpène	24
	<i>C. viscidhirtum</i>	1,3		22
T-Cadinol	<i>C. viscidhirtum</i>	0,8	Sesquiterpène	22
Terpinèn-4-ol	<i>C. indicum</i>	-	Monoterpène	26
	<i>C. yoshinaganthum</i>	0,3		26
	<i>C. cuneifolium</i>	2,1		26
	<i>C. viscidhirtum</i>	1,3		22
Terpinolène	<i>C. indicum</i> (FL, FE, PA)	0,3; 0,3; 0,3	Monoterpène	21
Thymol	<i>C. viscidhirtum</i>	0,3	Monoterpène	22
T-Muurolol	<i>C. japonense</i>	1,6	Sesquiterpène	25
	<i>C. indicum</i>	5,3		26
	<i>C. yoshinaganthum</i>	-		26
	<i>C. cuneifolium</i>	6,8		26
	<i>C. viscidhirtum</i>	1,4		22
<i>trans</i>- acide de Chrysanthémumique	<i>C. cinerariaefolium</i>	4,53	Monoterpène	23
<i>trans</i>- acétate de Carveyle	<i>C. japonense</i>	0,2	Monoterpène	25
<i>trans</i>- acétate de Chrysanthenyl	<i>C. japonense</i>	1,3	Monoterpène	25
<i>trans</i>-Pinocarvéol	<i>C. indicum</i>	Trace	Monoterpène	26
	<i>C. yoshinaganthum</i>	-		26
	<i>C. cuneifolium</i>	0,3		26
Véléranone	<i>C. indicum</i>	-	Sesquiterpène	26
	<i>C. yoshinaganthum</i>	-		26
	<i>C. cuneifolium</i>	2,1		26
α-Bisabolène	<i>C. indicum</i> (FL, FE, PA)	0,2; -; -	Sesquiterpène	21
α-Cadinol	<i>C. japonense</i>	0,1	Sesquiterpène	25
	<i>C. indicum</i>	4,5		26

	<i>C. yoshinaganthum</i>	-		26
	<i>C. cuneifolium</i>	-		26
	<i>C. viscidhirtum</i>	1,5		22
α -Copaène	<i>C. indicum</i> (FL, FE, PA)	-	Sesquiterpène	21
	<i>C. japonense</i>	0,1		25
	<i>C. indicum</i>	0,3		26
	<i>C. yoshinaganthum</i>	Trace		26
	<i>C. cuneifolium</i>	Trace		26
	<i>C. cinerariaefolium</i>	3,04		23
β-Cubébène	<i>C. cinerariaefolium</i>	17,27	Monoterpène	23
α-Humulène	<i>C. viscidhirtum</i>	0,3	Monoterpène	22
α-Muuroène	<i>C. indicum</i> (FL, FE, PA)	0,7; 4,2; 6,1	Monoterpène	21
α-Phellandrène	<i>C. indicum</i> (FL, FE, PA)	0,1; - ; 0,6	Monoterpène	21
α-Pinène	<i>C. japonense</i>	1,4	Monoterpène	25
	<i>C. indicum</i> (FL, FE, PA)	9,0; 2,3 ; 11,4		21
	<i>C. indicum</i>	0,9		26
	<i>C. yoshinaganthum</i>	1,0		26
	<i>C. cuneifolium</i>	5,7		26
	<i>C. viscidhirtum</i>	0,5		22
α-Selinène	<i>C. indicum</i>	8,0	Sesquiterpène	26
	<i>C. yoshinaganthum</i>	-		26
	<i>C. cuneifolium</i>	-		26
α-Terpinène	<i>C. indicum</i> (FL, FE, PA)	- ; 2,7; 5;0	Monoterpène	21
α-Terpinéol	<i>C. indicum</i>	-	Monoterpène	26
	<i>C. yoshinaganthum</i>	-		26
	<i>C. cuneifolium</i>	3,0		26
	<i>C. viscidhirtum</i>	0,8		22
α-Thujone	<i>C. indicum</i>	1,5	Monoterpène	26
	<i>C. yoshinaganthum</i>	-		26
	<i>C. cuneifolium</i>	-		26
β-Cadinène	<i>C. indicum</i> (FL, FE, PA)	0,2 ; 0,7 ; 0,7	Sesquiterpène	21
β-Caryophyllène	<i>C. japonense</i>	1,2	Sesquiterpène	25
β-oxyde de Caryophyllène	<i>C. japonense</i>	1,1	Sesquiterpène	25
β-Cedrène	<i>C. indicum</i> (FL, FE, PA)	-; 1,6 ; 5,0	Sesquiterpène	21
β-Farnesène	<i>C. indicum</i>	5,0	Sesquiterpène	26
	<i>C. yoshinaganthum</i>	1,7		26
	<i>C. cuneifolium</i>	2,6		26
	<i>C. viscidhirtum</i>	25,0		22
β-Humulène	<i>C. indicum</i>	Trace	Sesquiterpène	26
	<i>C. yoshinaganthum</i>	Trace		26
	<i>C. cuneifolium</i>	0,2		26
β-Myrcène	<i>C. indicum</i> (FL, FE, PA)	0,5; 0,3; 3,1	Sesquiterpène	21
β-Ocimène	<i>C. indicum</i> (FL, FE, PA)	- ; - ; 1,4	Sesquiterpène	21

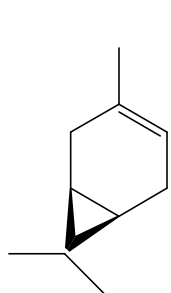
β -Pinène	<i>C. japonense</i>	0,6	Monoterpène	25
	<i>C. indicum</i>	0,1		26
	<i>C. yoshinaganthum</i>	0,1		26
	<i>C. cuneifolium</i>	0,3		26
	<i>C. indicum</i> (FL, FE, PA)	0,4 ; 1,3; 4,5		21
	<i>C. viscidhirtum</i>	0,6		22
β -Sélinène	<i>C. indicum</i> (FL, FE, PA)	0,3; 2,4; 4,4	Sesquiterpène	21
γ -Cadinène	<i>C. indicum</i> (FL, FE, PA)	0,3 ; 1,2 ; 1,4	Sesquiterpène	21
	<i>C. japonense</i>	0,3		25
	<i>C. indicum</i>	5,1		26
	<i>C. yoshinaganthum</i>	-		26
	<i>C. cuneifolium</i>	-		26
γ -Muuroène	<i>C. indicum</i> (FL, FE, PA)	0,2; - ; -	Sesquiterpène	21
γ -Terpinène	<i>C. viscidhirtum</i>	0,5	Monoterpène	22
δ -Cadinène	<i>C. cinerariaefolium</i>	4,06	Sesquiterpène	23
	<i>C. viscidhirtum</i>	1,8		22
δ -Nérolidol	<i>C. cinerariaefolium</i>	14,23	Sesquiterpène	23
α -Bisabolol	<i>C. coronarium</i>	16,5	Sesquiterpène	24
(E), (E)- α -Farnesène	<i>C. coronarium</i>	11,0	Sesquiterpène	24

Remarque:

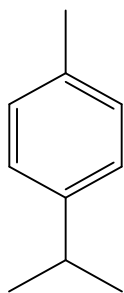
FL: fleurs, FE : feuilles, PA, Parties aériennes

La figure n° I.5 représente quelques squelettes carbonés qui regroupent dans le tableau n° I.4 :

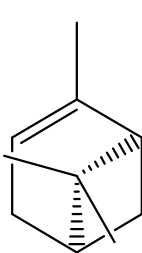
Figure n° I.5: quelques squelettes carbonés qui regroupent dans le tableau n° I.4 :



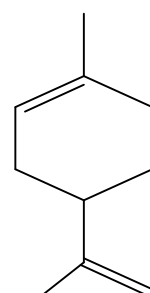
Δ^3 -Carène



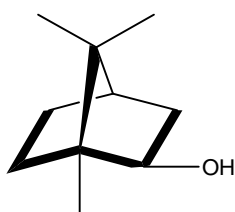
p-Cumène



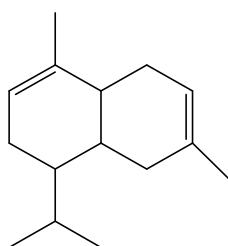
β -Pinène



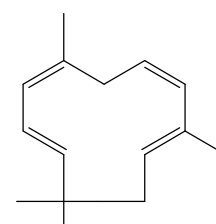
Limonène



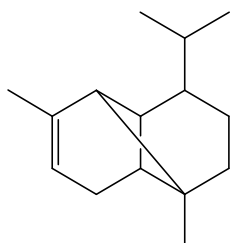
Bornéol



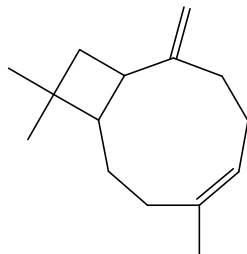
γ -Cadinène



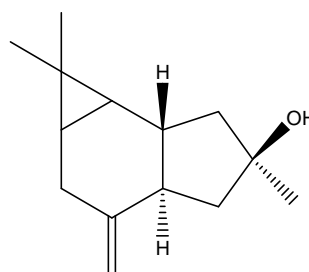
β -Humulène



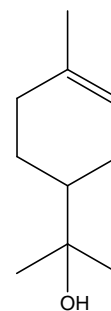
α -Copaène



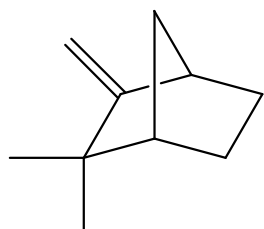
α -Phellandrène



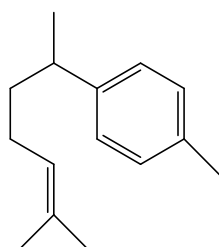
Spathuléol



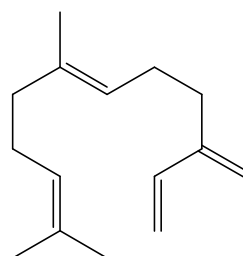
α -Terpinéol



Camphène



ar-curcumène



(E)- β -Farnésène

I. 4. 5. PROPPRIETES PHARMACOLOGIQUES ET BIOLOGIQUES DU GENRE *CHRYSANTHEMUM*

Beaucoup d'espèces du genre *Chrysanthemum* ont des propriétés thérapeutiques et certaines d'entre elles sont utilisées en médecine traditionnelle.

En médecine folklorique Chinoise, plusieurs espèces sont utilisées. A titre exemple, l'espèce *Chrysanthemum morifolium* est largement utilisée comme complément alimentaire ou tisane. Elle est considérée comme aliment de santé par de nombreux consommateurs [27, 28].

Les activités biologiques qui ont été reportées pour les différentes espèces du genre *Chrysanthemum* sont l'activité **cytotoxique** [29, 30], **antibactérienne** [31]. Dans ce qui suit, nous allons citer quelques exemples d'espèces d'importance économique et ayant des activités biologiques :

- L'espèce *Chrysanthemum indicum* est utilisée pour traiter plusieurs maladies infectieuses et troubles de l'hypertension en médecine Coréenne et Chinoise [32].
- Les deux extraits (méthanol et acétate d'éthyle) des fleurs de *Chrysanthemum indicum* ont montré une **activité anti-inflammatoire** exprimée par l'inhibition de la production d'oxyde nitrique dans différents cas de stimulation tels que les interleukines 1- β et lipopolysaccharides dans différentes cellules (macrophages, cellules endothéliale) [09].
- L'huile essentielle de *Chrysanthemum viscidifolium* a également montré une importante **activité antibactérienne** contre deux types de bactéries : *salmonella typhi* et *proteus mirabilis* [22].

Le tableau n° I.5 représente les propriétés thérapeutiques de quelques espèces du genre *Chrysanthemum*.

Tableau n° I.5 : Propriétés thérapeutiques de quelques espèces du genre *Chrysanthemum*

Espèce	Propriétés thérapeutiques	Références
<i>C. coronarium</i>	Antibactérienne	33
	Antiparasitaire	34
	Antifongique	35
<i>C. trifurcatum et C. Segetum</i>	Maladies hépatiques et biliaires	36
<i>C. indicum</i>	Anti-inflammatoire	
	Antibactérienne	
	Antivirale	37-39
	Antioxydante	
	Immun-modulatrice	
<i>C. morifilium</i>	Antibactérienne	
	Antifongique	
	Antivirale	40,41
	Anti-inflammatoire	
	Parkinson	
	Troubles nerveux	

I. 5. LE GENRE *RHANTHERIUM* :

I. 5. 1. INTRODUCTION :

Le genre *Rhantherium* appartient à la famille des composées, sous famille tubuliflore et la tribu Inulée. Ce genre est endémique à l'Afrique du Nord et la péninsule arabe compte seulement sept espèces [3, 42]:

- ✓ *Rhantherium adpressum* Coss. & Durieu.
- ✓ *Rhantherium epapposum* Oliver
- ✓ *Rhantherium apressum*
- ✓ *Rhantherium. suaveolens* Desf.
- ✓ *Rhantherium. intermedium* Coss. & Durieu ex Pomel
- ✓ *Rhantherium. incrassatum*,
- ✓ *Rhantherium. Squarrosum*

I. 5. 2. DESCRIPTION BOTANIQUE DU GENRE :

Ce sont des plantes à capitules hétérogames, multifides, radiées. Fleurs jaunes, les marginales ligulées à ligules unisériées, femelles et 3-dentées ; les centrales tubuleuses et hermaphrodites. Involucre campanulées, à bractées imbriquées sur plusieurs rangs, coriaces, lancéolées, surmontées d'un appendice étalé, arqué en dehors, subulé, triquètre, corné, spinescent. Réceptacle plant, muni de paillettes linéaires-lancéolées, membraneuses sur les bords. Calathide composée au centre de fleurs nombreuses, régulières, hermaphrodites; et à la circonférence de fleurs en languettes et femelles. L'ovaire des fleurs centrale et oblong, glabre, muni à la base d'un petit bourrelet, surmonté d'une aigrette formée de cinq paillettes filiformes, presque soudées par la base et légèrement plumeuses à leur sommet. Les corolles sont glabres, à cinq divisions très aigues ; les anthères sont munies à leur sommet d'appendices très aigus. Dans les fleurs de la circonférence, l'ovaire est presque entièrement enveloppé par chacune des folioles intérieures de l'involucre ; l'aigrette est nulle ou réduite à une seule paillette rudimentaire et latérale; les corolles sont en languettes oblongues élargies et tridentées au sommet [3].

I. 5. 3. DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE:

Ce genre est distribué exactement au nord-ouest de l'Afrique (Algérie et Tunisie) et on peut le trouver aussi en Iraq, Iran, Arabie Saoudite, Koweït et Emirats Arabes Unis [3, 42-45].

I. 5. 4. LES METABOLITES SECONDAIRES DU GENRE *RHANTHERIUM* :

Il y a peu d'études phytochimiques sur ce genre. C'est ce qui nous a encouragé à étudier deux espèces : *R. adpressum* et *R. suaveolens*, dans notre laboratoire. Cette dernière espèce sera traitée dans le cadre de ce travail.

* *Rhantherium epapposum* Oliver (figure n° I.6): Les tests biologiques montrent que cette plante est toxique [46].

Figure n° I.6 : la fleur de la plante Rhantherium epapposum Oliver



✓ Une étude phytochimique sur les huiles essentielles de *R. epapposum* Oliver montre la richesse de cette dernière en terpénoïdes. Les composés les plus abondants sont: le α -phéllandrène, linalol, géraniol, bulnésol, and β -phéllandrène (55,6% de l'huile) [47].

* *Rhantherium adpressum* : c'est une plante voisine de la plante *Rhantherium suaveolens* utilisée en thérapeutique traditionnelle dans la région de Laghouat, comme antidiabétique [48].

✓ Une étude phytochimique réalisée par Dr Mohamed Bouhroum dans notre laboratoire sur les parties aériennes de cette plante a permis d'identifier sept composés (figure n° I.7) [49]:

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

* 16- β -Hydroxy Lupeolyl-3-Hexadecanoate (2)

* β -eudesmol (3)

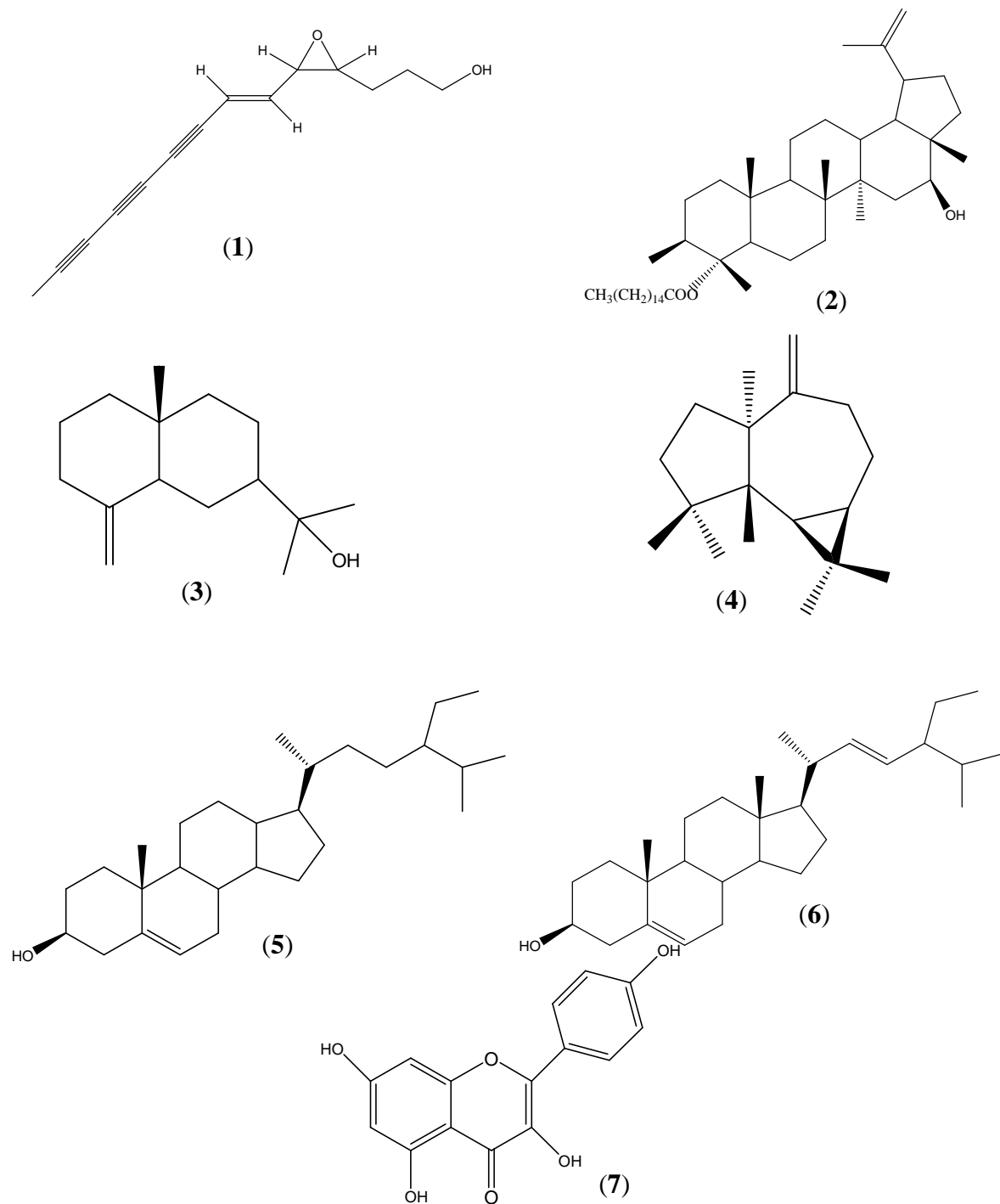
* Spathuléol (4)

* β - sitostérol (5)

* stigmastérol (6)

* Kaempférol (7)

Figure n° I.7: les différentes structures des composés isolés de *Rhantherium adpressum* :



Une autre étude phytochimique des huiles essentielles de cette plante à montre que cette dernière est riche en composés terpéniques [50]. Les différents composés qui sont détectés de cette plante sont cités dans le tableau n° I.6.

Tableau n° I.6: les différents composés détectés des huiles essentielles de la plante
Rhantherium adpressum [50]

Composé	Type de composé	Pourcentage
Acide 2, 2-dimethylbutanoïque	Acide gras	0,38
n-Hexadecan-1-ol	Sesquiterpène oxygéné	0,52
Myristicine	Monoterpène aromatique	5,05
1-[2-(2-Methoxy-1-methylethoxy)-1-methylethoxy]-2- propanol	Monoterpène oxygéné	19,57
n-Tridec-1-ene	Hydrocarbure terpénique	0,54
(-)-Spathulenol	Monoterpène oxygéné	19,57
Cycloheptane, 4-methylene-1-methyl-2-(2-methyl-1-propen-1-yl)-1-vinyl-	Hydrocarbure sesquiterpénique	2,38
β -Humulene	Hydrocarbure sesquiterpénique	1,48
Apiol	Monoterpène aromatique	2,29
(-)- β -Cadinol	Sesquiterpène oxygéné	11,34
Cyclohexane, 1, 2-dimethyl-3,5-bis (1-methylethenyl)	Hydrocarbure sesquiterpénique	1,39
Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-4a,8-dimethyl-2-(1-methylethylidene)-, (4aR-trans)	Hydrocarbure sesquiterpénique	1,62
Bicyclo[4, 4, 0]dec-1-ene, 2-isopropyl-5-methyl-9-methylene	Hydrocarbure sesquiterpénique	12,94
β -Eudesmol	Sesquiterpène oxygéné	15,13
α -Eudesmol	Sesquiterpène oxygéné	5,37
α -Cadinol	Sesquiterpène oxygéné	6,56
E,Z-5,7-Dodecadien-1-ol acetate	Monoterpène oxygéné	1,78
α -Limonène di-époxyde	Monoterpène oxygéné	1,80

1, 2-Epoxy-5,9-cyclododecadiène	Sesquiterpène oxygéné	1,32
1-Butyl 2-(2-ethylhexyl) phthalate	Monoterpène aromatique	0,59
2H-Pyran-3-ol,tetrahydro-2-(1,7-nonadiene-3,5-diynyl)	Sesquiterpène oxygéné	4,84
Cedrylpropylether	Sesquiterpène oxygéné	0,74
Butyric, 2-tetradecylester acid	Acide gras	0,31

L'endémisme du genre *Rhantherium*, sa distribution géographique très restreinte et le peu d'études phytochimiques antérieures nous a encouragés à étudier l'espèce *Rhantherium suaveolens* dans le cadre de cette thèse.

I. 6. CONCLUSION

La synthèse de toutes les données bibliographiques concernant ces deux genres nous encourage à réaliser une étude phytochimique approfondie des plantes choisies qui sont deux plantes endémiques.

Pour toutes ces raisons, nous avons entrepris au cours de ce travail l'étude de deux espèces endémiques *Chrysanthemum fontanesii* (B.et R.) et *Rhantherium suaveolens* Desf.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

- [1] Guignard. J. L, *Abrégé botanique*, **1994**, 9^{ème} édition, 203-204
- [2] Gaussen. H; Leroy. F, *Précis de botanique (Végétaux supérieurs)*, **1982**, 2^{ème} édition, 424- 426
- [3] Quezel. P and Santa. S, **1963**, *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*, Tome **1**, C.N.R.S. Paris.
- [4] Frère Marie-Victorin, **1885-1944**, *Flore Laurentienne*, 547.
- [5] Kumar. A; Singh. S. P; Bhakuni. R. S, **2005**, *Secondary metabolites of chrysanthemum genus and their biological activities*, current science, 89, 1489.
- [6] Anon, **1950, 1992**, *The Wealth of India, Raw Materials*, 2, 143-148, 3, 505. CSIR, New Delhi.
- [7] Haruna. M; Kato. M; Ito. K; Toshiaki. N; Sugihara. H and Murata. H, **1981**, Angeloylcumambrin-B, An antimicrobial and sesquiterpene lactone from *Chrysanthemum oranatum* var. spontaneous, *Phytochemistry*, 20, 2583–2584.
- [8] Mladenova. K; Tsankova. E and Ivanova. B. S, **1985**, Sesquiterpene lactones from *Chrysanthemum indicum*, *Planta Med*, 3, 284–285.
- [9] Yoshikawa. M; Morikawa. T; Toguchida. I; Harima. S and Matsuda. H, **2000**, Inhibitors of nitric oxide production and absolute stereostructures of five new germacrane-type, sesquiterpenes, Kikkanols D, D Monoacetate, E, F and F Monoacetate from the flowers of *Chrysanthemum indicum* L, *Chem. Pharm. Bull*, 48, 651–656.
- [10] Hu, L. and Chen, Z, **1997**, Sesquiterpenoid alcohols from *Chrysanthemum morifolium*, *Phytochemistry*, 44, 1287–1290.
- [11] Doskotch. R. W; El-feraly. F. S and Hufford. C. D, **1971**, Sesquiterpene lactones from Pyrethrum flowers, *Can. J. Chem*, 49, 2103–2110.
- [12] El-Masry. E; Abou-Donia. A. H. A; Darwish. F. A; Abou-karam. M. A; Grenz. M. and Bohlmann. F, **1984**, Sesquiterpene lactones from *Chrysanthemum coronarium*, *Phytochemistry*, 23, 2953–2954.
- [13] Mladenova. K; Tsankova. E; Kostova. I and Ivanova. B. S, **1987**, Indicumenone, a new bisabolane ketodiol from *Chrysanthemum indicum*, *Planta Med*, 53, 118–119.
- [14] Galal. A. M, **2001**, Microbial transformation of pyrethrosin, *J. Nat. Prod*, 64, 1098–1099.

- [15] Sashida. Y; Nakata. H; Shimomura. H and Kagaya. M, **1983**, Sesquiterpene lactones from Pyrethrum flowers, *Phytochemistry*, 22, 1219–1222.
- [16] Wilkomirski. B and Dubielecka. B, **1996**, Sterol content as a similarity marker of different organs of two varieties of *Chrysanthemu parthenium*, *Phytochemistry*, 42, 1603–1604.
- [17] Chatterjee. A; Sarkar. S and Saha, S. K, 1981, Acacetin 7-O- β -D-galactopyranoside from *Chrysanthemum indicum*, *Phytochemistry*, 20, 1760–1761.
- [18] Hu. C. Q; Chen. K and Shi. Q, **1994**, Anti-aids agents. 101. Acacetin-7-O- β -D-galactopyranoside, an anti-HIV principle from *Chrysanthemum morifolium* and structure–activity correlation with some related flavonoids, *J. Nat. Prod*, 57, 42–51.
- [19] Rao. P. R; Seshadri. T. R and Sharma. P, **1973**, Polyphenolic constituents of Pyrethrum flowers (*Chrysanthemum cinerariaefolium*), *Curr. Sci*, 42, 811–812.
- [20] Khallouki. F; Hmamouchi. M; Younos. C; Soulimani, R. and Essassi. E. M, **2000**, A new flavonoid from the aerial parts of *Chrysanthemum viscidhirtum*, *Fitoterpia*, **71**, 413–416.
- [21] Stoianova-Ivanova. B; Budzikiewicz. H; Koumanova. B; Tsoutsoulova. A; Mladenova. K and Brauner. A, **1983**, Essential oil of *Chrysanthemum indium*. *Planta Med.*, 49, 236–239.
- [22] Khallouki. F; Hmamouchi. M; Younos. C; Soulimani. R; Bessiere. J. M. and Essassi. E. M, **2000**, *Antibacterial and molluscicidal activities of the essential oil of Chrysanthemum viscidhirtum*, *Fitoterpia*, 71, 544–546.
- [23] Saggar. P; Wamicha. W. N; Chhabra. S. C and Ndalut. P, **1997**, Isolation, identification and bioassay of repellent factors in the essential oil of Pyrethrum for grain protection against *Sitophilus zeamais* (Molts.), *Pyrethrum Post*, 19, 126–131.
- [24] Zheng. C. H; Kim. T. H; Kin. K. H; Leem. Y. H and Lee. H. J, **2004**, Characterization of potent aroma compounds in *C. coronarium* L. (Garland) using aroma extract dilution analysis, *Flavour Fragrance J*19, 401–405.
- [25] Uchio. Y, **1978**, Constituents of the essential oil of *Chrysanthemum japonense*. Nojigiku alcohol and its acetate, *Bull. Chem. Soc. J*, 51, 2342–2346.
- [26] Uchio. Y; Tomosue. K; Nakayama. M; Yamamura. A and Waki. T, **1981**, Constituents of the essential oils from three tetraploid species of *Chrysanthemum*, *Phytochemistry*, 20, 2691–2693.
- [27] Chu. Q; Fu. F; Guan. Y; Ye. J, **2004**, Determination and differentiation of Flos *Chrysanthemum* based on characteristic electrochemical profiles by capillary electrophoresis with electrochemical detection, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 7828-7833

- [28] Lai. J. P; Lim. Y. H; Su. J; Shen. H. M; Ong. C. M, **2007**, Identification and Characterisation of major Flavonoids and caffeolquinic acids in three Compositae plants by LC/DAD-APCI/MS, *Journal of chromatography*, 848, 215-225.
- [29] Gurkan. E; Koksalsal. E. P. and Sarioglu. I, **1998**, Cytotoxicity assay of *Chrysanthemum coronarium*, *Fitoterapia*, 69, 284.
- [30] Lee. K. T; Choi. J. W; Park, J. H; Jung. W. T; Jung. H. J and Park. H. J, **2002**, Composition of the essential oil of *C. sibiricum*, *Nat. Prod. Sci.*, 8, 133–136.
- [31] Kim. K. J; Kim. Y. H; Yu. H. H; Jeong. S; Cha. J. D; Kil. B. S and You. Y. O, **2003**, Antibacterial activity and chemical composition of essential oil of *C. boreale*, *Planta Med*, 69, 271–274.
- [32] Shunying. Z; Yang. Y; Hwudang. Y; Yne. Y; Gualin. Z, **2005**, Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *chrysanthemum indicum*; *Journal of Ethno pharmacology*, 96, 151-158.
- [33] Urziva. A; Mendoza. L, **2003**, Antibacterial activity of fresh flowerheads of *Chrysanthemum coronarium*; *Fitoterapia*, 74, 606-608
- [34] Agelo Poulos. N; Birkett M. A; Hik A. J; Kopper A. M; Pickett J. A; Pow E. M, **1999**, Exploiting semichemicals in insect control, *Journal of Pesticide Science*, 55, 225-235.
- [35] Alvarex-Castellanos. P. P; Bishop. C. D and Pascaul-Villalobos. M. J; **2001**, Antifungal activity of the essential oil of flowerheads of garland chrysanthemum (*C. coronarium*) against agricultural pathogens, *Phytochemistry*, 57, 99–102.
- [36] Bellakhdar. J; Chaisse. R; Fleurentin J; Younos. C, **1991**, *Journal of Ethnopharmacology*, 35, 123.
- [37] Do Y. L; Goya. C; Taesook. Y; Myeong. S. C; Byung K. C; Hok. K, **2009**, Anti-inflammatory activity of *Chrysanthemum indicum* extract in acute and chronic cutaneous inflammation, *Journal of Ethnopharmacology*, 123, 149-154.
- [38] Ren. A. N; Wang. Z. G; Lu. Z. C; Wang. L. W; Wu. Y. L; **1999**, Study on bacteriostatic and antiviral activity of flowers *Chrysanthemum indicum*; *Pharmaceutical Biotechnology*, 6, 241-244.
- [39] Wang. Z. G; Ren. A. N; Xu. L; Sun. X. J ; Hua X. B, **2000**; The experimental Study on the immunological and anti-inflammatory activities of *Chrysanthemum indicum*, *Chinese Journal of Traditional Medical Science and Technology*, 2, 92-93.
- [40] Hu. C. Q; Chen. H; Chi. Q, **1994**, *Journal of Natural Products*, 57, 42
- [41] Macdonald Hocking. G, **1997**, *a Dictionary of Natural Products*, Medford_NJ, Plexus Publishing Inc; 992.

- [42] Ozenda. P, **1983**, *Flore du Sahara*, 2nd édition, C.N.R.S, Paris, 432
- [43] Omar, S. A. S and Bhat, N. R, **2008**, Alteration of the *Rhanterium epapposum* plant community in Kuwait and restoration measures, *International Journal of Environmental Studies*, **65**: 139-155.
- [44] Hellyer. P and Aspinall. S, **2005**, *The Emirates: A Natural History*, Trident Press Limited, London.
- [45] Vincent. P, **2008**, *Saudi Arabia: An Environmental Overview*, Taylor and Francis, London.
- [46] Shama. I; Younis and Adam. S. E. I, **2008**, Evaluation of Toxicity of *Rhanterium epapposum* in Wistar Rats, *Journal of Pharmacology and Toxicology*, 3(2), 134-140.
- [47] Yaghmai. M. S and Kolbadipou. S, *Flavour and Fragrance Journal*. **1987**, 2(1), 29-32
- [48] Khacheba. I; Benamar. H, **2008**, Effets des extraits de quelques plantes médicinales locales sur l-amylase, *Mémoire d'ingénieur d'état*.
- [49] Bouhroum. M, **2008**, étude phytochimique des plantes médicinales algériennes: *Rhanterium adpressum et Ononis angustissima*, *Thèse de magister*, Université de Constantine.
- [50] Ali. K; Noureddine. G; Djebellah. B; Segni. L; Amar. Z; Hameurelain. S; Chihi. S and Labeled. B, **2009**, Composition of the essential oil of *Rhanterium adpressum* Coss. and Durieu. from Algeria, *Archives of Applied Science Research, Scholars Research Library*, 1 (2), 115-118

CHAPITRE II

LES COMPOSES PHENOLIQUES ET TERPENIQUES

II. 1. INTRODUCTION

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques (glucides, protides, lipides, acides nucléiques), ils accumulent fréquemment des métabolites dits **secondaires** dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais représente une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire [1].

La notion de métabolites secondaires résultait initialement de trois groupes d'observations: d'abord une difficulté à attribuer à ces métabolites une fonction précise dans la physiologie même de la plante, ensuite une répartition très inégale selon les végétaux, quelquefois entre des espèces très voisines ou même entre différentes sous-espèces ou variétés à l'intérieur d'une même espèce, enfin une certaine inertie biochimique car ces substances sont rarement remobilisées dans la plante après qu'elles y ont été accumulées [1].

Les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches basées sur les cultures in vivo et in vitro de tissus végétaux. Ceci est notamment le cas des polyphénols végétaux qui sont largement utilisés en thérapeutique comme vasculoprotecteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et antiradicalaires [2].

II. 2. CLASSEMENT DES METABOLITES SECONDAIRES

Les métabolites secondaires dépassant actuellement 100 000 substances identifiées, appartiennent à trois classes principales [3, 4] :

- * **Les composés phénoliques**

- * **Les terpénoïdes**

- * **Les alcaloïdes**

II. 2. 1. LES COMPOSES PHENOLIQUES

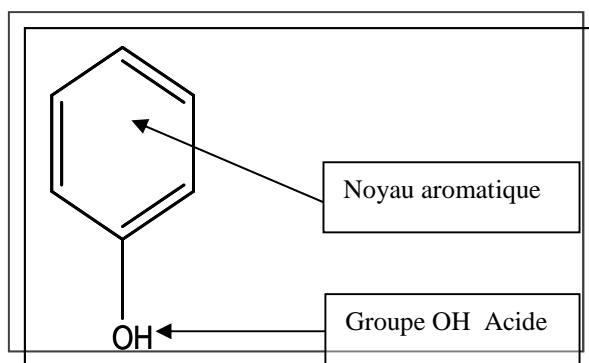
II. 2. 1. 1. DEFINITION

Le terme polyphénol a été introduit en **1980** [4]. Les composés phénoliques ou polyphénols constituent une famille de molécules organiques largement présente dans le règne végétal [4], ce sont des métabolites secondaires, caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide [5].

II. 2.1. 2. STRUCTURE

Les composés phénoliques regroupent un vaste ensemble de substances chimiques. L'élément fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique (aromatique), auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (figure n° II.1), libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside [6]. Ils peuvent aller de molécules simples, comme les acides phénoliques, à des composés hautement polymérisés, de plus de 30000 Dalton, comme les tanins [4].

Figure n° II.1 : squelette de base des polyphénols.



II. 2. 1. 3. LOCALISATION

Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) [5]. Ils sont présents aussi dans diverses substances naturelles : dans les fruits rouges, le raisinetc [4]. Parmi les composés phénoliques, dont 8000 sont connus : les flavonoïdes, les quinones phénoliques, lignanes, les xanthones, les coumarines et d'autres classes existent en nombre considérable [6].

II. 2. 1. 4. CLASSIFICATION

Les composés phénoliques sont commodément classés selon le nombre d'atomes de carbone dans le squelette de base [6]. Les différentes classes principales de ces composés phénoliques isolées des plantes sont illustrées dans le tableau n° II.1.

Tableau n° II.1: Les principales classes de composés phénoliques [7].

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine (exemple)
C ₆	Phénols simples	Catéchol	
C ₆ - C ₁	Acides hydroxybenzoïques	Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	Epices, fraise
C ₆ - C ₃	Acides hydroxycinamiques	Acides caféique, férulique	Pomme de terre, pomme
	Coumarines	Scopolétine, esculétine	Citrus
C ₆ - C ₄	Napthoquinones	Juglone	Noix
C ₆ - C ₂ - C ₆	Stilbènes	Resvératrol	Vigne
C ₆ - C ₃ - C ₆	Flavonoïdes		
	*Flavonols	Kaempférol, quercétine	Fruits, légumes, fleurs
	*Anthocyanes	Cyanidine, pélargonidine	Fleurs, fruits rouges
	* Flavanols	Catéchine, épicatechine	Pomme, raisin
	*Flavanones	Narigénine	Citrus
	Isoflavonoides	Daidzéine	Soja, pois
(C ₆ - C ₃) ₂	Lignanes	pinorésinol	Pin
(C ₆ - C ₃) _n	Lignines		Bois, noyau des fruits
(C ₁₅) _n	Tanins		Raisin rouge, kaki

Les acides phénoliques, les coumarines et les flavonoïdes forment le groupe de composés phytochimiques le plus important des plantes. Dans ce qui suit, nous présentons quelques notions sur cette classe de métabolites secondaires.

II. 2. 1. A. LES ACIDES PHENOLIQUES

II. 2. 1. A. 1. DEFINITION

Un **acide-phénol** (ou **acide phénolique**) est un composé organique possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. La pratique courante en phytochimie consiste à réserver ce terme aux dérivés de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique [8].

II. 2. 1. A. 2. LES DIFFERENTS TYPES D'ACIDES PHENOLIQUES

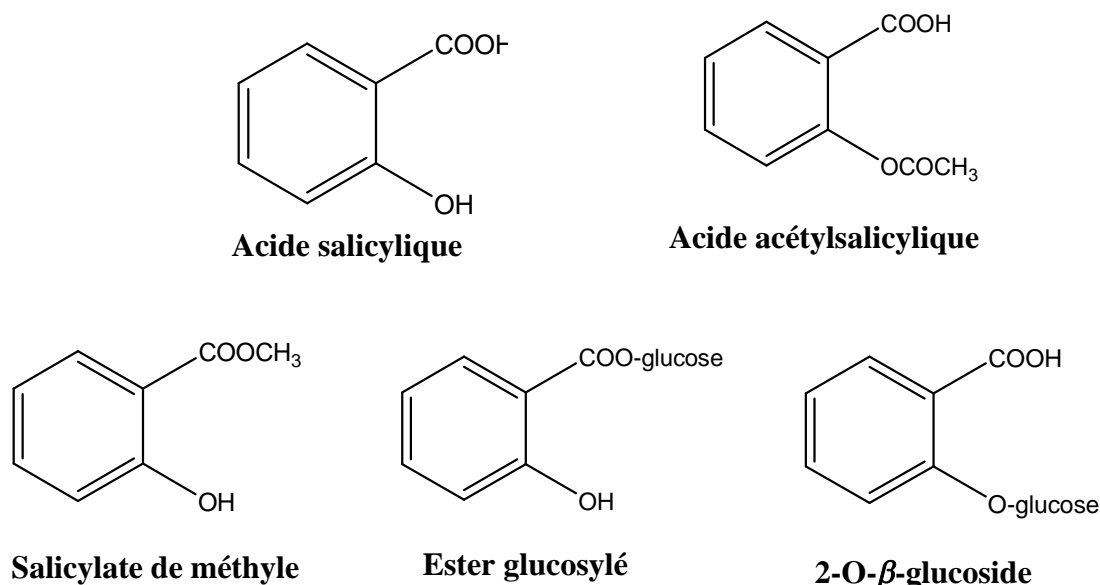
Les acides phénoliques appartiennent à deux groupes, les acides hydrobenzoïques et les acides hydrocinnamiques :

*Les acides hydrobenzoïques

Ils sont dérivés par hydroxylation de l'acide benzoïque avec une structure de base de type **C6-C1** (tableau n° II.2) [8]. Ces hydroxyles phénoliques OH peuvent ensuite être méthylés. Ils sont bien particulièrement représentés chez les Gymnospermes et les Angiospermes d'où ils sont souvent libérés après hydrolyse alcaline du matériel végétal, en particulier de la lignine et de certains tanins [1]. Ils existent fréquemment sous forme d'esters ou de glycosides, à l'exemple de l'acide salicylique dont le glycoside ou les esters méthyliques ou glycosylés représentent vraisemblablement des formes de stockage ou de circulation dans la plante (figure n° II.2) [8].

Tableau n° II.2 : Les principaux acides hydroxybenzoïques.

Acides hydroxybenzoïques				
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Acide benzoïque (non phénolique)	H	H	H	H
Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	H	H	OH	H
Acide protocatéchique	H	OH	OH	H
Acide vanillique	H	OCH ₃	OH	H
Acide gallique	H	OH	OH	OH
Acide syringique	H	OCH ₃	OH	OCH ₃
Acide salicylique	OH	H	H	H
Acide gentisique	OH	H	H	OH

Figure n° II.2 : L'acide salicylique et ses principaux dérivés naturels***Les acides hydroxycinnamiques**

Les acides hydroxycinnamiques représentent une classe très importante dont la structure de base **C6-C3** dérive de celle de l'acide cinnamique. Les molécules de base de la série hydroxycinnamique sont l'acide *p*-coumarique (et ses isomères *o*- et *m*-coumariques) et les acides caféique, férulique et sinapique (tableau n° II.3). L'ensemble est souvent rapporté sous le vocable commun de « **phénylpropanoïdes** ». Ces acides sont rarement présents à l'état libre et existent généralement sous forme d'esters ou de glycosides [1, 8].

Parmi les acides hydroxycinnamiques, l'acide caféique a une répartition quasi universelle chez les végétaux où il est souvent présent sous forme d'acide chlorogénique (ester 5-caféoylquinique), par exemple dans la pomme ou le café. On le retrouve également sous forme d'acide caféoyltartrique dans le raisin, d'acide caféoylshikimique dans la datte, d'acide caféoylmalique dans le radis, de caféoylglucose, de caféoylputrescine (figure n° II.3) [8].

Tableau n° II.3: Les principaux acides hydroxycinnamiques.

Acides hydrocinnamiques			
	R ₁	R ₂	R ₃
Acide cinnamique	H	H	H
Acide <i>p</i> -coumarique	H	OH	H
Acide caféique	OH	OH	H
Acide ferulique	OCH ₃	OH	H
Acide sinapique	OCH ₃	OH	OCH ₃
<i>E</i> -anéthol	H	OCH ₃	H

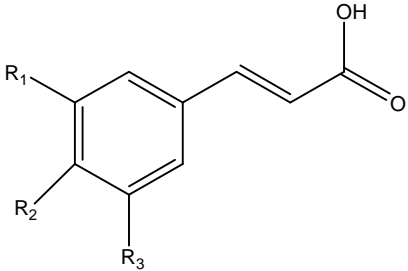
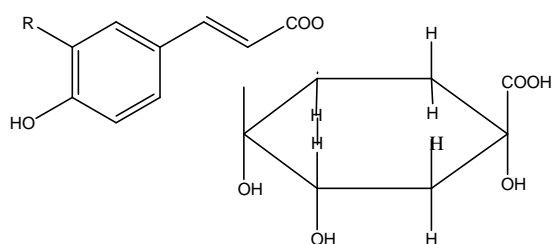
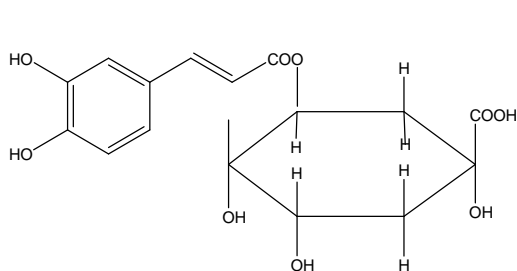


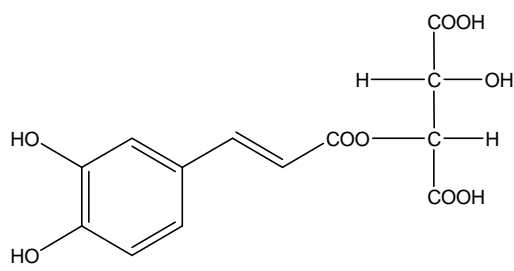
Figure n° II.3 : Exemple de formes combinées des acides hydroxycinnamiques.



R=OH acide chlorogénique (= 5-caféoylquinique)

R= H acide *p*-coumaroylquinique

Acide caféoylshikimique



acide caféoyltartrique

II. 2. 1. A. 3. FORMATION DU NOYAU AROMATIQUE

Le principal mode de cette formation emprunte l'acide shikimique (acide en C6-C1), lequel donne naissance à l'acide phénylpyruvique puis à l'acide cinnamique (acide en C6-C3)

Un mode de formation plus secondaire consiste en la cyclisation de chaînes polycétoniques, elles mêmes obtenues par condensation de groupements acétate (malonyl pathway des Anglo-Saxons).

- **VOIE DE L'ACIDE SHIKIMIQUE**

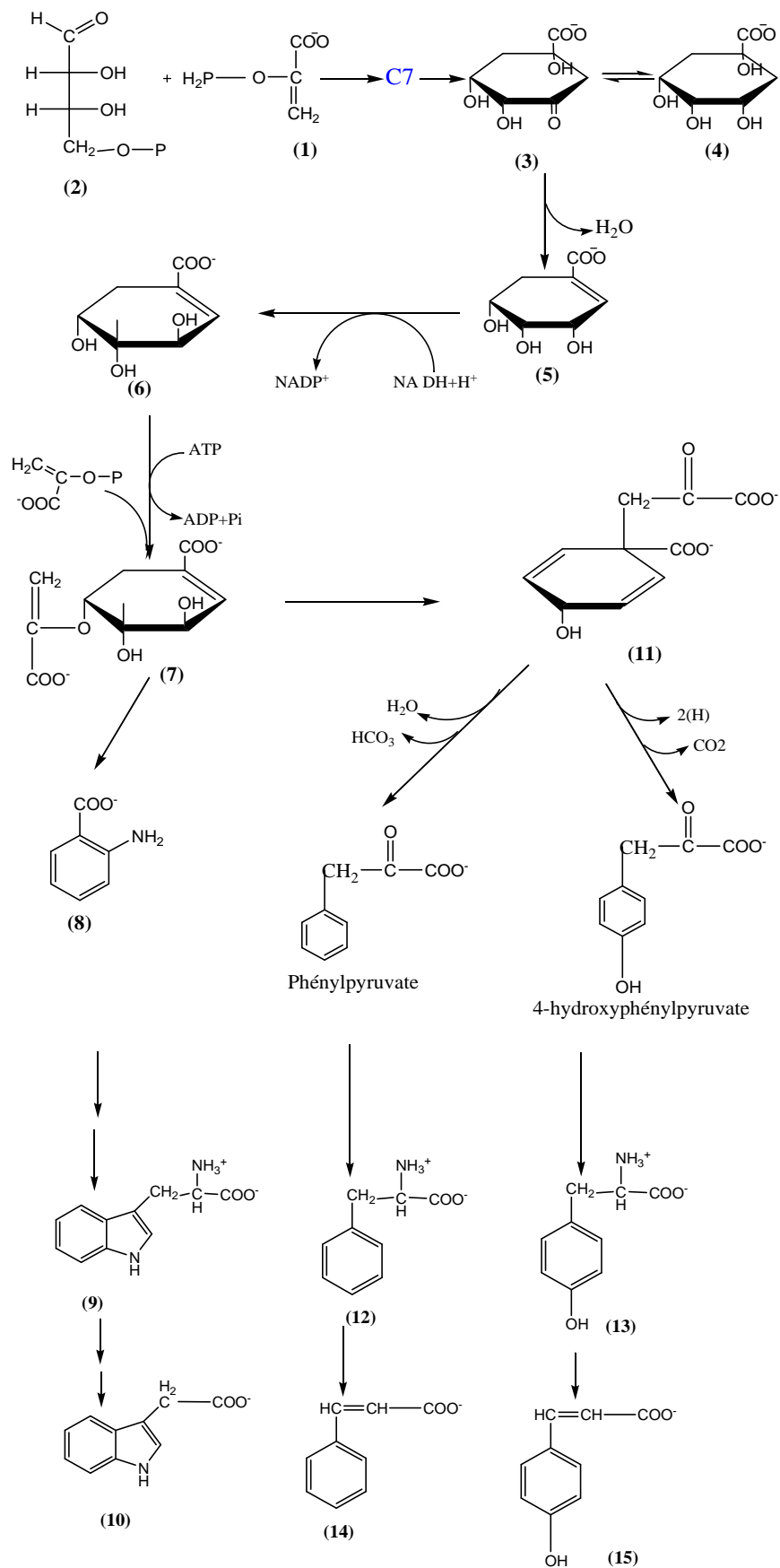
Cette voie débute par la condensation de l'acide phosphoénolpyruvique (**PEP**) (**1**) avec l'érythrose 4-phosphate (**2**) qui produisent un corps en **C7**, donne naissance au 5-déshydroquinate (**3**) respectivement au quinate (**4**), tous deux dérivés du cyclohexane. De là se détache une voie de synthèse vers les acides phénolcarboxyliques qui est plutôt caractéristique des micro-organismes. Une déshydratation conduit au déshydroshikimate (**5**), qui est réduit en shikimate (**6**) à l'acide de $\text{NADPH} + \text{H}^+$. Par phosphorylation et réaction avec du phosphoénolpyruvate en position 3, il se forme d'abord un énoéthère activé, le chorismate (**7**). A cette étape, les aiguillages sont en place pour diverses voies : l'une d'entre elles conduit par l'intermédiaire de l'antranilate (**8**) à l'acide aminé aromatique tryptophane (**9**), à partir duquel se forme l'acide indolacétique (**10**), la deuxième voie qui nous intéresse ici produit l'acide cinnamique (**14**) respectivement l'acide *p*-coumarique comme premier dérivé (**15**).

On voit sur le schéma que l'embranchement se situe au niveau du préphénate (**11**). Le préphénate est transaminé en arognate, qui est ensuite transformé en phénylalanine (**12**) sous l'action d'une arognate déshydratase (décarboxylante) ou en tyrosine (**13**) sous l'action d'une NADP arognate déshydrogénase (décarboxylante).

La désamination oxydative de la phénylalanine (**12**) en acide cinnamique (**14**) et de la tyrosine (**13**) en acide *p*-coumarique est catalysée par des enzymes spécifiques [9]. Toutes ces étapes sont montrées dans la figure n° II.4.

Les systèmes aromatiques sont aussi formés par **voie acétate malonate** ou bien par **voie de l'acétate mévalonate**

Figure n° II.4: Schéma de la formation des acides phénoliques par voie de l'acide shikimique



II. 2. 1. A. 4. PROPRIETES THERAPEUTIQUES

Les acides phénoliques sont considérés comme substances phytochimiques avec des effets prébiotiques, de chélation et anti-inflammatoire. Leur toxicité est faible. Pharmacologiquement, le mieux caractérisé est l'acide caféique, cet acide et l'acide férulique empêchent la formation du cancer des poumons chez les souris [10]. L'acide gallique inhibe la formation du cancer œsophagien chez les rats [11]. L'acide rosmarinique, est fortement anti-inflammatoire. Les acides phénoliques sont connus aussi pour leurs propriétés antibactériennes [12], antifongiques [13] et anti-oxydantes [14].

II. 2. 1. B. LES COUMARINES

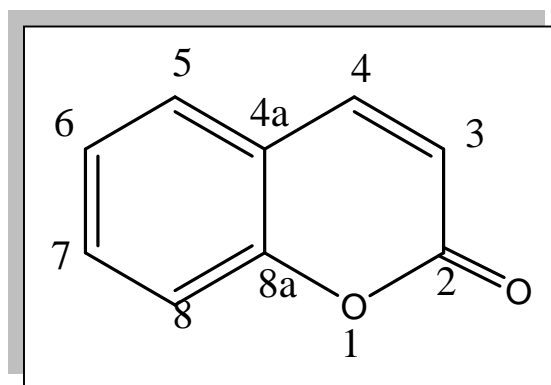
II. 2. 1. B. 1. DEFINITION

Les coumarines tirent leur nom de *Kumaru*, nom vernaculaire de la fève tonka *Coumarouna odorata* encore appelée *Disteryx odorata Willd*, la famille de Fabacées d'où elles furent isolées pour la première fois en 1820 [15].

Le terme coumarine désigne la classe des composés phénoliques dérivés de la molécule, le **2H-1-benzopyran-2-one**, ce composé dériverait de la cyclisation de l'acide cinnamique [16].

Le squelette de base des coumarines est constitué de deux cycles accolés de type **C6-C3** (figure n° II.5) avec neuf atomes de carbones possédant le noyau benzo (2H)-1 pyranone-2.

Figure n° II.5: Squelette de base des coumarines.



II. 2. 1. B. 2. REPARTITION, LOCALISATION ET CLASSIFICATION

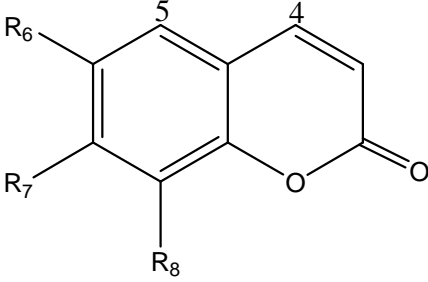
Les coumarines sont les constituants caractéristiques du règne végétal chlorophyllien, à l'exception des algues [16]. Ils sont largement répandus dans certaines familles telles que les Fabacées, les Astéracées et surtout les Apiacées et les Rutacées [17]. Les coumarines se localisent dans toutes les parties de la plante et notamment dans les fruits et dans les graines. Elles sont fréquemment à l'origine des hétérosides.

La famille des coumarines est formée des composés phénoliques dérivés de la coumarine simple, la 2H-1-benzopyrane-2-one, molécule elle-même dénuée de groupe hydroxyle phénolique OH. Toutes les coumarines sont substituées en C-7 par un hydroxyle phénolique.

D'après la nature des substituants, plusieurs auteurs ont classé les coumarines selon leurs structures en cinq catégories [18].

***Les coumarines simples:** coumarines hydroxylées, alkoxyées, et les dérivés alkylés et leurs glycosides. Les divers groupes hydroxyles en C-6, C-7 et C-8, peuvent ensuite être méthylés ou être engagés dans une liaison hétéroside (tableau n° II.4)

Tableau n° II.4 : Les principales coumarines simples.

Les coumarines				
	R ₆	R ₇	R ₈	Formules
Coumarine (non phénolique)	H	H	H	
Ombelliférone	H	OH	H	
Herniarine	H	OCH ₃	H	
Esculétol	OH	OH	H	
Scopolétol	OCH ₃	OH	H	
Scopanone	OCH ₃	OCH ₃	H	
Fraxétol	OCH ₃	OH	OH	
shikimine	H	O-gluc	H	
Esculoside	Glu	OH	H	
Cichoriine	OH	O-gluc	H	
Scopoline	OCH ₃	O-gluc	H	

***Les furocoumarines**

Ces molécules sont formées par la fusion d'un hétérocycle furane avec la coumarine et ses dérivés. L'association peut se faire :

*soit dans le prolongement de la coumarine (forme linéaire): psoralène et ses dérivés (bergaptène, impérorine, xanthotoxine, chalepensine), (figure n° II.6)

*soit sur le côté (forme angulaire) : angélicine et ses dérivés

***Les pyranocoumarines**

Ces composés sont formés par la fusion d'un hétérocycle pyrane avec la coumarine

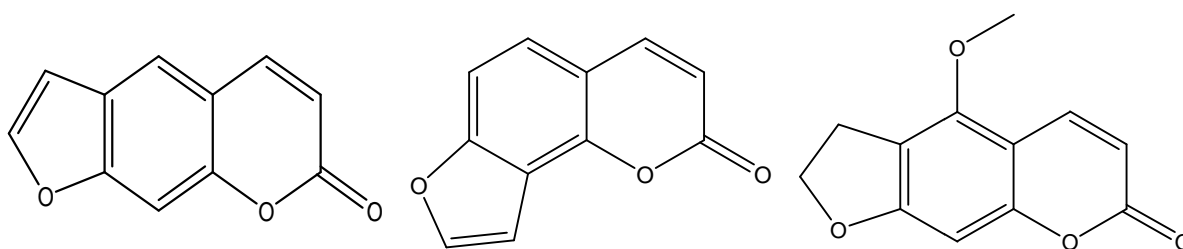
*soit dans le prolongement (forme linéaire) : xanthylétine (figure n° II.6)

*soit latéralement (forme angulaire) : séseline (figure n° II.6), visnadine

***Les dicoumarines (coumarines dimériques)** : ce sont des composés formés par la liaison de deux unités coumariques simples.

***Les tricoumarines (coumarines trimériques)** : Ce sont des composés issus de l'union de trois entités coumariques.

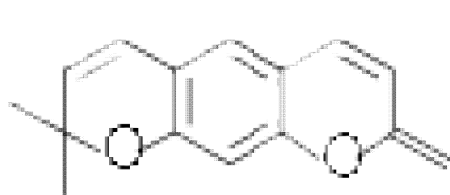
Figure n° II.6 : quelques coumarines de formes complexes



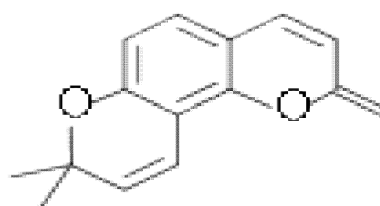
Linéaire (Psoralène)

Angulaire (Angélicine)

Bergaptène



Xanthylétine



Séseline

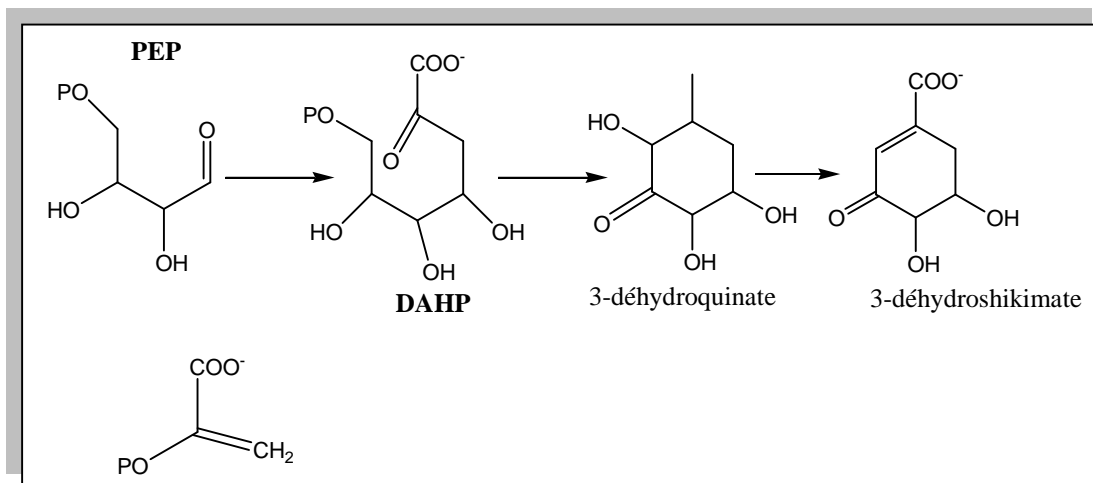
II. 2. 1. B. 3. LA BIOSYNTHESE DES COUMARINES

L'élément structural fondamental qui caractérise les coumarines est la présence d'un noyau benzopyrane. Les structures simples des coumarines dérivées de l'acide cinnamique via l'acide aminé phénylalanine, par exemple la coumarine et l'umbelliférone, sont trouvées dans plusieurs plantes [15]. L'hydroxylation en ortho de l'acide *trans*-cinnamique est la voie directe qui conduit aux coumarines simples.

D'autres coumarines qui ont subi un changement dans leurs structures de base, se rencontrent dans peu de familles. En effet, la participation du précurseur est possible pour donner des dérivés mixtes de l'acide shikimique et mévalonique que sont les furano et pyranocoumarines. [19- 20].

La première réaction est la condensation du phosphoénolpyruvate (PEP) avec l'érythrose-4-phosphate pour former un composé de sept carbones: le 3-désoxy-D-arabino-heptulosonate-7-phosphate (DAHP) [19]. La cyclisation du DAHP en 3-déhydroquinone met en jeu une condensation aldolique intramoléculaire intervenant après l'élimination du phosphate [21], (figure n° II.7).

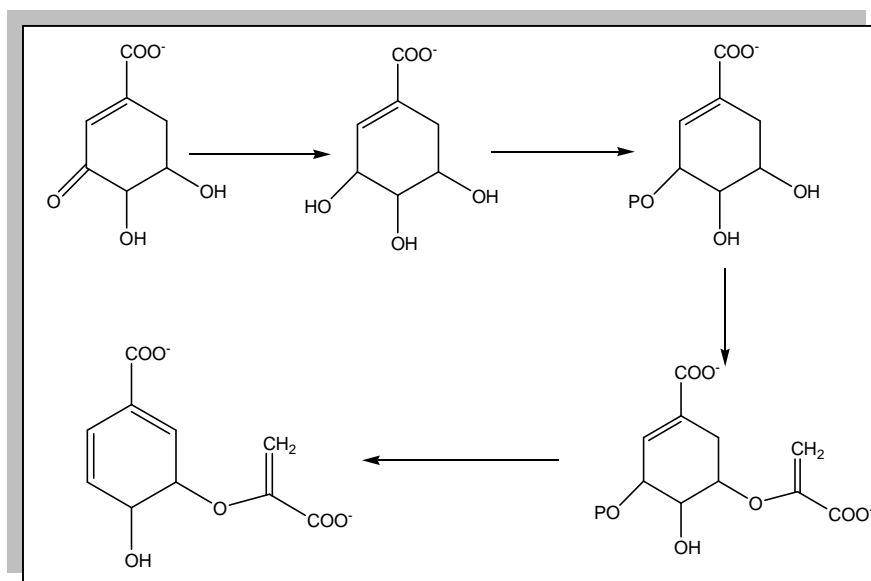
Figure n° II.7: la formation du 3-déhydroquinone.



Une réduction du carbonyle du 3-déhydroshikimate se déroule pour donner le shikimate. Cette réduction se fait par l'intermédiaire du NADPH et de la shikimate oxydoréductase. Le shikimate résultant est ensuite phosphorylé par l'ATP, lui cédant un groupe phosphate pour former le shikimate 3-phosphate. Ce dernier en présence d'une enzyme condensante, fixe une nouvelle molécule de PEP pour donner un ester d'énol, le 5-enolpyruvyl-shikimate3-

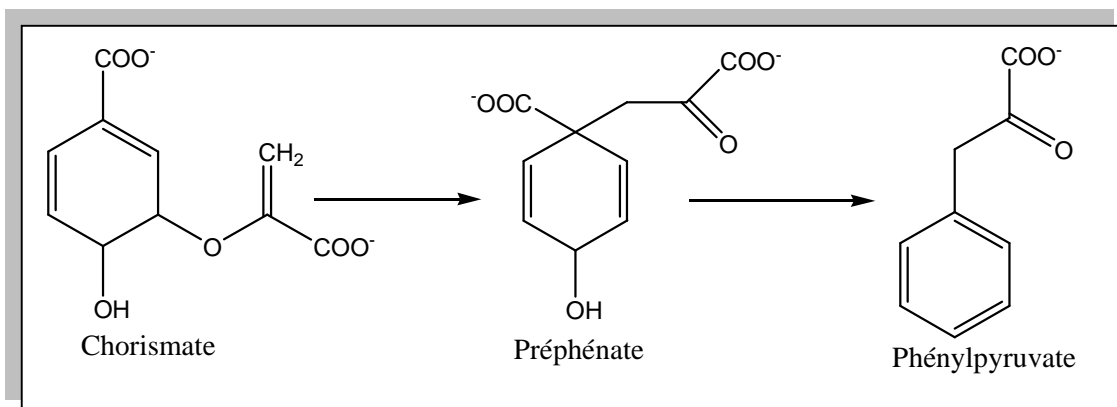
phosphate (EPSP). Ce dernier conduit au chorismate, *via* une *trans* élimination (figure n° II.8).

Figure n° II.8 : Formation du chorismate.

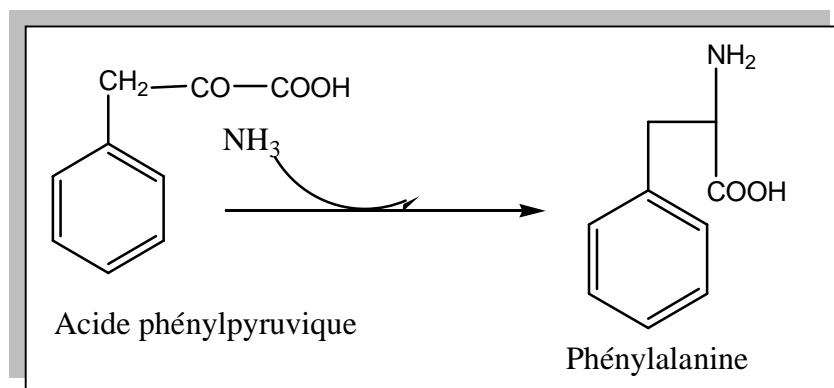


Le réarrangement précyclique du chorismate donne le préphénate. Ce réarrangement est catalysé par une enzyme (chorismate mutase) capable de transférer la chaîne latérale dérivée du PEP pour qu'elle soit directement liée sur le cycle (figure n° II.9).

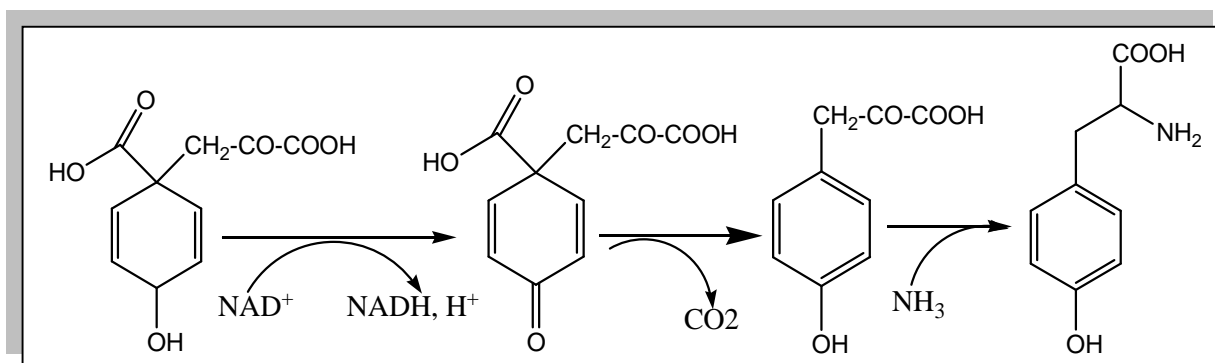
Figure n° II.9 : Formation du Phénylpyruvate.



La transamination de l'acide phénylpyruvique conduit à la formation de la phénylalanine (figure n° II.10).

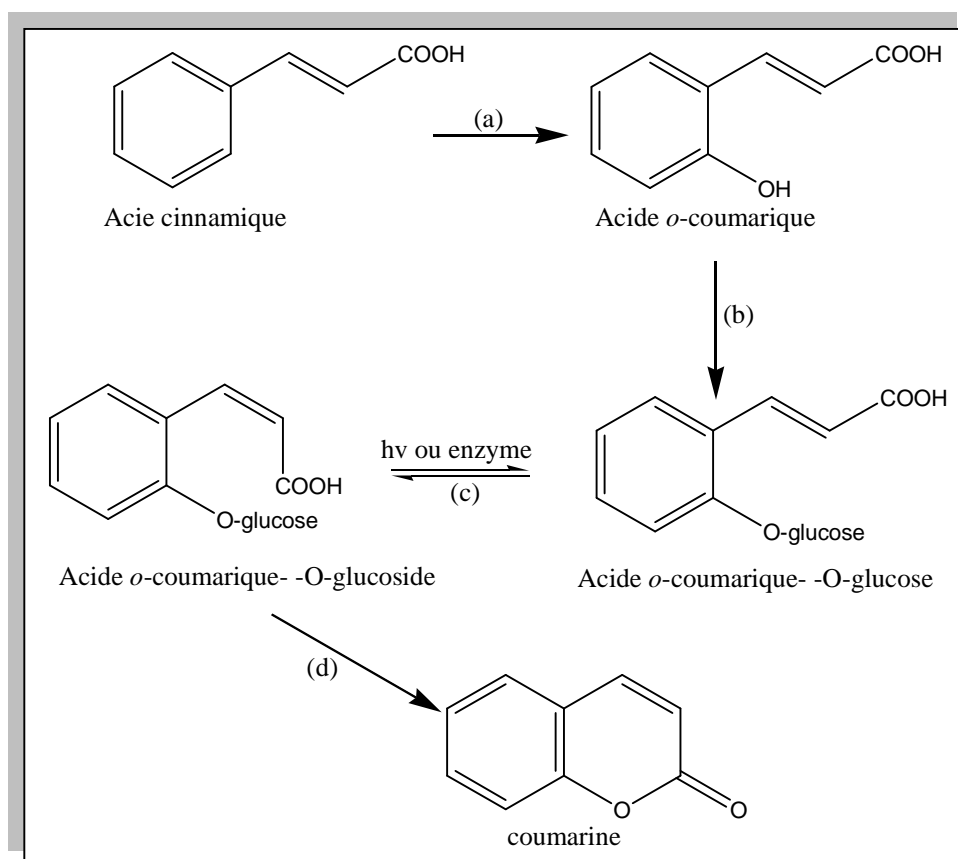
Figure n° II.10 : Formation du Phénylalanine.

Par contre, la tyrosine se forme de l'acide préphénique (figure n° II.11).

Figure n° II.11 : Formation de l'acide préphénique.

Une désamination de la phénylalanine et de la tyrosine conduit respectivement à l'acide *trans* cinnamique et l'acide coumarique.

La formation de la phénylalanine à partir de l'acide chorismique implique un réarrangement de Claisen par catalyse enzymatique, cet acide aminé est transformé en intermédiaire phénylpropanoïque (acide coumarique) qui donne la coumarine après isomérisation et lactonisation (figure n° II.12).

Figure n° II.12 : Formation de la coumarine.

I. 2. 1. B. 4. PROPIETES THERAPEUTIQUES

Les coumarines sont essentiellement des toxiques veineux et des protecteurs de fragilité des capillaires sanguins dans certaines maladies vasculaires et circulaires [22]. Elles sont utilisées comme antibactériens [23], anticoagulants [24], anticancéreux[25], spasmolytiques [26], stimulant du phénomène respiratoire et hépatotoxiques [16], photomutagénique et phototoxique [27]. Protectrices vasculaires et antioedémateuses [28].

Le tableau n° II.5 regroupe quelques exemples de structure avec leurs activités biologiques.

Tableau n° II.5 : Activité biologique de quelques coumarines

coumarines	Effet pharmacologique	Références
Rutarine	Antibiotique	[23]
Ombelifirone	Antibactérien Blocage de respiration et la phosphorylation dans les mitochondrie Mutagène	[29, 30]
Coumarine	Mutagène	[31]
Herniarine	Antibactérien Antifongique	[32, 30]
Osthol	Anticancéreux, Antifongique (agent protecteur)	[24]
4-Methylasculetine	Anticancéreux	[24]
Xanthotoxol	Anticancéreux	[24]

II. 2. 1. C. LES FLAVONOIDES

II. 2. 1. C. 1. DEFINITION

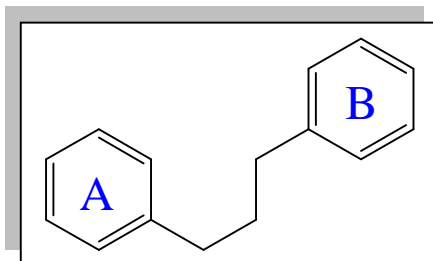
Le terme « flavonoïde » désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme les pigments quasi universels des végétaux. Tous les flavonoïdes (plus de 4000) possèdent le même élément structural de base, à savoir l'enchaînement 2-phénylchromane [33].

L'expression flavonoïde a été introduite en 1952 par GEISSMAN ET HINREINER pour désigner tous les pigments ayant un squelette $C_6-C_3-C_6$ analogue à celui des flavones (y compris les anthocyanes). Le nom flavonoïde est dérivé du mot grec **FLAVUS** qui veut dire jaune [34].

II. 2. 1. C. 2. NOMENCLATURE ET CLASSIFICATION

Les flavonoïdes possèdent tous un même squelette de base à **quinze atomes** de carbone, constitué de deux unités aromatiques, deux cycles en C_6 (**A** et **B**), reliées par une chaîne en C_3 (figure n° II.13) [33].

Figure n° II.13: Squelette de base des flavonoïdes



Pour désigner chacun des flavonoïdes, plutôt que d'utiliser les terminaisons en «**ol**» (pour les flavonols) par exemple (quercétol, cyanidol), nous avons généralement préféré celles en «**ine**» (quercétine, cyanidine) qui sont les traductions directes de la nomenclature anglaise qui ont l'avantage d'éviter des équivoques (par exemple en ne confondant pas le catéchol, phénol simple, et la catéchine qui est l'un des flavonoïdes). Dans certains cas cependant, comme celui du kaempférol, on a gardé la désignation consacrée par l'usage, aussi bien en français qu'en anglais [1].

C'est d'abord la structure de l'**hétérocycle central** et son degré d'oxydation qui permettent de distinguer les différentes classes de flavonoïdes (figure n° II.14). Le cas extrême d'oxydation de l'hétérocycle central correspond aux **anthocyanidines**, toujours présentes en milieu acide sous forme d'un cation de couleur rouge, dit cation **flavylium**. Au contraire, dans le cas des **flavanes** (flavane-3-ol comme la catéchine; flavane-3,4-diols, quelquefois dénommés leucoanthocyanes car ils peuvent donner les anthocyanes rouges sous l'action d'un acide), le cycle central est très fortement réduit. On trouve des situations intermédiaires chez les **flavanones**, les **flavones**, les **flavonols** et d'autres groupes. Exceptionnellement, le noyau central de la molécule peut ne pas être totalement cyclisé (chez les **chalcones** et les molécules voisines) ou se présenter sous forme d'un cycle ne présentant que **5** sommets (cas des **aurones**, de couleur généralement jaune vif) [1]. A l'intérieur de chacune des classes, les variations autour du squelette chimique de base en **C15** portent principalement sur trois points:

Le degré d'hydroxylation des différents cycles: ainsi, le cycle **B** est monohydroxylé chez le kaempférol ou la pélagonidine, dihydroxylé chez la quercétine ou la cyanidine, trihydroxylé chez la myricétine ou la delphinidine. Il en résulte des différences de spectre d'absorption, donc de couleur chez les anthocyanidines et les autres pigments (tableau n° II.6) [1].

Le niveau de méthylation (groupements O-CH₃ à la place des seules fonctions phénoliques): par exemple, chez les anthocyanes du vin, on rencontre la pétonidine, monométhoxylée et de couleur violacée et la malvidine, la plus abondante, diméthoxylée et de couleur mauve (tableau n° II.6). La méthylation diminue l'hydrosolubilité des molécules qui, dans des cas extrêmes, sont alors présentes dans les exsudats de certains bourgeons (peuplier) ou liées à des structures lipidiques comme les cires de feuilles d'eucalyptus [1].

Le niveau de glycosylation: En dehors de quelques exceptions (d'une part le groupe des flavanes et d'autre part quelques flavonoïdes excrétés dans les exsudats), les flavonoïdes des végétaux sont presque tous liés à des sucres. A ce titre, ils appartiennent au grand groupe des hétérosides, la partie phénolique représentant ici l'aglycone. Il en résulte une complication dans la nomenclature que nous expliciterons seulement dans le cas des anthocyanes. Ainsi, alors que le terme « anthocyane » a une valeur générale (désignant soit les formes naturelles glycosylés soit la molécule non glycosylée), la partie phénolique seule désignée sous le nom d'anthocyanidine (par exemple la pélagonidine ou la malvidine), alors que l'hétéroside (molécule phénolique + sucre associé) prend celui d' « anthocyanine » (la pelargonine ou la

malvine). Des règles semblables ou voisines sont adoptées pour les autres flavonoïdes (par exemple la quercétine désignant l'aglycone alors que la quercitrine correspond à ce même aglycone lié au rhamnose).

Figure n° II.14 : Les différentes classes des flavonoïdes.

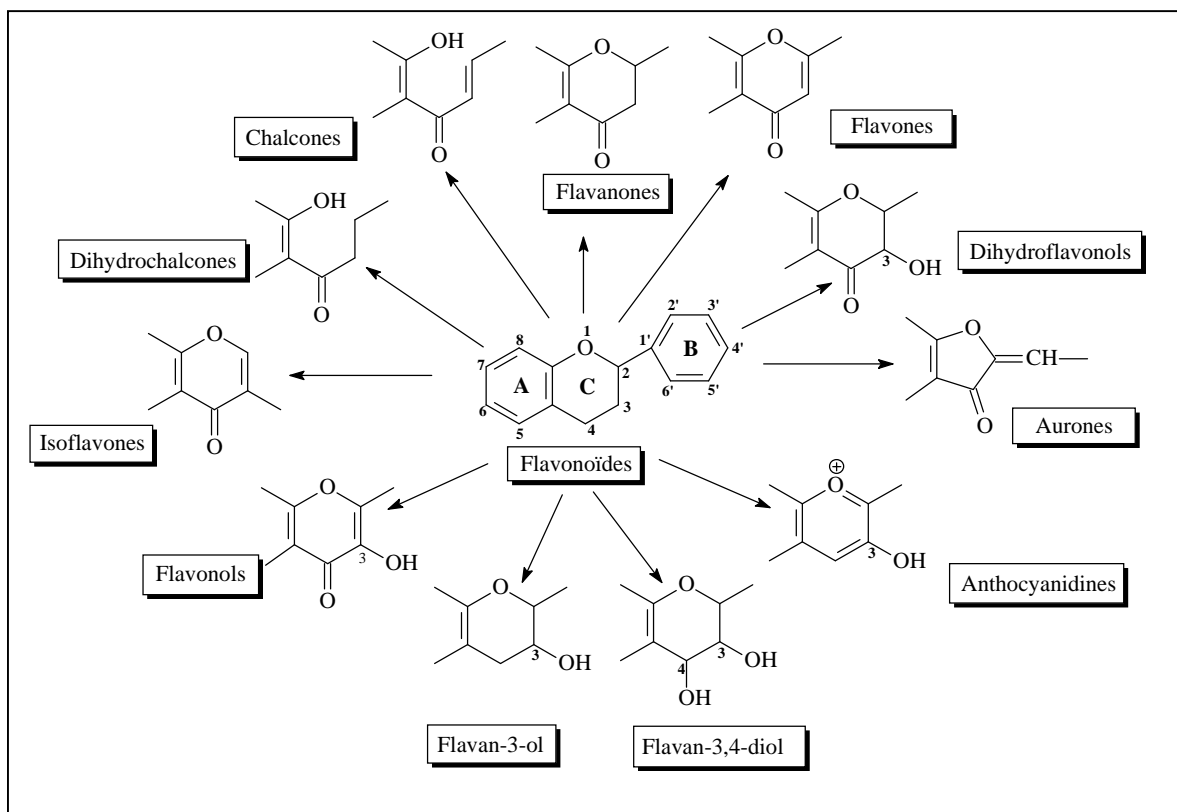
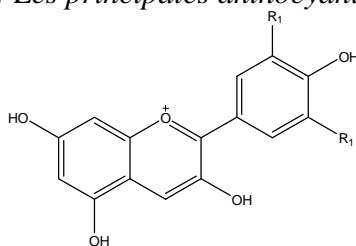


Tableau n° II.6 : Les principales anthocyanidines des végétaux

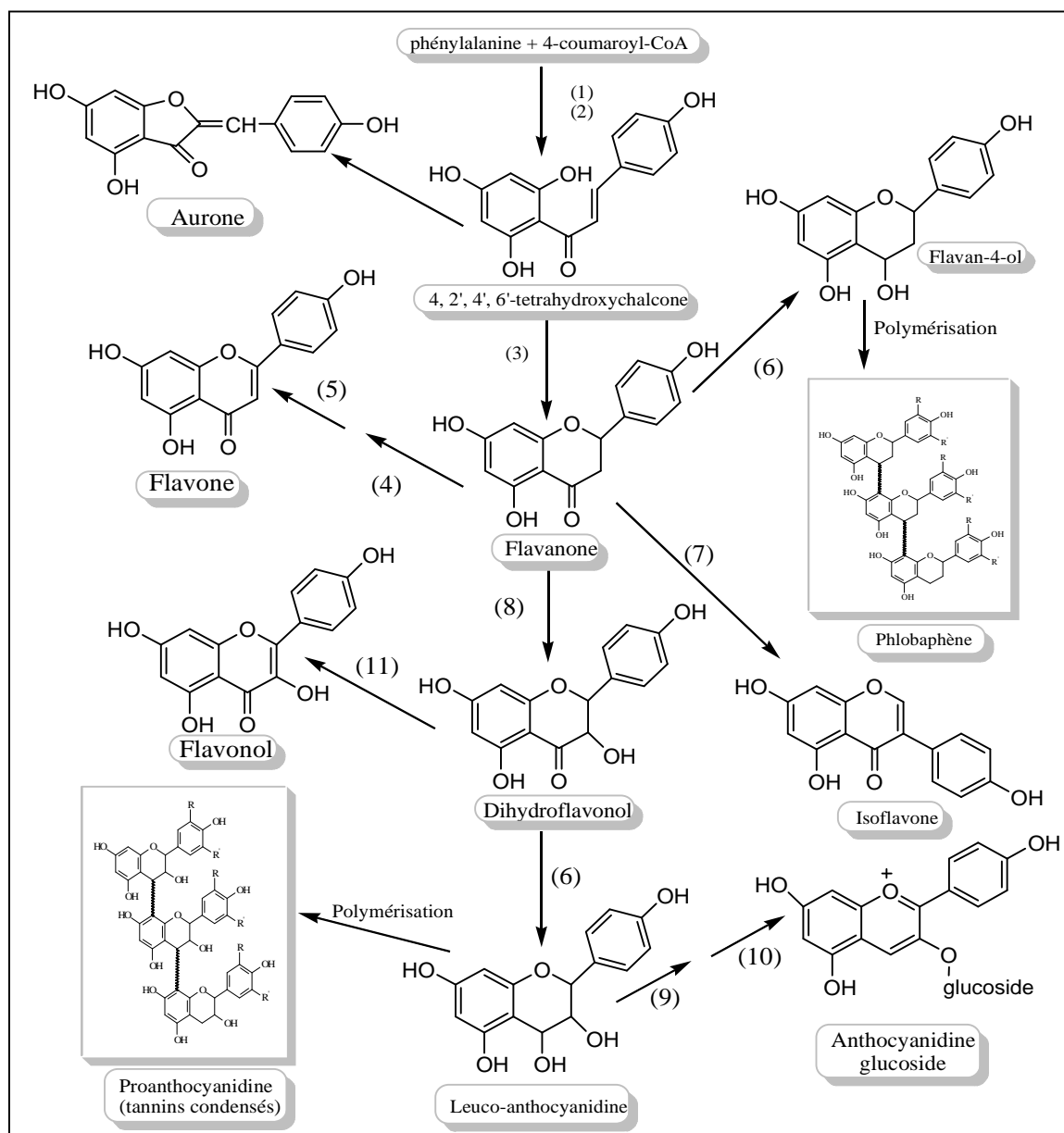


R ₁ , R ₂	Anthocyanidine	Couleur	Plante
R ₁ = R ₂ = H	Pélagonidine	Orange-rouge	Pélagonium rouge
R ₁ = OH, R ₂ = H	Cyanidine	Rouge	Pomme rouge
R ₁ = OCH ₃ , R ₂ = H	Péonidine	Rose	Pivoine rose
R ₁ = R ₂ = OH	Delphinidine	Bleue-violette	Mufler violet
R ₁ = OCH ₃ , R ₂ = OH	Pétunidine	Violette	Pétunia violet
R ₁ = R ₂ = OCH ₃	Malvidine	Mauve	Mauve

II. 2. 1. C. 3. LA BIOSYNTHESE DES FLAVONOÏDES

L'étape clé de la formation des flavonoïdes est la condensation de trois molécules de malonyl-CoA avec un ester du coenzyme A et d'un acide hydroxycinnamique, en règle générale le 4-coumaroyl-CoA, pour obtenir la 4, 2, 4', 6'-tetrahydrochalcone (réaction catalysée par la chalcone synthase). Dans les conditions physiologiques normales, cette chalcone tend à s'isomériser en flavanone sous l'action de la chalcone isomérase qui induit une fermeture stéréospécifique du cycle conduisant à la seule (2S)-flavanone. Cette chalcone peut également se cycliser en aurone. Il est le précurseur de toutes les classes de flavonoïdes comme le montre la figure n° II.15 [33].

Figure n° II.15 : Biosynthèse des flavonoïdes.



II. 2. 1. C. 4. REPARTITION ET LOCALISATION DES FLAVONOÏDES

Les composés flavoniques au sens strict, sont des pigments jaunes responsables de la coloration de certaines fleurs [35]. A l'exception des algues, ces composés sont les constituants caractéristiques du règne végétal chlorophyllien [36]. Les flavonoïdes sont largement rencontrés dans le règne végétal. Ils sont cependant rares chez les végétaux inférieurs. Par contre, on les trouve en abondance dans les familles suivantes : Polygonacées, Rutacées, Légumineuses, Apiacées et Astéracées [37-38]. Ils sont de façon très générale localisés dans les feuilles (dans l'épiderme ou entre l'épiderme et le mésophile), dans les fleurs (cellules épidermiques) ou encore dans les fruits (tégument externe) [33].

Les flavonoïdes sont largement distribués dans les feuilles, les graines, l'écorce et les fleurs des plantes [39]. Abondant dans les légumes [40]. Présents dans les aliments de nature végétale (légumes, céréales, légumineuses, fruits...etc.) et boissons vin, cidre, bière, thé, cacao, etc.). Cette présence est en grande partie influencée par des facteurs génétiques et des conditions environnementales. D'autres facteurs tels que la germination, le degré de maturité, la variété, le traitement et le stockage ont également une influence sur la teneur des composés phénoliques des plantes [41]. Le tableau n° II.7 regroupe la distribution nutritionnelle de certains types de flavonoïdes:

Tableau n° II.7: Sources alimentaires des flavonoïdes

<i>Flavonoïdes</i>	<i>Aliments</i>
<i>Flavanones</i>	
<i>Naringénine</i>	<i>fruits du genre citrus</i>
<i>Flavones</i>	
<i>chrysin</i>	<i>peau des fruits</i>
<i>apigénine</i>	<i>persil, thym, romarin, céleri</i>
<i>lutéoline</i>	<i>persil, céleri</i>
<i>Flavonols</i>	
<i>kaempférol</i>	<i>radis, brocoli, thé noir</i>
<i>quercétine</i>	<i>oignon, pomme, olive, tomate</i>
<i>myricétine</i>	<i>canneberge,</i>
<i>Flavan-3-ols</i>	
<i>épicatechine</i>	<i>thé vert, thé noir</i>
<i>catéchine</i>	<i>thé vert, thé noir</i>
<i>Anthocyanidols</i>	
<i>cyanidine</i>	<i>cassis, myrtilles</i>
<i>malvidine</i>	<i>raisins, fraises, cassis</i>

II. 2. 1. C. 5. PROPRIETES DES FLAVONOIDES

***PROPRIETES PHYSIOLOGIQUES**

Le rôle physiologique des flavonoïdes est mal connu; en raison de leurs structures poly-phénoliques, ils pourraient jouer un rôle dans les chaînes d'oxydo-réduction et modifier certaines réactions concernant la croissance, la respiration et la morphogénèse. De nombreux flavonoïdes, en raison de leur richesse en groupes phénols, sont capables de se fixer sur certaines protéines et enzymes, et de modifier ainsi les équilibres enzymatiques; ils interviendraient à différents stades du développement, notamment lors de la germination.

***PROPRIETES BIOLOGIQUES**

Une des propriétés majeures des flavonoïdes est de contribuer à la couleur des plantes et notamment à celle des fleurs. Or, c'est par la couleur de ses fleurs que la plante exerce un effet attracteur sur les insectes et les oiseaux pollinisateurs, assurant par ce biais une étape fondamentale de sa reproduction. On peut également noter que les flavonoïdes, en repoussant certains insectes par leur goût désagréable, peuvent jouer un rôle dans la protection des plantes [40].

***PROPRIETES THERAPEUTIQUES**

Historiquement, les flavonoïdes présentent un intérêt thérapeutique qui date de la découverte de **la vitamine C** par Szent Gyorgyi (Prix Nobel, 1937) [42], chercheur de l'Université de Szeged (Hongrie), qui a constaté que les symptômes hémorragiques du scorbut, liés à la fragilité ou l'hyperperméabilité des vaisseaux, étaient guéris par des extraits de paprika ou de jus de citron, riches en vitamine C et flavonoïdes. Cette action a été appelée propriété vitaminique P (P étant la première lettre du mot perméabilité).

De nos jours, les propriétés des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités antivirales, anti-tumorales [43], anti carcinogènes [44], anti-inflammatoires [45], hypotenseurs et diurétiques [46], antioxydantes [47]. On peut citer quelques exemples d'activités :

****effets antiallergiques***

Ces effets sont attribués à l'influence des flavonoïdes sur la production de l'histamine. En effet, les flavonoïdes inhibent les enzymes, telles que l'AMP cyclique phosphodiesterase et

ATPase Ca²⁺-dépendante, responsables de la libération de l'histamine à partir des mastocytes et des basophiles. Par exemple, l'ATPase Ca²⁺-dépendante dégrade l'ATP produisant ainsi de l'énergie afin de faciliter l'absorption du calcium par les membranes cellulaires, ce qui favorise la libération de l'histamine stockée dans les vésicules. En inactivant cette enzyme, la quercétine a montré un potentiel d'action supérieur à celui du cromoglycate de sodium utilisé comme médicament en empêchant la libération de l'histamine et d'autres substances endogènes qui causent l'asthme [48].

**effets anti-inflammatoires*

Sous l'action de la cyclooxygénase et la lipooxygénase, l'acide arachidonique se métabolise respectivement en prostaglandines et leucotriènes induisant ainsi des phénomènes inflammatoires. Landolfi et son groupe ont montré que certains flavonoïdes sont capables de modifier le métabolisme de l'acide arachidonique dans les plaquettes [49]. Ils ont même reporté que les effets de la quercétine et la myricétine sont dose-dépendants. A de fortes concentrations, ils inhibent la cyclooxygénase et la lipooxygénase. Cependant à de faibles concentrations, seule la lipooxygénase est affectée. En outre, d'autres flavonoïdes tels que l'apigénine et la chrysin agissent principalement sur l'activité de la cyclooxygénase.

**effets antiulcéreux*

Dans des expériences réalisées sur des rats, il a été démontré que la quercétine et la naringénine jouent un rôle important dans la réduction de l'ulcère et la protection des cellules gastriques. Il a été suggéré que la quercétine exerce son activité via un mécanisme complexe impliquant la production du mucus, le piégeage des radicaux libres, et également l'inhibition de la production de leucotriènes [48].

D'autres études ont permis d'établir une relation étroite entre les propriétés antiulcéreuses de la quercétine, naringénine, rutine et kaempférol, et la production du PAF (Platelet Activating Factor) qui est un agent ulcérogène potentiel [48]. En effet, il s'est avéré que la réduction des dommages gastro-intestinaux est due probablement à l'inhibition du PAF par ces flavonoïdes.

**effets anticancéreux*

Présente pratiquement dans tous les types de thé et en particulier dans le thé vert, la catéchine a montré une activité anti-tumorale [50]. Une telle activité est attribuée à la capacité de ce

flavonoïde d'inactiver le t-PA (tissue-type plasminogen activator) en greffant à celui-ci la laminine, une molécule de la matrice extracellulaire qui joue un rôle important durant la mort cellulaire. La quercétine inhibe la croissance cellulaire en empêchant certaines phases du cycle cellulaire et en bloquant les sites récepteurs des hormones [51].

La croissance cellulaire peut être inhibée également par d'autres mécanismes, à savoir : la stabilisation du collagène, l'altération de l'expression des gènes, et la réduction des radicaux libres [48]. En effet, la catéchine augmente la résistance du collagène [52] et inhibe l'activité de la collagénase [53].

*Les flavonoïdes peuvent aussi empêcher le diabète ou du moins le réduire en inhibant l'enzyme aldose réductase [54]. Ong et Khoo ont reporté que la myricétine possède un effet hypoglycémiant chez des animaux diabétiques [55, 56].

Certains flavonoïdes peuvent entraver l'athérosclérose et par conséquent réduisent le risque des maladies cardiovasculaires [57]. Les effets antiviraux des flavonoïdes ont été également démontrés [58].

II. 2. 2. LES TERPENOÏDES

II. 2. 2. 1. DEFINITION

Les terpénoïdes représentent le groupe le plus âgé des petits produits moléculaires synthétisés par les plantes. Le terme de terpénoïde est attribué à tous les composés possédant une structure moléculaire construite d'un monomère à 5 carbones appelé isoprène, ces composés sont majoritairement d'origine végétale. Ce sont des constituants habituels des cellules végétales, impliqués ou non dans des fonctions métaboliques essentielles [59].

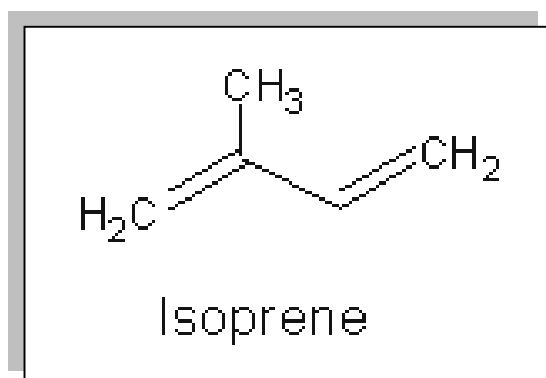
Les terpénoïdes ou isoprénoïdes constituent une classe de substances naturelles extrêmement abondante. Plus de 30 000 composés ont été répertoriés.

Pendant le 19^{ème} siècle, les usines chimiques de térébenthine sont à l'origine de la dénomination «terpéniques» utilisée pour les hydrocarbures de formule générale $C_{10}H_{16}$.

II. 2. 2. 2. STRUCTURE

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte : leur formule brute est $(C_5H_x)_n$ dont le x est variable en fonction du degré d'insaturation de la molécule et n peut prendre des valeurs de 1 à 8 sauf dans les polyterpènes qui comprennent plus de cent unités isopréniques comme dans le cas du caoutchouc. La molécule de base est l'isoprène de formule C_5H_8 (figure n° II.16). Le terme terpénoïde désigne un ensemble de substances présentant le squelette terpénique avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone, etc.) [60, 61].

Figure n° II.16: Structure de base des terpénoïdes



II. 2. 2. 3. LOCALISATION ET CLASSIFICATION

Ces terpènes sont fréquemment trouvés dans les huiles essentielles de plantes qui contiennent la *Quinta Essentia*, le parfum des plantes. Ils sont universellement présents en faible quantité dans les organismes vivants, où ils jouent de nombreux rôles essentiels dans la physiologie des plantes ainsi que des fonctions importantes dans toutes les membranes cellulaires.

Les différentes fonctions de terpènes produits naturels dans le monde naturel ont été examinées [62-63].

Dans le règne végétal, les terpénoïdes sont classés dans la catégorie des métabolites secondaires (avec les flavonoïdes et les alcaloïdes). Leur classification est basée sur le nombre de répétition de l'unité de base isoprène (Tableau n° II.8) :

Tableau n° II.8: les différentes classes des terpénoïdes.

Terpènes	Unités isopréniques	Atomes de carbone
Monoterpènes	2	10
Sesquiterpènes	3	15
Diterpènes	4	20
Sesterpenes	5	25
Triterpènes	6	30
Caroténoïdes	8	40
Caoutchouc	>100	> 500

II. 2. 2. A. LES SESQUITERPENES

II. 2. 2. A. 1. DEFINITION

Les sesquiterpènes sont définies comme le groupe composé de 15 carbones par union de trois unités isoprénoides. On les trouve surtout chez les plantes supérieures, mais également chez les invertébrés.

II. 2. 2. A. 2. REPARTITION, LOCALISATION ET CLASSIFICATION

Les sesquiterpènes, avec les monoterpènes, sont une composante importante des huiles essentielles des plantes. Chez les plantes, ils fonctionnent comme les phéromones et les hormones juvéniles. La grande majorité de sesquiterpènes est présente dans les huiles essentielles. On peut également rencontrer dans les plantes, des lactones sesquiterpéniques variées qui se rattachent toutes au produit de cyclisation cyclocadiénylique, du 2 E, 6 E-farnésyl-pyrophosphate [46].

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) [46].

Les sesquiterpènes se divisent en plusieurs catégories structurelles, acyclique, monocyclique, polycyclique.

***Les sesquiterpènes acycliques**

Ils sont susceptibles d'être dérivés de *trans, trans-farnésyl pyrophosphate* (FPP) qui constitue l'analogie de la génération des monoterpènes acycliques à partir de GPP. Généralement tous les monoterpènes acycliques ont un analogue sesquiterpène direct.

***Les sesquiterpènes monocycliques**

Les sesquiterpènes monocycliques sont divisés principalement en 4 familles: Bisabolane, Germacrane, Elemane et Humulane. Le zingibérène est un exemple de la famille du Bisabolane, que l'on retrouve par exemple dans l'essence de Gingembre. Le periplanone dérivé du germacrane est une phéromone sexuelle chez la blatte.

***Les sesquiterpènes polycycliques**

Parmi les sesquiterpènes polycycliques, le caryophyllène est le plus important, que l'on retrouve principalement dans le poivre et certaines épices.

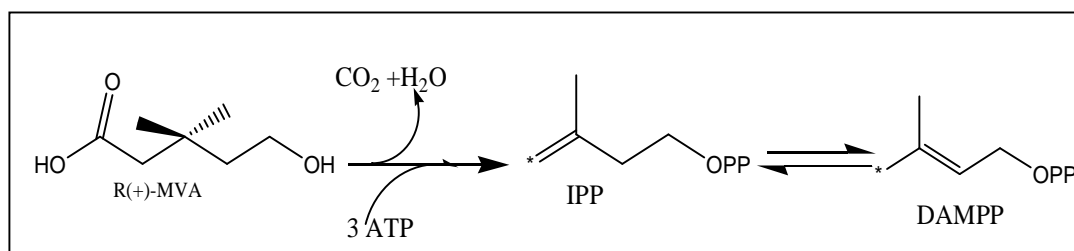
II. 2. 2. A. 3. BIOSYNTHESE DES SESQUITERPENES

Comme on l'a vu précédemment, les terpènes sont des produits d'un enchaînement de leur unité de base, et la biosynthèse de terpènes se déclenche par activation de l'isoprène (activé par ATP). En 1956, un composé en C6 (acide mévalonique, MVA) a été découvert en tant que clé de la biosynthèse des terpénoïdes. Plus tard, son intervention dans le métabolisme du cholestérol a été démontré et la voie métabolique, de l'*acétyl-CoA* jusqu'à l'isoprène actif par l'intermédiaire de MVA, a été élucidée [64].

* La biosynthèse d'unité de base isoprène

Deux molécules d'*acétyl-CoA* réagissent ensemble en donnant la naissance à l'*acétoacétyl-CoA*, lequel en fixant une troisième molécule d'*acétyl-CoA* forme l'*hydroxyméthyl glutaryl-CoA*. Ensuite, la réduction en alcool du carboxyle combiné au CoA conduit à la formation de MVA. En éliminant une molécule de CO_2 , le MVA est converti en isopentenyl pyrophosphate (IPP) ou isoprène actif (figure n° II.17). C'est l'IPP qui constitue l'unité isoprénique d'enchaînement, et il s'isomérise en diméthylallyl pyrophosphate (DMAPP).

Figure n° II.17: Formation de l'isoprène actif (IPP) de l'acide mévalonique et isomérisation en DMAPP



Contrairement à ce que laisse penser un schéma très répandu, il ne semble pas que cette condensation implique une suite du type addition 1, 2 élimination 1, 2. Il est plus vraisemblable qu'il y ait ionisation du pyrophosphate d'allyle synchronisé avec l'alkylation de l'IPP et le départ du proton. Ainsi se trouve explicitée la formation d'une unité en C10, le géranylpyrophosphate (GPP) (figure n° II.18), la même réaction de prénylation peut se poursuivre. L'alkylation du GPP par conduit au farnésylpyrophosphate (FPP). Le FPP à son

tour est alkylé par un DMAPP en géranylgeranylpyrophosphate(GGPP) et ainsi de suite un très grand nombre de fois (figure n° II.19) [46].

Figure n° II.18: Formation d'une unité en C10, le géranylpyrophosphate (GPP).

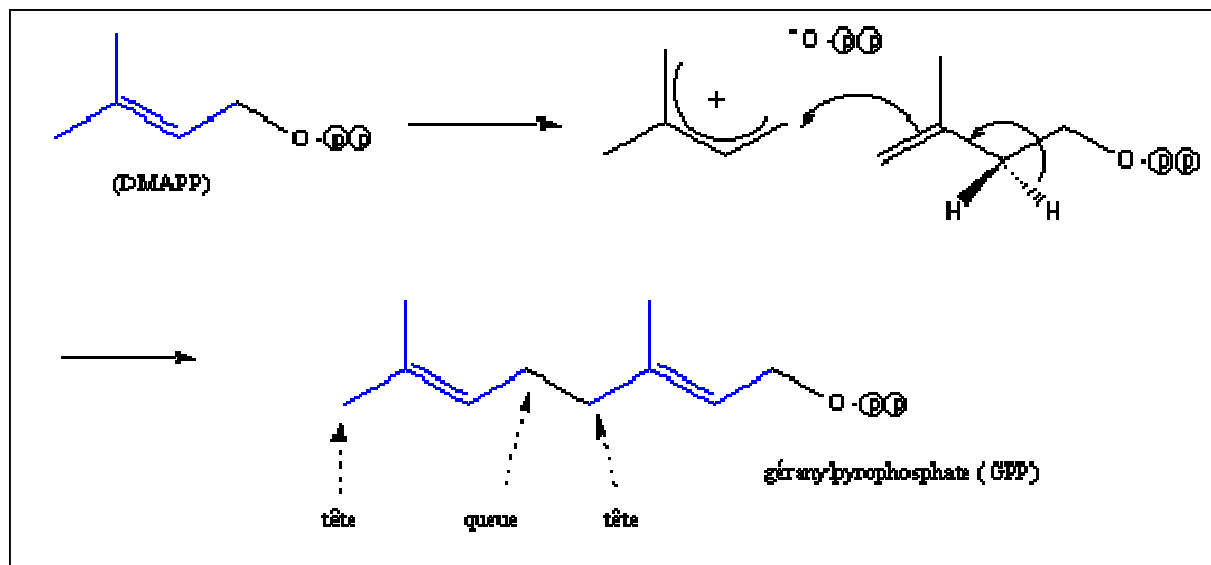
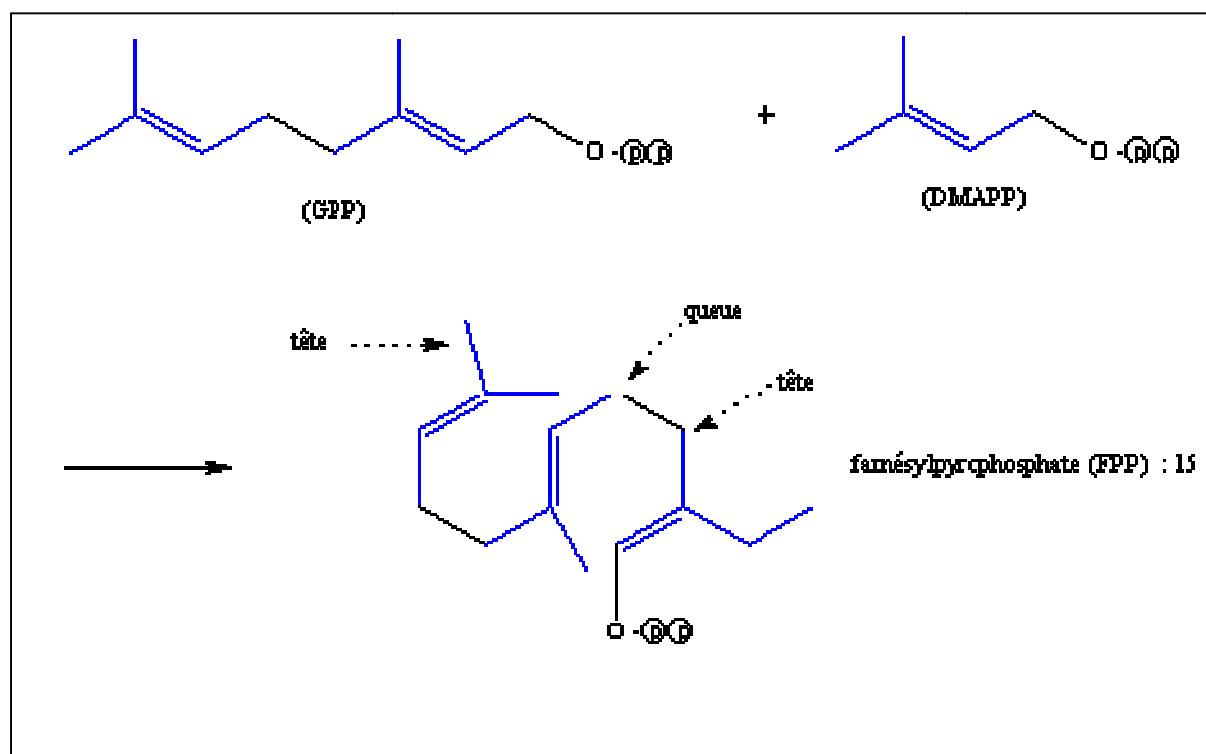
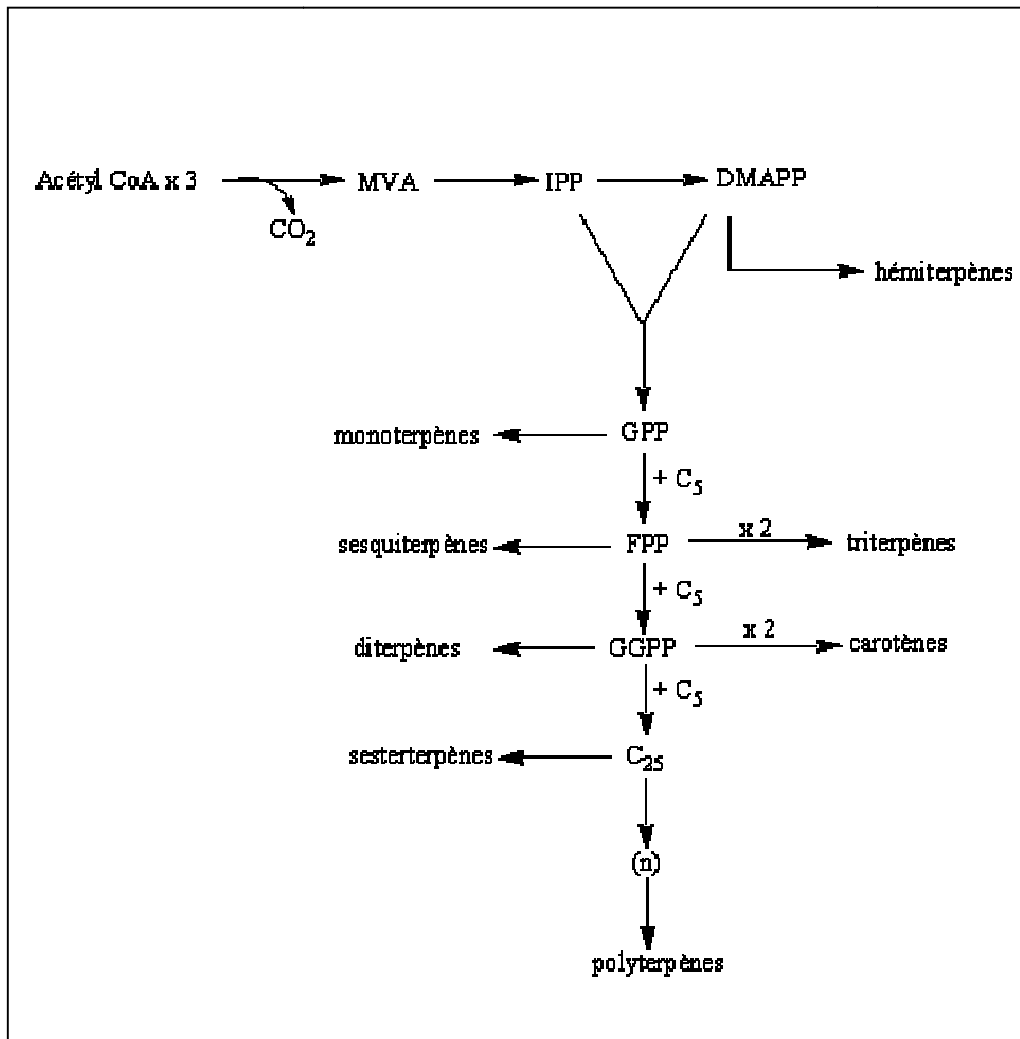


Figure n° II.19: Formation d'une unité en C15, farnésylpyrophosphate (FPP)



Le schéma ci-dessous résume la filiation de l'ensemble des terpènes (figure n° II.20)

Figure n° II.20 : La formation des différentes classes des terpènes.



II. 2. 2. A. 4. PROPRIETES BIOLOGIQUES DES SESQUITERPENES

Les propriétés pharmacologiques des sesquiterpènes sont attribuées aux huiles essentielles qu'ils composent. Un autre groupe de sesquiterpènes est caractérisé par la présence d'une γ -lactone; α -méthylène- γ -lactone et les époxydes fréquents sont des sites réactifs à l'égard des nucléophiles biologiques qui seront alkylés irréversiblement, d'où une large gamme d'activités biologiques. De nombreuses lactones sesquiterpéniques sont antibactériennes et antifongiques, certaines structures sont antiparasitaires, d'autres sont anthelminthiques ou molluscicides [65, 66].

D'autres études concernant les activités biologiques des mono et des sesquiterpènes ont prouvé l'existence des effets : anesthésique, antihistaminique (allergiques), antirhumatisme, diurétique (β -eudesmol), insecticide, analgésique, toxique, antibiotique, anti-inflammatoire, anti cancéreux, irritant et calmant [67, 68].

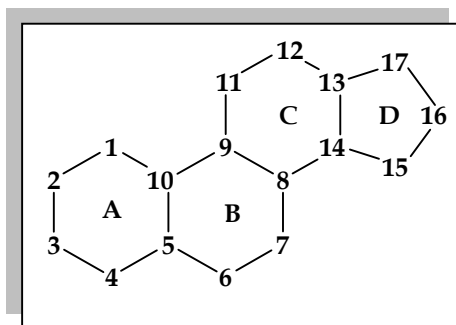
II. 2. 2. B. LES STEROIDES

II. 2. 2. B. 1. DEFINITION

Les stéroïdes ne sont pas des terpènes mais des composés de biodégradation de triterpènes. Ils constituent une classe de composés abondamment présents dans la nature (règne animal et végétal) [46].

Les stérols sont des constituants essentiels des membranes cellulaires. On les trouve aussi bien chez les animaux que dans les végétaux. Tous les stérols ont en commun le même noyau et ils ne diffèrent que par la chaîne latérale. Les molécules stéroïdes se composent de quatre anneaux A, B, C et D qui ont un certain nombre de résidus supplémentaires R (figure n° II.21).

Figure n° II.21: Noyau de base des Stérols



II. 2. 2. B. 2. REPARTITION, LOCALISATION ET CLASSIFICATION

Les stérols, très largement répandus dans le monde vivant, se rencontrent aussi bien chez les bactéries, les champignons, les plantes supérieures, les protozoaires, les métazoaires (spongiaires, madrépores, vers, mollusques...) que chez les algues.

En revanche, pour plusieurs biochimistes, les « stérols constituent une catégorie à part entière incluant les stéroïdes » ainsi que cinq autres sous-classes:

- Les **stérols** et dérivés : cholestérol, phytostérol et stérides ;
- Les **stéroïdes** : œstrogènes, androgènes, gluco- et minéralocorticoïdes ;
- Les **sécostéroïdes** : vitamine D ;
- Les **stéroïdes conjugués** ;

II. 2. 2. B. 3. PROPRIETES BIOLOGIQUES DES STEROIDES

On peut résumer les fonctions biologiques des stéroïdes par les points suivants [33].

- ✓ Dans les plantes, algues, champignons, ainsi que chez les animaux, le cholestérol est la source de tous les métabolites de type stéroïdes.
- ✓ les stérols ont un rôle vital dans la maintenance de l'intégrité structurale de la plupart des structures membranaires des organismes.
- ✓ Ils assistent aussi dans la régulation de la perméabilité de ces membranes aux différents ions.
- ✓ Tous les eucaryotes synthétisent les stérols, ou en ont besoin pour leur diététique.

II. 3. CONCLUSION

Comme il vient d'être décrit sur les composés phénoliques et les terpénoïdes (leur diversité structurale, leur intérêt médicinal et thérapeutique), ces composés se révèlent important pour l'homme. C'est ce qui nous a encouragés à entreprendre ce travail dans le cadre d'un vaste programme initié au laboratoire de valorisation des ressources naturelles de l'université de Constantine.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

- [1] Jeun. J. M; Annie. F; Chrystian. J. L, **2005**, *les composés phénoliques des végétaux*, 203-204.
- [2] Amas, **1997**, *Food and Agricultural Research Council*, Réduit, Mauritius.
- [3] Pichersky. E; Gang. D. R, **2000**, *TIPS*, 5, 439-445
- [4] Dave-Oomah. B, **2003**, *Bulletin IBP*, numéro 1, Canada.
- [5] Boizot. N et Charpentier J. P, **2006**, Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier, INRA - Amélioration génétique et physiologie Forestières, Laboratoire d'analyses biochimiques, *le cahier des technique de l'INRA*, 79- 80.
- [6] Laraoui Habiba, **2007**, étude phytochimique de l'extrait chloroformique de *Bulpleurum atlanticum*, *Thèse de Magister*, Université El Hadj Lakhdar Batna, Option : chimie organique, 35.
- [7] Macheix J. J; Fleuriet. A et Jay-Allemand. C, **2005**, *Les composés phénoliques des végétaux un exemple de métabolites secondaire d'importance économique*, presses polytechnique et universitaires romandes, p Viii, 1, 3, 5, 7, 10.
- [8] Sarni-Manchado. P; Cheynier. V, **2006**, *Les polyphénols en agroalimentaire*, Lavoisier, Editions Tec & Doc, 03.
- [9] Gerhard. R, **1988**, *Métabolisme des Végétaux (Physiologie et Biochimie)*, 5^{ème} édition, Georg Thème Verlog, Rudigestraise 14, D-7000S Stuttgart 30.
- [10] Psotova. J; Lasovsky. J, **2003**, Metal chelating properties, Electrochemical Behavior, Scavenging and cytoprotective Activities of six Natural phenolics, *Biomed. Paper*, 147(2), 147-153.
- [11] Hale. A. L, **2003**, Screening Potato, Genotypes for antioxidants Activity, identification of the responsible compounds, and Differentiating Russet Norkotah Strains Using Aflp and microsatellite Marker analysis. Office of Graduate Studies of Texas A and M University.
- [12] Didry. N; Pinkas. M et Torck. M, **1982**, Sur la composition chimique et l'activité antibactérienne des feuilles de diverse espèce de grindelia, *Pl. Med. Phytother.* XVI: 7 –15.
- [13] Ravn. H; Andary. C; Kovacs. G and Molgaard. P, **1984**, Caffeic acid esters as in vitro inhibitors of plant pathogenic bacteria and fungi, *Biochem. Syst. Ecol*, 17, 175–184.
- [14] Hayase. F and Kato. M, **1984**, Antioxidant compounds of sweet potatoes, *J. Nutri. Sci, Vitaminol*, 30, 37 - 46.
- [15] Murray R. D. H, **1978**, naturally occurring plants coumarines, *Progress in the chemistry of organic natural products*, 200, Ed.Wien-Springer-Verlag, New York,

- [16] Gray. A. I; Wataman. P. G, **1978**, *Phytochemistry*, 17, 845.
- [17] Murray R. D. H, **1963**, *Aromatic, Heteroaromatic Chemistry*, Chemical society Specialist Periodical, Report, 3, 436.
- [18] Bruneton. J, **2009**, *Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales*, 4^{ème} éd, revue et augmentée, Tec & Doc - Éditions médicales internationales, Paris, 1288, (ISBN, 978-2-7430-1188-8).
- [19] Bernfled. P, **1963**, *Biogenesis of Natural Compounds*, Ed. Pergamon Press, Oxford, New York, Paris 568.
- [20] Richter. G, **1993**, *Métabolisme des Végétaux, Physiologie et Biochimie*, 5^{ème} éd, Lausanne, 339.
- [21] Stewart .A. B; **1979**, *Planta Med*, 36 (4), 299
- [22] Gheysen. U; Bellec. A, **1990**, *Acta Pharm*, 275, 68.
- [23] Wolters. B; Erlert. U, **1981**, *Planta Med*, 43 (2), 166.
- [24] Gauron. A; Glowniak. A, **1987**, *Planta Med*, 526.
- [25] Hagmar. B, **1969**, *Pathol Europ*, 4, 283.
- [26] badhwar. R. L; Chopra I. C, Nayar S. L, **1946**, *Ind. J. Agr. Sci*, 6, 342.
- [27] Dall acqua. F; Marciani. S; Vedaldi. D; Rodighiero. G, **1974**, *Z. Naturforsch*, 9C, 635.
- [28] Mabry. T. J and Ulubelen. A, **1980**, Chemistry and utilization of phenylpropanoids including flavonoids, coumarins and lignans, *J. Agric. Food Chem*, 28, 188 - 196.
- [29] Lindelof. B; Sigurgeirsson. B ; Tegner. E ; Larko. O ; Erson. T; **1991** ; Puva. *Cancer : A Large-Scale Epidemiology Study*, Lancet, 338, 91.
- [30] Jurd. L; King. A. D, Mihara. K, **1971**, *Phytochemistry*, 10, 2965.
- [31] Olva, A; Lohoz. E; Contillo. R; Aleotta. G, **1999**, *J. Chem. Ecol*, 25(3), 519.
- [32] Chakroborty. D. P; Dasgupta. A; Bose. P. K, **1957**, *Ann. Biochem. Exp. Med*, 17(2), 59.
- [33] Bruneton. J, **1999**. *Pharmacognosie: phytochimie, plantes médicinales*. Paris.
- [34] Ribirau. G, **1968**, *Les composés phénoliques des végétaux*, édition Dunod. Paris.
- [35] Harborne. J. B and Mabry. T. J, **1982**, *The flavonoids advances in research*, edition Chapman and Hall, London
- [36] Gonnet. J. F, **1989**, *Thèse de doctorat d'état*, Université Claude-Bernard, Lyon.
- [37] Oliver-Bever. B, **1986**, *Medical Plants Intropical West Africa*, Cambridge University press.
- [38] Paris. M et Hurabielle. M, **1981**, *Abrégé de matière médicale (Pharmacognosie)*, Tom I, Edition Masson, Paris, New York.

- [39] Medic-Saric. M; Jasprica. I; Somolcic. B. A, **2004**, Optimisation of Chromatographic conditions in Thin Layer Chromatography of Flavonoids and Phenolic acids, *Croatica Chemica Acta*, 77 (1-2), 361-366.
- [40] Marfak. A, **2003**, Radiolyse Gamma des flavonoides, Etude de leur Réactivité avec les radicaux Issus des alcools : Formation de Depsides, *Thèse de Doctorat*, Spécialité Biophysiques. Université de Limogose, Ecole Doctorale Sciences Biologie Santé, Faculté Faculté
- [41] Lugasi. A; Hovari.J; Sagi. K.V et Biro. L, **2003**, the role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases, *Acta. Biologica. Szgediensis*, 47 (1-4), 119-125.
- [42] Crozier. A; Jensen. E; Lean. M. J; McDonald. M. S, **1997**, Quantitative analysis of flavonoids by reversed-phase high-performance liquid chromatography, *J. ChromatographyA*, 761, 315-321.
- [43] Stavric. B and Matula. T. I, **1992**, Flavonoids in food. Their significance for nutrition and health, Lipid soluble and antioxidants: *Biochemistry and clinical applications*, 274-294, In: Ong Ash and Packer L eds, Basel: Birkhauser Verlag.
- [44] Das. H. C, Wang. J. H and Lien. E. J, **1994**, Carcinogenicity and cancer preventing activities of flavonoids: A structure-system-activity relationship (SSAR) analysis, *Progress in Drug Research*, 133 – 136, Jucker. E ed. Basel: Birkhauser Verlag.
- [45] Bidet. D; Gaignault. J. C; Girard. P et Trotin. F, **1987**, inflammation, allergie, douleur et acide arachidonique: du jardin des Hespérides à la cascade de l'acide arachidonique: Les flavonoïdes. *L'actualité chimique*, 89 - 97.
- [46] Bruneton. J, **1993**, *Pharmacognosie et phytochimie. Plantes médicinales*. Paris, France : Eds Lavoisier
- [47] Aruoma. O. I; Spencer. J. P. E; Butler. J and Halliwell. B, **1995**, Commentary reaction of plant-derived and synthetic antioxidants with trichloromethylperoxyl radicals, *Free Rad. Res*, 22, 187 - 190.
- [48] Di Carlo. G; Mascolo. N; Izzo. A. A; Capasso. F, **1999**, Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs, Review. *Life Sci*, 65, 337-53.
- [49] Landolfi. R; Mower. R. L; Steiner. M, **1984**, Modification of platelet function and arachidonic acid metabolism by bioflavonoids. Structure-activity relations, *Biochem Pharmacol*, 33, 1525-1530.
- [50] Bracke. M; Vyncke. B; Opdenakker. G; Foidart. J. M; De Pestel, G; Mareel. M, **1991**, Effect of catechins and citrus flavonoids on invasion in vitro, *Clin Exp Metastasi*, 9, 13-25

- [51] Larocca. L. M; Giustacchini. M; Maggiano. N; Ranelletti. F. O; Piantelli. M; Alcini, E; Capelli. A, **1994**, Growth-inhibitory effect of quercetin and presence of type II estrogen binding sites in primary human transitional cell carcinomas, *J. Urol*, 152, 1029-1033.
- [52] Scutt. A; Meghji. S; Canniff. J. P; Harvey. W, **1987**, Stabilisation of collagen by betel nut polyphenols as a mechanism in oral submucous fibrosis, *Experientia*, 43, 391- 393.
- [53] Makimura. M; Hirasawa. M; Kobayashi. K; Indo. J; Sakanaka. S; Taguchi, T; Otake. S, **1993**, Inhibitory effect of tea catechins on collagenase activity, *J. Periodontol*, 64, 630-636.
- [54] Chaudhry. P. S; Cabrera. J; Juliani, H. R; Varma, S.D, **1983**, Inhibition of human lens aldose reductase by flavonoids, sulindac and indomethacin, *Biochem Pharmacol*, 32, 1995-1999.
- [55] Ong. K. C; Khoo. H. E, **1997**, Biological Effects of Myricetin, *General Pharmacol*, 29, 121-126.196.
- [56] Ong. K. C; Khoo. H. E, **2000**, Effects of myricetin on glycemia and glycogen metabolism in diabetic rats, *Life Sci*, 67, 1695-1705.
- [57] Hertog. M. G; Feskens. E. J; Hollman. P. C; Katan. M. B; Kromhout. D, **1993**, Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study, *Lancet*, 342, 1007-1011.
- [58] Chu. S. C; Hsieh. Y. S; Lin. J. Y, **1992**, Inhibitory effects of flavonoids on Moloney murine leukemia virus reverse transcriptase activity, *J. Nat. Prod*, 55, 179-183 Genetics, 260.
- [59] Lamarti. A; Badoc. A; Deffieux. G; Carde. J. P, **1994**, biogénèse des monoterpènes : la chaîne isoprenique, *bull. soc. Pharm. bordeaux*, 133, 79 – 99.
- [60] Qureshi. N; Porter. J. W, **1981**, *Biosynthesis of isoprenoid Compounds*, Porter. J. W, Spurgeon. S. L. Eds; Wiley : New York, 1, 47-94
- [61] Cram. D. G. and Mahmoud, G. S, **1968**, *Chimie organique*. 2^{ème} édition. Quatier-villars. 918-930.
- [62] Gershenzon J et al, **2007**, *Nature Chem Biol*, 3, 408.
- [63] Ourisson. G, **1990**, *Pure Appl Chem*, 62, 1401.
- [64] Nes. W. R and McKean. M. L, **1977**, *Biochemistry of steroids and other isoprenoids*, Univ. Park Press, Baltimore, Maryland.
- [65] N. J. White, **1996**, *J. Med. New. Eng*, 335, 800-805.
- [66] Woerdenbag. H. J; Pras. N; Chan. N. G; Bang. B. T; Bos. R; Van Uden. W; Boi. N. V; Lutig. C. B, **1994**, *Planta Med*, 60, 272-275.

[67] Veickovic. A. S; Ristic. M. S; Velickovic. D. T; Ilic .S. N and Mitic. N. D, **2003**, *J. Serb. Chem. Soc*, 68(6), 435-445.

[68] Hisiou-Y. Ding; Yang-ch. Wu and Hang-Ch. Lin, *Journal of the Chinese Chemical Society*, **2000**, 47, 561-566.

CHAPITRE III

TRAVAUX PERSONNELS

III. 1. ETUDE PHYTOCHIMIQUE DE L'ESPECE *CHRYSANTHEMUM* *FONTANESII* (B. et R.)

III. 1. 1. DESCRIPTION BOTANIQUE DE L'ESPECE

- PLACE DANS LA SYSTEMATIQUE

- * **Embranchement:** Angiospermes
- * **Classe:** Dicotylédones
- * **Ordre:** Astérales
- * **Famille:** Compositae
- * **Sous-famille:** Tubiflores
- * **Genre :** *Chrysanthemum*
- * **Espèce:** *fontanesii* (B.et R.)

C'est une plante de 100-150 cm, suffrutescente à la base. Tiges non velues. Capitules larges de moins de 2 cm (1,20 à 1,80). Akènes tous chauves. Feuilles sessiles et amplexicaules, fortement dentées en scie. Bractées extérieures de l'involucre lancéolées-aigues, les intérieures plus amples au sommet, scarieuses (figure n° III.1), elle se trouve dans le Tell Algérois et Constantinois, on peut le trouver sous le nom *Leucanthemum fontanesii* B. et R. ou *Plagiis virgatus* B. et T. C'est une plante endémique pour le nord d'Afrique [1].

Figure n° III.1 : Photo de la plante Chrysanthemum fontanesii (B.et R.)



III. 1. 2. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

La recherche bibliographique que nous avons menée sur l'espèce *C. fontanesii* a montrée que cette plante n'a fait l'objet d'aucune étude phytochimique auparavant.

III. 1. 3. MATERIEL VEGETAL

La plante *C. fontanesii* a été récoltée durant le mois de mai 2003 à Bejaïa. Elle a été séchée à l'ombre et pesée. La détermination botanique a été réalisée par le professeur Kâabache (Département des sciences de la nature et de la vie, Université Ferhat Abbas, Sétif).

III. 1. 4. EXTRACTION

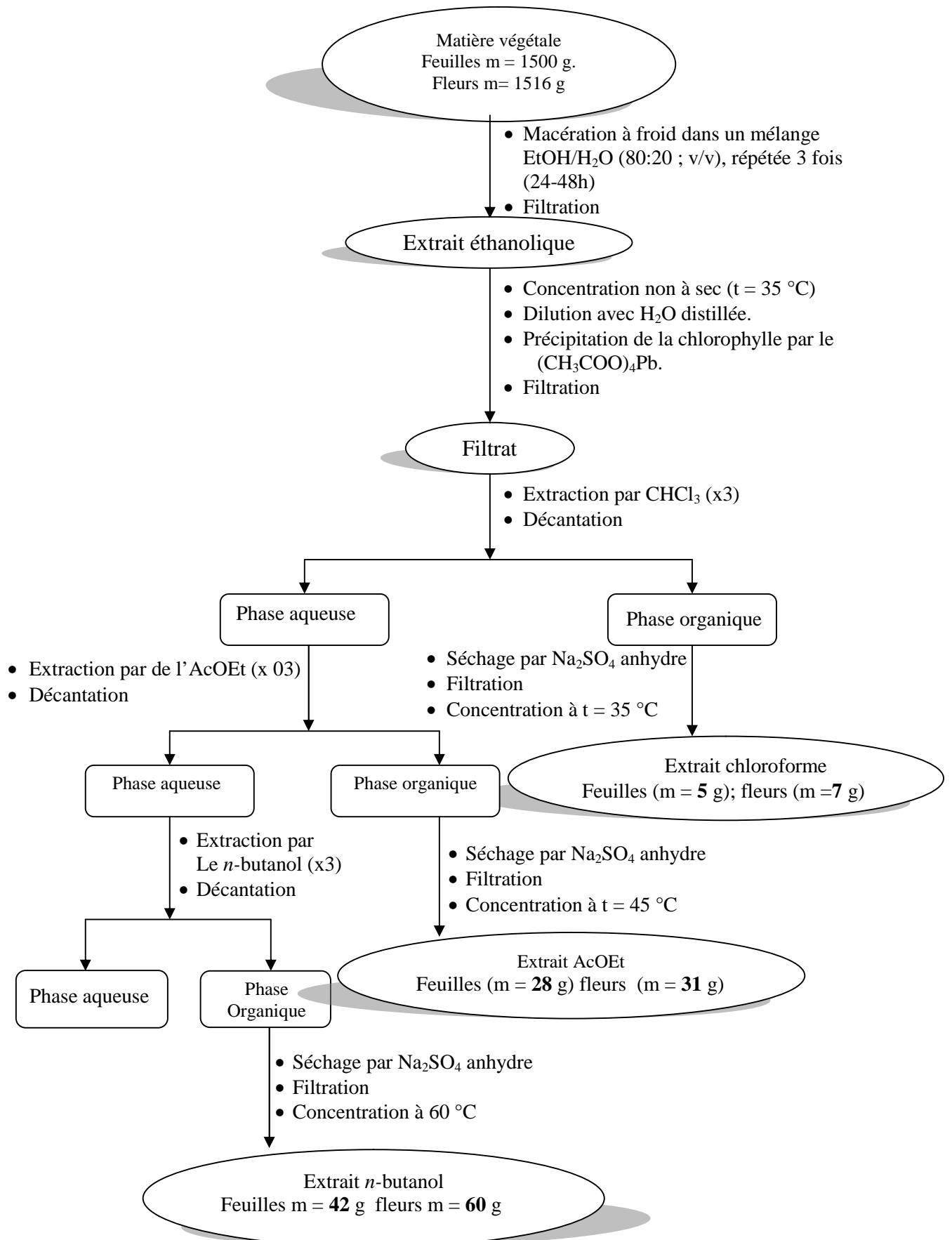
Les parties aériennes de *C. fontanesii* (les feuilles: 1500 g et les fleurs: 1516 g) sont coupées en petits morceaux et mises à macérer dans un mélange éthanol/ eau (80/20) pendant 24 à 48 heures. Cette opération est répétée trois fois avec renouvellement du solvant. Après concentration à une température n'excédant pas 35 °C, nous avons obtenu un résidu sirupeux. Ce dernier est dilué avec de l'eau distillée à raison de 600 ml pour 1kg de matière sèche puis additionné d'acétate de plomb $[(CH_3COO)_4Pb]$ pour éliminer la chlorophylle par précipitation. Après filtration, la phase aqueuse obtenue est épuisée successivement par une extraction liquide-liquide dans une ampoule à décanter en utilisant des solvants non miscibles à l'eau et de polarité croissante en commençant par le chloroforme, puis l'acétate d'éthyle et en dernier le *n*-butanol. Les phases organiques ainsi obtenues (chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol) sont séchées par du sulfate de sodium anhydre pour éliminer toutes traces d'eau, puis filtrées et enfin concentrées à sec sous pression réduite et pesées.

Le processus d'extraction est résumé par l'organigramme suivant (figure n° III.2) et le rendement des phases organiques sont donnés dans le tableau n° III.1.

Tableau n° III.1 : Rendement des extraits.

Matériel végétal	Extrait	Masse (g)	Rendement (%)
FEUILLES (1500 g)	Chloroforme	05	0,33
	Acétate d'éthyle	28	1,87
	<i>n</i> -butanol	42	2,80
FLEURS (1516 g)	Chloroforme	07	0,46
	Acétate d'éthyle	31	2,04
	<i>n</i> -butanol	60	3,96

Figure n° III.2 : Récapitulatif de l'extraction des parties aériennes de *Chrysanthemum fontanesii*.



III. 1. 5. SEPARATION ET PURIFICATION

Pour l'ensemble des extraits, nous avons débuté le traitement par une chromatographie analytique sur couche mince pour mettre au point l'éluant ou le système d'éluion qui donnerait les meilleurs résultats. Les résultats de nos travaux analytiques nous ont poussés à sélectionner l'extrait chloroformique et butanolique à cause de la richesse en produits de ces deux derniers.

III. 1. 5. A. TRAITEMENT DE L'EXTRAIT CHLOROFORMIQUE

L'analyse chromatographique sur couche mince et les spectres proton (RMN ^1H) montrant une grande similitude des deux extraits chloroformiques (feuilles et fleurs), notre préférence s'est portée sur l'étude de l'extrait chloroformique des fleurs, en raison de l'absence du chlorophyle dans ce dernier.

L'extrait chloroformique est soumis à des fractionnements successifs par différentes méthodes chromatographiques conduisant à l'isolement des molécules pures.

Un premier fractionnement de l'extrait chloroformique de *C. fontanesii* a été réalisé par chromatographie d'adsorption sur une colonne de gel de silice.

L'extrait chloroformique est dissout dans du méthanol et mélangé à une petite quantité de gel de silice, l'ensemble est séché sous vide, puis pulvérisé jusqu'à l'obtention d'une poudre homogène. Cette dernière est déposée sur une colonne confectionnée avec 210 g de gel de silice (0,063- 0,200 m, Merck) préparée dans l'hexane, l'éluion est réalisée avec un gradient hexane – acétate d'éthyle, commençant par l'hexane pur, en augmentant la polarité par l'addition progressive de l'acétate d'éthyle puis de méthanol. Des fractions de 25 ml ont été collectées et analysées par chromatographie sur couche mince. Les plaques ont été examinées à lumière UV (254 et 356 nm) et révélées à l'aide de l'acide sulfurique, chauffées pendant 3 mn à 100 °C. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau n° III.2.

Tableau n° III.2: Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de l'extrait chloroforme de *C. fontanesii*.

<i>LOT DE FRACTIONS</i>	SYSTEME D'ELUTION		
	% Hexane	% Acétate d'éthyle	% MeOH
1	100	0	0
2-3	95	5	0
4-16	90	10	0
17-82	70	30	0
83-156	60	40	0
157-230	50	50	0
231-256	40	60	0
257-277	30	70	0
278-284	10	90	0
285-307	0	100	0
308-319	0	90	10
320-360	0	0	100

Les fractions présentant la même composition sont réunies donnant ainsi 24 fractions (tableau n° III.3).

Tableau n° III.3: Résultats des fractions obtenues de l'extrait chloroforme de *C. fontanesii*.

Lots de fractions	N° de la fraction	Poids de la fraction (mg)
1-8	F1	-
9-12	F2	-
13-21	F3	96
22-26	F4	185
27-30	F5	56
31-40	F6	48
41-50	F7	76
51-58	F8	85
59-63	F9	46
64-71	F10	47
72-89	F11	921
90-106	F12	-
107-116	F13	-
117-120	F14	-
121-132	F15	210
133-156	F16	160
157-168	F17	-
169-196	F18	-
197-202	F19	55
203-212	F20	85
213-241	F21	140
242-287	F22	1880
288-298	F23	740,5
398-360	F24	930,5

III. 1. 5. A. 1 CHROMATOGRAPHIE DES FRACTIONS DE L'EXTRAIT CHLOROFORMIQUE

- **ETUDE DE LA FRACTION W = (F6+F7+F8+F9+F10)**

Les fractions F6, F7, F8, F9, F10 sont presque identiques et présentent de faibles quantités. Elles ont été réunies en une seule fraction désignée par **W** (300 mg), le mélange de ces fractions est déposé sur une colonne de gel de silice, préparée dans une petite quantité de chloroforme, éluée par le système hexane / acétate d'éthyle avec des polarités croissantes. Le suivi de la séparation et le rassemblement final des fractions, ont été effectués sur la base d'analyses par CCM analytique. Le résultat de la progression de cette colonne est illustré sur le tableau n° III.4.

Tableau n° III.4: Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne du mélange W.

LOT DE FRACTIONS	N° DE LA FRACTION	SYSTEME D'ELUTION		
		% Hexane	% acétate d'éthyle	Poids de la fraction (mg)
1-8	W1	100	0	05
9-22	W 2	95	5	03
23-26	W 3	95	5	11
27-33	W 4	95	5	11,5
34-52	W 5	95	5	12
53-68	W 6	90	10	02
69-73	W 7	80	20	13,5
74-93	W 8	80	20	07,5
94-110	W 9	0	100	04,5

* Etude la sous fraction W4

La sous fraction W4 est purifiée sur des plaques préparatives de gel de silice GF 254 en utilisant le système d'éluion hexane /acétone (4/1), a menée à l'obtention du produit pur **W4-1** de faible quantité (3,5 mg).

* Etude de la sous fraction W5

La sous fraction W5 a été recristallisé dans le système $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (avec un peu de chloroforme), après chauffage, filtration, séchage lent (à l'air libre), des cristaux sous forme d'aiguilles blanches sont formés. Ces derniers insolubles dans le méthanol, sont purifiés par lavages successifs à l'aide de ce solvant que nous notons **W5-1** (5,5 mg).

*Etude de la sous fraction W7

La CCM de la sous fraction W7 a montré la présence de trois taches visibles après révélation. Nous avons donc procédé à la séparation de ces composés par chromatographie sur plaques de gel de silice en utilisant le système d'élution hexane / acétate d'éthyle (7/3) pour obtenir le produit W7-1 (3,2 mg) et W7-2, W7-3 sous forme de traces.

• ETUDE DE LA FRACTION F15

Après analyse sur une plaque analytique de gel de silice, la fraction **F15** (210 mg) a subit une séparation sur plaques préparatives de gel de silice HF254 avec le système $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{COCH}_3$ (12/1) pour donner trois composés **F15-1**, F15-2, F15-3, avec une intensité plus marquée pour le premier composé, le tableau n° III.5 rassemble les résultats de cette séparation.

Tableau n° III.5 : Résultats de la séparation par chromatographie sur plaque de la fraction F15.

<i>Produits</i>	<i>Poids</i>	<i>Observations</i>
F15-1	45 mg	Poudre jaune, mono-tache, absorbe sous UV 356, couleur jaune après révélation
F15-2	20 mg	Poudre jaune, mono-tache, absorbe sous UV 356, couleur jaune après révélation
F15-3	10 mg	Mélange

• ETUDE DE LA FRACTION F16

La fraction **F16** (160 mg) a subi une séparation sur plaques préparatives (gel de silice F254) en utilisant comme éluant, le système $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (16/1) pour donner deux composés **F16-1**, **F16-2** (produit majoritaire). Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau n° III.6.

Tableau n° III.6: Résultats de la séparation par chromatographie sur plaque de la fraction F16.

<i>Produits</i>	<i>Poids</i>	<i>Observations</i>
F16-1	10 mg	Mono-tache, absorbe sous UV 254, couleur violet après révélation
F16-2	100 mg	Poudre jaune, Mono-tache, absorbe sous UV 356, couleur jaune après révélation

• ETUDE DE LA FRACTION F19

La fraction **F19** (55 mg), a subi une séparation sur plaques préparatives de gel de silice, avec le système éluant $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (07/0,5). Après trois éluations, nous avons obtenus trois sous fractions : **F19-a** faible quantité, **F19-b** (11 mg) et **F19-C** (mélange). Les résultats de cette opération reportée sur le tableau n° III.7.

Tableau n° III.7: Résultats de la séparation par chromatographie sur plaque de la fraction F19.

<i>Produits</i>	<i>Poids</i>	<i>Observations</i>
F19-a	08 mg	mono-tache, invisible sous UV.
F19-b	11 mg	Poudre jaune, mono-tache, absorbe sous UV 356, couleur jaune après révélation
F19-C	18 mg	Mélange

***Etude de la sous Fraction F19-C**

La rechromatographie de cette sous fraction sur plaques préparatives de gel de silice, éluées par le système dichlorométhane / méthanol (9/1), a permis d'isoler deux produits **F19-C1** et **F19-C2**

• ETUDE DE LA FRACTION F20

Après analyse sur une plaque analytique de gel de silice, la fraction (85 mg) a subi une séparation sur plaques préparatives de gel de silice HF254 éluée par le système chloroforme/méthanol (14/1), pour donner quatre bandes F20-a, F20-b, F20-C et F20-d. Les résultats de cette séparation sont regroupés dans le tableau n° III.8

Tableau n° III.8: Résultats de la séparation par chromatographie sur plaque de la fraction F20

Produits	Poids	Observations
F20-a	05,5 mg	mono-tache, absorbe sous UV 254 avec une couleur noire
F20-b	11 mg	Poudre jaune, mono-tache, absorbe sous UV 356, couleur jaune après révélation.
F20-C	22,5 mg	Deux -taches, invisible sous UV, couler vert foncé après révélation
F20-d	03 mg	mono-tache, absorbe sous UV 356 (bleue fluorescent)

* Etude de la sous fraction F20-C

La sous fraction F20-C d'une masse de 22,5 mg, après une séparation sur plaques préparatives de gel de silice HF254 éluées par le système chloroforme/méthanol (14/1)), a permis l'isolement de deux produits F20-C1 (09 mg) et F20-C2 (07 mg).

• ETUDE DE LA FRACTION F 21

La fraction F21 (140 mg), a subi une séparation sur plaques de gel de silice, éluées par le système: CHCl₃/MeOH (14/1), menant aux composés F21-1, F21-2, F21-3 et F21-4. Les résultats de cette opération sont réunis dans le tableau n° III.9.

Tableau n° III.9: Résultats de la séparation par chromatographie sur plaque de la fraction F21

<i>Produits</i>	<i>Poids</i>	<i>Observations</i>
F21-1	03 mg	mono-tache, absorbe sous UV 254, couleur bleue
F21-2	05 mg	mono-tache, absorbe sous UV 356, bleue fluorescent.
F21-3	07mg	mono-tache, absorbe sous UV 254, couleur noir
F21-4	15 mg	poudre jaune, mono-tache, absorbe sous UV 356, couleur jaune après révélation

III. 1. 5. B. TRAITEMENT DE L'EXTRAIT BUTANOLIQUE

Une colonne chromatographique a été utilisée pour la séparation de la phase *n*-butanolique (fleurs, 20 g) en utilisant comme phase stationnaire le polyamide. L'extrait butanolique dissout dans le méthanol est mélangé à une petite quantité de polyamide, l'ensemble est séché sous vide, puis pulvérisé jusqu'à obtention d'une poudre homogène. Ce dernier est déposé sur une colonne polyamide, préparée dans le toluène, l'élution est réalisée par un gradient de polarité toluène/méthanol. Les résultats de la progression de cette colonne sont regroupés dans le tableau n° III.10.

Le suivi de la composition des fractions a été effectué par chromatographie :

- sur couche mince de gel de silice (60 F₂₅₄ sur feuilles d'aluminium). Les plaques ont été visualisées à la lumière du jour et sous lampe UV à 365 nm, puis révélées avec l'acide sulfurique et chauffées pendant 3 mn à 100 °C.
- sur plaque de polyamide dans les deux systèmes (toluène/ méthylethylcétone/ ethanol (4/3/3) et eau/methanol/ methylethylcetone/acethylacetone (13/3/31).
- sur papier Wattman (N⁰ 3) en utilisant le système d'élution acide acétique (30 %).

Les lots (50 ml) de même composition sont rassemblés donnant 21 fractions.

Tableau n° III.10 : Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de l'extrait butanolique de C. fontanesii.

LOT DE FRACTIONS	N° DE LA FRACTION	SYSTEME D'ELUTION		
		% Toluène	% Méthanol	Poids de la fraction (mg)
1-2	F1	100	0	180,2
(3-4), (5-7)	F2, F3	98	2	/
(8-15), (16-19)	F4, F5	95	5	/
20-23	F6	90	10	450,5
24-34	F7	85	15	635,0
35-38	F8	80	20	750,5
39-40	F9	70	30	369,5
41-42	F10	70	30	430,5
43-46	F11	70	30	345,3
47-50	F12	60	40	445,5
51-53	F13	60	40	755,5
54-61	F14	60	40	530,5
62-63	F15	50	50	890,3
64- 71	F16	50	50	925,5
72-75	F17	50	50	333
76-78	F18	40	60	1290,5
79-81	F19	40	60	1180,5
82-89	F20	40	60	1750
90-100	F21	30	70	470,1
101-120	F22	30	70	1620,5
121-141	F23	30	70	/
142-153	F24	20	80	/
154-166	F25	20	80	/
167-180	F26	20	80	/
181-190	F27	10	90	/
191-200	F28	10	90	/
201-220	F29	0	100	/
221-250	F30	0	100	précipité

L'analyse chromatographique des différentes fractions de l'extrait butanolique sur différents supports a permis d'observer plusieurs taches empêtrées dans une trainée qui s'est avéré difficile à séparer. Cette analyse nous a permis néanmoins de sélectionner les fractions **F20**, **F22**, **F30**. Les autres fractions sont assez complexes.

- **ETUDE DE LA FRACTION F20**

1750 mg de la fraction F20 ont été chromatographié sur une colonne de gel de silice 200-400 mesh, préparée dans le méthanol, éluée par le système méthanol/Eau (9,5/0,5) en mode isocratique. L'étude de cette fraction a été effectuée comme suit (tableau n° III.11) :

Tableau n° III.11: Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne du mélange F20.

LOT DE FRACTIONS	N° DE LA FRACTION	SYSTEME D'ELUTION		
		% Methanol	% Eau	Poids de la fraction (mg)
1-11	F20-1	95	5	120,5 (mélange)
12-29	F20-2	95	5	130,5 (mélange)
30-42	F20-3	95	5	260,9 (mélange)
43-58	F20-4	95	5	110,6
59-72	F20-5	95	5	/
73-90	F20-6	95	5	/

- ***Purification de la sous fraction F20-4**

Une purification de la sous fraction F20-4 sur une colonne de Sephadex LH-20 éluée par le méthanol a mené à l'obtention du composé **F20-42**.

- **ETUDE DE LA FRACTION F22**

Cette fraction subit une chromatographie sur une colonne de gel de silice 200-400 mesh, éluée avec un système acide acétique/acétate d'éthyle/ Eau (9/0,5/0,5) en mode isocratique. Les résultats de cette séparation sont regroupés dans le tableau n° III.12, on obtient cinq sous fractions F22-1, F22-2, F22-3, F22-4 et F22-5.

Tableau n° III.12: Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de la fraction F22.

LOT DE FRACTIONS	N° DE LA FRACTION	SYSTEME D'ELUTION			
		% acide acétique	% acétate d'éthyle	% Eau	Poids de la fraction (mg)
1-15	F22-1	9	0,5	0,5	-
16-32	F22-2	9	0,5	0,5	50,5
33-46	F22-3	9	0,5	0,5	18,5
47-60	F22-4	9	0,5	0,5	-
61-100	F22-5	9	0,5	0,5	20,5

***Purification de la sous fraction F22-2**

La sous fraction F22-2 a été purifiée sur une colonne de Séphadex LH-20 éluée par le méthanol, a mené à l'obtention du composé **F22-2** pur (19,5 mg) sous forme de cristaux.

***Purification de la sous fraction F22-5**

La sous fraction F22-5 est purifiée sur plaque CCM de gel de silice, dans le système: acétate d'éthyle/ MeOH (9/1) mg a mené à l'obtention du produit pur que nous notons **F22-5**.

• ETUDE DE LA FRACTION F30

La fraction F30 d'une masse de 21,5 mg (sous forme de poudre) est purifiée par lavage successifs à l'aide du méthanol, le spectre RMN ¹H de cette poudre a révélé un produit pur que nous notons **F30-2-1**.

III. 2. ETUDE PHYTOCHIMIQUE DE L'ESPECE *RHANTHERIUM SUAVEOLENS* Desf

III. 2. 1. DESCRIPTION BOTANIQUE

- PLACE DANS LA SYSTEMATIQUE

Rhantherium Suaveolens appartient à:

***Embranchement:** Angiospermes

***Classe:** Dicotylédones

***Ordre:** Astérales

***Famille:** Compositae

***Sous-famille:** Tubiliflore

***Genre :** *Rantherium*

***Espèce :** *Suaveolens*

A une tige ligneuse, droite, divisée en rameaux cotonneux blanchâtres, grêles, roides , très-divergents, munis de petites feuilles alternes, sessiles, lancéolés, très pointues et un peu recourbées au sommet, épaisses, coriaces, entières, glabres en dessus et pubescentes en dessous. Les calathides sont petites, terminales et solitaires ; elles sont composées de fleurs jaunes dont l'involucre est très glabre, presque luisant (figure n° III.3). Elle est endémique pour le nord d'Afrique [1],

Figure n° III.3 : Photo de la plante Rhantherium Suaveolens Desf.



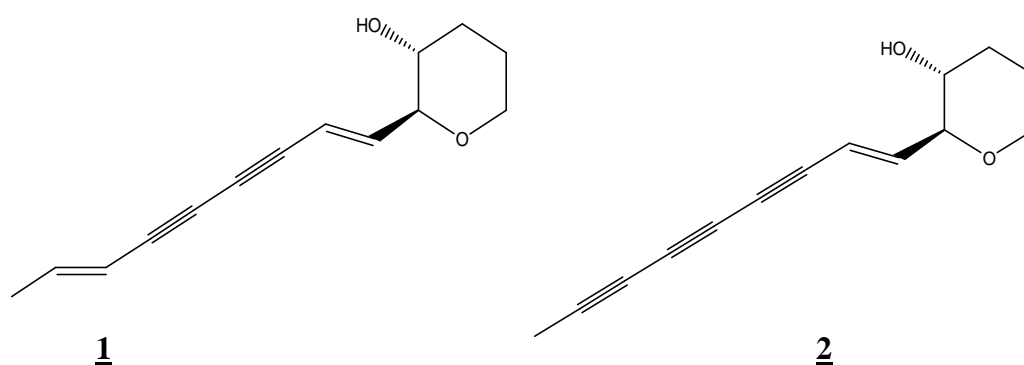
III. 2. 2. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

L'espèce *Rhantherium Suaveolens* a fait l'objet d'une seule étude relativement récente qui a montré que cette plante est riche aux composés poly-acétyléniques, en terpènes et en coumarines:

* Dans leur étude phytochimique sur les parties aériennes de *Rhantherium Suaveolens* Habib Oueslati et ses collaborateurs ont pu isoler pour la première fois deux alcools tetrahydropyraniques polyacétyléniques [2]:

(2S, 3R, 1'E, 7'E)-tetrahydro-2-(nona-1', 7'- diène-3',5'-diynyl)pyran-3-ol **1** et

(2S, 3R, 1'E)-tetrahydro-2-(nona-1'-ène-3',5',7'-triynyl)pyran-3-ol **2** [2]



* Cinq nouveaux céramides ont été isolés aussi de l'extrait méthanolique de *Rantherium Suaveolens* par la même équipe [3]:

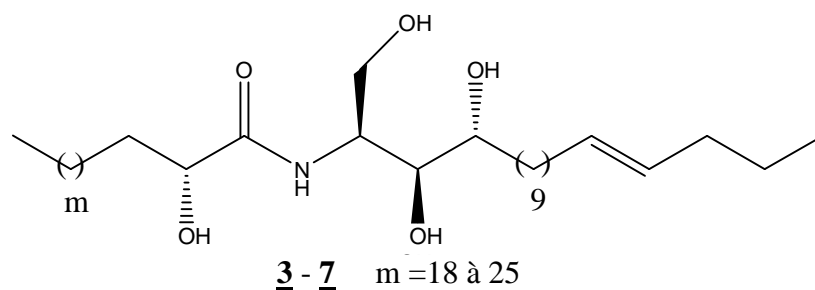
(2S, 3S, 4R, 2'R, 14 E)-2-(2'-hydroydocosanoylamino)-14-octadecene-1, 3, 4-triol **3**.

(2S, 3S, 4R, 2'R, 14 E)-2-(2'-hydroxytricosanoylamino)-14-octadecene-1, 3, 4-triol **4**.

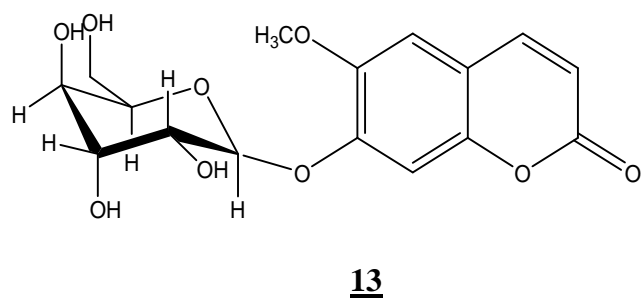
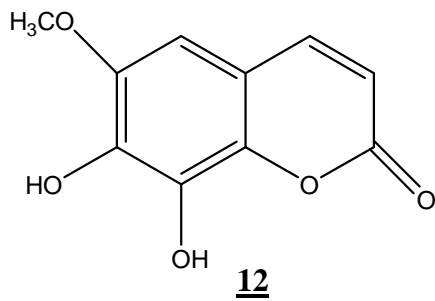
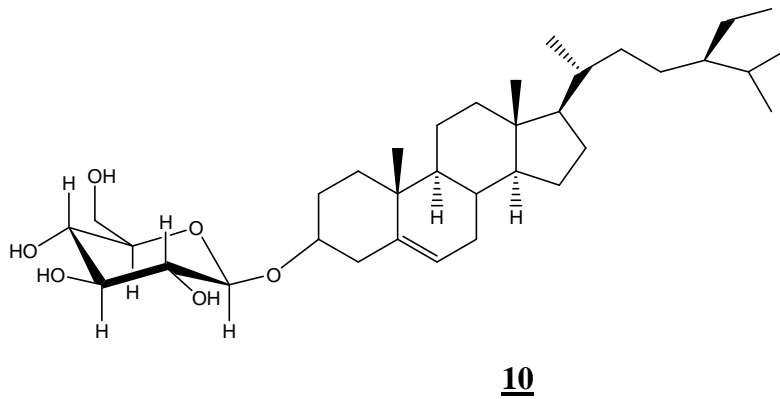
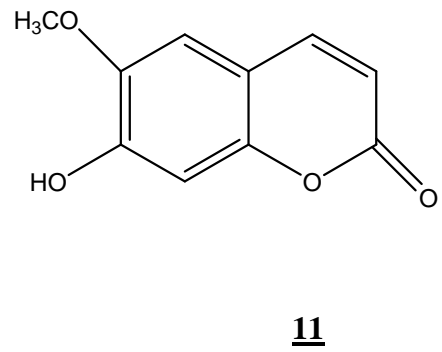
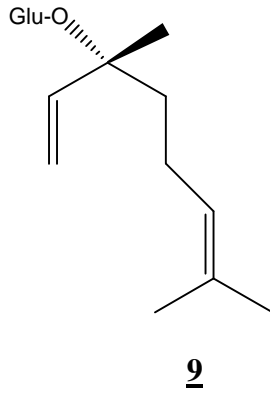
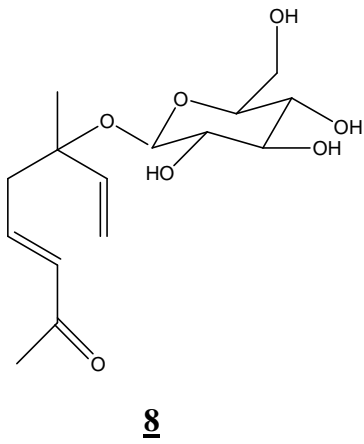
(2S, 3S, 4R, 2'R, 14 E)-2-(2'-hydroxytetracosanoylamino)-14-octadecene-1, 3, 4-triol **5**.

(2S, 3S, 4R, 2'R, 14 E)-2-(2'-hydroxypentacosanoylamino)-14-octadecene-1, 3, 4-triol **6**.

(2S, 3S, 4R, 2'R, 14 E)-2-(2'-hydroxyhexacosanoylamino)-14-octadecene-1, 3, 4-triol **7**.



* Une autre étude phytochimique par la même équipe a permis d'identifier un nouveau C₉ nor-isoprenoid: 3-methyl-octa-1, 5-diène-7-one-3-O-β-D-glucopyranoside **8**, nommé ranthenone glucoside et cinq composés connus: 9-hydroxylinaloyl glucoside **9**, sitostérol-3β-O-glucopyranoside **10**, scopolétine **11**, fraxetine **12** et scopoline **13** [4].



III. 1. 3. MATERIEL VEGETAL

La plante *Rhantherium Suaveolens* Desf a été récoltée durant le mois d'Avril 2003 à Ouargla. La plante a été séchée pendant plusieurs jours à l'ombre et pesée. La détermination botanique a été réalisée par le professeur Kaabache (Département des sciences de la nature et de la vie, Université Ferhat Abbas, Sétif)

III. 2. 4. EXTRACTION

Les parties aériennes de la plante, feuilles et fleurs (1290 g) sont séchées puis finement broyées. La poudre obtenue est mise à macérer dans un mélange éthanol/ eau (80/20). Cette opération est répétée 03 fois avec renouvellement du solvant et dure à chaque fois de 24 à 48 heures. Après filtration et concentration, la phase aqueuse obtenue subit une série d'extraction liquide-liquide en utilisant des solvants non miscibles à l'eau et de polarité croissante en commençant par le chloroforme qui extrait les produits peu polaires, puis l'acétate d'éthyle qui extrait les produits moyennement polaires et en dernier le *n*-butanol qui entraîne les composés polaires et la majorité des hétérosides. Les phases organiques sont séchées par du sulfate de sodium anhydre pour éliminer toute trace d'eau, puis filtrées et enfin concentrées à sec sous pression réduite et pesées. Le processus d'extraction est résumé par l'organigramme suivant (figure n° III.4):

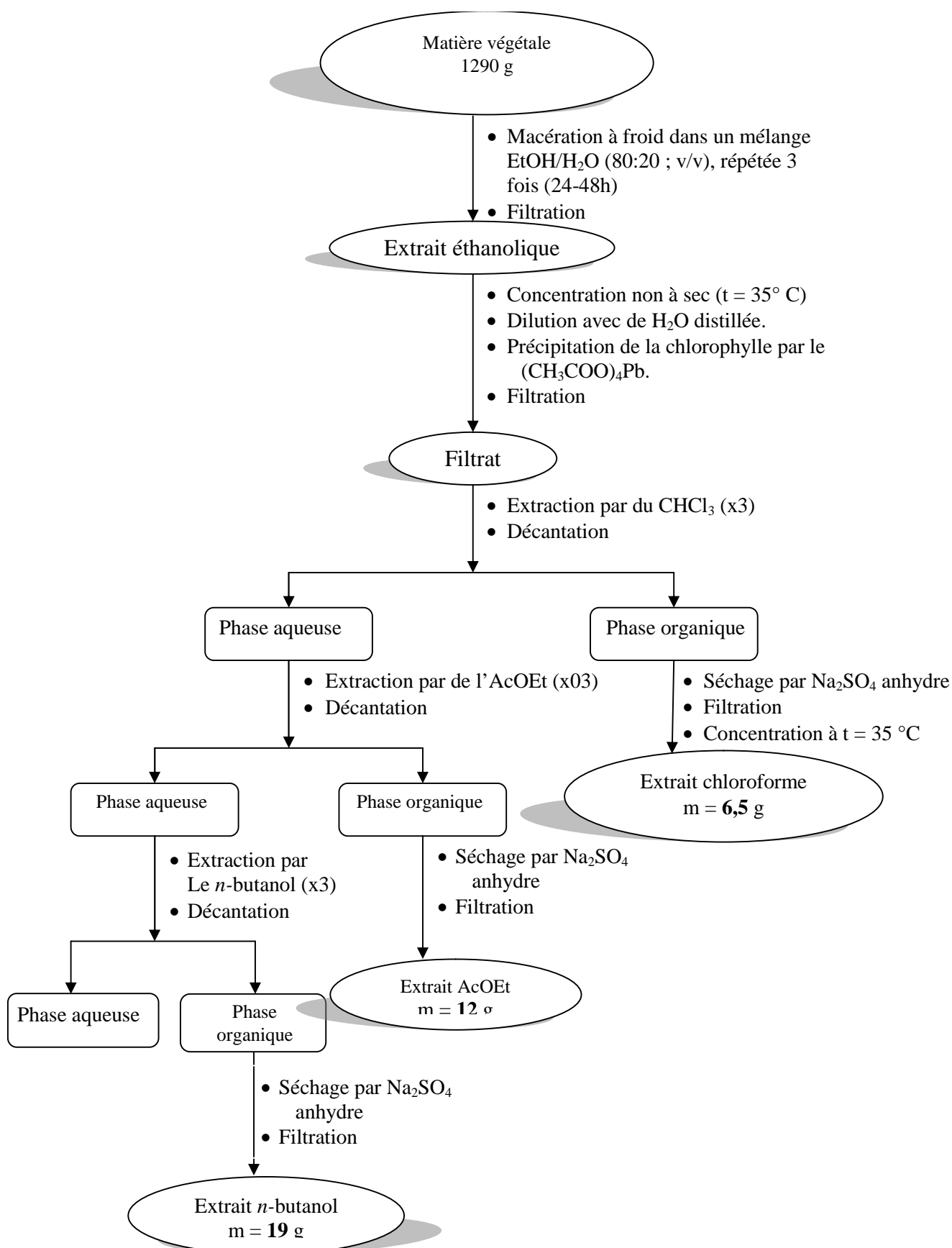
Le rendement des phases organiques sont donnés dans le tableau n° III.13.

Tableau n° III.13 : Rendement des extraits.

Matériel végétal	Extrait	Masse (g)	Rendement
Parties aériennes (1290 g)	Chloroforme	6,5	0,50 %
	Acétate d'éthyle	12	0,93 %
	<i>n</i> -butanol	19	1,50 %

Figure n° III.4: Récapitulatifs de l'extraction des parties aériennes de

Rhantherium Suaveolens



III. 2. 5. SEPARATION ET PURIFICATION

Notre travail a porté sur l'extrait acétate à cause de sa richesse en produits, le meilleur système de séparation pour l'extrait acétate est un gradient de polarité croissante basé sur le mélange $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$.

III. 2. 5. A. TRAITEMENT DE L'EXTRAIT ACETATE D'ETHYLE

L'extrait acétate d'éthyle dissout dans le méthanol, est mélangé à une petite quantité de gel de silice, l'ensemble est séché sous vide, puis pulvérisé jusqu'à obtention d'une poudre homogène. La poudre est chromatographiée sur une colonne de gel de silice (0,063-0,200 m, 230-400 mesh, Merck H60) préparé dans le dichlorométhane. La masse de gel de silice utilisée est de 400 g éluée par le système dichlorométhane/méthanol. Les fractions recueillies sont regroupées suivant la similitude de leur profil chromatographique en couche mince sur des plaques de gel de silice (60 F_{254} sur feuilles d'aluminium). Les plaques ont été visualisées à la lumière du jour et sous lampe UV à 254 et 365 nm, puis révélées avec l'acide sulfurique et chauffées pendant 3 mn à 100 °C. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau n° III.14.

Tableau n° III.14 : Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de l'extrait acétate d'éthyle de *R. suaveolens*.

Lot de fractions	N° de la fraction	SYSTEME D'ELUTION		
		% Dichloromethane	% Méthanol	Poids de la fraction (mg)
1-4	F0	100	0	/
5-32	F1	99	1	/
33-78	F2	97,5	2,5	55
80-83	F3	97,5	2,5	145,5
85-95	F4	97,5	2,5	129,5
96-102	F5	97,5	2,5	29,5
103-114	F6	96,5	3,5	244
115-127	F7	96,5	3,5	228
128-164	F8	95	5	152,5
165-183	F9	95	5	380,5
184-195	F10	90	10	770
196-211	F11	90	10	840,5
212-221	F12	80	20	810,5
222-227	F13	80	20	730
228-233	F14	80	20	700,5
234-242	F15	80	20	910,5
243-267	F16	70	30	880
268-284	F17	50	50	1740,5
284-300	F18	0	100	1120,5

III. 2. 5. A. 1. CHROMATOGRAPHIE DES FRACTIONS DE L'EXTRAIT ACETATE D'ETHYLE

• ETUDE DE LA FRACTION F2

Une purification de la fraction **F2** d'une masse 55 mg dans le système dichloromethane 100 % menant au composé **F2-a** (15 mg) qui apparaît sous forme d'une mono tache marron sur plaque analytique de gel de silice et après révélation d'une couleur violette foncée.

• ETUDE DE LA FRACTION F5

La chromatographie de cette fraction sur plaque préparative de gel de silice éluées par le système benzène/acétate d'éthyle(1/1), a permis d'isoler deux produits F5-1 et F5-2. Le tableau n° III.15 montre les résultats de cette séparation.

Tableau n° III.15: Résultats de la séparation par chromatographie CCM de la fraction F5.

<i>Produits</i>	<i>Poids</i>	<i>Observations</i>
F5-1	9,2 mg	Poudre jaune, mono-tache, absorbe sous UV 356 d'une couleur jaune.
F5-2	10,5 mg	mono-tache, absorbe sous UV 254, une couleur violette

• ETUDE DE LA FRACTION F6

La fraction F6 (244 mg), est chromatographiée sur une colonne de gel de silice dans le système dichlorométhane/acétone avec des polarités croissantes. Le suivi de la séparation et le rassemblement final des fractions ont été effectué sur la base d'analyses par CCM analytique. Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau n° III.16.

Tableau n° III.16: Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de la fraction F6.

<i>Lots (25 ml)</i>	<i>% CH₂Cl₂</i>	<i>% Acétone</i>	<i>Volume (ml)</i>	<i>Les sous fractions</i>
1-16	100	0	300	1-35 = O-1 (75 mg)
17-38	99	1	500	36- 45 = O-2 (28 mg)
39-64	97	3	700	47 – 100 = O-3 (70 mg)
65-100	95	5	500	/

* Etude de la sous fraction O-2

La sous fraction O-2 a été soumise à la chromatographie sur plaques préparatives de gel de silice HF254 éluées par le système CH₂Cl₂/MeOH (9,7/0,3), Après trois éluions, trois produits purs ont été obtenus **O2-1** d'une faible quantité (2,5 mg), **O2-2** (4,5 mg) et **O2-3** (5,5 mg). Les résultats de cette opération sont regroupés dans le tableau n° III.17.

Tableau n° III.17: Résultats de la séparation par chromatographie CCM de la sous fraction O-2.

<i>Produits</i>	<i>Poids</i>	<i>Observations</i>
O2-1	2,5 mg	mono-tache, absorbe sous UV 356 d'une couleur violette
O2-2	4,5 mg	mono-tache, absorbe sous UV 356 d'une couleur violette
O2-3	5,5 mg	absorbe sous UV 356 d'une couleur jaune

* Etude de la sous fraction O-3

La sous fraction **O-3** a été purifiée sur plaque de gel de silice dans le système hexane/acétate d'éthyle (1/1). Après trois éluions, deux produits purs ont été obtenus **O3-1** (5 mg) que nous notons **RSO3-1**, **C3-1** (9 mg) que nous notons **RSC3-1**.

• ETUDE DE LA FRACTION F7

Une partie de la fraction F7 est précipitée sous forme d'une poudre dans le méthanol, cette dernière est purifiée sur plaque de gel de silice dans le système CHCl₃/Acétone (8/2) éluee trois fois pour donner le composé **PF71** (testé par l'ammoniac, il donne une coloration jaune caractéristique d'un flavonoïde).

L'autre partie de la fraction F7 a subit une séparation sur plaques de gel de silice, éluées par le système: CHCl₃/MeOH (9/1), menant un composé sous forme de cristaux blancs, que nous notons **27C-1**.

• ETUDE DE LA FRACTION F8

La fraction F8 a été soumise à la chromatographie sur plaques préparatives de gel de silice HF₂₅₄ éluées par le système CHCl₃/Acétone (8/2). Après trois éluions, cinq composés ont été obtenus F8-1, F8-2, F8-3, F8-4 et F8-5. Les résultats de cette opération sont regroupés dans le tableau n° III.18.

Tableau n° III.18: Résultats de la séparation par chromatographie CCM de la fraction F8.

Produits	Poids	Observations
F8-1	12,3 mg	Deux taches plus proches.
F8-2	20,5 mg	mono-tache, absorbe sous UV 356 d'une couleur violette
F8-3	19,0 mg	absorbe sous UV 254 d'une couleur maron
F8-4	45,0 mg	mono-tache, absorbe sous UV 356 d'une couleur violette
F8-5	20,0 mg	mono-tache, absorbe sous UV 356 d'une couleur violette

*Etude de la sous fraction F8-1

La séparation de la sous fractions F₈₋₁ sur plaque de gel de silice dans le système CHCl₃/acétone (8,5/1,5) éluee trois fois a conduit l'isolement de deux composés F_{8-1A} (4,5 mg) et F_{8-1B} (2,6 mg)

*Etude de la sous fraction F8-2

Cette sous fraction a subi une séparation sur plaques préparatives, éluées deux fois par le système : benzène /acétate d'éthyle (6/4), menant au composés : F8-2-1 (5 mg) qui apparaît après révélation d'une couleur jaune et F8-2-2 (12 mg) sous forme d'un spot unique sur plaque analytique de gel de silice.

*Etude de la sous fraction F8-3

La purification de la sous fraction **F8-3** sur plaque de gel de silice dans le système benzène/ acétate d'éthyle (3/7) après trois migrations, a permis l'obtention du produit **F8-3-a** (5 mg)

*Etude des sous fractions F8-4 et F8-5

Les sous fractions ont été rassemblées (60 mg), puis rechromatographiées sur plaque de gel de silice éluée par le système $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (7/0,5) pour donner deux composés F8-4-a d'une couleur mauve après révélation de l'acide sulfurique (4,5 mg) et F8-4-b d'une couleur rose après révélation de l'acide sulfurique (10,5 mg).

• ETUDE DE LA FRACTION F9

La fraction F9 est séparée sur couche mince (gel de silice F254), en utilisant comme éluant le système : $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (7/3). Quatre composés sont obtenus : F9-1, F9-2, F9-3 et F9-4. Les résultats de cette séparation sont regroupés dans le tableau n° III.19.

Tableau n° III.19: Résultats de la séparation par chromatographie CCM de la fraction F9.

Produits	Poids	Observations
F9-1	/	Mélange.
F9-2	07,5 mg	mono-tache, rose après révélation
F9-3	70,2 mg	Mélange.
F9-4	26,5 mg	mono-tache, absorbe sous UV 254

• ETUDE DE LA FRACTION F13

Une partie de la fraction F13 est traitée par une chromatographie sur plaque de gel de silice, éluée par un mélange : dichlorométhane/ acétone/ méthanol (3/1/1) pour donner deux produits F13-A et F13-B.

III. 2. 5. B. TRAITEMENT DE L'EXTRAIT CHLOROFORMIQUE

Une partie de l'extrait chloroformique est précipitée sous forme d'une poudre blanche (100 mg). La plaque CCM montre la présence d'une mono tache invisible sous lumière UV et noir violette après révélation et d'autres taches minoritaires. Cette poudre est purifiée sur une colonne de gel de silice, préparée dans le système isocratique *n*-Hexane/AcOEt (9/1) pour donner un composé sous forme d'aiguilles blanches, le spectre RMN ¹H de ces cristaux a révélé la présence de deux produits que nous notons **P(15-19)**.

III. 3. CONCLUSION

L'étude par chromatographie liquide des phases chloroforme et butanolique de l'extrait hydroéthanolique des fleurs de *Chrysanthemum fontanesii* (B. et R.) a mené à l'isolement et à la purification de plusieurs produits à l'état natif.

Avant de soumettre nos échantillons à l'analyse structurale par les différentes techniques spectroscopique, nous avons procédé à des co-chromatographies dans divers systèmes et enregistré des spectres de RMN-¹H de l'ensemble des produits isolés.

Tenant compte du poids des produits isolés et de l'allure de leur spectre RMN-¹H, seuls les échantillons : **W5-1**, **F15-1**, **F16-2**, **F21-4**, **F19-a**, **F20-C1** et **F19-C2** de la phase chloroformique et **F20-42**, **F22-2**, **F22-5** et **F30-2-1** de la phase butanolique ont été soumis à l'analyse structurale complète.

L'étude de *Rhantherium Suaveolens* Desf a mené à l'isolement à l'état pur et natif de 20 produits mais seulement **PF71**, **RSO3-1**, **RSC3-1**, **27C1**, **F9-4**, **F13-A** et **P(15-19)** ont été soumis à l'analyse structurale complète, tenant compte du poids des composés isolés et de l'allure de leur spectre RMN-¹H.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

- [1] Quezel. P and Santa. S, **1963**, *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*, Tome 1, C.N.R.S. Paris.
- [2] Oueslati. M. H; Ben Jannet. H; Abreu. P and Mighri. Z, **2004**, *J. Soc. Chim*, 14, 245.
- [3] Oueslati. M. H; Ben Jannet. H; Mighri. Z and Abreu. P, **2005**, *Lipids*, 40, 1075-1079.
- [4] Oueslati. M. H; Ben Jannet. H; Mighri. Z, Matthew. S and Abreu. P, **2007**, *Natural Produc Research*, 21, 884.

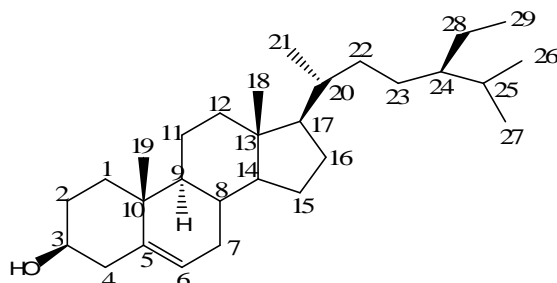
CHAPITRE IV

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

IV. 1 : IDENTIFICATION DES PRODUITS DE *C. fontanesii* (B.et R.)

IV. 1. A : IDENTIFICATION DES PRODUITS DE LA PHASE CHCl₃

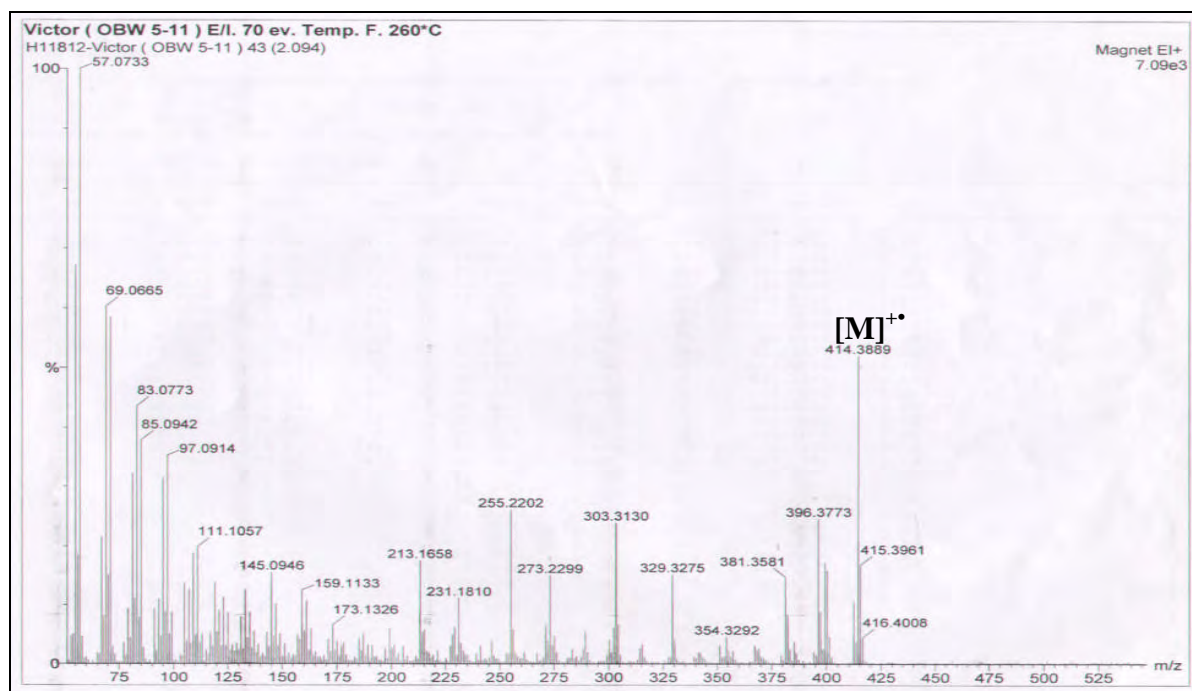
IV. 1. A. 1 : IDENTIFICATION DU COMPOSE W5-1



Le spectre de masse en mode d'ionisation impact électronique (spectre n° IV.1) du composé **W5-1** donne une masse exacte du pic moléculaire à $m/z = 414,3889$ (51,97 %). Il nous oriente vers une formule brute $C_{29}H_{50}O$ avec un degré d'insaturation de 5. Ce qui semble indiquer son appartenance à la famille des stérols.

Ceci est confirmé par le test de LIEBERMANN & BURCHARD, en effet le composé **W5-1** prend une couleur verte, après addition d'un mélange chloroforme/anhydride acétique (1/1), puis de quelques gouttes d' H_2SO_4 concentré, le mélange au début incolore a viré brutalement au vert attestant la présence d'un stérol.

Spectre n° IV.1: Spectre SMIE du composé W5-1



Ce spectre montre la présence d'un ion à $m/z = 396,3773$ (23,15%) correspondant au départ d'une molécule d'eau attestant la présence d'un groupement hydroxyle. Cet ion se fragmente pour donner un ion à $m/z = 381,3581$ (17,32%) relatif au départ d'un radical méthyle. Ces deux fragmentations confirment la nature stéroïdique du composé **W5-1**.

La structure stérol est appuyée par le signal à $m/z = 273,2299$ (17,56%) correspondant à la perte de la chaîne latérale ($C_{10}H_{21}$) par l'ion moléculaire, suivie de la perte d'une molécule d' H_2O à $m/z = 255,2202$ (20,99%), confirmant la présence de la fonction alcool sur la partie polycyclique.

Les valeurs des ions caractéristiques des fragmentations des stérols sont résumées dans le tableau n° IV.1.

Tableau n° IV.1: Données du spectre de masse du composé W5-1

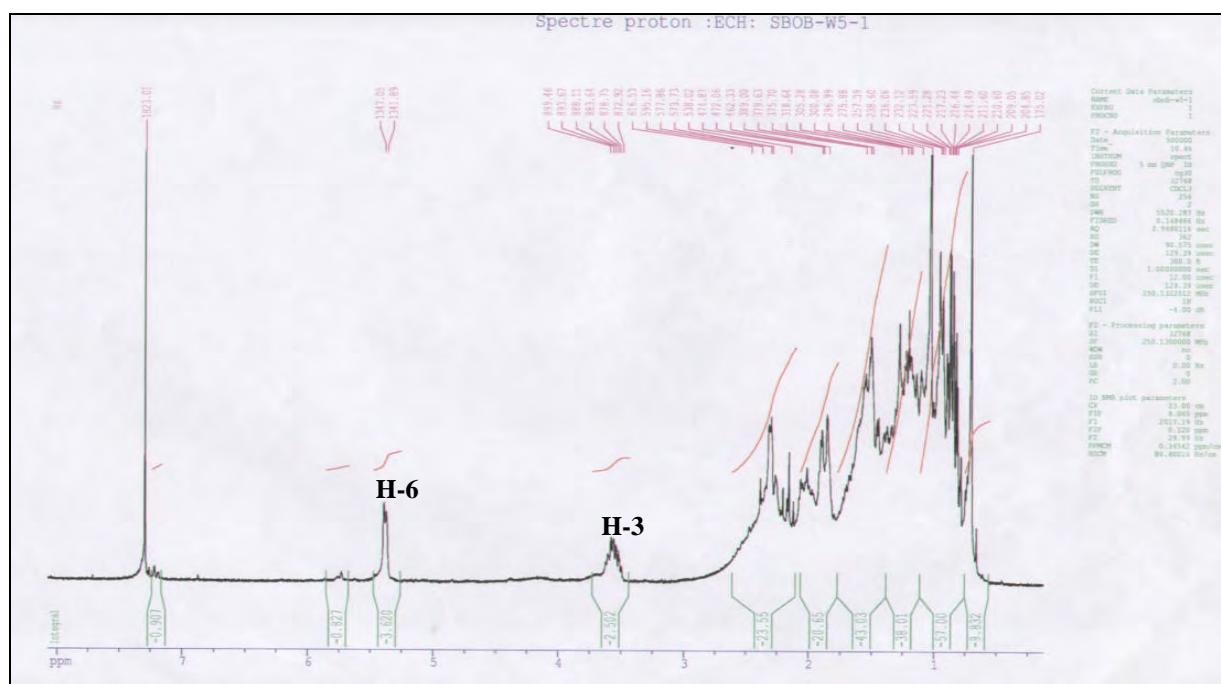
Fragments	m/z
$[M]^+$	414,3889
$[M-18]^+$	396,3773
$[M-15-18]^+$	381,3581
$[M-C_3H_8O]^+$	354,3292
$[M-C_6H_{13}]^+$	329,3275
$[M-C_8H_{15}]^+$	303,3130
$[M-C_{10}H_{21}]^+$	273,2299
$[M-159]^+$	255,2202

Le spectre RMN 1H dans $CDCl_3$ de ce composé (spectre n° IV.2) et son étalement (spectre n° IV.3) indique :

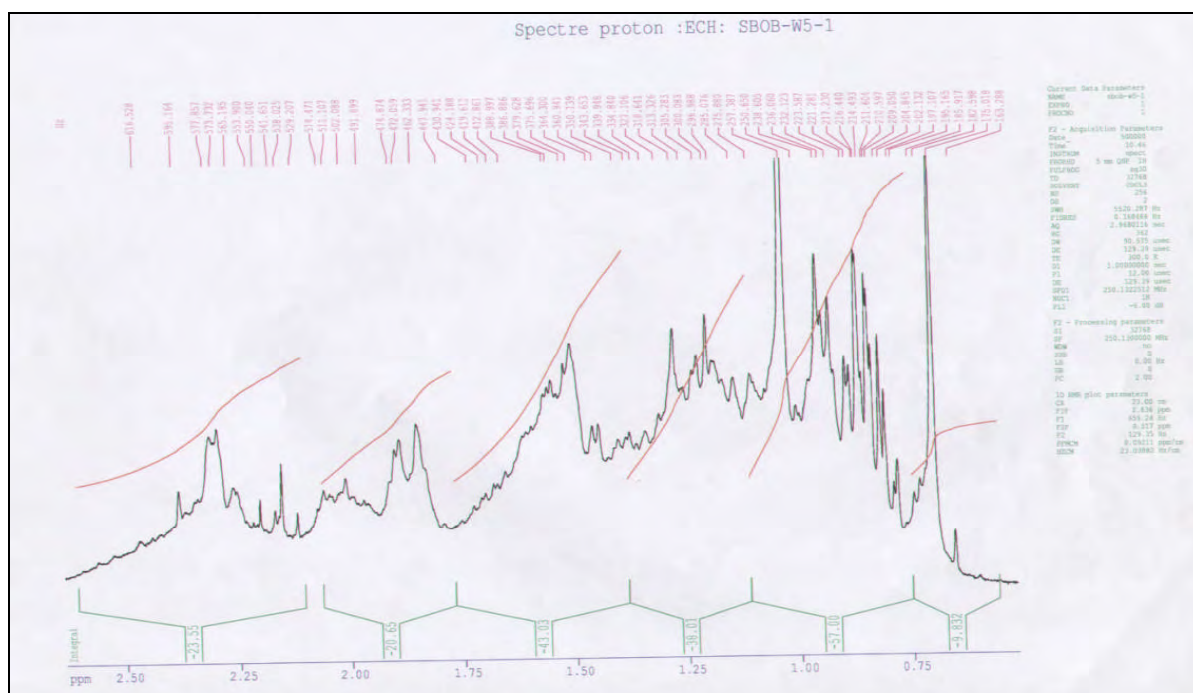
- ✓ un doublet large à $\delta = 5,36$ ppm (1H, $J = 5,1$ Hz) correspondant au proton éthylénique connu avec la numérotation H-6.
- ✓ un multiplet d'intégration 1H à $\delta = 3,53$ ppm correspondant à un proton sur un carbone oxygéné, notamment le H-3 d'un stérol.
- ✓ Deux singulets à $\delta = 1,03$ ppm et $\delta = 0,70$ ppm d'intégration 3H chacun, attribuable aux méthyles 19 et 18 respectivement.
- ✓ Deux doublets et un triplet superposés d'intégration 9H centrés à $\delta = 0,86$ ppm correspondant aux deux méthyles isopropyliques qui sont diastéréotopiques et par conséquent magnétiquement non équivalents et au méthyle du groupement éthyle respectivement. Le tableau n° IV.2 rassemble les données de la RMN 1H du composé **W5-1**.

Tableau n° IV.2: Données du spectre RMN ^1H (250 MHz, CDCl_3 , δ ppm) du composé **W5-1**.

Déplacement chimique δ (ppm)	Intégration	Multiplicité J (Hz)	Attribution
5,35	1H	d(5,1)	H-6
3,53	1H	multiplet	H-3
0,68	3H	s	CH_3 -18
0,82	3H	d (6,8)	CH_3 -27
0,85	3H	d (7,0)	CH_3 -26
0,86	3H	t (7,0)	CH_3 -29
0,94	3H	d (6,5)	CH_3 -21
1,01	3H	s	CH_3 -19

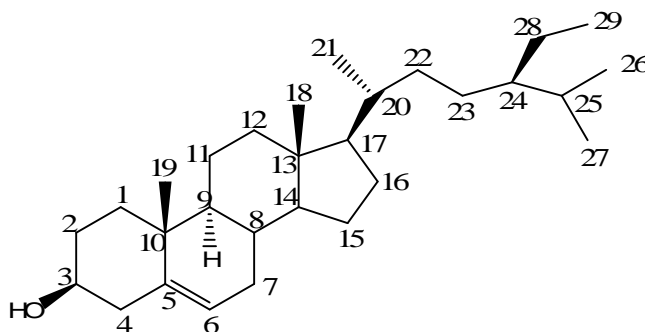
Spectre n° IV.2: Spectre RMN ^1H (250 MHz, CDCl_3 , δ ppm) du composé **W5-1**

Spectre n° IV.3 : Spectre RMN ¹H du composé W5-1, étalement



Ces données sont en faveur de la structure du β -sitostérol comme le montre la figure n° IV.1 :

Figure n° IV.1 : la structure du β -sitostérol

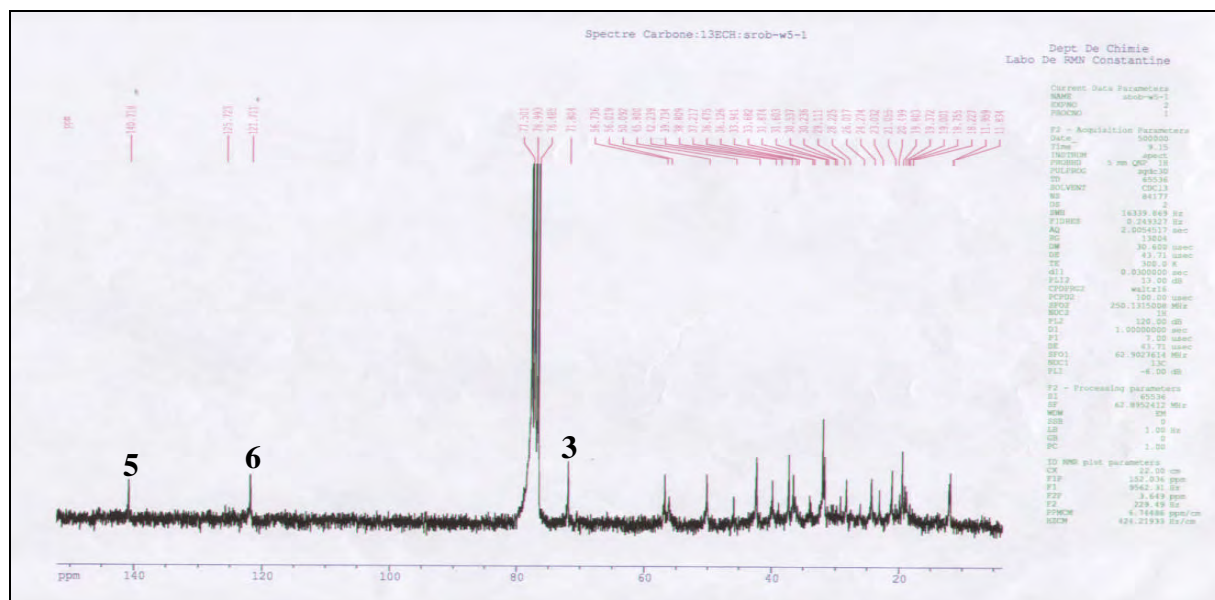


Les données RMN ¹³C et DEPT confirment cette structure : En effet, le spectre RMN ¹³C (spectre n° IV.4) et son étalement (spectre n° IV.5) indique la présence de 29 atomes de carbones et les séquences DEPT 135 et 90 (spectre n° IV.6) montrent :

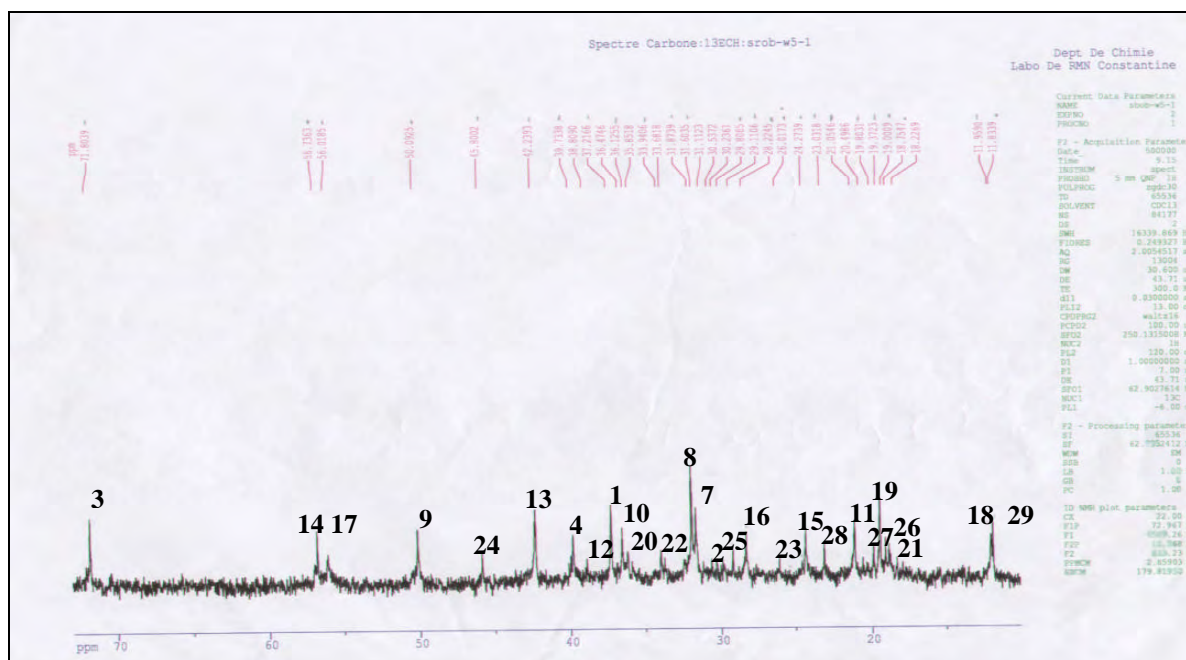
- ✓ Une double liaison tri-substituée par les signaux à $\delta = 140,7$ ppm, relatif à un carbone éthylénique quaternaire (C-5) et à $\delta = 121,7$ ppm relatif à un CH éthylénique (C-6).

✓ CH oxygéné à $\delta = 71,8$ ppm relatif au carbone portant la fonction alcool (C-3). Les valeurs des déplacements chimiques sont caractéristiques des positions attribuées.

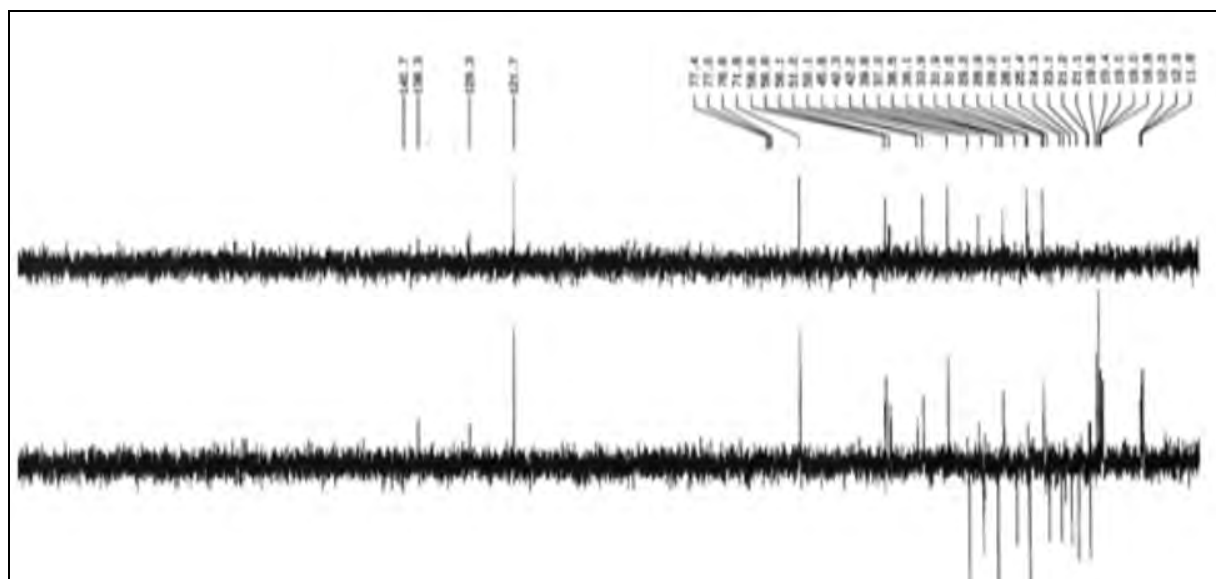
Spectre n° IV.4 : Spectre RMN ¹³C (CDCl₃, δ ppm) du composé W5-1



Spectre n° IV.5 : Spectre RMN ¹³C du composé W5-1, étalé

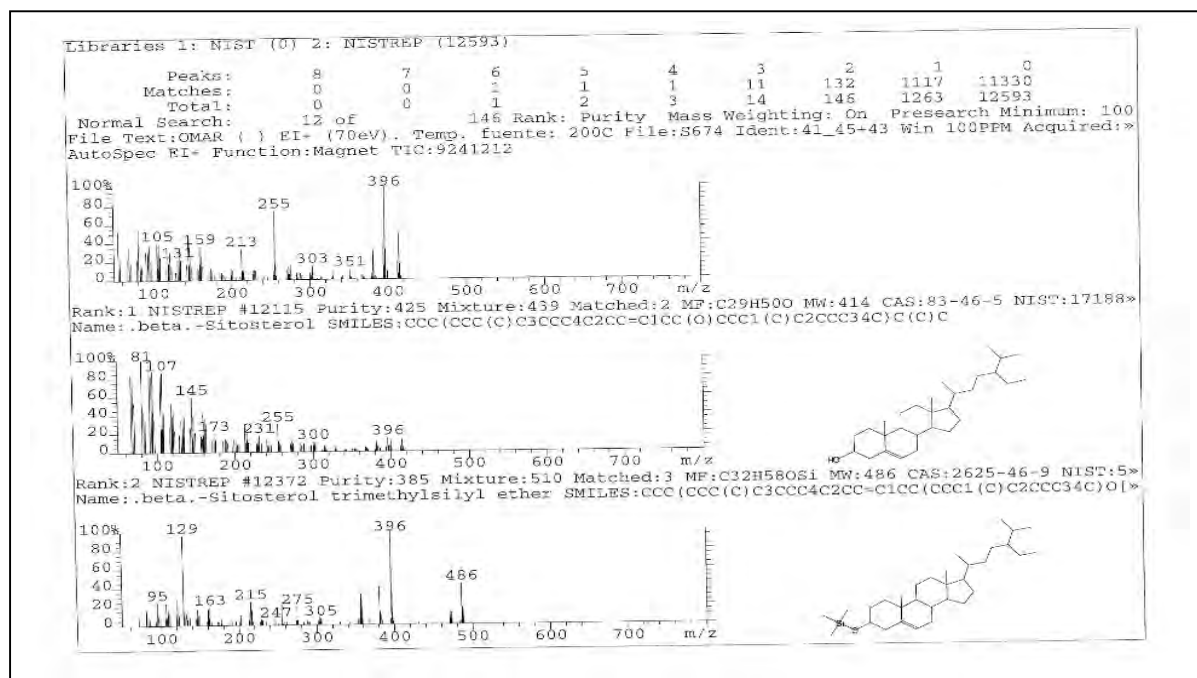


Spectre n° IV.6 : Spectre DEPT (90 et 135, CDCl₃, δ ppm) du composé W5-1



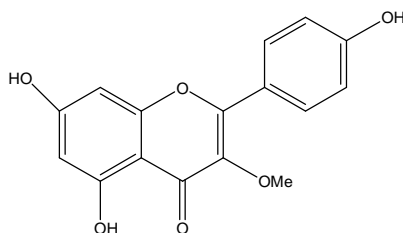
La recherche et la comparaison avec les spectres des banques de données de NIST et WILEY, confirment bien notre analyse, en affichant un spectre très similaire à celui de notre molécule et la même structure (spectre n° IV.7).

Spectre n° IV.7: Spectre SMIE donné par la littérature (NIST et WILEY)



Ces données comparées aux résultats de la littérature [1-3], ainsi que la Co-chromatographie avec un échantillon authentique mène au ***β*-sitostérol**.

IV. 1. A. 2 : IDENTIFICATION DU COMPOSE F15-1

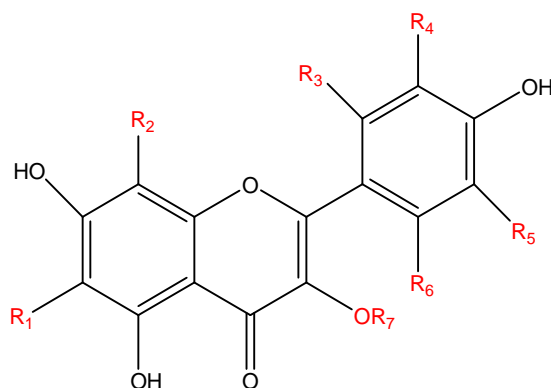


La fluorescence violette sous lumière de Wood (365 nm) est caractéristique d'un flavonol substitué en position 3 ou d'une flavone. Le comportement chromatographique indiqué par les valeurs du R_f montre qu'il s'agit d'une aglycone.

Les données de la série spectrale UV (spectre n° IV.8) montrent :

- ✓ Un maximum d'absorption de la bande I à 352 dans le spectre enregistré dans le méthanol s'agit d'un flavonoïde de type flavonol substitué en 3.
- ✓ L'addition de NaOH provoque un déplacement bathochrome de la bande I ($\Delta \lambda = 40$ nm) avec augmentation de l'intensité lumineuse par rapport au spectre MeOH indiquant la présence d'un OH libre en 4', l'apparition d'une nouvelle bande à 332 nm indique l'existence d'un OH libre en 7.
- ✓ L'addition de NaOAc provoque un déplacement bathochrome de la bande II ($\Delta \lambda = +14$ nm) par rapport au spectre MeOH, confirme la présence du OH libre en 7.
- ✓ L'absence de l'effet hypsochrome de BI dans le spectre AlCl_3/HCl par rapport au spectre AlCl_3 et l'effet bathochrome faible de la même bande dans $\text{NaOAc}/\text{H}_3\text{BO}_3$ par rapport au méthanol excluent le système ortho di-hydroxylé.
- ✓ L'effet bathochrome de la bande I en comparant le spectre $\text{AlCl}_3+\text{HCl}/\text{MeOH}$ ($\Delta \lambda = 45$ nm), indique la présence d'un OH libre en 5.

Ces données permettent la proposition de la structure partielle suivante (figure n° IV.2):

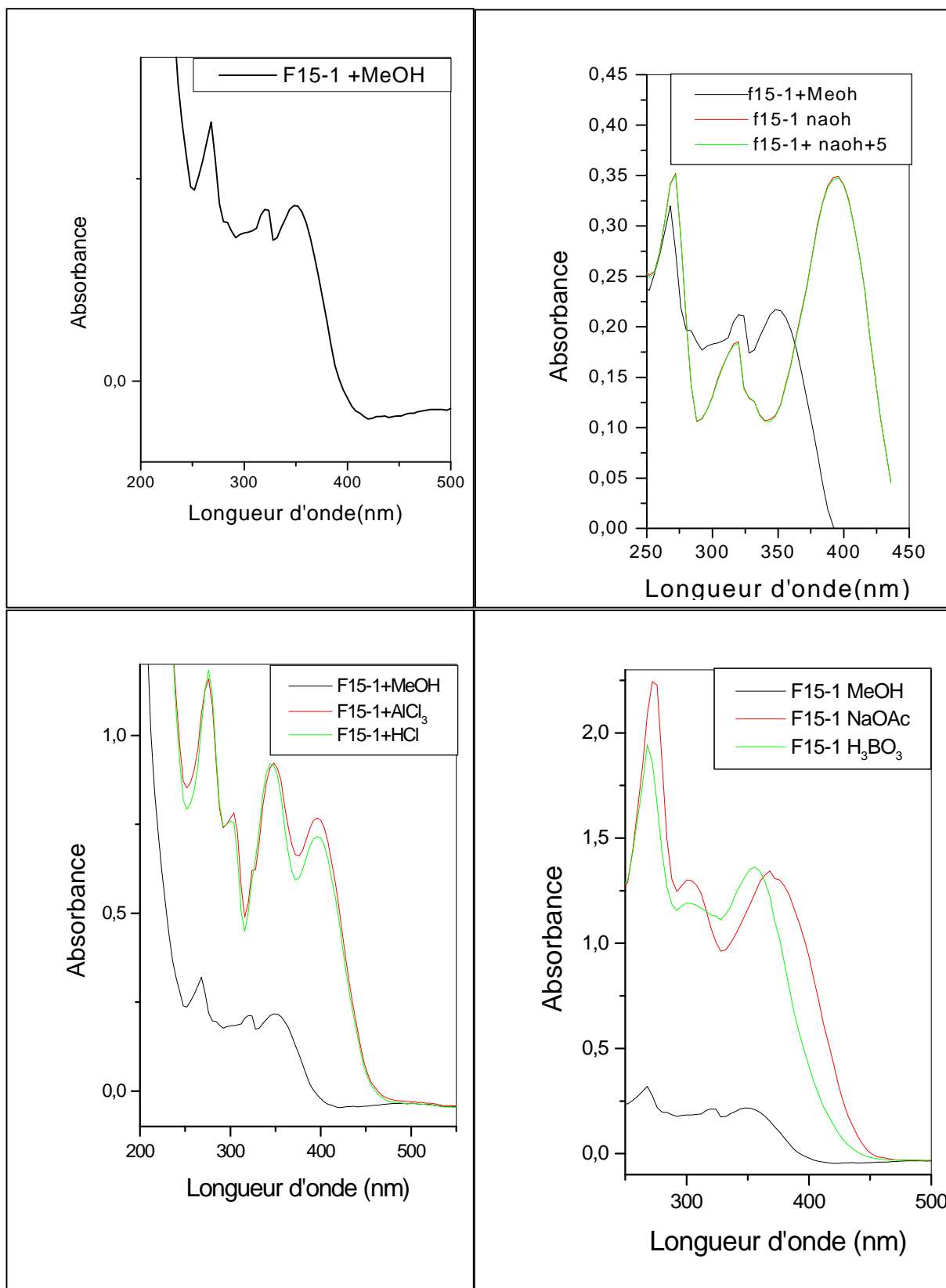
Figure n° IV.2 : la structure partielle du composé F15-1

Les données relatives à UV de ce composé sont reportées sur le tableau n° IV.3.

Tableau n° IV.3 : Données de la série spectrale UV du composé F15-1.

<i>Réactifs</i>	<i>Bande I</i>	<i>Bande II</i>	<i>Autres bandes</i>	<i>Commentaire</i>
MeOH	352	258	320	Flavonol (3-OH substitué)
+ NaOH	392	272	320 ; 332	OH libre en 4' OH libre en 7
+AlCl ₃	397	275	304; 348	/
+AlCl ₃ /HCl	397	275	304; 348	OH libre en 5 Pas de di-OH sur B
+NaOAc	368	272	304	OH libre en 7
+NaOAc/H ₃ BO ₃	356	268	304	Pas de di-OH sur B
Spectre stable en présence de NaOH après 5 mn				

Spectre n° IV.8 : Série spectrale du composé F15-1



L'examen du spectre RMN ^1H (spectre n° IV.9) et son étalement (spectre n° IV.10) montrent la présence des signaux caractéristiques d'un squelette de type flavonoïdes ainsi que d'autres signaux qu'on peut identifier par :

- ✓ Un singulet d'intégration 3H à $\delta = 3,95$ ppm attribuable à OCH_3 .
- ✓ Deux doublets d'intégration 1H chacun, le premier à $\delta = 6,26$ ppm et le second à $\delta = 6,52$ montrant un couplage méta ($J = 2,0$ Hz), attribuables à H-6 et H-8.
- ✓ Deux doublets d'intégration 2H chacun, le premier à $\delta = 7,11$ ppm, le second à $\delta = 9,11$ ppm avec une constante de couplage $J = 9,1$ Hz attribuables à H-2', H-6' et H-3', H-5' respectivement montrant une substitution para du cycle B.

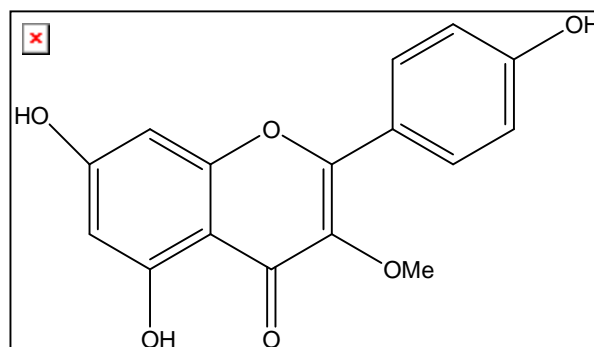
Les données relatives à la RMN ^1H de ce composé sont reportées sur le tableau n° IV.4.

Tableau n° IV.4: Données de la spectrométrie RMN ^1H (CD_3OD ; 250 MHz).

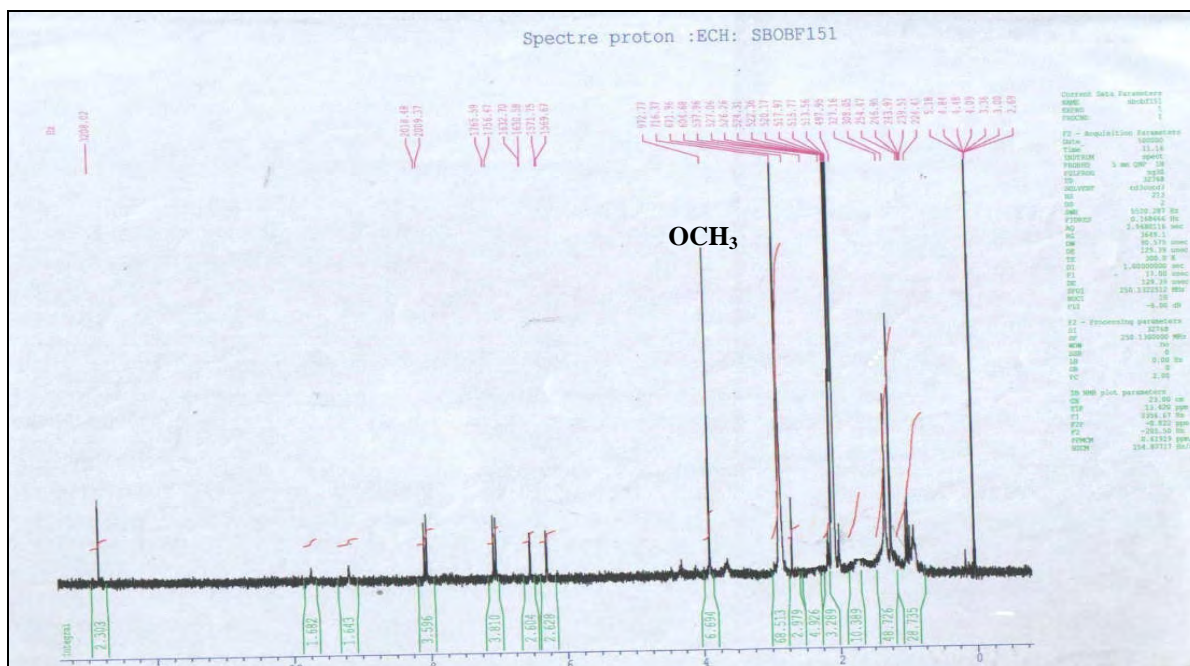
Déplacement chimique δ (ppm)	Intégration	Multiplicité	J (Hz)	Attribution
3,95	3H	s		OCH_3
6,26	1H	d	2,0	H-6
6,52	1H	d	2,0	H-8
7,11	2H	dd	9,1	H-3' et H-5'
8,11	2H	dd	9,1	H-2' et H-6'

Toutes ces données mènent à la structure finale qui est: **kaempférol-3-méthyl éther** connue sous le nom de l'**Isokaempféride** (figure n° IV.3).

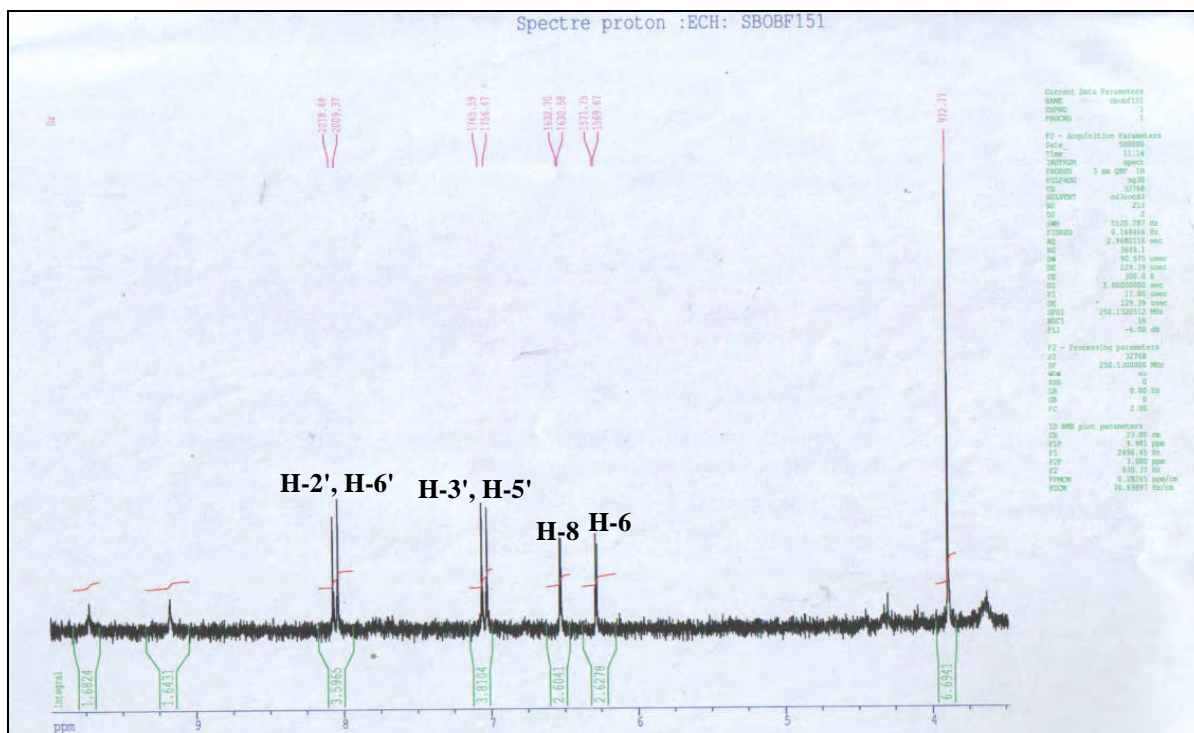
Figure n° IV.3 : la structure de l'**Isokaempféride**



Spectre n° IV.9 : Spectre RMN¹H (250 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé F15-1



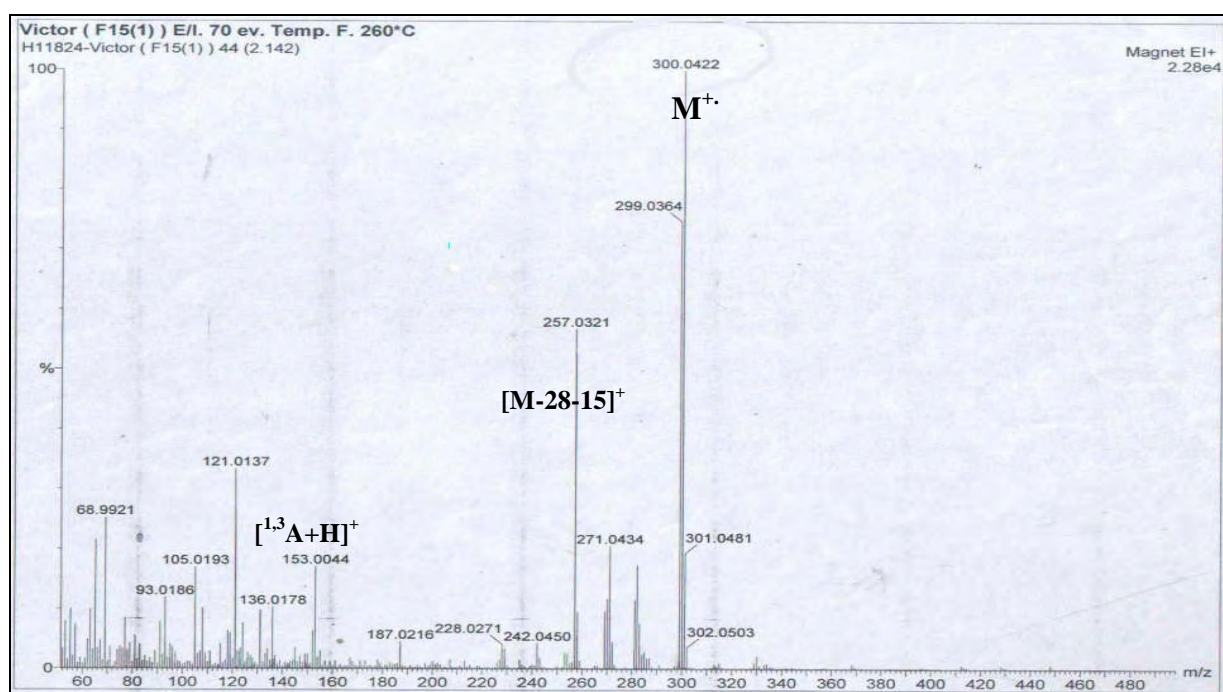
Spectre n° IV.10: Spectre RMN¹H du composé F15-1, étalement



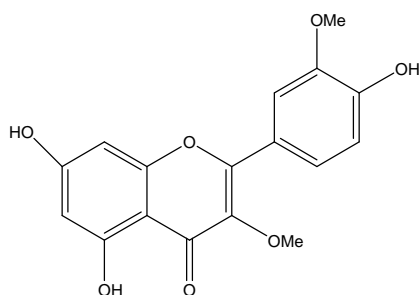
Cette structure est confirmée par l'étude de son spectre de masse en mode d'ionisation impact électronique (spectre n° IV.11) qui montre un pic moléculaire à $m/z = 300,0422$ $[M]^+$ confirmant le squelette d'un flavonoïde de type aglycone de formule brute $C_{16}H_{12}O_6$.

Ce spectre montre également un signal à $m/z = 272$ correspondant au réarrangement caractéristique des flavonoïdes, soit la perte d'un CO $[M-28]^+$, un signal à $m/z = 257$ correspondant à $[M-28-15]^+$ connu pour ce type de composé, un signal à $m/z = 153$ correspondant au fragment $[^{1,3}A+H]^+$ confirmant bien un cycle A dihydroxylé. Ainsi qu'un signal à $m/z = 121$ correspondant au fragment $^{1,3}B^{++}$ indiquant une hydroxylation du cycle B.

Spectre n° IV.11 : Spectre SMIE du composé F15-1



IV. 1. A. 3 : IDENTIFICATION DU COMPOSE F16-2



Le comportement chromatographique indiqué par les valeurs du R_f montre qu'il s'agit d'une aglycone.

La fluorescence noir-violette et le maximum d'absorption de la bande I dans le méthanol (356 nm) oriente vers un flavonol substitué en 3 (spectre n° IV.12).

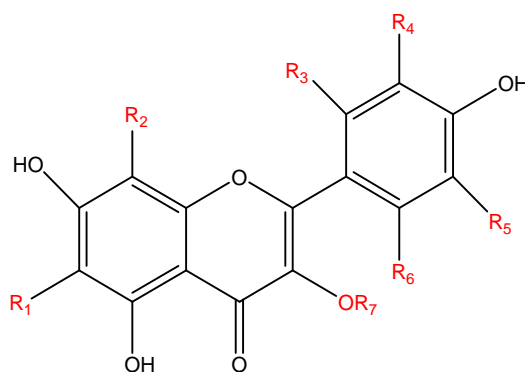
Le déplacement bathochrome de la bande I de 55 nm après l'addition de NaOH avec une augmentation de la densité optique, oriente vers un -OH en 4'. L'apparition d'une nouvelle bande à 325 nm montre la présence d'un OH en 7, confirmé par l'effet bathochrome (20 nm) de la bande II dans NaOAc par rapport au spectre méthanolique.

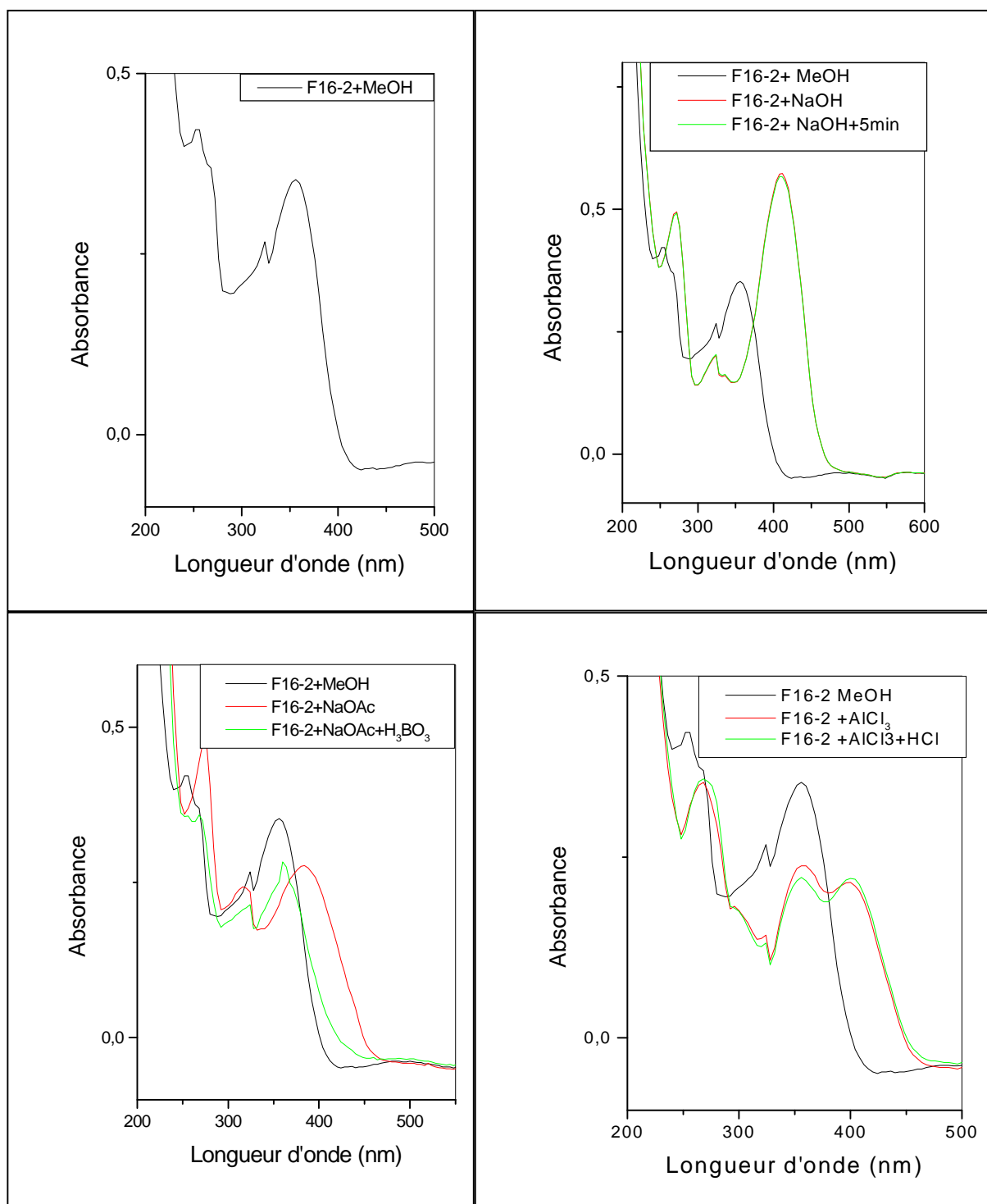
L'absence de l'effet hypsochrome de BI dans le spectre $AlCl_3/HCl$ par rapport au spectre $AlCl_3$ et l'effet bathochrome faible de la même bande dans NaOAc/ H_3BO_3 par rapport au méthanol excluent la présence d'un système ortho di-hydroxylé.

L'effet bathochrome de la bande I en comparant les spectres $AlCl_3+HCl/MeOH$ ($\Delta \lambda = 45$ nm), indique la présence d'un OH libre en 5.

Toutes ces données mènent à la structure partielle suivante (figure n° IV.4) :

Figure n° IV.4 : la structure partielle du composé F16-2



Spectre n° IV.12 : Série spectrale du composé F16-2

Les données relatives à la série spectrale UV de ce composé sont rassemblées dans le tableau n° IV.5.

Tableau n° IV.5: Données de la série spectrale UV du composé F16-2.

Réactifs	Bande I	Bande II	Autres bandes	Commentaire
MeOH	356	254	320	Flavonol (3-OH substitué)
+ NaOH	411	269	325	OH libre en 4' OH libre en 7
+AlCl ₃	400	268	357	/
+AlCl ₃ /HCl	400	268	356	OH libre en 5 Pas de di-OH sur B
+NaOAc	383	274	320	OH libre en 7
+NaOAc/H ₃ BO ₃	359	269	323	Pas de di-OH sur B
Spectre stable en présence de NaOH après 5 mn				

Cette structure est complétée par l'étude de spectre RMN ¹H (spectre n° IV.13) et son étalement (spectre n° IV.14) qui donne les indications suivantes :

- ✓ Deux singulets d'intégration 3H chacun, le premier à $\delta = 3,91$ ppm et le deuxième à $\delta = 3,97$ ppm attribuables à deux groupements OCH₃
- ✓ Deux doublets d'intégration 1H chacun, le premier à $\delta = 6,30$ ppm et le second à $\delta = 6,60$ ppm attribuables à H-6 et H-8 respectivement.
- ✓ Un doublet d'intégration 1H à $\delta = 7,10$ ppm avec une constante de couplage de $J = 8,47$ Hz attribuable à H-5',
- ✓ Un doublet de doublet d'intégration 1H à $\delta = 7,70$ ppm ($J = 2,2$ et $8,5$ Hz) attribuable à H-6'.
- ✓ Un doublet d'intégration 1H à $\delta = 7,80$ ppm avec une constante de couplage de $J = 2,2$ Hz attribuable à H-2'.

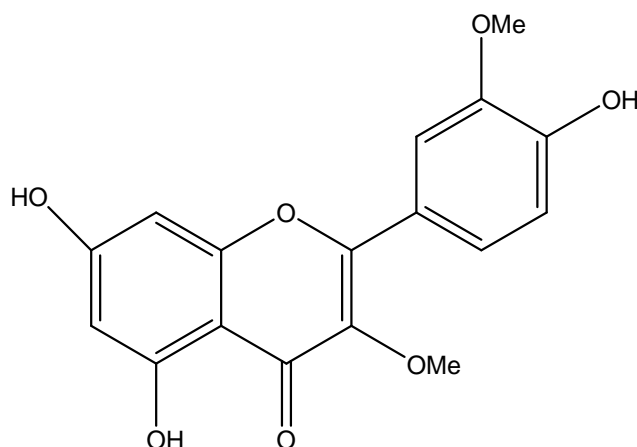
La série spectrale montre l'inexistence du système ortho di-OH confirmant ainsi l'attribution de R₄ à un groupement méthoxyle.

Le tableau IV.6 rassemble les données de RMN ¹H.

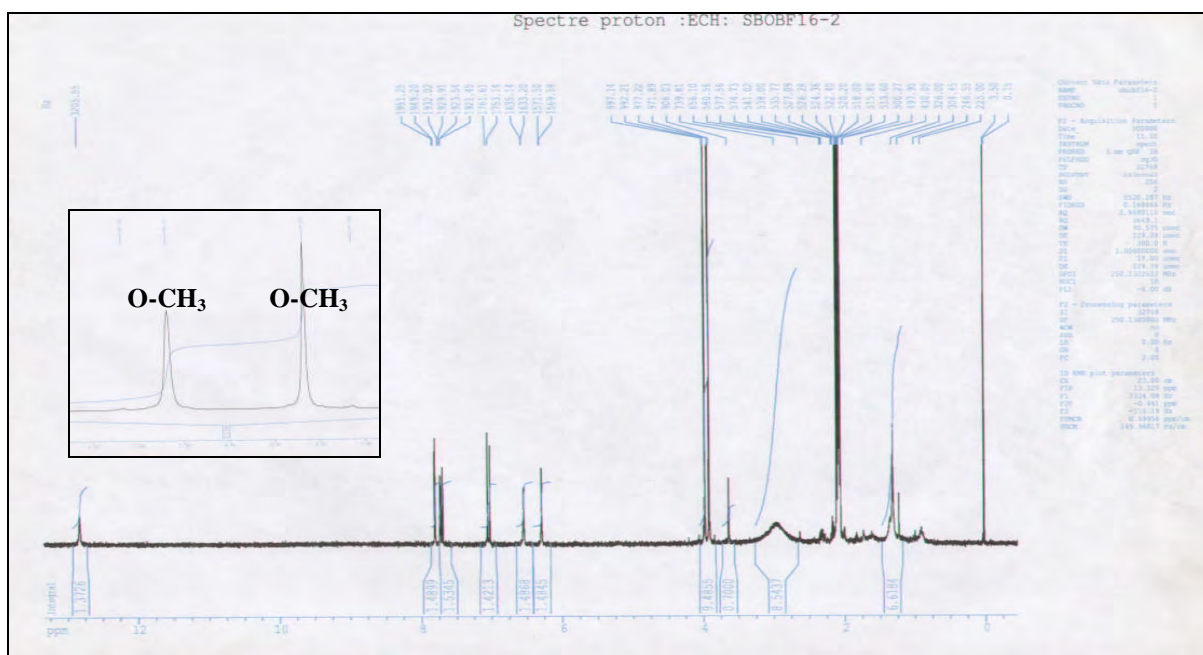
Tableau n° IV.6 : Données de la spectrométrie RMN ^1H (CD_3OD ; 250 MHz).

Déplacement chimique δ (ppm)	Intégration	Multiplicité	J (Hz)	Attribution
3,91	3 H	s		O-CH ₃
3,97	3 H	s		O-CH ₃
6,30	1 H	d	1,9	H-6
6,60	1 H	d	1,9	H-8
7,10	1 H	d	8,5	H-5'
7,70	1 H	dd	8,5 et 2,1	H-6'
7,80	1H	d	2,1	H-2'

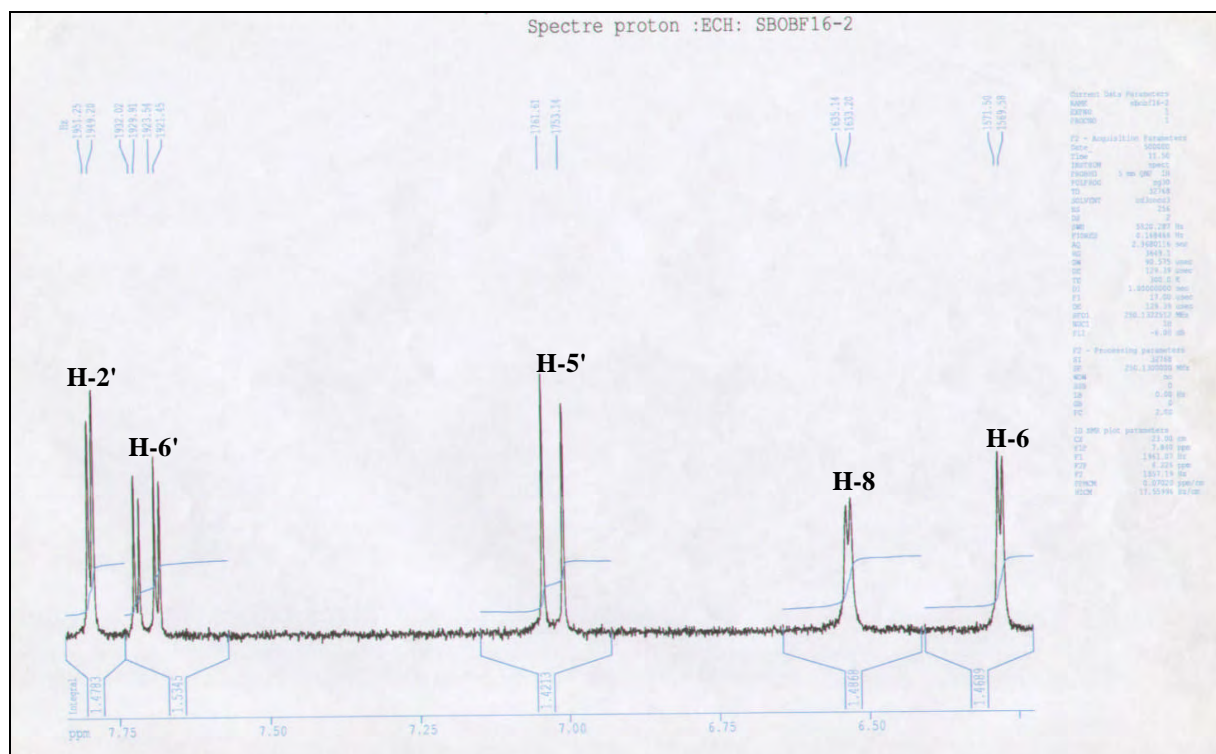
Toutes ces données permettent de proposer la structure suivante: **4', 5, 7-trihydroxy-3, 3'-diméthoxyflavone** ou bien l'**isorhamnetine- 3-méthyle éther** (figure n° IV.5).

Figure n° IV.5 : la structure de l'*Isorhamnetine - 3-methyl ether*

Spectre n° IV.13: Spectre RMN ¹H (250 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé **F16-2**

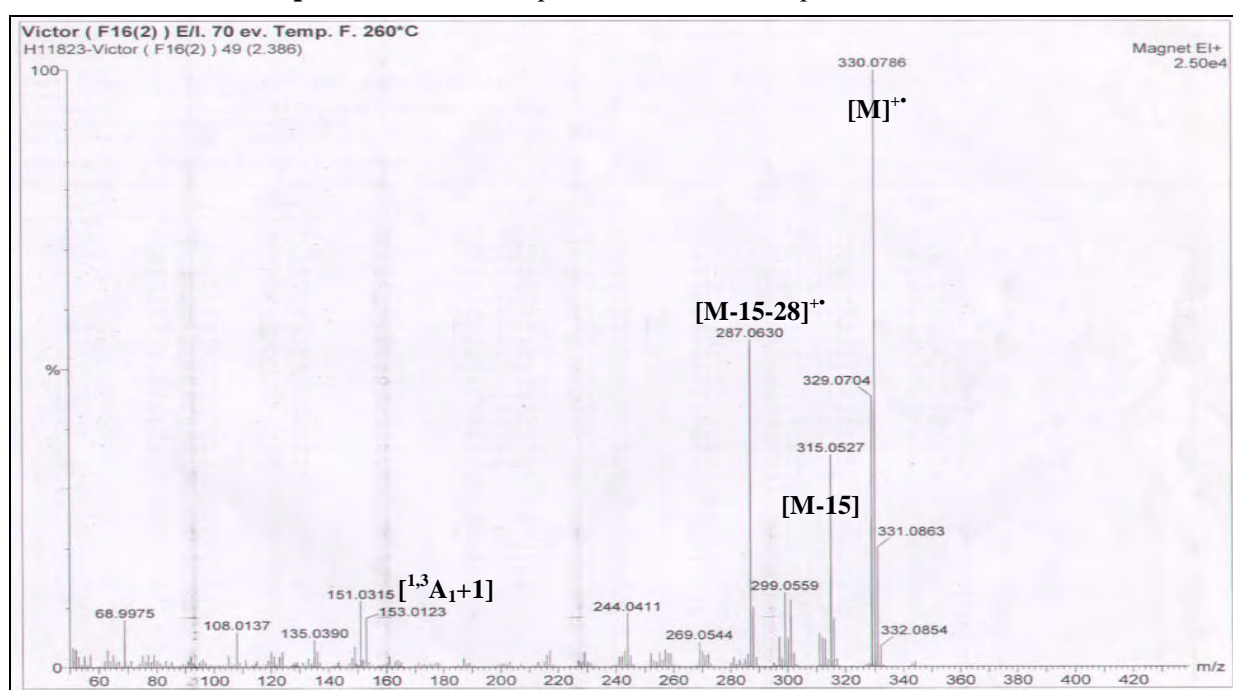


Spectre n° IV.14: Spectre RMN ¹H (250 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé **F16-2**, étaiement

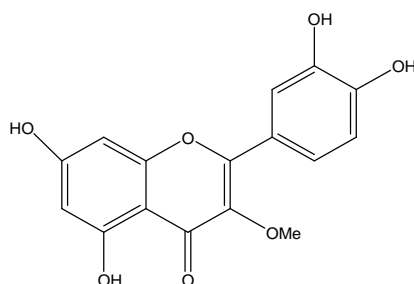


Cette structure est encore confirmée par le spectre de masse sous impact électronique (spectre n° IV.15) qui montre une masse exacte 330,0786 correspondant à d'intensité relative 100 % donnant la formule brute $C_{17}H_{14}O_7$. Ce spectre montre également un pic de masse $m/z = 315,0527$ correspondant à $[M-15]$ indiquant la présence d'un méthoxyle, un pic de masse $m/z = 299,0559$ indiquant la présence d'un autre méthoxyle, un autre pic à $m/z = 287,0630$ correspondant à la perte d'un méthyle et d'une molécule CO caractéristique d'un flavonoïde méthoxylé et enfin l'ion à $m/z = 153,0123$ correspondant à $[^{1,3}A_1+1]$ caractéristique à la fragmentation du squelette flavonique et témoignant d'un cycle A, dihydroxylé.

Spectre n° IV.15 : Spectre SMIE du composé F16-2



IV. 1. A. 4 : IDENTIFICATION DU COMPOSE F 21-4



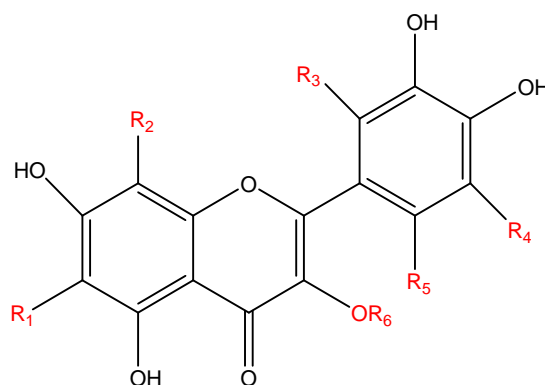
Absorption maximale de la bande I à 360 nm dans le méthanol et la fluorescence violette sont en faveur d'un flavonol substitué en position 3, spectre n° IV.16.

Les valeurs du Rf dans 13/3/3/1 et dans 4/3/3 sont en faveur d'une structure aglycone.

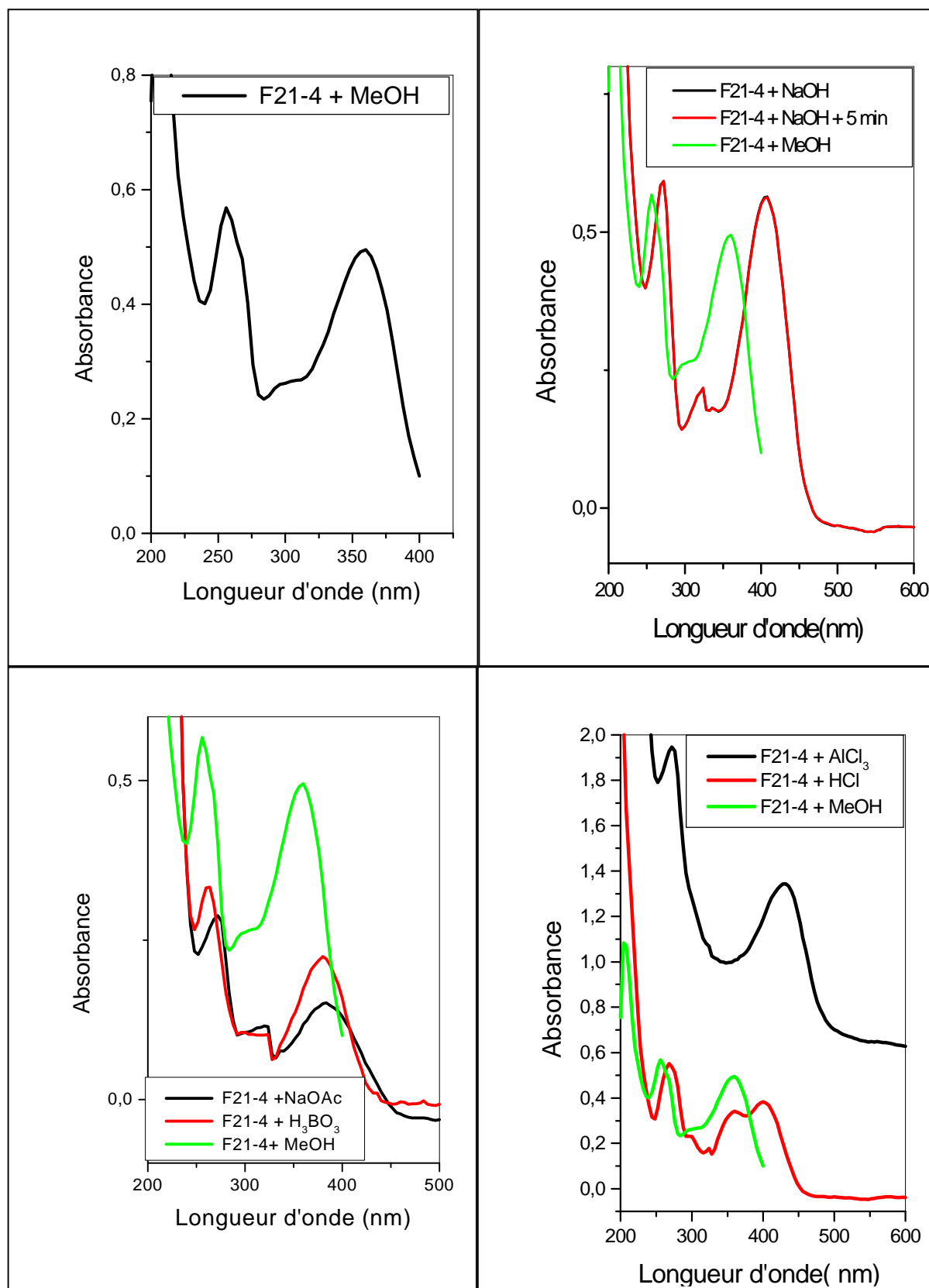
- ✓ Le déplacement bathochrome de la bande I de 48 nm dans NaOH avec une augmentation de la densité optique sont significatifs d'un OH en 4'.
- ✓ Le déplacement hypsochromique de la bande I (BI) dans AlCl₃/HCl par rapport au spectre AlCl₃ (-32) et l'effet bathochrome de la même bande dans NaOAc/H₃BO₃ par rapport au méthanol (+20 nm) indiquent la présence d'un système ortho di-hydroxylé sur le noyau B.
- ✓ Le spectre NaOAc/MeOH comparé à celui en méthanol (+16 nm) indique la présence d'un hydroxyle libre en 7, confirmé par l'apparition d'une nouvelle bande à 324 nm dans le spectre NaOH
- ✓ Le spectre MeOH + AlCl₃+HCl donne un effet bathochrome de la bande I (+40) par rapport au spectre méthanolique et indique la présence d'un OH libre en 5.

D'après ces informations la structure partielle est la suivante (figure n° IV.6) :

Figure n° IV.6 : la structure partielle du composé F 21-4



Spectre n° IV.16 : Série spectrale du produit F21-4



L'ensemble des données de la série spectrale UV est reporté dans le tableau n° IV.7 :

Tableau n° IV.7: Données de la série spectrale UV du composé F21-4.

<i>Réactifs</i>	<i>Bande I</i>	<i>Bande II</i>	<i>Autres bandes</i>	<i>Commentaire</i>
MeOH	360	256		Flavonol (3-OH substitué)
+ NaOH	408	272	324	OH libre en 4' OH libre en 7
+AlCl ₃	432	272		/
+AlCl ₃ /HCl	400	268	360	OH libre en 5 di-OH sur B
+NaOAc	384	272	324	OH libre en 7
+NaOAc/H ₃ BO ₃	380	264	324	di-OH sur B
Spectre stable en présence de NaOH après 5 mn				

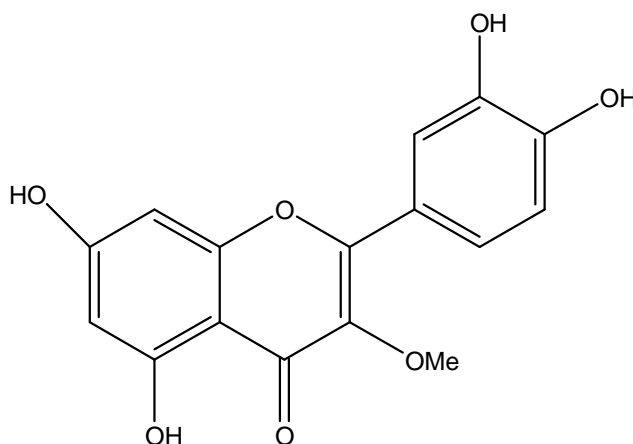
L'examen du spectre RMN ¹H (spectre n° IV.17) et son étalement (spectre n° IV.18) montre :

- ✓ Un singulet d'intégration 3H, $\delta = 3,80$ attribuable à OCH₃.
- ✓ Deux doublets d'intégration 1H chacun, le premier à $\delta = 6,20$ ppm et le second à $\delta = 6,40$ attribuable à H-6 et H-8 respectivement.
- ✓ Un doublet d'intégration 1H à $\delta = 6,90$ ppm ($J = 8,5$ Hz) attribuable à H-5'.
- ✓ Un doublet de doublet d'intégration 1H à $\delta = 7,60$ ppm ($J = 2,2$ et $8,5$ Hz) attribuable à H-6'.
- ✓ Un doublet d'intégration 1H à $\delta = 7,70$ ppm avec une constante de couplage de $J = 2,2$ Hz attribuable à H-2', l'ensemble de ces trois signaux confirme la di-substitution du noyau B, avec R₃= R₄= R₅= H. Le tableau n° IV.8 rassemble ces résultats.

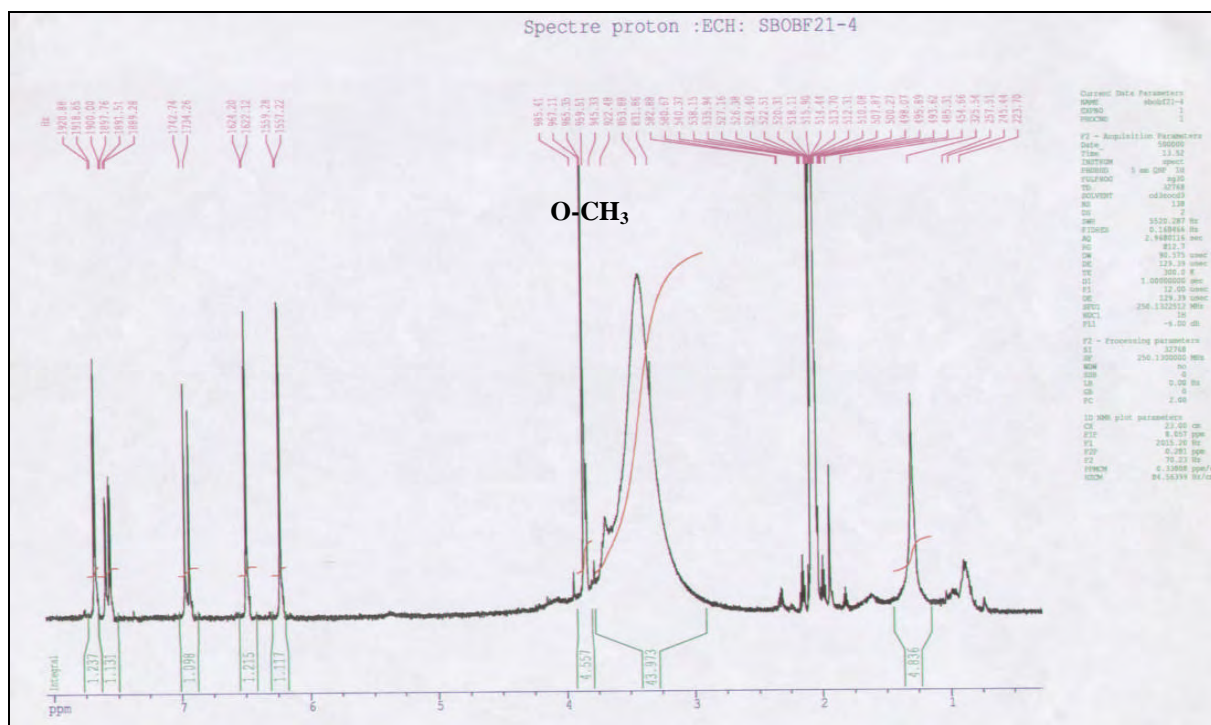
Tableau n° IV.8 : Données de la spectrométrie RMN ^1H (CD_3OD ; 250 MHz).

Déplacement chimique δ (ppm)	Intégration	Multiplicité	J (Hz)	Attribution
3,85	3 H	s		O-CH ₃
6,20	1 H	1d	2,1	H-6
6,40	1 H	1d	2,1	H-8
6,90	1 H	1d	8,5	H-5'
7,60	1 H	1dd	8,5 et 2,2	H-6'
7,70	1H	1d	2.2	H-2'

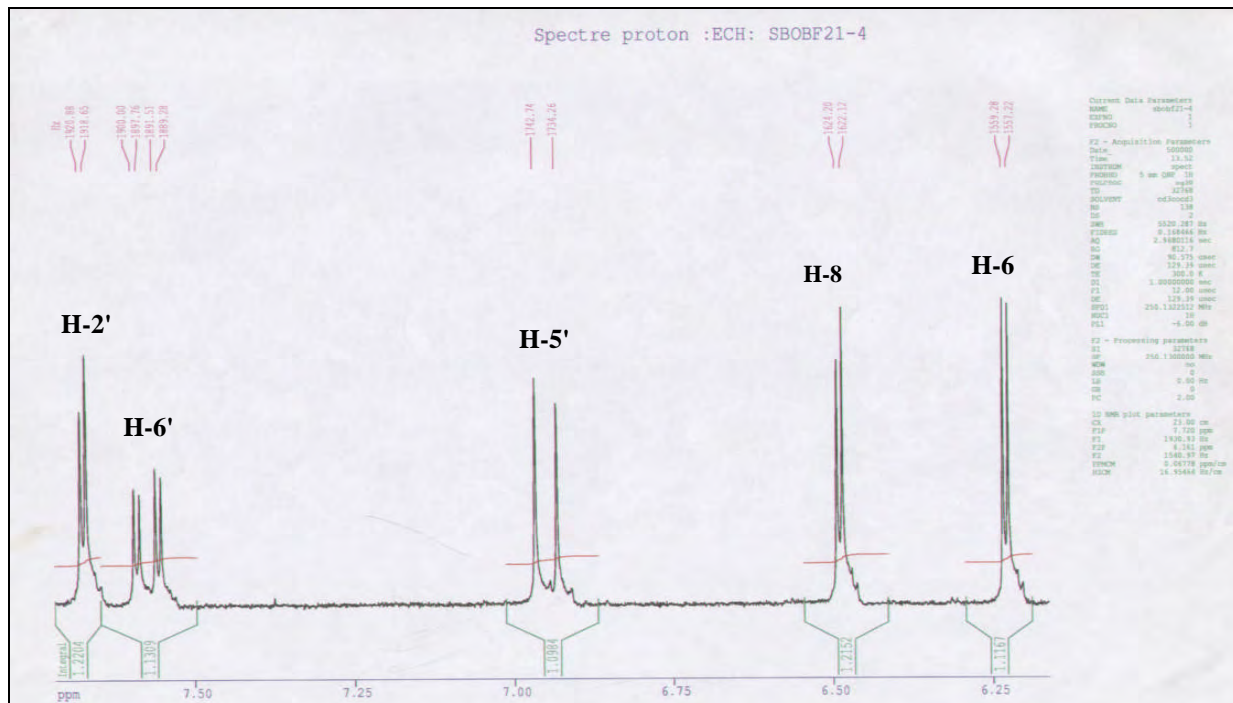
Les données de la RMN ^1H et celles de la série spectrale mènent à la structure finale qui est: **3', 4', 5, 7-tetrahydroxy-3-methoxyflavone** ou bien **Quercétine-3- méthyl ether** (figure n° IV.7).

Figure n° IV.7 : la structure de la *Quercétine-3- méthyl ether*

Spectre n° IV.17: Spectre RMN ¹H (250 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé F21-4



Spectre n° IV.18 : Spectre RMN ¹H du composé F21-4, étalement

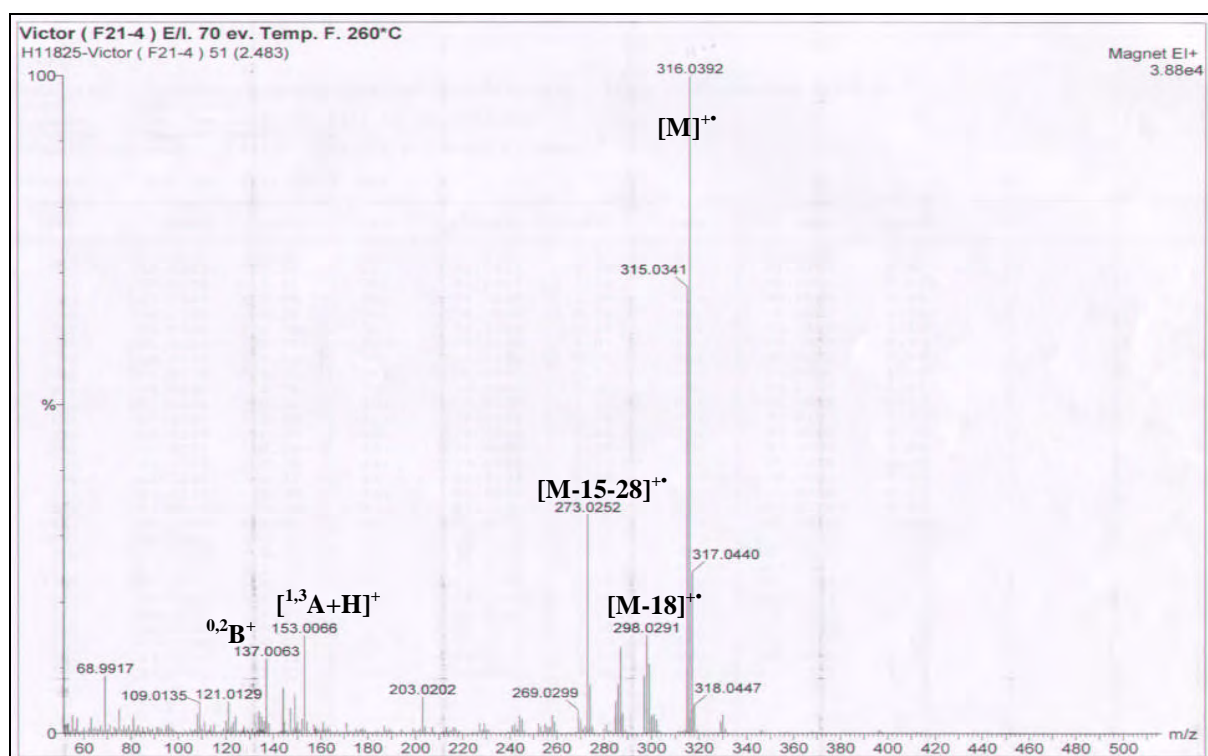


L'examen du spectre de masse en mode d'ionisation impact électronique (spectre n° IV.19) montre un pic moléculaire à $m/z = 316,0392$ $[M]^{+\bullet}$ indiquant le squelette d'un flavonoïde de type aglycone de formule brute $C_{16}H_{12}O_7$.

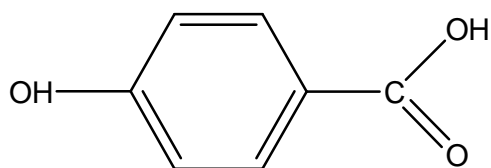
Ce spectre montre également les fragments suivants :

- $m/z = 298$ correspondant au fragment $[M-18]^{+\bullet}$
- $m/z = 273$ correspondant au fragment caractéristique d'un flavonoïde méthoxylé.
- un signal à $m/z = 153$ correspondant au fragment $[^{1,3}A+H]^+$ confirmant bien un cycle A dihydroxylé
- $m/z = 137$ correspondant au fragment $^{0,2}B^+$, indiquant la présence de deux hydroxyles sur le cycle B.

Spectre n° IV.19: Spectre SMIE du composé F21-4



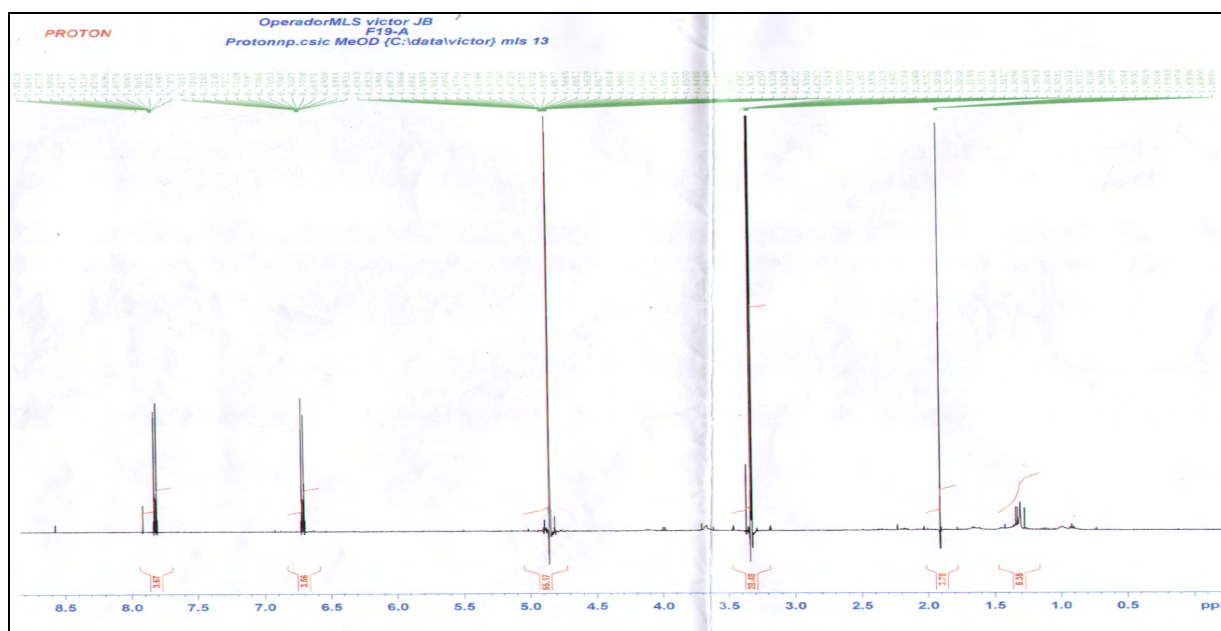
IV. 1. A. 5 : IDENTIFICATION DU COMPOSE F19-a



L'examen du spectre RMN¹H (spectre n° IV.20), montre qu'il s'agit d'un composé aromatique dont le cycle benzénique para-substitué est caractérisé par :

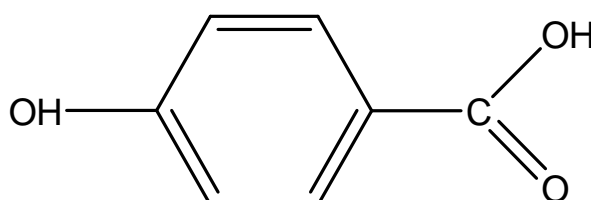
- Un doublet de doublet d'intégration 2H à $\delta = 6,67$ ppm attribuable à H-3 et H-5.
- Un doublet de doublet d'intégration 2H à $\delta = 7,85$ ppm attribuable à H-2 et H-6.

Spectre n° IV.20 : Spectre RMN¹H (400 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé F19-a

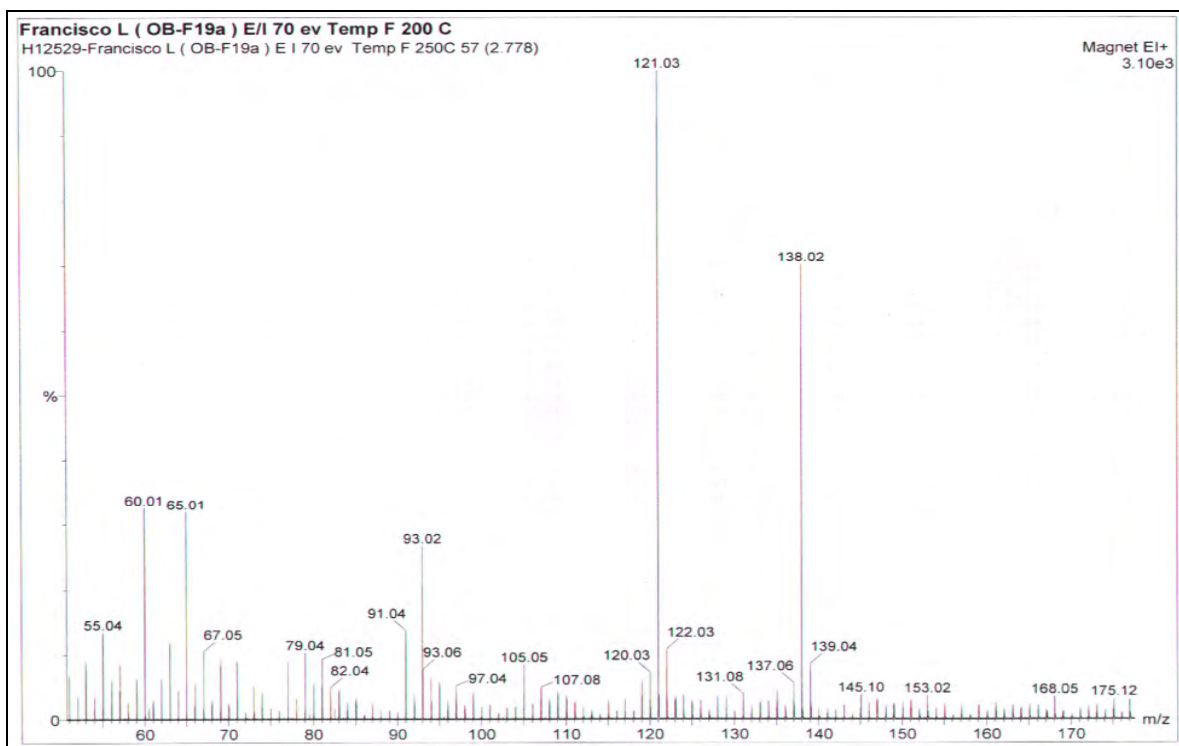


Le spectre SMIE (spectre n° IV.21 et n°IV.22) à haute résolution montre une masse exacte pour le pic moléculaire à $m/z = 138,0682$ correspondant à la formule brute $C_7H_6O_3$ (calculée 138,0681). Ce spectre montre également un signal à $m/z = 121,0653$ indiquant la perte d'une molécule d'eau (H_2O), $[M-18]^+$ et à $m/z = 93$ $[M-COOH]^+$, Ces données sont en faveur d'une structure correspondant à l'acide *para*-hydroxy benzoïque (figure n° IV.8).

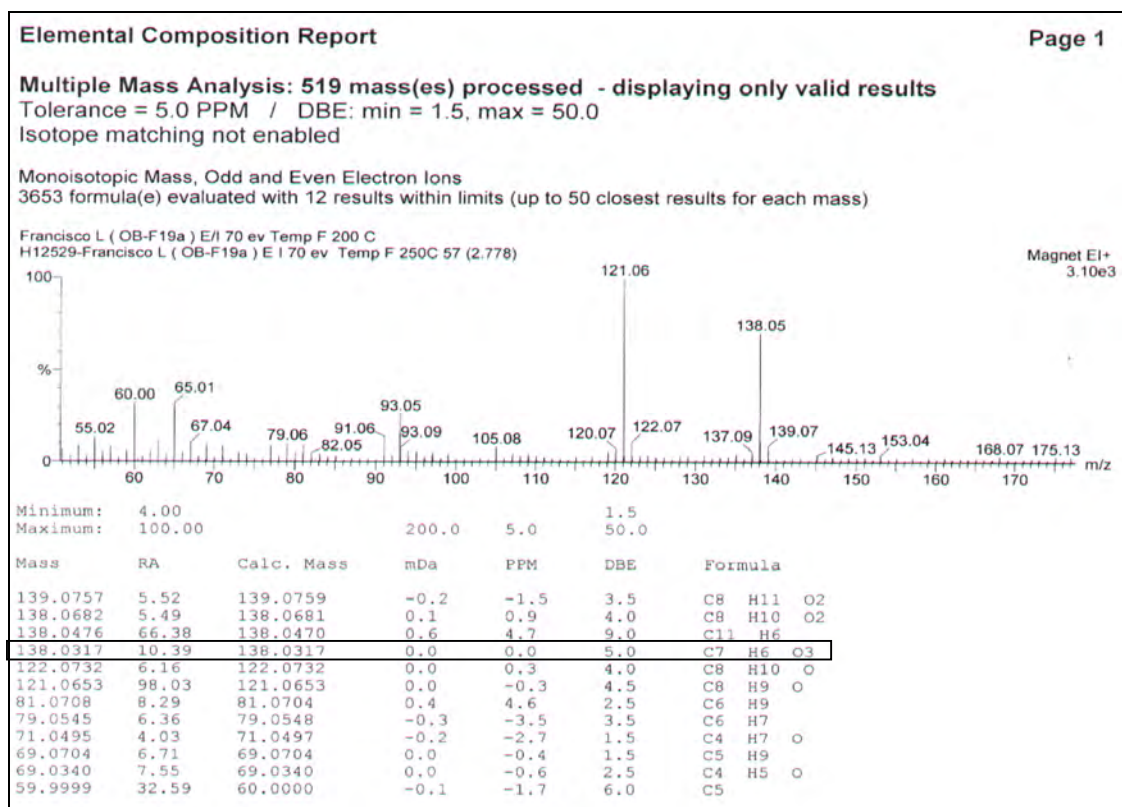
*Figure n° IV.8 : la structure de l'Acide *para*-hydroxy benzoïque*



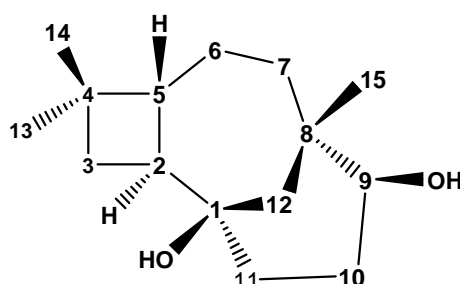
Spectre n° IV.21 : Spectre SMIE du composé F19-a



Spectre n° IV.22 : Spectre SMIE du composé F19-a



IV. 1. A. 6 : IDENTIFICATION DU COMPOSE F20-C1(F1C)

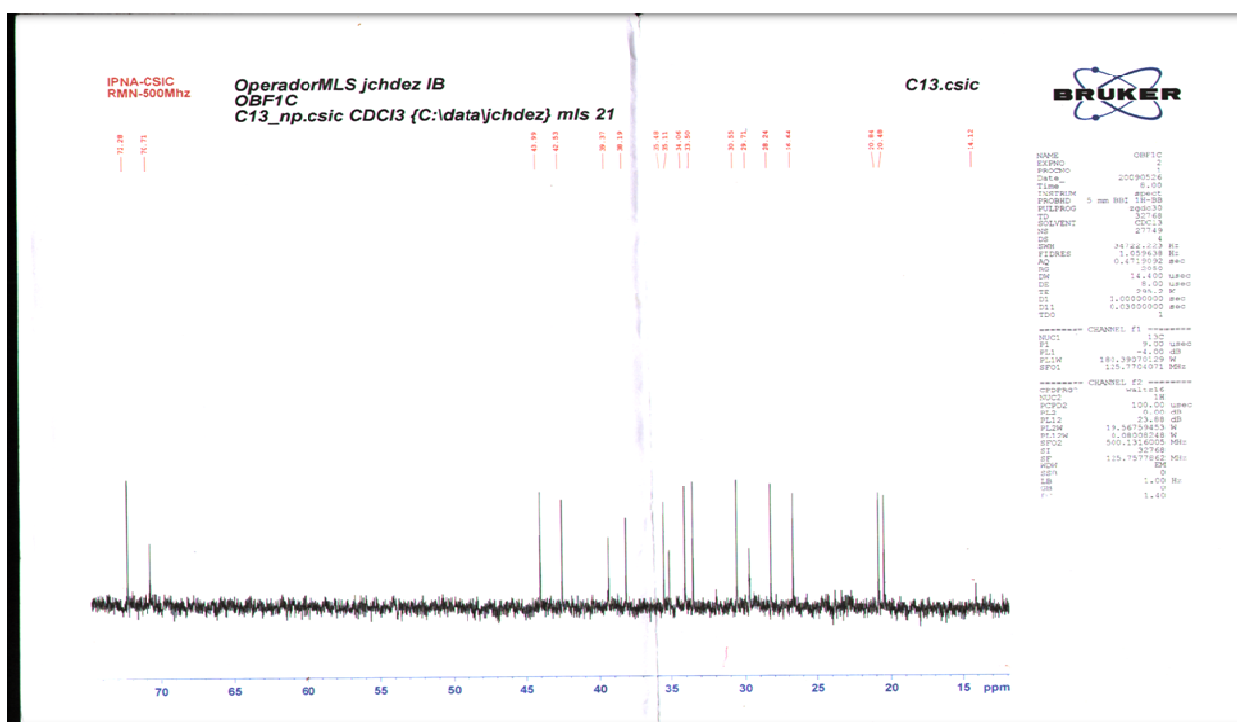


L'examen simultané des spectres RMN ^{13}C (spectre n° IV.23), DEPT 90 et 135 (spectre n° IV.24 et IV.25) montrent la présence de 15 atomes de carbones :

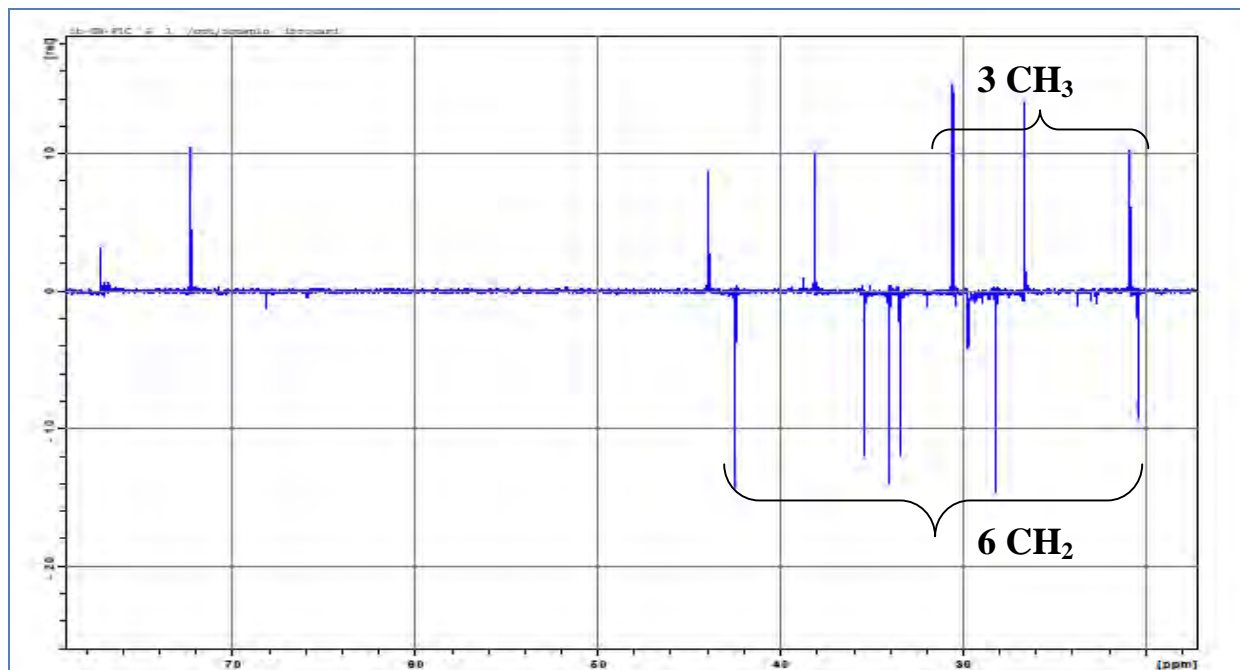
- ✓ Trois groupements CH_3 à 20,8; 26,6 et 30,5 ppm.
- ✓ Six groupements CH_2 à 20,5; 28,2; 33,5; 34,0; 35,1 et 42,5 ppm.
- ✓ Trois CH à 38,1; 43,9 dont un oxygéné à $\delta = 72,3$ ppm.
- ✓ Trois carbones quaternaires à 35,5 ; 39,3 et 70,7 ppm.

L'ensemble de ces données mènent à la formule brute partielle $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}$. Vu les valeurs des déplacements chimiques des 15 atomes de carbone, ce composé est un sesquiterpène. Le squelette sesquiterpénique étant formé de 15 atomes de carbone et vu l'absence de groupement carbonyle l'oxygène de cette formule partielle ne peut être engagé que dans un groupement hydroxyle ce qui mène à une autre formule brute partielle : $\text{C}_{15}\text{H}_{25}\text{O}$.

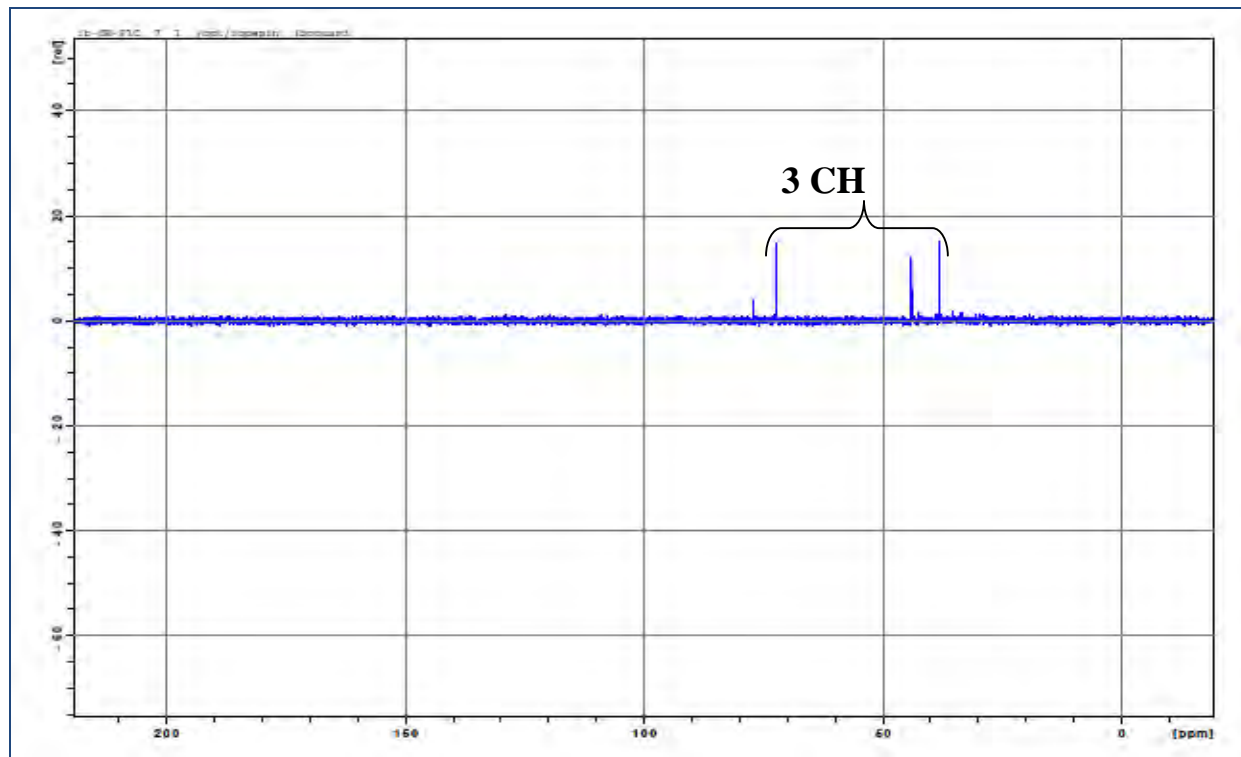
Spectre n° IV.23: Spectre DEPT 135 (125 MHz, CDCl_3 , δ ppm) du composé F20-C1



Spectre n° IV.24 : Spectre DEPT 135 (125 MHz, CDCl₃, δ ppm) du composé F20-C1, étalement

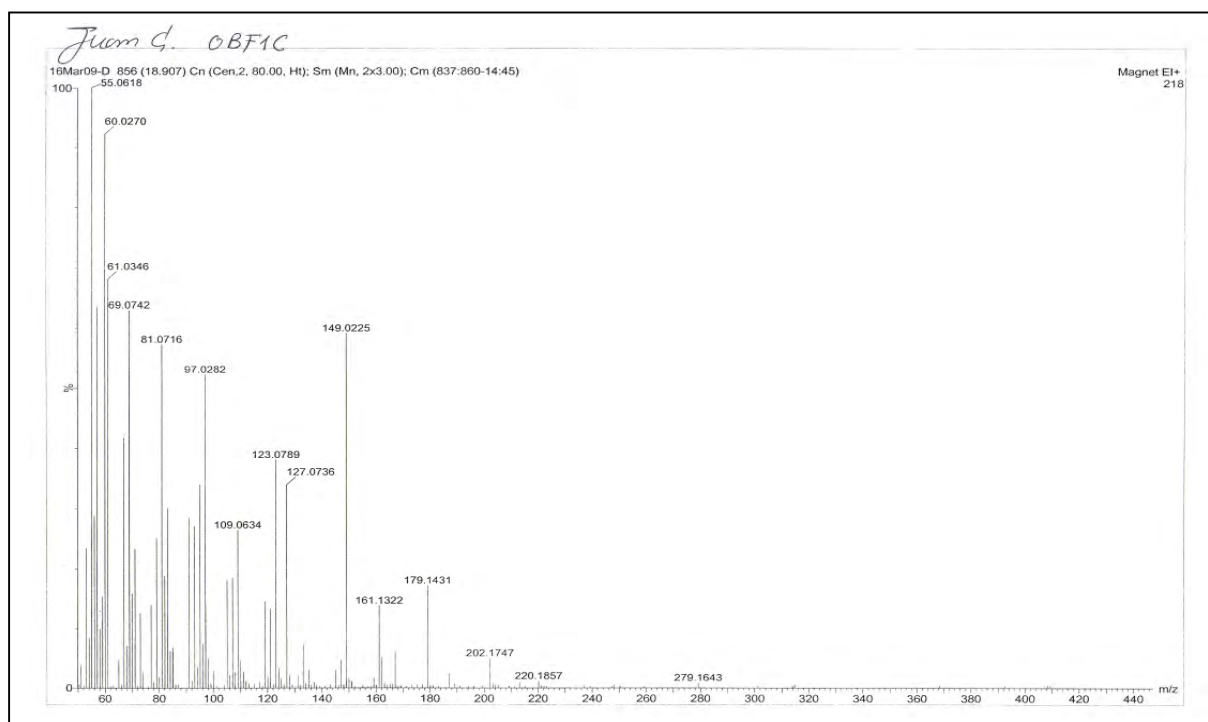


Spectre n° IV.25: Spectre DEPT 90 (125 MHz, CDCl₃, δ ppm) du composé F20-C1



Le spectre de masse à impact électronique (spectre n° IV.26) montre la présence d'un ion à $m/z = 220,1857$ correspondant à une formule brute $C_{15}H_{24}O$. Cette formule brute comparée à la formule brute partielle précédente ($C_{15}H_{25}O$) suppose la perte d'une molécule neutre comportant au moins un H. Cet ion comportant 4 insaturations dérive donc d'une structure à 3 insaturations. Vu l'absence de carbones éthyléniques, ces insaturations ne peuvent être engagées que dans des cycles et orienté par conséquent vers un **sesquiterpène tricyclique**.

Spectre n° IV.26 : Spectre SMIE du composé F20-C1



Un survol bibliographique montre que les sesquiterpènes tricycliques du genre *Chrysanthemum* sont essentiellement de type : **caryolane** (figure n° IV.9) ou bien de type **clovane** (figure n° IV.10)

Figure n° IV.9 : la structure du Caryolane

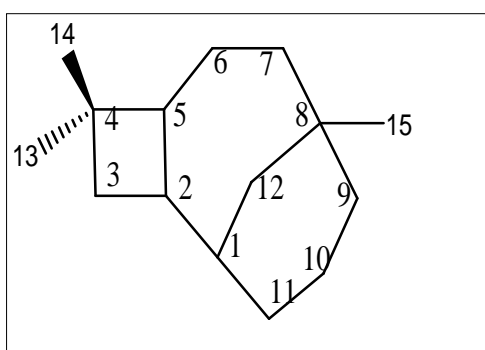
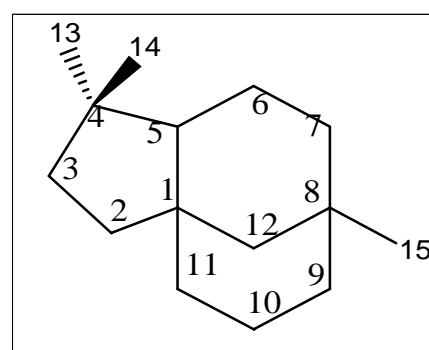


Figure n° IV.10 : la structure du Clovane

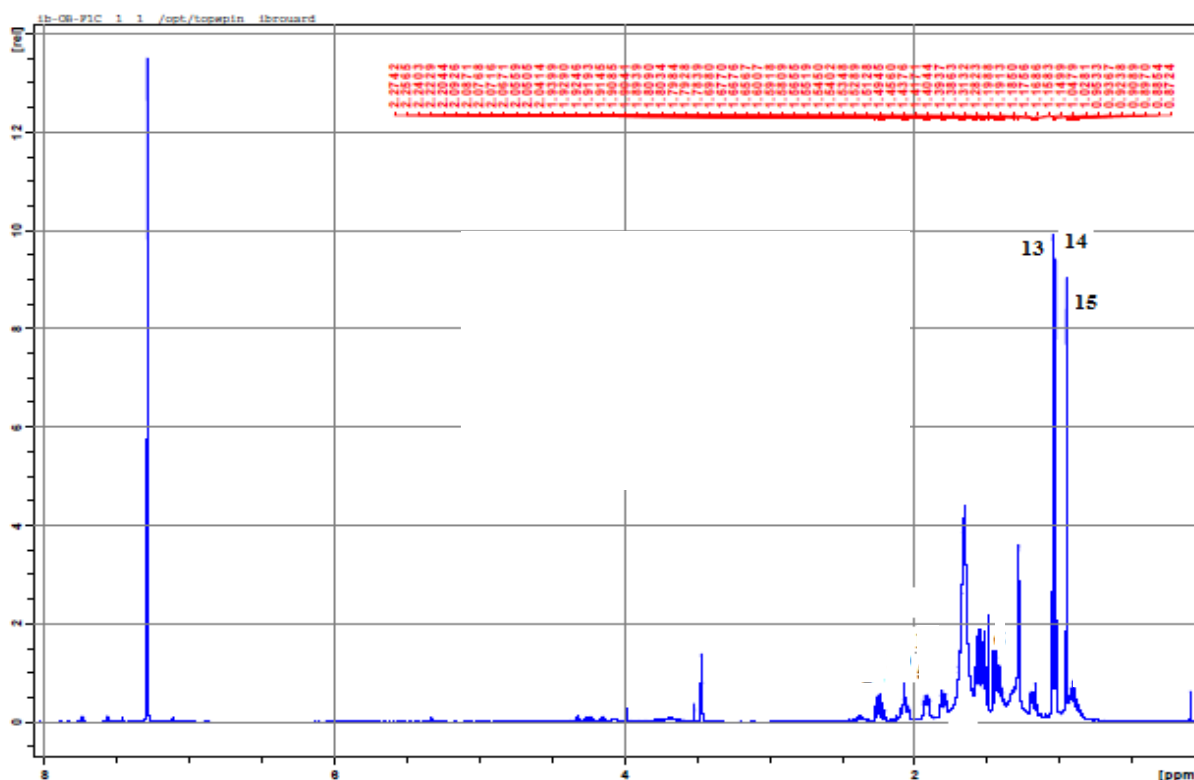


Le squelette **Clovane** montre la présence de trois atomes carbones (C-1, C-4 et C-8) avec des déplacements chimiques assez bas par contre le squelette **Caryolane** renferme uniquement deux (C-4 et C-8).

Dans notre molécule nous avons deux à 35,5 ; 39,3 et un troisième à 70,7 ppm. La valeur de ce déplacement chimique impose par conséquent la présence d'un élément électronégatif sur un carbone tertiaire. Cette observation oriente vers le squelette du **Caryolane**.

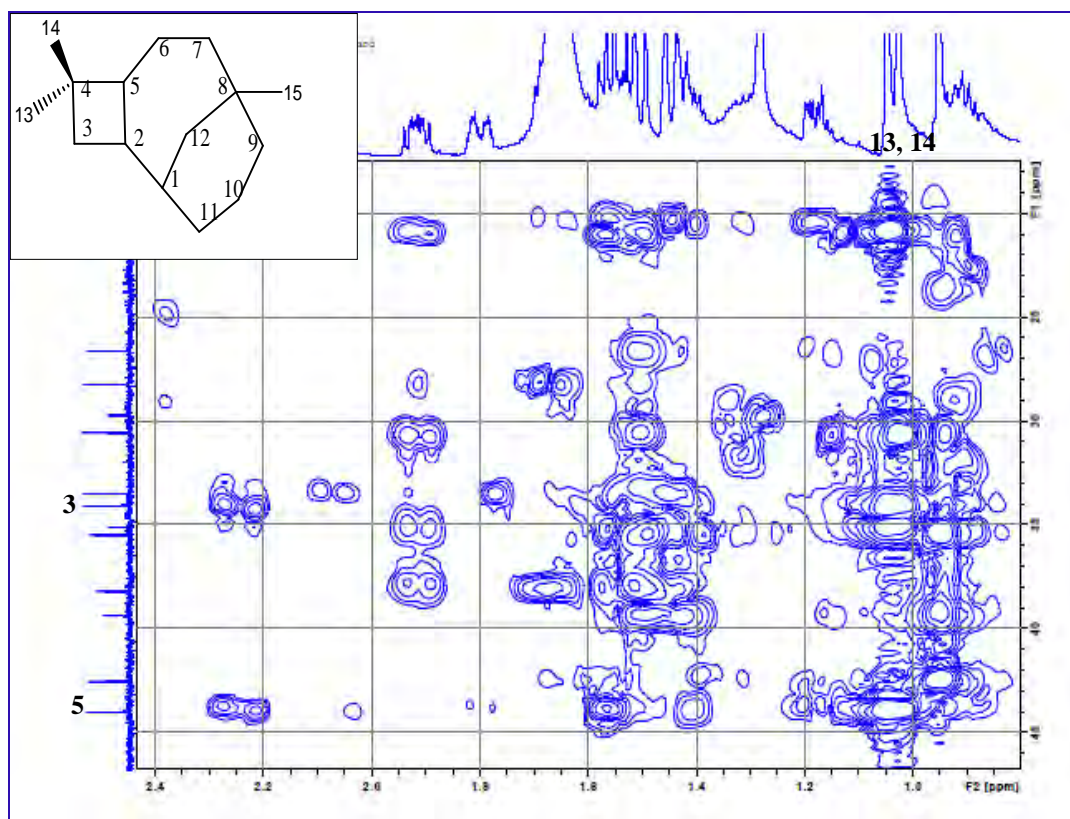
Le spectre RMN ^1H (spectre n° IV.27) montre la présence de trois singulets d'intégration 3H chacun à $\delta = 1,04$; 1,02 et 0,95 ppm attribuables aux trois groupements méthyles (C-13, C-14 et C15).

Spectre n° IV.27: Spectre RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3 , δ ppm) du composé F20-C1



Le spectre HMBC (spectre n° IV.28) montre que les deux méthyles parmi les trois ($\delta = 1,02$ et 1,04 ppm) présentent deux taches de corrélations avec un CH_2 à $\delta = 34,0$ ppm et un CH à $\delta = 43,9$ ppm ce qui montre que les deux méthyles sont portés par le même atome de carbone (C-4) et les deux méthyles sont CH_3 -13 et CH_3 -14, le CH_2 est le C-3, le CH est le C-5.

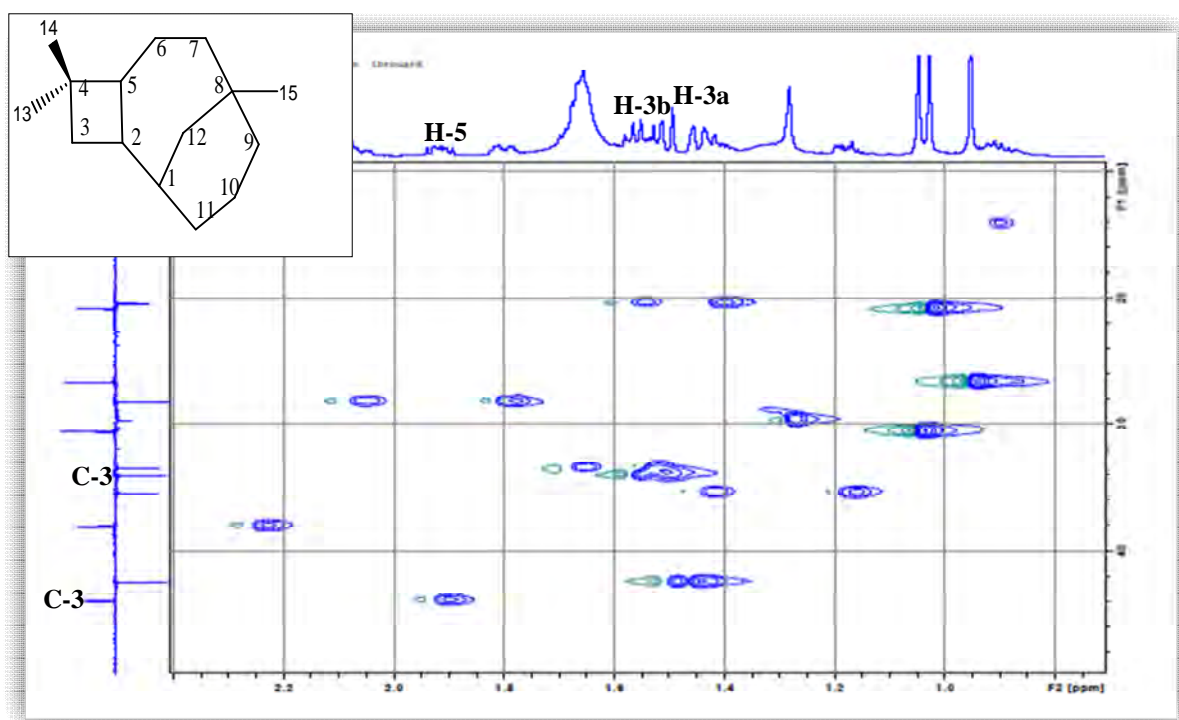
Spectre n° IV.28 : Spectre HMBC (500 MHz, CDCl₃, δ ppm) du composé F-20-C1, étalement



Le spectre HSQC (spectre n° IV.29) montre que :

- ✓ Le C-3 présente deux taches de corrélations à 1,49 et 1,54 ppm qui ne peuvent être que le H-3a et H3-b
- ✓ Le C-5 montre une tache de corrélation à 1,89 ppm qui ne peut être que le H-5.

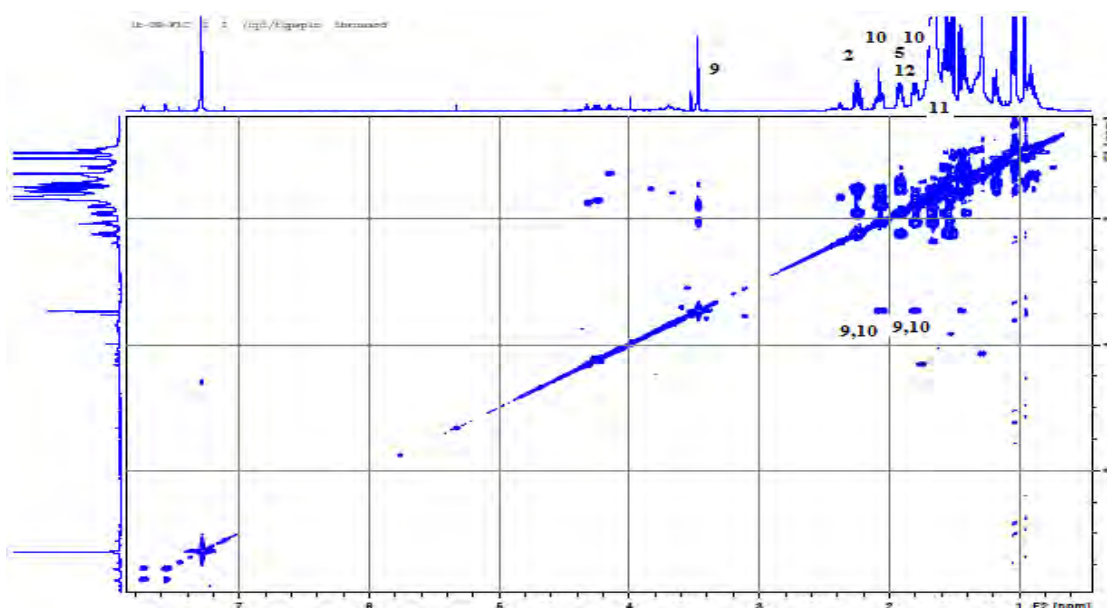
Spectre n° IV.29: Spectre HSQC (500 MHz, CDCl₃, δ ppm) du composé F-20-C1, étalement



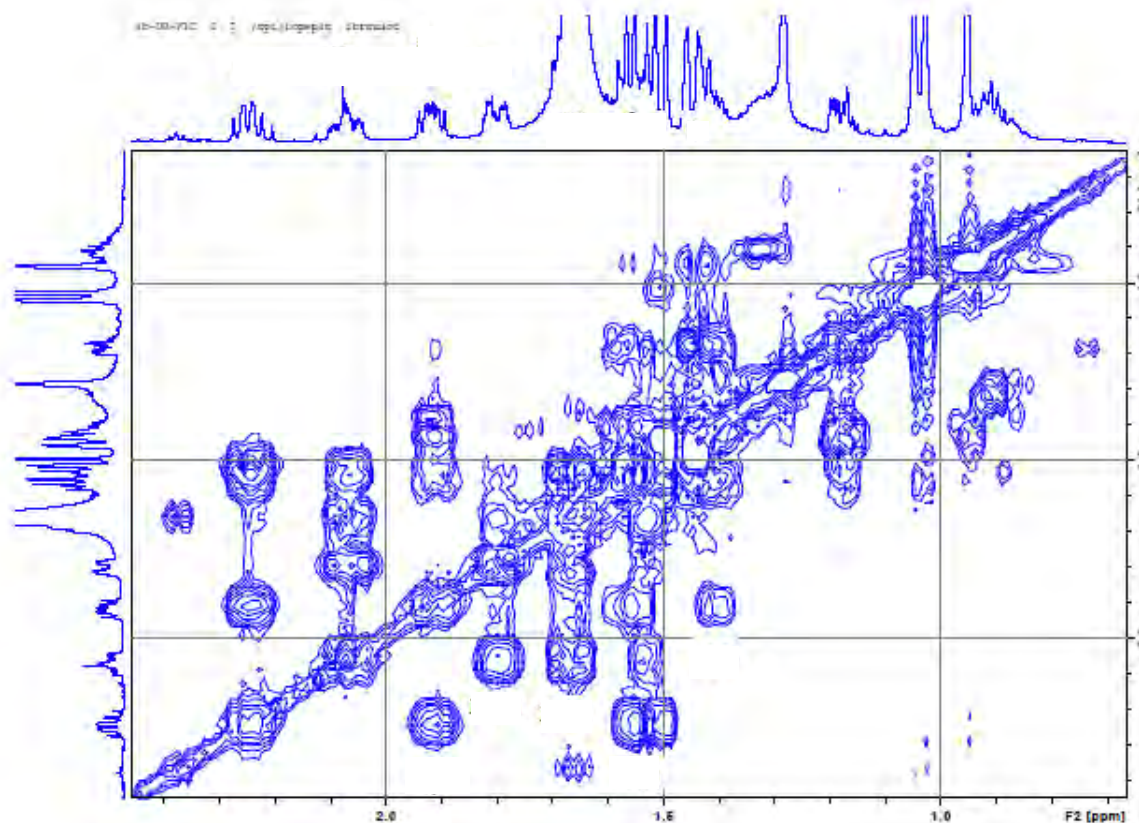
Le spectre COSY et son étalement (spectre n° IV.30 et IV.31) donne les indications suivantes :

- ✓ H3-a et H3-b montrent deux taches de corrélations avec un signal à 2,22 ppm qui ne peut être que H-2, ce dernier montre une tache de corrélation avec le H-5 ce qui confirme la jonction C2-C5.

Spectre n° IV.30 : Spectre COSY (¹H-¹H) (500 MHz, CDCl₃, δ ppm) du composé F-20-C1



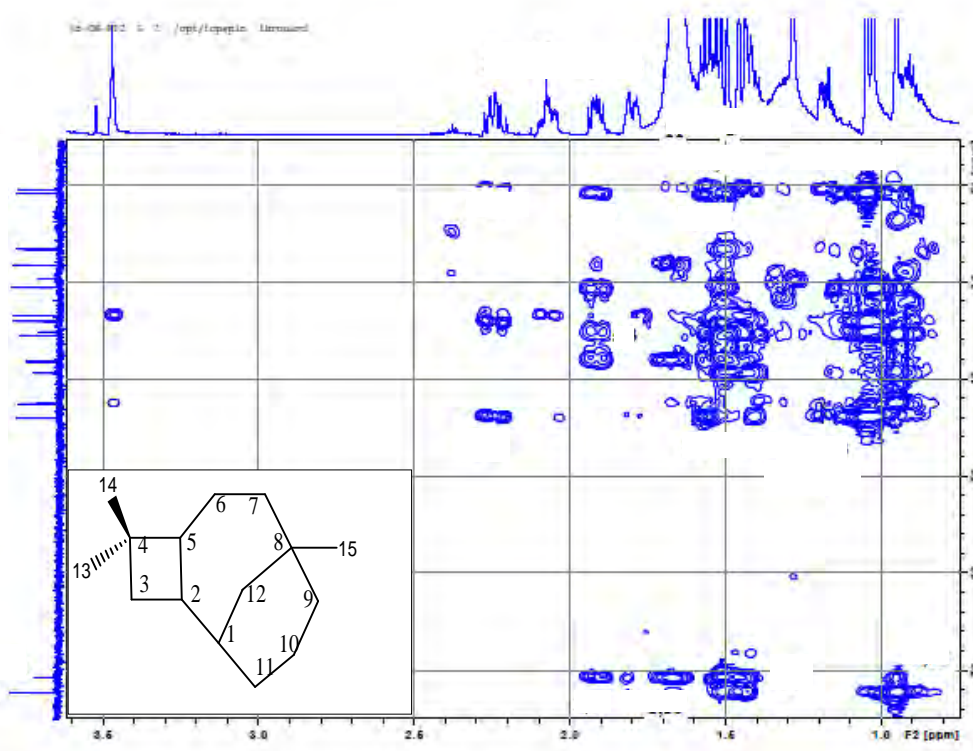
*Spectre n° IV.31 : Spectre COSY (^1H - ^1H) (500 MHz, CDCl_3 , δ ppm) du composé **F-20-C1**, étalement*



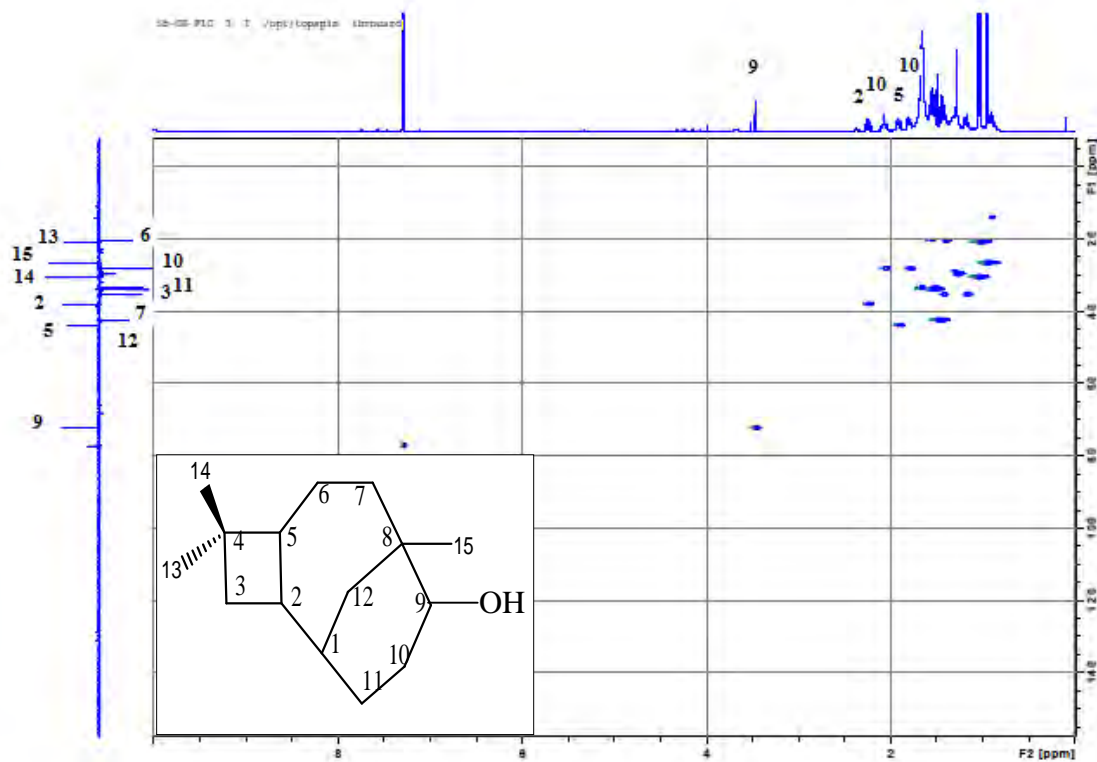
Un retour vers le spectre RMN ^1H (spectre n° IV.27) montre que le troisième méthyle ne peut être que CH_3 -15, ceci est confirmé par la valeur de son déplacement chimique ($\delta = 0,95$ ppm) que lui confère une position angulaire (jonction de cycle).

Le spectre HMBC (spectre n° IV.32) présente que ce méthyle (CH_3 -15) montre une tache de corrélation avec le CH oxygéné à $\delta = 72,3$ ppm, il ne peut être attribué au C-7, vu qu'il ne corrèle pas avec le H-5, il ne peut être attribué au C-12, vu la multiplicité de son proton (spectre n° IV.33), il ne peut être que le C-9.

Spectre n° IV.32 : Spectre HMBC (500 MHz, CDCl₃, δ ppm) du composé F-20-C1



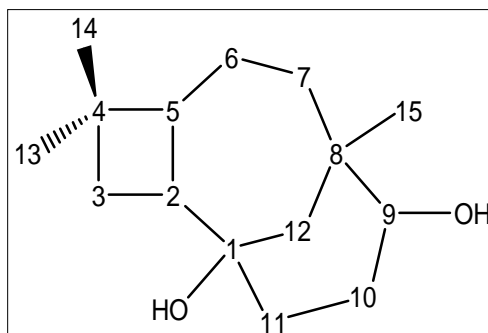
Spectre n° IV.33: Spectre HSQC (500 MHz, CDCl₃, δ ppm) du composé F-20-C1



Un retour vers le spectre HMBC (spectre n° IV.32) montre que H3-a, H3-b et le H-5 présentent des taches de corrélations avec le carbone quaternaire à 70,7 ppm, d'où ce carbone est le C-1, carbone angulaire (jonction de cycle). Le déplacement chimique de 70,7 ppm suppose une hydroxylation en cette position. La structure de ce composé est finalisée par l'analyse du spectre COSY (spectre n° IV.31):

Ces éléments convergent vers la structure du **Caryolane-1,9-diol** (figure n° IV.11).

Figure n° IV.11 : la structure du *Caryolane-1,9-diol*



La stéréochimie des centres asymétriques du squelette sesquiterpénique est établie selon les constatations suivantes :

- ✓ Le méthyle 15 admet une orientation β suite aux règles de biogénèse.
- ✓ H-2 et H-5 sont en position anti. Dans le cycle à 7, la position axiale de H-5 correspondant à la position β par conséquent H-2 admet une orientation α .
- ✓ la liaison C1-C-11 est α d'après les règles de biogénèse par contre le OH est β .
- ✓ Le CH-9 apparaît sous forme d'un triplet avec une constante de couplage 3 Hz, la valeur de cette constante de couplage suppose qu'il subit des interactions eq-ax et eq-eq avec les deux H-10 par conséquent H-9 admet une orientation eq soit α donc le OH admet une orientation β .

Tous ces données mènent à la structure finale du **Caryolane-1,9- β -diol** (figure n° IV.12). Dont les données RMN ^1H (tableau n° IV.9) et RMN ^{13}C (tableau n° IV.10) sont en tous point conforme avec celle publiées dans la littérature [4].

Figure n° IV.12 : la structure du *Caryolane-1,9- β -diol*

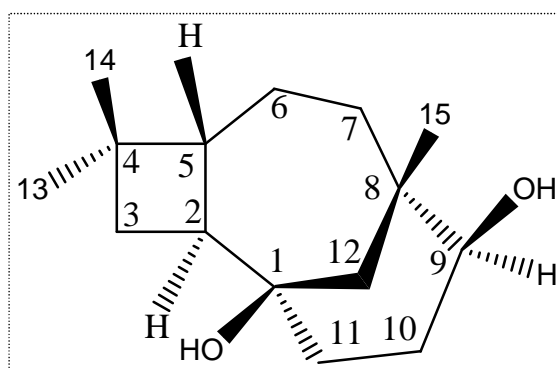


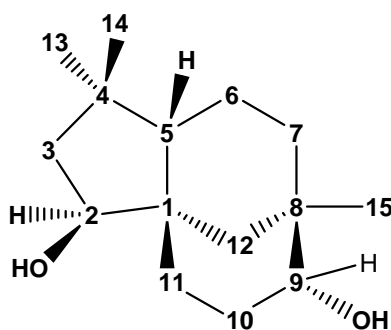
Tableau n° IV.9 : Données de la RMN ¹H (CDCl₃; 500 MHz).

Déplacement chimique δ (ppm)	Intégration	Multiplicité (J Hz)	Attribution
2,22	1H	ddd (12; 10; 8,3)	H-2
1,49	2H	dd (10; 9)	H-3a
1,54	1H	t(10,0)	H-3b
1,89	1H	ddd (12; 9; 6)	H-5
1,39	1H	m	H-6a
1,53	1H	m	H-6b
1,15	1H	m	H-7a
1,42	1H	m	H-7b
3,44	1H	T(3)	H-9
1,77	1H	ddt (15; 5; 3)	H-10a
2,04	1H	dddd (15;12,5;5,5;3)	H-10b
1,52	1H	m	H-11a
1,64	1H	td (12,5;5,0)	H-11b
1,43	1H	d	H12-a
1,46	3H	d	H12-b
1,02	3H	s	H-13
1,04	3H	s	H-14
0,95		s	H-15

Tableau n° IV.10 : Données RMN ¹³C (CDCl₃; 250 MHz).

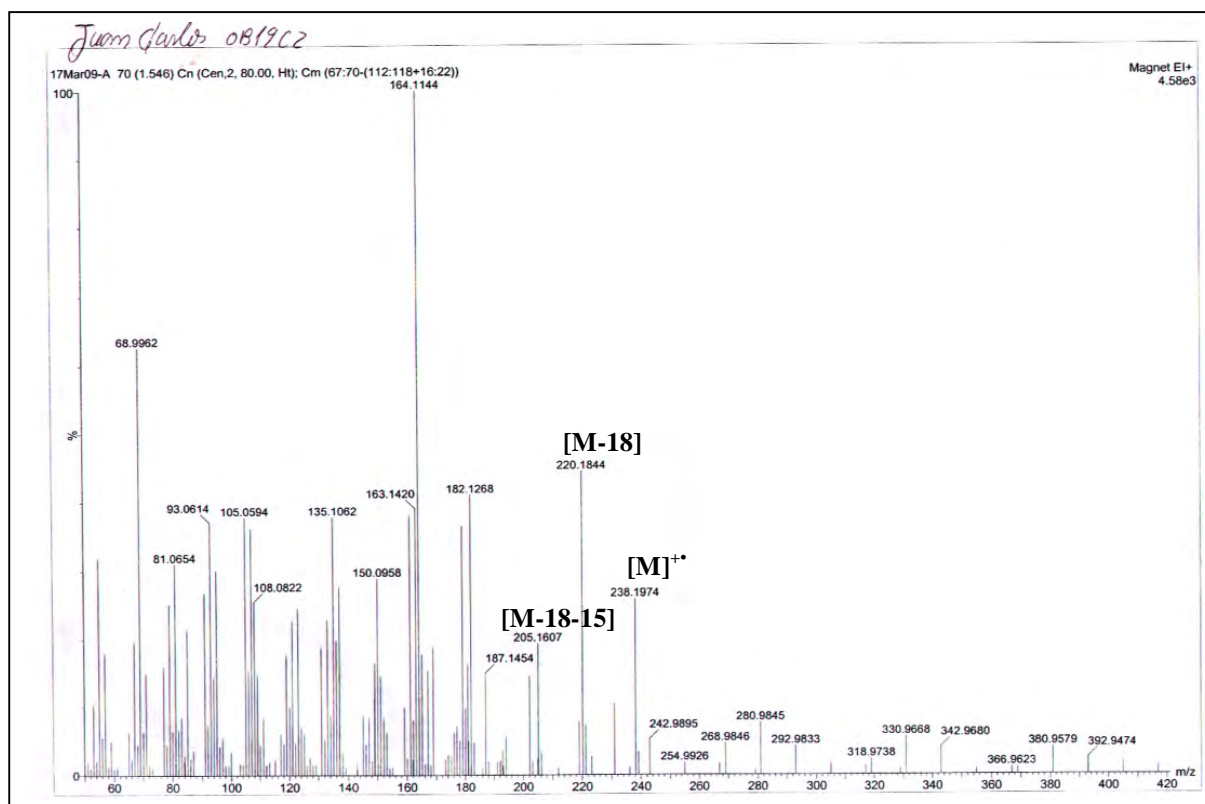
Déplacement chimique δ (ppm)	Attribution
70,7	C-1
38,1	C-2
34,0	C-3
35,1	C-4
43 ,9	C-5
20,4	C-6
35,4	C-7
39,3	C-8
72,2	C-9
28,2	C-10
33,5	C-11
42,5	C-12
20,8	C-13
30,5	C-14
26,6	C-15

IV. 1. A. 7 : IDENTIFICATION DU COMPOSE F19-C2



Le spectre SMIE (spectre n° IV.34), montre un pic moléculaire à 238,1974 correspondant à la formule brute : $C_{15}H_{26}O_2$ et la présence de trois insaturations. On constate également la présence d'un pic à $m/z = 220,1844$ attestant la perte d'une molécule d'eau et la présence d'une fonction OH [M-18] et également un pic à $m/z = 205,1607$ qui représente une perte d'un groupement méthyle consécutive à la perte de H_2O [M-18-15].

Spectre n° IV.34 : Spectre SMIE du composé F19-C2

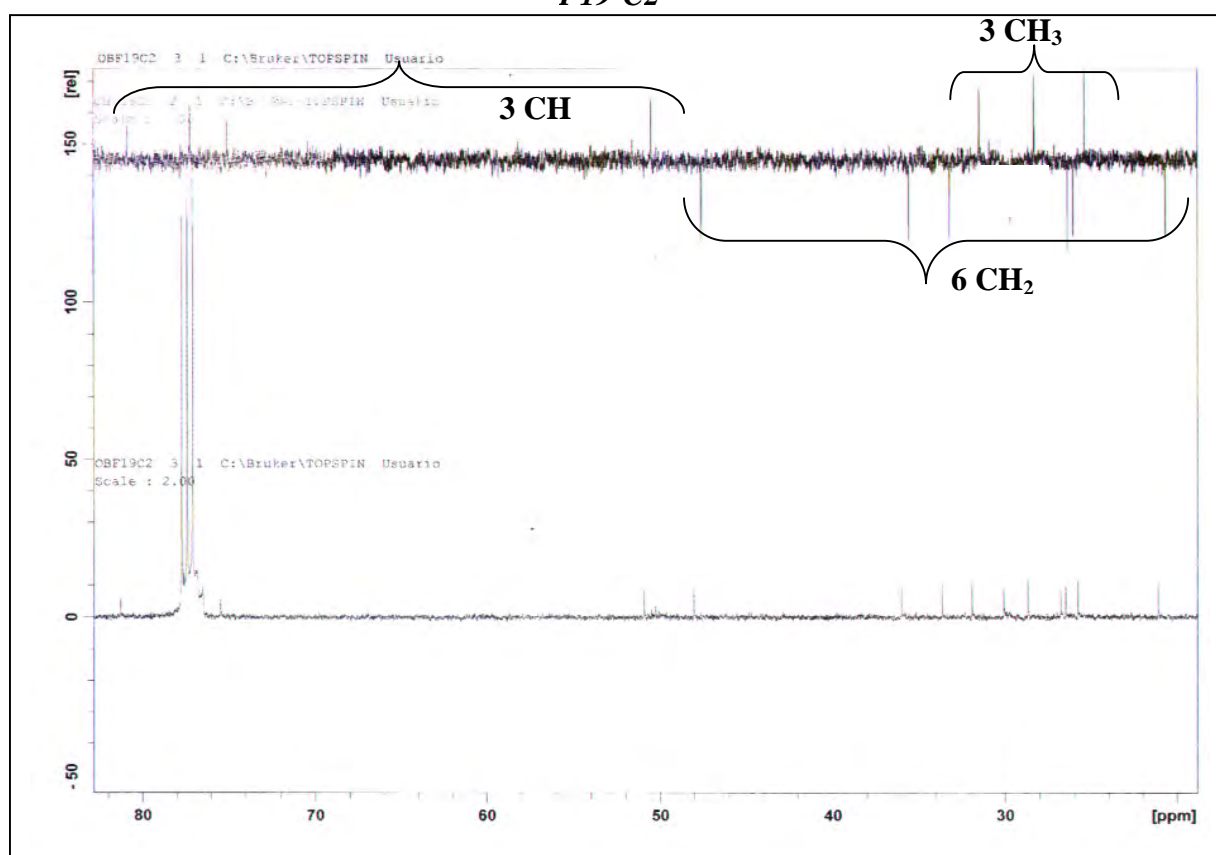


Le spectre RMN ^{13}C et DEPT 135 (spectre n° IV.35) de ce composé confirme la présence de quinze atomes de carbone que nous pouvons répartir comme suit :

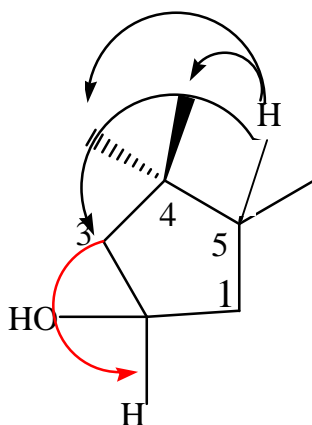
- trois carbones quaternaires à $\delta = 31,8 ; 35,0$ et $44,8$ ppm.
- trois groupements CH_3 à $\delta = 25,8; 28,7$ et $31,9$ ppm.
- six groupements CH_2 à $\delta = 21,1; 26,5 ; 26,8 ; 31,9 ; 33,6$ et $47,9$ ppm.
- trois groupements CH dont deux oxygénés à $\delta = 50,9$ ppm et $76,5$ et $81,3$ ppm.

Spectre n° IV.35 : Spectres RMN ^{13}C et DEPT 135 (125 MHz, CDCl_3 , δ ppm) du composé

F19-C2

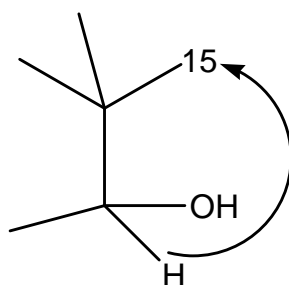


L'ensemble de ces informations et l'absence de carbones de type sp_2 montre que ce composé est un **sesquiterpène tricyclique** comme le composé F20 –C1. La différence entre ces deux composés est la disparition d'un CH ($\text{CH}-2$) de jonctions de cycle ainsi que la disparition du carbone quaternaire oxygéné et son remplacement par un CH oxygéné (spectre n° IV.35). Le deuxième CH de jonction de cycle CH (5) est identifié par son déplacement chimique et ses corrélations HMBC avec deux méthyles parmi les trois. Ce dernier corrèle également avec un groupement CH_2 . Ces corrélations permettent de mettre en évidence l'enchaînement suivant :



Toutes ces données orientent vers le squelette du **clovane** (figure n° IV.10).

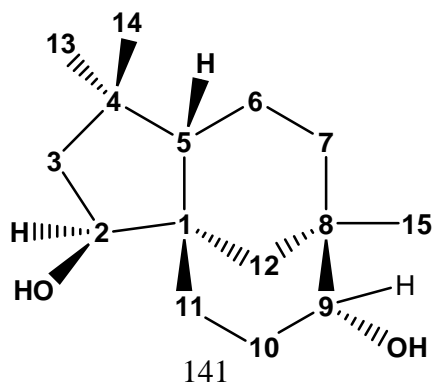
La corrélation du troisième méthyle (CH_3 -15) avec le CH oxygéné ainsi que leur déplacement chimique et les connectivités HMBC permettent de retrouver l'enchaînement trouvé dans le composé F20-C1 et confirme le squelette du clovane :

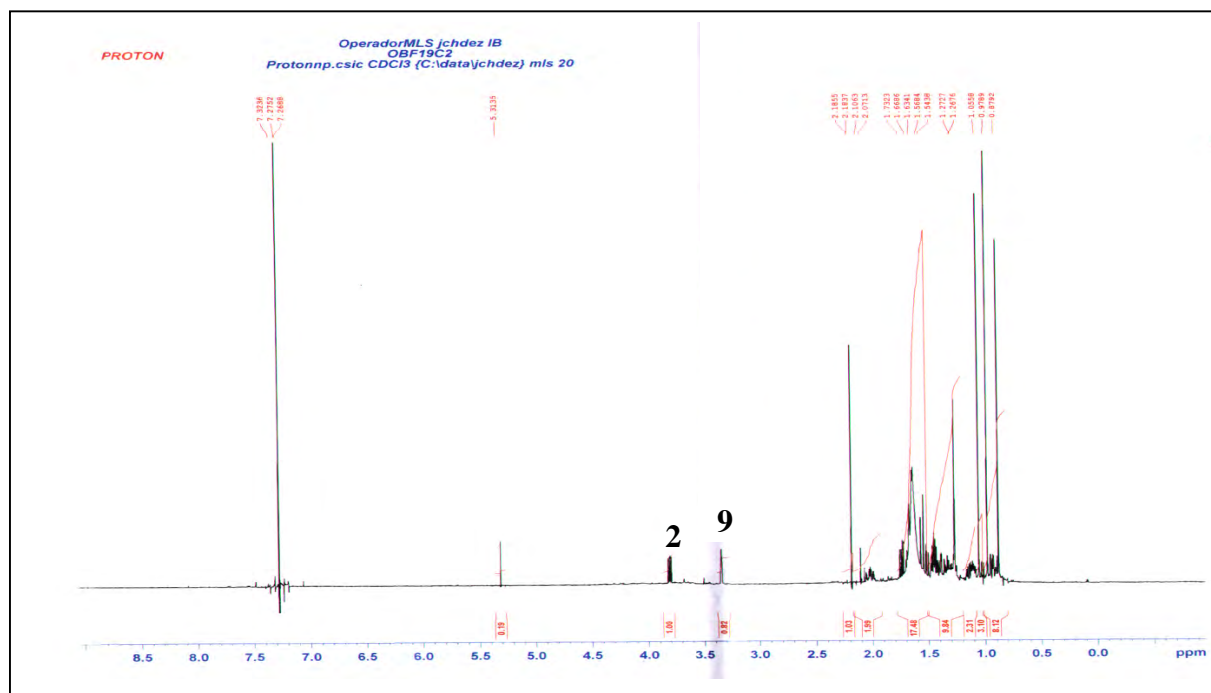
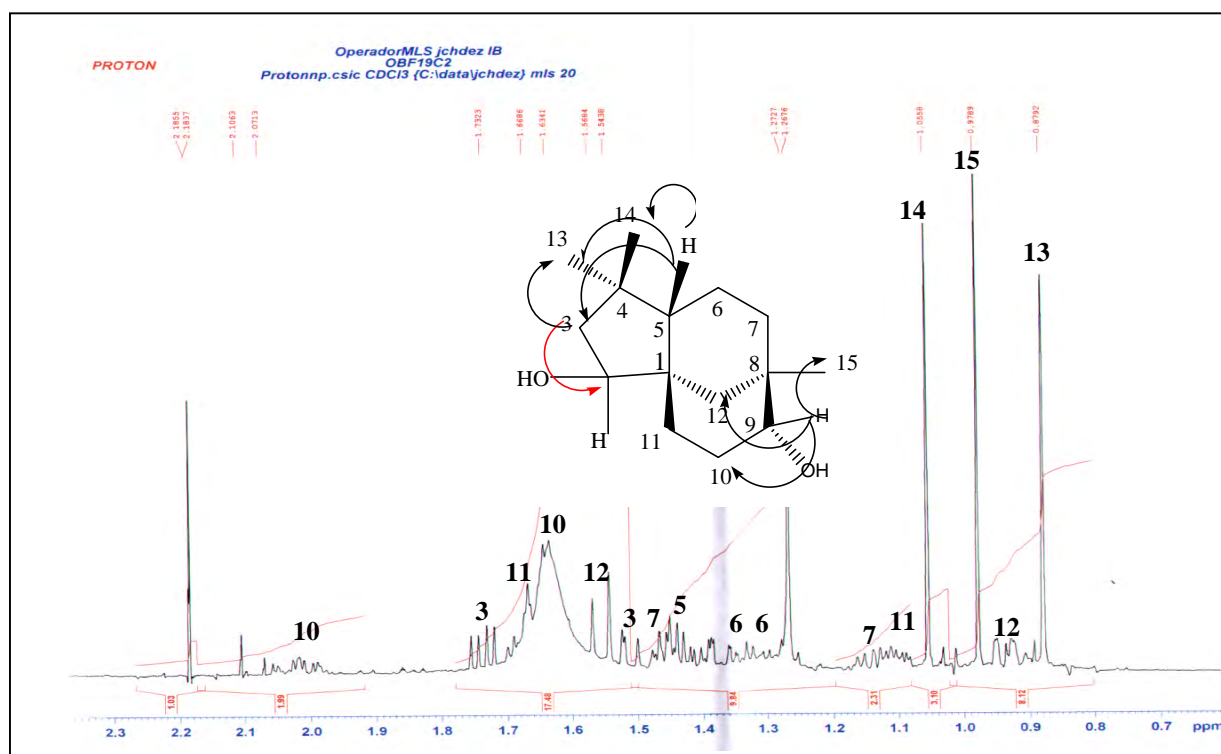


Les données RMN ^1H (spectre n° IV.36, IV.37), de ^{13}C et son séquence (spectre n° IV.35) ajoutées à l'ensemble des corrélations HSQC (spectre n° IV.38), HMBC (spectre n° IV.39) ainsi que la comparaison avec le composé F20-C1 et les données de la littérature [4] mènent à la structure plane de ce composé qui est le **Clovane -2, 9-diol**,

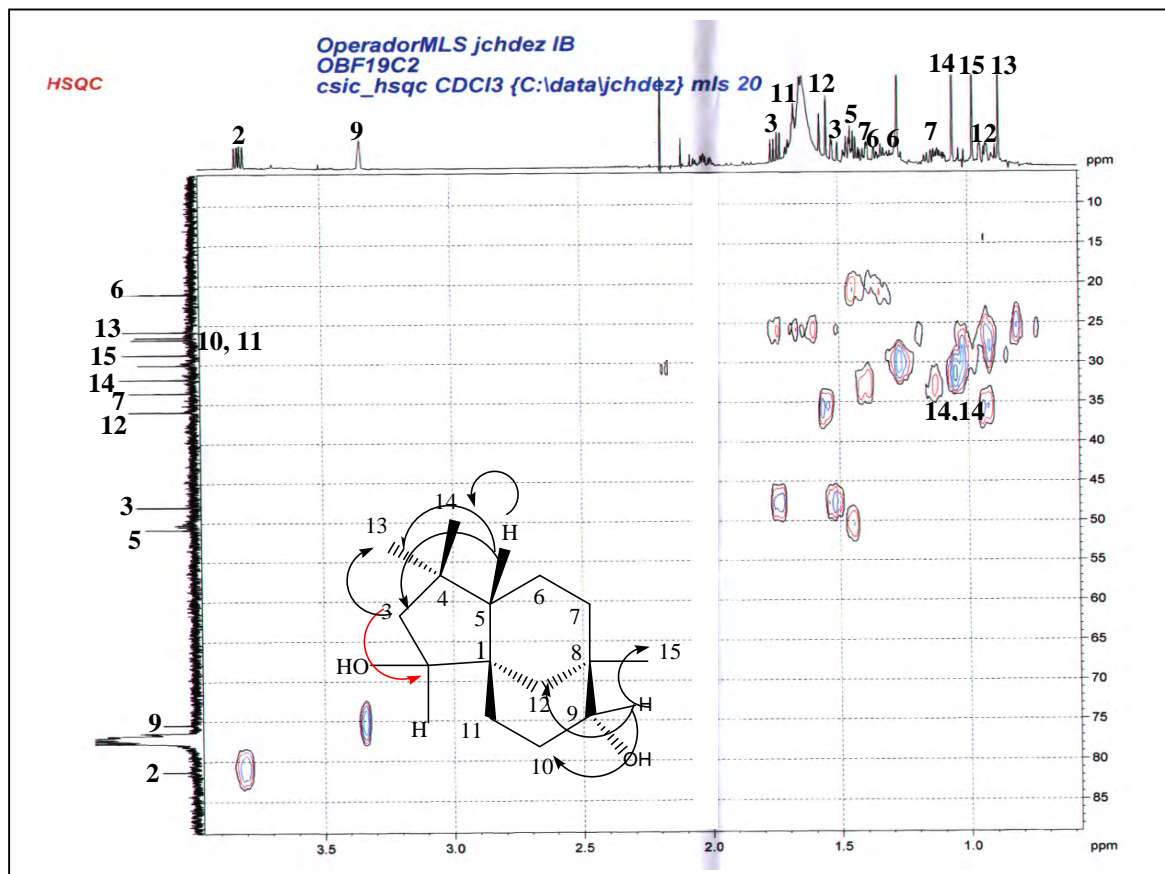
La stéréochimie des centres chiraux du squelette sesquiterpénique a été établie selon les constantes de couplage et les règles de biogénèses. L'ensemble de cette analyse mènent à la structure finale du **Clovane-2 β , 9 α -diol** reporté sur la figure n° IV.13.

Figure n° IV.13 : la structure du Clovane -2 β , 9 α -diol.

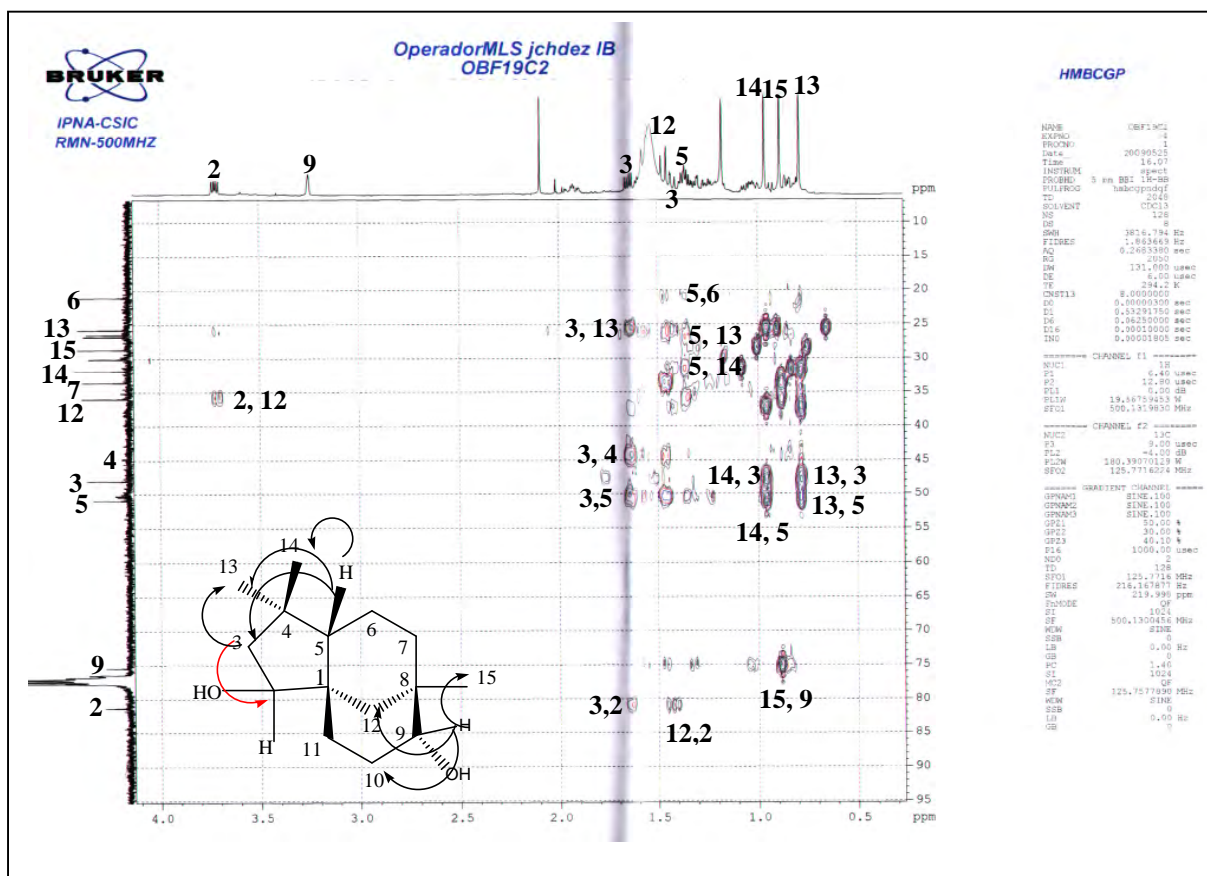


Spectre n° IV.36 : Spectre RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3 , δ ppm) du composé **F20-C1****Spectre n° IV.37:** Spectre RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3 , δ ppm) du composé **F20-C1**

Spectre n° IV.38 : Spectre HSQC (500 MHz, CDCl₃, δ ppm) du composé F19-C2

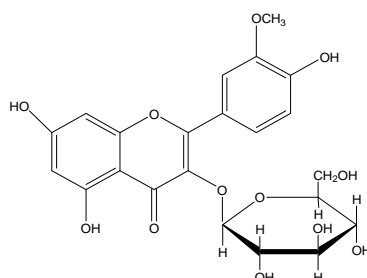


Spectre n° IV.39 : Spectre HMBC (500 MHz, CDCl₃, δ ppm) du composé F19-C2



IV. 1. B : IDENTIFICATION DES PRODUITS DE LA PHASE BUTANOLIQUE

IV. 1. B. 1 : IDENTIFICATION DU COMPOSE F20-42



L'étude de la série spectrale UV mène aux remarques suivantes (spectre n° IV.40) :

Le maximum d'absorption de la bande I à 356 nm dans le spectre enregistré dans le méthanol indique qu'il s'agit d'un flavonoïde substitué en 3.

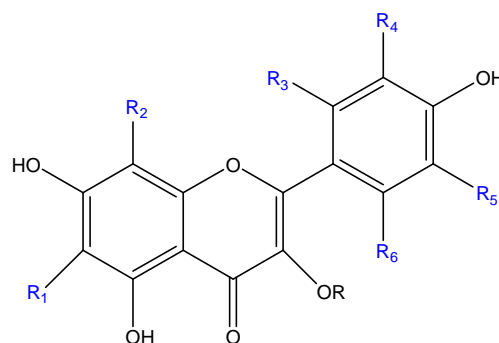
Le déplacement bathochrome de la bande I de 53 nm après l'addition de NaOH avec une augmentation de la densité optique, oriente vers un OH en 4'. Sur le même spectre, l'apparition d'une nouvelle bande à 324 nm est révélatrice de la présence d'un OH libre en position 7, confirmé par l'effet bathochrome (18 nm) de la bande II dans NaOAc par rapport au spectre méthanolique

Le déplacement bathochrome de la bande I enregistré dans le milieu en comparant les spectres $\text{AlCl}_3+\text{HCl}/\text{MeOH}$ ($\Delta \lambda = 45 \text{ nm}$), indique la présence d'un OH libre en 5.

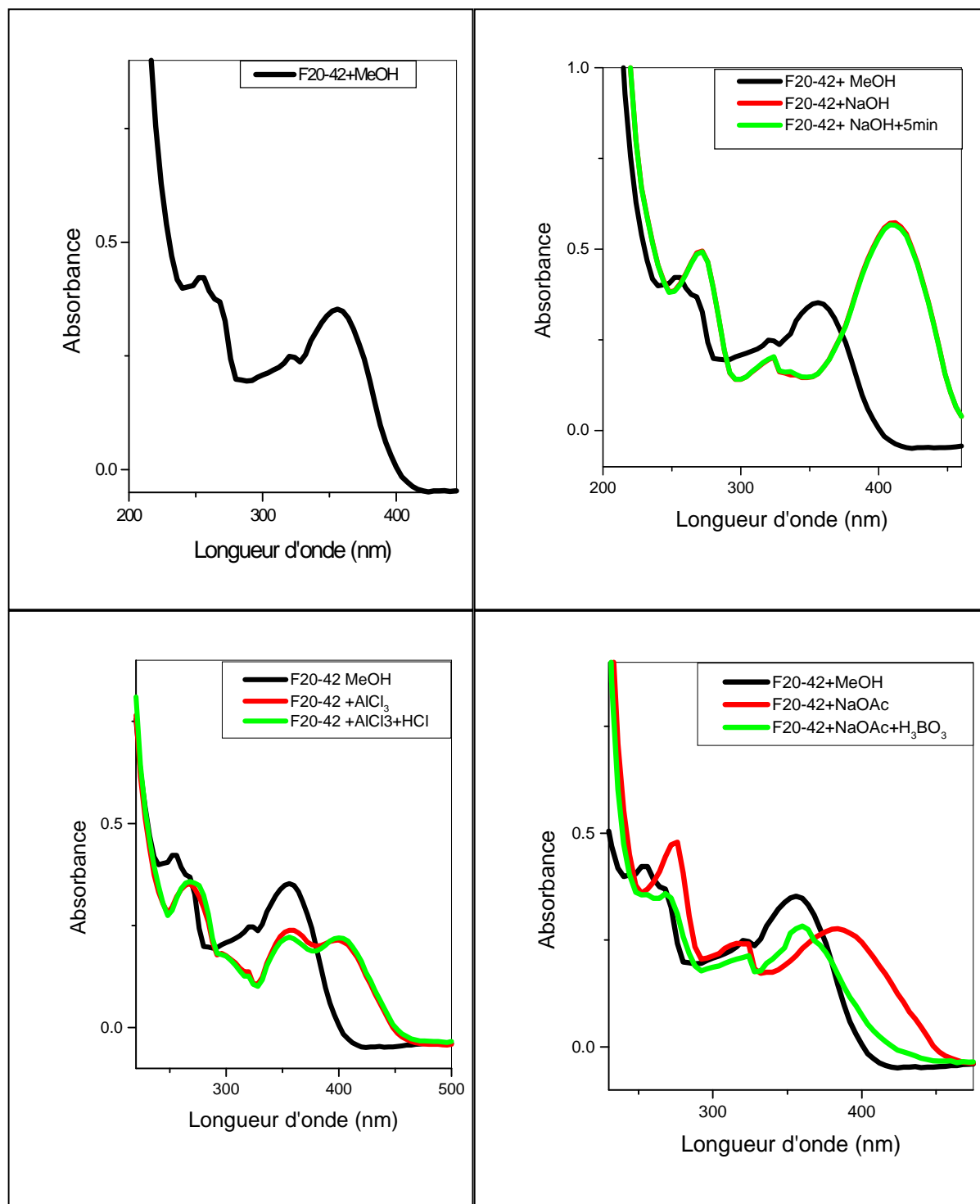
Le fait qu'il n'y est pas de changement notable de la bande I en comparant les spectres AlCl_3/HCl et AlCl_3 laisse prévoir l'absence d'un système ortho dihydroxylé sur le cycle B. Cette hypothèse est confirmée par l'effet bathochrome faible de la même bande dans $\text{NaOAc}/\text{H}_3\text{BO}_3$ par rapport au méthanol. Toutes ces données mènent à la structure partielle suivante (figure n° IV.14) :

Figure n° IV.14 : la structure partielle du composé F 20-42

:



Spectre n° IV.40 : Série spectrale UV du composé F20-42



Les données relatives à la série spectrale UV de ce composé sont rassemblées dans le tableau n° IV.11:

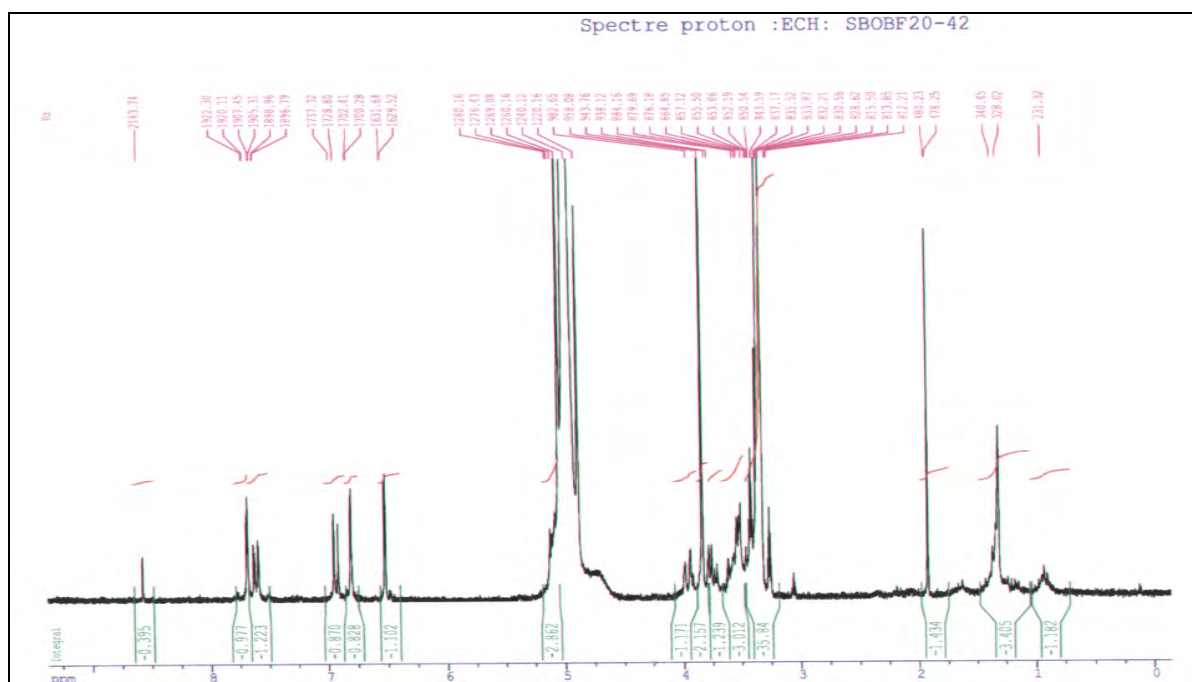
Tableau n° IV.11: Données de la série spectrale UV du composé F20-42.

<i>Réactifs</i>	<i>Bande I</i>	<i>Bande II</i>	<i>Autres bandes</i>	<i>Commentaire</i>
MeOH	356	254		Flavonol (3-OH substitué)
+ NaOH	410	269	324	OH libre en 4' OH libre en 7
+AlCl ₃	398	267	357	/
+AlCl ₃ /HCl	398	267		OH libre en 5 Pas du di-OH sur B
+NaOAc	383	273		OH libre en 7
+NaOAc/H ₃ BO ₃	359	269	323	Pas de di-OH sur B
Spectre stable en présence de NaOH après 5 mn				

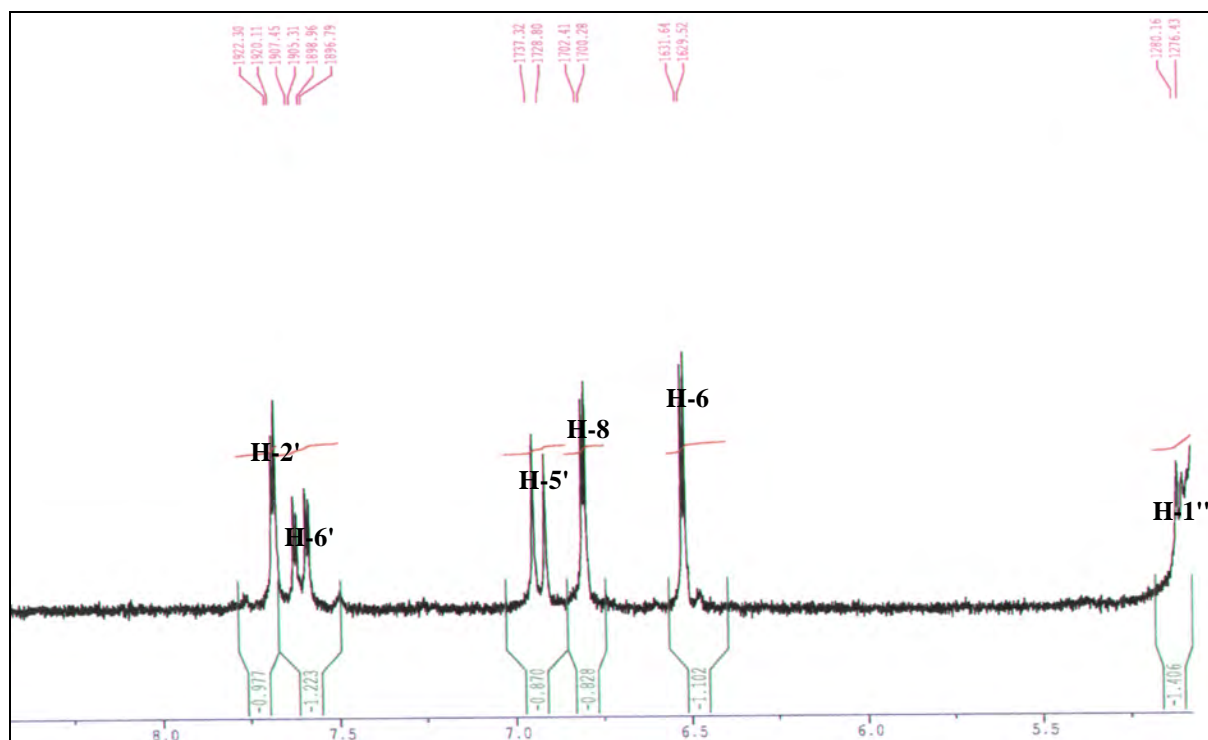
L'examen du spectre RMN ¹H (spectre n° IV.41) et son étalement (spectre n° IV.42) montre :

- ✓ Un doublet d'intégration 1H à $\delta = 7,70$ ppm avec une constante de couplage de $J = 2,2$ Hz attribuable à H-2'.
- ✓ Un doublet de doublet d'intégration 1H à $\delta = 7,60$ ppm ($J = 2,1; 8,5$ Hz) attribuable à H-6'.
- ✓ doublet d'intégration 1H à $\delta = 6,90$ ppm ($J = 8,5$ Hz) attribuable à H-5'.
- ✓ Deux doublets d'intégration 1H chacun, le premier à $\delta = 6,80$ ppm et le second à $\delta = 6,55$ ppm attribuables à H-6 et H-8 respectivement.
- ✓ Un doublet à $\delta = 5,15$ ppm, d'intégration 1H ($J = 7,2$ Hz), attribuable au proton anomérique d'un sucre relié à l'aglycone par un pont oxygène. Dans l'intervalle 3,30 – 4,00 ppm se trouvent les autres protons du sucre.
- ✓ Un singulet d'intégration 3H à $\delta = 3,80$ ppm indiquant la substitution de la molécule par un groupement méthoxyle.

Spectre n° IV.41: Spectre RMN ^1H (250 MHz, CD_3OD , δ ppm) du composé F20-42



Spectre n° IV.42: Spectre RMN ^1H (250 MHz, CD_3OD , δ ppm) du composé F20-42,



L'ensemble de ces données est reportés dans le tableau n° IV.12 :

Tableau n° IV.12: Données de la spectroscopie RMN ^1H (CD_3OD , 250 MHz).

Déplacement chimique δ (ppm)	Intégration	Multiplicité	J (Hz)	Attribution
7,70	1H	<i>d</i>	2,2	H-2'
7,60	1H	<i>dd</i>	2,1 ; 8,5	H-6'
6,90	1H	<i>d</i>	8,52	H-5'
6,80	1H	<i>d</i>	2,1	H-8
6,55	1H	<i>d</i>	2,1	H-6
5,14	1H	<i>d</i>	7,2	H-1''
3,80	3H	<i>s</i>		O-CH ₃

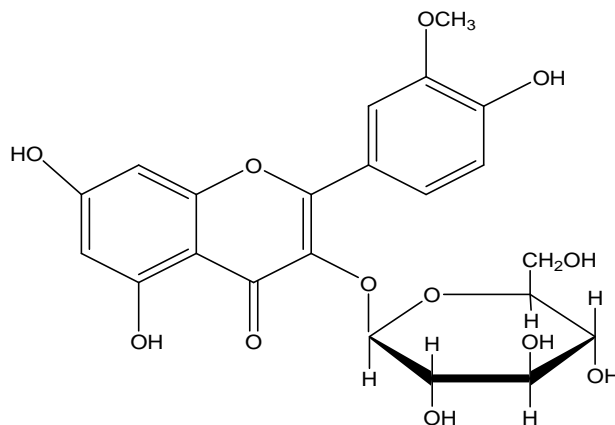
Ces données complètent la structure précédente et montrent que les substituants R et R₄ sont un sucre et un groupement méthoxyle.

L'hydrolyse acide de ce composé libère le glucose comme sucre révélé par co-chromatographie avec l'échantillon authentique.

L'aglycone obtenue donne une fluorescence jaune sous UV indiquant l'obtention d'un flavonol, ce qui oriente vers une jonction sucre- aglycone en position 3 et permet l'attribution de R à un groupement glucosyle.

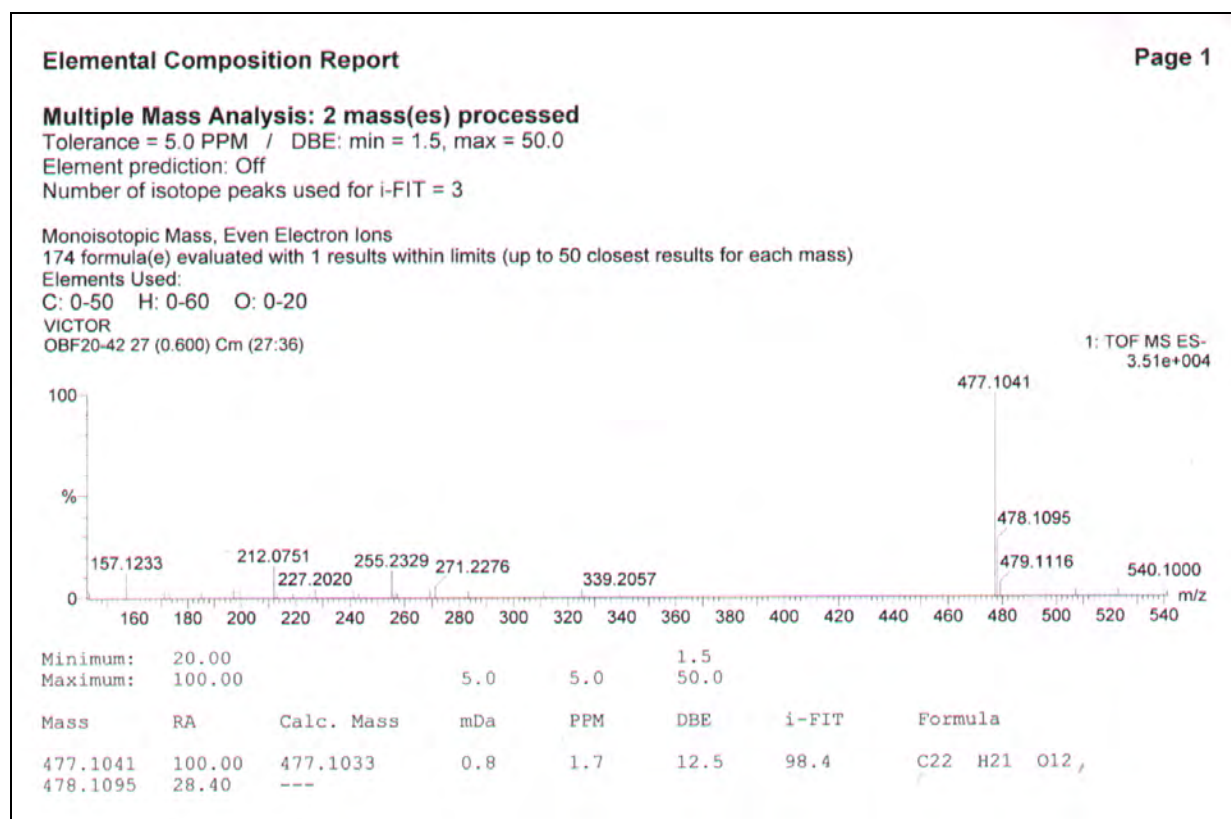
La série spectrale de l'aglycone montre l'inexistence du système ortho di-OH confirmant ainsi l'attribution de R₄ à un méthoxyle, ce qui permet de proposer la structure suivante :

5, 7, 4'-trihydroxy-3'-methoxy-3-O-glucosylflavone ou bien **Isorhamnetine 3-O-glucoside (cacticine)** reportée dans la figure n° IV.15.

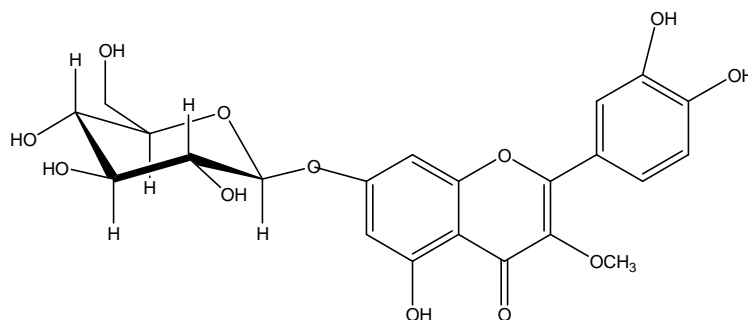
Figure n° IV.15 : la structure de la **Cacticine**

Cette structure est confirmée par le spectre de masse en electrospray (spectre n° IV.43) qui montre une masse égale à 477,1041 correspondant à $[M-H]^-$ donnant la formule brute $C_{22}H_{21}O_{12}$. Ce spectre montre également un pic à 478,1095 qui donne la formule exacte $C_{22}H_{22}O_{12}$.

Spectre n° IV.43 : Spectre de masse en Electrospray du composé F20-42



IV. 1. B. 2 : IDENTIFICATION DU COMPOSE F22-2



Enregistré dans le méthanol (spectre n° IV.44), le spectre de ce composé montre les deux bandes caractéristiques des flavonoïdes. La bande II à $\lambda_{\text{max}} = 257 \text{ nm}$ et la bande I à $\lambda_{\text{max}} = 360 \text{ nm}$. La valeur de la longueur d'onde d'absorption maximale de la bande I montre la nature flavonol 3-OR de cette molécule.

- ✓ L'addition du réactif NaOH, conduit à un déplacement bathochrome (+ 32 nm) de la bande I avec augmentation de l'intensité, indiquant que la position 4' est occupée par un OH libre. Sur le même spectre, pas de nouvelle bande révélatrice de la présence d'un OR en position 7, confirmé par l'effet bathochrome faible (+4 nm) de la bande II dans NaOAc par rapport au spectre méthanolique.
- ✓ Le déplacement hypsochromique de la bande I (BI) dans AlCl_3/HCl par rapport au spectre AlCl_3 (-40) et l'effet bathochrome de la même bande dans $\text{NaOAc}/\text{H}_3\text{BO}_3$ par rapport au méthanol (+16 nm) confirme le système ortho di-hydroxylé sur le noyau B
- ✓ L'effet bathochrome de la bande I en comparant le spectre $\text{AlCl}_3+\text{HCl}/\text{MeOH}$ ($\Delta \lambda = 40 \text{ nm}$), indique la présence d'un OH libre en 5.

Les données relatives à la série spectrale UV de ce composé sont rassemblées dans le tableau n° IV.13 :

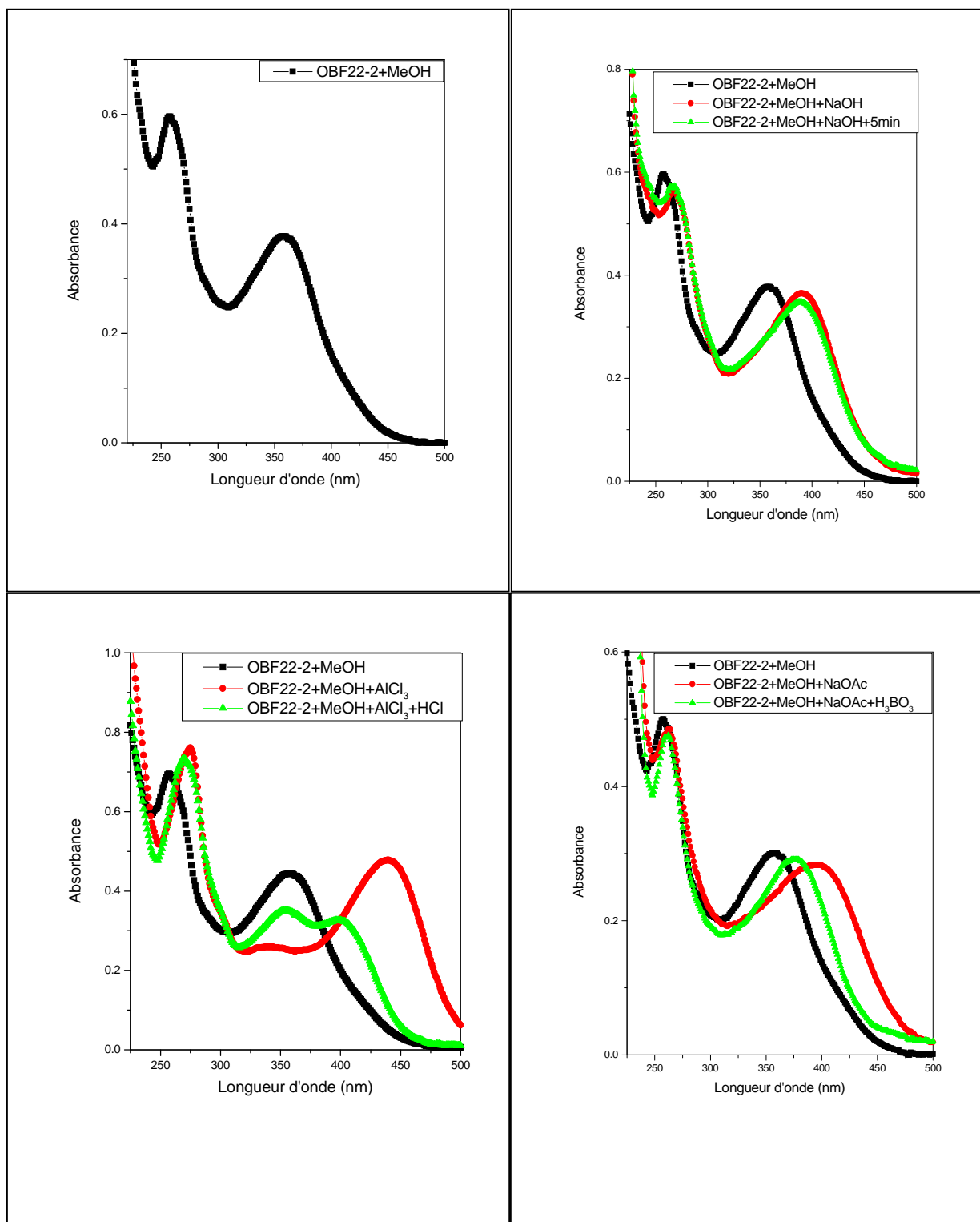
Spectre n° IV.44 : Série spectrale UV du composé F22-2

Tableau n° IV. 13: Données de la série spectrale UV du composé F22-2.

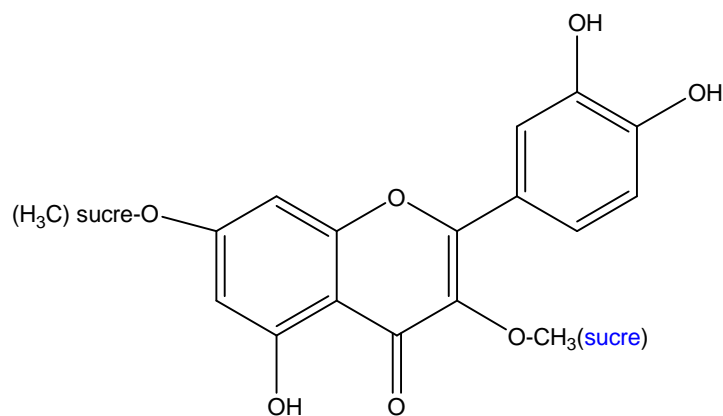
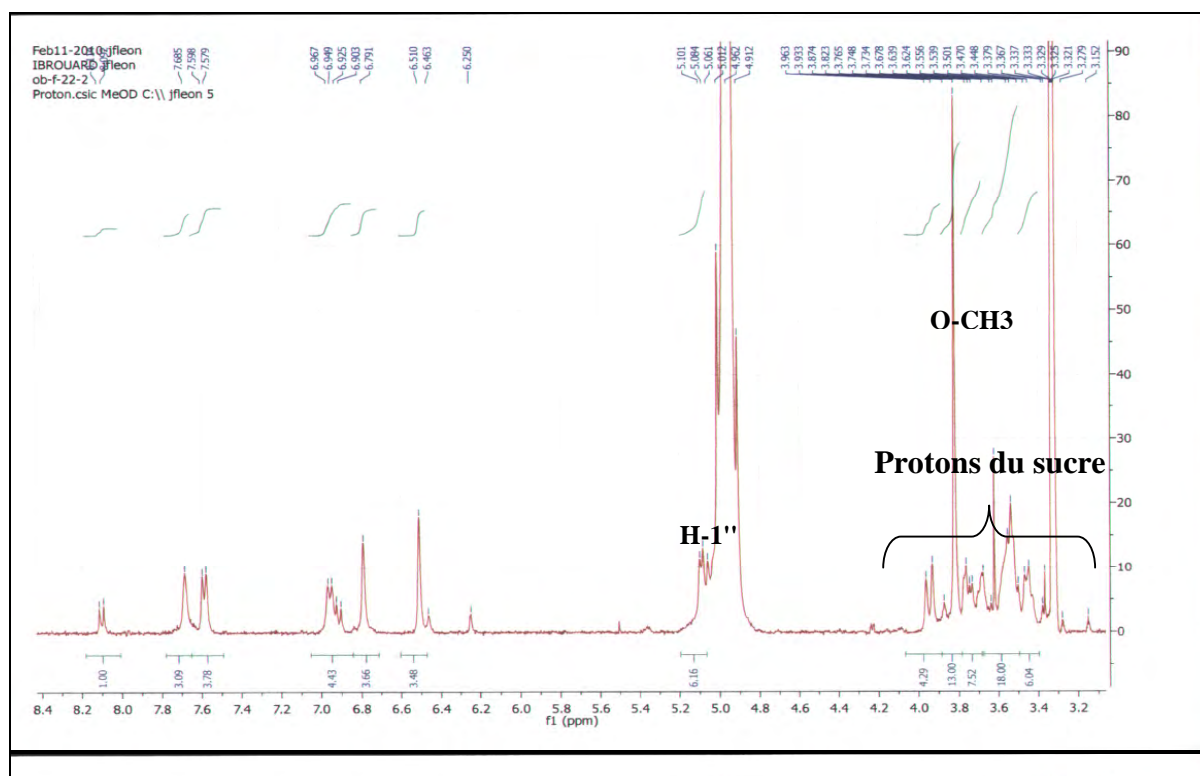
<i>Réactifs</i>	<i>Bande I</i>	<i>Bande II</i>	<i>Autres bandes</i>	<i>Commentaire</i>
MeOH	360	257		Flavonol (3-OH substitué)
+ NaOH	396	269		OH libre en 4' OR libre en 7
+AlCl ₃	400	268	357	/
+AlCl ₃ /HCl	400	268	356	OH libre en 5 ortho di-OH sur B
+NaOAc	383	274	320	OR libre en 7
+NaOAc/H ₃ BO ₃	359	269	323	ortho di-OH sur B
Spectre stable en présence de NaOH après 5 mn				

L'examen du spectre RMN ¹H (spectre n° IV.45) et son étalement (spectre n° IV.46) montrent la présence de :

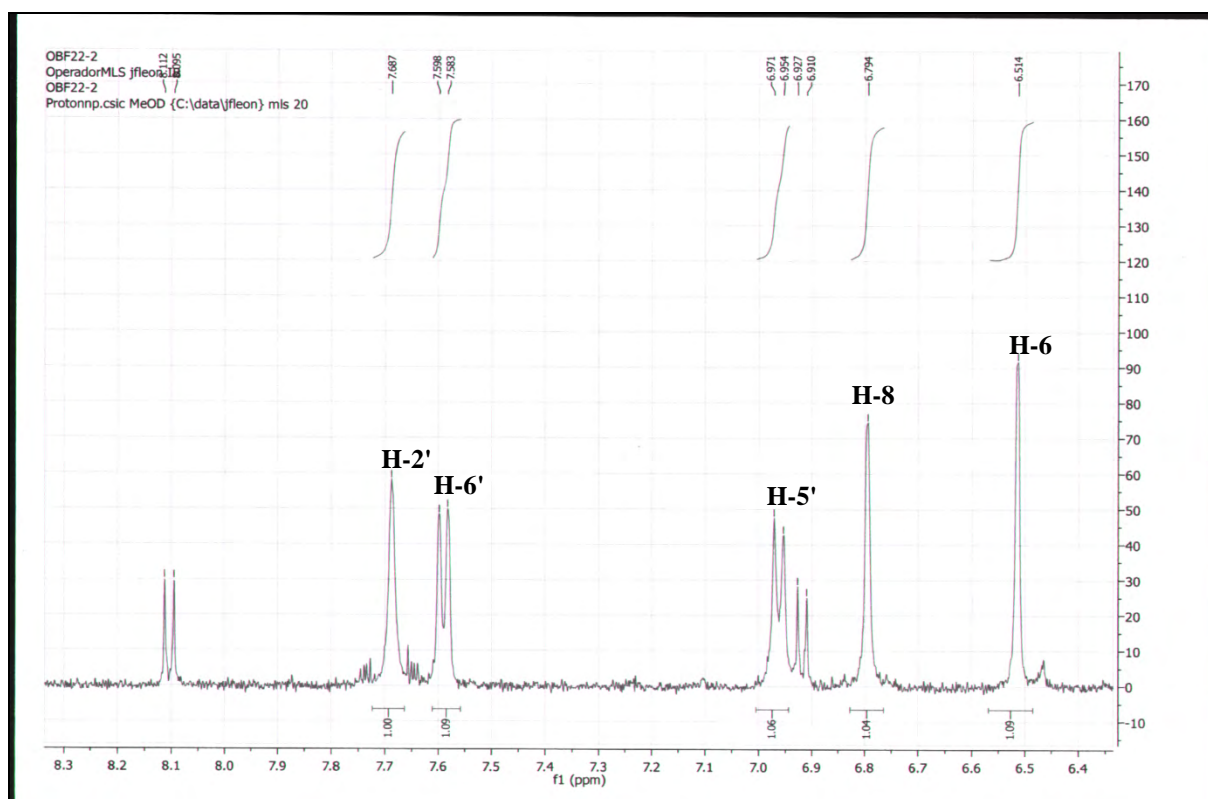
- ✓ Un singulet large d'intégration 1H à $\delta = 7,68$ ppm attribuable à H-2'.
- ✓ Un doublet large d'intégration 1H à $\delta = 7,59$ ppm attribuable à H-6'.
- ✓ Un doublet d'intégration 1H à $\delta = 6,97$ ppm ($J = 8,5$ Hz) attribuable à H-5'.
- ✓ Deux singulets larges d'intégration 1H chacun formant système AB, le premier à $\delta = 6,51$ ppm et le second à $\delta = 6,79$ attribuables à H-6 et H-8 respectivement.
- ✓ Un doublet à $\delta = 5,10$ ppm, d'intégration 1H ($J = 7,2$ Hz), attribuable au proton anomérique d'un sucre relié à l'aglycone par un pont oxygène. D'après la valeur de la constante de couplage du proton anomérique, cette entité pourrait être soit un glucosyle soit un galactosyle avec une configuration β du carbone anomérique.
- ✓ Un singulet d'intégration 3H, $\delta = 3,82$ attribuable à OCH₃.
- ✓ Un ensemble de multiplets dans l'intervalle 3,30 – 3,81 ppm attribuable par conséquent aux protons du substituant sucre.

L'ensemble de ces données montrent que la structure partielle de ce composé est la suivante (figure n° IV.16).

Figure n° IV.16 : la structure partielle du composé F 22-2

Spectre n° IV.45: Spectre RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD , δ ppm) du composé F22-2

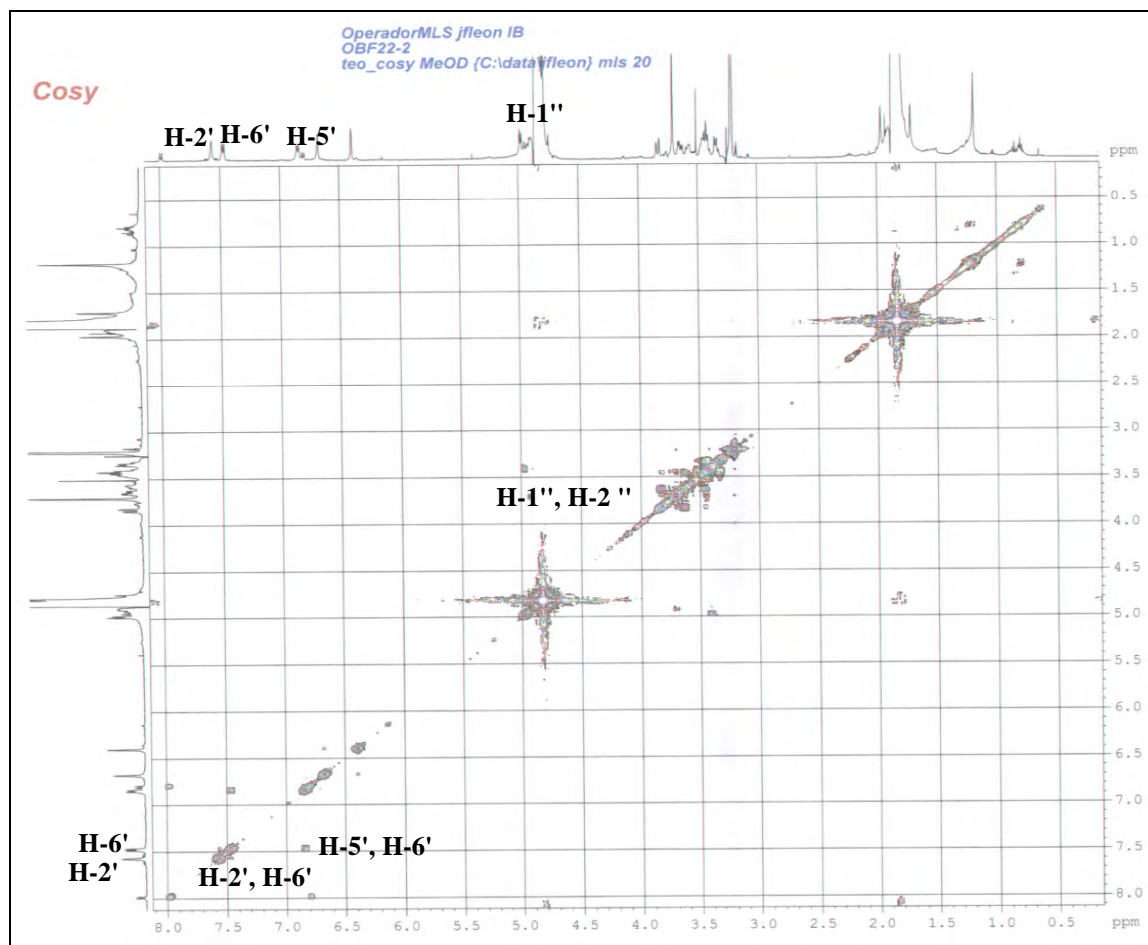
Spectre n° IV.46: Spectre RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD , δ ppm) du composé **F22-2**, étalement



L'examen du spectre RMN 2D, TEO_COSY (spectre n° IV.47) montre :

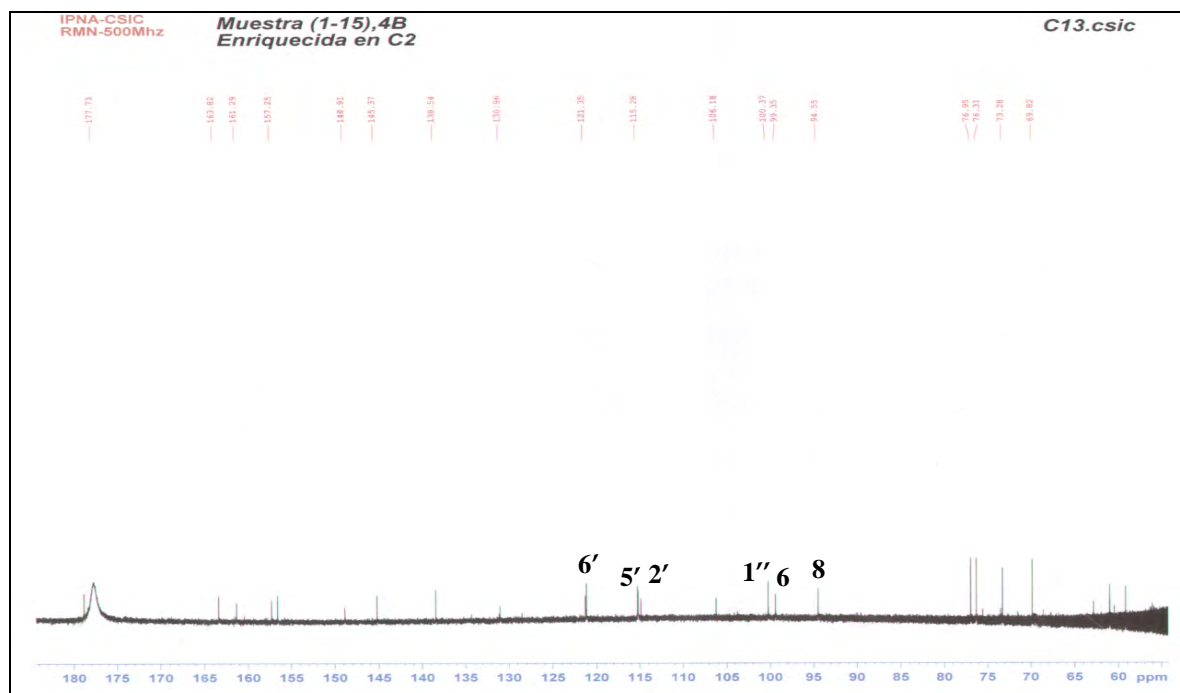
- ✓ Une tache de corrélation entre les noyaux du singlet large à $\delta = 7,68$ ppm et un doublet large à $\delta = 7,59$ ppm confirmant le couplage méta et aussi les attributions de H-2', H-6'.
- ✓ Une tache de corrélation entre les noyaux des doublets à $\delta = 7,59$ ppm et $\delta = 6,97$ ppm confirmant le couplage ortho et aussi les attributions de H-5', H-6' donc une substitution du noyau B en position 3' et 4'.
- ✓ La présence de H-2" dans la zone (3,40-3,50 ppm) sous forme d'un multiplet par sa corrélation avec le H-1".

Spectre n° IV.47: Spectre TEO_COSY (^1H - ^1H) (400 MHz, CD_3OD , δ ppm) du composé F-22-2

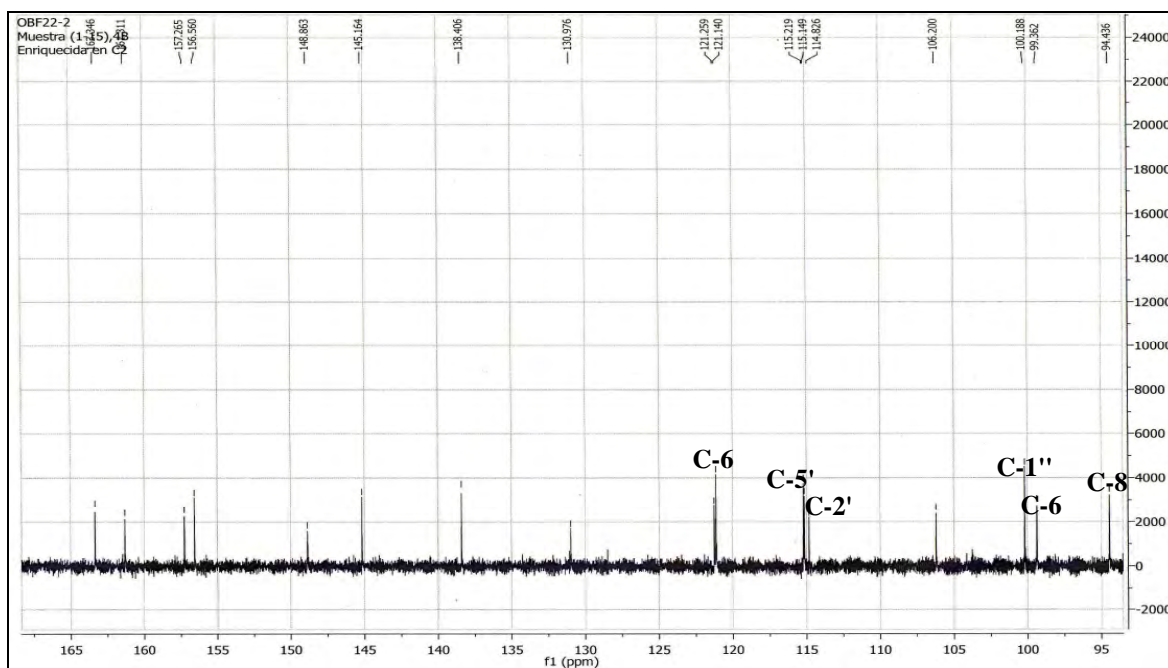


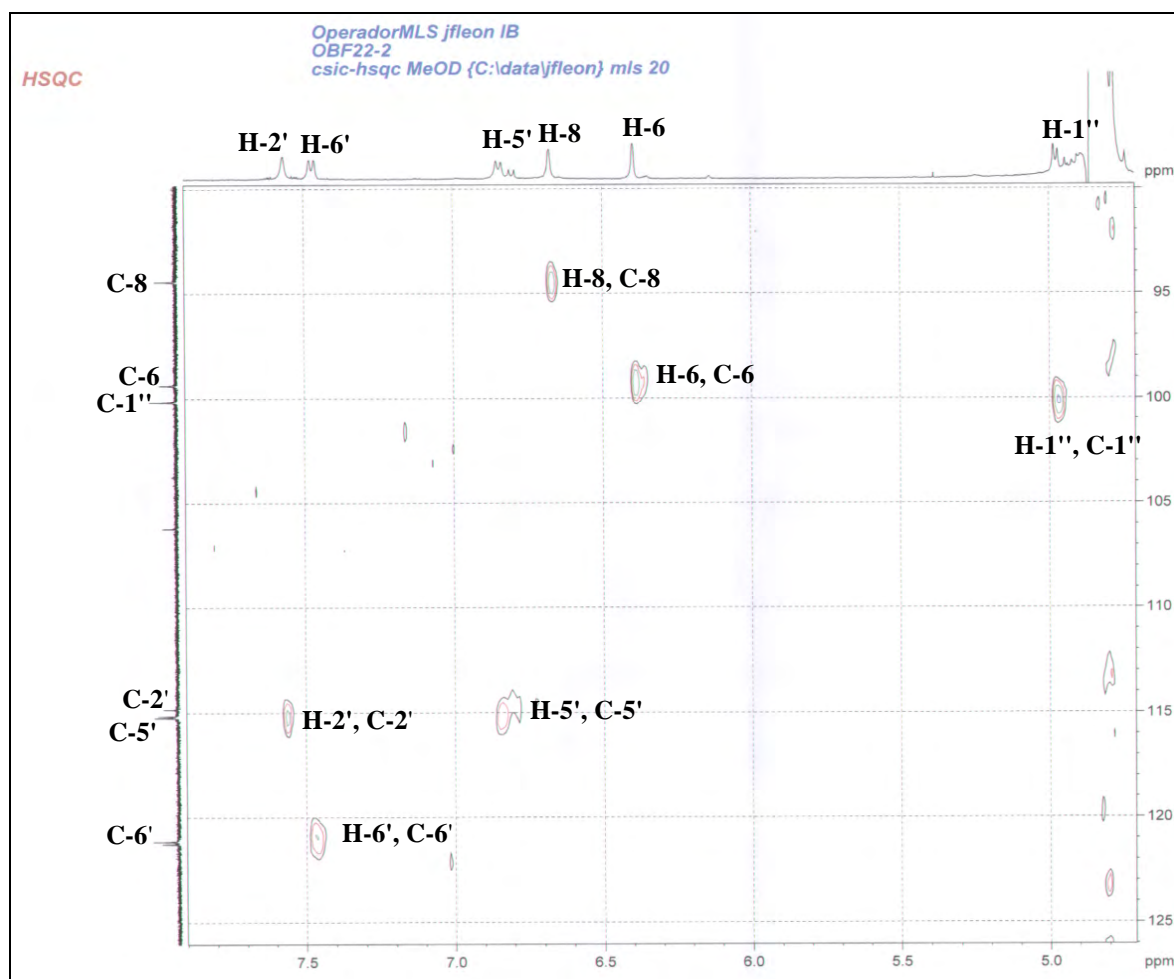
L'examen du spectre RMN- ^{13}C (spectre n° IV.48) et son étalement (spectre n° IV.49) ainsi que le spectre de l'expérience HSQC (spectre n° IV.50) permet de localiser les noyaux C-2', C-6', C-5', C-6, C-8 et C-1'' à $\delta = 114,8; 121,1; 115,2; 99,3; 94,4$ et $100,2$ ppm respectivement.

Spectre n° IV.48: Spectre RMN ^{13}C (125 MHz, CD_3OD , δ ppm) du composé F22-2



Spectre n° IV.49 : Spectre RMN ^{13}C du composé F22-2, étalement



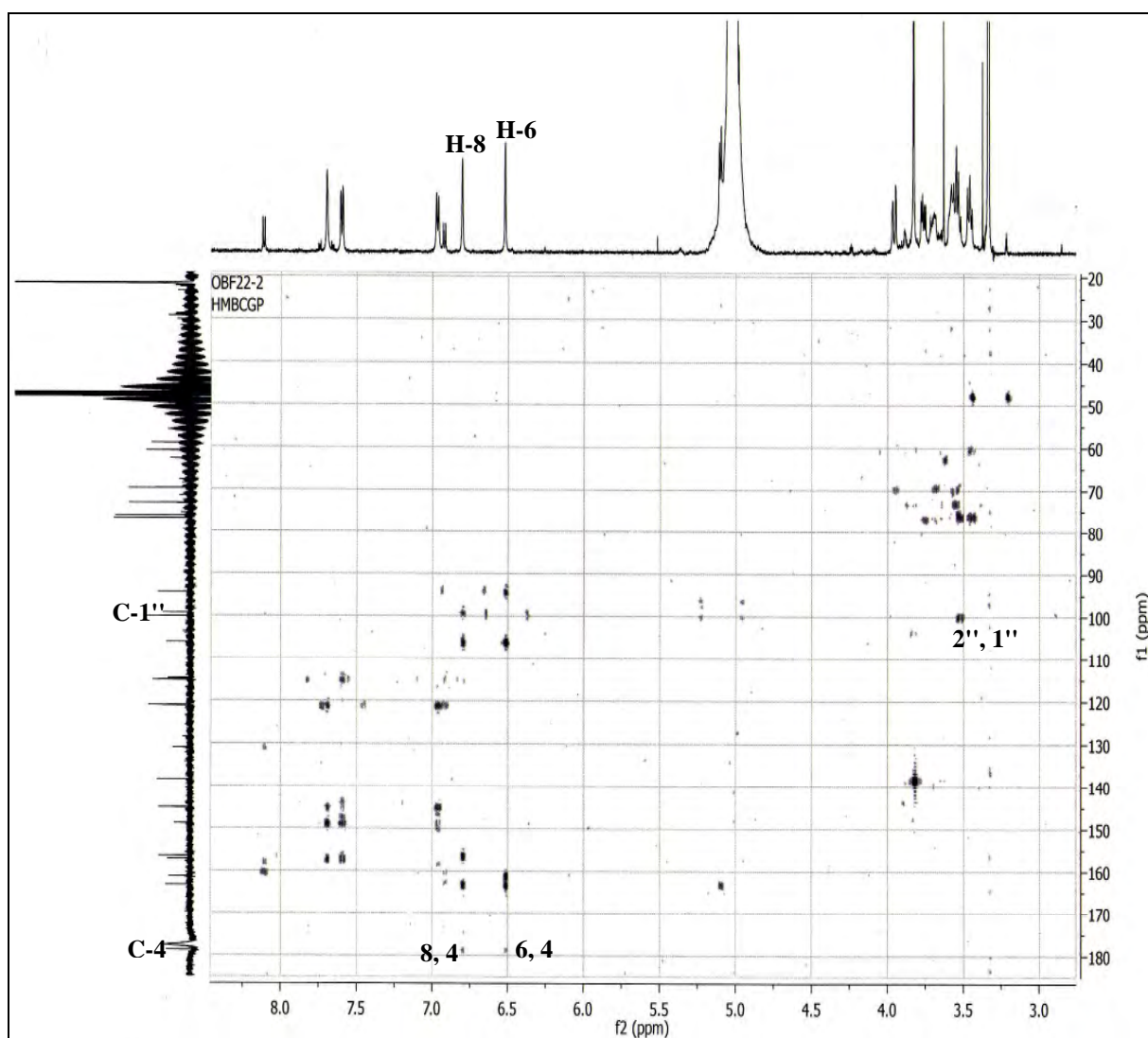
Spectre n° IV. 50 : Spectre HSQC (500 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé F22-2, étalement

Les attributions des carbones restants ont été complétées par l'étude du spectre de corrélation hétéronucléaire à longue distance HMBC enregistrés dans le méthanol (spectre n° IV.51, IV.52, IV.53, IV.54) qui est :

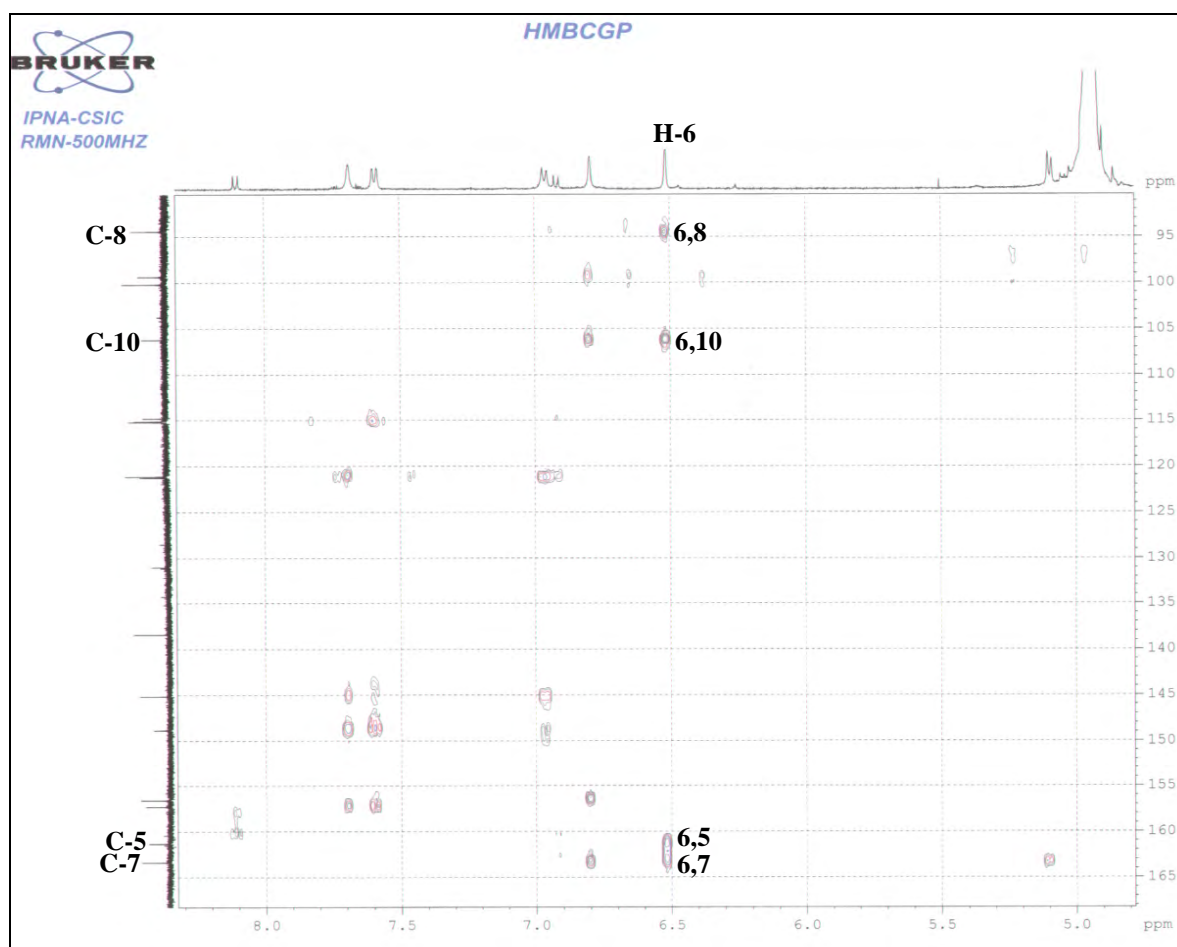
- ✓ trois taches de corrélation entre le H-2', H-5' et le H-6' et deux atomes de carbones à $\delta = 148,8$ et $145,2$ ppm qui ne peut être que le C-4' et C-3' respectivement.
- ✓ Deux taches de corrélation entre le H-2' et le H-6' et deux atomes de carbones oxygéné à $\delta = 156,6$ ppm et $\delta = 157,3$ ppm qui sont attribuables à C-2 et C-9.
- ✓ Quatre taches de corrélation entre le H-6 et quatre atomes de carbone, le premier; à $\delta = 94,4$ ppm qui est le C-8, le deuxième à un déplacement chimique relativement faible $\delta = 106,2$ ppm attribuable à C-10, le troisième et le quatrième sont oxygénés et ont des déplacements chimiques plus élevés $\delta = 161,3$ ppm et $\delta = 163,3$ ppm et sont donc attribuables à C-5 et C-7 respectivement.

- ✓ Une tache de corrélation entre les protons H-6 et H-8 et le carbone du carbonyle à $\delta = 178,8$ ppm (C-4).
- ✓ les protons H-6 et H-8 montrent des taches de corrélations avec le carbone quaternaire oxygéné à $\delta = 163,3$ ppm, c'est le C-7. Par ailleurs et toujours sur le même spectre, ce carbone montre une tache de corrélation avec le proton anomérique du sucre. Cette observation permet de placer le substituant sucre en position 7 et le méthoxyle en position 3, ce qui permet de localiser C-3 à $\delta = 138,4$ ppm grâce à sa corrélation avec ce méthoxyle.
- ✓ L'atome de carbone restant à $\delta = 130,9$ ppm est attribuable à C-1'.

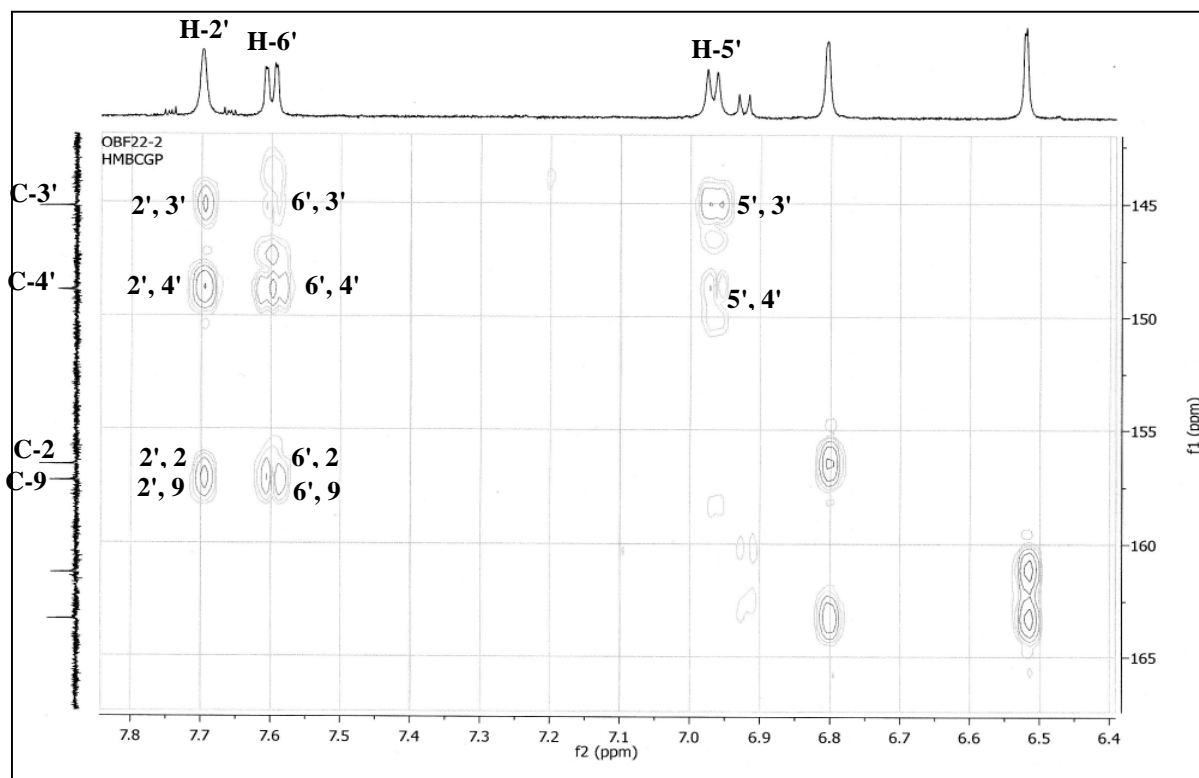
Spectre n° IV.51 : Spectre HMBC (500 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé F22-2

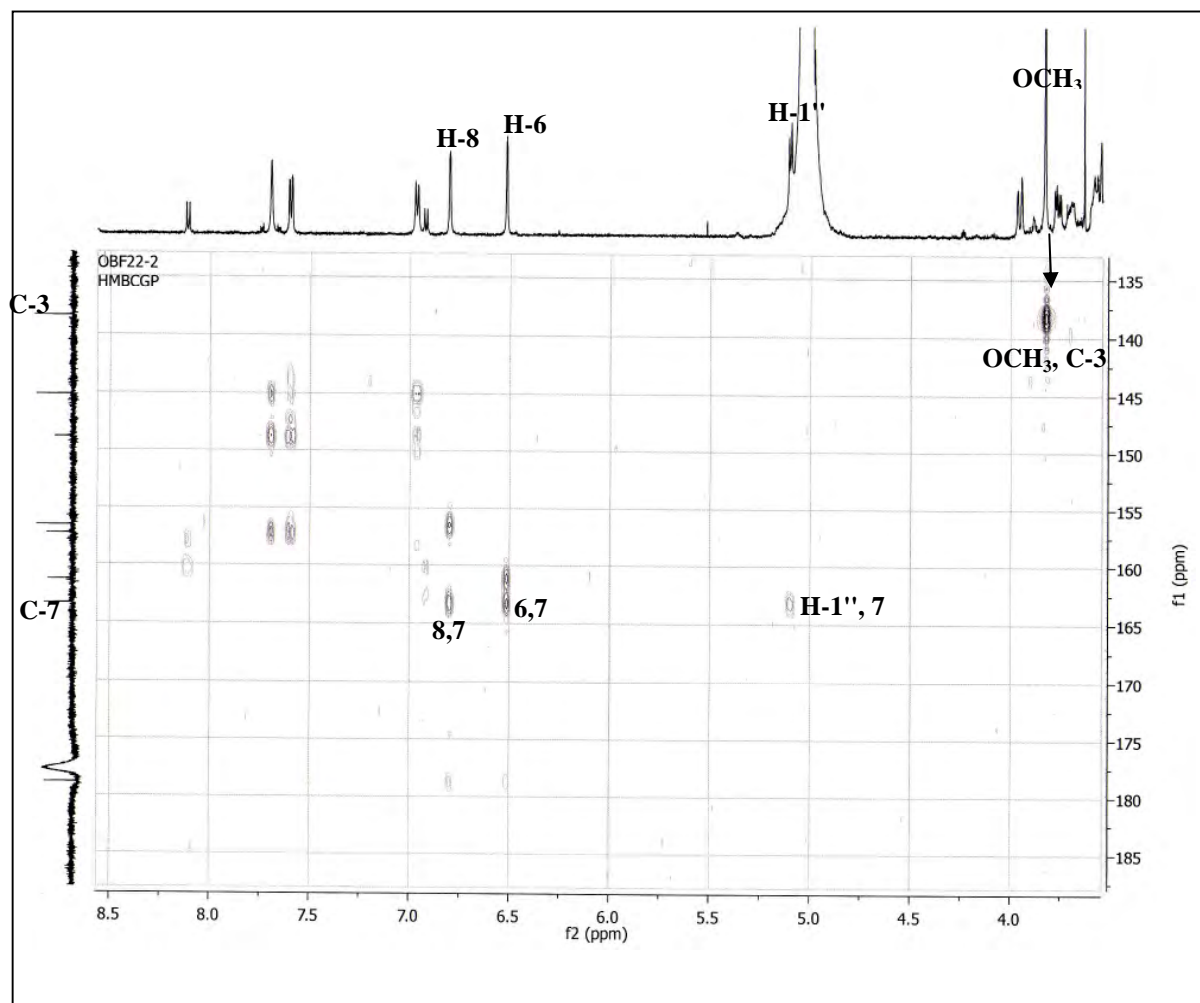


Spectre n° IV.52 : Spectre HMBC (500 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé F22-2, étalement.



Spectre n° IV.53 : Spectre HMBC (500 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé F22-2, étalement

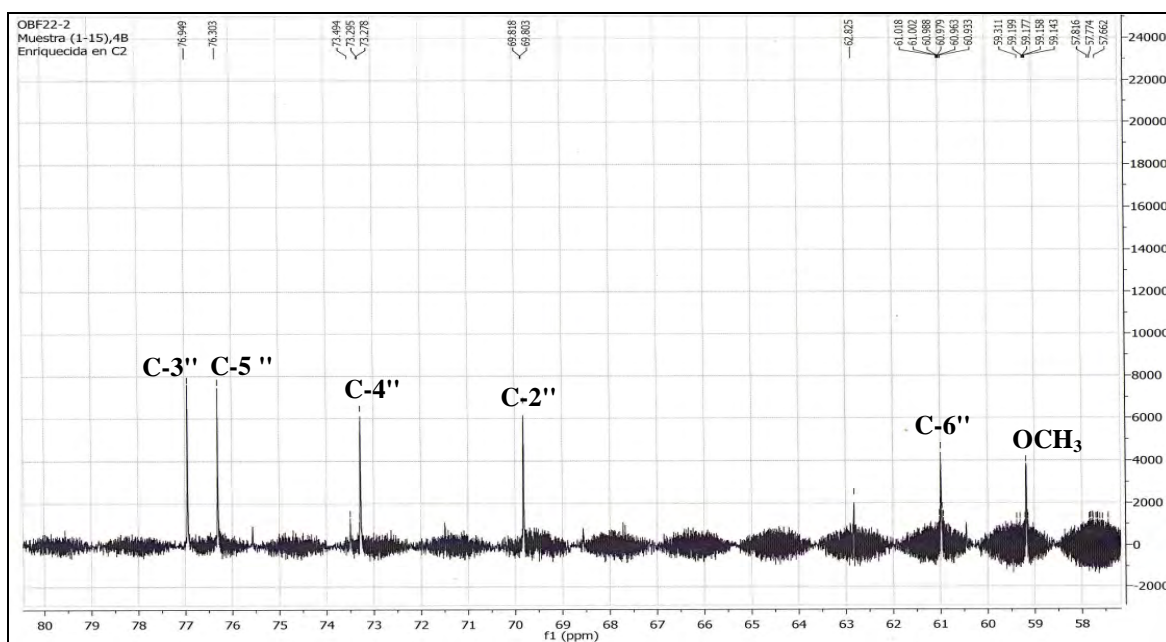


Spectre n° IV.54 : Spectre HMBC (500 MHz, CD₃OD, δ ppm) d u composé **F22-2**, étalement

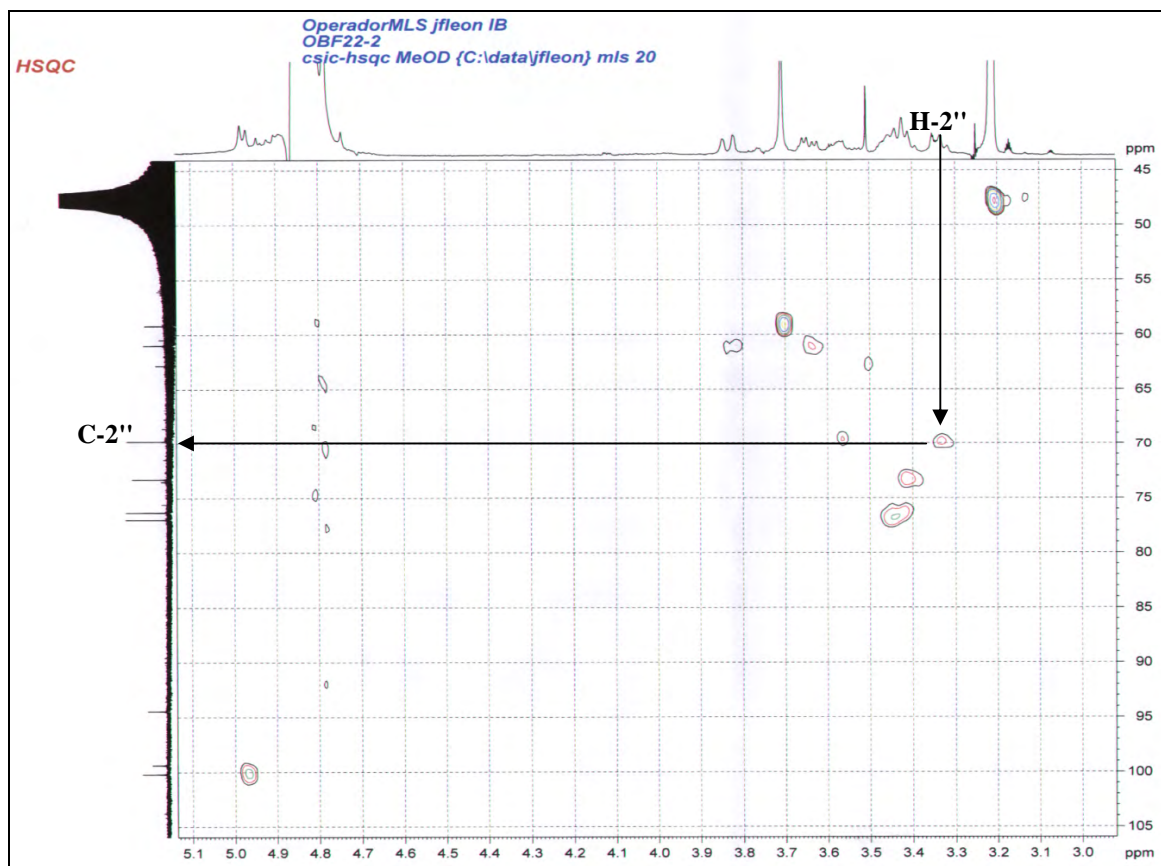
La nature de sucre est confirmée par la présence de cinq signaux sur le spectre RMN ¹³C (spectre n° IV.55) en plus du signal relatif aux carbone anomérique et de ceux du squelette flavonique. L'examen approfondi du spectre HMBC, confirme la localisation du proton H-2'' du glycosyle ($\delta = 3,52$ ppm) grâce à sa corrélation avec le carbone C-1'' ($\delta = 100,1$ ppm).

Un retour vers le spectre HSQC (spectre n° IV.56) permet de localiser C2'' à $\delta = 69,8$ ppm. Sur le spectre HMBC (spectre n° IV.57), ce carbone C-2'' corréle avec le proton à $\delta = 3,57$ ppm attribuable à H-3''. Le signal de ce noyau apparait sous forme d'un triplet. Le signal sous forme d'un triplet à $\delta = 3,54$ ppm ($J = 9,0$ Hz), présente un effet de toit avec celui de H-3'' est attribuable au H-4'', cette valeur de la constante de couplage suppose une interaction axiale, axiale entre H-3'' et H-4''. Cette observation oriente vers un H-4'' en position axiale. En conséquence le groupement hexose présent en 7 est donc un glucosyle. Cette proposition est confirmée par l'hydrolyse acide.

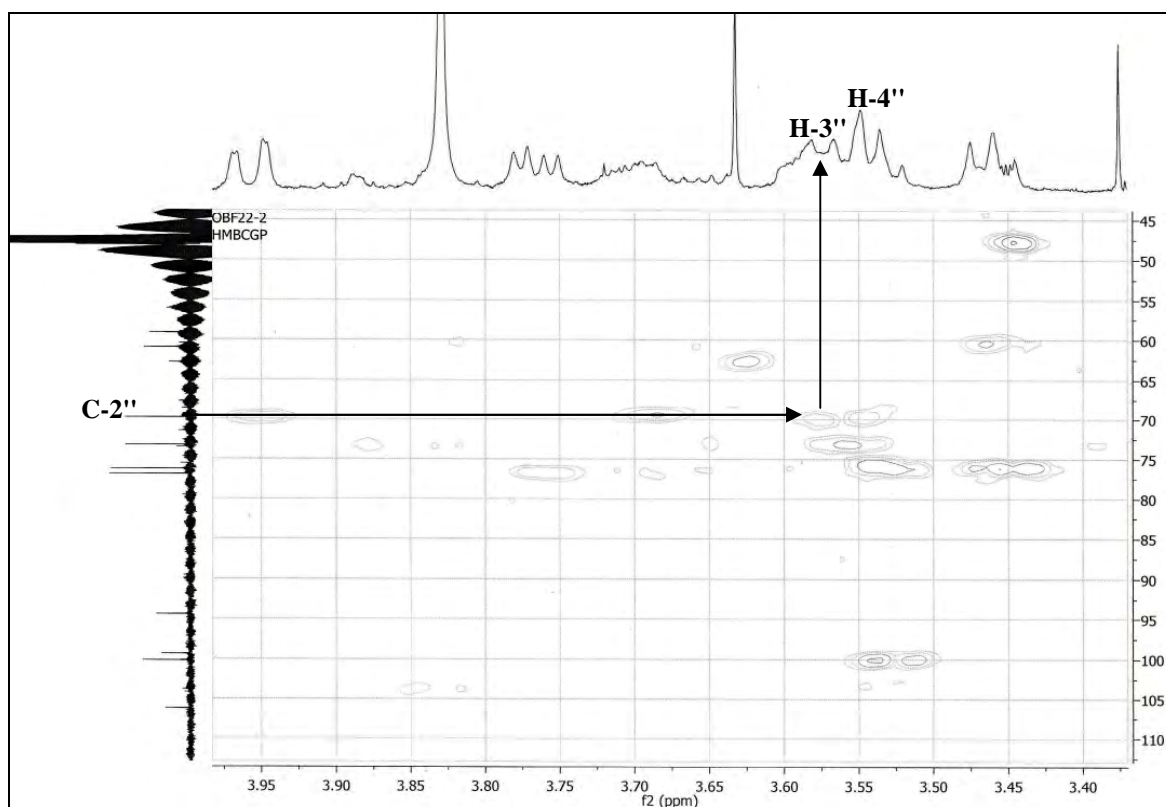
Spectre n° IV.55: Spectre RMN ¹³C du composé F22-2, étalement



Spectre n° IV.56: Spectre HSQC (500 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé F22-2

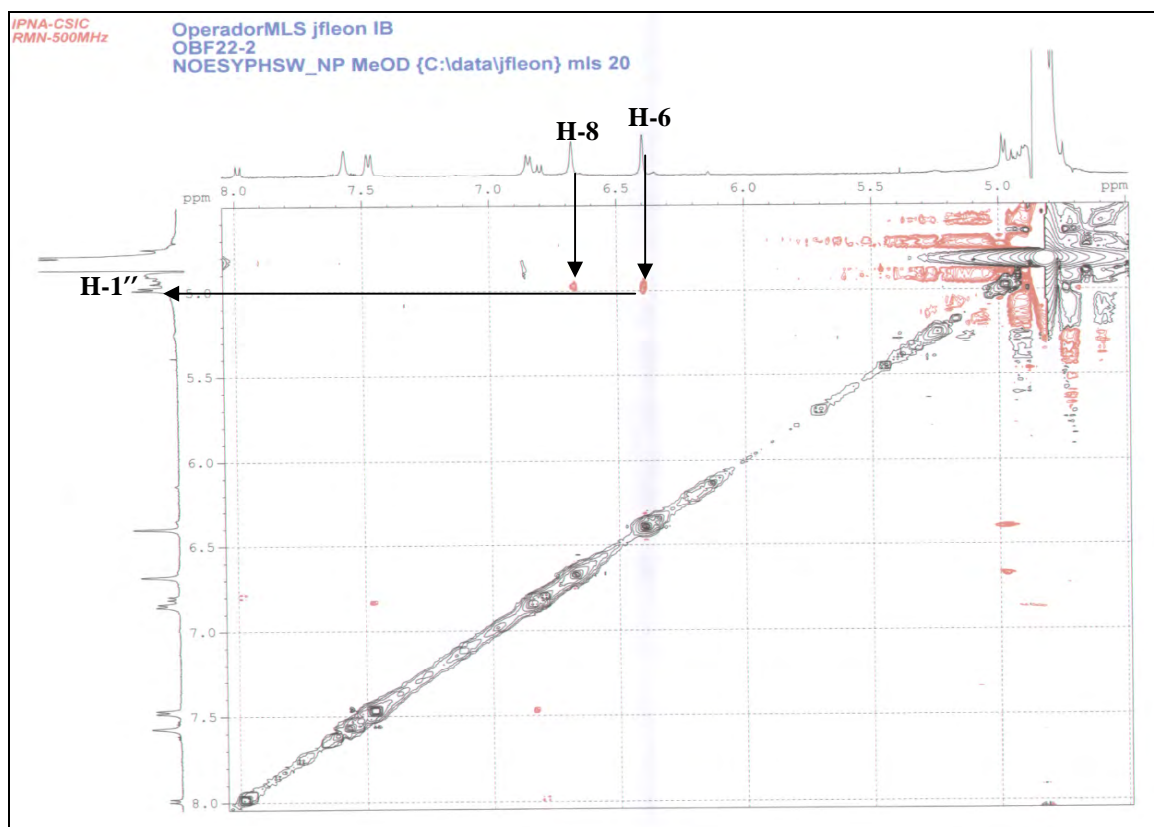


Spectre n° IV.57 : Spectre HMBC (500 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé F22-2, étalement



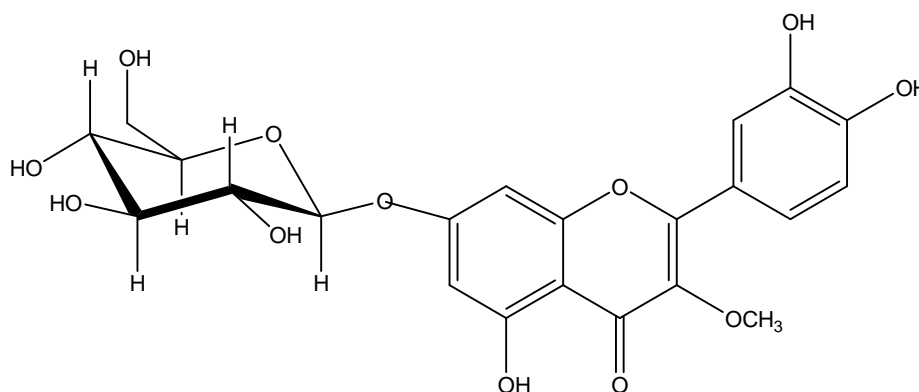
L'examen du spectre NOESY (spectre n° IV.58) montre une corrélation de type NOE de H-6 et H-8 avec le proton anomérique du sucre à $\delta = 5,12$ ppm confirmant ainsi la position de ce dernier en C-7.

Spectre n° IV.58: Spectre NOESY (500 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé F22-2

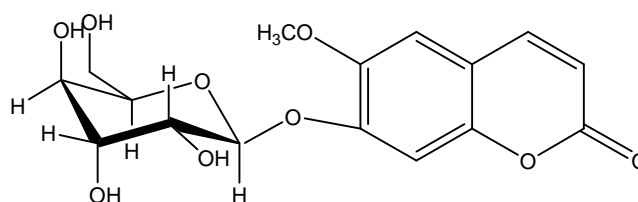


Sur la base de l'ensemble de ces données le composé F22-2 est identifié comme étant le : **3', 4', 5- trihydroxy-3-methoxy-7- glucosylflavone** ou bien **Querciméritrine- 3- méthyl éther** (figure n° IV.17).

Figure n° IV.17: la structure de la Querciméritrine- 3- méthyl éther



IV. 1. B. 3 : IDENTIFICATION DU COMPOSE F22-5



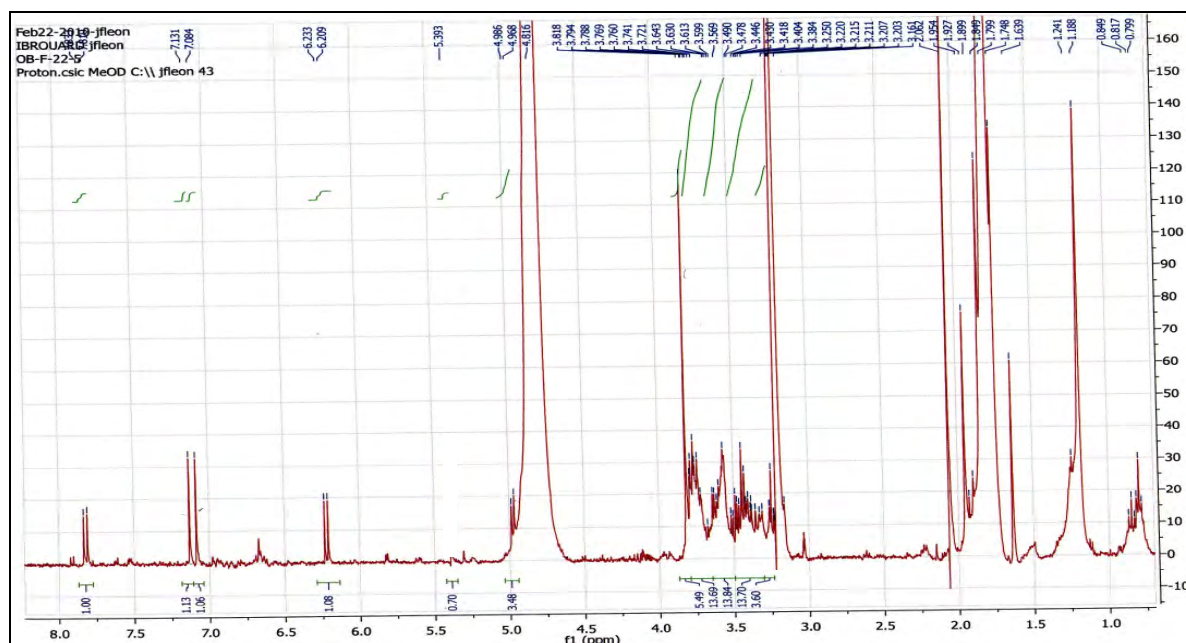
L'examen du spectre RMN ^1H (spectre n° IV.59) et son étalement (spectre n° IV.60) montrent la présence de signaux dans la zone aromatique, orientant vers un squelette de type coumarine. Ce spectre comporte :

- ✓ Un système AB à $\delta = 6,22$ et $7,80$ ppm ($J = 9,2$ Hz) caractéristique des protons **H-3** et **H-4** de la coumarine respectivement.
- ✓ Deux singulets d'intégration 1H chacun à $\delta = 7,09$ et $7,17$ ppm, attribuables aux protons **H-5** et **H-8**.

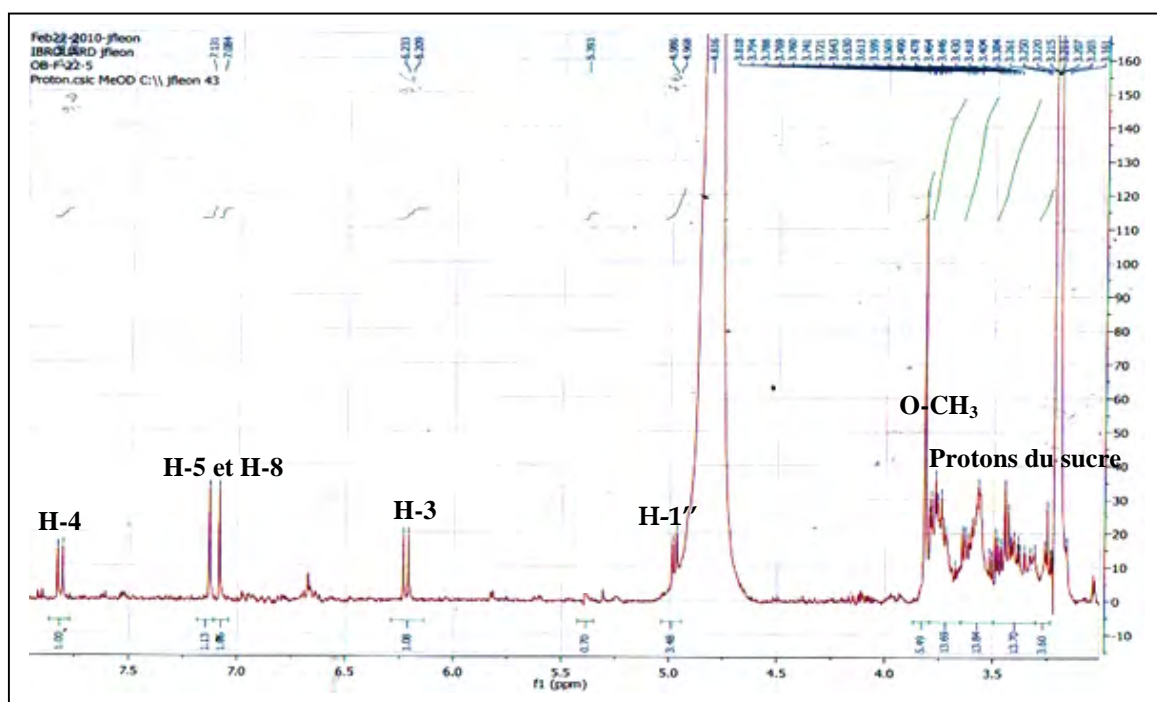
Ce spectre montre aussi la présence :

- ✓ Un doublet à $\delta = 4,99$ ppm, d'intégration 1H ($J = 7,2$ Hz), attribuable au proton anomérique d'un sucre relié à l'aglycone par un pont oxygène. D'après la valeur de la constante de couplage du proton anomérique, cette entité pourrait être soit un glucosyle soit un galactosyle avec une configuration β du carbone anomérique.
- ✓ Un singulet d'intégration 3H, $\delta = 3,81$ attribuable à OCH_3 .
- ✓ Un ensemble de multiplets dans l'intervalle $3,30 - 3,80$ ppm attribuable par conséquent aux protons du substituant sucre.

Spectre n° IV.59 : Spectre RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD , δ ppm) du composé F22-5 :

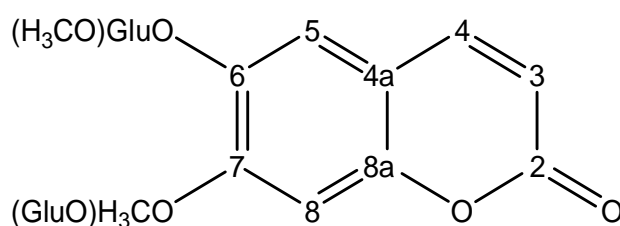


Spectre n° IV.60 : Spectre RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD , δ ppm) du composé F22-5, étalement



L'hydrolyse acide de ce composé libère le glucose comme sucre révélé par co-chromatographie avec l'échantillon authentique. Toutes ces données mènent la structure d'une coumarine substitué par un groupement méthoxyle et un glucose, qui ne peuvent être placés que sur les carbones C-6 et C-7, donc la structure proposée est (figure n° IV.18).

Figure n° IV.18 : la structure proposée du composé F22-5



L'examen du spectre ROESY (^1H - ^1H) (spectre n° IV.61) montre :

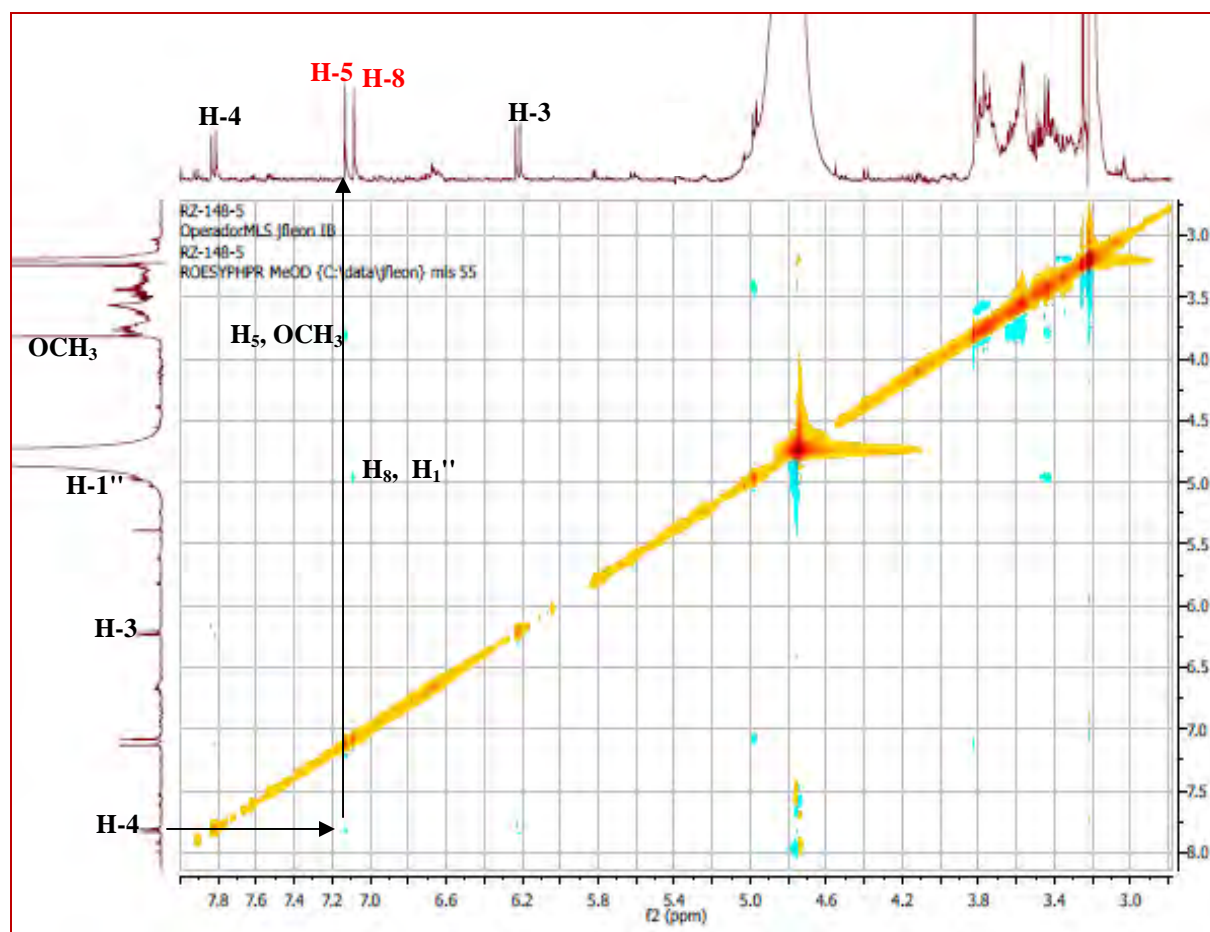
- ✓ Une tache de corrélation entre le **H-4** et un proton à $\delta = 7,13$ ppm, donc c'est le **H-5** et l'autre proton à $\delta = 7,08$ ppm c'est le **H-8**.
- ✓ Une tache de corrélation entre **H-8** et le proton anomérique du sucre, ce qui montre que le sucre est placé en **position 7** et le méthoxyle en **position 6**, ceci est confirmé par une tache de corrélation entre H-5 et le groupement méthoxyle.

Les résultats des études des spectres RMN ^1H et ROESY (^1H - ^1H) sont reportés dans le tableau n° IV.14 :

Tableau n° IV.14: Données de la spectrométrie RMN ^1H et ROESY (CD_3OD ; 400 MHz).

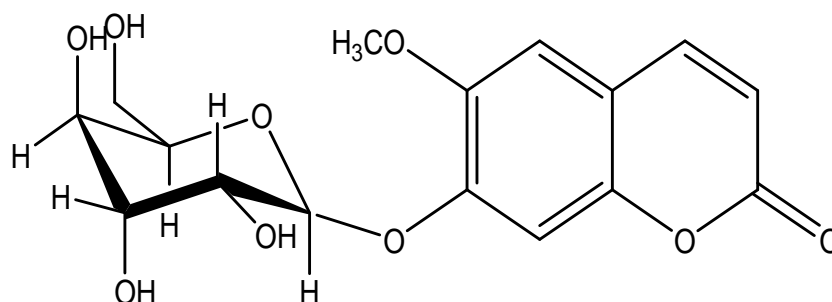
Déplacement chimique δ (ppm)	Intégration	Multiplicité	J (Hz)	Attribution
7,82	1H	<i>d</i>	9,2	H-4
7,13	1H	<i>s</i>		H-5
7,08	1H	<i>s</i>		H-8
6,22	1H	<i>d</i>	9,6	H-3
4,99	1H	<i>d</i>	7,2	H-1''
3,81	3H	<i>s</i>		O-CH ₃

Spectre n° IV. 61 : Spectre ROESY (400 MHz, CD_3OD , δ ppm) du composé F22-5

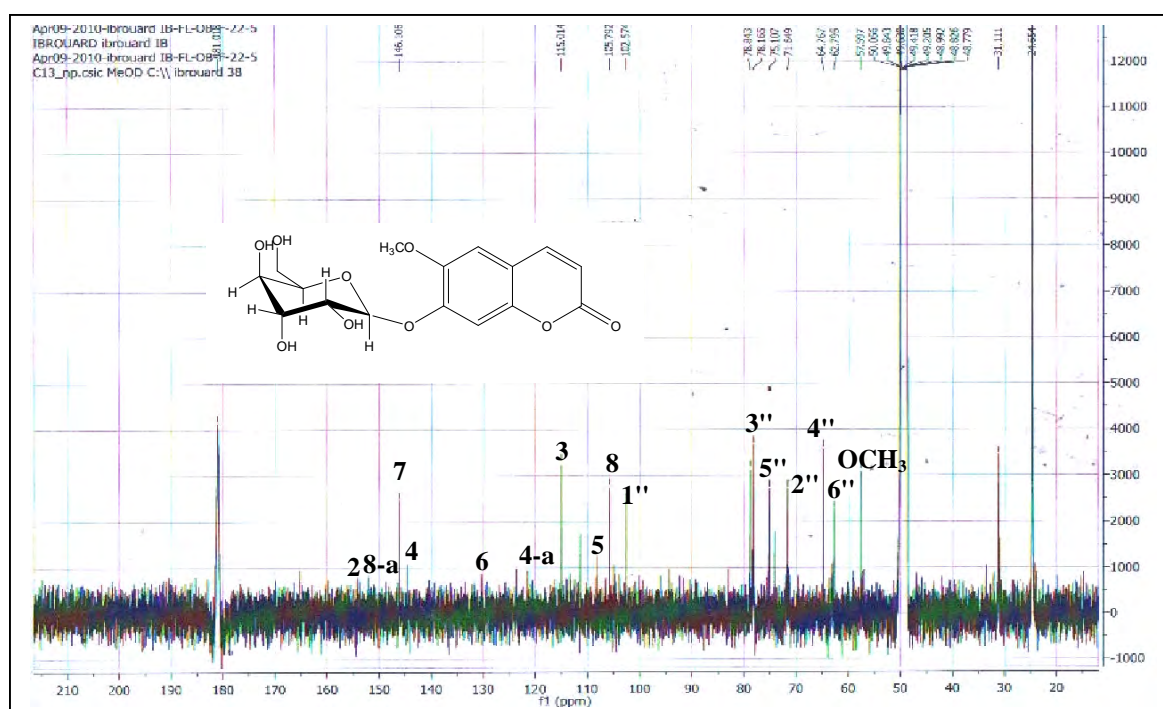


Le spectre RMN ^{13}C (spectre n° IV.62) confirme ces résultats, donc la structure finale de cette molécule est : **6-méthyle -7-O- glucosyle benzopyran-2-one**, connue sous le nom de **Scopoline** (figure n° IV.19).

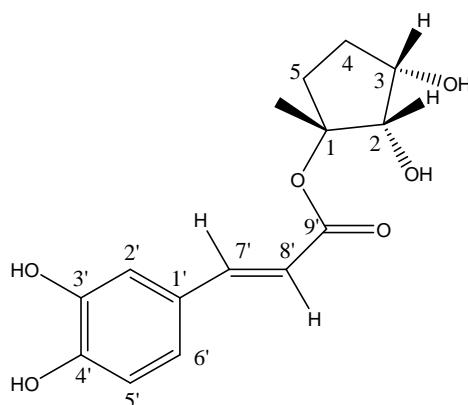
Figure n° IV.19 : la structure du Scopoline :



Spectre n° IV.62: Spectre RMN ^{13}C (100 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé F22-5



IV. 1. B. 4 : IDENTIFICATION DU COMPOSE F30-2-1

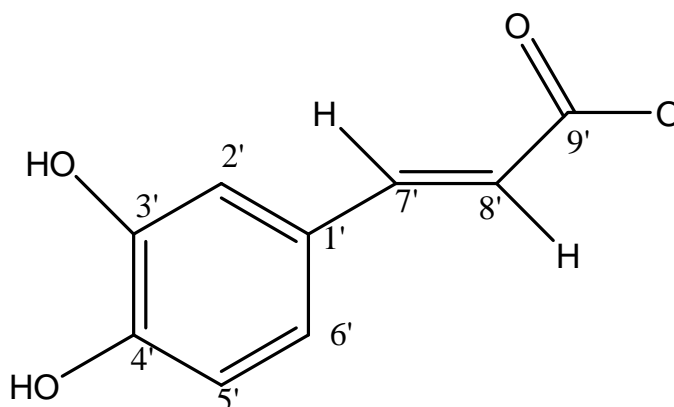


Le spectre RMN ^1H (spectre n° IV.63) du composé **F30-2-1** montre la présence d'un noyau aromatique dont cette dernière est substituée en position 1', 3' et 4'. En effet, les trois protons aromatiques présentent :

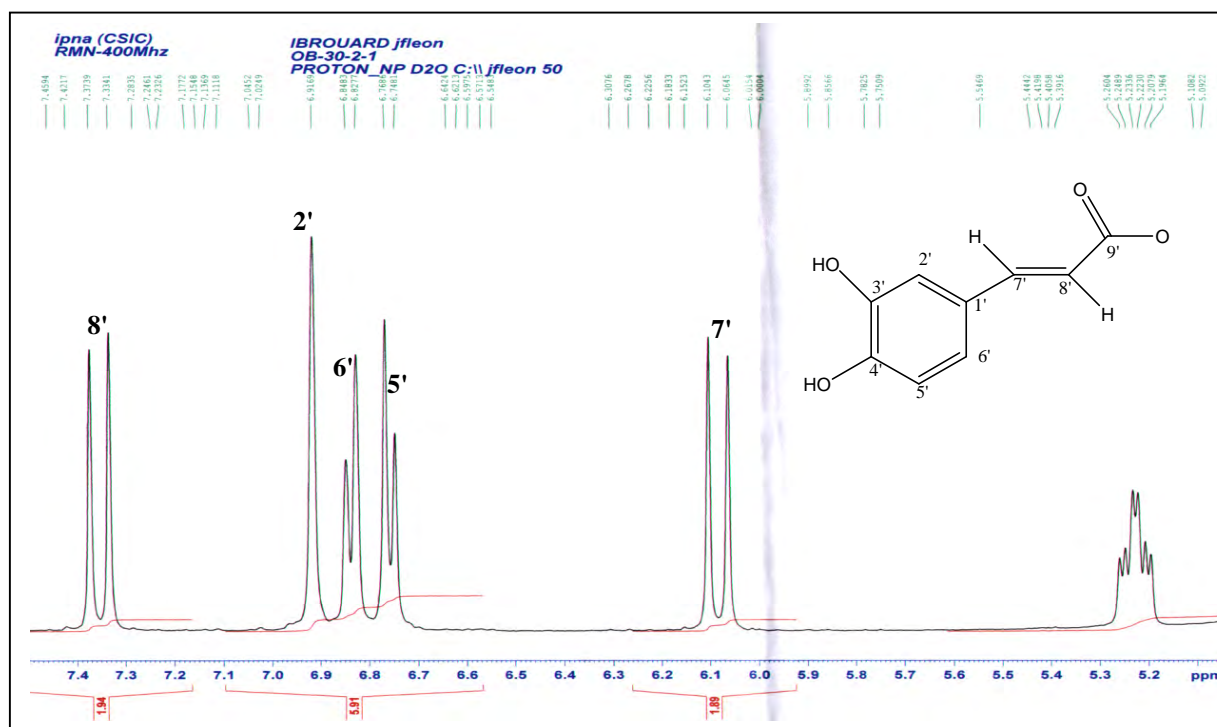
- D'un système AB à $\delta = 6,83$ ppm et $6,75$ ppm ($J = 8,2$ Hz) attribuable à H-6' et H-5'.
- D'un singulet large à $\delta = 6,91$ ppm attribuable à H-2'. Celui-ci présente en COSY $^1\text{H}-^1\text{H}$ (spectre n° IV.64) une tache de corrélation avec le proton à $6,81$ ppm, c'est le H-6'.

Le spectre montre également la présence d'un système AX à $\delta = 7,43$ et $\delta = 6,08$ ppm : $J = 15,9$ Hz, montre un couplage vicinal éthylénique trans (CH=CH) caractéristique d'un acide phénolique. Ces données suggèrent que cette molécule est un ester caféique (figure n° IV.20):

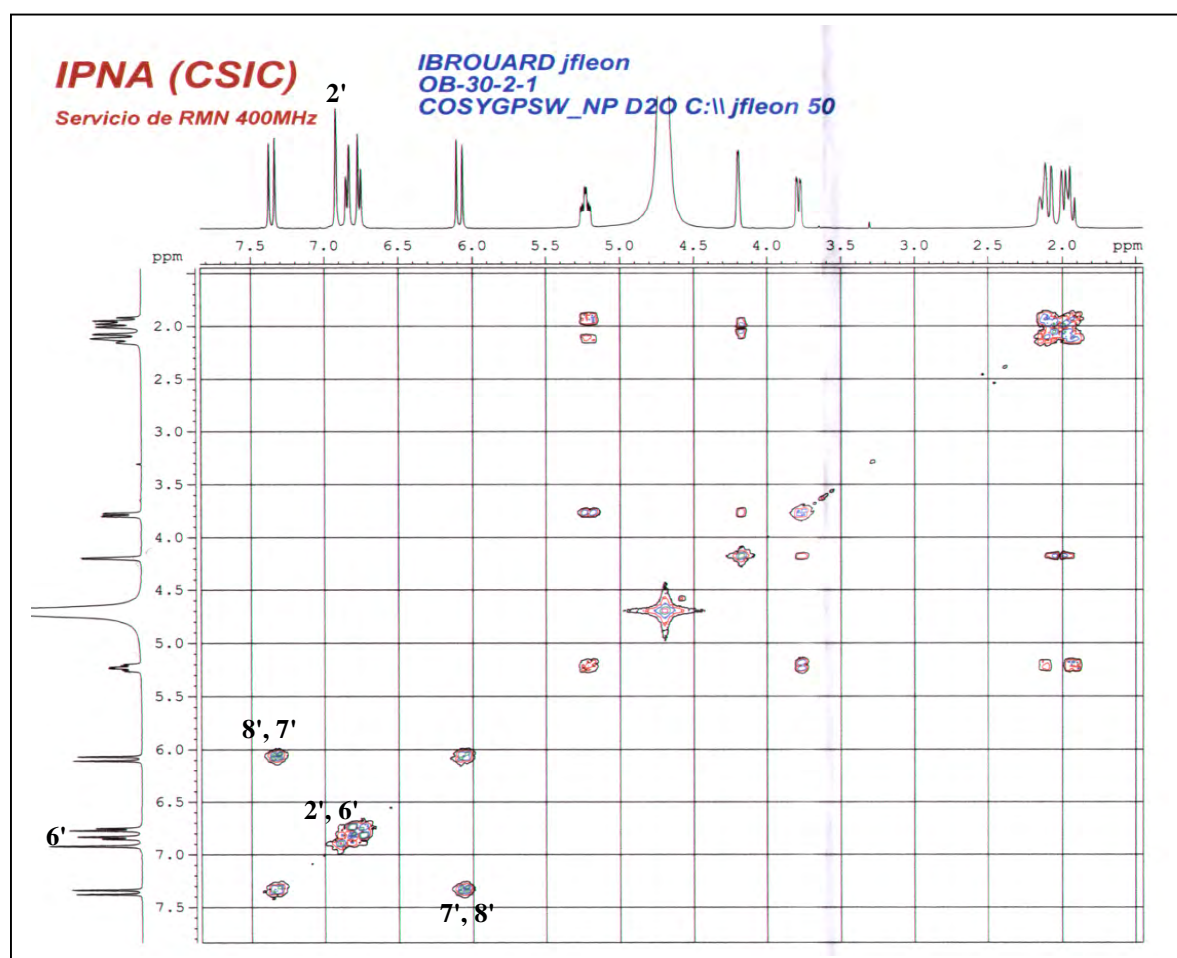
Figure n° IV.20 : la structure de l'ester caféique



Spectre n° IV.63 : Spectre RMN ¹H (400 MHz, D₂O, δ ppm) du composé F30-2-1, étalement

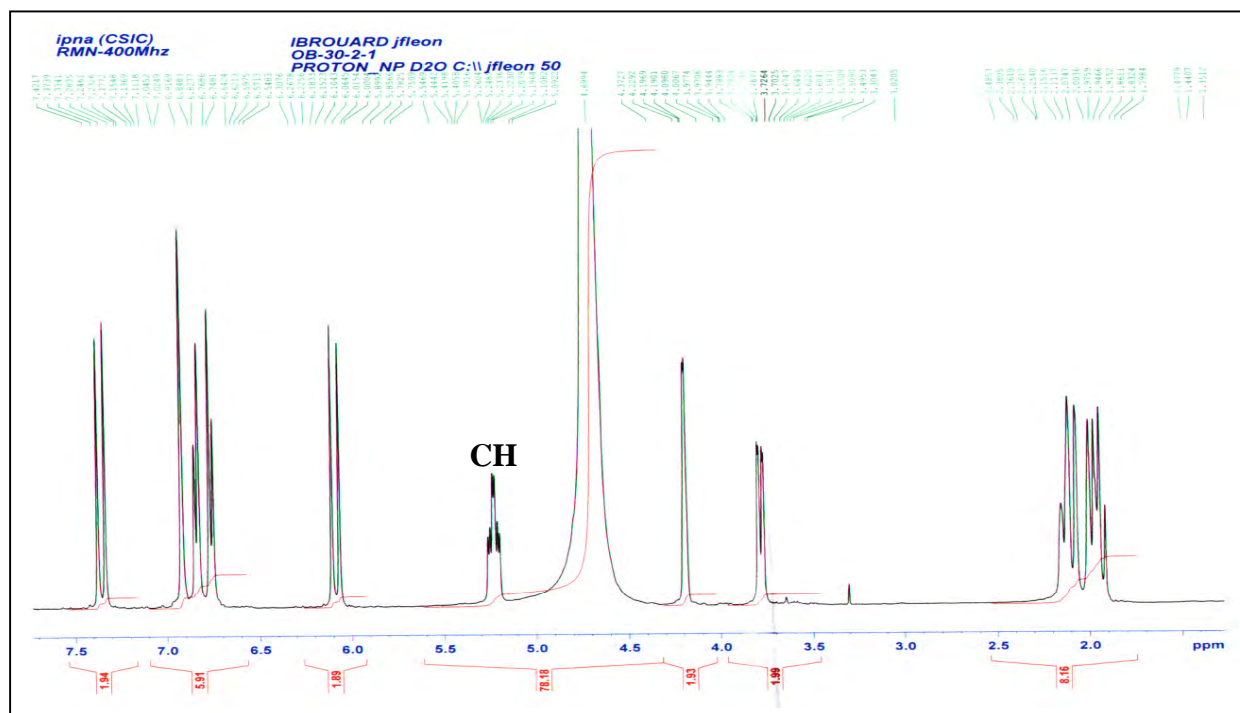


Spectre n° IV.64 : Spectre COSY (500 MHz, D₂O, δ ppm) du composé F30-2-1



Le spectre RMN ^1H (spectre n° IV.65) montre également la présence d'un signal à $\delta = 5,23$ ppm d'intégral 1H caractéristique d'un CH de l'ester

Spectre n° IV.65 : Spectre RMN ^1H (400 MHz, D_2O , δ ppm) du composé F30-2-1



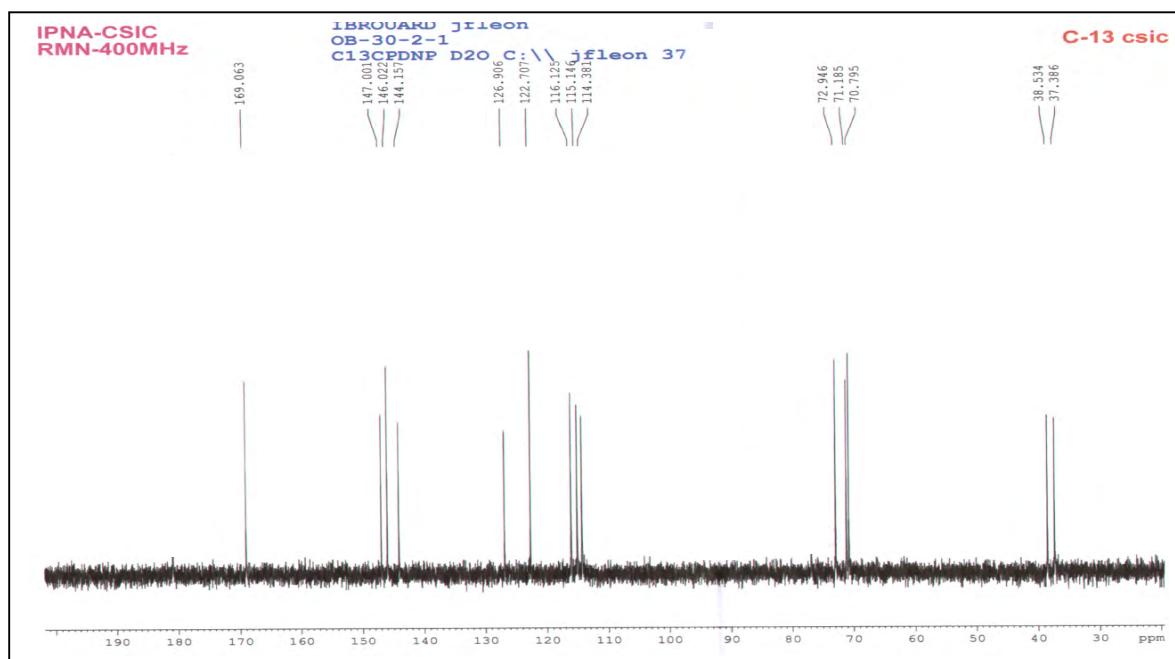
Le spectre RMN ^{13}C (spectre n° IV.66) et son séquence DEPT 135 (spectre n° IV.67) montrent la présence de neuf atomes de carbones confirme la partie de l'ester :

- Cinq groupements CH dont deux éthylènes ($\delta = 147$, et $122,6$ ppm) et trois aromatiques ($\delta = 116,1$; $115,1$ et $114,2$ ppm)
- Quatre carbones quaternaires dont un carbone est un carbonyle à $\delta = 169,1$ ppm et deux oxygénés ($\delta = 144,1$ et $147,0$ ppm)

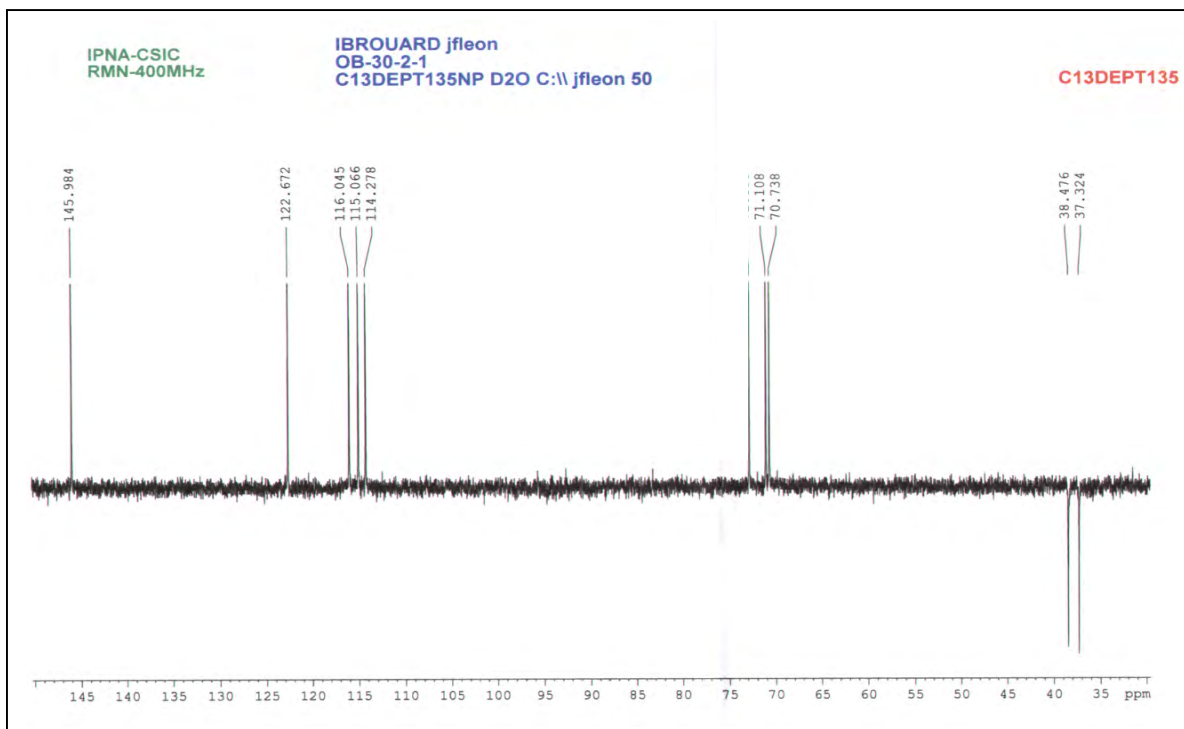
Ce spectre montre aussi la présence de cinq atomes de carbones dont :

- Deux groupements CH_2 à $\delta = 37,4$ et $38,5$ ppm.
- Trois groupements CH oxygénés à $\delta = 70,7$; $71,1$ et $72,2$ ppm.

Spectre n° IV.66 : Spectre RMN ^{13}C (100 MHz, D₂O, δ ppm) du composé F30-2-1



Spectre n° IV.67 : Spectre DEPT 135 (100 MHz, D₂O, δ ppm) du composé F30-2-1

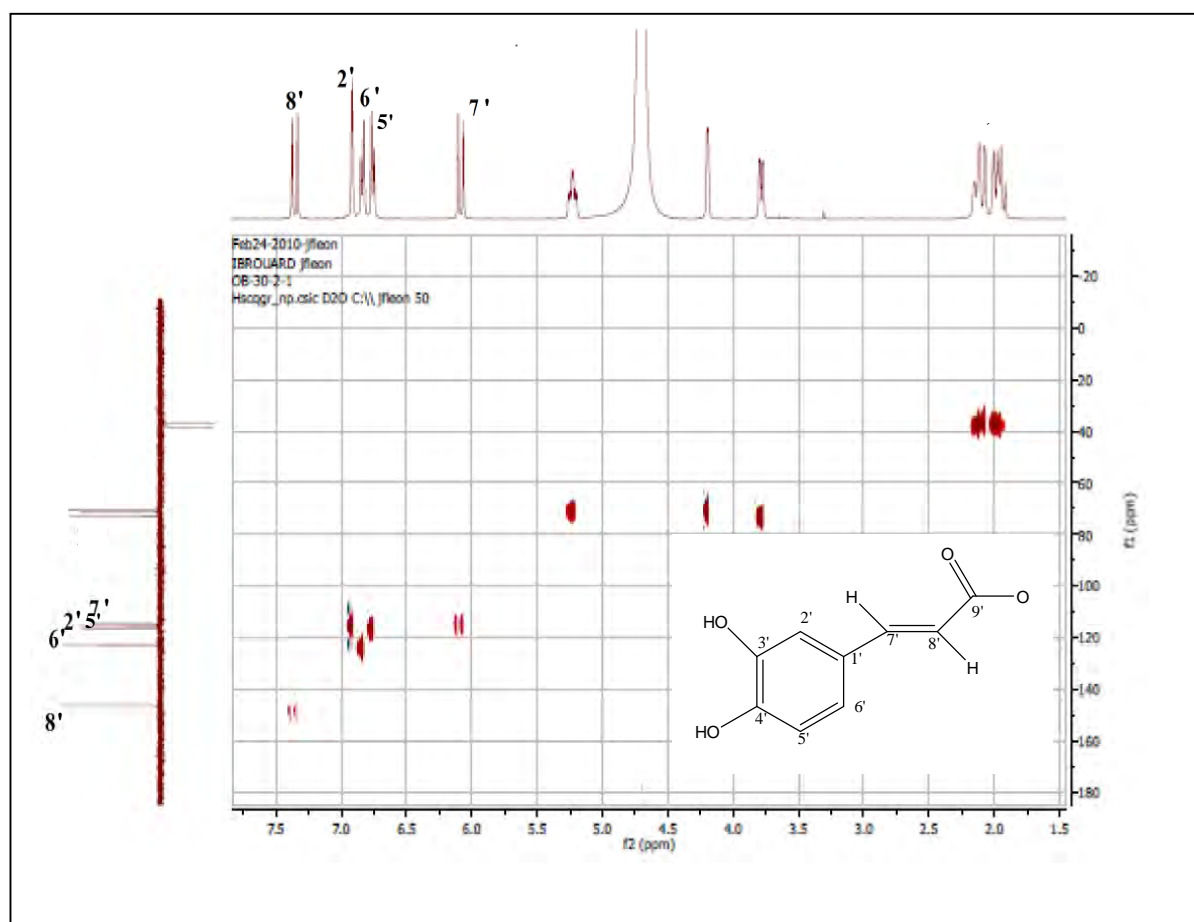


Le spectre HSQC (spectre n° IV.68, IV.69) permet d'identifier les carbones liés aux différents protons de la partie de l'ester :

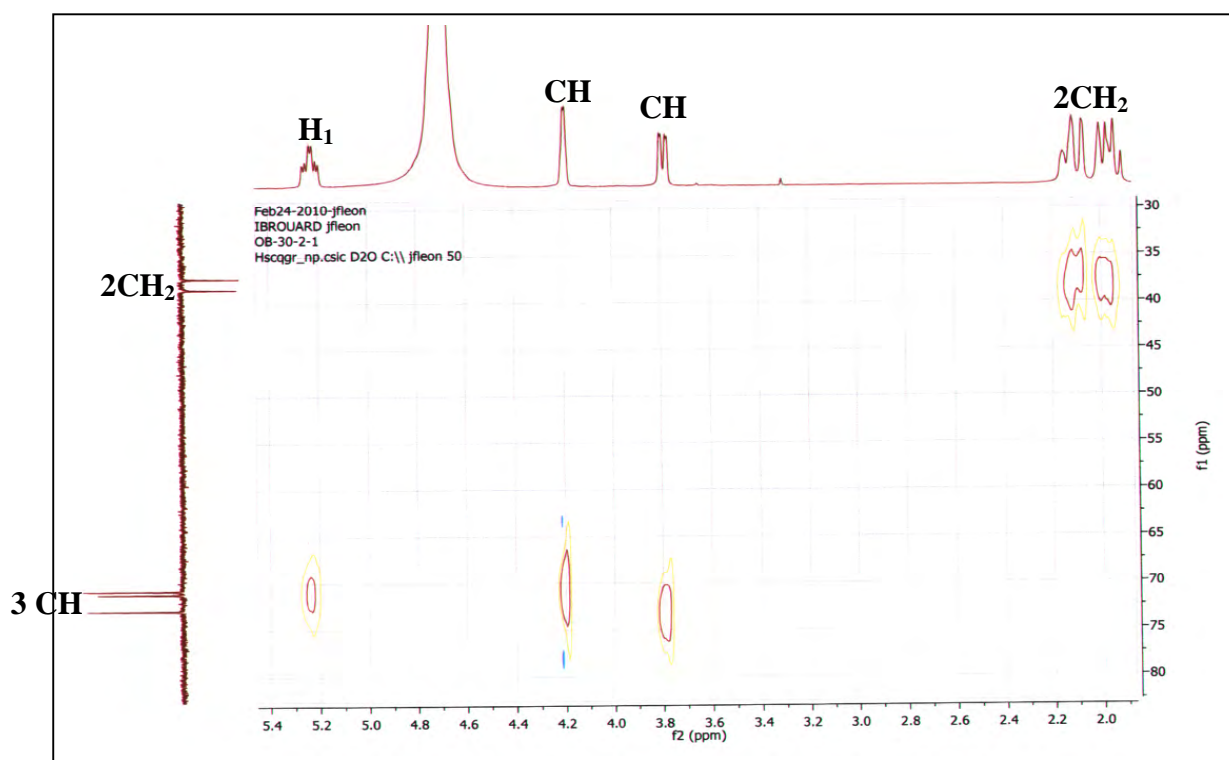
- Le H-8' permet l'attribution du signal à $\delta = 145,9$ ppm à l'atome de carbone C-8'.
- Le H-2' permet l'attribution du signal à $\delta = 116,1$ ppm à l'atome de carbone C-2'.
- Le H-6' permet l'attribution du signal à $\delta = 122,6$ ppm à l'atome de carbone C-6'.
- Le H-5' montre une tache de corrélation avec le carbone à $\delta = 115,2$ ppm, c'est le C-5'.
- Une tache de corrélation entre H-7' et un atome de carbone à $\delta = 114,38$ ppm qui est le C-7'.

D'après ce spectre on peut identifier les CH et les CH₂ du radical fixé sur cet ester.

Spectre n° IV.68 : Spectre HSQC (500 MHz, D₂O, δ ppm) du composé F30-2-1



Spectre n° IV.69 : Spectre HSQC (500 MHz, D₂O, δ ppm) du composé F30-2-1, étalement.

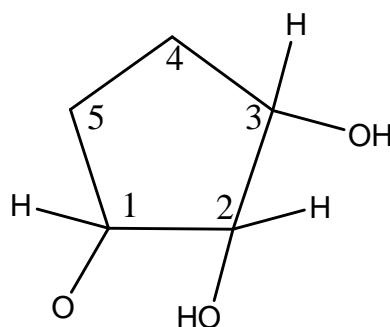


Tous ces groupements du radical sont couplés entre eux comme le montre le spectre COSY (¹H-¹H), (spectre n° IV.70) :

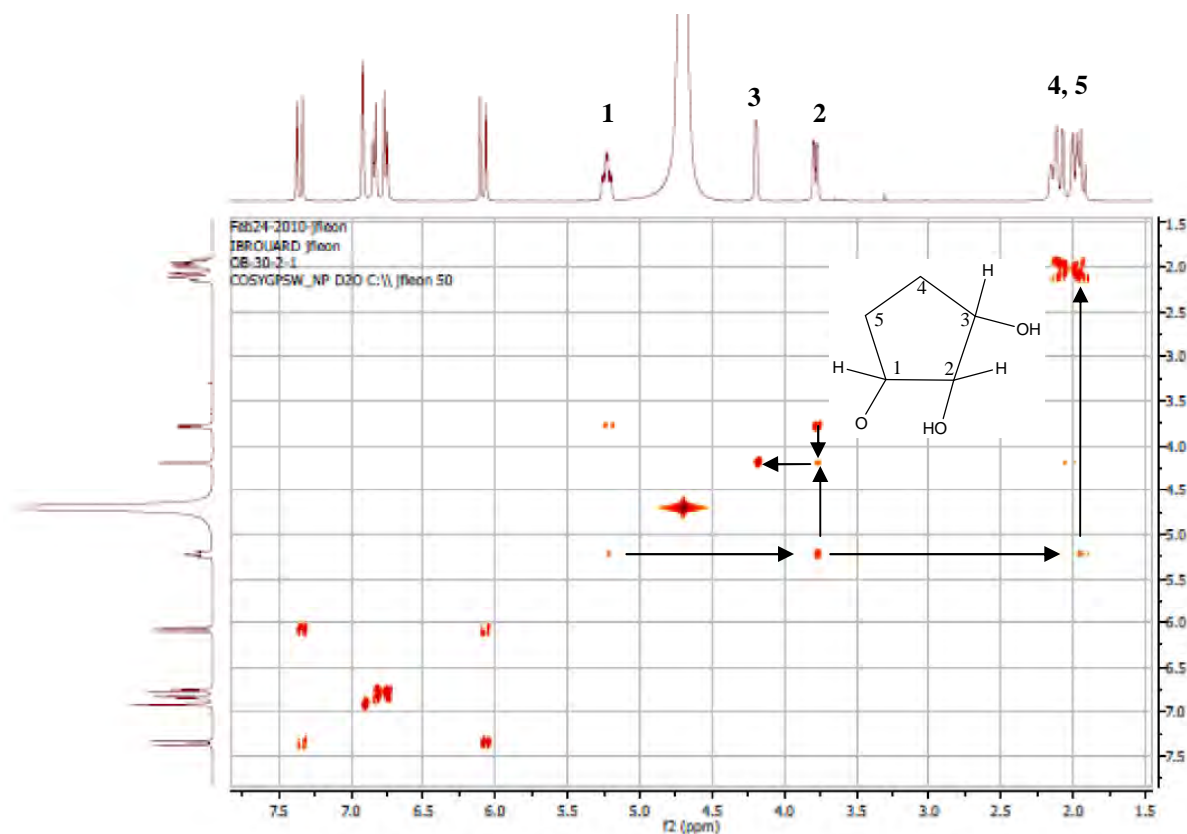
- ✓ Le CH de l'ester sous forme d'un triplet de doublet donne une tache de corrélation avec un CH à $\delta = 3,79$ ppm sous forme d'un doublet de doublet ($J = 9,2; 3,2$ Hz).
- ✓ Le CH de l'ester montre aussi une autre tache de corrélation avec un CH₂ à $\delta = 1,95$ ppm sous forme d'un multiplet.
- ✓ Le troisième CH ($\delta = 4,20$ ppm) sous forme d'un doublet de doublet montre deux taches de corrélation :
 - La première avec le CH qui se trouve à $\delta = 3,79$ ppm.
 - La deuxième avec un CH₂ à $\delta = 2,12$ ppm sous forme d'un multiplet.
 - ✓ Les deux CH₂ corrélient entre eux, suppose que les deux CH₂ soient voisins.

Tous ces données est par conséquent en faveur d'un cycle à cinq atomes de carbones (figure n° IV.21):

Figure n° IV.21 : la structure proposée du radical fixé sur l'ester



Spectre n° IV.70 : Spectre COSY (500 MHz, D₂O, δ ppm) du composé F30-2-1

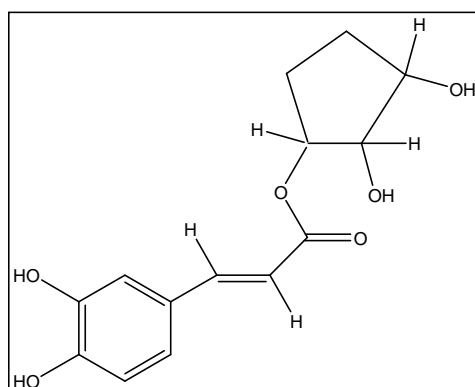


L'ensemble de ces données mène à la structure du 1-(3', 4'-dihydroxycinnamoyl)-cyclopenta-2, 3-diol (figure n° IV.22). Toutes les corrélations HMBC (Spectre n° IV.71) et ses étalements (Spectre n° IV.72 et IV.73) permettent de confirmer sans ambiguïté cette structure et d'attribuer tous les carbones quaternaires de la molécule :

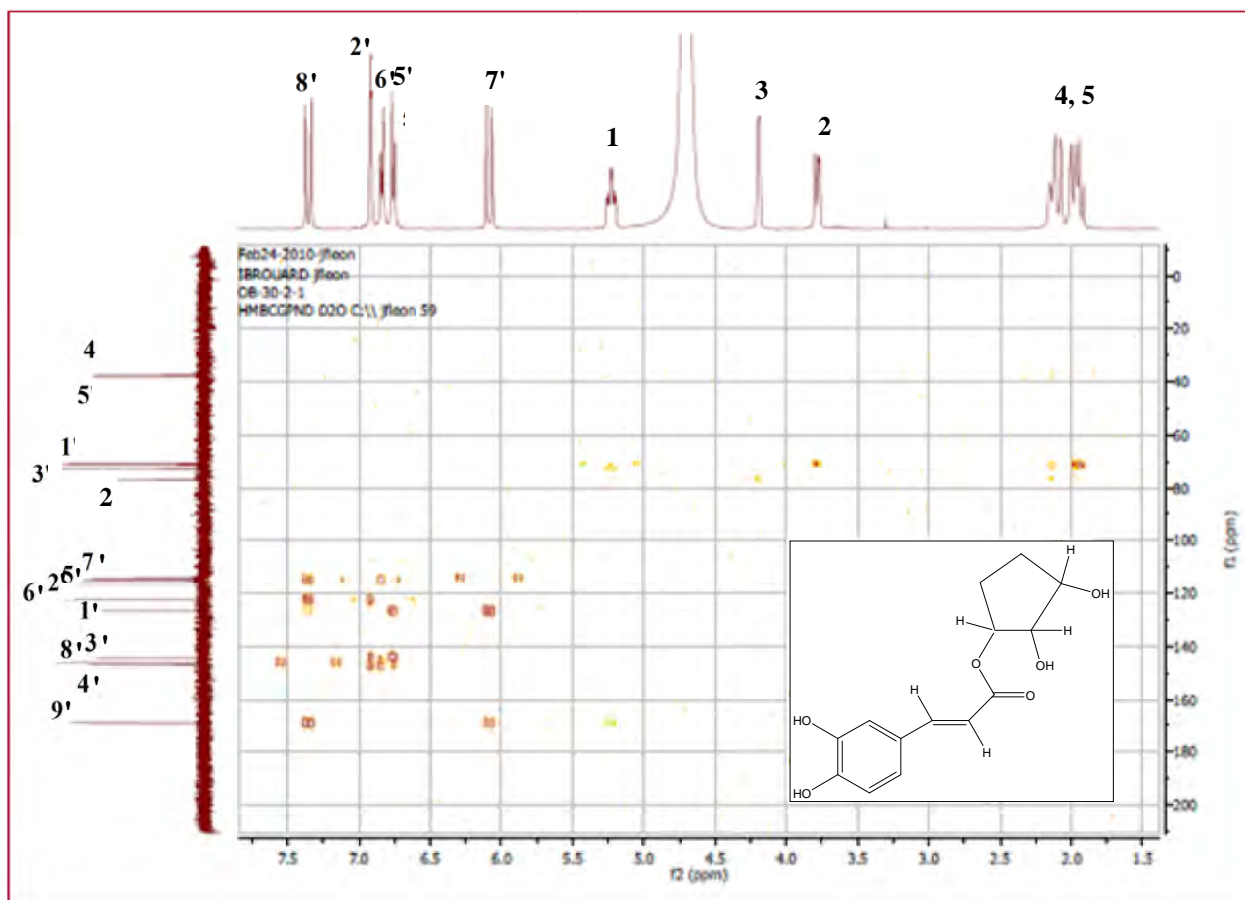
- ✓ Deux taches de corrélation entre H-7' et H-8' et un atome de carbone résonant à $\delta = 169,1$ ppm attribuable à C-9'.

- ✓ Deux taches de corrélation entre H-7' et H-5' et un atome de carbone résonant à $\delta = 126,9$ ppm qui ne peut être que le C-1'.
- ✓ Deux taches de corrélation entre H-2' et H-5' et un atome de carbone résonant à $\delta = 144,1$ ppm attribuable à C-3'.
- ✓ Trois taches de corrélation entre H-2', H-5' et H-6' et un atome de carbone résonant à $\delta = 147,0$ ppm qui ne peut être que le C-4'.

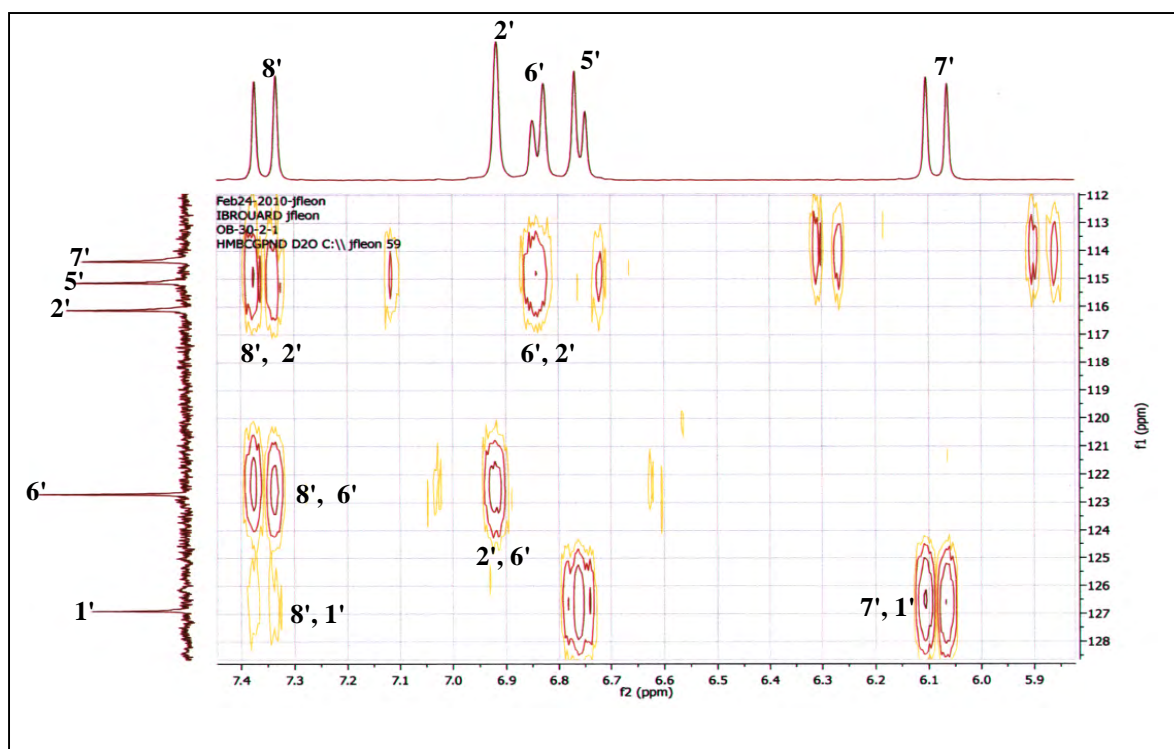
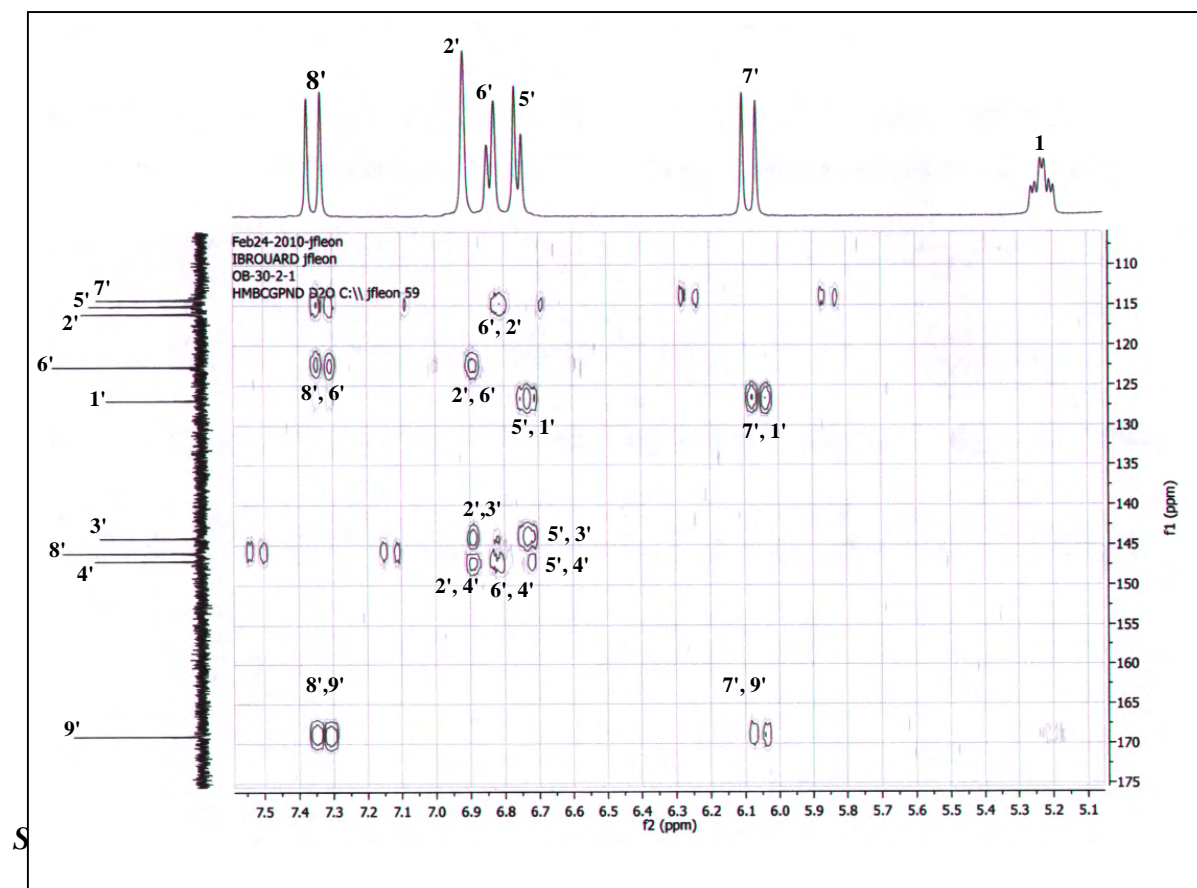
Figure n° IV.22 : la structure du 1- (3', 4'-dihydroxycinnamoyl)-cyclopenta-2, 3-diol :



Spectre n° IV.71 : Spectre HMBC (500 MHz, D₂O, δ ppm) du composé **F30-2-1**



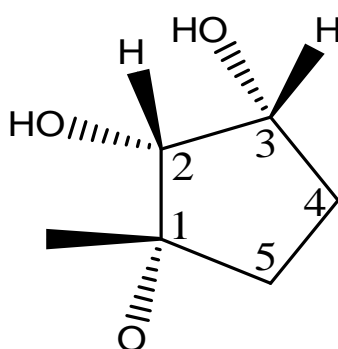
Spectre n° IV.72 : Spectre HMBC (500 MHz, D₂O, δ ppm) du composé **F30-2-1**, étalement



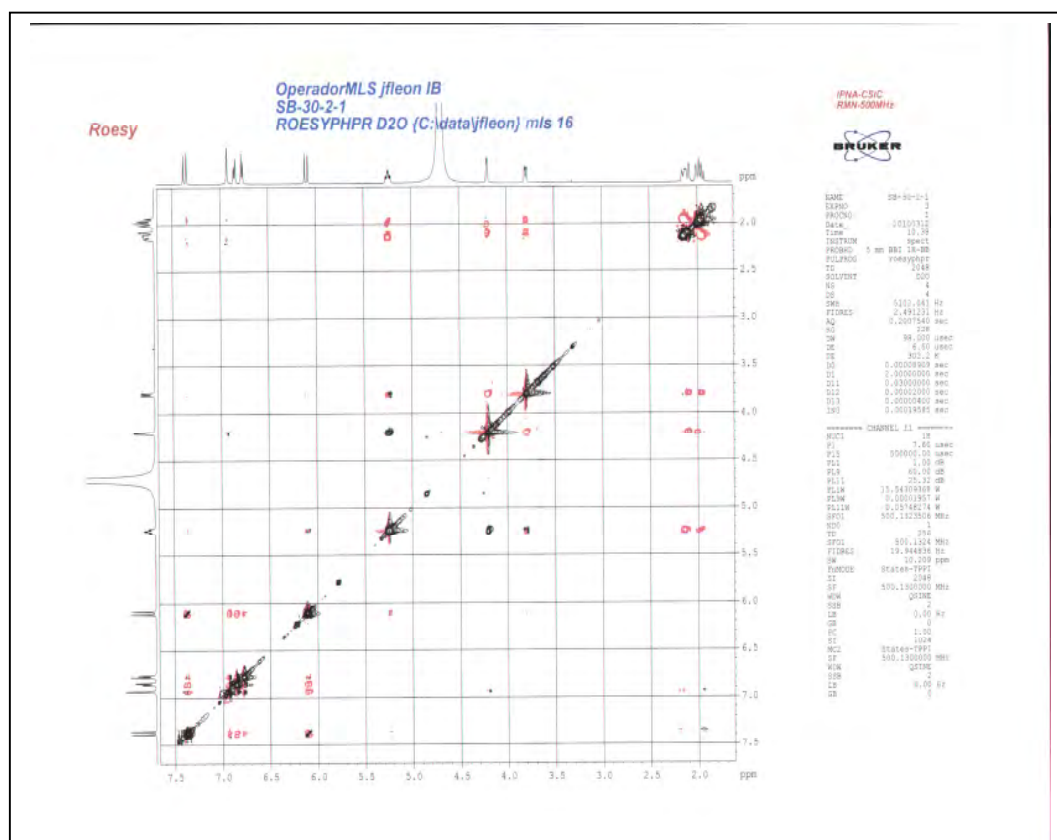
La stéréochimie des centres asymétrique du cycle cyclopentanique a été établie grâce à l'étude du spectre ROESY (spectre n° IV.74) et son étalement (spectre n° IV.75) qui donne les indications suivantes :

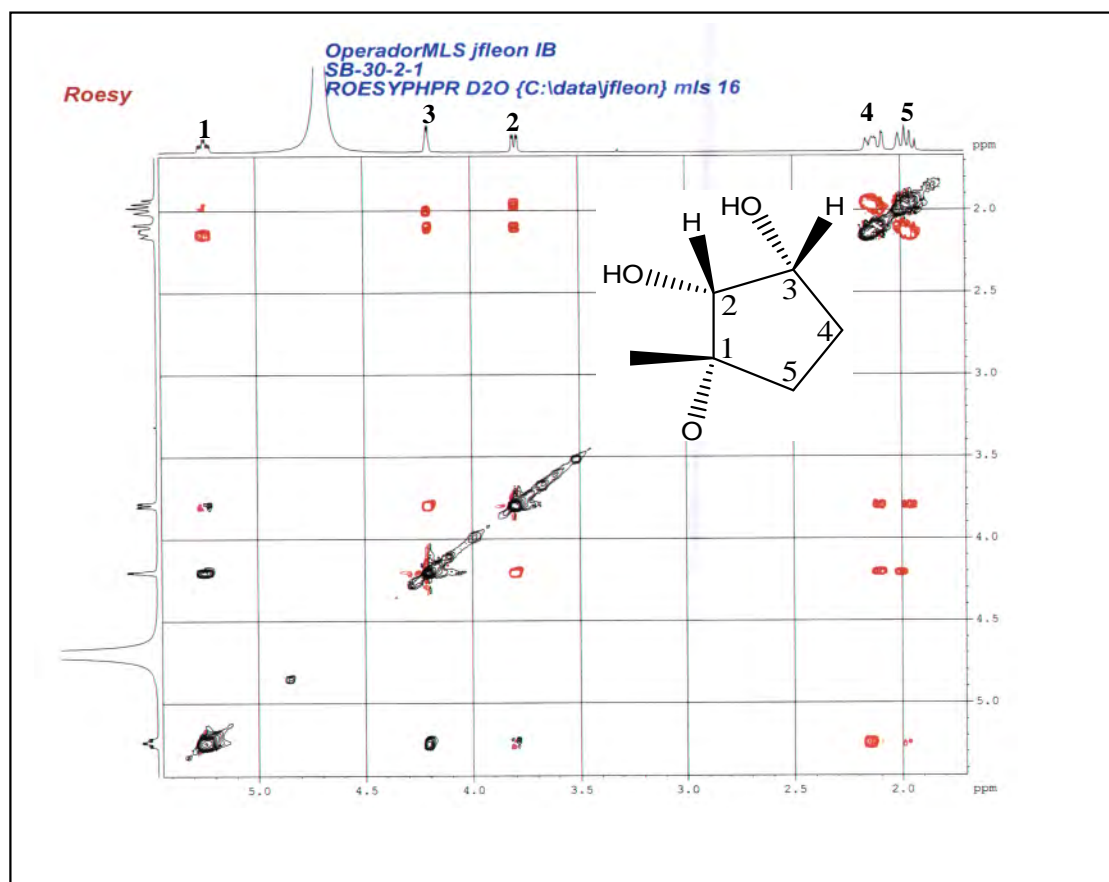
- ✓ Une tache de corrélation entre les deux protons H2 et H1 indiquant une même orientation pour l'ensemble de ces noyaux.
- ✓ Une tache de corrélation entre les deux protons H3 et H1 admet la même orientation que les noyaux précédents. Ce qui confère les configurations R, S et S pour les carbones 1, 2 et 3 respectivement (figure n° IV.23).

Figure n° IV.23 : la stéréochimie du radical



Spectre n° IV.74 : Spectre ROESY (500 MHz, D₂O, δ ppm) du composé F30-2-1



Spectre n° IV.75 : Spectre ROESY (500 MHz, D₂O, δ ppm) du composé F30-2-1, étalements

L'ensemble des données de RMN-¹H, COSY, ROESY, RMN-¹³C, DEPT, HSQC et HMBC mènent à la structure finale du composé **F30-2-1** qui est le : **(E)-2,3-dihydroxycyclopentyl-3-(3,4-dihydroxyphenyl) acrylate** (figure n° IV.24). Cette molécule est nouvelle pour l'espèce et le genre et la famille, elle été décrite seulement deux fois dans la famille Rosaceae, l'espèce (*Prunus cerasus* L) et *Chimarrhis turbinata* DC. Prodr de la famille Rubiaceae [5, 6].

Les données spectroscopiques sont rassemblées dans les tableaux n° IV.15 et n° IV.16

Figure n° IV.24 : la structure du (E)-2,3-dihydroxycyclopentyl-3-(3,4-dihydroxyphenyl) acrylate

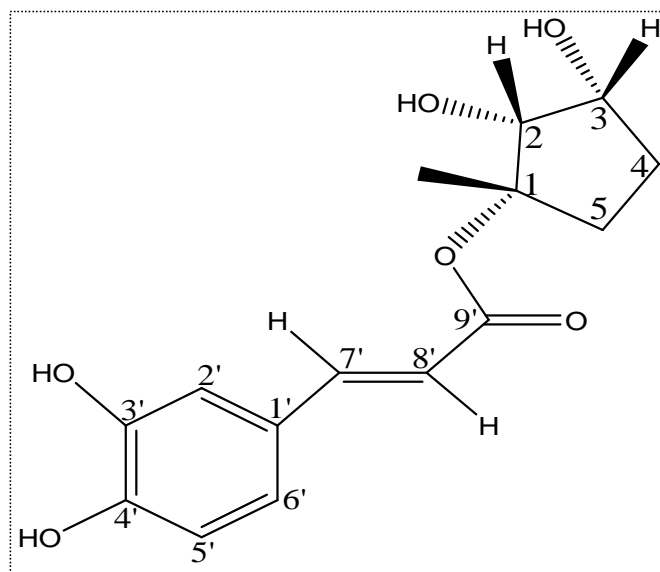


Tableau n° IV.15 : Données de la spectroscopie RMN ¹H

DEPLACEMENT CHIMIQUE Δ (PPM)	INTEGRATION	MULTIPLICITE (J HZ)	ATTRIBUTION
7,37	1H	d(15,9)	H-8'
6,92	1H	s large	H-2'
6,85	1H	dl (8,3)	H-6'
6,77	1H	d(8,2)	H-5'
6,10	1H	d(15,9)	H-7'
5,23	1H	td	H-1
4,20	1H	m	H-3
3,79	1H	dd (9,2; 3,0)	H-2
2,12	2H		H-4
1,97	2H	m	H-5
		m	

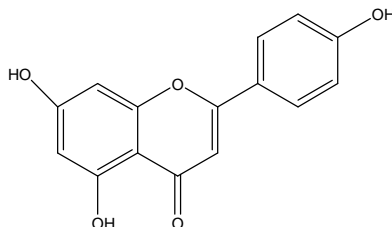
Tableau n° IV.16: Données de la RMN ¹³C

DEPLACEMENT CHIMIQUE Δ (PPM)	ATTRIBUTION	HMBC (H – C)
126,9	C-1'	H-7'; H-8' et H-5'
116,1	C-2'	H-7' et H-8'
144,1	C-3'	H-2'; H-5' et H-6'
147,0	C-4'	H-2'; H-5' et H-6'
115,2	C-5'	H-5' et H-6'
122,6	C-6'	H-2' et H-8'
114, 4	C-7'	H-5' ; H-6' et H-8'
145,9	C-8'	H-2' et H-6'
169,1	C-9'	H-7' et H-8'
70,7	C-1	H-2
72,2	C-2	/
71,1	C-3	/
37,4	C-5	/
38,5	C-4	/

IV. 2 : IDENTIFICATION DES PRODUITS DE *R. Suaveolens* Desf

IV. 2. A : IDENTIFICATION DES PRODUITS DE LA PHASE ACETATE

IV. 2. A. 1 : IDENTIFICATION DU COMPOSE PF71



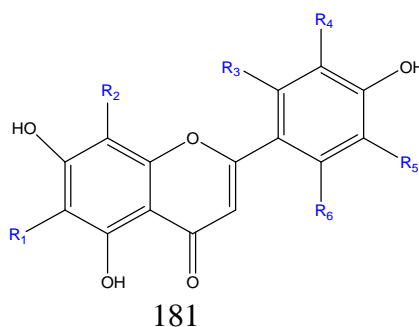
La fluorescence noir-violette de ce composé sous lumière de Wood indique qu'il s'agit d'une flavone ou d'un flavonol substitué en C-3.

Les données de la série spectrale UV (tableau n° IV.17), spectre n° IV.76 donnent les indications suivantes :

- La valeur de la longueur d'onde de la bande I en présence du méthanol à 338 nm, oriente vers la structure d'une flavone.
- L'addition du réactif NaOH, conduit à un déplacement bathochrome de +56 nm de la bande I, avec une augmentation de l'intensité, ce qui indique l'existence d'un OH libre en position 4'.
- Le spectre enregistré en présence de NaOAc, montre un déplacement bathochrome de la bande II ($\Delta\lambda_{II} = + 6$ nm) par rapport au spectre enregistré dans le MeOH, orientant vers la présence d'un OH libre en C-7 confirmé par l'apparition d'une nouvelle bande à 325 nm dans le spectre de NaOH.
- L'addition du réactif $AlCl_3+HCl$, conduit à un déplacement bathochrome de +42 nm de la bande I, par rapport au spectre enregistré dans le MeOH, ce qui indique l'existence d'un OH libre en position 5.
- L'absence du déplacement hypsochrome de la bande I en comparant les spectres $AlCl_3+HCl$ et $AlCl_3$, laisse prévoir l'absence d'un système ortho-dihydroxylé sur le cycle B.

Ces données permettent la proposition de la structure partielle suivante (figure n° IV.25) :

Figure n° IV.25 : la structure partielle du composé **PF71**



Spectre n° IV.76 : Série spectrale UV du composé PF71

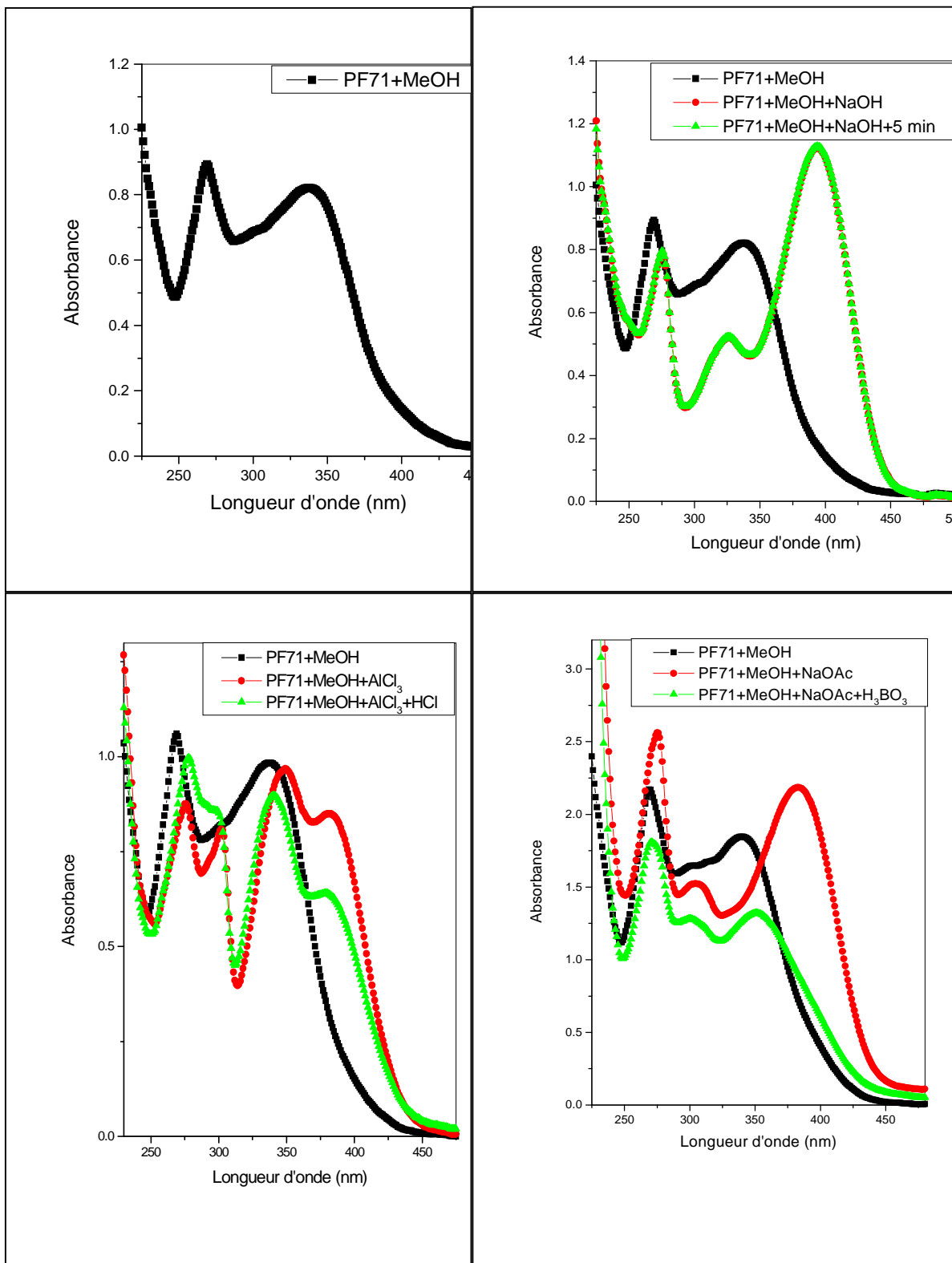


Tableau n° IV.17: Données de la série spectrale UV (λ max, nm)

Réactifs	Bande I	Bande II	Autres bandes	Commentaire
MeOH	338	269		Flavone
+ NaOH	395	276	325	OH libre en 4' OH libre en 7
+AlCl ₃	382	276	349	/
+AlCl ₃ /HCl	380	278	341	OH libre en 5 Absence de di-OH sur B
+NaOAc	383	275	306	OH libre en 7
+NaOAc/H ₃ BO ₃	380	271	301	Absence de di-OH sur B
Spectre stable en présence de NaOH après 5 mn				

L'examen du spectre RMN ¹H enregistré dans CD₃OD (spectre n° IV.77, IV.78) montre :

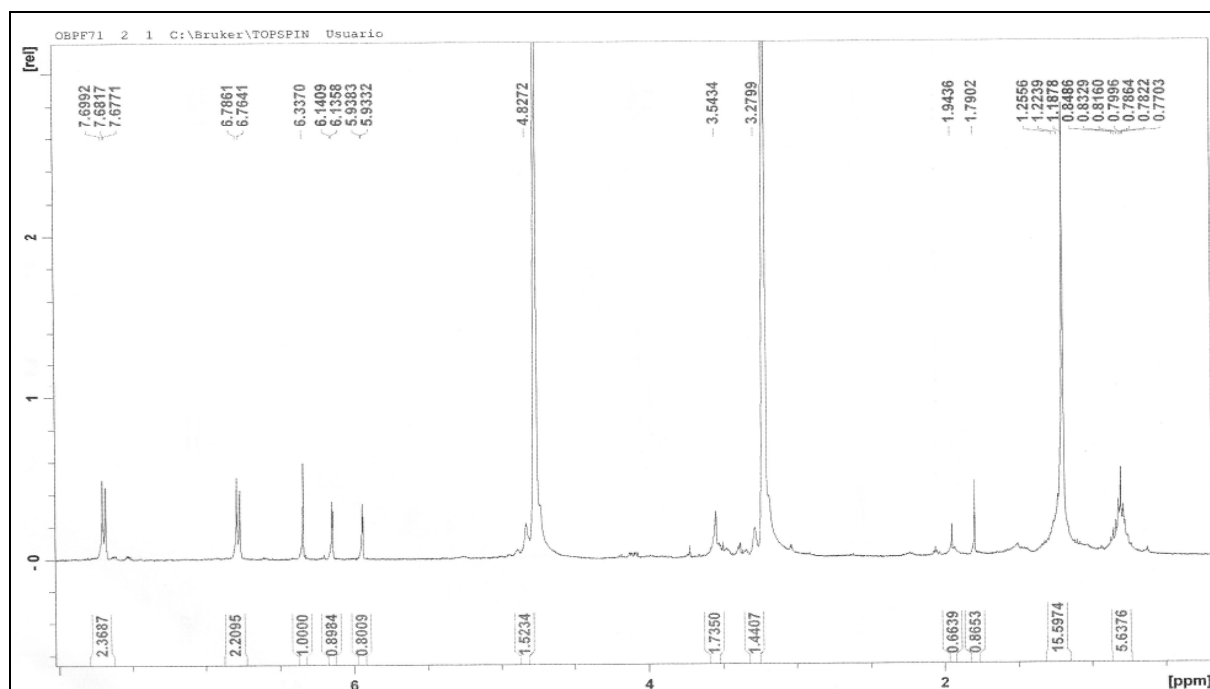
- La constante de couplage ($J = 8,5$ Hz) du doublet qui apparaît à $\delta = 7,71$ ppm, permet l'attribution de ce signal d'intégration 2H à H-2' et H-6'. de même la constante de couplage ($J = 8,5$ Hz) du doublet qui apparaît à $\delta = 6,51$ ppm, permet l'attribution de ce signal d'intégration 2H à H-3' et H-5'
- Un singulet d'intégration 1H à $\delta = 6,55$ ppm attribuable à H-3.
- Deux doublets d'intégration 1H chacun, le premier à $\delta = 6,35$ ppm ($J = 2,0$ Hz) et le second à $\delta = 6,12$ ppm ($J = 2,0$ Hz) attribuables à H-8 et H-6 respectivement.

L'ensemble de ces données est reporté dans le tableau n° IV.18.

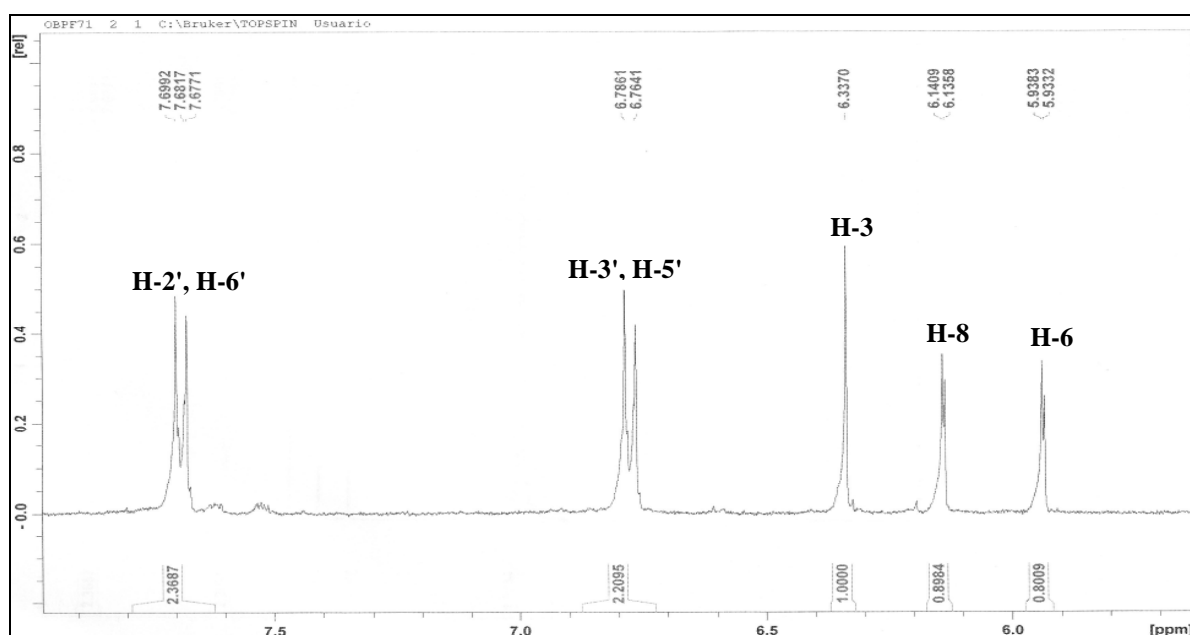
Tableau n° IV.18 : Données de la spectroscopie RMN ¹H (CD₃OD, 400 MHz).

Déplacement chimique δ (ppm)	Intégration	Multiplicité	J (Hz)	Attribution
6,26	1H	s		H3
6,55	1H	d	2,0	H-6
6,52	1H	d	2,0	H-8
7,11	2H	d	9,12	H-3' et H-5'
8,11	2H	d	9,11	H-2' et H-6'

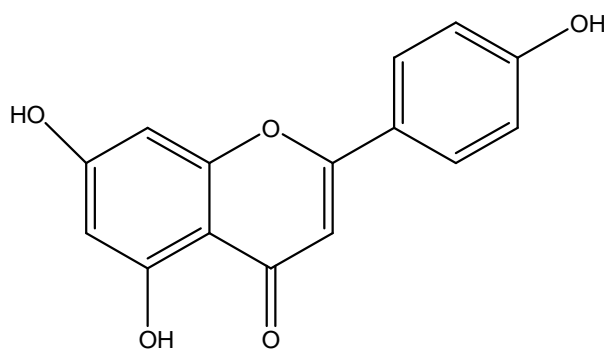
Spectre n° IV.77: Spectre RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé PF71



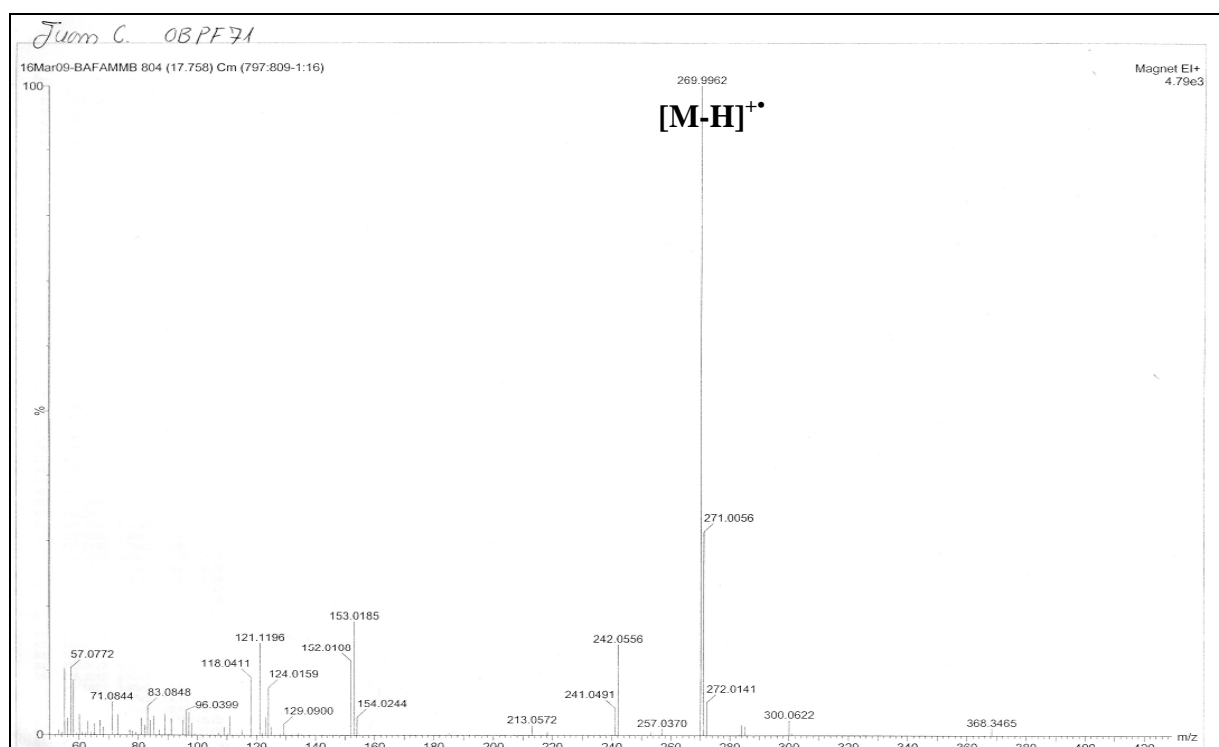
Spectre n° IV.78 : Spectre RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé PF71, étalement



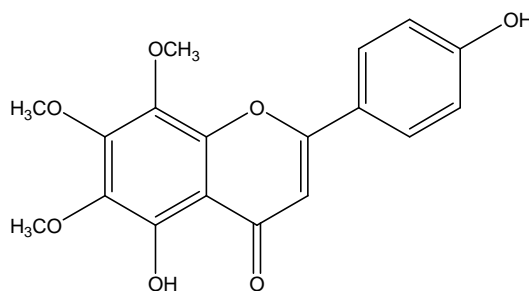
Ces données complètent la structure précédente et mène ainsi à la **4', 5, 7-trihydroxyflavone** connue sous le nom « **Apigénine** » (figure n° IV.26).

Figure n° IV.26 : la structure de l'Apigénine

La structure de cette molécule est confirmée par le spectre de masse à haute résolution SMIE (spectre n° IV.79) qui donne un ion à $m/z = 269,9962$ correspondant à $[M-H]^+$ confirmant le squelette d'un flavonoïde de type aglycone de formule brute $C_{15}H_{10}O_5$, indiquant ainsi un squelette trihydroxyflavone. Ce spectre montre également un signal à $m/z = 242,0556$ correspondant au réarrangement caractéristique des flavonoïdes, soit la perte d'un CO $[M-28]^+$, un signal à $m/z = 153,0185$ correspondant au fragment $[^{1,3}A+H]^+$ confirmant bien un cycle A dihydroxylé. Ainsi qu'un signal à $m/z = 118,0411$ correspondant au fragment $^1B^+$ indiquant une hydroxylation du cycle B de cette flavone.

Spectre n° IV.79 : Spectre SMIE du composé PF71

IV. 2. A. 2 : IDENTIFICATION DU COMPOSE RSO3-1



La fluorescence noire violette de ce composé sous lumière de Wood laisse supposer la structure d'une flavone ou un flavonol substitué en C-3.

L'examen de la série spectrale UV (Spectre n° IV.80) donne les indications suivantes :

- ✓ La longueur d'onde d'absorption maximale dans le méthanol de la bande I à 333 nm laisse supposer la structure de type flavone.
- ✓ L'ajout de NaOH provoque un déplacement bathochrome de la bande I ($\Delta\lambda_I = + 57$ nm) avec augmentation de l'intensité et révèle la présence d'un OH libre en position 4'
- ✓ Un effet bathochrome de la bande I dans le spectre enregistré dans le milieu ($\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$), ($\Delta\lambda = + 17$ nm) comparativement au spectre enregistré dans le MeOH indiquent la présence d'un OH libre en C-5 avec oxygénation en C-6.
- ✓ La comparaison de la valeur de la longueur d'onde de la bande I après ajout de HCl et celle en présence de AlCl_3 ne montre aucun effet hypsochrome indiquant l'inexistence de système ortho di OH sur le cycle A (pas de ortho di-OH en 6,7 ou 7,8).
- ✓ L'ajout de NaOAc, ne provoque aucun déplacement de la bande II révélant la présence d'une substitution de type OR sur C-7.

Les résultats de la série spectrale UV du composé **RSO3-1** sont rassemblés dans le tableau n° IV.19 :

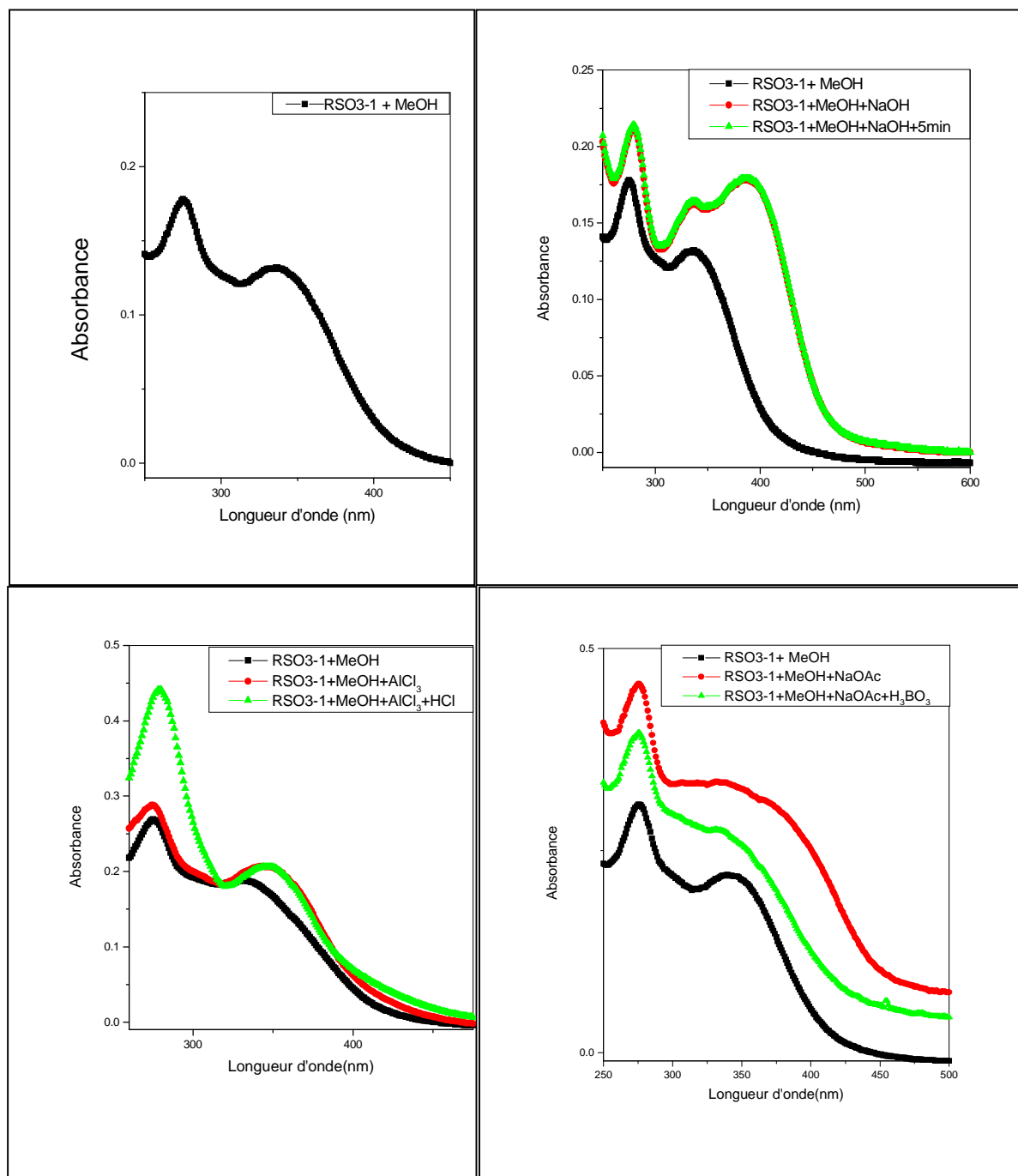
Spectre n° IV.80 : Série spectrale UV du composé *RSO3-1*

Tableau n° IV.19: Données de la série spectrale UV (λ max, nm).

Réactifs	Bande I	Bande II	Autres bandes	Commentaire
MeOH	333	275		Flavone
+ NaOH	390	280		OH libre en 4' OR en 7
+AlCl ₃	350	275		/
+AlCl ₃ /HCl	350	280		OH libre en 5 Oxygénation en 6
+NaOAc	359	275		OR en 7
+NaOAc/H ₃ BO ₃	340	275		Pas di OH
Spectre stable en présence de NaOH après 5 mn				

L'étude du spectre RMN ¹H donne les indications suivantes (spectre n° IV.81)

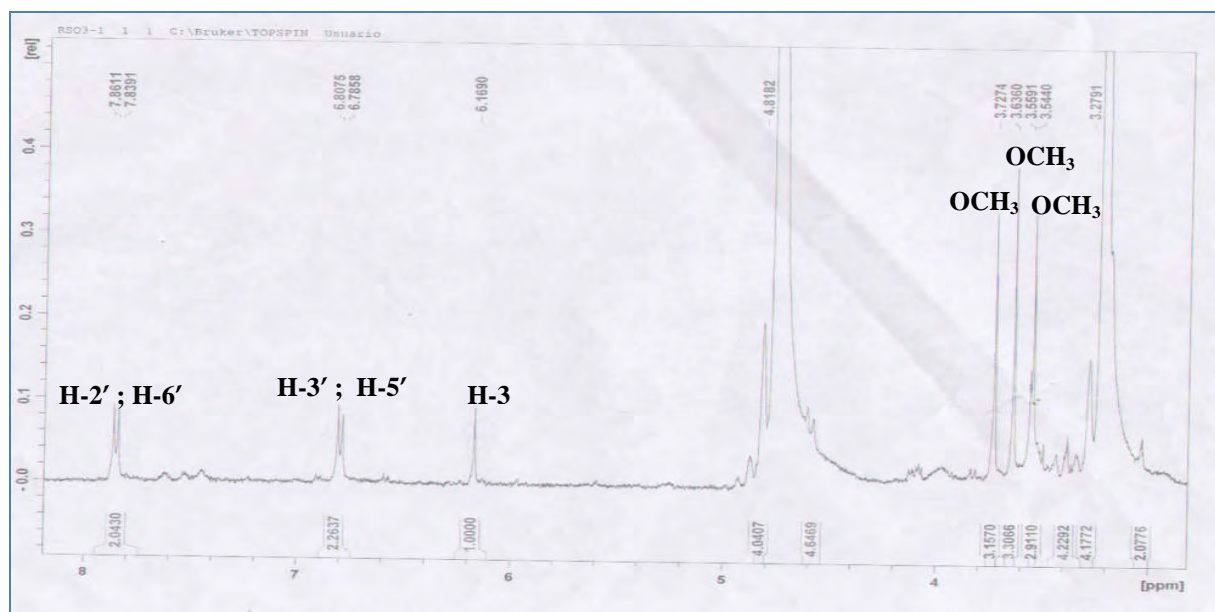
- Deux doublets ($J = 8,7$ Hz) à $\delta = 7,80$ ppm et à $\delta = 6,79$ ppm de deux protons chacun caractéristiques d'un noyau B oxygéné en position 4', le premier est attribué aux protons H-2' et H-6', le dernier est attribué aux protons H-3' et H-5'.
- Un singulet d'intégration 1H à $\delta = 6,55$ ppm attribuable à H-3.
- Trois singulets d'intégration 3H chacun à $\delta = 3,55$; 3,63 et 3,72 ppm attribuables à trois groupements méthoxyles.

L'ensemble de ces données est reporté dans le tableau n° IV.20.

Tableau n° IV.20 : Données de la spectroscopie RMN ¹H (CD₃OD, 400 MHz).

Déplacement chimique δ (ppm)	Intégration	Multiplicité	J (Hz)	Attribution
3,55	1H	s		OCH ₃
3,63	1H	s		OCH ₃
3,72	1H	s		OCH ₃
6,169	1H	s		H-3
6,79	2H	d	8,7	H-3' et H-5'
7,85	2H	d	8,7	H-2' et H-6'

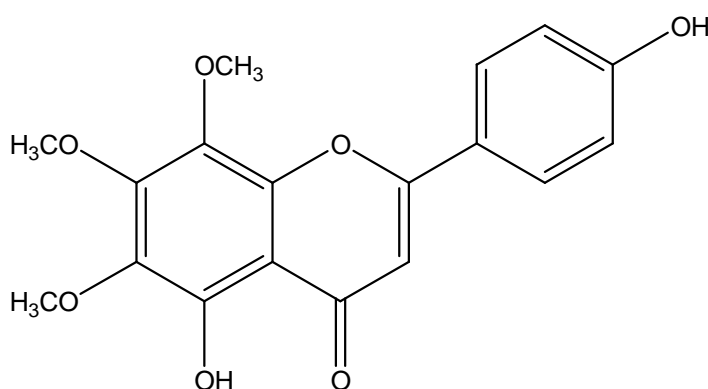
Spectre n° IV.81 : Spectre RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé RSO3-1



La combinaison des données de la RMN ¹H et de l'absorption ultraviolette mène au fait que cette molécule est une flavone, dihydroxylé en C-5, C-4' portant trois groupements méthoxyles en position C-6, C-7 et C-8, Correspondant à la structure suivante:

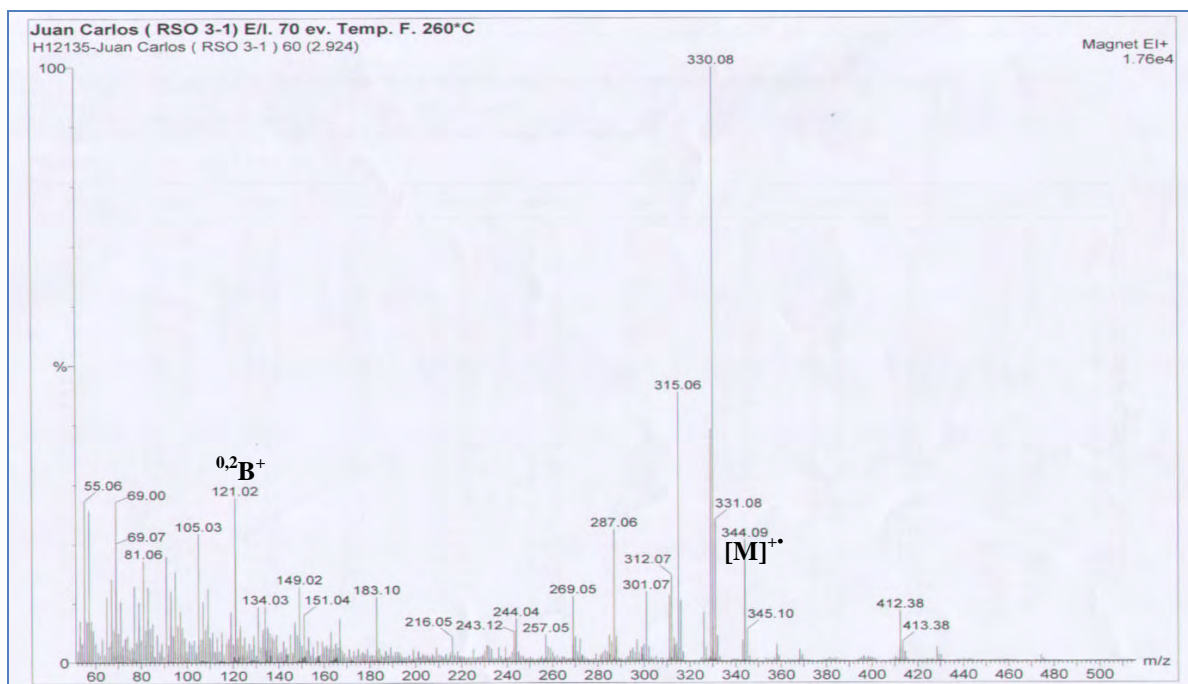
5, 4'-dihydroxy- 6, 7, 8-trimethoxyflavone ou bien **Xanthomicrol** (figure n° IV.27).

Figure n° IV.27: la structure de la Xanthomicrol

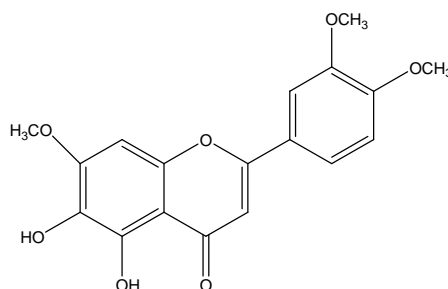


La structure proposée est confirmée par son spectre de masse en mode d'ionisation impact électronique (spectre n° IV.82) qui montre un pic moléculaire à $m/z = 344,09 [M]^+$. On constate également la présence de l'ion $m/z = 121$ correspondant au fragment $^{0,2}B^+$ confirmant une seule hydroxylation sur le cycle B.

Spectre n° IV.82 : Spectre SMIE du composé RSO3-1



IV. 2. A. 3 : IDENTIFICATION DU COMPOSE RSC3-1



L'examen de la série spectrale UV (spectre n° IV.83) donne les indications suivantes :

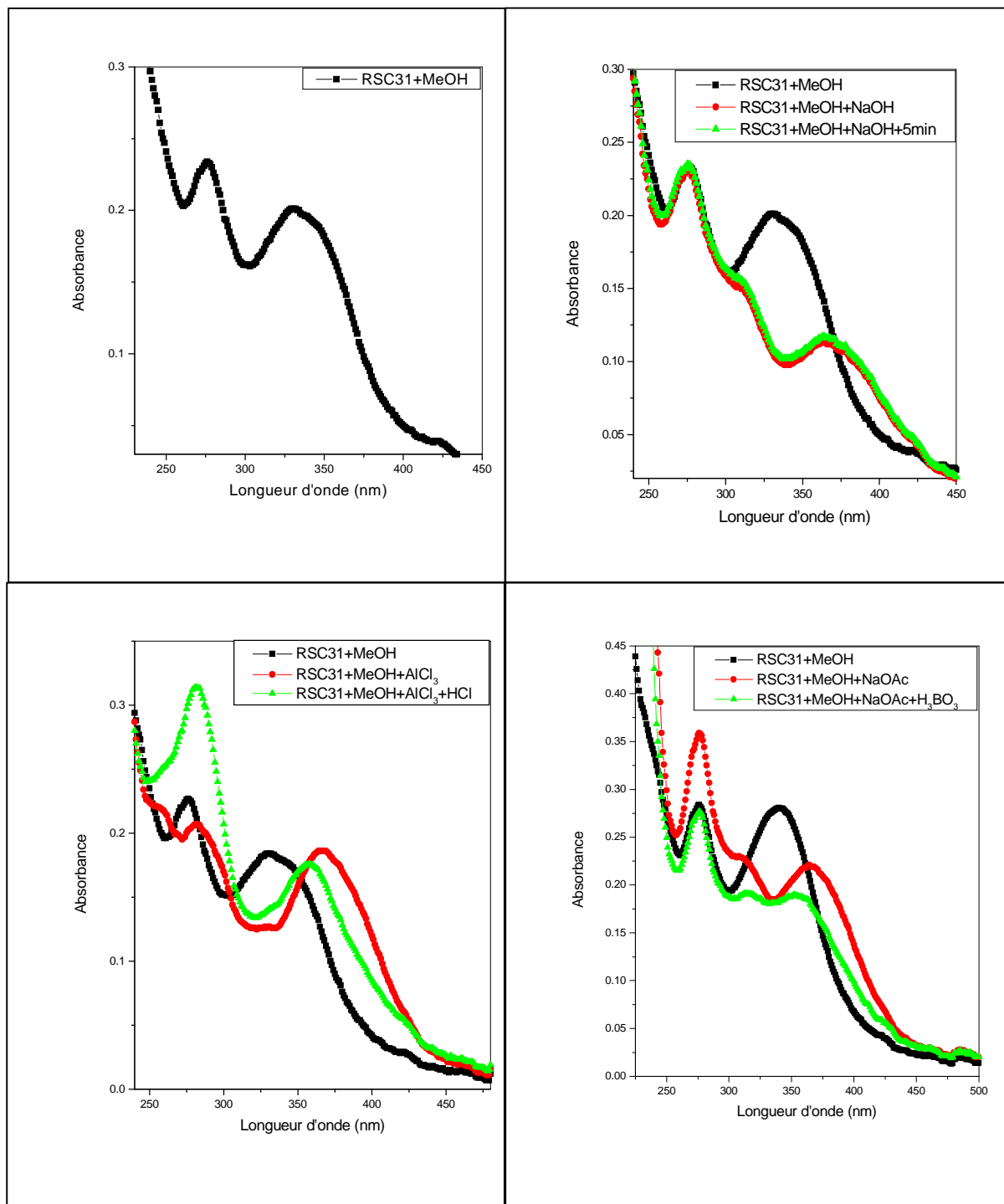
- La valeur de la longueur d'onde d'absorption maximale dans le méthanol de la bande I à 331 nm, indiquent une structure de type flavone.
- L'addition de NaOH provoque un déplacement bathochrome de la bande I ($\Delta\lambda=+23\text{nm}$) avec diminution de l'intensité révélant la présence d'une substitution de type OR en position C-4'.
- Pas de déplacement de la bande II après addition de NaOAc comparativement au spectre pris dans le MeOH indiquant une substitution de type OR en position C-7.
- L'addition du réactif (AlCl_3+HCl), conduit à un déplacement bathochrome de +27 nm de la bande I, par rapport au spectre enregistré dans le MeOH, ce qui prouve l'existence d'un OH libre en position 5 et une oxygénation en position C-6.

Les résultats de la série spectrale UV du composé **RSC3-1** sont résumés dans le tableau n° IV.21.

Tableau n° IV.21 : Données de la série spectrale UV (λ max, nm).

<i>Réactifs</i>	<i>Bande I</i>	<i>Bande II</i>	<i>Autres bandes</i>	<i>Commentaire</i>
MeOH	331	276		Flavone
+ NaOH	364	276		OR en 4' OR en 7
+AlCl ₃	366	281		/
+AlCl ₃ /HCl	358	282		OH libre en 5 Oxygénation en 6
+NaOAc	365	276		OR en 7
+NaOAc/H ₃ BO ₃	355	276	315	Pas di OH
Spectre stable en présence de NaOH après 5 mn				

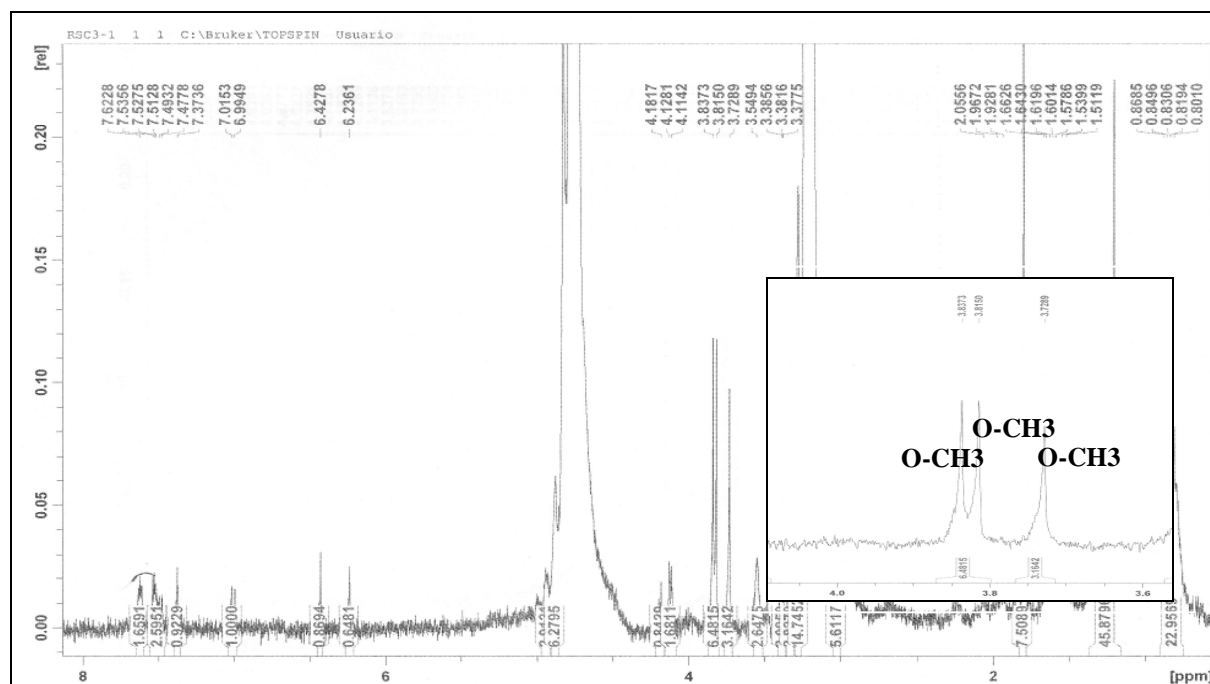
Spectre n° IV.83: Série spectrale UV du composé RSC3-1



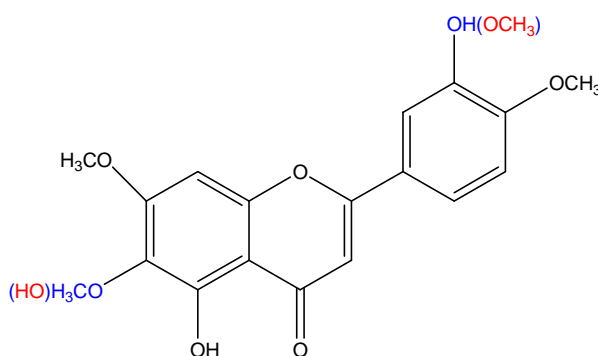
Le spectre RMN ^1H (spectre n° IV.84) du composé RSC3-1 donne les signaux suivants :

- ✓ Un doublet d'intégration 1H à $\delta = 7,12$ ppm ($J = 8,4$ Hz) attribuable à H-5'.
- ✓ Un doublet d'intégration de 1H à $\delta = 7,35$ ppm ($J = 2,0$ Hz) attribuables à H-2'.
- ✓ Un doublet dédoublé d'intégration 1H à $\delta = 7,47$ ppm ($J = 8,4$ et $2,0$ Hz) attribuable à 6'. Ces signaux indiquent qu'il s'agit d'une disubstitution du noyau B.
- ✓ Un singulet d'intégration 1H à $\delta = 6,14$ ppm attribuable à H-8.
- ✓ Un singulet d'intégration 1H à $\delta = 6,37$ ppm attribuable à H-3.
- ✓ Trois singulets d'intégration 3H chacun à $\delta = 3,71$; $3,81$ et $3,83$ ppm montrant la présence de trois groupements méthoxyles. Ces trois groupements ne peuvent être qu'en position 6, 7 et 4' ou 3', 7, 4' compte tenu des résultats de la série spectrale UV.

Spectre n° IV.84: Spectre RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD , δ ppm) du composé RSC3-1

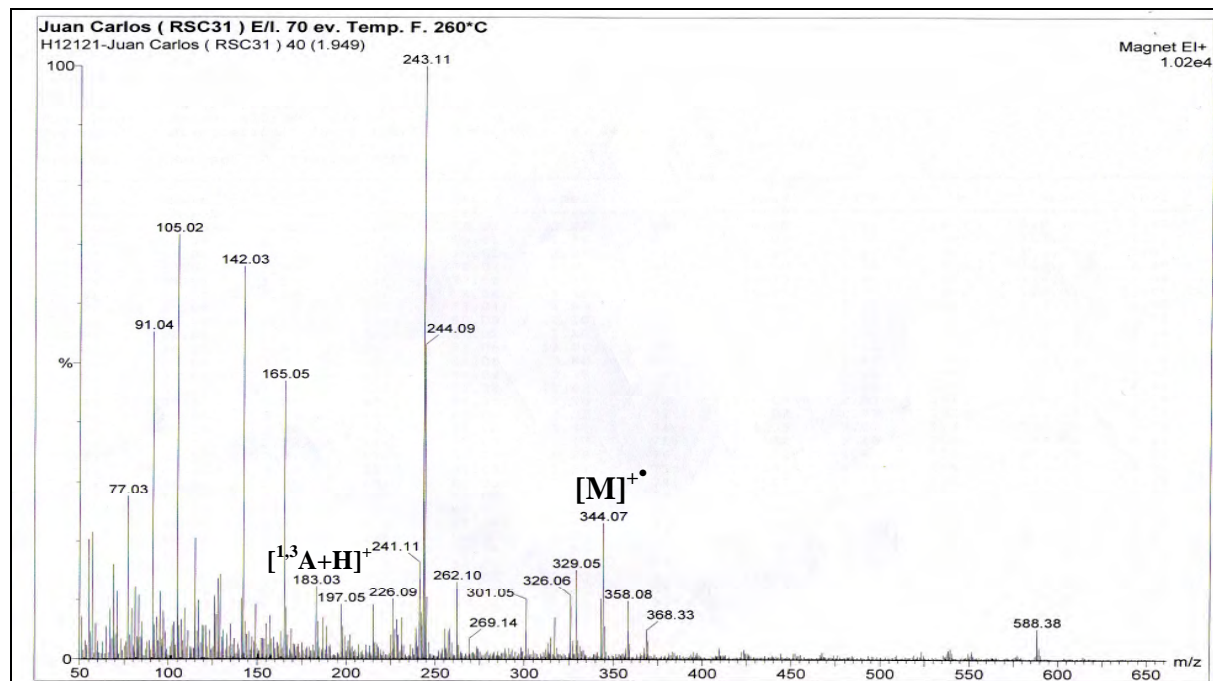


L'analyse de l'ensemble des spectres (UV et RMN ^1H), permis de donner deux propositions suivantes : **5, 3'-dihydroxy 6, 7, 4'-triméthoxyflavone** ou **5, 6-dihydroxy 7, 3', 4'-triméthoxyflavone** (figure n° IV.28).

Figure n° IV.28 : la structure proposée de RSC3-1

L'étude de son spectre de masse en mode d'ionisation impact électronique (spectre n° IV.85) donne les indications suivantes :

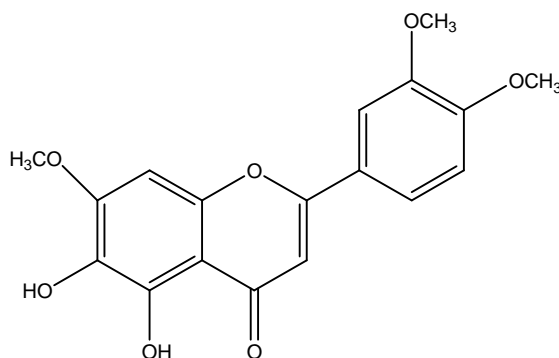
- ✓ un pic moléculaire à $m/z = 344$ $[M]^+$ indiquant le squelette d'un flavonoïde de type aglycone de formule brute $C_{18}H_{16}O_7$.
- un ion à $m/z = 329$ correspondant à $[M-15]^+$ indiquant la présence de groupement méthoxyle,
- une fragmentation à $m/z = 326$ correspondant à $[M-18]^+$ indiquant la présence de groupement hydroxyle.
- Un ion à $m/z = 301$ correspondant au fragment $[M-15-28]^+$. Cette fragmentation est observée habituellement dans les composés phénoliques de type flavonoïde.
- Un ion à $m/z = 183$ correspondant au fragment $[^{1,3}A+H]^+$ indiquant un squelette flavonique dont le cycle A comporte deux hydroxyles et un méthoxyle. Sachant que le carbone C-5 est hydroxylée et que le carbone C-7 ne porte pas d'hydroxyle libre, le deuxième hydroxyle ne peut être qu'en position C-6 et le carbone C-7 qui est méthoxylé. On peut déduire également que le troisième groupement méthoxyle est en position C-3'.

Spectre n° IV.85: Spectre SMIE du composé RSC3-1

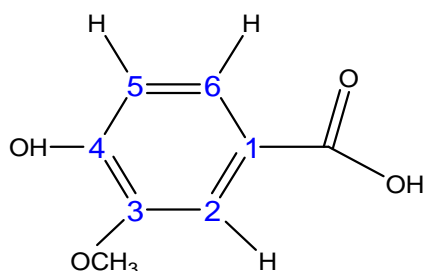
L'ensemble de ces données mène à la structure finale :

5, 6-dihydroxy 7, 3', 4'-triméthoxyflavone ou bien **6-hydroxyluteoline 7, 3', 4' –triméthyl ether** (figure n° IV.29).

Figure n° IV.29 : la structure de 6-hydroxyluteoline 7, 3', 4' –triméthyl ether



IV. 2. A. 4 : IDENTIFICATION DU COMPOSE 27-C1



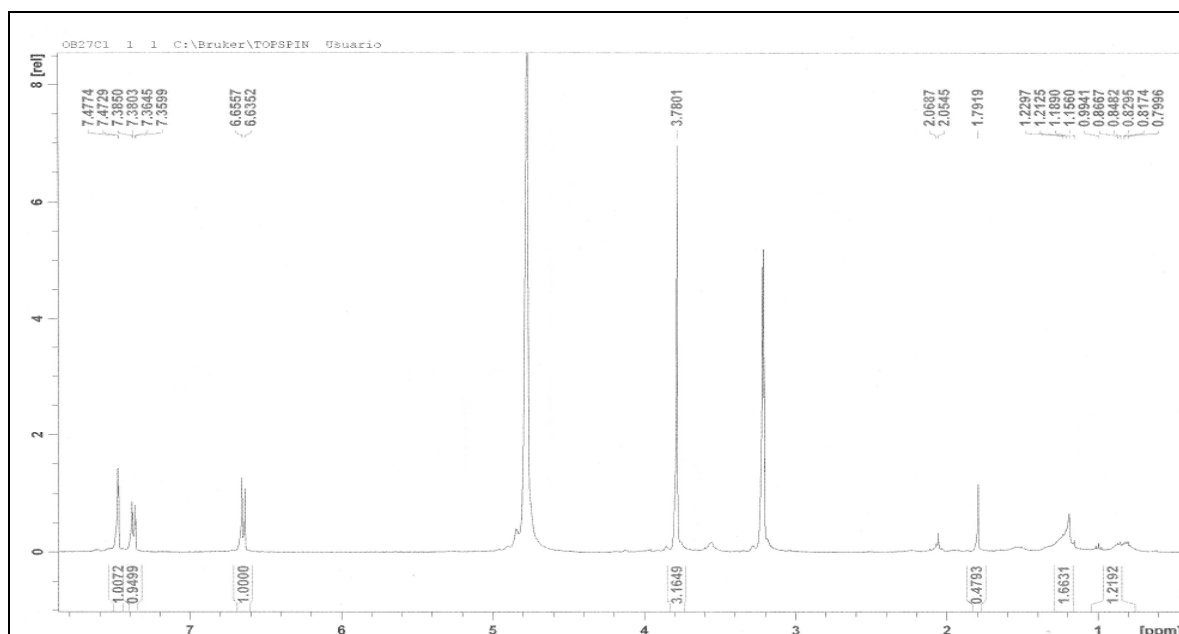
Le spectre RMN ^1H (spectre n° IV.86) et son étalement (spectre n° IV.87) montre la présence d'un noyau aromatique trisubstitué en position 1, 3 et 4. En effet, les trois protons aromatiques présentent :

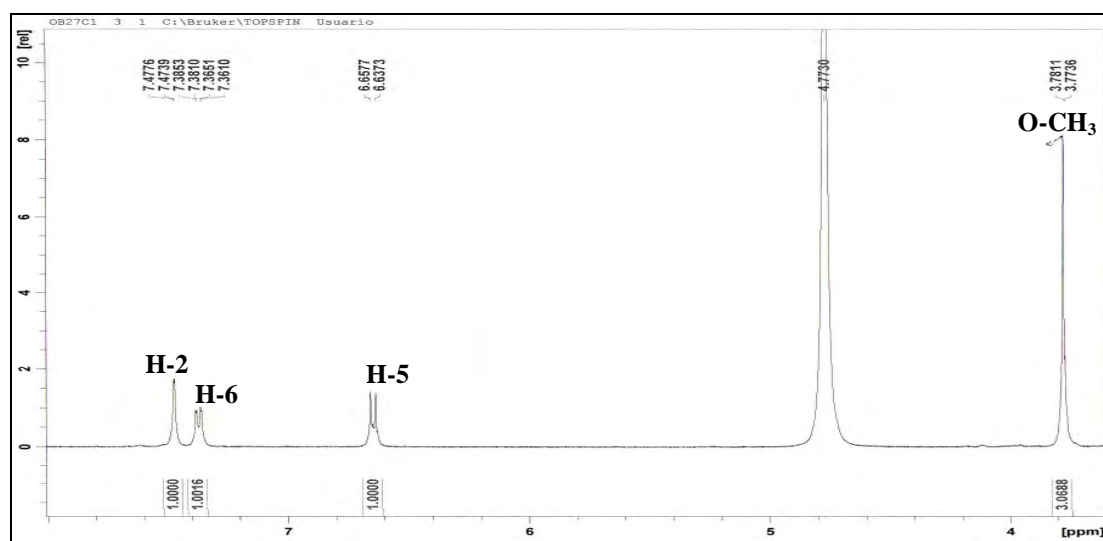
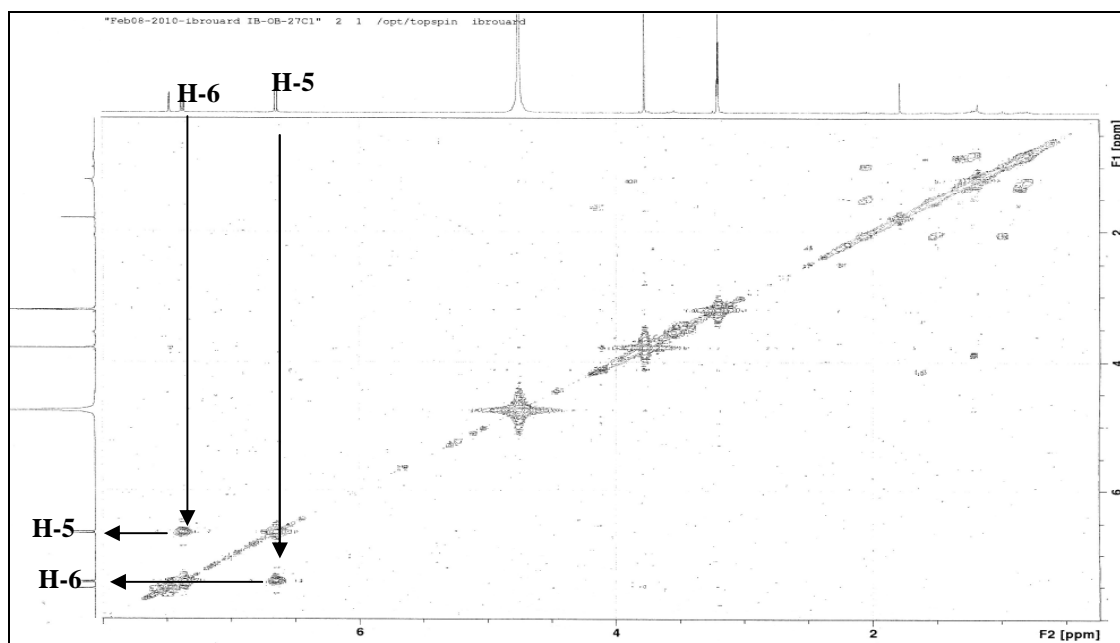
- ✓ Un doublet résonnant à $\delta = 7,47$ ppm $J = 1,6$ Hz, indiquant un couplage en méta (H-2).
- ✓ un deuxième doublet de doublet à $\delta = 7,37$ ppm correspondant à un double couplage en ortho ($J = 8,16$ Hz) et en méta ($J = 1,6$ Hz), H-6.
- ✓ ainsi qu'un troisième doublet à $\delta = 6,64$ ppm correspondant un couplage ortho ($J = 8,16$ Hz), H-5.

Ces résultats sont confirmés par le spectre COSY (spectre n° IV.88), qui montre des taches de corrélations correspondantes entre le proton situé à 6,64 ppm (H-5) et celui résonnant à 7,37 ppm (H-6).

- ✓ Un singulet d'intégration 3H à $\delta = 3,91$ ppm, indiquant la présence d'un groupement méthoxyle (OCH_3).

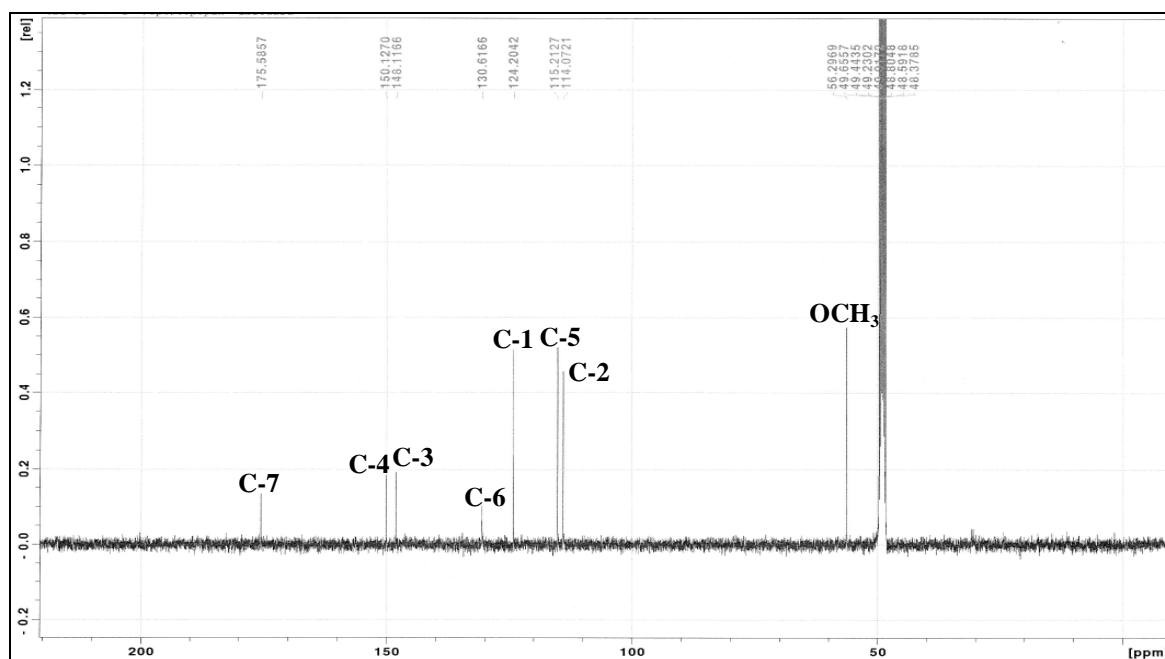
Spectre n° IV.86: Spectre RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD , δ ppm) du composé 27-C1



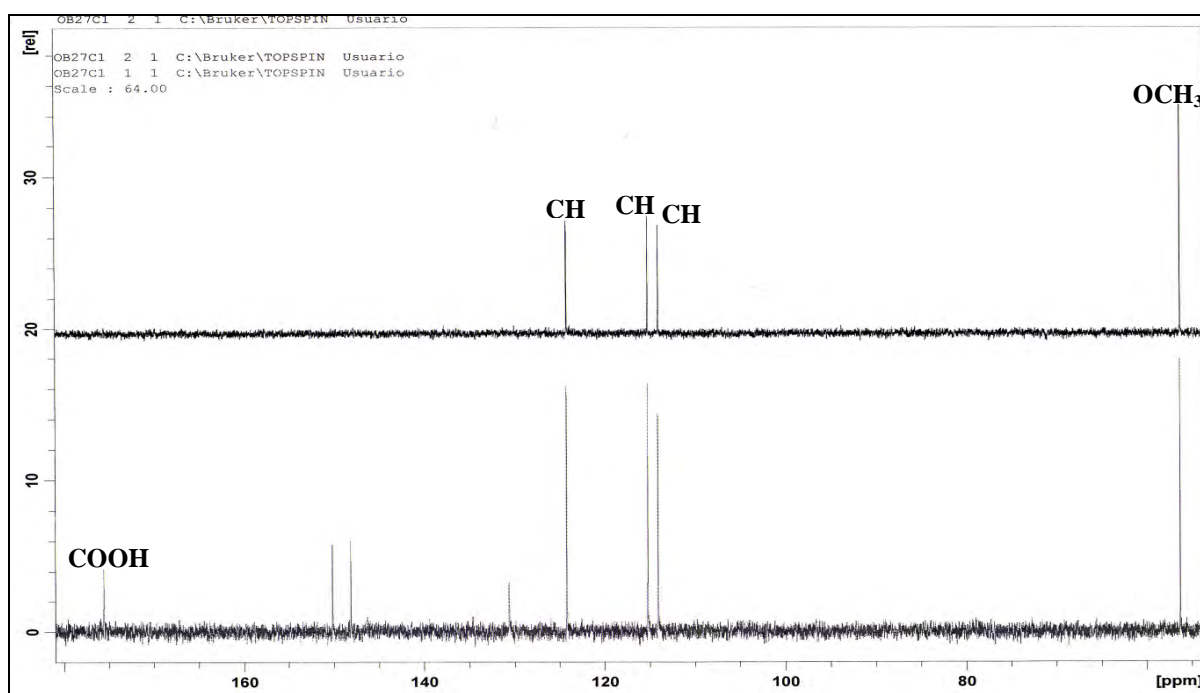
Spectre n° IV.87 : Spectre RMN ^1H du composé 27-C1, étalement*Spectre n° IV.88 : Spectre COSY (^1H - ^1H) (400 MHz, CD_3OD , δ ppm) du composé 27-C1*

L'analyse des spectres RMN ^{13}C (spectre n° IV.89) et DEPT 135 (spectre n° IV.90), confirment la présence du groupement méthoxyle à $\delta = 56,2$ ppm, trois CH sp^2 à $\delta = 114,1$; $115,2$ et $124,2$ ppm et quatre carbones quaternaires sp^2 dont trois oxygénés à $\delta = 130,6$; $148,1$ et $150,1$ et une fonction acide à $\delta = 175,5$. Toutes ces données cumulées indiquent que la molécule 27-C1 est un acide phénolique substitué par un groupement méthoxyle.

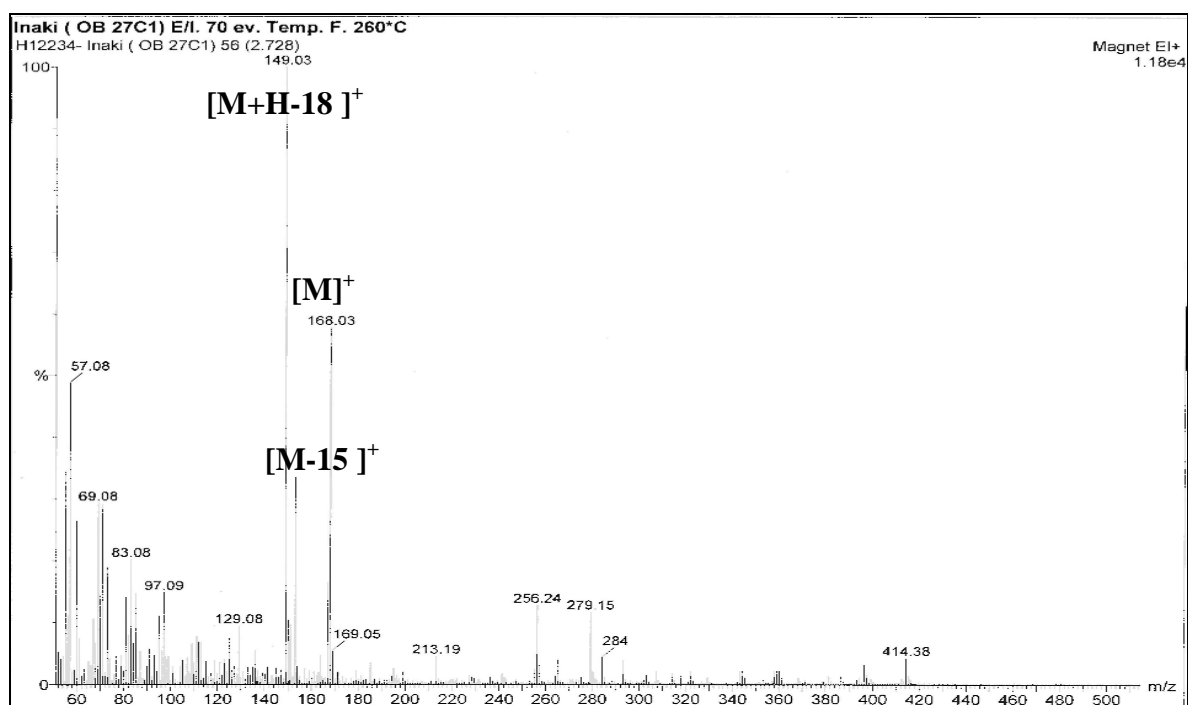
Spectre n° IV.89 : Spectre RMN ^{13}C (100 MHz, CD_3OD , δ ppm) du composé 27-C1



Spectre n° IV.90 : Spectre RMN ^{13}C ET DEPT 135 (100 MHz, CD_3OD , δ ppm) du composé 27-C1



Les données du spectre de masse SMIE (spectre n° IV.91) confirment ces indications : ion moléculaire à $m/z = 168$ $[\text{M}]^+$, ainsi que divers ions à $m/z = 153$ $[\text{M}-15]^+$, à $m/z = 149$ $[\text{M}+\text{H}-18]^+$. Du fait des huit atomes de carbones trouvés grâce au spectre RMN ^{13}C , on peut déduire que ce composé a une formule brute $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_4$.

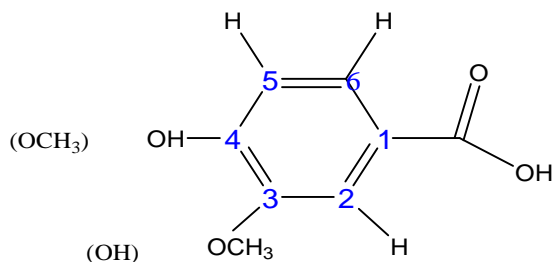
Spectre n° IV. 91: Spectre SMIE du composé RSC3-1 du composé 27-C1

L'analyse du spectre relatif à l'expérience HSQC (spectre n° IV.92) permet l'attribution des signaux des protons aux atomes de carbone correspondants ainsi :

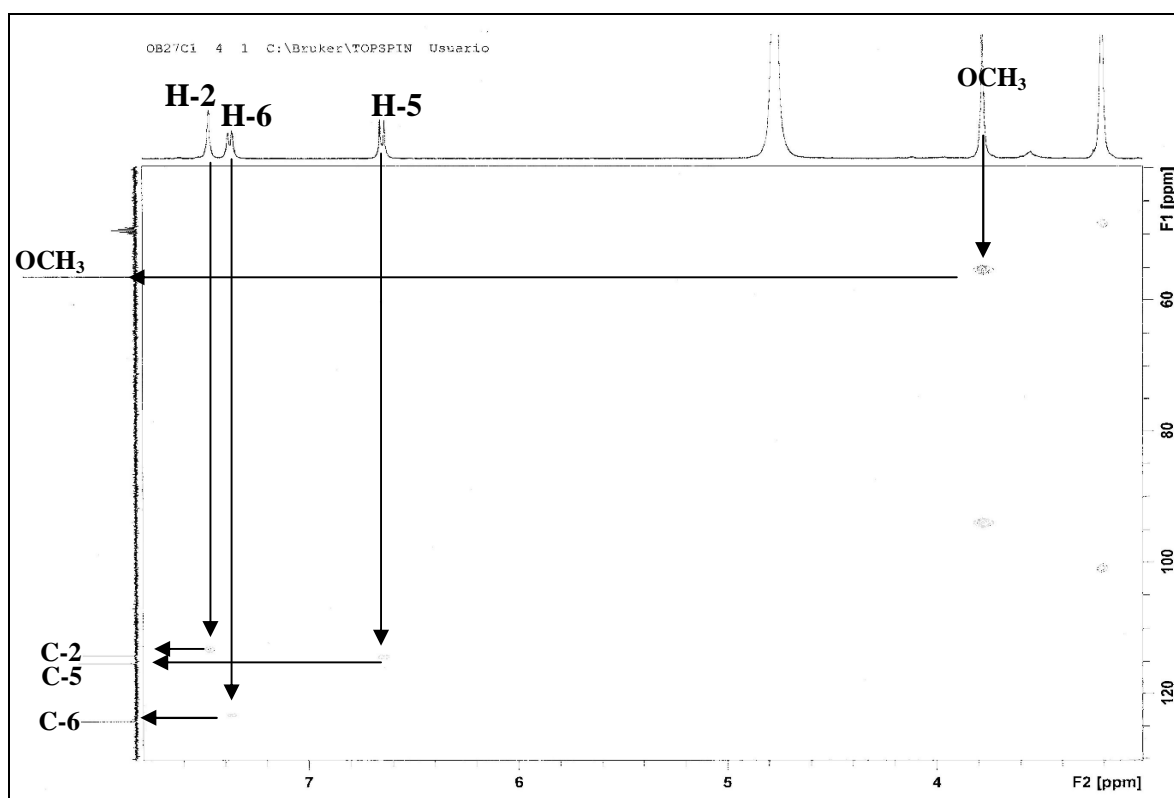
- Le H-5 permet l'attribution du signal à $\delta = 115,21$ ppm à l'atome de carbone C-5.
- Le H-6 permet l'attribution du signal à $\delta = 124,20$ ppm à l'atome de carbone C-6.
- Le H-2 permet l'attribution du signal à $\delta = 114,07$ ppm à l'atome de carbone C-2.
- Le groupement méthoxyle à $\delta = 3,78$ ppm permet l'attribution de l'atome de carbones à $\delta = 56,29$ ppm.

Ces données mènent à la structure partielle (figure n° IV.30) :

Figure n° IV.30 : la structure proposée du composé 27-C1



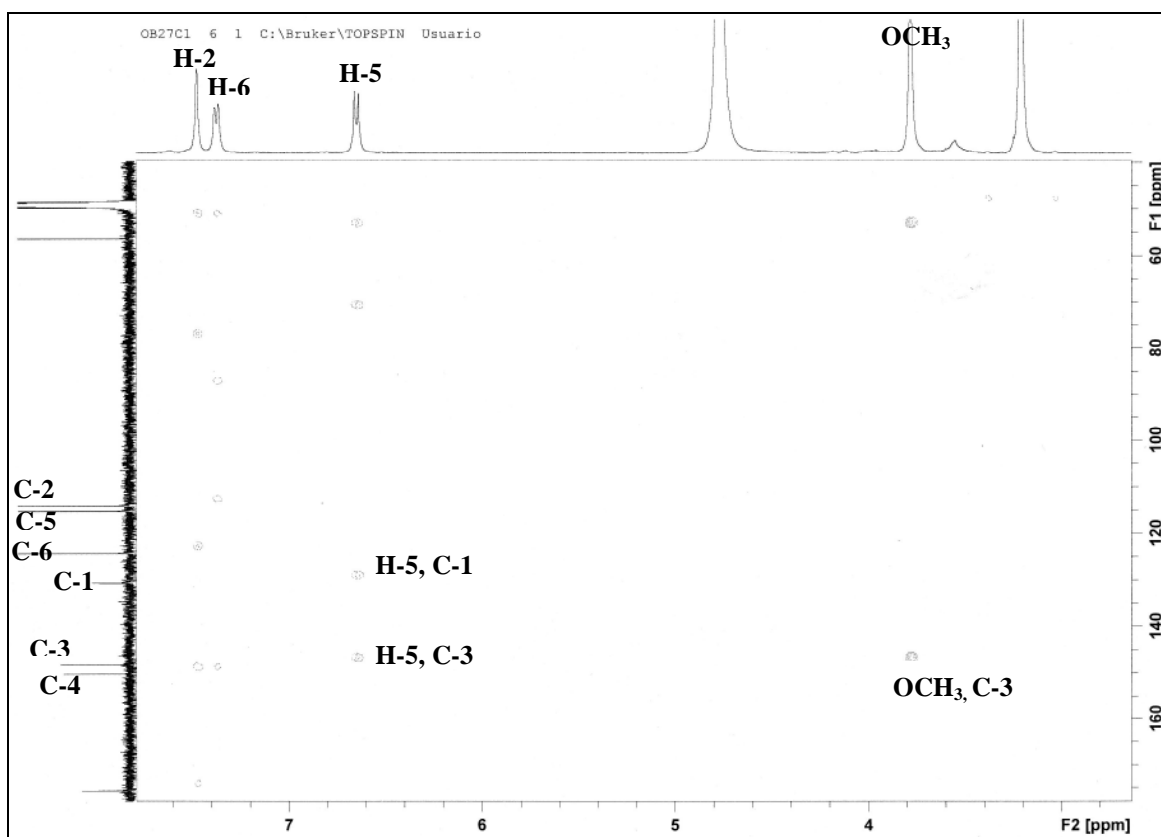
Spectre n° IV.92 : Spectre HSQC (400 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé 27-C1



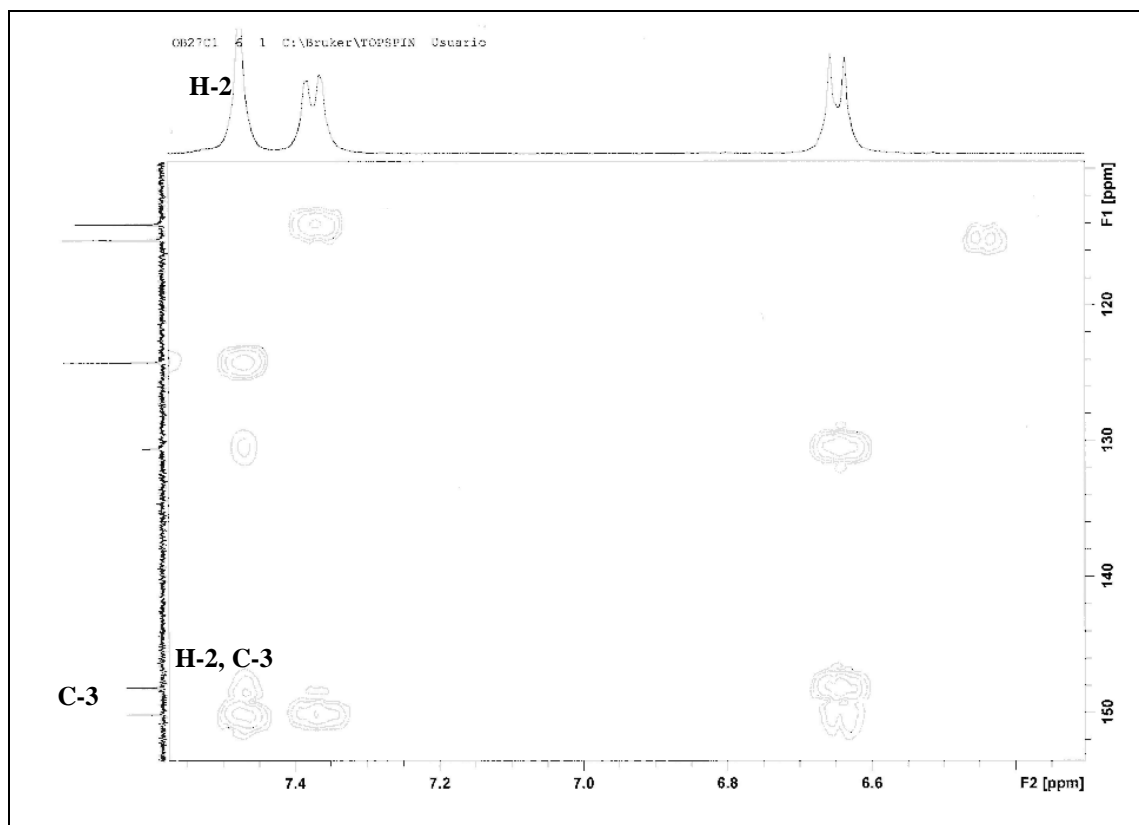
Cette ambiguïté est levée grâce au spectre HMBC (spectre n° IV.93) et son étalement (spectre n° IV.94) qui permet d'observer que le groupement méthoxyle ainsi que le proton H-2 ont des connectivités avec le carbone à $\delta = 148,1$ ppm. Ce carbone corrèle également avec le proton H-2 ceci indique que le groupement méthoxyle est placé en position C-3. Les autres corrélations observées dans ce spectre confirment ces indications. En effet,

- ✓ Le proton H-5 montre deux taches de corrélation avec l'atome de carbone à $\delta = 130,6$ ppm qui ne peut être attribué qu'au carbone C-1. Ce même atome de proton montre une tache de corrélation avec le carbone C-3.
- ✓ Par ailleurs, les protons H-6 et H-2 corrélient avec le même atome de carbone à $\delta = 150,1$ ppm qui est donc attribué au carbone C-4.

Spectre n° IV.93: Spectre HMBC (400 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé 27-C1

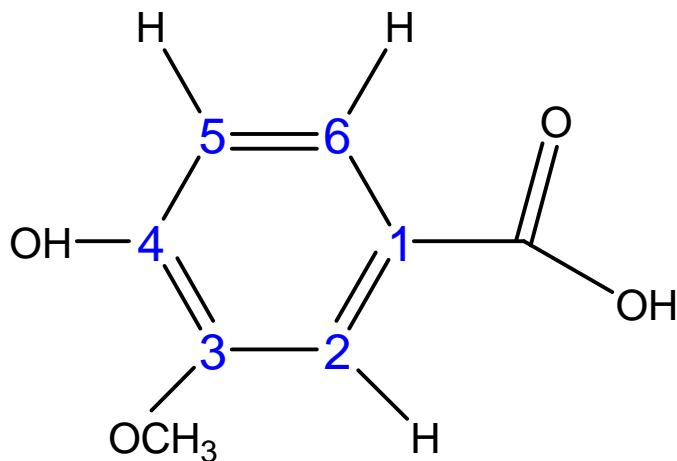


Spectre n° IV.94 : Spectre HMBC du composé 27-C1, étalement

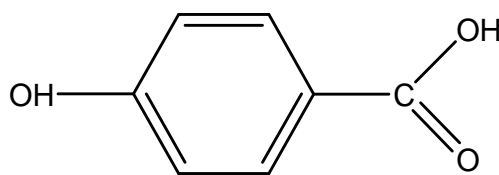


Sur la base de l'ensemble de ces données le composé **27-C1** est identifié comme étant l'**acide 4-hydroxy-3-méthoxy benzoïque** reporté sur la figure n° IV.31.

Figure n° IV.31 : la structure de l'Acide 4-hydroxy-3-méthoxy benzoïque

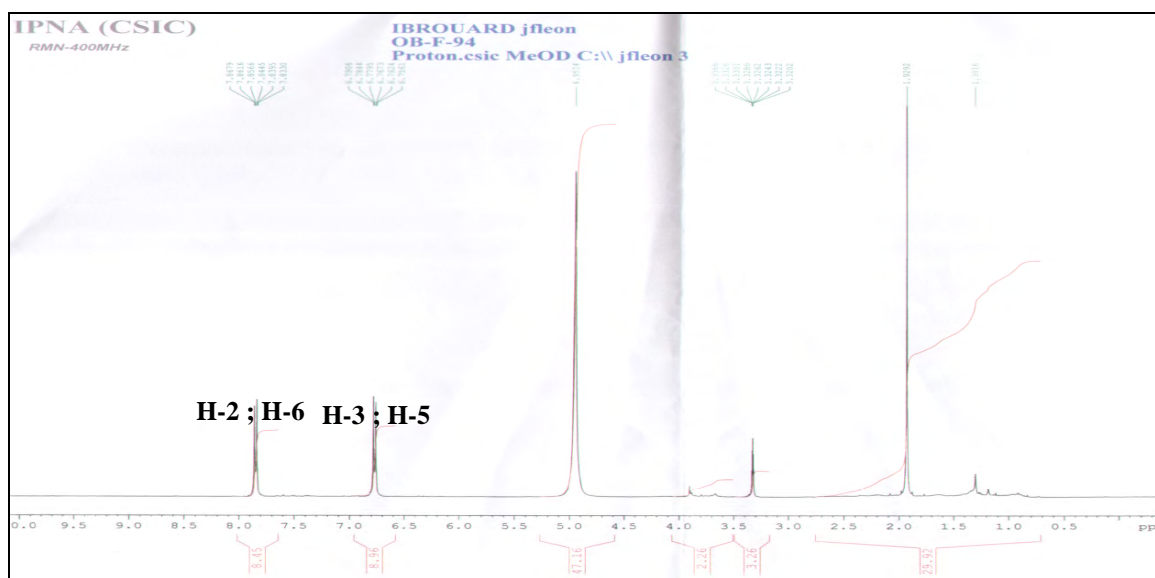


IV. 2. A. 5 : IDENTIFICATION DU COMPOSE F9-4

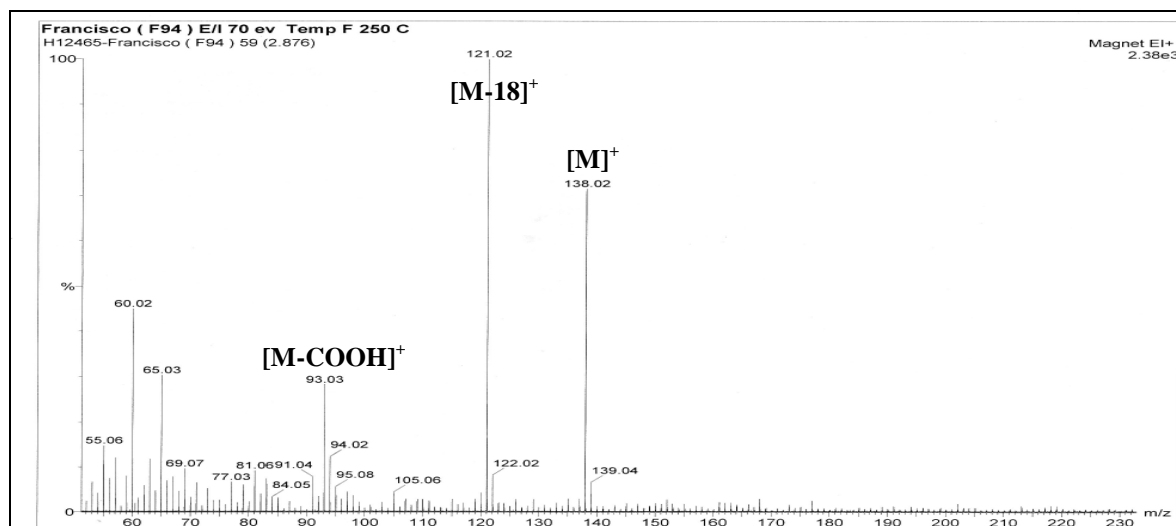


Après consultation des spectres RMN ^1H (spectre n° IV.95) et de masse (spectre n° IV.96) de ce composé nous avons constaté une ressemblance avec le composé **F19-a** issu de la phase chloroformique de la plante *chrysanthemum fontanesii* et dont la détermination structurale a été effectuée précédemment. Co-chromatographie sur plaque de gel de silice dans plusieurs systèmes des deux composés a permis de conclure qu'il s'agissait du même produit, **l'acide para hydroxy benzoïque**

Spectre n° IV.95: Spectre RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD , δ ppm) du composé F9-4



Spectre n° IV.96 : Spectre SMIE du composé F9-4



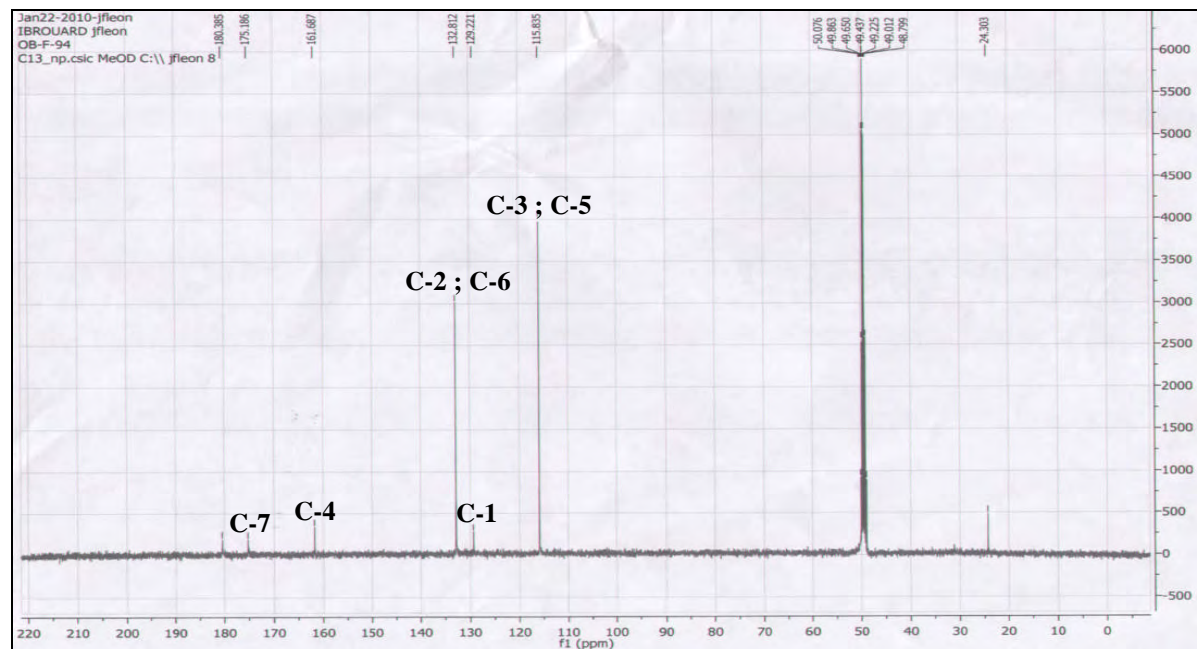
La structure est encore confirmée par son spectre RMN ^{13}C (Spectre n° IV.97); (tableau n° IV.22) qui montre la présence de sept atomes de carbones dans la zone aromatique orientent vers un squelette de type noyaux aromatique. Ce spectre comporte :

- ✓ Un signal à $\delta = 115,76$ ppm attribuables à C-3 et C-5.
- ✓ Un signal à $\delta = 132,57$ ppm attribuables à C-2 et C-6.

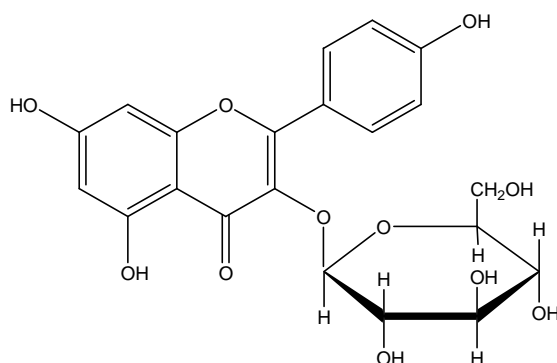
Tableau n° IV.22 : Données RMN ^{13}C du composé F9-4.

DEPLACEMENT CHIMIQUE (PPM)	CARBONE
115,76	C-3 et C-5
132,57	C-2 et C-6
130,32	C-1
162,72	C-4
175,1	COOH

Spectre n° IV.97: Spectre RMN ^{13}C (100 MHz, CD_3OD , δ ppm) du composé F9-4



IV. 1. A. 6 : IDENTIFICATION DU COMPOSE F13-A



Le spectre UV dans le méthanol de ce composé donne les deux bandes I et II caractéristiques des flavonoïdes. Ces données ainsi que celle de la série spectrale UV obtenue après addition des réactifs de déplacement donnent les indications suivantes (tableau n° IV.23):

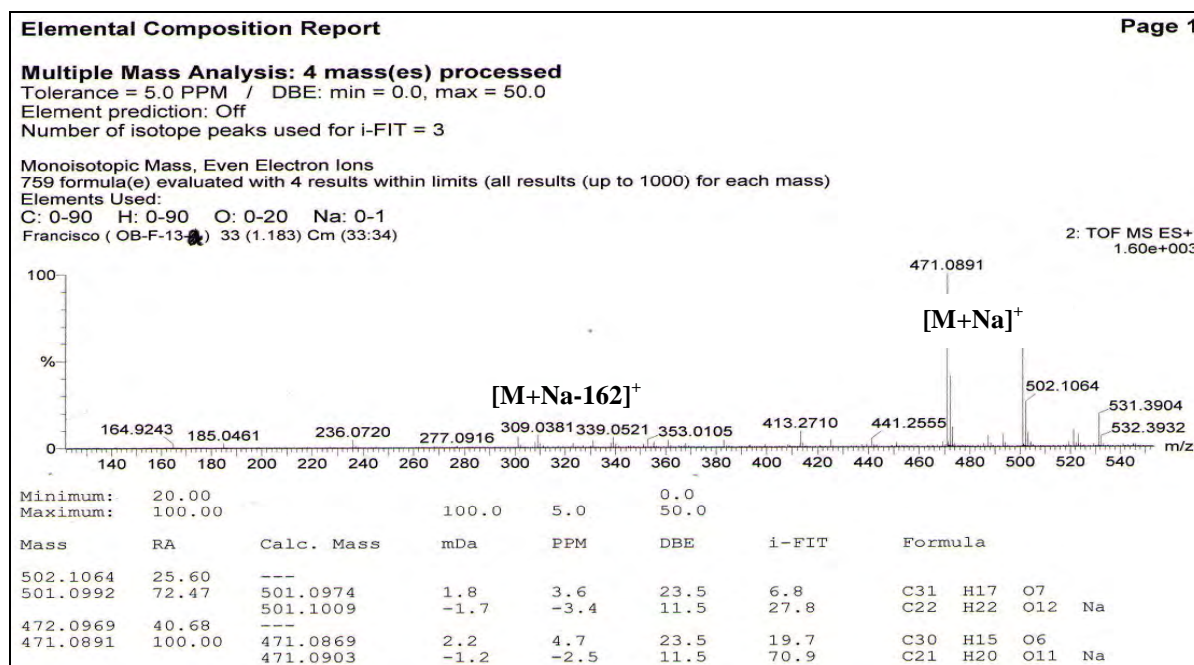
- ✓ La valeur du maximum d'absorption de la bande I à 350 nm dans le spectre enregistré dans le méthanol montre qu'on est en présence d'un système OR en position 3.
- ✓ Le spectre méthanol après addition de NaOH présente un déplacement bathochrome de la bande I par rapport au spectre méthanol ($\Delta \lambda = 51$ nm) avec augmentation de l'intensité lumineuse par rapport au spectre MeOH indiquant la présence d'un OH libre en 4', l'apparition d'une nouvelle bande à 325 nm indique l'existence d'un OH libre en 7.
- ✓ L'addition de NaOAc provoquant un déplacement bathochrome de la bande II ($\Delta \lambda = +08$ nm) par rapport au spectre MeOH confirme la présence du OH libre en 7.
- ✓ Le spectre en présence d' AlCl_3 montre un déplacement bathochrome de la bande I de 49 nm indiquant la présence d'un groupement l'hydroxyle en position 5.
- ✓ L'absence de l'effet hypsochrome de la bande I dans le spectre AlCl_3/HCl par rapport au spectre AlCl_3 et l'effet bathochrome faible de la même bande dans $\text{NaOAc}/\text{H}_3\text{BO}_3$ par rapport au méthanol excluent la présence d'un système ortho di-hydroxylé.

Tableau n° IV.23: Données de la série spectrale UV (λ max, nm).

Réactifs	Bande I	Bande II	Autres bandes	Commentaire
MeOH	350	266		Flavononol (3-OR)
+ NaOH	401	274	325	OH en 4' OH en 7
+AlCl ₃	398	274	353	/
+AlCl ₃ /HCl	395	274		OH libre en 5
+NaOAc	377	274		OH en 7
+NaOAc/H ₃ BO ₃	353	267		Pas di OH
Spectre stable en présence de NaOH après 5 mn				

Le spectre de masse du composé **F13-A**, (spectre n° IV.98), obtenu à haute résolution en mode électrospray (ESI) positive, a permis d'observer un ion pseudo-moléculaire à m/z 471,0891 $[M+Na]^+$ (calculée : 471,0869) indiquant une formule brute correspondant à **C₂₁H₂₀O₁₁** ainsi que divers ions à m/z 309,0381 correspond à la perte d'un hexose.

Spectre n° IV.98: Spectre de masse en Electrospray du composé F13-A

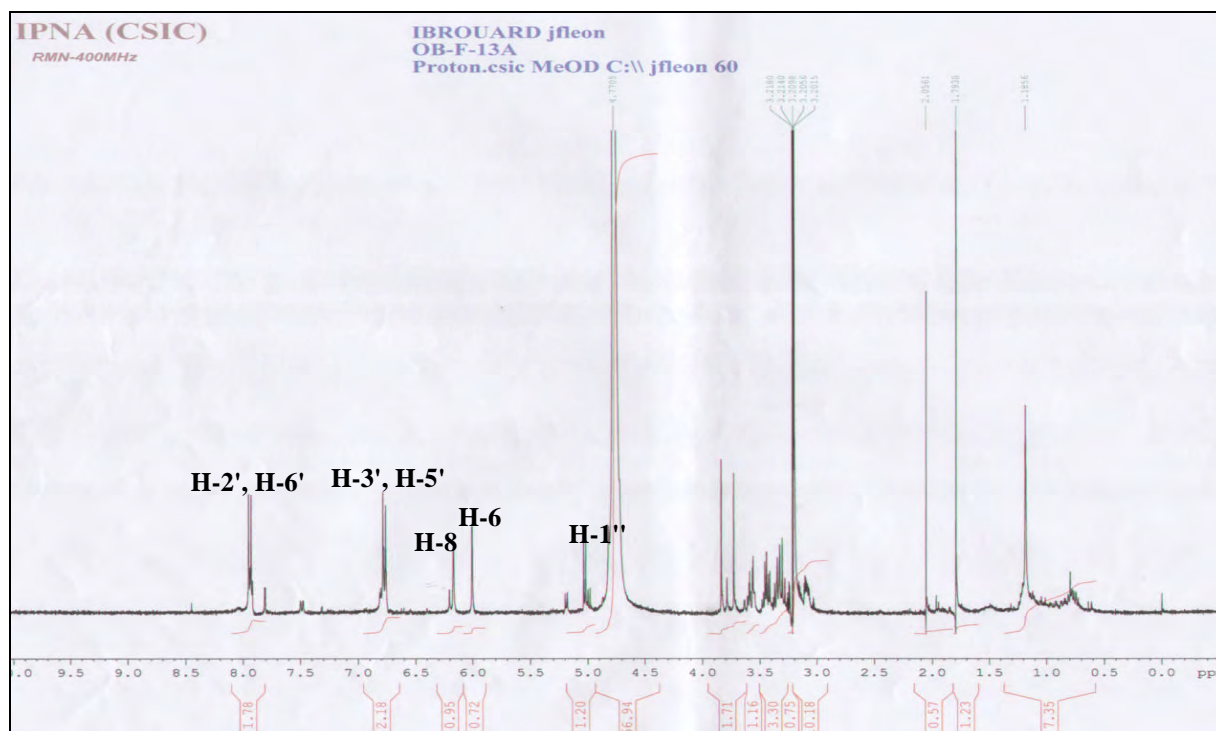


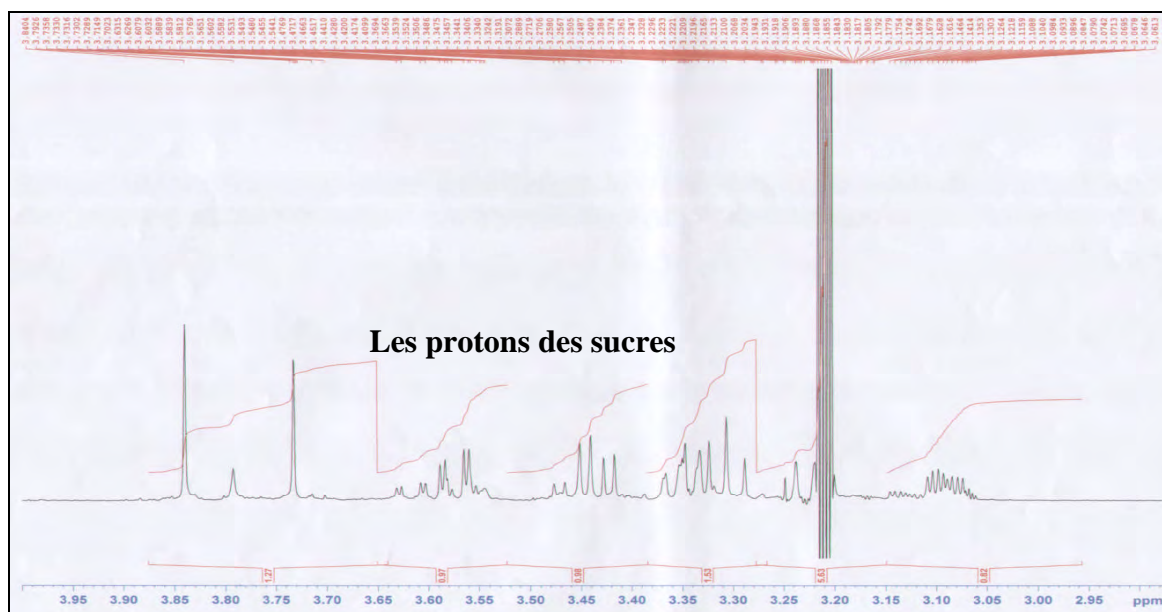
L'hydrolyse acide du composé **F13-A** a été entreprise. Cette dernière opération a donné le glucose, identifié par la chromatographie sur couche mince en gel de silice et par comparaison à des échantillons de référence.

Les données des spectres RMN ^1H (spectre n° IV.99) et son étalement (spectre n° IV.100) indiquent que le composé est un flavonoïde glycosylé, en effet l'étude des signaux de la zone des protons aromatiques a permis de mettre en évidence la présence :

- ✓ d'une paire de doublets couplant en position ortho à $\delta = 7,93$ ppm (d, $J = 8,8$ Hz) d'intégration 2H correspondant à H-2' et H-6' et $\delta = 6,80$ ppm (d, $J = 8,8$ Hz) correspondant à H-3' et H-5'. Ces données et les mesures de l'expérience UV nous ont permis de placer le groupement hydroxyle en position 4' sur le cycle B.
- ✓ La présence de deux signaux à $\delta = 6,16$ ppm, $J = 1,8$ Hz et $\delta = 6,08$ ppm $J = 1,8$ Hz correspondant aux protons H-6 et H-8 du cycle A.
- ✓ La partie osidique est représentée par le pic anomérique H-1" ($\delta = 5,03$ ppm, 1 H, d, $J = 7,5$ Hz). Le déplacement chimique implique une jonction O-glycosyle. Les autres protons du sucre sont situés entre 3,00 et 3,70

Spectre n° IV.99: Spectre RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD , δ ppm) du composé **F13-A**

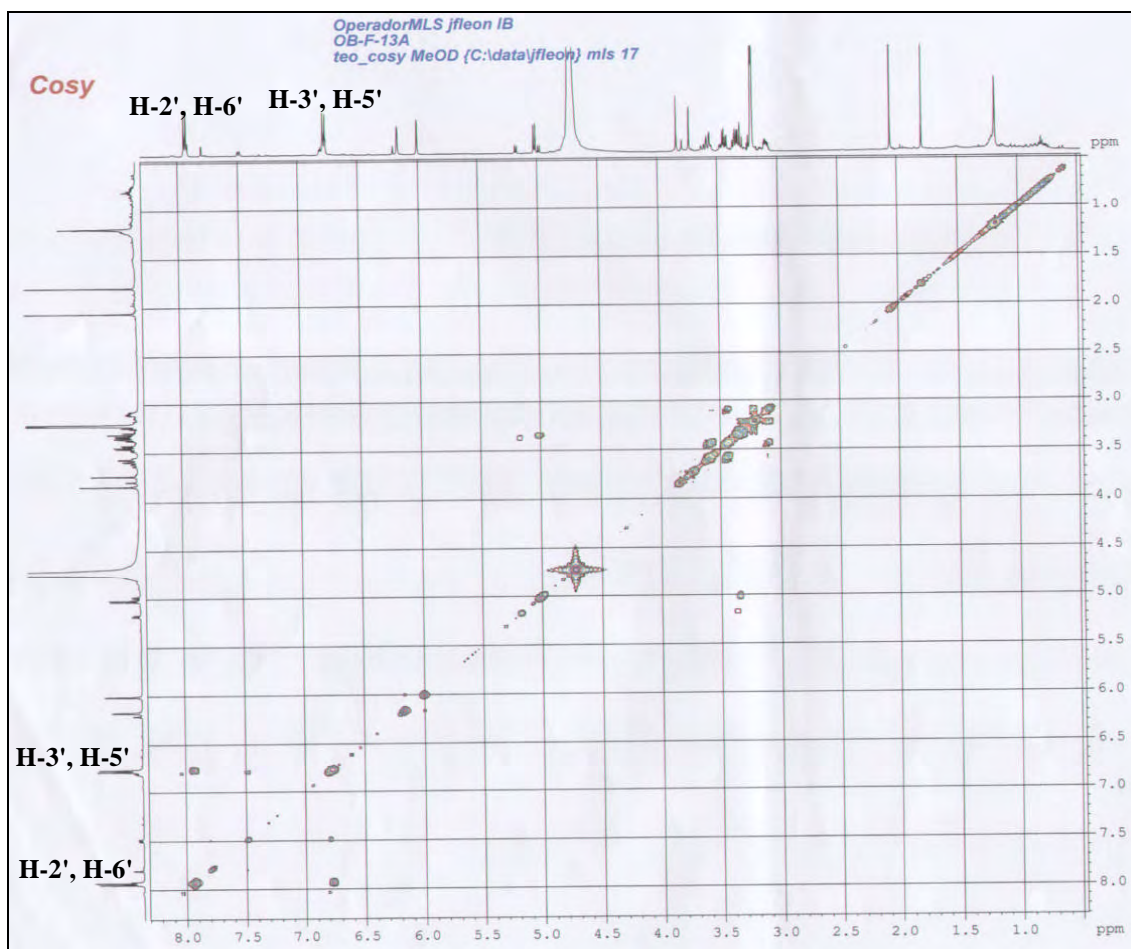


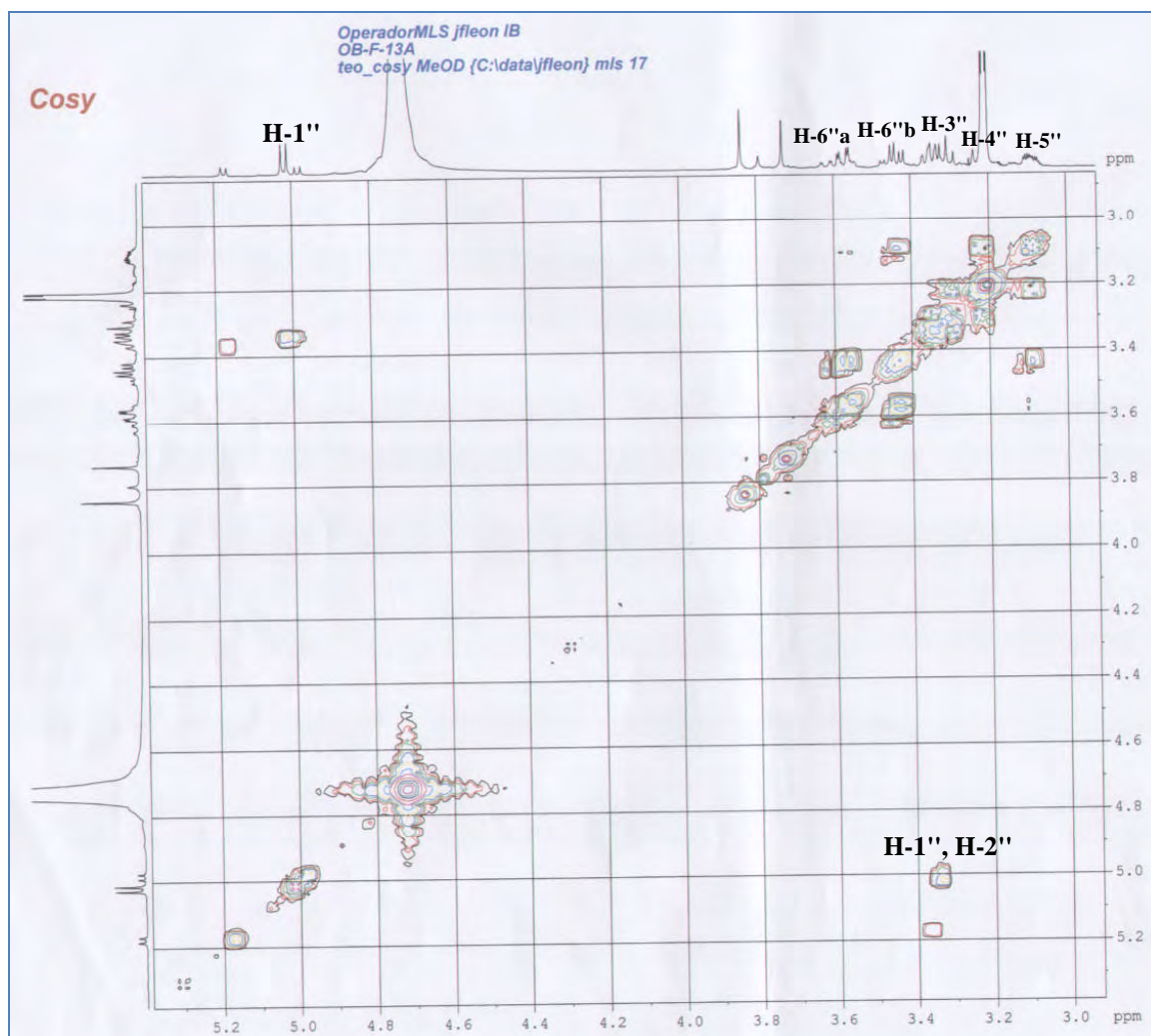
Spectre n° IV.100 : Spectre RMN ¹H du composé F13-A, étalement

L'examen du spectre RMN 2D, TEO-COSY (¹H-¹H) (spectre n° IV.101) et son étalement (spectre n° IV.102) confirme la structure et montre :

- ✓ Une tache de corrélation entre les protons H-3', H-5' et les protons H-2', H-6' ce qui confirme la substitution du noyau B en position 4'.
- ✓ Une tache de corrélation entre le H-1'' à $\delta = 5,03$ (proton anomérique) du sucre avec un proton à $\delta = 3,33$ ppm qui ne peut être que le H-2''.
- ✓ Une tache de corrélation entre H-2'' et un proton résonant sous forme d'un triplet à $\delta = 3,30$ ppm ($J = 9,0$ Hz) attribuable à H-3''.
- ✓ Une tache de corrélations entre H-3'' et un proton résonant sous forme d'un triplet à $\delta = 3,21$ ppm attribuable à H-4''.
- ✓ Une tache de corrélations entre H-4'' et un proton résonant sous forme d'un multiplet à $\delta = 3,10$ ppm attribuable à H-5''.
- ✓ Le H-5'' corrèle avec H-4'' et deux doublets de doublet d'intégration 1H chacun à $\delta = 3,57$ ppm ($J = 12,2 ; 2,1$) et $\delta = 3,43$ ppm ($J = 12,2 ; 6,1$). Ils sont attribuables aux deux protons H-6''a et H-6''b du sucre.

Spectre n° IV.101: Spectre TEO_ COSY (^1H - ^1H) (400 MHz, CD_3OD , δ ppm) du composé F13-A



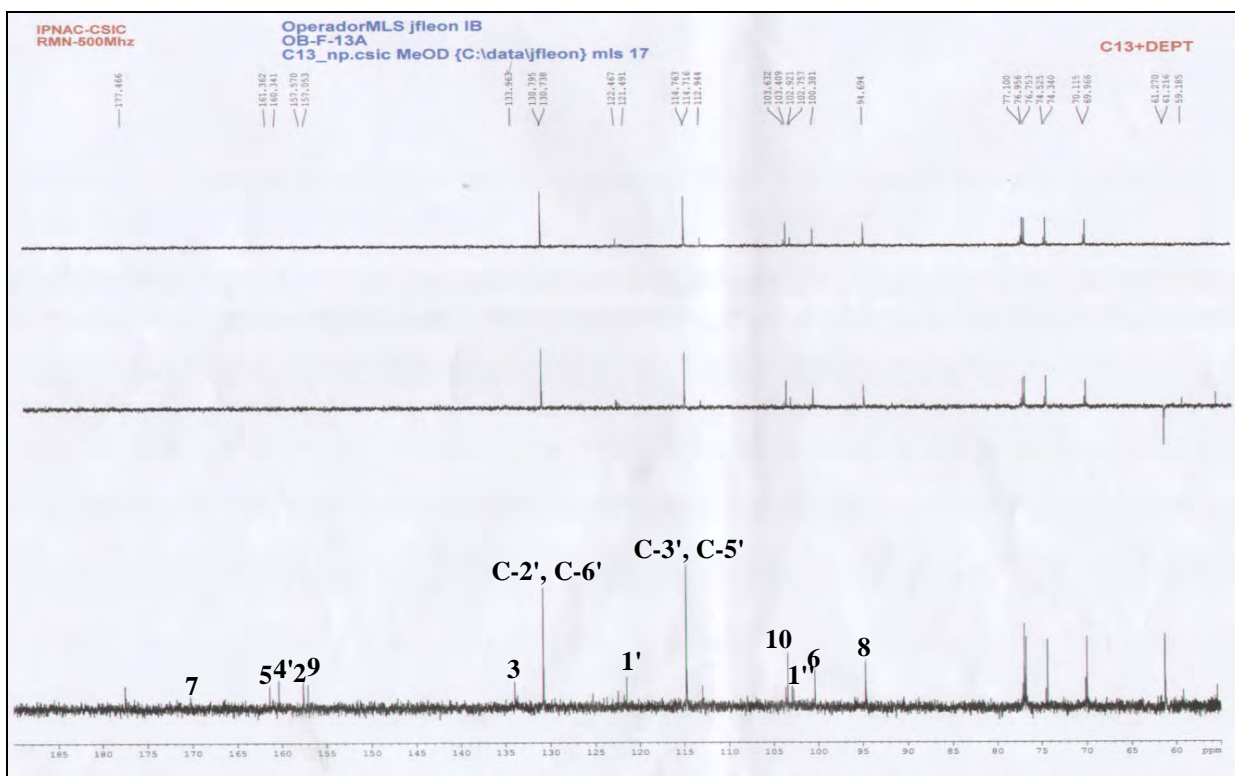
Spectre n° IV.102: Spectre COSY (^1H - ^1H) du composé F13-A, étalement

L'analyse du spectre RMN ^{13}C (spectre n° IV.103) montre les signaux caractéristiques de l'aglycone:

- ✓ signal à δ 177,5 ppm du groupement carbonyle, neuf carbones quaternaires (huit entre 130 et 170 ppm et un à δ 104,6 ppm) et cinq CH aromatiques.

Parmi les signaux qui ne correspondent pas à la génine, nous observons les signaux de quatre CH aliphatiques dont un pouvant correspondre à un carbone anomérique (δ 101,9 ppm), un CH₂ (δ = 67,6 ppm).

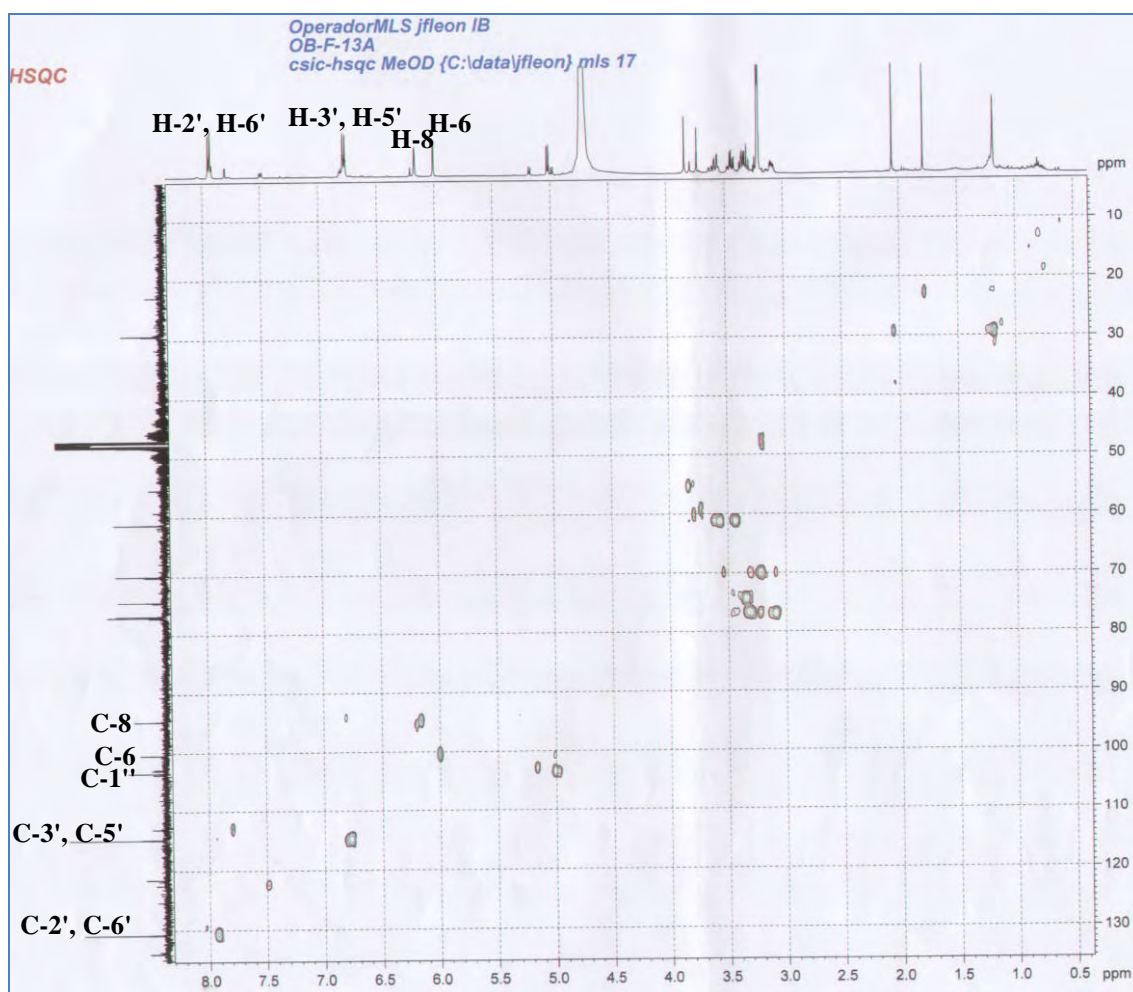
Spectre n° IV.103: Spectre RMN ^{13}C et DEPT (125 MHz, CD_3OD , δ ppm) du composé **F13-A**



L'examen des spectres HSQC (spectre n° IV.104) permet l'attribution des carbones qui portent des protons:

- ✓ Une tache de corrélation entre H-3', H-5' et deux atomes de carbones à $\delta = 114,7$ ppm attribuables à C-3' et C-5'.
- ✓ Une tache de corrélation entre H-2', H-6' et deux atomes de carbones à $\delta = 130,7$ ppm attribuables à C-2' et C-6'.
- ✓ Une tache de corrélation entre H-6 et un atome de carbone à $\delta = 100,3$ ppm qui est le C-6.
- ✓ Une tache de corrélation entre H-8 et un atome de carbone à $\delta = 94,9$ ppm qui est le C-8.
- ✓ Une tache de corrélation entre le proton H-1" et un atome de carbone à $\delta = 103,6$ ppm qui ne peut être que le carbone C-1".

Spectre n° IV.104 : Spectre HSQC (400 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé F13-A



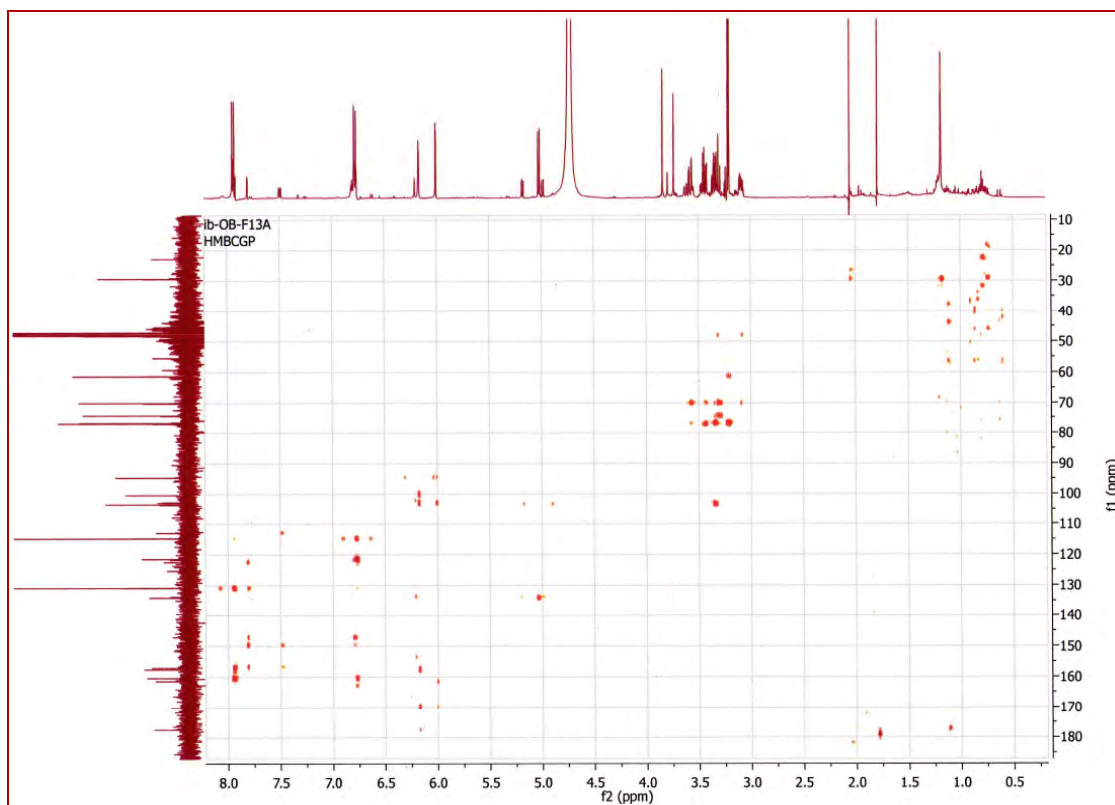
L'étude du spectre relatif à l'expérience HMBC (spectre n° IV.105) et ses étalements (spectre n° IV.106 et IV.107) mettent en évidence les corrélations proton-carbone à longue distance, permettant de tirer les indications suivantes :

- ✓ Le proton H-6 montre deux taches de corrélation :
 - La première avec l'atome de carbone à $\delta = 104,1$ ppm attribuable à C-10.
 - La deuxième avec l'atome de carbone à $\delta = 161,4$ ppm qui ne peut être attribuer qu'à C-5.

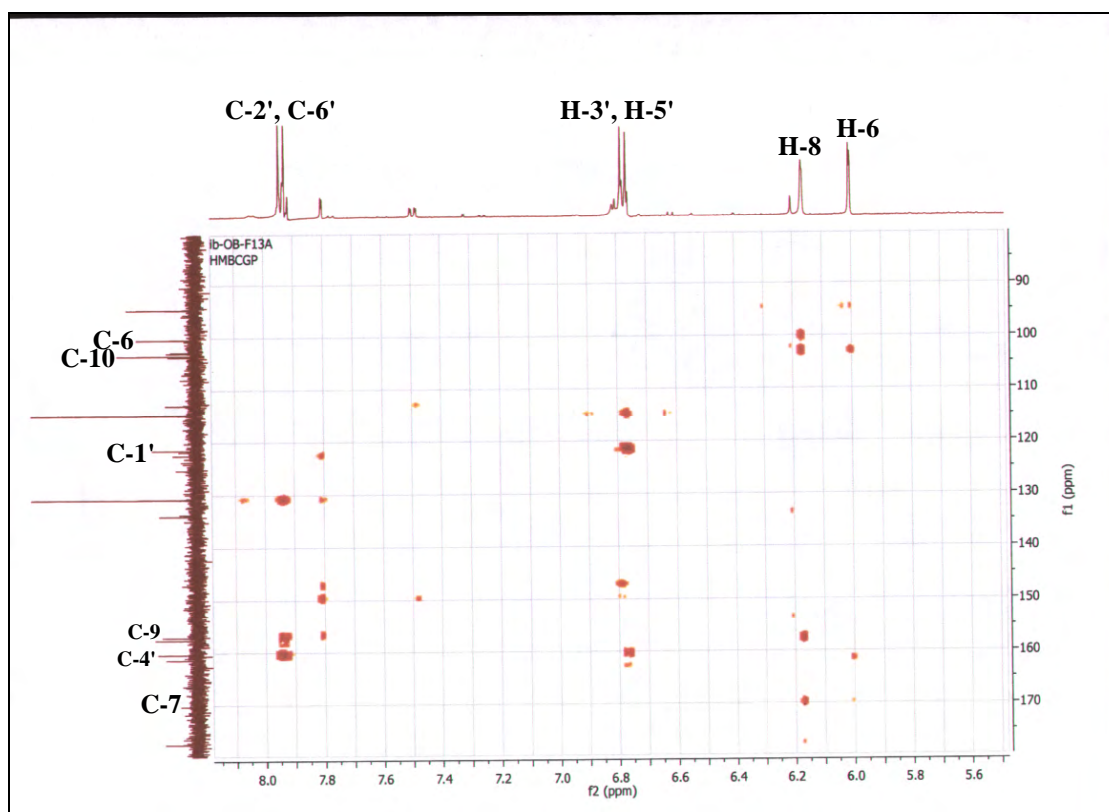
- ✓ Le proton H-8 montre quatre taches de corrélation :
 - La première confirme le carbone à $\delta = 100,3$ ppm attribuable à C-6.
 - La deuxième confirme le C-10 à $\delta = 104,1$ ppm.

- La troisième avec un atome de carbone oxygéné à $\delta = 157,0$ ppm qui ne peut être attribué qu'au C-9.
 - La quatrième avec un autre atome de carbone oxygéné représenté par le signal à $\delta = 169,90$ ppm qui ne peut que le C-7.
- ✓ Les protons H-3' et H-5' montre deux taches de corrélation :
- la première avec l'atome de carbone à $\delta = 114,76$ ppm confirme le C-3' et C-5'.
 - La deuxième avec l'atome de carbone à $\delta = 121,49$ ppm attribuable à C-1'.
 - La troisième avec l'atome de carbone à $\delta = 160,34$ qui ne peut être que C-4'.
- ✓ Les protons H-2' et H-6' montrent:
- Deux taches de corrélation confirme les deux carbones C-2' et C-6' à $\delta = 130,7$ ppm
 - Deux taches de corrélation avec un atome de carbone à $\delta = 157,57$ ppm attribuable à C-2.
 - Deux taches de corrélation avec le même atome de carbone à $\delta = 160,34$ ppm confirme le C-4'.
- ✓ Le proton H- 1' montre:
- Une tache de corrélation avec un atome de carbone à $\delta = 133,96$ ppm qui ne peut être que le C-3.

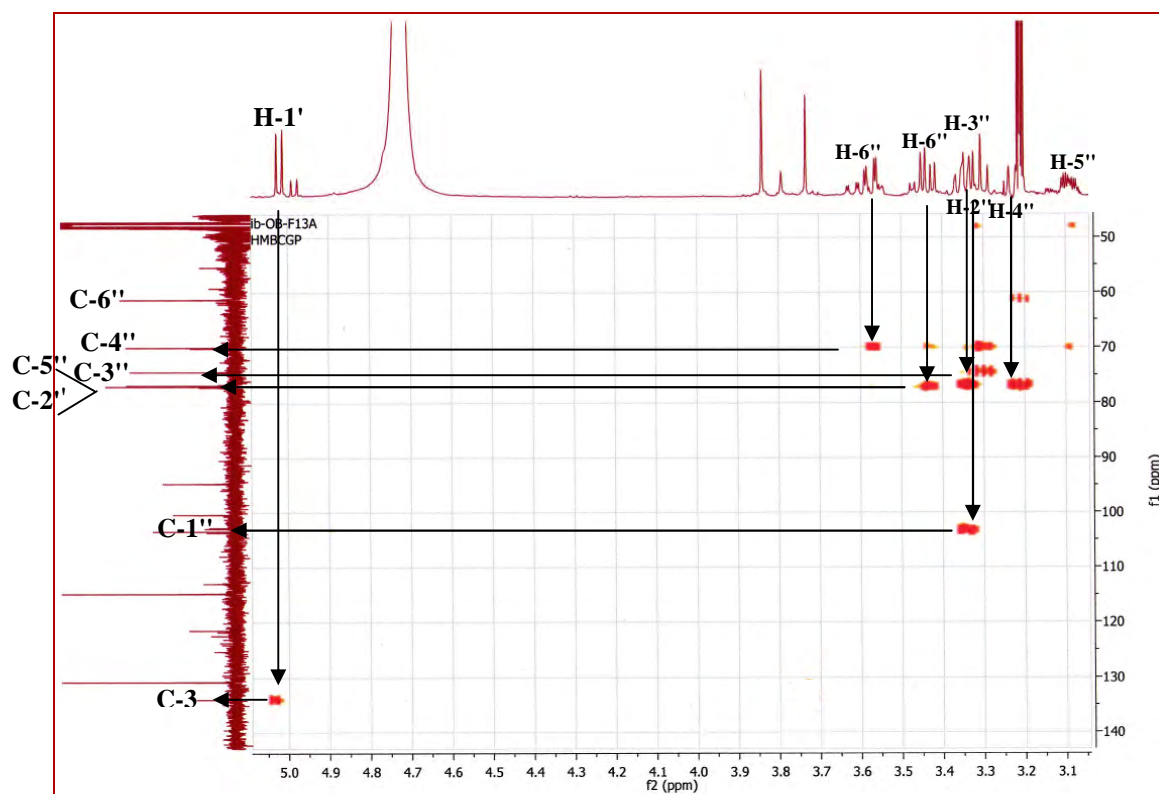
Spectre n° IV.105: Spectre HMBC (500 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé F13-A



Spectre n° IV.106: Spectre HMBC du composé F13-A centré sur la région de la génine

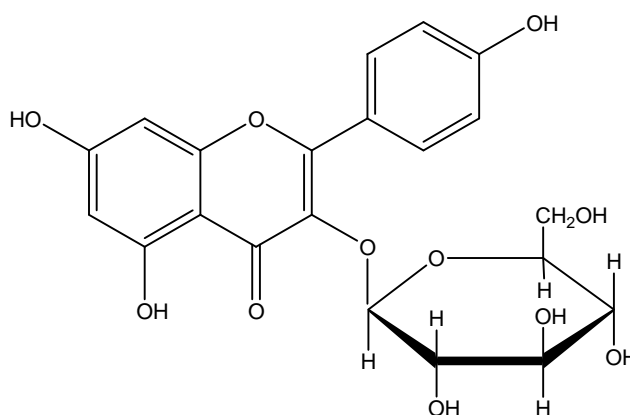


Spectre n° IV.107: Spectre HMBC du composé F13-A centré sur la région des signaux de Sucres



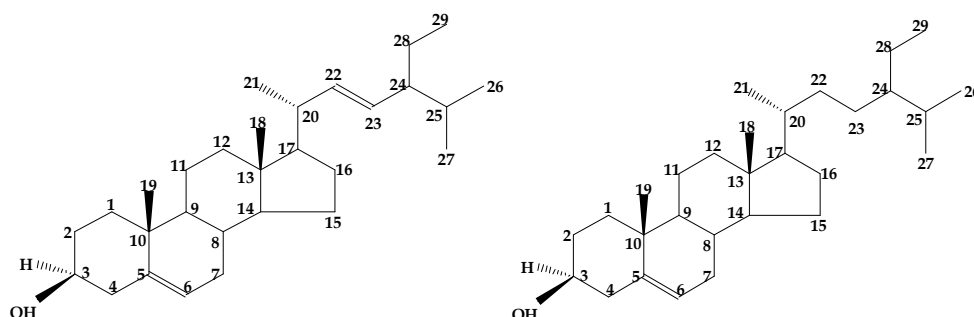
Tous ces données mènent la structure finale: **3-O-glucosyl Kaempférol** connue sous le nom : **Astragaline** reportée dans la figure n° IV.32

Figure n° IV.32 : la structure de l'Astragaline



IV. 2. B : IDENTIFICATION DES PRODUITS DE LA PHASE CHCl_3

IV. 2. B. 1 : IDENTIFICATION DU P(15-19)

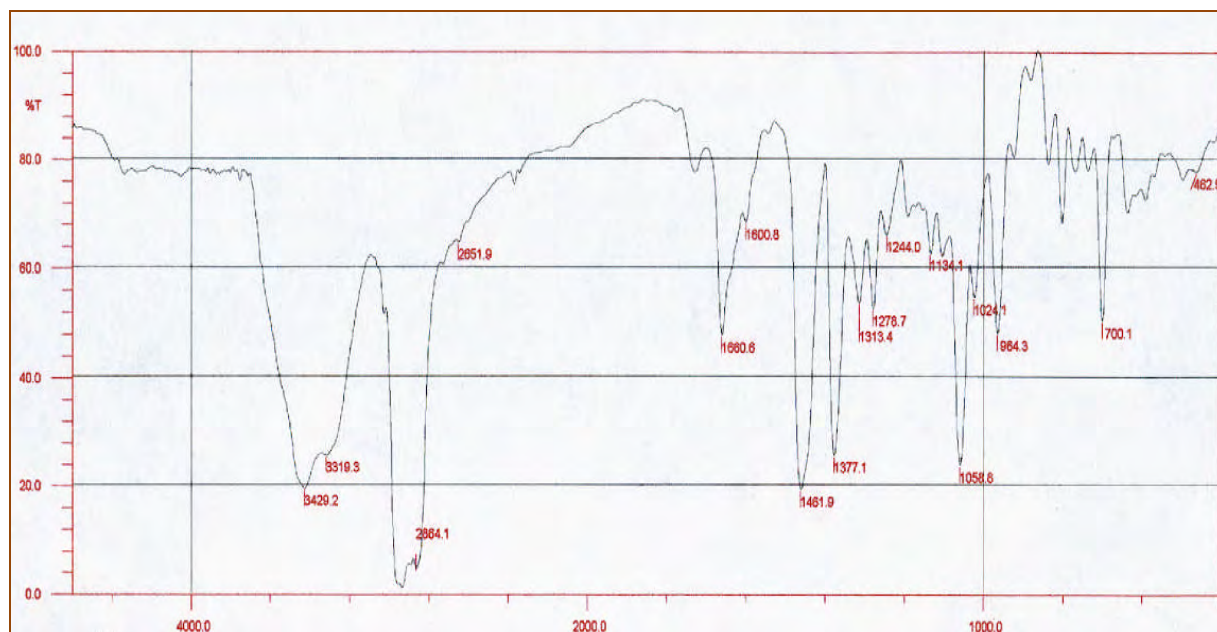


Le **P(15-19)** sous forme d'aiguilles blanches :

- ✓ Rf : 0,6 dans le système éther de pétrole/Acétate d'éthyle (8 : 2).
- ✓ Composé invisible à l'UV et donne une Coloration violette après révélation avec l'anisaldéhyde + chauffage pendant 3 mn.

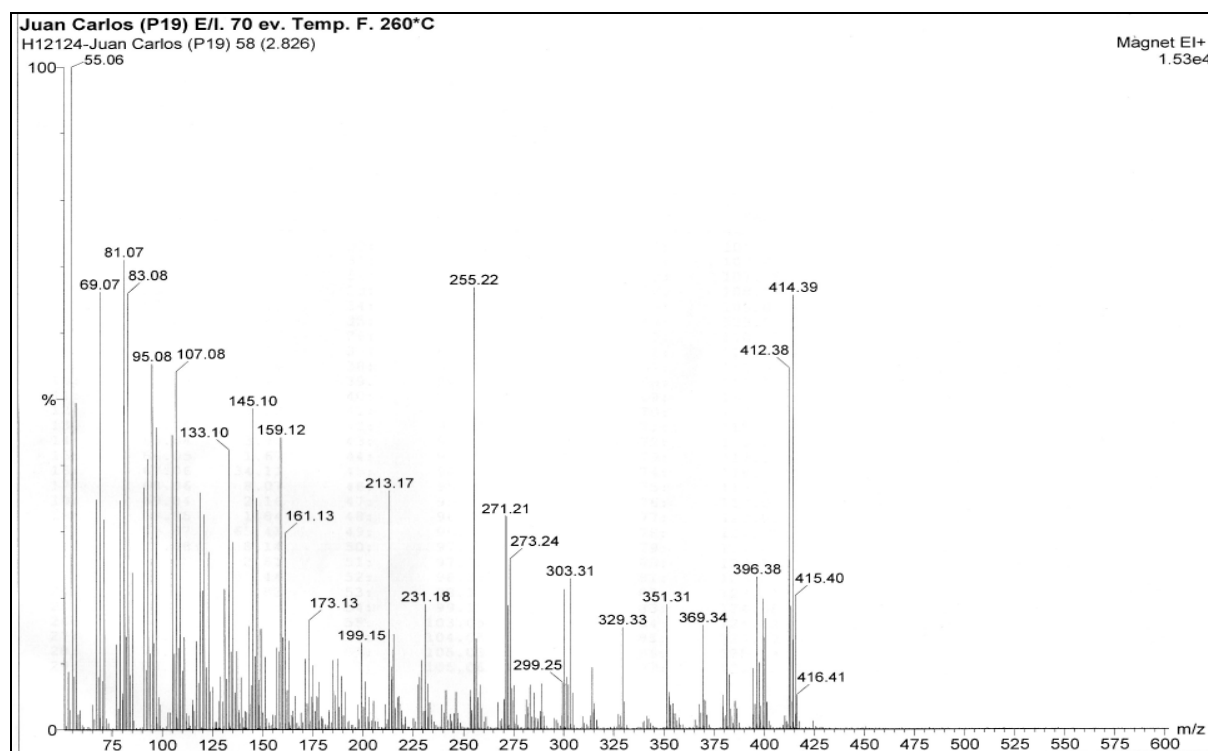
Le spectre Infrarouge (spectre n° IV.108) nous donne une première série d'informations concernant sa structure. Les bandes d'absorptions observées permettent de déduire la présence d'un squelette carboné comportant des groupes CH_2 et CH_3 , ainsi que la présence d'un groupement hydroxyle $-\text{OH}$ d'une fonction alcool et une double liaison $\text{C}=\text{C}$. Ces bandes d'absorption sont les suivantes :

- ✓ 3429 cm^{-1} : Elongation de la liaison **O-H** ; 2864 et 2930 cm^{-1} : Elongation des liaisons **C-H** ; 1660 cm^{-1} : Elongation de la liaison **C=C** ; 1464 , 1389 et 797 cm^{-1} : bandes de déformation des liaisons **C-H** symétriques et asymétriques ; 1059 cm^{-1} : Elongation de la liaison **C-O** de la fonction alcool.

Spectre n° IV.108: Spectre IR de du P(15-19)

Le spectre de masse à impact électronique SMIE en mode positif (spectre n° IV.109) fournit des renseignements sur la masse moléculaire à $m/z = 414,39$ (67,10%) $\equiv [M]^+$ et $m/z = 412,38$ (51,67 %) $\equiv [M-2]^+$ isomère déshydrogéné correspondant aux formule brute de $C_{29}H_{50}O$ (la présence de cinq insaturations) et de $C_{29}H_{48}O$ (la présence de six insaturations) respectivement. Ces indications sont en faveur d'une structure apparentée aux **stéroïdes**. Ceci est confirmé par le test de Libermann-Burchard qui indique la présence d'un **Stéroïde**. Ce spectre indique également la présence des fragments :

- ✓ $m/z = 396$ et 394 correspondant à une rupture d'une molécule d'eau $[M-H_2O]^+$.
- ✓ $m/z = 397$ correspondant à une rupture $[M-CH_3]^+$.
- ✓ $m/z = 379$ et 381 correspondant à une rupture $[(M-15-18)]^+$
- Le spectre du composé indique également la présence d'un fragment à $m/z = 255,22$ (70,20 %) correspondant à une rupture $[M-159]^+$. Ce pic à $m/z = 255,22$ ainsi que celui à $m/z = 273,24$ correspondant à une rupture $[M-C_{10}H_{21}]^+$ sont caractéristiques des fragments souvent observés chez les stéroïdes.

Spectre n° IV.109: Spectre SMIE du P(15-19)

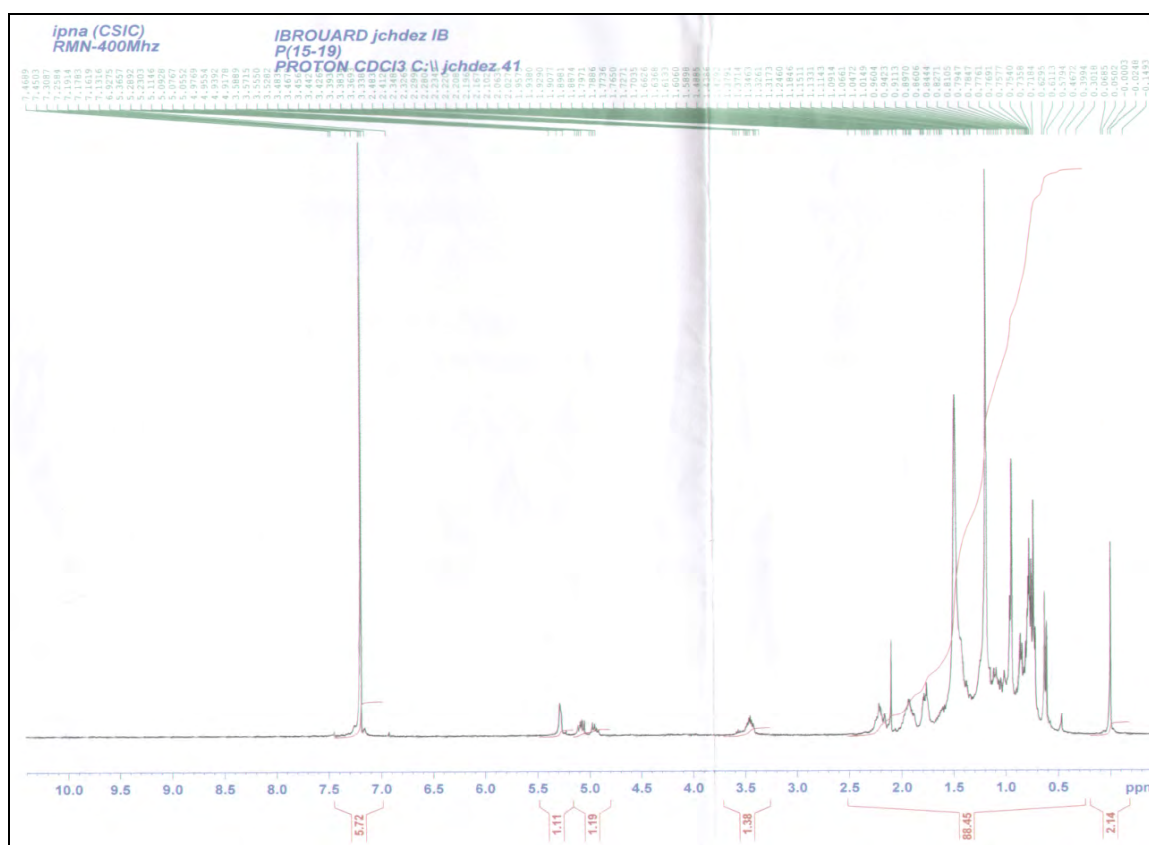
L'étude du spectre RMN ^1H dans CDCl_3 (spectre n° IV.110) et ses étalements (spectre n° IV.111 et IV.112) confirme la structure des stérols par les signaux suivants :

- Deux doublets ($J = 6,7$ Hz) à $\delta = 0,86$ ppm pour les méthyles 26, 27 et à $\delta = 0,94$ ppm pour le méthyle 21 ($J = 6,5$ Hz).
- Un singulet à $\delta = 0,69$ ppm et attribuable au méthyle 18 et le signal singulet à $\delta = 1,03$ ppm est attribuable au méthyle 19. Ces valeurs sont en faveur d'une insaturation en position Δ^5 .
- Un doublet large à $\delta = 5,37$ ppm caractéristique d'un proton oléfinique H-6.
- Un multiplet ($J = 10,2$ Hz, $J = 4,3$ Hz) résonnant à $\delta = 3,55$ ppm intégrant pour un proton et attribué au proton H-3, par un carbone hydroxylé en C-3.

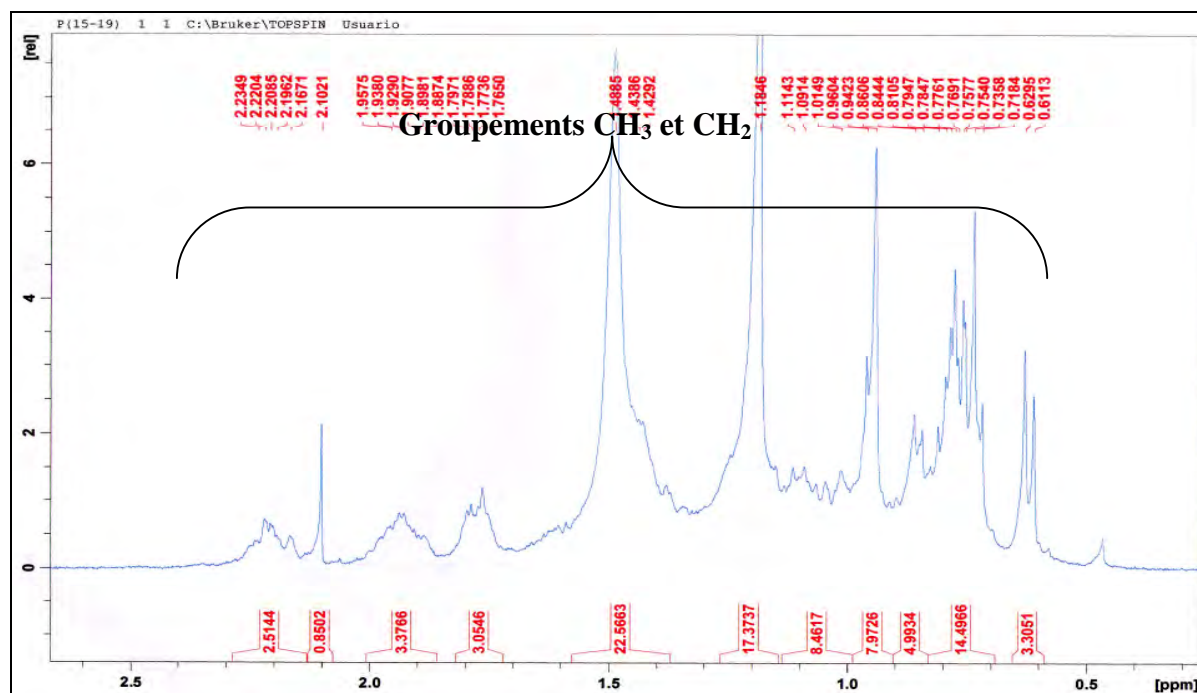
Deux doublets de doublets à $\delta = 5,0$ ppm ($J = 15,2$ Hz, $J = 8,5$ Hz) et $\delta = 5,2$ ppm ($J = 15,2$ Hz, $J = 8,3$ Hz), correspond aux déplacements chimiques des protons oléfiniques H-22 et H-23. Ces valeurs sont en faveur d'une insaturation en position Δ^{22} . Une comparaison entre les intégrales de ces déplacements chimiques avec le H-6 à $\delta = 5,37$ ppm nous permet de déduire la présence de deux types de stérols qui sont le β -Sitostérol et le Stigmastérol. Toutes ces données sont rassemblées dans le tableau n° IV.24.

Tableau n° IV.24 : Données de la RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz, δ ppm).

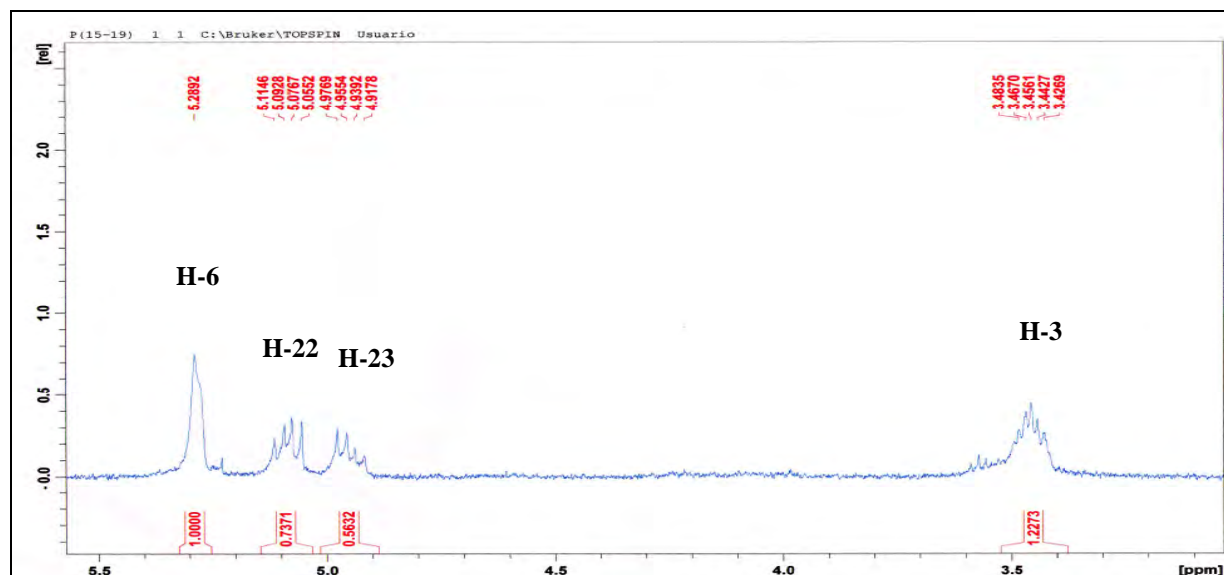
Position	δ_H (ppm)	δ_H (ppm)
3	3,50; m	3,49; m
6	5,31; d	5,35; d
18	0,69; s	0,67 ;s
19	1,03; s	0,98 ;s
21	0,94; d	1,01; d
22	5,10 ; dd	4,98
23	5,15 ; dd	4,96 ; dd
26	0,86 ; d	0,83 ; d
27	0,86 ; d	0,86

Spectre n° IV.110 : Spectre RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ ppm) du P(15-19)

Spectre n° IV.111: Spectre RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ ppm) du P(15-19), étalement

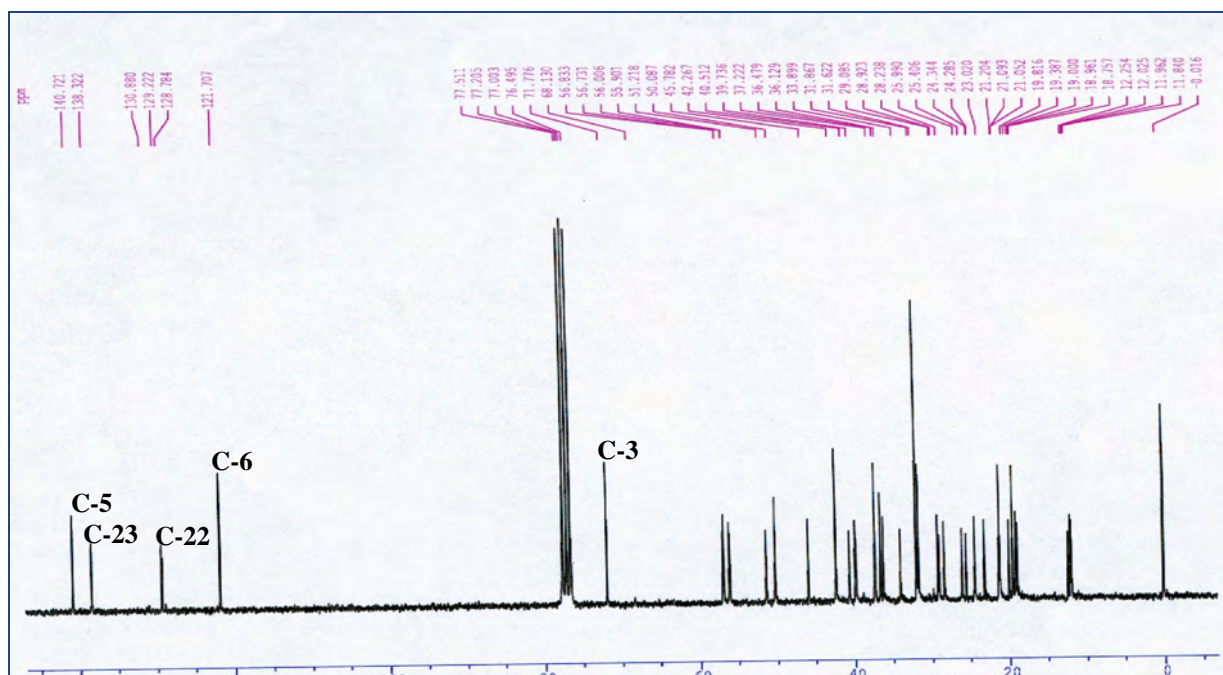


Spectre n° IV.112: Spectre RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ ppm) du P(15-19), étalement



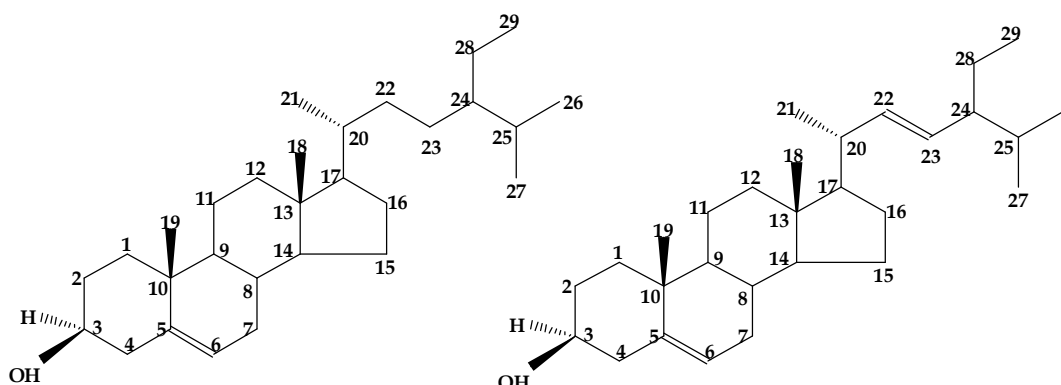
Le spectre RMN ¹³C (spectre n° IV.113) confirme la présence des deux double liaisons à $\delta_C = 140,7$ ppm et $\delta_C = 121,7$ ppm relatif au C-5, C-6 et à $\delta_C = 129,2$ ppm et $\delta_C = 138,3$ ppm relatif au C-22, C-23. Ainsi que le carbone C-3 à $\delta_C = 77,7$ ppm.

Spectre n° IV.113: Spectre RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ ppm) du P(15-19)



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** et le **Stigmastérol** confirmée par l'apparition des deux pics du MS $m/z = 414$ et $m/z = 412$, la structure de ces composé est représentée dans la figure n° IV.33. Ces résultats sont conformes de la littérature [3]

*Figure n° IV.33 : la structure de Stigmastérol et *β*- Sitostérol*



IV. 3 : DISCUSSION

L'étude phytochimique de l'espèce *Chrysanthemum fontanesii* (B.et R.), a montré une biodiversité en métabolites secondaires répartis sur quatre familles :

Les flavonoïdes, les terpènes, les acides phénoliques et les coumarines. En effet **onze (11)** produits ont été identifiés à savoir :

Trois flavonols aglycones méthoxylés, représentés par un dérivé du kaempférol et deux dérivés de la quercétine :

- ✓ Le kaempférol-3-méthylether ou isokaempféride, décrit pour la première fois dans ce genre mais décrit dans d'autres genres de la famille des composées tels que le genre *Centaurea* [7-10], le genre *Inula* [11-12] et le genre *Artémisia* [13-14]
- ✓ L'isorhamnétine- 3-méthylether décrit également pour la première fois dans ce genre, mais décrit dans d'autres genres appartenant à la famille des composées : le genre *Centaurea* [15], le genre *Inula* [16-17]
- ✓ La quercétine- 3-méthylether, décrite dans l'espèce *C. coronarium* [18], et rencontrée dans d'autres genres de la famille des composées : le genre *Centaurea* [19] et les genres *Inula* [20] *Cotula* [21] et *Artémisia* [13-14].

Parmi les composés isolés de l'espèce *Chrysanthemum fontanesii* on a isolé également deux flavonols glycosylés dérivés de la quercétine :

- ✓ L'isorhamnétine 3- β -glucoside ou cacticine décrite dans les espèces *C. fuscum* [22] et *C. morifolium* [23], et décrit également dans le genre *Inula* [16-17] et les genres *Centaurea* [24] et *Cotula* [21].
- ✓ Querciméritrine- 3- méthylether décrite pour la première fois dans le genre *Chrysanthemum* mais rencontré dans les genres *Inula* [25] et *Cotula* [21].

On constate que parmi les cinq flavonoïdes isolés de l'espèce *Chrysanthemum fontanesii*, trois sont décrits pour la première fois dans le genre *Chrysanthemum*. Ces composés de type flavonols semblent être des marqueurs caractéristiques des genres *Centaurea*, *Inula* ou *Cotula* dans la famille des composées. Ces composés sont également signalés dans la littérature pour leurs propriétés biologiques remarquables [26-27].

On constate également que ces cinq flavonoïdes (trois aglycones et deux hétérosides) sont synthétisés selon un schéma de biogénèse qui repose sur une seule voie métabolique, celle des flavonols.

Cette voie est caractérisée par une très grande diversité structurale des composés flavoniques due essentiellement aux différents systèmes enzymatiques.

- Le système hydroxylase responsable du transfert d'un hydrogène en hydroxyle.
- Le système O-méthyl transférase responsable du transfert d'un hydroxyle (OH) en méthoxyle (O-CH₃) intervenant probablement aux stades terminaux de biosynthèse.
- Le système O-glucosyl transférase responsable du transfert d'un hydroxyle (OH) en O-glucosyl.

Ces cinq composés sont regroupés dans deux lots basés sur deux squelettes de type kaempférol et quercétine. La diversité de ces molécules est liée à l'activité de deux enzymes : La O-méthyl transférase et la O-glucosyl transférase.

Parmi les composés isolés de l'espèce *Chrysanthemum fontanesii*, on a également identifié deux sesquiterpènes :

- ✓ Caryolane -1, 9- β - diol isolé dans l'espèce *C. indicum* [28].
- ✓ Clovane -2- β , 9- α -diol isolé de l'espèce *C. indicum* [28].

Une étude comparative de nos sesquiterpènes avec ceux de la littérature phytochimique sur le genre *Chrysanthemum* nous a permis de constater l'abondance des types germacrane, et eudesmane. Les squelettes de type caryolane et clovane sont moins fréquents et sont décrits une seule fois dans *C. indicum* [28]. Ces composés sont décrits dans d'autres genres de la famille des composés tels que le genre *Centaurea* [29], le genre *Anthemis* [30], *Artemisia* [31] et le genre *Eupatoria* [32], et aussi dans d'autres familles, telles que celles des Verbénacées [33] et des Léguminosées [4-34].

- ✓ Le stérol isolé de l'espèce *Chrysanthemum fontanesii*, le β -sitostérol est décrit dans plusieurs espèces du genre *chrysanthemum* [35]. Ce composé relativement courant et commun est présent dans plusieurs familles et ne peut être considéré comme un marqueur spécifique du genre *Chrysanthemum*.

Deux acides phénoliques ont été également isolés de l'espèce *C. fontanesii* l'acide benzoïque et l'acide 1(3', 4' dihydroxy cinnamoyl) cyclopentane 2, 3-diols.

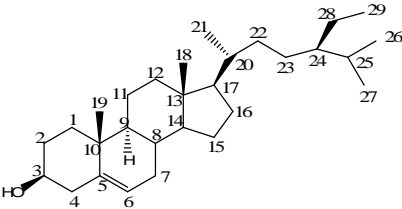
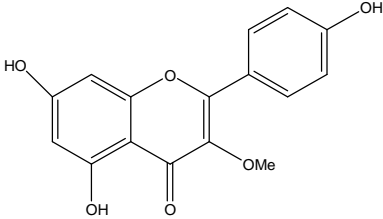
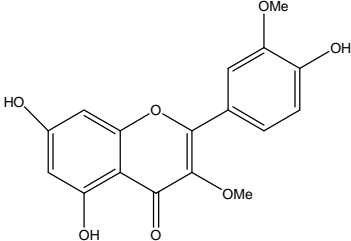
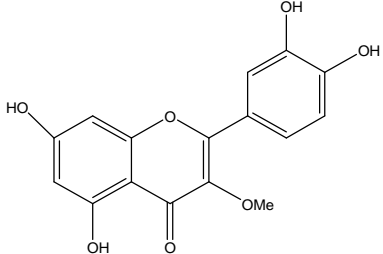
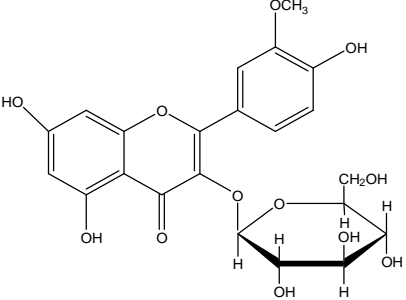
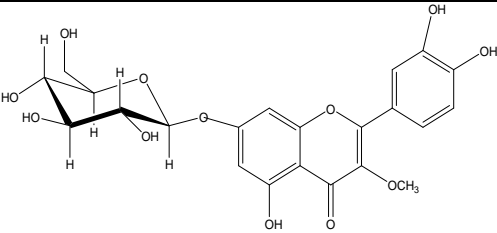
- ✓ L'acide benzoïque: Acide (*para*-hydroxy benzoïque), est un produit commun dans presque dans toute les familles.
- ✓ L'acide cinnamoyle: Acide 1(3', 4' dihydroxy cinnamoyl) cyclopentane 2, 3-diols à l'inverse de l'acide benzoïque est plutôt rare. C'est une molécule nouvelle pour le genre, l'espèce et la famille, il est décrit seulement deux fois dans la famille Rosaceae, l'espèce (*Prunus cerasus L*) [5] et *Chimarrhis turbinata* DC. Prodr de la famille Rubiaceae [6].

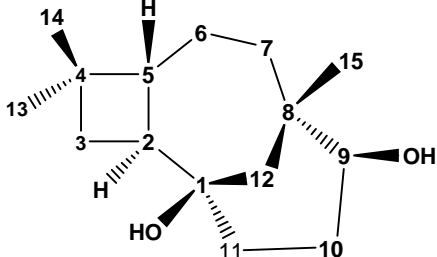
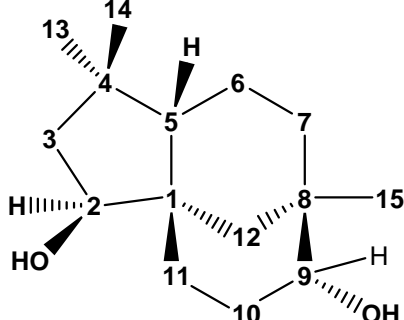
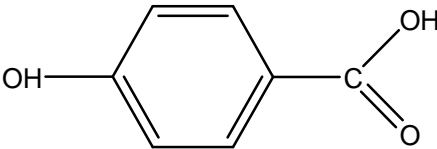
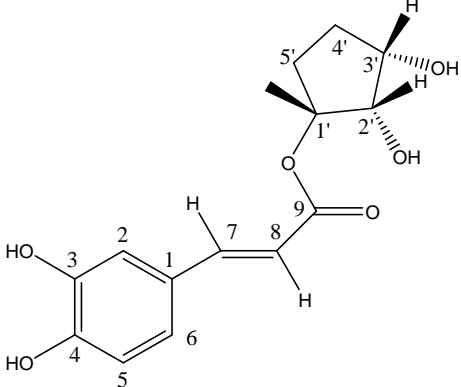
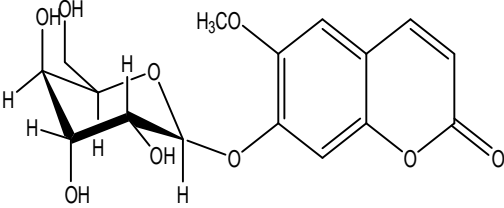
Une coumarine :

- ✓ Scopoline, il est décrit pour la première fois dans le genre mais il est décrit dans d'autres genres de la famille des composés tels que le genre *Rhantherium* [36] et le genre *Artemisia* [13-14]

Cette étude nous a permis de situer notre plante *Chrysanthemum fontanesii* par rapport au genre *chrysanthemum*. Elle se caractérise par des aglycones méthylés surtout en position 3 et par les hétérosides où le sucre est essentiellement le glucose occupant les positions 3 et 7. Cette plante se caractérise également par la présence des acides notamment l'acide 1(3', 4' dihydroxy cinnamoyl) cyclopentane 2, 3-diols, deux sesquiterpènes et une coumarine. Toutes ces structures sont reportées dans le tableau n° IV.25. Toutes ces structures sont décrites pour la première fois pour l'espèce parmi lesquelles cinq sont également nouvelles pour le genre, un composé est original pour la famille.

Tableau n° IV.25 : Les différents composés isolés de l'espèce *Chrysanthemum fontanesii*.

Composés	Formule brute	Structure du composé	Nom du composé
W5-1	$C_{29}H_{50}O$		β -sitostérol
F15-1	$C_{16}H_{12}O_6$		isokaempféride
F16-2	$C_{17}H_{14}O_7$		Isorhamnetine 3-O-methylether
F21-4	$C_{16}H_{12}O_7$		Quercétine 3-O-methylether
F20-42	$C_{22}H_{22}O_{12}$		cacticine
F22-2	$C_{22}H_{22}O_{12}$		Quercimétrine-3-methylether.

F20-C1	$C_{15}H_{26}O_2$		Caryolane -1, 9 β -diol
F19-C2	$C_{15}H_{26}O_2$		Clovane -2- β , 9- α -diol
F19-a	$C_7H_6O_3$		Acide (<i>para</i> -hydroxy benzoïque)
F30-2-1	$C_{14}H_{16}O_6$		1(3', 4' dihydroxy cinnamoyl) cyclopentane 2, 3-diols
F22-5	$C_{16}H_{18}O_9$		Scopoline

A l'issue de l'étude phytochimique de l'espèce *Rhantherium suaveolens* Desf, la fraction acétate d'éthyle de l'extrait hydroalcoolique a produit **six (06)** composés de structure variable :

Quatre flavonoïdes sur deux classes différentes :

Trois flavones aglycones:

- ✓ Apigénine, original pour l'espèce et le genre, c'est un produit commun dans tous les genres de la famille des composés.
- ✓ Xanthomicrol, décrit pour la première fois dans l'espèce et nouveau pour le genre. Il a été isolé dans *Satureja douglasii*, *Sideretis dasygnaphala* and *Ocimum basilicum* (labiacée) [37] dans *Citrus sudachii* (Rutacée) [38] *Cheilanthes argentea* (Pteridaceae), *Ambrosia deltoidea* (Compositae) [39].
- ✓ 6-Hydroxyluteoline 7, 3', 4' –triméthylether, original pour l'espèce, le genre et la famille des Composées. Isolé dans *thymbra* spp. *Thymus piperella* [40] et d'autres espèces de thymus (Lamiacée) [41].

Un flavonoïde glycosylé:

- ✓ Kaempférol 3-glucoside ou bien Astragaline, original pour le genre et l'espèce, il est décrit dans plusieurs genres tels que *Centaurea* [42-44] et *Inula* [25],

Deux acides phénoliques originaux pour le genre et l'espèce:

- ✓ Acide 4-hydroxy-3-méthoxy benzoïque.
- ✓ Acide para hydroxy benzoïque.

La fraction chloroformique a également conduit à **deux (02)** stéroïdes :

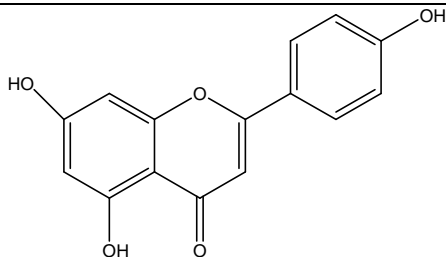
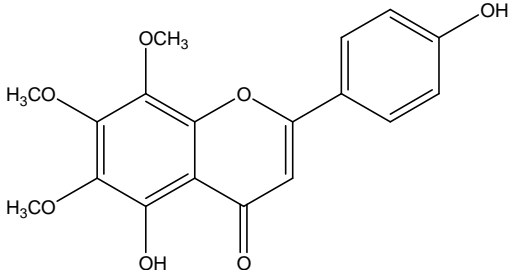
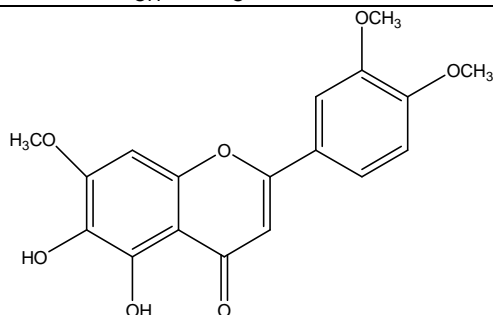
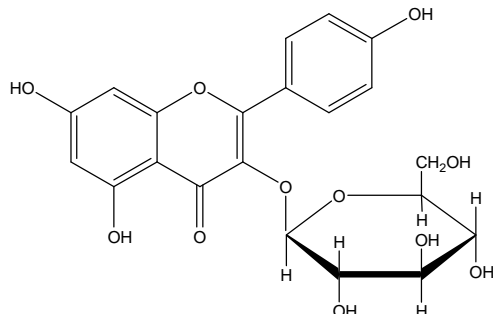
- ✓ Le Stigmastérol isolé du genre *Rhantherium adpressum* [45].
- ✓ Et le β - Sitostérol isolé du genre *Rhantherium adpressum* [45].

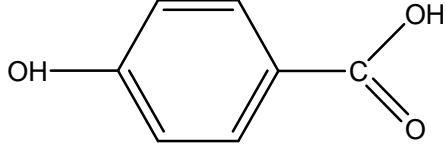
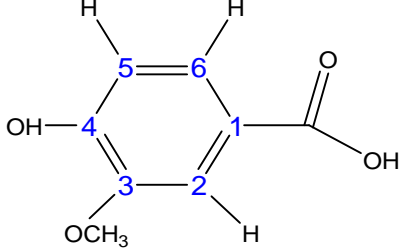
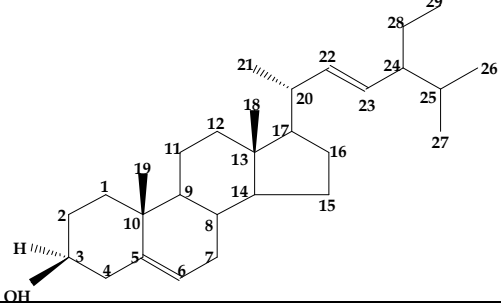
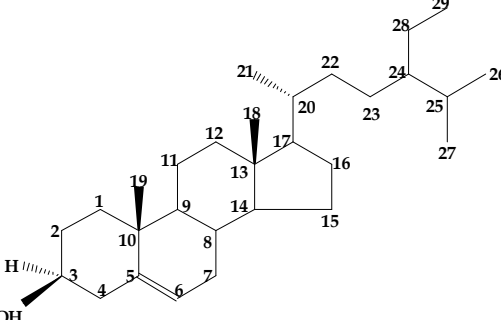
Ce sont des composés courants et communs isolés dans beaucoup de famille et ne sont pas des marqueurs spécifiques du genre *Rhantherium*.

Les flavonoïdes isolés de cette espèce, trois flavones aglycones et un flavonol hétérosidique sont formés par deux voies métaboliques, celle des flavones et celle des flavonols, cette étude montre également que ces différents flavonoïdes appartiennent à trois types de squelette : le type apigénine et les types lutéoline et kaempférol.

Il est à noter que les flavonoïdes aglycones isolés de l'espèce *Rhantherium suaveolens* sont nouvelles pour l'espèce et pour le genre et que la 6-hydroxylutéoline 7, 3', 4' –trimethyl ether est décrite pour la première fois dans la famille des composées. Ces résultats tout à fait originaux soulignent tout l'intérêt de ce travail et de sa contribution à la connaissance de la chimio diversité de l'espèce *rhantherium suaveolens* du genre *rhantherium* et de la famille des composées. Toutes ces structures sont reportées dans le tableau n° IV.26.

Tableau n° IV.26: Les différents composés isolés de l'espèce *Rhantherium Suaveolens*.

Composés	Formule brute	Structure du composé	Nom du composé
PF71	$C_{15}H_{10}O_5$		Apigénine
RSO-3-1	$C_{18}H_{16}O_7$		Xanthomicrol
RSC3-1	$C_{18}H_{16}O_7$		6-hydroxylutéoline 7, 3', 4' –trimethyl- ether
F13-a	$C_{15} H_{26}O_2$		Astragaline

F9-4	$C_7H_6O_3$		Acide <i>para</i> -hydroxy benzoïque
27-C1	$C_8H_8O_4$		Acide-4-hydroxy - 3-méthoxy benzoïque.
P(15-19)	$C_{29}H_{48}O$		Stigmastérol
P(15-19)	$C_{29}H_{50}O$		β - Sitostérol

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

- [1] González. A. G; Rodriguez Pérez. E. M; Padrón. C. H and Bermejo. J, **1997**, Phytochemical Investigation of Canary Island lichens, *Virtual activity and Pharmacology*, 49-60.
- [2] Mitaine-Offer. A. C; Tapondjou. L. A; Djoukeng. J. D; Bouda. H and Lacaille-Dubois. M. A, **2003**, *Biochemical Systematics and Ecology*, 31, 227-228.
- [3] Wanchai. D. E and Buppachart. P, **2002**, *Phytochemistry*, 62, 389-398.
- [4] Heymann. H; Yasuhiro. T; Tohru. K and Sutardjo. S, **1994**, Constituents of *Sindora Sumatrana*. Miq. I, Isolation and NMR Spectral analysis of sesquiterpenes from Dried Pods, *Chem. Pharm. Bull*, 42(1), 138-146.
- [5] Haibo. W; Maruleedharan. G. N; Gale. M. S; Alden. M. B and Ian. G. J, **1999**, Novel Antioxidant Compounds from Tart Cherries (*Prunus cerasus*), *J. Nat. Prod*, 62, 86-88
- [6] Carmen. L. C; Vanderlan da Silva. B; Dulce. H. S; Silva. H. I; Nina. B and Koji. N, **2006**, The Absolute Configuration of 1-(3,4-Dihydroxycinnamoyl) cyclopentane-2,3-diol from the Amazonian Tree *Chimarrhis turbinata*, *J. Nat. Prod*, 69, 1046-1050
- [7] Breton. G. L; Gonzales. A. G and Rodriguez. M. R, **1969**, *An Quim*, 64(2), 297-301.
- [8] Gadeschi. E; Jorge. Z. D; Massanet. G. M. and Lurs. F. R, **1989**, *Phytochemistry*, 28(8): 2204-2206.
- [9] Collado. I. G; Macias. F. A; Massanet. G. M; Lius. F. R, **1985**, *J. Nat. Prod*, 48(5): 819-822.
- [10] Collado. I. G; Macias. F. A; Massanet. G. M; Lius. F. R, **1986**, *Tetrahedron lett*, 42(13): 3611-3622.
- [11] Bicha. S, **2003**, étude de l'effet de la pollution du sol par les métaux lourds sur l'accumulation des métabolites secondaires de l'exsudat chloroforme de *Inula viscosa* (compositae), *Thèse de magister*, Université de Constantine.
- [12] Buchanan. B; Grisse. W and Jones. R, **2000**, Natural Products (Secondary Metabolites) Chapter 24, *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*, American Society of Plant Physiologists, 1302-1311.
- [13] Ferreira. J. F. S; Luthria. D. L; Sasaki. T and Arne. H, **2010**, Flavonoids from *Artemisia annua* L. as Antioxidants and Their Potential Synergism with Artemisinin against Malaria and

Cancer, *Molecules* 2010, 15, 3135-3170.

[14] Mueller. M. S; Karhagomba. I. B; Hirt. E; Wemakor. E; **2000**, The potential of *Artemisia annua* L. as a locally produced remedy for malaria in the tropics: agricultural, chemical and clinical aspects. *Journal of ethnopharmacologia*, 73, 487-493.

[15] Al-Easa. H. S, **1990**, *Phd. D. Thesis*, University of Reading, Reading England

[16] Liu. C. H; Mishra. A. K and Tan. R. X, **2005**, Nanjing University, China; Repellent, insecticidal and phytotoxic activities of isoalantolactone from *Inula racemosa*.

[17] Kim .S. R. A; Mi. J. P; Mi. K. L; Sang. H. S; Park. E. J; Jinwoong. K; Kim. S.Y; Tae. O; George. J. M and Young. C. K, **2002**, Flavonoides of *Inula britannica* protect cultured cortical cells from necrotic cell death induced by glutamate, *free radical biology & medicine*, 32(7), 596-604.

[18] Valant-Vetschera. K. M; Wollenweber. E; Faure. R and Gaydou. E, **2003**, New exudate flavonoids of species from the *Chrysanthemum* complex (Asteraceae-Anthemideae), *Biochemical Systematics and Ecology*, 31, 545–548.

[19] Ribeiro. N. L; Nahar. L; Kumarasamy. Y; Mir-Babayev. N and Sarker. S. D, **2002**, *Biochemical Systematics and Ecology*, 30, 1097–1100.

[20] Benayache. S; Benayache. F; Dendougui. H; Jay. H, **1991**, *plant. Med. phytoter*, 25(4), 170-176.

[21] Dendougui. H, **2002**, *Thèse de Doctorat d'état*, Université Mentouri Constantine.

[22] Ameddah. S; Dendougui. H; Menad. A; Mekkiou. R; Meraihi. Z; Benayache. S and Benayache. F, **2007**, flavonoids from *Chrysanthemum fuscatum*, *Chemistry of Natural Compounds*, 43, 2.

[23] Long-Ze. L and James. M. H, **2010**, Identification of the phenolic components of chrysanthemum flower (*Chrysanthemum morifolium* Ramat), *Food Chemistry*, 120, 319–326

[24] Oksuz. S; Putun. E, **1987**, *Doga Kim. Ser*, 11(2): 66-71.

[25] Dendougui. H, **1985**, *Thèse de Magister*, Université Mentouri Constantine.

[26] Vlietinck. A. J; Vanden-Bergue. D. A; Van Hoof.L. M; Vrijns. R and Boeye. A, **1985**, Antiviral activity of -3-methoxy flavones in plants flavonoids, *Biologie and Medecine*, 537-540.

[27] Robin. V; Irurzun. A; Amoras. M; Boustie. J and Carrasco. L, **2001**, *Antivir Chem Chemther*, 283-291.

- [28] Yoshikawa. M; Morikawa. T; Toguchida. I; Harima. S and Matsuda. H, **2000**, Inhibitors of nitric oxide production and absolute stereostructures of five new germacrane-type, sesquiterpenes, Kikkanols D, D Monoacetate, E, F and F Monoacetate from the flowers of *Chrysanthemum indicum* L, *Chem. Pharm. Bull*, 48, 651–656.
- [29] Senatore. F; Formisano. C; Raio. A; Bellone. G; Bruno. M, **2008**, Volatile components from flower-heads of *Centaurea nicaeensis* All; *C. parlatoris* Helder and *C. olstitialis* L. ssp. *schouwii* (DC.) Dostál growing wild in southern Italy and their biological activity, *Nat Prod Res*, 22(10), 825-32.
- [30] Saroglou. V; Dorizas. N; Kypriotakis. Z; Skaltsa H. D, **2006 Feb 3**, Analysis of the essential oil composition of eight *Anthemis* species from Grece. *J Chromatogr A*, 1104(1-2): 313-22.
- [31] Judzentiene. A; Budiene. J; Butkiene. R; Kupcinskiene. E; Laffont-Schwob. I; Masotti. V, **2010 Dec**, Caryophyllene oxide-rich essential oils of Lithuanian *Artemisia campestris* ssp. *ampestris* and their toxicity, *Nat Prod Commun*, 5(12):1981-4
- [32] Liu. D; Zhao. X; Xue. J; Chen. S; Bian. Q, **2009 Nov**, Determination of caryophyllene in *Eupatorium fortune*, *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 34(22):2907-9
- [33] Liu. H. Y; He. H. P; Gao. S; Chen. C. X and Shen. Y. M, **2006**, Two new diterpenoids from *Callicarpa pedunculata*. *Helv Chim Acta*, 89:1017-1022.
- [34] Dae. S. J; Hye-Young. M; Yeon-Hee. J; Sang K. L and Eun-Kyoung. S, **2004**, Di- and Sesqui-Terpenoids Isolated from the Pods of *Sindora sumatrana* and Their Potential to Inhibit Lipopolysaccharide-Induced Nitric Oxide Production, *Arch Pharm Res*, 27(3), 291-294.
- [35] Wilkomirski. B and Dubielecka. B, **1996**, Sterol content as a similarity marker of different organs of two varieties of *Chrysanthemu parthenium*, *Phytochemistry*, 42, 1603–1604.
- [36] Oueslati. M. H; Ben Jannet. H; Mighri. Z, Matthew. S and Abreu. P, **2007**, *Natural Produc Research*, 21, 884.
- [37] Stout. G. H, **1961**, *Tetrahedron*, 14, 296.
- [38] Pinkas. J; Lavip. D and Mathilda. C, **1968**, Fungistatic congistatic constituents in citrus varieties resistant to the mal-secco disease, *Phytochemistry*, 7, 169- 174
- [39] Wollenweber. E. J, **1987**, *Plant . physiol*, 131, 37.
- [40] Tomás Barberán. F. A, **1985**, *Planta Med*, 452
- [41] Miski. M, **1983**, *Phytochemistry*, 22, 2003
- [42] Shoeb. M; Celik. S; Jaspars. M; Kumarasamy. Y. M; MacManus. S. M; Nahar. L; Thoo-Lind. P. K and Sarkere. S. D, **2005**, *Tetrahedron*, 61, 9001–9006

-
- [43] Amer. M. M. A; Salama. O. M and Omar. A. A, **1984**, *Acta Pharm. Jugosl*, 34, 257.
- [44] Mishio. T; Honma. T and Iwashina. T, **2006**, *Biochemical Systematics and Ecology*, 34, 180-184.
- [45] Bouhroum. M, **2008**, étude phytochimique des plantes médicinales algériennes: *Rhantherium adpressum et Ononis angustissima*, *Thèse de doctorat d'état*, Université de Constantine.

CHAPITRE V

ACTIVITE BIOLOGIQUE

V. 1. ACTIVITE ANTIOXYDANTE (ANTIRADICALAIRE)

V. 1. 1. TEST ANTIOXYDANT

Les tests d'activité antioxydante ont été effectués sur les extraits butanolique et acétate d'éthyle des deux espèces : *Chrysanthemum Fontanesii* (B.et R.) et *Rhantherium Suaveolens* Desf.

V. 1. 1. 1. MATERIEL ET METHODE

V.1. 1. 1. A. PRINCIPE

L'activité antioxydante des extraits peut être mesurée par l'utilisation d'une méthode basée sur le test au DPPH. Le DPPH (2-2 diphényl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre, stable, qui possède une bande d'absorbance à 517 nm, employé pour évaluer l'activité antioxydante des composés purs ou de mélange complexe. La méthodologie est basée sur la décroissance de l'absorbance d'une solution méthanolique de DPPH suite à l'addition de l'antioxydant [1] visualisé également par un changement de coloration de la solution qui vire du bleu au jaune. On utilise comme principes actifs les extraits butanolique et acétate du *Chrysanthemum fontanesii* et du *Rhantherium Suaveolens*. Ces extraits sont dilués dans le méthanol afin d'avoir des concentrations de 1 mg/ml pour chacun.

Généralement, les mesures de l'absorbance du DPPH des différentes substances antioxydantes (nos extraits) permettent de déterminer le pourcentage d'inhibition en appliquant l'équation de Scavenger [2] :

$$\text{Activité Scavenger (\%)} = (A \text{ contrôle} - A \text{ échant} / A \text{ contrôle}) \times 100$$

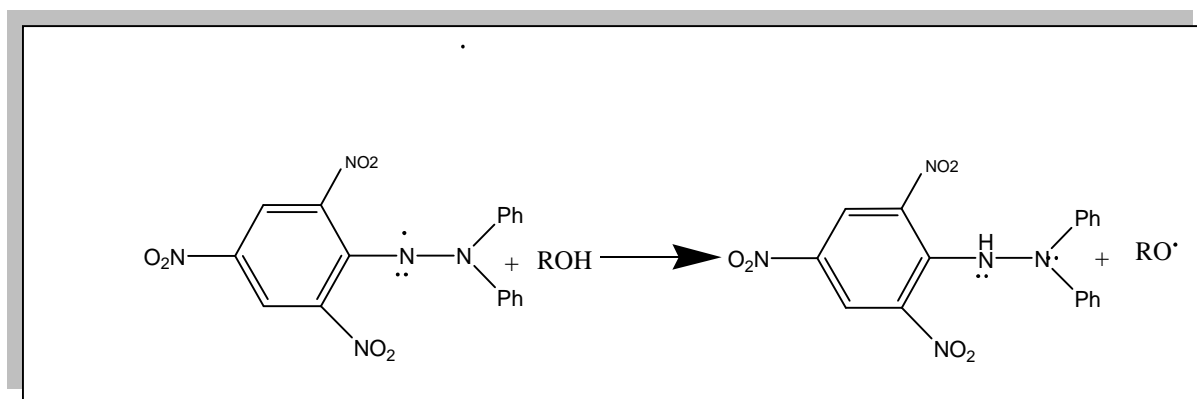
A contrôle : Absorbance du contrôle (absorbance du radical seul).

A échant : Absorbance des extraits testés.

Comme nous avons mentionné précédemment, le protocole est basé sur le DPPH. Une solution méthanolique de DPPH[•] présente une coloration violette sombre, en présence d'un antioxydant, la forme réduite de DPPH-H confère à la solution une coloration jaune, et par conséquent une diminution de l'absorbance.

Le DPPH initialement violet, se décolore lorsque l'électron célibataire s'apparie (figure n° V.1). Cette décoloration est représentative de la capacité des antioxydants à piéger ces radicaux libres indépendamment de toute activité enzymatique. Ce test nous permet donc d'obtenir des informations sur le pouvoir antiradicalaire direct de nos extraits.

Figure n° V.1 : forme libre et réduite du DPPH.



V. 1. 1. 1. B. PROTOCOLE

L'activité antiradicalaire de ces extraits est mesurée selon la méthode décrite par Braca et al, 2001 [2] :

- 1; 2,5 ; 5 ; 10 ; 15 ; 20 ; 25 ; 50 µg/ml de l'extrait à tester.
- 3 ml d'une solution méthanolique de DPPH (0,004%).
- La densité optique DO est mesurée par le spectrophotomètre SHIMADZU à 517 nm, après 30 minutes d'incubation à une température ambiante et dans l'obscurité, la décroissance de l'absorbance est convertie en pourcentage d'activité Scavenger selon l'équation précédente.

- Le changement de la couleur de la solution méthanolique de DPPH en présence de chacun des extraits à tester a été mesuré à 517 nm.

V. 1. 1. 2. RESULTATS ET DISCUSSIONS

Les résultats figurant dans les courbes (figure n° V.2 et V.3) ci-après, illustrent les pourcentages de l'activité antiradicalaire des extraits de *Chrysanthemum fontanesii* et *Rhantherium Suaveolens* vis-à-vis du radical libre DPPH.

Les figures n° V.2 et V.3 permettent de mettre en évidence une diminution significative de la concentration du radical DPPH due à l'effet « scavenging » pièges à radicaux libres des différents extraits des espèces *Chrysanthemum fontanesii* et *Rhantherium suaveolens* et le témoin (Vitamine C). L'effet scavenging des différents extraits et du témoin sur le DPPH décroît dans l'ordre suivant : extrait acétate des fleurs > Vitamine C (témoin) > extrait butanolique des fleurs = extrait butanolique des feuilles = extrait acétate des feuilles de *C. fontanisii* > extrait acetate > extrait butanolique de *R. suaveolens* à la concentration de 15 µg/ml, les activités inhibitrices sont respectivement résultats inhibitrice 95,52% ; 94,19%, 91,79% ; 91,80% ; 91,80 ; 63,17 et 62,02% respectivement.

Figure n° V.2 : Pourcentage de l'activité antiradicalaire (Scavenger) des différents extraits de *C. fontaniisi* vis a vis du radical libre DPPH classés selon l'ordre décroissant suivant : a concentration = 15ug/ml phase acétate fleurs (95,52%) > Vitamine C standard (94,19%) > phase butanolique fleurs (91,79) = phase butanolique feuilles (91,80%)= phase acetate feuilles (91,80%)

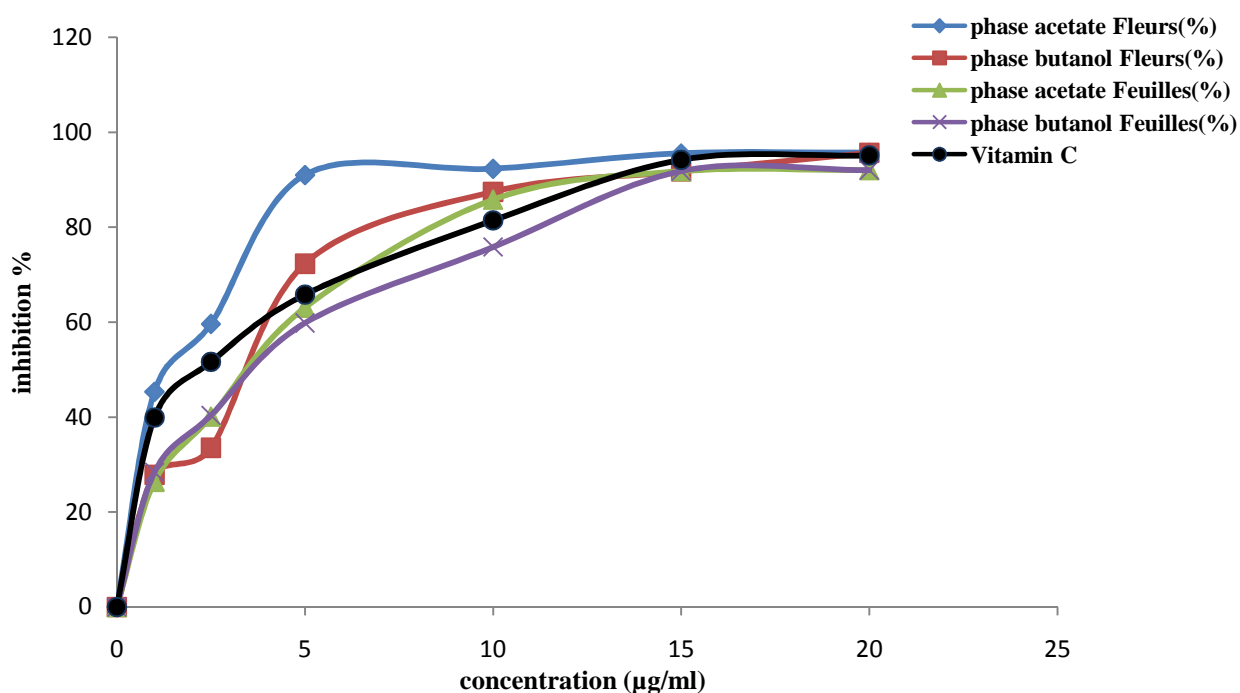
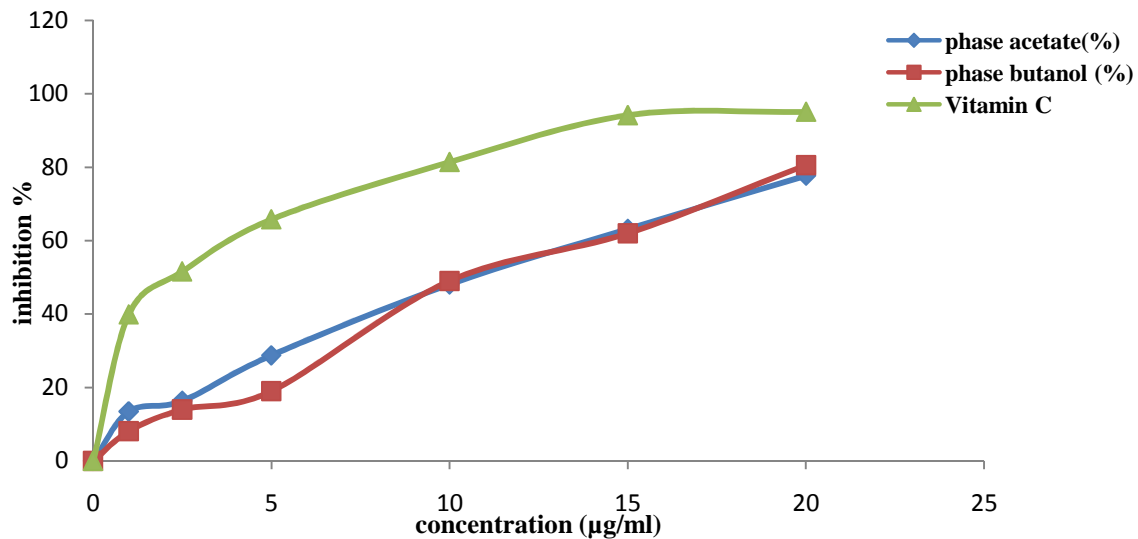


Figure n° V.3 : Pourcentage de l'activité antiradicalaire (Scavenger) des différents extraits de *R. suaveolens* vis a vis du radical libre DPPH classés selon l'ordre décroissant suivant : a concentration = 15 µg/ml Vitamin C standard (94,19%) > phase acétate (63,17%) > phase butanolique (62,02%)

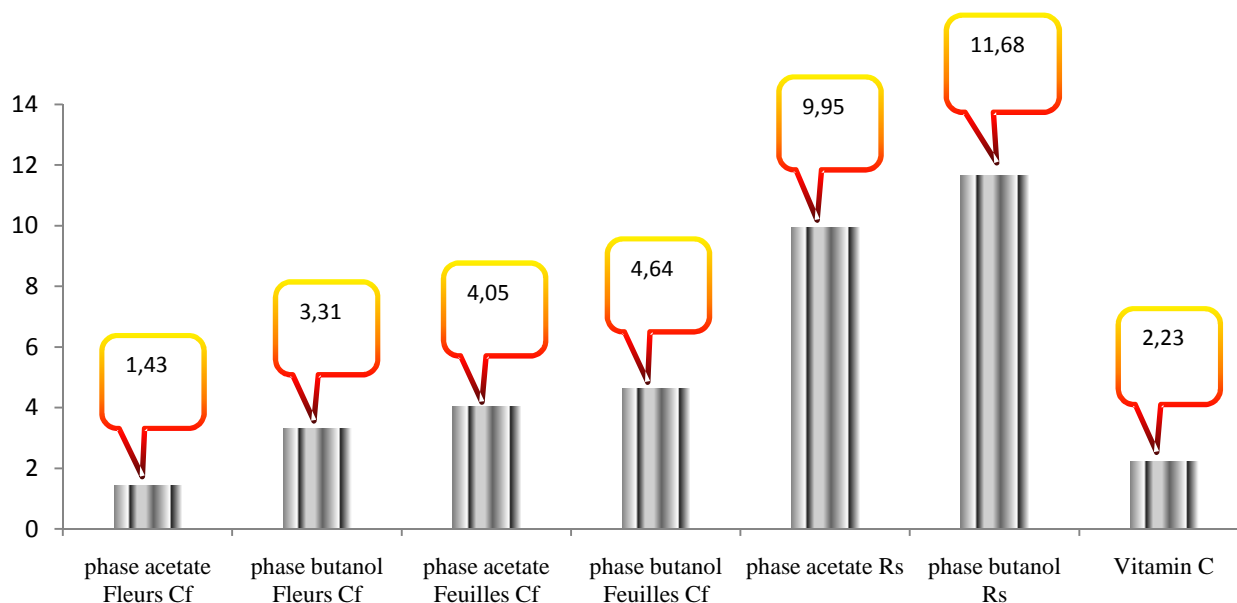


L'histogramme ci-dessous, (figure n° V.4) présente les résultats du test DPPH réalisé pour les extraits des *C. fontanesii* et *R. suaveolens*.

L'Acide ascorbique montre une excellente activité antioxydante (scavenger) ($IC_{50} = 2,23 \mu\text{g ml}^{-1}$). Il a été observé que les différents extraits de *C. fontanesii* et *R. suaveolens* aussi présentent une activité antioxydante plus élevée avec la valeur de IC_{50} de $1,43 \mu\text{g ml}^{-1}$ (extrait acétate des fleurs), $3,31 \mu\text{g ml}^{-1}$ (extrait butanolique des fleurs), $4,64 \mu\text{g ml}^{-1}$ (extrait butanolique des feuilles), $4,05 \mu\text{g ml}^{-1}$ (extrait acétate des feuilles), de *C. fontanesii* (B. et R.) et $11,68 \mu\text{g ml}^{-1}$ (extrait butanolique), $9,95 \mu\text{g ml}^{-1}$ (extrait acétate) de *R. suaveolens* Desf respectivement.

Tous ces résultats montrent que les extraits butanolique et acétate de *C. fontanesii* et de *R. Suaveolens* sont des antioxydants plus forts, alors que l'extrait acétate des fleurs de *C. fontanesii* est plus antioxydant que la Vitamine C.

Figure n° V.4: Pourcentage de l'activité Antioxydante (scavenger) des différents extraits et le témoin (Vitamine C) dans le (IC50 = 5 µg ml/l).



V. 1. 1. 3. CONCLUSION

Tous ces résultats indiquent clairement que les différents extraits de *Chrysanthemum fontanesii* et *Rhantherium suaveolens* constituent des pièges à radicaux libres et des antioxydants puissants. Cette activité est liée en grande partie à la composition des extraits et leur richesse en composés phénoliques et en flavonoïdes. Ces propriétés sont citées pour ces composés dans de nombreuses publications et rapport scientifiques [3-5]. En perspective de ce travail nous comptons poursuivre l'étude de l'activité antioxydante de ces espèces et l'étendre aux molécules isolées à partir des différents extraits ayant montré une activité antioxydante importante.

V. 2. ACTIVITE ANTIBACTERIENNE

V. 2. 1. TEST ANTIBACTERIEN

V. 2. 1. A. METHODE

Le test de susceptibilité a été effectué selon la méthode de diffusion des disques décrite par (Dulger et Gonuz; parekh et Chanda, Rota et al [6-8]).

Le support microbien est composé d'*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus proteus vulgaris* qui ont été isolées de produits pathologiques provenant de laboratoire de bactériologie de l'hôpital université de Constantine.

- **Repiquage des espèces bactériennes** : les différentes espèces bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries, puis incubées à 37 °C afin d'obtenir des colonies isolées qui vont servir à la préparation de l'inoculum.
- **Préparation de l'inoculum** : des colonies bien séparées des espèces bactériennes concernées ont été prélevées à l'aide d'une anse de platine stérile et homogénéisées dans 10 ml de bouillon nutritif puis portées à l'incubation pendant (18-24) heures à 37 °C.
- **Préparation des disques** : des disques de papier Wattman n° 1 de 6 mm de diamètre stériles (stérilisation à 120 °C pendant 15 min par autoclavage), sont chargés de l'extrait naturel à tester, des disques imprégnés de butanol sont également utilisées qui vont servir de témoin négatif.
- **Préparation des milieux de culture** : la gélose de Muller Hinton stérile prête à l'usage a été coulée dans des boîtes de pétrie stériles de 90 mm de diamètre. l'épaisseur de la gélose est 2 mm répartie uniformément dans les boîtes. Ces dernières doivent être séchées 30 min à une température ambiante du laboratoire avant leur emploi.
- **Ensemencement** : des boîtes de pétrie stériles préalablement coulées, sont ensemencées par étalage à l'aide d'un râteau stérile, l'ensemencement s'effectue de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries.
- A l'aide d'une pince stérile, les disques de papier filtre contenant les extraits à tester sont déposés à la surface de la gélose inoculée au préalable.
- L'activité antibactérienne est déterminée en termes de diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques après 24 h d'incubation à 37 °C.

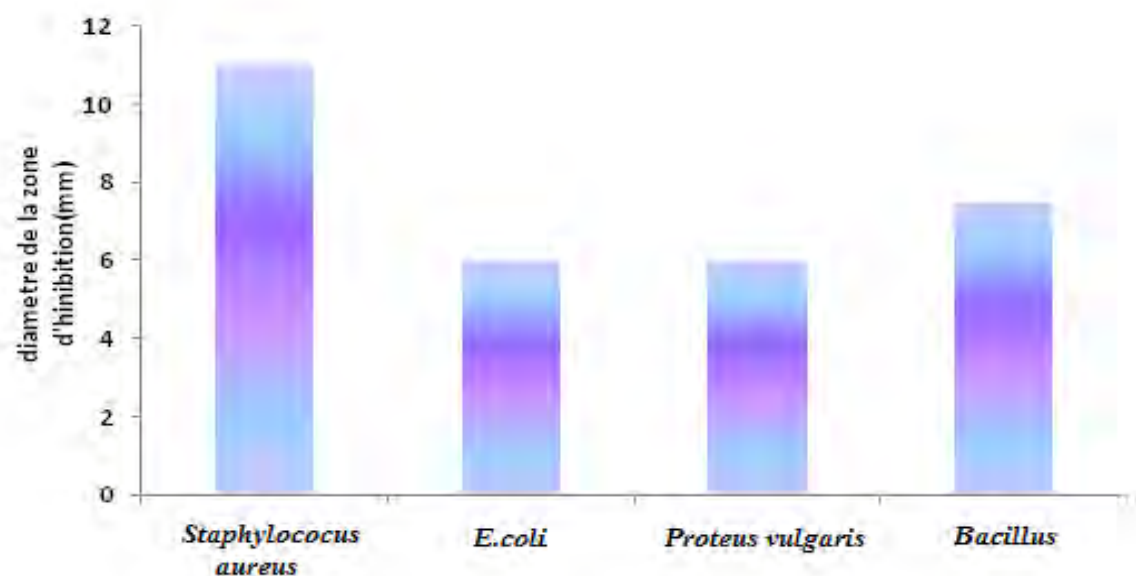
- La sensibilité d'un germe est nulle pour un diamètre inférieur ou égal à 8 mm, la sensibilité est limitée pour un diamètre compris entre 8 et 14 mm. Elle est moyenne pour un diamètre entre 14 et 20 mm. Pour un diamètre supérieur ou égal à 20 le germe est très sensible [9]. L'activité antibactérienne de nos extraits est estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les extraits à tester vis-à-vis de quatre germes pathogènes :

Escherichia coli, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus*, *Proteus vulgaris*. Après 24 heures d'incubation à une température adéquate de 37 °C.

V. 2. 2. RESULTATS

Les résultats des diamètres des zones d'inhibition révèlent que *Staphylococcus aureus* est sensible vis-à-vis des extraits testés, ces mêmes extraits développent des zones d'inhibition faible vis-à-vis d'*Escherichia coli*, *Bacillus* et *Proteus vulgaris*. Des zones d'inhibition varient entre (11-13) mm pour *Staphylococcus aureus* et de (6, 6 et 7) mm pour *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus* et respectivement (figure n° V.5).

Figure n° V.5 : diamètre des zone d'inhibition (mm) de l'extrait butanolique de la plante *Chrysanthemum fontanisii* vis-à-vis *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* et *Bacillus*.



IV. 2. 3. CONCLUSION

Il en ressort de cette analyse que l'extrait butanolique agit différemment sur les microorganismes. C'est-à-dire que l'extrait peut avoir une action moyenne sur un germe (la sensibilité de *Staphylococcus aureus* à l'extrait). Alors que l'activité est faible contre les trois germes *Escherichia coli*, *Bacillus* et *Proteus vulgaris*

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE :

- [1] Abdel-Lateff. A; Konig. G. M; Fish.K. M, Holler. U; Jones. P. G; Wright. A. D, **2002**, New antioxidant Hydroquinone Derivatives from the the Algicolous Marine Fungus *Acremonum Sp.* *Journal of Natural Products*, 65, 1605-1611.
- [2] Braca. A; De Tommasi. N; Di Bari. L; Pizza. C; Politi. M; Morelli. I, **2001**, Antioxidant principles from *Bauhinia terapotensis*. *Journal of Natural products*, 64, 892-895.
- [3] Duen~ as. M; Herna´ndez. T; & Estrella. I, **2006**, Assessment of in vitro antioxidant capacity of the seed coat and the cotyledon of legumes in relation to their phenolic contents, *Food Chemistry*, 98, 95–103.
- [4] Katalinic. V; Milos. M; Kulisic. T & Jukic. M, **2006**, Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols, *Food Chemistry*, 94, 550–557
- [5] The´riault. M ; Caillet. S; Kermasha. S & Lacroix. M, **2006**, Antioxidant, antiradical and antimutagenic activities of phenolic compounds present in maple products. *Food Chemistry*, 98, 490–501.
- [6] Duglar. B et Gonuz. A, **2004**, Antimicrobial activity of some turkish medicinal plants, *Pakistan Journal of Biological sciences*, 7(9), 1559-1562.
- [7] Parekh. J et Chanda. S. V, **2007**, in vitro antimicrobial activity and phytochemical analysis of some Indian medicinal plant, *Turkish Journal of Biology*, 31, 53-58.
- [8] Rota. M. C; Herrera. A; Martinez. R. M; Sotomayor. J. A et Jordan. M. J, **2008**, Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *thymus zugis* and *thymus hyemalus* essential oils, *Food Control*, 19, 681-687.
- [9] Durafford. C; D’Hervicourt. L; Lapraz. J. C, **1990**, *Cahiers de Phytoth´erie Clinique*, Examen de laboratoire gal´nique, El´ments Th´rapeutiques Synergiques, 2^{me} Ed. Masson, 87, Paris.

*CONCLUSION
GENERALE*

CONCLUSION GENERALE :

Le but principal de notre travail a été d'isoler, identifier les métabolites secondaires et effectuer l'évaluation biologique de deux espèces du genre *Chrysanthemum et Rhantherium* : *C. fontanesii* (B.et R.) et *R. suaveolens* Desf appartenant à la flore algérienne.

Notre choix pour ces deux espèces est justifié par l'endémisme de ces deux plantes et le fait que la première espèce n'a jamais fait l'objet d'investigations phytochimiques et que très peu d'étude ont été consacrées à la deuxième.

Après extraction hydroalcoolique des parties aériennes des deux espèces, concentration et affrontements successifs au chloroforme, à l'acétate d'éthyle et au *n*-butanol, nous avons soumis les extraits chloroforme et acétate d'éthyle obtenus à la batterie chromatographique notamment la chromatographie sur colonne de gel de silice et sur plaques préparatives de gel de silice. Les structures des produits isolés ont été déterminées par la combinaison des différentes méthodes spectrales à savoir la spectrophotométrie UV-Visible, la RMN et ses séquences, bidimensionnelle : COSY, ROESY, NOESY, HSQC, HMBC, ainsi que la spectrométrie de masse IE et ES.

L'étude phytochimique menée sur *Chrysanthemum fontanesii* a permis l'obtention de vingt trois produits purs. Parmi lesquels nous avons établi à l'heure actuelle la structure de **onze**. Tous ces composés sont isolés pour la première fois de cette plante, cinq composés sont originaux pour le genre. Un composé nouveau pour la famille, ce qui constitue un élément d'originalité remarquable et un apport chimiotaxonomique qui souligne la contribution de ce travail à une meilleure connaissance phytochimique du genre *chrysanthemum* et de la flore algérienne.

Ces composés sont indiqués ci-dessous :

- ✓ Isokaempféride.
- ✓ Isorhamnetine-3- methyl ether
- ✓ Quercetine-3- methyl ether
- ✓ Cacticine
- ✓ Querciméritrine- 3- methyl ether
- ✓ Caryolane -1, 9- β - diol.
- ✓ Clovane -2- β , 9- α -diol.
- ✓ β -sitostérol

- ✓ Acide (*para*-hydroxy benzoïque).
- ✓ Acide 1(3', 4' dihydroxy cinnamoyl) cyclopentane 2, 3-diols.
- ✓ Scopoline.

Dans l'étude phytochimique de l'espèce *Rhantherium Suaveolens*, nous avons pu isoler et identifier **huit** produits dont six sont nouveaux pour le genre et l'espèce, et que un composé est décrit pour la première fois dans la famille des composées. Ces résultats tout à fait originaux soulignent tout l'intérêt de ce travail et de sa contribution à la connaissance de la chimio diversité de l'espèce *Rhantherium suaveolens* du genre *Rhantherium* et de la famille des composées. Ces produits sont :

- ✓ Apigénine.
- ✓ Xanthomicrol.
- ✓ 6-hydroxyluteoline 7, 3', 4' –trimethyl ether.
- ✓ Astragaline
- ✓ Acide 4-hydroxy-3-méthoxy benzoïque.
- ✓ Acide *para* hydroxy benzoïque.
- ✓ Stigmastérol
- ✓ β - Sitostérol

En effet, cette étude phytochimique de ces deux plantes a été tout à fait originale, elle nous a permis d'identifier pour la première fois la structure de **dix-neuf** produits des espèces *C. fontanesii* et *R. suaveolens*, dont cinq sont rencontrées pour la première fois dans le genre *Chrysanthemum* et six pour le genre *Rhantherium*.

Le potentiel antiradicalaire des extraits isolés a été déterminé par la méthode du DPPH. Les résultats ont montré que ces extraits possèdent une excellente activité antioxydante et peuvent être inclus dans des études ultérieures en vue d'applications dans le domaine pharmaceutique et médicinal sachant que les antioxydants contribuent de manière très efficace à la prévention des maladies telles que le cancer, et les maladies cardiovasculaires.

Ce travail a concerné dans une première étape les différents extraits, acétate et butanolique, dans une perspective à ce travail cette étude sera étendue aux molécules constituant ces extraits de manière à identifier les molécules responsables de l'activité de ces extraits.

CONCLUSION GENERALE

Au cours de cette étude nous avons également réalisé un test antibactérien vis-à-vis de quelques germes pathogènes, les résultats microbiologiques ont montré que l'extrait butanolique du *Chrysanthemum fontanesii* agit différemment sur les espèces bactériennes testés.

On conclut que ce travail constitue une modeste mais efficace contribution à la valorisation de la flore de notre pays qui possède une biodiversité immense et pour lequel chaque espèce et chaque plante peut être considérée comme un réservoir important de métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques potentielles qui ne demandent qu'à être exploitées et valorisées par les recherches. Nous inscrivons cette perspective dans le cadre de nos travaux de recherche futurs.

RESUME

Ce travail est consacré à l'étude phytochimique et biologique de deux plantes endémiques appartenant à la famille des Composées: *Chrysanthemum fontanesii* (B.et R.) et *Rhantherium suaveolens* Desf. L'endémisme de ces espèces nous a encouragés à entamer ce travail, la première espèce n'a jamais été étudiée et la seconde a été très peu étudiée.

Les différentes méthodes chromatographiques de séparation utilisées dans notre expérimentation ont permis l'isolement de vingt trois produits des phases polaires et apolaire de *Chrysanthemum fontanesii* et la détermination structurale de onze d'entre eux. Concernant l'espèce *Rhantherium suaveolens*, cette étude a permis l'isolement de vingt produits et la détermination structurale de huit d'entre eux. Tous ces composés sont isolés pour la première fois des deux espèces.

Les structures moléculaires des composés isolés ont été élucidées principalement par l'utilisation des techniques de RMN 1D et 2D (¹H, ¹³C, DEPT, COSY, ROESY, NOESY, HSQC et HMBC), par la spectrométrie de masse à haute résolution (HR-EI-MS et HR-ESI-MS) et par la comparaison avec les données de la littérature.

D'un point de vue biologique, les différents extraits des deux plantes possèdent une excellente activité antioxydante. Ces extraits peuvent être considérés comme des agents antioxydants de premier plan et leur étude peuvent être approfondis en vue d'applications thérapeutiques.

Au cours de cette étude nous avons réalisé également un test antibactérien vis-à-vis de quelques germes pathogènes, les résultats microbiologiques ont montré que l'extrait du *Chrysanthemum fontanesii* agit différemment sur les espèces bactériennes testés.

ABSTRACT

This work was devoted to the phytochemical and biological studies of two endemic Algerian species belonging to the family of Compositae : *Chrysanthemum fontanesii* (B.et R.) and *Rhantherium suaveolens* Desf. The endemism of these species encouraged us to start this work, the first species has never been studied and only a few studies were devoted to the second.

Several chromatographic methods was used in our experimental work which allowed us to isolate twenty-three products from polar and semi polar phases of *Chrysanthemum Fontanesii* extracts among which eleven were identified and fully described. The phytochemical study of *Rhantherium suaveolens*, allowed us to isolate twenty one products. The structures of eight were identified and fully described. All these structures were described for the first time for the two species.

The structures of the compounds have been elucidated by using modern methods of physico-chemical analysis. Spectroscopic methods were mainly 1D and 2D NMR experiment (^1H , ^{13}C , DEPT, COSY, ROESY, HSQC, HMBC and NOESY). We also used High resolution mass spectrometry methods (HR-EI-MS and HR-ESI-MS) and comparison with literature data.

The extracts of the two species exhibited also a powerful antioxidant activity and can be used for further investigations for therapeutic applications. We have also investigated the antibacterial activity of these species. *Chrysanthemum fontanesii* exhibited various effects against several pathologic microbial germs.

٣١٢

يتمحور هذا العمل حول الدراسة الفيتو كيميائية و البيولوجية لنبتتين محليتين تنتميان إلى العائلة المركبة *Rhantherium suaveolens Desf* و *Chrysanthemum Fontanesii (B.et R.)*، تم اختيارهما لكونهما محليتين و لأن النبتة الأولى لم تدرس من قبل أما الثانية فقد كانت الدراسات حولها غير معمقة.

اعتمادا على طرق الفصل الكروماتوغرافي، تم فصل ثلاثة و عشر و ن مركبا من الطورين القطبي و الأقطبي للنبتة *Chrysanthemum Fontanesii* حيث تم تحديد الصيغ البنوية لأحد عشرة مركبا. فيما يخص نبتة *Rhantherium suaveolens* فقد تمكنا من فصل عشرون مركبا حيث تم تحديد الصيغ البنوية لثمانى مركبات. كل هاته المركبات فصلت لأول مرة من هذين النوعين.

تحديد بنية كل المركبات تم بالاستعانة بطرق التحليل الطيفي و بشكل بارز مطيافية الرنين المغناطيسي بجميع أنواعها، مطيافية الأشعة فوق البنفسجية و مطيافية الكتلة بتقنيات التأين المختلفة و بالمقارنة مع المعطيات البيبلوغرافية.

من الناحية البيولوجية، فان مختلف مستخلصات النبتتين (اسيتات الايثيل و البيتانولي) تميزت بفعالية بيولوجية عالية مضادة للأكسدة، و منه يمكن اعتبار المستخلصين كعاملين مضادين للأكسدة من الدرجة الأولى حيث يمكن استعمالهما في التطبيقات العلاجية . بينت هاته الدراسة أيضا أن المستخلص البيتانولي للنبتة *Chrysanthemum Fontanesii* ذو فعالية بيولوجية مضادة للبكتيريا متوسطة علي بعض أنواع الجراثيم.

ARTICLE

FLAVONOID AGLYCONES AND STEROL FROM *Chrysanthemum fontanesii*

O. Benaissa,¹ A. Bentamene,² S. Bicha,²
F. Benayache,² I. Brouard,³ V. P. Garcia,³
F. Leon,³ J. Bermejo,³ and S. Benayache^{1*}

UDC 547.972

Chrysanthemum species have been reported to exhibit antibacterial and antiviral activities [1–4] and are known to be a rich source of secondary metabolites with a variety of biological activities [5–9].

The genus *Chrysanthemum* (Compositae) is represented by about 20 species in Algeria [10]. As part of our ongoing program of research on plants of this genus [11], we report our results on *C. fontanesii* B. et R., an endemic species in the Maghreb [10], which has not been previously investigated.

Aerial parts of *Chrysanthemum fontanesii* were collected during flowering near Bejaia, North East Algeria (May 2003) and authenticated by Prof. M. Kaabeche (Biology Department, University of Setif, Algeria). A voucher specimen (CCF05/04/03) has been deposited in the Herbarium of Nature and Life Sciences Department, Mentouri University of Constantine.

Air-dried flowers of *C. fontanesii* (1516 g) were extracted at room temperature with MeOH–H₂O (80:20 v/v) for 24 h three times. After filtration, the filtrates were combined, concentrated, and successively extracted with CHCl₃, EtOAc, and *n*-BuOH. The organic layers were dried with Na₂SO₄ to give, after removal of solvents under reduced pressure, CHCl₃ (7.20 g), EtOAc (30.50 g), and *n*-BuOH (59.10 g) extracts.

The chloroform extract (7.20 g) was submitted to silica gel (230–400 mesh) column chromatography using *n*-hexane–EtOAc with increasing polarity as eluent to yield 25 fractions (F₁–F₂₅) obtained by combining the eluates on the basis of TLC analysis. Fraction F₁₀ (90:10) was rechromatographed on a silica gel column using *n*-hexane–EtOAc (90:10) to give **1** (9 mg). Fractions F₁₅, F₁₆ (60:40) and fraction F₂₁ (50:50) were submitted to preparative TLC on silica gel GF₂₅₄ eluted with CHCl₃–CH₃COCH₃ (12:1), CHCl₃–MeOH (16:1), and CHCl₃–MeOH (14:1), respectively, to give **2** (90 mg), **3** (100 mg), and **4** (42 mg), respectively.

The structures of the isolated compounds were elucidated by UV, ¹H NMR, ¹³C NMR, and MS analysis. All these results were in good agreement with the literature data [12].

Compound 1. White crystals, mp 136–138°C. The Liebermann–Burchard test indicated its steroidal nature. The EI-MS spectrum presented a molecular ion at *m/z* 414 according to the molecular formula C₂₉H₅₀O. The ¹³C and DEPT spectra recorded in CDCl₃ showed 29 signals from which those relative to a quaternary carbon atom at δ 140.7 and two CH groups at δ 121.7 and 71.8 were characteristic of C-5, C-6, and C-3, respectively, of the β-sitosterol [13]. The structure was also confirmed by results of co-chromatography with an authentic sample on silica gel plates eluted with petroleum ether–EtOAc (8:2), (*R_f* 0.58).

Compound 2. C₁₆H₁₂O₆, yellow needles, mp 299–302°C. The UV spectrum, recorded in MeOH, showed characteristic bands of a flavonoid. The value of λ_{max} at 352 nm of the band I and the deep purple fluorescence under UV radiation at 365 nm were indicative of 3-OR flavonol. This compound was characterized as 4',5,7-trihydroxy-3-methoxyflavone (isokaempferide) [14].

1) Laboratoire de Valorisation des Ressources Naturelles, Departement de Chimie, Universite Mentouri, Route de Ain El Bey, 25000 Constantine, Algeria, fax: 213 31 81 88 83, e-mail: sbenayache@yahoo.com; 2) Laboratoire de Phytochimie et Analyses Physico-Chimiques et Biologiques, Universite Mentouri, Route de Ain El Bey, 25000 Constantine, Algeria; 3) Instituto de Productos Naturales y Agrobiologia, C.S.I.C. Instituto Universitario de Bio-Organica “Antonio Gonzalez”, Universidad de La Laguna, Av. Astrofisico F. Sanchez 3, 38206 La Laguna, Tenerife, Spain
Published in Khimiya Prirodnikh Soedinenii, No. 1, pp. 96–97, January–February, 2011. Original article submitted January 26, 2009.

Compound 3. C₁₇H₁₄O₇, yellow needles, mp 257–260°C. The spectral data led to the structure of 4',5,7-trihydroxy-3,3'-dimethoxyflavone (3-*O*-methylisorhamnetin) [15].

Compound 4. C₁₆H₁₂O₇, yellow crystals, mp 273–275°C. This compound was characterized as 3',4',5,7-tetrahydroxy-3-methoxyflavone (3-*O*-methylquercetin) [16].

All these compounds are isolated from *C. fontanesii* B. et R. for the first time.

REFERENCES

1. A. N. Ren, Z. G. Wang, Z. C. Lu, L. W. Wang, and Y. L. Wu, *Pharm. Biotechnol.*, **6**, 241 (1999).
2. K. Khallouki, M. Hmamouchi, C. Younos, R. Soulimani, J. M. Bessiere, and E. M. Essassi, *Fitoterapia*, **71**, 544 (2000).
3. K. J. Kim, Y. H. Kim, H. H. Yu, S. I. Jeong, J. D. Cha, B. S. Kil, and Y. O. You, *Planta Med.*, **69**, 274 (2003).
4. A. Ben Sassi, F. Harzallah-Skhiri, N. Bourgougnon, and M. Aouni, *Indian J. Med. Res.*, **127**, 183 (2008).
5. S. W. Zito, R. G. Zieg, and E. J. Staba, *Planta Med.*, **47**, 205 (1983).
6. H. P. Ki, S. Y. Min, K. P. Moon, C. K. Sang, H. Y. Chae, J. P. Sook, and R. L. Jong, *Fitoterapia*, **80**, 54 (2009).
7. J. S. Lee, H. J. Kim, and Y. S. Lee, *Planta Med.*, **69**, 859 (2003).
8. H. J. Kim and Y. S. Lee, *Planta Med.*, **71**, 871 (2005).
9. M. T. Nguyen, S. Awale, Y. Tezuka, J. Y. Ueda, Q. L. Tran, and S. Kadota, *Planta Med.*, **72**, 46 (2006).
10. P. Quezel and S. Santa, *Nouvelle Flore de l'Algerie et des Regions Desertiques Meridionales*, Tome II, ed. CNRS, Paris, 1963, p. 983.
11. S. Ameddah, H. Dendougui, A. Menad, R. Mekkiou, Z. Meraihi, S. Benayache, and F. Benayache, *Chem. Nat. Comp.*, **43**, 210 (2007).
12. K. R. Markham, *Techniques of Flavonoid Identification*, Academic Press, London, 1982.
13. D. W. Ness, R. A. Norton, and M. Benson, *Phytochemistry*, **31**, 805 (1992).
14. Y. L. Liu and T. J. Mabry, *Phytochemistry*, **21**, 209 (1982).
15. I. Chiappini, G. Fardella, A. Menghini, and C. Rossi, *Planta Med.*, **44**, 159 (1982).
16. S. J. Wolf and K. E. Denford, *Biochem. Syst. Ecol.*, **12**, 183 (1984).