

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE DES FRÈRES MENTOURI CONSTANTINE
FACULTE DES SCIENCES EXACTES
DEPARTEMENT DE CHIMIE**

N° d'ordre :

Série :

THESE

**Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat de troisième cycle (LMD)
Spécialité : Chimie pharmaceutique
Option : Analyses physicochimiques, contrôle de la qualité et synthèse de substances
bioactives**

Par

Tarak MEKHELFI

**Séparation et Détermination Structurale de Métabolites
Secondaires de deux Plantes Algériennes - Activités Biologiques**

Devant le jury

BENAYACHE Samir,	Professeur, Université des Frères Mentouri, Constantine,	Président
ZAITER Lahcene,	Professeur, Université des Frères Mentouri, Constantine	Directeur de thèse, Rapporteur
BENAYACHE Fadila,	Professeur Université des Frères Mentouri, Constantine	Examinatrice
BOUDJERDA Azzedine	M. C.A Université Mohamed Seddik Ben Yahia, Jijel	Examineur
BENAISSA Ouahiba	M. C.A Université Batna 2	Examinatrice

12 Juillet 2016

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 lui suis très reconnaissant et j'aurai tant aimé partager la joie de ma réussite avec lui.

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

A mon frère : pour son soutien et son amour.

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

A tous mes amis et collègues

Remerciements

Je remercie tout d'abord Dieu le tout puissant de m'avoir procuré patience et volonté durant toutes les années de mes études.

Je tiens à exprimer mes sincères et vifs remerciements à M. le professeur **Lahcene ZAITER** mon directeur de thèse pour m'avoir fait confiance, m'avoir conseillé tout au long de la réalisation de ce travail. Pour son soutien et sa grande générosité, qu'il soit assuré de ma profonde gratitude.

Je tiens à exprimer mes sincères et vifs remerciements à M. le professeur **Samir BENAYACHE**, professeur à l'université des frères Mentouri, Constantine, pour m'avoir accueilli dans l'unité de recherche Valorisation des Ressources Naturelles, Molécules Bioactives et Analyses Physicochimiques et Biologiques (VARENBIOMOL) et surtout d'avoir accepté de présider le jury de ce travail.

J'adresse un grand merci à Madame **Fadila BENAYACHE**, professeur à l'université des frères Mentouri, Constantine, pour la confiance qu'elle m'a accordée dans la réalisation de ce travail, sa disponibilité, ses conseils éclairés et son concours constant dans cette thèse.

Mes vifs remerciements vont également à madame **Ouahiba BENAÏSSA**, maître de conférences à l'université El Hadj Lakhdar, Batna pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de juger ce travail.

Je suis sensible à l'honneur que me fait Monsieur **Azzeddine BOUDJERDA**, Maître de conférences à l'université Mohamed Seddik Ben Yahia de Jijel, en acceptant de juger ce travail.

J'exprime toute ma reconnaissance, ma gratitude et mon profond attachement à **Graziano GUELLA** professeur à «Laboratorio di Chimica Bioorganica, Dipartimento di Fisica, Università di Trento» (Italie), pour son accueil, son extrême sollicitude et sa disponibilité constante durant mon séjour au sein de son laboratoire.

Mes remerciements vont également à monsieur **Petras Rimantas VENSKUTONIS** Professeur à l'université de Kaunas (Lituanie) pour son accueil et son aide précieuse durant mon court stage dans son laboratoire.

Enfin je remercie tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

Abréviations et symboles

Les abréviations ont généralement été indiquées sous la forme la plus couramment utilisée dans la littérature, elles sont donc souvent issues de terminologie anglo-saxonne.

TEAC: Trolox Equivalent Antioxidant Capacity Assay

IC₅₀: Concentration Inhibitrice

DPPH^{*}: 1,1-Diphényl-2-Pyridyl-Hydrazyl

TPC: total phenolic content

ABTS^{•+}: radical scavenging activity

FRAP: Ferric reducing antioxidant power

P M: plante material

P S: poids de matière végétale sèche

E P: éther de pétrole

RSC: Radical scavenging capacity

CCM : Chromatographie sur Couche Mince

Da : Dalton (unité de masse moléculaire)

δ : Déplacement chimique

Glu: Glucose

$J(\text{Hz})$: Constante de couplage exprimée en Hertz

HSQC: Heteronuclear Single Quantum Coherence

HMBC: Heteronuclear Multiple Bonding Connectivity

COSY : Correlation Spectroscopy

ESI: Ionisation par electrospray

m/z : Masse / Charge électrique

ppm: partie par million

Rf: rapport frontal

RMN: Résonance Magnétique Nucléaire

s:	singulet
d:	doublet
dd:	doublet de doublets
t:	triplet
q:	quadruplet
m:	multiplet
UV:	Ultra-violet
°C:	degré Celsius
g:	gramme

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE	1
Références bibliographiques.....	3
CHAPITRE 1 : Rappel Bibliographique	
I.1. la famille Thymelaeaceae.....	4
I.1.1. Généralités	4
I.1.2. Position systématique de la famille Thymelaeaceae	5
I.1.3. description botanique des Thymelaeaceae.....	5
I.1.4. Propriétés pharmacologiques du genre <i>Thymelaea</i>	6
I.1.4.1. Utilisation en médecine traditionnelle	6
I.1.4.2. Quelques activités biologiques reconnues	7
I.1.4.3. Etudes chimiques antérieures sur le genre <i>Thymelaea</i>	8
I.1.4.3. A. Les flavonoïdes.....	8
I.1.4.3. B. Les coumarines.....	12
I.1.4.3. C. Les lignanes.....	14
I.1.4.3. D. Les acides phénoliques.....	17
I.1.4.3. E. Les stérols.....	20
I.2. La famille Scrophulariaceae	22
I.2.1. Généralités	22
I.2.2. Description botanique.....	22
I.2.3. Position systématique de la famille Scrophulariaceae	23
I.2.4. Propriétés pharmacologiques du genre <i>Linaria</i>	23
I.2.4. 1. Utilisation en médecine traditionnelle	23
I.2.4. 2. Quelques activités biologiques reconnues.....	24
I.2.4. 3. Etudes chimiques antérieures sur le genre <i>Linaria</i>	26
I.2.4.3.A Les flavonoïdes.....	26
I.2.4.3.B Les stéroïdes.....	31
I.2.4.3.C Les acides phénoliques.....	34

I.2.4.3.D Les composés phénoliques glycosylés.....	36
--	----

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	39
-----------------------------------	----

Chapitre II : Les métabolites secondaires

II. 1. Métabolites secondaires des plantes.....	45
II. 1.1 Introduction sur le métabolisme secondaire.....	45
II. 1. 2 Synthèse de métabolites secondaires chez les végétaux.....	46
II. 2 Les flavonoïdes.....	46
II. 2. 1. Introduction.....	46
II. 2. 2. Définition.....	47
II. 2. 3. Classification	47
II. 2. 4. La biosynthèse des flavonoïdes.....	48
II. 2. 5. Propriétés chimiques et physiques des flavonoïdes.....	50
II. 2. 6. Stabilité des flavonoïdes.....	51
II. 2 .6 .A. Paramètres affectant la stabilité des flavonoïdes.....	51
II. 2. 6. B. Autoxydation des flavonoïdes.....	51
II. 2.6.C. Effet de la structure du flavonoïde sur la stabilité.....	52
II. 2. 7. Sources naturelles de flavonoïdes.....	52
II. 2. 8. Les flavonoïdes présents dans les aliments.....	55
II. 2. 9. Les flavonoïdes et leurs avantages pour la santé.....	55
II. 3 Les coumarines.....	56
II. 3. 1. Introduction.....	56
II. 3. 2. Définition.....	56
II. 3. 3. Classification.....	57
II. 3. 4. La biosynthese des coumarines.....	60
II. 3. 5. Application de coumarines simple dans traitement du cancer.....	64
II. 4. Les lignanes.....	65
II.4.1. Définition.....	65
II.4.2. Structures chimiques et classification.....	65

II.4.3. Biosynthèse des lignanes.....	70
II.4.4. Intérêts pharmacologiques des lignanes.....	72
II.5. Les lactones sesquiterpéniques.....	72
II.5.1. Définition.....	72
II.5.2. Biosynthèse de lactones sesquiterpéniques.....	72
II.5.3. Intérêts pharmacologiques de lactones sesquiterpènes.....	73
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	75

CHAPITRE III : Travaux personnels

III. 1. Etude phytochimique de l'espèce <i>Thymelaea microphylla</i>	81
III. 1. 1. Description botanique de l'espèce	81
III. 1. 2. Place dans la systématique.....	81
III. 1. 3. Etude bibliographique.....	83
III. 1. 4. Matériel végétal	83
III. 1. 5. Extraction de la partie aérienne de la plante	83
III. 1. 6. Séparation et purification.....	85
III. 1. 6. A. Fractionnement de l'extrait chloroforme	85
III. 1. 6. A.1. Etude des fractions F2, F3 et F4	87
III. 1. 6. A.2. Etude des fractions F9 et F10	88
III. 1. 6. A.3. Etude de la fraction F13.....	89
III. 1. 6. A.4. Etude des fractions F16 et F17	89
III. 1. 6. A.5. Etude de la fraction F20	90
III. 1. 6. A.6. Etude des fractions F23 et F24.....	91
III. 1. 6. B. Séparation chromatographique sur colonne de l'extrait acétate d'éthyle...92	
III. 1. 6. B.1. Etude de la fraction FA6	93
III. 1. 6. B.2. Etude de la fraction FA8	94
III. 2. Etude phytochimique de l'espèce <i>Linaria aegyptica</i>	94
III. 2. 1. Description botanique de l'espèce	94
III. 2.1.1 Place dans la systématique.....	94
III. 2. 2. Travaux antérieurs sur la plante.....	95
III. 2. 3. Récolte de la plante	95
III. 2. 4. Extraction de la partie arienne de la plante	96
III. 2.5. Séparation et purification	98
III. 2. 5. 1. Traitement des extraits chloroforme et acétate d'éthyle.....	98

III 2. 5. 2 Séparation chromatographique sur colonne de l'extrait chloroforme et l'extrait acétate d'éthyle.....	98
III. 2. 5. 2.A. Etude de la fraction F4	99
III. 2. 5. 2.B. Etude des fractions F4, F5 et F6.....	100
III. 2. 5. 2.C. Etude de la fraction F8.....	100
III. 2. 5. 2.D. Etude de la fraction F10.....	100
III. 2. 5. 3 Conclusion.....	101
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	102

CHAPITRE IV : Résultats et Discussions

IV. 1. Elucidation structurale des produits isolés de <i>Thymelaea microphylla</i>	103
IV. 1. A. Elucidation structurale des produits isolés de la phase chloroformique.....	103
IV. 1. A. 1. Elucidation de la structure du composé TM01.....	103
IV. 1. A. 2. Elucidation de la structure du composé TM02.....	109
IV. 1. A. 3. Elucidation de la structure du composé TM03.....	115
IV. 1. A. 4. Elucidation de la structure du composé TM04.....	123
IV. 1. A. 5. Elucidation de la structure du composé TM05.....	130
IV. 1. A. 6. Elucidation de la structure du composé TM06.....	136
IV. 1. A. 7. Elucidation de la structure du composé TM07.....	141
IV. 1. B. Elucidation des produits isolés de la phase acétate d'éthyle.....	147
IV. 1. B. 1. Elucidation de la structure du composé TA01.....	147
IV. 1. B. 2. Elucidation de la structure du composé TA02 et TA03.....	152
IV. 2. Elucidation structurale des produits isolés de <i>Linaria aegyptica</i>	160
IV. 2. A. Elucidation structurale des produits isolés du mélange de la phase chloroforme et de la phase acétate d'éthyle.....	160
IV. 2. A. 1. Elucidation de la structure du composé MF01	160
IV. 2. A. 2. Elucidation de la structure du composé MF02	165
IV. 2. A. 3. Elucidation de la structure du composé MF03	169
IV. 2. A. 4. Elucidation de la structure du composé MF04	175
IV. 2. A. 5. Elucidation de la structure du composé MF05	182
IV. 2. A. 6. Elucidation de la structure du composé MF06	187
IV. 2. A. 7. Elucidation de la structure du composé MF07	197
Conclusion	
Références bibliographiques.....	203

CHAPITRE IV : activité antioxydante

V. 1. Evaluation <i>in vitro</i> des activités biologiques	205
V. 2. Introduction.....	205
V. 2. Protocole de travail.....	207
V. 2. 1. Test d'inhibition du radical DPPH.....	207
V. 2. 2. Test de décoloration ABTS ^{·+}	208
V. 2. 3. Test de Ferrique réduire / pouvoir antioxydant (FRAP)	209
V. 3. Résultats et discussions.....	207
V. 3. 1. Le contenu total en polyphénols	207
V. 3. 2. DPPH. essai de piégeage des radicaux.....	207
V. 3. 3. ABTS ^{·+} Activité de piégeage des radicaux.....	208
V. 3. 4. Le test FRAP.....	209
V. 3. 5. Photoisomérisation du tiliroside.....	211
V. 3. 6. Activité antioxydante <i>in vitro</i> du tiliroside.....	211
V. 3. 7. Conclusions.....	213
Références bibliographiques.....	214

INTRODUCTION

GENERALE

INTRODUCTION

Introduction

Les substances naturelles d'origine végétale sont très recherchées en raison de leurs activités biologiques nombreuses qui donnent des effets positifs sur la santé. Ces activités comprennent entre autres des activités antivirales, antibactériennes, antifongiques, insecticides, antipaludiques, antioxydantes et anticancéreuses. Ces caractéristiques font qu'elles sont très utilisées dans les secteurs industriels et pharmaceutiques et dans le domaine de l'agriculture.

Aujourd'hui, l'importance pharmacologique des métabolites végétaux augmente en raison des découvertes continues sur leur rôle et leur potentiel dans les soins de santé, de l'apparition de résistance à certaines classes d'agents anti-infectieux et du problème de sous-développement d'une grande partie de la population mondiale.

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), 80% de la population africaine ont toujours recours à la médecine traditionnelle pour les soins de santé primaire [01], d'où l'intérêt que suscite cette médecine au sein des organisations africaines et internationales, et en particulier l'investigation phytochimique des ressources végétales de la médecine traditionnelle. Cette médecine est la plus accessible en termes économique, géographique et culturel.

La valorisation scientifique de la médecine traditionnelle doit conduire notamment à la mise au point de médicaments à base de plantes. Aujourd'hui, il a été estimé que les principes actifs provenant des végétaux représentent 25% des médicaments prescrits soit un total de 120 composés d'origine naturelle provenant de 90 plantes différentes [02].

L'Algérie possède une richesse floristique considérable. On compte environ 3000 espèces de plantes dont 15% sont endémiques [03]. Ce potentiel de plantes médicinales comporte des milliers d'espèces présentant divers intérêts, et est toujours peu exploré du point de vue chimique et pharmacologique. Ce domaine constitue, un axe non négligeable de recherche scientifique, plus particulièrement dans le domaine des substances naturelles bioactives.

Le genre *Thymelaea* (Thymelaeaceae) consistant en environ 31 espèces [04], présent en Algérie avec 8 espèces [03]. De nombreuses espèces de ce genre qui a montré des activités biologiques [5-6], et ont fait l'objet d'investigations phytochimiques. Ces études ont montré une richesse en métabolites secondaires bioactifs en particulier des flavonoïdes, des diterpènes, des stérols, des triterpénoïdes et des coumarines [7-8].

Parmi les espèces de ce genre, *T. lythroides* qui était connu dans la littérature comme purgatif [9] est rapporté comme une plante médicinale utilisée au Maroc pour guérir différentes maladies [10]. En Algérie *T. hirsuta* Endl. est recommandé par les herboristes dans le

INTRODUCTION

traitement de maladies humaines (Leishmanicide, vermifuge, eczéma) dans la région de M'Sila [11].

Le genre *Linaria* est le plus connu de la famille Scrophulariaceae. Il comprend plusieurs espèces connues pour leurs propriétés thérapeutiques. *Linaria japonica* Miq., espèce annuelle que l'on rencontre en bordures de mer dans certaines régions côtières du Japon, est employée traditionnellement pour ses propriétés diurétique, purgative [12] et laxative [13]. *Linaria vulgaris* Mill, qui pousse dans le nord-est de la Chine, est utilisée par les populations locales dans le traitement de la toux, l'asthme et comme expectorant [14].

Nos recherches bibliographiques montrent que la plupart des espèces constituant le genre *Linaria* sont utilisées dans la médecine traditionnelle pour leurs diverses propriétés: laxative, antispasmodique et anti-inflammatoire, cholagogue, antirhume [15], antihémorroïdaire, le traitement des blessures et les troubles vasculaires [16]. Des études antérieures réalisées sur *Linaria aegyptiaca* objet de notre étude reportent l'isolement de l'antirrhinoside, du linarioside, de l'acide mussaenosidique et de la ladaneine [17].

Les principales parties de ce travail constituant cinq chapitres, sont traitées comme suit :

- Le premier chapitre sera consacré à une présentation botanique de la famille Thymelaeaceae et de la famille Scrophulariaceae. Ce chapitre se poursuit par des résultats de travaux antérieurs relatifs au genre *Thymelaea* et au genre *Linaria*.
- Le deuxième chapitre sera consacré à une étude bibliographique portant sur les métabolites secondaires notamment les composés phénoliques, les acides phénoliques, les coumarines, les flavonoïdes ainsi que les lignanes.
- Le troisième chapitre sera consacré à l'étude phytochimique des espèces *Thymelaea microphylla* et *linaria aegypticaea*. 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.
- Le dernier chapitre sera consacré à l'activité antioxydante des extraits végétaux préparés de la plante *T. microphylla* et la photoisomérisation du trans tiliroside qui est obtenu de la phase acétate d'éthyle de cette plante.

Ce travail sera clôturé par une conclusion générale.

INTRODUCTION

Références

- [01] World Health Organization, **2002**, WHO traditional medicine strategy 2002-2005.
- [02] Potterat, O., **1997**, Antioxidants and free radical scavengers of natural origin, *Current organic chemistry*, 1, 415-440.
- [03] Quezel, P., Santa, S., **1963**, Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. CNRS (Ed.), Paris. Tome 2.
- [04] Galicia-Herbada, D., **2006**, *Pl. Syst. Evol.*, 257: 159–187.
- [05] Ouda Amari, N., Bouzouina, M., Berkani, A., Lotmani, B., Asian Pac. **2014**, *J. Trop. Dis.*, 4 (2), 104-109.
- [06] Berkiks, I., Mesfioui, A., Ouichou, A., Benazzouz, B., El Hessni, A., **2013**, *J. Neurol. Sci.*, 333 Supplement 1, 287.
- [07] Brooks, G., Evans, A.T., Aitken, A., Evans, F.J., Rizk, A.F.M., Hammouda, F.M., El-Missiry, M.M., Ismail, S.E., **1990**, *Phytochemistry*, 29(7), 2235-2237.
- [08] Kabbaj, F.Z., Lai, D., Meddah, B., Altenbach, H.J., Cherrah, Y., Proksch, P., Faouzi, M.E.A., Debbab, A., **2013**, *Biochem. Syst. Ecol.*, 51, 153-155.
- [09] Bellakhdar, J., **1997**, La pharmacopée marocaine traditionnelle. Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. *Ibis press*, 759 p.
- [10] Dohou, N., Yamni, K., Tahrouch, S., Idrissi Hassani, L.M., Badoc, A., Gmira, N., **2003**, *Bull. Soc. Pharm.*, Bordeaux, 142, 61-78.
- [11] Boudjelal, A., Henchiri, C., Sari, M., Sarri, D., Hendel, N., Benkhaled, A., Ruberto, G., **2013**, *J. Ethnopharmacol.*, 148 (2), 395-402.
- [12] Otsuka, H., **1994**, *J. Nat. Prod.*, 57, 357-362.
- [13] Kitagawa, I., Tani, T., Akita, K., Yosioka, I., **1978**, *Chem. Pharm. Bull.*, 21.
- [14] Jiangsu College of New Medicine, "A Dictionary of the Traditional Chinese Medicines", **1977**, People's Hygiene Publisher, Beijing
- [15] Handjieva, N.V., Ilieva, E.I., Spassov, S.L., Popov, S.S., **1993**, *Tetrahedron*, 49 (41), 9261-9266
- [16] Ercil, D., Sakar, M.K., Del Olmo, E., San Feliciano, A., **2004**, *Turk. J. Chem.*, 28, 133.
- [17] Ferhat, M., Harkat, H., Lavaud, Ca., Haba, H., Long, C., Benkhaled, M., **2010**, Iridoids and flavonoid from *Linaria aegyptiaca* (L.) Dum. subsp. fruticosa, *Biochemical Systematics and Ecology*, 38 833–835.

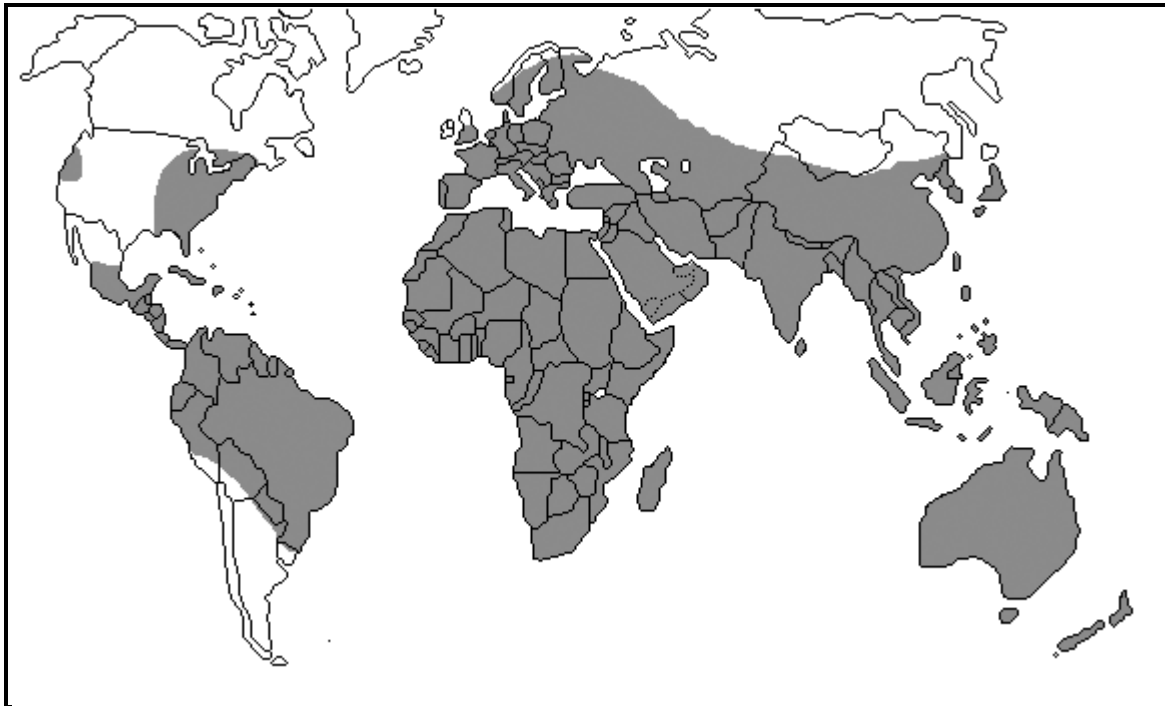
CHAPITRE I

RAPPEL BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. La famille de Thymelaeaceae

I.1.1. Généralités

Les Thymelaeaceae sont une petite famille de dicotylédones composée de quelque 1200 espèces réparties en 67 genres, Les membres de cette famille sont répandus dans les zones tropicales et tempérées de la planète, particulièrement en Afrique, et sont absents seulement dans les régions aux climats les plus froids [01].



Carte de répartition géographique des Thymelaeaceae [02].

Les Thymelaeaceae ont plusieurs utilisations, elles possèdent une importance économique non négligeable surtout dans les régions où elles poussent. Des espèces des genres *Daphne*, *Dais*, *Dirca* et *Pimelea* sont par exemple cultivées comme arbustes ornementaux aux fleurs parfois persistantes et généralement parfumées. L'écorce de plusieurs genres – particulièrement *Wikstroemia*, *Daphne*, *Edgeworthia* et *Thymelaea*, est utilisée pour la fabrication locale de papier. Dans certaines régions méditerranéennes, l'écorce des espèces de *Daphne* est utilisée pour étourdir chimiquement les poissons. Aux Antilles, *Lagetta linearia* Lam., ou « arbre à dentelle », fournit une écorce décorative [02, 03].

Les médecines traditionnelles d'un grand nombre de cultures utilisent des Thymelaeaceae pour la préparation de traitements d'une gamme très étendue de troubles. Les emplois comme émétique, purgatif, vésicant et pour le traitement de maladies de la peau, sont des exemples de

l'utilisation des effets toxiques de ces remèdes traditionnels. Dans ces applications, les doses sont cependant faibles, afin de favoriser l'effet bénéfique par rapport aux effets secondaires. Les bases de l'utilisation de ces plantes dans le traitement d'autres maux, tels que morsures de serpents, piqûres de scorpions, malaria et affections ophtalmiques, ne sont pas claires [01]

I.1. 2. Position systématique de la famille Thymelaeaceae [05, 06]

Règne	PLANTAE
Embranchement	spermatophyta
Sous-embranchement	angiospermae
Classe	eudicotyledonae
Sous-classe	rosidae
Ordre	malvales
Famille	Thymelaeaceae
Sous-Famille	Thymelaeoideae
Tribu	Gnidieae
Genre	<i>Thymelaea</i>

I.1.3. description botanique des Thymelaeaceae

Les Thymelaeaceae sont principalement des arbustes et leurs caractères morphologiques principaux sont les suivants [02]:

- feuilles : alternes (rarement opposées) ;
- fleurs : – régulières, gén. bisexuées, pièces florales normalement par 4 ou 5,
 - regroupées en racèmes, en capitules ou en fascicules,
 - en forme de coupe, le réceptacle creux formant un tube profond dont le bord porte généralement les pièces florales,

– sépales pétaloïdes, apparaissant comme une continuité du tube, étamines insérées dans le tube et corolle insignifiante ou absente,

– ovaire supère à style simple, fixé à la base du réceptacle, possédant 1 ou 2 (rarement 3 à 8) carpelles soudés, avec autant de loges renfermant chacune 1 ovule pendant axile ou pariétal ;

• fruit :

– akène, baie, drupe ou parfois capsule,

– graine possédant peu ou pas d'albumen, embryon droit.

I.1.4. Propriétés pharmacologiques du genre *Thymelaea*

I.1.4.1. Utilisation en médecine traditionnelle

La recherche bibliographique menée sur l'intérêt biologique des espèces du genre *Thymelaea* montre qu'elles ont des propriétés thérapeutiques et sont utilisées en médecine traditionnelle. Dans ce qui suit, nous allons citer quelques exemples d'espèces de très grande importance pharmacologique :

Des enquêtes ethnobotaniques ont montré que *T. lythroides* est très utilisée dans la médecine traditionnelle marocaine pour combattre différents maux : mal de la vessie et des reins, douleurs gastriques et intestinales, rhumatismes, migraines, conjonctivites, otites, certaines mycoses dermiques, traumatismes [09]. Il est traditionnellement utilisé en Tunisie comme antiseptique, anti-inflammatoire et pour le traitement de l'hypertension [07]. Au Maroc, la partie aérienne de *T. hirsuta* est utilisée comme décoction dans le traitement du diabète [08]. Par contre, en Algérie, *T. hirsuta* Endl. Il est recommandé par les herboristes dans le traitement de maladies humaines (Leishmanicide, vermifuge, eczéma) dans la région de M'Sila [10].

I.1.4.2. Quelques activités biologiques reconnues

L'activité et l'effet biologique de quelques espèces du genre *Thymelaea* sont résumés dans le tableau I.1.

Tableau n° I.1 : Propriétés thérapeutiques de quelques espèces du genre *Thymelaea*

Espèces	Effet et Activité biologique	références
<i>T. hirsuta</i>	activité anti-inflammatoire et une inhibition de l'induction de l'arthrite adjuvante	[11]
	activités antioxydantes	[12]
	Effet antidiabétiques et antihypertenseurs	[13]
	activités antioxydantes et antimicrobiennes	[32]
	Activités antioxydantes et antitumorales	[15]
	Effet anti mélanogénèse	[16]
	Activité anti hyperglycémique	[17]
	Inhibition de l'activité enzymatique du produit oncogène comme approche pour la chimioprévention du cancer	[18]
<i>T. microphylla</i>	Activités antioxydantes	[20]
<i>T. lythroides</i>	Activité antifongique	[21]

I.1.4.3. Etudes chimiques antérieures sur le genre *Thymelaea*

Les métabolites secondaires des plantes appartenant au genre *Thymelaea*, sont très nombreux et très variés, La plupart des produits naturels signalés et répertoriés dans le genre *Thymelaea*, appartiennent au grand groupe des composés polyphénoliques et plus précisément aux flavonoïdes et acides phénoliques. On retrouve également quelques composés de la famille des stérols, des lignanes et des coumarines.

I.1.4.3. A. Les flavonoïdes

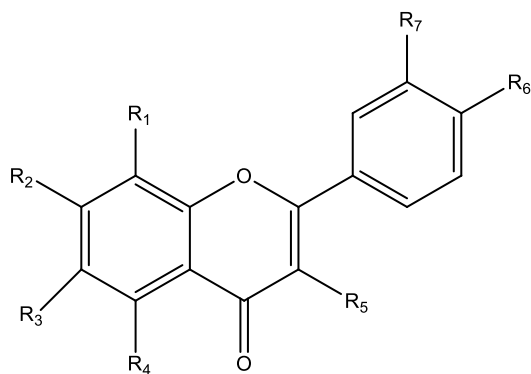
Au sens strict, les flavonoïdes sont définis comme étant des pigments végétaux quasiment universels (dans la plupart des végétaux), responsables de la coloration des fleurs, des fruits, parfois des feuilles. La coloration due à la présence de flavonoïdes est généralement la coloration jaune. Ils existent le plus souvent sous forme d'hétérosides dont la génine du 2-phényl chromane ou flavane.

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

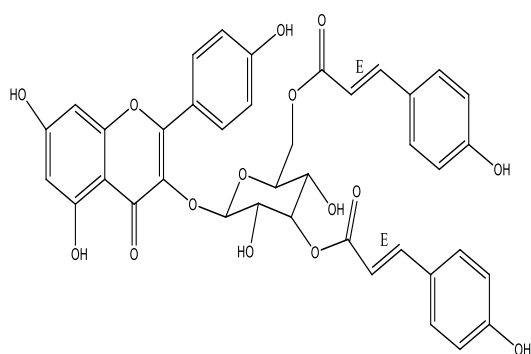
Tableau n ° I. 2: Les flavonoïdes isolés du genre *Thymelaea*.

Composés	Espèces	Références
Yuankanin (1)	<i>T. microphylla</i>	[20]
Ditiliroside (2)	//	[20]
Stenopalustroside A (3)	//	[20]
Tiliroside (4)	<i>T. lythroides</i>	[23]
Genkwanin (5)	<i>T. tartonraira</i>	[24]
Orientin (6)	//	[24]
Isoorientin (7)	//	[24]
Vitexin (8)	//	[24]
vicenin-2 (9)	//	[24]

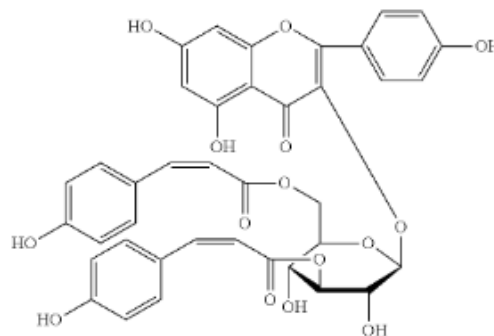
Kaempférol (10)	//	[24]
5-O-β-D-primeverosyl genkwanin (11)	//	[24]
Neochamaejasmin B (12)	<i>T. microphylla</i>	[25]
Neochamaejasmin A (13)	//	[25]
Daphnodorin B (14)	//	[25]
Genkwanol A (15)	<i>T. microphylla</i>	[25]
Stelleranol (16)	//	[25]



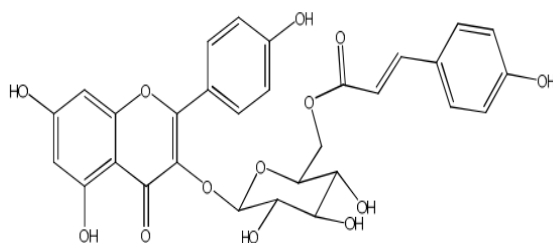
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇
1	H	OMe	H	Xylo- Glu	H	OH	H
5	H	OMe	H	OH	H	OH	H
6	Glu	OH	H	OH	H	OH	OH
7	H	OH	Glu	OH	H	OH	OH
8	Glu	OH	H	OH	H	OH	H
9	Glu	OH	Glu	OH	H	OH	H
10	H	OH	H	OH	OH	OH	H



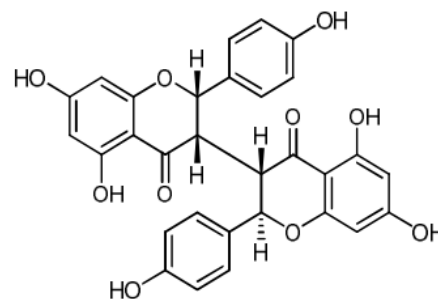
2



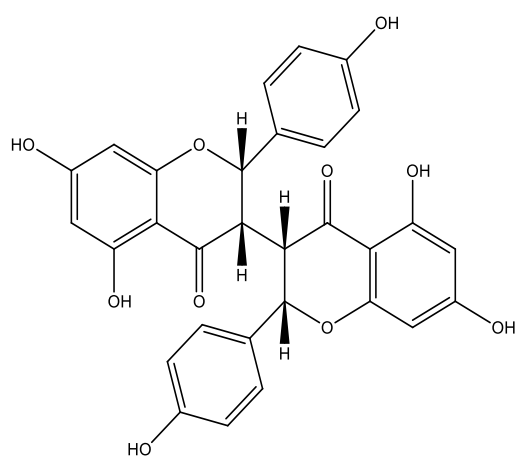
3



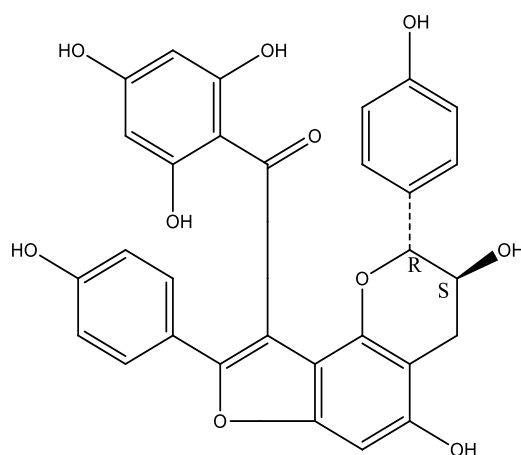
4



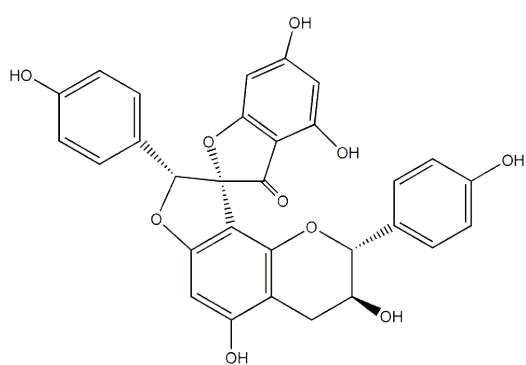
12



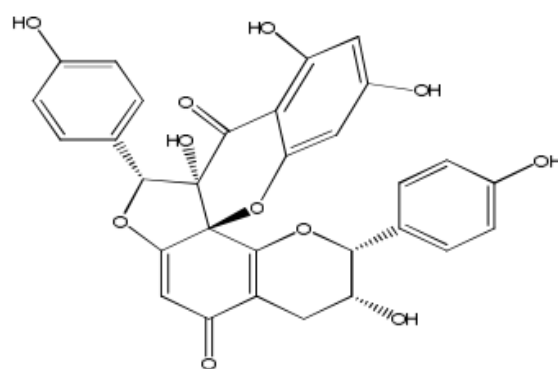
13



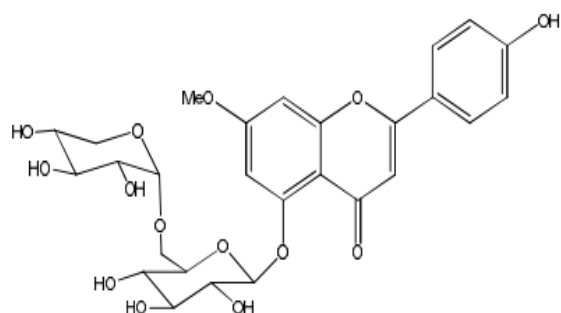
14



15



16



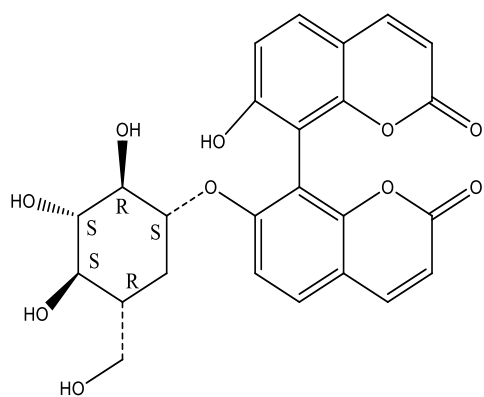
11

I.1.4.3. B. Les coumarines

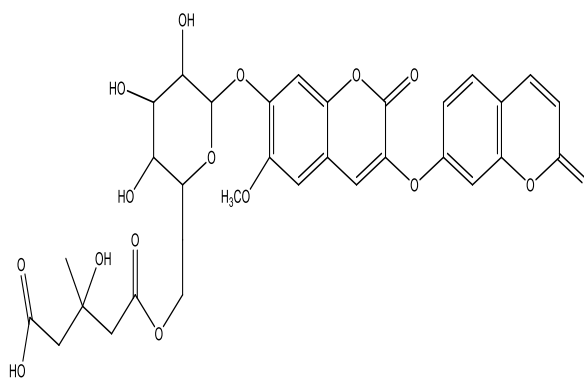
La coumarine est une substance naturelle organique aromatique connue dans la nomenclature internationale comme 2H-1-benzopyrane-2-one qui peut être considérée en première approximation, comme une lactone de l'acide 2-hydroxy-Z-cinnamique. Son odeur de foin fraîchement coupé a attiré l'attention des parfumeurs sur elle dès le XIX^e siècle. Quelques structures de coumarines isolées du genre *Thymelaea* sont reportées dans le tableau I.3.

Tableau n ° I.3: Les coumarines isolées du genre *Thymelaea*.

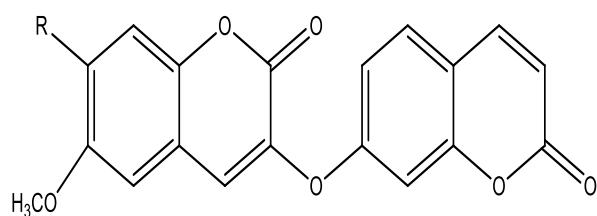
Composés	Espèces	Références
Giraldoid A (17)	<i>T. microphylla</i>	[20]
Coumarin (18)	<i>T. hirsuta</i>	[12]
	//	[28]
Daphnoretin (19)	<i>T. hirsuta</i>	[26]
	//	[27]
	<i>T. tartonraira</i>	[24]
Daphnorin (20)	<i>T. hirsuta</i>	[28]
6-O-methyl esculetin (21)	//	[28]
7-Hydroxycoumarine (22)	//	[28]
Aesculetin (23)	//	[28]
7,8-Dihydroxycoumarin (24)	//	[28]
Daphnoside (25)	//	[28]
daphnetin 8-O-β-D-glucoside (26)	//	[28]
Rutarensine (27)	<i>T. lythroides</i>	[23]



17

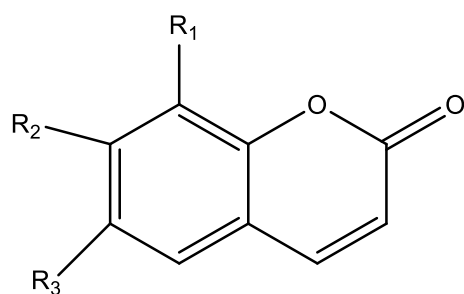


27



19 R= OH Daphnoretine

20 R= Glu Daphnorine



	R ₁	R ₂	R ₃
18	H	H	H
21	H	OH	OMe
22	H	OH	H
23	H	OH	OH
24	OH	OH	H
25	OH	Glu	H
26	Glu	OH	H

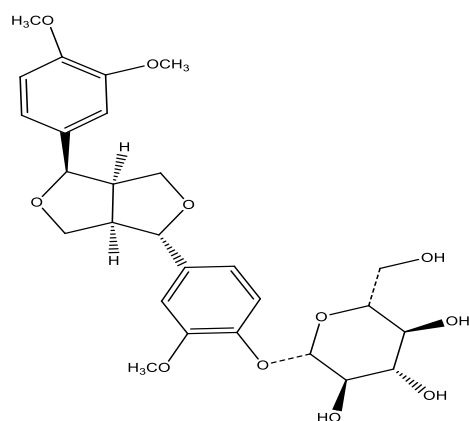
I.1.4.3. C. Les lignanes

Les lignanes sont des composés polyphénoliques qui ont des activités antioxydantes et anticancéreuses ainsi que de faibles activités estrogéniques et anti-oestrogéniques [37, 38].

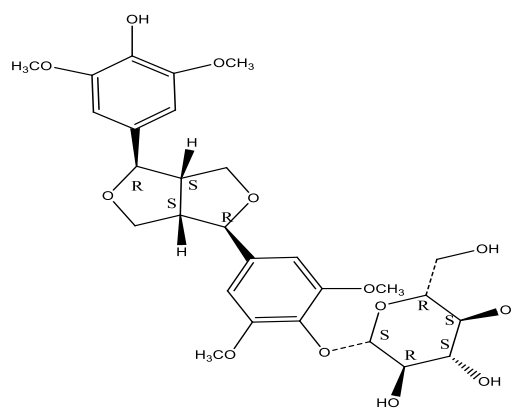
Le lin est la céréale la plus riche en lignanes [39]. Quelques structures de lignanes isolés d'espèces du genre *Thymelaea* sont reportées dans le tableau I.4.

Tableau n ° I.4 Lignanes isolés de genre *Thymelaea*.

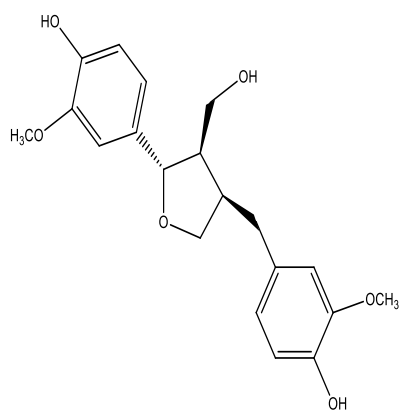
Composés	Espèces	Références
Phyllyrin (28)	<i>T. microphylla</i>	[20]
Syringaresinol-4-O-β-D-glucopyranoside (29)	//	[20]
lariciresinol-4''-O-β-D-glucopyranoside (30)	//	[20]
Matairesinol (31)	//	[25]
Pinoresinol (32)	//	[25]



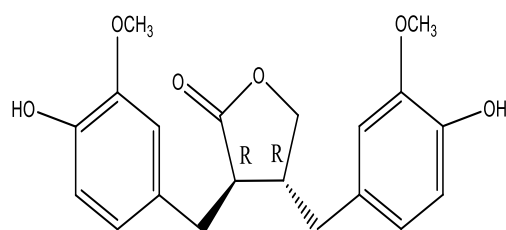
28



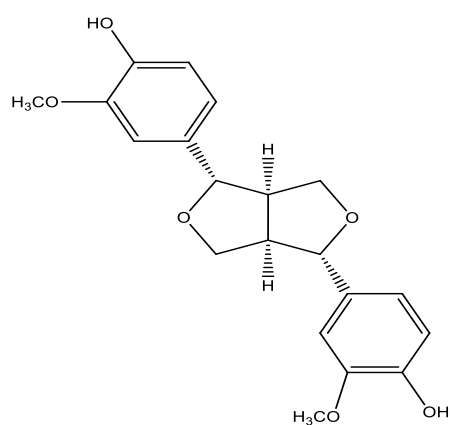
29



30



31



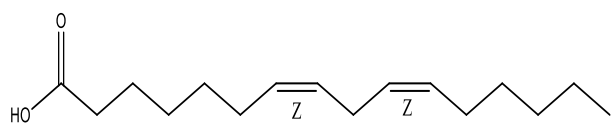
32

I.1.4.3. D. Les acides phénoliques

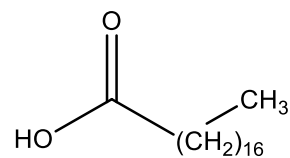
Un acide phénolique ou acide-phénol est un composé organique possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. La pratique courante en phytochimie consiste à réserver ce terme aux dérivés de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique. Quelques acides phénoliques isolés du genre *Thymelaea* sont reportés dans le tableau I.5.

Tableau n ° I.5: Les acides phénoliques isolés du genre *Thymelaea*.

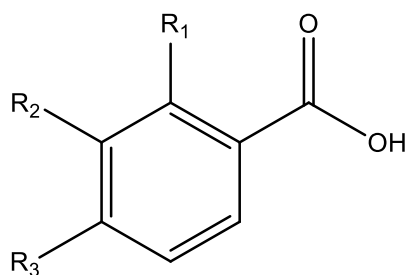
Composés	Espèces	Références
3,4-dihydroxybenzoic acid (33)	<i>T. microphylla</i>	[20]
octadecanoic acid (34)	<i>T. hirsuta</i>	[32]
9,12-octadecadienoic acid (9Z, 12Z) (35)	//	[32]
benzoic acid (36)	//	[32]
o-hydroxybenzoic acid (37)	//	[32]
m-hydroxybenzoic acid (38)	//	[32]
p-hydroxybenzoic acid (39)	//	[32]
vanillic acid (40)	//	[32]
p-hydroxyphenylacetic acid (41)	//	[32]
The caffeic acid (42)	//	[32]
alpha-linolenic acid (43)	//	[32]
hydrocinnamic acid (44)	//	[32]
ferulic acid (45)	//	[32]
p-coumaric acid (46)	// //	[32]
oleanolic acid (47)	<i>T. microphylla</i>	[33]



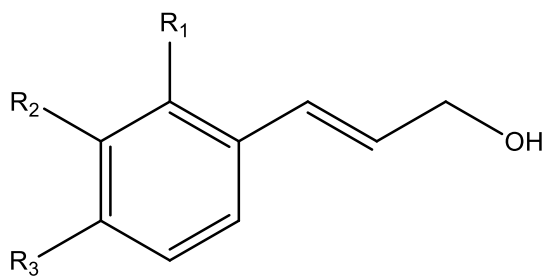
(35)



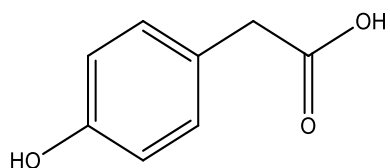
(34)



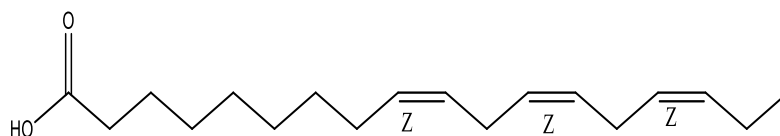
	R₁	R₂	R₃
(33)	H	OH	OH
(36)	H	H	H
(37)	OH	H	H
(38)	H	OH	H
(39)	H	H	OH
(40)	H	OMe	OH



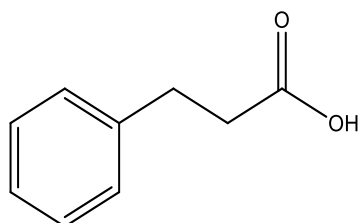
	R ₁	R ₂	R ₃
(42)	H	OH	OH
(45)	H	OMe	OH
(46)	H	H	OH



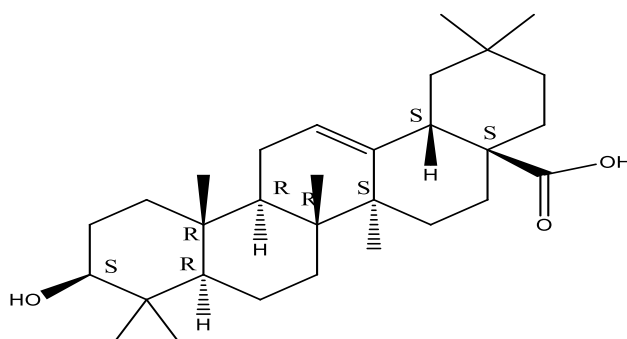
41



43



44



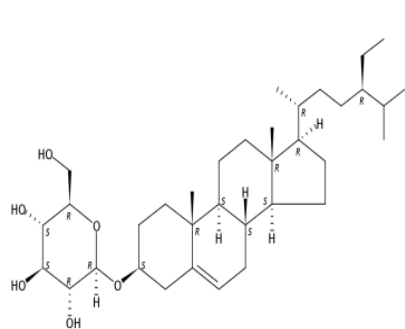
47

I.1.4.3. E. Les stérols

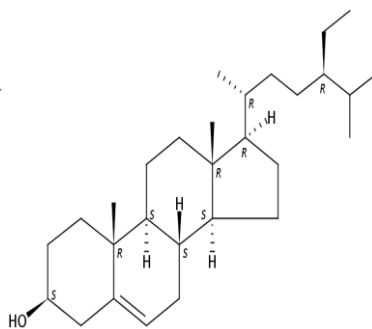
Les stérols sont un groupe de lipides composés d'une structure chimique particulière appelée noyau stérol. Les stérols sont présents chez les animaux et les végétaux. Ils sont des constituants essentiels des membranes des cellules. Quelques stérols isolés du genre *Thymelaea* sont reportés dans le tableau I.6.

Tableau n ° I.6: Les stérols isolés du genre *Thymelaea*.

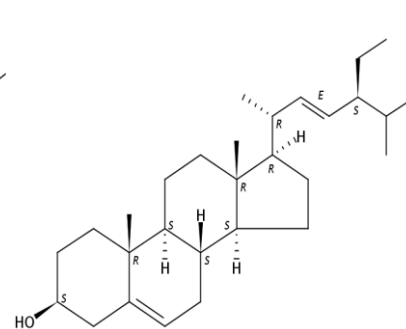
Composés	Espèces	Références
β -Sitosterol-3-O-glucoside (48)	<i>T. microphylla</i>	[33]
	<i>T. hirsuta</i>	[27]
β -sitosterol (49)	<i>T. microphylla</i>	[33]
	<i>T. hirsuta</i>	[34]
Stigmasta-5,22-dien-3-ol, (3 β ,22 <i>E</i>) (50)	//	[34]
	<i>T. passerina</i>	[29]
Campesterol (51)	<i>T. hirsuta</i>	[35]
Cholesterol (52)	//	[36]
Lanosterol (53)	//	[36]
Nimbosterol (54)	//	[36]



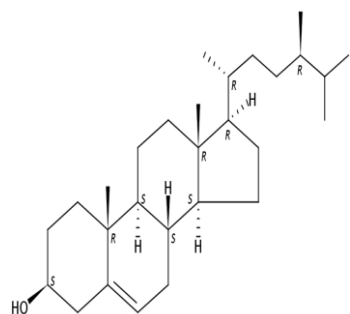
48



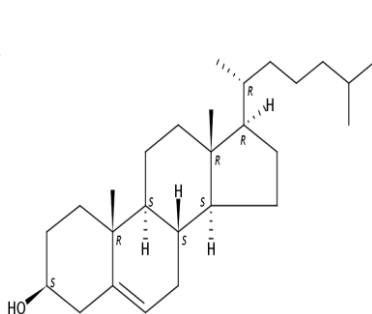
49



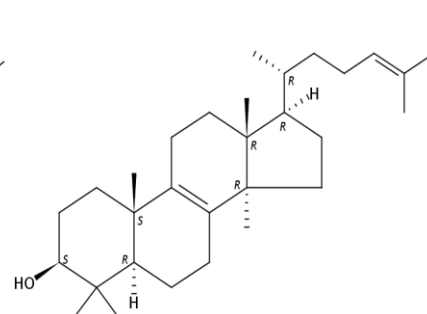
50



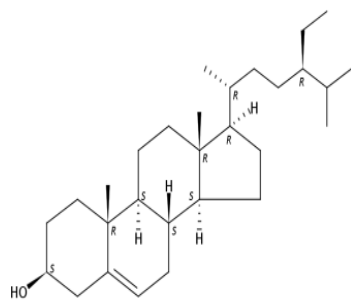
51



52



53

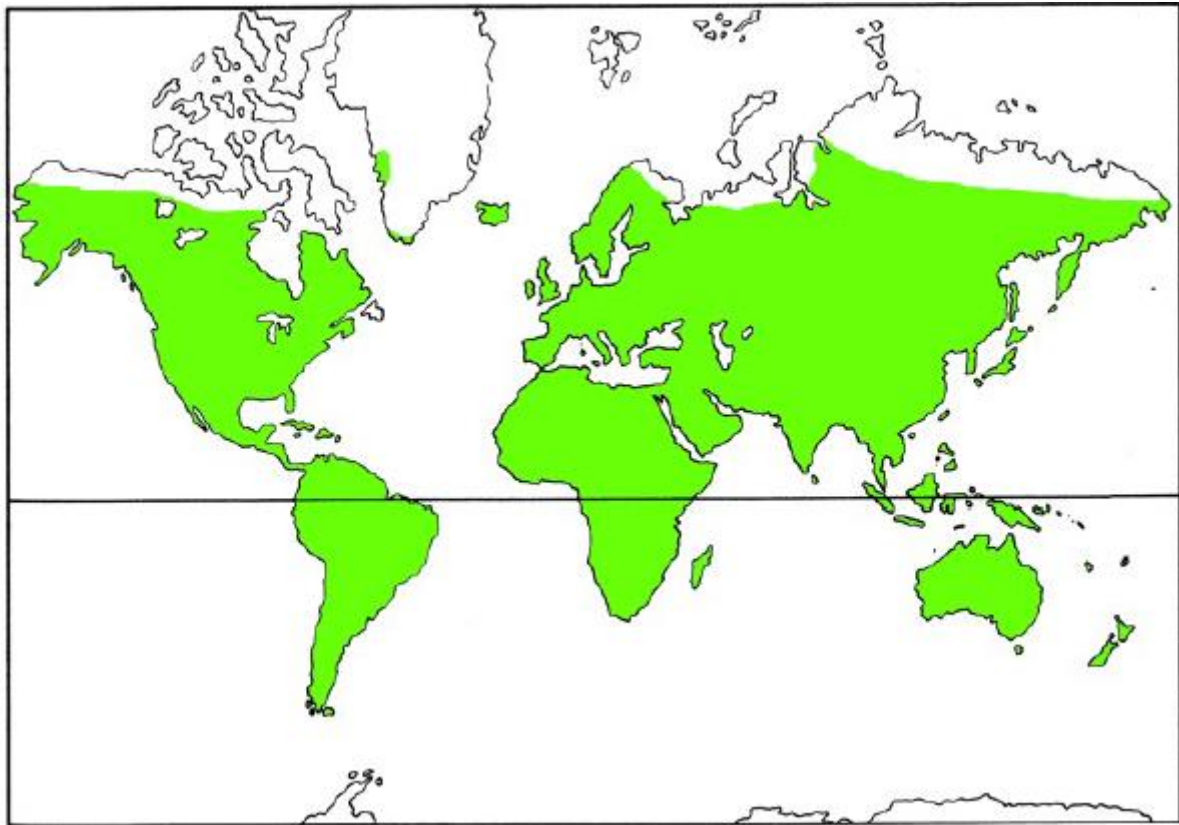


54

I.2. La famille Scrophulariaceae**I.2.1. Généralités**

La famille Scrophulariaceae est cosmopolite et se trouve principalement dans les régions tempérées de l'hémisphère nord. Elle comprend 190-220 genres dont le genre *Linaria* et de 2600 à 4000 espèces [40].

Ce sont des plantes herbacées, plus rarement des arbustes ou des arbres [41].



Distribution géographique des Scrophulariaceae

I.2.2. Description botanique

Les Scrophulariaceae sont généralement des herbes, des arbustes ou des lianes, rarement arbres, annuelles ou vivaces. Certains représentants sont héli-parasites sur les racines de leurs hôtes comme le *Rhinanthae*. Leurs feuilles sont alternes ou opposées, sans stipules. Le type de l'inflorescence est variable. Les fleurs sont cycliques, gamopetalous, hypogyne, bisexuées, zygomorphes, avec un calice persistant et une corolle plus ou moins bilabée, parfois stimulé ou actinomorphe.

Les étamines sont généralement didynamous et insérées sur la corolle, parfois accompagné par staminodes. L'ovaire est supérieur, bicarpellé, biloculaire, avec une stigmatisation de terminal. Le fruit est une capsule généralement sec, avec différents types de déhiscence ou, plus rarement, indéhiscent [42, 43].

I.2.3 Position systématique de la famille Scrophulariaceae

Super- embranchement	spermatophyta
Embranchement	angiospermae
Classe	eudicotyledonae
Sous-classe	asteridae
Ordre	lamiales
Famille	Scrophulariaceae
Tribu	Antirrhinae
Genre	<i>Linaria</i>

Position systématique des Scrophulariaceae [44].

I.2.4 Propriétés pharmacologiques du genre *Linaria*

I.2.4.1 Utilisation en médecine traditionnelle

Le genre *Linaria* est le plus connu de la famille Scrophulariaceae. Il inclut plusieurs espèces réputées pour leurs vertus thérapeutiques, *Linaria vulgaris* Mill., plante qui grandit en Bulgarie [45], employée en médecine populaire pour ses diverses propriétés: laxative, traitement des inflammations de la vessie, éruptions cutanées ainsi que les hémorroïdes [46]. Cette plante aussi qui se trouve dans le Nord-Est de la chine, est utilisée par la population locale dans le traitement de la toux, de l’asthme et comme expectorant [47].

Quelques autres utilisations d’espèces du genre *Linaria* ont été reportées dans la médecine populaire pour leurs diverses propriétés: antihémorroïdaire, traitement des blessures et des troubles vasculaires [48], laxatives, spasmolytique et anti- inflammatoire, cholagogue... [49].

I.2.4.2 Quelques activités biologiques reconnues pour les produits de *Linaria*

Le tableau I.7 reporte quelques activités biologiques reconnues pour des produits isolés du genre *Linaria*.

Tableau I.7: L'activité et l'effet biologique de quelques espèces du genre *Linaria*

plantes	produits	Effet et Activité biologique	références
<i>L. saxatilis</i>	Isolaridol	L'activité antitumorale (tumeur du poumon H-549) //	[50]
	isolinaritriol triacetate		
	15,16-diacetate of isolinaritriol		
	E-isolaridia		
	15,16-diacetoxy-12,13-15,16-diepoxy-ent-clerod-3-ene	des cellules d'adénocarcinome du côlon HT-29	[50]
	15,16-Diacetoxy-ent-cleroda-3,12E-diene		
	15-Acetoxy-11,15-epoxy-ent-cleroda-4(18), 12-dien-16-al		
<i>L. reflexa</i>	Isolarin A	une activité anti-proliférative	[51]
	pectolarigenin		
	Isolarin B		
	Linarin		

	Pectolarin		
<i>L. reflexa</i>	Linariin	Activité anti-AChE	[52]
	Isolinariin A		
	Isolinariin B		
<i>L. vulgaris</i>	p-Coumaric acid	inflammatoires et anti-allergiques	[53]
	Pectolarin		
	Linariin		
	Acacetin		
	Linaroside		
	Pectolarin	antitussif utile et anti-inflammatoire	[54]
	Luteolin		
	Acacetin		
	Pectolarigenin		
	Hispidulin		
<i>L. kurdica</i>	Antirrhinoside	Inhibition contre l'a-glucosidase	[55]
	le 5-O-allosylantir-rhinoside		
	Antirrhide		

I.2.4.3. Etudes chimiques antérieures sur le genre *Linaria*

I.2.4.3.A. Les flavonoïdes

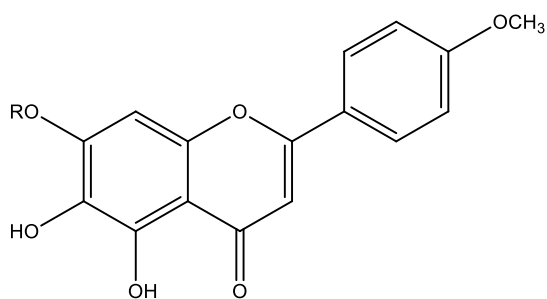
Le terme « flavonoïde » désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme les pigments quasiment universels des végétaux. Tous les flavonoïdes possèdent le même élément structural de base, à savoir l'enchaînement 2-phénylchromane [56]. Le genre *Linaria* a montré une richesse incontestée en flavonoïdes. Le tableau I.8 reporte quelques flavonoïdes isolés d'espèces du genre *Linaria*.

Tableau n ° I.8: les flavonoïdes isolés du genre *Linaria*.

Composés	Espèces	Références
apigenin (55)	<i>L. macroura</i>	[60]
	<i>L. canadensis</i>	[61]
	<i>L. reflexa</i>	[62]
Ladanein (56)	<i>L. aegyptiaca</i>	[63]
Scutellarein-4' -methyl ether (57)	<i>L. aeruginea</i>	[64]
Hispidulin (58)	<i>L. vulgaris</i>	[65]
Quercetin-7-O-rutinoside (59)	<i>L. canadensis</i>	[61]
Linaroside (60)	<i>L. kurdica</i>	[66]
	<i>L. sessilis</i>	[67]
Pectolinarigenin (61)	<i>L. vulgaris</i>	[65]
	<i>L. reflexa</i>	[62]
Acacetin-7-O-β- D - glucopyranoside (62)	<i>L. kurdica</i>	[66]
acacetin (63)	<i>L. aeruginea</i>	[64]
	<i>L. kurdica</i>	[66]
	<i>L. macroura</i>	[68]
	<i>L. vulgaris</i>	[65]

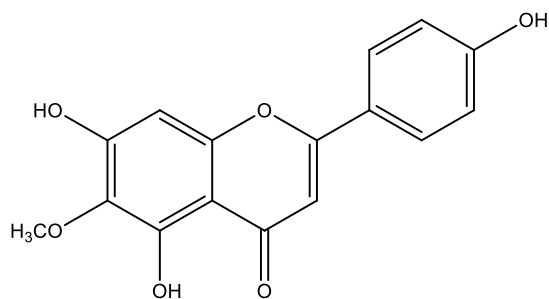
Diosmetin-7-O- β -D-glucoside (64)	<i>L. macroura</i>	[60]
Luteolin-7-O-glucuronide (65)	<i>L. canadensis</i>	[61]
Luteolin 7-O-glucoside (66)	<i>L. macroura</i>	[60]
	<i>L. canadensis</i>	[61]
Luteolin (67)	<i>L. macroura</i>	[60]
	<i>L. vulgaris</i>	[65]
	<i>L. canadensis</i>	[61]
Apigenin-7-O- β -D-glucoside (68)	<i>L. macroura</i>	[60]
Genkwanin-4'-O-rutinoside (69)	<i>L. canadensis</i>	[61]
Diosmin (70)	<i>L. macroura</i>	[60]
	<i>L. haelava</i>	[69]
Isolinariin B (71)	<i>L. reflexa</i>	[54]
Isolinariin A (72)	<i>L. japonica</i>	[71]
Linariin (73)	<i>L. vulgaris</i>	[72]
	<i>L. japonica</i>	[71]
	<i>L. aucheri</i>	[73]
	<i>L. reflexa</i>	[54]
	<i>L. kurdica</i>	[59]
Linarin (74)	<i>L. vulgaris</i>	[75]
	<i>L. japonica</i>	[71]
	<i>L. haelava</i>	[69]
	<i>L. kurdica</i>	[59]
Pectolinarin (75)	<i>L. vulgaris</i>	[75]
	<i>L. vulgariformis</i>	[76]
	<i>L. japonica</i>	[77]
	<i>L. kurdica</i>	[76]
	<i>L. haelava</i>	[69]

	<i>L. simplex</i>	[78]
Genkwanin (76)	<i>L. canadensis</i>	[61]
Diosmetin (77)	<i>L. macroura</i>	[60]
	<i>L. vulgaris</i>	[75]
	<i>L. canadensis</i>	[61]
Chrysin (78)	<i>L. vulgaris</i>	[79]
3,5-Di- <i>O</i> -methylkaempferol (79)	<i>L. dalmatica</i>	[80]
Quercetin (80)	<i>L. vulgaris</i>	[68]
Myricetin (81)	<i>L. macroura</i>	[60]
Aureusin (82)	<i>L. maroccana</i>	[81]
Hesperidin (83)	<i>L. vulgaris</i>	[82]

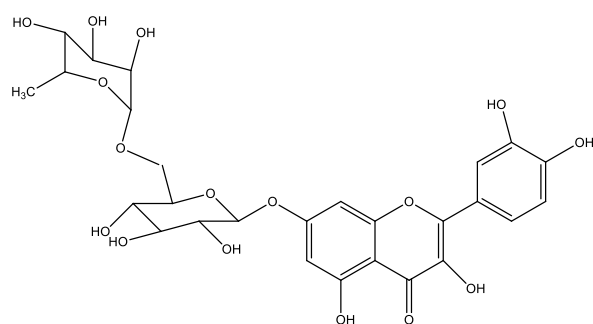


56 R=CH₃

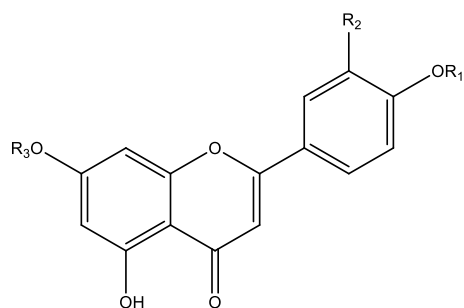
57 R=H



58



59



64 R₁=CH₃ R₂=OH R₃=Glu

65 R₁=H R₂=OH R₃=Glu A

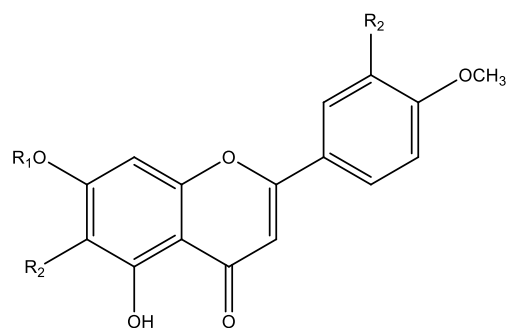
66 R₁=H R₂=OH R₃=Glu

67 R₁=R₃=H R₂=OH

68 R₁=R₂=H R₃=Glu

69 R₁=Rut R₂=H R₃=CH₃

70 R₁=CH₃ R₂=OH R₃=Rut

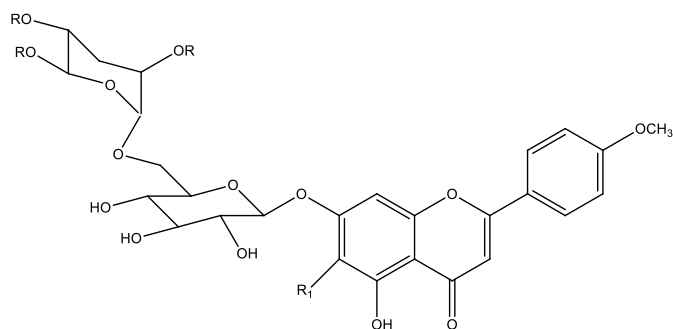


60 R₁=Glu R₂=OCH₃

61 R₁=H R₂=OCH₃

62 R₁=Glu R₂=H

63 R₁=R₂=H



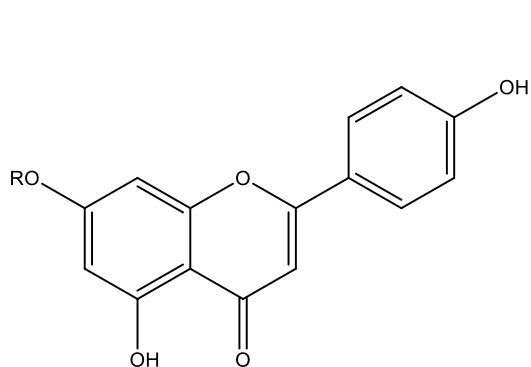
71 $R_1=OCH_3$ $R_2=R_4=H$ $R_3=Ac$

72 $R_1=OCH_3$ $R_3=R_4=H$ $R_2=Ac$

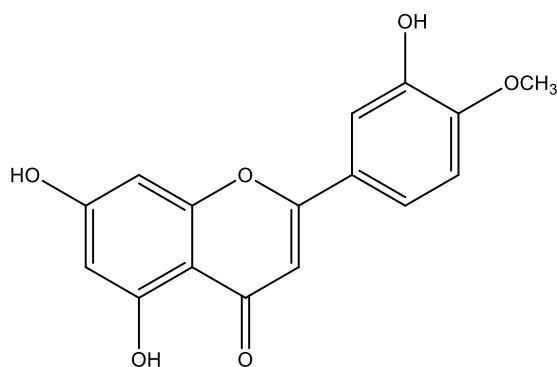
73 $R_1=OCH_3$ $R_2=R_3=H$ $R_4=Ac$

74 $R_1=R_2=R_3=R_4=H$

75 $R_1=OCH_3$ $R_2=R_3=R_4=H$

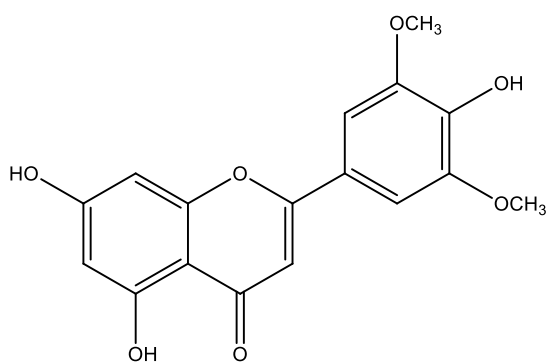


55 $R=H$

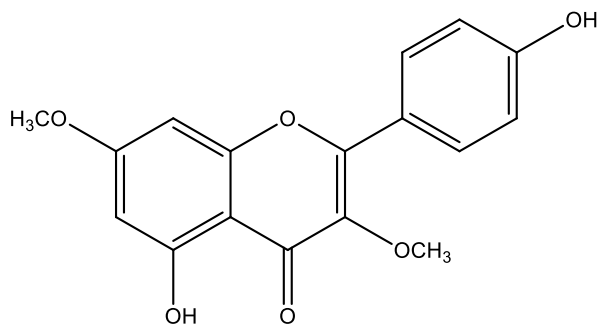


77

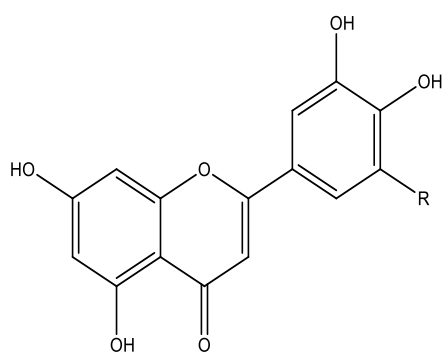
76 $R=CH_3$



78

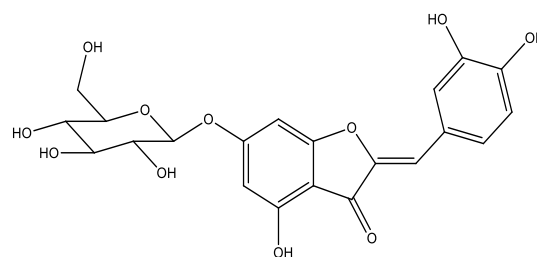


79

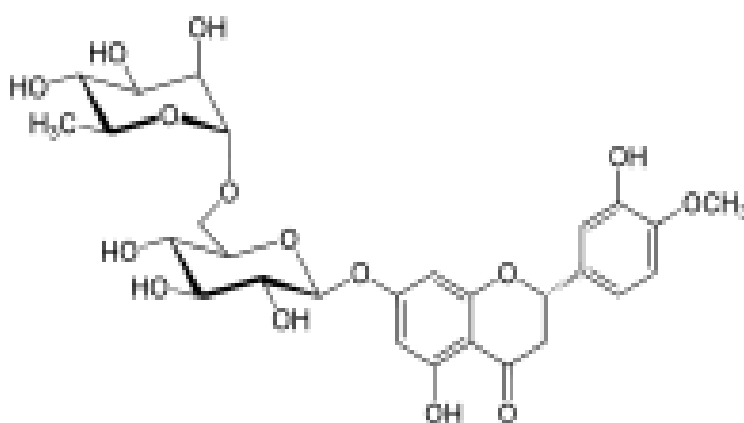


80 R=OH

81 R=OH



82



83

I.2.4.3.B. Les stéroïdes

Les stéroïdes représentent un ensemble de molécules dérivées du cholestérol ou de ses homologues particulièrement abondants dans les végétaux et les animaux. Cette classe de substances naturelles présente une sous-classe de triterpènes. Les quatre cycles sont désignés par les lettres A, B, C et D (Figure II ; 1. 1). Les travaux effectués sur des espèces du genre *Linaria* ont montré une bonne accumulation de ce type de molécules par ce genre. Le tableau I.9 reporte quelques stérols isolés d'espèces du genre *Linaria*.

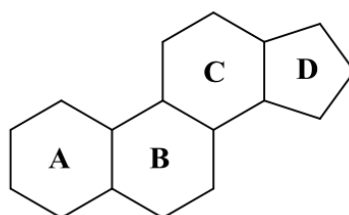
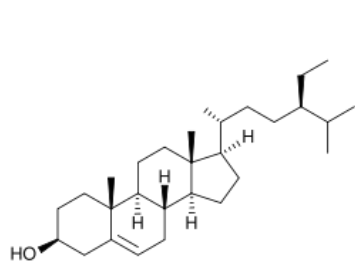


Figure I. 1 : Structure de base des stéroïdes

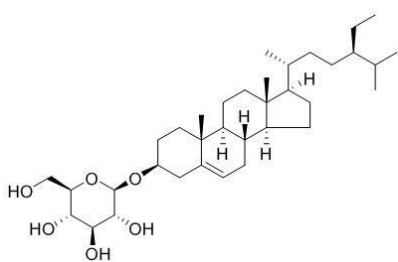
Tableau n ° I.9: Stéroïdes isolés du genre *Linaria*.

Composés	Espèces	Références
β -sitostérol (84)	<i>L. vulgaris</i>	[59]
Daucosterol (85)	//	[51]
Stigmasterol (86)	<i>Linaria sp</i>	[80]
6 β -hydroxystigmast-4-en-3-one (87)	<i>L. vulgaris</i>	[57]
3 β -hydroxy stigmast-5-en-7-one (88)	//	//
daucosterol palmitate (89)	//	//
5 α ,8 α -epidioxyergosta-6,22-diene-3 β -ol (90)	//	//
ergosta-7,22-diene-3 β , 5 α , 6 β -triol (91)	//	//
cycloart-25-ene-3 β -,24 1 –diol (92)	//	[14]
cycloart-23-ene-3 β , 25-diol (93)	//	//
Stigmastadienone (94)	//	[74]
9,19-cyclolanost-24-en-3-ol (95)	<i>L. multicaulis</i>	[19]
Fucosterol (96)	//	//
Campesterol (97)	//	//

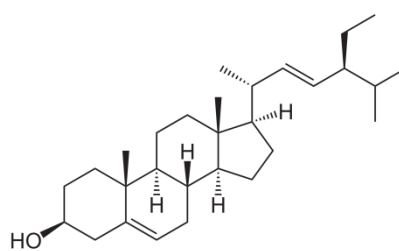
stigmasta-5,24-dien-3-ol (98)	//	//
Ergost-7-en-3 β -ol (99)	<i>L. aucheri</i>	[73]
stigmasta-5,22E-dien-3 β -ol (100)	//	//
stigmast-5-en, 24S-3 β -ol (101)	//	//



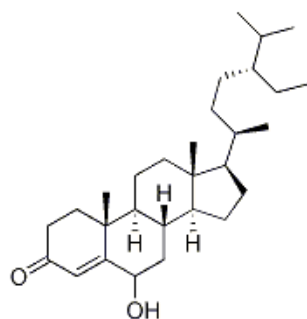
84



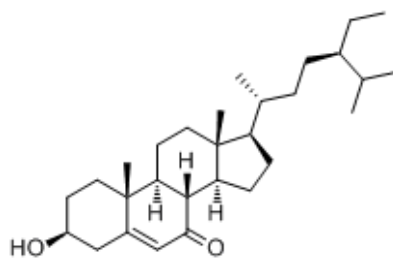
85



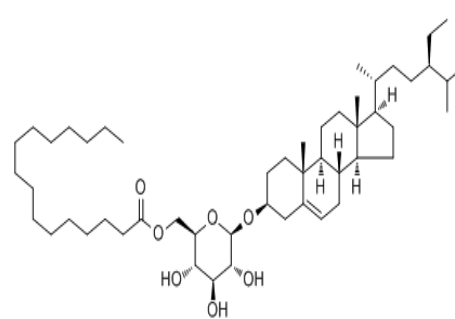
86



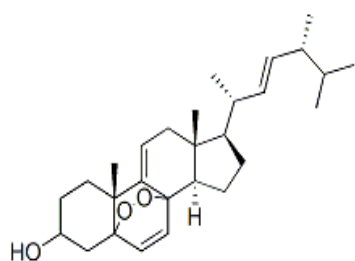
87



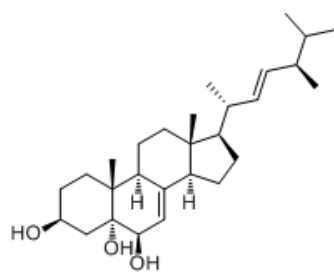
88



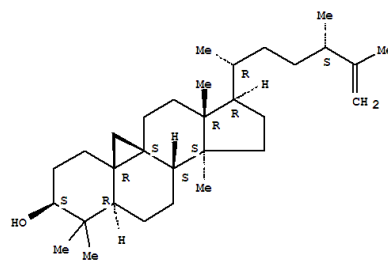
89



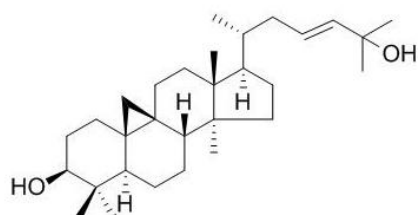
90



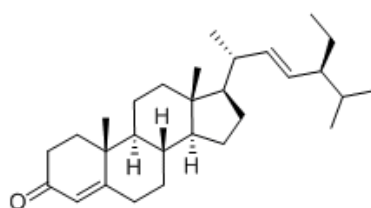
91



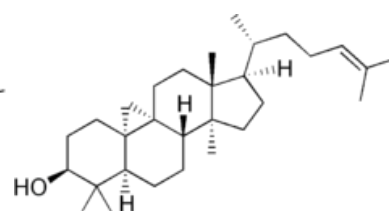
92



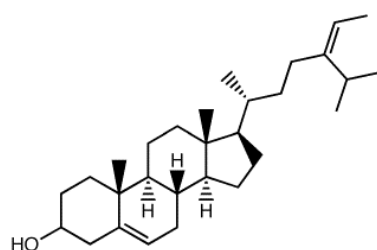
93



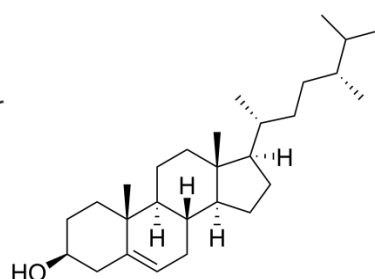
94



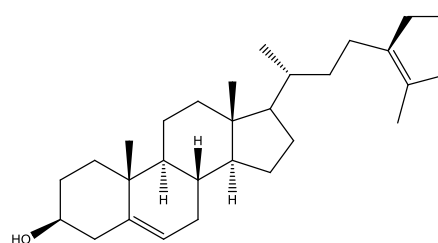
95



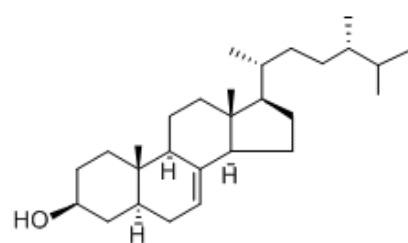
96



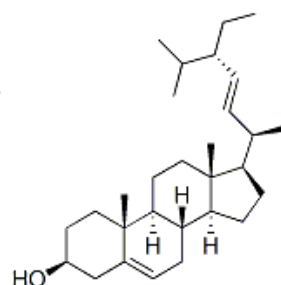
97



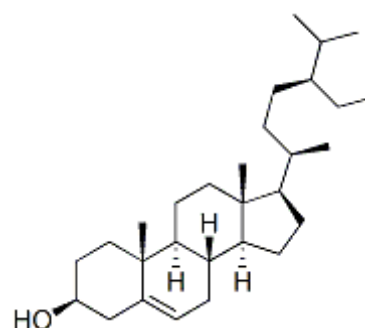
98



99



100



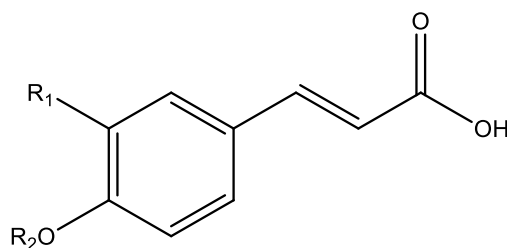
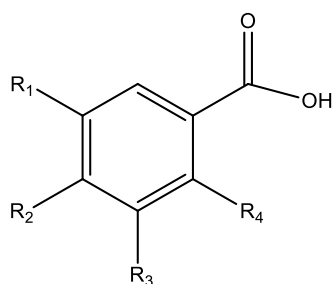
101

I.2.4.3.C. Les acides phénoliques

Les composés phénoliques ou polyphénols constituent une famille de molécules organiques largement présente dans le règne végétal [58], ce sont des métabolites secondaires, caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide [04]. Un nombre important d'acides phénoliques a été isolé du genre *Linaria*. Quelques molécules de ce groupe sont reportées dans le tableau I.10.

Tableau n ° I.10: Les acides phénoliques isolés du genre *Linaria*.

Composés	Espèces	Références
protocatechuic acid (102)	<i>L. vulgaris</i>	[30]
gallic acid (103)	//	[30]
p-hydroxybenzoic acid (104)	//	[30]
vanillic acid (105)	//	[30]
salicylic acid (106)	//	[30]
gluco-syringic acid (107)	//	[70], [79]
methoxybenzoic acid (108)	//	[79]
Caffeic acid (109)	//	[70], [79]
<i>p</i> -coumaric aci (110)	<i>L. vulgaris</i>	[79]
ferulic acid (111)	//	[70]
homoprotocatechuic acid (112)	//	[70]
<i>O</i> -hydroxyphenylacetic acid (113)	//	[70]
chlorogenic acid (114)	<i>L. macroura</i>	[60]



102 $R_1=R_2=OH, R_3=R_4=H$

109 $R_1=OH, R_2=H$

103 $R_1=R_2=R_3=OH, R_4=H$

110 $R_1=R_2=H$

104 $R_1=R_3=R_4=H, R_2=OH$

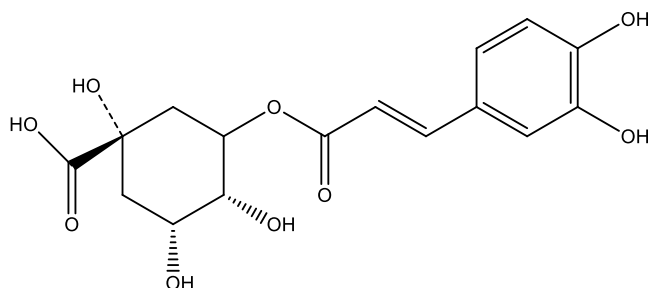
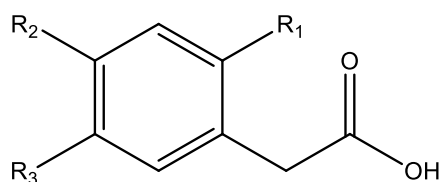
111 $R_1=OCH_3, R_2=H$

105 $R_1=OCH_3, R_2=OH, R_3=R_4=H$

106 $R_1=R_2=R_3=H, R_4=OH$

107 $R_1=R_3=OMe, R_2=OGlu, R_4=H$

108 $R_1=R_3=R_4=H, R_2=OCH_3$



112 $R_1=H, R_2=R_3=OH$

114

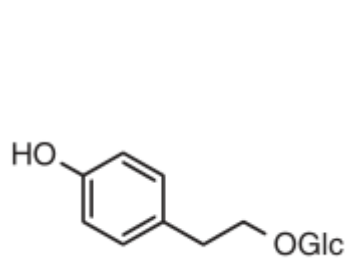
113 $R_1=OH, R_2=R_3=H$

I.2.4.3.D. Les composés phénoliques glycosylés

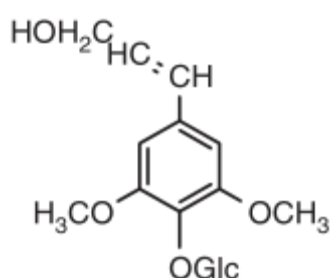
En chimie organique, les phénols sont des composés chimiques aromatiques portant une fonction hydroxyle-OH. Les dérivés portant plusieurs fonctions hydroxyle sont appelés des polyphénols. Un bon nombre de composés phénoliques glycosylés ont été isolés du genre *Linaria*. Quelques molécules de ce type sont reportées dans le tableau I.11.

Tableau n ° I.11: Quelques composés phénoliques glycosylés isolés du genre *Linaria*.

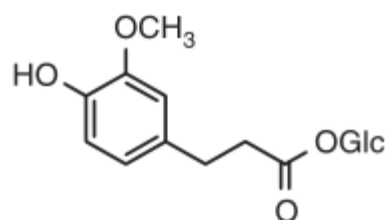
Composés	Espèces	Références
Salidroside (115)	<i>L. japonica</i>	[22]
Syringine (116)	//	[22]
β - D - glucopyranose-1-ferulate (117)	//	[22]
benzyl alcohol β - D -(2' -O- β -xylopyranosyl)-glucopyranoside (118)	<i>L. vulgaris</i>	[79]
benzyl alcohol O- β - D - glucopyranoside (119)	//	[79]
benzyl alcohol O- β - D -primveroside (120)	//	[79]
3,5-dimethyl-4-hydroxybenzaldehyde (121)	//	[79]
2,4-di-tert butylphenol (122)	//	[79]
Liriodendrin (123)	//	[79]
verbascoside (124)	<i>L. haelava</i>	[69]



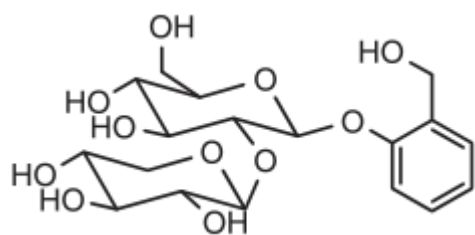
115



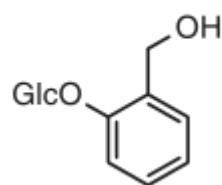
116



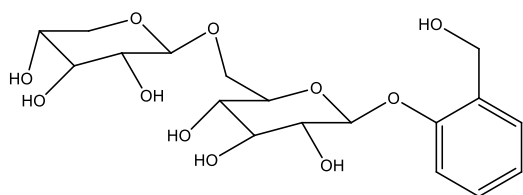
117



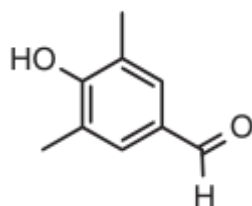
118



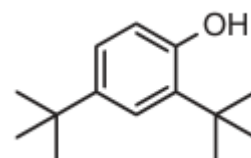
119



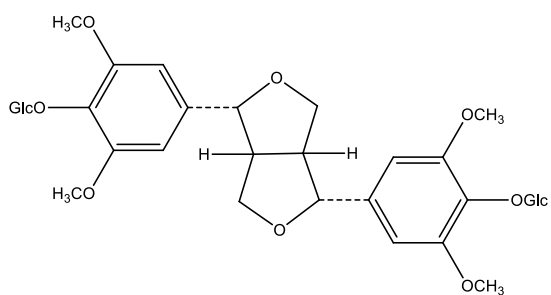
120



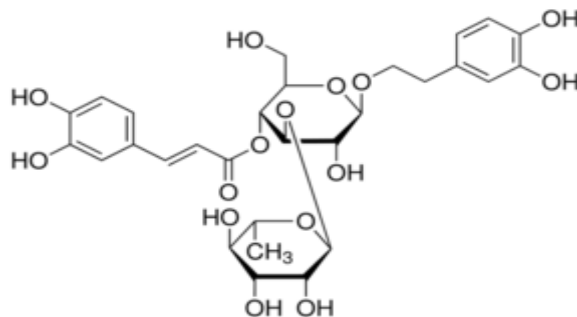
121



122



123



124

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [01] Borris, R.P., Blaskó, G., Cordell, G.A., **1988**, Ethnopharmacologic and phytochemical studies of the Thymelaeaceae, *J. Ethnopharmacol*, 24, 41-91
- [02] Heywood, V.H., **1996**, Les Plantes à Fleurs. *Editions Nathan*, Paris, pp. 159-160.
- [03] Watson, L., Dallwitz, M.J., dès **1992**, The Families of flowering plants: descriptions, illustrations, identification and information retrieval (version: 14th December 2000). <http://biodiversity.uno.edu/delta/>.
- [04] 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.
- [05] A.P.G., **1998**, An ordinal classification for the families of flowering plants, *Ann. Missouri Bot. Gard*, 85, 531-553.
- [06] Gilg, E., **1984**, Thymelaeaceae. In: Engler, A., Prantl, K. (eds.), Die natürlichen Pflanzenfamilien, Teil III, Abteilung 6a. Verlag von Wilhelm Engelmann, Leipzig, pp. 216-245.
- [07] Le Flo'h, E., **1983**, Contribution to an ethnobotanical study of the Tunisian Flora. 2 nd Ed. *Tunisian Scientific Publications*. French.
- [08] Ziyat, A., Legssyer, A., Mekhfi, H., Dassouli, A., Serhrouchni, M., Benjelloun, W., **1997**, Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental Morocco, *J. Ethnopharmacol*, 58: 45-54.
- [09] Dohou, N., Approches floristique, ethnobotanique, phytochimique et étude de l'activité biologique de *Thymelaea lythroides*. Thèse Doctorat. Botanique et Substances naturelles, Univ. Ibn Tofaïl, Fac. Sci. Kénitra, 2004, 158 p.
- [10] Boudjelal, A., Henchiri, C., Sari, M., Sarri, D., Hendel, N., Benkhaled, A., Ruberto, G., **2013**, *J. Ethnopharmacol*, 148 (2), 395-402.
- [11] Azza, Z., Oudghiri, M., **2015**, *Pharmacognosy Research*, 7(2), 213-216.
- [12] Amari, N., Bouzouina, M., Berkani, A., Lotmani, B., **2014**, From *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4(2), 104-109.
- [13] Bnouham, M., Benalla, W., Bellahcen, S., Hakkou, Z., Ziyat, A., Mekhfi, H., Aziz, M., Legssyer, A., **2012**, *Journal of Diabetes*, 4(3), 307-313.

- [14] Hua, H., Hou, B., Li, W., Li, X., Zhang, Y., **2000**, Triterpenes from butter-and-eggs (*Linaria vulgaris*), *Chin Tradit Herb Drugs*, 31:409–412. Chinese.
- [15] Akrouf, A., Gonzalez, Alarcon, L., El Jani, H., **2011**, Madrid, Pablo Campra, *Food and Chemical Toxicology*, 49(2), 342-347.
- [16] Kawano, M., Matsuyama, K., Miyamae, Y., Shinmoto, H., Kchouk, M. E., Morio, T., Shigemori, H., Isoda, H., **2007**, *Experimental Dermatology*, 16(12), 977-984.
- [17] Bnouham, M., Merhfouf, F. Z., Legssyer, A., Mekhfi, H., Maallem, S., Ziyat, A., **2007**, *Pharmazie*, 62(8), 630-632.
- [18] Abou-Karam, M., El-Shaer, N. S., Shier, W., **1998**, *Phytotherapy Research*, 12(4), 282-284.
- [19] Tundis, R., Deguin, B., Dodaro, D., Statti, G. A., Tillequin, F., Menichini, F., **2008**, Iridoid glycosides from *Linaria multicaulis* (L.) Miller subsp. multicaulis (Scrophulariaceae), *Biochem Syst Ecol*, 36:142–145.
- [20] Kerbab, K., Mekhelfi, T., Zaiter, L., Benayache, S., Benayache, F., Picerno, P., Mencherini, T., Sansone, F., Aquino, R., Rastrelli L., **2015**, *Natural product research*, 29(7), 671-675
- [21] Dohou, N., Yamni, K., Badoc, A., Douira, A., **2004**, Activité antifongique d'extraits de *Thymelaea lythroides* sur trois champignons pathogènes du Riz, *Bull. Soc. Pharm*, Bordeaux, 143(1-4), 31-38.
- [22] Otsuka, H., **1993**, a. Iridoid glucosides from *Linaria japonica*, *Phytochemistry*, 33:617–622.
- [23] Kabbaj, F. Z., Lai, D., Meddah, B., Altenbach, H.J., Cherrah, Y., Proksch, P., El Abbes F. M., Debbab, A., **2013**, From *Biochemical Systematics and Ecology*, 51, 153-155.
- [24] Garcia-Granados, A., Saenz de Buruaga, J. M., **1980**, From *Anales de Quimica*, Serie C: *Quimica Organica y Bioquimica*, 76(1), 96-7.
- [25] Ghanem, H., Haba, H., Marcourt, L., Benkhaled, M., Wolfender, J.L., **2014**, From *Natural Product Research*, 28(20), 1732-1738.
- [26] Saleh, M. R. I., Haddad, D. Y., Sarg, T. M., **1965**, From *J. Pharm. Sci. U. Arab Rep*, Volume Date 1963, 4, 49-56.
- [27] Rizk, A. M., Rimpler, H., **1972**, From *Phytochemistry* (Elsevier), 11(1), 473-5.
- [28] Rizk, A.F. M., Hammouda, F. M., Ismail, S. I., **1975**, From *Acta Chimica Academiae Scientiarum Hungaricae*, 85(1), 107-15.

- [29] George, V., Rishi, A. K., **1982**, From *Fitoterapia*, 53(5-6), 191-2.
- [30] Sokolowska-Wozniak, A., Szewczyk, K., Nowak, R., **2003**, Phenolic acids from the herb of *Linaria vulgaris* (L.) Mill, *Herba Pol.* 49:161–165.
- [31] Brooks, G., Evans, A. T., Aitken, A., Evans, F. J., Rizk, Abdul Fattah M., Hammouda, Faisal M., El-Missiry, Mustafa M., Ismail, Shams E., **1990**, From *Phytochemistry*, 29(7), 2235-7.
- [32] Trigui, M., Hsouna, A., Tounsi, S., **2013**, *J. Industrial Crops and Products*, 41, 150-157.
- [33] Cheriti, A., Sekkoum, K., **1995**, From *Acta Chimica Slovenica*, 42(3), 373-74.
- [34] Gharbo, S. A., Khafagy, S. M., Sarg, T. M., **1970**, From *United Arab Republic Journal of Pharmaceutical Sciences*, 11(1), 101-6.
- [35] Rizk, A. M., Hammouda, F. M., Ismail, S. I., **1974**, From *Planta Medica*, 26(4), 346-58.
- [36] Garcia-Granados, A., Saenz de Buruaga, A., **1980**, From *Anales de Quimica, Serie C: Quimica Organica y Bioquimica*, 76(1), 94-5.
- [37] Kurzer, M.S., **1995**, Dans : Flaxseed in Human Nutrition. S. C. Cunnane et L. U. Thompson (éd.). *Champaign, IL. AOCS Press*, p. 136-144.
- [38] Thompson, L.U., **2003**, Dans : Flaxseed in Human Nutrition, 2e édition, L.U. Thompson et S.C. Cunnane (éd.). *Champaign, IL. AOCS Press*, p.194-222.
- [39] Meagher, L.P., G.R. Beecher., **2000**, *J Food Compos. Anal.*, 13:935-947.
- [40] Spichiger, R. E., Savolainen, V.V., Figeat, M., **2000**, Botanique systématique des plantes à fleurs, *Presses Polytechniques et Universitaires Romandes*, Lausanne
- [41] Ozenda, P., **1958**, CNRS, Flore du Sahara Septentrional et Central : p386.
- [42] Heywood, V.H., **1993**, Flowering Plants of the World. Oxford University Press, New York
- [43] Philcox, D., **1990**, *Flora Zambesiaca*, London, 1-33.
- [44] The Manulae, **1994**, a tribe of Scrophulariaceae. Edinburgh University Press, Edinburgh, 1- 212.
- [45] Stojanov, N., Stefanov, B., kitanov, B., **1967**, *Flora Bulgarica*, part II, Nauka i iskustvo, Sofia, 959.
- [46] Stojanov, N., **1973**, *Our Medicinal Plants*, part II, Nauka i iskustvo, Sofia, 99.
- [47] Jiangsu College of New Medicine, "A Dictionary of the Traditional Chinese Medicines", **1977**, People's Hygiene Publisher, Beijing.
- [48] Ercil, D., Sakar, M.K., Del Olmo, E., San Feliciano, A., **2004**, *Turk. J. Chem*, 28,133.
- [49] Handjieva, N.V., Ilieva, E.I., Spassov. S.L., Popov, S.S., **1993**, *Tetrahedron*, 49 (41),

9261-9266.

[50] Gordaliza, M., Del Corral Jose, M.M., de la Puente, M.L., Garcia-Gravalos, M.D., San Feliciano, A., **1997**, Cytotoxic activity of neo-clerodane diterpenoids. *Bioorg, Med Chem Lett*, 7:1649–1654

[51] Tundis, R., Deguin, B., Loizzo, M. R., Bonesi, M., Statti, G.A., Tillequin, F., Menichini, F., **2005**, Potential antitumor agents: flavones and their derivatives from *Linaria reflexa Desf*, *Bioorg Med Chem Lett*, 15:4757–4760.

[52] Oinonen, P.P., Jokela, J.K., Hatakka, A.I., Vuorela, P.M., **2006**, Linarin, a selective acetyl cholinesterase inhibitor from *Mentha arvensis*, *Fitoterapia*, 77:429–434.

[53] Kelemen, L., Scedo, C., **2003**, Data about the polyphenol content of *Linaria vulgaris Mill* species. *Note I. Farmacia* (Bucharest, Romania) 51:86–89.

[54] Hua, H., Sun, J., Li, X., **1999**, Flavonoids from yellow toadflax (*Linaria vulgaris*), *Chin Tradit Herb Drugs*, 30:332–334. Chinese.

[55] Aydogdu, I., Zihnioglu, F., Karayildirim, T., Gulcemal, D., Alankus-Caliskan, O., Bedir, E., **2010**, a-Glucosidase inhibitory constituents of *Linaria kurdica sub sp*, eriocalyx. *Nat Prod Commun*, 5:841–844.

[56] Bruneton, J., **1999**, Pharmacognosie: phytochimie, plantes médicinales. Paris

[57] Hua, H., Li, X., Zhang, H., **2000**, Steroids from *Linaria vulgaris Mill*, *J Sheng Pharm Univ*, 17:40–42, 48. Chinese.

[58] Dave-Oomah. B, 2003, Bulletin IBP, numéro 1, Canada.

[59] Rzadkowska-Bodalska, H., Kowalczyk-Ohem, B., Lamer-Zarawska, E., **1996**, Chemical and biological investigation of lipophilic fraction of *Linaria vulgaris Mill*. (Scrophulariaceae), *Bull Pol Acad Sci Biol Sci*, 43:179–184.

[60] Degot, A.V., Fursa, N.S., Zaitsev, V.G., Chaika, E.A., Popova, T.P., Litvinenko, V.I., Kornievskii, Y.I., **1983**, Study of *Linaria macroura*, *Chem Nat Compd*, 3:388–389. Russian.

[61] Kouichi, M., Takashi, T., Isao, K., Toshihiro, F., Yuki, Y., Kanji, I., **2011**, New iridoid diesters of glucopyranose from *Linaria canadensis (L.) Dum*, *J Nat Med*, 65:172–175.

[62] Cheriet, T., Aouabdia, S., Mancini, I., Defant, A., Seghiri, R., Boumaza, O., Mekkiou, R., Sarri, D., Leo'n, F., Brouard, I., **2014**, Chemical constituents of *Linaria reflexa Desf*. (Scrophulariaceae), *Der Pharm Lett*, 6:54–57.

[63] Ferhat, M., Harkat, H., Lavaud, C., Haba, H., Long, C., Benkhaled, M., **2010**, Iridoids and flavonoid from *Linaria aegyptiaca (L.) Dum. Subsp, fruticosa*. *Biochem Syst Ecol*, 38:833–835.

- [64] Harborne, J.B., Valdes, B., 1971, Identification of scutellarein 4-O-methyl ether in *Linaria aeruginea*, *Phytochemistry*, 10:2850–2851.
- [65] Hua, H., Sun, J., Li, X., 1999, [Flavonoids from yellow toadflax (*Linaria vulgaris*)]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 30:332–334. Chinese.
- [66] Smirnova, L.P., Boryaev, K.I., Ban'kovskii, A.I., 1974, Acacetin and its glycosides in plants of the genus *Linaria*, *Chem Nat Compd*, 10:96–97. Russian.
- [67] Smirnova, L.P., Zapesochnaya, G.G., Ban'kovskii, A.I., Boryaev, K.I., 1974, Linaroside, a new flavonol glycoside from some species of *Linaria*, *Chem Nat Compd*, 10:249–250. Russian.
- [68] Pethes, E., Marczal, G., Kery, A., Petho, M., 1974, Flavonoids as biologically active agents and their occurrence in the Scrophulariaceae family, *Acta Pharm Hung*, 44:83–90.
- [69] Lahloub, M.F., 1992, Flavonoid, phenylpropanoid and iridoid glycosides of *Linaria haelava* (Forssk.) Dil, *Mansoura J Pharm Sci*, 8:78–95.
- [70] Hua, H., Cheng, M., Li, X., Pei, Y., 2002, A new pyrroloquinazoline alkaloid from *Linaria vulgaris*, *Chem Pharm Bull*, 50:1393–1394.
- [71] Otsuka, H., 1992, Isolation of isolinariins A and B, new flavonoid glycosides from *Linaria japonica*, *J Nat Prod*, 55:1252–1255.
- [72] Morita, N., Shimizu, M., Arisawa, M., Kobayashi, K., 1974, Medicinal resources. 37. Components of leaves of *Linaria japonica* and *L. vulgaris* (Scrophulariaceae), *J Pharm Sci*, 94:913–916.
- [73] Ercil, D., Sakar, M.K., Del Olmo, E., San Feliciano, A., 2004, Chemical constituents of *Linaria aucheri*, *Turk J Chem*, 28:133–139.
- [74] Rzadkowska-Bodalska, H., Kowalczyk-Ohem, B., Lamer-Zarawska, E., 1996, Chemical and biological investigation of lipophilic fraction of *Linaria vulgaris* Mill. (Scrophulariaceae), *Bull Pol Acad Sci Biol Sci*, 43:179–184.
- [75] Klobb, T., 1907, Two new glucosides: linarine and pectolinarine, *C R*, 145:331–334.
- [76] Kuptsova, L.P., Ban'kovskii, A. I., 1970, New flavonoid from some species of *Linaria*, *Chem Nat Compd*, 6:128–129. Russian.
- [77] Mun, G.S., Song, H. Y., Kim, I. G., 1979, Analysis of flavonoid-components of *Linaria Japonica* Mig, *Punsok Hwahak*, 3:28–32.
- [78] Ilieva, E., Khandzheva, N., Popov, S., 1992, Iridoid glucosides from *Linaria vulgaris*, *Phytochemistry*, 31:1040–1041.

- [79] Hua, H, Li, X., Xing, S. E., Pei, Y. H., **2005**, Chemical constituents of *Linaria vulgaris*, *Chin Pharm J* (Beijing, China), 40:653–656. Chinese.
- [80] Kapoor, R., Rishi, A. K., Atal, C. K., **1985**, A rarely methylated new flavonol aglycone from *Linaria dalmatica*, *Fitoterapia*, 56:296–297.
- [81] Harborne, J. B., **1966**, Comparative biochemistry of flavonoids. I. Distribution of chalcone and aurone pigments in plants, *Phytochemistry*, 5:111–115.
- [82] Guan, H.F., Liu, X. Q., Lan, Z., Wang, R. R., Hua, H., **2009**, Content determination of pectolinarin and hesperidin in *Linaria vulgaris subsp. sinensis* (Bebeaux) Hong by HPLC. *Sheng Pharm Univ*, 26:119–122. Chinese.

CHAPITRE II

LES MÉTABOLITES SECONDAIRES

II. 1. Métabolites secondaires des plantes**II. 1. 1. Introduction sur le métabolisme secondaire**

On désigne par « métabolite secondaire » toute substance présente chez un organisme et qui ne participe pas directement aux processus de base de la cellule vivante. Ce concept est historiquement attribué à Kossel [01] qui l'introduisit par opposition à celui de métabolites primaires, ces derniers étant directement impliqués dans les grandes voies du métabolisme basal de la cellule. Chez les végétaux, ces composés secondaires regroupent plusieurs dizaines de milliers de molécules différentes, généralement rassemblées en superfamilles chimiques telles que les polyphénols, les terpènes et stérols, les alcaloïdes, les polycétides, etc.

Outre, la très grande diversité chimique qu'ils représentent ces métabolites secondaires se caractérisent généralement par de faibles concentrations dans les tissus végétaux (généralement quelques pourcents du carbone total, si on exclut la lignine de cette catégorie) ainsi que par leur stockage souvent réalisé dans des cellules ou organes dédiés.

Pour ce qui concerne leurs fonctions chez les plantes, les métabolites secondaires exercent un rôle majeur dans l'adaptation des végétaux à leur environnement. Ils assurent des fonctions clés dans la résistance aux contraintes biotiques (phytopathogènes, herbivores, etc.) et abiotiques (UV, température, etc...). Sur le plan agronomique, le rôle de ces composés dans la protection des cultures est connu (résistance aux maladies cryptogamiques, aux infections bactériennes, à certains insectes), mais ceci a été relativement peu exploité en ce qui concerne le développement de variétés résistantes.

Ces métabolites secondaires constituent, aujourd'hui, un des leviers d'une possible intensification écologique de l'agriculture, en substituant notamment l'usage d'intrants chimiques par des mécanismes de défense naturelle des plantes. D'un point de vue pharmacologique, les métabolites secondaires constituent la fraction la plus active des composés chimiques présents chez les végétaux et on estime aujourd'hui qu'environ 1/3 des médicaments actuellement sur le marché contiennent au moins une telle substance végétale [02].

Cette efficacité pharmacologique des métabolites secondaires s'est traduite par le développement de médicaments majeurs dans les 30 dernières années, tel que le Taxotère® (Sanofi-Aventis), ou la Vinorelbine® (Pierre Fabre Médicaments) utilisés dans le traitement de certains cancers.

II. 1.2. Synthèse des métabolites secondaires chez les végétaux

De nombreuses familles de métabolites secondaires ont fait l'objet de recherches actives lors des 30 dernières années et certains processus de synthèse sont aujourd'hui bien décrits, comme dans le cas des flavonoïdes [03] des dérivés d'acide caféique [04], des coumarines et furocoumarines [05-07], des terpènes et stérols [08] ou de certains alcaloïdes [09]. Cependant, dans la mesure où les plantes élaborent des dizaines de milliers de composés secondaires, de nombreuses voies restent encore à découvrir aujourd'hui. L'organisation de la synthèse des métabolites secondaires est schématisée au travers de l'exemple des furocoumarines, molécules de défenses bien connues de la famille des Apiacées (céleri, persil, panais, etc...) [10].

D'une manière générale les stress environnementaux, qu'ils soient biotiques ou abiotiques, provoquent des cascades réactionnelles conduisant à la transcription de certains gènes appartenant à des superfamilles de « facteurs de transcription » (ex : MYB, MYC, WRKY, ORCA etc...). Lorsqu'ils sont transcrits, ces gènes vont générer la synthèse de protéines spécifiques qui déclencheront à leur tour l'activité transcriptionnelle d'autres familles de gènes codant pour des enzymes directement impliquées dans la synthèse des métabolites secondaires (ex : gène codant pour les enzymes PAL et C4H).

L'étude des voies de biosynthèse des métabolites secondaires suppose donc d'identifier les différentes molécules chimiques intermédiaires et de comprendre les fonctions des différentes enzymes ainsi que les processus de régulation associés.

II. 2. Les flavonoïdes**II. 2. 1. introduction**

Les flavonoïdes représentent une classe de métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. On attribue à ces flavonoïdes des propriétés variées: Antitumorales, Anticarcinogènes, Anti-inflammatoires Hypotenseurs et Antioxydantes [06]. Ils sont également connus pour moduler l'activité de plusieurs enzymes ou de récepteurs cellulaires. Le terme flavonoïde regroupe une très large gamme de composés naturels polyphénoliques.

On distingue différents types de noyaux : flavones, flavonols, flavanones, flavanonols, flavanes, flavan-3-ols, flavylum, chalcones, aurones, isoflavones, isoflavonols, isoflavanes, ptérocarpanes, coumaronochromones, 3-arylcoumarines, coumestanes, roténoïdes etc...

Les flavonoïdes ont tous une origine biosynthétique commune. Ce groupe de composés est défini par une structure générale en C₁₅, caractérisée par un enchaînement Ar-C₃-Ar.

II. 2.2. Définition

Le terme « flavonoïde » désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme les pigments quasiment universels des végétaux. Tous les flavonoïdes possèdent le même élément structural de base, à savoir l'enchaînement 2-phénylchromane (Fig. II.1) [11].

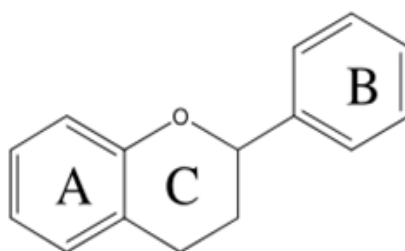


Fig. II.1: 2-phénylchromane

C'est chez les Angiospermes que la diversité structurale des flavonoïdes est maximale. Ils sont de façon très générale localisés dans les feuilles (dans l'épiderme ou entre l'épiderme et le mésophylle), dans les fleurs (cellules épidermiques) ou encore dans les fruits (tégument externe) [11].

II.2.3. Classification

Ils peuvent être regroupés en une douzaine de classes selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central, lequel peut-être ouvert et recyclisé en un motif furanique (dihydrofuranone). La Figure 2 illustre les principales classes de flavonoïdes.

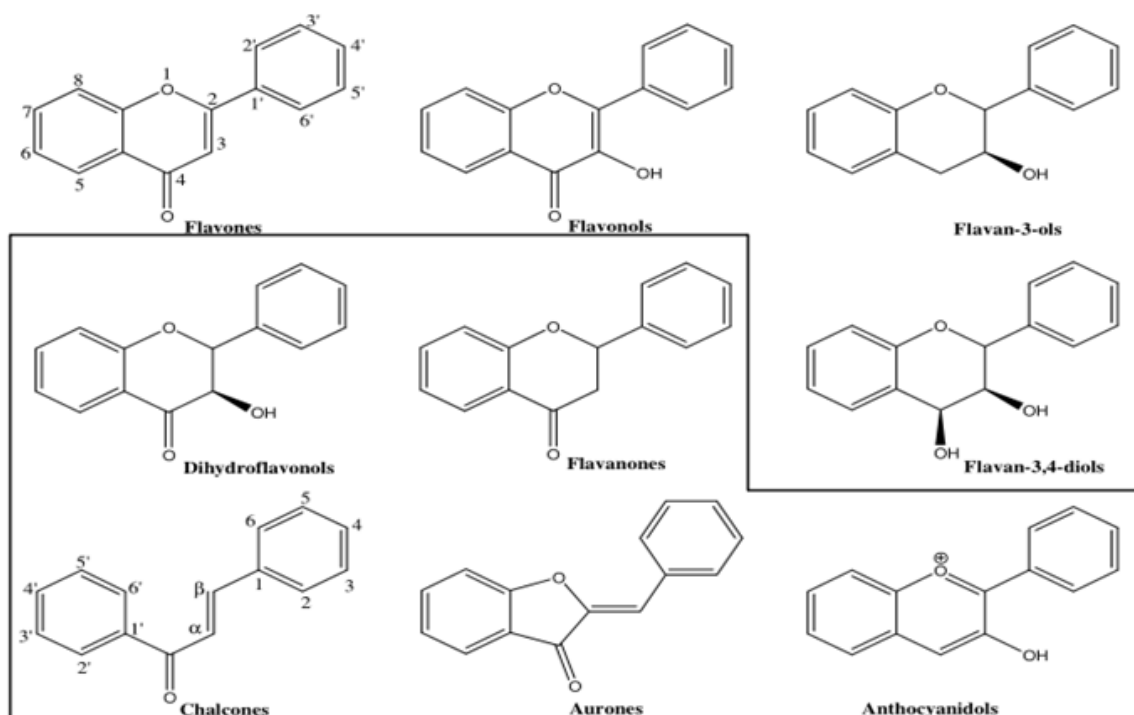


Fig. II.2: Les principales classes de flavonoïdes [10].

De façon générale, les flavonoïdes peuvent être hydroxylés en position 3, 5, 7, 3', 4', 5' et/ou 6'. Un ou plusieurs de ces groupes hydroxyles sont fréquemment méthylés, acétylés, prénylés ou sulfatés. Les formes libres, sans sucres attachés sont appelés les génines ou aglycones [10]. Les « flavonoïdes minoritaires » sont représentés par les chalcones, les dihydrochalcones, les aurones, les flavanones, les dihydroflavonols et les anthocyanidols (structures encadrées dans la Figure 2) [11].

II. 2.4. Biosynthèse des flavonoïdes :

Comme ça a été précisé auparavant, les flavonoïdes possèdent un squelette de base à 15 atomes de carbone. Ce dernier est constitué de deux cycles en C6 (A et B) reliés par une chaîne en C3, on parle alors de chalcones. Ces dernières représentent le précurseur commun de tous les autres flavonoïdes [12-14].

La chalcone est métabolisée sous l'action de la chalcone isomérase en flavanone : naringénine. C'est sur cette dernière qu'agit ensuite la flavone synthase ou la (2S)- flavanone 3-hydroxylase pour donner les flavones : apigénine, dihydroflavonol et (2R-3R) dihydrokaempférol respectivement.

Les deux enzymes citées fonctionnent différemment : la première introduit la double liaison entre les carbones 2 et 3, tandis que la deuxième catalyse l'hydroxylation du C-3. Le

dihydroflavonol en présence de la flavonol synthase ou la dihydroflavonol-4- reductase, se métabolise en flavonol, kaempférol ou en flavan-3,4-diol et leucoanthocyanidol respectivement [15, 16].

Toutes les voies métaboliques intervenant dans la biosynthèse des flavonoïdes peuvent être simplifiées comme schématisé dans la Figure 3.

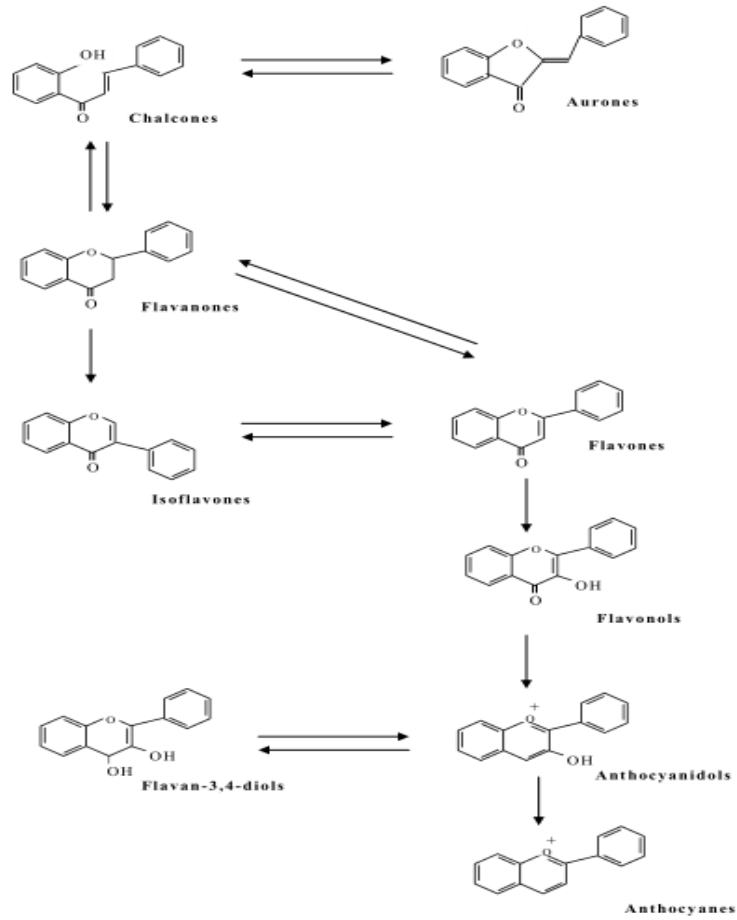


Fig. II.3: Biosynthèse de différentes classes de flavonoïdes [17].

II. 2.5. Propriétés chimiques et physiques de flavonoïdes

La nature chimique des flavonoïdes dépend de leur classe structurale, le degré d'hydroxylation, d'autres substitutions et les conjugaisons, et le degré de polymérisation. Ils varient dans la structure autour de l'anneau hétérocyclique de l'oxygène, mais ont tous la caractéristique C₆-C₃-C₆ [18].

Les activités biochimiques des flavonoïdes et leurs métabolites dépendent de leur structure chimique et l'orientation relative des divers fragments de la molécule. Les études sur les flavonoïdes par spectrophotométrie UV ont révélé que la plupart des flavones et de flavonols présentent deux grandes bandes d'absorption: la Bande I (320-385 nm) représente le cycle B tandis que la Bande II (250-285 nm) correspond au cycle A [19, 20].

les Groupes fonctionnels liés au squelette flavonoïde peuvent entraîner un changement dans l'absorption, comme vers 367 nm pour le kaempférol à cause de la présence des groupements hydroxyles dans les positions C-3, C-5, C-7 et C-4' ; à 371 nm dans la quercétine à cause de la présence de groupements hydroxyles dans les positions C-3, C-5, C-7, C-3' et C-4' et à 374 nm dans la myricétine à cause de la présence de groupements hydroxyles dans les positions C-3, C-5, C-7, C-3', C-4' et C-5' [19, 21].

La réactivité chimique élevée de flavonoïdes est exprimée dans l'affinité des liaisons aux polymères biologiques et métaux lourds des ions, et aussi dans la capacité de catalyser le transport des électrons et à piéger les radicaux libres [22].

Les flavonoïdes sont un groupe de composés phénoliques qui partagent une certaine structure commune caractéristique et des propriétés physico-chimiques, qui sont importants dans la détermination de leurs effets biologiques. [23].

Les flavonoïdes peuvent agir comme :

- ✓ Des antioxydants
- ✓ Un enzyme inhibiteur
- ✓ Des précurseurs de substances toxiques, et de fournir la résistance aux pathogènes. [23].

II. 2.6 .Stabilité des flavonoïdes

II. 2 .6 .A. Paramètres affectant la stabilité des flavonoïdes

Les paramètres qui peuvent agir sur la stabilité des flavonoïdes sont : la lumière, le pH, la température, la nature du solvant, la présence d'enzyme. Ainsi, une élévation de la température et du pH, la présence d'ions métalliques favorisent la dégradation des flavonoïdes. En effet, la stabilité est plus faible à des pH basiques en raison d'une augmentation de l'oxydation de ces molécules due soit à une déprotonation de ces composés (diminution du potentiel d'oxydation), soit à une stabilisation de l'oxydant (anion superoxyde). La nature du solvant affecte le mécanisme de dégradation des flavonoïdes. En effet, lors de l'étude de la dégradation de la quercétine par le DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydraxyl), Fargeix (2000) [25] a observé la formation de produits différents en milieu protique et aprotique. De même, Tommasini et al. (2004) [24] ont rapporté, lors de l'étude de la photostabilité de la 3-hydroxyflavone, des voies de dégradation différentes selon la nature du solvant avec une amélioration de la stabilité en présence de cyclodextrines.

II. 2. 6. B. Autoxydation des flavonoïdes

Les cinétiques et les mécanismes d'oxygénation des flavonoïdes ont été étudiés par Fargeix(2000) [25] Balogh-hergovich et Speier (2001) (28), [26] Mochizuki et al. (2002) [27]. Cependant, le pH, la présence d'ions métalliques affectent l'auto-oxydation de la catéchine en milieu aqueux [26]. Les produits formés au cours de l'auto-oxydation sont très variables mettant en évidence différentes voies de dégradation selon la nature du flavonoïde et des conditions de conservation (figure I.04).

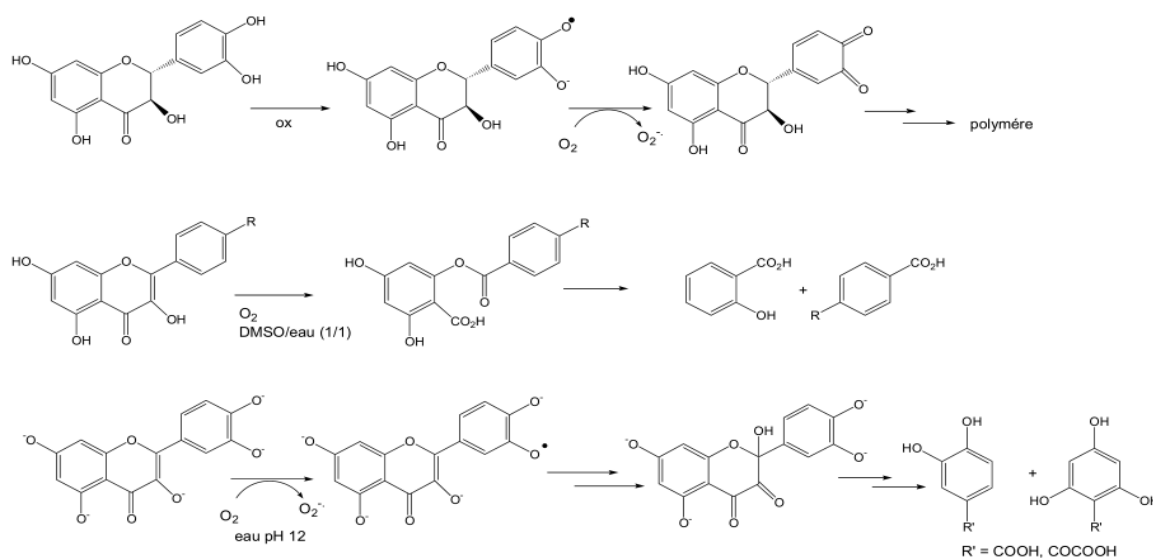


Fig. II.4: Les différentes voies de dégradation des flavonoïdes.

II. 2.6.C. Effet de la structure du flavonoïde sur la stabilité

La stabilité des flavonoïdes est affectée par la nature du flavonoïde et la présence de substituants (glycosylation, acylation, polymère). En effet, Friedman et Jurgens (2000) [28] ont observé que la stabilité des flavonoïdes et de certains acides aromatiques, vis-à-vis du pH, est plus élevée que dans le cas d'autres composés phénoliques en raison d'une stabilisation accrue par résonance des intermédiaires de type phénoxy et quinoïque. Il a été aussi reporté que la stabilité des flavones à la lumière est plus importante que celle des flavonols [29].

Ainsi, l'absence d'un groupe hydroxyle libre en position 3 sur les flavones a un effet positif sur la stabilité en particulier à la lumière. Les flavones et les flavonols glycosylés en position 3 sont donc moins réactifs. En ce qui concerne l'hydroxylation, Markris et Rossiter (2002) [30] n'ont pas observé d'effet sur la stabilité en comparant les mécanismes de dégradation de la quercétine et de la morine. Par contre, le mécanisme de dégradation à la température de la génisteine et de la daidzeine est différent [31].

D'autre part, Smith et al. (2000) [29] et Makris et Rossiter (2000) [30] ont comparé des molécules aglycones à des glycosylées et ils ont reporté respectivement que la quercétine 3-galactoside et la rutine ont une photostabilité et une thermorésistance plus élevée que la quercétine. L'effet de l'acylation sur la stabilité des flavonoïdes a été étudié par Perrier et al. (1998) [32] et Svehlikova et al. (2004) [33].

Ils ont observé respectivement que la stabilité vis-à-vis de la température, de la lumière et du pH de l'hespéritine, l'isoquercitrine, l'apigénine-7-glucoside a été améliorée par l'introduction de groupements dodécanoate, aromatiques, acétate et malonate. L'effet de l'acylation par les acides aromatiques sur la stabilité a été attribué à des interactions de type hydrophobe intra et/ou intermoléculaire ou à un π - π stacking entre la partie génine du flavonoïde et la partie acyle. L'effet de la polymérisation sur la stabilité de l'épicatéchine a été décrit par Zhu et al. (2002) [34].

II. 2.7. Sources naturelles des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont le groupe le plus courant des composés phénoliques diffusés dans les plantes, ils sont produits pratiquement dans toutes les parties de la plante, en particulier dans les cellules végétales de la photosynthèse. Ils font partie intégrante des deux alimentations humaine et animale [36, 35].

Les flavonoïdes ne peuvent pas être synthétisés par l'homme et les animaux [19]. Les flavonoïdes trouvés chez les animaux sont considérées comme originaires des plantes

consommés par les animaux au lieu d'être biosynthétisés localement. Plus de 5000 différents flavonoïdes d'origine végétale ont été isolés de diverses plantes [19].

Ils sont classés en au moins 10 groupes chimiques comme les Flavanones, les flavones, les isoflavones, flavanes (flavanols), anthocyanes, flavonols, et sont particulièrement communs dans l'alimentation [19, 37, 38], comme indiqué dans le tableau 1. Les flavonols sont les flavonoïdes les plus abondants dans les aliments avec notamment la quercétine, le kaempférol et la myricétine. Les flavanones se trouvent principalement dans les agrumes les fruits et les flavones sont également bien accumulées par certaines plantes notamment le céleri.

Les catéchines sont présents en grande quantité dans les thés verts et noirs, et dans le vin rouge, alors que anthocyanes se trouvent dans les fraises et autres fruits. Les isoflavones se trouvent presque exclusivement dans les légumineuses notamment les aliments à base de soja. Les flavonoïdes sont un composant majeur de la coloration de la floraison plantes, qui se trouvent dans tous les aliments végétaux [39].

Les Flavonoïdes dans la nourriture sont généralement responsables de la couleur, du goût, de la prévention de l'oxydation des graisses, et la protection des vitamines et des enzymes.

Tableau II.1 : Les principaux sous-groupes de flavonoïdes et leur source alimentaire.

sous-groupe	couleur	flavonoïdes représentatifs	Les sources alimentaires
Les anthocyanes	bleu, rouge, violettes	Cyanidine	fruits et fleurs
Flavanols	incolore	catéchines, gallocatéchine, l'épicatéchine, épigallocatéchine gallate	Pommes, houblon, thé, bière.
	Jaune	Procyanidine théaflavine	vin, jus de fruits thé noir.
flavanones	Incolore	hespéridine	fruits agrumes
	Pale	naringénine	cumin oranges,, pamplemousses, menthe poivrée
	jaune	néohespéridine	
Flavones	jaune pâle	apigénine, chrysine, lutéoline,	les céréales, Herbes, les fruits, le persil.
		Diosmétine, lutéoline	
Les isoflavones	Incolore	Daizeine, la génistéine, la glycitéine, formononétine	légumineuses (soja par exemple)

II. 2.8. Les flavonoïdes présents dans les aliments

Au niveau des aliments, les flavonoïdes trouvés dans les montants les plus élevés dans l'alimentation humaine renferment les isoflavones de soja (génistéine, daidzéine, la biochanine A), flavonols (quercétine, myricétine, kaempférol), et les flavones (apigénine et lutéoline) [40]. Les niveaux de flavonoïdes individuels et totaux dans les aliments sont influencés par des facteurs génétiques tels que les espèces, conditions de l'environnement telles que la lumière, la maturité [37, 41, 42].

La présence de flavonoïdes dans les aliments varie d'un élément alimentaire à un autre, à titre d'exemple, et bien que la plupart des fruits et certaines légumineuses contiennent des catéchines, les niveaux varient de 4,5 mg / kg dans les kiwis à 610 mg / kg dans le chocolat noir [43]. Pour le quercétine, le niveau de ce dernier dans les parties comestibles des légumes est généralement inférieur à 10 mg / kg [44, 45]. Dans le thé noir, la quercétine varie de 10 à 25 mg / l, tandis que le kaempférol et myricétine varient de 7 à 17 mg / l et de 2 à 5 mg / litre, respectivement. Le thé est la seule boisson qui contient la gallocatéchine (GC), l'épigallocatechine (EGC), l'épicatéchine gallate (ECG), et le gallate d'épigallocatechine (EGCG), en plus de catéchine et l'épicatéchine (CE) [46].

Le thé vert a le plus haut niveau de composés phénoliques parmi les aliments, pouvant aller jusqu'à 35% de la matière sèche [37].

II. 2.9. Les flavonoïdes et leurs avantages pour la santé

Les flavonoïdes sont des antioxydants phénoliques d'origine naturelle qui sont présents dans l'alimentation humaine. Ils contribuent aux propriétés antioxydantes des légumes verts, des fruits, du vin rouge et du chocolat.

Les flavonoïdes ont été signalés pour posséder une variété d'activités biologiques, y compris les anti-allergique, anti-inflammatoire, antivirale, antiproliférative [47]. Les flavonoïdes ont reçu une attention considérable en raison de leurs effets bénéfiques comme antioxydants dans la prévention des maladies humaines telles que le cancer, les maladies cardio-vasculaires et certains troubles pathologiques, les ulcères gastriques et duodénaux, les allergies, la fragilité vasculaire et les infections virales et bactériennes [40]. Dans l'ensemble, les flavonoïdes ont montré un large éventail de propriétés pharmacologiques [40, 47].

II. 3. Les coumarines

II. 3.1. Introduction

Les coumarines (benzopyran-2-ones) constituent une classe importante des composés naturels, ils sont largement utilisés dans la parfumerie, la cosmétique, l'agrochimie et les industries pharmaceutiques. Plusieurs dérivés de la coumarine ont été préparés par voie de synthèse et signalés posséder des propriétés cardiovasculaire, contre le vieillissement, antibactérienne et photosensible. La chimie des coumarines a reçu beaucoup d'attention et est utilisée par les chimistes pour développer plusieurs produits utiles.

Plus de 1300 coumarines ont été identifiés comme métabolites secondaires à partir de plantes, de bactéries et de champignons [48].

Les coumarines ont été initialement trouvées dans la fève de tonka (*Dipteryx odorata* sauvage) et sont reportées dans environ 150 espèces différentes réparties sur près de 30 familles différentes. Les familles les plus riches en coumarines sont : les Légumineuses, les Rutacées, les Apiacées et les Thyméléacées. Elles se trouvent dans toutes les parties des plantes et également dans les fruits [49].

II. 3. 2. Définition

Les coumarines tirent leur nom de « coumarou », nom vernaculaire de la fève tonka, d'où la coumarine (Figure II.5) fut isolée pour la première fois en 1820 [50], c'est une substance naturelle aromatique, la coumarine (Figure II.2) est utilisée en parfumerie. Son odeur se rapproche de la vanilline et du foin fraîchement coupé.

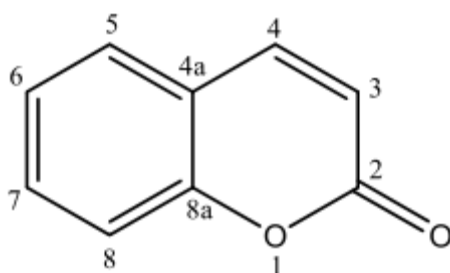


Figure II.5: Squelette de base des coumarines

Les coumarines ont des effets différents sur le développement des plantes suivant leur concentration mais aussi suivant l'espèce [51]. Dans la cellule, les coumarines sont principalement présentes sous forme glycosylée. Cette glycosylation serait une forme de stockage permettant d'éviter les effets toxiques des coumarines sur la cellule et la croissance des plantes [52].

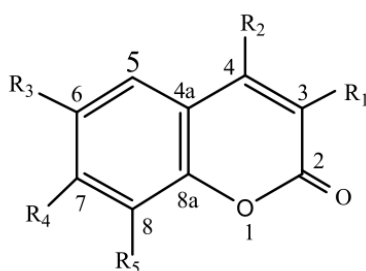
Le rôle des coumarines dans les plantes est encore obscur, bien que leur distribution semble être en corrélation avec la capacité de protéger contre la maladie ou l'infection [53], il a également été suggéré que leur rôle peut être en tant que régulateurs de croissance des plantes [54].

II. 3. 3. Classification

La coumarine est le point de départ d'une famille de composés, qui se forment par une substitution sur un cycle aromatique [55]. La majorité des coumarines sont substituées en C-7 par un hydroxyle. Les Coumarines naturelles sont principalement classées en six catégories basées sur les composés de la structure chimique.

A-coumarines simples

Les coumarines les plus répandues dans le règne végétal possèdent des substitutions (OH ou OCH₃) en 6 et 7. Quelques exemples de ce type de composés sont reportés dans le Tableau II.2.



Composé	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
Coumarine (1)	H	H	H	H	H
Herniarine (2)	H	H	H	OCH ₃	H
4-Méthoxy coumarine (3)	H	OCH ₃	H	H	H
Ombelliférone (4)	H	H	H	OH	H
4-Hydroxy coumarine (5)	H	OH	H	H	H
3-Hydroxy coumarine (6)	OH	H	H	H	H
Esculétol (7)	H	H	OH	OH	H
Scopolétol (8)	H	H	OCH ₃	OH	H
Shikimine (9)	H	H	H	O-Glu	H

Tableau II.2 : Quelques coumarines simples

B-Coumarines prénylées

Elles renferment des groupements prényles avec ou sans d'autres groupements. Comme la rutacultine (10), l'osthol (11) et la subérosine (12) (Figure II-3).

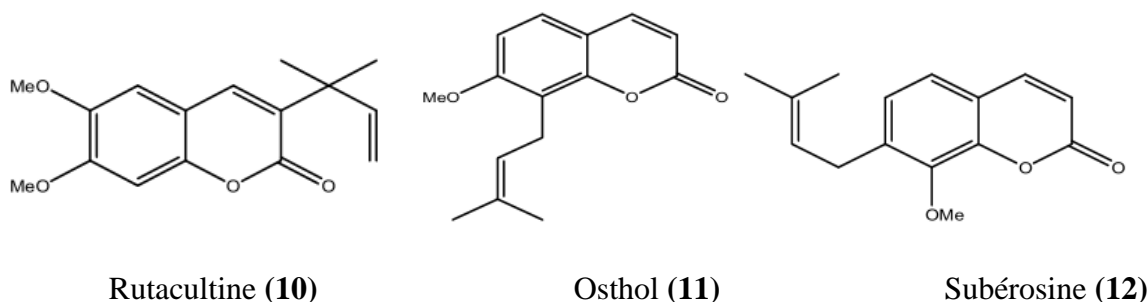


Figure II. 6: Structures de quelques coumarines prénylées.

C-Les furocoumarines

Les furocoumarines renferment des types linéaires ou angulaires avec des substituants sur le noyau benzénique ou le noyau pyrone.

Les furocoumarines, parfois appelées furanocoumarines sont une classe de composés organiques produite par différentes plantes. La structure chimique de furanocoumarines est constituée d'un cycle furane fusionné avec la coumarine. L'association peut se faire soit dans le prolongement de la coumarine (forme linéaire), comme le psoralène et l'impératorine ; soit sur le coté (forme angulaire) comme l'angélicine (14) et la pimpinelline (15), le cycle furanique peut être oxydé pour donner des dihydrofuranocoumarines angulaires comme la columbianétine (16) (Figure II.4).

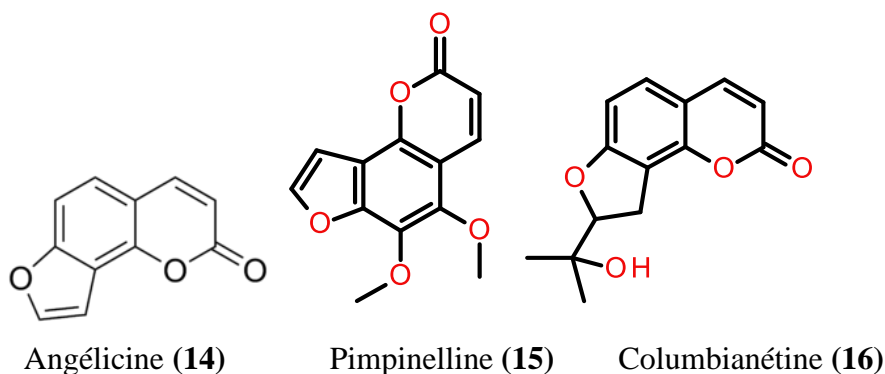


Figure II.7 : Structures de quelques furocoumarines linéaires et angulaires

Beaucoup de furanocoumarines sont toxiques et sont produits par les plantes comme un mécanisme de défense contre divers types de prédateurs. Les furanocoumarines ont d'autres effets biologiques [57].

La plupart des furocoumarines ont cependant des dénominations reprenant le nom des plantes dans lesquelles elles ont été décrites pour la première fois (le bergaptène présent dans *Citrus bergamia*, la rutarétine ou la rutarine dans *Ruta graveolens*), ou bien encore liées à leurs propriétés (la xanthotoxine pour sa couleur et son activité biologique). On désigne dans certains cas l'isomère linéaire ou angulaire d'une molécule par le préfixe iso- comme par exemple dans le cas de l'isopimpinelline.

D- Les Pyranocoumarines

Les pyranocoumarines sont de type linéaire ou angulaire avec des substituants sur le cycle comme dans la xanthylétine (18), la séséline (19), la mesuangine (20) et le calophyllolide (21) (Figure II. 5).

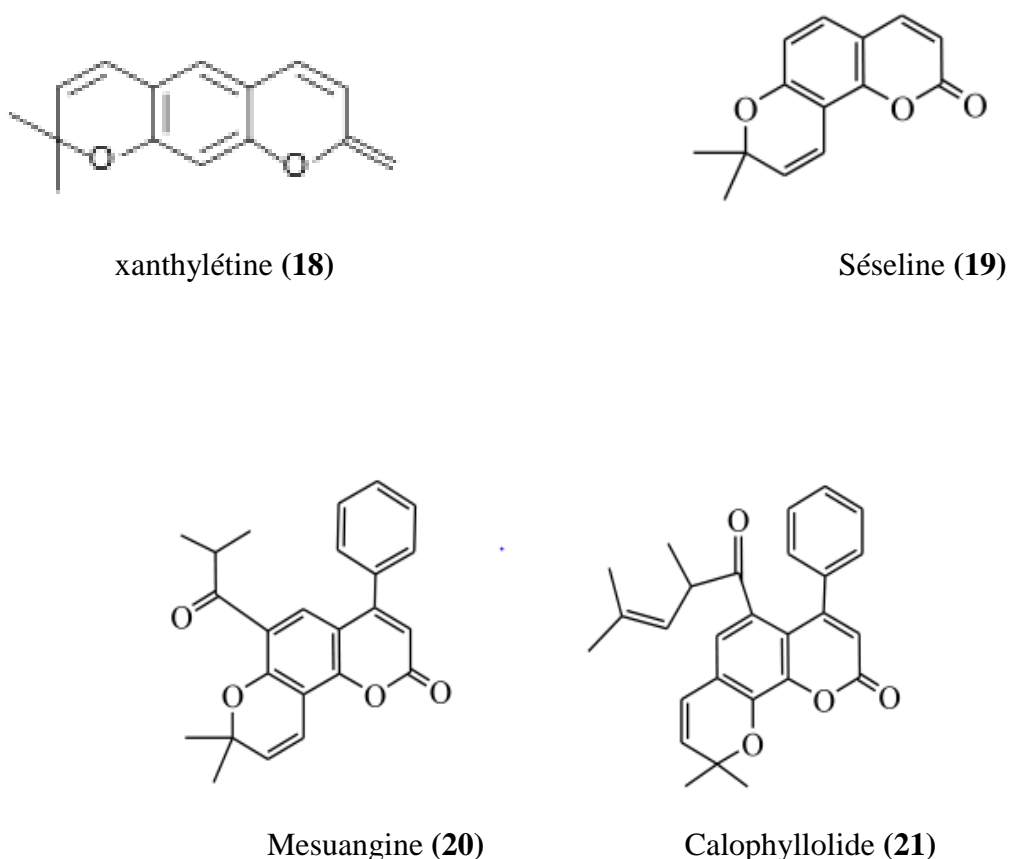


Figure II. 8: Quelques exemples de pyranocoumarines

E- Dicoumarines (coumarines dimériques)

Ce sont des composés formés par la liaison de deux unités coumariniques simples comme la daphnorétine(22) et l'edgeworthine (23) (Figure II. 6)

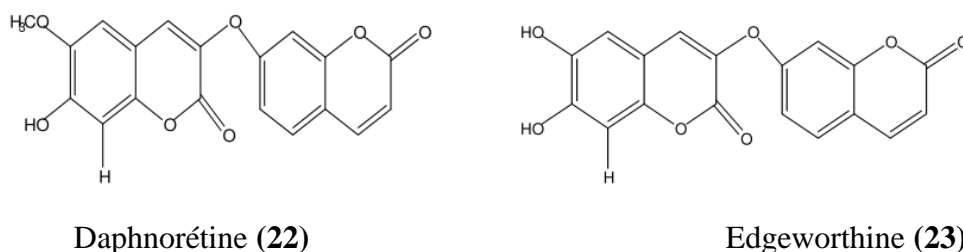


Figure II. 9: Exemple de dicoumarines

F- Tricoumarines (coumarines trimériques)

Ce sont des composés issus de l'union de trois entités coumariques comme la triumbéllatine (24) (Figure II.7).

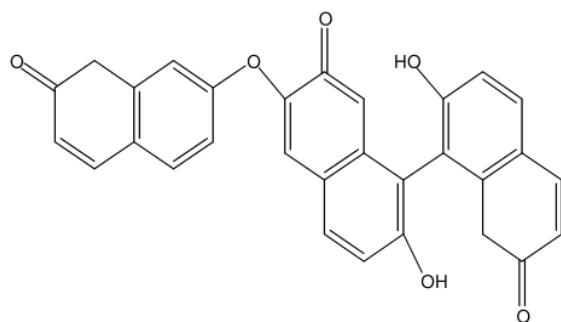


Figure II.10: Triumbéllatine

I.3.4 Biosynthèse des coumarines

Les coumarines appartiennent à la classe des composés phénoliques, elles constituent avec les flavonoïdes, les chromones et les isocoumarines, un très vaste ensemble de substances. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'un noyau benzopyrane [57].

Les structures simples des coumarines dérivées de l'acide cinnamique *via* l'acide aminé phénylalanine, par exemple la coumarine (25) et l'umbelliférone (26) (Figure II. 8), sont trouvées dans plusieurs plantes [58 ,59]. L'hydroxylation en ortho de l'acide trans-cinnamique est la voie directe qui conduit aux coumarines simples.

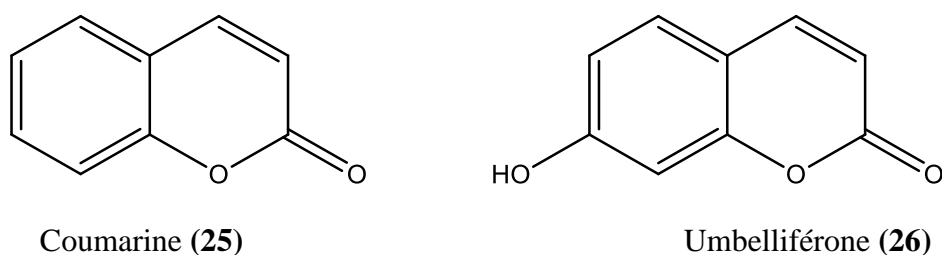


Figure II. 11: Structure de la coumarine et de l'umbelliférone

D'autres coumarines qui ont subi un changement dans leur structure de base, par addition des unités de C₅ originaires de l'acide mévalonique, se rencontrent dans peu de familles. En effet, la participation du précurseur mévalonate est également possible pour donner des dérivés mixtes de l'acide shikimique et mévalonique qui sont les furano et pyranocoumarines [58, 60, 61].

La première réaction est la condensation du phosphoénolpyruvate (PEP) avec l'érythrose-4-phosphate pour former un composé à sept carbones: le 3-désoxy-D-arabino-heptulosonate-7-phosphate (DAHP) [60]. La cyclisation du DAHP en 3-déhydroquinone met en jeu une condensation aldolique intramoléculaire intervenant après l'élimination du phosphate [63] (Figure II. 9).

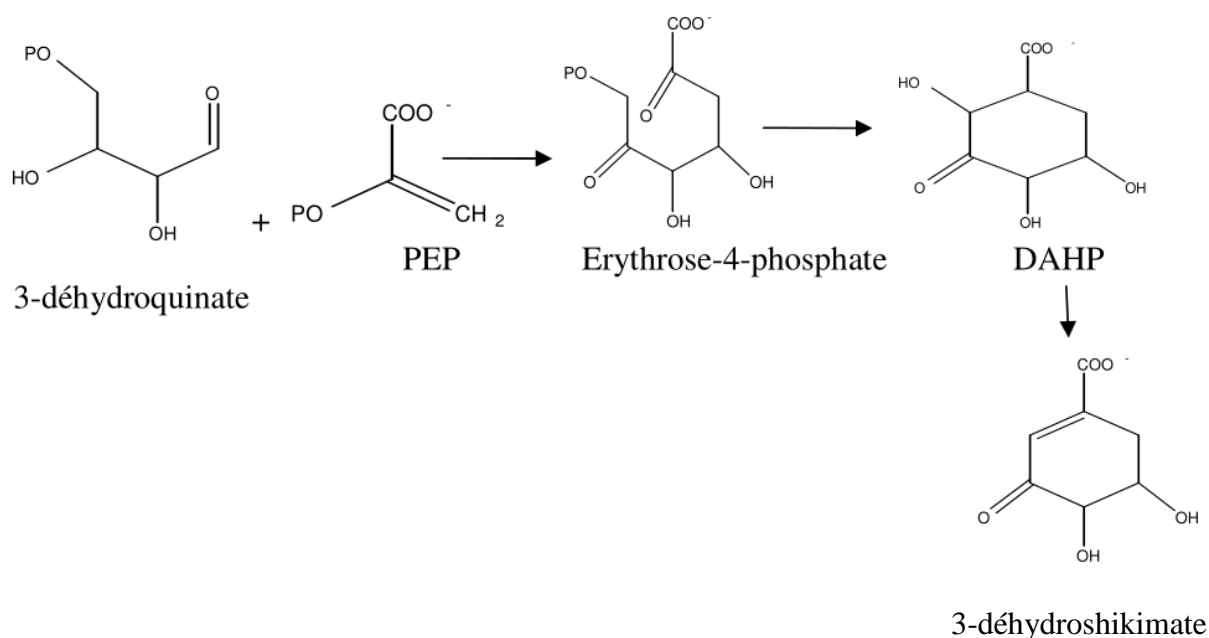


Figure II. 12 : Biosynthèse des coumarines, formation du 3-déhydroshikimate

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-shikimate 3-phosphate (EPSP). Ce dernier conduit au chorismate, via une trans élimination (Figure II. 10).

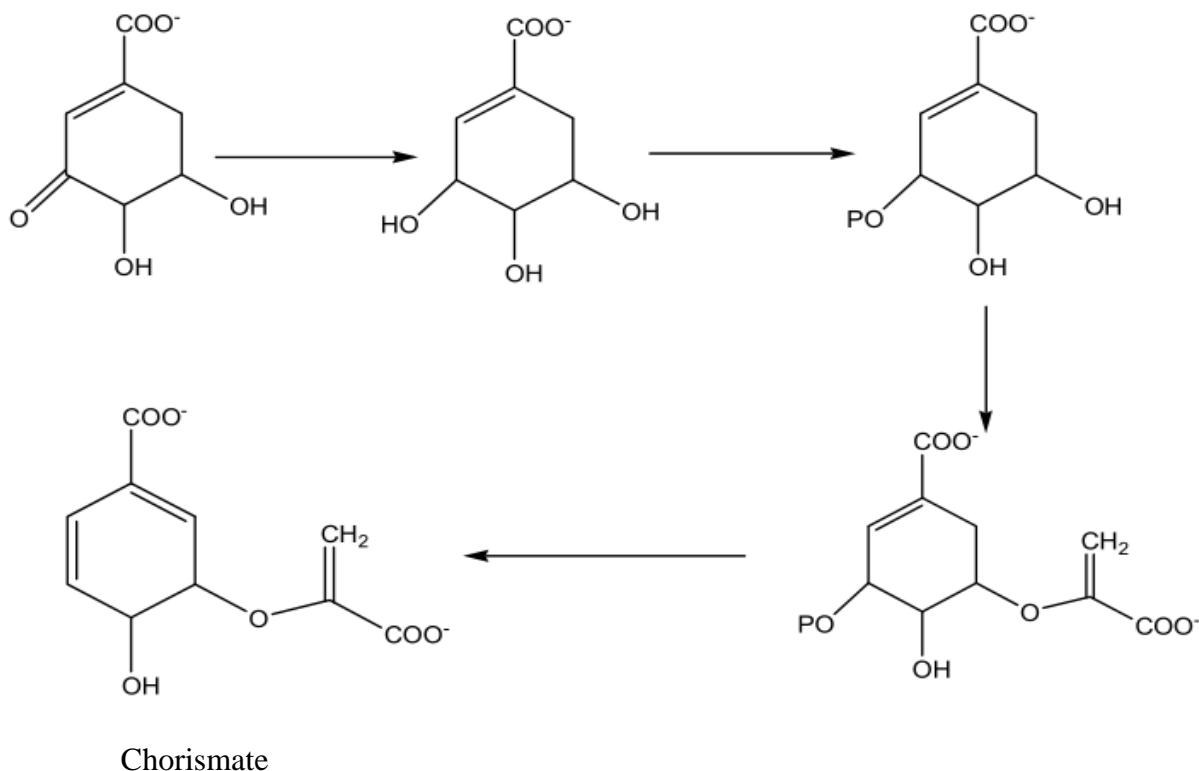


Figure II. 13 : Biosynthèse des coumarines, formation du chorismate

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 II. 11).

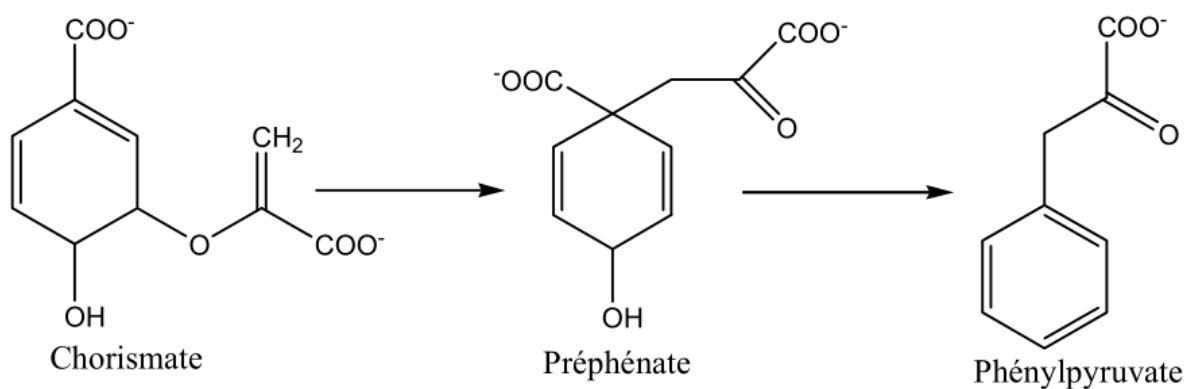


Figure II. 14 : Biosynthèse des coumarines, formation du phénylpyruvate

La transamination de l'acide phénylpyruvique conduit à la formation de la phénylalanine, Par contre, la tyrosine se forme de l'acide préphénique. Une désamination de la phénylalanine et de la tyrosine conduit respectivement à l'acide trans cinnamique et l'acide *p*-coumarique.

(Figure II. 12).

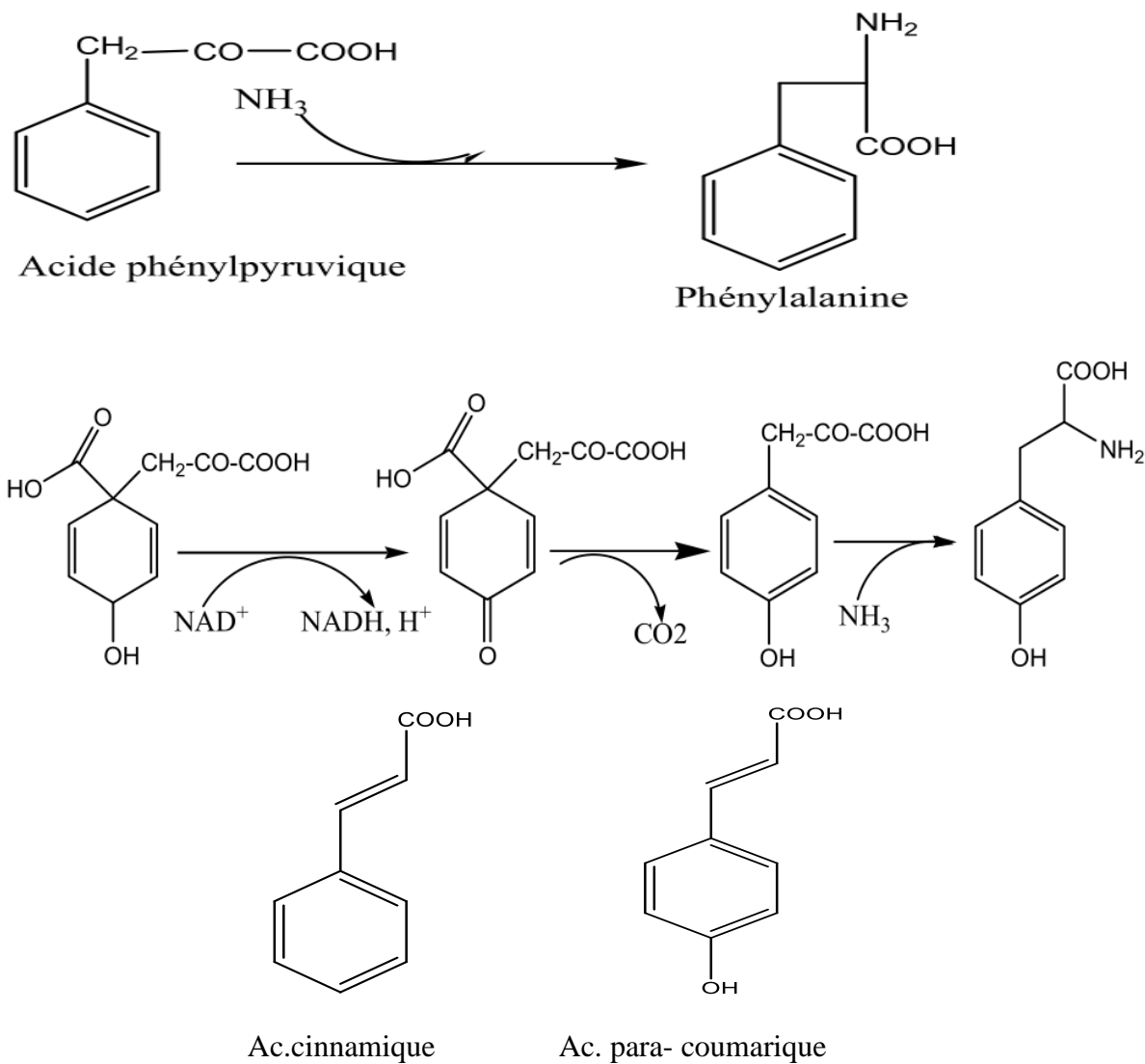


Figure II. 15 : Biosynthèse des coumarines, formation de l'acide cinnamique et de l'acide *p*-coumarique

La formation de la phénylalanine à partir de l'acide chorismique implique un réarrangement de Claisen catalysé par l'enzyme, cet acide aminé est transformé en intermédiaire phénylpropanoïque (acide coumarinique) qui donne la coumarine après une isomérisation et lactonisation (Figure II. 13).

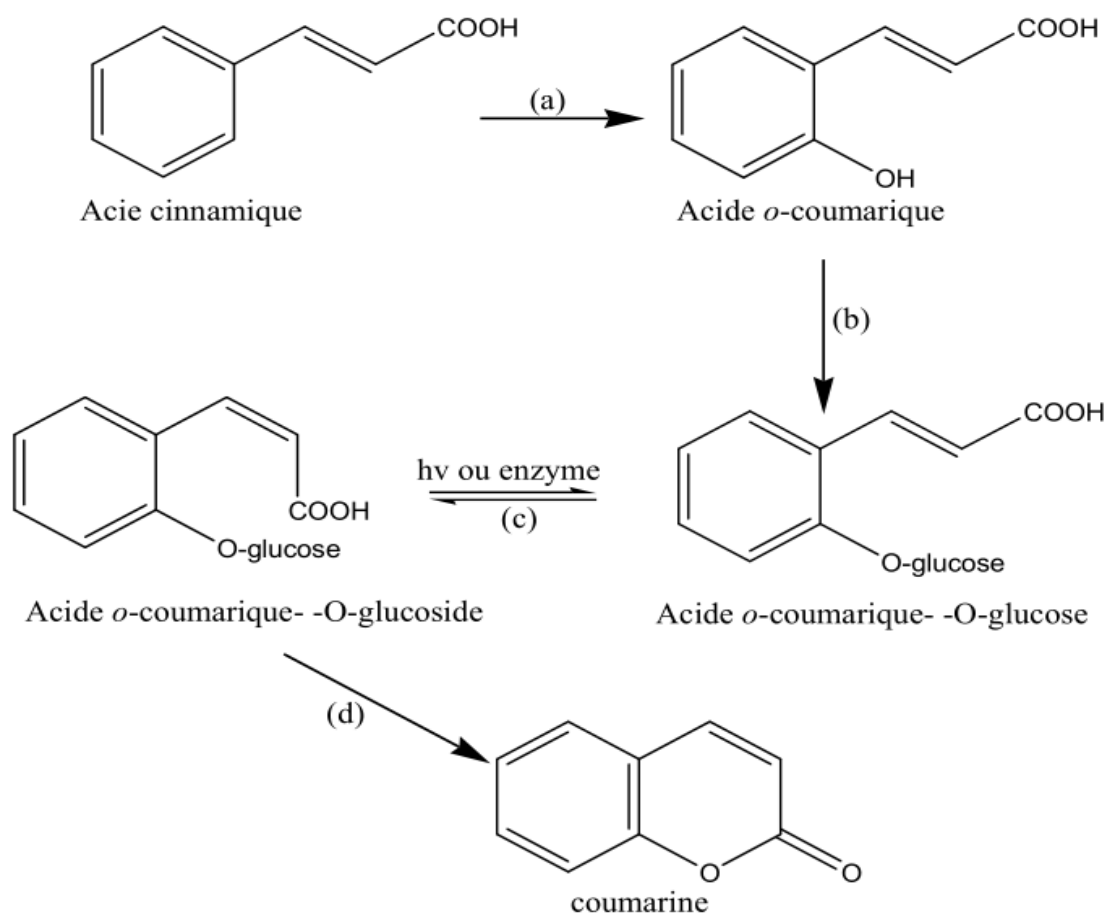


Figure II. 16 : Biosynthèse des coumarines : étape finale, formation de la coumarine.

II. 3. 5. Application des coumarines dans le traitement du cancer

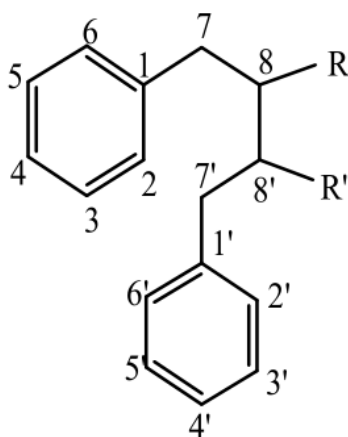
Les substances naturelles de type coumarine jouent un grand rôle dans le traitement du cancer. En effet, les coumarines peuvent être utilisées non seulement pour traiter le cancer mais pour traiter les effets secondaires causés par la radiothérapie. Une étude récente a examiné l'efficacité de la thérapie de combinaison de coumarine / troxérutine pour la protection des glandes salivaires et la muqueuse chez les patients subissant une radiothérapie de la tête et du cou. Les résultats suggèrent que la combinaison coumarine / troxérutine a un effet favorable dans le traitement de Sialadenitis et de mucite [64].

L'intérêt pour les 7-hydroxycoumarines comme agents anti-cancer, a été reporté dans les rapports qui prouvent que ces agents avaient obtenus des réponses objectives chez certains patients atteints de tumeurs malignes avancées.

II.4. Les lignanes

II.4.1. Définition

Le terme Lignane a été inventé par Haworth en 1936 pour décrire une groupe de dimères de phénylpropanoïdes [65, 66]. Les lignanes sont des composés naturels dimères dont le squelette résulte de l'établissement d'une liaison entre les carbones β des chaînes latérales de deux unités dérivées du 1-phényl propane (liaison 8-8').



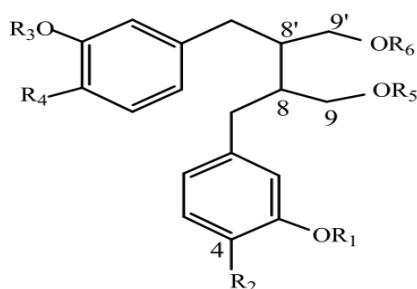
Les lignanes sont des produits du métabolisme secondaire produit par plusieurs plantes pour servir de molécules de défense contre les prédateurs.

II.4.2. Structures chimiques et classification

Six groupes structuraux fondamentaux de lignanes ont été caractérisés chez différentes familles du règne végétal.

A. Lignanes dibenzylbutanes

Ce sont les plus simples (liaison 8-8'). Quelques exemples sont reportés dans la Figure II.



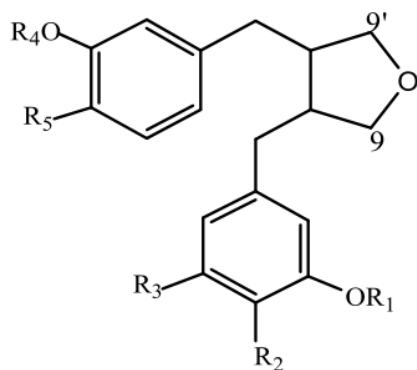
Nom	R ₂	R ₁	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆
Entérodiol (27)	H	H	H	H	H	H
Sécoisolaricirésinol (28)	Me	OH	Me	OH	H	H
9,9'-O-β-D-digluco-sécoisolaricirésinol (29)	Me	OH	Me	OH	Glu	Glu
4-O-β-D-gluco-sécoisolaricirésinol (30)	Me	Glu	Me	OH	H	H

Figure II. 17: Quelques exemples de lignanes dibenzylbutanes

B. Lignanes monofuraniques

Les lignanes dibenzylbutanes peuvent engendrer, par cyclisation, trois types de lignanes monofuraniques.

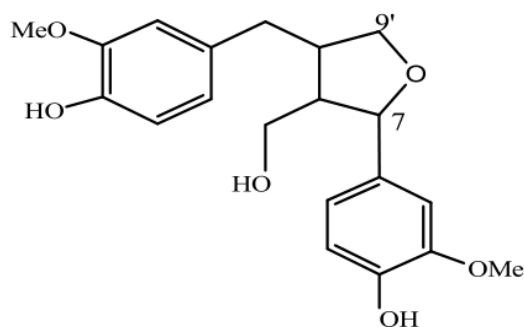
Lignanes monofuraniques par la cyclisation 9-O-9' (Figure II. 15).



Nom	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
Entérofurane (31)	H	H	H	H	H
Shonanine (32)	Me	OH	H	Me	OH

Figure II.18 : Exemples de lignanes monofuraniques par la cyclisation 9-O-9'

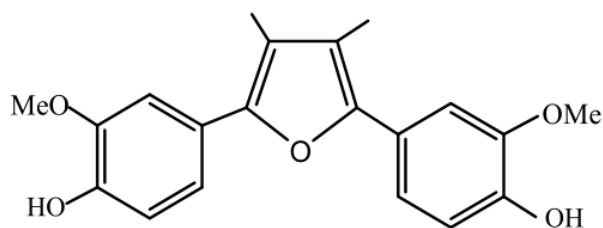
Monofuraniques par la cyclisation 7-O-9' comme le laricirésinol (33) (Figure II. 16).



Laricirésinol (33)

Figure II. 19: Lignane Monofuranique par la cyclisation 7-O-9'

Monofuraniques par la cyclisation 7-O-7' comme l'acide α -guaiaconique (34) (Figure II. 17).

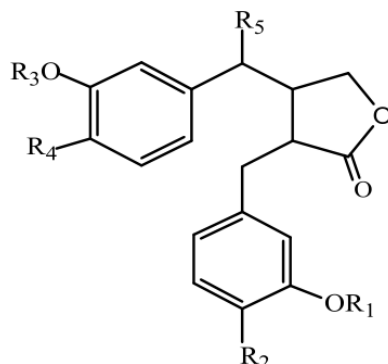


Acide α -guaiaconique (34)

Figure II. 20: Lignane monofuraniques par la cyclisation 7-O-7'

C. Lignanes butyrolactones

Quelques exemples de ce type sont reportés dans la Figure II. 18.

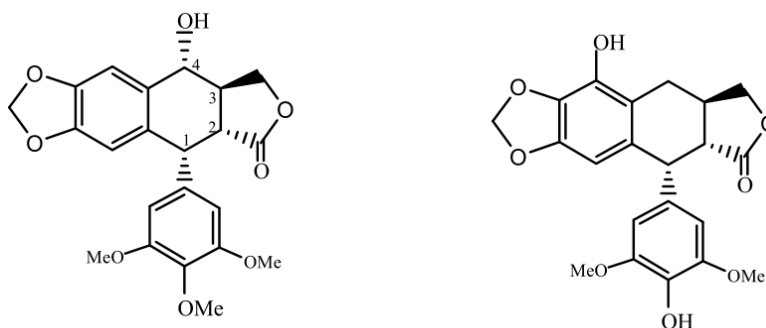


Nom	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
Entérolactone (35)	H	H	H	H	H
7'-Hydroxyentérolactone (36)	H	H	H	H	OH
Matairsinol (37)	Me	OH	Me	OH	H

Figure II. 21 : Exemples de lignanes butyrolactoniques

D. Lignanes aryltétralines

Dans ce type de lignanes, la condensation des deux acides phénoliques entraîne en plus du cycle butyrolactone, le formation d'un cycle à six chaînons (Figure II. 19).



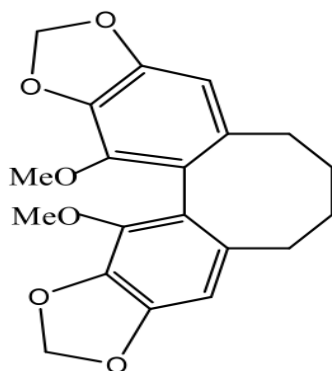
Podophyllotoxine (38)

α -Peltatine (39)

Figure II. 22: Exemples de lignanes aryltétralines

E. Lignanes dibenzocyclooctanes

Ces composés renferment un cyclooctane accolé à deux noyaux aromatiques comme dans le cas du wuweizicu (40) (Figure II. 20).



Wuweizicu (40).

Figure II. 23: Exemples de lignanes dibenzocyclooctaniques

F- Lignanes furanofuraniques

La double cyclisation 7-O-7' et 9-O-9' conduit aux lignanes furanofuraniques Tableau II.3.

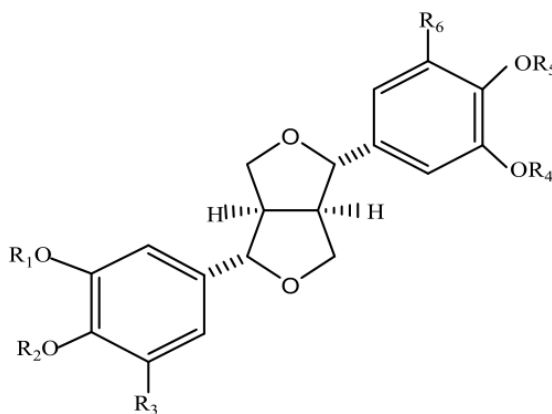


Tableau II.3 : Exemples de lignanes furanofuraniques

Nom	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆
Dimétyle éther liriorésinol B (41)	Me	Me	OMe	Me	Me	OMe
Epieudesmine (42)	Me	Me	H	Me	Me	H

II.4.3. Biosynthèse des lignanes

Les lignanes se trouvent dans les différentes parties des plantes : l'écorce, les racines, les fleurs et les graines. Biosynthétiquement, ils sont élaborés comme tous les dérivés des phénylpropanoïdes par la voie du shikimate (voir la biosynthèse des coumarines) *via* l'alcool coniférylique. La biosynthèse de ce dernier à partir de la phénylalanine n'est pas une voie simple et droite, mais une grille métabolique complexe (Figure II. 21) [67, 68]. L'alcool coniférylique est également précurseur des lignines.

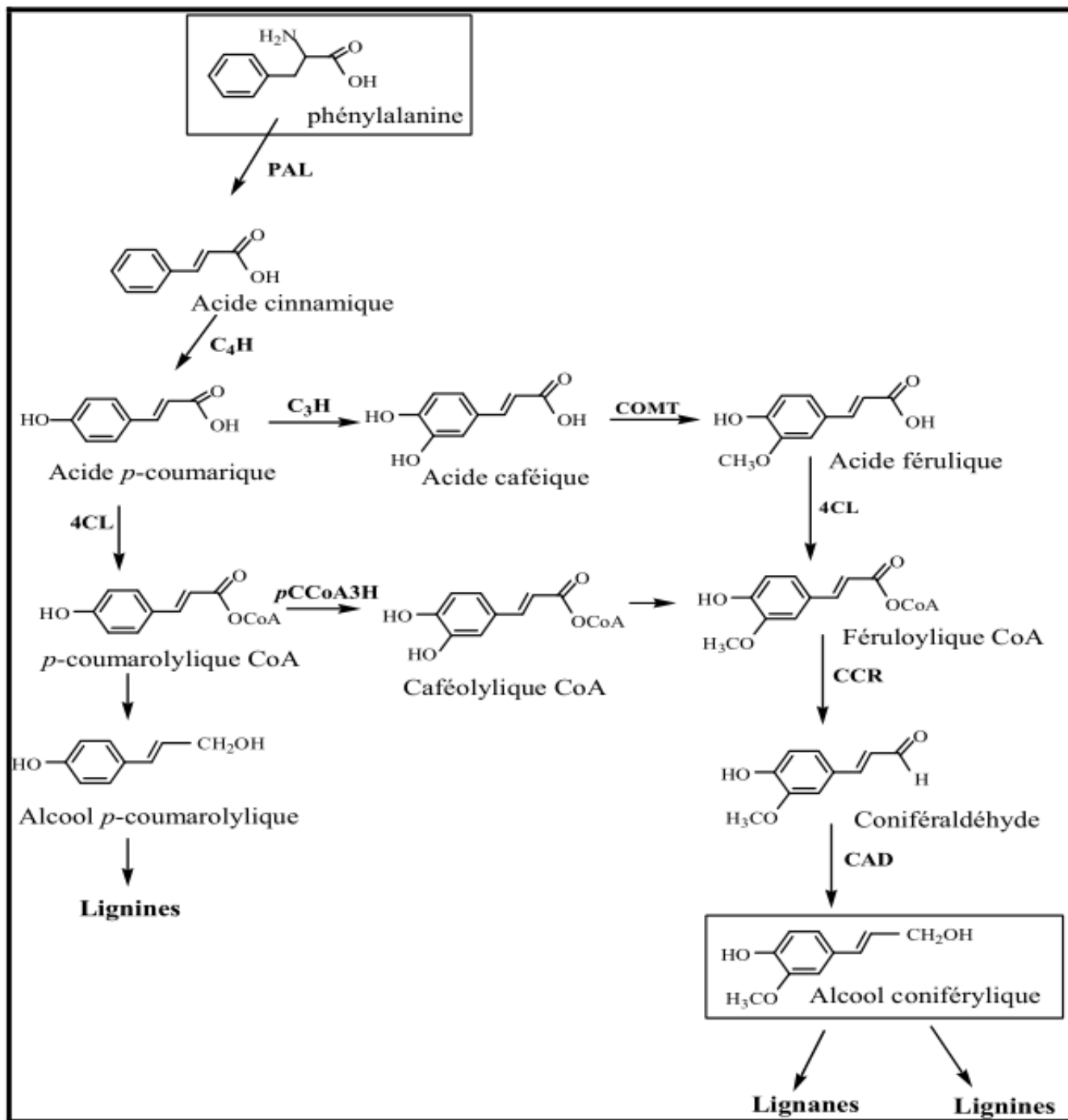


Figure II. 24: Biosynthèse des lignanes

PAL : phénylalanine ammonia lyase, **C₄H** : cinnamate 4-hydroxylase, **C₃H** : *p*-coumarate 3-hydroxylase, **COMT** : acide caféique *O*-méthyltransférase. **4CL** : 4-(hydroxyl) cinnamoyl CoA ligase, **pCCoA3H** : *p*-coumaroyl CoA 3-hydroxylase, **CCR** : cinnamoyl CoA réductase, **CAD** : cinnamoyl alcool déhydrogénase.

II.4.4. Intérêts pharmacologiques des lignanes

Les lignane jouent un grand rôle dans le traitement de plusieurs maladies, les plantes riches en lignanes sont utilisées pour traiter diverses maladies comme le cancer [69], l'arthrite, l'ulcère et les douleurs [70]. Ces composés possèdent une large gamme d'activités biologiques incluant: l'activité antitumorale, anti-oestrogénique, bactéricide, antifongique et anti-inflammatoire [71], cytotoxique [72], antivirale [73] et antimicrobienne [74].

La recherche scientifique a aussi démontré que les lignanes sont transformés par les bactéries intestinales en composés qui protègent des maladies hormonales. De nombreux composés appartenant à cette famille, font l'objet d'exploitation dans un but thérapeutique, par exemple : La podophyllotoxine est utilisé pour le traitement du condylome.

II.5. Les lactones sesquiterpéniques

II.5.1. Définition

Les lactones sesquiterpéniques sont des composés de 15 carbones formés de 3 unités isopréniques (sesquiterpène) de formule moléculaire en $C_{15}H_{24}$. Elles se trouvent principalement dans les parties aériennes des plantes. Le sesquiterpène de base subissant des transformations ultérieures: cyclisation et oxydation donne lieu à une *cis* ou *trans*-fusion lactonique, d'où l'ajout du suffixe « olide » au nom du squelette sesquiterpénique indiquant ainsi le caractère lactonique.

Les lactones sesquiterpéniques les plus connues dérivent du squelette germacrane, environ 5000 structures sont caractérisées [75, 76].

Les principales classes de lactones sesquiterpéniques sont: les germacranolides, les élémanolides, les les guaianolides et les pseudoguaianolides [77], cependant la structure de sesquiterpènes lactones peut supporter plusieurs arrangements [78].

II.5.2. Biosynthèse de lactones sesquiterpéniques

Les organismes végétaux ont la possibilité de cycliser le farnésyl pyrophosphate (FPP) qui donne le (+)-germacrène A; la chaîne latérale de celui ci passe par plusieurs étapes d'oxydation, à savoir : hydroxylation au germacra-1(10), 4, 11(13)- trièn-12-ol qui sera oxydé en germacra-1(10), 4, 11(13)-trièn-12-al et une oxydation supplémentaire conduit à l'acide germacra-1(10), 4, 11(13)-trièn-12-oïque. La probabilité d'hydroxylation de l'acide germacrène en position C-6 ou C-8 et la perte ultérieure d'eau conduisent respectivement, à la cyclisation lactonique entre C-6 – C-12 ou C-8 – C-12. Sur la Figure II. 22, nous observons que le germacranolide représente le groupe biogénétiquement à l'origine de toutes les lactones sesquiterpéniques [75, 79, 80].

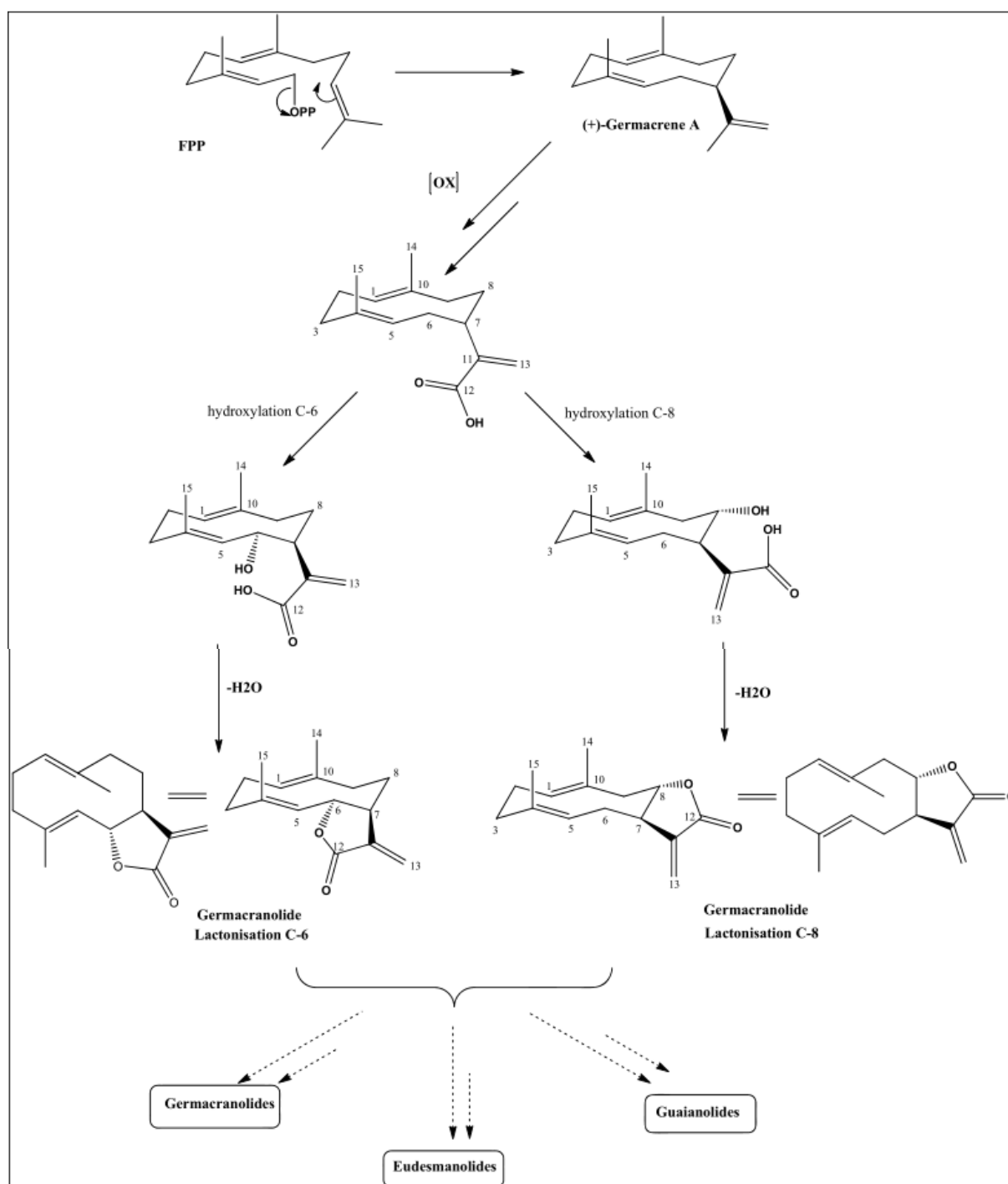


Figure II. 25: La biosynthèse de C-6 et C-8 lactones sesquiterpènes [81,56].

II.5.3. Intérêts pharmacologiques de lactones sesquiterpènes

Des investigations concernant les activités biologiques des lactones sesquiterpènes ont prouvé l'existence des effets suivants : antimicrobiens, antifongiques, cytotoxiques, anti-tumorales, anti- inflammatoire [13, 62].

En outre, plusieurs composés sesquiterpéniques possèdent des activités cytotoxiques vis-à-vis des cellules tumorales et en plus ils empêchent d'une manière sélective la croissance des cellules cancéreuses, à titre d'exemple : le costunolide qui déprime la croissance des cellules cancéreuses [57].

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [01] Kossel, A., 1891, Über die Chemische Zusammensetzung der Zell, *Archiv für Physiologie*, 181–186.
- [02] Newman, D.J. and Cragg. M., 2012, Natural Products As Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. *J. Nat. Prod*, 75, 311-335.
- [03] Tanaka, Y., Sasaki, N. and Ohmiya, A., 2008, Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids, *Plant J*, 54, 733-749.
- [04] Weng, J. K. and Chapple, C., 2010, the origin and evolution of lignin biosynthesis, *New Phytol*, 187, 273-285.
- [05] Karamat, F., Orly, A., Doerper, S., Vialart, G., Ulimann, P., Werck-Reichhart, D., Bourgaud, F. and Hehn, A., 2012 CYP98A22, a phenolic ester 3'-hydroxylase specialized in the synthesis of chlorogenic acid, as a new tool for enhancing the furanocoumarin concentration in *Ruta graveolens*, *Bmc Plant Biology*, 12.
- [06] Ren, W., Qian, Z., Wang, H., Zhu, L., Zhang, L., 2003, Flavonoids: Promising anticancer agents. *Medicinal Res Rev*, 23(4), 519–534.
- [07] Larbt, R., Kellner, S., Specker, S., Hehn, A., Gontier, E., Hans, J., Bourgaud, F. and Martern, U, 2007, Molecular cloning and functional characterization of psoralen synthase, the first committed monooxygenase of furanocoumarin biosynthesis. *Journal of Biological Chemistry*, 282, 542-554.
- [08] Lee, M. E., Liu, Y.T. and WU, T.K., 2012, Functional expression of the triterpenoid biosynthesis tailoring enzyme on enzymatic modification of sterol derivatives, *Febs J*, 279, 67-67.
- [09] Jirschitzka, J., Schmidt, G.W., Reichelt, M., Schneider, B., Gershenzon, J. AND D'auria, J.C., 2012, Plant tropane alkaloid biosynthesis evolved independently in the Solanaceae and Erythroxylaceae, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 109, 10304-10309.
- [10] Bruneton, J., 1999, Pharmacognosie: phytochimie, plantes médicinales, Paris.
- [11] Harborne, J. B., 1993, the flavonoids: advances in research since 1986. Chapman & Hall/CRC, London.
- [12] Heller, W., Forkmann, G., 1993, the flavonoids. Advances in research since 1986. In Harborne JB. Secondary Plant Products. *Encyclopedia of plant physiology. Ed, Chapman & Hall, London*, 399-425.
- [13] Picman, A., 1981, “Analytical and Biological studies of sesquiterpene lactones”, univ of British. Colombia.

- [14] Hashimoto, F., Jamal. Uddin, A.F.M., Shimizu, K., Sakaba, Y., **2004**, multiple allelism in flavonoid hydroxylation in *Eustoma grandiflorum* (Raf) Shinn. Flowers, *J. Japan Soc. Hort. Sci.*, 73 (3): 235-240.
- [15] Ono, E., Hatayama, M., Isono, Y., Sato, T., Watanabe, R., Yonekura-Sakakibara, K., Fukuchi- Mizutani, M., Tanaka, Y., Kusumi, T., Nishino, T., Nakayama, T., **2006**, Localization of a flavonoid biosynthetic polyphenol oxidase in vacuoles, *Plant J.*, 45: 133-43.
- [16] Seeram, N.P., Henning, S.M., Zhang, Y., Suchard, M., Li, Z., Heber, D., **2006**, Pomegranate juice ellagitannin metabolites are present in human plasma and some persist in urine for up to 48 hours. *J. Nutr.*, 136 (10): 2481-5.
- [17] Morreel, K., Goeminne, G., Storme, V., Sterck, L., Ralph, J., Coppieters, W., Breyne, P., Steenackers, M., Georges, M., Messens, E., Boerjan, W., **2006**, Genetical metabolomics of flavonoid biosynthesis in *Populus*: a case study, *Plant. J.*, 47: 224-37.
- [18] Clifford, A.H., Cuppett, S.L., **2000**, Review: Anthocyanins—nature, occurrence and dietary burden, *J Sci Food Agric*, 80: 1063–1072.
- [19] Cook, N.C., Samman, S., **1996**, Review: Flavonoids—chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources, *J Nutr Biochem*, 7: 66–76.
- [20] Gardner, P.T., McPhail, D.B., Duthie, G.G., **1998**, Electron spin resonance spectroscopic assessment in the antioxidant potential of teas in aqueous and organic media, *J Sci Food Agric*, 76: 257–262.
- [21] Hall, C.A., Cuppett, S.L., **1997**, Structure–activities of natural antioxidants. In: Aruoma, OI (ed), Antioxidant Methodology, *Champaign, IL: AOCS Press*, pp 141–172.
- [22] Havsteen, B., **1983**, Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency, *Biochem Pharm*, 32: 1141–1148.
- [23] Harborne, J.B., **1988**, the Flavonoids: Advances in Research since 1980. London: Chapman and Hall.
- [24] Tommasini, S., Raneri, D., Ficarra, R., Calabro, M. L., Stancanelli, R., Ficarra, P., **2004**, Improvement in solubility and dissolution rate of flavonoids by complexation with [beta] cyclodextrin. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 35, (2), 379-387.
- [25] Fargeix, D., **2000**, Etude des mécanismes d'oxydation des flavonoïdes en relation avec leur activité antioxydante. Effets anti- et pro-oxydants dans l'inhibition de la peroxydation lipidique par les flavonoïdes, Université Claude Bernard- Lyon 1, Lyon.

- [26] Mochizuki, M., Yamazaki, S.i., Kano, K., Ikeda, T., **2002**, Kinetic analysis and mechanistic aspects of autoxidation of catechins, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – General Subjects*, 1569, (1-3), 35-44.
- [27] Ramos-Tejada, M. M., Duran, J. D. G., Ontiveros-Ortega, A., Espinosa-Jimenez, M., Perea-Carpio, R., Chibowski, E., **2002**, Investigation of alumina/ (+)-catechin system properties. PartI: a study of the system by FTIR-UV-Vis spectroscopy. *Colloids and Surfaces B, Biointerfaces*, 24, (3-4), 297-308.
- [28] Friedman, M., Jurgens, H. S., **2000**, Effect of pH on the Stability of Plant Phenolic Compounds, *J. Agric. Food Chem*, 48, (6), 2101-2110.
- [29] Smith, G., Thomsen, S., Markham, K., Andary, C., Cardon, D., **2000**, the photostabilities of naturally occurring 5-hydroxyflavones, flavonols, their glycosides and their aluminium complexes, *Journal of Photochemistry and photobiology A: Chemistry*, 136, 87-91.
- [30] Makris, D. P., Rossiter, J. T., **2002**, An investigation on structural aspects influencing product formation in enzymic and chemical oxidation of quercetin and related flavonols, *Food Chemistry*, 77, (2), 177-185.
- [31] Ungar, Y., Osundahunsi, O. F., Shimoni, E., **2003**, Thermal Stability of Genistein and Daidzein and Its Effect on Their Antioxidant Activity, *J. Agric. Food Chem*, 51, (15), 4394-4399.
- [32] Ishihara, K., Nakajima, N., **2003**, Structural aspects of acylated plant pigments: stabilization of flavonoid glucosides and interpretation of their functions, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 23, (2-6), 411-417.
- [33] Švehlíková, V., Bennett, R. N., Mellon, F. A., Needs, P. W., Piacente, S., Kroon, P. A., Bao, Y., **2004**, Isolation, identification and stability of acylated derivatives of apigenin 7-Oglucoside from chamomile (*Chamomilla recutita* [L.] Rauschert), *Phytochemistry*, 65, (16), 2323-2332.
- [34] Zhu, Q. Y., Holt, R. R., Lazarus, S. A., Ensunsa, J. L., Hammerstone, J. F., Schmitz, H. H., Keen, C. L., **2002**, Stability of the Flavan-3-ols Epicatechin and Catechin and Related Dimeric Procyanidins Derived from Cocoa, *J. Agric. Food Chem*, 50, (6), 1700-1705.
- [35] Clifford, A.H., Cuppett, S.L., **2000**, Review: Anthocyanins-nature, occurrence and dietary burden, *J Sci Food Agric*, 80: 1063–1072.
- [36] Harborne, J.B., Turner, B.L., **1984**, *Plant Chemosystematics*, London: Academic Press.
- [37] Bravo, L., **1988**, Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance, *Nutr Rev*, 56: 317–333.

- [38] Aherne, A.S., O'Brien, N.M., **2002**, Dietary flavonols: Chemistry, food content and metabolism, *Nutrition*, 18: 75–81.
- [39] Peterson, J., Dwyer, J., **1998**, Flavonoids: Dietary occurrence and biochemical activity, *Nutr Res*, 18: 1995–2018.
- [40] Zand, R.S.R., Jenkins, D.J.A., Diamandis, E.P., **2002**, Flavonoids and steroid hormone dependent cancers, *J Chromatogr B*, 777: 219–232.
- [41] Duthie, G.G., Duthie, S.J., Kyle, J.A.M., **2000**, Plant polyphenols in cancer and heart disease: Implications as nutritional antioxidants, *Nutr Res Rev*, 13: 79–106.
- [42] Chu, Y.H., Chang, C.L., Hsu, H.F., **2000**, Flavonoid content of several vegetables and their antioxidant activity. *J Sci Food Agric*, 80: 561–566.
- [43] Arts, I.C.W., Van de Putte, B., Hollman, P.C.H., **2000**, Catechin contents of foods commonly consumed in the Netherlands. 1. Fruits, vegetables, staple foods, and processed foods, *J Agric Food Chem*, 48: 1746–1751.
- [44] Hertog, M.G.L., Hollman, P.C.H., Katan, M.B., **1992**, Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands, *J Agric Food Chem*, 40: 2379–2383.
- [45] Hertog, M.G.L., Hollman, P.C.H., Van de Putte, B., **1993**, Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wines and fruit juices, *J Agric Food Chem*, 41: 1242–1246.
- [46] Arts, I.C.W., Van de Putte, B., Hollman, P.C.H., **2000**, Catechin contents of foods commonly consumed in the Netherlands. 2. Tea, wine, fruit juices, and chocolate milk, *J Agric Food Chem*, 48: 1752–1757.
- [47] Ren, W., Qian, Z., Wang, H., Zhu, L., Zhang, L., **2003**, Flavonoids: Promising anticancer agents, *Medicinal Res Rev*, 23(4): 519–534.
- [48] Iranshahi, M., Askari, M., Sahebkar, A. and D. Hadjipavlou-Litina., **2009**, “Evaluation of antioxidant, anti-inflammatory and lipoxygenase inhibitory activities of the prenylated coumarin umbelliprenin,” *DARU*, vol. 17, no. 2, pp. 99–103.
- [49] Guignard, J.L., **1996**, *Biochimie végétale*. Masson, Paris.
- [50] Murray, R. D. H., **1978**, naturally occurring plants coumarines, *Progress in the chemistry of organic natural products*, 200, Ed. Wien-Springer-Verlag, New York,
- [51] Brown, S. A., **1981**, Coumarins. In *The Biochemistry of Plants: a comprehensive treatise*, Edited by E. E. Conn: Academic Press, pp. 269–300.

- [52] Hofmann, L., **2003**, Thèse de doctorat: Etude du métabolisme des phénylpropanoïdes, strasbourg, France.
- [53] Feuer, G., **1979**, "The metabolism and biological actions of coumarins", *Prog. Med. Chem*, 10,85-158.
- [54] Riordan, D.J. & Daly, I., **1954**, "The growth-inhibiting properties of lactones", *Ir. J. Med. Sei*, 6,157-161.
- [55] Gerhard, L., **1988**, Métabolisme des végétaux; physiologie et biochimie, 5eme Edition, Allemand.
- [56] Menina, B., Comino, C., Portis, E., Moglia, A., Cankar, K., Bouwmeester, H. J., Lanterla, S., Beekwilder, J., **2012**, *plant sc*,190,1– 8.
- [57] Hall, I.H., Lee, K.H., Mar, E.C., Starnes, C.O., Wadell, T.G., **1977**, Antitumor agents. 21. A proposed mechanism for inhibition of cancer growth by tenulin and helenalin and related cyclopentenones, *J. Med. Chem*, 20, 333– 337.
- [58] Murray, R.D.H., **1963**, *In Naturally Occuring Plants Coumarins*, Butterworth, London, 203.
- [59] Dean, F.M., **1963**, *Naturally Occuring Oxygen Ring Compounds* , Butterworths, London,167.
- [60] Bernfield, P., **1963**, *Biogenesis Of Natural Compounds* , Ed. Pergamon Press, Oxford, London, New York, Paris, 568.
- [61] Richter, G., **1993**, *Métabolisme des Végétaux, Physiologie et Biochimie 5 ème Ed*, Lausanne 339.
- [62] Shah, W. A., **2014**, *Inter. J. Res. Pharmacy. Chem. (IJRPC)*, 4(2), 217-221.
- [63] Stewart, A. B., **1979**, *Planta Med*, 36 (4), 299.
- [64] Grotz, K.A., Wustenberg, P., Kohnen, R., Al-Nawas, B., Henneicke-von. Zepelin, H.H., Bockisch, A., **2001**, Prophylaxis Of Radiogenic Sialadenitis and Mucositis by Coumarin/Troxerutine in Patients with Head and Neck Cancer-A Prospective, Randomized, Placebo-Controlled, Double-Blind Study, *Br J Oral Maxillofac Surg*, 39: 34-39.
- [65] Umezawa, T., **2003**, *Phytochem. Rev.* 2, 371–390.
- [66] Willfor, S.M., Smeds, A.I., Holmbom, B.R., **2006**, *J. Chromatogr. A*, 1112, 64–77.
- [67] Humphreys, J.M., Hemm, M.R. et Chpple,C., **1999**, *Prod. Natl. Acad. Sci. USA*, 96, 10045-10050.
- [68] Whetten, R.W., Mackay, J.J et Sederoff, R.R., **1998**, *Ann. Rev. Plant physiol. Plant Mol. Biol*, 49, 585-609.

- [69] Pelucchi, C., Talamini, R., Galeone, C., Negri, E., Franceschi, S., Dal Maso, L., Montella, M., Conti, E., La Vecchia, C., **2004**, Fibre intake and prostate cancer risk, *Int. J. Cancer* 109, 278.
- [70] Chi, Y., **2001**, *Thesis Master of Science*, atropisomerism and the synthesis of lignans, university of Manitoba Wininpeg, Manitoba, Canada
- [71] Raffaelli, B., Hoikkala, A., Leppälä, E., Wähälä, K., **2002**, Enterolignans, *J. Chromatogr.B*, 777, 29-43.
- [72] Tandon, S., Rastogi, R.P., **1976**, Wikstromol, a new lignan from Wikstroemia Viridiflora, *Phytochemistry*, 15, 1789-1791.
- [73] Cos, P., Maes, L., Vlietinck, A., L. Pieters, L., **2008**, Plant-derived leading compounds for chemotherapy of human immunodeficiency virus (HIV) infection-an update (1998 - 2007), *Planta Med*, 74, 1323-1337.
- [74] Saleem, M., Kim, H.J., Ali, M.S., Lee, Y.S., **2005**, an update on bioactive plant Lignans, *Nat. Prod. Rep*, 22, 696-716.
- [75] M. Bruno, S., Bancheva, S., Rosselli, A., Maggio., **2013**, *Phytochem*, 95:19-93.
- [76] Favero, F. de F., Grando, R., Nonato, F. R., Sousa, I. M., Queiroz, N. C., Longato, G. B., Zafred, R. R. T., Carvalho, J. E., Spindola, H. M., Foglio, M. A., **2014**, *Complementary and Alternative Medicine*, 14, 266-277.
- [77] Yoshioka, H., Mabry, T.J., Timmermann, B. N., **1973**. Sesquiterpene Lactones: Chemistry, NMR and Plant Distribution, University of Tokyo Press.
- [78] Seaman, F. C., **1982**, Sesquiterpene lactone as taxonomic characters in the asteraceae, *Bot. Rev*, 48,121-595.
- [79] Zhang, S., Won, Y. K., Ong, C. N., Shen, H. M., **2005**, Anti-Canc.Agents, 5,*Curr. Med. Chem.* 239-249.
- [80] De Kraker, J-W., Franssen, M. C. R., De Groot, A., König, W. A., Bouwmeester, H. J., **1998**, *Plant Physiol*, 117, 1381–1392.
- [81] Seaman, F. C., **1982**, *The Botanical Review*, 48(2), 121-594

CHAPITRE III

TRAVAUX PERSONNELS

III. 1. Etude phytochimique de l'espèce *Thymelaea microphylla***III. 1. 1. Description botanique de l'espèce**

Thymelaea microphylla est une espèce endémique à l'Afrique du Nord, elle est connue localement sous le nom "Methnane", elle est très rameuse, poussant sous forme de petits buissons qui ne dépasse pas 1 mètre, à rameaux allongés, dressés et d'une coloration blanchâtres-soyeux (Figure III.1). Les feuilles sont très petites et espacées et les fleurs sont blanc-jaunâtres, en glomérules tels que les fleurs mâles à calice cylindrique de 4 à 6 mm et les fleurs femelles de 3 à 4 mm sur des pieds différents [1]. Cette espèce est très commune des Hauts-plateaux et des régions désertiques de l'Algérie.

III. 1. 2. Place dans la systématique

- Règne : Plantae
- Embranchement: Spermatophyta
- Sous-embranchement: Angiospermae
- Classe: Eudicotyledonae
- Ordre: Malvales
- Famille: Thymelaeaceae
- Sous-famille: Thymelaeoideae
- Tribu: Gnidaeae
- Genre: *Thymelaea*
- Espèce: *T. microphylla* Coss. et Dur.

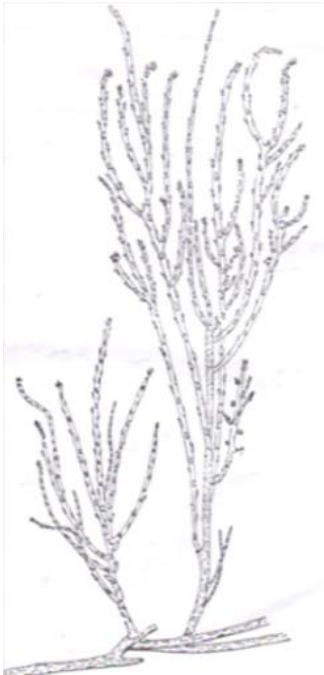


Figure III.1: *Thymelaea microphylla* Coss. et Dur. [2].

III. 1. 3. Etude bibliographique

La recherche bibliographique que nous avons menée sur l'espèce *T. microphylla* Coss. et Dur. a montré que cette plante a fait l'objet d'une seule étude phytochimique qui a permis l'isolement de l'acide oléanolique, le β -sitostérol et la β -sitostérol 3-*O* –glucopyranoside [3] avant que nous ayons entrepris nos travaux.

III. 1. 4. Matériel végétal

La plante *T. microphylla* Coss. et Dur. a été récoltée durant le mois d'avril 2009 à M'Sila. Elle a été séchée à l'ombre et pesée. La détermination botanique a été réalisée par le professeur Mohamed Kaabache (Département des sciences de la nature et de la vie, Université Ferhat Abbas, Sétif).

III. 1. 5. Extraction de la partie aérienne de la plante

Les parties aériennes de *T. microphylla* (2869 g) sont coupées en petits morceaux et mises à macérer dans un mélange éthanol/ eau (80/20) pendant 24 à 72 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 400 ml pour 1 kg de matière sèche. 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 l'éther de pétrole pour éliminer le chlorophylle, 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 reporté dans la Figure II. 24 et le rendement des phases organiques sont donnés dans le Tableau II.4.

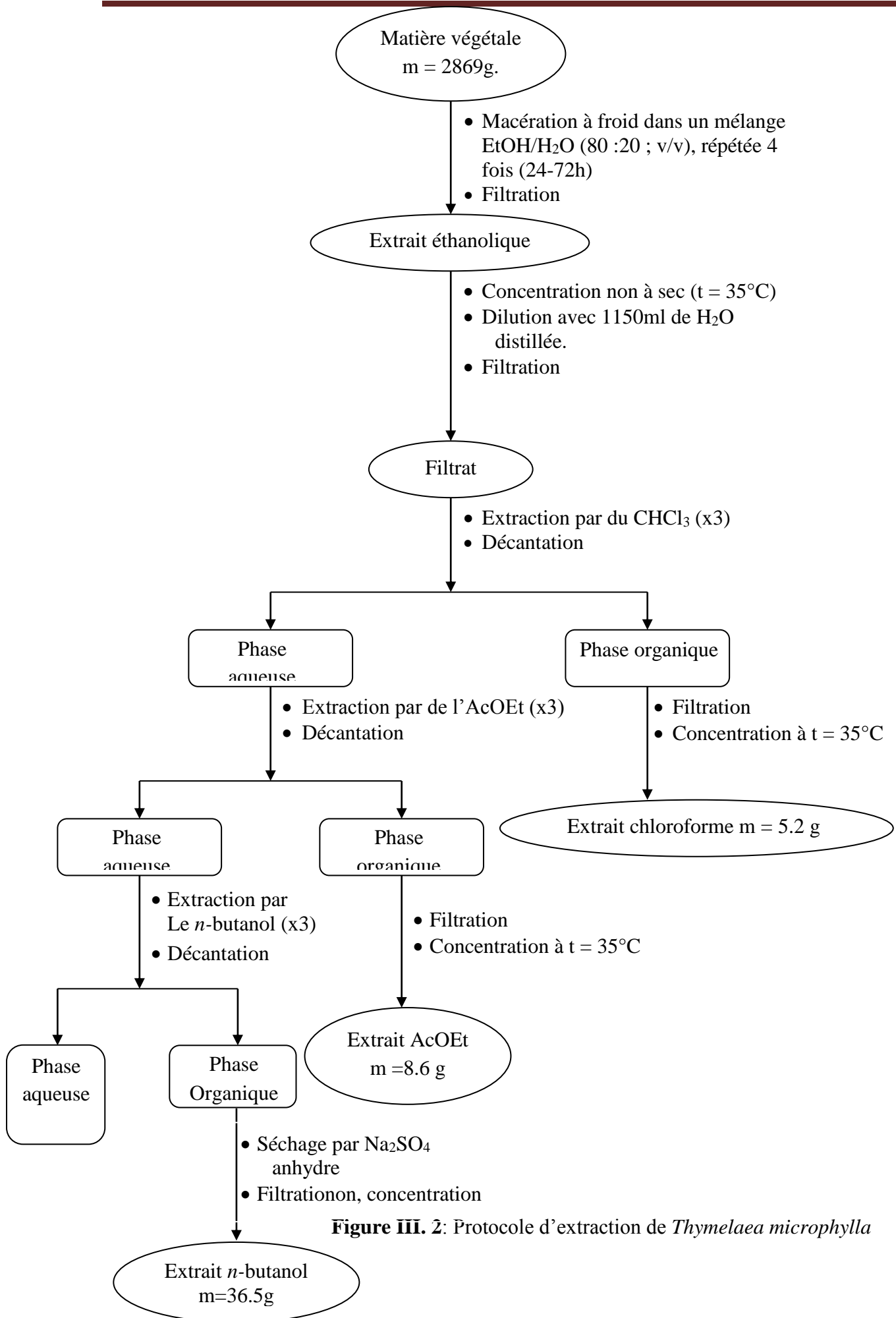


Figure III. 2: Protocole d'extraction de *Thymelaea microphylla*

Tableau III.1 : Masse et rendement des extraits de *Thymelaea microphylla*

Materiel végétal	extrait	Masse (g)	Rendement (%)
2869 g	chloroforme	6.3	0.18 %
	Acétate d'éthyle	8.6	0.29 %
	<i>n</i> -butanol	36.5	1.27 %

III. 1. 6. Séparation 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 acétate d'éthyle à cause de leur richesse.

III. 1. 6. A. Fractionnement de l'extrait chloroforme

Cette étape permet une séparation grossière des molécules selon leur polarité, le résultat des tests chromatographiques nous a conduit à utiliser comme système d'éluion l'éther de pétrole / chloroforme / acétone/méthanol en gradient de polarité.

Une masse d'environ 6.3 g d'extrait chloroforme est déposée sur une colonne de gel de silice (type 60, 230-400 mesh, Merck) préparée dans de l'éther de pétrole. L'éluion est réalisée par un gradient de polarité du système : l'éther de pétrole/chloroforme/acétone/méthanol en commençant par de l'éther de pétrole pur et en terminant par le méthanol pur avec un fractionnement tous les 100 ml. Le suivi de ces fractions est effectué par chromatographie sur couche mince de gel de silice sur support aluminium. Les plaques sont visualisées sous lumière UV (254 et 365 nm) puis révélées avec de l'acide sulfurique et chauffées pendant 3 mn à 100°C. La progression de cette colonne est rassemblée dans le Tableau III. 2.

Tableau III.2: Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de l'extrait chloroforme de *Thymelaea microphella* Coss. & Dur.

E-P	CHCl ₃	Acétone	MeOH	Fraction	Erlin	Poids (mg)
100	/	/	/	FC 1	1-70	traces
95	5	/	/	/	/	/
90	10	/	/	/	/	/
80	20	/	/	/	/	/
65	35	/	/	/	/	/
55	45	/	/	FC 2	71-74	615
/	/	/	/	FC 3	75-78	136
/	/	/	/	FC 4	79-84	100
50	50	/	/	FC 5	85-92	190
45	55	/	/	FC 6	93-105	281
/	/	/	/	FC 7	106-111	348
40	60	/	/	FC 8	112-114	118
/	/	/	/	FC 9	115-123	174
30	70	/	/	FC 10	124-127	175
/	/	/	/	FC 11	128-131	85
/	/	/	/	FC 12	132-136	64
20	80	/	/	FC 13	137-141	172
/	/	/	/	FC 14	142-144	27
/	/	/	/	FC 15	145-151	118
/	/	/	/	FC 16	152-154	136
10	90	/	/	FC 17	155-160	162
/	100	/	/	FC 20	169-172	91

/		/	/	FC 21	173-194	193
/	95	5	/	FC 22	195-223	255
/	90	10	/	FC 23	224-238	301
/	80	20	/	FC 24	239-248	233
/	40	60	/	FC 25	249-289	778
/	/	100	/	FC 26	290-314	472
/	/	/	10	FC 27	315-317	109
/	/	/	50	FC 28	318	595
/	/	/	100	FC 29	319	239
/	/	/	/	FC 30	320-323	206
/	/	/	/	FC 31	324-345	268

III. 1. 6. A. 1. Etude de la fraction F2, F3 et F4

Les fractions F2, F3 et F4 éluées par éther de pétrole / CHCl₃: (55-45) sont réunies (751 mg), puis fractionnées sur une flash colonne de gel de silice (type 60, 230-400 Mesh, Merck) avec un gradient d'élution hexane-AcOEt: 80-20 à 20-80, les fractions semblables récupérées sont regroupées en 9 sous fractions (Tableau III.3).

Tableau III.3: Résultats de la séparation par chromatographie sur flash colonne des fraction F2, F3 et F4 réunies.

Sous fraction	Erlin	hexane	AcOEt	quantité (mg)
FCBC1	1-2	80	20	traces
FCBC2	3	70	30	70
FCBC3	4	60	40	131.7
FCBC4	5	60	40	96.4
FCBC5	6	60	40	32.3
FCBC6	7.8.9	60	40	120.8
FCBC7	10.11	50	50	36.1
FCBC8	12.13	50	50	24.4
FCBC9	14.18	20	80	70.8

La quatrième sous fraction FCBC4, moins complexe et plus abondante que les autres fractions, a été chromatographiée sur plaques de gel de silice normale HF254, éluées par le système hexane/AcOEt (60/40). Après deux éluions, deux bandes ont été obtenues. Eluée et purifiée sur plaque de gel de silice par le même système, une bande a permis l'obtention du produit pur **TM 01** (5.8mg).

III. 1. 6. A. 2. Etude des fractions F9 et F 10

Les fractions F9 et F10 (246 mg) éluées par le système éther de pétrole / CHCl₃: (40-60) et (30-70) respectivement, sont regroupées, puis fractionnées sur une flash colonne de gel de silice normale avec un gradient d'éluion hexane-AcOEt: 90-10 à 0-100 donnant 9 sous fractions (Tableau III.4).

Tableau III.4: Résultats de la séparation par chromatographie sur flash colonne des fractions F9 et F10 réunies

Sous fraction	Tubes	hexane	AcOEt	quantité	produit
FCT1	1-6	90	10	traces	traces
FCT2	7-12	75	25	20.4	Mélange
FCT3	13-20	55	45	77.3	Mélange séparable
FCT4	21-22	50	50	14.7	Mélange
FCT5	23-25	40	60	23	Deux produits
FCT6	26	35	65	29.6	Produit impur
FCT7	27	35	65	8.2	Produit pur
FCT8	28-30	25	75	13	Produit pur
FCT9	31-34	0	100	11.3	Mélange

La sous-fraction FCT5, Environ 23 mg de cette fraction a été soumis à la chromatographie sur plaques préparatives (gel de silice 60 F254, 0.5 mm) sur un support de verre éluées par le système hexane-AcOEt (4/6). Deux bandes majoritaire sont présentes sur ces plaques, la deuxième bande étant plus significative. Cette bande, grattée, éluée et filtrée a mène à un produit pur **TM 02** (6.5 mg).

III. 1. 6. A. 3. Etude de la fraction F13

Une grande partie de la fraction F13 est précipitée sous forme d'une poudre blanche soluble dans le méthanol à chaud. Après filtration, cette dernière a donné un produit pur sous forme d'une poudre blanche **TM 03** (100 mg).

III. 1. 6. A. 4. Etude de la fraction F16 et F17

Les fractions F16 et F17 éluées par éther de pétrole - CHCl₃: (10-90) et (0-100) respectivement sont réunies (298 mg) puis chromatographiées sur une flash colonne de gel de silice_ préparée dans le chloroforme. L'élution est réalisée initialement par le chloroforme puis par un gradient de MeOH dans le chloroform: 100-0 à 0-100, pour conduire à 6 sous fractions (Tableau III.5). Les fractions recueillies sont soumises à une chromatographie sur couche mince CCM, visualisées à la lumière UV puis révélées à l'acide sulfurique suivi de chauffage à 100°C pendant 3 minutes.

Tableau III.5: Résultats de la séparation par chromatographie sur flash colonne des fractions F16 et F17 réunies

Sous fraction	Erlin	CHCl ₃	MeOH	Quantité (mg)
C1	1-2	100	0	Traces
C2	3	90	10	49.8
C3	4	90	10	70
C4	5.6.7	90	10	20
C5	8	80	20	7.2
C6	9.10.11.12	0	100	47

Environ 20 mg de la sous-fraction C4 ont été soumis à la chromatographie sur plaques préparatives PLC de gel de silice HF254, éluées par le système chloroforme/MeOH (95/05). Des quatre bandes présentes sur ces plaques, la première bande est la plus significative. Celle-ci a été grattée, éluée et filtrée pour mener à un produit pur **TM 04** (6,5 mg).

Lors du regroupement des tubes de la sous-fraction C5, on a constaté après la carbonisation avec l'acide sulfurique l'apparition d'une tache marron, cette sous-fraction a été soumise à la chromatographie sur les plaques préparatives PLC avec le système hexane/AcOEt (5/5). La bande intense a été grattée, éluée et filtrée, pour mener à un produit pur **TM 05** (0.8 mg).

III. 1. 6. A. 5. Etude de la fraction F20

La fraction F20 a donné un précipité de masse (6.6 mg) soluble partiellement dans le MeOH et soluble totalement dans le DMSO. Ce précipité a été rincé avec un mélange de CHCl₃ et de MeOH. Testé sur plaque analytique de gel de silice. Ce précipité donne un spot de couleur noir violette sous la lumière de Wood (365 nm). Nous l'avons codé **TM 06**.

III. 1. 6. A. 6. Etude des fractions F23-F24.

Elles sont parmi les fractions les plus importantes du point de vue masse. Les fractions F23 et F24 ont été éluées par CHCl_3 /acétone: (90-10) et (80-20) respectivement. Présentant des profils chromatographiques similaires, nous les avons réunies (534 mg) puis chromatographiées sur une colonne de gel de silice préparée dans le chloroforme. L'éluion est réalisée initialement par le chloroforme puis par un gradient de MeOH dans le chloroforme: 100-0 à 70-30, pour conduire à 9 sous fractions (Tableau III. 6).

Les fractions recueillies sont soumises à une chromatographie sur couche mince CCM, visualisées à la lumière UV et révélées à l'acide sulfurique et chauffage.

Tableau III.6: Résultats de la séparation par chromatographie sur flash colonne des fractions F23 et F24 réunies

Sous-fraction	CHCl_3	MeOH	tubes	Quantité (mg)
CF1	10	/	1	/
CF2	9.5	0.5	3	84.9
CF3	9.5	0.5	4	63
CF4	9.5	0.5	5.6	15
CF5	9.5	0.5	7	46.4
CF6	9	1	8.9	125
CF7	9	1	10.11	08
CF8	8	2	12.13	06
CF9	7	3	14	04

Une masse d'environ 125 mg de la sous-fraction CF6 a subi à une deuxième séparation sur une flash colonne de gel de silice (gel de silice 60 F254) avec le système éluant hexane / AcOEt (5/5) en gradient de polarité. La sous sous fraction CF6-1 d'une masse d'environ 20 mg a été soumise à la chromatographie sur plaques préparatives PLC de gel de silice HF254 éluées par le système CHCl_3 /MeOH (9.5/0.5). Pour mener à un produit pur **TM 07**(3 mg).

III 1. 6. B. Séparation chromatographique sur colonne de l'extrait acétate d'éthyle

L'extrait brut, visqueux a été dissous dans le dichlorométhane et mélangé avec 30 grammes de gel de silice (type 60 RP-18 F 254) puis évaporé à sec conduisant à une poudre solide qu'on a déposé sur une colonne de gel de silice préparée dans le dichlorométhane. La colonne a été élué par le dichlorométhane puis un gradient de méthanol jusqu' à atteindre 100 % de méthanol.

Le suivi de ces fractions est effectué par chromatographie sur couche mince de gel de silice sur support de verre (gel de silice 60 F254, 0,2 mm). Les plaques sont visualisées sous lumière UV (254 et 365 nm) puis révélées avec un mélange de vanilline et d'acide sulfurique dans l'éthanol ou l'anisaldehyde additionné à l'acide sulfurique. La progression de cette colonne est rassemblée dans le Tableau III.7.

Tableau III. 7 : Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de l'extrait Acétate d'éthyle de *T. microphylla* Coss. et Dur.

CH ₂ Cl ₂	MeOH	FRACTION	ERLEN	POIDS
100	/	FA1	1-11	17
97	3	FA2	12-13	25
97	3	FA3	14-15	41
95	5	FA4	16-18	54
95	5	FA5	19	14
92	8	FA6	20-23	86
92	8	FA7	24-26	82
88	12	FA8	27-32	345
88	12	FA9	33-35	40
85	15	FA10	36-46	114
85	15	FA11	47-48	30
70	30	FA12	49-53	267
60	40	FA13	54-57	17
50	50	FA14	58-59	14
50	50	FA15	60-65	18
30	70	FA16	66	11
/	100	FA17	67-70	19

III. 1. 6. B. 1. Etude de la fraction FA6

Une partie de la fraction FA6 est un précipité sous forme d'une poudre qui ne se dissout que dans le méthanol à chaud. Ce précipité est purifié avec des lavages successifs par des solvants

de polarité croissante pour obtenir un produit pur sous forme d'une poudre jaune TA 1 (07 mg). Testé par l'ammoniac, il donne une coloration jaune caractéristique d'un flavonoïde.

III. 1. 6. B. 2. Etude de la fraction FA8

Une grande partie de la fraction FA8 est un précipité sous forme d'une poudre jaune, ce produit a été lavé avec un mélange de CHCl_3 / AcOEt pour donner un mélange de deux produits sous forme d'une poudre jaune TA 2 et TA3 (200 mg)

III. 2. Etude phytochimique de l'espèce *linaria aegyptiaca*

III. 2. 1. Description botanique de l'espèce

Le genre *Linaria* est le plus connu de la famille Scrophulariaceae et comprend environ 200 espèces [4]. On y rencontre *Linaria laxiflora* (Mzab), *Linaria peltieri*, *Linaria tingitana* et *Linari avirgata* [5].

Généralement, les plantes de ce genre sont annuelles ou vivaces, parfois ligneuses. Elles ne diffèrent que par la corolle éperonnée à la base [6]. L'espèce *aegyptiaca*, est un petit buisson à nombreux rameaux [2], dressés en général, très ramifiés, spinescents au sommet. C'est une plante vivace, finement pubescente [2], très variable dont on a distingué diverses formes différant notamment par des caractères de pilosité [7]. Les feuilles sont très petites de moins de 1 cm, hastés ou lancéolés, avec une couleur verte grisâtre ou jaunâtre [6]. Les fleurs sont jaunes de 12 à 15 mm (Figure III. 3).

III. 2.1.1 Place dans la systématique

- **règne** Plantae
- **sous-règne** Tracheobionta
- **division** Magnoliophyta
- **classe** Magnoliopsida
- **sous-classe** Asteridae
- **ordre** Scrophulariales
- **famille** Scrophulariaceae
- **genre** *Linaria*
- **espèce** *L. aegyptiaca*



Figure III. 3 : Photographie de *Linaria aegyptiaca*

III. 2. 2. Travaux antérieurs sur la plante

La recherche bibliographique que nous avons menée a montré qu'une seule étude a été menée sur *Linaria aegyptiaca*. Cette investigation a permis d'isoler l'antirrhinoside, le linarioside, l'acide mussaenosidique et la ladaneine [7].

III. 2. 3. Récolte de la plante

L'espèce *Linaria aegyptiaca* a été récoltée durant le mois de juin 2012. De la région de Biskra. La détermination botanique de cette plante a été réalisée par le professeur Mohamed Kaabache (Département des sciences de la nature et de la vie, Université Ferhat Abbas, Sétif). La plante a été séchée pendant plusieurs jours à l'abri de la lumière directe du soleil, pesée et broyée grossièrement.

III.2. 4. Extraction de la partie aérienne de la plante

L'étude phytochimique de *Linaria aegyptiaca* est réalisée sur les parties aériennes. Les tiges, les feuilles et les fleurs préalablement séchées et coupées en petits morceaux. La quantité du matériel végétal obtenue (1941 g) a subi une macération dans un mélange hydroalcoolique (Ethanol/Eau ; 70 : 30 ; v/v) pendant 72 heures. Le premier extrait récupéré est concentré sous pression réduite et une température modérée (environ 35 °C). La macération est répétée 3 fois avec renouvellement du solvant de 24 à 48 heures.

Les trois extraits hydroalcooliques récupérés sont réunis et concentrés. A la solution obtenue, on ajoute de l'eau distillée (à raison de 400 ml d'eau distillée pour 1 kg de matière sèche). La solution ainsi obtenue est laissée au repos à froid pendant une nuit pour décantation. Cette dernière permet le dépôt de la chlorophylle, des cires, du sable, etc....

Après filtration on obtient une solution aqueuse. Cette phase aqueuse subit une extraction de type liquide-liquide en utilisant des solvants de polarité croissante en commençant par l'éther de pétrole, puis le chloroforme, puis l'acétate d'éthyle et en dernier le *n*-butanol.

Les trois dernières phases organiques ainsi obtenues sont concentrées à sec sous pression réduite, pesées et les rendements sont donnés dans le Tableau III.8. Le protocole d'extraction est résumé est résumé dans la Figure III. 4.

Tableau III. 8. Masse et rendement des extraits de *Linaria aegyptiaca*

Matériel végétal	Extrait	Masse (g)	Rendement (%)
1941 g	Chloroforme	2.1	0.10
	Acétate d'éthyle	4.2	0.21
	<i>n</i> -butanol	27	1.39

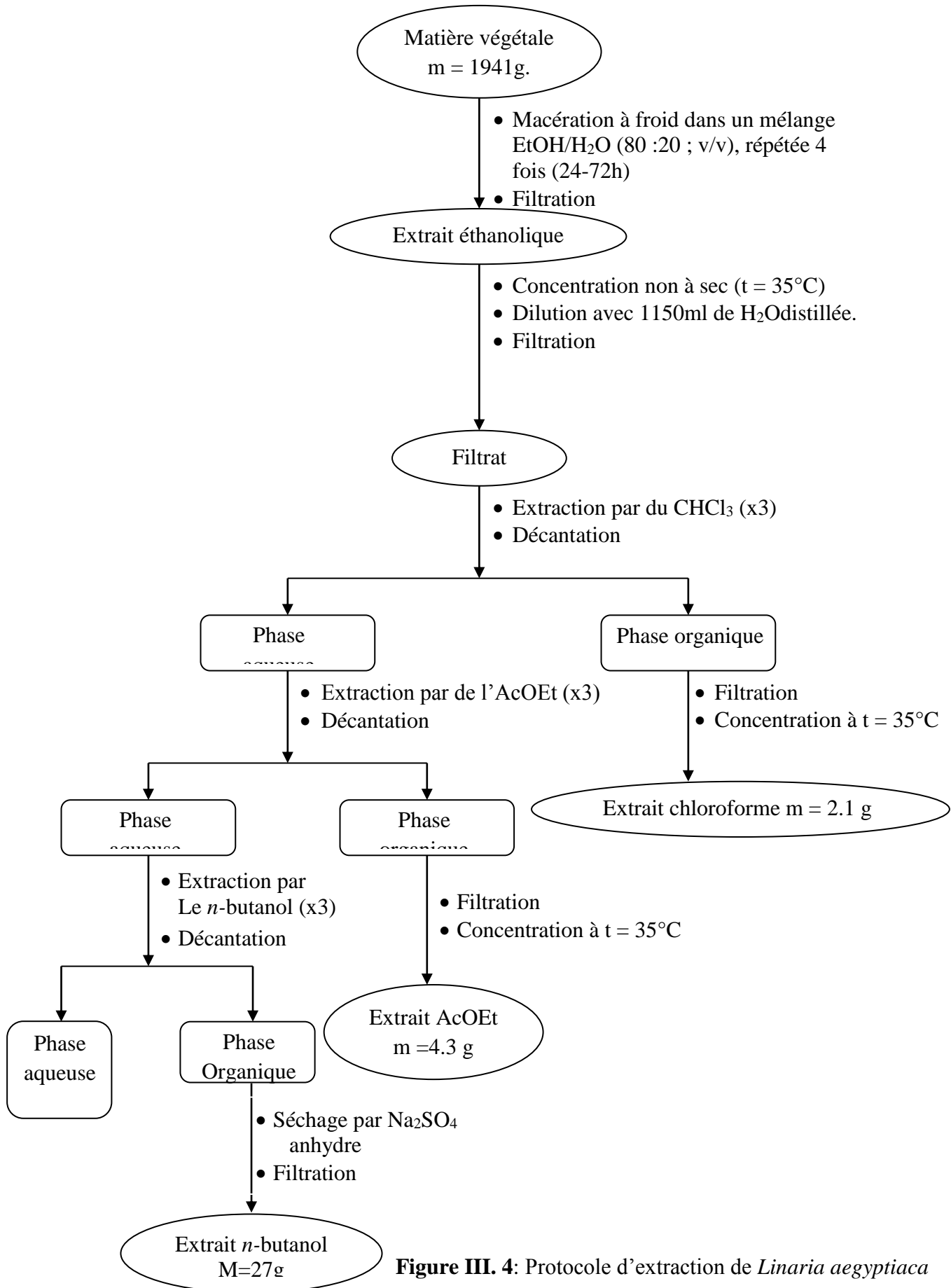


Figure III. 4: Protocole d'extraction de *Linaria aegyptiaca*

III. 2.5. Séparation et purification

III. 1. 5. 1. Traitement de l'extrait chloroforme et acétate d'éthyle

Des tests chromatographiques sur couche mince de gel de silice ont été réalisés sur une feuille d'Aluminium, ces derniers nous a permis de sélectionner le meilleur système de séparation : CHCl₃ /MeOH (9 :1).

III. 2. 5. 2. Séparation chromatographique sur colonne de l'extrait chloroforme et acétate d'éthyle

Avant d'entamer la séparation par chromatographie sur colonne pour les extraits de cette plante, des profils LC-MS ont été effectués pour les trois phases. Les chromatogrammes obtenus, montrent une similarité entre la phase chloroforme et la phase acétate d'éthyle, ce qui nous a permis de mélanger ces deux phases.

Cependant, avant de mélanger les deux extraits, un précipité est apparu dans la phase chloroforme, nous l'avons immédiatement filtré. Après lavage de ce précipité avec le chloroforme et l'acétate d'éthyle nous avons obtenu un produit jaune soluble dans le méthanol **MF 01** (7.6 mg). Par la suite, environ 6.3 g de ces deux phases sont dissous dans un minimum de méthanol, la solution est introduite à l'aide d'une pipette sur une flash colonne confectionnée avec une quantité de gel de silice (type 60 RP-18 F 254) préparée dans le l'hexane. L'élution débute avec de l'hexane dont la polarité sera augmentée par addition progressive de chloroforme puis le méthanol.

Un fractionnement tous les 100 ml a été effectué. Les fractions recueillies sont regroupées suivant la similitude de leur profil chromatographique sur TLC, les plaques sont visualisées sous lampe UV (254 et 365 nm) puis révélées avec un révélateur à base d'acide sulfurique et chauffées à 100 °C pendant 3 minutes.

Les résultats obtenus sont regroupés dans le Tableau III. 9.

Tableau III.9: Fractionnement des extraits chloroforme et acétate d'éthyle réunis

N de fraction	% hexane	% CHCl ₃	% méthanol	Quantité(g)
1	100	/	/	Des traces
2	90	10	/	/
3	80	20	/	/
4	60	40	/	/
5	40	60	/	/
6	20	80	/	21
7	/	100	/	113
8	/	99	1	227
9	/	98	2	68
10	/	97	3	97
11	/	95	5	266
12	/	90	10	836
13	/	85	15	993
14	/	80	20	1318
15	/	70	30	1146
16	/	60	40	1652
17	/	50	50	409
18	/	/	100	334

III.2.5.2.A. Etude de la fraction F4

La fraction F8 (227 mg) obtenue à partir du milieu de la colonne éluée par CHCl₃/MeOH: 99-1 a été rechromatographiée sur une flash colonne de gel de silice (type 60 RP-18 F 254) en utilisant le système hexane/CHCl₃ (8 : 2) avec augmentation de la polarité pour donner 10 sous fractions. La sous-fraction 8 a été rechromatographiée sur une petite flash colonne (1g de gel de silice) avec le même système pour donner 10 sous sous-fractions, la chromatographie de la cinquième sous sous-fraction sur plaques préparatives de gel de silice PLC (gel de silice 60 F254, 0.5 mm sur un support de verre) éluées par le mélange hexane/ AcOEt dans les proportions (5 : 5) pour donner un produit pur **MF2** (4.7 mg).

III.2.5.2.B. Etude des fractions F5, F6 et F7

Les fractions F5, F6 et F7 ont été éluées par Hexane/CHCl₃: (40-60), et (20-80) respectivement. Elles sont parmi les fractions les plus importantes du point de vue masse et ont des profils chromatographiques similaires, nous les avons réunies (431 mg) puis chromatographiées sur un flash colonne de gel de silice (type 60 RP-18 F 254) préparée dans le chloroforme. L'élué est réalisé initialement par le chloroforme puis par un gradient de MeOH dans le chloroforme, pour conduire à 10 sous fractions. Après analyse sur plaques CCM analytiques, les sous-fraction 7, 8, 9 et 10 sont réunies et rechromatographiées par une petite flash colonne (1 g de gel de silice) avec le même système pour donner 10 sous-sous-fractions, la chromatographie des sous-sous-fractions 4, 5 et 6 sur plaques préparatives de gel de silice PLC (gel de silice 60 F254, 0.5 mm sur un support de verre) éluées par le mélange hexane/AcOEt dans les proportions 5 : 5 a permis l'obtention d'un produit pur **MF** (5.2 mg).

III.2.5.2.C. Etude de la fraction F8

Cette fraction éluée (CHCl₃-MeOH: 99-1), a montré la formation d'un précipité que nous avons filtré pour obtenir une poudre jaune (836 mg). Après lavages successifs avec des solvants de polarité croissante, le produit pur **MF4** (100 mg) a été obtenu. Le filtrat de cette fraction a été évaporé (736 mg) puis soumis

à une purification sur une flash colonne de gel de silice (type 60 RP-18 F 254) éluée par un système hexane /AcOEt avec augmentation de la polarité pour donner 12 sous fractions, la sous fraction 5 a mené à un produit pur sous forme d'une poudre jaune codé **MF5** (06 mg).

Les sous-fraction 7 et 8 ont été combinées (90 mg) et rechromatographiées sur une flash colonne (phase inverse) éluée par un système eau/acétonitrile pour donner 7 sous-sous-fractions, la sous-sous-fraction 3 a donné après une séparation sur plaques préparatives de gel de silice PLC (gel de silice 60 F254, 0.5 mm sur un support de verre) éluées par l'éther diéthylique le produit **MF6** (3.5 mg).

III.2.5.2.D. Etude de la fraction F 10.

Cette fraction a montré la formation d'un précipité blanc que nous avons filtré et rincé avec plusieurs solvants, pour obtenir un produit pur soluble dans la pyridine, nous l'avons codé **MF7** (23 mg).

III. 2. 5. 3. Conclusion

L'étude chromatographique du mélange de l'extrait chloroforme et acétate d'éthyle a ainsi permis la purification de sept produits. Ce travail s'est avéré compliqué suite à la contamination des solvants utilisés par des phtalates.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Garcia-Granados, A., Saenz de Buruaga, A., **1980**, Thymelaeaceae phytochemistry. I. Diterpenes, triterpenes and sterols of *Thymelea hirsuta* L. leaves, *An. Quim. Ser. C: Quim. Org. Biochim*, 76, 94-95.
- [2] Ozenda, P., **1991**, Flore et végétation du Sahara, 3^{ème} édition. CNRS. Paris. France.
- [3] Cheriti, A., Sekkoum, K., **1995**, *Acta Chim. Slovenica*, 42(3), 373-374.
- [4] Handjieva, N, V., Ilieva, E, I., Spassov, S, L., Popov, S, S., **1993**, Iridoid glycosides from *Linaria species*, *Tetrahedron*, 49:9261–9266.
- [5] Viano, J., *Anal. Inst. Bot. Cavanilles*, **1978**, 35, 261-277.
- [6] Quezel, P., Santa, S., **1963**, Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, vol. 1 et 2. CNRS, Paris.
- [7] Ferhat, M., Harkat, H., Lavaud, C., Haba, H., Long, C., Benkhaled, M., **2010**, Iridoids and flavonoid from *Linaria aegyptiaca* (L.) Dum, *Subsp. fruticosa*, *Biochemical Systematics and Ecology* 38 833–835.

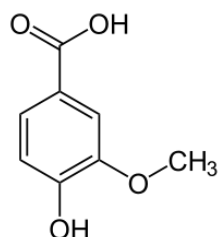
CHAPITRE IV

RESULTATS ET DISCUSSIONS

II.7. Caractérisation chimique et élucidation structurale des composés isolés

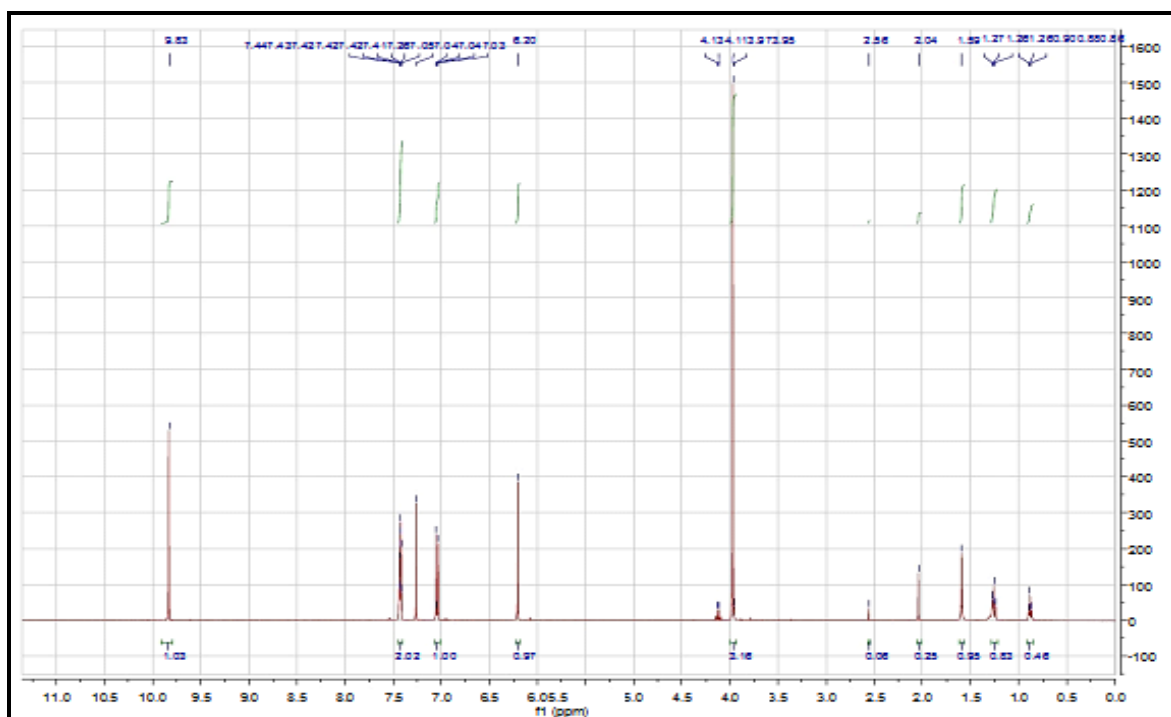
Les composés isolés ont été identifiés par les analyses spectroscopiques (RMN ^1H , ^{13}C , COSY, HSQC et HMBC) ainsi que la spectrométrie de masse et la spectroscopie UV-Vis.

IV. 1. A. 1. Elucidation de la structure du composé TM 01

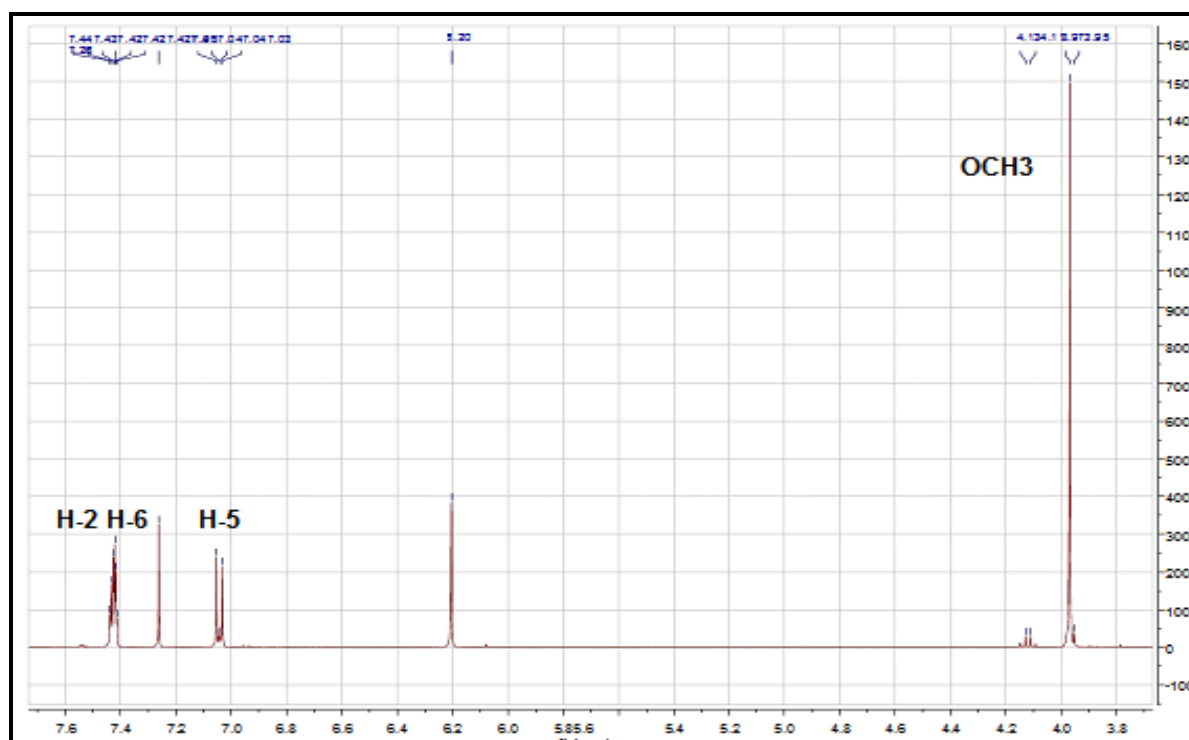


L'examen du spectre RMN ^1H (Spectre n° IV.1.1) et son étalement (Spectre n° IV.1.2) montre la présence d'un noyau aromatique trisubstitué en position **1**, **3** et **4**. En effet, les trois protons aromatiques présentent :

- Un doublet résonant à $\delta_{\text{H}} = 7,43$ ppm $J = 1,6$ Hz, indiquant un couplage en méta (H-2).
- un deuxième doublet de doublet à $\delta_{\text{H}} = 7,37$ ppm correspondant à un double couplage en ortho ($J = 8,4$ Hz) et en méta ($J = 1,7$ Hz), H-6.
- ainsi qu'un troisième doublet à $\delta_{\text{H}} = 7,04$ ppm correspondant un couplage ortho ($J = 8,4$ Hz), H-5
- Un singulet d'intégration 3H à $\delta_{\text{H}} = 3,97$ ppm, indiquant la présence d'un groupement méthoxyle (OCH_3).



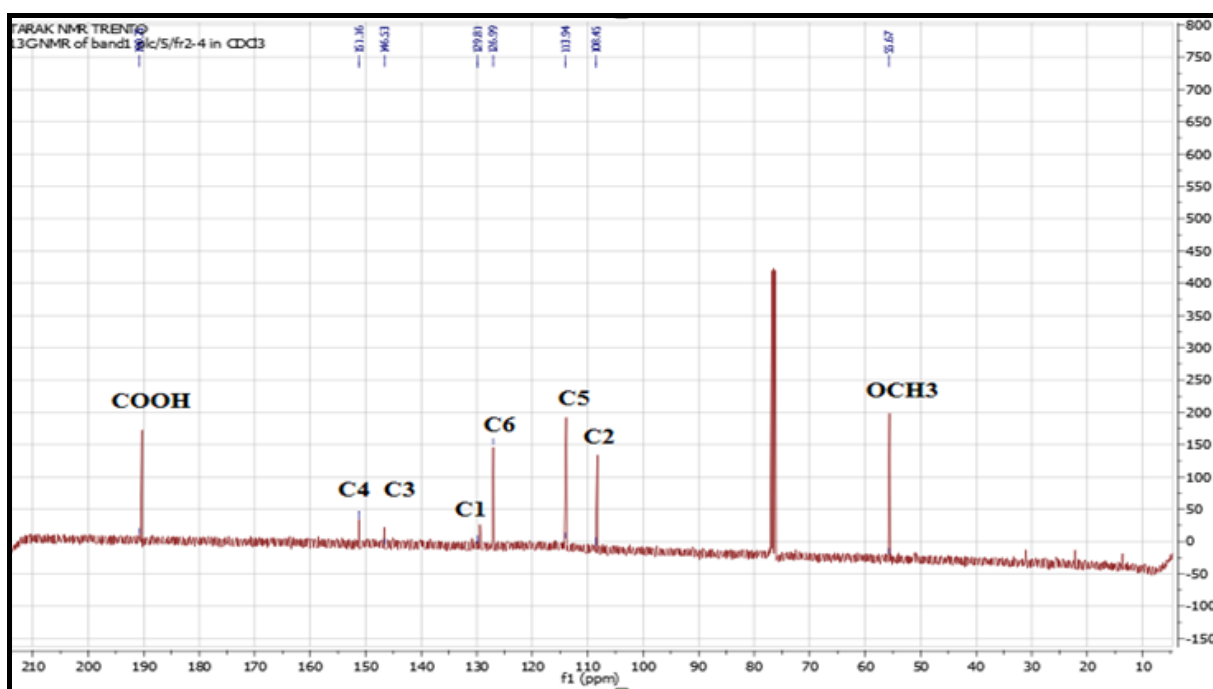
Spectre n° IV.1.1: Spectre RMN 1 H (400 MHz, CDCl_3 , δ ppm) du composé **TM 01**



Spectre n° IV.1.2: Spectre RMN ^1H du composé **TM 01**, étalement.

L'analyse du spectre RMN- ^{13}C (Spectre n° IV.1.3) montre:

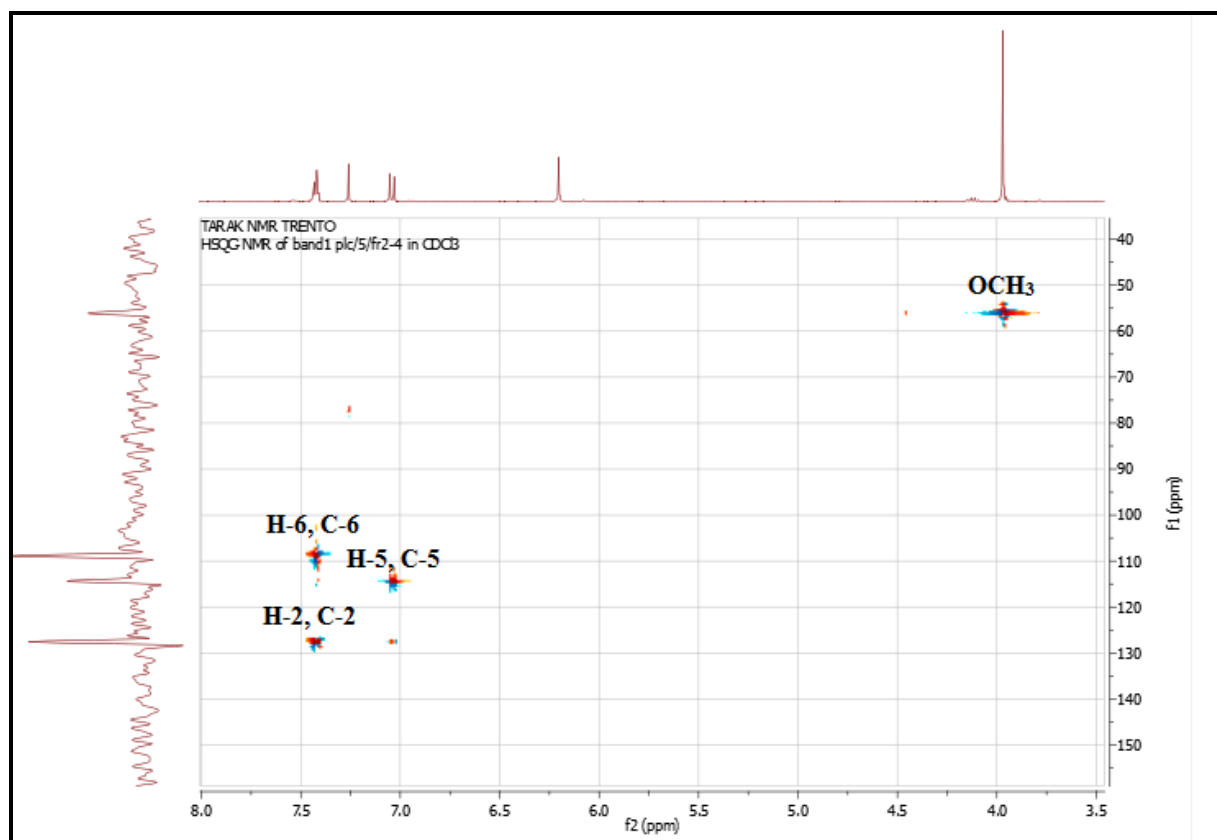
- Quatre signaux à $\delta_c = 108.27$ ppm, $\delta_c = 113.81$ ppm, $\delta_c = 126.96$ ppm et $\delta_c = 129.42$ ppm représentant des atomes de carbone (non oxygénés) d'un noyau aromatique et deux signaux à $\delta_c = 146.63$ ppm et $\delta_c = 151.16$ ppm représentant deux atomes de carbone oxygénés du noyau aromatique.
- Un signal à $\delta_c = 190.14$ ppm, caractéristique d'une fonction acide conjuguée avec un noyau aromatique ;
- Un signal à $\delta_c = 57.26$ ppm, caractéristique du carbone d'un groupement OCH_3 .



Spectre n° IV.1.3: Spectre RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 , δ ppm) du composé **TM-01**

L'analyse du spectre relatif à l'expérience HSQC (Spectre n° IV.1.4) permet l'attribution des signaux des protons aux atomes de carbone correspondants ainsi :

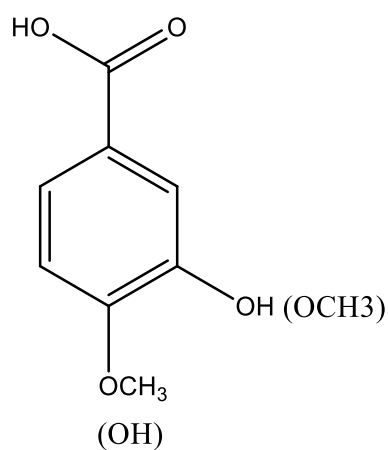
- Le H-5 permet l'attribution du signal à $\delta_c = 114.42$ ppm à l'atome de carbone **C-5**.
- Le H-6 permet l'attribution du signal à $\delta_c = 108.27$ ppm à l'atome de carbone **C-6**.
- Le H-2 permet l'attribution du signal à $\delta_c = 126.96$ ppm à l'atome de carbone **C-2**.
- Le groupement méthoxyle à $\delta_H = 3,78$ ppm permet l'attribution de l'atome de carbone à $\delta_c = 55,92$ ppm au carbone de ce groupement OCH_3 .



Spectre n° IV.1.4 : Spectre HSQC (400 MHz, CDCl_3 , δ ppm) du composé TM01.

Ces données mènent à la structure partielle reportée dans la Figure n° IV.1.

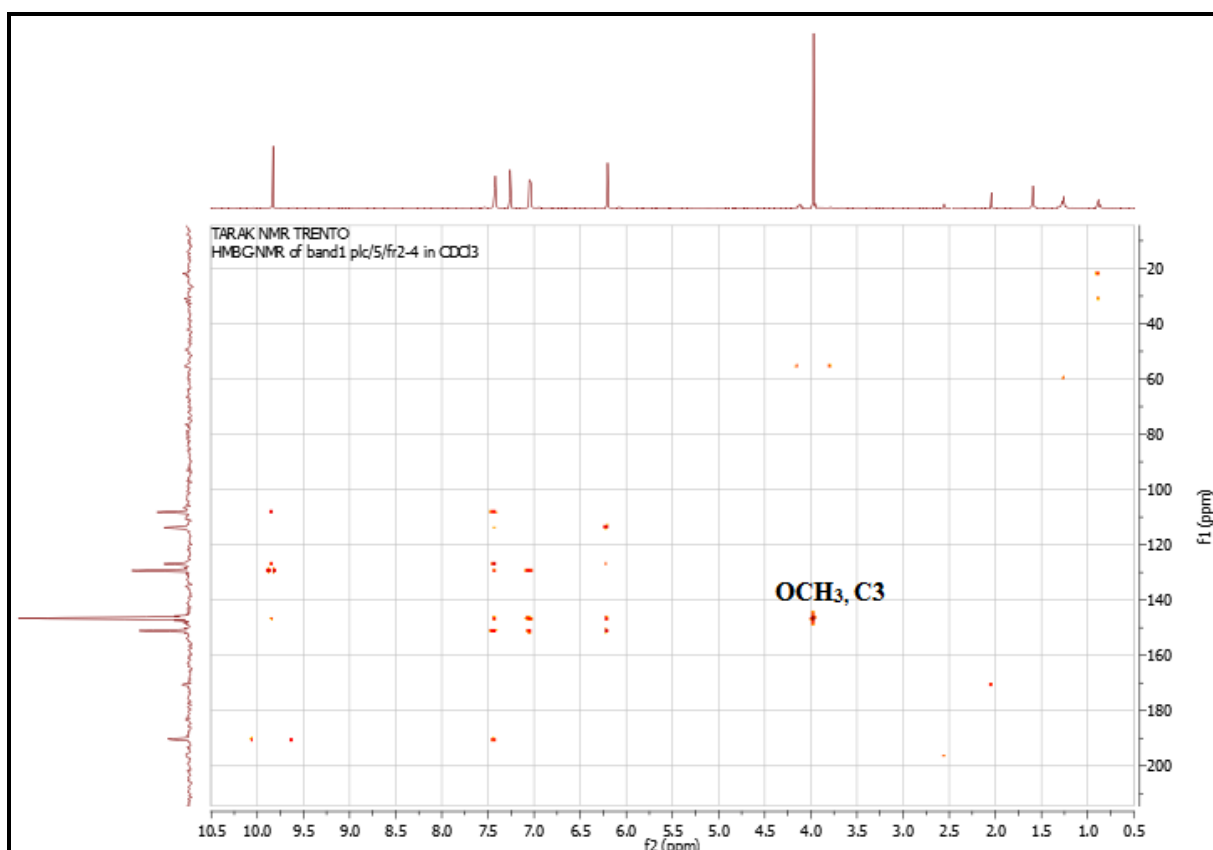
Figure n° IV.1: Structure partielle du composé TM 01



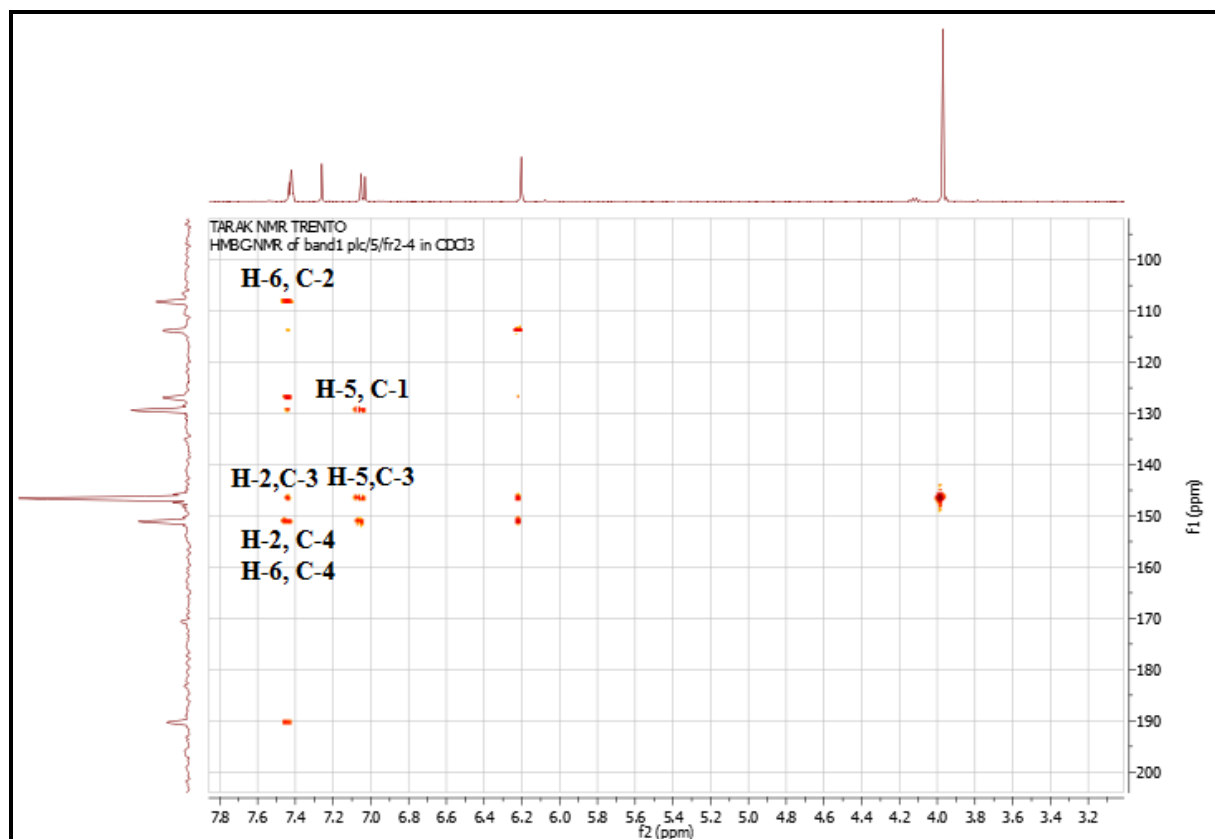
le spectre HMBC (Spectre n° IV.1.5) et son étalement (Spectre n° IV.1.6) nous ont permis d'observer que le groupement méthoxyle ainsi que le proton H-2 corrélient avec le carbone à $\delta_c = 147,4$ ppm. Ce carbone corréle également avec le proton H-5 ceci indique que ce carbone est attribuable au C-3 et que par conséquent le groupement méthoxyle est placé en position C-3.

Les autres corrélations observées dans ce spectre confirment ces indications. En effet,

- les protons H-6 et H-2 corrélient avec le même atome de carbone à $\delta_c = 151,02$ ppm qui est donc attribué au carbone C-4. D'après la valeur de son déplacement chimique, il est oxygéné et par conséquent hydroxylé.
- Le proton H-5 montre en plus de la tache de corrélation avec le C-3, une tache de corrélation avec l'atome de carbone à $\delta_c = 129,35$ ppm qui ne peut être attribué qu'au carbone C-1.
- les deux protons H-6 et H-2 corrélient avec la carbone du carbonyle de la fonction acide, ce qui les place effectivement en ortho et ortho prime par rapport à lui.



Spectre n° IV.1.5: Spectre HMBC (400 MHz, CDCl₃, δ ppm) du composé TM01.



Spectre n° IV.1.6: Spectre HMBC (400 MHz, CDCl_3 , δ ppm) du composé TM01, étalement.

L'ensemble de ces données est en accord avec la littérature [1] et mène à l'acide vanillique (Figure n° IV.2)

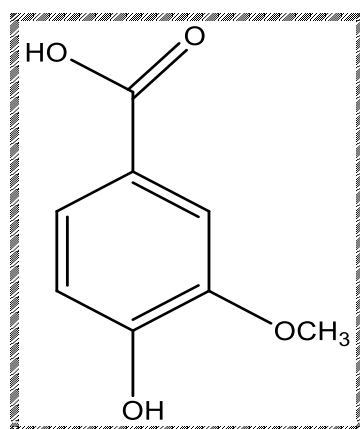
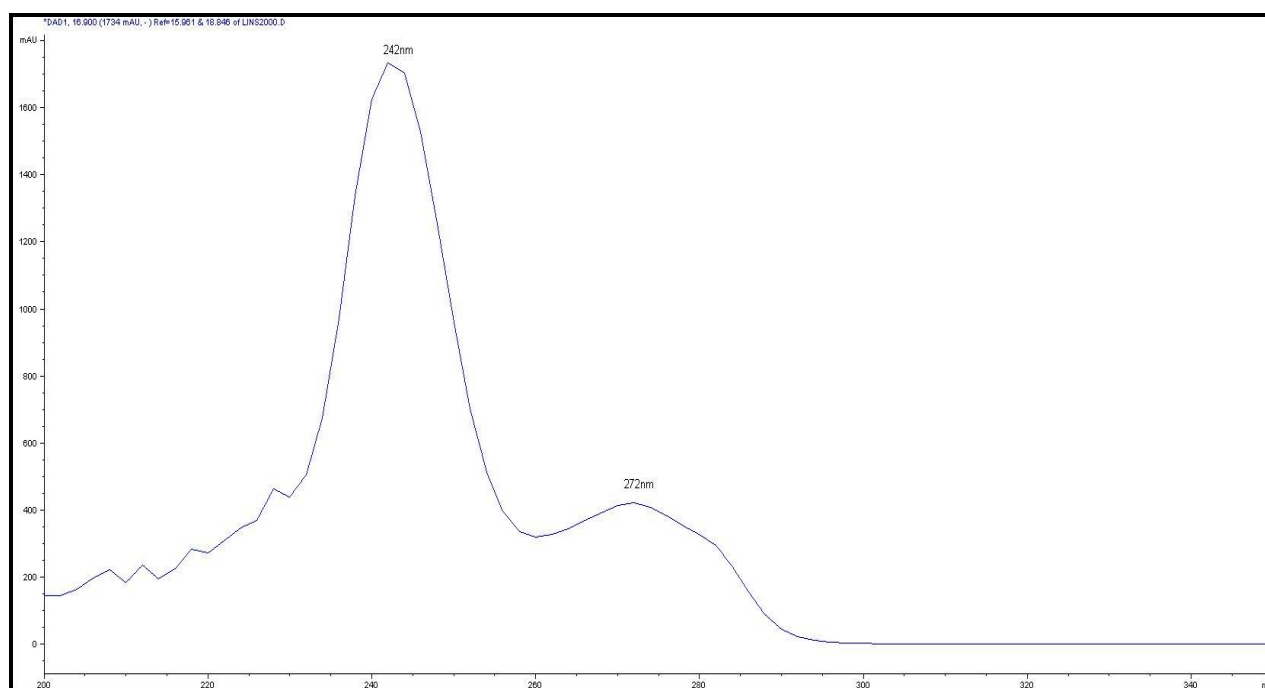


Figure n° IV.2: Structure du composé TM 01, l'acide vanillique

IV.1.A. 2. Elucidation de la structure du composé TM 02

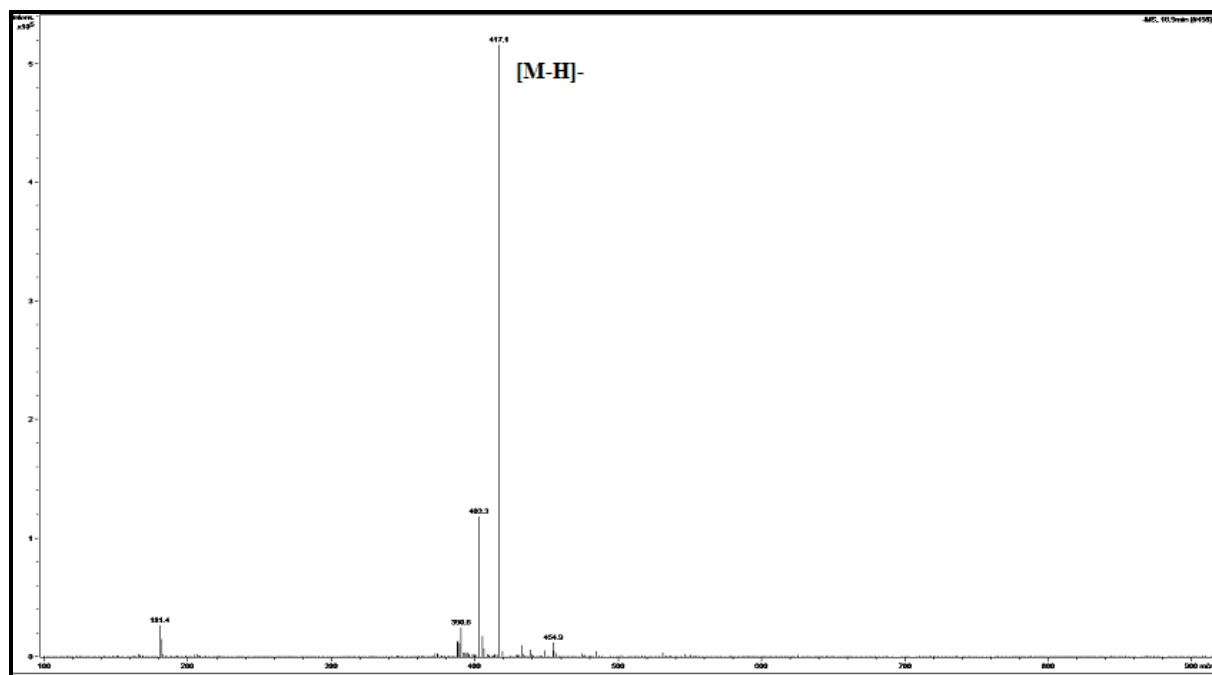
Le composé TM 02 purifié sous forme d'une poudre, est visible sous la lumière UV à 254 et 366 nm. Il donne une tache marron sur CCM après révélation à l'acide sulfurique et chauffage à 100 °C.

Le spectre UV-Visible (Spectre n° IV.2.1) de ce composé révèle la présence de deux maxima d'absorption à 242 et 272 nm provenant des transitions électroniques des groupes phénoliques.



Spectre n° IV. 2.1 : Spectre UV du composé TM 02

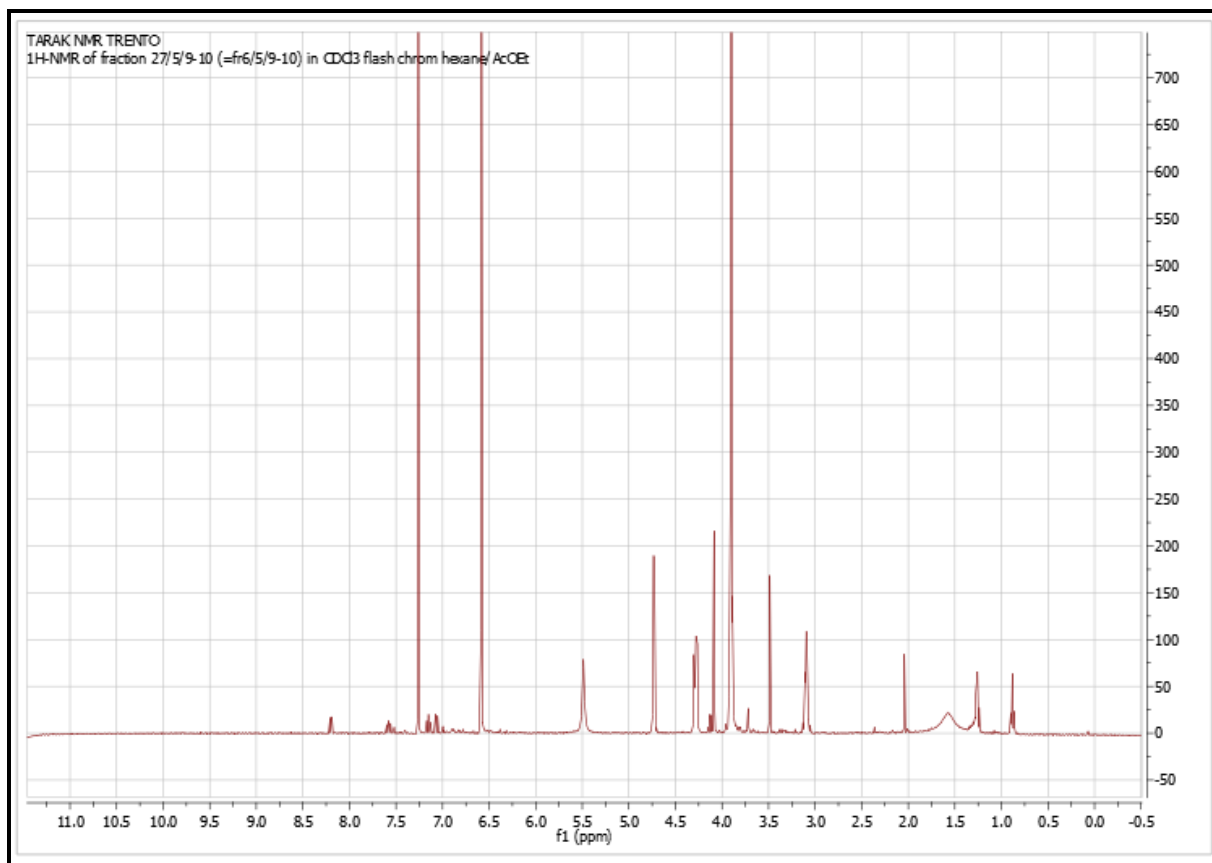
Le spectre de masse ESI, enregistré en mode négatif, montre un ion pseudomoléculaire à m/z 417 $[M-H]^-$, donnant une masse moléculaire de 418 uma et une formule brute $C_{22}H_{26}O_8$, orientant alors vers une structure comportant 10 degrés d'insaturation.



Spectre n° IV. 2.2 : spectre de masse ESI/MS (-) du composé **TM 02**

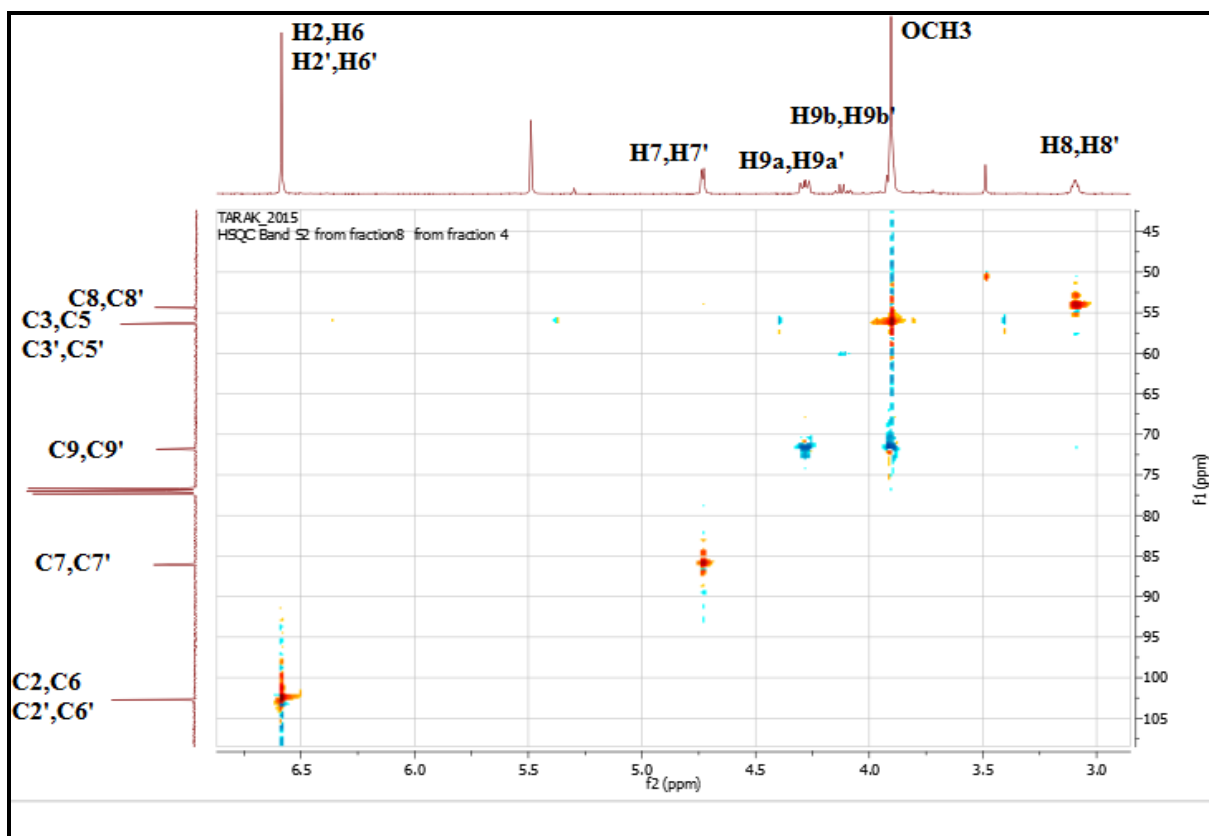
Le spectre RMN ^1H (400 MHz) de ce composé (Spectre n° IV.2.3), enregistré dans le CHCl_3 deutéré, montre la présence de :

- Un signal singulet à 5,48 ppm s'intégrant pour deux protons, attribuable à deux groupements OH, car ses protons ne corrént avec aucun atome de carbone sur le spectre HSQC (Spectre ???).
- Un signal singulet à 6,59 ppm s'intégrant pour quatre protons, caractéristiques de quatre protons aromatiques magnétiquement équivalents.
- Un signal sous forme d'un multiplet à $\delta_{\text{H}} = 3,91$ ppm, partiellement recouvert par un singulet relativement intense ($\delta_{\text{H}} = 3,90$ ppm).



Spectre n° IV.2.3 : Spectre RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3 δ ppm) du composé **TM 02**

- Sur le spectre HSQC les protons du singulet corrélient avec des carbones magnétiquement équivalents dont le déplacement chimique $\delta_{\text{C}} = 56.17$ ppm, est très en faveur de groupements méthoxyles. Sur le même spectre, les protons du multiplet à proximité de ce singulet montrent une tache de corrélation avec le même carbone ($\delta_{\text{C}} = 71.71$ ppm) que celui des protons du signal d'intégration 2H à $\delta_{\text{H}} = 4.28$ ppm. Cette observation permet de déduire que ce multiplet représente le signal de deux protons appartenant à deux méthylènes magnétiquement équivalents ($\delta_{\text{C}} = 71.71$ ppm) dont les protons géminés sont diastérotopiques (magnétiquement non équivalents et chimiquement équivalents). Cette hypothèse permet donc de noter d'une part, l'intégrale 2H pour le multiplet à $\delta_{\text{H}} = 3,91$ ppm et de conclure la présence dans cette molécule de deux groupements CH_2 oxygénés magnétiquement équivalents porteur des protons à $\delta_{\text{H}} = 4,28$ ppm et $\delta_{\text{H}} = 3,91$ ppm, et d'autre part de déduire l'intégrale 12 H du singulet représentant des groupements méthoxyles ($\delta_{\text{H}} = 3,90$ ppm) soit donc de noter la présence de 4 groupements méthoxyles magnétiquement équivalents dans cette molécule.



Spectre n° IV. 2.4 : Spectre HSQC (400 MHz, CDCl₃, δ ppm) du composé **TM02**

Sur le spectre HMBC (Spectre n° IV.2.5), les protons de ces quatre méthoxyles montrent une tache de corrélation avec des carbones aromatiques à $\delta_c = 147.13$ ppm, il est clair que ces carbones sont au nombre de 4, puisqu'ils doivent porter les 4 méthoxyles. Par ailleurs et toujours sur le même spectre (HMBC), les protons des groupements hydroxyles signalés plus haut montrent une tache de corrélation avec les carbones aromatiques à $\delta_c = 134.13$ ppm, la valeur de leur déplacement chimique indique qu'ils sont oxygénés et donc porteurs des deux groupements hydroxyles présents dans cette molécule et sont donc obligatoirement au nombre de 2. Les protons de ces deux hydroxyles montrent également une tache de corrélation nette avec les carbones aromatiques porteurs des groupements méthoxyles. Cette observation permet de placer les deux méthoxyles de chacun des noyaux aromatiques dans les positions ortho et ortho prime par rapport au groupement hydroxyle et de conclure la présence dans cette molécule des deux entités magnétiquement équivalentes reportées dans le Figure n° IV.3.

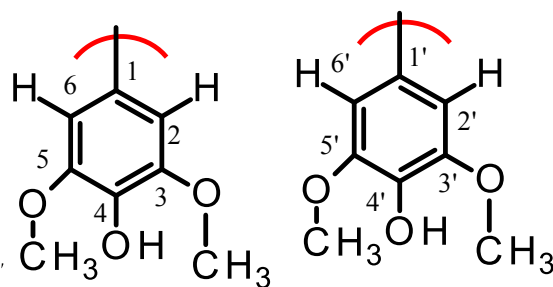
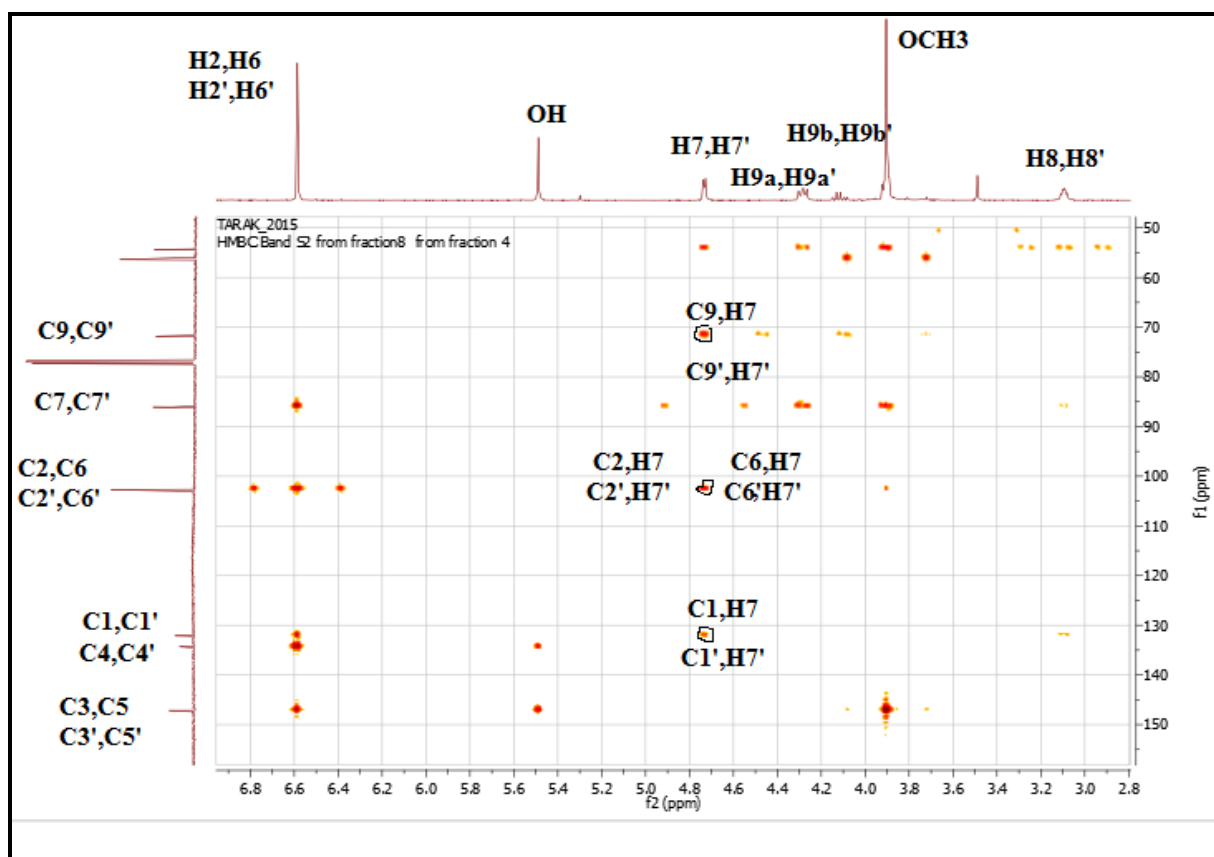


Figure n° IV.3 :Entités magnétiquement équivalentes présentes dans le composé TM 02



Spectre n° IV.2.5 : Spectre HMBC (400 MHz, CDCl_3 , δ ppm) du composé TM 02.

Un retour vers le spectre ^1H permet de localiser un signal sous forme d'un multiplet d'intégration 2H à $\delta_{\text{H}} = 3,09$ ppm corrélant sur le spectre COSY avec les protons des groupements méthylènes oxygénés précédemment évoqués. Cette situation permet d'attribuer ces 2H à deux groupement méthynes magnétiquement équivalents ($\delta_{\text{C}} = 54,12$ ppm, spectre HCQC) situés en positions vicinales par rapport aux deux méthylènes oxygénés.

Par ailleurs et toujours sur le spectre COSY, les protons de ces groupements corrélient avec les protons du doublet d'intégration 2H à $\delta_H = 4.73$ ppm ($J = 4,4$ Hz, $\delta_c = 85,90$ ppm). Pour les mêmes raisons que précédemment, il est clair que ces protons appartiennent à deux groupement méthynes magnétiquement équivalents et oxygénés vue la valeur de leur déplacement chimique. Ces données orientent vers la présence dans cette molécule des entités reportées dans la Figure n° IV.4 et indiquent que cette molécule est de type $(C_6-C_3)_2$, autrement dit cette molécule est de **type lignane**.

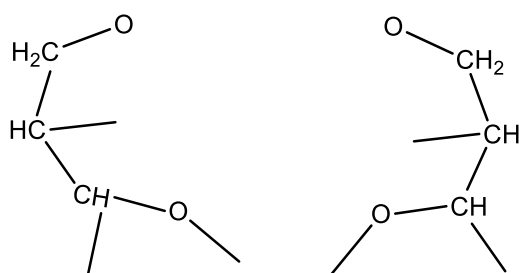
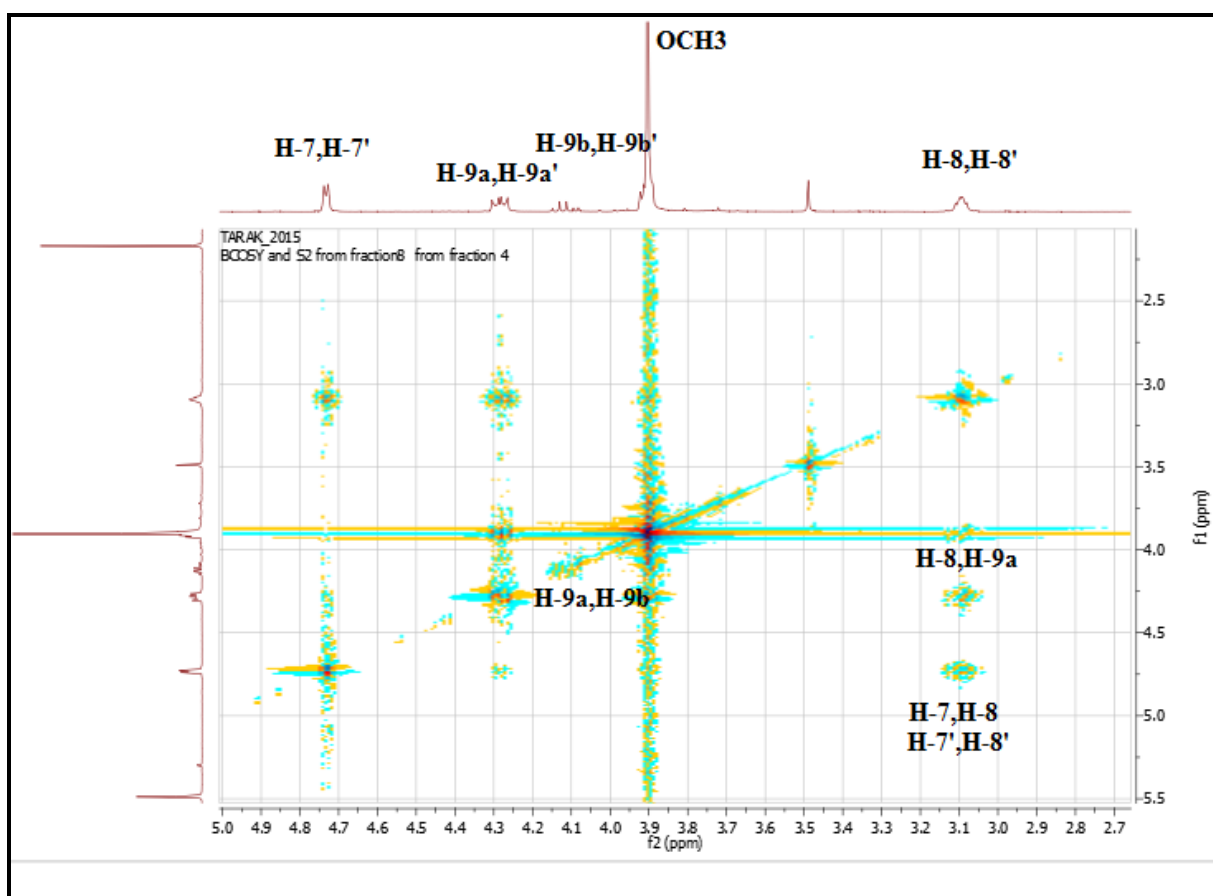


Figure n° IV.4: Entités présentes dans le composé TM 02



Spectre n° IV. 2.6: Spectre COSY (400 MHz, $CDCl_3$, δ ppm) du composé TM02

La formule brute de ce composé indique la présence de seulement 8 atomes d'oxygène, 6 parmi eux sont, sans ambiguïté sur les deux noyaux aromatiques, il n'en reste donc plus que deux pour les deux entités de la Figure n° IV.4, autrement dit ces deux entités sont liées par le biais des deux atomes d'oxygène. Par ailleurs cette molécule comportant 10 degrés d'insaturation dont huit sont consommés par les deux noyaux aromatiques, il apparaît clairement que ces deux entités doivent former non pas un cycle mais un bicyclic composé de deux cycles furaniques parfaitement symétriques, par ailleurs, sachant qu'un lignane est formé par l'association de deux unités phényle propanoïdes par le biais de la liaison C-8 – C-8' [02], nous pouvons donc retenir que nous sommes en présence d'un lignane furanofurannique. Il est connu que ce type de molécule est obtenu par la double cyclisation 7-O-7' et 9-O-9'. A ce stade de notre analyse, nous pouvons donc proposer pour ce composé la structure partielle reportée dans le Figure n° IV.5.

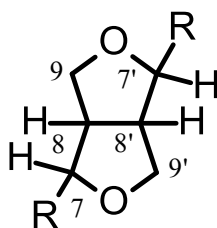


Figure n° IV.5 : Structure partielle du composé **TM 02**

Un retour vers le spectre HMBC permet de relever des corrélations entre les protons H-7 et H-7' ($\delta_H = 4.73$ ppm) et les carbones aromatiques C-2, C-2', C-6 et C-6', ceci permet alors de placer comme attendu, les deux noyaux aromatiques dont la présence a été précédemment établie, dans les positions C-7 et C-7' (Figure n° IV.6).

Ce composé est connu sous le nom de syringarésinol.

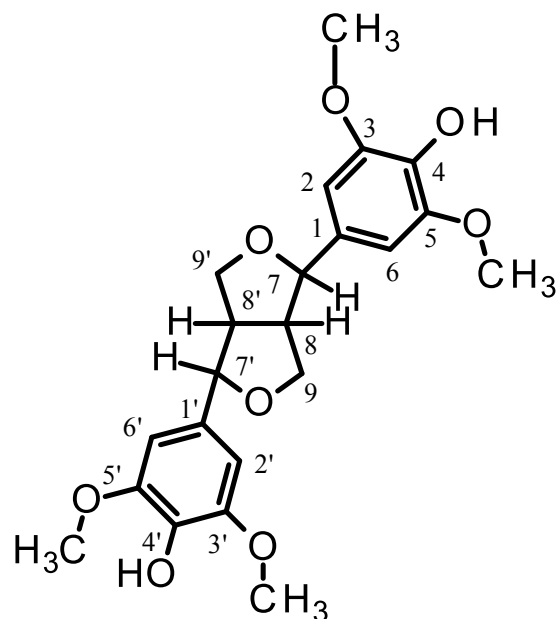


Figure n° IV.6: Structure finale du composé **TM 02**, syringarésinol.

Le tableau suivant regroupe les déplacements chimiques des protons et carbones de ce composé.

Tableau n° IV.1: Résultats de la RMN ^1H du composé **MF02**

N	δ C (ppm)	δ H (ppm)	J (Hz)
1,1'	132,12	-	-
2,6 2',6'	102,72	6,58 s	-
3,5 3',5'	147,16	-	-
4,4'	134,33	5,49 s	-
7,7'	86,07	4.71, d,	J =4.0 Hz
8,8'	54,38	3,09 m	-
OCH ₃	56,40	3,90 s	-

La comparaison de nos données (**Tableau n° IV.1**) à ceux de la littérature [15], montre qu'il s'agit du (+)-syringarésinol (Figure n° IV.7).

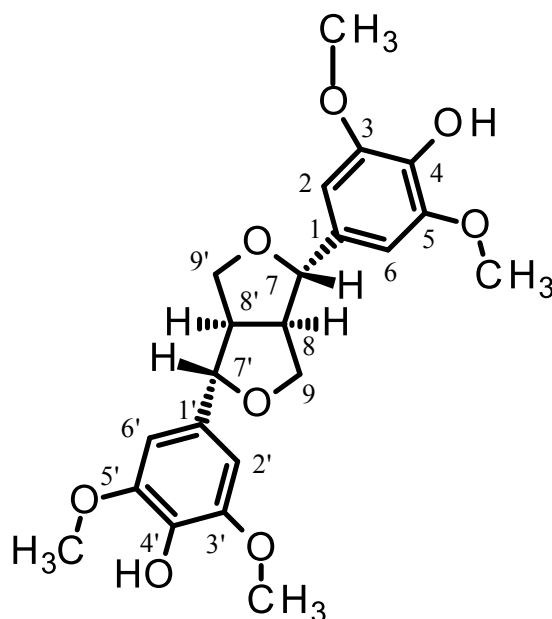
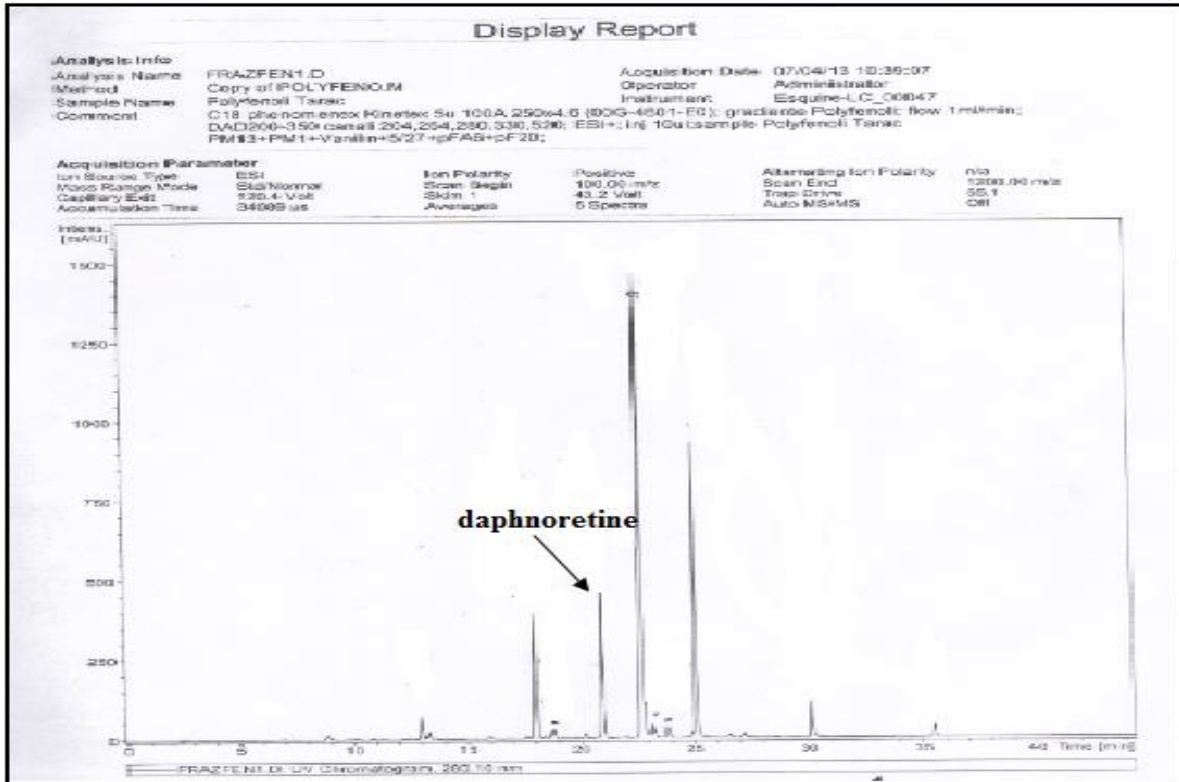


Figure n° IV.7: Structure finale du composé **TM 02**, (+) syringarésinol

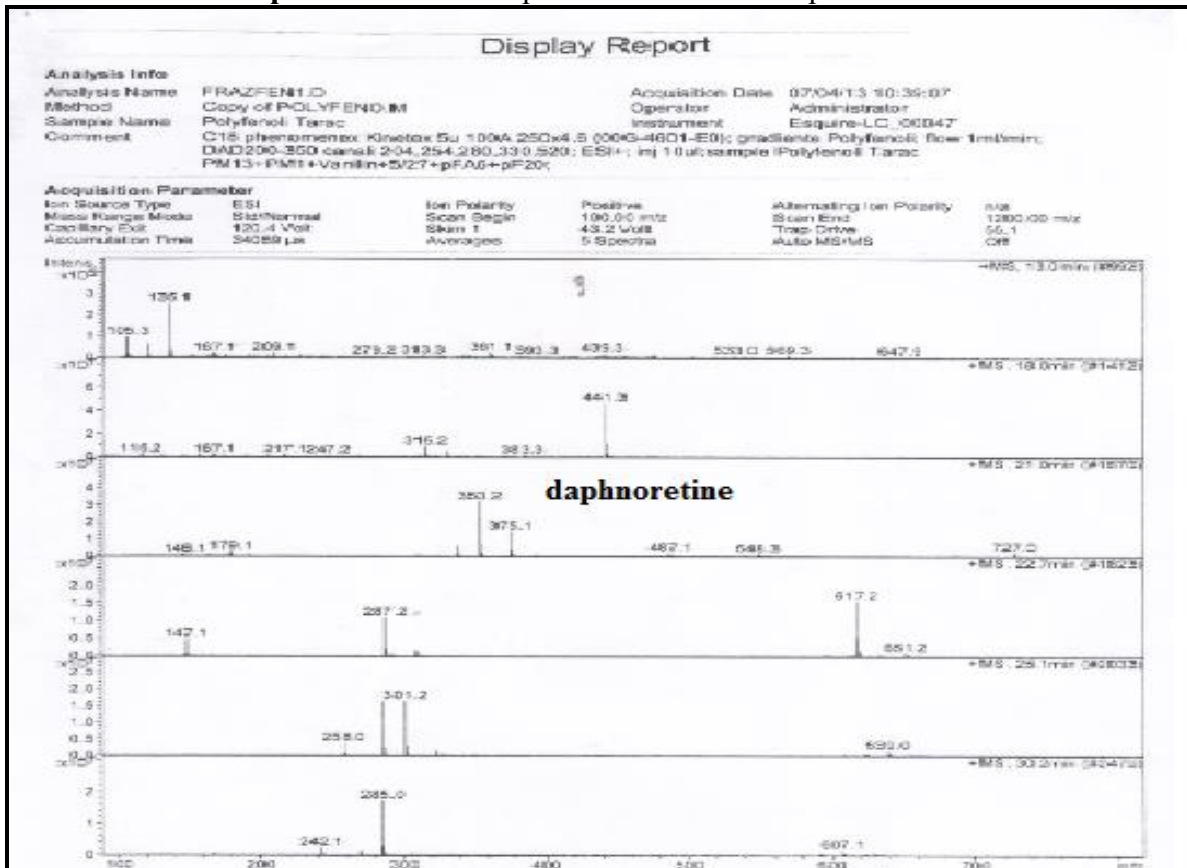
IV.1.A. 3. Elucidation de la structure du composé **TM 03**

Le composé **TM 03** se présente sous forme de cristaux jaune-pâles.

Le spectre de masse en impact électronique couplé avec chromatographie liquide (LC-MS) présente un pic à $m/z = 353$ pour l'ion moléculaire $[M+H]^+$ soit une masse égale à $M = 352$ correspondant à une formule brute $C_{19}H_{12}O_7$.



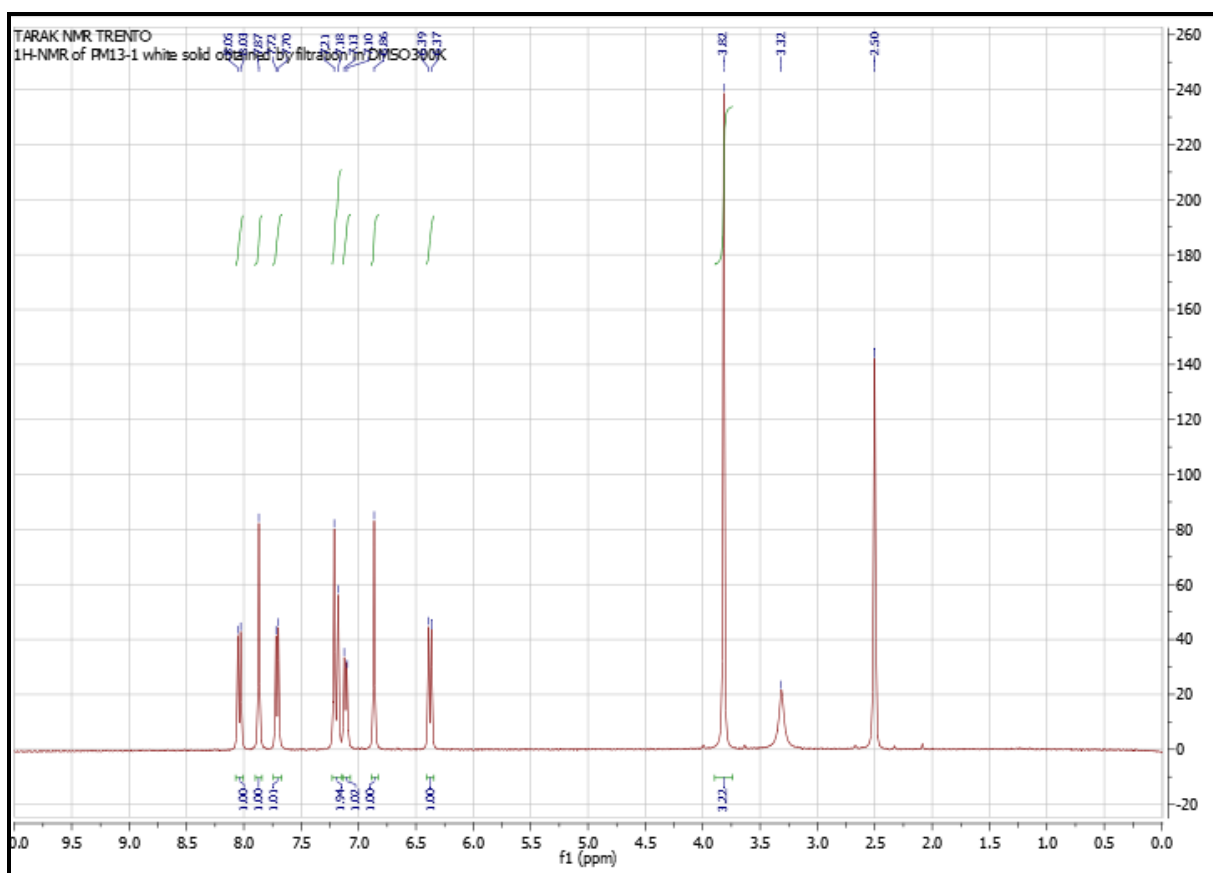
Spectre n° IV.3.1: Spectre LC-MS du composé TM 03



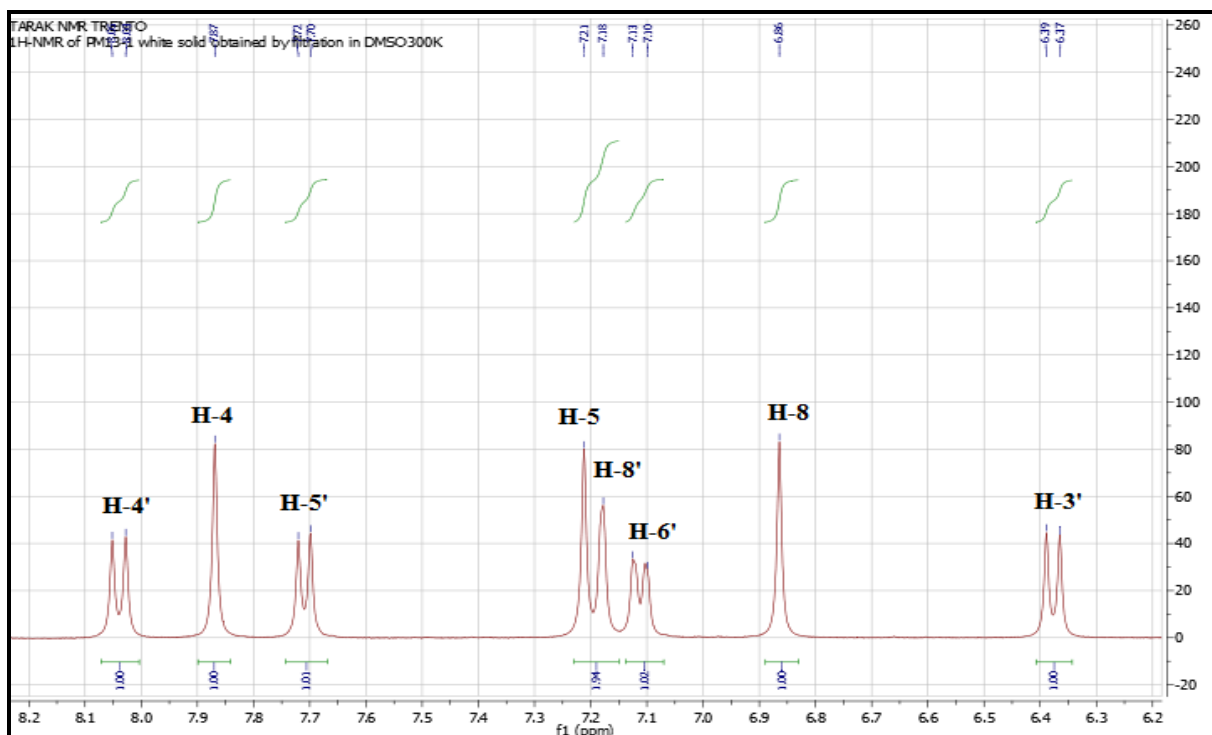
Spectre n° IV.3.2: spectre de masse ESI/MS (-) du TM 03.

Le spectre RMN ^1H de la région aromatique (6.00-7.80 ppm) (Spectre n° IV.3.3) du composé a montré la présence de signaux dans la zone aromatique, orientant vers un squelette de type Biscoumarine [3] :

- ✓ un singulet d'intégration 1H à $\delta = 7.87$ ppm, attribuable au proton H-4.
- ✓ un singulet d'intégration 1H à $\delta = 7.21$ ppm, attribuable au proton H-5.
- ✓ un singulet d'intégration 1H à $\delta = 6.86$ ppm, attribuable au proton H-8.
- ✓ Un pair de doublets typique des coumarines à 6.38 et 8.04 ppm ($J = 9.6\text{Hz}$) attribués aux protons H-3' et H-4' respectivement.
- ✓ Le déblindage de H-4' relativement à celui de H-3' peut s'expliquer par la délocalisation du système oléfinique des protons H-3' et H-4'.
- ✓ Un système AB à $\delta = 7.71$ et 7.11 ppm ($J = 8,8\text{ Hz}$) caractéristique des protons H-5' et H-6' de coumarine respectivement.
- ✓ un singulet d'intégration 1H à $\delta = 7.18$ ppm, attribuable au proton H-8'.
- ✓ Un singulet d'intégration 3H, $\delta = 3.82$ attribuable à OCH_3 .



Spectre n° IV.3.3 : Spectre RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, δ ppm) du composé TM 03.

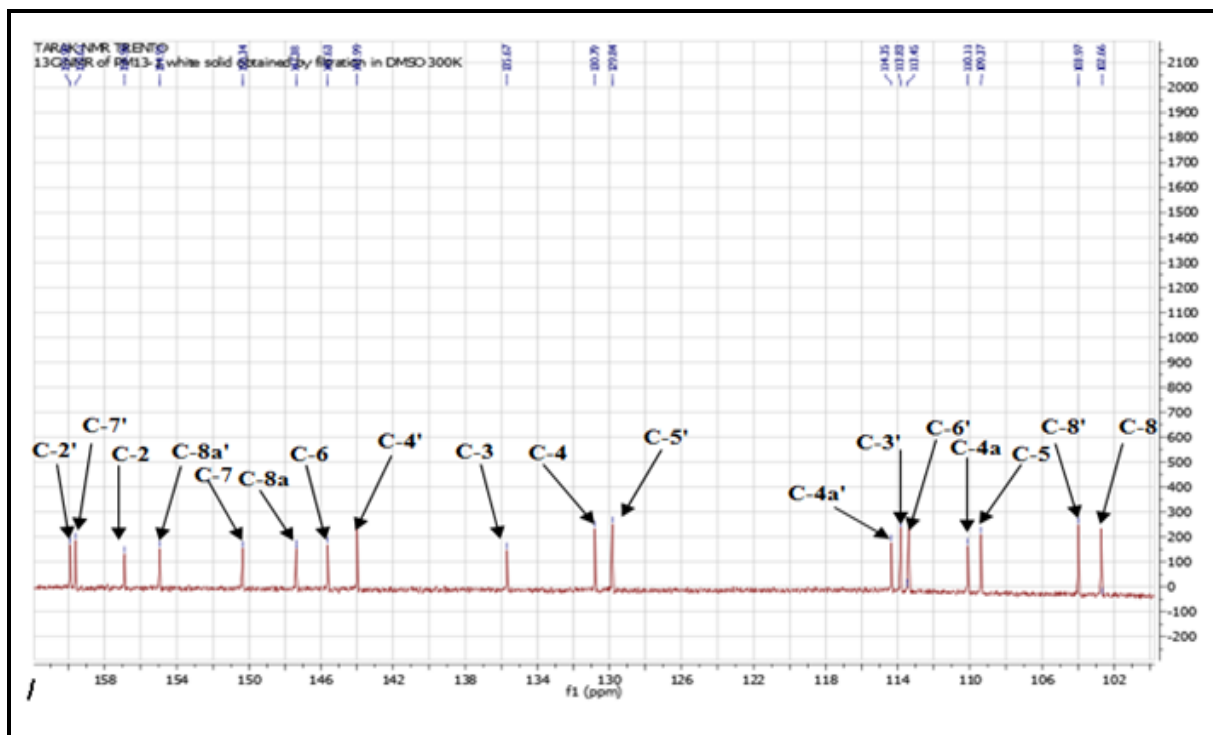


Spectre n° IV.3.4: Spectre RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6 , δ ppm) du composé **TM 03**, étalé.

Les données du spectre RMN ^{13}C (Spectre n° IV.3.5) corrélient bien avec la structure avancée. En effet il montre la présence de dix neuf atomes de carbone, que l'on peut attribuer, en s'appuyant sur les données de la littérature [4].

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

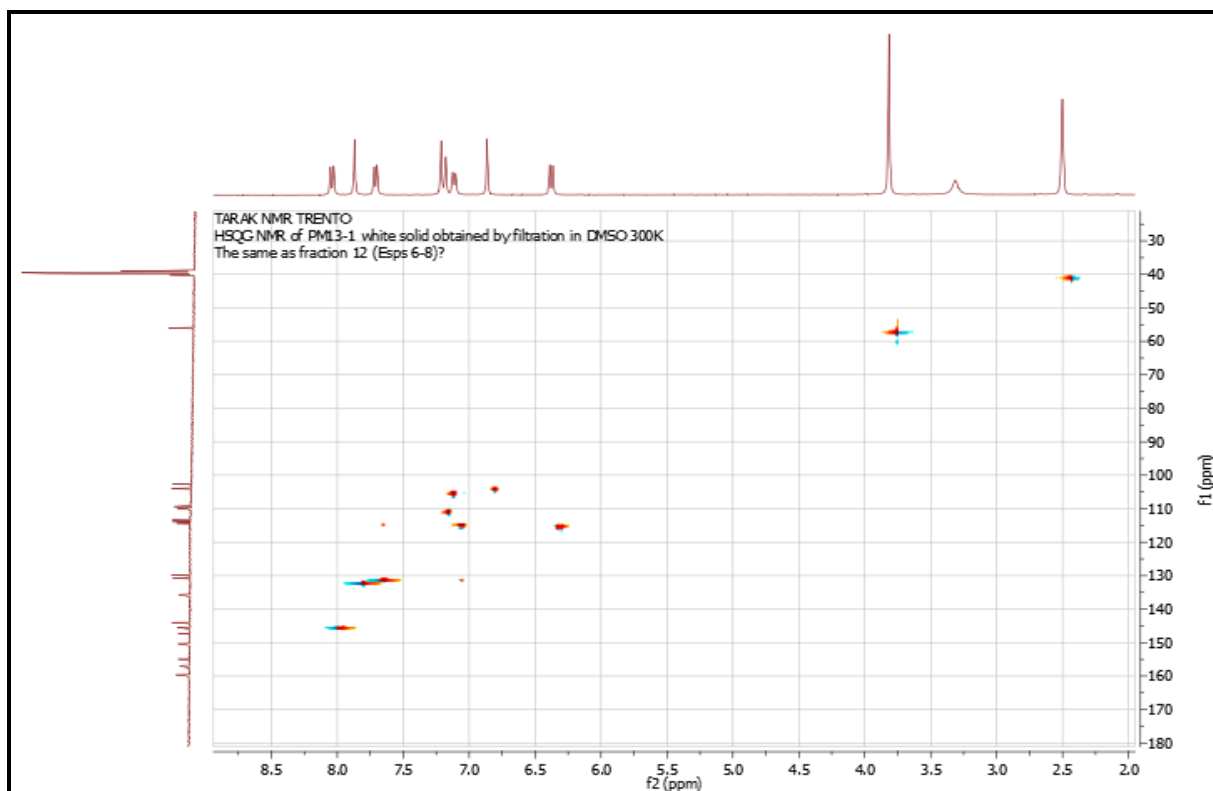
- Un signal caractéristique du carbonyle d'une lactone (C-2) résonant à $\delta = 156,9$ ppm. Les carbones résonants à 135,6 et 130,7 ppm correspondant aux carbones de la double liaison oléfinique (C-3) et (C-4) respectivement.
- Il montre également des signaux caractéristiques des carbones aromatiques : C-4a à 110,3 ppm, C-5 à 109,3 ppm, C-6 à 145,6 ppm, C-7 à 150,3 ppm, C-8 à 102,6 ppm et C-8a à 147,3 ppm.



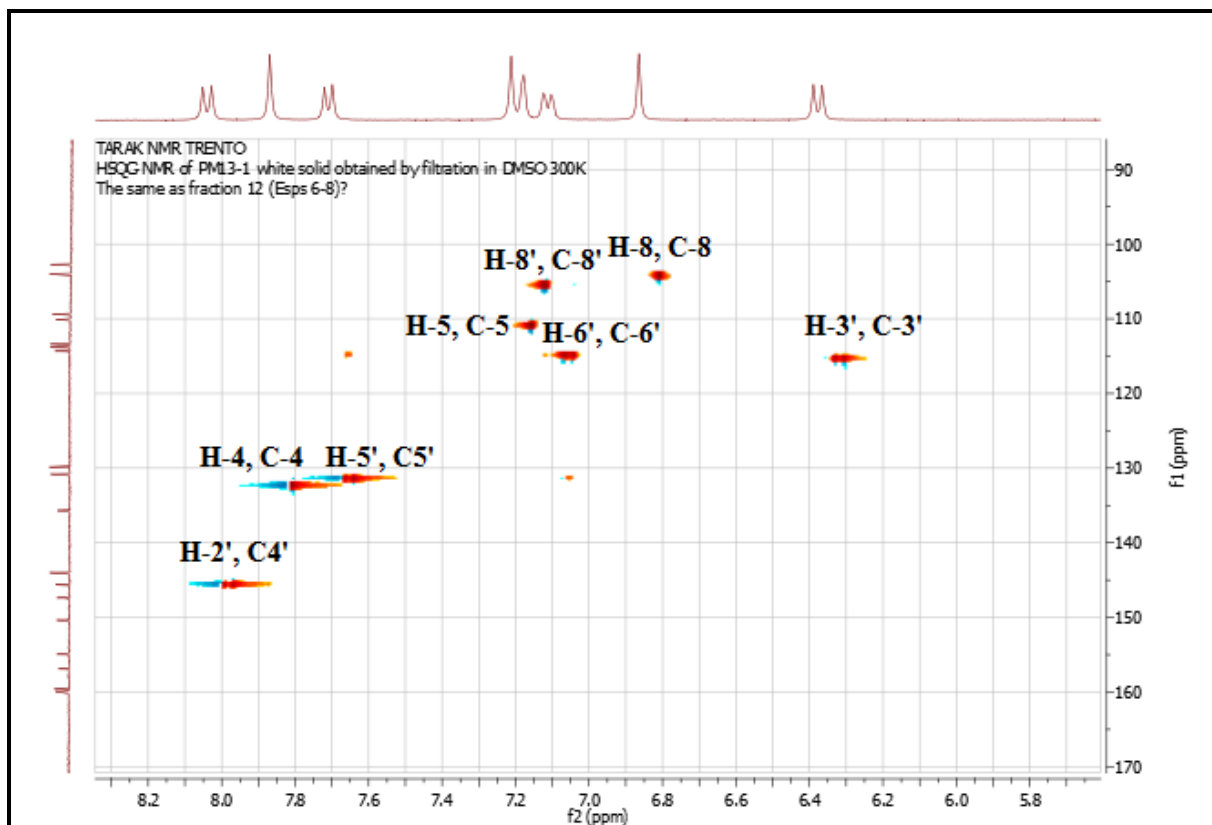
Spectre n° IV.3.5: Spectre RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6 , δ ppm) du composé **TM 03**

L'analyse combinée des spectres RMN ^1H , ^{13}C J-modulé (Spectre n° IV.3.5) et HSQC (Spectre n° IV.3.6) du composé **TM-03** permet d'attribuer les déplacements chimiques des signaux correspondant à:

- * huit carbones aromatiques quaternaires résonant à 159.9, 114.3, 150.3, 135.6, 110.3, 145.6, 150.3 et 147.3 ppm .
- * Huit groupements CH aromatiques à 113.8, 143.9, 129.8, 113.4, 103.9, 130.7, 109.3 et 102.6 ppm.
- * Un groupement méthoxyle à 55,9 ppm.
- * Deux carbonyle résonant à 156.9 et 159.6 ppm.



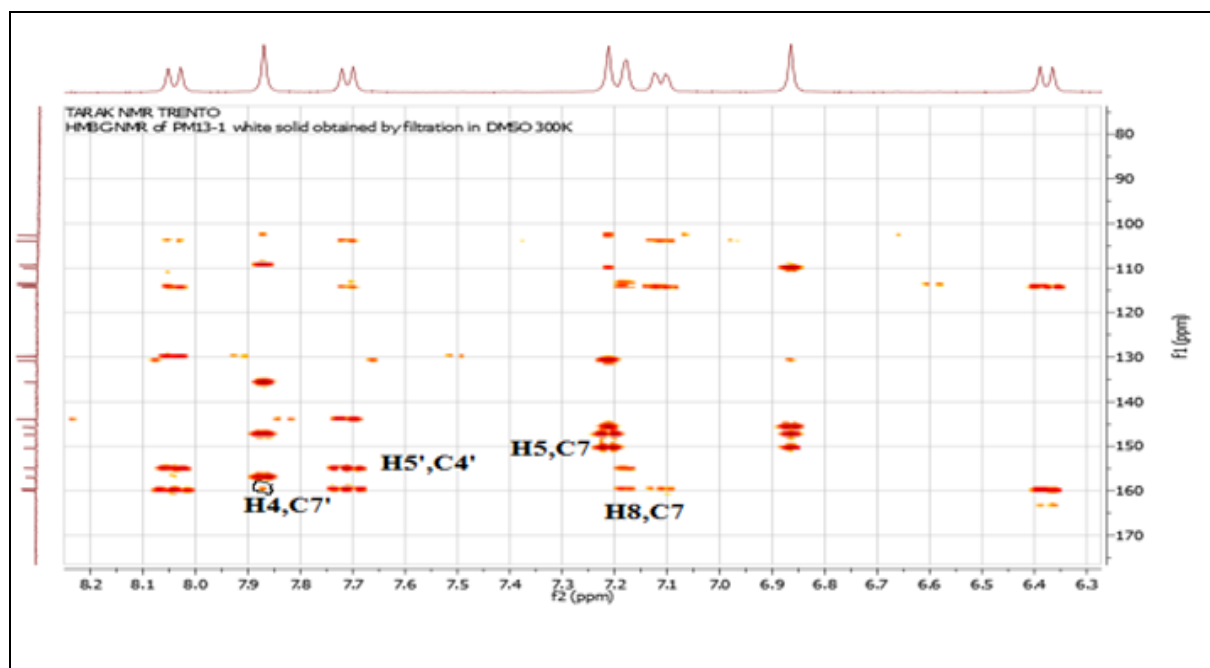
Spectre n° IV.3.6: Spectre HSQC (400 MHz, DMSO-d₆, δ ppm) du composé **TM 03**.



Spectre n° IV.3.7: Spectre HSQC (400 MHz, DMSO-d₆, δ ppm) du composé **TM 03**, étalement.

L'expérience HMBC (Spectre n° IV.3.8) met en évidence les couplages C-H longue distance en 2 J C-H et 3 J C-H entre :

- Le proton H-5 et quatre carbones résonant à 110,31 ppm, 147,37 ppm, 145,62 ppm et à 150,31 ppm attribuable aux carbones C-4a et C-8a, C-6 et C-7 respectivement.
- Le proton H-5' et deux carbones résonant à 143,99 ppm, 159,61 ppm. Ces déplacements chimiques sont attribués à C-4', C-7' respectivement.
- Le proton H-8' et deux carbones résonant à 150,34 ppm, 159,61 ppm. Ces déplacements chimiques sont attribués à C-8a', C-7' respectivement.
- Les protons de groupement méthoxyle et un carbone résonant à 145,62 ppm. Ce déplacement chimiques est attribué à C-6 donc, on peut placer ce méthoxyle en C6.
- Les deux unités de coumarines sont liés en C3 et C7' et ça nous le montrons par une corrélation De H-4 avec le carbone C-7' $\delta = 159,61$ ppm.



Spectre n° IV.3.8: Spectre HMBC (400 MHz, DMSO-d₆, δ ppm) du composé **TM 03**, étalement.

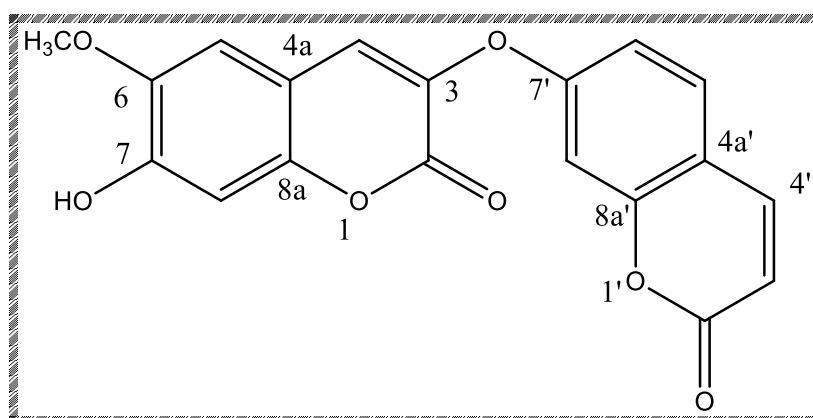
Le tableau n° IV.2 rassemble les déplacements chimiques des onze atomes de carbones du composé A et ceux rapportés dans la littérature pour le même composé.

Tableau n° IV.2: Données de la spectroscopie RMN ¹³C (DMSO-d₆, 400 MHz).

$\delta^{13}\text{C}$ (ppm) Composé A	Interprétation	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm) Données de la littérature [13]

156.9	2	157.0
135.6	3	137.4
130.7	4	129.2
110.3	4 a	111.0
109.3	5	107.2
145.6	6	144.7
150.3	7	149.0
102.6	8	103.3
147.3	8a	147.9
159.9	2'	160.6
113.8	3'	114.9
143.9	4'	143.1
114.3	4a'	115.0
129.8	5'	129.3
113.4	6'	114.0
159.6	7'	159.6
103.9	8'	105.0
150.3	8a'	155.0
55.9	OMe	56.6

Donc, l'ensemble de ces données, appuyées par celles de la littérature ont permis de conclure sans ambiguïté quant à la structure du composé A qui n'est autre que la daphnoretine.



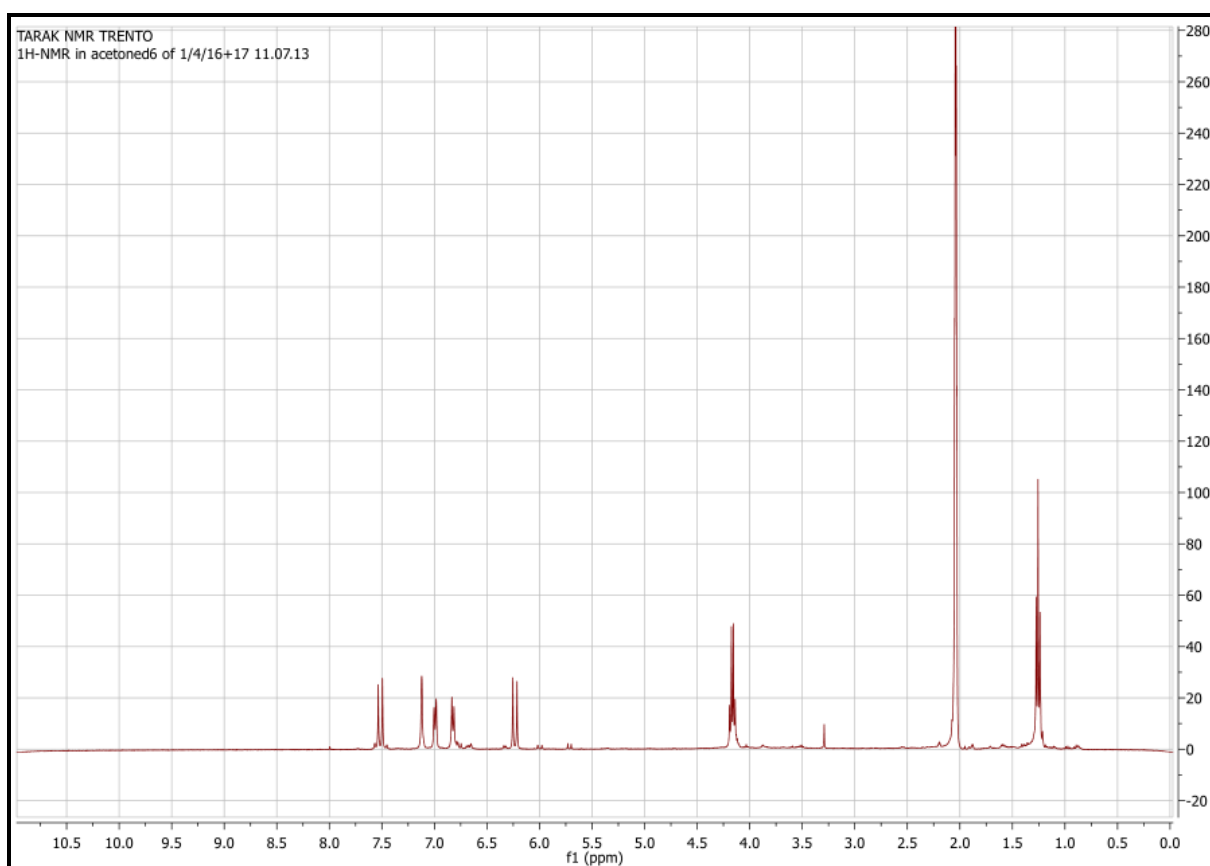
daphnoretine

IV.1.A. 4. Elucidation de la structure du composé TM 04

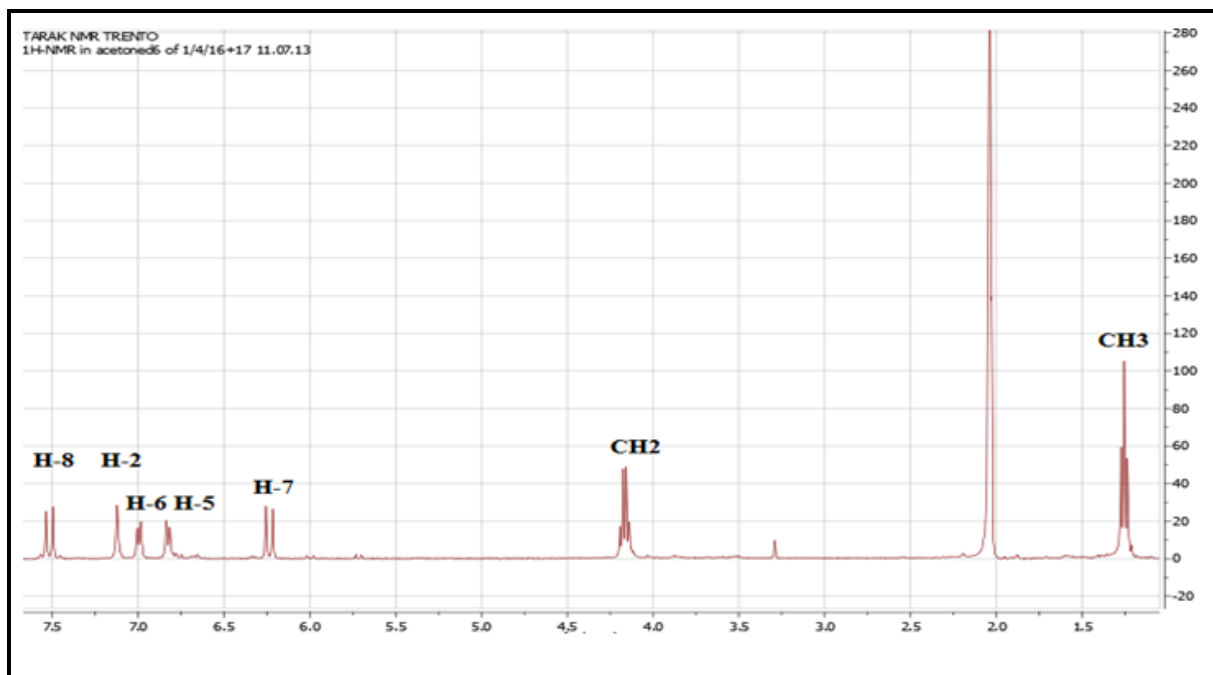
La fluorescence bleue montre que ce composé peut être un acide phénol ou une Isoflavone.

Le spectre RMN proton enregistré dans l'Acétone-d₆ à 400 MHz (Spectre n° IV.4.1 et 4.2) montre qu'il s'agit d'un composé aromatique substitué en position 1, 3 et 4, caractérisé par les signaux:

- ✓ Un singulet d'intégration 1H à $\delta = 7,12$ ppm attribuable à H-2.
- ✓ Un doublet d'intégration 1H à $\delta = 6,99$ ppm ($J = 7,6$ Hz) attribuables à H-6.
- ✓ Un doublet d'intégration 1H à $\delta = 6,82$ ppm ($J = 7,6$ Hz) attribuable à H-5.
- ✓ Un quadruplet d'intégration 2H à $\delta = 4,17$ ppm ($J = 7,2$ Hz) attribuable à CH₂ voisin d'un atome d'oxygène et d'un CH₃.
- ✓ Un triplet d'intégration 3H à $\delta = 1,26$ ppm ($J = 7,2$ Hz) attribuable à CH₃ voisin d'un CH₂ la présence de 2 doublets d'intégration 1H chacun à 7,52 et 6,23 ppm de même constante de couplage ($J = 16,0$ Hz) correspondants respectivement aux protons oléfiniques en position trans caractéristique d'un acide phénolique.



Spectre n° IV.4.1 : Spectre RMN 1 H (400 MHz, acétone-d₆, δ ppm) du composé **TM 04**.

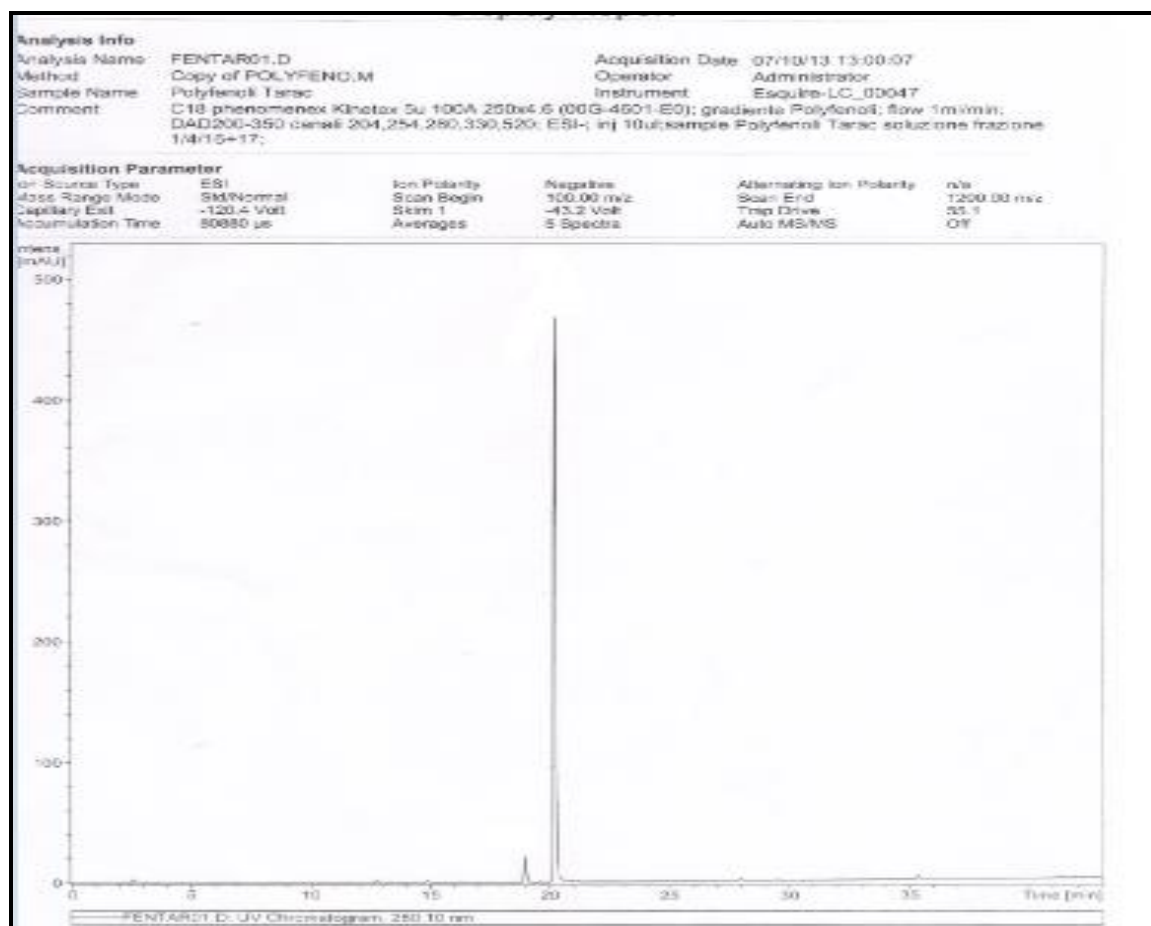


Spectre n° IV.4.2 : Spectre RMN 1 H (400 MHz, acétone-d₆, δ ppm) du composé **TM 04**, étalement.

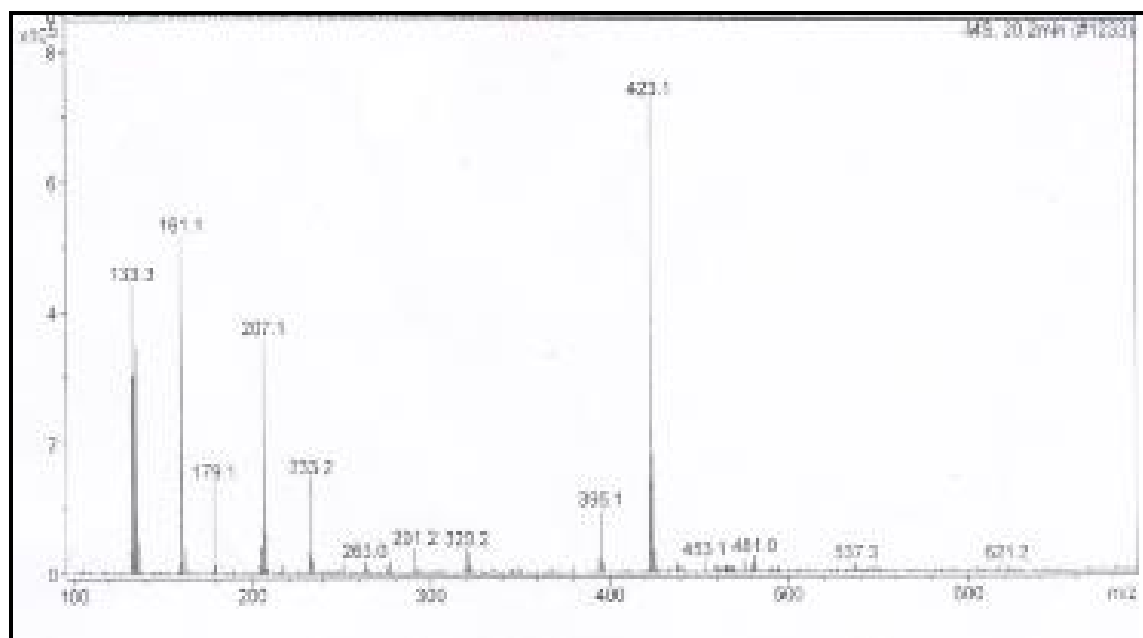
Le spectre de masse en impact électronique couplé avec chromatographie liquide LC-MS du composé TM 04 (Spectre n° IV.4.3) a donné un pic $[M-1]^+$ à $m/z = 207$ correspondant à la formule $C_{11}H_{12}O_4$.

Un ion à $m/z = 178$ correspondant à $[M-29]^+$ indiquant la présence de groupement CH_2-CH_3 , Une fragmentation à $m/z = 161$ correspondant à $[M-45]^+$ issu de la perte du radical $O-CH_2-CH_3$. Le fait que ce signal soit le pic de base, signifie que cette rupture est privilégiée dans cette molécule. Comme il s'agit d'un composé aromatique, cette rupture doit être une rupture benzylique, autrement dit, entre le groupement OCH_2CH_3 et le noyau aromatique il doit y avoir un atome de carbone, lequel ne peut être que celui du groupement carbonyle.

Nous remarquons aussi la présence d'un pic $[M-73]^+$ à $m/z = 133$ et issu de la perte du radical (CH_3-CH_2-COO)



Spectre n° IV.4.3 : Profile LC-MS en mode positif de TM 04

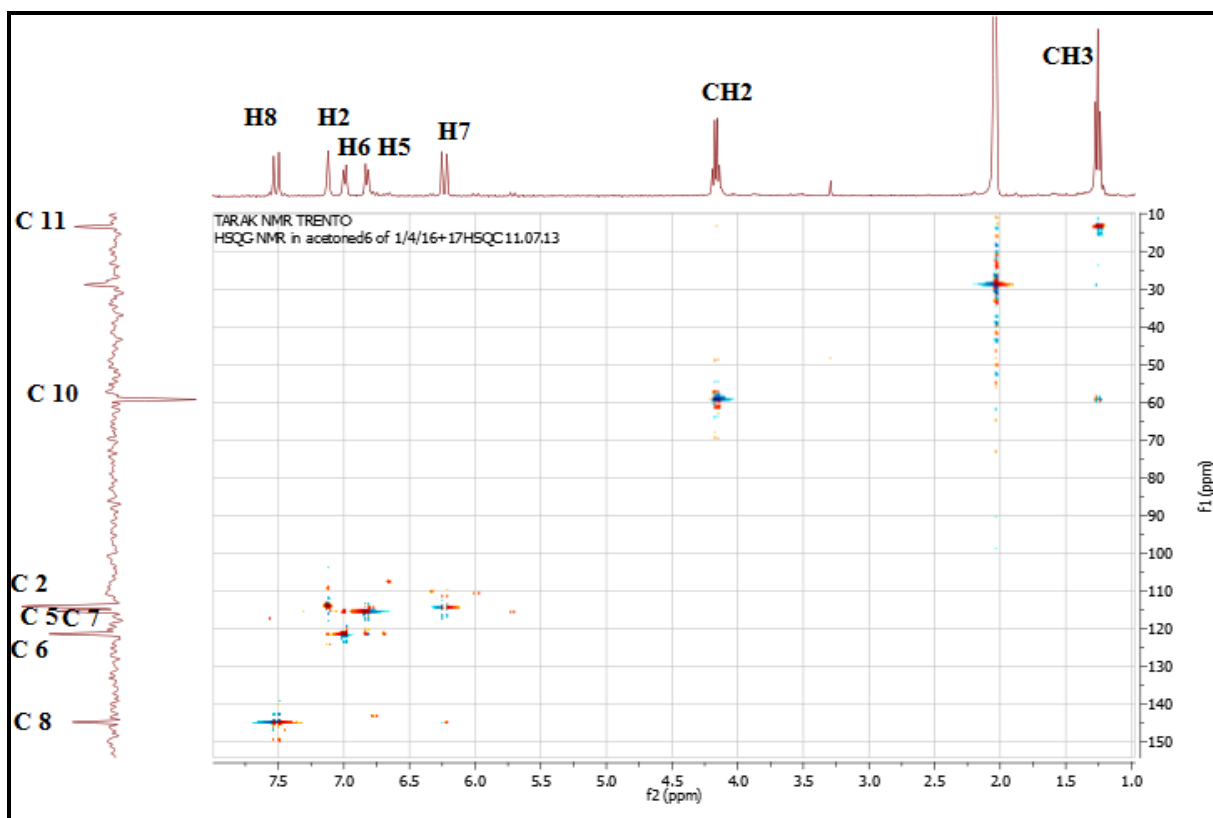


Spectre n° IV.4.4: spectre de masse ESI/MS (-) du TM 04.

L'analyse du spectre relatif à l'expérience HSQC (Spectre n° IV.4.5) permet l'attribution des signaux des protons aux atomes de carbone correspondants comme suit :

- La corrélation du proton H-8 avec le carbone C-8 montre que ce dernier a un déplacement chimique $\delta = 144,7$ ppm.
- La corrélation du proton H-2 avec le carbone C-2 montre que ce dernier a un déplacement chimique $\delta = 114,0$ ppm.
- La corrélation du proton H-6 avec le carbone C-6 montre que ce dernier a un déplacement chimique $\delta = 121,5$ ppm.
- La corrélation du proton H-5 avec le carbone C-5 montre que ce dernier a un déplacement chimique $\delta = 115,3$ ppm.
- La corrélation du proton H-7 avec le carbone C-7 montre que ce dernier a un déplacement chimique $\delta = 115,3$ ppm.
- La corrélation du groupe CH₂ avec le carbone C-10 montre que ce dernier a un déplacement chimique $\delta = 59,6$ ppm, ce déplacement chimique nous montre que cette groupe CH₂ est voisins d'un oxygène.
- La corrélation du proton de CH₃ avec le carbone C-11 montre que ce dernier est porté sur cette atome de carbone.

D'après ce spectre on peut confirmer que le CH₃ et le CH₂ du radical est fixé sur cet ester.



Spectre n° IV.4.5 : Spectre HSQC (400 MHz, acétone-d₆, δ ppm) du composé **TM 04**.

L'étude du spectre relatif à l'expérience HMBC (Spectres n° IV.4.6 et n° IV.4.7) mettant en évidence les corrélations proton-carbone à longue distance permet de tirer les indications suivantes :

Le proton H-2 montre trois tâches de corrélation avec les atomes de carbone à $\delta = 121,1$ ppm, $\delta = 145,5$ ppm et $\delta = 148,4$ ppm attribuables aux carbones C-6, C-3 et C-4 respectivement.

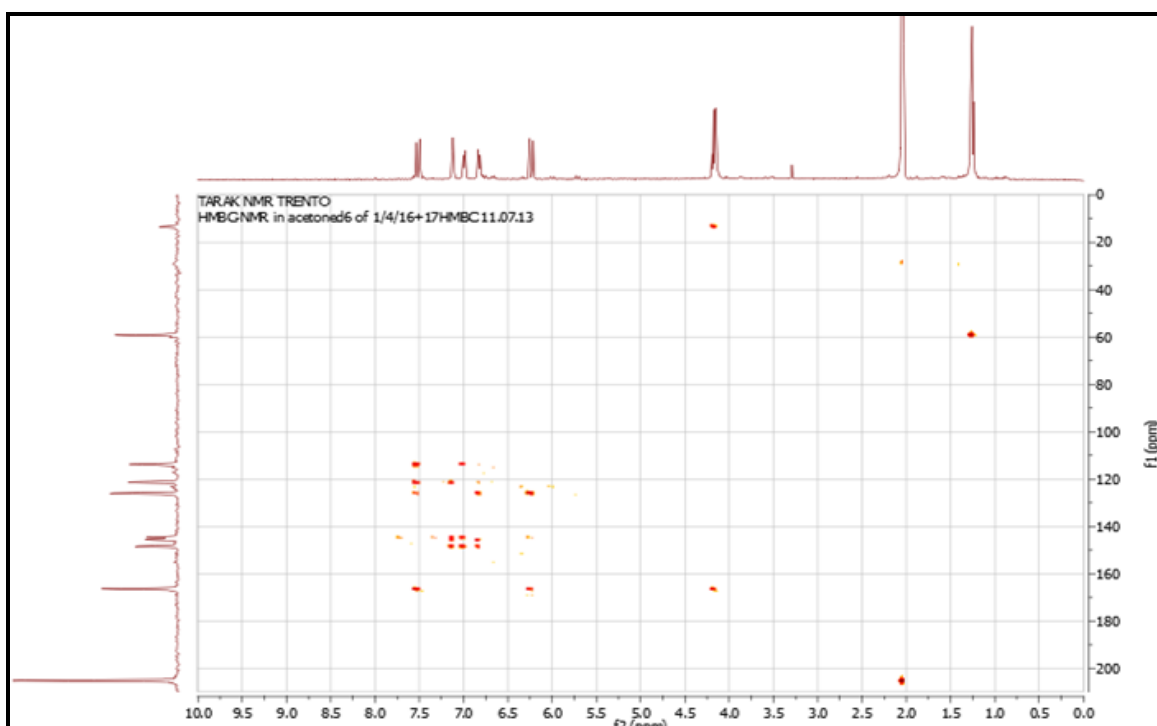
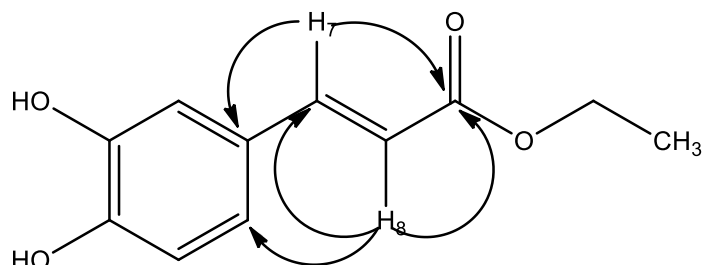
Le proton H-6 montre trois tâches de corrélation avec des atomes de carbone à $\delta = 115,9$ ppm, $\delta = 146,6$ ppm et $\delta = 149,2$ ppm attribuables aux carbones C-5, C-3 et C-4 respectivement.

Le proton H-5 montre plusieurs tâches de corrélations réparties comme suit :

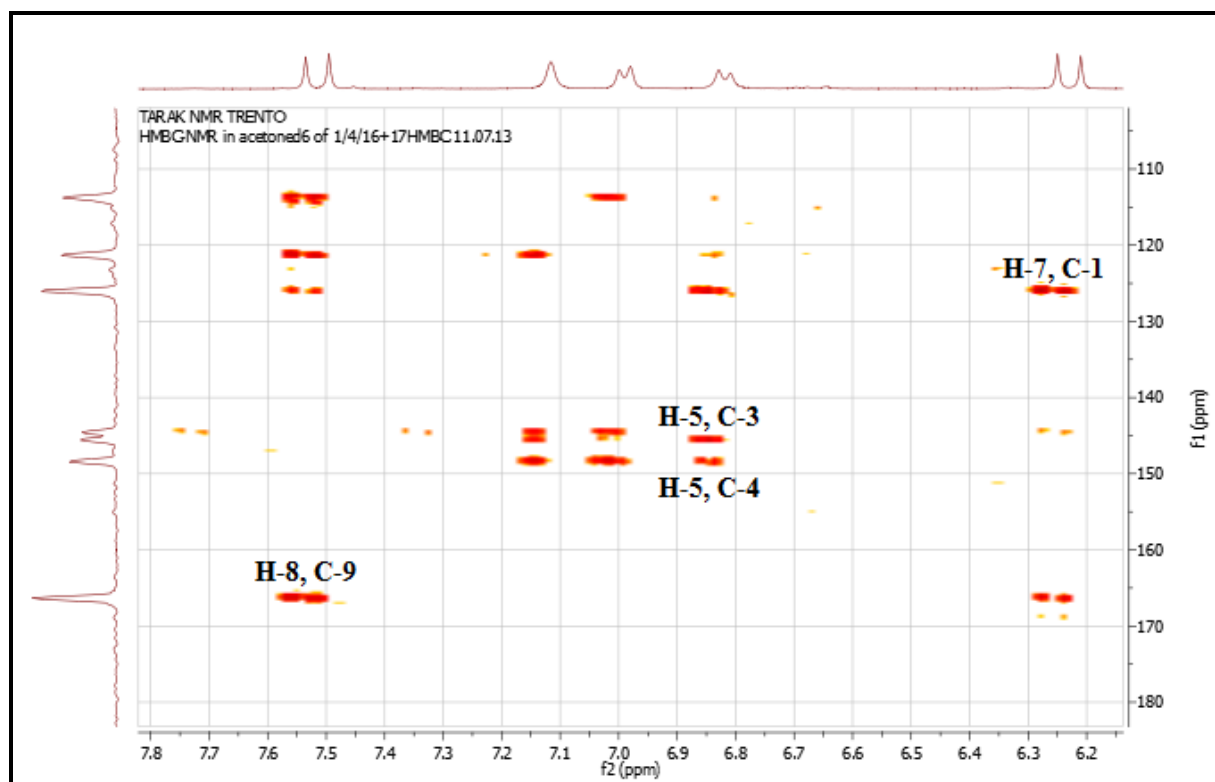
Une tâche de corrélation avec l'atome de carbone à $\delta = 126,0$ ppm attribuable au carbone C-1. Deux tâches de corrélations avec les atomes de carbone à $\delta = 145,5$ et $148,4$ ppm attribuables aux carbones porteurs d'hydroxyles C-3 et C-4 respectivement.

Le proton H-7 montre une tâche de corrélation avec deux atomes de carbones à $\delta = 121,1$ et $126,0$ ppm attribuable au carbone C-6 et C-1 respectivement, ce qui montre que le groupement CH=CH est lié d'un côté avec le cycle aromatique.

Le proton H-8 montre une tâche de corrélation avec un atome de carbone à $\delta = 166,4$ ppm attribuable au carbone C-9 ce qui prouve que le groupement CH=CH est lié de l'autre coté avec l'ester.



Spectre n° IV.4.6 : Spectre HMBC (400 MHz, acétone- d_6 , δ ppm) du composé TM 04.

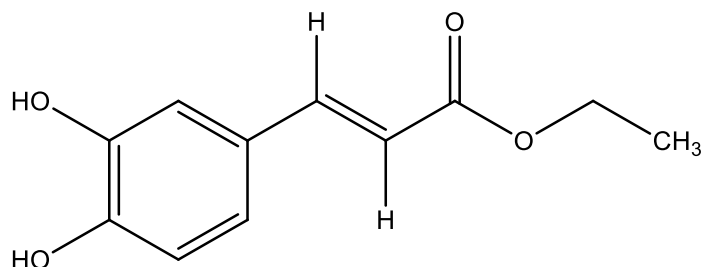


Spctre n° IV.4.7: Spctre HMBC (400 MHz, acétone- d_6 , δ ppm) du composé **TM 04**, étalement.

Tableau n° IV.3 : Données de la spectroscopie RMN ^1H (acétone- d_6 , 400 MHz).

Déplacement chimique δ (ppm)	Intégration	Multiplicité (J Hz)	Attribution
7,52	1H	(J = 16 Hz)	H-8
7.12	1H	/	H-2
6.99	1H	(J = 7,6 Hz)	H-6
6,82	1H	(J = 7,6 Hz)	H-5
6,23	1H	(J = 16 Hz)	H-7
4,17	2H	(J = 7,2 Hz)	CH ₂
1,26	3H	(J = 7,2 Hz)	CH ₃

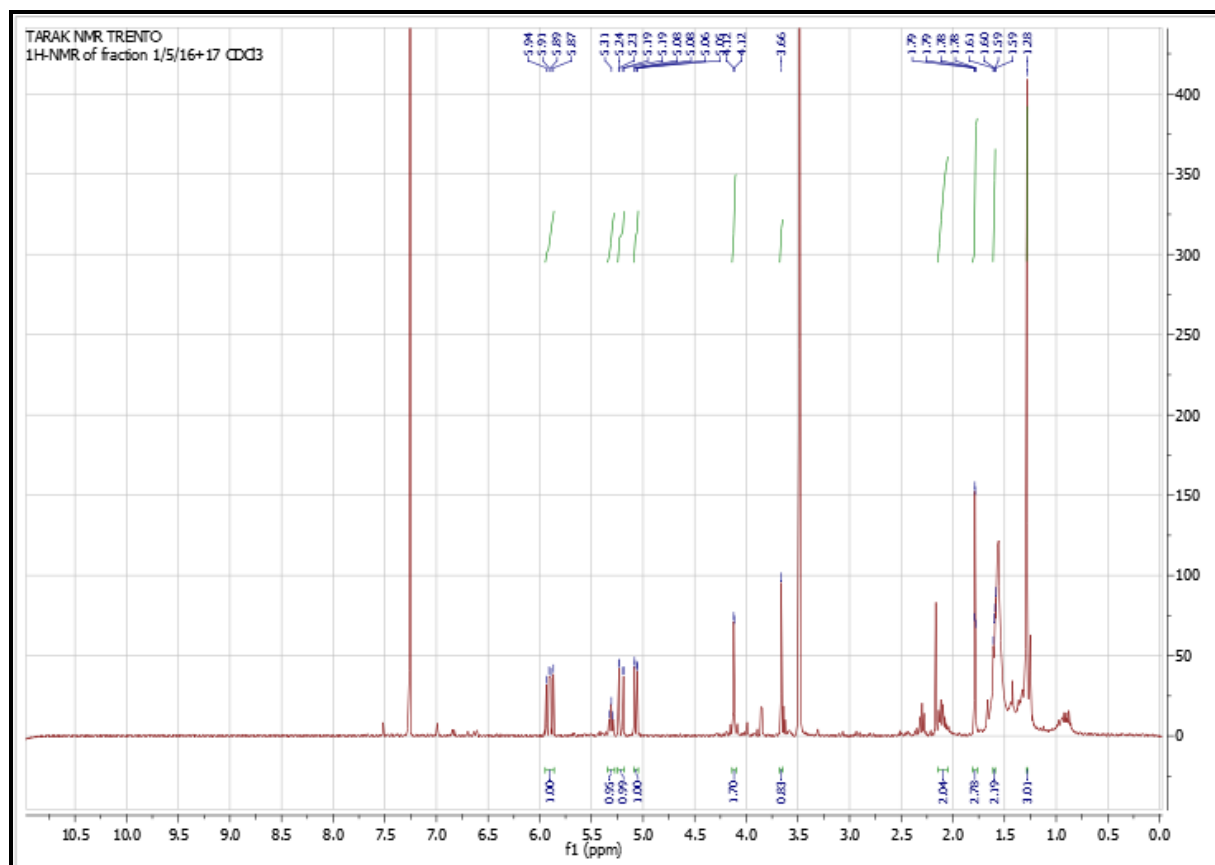
Ces données suggèrent que cette molécule est un ester caféique [5]:



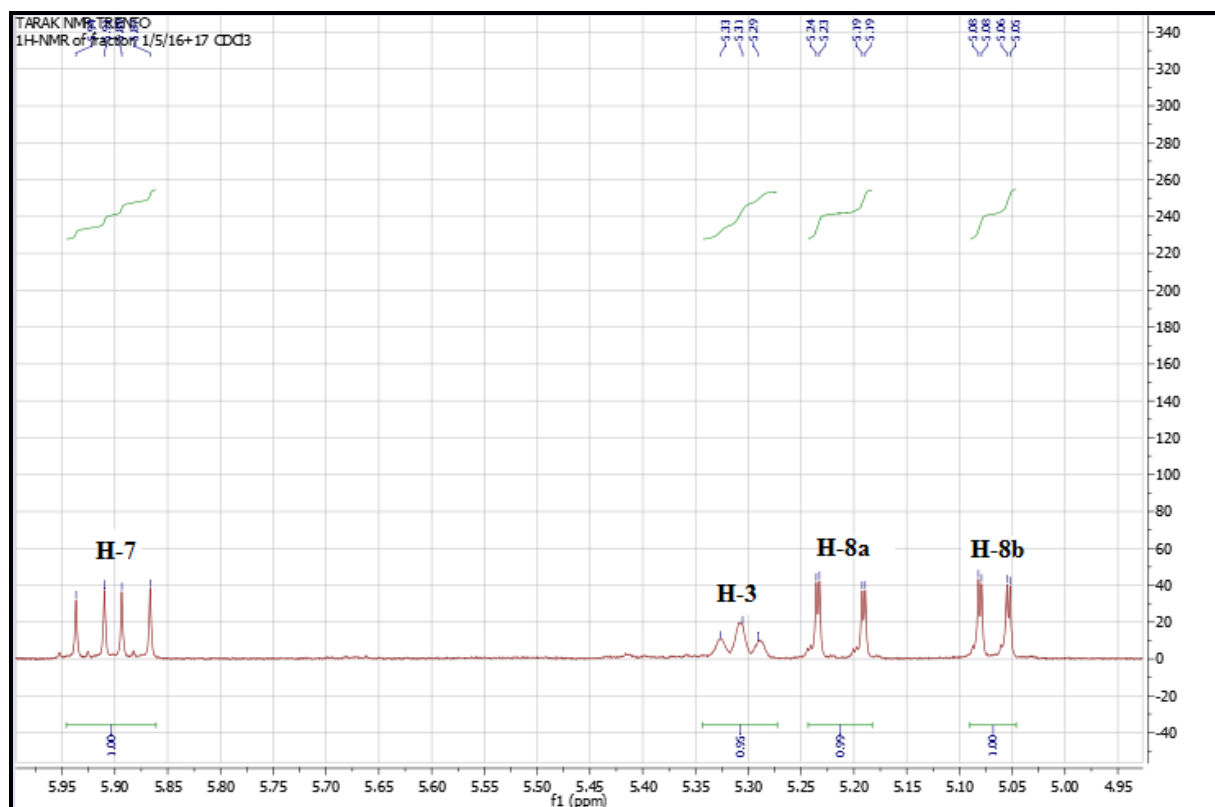
III.6.4.4 Elucidation de la structure du composé TM 05

L'examen du spectre RMN ^1H (Spectre n° IV.5.1) enregistré dans le chloroforme (CDCl_3), montre la présence des signaux caractéristiques d'un terpène, type monoterpène [6], que l'on peut identifier par :

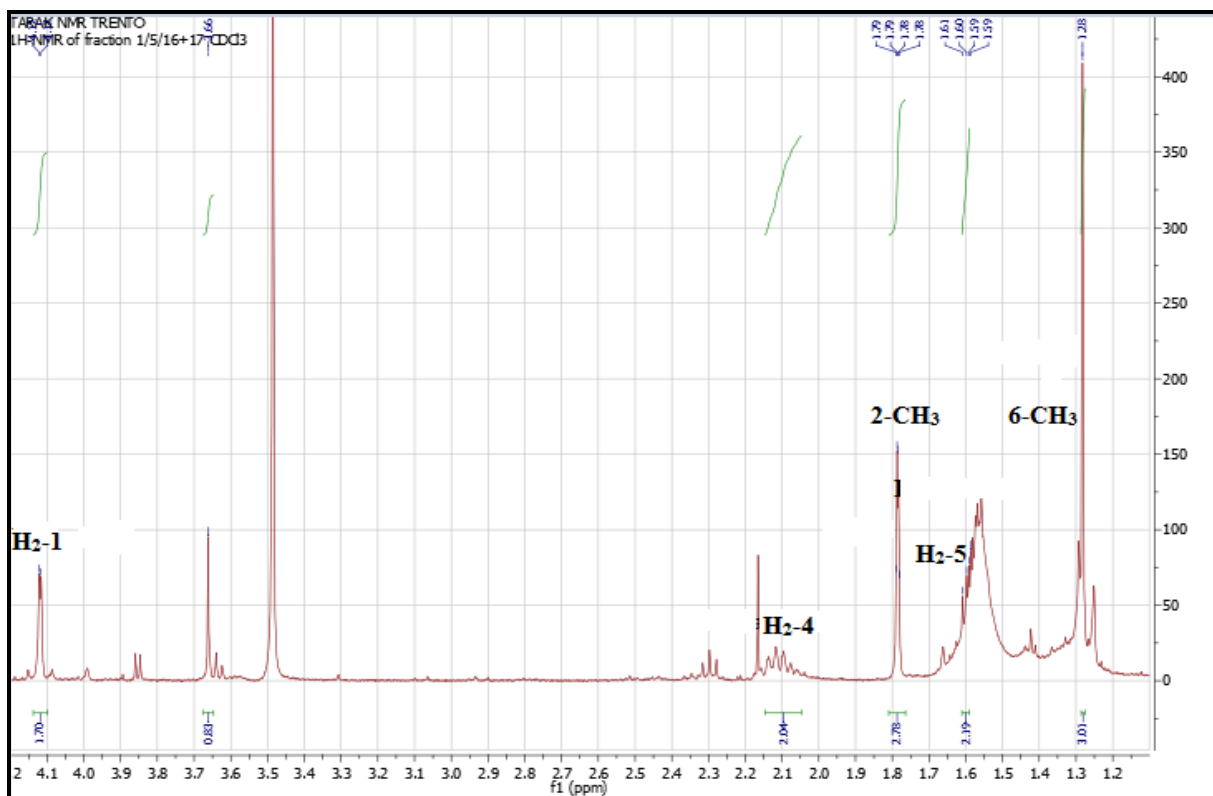
- ✓ Un doublet de doublet ($J=17.3, 10.8$ Hz) d'intégration 1H, à $\delta_{\text{H}} = 5.90$, correspondant à un proton attribuables à H-7.
- ✓ Un triplet ($J=7.0$ Hz) d'intégration 1H à $\delta_{\text{H}} = 5.31$ ppm, correspondant à proton H-3.
- ✓ Un doublet de doublet ($J=17.3, 1.1$ Hz) d'intégration 1H, à $\delta_{\text{H}} = 5.21$, correspondant à un proton vinylique attribuables à H-8a.
- ✓ Un doublet de doublet ($J=10.8, 1.1$ Hz) d'intégration 1H, à $\delta_{\text{H}} = 5.07$, correspondant à un proton vinylique attribuables à H-8b.
- ✓ Un multiplet (m) d'intégration 2H à $\delta_{\text{H}} = 4.12$ ppm, attribuable à un proton H₂-1.
- ✓ Un quadruplet(q) ($J=7.0$ Hz) à $\delta_{\text{H}} = 2.12$ ppm d'intégration 2H, attribuable à proton H₂-4.
- ✓ Un doublet à $\delta_{\text{H}} = 1.79$ ppm ($J=1.3$ Hz) d'intégration 3H, attribuable aux protons du méthyle CH₃-2.
- ✓ Un triplet ($J=7.0$ Hz) d'intégration 1H à $\delta_{\text{H}} = 1.60$ ppm, correspondant à proton H₂-5.
 - ✓ Un singulet à $\delta_{\text{H}} = 1.28$ ppm d'intégration 3H, attribuable aux protons du méthyle CH₃-6.



Spectre n° IV.5.1 : Spectre RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ ppm) du composé TM 05.



Spectre n° IV.5.2 : Spectre RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3 , δ ppm) du composé **TM 05**, étalement.



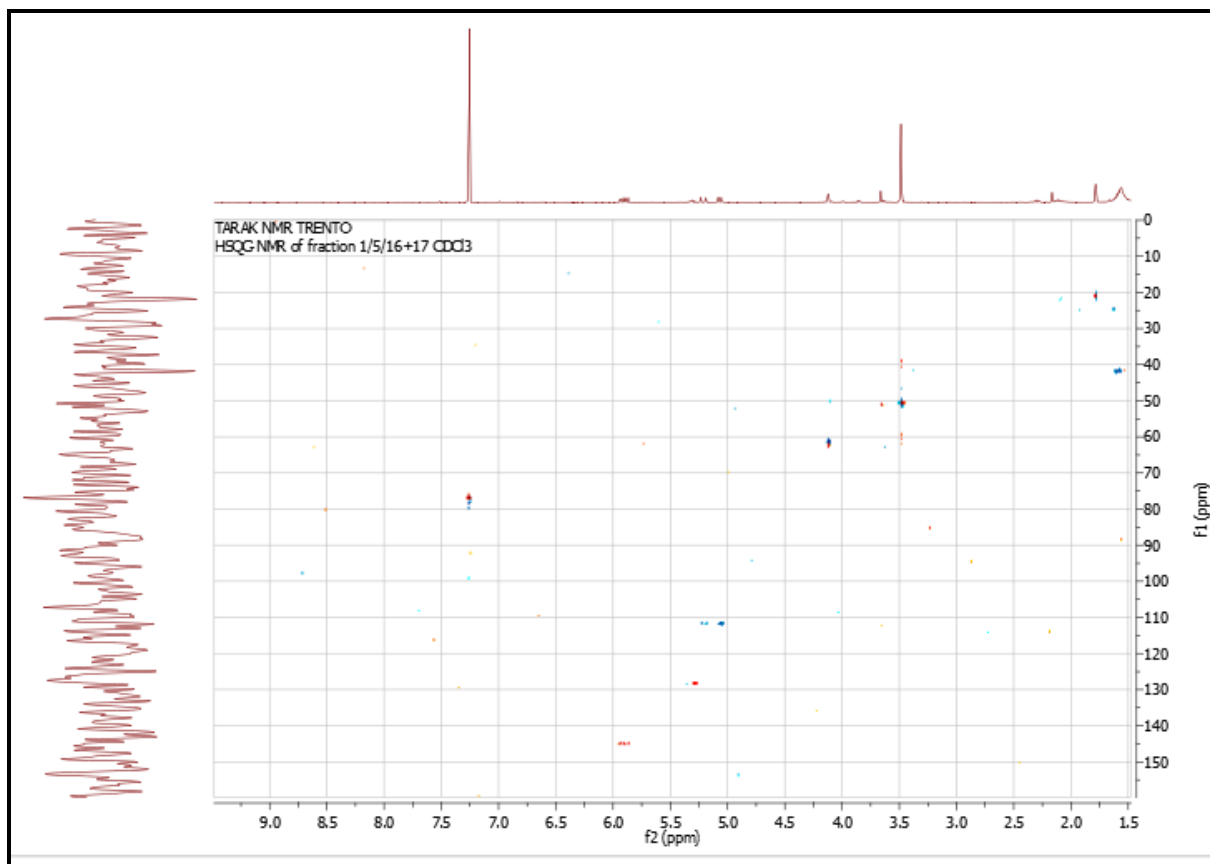
Spectre n° IV.5.3 : Spectre RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3 , δ ppm) du composé **TM 05**, étalement.

Deux singulets sont observés dans le spectre RMN ^1H , le premier à $\delta_{\text{H}} = 1.79$ ppm et l'autre à $\delta_{\text{H}} = 1.28$ ppm d'intégration 3H chacun, attribuables aux protons de deux méthyles porter par un carbone 2 et 6 respectivement.

L'analyse des spectres relatifs à l'expérience HSQC (Spectre n° IV.5.4) permet l'attribution des autres signaux des protons aux atomes de carbone correspondants ainsi :

- ✓ le proton H-7 à $\delta_{\text{H}} = 5.90$ ppm permet l'attribution de son carbone C-7 à $\delta_{\text{C}} = 145.1$ ppm
- ✓ Une corrélation entre les deux protons H₂-5 et le C-5 à $\delta_{\text{C}} = 42$ ppm.
- ✓ Le H₂-1 permet la détermination de C-2 à $\delta_{\text{C}} = 61.3$ ppm,
- ✓ Une corrélation entre les protons de CH₃ et leur carbone à $\delta_{\text{C}} = 22.1$ ppm.
- ✓ Une corrélation entre les deux protons H-8a et H-8b et le C-8 à $\delta_{\text{C}} = 111.7$ ppm.
- ✓ Une corrélation entre les deux protons H-4a et H-4b et le C-4 à $\delta_{\text{C}} = 42$ ppm.
- ✓ Le H-3 corrèle avec le carbone C-3 à $\delta_{\text{C}} = 128.4$ ppm.

✓ Les protons d'un méthyle à $\delta_H = 1.72$ ppm permet l'attribution de ce carbone à $\delta_C = 23.1$ ppm.

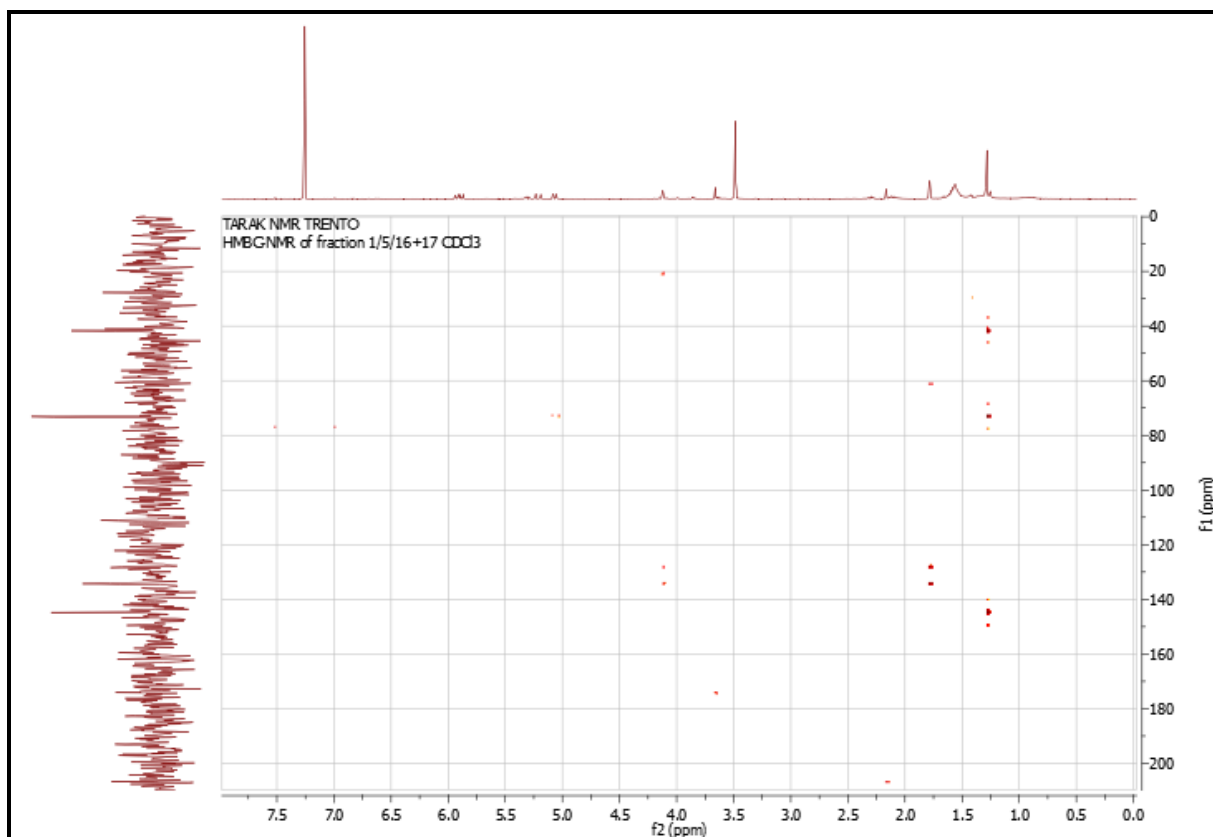


Spectre n° IV.5.4 : Spectre HSQC (400 MHz, CDCl_3 , δ ppm) du composé **TM 05**.

L'analyse du spectre relatif à l'expérience HMBC (Spectre n° IV.5.5) permet de tirer les indications suivantes :

- Les protons de méthyle 6- CH_3 montre trois tâches de corrélation avec les carbones à $\delta_C = 42.1, 73.4$ et 145.1 ppm attribuables aux carbones C-5, C-6 et C-7 respectivement.
- Les protons H_2 -1 montre trois tâches de corrélation:
 - ✓ La première avec le 2- CH_3 à $\delta_C = 21.2$ ppm.
 - ✓ La seconde avec le C-3 à $\delta_C = 128.4$ ppm.
 - ✓ La troisième, une corrélation avec un carbone quaternaire à $\delta_C = 134.5$ ppm, qui ne peut être que le C-2.

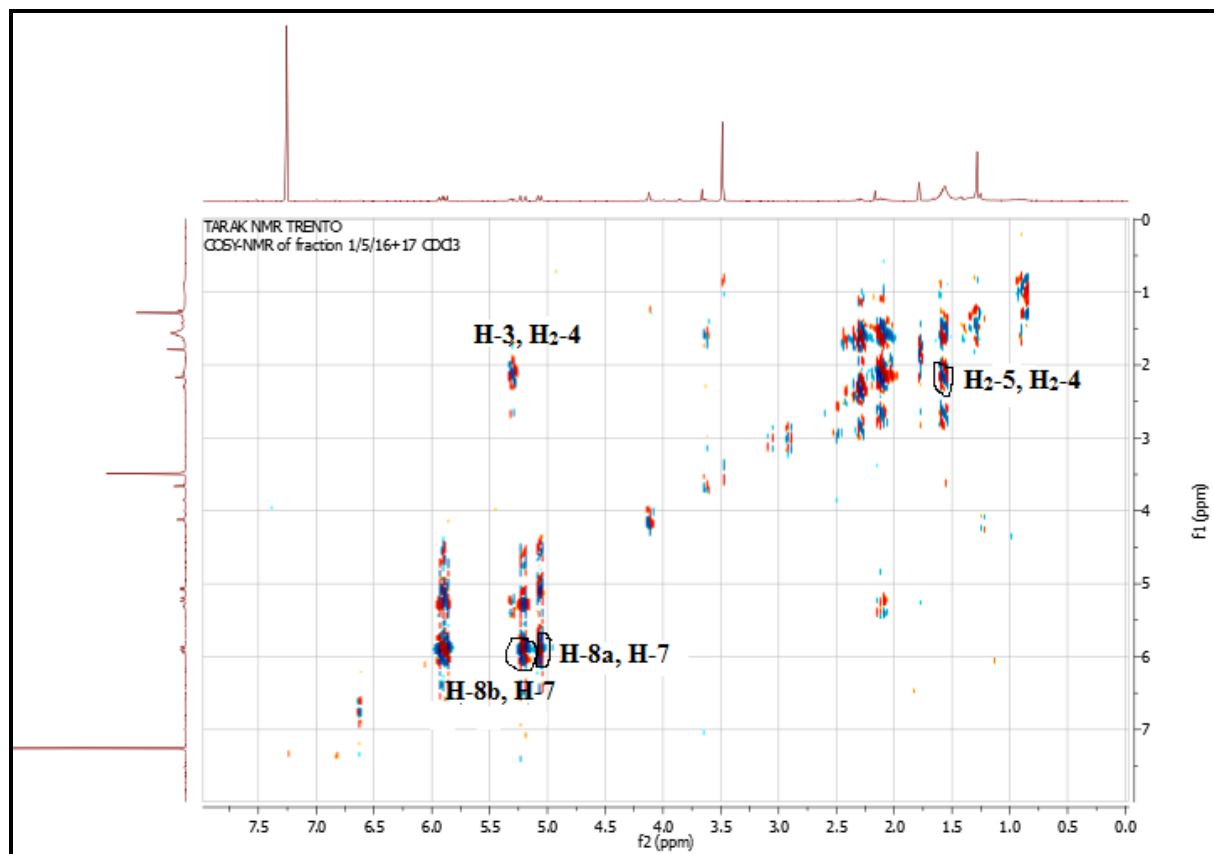
- Le groupement de méthyle 2-CH₃ montre trois tâches de corrélation avec les carbones à $\delta_c = 61.5, 128.4$ et 134.3 ppm attribuables aux carbones C-1, C-3 et C-2 respectivement.



Spectre n° IV.5.5 : Spectre HMBC (400 MHz, CDCl₃, δ ppm) du composé **TM 05**

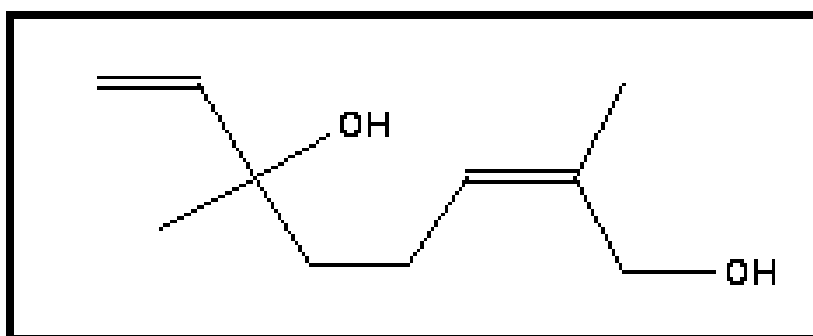
L'étude du spectre relatif à l'expérience COSY (Spectre n° IV.5.6) permet de confirmer les indications précédentes :

- ✓ Une corrélation entre le signal des protons H-4 et un signal sous-forme multiplet à $\delta_H = 2.10$ ppm qui ne peut être que le H-5a et H-5b.
- ✓ Les deux protons H-1a et H-1b montrent une tâche de corrélation avec le proton (*m*) à $\delta_H = 5.90$ ppm attribuable à H-2.
- ✓ Une corrélation entre les protons qui sont sous forme de multiplet de H-5 et un proton à $\delta_H = 2.10$ ppm qui ne peut être que le H-6.



Spectre n° IV.5.6 : Spectre COSY (400 MHz, CDCl₃, δ ppm) du composé **TM 05**

Sur la base de ces résultats et avec la comparaison avec la littérature [7], nous attribuons donc à ce composé qui celle du **8-hydroxylinalol**.



III.6.4.4 Elucidation de la structure du composé TM 06

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.

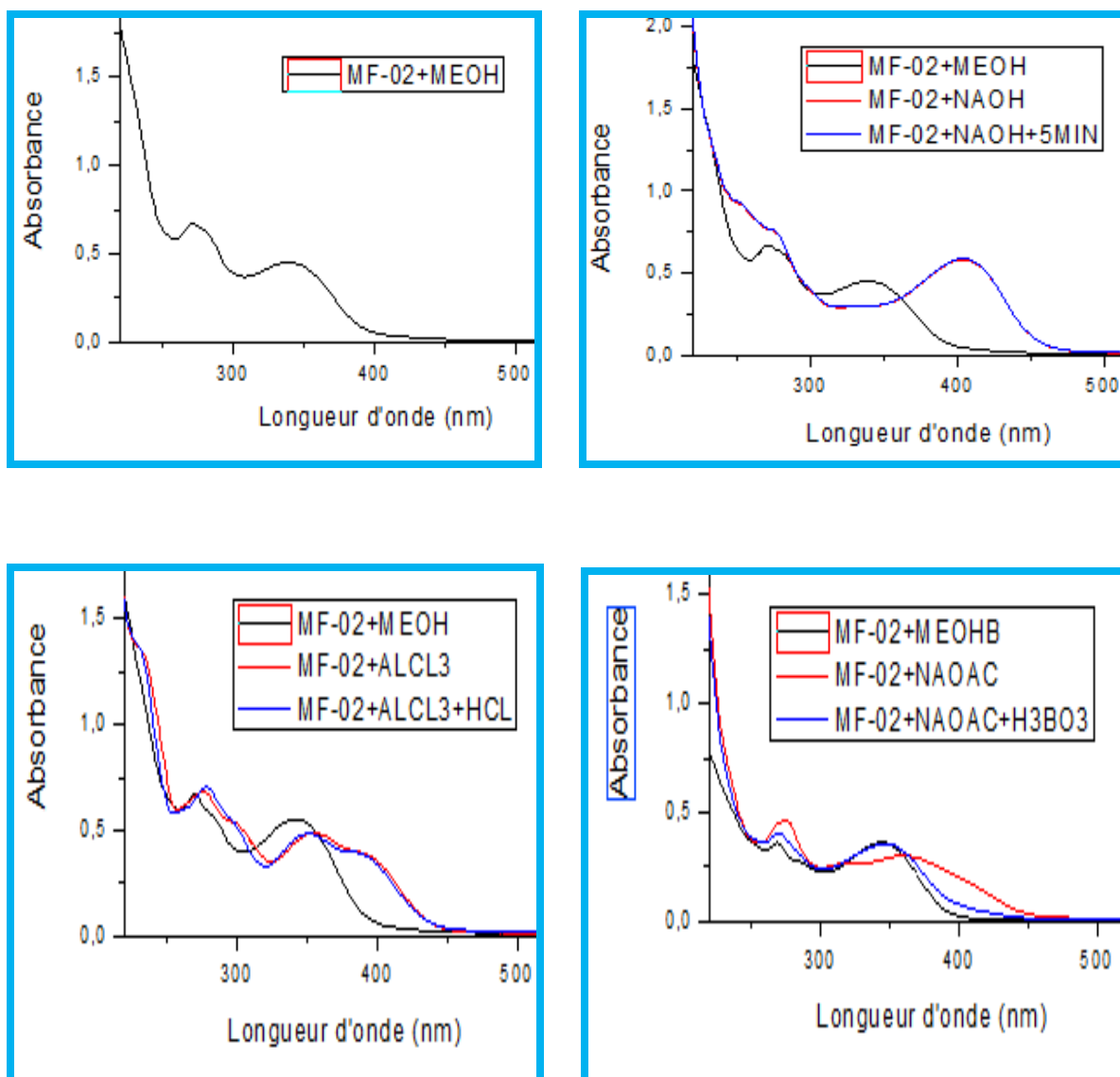
Les données de la série spectrale UV (tableau n° IV.17), spectre n° IV.76 donnent les indications suivantes :

- 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 +65 nm de la bande I, avec une augmentation de l'intensité, ce qui prouve l'existence d'un OH libre en position 4'.
- L'apparition d'une nouvelle bande à 329 nm prouve l'existence d'un OH libre en position 7, ceci est confirmé par le spectre enregistré en présence de NaOAc, où la bande II subit un déplacement bathochrome de + 22 nm par rapport au spectre enregistré dans le MeOH.
- L'addition du réactif AlCl₃, conduit à un déplacement bathochrome de +18 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.

Les données relatives à cette série spectrale sont rassemblées dans le tableau IV-4.

Tableau n° IV.4: Données de la série spectrale UV du composé TM 06

Réactifs	Bande I	Bande II	Autres bandes	Commentaire
MeOH	338	271	240, 249	Flavone
NAOH	403	263	329	4'-OH et 7-OH
AlCl ₃	356	275	/	5-OH
AlCl ₃ +HCl	351	279		/
NaOAc	360	274	321	7-OH
NaOAc+H ₃ BO ₃	347	270	/	/
Spectre stable avec NaOH après 5mn				



Spectre n° IV.6.1 : Série spectrale UV du composé TM 06

L'examen du spectre RMN ^1H (Spectre n° IV.6.2 et 6.3) montre la présence des signaux caractéristiques d'un flavonoïde de type flavone qu'on peut identifier par:

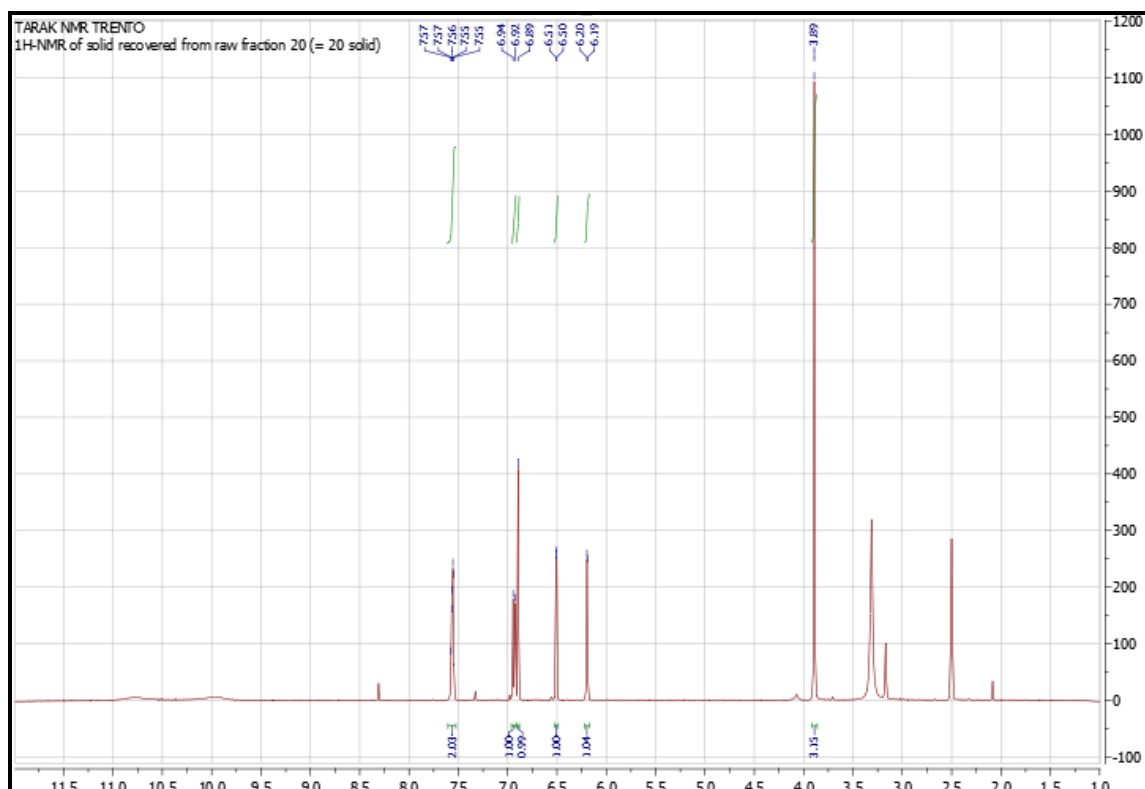
- Un doublet dédoublé d'intégration 1H à $\delta = 7,57$ ppm ($J = 8,8 ; 2,0$ Hz) partiellement recouvert par un doublet d'intégration 1H à $\delta = 7,56$ ppm ($J = 2,0$ Hz) attribuables à H-6' et H-2' respectivement.
- Un doublet d'intégration 1H à $\delta = 6,93$ ppm ($J = 8,8$ Hz) attribuable à H-5'
- Un singulet d'intégration 1H à $\delta = 6,89$ ppm attribuable à H-3.

- Deux doublets d'intégration 1H chacun, le premier à $\delta = 6,50$ ppm ($J = 2,0$ Hz) et le second à $\delta = 6,19$ ppm ($J = 2,0$ Hz) attribuables à H-8 et H-6 respectivement indiquant une disubstitution du cycle A dans les positions 5 et 7.
- Un singulet d'intégration 3H à $\delta = 3,89$ ppm révélant la présence d'un groupement méthoxyle dans la molécule.

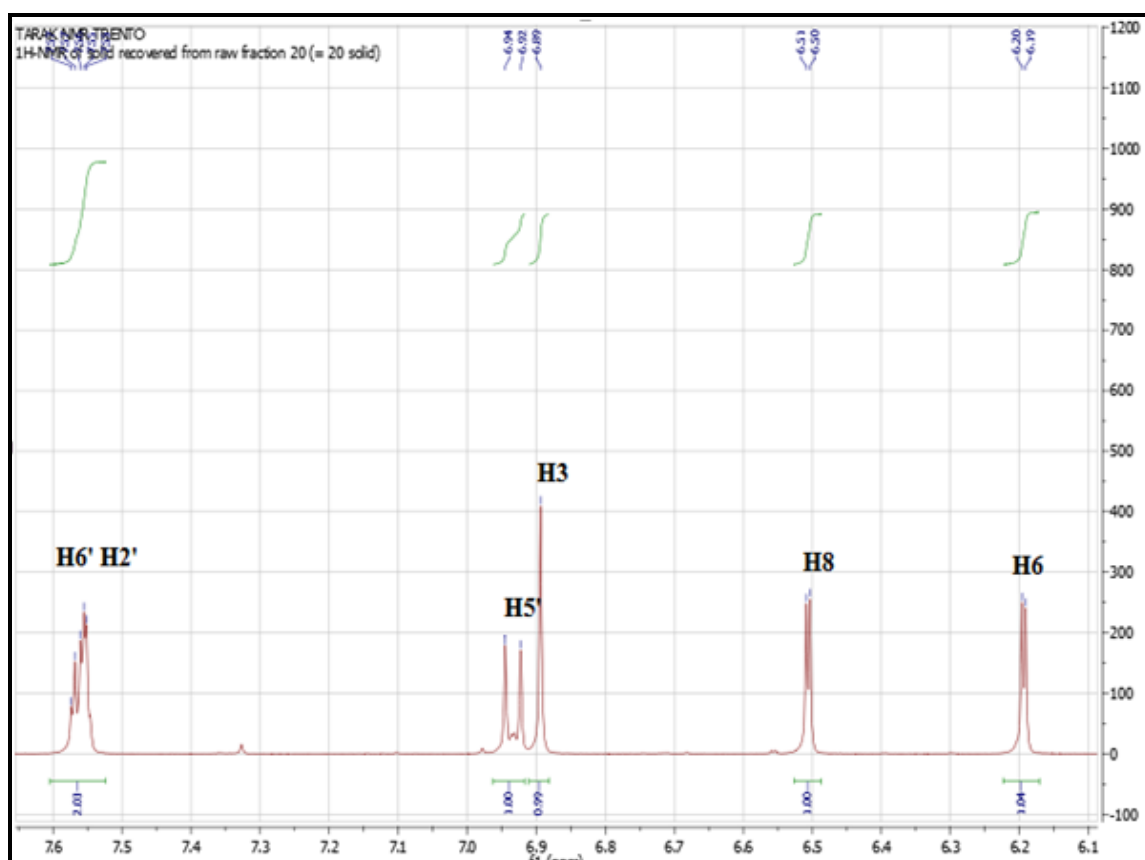
Le tableau n° IV.5: rassemble les résultats de la RMN ^1H .

Tableau n° IV.5: Données de la spectroscopie RMN ^1H (CD_3OD , 400 MHz).

Déplacement chimique (ppm)	Intégration	Multiplicité J (Hz)	Attribution
7.56	1H	9.5 ; 2,3	H-6'
7.55	1H	2 ,3	H-2'
6.93	1H	9.5	H-5'
6.89	1H	/	H-3
6.51	1H	2,3	H-8
6.19	1H	2,3	H-6
3.89	1H	/	OCH ₃

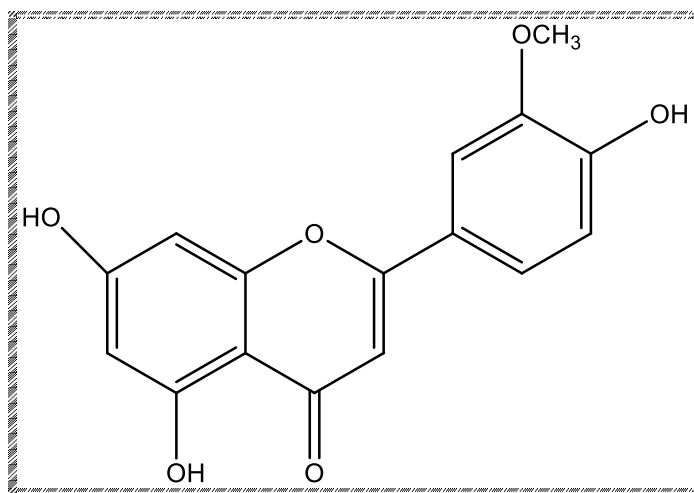


Spectre n° IV.6.2 : Spectre RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆, δ ppm) du composé TM 06



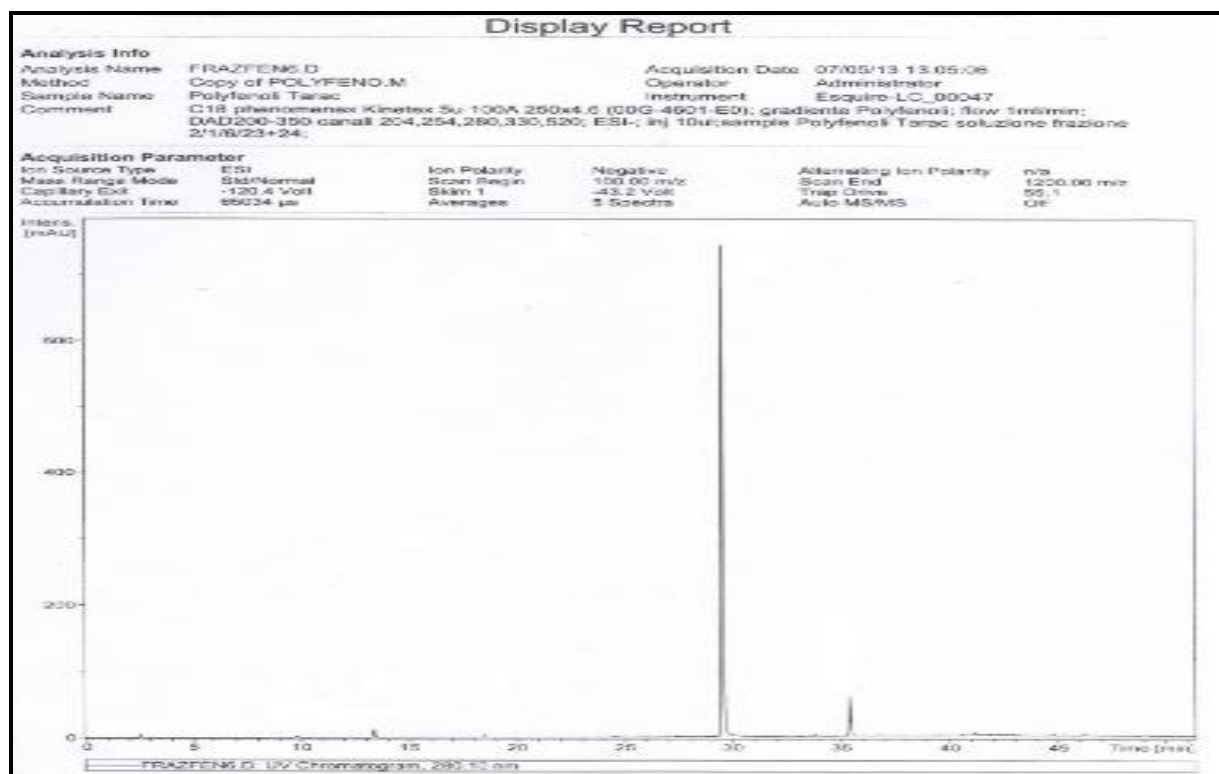
Spectre n° IV.6.3 : Spectre RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6 , δ ppm) du composé **TM 06**, étalement.

Les données de la spectroscopie RMN ^1H complétées par celle de la spectrométrie ultraviolette sont en accord avec la littérature [8] et mènent à la structure suivante:



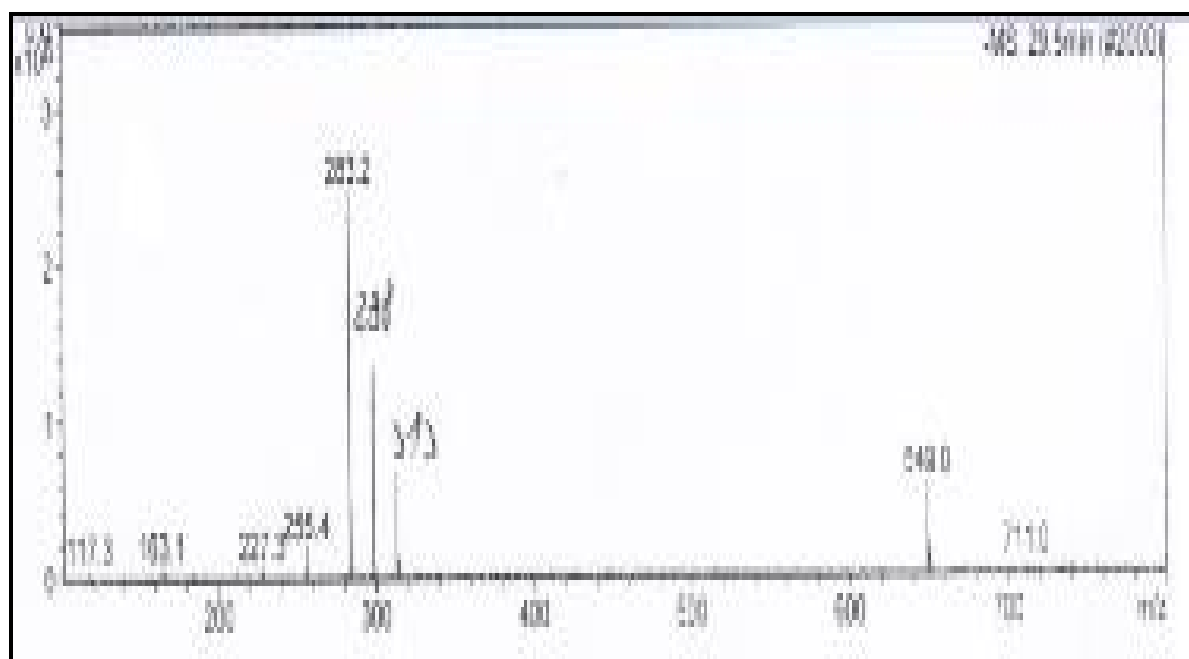
4', 5, 7-trihydroxy-3'-methoxyflavone
(Chrysoeriol)

IV. 1. A. 7. Elucidation de la structure du composé TM 07



Spectre n° IV.7.1 : Profile LC-MS en mode positif de TM 07

Le spectre de masse ESI/MS +, enregistré en mode positif, montre un ion pseudomoléculaire m/z 299[M+H]⁺, soit une masse moléculaire égale à 298 uma et une formule brute C₁₇H₁₄O₆.



Spectre n° IV.7.2: Spectre LC-MS du composé TM 07

Le composé TM 07 qui se présente sous forme de cristaux jaunes, montre par analyse CCM et sous lumière de Wood, une fluorescence noire-violette laissant envisager pour ce produit une structure de type flavonoïde.

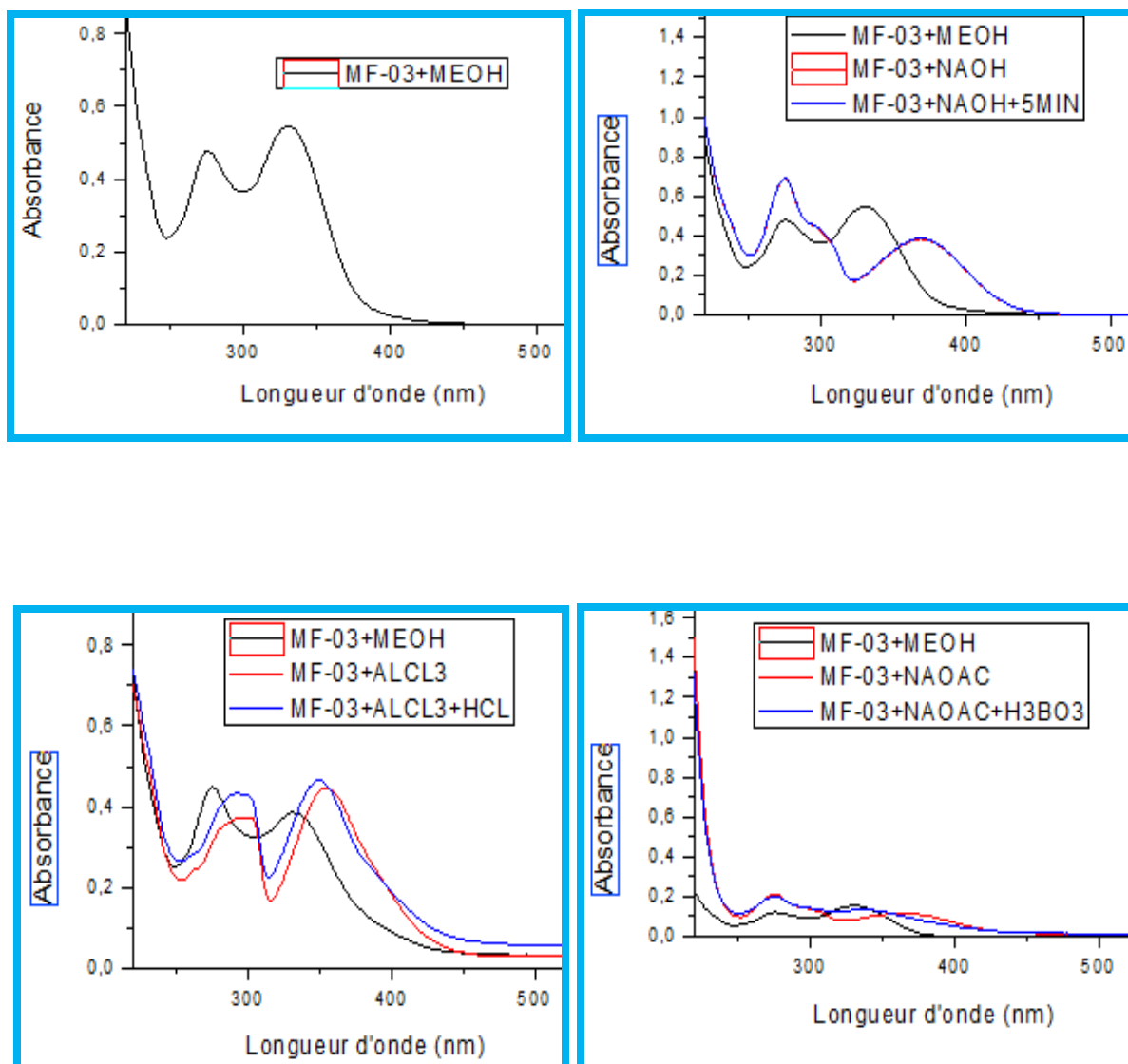
L'étude de la série spectrale UV (Spectre n° IV.7.1) donne les indications suivantes:

- Le déplacement bathochrome de la bande I ($\Delta\lambda = +38$ nm) avec diminution de son intensité provoqué par l'addition de NaOH laisse supposer la présence d'un OR en 4'.
- L'ajout de NaOAc, ne provoque aucun déplacement de la bande II révélant la présence d'une substitution de type OR sur C-7.
- Un effet bathochrome de la bande I dans le spectre enregistré dans le milieu ($\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$) ($\Delta\lambda = +19$ nm) comparativement au spectre enregistré dans le MeOH indiquant la présence d'un OH libre en C-5 et une oxygénation en C-6.

Les données relatives à cette série spectrale sont rassemblées dans le tableau n° IV.6.

Tableau n° IV.6: Données de la série spectrale UV (λ max, nm).

Réactifs	Bande I	Autres bandes	Bande II	Commentaire
MeOH	332	/	276	Flavone
+ NaOH	370		276	OR libre en 4'
+AlCl ₃	355	301	294	
+AlCl ₃ /HCl	351	/	293	OH libre en 5 Oxygénation en 6
+NaOAc	360	364	276	OR en 7
+NaOAc/H ₃ BO ₃	336	/	276	Pas di OH
Spectre stable en présence de NaOH après 5 mn				



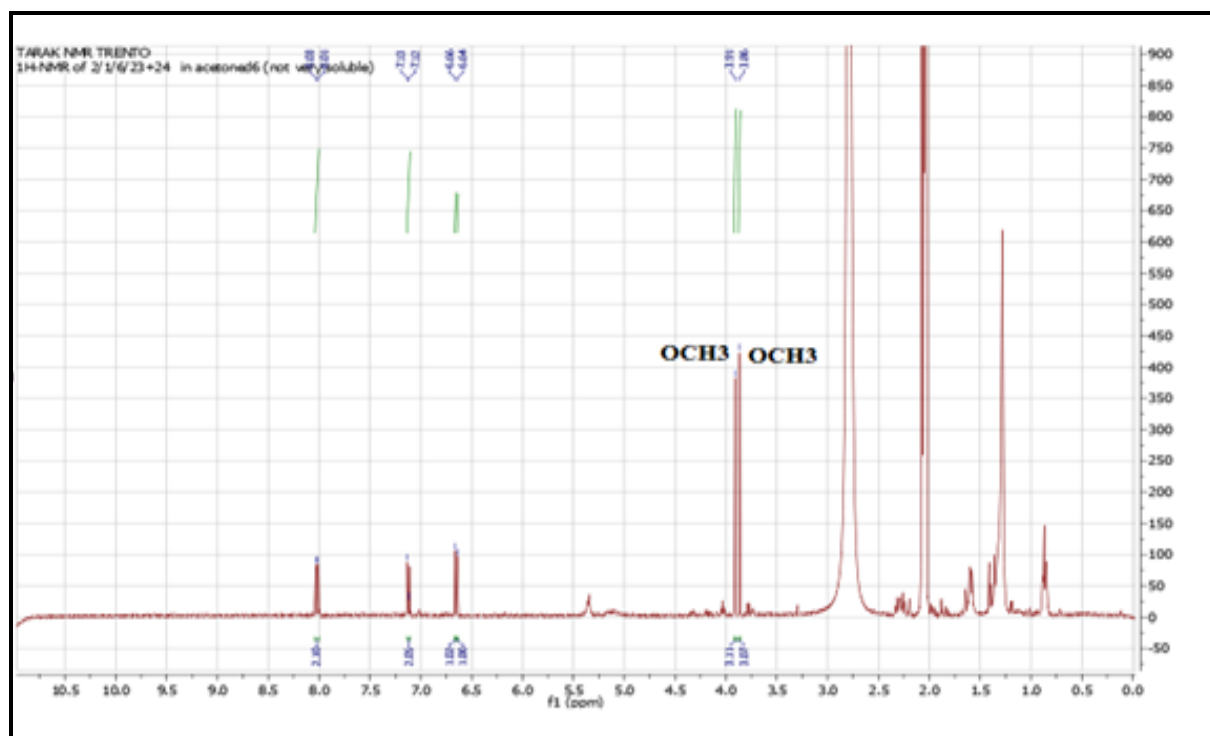
Spectre n° IV.7.1 : Série spectrale UV du composé TM 07

L'étude du spectre RMN ^1H montre la présence des signaux caractéristiques d'un flavonoïde de type flavone reconnaissable par :

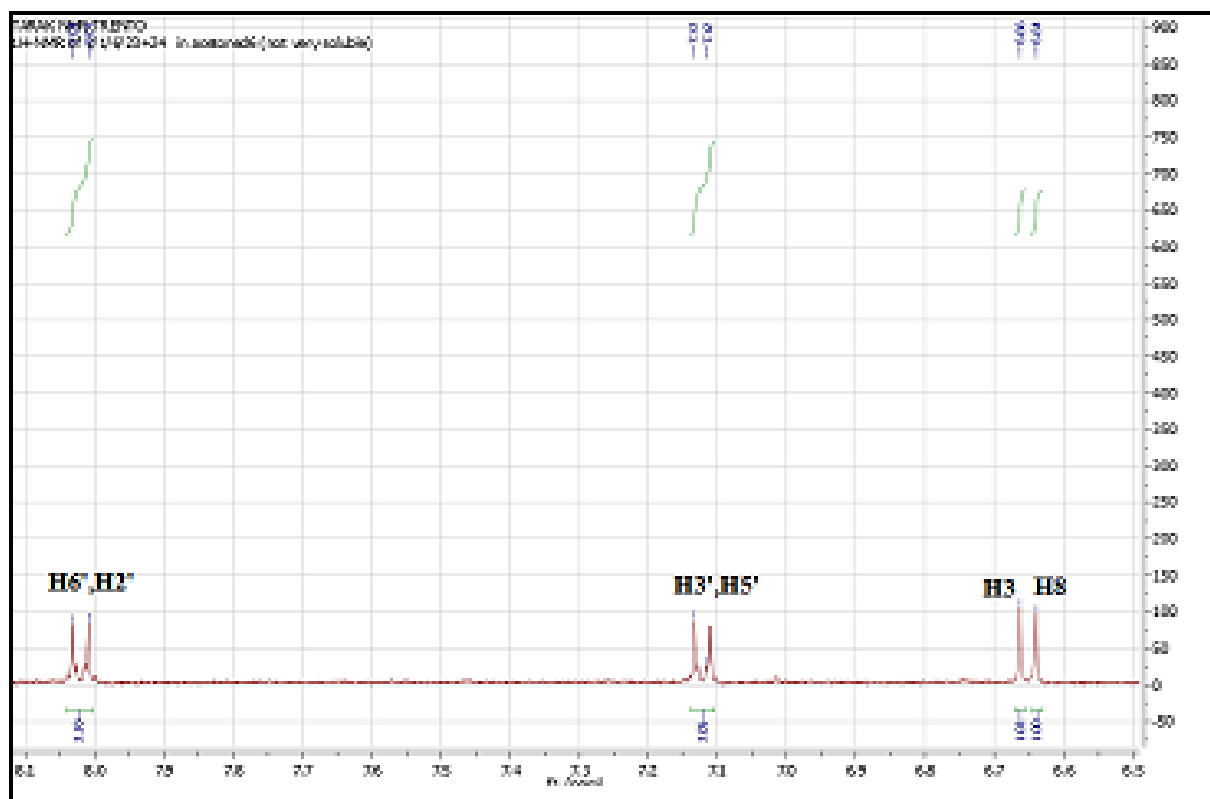
- Deux doublets ($J = 9,2$ Hz) à $\delta = 8,02$ ppm et à $\delta = 7,11$ ppm de deux protons chacun caractéristiques d'un noyau B oxygéné en position 4', le premier est attribué aux protons H-2' et H-6', le dernier est attribué aux protons H-3' et H-5'.
- Un singulet d'intégration 1H à $\delta = 6,66$ ppm attribuable à H-3.
- Un singulet d'intégration 1H à $\delta = 6,64$ ppm attribuable à H-8.
- Deux singulets d'intégration 3H chacun à $\delta = 3,90$ et $3,86$ ppm attribuables à deux groupements méthoxyles.

Tableau n° IV.7: Données de la spectroscopie RMN ^1H (acétone- d_6 , 400 MHz).

Déplacement chimique (ppm)	Intégration	Multiplicité J (Hz)	Attribution
8.02	1H	9,2	H-6', H-2'
7.11	1H	9,2	H-3', H-5'
6.66	1H	/	H-3
6.64	1H	/	H-8'
3.90	1H	/	OCH ₃
3.86	1H	/	OCH ₃

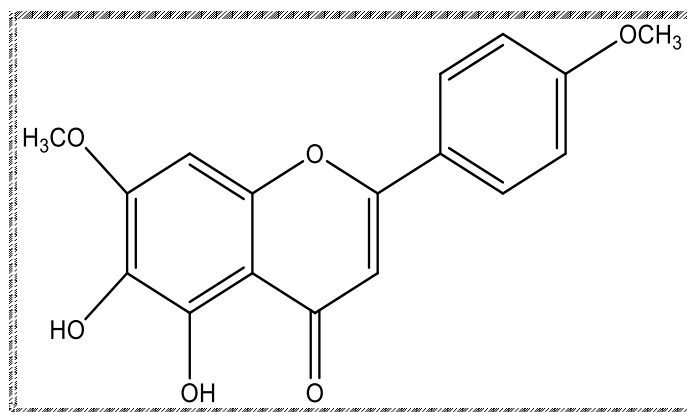


Spectre n° IV.7.2 : Spectre RMN ¹H (400 MHz, acétone-d₆, δ ppm) du composé TM 07.



Spectre n° IV.7.3 : Spectre RMN ^1H (400 MHz, acétone- d_6 , δ ppm) du composé **TM 07**, étalement.

La combinaison des résultats de la spectroscopie RMN ^1H et la série spectrale UV permet de localiser les deux groupements méthoxyles en position 4' et 7 ce qui mène à la structure suivante :



5, 6-dihydroxy-4', 7 –dimethoxyflavone
(ladanein) [9].

IV. 1. B. Elucidation des produits isolés de la phase acétate d'éthyle**IV. 1. B. 1. Elucidation de la structure du composé TA 01**

Le composé **TA01** se présente sous forme d'une poudre jaune soluble dans le méthanol.

Ce composé d'une fluorescence noire violette sous lumière de Wood réagit avec le réactif NH_3 en affichant une coloration jaune laissant envisager une structure de type flavonoïde.

Les données de la série spectrale UV (Spectre n° IV.8.1) montrent :

□ Le spectre enregistré dans le méthanol montre deux bandes d'absorption, une bande II à 254 nm et une bande I à 349 nm orientant vers une structure flavonique de type Flavone ou un flavonol substitué en 3.

□ Le déplacement bathochrome de la bande I ($\Delta\lambda = +51$ nm) avec augmentation de son intensité provoqué par l'addition de NaOH laisse supposer la présence d'un OH libre en 4'.

□ Le spectre enregistré en présence de NaOAc, montre un déplacement bathochrome de la bande II ($\Delta\lambda \text{ II} = +3$ nm) par rapport au spectre enregistré dans le MeOH, orientant vers la présence d'un OH libre en C-7.

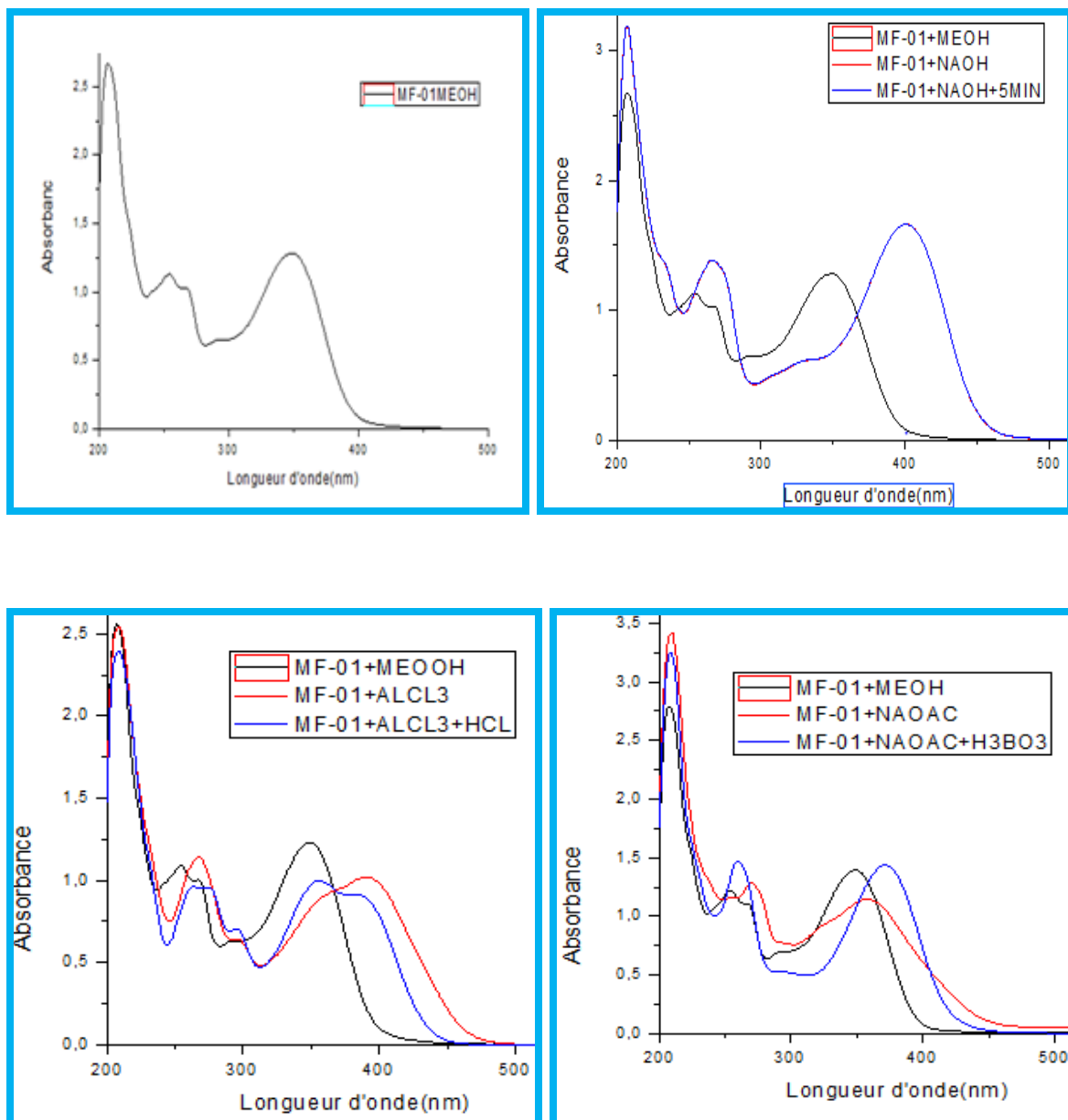
□ L'addition du réactif AlCl_3 , conduit à un déplacement bathochrome de +40 nm de la bande I, par rapport au spectre enregistré dans le MeOH, ce qui indique l'existence d'un OH libre en position 5.

□ L'addition des réactifs NaOAc, H_3BO_3 donne un déplacement bathochrome de la bande I ($\Delta\lambda = +22$ nm) par rapport au spectre enregistré dans MeOH, qui prouve l'existence d'unortho di OH sur les carbones 3',4'

Les résultats relatifs à cette série spectrale UV sont rassemblés dans le tableau n° IV.8.

Tableau n° IV.8: Données de la série spectrale UV (λ max, nm).

Réactifs	BandeI	BandeII	Nouvelle bande	Commentaries
MEOH	349	254		Flavone
+NAOH	400	266	329	OH en C-4'
+AlCl ₃	389	267		OH en C-5
+AlCl ₃ + HCl	355	264		/
+NaOAc	356	270		OH en C-7
+NaOAc+H ₃ BO ₃	371	259		di OH en 3', 4'
Spectre stable avec NaOH après 5min				



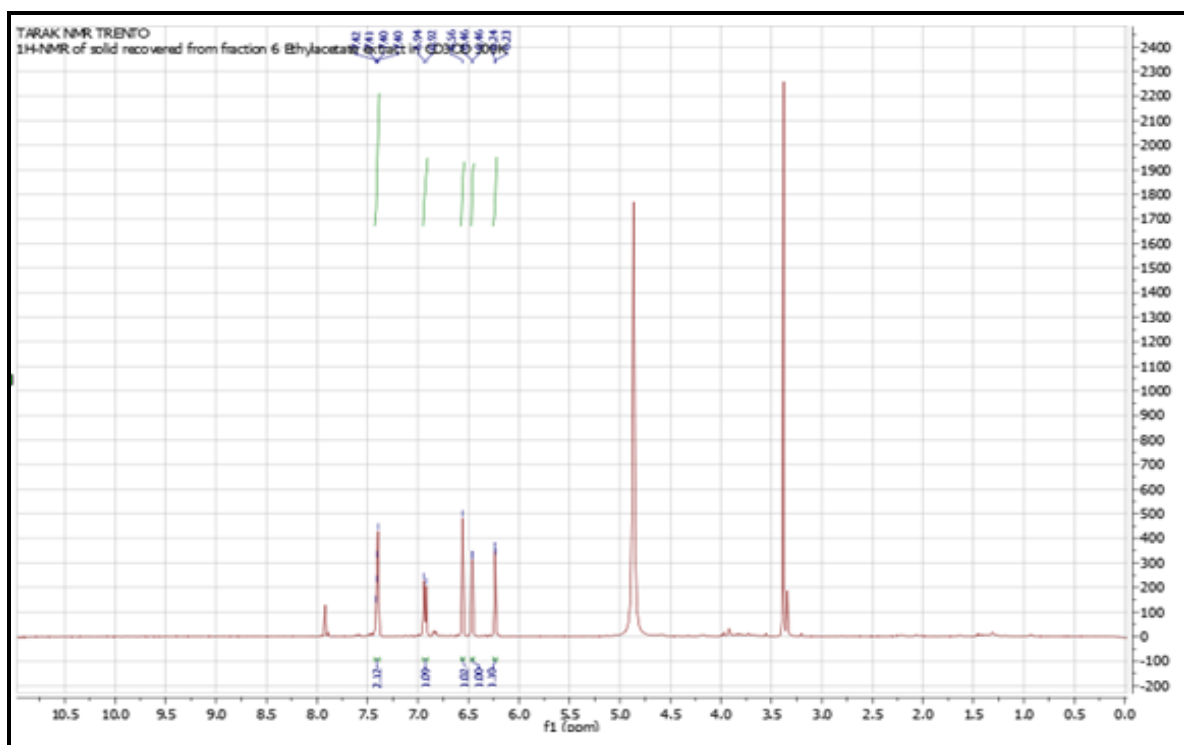
Spectre n° IV.8.1 : Série spectrale UV du composé TA 01

L'étude du spectre RMN ^1H (Spectre n° IV.8.2) donne les indications suivantes :

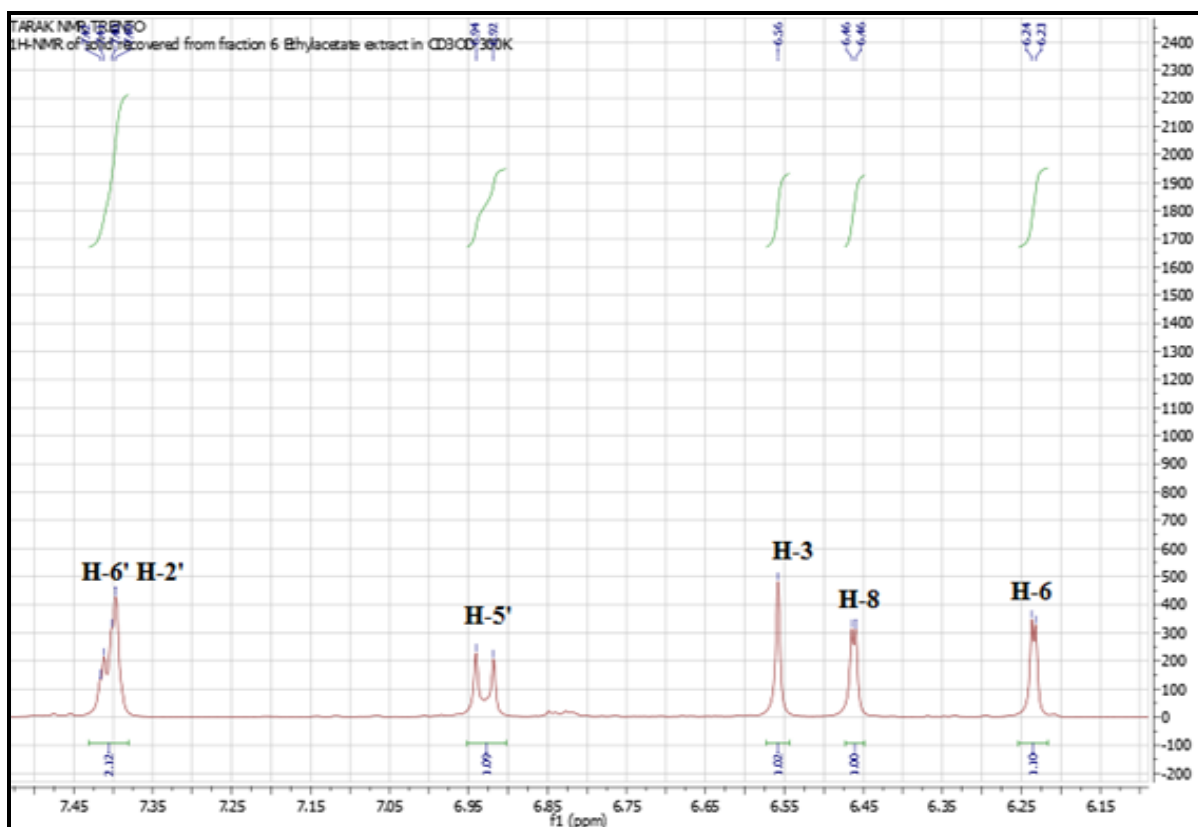
- ✓ un doublet dédoublé d'intégration 1H à δ 7,41 ppm ($J = 8,8 ; 2,0$ Hz) attribuables à H-6'
- ✓ un doublet d'intégration 1H à δ 7,40 ppm ($J = 2,0$ Hz) attribuables à H-2'
- ✓ un doublet d'intégration 1H à δ 6,93 ppm ($J = 8,8$ Hz) attribuables à H-5'
- ✓ un singulet d'intégration 1H à δ 6,56 ppm attribuable à H-3
- ✓ un doublet d'intégration 1H à δ 6,46 ppm ($J = 2,0$ Hz) attribuable à H-8
- ✓ un doublet d'intégration 1H à δ 6,23 ppm ($J = 2,0$ Hz) attribuable à H-6.

Tableau n° IV.9: Données de la spectroscopie de RMN ^1H (CD_3OD , 400 MHz) du composé TA-01

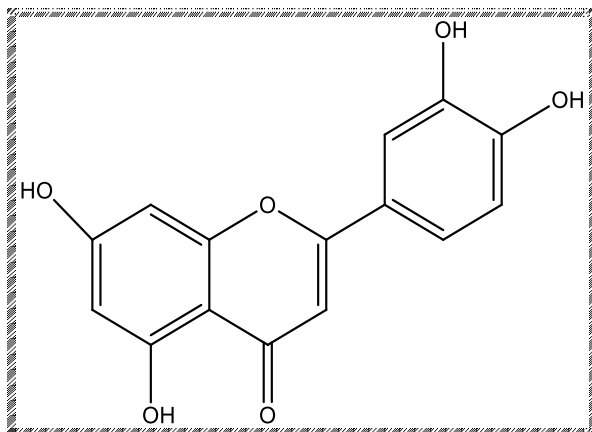
Déplacement chimique (ppm)	Intégration	Multiplicité J (Hz)	Attribution
7.41	1H	8 .8, 2.0	H-6'
7.40	1H	2.0	H-2'
6.93	1H	8.8	H-5'
6.56	1H	/	H-3
6.46	1H	2.0	H-8
6.23	1H	2.0	H-6



Spectre n° IV.8.2 : Spectre RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD , δ ppm) du composé TA-01.



Spectre n° IV.8.3: Spectre RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD , δ ppm) du composé **TA-01**, étalement.



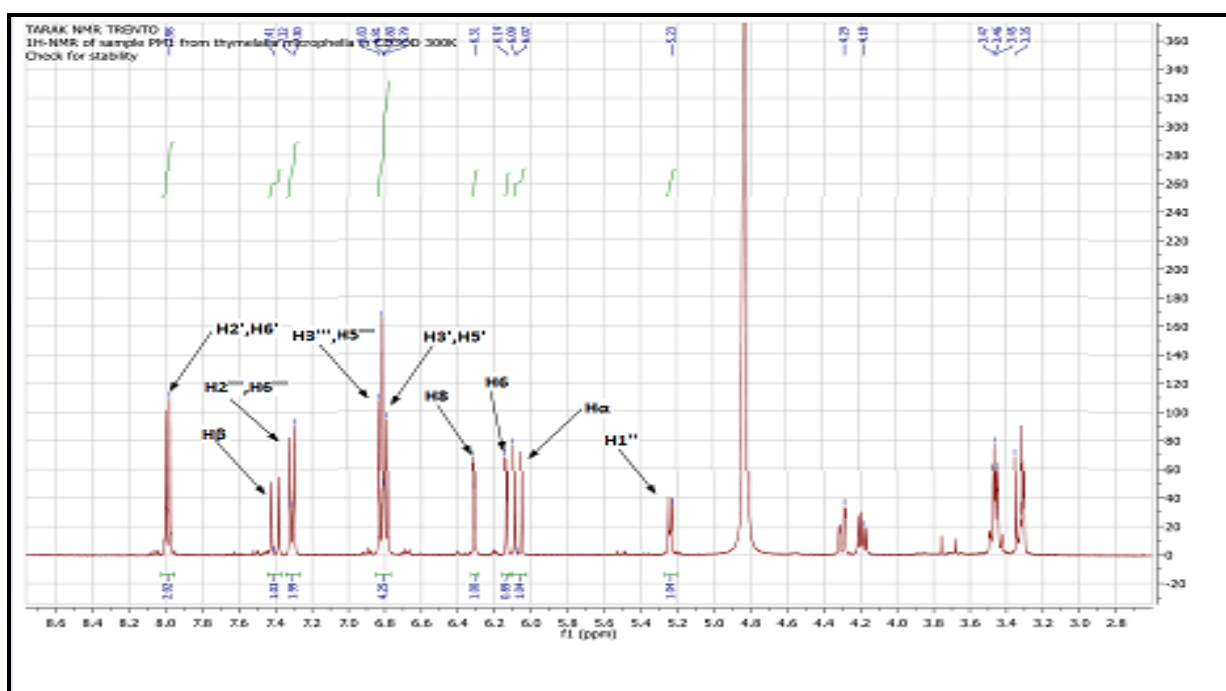
L'ensemble des données de la série spectrale UV ainsi que la RMN ^1H oriente vers le composé : 3',4', 5, 7- tetrahydroxyflavone connue sous le nom de **luteoline** [10].

IV. 1. B. 2. Elucidation de la structure du composé TA 02 et TA 03

Le composé **TA 02** se présente sous forme d'une poudre jaune soluble dans le méthanol. La fluorescence noire-violette de ce composé sous lumière de Wood laisse envisager la structure d'une flavone ou un flavonol substitué 3-OR.

Le spectre RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) (Spectre n° IV.9.1) donne les indications suivantes :

- Un signal sous forme d'un doublet d'intégration 1H à $\delta = 6,14$ ppm ($J = 2,0$ Hz) attribuable à H-6.
- Un signal sous forme d'un doublet d'intégration 1H à $\delta = 6,31$ ppm ($J = 2,0$ Hz) attribuable à H-8.
- Un signal sous forme d'un doublet d'intégration 2H à $\delta = 6,80$ ppm ($J = 8,8$ Hz) attribuable H-3' & H-5'
- Un signal sous forme d'un doublet d'intégration 2H à $\delta = 7,99$ ppm ($J = 8,8$ Hz) attribuable à H-2' & H-6'. Ces signaux confirment une substitution du noyau B en 4'
- On observe également deux doublet à δ H = 6.34 ppm (d, $J=16.2$ Hz); δ H = 7.50 ppm (d, $J=16.2$ Hz) indiquant la présence de deux protons vicinaux d'une double liaison de configuration trans attribuable à un groupement $\text{CH}=\text{CH}$, Leurs déplacements chimiques déblindés pourraient être dûs à une conjugaison de la double liaison avec un carbonyle
- D'autres part on observe un 2 ème système AA'XX' à δ H = 6.82 ppm (2H, d, $J= 9.2$ Hz) attribuable H-3''' & H-5''' et à δ H = 7.31 ppm (2H, d, $J= 9,2$ Hz) attribuable à H-2''' & H-6'''



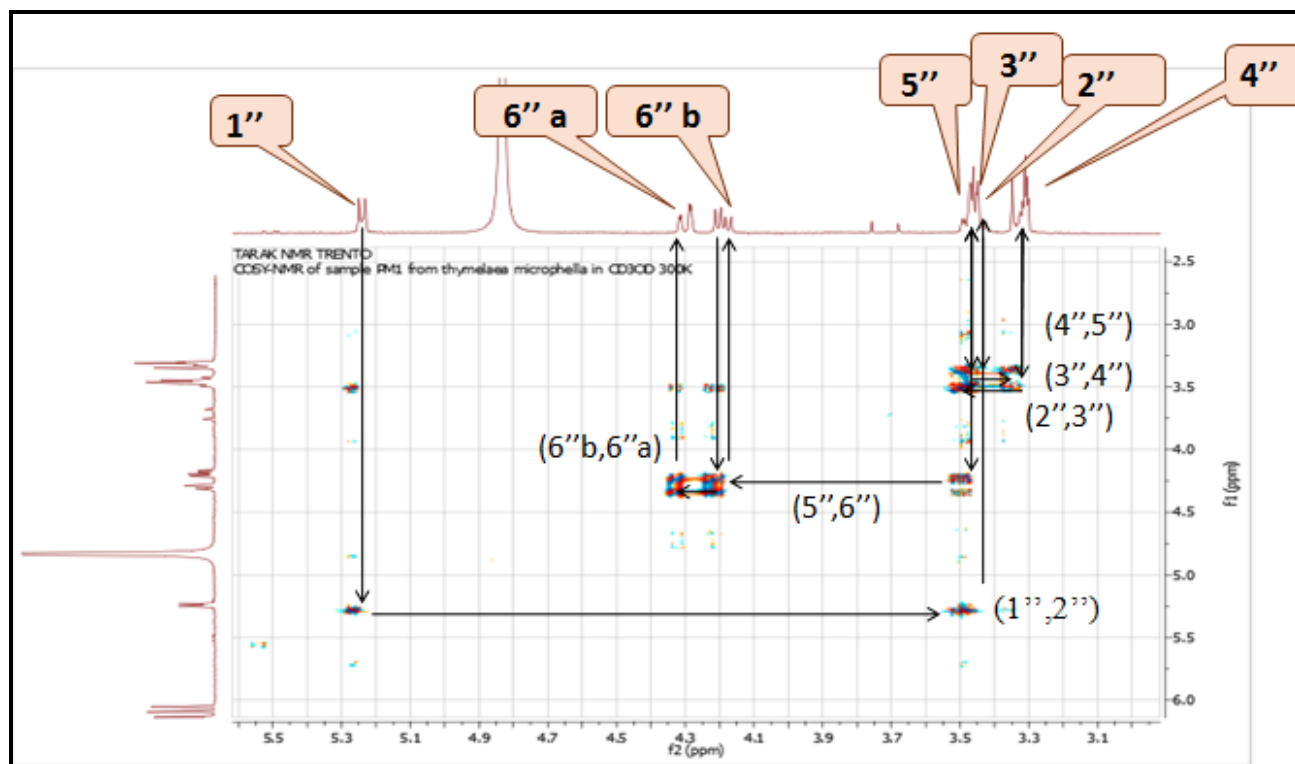
Spectre n° IV.9.1 : Spectre RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD , δ ppm) du composé TA 02.

Le spectre RMN ^1H (Spectre n° IV.9.1) suggère aussi l'existence d'une unité osidique dont un doublet à 5,24 ppm ($\text{H-1}''$, $J = 4.0$ Hz) qui correspond au proton anomérique, deux doublets de doublets à 4,30 et 4,19 ppm attribuables aux deux protons oxyméthyléniques $\text{H-6}''\text{a}$ ($J = 12.0$ et 2,0 Hz) et $\text{H-6}''\text{b}$ ($J = 12.0$ et 2,4 Hz), des multiplets entre 3,30 et 3,50 ppm attribués aux protons oxyméthines de l'unité osidique

L'examen du spectre COSY $^1\text{H}-^1\text{H}$ enregistré dans CD_3OD et ses étalements (spectre n° IV.1.B13.4 et n° IV.1.B13.4') permet en effet de mettre en évidence:

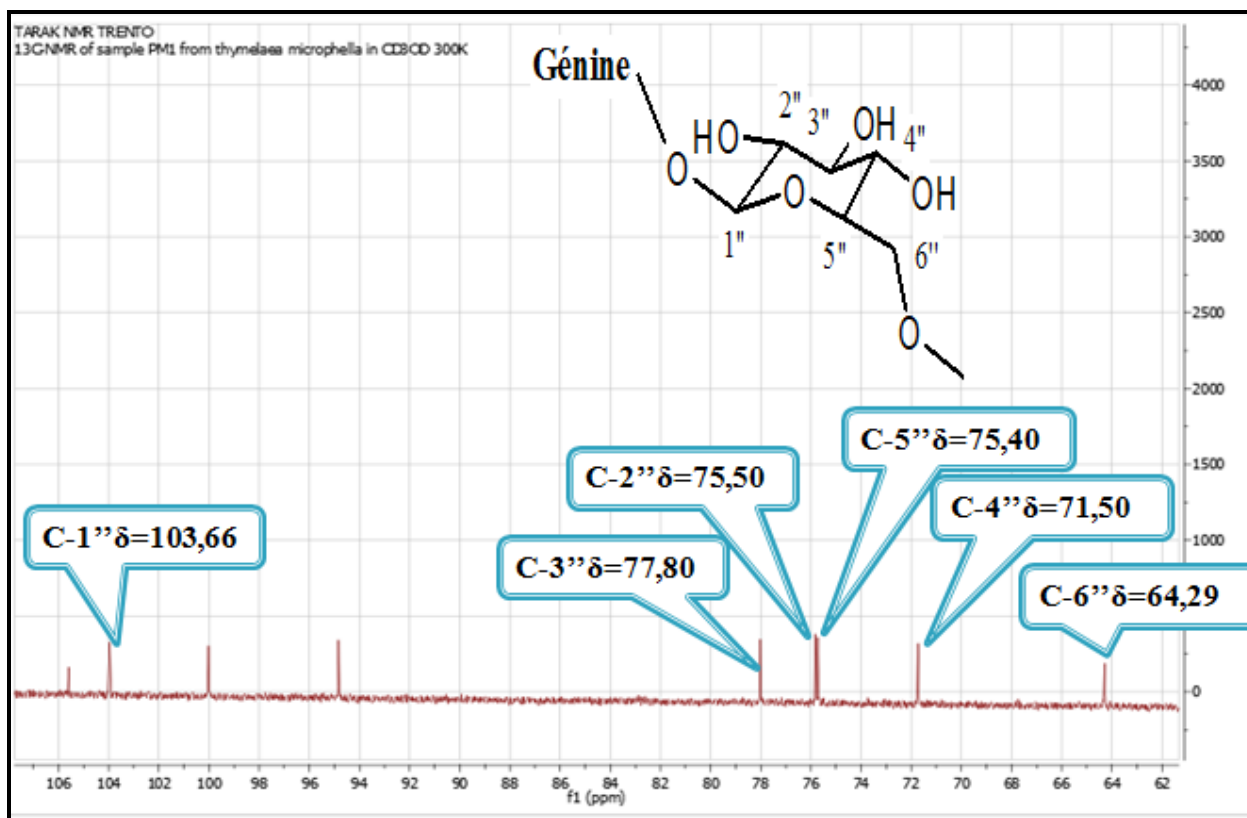
- La présence de $\text{H-2}''$ dans la zone ($\delta = 3,46$ à $3,50$ ppm) sous forme d'un multiplet partiellement recouvert par d'autres signaux, par sa corrélation avec le $\text{H-1}''$.
- La localisation de $\text{H-2}''$ permet d'attribuer $\text{H-3}''$ au signal sous forme de multiplet dans la zone ($\delta = 3,44 - 3,48$ ppm).
- Ce dernier noyau permet par sa corrélation l'attribution de $\text{H-4}''$ à $\delta = 3,35$ ppm. Ce signal apparaissant sous forme d'un multiplet
- L'attribution de $\text{H-4}''$ permet à son tour de localiser $\text{H-5}''$ sous forme de multiplet dans la zone ($\delta = 3,42 - 3,46$ ppm).
- Ce dernier noyau ($\text{H-5}''$) mène à l'attribution de $\text{H-6}''\text{b}$ à 4.19 ppm (1H, dd, $J = 12.8, 6.8$ Hz) et à $\text{H-6}''\text{a}$ à $\delta = 4.30$ ppm (1H, dd, $J = 12.6, 2.0$ Hz).

Les valeurs du déplacement chimique et de la constante de couplage de $\text{H-1}''$ indiquent qu'il s'agit d'un $-O-$ b-glycosyle.



Spectre n° IV.9.2 : Spectre COSY (400 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé TA 02

Ces données sont caractéristiques d'un hexose de type glucose.



Spectre n° IV.9.3: Spectre ^{13}C (100 MHz, CD_3OD , δ ppm) du composé TA 02.

Les déplacements chimiques observés en RMN du ^1H et du ^{13}C sont présentés dans le tableau n° III.16 et confrontés avec des données de RMN du ^{13}C trouvés dans la littérature (Agrawal, 1989).

A partir de l'analyse du spectre RMN ^1H et du Carbone ^{13}C , on peut déduire les attributions du carbone à partir des spectres RMN ^1H , (Spectre n° IV.9.1), COSY (^1H , ^1H), (Spectre n° IV.9.2) et HMBC étalé (Spectre n° IV.9.5).

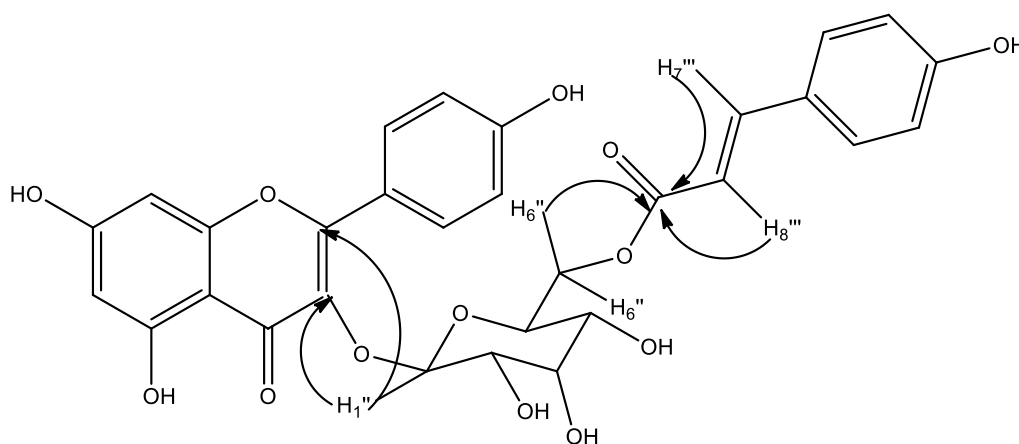
Tableau n° IV.10 : Données de la RMN ¹H (CD₃OD ; 400 MHz).

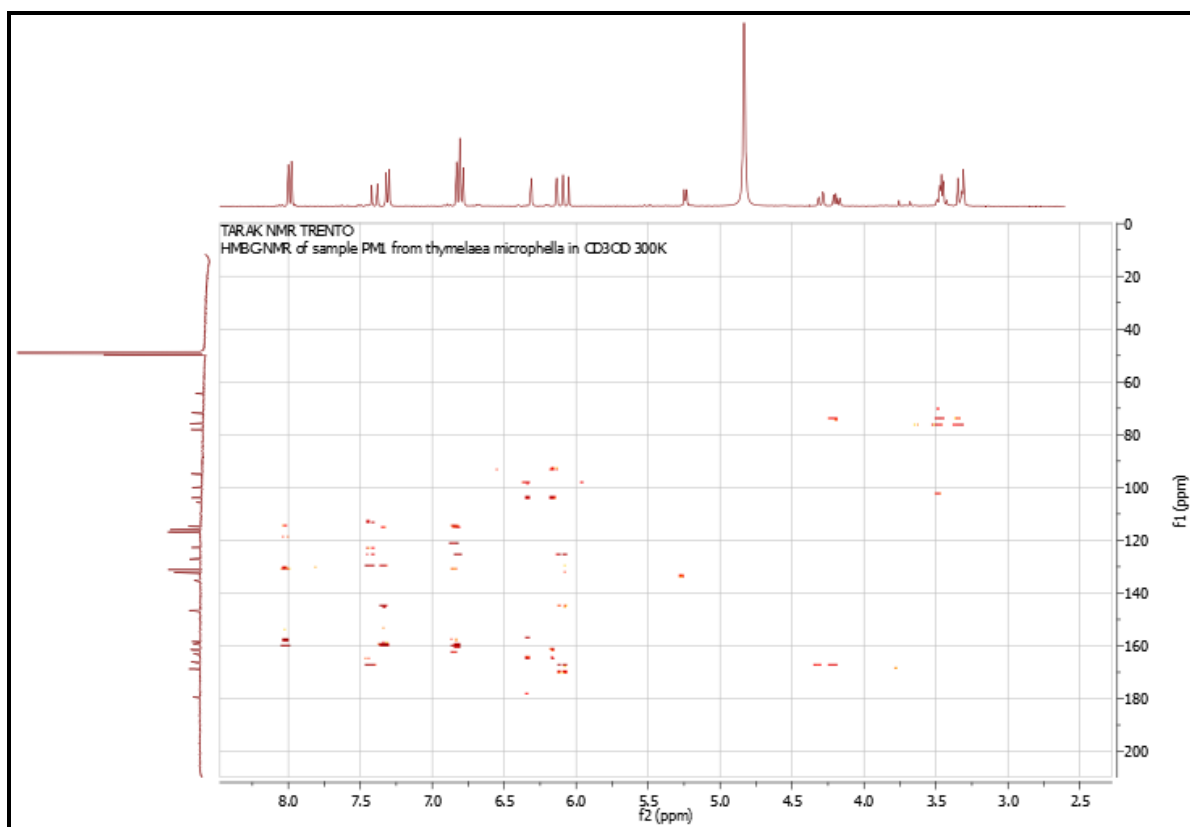
Position	δ H (ppm)	δ C (ppm)
2	-	158.4
3	-	135.1
4	-	179.4
5	-	161.5
6	6.14 d (J= 2.0 Hz, 1H)	100.0
7		159.3
8	6.80 d (J= 2.0 Hz, 1H)	94.8
9	-	162.9
10	-	105.5
1'	-	122.7
2', 6'	7.99 d (J= 8.8 Hz, 2H)	132.1
3', 5'	7.95 d (J= 8.4 Hz, 2H)	116.0
4'	-	161.1
1''	5,24 (d, J = 4.0 Hz)	103.6
2''	3.48 (m)	75.5
3''	3.45(m)	77.8
4''	3.35 (m)	71.5
5''	3.47 (m)	75.4
6''	4.19 (dd, J = 12.8, 6.8 Hz) 4.30 (dd, J = 12.6, 2.0 Hz)	64.2
1'''	-	127.1

2''', 6'''	7.31 d (J= 9.2 Hz, 2H)	131.1
3''', 5'''	6.82 d (J= 9.2 Hz, 2H)	116.0
4'''	-	161.1
7'''	7.40 (d, J = 15.6 Hz)	114.7
8'''	6.07 (d, J = 15.6 Hz)	146.5
9'''	-	168.7

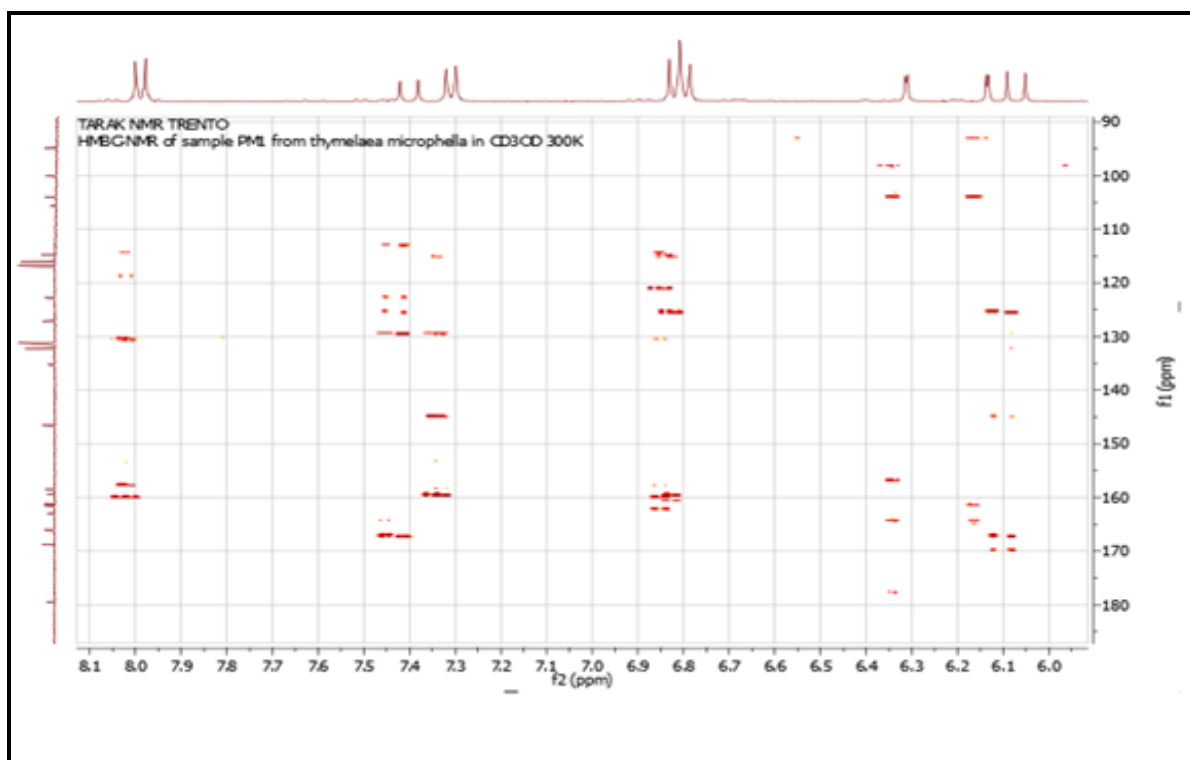
Le spectre HMBC étalé (Spectre n° IV.9.5) permet d'établir les liaisons entre les différents fragments de ce composé. En effet le spectre HMBC du composé **TA 02** montre d'une part une tache de corrélation correspondant au doublet à $\delta H = 7.40$ ppm attribué à H-7''' et au signal à $\delta C = 131.1$ ppm attribué aux carbones C-2''' et C-6''' et d'autre part une tache de corrélation correspondant au doublet à $\delta H = 6.07$ ppm attribué à H-8''' et au signal à $\delta C = 168.7$ ppm attribué au carbone quaternaire C-8''' , cela nous a permis de lier le groupement CH=CH avec le fragment de phénol et la fonction ester.

Le spectre HMBC (Spectre n° IV.9.4) de ce composé montrant des corrélations en 3 J entre le proton anomérique H-1'' et le carbone C-3 de la génine résonant à 135.1 ppm, confirment que ce glucose est positionné en C-3. Le proton H-6''a du glucose corrélant en HMBC (Spectre n° IV.9.5) avec un carbonyle repéré à 168.7 ppm indique que le glucose est attaché également au groupement cafféoyloyle.



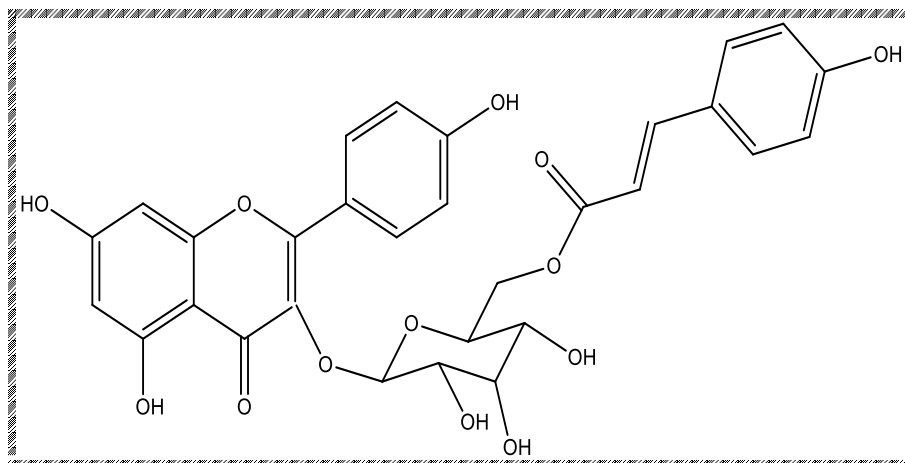


Spectre n° IV.9.4 : Spectre HMBC (400 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé TA 02.



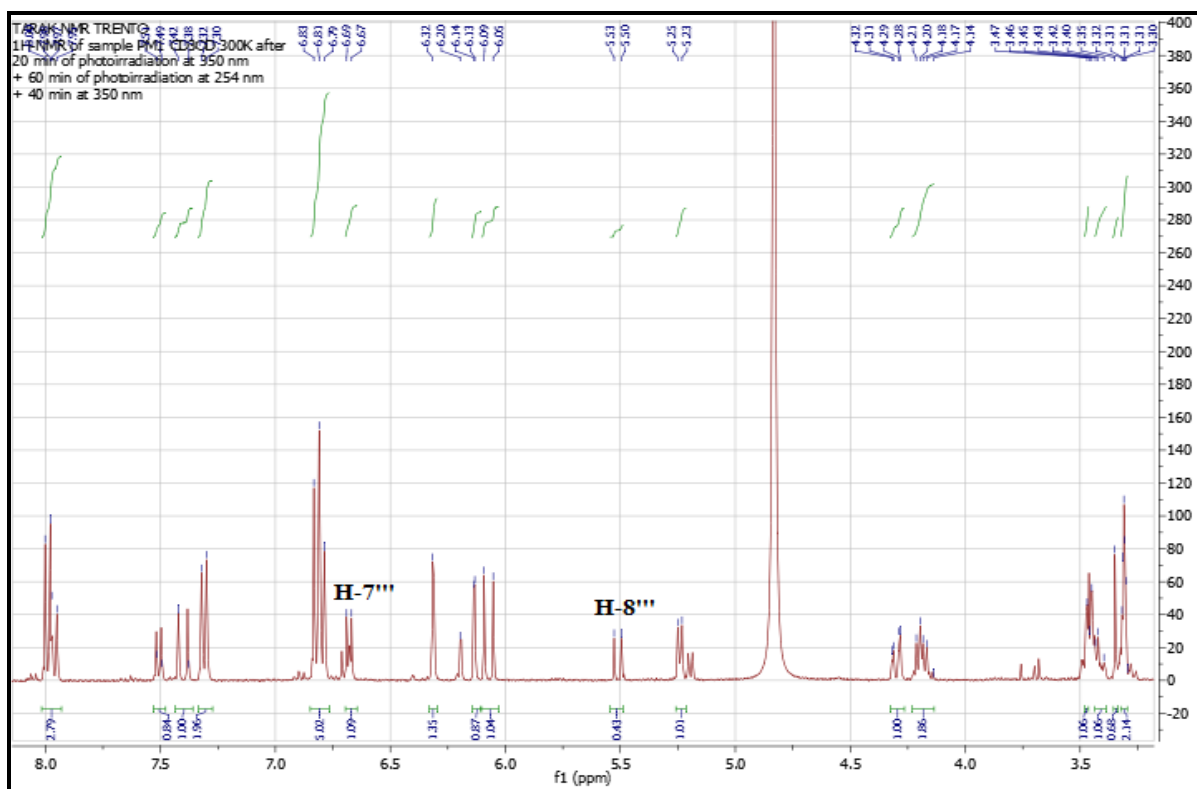
Spectre n° IV.9.5 : Spectre HMBC (400 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé TA 02, étatement.

Sur la base de l'ensemble de ces données le composé **TA 02** est identifié comme étant Kaempférol 3-O- β -6"-cafféoylglucopyranoside appelé encore **trans-tiliroside** [11].



Dans notre interprétation de spectre RMN proton on a observé un petit signale à H=5.50 ppm et à H=6.70 ppm avec un constant de couplage 12.4 HZ pour les deux protons, qui correspondant à la forme CIS de ce composé avec 03 %.

Une photo isomérisation a été faite en utilisant les lampes UV et qui nous a permis d'augmenter le pourcentage de la forme CIS jusqu'à 30 %.



Spectre n° IV.10.1 : Spectre RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD , δ ppm) du composé **TM 03**.

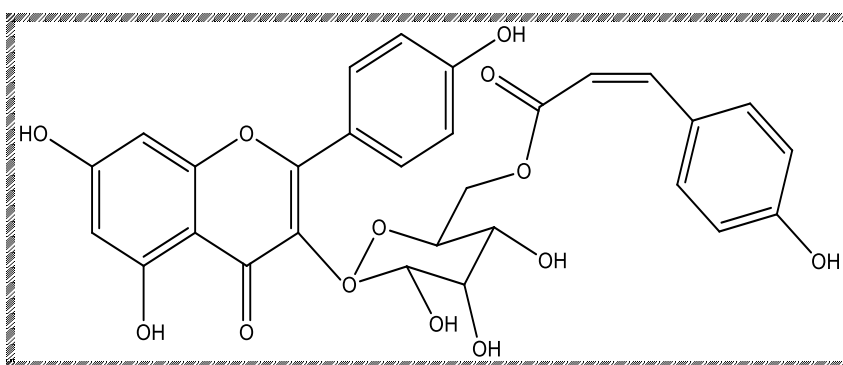
Le tableau suivant nous montrons les déplacements chimiques de RMN ^1H et ^{13}C de cis-tiliroside après la photoisomérisation.

Tableau n° IV.11: Données de la RMN ^1H (CD_3OD ; 400 MHz).

Position	$\delta \text{ H}$ (ppm)	$\delta \text{ C}$ (ppm)
2	-	168.7
3	-	135.1
4	-	179.4
5	-	162.9
6	6.14 d (J= 2.1 Hz, 1H)	158.4
7		166
8	6.19 d (J= 2.1 Hz, 1H)	94.8
9	-	159.3
10	-	105.5
1'	-	122.7
2', 6'	7.96 d (J= 8.8 Hz, 2H)	132.1
3', 5'	6.80 d (J= 8.8 Hz, 2H)	116.7
4'	-	161.5
1''	5,19 (d, J = 7.2 Hz)	103.6
2''	3.48 (m)	75.5
3''	3.45(m)	77.8
4''	3.35 (m)	71.5
5''	3.47 (m)	75.4
6''	4.19 (dd, J = 12.8, 6.8 Hz) 4.30 (dd, J = 12.6, 2.0 Hz)	64.2
1'''		127.1

2''', 6'''	7.51 d (J= 8.4 Hz, 2H)	131.1
3''', 5'''	6.68 d (J= 8.4 Hz, 2H)	116.0
4'''	-	161.1
7'''	6.70 d (J= 12.4 Hz, 1H)	114.7
8'''	5.50 d (J= 12.4 Hz, 1H)	146.5
9'''	-	168.7

Tous ces donnés mènent la structure finale: **Cis-tiliroside**[12].



IV. 2. Elucidation des produits de *linaria aegypticaea***IV. 2. A. Elucidation des produits isolés du mélange de la phase chloroformique et la phase acétated'éthyle****IV. 2. A. 1. Elucidation de la structure du composé MF 01**

La fluorescence noire violette sous lumière de Wood est caractéristique d'une flavone ou d'un flavonol substitué en 3.

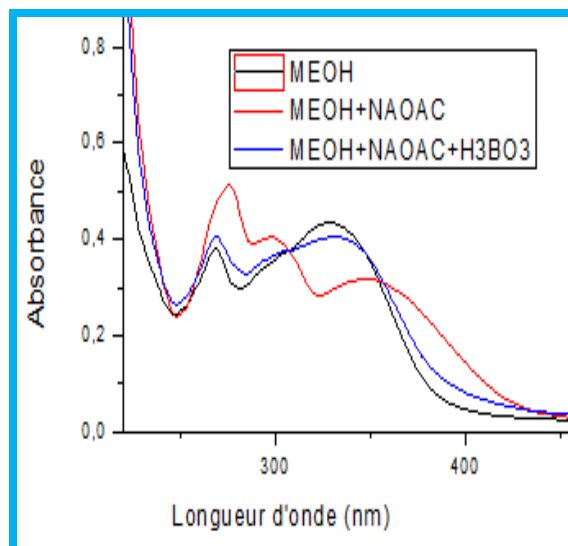
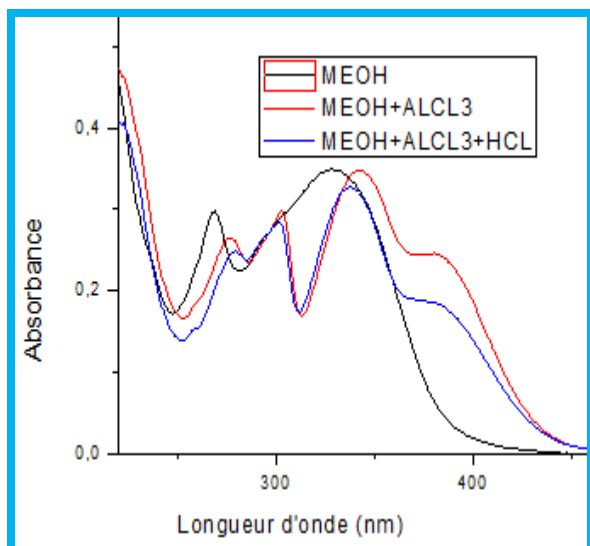
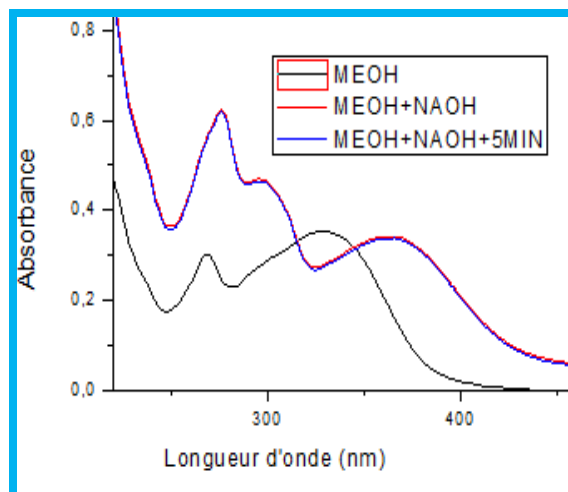
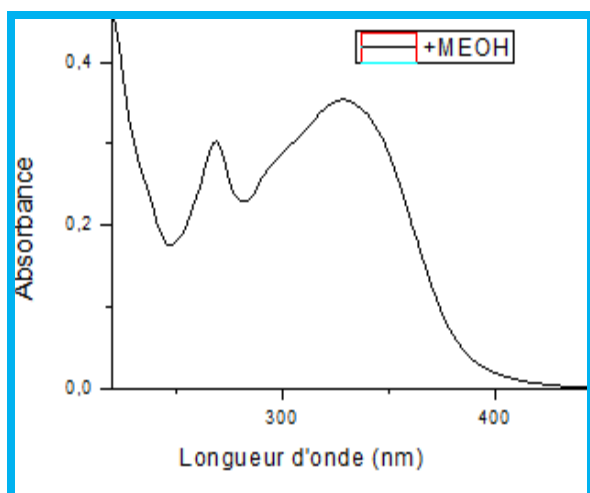
L'étude de la série spectrale UV (Spectre n° IV.11.1) montre :

- ✓ Le maximum d'absorption de la bande I à 329 nm dans le spectre enregistré dans le méthanol indique qu'il s'agit d'un flavonoïde de type flavone.
- ✓ L'addition de NaOAc provoquant un déplacement bathochrome de la bande II ($\Delta\lambda = + 7$ nm) par rapport au spectre MeOH prouve la présence d'un OH libre en 7.
- ✓ Le déplacement bathochrome de la bande I enregistré dans le milieu (MeOH + AlCl₃) comparativement à celui enregistré dans le méthanol ($\Delta\lambda = + 51$ nm) indique la présence d'un OH libre en 5.
- ✓ L'absence du déplacement hypsochrome de la bande I en comparant les spectres AlCl₃ + HCl et AlCl₃, laisse prévoir l'absence d'un système ortho dihydroxylé sur le cycle B.
- ✓ L'addition de NaOH provoquant un déplacement bathochrome de la bande I ($\Delta\lambda = + 37$ nm) avec diminution de l'intensité lumineuse indique la présence d'un OR en position 4'.

L'ensemble des données de la série spectrale UV est reporté dans le tableau n° IV.12.

Tableau n° IV.12: Données de la série spectrale UV (λ max, nm).

Réactifs	Bande I	Bande II	Autres bandes	Commentaire
MeOH	329	269		Flavone
+ NaOH	366	276		OR libre en 4'
+AlCl ₃	380	277		OH libre en 5
+AlCl ₃ /HCl	337	280	372	Pas de ortho di-OH sur le cycle B
+NaOAc	350	276		OH en 7
+NaOAc/H ₃ BO ₃	331	269		Pas di OH
Spectre stable en présence de NaOH après 5 mn				



Spectre n° IV.11.1 : Série spectrale UV du composé MF 01

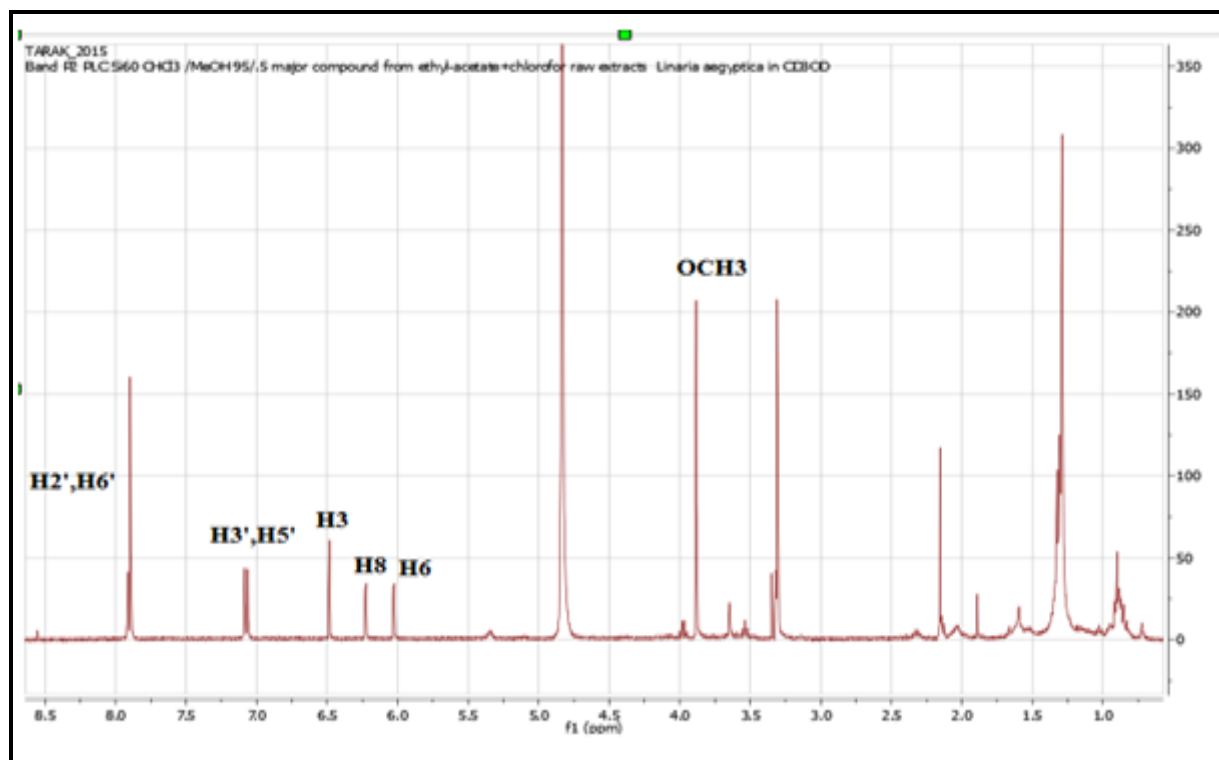
L'examen du spectre RMN ^1H (Spectre n° IV.11.2) montre:

- ✓ Un singulet à $\delta = 6,48$ ppm attribuable à H-3, ce qui confirme la structure d'une flavone.
- ✓ Deux doublets d'intégration 1H chacun, le premier à $\delta = 6,23$ ppm, le second à $\delta = 6,03$ ppm ($J = 2,0$ Hz) attribuables à H-8 et H-6 respectivement.
- ✓ La constante de couplage $J = 9,2$ Hz du doublet qui apparaît à $\delta = 7,07$ ppm, permet l'attribution de ce signal d'intégration 2H à H-3' et H-5', de même la constante de couplage $J = 9,2$ Hz du doublet qui apparaît à $\delta = 7,90$ ppm, permet l'attribution de ce signal d'intégration 2H à H-2' et H-6'.

L'ensemble de ces données est reporté dans le tableau n° IV.13.

Tableau n° IV.13: Données de la RMN ^1H :

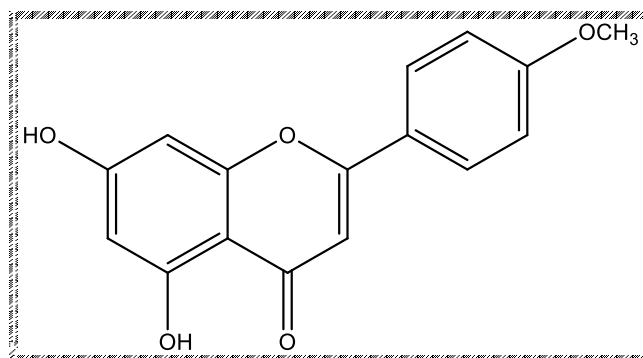
Déplacement chimique (ppm)	Intégration	Multiplicité (J Hz)	Attribution
7.90	2H	d (9,2)	H-2' ; H-6'
7.07	2H	d (9,2)	H-3' ; H-5'
6.48	1H	s	H-3
6.23	1H	d (2,0)	H-8
6.03	1H	d (2,0)	H-6



Spectre n° IV.11.2 : Spectre RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD , δ ppm) du composé MF 01.

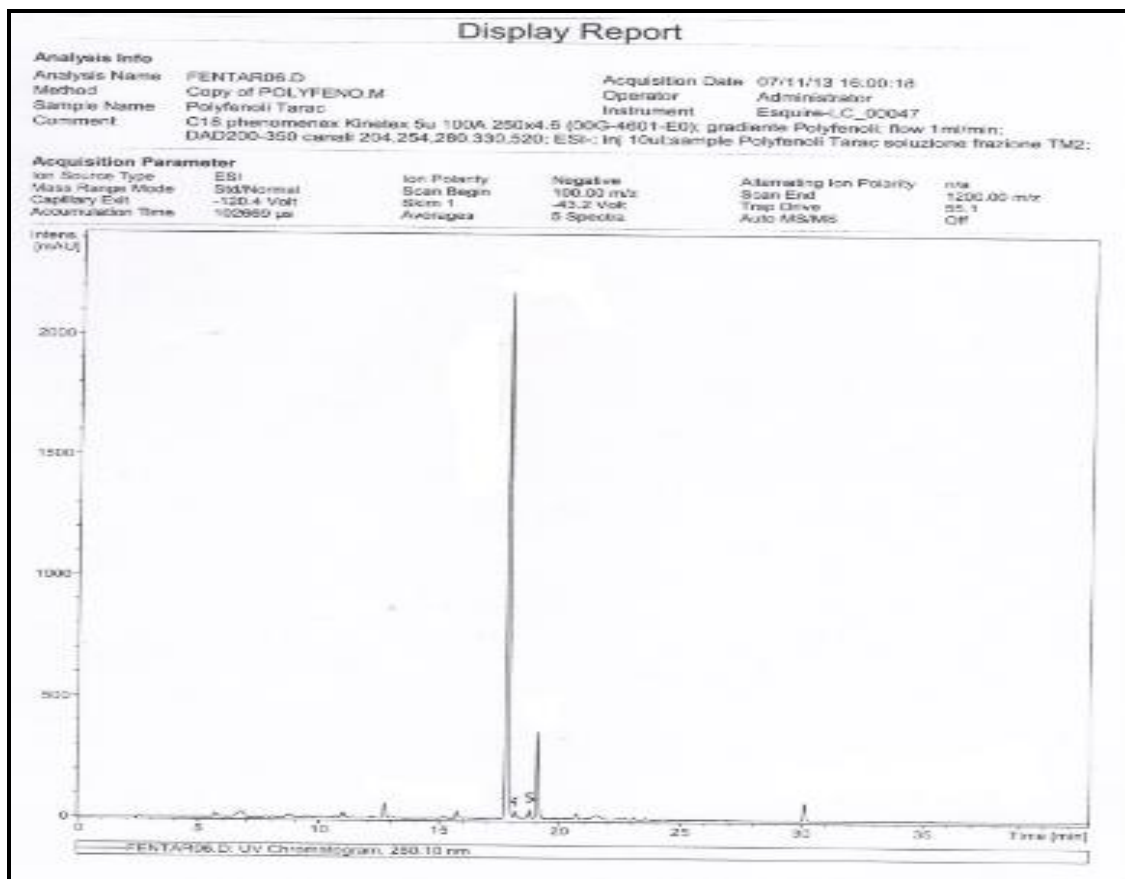
L'ensemble des données (UV et RMN ^1H) sont en accord avec ceux de la littérature [13]

mènent à la structure : **acacétin**.

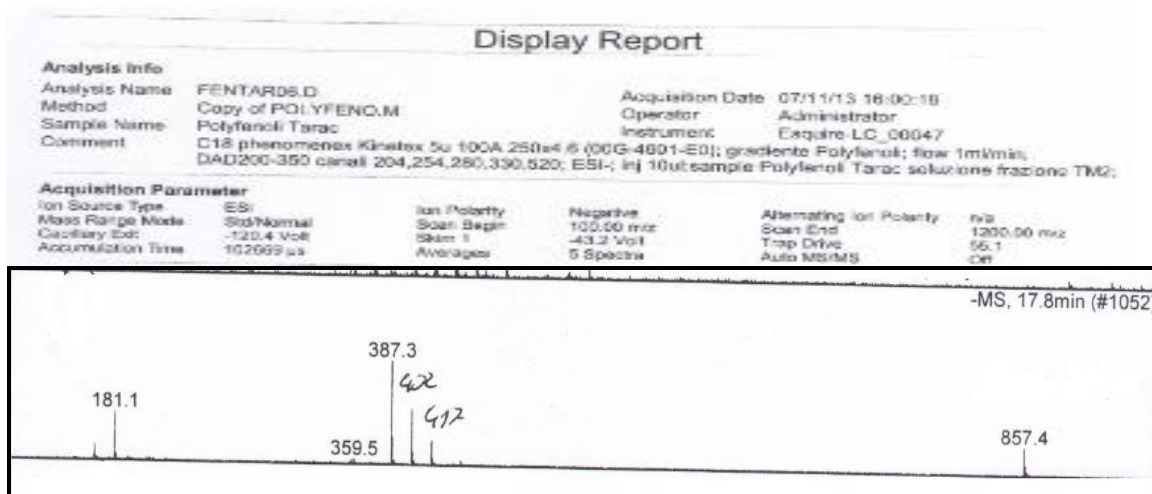


IV. 2. A.2. Elucidation de la structure du composé MF 02

L'étude du spectre de masse mode ESI/MS (-) (Spectre n° IV.2.2), donne une masse exacte pour le pic moléculaire à $m/z = 417 [M-H]^-$, soit une masse moléculaire égale à 418 uma correspondant à la formule brute $C_{22}H_{28}O_8$, soit un composé à 6 insaturations.



Spectre n° IV.12.1: Spectre LC-MS du composé TM 02

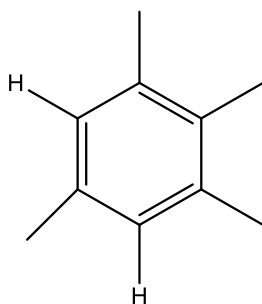


Spectre n° IV.12.2: spectre de masse ESI/MS (-) du MF 02

Le spectre RMN ^1H à 400 MHz de ce composé, enregistré dans le CDCl_3 deutéré, montre la présence de :

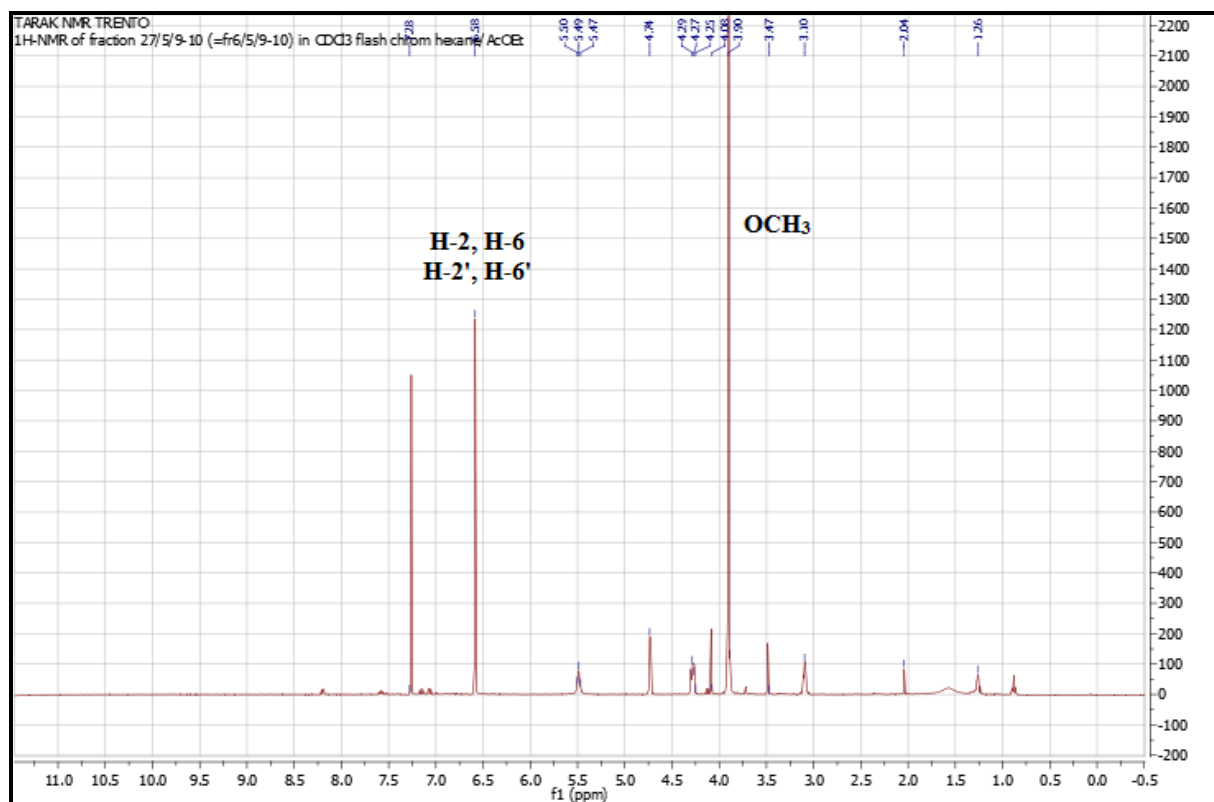
- Un signal singulet à 3.90 ppm d'intégration 12H, correspondant à quatre groupements méthoxyles.
- Un signal singulet à 5.49 ppm s'intégrant pour deux protons, attribuable à deux groupements OH.
- Un signal singulet s'intégrant pour quatre protons à 6.58 ppm caractéristique de protons aromatiques.

Ceci montre que ces protons forment deux noyaux aromatiques tetra substitué.

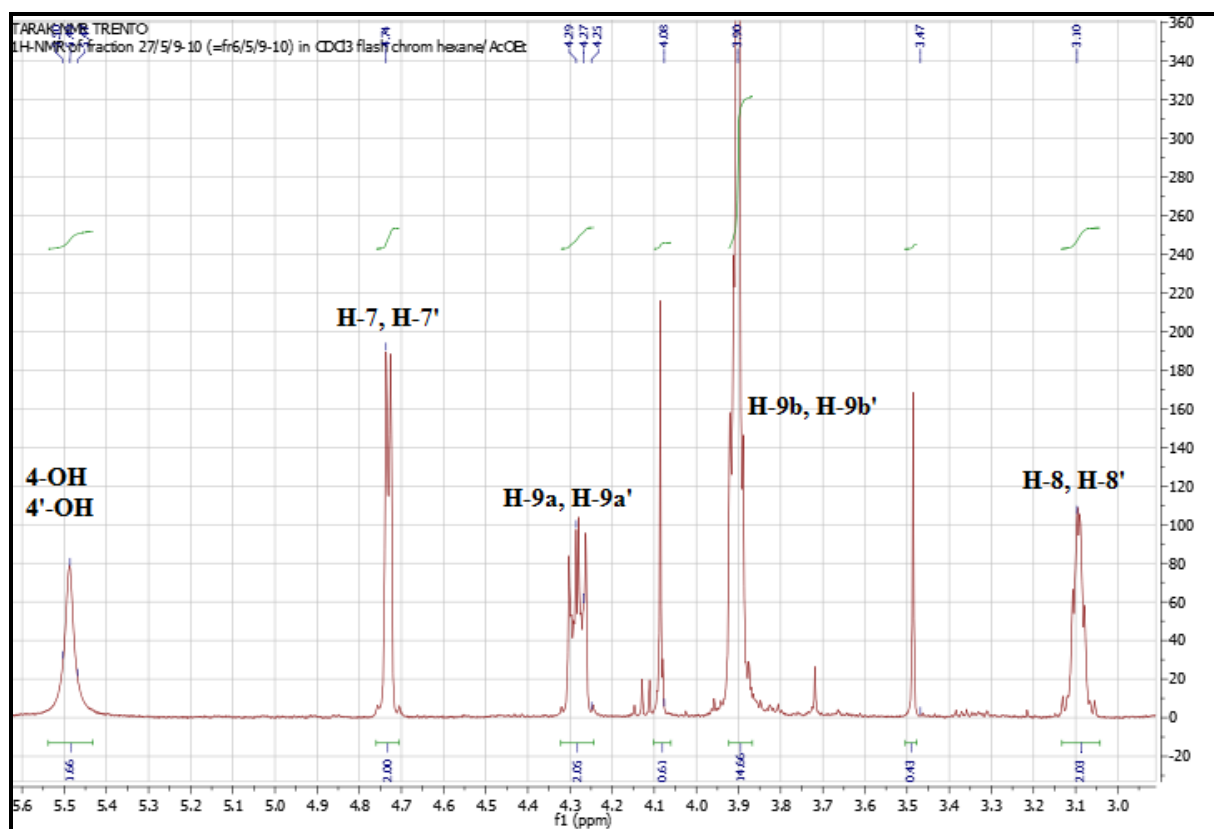


Le spectre RMN ^1H montre également la présence de :

- Un signal doublet d'intégration 2H à 4.71 ppm ($J = 4.0$ Hz) de protons oxygénés.
- Un signal sous forme de multiplets d'intégration 2H résonant à 3.09 ppm
- Deux signaux multiplets d'intégration 2 H chacun à 3.91 et 4.27 ppm.

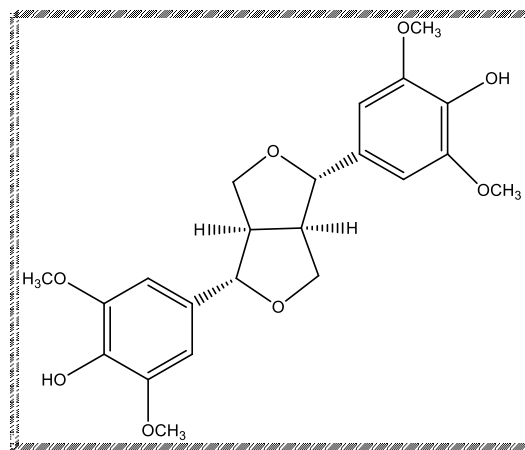


Spectre n° IV.12.3 : Spectre RMN 1 H (400 MHz, CDCl₃, δ ppm) du composé MF 02.



Spectre n° IV.12.4: Spectre RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ ppm) du composé MF 02, étalement.

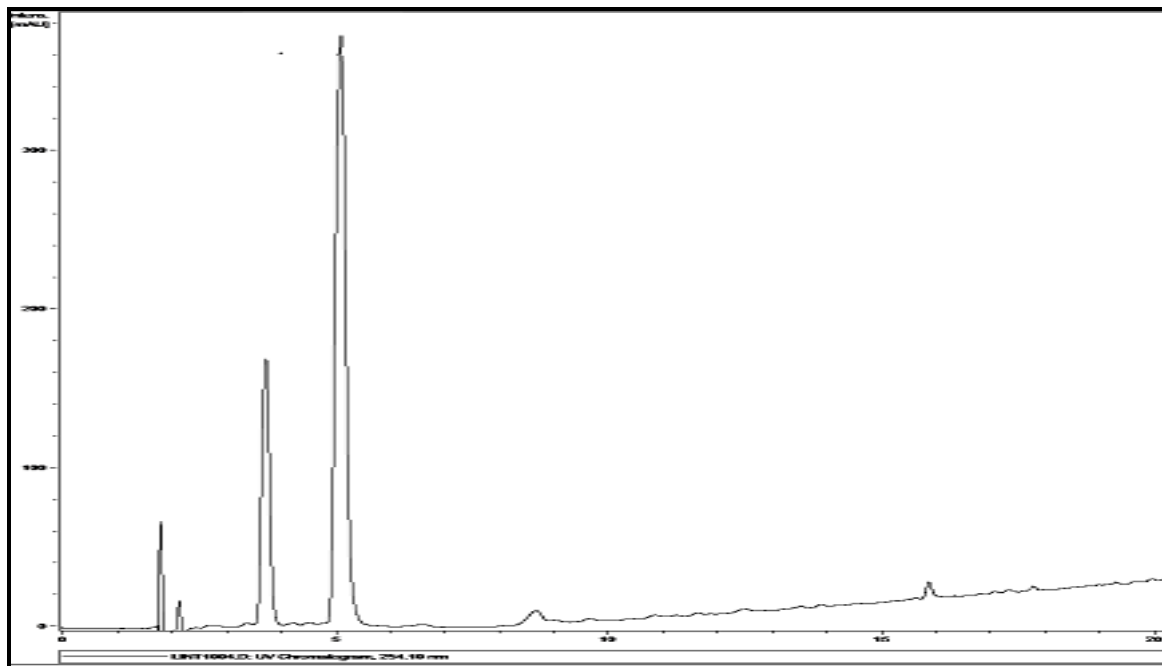
L'ensemble de ces données (déplacements chimiques des différents protons et constantes de couplage) et la présence précédemment établie de deux noyaux aromatiques trisubstitués, nous oriente vers une molécule à squelette furanique nommé (+)-syringaresinol [2].



(+)-syringaresinol

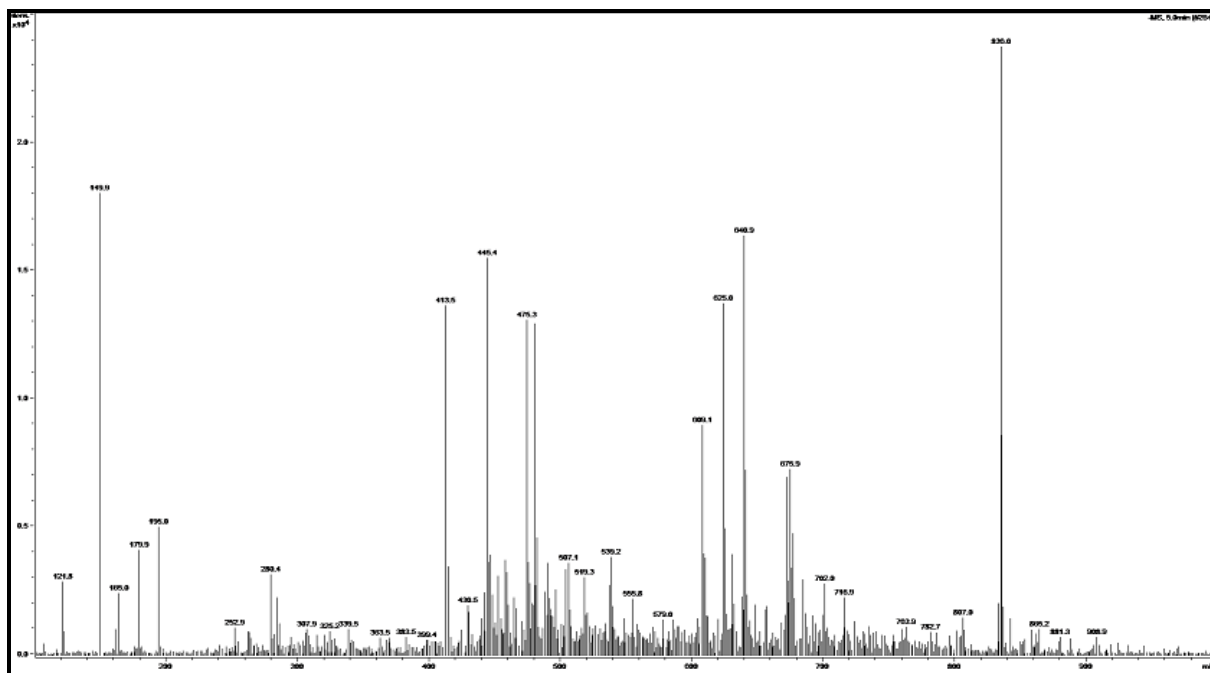
IV. 2. A. 3. Elucidation de la structure du composé MF 03

Après l'analyse de spectre LC-MS, on a constaté qu'il s'agit de deux composés majoritaires.



Spectre n° IV.13.1 : Profile LC-MS en mode positif du composé MF 03

Le spectre de masse ESI, enregistré en mode négatif de premier composé, montre un ion pseudomoléculaire m/z 215 $[M-H]^-$, soit une masse moléculaire égale à 216 uma et une formule brute $C_{10}H_{12}O_4$. Cette dernière donne 05 insaturations.

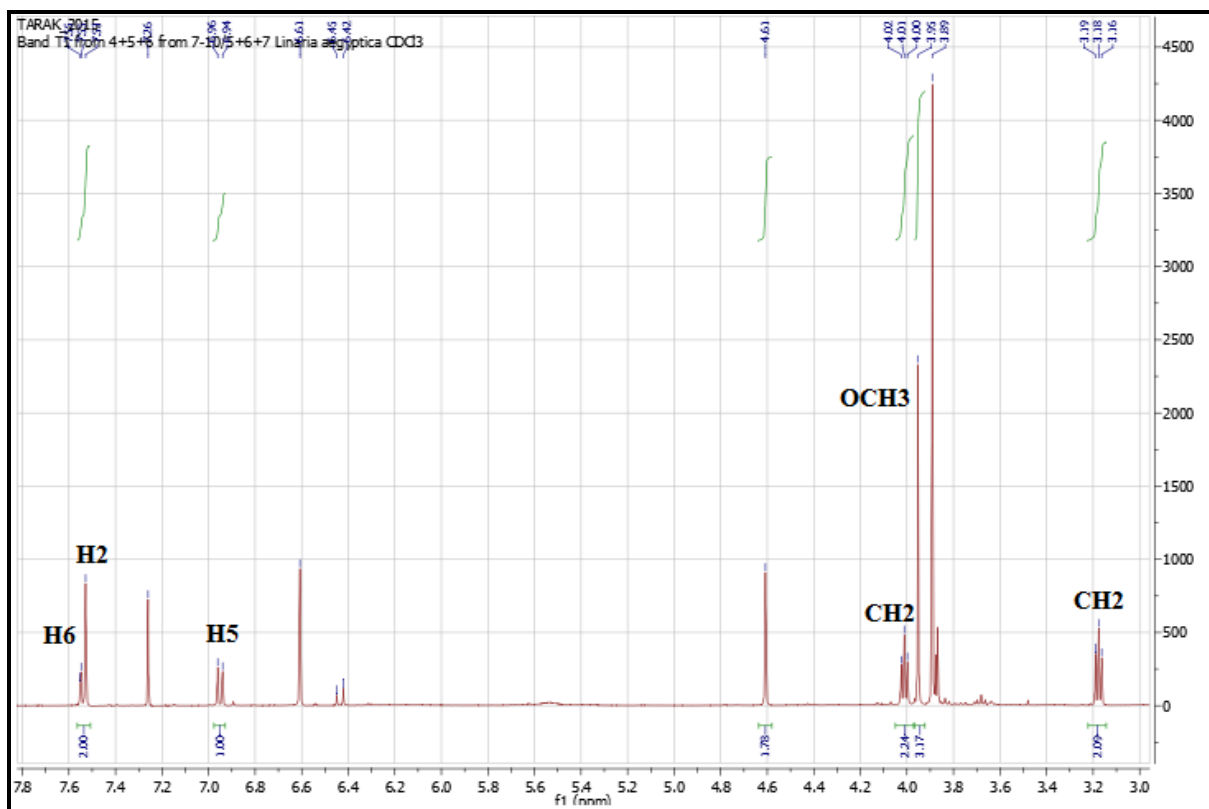


Spectre n° IV.13.2 : spectre de masse ESI/MS (-) du MF 03

L'examen du spectre RMN ^1H (Spectre n° IV.13.3), montre qu'il s'agit d'un composé aromatique substitué en position 1, 3 et 4, caractérisé par les signaux:

- ✓ Un doublet dédoublé d'intégration 1H à $\delta = 7,57$ ppm ($J = 8,8$ Hz ; $2,4$ Hz) attribuable à H-6,
- ✓ Un singulet d'intégration 1H à $\delta = 7,52$ attribuable à H-2.
- ✓ Un doublet d'intégration 1H à $\delta = 6,95$ ppm ($J = 8,8$ Hz) attribuable à H-5.
- ✓ Un singulet d'intégration 3H à $\delta = 3,95$ ppm, indiquant la présence d'un groupement méthoxyle (OCH_3).
- ✓ Un triplet d'intégration 2H à $\delta = 4,01$ ppm ($J = 5,2$ Hz) attribuable à CH_2 voisin d'un atome d'oxygène et d'un CH_2 .
- ✓ Un triplet d'intégration 2H à $\delta = 3,18$ ppm ($J = 5,2$ Hz) attribuable à CH_2 voisin d'un CH_2 .

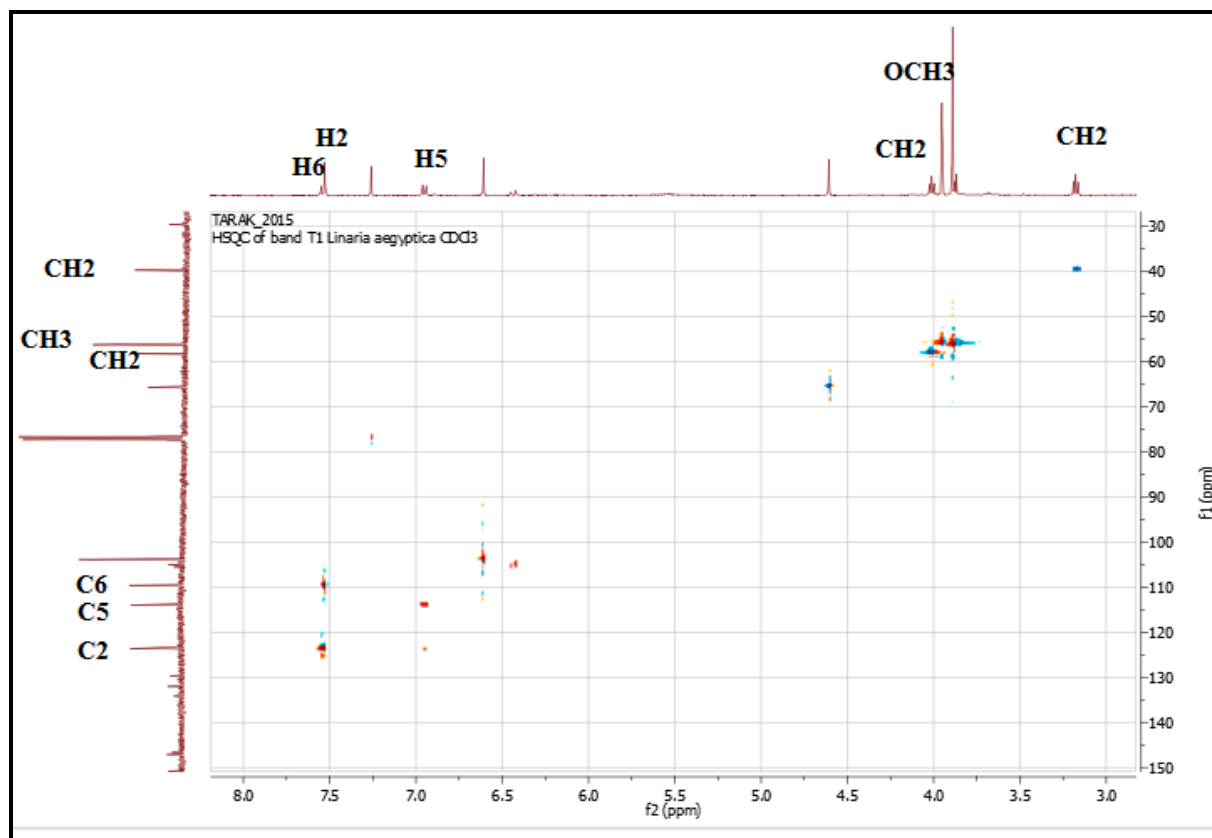
La multiplicité des deux derniers signaux oriente vers la présence d'un enchaînement $\text{CH}_2 - \text{CH}_2$ avec absence de noyaux couplant sur les atomes voisins. Les valeurs des déplacements chimiques des protons de ces deux groupements indiquent que le CH_2 à $\delta = 4,01$ ppm ($J = 5,2$ Hz) est voisin d'un atome d'oxygène et d'un CH_2 et le CH_2 à $\delta = 3,18$ ppm ($J = 5,2$ Hz) est voisin d'un carbonyle et d'un CH_2 .



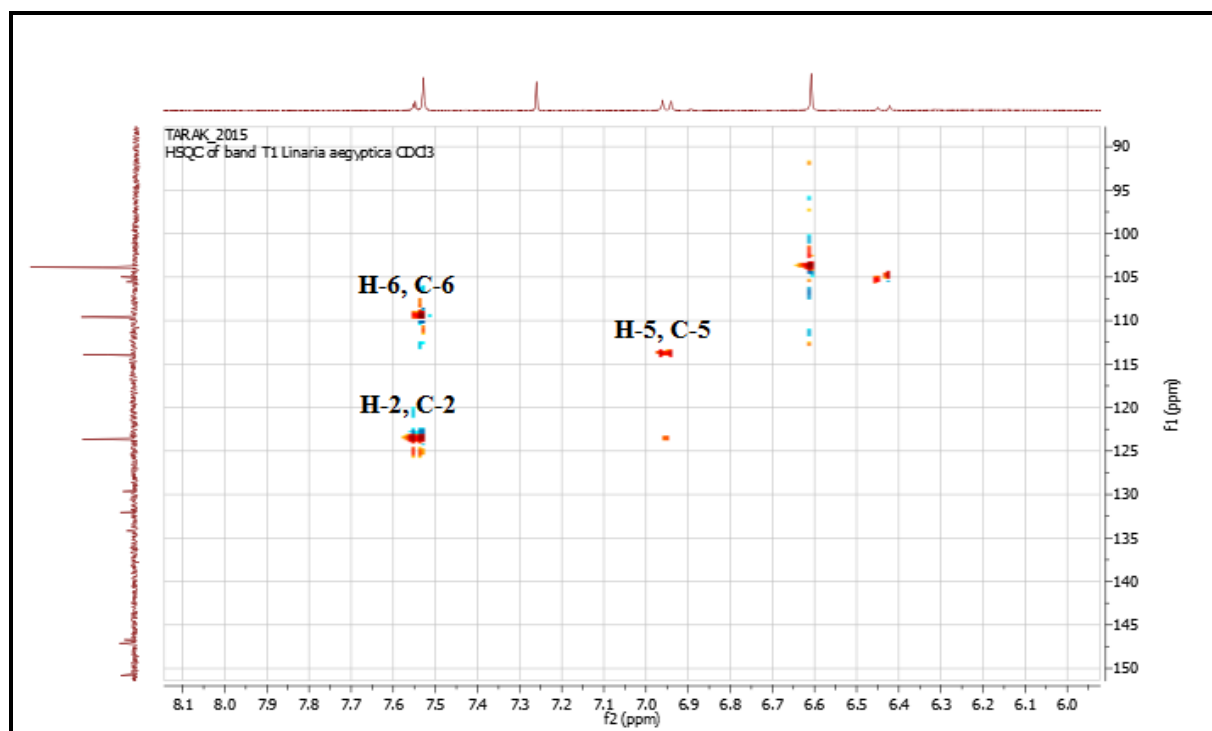
Spectre n° IV.13.3: Spectre RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3 , δ ppm) du composé **MF 03**.

L'analyse du spectre relatif à l'expérience HSQC (Spectre n° IV.13.4) permet l'attribution des signaux des protons aux atomes de carbone correspondants ainsi :

- ✓ Le H-6 permet l'attribution du signal à $\delta = 123,59\text{ppm}$ à l'atome de carbone C-6.
- ✓ Le H-2 permet l'attribution du signal à $\delta = 122,84\text{ ppm}$ à l'atome de carbone C-2.
- ✓ Le H-5 permet l'attribution du signal à $\delta = 113,84\text{ ppm}$ à l'atome de carbone C-5.
- ✓ Le groupement méthoxyle à $\delta = 3,89\text{ ppm}$ permet l'attribution de l'atome de carbones à $\delta = 56,55\text{ ppm}$.
- ✓ Le groupement CH 2 à $\delta = 3,18\text{ ppm}$ permet l'attribution de l'atome de carbones à $\delta = 39,57\text{ ppm}$.
- ✓ L'autre groupement CH 2 à $\delta = 4,01\text{ ppm}$ permet l'attribution de l'atome de carbones à $\delta = 58,77\text{ ppm}$.



Spectre n° IV.13.4 : Spectre HSQC (400 MHz, CDCl_3 , δ ppm) du composé MF 03.

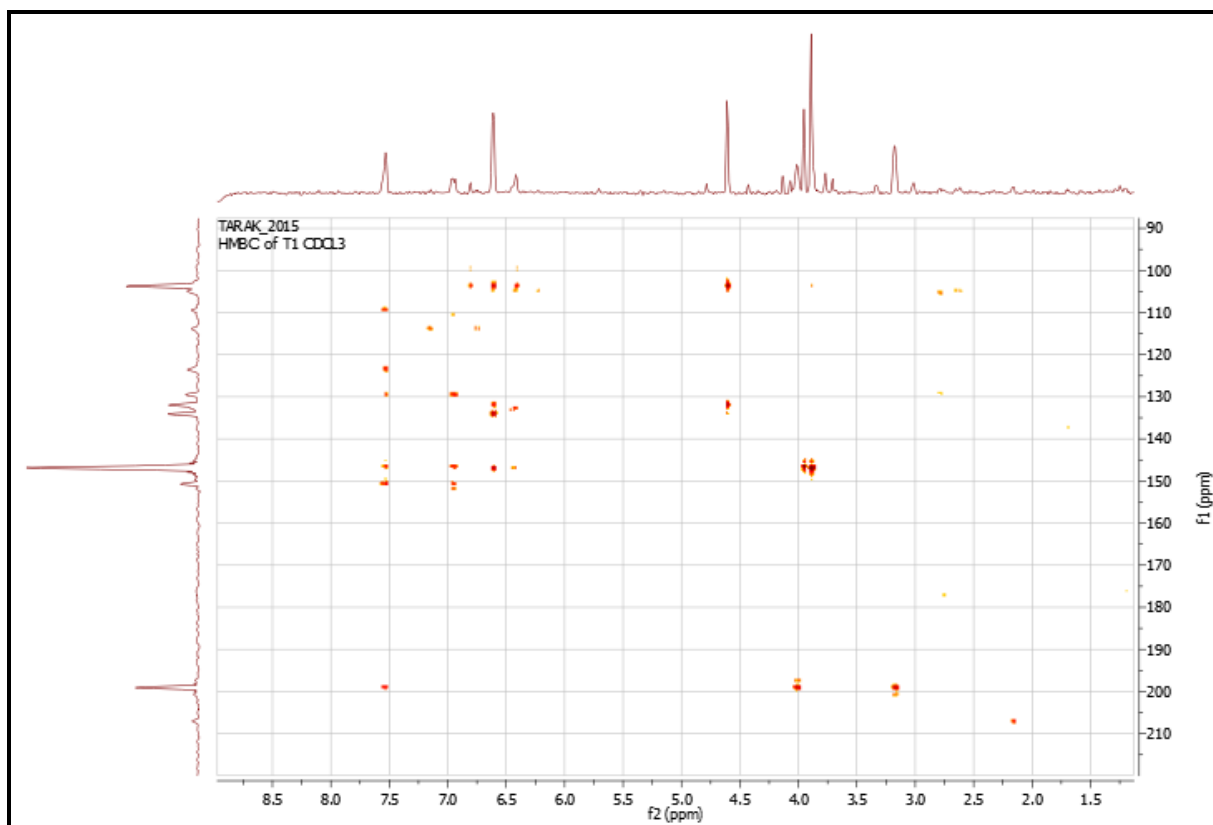


Spectre n° IV.13.5 : Spectre HSQC (400 MHz, CDCl_3 , δ ppm) du composé MF 03, étaiement.

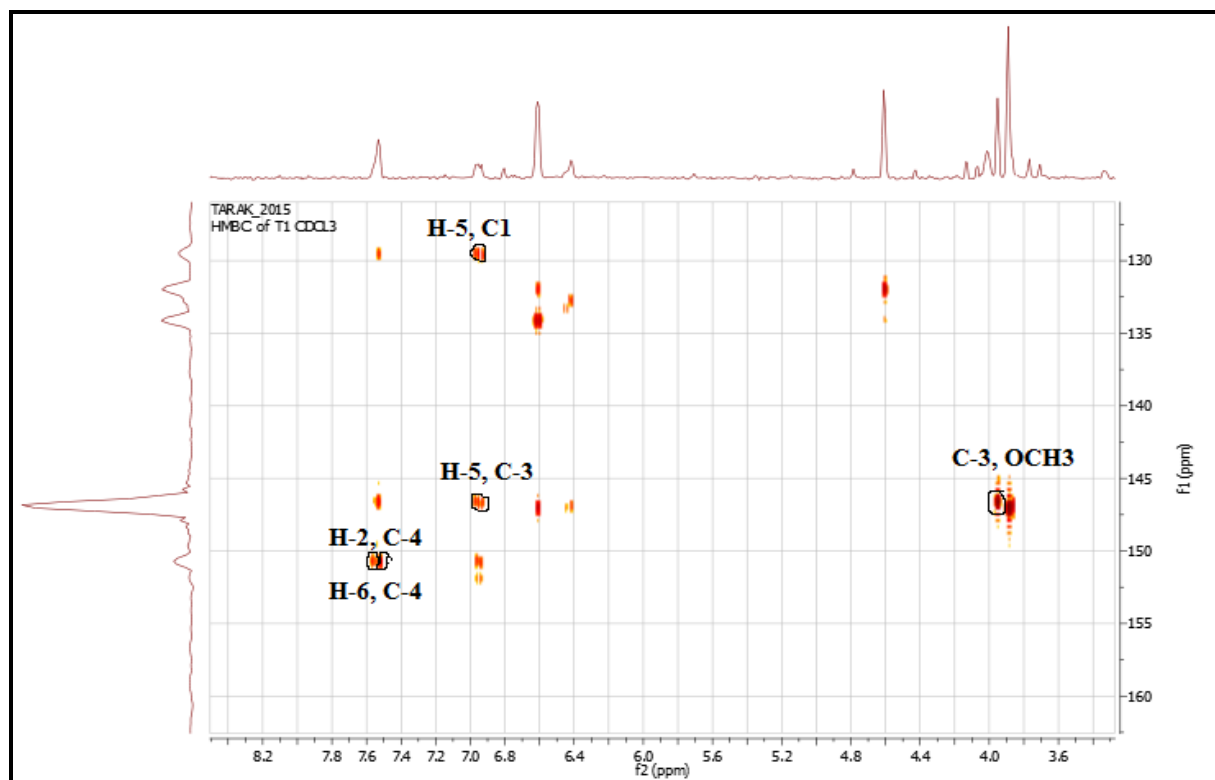
L'examen de spectre HMBC (Spectre n° IV.13.6) et son étalement (Spectre n° IV.13.7) nous a permis d'observer que le groupement méthoxyle ainsi que le proton H-2 ont des connectivités avec le carbone à $\delta = 146.88$ ppm. Ce carbone corrèle également avec le proton H-5 ceci indique que le groupement 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 $\delta = 129,7$ 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 $\delta = 150,7$ ppm, donc ce dernier est attribué au carbone C-4.

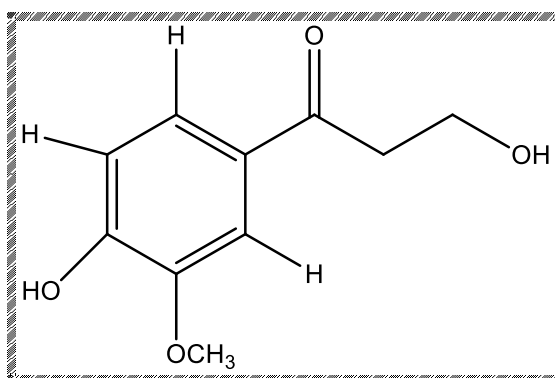


Spectre n° IV.13.6 : Spectre HMBC (400 MHz, CDCl_3 , δ ppm) du composé MF 03



Spectre n° IV.13.7 : Spectre HMBC (400 MHz, CDCl₃, δ ppm) du composé MF 03, étalement.

L'ensemble de ces données nous a conduits à la structure suivante :



3-hydroxy-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl) propan-1-one [16].

Tableau n° IV.14: Résultats de la RMN ¹H du composé MF 03

Déplacement chimique δ (ppm)	Intégration	Multiplicité (J Hz)	Attribution
7,57	1H	dd (8,8 ; 2,4)	H6
7,52	1H	s	H2
6,95	1H	d (8,8)	H5
4,01	2H	t(5,4)	CH2
3,95	3H	s	CH3
3,18	2H	t(5,4)	CH2

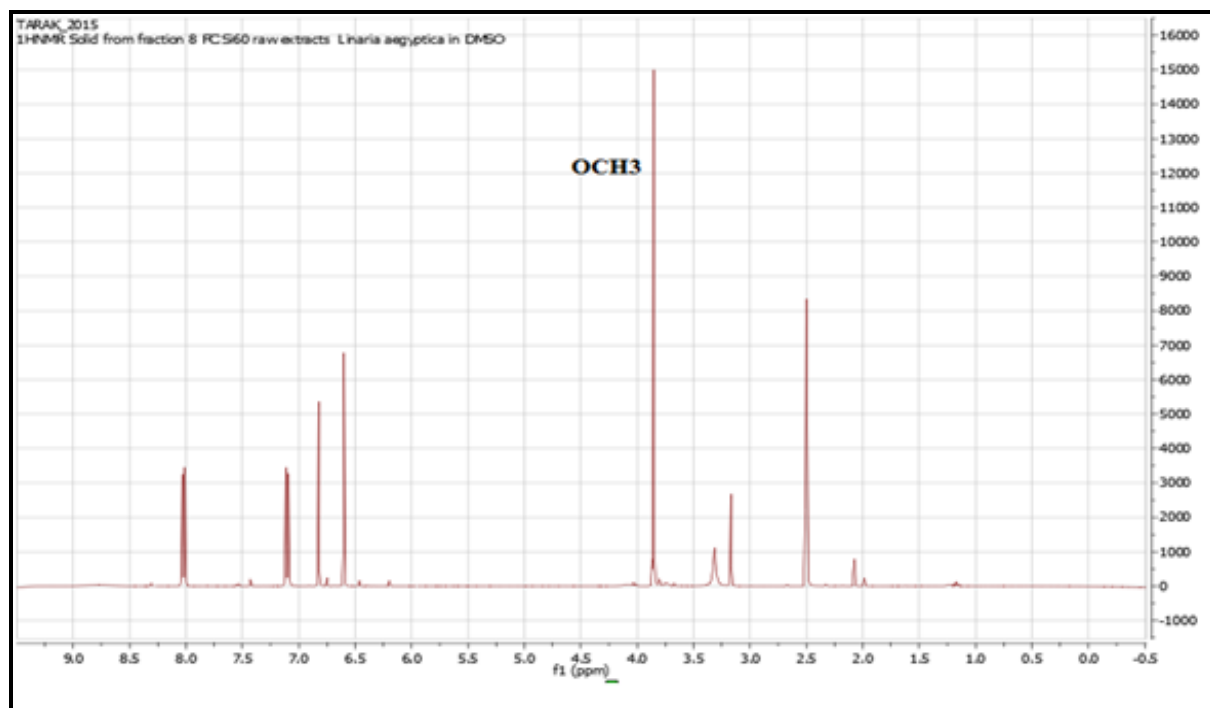
IV. 2. A. 4. Elucidation de la structure du composé MF 04

Le composé MF-03 se présente sous forme d'une poudre jaune soluble dans le méthanol. 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. Son spectre UV présente les bandes d'absorption caractéristiques d'un flavone à 285 et 335 nm.

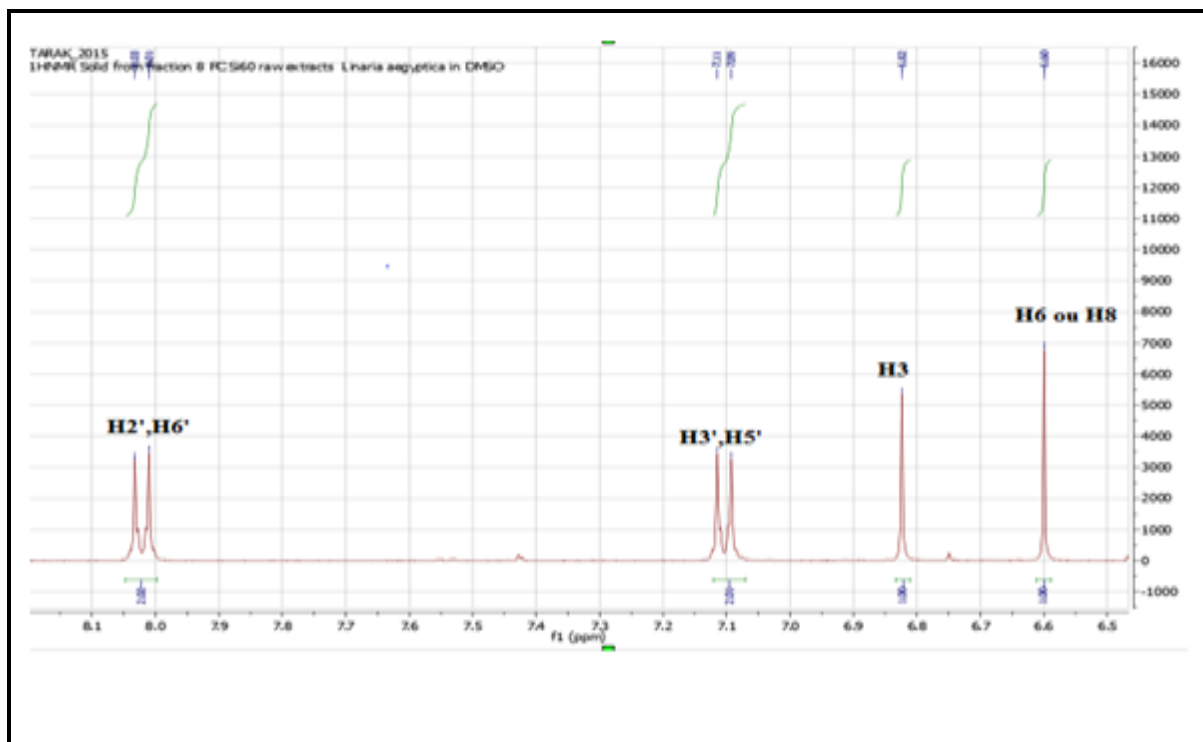
Ce produit présente également un aspect plus simple en RMN du ¹H (Spectre n° IV.14.1),

Dans la région des aromatiques, quatre signaux sont observables :

- Un signal sous forme d'un doublet à $\delta = 8,02$ ppm ($J = 8,8$ Hz) d'intégration 2H attribuable à H-2' et H-6'.
- Un signal sous forme d'un doublet à $\delta = 7,10$ ppm ($J = 8,8$ Hz) d'intégration 2H attribuable à H-3' et H-5'.
- Un signal singulet d'intégration 1H à $\delta = 6,82$ ppm attribuable à H-3.
- Un autre signal singulet d'intégration 1H à $\delta = 6,59$ ppm attribuable soit à H-6 ou H-8.
- un singulet d'intégration 3H chacun à $\delta = 3,85$ ppm montrant la présence d'un groupement méthoxyle.



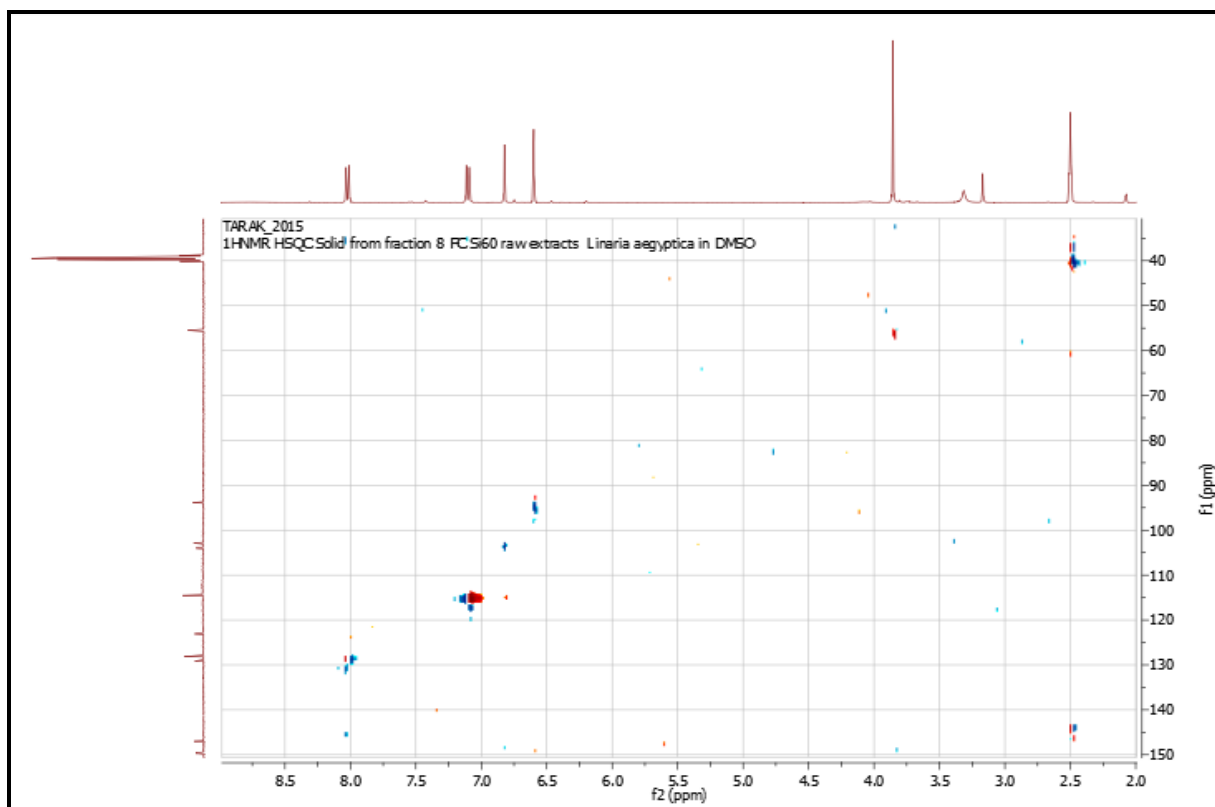
Spectre n° IV.14.1 : Spectre RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6 , δ ppm) du composé MF 04



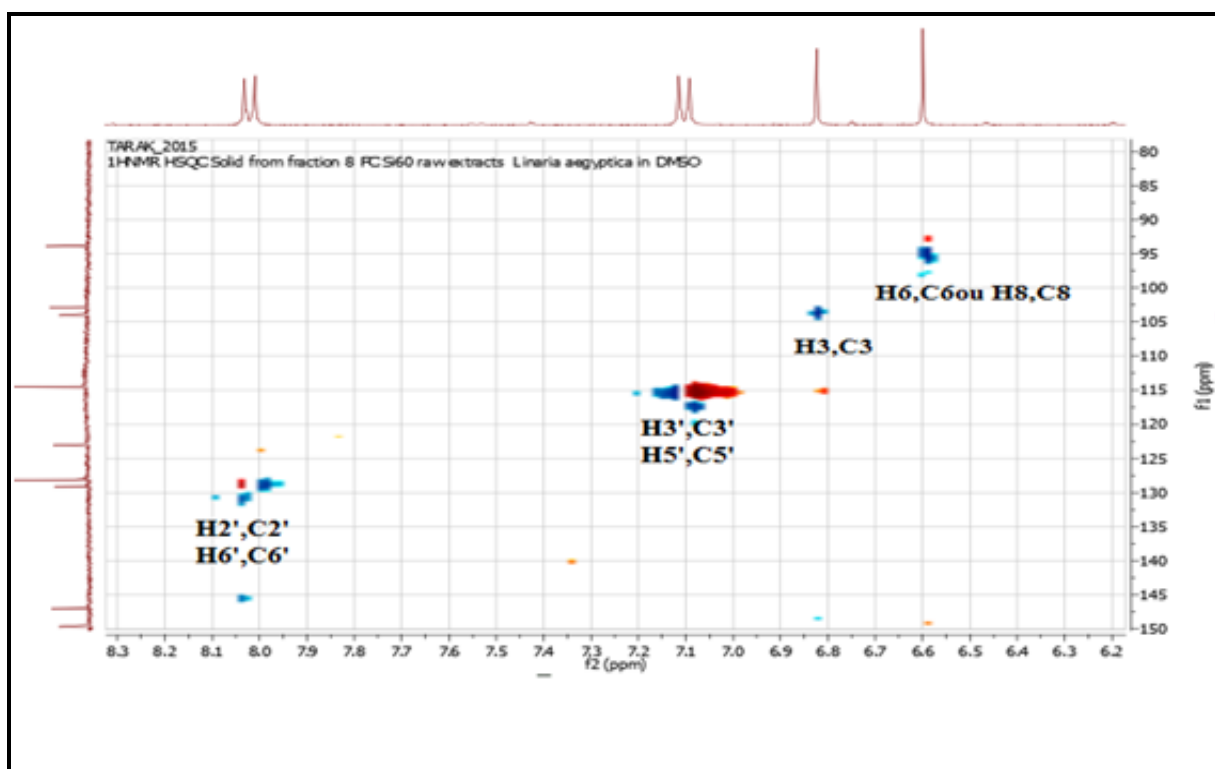
Spectre n° IV.14.2 : Spectre RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6 , δ ppm) du composé **MF 04**, étalement.

L'analyse du spectre relatif à l'expérience HSQC (Spectre n° IV.14.3 et 14.4) permet l'attribution des signaux des protons aux atomes de carbone correspondants ainsi :

- Le H-6' et H-2' permet l'attribution du signal à $\delta = 127,84$ ppm à les atomes de carbones C-2' et C-6'.
- Le H-3' et H-5' permet l'attribution du signal à $\delta = 114,42$ ppm à les atomes de carbones C3' et C-5'
- Le H-3 permet l'attribution du signal à $\delta = 102,95$ ppm à l'atome de carbone C-3
- Le H à $\delta = 6,59$ ppm permet l'attribution du signal à $\delta = 93,68$ ppm à l'atome de carbone C-6 ou C8.
- Le groupement méthoxyle à $\delta = 3,85$ ppm permet l'attribution l'atome de carbone C à $\delta = 55,40$ ppm.



Spectre n° IV.14.3 : Spectre HSQC (400 MHz, DMSO-d₆, δ ppm) du composé MF 04



Spectre n° IV.14.3 : Spectre HSQC (400 MHz, DMSO-d₆, δ ppm) du composé **MF 04**, 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.14.4, IV.14.5) qui est :

Le proton H-6 ou H-8 à $\delta = 6,59$ ppm montre quatre taches de corrélation :

- ✓ La première avec un atome de carbone à $\delta = 103,92$ ppm qui ne peut être attribué qu'au C-10.
- ✓ La deuxième avec un atome de carbone à $\delta = 129,08$ ppm qui ne peut être attribué qu'au C-7.
- ✓ La troisième avec un autre atome de carbone oxygéné représenté par le signal à $\delta = 153,34$ ppm qui ne peut que le C-6.
- ✓ La quatrième avec un autre atome de carbone oxygéné représenté par le signal à $\delta = 149,85$ ppm qui ne peut être que le C-9.

Ce proton ne peut être que le H-8.

Le proton H-3 montre quatre taches de corrélation :

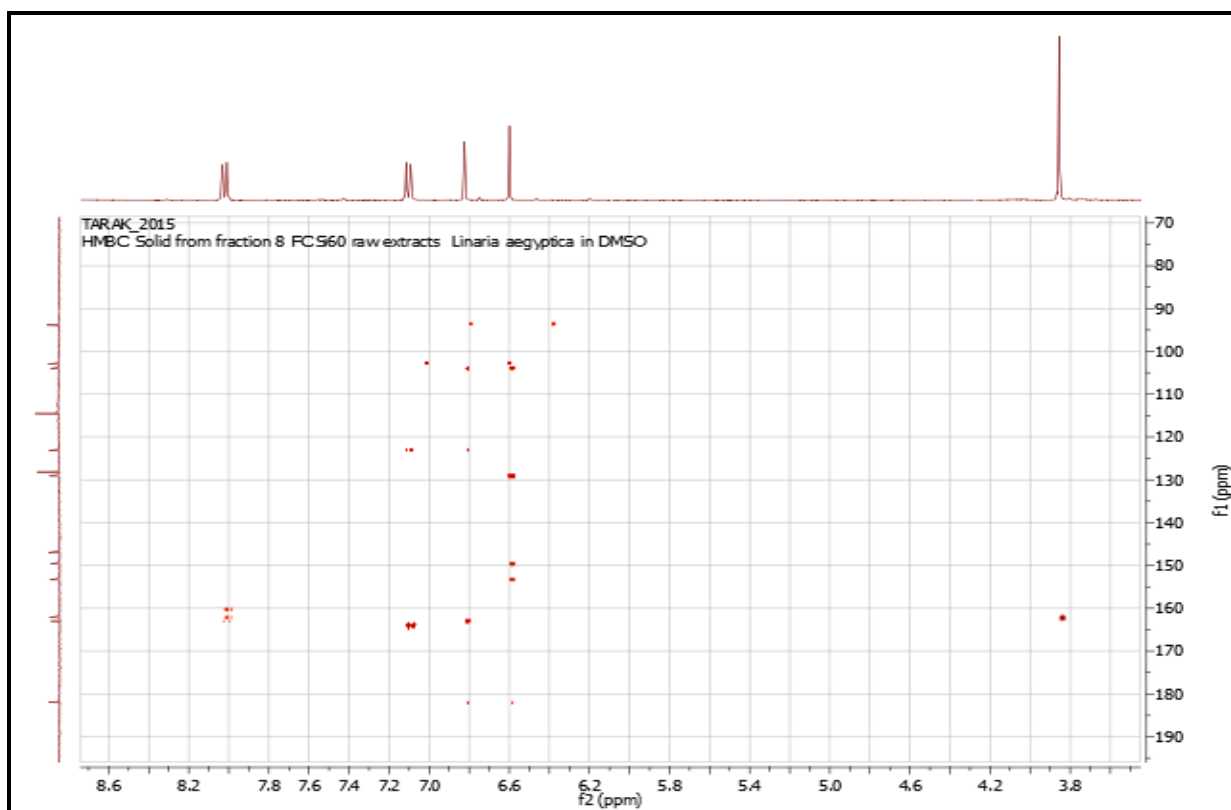
- ✓ La première avec un atome de carbone à $\delta = 103,92$ ppm qui ne peut être attribué qu'au C-10.
- ✓ La deuxième avec un atome de carbone à $\delta = 123,08$ ppm qui ne peut être attribué qu'au C-1'.
- ✓ La troisième avec un autre atome de carbone oxygéné représenté par le signal à $\delta = 162,96$ ppm qui ne peut que le C-2.
- ✓ La quatrième avec un autre atome de carbone oxygéné représenté par le signal à $\delta = 182,05$ ppm qui ne peut que le C-4.

Les protons H-3' et H-5' montre trois taches de corrélation :

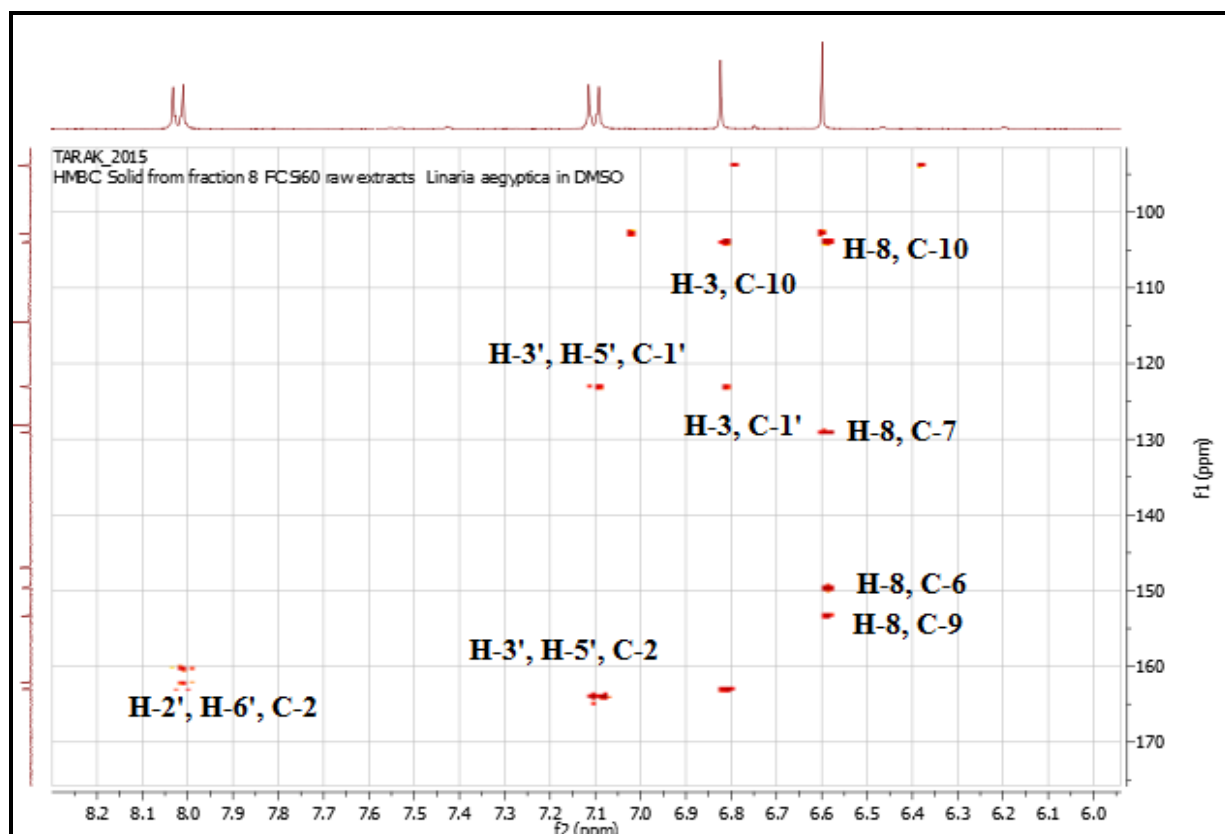
- ✓ la première avec l'atome de carbone à $\delta = 114,42$ ppm confirme le C-3' et C-5'.
- ✓ La deuxième avec l'atome de carbone à $\delta = 123,08$ ppm attribuable à C-1'.
- ✓ La troisième avec l'atome de carbone à $\delta = 162,96$ qui ne peut être que C-2

Les protons H-2' et H-6' montrent:

Une tache de corrélation entre le H-2' et H-6' avec un atome de carbone oxygéné $\delta = 162,0$ ppm, attribuable à C-4'. Ce dernier atome corrèle avec les trois protons d'un groupement méthoxyle à $\delta = 3,85$ ppm ce qui impose que C-4' est substitué par un groupement méthoxyle.



Spectre n° IV.14.4: Spectre HMBC (400 MHz, DMSO-d₆, δ ppm) du composé **MF 04**



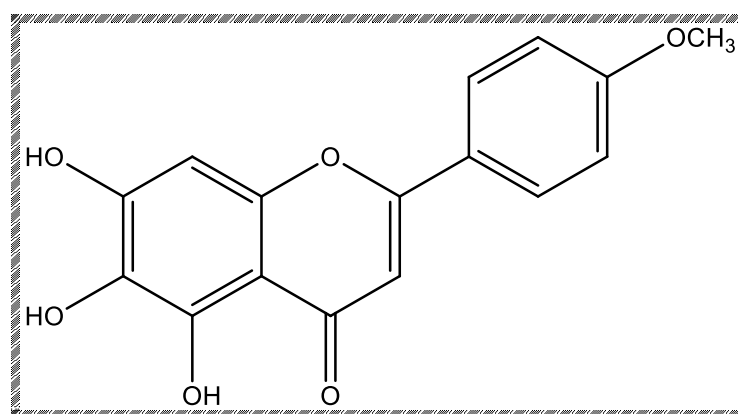
Spectre n° IV.14.5 : Spectre HMBC (400 MHz, DMSO-d₆, δ ppm) du composé MF 04, étalement

Tableau n° IV.15: Données de la RMN ¹H du composé MF 04

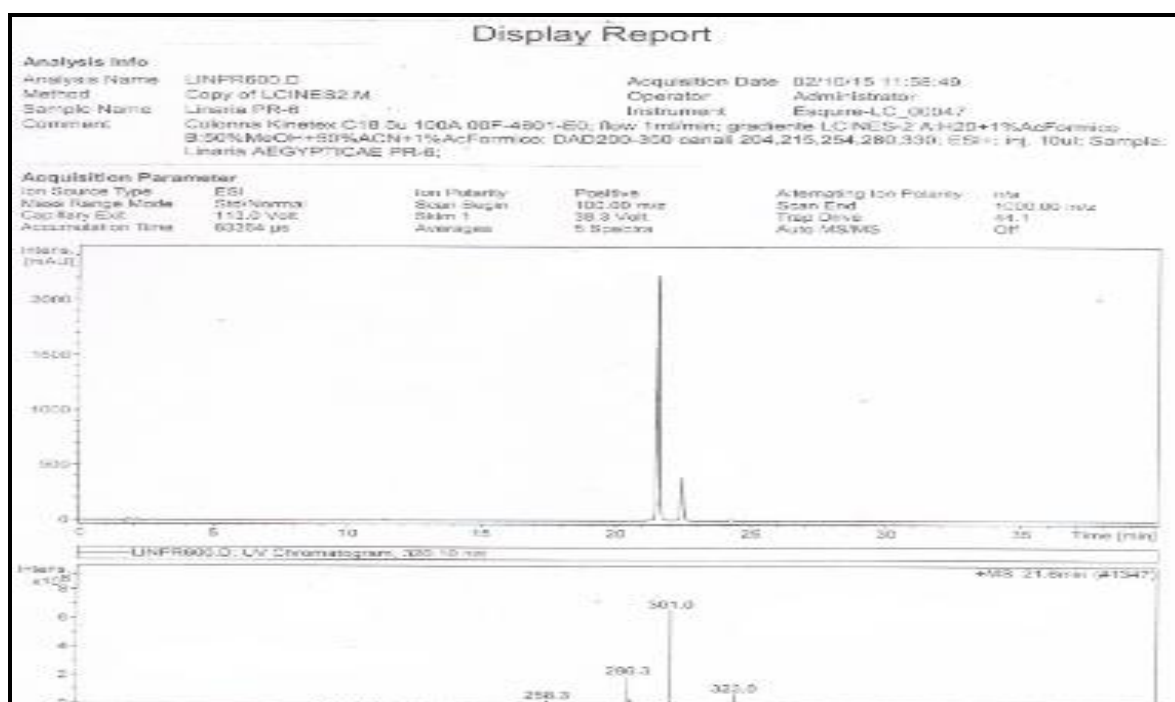
Déplacement chimique δ (ppm)	Attribution
55.40	OCH ₃
93.68	C8
102.95	C3
103.92	C10
114.42	C3', C5'
123.08	C1'
127.84	C2', C6'
129.08	C7
146.99	C5

149.85	C9
153.34	C6
162.00	C4'
162.96	C2
182.05	C4

Toutes ces données mènent à la structure finale qui est: **Scutellarein 4'methyl ether**[17].



IV. 2. A. 5. Elucidation de la structure du composé MF 05



Spectre n° IV.15.1 : Profile LC-MS et spectre de masse ESI/MS (-) du composé MF 05

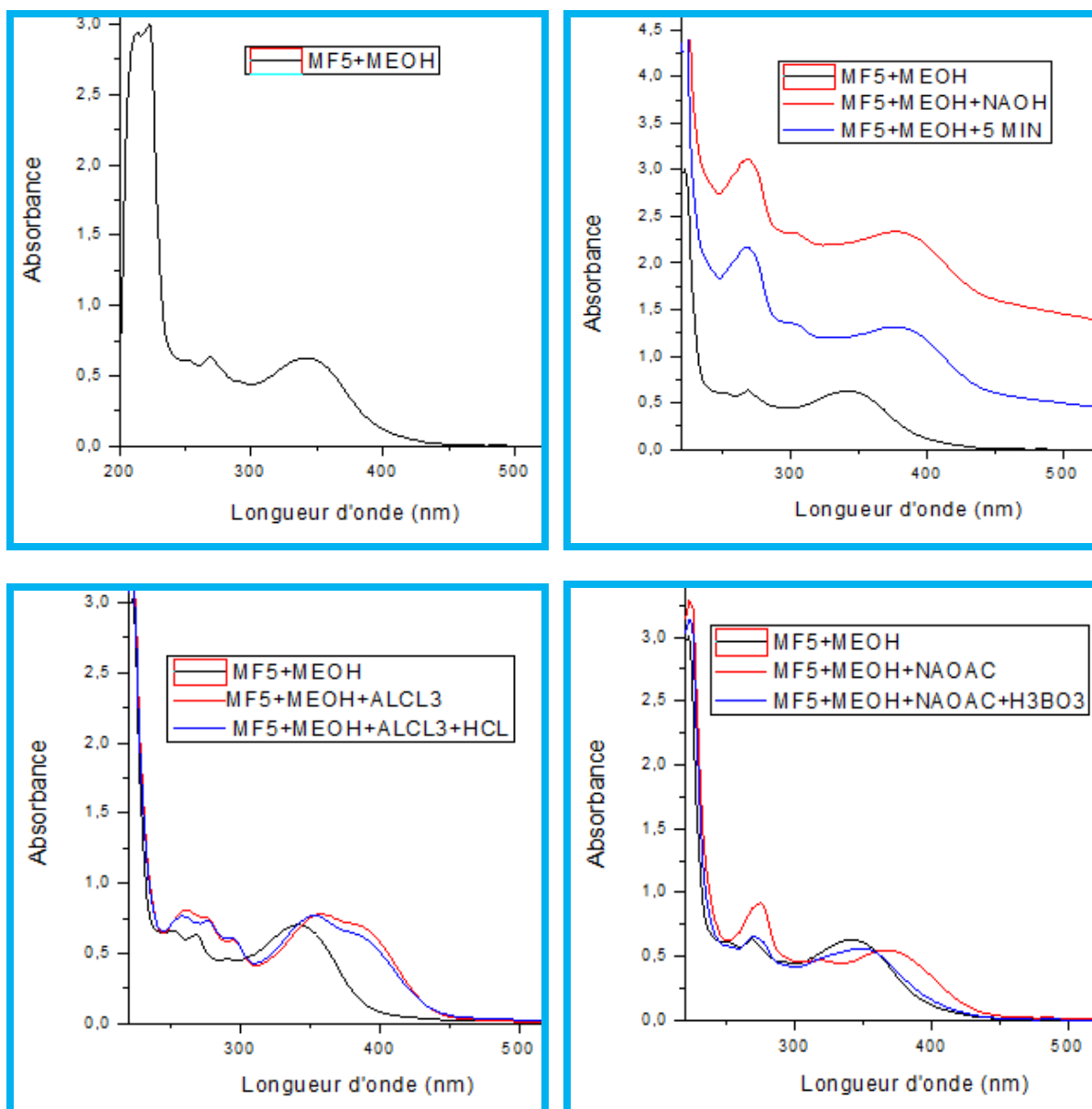
La fluorescence noire violette de ce composé sous lumière de Wood laisse supposer la structure d'une flavone ou un flavonol substitué en C-3.

L'examen de la série spectrale UV (Spectre n° IV.15.2) montre :

- La longueur d'onde d'absorption maximale dans le méthanol de la bande I à 343 nm laisse supposer la structure de type flavone.
- L'addition de NaOH provoque un déplacement bathochrome de la bande I ($\Delta\lambda = +37$ nm) avec une augmentation de l'intensité optique ce qui suppose la présence d'un OH en 4'. L'apparition d'une nouvelle bande dans ce même spectre à 321 nm révèle la présence d'un OH libre en position 7.
- Un effet bathochrome de la bande I dans le spectre enregistré dans le milieu ($\text{AlCl}_3 + \text{MeOH}$) ($\Delta\lambda = + 16$ nm) comparativement au spectre enregistré dans le MeOH indiquant la présence d'un OH libre en C-5.
- Pas de déplacement hypsochrome de la bande I en comparant les spectres $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ et AlCl_3 , ce qui prévoit l'absence de système orthodihydroxyle sur le noyau B.

Tableau n° IV.16: Données de la série spectrale UV (λ max, nm).

Réactifs	Bande I	Bande II	Autres bandes	Commentaire
MeOH	343	270	251	Flavone
+ NaOH	380	269	321 376	OR libre en 4' OH en 7
+AlCl ₃	359	262		OH libre en 5
+AlCl ₃ /HCl	354	259		Pas de ortho di-OH sur le cycle B
+NaOAc	369	276		OH en 7
+NaOAc/H ₃ BO ₃	348	270		Pas di OH



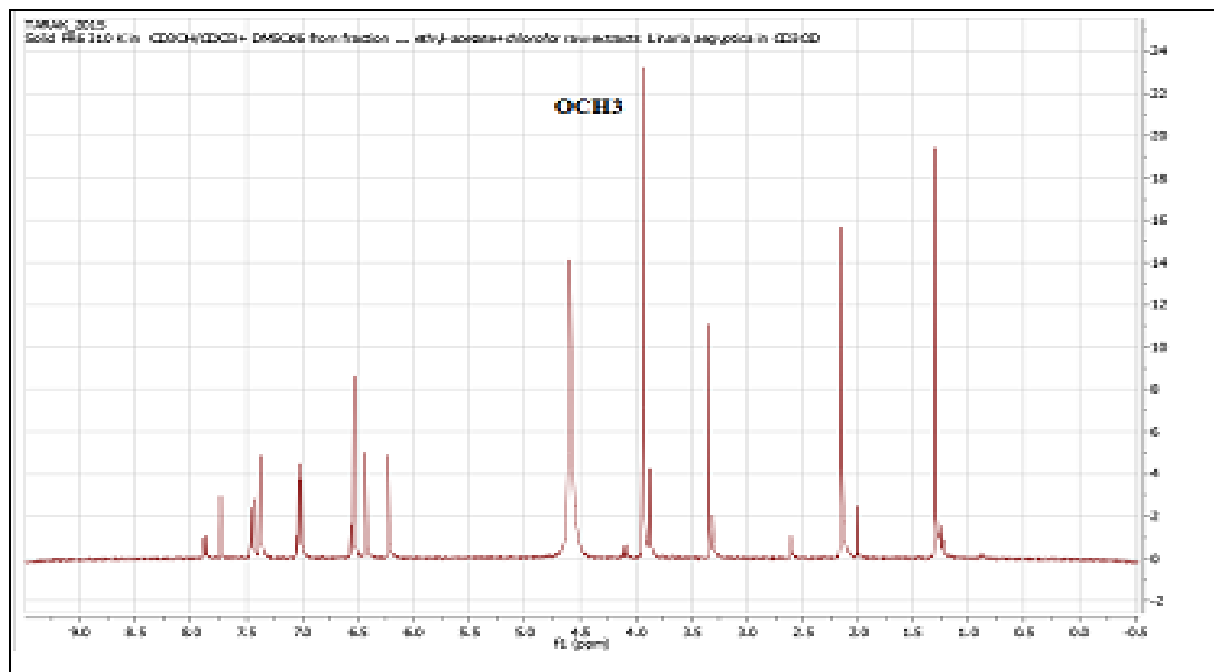
Spectre n° IV.15.2 : Série spectrale UV du composé MF 05

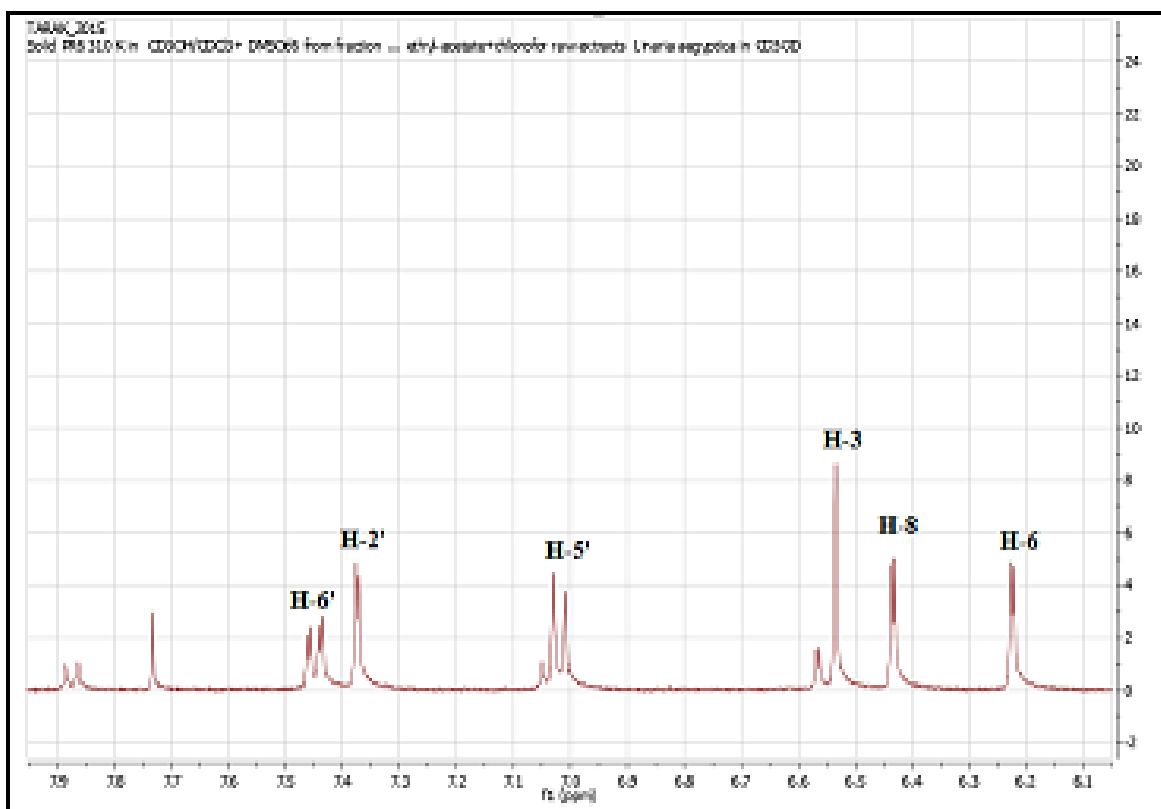
L'examen du spectre RMN ^1H (spectre n° IV-12) montre:

- Un singulet à $\delta = 6,54\text{ppm}$ attribuable à H-3, ce qui confirme la structure d'une flavone.
- un doublet dédoublé d'intégration 1H à $\delta 7,45\text{ ppm}$ ($J = 8,8 ; 2,4\text{ Hz}$) attribuables à H-6'.
- un doublet d'intégration 1H à $\delta 7,37\text{ ppm}$ ($J = 2,0\text{ Hz}$) attribuables à H-2'.
- un doublet d'intégration 1H à $\delta 7,02\text{ ppm}$ ($J = 8,4\text{ Hz}$) attribuables à H-5'.
- un doublet d'intégration 1H à $\delta 6,43\text{ ppm}$ ($J = 2,0\text{ Hz}$) attribuable à H-8.
- un doublet d'intégration 1H à $\delta 6,22\text{ ppm}$ ($J = 2,0\text{ Hz}$) attribuable à H-6.

Tableau n° IV.17: Données de la RMN ¹H

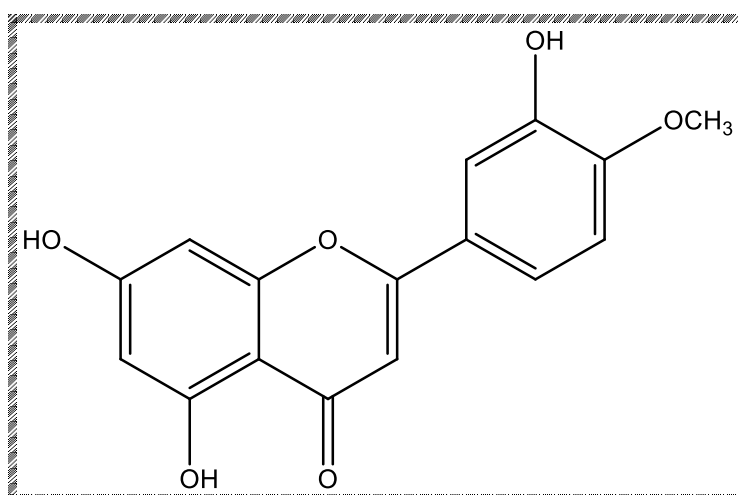
Déplacement chimique δ (ppm)	Intégration	Multiplicité (J Hz)	Attribution
7,45	1H	dd (J = 8,8 ; 2,4)	H6'
7,37	1H	d (J = 2,0)	H2'
7,02	1H	d (J = 8,4)	H5'
6,54	1H	s	H3
6,43	1H	(J = 2,0 Hz)	H8
6,22	1H	(J = 2,0 Hz)	H6
3,93	3H	s	OCH3

Spectre n° IV.15.3 : Spectre RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé MF 05



Spectre n° IV.15.4 : Spectre RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD , δ ppm) du composé **MF 05**, étalément.

La combinaison des résultats de la spectroscopie RMN ^1H et la série spectrale UV conduit à positionner le groupement méthoxyle en position 4', Ce qui mène à la structure suivante : 5, 7,3'-trihydroxy-4'-methoxyflavone (**diosmetine**) [18].



IV. 2. A. 6. Elucidation de la structure du composé MF 06

L'examen du spectre de masse à haute résolution enregistré en mode électron ébullition Négative (LC-MS-négative) (Spectre III-8-1) montre la présence d'un ion à m/z 366,4 correspondant à la formule $C_{15}H_{20}O_4$.

L'analyse du spectre 1H -RMN (Spectre n° IV.16.1) et son étalement (Spectre n° IV.16., IV.16.2 et IV.16.3) nous a permis de constater qu'il s'agit d'un gérmacranolide de type salonitenolide portant une double liaison $\Delta 1(10)$ [19].

Dans la région du bas champ, nous avons constaté les signaux typiques correspondants aux protons oléfiniques d'une double liaison caractéristique du groupe α -méthylène γ - lactone : comme doublet à δ 5.70 ($J= 3.2$, H-13a) et à δ 6.16 ($J= 4.0$, H-13b). Ils se conjuguent avec le proton H-7, qui se trouve en position allylique.

Le proton H-1 apparaît comme un doublet dédoublé élargi à δ 5.47 ($J = 12.0, 2.4$) à cause de sa conjugaison avec ses protons voisins H-2a, H-2b et avec le méthyle CH₃-14, qui se trouve en position allylique.

Dans la même région, nous avons distingué :

- ✓ Un triplet à δ 4.01 ($J= 17.2, 8.8$ HZ) attribué au proton H-6, qui se conjugue avec ses protons voisins.
- ✓ Un doublet à δ 2.82 ($J= 8.8$ Hz) attribué au proton H-5, qui se conjugue avec le proton H-6.

Dans la région du haut champ nous avons observé les signaux suivants:

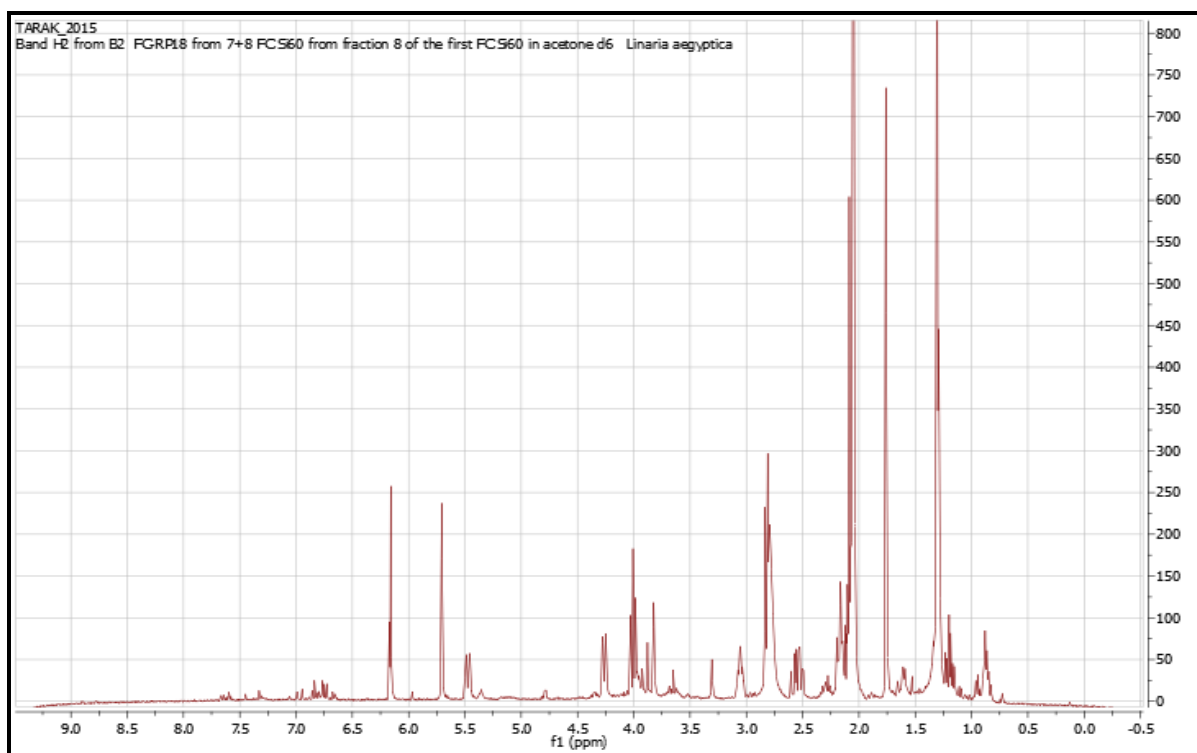
- ✓ Deux multiplet à δ 2.11 ppm et à δ 2.07 attribués au proton H-8a et H-8b qui se sont conjugué avec les protons voisins.
- ✓ un singulet correspondants aux protons de méthyle dans la position C-15 à $\delta =1.29$ ppm

Dans la région du haut champ nous avons observé les signaux suivants:

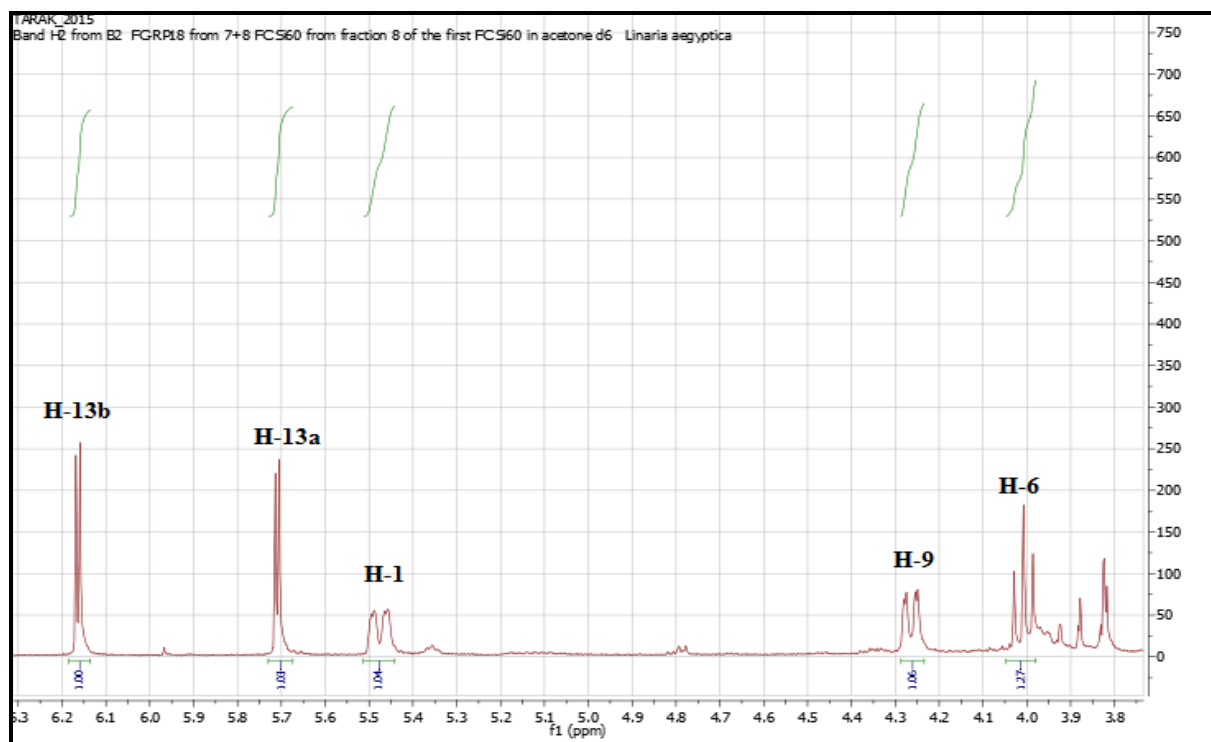
- ✓ Un singulet à δ 3.05 (m) attribué au proton H-7, qui se conjugue avec ses protons
- ✓ deux multiplets à $\delta =2.56$ ppm et à $\delta =2.14$ attribué au proton H-2a et H-2b respectivement, qui se conjugue avec eux même et avec les protons H-1, H-3b, H-3a
- ✓ on observe également deux autre multiplets qui correspondent à H-3a et à H-3b à $\delta =1.19$ ppm et à $\delta =2.10$ respectivement, qui se conjugue avec eux même aussi et avec H-2a, à H-2b et le méthyle.

- ✓ Un doublet dédoublé à δ 4.26 ($J= 10.4, 2.4$) attribué au proton H-9 qui se conjugue avec le proton H-8 et avec H-7.
- ✓ Un singulet (intégrant pour 3 protons) caractéristique chez les sesquiterpène lactones a été détecté à δ 1.76 correspondant au méthyle de la position C-14, qui se place sur le C-10. Ce déplacement est indicatif du groupe des gérmacranolides sans chaîne latérale à hydroxyle en position C-9.
- ✓ Un singulet à δ 1.30 attribué au méthyle de la position C-15.

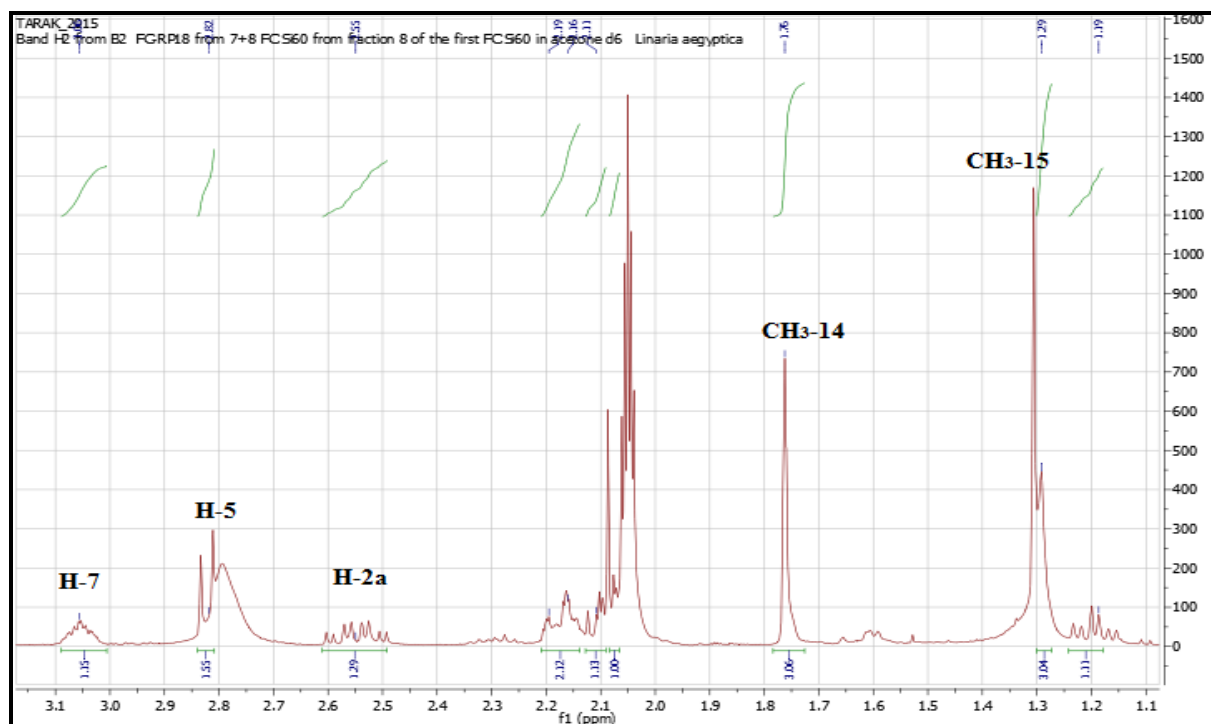
Les valeurs des constantes de couplages à partir du proton H-5 jusqu'au proton H-7 nous indiquent que les protons H-5/H-6 et H-6/H-7 ont une trans-disposition.



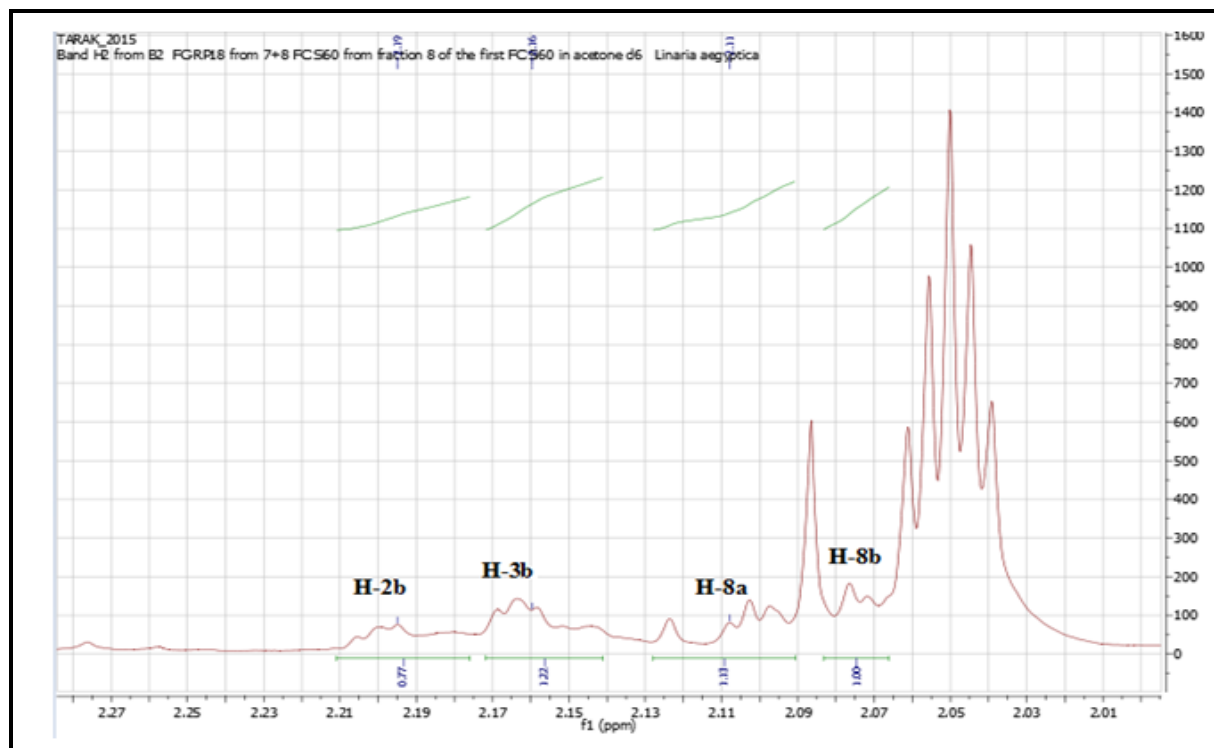
Spectre n° IV.16.1 : Spectre RMN ^1H (400 MHz, acétone- d_6 , δ ppm) du composé MF 06



Spectre n° IV.16.2 : Spectre RMN ¹H (400 MHz, acétone-d₆, δ ppm) du composé **MF 06**, étalement 1.



Spectre n° IV.16.3 : Spectre RMN ^1H (400 MHz, acétone- d_6 , δ ppm) du composé MF 06, étalement 2.



Spectre n° IV.16.4 : Spectre RMN ^1H (400 MHz, acétone- d_6 , δ ppm) du composé MF 06, étalement 3.

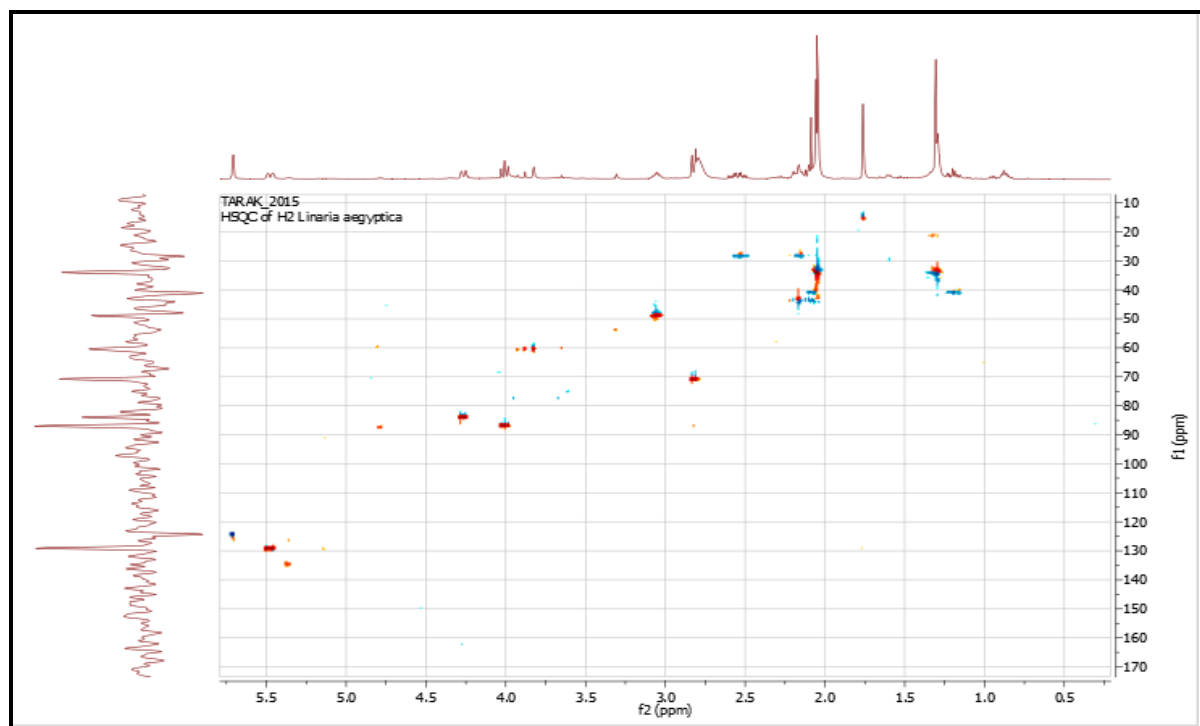
Tableau n° IV.18: valeurs des déplacements chimiques RMN ^1H (400 MHz) RMN ^{13}C (100MHz) du composé MF 06 dans acétone- d_6 .

No de H	δ H ppm	No de C	δ C ppm
H-1	5.47 dd (J=12.0, 2.4 Hz)	C1	129.14
H-2a	2.56 m	C2	28.30
H-2b	2.14 m	-	-
H-3a	1.19 m	C3	41.14
H-3b	2.10 m	-	-
-	-	C4	61.29
H-5	2.82 d (J=8.8 Hz)	C5	70.79
H-6	4.1 dd (J=17.2, 8.8 Hz)	C6	86.89
H-7	3.05 m	C7	47.95
H-8a	2.11 m	C8	43.56
H-8b	2.07 m	-	-
H-9	4.26 dd (J=10.4, 2.4 Hz)	C9	83.96
-	-	C10	136.68
-	-	C11	138.66
-	-	C12	169.67
H-13a	5.70 d (J=3.2 Hz)	C13	124.39
H-13b	6.16 d (J=4.0 Hz)	-	-
H-14	1.76 s	C14	15.52

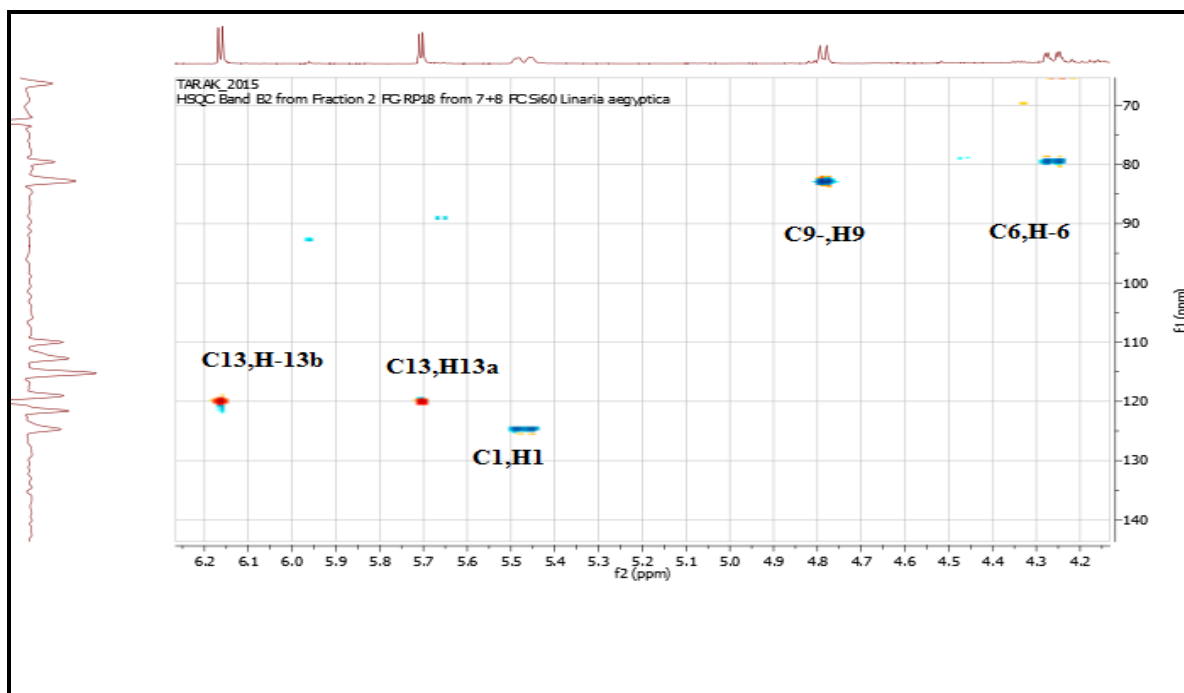
H-15	1.30 s	C15	33.60
------	--------	-----	-------

L'examen simultané des spectres RMN ^1H (Spectre n° IV.16.1) et HSQC (Spectre n° IV.16.5) montre une corrélation entre le groupement CH_2 éthylénique à δ C 124.55 et les deux protons résonant à δ 6.16 ($J= 4.0$) et à δ 5.70 ($J= 3.2$) indiquant un couplage allylique caractéristique d'un groupement CH_2 conjuguée avec le carbonyle d'une lactone sesquiterpénique.

Ces informations confirment les attributions précédentes, que ces deux protons sont par conséquent attribuables respectivement à H-13a et H-13b de la double liaison exocyclique C-11 - C-13 et le carbone du groupement CH_2 est attribué au C-13.



Spectre n° IV.16.5 : Spectre HSQC (400 MHz, acétone- d_6 , δ ppm) du composé MF 06



Spectre n° IV.16.6 : Spectre HSQC (400 MHz, acétone- d_6 , δ ppm) du composé **MF 06**, étatement.

L'examen du spectre COSY (^1H - ^1H) (Spectre n° IV.16.7) et la connaissance de H-13 et H-13' permettent la localisation de H-7 résonant sous forme d'un multiplet à δ 3,05 ppm. Ce dernier corrèle avec trois protons résonant à δ 2,11 .2, 07 ppm (td ; $J = 11,2 ; 4,5$ Hz) et à δ 4,01 ppm (t ; $J = 17,02$ Hz). Ces trois protons corrélant avec deux carbones différents (δ C 43,05 et 87,48 ppm respectivement) sur le spectre HSQC (Spectre n° IV.16.5), d'après les valeurs de leurs déplacements chimiques, ayant des signaux de multiplicité et triplet, sont attribuables à H-8a et H-8b et H-6 respectivement. Ces attributions permettent de tirer l'attention que la corrélation de H-6 sur le spectre HSQC (Spectre n° IV.16.5) avec le carbone du CH à δ 87,48 ppm dont la valeur du déplacement chimique est caractéristique du point de fermeture d'une lactone, indique que cette lactone sesquiterpénique est fermée en C-6.

Après l'attribution de H-6 (t, $J = 17,2. 8,8$ Hz, δ 4,01 ppm), H-7 (m, δ 3,05 ppm) et H-8a (m. δ 2,11 ppm) et H-8b (m. δ 2,07 ppm) il devient aisé d'attribuer les signaux de H-1, H-5, H-2a et H-2b grâce au spectre COSY ^1H - ^1H (Spectre n° IV.16.7).

Un examen approfondi de ce spectre montre une corrélation entre H-6 à δ 4,01 ppm et un signal masqué à δ 2,87 ppm qui doit être H-5 qui est corrélé avec le carbone résonnant à δ 71,70 ppm dans le spectre HSQC.

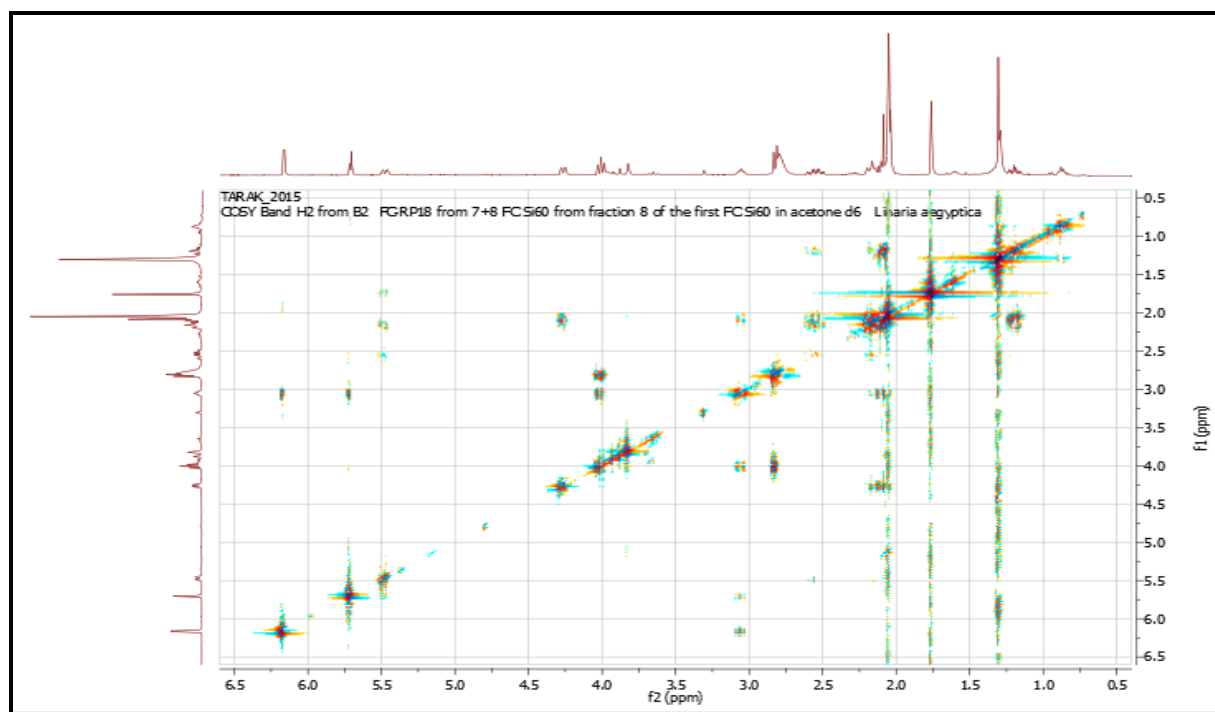
Le signal à δ 5,47 ppm est attribuable au proton H-1 grâce à sa corrélation avec le carbone placé à δ 129.14ppm dans le spectre HSQC, ce dernier proton permet d'identifier H- 2a et H-

2 β situés à δ 2.56 ppm et à δ 2.14 ppm, cette supposition est confirmée par les corrélations de ces noyaux avec le même carbone résonnant à δ 28.30 ppm dans le spectre HSQC.

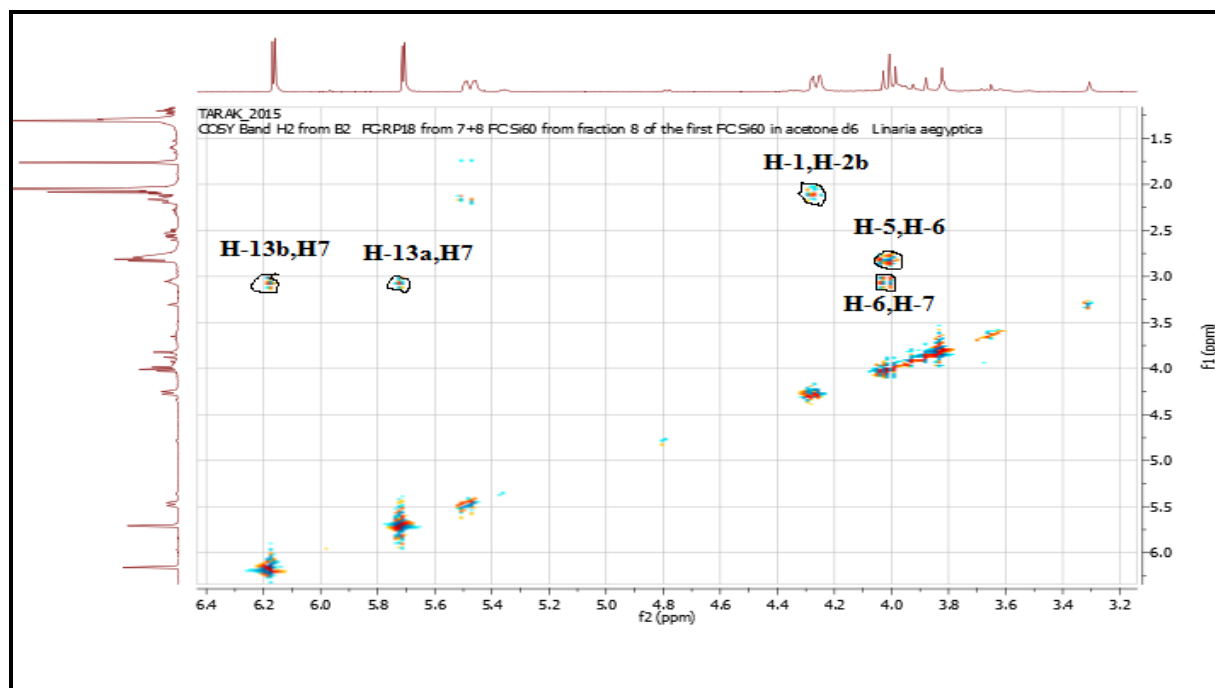
Suite à la corrélation observée entre H-1 et le méthyle situé à δ 1,76 ppm dans le spectre COSY ^1H - ^1H , il apparaît que ce dernier ne peut être que le méthyle-14 d'un germacranolide que l'on placerait en C-10.

L'analyse de ce spectre nous a montré aussi une corrélation entre le proton H-2b, H-3a et H-3b.

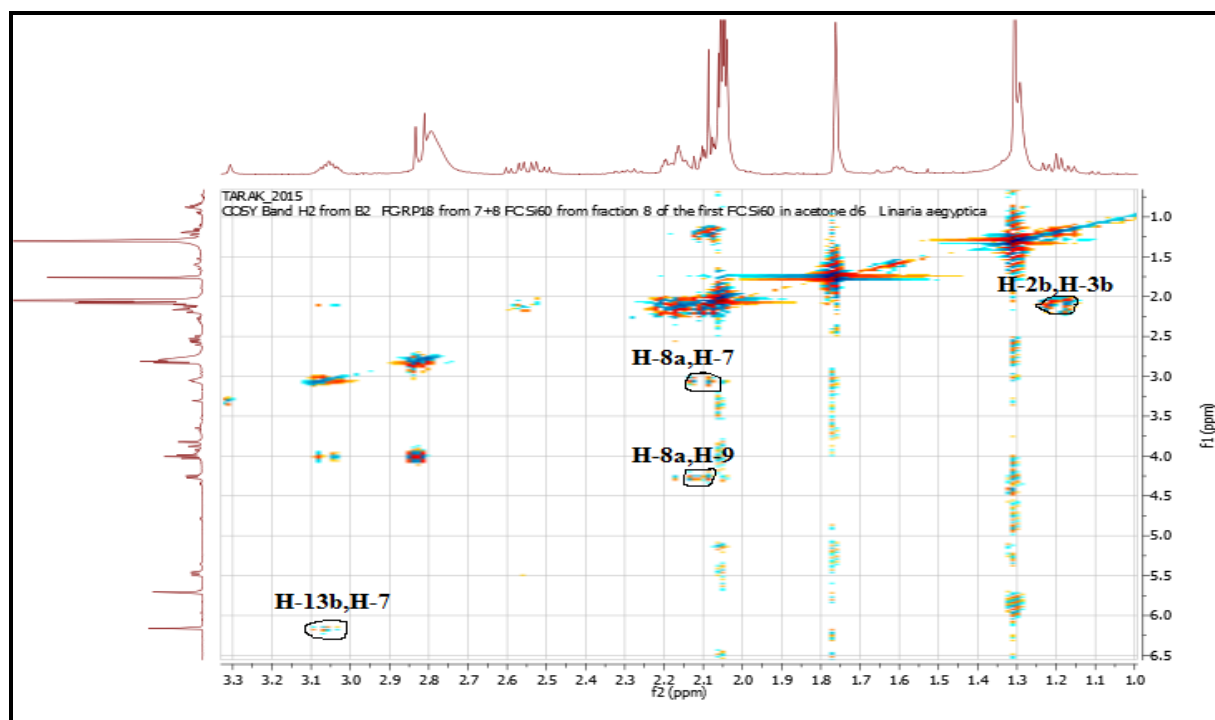
Le signal à δ 1.30 ppm est attribuable au méthyle-15 d'un germacranolide grâce à sa corrélation avec les protons H-3a et H-3b.



Spectre n° IV.16.7 : Spectre COSY (400 MHz, acétone- d_6 , δ ppm) du composé MF 06



Spectre n° IV.16.8 : Spectre COSY (400 MHz, acétone-d₆, δ ppm) du composé MF 06, étagement 1.



Spectre n° IV.16.9 : Spectre COSY (400 MHz, acétone-d₆, δ ppm) du composé MF 06, étagement 2.

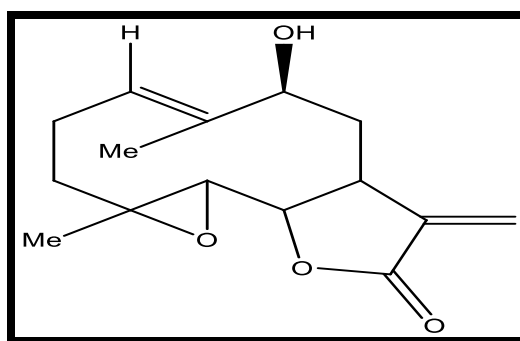
-un carbone tertiaire portant les protons déblindé à 4,01 ppm indiquant la présence d'une fonction alcoolique. Les corrélations H-H COSY du proton à 4,01 ppm avec les deux H-8, positionnent l'hydroxyle sur le C-9.

En se basant sur la supposition que H-7 admet une stéréochimie α , H-6 doit être orienté β , en effet la valeur large de la constante de couplage ($J_{5,6} = J_{6,7} = 8,8$ Hz) suggère l'orientation anti-periplanaire de ces deux protons (H-6, H-7), d'une part, et indique l'orientation trans-diaxiale des protons (H-5, H-6) d'autre part [20, 21].

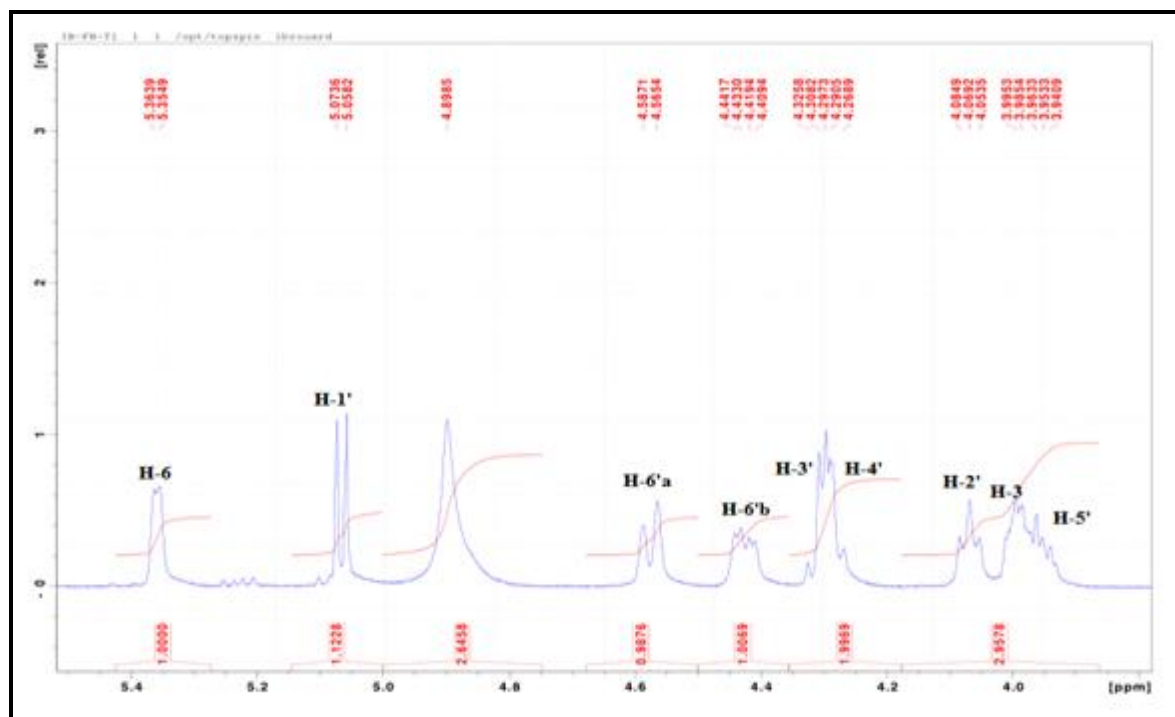
L'orientation de ces trois noyaux (H-5, H-6 et H-7) est en accord avec les arguments biogénétiques observés pour les germacranolides [22, 23].

Toutes ces attributions par l'examen du spectre COSY ($^1\text{H} - ^1\text{H}$) et du spectre HSQC confirment les attributions précédentes qui ont été faite par l'examen du spectre RMN.

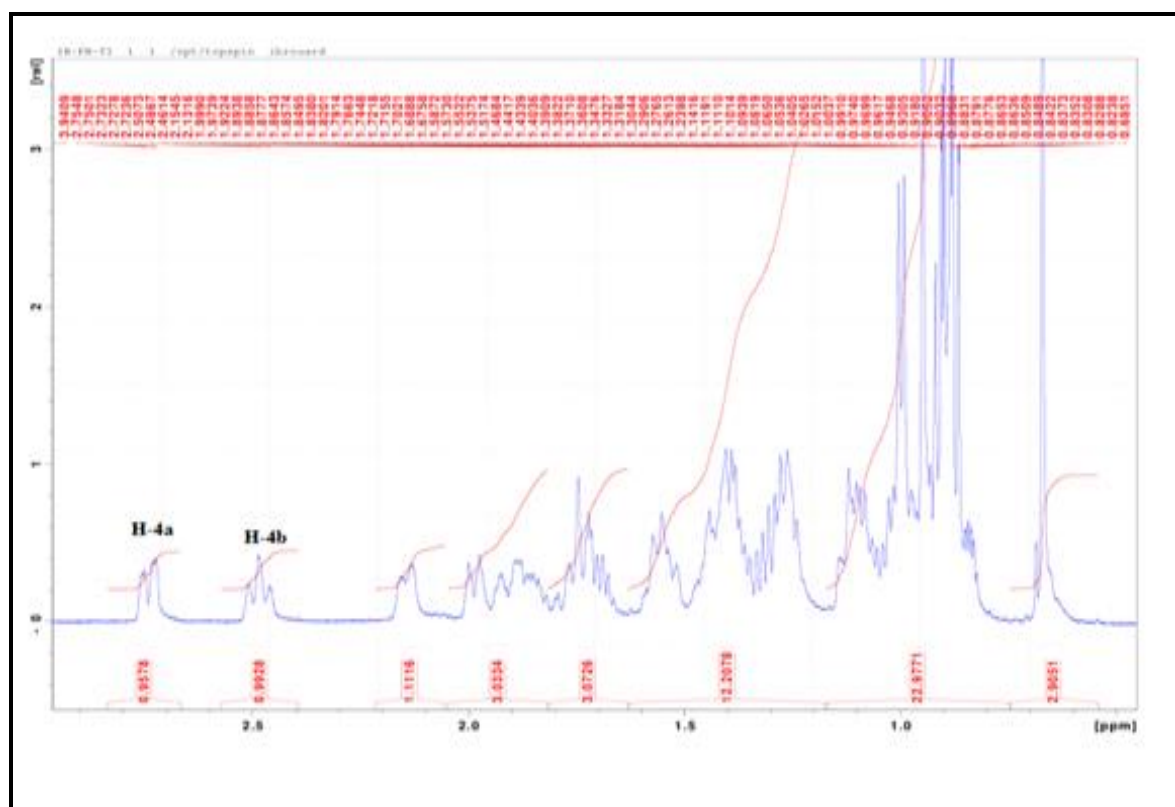
L'ensemble de ces informations conduit à la structure représentée ci-dessous.



9 β -hydroxyparthenolide [24].



Spectre n° IV.17.3 : Spectre RMN ¹H (400 MHz, pyridine-d5, δ ppm) du composé MF 07, étalement 2.



Spectre n° IV.17.2 : Spectre RMN ¹H (400 MHz, pyridine-d5, δ ppm) du composé MF 07, étalement 1.

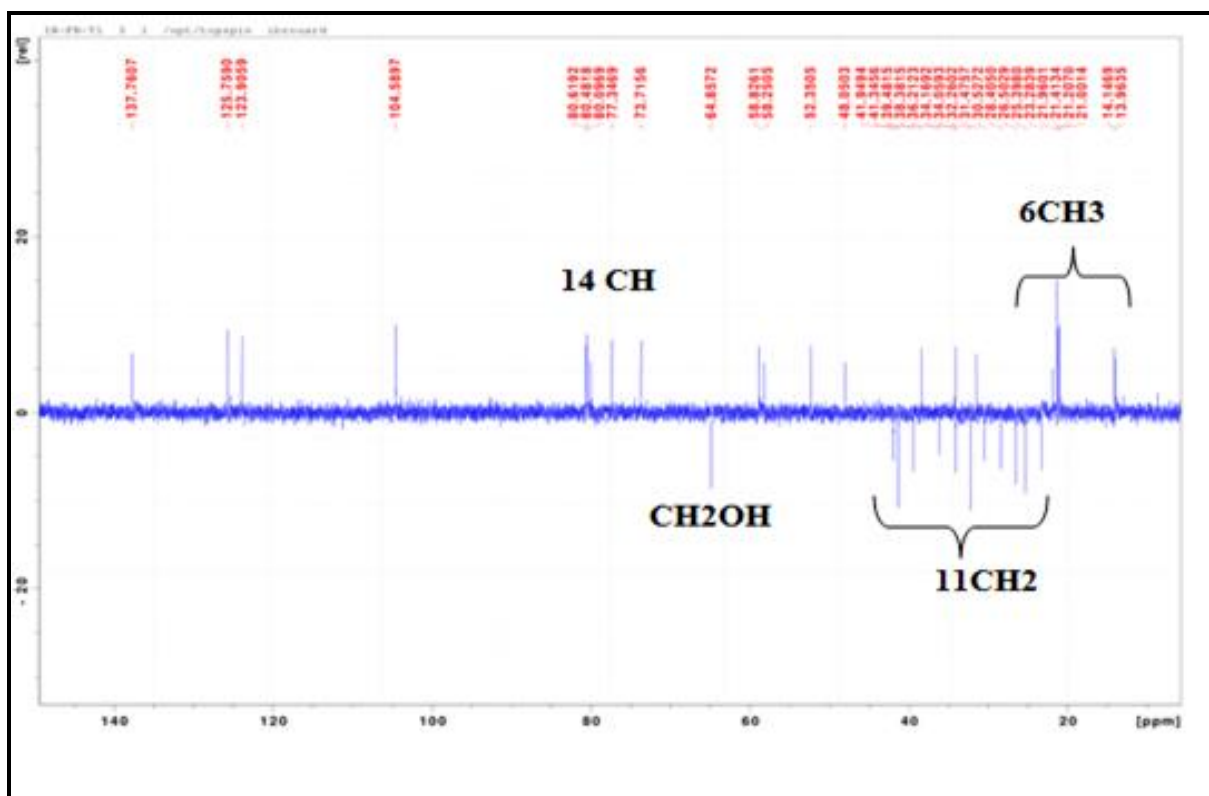
Tableau n° IV.19: Données de la RMN ¹H

Déplacement chimique δ (ppm)	Intégration	Multiplicité J (Hz)	Attribution
5,35	1H	d (3 ,6)	H-6
3,98	1H	multiplet	H-3
0,68	3H	s	CH 3 -18
0,84	3H	d	CH 3 -27
0,88	3H	d	CH 3 -26
0,86	3H	t	CH 3 -29
0,94	3H	d	CH 3 -21
1,01	3H	s	CH 3 -19

Le spectre RMN ¹³C J-modulé (Spectre n° IV.17.4) permet de visualiser la présence des signaux

concernant la génine et l'unité osidique à savoir:

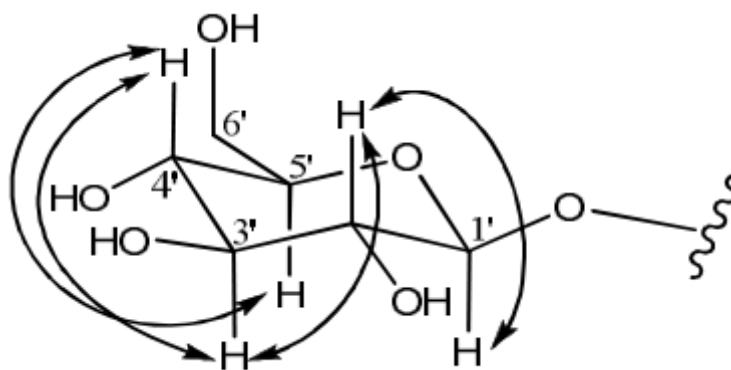
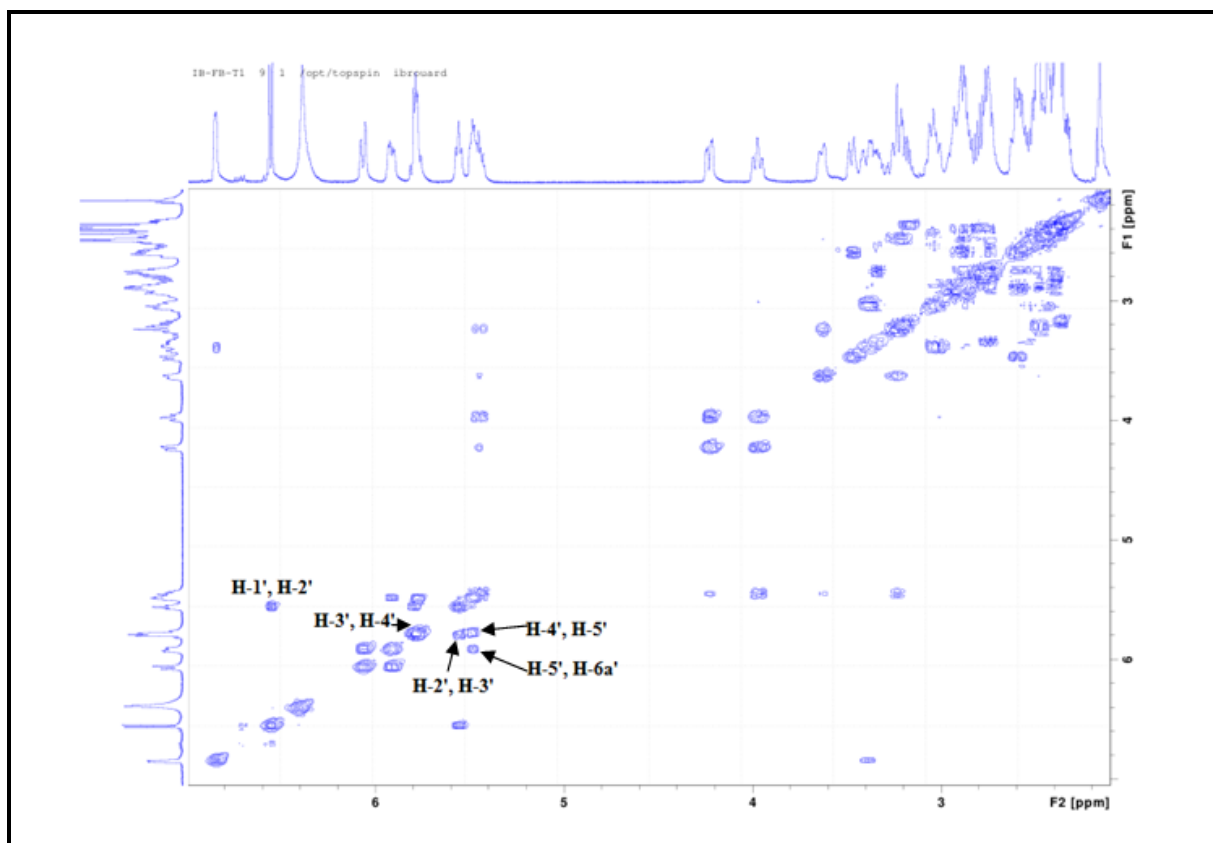
- ✓ 6 carbones méthyliques à δ C 12,0; 12,1; 18,9; 19,1; 19,4 et 19,9
- ✓ 2 carbones oléfiniques dont un carbone CH et un quaternaire résonant à δ C 123,9 et 142,9 respectivement.
- ✓ 1 carbone oxyméthine à 80.4 ppm (C-3). Sa valeur du déplacement chimique vers les champs faibles en comparaison avec le même carbone du β -sitostérol (71,8 ppm) indique qu'il est le point de branchement de la génine avec l'unité osidique.
- ✓ 1 carbone anomérique détecté à 104,5 ppm (C-1').
- ✓ 4 groupements CH à δ C 73.7 (C-4'); 77.3 (C-2'); 80.0 (C-5') et 80.6 (C-3').
- ✓ 1 carbone oxyméthylène (CH₂ -O) à 64,8 ppm (C-6').



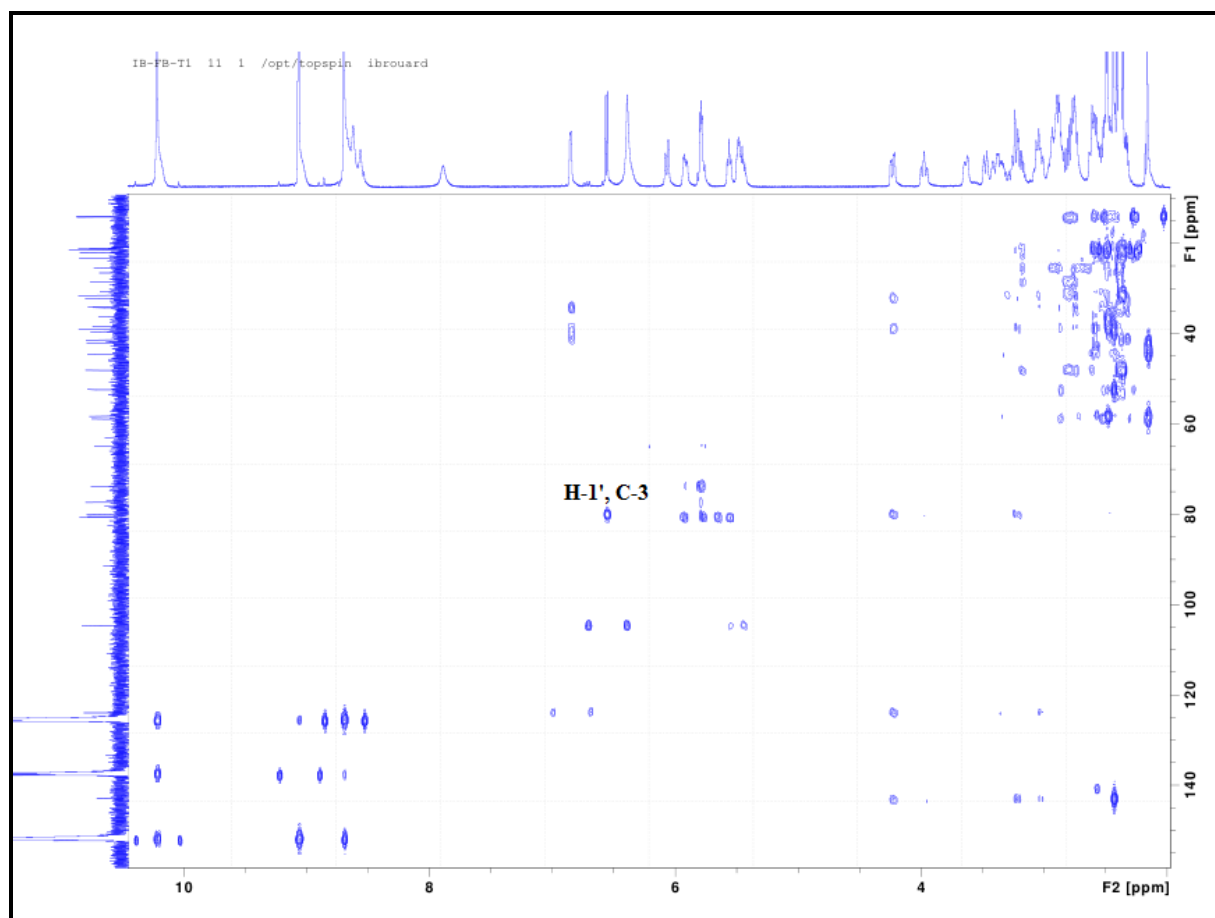
Spectre n° IV.17.4 : Spectre DEPT 135 (100 MHz, pyridine-d₅, δ ppm) du composé **MF 07**

L'expérience de corrélations homonucléaires COSY ¹H-¹H (Spectre n° IV.17.5) appliquée sur le composé en question atteste de la présence d'un hexose formé de 7 protons. Pour l'identification de cette unité osidique, en partant alors du proton anomérique H-1' résonant à 5,05 ppm (1H; d; J = 6,1 Hz), on relie à travers leurs taches de corrélation, les protons H-2 δ (δ_H 4,06; t; J = 6,1 Hz), H-3' δ (δ_H 4,30; t; J = 7,04 Hz), H-4' (δ_H 4,26; t; J = 8,6 Hz), H-5' (δ_H 3,94; m) et enfin les deux protons H-6'a (δ_H 4,57; d; J = 8,6 Hz) et H-6'b (δ_H 4,42; dd; J = 9,1 et 3,4 Hz).

Au terme de ces résultats, les grandes valeurs de constantes de couplage suggèrent qu'il s'agit d'un glucose de configuration β (J H1'-H2' δ = 6,1 Hz).

Corrélations COSY du β -glucoseSpectre n° IV.17.5 : Spectre COSY (400 MHz, pyridine-d₅, δ ppm) du composé MF 07

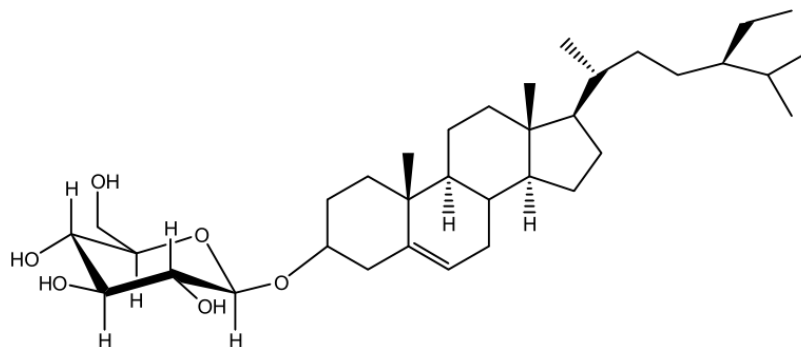
L'expérience de corrélations longue distance HMBC (Spectre n° IV.17.6) permet d'identifier les corrélations H/C en 2J et 3J . Ce spectre présente une tache de corrélation en 3J entre le proton anomérique H-1' du glucose et le carbone C-3. Cette corrélation confirme l'attachement de l'unité osidique en position C-3 de la génine.



Spectre n° IV.17.6 : Spectre HMBC (400 MHz, pyridine-d₅, δ ppm) du composé **MF 07**

L'analyse conjointe des spectres RMN ¹H, RMN ¹³C J-modulé, COSY, HSQC et HMBC permettent de caractériser tous les protons et carbones constituant la génine.

En conséquence, le composé MF 07 a été identifié sans ambiguïté au 3 β -D-glucopyranosyl β sitostérol [25, 26].



3- β - D (+) glucopyranosyl β -sitostérol [27].

Conclusion:

Les résultats de l'étude phytochimique concernant l'espèce *T. microphylla et linaria aegypticaea* ont révélé la richesse de ces dernières en métabolites secondaires ainsi que leur diversité structurale. En effet, cette diversité est remarquée tant du point de vue squelette hydrocarboné que du point de vue substitution où l'on signale la présence du : lignanes, du sesquiterpène ainsi que des flavonoïdes de type flavone .

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Kwon, H, C., Lee, K, R., **2001**, *Arch. Pharm. Res*, 24 (3), 194-197.
- [2] Cheng, M, J., Tseng, M, Yuan, G, F., Chen I, S., **2013**, *Chem. Nat. Compd*, 49(2), 226-228.
- [3] Rizk, A, M., Rimpler, H., **1972**, Isolation of daphnoretin and β -sitosterol-3-D-glucoside from *Thymelaea hirsute*, *Phytochemistry*, 11, 473-475.
- [4] Franke, K., Porzel, A., Schmidt, J., **2002**, Flavone-coumarin hybrids from *Gnidia socotrana*, *Phytochemistry*, 61, 873-878.
- [5] Saltos, M, B, V., Puente, B, F, N., Malafronte, N., Braca, A., **2014**, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 25, 2121-2124.
- [6] Myoung-Chong Song., Dong-Hyun Kim., Yoon-Hee Hong., Dae-Keun Kim 1 ., In-Sik Chung., Sung-Hoon Kim 2 ., Mi-Hyun Park 3., Byoung-Mog Kwon 4., Youn-Hyung Lee ., Nam-In Baek., **2003**, Terpenes from the Aerial Parts of *Chrysanthemum coronarium L*, *Agric. Chem. Biotechnol*, 46(3), 118-121.
- [7] Sigstad, E, E., Catalán, C, A, N., Diaz, J, G., Herz, W., **1996**, *Phytochemistry*, 42 (5), 1443-1445.
- [8] L, Yong-Long., T, J, Mabry., **1982**, *Phytochemistry*, 21, 209–214.
- [9] Ferhat, M., Harkat, H., Lavaud, C., Haba, H., Long, C., Benkhaled, M., **2010**, Iridoids and flavonoid from *Linaria aegyptiaca (L.) Dum, Subsp. fruticosa*, *Biochemical Systematics and Ecology* 38 833–835.
- [10] Degot, A, V., Fursa, N, S., Zaitsev, V, G., Chaika, E, A., Popova, T, P., Litvinenko, V, I., Kornievskii, Y, I., **1983**, Study of *Linaria macroura*, *Chem Nat Compd*, 3:388–389. Russian.
- [11] Schinor, E, C., Salvador, M, J., Ito, I, Y., Dias, D, A., **2007**, Evaluation of the antimicrobial activity of crude extracts and isolates constituents from *Chresta scapigera*, *Braz. J. Microbiol*, 38, 145–149.
- [12] Trendafilova, A., Todorova, M., Gavrilova, A., Vitkova, A., **2012**, *Biochem. Syst. Ecol*, 43, 156-158.
- [13] Valant V, K, M., Wollenweber, E., **2006**, Flavones and Flavonols. In: Andersen M. and K.R. Markham (Eds.) *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications*. London: Taylor and Francis Group, pp. 628, 644.

- [14] Yang, M. C., Lee, K. H., Kim, K. H., Choi, S. U., Lee, K. R., **2007**, Lignan and terpene constituents from the aerial parts of *Saussurea pulchella*. *Archives of Pharmacal Research*, 30: 1067-1074.
- [15] Das, B., B. Venkataiah and A. Kashinatham., **1999**, (+)- Syringaresinol from *Parthenium hysterophorus*, *Fititerapia*, 70: 101-102. DOI: 10.1016/S0367- 326X (98)00014-8
- [16] Karonen, M., Hämäläinen, M., Nieminen, R., Klika, K. D., Lopenen, J., Ovcharenko, V., V., E. Moilanen and K. Pihlaja., **2004**. Phenolic extractives from the Bark of *Pinus Sylvestris L.* and their effects on inflammatory mediators nitric oxide and prostaglandin E2, *J. Agric. Food Chem*, 52, 7532-7540.
- [17] Harborne, J. B., Valdes, B., **1971**, Identification of scutellarein 4 O -methyl ether in *Linaria aeruginea*, *Phytochemistry*, 10:2850–2851.
- [18] Hua, H., Sun, J., Li, X., **1999**, [Flavonoids from yellow toadflax (*Linaria vulgaris*)]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 30:332–334. Chinese.
- [19] Vanhaelen-Fastre, R and Vanhaelen M., **1974**, Presence of salonitenolide in *Cnicus benedictus*, *Planta Med* 26:375–379.
- [20] Miski, M., Ali, H. M., Mabry, T. J., **1988**, Sesquiterpene lactones of *Onopordon Tauricum*, *Phytochemistry* 27(5), 1417-1420.
- [21] Marco, J.A., Sanz-Cervera, J.F., Yuste, A., Félix, S., Miguel, C., **2005**, Sesquiterpenes from *Centaurea aspera*, *Phytochemistry* 66, 1644-1650.
- [22] Bruno, M., Paternostro, M. P., Gedris, T. E., Herz, W., **1996**, Sesquiterpene lactones and other constituents of *Centaurea nicaensis*, *Phytochemistry* 41, 335-336.
- [23] Medjroubi, K., **1999**. Thèse de doctorat, Université Mentouri Constantine.
- [24] Abdel Sattar, E., Galal, A. M., Mossa, G. S., 1996. Antitumor germacranolides from *Anvillea garcinii*, *Journal of Natural Products* 59,403–405.
- [25] Voutquenne, L., Lavaud, C., Massiot, G., Sévenet, T., Hadi H.A., **1999**, Cytotoxic polyisoprenes and glycosides of long-chain fatty alcohols from *Dimocarpus fumatus*, *Phytochemistry* 50, 63-69.
- [26] Flamini, G., Pardini, M., Moreilli, I., **2001**, A flavonoid sulfate and other compounds from the roots of *Centaurea bracteata*, *Phytochemistry* 58, 1229-1233.
- [27] Tundis, R., Deguin, B., Loizzo, M. R., Bonesi, M., Statti, G. A., Tillequin, F., Menichini, F., **2005**, Potential antitumor agents: flavones and their derivatives from *Linaria reflexa Desf*, *Bioorg Med Chem Lett*, 15:4757–4760.

CHAPITRE V

ACTIVITE ANTYOXIDANTE

V. Evaluation *in vitro* des activités biologiques**V. 1. Introduction**

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques, tel que l butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluène (BHT) gallate propylée (PG) et le tétrabutylhydroquinone (TBHQ), sont largement utilisés parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels.

Cependant, leur sécurité est très discutée car ils génèrent un besoin de recherche comme matière de substitution d'après des sources naturelles comme antioxydants de la nourriture [01]. En effet, on a assisté depuis les années 1980 à un engouement pour les produits naturels, et au développement des extraits végétaux à usage antioxydant qui auraient des propriétés biologiques pouvant contribuer à réduire le risque de certaines pathologies [02].

Beaucoup de tests standardisés évaluant l'activité antioxydant sont simples, peu coûteux et rapides à mettre en œuvre. Les tests DPPH, TEAC et FRAP ont été retenus dans le cadre de cette étude. Des modifications ont été, cependant, apportées afin de les optimiser et de les adapter à notre étude.

V. 2. Protocole de travail**V. 2. 1. Test d'inhibition du radical DPPH**

La capacité de piégeage des radicaux (RSC) des extraits de plantes contre stable 2,2-diphényl-2-picrylhydrazyl hydrate (DPPH., Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim, Allemagne) a été déterminée par spectrophotométrie par une méthode légèrement modifiée de Brand-Williams et ses collaborateurs [03].

La solution de DPPH. Dans méthanol ($6,5 \times 10^{-5}$ M) a été préparée un jour avant les mesures sur un UV / lumière visible spectrophotomètre (Thermo Spectronic, Rochester, NY) à 515 nm. Les solutions des extraits ont été préparées en dissolvant l'extrait sec de *T. microphylla* dans MeOH. Deux ml de la solution de DPPH ont été mélangés avec 50 μ l d'extrait de concentrations différentes (0,62, 1,25, 2,5 and 5 mg / ml). Les échantillons ont été maintenus dans l'obscurité pendant 30 min puis la température et diminution de l'absorbance a été mesurée. L'absorbance d'un échantillon à blanc contenant la même quantité de méthanol et de la solution de DPPH a été préparée et mesurée. L'expérience a été réalisée en triple. La capacité de piégeage des radicaux a été calculée par la formule suivante: $I = [(A_B \times A_A) / A_B] \times 100$, où I est le pourcentage d'inhibition; A_B est l'absorbance d'un échantillon à blanc (t = 0 min); A_A est l'absorbance de la solution d'extrait (t = 30 min).

V. 2. 2. Test de décoloration ABTS^{·+}

Trolox capacité équivalente Antioxydant (TEAC) a été mesurée en utilisant le teste de scavenging ABTS^{·+} [04] [19]. Une solution mère de ABTS (2 mM) a été préparé par dissolution dans 50 ml de tampon phosphate salin (PBS) obtenus par dissolution 8,18 g NaCl, 0,27 g KH₂PO₄, 1,42 g et 0,15 g de Na₂HPO₄ KCl dans 1 litre d'eau ultra pure. Si le pH est inférieur à 7,4, il est ajusté avec NaOH. Eau ultra pure a été utilisé pour préparer la solution de 70 mM de K₂S₂O₈. ABTS^{·+} Radical cation a été produite par la réaction de 50 ml de solution mère ABTS avec 200 µl de K₂S₂O₈ et laissé le mélange reposer dans l'obscurité à la température ambiante pendant 15-16 h avant utilisation. Pour l'évaluation des extraits, la Solution de l'ABTS^{·+} a été diluée avec le PBS pour obtenir l'absorbance de 0,800 ± 0,030 à 734 nm. Trois millilitres de la Solution de l'ABTS^{·+} ont été mélangés avec 30 µl de solution MeOH de l'extrait. L'absorbance a été lue à la température ambiante après 30 minutes. Une solution de PBS a été utilisé comme échantillon témoin. Toutes les déterminations ont été effectuées en triple. Le pourcentage de diminution de l'absorbance à 734 nm a été calculé par la formule: $I = [(A_B \times A_A) / A_B] \times 100$, où I est le pourcentage d' inhibition,%; A_B est l'absorption de l'échantillon à blanc (t = 0 min); A_A est l'absorption de la solution d'extrait (t = 30 min).

V. 2. 3. Test de Ferrique réduire / pouvoir antioxydant (FRAP)

La capacité des extraits de plantes pour réduire les ions ferriques à celui ferreux, (dosage de FRAP) est un autre indicateur fréquemment utilisé pour évaluer le pouvoir antioxydant [05] [20]. Les ions Ferreux (Fe 2+) produite dans cet essai formes un complexe bleu (Fe 2+ / TPTZ) absorbant à 593 nm.

En bref, la solution mère compris : 300 Mm d' un tampon d'acétate (0,467 g de C₂H₃NaO₂ .3 H₂O et 250 ml H₂O), pH 3,6, 10 mM de TPTZ (2, 4, 6- tripyridyl-s-triazine) dans 40 mM HCl et 20 mM de FeCl₃.H₂O.

La solution FRAP a été préparée en mélangeant 100 ml de tampon acétate, 10 ml TPTZ et 10 ml FeCl₃.6H₂O puis chauffé à 37 °C avant de l'utiliser. 50 µl de chaque extrait a été mis à réagir avec 1,5 ml de la solution de FRAP et 150 ul de H₂O pendant 30 min dans l'état sombre.

La variation de l'absorbance (DA 593 nm) entre la lecture finale et A⁰ a été calculée pour chaque échantillon.

V. 3. Résultats et discussions

V. 3. 1. Le contenu total en polyphénols

La teneur en polyphénols totaux (TPC) de l'extrait de l'Éther de pétrole et l'extrait de chloroforme de *T. microphylla* est déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. L'extrait de l'Éther de pétrole avait TPC remarquablement inférieure ($80,16 \pm \text{GAE } 1.92\text{mg} / \text{g}$) comparaison à l'extrait de chloroforme ($151,55 \pm 8,06 \text{ mg GAE} / \text{g}$).

V. 3. 2. DPPH. essai de piégeage des radicaux

La capacité de piégeage des radicaux des extraits d'éther de pétrole et de chloroforme de *T. microphylla* ont été analysée en utilisant DPPH[•]. Comme DPPH[•] capte un électron en présence d'un piègeur de radicaux libres, l'absorption diminue et la décoloration résultante est stoechiométrique en rapport avec le nombre d'électrons acquise [06], l'extrait de chloroforme a exercé une inhibition de 86,60% et celui de l'éther de pétrole était 31,12% à 5 mg / ml et la IC₅₀ de l'extrait chloroformique a été de 1,92 mg / ml, tandis que celle du l'extrait de l'éther de pétrole a été 8,91 mg / mL.

Dans précédente étude, l'extrait méthanolique de *T. microphylla* a montré une inhibition de 72% à 35 ul / ml [14] .

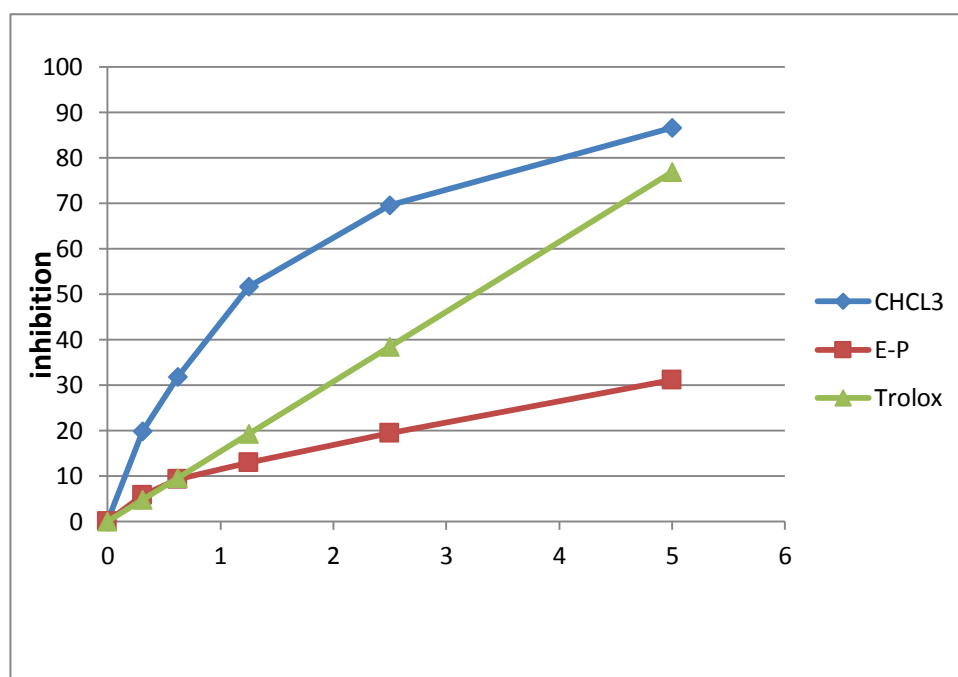


Figure. 1. DPPH. Radical nécrophage activité

V. 3. 3. Test de décoloration ABTS^{•+}

Le Test de piégeage ABTS^{•+}, qui utilise une absorbance à 734 nm de longueur d'onde et nécessite un temps de réaction court, peut être utilisé comme un indice qui reflète l'activité antioxydante des échantillons d'essai [07].

Dans la Fig. 2, les extraits de chloroforme et l'éther de pétrole ont été trouvés efficace dans les radicaux de piégeages et l'augmentation était dépendant de la concentration. A 1,25 mg / ml, l' inhibition de l'extrait de chloroforme est 88,63% et celui de l'extrait d'éther de pétrole a été 18,09%. La IC₅₀ de l'extrait chloroformique était de 0,44 mg / ml alors que l'extrait de l'éther de pétrole était 03.43 mg / ml.

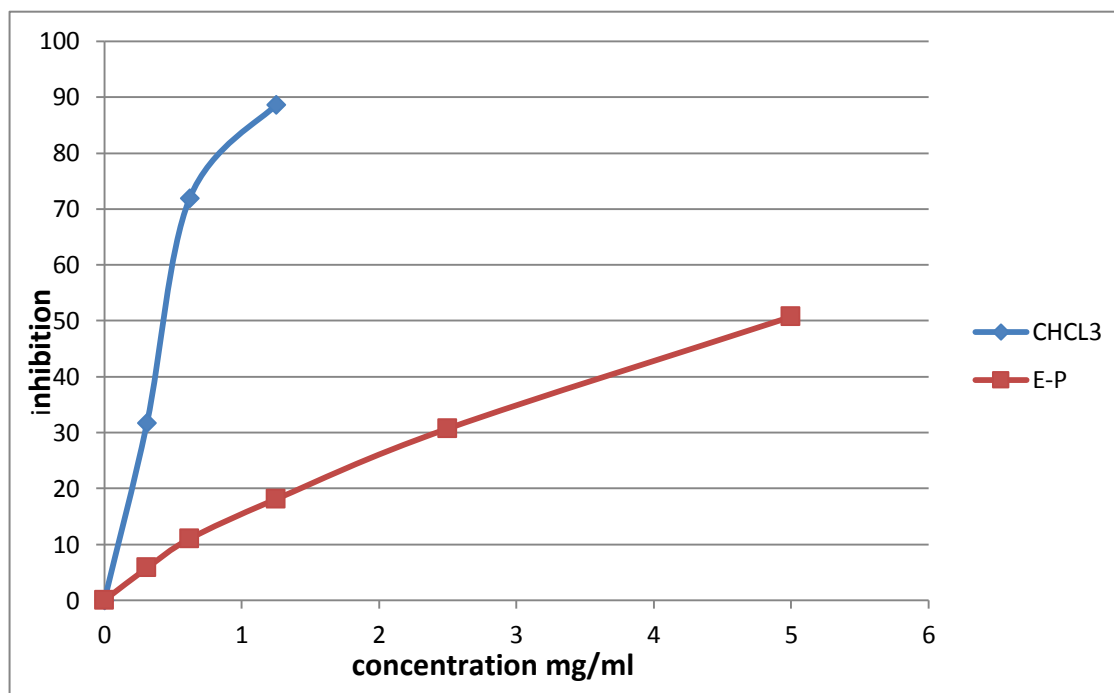


Figure. 2. Abts activité de piégeage des radicaux

Tableau 1 : DPPH et ABTS. + propriétés de piégeage de l'extraits de chloroforme (CHCl₃) et l'éther de pétrole (EP) de *Thymelaea microphylla* exprimée en capacité Trolox équivalent antioxydant (TEAC, TE pmol / g) dans l'extrait (E) et végétale Matériel (PM) poids sec (DW).

Solvents	Extract rendement, % (w/w)	TEAC ($\mu\text{mol/g}$) dans ABTS ^{•+}		TEAC ($\mu\text{mol/g}$) dans DPPH [•]	
		E	PM	E	PM
CHCl ₃	0.16	1945.48±28	3.11	223.2±0.2	0.35
PE	0.120	214.19±2,69	0.25	133.2±0.4	0.15

V. 3. 4. Test de Ferrique réduire / pouvoir antioxydant (FRAP)

le test de FRAP mesure le potentiel de réduction d'un antioxydant réagir avec le complexe tripyridyltriazine ferrique [Fe³⁺ + -TPTZ] et produire une couleur tripyridyltriazine ferreux [Fe²⁺ + -TPTZ] [25]. L'essai de FRAP évalue les antioxydants dans l'échantillon en tant que agents de réduction dans une réaction colorimétrique redox lié [08].

Dans la présente étude, les tendances pour l'activités réductrices de l'ion ferrique des extraits d'éther de pétrole et le chloroforme sont présentés sur la figure 03. L'absorbance de T. extrait de microphylla clairement augmenté, en raison de la formation du complexe [Fe²⁺ + -TPTZ] avec une concentration croissante. Les extraits ont montré une augmentation de pouvoir réducteur ferrique avec la concentration accrue .

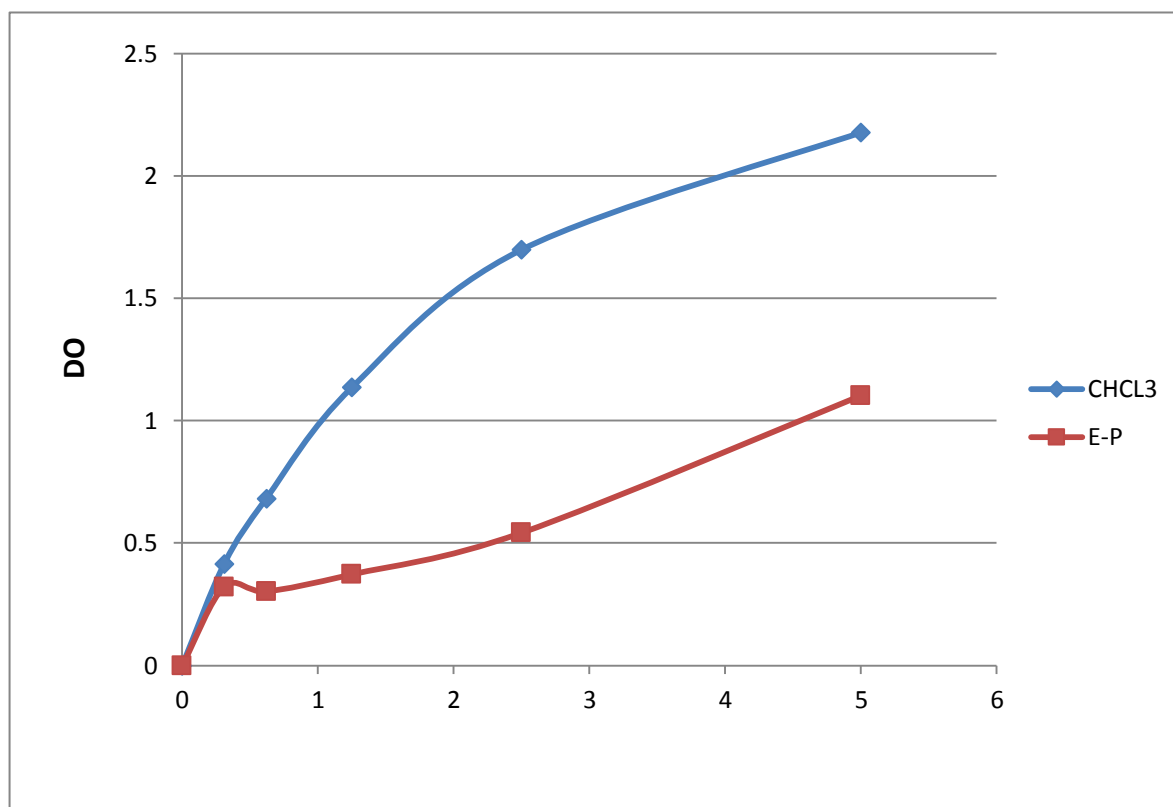


Figure. 3. FRAP Assay

Tableau 2 : ferrique réduire pouvoir antioxydant (FRAP) et le contenu en composés phénoliques totaux (TPC) des extraits chloroforme (CHCl₃) et le pétrole éther (EP) de de *Thymelaea microphylla*, exprimée en équivalent Trolox capacité antioxydante (TEAC, TE μmol / g) et les équivalents de l'acide gallique (TPC, mg GAE / g), respectivement.

Solvent	rendement, % (w/w)	TPC		TEAC _{FRAP}	
		E	PM	E	PM
CHCl ₃	0.164	156.15±1.89	0.25	209.67±0.56	0.34
PE	0.128	80.16±1.89	0.10	223.11±3.39	0.28

V. 3. 5. Photoisomérisation du tiliroside

Tiliroside était soumis à une Photoisomérisation avec l'utilisation des UV (photophysique appliquée SEMI MICRO photochimique réacteur). Cis-tiliroside isomère était au début de 3% dans le mélange de cis et trans tiliroside, la photoisomérisation de tiliroside en utilisant une lampe UV 365 nm dans une période de 20 min nous a conduit à la cis-tiliroside à 15%. La photoisomérisation de tiliroside en utilisant la lampe 254 nm dans une période d'une heure (60 minutes) nous a conduit à cis-tiliroside avec 19%, dans la dernière, la photoisomérisation de tiliroside utilisant la lampe à 365 nm dans une période de 01 heures nous a conduit à la cis-tiliroside 30%. En conclusion, la lampe UV 365nm a une bonne influence sur l'isomérisation que la lampe UV 254 nm.

V. 3. 6. Activité antioxydante *in vitro* du tiliroside

Les flavonoïdes et leurs glycosides ont suscité un intérêt considérable en raison d'une grande variété d'activités biologiques, tels comme anti-oxydant [09], antiplasmodium [10], cytotoxiques [11], anti-inflammatoires [12] et antidiabétique [13].

Cependant, aucune étude n'a été publiées dans la photoisomérisation d'un flavonoïde et également pour l'évaluation de leur activité biologique après la photoisomérisation, dans cette étude, nous avons travaillé sur la photoisomérisation avec lampes UV d'une trans-tiliroside qui a permis nous obtenons un mélange de cis-trans tilirosides avec proportion (70%, 30%) respectivement, ces deux produits ont subi d' une évaluation de l'activité antioxydante (DPPH, ABTS, FRAP).

Concentration (mg/ml)	DPPH inhibition (%)		ABTS inhibition (%)		FRAP (OD)	
	<i>trans</i> -tiliroside	mixture	<i>trans</i> -tiliroside	mixture	<i>trans</i> -tiliroside	mixture
0.31	4.90	1.70	6.98	28.20	-	0.110
0.62	7.39	2.91	12.78	50.99	0.110	0.133
1.25	7.60	4.90	23.69	71.98	0.123	0.176
2.5	10.55	8.47	34.60	87.60	0.156	0.268
5	14.54	13.17	49.56	92.16	0.217	0.39
10	21.82	21.41	57.41	97.05	0.309	0.406

Tableau 3: Les rendements et les caractéristiques anti-oxydantes de tiliroside et de cis-trans tilirosides avec proportion (70%, 30%) respectivement, les valeurs sont exprimées en $\mu\text{mol TE / g d'extract}$.

Composé	rendement, % (w/w)	ABTS ⁺	DPPH [•]	FRAP
tiliroside	24.39	152.64±2.19	36.5±0.69	28.37±1.02

<i>trans-cis</i> tilirosie (70%,30%)	0.24	261.90±4.67	38.32±2.07	18.46±0.49
---	------	-------------	------------	------------

Conclusions

En conclusion, l'extraits de chloroforme de *T. microphylla* a une teneur élevée en composés phénoliques et d'un bon antioxydant l'activité, donc elles peuvent être utilisées pour traiter plusieurs maladies dans lesquelles il ya une augmentation de la production de radicaux libres.

Toutefois, les substances phénoliques peuvent être responsables de l'activité antioxydante de l'extrait de chloroforme. Par conséquent, notre investigation chimique précédente a montré que l'extrait chloroformique a plusieurs composés phénoliques et cela confirme la forte teneur des composés phénoliques et la bonne activité antioxydante de cet extrait,

la photoisomerozation a montré que le cis-trans tilirosides (70% de 30%) a une bonne activité antioxydante par rapport à trans-tiliroside.

REFERENCES

- [01] Lisu, W., Jui-Hung, Y., Hsiao-Ling, L., Wul M. J., **2003**, Antioxidant effect of methanol extracts from *Lotus Plumule* and *Blossom* (*Nelumbo nucifera* Gertn). *Journal of food and Drug Analysis*. 11(1): 60-66.
- [02] De-reynal, B., Multon, J-L., **2009**, Additif et auxiliaire de fabrication dans les industries agroalimentaires 4^{ème} ed. Paris Tec et Doc Lavoisier.
- [03] Brand-Williams, W., Cuvelier, M., & Berset, C., **1995**, Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, *LWT-Food Sci. Technol.*, 28, 25–30.
- [04] Pellegrini, Re, R., Proteggente, R. N., Pannala, A., Yang, A. M., & Rice-Evans, C., **1999**, Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231–1237.
- [05] Benzie, F. F., & Strain, J. J., **1996**, the ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of ‘antioxidant power’: The FRAP assay, *Analytical Biochemistry*, 239, 70–76.
- [06] Silva, C. G., Herdeiro R. S., Mathias, C. J., Panek A. D., Silveira, C. S., Rodrigues V. P., **2005**, Evaluation of antioxidant activity of Brazilian plants, *Pharmacol. Res*; 52, 229-233.
- [07] Wu, L. C., Hsu, H. W., Chen, Y. C., Chiu, C. C., Lin, Y. I., Ho, J. A., **2006**, Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya, *Food Chemistry*; 95, 319–327.
- [08] Guo, C., Yang, J., Wei, J., Li, Y., Xu, J., Jiang, Y., **2003**, Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions as determined by FRAP assay, *Nutrition Research*, 23, 1719-1726.
- [09] Han, J.T., Bang, M.H., Chun, O.K., Kim, D.O., Lee, C.Y., Baek, N.I., **2004**, Flavonol glycosides from the aerial parts of *Aceriphyllum rossii* and their antioxidant activities, *Arch Pharm Res*, 27:390–5.
- [10] Andayi, A.W., Yenesew, A., Derese, S., Midiwo, J.O., Gitu, P.M., Jondiko, O.J., **2006**, Antiplasmodial flavonoids from *Erythrina sacleuxii*, *Planta Med*, 72:187–9.
- [11] Xie, Y.Y., Yuan, D., Yang, J.Y., Wang, L.H., Wu, C.F., **2009**, Cytotoxic activity of flavonoids from the flowers of *Chrysanthemum morifolium* on human colon cancer cells. *J Asian Nat Prod Res*, 11:771–8.

[12] Orhan, D.D., Küpeli, E., Yesilada, E., Ergun, F., **2006**, Anti-inflammatory and antinociceptive activity of flavonoids isolated from *Viscum album ssp. Album*. *Z. Naturforsch*, 61c:26–30.

[13] Zhu, Y., Zhang, Y., Liu, Y., Chu, H., Duan, H., **2010**, Synthesis and biological activity of trans-tiliroside derivatives as potent anti-diabetic agents. *Molecules*, 15:9174–83.

[14] Said Noamane, L., Zellagui, A., Mesbah, K., Gherraf, N., Lahouel, M., Rhouati, S., **2010**, *Der Pharmacia Lettre*, 2(5), 428-431.

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 *thymelaea* et *linaria*: *Thymelaea microphylla* et *linaria aegypticaea* appartenant à la flore algérienne.

Notre choix pour ces deux espèces est justifié par l'endémisme de ces deux plantes et le fait que ces deux plantes ont un très peu études d'investigations phytochimiques.

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, HSQC, HMBC, ainsi que la spectrométrie de masse IE et ES.

L'étude phytochimique menée sur *Thymelaea microphylla* a permis l'obtention de treize produits purs. Parmi lesquels nous avons établi à l'heure actuelle la structure de dix produits.

Tous ces composés sont isolés pour la première fois de cette plante, cinq composés sont originaux pour le genre. Deux composés sont nouveaux 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 *Thymelaea* et de la flore algérienne.

Ces composés sont indiqués ci-dessous :

- ✓ **Vanilline.**
- ✓ **(+)-syringaresinol.**
- ✓ **Daphnoretine.**
- ✓ **L'acide caféique.**
- ✓ **8-hydroxylinalol.**
- ✓ **Chrysoeriol.**

- ✓ **ladaneine.**
- ✓ **Luteoline.**
- ✓ **Trans-tiliroside.**
- ✓ **Cis-tiliroside.**

Dans l'étude phytochimique de l'espèce *linaria aegypticaea*, nous avons pu isoler et Identifier sept produits dont cinq sont nouveaux pour le genre, et qu'un composé est décrit pour la première fois dans la famille de Scrophulariaceae. 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 *linaria aegypticaea* du genre *linaria* et de la famille de Scrophulariaceae. Ces produits sont :

- ✓ **Acacetin.**
- ✓ **(+)-Syringaresinol.**
- ✓ **3-hydroxy-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl) propan-1-one.**
- ✓ **Scutellarein 4'methyl ether.**
- ✓ **Diosmetine.**
- ✓ **9 β -hydroxyparthenolide.**
- ✓ **3- β - D (+) glucopyranosyl β -sitostérol.**

En effet, cette étude phytochimique de ces deux plantes a été tout a fait originale, elle nous a permis d'identifier la structure de dix-sept produits de deux espèces : *T. microphylla* et *L. aegypticaea*, dont cinq sont rencontrées pour la première fois dans le genre *Thymelaea* et deux composés sont nouveaux pour la famille de Thymelaeaceae et cinq pour le genre *linaria* et qu'un composé est décrit pour la première fois dans la famille de Scrophulariaceae..

Le potentiel antiradicalaire des extraits isolés a été déterminé par la méthode du DPPH \cdot , ABTS et FRAP Les résultats ont montré que ces extraits possèdent une moyenne activité antioxydante.

ABSTRACT

This work is devoted to the phytochemical study of two plants, *Thymelaea microphylla* Coss. et Dur. and *linaria aegyptiaca*, belonging to the family Thymelaeaceae and scrophulariaceae respectively. These two families are known for their richness in various secondary metabolites. The objective of this work is the determination of the structures of molecules isolated from these plants, and the evaluation of the antioxidant activity of the major product (tiliroside) which was isolated from the ethyl acetate phase of *Thymelaea microphylla* extract and plant extracts of this plant.

Several chromatographic methods were used in our experimental work which allowed us to isolate thirteen products from polar and semi polar phases of *Thymelaea microphylla* Coss. et Dur. extracts among which seven were identified and fully described. The phytochemical study of *linaria aegyptiaca*, allowed us to isolate ten products. The structures of seven were identified and fully described. All these structures were described for the first time for the two species.

The methodology of purification was essentially based on the combination of different solid-liquid chromatographic methods on different media (thin layer chromatography (TLC), chromatography on silica column, high performance liquid chromatography (HPLC)).

The structural determination of the isolated secondary metabolites was carried out thanks to the use of physicochemical and spectroscopic techniques including ultraviolet spectroscopy (UV), mass spectroscopy (MS) and magnetic resonance spectroscopy (NMR).

For NMR spectroscopy, the dimensional techniques (^1H , ^{13}C , DEPT, J mod) and two-dimensional (COSY, HSQC, HMBC) which we used, we were able to realize the final structure determination and unequivocal most secondary metabolites isolated.

From a biological point of view, the various extracts *Thymelaea microphylla* have an average antioxidant activity. the chloroform extract can be considered a major antioxidant and study can be deepened for therapeutic applications.

Keywords : *Thymelaea microphylla*, *linaria aegyptiaca*, antioxidant activity.

ملخص

يعتمد هذا العمل على الدراسة الفيتوكيميائية للنوعين *Thymelaea microphylla* Coss. et Dur من عائلة Thymelaeaceae و *linaria aegyptiaca* التي تنتمي الى عائلة scrophulariaceae هاتين العائلتين معروفتين بوفرتهم بمختلف أنواع الأيض الثانوي. الهدف من هذا العمل هو تحديد صيغ المركبات المفصولة وكذلك تقييم النشاط المضاد للتأكسد للمركب الرئيسي (tiliroside) الذي تم عزله من مستخلص خلاص الإيثيل ل *Thymelaea microphylla* و كذلك المستخلصات الخامة لهاته النبتة.

منهجية التنقية استندت أساسا على الجمع بين مختلف أساليب الفصل الكروماتوجرافي الصلبة والسائلة في وسائل الدعائم المختلفة (طبقة رقيقة للفصل اللوني (TLC)، الفصل اللوني السائل على عمود السيليكا عالية الأداء ((HPLC).

اعتمادا على طرق الفصل الكروماتوجرافية تم فصل ثلاثة عشرة مركبا من الطورين القطبي و اللاقطبي للنبتة *Thymelaea microphylla* حيث تم تحديد الصيغ البنوية لعشرة مركبات.

فيما يخص نبتة *linaria aegyptiaca* , فقد تمكنا من فصل عشرة مركبات حيث تم تحديد الصيغ البنوية لسبعة مركبات. كل هاته المركبات فصلت لأول مرة من هذين النوعين

تحديد بنية المركبات تم بالاستعانة بطرق التحليل الطيفي و بشكل بارز، مطيافية الأشعة فوق البنفسجية , مطيافية الكتلة بتقنيات التأين المختلفة و مطيافية الرنين المغناطيسي بجميع أنواعها

بالنسبة لمطيافية الرنين المغناطيسي, التقنيات الاحادية (^1H , ^{13}C , DEPT, Jmod) والثنائية (COSY, HSQC, HMBC) الذي أسميناه, سمحوا لنا بتحديد البنية النهائية وبشكل لا لبس فيه لأغلبية المركبات

من الناحية البيولوجية فان مختلف مستخلصات نبتة *Thymelaea microphylla* تملك فعالية بيولوجية متوسطة، مستخلص الكلوروفورم يمكن اعتباره أحد مضادات الأكسدة الرئيسية والدراسة يمكن تعميقها للتطبيقات العلاجية.

الكلمات المفتاحية: *linaria aegyptiaca* , *Thymelaea microphylla* مضادات الأكسدة.

RESUME

Ce travail est consacré à l'étude phytochimique de deux plantes, *Thymelaea microphylla* Coss. et Dur. et *linaria aegyptiaca* appartenant respectivement aux familles Thymelaeaceae et scrophulariaceae. Ces deux familles sont connues pour leur richesse en divers métabolites secondaires. L'objectif du présent travail est la détermination des structures des molécules isolées à partir de ces deux plantes, ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante du produit majoritaire (tiliroside) qui a été isolé de l'extrait acétate d'éthyle de *Thymelaea microphylla* et des extraits végétaux de cette plante.

Les différentes méthodes chromatographiques de séparation utilisées dans notre expérimentation ont permis l'isolement de treize produits des phases polaires et apolaire de *Thymelaea microphylla* Coss. et Dur et la détermination structurale de dix d'entre eux. Concernant l'espèce *linaria aegyptiaca*, cette étude a permis l'isolement de onze produits et la détermination structurale de sept d'entre eux. Tous ces composés sont isolés pour la première fois des deux espèces.

La méthodologie de purification a été essentiellement fondée sur la combinaison de différentes méthodes chromatographiques solide-liquide sur différents supports (chromatographie sur couche mince (CCM), chromatographie sur colonne de silice, chromatographie liquide de haute performance (CLHP)).

La détermination structurale des métabolites secondaires isolés a été réalisée grâce à l'utilisation de techniques physicochimiques et spectroscopiques incluant la spectroscopie ultraviolette (UV), la spectroscopie de masse (SM) et la spectroscopie de résonance magnétique (RMN).

Pour la spectroscopie RMN, les techniques monodimensionnelles (^1H , ^{13}C , DEPT, Jmod) et bidimensionnelles (COSY, HSQC, HMBC) auxquelles nous avons fait appel, nous ont permis de réaliser la détermination structurale définitive et sans équivoque de la plupart des métabolites secondaires isolés.

D'un point de vue biologique, les différents extraits de *Thymelaea microphylla* possèdent une moyenne activité antioxydante. L'extrait chloroformique peut être considéré comme un agent antioxydant de premier plan et leur étude peut être approfondis en vue d'applications thérapeutiques

Mots clés : *Thymelaea microphylla*, *linaria aegyptiaca*, activité antioxydante.