

REPUBLIQUE ALGÉRIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE
LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ MENTOURI CONSTANTINE
FACULTÉ DES SCIENCES EXACTES
DÉPARTEMENT DE CHIMIE

N°D'ordre :

Série :

Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de Magister

En Chimie Organique

Option : Substances naturelles

RECHERCHE ET DÉTERMINATION STRUCTURALE
DES MÉTABOLITES SECONDAIRES DE
SANTOLINA CHAMAECYPARISSUS L .

Présentée Par : BENTABET OUISSAF sous la direction du Pr : F. BENAYACHE

Ep : DJOUABLIA

Devant le jury :

Président :	S. BENAYACHE	Pr	Univ. Mentouri de Constantine
Rapporteur :	F. BENAYACHE	Pr	Univ. Mentouri de Constantine
Examineurs :	A. BOUREGHDA	M.C	Univ. Mentouri de Constantine
	R. MEKKIOU	M.C	Univ. Mentouri de Constantine
	R. SEGHIRI	M.C	Univ. Mentouri de Constantine

SOUTENU LE 9 JUILLET 2008

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

- ↪ Mes chers parents qui m'ont aidée à être ce que je suis avec tant d'amour et d'affection.
- ↪ Mon cher mari qui m'a beaucoup aidée pendant la réalisation de ce travail.
- ↪ Mes chères sœurs : Wafa, Widad, Hamida, qui m'ont encouragée.
- ↪ Ma belle mère et mon beau père, qui m'ont soutenue.
- ↪ Ma princesse Dina Abir et a mes puces Yacine, Mohamed Ali , AbdErrahmen, Melak et Amina.
- ↪ Ma grand mère, que dieu la protège.
- ↪ lizia, Warda, Mohamed et charef.
- ↪ Redha et Chawki.
- ↪ Je remercie Dieu qui m'a donné la force et la volonté pour terminer ce travail.

Remerciements

Ce travail a été réalisé au laboratoire de Phytochimie et Analyses Physico-Chimiques et Biologiques, Faculté des Sciences Exactes, Université Mentouri de Constantine, sous la direction de madame le Professeur F. Benayache, que je tiens à remercier pour son sa gentillesse, sa patience, son aide et ses conseils qui ont donné vie à ce travail.

- Je remercie monsieur S. Benayache, Professeur à l'université Mentouri de Constantine, pour l'honneur qu'il me fait en acceptant de présider le jury de soutenance et les conseils qu'il m'a prodigués tout au long de ce travail.

- Je remercie mademoiselle R. Mekkiou, Maître de conférences pour sa gentillesse et pour l'honneur qu'elle me fait en acceptant de juger ce travail.

- Je remercie spécialement monsieur R. Seghiri, Maître de conférences pour son aide, ses conseils, ses encouragements et pour avoir accepter de juger ce travail.

- Je remercie monsieur A. Boureghda , Maître de conférences pour avoir accepter de juger ce travail.

- Je ne saurai oublier de remercier madame le Professeur A. Lobstein et le Docteur M. Chaabi de la faculté de pharmacie de l'université Louis Pasteur de Strasbourg pour l'enregistrement des spectres de masse et de RMN du composé F₂₆ et monsieur la Professeur P. Mosset de l'école nationale de chimie de Rennes pour l'enregistrement des spectres de masse et de RMN du composé F₂₅.

- Ma sincère gratitude est adressée à : Madame O. Boumaza, Maître de conférences pour sa bonne humeur, à madame H. Touahar pour sa gentillesse et ses conseils et monsieur M. Bouhroume.

- J'exprime toute ma reconnaissance à mes amies et mes collègues de la promotion.

-Je remercie infiniment mes amies : Hassina, Leila, Sabrina, Assia, Wassima, B. Hanene, Z. Hanene, Samia, Sana, Loubna, Fatima, Sara, Ilham.

Avertissement

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

^{13}C	carbon 13
^1H	proton
HSQC	Heteronuclear Simple Quantum Correlation
HMBC	Heteronuclear Multiple Bonding Connectivity
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
MS	Spectrométrie de Masse
UV	Ultra Violet
EI	Electronic Ionisation
HR	Haute Résolution
$J(\text{Hz})$	constante de couplage exprimée en hertz
s	singulet
d	doublet
dd	doublet de doublet
l	large
t	triplet
Cq	Carbone quaternaire
CCM	Chromatographie sur Couches Minces

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I Description et classification botanique de <i>Santolina</i>	2
<i>chamaecyparissus</i> L.....	3
I-1-Aspect sbotaniques.....	4
I-1-1-Taxonomie.....	4
I-1-1-1-Caractères diagnostiques	5
I-1-1-2-Description de <i>Santolina Chamaecyparissus</i>	5
I-2-Acivité biologique de <i>Santolina Chamaecyparissus</i>	7
I-3Les travaux phytochimiques antérieurs sur <i>S. chamaecyparissus</i> 8	
➤ Les flavonoïdes	8
➤ Les sesquiterpènes	11
➤ Les huiles essentielles.....	15
CHAPITRE II Les composés flavonoïdiques et polyacetylés.....	17
II-1-Flavonoides.....	18
II-1-1-Structure chimique.....	18
II-1-2-Origine biosynthétique des flavonoïdes :	23
a)-La biosynthèse de la chalcone à partir de l'acide shikimique :.....	24
b)-La formation du Malonyl CoA 72 partir du Acétyle CoA 71 et CO ₂ 26	
c)-La condensation des trois malonyl-CoA avec 4-coumaroyl-CoA.....	27
d)-La biosynthèse des squelettes flavoniques à partir de la chalcone.28	
II-1-3-Activités biologique des flavonoïdes	29
II-1-3-1-Pharmacocinétique	29
II-1-3-2-Propriétés antioxydants et piègeurs de radicaux libres29	
II-1-3-3-Propriétés inhibitrices d'enzymes	30

II-1-3-4-Effets protecteurs vasculaires	31
II-1-3-5-Propriétés antihépatotoxiques	31
II-1-3-6-Propriétés antiallergiques..	32
II-1-3-7-Activité anti-inflammatoire	32
II-1-3-8-Activité anti-ulcérogène	33
II-1-3-9-Flavonoïdes et NO	33
II-1-3-10-Autres effets biologiques	34
II-1-4 Alimentation riche en flavonoïdes et prophylaxie des maladies cardio-vasculaires et des cancers	35
II-1-5- Quelques sources naturelles de flavonoïdes	36
II-1-6- Toxicité	37
II-1-7-Etude chimique des flavonoïdes	37
II-1-7-1-La chromatographie	37
a-La chromatographie sur colonne	37
b-La chromatographie sur papier	37
c- Chromatographie sur couche mince (C.C.M)	38
II-1-7-2-Les méthodes d'analyse	38
a- La fluorescence:	38
b- LA spectrométrie UV- visible	39
II-2-les dérivés polyacétyléniques.....	39
II-2-1-les caractéristiques des polyacétylènes	40
II-2-2-Le Rôle bioactif des polyacétylènes	46
II-2-3-Etude chimique des polyacétylènes	49
 CHAPITRE III Partier Experimental.....	 50
III-1-Travaux personnels :.....	51

III-1-1-Extraction de <i>Santolina chamaecyparissus</i> L	51
III-1-2- La chromatographie sur colonne.....	54
III-1-3- Séparation et purification des fractions sélectionnées..	60
1-La fraction f27	60
2-La fraction f26.....	60
3-La fraction f20	61
4-La fraction f9	61
III-1-4-L'hydrolyse acide des glycosides	61
III-1-4-1-Récupération des composés flavoniques.....	62
III-1-4-2-Analyse des sucres par C.C.M	62
-Préparation des échantillons	62
-Préparation des plaques	62
-Conditions d'analyse	62
III-1-5-conclusion	63
CHAPITRE IV Résultats et Discussions.....	63
IV-1- IDENTIFICATION DU COMPOSE F ₂₀₋₁	64
IV-2- IDENTIFICATION DU COMPOSE F _{9-d}	75
IV-3- IDENTIFICATION DU COMPOSE F ₂₅	82
IV-4- IDENTIFICATION DU COMPOSE F ₂₆	98
Conclusion	111
Référence Bibliographique.....	113
Conclusion général.....	126

INTRODUCTION:

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en dermatopharmacie. Parmi ces composés on retrouve dans une grande mesure les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapeutique. La Pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche trouve chez les plantes des molécules actives nouvelles, ou des matières premières pour la semi-synthèse.

Les remèdes traditionnels à base de plantes ont longtemps été employés sans savoir à quoi étaient dues leurs actions bénéfiques. L'isolement de principes actifs datant du XIX^{ème} siècle, grâce à l'amélioration des techniques de séparation et le progrès phénoménal de l'analyse physico-chimique a séparé progressivement parfois opposé une phytothérapie traditionnelle souvent empirique avec une thérapeutique officielle incluant les principes chimiques et végétaux dont la pharmacologie était mieux connue. Cette thérapeutique officielle accepte parfois avec une certaine méfiance l'emploi des végétaux ou d'extraits complexes de végétaux dont l'action est confirmée par l'usage sans être attribuée de façon certaine à une molécule type.

En Algérie la liste des plantes entrant précisément dans ce cadre est importante et comme elles sont utilisées sous forme des tisanes, d'extraits ou préparations complexes, il reste difficile de définir les molécules responsables de l'activité bien que certains effets pharmacologiques prouvés sur l'animal aient été attribués à des composés tels que les alcaloïdes et leurs dérivés, des terpènes et stéroïdes et des composés polyphénoliques.

Dans ce mémoire, nous reportons les résultats de nos travaux concernant une étude chimique de la phase acétate d'éthyle de l'extrait hydroéthanolique des fleurs de *Santolina chamaecyparissus* L. (Compositae), plante couramment utilisée en phytothérapie pour ses propriétés sédatives.

Dans le premier chapitre, nous reportons la description botanique de *Santolina chamaecyparissus* L., les activités biologiques qui lui sont reconnues ainsi que les résultats de travaux antérieurs effectués sur le genre *Santolina*, notamment l'isolement et la détermination de métabolites secondaires.

Dans le deuxième chapitre, nous reportons les résultats d'études bibliographiques sur les caractéristiques biosynthétiques des composés flavonoidiques et polyacéthyléniques ainsi que leurs activités biologiques et leur étude chimique.

Dans le troisième chapitre, nous présentons les protocoles et les techniques d'analyse utilisées pour la séparation et la purification de la composante chimique de la phase étudiée.

Dans le quatrième chapitre, nous reportons la méthodologie suivie pour l'établissement des structures des composés isolés. Ce travail combine les résultats d'analyses combine des spectres d'absorption UV, de RMN mono et bidimensionnelle (¹H, ¹³C, DEPT, COSY, HSQC, HMBC et NOESY) et de spectrométrie de masse (IE, ESI) à haute et basse résolution.

Nous terminons ce mémoire par une conclusion générale, qui résume notre travail.

CHAPITRE I

Description et classification botanique de *Santolina chamaecyparissus* L.

I-1-Aspects botaniques :

I-1-1-Taxonomie :

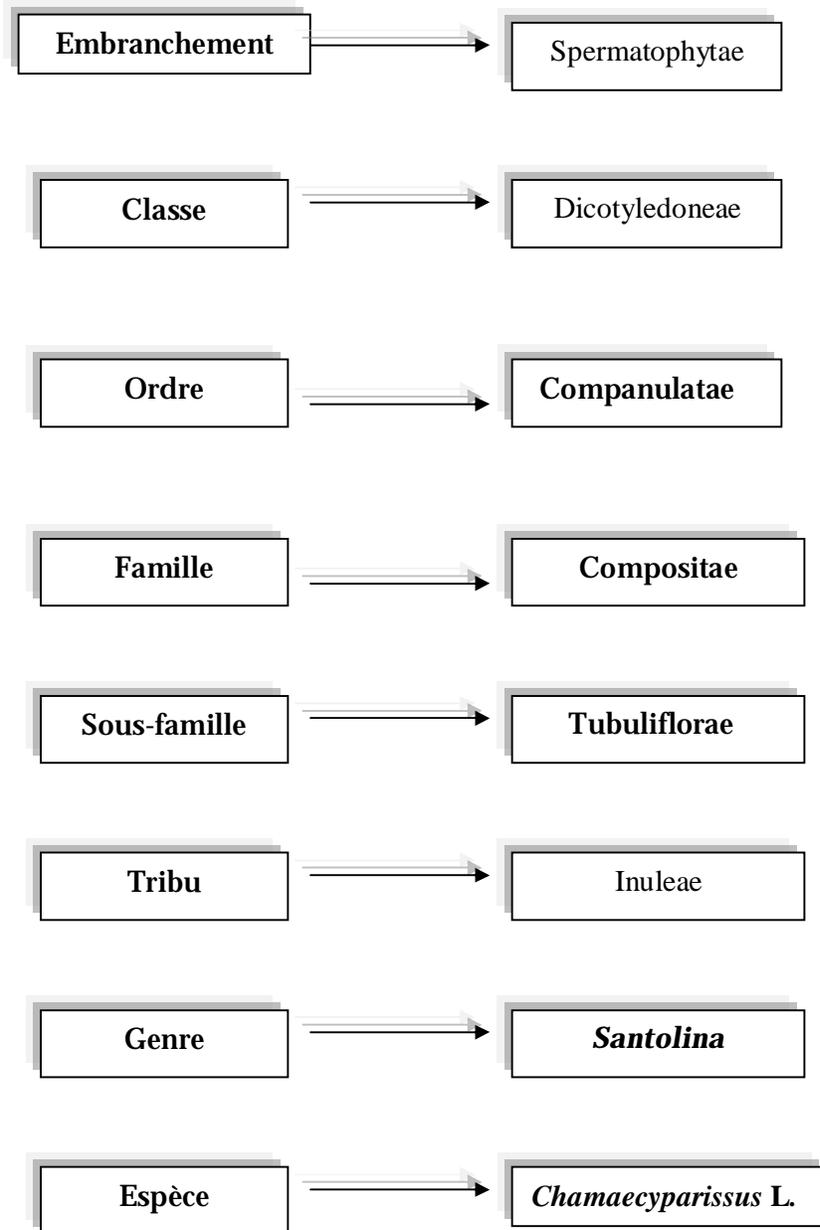


Schéma 1 : Place du genre *Santolina* dans la systématique

I-1-1-1-Caractères diagnostiques :

Les santolines sont des plantes méditerranéennes appartenant au genre *Santolina* et à la famille des astéracées (composées), dans laquelle, ce qu'on appelle couramment fleur est en réalité une inflorescence, capitule de fleurons reposant sur un involucre de bractées, ce genre comprend quelques espèces, la plus répandue étant de loin *Santolina chamaecyparissus* L . appelée *santoline ou petit-cyprès*.

I-1-1-2-Description de *Santolina Chamaecyparissus* L . :

La *Santoline* est utilisée depuis très longtemps dans les pays méditerranéens, les fleurs entrent dans la composition des bouquets secs est l'odeur de leur feuillage repousse les insectes (utilisation comme antimite), son nom populaire algérien et "el djaada" [1]. En France elle est connue sous le nom de petit -cyprès.

Cette plante forme les touffes basses de 40-60 cm de haut, les branches qui ont tendance à se coucher sont très ramifiées et leurs parties jeunes se redressent, elles portent d'innombrables petites feuilles finement découpées (voir figure 1).



Fig.1 : *Santolina chamaecyparissus* L .

Le feuillage qui, persistant et couvert d'une sorte de duvet argenté comme les jeunes rameaux, constitue l'attrait principal de la *santoline* qui par ailleurs dégage une bonne odeur aromatique, cette odeur qui rappelle celle de la lavande lui a valu le nom de lavande coton [1].

De juillet à août, les fleurs jaunes s'épanouissent, elles sont relativement petites mais nombreuses et leur couleur lumineuse produit un bel effet sur le fond plus sombre des plantes voisines, la fin de la floraison est l'occasion idéale pour tailler la plante.

La *santoline* n'est pas exigeante sur le type de sol à condition qu'il ne garde pas l'eau (sols secs); il faut par contre une exposition ensoleillée (voir figure 2, 3 et 4).

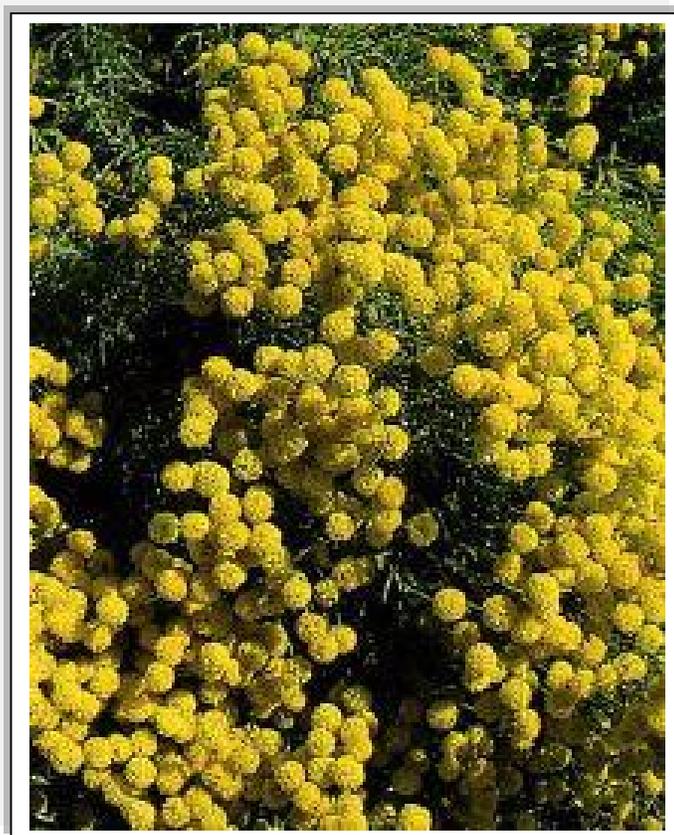


Fig.2 : *Santolina chamaecyparissus* L.



Fig.3 : Les fleurs de *S. chamaecyparissus*



Fig.4 : Les feuilles de *S. chamaecyparissus* L.

I-2-L'activité biologique de *Santolina chamaecyparissus* L.:

Santolina chamaecyparissus L. a des vertus médicinales, son huile essentielle est vendue de nos jours pour ses propriétés vermifuges, stimulantes, antispasmodiques et emménagogues [2-3]. Les huiles ont également montré un fort effet anthelminthique action contre certains types de vers, et une bonne activité antimicrobienne *in vitro* contre certaines souches de bactéries et de champignons [7]. La fleur de cette plante est utilisée en médecine populaire en raison de son effet antispasmodique, anti-inflammatoire, antiseptique et ses Propriétés antimicrobiennes [4]. Elle se prend aussi sous forme de tisane pour des problèmes digestifs [4] (Figure 5).



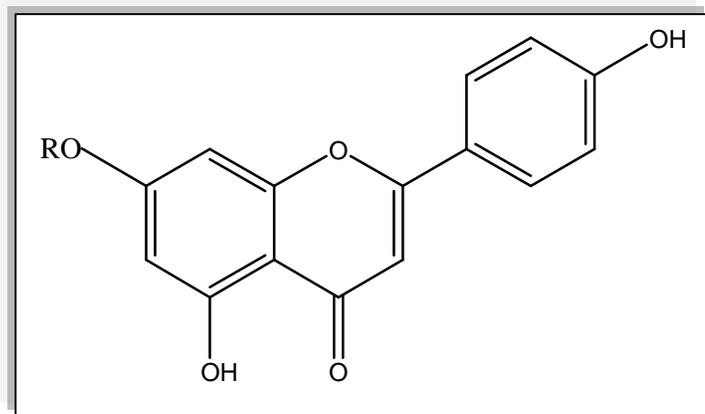
Fig.5 : *Santolina chamaecyparissus* L. comme tisane

I-3-Les travaux phytochimiques antérieurs sur *S. chamaecyparissus* :

Beaucoup de travaux ont été réalisés sur le genre *Santolina*, les études antérieures sur cette espèce reportent l'isolement de composés acétyléniques, de flavonoïdes et de sesquiterpènes ainsi que des études d'huiles essentielles.

➤ Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes isolés des feuilles de *Santolina chamaecyparissus* L. sont : Apigénine (1) et Lutéoline (5), ainsi que 6 flavonoïdes glycosylés (Apigénine 7 - rhamnoglucoside (2), Apigénine 7 - glucoside (3), Apigénine 7 - glucuronide (4), Lutéoline 7 - rhamnoglucoside (5), Lutéoline 7 - glucuronide (6) et des 7 - glycosyl Chrysoeriol) [5] (Figure 6).

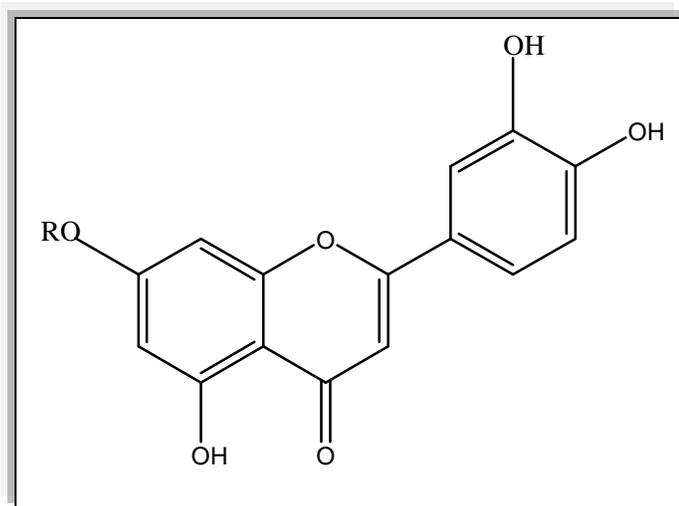


1 : Apigénine; R = H

2 : Apigénine 7 - rhamnoglucoside; R = rhamnoglucosyle

3 : Apigénine 7 - glucoside; R = glucosyle

4 : Apigénine 7 - glucuronide



5 : Lutéoline ; R = H

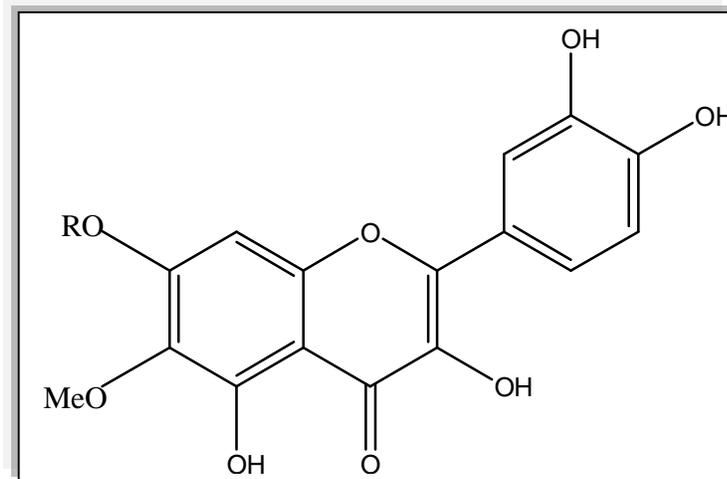
6 : Lutéoline 7 - rhamnoglucoside ; R = rhamnoglucosyle

7 : Lutéoline 7 - glucuronide

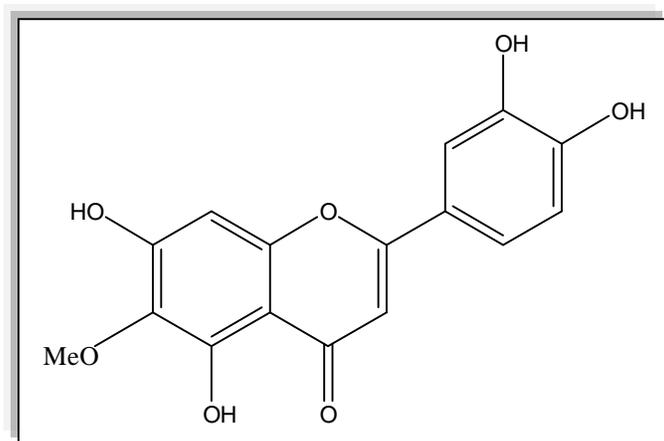
Fig. 6 : Structure des flavonoïdes 1 - 7 isolés des feuilles de *S. chamaecyparissus*

La littérature signale également l'isolement de deux autres glucosides à partir d'un extrait de *Santolina chamaecyparissus* L. se sont : Patulétine 7 - diglucoside, un nouveau flavonol glycoside (**8**), Axillarine 7 - glycoside [6] et Népétine (**9**) [8] (Figure 7).

Les aglycones correspondant et leurs glucosides sont très largement distribués dans la famille des composés.



8: Patulétine 7 - diglucoside; R = diglucosyle



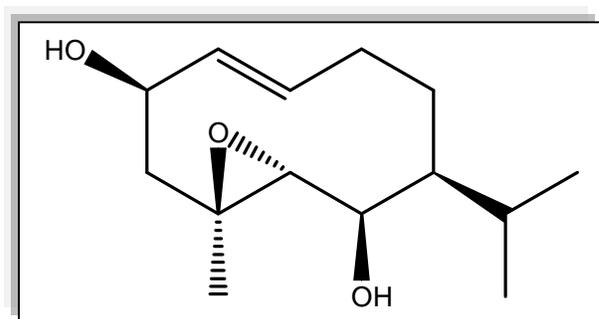
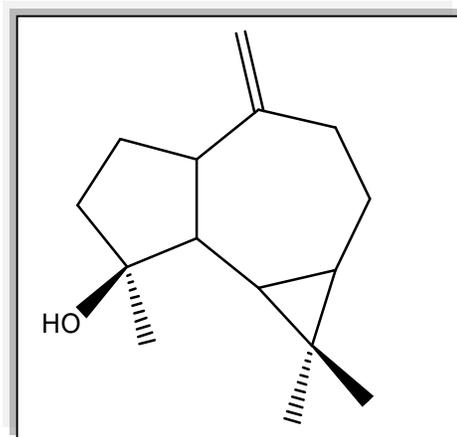
9 : Népétine

Fig. 7 : Structure des flavonoïdes **8** – **9** isolés de *S. chamaecyparissus* L .

✦ Les sesquiterpènes :

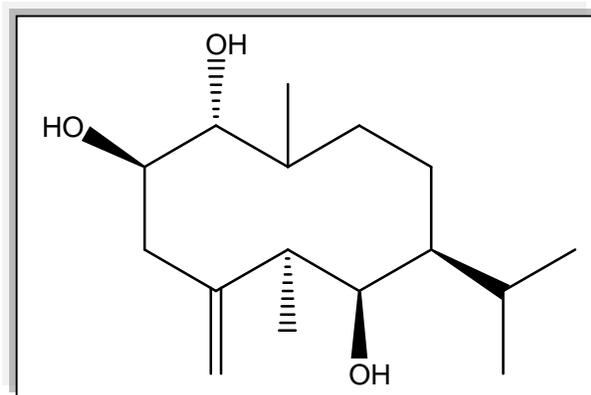
Les sesquiterpènes déterminés dans *S. chamaecyparissus* L. sont : spathulenol (**10**), (7S)-4 β , 5 α epoxygermacr-1 (10) E-en-2 β , 6 β diol (**11**), (7S)-germacra-4(15) Z, 9dien-1 α , 2 β , 5 α , 6 β -tetraol (**12**), (7S)-germacra-1(10) E, 4(15)-dien-2 β , 5 α , 6 β -diol (**13**) [8], (E)-6 β -acetoxy-7 α H-germacra-1(10),4-diene-2 β -ol (**14**), 6 β -acetoxy-5 β H, 7 α H, 10 β Me-eudesm-4(15)-ene- 1 α ,2 β -diol (**16**) isolé après dérivation sous forme d'acetonide (**16a**), (E)-6 β -acetoxy-7 α H-germacra-4,10(14)-diene-1 α ,2 β -diol (**17**) isolé après dérivation sous forme d'acetal (**17a**), (4E,9Z)-6 β -acetoxy-7 α H-germacra-4,9-diene-1 α ,2 β -diol (**18**), isolé après dérivation sous forme de 2-TBDMS (**18a**) [9] (Figures 8-10).

10 : Spathulenol

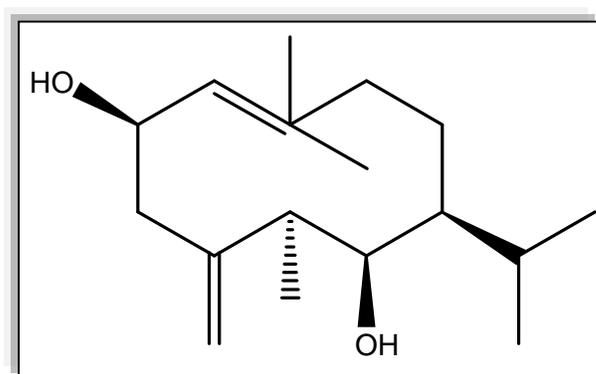


11: (7S)-4β, 5α epoxygermacr-1 (10) E-en-2β, 6βdiol

Fig.8 : Structure des sesquiterpenoïdes 10 - 11



12: (7S) germacre-4(15) Z, 9dien-1 α , 2 β , 5 α , 6 β -tetraol



13: (7S)-germacre-1(10) E, 4(15)-dien-2 β , 5 α , 6 β -diol

14: R = Ac

15: R = H

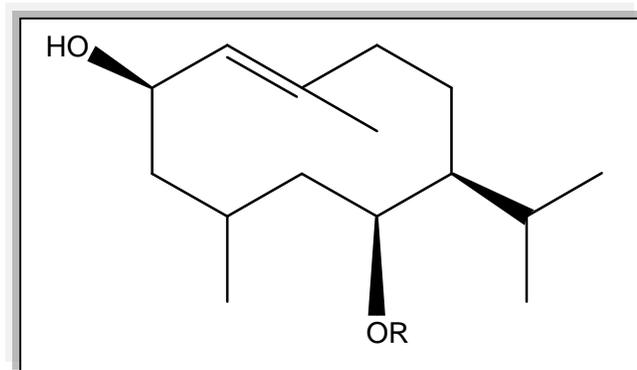
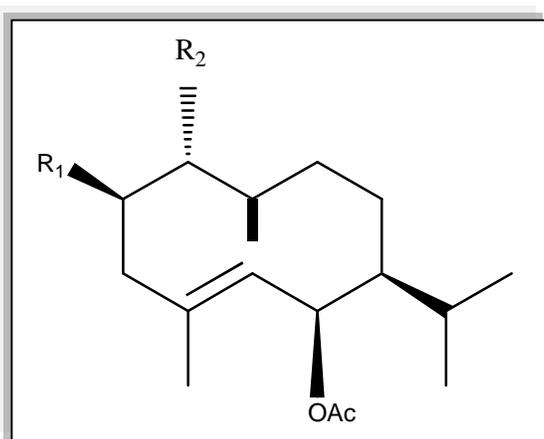
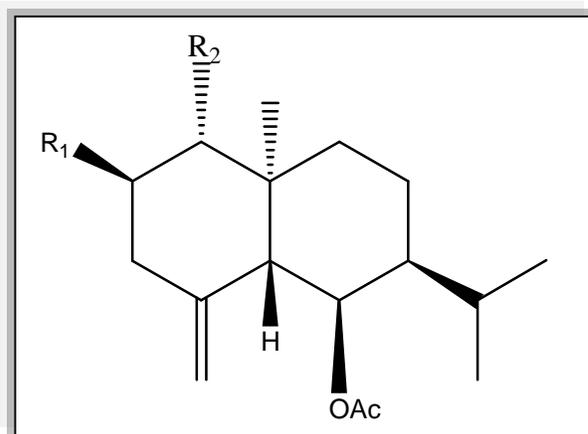


Fig.9 : Structure des sesquiterpenoïdes de 12 - 15

16: $R_1 = R_2 = \text{OH}$

16a: $R_1 = \text{O} \begin{array}{l} \diagup \text{Me} \\ \diagdown \text{Me} \end{array}$
 $R_2 = \text{O} \begin{array}{l} \diagup \text{Me} \\ \diagdown \text{Me} \end{array}$



17: $R_1 = R_2 = \text{OH}$

17a: $R_1 = \text{O} \begin{array}{l} \diagup \text{Me} \\ \diagdown \text{Me} \end{array}$
 $R_2 = \text{O} \begin{array}{l} \diagup \text{Me} \\ \diagdown \text{Me} \end{array}$

18: $R = \text{H}$

18a: $R = \text{TBDMS}$

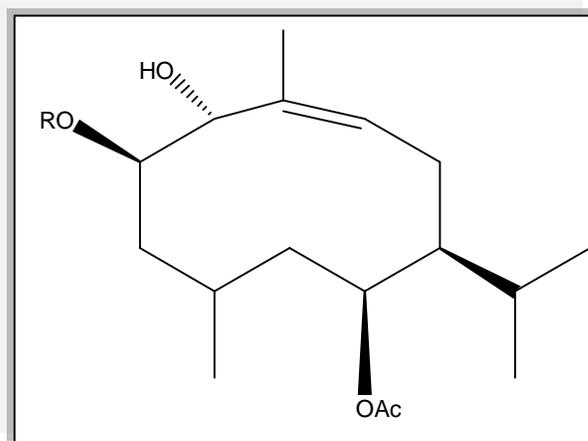


Fig.10 : Structure des sesquiterpénoïdes et leurs dérivés **16** - **18**

➤ **Les huiles essentielles :**

Plusieurs études relatives à la composition des huiles essentielles de *Santolina chamaecyparissus* L. ont été signalées, dans notre laboratoire les composés reportés dans le tableau 1, ont été déterminés dans cette huile [10] :

Composés identifiés	%	Composés identifiés	%
α -Thujène	1.46	γ -muurolène	0.46
Camphène	4.84	α -Terpinéol	0.08
Sabinène	2.88	Bornéol	0.16
Myrcène	5.44	Germacrène-D	2.35
Limonène	1.65	Phellandral	0.82
1,8-Cinéole	9.22	α -Muurolène	0.23
γ -Terpinène	2.93	Menth-1,5-dièn-8-ol	0.19
p-Cymène	1.54	Bicyclogermacrène	0.15
Terpinolène	0.75	Piéritol	0.19
Isovalérate d'amyle	0.23	Chrysanthémol	0.36
α -Copaène	1.77	δ -Cadinène	1.56
Camphène	0.48	Aldéhyde cumuniqué	0.42
Pinocamphone	0.34	Cataménène	0.17
Linalol	0.23	1,5-époxy salvial 4(14)-ène	1.78
Menth-2-èn-1-ol	0.56	Oxyde de β -caryophyllène	0.68
Pinocarvone	0.27	Phényletherpentanoate	0.23
Cis acétate de	0.50	Epi-1-cubénol	1.88
chrysanthémyle	0.08	Spathulénol	0.20
β -Cubénène	0.39	Epi- α -cadinol	6.59
β -Caryophyllène	4.13	Cubénol	0.46
Terpinène-4-ol	0.07	Epi- α -muurolol	0.24
Myrténal	0.06	β -Eudesmol	0.25
o-Aromadendérène	0.34		3.76
Pinocarvéol	0.42		
Cryptone			

Tableau 1 : Composés identifiés (%) dans l'huile essentielle de *S.chamaecyparissus* L. poussant en Algérie

CHAPITRE II

Les composés flavonoïdiques et polyacétyléniques

II-1-Flavonoïdes :

Les flavonoïdes constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels qui sont quasiment universels chez les plantes vasculaires [34]. Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux [46].

Les flavonoïdes sont rencontrés dans les fruits (notamment du genre *Citrus* où ils représentent jusqu'à 1 % des fruits frais) et les légumes. Des boissons telles que le vin rouge, le thé, le café et la bière contiennent également des quantités importantes. Les flavonoïdes sont retrouvés également dans plusieurs plantes médicinales. Des remèdes à base de plantes renfermant des flavonoïdes ont été (et sont) utilisés en médecine traditionnelle de par le monde [30].

Les travaux relatifs aux flavonoïdes se sont multipliés depuis la découverte du « French paradox », correspondant à un bas taux de mortalité cardiovasculaire observé chez des populations méditerranéennes associant une consommation de vin rouge à une prise importante de graisses saturées [69].

II-1-1-Structure chimique :

Tous les flavonoïdes dérivent de l'enchaînement benzo- γ -pyrone et peuvent être classés selon la nature des différents substituants présents sur les cycles de la molécule et du degré de saturation du squelette benzo- γ -pyrone [30].

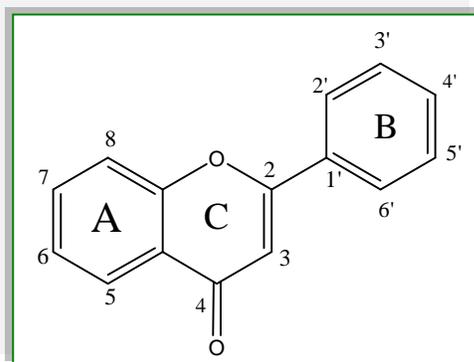


Fig. 11. Structure de l'enchaînement benzo- γ -pyrone [30]

Les flavonoïdes au sens strict sont des composés dont la substitution par un noyau benzénique se fait en position 2.

Les composés présentant une substitution en position 3 sont désignés par le terme isoflavonoïdes [22, 34].

Selon la nature de l'hétérocycle (γ -pyrone ou son dihydro-dérivé), on distingue (voir figure 2) :

- les flavones et les flavonols.
- les flavanones, les flavanols et les dihydroflavanols.

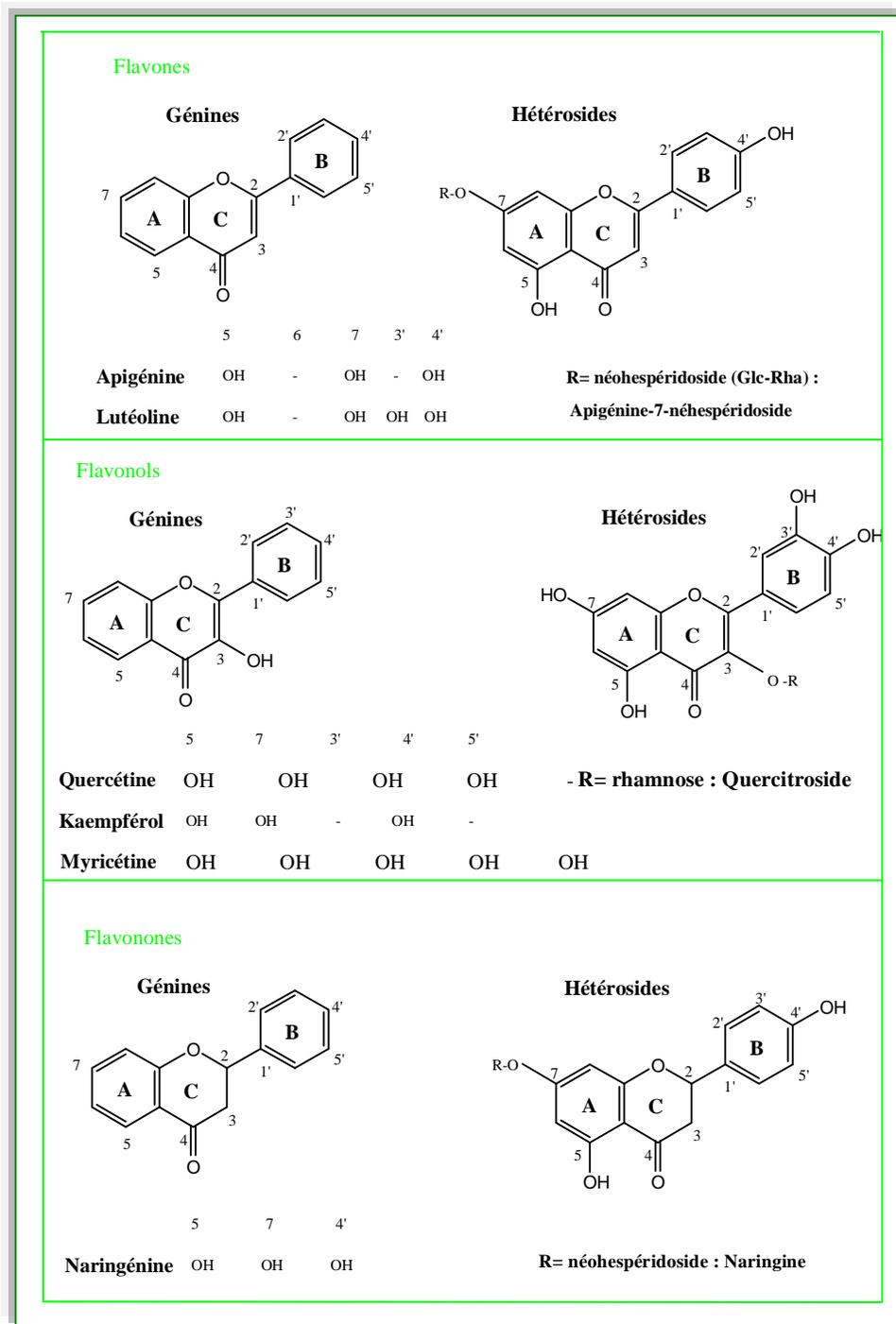
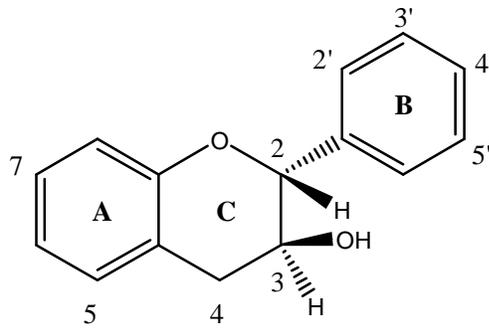


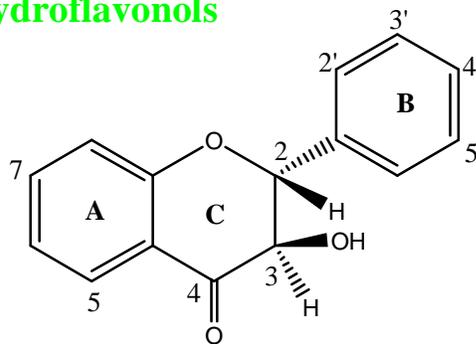
Fig. 12. Différents types structuraux des flavonoïdes

Flavanols



	5	7	3'	4'
Catéchine	OH	OH	OH	OH

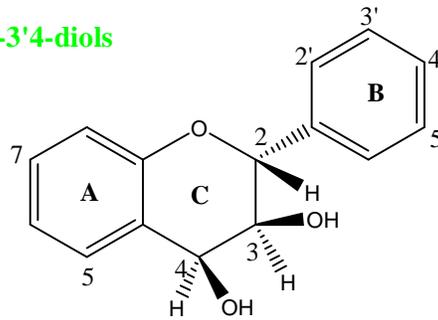
Dihydroflavonols



	5	7	3'	4'
Dihydrokaempférol	OH	OH	-	OH
Dihydroquercétine	OH	OH	OH	OH

Fig. 12. Différents types structuraux des flavonoïdes (suite)

Flavan-3'4-diols



	5	7	3'	4'
Leucopélargonidol	OH	OH	H	OH
Leucocyanidol	OH	OH	OH	OH

Isoflavone

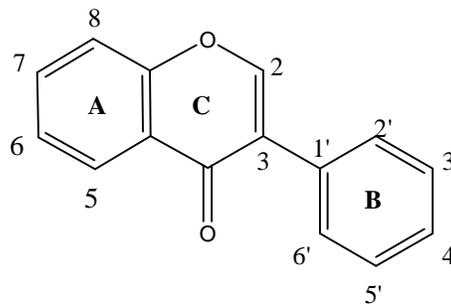


Fig. 12. Différents types structuraux des flavonoïdes (suite)

Les flavonoïdes peuvent se présenter sous forme d'aglycones ou génines (entités dépourvues de reste osidique) ou d'hétérosides (portant un ou plusieurs résidus osidiques).

Flavones et flavonols sont les composés flavonoïdiques les plus répandus dont notamment : la quercétine, le kaempférol, la myricétine et l'apigénine. Les flavanones (naringénine) et les flavanols (catéchine) ainsi que les dihydroflavonol (dihydrokaempférol, dihydroquercétine) et les dihydroflavan-3, 4-diols (leucopélargonidol, leucocyanidol) sont considérés comme des flavonoïdes minoritaires en raison de leur distribution naturelle restreinte [18, 46].

II-1-2-Origine biosynthétique des flavonoïdes :

L'origine des flavonoïdes est inscrite en filigrane dans leur structure, elle apparaît bien dans celle des chalcones condensations d'un "triacétate" (cycle A) et d'un acide cinnamique (cycle B), la condensation engendrant le cycle pyranique central [106].

Cette hypothèse a été confirmée par l'utilisation des précurseurs radiomarqués [107] et par des études au niveau enzymatique [108].

La biosynthèse des flavonoïdes se fait en plusieurs étapes clé est celle de la condensation des trois molécules de malonyl-COA avec un ester du coenzyme et d'un acide hydrocinnamique. Ces étapes peuvent être résumées comme suit :

a)-La biosynthèse de la chalcone à partir de l'acide shikimique :

Davis a confirmé en 1955 [109] le rôle de l'acide shikimique dans la formation du noyau B et la chaîne carbonique (C₃), la figure 13 explique la biosynthèse de chalcone.

Remarque :

1. les enzymes utilisées au cours de la formation de l'acide p-Coumarique :

- Aldolase, 3- désoscy-o-arabinoheptulosonate-7-phosphate synthase ou DHAP synthase.
- Déshydroquinone synthase.
- Préphénate déhydrogénase.
- Tyrosine ammonia- lyase.

2. 1 : NADPH, H⁺ et 2 : NADPH⁺.

L'ensemble se résume dans la figure 13.

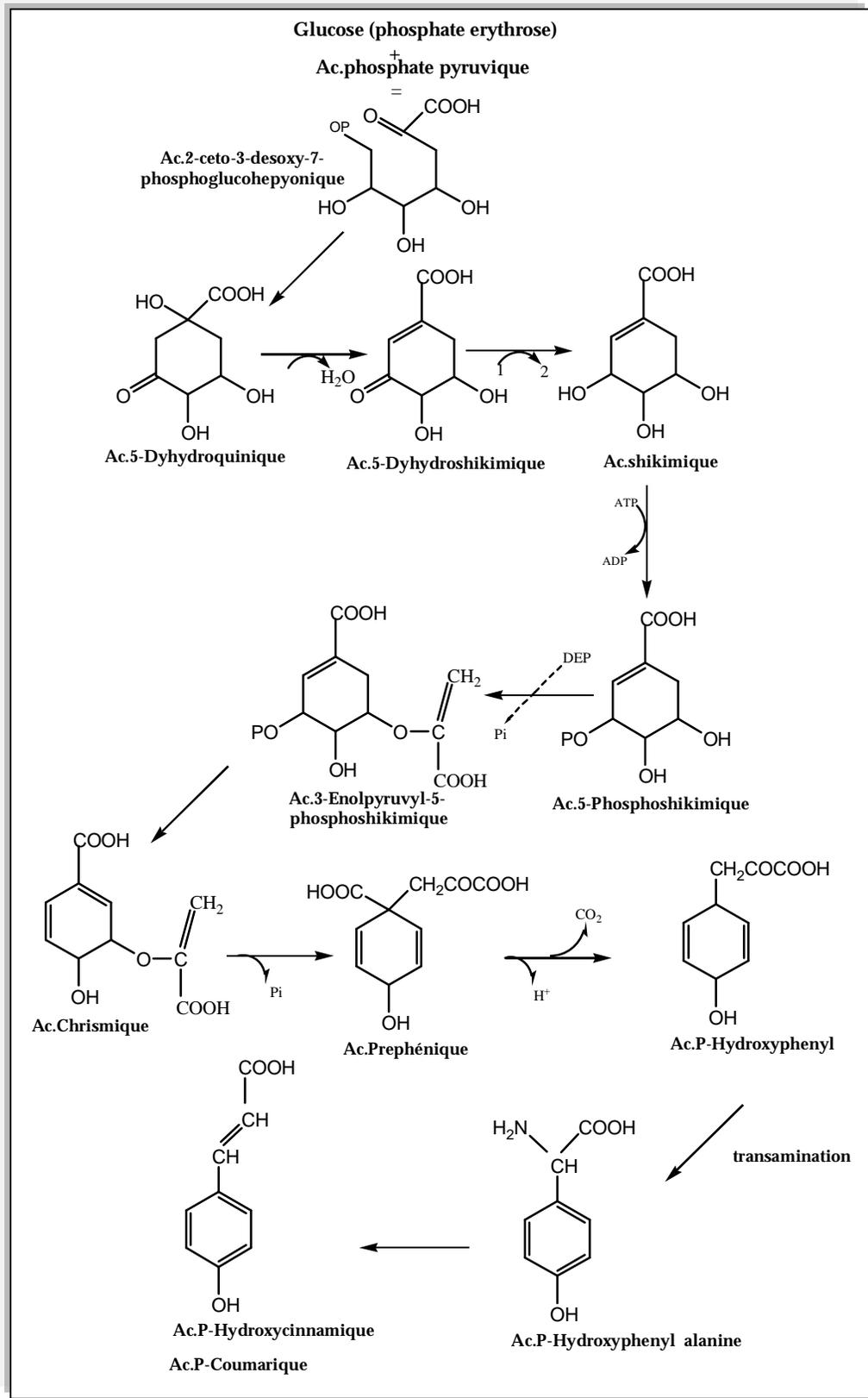
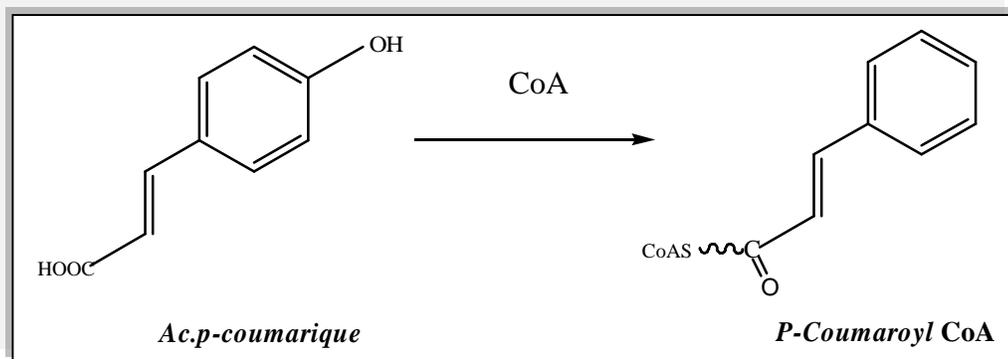
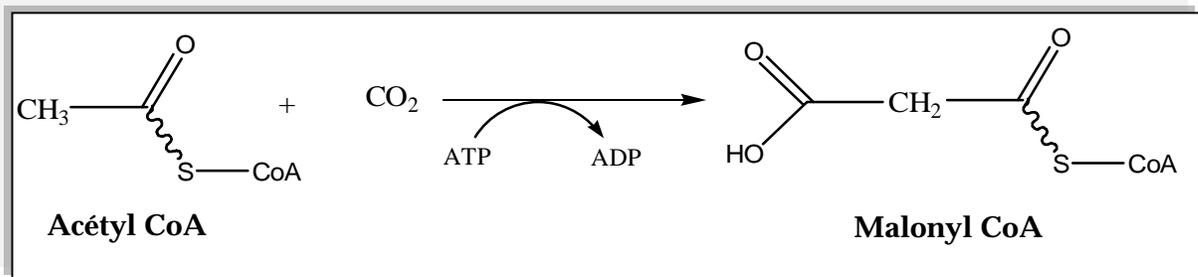


Fig.13. La biosynthèse de la

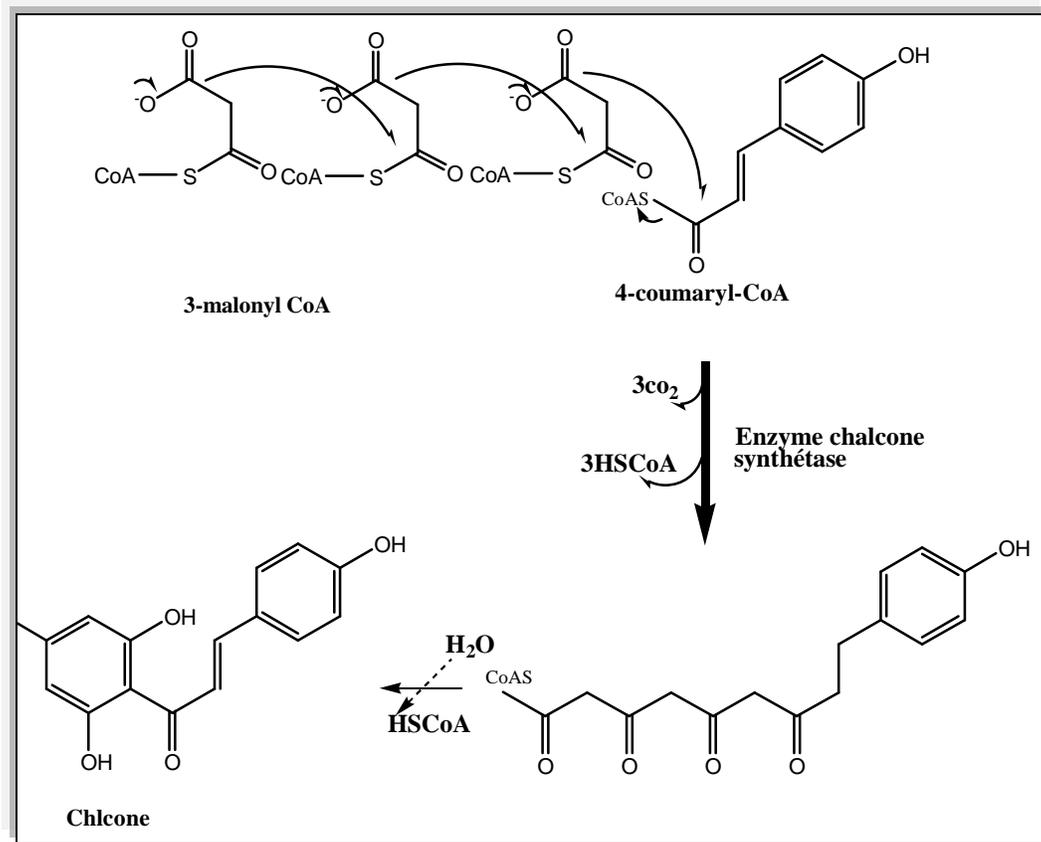
Avant la prochaine étape l'acide p-coumarique se transforme en 4-coumaroyl pour augmenter son activité.



b)-La formation du Malonyl CoA 72 partir du Acétyle CoA 71 et CO₂:



c)-La condensation des trois malonyl-CoA avec 4-coumaroyl-CoA (l'étape clé) :



d)-La biosynthèse des squelettes flavoniques à partir de la chalcone :
D'après Grisébach [105]

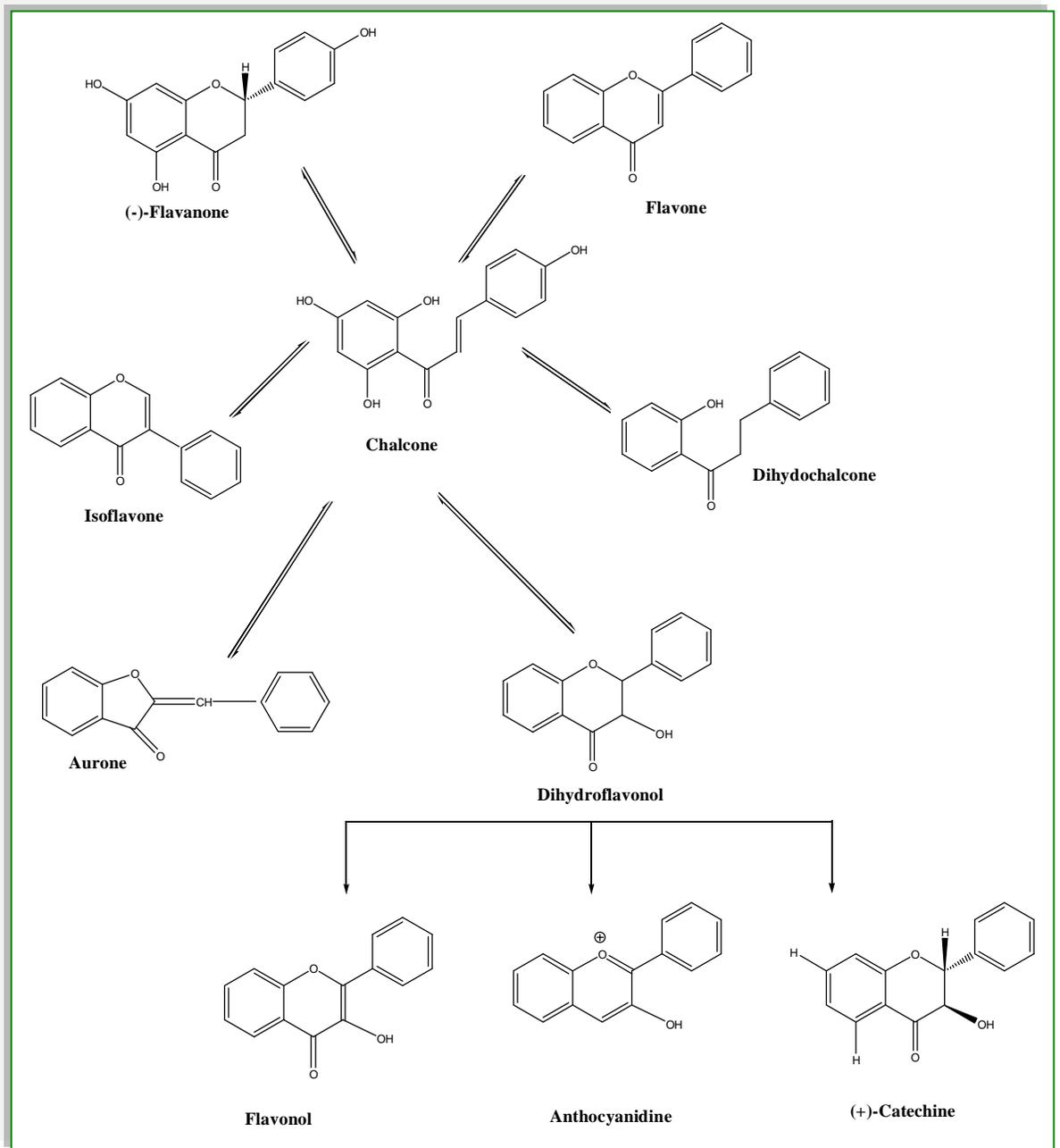


Fig. 14 . La biosynthèse des squelettes flavoniques à partir de la chalcone

II-1-3-Activités biologiques des flavonoïdes :

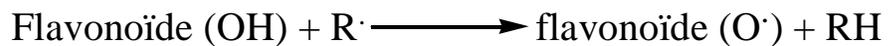
II-1-3-1-Pharmacocinétique :

Seuls les flavonoïdes sous forme de génines (ou aglycones) sont susceptibles d'être réabsorbés. L'hydrolyse des liaisons hétérosidiques (reliant la génine à la chaîne sucrée) n'intervient que dans le côlon où les micro-organismes dégradent simultanément les flavonoïdes d'origine alimentaire [20].

Le foie est largement impliqué dans le métabolisme des flavonoïdes réabsorbés [95]. La muqueuse intestinale et le rein interviennent accessoirement dans ce métabolisme. Une fois réabsorbés, les flavonoïdes vont influencer plusieurs fonctions biologiques dont la synthèse protéique, la différenciation de la prolifération cellulaire et l'angiogenèse, apportant des effets bénéfiques dans différentes pathologies chez l'Homme [19, 48, 79].

II-1-3-2-Propriétés antioxydants et piègeurs de radicaux libres :

La propriété des flavonoïdes la mieux décrite est leur activité antioxydante et leur capacité à piéger les radicaux libres : radicaux hydroxyles ($\text{OH}\cdot$), anions superoxydes ($\text{O}_2^{\cdot-}$) et radicaux peroxylipidiques, selon la réaction suivante :



Les radicaux libres apparaissent dans plusieurs situations, telles que :

- l'anoxie : qui engendre la production de l'anion superoxyde ($\text{O}_2^{\cdot-}$).

- l'inflammation : qui correspond à la production d'anions superoxydes

($O_2^{\cdot-}$) par la NADPH-oxydase membranaire des leucocytes activés, et, par dismutation, à celle du très réactif radical hydroxyle ($OH\cdot$) [23, 25, 45].

- l'auto-oxydation des lipides : c'est au cours du stress oxydant que les espèces radicalaires, libres de tout contrôle, vont attaquer des cibles bioactives telles que les protéines, altérant ainsi les récepteurs cellulaires et les enzymes, les acides nucléiques (favorisant la survenue des mutations délétères à l'origine de divers cancers) et les lipides, notamment les particules de LDL de l'intima vasculaire, une phase qui constitue le *primum movens* dans la cascade athérogène.

Les flavonoïdes inactivent et stabilisent les radicaux libres grâce à leur groupement hydroxyle (C3-OH) fortement réactif. Ils sont également capables de chélater les ions métalliques (largués à partir de leurs protéines de fixation ou de transport) qui peuvent renforcer ces effets délétères par la production des radicaux hydroxyles ($OH\cdot$) [69, 76].

En tant qu'antioxydants, les flavonoïdes sont capables d'inhiber la carcinogenèse. Ils inhibent en plus l'angiogenèse, la prolifération cellulaire et affectent le potentiel invasif et métastatique des cellules tumorales [75].

II-1-3-3-Propriétés inhibitrices d'enzymes :

Les flavonoïdes sont des inhibiteurs enzymatiques à l'égard de l'aldose réductase [26, 35, 68, 82, 92], de la phospholipase A2 [41, 54] et des enzymes

de l'inflammation : la cyclooxygénase [46, 59] et la lipo-oxygénase [74, 77, 101].

II-1-3-4-Effets protecteurs vasculaires :

Les flavonoïdes agissent sur les vaisseaux sanguins sous forme d'activité vitaminique « P » [15]. Cette activité intervient dans le maintien d'une perméabilité vasculaire normale [81, 103].

Ils sont, de ce fait, utilisés dans certains états pathologiques caractérisés par un défaut affectant la perméabilité vasculaire [23, 94].

Les effets de l'*O*- β -hydroxyéthyl rutoside (HR) ont été étudiés chez des patients présentant une insuffisance veineuse chronique : un traitement à base de HR a permis de restaurer les paramètres hémorhéologiques altérés.

D'autres flavonoïdes sont responsables d'une augmentation de la résistance des capillaires. Cette activité serait en rapport avec les effets de certains flavonoïdes sur les plaquettes, les leucocytes et sur les enzymes intervenant dans la coagulation sanguine [86, 89].

II-1-3-5-Propriétés antihépatotoxiques :

Des flavonoïdes issus de *Silybum marianum* (chardon marie) ont été utilisés depuis des siècles en médecine traditionnelle dans le traitement des affections hépatiques. Les principes actifs de l'extrait sont constitués d'un mélange complexe (constitué de composés de type flavolignane et flavanone) appelé silymarine. Testée sur un modèle expérimental animal, la silymarine a montré qu'elle exerce un effet positif sur les hépatocytes intacts et sur les cellules hépatiques endommagées irréversiblement, agissant sur la membrane cellulaire, prévenant l'entrée des substances toxiques, et qu'elle stimule la capacité régénérative des cellules hépatiques après hépatectomie partielle.

L'activité hépatoprotectrice de la silybine, principale flavolignane rencontrée dans la silymarine, a été évaluée chez des souris intoxiquées par des doses non thérapeutiques d'acétaminophène. Ce flavonoïde s'est révélé hépatoprotecteur, mais le mécanisme d'action de cette protection n'est pas encore bien élucidé [60]. La quercétine, issue d'*Artemisia scoparia*, a été décrite comme possédant une activité protectrice vis-à-vis de l'hépatotoxicité du paracétamol chez le rat et la souris [43].

II-1-3-6-Propriétés antiallergiques :

Les flavonoïdes sont également connus pour leurs effets antiallergiques. Ils agissent par inhibition des enzymes qui favorisent la libération d'histamine à partir des mastocytes et des basophiles : l'AMPc phosphodiesterase et la Ca⁺⁺ ATPase [11, 16, 57, 99].

En outre, la quercétine exerce un puissant effet inhibiteur de la libération d'histamine à partir des mastocytes [38].

II-1-3-7-Activité anti-inflammatoire :

In vitro, plusieurs flavonoïdes sont capables de modifier le métabolisme de l'acide arachidonique plaquettaire [29, 72, 78].

C'est ainsi que la myricétine et la quercétine bloquent l'action des cyclo-oxygénase et lipoxygénase à des concentrations relativement élevées. À faibles concentrations, c'est la lipoxygénase qui est inhibée préférentiellement. Certains travaux suggèrent qu'ils posséderaient une bonne activité anti-inflammatoire sans les effets indésirables de type ulcérogène [13, 27, 39, 64, 72, 78, 102].

L'hésperidine, administrée par voie sous-cutanée, présente une activité anti-inflammatoire significative chez le rat dont l'œdème a été induit aussi bien par la carragénine que par le dextran [40].

II-1-3-8-Activité anti-ulcérogène :

Les flavonoïdes sont capables de protéger la muqueuse gastrique contre divers agents ulcérogènes. L'hypolaétine-8- glucose, flavonoïde présent dans diverses espèces du genre *Sideritis*, présente une activité anti-ulcérogène significative [93].

La naringénine et la quercétine exercent également une activité anti-ulcérogène mise en évidence chez le rat dont l'ulcère gastrique a été induit par l'éthanol. Il a été suggéré que la quercétine exerce ses effets cytoprotecteurs grâce à un complexe impliquant la stimulation de la prostaglandine et l'inhibition de la production de leucotriènes *via* la production de mucus et ses propriétés antioxydantes [61]. Par ailleurs, il a été établi que la quercétine inhibe la croissance d'*Helicobacter pylorii* ainsi que la formation d'acide par les cellules pariétales en réponse à une stimulation par l'histamine et l'AMPC dibutyrique [14, 83].

II-1-3-9-Flavonoïdes et NO :

L'activité des flavonoïdes comme piègeurs de radicaux libres étant bien établie, des études récentes suggèrent qu'ils seraient également de puissants piègeurs du radical NO [49].

Celui-ci étant élaboré par plusieurs types de cellules, notamment les cellules endothéliales et les macrophages ; aussi, la libération de NO due à l'activité NO synthase est importante dans le maintien de la dilatation des vaisseaux sanguins [18].

Certains flavonoïdes ont la propriété d'inhiber la cyclooxygénase, cela pourrait expliquer l'effet de la quercétine dans le blocage de la vasodilatation due à la relaxation exercée par NO sur les cellules musculaires lisses de l'endothélium Vasculaire (NO/ EDRF, facteur relaxant dérivant de l'endothélium) [12, 31, 91].

II-1-3-10-Autres effets biologiques :

Les flavonoïdes préviennent la cataracte diabétique par inhibition de l'aldose réductase du cristallin [26, 82].

En effet, la myricétine présente des effets hypoglycémiants et hypotriglycéridémiants chez les animaux diabétiques [70, 71].

L'effet des flavonoïdes sur le système immunitaire est complexe et demeure encore mal élucidé [63].

Certains d'entre eux réduisent l'activation du complément, diminuant de façon générale la réponse inflammatoire [17].

À doses élevées, ils inhibent les fonctions lymphocytaires, mais, à concentrations plus faibles, ils pourraient agir comme immunostimulants chez les sujets immunodéprimés. L'activité immuno-modulatrice des flavonoïdes dépend, d'une part, de leur capacité à inhiber la formation des eicosanoïdes et de l'histamine et de leur pouvoir piègeur des radicaux libres d'autre part [28, 58, 96].

Des propriétés antibactériennes et antivirales des flavonoïdes vis-à-vis de différentes souches bactériennes ont également été mises en évidence [51, 52, 84, 87, 88, 97, 98]. Les flavonoïdes atténuent le pouvoir infectieux ou affectent la réplication intracellulaire d'autres virus tels que le virus respiratoire syncytial (VRS), l'herpès simplex virus (HSV) et les adénovirus [44, 80].

-

II-1-4 Alimentation riche en flavonoïdes et prophylaxie des maladies cardio-vasculaires et des cancers :

L'ingestion de flavonoïdes d'origine alimentaire a été associée à une réduction considérable de la mortalité liée aux maladies cardio-vasculaires. En effet, une étude menée aux Pays-Bas (Zulphen Elderly Study) auprès de 805 sujets de sexe masculin a mis en évidence une corrélation inverse entre la prise de flavonoïdes d'origine alimentaire (thé, oignons, pommes) et les maladies cardio-vasculaires [47].

D'autres études se sont focalisées sur l'impact de la consommation du thé, boisson riche en flavonoïdes, notamment en quercétine (de 10 à 25 mg/l). Ce dernier composé exerce des effets antioxydants, antiagrégants et vasodilatateurs pouvant expliquer ses effets cardio-prophylactiques [67].

En outre, il a été démontré que la consommation de quercétine dans les oignons (0,3 mg/g de masse fraîche) et les pommes (1 mg/g de masse fraîche de la peau de pommes) est inversement corrélée au risque de cancer du poumon [55].

II-1-5- Quelques sources naturelles des flavonoïdes :

Flavonoïdes	Source : produits alimentaires et plante médicinales
Flavones Apigénine	<i>Apium graveolens, Passiflora incarnata, Petroselinum sativum, Centaurea</i>
Flavones glycosylés Baicaline	<i>Scutellaria baicalensis</i>
Flavonols Quercétine	<i>Allium cepa, Crataegus cuneata, Ginkgo biloba, Glycyrrhiza glabra, Morus alba, Olea europea, Solanum lycopersicum, Thea sinensis, Vaccinium macrocarpon, Vitis vinifera, Pueraria thumbergiana</i>
Kaempférol	<i>Cichorea endivia, Ginkgo biloba, Raphanus sativus, Thea sinensis, Vitis vinifera</i>
Myricétine	<i>Thea sinensis, Vaccinium macrocarpon, Vitis vinifera</i>
Flavonols glycosylés Rutine (rutoside)	<i>Eucalyptus macrorrhyncha, Fagopyrum esculentum, Stellaria media, Sophora japonica</i>
Flavan-3-ols Catéchine	<i>Thea sinensis, Vitis vinifera</i>
Flavanones Naringénine	<i>fruits du genre Citrus (sp. aurantium, limon, etc.)</i>
Isoflavones Génistéine	<i>Soya hispida, Stellaria media, Pueraria lobata, Sophora japonica</i>

Tableau 2. Quelques sources naturelles des flavonoïdes [22, 30]

II-1-6- Toxicité :

Les résultats d'études portant sur les effets indésirables des flavonoïdes proviennent de travaux effectués *in vitro* [75].

D'autres travaux portant sur des études au long cours ont montré l'absence de carcinogénicité [100, 104].

Contrairement aux propriétés mutagènes potentielles des flavonoïdes rapportées

dans des travaux antérieurs [32], plusieurs études récentes montrent que les flavonoïdes, y compris la quercétine, semblent être antimutagènes *in vivo* [33, 38, 53, 73].

Une étude clinique menée par Knekt et al., portant sur 9 959 patients des deux sexes, suivis pendant vingt-quatre ans, a montré l'existence d'une corrélation inverse entre la prise de flavonoïdes (quercétine) et le développement de cancer du poumon. Une des explications de ces données contradictoires réside dans le fait que les flavonoïdes sont toxiques vis-à-vis des cellules cancéreuses mais ne sont pas toxiques ou moins toxiques à l'encontre des cellules normales [55].

II-1-7-Etude chimique des flavonoïdes :

II-1-7-1-La chromatographie :

a-La chromatographie sur colonne :

Cette méthode est très ancienne mais reste la technique la plus utilisée pour une première séparation des produits, les supports utilisés connus pour la séparation des flavonoïdes sont le gel de silice, la cellulose et le plus utilisé est le polyamide pour ses fonction carbonyle- amide, qui permettent aisément la séparation.

b-La chromatographie sur papier :

C'est une technique qui conduit à la séparation des mélanges complexes de tous les types des flavonoïdes et leurs glycosides, les supports utilisés ici et le papier Whattman.

c- Chromatographie sur couche mince (C.C.M) :

C'est une technique qui correspond à la chromatographie sur papier, elle est aussi utilisée pour la séparation des mélanges, mais son avantage est la rapidité et la sensibilité.

II-1-7-2-Les méthodes d'analyse :

a-La fluorescence:

La spectroscopie d'absorption UV [110 ,111] est largement utilisée dans l'analyse structurale et l'identification des flavonoïdes. Tous les flavonoïdes apparaissent sous UV sous forme de spots colorés, permettant d'avoir des renseignements pour déterminer leur structure [112 ,113]. Le tableau 3 résume la relation entre la fluorescence et la nature des flavonoïdes.

La coloration	Type de flavonoïdes
Jaune pâle	Dihydroxy flavonols sans OH libre en 5
Jaune fluorescent	Aurones avec OH libre en 4' et quelque chalcones avec OH en 2 ou en 4
Jaune vert brillant	Aurones sans OH libre en 4' Flavanones sans OH libre en 5
Jaune orange	Flavanols avec ou sans OH libre en 5
Bleu- claire	Flavones et flavanones 5-O-substituées Flavonols avec OR en 3 et sans OH libre en 5
Violet	5,4'-Dihydroxy flavone ou 3-O-substitué flavonols avec 5-OH, 4'-OH Quelque flavanones avec OH libre en 5
Invisible	Isoflavones sans OH libre en 5

Tableau 3. La relation entre la fluorescence et la nature des flavonoïdes

b- LA spectrométrie UV- visible :

C'est une technique très importante pour l'analyse des flavonoïdes, pour cela l'enregistrement d'un spectre d'absorption ultraviolette dans le méthanol est indispensable. L'addition des réactifs (NaOH, AlCl₃, HCl, NaOAc, H₃BO₃), aux échantillons donne des informations importantes, en particulier la nature et la position des groupements de substitution [114, 115].

II-2-les dérivés polyacétyléniques :

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

II-2-1-les caractéristiques des polyacétylènes :

Les polyacétylènes forment une importante classe du métabolisme secondaire présent dans plusieurs espèces de la famille des Asteraceae. Des études novatrices de Bohlmann (1988) et Bauer (2000) ont révélé beaucoup d'informations utiles au sujet de la structure, la chimie et l'activité biologique de cette nouvelle classe de composés. Les pentacynènes et ses dérivés sont présents dans presque toutes les tribus d'Asteraceae et peuvent servir de marqueurs spécifiques pour cette famille [116]. On cite à titre d'exemple, la plante *Atractylodes chinensis* dont l'étude phytochimique a donné deux composés polyacétyléniques (voir figure 15) montrant des effets diurétiques et toxiques [117].

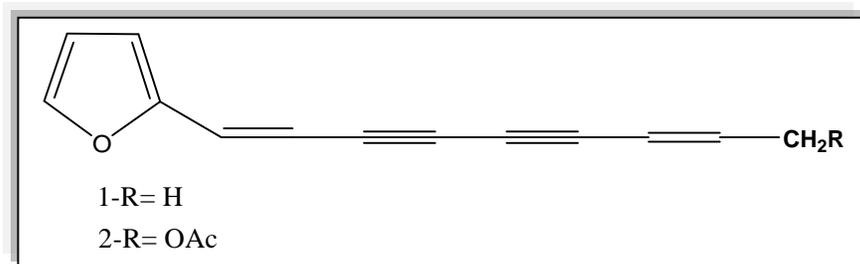


Fig.15. Deux polyacétyléniques typiques de la plante *Atractylodes chinensis*

D'autre part, Les dérivés polyacétyléniques ont été trouvés dans chacune des espèces, *Echinaceae*: l'amide acétylénique (E,E,Z)-N-isobutyl dodeca-2,4,10-triene-8-ynamide (**3**) est un composé important de *E. purpurea*[118], alors que le cétone (Z)-tetradeca-8-ene-11,13-diyn-2-one (**4**) est celui de *E.pallida*[119], et les amides diacétyléniques (E)-N-isobutyl undeca-2-ene-8,10-diynamide (**5**), E-N-isobutyl dodeca-2-ene-8,10-diynamide (**6**), (Z)-N-isobutyl uneca-2-ene-8,10-diynamide (**7**), sont trouvés dans *E.angustifolio* [120](voir figure 16). Une autre étude signale la présence d'un mélange [121] complexe par extraction aux solvants des racines fraîchement séchées d'*E.angustifolia* et comprenant plus de 12 amides acétyléniques différents.

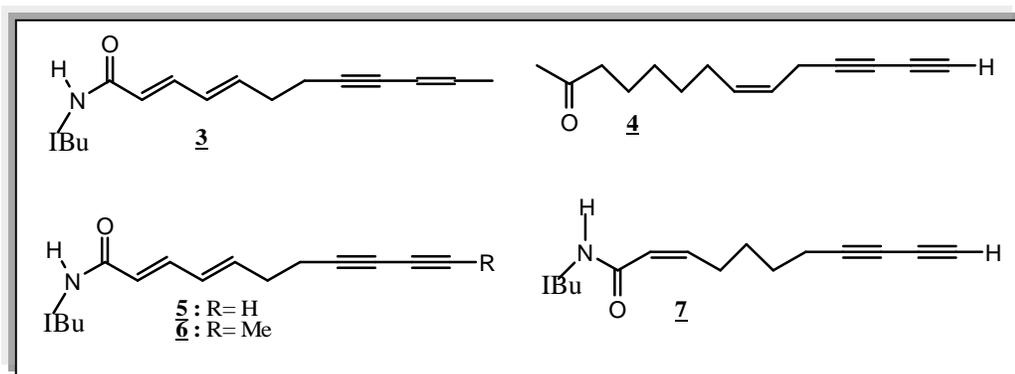


Fig.16. Polyacétylènes typiques des espèces de la famille des Echinaceae

Le genre *Anthemis* comprenant plus de 130 espèces est largement distribué dans la région méditerranéenne. La littérature indique que c'est un des genres de la famille des asteraceae le plus étudié. Les polyacétylènes, les flavonoïdes et les lactones sesquiterpéniques sont les trois classes principales de métabolites secondaires du genre *Anthemis*.

Les quatre acétylènes (8-11) de la figure 17 ont été isolés des racines de *A. cotula* L., il s'agit des méthyl (E)-dec-2-en-4,6-diynoate (8) et ses dérivés du thioether (par exemple :9-11) sont caractéristiques de l'espèce *Anthemis* [121].

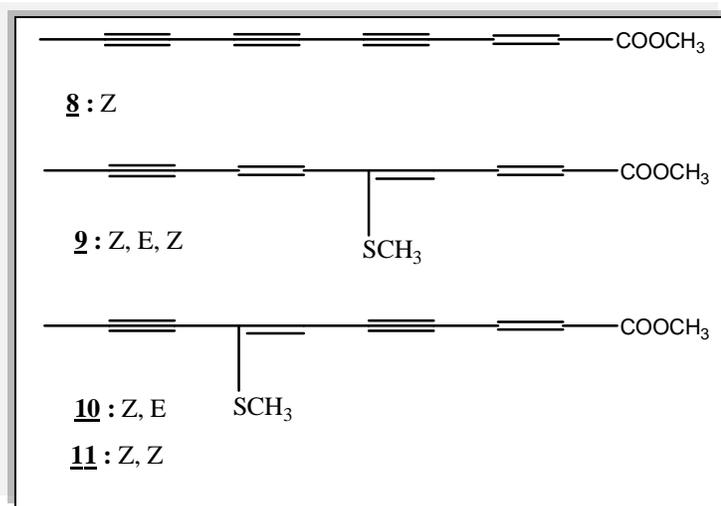


Fig.17. Polyacétylènes de *Anthemis Cotula* L.

Notons aussi que les Thiarubrines (voir figure 18) qui ont une couleur rouge causée par la présence de la fonction 1,2-dithiins contiennent une partie acétylénique [122,123].

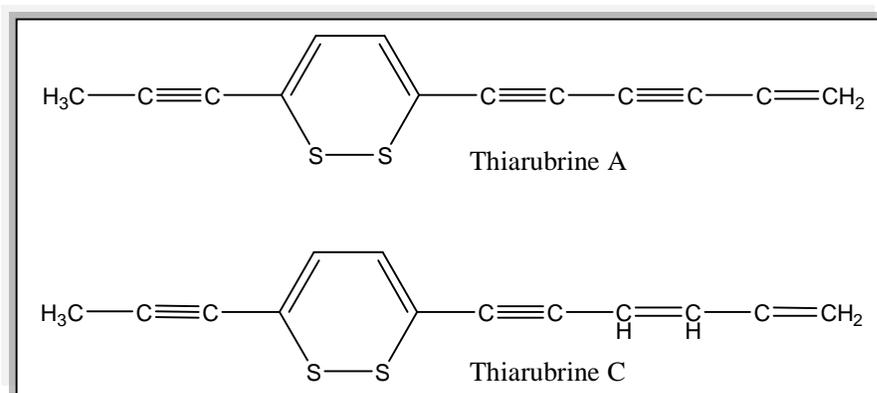


Fig.18. La structure chimique des Thiarubrines

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

Nous nous intéressons dans ce qui suit à l'étude de la biosynthèse générale de l'acide crépenynique (figure 19) [124]. Des expériences montrent que le carbone radioactif [$1-^{14}\text{C}$] acétate et [$2-^{14}\text{C}$] malonate est le précurseur de l'acide crépenynique. L'acétate agit comme une unité de départ et la chaîne carbonée libre, se trouvant presque chez tous les acétylènes naturels, est étendue par le malonate. L'acide oléique ($\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_2$) étant le prédécesseur des composés acétyléniques naturels [124].

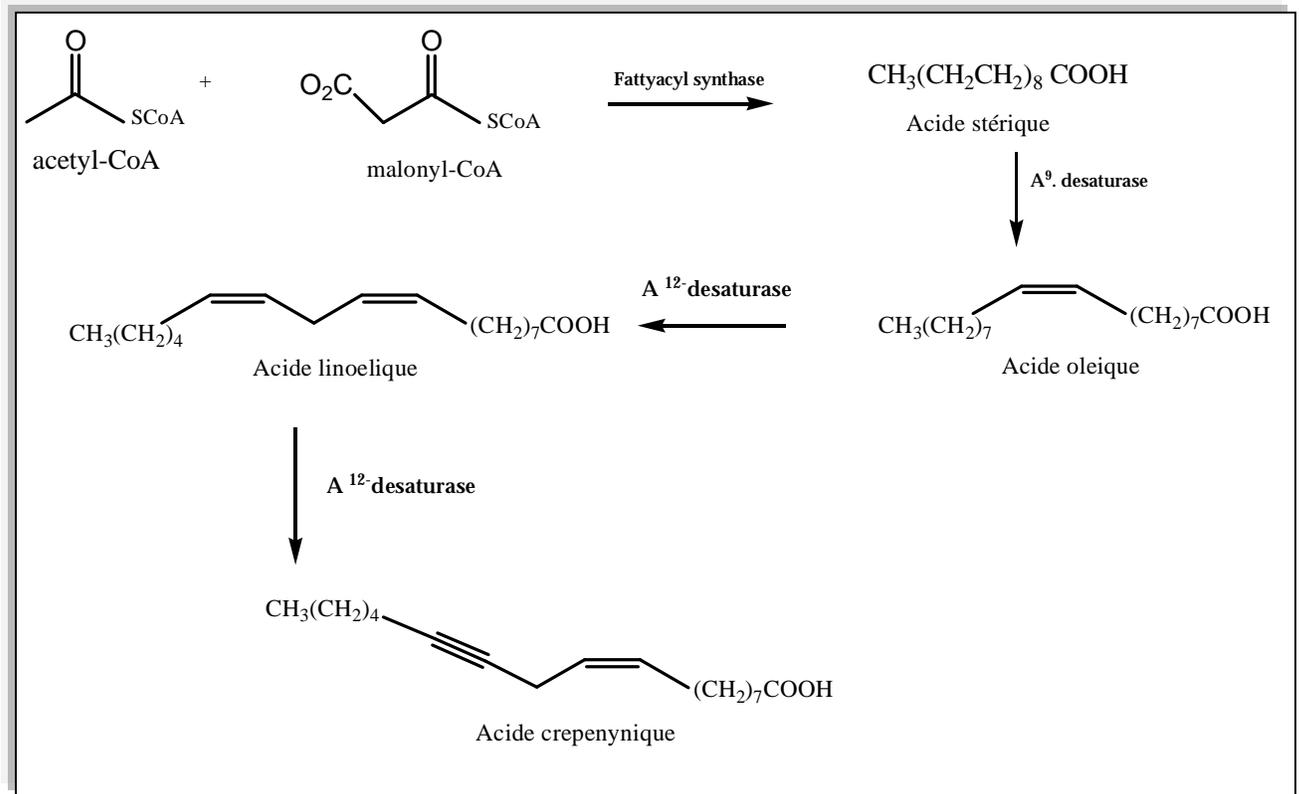


Fig.19. Biosynthèse générale de l'acide crepenynique via [1- ^{14}C] acétate [2- ^{14}C] malonate par microsome

Les résultats d'autres études similaires montrent que les acides linoléiques crépenynique et déhydrocrépenynique sont les précurseurs biosynthétiques des dérivés polyacétyléniques (figure 20) [124].

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

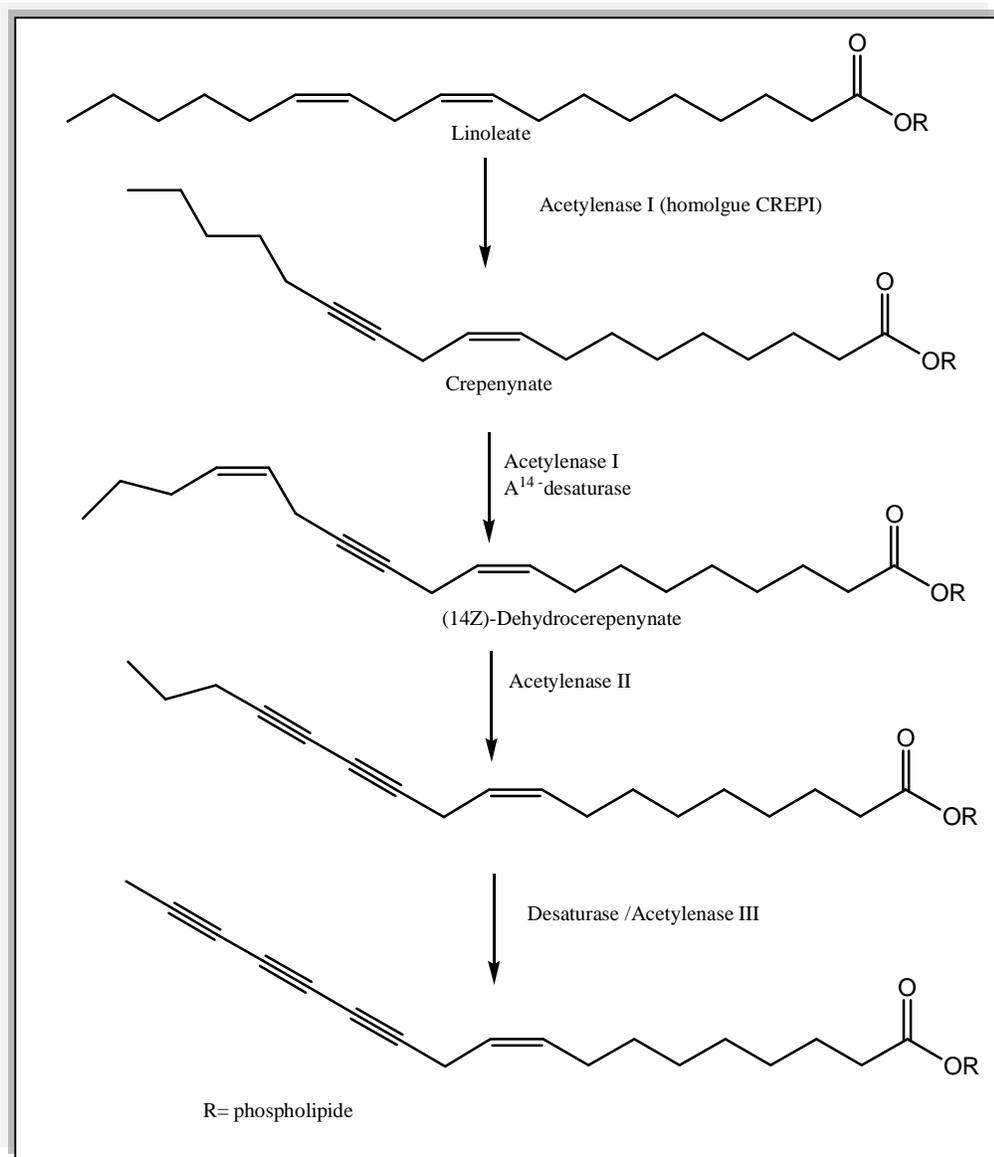


Fig.20. Une voie vers les polyacétylènes via les homologues de CREPI

Nous rapportons dans ce qui suit l'isolement d'un polyacétylène C-34 schématisé à la figure 21.

Le composé (**13**) dans cette figure est particulier car il représente le premier polyacétylène avec une chaîne de longueur plus de 18 atomes de carbone. Une proposition de la biosynthèse de ce composé (**13**) est une condensation aldolique de deux molécules d'aldéhyde (**12**). L'intermédiaire (**12**) n'est pas connu, mais un autre aldéhyde polyacétylénique à 18 carbones a été isolée de *Sativa pastinaca* (Apiaceae) [125,126].

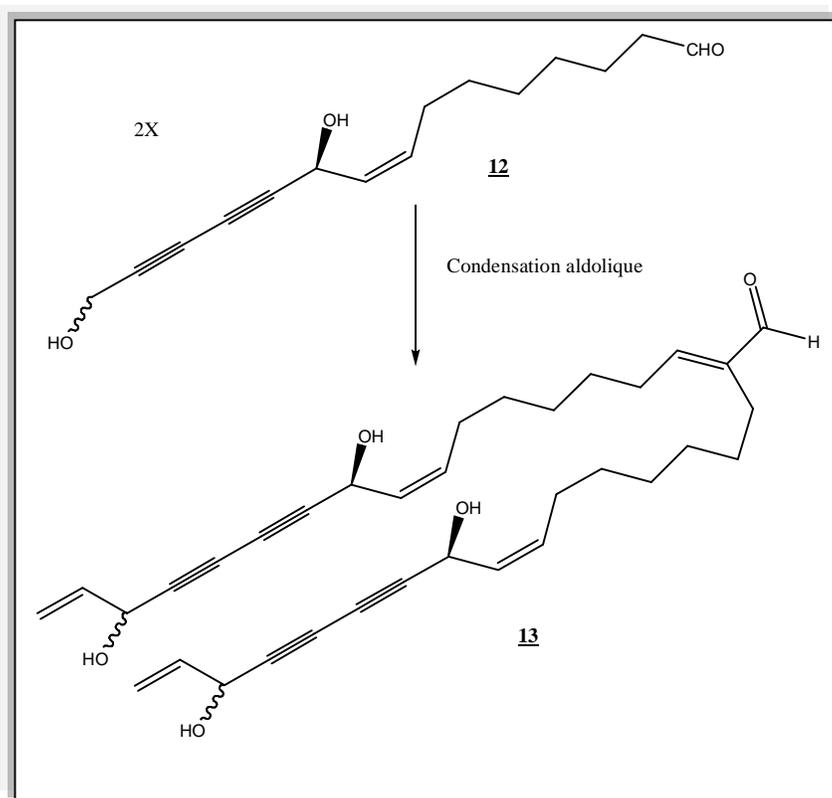


Fig.21. Biosynthèse d'un polyacétylène Falcaritetranol

II-2-2-Le Rôle bioactif des polyacétylènes :

Les composés acétyléniques isolés de la plante *Artemisia monosperma* sont connus pour leur activité contre les enzymes de l'oxygénase [127], il a été montré que les composés isolés sont capables d'inhiber les 12-lipoxygénase qui sont des enzymes impliquées dans beaucoup de désordres y compris le cancer, le psoriasis, l'athérosclérose, la polyarthrite rhumatoïde et l'épilepsie [128-129]. Le composé 15 a montré une activité dépendante de la dose inhibitrice par contre le composé 14 a révélé une activité qui dépend inversement de la dose inhibitrice [130] voir figure 21.1).

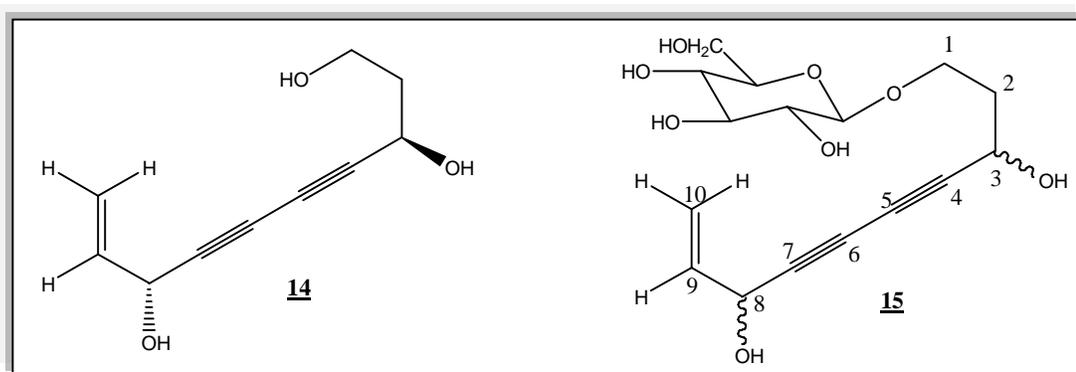


Fig. 21. Polyacétylènes de l'espèce *Artemisia Monosperma*

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

Les travaux ont ensuite porté sur une molécule particulière, l'alpha-terthienyl (α -T), un thiophène présent en abondance dans l'œillet d'Inde (*tagetes SP*). Ce composé doit son action photo toxique à la production d'oxygène singulet

(O₂) suite à l'activation par la lumière et les rayons UV. Ainsi excitée, la molécule d' α -T peut

avoir des effets phagorépresseurs et ralentir la croissance des larves ou être carrément mortelle suivant l'espèce d'insecte avec laquelle elle entre en contact.

L' α -T montre également des caractéristiques létales envers les larves de moustiques. Il est en effet facile de contrôler une **population de larves de moustiques à des concentrations aussi faibles que 10 g par ha**. L'efficacité remarquable de cette molécule envers les insectes nuisibles et son manque de toxicité pour les humains et autres organismes non visés permet d'envisager la mise au point d'un nouveau type d'insecticide [131].

Des composés du genre (C17- Esters) a été isolés de l'huile essentielle extraite de la partie aérienne de la plante *Baccharis trinervis*, ils ont été considérés comme des constituants biogénétiques importants selon une étude montrant leurs activités antimicrobiennes [132].

Notons aussi que le genre *Baccharis* en général a été largement utilisé en médecine populaire comme un antiseptique digestif, un antispasmodique et un diurétique [132].

D'autre part, un nouveau composé acétylénique : le cis-pentadeca-6-ene-1,3-diyne-5,15-diol (**17**) isolé de la plante (*Solanum melongena L.*) (voir figure 22) a montré une activité fongique appréciable. De même, le composé (Z)-heptadeca-1,9-dien-4,6-diyne-3,8-diol (**18**) (faltarindiol) identifié comme étant un composé fongitoxique et une phytoalexine dans la tomate, les fruits et les feuilles sont infectées [133].

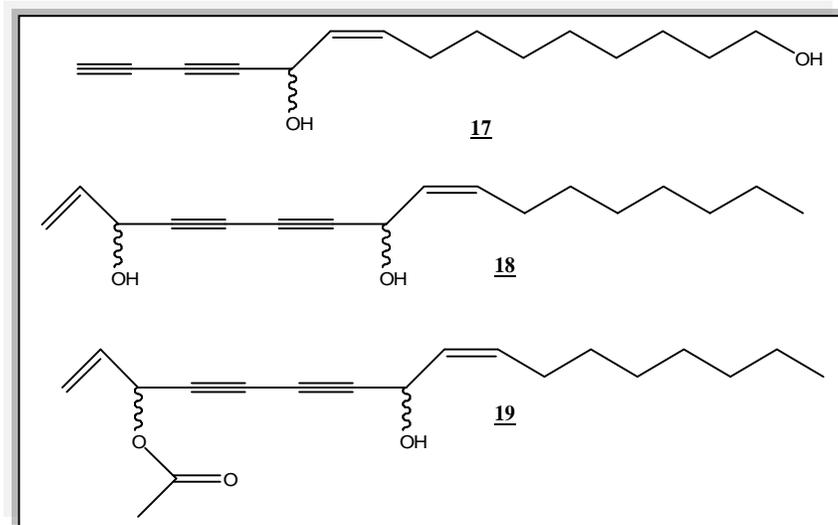


Fig.22. Structure des Falcarinols

Dans une étude phytochimique des racines de la carotte, on a pu identifier l'existence des dérivés polyacétylénique : (Z)-heptadeca-1,9-dien-4,6-diyn-3,8-diol (**18**) (falcarindiol) et le (Z)-acetoxy-heptadeca-1,9-dien-4,6-diyn-8-ol (**19**) (Falcarindiol-3-acétate) (voir figure 22) grâce à la spectroscopie Raman en particulier. Ces composés sont la cause principale du goût amer des carottes [134].

Le Falcarinol a été signalé comme le polyacétylène le plus bioactif présent dans les carottes, et a montré une activité cytotoxique contre les cellules des tumeurs. Le Falcarinol à des concentrations basses (35 µg/g de racine de la carotte lyophilisée) a un effet sur le développement de cancer du colon des rats. Finalement, le Falcarinol et le Falcarindiol ont une activité fongicide sur la maladie de la résistance de plante [134, 135].

De même Estevez-Braun et ses collaborateurs ont isolés d'autres composés polyacétyléniques (en C17) de l'espèce *Salicifolium bupleurum* une plante originaire des Îles Canaries. Le composé, 8S-heptadeca-2(Z), 9(Z)-diene-4,6-diyne-1,8-diol, est alors montré comme un inhibiteur des bactéries *S. aureus* et *B. subtilise* [136]. Ce même composé a été isolé de l'espèce *Bidens pilosa* (Brésil), utilisée dans la médecine traditionnelle pour le traitement de fièvre malaria et certaines maladies du foie. Il a été montré que l'extrait brut des racines préparé avec l'éthanol (80%) possède une activité *in vitro* contre le *Plasmodium falciparum* liée à la présence des dérivés polyacétyléniques [137,138].

D'autres dérivés polyacétyléniques isolés de l'espèce végétale *Rudbeckia hirta* ont montré des propriétés insecticides contre les larves des moustiques [139].

II-2-3-Etude chimique des polyacétylénes :

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

Bien que la concentration des Polyacétylénes dans les plantes, selon l'espèce individuelle soit de l'ordre de 0,01- 1,00g/100 g de matière fraîche, ils peuvent être détectés avec succès en utilisant la spectroscopie NIR Ft-Raman. Les spectres obtenus montrent des bandes fortes, dues aux triplets liaisons, dans la région de 2200 cm⁻¹ [134].

CHAPITRE III

Partie Expérimentale

III-1-Travaux personnels :

III-1-1-Extraction de *santolina chamaecyparissus* L :

La plante a été récoltée au mois de mai de l'année 1999, le long route de sétife, après séchage dans un endroit sec et aéré, à l'abri des rayons solaires, les parties aérienne broyées (feuilles, fleurs) sont pesées (M=2500g) et mises à macérer pendant 24h dans un mélange (EtOH/H₂O) avec les proportions 70:30.

Après filtration, concentration à environ 700ml, à une température n'excédant pas 35°C, cet extrait contenant toujours de l'éthanol, et additionné d'eau distillée (1000ml). L'élimination de la chlorophylle se fait par précipitation par le tétra acétate de plomb Pb(CH₃COO)₄ sous agitation continue jusqu'à que la solution devienne rouge-brun, après quoi le mélange est filtré.

Le filtrat est épuisé cinq fois par du chloroforme et trois fois par l'acétate d'éthyle. Le protocole d'extraction est résumé dans la figure 23 :

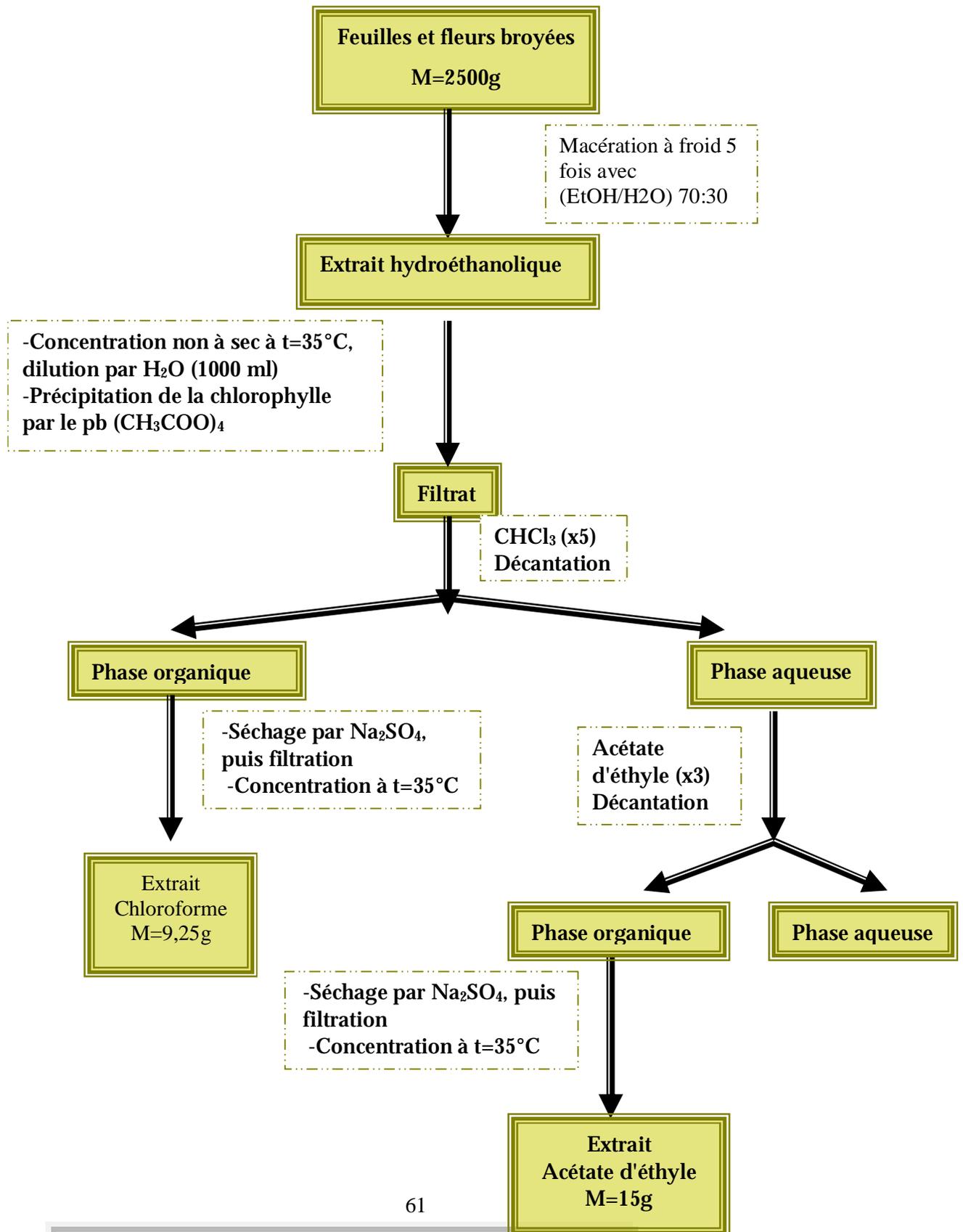


Fig. 23. Protocole d'extraction de *santolina chamaecyparissus*

III-1-2- La chromatographie sur colonne :

Le fractionnement de l'extrait acétate d'éthyle a été réalisé par chromatographie sur colonne, et a débuté par une recherche sur une plaques analytique de gel de silice 60, afin de rechercher le meilleure système pour la séparation. Celui-ci et a s'et avéré être : CHCl_3 / $(\text{CH}_3)_2\text{CO}$ / MeOH dans les proportions 8/2/0.5.

Sur la base des ces résultats, 13g de l'extrait acétate d'éthyle, ont été chromatographie sur une colonne de gel de silice normale (63-200 μm) préparée dans le chloroforme.

L'élution a été faite par le chloroforme avec des pourcentages croissants d'acétone et une corporation graduelle de méthanol. Le suivie de la colonne a été effectué par chromatographie sur couche mince de gel de silice (plaque analytique), les plaques sont visualisées sous lumière UV (254 et 365 nm), puis révélées par l'acide sulfurique et chauffées à 100°C pendant 3mn. Le tableau 2 rassemble les résultats de cette colonne.

Erlens (50ml)	Eluants		
	CH ₃ Cl%	(CH ₃) ₂ CO%	MeOH%
1-28	99	1	0
29-44	98	2	0
45-60 45-60	97 97	3 3	0 0
67-101	93	7	0
102-119	92	8	0
120-139	91	9	0
140-160	90	10	0
161-166	89	11	0
167-184	88	12	0
185-202	84	16	0
203-213	80	20	0
214-255	75	25	0
256-295	70	30	0
296-313	65	35	0
314-348	60	40	0
349-366	55	45	0
367-386	50	50	0
387-396	45	55	0
397-425	40	60	0
426-444	30	70	0

Tableau 2: les résultats du fractionnement de l'extrait acétate d'éthyle par C. C. de gel de silice 60

460-466	10	90	0
467-476	9	90	1
477-484	0	90	10
485-493	0	80	20
494-500	0	50	50
501-600	0	0	100

Tableau 2 : Les résultats du fractionnement de l'extrait acétate d'éthyle par c. c.de gel de silice 60 (suite)

Le tableau 3 : Résume les résultats du fractionnement de la colonne.

Fractions	Erlens (50ml)	Poids (mg)
f1	1-100	81
f2	101-130	67.7
f3	131-185	93
f4	186-211	98.4
f5	212-220	86.6
f6	221-229	56.9
f7	230-236	303.7
f8	237-250	136.3
f9	251-302	831.4
f10	303-308	243
f11	309-318	300
f12	319-342	353.1
f13	343-348	250.5
f14	349-359	559.6
f15	360-372	587
f16	373-384	367.8
f17	385-392	200.4
f18	393-396	143.3

Tableau 3 : les fractionnements de la colonne

f19	397-399	124.2
f20	400-408	657.3
f21	409-412	304.7
f22	413-415	621.2
f23	416-420	11.4
f24	421-426	357.7
f25	427-443	983
f26	444-462	977.3
f27	463-473	665.7
f28	474-480	960.5
f29	481-490	940.3
f30	491-500	1002.1

Tableau 3 : les fractionnements de la colonne (suite)

Parmi ces fractions nous avons étudié les moins complexes et les plus abondantes, notamment les fraction choisies f4, f9, f20, f26, f27 pour les études dans le cadre de ce travail.

Ces fractions se présentent comme suit :

1. f4 \longrightarrow Mélange séparable.
2. f9 \longrightarrow Mélange séparable.
3. f20 \longrightarrow Précipite +mélange.
4. f26 \longrightarrow Précipite +mélange.
5. f25 \longrightarrow Précipite +mélange.

III-1-3- Séparation et purification des fractions sélectionnées

:

1-La fraction f25 :

Contenant un précipité mêlé à une huile, ce précipité a été lavé plusieurs fois avec du méthanol. Le précipité jaunâtre ainsi obtenu et pas assy soluble dans méthanol a été testé sur plaque analytique de gel de silice, éluée par le système (CH₃Cl, MeOH) dans les proportions 8/2, ce précipité donne un spot unique de fluorescence noir-violette sous lumière UV à $\lambda = 365 \text{ nm}$; révélée à l'acide sulfurique et chauffé pendant 3mn, la plaque présente toujours un spot unique signifiant la pureté de produit que nous avons codé f25.

2-La fraction f26 :

Contenant un précipité mêlé à une huile. Cette fraction a été filtrée et le précipité jaunâtre lavé avec du méthanol. Ce précipité jaunâtre ainsi obtenu et testé par co-chromatographie avec f25 sur plaque analytique de gel de silice, éluées par plusieurs systèmes, ce travail a montré que ce précipité correspond à f25 (même Rf).

Après l'isolment du composé f25 de la fraction f26, un nouveau précipité sous forme cristalline apparu dans la solution de lavage de f26. Ce dernier, subi un lavage avec du chloroforme et l'acétone, les cristaux blancs obtenus sont dissous dans le méthanol, testé sur une plaque analytique de gel de silice, éluée par le système : chloroforme- méthanol (9/1). Ces cristaux donnent un spot unique de fluorescence orange sous lumière UV à $\lambda = 254 \text{ nm}$; révélé avec

l'acide sulfurique et chauffé pendant 3 mn, la plaque présent toujours un spot unique signifiant la pureté de ce produit que nous avons codé f26.

3-La fraction f20 :

Contenant un précipite mêlé à un huile, ce précipité a été lavé plusieurs fois avec l'acétone, l'opération a été répétée plusieurs fois. Ce précipite jaunâtre ainsi obtenu sont dissous dans le méthanol, testé sur plaque analytique de gel de silice, éluée par le système : chloroforme- méthanol (8/2), ce précipité donne un spot unique de fluorescence noir-violet sous lumière UV à $\lambda = 365$ nm ; révélée avec l'acide sulfurique pendant 3mn, la plaque présente toujours un spot unique signifiant la pureté de produit.

4-La fraction f9 :

La plaque analytique de la fraction f9 après deux éluions par le système hexane- acétate d'éthyle a donné 5 spots. La séparation sur plaques préparatives de gel de silice 60 a donné les produits f9a, f9c, f9d.

Le produit f9d a été purifié sur une plaque préparatives de gel de silice, éluée par le système chloroforme- méthanol (9/1).

Cette fraction a permis l'isolement de 3 produits à l'état pur. Par la suite f9a et f9c se sont avérés être des phtalats.

III-1-4-L'hydrolyse acide des glycosides :

En applique ce travaille pour connaitre le nombre des unités des sucres et sa façon de relier avec les aglycones. On prend une quantité de glycoside diluée

dans le minimum de méthanol, en ajoute 2ml d' HCl (2N), On met la solution dans un bain-marie bouillant (100°C) pendant 120 à 160 minutes selon les cas.

III-1-4-1-Récupération des composés flavoniques :

Elle se fait par extraction liquide-liquide, d'abord par l'éther éthylique, puis par l'acétate d'éthyle et enfin par le n-butanol. Ces divers extraits sont ensuite analysés par chromatographie.

III-1-4-2-Analyse des sucres éventuels par C.C.M :

-Préparation des échantillons :

La phase aqueuse résiduelle de l'hydrolyse est évaporée à sec sous pression réduite, reprise par de l'eau et évaporée à nouveau. On répète plusieurs fois cette opération jusqu' à disparition totale de la réaction acide. Le résidu ainsi obtenu est lavé au méthanol, avant d'être dissout dans l'eau pour analyse.

-Préparation des plaques :

On vaporise des plaques de silicagel merck 60 F₂₅₄ avec une solution de NaH₂PO₄ (0.2 M). On les laisse sécher à l'air quelques minutes avant de les activer à 100°C pendant 1 heure.

-Conditions d'analyse :

Solvant utilisé : Acétone- eau dans les proportions 90/10. On fait deux migrations successives intercalées de séchage à l'air pendant 1 heure. La révélation se fait par pulvérisation de la plaque au réactif au malonate

d'aniline (acide malonique [1g], aniline [1cm³], acide phosphorique [3cm³], éthanol [100cm³]). Les plaques pulvérisées sont ensuite séchées 5 minutes à 100°C. Les taches apparaissent brunes dans le visible et jaunes en UV.

Le tableau (4) montre les valeurs des R_f de sucres témoins.

Les sucres témoins	R _f
(L) Rhamnose	0.88
D (+) -xylose	0.79
L (+) -arabinose	0.66
B-D (+) glucose	0.53
D (+)- galactose	0.33

Tableau 4 : les valeurs des R_f des sucres témoins.

III-1-5-conclusion :

Les travaux de séparation chromatographique on permis l'obtention à l'état pur et natif de cinq produits.

Nous avons soumis à l'étude structurale quatre d'entre eux : F9d, f20, f26, f25.

La figure 20 montre les travaux de ce travail.

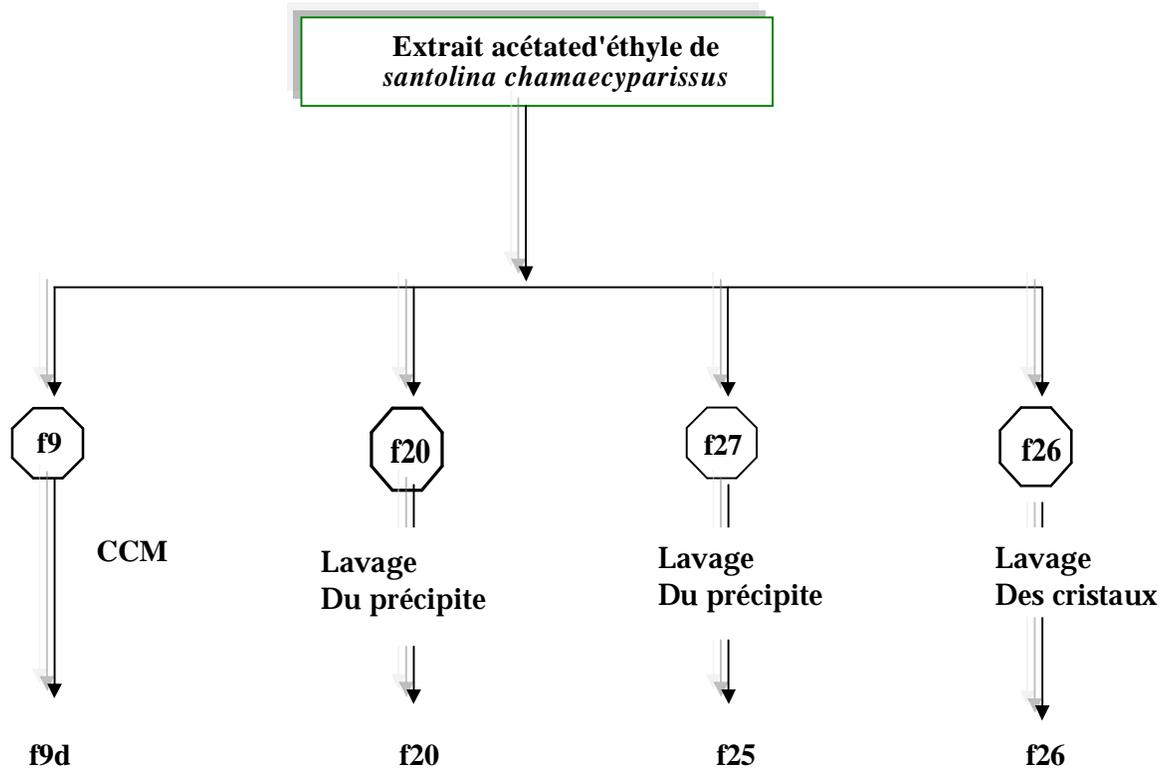
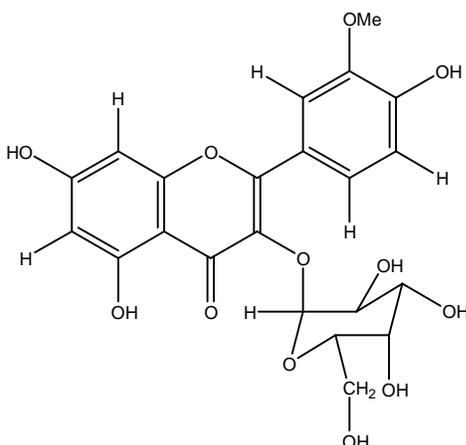


Fig. : Résumé des travaux chromatographiques effectués

CHAPITRE IV

Résultats et Discussions

IV-1- IDENTIFICATION DU COMPOSE F₂₀₋₁ :



a) Fluorescence sous lumière de Wood :

La fluorescence sous la lumière UV (365nm) de ce composé est noir-violette, indiquant une structure de type flavone ou flavonol substitué en position 3.

b) Résultats de l'analyse par spectrophotométrie ultra-violette :

Enregistré dans le méthanol, le spectre de ce composé (spectre 1) montre les deux bandes caractéristiques des flavonoïdes. La bande II à $\lambda_{\text{max}} = 254 \text{ nm}$ et la bande (I) à $\lambda_{\text{max}} = 370 \text{ nm}$. La valeur de la longueur d'onde d'absorption maximale de la bande I montre la nature flavonol 3-OR de cette molécule.

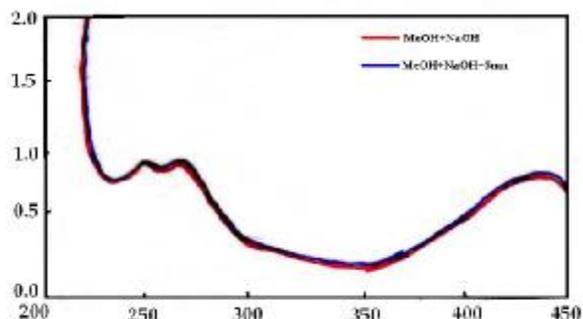
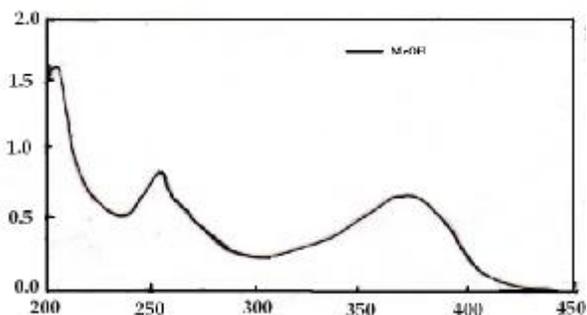
L'addition du réactif NaOH, conduit à un déplacement bathochrome (+62 nm) de la bande I avec augmentation de l'intensité, indiquant que la position 4' est occupée par un OH libre. Le spectre réenregistré après 5 minutes reste stable, ce qui confirme vu la présence du OH en position 4' la présence d'un groupement OR en position C-3.

La comparaison des spectres enregistrés en présence de AlCl_3 et en présence de $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ (spectre 2), ne montre aucun changement notable (pas de

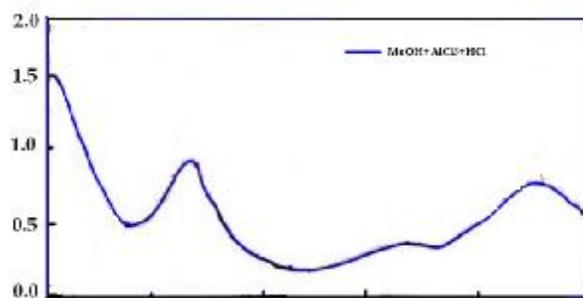
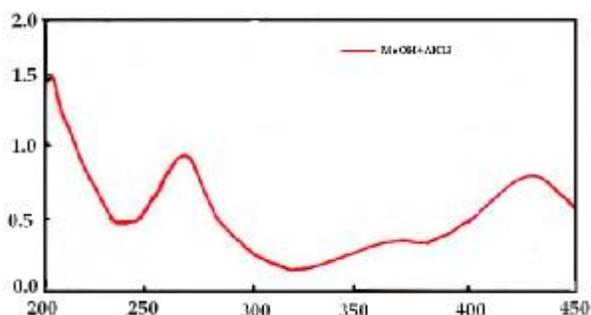
déplacement hypsochrome de la bande I) ce qui suppose l'absence de système ortho dihydroxyle sur le noyau B.

Comparé au spectre enregistré dans le méthanol, le spectre enregistré en présence de $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ montre un déplacement bathochrome de (+60 nm) de la bande I. Cette observation oriente vers un OH libre en C-5.

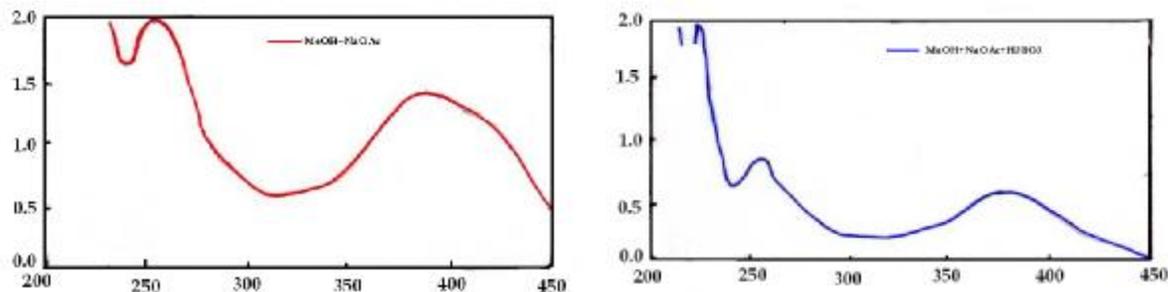
Le spectre enregistré dans le méthanol en présence de NaOAc (spectre 3) montre un déplacement bathochrome de (+2 nm) de la bande II indiquant la présence d'un OH libre en position 7.



Spectre 1 : Spectres d'absorption ultraviolette du composé F_{20-1} dans le MeOH et dans le MeOH en présence de NaOH



Spectre 2 : Spectres d'absorption ultraviolette du composé F_{20-1} dans le MeOH en présence de AlCl_3 et $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$



Spectre 3 : Spectres d'absorption ultraviolette du composé F₂₁₋₁ dans le MeOH en présence de NaOAc et NaOAc+H₃BO₃

Les résultats de la série spectrale UV du composé F₂₀₋₁ rassemblés dans le tableau 4 permettent à ce stade de proposer la structure partielle reportée dans la figure 1.

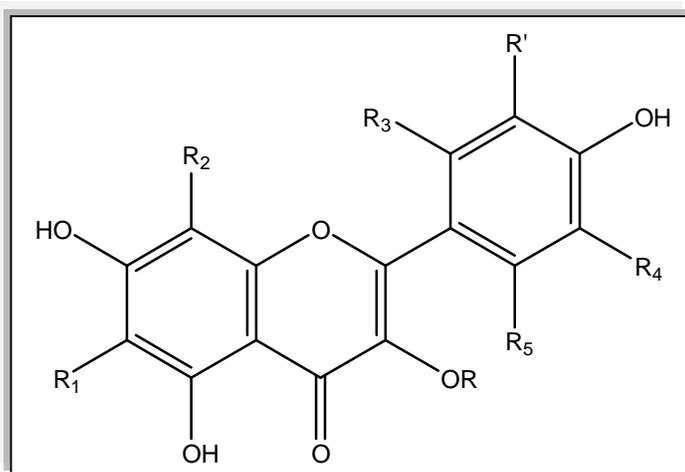


Fig.1 : Structure partielle du composé F₂₀₋₁

Les réactifs	Bande I (nm)	Bande II (nm)	Autres bandes	Observations
Me OH	370	254		flavonol 3-OR
NaOH	432	250		4'-OH
NaOH après 5 mn	432	250	264	Pas de OH en C-3
NaOAC	388	256		7-OH
NaOAC+H ₃ BO ₃	376	224	256	Absence de système ortho di-OH.
AlCl ₃	430	266		5-OH
AlCl ₃ +HCl	430	264	360	Absence de système ortho di-OH

L'examen du spectre de RMN ¹H (Spectre 5) montre la présence de :

- un signal à $\delta = 7,95$ ppm, d'intégration 1H sous forme d'un singulet large attribuable à H-2'.
- un signal à $\delta = 7,82$ ppm, d'intégration 1H sous forme d'un doublet large ($J = 8,5$ Hz) attribuable à H-6'.

Tableau 4 : Données de la série spectrale UV (λ_{\max} nm) du composé F₂₀₋₁

- un signal à $\delta = 6,90$ ppm, d'intégration 1H sous forme d'un doublet ($J = 8,5$ Hz) attribuable à H-5'.
- deux doublets formant un système AB à $\delta = 6,95$ ppm et $\delta = 6,81$ ppm, ($J = 2,0$ Hz) caractéristiques des protons H-8 et H-6 respectivement, du noyau A d'un flavonoïde.
- un signal à $\delta = 3,96$ ppm, d'intégration 3H sous forme d'un singulet attribuable à un groupement méthoxyle.
 - Un doublet à $\delta = 5,12$ ppm, $J = 3,8$ Hz, attribuable au proton anomérique d'un sucre relié à l'aglycone par un pont oxygène. D'après la valeur de la constante de couplage du proton anomérique avec le proton en C-2, cette

entité pourrait être soit un glucosyle soit un galactosyle avec une configuration α du carbone anomérique ou un mannose.

- un ensemble de multiplets dans l'intervalle 3,3 – 3,8 ppm attribuable par conséquent aux protons du substituant sucre.

L'ensemble de ces données montre que dans la structure partielle précédemment signalée : $R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = H$ et que $R = \text{glu ou gal ou man, ou méthyle}$ et que R' serait un méthoxyle si R est un substituant sucre, dans le cas où R est un méthyle, R' serait sous forme d'un *O-Glu ou O-Gal* ou *O-Man*.

Ces données consignées dans le tableau 5 mènent à la structure toujours partielle reportée dans la figure 2.

δ ppm	Multiplicité	Intégration	J (Hz)	Attribution
7,95	sl	1H		H-2'
7,82	dl	1H	8,5	H-6'
6,90	d	1H	8,5	H-5'
6,95	d	1H	2,0	H-8
6,81	d	1H	2,0	H-6
3,96	s	3H		OMe
5,12	d	1H	3,8	H''
3,3 – 3,8	m			substituant sucre.

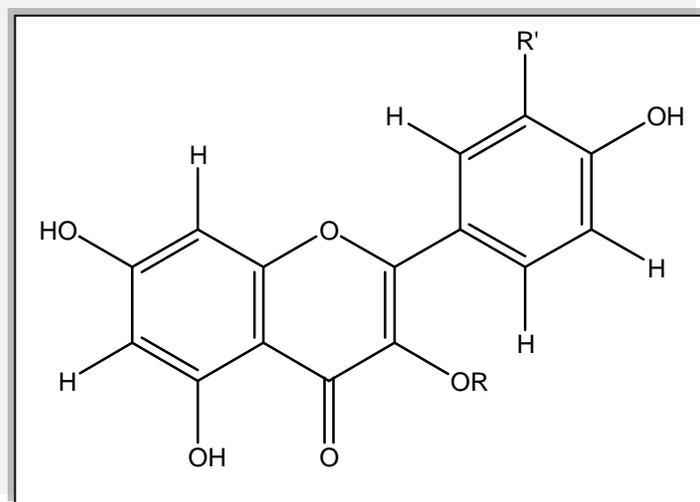


Fig.2 : Structure partielle du composé F₂₀₋₁

Pour déterminer la nature et la position de sucre nous avons procédé à l'hydrolyse acide de ce composé. Après concentration des phases organiques et aqueuses, nous avons procédé d'une part à la co-chromatographie sur plaques analytiques recouvertes de terre siliceuse F₂₅₄ et éluées par le système acétone – eau (9 :1), de la phase aqueuse (Figure 3) en présence d'échantillons authentiques de sucres disponibles au laboratoire. Il est apparu que le sucre en question est le galactose.

Tableau 5 : les résultats RMN ¹H (δ ppm, CD₃OD, 250 MHz) du composé F₂₀₋₁

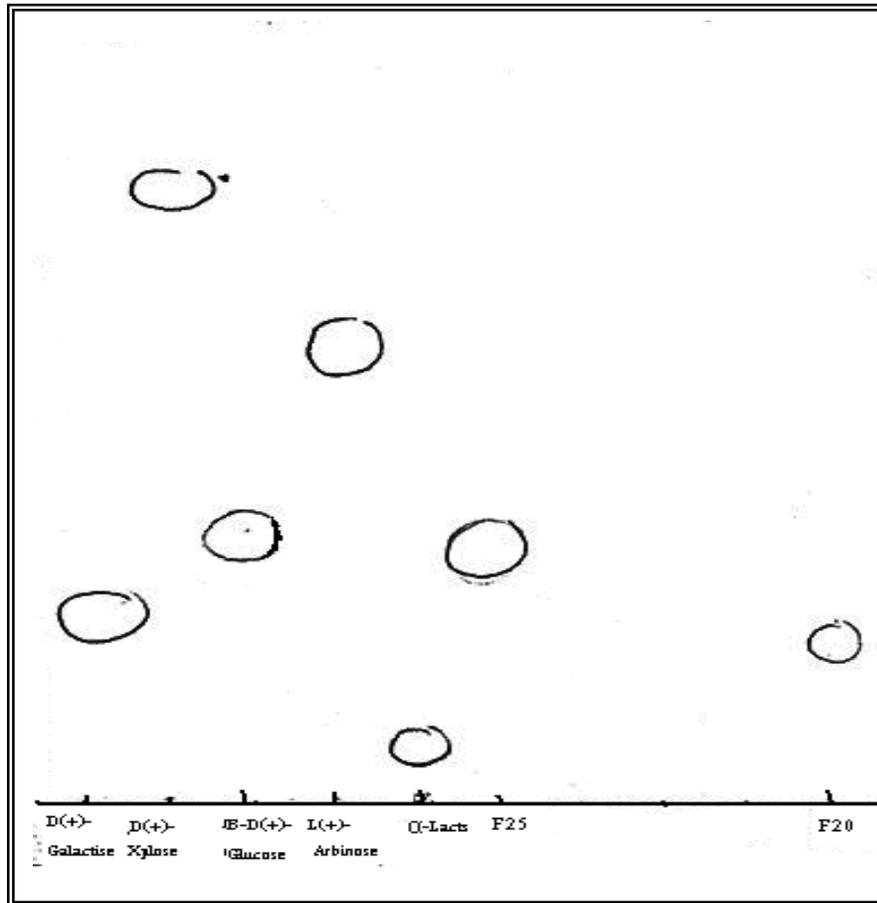


Figure 3 : Co-chromatographie avec des échantillons authentiques de sucres, de la phase aqueuse après hydrolyse acide du composé F₂₀₋₁

Le fait que le sucre se soit détaché de l'aglycone confirme bien la présence du pont oxygène entre les deux entités.

D' autre part, la phase organique après séchage au sulfate de Sodium anhydre, filtration et concentration est déposée sur une plaque recouverte de polyamide. Exposée à la lumière de Wood, elle montre une fluorescence jaune. Cette observation oriente vers une structure de type flavonol de l'aglycone et par conséquent indique que le groupement *O*-galactosyle est en position C-3. Ce qui permet de déduire que le groupement méthoxyle est en position C-3'.

Ces résultats additionnés à ceux des spectres d'absorption ultra-violette et du spectre RMN ^1H mènent à la structure : 5,7,4'-trihydroxy-3'-methoxy-3-O-galactosylflavone reportée dans la figure 4 soit la 3-O-galactosylisorhamnétine.

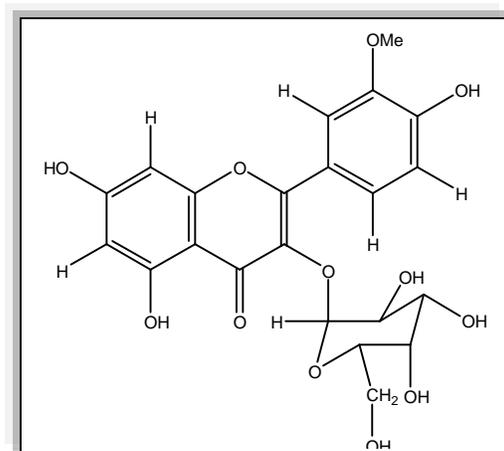
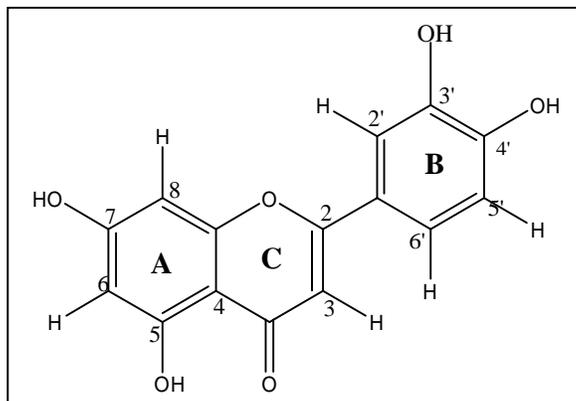


Fig. 4: Structure de composé F₂₀₋₁

IV-2- IDENTIFICATION DU COMPOSE F_{9-d} :



a) Fluorescence sous lumière de Wood :

La fluorescence sous la lumière UV (365nm) de ce composé est noir-violette, indiquant une structure de type flavone ou flavonol substitué en position 3.

b) Résultats de l'analyse par spectrophotométrie ultra-violette :

Enregistré dans le méthanol, le spectre de ce composé montre les deux bandes caractéristiques des flavonoïdes. La bande II à $\lambda_{\max} = 253$ nm et la bande I à $\lambda_{\max} = 349$ nm. La valeur de la longueur d'onde d'absorption maximale de la bande I oriente vers la nature **flavone** de cette molécule.

-L'effet bathochrome de la bande I (+57 nm) après addition de NaOH avec augmentation de l'intensité par rapport au spectre MeOH et significatif de la présence d'un 4'OH libre.

-L'effet bathochrome de la bande I (+69 nm) en présence de $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ par rapport au spectre dans le méthanol indique la présence d'un OH en position 5.

-La comparaison du spectre en présence NaOAc et ce même spectre après addition de H_3BO_3 montre une augmentation de la valeur de la longueur d'onde de la bande I (+25nm) dans ce dernier indiquant la présence d'un

ortho di-OH sur le cycle B, cette hypothèse est confirmée par l'effet hypsochrome de la bande I (-60nm) dans le spectre AlCl_3+HCl par rapport au spectre AlCl_3 .

-Le déplacement de la bande II (+12nm) du spectre en présence NaOAc par rapport au spectre dans le méthanol oriente vers un OH en position 7.

Les résultats de la série spectrale UV du composé F_{20-1} rassemblés dans le tableau 5 permettent à ce stade de proposer la structure partielle reportée dans la figure 7.

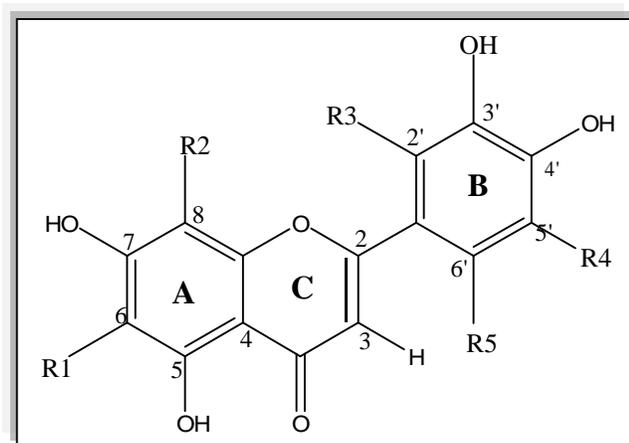


Fig.7 : Structure partielle du composé F_{9-d}

Les réactifs	Bande I (nm)	Bande II (nm)	Autres bandes	Observations
Me OH	349	253	264	flavone
NaOH	406	273		4'-OH
NaOH après 5 mn	407	273		Pas de OH en C-3
NaOAc	349	265		7-OH
NaOAc+H ₃ BO ₃	372	258		présence de système ortho di-OH sur B
AlCl ₃	419	273		5-OH Présence de système ortho di-OH sur B
AlCl ₃ +HCl	487	262	359	

L'examen du spectre de RMN ¹H (Spectre 5) montre la présence de :

- un doublet de doublets à $\delta=7,43$ ppm ($J = 9,0 ; 1,5$ Hz) partiellement recouvert par un singulet large à $\delta=7,41$ ppm le tout d'intégration 2H attribuables à H-6' et H-2' respectivement.
- un signal à $\delta= 6,95$ ppm, d'intégration 1H sous forme d'un doublet ($J= 9,0$ Hz) attribuable à H-5'.

Ces observations orientent vers un noyau B substitué en positions 4' et 3'.

- un signal à $\delta = 6,55$ ppm, d'intégration 1H sous forme d'un singulet attribuable à H-3.
- deux signaux sous forme de singulet large à $\delta = 6,45$ ppm et $\delta = 6,20$ ppm, caractéristiques des protons H-8 et H-6 respectivement, du noyau A d'un flavonoïde.

Ces résultats reportés dans le tableau 7 et additionnés aux résultats des spectres d'absorption ultraviolette donnent la structure :5,7,3',4'-

tétrahydroxyflavone. Cette molécule est connue sous le nom de lutéoline (Figure 8).

δ ppm	Multiplicité	Intégration	J (Hz)	Attribution
7,43	dd	2H	9,0 ; 1,5	H-6'
7,41	sl			H-2'
6,95	d	1H	9,0	H-5'
6,45	sl	1H		H-8
6,2	s l	1H		H-6
6,55	s	1H		H-3

Tableau 7 : Les résultats RMN ^1H (δ ppm, CD_3OD , 300 MHz) du composé F_{9-d}

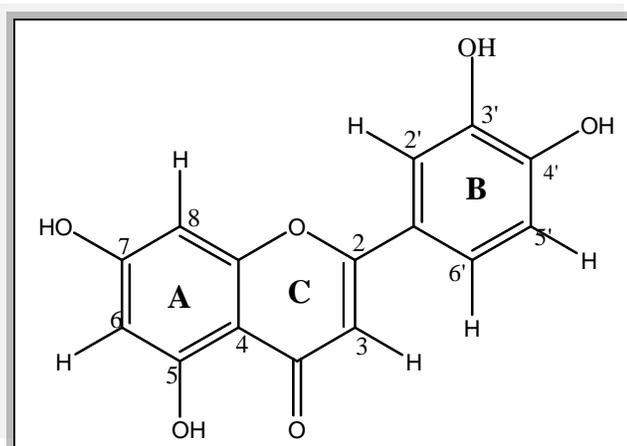
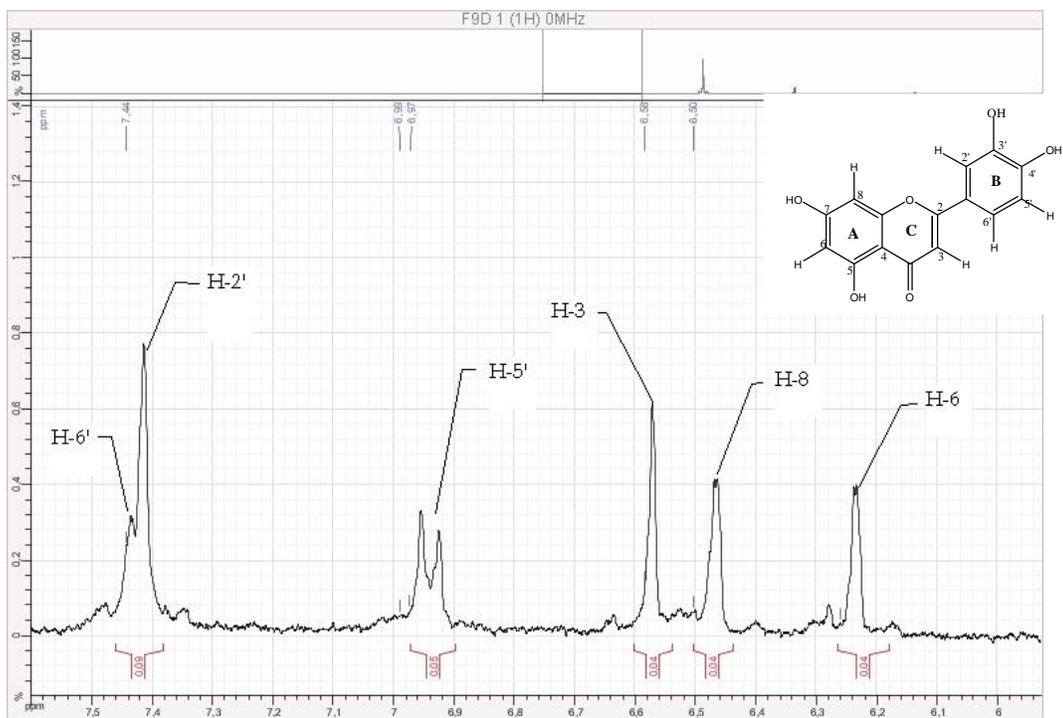
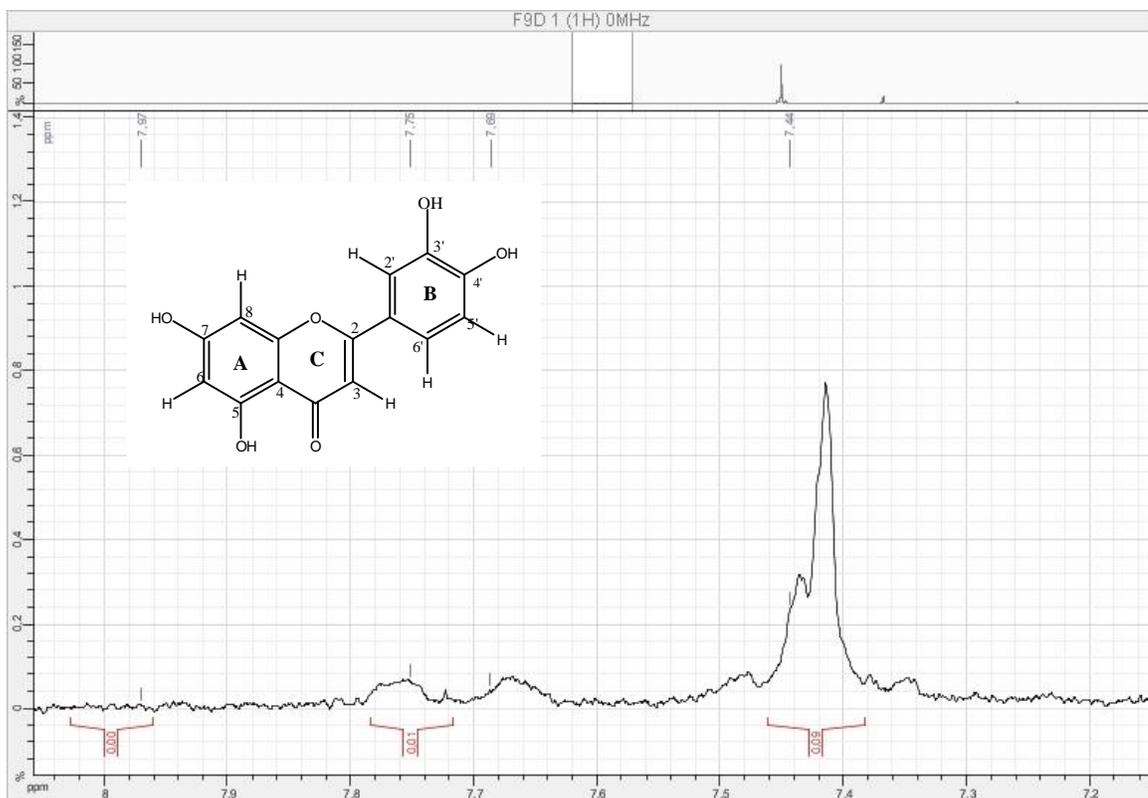


Fig. 8 : Structure de composé F_{9-d}

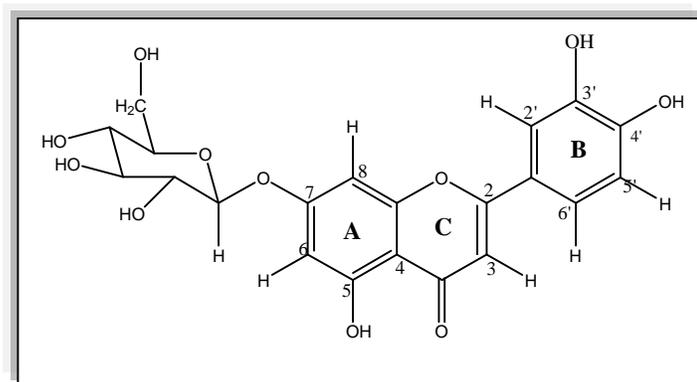


Spectre 6 : Spectre RMN¹H (CD₃OD, 300 MHz) du composé F_{9-d}



Spectre 6 : Spectre RMN¹H (CD₃OD, 250 MHz) du composé F₂₀₋₁, étalé

IV-3- IDENTIFICATION DU COMPOSE F₂₅ :



Le spectre de masse (SMHR) en mode d'ionisation électrospray positif obtenu pour le produit F₂₅ (Spectre 7), donne un pic quasimoléculaire [M+Na]⁺ de masse exacte $m/z = 471,0895$ (calculée pour C₂₁H₂₀O₁₁Na = 471,0903).

Le spectre de masse en mode ESI positif à basse résolution donne les pics quasimoléculaires $m/z = 471,1$ [M+Na]⁺ ; $487,1$ [M+K]⁺ (Spectre 8), permettant ainsi de déduire une formule C₂₁H₂₀O₁₁ pour cette molécule et une masse de 448 Da.

a) Fluorescence sous lumière de Wood :

La fluorescence sous la lumière UV (365nm) de ce composé est noir-violette, indiquant une structure de type flavone ou flavonol substitué en position 3.

L'examen du spectre de RMN ¹H (Spectre 9) montre la présence de :

- un singulet à $\delta = 12,99$ ppm, attribuable à OH en C-5.
- un signal à $\delta = 7,46$ ppm, d'intégration 1H sous forme d'un doublet de doublets ($J = 8,3 ; 2,3$ Hz) attribuable à H-6'.
- un signal à $\delta = 7,43$ ppm, d'intégration 1H sous forme d'un doublet ($J = 2,3$ Hz) attribuable à H-2'.
- un signal à $\delta = 6,91$ ppm, d'intégration 1H sous forme d'un doublet ($J = 8,3$ Hz) attribuable à H-5'.
- deux doublets formant un système AB à $\delta = 6,80$ ppm et $\delta = 6,45$ ppm, ($J = 2,2$ Hz) caractéristiques des protons H-8 et H-6 respectivement, du noyau A d'un flavonoïde.
- un signal à $\delta = 6,76$ ppm, d'intégration 1H sous forme d'un singulet attribuable au H-3 d'une flavone.
 - Un doublet à $\delta = 5,10$ ppm ($J = 7,4$ Hz), attribuable au proton anomérique d'un sucre relié à l'aglycone par un pont oxygène. D'après la valeur de la constante de couplage du proton anomérique avec le proton en C-2, cette entité pourrait être soit un glucosyle soit un galactosyle avec une configuration β du carbone anomérique.
- un ensemble de multiplets dans l'intervalle 3,3 – 3,8 ppm attribuable par conséquent aux protons du substituant sucre.

L'ensemble de ces données montre que dans la structure partielle précédemment signalée : R_1 ou R_2 ou $R_3 = O\text{-Glu}$ ou $O\text{-Gal}$. Les deux groupements restants sont des hydroxyles.

Ces données consignées dans le tableau 8 mènent à la structure toujours partielle reportée dans la figure 9.

δ ppm	Multiplicité	Intégration	J (Hz)	Attribution
12,99	s	1H		OH en C-5
7,46	dd	1H	8,3; 2,3	H-6'
7,43	d	1H	2,3	H-2'
6,91	d	1H	8,3	H-5'
6,80	d	1H	2,2	H-8
6,45	d	1H	2,2	H-6
6,76	s	1H		H-3
5,10	d	1H	7,4	H-1''
3,3-3,8	m			Protons substituant sucre

Tableau 8 : Résultats RMN ^1H (δ ppm, DMSO- d_6 , 400 MHz) du composé F_{25}

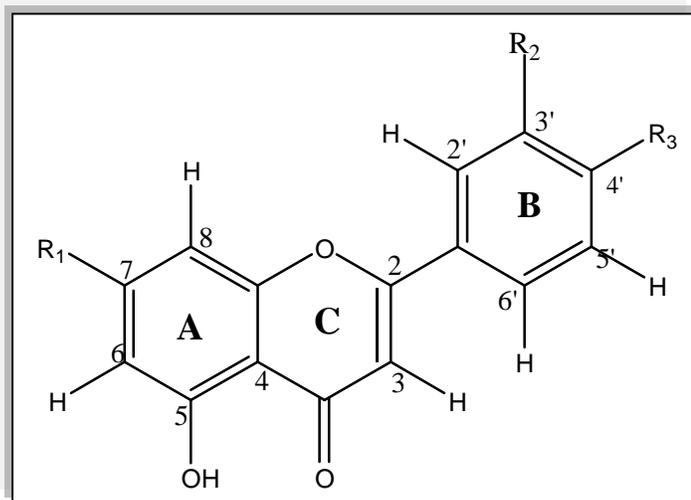
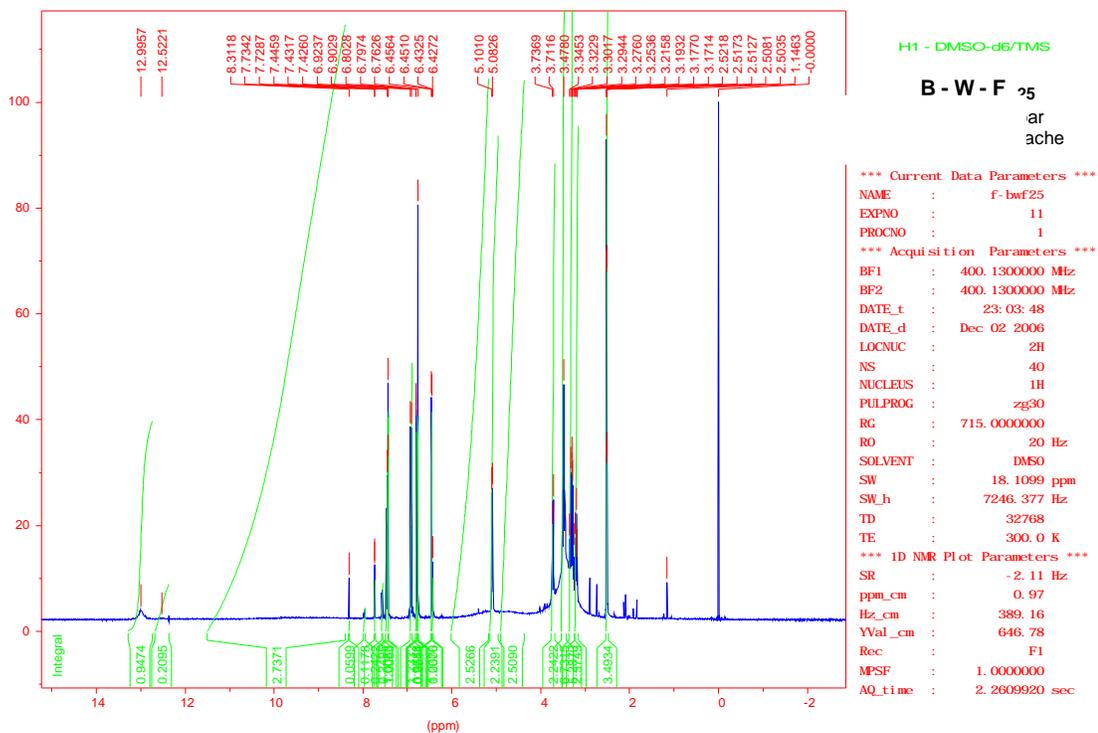
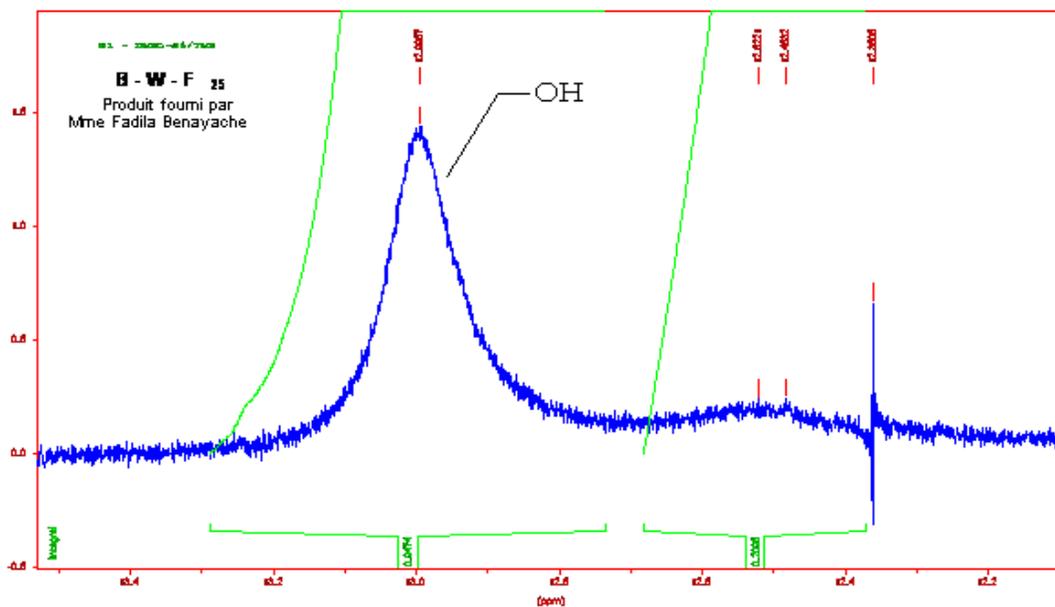


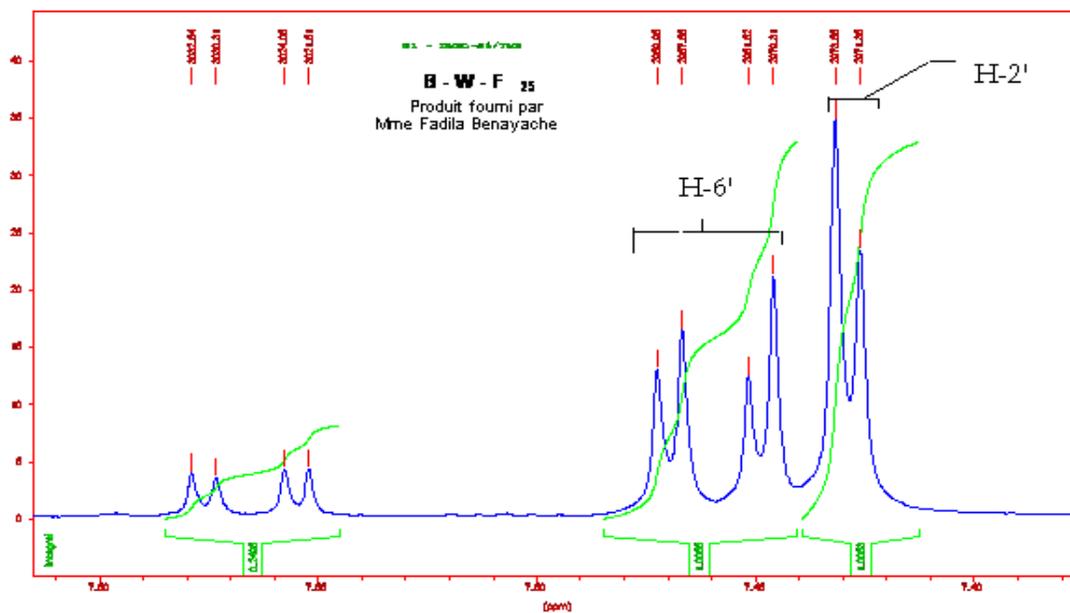
Fig.9 : Structure partielle du composé F_{9-d}



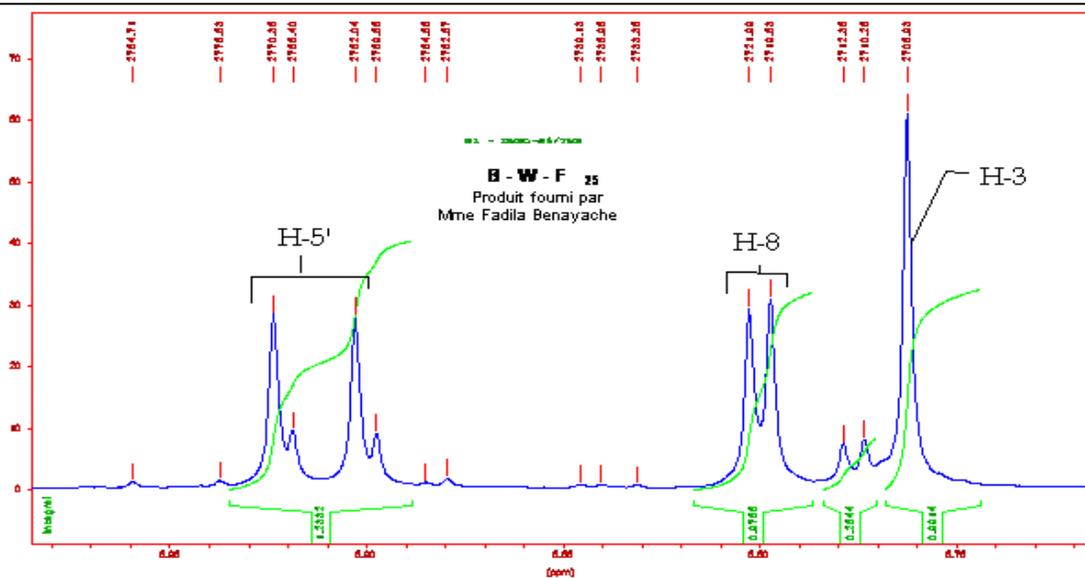
Spectre 9 : Spectre RMN¹H (DMSO-d₆, 400 MHz) du composé F₂₅



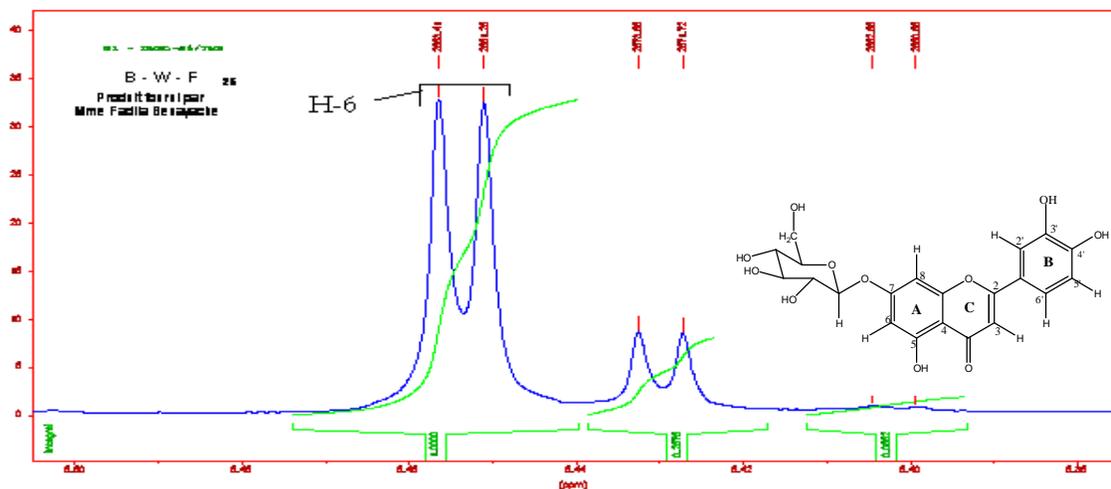
Spectre 10 : Spectre RMN¹H (DMSO-d₆, 400 MHz) du composé F₂₅, étalement



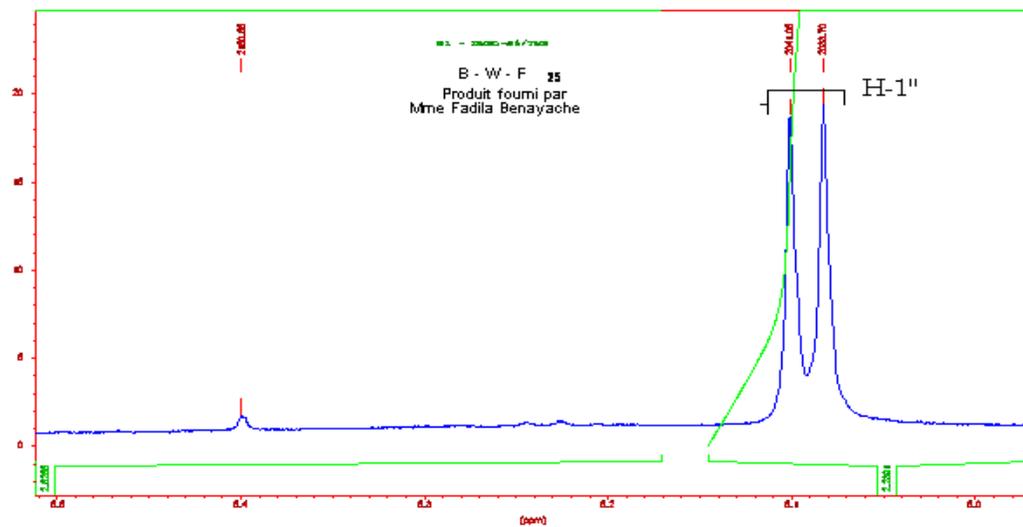
Spectre 11 : Spectre RMN¹H (DMSO-d₆, 400 MHz) du composé F₂₅, étalement



Spectre 12 : Spectre RMN¹H (DMSO-d₆, 400 MHz) du composé F₂₅, étalement

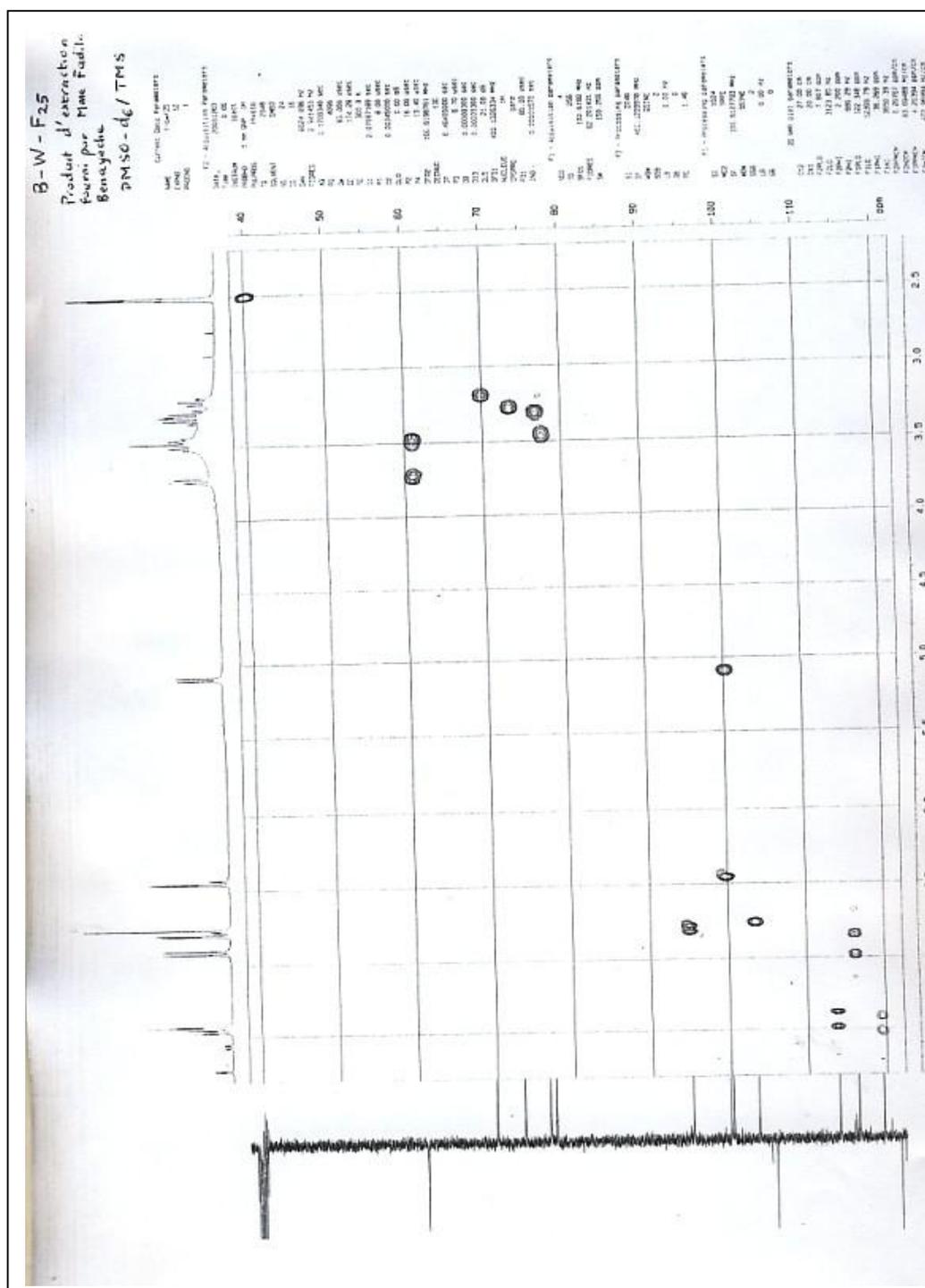


Spectre 13 : Spectre RMN¹H (DMSO-d₆, 400 MHz) du composé F₂₅, étalé

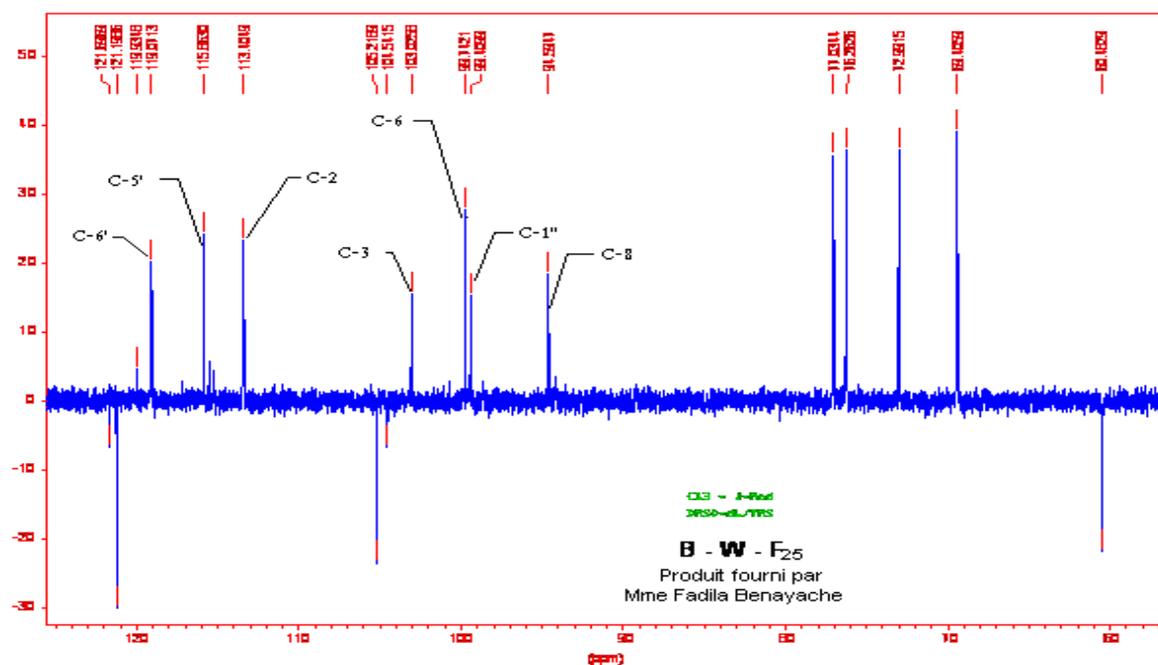


Spectre 14 : Spectre RMN¹H (DMSO-d₆, 400 MHz) du composé F₂₅, étalé

L'examen du spectre HSQC (Spectre 17) permet de localiser C-6' à $\delta = 119,93$ ppm; C-5' à $\delta = 115,86$ ppm; C-2' à $\delta = 113,41$ ppm; C-3 à $\delta = 104,54$ ppm; C-6 à $\delta = 99,74$ ppm; C-1'' à $\delta = 99,41$ ppm; C-8 à $\delta = 94,95$ ppm. Le spectre RMN ^{13}C J-Modulé permet de mettre en évidence la présence de ces éléments (Spectre 18).



Spectre 17: Spectre HSQC (DMSO-d₆, 400 MHz) du composé F₂₅



Spectre 18 : Spectre RMM ¹³C J-Mod (DMSO-d₆, 400 MHz) du composé F₂₅

Spectre 17 : Spectre HSQC (DMSO-d₆, 400 MHz) du composé F₂₅

L'examen du spectre HMBC (Spectre 19) permet de localiser C-5 à $\delta = 161,02$ ppm grâce à sa corrélation avec le proton du OH-5; toujours grâce au proton de cet hydroxyle, le carbone C-10 est localisé à $\delta = 113,41$ ppm et le carbone C-6 et confirmé à $\delta = 99,74$ ppm.

Dans ce spectre (HMBC), les deux protons H-6 et H-8 montrent des tâches de corrélation avec le carbone quaternaire oxygéné à $\delta = 162,82$ ppm, ce qui permet l'attribution de ce dernier au C-7. Par ailleurs et toujours sur le même spectre, ce carbone montre une tâche de corrélation avec le proton anomérique du sucre. Cette observation permet de placer le substituant sucre en position C-7 et mène à la présence de deux groupements OH dans les positions C-3' et C-4'. La nature de sucre de type hexose est confirmée par présence de 5 signaux sur le spectre RMN¹³C J-Mod en plus du signal relatif au carbone anomérique et de ceux du squelette flavonique (Spectre 21).

On relève en particulier un groupement CH₂ ($\delta = 60,48$ ppm) caractérisant comme annoncé plus haut, un glucose ou un galactose.

L'examen approfondi du spectre HMBC, permet de localiser le proton H-2" du glycosyle ($\delta = 3,18$ ppm) grâce à corrélation avec le carbone C-1" ($\delta = 99,41$ ppm).

Une retour vers le spectre HSQC permet de localiser C-2" à $\delta = 69,40$ ppm. Sur le spectre HMBC, ce carbone (C-2") corréle avec le proton à $\delta = 3,33$ ppm attribuable à H-3". Le signal de ce noyau apparaît sous forme d'un triplet ($J = 9,0$ Hz). Le signal sous forme d'un triplet à $\delta = 3,27$ ppm ($J = 9,0$ Hz), présentant un effet de toit avec celui de H-3" est attribuable au H-4". Cette valeur de la constante de couplage suppose une interaction axiale-axiale entre H-3" et H-4". Cette observation oriente vers un H-4" en position axiale. En conséquence le groupement glycosyle présent en C-7 est donc un glucosyle.

Ces données reportés dans le tableau 9 mènent à la structure :

7-glucosyllutéoline (Figure 10).

Proton	HMBC	RMN ¹³ C, δ(ppm)
OH-5	C-5, C-10, C-6	161,02; 113,41; 99,74
H-6, H-8	C-7	162,82
H-2''	C-1''	99,41
H-3''	C-2''	69,40

Tableau 9 : Corrélation HMBC et RMN ¹³C (δ ppm, DMSO-d6, 400 MHz) du composé F₂₅

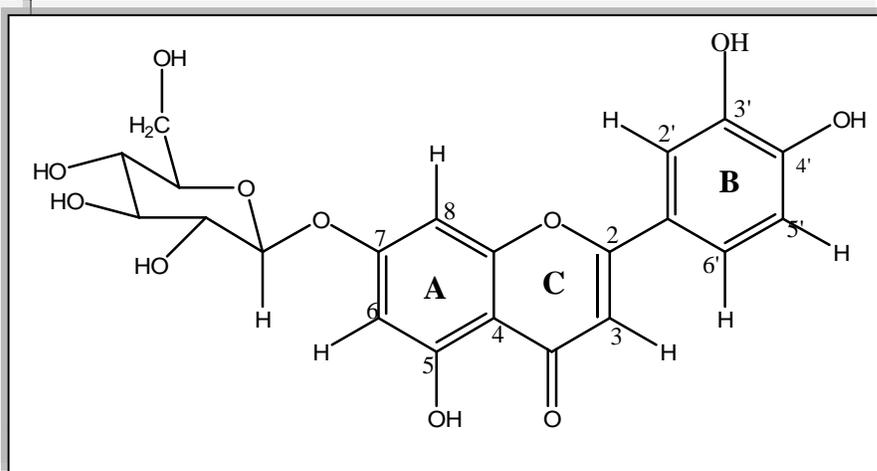
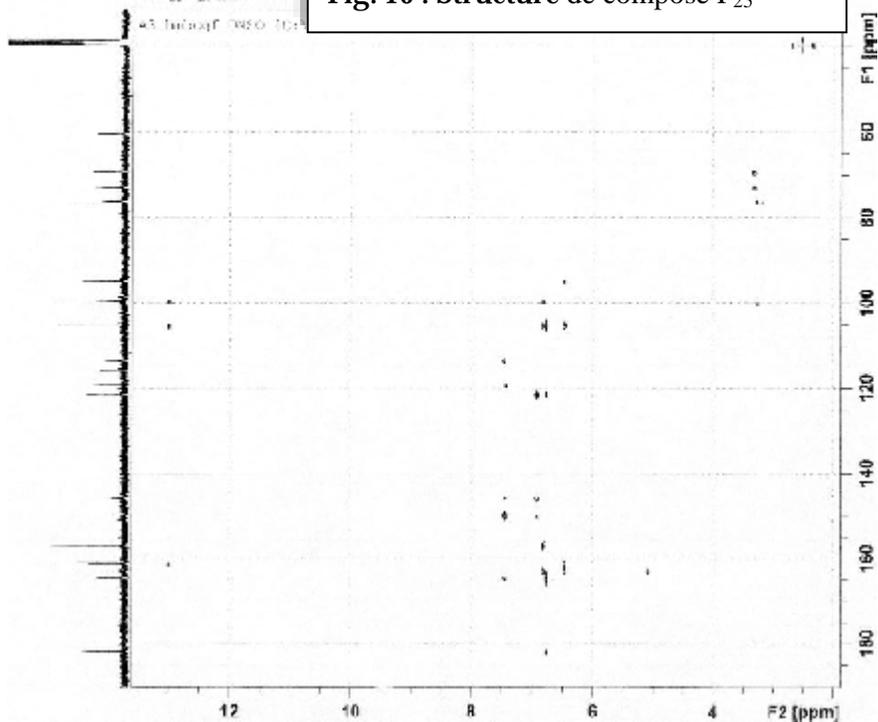
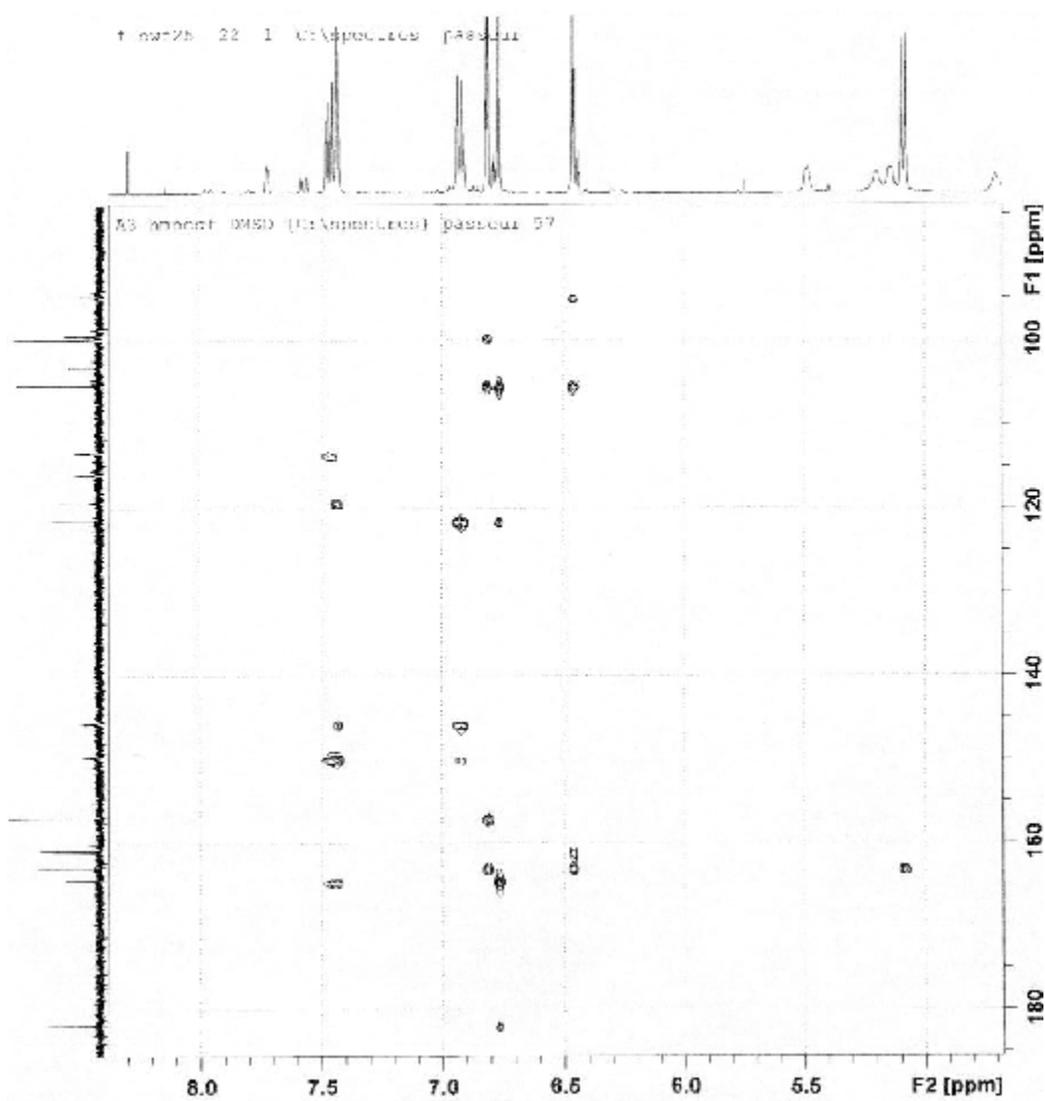


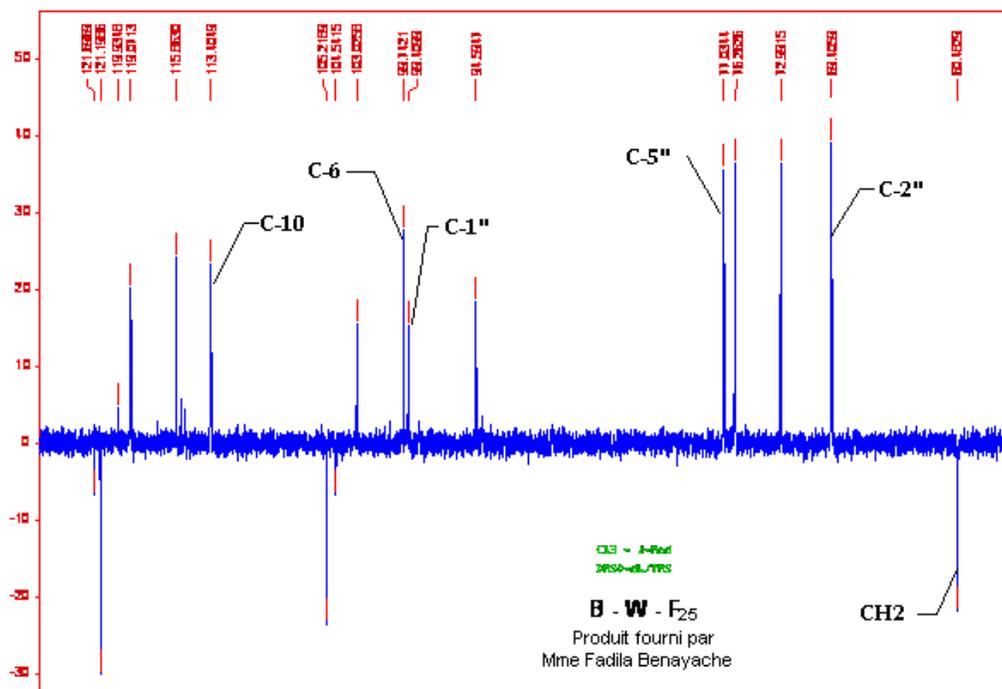
Fig. 10 : Structure de composé F₂₅



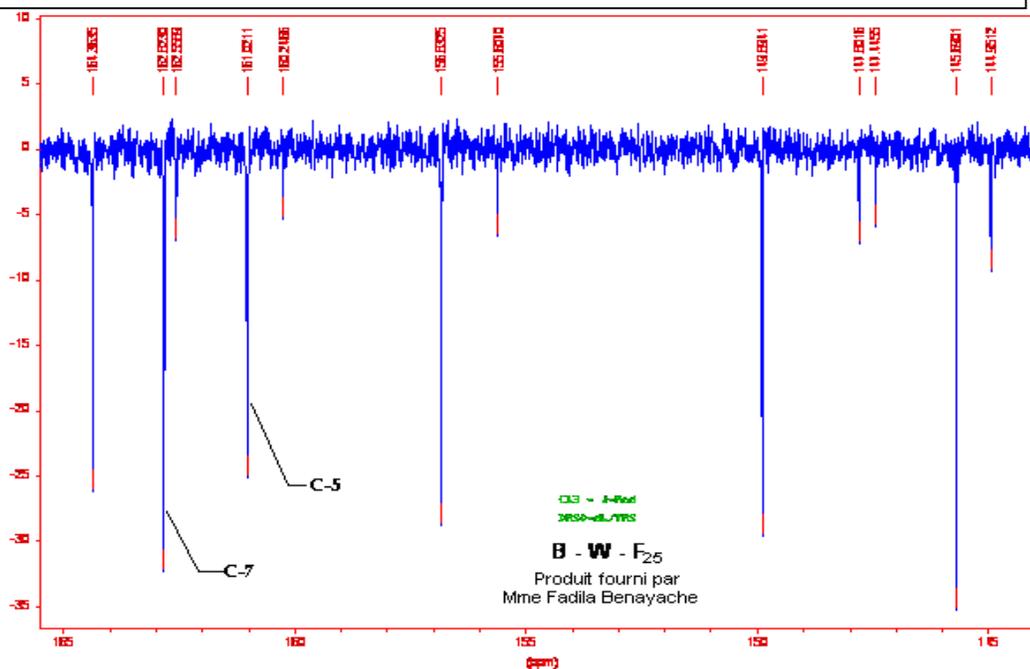
Spectre 19 : Spectre HMBC (DMSO-d₆, 400 MHz) du composé F₂₅



Spectre 20 : Spectre HMBC (DMSO-d₆, 400 MHz) du composé F₂₅, étalement



Spectre 21 : Spectre RMM ¹³C J-Mod (DMSO-d₆, 400 MHz) du composé F₂₅

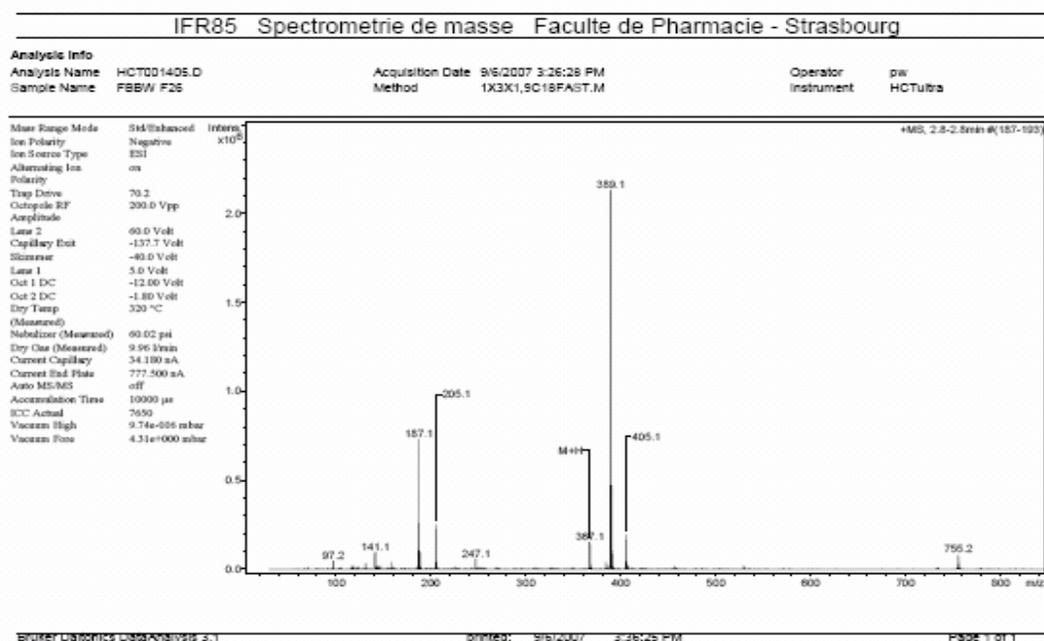


Spectre 22 : Spectre RMM ¹³C J-Mod (DMSO-d₆, 400 MHz) du composé F₂₅, étalement

IV-4- IDENTIFICATION DU COMPOSE F₂₆ :

Le spectre de masse en mode ESI positif à basse résolution de ce composé, donne les pics quasimoléculaires $m/z = 367,1 [M+H]^+$; $389,1 [M+Na]^+$ (Spectre 23), permettant ainsi de déduire une formule brute C₁₉H₂₆O₇ pour cette molécule, une masse de 366 Da et 7 insaturations.

Sur ce même spectre le signal à $m/z = 205,1$ signifiant le départ d'une entité de masse 162 uma suppose la présence d'un substituant sucre de type hexose qui pourrait être un mannose, un galactose ou un glucose. Par ailleurs et toujours sur le même spectre le signal à $m/z = 187,1$ résultant du départ d'une molécule d'eau de l'ion $m/z = 205,1$ indique la présence d'un groupement OH dans cet ion.



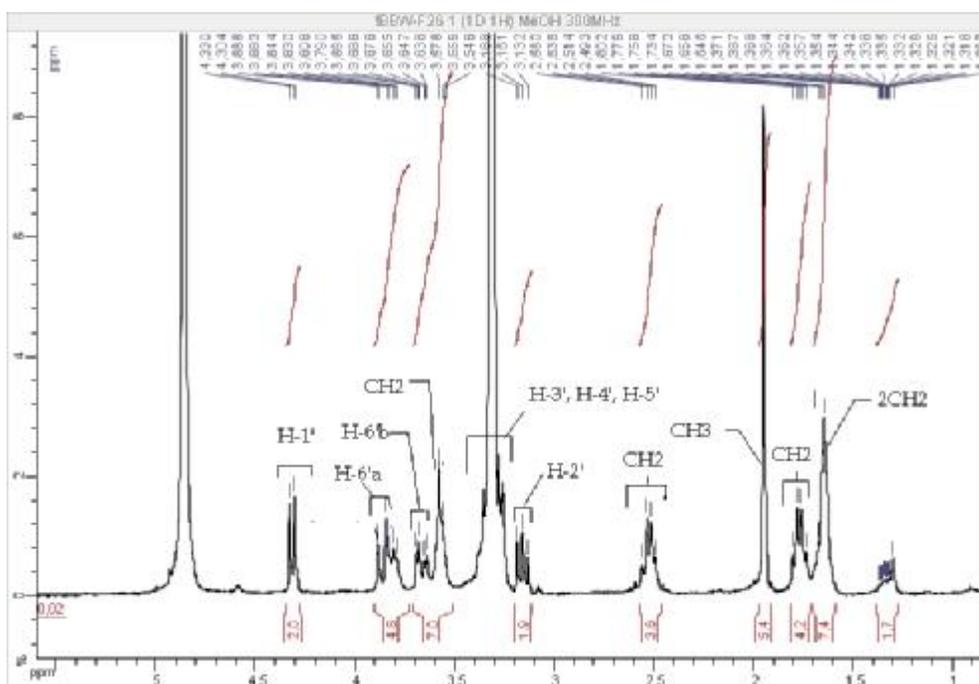
Spectre 23 : Spectre SM ESI du composé F₂₆

Le spectre RMN ¹H (Spectre 24) montre un signal à $\delta = 4,32$ ppm sous forme d'un doublet ($J = 7,8$ Hz) attribuable au proton anomérique (H-1') de l'hexose. La valeur de la constante de couplage de ce proton qui représente une interaction de type axiale-axiale avec son voisin H-2' exclut le mannose

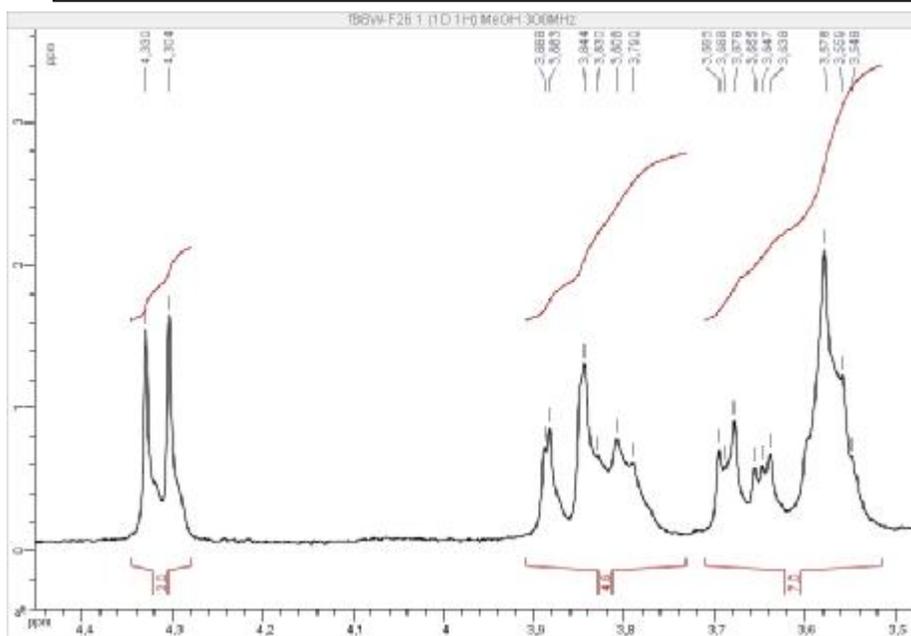
de la liste des substituants sucres possibles. L'examen du spectre de l'expérience HSQC (Spectre 25) relatif à ce composé permet de localiser le carbone anomérique de ce sucre grâce à sa corrélation avec H-1' à $\delta_C = 103,3$ ppm. La valeur de ce déplacement chimique indique que cet hexose est relié à l'aglycone par une jonction oxygène. La combinaison des analyses des spectres COSY (1H 1H) (Spectre 26), HSQC et DEPT 135 (Spectre 27) permet de localiser tous les noyaux relatifs au groupement glycosyle notamment :

- H-2', triplet ($J = 8,1$ Hz) à $\delta = 3,16$ ppm, $\delta_C = 74,4$ ppm
- H-6'a , H-6'b respectivement à $\delta = 3,86$ ppm (dd, $J = 11,7 ; 1,5$ Hz) et $\delta = 3,66$ ppm (dd, $J = 11,7 ; 5,1$ Hz) ; $\delta_{C-6'} = 61,85$ ppm
- H-3', H-4' et H-5' recouverts par le signal du solvant dans l'intervalle 3,20 – 3,40 ppm avec $\delta_{C-3'} = 76,9$; $\delta_{C-4'} = 70,7$; $\delta_{C-5'} = 77,1$ ppm

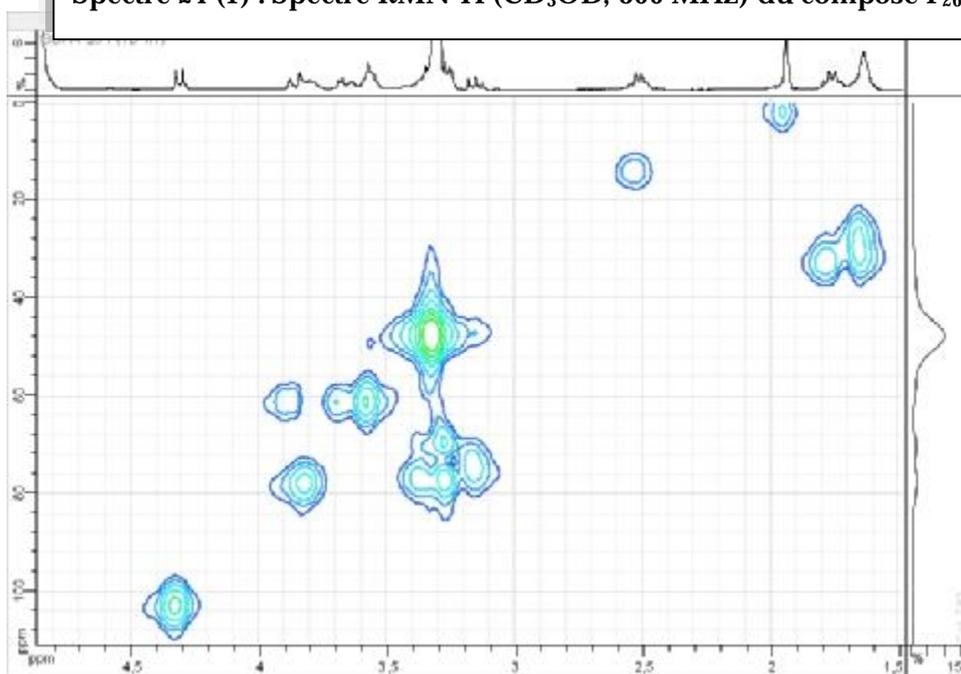
Ces données notamment les valeurs des déplacements chimiques des carbones comparées à celles de la littérature orientent vers un substituant de type glucosyle [139].



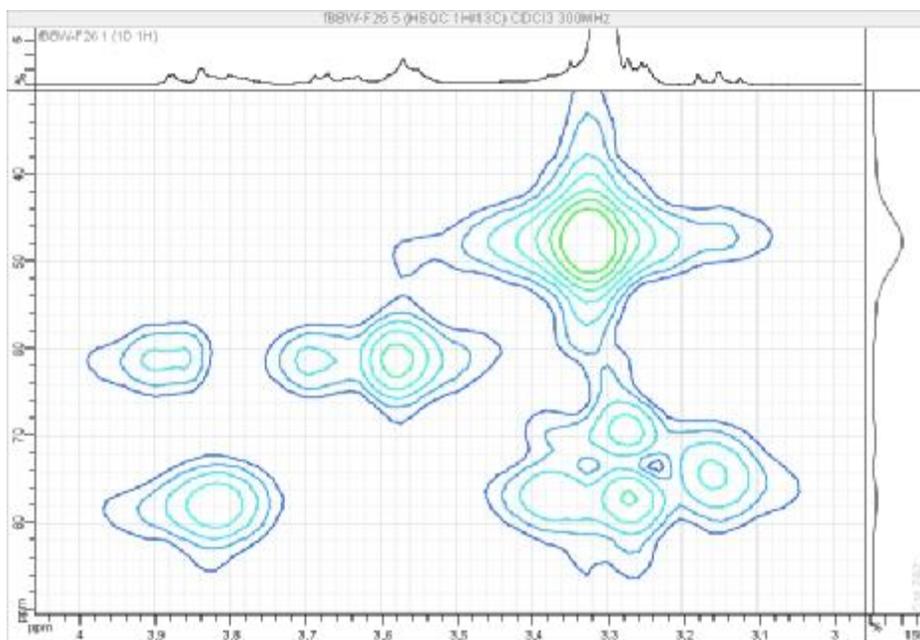
Spectre 24 : Spectre RMN¹H (CD₃OD, 300 MHz) du composé F₂₆



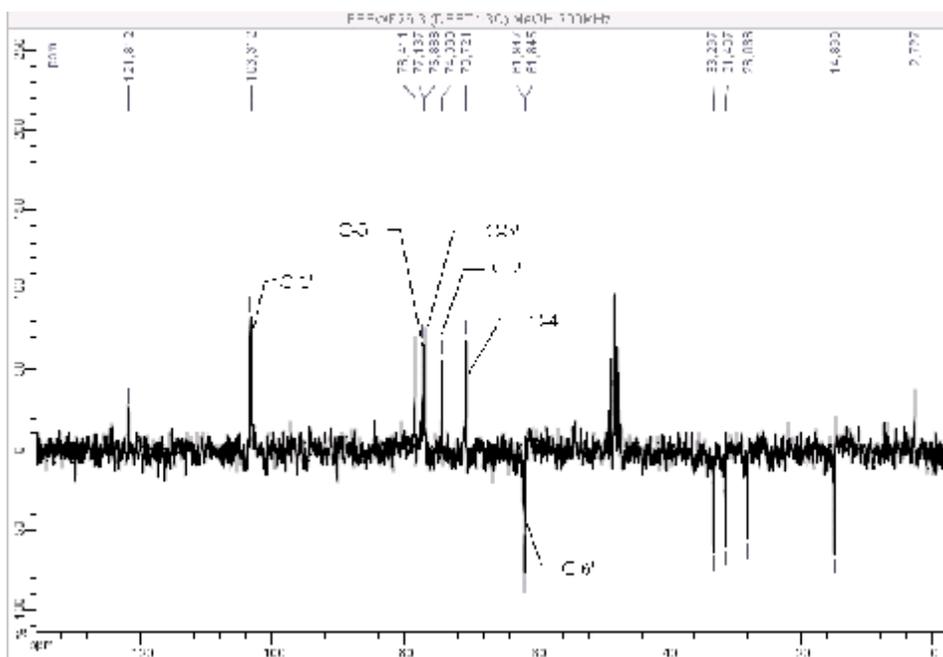
Spectre 24 (1) : Spectre RMN¹H (CD₃OD, 300 MHz) du composé F₂₆, étalement



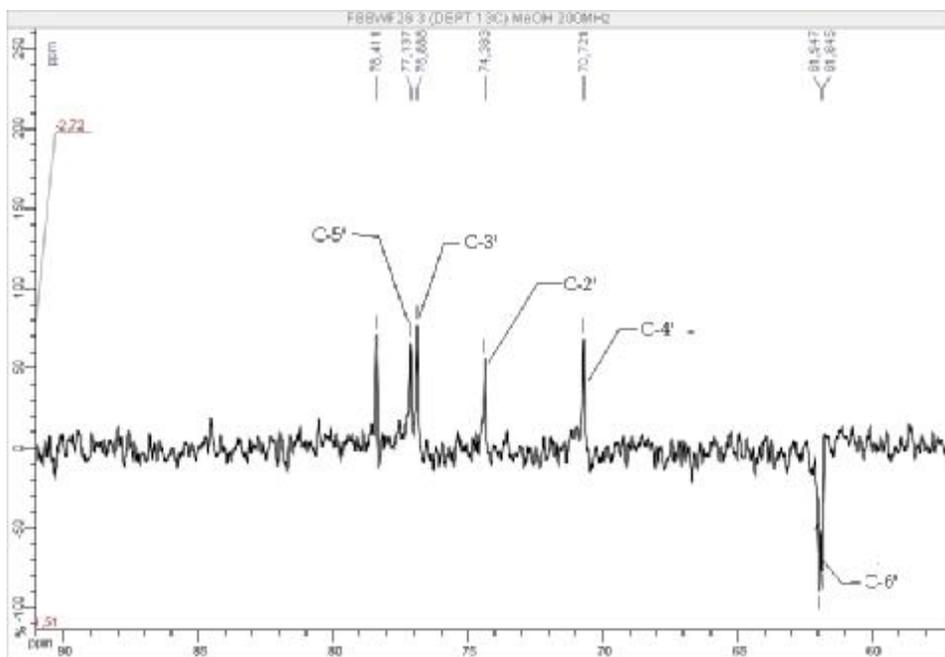
Spectre 25 : Spectre HSQC (CD₃OD, 300 MHz) du composé F₂₆



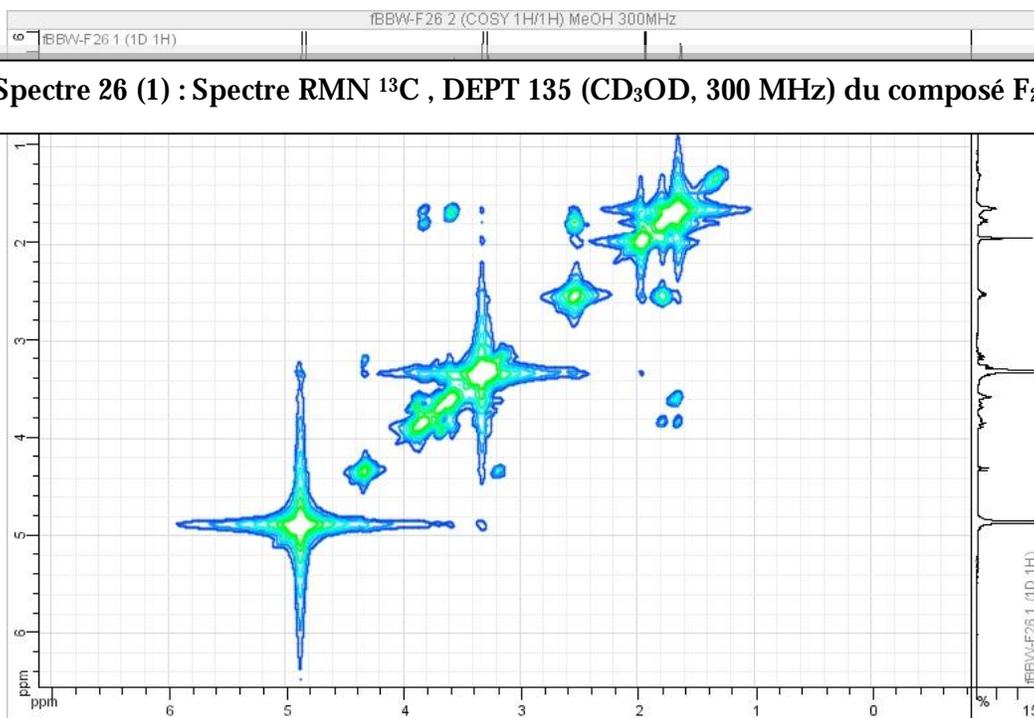
Spectre 25 (1) : Spectre HSQC (CD₃OD, 300 MHz) du composé F₂₆ , étalement



Spectre 26 : Spectre RMN ¹³C , DEPT 135 (CD₃OD, 300 MHz) du composé F₂₆



Spectre 26 (1) : Spectre RMN ^{13}C , DEPT 135 (CD_3OD , 300 MHz) du composé F_{26} , étalement

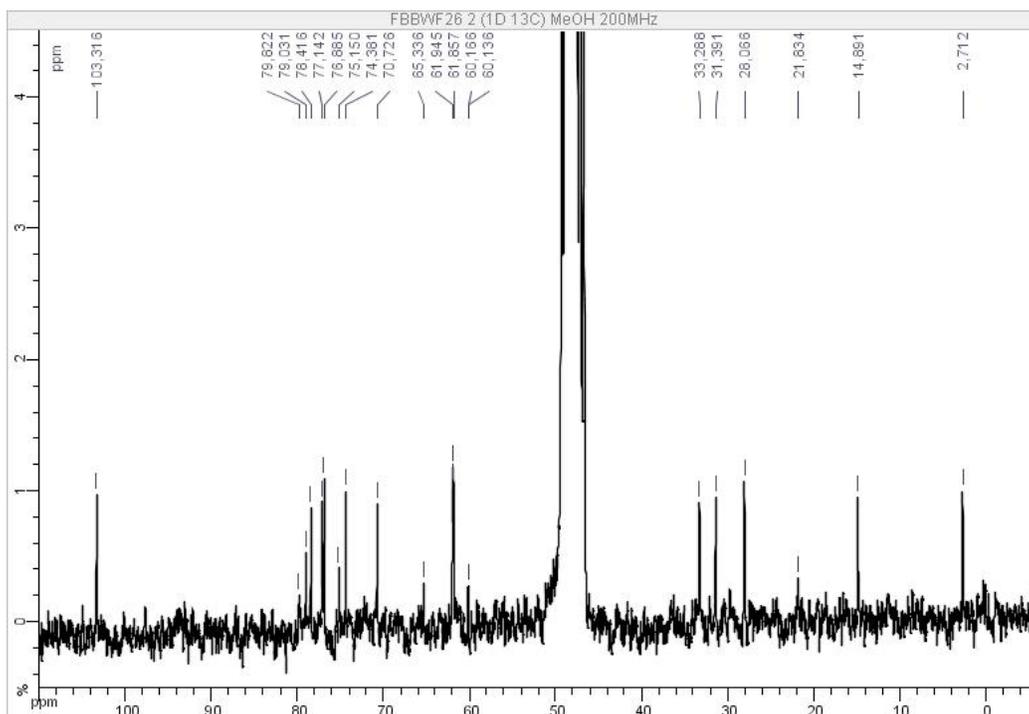


Spectre 27 : Spectre COSY (^1H ^1H) (CD_3OD , 300 MHz) du composé F_{26}

En faisant abstraction des signaux du glucosyle, le spectre RMN ^{13}C (Spectre 28) et le spectre relatif à la séquence DEPT montrent la présence de 13 atomes de carbone dont :

- 1CH_3 à $\delta_{\text{H}} = 1,95$; $\delta_{\text{C}} = 2,73$ ppm,

- 5 CH₂ à $\delta_H = 2,52$ (2H, multiplet), $\delta_C = 14,9$ ppm ; $\delta_H = 1,74$ (2H, quadruplet $J = 6,9$ Hz), $\delta_C = 33,3$ ppm ; $\delta_H = 1,66$ (4H, multiplet non résolu), $\delta_C = 28,1$ et $31,4$ ppm et $\delta_H = 3,56$ (2H, triplet $J = 5,7$ Hz), $\delta_C = 61,9$ ppm
- 1CH oxygéné à $\delta_H = 3,65$; $\delta_C = 78,4$ ppm,
- 6 Cq à $\delta_C = 60,1 ; 60,2 ; 65,3 ; 75,2 ; 79,0 ; 79,8$ ppm.

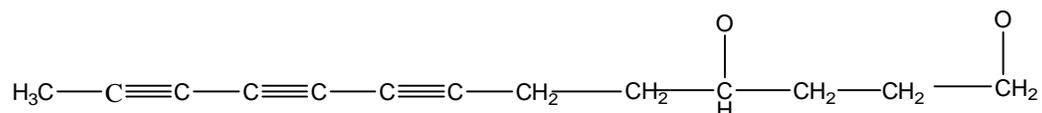


Spectre 28 : Spectre RMN¹³C (CD₃OD, 300 MHz) du composé F₂₆

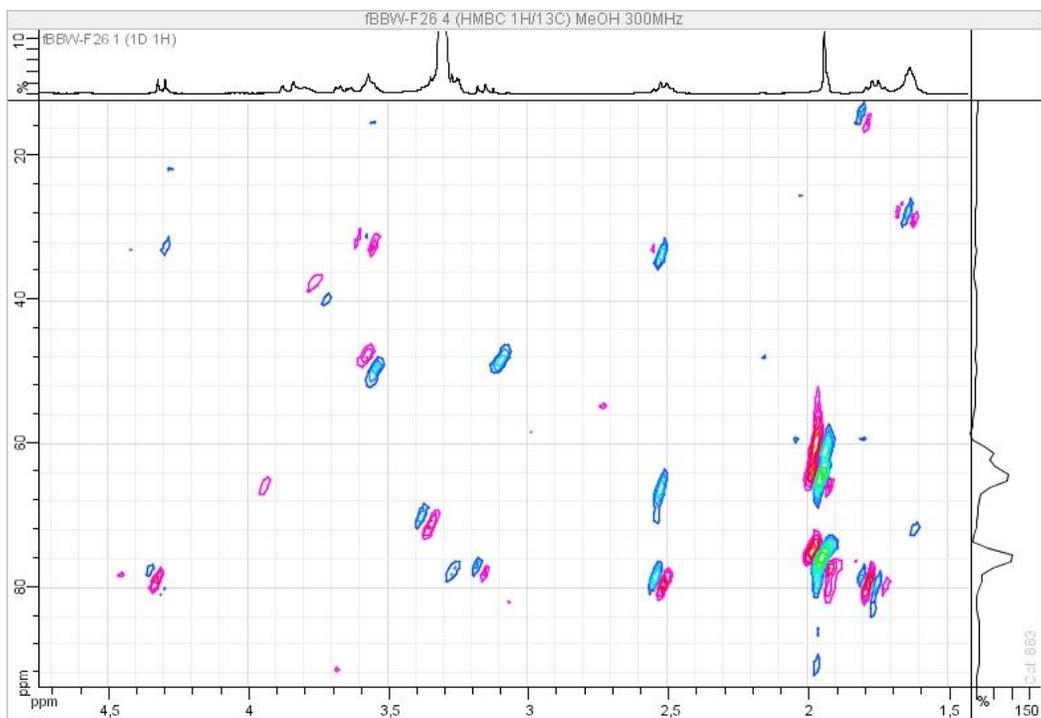
D'après le nombre d'insaturations restant (6), d'après l'état d'hybridation SP^s des 5 groupements CH₂ et du groupement CH, d'après les valeurs du déplacement chimique des 6 atomes de carbone quaternaire, il est parfaitement envisageable de conclure la présence de trois triples liaisons dans cette molécule. Dès lors le groupement méthyle dont le déplacement chimique de son carbone n'est que de 2,73 ppm peut être supposé placé dans la zone positivante du cylindre d'anisotropie d'une des trois doubles liaisons. Cette observation mène à l'enchaînement CH₃ - C ≡ C - . Par ailleurs le spectre relatif à l'expérience HMBC (Spectre 29) montre des corrélations entre les protons du groupement CH₃ et tous les carbones quaternaires reportés, ceci implique l'enchaînement des trois triples liaisons soit la présence du

groupement $\text{CH}_3 - \text{C} \equiv \text{C} - \text{C} \equiv \text{C} - \text{C} \equiv \text{C}$ -. Sur ce même spectre (HMBC) le groupement CH_2 $\delta_{\text{H}} = 2,52$ ppm ($\delta_{\text{C}} = 14,9$ ppm) montre une corrélation avec

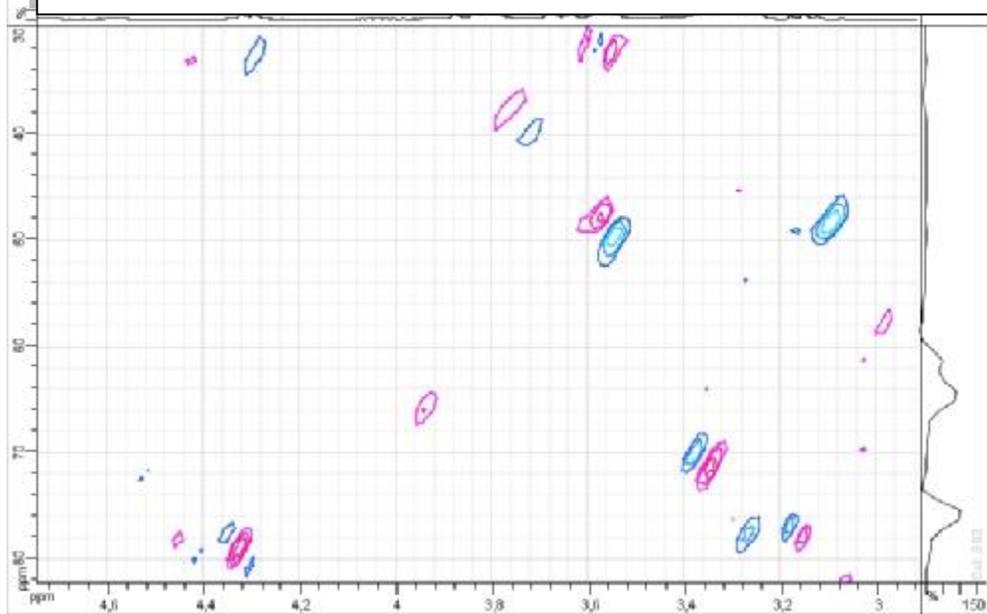
le carbone quaternaire acétylénique $\delta_{\text{C}} = 79,8$ ppm, ce qui suppose leur jonction. Sur le spectre COSY($^1\text{H} \ ^1\text{H}$), les protons de ce groupement CH_2 corrélient avec ce groupement CH_2 $\delta_{\text{H}} = 1,74$ ppm ce qui suppose également leur jonction. Toujours sur le même spectre (COSY) ce dernier CH_2 ($\delta_{\text{H}} = 1,74$ ppm) corrélie avec le groupement CH à $\delta_{\text{H}} = 3,65$ ppm. Ces données mènent à l'enchaînement $\text{CH}_3 - \text{C} \equiv \text{C} - \text{C} \equiv \text{C} - \text{C} \equiv \text{C} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{O}$. Le groupement CH oxygéné montre par ailleurs, une corrélation avec l'un des 2 CH_2 ($\delta_{\text{H}} = 1,66$ ppm) ; ceci d'une part. D'autre part, la tâche de corrélation observée sur le spectre COSY ($^1\text{H} \ ^1\text{H}$) entre le groupement CH_2 à $\delta_{\text{H}} = 3,56$ ppm et un des 2 groupement CH_2 à $\delta_{\text{H}} = 1,66$ ppm, suppose que les deux CH_2 à $\delta_{\text{H}} = 1,66$ sont reliés entre eux et que l'un d'eux est relié au CH oxygéné ($\delta_{\text{H}} = 3,65$ ppm) et que l'autre est relié au CH_2 à $\delta_{\text{H}} = 3,56$. La valeur du déplacement chimique de ce dernier méthylène indique qu'il est oxygéné. L'ensemble des ces données mène à l'enchaînement :



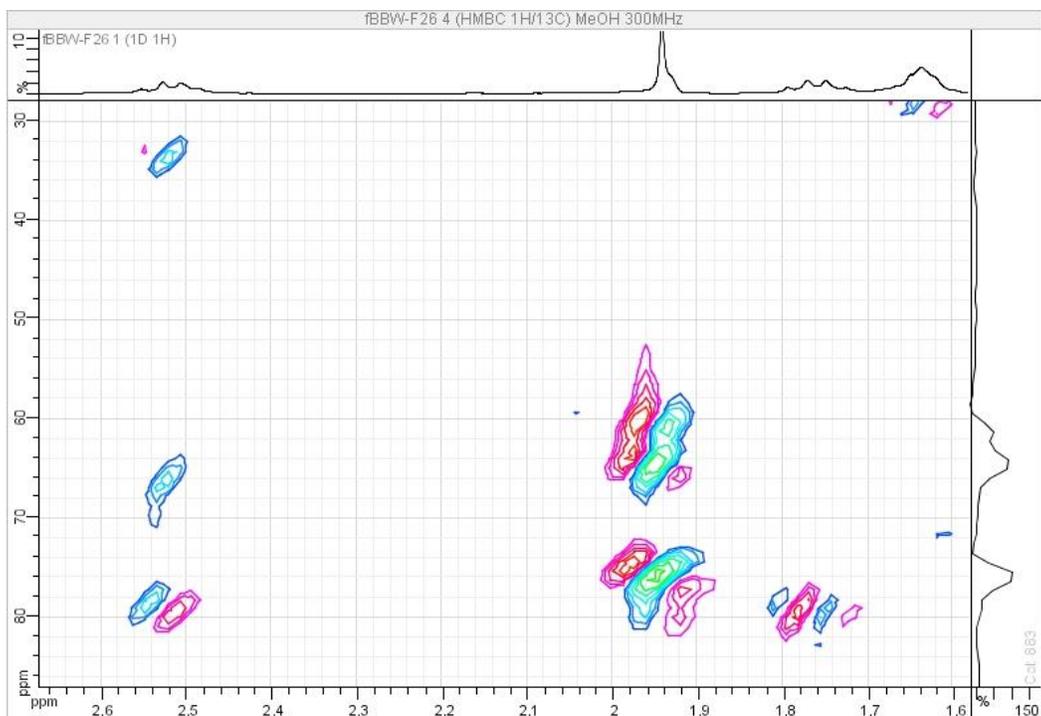
D'après les données des analyses précédentes qui indiquent la présence d'un glucosyle et un retour vers la formule brute $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{O}_7$ **qui montre** qu'il ne nous manque plus qu'un hydrogène, il apparaît clairement que cette molécule renferme un groupement hydroxyle. Ainsi, il ne reste plus qu'à placer ces deux groupements (glucosyle et hydroxyle) sur le CH_2 oxygéné et le CH oxygéné. Un retour vers le spectre relatif à l'expérience HMBC, permet de placer le groupement glucosyle sur le CH grâce à la corrélation observée entre le proton anomérique du sucre et le carbone du CH à $\delta_{\text{C}} = 78,4$ ppm. En conséquence, le groupement hydroxyle sera placé sur le groupement CH_2 à $\delta_{\text{H}} = 3,56$ ppm.



Spectre 29 : Spectre HMBC (CD₃OD, 300 MHz) du composé F₂₆



Spectre 29 (1) : Spectre HMBC (CD₃OD, 300 MHz) du composé F₂₆, étalement



Spectre 29 (2) : Spectre HMBC (CD₃OD, 300 MHz) du composé F₂₆, étalement

Ces données reportées dans le tableau 8 mènent à la structure du 4-glucosyl-tridéca-7,9,11-triyn-1-ol (Figure 11).

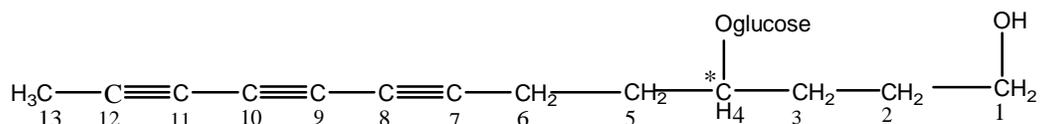
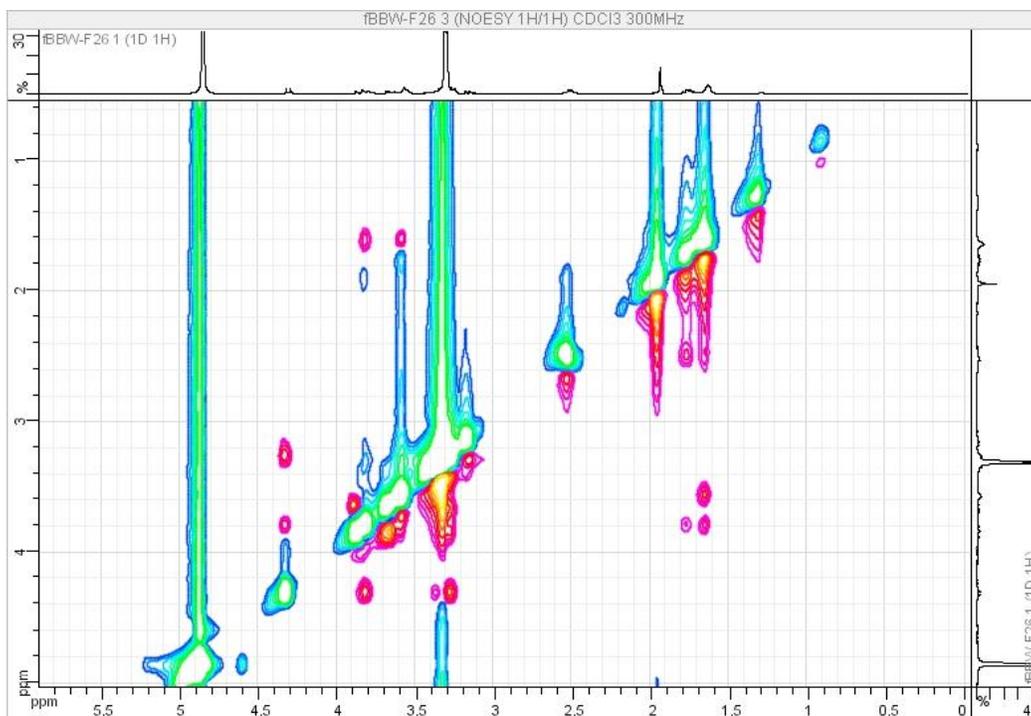


Fig. 11 : Structure plane du composé F₂₆

En ce qui concerne la configuration absolue du centre chiral C-4, l'étude du spectre NOESY (Spectre 30) montre une corrélation entre le proton du C-4 et le proton anomérique du sucre. Cette observation suppose que ces deux protons sont orientés *cis*. Sur la base des données de la littérature qui reporte la configuration (R) pour tous les produits de ce type [140].



Spectre 30 : Spectre NOESY (CD₃OD, 300 MHz) du composé F₂₆

Nous proposons cette configuration (R) (Figure 12) pour ce centre asymétrique soit la molécule : (4R)-4-glucosyl-tridéca-7,9,11-triyn-1-ol. Ce résultat est en cours de confirmation par diffraction de rayons X. Les données spectroscopiques de RMN relatives à ce composé sont reportées dans le tableau 8.

Cette molécule est nouvelle, elle est par conséquent décrite pour la première fois, une publication relative à l'ensemble de ces résultats en cours de réalisation.

δ (ppm)	Multiplicité	Intégration	J (Hz)	^{13}C δ (ppm)
H-1' 4,32	d	1H	7,8	103,3
H-2' 3,16	t	1H		74,4
H-6'a 3,86	dd	1H	11,7 ; 1,5	61,85
H-6'b 3,66	dd	1H	11,7 ; 5,1	
H-3', H-4', H-5' 3,20-3,40	m	3H		76,6 ; 70,7 ; 77,1
CH ₃ 1,95	s	3H		2,73
CH ₂ 2,52	M	2H		14,9
CH ₂ 1,74	q	2H	6,9	33,3
CH ₂ 1,66	m	4H		28,1 ; 31,4
CH ₂ 3,56	t	2H	5,7	61,9
CH 3,65		1H		78,4
6C q				60,1 ; 60,2 ; 65,3 ; 75,2 ; 79,8

Tableau 8 : Les résultats RMN ^1H et RMN ^{13}C (δ ppm, CD_3OD , 300 MHz) du composé F₂₆

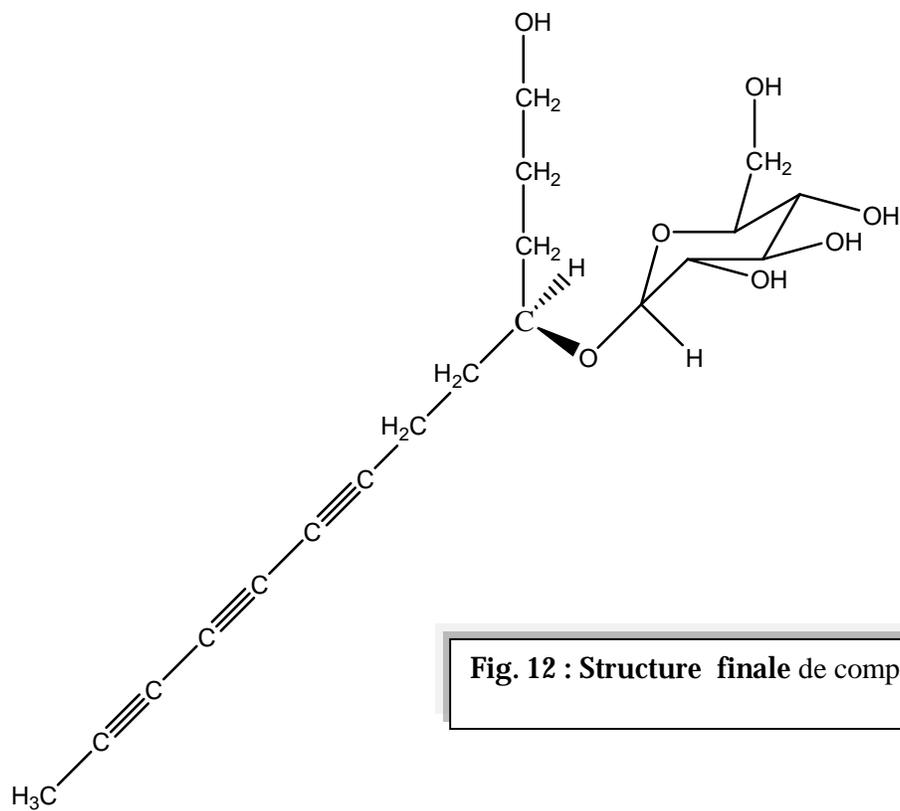


Fig. 12 : Structure finale de composé F₂₆

Conclusion :

Les établissements de structures ont été effectués par la combinaison des résultats d'études spectroscopiques notamment : la spectroscopie d'absorption UV, la spectrométrie de masse, la RMN ¹H, la RMN ¹³C et les expériences de RMN 2D (COSY, HSQC, HMBC, NOESY). Cette étude a permis d'identifier quatre structures. Il s'agit de :

- Ø un flavonol glucosylé, le 5, 7,4'-trihydroxy-3'-methoxy-3-O-glucosylflavone (3-glucosylisorhamnétine)

- Ø une flavone, la 5, 7,3',4'- tétrahydroxyflavone (lutéoline).

- Ø une flavone la 7-glucosyl lutéoline

- Ø un polyacéthylène le 4-glucosyl-tridéca-7,9,11-triyn-1-ol .

Ce dernier composé soit le polyacéthylène est nouveau et n'a jamais été décrit auparavant.

Les techniques d'analyse de pointe utilisée dans cette étude ont montré leur apport inestimable dans le domaine de la phytochimie.

Conclusion générale

Le but principal de notre travail est d'isoler et d'identifier les métabolites secondaires de *Santolina chamaecyparissus* L. (Compositae). Cette plante est très utilisée dans la médecine traditionnelle.

Dans le but de ce recherche nous intéressés à rechercher de nouveaux composés naturels, l'extrait bruts d'acétate d'éthyle de la plante a soumis à un criblage phytochimique. Sur la base des ces résultats a permet de l'isolement de quatre composés. Leurs structures ont été établies au moyen de méthodes spectrales (UV, MSHR, MSEI, RNN¹H, RMN¹³C,..... ect).

Les techniques de pointe utilisée dans cette étude ont montré leur apport inestimable dans le domaine de la recherche phytochimique.

Résumé

Ce travail fait partie de notre programme de recherche sur les plantes médicinales algériennes du genre *Santolina* (Compositae).

Cette étude portant sur l'investigation phytochimique de *Santolina chamaecyparissus* L. a été menée dans le but de rechercher les métabolites secondaires de type lactones sesquiterpéniques et flavonoïdes. Ces deux classes de substances naturelles sont très accumulées par les espèces de cette famille. Après extraction hydroéthanolique concentration et affrontements successifs au chloroforme, l'acétate d'éthyle et au *n*-butanol de 2500g des fleurs et des feuilles de cette espèce a mené à 9,25g d'extrait chloroforme et 15g d'extrait d'acétate d'éthyle. Après séparation de l'extrait d'acétate d'éthyle par chromatographie sur colonne puis purification sur plaques préparatives de gel de silice, quatre produits ont été obtenus à l'état pur. L'établissement de leurs structures réalisés par la combinaison des méthodes moderne d'analyse a permis la détermination de trois composés flavoniques de type flavone et flavonol, et un polyacétyle nouveau.

Ø 5,7,4'-trihydroxy-3'-methoxy-3-O-glucosylflavone

(3-glucosylisorhamnétine)

Ø 5,7,3',4'- tétrahydroxyflavone (lutéoline)

Ø 7-glucosyllutéoline

Ø 4-glucosyl-tridéca-7,9,11-triène-1-ol, ce composé est original et est décrit pour la première fois.

ملخص

يندرج هذا العمل ضمن برنامج بحث النباتات الطبية الجزائرية للجنس سانتولينا من العائلة المركبة.

بغرض تحديد الأيض الثانوي من النوع اللاكتوني مثل السسكويتربينات و الفلافونيدات في نبات *Santolina chamaecyparissus L* . الذي يعتبر من بين العائلة الأكثر إنتاجا لمثل هذا المركبات. بعد عملية الاستخلاص بخليط من الماء و الكحول و التركيز المتبوعين باستخلاص متتالي بواسطة الكلوروفرم، خلات الإيثيل و البوتانول (الكحول العادي) لكتلة من الأزهار و الأوراق قدرها 2500 غ، حصلنا على 9.25 غ من المركبة اللاكتونية، 15 غ من مركبة خلات الإيثيل. اخلصت دراسة مستخلص خلات الإيثيل بعد الفصل عن طريق كروماتوغرافيا العمود والتقية بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقية التحضيرية السيليكاجال تحصلنا على أربع مركبات نقية. تم التحلل البنوي لهذه المركبات بواسطة الطرق الطيفية الحديثة حيث سمحت بتحديد صيغ ثلاث مركبات فلافونيدية من نوع فلافون و فلافونون و مركب من نوع بولي أسيتلان:

Ø 5,7,4'-trihydroxy-3'-methoxy-3-O-glucosylflavone

(3-glucosylisorhamnétine)

Ø 5,7,3',4'- tétrahydroxyflavone (lutéoline)

Ø 7-glucosyllutéoline

Ø 4-glucosyl-tridéca-7,9,11-triyne-1-ol, ce composé est original et est décrit pour la première fois.

Summary

This work belongs to our research program on the Algerian medicinal plants of the Genus *Santolina* (Compositae)

The purpose of this study which concerns the phytochemical investigation of *Santolina chamaecyparissus* L. was the isolation of secondary metabolites of sesquiterpene lactones and flavonoids types. These two classes of natural substances are known to be well accumulated by the species of Compositae family. Hydroethanolic maceration, filtration, concentration and successive extractions with chloroform, ethyl acetate and *n*-butanol of 2500 g of flowers and leaves of *S. chamaecyparissus* L., led to 9.25 g of chloroform and 15 g of ethyl acetate extracts.

The ethyl acetate extract was submitted to a silica gel column chromatography to obtain several fractions. The purification of five from which, performed on preparatives plates of silica gel gave four pure compounds. The structures were established by the combination of the results of modern analysis methods which led to three flavonoids and a new polyacetylenic glucoside.

Ø 5,7,4'-trihydroxy-3'-methoxy-3-*O*-glucosylflavone

(Isorhamnetin-3-glucoside)

Ø 5,7,3',4'- tetrahydroxyflavone (luteolin)

Ø Luteolin 7-glucoside

Ø trideca-7,9,11-triyn-1-ol, 4-glucoside. This compound was new and described for the first time.

Résumé

Ce travail fait partie de notre programme de recherche sur les plantes médicinales algériennes du genre *Santolina* (Compositae).

Cette étude portant sur l'investigation phytochimique de *Santolina chamaecyparissus* L. a été menée dans le but de rechercher les métabolites secondaires de type lactones sesquiterpéniques et flavonoïdes. Ces deux classes de substances naturelles sont très accumulées par les espèces de cette famille. Après extraction hydroéthanolique concentration et affrontements successifs au chloroforme, l'acétate d'éthyle et au *n*-butanol de 2500g des fleurs et des feuilles de cette espèce a mené à 9,25g d'extrait chloroforme et 15g d'extrait d'acétate d'éthyle. Après séparation de l'extrait d'acétate d'éthyle par chromatographie sur colonne puis purification sur plaques préparatives de gel de silice, quatre produits ont été obtenus à l'état pur. L'établissement de leurs structures réalisés par la combinaison des méthodes moderne d'analyse a permis la détermination de trois composés flavoniques de type flavone et flavonol, et un polyacétyle nouveau.

Ø 5,7,4'-trihydroxy-3'-methoxy-3-*O*-glucosylflavone

(3-glucosylisorhamnétine)

Ø 5,7,3',4'- tétrahydroxyflavone (lutéoline)

Ø 7-glucosyllutéoline

Ø 4-glucosyl-tridéca-7,9,11-triène-1-ol, ce composé est original et est décrit pour la première fois.