

République Algérienne Démocratique Et Populaire

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE CONSTANTINE I

FACULTE DES SCIENCES DEPARTEMENT DE CHIMIE

N° de série.....

N° d'ordre.....

MEMOIRE

Pour l'obtention du diplôme de

MAGISTER

Domaine : chimie organique

Option : Chimie structurale : synthèse organique et substances naturelles

Intitulé

Investigation phytochimique de l'extrait n-butanol du

Globularia alypum L

(*Globulariaceae*)

Sous la direction du Prof :

Présenté par :

M^r BEGHIDJA Nour-eddine

M^{elle} Rahmouni Naima

JURY

M^r Samir BENAYACHE

Prof. Université Constantine I

Président

M^r Nour-eddine BEGHIDJA

Prof. Université Constantine I

Rapporteur

M^{me} Fadila BENAYACHE

Prof. Université Constantine I

Examinatrice

M^r Hocine DENDOUGUI

Prof. Université d'Orugla

Examineur

M^r Mohamed BOUHEROUM

M.C. Université Constantine I

Examineur

Soutenue le/.....

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

A Mes Très Chers Parents

*pour tous les efforts et les sacrifices que vous n'avez jamais cessé de
consentir pour mon instruction et mon bien-être. Je vous rends
hommage par ce modeste travail en guise de ma reconnaissance éternelle
et de mon infini amour.*

*Que Dieu tout puissant vous garde et vous procure santé, bonheur et
longue vie*

A toutes mes sœurs :

*Saida , Chomaïssa , Fatima ,Zahra et Widad ainsi que leurs petites
familles pour leur aide et leur soutien moral.*

A mes chers frères

Abderazzak , Hamid, Lotfi et Youness

A toutes mes amies :

Feryel , Nadia , Karima , Maha, Sarra et Amira

*Qui m'ont toujours donné le sourire dans les moments difficiles,
qui ont toujours su raviver en moi cette flamme de l'espoir pour qu'elle
ne s'éteigne jamais.*

Remerciements

Les recherches qui font l'objet de ce mémoire ont été menées au sein du laboratoire de *Valorisation des ressources naturelles et synthèse des substances biologiquement actives, de l'Université Mentouri de Constantine*, dirigé par le **professeur Samir BENAYACHE**, Je tiens à le remercier pour m'avoir accueillie au sein de son laboratoire, pour son aide moral et de m'avoir donné l'opportunité de me former en phytochimie avec des appareils modernes.

Mes vifs remerciements vont également à mon directeur de recherche monsieur **Nour-eddine BEGHIDJA**, pour m'avoir fait le confiance, m'avoir encouragé et conseillé tout en me laissant une grande liberté. Pour son soutien illimité et sa grande générosité qu'il soit assuré de ma profonde gratitude.

J'aimerais bien exprimer ma profonde reconnaissance et mes remerciements les plus sincères au **professeur Fadila BENAYACHE**. Grâce à son appui moral, sa disponibilité exceptionnelle, ses qualités humaines et scientifiques, aussi pour avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse.

Je remercie aussi le Docteur **BOUHEROUM Mohamed** qui me fait l'honneur de juger ce travail, je lui l'adresse l'expression de ma sincère reconnaissance.

J'adresse également mes remerciements au professeur **Hocine DENDOUGUI** de l'Université de Ouargla d'avoir accepté de juger ce travail.

Mes plus vifs remerciements à professeur **Paul MOSSET** de l'Ecole Nationale de Chimie de Rennes pour l'enregistrement des spectres des RMN ^1H , RMN ^{13}C , SM et RMN bidimensionnelle.

Mes plus vifs remerciements à professeurs **Fransisco LEO (Ignacio BROUAD)** de l'universitaire de La laguna, Tenerife. Espagne pour l'enregistrement des spectres des RMN ^1H , RMN ^{13}C , SM et RMN bidimensionnelle .

Un grand merci à docteur **ARRIF Souad** pour ces aides et conseils.

J'exprime ma reconnaissance aussi à mes amies et mes collègues de la promotion et je leur souhaite la réussite et une bonne continuation, parmi eux je cite :Wassila Hanane , Feryel ,Halima Sabrina , Nassima , Karim ,Tamer ,Mohamed ,Abbes et Chafai .

Je n'oublie pas de remercier l'équipe du laboratoire de Valorisation des Ressources Naturelles, je cite ici : Sabrina, Nawel, Omar , Houria et Meriem.

Mes remerciements vont enfin à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
--------------------------	----------

Chapitre I : Rappel bibliographique

Introduction	4
I-1 la famille Globulariaceae.....	4
I-1-1 description botanique	4
I-1-2 taxonomie	4
I-1-3 Aspect botanique et répartition géographique.....	4
I-2 Usages traditionnels et activités biologiques.....	8
I-3 Etudes chimiques antérieures sur le genre.....	8
I-3-1 Les composés phényléthanoïdes isolés	9
I-3-2 Les flavonoïdes isolés	12
I-3-3 Les iridoïdes isolés	14
Références bibliographiques.....	.21

Chapitre II : Etude des composés phénoliques et Iridoïdes

II- Introduction.....	23
II-1 Les composés phénolique.....	23
II-1-1 Principales classes des composés phénoliques.....	23
II-1-1-1 Les acides phénoliques simples.....	23
II-1-1-2 phénylpropanoïdes	25
II-1-1-2-1 Biosynthèse des phénylpropanoïdes.....	25
II-1-1-2-2 Les produits dérivés du métabolisme des phénylpropanoïdes.....	29
II-1-1-2-3 Intérêts des composés phénylpropanoïdes.....	31
II-1-1-3 Les flavonoïdes.....	32
II-2-3-1 Généralité	32
II-2-3 -2 Classification et nomenclature	32

II-2-1-3 Classification.....	33
II-2-3 -4 Distribution.....	35
II-2-3 -5 Rôle dans les plantes_.....	37
II-2-3 -6 les flavonoïdes et la santé.....	37
II-2-3 -7 synthèse organiques des flavonoïdes	37
II-2-3 -8 Biosynthese des flavonoides.....	40
II-2-3 -9 Activités pharmacologiques des flavonoïdes.....	41
II-2-3 -9 -A Activités anti-inflammatoires	41
II-2-3-9 -B Activités antivirales et antibactériennes	41
II-2-3 -9 -C Activités anti-carcinogènes	41
II-2-3 -9 -D Activités antioxydantes.....	42
II-2-3- 10 Les méthodes de purification et de séparation.....	42
II-2-3- 10 -1 La chromatographie d'adsorption sur colonne (CC)	42
II-2-3- 10 _2 La chromatographie sur papier (CP)	42
II-2-3- 10 -3 La chromatographie sur couche mince (CCM)	43
II-2-3-11 Les méthodes d'analyse des flavonoïdes	43
-A Fluorescence sous lumière UV (lumière de Wood)	43
-B Facteur de retardement et comportement chromatographique.....	44
-C La spectrophotométrie UV-visible.....	45
-4 La spectrométrie de masse	47
-D L'hydrolyse acide des hétérosides	47
-E La résonance magnétique nucléaire	48

II -2 les iridoïdes :

II-1 Introduction.....	49
II-2 classification des iridoïdes.....	51
II-2-1 les iridoïdes simples	51
II-2-2. Les iridoïdes glycosilés.....	52
II-2-3 Les séco-iridoïdes	53

II-2-4 Les bisiridoïdes	54
II-2-5 Iridoïdes lactones.....	55
II-3 Activités biologiques des iridoïdes.....	55
II-4 Biosynthèse des iridoïdes.....	55
Références bibliographiques.....	59

Chapitre III : Etude phytochimique de l'espèce Globularia L

III-Introduction	64
III-1-Place dans la systématique	64
III-2- Description botanique et aire géographique	65
III-3- Distribution géographique	65
III-4-utilisation médicinale du globularia alypum	66
III-5-Etude chimique antérieure	66
III-6-Matériel végétal et extraction	68
III-7-Extraction	68
III-8- Séparation et purification des composés de l'extrait n-butanol.....	70
III-8-1Étude de la fraction F9	72
III-8-2 Étude de la fraction F8	73
III-9-Conclusion.....	76
Références bibliographiques.....	77

Chapitre IV : Résultats et discussion

Introduction.....	78
IV-1-Identification du composé P15	78
IV-2- Identification du composé P1	82
IV-3-Identification du composé P82	91

Conclusion générale100

Références bibliographiques.....101

Résumé

المخلص

Abstract

Abréviations et symboles

CHCl ₃	Chloroforme (trichlorométhane)
CCM	Chromatographie sur C ouche M ince
R _f	facteur de R etardement
IR	I nfra R ouge
UV	U ltra V iolet
CG/MS	Chromatographie G azeuse couplée à un S pectromètre de M asse
MeOH	Méthanol
RMN	R ésonance M agnétique N ucléaire
¹³ C	Carbone 13
¹ H	Proton
HMBC	H eteronuclear M ultiple B onding C onnectivity
HMQC	H eteronuclear M ultiple Q uantum C orrelation
COSY	C ORrélation S pectroscop Y
DEPT	D istortionless E nhancement by P olarization T ransfer
NOEZY	N uclear O verhauser E ffect S pectroscop Y
δ (ppm)	Déplacement chimique en partie par million
J (Hz)	Constante de couplage exprimé en hertz
s	S ingulet
d	d oublet
dd	d oublet dé d oublets
t	t riplet
q	q uadruplet
m	m ultiplet

Introduction général :

Aujourd'hui la préoccupation majeure de chacun c'est la santé, selon la définition de l'OMS, la santé est caractérisée par un « état de complet bien-être physique mentale et social ne consistant pas seulement en une absence de maladie ou d'infirmité » [1] et c'est pour ça nous avons vu migration dans la médecine, cette migration fait recours aux plantes pour se soigner, soit par inaccessibilité aux médicaments prescrits par la médecine moderne, soit parce que ces plantes ont donné des résultats thérapeutiques très encourageants et à moindres effets secondaires remarqués lors de leur utilisation, soit parce qu'elles sont moins agressives et moins nocives pour l'organisme.

Les plantes sont de plus en plus utilisées par l'industrie pharmaceutique, il est impossible d'imaginer le monde sans la quinine qui est employée contre la malaria ou sans la diadoxine qui soigne le cœur, ou encore l'éphédrine que l'on retrouve dans de nombreuses prescriptions contre les rhumes.

L'inventaire le plus récent montre que parmi environ 400000 espèces des végétaux connus [2]. On estime que seulement 15_25 % ont été investi sur les plans : phytochimique et pharmacologique [3] ; 1 % seulement sont appliquées sur des espèces bactériennes et moins 5% sur des champignons ont été étudiées pour leur compositions chimiques. Par ailleurs, selon (OMS) près de 6377 espèces de plantes sont utilisées en Afrique ,dont plus de 4000 sont des plantes médicinales ce qui constitue 90 % de la médecine traditionnelle en Afrique [4].

L' utilisation des plantes comme médicaments a exigée la détermination de leurs composés actifs. Avant ça elles passent sur un processus commence généralement avec un botaniste ou un écologiste de spécialité végétale, qui recueille et identifie la plante d' intérêt, la collection touche les espèces dont on connaît l' activité biologique pour lesquels les composés actifs n'ont pas été isolés ou des taxons qui peuvent être recueillies au hasard pour la découverte[5], les phytochimistes sont responsables de la préparation des extraits des plantes, ces derniers sont ensuite passés au pharmacologistes pour les tests biologiques, lorsque on met l' accent sur l' activité biologique ,en fin les phytochimistes commencent à isoler et caractériser les composés actifs[6,7] .

Sur cette optique et dans le cadre du programme d'étude de la flore algérienne, dont le but est de mettre au point de nouvelles molécules naturelles et de pouvoir satisfaire aux besoins de santé des populations, nous nous sommes intéressés, dans ce travail, à l'étude phytochimique d'une plante de la famille des Globulariaceae ;*Globularia Alypum L* ; qu'on trouve dans AIN BEIDA , d'où on a fait sa récolte.

Les principales parties de ce travail sont les suivantes :

*Le premier chapitre est consacré à une présentation botanique de la famille et du genre *Globularia*, aussi les travaux phytochimiques antérieurs relatifs aux métabolites secondaires les plus courants, reporte également les résultats relatifs aux activités biologiques et toxiques de ces plantes.

* Le deuxième traite l'étude bibliographique des métabolites secondaires

* Le troisième chapitre où nous nous sommes intéressées à l'étude chimique de l'espèce *Globularia alypum L*, basée sur l'extraction de ses métabolites secondaires en débutant par la macération, puis la séparation et la purification de différents produits isolés.

* Le quatrième chapitre qui renferme la discussion des résultats obtenus où nous avons essayé de déterminer leurs structures chimiques par combinaison de différentes techniques spectroscopiques notamment (UV, RMN ¹H, RMN ¹³C ,DEPT , HMPC, COSY ,HSQC,.....).

Références bibliographiques :

- [1] Petit Larousse de la médecine. Larousse, VUEF, 2003.
- [2] Patrice Waridel, thèse de doctorat, université de Lausanne, 2003.
- [3] Pichersky, D.R. Gang , TIPS, VOL.5, 2000.
- [4] Cragg G. M , Newman D. J, Br, Chem., Vol. 39, 22-26, 2001.
- [5] Baker. J.T, Borris. R.P, Carte´. B , Cordell. G.A , Soejarto. D.D , Cragg. G.M , Gupta. M.P, Iwu. M.M , Madulid. D.R , Tyler. V.E, Natural products drug discovery and development: new perspectives on international collaboration. Journal of Natural Products 58 (9), 1325 - 1357, 1995.
- [6] Kinghorn. A.D, Pharmacognosy in the 21st century, Journal of Pharmacy and Pharmacology 53 (2), 135-148, 2001.
- [7] Samuelsson. G, Drugs of Natural Origin, a Textbook of Pharmacognosy, 5th Swedish Pharmaceutical Press, Stockholm, 2004.

Chapitre 1

Rappel

bibliographique

L'utilisation des plantes dans la médecine traditionnelle a constitué la base de ce que nous appelons aujourd'hui, médecine moderne et les investigations phytochimiques réalisées sur les plantes utilisées dans la médecine traditionnelle. Notre travail est basé sur l'espèce *Globularia alypum* L de la famille Globulariaceae.

I-La famille Globulariaceae :

I-1-Description Botanique :

La famille de Globulariaceae est un petit taxon comprend seulement deux genres *Globularia* et *Poskea* ; et environ 30 espèces répandues en Europe et le nord-africain [1.2]

I-1-2-Taxonomie :

<i>Enbranchement</i>	<i>angiosperme</i>
<i>Classe</i>	<i>Dicotylidone</i>
<i>Sous classe</i>	<i>Asteridae</i>
<i>Ordre</i>	<i>Scrophulariales</i>
<i>Famille</i>	<i>Globulariaceae</i>

I-1-3-Aspect botanique et répartition géographique :

Les plantes du genre *globularia* sont vivaces, à feuilles entières et alternes. Les fleurs presque toujours teintées en bleue, sont nombreuses et groupées en capitules simples entourées de bractées foliacées. Elles sont petites et zygomorphes, avec deux lèvres : la supérieure, à deux lobes, est souvent atrophiée ; l'inférieure présente trois lobes plus ou moins échancrés et quatre étamines. Le fruit est un akène entouré par le calice persistant (figure I-1) [1].

On trouve en Algérie, *Globularia alypum*, *G. vesceritensis* Batt. et *G. eriocephala* Pomel. Les deux dernières sont présentes dans le Sahara central (Hoggar, Tassili) [2].

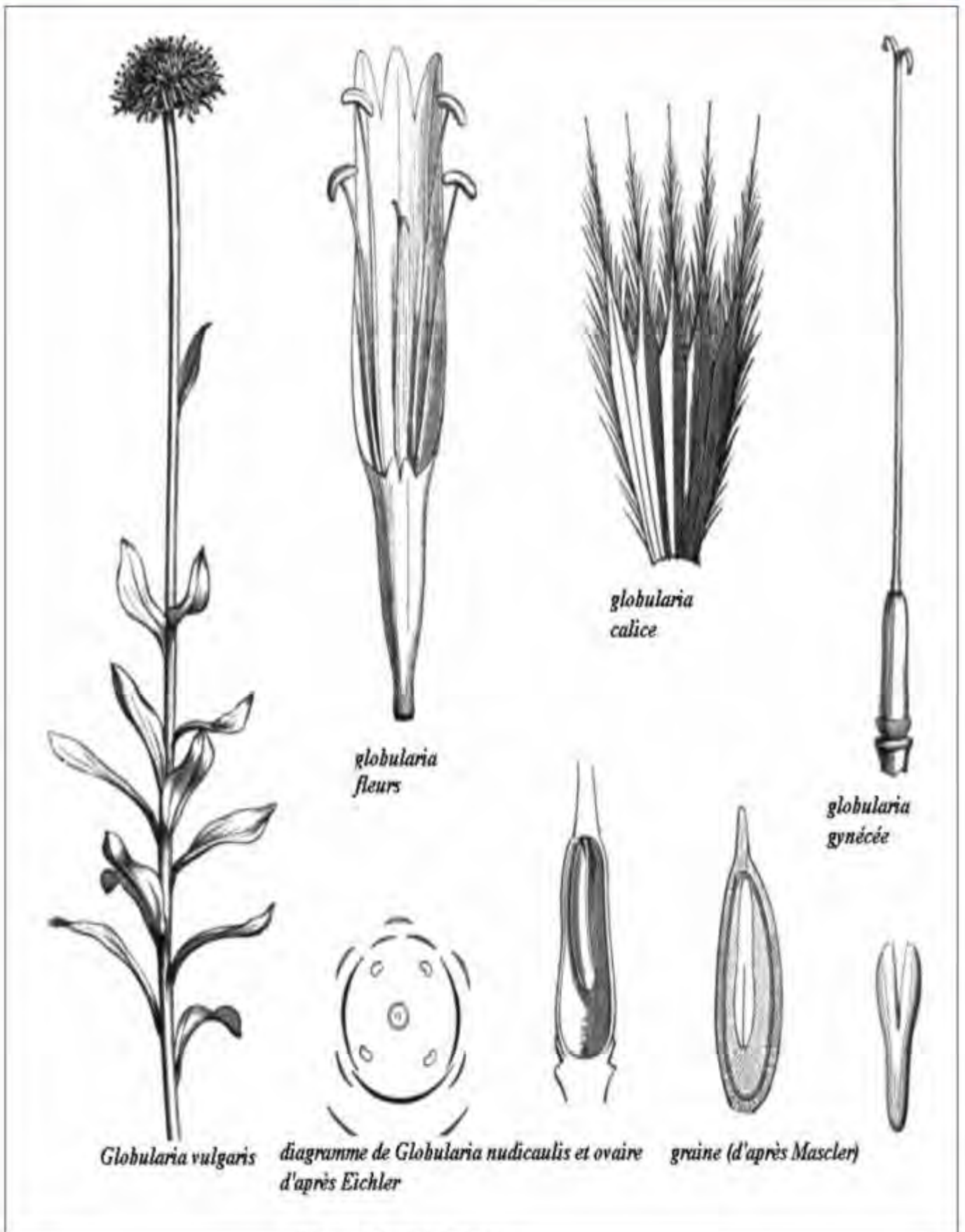


Figure I-1 : Globulariaceae

Tableau I-1 représente quelques espèces et leur répartition géographique

<i>ESPECE</i>	<i>SYNONYMES</i>	<i>ASPET BOTANIQUE</i>	<i>REPARTITION GEOGRAPHIQUE</i>
<i>Globularia alpina</i> Salisb	<i>globularia vulgaris</i> L. <i>globularia bisnagarica</i> L. <i>globularia caespitosa</i> Orteg <i>globularia collina</i> Salisb. <i>globularia linifolia</i> Lam. <i>globularia pungens</i> Pourr. <i>globularia linnaei</i> Rouy. <i>globularia multicaulis</i> Tenore. <i>globularia nudicaulis</i> Herb. Linn. <i>globularia elongata</i> Hegetschw .	Vivace de 10 à 20 cm de haut, floraison d'un bleu vif en été	Europe de l'Espagne jusqu'au Caucase
<i>Globularia aphyllanthes</i> Crantz	<i>globularia punctata</i> Lapeyr. <i>globularia willkommii</i> Nym.	Vivace d'environ 30 cm de haut touffe évasée, arrondie, floraison bleu indigo en été	Europe meridionale
<i>Globularia amygdalifolia</i> Webb	_____	espèce protégée car elle est en voie de disparition -endémique	Ile San Nicolau
<i>Globularia ascanii</i> Bramwell and Kunkel	_____	_____	Iles Canarie
<i>Globularia cambessedii</i> Willk.	_____	Vivace de 30 cm de haut en situation aride, floraison bleue en été	Iles Baléares
<i>Globularia cordifolia</i> L.	<i>globularia bellidifolia</i> Salisb. <i>globularia ilicifolia</i> Willk. <i>globularia minima</i> Vill. <i>globularia spinosa</i> Lam. <i>globularia saxatilis</i> Salisb. <i>globularia valentina</i> Willk.	feuilles étroites à la base des tiges ligneuses. Les feuilles radicales forment des rosettes touffe, érigé floraison violette en été	les Alpes du Sud-Est Asie mineure
<i>Globularia davisiana</i> O. Schwarz	_____	sous arbrisseau de 30 cm de haut floraison bleue en été	Asie mineure en altitude
<i>Globularia dumulosa</i> O. Schartz	_____	10 cm de haut environ	Asie mineure en Altitude
<i>Globularia eriocephala</i> Pomel	_____	tige dressée à feuilles progressivement réduites	en Afrique du nord Algérie
<i>Globularia fuxcansis</i> Giraudias ou <i>globularia fuxeensis</i>	_____	_____	Sud de l'Europe en altitude vers 1000 m surtout en Espagne
<i>Globularia gracilis</i> Rouy et Richter ex <i>globulaire</i> grèbe	_____	Entre 8 et 15 cm de haut, touffe érigé floraison d'un bleu lavande	Sud de l'Europe (Pyrénées)
<i>Globularia hedgei</i> H.	_____	_____	Asie mineure en

<i>Duman</i>			<i>altitude (Turquie)</i>
<i>Globularia incanescens</i> Viv	<i>globularia glauca</i> Balb ex Steud	Sous arbrisseau rampant de 5 à 10 cm de haut à floraison bleue pale en été	Sud de l'Europe en altitude (Espagne, Espagne, alpes)
<i>Globularia indubia</i> (Svent.) Kunke	<i>lytanthobularia indubia</i> Svent	—	Iles Canaries endémique
<i>Globularia lippiaefolia</i> Pau	—	—	Espagne (Pyrénées)
<i>Globularia liouvillei</i> Jahandiez et Maire	—	—	En altitude plus de 2000 m dans le haut-atlas région de oukaïmeden (Maroc)
<i>Globularia majoricensis</i> Gand.	—	—	Iles Baléares (Mallorque)
<i>Globularia neapolitana</i> O. Schwarz	—	sous arbrisseau	Europe de sud (Espagne région de Naples)
<i>Globularia nana</i> Lam.	<i>Globularia bellidifolia</i> Tenore <i>globularia repens</i> Lam.	Sous arbrisseau de très petite taille 5 cm maximum, floraison bleu lavande à bleu lilas	Asie et Europe en altitude des Alpes jusqu'au Balkans
<i>Globularia nudicaulis</i> L.	—	Sous arbrisseau de 20 à 30 cm de haut	Espagne Alpes – Pyrénées- Espagne dans les pyrénées et en navarre
<i>Globularia orientalis</i> L.	—	Sous arbrisseau de environ 10 à 25 cm de haut, floraison fin printemps-été	Asie mineure en altitude (Turquie-région d'Ankara Syrie)
<i>Globularia oscensis</i> Coincy	—	—	Sud d l'Europe (Iles canaries-Grande Canarie)
<i>Globularia pallida</i> K. Koch	<i>globularia ttrichosantha</i> Fish et Mey	—	ouest de la Turquie dans la province de Bilecik- Syrie
<i>Globularia procera</i> Salisb	<i>globularia longifolia</i> Ait. <i>Globularia salicina</i> Lam. <i>Globularia macrantha</i> K. Koch ex Walp.	—	Ile de Madérne et Ile de Ténérife
<i>Globularia sintensisii</i> Hausskh. Et Wettst. Ex Wettst	—	Sous arbrisseau de 10 à 20 cm de haut , floraison bleue en été	En altitude (Iraque - Kurdistan- Turquie)
<i>Globularia sarcophylla</i> Svent.	—	10 à 20 cm de haut , touffe évasée	Endémique aux Iles Canaries
<i>Globularia stygia</i> Orph.	—	Vivace de 5 à 20 cm de haut en situation aride , floraison en été	Grèce

I-2-Usages traditionnels et activités biologiques :

Généralement, beaucoup d'espèces de cette famille ont des propriétés thérapeutiques remarquables, et sont utilisées en médecine traditionnelle. Pour cette famille le genre le plus cultivé est *globularia* [3] qui est utilisé anciennement en Turquie pour ses effets laxatifs et diurétiques [4, 5].

La population de nord d'Afrique utilise les plantes de *globularia* pour calmer les douleurs et pour traiter les douleurs rhumatismales [6].

Des études bibliographiques confirment que les espèces du genre *globularia* présentent des activités antimicrobiennes, cytotoxiques, cytostatiques, anti-oxydantes et anti-inflammatoires [7].

I-3-Etudes chimiques antérieures sur le genre

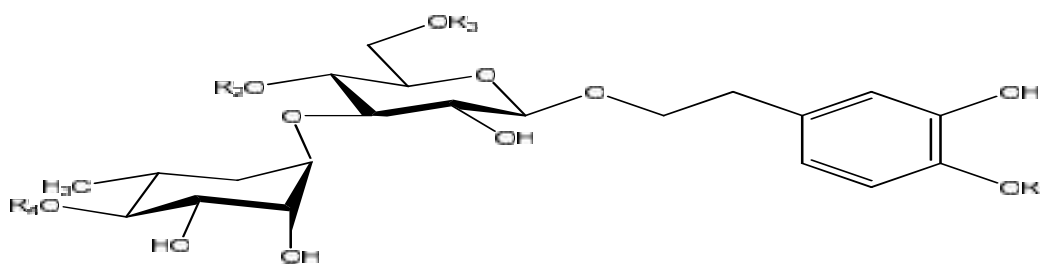
La majorité des études phytochimiques effectuées sur un nombre important d'espèces du genre *globularia*, montrent la richesse ainsi que la diversité structurale de ces dernières en métabolites secondaires incluant en particulier les flavonoides, les phényléthanoïde et des iridoïdes glycosides.

I-3-1-Les composés phényléthanoides :

Le tableau I-4_ montre quelques composés phényléthanoides isolée à partir du genre globularia

Tableau I-4 Quelques composés phényléthanoides isolée a partir du genre globularia

<i>Nom d'espèce</i>	<i>Nom de composé isolé</i>	<i>N° de structure</i>	<i>Réf</i>
<i>cordifolia</i>	varbascoside	<u>38</u>	17
	isoverbascoside	<u>39</u>	
	Leucosceposide A	<u>40</u>	
	martynoside	<u>41</u>	
	Rossicaside A	<u>42</u>	
<i>Globularia sentenissii</i>	Globusintenoside	<u>43</u>	22
	3'-O-methylcrenatoside	<u>44</u>	
	varbascoside	<u>38</u>	
	Isovarbascoside	<u>39</u>	
	Leucosceptoside A	<u>40</u>	
	Plantainoside C	<u>45</u>	
	mantynoside	<u>41</u>	
isocrenatoside	<u>46</u>		
<i>Globularia orientalis</i>	Globilaritol (6-O-feruloyl- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-glucitol).	<u>47</u>	31
<i>Globularia dumulosa</i>	varbascoside	<u>38</u>	23
	decaffeyl-verbascoside	<u>48</u>	
	Leucosceptoside A	<u>40</u>	
<i>Globularia davisiana</i>	verbascoside	<u>38</u>	24
	isoacteoside	<u>49</u>	
	Leucosceptoside A	<u>40</u>	
<i>Globularia trichosantha</i>	crenatoside	<u>50</u>	26
	verbascoside	<u>38</u>	
	Trichosanthiside A	<u>51</u>	
	Rossicaside A	<u>42</u>	
	Trichosanthiside B	<u>52</u>	
	isoaciteoside	<u>49</u>	
isocrenatoside	<u>46</u>		



38 $R_1 = R_3 = R_4 = H$; $R_2 = \text{trans-caffeyol}$

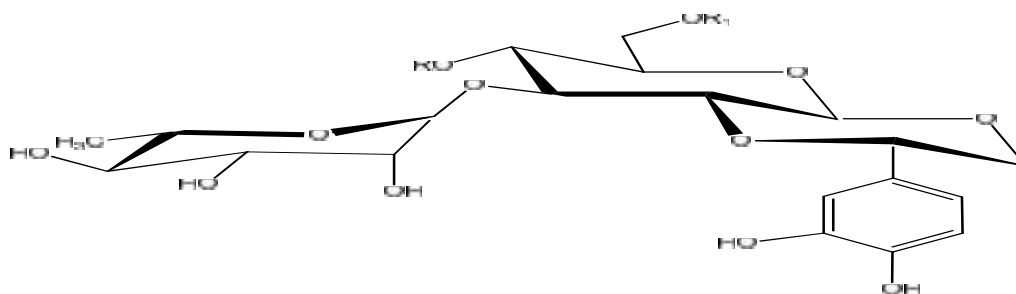
39 $R_1 = R_2 = R_4 = H$; $R_3 = \text{trans-caffeyol}$

40 $R_1 = R_3 = R_4 = H$; $R_2 = \text{trans-feruoyl}$

41 $R_1 = CH_3$; $R_3 = R_4 = H$; $R_2 = \text{trans-feruoyl}$

42 $R_1 = R_3 = H$; $R_2 = \text{trans-caffeyol}$; $R_4 = \text{B-D-Glc}$

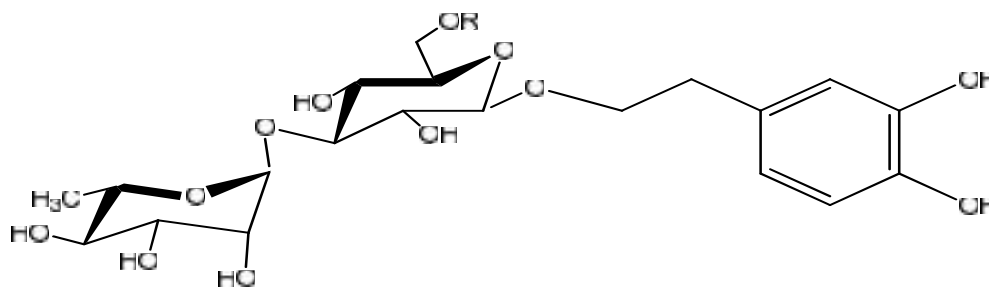
48 $R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = H$



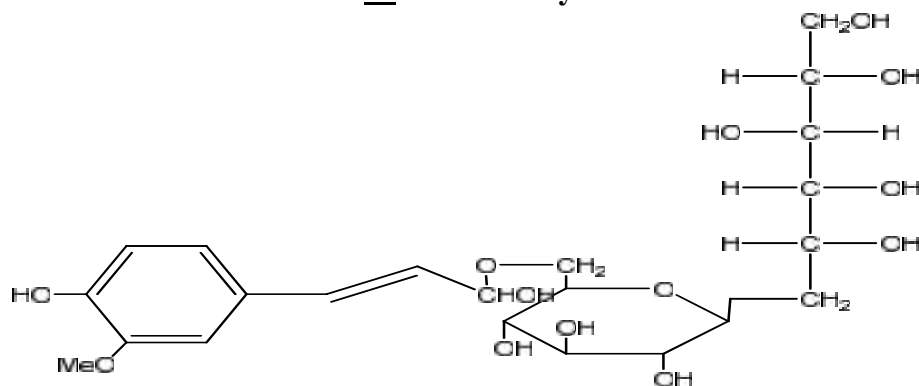
44 $R = \text{feruoyl}$; $R_1 = H$

46 $R = H$; $R_1 = \text{caffeyol}$

40 $R = \text{caffeyol}$; $R_1 = H$

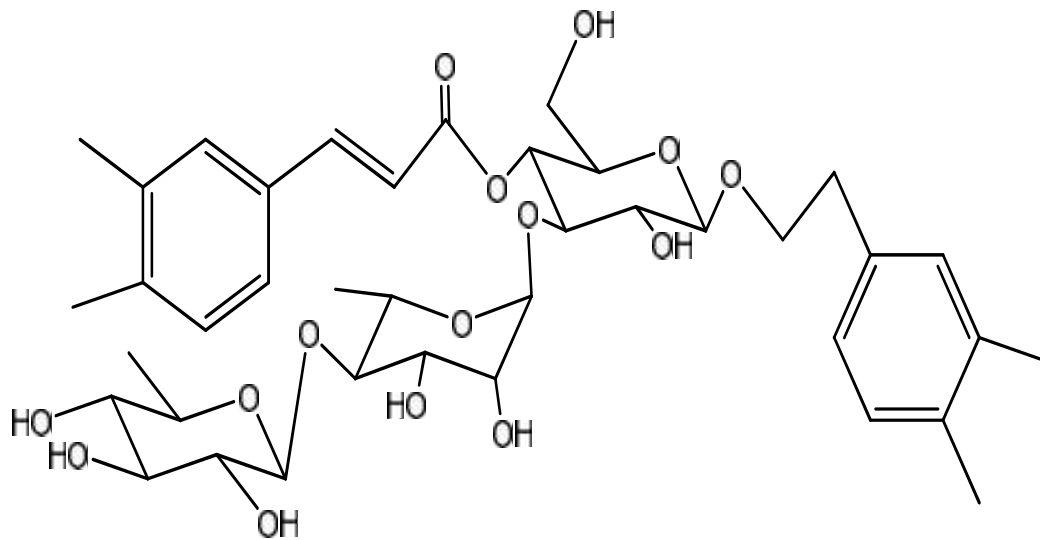


45 $R = \text{feruoyl}$

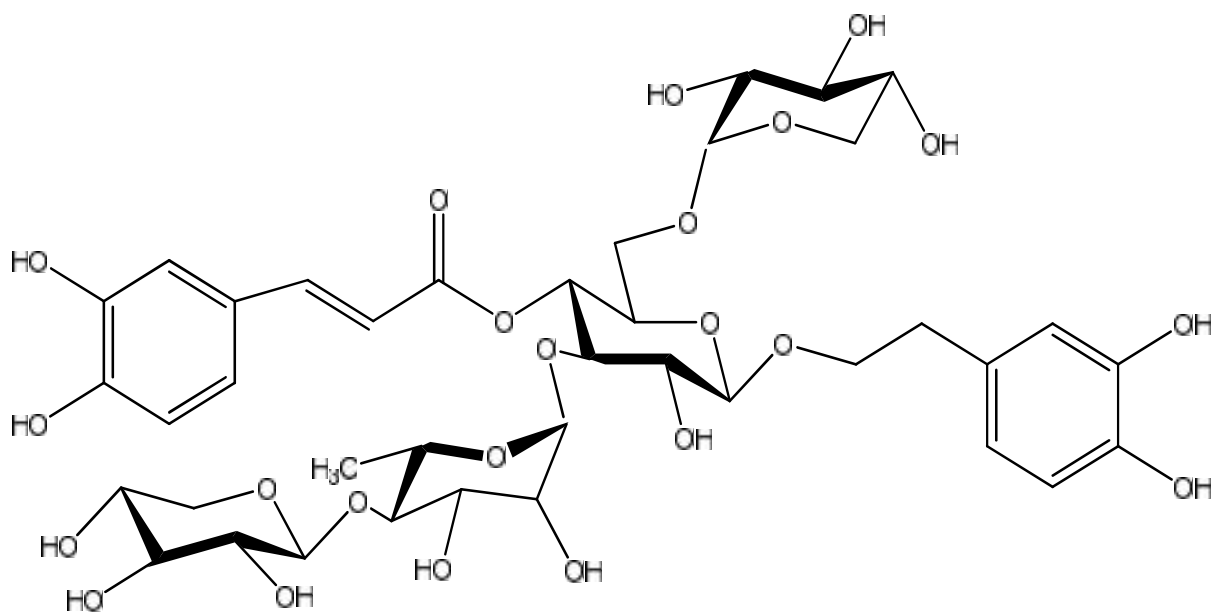


47

49 R= trans-caffeyol



51



52

I-3-2- Les flavonoïdes :

Sont des composés qui ont la même structure chimique (squelette) de base à quinze atomes de carbones, constitué de deux unités aromatiques, deux cycles en C₆ (A et B), reliés par une chaîne en C₃ (figure 2) [8,9]. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racines, tiges, feuilles, fruits, graines, bois et pollens [10].

ils sont notamment : Anti-oxydantes, anti inflammatoires, anti-carcinogéniques, anti-virales, anti- oestrogéniques [11,12], inhibiteurs d'enzyme, anti-microbiennes [13,14], anti-allergiques [15], cytotoxiques, anti-tumorales [16] et anti spasmodiques .

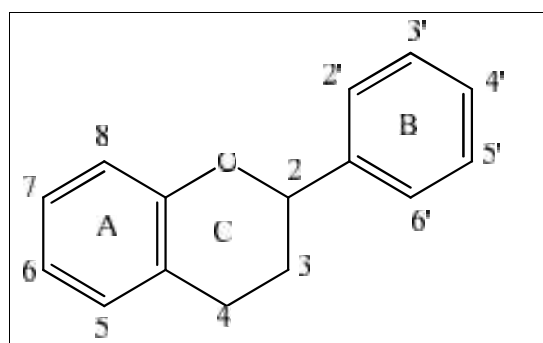
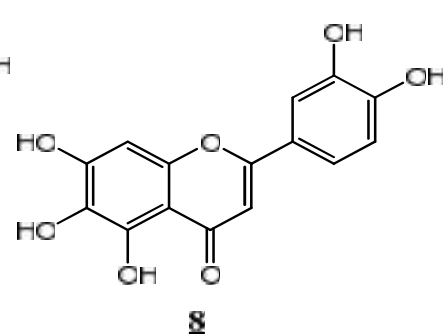
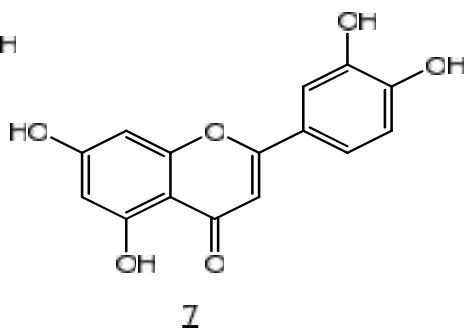
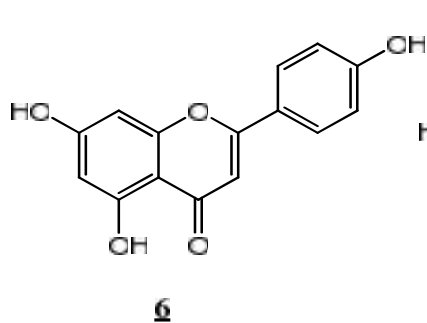
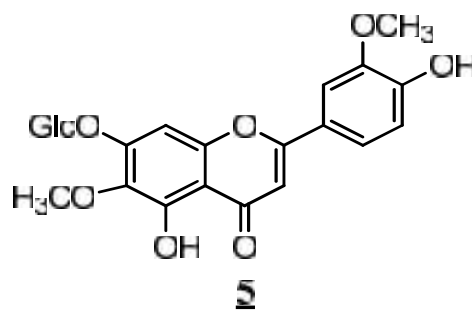
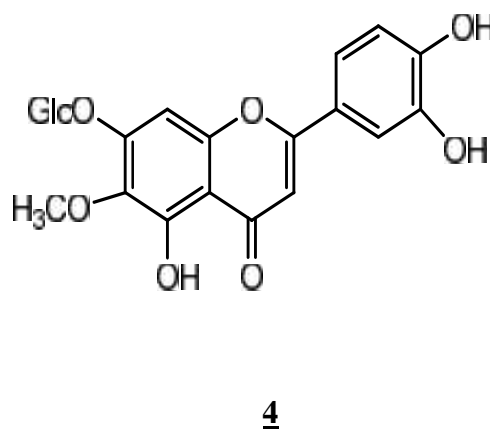
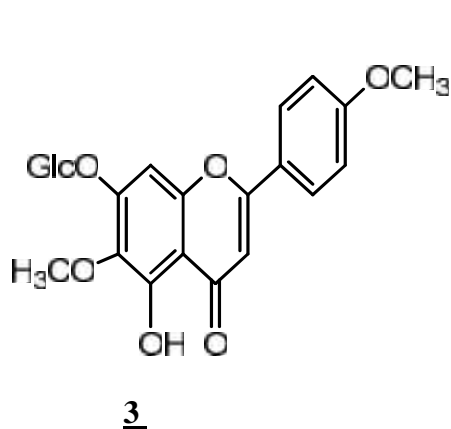
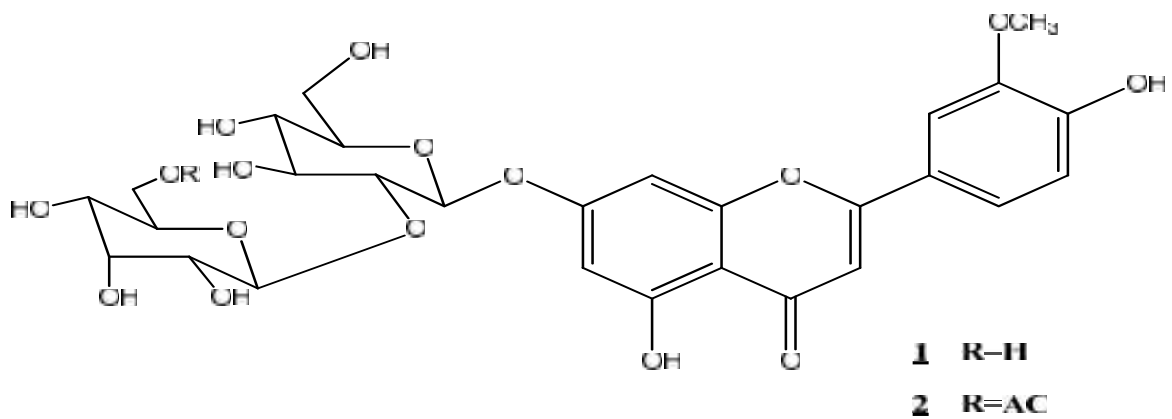


Figure I.2 : Le squelette de noyau flavane.

Le tableau suivant résume quelques flavonoïdes isolés du genre globularia

Tableau I-2 : quelques flavonoïdes isolés du genre globularia

<i>Nom d'espèce</i>	<i>Nom de composé isolé</i>	<i>N° de structure</i>	<i>Réf</i>
<i>Cordifolia</i>	chrysoeriol 7-O-β-D-allopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside	<u>1</u>	17
	stachyspinoside	<u>2</u>	
<i>Globularia Dumulosa</i>	pectolarigenin 7-O-β-D-glucopyranoside	<u>3</u>	18
	la nepetin 7-O-β-D-glucopyranoside	<u>4</u>	
	demethoxycentaureidin 7-O-β-Dglucopyranoside	<u>5</u>	
<i>Globularia Elongata</i>	apigénine	<u>6</u>	19
	lutéoline	<u>7</u>	
	6-hydroxylutéoline	<u>8</u>	



I-3-3- Les Iridoides :

Les iridoïdes sont un groupe de composés naturels appartenant à la grande classe des terpénoïdes [28]. Ils sont définis par une structure commune, en l'occurrence, le noyau iridane (**figure I-3**) de nature cyclopentapyranique (*cis*-2-oxabicyclo [4,3,0]-nonane) [29].

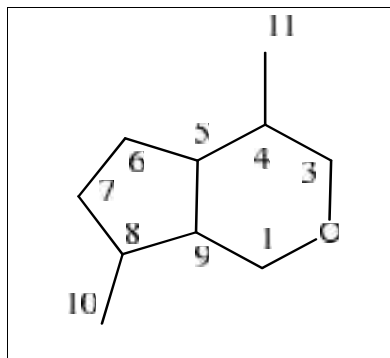


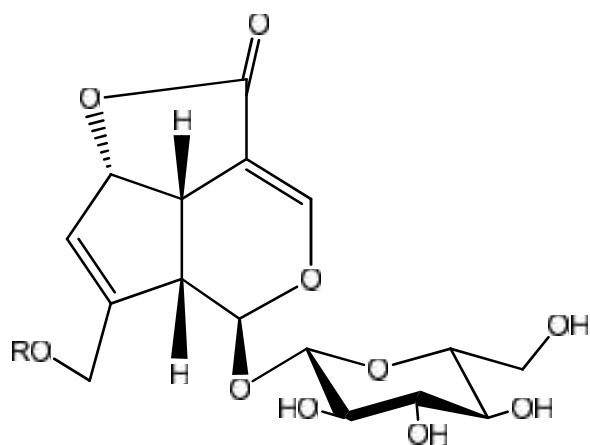
figure I-3 : le noyau iridane

les travaux phytochimiques effectués sur le genre *Globularia* ont permis l'isolement des iridoïdes comme les présente le **tableau I-3** :

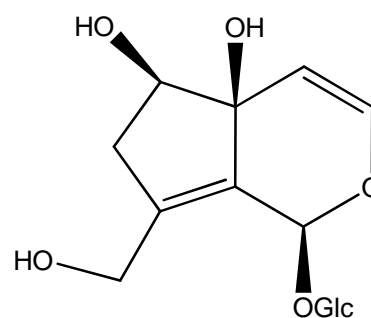
Tableau I-3 : les iridoïdes isolées du genre *globularia*

<i>Nom d'espèce</i>	<i>Nom du composé isolé</i>	<i>N° de structure</i>	<i>Réf</i>
<i>Cordifolia</i>	Asperuloside	<u>9</u>	20
	Globularifolin	<u>10</u>	
	Aucubine	<u>11</u>	
	Melampyroside	<u>12</u>	
	monomelittoside	<u>13</u>	
	Catalpol	<u>14</u>	
	5- hydroxydavisioside	<u>15</u>	21
	globuloside C	<u>16</u>	
	alpinoside	<u>17</u>	
	Asperuloside	<u>9</u>	
	dehydrodiconiferyl alcool 9- <i>O</i> -β-D-glucopyranosyl-(1 2)-β-D-glucopyranoside	<u>19</u>	17
	dehydrodiconiferyl alcool 9- <i>O</i> -β-D-glucopyranoside	<u>20</u>	22
<i>Globularia Sentenissii</i>	Sintenoside	<u>21</u>	
	lytanthosaline	<u>22</u>	
	Globularine	<u>23</u>	
	Catalpol	<u>14</u>	
<i>Globularia Dumulosa</i>	10- <i>O</i> - benzoylglobularigenin	<u>15</u>	
	Dumuloside	<u>16</u>	
	davisioside	<u>27</u>	
	Aucubine	<u>11</u>	

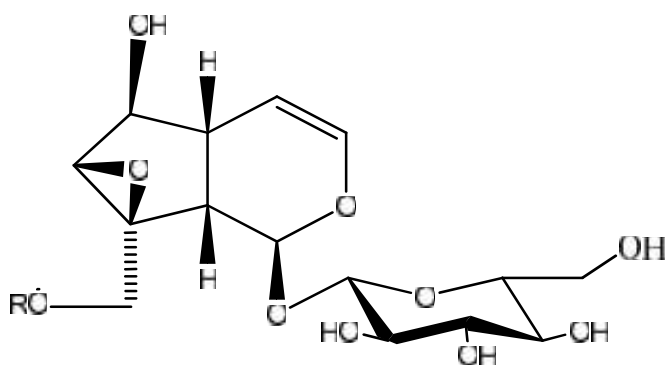
	Melampyroside	<u>12</u>	23	
	Catalpol	<u>14</u>		
	10-O-benzoylcatalpol	<u>25</u>		
	Alpinoside	<u>17</u>		
	Deacetylalpinoside	<u>26</u>		
<i>Globularia Davisiana</i>	Davisioside	<u>27</u>	24	
	Asperuloside	<u>9</u>		
	Alpinoside	<u>17</u>		
	Geniposide	<u>28</u>		
	globularine	<u>23</u>		
	Globularicisine	<u>29</u>		
	Agnuside	<u>30</u>		
	10-O-benzoylcatapol	<u>25</u>		
	Lytanthosaline	<u>22</u>		
	Melamperoside	<u>12</u>		
<i>Globularia trichosantha</i>	Deacetylalpinoside	<u>26</u>	25	
	Catalpol	<u>14</u>	26	
	10-O-benzoylcatalpol	<u>25</u>		
	Aucubine	<u>11</u>		
	Asperuloside	<u>9</u>	25	
	Deacetylasperuloside	<u>31</u>		
	l'acide asperulosidique	<u>32</u>		
	Scandoside	<u>33</u>		
	acide geniposidique	<u>34</u>		
	Alpinoside	<u>17</u>		
	globulosides A	<u>35</u>		
	globulosides B	<u>36</u>	26	
	Globularidine	<u>37</u>		
	<i>Globularia arabica</i>	globularine		<u>23</u>
globularidine		<u>37</u>		
<i>Globularia meridionalis</i>	geniposide	<u>28</u>		30
	melampyroside	<u>12</u>		
	globularifolin	<u>10</u>		
	asperuloside	<u>9</u>		
	globuloside A	<u>35</u>		
	globuloside B	<u>36</u>		



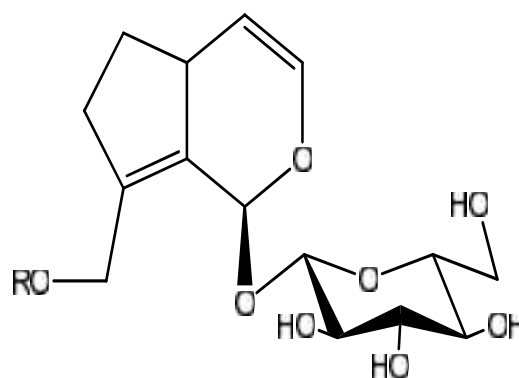
9 R=Ac
31 R=H



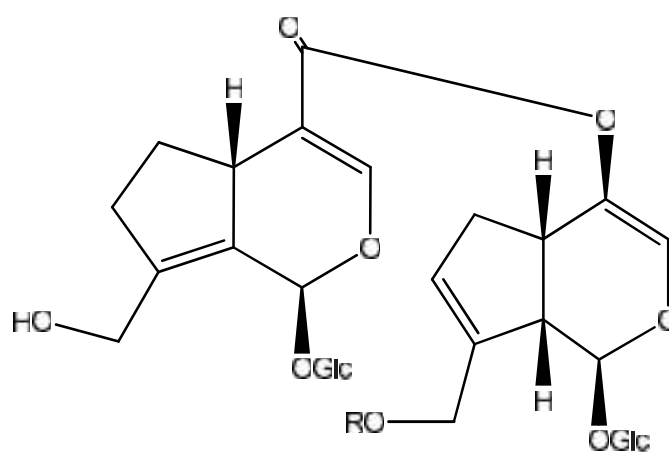
13



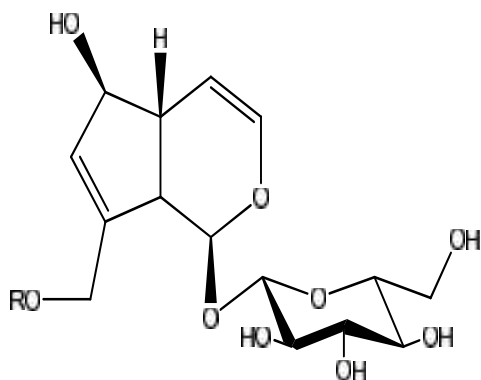
14 R=H
25 R= benzoyl



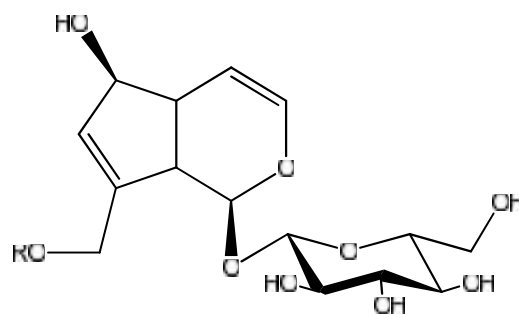
17 R= Ac
26 R= H



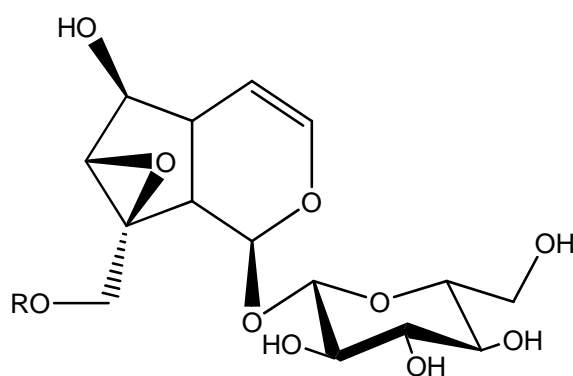
16 R=H



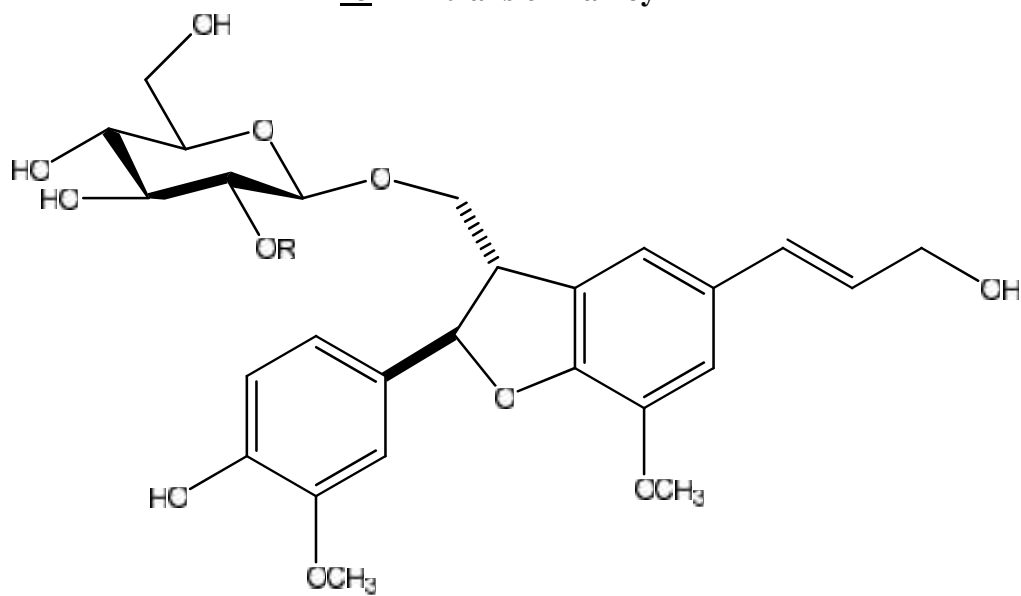
21 R= trans cinnamoyl



22 R=trans cinnamoyl

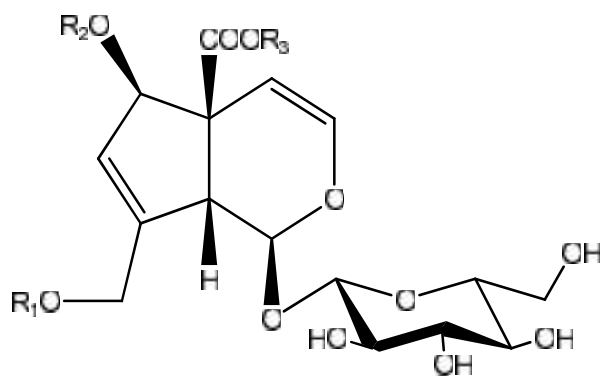
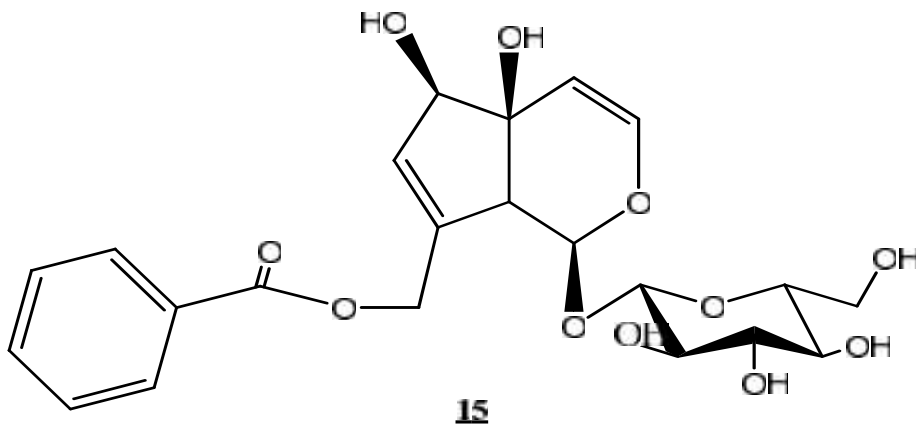


23 R=trans cinnamoyl

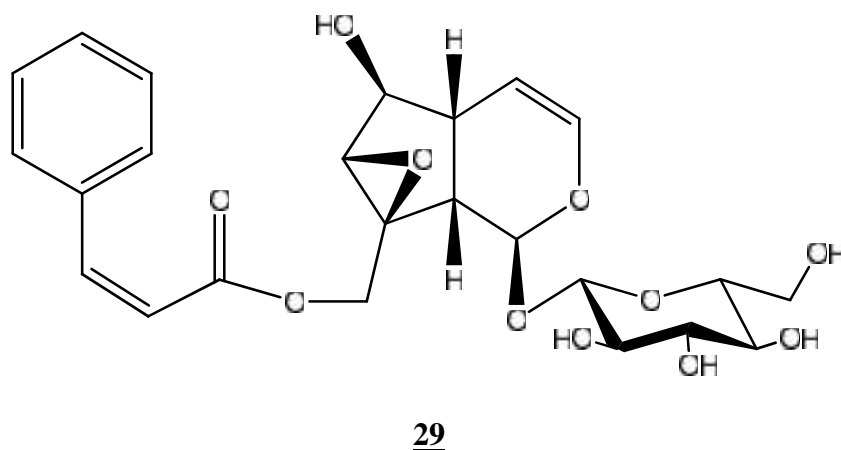


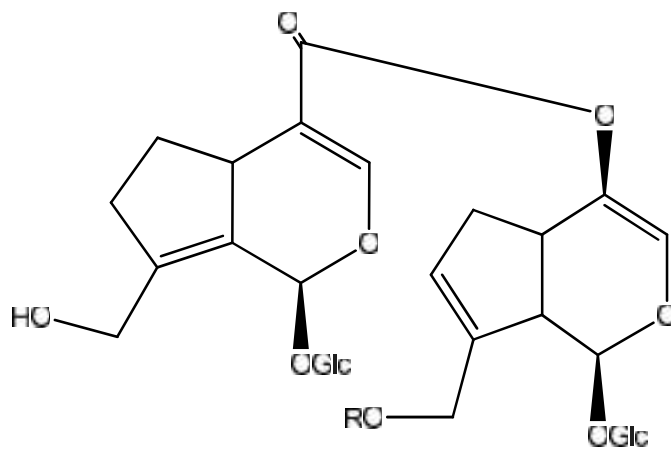
19 R=β-D-gluc

20 R=H

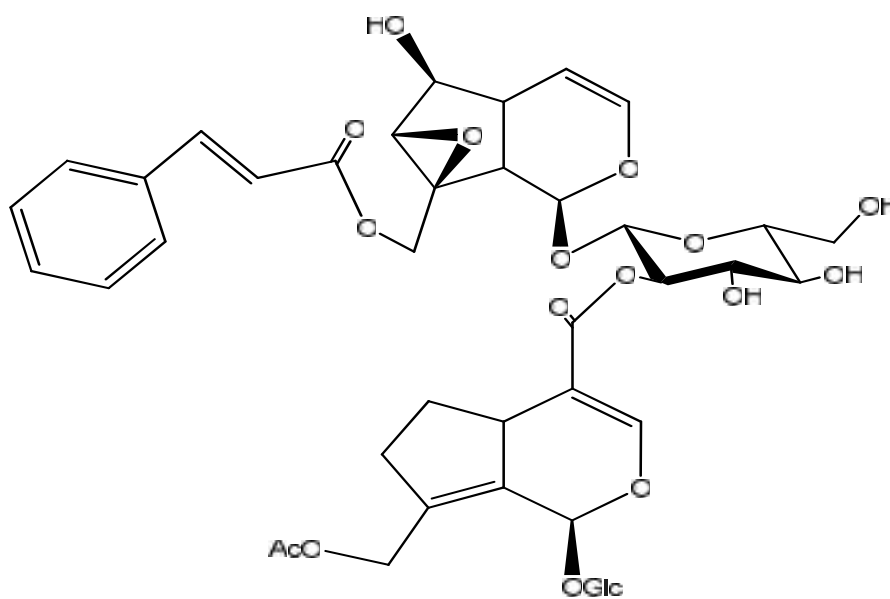


	R1	R2	R3
28	CH3	H	H
32	Ac	H	-OH
33	H	H	-OH
34	H	H	H

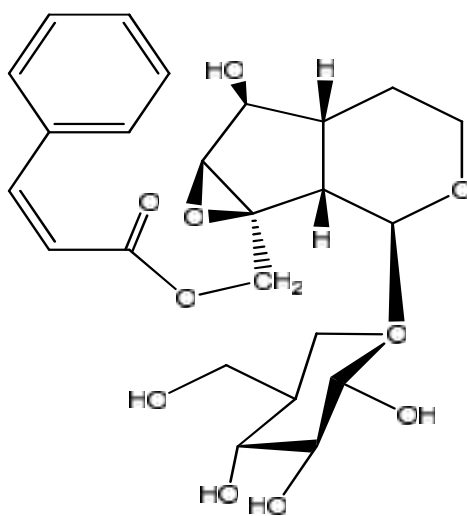




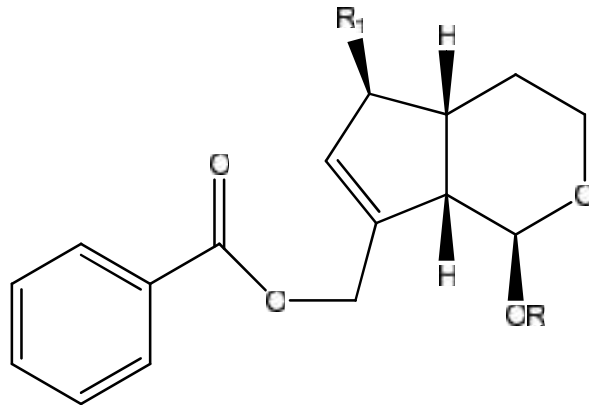
36 R=benzoyl



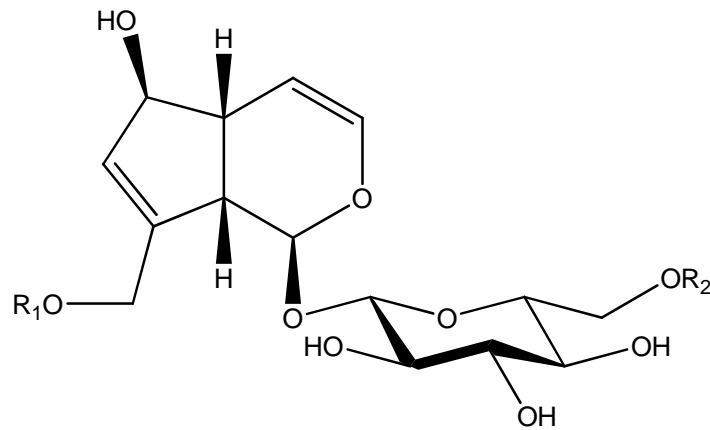
35



37



<u>15</u>	R ₁ = OH	R = H
<u>27</u>	R ₁ = OH	R = B Gluc
<u>10</u>	R ₁ = H	R = B Gluc



<u>11</u>	R ₁ = H	R ₂ = H
<u>16</u>	R ₁ = H	R ₂ = benzoyl
<u>12</u>	R ₁ = benzoyl	R ₂ = H

Le but de ce chapitre était de savoir les principaux métabolites secondaires de la famille GLOBULARIACEAE, que nous allons détailler leurs définitions dans le chapitre 2.

Références bibliographiques :

- [1] H.Gaussen., H. F., Leroy. Précis de botanique (végétaux supérieures), 2eme édition, p.412, 1982.
- [2] P. Quezel., S. Santa., Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques et Méridionales, tome II .CNRS, Paris. P.860, 1963.
- [3] A. Elbetieha , S. Oran , A Alkofahi , H .Darmani ,A . Raies, Journal of Ethnopharmacology ,72 , 215–219,2000 .
- [4] T. Baytop, Therapy with medicinal plants in Turkey (past and present)", Istanbul University Publications, No. 3255, p. 419 Istanbul (1984).
- [5] E. Sezik, M. Tabata, E. Yesilada, G. Honda, K. Goto and Y. Ikeshiro, J. Ethnopharm 35, 191-196 (1991).
- [6] Boulos, L.. Medicinal Plants of North Africa, p.92, 1983.
- [7] I. Calis, Bimolecular Aspects of Biodiversity Innovative. Nov. 3-8, 137-149, 2001.
- [8] Heller, W., Forkmann, G. Biosynthesis of flavonoids. In: Harborne, J.B. (Ed.), « The Flavonoids: Advances in Research since 1986 ». Chapman & Hall, London, pp. 499–535, 1993.
- [9] Brown ,J.P.A review of the genetic effects of naturally occurring flavonoids, anthraquinones and related compounds. Mutat Res.75,243–77, 1980.
- [10] Verhoeyen M. E., Bovy A., Collins G., Muir S., Robinson S., De Vos C. H. R. et Colliver S. Increasing antioxidant levels in tomatoes through modification of flavonoid biosynthesis pathway. *Journal of experimental botany.*, **53** (377) : 209-210 ,2002.
- [11] Havsteen, B.H. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology and Therapeutics* 96, 67–202, 2002.
- [12] Middleton Jr., E., Kandaswami, C., Theoharides, T.C. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heartdisease, and cancer. *Pharmacological Reviews* 52, 673–751, 2000.
- [13] Williams, C.A., Grayer, R.J. Anthocyanins and other flavonoids. *Natural Products Reports* 21, 539–573, 2004.
- [14] Harborne ,J.B., Baxter ,H. « The handbook of natural flavonoids », Vols 1 and 2. Chichester, UK: John Wiley and Sons, 1999.
- [15] Middleton Jr, E., Chithan, K. The impact of plant flavonoids on mammalian biology: implications for immunity, inflammation and cancer. In: Harborne JB, editor. « The flavonoids: advances in researchsince 1986 ». London, UK: Chapman and Hall,1993.
- [16] Crozier, A., Lean ,M.E.J., McDonald, M.S., Black C. Quantitative analysis of the flavonoid content of commercial tomatoes, onions, lettuce and celery. *J .Agric.Food Chem* .45, 590, 1997.

- [17] H. Kirmizibekmez, I. Calis, S. Piacente, C. Pizza. Turkish Journal of Chemistry, 28(4), 455-460, 2004.
- [18] H. Kirmizibekmez, P. Akbay, O. Sticher, I. Calis. Journal of Biosciences, 58(3/4), 181-186, 2003.
- [19] B. Klimek. Phytochemistry, 27(1), 255-8, 1988.
- [20] H. Kenzel, H. Stummerer-Schmid. Phytochemistry, 9(10), 2237-9, 1970.
- [21] H. Kirmizibekmez, I. Calis P. Akbay, O. Sticher. Journal of Biosciences, 58(5/6), 337-341, 2003.
- [22] H. Kirmizibekmez, I. Calis, S. Piacente, C. Pizza. Helvetica Chimica Acta, 87(5), 1172-1179, 2004.
- [23] H. Kirmizibekmez, P. Akbay, O. Sticher, I. Calis. Journal of Biosciences, 58(3/4), 181-186, 2003.
- [24] I. Calis, H. Kirmizibekmez, D. Tasdemir, C. M. Ireland. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 50(5), 678-680, 2002.
- [25] I. Calis, H. Kirmizibekmez, H. Rueegger, O. Sticher. Journal of Natural Products, 62(8), 1165-1168, 1999.
- [26] I. Calis, H. Kirmizibekmez, O. Sticher. Journal of Natural Products, 64(1), 60-64, 2001.
- [27] M. Amer, S. Elmasry. Alexandria Journal of Pharmaceutical Sciences, 2(2) 153-5, 1988.
- [28] Jensen, S.R.; Schripsema, J., *Chemotaxonomy and pharmacology of Gentianaceae*, L & Albert V. Eds. Cambridge University Press, 573-584, 2002.
- [29] Bruneton, J., Pharmacognosie-Phytochimie-Plantes médicinales, 3. Ed. Tec & Doc, Paris, 1999.
- [30] Rosa, T. Lorenzo, P. Carmela, C. Francesco, M., Iridoid and bisiridoid glycosides from *Globularia meridionalis* (Podp.) O. Schwarz aerial and underground parts., Biochemical Systematics and Ecology, 71-74, 40 2012.
- [31] I. Calis, H. Kirmizibekmez, D. Tasdemir, O. Sticher, C. M. Ireland. Journal of Biosciences, 57(7/8), 591-596, 2002.

Chapitre 11

*étude des polyphénols
et iridoïdes*

Les plantes sont extrêmement complexes du point de vue de leur composition chimique telle que les métabolites secondaires qui sont surtout utilisées en thérapeutique et qui peuvent être classés en plusieurs grands groupes : les alcaloïdes, les terpènes, les stéroïdes ainsi que les composés phénoliques et les iridoïdes qui font l'objet d'une attention particulière de notre part.

II-1-les composés phénoliques :

Les polyphénols sont des composés dotés de plusieurs groupements phénoliques, avec ou non d'autres fonctions hydroxylique, carboxylique...etc. Dans cette classe, on rencontre de nombreuses substances constituées de différents noyaux [1]. La structure des composés phénoliques naturels varie entre les molécules simples (acides phénoliques simples) et les molécules les plus hautement polymérisées (tanins condensés) [2].

Le métabolisme phénolique intervient dans le programme général de la croissance d'un organe végétal, ce qui suggère un rôle éventuel de ces substances dans ce processus. En effet ; des travaux antérieurs, ont montré que les phénols interviendraient dans de nombreux processus physiologiques tels que : la croissance cellulaire, différenciation organogène, dormance des bourgeons, floraison, tubérisation, également ils jouant le rôle des signaux de reconnaissance entre les plantes (Allélopathie) ou bien lui permettant de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes.

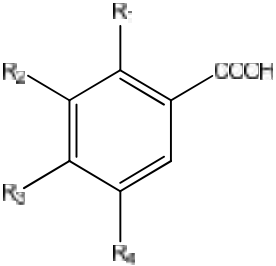
II-1-1- Principales classes des composés phénoliques :

II-1-1-1 - Les acides phénoliques simples :

II-1-1-1- A-Acides hydroxybenzoïques :

- Ont une structure générale de base de type (C6-C1).
- Dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque .
- Sont très communs aussi bien sous forme libre que combinés à l'état d'ester ou D'hétéroside.
- Les acides hydroxybenzoïques les plus abondants sont répertoriés dans le tableau II-1 :

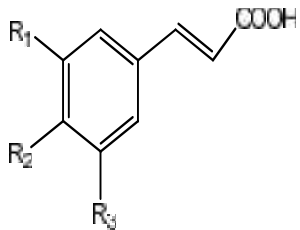
Tableau II-1: Principaux acides hydroxybenzoïques [5].

Structure	R1	R2	R3	R4	Acides phénoliques
	H	H	H	H	Acide benzoïque
	H	H	OH	H	Acide p hydroxy benzoïque
	H	OH	OH	H	Acide protocatechique
	H	OCH3	OH	H	Acide vanillique
	H	OH	OH	OH	Acide gallique
	H	OCH3	OH	OCH3	Acide syringique
	OH	H	H	H	Acide salicylique
OH	H	H	OH	Acide gentisique	

II-1-1-1-B- Acides hydroxycinnamiques

- Ont une structure générale de base de type (C6-C3).
- Dérivent de l'acide cinnamique.
- Existent souvent sous forme combinée avec des molécules organiques .
- Les degrés d'hydroxylation et de méthylation du cycle benzénique, conduisent à une réactivité chimique importante de ces molécules .
- Les acides hydroxycinnamiques les plus abondants sont répertoriés dans le tableau II-2

Tableau II-2 : Acides hydroxycinnamiques les plus abondants

Structure	R1	R2	R3	Acides phénoliques
	H	H	H	Acide cinnamique
	H	OH	H	Acide p coumarique
	OH	OH	H	Acide caféique
	OCH3	OH	H	Acide férulique
	OCH3	OH	OCH3	Acide sinapique

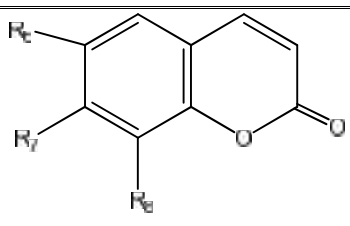
II-1-1-1 - C -Coumarines :

Les coumarines tirent leur nom de coumarou, nom vernaculaire de la fève tonka d' où fut isolée en 1820. Les coumarines dérivent des acides hydroxycinnamiques par cyclisation interne de la

chaîne latérale. Cependant, leur voie de biosynthèse peut varier d'une espèce à l'autre. En effet, la scopolétine de tabac dérive de l'acide férulique, tandis que des expériences d'apport de précurseurs marqués semblent montrer que ce n'est pas le cas chez le tournesol.[6]

Les coumarines les plus simples d'entre elles sont distribuées dans tout les règnes végétales, Et elles ont fréquemment un rôle écologique ou biologique.

Tableau II-3 : Principaux types de coumarines [2]

Structure	R6	R7	R8	Acides phénoliques
	H	OH	H	Umbelliférol
	OH	OH	H	Aescultol
	OCH3	OH	H	Scopolétol
	OCH3	OH	OH	Fraxétol
	H	OH	OH	Daphnétole

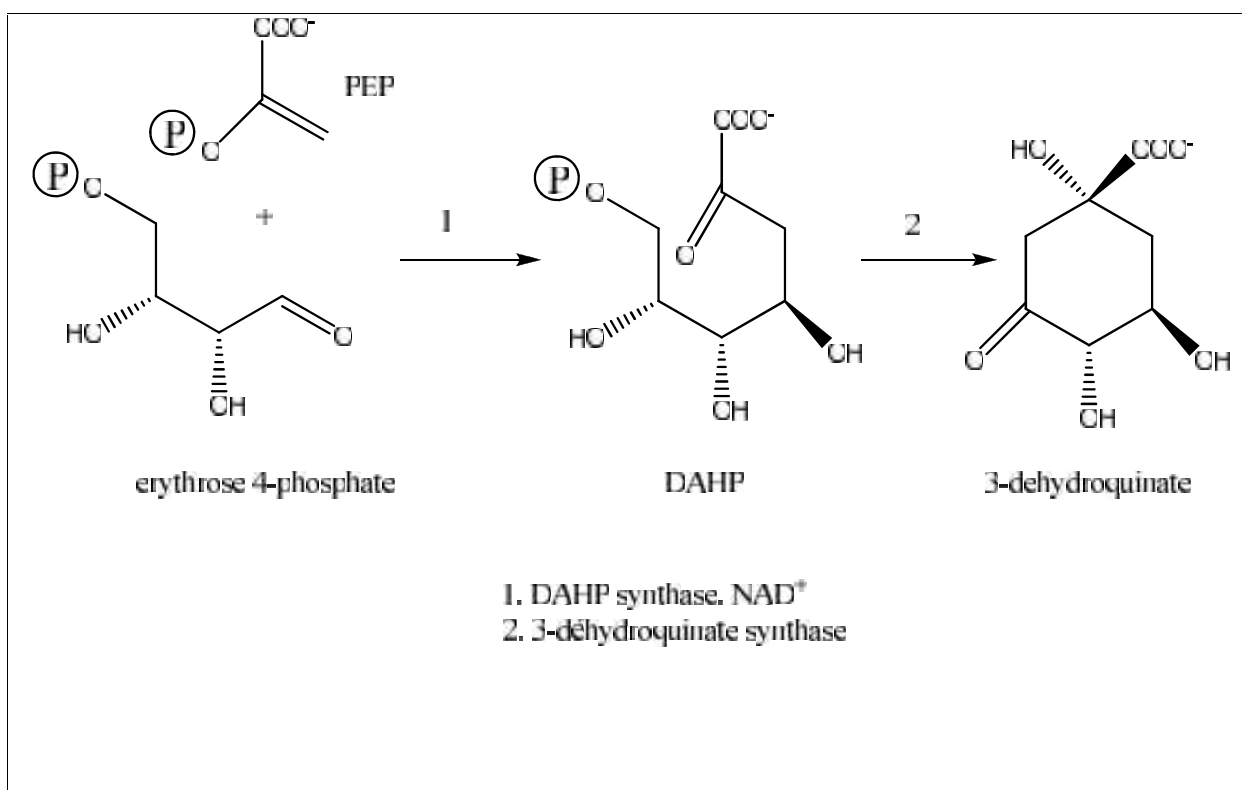
II-1-1-2 phénylpropanoïdes :

Le métabolisme des phénylpropanoïdes est un métabolisme secondaire, spécifique du règne végétale. Tous les dérivés phénylpropanes possèdent le même squelette carboné : une chaîne latérale à trois carbones attachés au phénol [6], tels que les hydroxycoumarines, les phénylpropènes, les lignanes et différents types d'acides hydroxycinnamiques (caféiques, coumariniques). Ils sont insolubles dans l'eau aussi ils sont considérés comme des constituants des huiles essentielles.

II-1-1-2-1 Biosynthèse des phénylpropanoïdes :

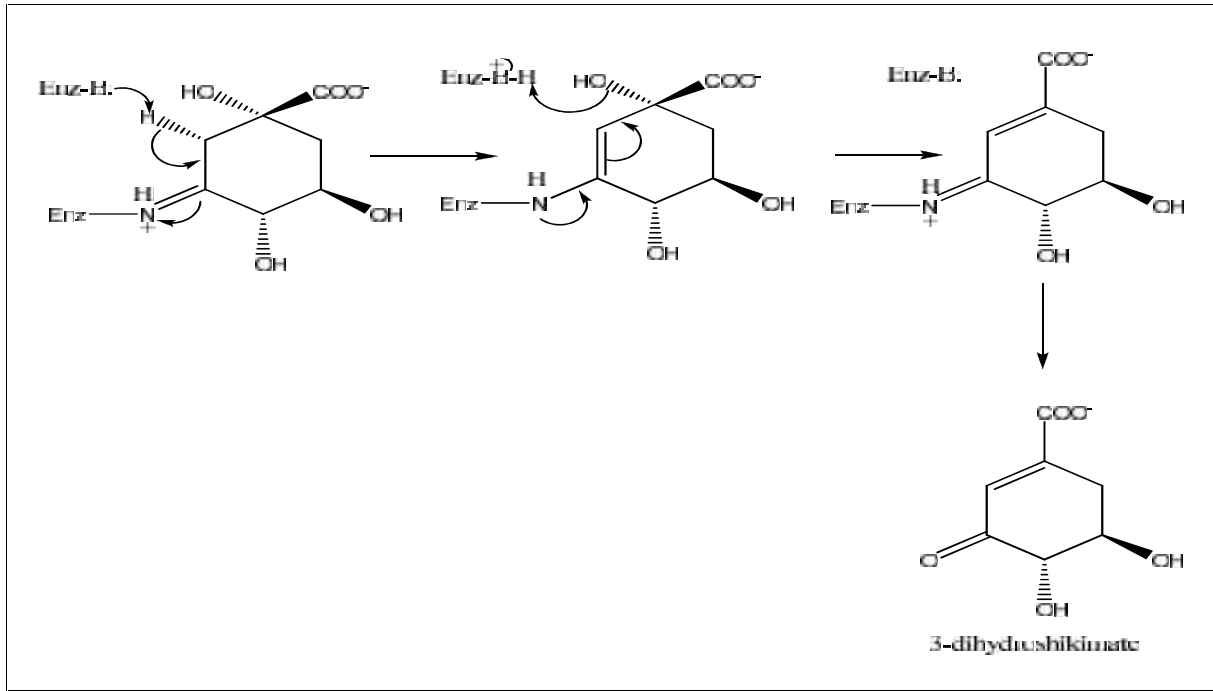
Les composés en C6-C3, sont des métabolites de l'acide shikimique quel que soit le degré d'oxydation de leur chaîne latérale (alcool, aldéhyde ou propène), ils proviennent des acides cinnamiques [7]. La formation de l'acide cinnamique se fait comme suit :

- La première réaction est la condensation du phosphoénolpyruvate (PEP) avec l'érythrose-4-phosphate pour former un composé en C7.
- Le 3-désoxy-D-arabino-heptulosonate-7-phosphate (DAHP).
- La cyclisation du DAHP en 3-déhydroquinone est une réaction complexe qui met en jeu une condensation aldolique intramoléculaire intervenant après l'élimination du phosphate (Schéma II.1.1) [8,6].



FigureII-1-1 : La cyclisation du DAHP en 3-déhydroquinone

la déshydratation du 3-déhydroquinone est catalysée par un enzyme qui forme transitoirement une base de Schiff entre un résidu lysine et le carbonyle du 3-déhydroquinone, induit une élimination d'eau stéréospécifique, *cis* figure(II.1.2) [8].



figureII-1-2

C'est après la réduction du 3-déhydroshikimate et la phosphorylation du shikimate que se produit la condensation avec une nouvelle molécule de PEP pour former un éther d'énol, le 5-énolpyruvylshikimate 3-phosphate (EPSP). Ce dernier conduit, via une *trans* 1,4-élimination inhabituelle, au chorismate (figure II.1.3) [6,8].

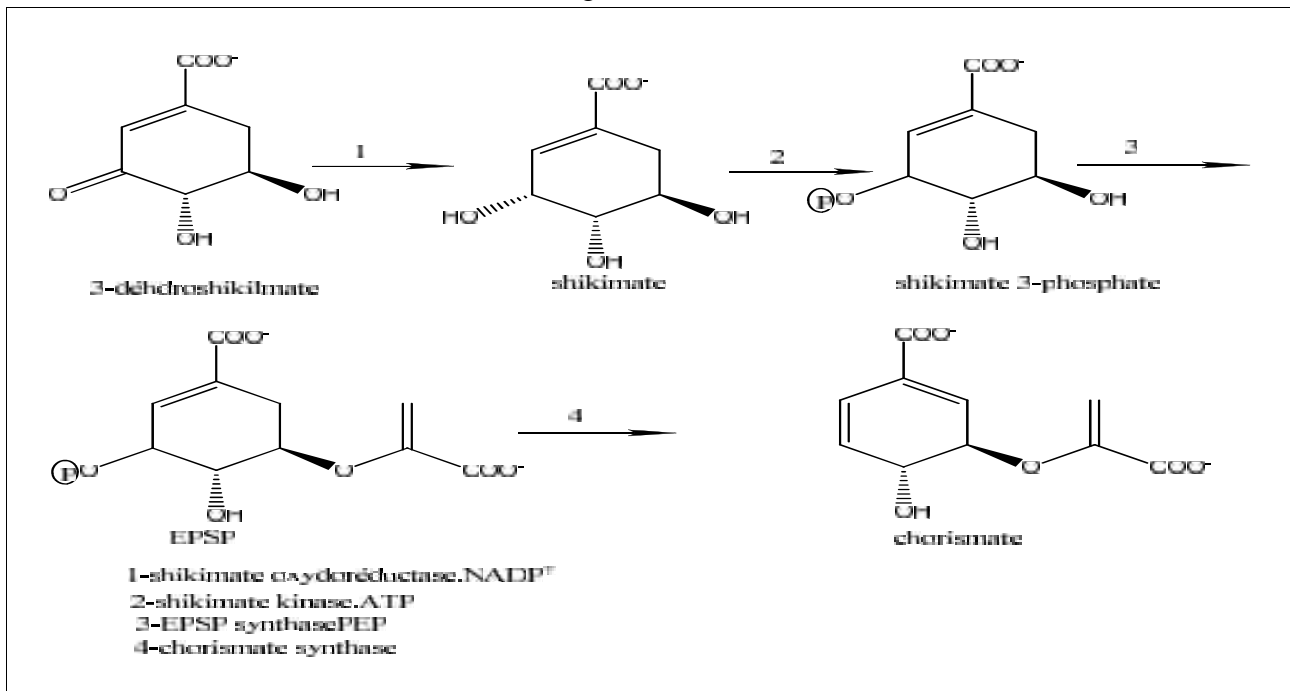


figure II-1-3

L'acide chorismique occupe une position clé dans le métabolisme et son devenir est multiple :

- Réarrangement péricyclique de type Claisen en préphénate. C'est la voie qui conduit, *via* le phénylpyruvate, à la phénylalanine. Ce réarrangement est catalysé par une enzyme, la chorismate mutase, capable de transférer la chaîne latérale dérivée du PEP de telle façon qu'elle soit directement liée sur le carbocycle, engendrant ainsi le squelette des phénylpropanes. L'enzyme exercerait un contrôle conformationnel, privilégiant un état de transition chaise avec des substituants pseudo axiaux, la décarboxylation du préphénate, son aromatisation et son amination réductrice conduisent à la L-phénylalanine.
- L'amination réductrice de α -céto acide; l'acide aminé ainsi formé (L-arogénate) et dans un deuxième temps, décarboxylé est aromatisé en L-phénylalanine (arogénate déshydratase) (figure II.4)[6,8].

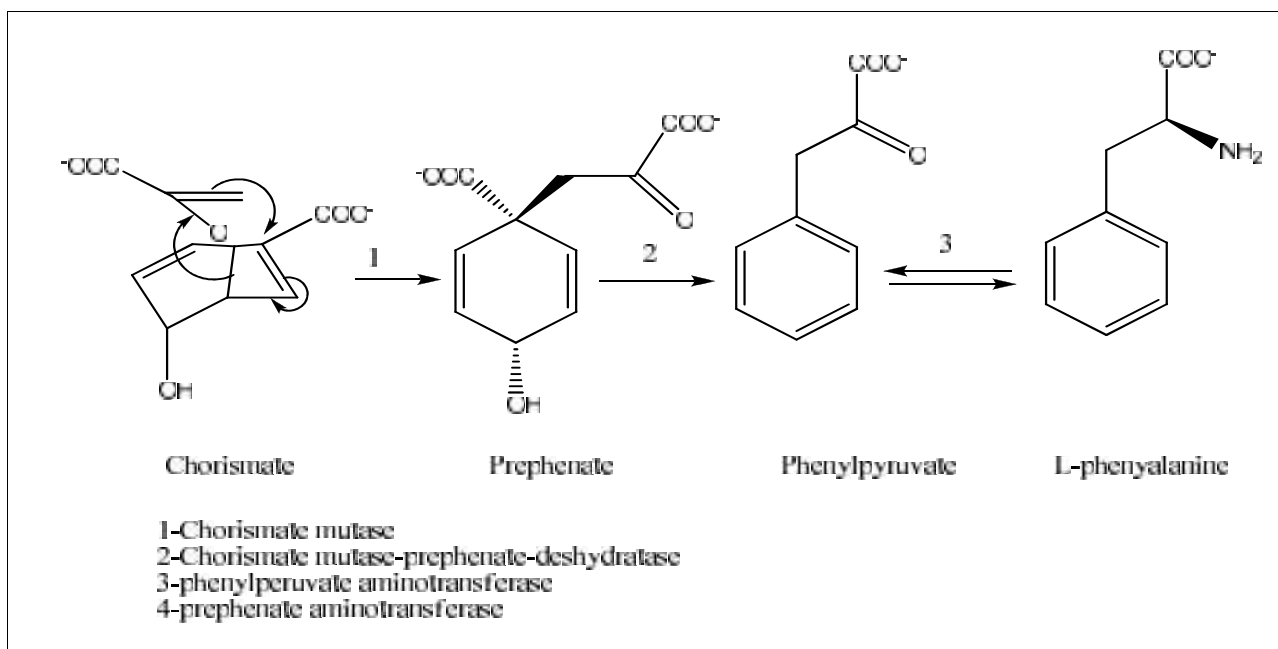
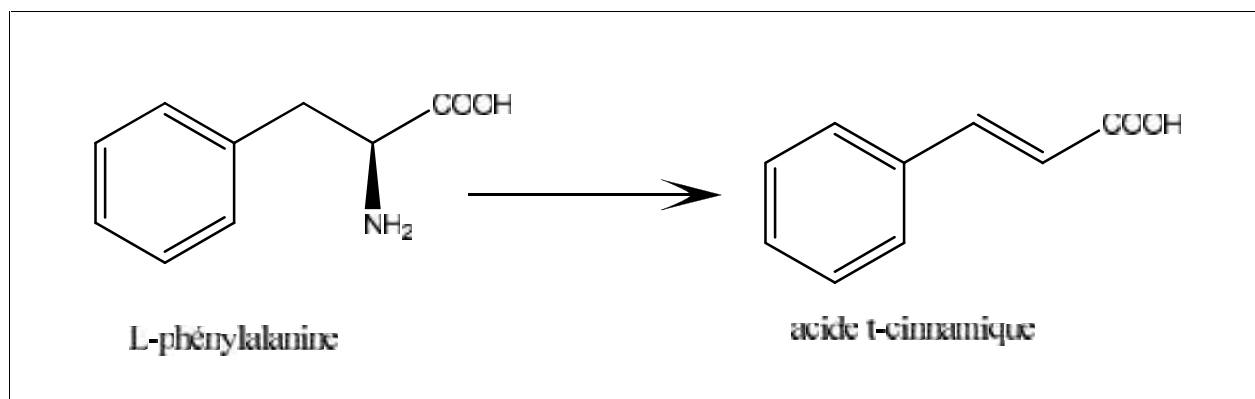


Figure II-1-4

L'élimination stéréospécifique d'ammoniac à partir de la phénylalanine conduit à l'acide (*E*)-cinnamique (*trans*-cinnamique). La réaction est catalysée par la Phénylalanine Ammoniac Lyase (PAL), c'est une enzyme clé puisqu'elle contrôle effectivement l'orientation du carbone vers la production des composés phénoliques plutôt que vers la production des métabolites

primaires comme les protéines. L'élimination d'ammoniac est favorisée par réaction de NH_2 avec un reste déhydroalanine du groupement prosthétique de l'enzyme (Schéma II.1.5)[6,8].

**Figure II-1-5**

Le premier composé phénylpropane est l'acide *E*-cinnamique. Il va conduire à cinq autres acides hydroxycinnamiques qui diffèrent par leur degré d'hydroxylation et de méthylation. Les esters de CoA correspondant représentent les intermédiaires actives du métabolisme des phénylpropanoïdes. Les fonctions carboxyles estérifiées peuvent subir deux étapes de réduction conduisant successivement aux fonctions aldéhydes puis alcools. Trois de ces composés alcools constituent des précurseurs de la lignine, les unités *p*-hydroxyphényle (H), gaïacyle (G) et syringyle (S) (figure II.1.6) [6].

II-1-1-2-2 Les produits dérivés du métabolisme des phénylpropanoïdes

Le motif phénylpropanique est par ailleurs susceptible de se cycliser (coumarines), de se dimériser (lignanes), de se polymériser (lignines), ou de voir sa chaîne latérale s'allonger (stilbènes, flavonoïdes) [7].

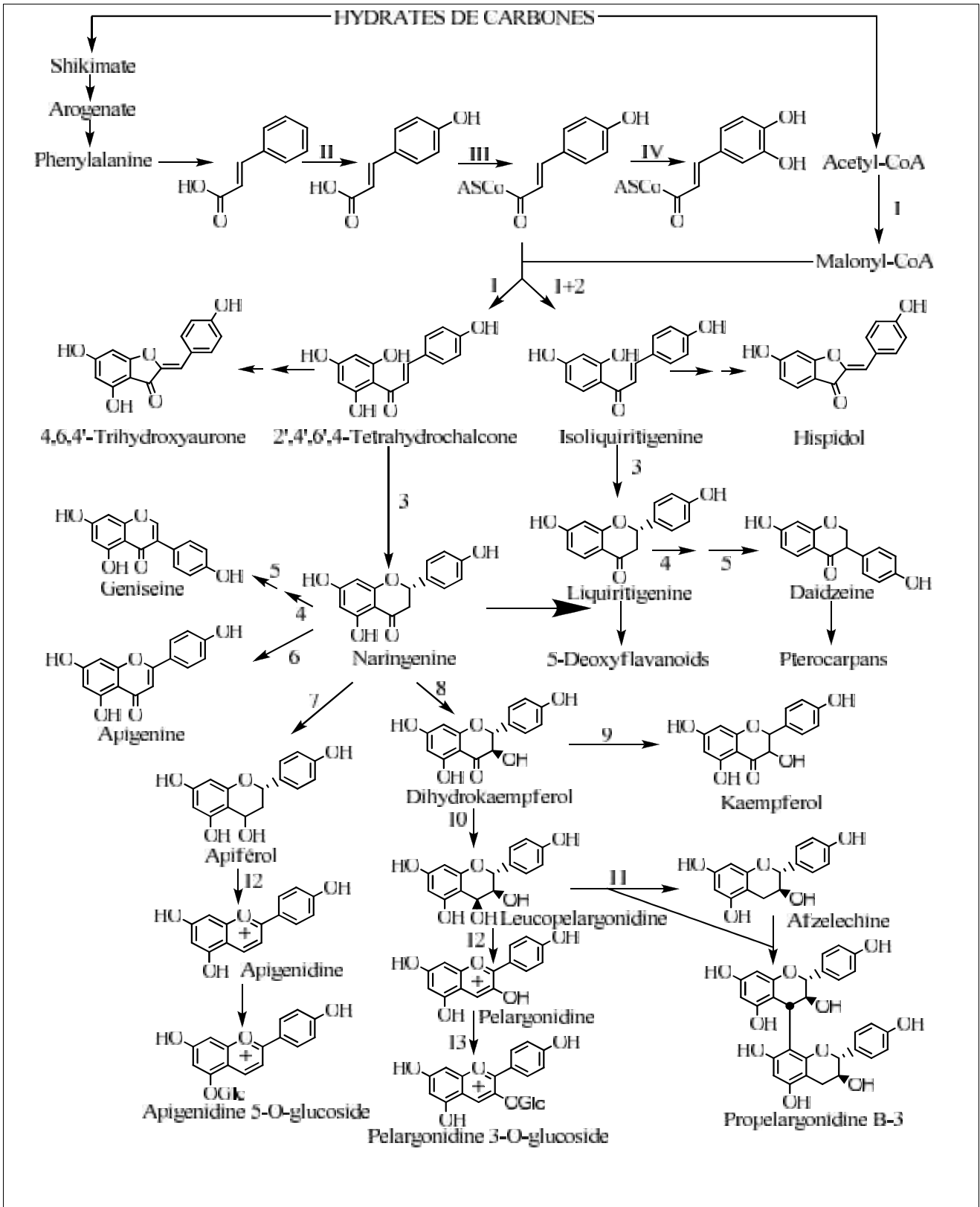


Figure II.1.6 : Représentation simplifiée du métabolisme des phénylpropanoïdes

II-1-1-2-3 Intérêts des composés phénylpropanoïdes :

L'intérêt thérapeutique des phénylpropanoïdes est un enjeu capital dans le domaine de la recherche des substances naturelles. Ces composés sont impliqués dans des fonctions diverses telles que la fertilité, la pigmentation, la lignification et la protection contre des agents biotiques ou abiotiques [6]. Certains phénylpropanoïdes présentent une activité cytotoxique [9].

Les esters hétérosidiques phénylpropanoïques montrent des potentialités pharmacologiques intéressantes. Certains d'entre eux sont des inhibiteurs enzymatiques : inhibition de la phosphodiesterase de l'AMPc (fossythiaside, plantamajoside) et l'inhibition de l'aldose réductase (verbascoside = actéoside). Le verbascoside, le forsythiaside et leurs homologues inhibent, aussi bien sur des granulocytes humains que sur des cellules péritonéales de Rat, la 5-lipoxygénase. Il en résulte une inhibition de la formation des hydroperoxydes et des leucotriènes qui pourrait justifier l'emploi, par la médecine traditionnelle orientale, des fruits de *Forsythia* dans le traitement de maladies inflammatoires ou allergiques. Plusieurs composés de cette série sont antibactériens et antifongiques [7].

II-2-1-3 Les flavonoïdes :

II-2-1-3 -1 Généralité :

Les flavonoïdes sont des substances naturelles qui forment une grande partie des métabolites secondaires. Le nom flavonoïde provient du terme flavedo, désignant la couche externe des écorces d'orange [10], cependant d'autres auteurs supposaient que le terme flavonoïde a été plutôt prêté du flavus qui veut dire jaune [11 ;12]. Il rassemble une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols, leur fonction principale semble être la coloration des plantes.

Beaucoup de flavonoïdes sont facilement reconnus comme des pigments de fleurs dans la plupart des familles angiospermes (plantes à fleurs). Cependant leur présence n'est pas restreinte aux fleurs mais elle inclut toutes les parties de la plante [13]

II-2-1-3 -2. Structure chimique :

A ce jour, plus de 4000 flavonoïdes naturels ont été décrits, ils ont tous la même structure chimique (squelette) de base à quinze atomes de carbones, constitué de deux unités aromatiques, deux cycles en C6 (A et B), reliés par une chaîne en C3 (figure II.3.1) [14].

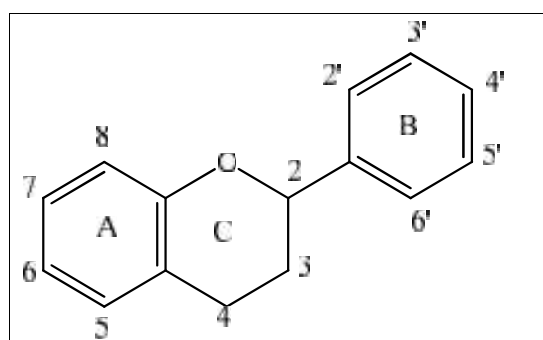


Figure II.3.1 : Squelette de noyau flavane.

II-2-1-3 -2 Classification et nomenclature :

Les flavonoïdes individuelles sont nommés selon trois méthodes différentes :

- II-2-1-3 2-A. Nomenclature triviale :

Largement employée, elle indique soit la classe de flavonoïde, soit leur plante source. Par exemple, les noms terminés par « inidine » sont attribués aux anthocyanidines. Ceux qui terminent par « etine », sont généralement désignés des flavonols. Dans un autre exemple, les noms des deux composés « tricine » et « hypolaetine » sont dérivés de leurs origines (ils sont extraire des plantes appartenant au deux genres *triticum* et *hypolaena*, respectivement).

• **II-2-1-3 -2-B. Nomenclature semi systématique :**

Elle est basée sur la nomenclature triviale désignant la classe de flavonoïde et la structure telle qu'elle paraît. Par exemple : 3, 5, 7,3',4'- pentahydroxyflavone, ou 3,3',4', 5,7-pentahydroxyflavone.

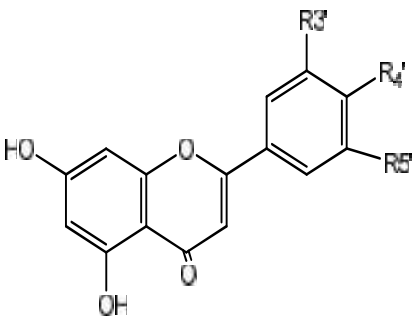
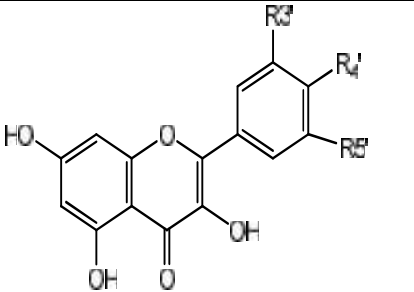
II-2-1-3 -2-3 La nomenclature systématique :

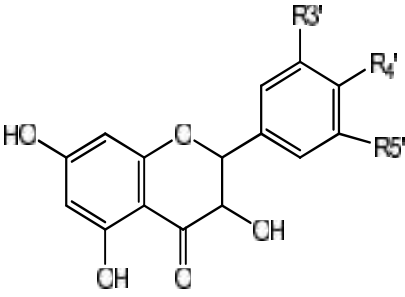
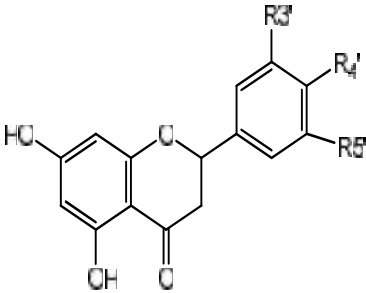
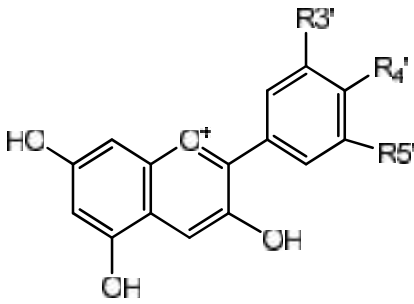
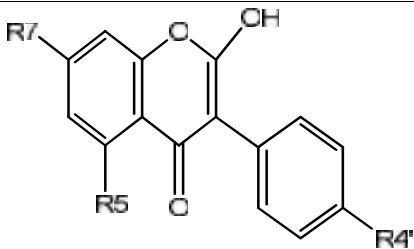
(selon IUPAC), par exemple, 3,4-dihydro-2-phenyl-2H-1-benzopyrane pour le squelette flavane. Cependant cette dernière méthode est très encombrée, et par conséquent rarement utilisée [15].

II-2-1-3 -3 Classification :

Les flavonoïdes peuvent être classés en plusieurs groupes selon le degré d'oxydation du cycle pyranique central (la chaîne en C3 [14] et le noyau B relié à l'hétérocycle C dans les positions 2, 3 ou 4 (tableau II.3.1)

Tableau II-3-1 : Principales classes des flavonoïdes [16 ,17]

Classes	Structures chimiques	R3'	R4'	R5'	Exemples
Flavones		H	H	OH	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH3	H	Diosmétine
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myrecétine
Flavanols		OH	OH	H	Catéchine

					
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthocyanidines		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
Isoflavones		R5	R7	R4'	
		OH	OH	OH	Genistéine
		H	O-Glu	OH	Daïdezine

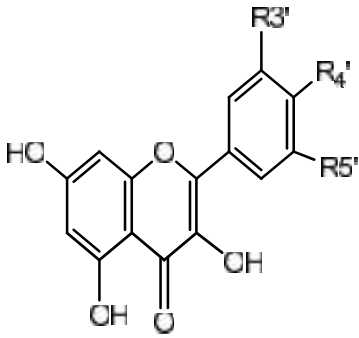
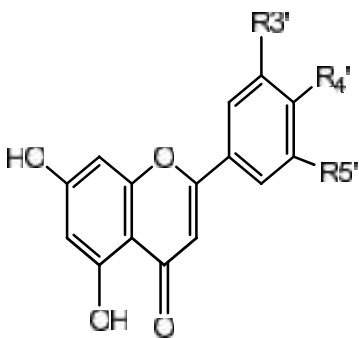
Plus de 80 sucres différents ont été trouvés liés aux flavonoïdes des plantes. Parmi eux, le D-glucose est de loin le monosaccharide le plus courant, d'autres hexoses, le D-galactose et le D-mannose, ainsi que des pentoses, le D-xylose, le L-arabinose et le D-apirose sont fréquents avec le L-rhamnose (seul désoxyhexose) et des acides uroniques (le plus souvent l'acide D-glucuronique). On trouve également des disaccharides (une quarantaine dont les plus courants : le rutinose et le néohespéridose), des trisaccharides (environ 30

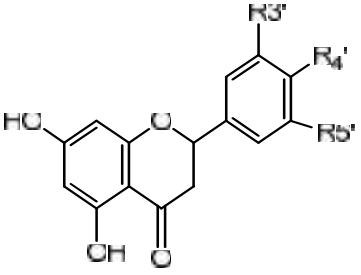
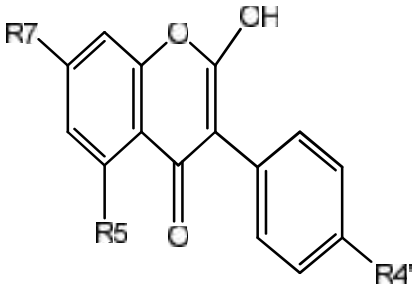
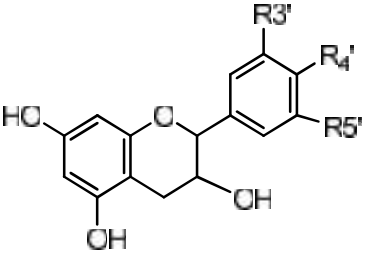
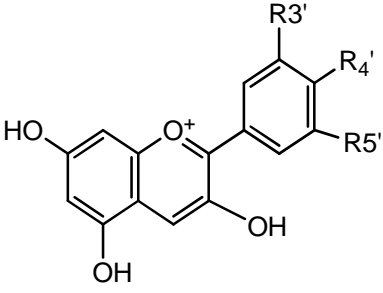
espèces) et quelques rares tétrasaccharides. Les sucres peuvent à leur tour être substitués par des groupements acyles tels que le malonate ou l'acétate [18].

II-2-1-3 -4 Distribution

Les flavonoïdes sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racines tiges, feuilles, fruits, graines, bois et pollens [19]. Certaines classes de flavonoïdes sont présentes exclusivement chez certains végétaux, on trouvera par exemple, les flavanones dans les agrumes, les isoflavones dans le soja. Les anthocyanes et les flavonols ont eux une large distribution dans les fruits et les légumes, tandis que les chalcones se retrouvent plus fréquemment dans les pétales des fleurs, sont considérés comme des pigments naturels au même titre que les chlorophylles et les caroténoïdes [10 ,20].

Tableau II-3-2 Distribution des principaux flavonoïdes dans certains aliments

Flavonoïdes	Exemples	Aliments	Caractéristiques
<p>Flavonols</p> 	<p>Quercétine Kaempférol</p>	<p>Oignon, poireau, brocolis, pommes, chou frisé, vin rouge, thé.</p>	<p>Le groupe le plus abondant des composés phénoliques.</p>
<p>Flavones</p> 	<p>Lutéoline Apigénine</p>	<p>Persil, céleri.</p>	<p>Le groupe le plus abondant des composés phénoliques, les flavones se diffèrent des flavonols seulement par le manque d'un OH libre en C3, ce qui affecte ainsi leur absorption aux UV, mobilité hromatographique et les réactions de coloration</p>
<p>Flavanones</p>	<p>Naringénine Eriodictyol</p>	<p>Fruits du genre Citrus.</p>	<p>Sont caractérisés par l'absence de la double liaison C2- C3, le flavanone le plus</p>

			<p>abondant est la naringénine, isolée pour la première fois à partir des écorces de citrus.</p>
<p style="text-align: center;">Isoflavones</p> 	<p>Genisteine Daidzeine</p>	<p>Graines de soja et produits qui en dérivent.</p>	<p>Caractérisés par leur variabilité structurale dont l'attachement du cycle B se fait en C3. Ils sont présents dans les plantes sous forme libre ou glycosylée.</p>
<p style="text-align: center;">Flavan3-ols</p> 	<p>Catéchine Epicatéchine Epigallocatec-hine</p>	<p>Vin rouge, thé noire, thé vert, cacao, chocolat.</p>	<p>Flavan3ols ainsi que flavan3, 4diols sont tout les deux impliqués dans la biosynthèse de proanthocyanidines (tanins condensés) par des condensations enzymatiques et chimiques</p>
<p style="text-align: center;">Anthocyanidines</p> 	<p>Cyanidine Delphénidine</p>	<p>Raisins, vin rouge, certaines variétés de céréales.</p>	<p>Représentent le groupe le plus important des substances colorées, ces pigments hydrosolubles contribuent à la coloration des angiospermes.</p>

II-2-1-3 -5 Rôle des flavonoïdes dans les plantes :

Les flavonoïdes sont les pigments colorés des fleurs. Par exemple, les couleurs : orange, rouge et bleue des légumes, fruits, fleurs et tissus de stockage des plantes sont dues à des anthocyanes hydrosolubles (qui sont des flavonoïdes jaunes réduits)[21]. De ce fait, ils jouent un rôle important dans les interactions avec les insectes (attraction et aussi un rôle dans la pollinisation entomophile et la dispersion des graines)[22].

Ils sont impliqués dans les interactions plantes-microorganismes : dans les pathogénèses comme dans les symbioses (nodules des légumineuses)[24.25]. Ils agissent dans les systèmes de défense des cellules végétales en réponses à certains stress tels que les radiations ultraviolettes. Ce sont également des inhibiteurs d'enzymes, des agents chélatants des métaux nocifs aux plantes [23]. De plus ils sont impliqués dans la photosensibilisation et les transferts d'énergie, la morphogénèse et la détermination sexuelle, la photosynthèse et la régulation des hormones de croissance des plantes.

II-2-1-3 -6 Flavonoïdes et santé

A coté de leurs fonctions importantes, dans la biochimie, la physiologie et l'écologie, les flavonoïdes représentent une partie intégrale des composés importants pour la nutrition et la santé humaine. L'alimentation riche en flavonoïdes, est plus particulièrement les flavones, peut réduire le risque de nombreux cancers (cancer de poumon et de colon), les maladies coronaires, et les inflammations chroniques.

II-2-1-3 -7 Synthèse organique des flavonoïdes

La plus part des voies synthétiques utilisées pour former le squelette C15 des flavonoïdes, commencent à partir des unités simples, et parfois à partir de la forme chalcone par exemple

- **Chrysin :**

La Chrysin est une 5,7-dihydroxyflavone et peut être synthétisée par action du benzoate d'éthyle sur la 2, 4,6-triméthoxyacétophénone, selon la réaction de **Claisen**, suivie d'une déméthylation des méthoxy par l'acide iodhydrique, puis de la cyclisation en flavone, en milieu acide .

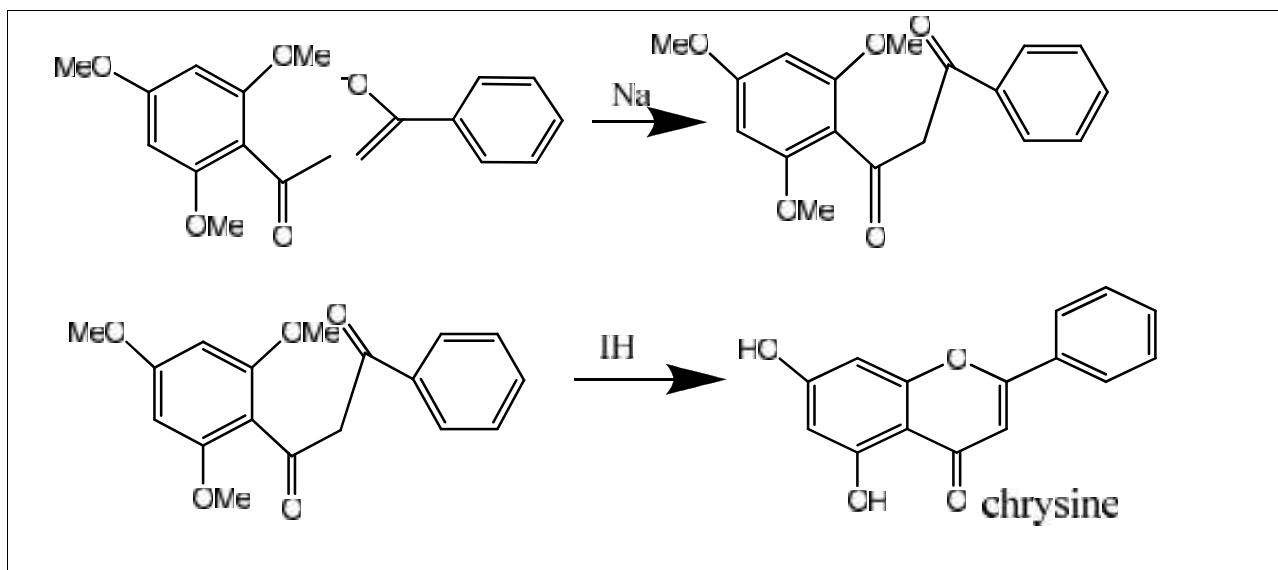
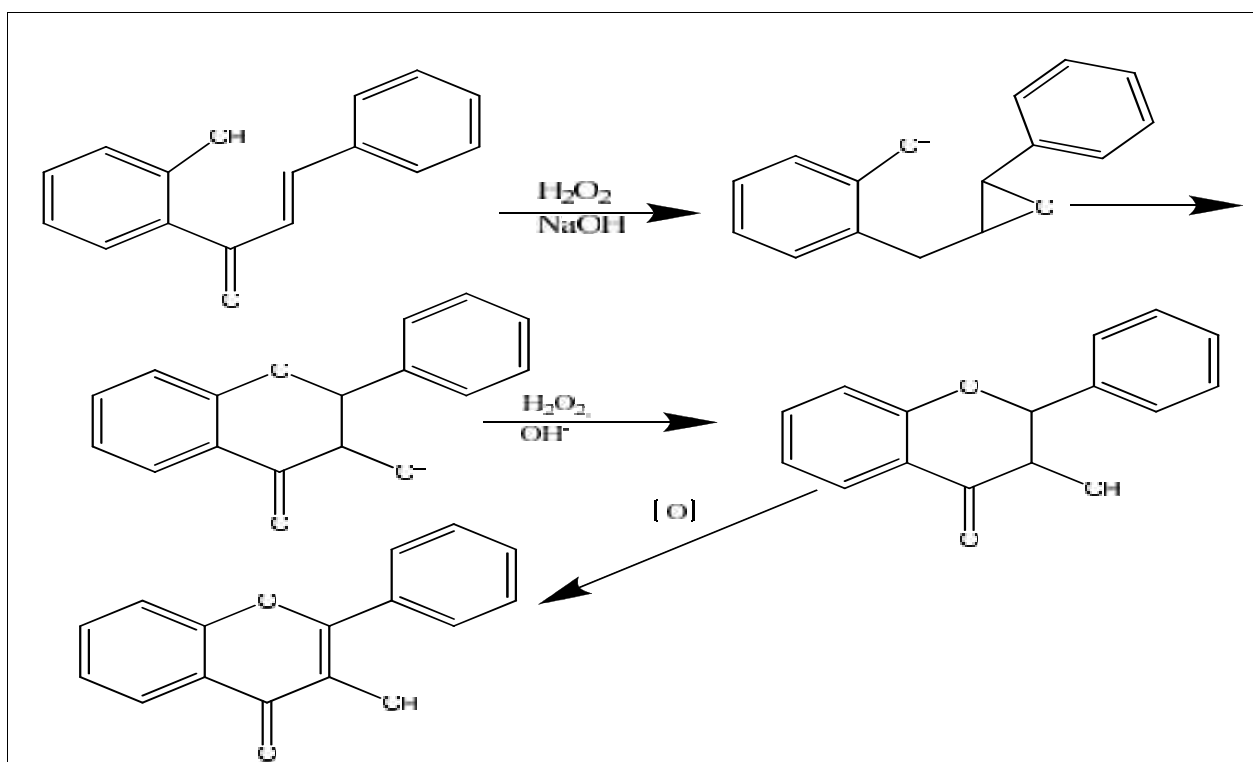


Fig.II-3-2. Synthèse de la chrysine

▪ **Flavonols :**

Les flavonols peuvent être préparés par la réaction de **Algar-Flym-Oyanda**, Une 2'-hydroxychalcone est soumise à l'action du peroxyde d'hydrogène en milieu alcalin ce qui forme un oxirane qui est immédiatement ouvert par l'attaque de l'ion phénate avec cyclisation en une 3-hydroxyflavanone. cette molécule est très facilement oxydée en flavonol :



FigureII-3-3 : Synthèse des flavonols

▪ Isoflavones

Les isoflavones peuvent être préparées par de nombreuses méthodes. Deux d'entre elles sont présentées dans les schémas A et B ; la première A consiste à faire une réaction de **Claisen** entre la benzyl (*O*-hydroxy phényl) cétone et le formiate d'éthyle en présence de sodium, le composé résultant est cyclisé en milieu acide en isoflavones .

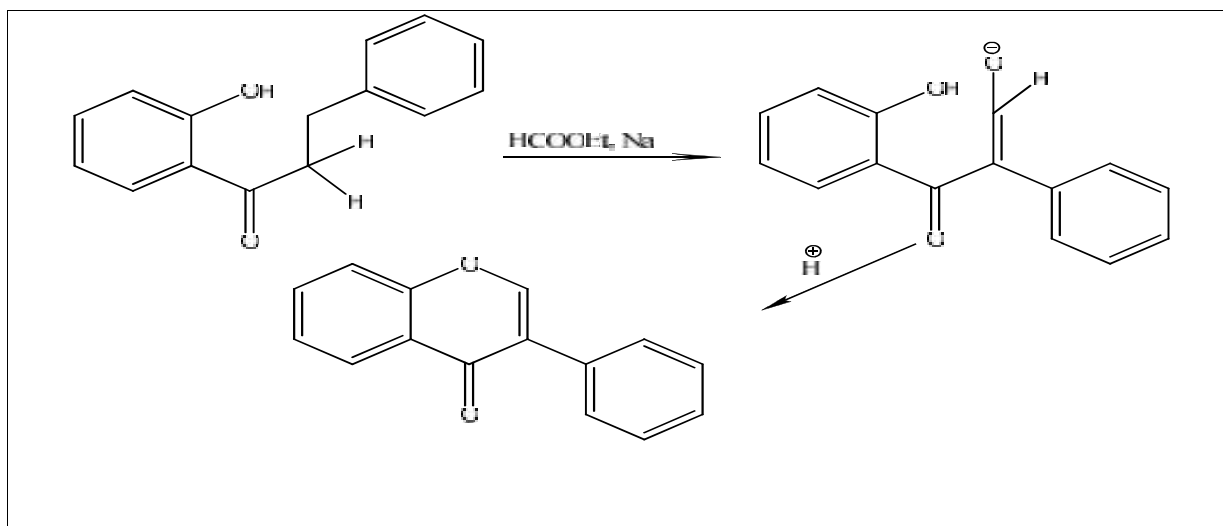


Schéma A : Synthèse des isoflavones

La seconde B débute par l'action du chlorure d'éthoxyle sur la benzyl (*O*-hydroxy phényl) cétone (ou ses dérivés hydroxylés). effectuée en présence de pyridine. la 2-éthoxycarbonyl Isoflavone ainsi produite est traitée par la soude, puis par chauffage. C'est la synthèse de **Baker-Ollis** [33].

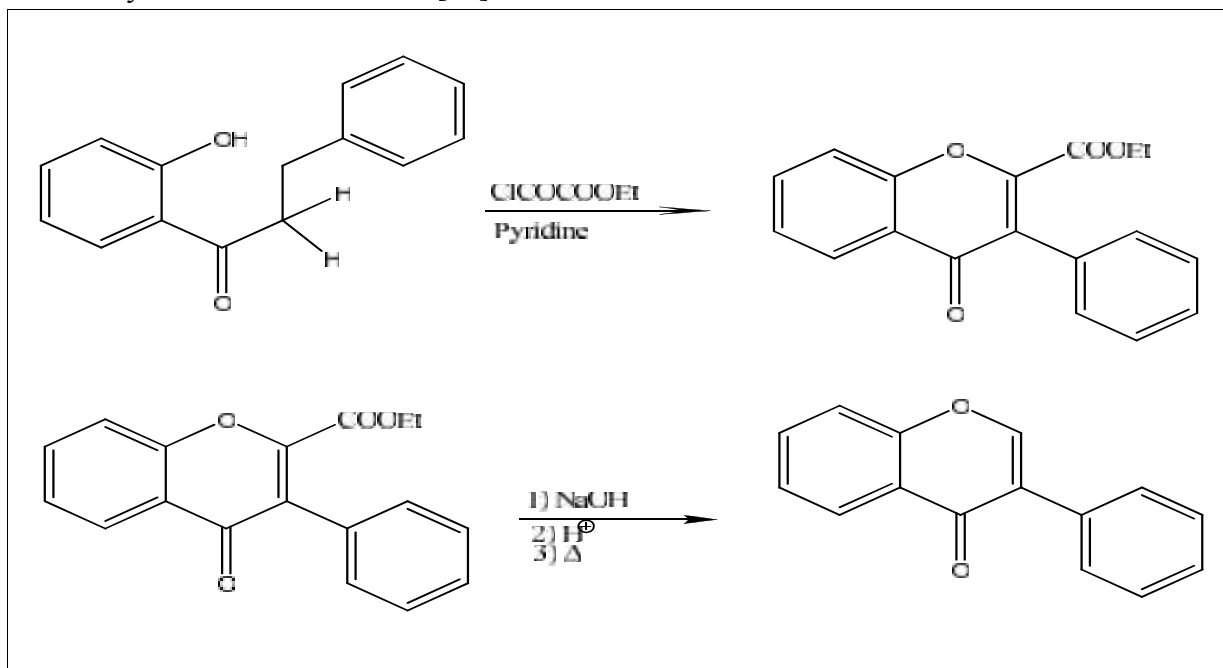


Schéma B : Synthèse des isoflavones

II-2-1-3 -8 Biosynthèse des flavonoïdes:

Les flavonoïdes possèdent tous le même élément structural de base car ils dérivent d'une origine biosynthétique commune. Le cycle A est formé à partir de trois molécules de malonyl-coenzyme A (malonyl-CoA), issues du métabolisme du glucose. Les cycles B et C proviennent eux aussi du métabolisme du glucose mais par la voie du shikimate via la phénylalanine qui est convertie en *p*-coumarate puis en *p*-coumaroyl-CoA Figure II-2-6 .

Le *p*-coumaroyl-CoA et les 3 malonyls-CoA se condensent en une seule étape enzymatique pour former une chalcone, la 4,2',4',6'-tétrahydroxychalcone (réaction catalysée par la chalcone synthétase). Le cycle C se forme par cyclisation de la chalcone, réaction catalysée par la chalcone isomérase qui induit une fermeture stéréospécifique du cycle conduisant à une seule 2(*S*)-flavanone :

la naringénine. Ce cycle s'hydrate ensuite pour former les différentes classes de flavonoïdes [34].

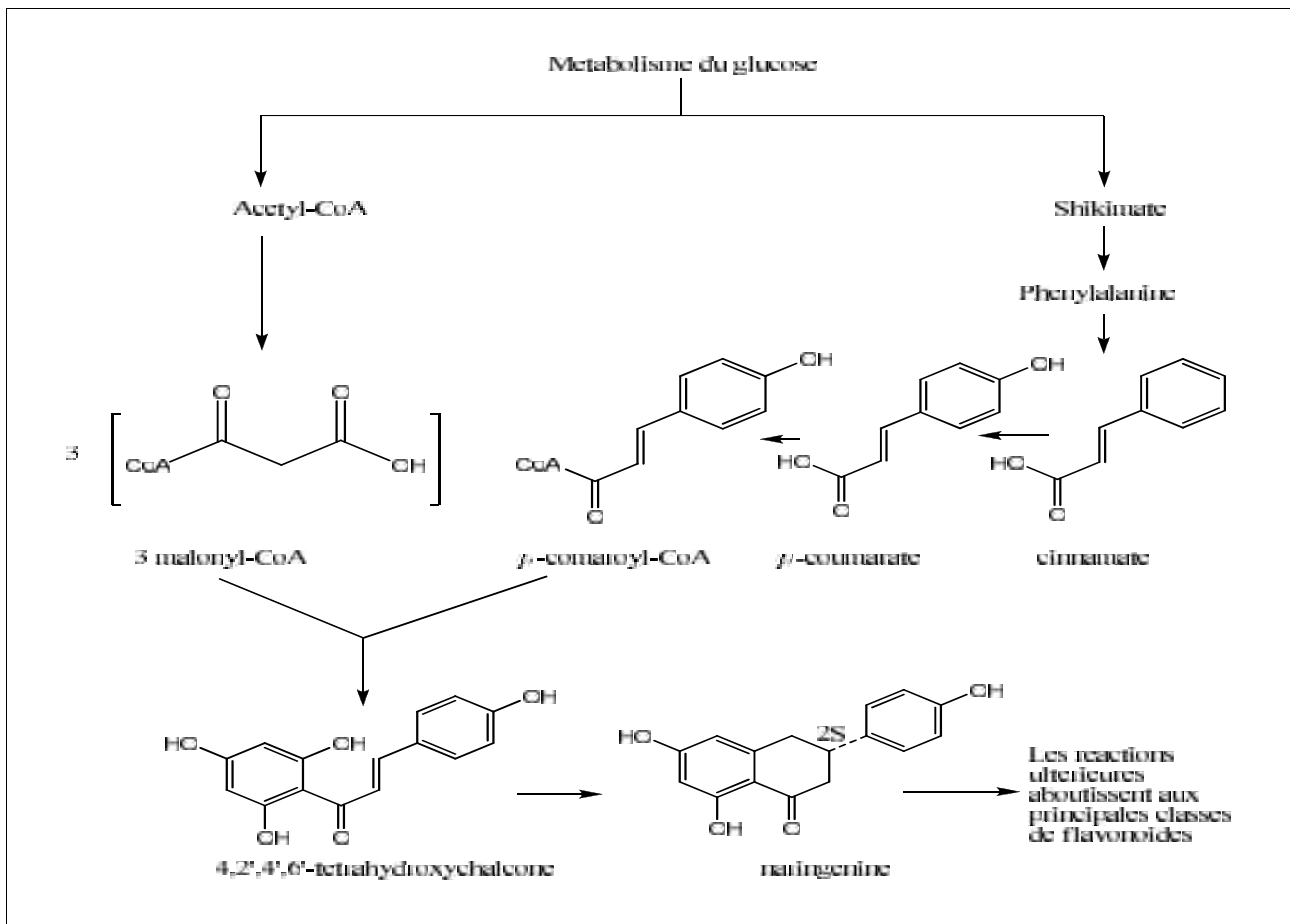


Figure II-3-6 : Schéma de la biosynthèse des flavonoïdes illustrant les voies de l'acétyle CoA et de la phénylalanine d'après Heller et Forkmann [34].

II-2-1-3 -9- Activités pharmacologiques des flavonoïdes :

II-2-1-3 9-A Activités anti-inflammatoires :

Plusieurs études ont attribué aux flavonoïdes d'importantes propriétés anti-inflammatoires [35,36] ont révélé qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire [37]. Les flavonoïdes sont des puissants inhibiteurs de la prolifération des lymphocytes B et T [38,39] avec un effet variable. En effet, les flavones (apigénine, lutéoline et 7,3',4'-hydroxyflavone) et les flavonols (kaempférol, quercétine et myricétine) inhibent la prolifération des lymphocytes T alors que seule la myricétine est active sur les lymphocytes B. On n'en connaît pas encore l'explication. Cependant, l'effet anti-prolifératif des flavonoïdes trouveraient son explication dans le pouvoir qu'ils ont à inhiber l'activité de certaines protéines kinases (protéine Kinase C ou protéine tyrosine kinase). [38,39] D'autre part, les flavonoïdes sont capables de diminuer la libération d'histamine des basophiles et des mastocytes [40]

II-2-1-3 -9-B Activités antivirales et antibactériennes :

Un travail rapporté par Vrijsen et al [41] a mis en évidence que les flavonoïdes sont susceptibles d'agir sur la synthèse des protéines virales. Cette action, à raison d'une administration journalière de 3-O-méthylquercétine à hauteur de 20 mg/kg pendant 9 jours, serait responsable de la protection des souris vis-à-vis d'une infection virale. Mucsi et al [42]. Aussi rapporté une action inhibitrice de certains flavonoïdes sur divers virus de l'herpès.

De nombreux agents sont susceptibles d'inhiber la réplication du rétrovirus du SIDA par une inhibition de la reverse transcriptase. Toutefois, ils peuvent être toxiques pour l'organisme. Les flavonoïdes se sont montrés de bons inhibiteurs de cette enzyme [43, 44] avec une toxicité moindre.

Les flavonoïdes ont des effets antibactériens certains puisqu'ils sont des puissants inhibiteurs *in vitro* de l'ADN gyrase. [45] Une étude en ce sens menée par Sato et al [46], a montré l'effet bactéricide de différentes flavanones extraites de *Sophora exigua* sur un *staphylococcus aureus*.

II-2-1-3- 9-C Activités anti-carcinogènes

Verma et al [47] ont démontré que la quercétine est susceptible d'abaisser chez le rat, l'incidence des tumeurs mammaires induites par le DMBA (7,12diméthylbenz(a)anthracène)

II-2-1-3-9-D Activités antioxydantes :

Un grand nombre de travaux ont été réalisés et continuent à porter sur l'intérêt métabolique des antioxydants alimentaires. Parmi ces antioxydants, de nombreuses études ont révélées l'importance et le rôle prépondérant des polyphénols.[48] Les flavonoïdes sont capables de réagir avec la plupart des espèces oxygénées. [49,50]. Un travail récent rapporté par Hertog et al.[51] a montré que la présence de flavonoïdes en quantité importante dans l'alimentation diminue de 68 % les risques cardiovasculaires en comparaison avec une alimentation n'en contenant qu'une quantité moindre. Les composés les plus antioxydants cités sont : l'épigallocatechine gallate, la catéchine, la quercétine, la lutéoline, la myricétine et l'apigénine ainsi que des acides phénoliques tels que les acides caféique et chlorogénique.

II-2-1-3- 10 Méthodes de purification et de séparation:

La séparation des différents flavonoïdes est basée sur les techniques chromatographiques habituelles (sur polymamide, sur cellulose, sur gel de Sephadex). Le travail du phytochimiste consiste en l'obtention de chaque produit pur et seul, il pour cela utiliser des méthodes successives de chromatographie. Cette technique de séparation découverte en 1903 par un botaniste russe est de plusieurs types. Les plus couramment utilisées dans la séparation des flavonoïdes sont :

A- La chromatographie d'adsorption sur colonne (CC) :

Elle est basée sur l'utilisation d'une phase stationnaire, comme le gel de silice, la cellulose ou le polyamide, et une phase mobile constituée par divers systèmes de solvants comme éluant. Elle est utilisable surtout pour la séparation des quantités importantes de mélanges complexes [52]. Elle présente cependant plusieurs inconvénients :

- De grandes quantités de solvant sont nécessaires à l'élution
- La durée de l'élution est généralement très grande

B- La chromatographie sur papier (CP) :

Basée sur l'utilisation d'une surface plane de cellulose considérée comme support maintenant par imprégnation, une phase stationnaire liquide. Cette méthode peut être utilisée directement sur l'extrait brut dans le cas où sa composition n'est pas assez riche. Dans le cas contraire, elle est en générale utilisée sur les fractions issues de la colonne, les systèmes de solvants les plus utilisés dans cette technique sont :

- L'acide acétique 15 et 30% (système aqueux).
- Le n-butanol / acide acétique / eau : (BAW) : 4 / 1 / 5 (phase organique) .

Cette technique pratiquée aussi bien à une dimension qu'à deux systèmes de solvants différents est très recommandée dans la séparation des composés hétérosidiques. Le support généralement utilisé est le papier Wattman de différentes épaisseurs.

C- La chromatographie sur couche mince (CCM) :

Depuis le début de 1960, la CCM a été utilisée pour l'analyse des flavonoïdes [53] ; c'est une méthode simple et rapide pour la séparation de ces composés, elle repose principalement sur des phénomènes d'adsorption ; la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants qui progresse le long d'une phase stationnaire (gel de silice, polyamide, cellulose...etc) fixée sur une plaque de verre (20x20 cm) ou sur feuille semi rigide de matière plastique ou d'aluminium. Ainsi la purification, en utilisant les diverses phases stationnaires et les systèmes de solvants appropriés. La purification ultime des composés phénoliques isolés se fait généralement sur une colonne de Sephadex LH20 en utilisant le méthanol comme éluant et suivie par lumière UV (366 nm).

II-2-1-3-11 Les méthodes d'analyse des flavonoïdes :

Les différents types de technique d'analyse jouent un rôle très important pour l'identification structurale des flavonoïdes. Les techniques les plus couramment utilisées sont :

A. Fluorescence sous lumière UV (lumière de Wood :) :

La fluorescence du produit soumis à lumière UV (365 nm) joue un rôle très important pour l'identification structurale c'est l'étape primaire de l'analyse.>

Chaque classe de flavonoïdes est caractérisée par une ou deux couleurs qui donnent une idée sur la structure. Le tableau 11-4-3 résumé cette relation structure chimique et fluorescence.

Tableau 11-3-3 : Relation entre la fluorescence et la structure chimique flavonique.

La fluorescence	Les structures possibles
Violette noire	Flavones avec 5, 6,7 ou 5,7, 8 trihydroxy flavone Flavonol avec 3-OR. Chalcones.
Blue	Flavone ou flavonol sans OH en 5. Flavanone avec OH en 3 ou flavanol. Flavonol avec 3-OH et sans 5-OH.
Jaune ou jaune terne	Flavonol avec 3-OH, et avec ou sans 5-OH
Orange fluorescente	Isoflavones
Jaune-verte	Aurone
Bleue-verte	Flavanone sans 5-OH

- **Facteur de retardement et comportement chromatographique :**

Le facteur de retardement (**Rf**) est défini comme étant le rapport de la distance entre la tache du produit et l'origine d'une part, et la distance entre l'origine et le front de solvant [54].

$$R_f = \frac{\text{Distance parcourue par le composé}}{\text{Distance parcourue par le front de solvant}}$$

d'autre part, La valeur du **Rf** varie avec la nature du solvant utilisé (organique ou aqueuse), le type de la phase stationnaire, et la structure de flavonoïde lui-même (aglycone, glycosylé, différence de disposition des substituants sur le squelette flavonique) [55 ,56]. Le tableau suivant montre l'influence de la substitution du squelette flavonique sur la valeur du **Rf**.

Tableau II-3-4 : Relation entre le **Rf** et la structure flavonique :

<i>Structure flavonique</i>	<i>R_f</i>
Augmentation des groupes hydroxyles	Rf diminue dans les systèmes de solvants organiques et augmente dans les systèmes de solvants aqueux.
Méthylation des hydroxyles	Rf augmente dans les systèmes de solvants organiques et diminue dans les systèmes de solvants aqueux.
Glycosylation	Rf diminue dans les systèmes de solvants organiques et augmente dans les systèmes de solvants aqueux.

B. La spectrophotométrie UV-visible :

C'est la méthode la plus importante pour l'identification des structures flavoniques. Elle est basée sur l'enregistrement d'un spectre dans le méthanol, ce dernier est caractérisé par deux bandes d'absorption principales [57] :

* **La bande I** : présentant un maximum d'absorption entre 300 et 385 nm, elle est attribuée à l'absorption du système cinnamoylé qui résulte de la conjugaison du groupement carbonyle avec la double liaison C2-C3, et le noyau B, elle donne donc, des renseignements sur les variations structurales du cycle B et l'hétérocycle C.

* **La bande II** : présentant un maximum d'absorption entre 240 et 280 nm, elle est attribuée à l'absorption du système benzoylé qui dérive de la conjugaison du groupement carbonyle avec le noyau A, et donne des informations sur les variations structurales du cycle A [58] :

Tableau II-3-5 Relation entre le maximum d'absorption en UV et le type de flavonoïdes

Type de flavonoïdes	Bande I (nm)	Bande II (nm)
Flavone	310 - 350	250 - 280
Flavonol(3-OH substitué)	330 - 360	250 - 280
Flavonol (3-OH libre)	350 - 385	250 - 280
Isoflavone Isoflavone (5-deoxy-6,7-dioxygéné)	310 - 330 épaulement pic à 320	245 - 275
Flavone et dihydroflavonol	300 - 330 épaulement	275 - 295
Chalcone Aurone	340 - 490 380 - 430	230 - 270 intensité faible
Anthocyane et anthocyanidine	465 - 560	270 - 280

Le maximum d'absorption des deux bandes dépend du nombre et de la position des groupements hydroxyles, méthoxyles ou glycosylés sur le squelette flavonique. L'augmentation du nombre de groupements hydroxyles fait déplacer le maximum d'absorption vers des longueurs d'onde plus élevées, par contre la substitution des groupements hydroxyles par des groupements méthoxyles ou glycosylés fait déplacer ce maximum vers des longueurs d'onde plus faibles [59].

Le spectre méthanolique d'un composé flavonique sera modifié par addition d'un certain nombre de réactifs tel que : NaOH, NaOAc, AlCl₃, H₃BO₃ et HCl. Ces derniers réagissent avec les groupements hydroxyles par formation des complexes qui se traduira sur spectre UV par des déplacements bathochromiques ou hypsochromiques des bandes d'absorption, permettant la localisation des hydroxyles libres, sur le squelette flavonique.

Le tableau II-3-6 résume les informations structurales qui peuvent être obtenues en utilisant les différents réactifs de déplacement, dans le cas des flavonols et des flavones.

Tableau II-3-6 : Informations structurales provenant des déplacements induits par les Réactifs

<i>Les réactifs</i>	<i>Les déplacements (nm)</i>		<i>Interprétation</i>
	<i>Bande I</i>	<i>Bande II</i>	
<i>MeOH</i>	304-350 328-357	250-280 250-280	Flavones Flavonols 3-OR
<i>NaOMe (NaOH)</i>	- Stable +45 à +65 1- L'intensité ne diminue pas/ MeOH.		4'-OH
	2- L'intensité diminue/ MeOH. - L'intensité diminue avec le temps, décomposition.		4'-OR ; 3-OH 3,4'-OH ; Ortho di-OH sur A (6,7) ou (7,8).
	Nouvelle bande par rapport au spectre MeOH entre [320-335]		7-OH
<i>NaOAc/ MeOH</i>		+5 à +20 déplacement diminue en présence d'un substituant en 6 ou 8 . Pas de déplacement ou très faible. Spectre qui se décompose avec le temps.	7-OH 7-OR 5, 6, 7-tri-OH ou 5, 7, 8tri-OH
<i>NaOAc+H₃BO₃/</i>	+12 à +36		Ortho di-OH sur B

<i>MeOH</i>	+05 à +10		Ortho di- OH sur A (6,7) ou (7,8).
<i>AlCl₃</i>	Une seule bande entre 420-430.		Ortho di- OH sur B avec 5-OH
<i>(AlCl₃ + HCl) / MeOH</i>	+17 à +20 +35 à +55		5-OH avec une oxygénation en 6 . 5-OH et 3-OCH₃
<i>(AlCl₃+HCl) / AlCl₃</i>	-20 à -40 avec un sommet ou épaulement entre [350-360]. -20 à -25		Ortho di- OH sur B . Ortho di- OH sur A et ortho di- OH sur B ou tri- OH sur B .

/ = par rapport à.

(-) = hypsochrome.

(+) = bathochrome.

C. La spectrométrie de masse :

Cette technique permet la détermination du poids moléculaire des aglycones ainsi que le nombre et la nature des substituants hydroxyles ou méthoxyles [60-61]. Les pics de fragmentation caractéristiques fournissent des renseignements utiles, notamment sur la substitution des noyaux A et B [62]. Parmi les techniques d'analyse en spectrométrie de masse, utilisées pour les flavonoides, on peut citer :

- **L'ionisation par impact électronique (IE)** : permet l'analyse des structures aglycones seulement.

- **Le bombardement par atomes rapides (FAB)** : cette méthode est impliquée dans le cas des flavonoides glycosylés, elle donne des informations utiles concernant la nature, la position et l'arrangement des sucres dans la molécule [60].

D. L'hydrolyse acide des hétérosides :

Cette manipulation concerne beaucoup plus les flavonoides *O*-glycosylés. Elle nous renseigne sur la position et la nature du sucre qui peut être étudié une fois détaché, d'une part, et la structure de l'aglycone d'autre part. L'identification du sucre se fait par co-chromatographie avec des échantillons authentiques. Les hétérosides *C*-glycosylés résistent à l'hydrolyse acide, cette propriété permet de différencier ce type de liaison dans les flavonoides glycosides.

E. La résonance magnétique nucléaire :

La spectroscopie de résonance magnétique nucléaire est très employée dans la détermination des structures flavoniques . Cette méthode renferme plusieurs techniques.

- **La RMN du proton:** elle informe sur l' environnement des protons flavoniques qui résonnent généralement entre 6 et 8 ppm, elle permet de connaître [63-64] :
 - La position et le nombre de divers protons portés par le flavonoïde.
 - Le nombre de substituants méthoxyles porté par le squelette flavonique.
 - Le nombre et la nature des sucres liés à l' aglycone.

- **La RMN du carbone 13:** donne des informations utiles et parfois nécessaires pour identifier la molécule telles que [64,65] :
 - Le nombre total d' atomes de carbone du composé flavonique ainsi que leur environnement.
 - La connaissance de type des liaisons -C et / ou -O sucre

III- les iridoïdes :

Les iridoïdes sont des monoterpènes caractérisés par un squelette cyclopenta[c]pyranique, ou le squelette iridane (*cis*-2-oxabicyclo [4,3,0]-nonane) [66]. Ils ont une fonction énol-éther très caractéristique qui s'ouvre facilement s'il n'y a pas de sucre lié. L'iridodial **60** en est un exemple [67].

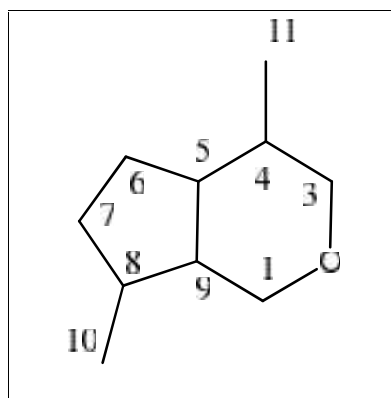
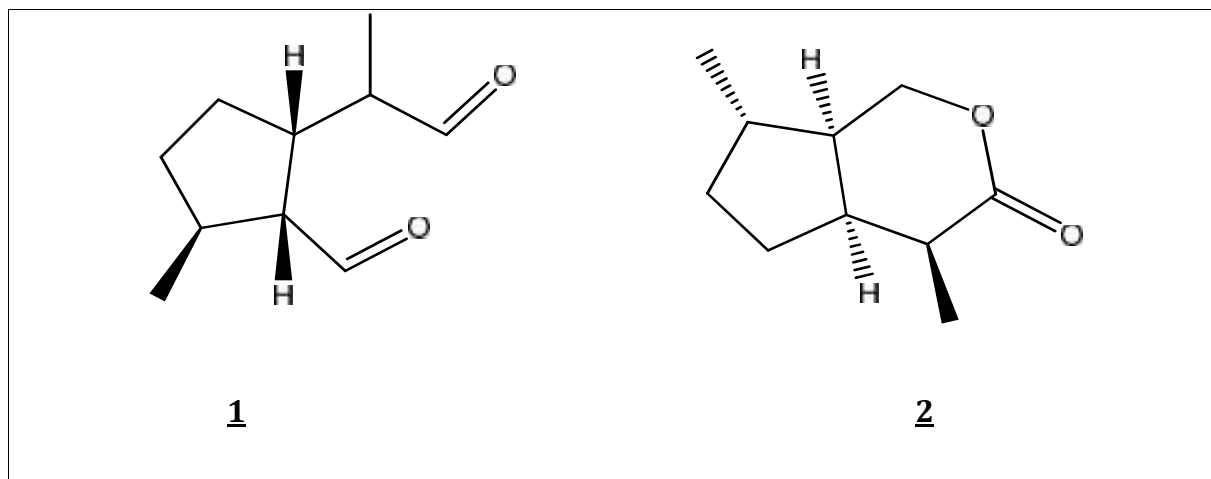
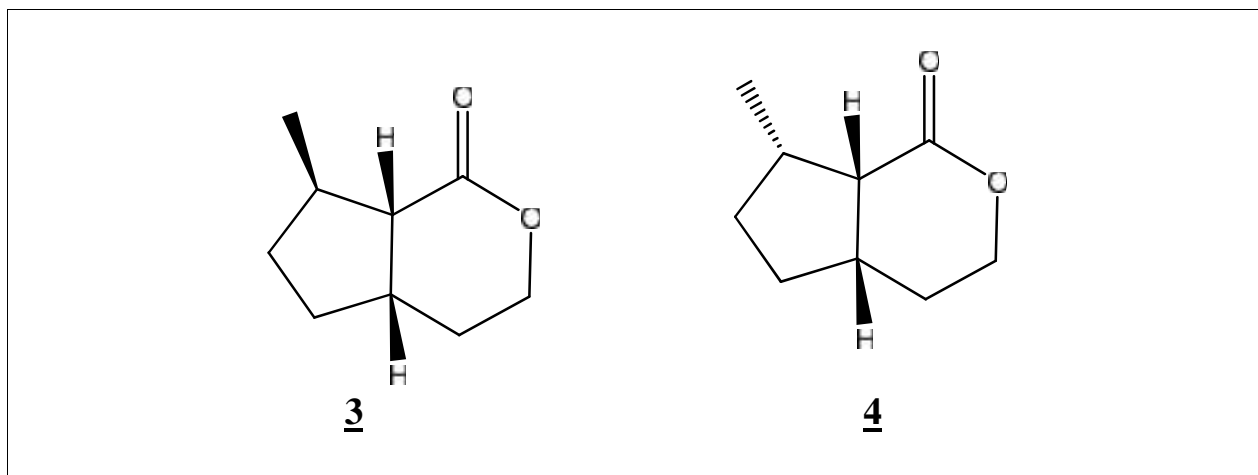


Figure III-1-1 Squelette d'iridane

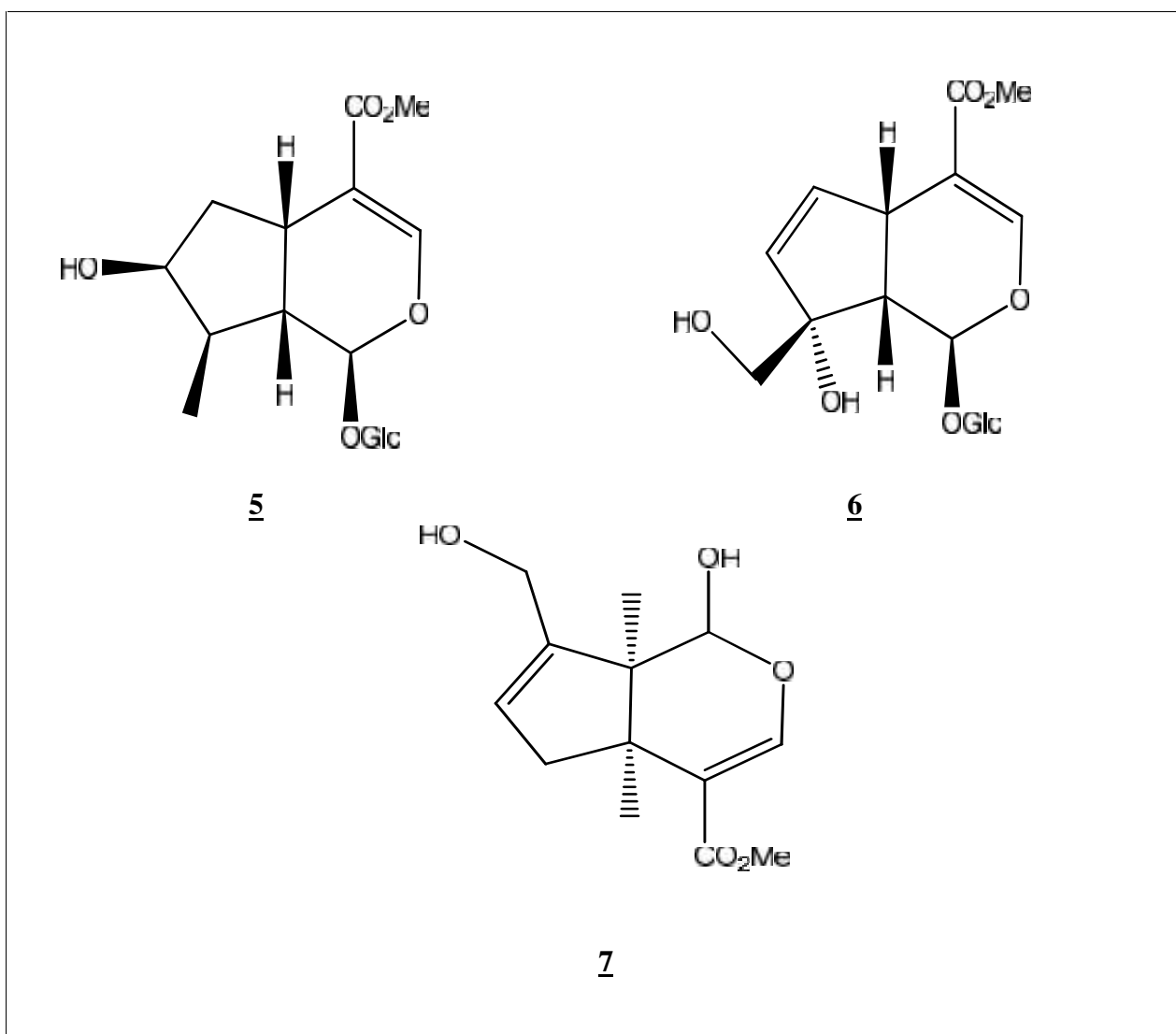
Les iridoïdes tirent leur nom de celui de fourmis du genre *Iridomirmex*, à partir desquelles furent isolés des composés impliqués dans les mécanismes de défense qui leur sont propres à ces insectes, à savoir l'iridodial **1** et l'iridomyrmécine **2** [66].



La plupart des iridoïdes naturels se caractérisent par un squelette à dix atomes de carbone. Cependant, quelques iridoïdes comme la mitsugashiwalactone **3** et l'onikulactone **4** [68].



Le carbone C-11 est habituellement inclus dans un groupe carbométhoxyle comme dans le cas du loganoside **5** ou carboxylique comme dans le cas du monotropéside **6** [66], ou carrément supplanté par un groupement hydroxyle (génépine **7**) [69]

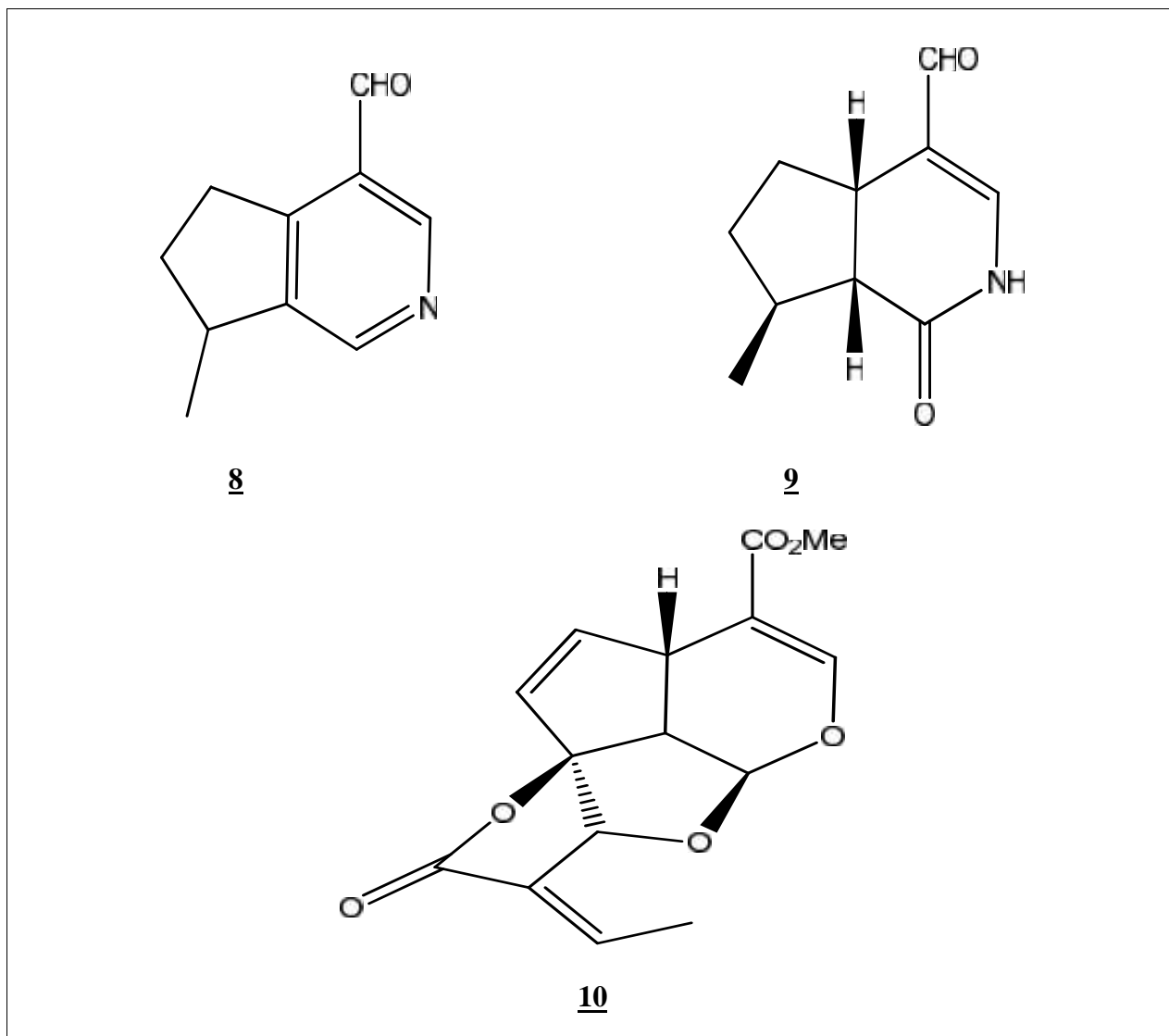


II-2 classification des iridoïdes :

Les structures des iridoïdes sont extrêmement variées c'est pour ça ils peuvent être divisés en cinq groupes :

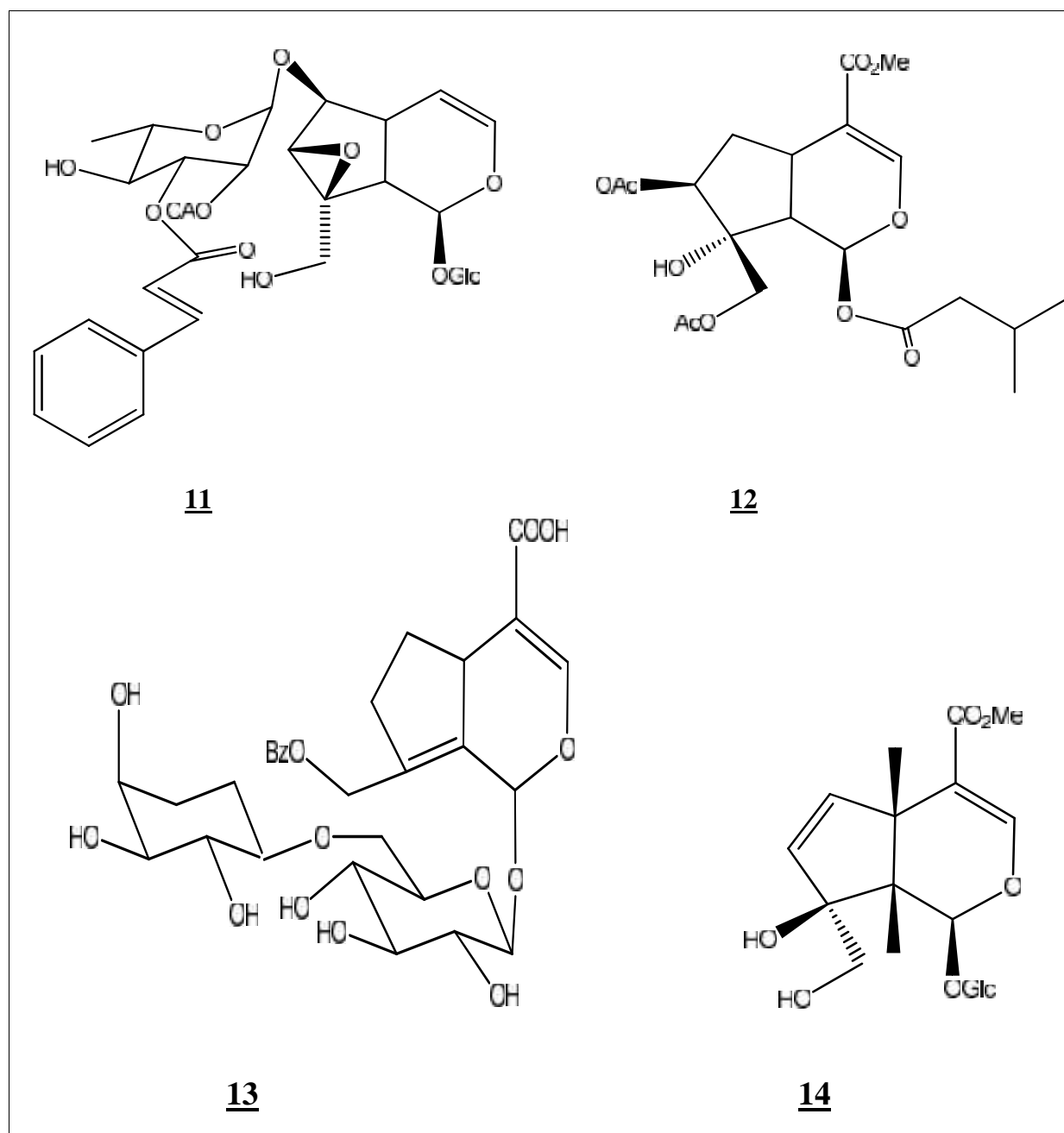
II-2-1 Iridoïdes simples (non glycosilés) :

peuvent être également alcaloïdiques (indicaine 8) [70] , polycycliques (pluméricine 9)[66] et oruwacine 10 [69,82]), esters ou éthers internes.[66]



II-2-2. Les iridoïdes glycosilés :

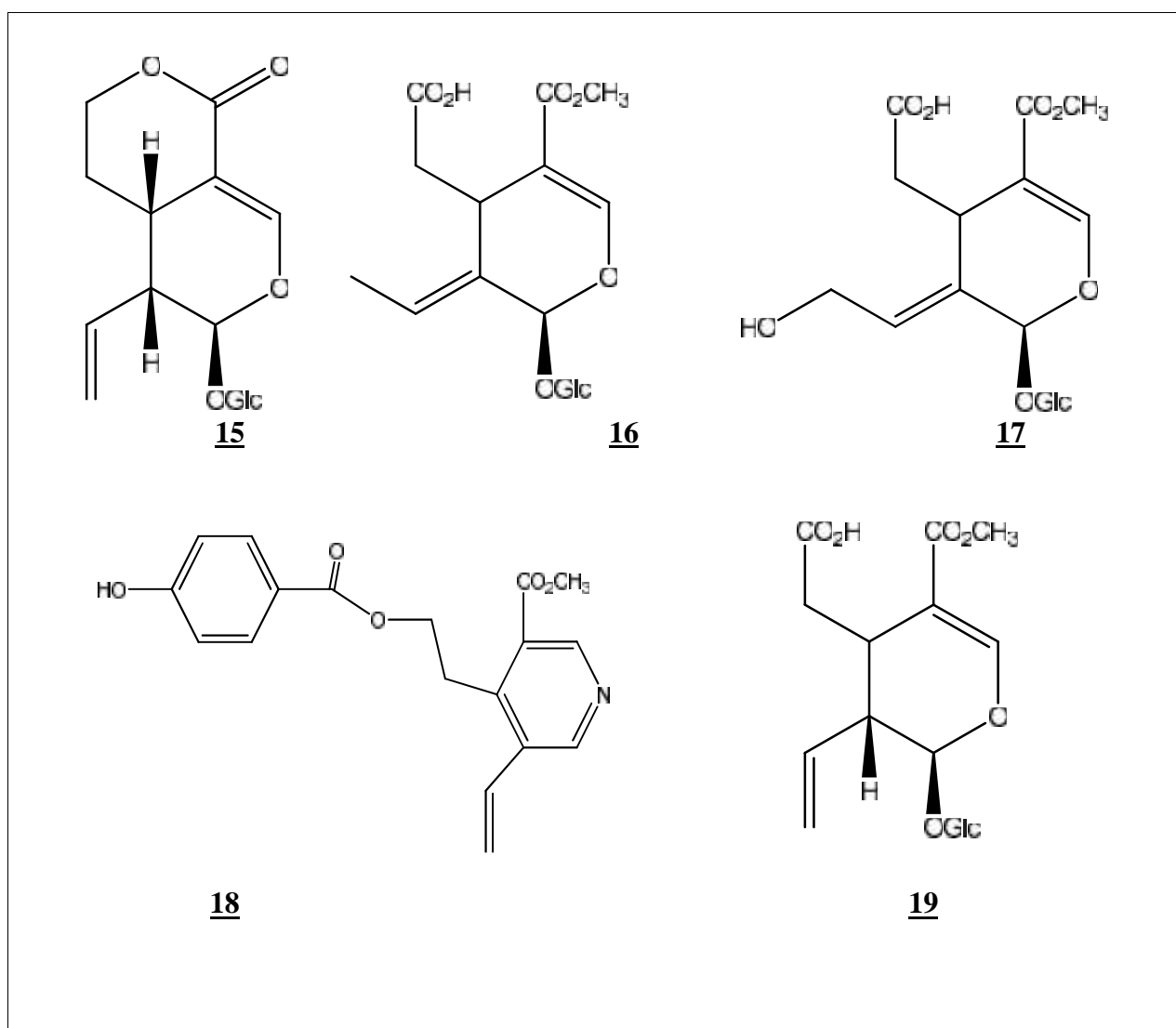
La majorité des iridoïdes sont des glucosides. La liaison hétérosidique s'établit entre l'hydroxyle porté par le carbone anomérique du D-glucose et l'hydroxyle en C-1 de la génine (gardénoside **14**) [66]. Ces iridoïdes sont les métabolites secondaires communs des Scrophulariaceae, particulièrement les iridoïdes à neuf atomes de carbone. Le sucre peut être porté par : C-6 (scrospioside B **11**) [71] et C-11 (suspensolide A **12**) [72]. Le type de sucre peut être complexé (oligosaccharide) comme la paedéroside **13** [73].



II-2-3 Les séco-iridoïdes :

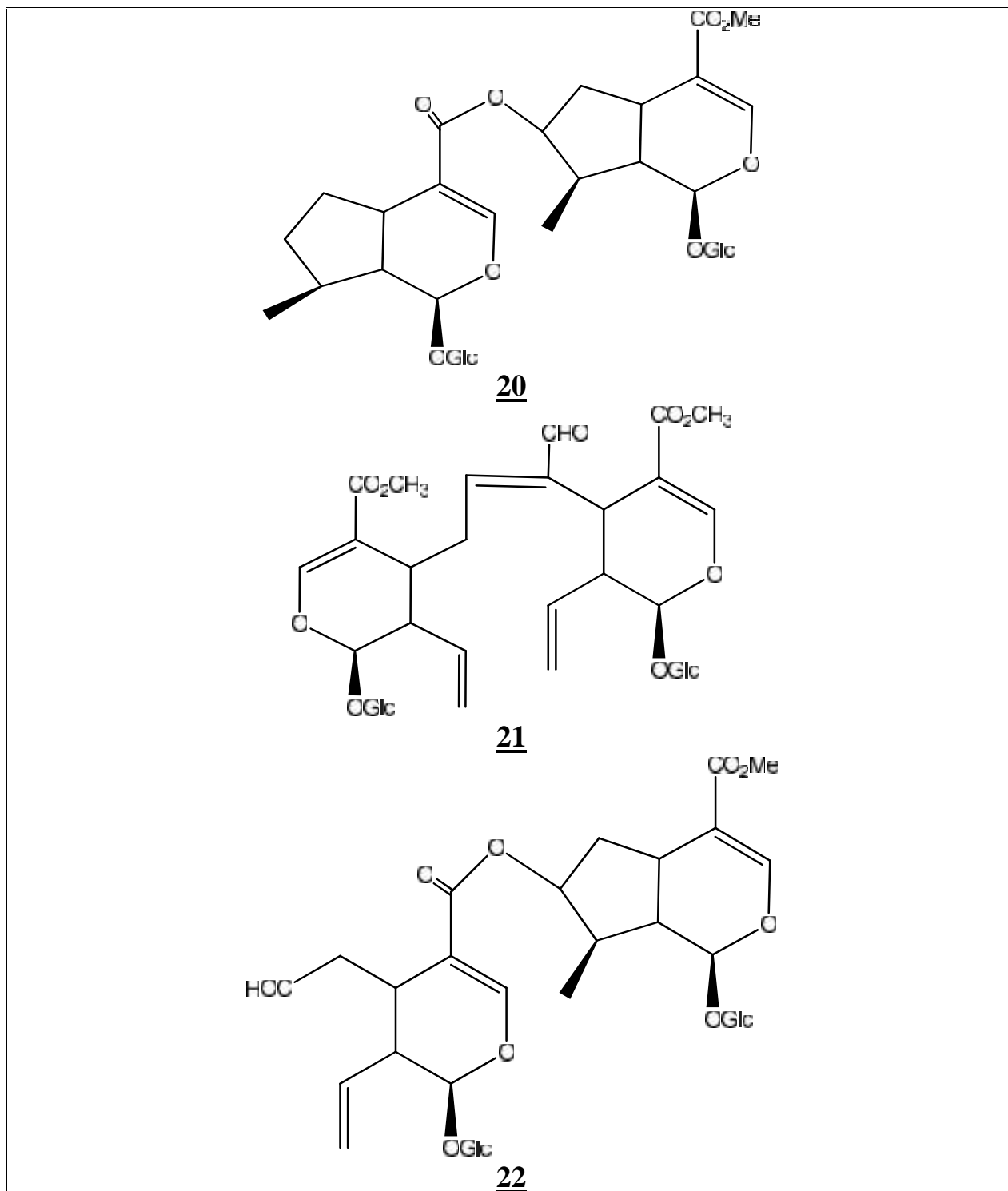
Les séco-iridoïdes dérivent des iridoïdes par ouverture du cycle cyclopentanique (rupture de la liaison C-7-C-8). Selon la nature de leur génine ; les séco-iridoïde regroupe en trois groupes :

- Celles ayant un vinyle en C-9 (sécoxyloganine **19**) [74]. La polyfonctionnalisation permet des lactonisations (sweroside **15**).
- Celles ayant un groupe éthylidène (oléoside **16** [75] ou hydroxyéthylidène en C-9 (10-OHoléoside **17**) [75].
- Celles qui sont amidifiées par une amine aromatique (fontaphilline **18**) [75]



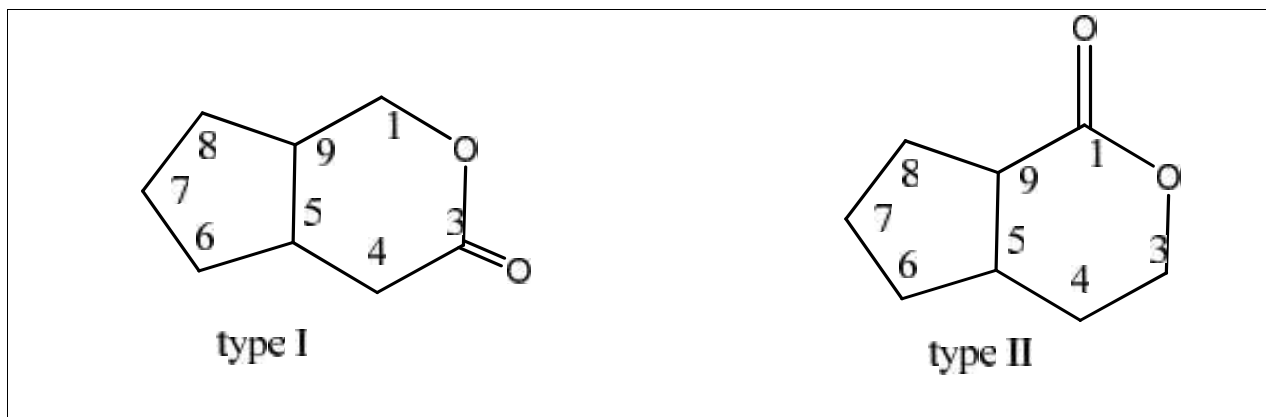
II-2-4 Les bisiridoïdes :

La forme bisiridoïde résulte de la condensation de deux iridoïdes comme picconioside **20** ,deux sécoiridoïdes comme (centaurosïde **21**) [74], ou bien un iridoïde avec sécoiridoïde comme (cantleyoside **22**) [76],



II.2.5 Iridoïdes lactones :

on distingue les iridoïdes lactones de types I et II [77], selon l'orientation régiochimique de la lactone par rapport au noyau cyclopentanique.



II.3 Activités biologiques des iridoïdes :

Les iridoïdes sont des constituants principaux de beaucoup de familles de plantes, ils couvrent un large domaine d'activités biologiques [78]. On citera les activités anti allergiques [79], antimicrobiennes [80], antitumorales [81], Immunostimulantes [62], diurétique [83], purgative [84], et cholérétique [85]. Ils sont également caractérisés par des propriétés antioxydantes [86] inhibitrices de la croissance des plantes [87]. Les esters iridoïdes peuvent être utilisés comme produits de départ pour la synthèse de substances cyclopentanoïdiques biologiquement actives comme les prostaglandines [89] et les sesquiterpènes à squelette triquinane [88].

II.4. Biosynthèse des iridoïdes :

Les iridoïdes, monoterpènes en C₁₀, dérivent du pyrophosphate de géranyl. Les éléments de base des terpenoïdes sont les unités de l'isoprène en C₅ sous forme d'isopentenyl pyrophosphate (IPP) et de diméthylallyl pyrophosphate (DMAPP) [69]. figure II-4-1

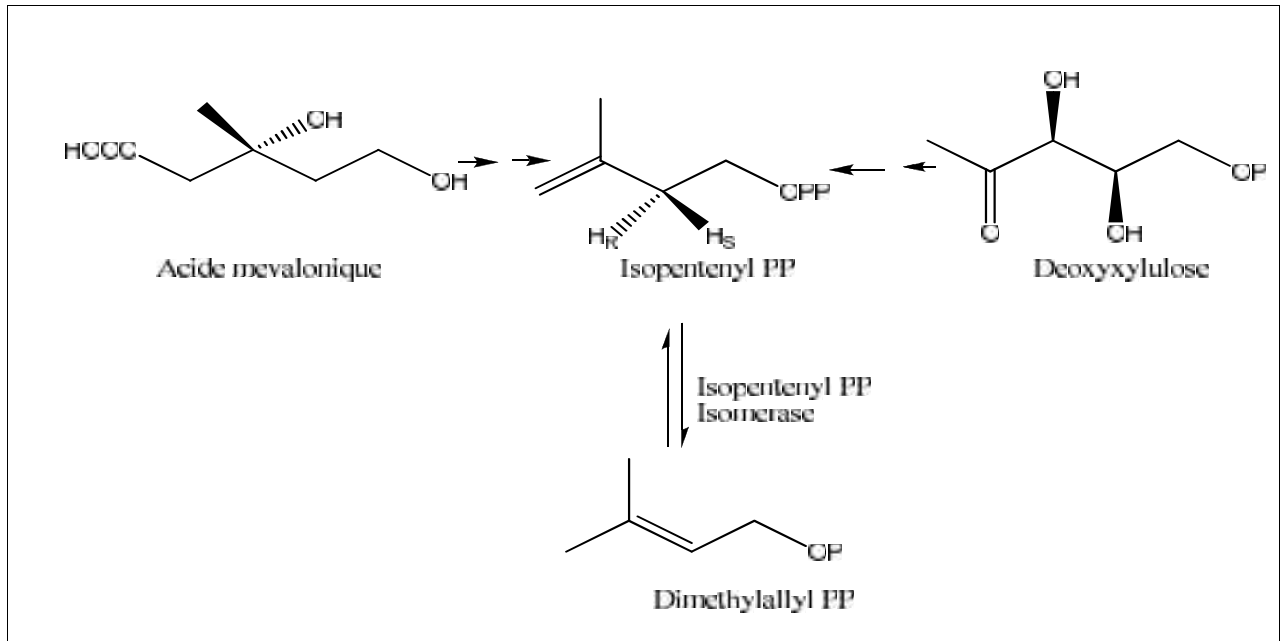


Figure II-4-1 Biosynthèse du diméthylallyl pyrophosphate DMAPP

Une catalyse par l'enzyme prényl transférase, suivie d'une addition tête à queue du DMAPP à l'IPP conduit à la formation du géranyl pyrophosphate (GPP). Cette réaction qui passe par l'ionisation du DMAPP donnant le carbocation allylique correspondant, comme il est illustrée par la figure II-4-2 ci-dessous [90].

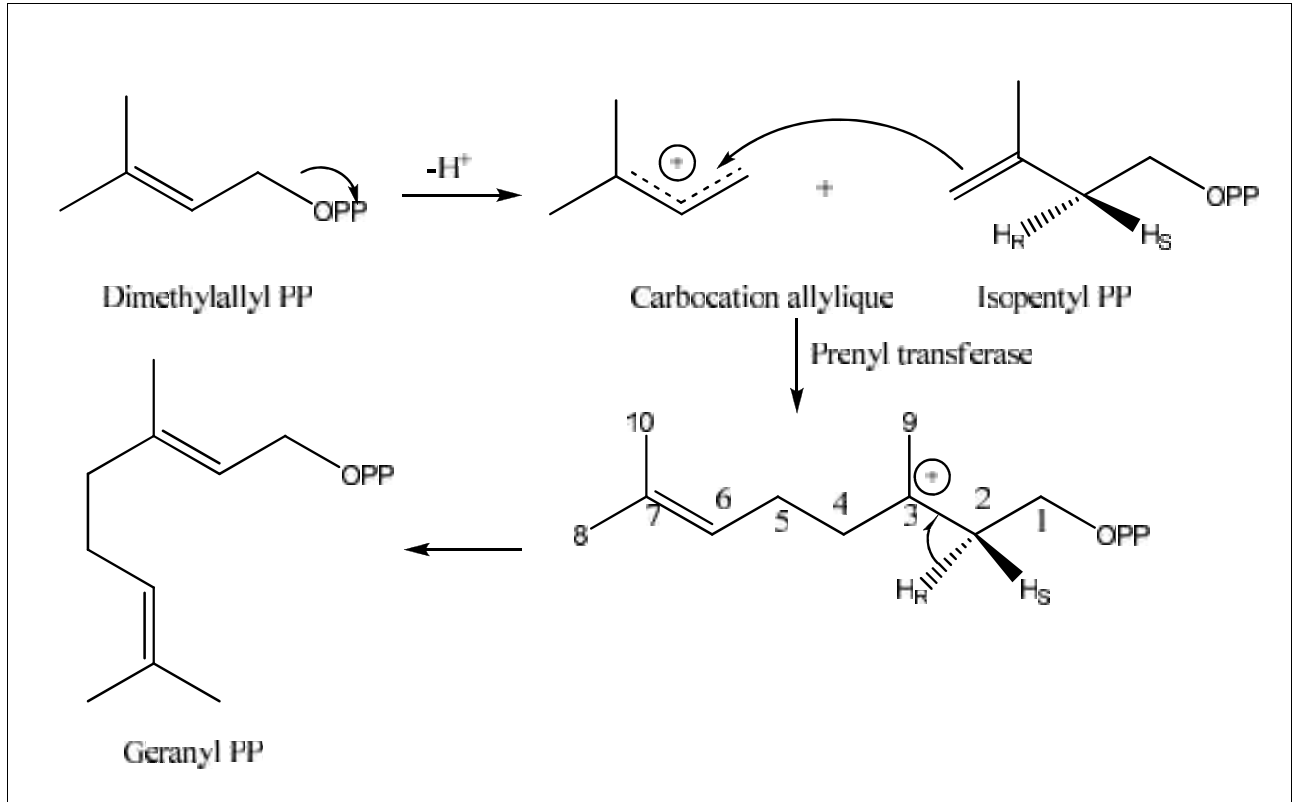


Figure II-4-2 : Formation du géranyl pyrophosphate (GPP)

La conversion de géranylpyrophosphate (GPP) en loganine passe par différentes étapes. Dans la première étape le GPP est oxydé en 10-hydroxygéraniol. L'isomérisation de ce dernier conduit au 10-hydroxynérole. Le trialdéhyde qui en dérive subit une double addition de Michael aboutissant au précurseur iridodial, lui-même subissant par la suite une cyclisation qui conduit au lactol. L'oxydation de la fonction aldéhyde et la glucosylation de ce dernier fournit l'acide 6-déoxyloganique dont l'oxydation en C-6 permet d'obtenir l'acide loganique. L'oxydation du méthyle en C-8 de ce dernier conduit à l'hydroxyloganine. Figure II-4-3

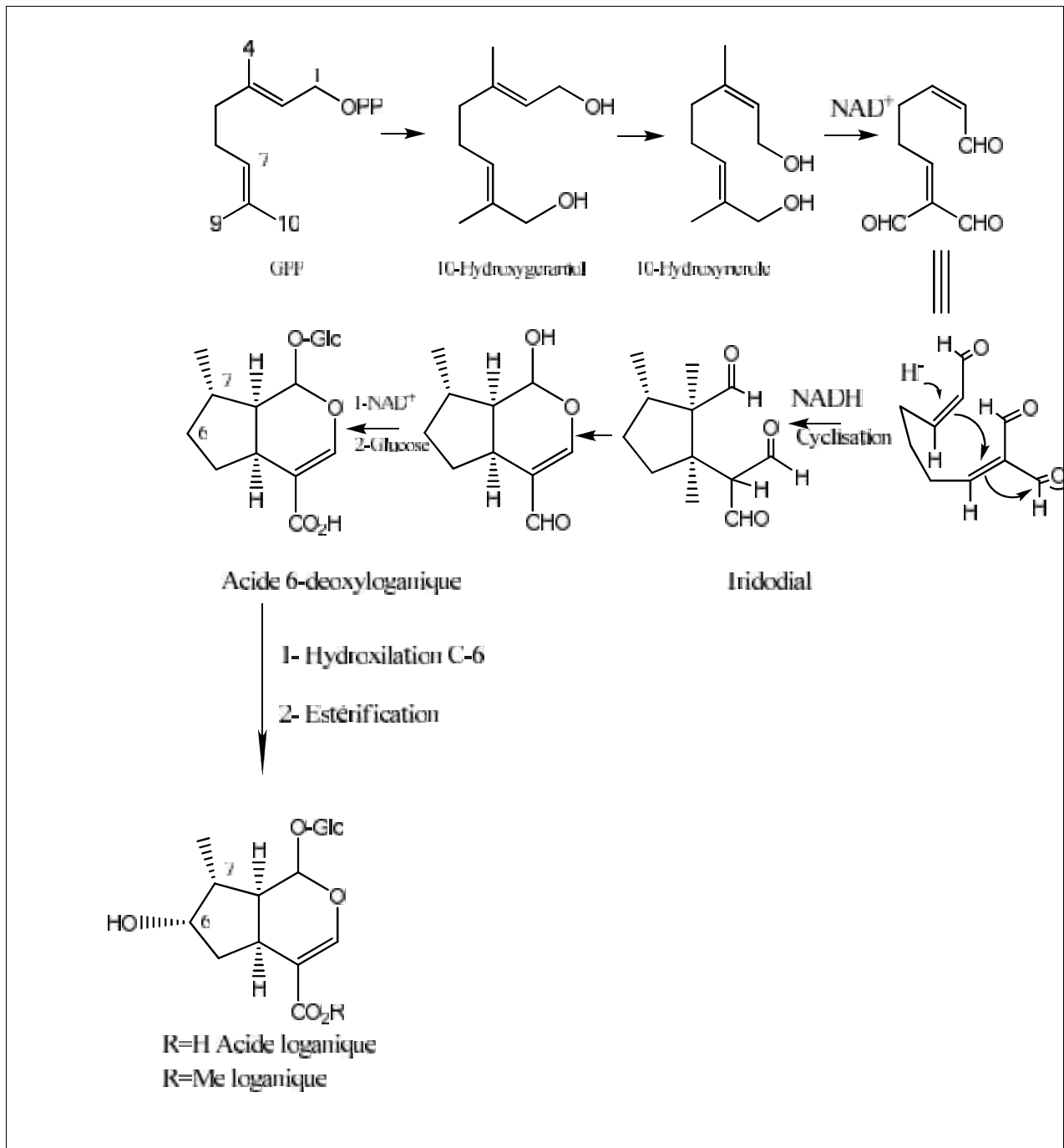


Figure II-4-3 Biosynthèse du loganine à partir du géraniol

La rupture de la liaison C7-C8 dans la loganine produit la sécologanine via une réaction de type rétro-Prins [91,92]. Figure II-4-4

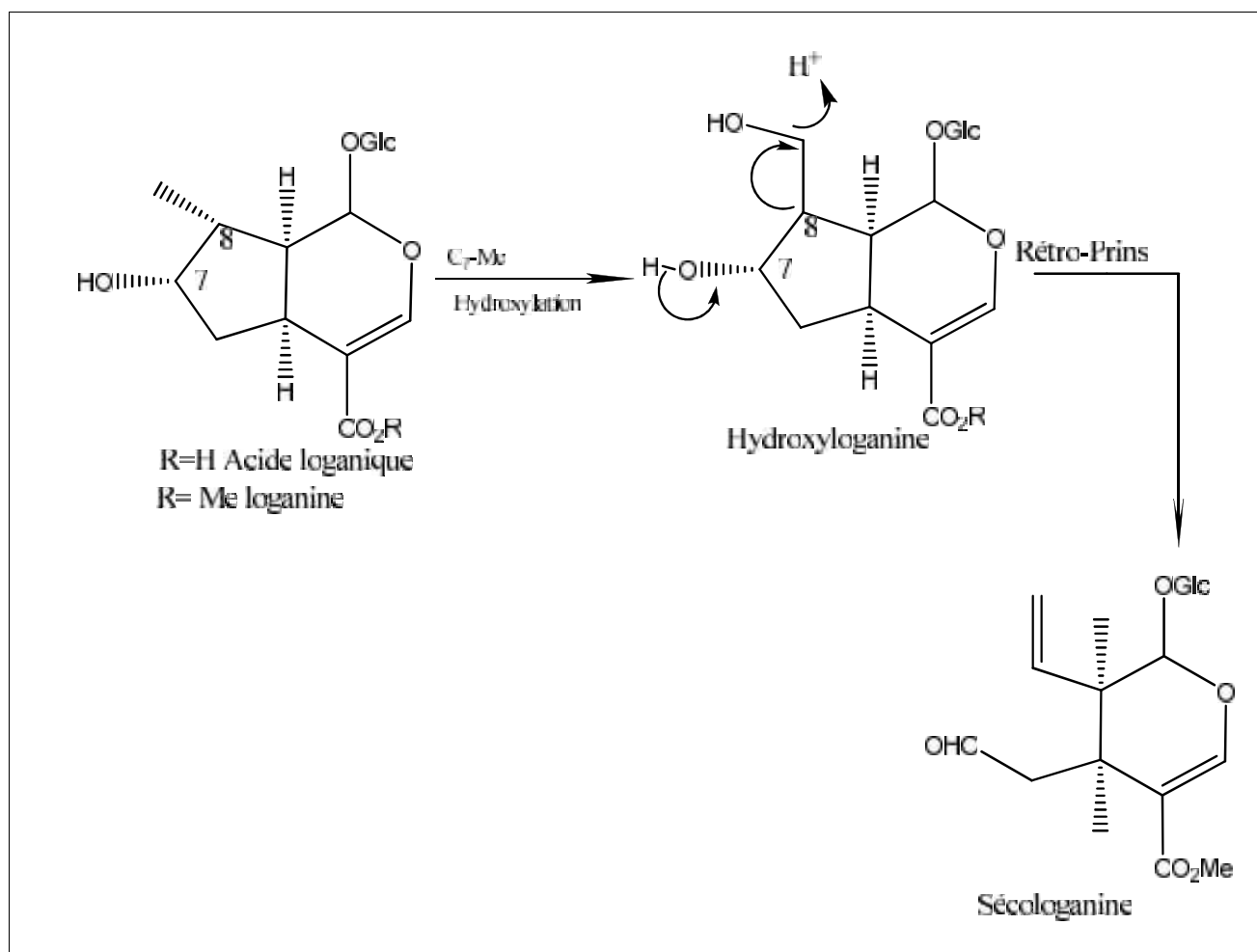


Figure II-4-4 Conversion de la loganine en sécologanine

Références bibliographiques :

- [1] Urquiaga .I, Leighton .F, Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. *Biological Research*, 33 (2) , 55-64, 2000.
- [2] Macheix. J J, Fleuriet. A, Jay–Allemand. C, Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed Presses polytechnologiques et universitaires romandes. p4-5, 2005.
- [3] Kening .Y, Vincenzo. D. L, Normand. B, Creation of a metabolic sink for tryptophan alters the phenylpropanoid pathway and the susceptability of potato *Phytophthora infestans*. *The plant cell*, 7 : 1787-1799, 1995.
- [4] Hoffmann .L, Besseau .S, Geoffroy .P, Ritzenthaler. C, Meyer .D, Lapierre. C, Pollet. B ,Legrand. M, Silencing of hydroxycinnamoyl coenzyme A shikimate / quinate hydroxycinnamoyltransferase affects phenylpropanoid biosynthesis. *Plant cell.*,16.(6):1446-1465,2004
- [5] Sarni-Manchado. P, Cheynier. V, Les polyphénols en agroalimentaire, Ed Lavoisier, p2- 10 , 2006.
- [6] Hoffmann, L. Etude du métabolisme des phénylpropanoïdes; analyse de l'interaction de la caféoylcoenzyme A 3-O-méthyltransférase(CCoAOMT) avec substrat et caractérisation fonctionnelle d'une nouvelle acyltransférase, 4- 10, 2003.
- [7] Bruneton. J, Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales, 2ème édition, Tec&Doc, Paris, 387-402 , 1993.
- [8] Hopkins. W. G, Physiologie végétale, 2ème édition, 277-278, 2003.
- [9] Liu. H, Jensen. K.G, My Tran. L,Chen. M , Zhai. L, Olsen. C. E, Shooel. H, Denmeade. S. R, Isaacs. J. T, Christensen.S. B.C , totoxic phenylpropanoids and An additional thapsigargin analogue isolated from *Thapsia garganica*. *Phytochemistry*, 67 ,2651–2658 ,2006.
- [10] Piquemal .G.,Les flavonoïdes (en ligne) : http://www.detoursante.com/index.php?Option=com_content&view=article&id=166&Itemid=215 ,2008
- [11] Malešev. D, Kuntić. V, Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions, *Journal of the Serbian chemical societ* , 72 (10) ,921-939 ,2007 .
- [12] Karaali. A, Boyacioğlu .D, Günez. G, Özçelik. B, Flavonoids in fruit and vegetables : their impact on food quality, nutrition and health–STREP or CA. technical European commission's the 6th framework programme for research. . Istanbul technical niversity, Turkey, 2004.
- [13] Dewick .P.M, Isoflavonoids, the flavonoids advances in reaserch since 1986 by Harborne, champan. London, 117-238,1993.

- [14] Brunton .j , Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales.ed (3) Tech et Doc Paris,1999
- [15] Harborne .J.B, Baxter .H, « The handbook of natural flavonoids », Vols 1 and 2. Chichester, UK, John Wiley and Sons,1999.
- [16] Narayana. K. R, Reddy .M. S, Chaluvadi. M. R, Krishna .D. R. Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic Potential, Indian journal of pharmacology., 33 ,2-16 ,2001.
- [17] W –Erdman J, Balentine. J. D, Arab .L, Beecher. G, Dwyer J. T, Folts J, Harnly, Hollman .J. P, L –Ke C, Mazza. G, Messina M., Scalbert A., Vita J., WilliamsonG. et Burrowes J. Flavonoids and heart health : Proceeding of the ILSI North America flavonoids workshop, may 31-june 1, Washington. Journal of Nutrition, 137 (3 supp1) : 718 s-737 s ,2005
- [18] Hollman. P. C. H. Evidence for health benefits of plant phenols : local or systemic effects, Journal of the science of food and agriculture., 81 : 825-842,2001.
- [19] Verhoeven .M. E, Bovy A , Collins .G, Muir S, Robinson S, De Vos C. H. R, Colliver S, Increasing antioxidant levels in tomatoes through modification of the flavonoid biosynthesis pathway. Journal of experimental botany., 53 (377) , . 209 -210,2002.
- [20] Lahouel. M, Interaction flavonoïdes-mitochondrie et rôle de la propolis dans la prévention de l'apoptose induite par certains médicaments anticancéreux, Thèse de doctorat de l'université Mentouri de Constantine ,2005.
- [21] Goto. T, Kondo .T, Angewandte Chemie 30, 17,1999.
- [22] Biggs. D. R, Lane. G. A, Phytochemistry 17, 1683,1879
- [23] Etherington J. R, Ed. Wetland Ecology, Edward Arnold Publishers, London, UK , 1983.
- [24] Maxwell C. A , Philips D. A, Plant Physiology 93 ,1552 ,1990
- [25] Barz .W, Welle R . Ed, Stafford. H. A, Flavonoid Metabolism, CRC Press, Boca Raton, 139 p, FL, USA ,1990
- [26] Martens. S ,Mithofer. A, Molecules of Interest ,Flavones and flavones. synthases. Phytochemistry 66,2399-2407, 2005.
- [27] Krombont.D, Diet and cardiovascular diseases, Journal of Nutrition, Health and Aging 5,144-149,2001.
- [28] Arts.I.C ,Hollman .P.C , Polyphenols and disease risk in epidemiologic Studies, American Journal of Clinical Nutrition 81,317-325,2005
- [29] Havsteen. B.H. The biochemistry and medical significance of the Flavonoids, Pharmacology and Therapeutics 96, 67–202, 2002
- [30] Middleton. Jr. E, Kandaswami. C, Theoharides. T.C, The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heartdiseas and cancer, Pharmacological Reviews 52, 673–751,2000

- [31] William. C.A, Grayer. R.J, Anthocyanins and other flavonoids, Natural Products Reports 21, 539–573, 2004.
- [32] Harborne J.B, Baxter .H, « The handbook of natural Vols 1 and 2 , Chichester,1999
- [33] Milcent. R, Chau. F, Chimie organique hétérocyclique , Structure fondamentales, chimie et biochimie des principaux composés naturels, EDP sciences ,2003.
- [34] Heller.W, Forkmann. G, Chapmann , Hall, 1993.
- [35] Da Silva. E. J. A, Oliveira. A. B, Lapa. A. J. J, Pharm. Pharmacol, 46, 118, 1994.
- [36] Read. M. A, Am. J, Pathol. 147, 235,1995.
- [37] Middleton. E. J. Int. J, Pharmacol , 34, 344,1996.
- [38] Mookerjee. B. K, Lee. T. P, Logue. G. P, Lippes. H. A, Middleton. E, Clin. Biolo.
- [39] Namgoong. S. Y, Son.K. H, Chang. H. W, Kang. S. S, Kim. H. P. Life Sc, 54, 313,1994
- [40] Middleton. E. J, Drzewiecki. G, Biochem. Pharmacol, 33, 3333,1984.
- [41] Vrijnsen. R. E. L, Van Hoof. L. M, Vlietinck. A. J, Vanden Berghe. D. A, Boeye. A, Antivir. Res, 7, 35,1987.
- [42] Mucsi. I, Pragai. B. M, Experientia 41, 930,1985.
- [43] Spedding. G, Ratty. A, Middleton. E. J, Antivir. Re, 12, 99 ,1989 .
- [44] (a) Ono. K, Nakane. H, Fukushima. M, Chermann. J. C, Barre-Sinoussi. F. Eur. J, Bioche. 190, 46,1990. (b) Ono, K.; Nakane, H. J. Biochem., , 108, 609,1990
- [45] Ohemeng. K. A, Schwender. C. F, Fu. K. P, Barrett. J. F. Bioorg, Med. Chem. Lett , 3, 225,1993.
- [46] Sato. M, Tsuchiya. H, Takase. I, Kureshiro. H, Tanigaki. S, Inuma. M, Phytother. Res, 9, 509;1995.
- [47] Verma. A. K, Johnson. J. A ,Gould.M. N, Tanner. M. A. Cancer Res,48, 5754,1988.
- [48] Subirade. I ,Fernandez.Y, Periquet. A, Mitjavila. S, Biol. trace elem. Res, 47,313, 1995.
- [49] Fuhrman.B, Lavy. A, Aviram. M. Am. J. Clin. Nutr, 61, 549,1995.
- [50] Erben-Russ. M, Bors. W, Saran. M, Int. J. Radiat. Biol. 52, 393,1987.
- [51] Hertog. M. G, Feskens. E. J, Hollman. P. C, Katan. M. B, Kromhout. D, Dietary, Lance, 342, 1007,1993.
- [52] Bronze. M.R, Boas. L.F.V, Analisis, Vol 26(1), 40-47,1998.
- [53] Bate-Smith. E.C , Westall, R.G.Bioch.Bioph.Acta, Vol 4, 427–440,1950.
- [54] Harborne. J.B, Chapman and Hall,V.1 Ed,1975
- [55] Ribereau-Gayon. P , Les Composé Phénoliques des Végétaux , 1968.
- [56] Ramderath. K, Chromatographie Couche Mince, 1971.

- [57] Mabry. T.J , Markham. K.R , Thomas. M.B, Springer-Verlag, Heidelberg, 254. 1970.
- [58] Markham. K.R, Academic press, 1982.
- [59] Markham. K.R, Mabry. T.J, Phytochemistry, Vol 7, 1197,1968.
- [60] Audier. H, Etude des composés flavoniques par spectrométrie de masse, 1966.
- [61] Nielsen. J.G, and Moller. J, Acta Chem, Scand, Vol 24, 2665,1970
- [62] Brandao. M.G , Krettli. A.U, Soares. L.S , Nery. C.G, Marinuzzi. H.C. J , Ethnopharmacol, Vol 57, 131–138,1997.
- [63] Combier. H, Thèse de doctorat, Université de Lyon, 1968
- [64] Aramendia .M.A , Bor'au .V, Garc'ia .I , Jim'enez .C, Lafont .F, Marinas, J.M., Porrás A, Urbano FJ. Determination of isoflavones by capillary electrophoresis/electrospray ionization mass spectrometry, J. Mass. Spectrom. Rapid Commun. Mass .Spectrom, S153, 1995.
- [65] Markham. K.R, ¹³C NMR of flavonoids-II, Flavonoids other than flavones and flavonol aglycones, Tetrahedron 32, 2607-2612, 1976.
- [66] Marco. J.L, Phytochemistry, 24 (7), 1609-1610, 1985.
- [67] Evan. W.C, Trease and Evan-Pharmacognosy 15^{eme} ed. W.B. Sanders Company Limited, 2002
- [68] Sakan. T, Murai. F, Isoe. S, BeHyeon. S, Hayashi. Y, J. Chem. Soc. Jpn., Pure Chem. Sect ,1969, 90, 507.
- [69] Naruto. M, Ohno. K, Naruse. N, Takeuchi. H, Tetrahedron Lett , 251, 1979.
- [70] Samuelsen, A. B. Journal of Ethnopharmacology, 71, 1-21, 2000
- [71] Taskova. R. M , Gotfredsen. C. H, Jensen. S. R, Phytochemistry, 66, 1440-1447, 2005
- [72] Tomassini. L, Foddai. S , Nicoletti. M , Phytochemistry, 46, 6, 901-905, 1997
- [73] Albach. D. C, Gofredsen. C. H, Jensen. S. R, Phytochemistry, 65, 2129- 2134, 2004
- [74] Song. Y, Li. S. L, Wu. M. H, Li. H. J, Li. P, Analytica Chimica Acta, 564, 211-218, 2006
- [75] Jensen. S. R, Franzyk. H, Wallander, Phytochemistry, 60, 213-231, 2002
- [76] Graikou. K, Aligiannis. N , Chinou. I. B, Harvala. C. Z , Naturforsch, 57c, 95-99, 2002
- [77] Nangia. A, Prasuna. G, Tetrahedron, 52, 3435, 1996.
- [78] Cogne. A. L, these de doctorat "Phytochemical investigation of plants used in African traditional medicine: Dioscorea sylvatica (Dioscoreaceae), Urginea altissima (Liliaceae), Jamesbrittenia fodina and Jamesbrittenia elegantissima (Scrophulariaceae)", Université de Lausanne, 2002.

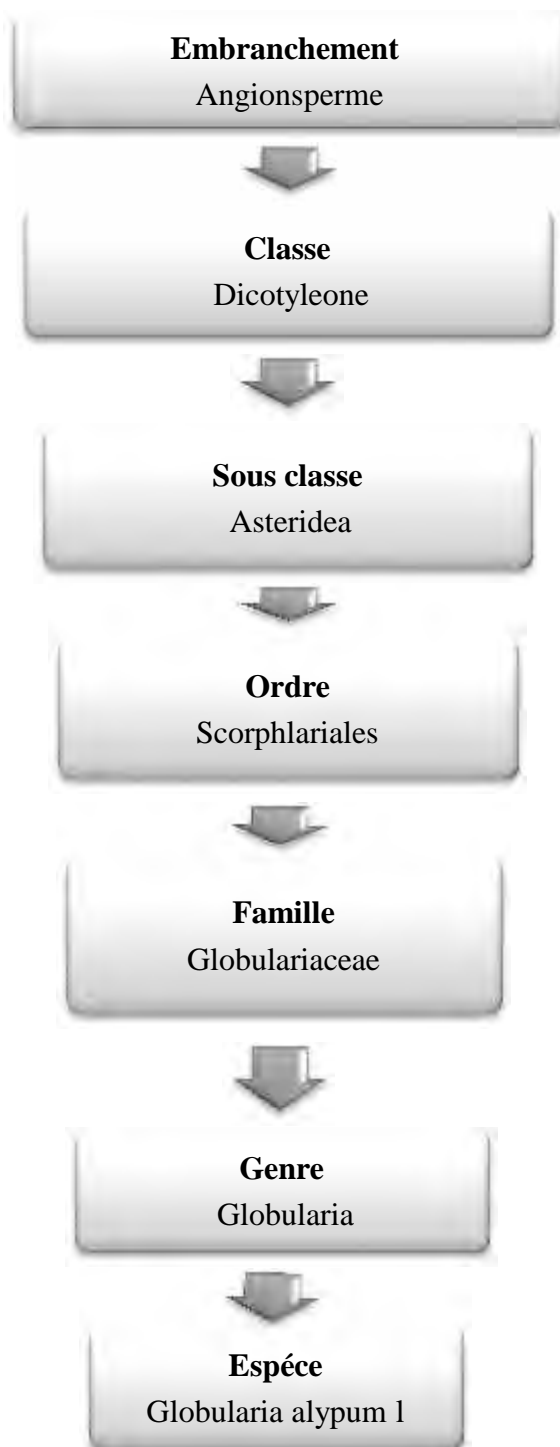
- [79] Baruah. C. C , Gupta. P. P, Nath. A , Patnaik. L. G. K, Dhawan. B. N, Pharmacological Research, 38, 6, 1998.
- [80] Mathad. V. T, Raj. K, Bhaduri. A. P, Sahai. R , Puri. A, Tripathi. L. M , Srivastava. V. M. L, Bioorganic and Medicinal Chemistry, 6, 605-611, 1998.
- [81] Zhou. X. Q , Bi. Z. M , Li. P , Tang. D, Cai. H. X, Chinese Chemical Letters, 18, 1221-1223, **2007**.
- [82] Shimano. K, Ge. Y, Sakaguchi. K, Isoe. S , Tetrahedron Lett , 37, 2253,1996.
- [83] Suzuki. Y, Haj me.,F, Ikko. Y, Folia pharmacol Japan, 64, 93,1969.
- [84] Inoue. H , Takeda. K, Uobe. K, Yamauchi. K, Yabuuchi. N , Kuwano. S, Planta . Med, 25, 285,1984.
- [85] Takeda. S, Yuasa. K, Endo. T, Aburada. M . J, Pharmacobio-Dya, 3, 485,1980.
- [86] Toda. S, Miyase. T, Arichi. H, Tanizawa. H, Takino. Y, Chem. Pharm. Bull, 33, 1270,1985.
- [87] Cameron. D.W , Feutnill. G.J, Perlmutter. P, Sasse. J.M , Phytochemistry, 23, 533,1984.
- [88] Weinges. K ,Iatridou. H, Stammler. H.G, Weiss. J, Angew Chem Int Ed Engl, 28, 447,1989 .
- [89] Bonini. C, Iavarone. C; Trogolo. C, DiFabio. R.J, Org. Chem, 50, 958,1985.
- [90] Dewick. P. M , Medicinal Natural Products, A Biosynthetic Approach, 2nd Ed, John Wiley and Sons ,2002.
- [91] Hanson. J.R, in Biosynthesis, Specialist Periodical Report, Vol. 1, Chemical Society,London, Chapitre 2, 1972.
- [92] Manitto. P, Biosynthesis of Natural Products , John Wiley, New York, Chapitre 5, 1981

Chapitre III

***Etude phytochimique de
l'espèce***

Le nom *Globularia* fait référence à la forme globuleuse de l'inflorescence et le terme *alypum* vient du grec *alypon* qui signifie calmer la douleur. *Globularia alypum* appelée communément Tasselgha [1]; «Chebra », « Zerga »[2]. Au Maroc elle est appelée Ein larneb [3].

III-1-Place dans la systématique :



III-2- Description botanique :

Arbuste rameux d'environ 60 cm de hauteur. Feuilles coriacés, glauques, de forme ovale, se terminant en une petite pointe. Fleurs réunies en capitules denses à bractées ciliées, atteignant près de 2 cm de diamètre et disposées le long et au sommet des tiges. Calice velu à 5 dents aiguës. Corolle bleue, bilabée, ayant la lèvre supérieure très courte et l'inférieure, à 3 dents ; 4 étamines, à anthères d'un bleu violacé. 1 style. Fruits akéniens figure III-1 [1].

III-3- Distribution géographique :

Cette plante originaire de sud de l'Europe sur le pourtour méditerranéen jusqu'en Grèce, Afrique du nord (Algérie, Maroc jusqu'au Sahara) et Asie mineure (Egypte, Arabie) en forêts, dans les terrains rocaillieux [1].



Figure III-1 : *Globularia alypum L.*

III-4-Utilisation médicinale du globularia alypum

Dans toute la région méditerranéenne, la globularia alypum est connue pour ses utilisations dans le système indigène de la médecine pour sa variété de fins [13].

Ses feuilles sont traditionnellement utilisées comme des agents : laxatif, hypoglycémique., Cholagogue., Stomachique, purgatif et sudorifique [14]. Elle réduisant l'histamine et la sérotonine in vitro[17]. Globularia L est également utilisée pour le traitement des maladies cardiovasculaires et rénales comme l'a démontré un sondage récent qui montre qu'elle est l'une des plantes les plus adoptées à des fins médicales en Algérie [15].

La perfusion de G alypum ne présente aucun effet toxique. Ainsi, elle peut causer une hypoglycémie significative chez les rats par voie orale et intra péritonéale [16].

III-5-Etude chimique antérieure :

Globularia alypum L. est chimiquement riche en composés phénoliques, les études réalisées sur cette plante sont résumées dans le tableau III-1.

Tableau III-1 : Etudes antérieures sur l'espèce *Globularia alypum*.

<i>Chercheurs(année)</i>	<i>Parties étudiées</i>	<i>Les produits isolés de la plante</i>	<i>Réf</i>
<i>Sanchez (1933) Espagne</i>	/	- acide cinnamique -acide pyrocatechuique	[4]
<i>Bernard, P. (1974) France</i>	Feuilles	-globularine -catalpol -rutine -luteoline 7-glucoside _acide chlorogenique -acide cinnamique -acide caffeique -acide ferulique -acide p-coumarique	[5]
<i>Chaudhuri R.K.(1979 et 1981) Suisse</i>	Plante entière	-globularimine globularine -globularinine -catalpol -globularidine liriiodendrine -globularicisine - syringine	[6,7]

<i>Benhassine B.(1982)</i> <i>Tunisie</i>	Plante entière	4',7-dihydroxyflavone apigenine-7-glucoside quercetol luteoline-7-glucoside 8-C-glucosyl-4',7-dihydroxyflavone rutoside cyanidine peonidine acide vanillique acide syringique acide caffeique acide sinapique acide p-coumarique acide ferulique acide b-resorcylique	[8,9]
<i>Louis S.(1999)</i> <i>France</i>	Feuilles	globularine	[10]
<i>N.essafi (2005)</i> <i>Marroc</i>		6-hydroxyluteolin 7-O-laminaribioside eriodictyol 7-O-sophoroside 6'-O-coumaroyl-1'-O-[2-(3,4-dihydroxyphenyl) ethyl]-β-D-glucopyranoside acteoside isoacteoside forsythiaside 6-hydroxyluteolin 7-O- -D-glucopyranoside luteolin 7-O-sophoroside syringin	[18,19]
<i>N.essafi (2006)</i>		Globularin Globularicisin Globularidin Golbularinin Globularimin Globularioside	[12,19]
<i>A. Boutiti (2008)</i> <i>Algerie</i>	Plante entière	Apigenin Luteolin acide p-coumarique acide coumarique	[11]

III-6- Matière végétale et extraction

La plante a été cueillie en mars 2004 près de AIN BAYDHA , elle a été identifiée par le professeur BENAYACHE. Un échantillon a été déposé dans le laboratoire **VAREN**. Le poids de la matière végétale séchée est de : 735 g pour feuilles, et 545 g de fleurs.

III-7- Extraction

Après séchage dans un endroit sec et aéré, les feuilles coupées en petits morceaux, broyées, puis une macération dans un mélange Ethanol-Eau (70/30) trois fois pendant 24 h. Après filtration et concentration de la solution, on ajoute de l'eau distillée et on procède à des extractions successives dans une ampoule à décanter de 2l, en utilisant l'éther de pétrole, trichlorométhane, acétate d'éthyle ou n-butanol, avec des quantités de 3x150 ml pour chaque solvant. Les quatre extraits sont évaporés à secs puis pesés. De la même manière on réalise l'extraction pour les fleurs et on obtient quatre extraits. Le processus d'extraction est résumé par l'organigramme de la figure III-2

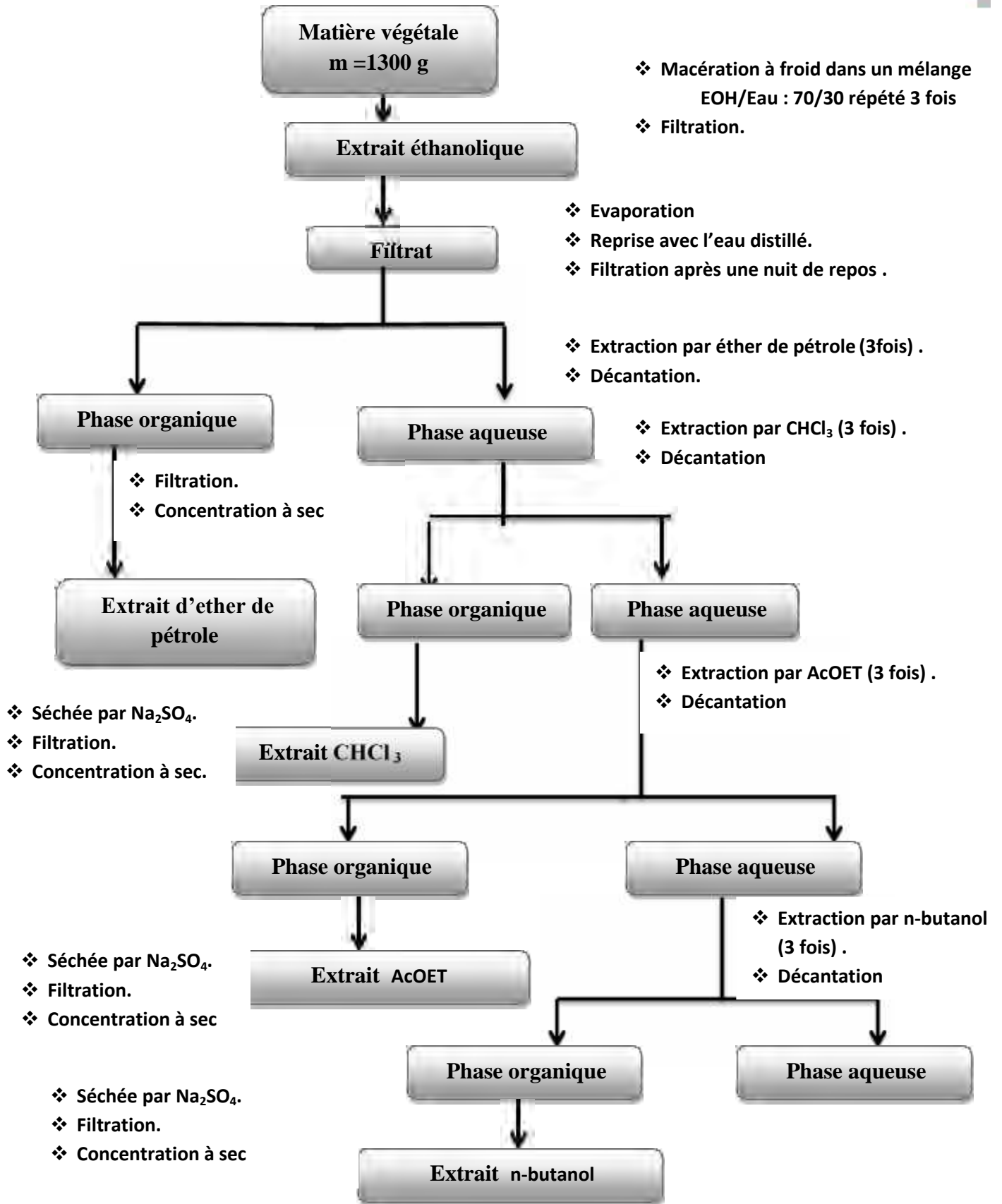


Figure III. 1 Schéma général de l'extraction

III-8- Séparation et purification des composés de l'extrait n-butanol :

Après les tests effectués pour choisir le meilleur système d'élution, un dernier fractionnement de l'extrait n-butanol de *globularia alypum L* (14g) a été réalisé par chromatographie d'adsorption sur une colonne de gel de silice. L'extrait n-butanol dissout dans le méthanol, est mélangé à une petite quantité de gel de silice, l'ensemble est séché sous vide, puis pulvérisé jusqu'à l'obtention d'une poudre homogène. Cette dernière, est déposée sur une colonne de gel de silice, préparée dans le trichlorométhane. La masse de silice utilisée est : 420g Le mélange a été élué par le chloroforme et un gradient de méthanol jusqu'à atteindre les 100%. Le suivi des fractions est effectué par chromatographie sur couche mince de gel de silice sur support d'Aluminium. Les plaques sont visualisées sous lumière UV (254 et 365 nm) puis révélées avec un révélateur à base d'acide sulfurique et chauffées pendant 3 mn à 100°C. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau III-2 :

Tableau III-2 : fractionnement de la colonne

Lot de fractions	N° de la fraction	Système d'élution		La masse (g)	Observations
		% CHCl ₃	% MeOH		
1 -8	1	100	0	0,05	Mélange complexe
9-50	2	100	0	0,068	Mélange complexe
51-53	3	97,5	2,5	0,004	4 taches séparables mais la quantité de fraction faible
54-65	4	97,5	2,5	0,011	Mélange complexe
66-93	5	95	5	0,102	Mélange séparable avec beaucoup des taches
94 -103	6	95	5	0,064	Mélange complexe
104-118	7	95	5	0,094	Mélange séparable
119-144	8	92,5	7,5	1,080	Mélange séparable (produit majoritaire)
145-194		90	10		

195-218		87,5	12,5		
219-231	9	87,5	12,5	0,214	Mélange séparable avec précipité (9 mg)
232-243		85	15		
244-277	10	85	15	0,167	Mélange séparable
278-298	11	80	20	0,312	Mélange séparable
299-327	12	75	25	0,42	Mélange complexe
328-343	13	70	30	0,128	Mélange complexe
344-355	14	70	30	0,354	Mélange séparable
356-392	15	70	30	0,332	Mélange séparable avec précipité (14mg)
393 -423	16	65	35	0,093	Mélange complexe
424-439	17	55	45	0,112	Mélange complexe
440-448	18	55	45	0,267	Mélange complexe
449-458	19	45	55	0,284	Mélange séparable
459 -465	20	35	65	0,178	Mélange complexe
466-472	21	25	75	0,245	Mélange complexe
472-488	22	10	90	0,235	Mélange complexe
489-496	23	0	100	0,156	Mélange complexe

III-8-1 Étude de la fraction F9 :

Cette fraction (214 mg), renferme un précipité blanc (9mg) insoluble dans le chloroforme, sa recristallisation dans le chloroforme avec plusieurs lavages, nous a permis de le séparer. Ce précipité soluble dans le méthanol, a été chromatographié sur plaques préparatives avec un système d'éluant $\text{CHCl}_3/\text{MeOH} : (8,5/1,5)$. Ce qui a permis d'isoler deux taches **F 9-1** et **F 9-2** (Fig III.3)

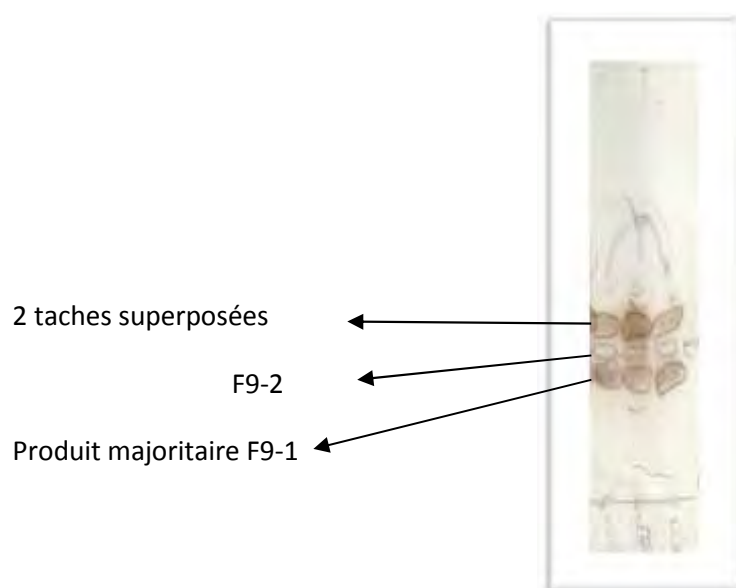


Fig III.3 Plaque analytique de précipité de f9 éluant $\text{CHCl}_3/\text{MeOH} (8,5/1,5)$

Conditions opératoires

Support Chromatographique: Plaque en verre de Gel de silice 60, 20 X 20 cm, épaisseur de la couche 0,5mm.

Phase mobile: $\text{CHCl}_3 / \text{MeOH} (8,5: 1,5)$ v/v.

Révéléteur: acide sulfurique.

Les résultats obtenus sont résumé dans ce tableau :

	La masse (mg)	UV 254 nm	UV 365 nm	Révéléteur d'acide
F9-1	5	noir	bleu noir	bleu
F9-2	Petit quantité	incolore	bleu	incolore



Fig III. 4 Plaque analytique présente une tache de produit F9-1 éluant **CHCl₃/MeOH (8,5/1,5)**

F9-2 avec une faible quantité son étude est difficile.

III-8-2 Étude de la fraction F8 :

Cette fraction (1,08 g) est déposée, sur une colonne de gel de silice, préparée dans le chloroforme. La masse de gel de silice utilisée a été : 137g.

L'élution a été réalisée par un système CHCl₃ /Acetone/ MeOH avec des polarités croissantes.

La séparation sur colonne est suivie par une lampe UV : (à 254 et 365 nm). Le rassemblement final des fractions a été effectué sur la base d'analyses par CCM de gel de silice analytiques. Les conditions opératoires sont présentées dans le tableau III-3

Tableau III-3 : Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de la fraction F8.

Lot de fractions (10ml)	N° de la fraction	Système d'elution			La masse (Mg)
		% CHCl ₃	% Acetone	% MeOH	
1-9	1	100	0	0	1
10-22	2	99	1	0	7
23-34	3	97	2	1	8,6
35-44	4	96	2	2	12,3
45-61	5	94	3	3	10,2
62-70	6	90	5	5	4,12
71-81	7	90	5	5	3,43
82	8	88	7	5	4,3
83-88	9	86	7	7	7,1
89-112	10	84	8	8	14,3
113-123	11	80	9	11	9,4
124-133		78	11	11	8,4
134-144	11	72	14	14	7,7
145-158	12	0	0	100	11,5

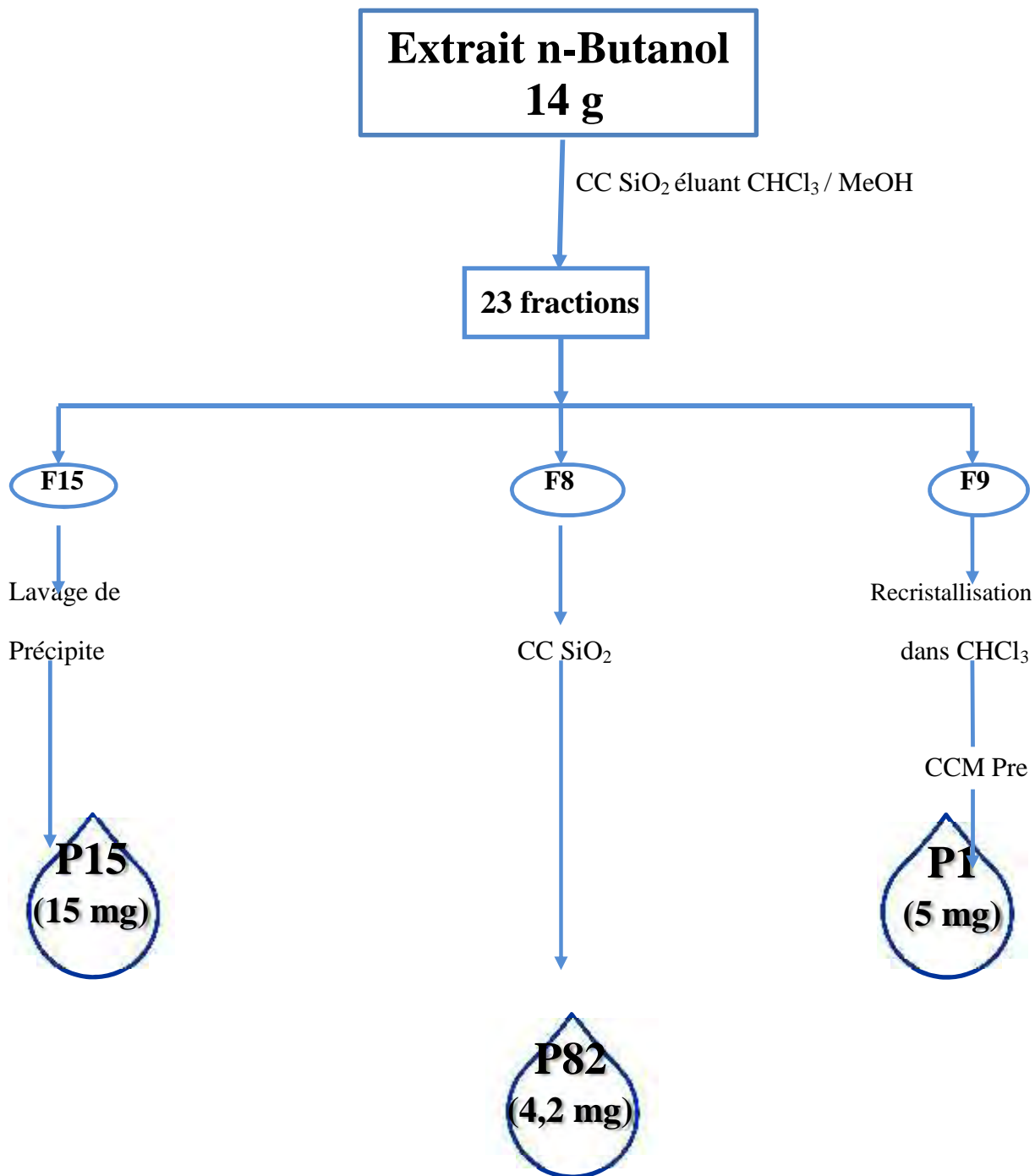
Cette colonne nous a permis de séparer un produit pur de F82 dont ses propriétés sont résumé dans tableau suivant :

	La masse(mg)	UV 254 nm	UV 365 nm	Révélateur d'acide
F82	4,2	invisible	gris	Marron

III-7-3 Étude de la fraction F15 :

Cette fraction (332 mg) renferme un petit précipité ; la séparation de ce précipité après plusieurs lavages dans l'acétone permis nous d'obtenir un produit pure de masse (15 mg)

	La masse(mg)	UV 254 nm	UV 365 nm
F15	15	invisible	invisible

III-9 Conclusion :

Références bibliographiques :

- [1] N. T. Beniston and W. S. Beniston, *Fleurs d'Algérie*, E. N. L. Alger, 1984.
- [2] P. Quezel., S. Santa., *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques et Méridionales*, tome II .CNRS, Paris. P.860, 1963.
- [3] H. Jouad, M. Maghrani, M. Eddouks. *Journal of Ethnopharmacology* 81 351-356, 2002.
- [4] J. V. Sanchez. *Anales soc. Espan. Fis quim*, 31, 361-3 ,1933.
- [5] P. Bernard, M. M. Lallemand, G. Blansard. *Plantes Médicinales et Phytothérapie*, 8(3), 174-9, 1974.
- [6] R. K. Chaudhuri, O. Sticher, T. Winkler, *Helvetica Chemica Acta*, (34), 3149-52, 1979.
- [7] R. K. Chaudhuri, O. Sticher. *Helvetica Chemica Acta*, 64(1), 3-15, 1981.
- [8] B. Ben hassine, A. Bui, Z. Mighri. *Journal de la Société Chimique de Tunisie*, 1982, 7, 3- 10.
- [9] B. Ben hassine, A. Bui, Z. Mighri, A. Cave. *Plantes Médicinales et Phytothérapie*, 16(3), 197-205, 1982.
- [10] S. Louis, F. Darghouth-Kesraoui, B. Baghdikian, R. Elias, K. Boukef, G. Blansard. *Pharmazie*, 54(4), 309-310 ,1999.
- [11] A. Boutiti, A. Benguerba, R. Kitouni, I M. Bouhroum, S. Benayache , F. Benayache , SECONDARY METABOLITES FROM *Globularia alypum* , *Chemistry of Natural Compounds*, Vol. 44, No. 4, 2008.
- [12] N. Es-Safi, S. Khlifi, L. Kerhoas, A. Kollmann, A.El Abbouyi, P.H. Ducrot, Iridoid glucosides from the aerial parts of *Globularia alypum* L. (*Globulariaceae*). *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 54, 85–88 ,2006
- [13] E. Sezik ,M. Tabat ,E. Yesilada ,G. Honda , K.Goto ,Y. Ikeshiro, *Ethnopharmacol* , 35, 191—196 ,1991.
- [14] J. Bellakhdar, R. Claisse , J. Fleurentin ,C. Younos , *Ethnopharmacol.*, 35, 123—143 ,1991.
- [15] J. T. Jaouhari , H. B. Lazrek , A. Seddik , M. Jana , *Ethnopharmacol*, 64, 211—217 , 1999.
- [16] F. Skim , H. B. Lazrek, A. Kaaya ,H. El Amri , M. Jana, *Thérapie*, 54, 711—715 (1999).
- [17] R. Bello, L. Moreno ,E. Primo-Yufera , J. Esplugues , *Phytotherapy Res*, 16, 389—392 ,2002.
- [18] N. Es-Safi, S. Khlifi , L. Kerhoas, A. Kollmann , A. El Abbouyi , B.H. Ducrot, Antioxidant constituents of the aerial parts of *Globularia alypum* growing in Morocco. *Journal of Natural Products*, 68, 1293–1296,2005.
- [19] N. Es-Safia , A. Kollmann, S. Khlifi, P.H. Ducrot, Antioxidative effect of compounds isolated from *Globularia alypum* L, *LWT*, 40, 1246–1252, 2007 .

Chapitre IV

Résultats et discussion

Le but de ce travail : l'isolement et la détermination de structures des métabolites secondaires de la plante en question. Après l'extraction, au fractionnement et à la purification de plusieurs molécules naturelles, en utilisant les différentes techniques de chromatographie (CC, CCM, CPP,...). L'utilisation des techniques de spectrométrie de masse (MS), de spectroscopie (UV, IR, RMN ^1H , RMN ^{13}C , COSY, HSQC, HMBC et NOESY) a permis l'élucidation structurale des différents phytoconstituants de la plante.

IV-2- Identification du composé P15

La fluorescence :

Le composé P15, invisible en UV, se présente sous forme de cristaux blancs.

Analyse structurale :

Les données de masse ESI suivantes :

$m/z = 205$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ au mode positif et $m/z = 217$ $[\text{M}+\text{Cl}]^-$ au mode négatif, soit une masse moléculaire égale à 182 uma correspondant à une formule brute en $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}_6$.

D'après le spectre RMN ^{13}C (Figure IV.2) qui présente 3 signaux

On observe la présence de groupement méthylènes CH_2OH résonant à $\delta_{\text{C}} = 63,80\text{ppm}$ et 2 signaux de carbones méthines CHOH : repérés à $\delta_{\text{C}} = 71,24\text{ppm}$ et $\delta_{\text{C}} = 69,60\text{ppm}$

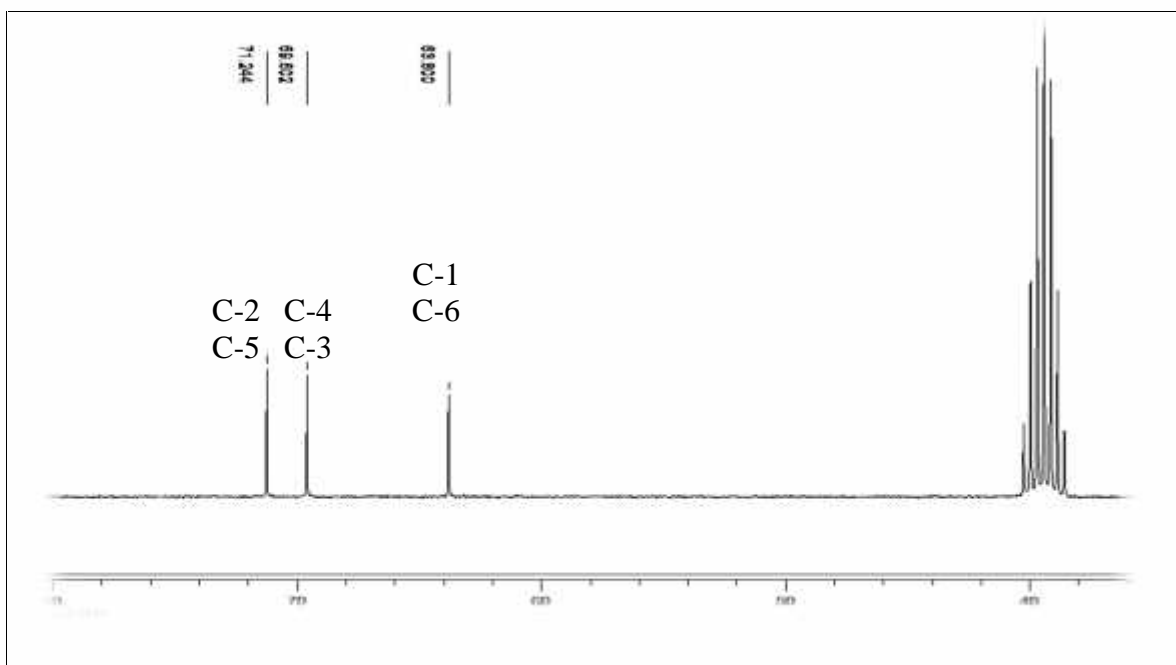


Figure IV.2 : Spectre RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) du composé P15

L'observation du spectre RMN ^1H du composé **P15** enregistré à 400 MHz dans le DMSO- d_6 (Figure IV.1), montre sept signaux,

Les signaux allant de 3,35 à 3,70ppm, renseignent sur le caractère hydroxylé de la molécule :

- un multiplet à $\delta\text{H}= 3,38$
- un doublet de doublet de doublet à $\delta\text{H}= 3,61$ ($J= 3,4 ; 5,8 ; 10,2$ Hz) .
- un autre signal sous forme de triplet à $\delta\text{H}= 3,54$ ($J= 9,2$ Hz).
- un à $\delta\text{H}= 3,46$ sous forme d'un multiplet.

on peut observer :

- un triplet résonant à $\delta\text{H}= 4,29$ correspondant à une fonction OH d'un groupement CH_2OH .
- deux signaux doublets résonant à 4,12 et 4,39 ppm attestant de la présence de groupements CHOH .

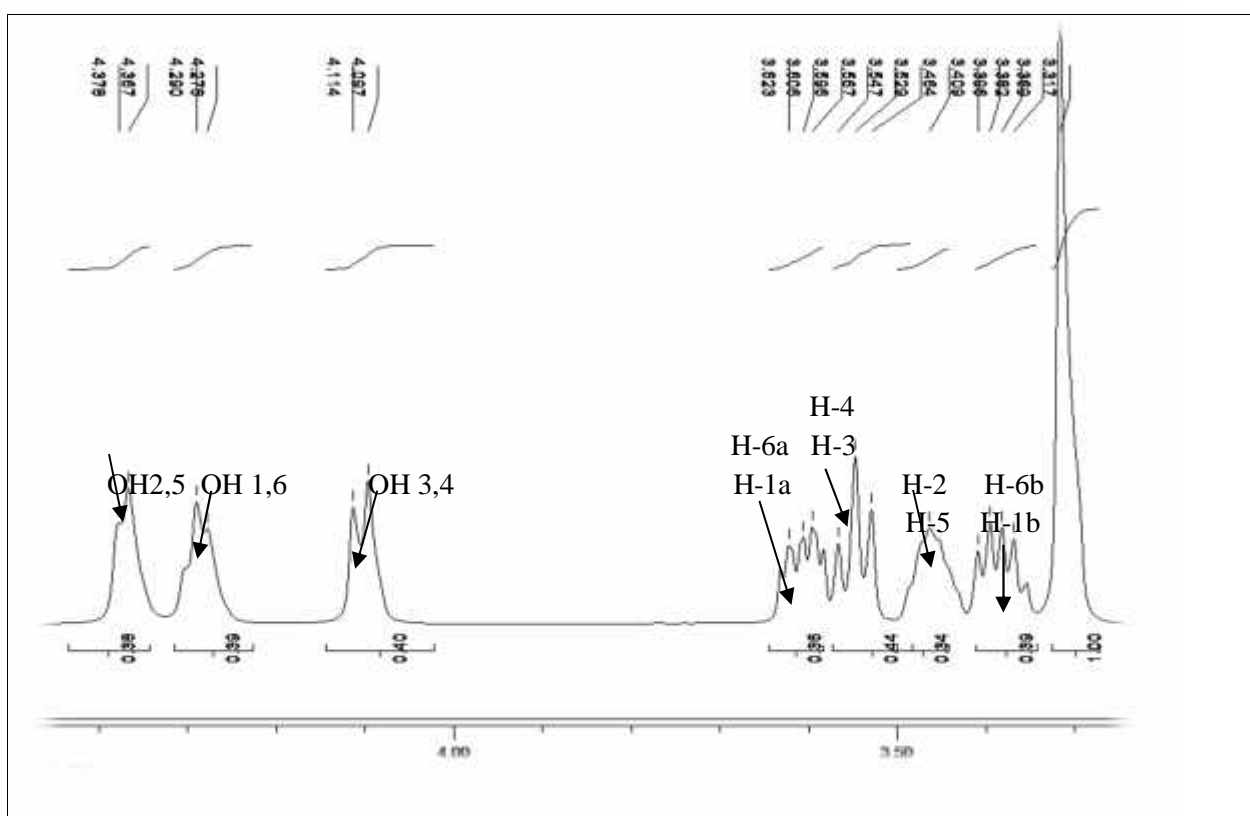
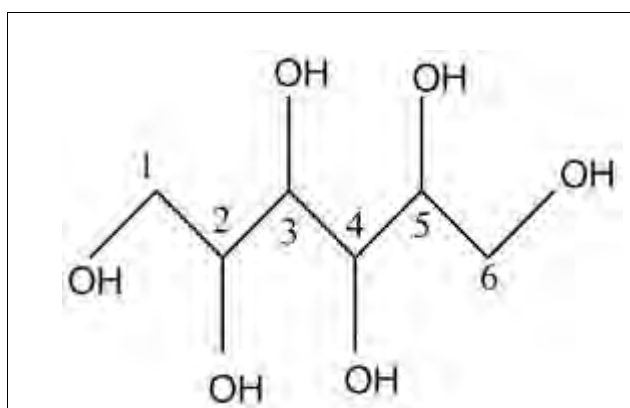


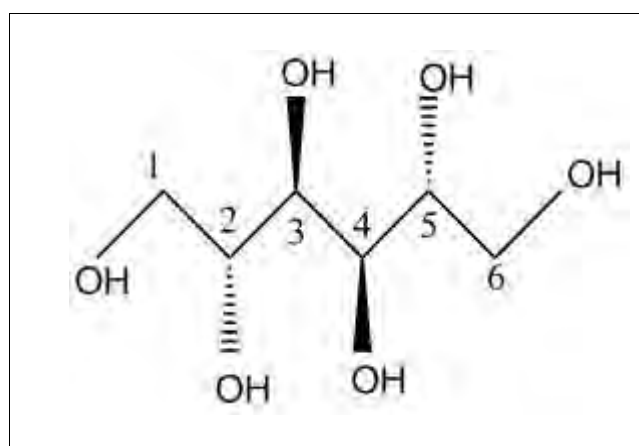
Figure IV.1 : Spectre RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) du composé **P15**

Cette analyse donnant 7 protons ; et l'analyse de spectre RMN¹³ C donnant 3 carbones et celle du spectre de masse qui plaide pour une présence de 14 protons et 6 carbones permet de dire la molécule du caractère symétrique.

Ce raisonnement permet de suggérer l'enchaînement suivant:



D'après la littérature [1] et Toutes les données qui viennent d'être exposées ,ce sont avérées identiques à celles d'un sucre réduit connu sous le nom **D- mannitol**, Il a été isolé antérieurement de genre *Globularia* (*Globularia vulgaris*) [2].



D-Mannitol

Les valeurs de déplacements chimiques des protons et carbones de ce dernier (composé **P15**) sont regroupées dans le tableau (IV.1)

Tableau VI.1 : Les valeurs de déplacements chimiques des protons et carbones de composé **P15**)

N^0	$\delta_C(ppm)$	$\delta_H(ppm)$	<i>Multiplicités</i>	$J(Hz)$
1(CH ₂) 6(CH ₂)	63,8	Ha 3,61 Hb 3,38	ddd m	3,7-5 ,8-10,7 -----
2(CH) 5(CH)	71,24	3,45	m	-----
3(CH) 4(CH)	69,6	3,54	t	7,5
OH-1, 6	-----	4,31	t	5,6
OH-2, 5	-----	4,39	d	5,3
OH-3, 4	-----	4,12	d	7

IV-2- Identification du composé P1

La fluorescence :

Le composé **P1** est caractérisé par une couleur **noire** sous lumière UV 254 nm et **noir bleu** sous la lumière 365 nm

Analyse structurale :

L'observation du spectre RMN ^{13}C du composé **P1** enregistré à 400 MHz dans le MeOH- d_4 (Figure IV.2.1), montre plusieurs signaux :

- $\delta_c=154,42$ ppm ; $\delta_c=105,6$ ppm ; $\delta_c=136$ et $\delta_c=135,37$ ppm montre la présence d'un cycle aromatique .
- $\delta_c=130,14$ ppm et $\delta_c=131,32$ ppm qui indique la présence de 2 CH éthyléniques
- les signaux : $\delta_c=105,45$ ppm $\delta_c=71,43$ ppm $\delta_c=75,81$ ppm
 $\delta_c=77,9$ ppm et $\delta_c=78,34$ ppm sont présent des carbones d'un sucre
- On observe la présence de 2 méthylènes CH_2OH résonant à $\delta_c=63,63$ ppm
 $\delta_c=62,65$ et d'un méthoxyle(CH_3O $\delta_c=57,11$ ppm)

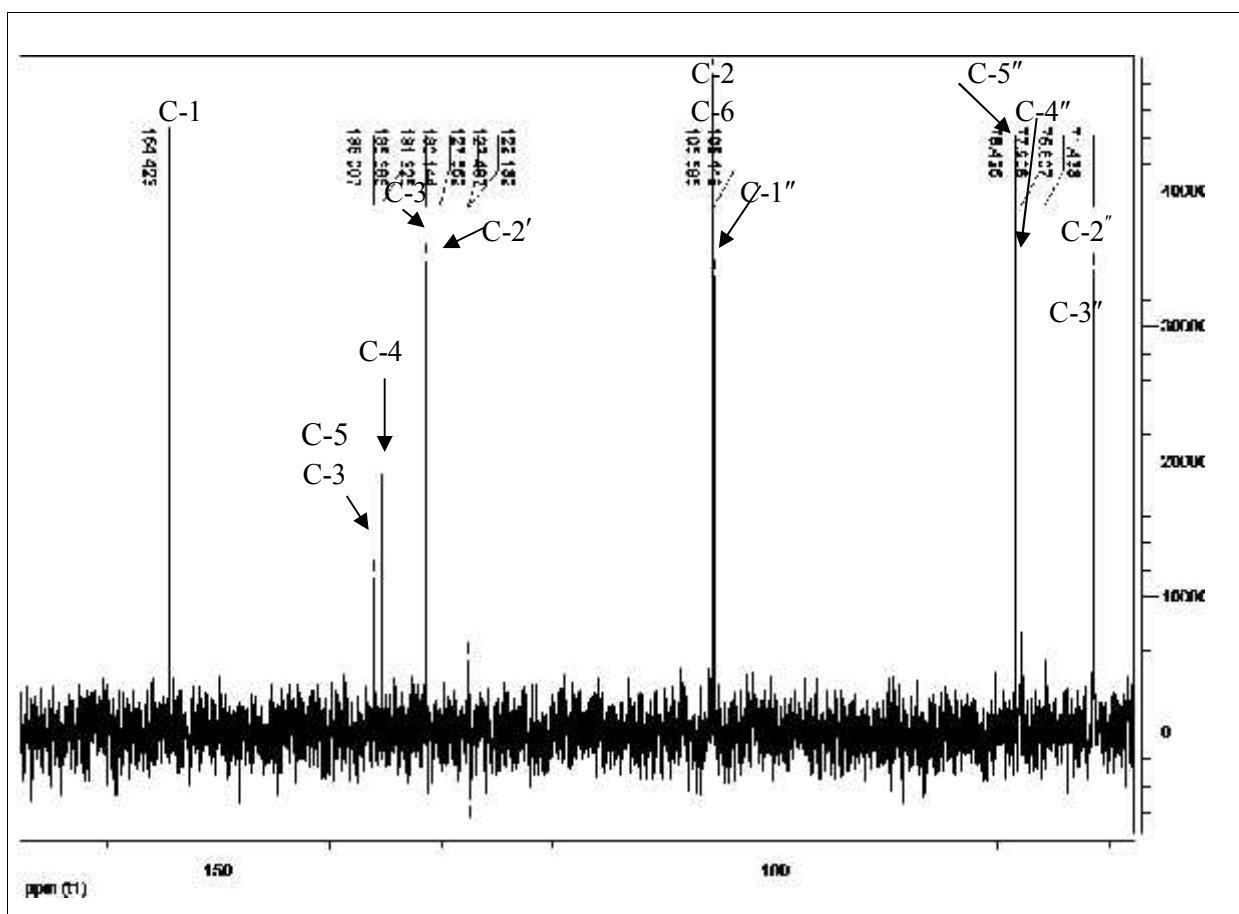


Figure IV.2.1: Spectre RMN ^{13}C (400 MHz, MeOH- d_4) du composé P15

L'observation du spectre RMN ^1H (Figure IV.2.2) du composé **P1** permet de confirmer

ces données par la présence des signaux :

- ✓ Un singulet à $\delta=6,75$ ppm d'intégration 2H attribuable à deux protons équivalents du noyau aromatique ($\delta_{\text{C}}=104,0$) ce qui oriente vers une tétrasubstitution de ce cycle aromatique.
- ✓ Un doublet à $\delta_{\text{H}}=6,55$ ppm ($J = 15,8$ Hz) d'intégration 1H . et un doublet de triplet à $\delta=6,32$ ppm ($J=15,5 ; 5,6$ Hz) d'intégration 1H . La multiplicité de ce signal et les valeurs du déplacement chimique et des constantes de couplage confirment la présence d'une double liaison éthylénique de configuration *trans* dans cette molécule et placent un groupement CH_2 en position vicinale par rapport à ce CH éthylénique (IV.2.3.a).
- Un doublet de doublets à $\delta=4,25$ ppm ($J = 5,5 ; 1,1$ Hz). Les valeurs des constantes de couplage indiquent que ce groupement est voisin du CH éthylénique précédent. La valeur du déplacement chimique indique que ce groupement CH_2 est oxygéné ($\delta_{\text{C}}=62,1$) spectre (IV.2.3.b)
- Un singulet à $\delta=3,86$ ppm d'intégration 6H ($\delta_{\text{C}}=57,11$) attribuables à deux groupements méthoxyles équivalents portés par conséquent par deux carbones du noyau aromatique ($\delta_{\text{C}}=152,9$).
- Un doublet à $\delta=4,87$ ppm ($J=7,4$) attribuable à un proton anomérique du sucre de configuration β

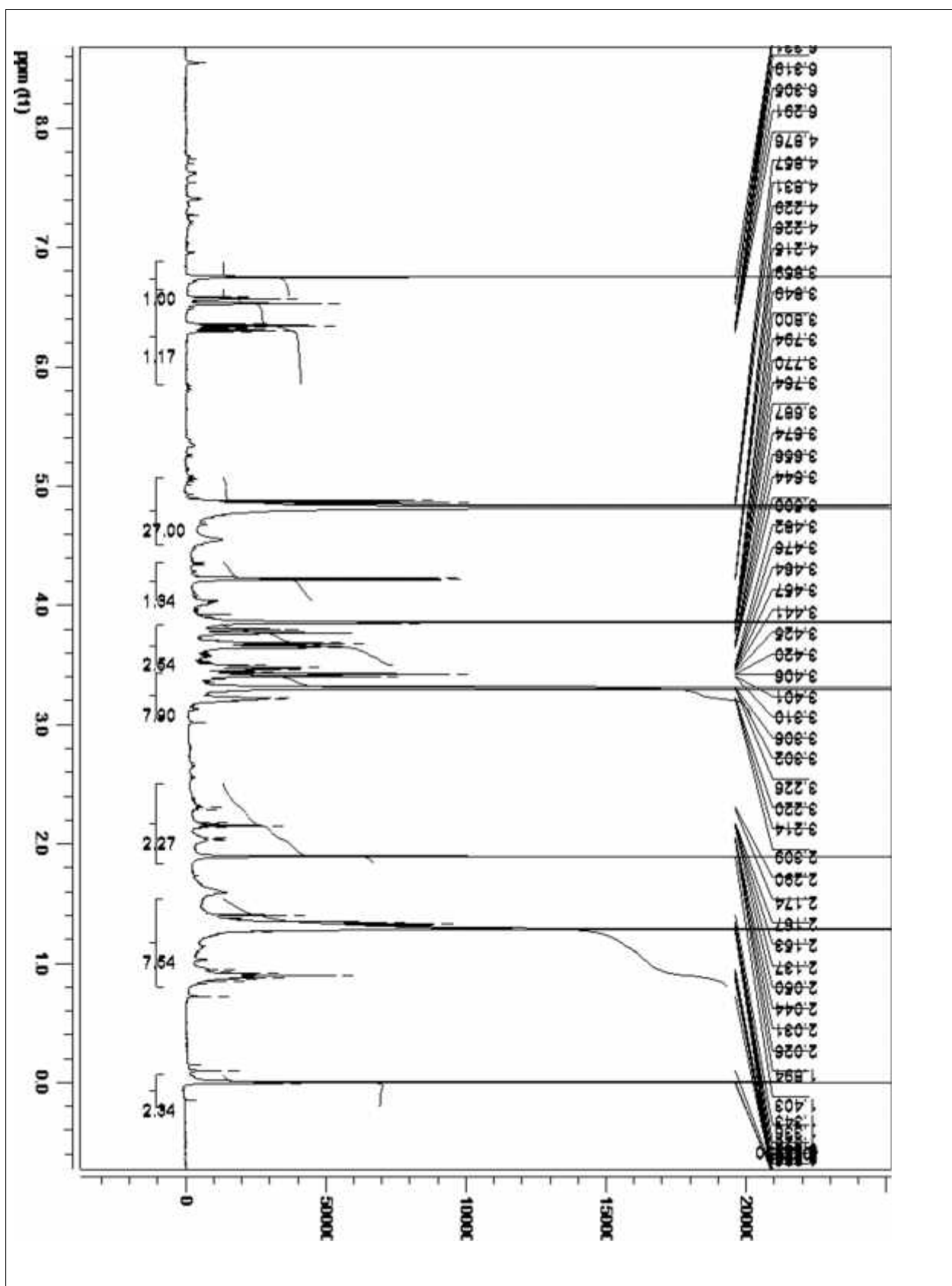


Figure IV.2.2: Spectre RMN ^1H (400 MHz, $\text{MeOH-}d_4$) du composé P1

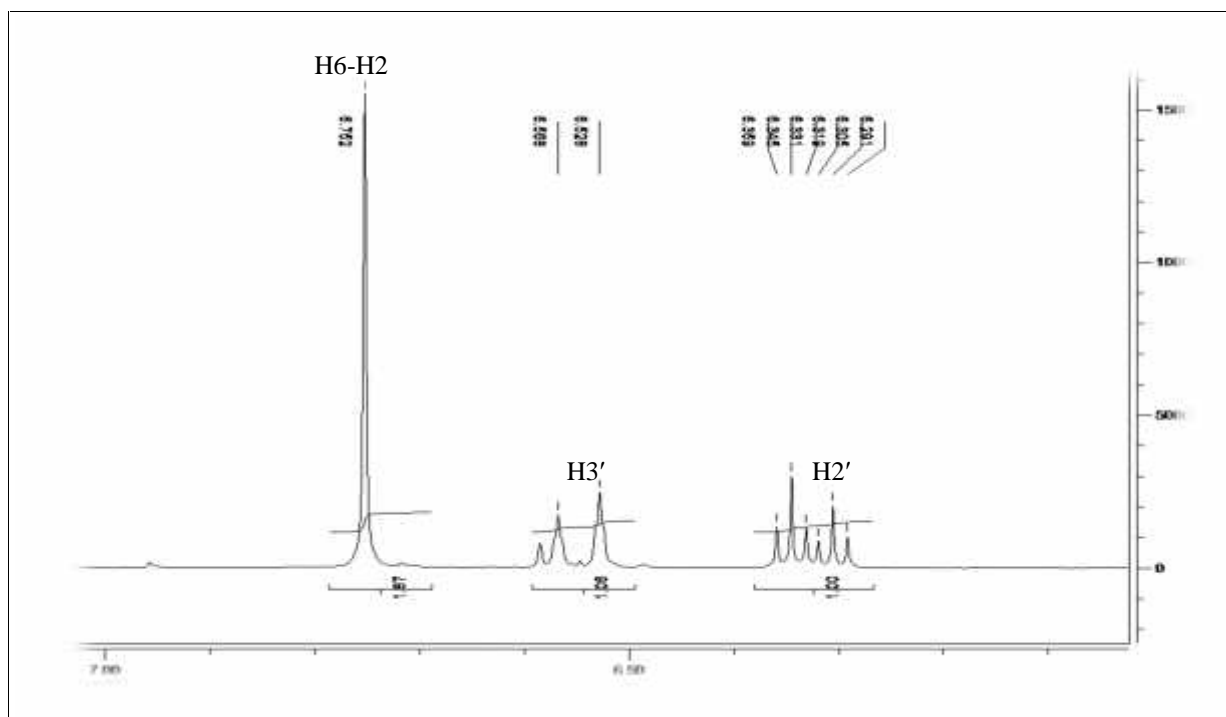


Figure IV.2.3.a: Spectre RMN ^1H étalé (400 MHz, $\text{MeOH-}d_4$) du composé P1

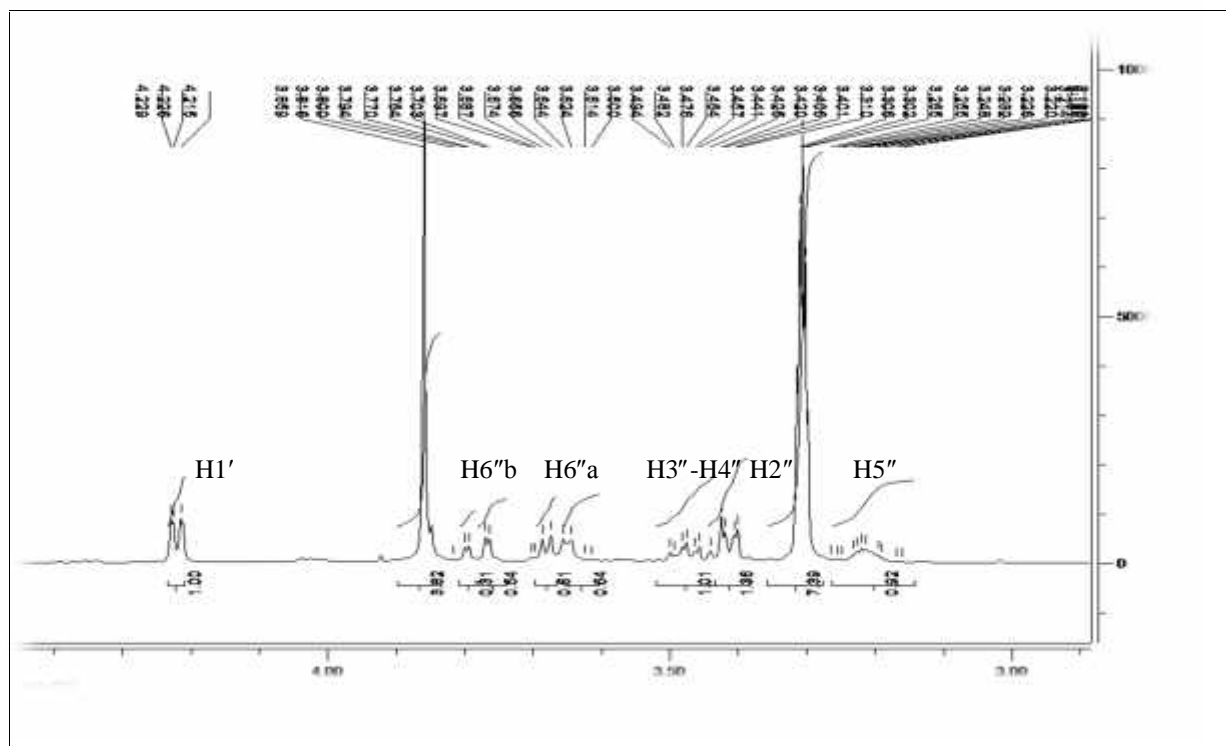


Figure IV.2.3.b: Spectre RMN ^1H étalé (400 MHz, $\text{MeOH-}d_4$) du composé P1

Partant de cette première identification, les autres protons et carbones sont progressivement identifiés par expériences bidimensionnelles COSY H-H, HSQC et HMBC.

Le spectre COSY H-H (Figure IV.2.4) met clairement en évidence les corrélations attendues entre :

- le proton anomère H-1'' et le proton H-2'' résonant à $\delta_H = 3,48$, sous forme de dd ($J = 9,7 ; 7,4$)
- le proton H-5'' ($\delta_H = 3,21$; m) et le proton H-4'' ($\delta_H = 3,42$; m)
- le proton H-6''a ($3,67$; dd ; $J = 12 ; 5,1$ Hz) et le proton H-6''b ($3,78$; dd ; $J = 12 ; 2,5$ Hz)
- le proton H-2' ($6,32$; dt ; $J = 15,5 ; 5,6$ Hz) et le proton H-3' ($6,55$; d ; $J = 15,8$ Hz)
- le proton H-2' et le proton H-1' ($4,22$; dd ; $J = 5,6 ; 1,5$)

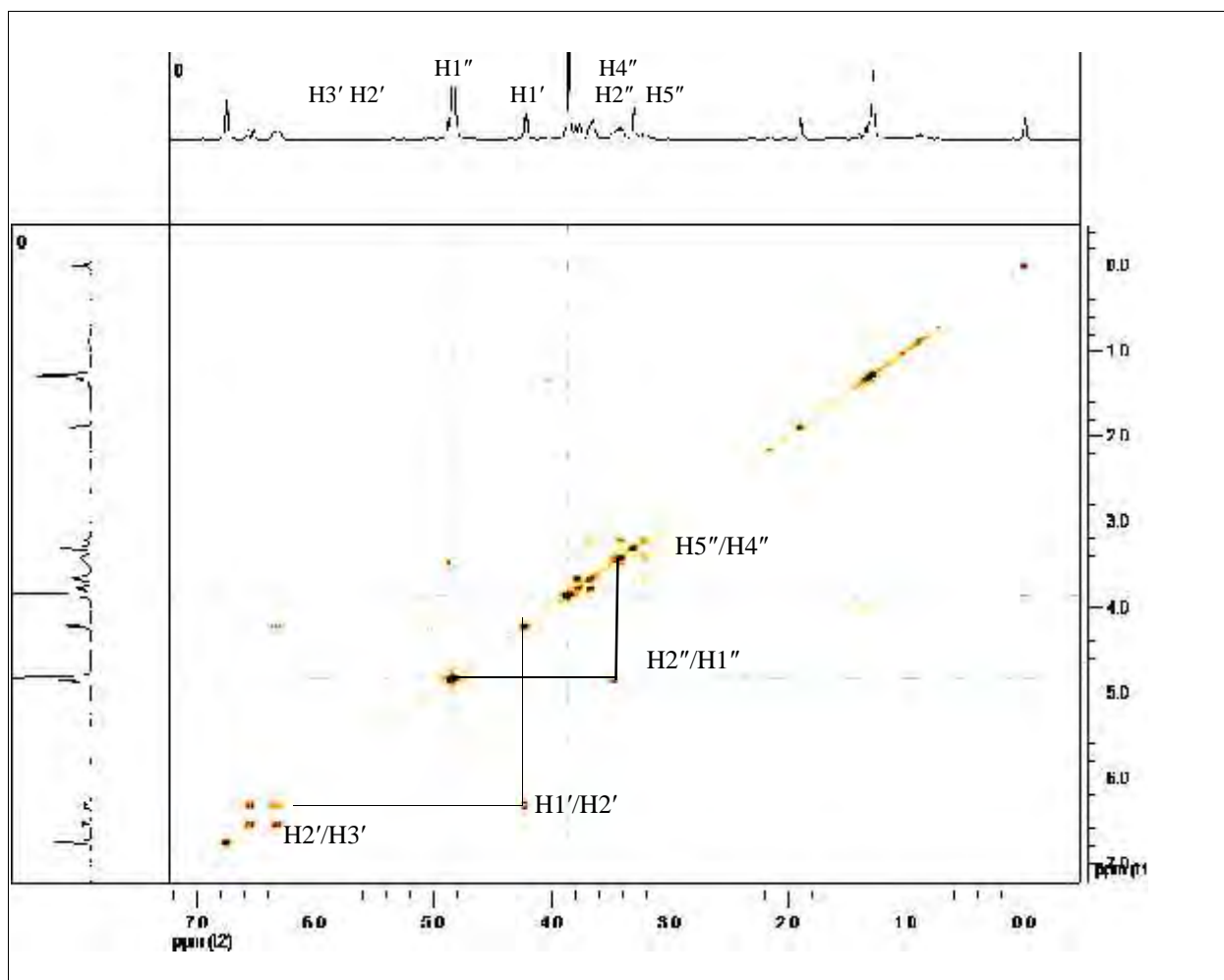


Figure IV.2.4: Spectre COSY du composé P1

La correspondance des protons et carbones de ce composé est ensuite établie par l'expérience HSQC (Figure IV.2.5) qui montre les couplages directs entre :

- les deux protons H-6'' et leur carbone C-6'' résonant à $\delta_C = 62,65$
- le proton H-1' et son carbone C-1' résonant à $\delta_C = 63,63$
- le proton H-2' et son carbone C-2' résonant à $\delta_C = 130,14$
- le proton H-3' et son carbone C-3' résonant à $\delta_C = 131,33$
- le proton H-1'' et son carbone C-1'' résonant à $\delta_C = 105,45$.
- le proton H-2'' et son carbone C-2'' résonant à $\delta_C = 75,81$
- le proton H-3'' et son carbone C-3'' résonant à $\delta_C = 77,91$.
- le proton H-4'' et son carbone C-4'' résonant à $\delta_C = 71,43$
- le proton H-5'' et son carbone C-5'' résonant à $\delta_C = 78,43$

Ces corrélations permettent ainsi d'identifier un hexose. Il s'agit d'un glucose de Configuration β . Configuration déduite de la constante de couplage $J_{1''-2''} = 7,4$ Hz

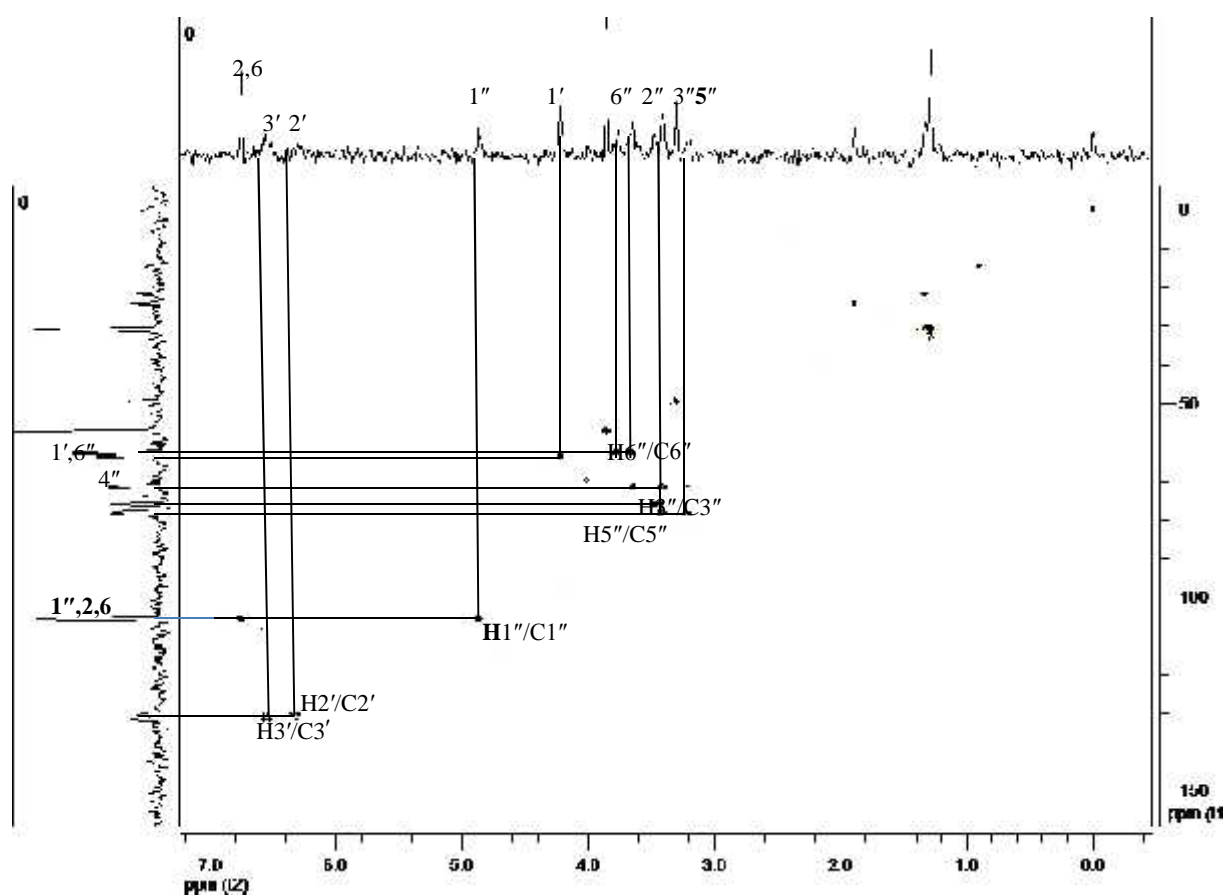


Figure IV.2.5: Spectre HSQC du composé P1

L'expérience HMBC (Figure IV.2.6) confirme le site de glycosylation en C-1, par l'observation d'un couplage en $^3J_{C-H}$ entre le proton anomère H-1'' (4,87 ppm) du glucose et le carbone C-4 (135,37 ppm),

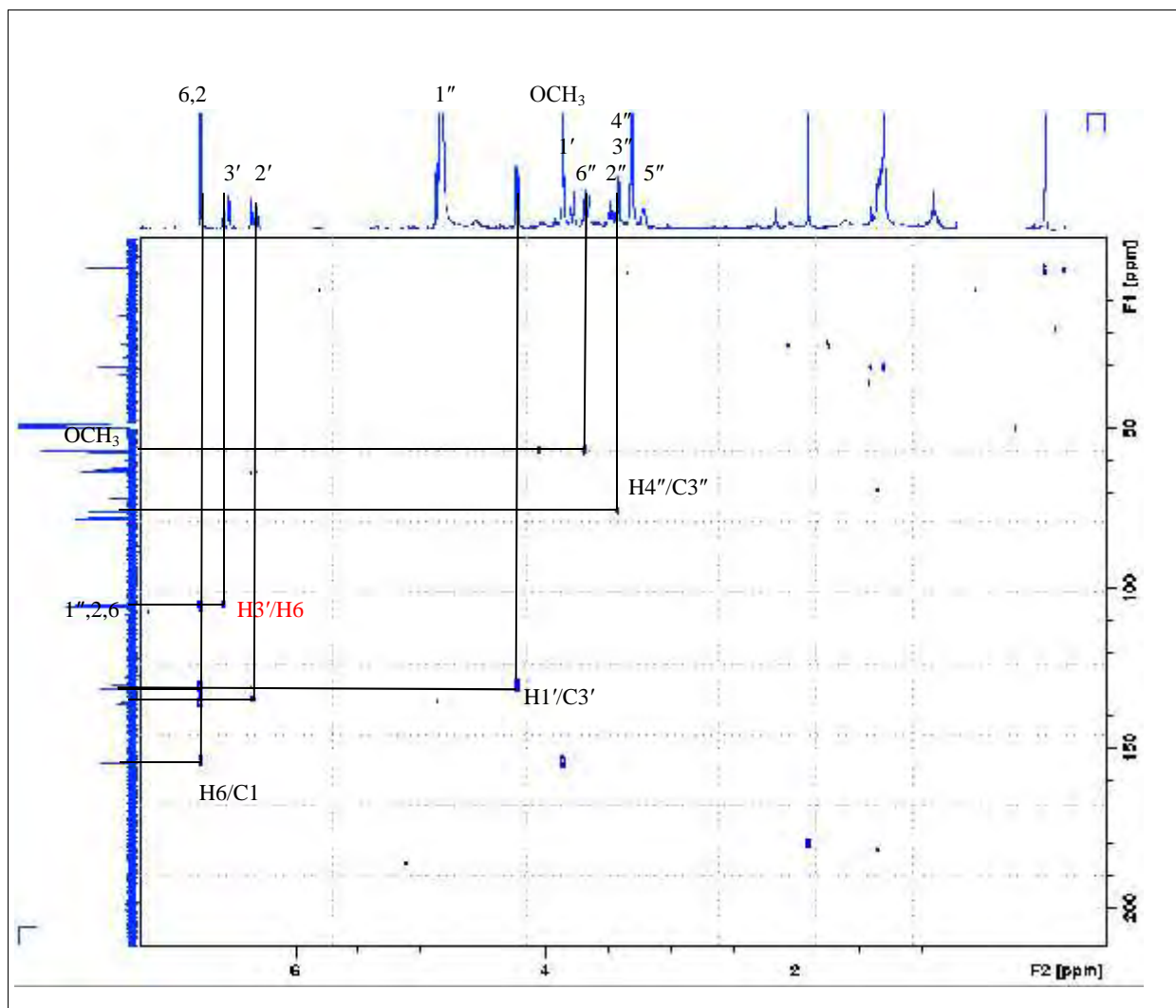


Figure IV.2.6: Spectre HMBC du composé P1

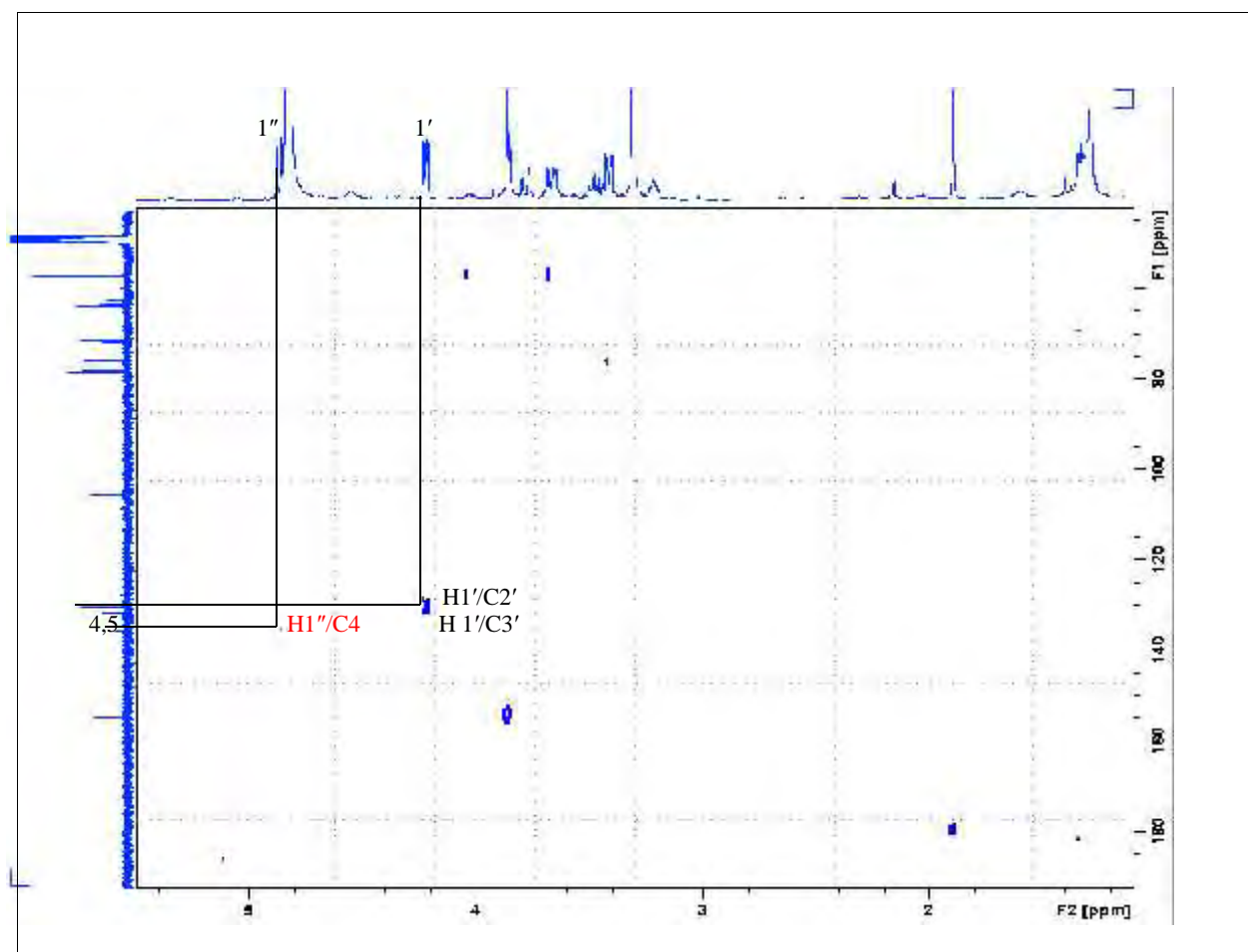


Figure IV.2.7: Spectre HMBC du composé P1 étalé

L'ensemble des données spectroscopiques relatives à ce composé, mène à la structure représentée dans la figure 2 soit le **Syringine**

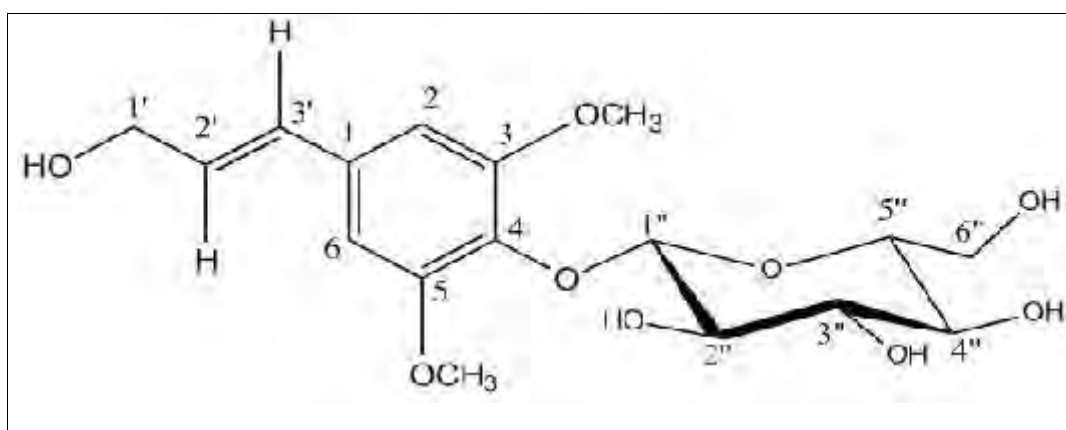


Figure 2 : Structure du composé P1, Syringine

Tableau VI.2 : Les valeurs de déplacements chimiques des protons et carbones de composé **P1**

N°	$\delta_c(ppm)$	$\delta_H(ppm)$		Multiplicités	$J(Hz)$
1 (C)	154,42	-----			-----
2 (CH)	105,6	6,75		S	-----
3(C)	136	-----		-----	-----
4(C)	135,37	-----		-----	-----
5(C)	136	-----		-----	-----
6 (CH)	105,6	6,75		S	-----
1'(CH ₂)	63,63	4,22		dd	5,6 ; 1,5
2' (CH)	130,14	6,32		dt	15,8 ; 1,5
3' (CH)	131,32	6,55		d	5,8
1'' (CH)	105,45	4,87		d	7,4
2'' (CH)	75,81	3,48		dd	9,7 ; 7,4
3'' (CH)	77,91	3,42		m	-----
4'' (CH)	71,43	3,42		m	-----
5'' (CH)	78,43	3,21		m	-----
6'' (CH ₂)	62,65	Ha	3,78	dd	12 ; 5,1
		Hb	3,67	dd	12 ; 2,5
(2 OCH ₃)	57,11	3,86		S	-----

IV-3- Identification du composé P82 :

La fluorescence :

Le composé **P82** est caractérisé par une couleur **noir** sous lumière UV 254 nm.

Analyse structurale :

Le spectre RMN ^{13}C (Figure IV.3.A) de ce composé, enregistré dans un CD_3OD , montre la présence de 24 atomes de carbone

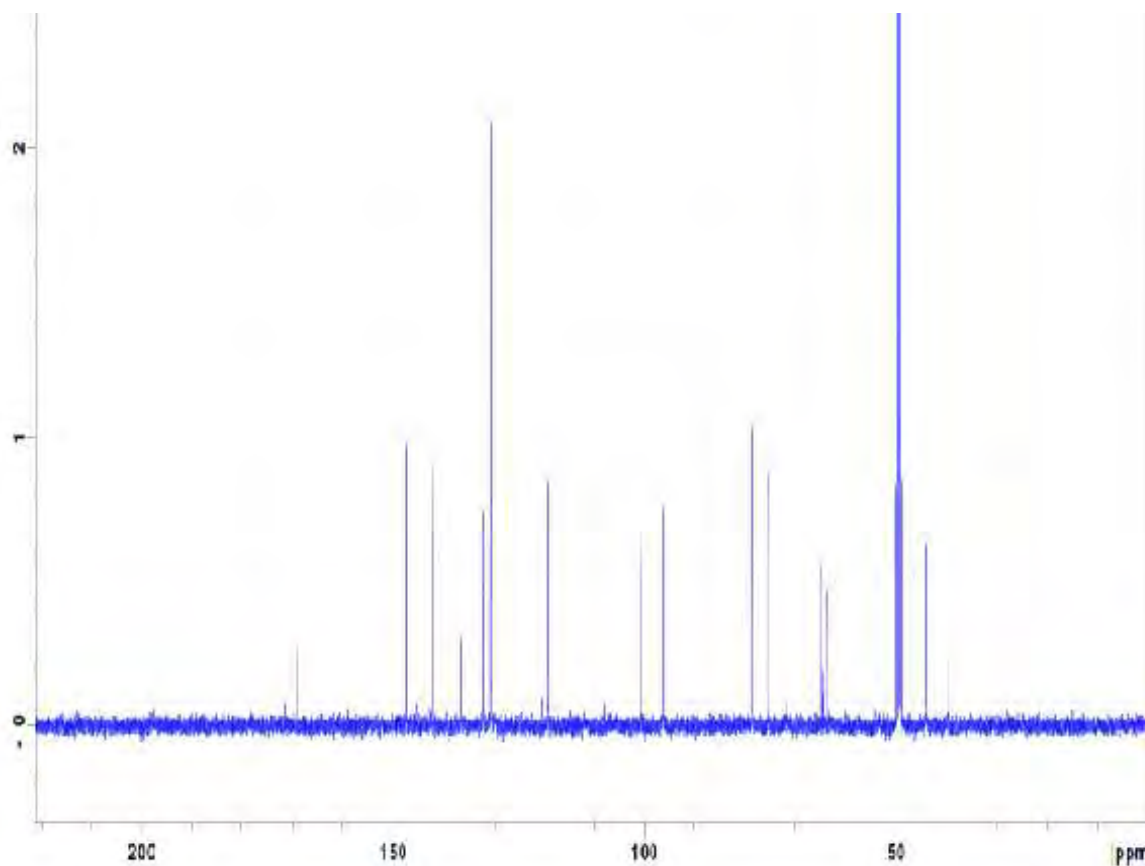


Figure IV.3.A: Spectre RMN ^{13}C (100 MHz, MeOH- d_4) du composé P82

Le spectre RMN ^1H (Figure IV.3.1) de ce composé, enregistré dans un CD_3OD , on observe :

- deux signaux doublet de doublets à 6,36 ppm ($J= 6,0 ; 1,8$ Hz) et 5,08 ppm ($J= 4,6 ; 2,2$ Hz) caractéristique des protons oléfiniques H-3 , H-4.
- Un signal sous forme de doublet à 5,06 ppm ($J= 2$ Hz) caractéristique du proton H-1.
- Un doublet de doublets à 2,66 ppm ($J= 12,2 ; 7,7$ Hz) caractéristique du proton H-9.

Ces signaux caractéristiques d'un iridoïde

- Un doublet à 4,74 ppm ($J= 7,85$ Hz) caractéristique du proton anomère H-1' du sucre, à savoir le glucose.
- Trois signaux résonant à 7,62 ; 7,58 et 7,4 ppm et s'intégrant pour cinq protons caractéristiques de protons aromatiques.
- Deux signaux doublet ($J= 16$ Hz) à 7,73 et 6,67 ppm de deux protons oléfiniques (H- β et H- α), à géométrie *trans* au vu de la valeur de la constante de couplage.

La présence de cinq protons aromatiques et deux protons oléfiniques de position *trans*, nous permet de suggérer la présence d'un groupement *trans*-cinnamoyle.

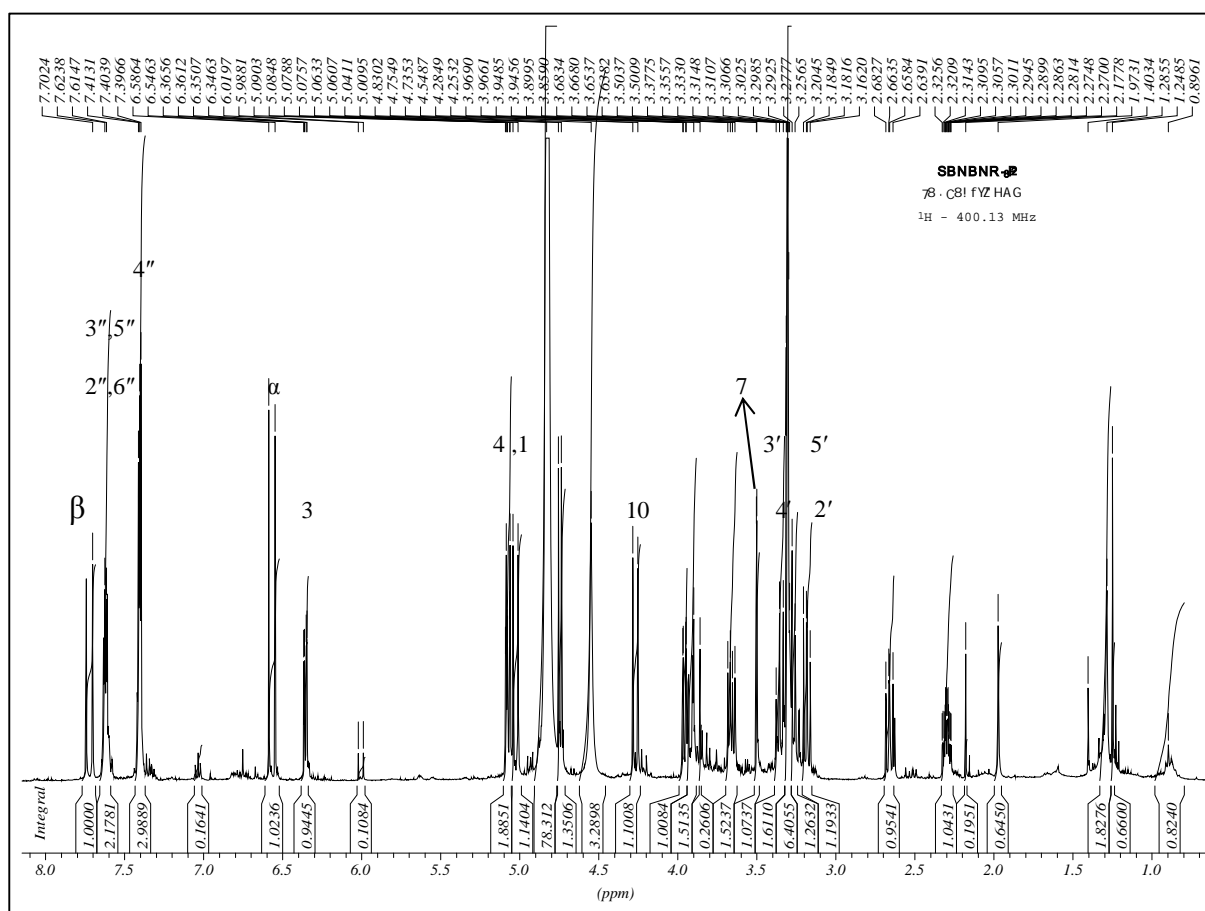


Figure IV.3.1: Spectre RMN ^1H (400 MHz, $\text{MeOH}-d_4$) du composé P82

L'expérience COSY H-H (Figure IV.4) montre des corrélations entre :

- Les deux protons oléfiniques H-3 et H-4.
- Le protons oléfiniques H-4 et un proton localisé à 2,3 ppm(H-5).ce signal montre corrélations avec les signaux à 2,66 ppm et 3,96 ppm attribuables a H-9 et H-6
- le proton H-6 ppm avec un autre proton localisé à 3,96 pmm attribué logiquement au proton H-7.

Le déplacements chimiques du protons H-6 (3,94 ppm) et H-7(3,96 pmm) indique une oxydation des carbones qui les portent.

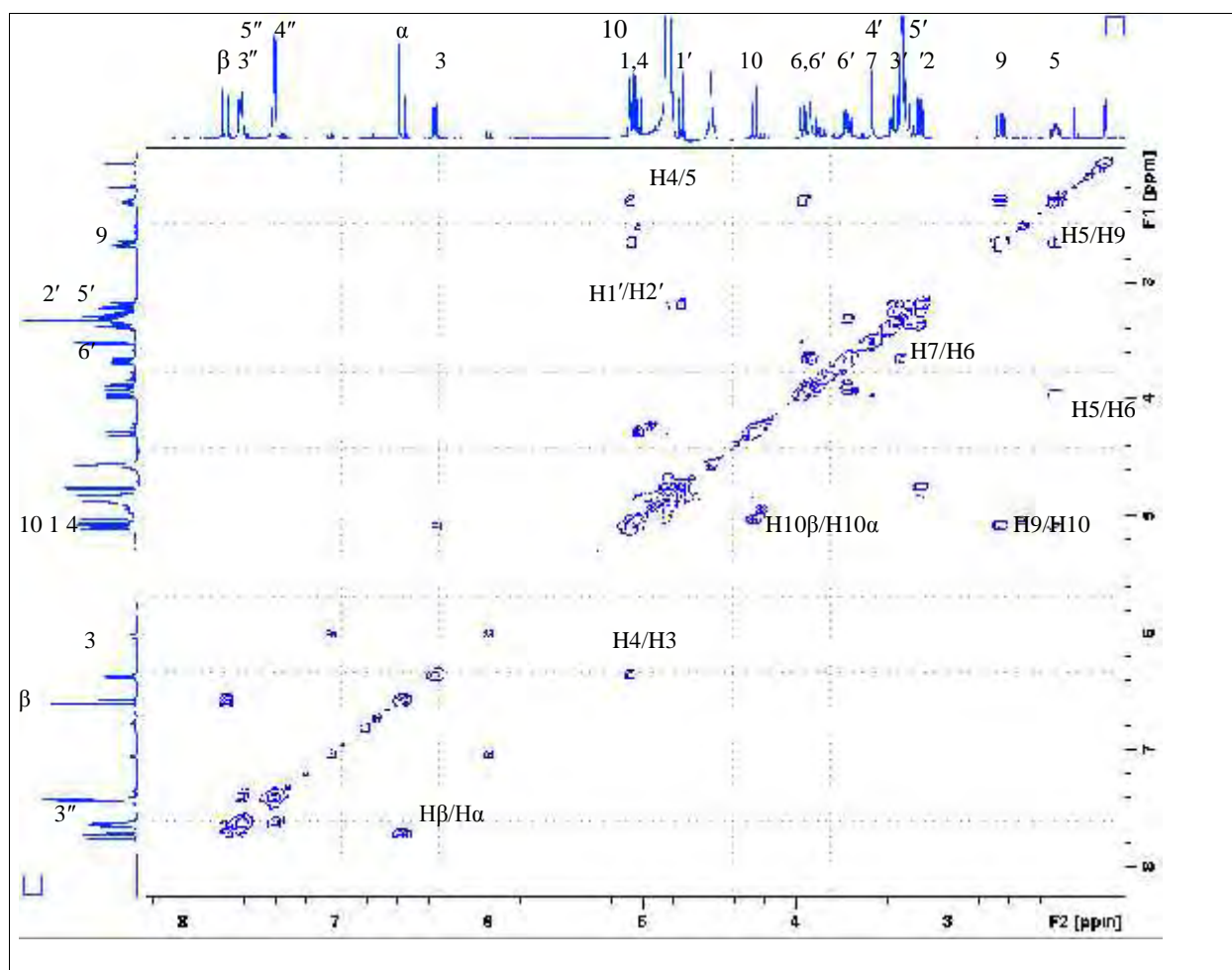


Figure IV.3.2: Spectre COSY du composé P82

Cette expérience permet également de relier tous les protons d'un hexose, à travers leurs taches de corrélation (Figure IV.3.2). On observe clairement les couplages entre :

- Le proton anomère H-1' et le proton H-2' résonant à 3,18 ppm (*dd*, $J= 7,9; 9,2\text{Hz}$).
- Le proton H-2' et le proton H-3' résonant sous forme de triplet à 3,36 ppm ($J= 9\text{Hz}$).
- Le proton H-3' et le proton H-4' résonant à 3,26 ppm (*t*, $J=9\text{ Hz}$).
- Le proton H-4' et un proton résonant à 3,36 ppm sous forme de multiplet correspondant au proton H-5'. Ce dernier couple avec deux autres protons résonants à 3,66 et 3,92 ppm, correspondant respectivement aux protons H-6'b et H-6'a.

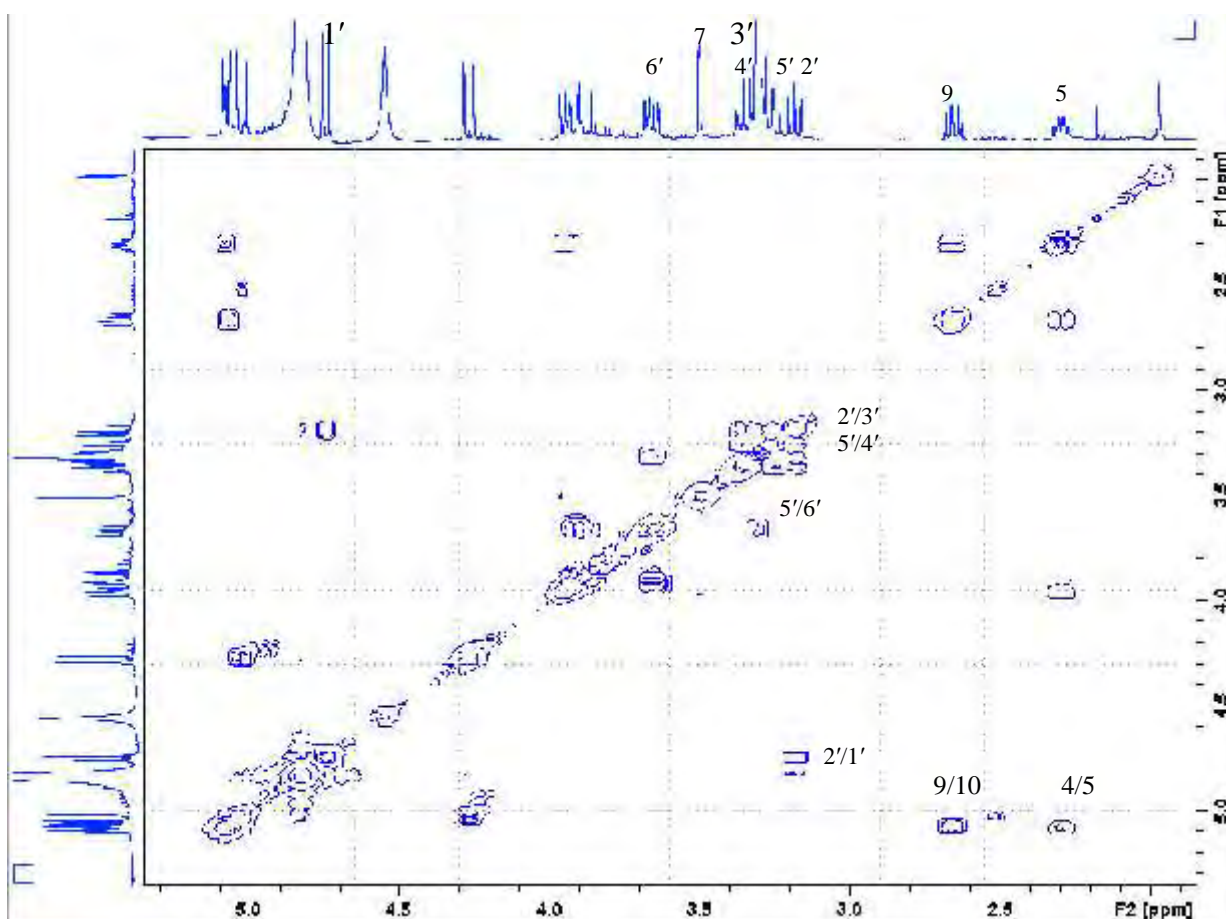


Figure IV.3.3: Spectre COSY du composé P82

l'expérience de corrélation directe carbone-proton au HSQC (Figure III.27) qui montre les couplages entre :

- le proton H-1' et son carbone C-1' résonant à $\delta_C = 100,37$ ppm
- le proton H-2' et son carbone C-2' résonant à $\delta_C = 74,89$ ppm
- le proton H-3' et son carbone C-3' résonant à $\delta_C = 77,89$ ppm
- le proton H-4' et son carbone C-4' résonant à $\delta_C = 71,57$ ppm
- le proton H-5' et son carbone C-5' résonant à $\delta_C = 78,55$ ppm
- les deux protons H-6' et leur carbone C-6' résonant à $\delta_C = 63,09$.
- le proton H-1 et son carbone résonant à $\delta_C = 95,68$ ppm
- le proton H-3 et son carbone résonant à $\delta_C = 141,87$ ppm
- le proton H-4 et son carbone résonant à $\delta_C = 103,78$ ppm
- le proton H-5 et son carbone résonant à $\delta_C = 43,71$ ppm
- le proton H-6 et son carbone résonant à $\delta_C = 79,55$ ppm
- le proton H-7 et son carbone résonant à $\delta_C = 62,88$ ppm
- le proton H-9 et son carbone résonant à $\delta_C = 39,1$ ppm
- les deux protons H-10 et leur carbone résonant à $\delta_C = 64,58$ ppm
- le proton H- β et son carbone résonant à $\delta_C = 146,74$ ppm
- le proton H- α et son carbone résonant à $\delta_C = 118,7$ ppm

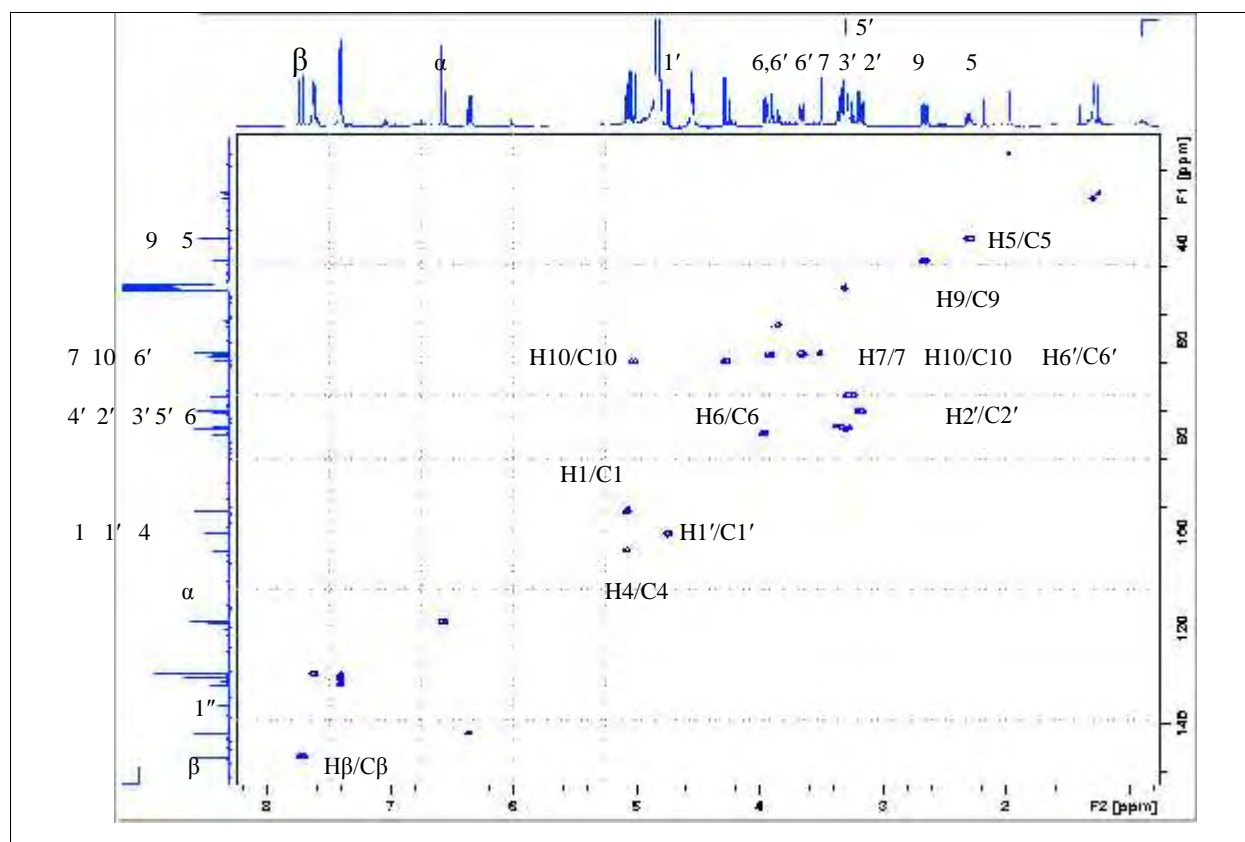


Figure IV.3.4: Spectre HSQC du composé P82

Les positions de Glucose et cinnamoyle sont mises en évidence par l'expérience HMBC (Figure IV. 3.5) le proton anomérique H-1' corrèle avec les carbones C-1 d'iridoïde.

Le déplacement chimique de C-10 est 64,58 ppm ; on peut dire que la cinnamoyle est liée avec l'iridoïde en carbone C-10

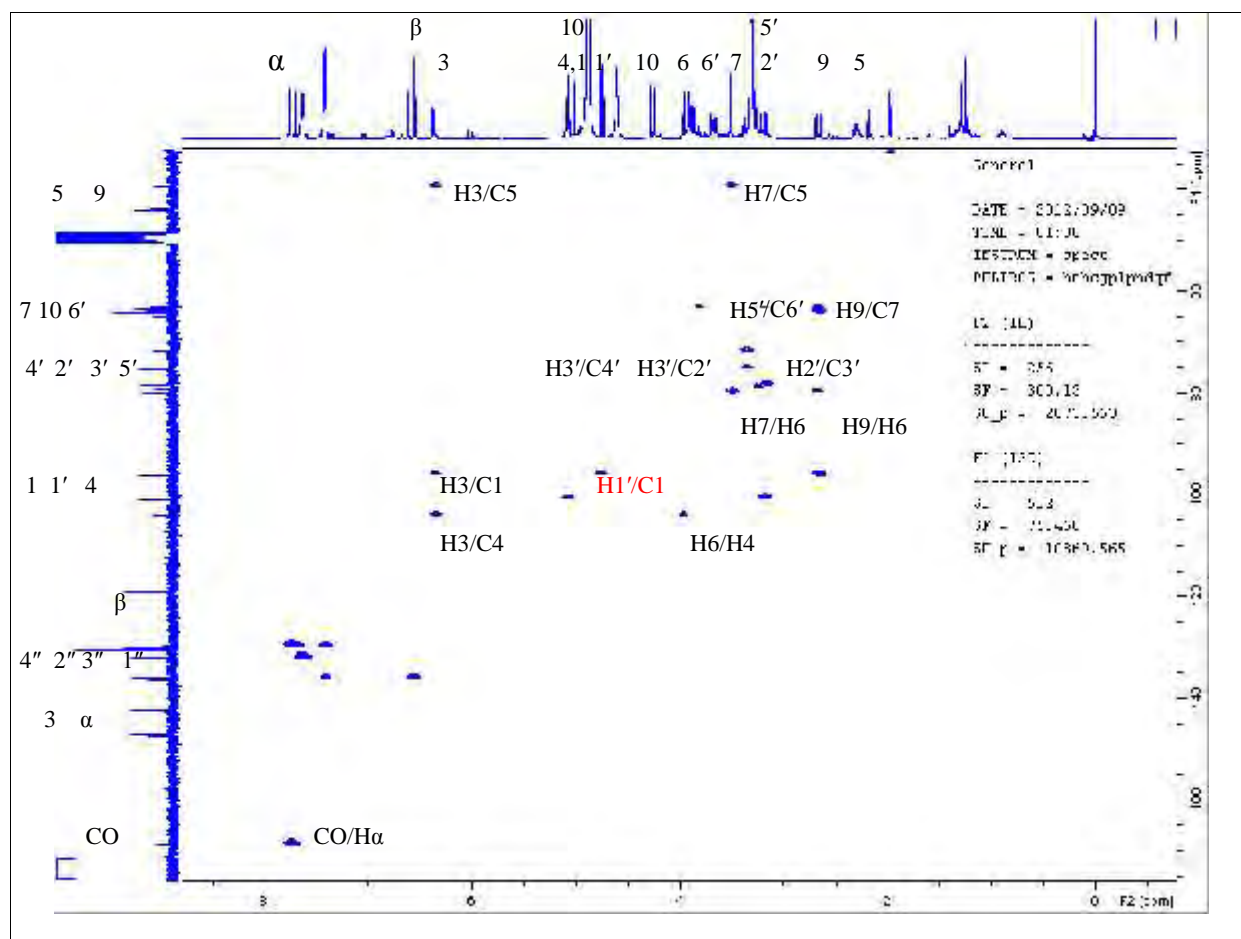


Figure IV.3.5: Spectre HMBC du composé P82

L'ensemble des données spectroscopiques relatives à ce composé, mène à la structure représentée dans la figure 3

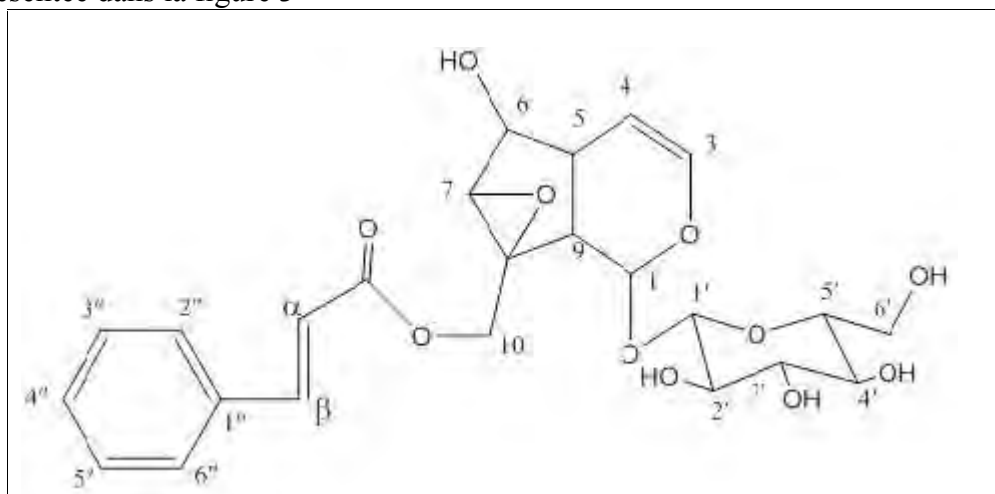


Figure 3

Le problème qui se pose est celui de résoudre la stéréochimie de la molécule au niveau de la génine, l'expérience NOESY (figure IV.3.5) constituant à mesurer les effets overhauser entre protons dans l'espace, on observe des corrélations entre :

- le proton anomère H-1' en axial et le proton H-1 de la génine, attestant ainsi que ce dernier est également de configuration β ,
- le proton H5 et le proton H9 donc on peut dire la jonction des deux cycles qui forment l'iridoïde est **cis**.
- Le proton H7 et les deux protons H6 et H1, donc H7 de configuration α
- L'absence de corrélation entre les protons H7 et H9 confirme la configuration β de H9 et H5.

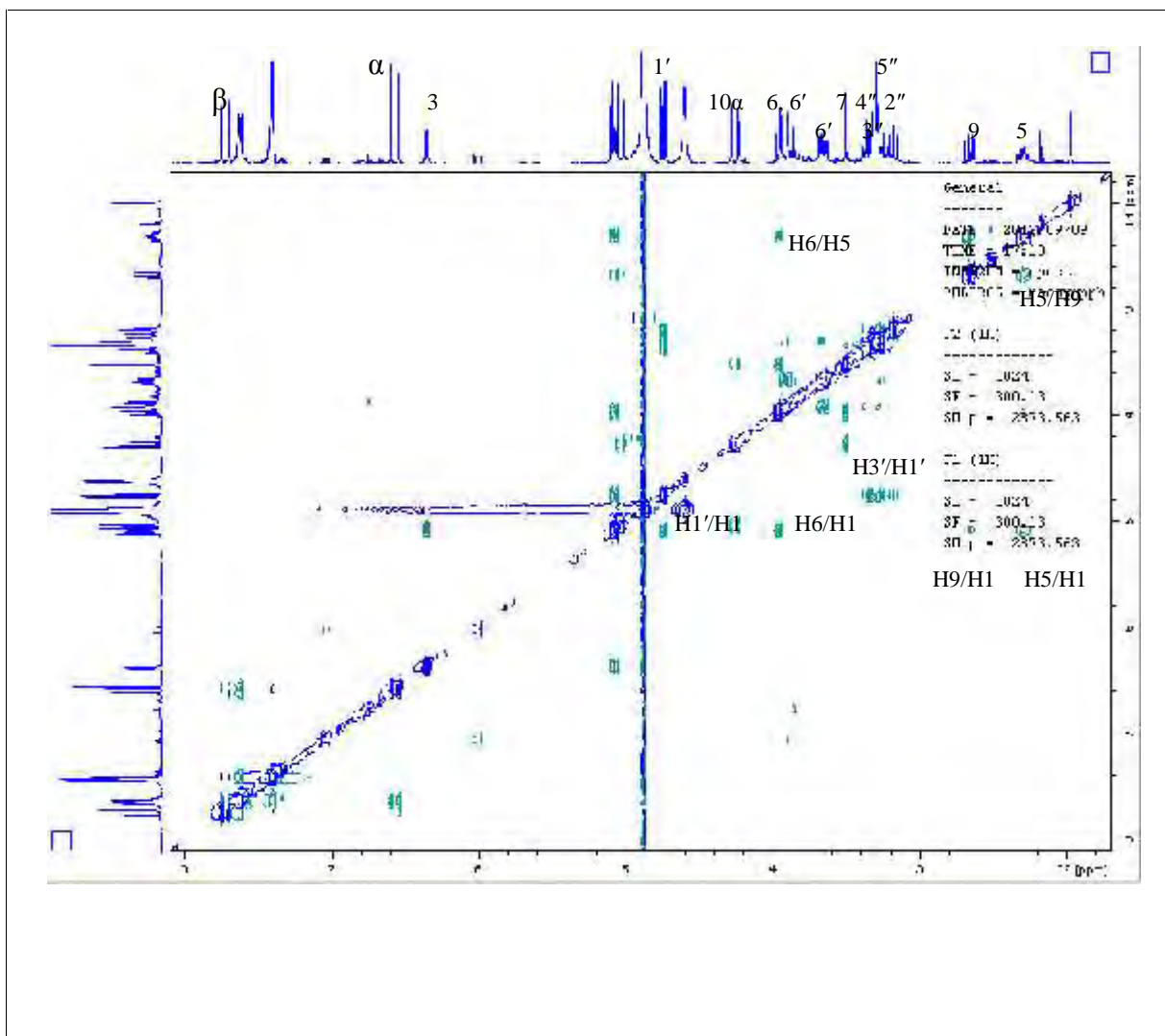
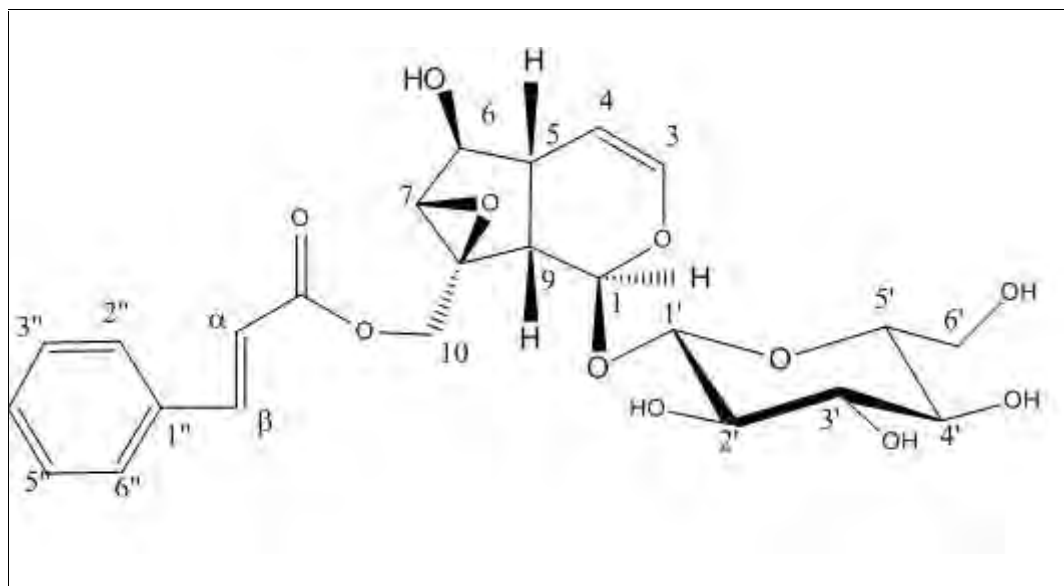


Figure IV.3.5: Spectre NOESY du composé P82

Toutes ces données spectrales conduisent sans ambiguïté à identifier ce composé



Globularine

Tableau VI.3 : Les valeurs de déplacements chimiques des protons et carbones de composé **P82**

N°	$\delta_c(ppm)$	$\delta_H(ppm)$	Multiplicités (Hz)	$J(Hz)$
cinnamoyl				
1''(C)	135,42	-----	-----	-----
2'', 6''(CH)	129,39	7,62	m	-----
3'', 5''(CH)	131,6	7,58	m	-----
4''(C H)	130,06	7,4	m	-----
β (CH)	146,74	7,73	d	16
α (CH)	118,7	6,67	d	16
CO	168,48	-----	-----	-----
Aglycone				
1(CH)	95,68	5,06	d	1
3(CH)	141,87	6,36	dd	2 ; 6
4(CH)	103,78	5,08	dd	2,2 ; 6
5(CH)	43,71	2,3	m	-----
6(CH)	79,55	3,96	dd	2,5 ; 10,8
7(CH)	62,88	3,5	d	1,1
8(C)	63,61	-----	-----	-----
9(CH)	39,1	2,66	dd	7,7 ; 12,2
10(CH)	64,58	Ha 4,27	d	12,7

		Hb	5,03	d	12,7
Glucose					
1' (CH)	100,37		4,74	d	7,4
2' (CH)	74,89		3,18	dd	9,2 ; 7,9
3' (CH)	77,89		3,36	t	9
4' (CH)	71,57		3,37	t	9
5' (CH)	78,55		3,26	m	-----
6'(CH ₂)	63,09	Ha	3,92	dd	12 ; 6
		Hb	3,66	dd	12 ; 2

Références bibliographiques :

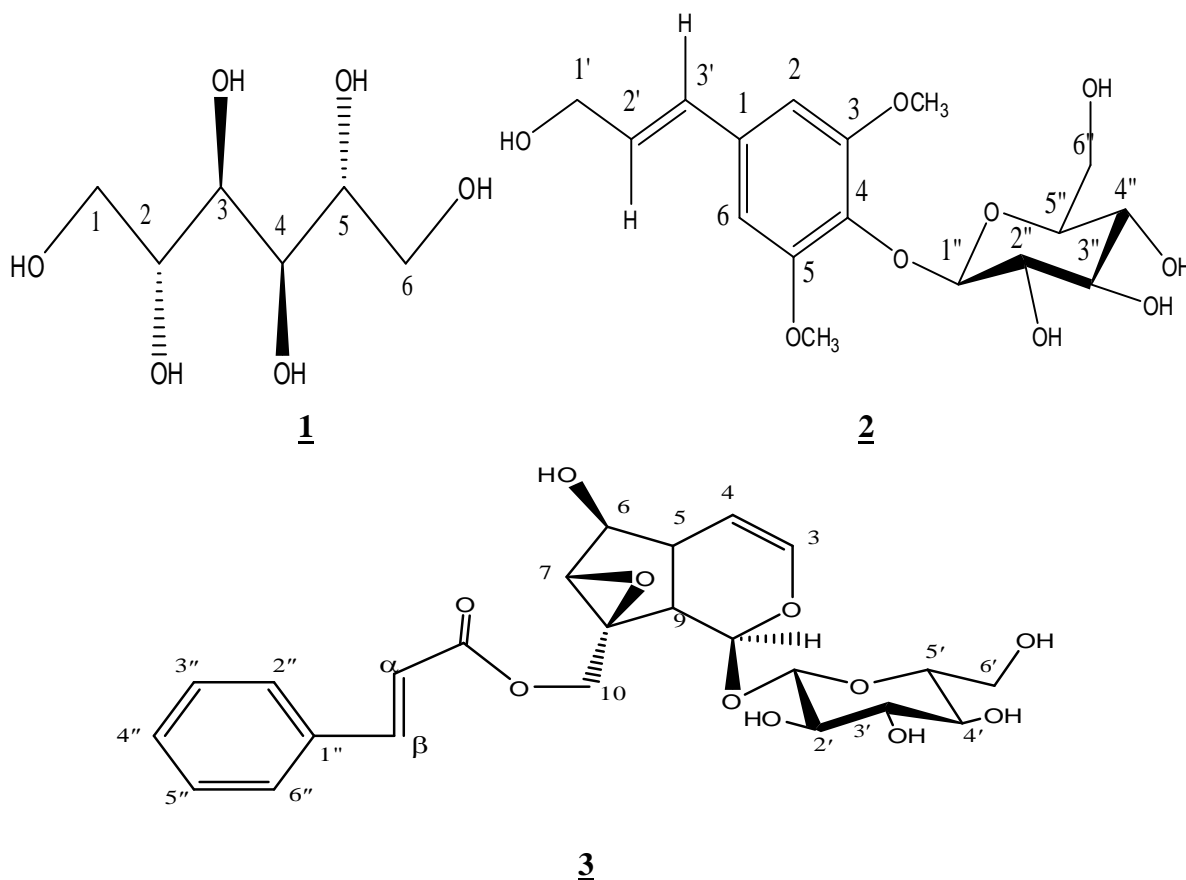
- [1] Jewison. T , Neveu.V , Lee . J, Knox .C , Liu .P , Mandal .R , Murthy .RK, Sinelnikov . I ,Wilson .M , Djoumbou .Y ,Wishart .D .S Nucleic Acids Res. J;40(Database issue):D815-20,2012
- [2] Taskova, R.M.; Gotfredsen, C.H.; Jensen, S.R., *Phytochemistry*, 67, 286-301,2006.

Présent travail rapporte une investigation phytochimique la phase n-butanol de l'extrait hydroalcoolique des parties aériennes d'une plante algérienne *Globularia alypum* L, appartenant à la famille des Globulariaceae. effectué en complément d'une étude, a permis l'isolement et l'établissement des structures de 3 composés répartissent en : un sucre réduit **Mannitol (1)**, un phénylethanoïde **Syringine (2)**, et un iridoïde :

Globularine

Les structures des produits isolés ont été établies par les techniques d'analyse spectroscopiques RMN 1D ^1H et ^{13}C *J*-modulé, RMN 2D :COSY, HSQC, HMBC et NOESY, spectrométrie de masse (ESI) et par comparaison avec les données de la littérature. Cette étude a montré encore une fois que les iridoïdes glycosylés et les phénylethanoïdes restent les constituants dominants des Globulariaceae. le sucre isolé pour la première fois dans l'espèce *Globularia alypum* L par contre les deux autres composés ont été isolés et identifiés dans le genre *Globularia*

En conclusion, notre travail a permis d'isoler et de déterminer les structures des composés isolés **1, 2 et 3** correspondant aux formules suivantes :



Résumé

Ce travail est consacré à l'étude phytochimique de la plante algérienne nommée *Globularia alypum L.*, appartenant à la famille Globulariaceae . Cette dernière largement distribuée dans le règne végétal, est connue pour sa richesse en métabolites secondaires biologiquement actifs comme les flavonoïdes, phényléthanoides et iridoïdes .

Cette étude chimique a permis l'isolement par les méthodes chromatographiques et la caractérisation par les méthodes spectroscopiques axées essentiellement sur la RMN1D et 2D, de 3 métabolites secondaires :

- 1) D- Mannitol
- 2) Syringine
- 3) Globularine

Les structures moléculaires des composés isolés ont été élucidées principalement par l'utilisation des techniques de RMN 1D et 2D (^1H , ^{13}C -modulé, COSY H-H, HSQC , HMBC et NOESY), par la spectrométrie de masse

Les résultats de ce travail seront présentés comme suit :

- Le premier chapitre est consacré à un rappel bibliographique comprenant une description botanique de la famille et du genre
- Le deuxième chapitre est consacré à une étude des polyphénols et iridoïdes.
- Les études phytochimiques de l'espèce seront présentées dans le troisième chapitre.
- Le quatrième chapitre résultats et discussion.

Mots clés : iridoïdes ,*Globularia alypum L.* , Globulariaceae , phényléthanoid

ملخص

يتمثل موضوع هذا البحث في دراسة فيتو كيميائية لنبته من الجزائر تسمى *Globularia alypum L* تابعة لعائلة *Globulariaceae*. وتتوزع بكثرة في مملكة النباتات ومعروفة بغناها بمنتجات الأيض الثانوي الفعالة بيولوجيا مثل الفلافونويدات، الفينيلاتانويدات والاريدويدات وهذه المركبات تتألف من نماذج خاصة لهذه العائلة *Globulariaceae* والجنس *Globularia*.

هذه الدراسة الكيميائية تسمح بطرق الفصل على العمود الكروماتوغرافي، و بواسطة التقنية المطيافية العالية (RMN). مما أدى إلى عزل 3 مركبات من الأيض الثانوي

- 1) D- Mannitol
- 2) Syringine
- 3) Globularine

تم تحديد الصيغ الكيميائية للمركبات المعزولة من النبتة بواسطة التحاليل المطيافية المختلفة وخاصة مطيافية الرنين النووي المغناطيسي و مطيافية الكتلة و المقارنة مع نتائج المنشورات العلمية.

نتائج هذا العمل ستوضح كما يلي :

- الفصل الأول يختص بالدراسة المرجعية للوصف النباتي للعائلة والجنس .
- الفصل الثاني يضم الدراسة النظرية للمركبات المتعددة الفينول والاريدويدات.
- الفصل الثالث يضم الدراسة الفيتوكيميائية للنبته .
- الفصل الرابع يخص النتائج و المناقشة .

الكلمات المفتاحية

Globularia alypum L , *Globulariaceae* , الفينيلاتانويدات , الاريدويدات

Abstract

This work is devoted to the phytochemical study of the Algerian plant named *Globularia alypum L*, belonging to the family *Globulariaceae*. This latter is widely distributed in the plant kingdom is known for its richness in secondary metabolites such as flavonoids phenylethanoids and iridoids.

This chemical study has led to the isolation by chromatographic methods and characterization by spectroscopic methods focused mainly on the RMN1D and 2D, 3 secondary metabolites:

- 1) D- Mannitol
- 2) Syringin
- 3) Globularin

The molecular structures of the isolated compounds were elucidated primarily through the use of techniques 1D and 2D NMR (^1H , ^{13}C J-modulated HH COSY, HSQC HMBC and NOESY), by mass spectrometry.

The results of this work will be presented as follows:

- The first chapter is devoted to a reminder bibliographic including a description of the botanical family and genus
- The second chapter is devoted to a study of polyphenols and iridoids.
- The phytochemical studies of the species will be presented in the third chapter.
- The fourth chapter, results and discussion.

Keywords: iridoids ,Globulraia alypum L, Globulraiceae, phénylethanoid