

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

Université Mentouri - Constantine
FACULTE DES SCIENCES
EXACTES
DEPARTEMENT DE CHIMIE

N° d'ordre :

Série :

THESE

Présentée pour obtenir le diplôme de Doctorat d'Etat
En Chimie Organique - Option Phytochimie

Thème

**Recherche et Détermination Structurale des
Métabolites Secondaires de *Genista tricuspidata*
(Fabaceae), et *Haloxylon scoparium* (Chenopodiaceae).**

Par :

Mme. BOUMAZA OUAHIBA
Née KHALED

Sous la direction du Professeur :

BENAYACHE Fadila

Devant le jury :

Mr. BENAYACHE Samir	Professeur,	Univ. Mentouri Constantine	Président
Mme. BENAYACHE Fadila	Professeur,	Univ. Mentouri Constantine	Directrice de thèse, Rapporteur.
Mr. BELATTAR Abdelhamid	Professeur,	Univ. Mentouri Constantine	Examineur
Mr. LEGSEIR Belkacem	Professeur,	Univ. Badji Mokhtar Annaba	Examineur
Mr. AOUF Noureddine	Professeur,	Univ. Badji Mokhtar Annaba	Examineur
Mr. BENKOUIDER Abdelhamid	M. C.,	Univ. El Hadj Lakhdar Batna	Examineur

Dédicaces

♥ *A ma **famille** que dieu la protège.*

♥ *A mes chères **amies** pour leur soutien moral.*

Je dédie ce modeste travail.

OUAHIBA.

Remerciements

Le travail de thèse rapporté dans ce mémoire a été effectué au sein du laboratoire de phytochimie et analyses physico-chimiques et biologiques. C'est pourquoi mes remerciements vont en premier lieu à mon directeur de thèse le professeur **Fadila Benayache**. Qu'elle trouve ici l'expression de ma grande gratitude pour avoir su me faire profiter de son expérience scientifique avec beaucoup de compétence et d'efficacité.

J'exprime ma profonde reconnaissance à Monsieur le professeur **Samir Benayache** pour l'honneur qu'il m'a fait d'accepter de présider le jury de cette thèse. Je le remercie également pour sa contribution dans la réalisation de ce travail.

Je tiens à remercier messieurs, **N. Aouf**, **B. Legseir**, professeurs à l'université de Annaba d'avoir accepté de juger ce travail.

Je remercie également monsieur **A. Benkouider**, maître de conférence à l'université de Batna pour sa participation au jury.

Je suis sensible à l'honneur que me fait Monsieur **A. Belattar** professeur à l'université de Constantine, en acceptant de juger ce travail.

Mes remerciements vont à madame **E. Seguin** Professeur à l'université de Rouen (France) et monsieur **J.C. Chalcha** professeur à l'université de Clermont Ferrant (France) pour leur accueil et leur aide précieuse durant mes courts stages dans leurs laboratoires.

Je tiens à remercier vivement Monsieur **J.B. Barrera** Professeur à l'université La Laguna (Espagne) pour son accueil, sa disponibilité, ses conseils ainsi que monsieur **V.P. Garcia** professeur à l'université La Laguna pour l'enregistrement des spectres RMN mono et bidimensionnelle, et tous le personnel du laboratoire de l'université La Laguna.

Ma reconnaissance va également à **Ratiba Mekkiou** maître de conférence à l'université de Constantine pour ses encouragements et son aide précieuse, ainsi que monsieur **Ramdane Seghiri** dont la collaboration a été importante dans ce travail.

J'exprime également ma gratitude envers Monsieur et madame **Bouchemat** professeurs à l'université Mentouri de Constantine pour leur aide et leur disponibilité sans réserve.

L'ensemble de mes collègues du laboratoire trouvera ici l'expression de toute ma sympathie, pour avoir su me soutenir et m'encourager au cours de ce travail. Je cite en particulier : **Zahia, Nadra, Sabrina, Hayet, Ouahiba, Ali, Lahcène, Messaoud.**

Je remercie spécialement Monsieur **S. Aida**, Professeur au Département de physique à l'université de Constantine, pour m'avoir permis d'utiliser l'appareillage de son laboratoire.

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

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE	1
-----------------------------	---

CHAPITRE I : Le Matériel végétal étudié

I-a : La famille des légumineuses	2
I-a-1 : Généralités	2
I-a-2 : Classification	2
I-a-2-1 : La sous famille des papilionacées ou fabacées.....	3
I-a-3 : Importance économique des fabacées	3
I-a-4 : Importance thérapeutique	4
I-a-5 : Les métabolites secondaires les plus courants chez les fabacées..	4
I-a-5 -1- Les alcaloïdes	5
I-a-5 -2- Les coumarines	6
I-a-5 -3- Les flavonoïdes et les isoflavonoïdes	6
I-a-6 Le genre <i>Genista</i>	11
I-a-6-1 : Introduction	11
I-a-6-2 : Généralités	11
I-a-6-3 : Description du genre	11
I-a-6-4 : Distribution et aire géographique	11
I-a-6-5 : Caractère chimique du genre <i>Genista</i>	12
I-a-6-6 : Intérêt biologique du genre <i>Genista</i>	16
I-b :La famille des chénopodiacées.....	17
I-b-1 : Généralités.....	17
I-b-2 : Classification classique des chénopodiacées.....	18
I-b-3 : Importance économique des chénopodiacées.....	18
I-b-4: Genre <i>Haloxylon scoparium</i>	18

I-b-4-1: Description du genre.....	18
I-b-4-2 : Caractère thérapeutique.....	19
I-b-4-3 : Les métabolites secondaires antérieurement isolés de <i>H.S.</i> ..	19
Références bibliographiques	21

Chapitre II : Les métabolites secondaires

II-1 : Introduction.....	26
II-2 : Les alcaloïdes.....	27
II-3 : Les terpénoïdes.....	28
II-3-a : Les monoterpènes.....	29
II-3-b : Les sesquiterpènes.....	30
II-3-c : Les diterpènes.....	32
II-3-d : Les triterpènes.....	34
II-3-e : Les stéroïdes.....	39
II-3-f : Les stérols.....	39
II-4 : Les composés phénoliques.....	41
II-4-a : Les tanins.....	41
II-4-b : Les coumarines.....	41
II-4-c : Les flavonoïdes.....	42
II-4-e : Les isoflavonoïdes.....	45
Références bibliographiques	46

Chapitre III : Travaux personnels

III-I- Etude chimique de L'espèce <i>G. tricuspidata</i> Desf.	50
III-1- 1 : Etude bibliographique	50
III-1-2 : Description de la plante	50
III-1-3 : Place dans la systématique	51
III-1-4: Extraction et fractionnement.....	51
III-1-5 : Etude des extraits	54
III-1-5-A: Traitement de l'extrait éther de pétrole.....	54
III-1-5-B : Traitement de l'extrait chloroforme.....	55
III-1-5-B-1 : Séparation chromatographique sur colonne.	56
III-1-5-B-2 : Etude des fractions de l'extrait CHCl ₃	58
III-1-5-C : Séparation et purification des composants de l'extrait <i>n</i> -	
Butanol.....	64
III-1-5-C-1 : Séparation sur colonne.....	65
III-1-5-C-2 : Etude des fractions de l'extrait <i>n</i> -butanol...66	
III-2 : Etude chimique de <i>H. scoparium</i>	72
III-2-1 : Etude botanique.....	72
III-2-2 : Choix du matériel végétal.....	73
III-2-3 : Travaux antérieurs.....	73
III-2-4 : Extraction	73
III-2-5 : Séparation chromatographique.....	75
III-2-5-a : Séparation et purification de l'extrait CHCl ₃	75
III-2-5-b : Chromatographie de l'extrait CHCl ₃	76
Références bibliographiques.....	80

Chapitre IV : Résultats et Discussions

IV-1 : Identification des produits isolés de <i>G. tricuspidata</i> Desf.....	81
IV-1-A : Les produits isolés de la phase chloroforme.....	81
IV-1-A1 : Le composé ok4-1.....	81
IV-1-A2 : Le composé ok6-5.....	85
IV-1-A3 : Le composé ok9-3-8.....	98
IV-1-A4 : Le composé ok13-1.....	106
IV-1-A5 : Le composé ok13-2.....	113
IV-1-A6 : Le composé ok17-5.....	120
IV-1-B : Les produits isolés de la phase butanolique.....	125
IV-1-B1 : Le composé ob ₃₋₁	125
IV-1-B2 : Le composé ob ₃₋₂₋₂	130
IV-1-B3 : Le composé ob11-3.....	134
IV-1-B4 : Le composé ob17-4-1.....	138
IV-1-B5 : Le composé ob17-5.....	147
IV-1-B6 : Le composé ob20F5-1.....	148
IV-1-B7 : Le composé ob20F7-1.....	153
IV-1-B8 : Le composé ob20F7-2.....	158
IV-1-B9 : Le composé ob20F7-3.....	159
IV-2 : Identification des produits isolés de la phase chloroforme de <i>H.</i> <i>Scoparium</i>	160
IV-2-1 : Le composé 1 H3-2-2.....	160
IV-2-2 : Le composé 2 H-4.....	165
IV-2-3 : Le composé 3 H6-8-1.....	166
IV-2-4 : Le composé 4 H10-c.....	170

Références bibliographiques	181
-----------------------------------	-----

Chapitre V : Partie expérimentale

V-I : Méthodes chromatographiques analytiques.....	183
V-I-1 : Chromatographie sur couche mince	183
V-I-2 : Chromatographie liquide à haute performance.....	183
V-II : Méthodes préparatives.....	184
V-II-I : Chromatographie liquide sur colonne (C.C).....	184
V-II-I-1 : Chromatographie d'adsorption.....	184
V-II-I-2 : Chromatographie d'exclusion.....	184
V-II-II : Chromatographie sur plaques préparatives.....	184
V-II-III : Chromatographie sur papiers.....	184
V-III : Méthodes physico-chimiques.....	185
V-III-I : Pouvoir rotatoire spécifique.....	185
V-III-II : Spectres d'absorption ultraviolet.....	185
V-III-III : Spectre de masse.....	186
V-III-IV : Spectre de résonance magnétique nucléaire.....	186
V-IV : Méthodes chimiques.....	186
V-IV-I : Hydrolyse acide des flavonoides O glycosilés.....	187
V-IV-II : Réaction de Libermann-Burchard pour les triterpènes.	187
Références bibliographiques	188
Conclusion générale	189

INTRODUCTION GENERALE :

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en dermatopharmacie. Parmi ces composés, on retrouve dans une grande mesure les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapeutique. En effet, l'industrie pharmaceutique moderne s'appuie sur la diversité des métabolites secondaires végétaux pour trouver de nouvelles molécules aux propriétés biologiques inédites. Cette source semble inépuisable puisque seule une petite partie des 400 000 espèces végétales connues ont été explorées sur les plans phytochimique et pharmacologique, et que chaque espèce peut contenir jusqu'à plusieurs milliers de constituants différents [1].

Les plantes sont extrêmement complexes du point de vue de leur composition chimique. On estime qu'elles sont formées de plusieurs milliers de constituants différents dont quelques uns seulement sont responsables de l'effet thérapeutique ou l'effet toxique [2]. Il est donc indispensable de connaître les principes actifs des plantes médicinales afin d'étudier leur efficacité, leur mode d'action, et bien entendu leur effet secondaire sur la santé humaine.

Dans le cadre de la recherche de ce type de molécules, il est préférable de baser le choix des plantes à étudier sur l'emploi de ces dernières en médecine traditionnelle ou populaire. Une autre possibilité est de considérer l'écosystème dans lequel se développent les espèces végétales (Sahara, montagne, aquatique) ou encore l'endémisme [3].

La flore Algérienne avec ses 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques dont 15% endémiques [4], reste très peu explorée sur le plan phytochimique comme sur le plan pharmacologique. C'est ce qui nous a encouragé à entreprendre ce travail à la recherche de nouvelles molécules à activité biologique potentielle.

Ce travail s'inscrit dans le cadre d'un projet de recherche lancé par notre équipe et qui a pour but l'étude systématique des plantes médicinales ou endémiques, et consiste en l'extraction, l'isolement et l'identification de leurs métabolites secondaires.

Sur la base de ces hypothèses, cette étude s'est attelée à l'investigation phytochimique de *Genista Tricuspidata* Desf, plante endémique appartenant à la famille des légumineuses, et *Haloxylon scoparium*, plante médicinale appartenant à la famille des chénopodiacées.

But de notre étude

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples misent à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en dermopharmacie. Parmi ces composés on retrouve dans une grande mesure les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapeutique. En effet, l'industrie pharmaceutique moderne s'appuie sur la diversité des métabolites secondaires végétaux pour trouver de nouvelles molécules aux propriétés biologiques inédites. Cette source semble inépuisable puisque seule une petite partie des 400 000 espèce végétales connues ont été investiguées sur les plans phytochimique et pharmacologique, et que chaque espèce peut contenir jusqu'à plusieurs milliers de constituants différents (Hostettmann et al., 1986).

Les plantes sont extrêmement complexes du point de vue de leur composition chimique. On estime qu'elles sont formées de plusieurs milliers de constituants différents dont quelques uns seulement (ou parfois un seul) sont responsables de l'effet thérapeutique ou l'effet toxique [1].

Il est donc indispensable de connaître les principes actifs des plantes médicinales afin d'étudier leur efficacité, leur mode d'action, et bien entendu leur effet secondaire sur la santé humaine.

Dans le cadre de la recherche de molécules, il est donc préférable de baser le choix des plantes à étudier sur l'emploi de ces dernières en médecine traditionnelle ou populaire, une autre possibilité est de considérer l'écosystème dans lequel se développent les espèces végétales (Sahara, montagne, aquatique). Ou encore l'endémisme [2].

La flore Algérienne avec ses 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques dont 15% endémiques [3], reste très peu explorée sur le plan phytochimique comme sur le plan pharmacologique. C'est ce qui nous a encouragé à entreprendre ce travail à la recherche de nouvelles molécules à activité biologique potentielle.

Cette thèse s'inscrit dans le cadre d'un projet de recherche lancé par notre équipe et qui a pour but l'étude systématique des plantes médicinales ou endémique, et consiste en l'extraction, l'isolement et l'identification de leurs métabolites secondaires.

Sur la base de ces hypothèses, cette étude s'est attelée à l'investigation phytochimique de *Genista Tricuspidata Desf*, plante endémique appartenant à la famille des légumineuses, et *Haloxylon scoparium*, plante médicinale appartenant à la famille des chénopodiacées.

CHAPITRE I

I LA FAMILLE DES LEGUMINEUSES

I-1 GENERALITES:

La famille des **légumineuses**, communément appelées **fabales** [4] compte 700 genres et 17.000 espèces environ, répartis dans le monde entier [5].

L'origine de cette famille se trouve chez les rosacées à gousse appelées par les premiers botanistes «**légume**» d'où le nom donné à la famille [6]. Elles ont des feuilles simples ou composées, ordinairement alternes et stipulées, les fleurs sont du type 5 avec 2 verticilles d'étamines mais un seul carpelle qui donnera une gousse bivalve ou légume [3,5]. C'est un des plus importants groupes de plantes pour l'homme, servant de cultures, de fourrages, d'engrais vert et produisant un grand nombre de composés utiles comme des médicaments, des poisons, des teintures ou des parfums. Ces espèces vont des herbes naines de l'arctique et des montagnes aux immenses arbres de la forêt tropicale.

fig : I 1 diversités des légumineuses

I-2 CLASSIFICATION:

En fait, les spécialistes s'accordent à classer cette superfamille en trois groupes, certains font de l'ensemble de ces derniers une famille «**Leguminosae juss.** » ou «**Fabales** » et la divise en trois sous familles «**Caesalpinioideae, Mimosoideae et papilionoideae** ≡ **Faboideae** », d'autres font de ces trois groupes des familles «**Caesalpinaceae, Mimosaceae et Fabaceae** » [7]:

- ✓ Les deux premières (**Caesalpinaceae et Mimosaceae**) : regroupent surtout des buissons et des arbres tropicaux et sub-tropicaux comme: *Mimosa, Acacia*.
- ✓ La troisième (**Fabaceae**) : compte surtout des plantes herbacées, cosmopolites, elle est particulièrement bien représentée dans les zones tempérées comme: Trèfles, pois, haricots,... etc. Cette dernière fait l'objet de notre présente étude.

I-2-1 La sous famille des papilionacées ou fabacées :

Les fabacées (papilionacées) constituent la sous-famille la plus nombreuse avec 350 genres et 10.400 espèces environ [7, 8]. Elle est subdivisée en nombreuses tribus. Ces tribus sont à leur tour subdivisées en plusieurs genres.

I-3 IMPORTANCE ECONOMIQUE DES FABACEES:

L'intérêt agronomique des fabacées provient en premier lieu de leur aptitude à s'associer à des bactéries du sol (*Rhizobiacées*), spécialement la bactérie « *Rhizobium leguminosafum* », pour former des organes symbiotiques racinaires « nodules » au sein desquels ces bactéries transforment l'azote atmosphérique en une forme assimilable par la plante, grâce à quoi, les fabacées peuvent produire en abondance des protéines végétales même en l'absence de fertilisation azotée. Pour cela, elles sont dites plantes améliorantes [9, 10].

L'intérêt alimentaire découle du fait que les fabacées constituent une source très importante de protéines et lipides et rentrent dans l'alimentation humaine et animale [6, 11] : tels que le Pois (*Pisum*), la Féverole (*Faba*), le Haricot (*Phaseolus*), le Pois chiche (*Cicer*) et les Lentilles (*Ervum*), ou encore le soja et les arachides.

L'intérêt industriel résulte du fait que beaucoup d'espèces de cette famille fournissent des produits industriels tels que le Soja qui est utilisé à grande échelle dans l'élevage industriel, les *Derris* et les *Lonchocarpus* qui donnent les roténoïdes insecticides [6].

I-4 Importance thérapeutique :

Beaucoup d'espèces de fabacées ont des propriétés thérapeutiques et sont utilisées en médecine traditionnelle. Dans ce qui suit, nous allons citer quelques exemples d'espèces de très grande importance alimentaire et ayant des propriétés médicinales : [12, 13].

- ▼ *Trigonella foenum graecum* (**fenugrec**) : Son nom vernaculaire **halba**. C'est une plante herbacée originaire du Proche Orient, aujourd'hui largement cultivée. Le fenugrec est utilisé dans le traitement des plaies, diarrhées, acné, déshydratation, anémie, bronchite, rhumatismes, maux d'estomac, hypertension artérielle, constipation. Cette plante est également consommée comme fortifiante par les femmes après l'accouchement. Les graines ont des propriétés nutritives importantes et des effets hypocholestérolémiants, elles sont traditionnellement utilisées comme stimulant de l'appétit et pour la prise de poids.
- ▼ *Arachis hypogaea* L. (Arachide) : l'huile d'Arachide est utilisée comme solvant médicamenteux. Il a également des propriétés vitaminiques P : action antihémorragique au niveau des capillaires [14].

▼ *Glycine soja* Siebold et Zucc. : C'est une espèce de très grande richesse en protides. Pour cette raison, la farine de Soja est un élément diététique intéressant et entre dans la constitution de milieux de culture destinés à la production d'antibiotiques. L'huile de Soja d'une très grande importance économique est utilisée en thérapeutique pour l'alimentation parentérale [14].

I-5 LES METABOLITES SECONDAIRES LES PLUS COURANTS CHEZ LES FABACEES :

La recherche bibliographique réalisée sur cette axe montre que la majorité d'études phytochimiques effectuées sur un nombre important d'espèces de la famille des fabacées certifie la richesse ainsi que la diversité structurale de ces dernières en métabolites secondaires tels que : les **alcaloïdes** [15-16], les **coumarines** [17], les **composés phénoliques** de type **flavonique** et **isoflavonique** [18-19], et en petites quantités les **stéroïdes** [20] et les **saponosides** [21].

Pour notre part, nous allons parler des métabolites secondaires les plus distribués dans les différentes espèces de la famille et qui sont les alcaloïdes, les coumarines, les flavonoïdes et les isoflavonoïdes, ainsi que de leurs rôles pharmacologiques.

I-5-1 Les alcaloïdes :

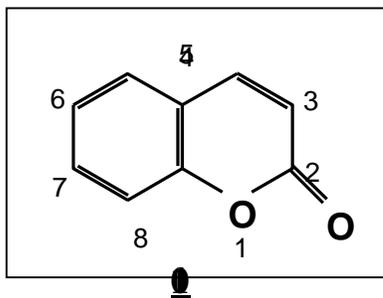
Les alcaloïdes sont des substances organiques d'origine naturelle (le plus souvent végétale), renfermant de l'azote, généralement incorporé dans un système hétérocyclique. Ce sont des substances particulièrement intéressantes pour leurs activités pharmacologiques très variées ainsi que par leur toxicité [22-23]. Ils agissent en tant que :

- ▼ Dépresseurs au niveau du système nerveux central (morphine, scopolamine)
- ▼ Stimulants (caféine, strychnine)
- ▼ Anesthésiques locaux (cocaïne)
- ▼ Ganglioplégiques (spartéine, nicotine)
- ▼ Parasympathomimétique (physostigmine ou ésérine, pilocarpine).

Structures chimiques de quelques alcaloïdes isolés de certaines espèces de la famille des fabacées :

I -5-2 Les coumarines :

Le nom de **coumarine** vient de « coumarou », nom vernaculaire de la « fève Tonka » qui est le fruit d'un arbre de la Guyane (*Dipteryx odorata* Willd, syn. *Coumarouna odorata* Aubl., Fabaceae). De ce fruit fût isolée en 1820 pour la première fois une substance cristalline odorante appelée **coumarine 10** [24].



Les coumarines, sont des molécules largement répandues dans tout le règne végétal, ce sont les 2H-1-benzopyran-2-ones, considérées comme étant les lactones des acides 2-hydroxy-7- cinnamiques [4]. Elles existent sous forme libre ou encore liées à des sucres (hétérosides). La coumarine et ses dérivés ont des actions photo biologiques [24], bactériostatiques et anti fongiques [25- 26], comme ils ont un effet anti-oedémateux [4,27]

I-5-3 Les flavonoïdes et les isoflavonoïdes :

L'une des particularités importantes de la famille des fabacées est la production des métabolites secondaires spécifiques appelés **isoflavonoïdes** impliqués dans la signalisation symbiotique, dans les réactions de défense et présentant un grand intérêt pharmaceutique [28].

Ce sont des substances polyphénoliques d'une diversité structurale importante. Dans ce qui suit nous allons nous limiter à citer quelques exemples de flavonoïdes et d'isoflavonoïdes isolés d'espèces de cette famille.

Tableau N° I-1: Quelques flavonoïdes et isoflavonoïdes isolés d'espèces
de la famille des fabacées.

Nom de l'espèce	Nom du produit isolé	N° de structure		Réf.
<i>Dalbergia sissou</i>	7- <i>O</i> -[$\hat{\alpha}$ - <i>D</i> -apiofuranosyl-(1→5)- $\hat{\alpha}$ - <i>D</i> -apiofuranosyl-(1→6)- $\hat{\alpha}$ - <i>D</i> -glucopyranoside] biochanine A	13	13a	28
	7- <i>O</i> -[$\hat{\alpha}$ - <i>D</i> -apiofuranosyl-(1→5)- $\hat{\alpha}$ - <i>D</i> -glucopyranoside] tectorégénine		13b	
<i>Retama sphaerocarpa</i> <i>Boissier</i>	7- <i>O</i> - $\hat{\alpha}$ -glucoside 6'-methoxy-3',4'-methylènedioxyisoflavone.	14	14a	29
	7- <i>O</i> - $\hat{\alpha}$ -glucoside génistéine		14b	
	7- <i>O</i> - $\hat{\alpha}$ -glucoside daïdzéine		14c	
<i>Trigonella foenum-graecum</i>	3- <i>O</i> -[$\hat{\alpha}$ - <i>D</i> -glucosyl (1→2)- $\hat{\alpha}$ - <i>D</i> -galactoside] kaempférol.	15	15a	30
	3- <i>O</i> -[$\hat{\alpha}$ - <i>D</i> -glucosyl (1→2)- $\hat{\alpha}$ - <i>D</i> -galactoside]		15b	
	7- <i>O</i> - $\hat{\alpha}$ - <i>D</i> -glucoside kaempférol. 3- <i>O</i> -[$\hat{\alpha}$ - <i>D</i> -glucosyl (1→2)(6''- <i>O</i> -acetyl)- $\hat{\alpha}$ - <i>D</i> -galactoside] 7- <i>O</i> - $\hat{\alpha}$ - <i>D</i> -glucoside kaempférol		15c	
	3- <i>O</i> -[$\hat{\alpha}$ - <i>D</i> -glucosyl (1→2)- $\hat{\alpha}$ - <i>D</i> -galactoside] 7- <i>O</i> - $\hat{\alpha}$ - <i>D</i> -glucoside quercétine		15d	

Tableau N°I-1: Quelques flavonoïdes et isoflavonoïdes isolés d'espèces de la famille des fabacées (suite).

Nom de l'espèce	Nom du produit isolé	N° de structure		Réf.
<i>Lupinus luteus</i>	8-C- \hat{a} -D-glucopyranoside génistéine	16	16a	31
	8-C- \hat{a} -D-glucopyranoside orobol		16b	
<i>Lupinus luteus</i>	8-C-glucopyranoside 4'-O-glucopyranoside génistéine	17	17a	32
	5-methoxy 4',7-di-O-glucopyranoside génistéine		17b	
	8-C- \hat{a} -D-glucopyranoside génistéine		17c	
	7-O-glucopyranoside génistéine		17d	
	4',7-di-O-glucopyranoside génistéine		17e	
<i>Lupinus polyphyllus xarborens</i>	2'-hydroxy 7-O- glucopyranoside 8-C- \hat{a} -D-glucopyranoside génistéine	18	18a	33
	7-O- \hat{a} -D-glucopyranoside génistéine		18b	
	4',7-di-O-glucopyranoside génistéine		19c	
	4'-O-glucopyranoside génistéine		18d	
	2'-hydroxy génistéine		18s	
	2'-hydroxy7-O- \hat{a} -D-glucopyranoside génistéine		18f	
<i>Dalbergia olivari</i>	2', 5' diméthoxy génistéine	19	19a	34
	8-C-geranyl 4'-méthoxy génistéine		19b	
	7-hydroxy 4'-methoxy isoflavone		19c	
	5, 7-dihydroxy 4'-methoxy isoflavone		19d	
	4', 5, 7-trihydroxyisoflavone		19e	
<i>Spartium junceum</i>	5, 8-dihydroxy 4'-methoxy-6, 7-méthylène dioxysiflavone	20	20a	35
	4', 5, 8-trihydroxy 7-O- β -L-rhamnopyranoside flavone		20b	

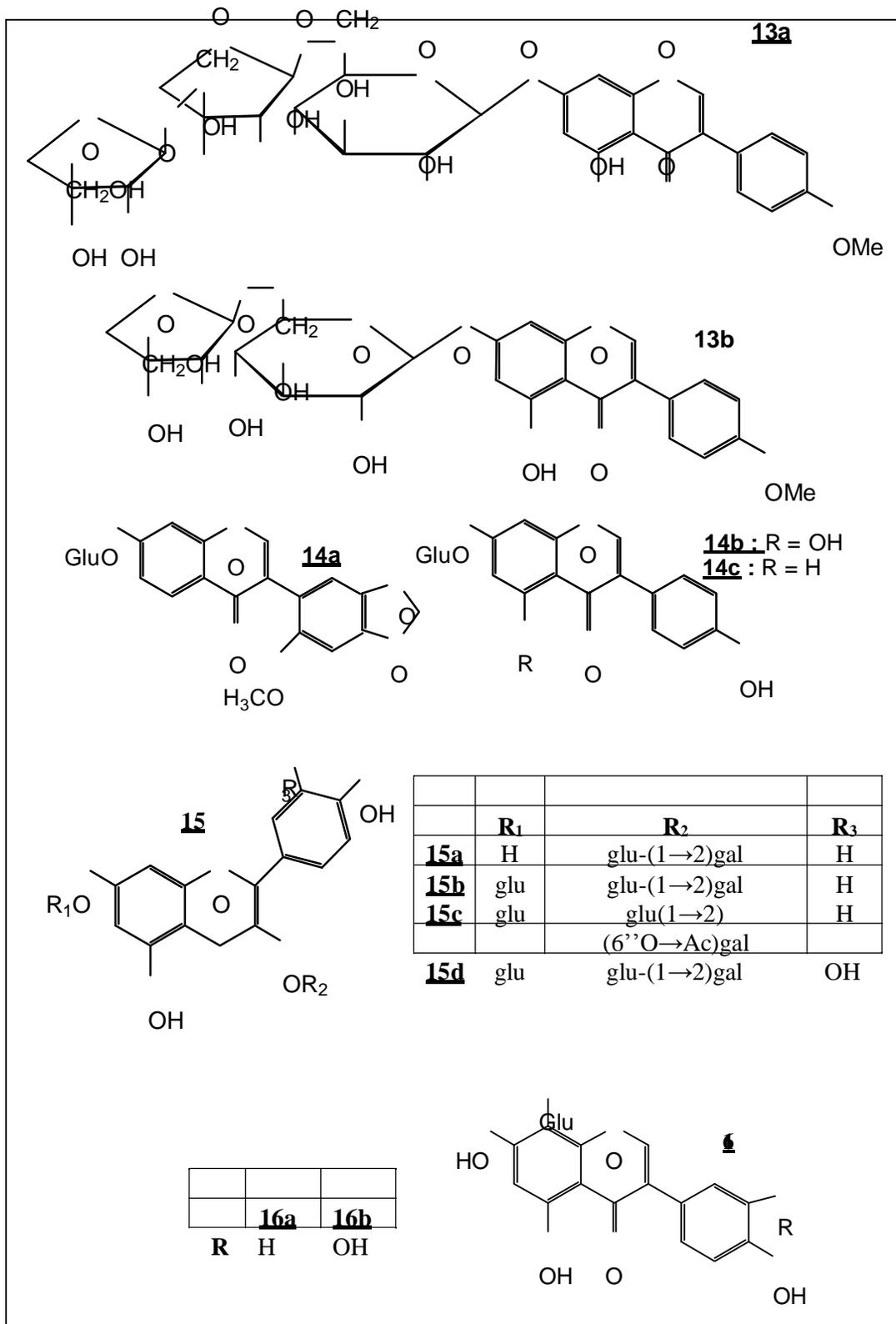


Schéma I-6 : Structures chimiques de quelques flavonoïdes et isoflavonoïdes isolés de certaines espèces de la famille des fabacées

I-6 LE GENRE GENISTA :

I-6-1 INTRODUCTION :

Parmi les 700 genres de la famille des fabacées, en Algérie on trouve environ 53 genres et 337 espèces [3]. Pour notre part, nous nous sommes intéressés dans ce travail au genre *Genista* qui compte environ 150 espèces réparties en Europe et en région méditerranéenne [29]. D'après la bibliographie, ce genre montre une richesse en composés phénoliques, notamment les isoflavonoïdes connus pour leurs activités biologiques diverses.

I-6-2 GENERALITES :

Le genre *Genista* a été décrit pour la première fois par LINNE en 1753, il appartient à la famille des légumineuses (fabales), sous-famille des papilionacées (fabacées) et à la tribu des génistées [29].

Quezel et Santa en 1963 comptent pour ce genre 16 espèces en Algérie dont 11 endémiques [3]

I-6-3 DESCRIPTION DU GENRE :

Calice à 5 segments, les deux supérieurs libres ou soudés, les trois inférieurs formant une lèvre à 3 dents profondes, rarement calice campanulé à 5 dents subégales. Carène oblongue, droite ou presque, biggibeuse latéralement. Etendard étroit, 10 étamines monadelphes en tube non fondu, 5 longues et 5 courtes. Stigmate oblique. Gousse déhiscente, variable. Arbrisseaux épineux ou parfois aphyllés et junciformes. Feuilles 1-3 folioles, stipulées ou non, graines non arillées [3].

I-6-4 DISTRIBUTION ET AIRE GEOGRAPHIQUE :

Le genre *Genista* est largement distribué dans le bassin méditerranéen, en Europe et en Afrique du nord (Libye, Tunisie, Algérie et Maroc). En Algérie, il est localisé dans la région est et sud est et au grand Sahara [30].

I-6-5 CARACTERE CHIMIQUE DU GENRE GENISTA :

D'après l'étude bibliographique que nous avons menée, les travaux phytochimiques effectués sur le genre *Genista* ont permis essentiellement l'isolement d'alcaloïdes [31-32], et de flavonoïdes notamment les isoflavonoïdes [33-34]. Le tableau I-2 rassemble un nombre d'espèces du genre *Genista* et leur contenu flavonique, les structures respectives sont données dans le schéma I-7.

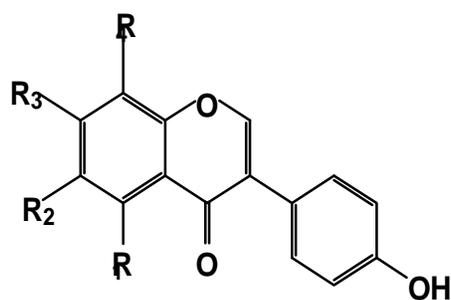
Tableau N°I-2: Quelques flavonoïdes et isoflavonoïdes isolés de différentes espèces du genre *Genista*.

Nom de l'espèce	Nom du composé isolé	N° de la structure		Réf.
<i>G. ephedroides</i>	Génistéine	21	21a	57
	Isoprunétine		21b	
	Wighteone		21c	
	Génistine		21d	
	Génisteone		21e	
	8-C-glucoside génistéine		21f	
	Alpinumisoflavone		21g	
	Hydroxyalpinumisoflavone		21h	
	Apigénine		21i	
	Ephedroïdine		21j	
	Isokaempféride		21k	
<i>G. cinerea</i>	8-C-glucosode génistéine	22	22a	58
	6-C-glucosode génistéine		22b	

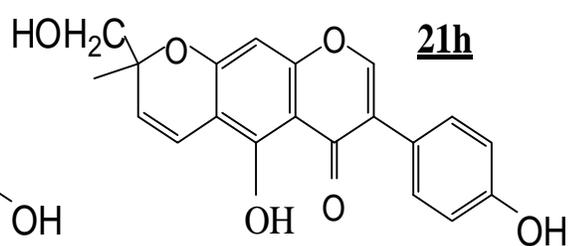
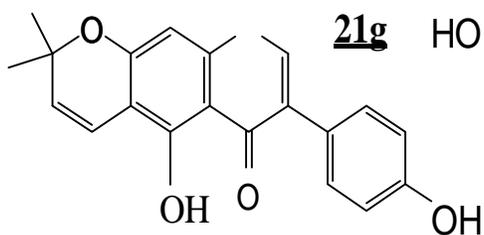
Tableau N°I-2: quelques flavonoïdes et isoflavonoïdes isolés de différentes espèces du genre *Genista* (suite).

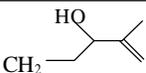
Nom de l'espèce	Nom du composé isolé	N° de la structure	Réf
<i>G. morisii</i>	Daidzéine	23	59
	Génistéine		
	Isoprunétine		
	7- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glucopyranoside génistéine		
	7- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glucopyranoside isoprunétine		
	7,4'-di- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glucopyranoside génistéine		
	7,4'-di- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glucopyranoside isoprunétine		
	Lutéoline		
	7- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glucopyranoside lutéoline		
	Orientine		
	Vitexine		
	Eriodictyol		
<i>G. corcica</i>	Daidzéine	24	60
	Isoprunétine		
	Isoderrone		
	Ficuisoflavone		
	Dihydroisoderrondiol		
	Lutéoline		
	7- <i>O</i> - β -glucoside lutéoline		
	4'- <i>O</i> - β -glucoside luteoline		
	Toxifoline		
	5-methoxytoxifoline		

21a-21f

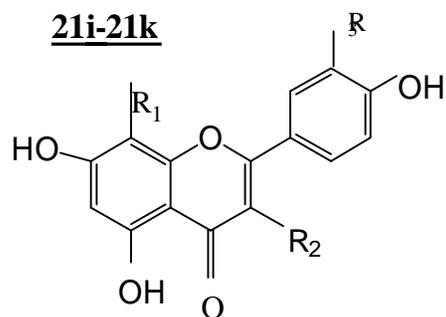


	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
21a	OH	H	OH	H
21b	OCH ₃	H	OH	H
21c	OH	CH ₂ 	OH	H
21d	OH	H	Oglu	H
21e	OH	CH ₂ 	Oglu	H
21f	OH	H	OH	glu

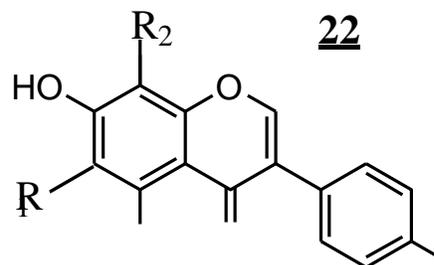


	R ₁	R ₂	R ₃
21i	H	H	H
21j	CH ₂ 	H	H
21k	H	OCH ₃	OH

21i-21k



	R ₁	R ₂
22a	H	glu
22b	glu	H



I-6-6 INTERET BIOLOGIQUE DU GENRE GENISTA :

La recherche bibliographique menée sur l'intérêt biologique des espèces du genre *Genista* montre peu d'investigations réalisées dans ce domaine. Par ailleurs, ces travaux ont pu mettre en évidence quelques intérêts pharmacologiques dont on peut citer :

Une étude faite par Harionov (1988) [35], qui a montré :

- ▼ que les extraits flavoniques des deux plantes médicinales, *G. tinctoria* et *G. sessilifolia* ne sont pas toxiques à des doses ≤ 2000 mg/Kg.
- ▼ Aucune action oestrogénique ni androgénique n'a pu être mise en évidence pour une dose de 100 mg/Kg.
- ▼ le mélange flavonique de *G. sessilifolia* a une forte action anabolique et anti-inflammatoire alors que celui de *G. tinctoria* ne montre aucune action.

Une autre étude réalisée par Korpachov et ses collaborateurs (1995) [36] sur la fonction de la thyroïde a pu montrer que l'extrait flavonique de l'espèce médicinale *G. tinctoria* provoque une augmentation de la thyroxine de 19 à 31% chez les rats sains pour une dose de 20 à 60 mg/Kg et garde un niveau normal chez les rats hypothyroïdiens.

II Famille des chenopodiaceae :

II-1 Généralités :

II-2 Classification :

II-3 Importance économique et thérapeutique des chénopodiacées :

II-4 Métabolites secondaires les plus courants chez les chénopodiacées

II-5 Genre Haloxylon

II-5-1 Généralités :

II-5-2 Description du genre :

II-5-3 distribution et aire géographique :

II-5-4 Caractère chimique du genre Haloxylon :

II-5-5 intérêt biologique :

Références :

II Famille des chénopodiacées :

II-1 Généralités :

C'est une famille de plantes, à fleurs sans pétales, qui comprend en particulier des espèces cultivées, des espèces poussant dans les décombres ou sur des sols salés.

Environ 1 500 espèces, réparties en une centaine de genres, sont présentes dans le monde.

Les fleurs, petites, sont formées de 2 à 5 sépales, le plus souvent verdâtres, parfois tirant sur le blanc ou le rouge. Les feuilles sont quelquefois très réduites ; sinon, elles sont entières ou légèrement découpées, et certaines ont la forme d'une patte d'oie (d'où le nom de la famille, du grec khênopous, " patte d'oie ").

De nombreuses chénopodiacées poussent en bordure de mer, dans les marais salants, les déserts salés. Les chénopodiacées font partie des plantes qui colonisent les zones frontières entre terre et eaux, là où la marée laisse algues, plantes aquatiques ou animaux en décomposition, qui sont autant de sources d'azote.

II-2 Classification classique des chénopodiacées:

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Caryophyllidae
Ordre	Caryophyllales
Famille	Chenopodiaceae

II-3 Importance économique des chénopodiacées :

C'est une famille qui fournit des plantes alimentaires. Les chénopodiacées cultivées sont assez résistantes au sel, et nécessitent généralement un sol riche en azote. Les plus connues dans nos régions sont sans doute les diverses variétés de bettes et betteraves (*Beta vulgaris*) et l'épinard (*Spinacia oleracea*). Citons aussi l'arroche des jardins, ou bonne dame (*Atriplex hortensis*), l'ansérine Bon-Henri, ou épinard sauvage (*Chenopodium bonus-henricus*), qui

peuvent être consommées comme des épinards, ou le quinoa (*Chenopodium quinoa*), cultivé en Amérique du Sud comme céréale. *Kochia scoparia*, appelé cyprès d'été, est une espèce ornementale des haies. D'autres chénopodiacées sont, au contraire, considérées comme de mauvaises herbes, tel le chénopode blanc (*Chenopodium Album*)

II-2 Genre *Haloxylon* :

II-2-1 Description du genre :

L'*Haloxylon scoparium* Pomel. **Chénopodiacées.** =*Arthrophytum scoparium* (Pomel)

Ce petit buisson dense et sombre, en arabe le *remt*, est très fréquent sur les regs à sols gypseux. Ses fleurs sont discrètes mais à la fin de l'automne, quand l'humidité a été suffisante, l'extrémité de ses rameaux se couvre de fruits entourés d'une couronne d'ailes membraneuses brillantes et vivement colorées de rose ou de rouge. Ce pâturage amer est méprisé par le bétail qui ne le broute que par nécessité.

II-2-2 Caractère thérapeutique

Le *remt* est toxique et peut provoquer des empoisonnements au cours de ses emplois thérapeutiques. Mélangé avec du tabac et du genévrier de Phénicie il sert à préparer un tabac à priser un peu grisant. En décoction avec du tabac il permet de préparer une teinture qui soigne la gale des troupeaux. On lui prête aussi des vertus antivenimeuses.

I-a LA FAMILLE DES LEGUMINEUSES

I-a-1 GENERALITES:

La famille des **légumineuses**, communément appelée **fabales** [5] compte 700 genres et 17.000 espèces environ, répartis dans le monde entier [6].

L'origine de cette famille se trouve chez les rosacées à gousse appelées par les premiers botanistes "**légume**" d'où le nom donné à la famille [7]. Elles ont des feuilles simples ou composées, ordinairement alternes et stipulées, les fleurs sont du type 5 avec 2 verticilles d'étamines mais un seul carpelle qui donnera une gousse bivalve ou légume [4,6]. C'est un des groupes les plus importants pour l'homme, servant de cultures, de fourrages, d'engrais verts et produisant un grand nombre de composés utiles comme des médicaments, des poisons, des teintures ou des parfums. Ces espèces vont des herbes naines de l'arctique et des montagnes aux immenses arbres de la forêt tropicale (Figure I-1).



Fig. : I-1 diversités des légumineuses :

I-a-2 CLASSIFICATION:

Les spécialistes s'accordent à classer cette superfamille en trois groupes, certains font de l'ensemble de ces derniers une famille "**Leguminosae juss.**" ou "**Fabales**" et la divisent en trois sous-familles "**Caesalpinioideae, Mimosoideae et papilionoideae**". D'autres font de ces trois groupes les familles "**Caesalpiaceae, Mimosaceae et Fabaceae**" [8]:

- ▼ Les deux premières (**Caesalpinaceae** et **Mimosaceae**) : regroupent surtout des buissons et des arbres tropicaux et sub-tropicaux comme: *Mimosa*, *Acacia*.
- ▼ La troisième (**Fabaceae**) : compte surtout des plantes herbacées, cosmopolites, elle est particulièrement bien représentée dans les zones tempérées comme: trèfles, pois, haricots,... etc. Cette dernière fait l'objet de notre présente étude.

I-a-2-1 La sous famille des papilionacées ou fabacées :

Les fabacées (papilionacées) constituent la sous-famille la plus nombreuse avec 350 genres et 10.400 espèces environ [9, 10]. Elle est subdivisée en nombreuses tribus. Ces tribus sont à leur tour subdivisées en plusieurs genres.

I-a-3 IMPORTANCE ECONOMIQUE DES FABACEES:

L'intérêt agronomique des fabacées provient en premier lieu de leur aptitude à s'associer à des bactéries du sol (*Rhizobiacées*), spécialement la bactérie « *Rhizobium leguminosafum* », pour former des organes symbiotiques racinaires «nodules» au sein desquels ces bactéries transforment l'azote atmosphérique en une forme assimilable par la plante, grâce à quoi, les fabacées peuvent produire en abondance des protéines végétales même en l'absence de fertilisation azotée. Pour cela, elles sont dites plantes améliorantes [10, 11].

L'intérêt alimentaire découle du fait que les fabacées constituent une source très importante de protéines et lipides et rentrent dans l'alimentation humaine et animale [7, 12] : tels que le pois (*Pisum*), la féverole (*Faba*), le haricot (*Phaseolus*), le pois chiche (*Cicer*) et les Lentilles (*Ervum*), ou encore le soja et les arachides.

L'intérêt industriel résulte du fait que beaucoup d'espèces de cette famille fournissent des produits industriels tels que le soja qui est utilisé à grande échelle dans l'élevage industriel, les *derris* et les *Lonchocarpus* qui donnent les roténoïdes insecticides [7].

I-a-4 IMPORTANCE THERAPEUTIQUE :

Beaucoup d'espèces de fabacées ont des propriétés thérapeutiques et sont utilisées en médecine traditionnelle. Dans ce qui suit, nous allons citer quelques exemples d'espèces de très grande importance alimentaire et ayant des propriétés médicinales [13, 14] :

- ✓ *Trigonella foenum graecum* (**fenugrec**) : Son nom vernaculaire **halba**. C'est une plante herbacée originaire du Proche Orient, aujourd'hui largement cultivée. Le fenugrec est utilisé dans le traitement des plaies, diarrhées, acné, déshydratation, anémie, bronchite, rhumatismes, maux d'estomac, hypertension artérielle, constipation. Cette plante est également consommée comme fortifiant par les femmes après l'accouchement. Les graines ont des propriétés nutritives importantes et des effets hypocholestérolémiants. Elles sont traditionnellement utilisées comme stimulant de l'appétit et pour la prise de poids.
- ✓ *Arachis hypogaea* L. (Arachide) : l'huile d'Arachide est utilisée comme solvant médicamenteux. Elle a également des propriétés vitaminiques P : action antihémorragique au niveau des capillaires [15].
- ✓ *Glycine soja* Siebold et Zucc. : C'est une espèce de très grande richesse en protides. Pour cette raison, la farine de soja est un élément diététique intéressant et entre dans la constitution de milieux de culture destinés à la production d'antibiotiques. L'huile de Soja d'une très grande importance économique est utilisée en thérapeutique pour l'alimentation parentérale [15].

I-a-5 LES METABOLITES SECONDAIRES LES PLUS COURANTS CHEZ LES FABACEES :

La recherche bibliographique réalisée sur cette axe montre que la majorité d'études phytochimiques effectuées sur un nombre important d'espèces de la famille des fabacées certifie la richesse ainsi que la diversité structurale de ces dernières en métabolites secondaires tels que : les **alcaloïdes** [16, 17], les **coumarines** [18], les **composés phénoliques** de type **flavonique** et **isoflavonique** [19, 20], et en petites quantités les **stéroïdes** [21] et les **saponosides** [22].

Pour notre part, nous allons parler des métabolites secondaires les plus distribués dans les différentes espèces de la famille et qui sont les alcaloïdes, les coumarines, les flavonoïdes et les isoflavonoïdes, ainsi que de leurs rôles pharmacologiques.

I-a-5-1 Les alcaloïdes :

Les alcaloïdes sont des substances organiques d'origine naturelle (le plus souvent végétale), renfermant de l'azote, généralement incorporé dans un système hétérocyclique. Ce sont des substances particulièrement intéressantes pour leurs activités pharmacologiques très variées ainsi que par leur toxicité [23, 24]. Ils agissent en tant que :

- ▼ Dépresseurs au niveau du système nerveux central (morphine, scopolamine)
- ▼ Stimulants (caféine, strychnine)
- ▼ Anesthésiques locaux (cocaïne)
- ▼ Ganglioplégiques (spartéine, nicotine)
- ▼ Parasympathomimétique (physostigmine ou ésérine, pilocarpine).

Les structures chimiques de quelques alcaloïdes isolés de certaines espèces de la famille des fabacées sont représentées dans la figure I-2 :

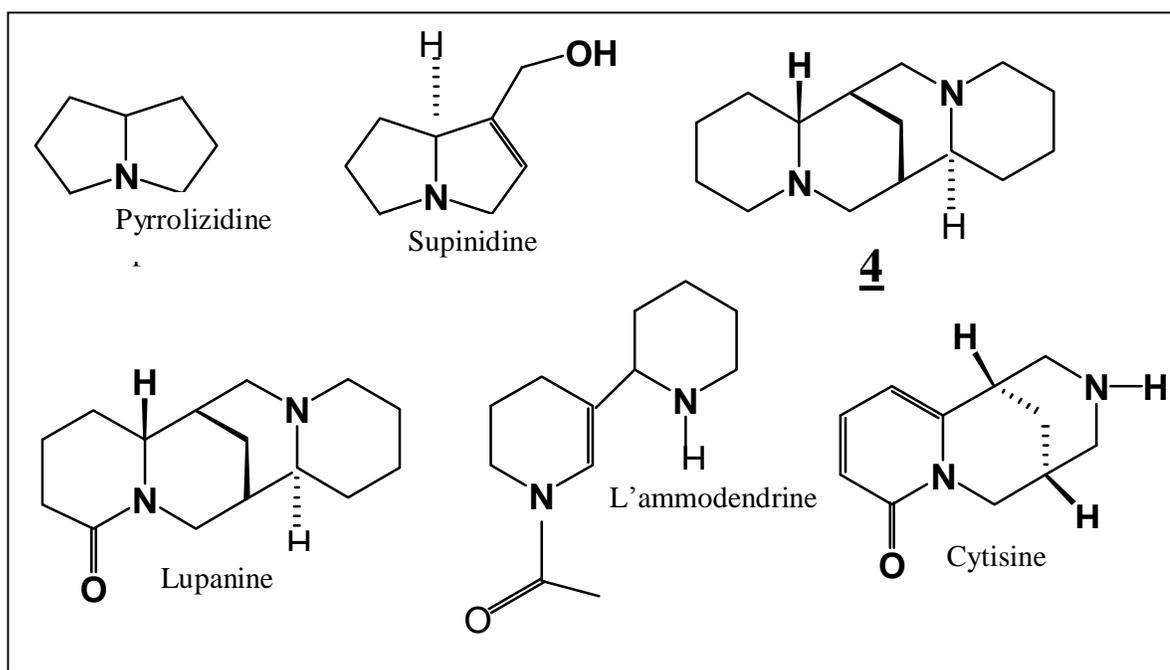


Fig. I-2: Structures de quelques alcaloïdes isolés des fabacées.

I-a-5-2 Les coumarines :

Le nom de **coumarine** vient de « coumarou », nom vernaculaire de la « fève Tonka » qui est le fruit d'un arbre de la Guyane (*Dipteryx odorata* Willd, syn. *Coumarouna odorata* Aubl., Fabaceae). De ce fruit fût isolée en 1820 pour la première fois une substance cristalline odorante appelée **coumarine** (Figure I-3) [24].

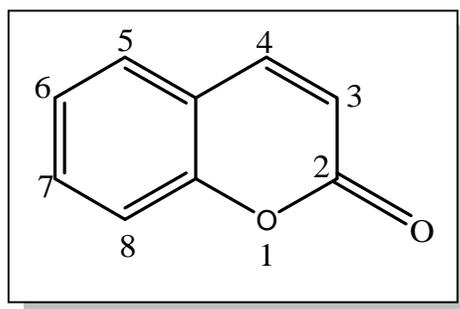


Fig. I-3 : La coumarine

Les coumarines, sont des molécules largement répandues dans tout le règne végétal, ce sont les 2H-1-benzopyran-2-ones, considérées comme étant les lactones des acides 2-hydroxy-7-cinnamiques [5]. Elles existent sous forme libre ou encore liée à des sucres (hétérosides). La coumarine et ses dérivés ont des actions photo biologiques [25], bactériostatiques et anti fongiques [26, 27], comme ils ont un effet anti-oedémateux [5, 28].

I-a-5-3 Les flavonoïdes et les isoflavonoïdes :

L'une des particularités importantes de la famille des fabacées est la production des métabolites secondaires spécifiques appelés **isoflavonoïdes** impliqués dans la signalisation symbiotique, dans les réactions de défense et présentant un grand intérêt pharmaceutique [29]. Ce sont des substances polyphénoliques d'une diversité structurale importante.

Le tableau I-1 reporte quelques exemples de flavonoïdes et d'isoflavonoïdes isolés d'espèces de cette famille, et la figure I-4 reporte les structures de quelques flavonoïdes et isoflavonoïdes isolés d'espèces de cette famille.

Tableau N° I-1: Quelques flavonoïdes et isoflavonoïdes isolés d'espèces de la famille des fabacées.

Nom de l'espèce	Nom du produit isolé	N° de structure		Réf.
<i>Dalbergia sissou</i>	7- <i>O</i> -[β - <i>D</i> -apiofuranosyl-(1→5)- β - <i>D</i> -apiofuranosyl-(1→6)- β - <i>D</i> -glucopyranoside] biochanine A	13	13a	19
	7- <i>O</i> -[β - <i>D</i> -apiofuranosyl-(1→5)- β - <i>D</i> -glucopyranoside] tectorégénine		13b	
<i>Retama sphaerocarpa</i> Boissier	7-- <i>O</i> - β -glucoside 6'-methoxy-3', 4'-methylènedioxyisoflavone.	14	14a	30
	7- <i>O</i> - β -glucoside génistéine		14b	
	7- <i>O</i> - β -glucoside daïdzéine		14c	
<i>Trigonella foenum-graecum</i>	3- <i>O</i> -[β - <i>D</i> -glucosyl (1→2) - β - <i>D</i> -galactoside] kaempférol.	15	15a	31
	3- <i>O</i> -[β - <i>D</i> -glucosyl (1→2) - β - <i>D</i> -galactoside] 7- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glucoside kaempférol.		15b	
	3- <i>O</i> -[β - <i>D</i> -glucosyl (1→2) (6''- <i>O</i> -acetyl)- β - <i>D</i> -galactoside] 7- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glucoside kaempférol		15c	
	3- <i>O</i> -[β - <i>D</i> -glucosyl (1→2)- β - <i>D</i> -galactoside] 7- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glucoside quercétine		15d	

Tableau N°I-1: Quelques flavonoïdes et isoflavonoïdes isolés d'espèces de la famille des fabacées (suite).

Nom de l'espèce	Nom du produit isolé	N° de structure		Réf.
<i>Lupinus luteus</i>	8-C- β -D-glucopyranoside génistéine	16	16a	32
	8-C- β -D-glucopyranoside orobol		16b	
<i>Lupinus luteus</i>	8-C-glucopyranoside 4'-O-glucopyranoside génistéine	17	17a	33
	5-methoxy 4', 7-di-O-glucopyranoside génistéine		17b	
	8-C- β -D-glucopyranoside génistéine		17c	
	7-O-glucopyranoside génistéine		17d	
	4',7-di-O-glucopyranoside génistéine		17e	
<i>Lupinus polyphyllus xarborens</i>	2'-hydroxy 7-O- glucopyranoside 8-C- β -D-glucopyranoside génistéine	18	18a	34
	7-O- β -D-glucopyranoside génistéine		18b	
	4',7-di-O-glucopyranoside génistéine		19c	
	4'-O-glucopyranoside génistéine		18d	
	2'-hydroxy génistéine		18s	
	2'-hydroxy7-O- β -D-glucopyranoside génistéine		18f	
<i>Dalbergia olivari</i>	2', 5' diméthoxy génistéine	19	19a	35
	8-C-geranyl 4'-méthoxy génistéine		19b	
	7-hydroxy 4'-methoxy isoflavone		19c	
	5, 7-dihydroxy 4'-methoxy isoflavone		19d	
	4', 5, 7-trihydroxyisoflavone		19e	
<i>Spartium junceum</i>	5, 8-dihydroxy 4'-methoxy-6, 7-méthylène dioxysiflavone	20	20a	36
	4', 5, 8-trihydroxy 7-O- α -L-rhamnopyranoside flavone		20b	

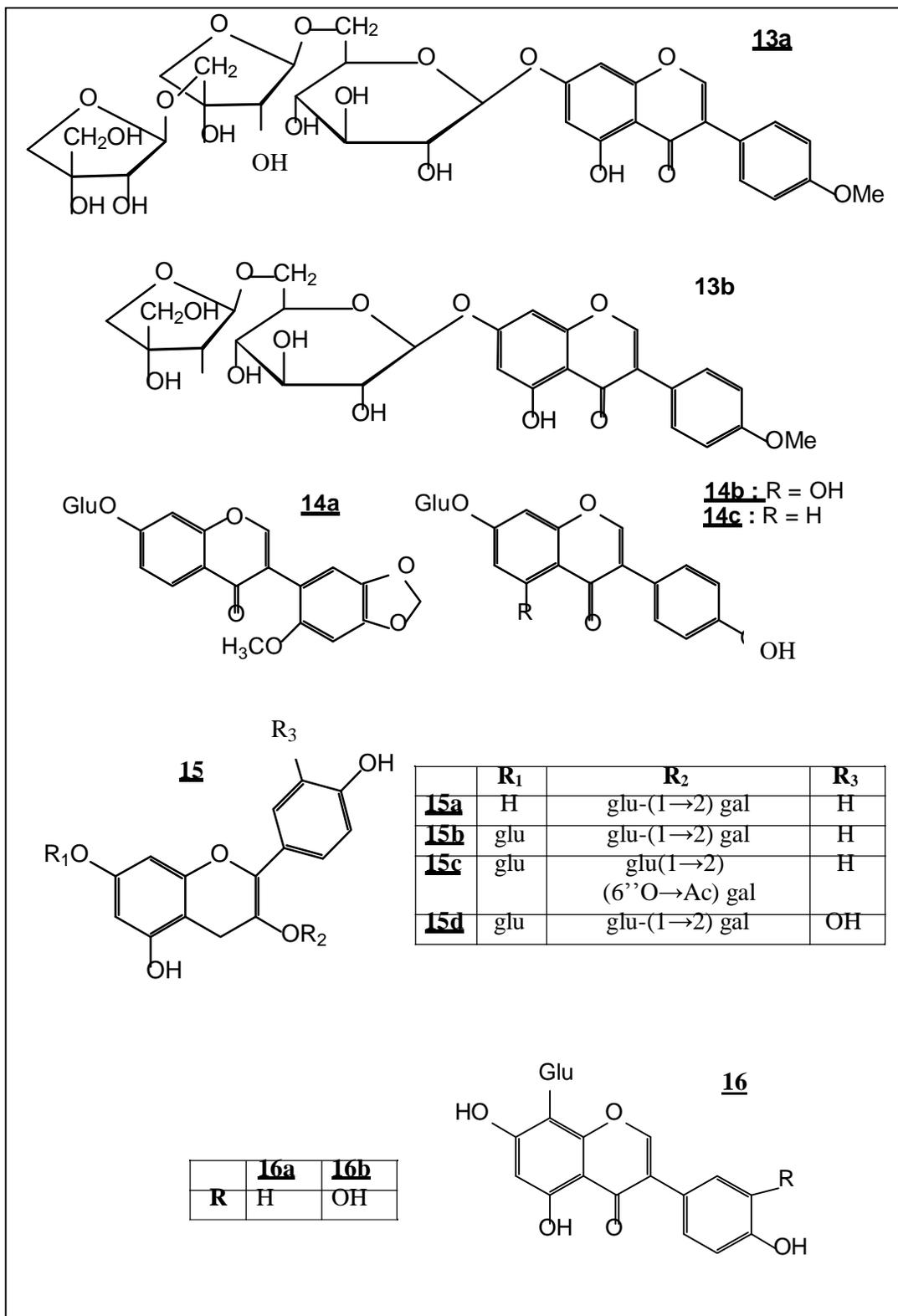


Fig. I-4 : Structures chimiques de quelques flavonoïdes et isoflavonoïdes isolés de certaines espèces de la famille des fabacées

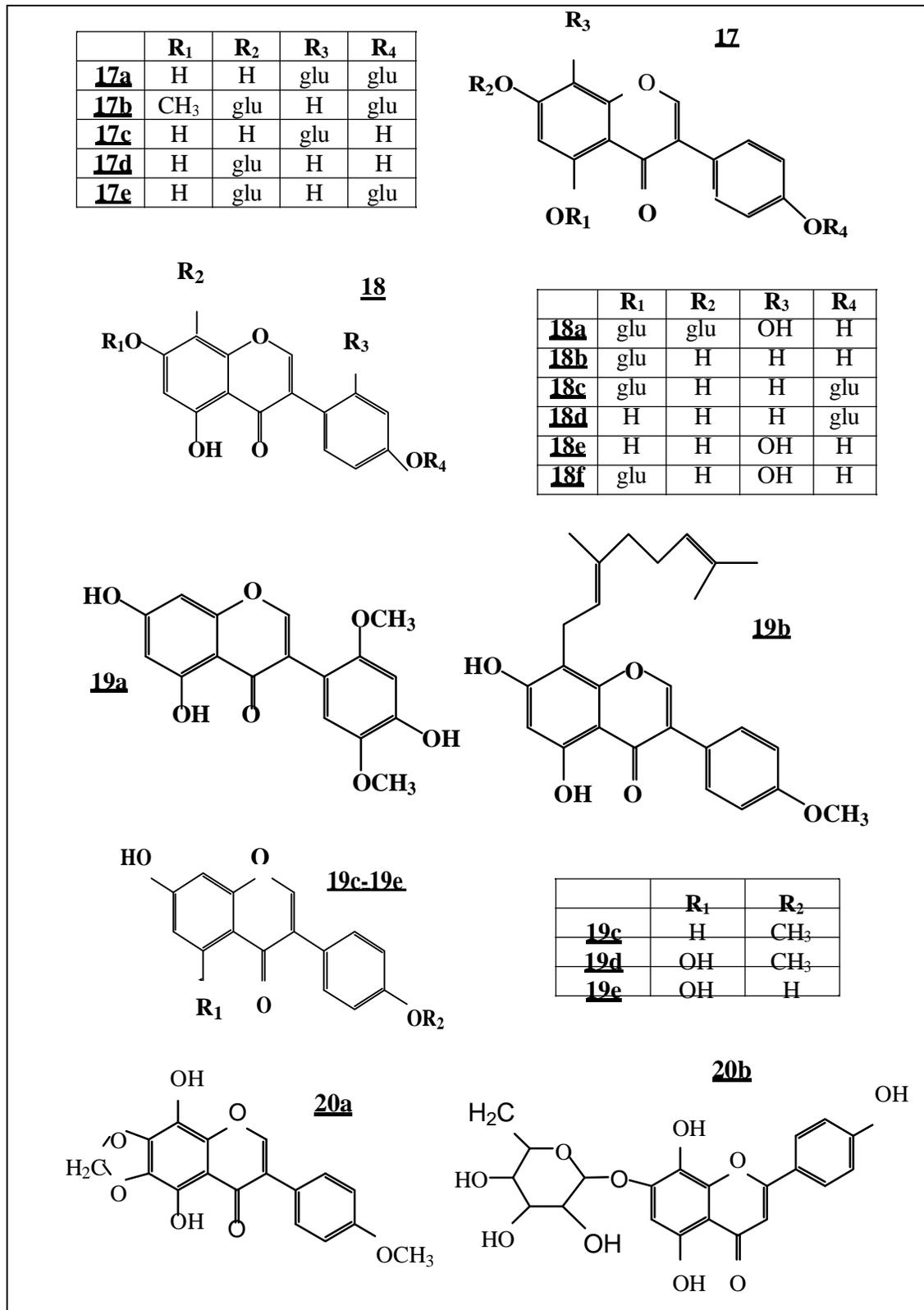


Fig.I-4 : Structures chimiques de quelques flavonoïdes et isoflavonoïdes isolés de certaines espèces de la famille des fabacées (suite)

I-a-6 LE GENRE GENISTA :

I-a-6-1 INTRODUCTION :

Parmi les 700 genres de la famille des fabacées, en Algérie on trouve environ 53 genres et 337 espèces [4]. Pour notre part, nous nous sommes intéressés dans ce travail au genre *Genista* qui compte environ 150 espèces réparties en Europe et en région méditerranéenne [37]. D'après la bibliographie, ce genre montre une richesse en composés phénoliques, notamment les isoflavonoïdes connus pour leurs activités biologiques diverses.

I-a-6-2 GENERALITES :

Le genre *Genista* a été décrit pour la première fois par LINNE en 1753, il appartient à la famille des légumineuses (fabales), sous-famille des papilionacées (fabacées) et à la tribu des génistées [37].

Quezel et Santa en 1963 comptent pour ce genre 16 espèces en Algérie dont 11 endémiques [4].

I-a-6-3 DESCRIPTION DU GENRE :

Calice à 5 segments, les deux supérieurs libres ou soudés, les trois inférieurs formant une lèvre à 3 dents profondes, rarement calice campanulé à 5 dents subégales. Carène oblongue, droite ou presque, biggibuse latéralement. Etendard étroit, 10 étamines monadelphes en tube non fondu, 5 longues et 5 courtes. Stigmate oblique. Gousse déhiscente, variable. Arbrisseaux épineux ou parfois aphyllés et junciformes. Feuilles 1-3 folioles, stipulées ou non, graines non arillées [4].

I-a-6-4 DISTRIBUTION ET AIRE GEOGRAPHIQUE :

Le genre *Genista* est largement distribué dans le bassin méditerranéen, en Europe et en Afrique du nord (Libye, Tunisie, Algérie et Maroc). En Algérie, il est localisé dans les régions est et sud est et au grand Sahara [38].

I-a-6-5 CARACTERE CHIMIQUE DU GENRE GENISTA :

D'après l'étude bibliographique que nous avons menée, les travaux phytochimiques effectués sur le genre *Genista* ont permis essentiellement l'isolement d'alcaloïdes [39-42], et de flavonoïdes notamment les isoflavonoïdes [43-46]. Le tableau I-2 rassemble un nombre d'espèces du genre *Genista* et leur contenu flavonique, les structures respectives sont données dans la figure I-5.

Tableau N°I-2: Quelques flavonoïdes et isoflavonoïdes isolé de différentes espèces du genre *Genista*.

Nom de l'espèce	Nom du composé isolé	N° de la structure		Réf.
<i>G. ephedroides</i>	Génistéine	21	21a	43
	Isoprunétine		21b	
	Wighteone		21c	
	Génistine		21d	
	Génisteone		21e	
	8-C-glucoside génistéine		21f	
	Alpinumisoflavone		21g	
	Hydroxyalpinumisoflavone		21h	
	Apigénine		21i	
	Ephedroïdine		21j	
	Isokaempféride		21k	
<i>G. cinerea</i>	8-C-glucosode génistéine	22	22a	44
	6-C-glucosode génistéine		22b	

Tableau N°I-2: Quelques flavonoïdes et isoflavonoïdes isolés de différentes espèces du genre *Genista* (suite).

Nom de l'espèce	Nom du composé isolé	N° de la structure	Réf
<i>G. morisii</i>	Daidzéine	23	45
	Génistéine		
	Isoprunétine		
	7- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glucopyranoside génistéine		
	7- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glucopyranoside isoprunétine		
	7,4'-di- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glucopyranoside génistéine		
	7,4'-di- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glucopyranoside isoprunétine		
	Lutéoline		
	7- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glucopyranoside lutéoline		
	Orientine		
	Vitexine		
	Eriodictyol		
<i>G. corcica</i>	Daidzéine	24	46
	Isoprunétine		
	Isoderrone		
	Ficuisoflavone		
	Dihydroisoderrondiol		
	Lutéoline		
	7- <i>O</i> - β - glucoside lutéoline		
	4'- <i>O</i> - β -glucoside luteoline		
	Toxifoline		
	5-methoxytoxifoline		

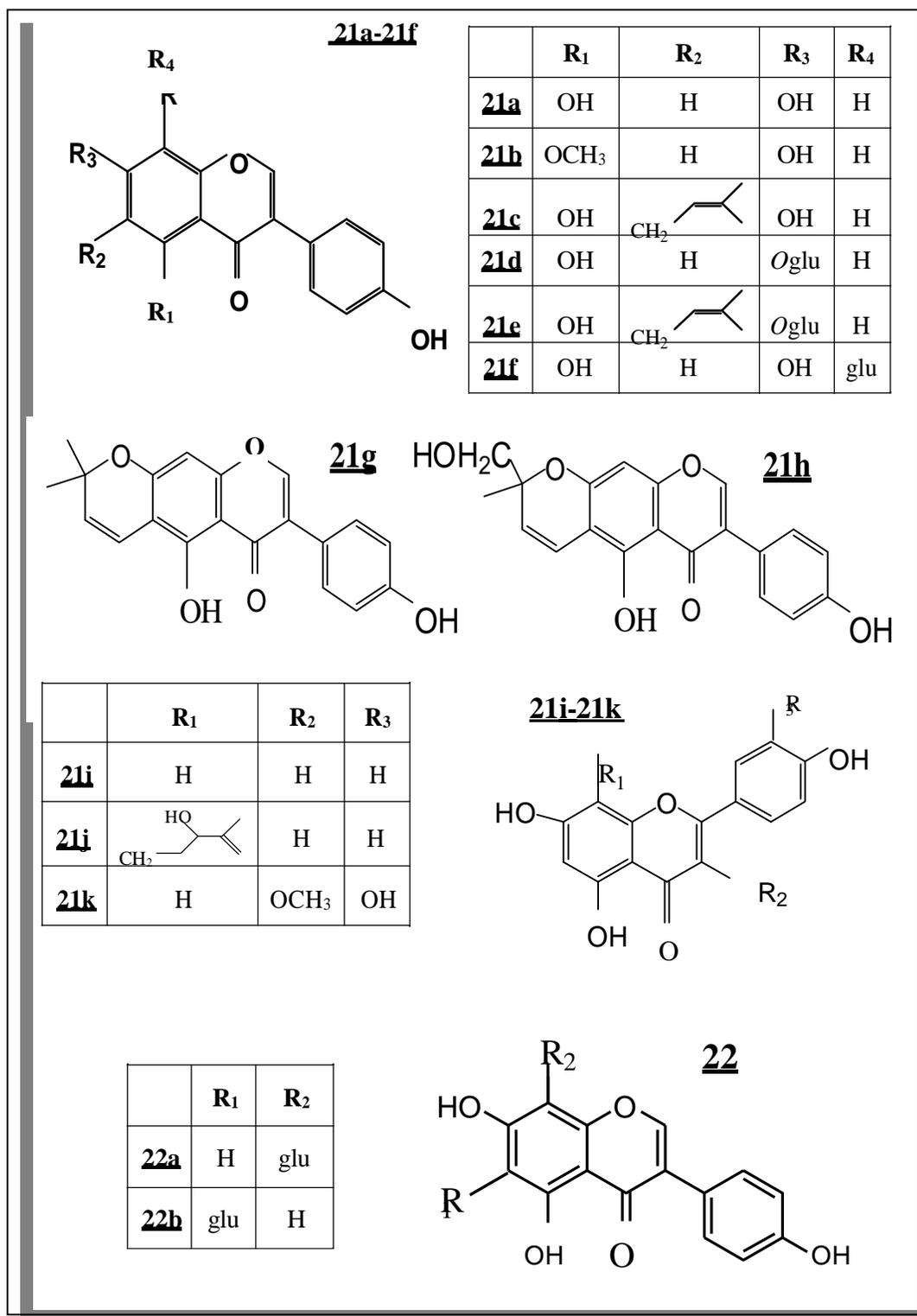


Fig. I-5 : Structures chimiques de quelques flavonoïdes et isoflavonoïdes isolés de différentes espèces du genre *Genista*.

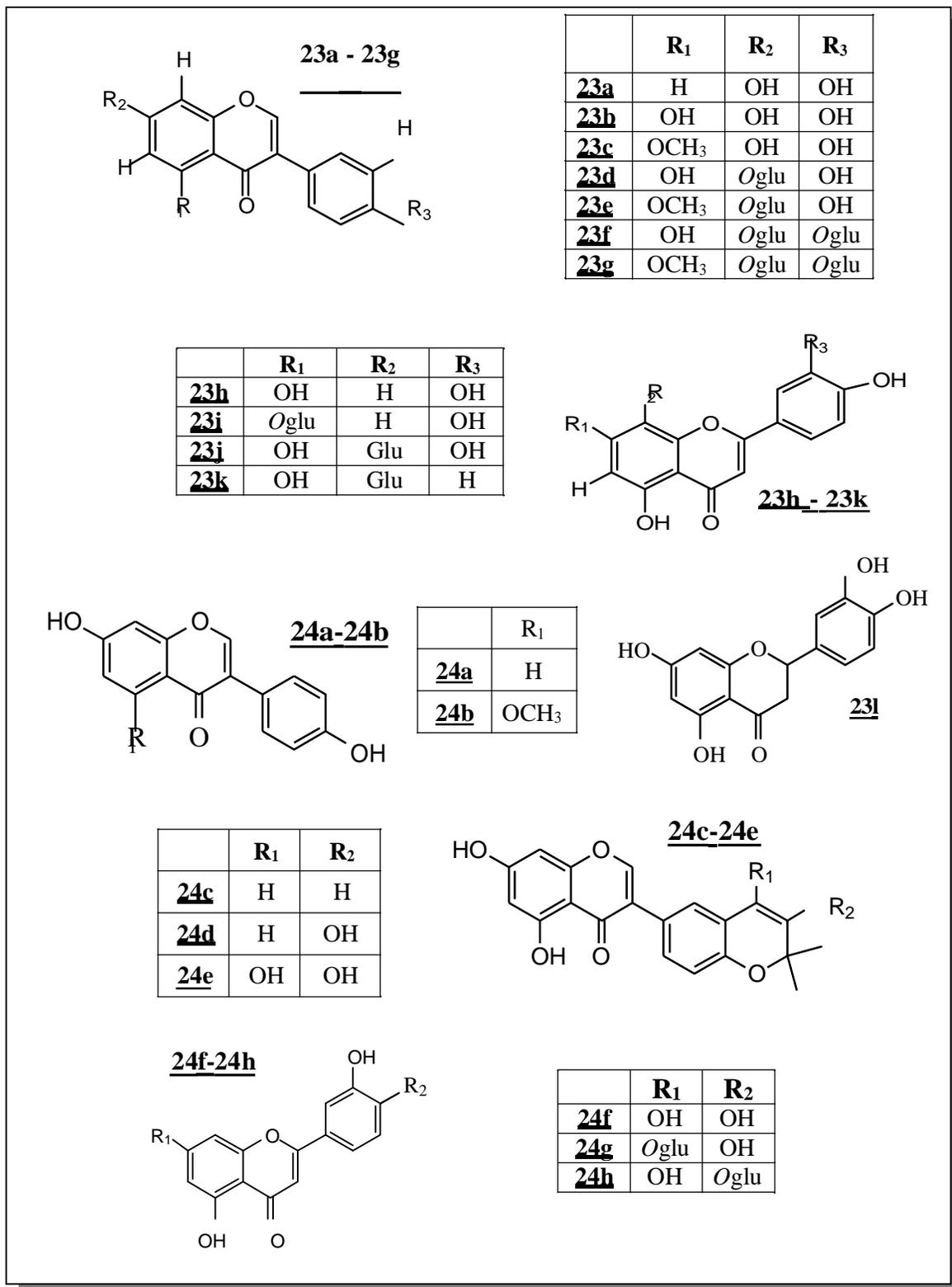


Fig. I-5 : Structures chimiques de quelques flavonoïdes et isoflavonoïdes isolés de différentes espèces du genre *Genista* (suite).

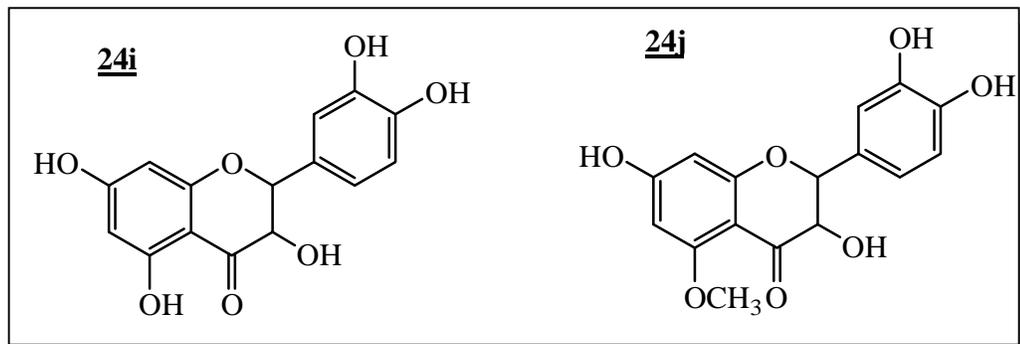


Fig. I-5 : Structures chimiques de quelques flavonoïdes et isoflavonoïdes isolés de différentes espèces du genre *Genista* (suite).

I-a-6-6 INTERET BIOLOGIQUE DU GENRE GENISTA :

La recherche bibliographique menée sur l'intérêt biologique des espèces du genre *Genista* montre peu d'investigations réalisées dans ce domaine. Par ailleurs, ces travaux ont pu mettre en évidence quelques intérêts pharmacologiques dont on peut citer :

Une étude faite par Harionov (1988) [47], qui a montré :

- ✓ que les extraits flavoniques des deux plantes médicinales, *G. tinctoria* et *G. sessilifolia* ne sont pas toxiques à des doses ≤ 2000 mg/Kg.
- ✓ Aucune action oestrogénique ni androgénique n'a pu être mise en évidence pour une dose de 100 mg/Kg.
- ✓ le mélange flavonique de *G. sessilifolia* a une forte action anabolique et anti-inflammatoire alors que celui de *G. tinctoria* ne montre aucune action.

Une autre étude réalisée par Korpachov et ses collaborateurs (1995) [48] sur la fonction de la thyroïde a pu montrer que l'extrait flavonique de l'espèce médicinale *G. tinctoria* provoque une augmentation de la thyroxine de 19 à 31% chez les rats sains pour une dose de 20 à 60 mg/Kg et garde un niveau normal chez les rats hypothyroïdiens.

I-b LA FAMILLE DES CHENOPODIACEES :

I-b-1 GENERALITES :

C'est une famille de plantes, à fleurs sans pétales, qui comprend en particulier des espèces cultivées, des espèces poussant dans les décombres ou sur des sols salés exemple : *Chenopodium quinoa* (figure I-6).



Fig. I-6 : *Chenopodium quinoa*

Environ 1 500 espèces, réparties en une centaine de genres, sont présentes dans le monde. Les fleurs, petites, sont formées de 2 à 5 sépales, le plus souvent verdâtres, parfois tirant sur le blanc ou le rouge. Les feuilles sont quelquefois très réduites ; sinon, elles sont entières ou légèrement découpées, et certaines ont la forme d'une patte d'oie (d'où le nom de la famille, du grec khênopous, " patte d'oie ") [4, 49].

De nombreuses chénopodiacées poussent en bordure de mer, dans les marais salants, les déserts salés. Les chénopodiacées font partie des plantes qui colonisent les zones frontières entre terre et eaux, là où la marée laisse algues, plantes aquatiques ou animaux en décomposition, qui sont autant de sources d'azote.

I-b-2 CLASSIFICATION CLASSIQUE DES CHENOPODIACEES :

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Caryophyllidae
Ordre	Caryophyllales
Famille	Chenopodiaceae

I-b-3 IMPORTANCE ECONOMIQUE DES CHENOPODIACEES :

C'est une famille qui fournit des plantes alimentaires. Les chénopodiacées cultivées sont assez résistantes au sel, et nécessitent généralement un sol riche en azote. Les plus connues dans nos régions sont sans doute les diverses variétés de bettes et betteraves (*Beta vulgaris*) [50], et l'épinard (*Spinacia oleracea*). Citons aussi l'arroche des jardins ou bonne dame (*Atriplex hortensis*), l'ansérine Bon-Henri, ou épinard sauvage (*Chenopodium bonus-henricus*), qui peuvent être consommées comme des épinards, ou le quinoa (*Chenopodium quinoa*), cultivé en Amérique du Sud comme céréale. *Kochia scoparia*, appelé cyprès d'été, est une espèce ornementale des haies. D'autres chénopodiacées sont, au contraire, considérées comme de mauvaises herbes, tel le chénopode blanc (*Chénopodium Album*) [49].

I-b-4 GENRE *HALOXYLON SCOPARIUM*:

I-b-4-1 Description du genre :

Haloxylon scoparium Pomel **Chénopodiacées**. = *Arthrophytum scoparium* (Pomel), ce petit buisson dense et sombre, en arabe « *remt* », est très fréquent sur les regs à sols gypseux. Ses fleurs sont discrètes mais à la fin de l'automne, quand l'humidité est suffisante, l'extrémité de ses rameaux se couvre de fruits entourés d'une couronne d'ailes membraneuses brillantes et vivement colorées de rose ou de rouge. Ce pâturage amer est méprisé par le bétail qui ne le broute que par nécessité [3, 51-53].

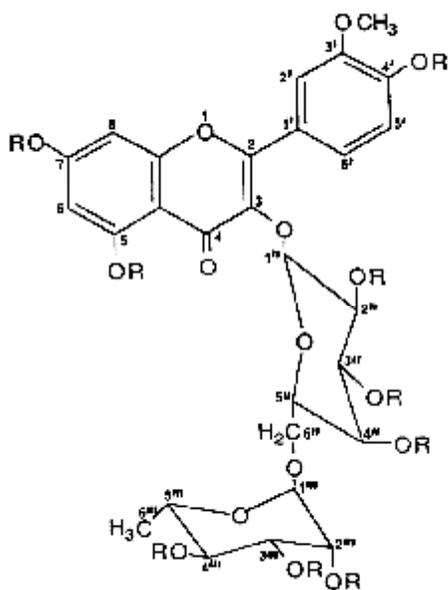
I-b-4-2 Caractère thérapeutique :

«*remt*» est toxique et peut provoquer des empoisonnements au cours de ses emplois thérapeutiques. Mélangé avec du tabac et du genévrier de Phénicie il sert à préparer un tabac à priser un peu grisant. En décoction avec du tabac il permet de préparer une teinture qui soigne la gale des troupeaux. On lui prête aussi des vertus antivenimeuses [49].

I-b-5 LES METABOLITES SECONDAIRES ANTERIEUREMENT ISOLES DE L'ESPECE *HALOXYLON SCOPARIUM* :

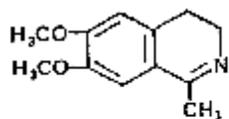
La recherche bibliographique effectuée sur l'espèce *H. scoparium* de la famille des chénopodiacées, a montré la richesse de cette dernière en alcaloïdes [54], en saponosides [55], et en flavonoïdes [54, 56,57].

Dans les figures I-7 et I-8, nous reportons en exemple quelques composés isolés de cette espèce.

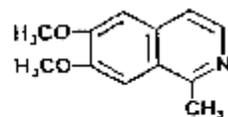


R=H: Isorhamnétol-3-O-β-D-robinobioside

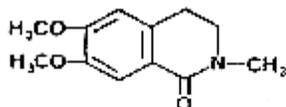
Fig. I-7: Flavonoïde isolé de *Haloxylon scoparium*



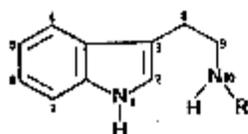
Déhydrosalsolidine



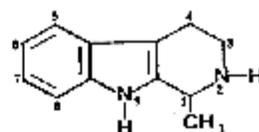
Isosalsoline



N-méthylcorydaline



R=H : Triptamine
R=CH₃ : N- ω -méthyltriptamine



éléagnine

Fig. I-8 : Exemple d'alcaloïdes isolés de *Haloxylon scoparium*.

REFERENCES:

- [1] **K. Hostettmann, M. Hostettmann, and A. Marston, (1986),**
Preparative Chromatography Techniques, Applications in Natural Product Isolation,
Springer-Verlag, Berlin.
- [2] **K. Hostettmann, O. Potteray and J.L.Wolfender, (1998),**
The potential of higher plants as a source of new drugs. *chimie*, **52**, pp. 10-17
- [3] **P. Ozenda (1983),**
Flore du Sahara, Editions du CNRS, Paris.
- [4] **P. Quezel, and S. Santa, (1962),**
Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome I, C.N.R.S.
Paris.
- [5] **J. Bruneton, (1999),**
Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème} édition, éditeur Technique et
Documentation, Paris.
- [6] **G. Deyson, (1979),**
Cours de botanique générale, Organisation et classification des plantes vasculaires 2^{ème}
partie systématique, tome II, 347.
- [7] **J.I. Guignard, (1994),**
Abrégé de botanique, 9^{ème} édition, éditeur Masson, 276.
- [8] **J. Bruneton, (2001),**
Plantes toxiques, végétaux dangereux pour l'homme et les animaux. 2^{ème} édition, éditeur
Technique et Documentation, Paris.
- [9] **J.L. Guignard, (2004),**
Botanique systématique moléculaire 13^{ème} édition, éditeur Masson, 284.
- [10] **P. Mylona, K. Pawlowski et T. Bisseling, (1995),**
Plant. Cell. **7**, pp. 869-885.
- [11] **R. Echevin, (1964),**
Angiospermes I, éditeur Doin, 496
- [12] **E.P. Journet, (2001),**
Ecole thématique Biologie végétale.
- [13] **I. Haieb, F. Harzallah-Skhiri, and R. Chemli, (1999),**
Contribution à une étude ethnobotanique de la flore en Tunisie (cas de la région de
Sfax); travaux de fin d'études E.S.H.E.

- [14] **Y. Mahmoudi, (1980),**
La thérapeutique par les plantes communes en Algerie. Palais de livre Blida.
- [15] **L. Bézanger-beauquesne, M. Pinkas et M. Torck, (1986),**
Les plantes dans la thérapeutique moderne. Editeur Maloine, 469.
- [16] **R.J. Huxtable, (1990),**
Activation and pulmonary toxicity of Pyrolizidine Alkaloids, *Pharmac. Ther.*, **47**,
pp. 371-389.
- [17] **R F. Keeler, (1989),**
Quinolizidine alkaloids in Range and Grain Lupins in « Toxicants of Plant Origin »
(Cheeke P. R. éd.), **1**: Alkaloids, pp. 133-168, CRC Press, Boca Raton.
- [18] **A. Estévez-Braun and A.G. Gonnzalles, (1997),**
Coumarine. *Nat. Prod. Rep.* **14**, pp. 465-475.
- [19] **F. Salwa Farag, S. Amany Ahmed, T. Kenji, T. Yoshiaki and N. Messatake, (2001),**
isoflavonoids glucosides from *Dalbergia sissoo*. *Phytochemistry* **57**,
pp. 1263-1268.
- [20] **A.R. Bilia, F. Flammini, G. Fammini, I. Morelli, and A. Masili, (1993),**
phytochemistry, **34** (1), pp. 847-852.
- [21] **S. A. Muhammad, A. Faman and U. A. Vqai, (2001),**
Unusual chemical constituents of *Lotus garcinii* (Fabaceae), *Turk. J. Chem.* **25**,
pp. 107-112.
- [22] **Z. Z. Ibraheim, and A. A. Khalifa, (2000),**
Bull. Pharm. Sci. **23** (2), pp. 177-186.
- [23] **G. Richter, (1993),**
Métabolisme des végétaux, physiologie et biochimie. Presses polytechniques et
universitaires romandes, Lausanne.
- [24] **S. W. Pelletier, (1983)**
Alkaloids. Chemical and biological perspectives. Edition John Wiley, New York.
- [25] **K. Hostettmann, (1992),**
Les plantes sources de médicaments phlébotropes, la lettre de la phlébologie. Zyma
SA, Nyon, 25.
- [26] **L. Rufini, and G. Sampaolo, (1977),**
Plants Off. Aromi.Saponi., Cosmétol. Aerosol., **59**, pp. 9-32 et 64-75
- [27] **F. C. Ficher, H. Van Doorne, M. I. Lim, et A. B. Svendsen, (1976),**

- Phytochemistry, **30**, pp. 1078-1079.
- [28] **P. Matis, et W. Mayer, (1979),**
Zur Geschichte der « klassischen » Antikoagulantien Heparin und Dicumarol,
Medizinische Welt. **30** pp. 845-848.
- [29] **R. A. Dixon, (1999),**
In Comprehensive Natural Products Chemistry. Sankawa U., ed. (Elsevier Oxford UK).
1, pp. 773-823
- [30] **M. Lopez Lazaro, C. Martin-Cordero, F. Iglesias-Guerra, and M.J. Ayuso
González, (1998),**
An isoflavone glucoside from *Retama sphaerocarpa* Boissier, Phytochemistry, **48**
(2), pp. 401-402
- [31] **H. Yingmei, N. Sansei, N. Yukari, and J. Zhexiong, (2001),**
Flavonol glycosides from the stems of *Trigonella foenum-graecum*, Phytochemistry,
58, pp. 577-580.
- [32] **G.G Zapesochnaya and N.A. Laman, (1977),**
Vses. Nawchn-Issled . INST .LEK. RAST Moscow ,USSR Khim .Prir. Soedin .(6),
pp. 862 -864
- [33] **Leda Mathias , Ivoj.C. Vieira ,Raimundo Braz –Filha and R.–F. Edson (1998),**
J.Nat . Products . **61**, pp. 1158-1161
- [34] **W. Kazutaka, K. Junei, and N. Toshihiro, (1993),**
Chem. Pham. Bull. **41** (2) pp 394 –396.
- [35] **I. Chihiro, I. Masataka, K. Tetsufumi, R. Nijisiri, M. T e r u o , T. Harukumi,
N. Hoyoku and F. Hirochi, (2003),**
Phytochemistry, **64**, pp.1265-1268.
- [36] **A.R. Bilia, F. Flammini, G. Fammini, I. Morelli, and A. Masili, (1993),**
phytochemistry, **34**, (1), pp. 847-852.
- [37] **R. Maire, (1987),**
La flore de l'Afrique du nord. Les légumineuses, Lechevalier Ed. Paris XVI.
- [38] **T. Lograda, (1996),**
Variabilités cariologiques et biochimiques de quatre espèces endémiques du genre
Genista L. Thèse de magister en biologie végétale. Université Ferhat Abbas –Sétif.
- [39] **L. Pistelli, A. Bertoli, I. Giachi, I. Morselli, P. Rubiolo, et C. Bicchi, (2001),**
Quinolizidine alkaloids from *Genista ephedroides*. Biochemical systematics and
ecology, **29** (2), pp. 137-141.

- [40] **V. Christov, L. and Evstalieva, (2000),**
Alkaloid profile of Bulgarian species from genus *Genista*. Dokladi na Bulgarskata Akademiya na Naukite, **53** (11), pp.25-28.
- [41] **J. Kirch, M. Veit, H. Wützig, R. Grenwald, and F.-C. Czygan, (1995),**
Alkaloidal variation in *Genista lobelii*. (Fabaceae). Biochemical systematics and ecology, **23** (6), pp. 636-643
- [42] **L. Van Rensen, V. Wrey, L. Witte, P. Canto, R. Grenwald, G. Veen, M. Veit, and F.-C. Czygan, (1994),**
Ester alkaloids of *Genista cinerea* subspecies *cinerea*. Phytochem., **95** (2), pp 421-424.
- [43] **L. Pistelli, A. Bertoli, I. Giachi, and A. Manumata, (1998),**
Flavonoids from *Genista ephedroides*. Journal of Nat. Prod., **61** (11), pp 1404-1406.
- [44] **I. Van Rensen, M. Veit, V. Wrey and F.-C. Czygan, (1996),**
Genistein-C-glucoside from *Genista cinerea*. Nat. Prod. letters, **6** (3), pp 203-207.
- [45] **I. Giachi, A. Manunta, I. Morelli and, L. Pistelli, (2002),**
Flavonoids and isoflavonoids from *Genista morisii*. Biochemical Systematics and Ecology, **30** (8), pp. 801-803.
- [46] **L. Pistelli, I. Giachi, D. Potenzs, and I. Morselli, (2000),**
A New Isoflavone from *Genista corcica*. Journal of Natural Products, **63**, pp. 504-506
- [47] **I. Harionov, (1988),**
Pharmacomogic effects on the reproductive system and anti-inflammatory action of the Total flavonoides mixtures contained in *G.tintoria* and *G. sessilifolia*. Farmatsiya (Sofia Bulgaria) **38** (1), pp 47-51.
- [48] **V. V. Korpachov, O. O. Lifvinenko, and I. P. Paster, (1995),**
Effect of *Genista tinctoria* extracts on the function of thyroid gland of intact rats and rats with experimental hypothyroidism Ukraine, farmatsevtichnii zhurnal (Kiev), (5) pp. 82-86.
- [49] <http://fr.wikipedia.org/wiki/Chenopodiaceae>.
- [50] **J.L. Multon, (1992),**
Le sucre, les sucres, les edulcorants et les glucides de charge dans les I.A.A, Tec. & Doc. Lavoisier, Paris.
- [51] **O. Bolos et J. Vigo, 1974,**
But. Cat. Hist. Nat. (Sect. Bot. 1), **38**, pp 61-89.
- [52] Index Kewensis, Plantarum phnerogamarum, 16^e supplément, Oxford University Press, New York, 1981, 135.

- [53] **R. Maire 1962,**
Flore de l'Afrique du nord, Lechevallier P., Paris, **8**, pp. 6-190
- [54] **R. Benkrief M. Brum-Bousquet F. Tillequin et M. Koch 1990,**
Ann. Pharmaceutiques francaises **48**, (4), pp. 219-224
- [55] **Y. Aynehchi, M.H. Salehi Sormaghi G. Amin and A. Gharhreman, 1981,**
Quart.J. Crude Drug Res., **19**, pp.53-63.
- [56] **N.R. Farnsworth, 1966,**
J Pharm. Sci., **55**, pp. 225-276.
- [57] **R.R. Paris et A. Pereyyra-Alarcon, 1968,**
Plant. Med. Phytother., **2**, pp. 90-96.

II-I Introduction :

Les plantes possèdent des métabolites dits «secondaires par opposition aux métabolites primaires que sont les protéines, les glucides, et les lipides. Ces composés diffèrent en fonction des espèces. Leur rôle intervient dans les relations qu'entretient la plante avec les organismes vivants qui l'entourent tels que parasites, pathogènes et prédateurs, mais aussi pollinisateurs et disséminateurs. Ces différentes relations ont donné lieu à une extrême diversification des composés secondaires [1,2].

On peut classer les métabolites secondaires en plusieurs grands groupes : parmi ceux-ci, les composés azotés dont les alcaloïdes, les terpènes et stéroïdes, et les composés phénoliques. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés possédant une très large gamme d'activités en biologie humaine.

Les principales voies de biosynthèse de ces composés souvent complexes peuvent être schématisées, comme reportée dans la figure II-1 [3].

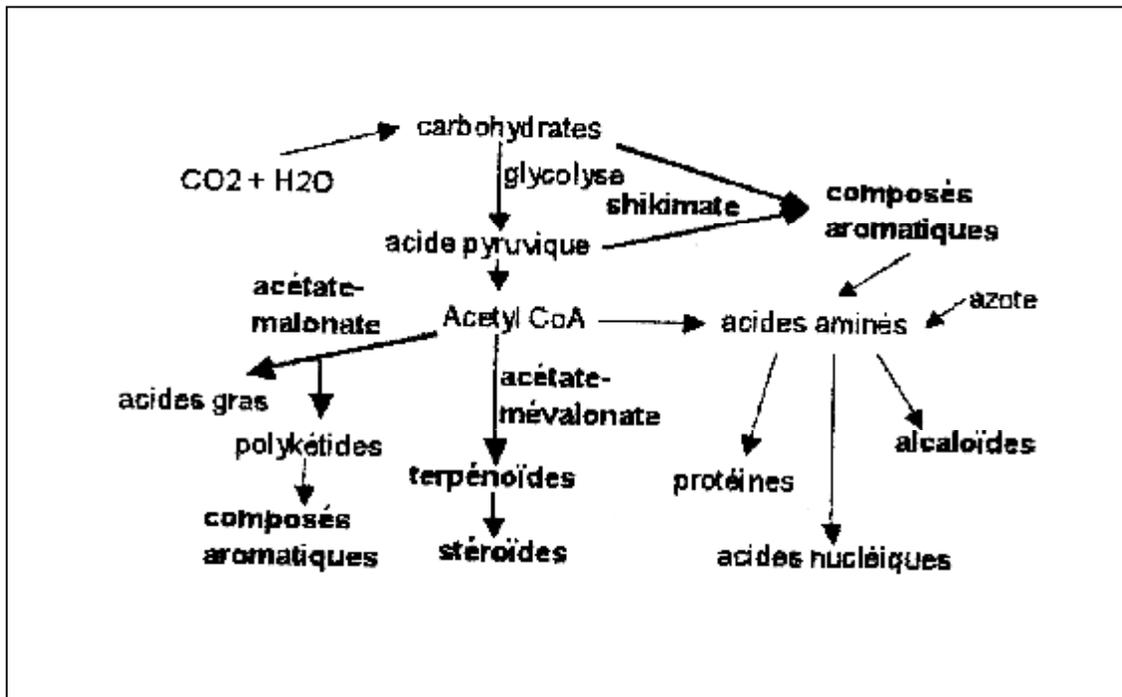


Fig.II-1 : Les principales voies de biosynthèse impliquées dans la production des métabolites secondaires des végétaux.

II-2 Les alcaloïdes :

Les alcaloïdes sont des composés azotés complexes, de nature basique, dérivant des acides aminés par des voies de biosynthèse longues et complexes. Ce groupe contient plus de 10.000 composés, dont le premier est la narcotine (nascapine) de l'Opium, découvert en 1803 par Derosne. Ils sont classifiés selon leur hétérocycle (Figure : II-2). Ces composés présentent diverses activités biologiques. Ce sont pour la plupart des poisons végétaux très actifs comme la strychnine (Figure: II-3). Selon leur composition chimique et surtout leur structure moléculaire, on peut les diviser en plusieurs groupes :

- alcaloïdes isoquinoléiques : morphine (Figure : II-4), éthylmorphine, codéine et papavérine contenues dans l'opium du pavot.
- alcaloïdes quinoléiques: tige feuillée de la rue commune.
- alcaloïdes pyridiques et pipéridiques : ricinine du ricin, trigonelline du fenugrec, conine (poison violent) de la ciguë.
- alcaloïdes dérivés du tropane : scopolamine et atropine de la belladone.
- alcaloïdes stéroïdes: racine de véatrate, douce-amère ou aconite (aconitine).

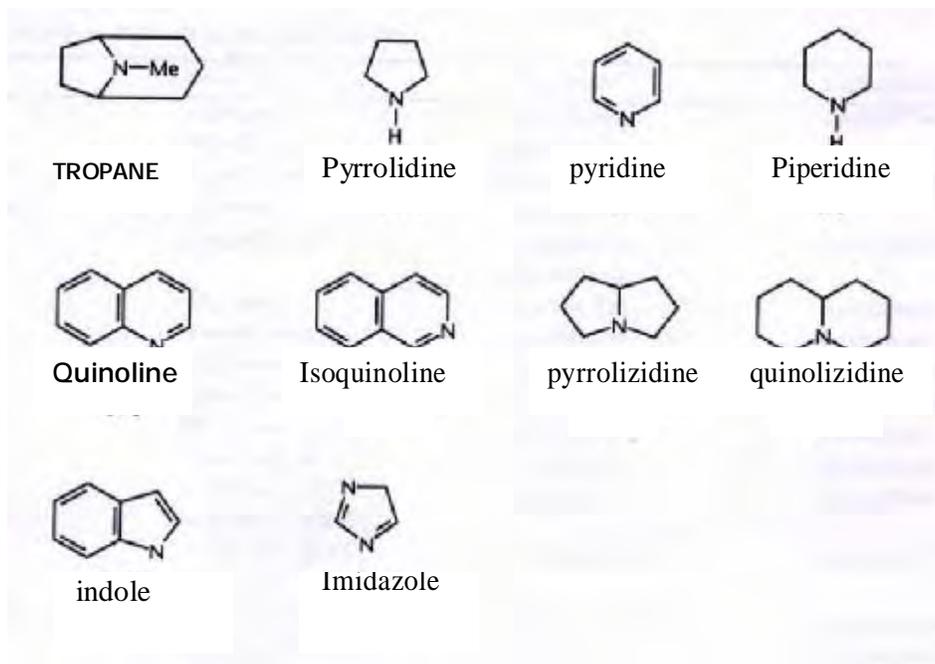


Fig. II-2 : Classification des alcaloïdes selon leurs noyaux hétérocycliques

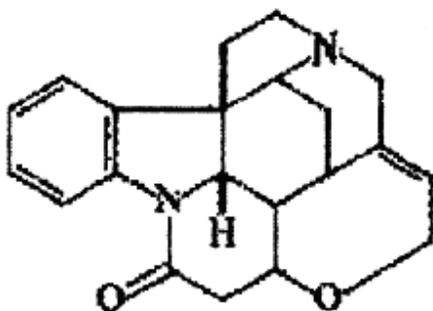


Fig. II-3 : Strychnine

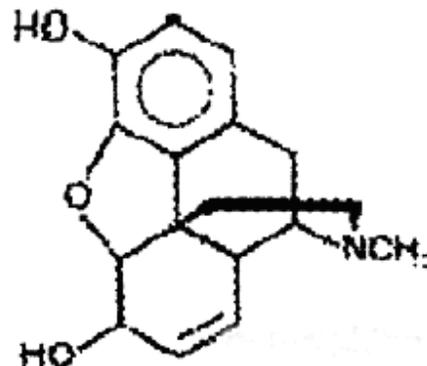


Fig. II-4 : Morphine

II-3 Les terpénoïdes:

Les terpénoïdes forment une classe de substances naturelles organiques dont beaucoup sont rencontrées quotidiennement et dont les noms traduisent souvent un caractère familier. Elles comprennent le menthol, à l'origine de l'odeur des crayons de bois, l'acide abiétique, constituant important de la résine des pins, les gommés naturelles et la gutta-percha utilisée pour faire les enveloppes des balles de golf, la bétuline, pigment blanc de l'écorce de bouleaux, le β -carotène, pigment orange des carottes et de nombreuses baies, le caoutchouc. Très variés tant structuralement que du point de vue de leurs activités biologiques, les composés de ce groupe, constitués uniquement des éléments carbone, hydrogène et oxygène, comportent des huiles essentielles, des résines, des stéroïdes et des polymères comme le caoutchouc [4-6].

Leur chaîne carbonée est constituée d'unités isoprène (Figure : II-5) à cinq atomes de carbone, assemblés d'abord en une chaîne insaturée qui est ensuite modifiée par oxydation, réduction ou élimination de carbone.

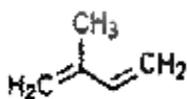


Fig. II-5 : Unité isoprène

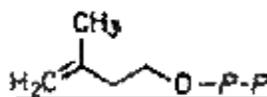


Fig. II-6 : isoprène activé

La forme activée de l'isoprène qui sert de précurseur à la biosynthèse de ces composés est l'isopentényl diphosphate (IPD, Figure : II-6) formé à partir de l'acétyl-CoA. L'isomère prényl diphosphate de ce composé sert d'amorce à la biosynthèse. La Figure : II-7 indique les voies de synthèse des différents groupes de terpénoïdes à partir de ces composés [7].

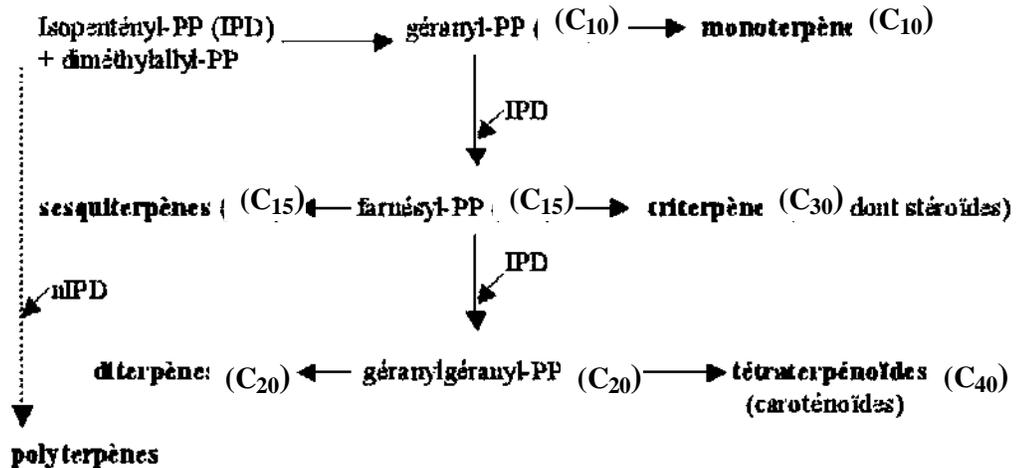


Fig. II-7 : voies de synthèse des terpénoïdes.

II-3-a Les monoterpènes :

Ils constituent la majeure partie des huiles essentielles qui sont présentes en quantité appréciable chez environ 2000 espèces de 60 familles végétales. Ils sont rares chez les Légumineuses. Parfois simplement formées dans le cytosol, ces huiles se rassemblent en gouttelettes ou s'accumulent dans les vacuoles des cellules épidermiques ou du mésophile de nombreux pétales, ou encore dans des cellules oléifères. Quand la température est élevée, ces essences traversent la paroi cellulaire et la cuticule sous forme de vapeur (parfum de fleurs). Mais souvent, des cellules glandulaires les éliminent activement dans des compartiments intercellulaires ou les rejettent vers l'extérieur du végétal. Ils comportent 10 atomes de carbone, et sont issus des couplages de deux unités isopréniques.

Ils sont pourvus d'une grande diversité structurale. Leur squelette peut être acyclique, mono, bi, et tricyclique, quelques structures sont reportées à titre d'exemple sur la figure II-8 :

- Ø acyclique (myrcène 20, sécoïdane 21...)
- Ø monocyclique (**p**-menthane 22, iridane 23...)
- Ø bi et tricyclique (carane 24, pinane 25, bornane 26...)

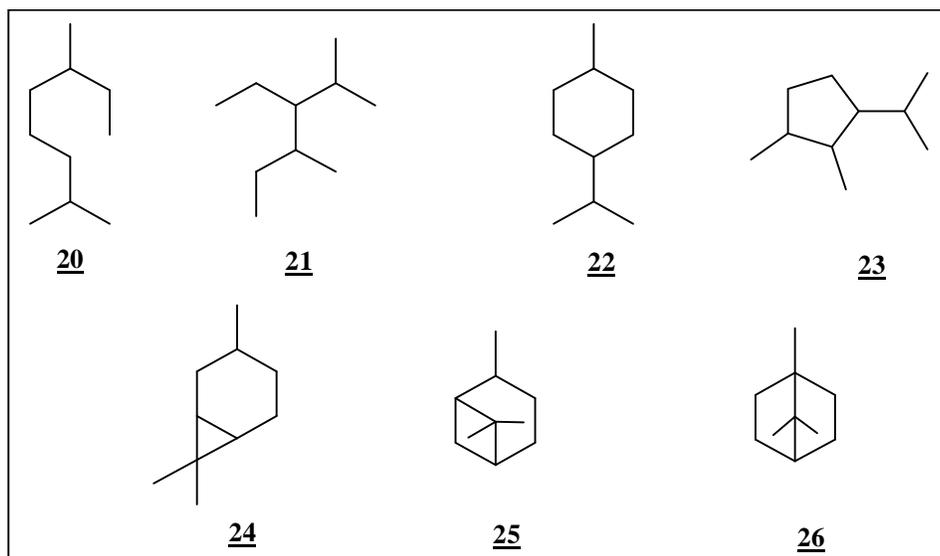


Fig. II-8 : Exemple de quelques monoterpènes cycliques et acycliques

II-3-b Les sesquiterpènes :

Le squelette de base de ces composés est constitué de 15 atomes de carbone. Depuis l'isolement du farnésol (en 1913), sesquiterpène linéaire très répandu dans le monde végétal (parfum), le nombre de molécules sesquiterpéniques n'a cessé de croître : Les composés actuellement décrits se rattachent à plus de 100 squelettes différents [8].

Ø Sesquiterpènes acycliques : constituent un groupe relativement moins abondant dans la nature. Ils dérivent tous du farnésol, nérolidol et leurs esters pyrophosphates. La plupart des sesquiterpènes acycliques ont un noyau furane ou tétrahydrofuranyl. Le farnésol 32 se forme par déphosphorylation de son précurseur le farnésyl di-P.

Ø Sesquiterpènes monocycliques : l'Ac. S (+)-abscissique **33**: une phytohormone présente dans les bourgeons, les feuilles et les fruits de nombreuses plantes, l'humulène **37**.

Ø Bicycliques : l' α -cadinène **34**, l'alcool carotol **35**, guayazulène **36**.

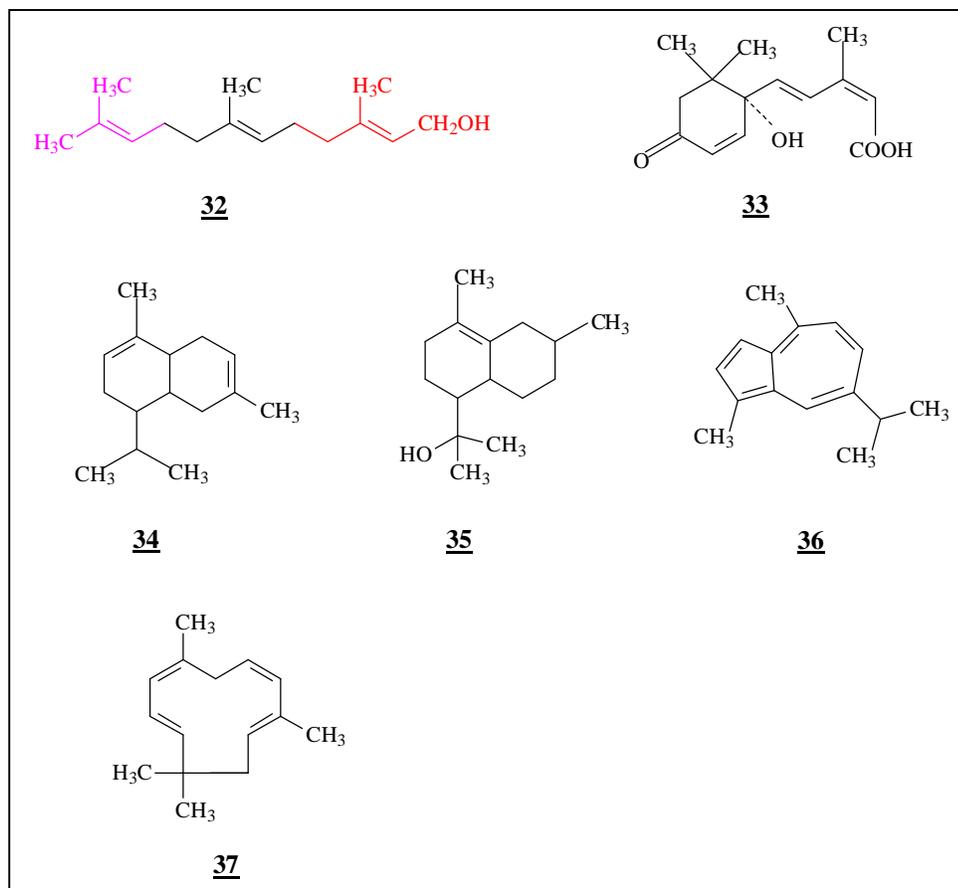


Fig. II 9 : Quelques Structures des sesquiterpènes non, mono et bi -cycliques

Leur propriété pharmacologique est attribuée aux huiles essentielles qu'ils composent. Un autre groupe de sesquiterpènes est caractérisé par la présence d'une γ -lactone ; α -méthylène- γ -lactone et les époxydes fréquents sont des sites réactifs à l'égard des nucléophiles biologiques qui seront alkylés irréversiblement, d'où une large gamme d'activités biologiques. De nombreuses lactones sesquiterpéniques sont antibactériennes (Gram⁺) et antifongiques, certaines structures sont antiparasitaires d'autres sont anthelminthiques ou molluscicides. Certains inconvénients existent grâce à leur pouvoir alkylant, d'où découle une cytotoxicité, c'est l'exemple de la picrotoxine **39** isolée d'un poison de pêche de l'Inde, coque du Levant (*Anamirta cocculus*), la tutine **40** et l'henanchine **41** qui contaminent parfois les miels [9-10]

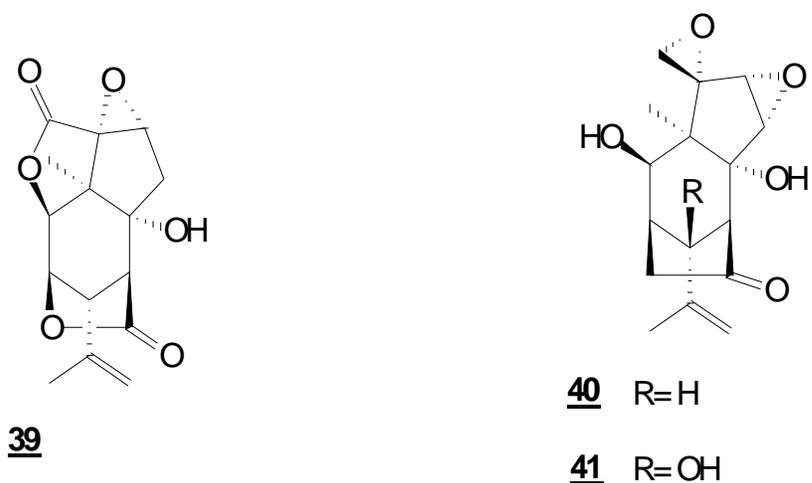


Fig. II-10 : Exemple de lactones sésquiterpéniques

II-3-c Les diterpènes :

Les diterpènes forment un vaste ensemble de composés en C₂₀, issus du métabolisme du 2E, 6E, 10E, **GGPP** [11]. Leur représentant le plus simple est le géranylgéraniol. Les diterpènes sont présents chez certains insectes et chez divers organismes marins, ils sont surtout répandus chez les végétaux supérieurs, on les classe en fonction de leur diversité structurale [8, 12, 13].

∅ Composés acycliques, capsianoside **42** (Figure : II-11)

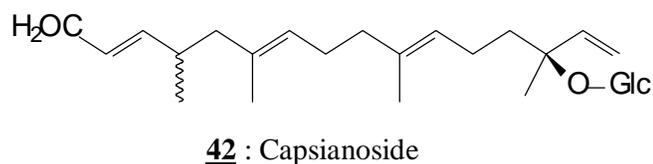


Fig. II-11 : Exemple de diterpène acyclique.

∅ Composés cycliques : le taxane **43**, le tigliane **44**, le manool **45**, le forskoline **46** (Figure: II-12).

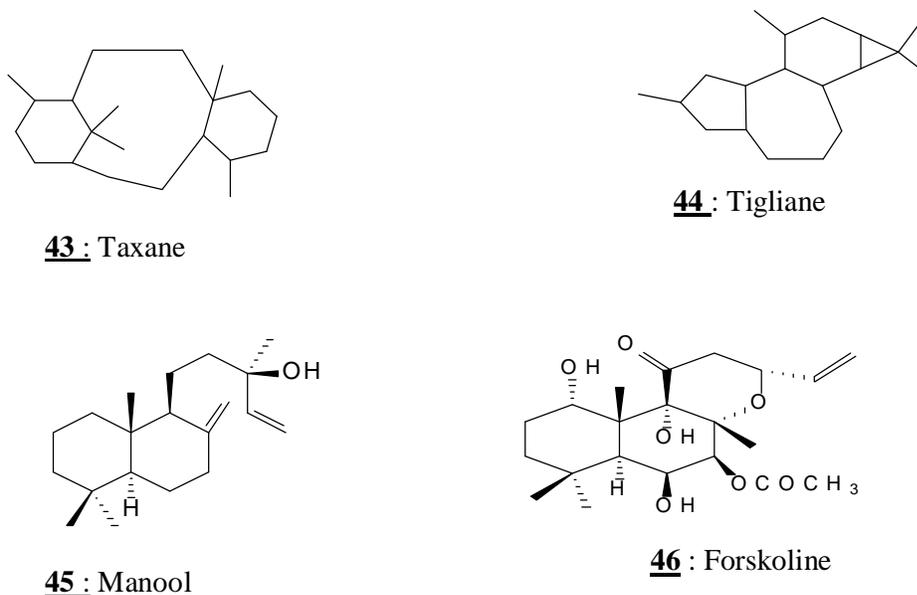


Fig. II-12 : Structures de quelques diterpènes cycliques.

Les diterpènes ne sont pas pour autant dépourvus de potentialités thérapeutiques; on peut citer les propriétés antihypertensives de la forskoline du *Plectranthus barbatus* et les propriétés anti-retrovirales de la prostratine **47** d'*Homalanthus nutans*. On peut citer également, l'intérêt des quinones diterpéniques dans le traitement de diverses affections myocardiques, les propriétés antitumorales des diterpènes tetracycliques (oridonine **48**, lasiokaurine), les propriétés anti-inflammatoires et analgésiques de structures isolés d'organismes marins, et également les amides diterpéniques cytoxiques de *Ryania speciosa* [13].

A côté de ces potentialités thérapeutiques s'ajoutent d'autres vertus notamment anti-oxydantes attribuées surtout aux diterpènes phénoliques (rosmanol **49** «*Rosmarinus officinalis*»), et des propriétés édulcorantes ou hallucinogènes [14].

La figure II-13 reporte quelques structures de diterpène doués d'activités biologiques.

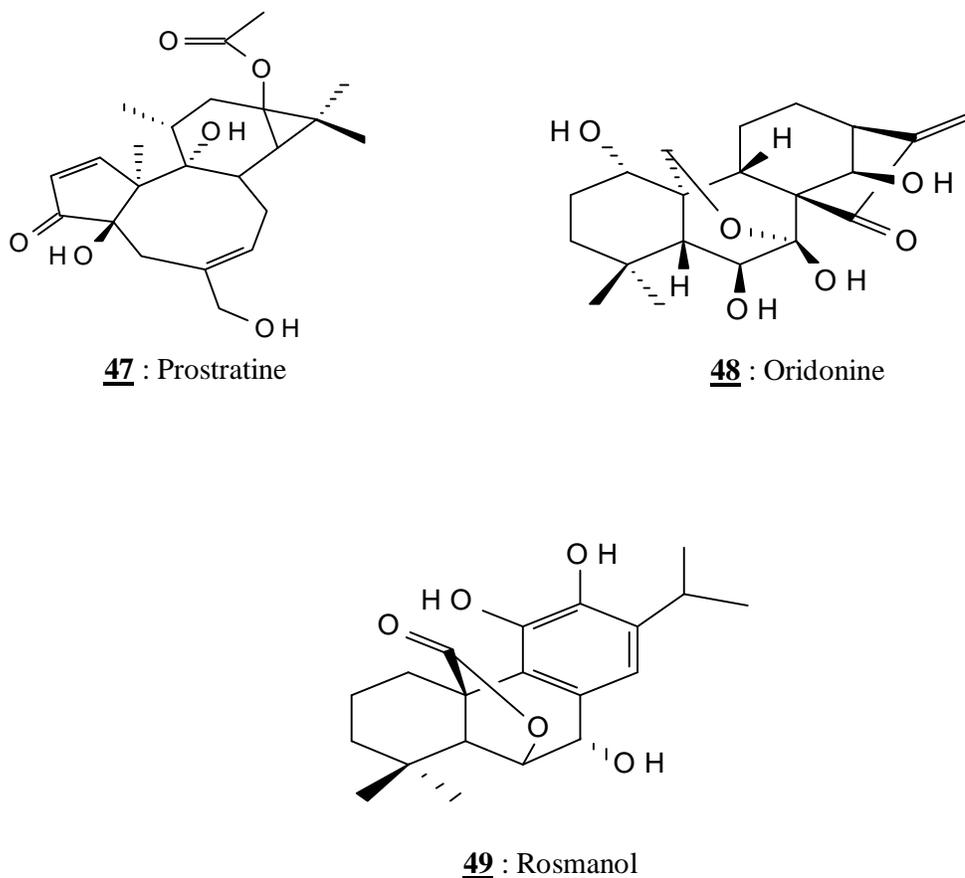


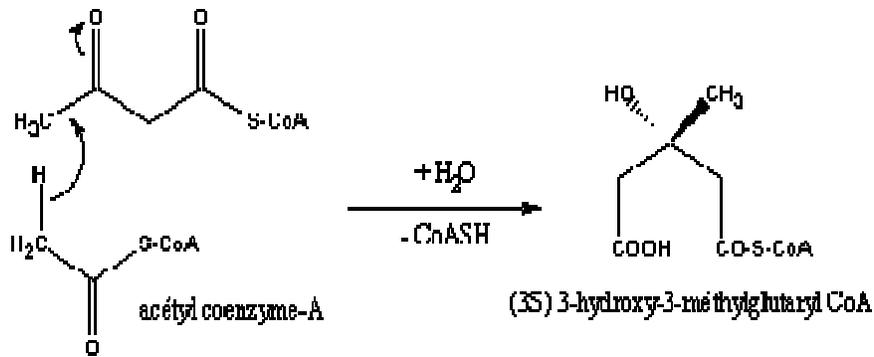
Fig. II-13 : Exemple de diterpènes biologiquement actifs.

II-3-d Les triterpènes :

Les triterpènes sont des composés en C_{30} , issus de la condensation de six molécules d'isoprène [15], ils forment un groupe important de produits naturels [16-18]. Ces composés et leurs dérivés sont intégralement biosynthétisés par tous les êtres vivants avec deux exceptions : les bactéries qui ne les utilisent pas et les insectes qui les empruntent aux plantes souvent de façon spécifique puis les transforment [19].

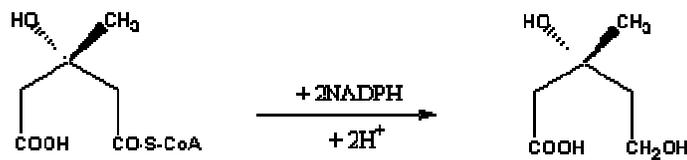
Le véritable précurseur universel de tous les terpènes est l'**acide mévalonique**, la première étape est l'activation de la molécule d'acide acétique. Ceci est réalisé par estérification avec le groupe thiol d'une molécule complexe, le coenzyme A « HS-CoA ». Le méthyle du thiol-ester formé, l'acétyl-CoA est très réactif.

La condensation aldolique de l'acétyl-CoA sur l'acétoacétyl-CoA conduit au (3S) 3-hydroxy-3-méthylglutaryl-CoA.



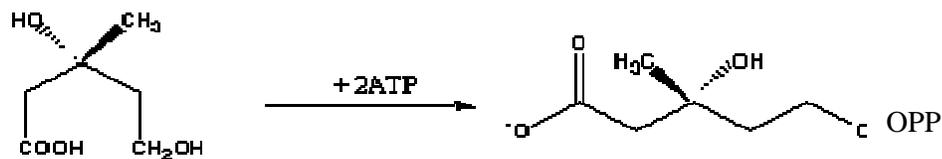
Réaction de condensation

Celui-ci est ensuite irréversiblement réduit par le Nicotinamide-Adénine-Dinucleotide-phosphate (NADPH) en acide (3R) mévalonique (MVA). L'autre isomère n'agit pas comme précurseur.

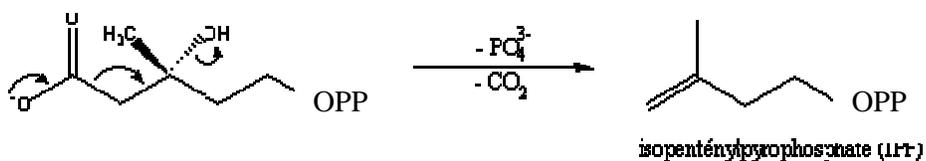


Réduction

Le MVA est activé (enzymatiquement) par phosphorylation.



Une élimination avec décarboxylation donne ensuite l'isopenténylpyrophosphate (IPP).



Décarboxylation

L'isomérisation de celui-ci fournit une molécule hautement réactive, le pyrophosphate d'isopentén-2-yle ou le diméthylallylpyrophosphate (DMAPP) qui peut facilement s'ioniser puis s'isomériser [20-22].



Isomérisation

Dans le monde végétal, la voie mévalonate (Figure : II-14) conduit aux phytostérols, comme le stigmastérol **49** et le β -sitostérol **50** et aux mycostérols, comme l'ergostérol **51**. Dans le règne animal, elles permettent l'élaboration des zoostérols dont le plus important est le cholestérol **52** [23].

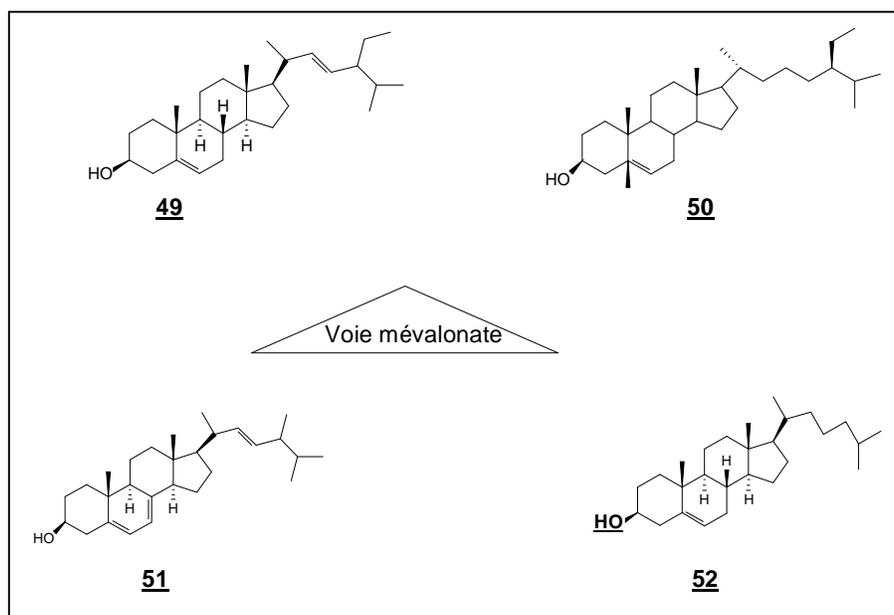


Fig. II-14 : Voie mévalonate

La classification des triterpénoïdes repose sur la structure du squelette carboné de l'hydrocarbure saturé dont ils dérivent [24].

On distingue les squelettes de base en :

- 1) Tricyclique : ambrane.
- 2) Tétracyclique : lanostane.
- 3) Pentacyclique :
 - a) symétrique (cycles A, B, C, B', A')
 - à cycle C ouvert : onocérane,
 - à cycle C fermé : gammacérane ;
 - b) asymétrique (cycles A, B, C, D, E)
 - cycle E à 5 sommets : lupane,
 - cycle E à 6 sommets :
 - groupe méthyles 29 et 30 fixés sur le carbone 20 : oléane,
 - groupe méthyles 29 et 30 fixés respectivement sur les carbones 19 et 20 : ursane.

La figure II-15 reporte quelques squelettes carbonés des triterpénoïdes.

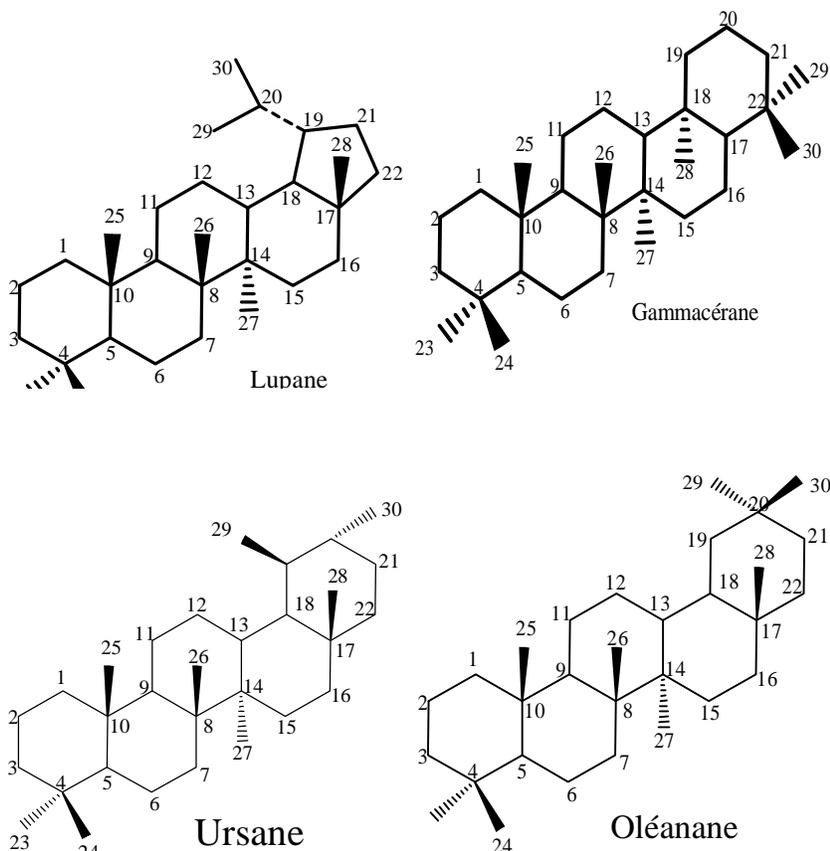


Fig.II-15 : Squelettes carbonés des triterpénoïdes

II-3-e Les stéroïdes :

La structure de leur aglycone en C₂₇ dérive uniquement de celle du stérane, il n'y a pas de différence fondamentale entre les triterpènes et les stéroïdes, ces derniers pouvant être considérés comme des triterpènes tétracycliques qui ont perdu au minimum trois méthyle [8]. Le premier de ces composés fut isolé vers 1770, de calculs biliaires, par Poulletier de la Salle, puis trouvé également, en 1815, dans les graisses animales, par M. E. Chevreul. Il fut nommé « cholestérine » (du grec *kholé* = bile et *stéros* = solide) en souvenir de la source où il avait été découvert initialement. En 1859, M. Berthelot, prenant en considération la fonction alcool, modifia le nom en cholestérol. Depuis, de nombreux autres composés voisins ont été isolés. Ce n'est qu'en 1936 que le terme générique « stéroïde » est donné à tous les corps chimiques qui possèdent un noyau (gonane) identique ou très proche de celui des stérols, alors que la dénomination « stérol » est réservée aux seuls hydroxy-3 β stéroïdes porteurs d'une longue chaîne en C-17 comme le cholestérol [25-27].

L'intérêt thérapeutique et l'emploi industriel des triterpènes et des stéroïdes en font un groupe de métabolites secondaires de première importance : Par exemple l'intérêt des sapogénines spirostaniques du sitostérol ou du stigmastérol demeure indispensable pour couvrir les besoins de l'industrie pharmaceutique en médicaments stéroïdiques (contraceptifs, anabolisants, anti-inflammatoires) [28]. Aussi une grande potentialité thérapeutique dans les domaines les plus divers : cytostatiques, antiviraux insecticides, molluscicides, analgésiques [8,29].

II-3-f Les stérols :

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

Du point de vue structural, ils se caractérisent par la présence en position 3, en général de stéréochimie β du noyau cyclopenténophénanthrénique, d'un hydroxyle libre, étherifié (glycosides) ou estérifié (stérides : sans intérêt pharmacologique connu), de deux méthyles en position 10 β , 13 β et d'une chaîne carbonée en 17 β (Figure I-16) [14].

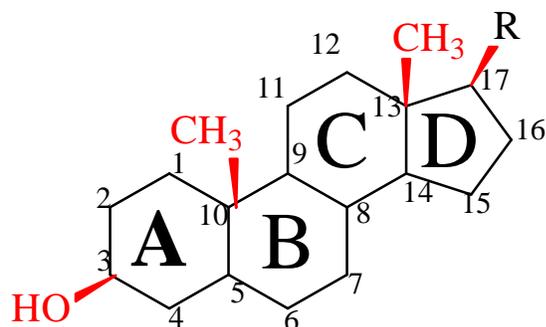


Fig. II -16 : Noyau gonane et ses chaînes latérales couramment rencontrée.

De nombreux stérols sont insaturés : en C₅ (souvent), simultanément en C₇ et C₂₂ (assez souvent) et en C₇ (parfois). Ils sont alors appelés sténols par opposition à leurs homologues saturés, les stanols. Les stérols ont la faculté de former entre eux ou avec des saponines, des combinaisons non covalentes. Cette propriété découverte par A. Windaus, explique l'action détoxifiante du cholestérol à l'égard de poisons renfermant des saponines (exemple venin d'abeille dont les saponines sont des dérivés de stérols végétaux recueillis au cours du butinage).

Biogénétiquement les stérols proviennent de la polycyclisation selon divers modes du 2,3'époxysqualène, produit de l'oxydation enzymatique du squalène, hydrocarbure à trente atomes de carbones. Après protonation, l'époxysqualène subit sous contrôle enzymatique une tétra ou éventuellement une pentacyclisation ; on obtient ainsi des intermédiaires réactionnels qui, selon les auteurs, sont des carbocations de divers types ou les complexes enzymatiques correspondants. Toujours sous l'action d'enzymes spécifiques ces carbocations subissent des transpositions diverses, se terminant par la création d'une double liaison à la suite de la perte d'un proton [30, 31].

Le squalène, précurseur des autres phytostérols, s'oxyde en présence de NADPH et d'oxygène moléculaire (O₂) conduisant au 2,3-oxyde de squalène lequel sous l'action d'une squalène cyclase se transforme en cycloarténol ; puis des hydrogénations partielles créent une fonction alcool. Tous les stérols sont issus de la déméthylation progressive du cycloarténol et de l'ouverture de son cycle 9 β-19-cyclopropanique [32, 8], la voie de synthèse des stérols est reportée dans la figure II-17.

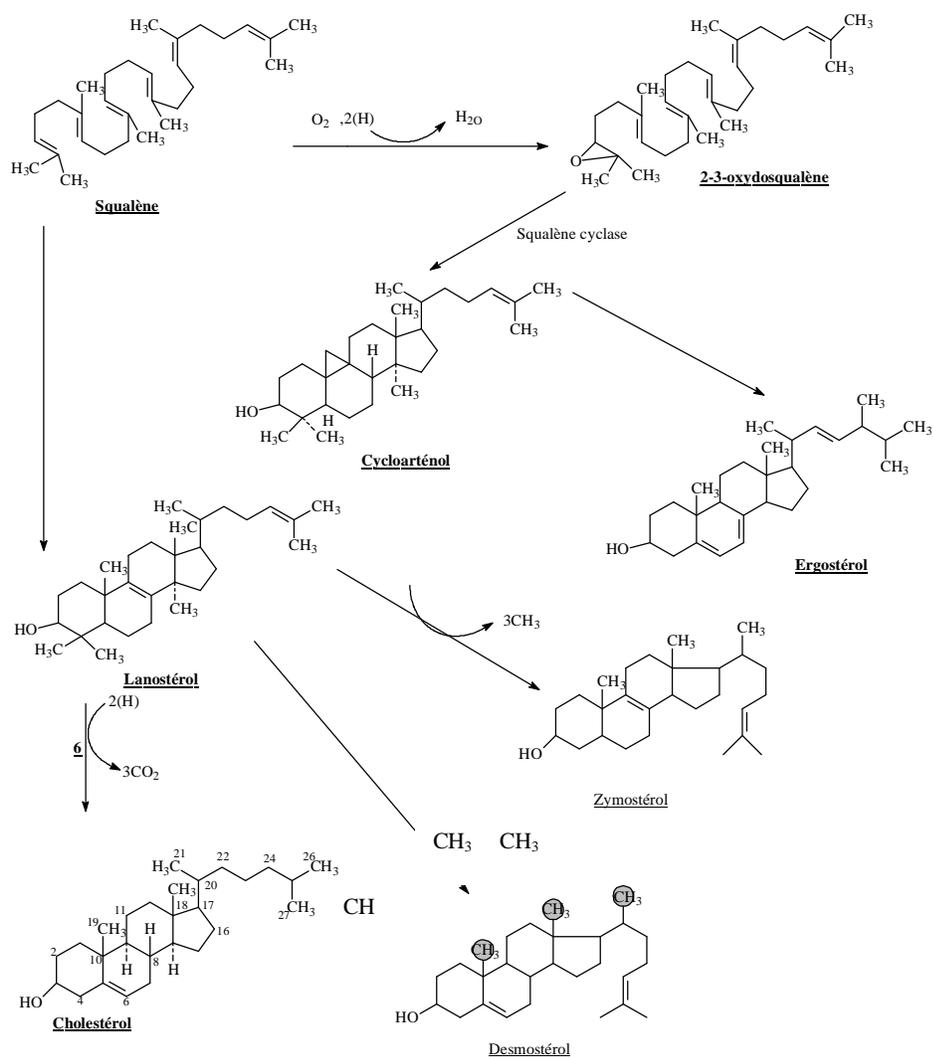


Fig. II-17 : Voie de synthèse des stérols

II-4 Les composés phénoliques :

Les composés phénoliques correspondent à une grande variété de substances possédant un cycle aromatique portant au moins un groupement hydroxyle. Certains phénols peuvent avoir les propriétés physiologiques concernant la régularisation de la croissance et du développement, comme l'acide lunularique, un acide dihydro-stilbène-

carboxylique qui aurait le rôle d'hormone de type dormine (= acide abscissique) chez l'hépatique *Lunularia cruciata* [36]. Mais le rôle écologique de ces composés phénoliques reste le plus important en effet les pigments flavonoïdes (en association avec les caroténoïdes) contribuent à l'attraction des animaux vis-à-vis des fruits et des fleurs colorés à disperser ou polliniser. De plus, ils sont parfois excrétés de la plante et peuvent affecter la croissance des autres plantes dans l'environnement immédiat (phénomène d'allélopathie) [37]. Certains flavonoïdes et surtout les tanins, astringents, sont des antiappétants protégeant les plantes de la prédation de nombreux animaux [38, 39]. Ils peuvent également être toxiques pour les insectes : l'acide chlorogénique, très courant, en association avec le flavonoïde la «rutine» des trichomes des feuilles de la tomate est toxique pour *Heliothis zea* [40]. Enfin certaines classes de phénols agissent comme agents antimicrobiens pour diverses bactéries, virus et champignons [41].

On peut distinguer différents types de composés phénoliques :

II-3-a Les tanins :

Les **tanins** ont une action **protectrice** contre les attaques de microorganismes en se déposant dans les parois cellulaires. Ces substances de composition chimique variable présentent un caractère commun: leur capacité de coaguler les albumines, les métaux lourds et les alcaloïdes. Elles sont hydrosolubles. Leur intérêt médicinal réside essentiellement dans leur caractère astringent: leur propriété de coaguler les albumines des muqueuses et des tissus, en créant ainsi une couche de coagulation isolante et protectrice, ayant pour effet de réduire l'irritabilité et la douleur, d'arrêter les petits saignements. Les décoctions et les autres préparations à base de drogues riches en tanins sont employées le plus souvent extérieurement contre les inflammations de la cavité buccale, les catarrhes, la bronchite, les hémorragies locales, sur les brûlures et les engelures, les plaies, les inflammations dermiques, les hémorroïdes et la transpiration excessive [42,43].

II-3-b Les coumarines :

Les coumarines sont responsables de l'odeur caractéristique de l'aspérule odorante et du mélilot desséché. Elles présentent un intérêt physiologique, inhibant la croissance des graines en germination. Les coumarines, en présence d'UV, se lient aux bases pyrimidiques de l'ADN [44]. Elles sont donc phototoxiques pour un large panel d'organismes dont des bactéries, virus, champignons, invertébrés et vertébrés. La

furocoumarine xanthotoxine incorporée à 0,1% dans l'aliment et irradiée d'UV entraîne 100% de mortalité chez *Prodenia eridania* [41]. La Figure II-18 illustre quelques exemples de structures coumariniques.

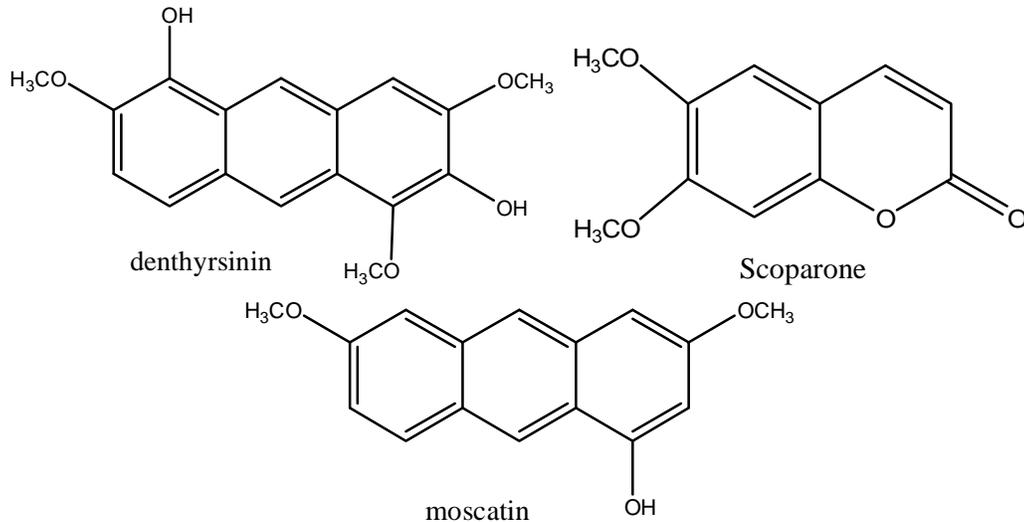


Fig. II-18 : Exemple de structures coumariniques

II-4-c Les flavonoïdes :

Le terme flavonoïde rassemble une très large gamme de composés naturels. Leur fonction principale semble être la coloration des plantes. Ils possèdent un squelette de base à quinze atomes de carbone constitué de deux noyaux benzéniques (A et B) reliés par une chaîne en C₃ (figure II-19) [42].

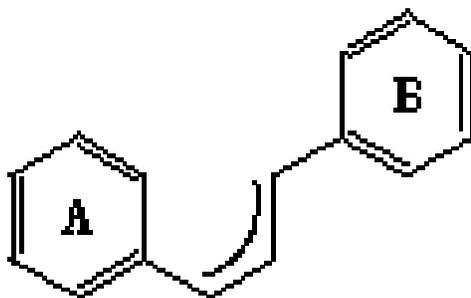


Fig. II-19: squelette de base des flavonoïdes.

La formation des flavonoïdes se fait à partir d'un précurseur commun, la 4,2',4',6'-tétrahydroxychalcone [43,44]. Par l'action d'enzymes, cette chalcone de couleur jaune, est considérée comme le point de départ pour synthétiser les différentes classes de flavonoïdes : flavanone (10), aurone (9) flavanonol (12), flavone (11), anthocyanidine (15), flavonol (13), catéchine (14)... Des étapes ultérieures, surtout de glycosylation et d'acylation, amènent les flavonoïdes à la forme définitive dans laquelle ils se trouvent in vivo [45]. La biosynthèse de ces composés est illustrée sur la figure II-20.

Les composés de chaque sous-classe se distinguent par le nombre, la position et la nature des substituants (groupements hydroxyles, méthoxyles et autres) sur les deux cycles aromatiques A et B et la chaîne en C₃ intermédiaire. A l'état naturel, on trouve très souvent les flavonoïdes sous forme de glycosides. Une ou plusieurs de leurs fonctions hydroxyles sont alors glycosylées. La partie du flavonoïde autre que le sucre est appelée aglycone.

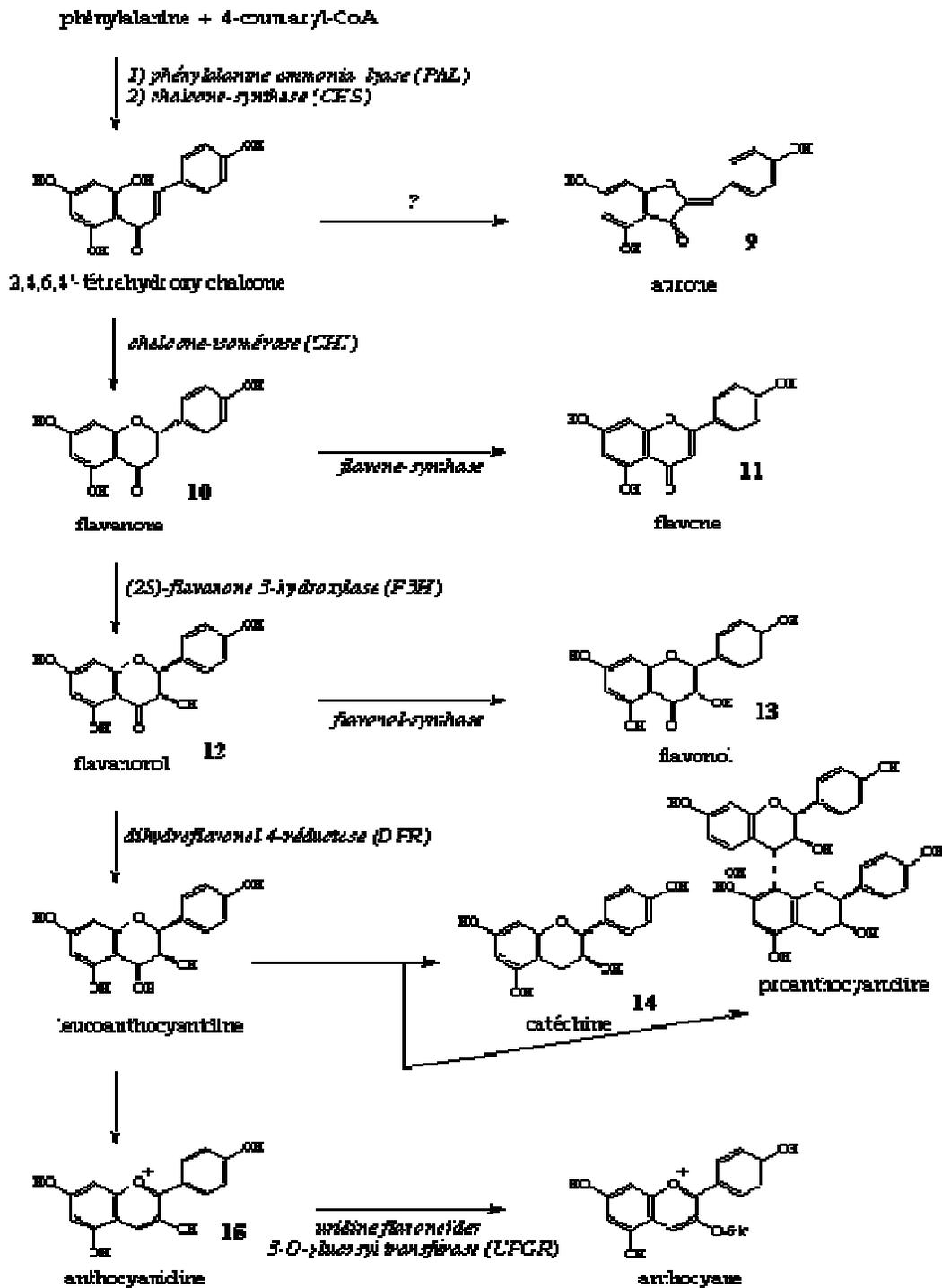


Fig. II-20: Biosynthèse des flavonoïdes

II-4-d Les isoflavonoïdes :

Ils forment une sous classe très large et très distinguée des flavonoïdes, toutes les molécules de ce groupe sont caractérisées par un squelette de 15 atomes de carbone comme les flavonoïdes mais réarrangées selon un motif 1, 2-diphénylpropanique [46]. Ces composés très actifs se trouvent essentiellement chez les Légumineuses [46]. Certains isoflavonoïdes fonctionnent comme des phytoalexines, synthétisées comme défense contre le stress, la glycéolline produite par le soja est un bon exemple [47], le seul groupe de flavonoïdes connus pour être hautement toxique envers de nombreux insectes est les isoflavonoïdes roténoïdes. Extrait des racines de *Derris elliptica* (Légumineuse), la roténone en est le principe actif [48]. Ils sont peu toxiques envers les mammifères mais très toxiques pour les poissons et les insectes. Leur toxicité est liée à l'inhibition de l'oxydation mitochondriale (transport d'électrons) [3]. La figure II-21 reporte des exemples de quelques isoflavonoïdes de défense de plantes.

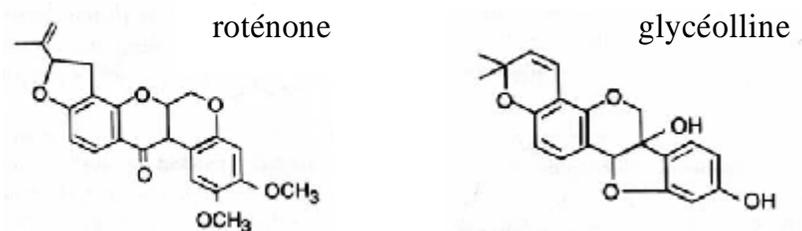


Fig. II-21 : Isoflavonoïdes de défense de plantes

REFERENCES:

- [1] **G. M. König., A. D. Wright., S. G. Franzblau, (2000),**
Planta Med., **66**, pp. 337-342.
- [2] **R. C. Pereira., B. A. P. DA Gama., V. L. Teixeira., Y. Yoneshigue-valentin, 2003,**
Braz. J. Bio, **63** (4). pp. 665-672.
- [3] **Panda, N. and Khush, G. S., (1995),**
Secondary plant Metabolites for Insect Resistance. In *Host plant Resistance to Insects.*, Wallingford, UK: CAB International, pp. 22-66.
- [4] **D. J. Faulkner, (2001),**
Nat. Prod. Rep., **18**, pp. 1-49.
- [5] **M. E. Hay., P. D. Steinberg, (1992),**
The chemical ecology of plant-herbivore interactions in marine versus terrestrial communities. In: J. Rosenthal & M. Berenbaum (eds.), vol. II. Academic Press, New York, pp. 371-413.
- [6] **M. A. Ragan., K. W. Glombitza , (1986),**
Prog. Phycol. Res., **4**, pp. 130-241
- [7] **Richter, G., (1993),**
Isoprénoides. In *Métabolisme des végétaux.*, ed. G. Richter : Press olytechniques et universitaires romandes., pp. 287-315.
- [8] **J. bruneton., (1999),**
Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème} édition, éditeur technique et documentation, Paris. pp. 472-670.
- [9] **N. J. White, (1996),**
New. Eng. J. Med., 335, pp. 800-805
- [10] **H. J. Woerdenbag., N. Pras., N. G. Chan., B. T. Bang., R. Bos., W. Van UdenN. V. Boi., C. B. Lutig , (1994),**
Planta Med., **60**, pp. 272-275.
- [11] **G. Richter , (1993),**
Phytochimie des Plantes Médécinales. Pharmacognosie. 3^{ème} Ed. pp. 472-670
- [12] **J.R. Hanson., (1971),**
Prog. Chem. Org. Nat. Prod., **29**, 395.

- [13] **Hill, R.A., (1993),**
in *The Chemistry of Natural Products*, 2nd edn (ed. R.H. Thomson), Blackie,
Glasgow. 124.
- [14] **L. J. Valdés, (1994),**
A. J. Psychoactive Drugs. **26**, pp. 277-283
- [15] **Ruzika, Egli, Ehmann, Furter et Hosli , (1932),**
Helv. Chim. Acta., **15**, 431.
- [16] **G . Ourisson et P. Crabbé. (1961),**
Les triterpènes Tétracycliques Paris, Hermann Ed. 194.
- [17] **Crabbe, P., 1959,**
Rec. Chem. Progr. (U.S.A.), **20**, (4), pp. 189-207, 80 ref.
- [18] **Crabbe, P. et Ourisson, G . (1957),**
Ind., Chim., Belge, **22**, 1309.
- [19] **H. H. Rees., T. W. Googwin, (1974),**
Biochem.Soc .Trans., **2**, pp. 1027-1066.
- [20] **K.Kirschner, (1961),**
Thesis, University of Munich,
- [21] **H.Eggerer., F.Lynen, (1960),**
Ann .Chem., 630 , 58.
- [22] **J. Chappell., F. Wolf., J. Proulx., R. Cuellar, C. Saunders, (1995),**
*Is the reaction catalyzed by 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase a
rate-limiting step for isoprenoid biosynthesis in plants?* *Plant Physiology* **109**.
pp. 1337-1343
- [23] **M. Seemann, (2002),**
Angew. Chem. Int. Ed. **41**. 4337.
- [24] **P. Boiteau, B. Pasich, A. Rakoto Ratsimamango, (1964),**
Les triterpénoides en physiologie végétale et animale, Paris, Gautier-villard Ed., 13
- [25] **M. E. Chevreul , (1915)**
Ann. Chim.. **95**. 5
- [26] **E. Schulze , (1872),**
Ber., **5**. 175 ; *Ber.,* **57**. 177
- [27] **D. A. Lewis, J. F. Mc Ghie., (1956),**

- [28] **Goad, J. (1991),**
Phytosterols, in«Methods in plant biochemistry, 7, Terpenoids», (charlwood, B. V. et Banthorpe, D.V., éd), pp. 369-434, Acadrmie press. Londres.
- [29] **Connolly, J.D, ET Hill, R.A (1996).**
Triterpenoids, *Nat. Prod. Rep*; **13**, pp.151-169.
- [30] **Harrison, D. M. , (1990),**
Natural Product Reports., **7**, pp. 459-484.
- [31] **Minotto, P., (1981),**
Biosynthesis of natural products. John Willey and Sons.,New York. Chichester. Brisbane. Toronto.
- [32] **Guignard , J. L. , (1974),**
Abrégé de biochimie végétale. Pp. 170-186
- [33] **Gorham, J. (1977),**
Lunularic acid and related compounds in liverworths, algae and hydrangea.
Phytochemistry, **1**, 249.
- [34] **Rice, E.L., (1974),**
Allelopathy. New York: Academic press.
- [35] **Harbone, J.B., (1977),**
Introduction to ecological biochemistry. London: Academic press.
- [36] **Swain, T., (1977),**
Secondary compounds as protective agents. *Annu. Rev. Plant physiol.*, **28**, pp. 479-501.
- [37] **Isman, M.B and Duffey, S.S., (1982),**
Toxicity of tomato phenolic compounds to the fruitworm *Heliothis zea*. *Entomol. Exp. Appl.* **31** pp. 370-376.
- [38] **Harbone, J.B., and Ingham, J.L., (1978),**
Biochemical aspects of the coevolution of higher plants with their fungal parasites in *Biochemical aspects of plant and animal coevolution. Annualproe. Phytchem.Soc. Europe*, ed. H. J. B. (Ed. : Academic press.), pp. 343-405.

- [39] **Harbone, J.B., (1988).**
Introduction to ecological biochemistry. London: Academic press.
- [40] **Berenbaum, M.R., (1983),**
Coumarins and calerpillards: a case for coevolution, *Evolution* **37** pp. 163-179.
- [41] **Berenbaum, M.R., (1991),**
Coumarins *In Herbivores: their interactions with secondary plant metabolites.*, (eds. G. A. Rosenthal and M.R Berenbaum) New York Academic press., **I**, pp. 221-249.
- [42] **Harborne, J.B. (1964),**
Biochemistry of phenolic compounds, Academic press, New York.
- [43] **Pecking A., Picandet B., Hacene K., Lokiec F., Guérin P., (1987),**
Oligomères procyanidoliques (Endotélon) et système lymphatique. Artères et Veines; **6**, pp. 512-3
- [44] **Guilhou J.J., Dereure O., Marzin L., (1997),**
. Efficacy of Daflon 500 mg in venous leg ulcer healing : a double-blind, randomized, controlled versus placebo trial in 107 patients. *Angiology* ; **48** , pp. 77-85.
- [45] **J. bruneton., (1993),**
Pharmacognosie, Phytochimie des plantes médicinales, Technique et documentation Lavoisier pp. 272-279
- [46] **Dewick, P. M. (1993),**
Isoflavonoids. The Flavonoids Advances in research since 1986. Edited by J. B. Harborne, Chapman & Hall. London pp.117-238]
- [47] **Perrin, D.R. and Cruickshank, (1965),**
I.A.M. Studies on the phytoalexins. VII. Chemical stimulation of pisatin formation *In Pisum sativum. Aust. J. Biol. Sci.* **18** pp.803-816.
- [48] **Sandrine Louis, (2004),** *Thèse de doctorat, « Diversité structurale et d'activité biologique des albumines entomotoxiques de type 1b des graines de légumineuses».* Inst. Nat. Des Sc. Appliquées de Lyon.

III-1- ETUDE CHIMIQUE DE *GENISTA TRICUSPIDATA* Desf.

III-1 -1 ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE :

La recherche bibliographique que nous avons menée sur *Genista Tricuspada*, espèce endémique, en Algérie et en Tunisie a montré que cette plante n'a fait l'objet d'aucune étude phytochimique auparavant.

III-1-2 DESCRIPTION DE LA PLANTE :

Grappes florifères non terminées en rameau feuillé. Gousses une fois $\frac{1}{2}$ à 2 fois plus longues que larges. Calice à peu près glabre. Feuilles toutes unifoliolées, stipulées au moins en partie, à stipules spinuleuses. Rameaux à épines simples, tricuspides ou pennées. Espèce polymorphe. Connue sous le nom de " Guendoul " ou " Chebrak " (Figure : III-1-1) [1].



Fig. III-1-1: Photo de *Genista tricuspidata* Desf.

III-1 -3 PLACE DANS LA SYSTEMATIQUE

Embranchement	—————>	Spermaphytes
Sous-embranchement	—————>	Angiospermes
Classe	—————>	Dicotylédones
Ordre	—————>	Rosales
Famille	—————>	Fabales (Légumineuses)
Sous famille	—————>	Papilionacées (Fabacées)
Tribu	—————>	Genisteae
Genre	—————>	<i>Genista</i>
Espèce	—————>	<i>Tricuspidata</i>

III-1-4 EXTRACTION ET FRACTIONNEMENT DE *GENISTA*

***TRICUSPIDATA* DESF :**

Il existe plusieurs techniques pour extraire les produits d'une plante. Nous avons adopté pour l'ensemble de nos extractions la méthode la plus couramment utilisée soit la macération dans une solution éthanol- eau [2].

Ainsi, 1200 g des parties aériennes de la plante sèche sont coupées en petits morceaux, et mises à macérer dans un mélange éthanol/eau 70/30 (V/V) pendant 72 heures. La solution résultante est filtrée, puis concentrée. L'extrait obtenu est additionné d'eau distillée puis traité par le tétra acétate de plomb $(\text{CH}_3\text{COO})_4 \text{Pb}$, sous agitation magnétique pendant quelques heures, pour précipiter la chlorophylle. Après filtration la solution obtenue est épuisée successivement par : l'éther de pétrole, le chloroforme et le *n*-butanol. Les phases organiques sont séchées par le Na_2SO_4 anhydre pour éliminer toute trace d'eau, puis filtrées, et enfin concentrées à sec pour donner les différents extraits destinés à notre étude. Cette technique, permet d'économiser le solvant tout en garantissant l'extraction de l'ensemble des constituants chimiques de la plante.

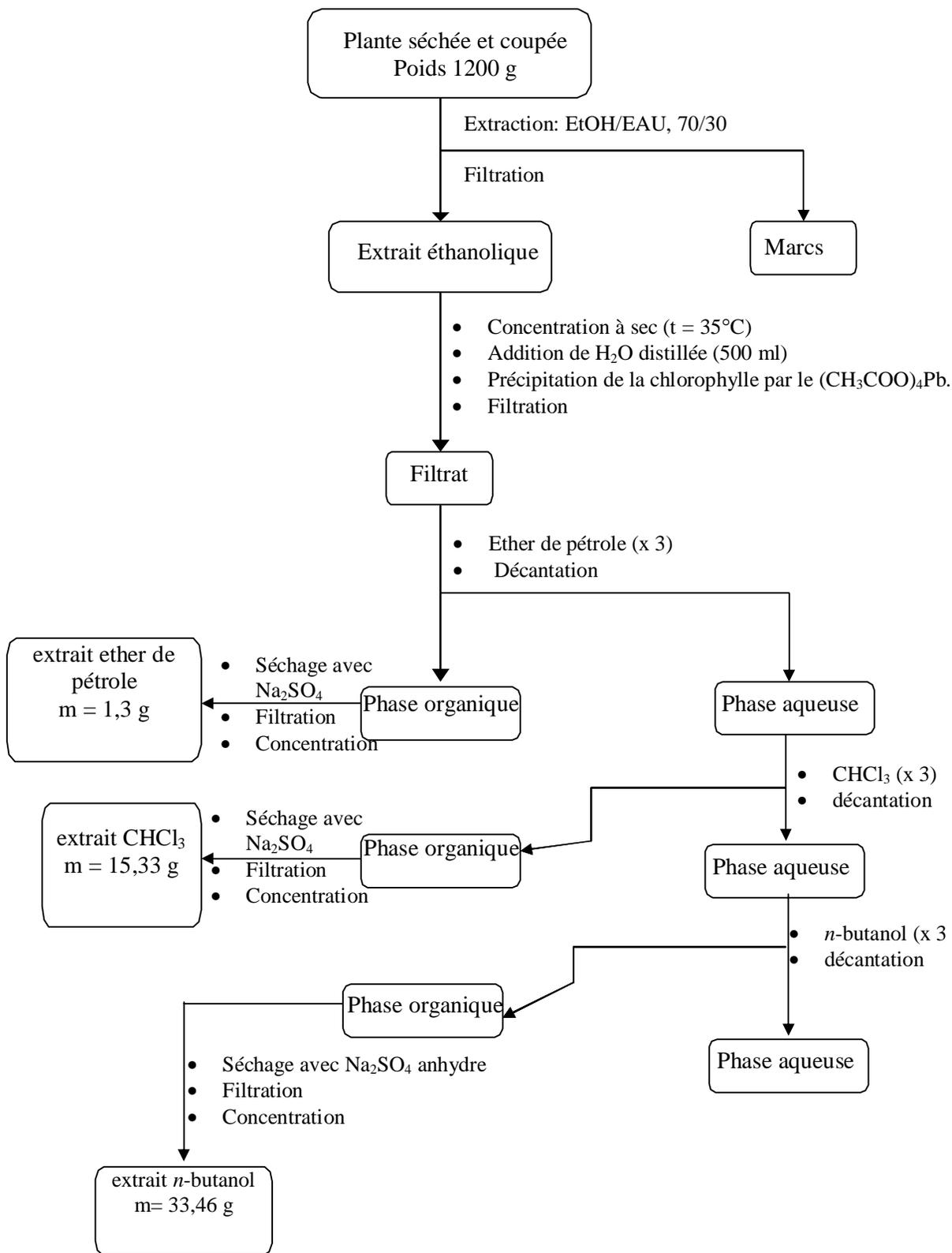
Le processus de l'extraction est résumé sur le schéma III-I. Le tableau III-1-a rassemble les résultats de l'opération du fractionnement de l'extrait brut.

Il en ressort que les extraits chloroforme et *n*-butanol sont les plus abondants.

TABLEAU III-1-a Fractionnement de l'extrait brut

Extraits	Poids (g)	Rendement g/kg
Ether de pétrole	1,3	1,08
Chloroforme	15,33	12,77
<i>n</i> -butanol	33,46	27,88

Schéma III-1: Récapitulatif de l'extraction de *Genista tricuspidata* Desf.



III-1 -5 ETUDE DES EXTRAITS :

Pour l'ensemble des extraits, nous avons débuté le traitement par une chromatographie analytique sur couche mince pour mettre au point l'éluant ou le système d'élution qui donnerait les meilleurs résultats.

Nous avons retenu le chloroforme dont la polarité sera augmentée progressivement par addition du méthanol pour les extraits éther de pétrole et chloroforme comme le montre les figures (III-1-2) et (III-1-3), et le système hexane / acétate d'éthyle / méthanol pour l'extrait *n*-butanol comme l'indique la figure (III-1-4).

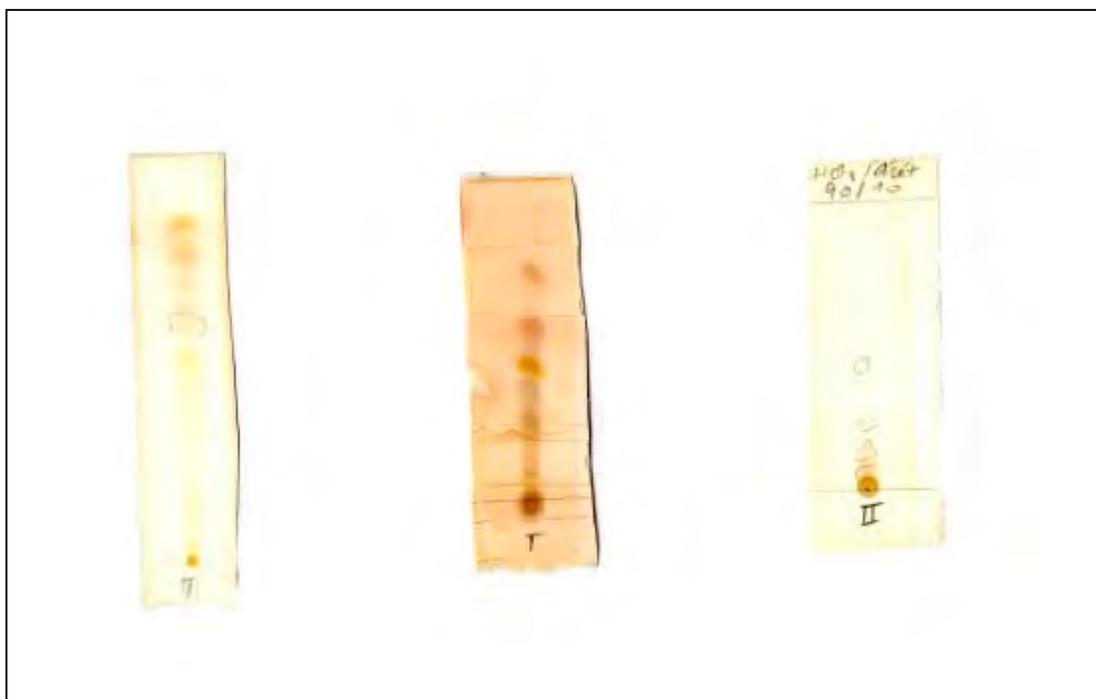


Fig. III-1-2
Extrait éther de pétrole

Fig. III-1-3
Extrait chloroforme

Fig. III-1-4
Extrait *n*-butanol

III-1 -5 -A TRAITEMENT DE L'EXTRAIT ETHER DE PETROLE :

La faible quantité obtenue de l'extrait éther de pétrole ainsi que sa couleur verte, qui après révélation à l'ansaldéhyde sur plaque analytique de gel de silice et examen sous UV (254-365nm) devient rouge vive, indique la présence abondante de chlorophylle. Ceci nous a incité à renoncer à l'étude de cet extrait.

III-1 -5 -B TRAITEMENT DE L'EXTRAIT CHLOROFORME :

Une étude chromatographique analytique par CLHP a été réalisée sur cet extrait en utilisant une colonne nucléosil C₁₈ éluée par un système binaire eau / acétonitrile à diverses proportions (phase inverse) et une détection UV aux valeurs de la longueur d'onde 250 et 340nm. La meilleure détection a été obtenue à la longueur d'onde $\lambda = 340$ nm et la proportion 70/30 pour le système d'éluion (voir figure III-1- 5).

Le chromatogramme correspondant montre d'une part un contenu assez riche de cet extrait en composés polaires et d'autre part, que ces composés polaires absorbent bien à la longueur d'onde utilisée.

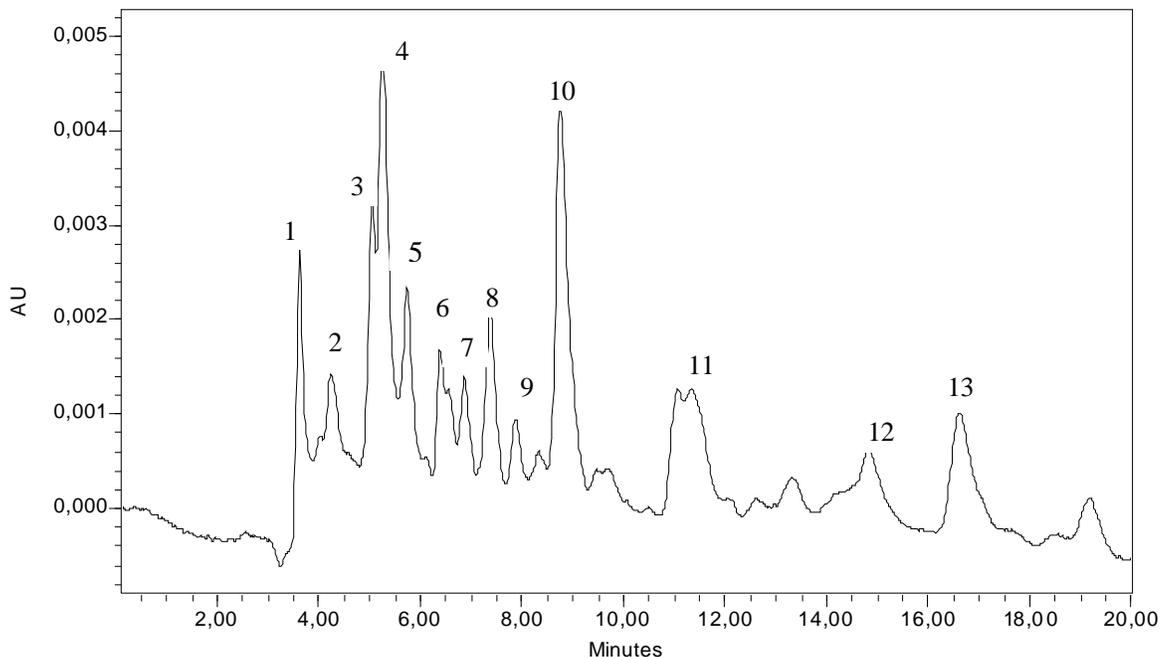


Figure III-1-5 Chromatogramme de l'extrait chloroforme de *G. tricuspidata* Desf.
(Conditions chromatographiques : système d'éluion Acétonitrile / Eau 70 /30 ; Longueur d'onde de détection $\lambda = 340$ nm)

Par ailleurs l'enregistrement des spectres UV des pics : n°4 ($t_r = 5,22$ mn), n°5 ($t_r = 5,82$ mn), n°8 ($t_r = 7,39$ mn), n°10 ($t_r = 8,76$ mn) montre que tous ces produits sont du type flavonique (figure III-1- 5).

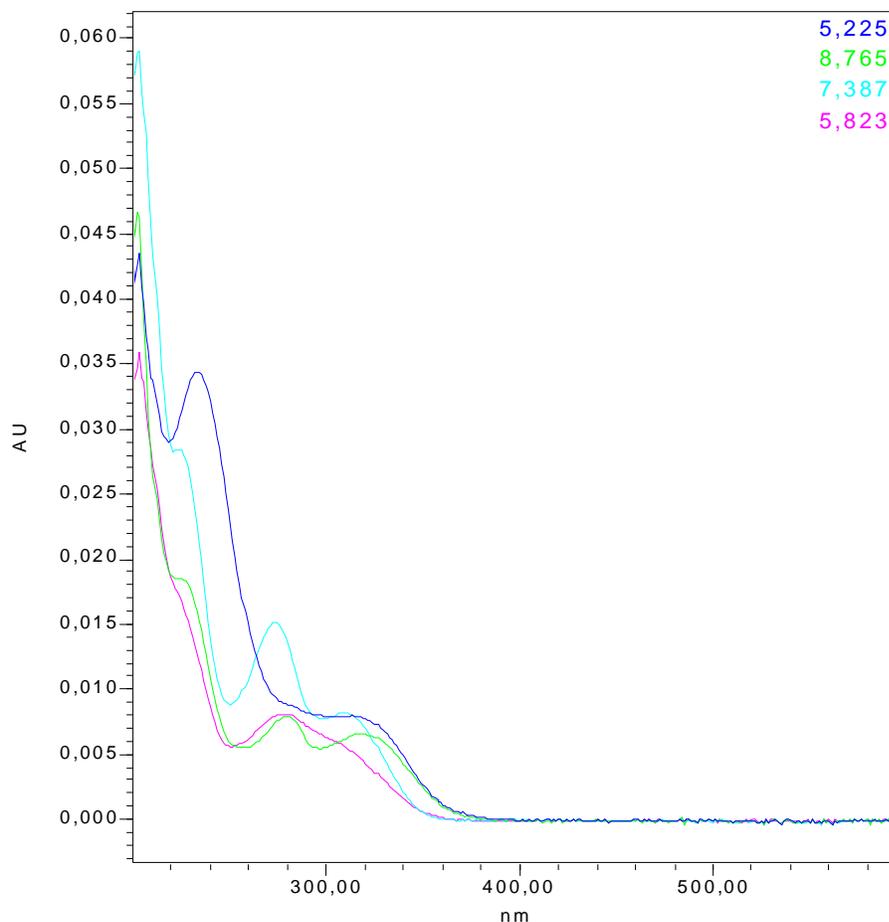


Figure III-1-6 Spectres UV de quelques pics du chromatogramme de l'extrait Chloroforme de *G. tricuspidata* Desf.

Ces résultats assez encourageants nous ont emmenés à entreprendre une étude chromatographique détaillée.

III-1 -5 -B-1 SEPARATION CHROMATOGRAPHIQUE SUR COLONNE :

Environ 10 g de l'extrait chloroforme sont dissous dans un minimum de chloroforme, la solution est introduite à l'aide d'une pipette sur une colonne confectionnée avec 300g de gel de silice (type 60, 230-400 mesh, merck) préparée dans le chloroforme. L'élution débute avec le même solvant dont la polarité sera augmentée par addition progressive de méthanol.

Des fractions de 25 ml sont recueillies et analysées par chromatographie sur couche mince (C.C.M). Les plaques sont examinées sous UV (254 et 365 nm), puis révélées à l'anisaldéhyde et chauffées à 100°C, pendant quelques minutes.

Les fractions présentant la même composition sont réunies donnant ainsi 38 fractions. Les résultats de l'opération sont regroupés dans le tableau III-1-b.

Tableau III-1-b Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de L'extrait chloroforme de *G. tricuspidata* Desf.

Lots des fractions réunies	Nom de la fraction	Système éluant %		Poids (mg)	Observations
		CHCl ₃	MeOH		
1	ok ₁	100	0	/	
2-7	ok ₂	100	0	/	Graisses
8-13	ok ₃	100	0	/	Couleur jaune pale
14-17	ok ₄	100	0	13	Couleur jaune (mélange séparable)
18-21	ok ₅	100	0	/	Changement de couleur (jaune clair)
22-26	ok ₆	100	0	37,7	Mélange séparable (couleur orange)
27-29	ok ₇	100	0	/	Couleur jaune foncé
30-32	ok ₈	100	0	72	Mélange séparable (couleur marron)
33-35	ok ₉	99	1	357	Mélange séparable (couleur marron)
36-40	ok ₁₀	99	1	65	Mélange complexe (couleur marron)
41-44	ok ₁₁	99	1	14	Mélange complexe (couleur claire)
45-55	ok ₁₂	99	1	18	Changement de couleur
56-74	ok ₁₃	98,5	1,5	51	Mélange séparable (couleur verte)
75-87	ok ₁₄	98,5	1,5	14	couleur vert foncé
88-90	ok ₁₅	98	2	11	-- -- --
91-96	ok ₁₆	96	4	27	-- -- --
97-107	ok ₁₇	95	5	40	Changement de couleur
108-111	ok ₁₈	94	6	33	-- -- --
112-114	ok ₁₉	92	8	/	-- -- --
115-128	ok ₂₀	90	10	48	Mélange séparable
129-134	ok ₂₁	90	10	33	couleur verte
135-137	ok ₂₂	90	10	40	couleur verte
138-141	ok ₂₃	90	10	45	Rouge brique foncée, odeur acide
142-143	ok ₂₄	90	10	25	odeur acide très forte (traînée)
144-154	ok ₂₅	90	10	51	Eclaircissement de la couleur
155-179	ok ₂₆	85	15	35	Couleur jaune foncé
180-188	ok ₂₇	80	20	75	Couleur foncée (traînée)
189-216	ok ₂₈	75	25	2060	Mélange complexe
217-230	ok ₂₉	70	30	32	Couleur foncée
231-235	ok ₃₀	70	30	28	-- -- --
236-243	ok ₃₁	70	30	77	-- -- --
244-248	ok ₃₂	70	30	64	-- -- --
249-256	ok ₃₃	70	30	1050	-- -- --
257-264	ok ₃₄	70	30	37	Mélange séparable (couleur orange)
265-278	ok ₃₅	50	50	116	Couleur foncée (mélange complexe)
279-294	ok ₃₆	20	80	1270	-- -- --
295-322	ok ₃₇	0	100	1610	-- -- --
↓ Fin de la colonne	ok ₃₈	0	100	/	-- -- --

III-1-5 –B-2 ETUDE DES FRACTIONS DE L'EXTRAIT CHLOROFORME:

Les fractions pas trop complexes, jugées intéressantes du point de vue quantitatif sont testées sur plaque analytique de gel de silice. Examinées sous UV à 254 et 365nm, ces plaques montrent la dominance de la couleur rouge, indiquant la présence de la chlorophylle dans toutes ces fractions. Sachant que les chlorophylles sont solubles dans les hydrocarbures tels que l'éther de pétrole, le Nafta, le cyclohexane et le *n*-hexane, il nous fallait tester des systèmes d'élutions composés au moins d'un de ces solvants, additionné d'un solvant moyennement polaire. Ainsi des systèmes d'élution ont été sélectionnés pour effectuer les travaux de purification sur plaques préparatives de gel de silice 60. F₂₅₄.

Ø ETUDE DE LA FRACTION ok-4 :

La fraction ok-4 ayant un aspect cristallin, soluble dans le méthanol a subi une séparation sur plaques de gel de silice éluées par le système *n*-hexane /AcOEt (9/1).

Les résultats obtenus sont reportés sur le tableau III-1-c

Tableau III-1-c Résultats de la chromatographie C.M. de la fraction ok-4

Poids : 13mg 2 plaques préparatives de gel de silice Eluant : *n*-hexane/AcOEt (9/1)

Bandes	Composés	Poids (mg)	Observations
1 ^{ère} bande	ok 4-1	6	Produit pur, absorbe à $\lambda= 254\text{nm}$
2 ^{ème} bande	ok4-2	1,9	Monotache, n'absorbe pas sous UV

Ø ETUDE DE LA FRACTION ok-6 :

La C.C.M. de cette fraction révèle la présence de plusieurs taches séparables, avec un produit majoritaire visible sous la lumière UV (254 nm). Nous avons alors soumis cette fraction à une séparation par chromatographie sur plaques préparatives de gel de silice avec comme éluant le système *n*-hexane/éther éthylique.

Les résultats de cette opération sont reportés dans le tableau III-1-d.

Tableau III-1-d Résultats de la chromatographie C.M. de la fraction ok-6

Poids : 37,7mg 3 plaques préparatives de gel de silice Eluant : *n*-hexane /éther éthylique (4 /1)

Bandes	Composés	Poids (mg)	Observations
1 ^{ère} bande	ok 6-1	0,9	Monotache, visible sous UV 254 nm
2 ^{ème} bande	ok 6-2	0,7	Monotache, visible sous UV 366 nm
3 ^{ème} bande	ok 6-3	2	Monotache, visible sous UV 254 nm
4 ^{ème} bande	ok 6-4	0,6	Monotache, visible sous UV 254 nm
5 ^{ème} bande	ok 6-5	4	Monotache, produit pur
6 ^{ème} bande	ok 6-6	2	Monotache, produit pur

Ø ETUDE DE LA FRACTION ok-8 :

La purification des composés de cette fraction a débuté par une chromatographie sur une colonne de sephadex LH-20 éluée par le méthanol afin d'éliminer la chlorophylle. Nous avons soumis par la suite ce mélange à la chromatographie sur plaques préparatives de gel de silice éluées par le système cyclohexane/éther éthylique.

Les résultats obtenus sont reportés dans le tableau III-1 -e.

Tableau III-1-e Résultats de la chromatographie C.M de la fraction ok-8.

Poids : 29,2mg 2 plaques préparatives Eluant : cyclohexane/éther éthylique (3 /7)

Bandes	Composés	Poids (mg)	Observations
1 ^{ère} bande	ok 8-1	15	absorbe sous UV 254, couleur marron après révélation à l'aniline et chauffage
2 ^{ème} bande	ok 8-2	3	absorbe sous UV 366.couleur foncée révélation à l'aniline et chauffage (monotache et traînée)
3 ^{ème} bande	ok 8-3	<1	absorbe sous UV 254, couleur rose après révélation à l'aniline et chauffage (traînée)

Une étude par RMN du proton de ces produits révèle que le composé ok8-1 nécessite encore une purification, par contre les deux autres sont des mélanges complexes.

Les résultats de la purification de la sous fraction ok8-1 sont données dans le tableau III-1-e-1.

Tableau III-1-e-1 Résultats de la Chromatographie C.M. de la sous fraction ok8-1

Poids : 15mg

1 plaque préparative

Eluant : Nafta/acétone (5/1)

Bandes	Composés	Poids (mg)	Observations
1 ^{ère} bande	ok 8-1-1	0,4	Monotache (faible quantité)
2 ^{ème} bande	ok 8-1-2	8	N'absorbe pas sous UV, mais se colore en marron après révélation à l'acide sulfurique et chauffage.
3 ^{ème} bande	ok 8-1-3	1,3	absorbe sous UV, monotache (Produit pur)

Ø ETUDE DE LA FRACTION ok-9 :

Nous avons procédé pour cette fraction à une première purification sur colonne d'alumine (Alumine 90 activé, neutre, 70-230 mesh) afin d'éliminer la chlorophylle en utilisant comme éluant le système Nafta/AcOEt en gradient de polarité. Les résultats de cette opération sont regroupés sur le tableau III-1-g.

Tableau III-1-f : Résultats de la séparation sur colonne d'alumine de la fraction ok-9

Poids : 357mg

poids d'alumine (10g)

Lots des fractions réunies	Nom de la fraction	Système éluant %		Observations
		Nafta	AcOEt	
1-2	ok9-1	100	0	Mélange de produits
3-4	ok9-2	100	0	Mélange complexe
5-9	ok9-3	100	0	Mélange séparable
10-14	ok9-4	100	0	Mélange séparable
15-18	ok9-5	100	0	Couleur verte (chlorophylle)
19-21	ok9-6	100	0	Mélange complexe
22-24	ok9-7	95	5	Mélange complexe
25-29	ok9-8	90	10	Mélange complexe
30-32	ok9-9	80	20	Mélange complexe
33-35	ok9-10	50	50	Mélange complexe
36	ok9-11	0	100	Couleur verte (chlorophylle)

Testée par chromatographie analytique sur couche mince, les fractions ok9-3 et ok9-4 se sont avérées de composition très similaires aussi nous les avons réunies en une seule fraction (ok9-3). Cette dernière a été rechromatographiée sur une colonne de gel de silice (type 60, 230-400 mesh, Merck), avec comme système éluant Nafta/ éther éthylique en gradient de polarité.

Le tableau III-1-f-1 illustre les résultats de cette colonne, après regroupement des pots effectué selon le résultat des tests chromatographiques sur plaques C.C.M.

Tableau III-1-f-1 Résultats de la Chromatographie sur colonne de la sous fraction ok9-3

Poids : 131,3mg

Poids de la silice : 4g

Lots des fractions réunies	Nom de la fraction	Système éluant %		Observations
		Nafta	Ether éthylique	
1-5	ok9-3-1	100	0	Mélange complexe
6	ok9-3-2	100	0	Mélange séparable
7-11	ok9-3-3	95	5	Mélange de deux produits
12	ok9-3-4	95	5	Monotache (produit pur)
13	ok9-3-5	95	5	Couleur marron (traînée)
14	ok9-3-6	95	5	Mélange complexe
15-19	ok9-3-7	90	10	Mélange complexe
20-27	ok9-3-8	90	10	Monotache, couleur blanche, produit huileux, soluble dans le CHCl ₃
28-31	ok9-3-9	80	20	Mélange complexe
32-46	ok9-3-10	50	50	Mélange complexe

La purification de la fraction ok9-3 a permis l'obtention de deux produits purs ok9-3-4 de poids inférieur à 1 mg et ok9-3-8 de 78 mg.

Ø ETUDE DE LA FRACTION ok13:

Cette fraction a subi une chromatographie sur plaques préparatives de gel de silice, les résultats découlant de cette purification sont regroupés sur le tableau III-1-g.

Tableau III-1-g Résultats de la chromatographie.C.M. de la fraction ok13

Poids : 51mg 5 plaques préparatives Eluant : cyclohexane / Ether éthylique (3/7)

Bandes	Composés	Poids (mg)	Observations
1 ^{ère} bande	ok-13-1	15	Monotache (Produit pur)
2 ^{ème} bande	ok 13-2	9	Monotache (Produit pur)
3 ^{ème} bande	ok 13-3	5	absorbe sous UV, couleur rose, après révélation à l'aniline et chauffage

Ø PURIFICATION DE LA FRACTION ok17 :

Montrant plusieurs spots sur plaques analytiques de gel de silice après révélation, à l'anisaldéhyde, cette fraction a été soumise à une séparation sur plaques préparatives. Le tableau III-1-h regroupe les résultats de cette opération.

Tableau III-1-h Résultats de la Chromatographie C.M. de la fraction ok17

Poids : 40mg 3 plaques préparatives Eluant : cyclohexane / Ether éthylique (1/1)

Bandes	Composés	Poids (mg)	Observations
1 ^{ère} bande	ok 17-1	0,9	absorbe sous UV 254, couleur jaune, après révélation à l'aniline et chauffage, monotache (faible quantité)
2 ^{ème} bande	ok 17-2	1,3	mélange
3 ^{ème} bande	ok 17-3	7	mélange
4 ^{ème} bande	ok 17-4	<1	Monotache absorbe sous UV, se colore après révélation à l'aniline et chauffage.
5 ^{ème} bande	ok 17-5	5	Monotache absorbe sous UV, se colore en jaune après révélation à l'aniline et chauffage (produit pur)

Ø PURIFICATION DE LA FRACTION ok 20 :

Cette fraction est purifiée par chromatographie préparative sur couche mince de gel de silice. Le tableau III-1-i résume les résultats de cette purification. .

Tableau III-1-i Résultats de la Chromatographie C.M. de la fraction ok20

Poids : 48mg 4 plaques préparatives Eluant : cyclohexane / Ether éthylique (2/8)

Bandes	composés	poids (mg)	observations
1 ^{ère} bande	ok20-1	<1	Monotache, absorbe sous UV, se colore en brun après révélation à l'aniline et chauffage
2 ^{ème} bande	ok20-2	5	Produit pur, absorbe sous UV, se colore en jaune après révélation à l'aniline et chauffage
3 ^{ème} bande	ok20-3	17	Mélange complexe

Ø PURIFICATION DE LA FRACTION ok 34 :

La C.C.M de cette fraction révélant la présence de deux taches visibles sous lumière UV, nous avons alors, procédé à une chromatographie sur plaques de gel de silice. Les résultats de cette séparation sont regroupés sur le tableau III-1-j.

Tableau III-1-j Résultats de la chromatographie C.M. de la fraction ok34

Poids : 37mg 3 plaques préparatives Eluant : cyclohexane / Acétone (4/6)

Bandes	Composés	Poids (mg)	Observations
1 ^{ère} bande	ok 34-1	12	Absorbe sous UV (366), couleur rouge vive (chlorophylle)
2 ^{ème} bande	ok 34-2	3	Absorbe sous UV (254), couleur brune après révélation à l'aniline et chauffage (monotache)

La séparation chromatographique de l'extrait chloroforme nous a permis l'obtention de dix

produits à l'état pur et natif, les autres fractions sont soit saturées en chlorophylles soit de faible poids, nous ne les avons pas étudiées à l'heure actuelle.

III-1-5-C SEPARATION ET PURIFICATION DES COMPOSANTS DE L'EXTRAIT *N*-BUTANOL:

Comme pour l'extrait chloroforme, nous avons effectué une étude chromatographique analytique par CLHP de l'extrait *n*-butanol, en utilisant une colonne Nucléosill C₁₈ éluée par le système binaire acétonitrile / eau 70 /30, v/v (phase inverse) et une détection UV à une longueur d'onde fixée à 340 nm.

On obtient ainsi le chromatogramme de la figure III-1-6 qui indique une composition moyenne de cet extrait en composés polaires. Certains pics présentent une bonne absorbance à la longueur d'onde utilisée.

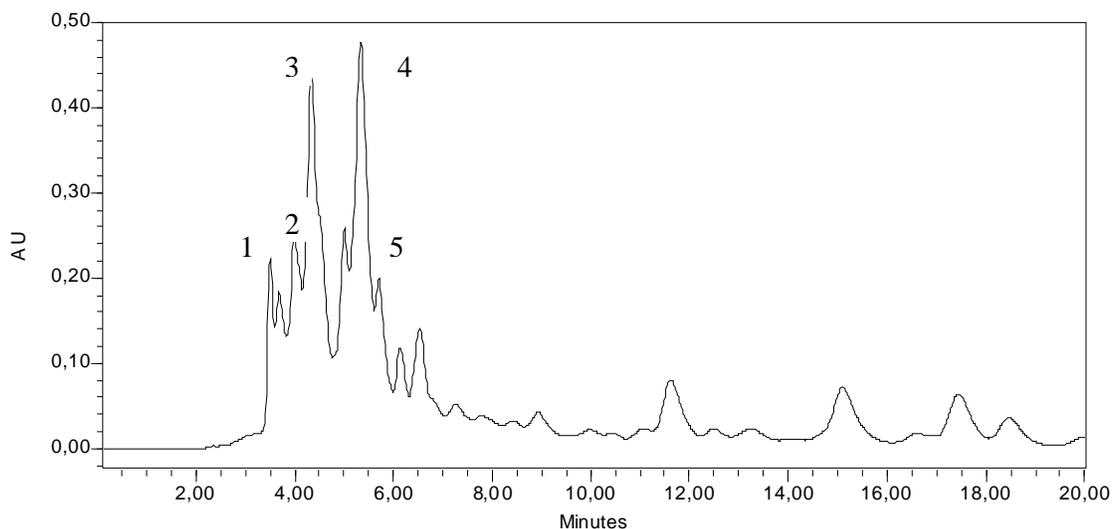


Figure III-1-7 : Chromatogramme de l'extrait *n*-butanol de *G. tricuspidata* Desf.

(Conditions chromatographiques : système d'élution Acétonitrile/Eau 70 /30 ;

Longueur d'onde de détection $\lambda = 340$ nm)

La bonne absorbance de certains produits à 340 nm nous amené à réaliser l'enregistrement des spectres UV de quelques uns de ces pics : n°1 ($t_r = 3,37$ mn), n°3 ($t_r = 4,35$

mn), n° 4 ($t_r = 5,36$ mn), et n° 5 ($t_r = 5,76$ mn) du chromatogramme. Le spectre du composé n°1 montre qu'il est de type flavonique (figure III-1-7).

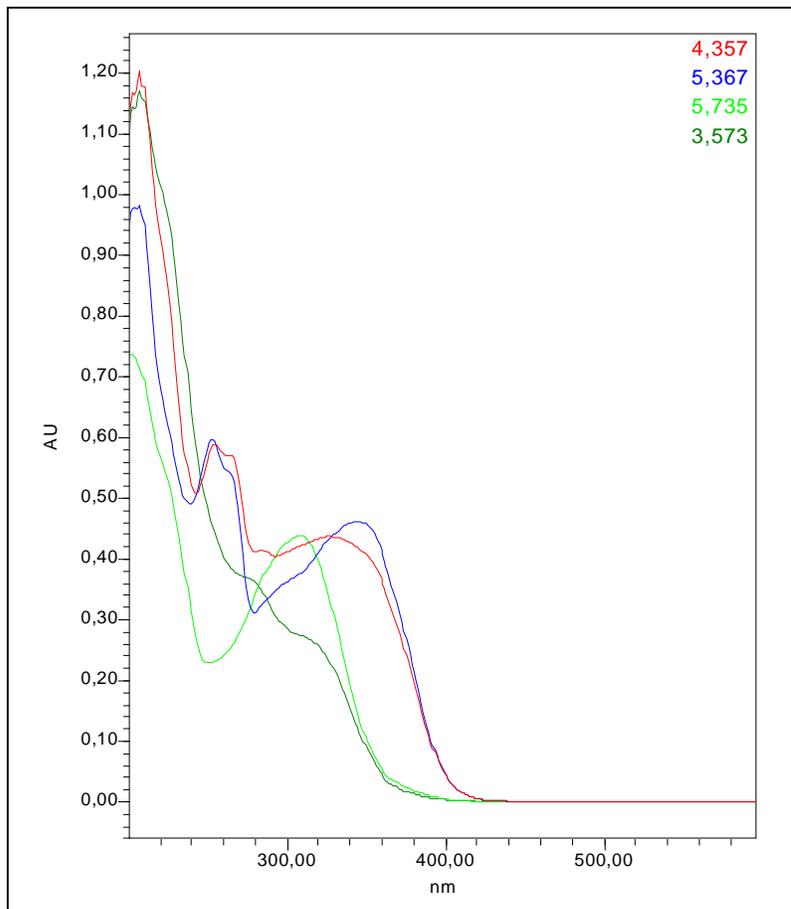


Figure III-1-8 : Spectres UV de quelques pics du chromatogramme de L'extrait *n*-butanol de *G. tricuspidata* Desf.

Ces données nous ont encouragées à entreprendre des séparations par chromatographie sur colonne.

III-1-5-C-1 SEPARATION SUR COLONNE :

Environ 15 g de l'extrait *n*-butanol sont déposés sur une colonne de gel de silice (type Merck, 230-400 mesh), préparée dans le cyclohexane. L'élution est réalisée par un gradient de polarité du type Hexane / AcOEt / EtOH / Eau. Les résultats de la progression de cette colonne sont rassemblés dans le tableau III-1-m.

Le suivi de la composition des fractions a été effectué par chromatographie sur couche mince de gel de silice sur support Aluminium. Les plaques sont visualisées sous lumière UV (254 et 365nm), puis révélées par l'acide sulfurique et chauffées à 100° C pendant trois minutes. Les pots de même composition sont rassemblés donnant 25 fractions.

Tableau III-1-m résultats de la chromatographie sur colonne de l'extrait *n*-butanol de *G. Tricuspidata* Desf.

Poids : 15 g

Poids de la silice : 400g

Lots des fractions réunies	Nom de la fraction	Système éluant				Poids (mg)	Observations
		Hexane	ACoEt	EtOH	Eau		
1-39	ob ₁	66	34	0	0	/	Graisses
40-45	ob ₂	66	34	0	0	/	Graisses
46-60	ob ₃	57	43	0	0	352,2	Mélange séparable
61-79	ob ₄	57	43	0	0	60	Mélange de plusieurs produits
80-86	ob ₅	57	43	0	0	/	Traînée
87-89	ob ₆	50	50	0	0	/	Traînée
90-106	ob ₇	50	50	0	0	51,3	Mélange complexe
107-122	ob ₈	50	50	0	0	23	Mélange complexe
123-150	ob ₉	43	57	0	0	17	Traînée
151-158	ob ₁₀	20	80	0	0	37,6	Mélange séparable
159-168	ob ₁₁	20	80	0	0	53	Mélange séparable
169-196	ob ₁₂	20	80	0	0	103	Mélange complexe
197-207	ob ₁₃	0	100	0	0	62,3	Mélange complexe
208-214	ob ₁₄	-	99,5	0,5	0	37	Poudre jaune soluble dans l'acétone
215-235	ob ₁₅	-	97,5	2,5	0	33,2	Poudre blanche
236-242	ob ₁₆	-	95	5	0	27,6	Mélange de deux produits
243-248	ob ₁₇	-	95	5	0	68,3	Mélange séparable
249-252	ob ₁₈	-	92	8	0	258	Mélange séparable
253-265	ob ₁₉	-	92	8	0	/	Traînée
266_270	ob ₂₀	-	85	15	0	2000	Mélange séparable
271-274	ob ₂₁	-	85	15	0	/	Traînée
275-296	ob ₂₂	-	75	25	0	2500	Mélange complexe
297	ob ₂₃	-	65	35	0	3596,9	Mélange complexe
298-306	ob ₂₄	-	45	50	5	3464,6	Mélange complexe
307	ob ₂₅	-	0	50	50	/	Produit insoluble dans le MeOH

III-1-5-C -2 ETUDE DES FRACTIONS DE L'EXTRAIT *N*-BUTANOL :

Nous avons procédé à la séparation des fractions jugées importantes en poids ayant une composition peu complexe.

Ø ETUDE DE LA FRACTION ob₃ :

Nous avons soumis les 352 mg de cette fraction à une purification sur colonne de Sephadex LH 20 éluée par le méthanol. Deux bandes notées ob₃₋₁ et ob₃₋₂ ont été récupérées.

✓ ob₃₋₁ est un produit pur dont le poids est de 15mg.

✓ ob₃₋₂ représente un mélange que nous avons séparé par chromatographie sur couche mince de gel de silice.

Le résultat de cette opération est reporté sur le tableau III-1-n.

Tableau III-1-n chromatographie sur couche mince de la fraction ob₃₋₂

Poids : 38 mg 4 plaques préparatives Eluant : CH₂Cl₂ / Acétone (5/1)

Bandes	Composés	Poids (mg)	Observations
1 ^{ère} bande	ob ₃₋₂₋₁	12	Mélange
2 ^{ème} bande	ob ₃₋₂₋₂	9	Produit pur

Ø ETUDE DE LA FRACTION ob₁₀ :

Nous avons procédé à une C.C.M sur plaques préparatives de polyamide avec comme éluant le système Toluène/Ethanol/Metylethylcétone (4 :3 :3).

Le résultat de cette opération est représenté dans le tableau III-1-o

Tableau III-1-o chromatographie sur couche mince de la fraction ob₁₀

Poids : 37 mg 3 plaques préparatives Eluant : Toluène/Ethanol/Metylethylcétone (4 :3 :3)

Bandes	Composés	Poids (mg)	Observations
1 ^{ère} bande	ob ₁₀₋₁	5	Monotache, visible sous UV (366), couleur jaune
2 ^{ème} bande	ob ₁₀₋₂	18	Mélange, visible sous UV (366), couleur Noire

Ø ETUDE DE LA FRACTION ob11 :

Cette fraction a été chromatographiée sur plaques préparatives de gel de silice, éluées par le système CH₂Cl₂ / Acétone menant à trois produits. Le résultat est reporté dans le tableau III-1-p.

Tableau III-1-p chromatographie sur couche mince de la fraction ob11

Poids : 53 mg 5 plaques C.C.M Eluant : CH₂Cl₂ / Acétone (6/4)

Bandes	Composés	Poids (mg)	Observations
1 ^{ère} bande	ob 11-1	15	Monotache
2 ^{ème} bande	ob 11-2	2	Produit pur
3 ^{ème} bande	ob 11-3	27	Produit pur

Ø ETUDE DE LA FRACTION ob16 :

Cette fraction a été déposée sur du papier Wattman III et élue par l'acide acétique 95%. Deux bandes ont été récupérées dans le méthanol, puis évaporées à sec. Cette opération a permis d'obtenir deux (02) composés.

Le résultat est reporté sur le tableau III-1-q

Tableau III-1-q Résultat de la chromatographie sur papier Wattman de la fraction ob16

Poids : 27,6 mg 2 feuilles Eluant : Acide acétique/ Eau (95/5)

Bandes	Composés	Poids (mg)	Observations
1 ^{ère} bande	ob16-1	5	Monotache, produit pur (phtalate)
2 ^{ème} bande	ob16-2	10	Mélange

Ø ETUDE DE LA FRACTION ob17 :

Cette fraction est chromatographiée sur colonne de séphadex élue par le méthanol. Nous avons ainsi obtenu cinq bandes notées ob17-1, ob17-2, ob17-3, ob17-4, ob17-5. La C.C.M de ces bandes révèle que :

- ✓ -ob17-5 est un composé pur dont le poids est de 8 mg
- ✓ ob17-4 est un mélange dont la séparation par C.C.M sur gel de silice a donné les résultats illustrés sur le tableau III-1-r.
- ✓ ob17-1, ob17-2, - ob17-3 sont des mélanges complexes.

Tableau III-1-r Résultats de la chromatographie sur couche mince de la fraction ob17-4

Poids : 15 mg 2 plaques préparatives Eluant : CH₂Cl₂ /MeOH (15/2)

Bandes	Composés	Poids (mg)	Observations
1 ^{ère} bande	ob17-4-1	6	Monotache, visible sous UV (366 nm), couleur jaune (produit pur)
2 ^{ème} bande	ob17-4-2	4	Monotache, couleur Noire sous UV

Ainsi la fraction ob17 a mené à trois produits purs.

Ø ETUDE DE LA FRACTION ob18 :

Cette fraction de 250 mg subit en premier lieu, une chromatographie sur papier wattman III, éluee par l'acide acétique/eau (98/2). Trois bandes numérotées : ob18-1, ob18-2, ob18-3 ont été récupérées. Après lavage à l'éthanol et concentration, les fractions correspondantes ont subi une chromatographie sur couche mince de gel de silice. Les résultats obtenus sont reportés dans le tableau III-1-s.

Tableau III-1-s Résultats de la chromatographie sur couche mince des fractions ob18-1, ob18-2, ob18-3.

Bandes	Poids (mg)	Nombre de plaques	Eluant CH ₂ Cl ₂ /MeOH	Composés	Poids (mg)	Observations
ob18-1	60	6	15 /4	ob18-1-1 ob18-1-2	15 22	Insoluble dans le MeOH Monotache
ob18-2	48	5	15/5	ob18-2-1 ob18-2-2	10 8	Poudre blanche insoluble dans MeOH -- -- -- --
ob18-3	50	5	15/5	ob18-3-1	15	Monotache

Ø ETUDE DE LA FRACTION ob20 :

C'est la fraction la plus importante du point de vue poids (2g). Pour cette raison nous avons procédé directement à une purification sur colonne de gel de silice (type 60 230-400 mesh) éluée par le système AcOEt/acide acétique/eau en gradient de polarité. Le tableau III-1-t montre les résultats de cette colonne après regroupement des lots selon les tests chromatographiques sur couche mince.

Tableau III-1-t: résultats de la séparation sur colonne de la fraction ob20.

Poids : 2g

Poids de la silice : 60g

Lots des fractions réunies	Nom de la fraction	Système éluant			Observations
		AcOEt	acide acétique	Eau	
1-10	Ob20-1	100	0	0	Mélange complexe
11-29	Ob20-2	99	1	0	-- -- -- --
30-36	Ob20-3	97	3	0	-- -- -- --
37-44	Ob20-4	95	5	0	-- -- -- --
45-53	Ob20-5	90	10	0	Mélange séparable
54-71	Ob20-6	80	10	0,5	-- -- -- --
72-100	Ob20-7	80	10	10	Mélange séparable

Nous avons soumis les fractions Ob20-5 et Ob20-7 à une chromatographie sur couche mince de polyamide en utilisant le système 4/3/3. Les résultats de cette opération sont réunis dans les tableaux III-1-u et III-1-v

Tableau III-1-u Résultats de la chromatographie sur plaques préparatives de polyamide de la fraction Ob20-5.

Poids : 120mg

12 plaques

Eluant : Toluène/Ethanol/Metylethylcétone (4 :3 :3)

Bandes	Composés	Poids (mg)	Observations
1 ^{ère} bande	Ob20-5-1	13	monotache. Absorbe sous UV 365 nm, couleur jaune après révélation à l'acide. Produit pur de type Flavonoïde
2 ^{ème} bande	Ob20-5-2	6,3	monotache. Absorbe sous UV 365nm.
3 ^{ème} bande	Ob20-5-3	1	monotache. Absorbe sous UV mais faible quantité.

Tableau III-1-v Résultat de la chromatographie sur plaques préparatives de polyamide de la fraction Ob20-7

Poids : 78mg

7 plaques

Eluant : 4/3/3

Bandes	Composés	Poids (mg)	Observations
1 ^{ème} bande	Ob20-7-1	13	Monotache. Produit pur
2 ^{ème} bande	Ob20-7-2	6,3	Monotache. Produit pur
3 ^{ème} bande	Ob20-7-3	1	Monotache. Produit pur

La séparation chromatographique de la phase *n*-butanolique a permis l'isolement et la purification de dix produits.

L'étude de *G. Tricuspidata* Desf. a permis l'isolement à l'état pur et natif de 20 produits, et la détermination structurale de treize d'entre eux.

III-2 : ETUDE CHIMIQUE DE *HALOXYLON SCOPARIUM* :

III-2-1 : ETUDE BOTANIQUE :

La famille des chénopodiacées (salsolacées) comporte plus de cent genres groupant environ un millier d'espèces. Ce sont essentiellement des plantes de terrains salés, vivant sous climat aride ou semi-aride. Leur étude botanique est rendue assez délicate par leur polymorphisme fréquent, ce qui explique les nombreuses synonymies existantes , en particulier pour les espèces originaires des régions désertiques de l'ancien monde (Sahara, Moyen Orient, et Asie centrale) [3].

Hammada articulata (moquin) Iljin SSP. *Socoparia* Pomel (= *Haloxylon scoparium* (Pomel) Bunge = *Arthroptum scoparium* (Pommel) Schren K = *Aloxylon articulatum* Boiss.) [3- 6], est originaire des régions sèches du Moyen Orient et du Maghreb. Elle se caractérise par son port arbustif, ses rameaux grêles et articulés, ses épis floraux courts et ses fruits à ailes vivement colorées en rose violacé (figure III-2-1).



Fig. III-2-1: Photo de *Haloxylon scoparium*

III-2-2 CHOIX DU MATERIEL VEGETAL :

Notre Choix a été guidé par l'utilisation des rameaux articulés et feuillés de cet arbrisseau en médecine populaire, dans l'est et le sud-est algérien contre les piqûres de scorpions.

III-2-3 TRAVAUX ANTERIEURES

Des saponosides et des alcaloïdes ont été mis en évidence lors de travaux chimiques antérieurs [7]. Carling et Sandberg [8], ont isolé deux alcaloïdes majoritaires : la N-méthylisosalsoline et à la carnégine. D'autres alcaloïdes et un flavonoïde ont été isolés des parties aériennes de *Hammada articulata* ssp. *socoparia* [9].

III-2-4 EXTRACTION

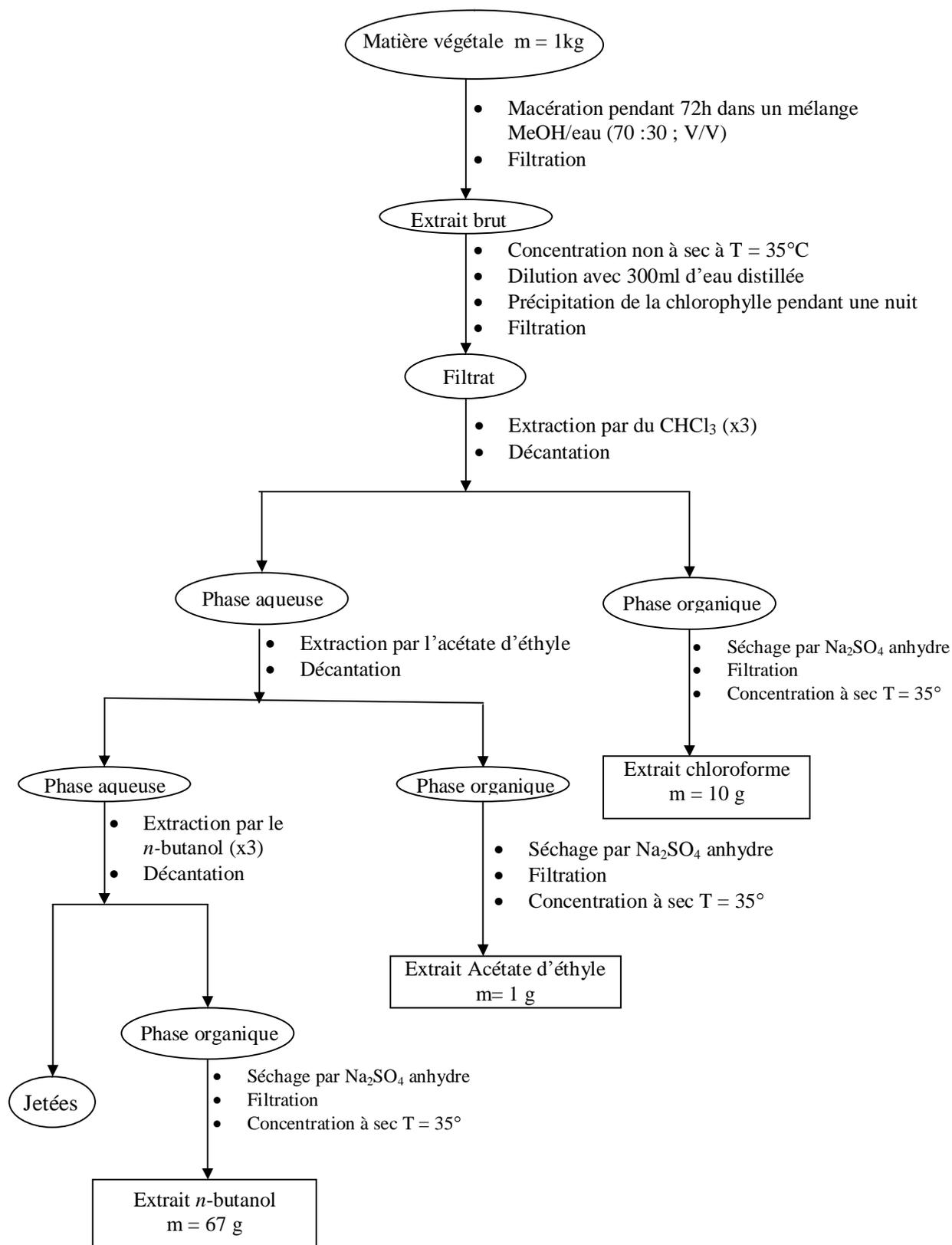
Une masse de 1Kg de plante sèche a subi une macération dans le mélange MeOH/eau (70 /30 V /V) pendant 72 heures. L'extrait récupéré est concentré à une température avoisinant les 35°C, puis additionné de 300 ml d'eau distillée. A la solution obtenue on ajoute du (CH₃COO)₄Pb (Tetracétate de plomb) sous agitation magnétique. On laisse reposer la solution toute la nuit pour permettre la précipitation de la chlorophylle. Après filtration, on obtient une solution aqueuse claire qui subit à son tour une extraction de type liquide- liquide, en utilisant les solvants de polarité croissante : le chloroforme, l'acétate d'éthyle et le *n*-butanol.

Les trois phases organiques récupérées sont séchées avec du Na₂SO₄ anhydre, puis filtrées, concentrées à sec et pesées. Le résultat de ces opérations est reporté sur le tableau III-2-a

TABLEAU III-2-a Fractionnement de l'extrait brut

fractions	Poids (g)	Rendement g/kg
Chloroforme	10	10
Acétate d'Ethyle	1	1
<i>n</i> -butanol	67	67

SCHEMA III-2 Récapitulatif du processus d'extraction de *Haloxylon scoparium*



III-2-5 SEPARATION CHROMATOGRAPHIQUE :

Les tests chromatographiques sur couche mince de gel de silice pour ces différents extraits révèlent que la meilleure séparation est obtenue avec le système $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ pour l'extrait chloroforme.

III-2-5 -a SEPARATION ET PURIFICATION DE L'EXTRAIT CHLOROFORME :

Une masse d'environ 7g d'extrait chloroforme est déposée sur une colonne de gel de silice (Type 60, 230-400 mesh ; Merck) préparée dans le chloroforme. L'élution est réalisée par un gradient de polarité du système $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$. Des fractions de 25 ml sont recueillies, leur suivi est effectué par chromatographie sur couche mince de gel de silice. Les plaques sont visualisées sous lumière UV (254 et 365 nm) puis révélées avec l'acide sulfurique et chauffées à 100°C pendant 2 mn. Les fractions de composition similaire sont rassemblées. Les données de la progression de cette colonne sont rassemblées sur le tableau III-2-b.

Tableau III-2-b Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de l'extrait chloroforme de *Haloxylon scoparium*.

Poids : 7 g

Poids de la silice : 200g

Lots des fractions réunies	Nom de la fraction	Système éluant		Poids (mg)	Observations
		%			
		CHCl_3	MeOH		
1-15	H-1	100	0	98	Taches allongées (mélange complexe)
16-19	H-2	99	1	50	Graisses
20-39	H-3	99	1	135	Mélange séparable
40-42	H-4	98	2	234	Mélange séparable
43-44	H-5	98	2	1120,8	Mélange complexe
45-53	H-6	98	2	1022,6	Mélange séparable (5 taches)
54-66	H-7	96	4	450	Traînée
67-70	H-8	94	6	1800,4	Mélange complexe
71-93	H-9	93	7	1041	Traînée
94-101	H-10	92	8	150	2 taches principales
102-125	H-11	90	10	80	Mélange complexe
126-148	H-12	80	20	232	Mélange complexe
149-162	H-13	50	50	305	Mélange complexe

III-2-5 -b CHROMATOGRAPHIE DES FRACTIONS DE L'EXTRAIT CHLOROFORME :

Parmi les 13 fractions obtenues (H-1 à H-13) nous avons procédé à la séparation des fractions H-3, H-4, H-6 et H-10. Les critères de choix de ces dernières reposent sur la base des données de la chromatographie couche mince ainsi que sur leur poids relativement intéressant.

Ø ETUDE DE LA FRACTION H-3 :

Nous avons procédé à une séparation sur colonne de gel de Silice (type 60, 230-400 mesh) avec le système éluant CH₂Cl₂/Acétone en gradient de polarité. Le tableau III-2-c donne les résultats de cette colonne après regroupement des lots selon les tests chromatographiques sur couche mince.

Tableau III-2-c Résultats de la séparation de la fraction H-3

Poids : 135 mg

Poids de la silice : 4,5 g

Lots des fractions	Nom de la fraction	Système éluant %		Observations
		CHCl ₃	MeOH	
1-15	H-3-1	100	0	mélange de produits en faible quantité
16-25	H-3-2	95	5	mélange de deux produits séparables
26-37	H-3-3	90	10	mélange séparable
38-50	H-3-4	80	20	mélange séparable
51-65	H-3-5	70	30	mélange complexe
66-70	H-3-6	50	50	traînée
71-80	H-3-7	0	100	traînée

Seules les fractions H-3-2, H-3-3 et H-3-4 ont subi une chromatographie sur plaques préparatives de gel de Silice.

Les tableaux III-2-d, III-2-e et III-2-f rassemblent les résultats de ces dernières séparations.

Tableau III-2-d Chromatographie sur couche mince de la fraction H-3-2

Poids : 22 mg

2 plaques

éluant : Hexane /Ether éthylique (2/1)

Bandes	Composés	Poids (mg)	Observations
1 ^{ère} bande	H-3-2-1	7	mélange complexe
2 ^{ème} bande	H-3-2-2	5,3	Composé pur, monotache
3 ^{ème} bande	H-3-2-3	<1	Composé pur, monotache

Tableau III-2-e Chromatographie sur couche mince de la fraction H-3-3

Poids : 32 mg

4 plaques

éluant : CH₂Cl₂ / Acétone (1/1)

Bandes	Composés	Poids (mg)	Observations
1 ^{ère} bande	H-3-3-1	5	monotache
2 ^{ème} bande	H-3-3-2	8	monotache
3 ^{ème} bande	H-3-3-3	12	monotache

Tableau III-2-f Chromatographie sur couche mince de la fraction H-3-4

Poids : 30 mg

3plaques

éluant : Hexane / Ether éthylique (2/1)

Bandes	Composés	Poids (mg)	Observations
1 ^{ère} bande	H-3-4-1	3	monotache.
2 ^{ème} bande	H-3-4-2	<1	monotache (composé pur)
3 ^{ème} bande	H-3-4-3	8	mélange complexe

Ø ETUDE DE LA FRACTION H-4

La fraction H-4 est soluble dans le CHCl₃, mais cristallise dans le méthanol. Nous avons procédé à une recristallisation à l'issue de laquelle nous observons la formation de cristaux blancs dont le poids est de 24,3 mg. Déposé sur une plaque analytique de gel de silice, éluée par CH₂Cl₂ / AcOEt (4 /1), ce produit reste sous forme d'un spot unique sous lumière UV (254 nm). Révélé à l'acide sulfurique et chauffé pendant 3 mn ; La plaque ne comporte que cette tache unique d'où un produit pur.

Ø ETUDE DE LA FRACTION H-6

Cette fraction a subi une séparation sur colonne de gel de silice avec comme éluant CH₂Cl₂ / AcOEt en gradient de polarité. Le résultat de la progression de cette colonne est illustré sur le tableau III-2-g

Tableau III-2-g Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de la fraction H-6

Poids : 1022,6 mg

Poids de la silice : 30 g

Lots de fractions	Composés	Système éluant			Poids (mg)	Observations
		CH ₂ Cl ₂	AcOEt	MeOH		
1-3	H-6-1	66	34	0	122,5	Mélange complexe
4-11	H-6-2	66	34	0	75,5	Mélange complexe
12-22	H-6-3	66	34	0	176,4	Mélange complexe
23-38	H-6-4	66	34	0	17,4	Mélange de 02 produits
39-47	H-6-5	66	34	0	2,1	Mélange séparable, faible quantité
48-60	H-6-6	66	34	0	12,9	Mélange complexe
61-68	H-6-7	100	75	0	13,8	Mélange complexe
69-82	H-6-8	100-50	100-100	0	18,3	Mélange séparable
83-104	H-6-9	0	100	0	12,5	Traînée
Fin de colonne	H-6-10	0	0	100	198,8	Traînée

Nous avons procédé à la séparation par chromatographie sur couche mince de gel de silice des fractions H-6-4 et H-6-8. Les résultats de cette purification sont reportés sur les tableaux III-2-h et III-2-i.

Tableau III-2-h Chromatographie sur couche mince de la fraction H-6-4

Poids : 17,4 mg

2plaques

éluants : CH₂Cl₂ / Acétone (4 / 1)

Bandes	Composés	Poids (mg)	Observations
1 ^{ère} bande	H-6-4-1	0,8	Visible sous UV 254, mais ne se colore pas après révélation, monotache
2 ^{ème} bande	H-6-4-2	3,7	Absorbe sous UV, couleur jaune après révélation Monotache (produit pur)
3 ^{ème} bande	H-6-4-3	7	N'absorbe pas sous UV, couleur marron après révélation par l'acide sulfurique (mélange complexe)

Tableau III-2-i Chromatographie sur couche mince de la fraction H-6-8

Poids : 18,3 mg

2 plaques

éluant : CH₂Cl₂ / AcOEt (1/2)

Bandes	Composés	Poids (mg)	Observations
1 ^{ère} bande	H-6-8-1	5	monotache, absorbe sous UV 254, ne se colore pas après révélation,
2 ^{ème} bande	H-6-8-2	8	monotache, absorbe sous UV 254

Ø SEPARATION DE LA FRACTION H-10 :

Cette fraction soluble dans le CHCl₃, cristallise dans l'acétone. Nous avons procédé à une recristallisation dans l'acétone et récupéré des cristaux blancs sous forme d'aiguilles de poids 68 mg. Le spectre RMN ¹H de ces cristaux a révélé un produit pur qu'on note H-10-C.

- CONCLUSION :

L'étude chromatographique de l'extrait chloroforme a ainsi permis la purification de six produits. Ce travail s'est avéré compliqué suite à la contamination des solvants utilisés par des phtalates.

Références Bibliographiques

- [1] **P. Quezel and S. Santa, (1963)**, Nouvelle Flore del' Algérie et des régions désertiques et Méridionales, Tome II, edition CNRS, Paris.
- [2] **A.K. Singhal, P.K. Chowdhury, R.P. Sharmar, J.N. Baruha and W. Herz, (1982)**, Phytochemistry, **21**, (2), 462.
- [3] **D. Boloso and J. Vigo (1974)**, But. Inst. Cat. Hist. Nat. (Sect. Bot. 1), **38**, pp. 61-89.
- [4] Index Kewensis (1981), Plantarum pharmerogamurum, 16th supplement, Oxford University Press, New York, p. 135.
- [5] **R. Maire (1962)**, Flore d' Afrique du nord, Le chevallier P., Paris, pp. 6-190.
- [6] **P. Ozenda, (1983)**, Flore du Sahara Septentrional et Central, Centre National de Recherche scientifique, Imprimerie Louis-Jean. H.A.,
- [7] **Y. Aynehchi, M. H. Salehi Sormaghi, G. Amin and Ghahremana, (1981)**, Quart. J. Crude orug Res., **19**, pp. 59-63.
- [8] **C. Conling and F. Sandberg (1970)**, Acta. Pharm. Suecica, **7**, pp. 285-288.
- [9] **R. Benkrief, M. Brum Bousquet., F. Tillequin and M. Koch (1990)**, Ann. Pharmaceutiques françaises, **48**, pp.219-224.

IV-1 IDENTIFICATION DES PRODUITS ISOLES DE *G. TRICUSPIDATA* DESF.

IV-1-A PRODUITS ISOLES DE LA PHASE CHLOROFORME

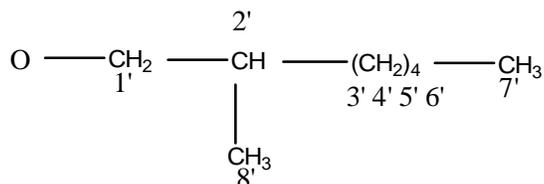
IV-1-A1 LE COMPOSE 1 : ok4-1:

Le spectre RMN ^1H (spectre n° IV-1-A1-1.) de ce composé montre dans l'intervalle de 7,6 à 7,71 ppm, un signal complexe sous forme d'un système AA' BB' caractéristique d'un noyau aromatique ortho-disubstitué par deux groupements identique.

Ce spectre montre également deux signaux présentant un effet de toit et apparaissant sous forme d'un multiplet dans l'intervalle de 4,17 à 4,23 ppm. La multiplicité de ces deux signaux et leur intégrale 2H, chacun orientent vers deux groupements CH_2 équivalents et voisins d'un centre chiral portant un H. La valeur de leur déplacement chimique les place au voisinage d'un atome d'oxygène. Le signal du proton du centre chiral apparaît sous forme d'un multiplet à 1,8 ppm. La valeur du déplacement chimique du proton de ce groupement $-\text{CH}$ et la multiplicité de son signal indiquent que celui-ci ne peut être substitué que par deux groupements hydrocarbonés.

En effet, la présence d'un doublet ($J = 6,9$ Hz) d'intégration $2 \times 3\text{H}$ à $\delta = 0,89$ ppm, (toujours sur le spectre proton) permet de placer le premier substituant qui est un $-\text{CH}_3$ sur le centre chiral. Ce spectre montre également la présence d'un autre groupement $-\text{CH}_3$ sous forme d'un triplet ($J = 7,4$ Hz), prévoyant ainsi un enchaînement $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$.

Enfin le multiplet dans l'intervalle de 1,27 à 1,44 ppm d'intégration $2 \times 8\text{H}$ prévoit une chaîne linéaire de type $(\text{CH}_2)_4-$ terminée par un groupement $-\text{CH}_3$. Cette chaîne est bien entendu présente dans les deux substituants du noyau aromatique. Ainsi ces deux derniers comportent l'enchaînement :



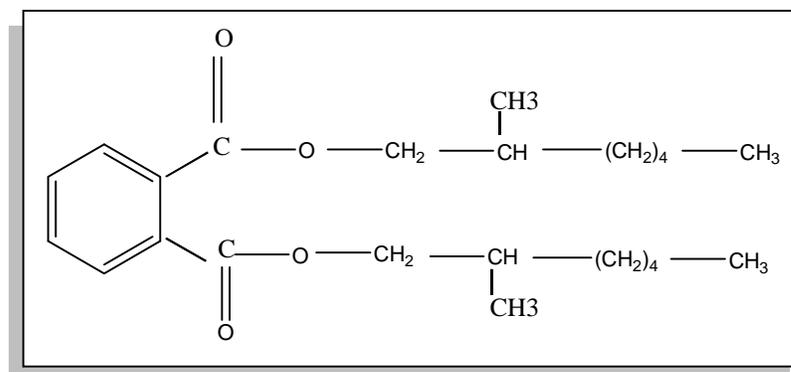
Les résultats de la RMN ^1H sont regroupés dans le tableau IV-1A1-a

Tableau IV-1A1-a : Résultats de la RMN ^1H du composé ok4-1

protons	Multiplicité	δ (ppm)	J (Hz)
H-2, H-5	m	7,71	-
H-3, H-4	m	7,60	-
H-1'	m	4,17-4,23	
H-2'	m	1,8	
H-3', H-4'; H-5', H-6'	m	1,27-1,44	7,4
H-7'	t	0,93	6,9
H-8'	d	0,89	

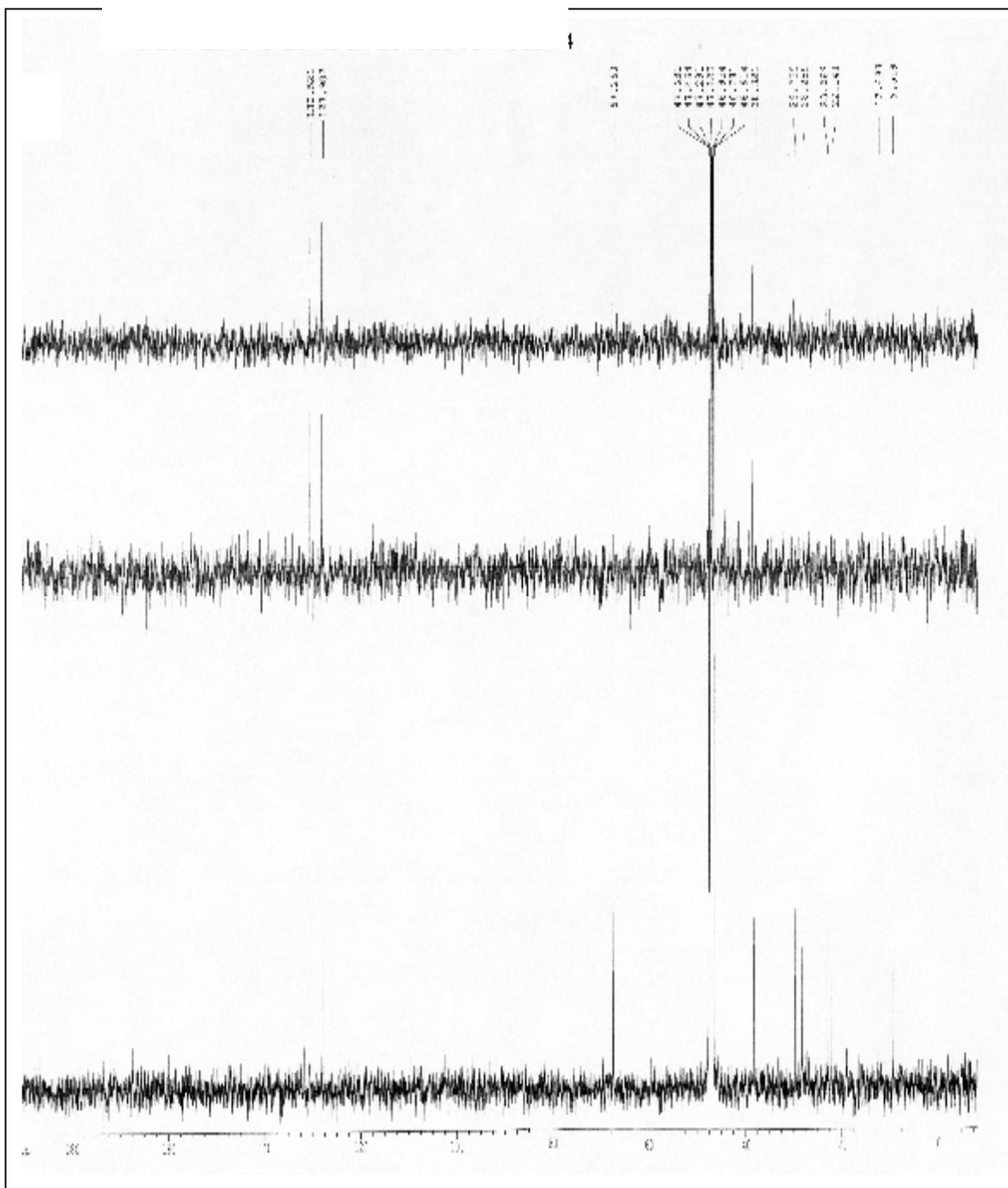
L'examen du spectre RMN ^{13}C (spectre n° IV-1-A1-2) confirme la présence de cette enchaînement par les signaux à $\delta = 67,26$; $38,32$ attribuables à C-1', C-2' respectivement. Les signaux à $29,75$; $28,25$; $23,08$; $22,14$ attribuables à C-3', C4', C5', C-6'. Les signaux à $12,49$ et $9,52$ ppm, attribuables à C-8' et C-7' [1].

Ce spectre montre par ailleurs deux types de $-\text{CH}$ aromatique, à $\delta = 130,52$ ppm (C-2 et C-5) et $\delta = 127,98$ p.p.m (C-3 et C-4), un type de carbone aromatique quaternaire à $\delta = 132,41$ ppm (C-6 et C-1) et surtout la présence d'un carbonyle d'ester conjugué à $\delta = 167,0$ ppm, ce qui place deux groupements (C=O) entre les deux oxygènes des substituants du noyau aromatique. Ainsi la structure de cette molécule est le : Di-(2-methyl heptyl) phtalate.



Di-(2-methyl heptyl) phtalate

Vu, sa nature, ce composé pourrait ne pas provenir de l'extrait étudié, mais introduit par les solvants organiques utilisés.



Spectre IV-1-A2 : Spectre RMN ^{13}C (125 MHz, MeOH-d₄, δ ppm) du composé ok4-1

IV-1-A2 LE COMPOSE 2 : ok6-5:

Le test de LIEBERMANN & BUCHARD relatif à la mise en évidence des triterpènes, s'avère positif pour cette molécule. En effet, après addition de CHCl_3 et d'une même quantité d'anhydride acétique à quelques milligrammes de ce produit, une bonne agitation et addition de quelques gouttes d'acide sulfurique concentré, le mélange au début incolore a viré brutalement au rose cerise [2].

L'examen du spectre RMN ^{13}C et les séquences DEPT (135, 90) (spectre n° IV-1-A2-1) montre la présence de :

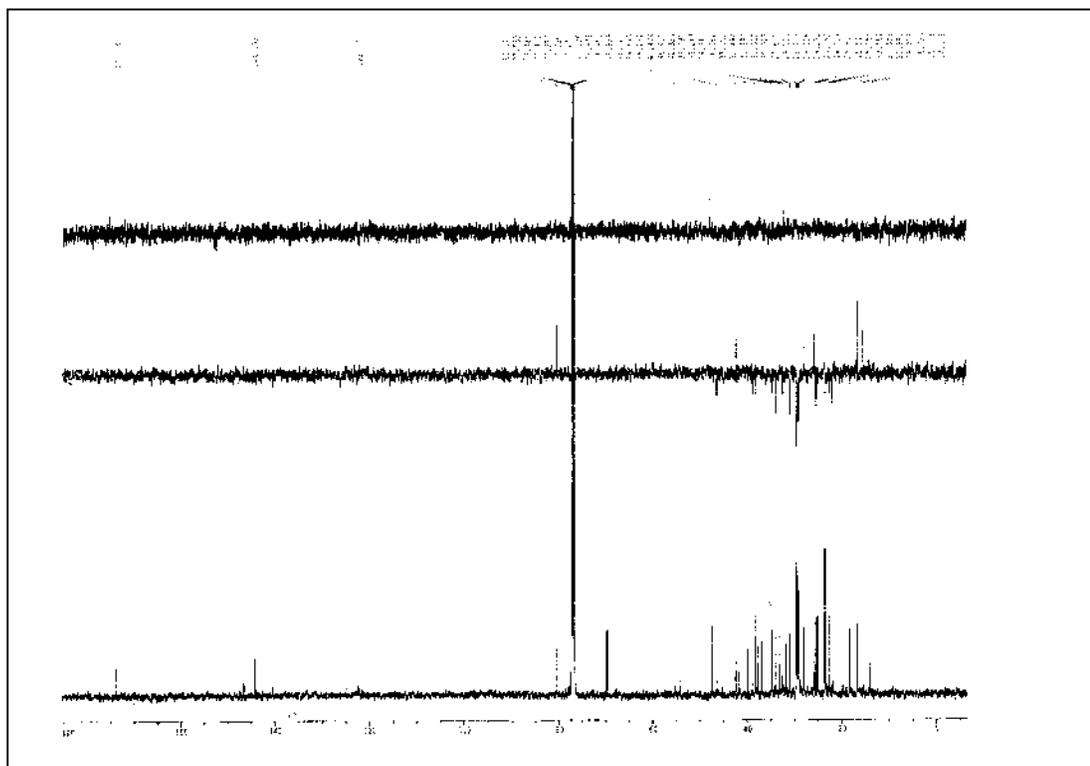
- ▼ Cinq $-\text{CH}$ dont un éthylénique ($\delta = 122,3$ ppm), un oxygéné ($\delta = 80,5$ ppm), et trois de type sp^3 non oxygénés.
- ▼ Un carbone quaternaire éthylénique à $\delta = 144,2$ ppm.

La présence de ce carbone quaternaire éthylénique et celle du $-\text{CH}$ éthylénique précédent orientent vers l'existence d'une double liaison éthylénique dans cette molécule.

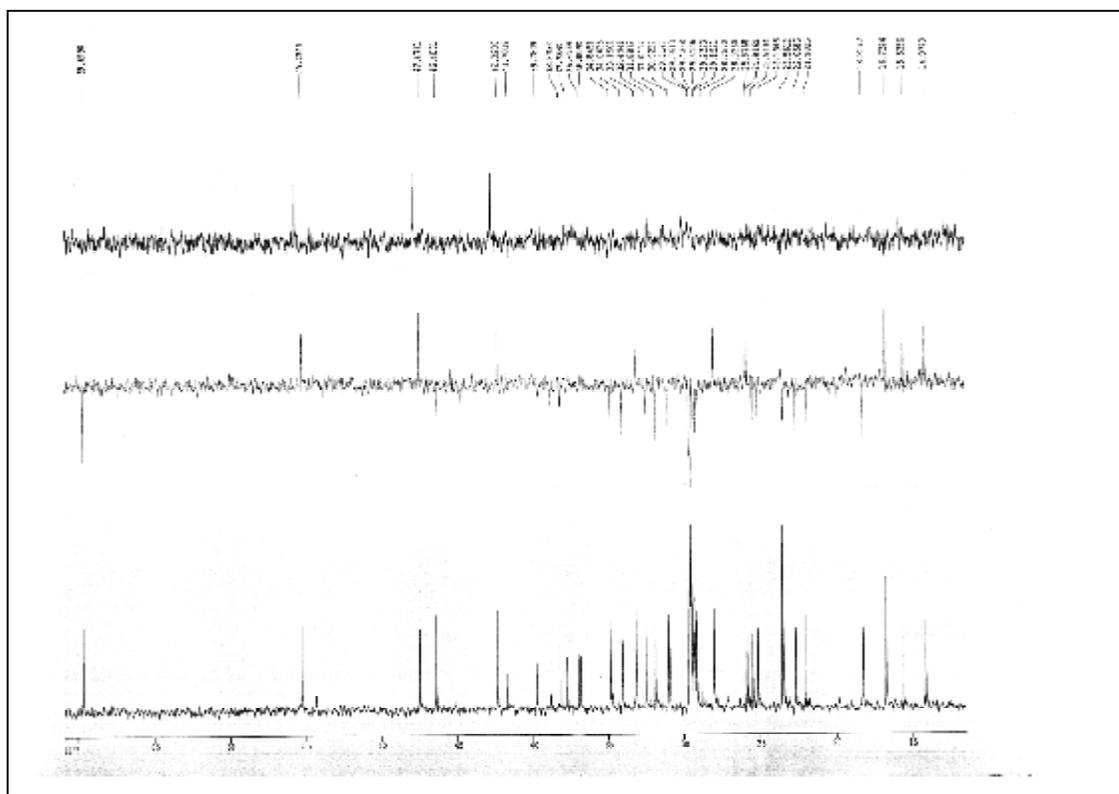
- ▼ Six carbones quaternaires hybridés sp^3 et tous non oxygénés.

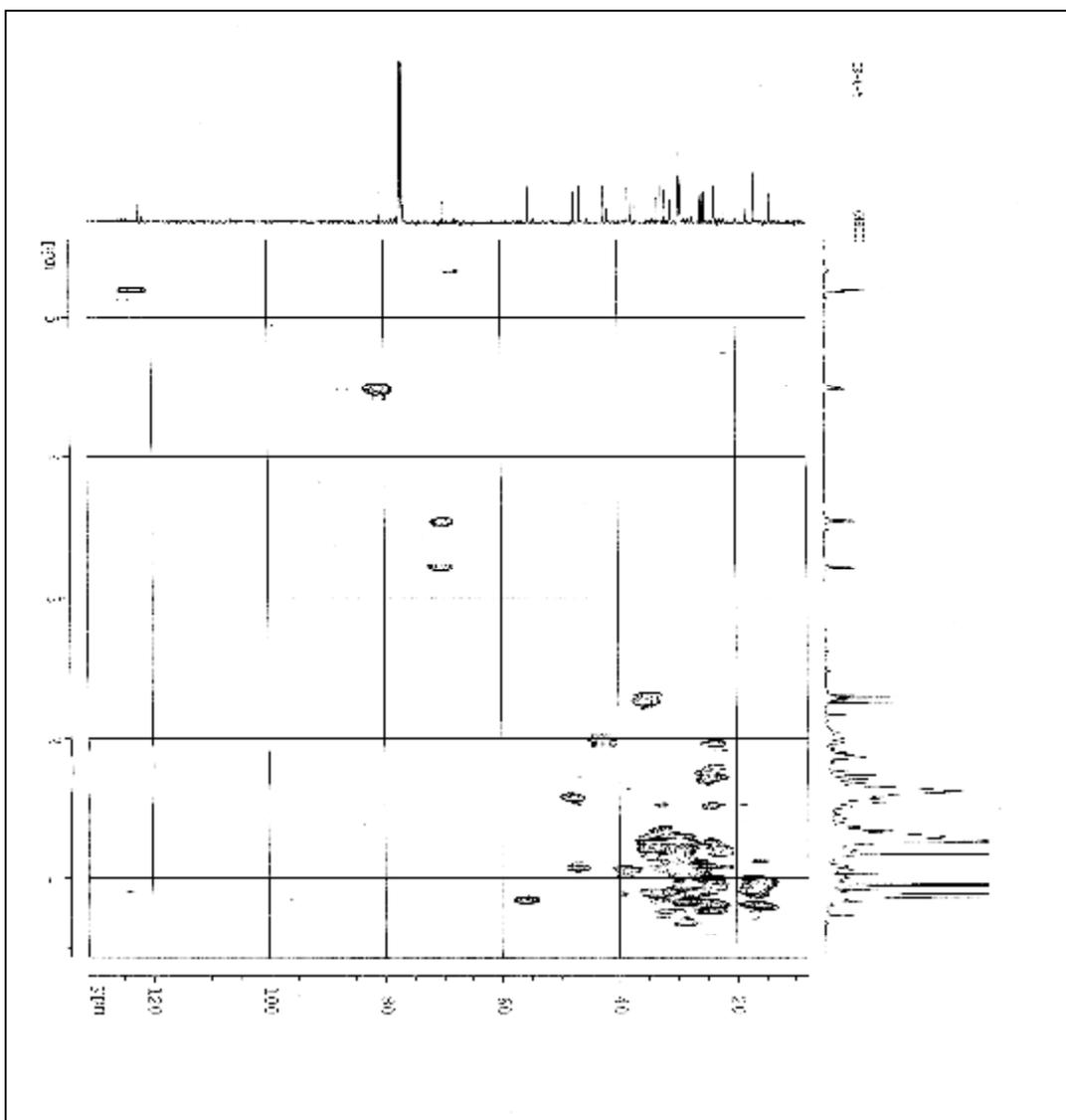
Ces données additionnées au nombre de $-\text{CH}$ précédemment décrits et à la valeur des déplacements chimiques du $-\text{CH}$ éthylénique et du carbone quaternaire éthylénique orientent vers un squelette de type oléane possédant une double liaison en $\text{C}_{12}-\text{C}_{13}$. Suite à ces données le $-\text{CH}$ oxygéné est attribuable au C-3 du squelette triterpénique.

- ▼ Un $-\text{CH}_2$ oxygéné à $\delta = 69,7$ ppm corrélant sur le spectre HSQC (Spectre n° IV-1-A2-2) avec le système AB à $\delta = 3,55$ et $3,21$ ppm ($J = 10,9$ Hz) orientant vers l'oxygénation d'un des méthyles du squelette triterpénique.



Spectre n° IV-1-A2-1: Spectre RMN ^{13}C et DEPT 90&135 (125 MHz ; CDCl_3 ; δ ppm) du composé oK6-5





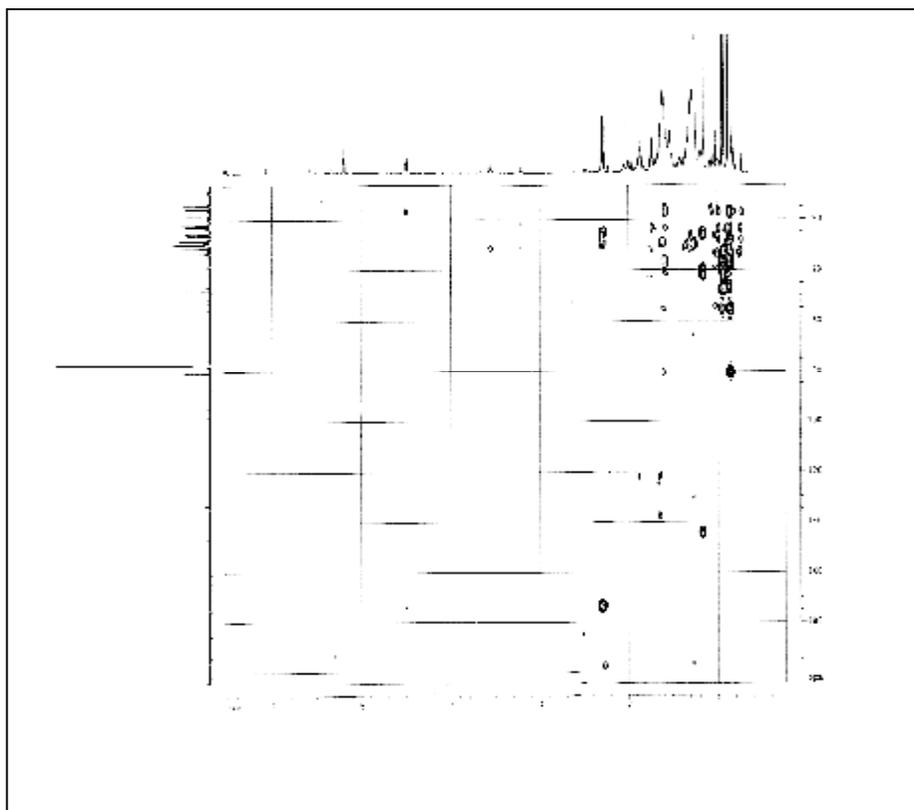
Spectre n°IV-1-A2-2: Spectre de l'expérience HSQC (500 MHz : CDCl_3 : δ ppm) du composé oK6-5

L'examen des spectres de l'expérience HMBC (Spectre n° IV-1-A2-3) et (Spectre n° IV-1-A2-3 bis) montre nettement :

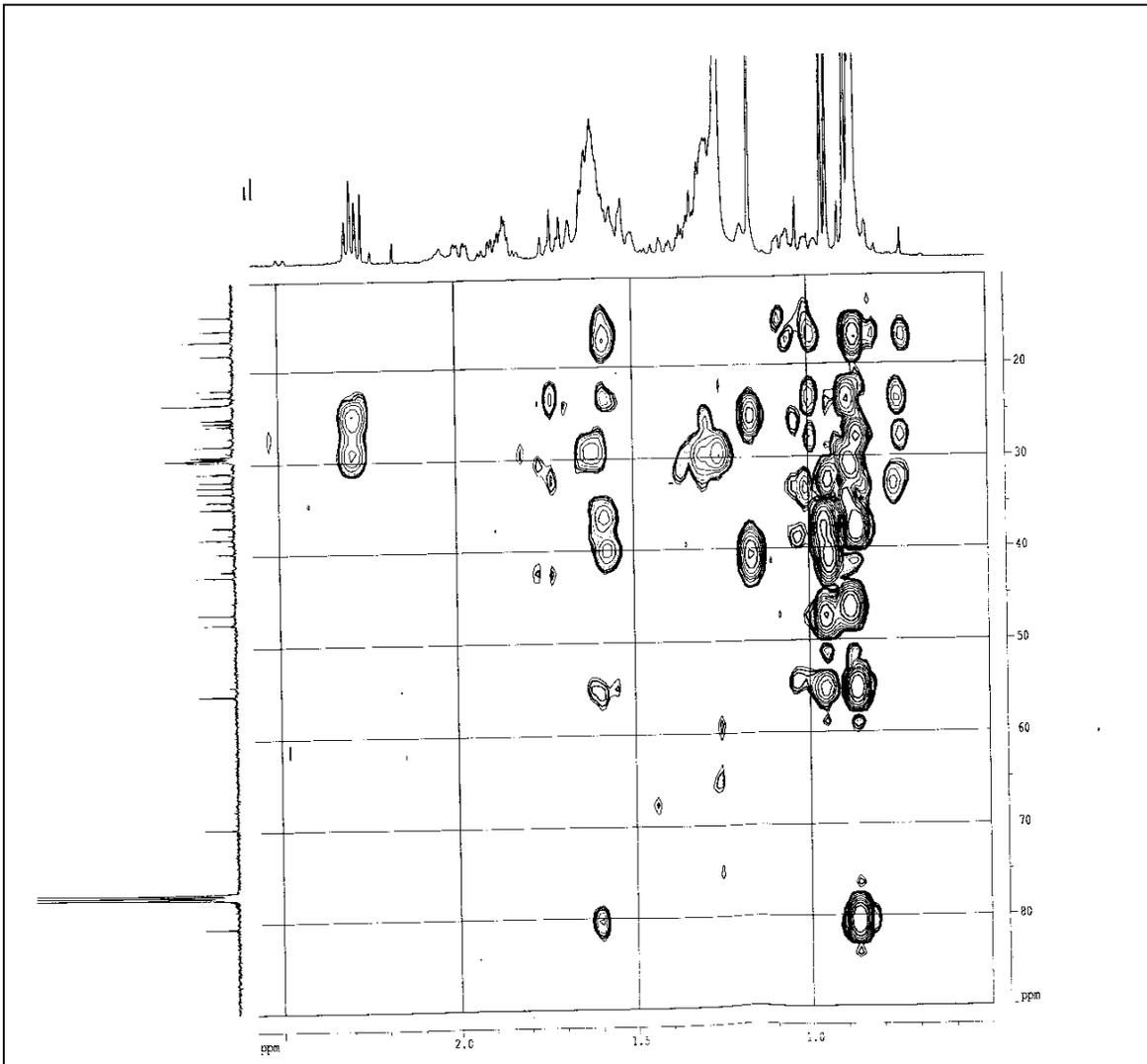
- ▼ Une tache de corrélation entre le carbone C-3 et les méthyles dans la zone (0,89 – 0,86 ppm) et ne montre aucune corrélation avec le système AB ceci permet de déduire que le C-23 et le C-24 sont des méthyles. Ces mêmes méthyles montrent des corrélations avec le –CH à $\delta = 55,23$ ppm, permettant ainsi la localisation de C-5. A son tour le C-5 montre une corrélation nette avec le méthyle à $\delta = 0,96$ ppm attribuable au C-25, lequel grâce à sa corrélation avec le carbone à $\delta = 47,47$ ppm permet la localisation de C-9.
- ▼ Une tache de corrélation entre le carbone quaternaire éthylénique à $\delta = 144,19$ ppm et les protons du méthyle à $\delta = 1,16$ ppm permettant ainsi son attribution au C-27.

- ▼ Une tache de corrélation entre le proton éthylénique ($\delta = 5,18$ ppm) et le carbone quaternaire à $\delta = 41,70$ ppm attribuable au C-14, ce dernier noyau confirme par une tache de corrélation l'attribution du C-27 et montre une autre corrélation avec le méthyle à $\delta = 0,94$ ppm qui ne peut être que le C-26.

Jusque là les atomes de carbones C-23, C-24, C-25, C-26 et C-27 sont sous forme de méthyles. Le carbone du système AB correspondant au groupement $-\text{CH}_2\text{-O}$ ne montre aucune corrélation avec les méthyles restants, cela exclut l'oxygénation du C-29 et du C-30, et placerait par conséquent le groupement oxygéné en C - 28. Par ailleurs, le C-18 est aisément d'attribué au carbone à $\delta = 42,32$ ppm par déduction, vu que le C-3, le C-5 et le C-9 ont déjà été localisés.



Spectre n°IV-1-A2-3 : Spectre de l'expérience HMBC (500 MHz ; CDCl_3 ; δ ppm) du composé oK6-5

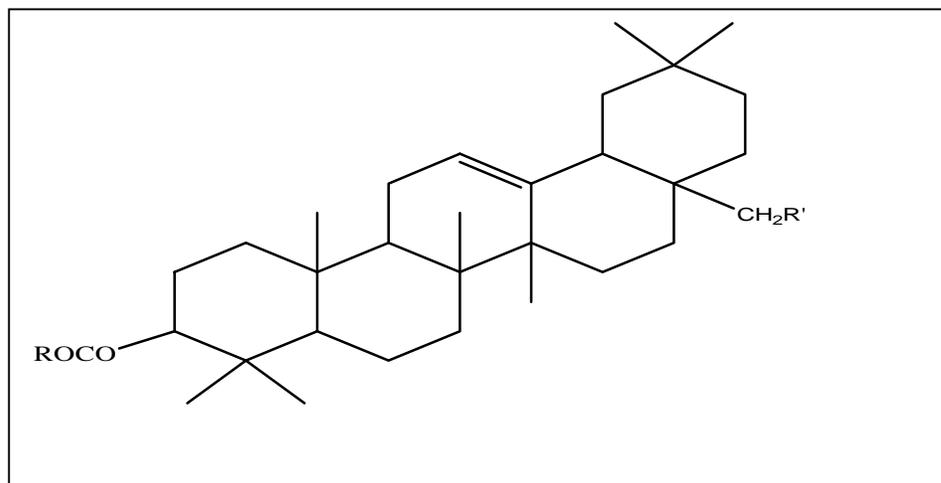


Spectre n°IV-1-A2-3 bis : Spectre de l'expérience HMBC (500 MHz ; CDCl₃ ; δ ppm) du composé oK6-5

Un réexamen du spectre HMBC montre une corrélation entre le carbone C-18 et un des signaux du système AB ($\delta = 3,55$ ppm), cette corrélation suppose que les protons donnant le système AB sont portés par le C-28. Ce résultat est appuyé par une corrélation entre l'autre signal du système AB ($\delta = 3,21$ ppm) et un groupement $-\text{CH}_2$ ($\delta = 21,98$ ppm) du squelette triterpénique, et une autre corrélation très nette des deux signaux du système AB avec un autre groupement $-\text{CH}_2$ ($\delta = 31,01$ ppm). Ces deux groupements $-\text{CH}_2$ sont attribuables en parfaite confirmation avec les données de la littérature à C-16 et C-22 respectivement [3].

Le spectre RMN ^{13}C (spectre n° IV-1-A2-1) montre la présence d'un carbonyle à $\delta = 173,68$ ppm signifiant la présence d'une fonction ester dans cette molécule.

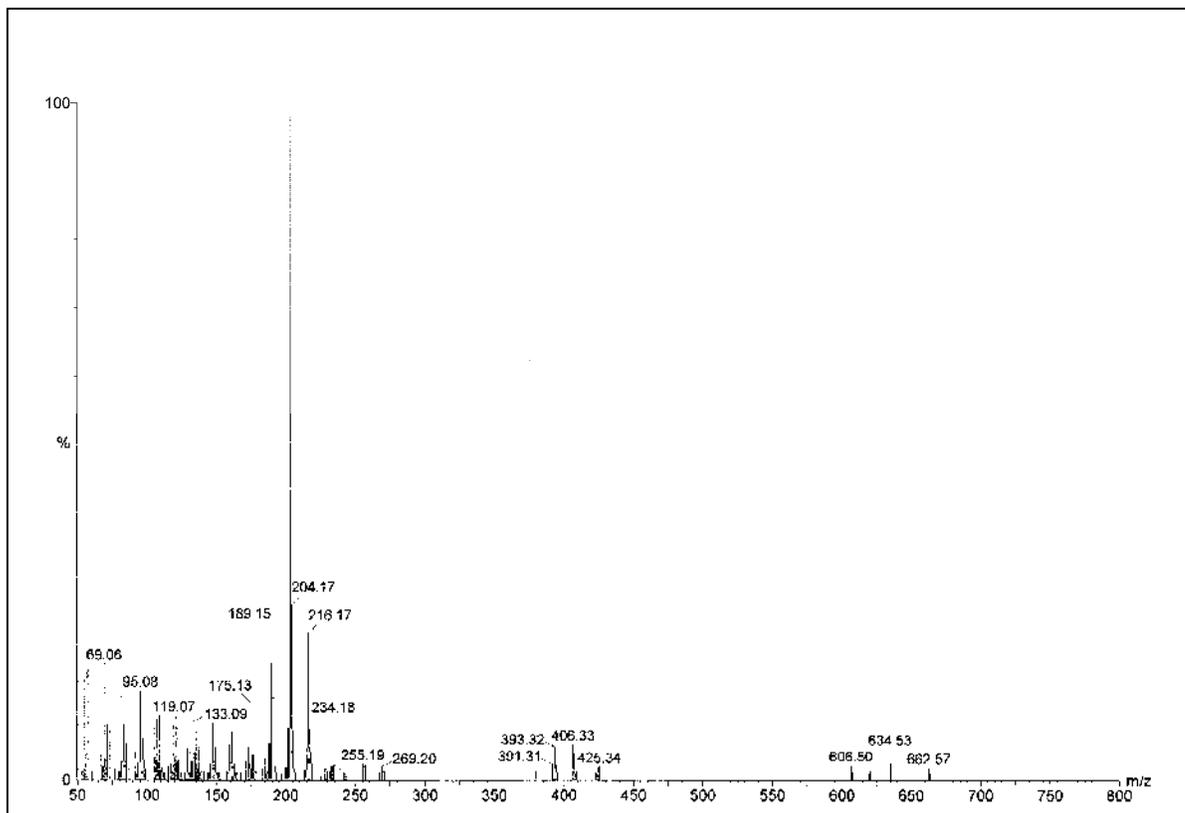
Sur le spectre HMBC (spectre n° IV-1-A2-3) on relève une corrélation entre le proton en C-3 ($\delta = 80,52$ ppm) et le carbone du carbonyle, indiquant ainsi la présence d'une fonction ester en C-3, d'où la structure partielle de la molécule :



Le spectre SMIE (spectre n° IV-1-A2-4) montre un ion à 662,57 (2,05%), correspondant à une formule brute $\text{C}_{46}\text{H}_{78}\text{O}_2$. Cet ion ne peut correspondre au pic moléculaire car il ne comporte que deux atomes d'oxygène au lieu des trois signalés (ester et CH_2OH) et renferme huit insaturations au lieu des sept attendues (triterpène pentacyclique comportant une double liaison et une fonction ester). Comme il est de masse paire, cela suppose un réarrangement subit par l'ion moléculaire avec perte d'une entité contenant un atome d'oxygène, qu'on peut supposer être une molécule d'eau.

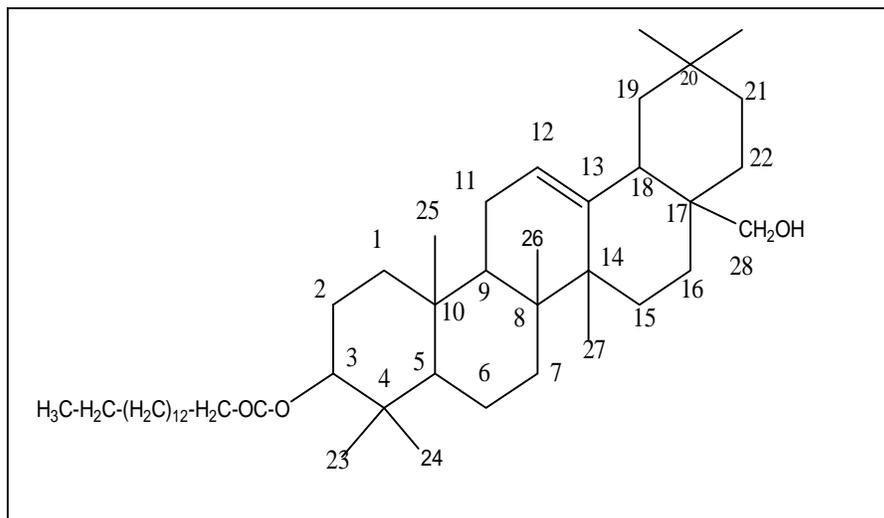
Cette étude mène à la formule brute totale $\text{C}_{46}\text{H}_{80}\text{O}_3$. La perte d'une molécule d'eau, lors d'une ionisation sous impact électronique en spectroscopie de masse, suppose la présence d'une

fonction alcool dans la molécule ce qui mène à un C-28 sous forme d'un CH₂OH. Ainsi, il devient aisé de déterminer le R de la structure partielle précédente soit R= C₁₅H₃₁.



Spectre n° IV-1-A2-4 : Spectre SMIE du composé oK6-5

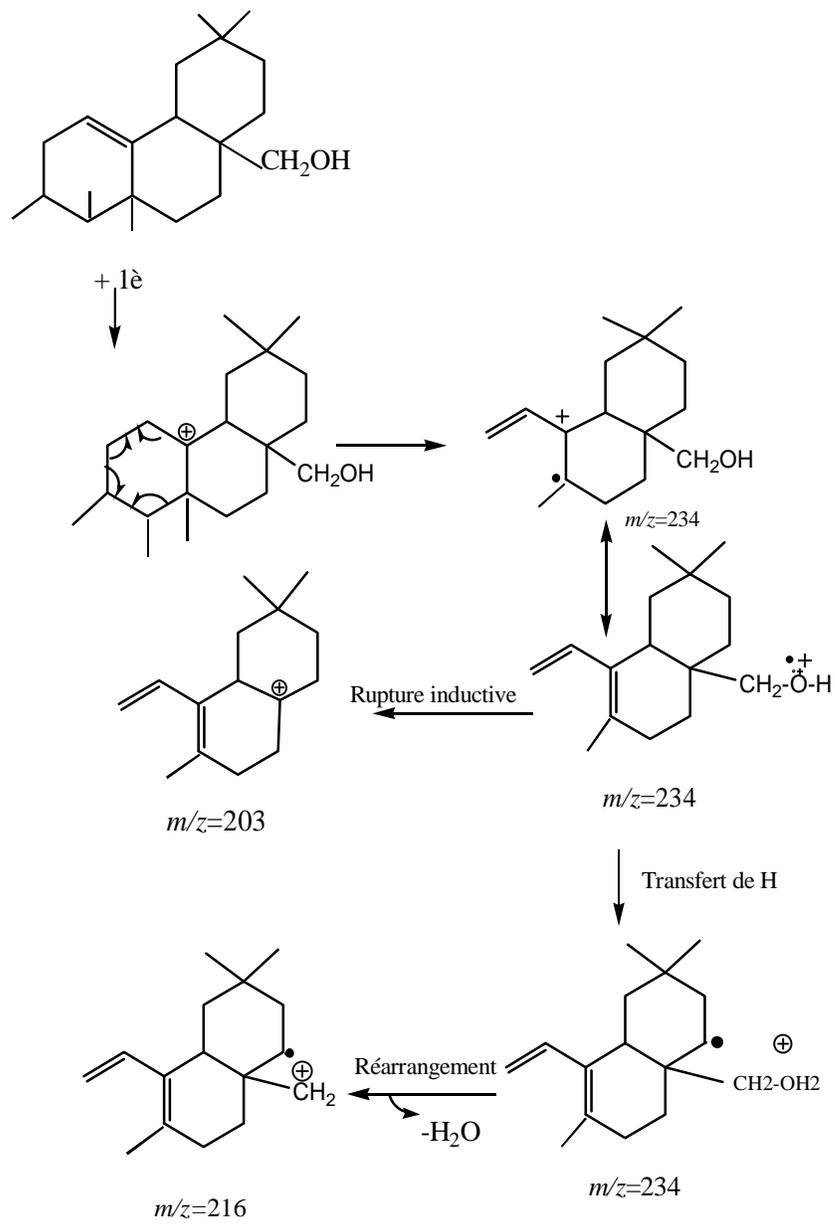
L'étude approfondie des spectres RMN ¹³C (spectre n° IV-1-A2-1) et des séquences DEPT montre que les atomes de carbone appartenant à cette chaîne (R) sont tous sous forme de -CH₂ à l'exception d'un groupement -CH₃ à δ = 14,08 ppm, attribuable au C-16' ce qui signifie que R est une chaîne linéaire comportant quatorze -CH₂, parmi lesquels, on note une corrélation nette sur le spectre HMBC entre les protons du C-2' et le C=O de l'ester. Ces protons corrént également avec le carbone à δ = 25,15 ppm attribuable à C-3' et corrént également avec un des -CH₂ situés entre 29,61 et 29,15 ppm attribuable au C-4'. L'ensemble de ces données mène à la structure ci après et confirme l'hydroxylation du C-28.



La présence de cette chaîne linéaire est appuyée en SMHRIE (spectre n°IV-1-A2-4) par :

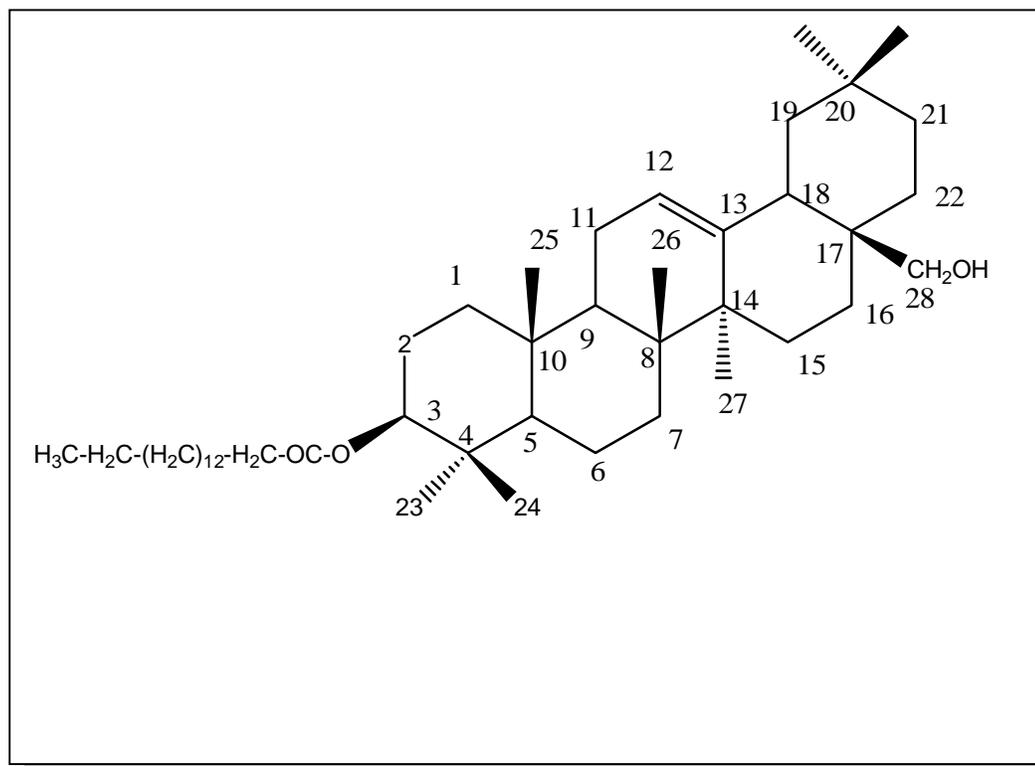
- ▼ La perte successive de molécules d'éthylène après la perte de la molécule d'eau ;
 $m/z = 634,53$ (4,84%) ; $606,50$ (2,40%).
- ▼ La présence de l'ion à $m/z = 425,34$ (2,17%) correspondant à une rupture inductive avec ionisation sur l'oxygène alcoolique de la fonction ester, ce mécanisme est justifié par le réarrangement de cet ion avec perte de méthanol donnant l'ion à $m/z = 393,32$ (4,90%).
- ▼ La présence de l'ion à $m/z = 406,33$ (5,50%) correspondant au réarrangement de l'ion à $m/z = 662,57$ (2,05%) avec perte de l'acide palmitique. Cet ion se fragmente à son tour en perdant un radical méthyle pour donner l'ion à $m/z = 391,31$ (2,38%), témoignant ainsi de la présence de groupement méthyle dans sa structure.
- ▼ L'ion caractéristique de cette chaîne est donné par le pic à $m/z = 255,19$ (2,60%) correspondant à :

$$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{14}-\text{COO}^{\cdot+}$$
- ▼ Le pic de base de ce spectre soit $m/z = 203,16$ correspond à l'ion obtenu après réarrangement rétro Diels-Alder relatif au cyclohexène du noyau triterpénique, suivi de la rupture inductive C-17-C-28 connue pour les triterpènes. Le fait que cet ion soit à $m/z=203$, c'est-à-dire perte du radical $\text{CH}_2\text{-OH}^{\cdot}$ confirme bien la position en C-28 du groupe hydroxyle.
- ▼ La formation de l'ion à $m/z = 216$, s'explique par un réarrangement avec transfert d'un hydrogène et perte d'une molécule d'eau comme indiqué sur le schéma IV-1-1



SCHEMA VI-I : Fragmentation de la molécule

L'orientation β de la chaîne ester en C-3 repose sur la biogenèse des triterpènes et les valeurs des constantes de couplages ($J = 8,7 \text{ Hz}$; $J = 7,0 \text{ Hz}$) entre H-3 α , H-2 β et H-3 α , H-2 α respectivement [2]. La stéréochimie des autres centres chiraux découle des résultats de la littérature en relation avec la biogenèse de cette classe de substances naturelles. D'où la structure finale suivante :



Cette molécule est connue sous le nom de :

28-Hydroxy Olean-12 ène 3 β palmitate ou **28-Hydroxy Olean-12ène 3 β Hexadecanoate** ou **Erythrodiol 3 palmitate** [4, 5].

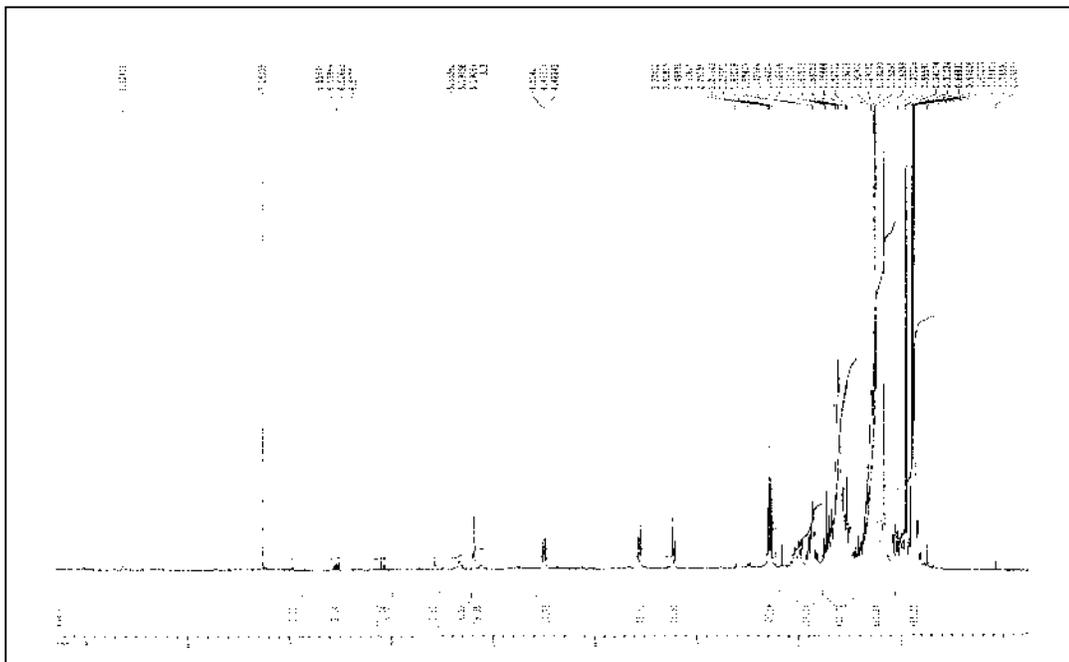
L'ensemble des données de spectroscopie RMN sont reportées dans les tableaux : IV-1A2-a et IV-1A2-b.

Tableau IV-1A2-a Données de la RMN ^{13}C et des séquences DEPT (90 et 135)

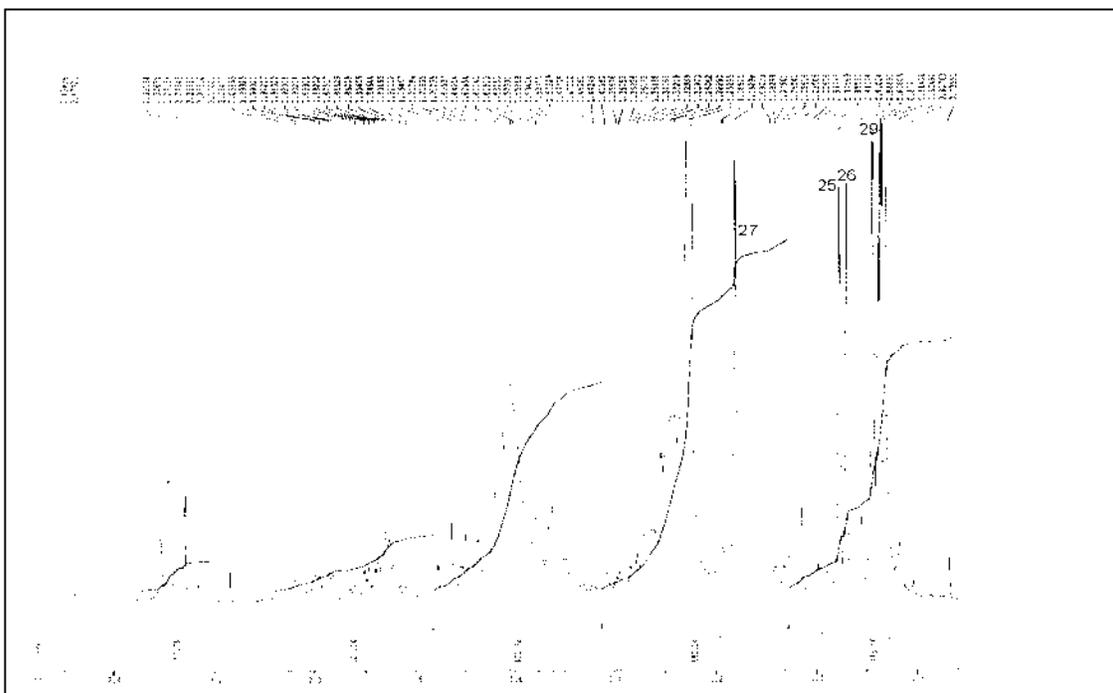
C	$\delta(\text{ppm})$	DEPT 90/ DEPT 135
C-1	37,73	CH ₂
C-2	25,87	CH ₂
C-3	80,52	CH
C-4	38,24	C
C-5	55,23	CH
C-6	18,21	CH ₂
C-7	32,49	CH ₂
C-8	39,78	C
C-9	47,47	CH
C-10	36,80	C
C-11	23,56	CH ₂
C-12	122,27	CH
C-13	144,19	C
C-14	41,70	C
C-15	25,81	CH ₂
C-16	21,98	CH ₂
C-17	36,91	C
C-18	42,32	CH
C-19	46,40	CH ₂
C-20	30,92	C
C-21	34,06	CH ₂
C-22	31,01	CH ₂
C-23	28,02	CH ₃
C-24	16,72	CH ₃
C-25	15,53	CH ₃
C-26	16,72	CH ₃
C-27	25,81	CH ₃
C-28	69,70	CH ₂
C-29	33,15	CH ₃
C-30	23,56	CH ₃
C-1'	173,68	C
C-2'	34,84	CH ₂
C-3'	25,15	CH ₂
6 -CH ₂ de la chaîne	29,56-29,15	
C-13'	31,88	CH ₂
C-14'	31,88	CH ₂
C-15'	22,65	CH ₂
C-16'	14,08	CH ₃

Tableau IV-1-A2-b Données de la RMN ¹H du composé oK6-5

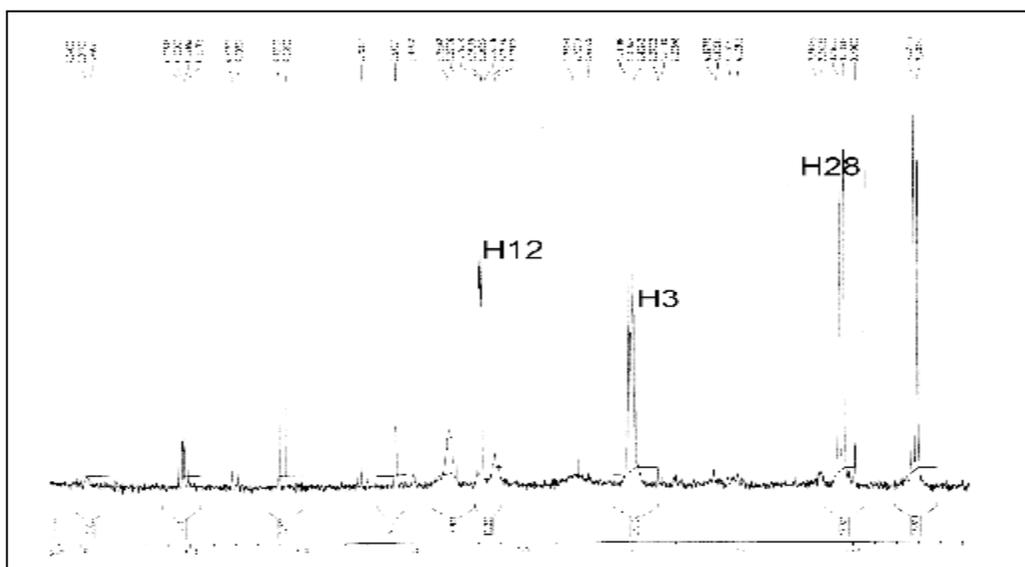
Protons	δ(ppm)	Intégration	Multiplicité	J (Hz)
H-3	4,49	1H	dd	8,7 ; 7,0
H-12	5,18	1H	t	3,5
H-28	3,55	1H	d	11,0
H-28'	3,21	1H	d	11,0
CH ₃ (27)	1,16	3H	s	-
CH ₃ (25)	0,96	3H	s	-
CH ₃ (26)	0,94	3H	s	-
CH ₃ (29)	0,88	3H	s	-
3CH ₃	0,87 ; 0,87 ; 0,86.	9H	s	-



Spectre n° IV-1-A2-5 : Spectre RMN ¹H (500 MHz ; CDCl₃ ; δ ppm) du composé oK6-5



Spectre n° VI-1-A2-5: Spectre RMN ^1H étalé de 0,8 à 2,4 ppm du composé oK6-5

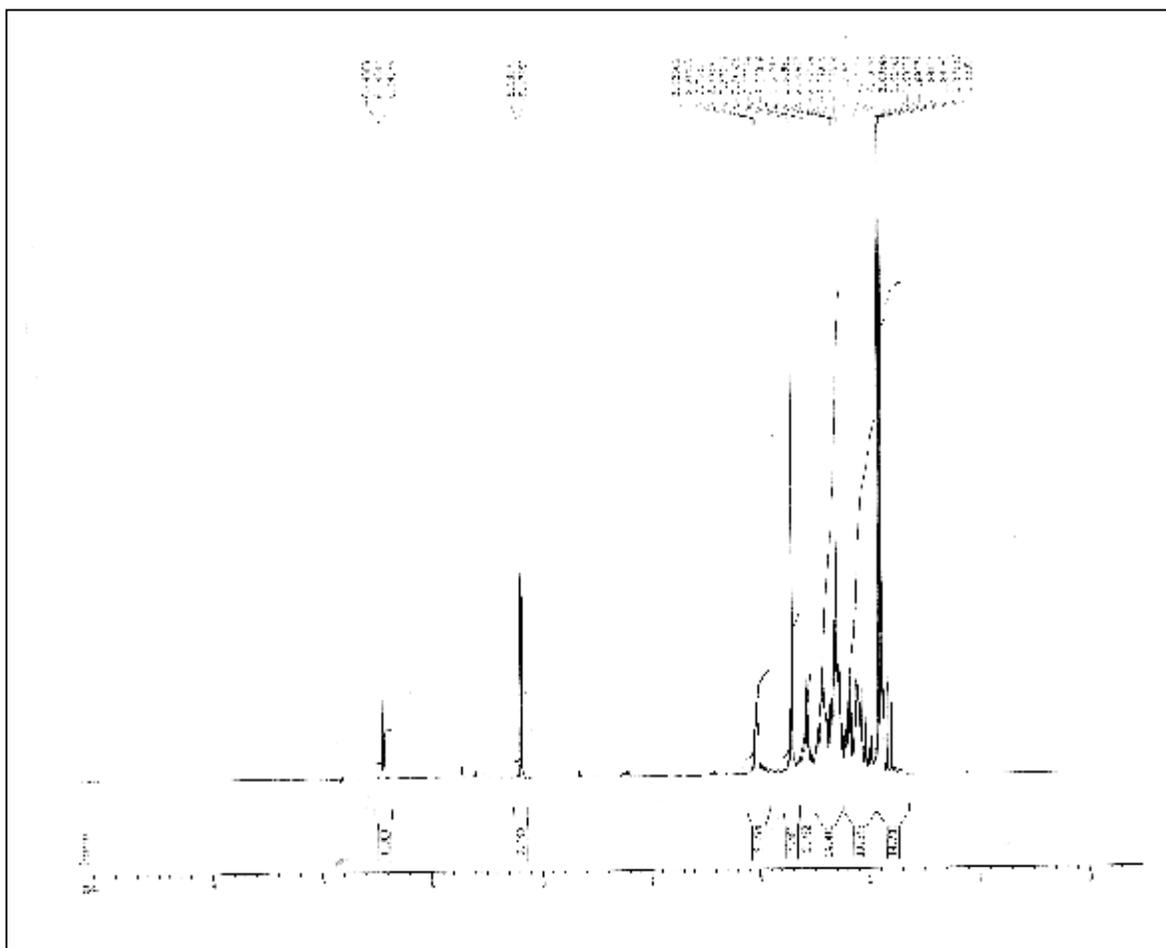


Spectre n° VI-1-A2-5: Spectre RMN ^1H étalé 3,5 à 7,0 ppm du composé oK6-5

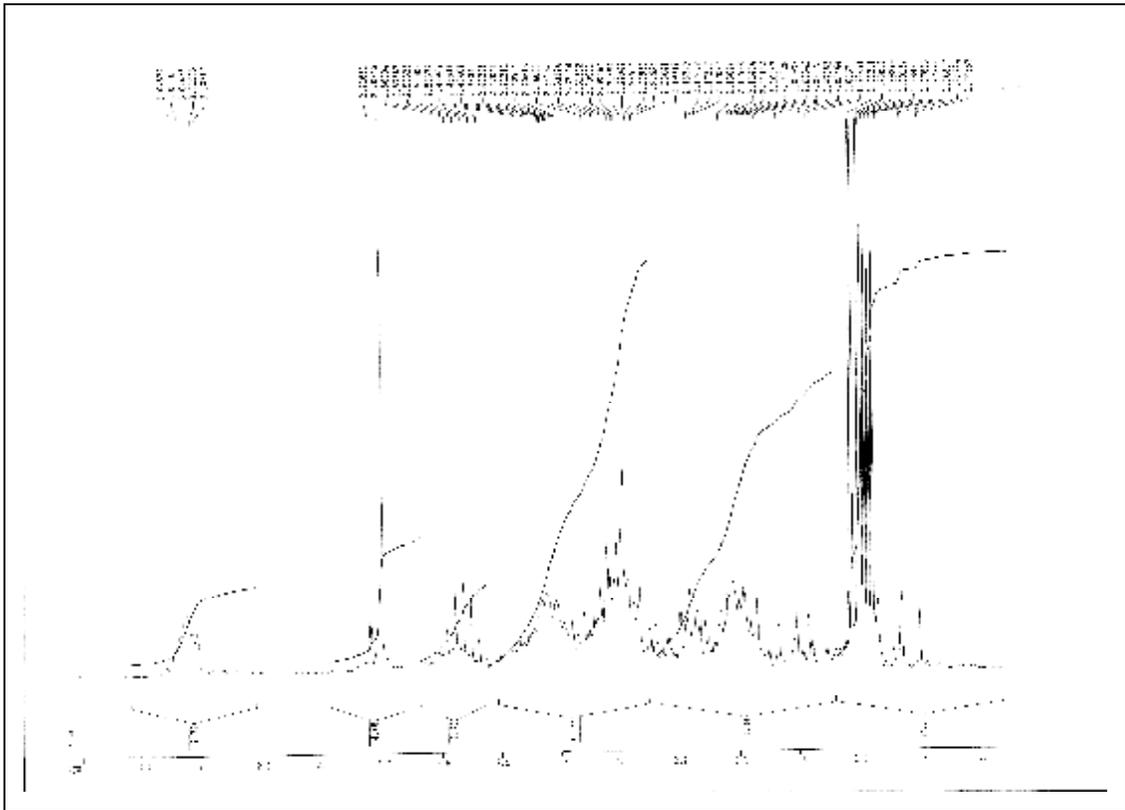
IV-1-A3 LE COMPOSE 3 : oK9-3-8:

La RMN ^1H (spectre n° IV-1-A3-1) montre la présence de :

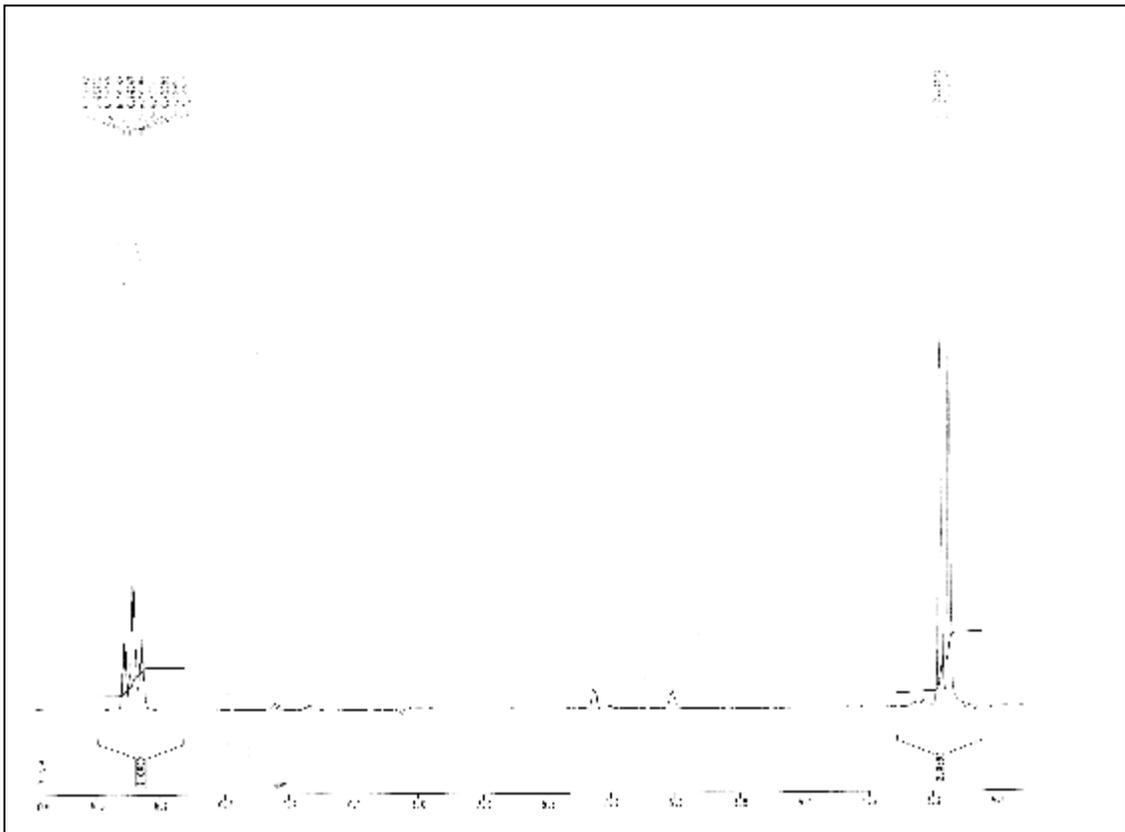
- ✓ Deux $-\text{CH}_3$ équivalents résonant sous forme de doublet à $\delta = 1,9$ ppm, $J = 6,8$ Hz
- ✓ Deux autres doublets d'intégration 3H chacun représentant 2 $-\text{CH}_3$ à $\delta = 1,89$ et $1,87$ ppm $J = 6,6$ et $5,8$ Hz respectivement.
- ✓ Un singulet à $\delta = 2,70$ ppm, représentant un $-\text{CH}_3$.
- ✓ Un doublet d'intégration 2H à $\delta = 5,18$ ppm, $J = 6,9$ Hz attribuable à 1 $-\text{CH}_2$ oxygéné.
- ✓ Un triplet large d'intégration 1H à $\delta = 6,44$ ppm, $J = 6,9$ Hz attribuable à un proton éthylénique.



Spectre n° IV-1-A3-1: Spectre RMN ^1H (500 MHz ; CDCl_3 ; δ ppm) du composé oK9-3-8



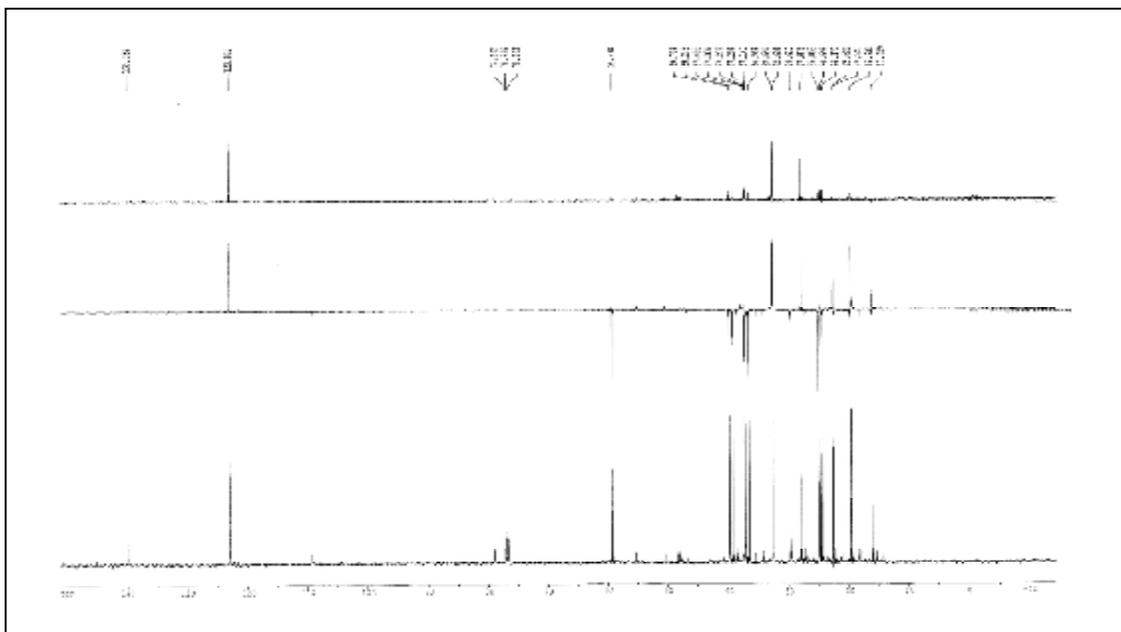
Spectre n° IV-1-A3-1: Spectre RMN ^1H étalé de 1,7 à 3,1 ppm du composé oK9-3-8



Spectre n° IV- 1-A3-1: Spectre RMN ^1H étalé de 5,1 à 6,5 ppm du composé oK9-3-8

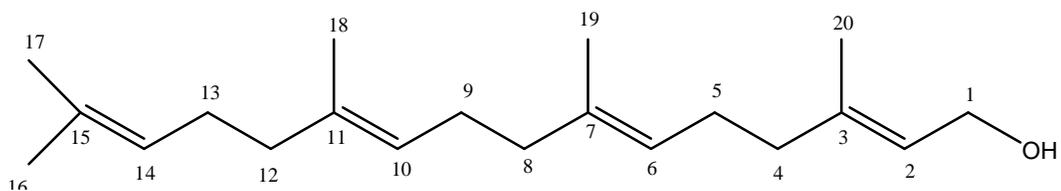
La RMN ^{13}C (spectre n° IV-1-A3-2) confirme ces données en montrant la présence de :

- ✓ Trois groupements $-\text{CH}$ de type SP^3 et qui ne peuvent être que ceux en interaction de couplage vicinal avec les $-\text{CH}_3$ cités plus haut.
- ✓ Un $-\text{CH}$ éthylénique à $\delta = 123,07$ ppm
- ✓ Un carbone éthylénique quaternaire à $\delta = 139,98$ ppm, qui est en faveur de la présence d'une double liaison dans cette molécule.
- ✓ Neuf groupements $-\text{CH}_2$ de type SP^3 et non oxygénés.



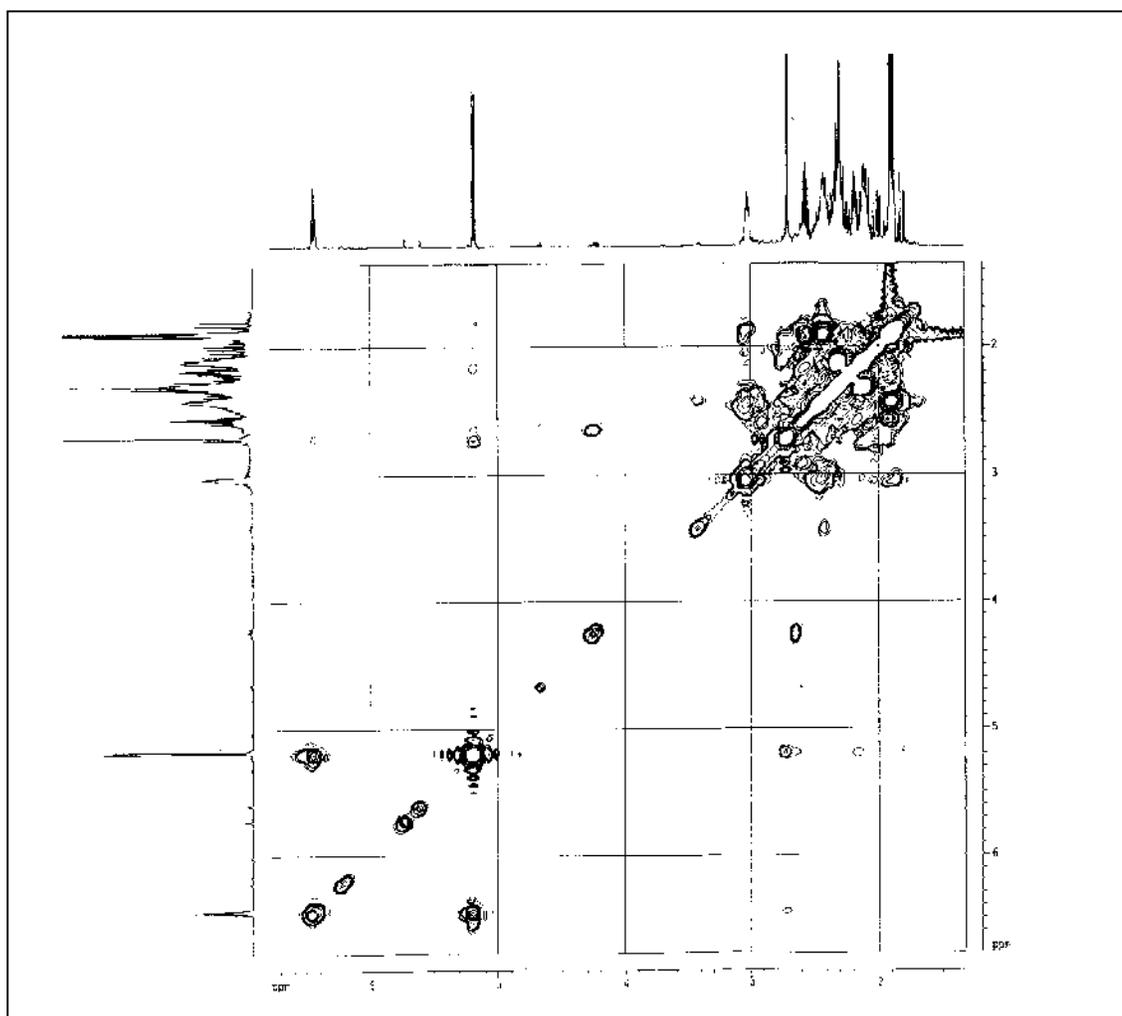
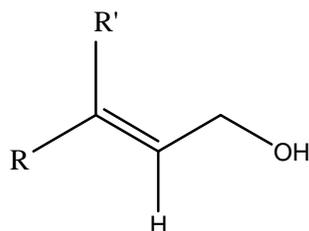
Spectre n° IV- 1-A3-2 : Spectre RMN ^{13}C (125 MHz ; CDCl_3 ; δ ppm) du composé oK9-3-8

Un décompte de l'ensemble des atomes engagés dans ces groupements mène à la formule brute partielle $\text{C}_{20}\text{H}_{39}\text{O}$. Comme seul un atome de carbone est oxygéné dans cette structure, ceci implique la présence d'un groupement hydroxyle dans cette molécule d'où la formule brute totale $\text{C}_{20}\text{H}_{40}\text{O}$. Ces données convergent vers un composé linéaire en C-20. Le nombre de groupements $-\text{CH}_3$ oriente vers une chaîne de type diterpène soit une chaîne issue du géranylgeraniol dont la formule est représentée comme suit:



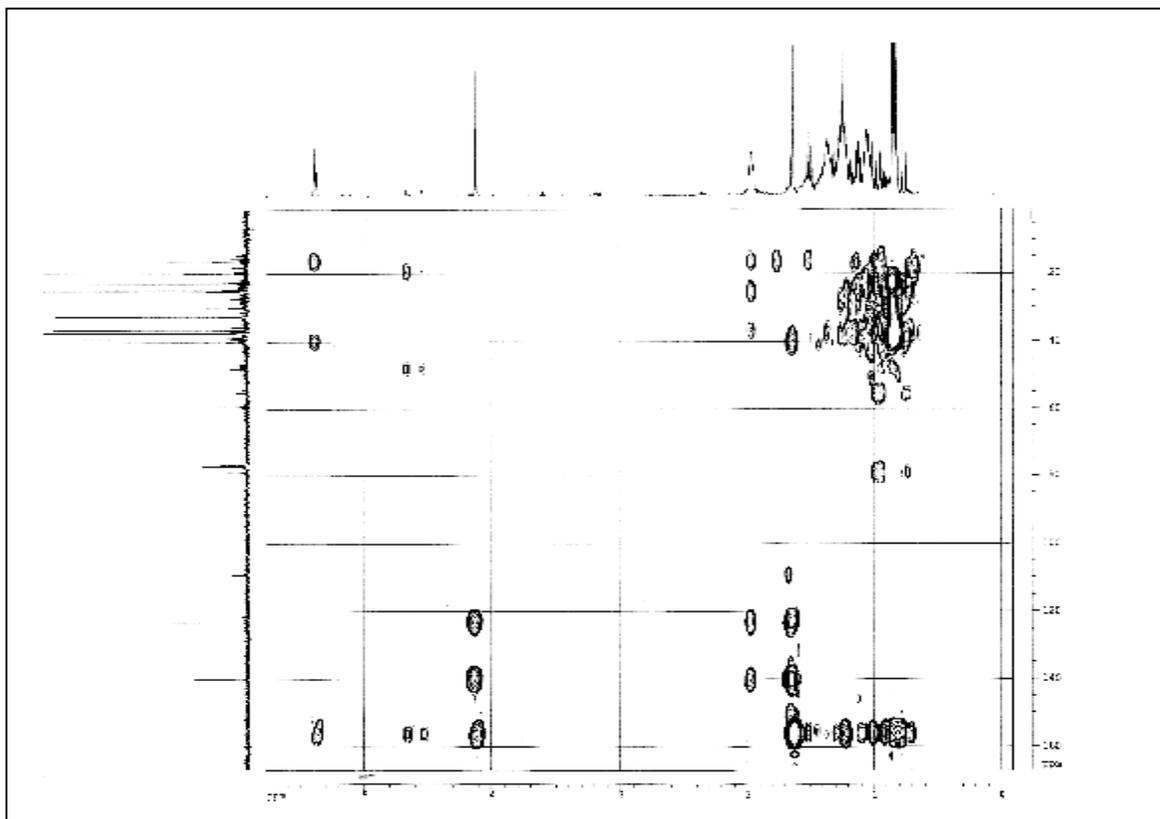
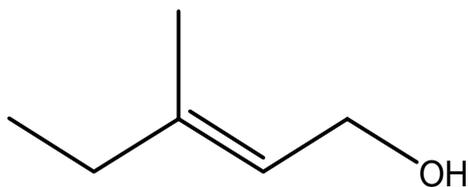
Cette molécule représente le diterpène parent des autres diterpènes linéaires et cycliques. En effet le géranylgéraniol renferme dans sa chaîne quatre doubles liaisons (C₂-C₃, C₆-C₇, C₁₀-C₁₁, et C₁₄-C₁₅). Dans le cas de notre molécule, on remarque la réduction de trois doubles liaisons et le maintien d'une seule.

L'examen du spectre COSY ¹H-¹H (spectre n° IV-1-A3-3) montre une corrélation entre le proton éthylénique et les protons du groupement -CH₂-OH ce qui conforte le maintien de la double liaison C₂-C₃ et permet d'écrire la portion de molécule suivante :

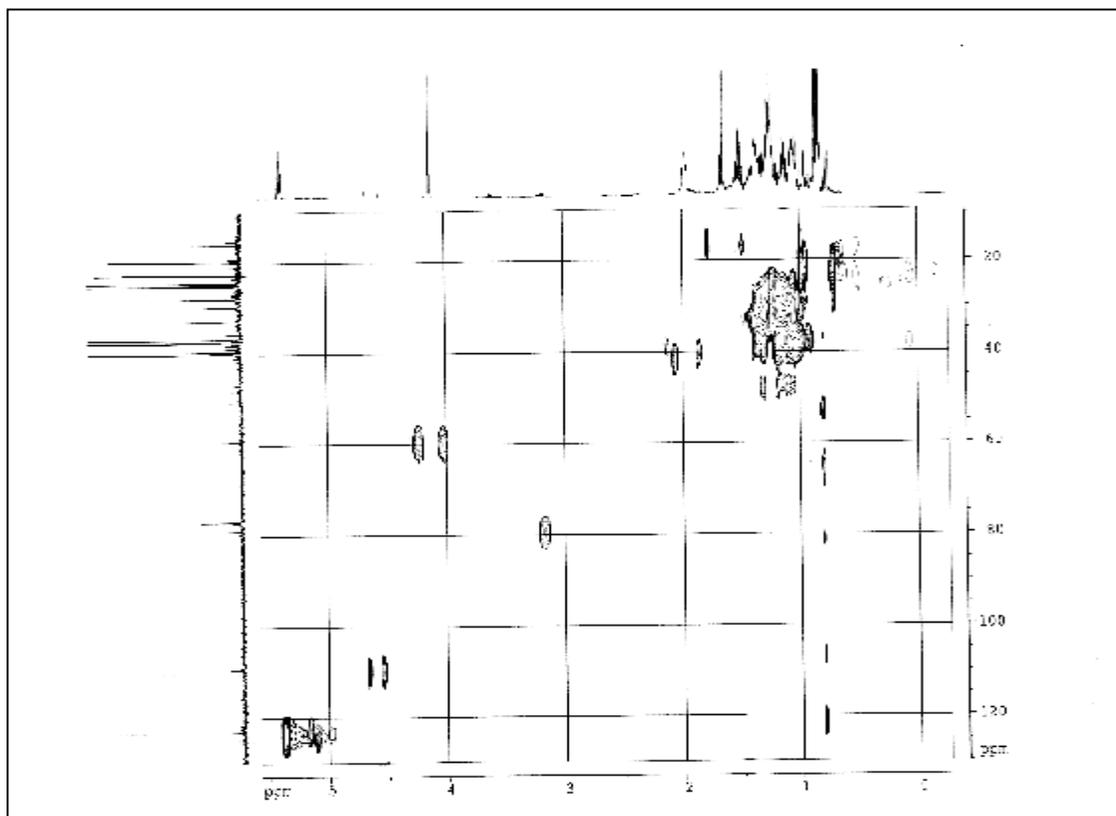


Spectre n° IV- 1-A3-3 : Spectre COSY ¹H-¹H (500 MHz ; CDCl₃ ; δ ppm) du composé ok9-3-8.

L'examen du spectre de l'expérience HMBC (spectre n°IV-1-A3-4) permet de confirmer R' grâce à la corrélation entre les protons du groupement méthyle porté par le carbone à $\delta = 16,05$ ppm et les deux carbones éthyléniques d'où R' = CH₃. Par ailleurs les protons du signal à $\delta = 3,03$ ppm d'intégration 2H correspondant à un CH₂ spectres HSQC (spectre n° IV-1-A3-5) et DEPT 135 (spectre n°IV-1-A3-2) montrent des corrélations avec les deux carbones éthyléniques sur le spectre HMBC, confirmant ainsi son appartenance aux molécules ayant comme précurseur le géranylgeraniol apparentées aux métabolismes géranylgeraniol pyrophosphate. Cette constatation et les précédentes permettent d'arriver à la portion de molécule suivante :

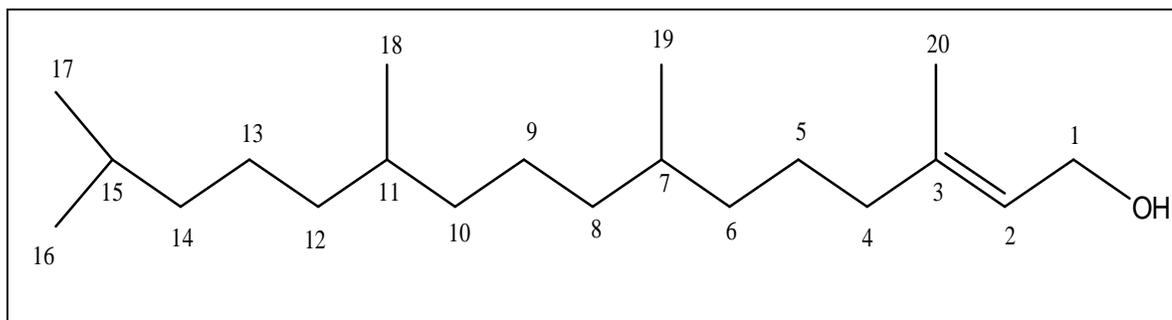


Spectre n° IV- 1-A3-4 : Spectre HMBC (500 MHz ; CDCl₃, δ ppm) du composé oK9-3-8



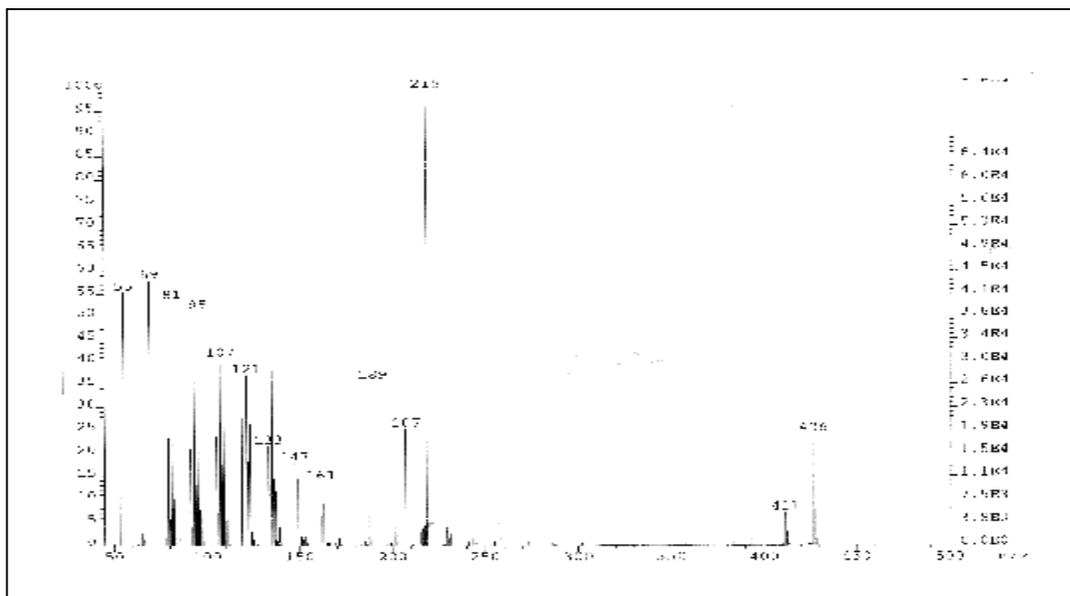
Spectre n° IV- 1-A3-5 : Spectre HSQC (500 MHz ; CDCl₃ ; δ ppm) du composé oK9-3-8

En tenant compte de toutes les données nous arrivons à la structure suivante :



Cette molécule est connue sous le nom de **phytol** [6,7].

L'examen du spectre SMIE (spectre n° IV-1-A3-6) donne un pic de base à $m/z = 218$ correspondant ainsi à la perte d'une molécule d'eau, d'une molécule d'hydrogène, d'une molécule de butène, et d'une molécule d'hydrogène. D'autre part ce spectre montre des fragmentations correspondantes à la chaîne hydrocarbonée, notamment les signaux à $m/z = 57$ et 55.



Spectre n° IV- 1-A3-5 : Spectre de masse SMIE du composé oK9-3-8

Les résultats de la RMN ^1H sont regroupés dans le tableau IV-1-A3-a

Tableau IV-1-A3-a Résultats de la RMN ^1H du composé oK9-3-8

Protons	δ (ppm)
$\text{C}=\underline{\text{C}}\text{H}-\text{CH}_2$	6,44 1H (t) $J = 6,9$ Hz
$\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{OH}$	5,18 2H (d) $J = 6,9$ Hz
$\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{C}=\text{C}$	3,02 2H (t l.) $J = 7,5$ Hz
$\underline{\text{C}}\text{H}_3-\text{C}=\text{C}$	2,70 3H s
$\text{CH}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$	1,91 6H (d) $J = 6,8$ Hz
$\underline{\text{C}}\text{H}_3-\text{CH}$	1,89 3H (d) $J = 6,6$ Hz
$\underline{\text{C}}\text{H}_3-\text{CH}$	1,87 3H (d) $J = 5,8$ Hz

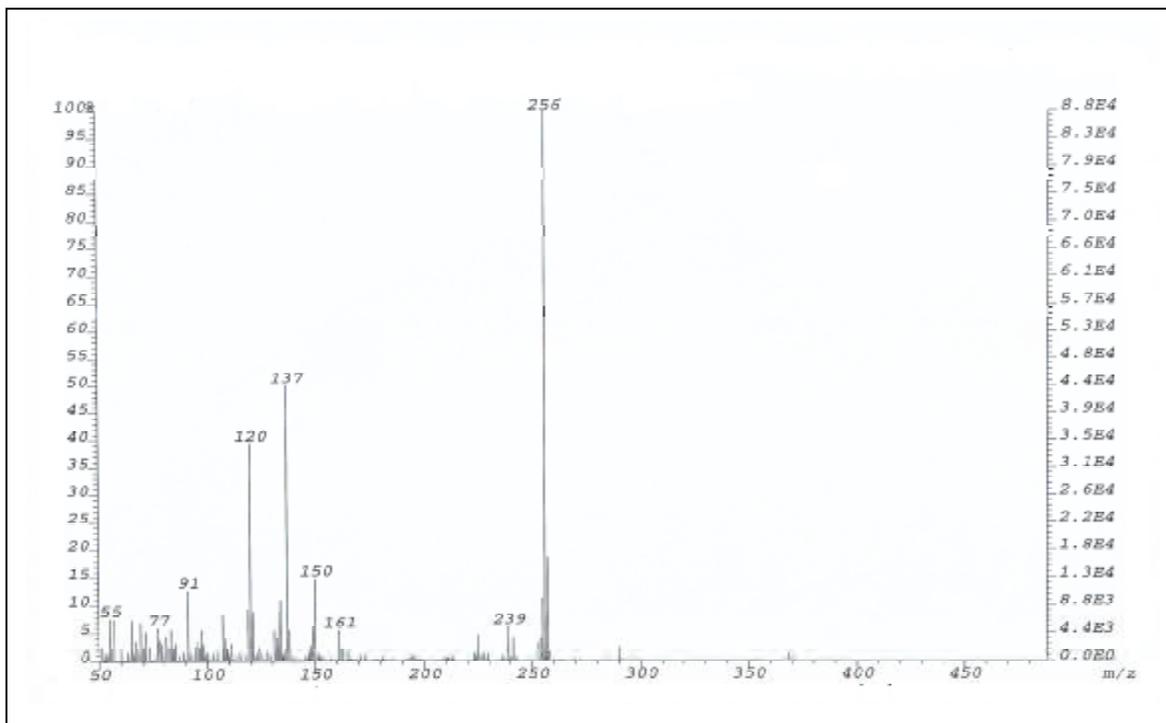
Les résultats de la RMN ^{13}C et ses séquences DEPT (90, 135) sont regroupés dans le tableau IV-1-A3-b

Tableau IV-1-A3-b Résultats de la RMN ^{13}C et ses séquences DEPT (90, 135)

Carbones	δ (ppm)	DEPT 90	DEPT 135
C-3	139,98	-	C
C-2	123,07	CH	CH
C-1	59,23	-	CH ₂
C-4	39,78	-	CH ₂
C-14	39,27	-	CH ₂
C-10	37,40	-	CH ₂
C-8	37,33	-	CH ₂
C-12	37,27	-	CH ₂
C-6	36,58	-	CH ₂
C-7	32,69	CH	CH
C-11	32,60	CH	CH
C-15	27,87	CH	CH
C-5	25,05	-	CH ₂
C-13	24,69	-	CH ₂
C-9	24,37	-	CH ₂
C-17	22,62	-	CH ₃
C-16	22,52	-	CH ₃
C-19	19,63	-	CH ₃
C-18	19,63	-	CH ₃
C-20	16,05	-	CH ₃

IV-1-A4 LE COMPOSE 4 : ok13-1:

Le spectre de masse à haute résolution (spectre n°IV-1-A4-1) donne une masse exacte $m/z = 256,1024$ (100%) correspondante à une formule brute de $C_{16}H_{16}O_3$ dont la masse calculée est : 256,109945.



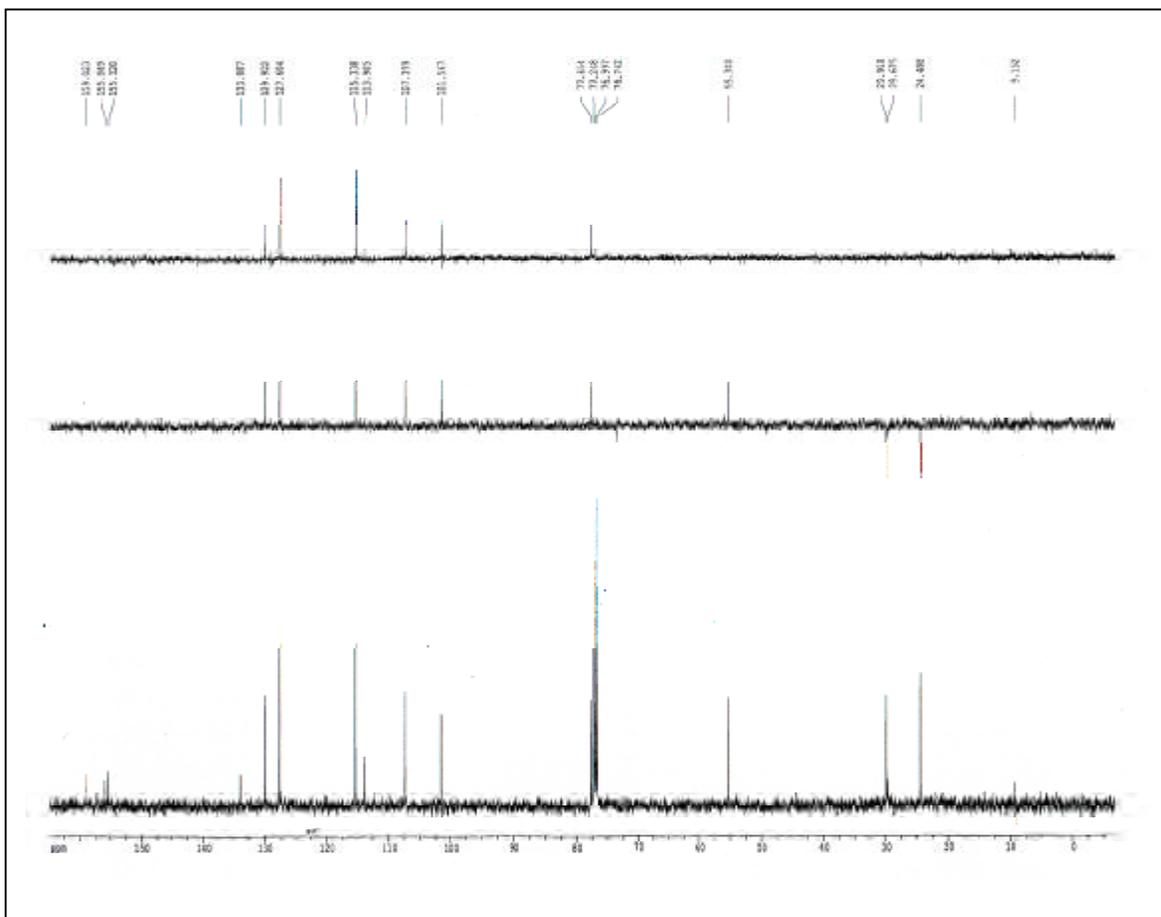
Spectre IV-I-A4-1 : Spectre SMIE du composé ok13-1

Le spectre RMN ^{13}C et les spectres relatifs aux conséquences DEPT (spectre n°IV-1-A4-2) confirment la présence de 16 atomes de carbones, parmi lesquels :

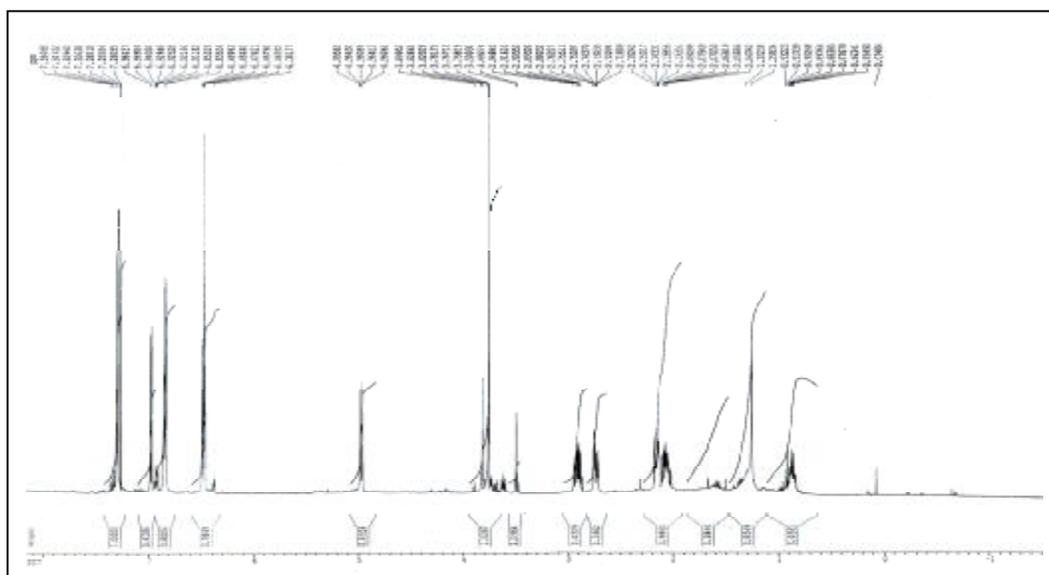
- ✓ un groupement $-CH_3$ à $\delta = 55,3$ ppm relatif à un methoxyle.
- ✓ Deux groupements $-CH_2$ hybridés sp^3 non oxygénés à $\delta = 24,5$ et $29,9$ ppm
- ✓ Six types de groupements $-CH$ dont un hybridé sp^3 oxygéné à $\delta = 77,2$ ppm et cinq aromatiques.

L'examen du spectre RMN proton (spectre n°IV-1-A4-3) montre la présence d'un noyau aromatique para substitué ; Ce qui porte à sept le nombre de $-CH$ aromatique dans cette molécule.

- ✓ Cinq carbones quaternaires dont trois aromatiques oxygénés.
- ✓ Deux carbones aromatiques non oxygénés à $\delta = 113,9$ et $133,9$ ppm.

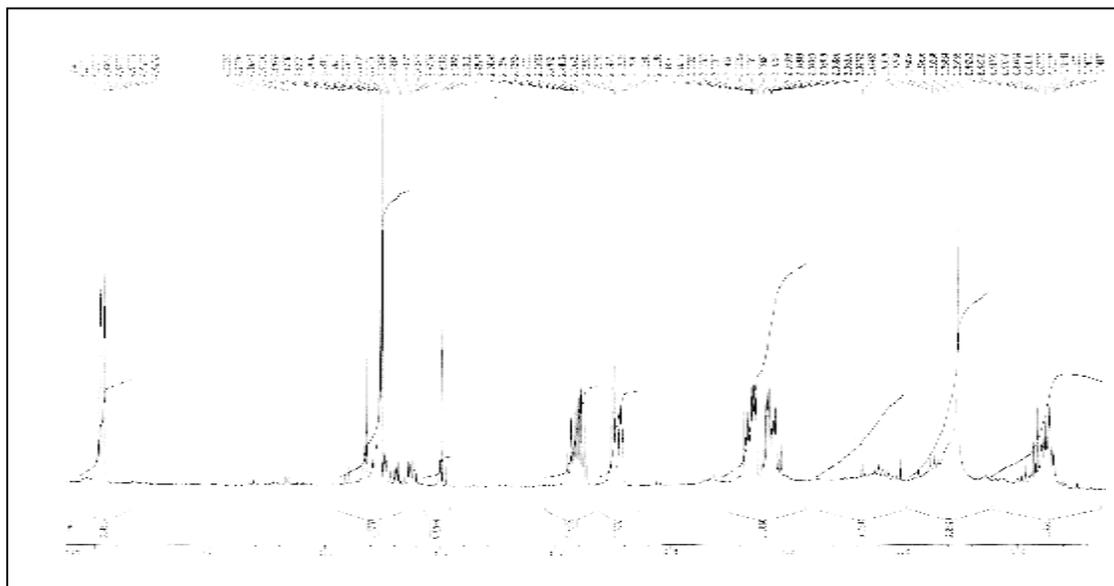


Spectre IV-I-A4-2 : Spectre RMN ^{13}C (125 MHz ; CDCl_3 ; δ ppm) du composé ok13-1

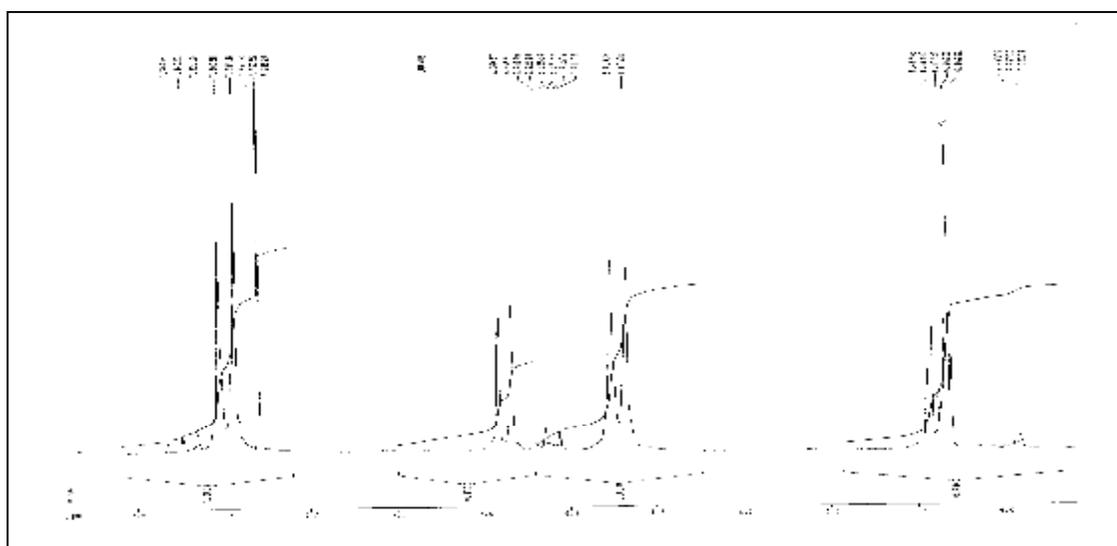


Spectre n° IV-I-A4-3 : Spectre RMN ^1H (500 MHz ; CDCl_3 ; δ ppm) du composé ok13-1

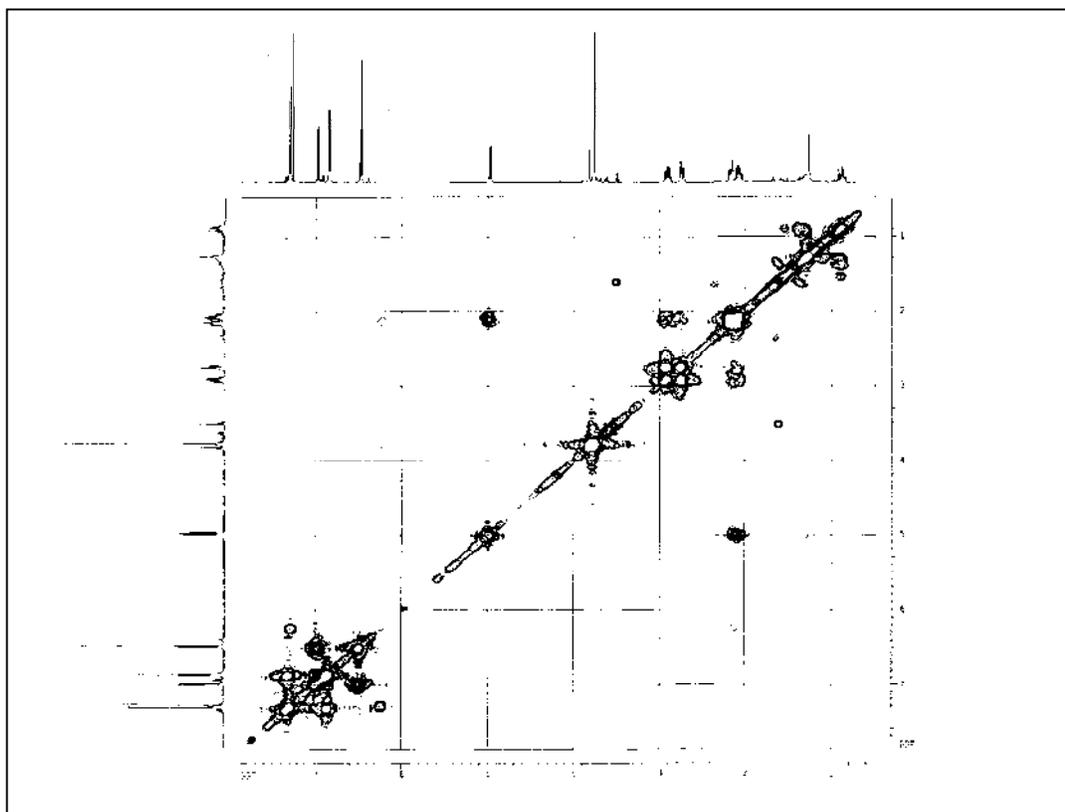
L'examen approfondi du spectre proton (spectre n°IV-1-A4-3) et du spectre relatif à l'expérience cosy ^1H - ^1H (spectre n° IV-1-A4-4) montre qu'il existe dans cette molécule un enchaînement $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH-O-}$. En effet, ce spectre montre des corrélations entre les protons du $-\text{CH}_2$ à $\delta = 2,73$ et $2,94$ ppm représentant ainsi deux noyaux diastérotopiques et les protons du deuxième groupement $-\text{CH}_2$ à $\delta = 2,08$ et $2,14$ ppm représentant également deux noyaux diastérotopiques. Ces derniers corrént avec le proton du groupement $-\text{CH}$ oxygéné à $\delta = 4,98$ ppm.



Spectre n° IV-I-A4-3 : Spectre RMN ^1H étalé de 1,0 à 4 ,5 ppm du composé ok13-1



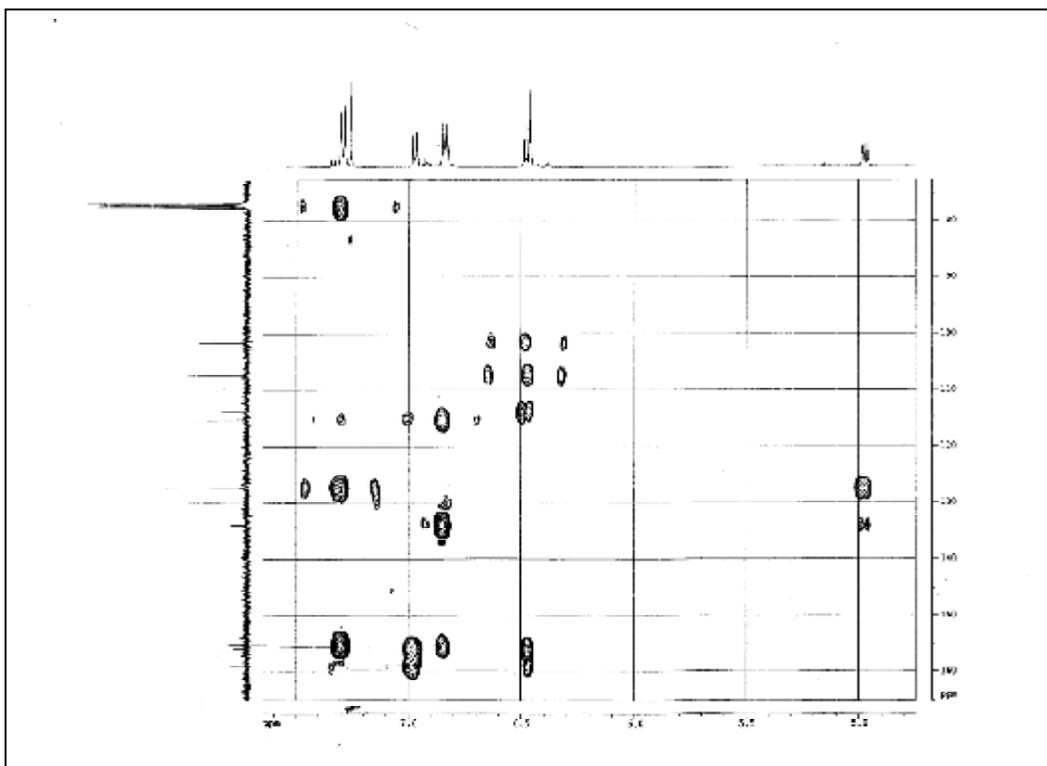
Spectre n° IV-I-A4-3: Spectre RMN ^1H étalé de 6,4 à 7,4 ppm du composé ok13-1



Spectre n° IV-I-A4-4 : Spectre RMN COSY ^1H - ^1H (500 MHz, CDCl_3 ; δ ppm) du composé ok13-1

Le spectre relatif à l'expérience HMBC (spectre n° IV-1-A4-5) montre une corrélation entre les protons du groupement $-\text{CH}$ oxygéné et le carbone quaternaire aromatique à $\delta = 133,9$ ppm, lequel corrèle avec les deux protons magnétiquement équivalents résonants à $\delta = 6,85$ ppm sous forme d'un doublet ($J = 8,9$ Hz) du noyau aromatique para substitué.

Ce spectre montre également une corrélation entre les deux protons du groupement $-\text{CH}_2$ à $\delta = 2,73$ et $2,94$ ppm et le carbone quaternaire aromatique à $\delta = 113,9$ ppm. Ce dernier carbone montre une corrélation avec les deux protons à $\delta = 6,46$ ppm (d, $J = 2,6$ Hz) et $\delta = 6,48$ ppm (dd, $J = 8,0$; $2,6$ Hz) caractéristiques des protons H-8 et H-6 d'un flavonoïde. La multiplicité de H-6, laisse supposer la présence d'un proton en position C-5, par contre celle de H-8 prévoit l'oxygénation attendue en C-7.

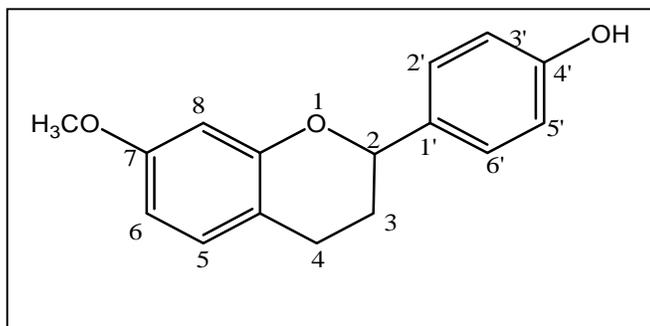


Spectre n° IV-I-A4-5 : Spectre de l'expérience HMBC du composé oK 13-1

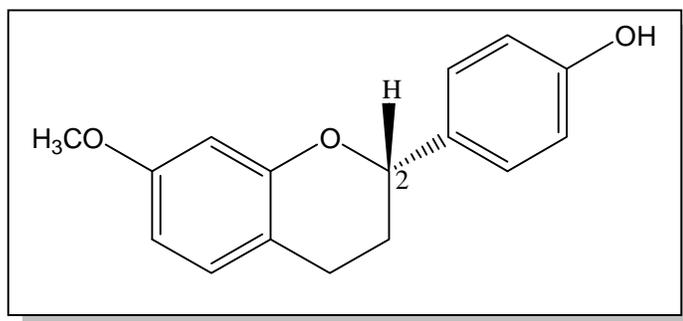
L'ensemble de ces résultats oriente vers un squelette flavonique de type flavane, oxygénée en C-7 et en C-4'. Comme les spectres proton et ^{13}C révèlent la présence d'un méthoxyle, le deuxième substituant ne peut être qu'un hydroxyle.

Un retour vers le spectre de l'expérience HMBC (spectre n° IV-1-A4-5) permet de localiser à $\delta = 155,3$ ppm le carbone C-4' grâce à sa corrélation avec les protons H-2' et H-6'. Ce carbone ne présente aucune corrélation avec les protons du méthoxyle à $\delta = 3,88$ ppm ce qui permet d'y placer le groupement Hydroxyle. Par contre, le carbone à $\delta = 159,0$ ppm qui ne peut être que le C-7 montre clairement cette corrélation d'où la méthylation de ce carbone.

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



La stéréochimie du carbone asymétrique (C-2) est déduite d'une part de la biogenèse des flavonoïdes qui impose une configuration (2S) aux flavanes non oxygénés en C-3 [8], et d'autre part de la valeur des constantes de couplage. En effet, le signal de H-2 est sous forme d'un doublet de doublet ($J= 8,4$ et $1,8$ Hz). La valeur de $8,4$ Hz entre H-2 et un des protons en C-3 est en faveur d'une interaction axiale- axiale, d'où une orientation β pour H-2. Ce qui conduit à la structure développée de cette molécule.



Cette molécule est connue sous le nom 7-méthoxy-4'-hydroxyflavane [9, 10].

Les résultats de la RMN ^{13}C et les séquences DEPT (90, 135) sont regroupés dans le tableau IV-1-A4-a

Tableau IV-1-A4-a : Résultats de la RMN ^{13}C du composé oK13-1

Carbone	$\delta(\text{ppm})$	DEPT 135	DEPT 90
C2	77,6	CH	CH
C3	29,9	CH ₂	-
C4	24,5	CH ₂	-
C5	129,9	CH	CH
C6	107,4	CH	CH
C7	159,0	C	-
C8	101,5	CH	CH
C9	155,8	C	-
C10	113,9	C	-
C1'	133,8	C	-
C2'+C6'	127,6	CH	CH
C3'+C5'	115,3	CH	CH
C4'	155,3	C	-
OMe	55,3	OMe	-

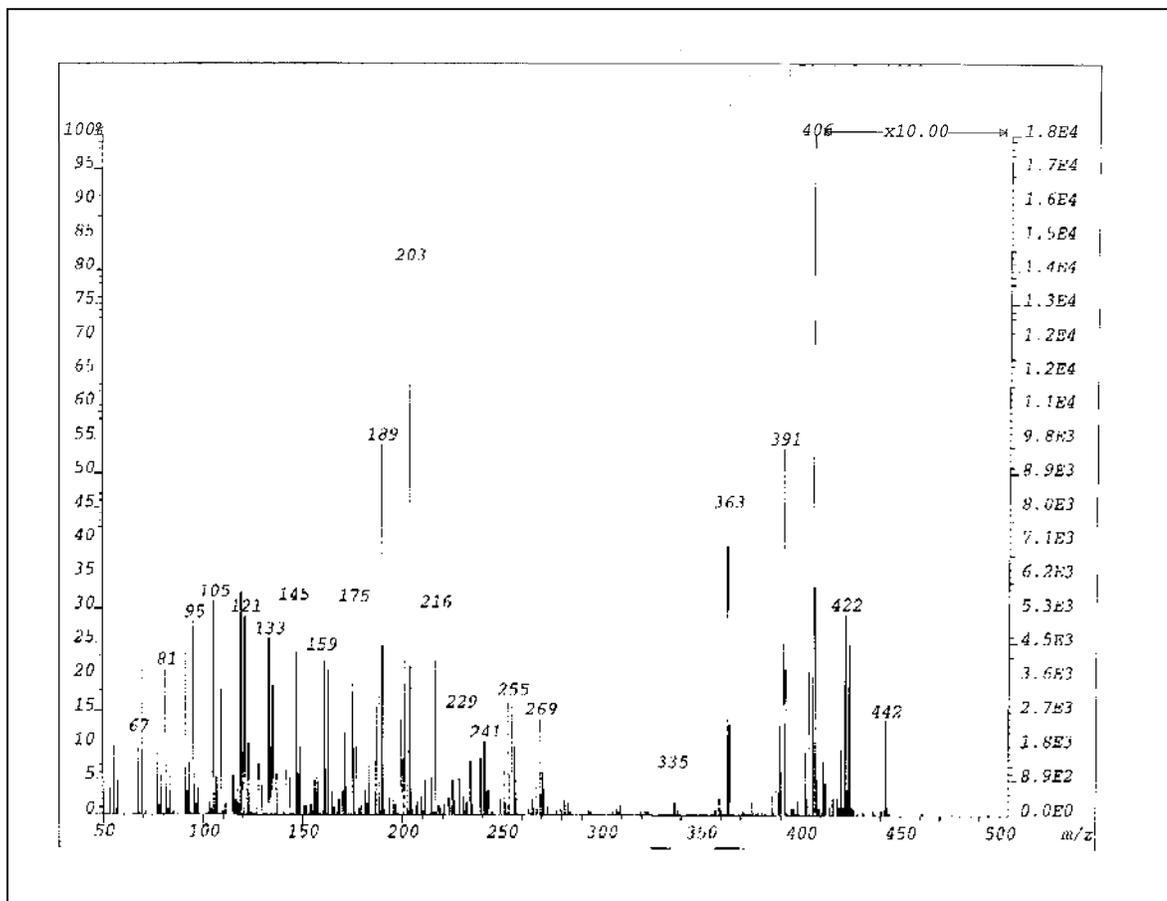
L'ensemble de tous les résultats de la RMN ^1H et l'expérience bidimensionnelle (COSY) sont regroupés dans le tableau IV-1-A4-b

Tableau IV-1-A4-b : Résultats de la RMN ^1H et l'expérience COSY du composé ok13-1

Proton	$\delta(\text{ppm})$	COSY
H ₂ (ax)	4,98 1H dd ($J = 8,4 ; 1,8$ Hz)	H ₃
H ₃ (ax)	2,08 1H m	H ₃ (eq), H ₂ , H ₄
H ₃ (eq)	2,14 1H m	H ₃ (ax), H ₂ , H ₄
H ₄ (ax)	2,94 1H ddd ($J = 16,2 ; 10,8 ; 5,1$ Hz)	H ₄ (eq), H ₃
H ₄ (eq)	2,73 1H ddd ($J = 16,2 ; 5,7 ; 5,6$ Hz)	H ₄ (ax); H ₃
H ₅	6,84 1H d ($J = 8,0\text{Hz}$)	H ₆
H ₆	6,48 1H dd ($J = 8,0 ; 2,6\text{Hz}$)	H ₅ , H ₈
H ₈	6,46 1H d ($J = 2,6$ Hz)	H ₆
H _{3'} -H _{5'}	6,85 2H d ($J = 8,9$ Hz)	H _{6'} , H _{2'}
H _{2'} -H _{6'}	7,30 2H d ($J = 8,9$ Hz)	H _{3'} , H _{5'}
OMe	3,88 3H s	-

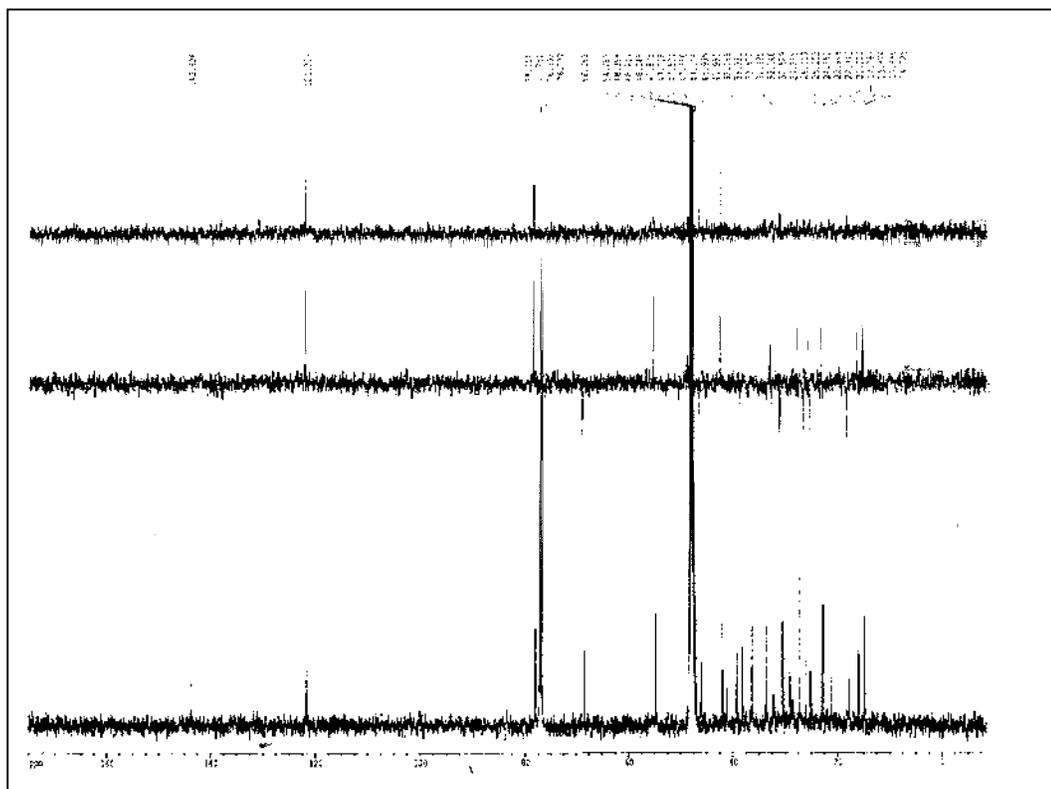
IV-1-A5 LE COMPOSE 5 : ok13-2:

Le spectre SMIE (spectre n°IV-1-A5-1) montre un pic moléculaire à $m/z = 442$ correspondant à la formule brute $C_{30}H_{50}O_2$ soit une molécule à six insaturations. Ces données nous ont incités à réaliser le test de LIEBERMANN & BUCHARD relatif à la mise en évidence des stéroïdes et des triterpènes. En effet, En effet, ce test a révélé la présence d'un triterpène.



Spectre IV-I-A5-1 : Spectre SMIE du composé ok13-2

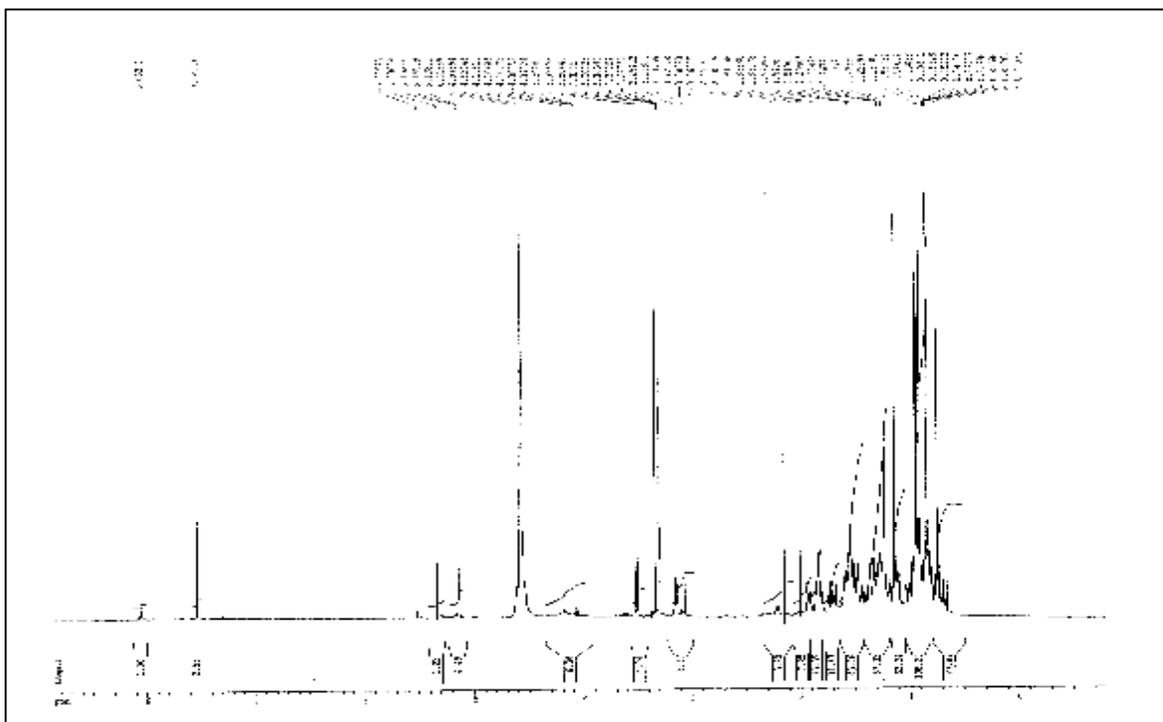
L'examen des spectres RMN ^{13}C et des séquences DEPT (spectre n° IV-1-A5-2) montre la présence d'un $-CH$ éthylénique et d'un carbone éthylénique quaternaire, ce qui prévoit une double liaison dans cette molécule. Par ailleurs ces spectres montrent que tous les autres atomes de carbone sont hybridés sp^3 . Ces données sont en faveur d'un triterpène pentacyclique.



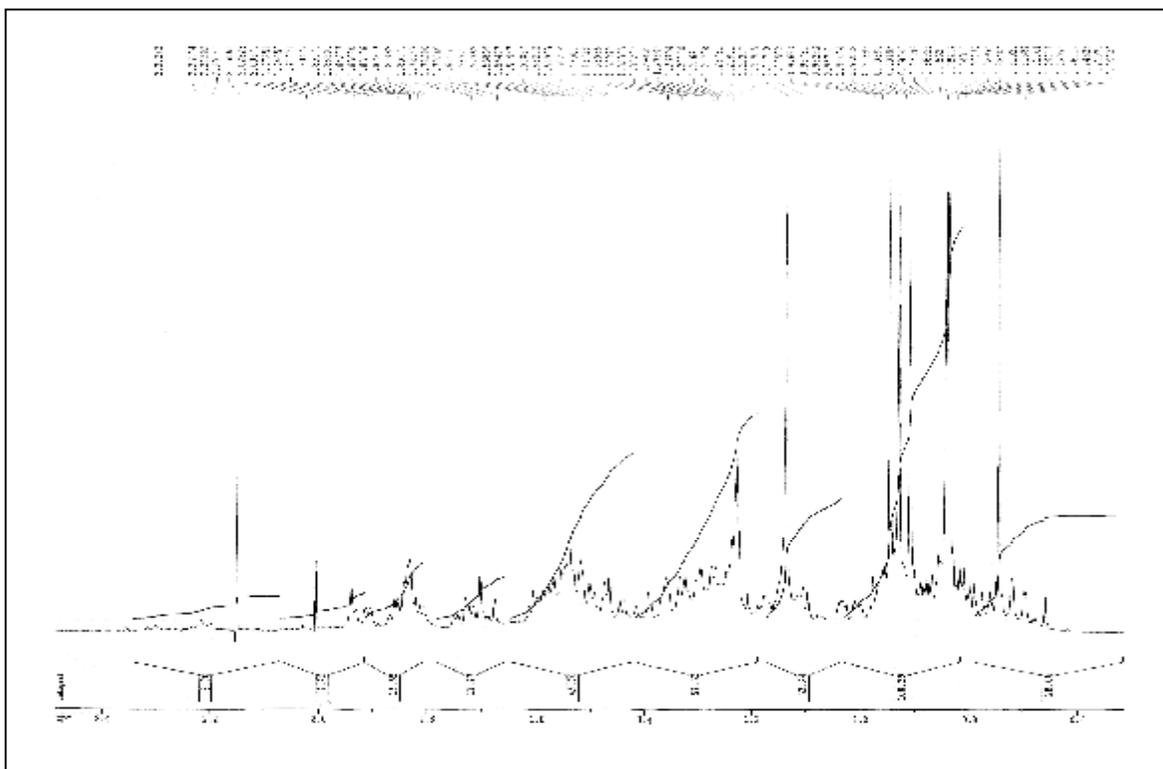
Spectre IV-I-A5-2 : spectre de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3 ; δ ppm) du composé oK13-2

L'examen approfondi du spectre de masse (spectre n° IV-1-A5-1) montre le pic de base à $m/z = 406$ correspondant à $M^+ - 36$ soit la perte de deux molécules d'eau indiquant ainsi la présence de deux groupements hydroxyles dans la molécule.

L'examen du spectre RMN ^1H (spectre n°IV-1-A5-3) montre la présence de sept groupements méthyles sous forme de singulet et d'un système AB à $\delta = 3,07$ et $3,51$ ppm ($J = 11$ Hz) correspondant à un groupement $-\text{CH}_2$ voisin à un atome d'oxygène (vu la valeur de son déplacement chimique), ce qui prévoit l'oxygénation d'un groupement $-\text{CH}_3$, soit la présence d'un $-\text{CH}_2\text{OH}$ dans cette molécule porté par un carbone quaternaire.



Spectre IV-I-A5-3 : Spectre de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3 ; δ ppm) du composé ok13-2



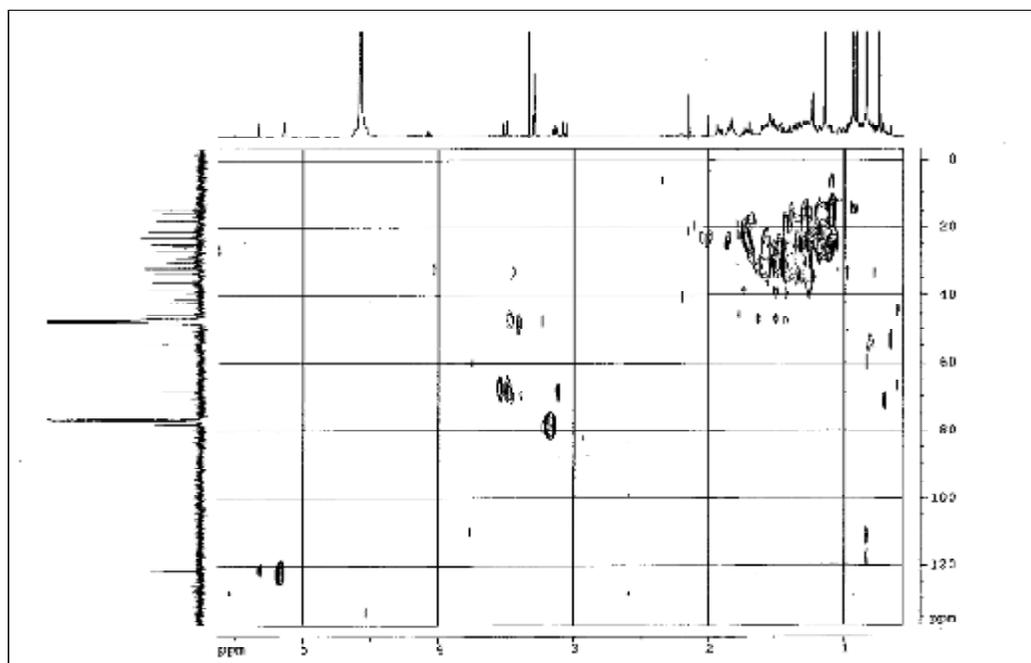
Spectre IV-I-A5-3 : Spectre de RMN ^1H étalé de 0,6 à 2,4 ppm du composé ok13-2

L'ensemble de ces données oriente vers un squelette triterpénique pentacyclique à huit groupements méthyles portés par des carbones quaternaires. Ce squelette est par conséquent de type Oléane.

Sur le spectre RMN¹H (spectre n° IV-1-A5-3) on relève :

- ▼ La présence d'un signal à $\delta = 3,14$ ppm d'intégration 1H sous forme d'un doublet de doublets ($J = 11,0$ et $5,2$ Hz) correspondant à un proton porté par un carbone oxygéné attribuable à H-3. Vu la valeur des constantes de couplage $J = 5,2$ Hz et $J = 11,0$ Hz, il est clair que la première correspond à une interaction vicinale axiale-équatoriale, et la seconde à une interaction vicinale axiale-axiale. Ce qui place ce proton (H-3) en position axiale soit α . En conséquence, le substituant oxygéné qui ne peut être d'ailleurs, qu'un hydroxyle (vu les résultats de la spectrométrie de masse et le nombre d'atomes de carbone) admet une orientation équatoriale soit β .

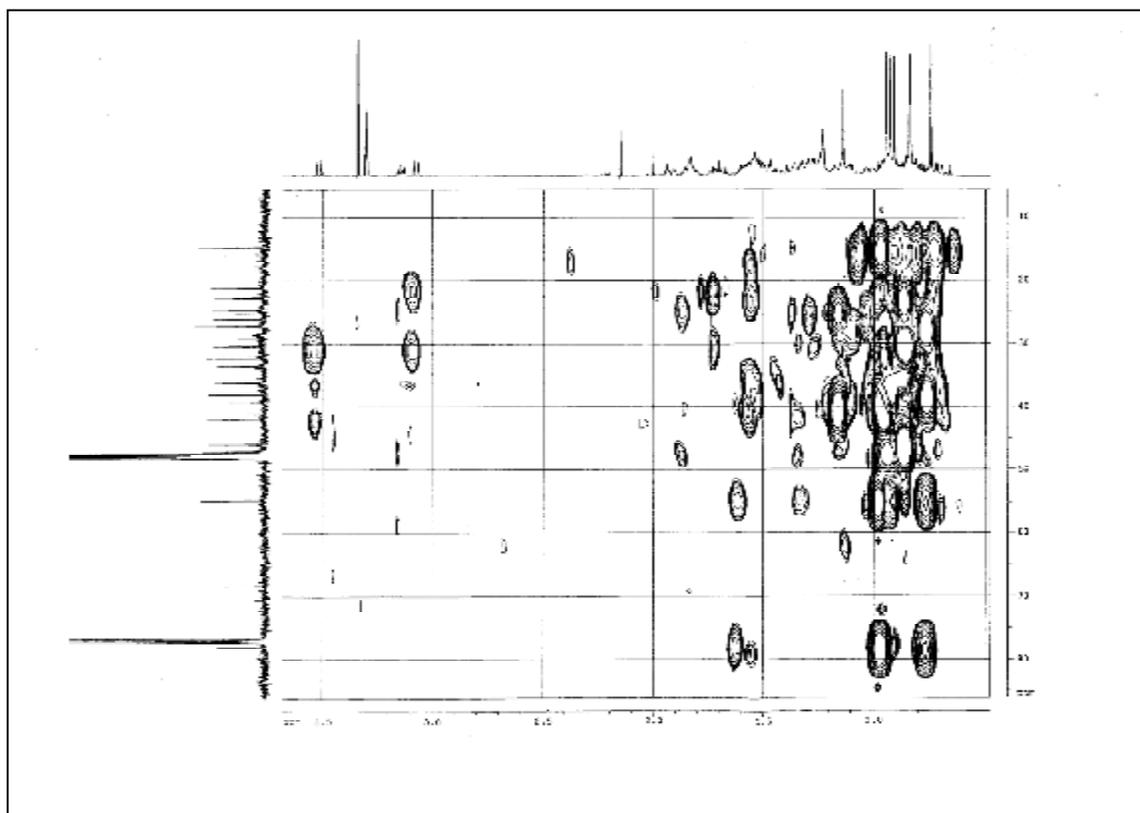
- ▼ La présence d'un signal d'intégration 1H à $\delta = 5,14$ ppm sous forme d'un triplet ($J = 3,5$ Hz), ce proton corrèle sur le spectre de l'expérience HSQC (spectre n° IV-1-A5-4) avec le carbone à $\delta = 121,7$ ppm. Ce dernier ne peut être que le -CH éthylénique signalé plus haut formant la double liaison avec le carbone quaternaire éthylénique également signalé plus haut et dont le déplacement chimique est égal à $143,8$ ppm. Ces valeurs des déplacements sont caractéristiques de la position de la double liaison en C₁₂-C₁₃ des oléanes [11].



Spectre IV-I-A5-4 : Spectre HSQC (500 MHz, CDCl₃ ; δ ppm) du composé ok13-2

Ainsi toutes ces données sont en faveur d'une chaîne portant une double liaison C₁₂-C₁₃, dans lequel un des huit méthyles est sous forme d'un groupement -CH₂-OH.

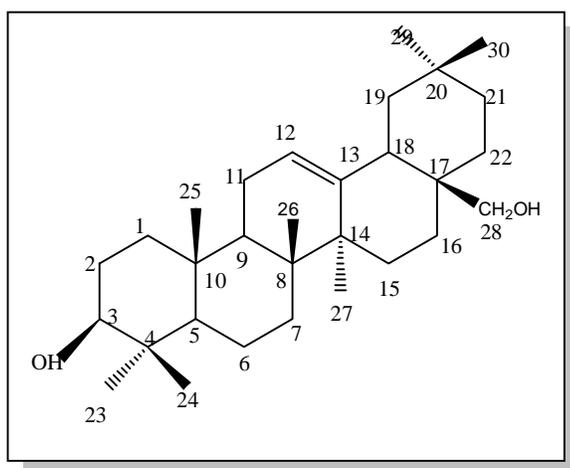
Le spectre de l'expérience HMBC (spectre n° IV-1-A5-5) ne montre aucune corrélation entre les protons des méthyles et le carbone du groupement -CH₂OH à δ = 68,4 ppm (reconnaisable par sa corrélation avec le système AB dans le spectre HSQC spectre n° IV-1-A5-4). Ceci exclu la possibilité de l'hydroxylation des carbones C₂₃, C₂₄, C₂₉, C₃₀.



Spectre IV-I-A5-5 : spectre HMBC (500 MHz, CDCl₃ ; δ ppm) du composé ok13-2

Les résultats de la bibliographie [11, 12] montrent que les atomes de carbone des méthyles C₂₄, C₂₅, C₂₆ sont les plus blindés et que leurs déplacements chimiques ne dépassent pas 17 ppm. Par contre les atomes de carbone des méthyles C₂₇, C₂₈, C₃₀, C₂₃ et le C₂₉ sont les plus déblindés. Pour notre part nous avons déjà exclu le C₂₃, C₂₄, C₂₉, C₃₀, et comme le spectre RMN ¹³C (spectre n° IV-1-A5-2) de ce composé montre la présence de trois méthyles résonant aux champs forts (< à 17 ppm) ceci permet d'exclure encore le C₂₅ et le C₂₆. Il ne nous reste plus que la possibilité de l'hydroxylation du C₂₇ et du C₂₈.

Le spectre de l'expérience HMBC (spectre n° IV-1-A5-5) montre une corrélation entre le carbone éthylénique quaternaire soit le C₁₃ et les protons d'un des groupements méthyles qui ne peut être que le C₂₇, ceci suppose que ce dernier est toujours sous forme de –CH₃ et permet d'en déduire que le groupement –OH est sur le C₂₈. Ceci est appuyé par la corrélation des protons du système AB avec le proton H-18 dont l'identification est établie sur la base de la corrélation de C-18 avec le proton éthylénique. D'où la structure développée suivante :



Cette molécule est connue dans la littérature sous le nom de :

Erythrodiol (3 β , 28-Dihydroxyolean-12-ène) [13-15].

Tableau n° IV-1-A5-a : Résultats de la RMN ¹³C et DEPT (90 et 135) du composé oK13-2

Carbone	δ(ppm)	DEPT 135	DEPT 90
C1	38,19	CH ₂	-
C2	26,11	CH ₂	-
C3	78,05	CH	CH
C4		C	-
C5	54,78	CH	CH
C6	17,78	CH ₂	-
C7	32,04	CH ₂	-
C8		C	-
C9	47,11	CH	CH
C10	36,33	C	-
C11	22,74	CH ₂	-
C12	121,70	CH	CH
C13	143,82	C	-
C14	41,99	C	-
C15	24,88	CH ₂	-
C16	21,20	CH ₂	-
C17	36,33	C	-
C18	41,99	CH	CH
C19	45,99	CH ₂	-
C20	30,52	C	-
C21	33,57	CH ₂	-
C22	30,52	CH ₂	-
C23	27,26	CH ₃	-
C24	14,86	CH ₃	-
C25	14,72	CH ₃	-
C26	15,87	CH ₃	-
C27	25,20	CH ₃	-
C28	68,36	CH ₂	-
C29	32,38	CH ₃	-
C30	22,94	CH ₃	-

Les données spectroscopiques de la RMN ¹H sont reportées dans le tableau. VI-1-A5-b

Tableau VI-1-A5-b: Résultats de la RMN ¹H du composé ok13-2

Proton	δ (ppm)	Intégration	Multiplicité	J (Hz)
H-3(eq)	3,14	1H	dd	11,0 ; 5,2
H-12	5,14	1H	t	3,5
H-28	3,51	1H	d	11,0
H-28'	3,07	1H	d	11,0
CH ₃	1,13	3H	s	/
6xCH ₃	0,94 ; 0,93 ; 0,90 ; 0,85 ; 0,84 ; 0,74	18H	s	/

IV-1-A6 LE COMPOSE 6 : ok17-5:

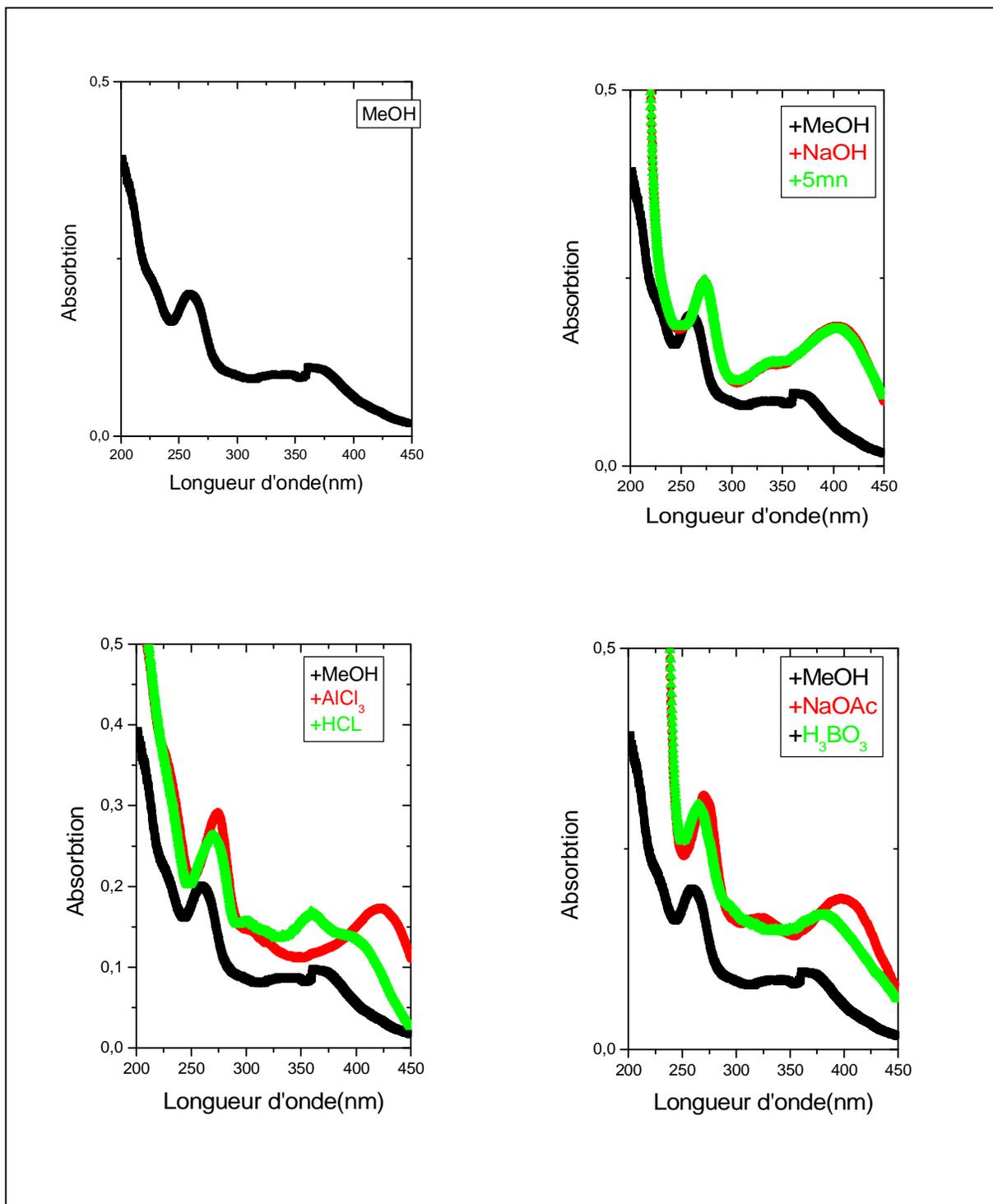
La fluorescence noire violette de ce composé sous lumière de Wood est caractéristique d'une flavone ou d'un flavonol substitué en 3.

Le comportement chromatographique indiqué par les valeurs du R_f :

- ✓ 0,19 dans le système Toluène / Méthyléthylcétone / Méthanol (4 :3 :3),
- ✓ 0,31 dans le système Eau / Méthanol / Méthyléthylcétone /Acétylacétone (13 :3 :3 :1),
indique qu'il s'agit d'un hétéroside.

L'étude de la série spectrale UV (spectre n° IV-1-A6-1) permet de dégager les points suivants :

- ✓ Le maximum d'absorption de la bande I à 365 nm dans le spectre enregistré dans le méthanol orientant vers un flavonoïde de type flavonol substitué en 3.
- ✓ L'addition de NaOH provoquant un déplacement bathochrome de la bande I ($\Delta\lambda = + 41$ nm) avec augmentation de l'intensité lumineuse par rapport au spectre enregistré dans le MeOH révèle la présence d'un OH libre en position 4', sur le même spectre, l'apparition d'une nouvelle bande à 334 nm est révélatrice de la présence d'un OH libre en position 7.
- ✓ L'addition de NaOAc provoquant un déplacement bathochrome de la bande II ($\Delta\lambda = +10$ nm) par rapport au spectre MeOH confirme l'existence d'un OH libre en position 7.
- ✓ Le déplacement bathochrome de la bande I enregistré dans le milieu ($\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$) comparativement à celui enregistré dans le méthanol ($\Delta\lambda = + 37$ nm) indique la présence d'un OH libre en 5.
- ✓ Le déplacement hypsochrome de la bande I enregistré en comparant les spectres AlCl_3 et $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$, montre l'existence d'un système ortho dihydroxyle sur le cycle B, cette hypothèse est confirmée par l'effet bathochrome ($\Delta\lambda = + 18$ nm) de la même bande dans $\text{NaOAc} + \text{H}_3\text{BO}_3$ par rapport au spectre dans le méthanol.



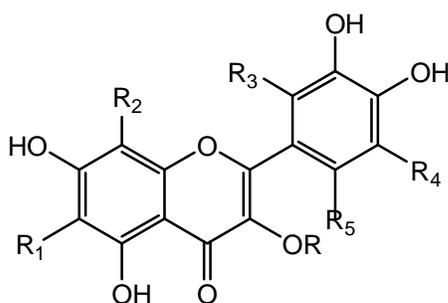
Spectre n° IV-1-A6-1 : Série spectrale UV du composé ok17-5

L'ensemble des données de la série spectrale UV est reporté dans le tableau IV-1-A6-a.

Tableau IV-1-A6-a.: Données de la série spectrale UV du composé ok17-5

Réactifs	Bande I	Autres bandes	Bande II	Commentaire
MeOH	365	/	260	flavonol
+ NaOH	406	334	273	OH libre en 4' OH libre en 7
+AlCl ₃	422	/	274	OH libre en 5 Existence de ortho di-OH sur le cycle B
+AlCl ₃ /HCl	402	361	270	
+NaOAc	399	323	270	OH libre en 7
+NaOAc/H ₃ BO ₃	383	/	264	Existence de ortho di-OH sur le cycle B
Spectre stable avec NaOH après 5 mn				

Ces données permettent la proposition de la structure partielle suivante :

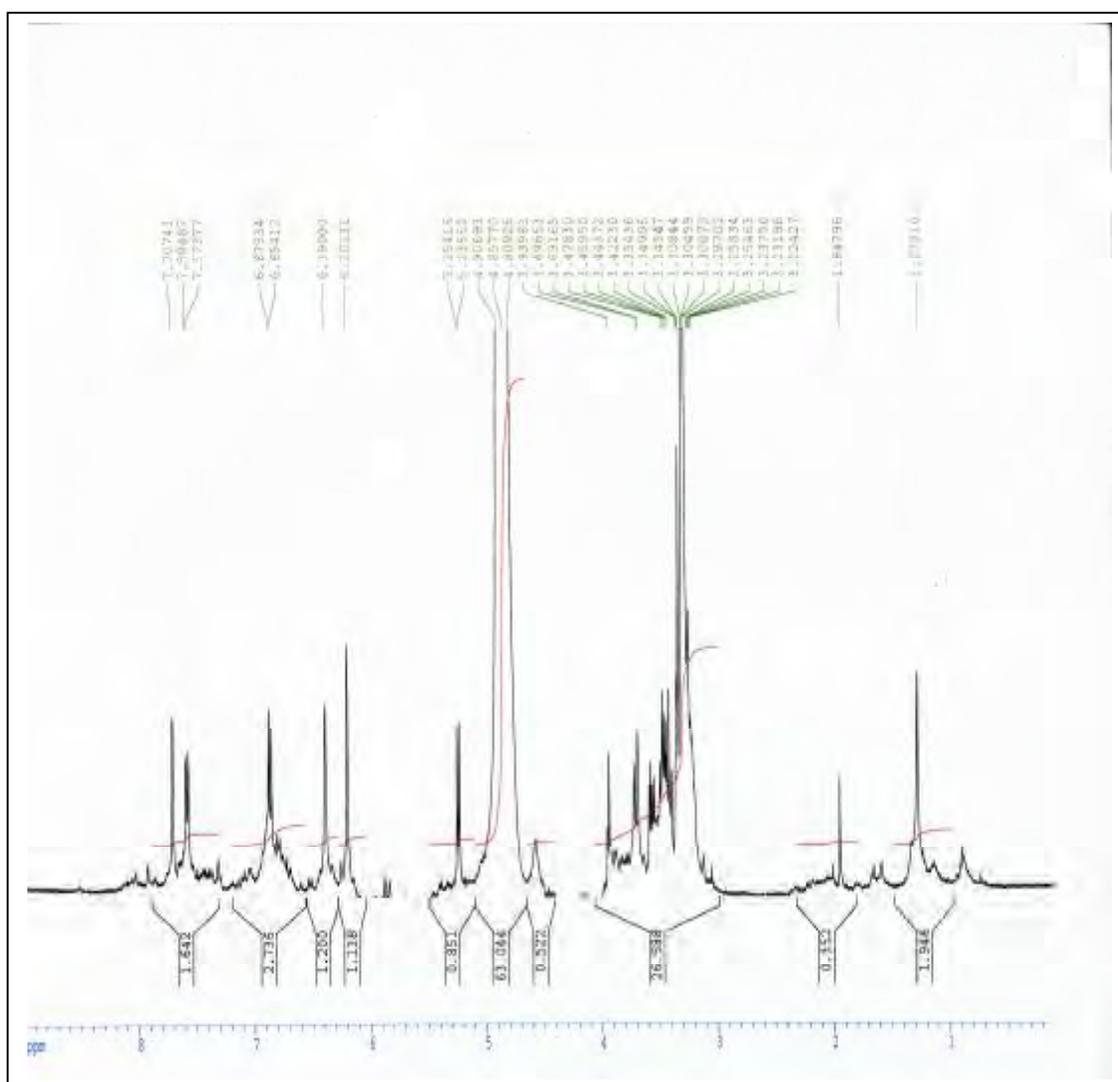


avec R, R₁, R₂, R₃, R₄ et R₅ différents de OH.

L'examen du spectre RMN ¹H (spectre n° IV-1-A6-2) montre:

- ✓ Un singulet large d'intégration 1H à $\delta = 7,71$ ppm attribuable à H-2'.
- ✓ Un doublet large d'intégration 1H à $\delta = 7,58$ ppm ($J = 8,4$ Hz) attribuable à H-6'.

- ▼ Un doublet d'intégration 1H à $\delta = 6,86$ ppm ($J = 8,4$ Hz) attribuable à H-5'. L'ensemble de ces trois signaux confirme la disubstitution du noyau B et mène à $R_3 = R_4 = R_5 = H$.
- ▼ Deux signaux sous forme de deux singulets large d'intégration 1H chacun, le premier à $\delta = 6,39$ ppm et le second à $\delta = 6,20$ ppm attribuables à H-8 et H-6 respectivement.
- ▼ Enfin, un signal sous forme d'un doublet d'intégration 1H à $\delta = 5,24$ ppm ($J = 7,5$ Hz) attribuable au proton anomérique du sucre (H-1'') et dans l'intervalle 3.71-3.22 ppm se trouvent les autres protons du sucre.



Spectre n° IV-1-A6-2 : Spectre RMN ^1H (300 MHz, CD_3OD) du composé ok17-5

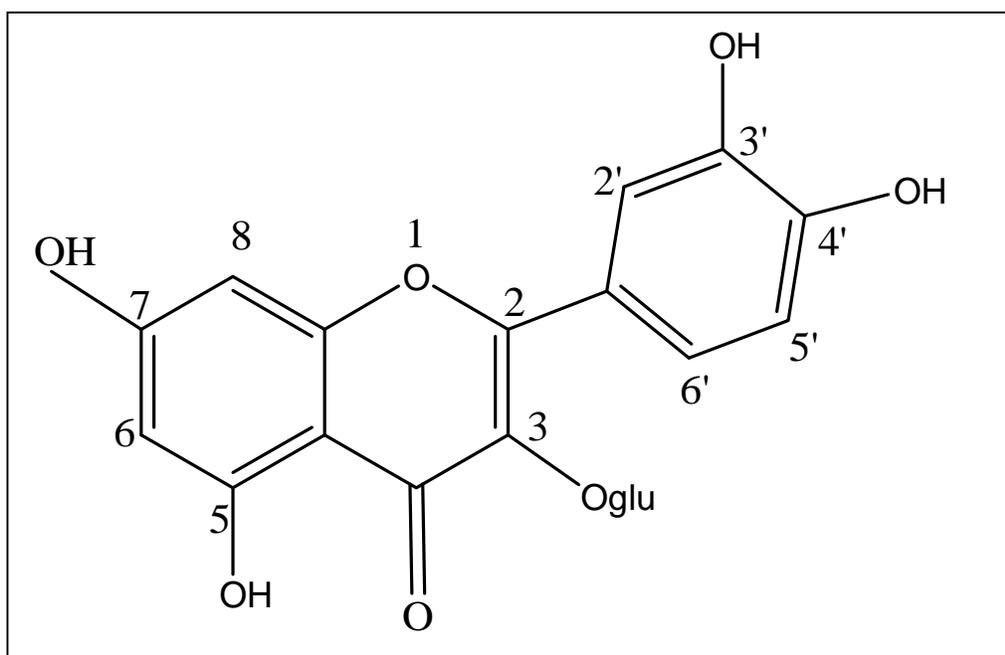
L'ensemble de ces données est reporté dans le tableau IV-1-A6-b.

Tableau IV-1-A6-b. Données de la RMN ¹H:

Déplacement chimique (ppm)	Intégration	Multiplicité (J Hz)	Attribution
7.71	1H	s (large)	H-2'
7.58	1H	d (8,4)	H-6'
6.86	1H	d(8,4)	H-5'
6.39	1H	s (large)	H-8
6.20	1H	s (large)	H-6
5.24	1H	d(7,5)	H-1''

- ✓ L'hydrolyse acide de ce composé libère le glucose comme sucre identifié par co-chromatographie avec un échantillon authentique.
- ✓ L'aglycone obtenue donne une fluorescence jaune sous UV (365 nm) indiquant l'obtention d'un flavonol, ce qui confirme une jonction sucre aglycone en position 3 et permet l'attribution de R à un groupement glucosyle, d'où la structure suivante.

3', 4', 5, 7-tetrahydroxy-3-O-glucosylflavone (quercétine 3-glucoside) connue sous le nom de **Quercétrine**. [16]



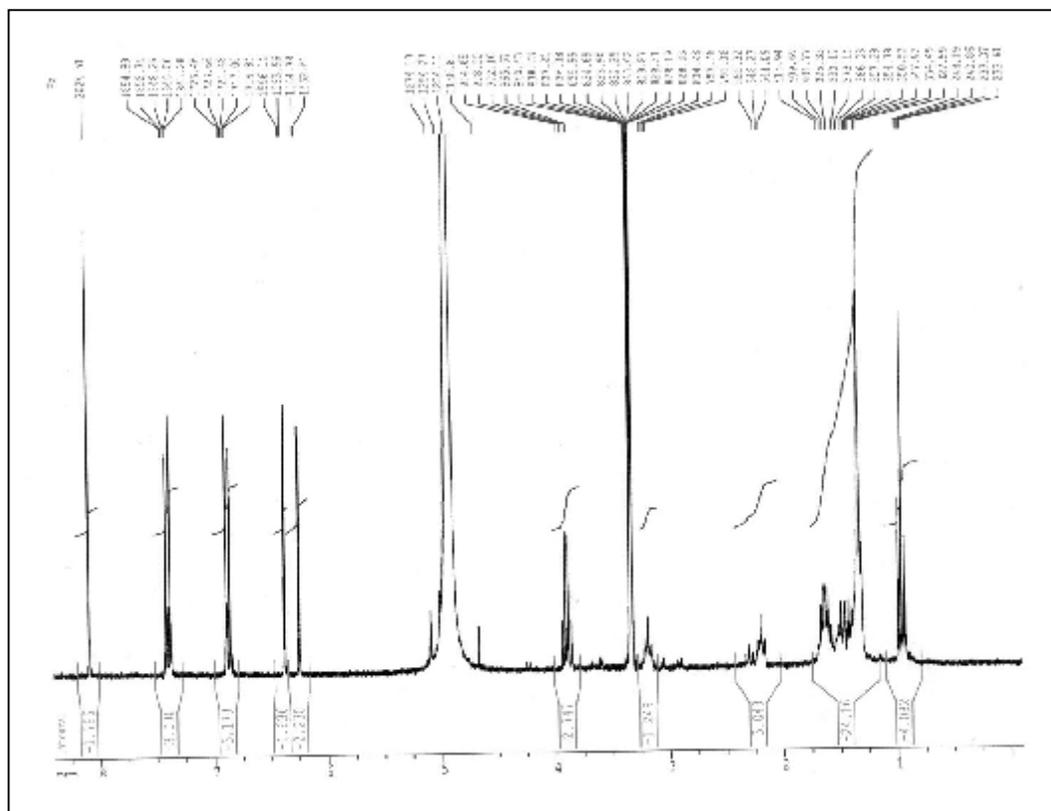
IV-1-B PRODUITS ISOLES DE LA PHASE N-BUTANOL

IV-1-B1 LE COMPOSE 1 : ob₃₋₁

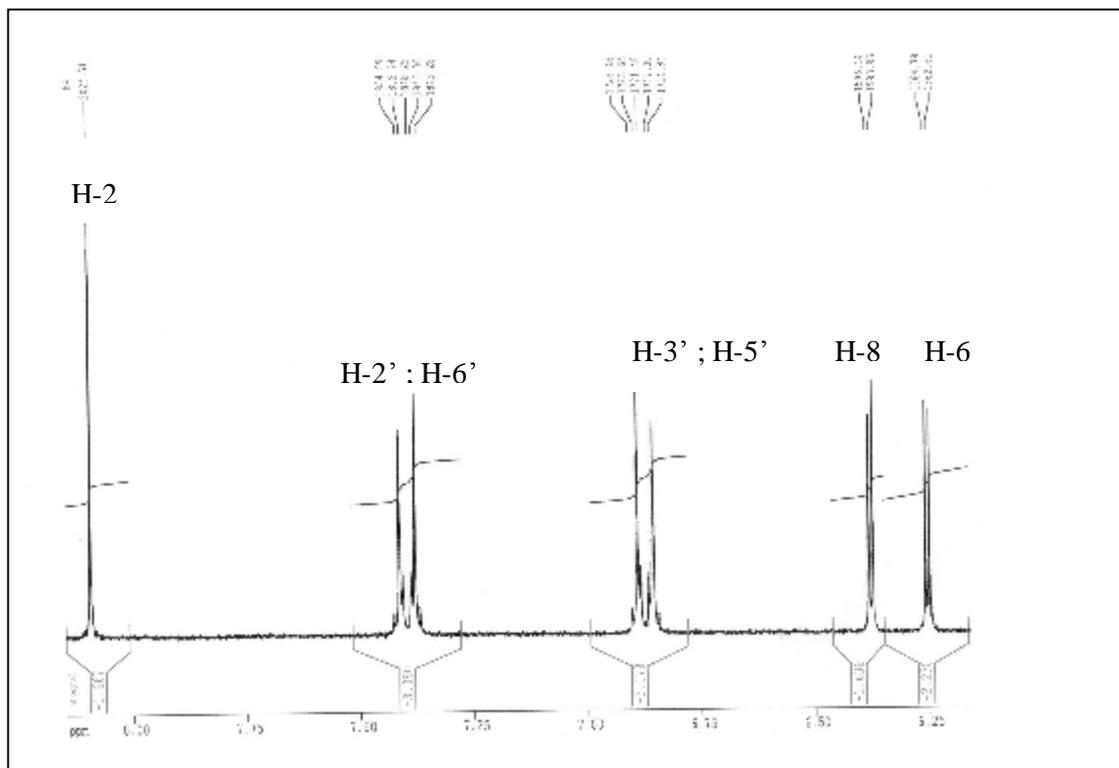
L'examen du spectre RMN ¹H (spectre n° IV-1-B1-1) montre :

- ✓ Un singulet d'intégration 1H à $\delta = 8,10$ ppm attribuable à H-2, caractérisant la structure d'une isoflavone.
- ✓ Deux doublets d'intégration 1H chacun, le premier à $\delta = 6,30$ ppm ($J = 2,2$ Hz) attribuable à H-8, le second à $\delta = 6,20$ ppm ($J = 2,2$ Hz) attribuable à H-6 montrant ainsi la substitution des positions 5 et 7.

Deux doublets d'intégration 2H chacun, à $\delta = 6,85$ ppm, et à $\delta = 7,35$ ppm, ($J = 8,8$ Hz), attribuables à H-3', H-5' et H-2', H-6' respectivement indiquant ainsi une oxygénation du cycle B en position 4'. L'absence d'autres signaux sur le spectre RMN ¹H laisse supposer la présence d'un OH libre en position 4'



Spectre N° IV-1-B1-1 : RMN ¹H (250 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé ob₃₋₁



Spectre N° IV-1-B1-1 : RMN ¹H étalé de 6,25 à 8,25 ppm du composé ob₃₋₁

Les données relatives à la RMN ¹H sont reportées dans le tableau IV-1-B1-a.

Tableau IV-1-B1-a : Données de la spectroscopie RMN ¹H du composé ob₃₋₁

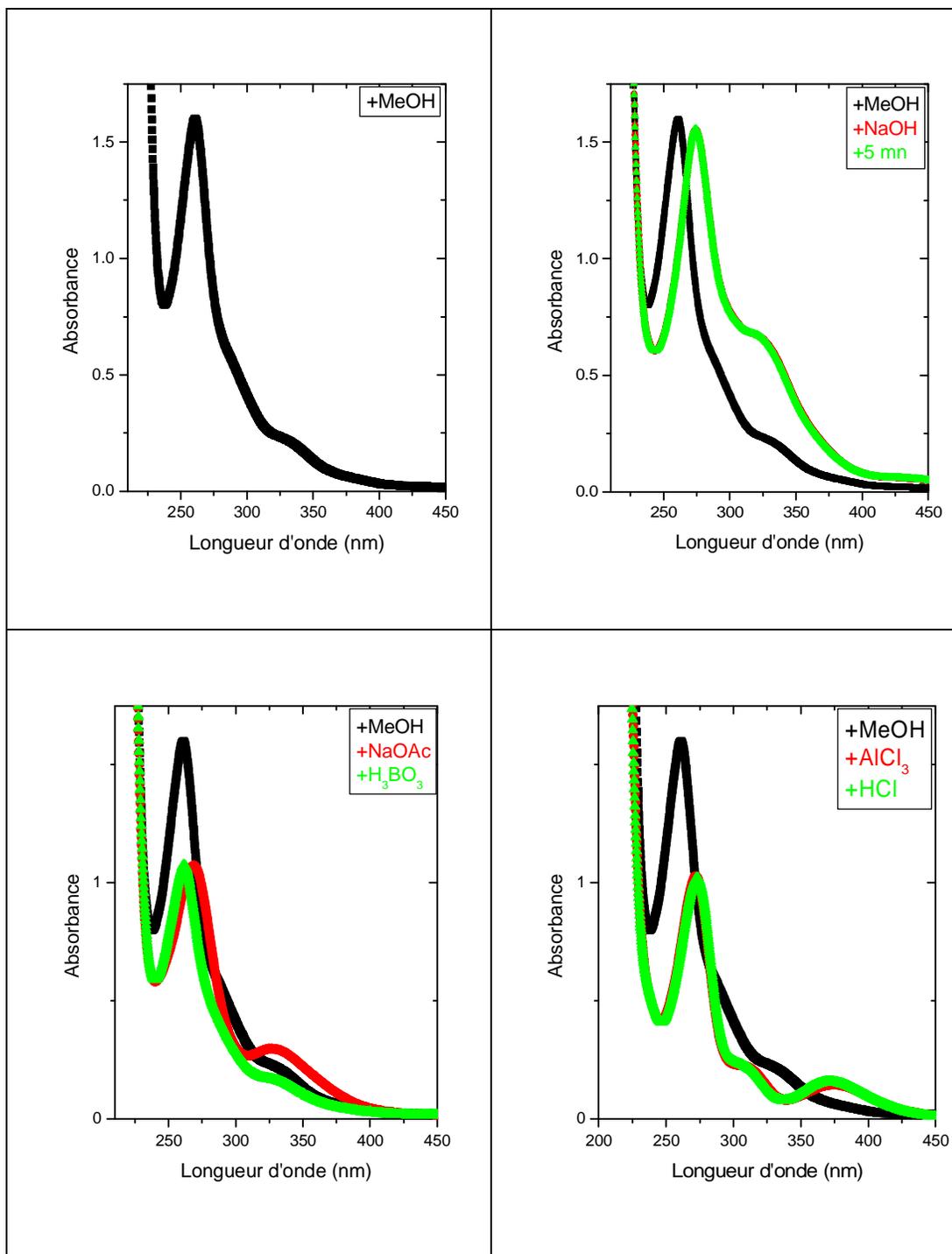
Déplacement chimique δ (ppm)	Intégration	multiplicité J (Hz)	Attribution
8,10	1H	s	H-2
7,35	2H	d (8,8)	H-2' ; H-6'
6,85	2H	d (8,8)	H-3' ; H-5'
6,30	1H	d (2,2)	H-8
6,20	1H	d (2,2)	H-6

En plus d'une fluorescence Orange sous lumière de Wood, les données de la série spectrale UV (tableau IV-1-B1-b, spectre n° IV-1-B1-2) montrent :

- ▼ La bande I sous forme d'un épaulement à environ 323 nm confirmant le squelette de type isoflavone.
- ▼ Le déplacement bathochrome de la bande II enregistré après addition de AlCl_3+HCl comparativement à celui enregistré dans le méthanol confirme la présence d'un OH libre en C-5 ($\Delta\lambda = +12$ nm).
- ▼ Le déplacement bathochrome de la bande II après addition de NaOAc ($\Delta\lambda = +8$ nm) comparativement au spectre enregistré dans le méthanol indique la présence d'un OH libre en position 7.
- ▼ La stabilité avec le temps du spectre enregistré après addition de NaOH comparativement à celui enregistré dans le MeOH laisse prévoir l'absence de système ortho dihydroxylé sur le noyau B. Les données de la série spectrale UV sont reportées da le tableau IV-1-B1-b.

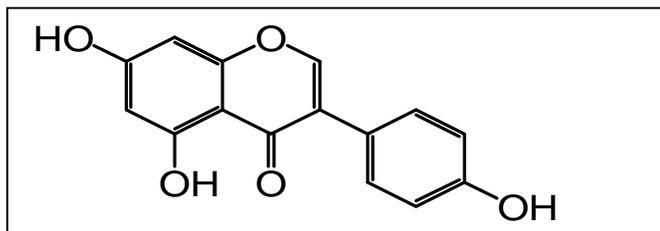
Tableau IV-1-B1-b: Données de la série spectrale UV du composé ob₃₋₁

Réactifs	Bande I	Bande II	Autres bandes
MeOH	323 Ep.	261	/
+ NaOH	321 Ep.	274	/
+ NaOH + 5 mn	321 Ep.	274	/
+ AlCl_3	374	273	306
+ AlCl_3/HCl	374	273	306
+NaOAc	328 Ep.	269	/
+NaOAc/ H_3BO_3	322 Ep.	261	/



Spectre n° IV-1-B1-2: Série spectrale UV du composé **ob₃₋₁**

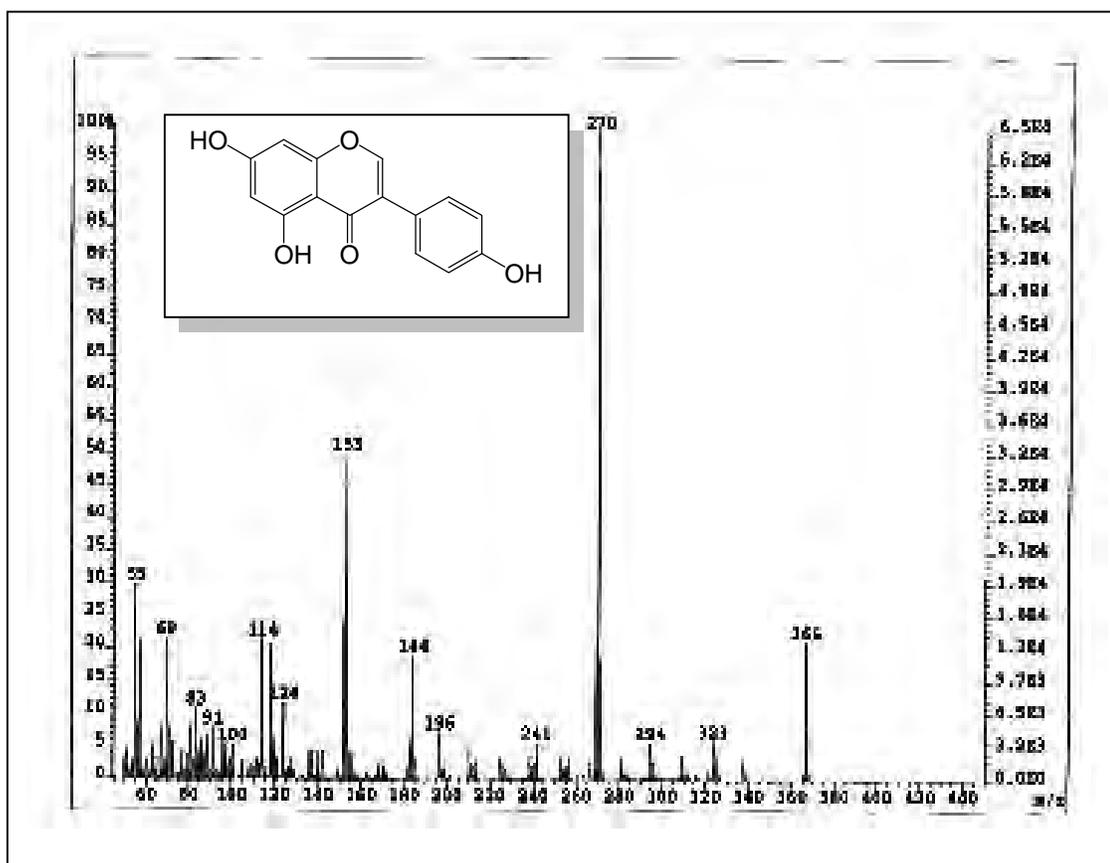
Les données de la RMN ^1H est celles de la série spectrale UV mènent à la structure suivante :



Cette molécule est connue sous le nom de **Génisteine** [17, 18].

Cette structure est appuyée par l'étude du spectre de masse en mode d'ionisation sous impact électronique (spectre n° IV-1-B1-3) qui montre un pic moléculaire à $m/z = 270$ $[\text{M}]^+$, confirmant le squelette d'un flavonoïde de type aglycone de formule brute $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$.

Ce spectre montre également un signal à $m/z = 242$ correspondant au réarrangement caractéristique des flavonoïdes, soit la perte d'un CO $[\text{M}-28]^+$ et un signal à $m/z = 153$ correspondant à la formation de l'ion $[\text{A}_1+\text{H}]^+$, connu pour ce type de composé. La valeur 153 confirme bien un cycle A dihydroxylé.



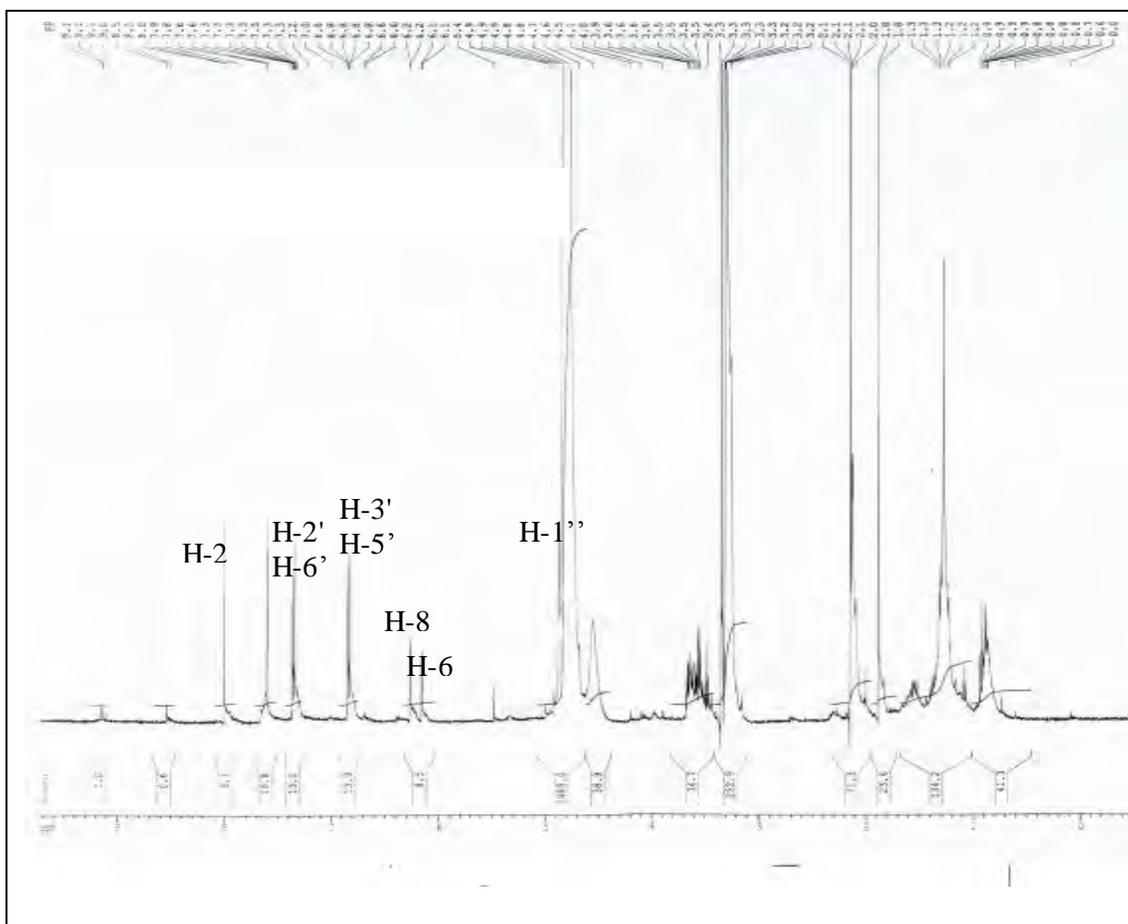
Spectre n° IV-1-B1-3 : Spectre SMIE du composé ob₃₋₁

IV-1-B2 LE COMPOSE 2: ob₃₋₂₋₂

L'examen du spectre RMN ¹H (spectre n° IV-1-B2-1) montre la présence des signaux caractéristiques d'un squelette de type isoflavone qu'on peut identifier par :

- ✓ Un singulet d'intégration 1H à $\delta = 8,0$ ppm attribuable à H-2,
- ✓ Deux doublets d'intégration 2H chacun, le premier à $\delta = 7,35$ ppm, le second à $\delta = 6,83$ ppm avec une constante de couplage $J = 8,9$ Hz attribuables à H-2', H-6' et H-3', H-5' respectivement, montrant ainsi une substitution para du cycle B.
- ✓ Deux doublets d'intégration 1H chacun, le premier à $\delta = 6,26$ ppm et le second à $\delta = 6,16$ ppm montrant un couplage méta ($J = 2,0$ Hz), attribuables à H-8 et H-6 respectivement indiquant ainsi la disubstitution du cycle A dans les positions 5 et 7.

Un doublet partiellement recouvert par le signal de l'eau à $\delta = 4,78$ ppm d'intégration 1H caractéristique du proton anomérique (H-1'') d'un sucre. Les autres signaux des protons du sucre se trouvent dans l'intervalle 3,65 -3,47ppm.



Spectre n° IV-1-B2-1 : Spectre RMN ¹H (500 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé ob₃₋₂₋₂

Les données relatives à la RMN ^1H de ce composé sont reportées dans le tableau IV-1-B2- a.

Tableau IV-1-B2- a: Données de la spectroscopie RMN ^1H du composé ob_{3-2-2}

Déplacement chimique δ (ppm)	Intégration	multiplicité J (Hz)	Attribution
8,00	1H	s	H-2
7,35	2H	d (8,9)	H-2' ; H-6'
6,83	2H	d (8,9)	H-3' ; H-5'
6,26	1H	d (2)	H-8
6,16	1H	d (2)	H-6
4.78	1H	d	H-1''

Cette structure est complétée par l'étude de la série spectrale UV, (tableau IV- 1-B2-b., spectre n° IV-1-B2-2), de laquelle on peut tirer les indications suivantes :

- ✓ Le spectre enregistré dans le méthanol montre deux bandes d'absorption, une bande II à 263 nm et une bande I à 340 nm sous forme d'un épaulement confirmant la structure d'une isoflavone.
- ✓ Le déplacement bathochrome de la bande II après addition de NaOAc ($\Delta\lambda = +9$ nm) comparativement au spectre enregistré dans le méthanol indique la présence d'un OH libre en position 7.
- ✓ Le déplacement bathochrome de la bande II après addition de AlCl_3+HCl ($\Delta\lambda = +10$ nm) comparativement au spectre enregistré dans le méthanol indique la présence d'un OH libre en position 5.

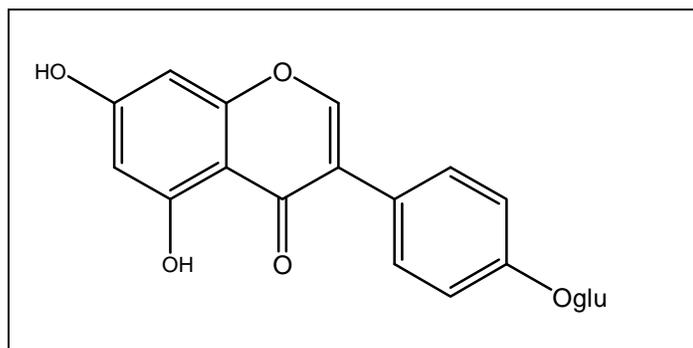
Les données relatives à la série spectrale UV du composé ob_{3-2-2} sont rassemblées dans le tableau IV- 1-B2-b.

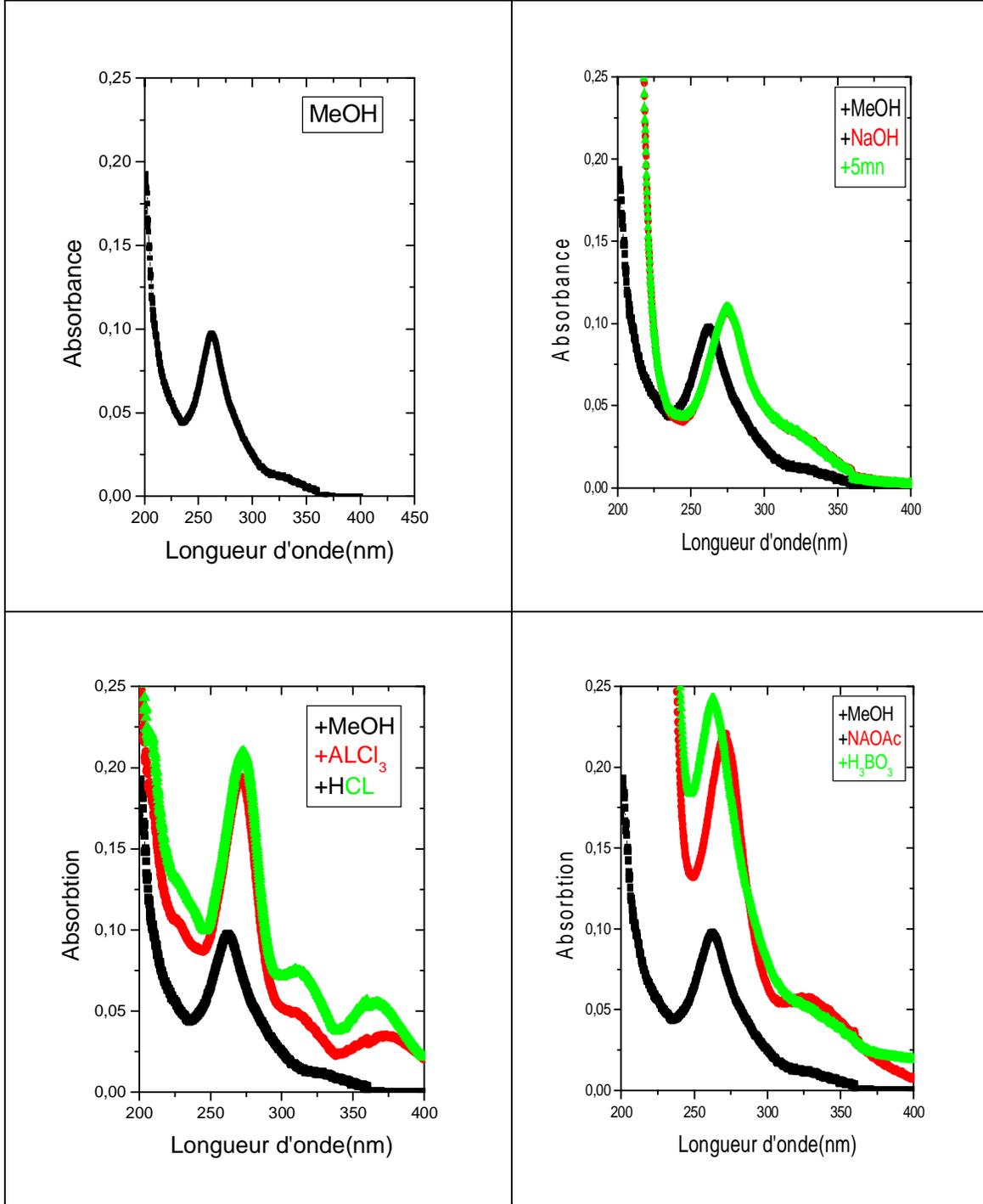
Tableau IV-1-B2-b : Données de la série spectrale UV du composé ob₃₋₂₋₂

Réactifs	Bande I	Autres bandes	Bande II	Commentaires
MeOH	340Ep.	/	263	isoflavone
+ NaOH	325Ep.	/	275	/
+AlCl ₃	368	314	272	OH libre en 5 Pas de ortho di-OH sur le cycle B
+AlCl ₃ /HCl	365	315	273	
+NaOAc	329Ep.	/	272	OH libre en 7
+NaOAc/H ₃ BO ₃	343Ep.	/	262	/
Spectre stable avec NaOH après 5 mn				

La combinaison des résultats de la spectroscopie RMN ¹H et la série spectrale UV conduit à positionner le sucre dont la nature glucosidique est déterminée par l'hydrolyse acide en position 4', Ce qui mène à la structure suivante :

4'-glucosylgenisteïne (sophoricoside) [19].



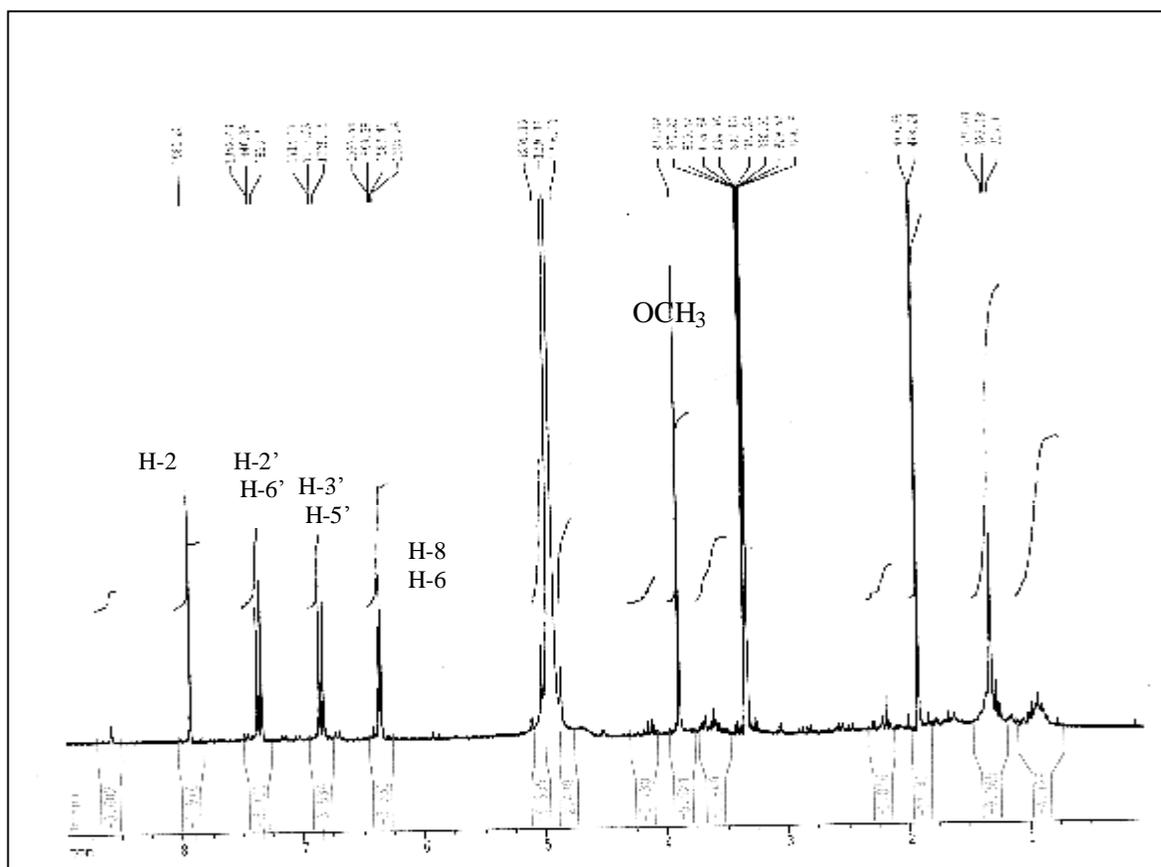


Spectre n° IV-1-B2-2: Série spectrale UV du composé ob₃₋₂₋₂

IV-1-B3 LE COMPOSE 3: ob11-3

L'examen du spectre RMN ^1H (spectre n° IV-1-B3-1) montre :

- ✓ Un singlet d'intégration 1H à $\delta = 7,80$ ppm caractéristique du H-2 d'un squelette de type isoflavone.
- ✓ Deux doublets d'intégration 2H chacun, le premier à $\delta = 7,30$ ppm, le second à $\delta = 6,80$ ppm avec une constante de couplage $J = 8,7$ Hz attribuables à H-2', H-6' et H-3', H-5' respectivement, montrant ainsi une substitution para du cycle B.
- ✓ Deux doublets d'intégration 1H chacun, à $\delta = 6,35$ ppm et à $\delta = 6,30$ ppm montrant un couplage méta ($J = 2,0$ Hz), attribuables à H-8 et H-6 respectivement indiquant ainsi la disubstitution du cycle A dans les positions 5 et 7.
- ✓ Un singlet d'intégration 3H à $\delta = 3,90$ ppm révélant la présence d'un groupement méthoxyle dans la molécule.



Spectre n° IV-1-B3-1 : RMN ^1H (250 MHz, CD_3OD , δ ppm) du composé ob11-3

Les données relatives à la RMN ^1H de ce composé sont reportées dans le tableau IV-1-B3-a.

Tableau IV-1-B3-a : Données de la spectroscopie RMN ^1H du composé ob11-3

Déplacement chimique δ (ppm)	Intégration	multiplicité J (Hz)	Attribution
7,80	1H	s	H-2
7,30	2H	d (8,8)	H-2' ; H-6'
6,80	2H	d (8,8)	H-3' ; H-5'
6,35	1H	d (2,1)	H-8
6,30	1H	d (2,1)	H-6
3.90	3H	s	OCH ₃

Cette structure est complétée par l'étude de la série spectrale UV, (tableau IV- 1-B3-b, spectre n° IV-1-B3-2), qui donne les indications suivantes :

- ✓ Le spectre enregistré dans le méthanol montre deux bandes d'absorption, une bande II à 257 nm et une bande I à 319 nm sous forme d'un épaulement confirmant la structure d'une isoflavone.
- ✓ Le déplacement bathochrome de la bande II après addition de NaOAc ($\Delta\lambda = +7$ nm) comparativement au spectre enregistré dans le méthanol indique la présence d'un OH libre en position 7.
- ✓ Le spectre enregistré en présence de $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ ne montre aucun changement significatif comparativement à celui enregistré dans le méthanol révélant ainsi la présence d'un OR en position 5.

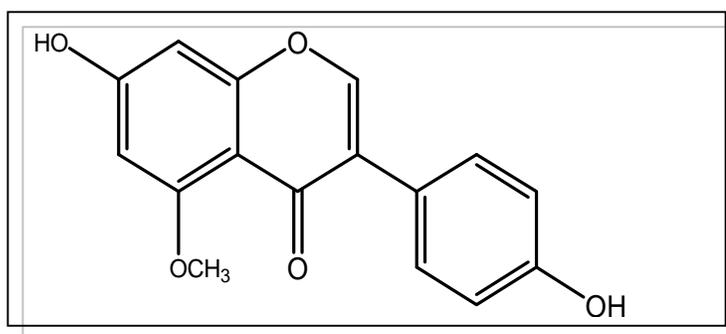
Les données relatives à la série spectrale UV du composé ob11-3 sont rassemblées dans le tableau IV- 1-B3-b.

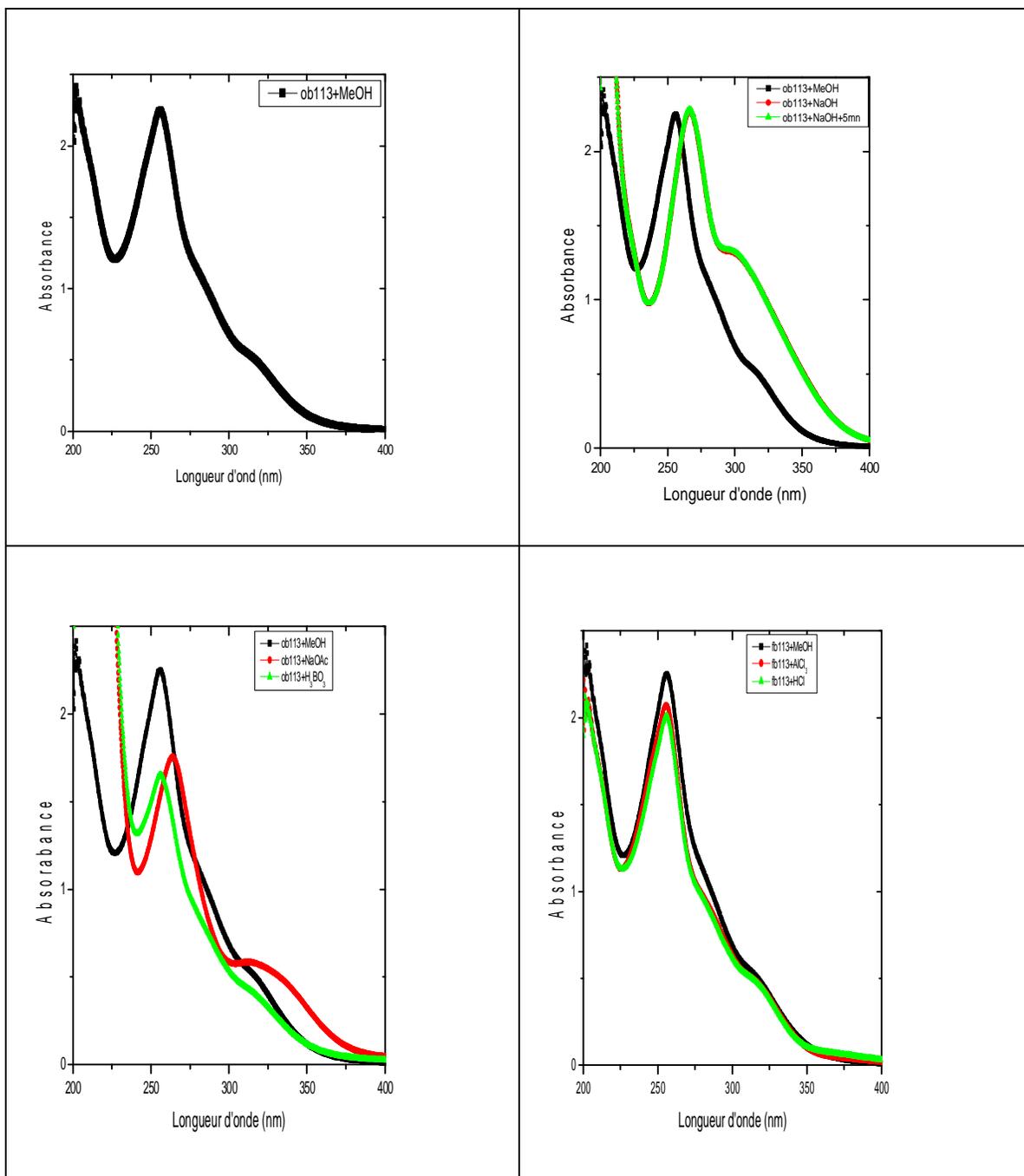
Tableau IV-1-B3-b : Données de la série spectrale UV du composé ob11-3.

Réactifs	Bande I	Autres bandes	Bande II	Commentaires
MeOH	319Ep.	/	257	isoflavone
+ NaOH	299Ep.	/	267	/
+AlCl ₃	317Ep.	/	256	OH libre en 5 Pas de ortho di-OH sur le cycle B
+AlCl ₃ /HCl	322Ep.	/	260	
+NaOAc	323Ep.	/	264	OH libre en 7
+NaOAc/H ₃ BO ₃	319Ep.	/	255	/
Spectre stable avec NaOH après 5 mn				

La combinaison des résultats de la spectroscopie RMN ¹H et la série spectrale UV permet de localiser le groupement méthoxyle en position 5 ce qui mène à la structure suivante

4', 7 –dihydroxy-5-methoxyisoflavone (isoprUNETINE) [120].





Spectre n° IV-1-B3-2: Série spectrale UV du composé ob11-3

IV-1-B4 LE COMPOSE 4 : ob 17-4-1

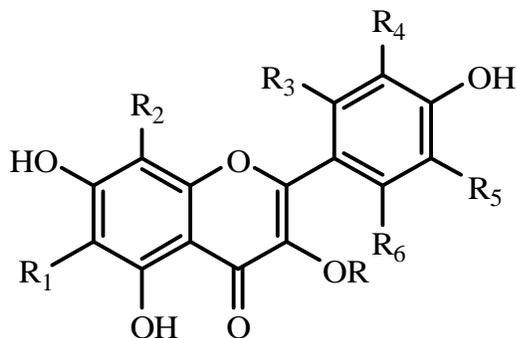
La fluorescence noire violette de ce composé sous lumière de Wood est caractéristique d'une flavone ou d'un flavonol substitué en 3.

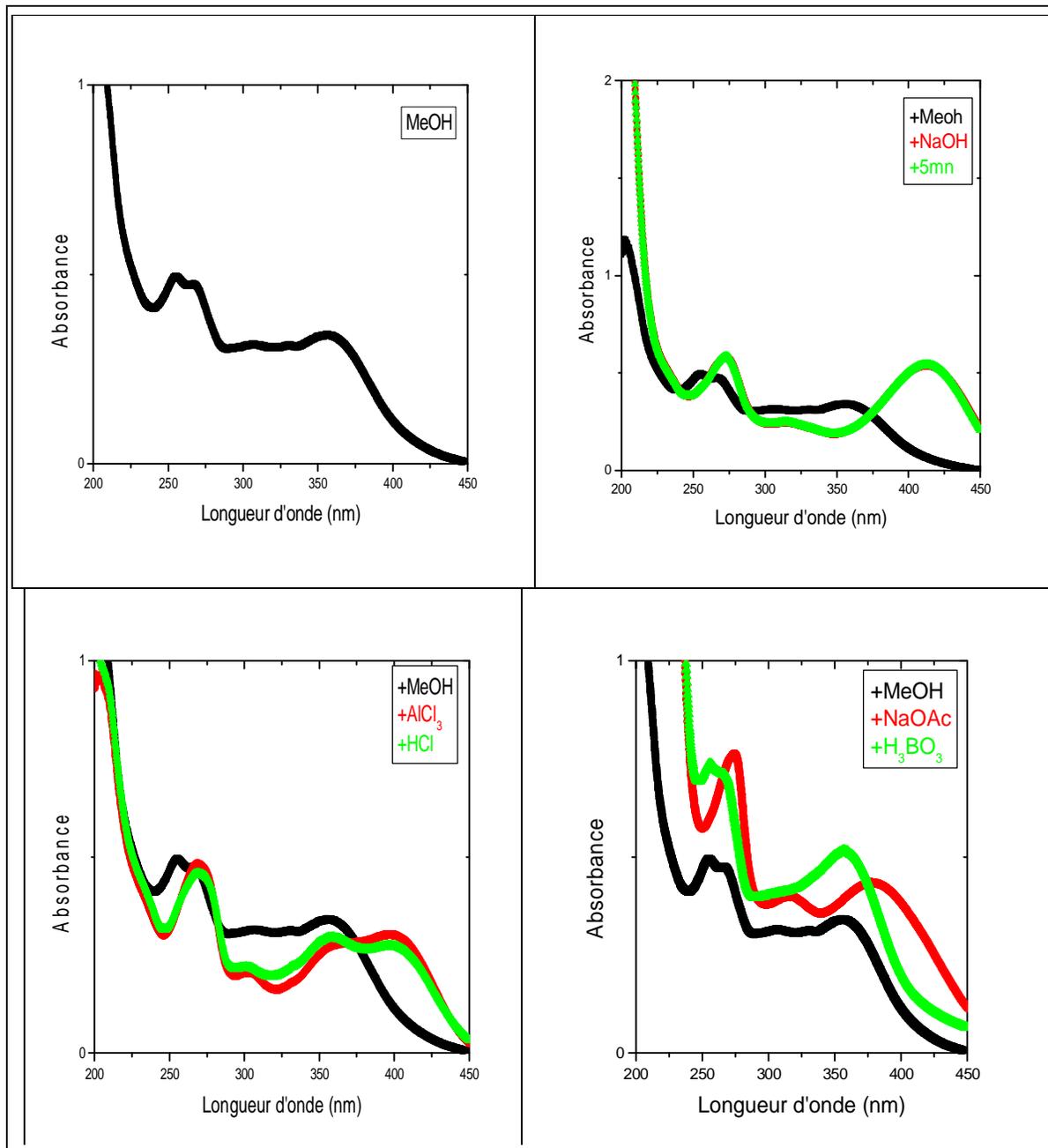
Le comportement chromatographique indiqué par les valeurs du R_f :

- ✓ 0,28 dans le système Toluène / Méthyléthylcétone / Méthanol (4 :3 :3),
- ✓ 0,44 dans le système Eau / Méthanol / Méthyléthylcétone /Acétylacétone (13 :3 :3 :1),
indique qu'il s'agit d'un hétéroside.

L'étude de la série spectrale UV (spectre n° IV-1-B4-1) indique :

- ✓ Le maximum d'absorption de la bande I à 358 nm dans le spectre enregistré dans le méthanol montre qu'il s'agit d'un flavonoïde de type flavonol substitué en 3.
- ✓ L'addition de NaOH provoquant un déplacement bathochrome de la bande I ($\Delta\lambda = + 55$ nm) avec augmentation de l'intensité lumineuse par rapport au spectre enregistré dans le MeOH révèle la présence d'un OH libre en position 4', sur le même spectre, l'apparition d'une nouvelle bande à 319 nm est révélatrice de la présence d'un OH libre en position 7.
- ✓ L'addition de NaOAc provoquant un déplacement bathochrome de la bande II ($\Delta\lambda=+5$ nm) par rapport au spectre MeOH confirme l'existence d'un OH libre en position 7.
- ✓ Le déplacement bathochrome de la bande I enregistré dans le milieu ($\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$) comparativement à celui enregistré dans le méthanol ($\Delta\lambda = + 41$ nm) indique la présence d'un OH libre en 5.
- ✓ La stabilité de la bande I en comparant les spectres $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ et AlCl_3 , laisse prévoir l'absence d'un système ortho dihydroxylé sur le cycle B. Ces informations laissent proposer la structure partielle suivante :





Spectre n° IV-1-B4-1 : Série spectrale UV du composé ob17-4-1

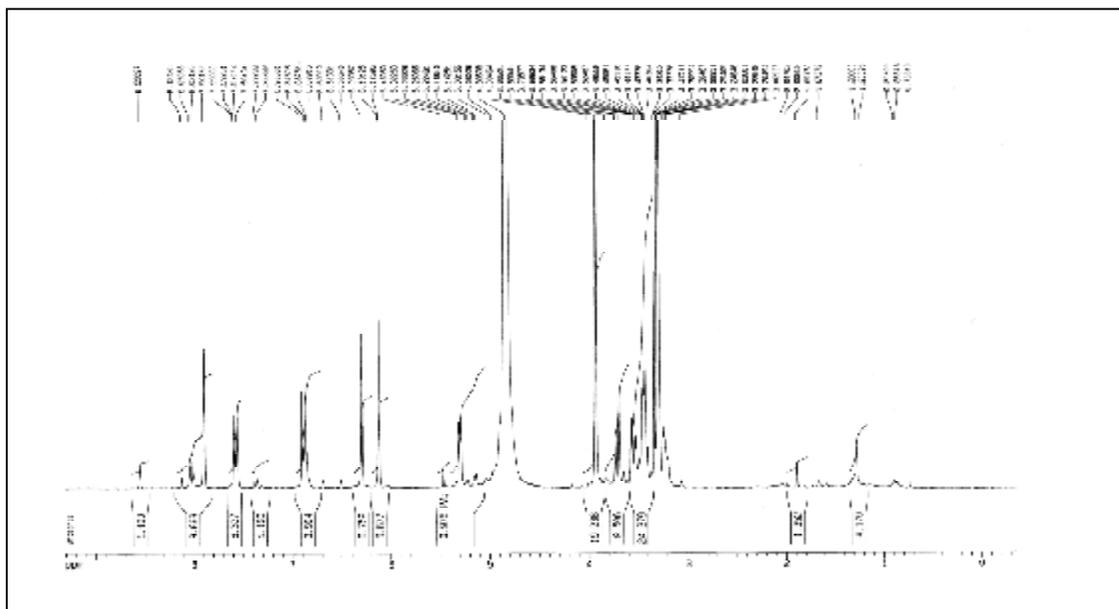
L'ensemble des données de la série spectrale UV est reporté dans le tableau IV-1-B4-a.

Tableau IV-1-B4-a. : Données de la série spectrale UV du composé ob17-4-1

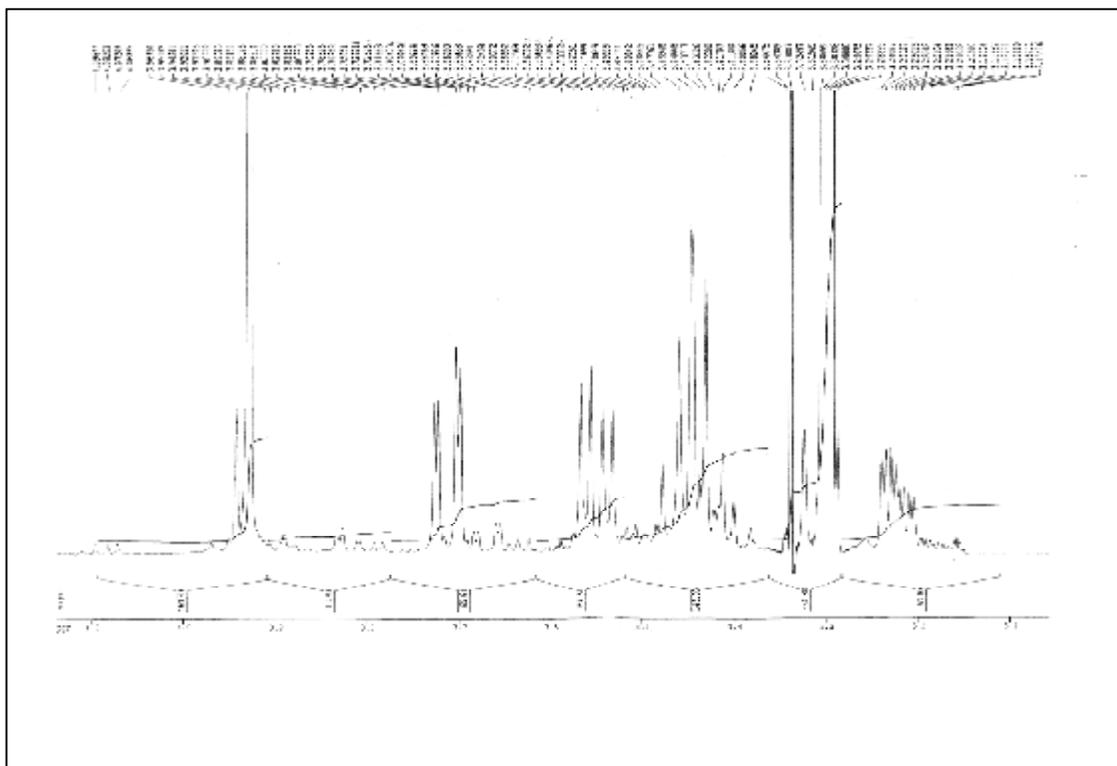
Réactifs	Bande I	Autres bandes	Bande II	Commentaire
MeOH	358	255	269	Flavonol-3 OR
+ NaOH	413	319	272	OH libre en 4' OH libre en 7
+AlCl ₃	399	303 358	268	OH libre en 5 Pas de ortho di-OH sur le cycle B
+AlCl ₃ /HCl	399	301 357	268	
+NaOAc	479	316	274	OH libre en 7
+NaOAc/H ₃ BO ₃	357	/	266	Pas de ortho di-OH sur le cycle B
Spectre stable avec NaOH après 5 mn				

L'examen du spectre RMN ¹H (spectre n° IV-1-B4-2) montre:

- ✓ Un singlet large d'intégration 1H à $\delta = 7,77$ ppm attribuable à H-2'.
- ✓ Un doublet large d'intégration 1H également à $\delta = 7,55$ ppm ($J = 8,5$ Hz) attribuable à H-6'.
- ✓ Un doublet d'intégration 1H à $\delta = 6,75$ ppm attribuable à H-5' ($J = 8,5$ Hz).
L'ensemble de ces trois signaux oriente vers une disubstitution du noyau B.
- ✓ Deux signaux sous forme d'un singlet large d'intégration 1H chacun, le premier à $\delta = 6,30$ ppm et le second à $\delta = 6,10$ ppm attribuables à H-8 et H-6 respectivement confirmant la substitution des positions 5 et 7.
- ✓ Un singlet d'intégration 3H à $\delta = 3,80$ ppm indiquant la substitution de la molécule par un groupement méthoxyle.
- ✓ Enfin, un signal sous forme d'un doublet d'intégration 1H à $\delta = 5,31$ ppm ($J = 9,3$ Hz) attribuable au proton anomérique du sucre (H-1''), dans l'intervalle 3.70-3.22 ppm se trouvent les autres protons du sucre.



**Spectre n° IV-1-B4-2 : RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD , δ ppm)
du composé ob17-4-1**



Spectre n° IV-1-B4-2 : RMN ^1H étalé (3,2 à 4,1 ppm) du composé ob17-4-1

L'ensemble de ces données est reporté dans le tableau IV-1-B4-b.

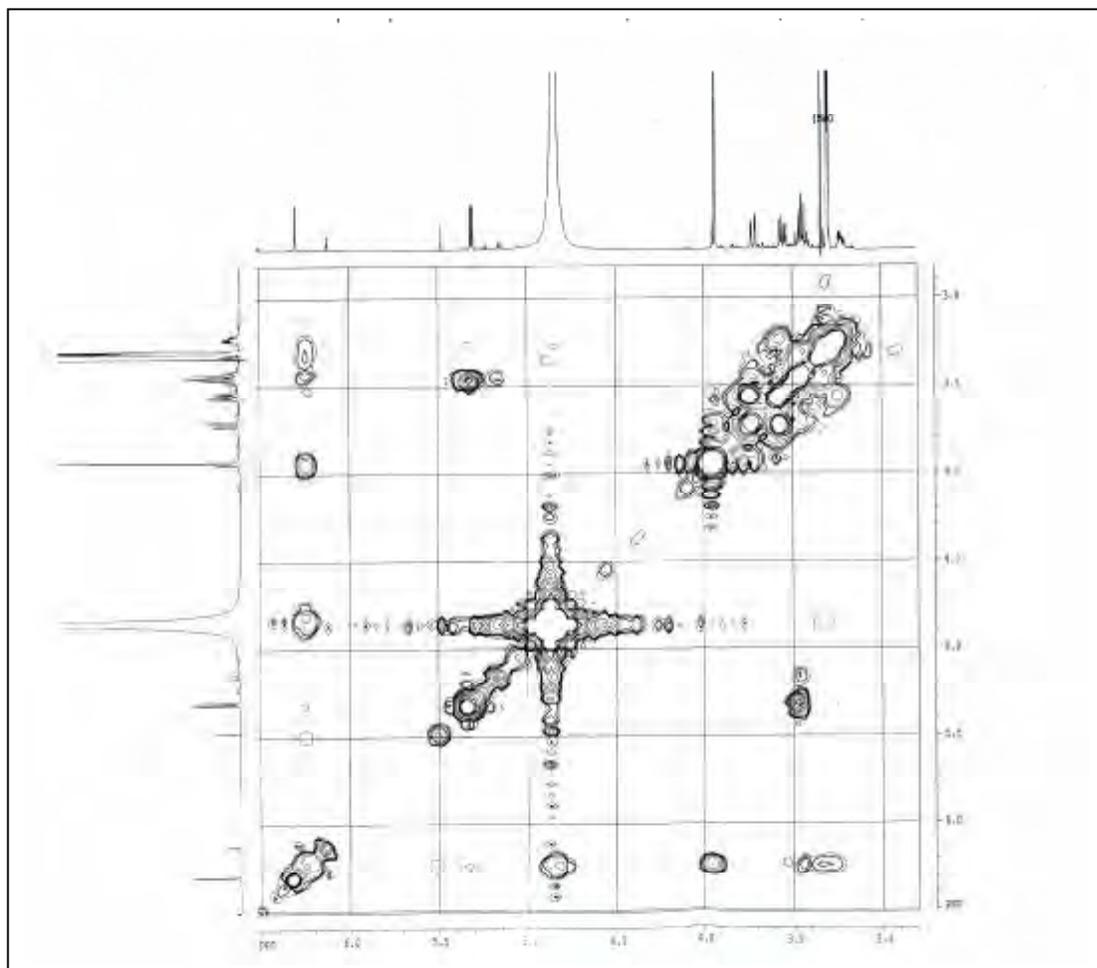
Tableau IV-1-B4-b : Données de la RMN ^1H du composé ob17-4-1

Déplacement chimique (ppm)	Intégration	Multiplicité (J Hz)	Attribution
7.90	1H	s large	H-2'
7.57	1H	d large (8,5)	H-6'
6.85	1H	d (8,5)	H-5'
6.30	1H	s large	H-8
6.11	1H	S large	H-6
3.94	3H	s	O-CH ₃
5.31	1H	d (9,3)	H-1''

Les spectres RMN ^1H étalé de 3,2 à 4,1 ppm (spectre n° IV-1-B-4-2) et RMN COSY (^1H - ^1H) (spectre n° VI-1-B4-3) permet d'attribuer les protons du sucre :

- ✓ A $\delta = 3.70$ ppm un signal sous forme d'un doublet de doublet d'intégration 1H, ($J = 11,9 ; 2.1$) attribuable à H-6'' a.
- ✓ A $\delta = 3,55$ ppm un signal sous forme d'un doublet de doublet d'intégration 1H, ($J = 11,9 ; 5.4$) attribuable à H-6'' b.
- ✓ Centré à $\delta = 3.44$ ppm un signal sous forme d'un multiplet d'intégration 2H attribuable à H-2'', H-3''.
- ✓ A $\delta = 3.32$ ppm un signal sous forme d'un multiplet partiellement recouvert par le signal du MeOH d'intégration 1H attribuable à H-6''.
- ✓ A $\delta = 3.22$ ppm un signal sous forme d'un multiplet d'intégration 1H attribuable à H-5''.

Ces données complètent la structure précédente et montrent que les substituants R_1 , R_2 , R_3 , R_5 et R_6 sont des protons et que R et R_4 sont un sucre et un groupement méthoxyle respectivement.



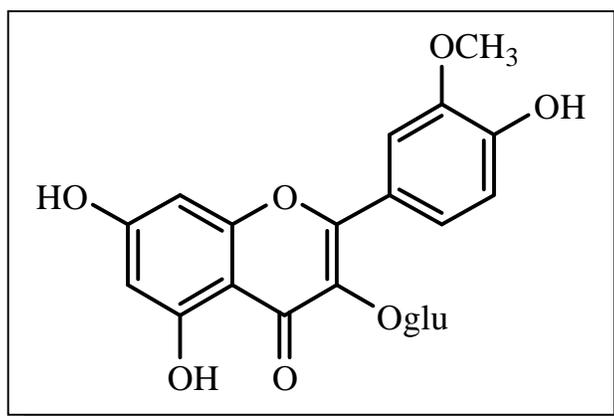
Spectre n° IV-1-B4-3: RMN 2D (COSY, 500 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé ob17-4-1

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

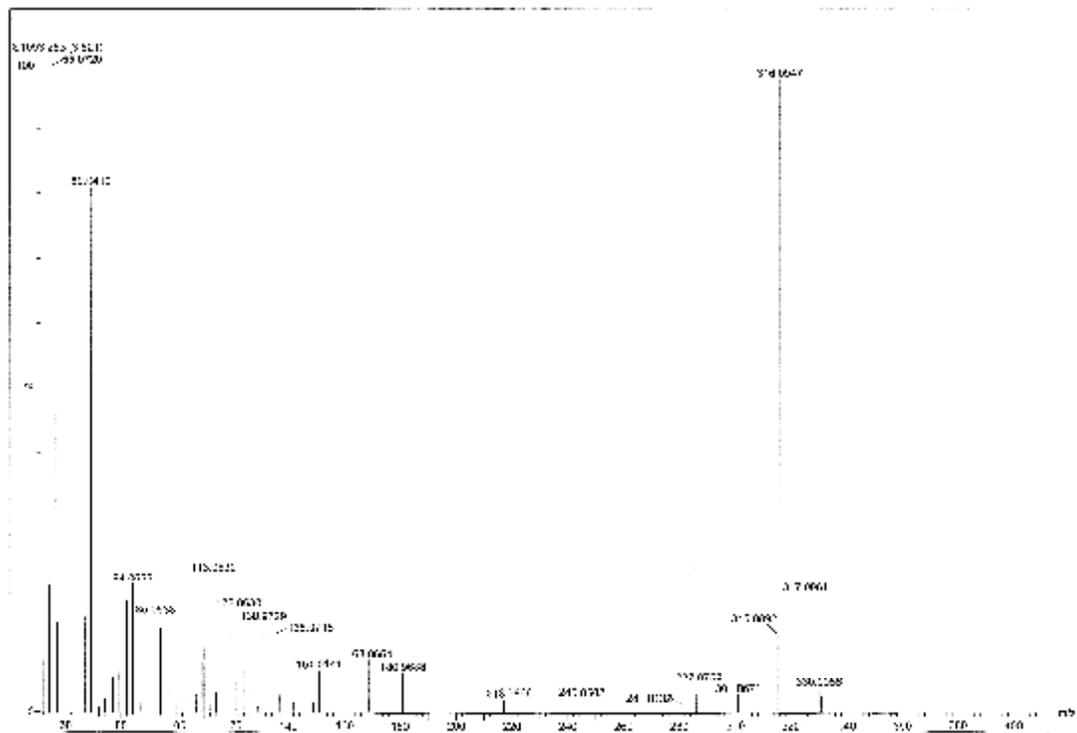
L'aglycone obtenue donne une fluorescence jaune sous UV indiquant l'obtention d'un flavonol, ce qui oriente vers une jonction sucre-aglycone en position 3 et permet l'attribution de R au glucose par le biais d'un pont oxygène.

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

4', 5, 7-trihydroxy-3'-methoxy-3-O-glucosylflavone (isorhamnetine 3-glucoside) [21, 22].



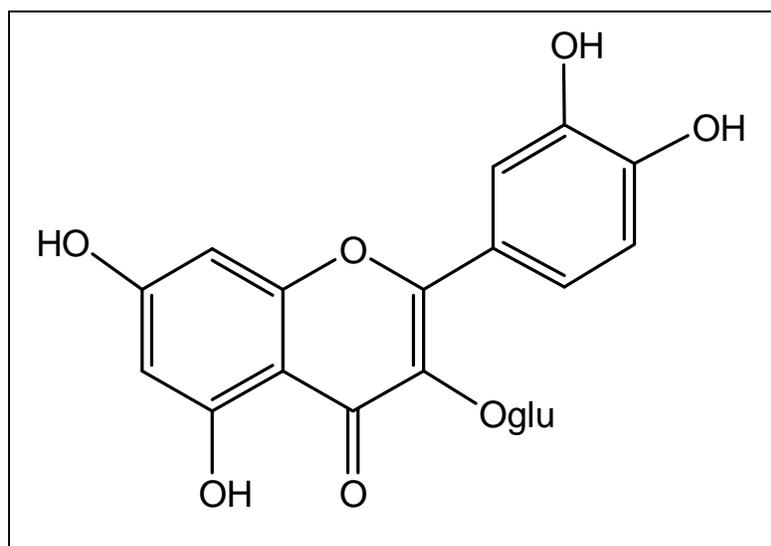
Cette structure est encore confirmée par le spectre de masse sous impact électronique (SMIE) (spectre n°VI-1-B4-4) qui montre une masse exacte à 316,0947 correspondant à [M]⁺ d'intensité relative 97.9% donnant la formule brute C₂₂H₂₂O₁₂ dont la masse calculée est de 316,0947. Ce spectre montre également un pic de base à $m/z = 301$ correspondant à la perte d'un groupement méthyle (-CH₃) [M-15]⁺, un autre pic à $m/z = 273$ correspondant à la perte d'un méthyle et d'une molécule CO [M-15-28]⁺ et enfin l'ion à $m/z = 153$ correspondant à [A₁+1]⁺ caractéristique à la fragmentation du squelette flavonique et témoignant d'un cycle A dihydroxylé.



Spectre n°VI-1-B4-4: spectre SMIE du composé ob17-4-1

IV-1-B5 LE COMPOSE 5 : ob17-5

Après consultation des spectres RMN ^1H et UV de ce composé nous avons constaté une ressemblance avec le composé ok 17-5 (composé IV-I-A6) dont l'interprétation est donnée précédemment, nous avons alors procédé à une co chromatographie sur plaque de gel de silice dans plusieurs systèmes pour les deux composés. Il s'est avéré que c'est bien le même produit connu sous le nom de **quercetrine** et dont la structure est la suivante :



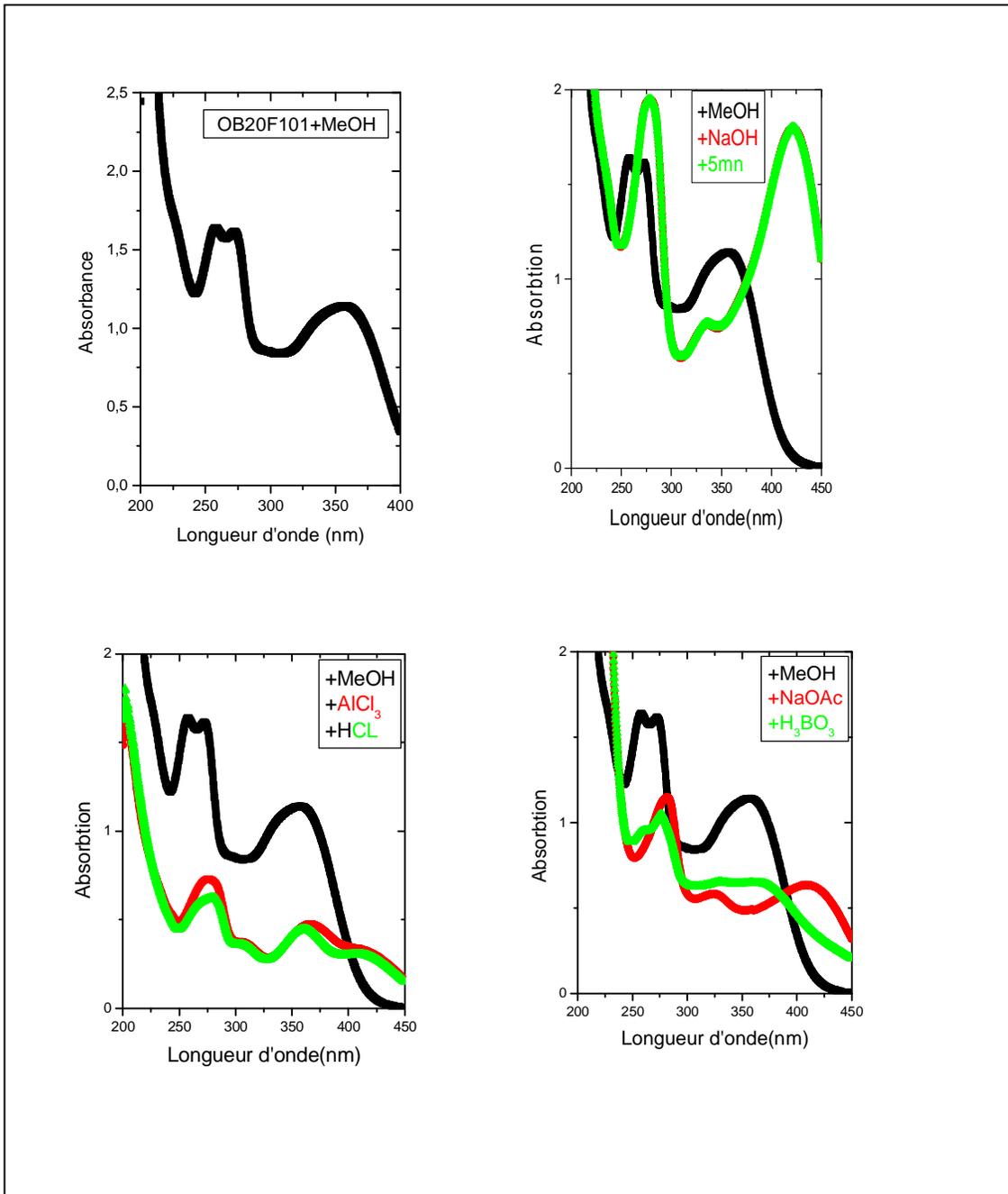
Quercetrine

IV-1-B6 LE COMPOSE 6 : ob20F5-1

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

L'étude de la série spectrale UV (spectre n° IV-1-B6-1) mène aux remarques :

- ▼ Le maximum d'absorption de la bande I à 361 nm dans le spectre enregistré dans le méthanol indique qu'il s'agit d'un flavonoïde de type flavonol substitué en 3.
- ▼ L'addition de NaOH provoquant un déplacement bathochrome de la bande I ($\Delta\lambda = + 61$ nm) avec augmentation de l'intensité lumineuse par rapport au spectre enregistré dans le MeOH indique la présence d'un OH libre en position 4', sur le même spectre, l'apparition d'une nouvelle bande à 334 nm est révélatrice de la présence d'un OH libre en position 7.
- ▼ L'addition de NaOAc provoquant un déplacement bathochrome de la bande II ($\Delta\lambda = +10$ nm) par rapport au spectre MeOH confirme l'hydroxyle libre en 7.
- ▼ Le déplacement bathochrome de la bande I enregistré dans le milieu ($\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$) comparativement à celui enregistré dans le méthanol ($\Delta\lambda = + 56$ nm) indique la présence d'un OH libre en 5 et l'absence d'une oxygénation en 6.
- ▼ Pas de changement notable de la bande I en comparant les spectres $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ et AlCl_3 , ce qui laisse prévoir l'absence d'un système ortho dihydroxylé sur le cycle B, cette hypothèse est confirmée par l'effet bathochrome faible ($\Delta\lambda = + 12$ nm) de la même bande dans $\text{NaOAc} + \text{H}_3\text{BO}_3$ par rapport au spectre méthanol et exclut le système ortho di-OH.



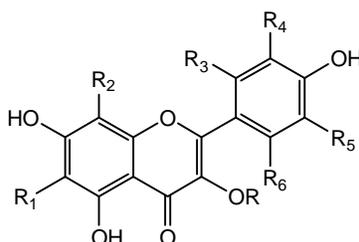
Spectre n° IV-1-B6-1 Série spectrale UV du composé ob20F5-1

L'ensemble des données de la série spectrale UV est reporté dans le tableau IV-1-B6-a.

Tableau IV-1-B6-a. Données de la série spectrale UV du composé ob20F5-1

Réactifs	Bande I	Autres bandes	Bande II	Commentaire
MeOH	361	257 307	271	Flavonol-3 OR
+ NaOH	422	334	278	OH libre en 4' OH libre en 7
+AlCl ₃	417	307 367	276	OH libre en 5 Pas de ortho di-OH sur le cycle B Pas d'oxygénation en 6.
+AlCl ₃ /HCl	417.	309 361	279	
+NaOAc	413	325	281	OH libre en 7
+NaOAc/H ₃ BO ₃	373	256	276	Pas de ortho di-OH sur le cycle B
Spectre stable avec NaOH après 5 mn				

Ces données permettent la proposition de la structure partielle suivante :

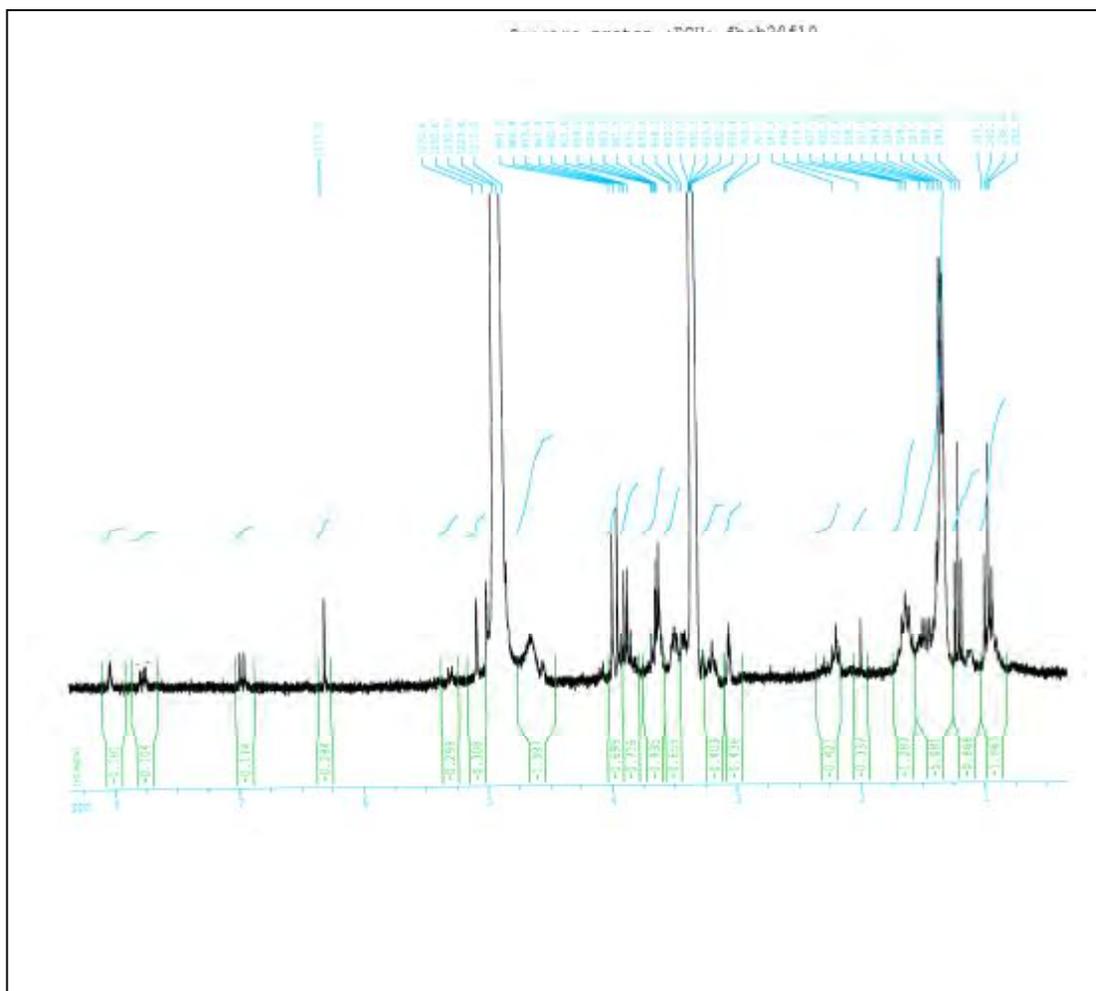


avec R, R₁, R₂, R₃, R₄, R₅ et R₆ différents de OH.

L'examen du spectre RMN ¹H (spectre n° IV-1-B6-2) montre:

- ✓ Un doublet d'intégration 1H à $\delta = 8,03$ ppm attribuable à H-2' ($J = 2,2$ Hz).
- ✓ Un doublet de doublet d'intégration 1H également à $\delta = 7,77$ ppm ($J = 8,8$ et $2,2$ Hz) attribuable à H-6'.
- ✓ Un autre doublet d'intégration 1H à $\delta = 6,97$ ppm attribuable à H-5' ($J = 8,8$ Hz).
L'ensemble de ces trois signaux oriente vers une disubstitution du noyau B, donc R₃, R₅ et R₆ sont des protons.
- ✓ Un signal sous forme d'un singulet d'intégration 1H à $\delta = 6,21$ ppm attribuable à H-6.

- ▼ Deux singulets d'intégration 3H chacun, le premier à $\delta = 3,99$ ppm et le second à $\delta = 3,94$ ppm indiquant la substitution de la molécule par deux groupements méthoxyles.
- ▼ Enfin, un signal sous forme d'un doublet d'intégration 1H à $\delta = 5,29$ ppm ($J = 8,8$ Hz), attribuable au proton anomérique du sucre (H-1''), dans l'intervalle 3.90-3.20 ppm se trouvent les autres protons du sucre.



**Spectre n° IV-1-B-6-2 : RMN ^1H (250 MHz, CD_3OD , δ ppm)
du composé ob20F5-1**

L'ensemble de ces données est reporté dans le tableau IV-1-B6-b.

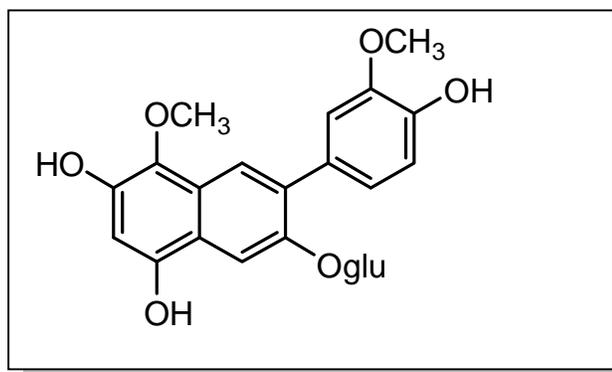
Tableau IV-1-B6-b. Données de la RMN ^1H du composé ob20F5-1:

Déplacement chimique (ppm)	Intégration	Multiplicité (J Hz)	Attribution
8.03	1H	d (2,2)	H-2'
7.77	1H	dd (8,8 ; 2,2)	H-6'
6.97	1H	d(8,8)	H-5'
6.21	1H	s	H-6
3.99	3H	s	O-CH ₃
3.94	3H	s	O-CH ₃
5.29	1H	d(8,8)	H-1''

Ces données complètent la structure précédente et montrent que les substituants R, R₁ et R₄ sont deux groupements méthoxyles et un sucre.

- ▼ L'hydrolyse acide de ce composé libère le glucose comme sucre révélé par co-chromatographie avec l'échantillon authentique.
- ▼ L'aglycone obtenue donne une fluorescence jaune sous UV indiquant l'obtention d'un flavonol, ce qui oriente vers une jonction sucre-aglycone en position 3 et permet l'attribution de R au glucose.
- ▼ La série spectrale de l'aglycone montre l'inexistence du système ortho di-OH permettant ainsi l'attribution de R₄ à un méthoxyle. Le deuxième méthoxyle ne peut être attribué qu'à R₂, ce qui permet de proposer la structure suivante :

4', 5, 7-trihydroxy-3', 8-dimethoxy-3-O-glucosylflavone [23, 24].



IV-1-B7 LE COMPOSE 7 : ob20F7-1

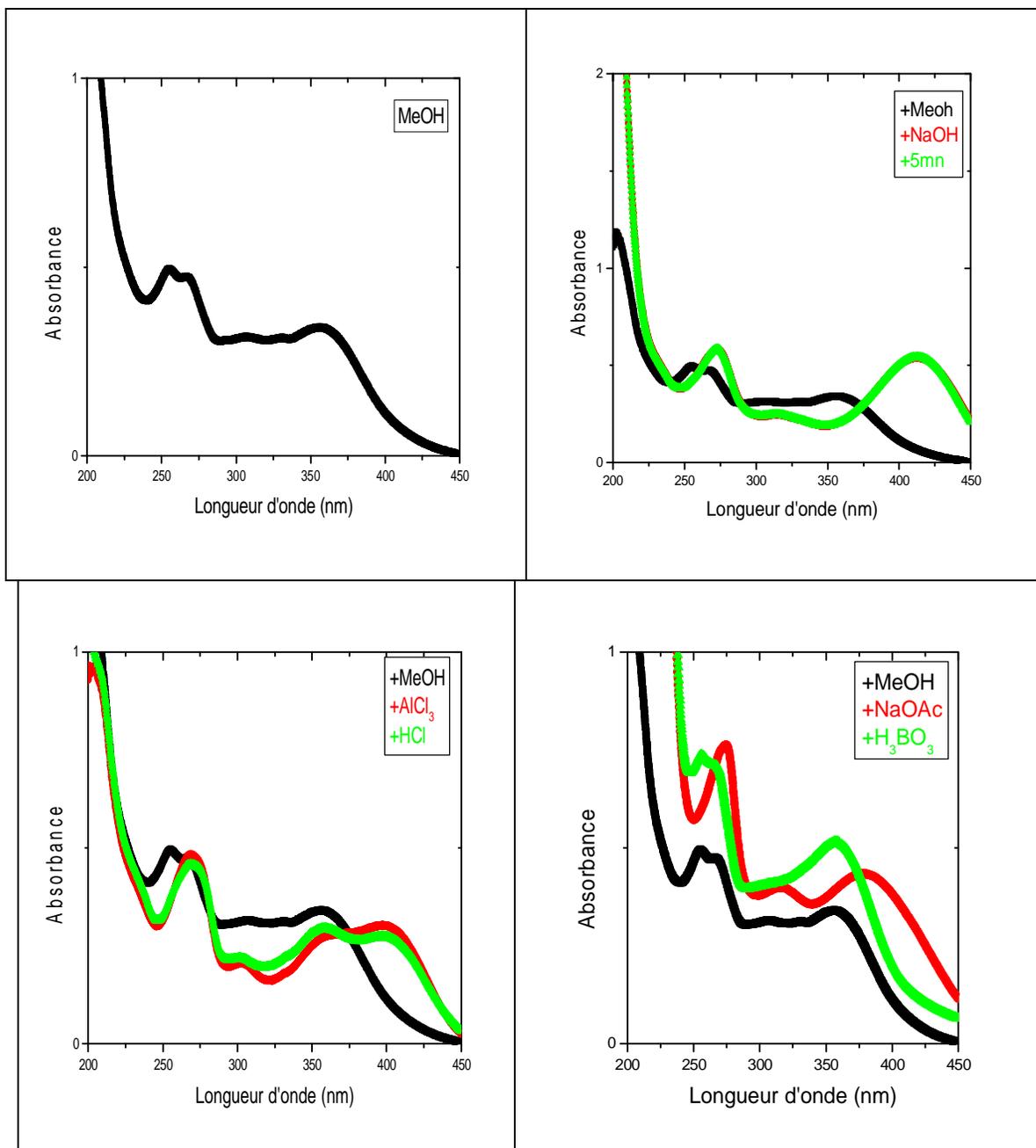
La fluorescence noire violette sous lumière de Wood de ce composé est caractéristique d'une flavone ou d'un flavonol substitué en 3.

Le comportement chromatographique indiqué par les valeurs du R_f :

- ✓ 0,16 dans le système Toluène / Méthyléthylcétone / Méthanol (4 :3 :3),
- ✓ 0,58 dans le système Eau / Méthanol / Méthyléthylcétone / Acétylacétone (13 :3 :3 :1), indique qu'il s'agit d'un hétéroside (dioside).

L'étude de la série spectrale UV (spectre n° IV-1-B7-1) mène aux remarques suivantes :

- ✓ Le maximum d'absorption de la bande I à 356 nm dans le spectre enregistré dans le méthanol indique qu'il s'agit d'un flavonoïde de type flavonol substitué en 3.
- ✓ L'addition de NaOH provoquant un déplacement bathochrome de la bande I ($\Delta\lambda = + 59$ nm) avec augmentation de l'intensité lumineuse par rapport au spectre enregistré dans le MeOH indique la présence d'un OH libre en position 4', sur le même spectre, l'apparition d'une nouvelle bande à 320 nm est révélatrice de la présence d'un OH libre en position 7.
- ✓ L'addition de NaOAc provoquant un déplacement bathochrome de la bande II ($\Delta\lambda = +5$ nm) par rapport au spectre MeOH confirme l'hydroxyle libre en 7.
- ✓ Le déplacement bathochrome de la bande I enregistré dans le milieu ($\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$) comparativement à celui enregistré dans le méthanol ($\Delta\lambda = + 42$ nm) indique la présence d'un OH libre en 5 et l'absence d'une oxygénation en 6.
- ✓ Le fait qu'il n'y est pas de changement notable de la bande I en comparant les spectres $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ et AlCl_3 laisse prévoir l'absence d'un système ortho dihydroxylé sur le cycle B. Cette hypothèse est confirmée par l'effet bathochrome faible ($\Delta\lambda = + 2$ nm) de la même bande dans le milieu $\text{NaOAc} + \text{H}_3\text{BO}_3$ par rapport au spectre méthanol.



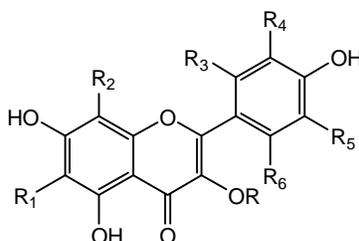
Spectre n° IV-1-B7-1 : Série spectrale UV du composé ob20F7-1

L'ensemble des données de la série spectrale UV est reporté dans le tableau IV-1-B7-a.

Tableau IV-1-B7-a.: Données de la série spectrale UV du composé OB20F7-1

Réactifs	Bande I	Autres bandes	Bande II	Commentaire
MeOH	356	257	270	Flavonol-3 OR
+ NaOH	415	320	275	OH libre en 4' OH libre en 7
+AlCl ₃	398	300-360.	267	OH libre en 5 Pas de ortho di-OH sur le cycle B
+AlCl ₃ /HCl	398.	299-356	267	
+NaOAc	475	317	275	OH libre en 7
+NaOAc/H ₃ BO ₃	358	-	269	Pas de ortho di-OH sur le cycle B
Spectre stable avec NaOH après 5 mn				

Ces données permettent la proposition de la structure partielle suivante :



avec R, R₁, R₂, R₃, R₄, R₅ et R₆ différents de OH.

L'examen du spectre RMN ¹H (spectre n° IV-1-B7-2) montre:

- ✓ Un doublet ($J = 2,0$ Hz) d'intégration 1H à $\delta = 7,99$ ppm attribuable à H-2'.
- ✓ Un doublet de doublet ($J = 8,8$ et $2,0$ Hz) d'intégration 1H à $\delta = 7,72$ ppm attribuable à H-6'.
- ✓ Un doublet ($J = 8,8$ Hz) d'intégration 1H à $\delta = 6,94$ ppm attribuable à H-5'

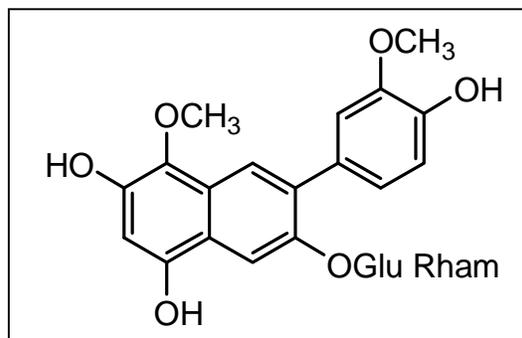
Tableau IV-1-B7-b: Données de la RMN ¹H du composé OB20F7-1

Déplacement chimique (ppm)	Intégration	Multiplicité (J Hz)	Attribution
7,99	1H	d (2,0)	H-2'
7.72	1H	dd (8,8 ; 2,0)	H-6'
6.94	1H	d (8,8)	H-5'
6.27	1H	s	H-6
3.87	3H	s	O-CH ₃
3.91	3H	s	O-CH ₃
5.25	1H	d (8,8)	H-1''
4,52	1H	s (large)	H-1'''
1,07	3H	d (6,0)	CH ₃

Ces données complètent la structure précédente et montrent que les substituants R, R₁ et R₄ sont deux groupements méthoxyles et un rutinosyle.

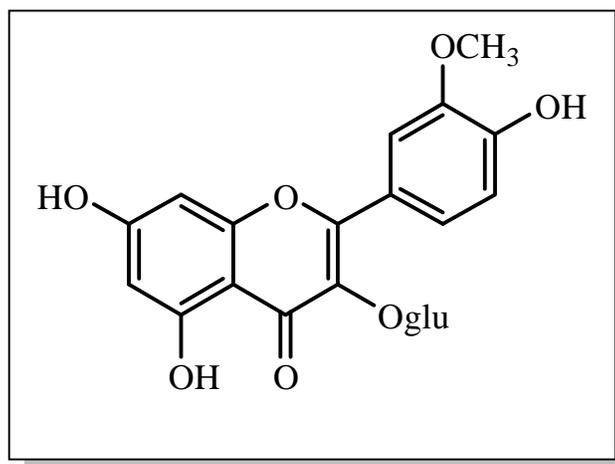
- ▼ L'hydrolyse acide de ce composé libère le glucose et le rhamnose comme sucres révélés par co-chromatographie avec les échantillons authentiques.
- ▼ L'aglycone obtenue donne une fluorescence jaune sous UV indiquant l'obtention d'un flavonol, ce qui oriente vers une jonction sucre-aglycone par le biais d'un pont oxygène en position 3 et permet l'attribution de R à un groupement rutinosyle.
- ▼ La série spectrale de l'aglycone montre l'inexistence du système ortho di-OH permettant ainsi l'attribution de R₄ à un méthoxyle. Le deuxième méthoxyle ne peut être attribué qu'à R₂, ce qui permet de proposer la structure suivante :

4', 5, 7-trihydroxy-3', 8-dimethoxy-3-O-rhamnoglucosylflavone [25, 26].



IV-1-B8 LE COMPOSE 8 : ob20F7-2

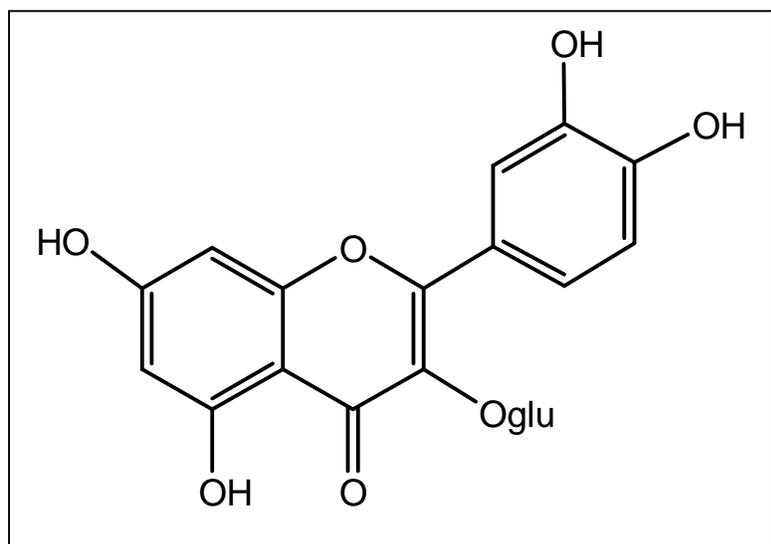
Après consultation des spectres RMN ^1H et UV de ce composé nous avons constaté une ressemblance avec le composé ob 17-4-1 (composé IV-I-B-4) dont l'interprétation est donnée précédemment, nous avons alors procédé à une co chromatographie sur plaque de gel de silice et sur polyamide dans plusieurs systèmes pour les deux composés. Il s'est bien avéré que c'est le même produit identifié sous le nom de **isorhamnetine3-glucoside** et dont la structure est la suivante :



isorhamnetine3-glucoside

IV-1-B9 LE COMPOSE 9 : ob20F7-3

Les spectres RMN ^1H et UV de ce composé sont semblables à ceux du composé ok17-5 (composé IV-I-A6), et ceux du composé ob17-5 (composé IV-I-B5) dont l'interprétation est donnée précédemment, nous avons alors procédé à une co chromatographie sur plaque de gel de silice et sur polyamide dans plusieurs systèmes pour ces composés. Il s'est avéré que c'est bien le même produit connu sous le nom de **quercetrine** et dont la structure est la suivante :



Quercetrine

IV-2 IDENTIFICATION DES PRODUITS ISOLES DE LA PHASE CHLOROFORME DE *HALOXYLON SCOPARIUM*.

IV-2-1 LE COMPOSE 1 : H3-2-2

Le spectre de masse à haute résolution (SMHR) (spectre n°IV-2-1-1) du composé H3-2-2 donne une masse exacte de l'ion moléculaire de = 414,3160 correspondant à la formule brute $C_{29}H_{50}O$ dont la masse calculée est de 414,31976, soit un composé à cinq insaturations. Ces données nous ont incités à réaliser le test de LIEBERMANN & BUCHARD relatif à la mise en évidence des stérols et des triterpènes. En effet, après addition de $CHCl_3$ et d'une même quantité d'anhydride acétique à quelques milligrammes de ce produit, une bonne agitation et addition de quelques gouttes d'acide sulfurique concentré, le mélange au début incolore a viré brutalement au vert attestant la présence d'un stérol.

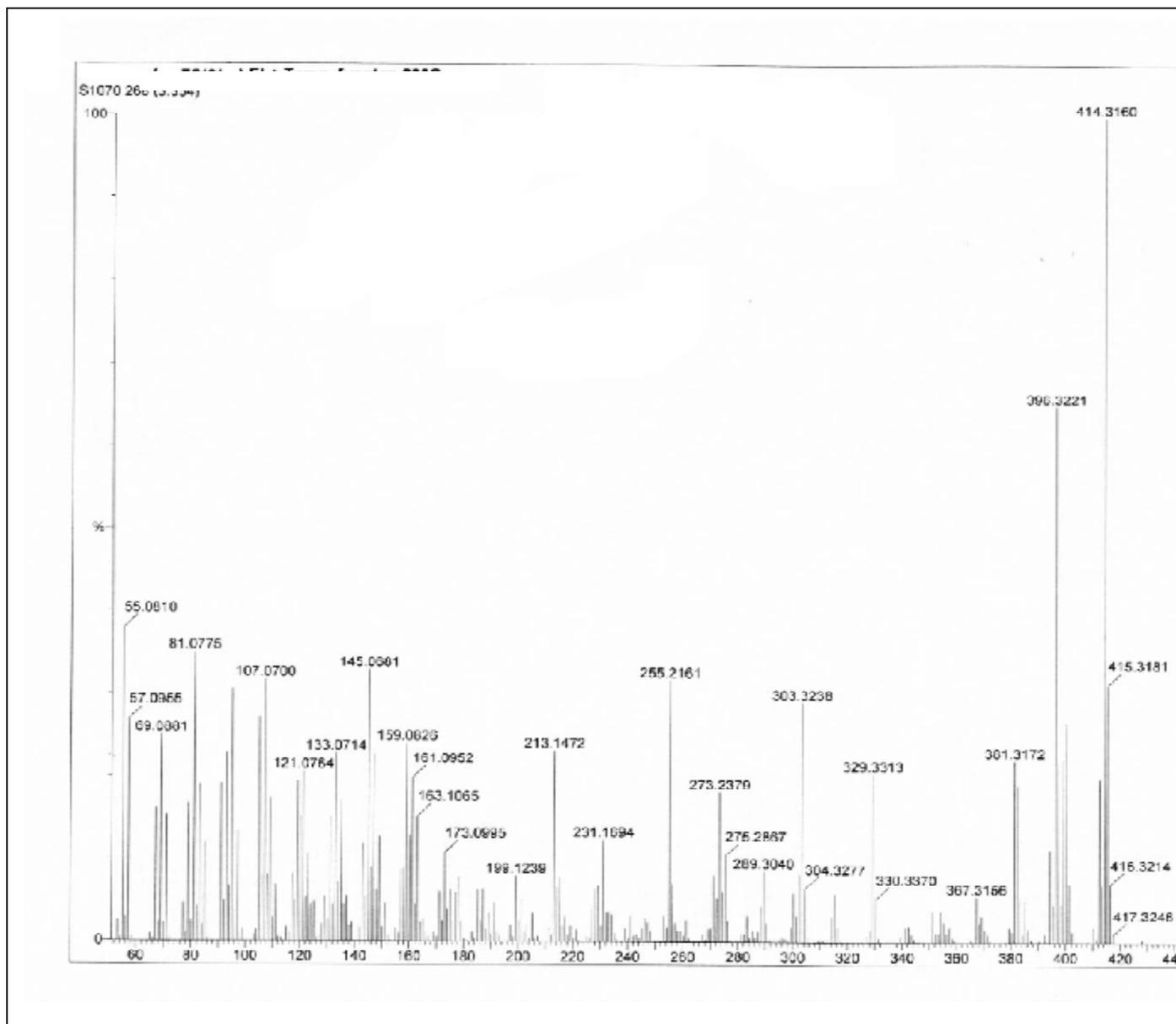
Ce spectre montre également la présence d'un ion à $m/z = 396,3221$ (63,89%) correspondant au départ par réarrangement d'une molécule d'eau confirmant la présence d'un groupement hydroxyle dans la molécule. Cet ion se fragmente à son tour pour donner un pic à $m/z = 381,3172$ (21,22%) correspondant au départ d'un radical méthyle, ce qui est largement attendu pour les stérols.

La structure stérol est appuyée par le signal à $m/z = 273,2379$ (17,96%) correspondant à la perte de la chaîne latérale ($C_{10}H_{21}$) par l'ion moléculaire ce qui est connue pour les stérols. Cette rupture est suivie par la perte d'une molécule d'eau, confirmant la présence de la fonction alcool sur la partie polycyclique.

Les valeurs des ions caractéristiques des fragmentations du stérol sont résumées dans le tableau IV-2-1-a:

Tableau IV-2-1-a : Données du SMHR

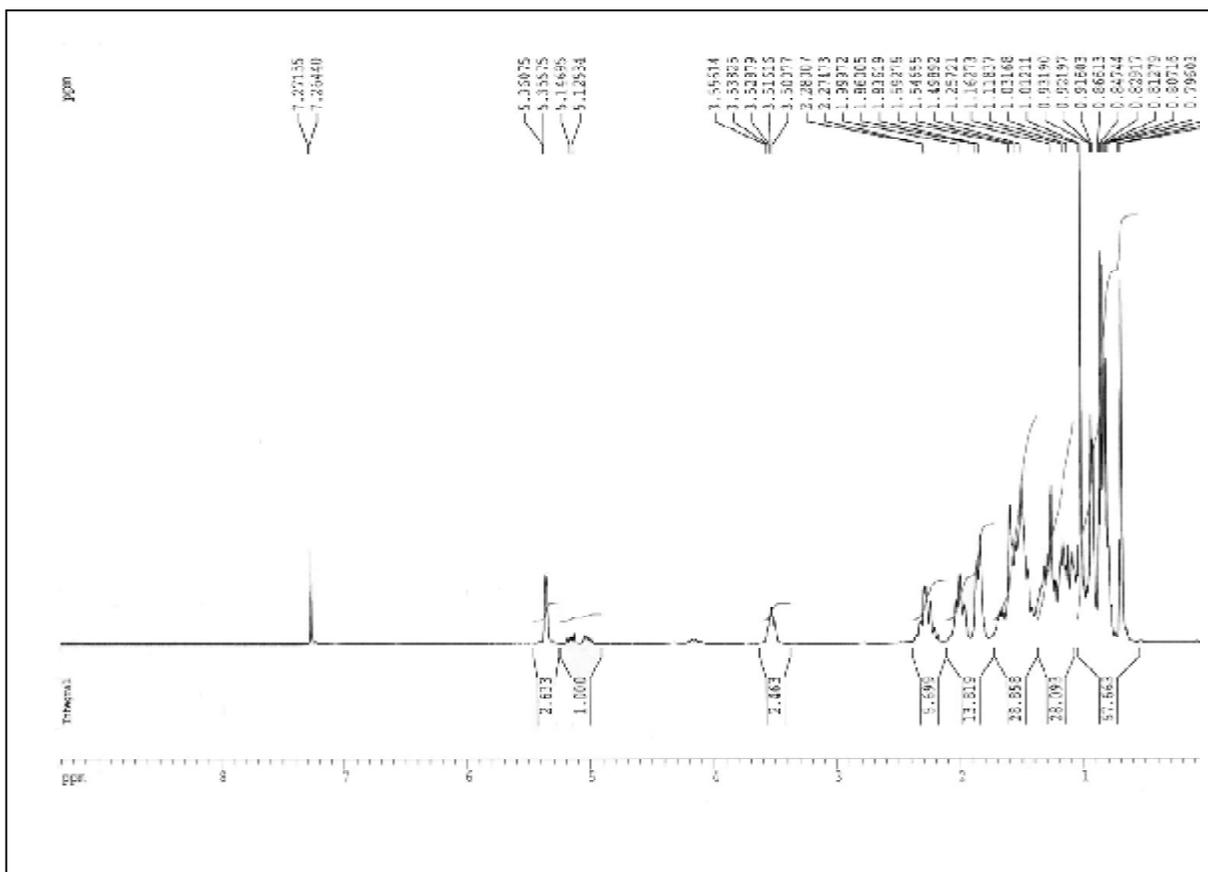
Fragment	$[M]^+$	$[M-15]^+$	$[M-18]^+$	$[M-18-15]^+$	$[M-C_{10}H_{21}]^+$
m/z	414	399	396	381	273,21
Int. Rel. (%)	100	26,99	63,89	21,22	17,96



Spectre n° IV-2-1-1 : spectre SMHR du composé H 3-2-2

L'examen du spectre RMN ^1H de ce produit (spectre n°IV-2-1-2) dans CDCl_3 montre :

- ✓ Un doublet large à $\delta = 5,35\text{ppm}$ d'intégration 1H correspondant au proton éthylénique connu avec la numérotation H-6.
- ✓ Un multiplet d'intégration 1H à $\delta = 3,53\text{ppm}$ correspondant à un proton sur un carbone oxygéné, notamment le H-3 d'un stérol.
- ✓ Un singulet à $\delta = 0,68\text{ppm}$ d'intégration 3H attribuable au méthyle 18.
- ✓ Deux doublets et un triplet superposés d'intégration 9H centré à $\delta = 0,86\text{ppm}$ correspondant aux deux méthyles isopropyliques qui sont diastéréotopiques et par conséquent magnétiquement non équivalents et au méthyle du groupement éthyle respectivement.



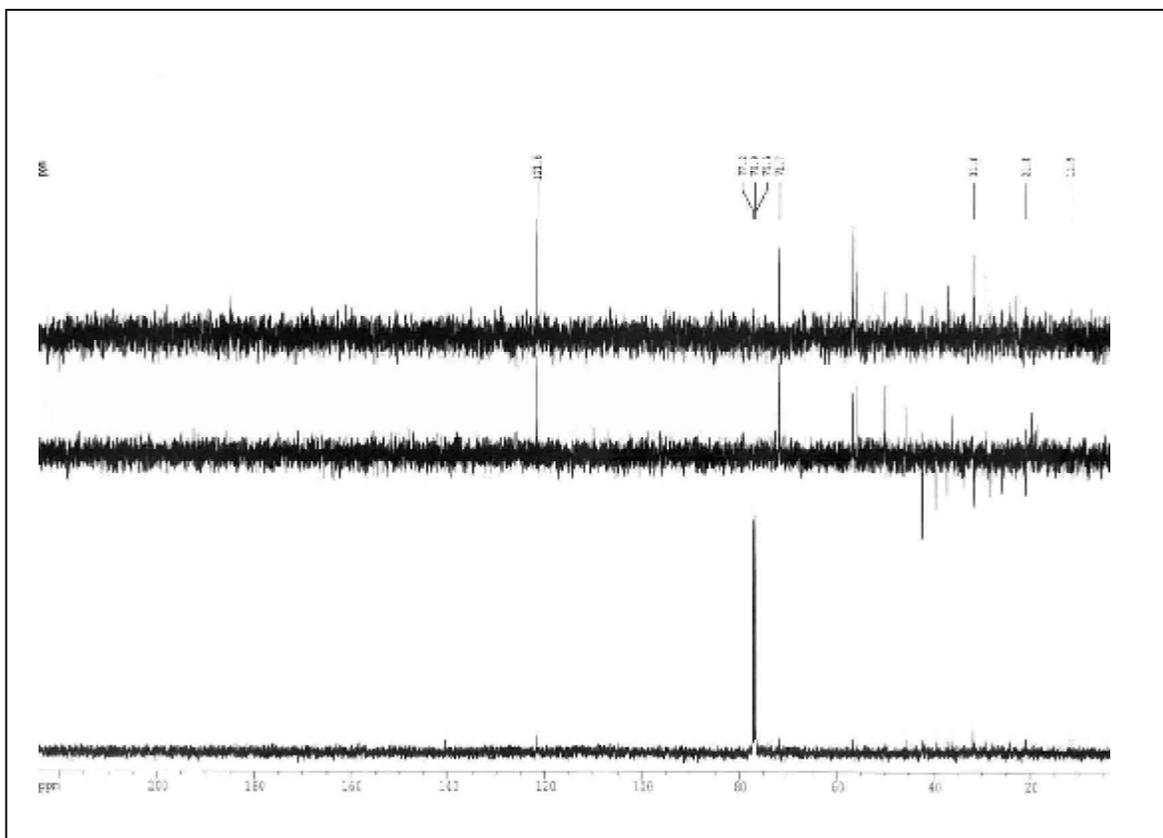
Spectre n° IV-2-1-2 : spectre RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3 , δ ppm) du composé H3-2-2

Le tableau IV-2-1-b rassemble les données de la RMN ^1H .

Le tableau IV-2-1-b : Résultats de la RMN ^1H du composé H-3-2-2

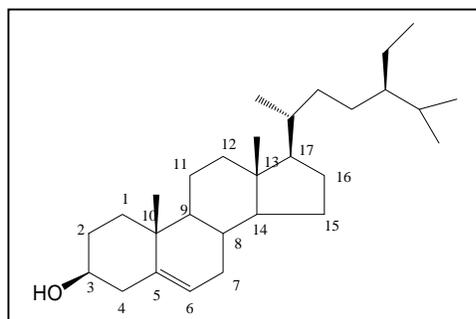
δ (ppm)	Intégration	Multiplicité (J Hz)	Attribution
5,35	1H	s (large)	H-6
3,53	1H	multiplet	H-3
2,25	2H	d (6,5)	H-4
0,68	3H	s	CH ₃ -18
0,82	3H	d (6, 8)	CH ₃ -27
0,85	3H	d (7, 0)	CH ₃ -26
0,86	3H	t (7, 0)	CH ₃ -29
0,94	3H	d (6, 5)	CH ₃ -21
1,01	3H	s	CH ₃ -19

Le spectre RMN ^{13}C et les séquences DEPT 135 et 90 (spectre n° IV-2-1-3.) confirment la présence de la double liaison trisubstituée par les signaux à $\delta=14,0,8$ ppm, relatif à un carbone éthylénique quaternaire (C-5) et à $\delta = 121,6$ ppm relatif à un CH éthylénique (C-6), ainsi que la présence d'un CH oxygéné à $\delta= 71,7$ ppm relatif au C-3 portant la fonction alcool.



Spectre n° IV-2-1-3 : spectre RMN¹³C (50MHz, CDCl₃, δ ppm) du composé H3-2-2

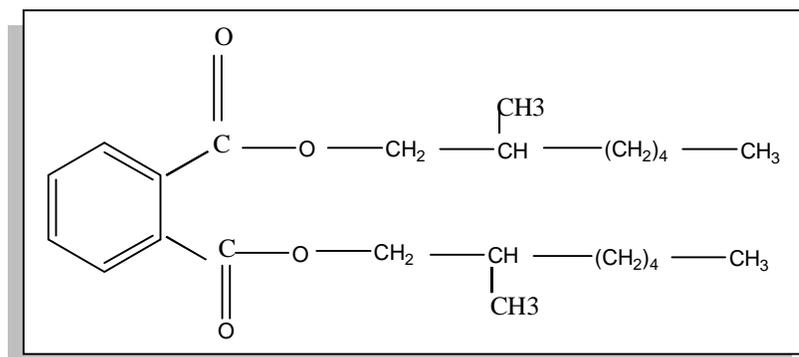
L'ensemble de ces données comparées aux résultats de la littérature [27] ainsi que la co-chromatographie avec un échantillon authentique mène au **β-sitostérol**. D'où la structure suivante :



β-sitostérol

IV-2-2 LE COMPOSE 2 : H-4

Après avoir examiné les spectres RMN ^1H et RMN 13 de ce composé, nous avons constaté une ressemblance avec le composé IV-1-A1 (oK4-1) dont l'interprétation est donnée précédemment, nous avons alors procédé à une co-chromatographie sur plaque de gel de silice dans plusieurs systèmes pour les deux composés, et il s'est avéré que c'est bien le même produit connu sous le nom de **Di-(2-méthyl heptyl) phtalate**. D'où la structure suivante :



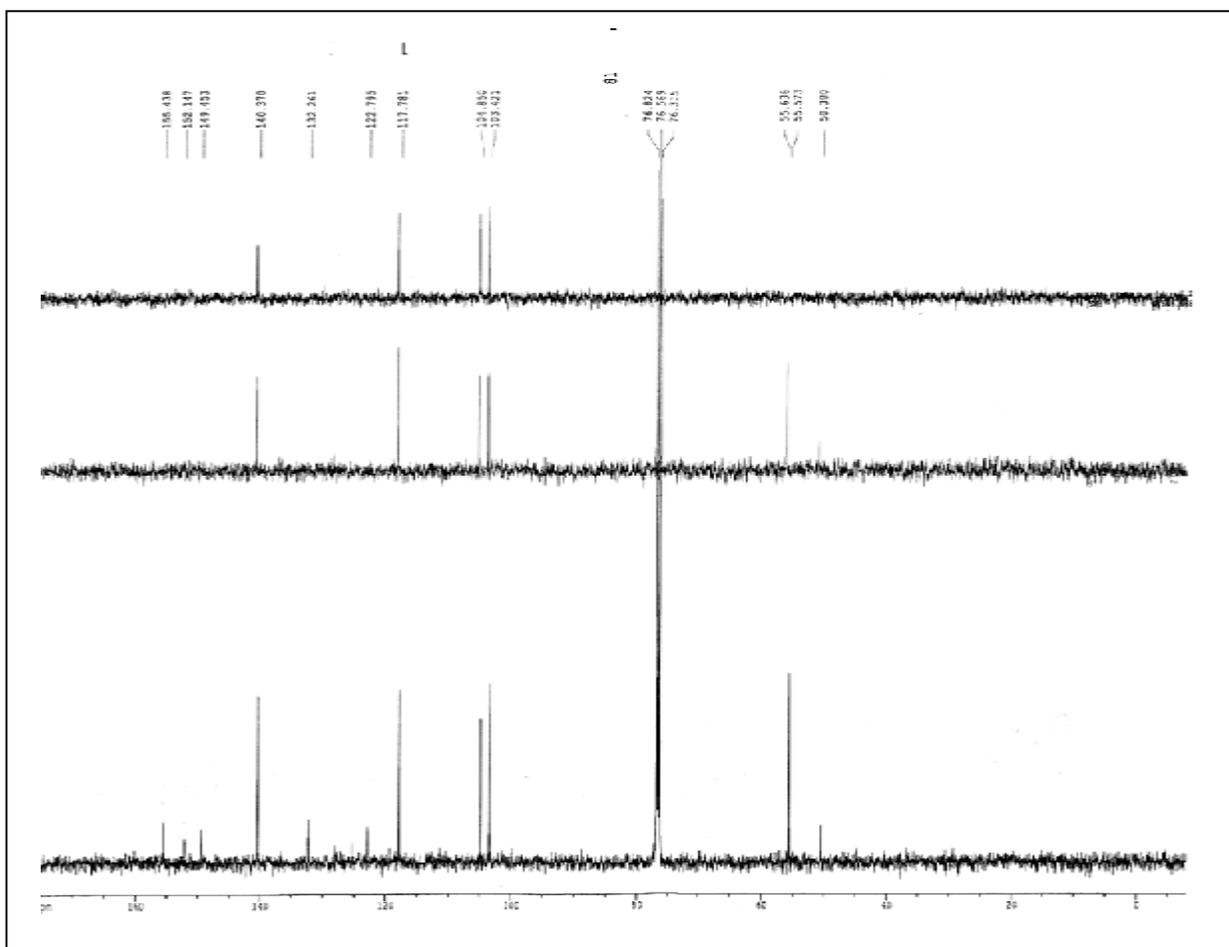
Di-(2-méthyl heptyl) phtalate.

Il est cependant à signaler que les phtalates sont connus comme polluants provenant des emballages plastiques et autres, de ce fait, ce produit aurait pu être introduit dans nos extraits par l'usage des solvants organiques.

IV-2-3 LE COMPOSE 3 : H6-8-1

Le spectre RMN ^{13}C et ses séquences DEPT (135, 90) (spectre n°IV-2-3-1) montre la présence de neuf atomes de carbones dans la zone aromatique orientant vers un squelette de type coumarine. Ce spectre comporte :

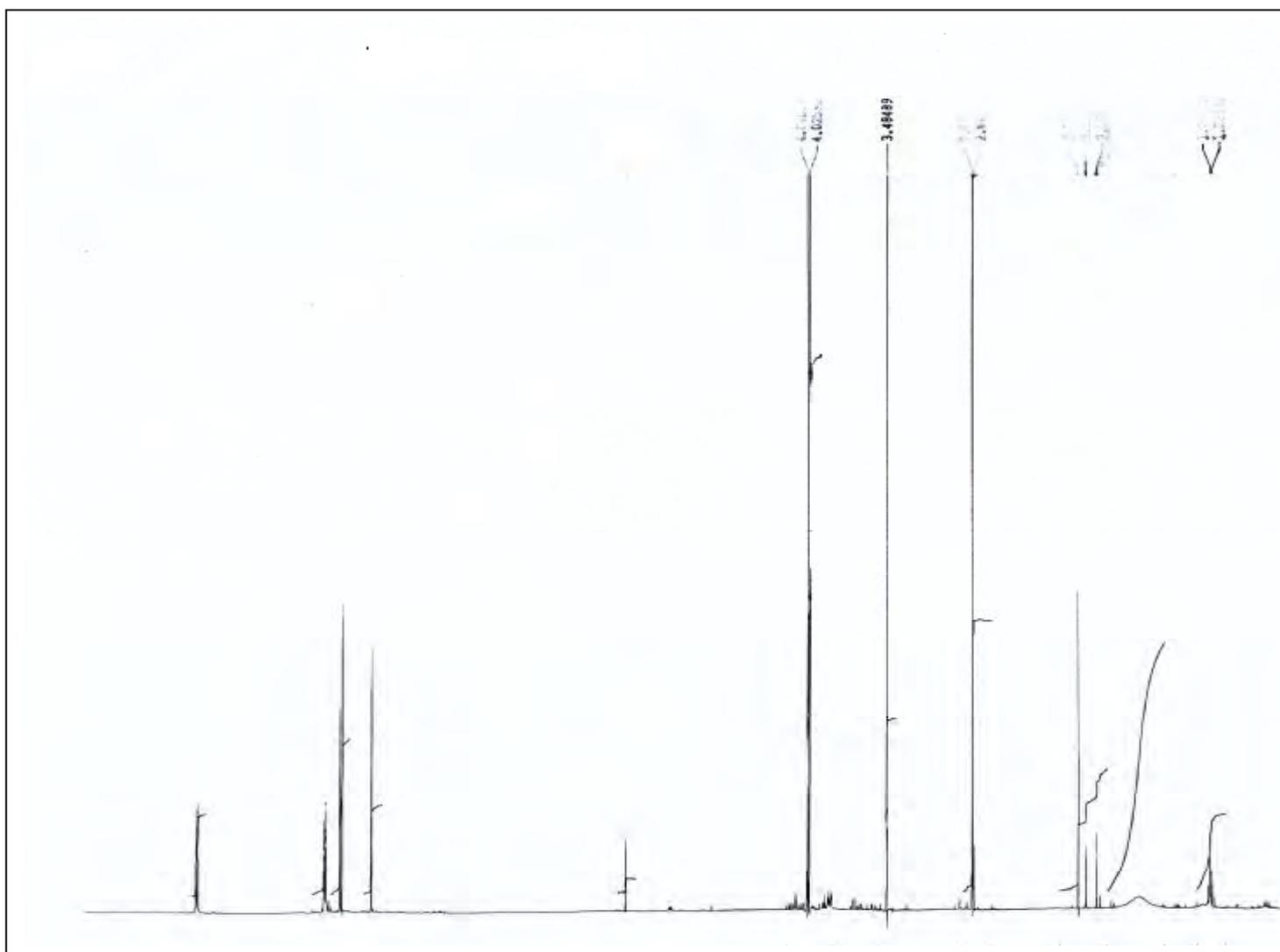
- ✓ Quatre groupements $-\text{CH}$ et cinq carbones quaternaires dont le $\text{C}=\text{O}$ de la coumarine à $\delta=155,4$ ppm.
- ✓ Deux groupements méthoxyles, justifiant ainsi la présence de deux autres carbones quaternaires en plus du $\text{C}=\text{O}$, du $\text{C}-8_a$ et du $\text{C}-4_a$, ceci prévoit la présence de deux substituants oxygénés sur le squelette de la coumarine.



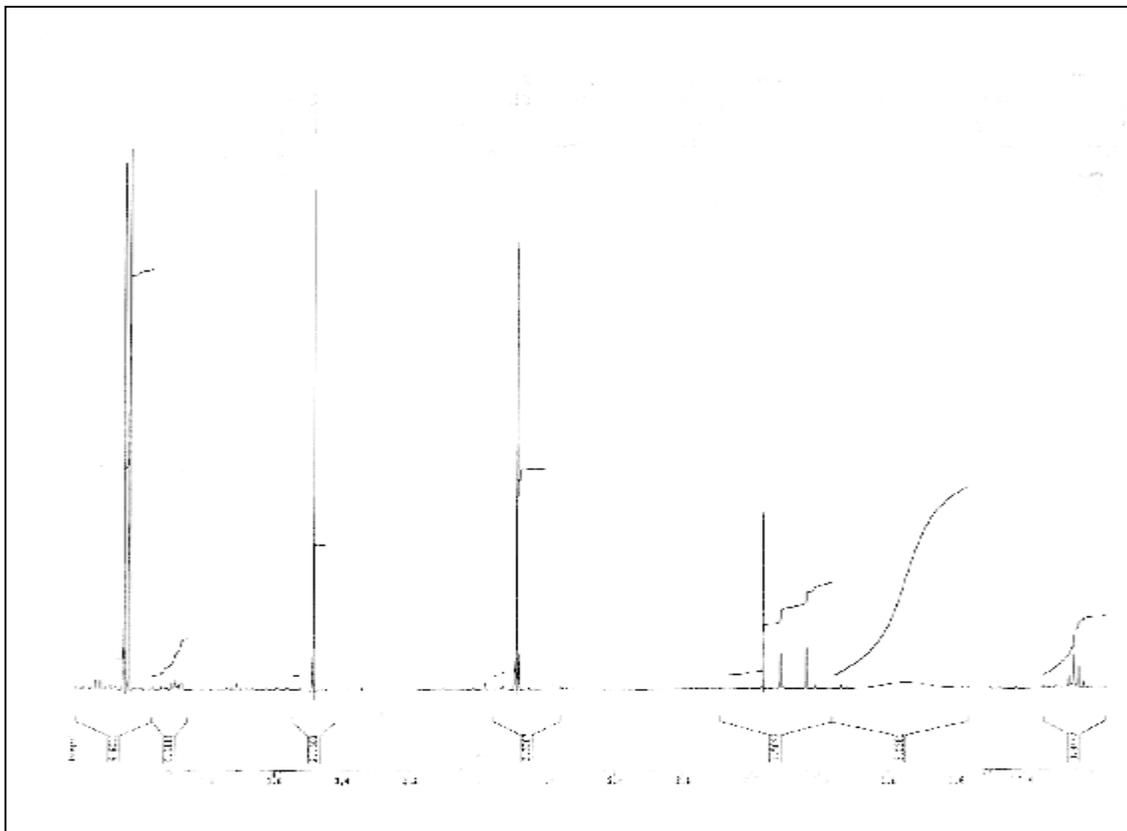
Spectre n° IV-2-3-1 : spectre RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3 , δ ppm) du composé H6-8-1

L'examen du spectre RMN ^1H (spectre n° IV-2-3-2 montre :

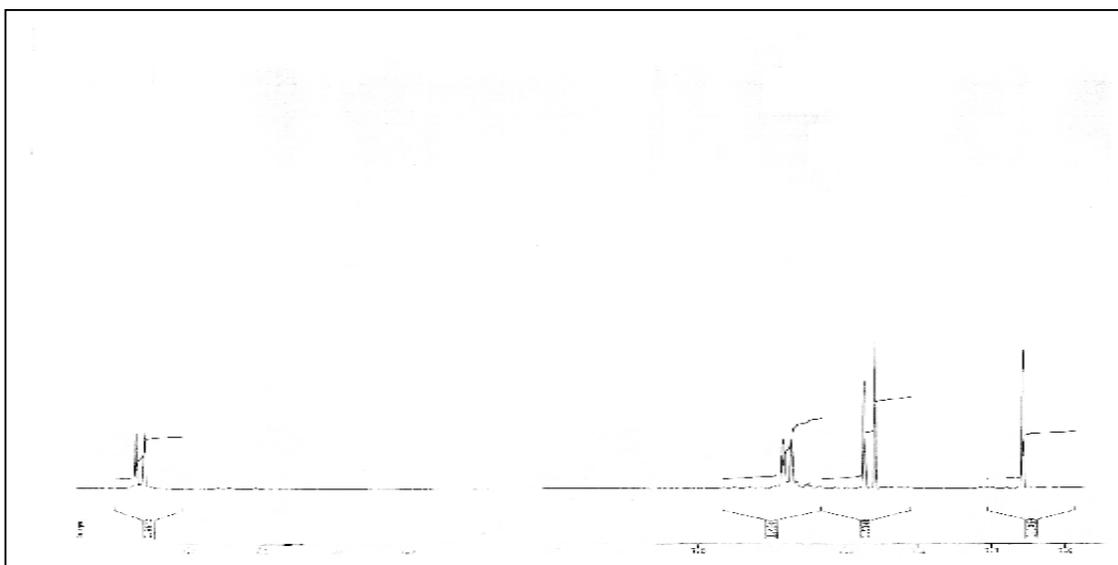
- ▼ Un système AB à $\delta = 7,38$ et $8,27$ ppm ($J = 6,0$ Hz) caractéristique des protons H-3 et H-4 de la coumarine respectivement (réf).
- ▼ Deux singulets d'intégration 1H chacun à $\delta = 7,27$ et $7,06$ ppm, attribuables aux protons H-5 et H-8 respectivement. La position para de ces noyaux repose sur le fait qu'ils ne présentent aucun couplage décelable.
- ▼ Deux singulets d'intégration 3H chacun à $\delta = 4,04$ et $4,03$ ppm, relatifs aux deux groupements méthoxyles cités plus haut, et qui ne peuvent être placés que sur les carbones C-6 et C-7 respectivement [28, 29].



Spectre n°IV-2-3-2 : spectre RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3 , δ ppm) du composé H6-8-1

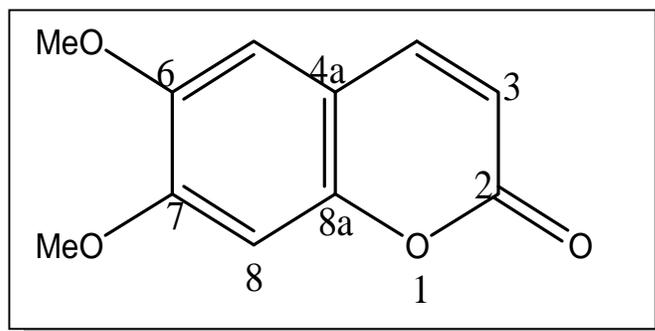


Spectre n°IV-2-3-2 : spectre RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3 , δ ppm) du composé H6-8-1



Spectre n°IV-2-3-2 : spectre RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3 , δ ppm) du composé H6-8-1

Toutes ces données mènent à la structure suivante :



Cette molécule est connue sous le nom de **6,7- Dimethoxy benzopyran-2-one**

Les résultats des études des spectres de RMN ^1H (spectre n°IV-2-3-2) et RMN ^{13}C (spectre n°IV-2-3-1) sont reportés dans les tableaux IV-2-3-a et IV-2-3-b respectivement [28].

Tableau IV-2-3-a : Résultats de la RMN ^1H du composé H6-8-1

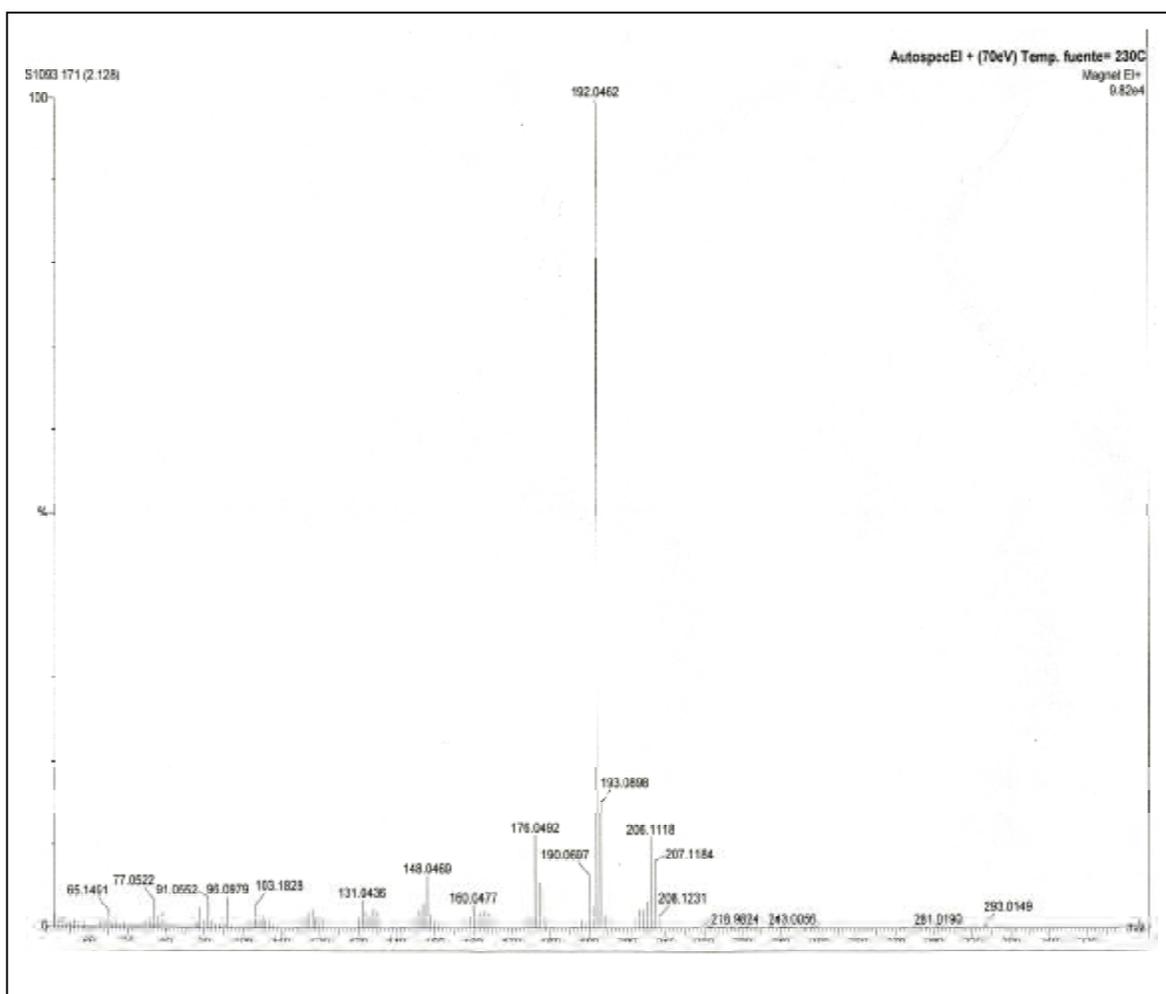
δ (ppm)	Intégration	Multiplicité, J (Hz)	Attribution
7,06	1H	s	H-8
7,27	1H	s	H-5
7,38	1H	d, 6.0	H-3
8,27	1H	d, 6.0	H-4
4,03	3H	s	7 OMe
4,04	3H	s	6 OMe

Tableau IV-2-3-b: Résultats de la RMN ^{13}C du composé H6-8-1

Carbone	δ (ppm)	DEPT 90	DEPT 135
2	155,4	-	C
3	117,4	CH	CH
4	140,3	CH	CH
4a	122,7	-	C
5	104,8	CH	CH
6	132,2	-	C
7	149,4	-	C
8	103,4	CH	CH
8a	152,1	-	C
7 OMe	55,6	-	CH ₃
6 OMe	55,5	-	CH ₃

IV-2-4 LE COMPOSE 4 : H10-C

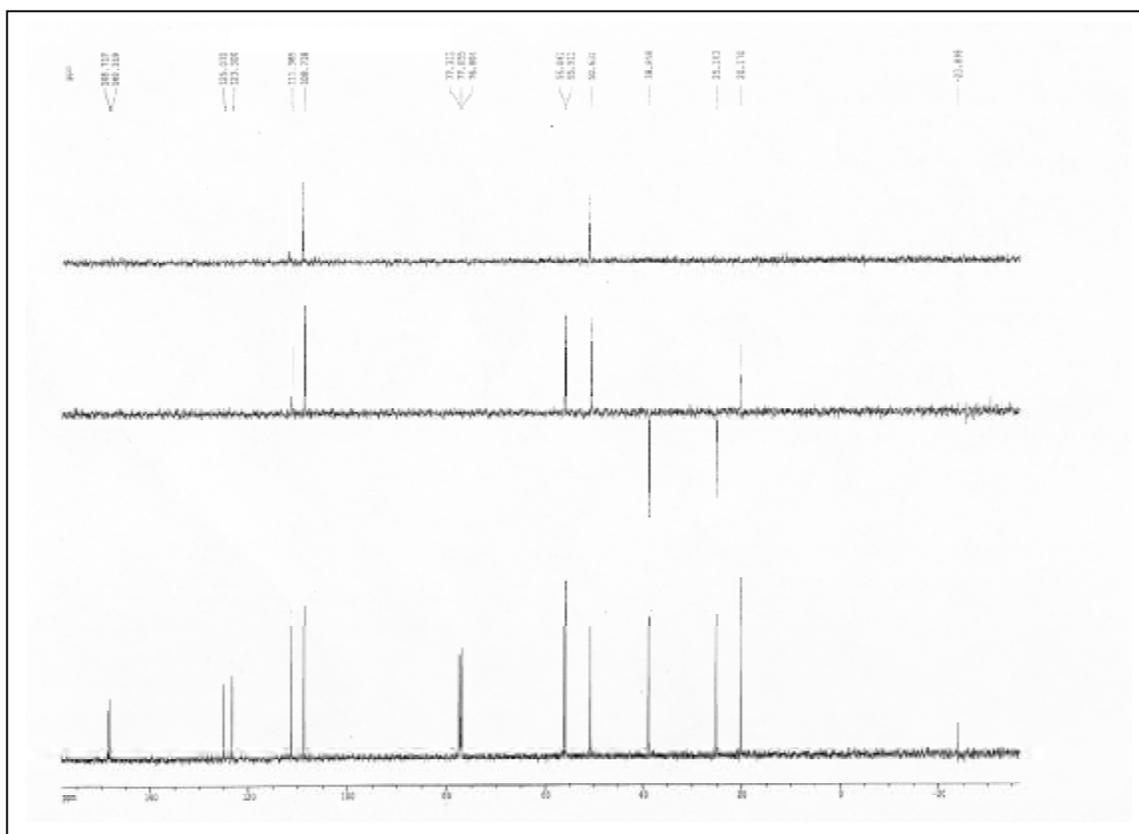
Le spectre de masse (SMHRIE) (spectre n° IV-2-4-1) de ce composé donne un pic moléculaire à $m/z = 207,1184$ correspondant à une formule brute $C_{12}H_{17}O_2N$, soit un composé à cinq insaturations. La présence de $m/z = 65 ; 77$ et 91 prévoit un noyau aromatique lié au moins à un atome de carbone. Ce spectre de masse montre également un signal à 206 Da. correspondant à $[M-1]^+$ prévoyant la possibilité d'une amine secondaire ou tertiaire. Cette hypothèse est soutenue par la présence du pic à $m/z = 192$ correspondant à la perte d'un groupement $-CH_3$ qui pourrait être sur le carbone en α de l'atome de l'azote. Par ailleurs ce spectre montre un signal à $m/z = 176$ correspondant à la perte d'un groupement $-OCH_3$, ce qui laisse prévoir ce type de substitution sur cette molécule.



Spectre n° IV-2-4-1 : Spectre SMHRIE du composé H10-C

Le spectre RMN ^{13}C et ses séquences DEPT (135 et 90) (spectre n°IV-2-4-2) de ce composé confirme la présence de douze atomes de carbone dont :

- ✓ Trois groupements $-\text{CH}_3$ dont deux sous forme de méthoxyles à $\delta = 55,9$ et $56,0$ ppm.
- ✓ Deux groupements $-\text{CH}_2$ hybridés sp^3 à $\delta = 25,1$; $38,8$ ppm.
- ✓ Trois groupements $-\text{CH}$ dont un hybridé sp^3 à $\delta = 20,2$ et deux aromatiques à $\delta = 108,7$ et $111,3$ ppm. Ces données prévoient un noyau aromatique tétra substitué.
- ✓ Quatre carbones quaternaires dont deux oxygénés à $\delta = 148,8$; $148,3$ ppm. Cette donnée permet de placer les deux méthoxyles sur le noyau aromatique.



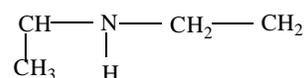
Spectre n° IV-2-4-2 : Spectre RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3 , δ ppm) du composé H10-C

En matière d'insaturations, outre les atomes de carbone du noyau aromatique, tous les autres sont hybridés sp^3 . Ceci laisse supposer la présence d'un cycle dans la molécule.

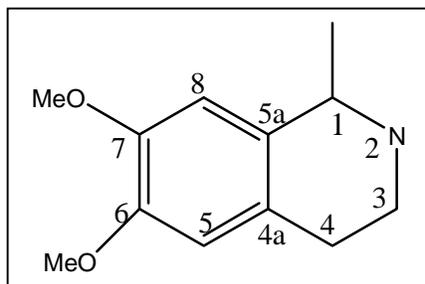
L'examen du spectre RMN ^1H (spectre n° IV-2-4-3) montre qu'il n'y a aucune interaction de couplage entre les deux $-\text{CH}$ aromatiques, ce qui les place en position para.

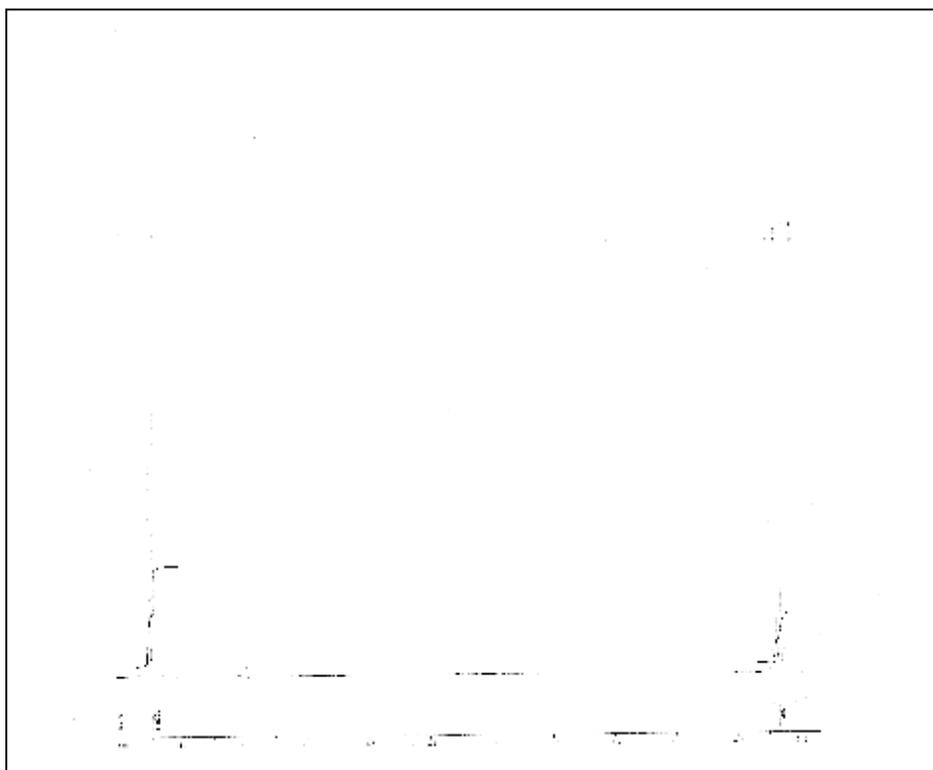
Ce spectre montre également, un doublet ($J = 6,8$ Hz) d'intégration 3H à $\delta = 1,75$ ppm et un quadruplet ($J = 6,8$ Hz) d'intégration 1H à $\delta = 4,50$ ppm, et qui oriente vers la présence d'un enchaînement $-\text{CH}-\text{CH}_3$ et absence de protons couplant sur les atomes voisins du $-\text{CH}$.

Par ailleurs et comme déjà indiqué par l'étude du spectre RMN ^{13}C (spectre n° IV-2-4-2) le spectre RMN ^1H montre la présence de deux groupements $-\text{CH}_2$, formant un système AA' BB', ce qui mène à un enchaînement $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ avec absence de protons couplant sur les atomes voisins. Ce spectre montre également un massif centré à $\delta = 10,06$ ppm d'intégration 1H attribuable à un groupement $-\text{NH}$, l'ensemble de toutes ces données mènent à l'enchaînement :

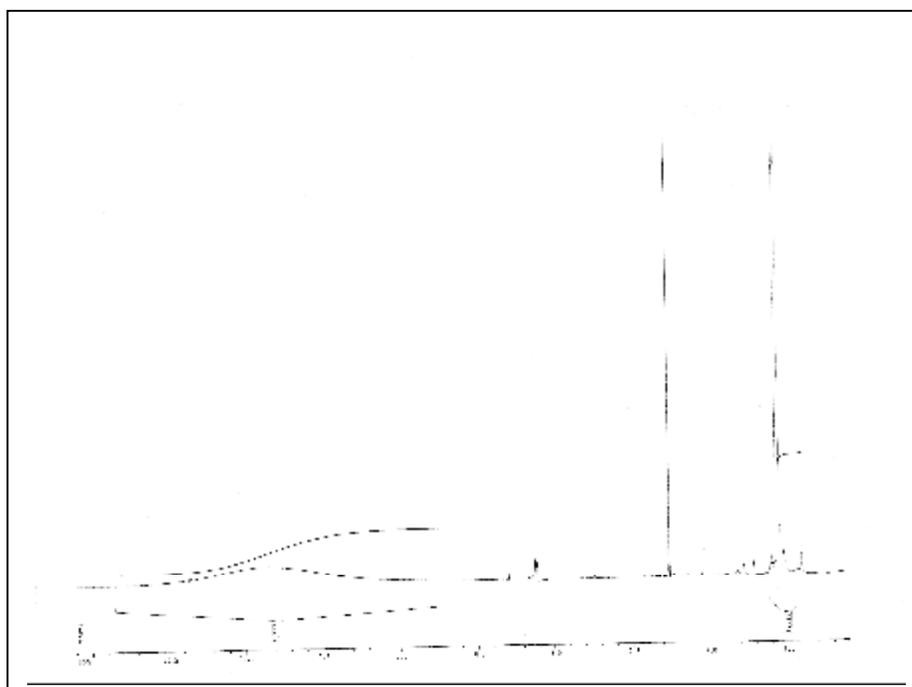


et formation d'un cycle entre cette chaîne et les deux atomes de carbone en position ortho sur le noyau aromatique, ce qui laisse supposer la structure plane représentée comme suit :





Spectre n° IV-2- 4-3 : spectre RMN ^1H étalé 4,4 à 6,5 ppm du composé H10-C



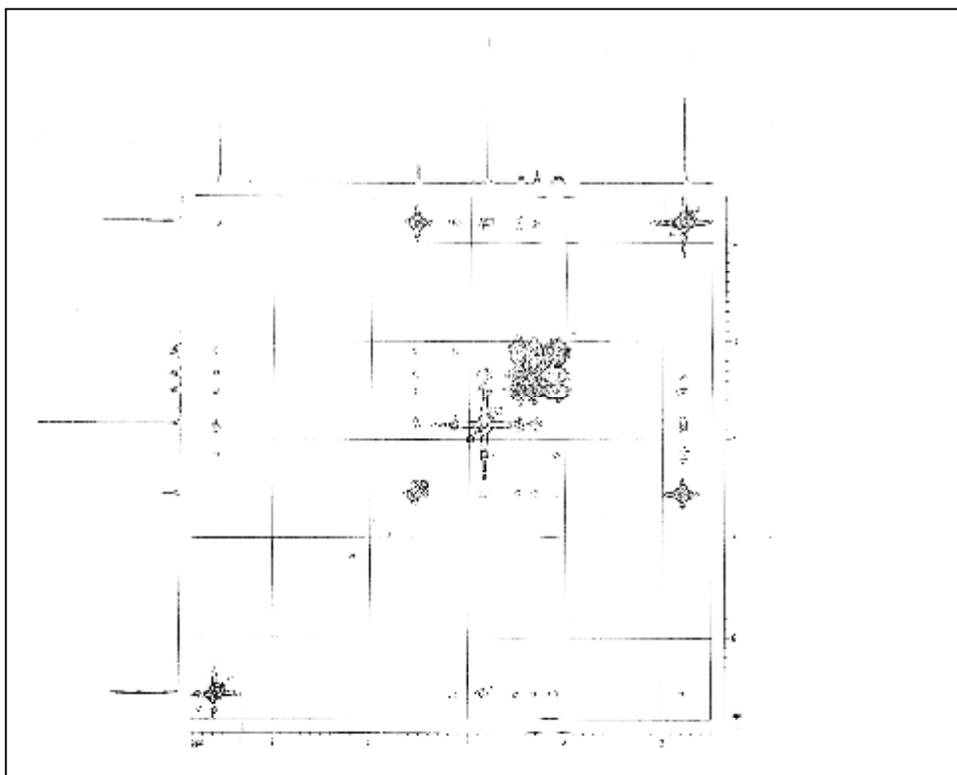
Spectre n° IV-2- 4-3 : spectre RMN ^1H étalé de 6,5 à 10, 5 ppm du composé H10-C

Cette structure est confirmée par l'étude des expériences 2D, COSY (spectre n°IV-2-4-4) ; HSQC (spectre n° IV-2-4-5), et le spectre HMBC (spectre n° IV-2-4-6) qui montre en particulier :

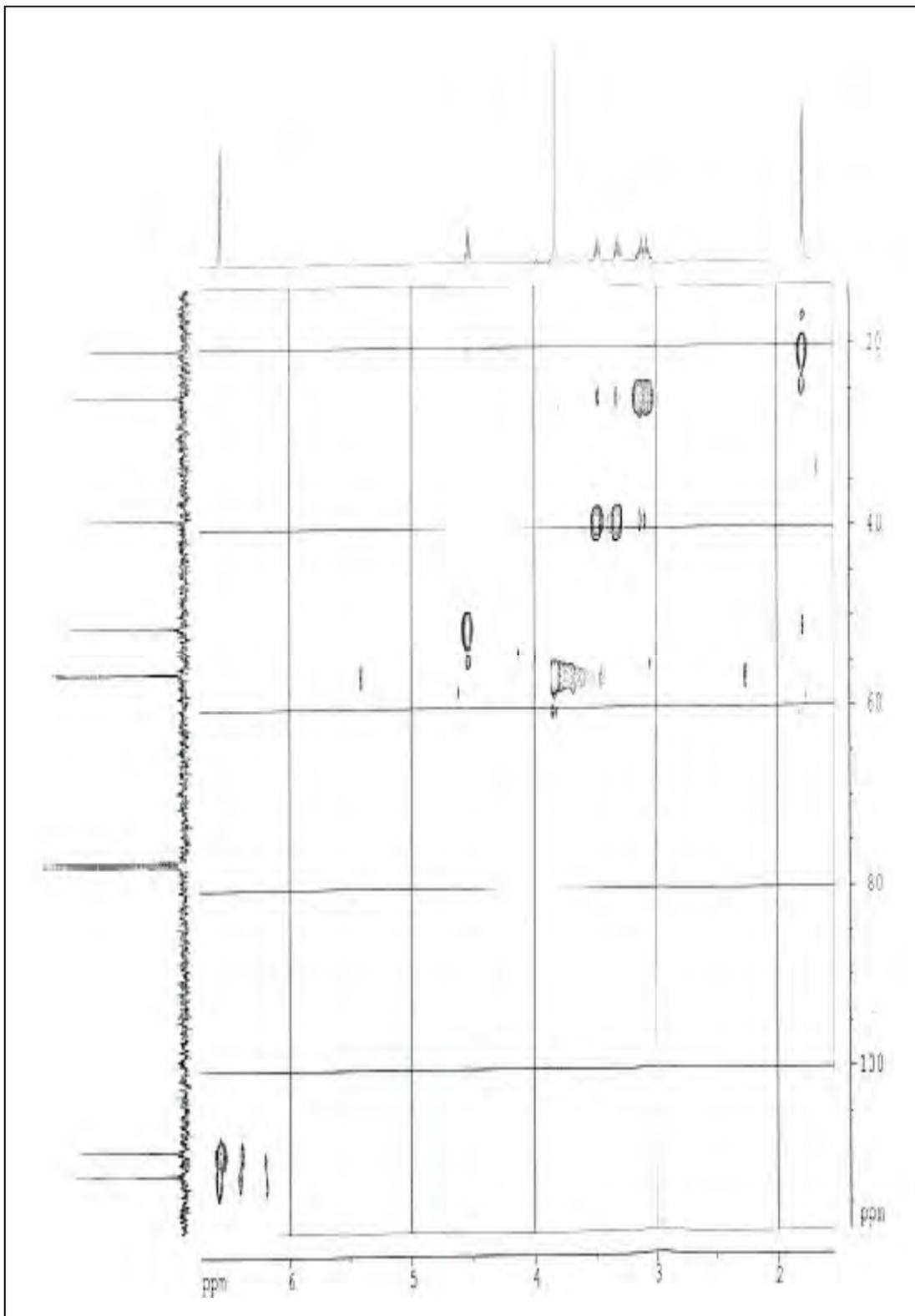
- ▼ Une coorelation entre le proton H₁ et le carbone à $\delta = 38,8$ ppm permettant ainsi son attribution à C-3, ceci permet aussi par déduction l'attribution de C-4.
- ▼ Une coorelation de H₁ et le -CH aromatique à $\delta = 108,7$ ppm permettant ainsi son attribution à C-8, d'où l'attribution de C-5 par déduction.
- ▼ Une corrélation entre les protons du groupement -CH₃ à $\delta = 20,17$ ppm et le carbone à $\delta = 125,0$ ppm permettant son attribution à C-5a et permettant par déduction l'attribution de C-4a.

L'examen du spectre HSQC permet de localiser les protons portés par les carbones attribuant ainsi : H₃ (ax) à $\delta = 3,29$ ppm ; H₃ (eq) à $\delta = 3,48$ ppm ; H₄ (eq) à $\delta = 3,02$ ppm ; H₄ (ax) à $\delta = 3,06$ ppm ; H₈ à $\delta = 6,58$ ppm ; H₅ à $\delta = 6,60$ ppm.

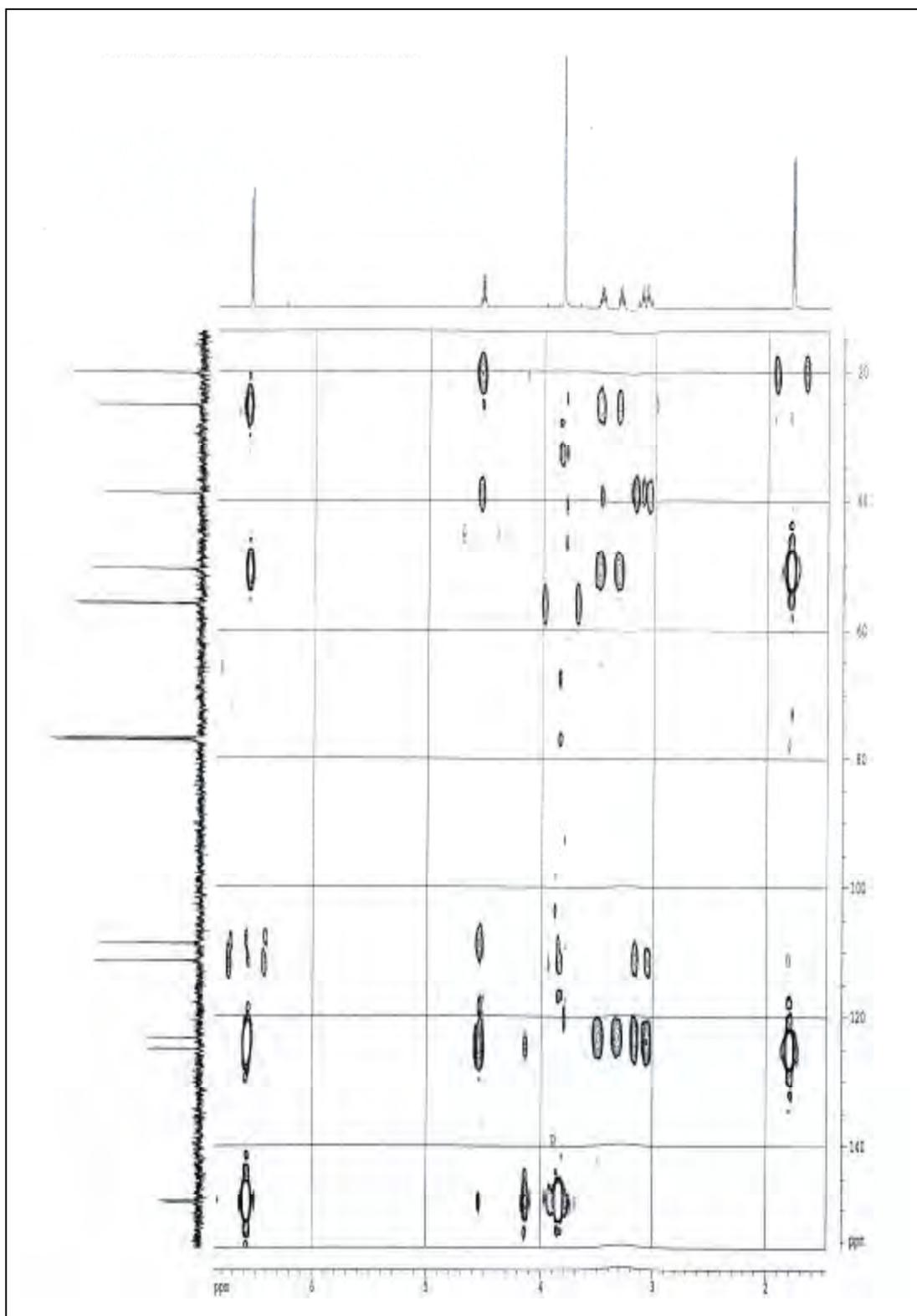
- ▼ Une tache de coorelation entre le H₁ et le carbone à $\delta = 148,7$ ppm permet l'attribution de C-7 et par déduction l'attribution de C-6 à $\delta = 148,3$ ppm.



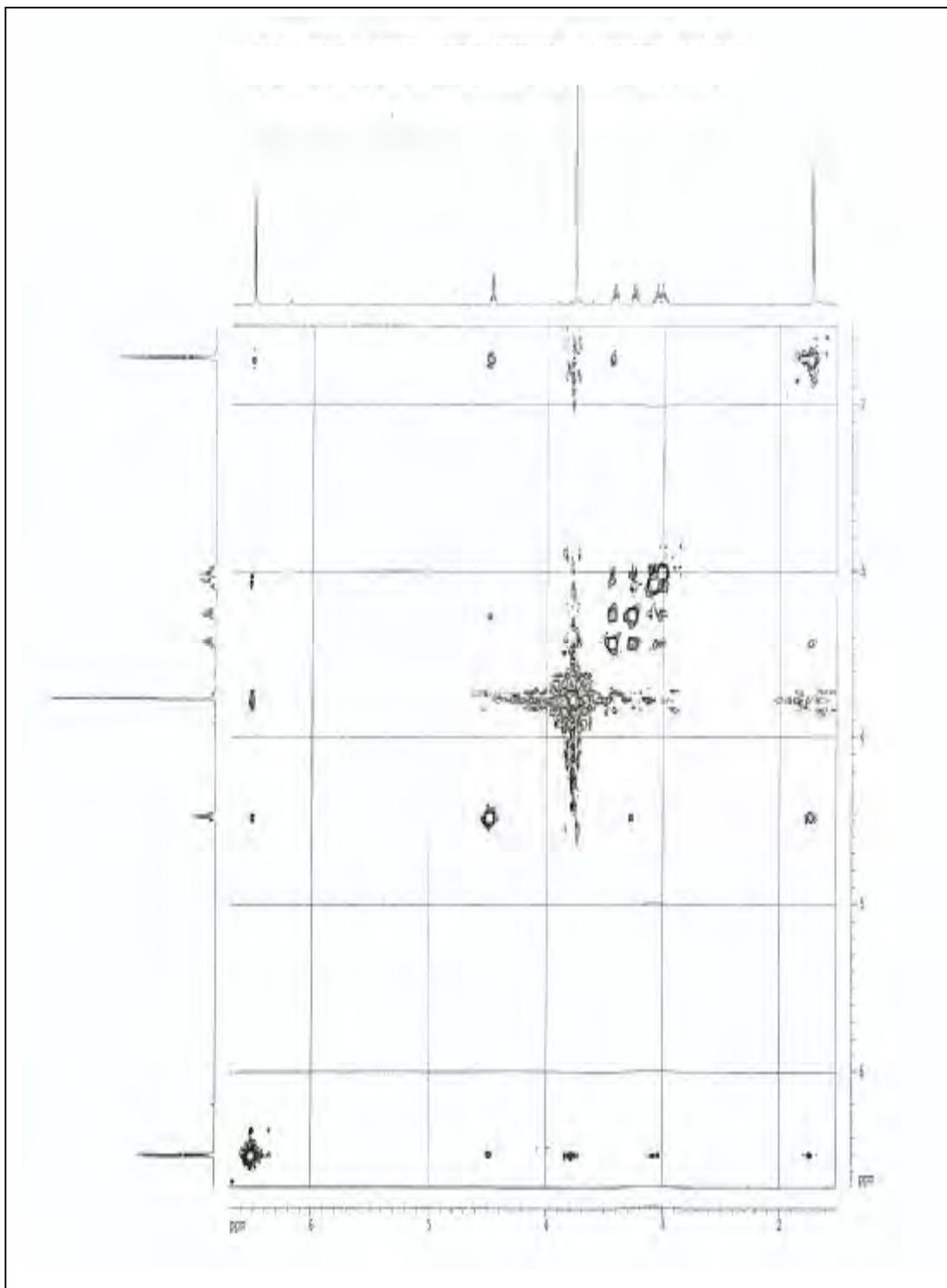
Spectre n° IV-2-C-4 : spectre COSY ¹H-¹H (500 MHz, CDCl₃, δ ppm) du composé H10-C



Spectre n° IV-2- 4-5 : spectre HSQC (500 MHz, CDCl_3 , δ ppm) du composé H10-C



Spectre n° IV-2- 4-6: spectre HMBC (500 MHz, CDCl_3 , δ ppm) du composé H10-C

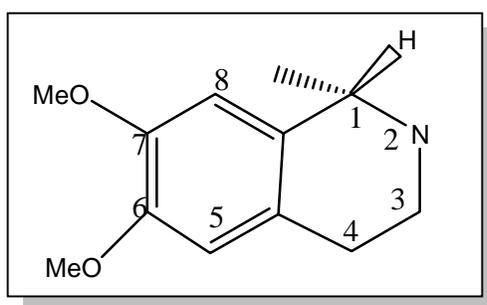


Spectre n° IV-2-4-7: spectre NOESY (500 MHz, CDCl₃, δ ppm) du composé H10-C

La stéréochimie du centre chiral est déterminée par l'étude du spectre NOESY (¹H-¹H)

(spectre n°IV-2-4-7) qui montre en particulier une corrélation NOE entre le groupement –CH₃ et le H équatorial du C-3. Ce qui permet de placer le –CH₃ en position équatoriale et par conséquent le H₁ en position axiale, ceci est appuyé par la coorelation NOE entre ce proton et le proton axiale en C-3.

De l'ensemble de tous ces résultats, nous avons pu identifier cette molécule comme : **(1S) 1,2,3,4 – tétrahydro - 6,7 dimethoxy-1- methyl isoquinoline**. D'où la structure développée suivante.



(1S) 1,2,3,4 – tétrahydro - 6,7 dimethoxy-1- methyl isoquinoline

Cette molécule a été isolée de : *Salsola Richteri* et *S. arbuscula* (chénopodiacées), elle est connue sous le nom de Salsolidine. Avec la configuration (R) elle été isolé de *Génista Purgans* [30].

Comme c'est montré plus haut dans la partie analyse stéréochimique, la configuration est (S). Ceci est confirmé par le signe du pouvoir rotatoire spécifique négatif

$$[\alpha]_D^{20} = -25^\circ (c = 0,02, \text{méthanol}) \text{ connu pour cet énantiomère.}$$

Les données relatives à nos résultats spectroscopiques sont reportées dans les tableaux IV-2-4-a et IV-2-4-b respectivement.

Tableau IV-2-4-a : Résultats de la RMN¹H et la NOESY du composé H10-C

H	δ (ppm), J (Hz)	NOESY
1	4.50 ; 1H ; q ; J=6.8	H ₃ (ax), H ₈ , CH ₃
3 (ax)	3.29 ; 1H; m	H ₄ , H ₃ (eq)
3 (eq)	3.48 ; 1H ; m	CH ₃ , H ₃ (ax), H ₄
4 (ax)	3,02 ; 1H ; m	H ₄ (eq), H ₃
4 (eq)	3.06 ; 1H ; m	H ₄ (ax), H ₃ , H ₅
5	6.60 ; 1H ; s	H ₄ (eq), OCH ₃
8	6,58 ; 1H ; s	CH ₃ , OCH ₃ , H ₁
CH ₃	1.75 ; 3H ; d ; J=6.8 Hz	H ₈ , H ₃ (eq), H ₁
OCH ₃	3.82 ; 6H ; s	H ₅ , H ₈

Tableau IV-2-4-b : Résultats de la RMN¹³C et les expériences HSQC et HMBC du composé H10-C

C	δ (ppm)	HSQC	HMBC
1	50.6	CH	H ₈ , H ₃ , CH ₃
3	38.8	CH ₂	H ₁ , H ₄
4	25.2	CH ₂	H ₅ , H ₃
4a	123.3	C	H ₈ , H ₃ , H ₄ , H ₅
5	111.3	CH	H ₄ , OCH ₃
5a	125.0	C	H ₁ , CH ₃ , H ₅ , H ₈
6	148.3	C	OCH ₃ , H ₅ , H ₈
7	148.7	C	H ₁ , OCH ₃ , H ₅ , H ₈
8	108.7	CH	H ₁
CH ₃	20.17	CH ₃	H ₁
OCH ₃	55.9	CH ₃	-
OCH ₃	56.0	CH ₃	-

V-I MEHODES CHROMATOGRAPHIQUES ANALYTIQUES

V-I-I CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE (CCM) :

Les analyses par chromatographie sur couche mince sont effectuées avec des plaques de gel de silice 60 F₂₅₄ sur feuille d'aluminium (Merck). Après développement dans des cuves en verre, les plaques ont été observés à la lumière du jour, et sous lampe UV à 254 et 366 nm. Selon les cas, elles sont ensuite révélées par un réactif de détection, soit l'anisaldehyde qui est constitué par : acide acétique/ anisaldehyde/ acide sulfurique/ éthanol ou méthanol dans les proportions respectives : 0,4/ 1/ 1,3/ 36,4 ml ; Soit par le révélateur acide constitué par les volumes respectifs : 8 / 1 / 1 eau / acide acétique / acide sulfurique ; ou encore le réactif de Godin qui est formé par un mélange 1 / 1 d'une solution éthanolique de vanilline à 1% et d'une solution aqueuse d'acide perchlorique à 3%. Après développement et examen sous UV ; les plaques sont ensuite pulvérisées avec un de ces réactifs, puis chauffées à 100° jusqu'à apparition de taches de diverses couleurs.

V-I-2 CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE À HAUTE PERFORMANCE :

Les analyses ont été réalisées avec chromatographe à haute pression Hewlett- Packards (**HP**) serie1050 équipé d'un détecteur UV Visible et d'un détecteur de fluorescence Shimadzu. Cet appareil est équipé d'un passeur d'échantillon modèle HP 1050 et de quatre pompes modèle HP 1050. L'appareil est également équipé d'un dégazeur modèle dégasy **DG-2410**. La colonne Spherisorb (**ODS2**) utilisée est de type phase inverse, silice greffée C18 de granulométrie 5 µm, de longueur 250 mm et de diamètre interne 4,6 mm.

V-II METHODES PREPARATIVES :

V-II-I CHROMATOGRAPHI LIQUIDE SUR COLONNE (C.C) :

V-II-I-1 CHROMATOGRAPHIE D'ADSORPTION :

Des colonnes ouvertes de gel de silice 60 (230-400 mesh, Merck) et d'alumine ont été utilisées pour le fractionnement des extraits. La taille des colonnes, la granulométrie de la phase solide, le débit de la phase mobile, ont été adaptés à la quantité des échantillons (extraits, fractions) à séparer. Le choix des conditions d'élution, le suivi de la séparation et le rassemblement final des fractions ont été effectués sur la base d'analyses par CCM. Les échantillons ont été introduits sous forme solide.

V-II-I-2 CHROMATOGRAPHIE D'EXCLUSION :

Les chromatographies d'exclusion ou filtration sur gel ont été réalisées pour purifier les produits. Elles ont été effectuées sur sephadex LH-20 avec le MeOH comme éluant. Le suivi des séparations a été fait sur la base d'analyse par lampe UV à 366nm.

V-II-II CHROMATOGRAPHIE SUR PLAQUES PREPARATIVES :

Les chromatographies couche mince sur plaques préparatives 20 × 20 cm ont été effectuées avec du gel de silice 60 F₂₅₄ ou sur polyamide DC6.6 afin de purifier les produits isolés.

V-II-III CHROMATOGRAPHIE SUR PAPIERS:

Elle est basée sur l'utilisation d'une surface plane de cellulose considérée comme support qui maintient par imprégnation une phase stationnaire liquide [1], les systèmes de solvants les plus utilisés dans cette technique sont:

- ▼ L'acide acétique / eau
- ▼ Le *n*-butanol / Acide acétique / Eau : 4 / 1 / 5

Nous avons utilisé le papier Wattman III, pour la séparation de certains flavonoïdes.

V-III METHODES PHISICO-CHIMIQUES :

V-III-I POUVOIR ROTATOIRE SPECIFIQUE ($[\alpha]_D$) :

Le pouvoir rotatoire spécifique des composés présentant des centres asymétriques est déterminé avec un polarimètre 343 (Perkin Elmer). La rotation angulaire α de la lumière polarisée de longueur d'onde D soit 589 nm des produits dissous dans le solvant est mesurée à température ambiante (20°C). Le pouvoir rotatoire spécifique $[\alpha]_D$ est alors défini comme suit :

$$[\alpha]_D^t = \alpha / l \times C$$

α : valeur mesurée

l : longueur de la cellule en dcm

C : concentration en g /ml

t : température.

V-III-II SPECTRES D'ABSORPTION ULTRAVIOLET (UV) :

C'est la méthode la plus importante pour l'identification des structures flavoniques. Elle est basée essentiellement sur l'enregistrement d'un spectre dans un milieu alcoolique (méthanol ou éthanol) qui sera caractérisé par deux bandes d'absorption principales [2], (figure V-1).

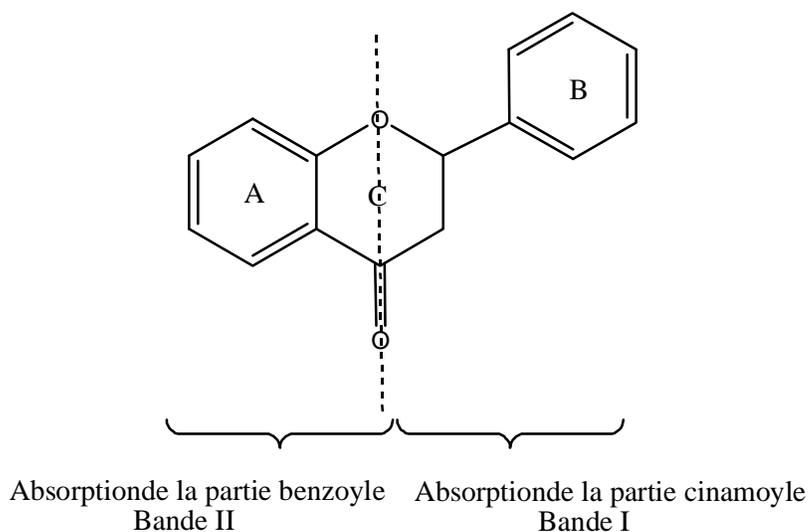


Fig. V-1 : Les bandes caractéristiques d'un squelette flavonique

Bande I : présentant un maximum d'absorption entre 300 et 400 nm, elle est attribuée à l'absorption du système cinnamoyle qui résulte de la conjugaison du groupement carbonyle avec la double liaison (C2-C3) et le noyau B, elle donne, des renseignements sur les variations structurales du cycle B et l'hétérocycle C.

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 [3].

Les spectres d'absorption UV Visible sont réalisés sur un **Spectrophotomètre SCHIMADZU** (190-3200 nm, UV-3101PC, UV-Vis-Nir scanning).

V-III-III SPECTRE DE MASSE (MS) :

Les spectres de masse (SMIE) sont réalisés sur un spectromètre quadripolaire R200C, (P2A) MSCAN : Wallise R Computer. Et les spectres de masse (EI⁺) sur un spectromètre VG. Autospect Magnetic sector EI⁺ (70 eV).

V-III-IV SPECTRE DE RESONANCE MAGNETIQUE NUCLEAIRE

(RMN) :

Les spectres RMN ¹H, RMN ¹³C et ses séquences DEPT (90 et 135) sont réalisés sur des appareils **BRUKER**, de fréquences d'observation 250, 300, 400 et 500 MHz. Les expériences bidimensionnelles NOESY, COSY, HSQC, HMBC, sont enregistrées à 500 MHz. Les échantillons sont dissous dans des solvants deutérés CDCl₃, et MeOH-d₄. Les déplacements chimiques δ ont été exprimés en ppm par rapport au déterium du solvant (Locke).

V-IV METHODES CHIMIQUES :

V-IV-I HYDROLYSE ACIDE DES FLAVONOIDES O GLYCOSILES :

L'identification des aglycones et des sucres des parties osidiques des flavonoides O-glycosylés présents dans l'extrait de *G.tricuspidata* Desf a été complétée par hydrolyse acide.

Cette opération comporte les étapes suivantes :

- ▼ L'hydrolyse de 0,1 mg d'hétéroside par ml d'une solution de HCl (1N) durant deux heures dans un bain marie bouillant.
- ▼ Après refroidissement, l'aglycone est extrait de la solution acide par l'éther. L'aglycone est identifié par UV et par co-chromatographie en présence de témoins.
- ▼ La phase aqueuse résiduelle est évaporée à sec et reprise par une goutte d'eau pour l'identification des sucres, pour cela :
 - Une CCM en présence des sucres témoins s'effectue sur une plaque de gel de silice imprégnée d'une solution de NaH_2PO_4 (0,2 M), l'élution se fait dans le mélange acétone / eau (9:1).
 - La révélation des sucres se fait par pulvérisation d'une solution de malonate d'aniline dont la composition est la suivante :
 - Ø 1 g d'acide malonique
 - Ø 1 cm^3 d'aniline
 - Ø 3 cm^3 d'acide phosphorique
 - Ø 100 cm^3 d'éthanol
 - Après séchage de 10 mn à 100°C, les taches apparaissent brunes dans le visible et jaunes en UV.

V-IV-II REACTION DE LIBERMANN-BURCHARD POUR LES TRITERPENES :

Une des techniques capables de déceler la présence de stérols et de triterpènes dans un extrait avant séparation, consiste en la réaction de Liebermann-burchard [4]. Après obtention d'un chromatogramme réalisé sur plaque analytique de gel de silice, la totalité de la surface éluee est aspergée par le mélange de chloroforme et d'anhydre acétique (1 /1 V/ V), puis passé sur les vapeurs de H_2SO_4 concentré. . Les taches des composés triterpéniques des groupes oléane et ursane, prennent une coloration rose cerise ou rose brune et ceci à la lumière du jour, Tandisque les stéroïdes se colorent en vert [5].

REFERNCES:

- [1] **Mabry, T.J., Markham, K.R. and Thomas, M.B. (1970),**
The systematic identification of flavonoids. Springer-Verlag New York, Heidelberg.
254
- [2] **Jurd, L. and Horowitz, R. (1962),**
Spectral properties of flavonoid compounds, pergamon press, Oxford, pp. 107-2055.
- [3] **Markham, K.R. (1982),**
Technique of flavonoides identification, Academic press, London.
- [4] **PASICH B. (1960),**
Dissert. Pharm, Pol, **12**, 201.
- [5] **PASICH B. (1961),**
Dissert. Pharm. Pol, **13**, 1.

CONCLUSION

GENERALE

Les produits naturels et métabolites secondaires issus d'organismes vivants ont été et sont encore exploités dans des applications telles l'alimentation, les arômes, les pigments, les insecticides et les médicaments. Historiquement, ce sont les plantes qui ont été la source majeure de produits naturels à vocation médicinale. Aujourd'hui, 26% des ventes pharmaceutiques sont des médicaments issus de plantes et 12% issus de production bactérienne.

Dans ce mémoire, nous nous sommes intéressés aux différents métabolites secondaires issus de deux plantes différentes appartenant à la flore Algérienne. L'une du genre *Genista*, *G. tricuspidata* Desf. espèce endémique de la famille des légumineuses, l'autre du genre *Haloxylon*, *H. scoparium*, plante médicinale appartenant à la famille des chénopodiacées.

Après extraction hydroalcolique des parties aériennes des deux plantes, suivie des différents affrontements au CHCl_3 , ACOEt, et le *n*-butanol, nous avons soumis les phases organiques obtenues aux différentes méthodes chromatographiques à savoir (colonne, CCM sur gel de silice et sur polyamide, papier Wattman, Etc.....). Pour l'établissement des structures des composés isolés, nous avons fait appel aux différentes techniques physico-chimiques notamment : la spectroscopie d'absorption UV-Vis, la RMN ^1H , la RMN ^{13}C et leurs séquences bidimensionnelles, ainsi que la spectrométrie de masse à haute résolution I.E et FAB, et l'hydrolyse acide.

Ainsi, l'étude phytochimique des phases polaires et semi polaires menée sur *G. tricuspidata* Desf. à permis l'isolement de vingt produits purs et natifs et la détermination des structures suivantes :

- ▼ Trois isoflavones.
- ▼ Quatre flavonoides.
- ▼ Une flavane.
- ▼ Deux triterpènes
- ▼ Un diterpène
- ▼ Un phtalate.

L'étude phytochimique de la composante semi polaire menée sur *H. scoparium*, a permis l'isolement de six produits purs et natifs et la détermination structurale de :

- ▼ Un stérol.
- ▼ Une coumarine.

✓ Un alcaloïde.

✓ Un phtalate.

Les résultats obtenus montre que l'espèce *G. tricuspidata* est riche en composés phénoliques et en triterpènes. Ces deux métabolismes soulignent des propriétés biologiques remarquables qui sont signalées dans des travaux scientifiques publiés dans la littérature.

L'espèce *H. scoparium* reconnue riche en alcaloïdes a permis dans le cadre de ce travail, l'obtention de structures diversifiées à partir de la phase chloroforme. Cependant, il faut signaler que la phase *n*-butanol très riche en composés phénoliques fait l'objet d'études à part.

Références bibliographiques :

- [1] **S.Habibtani, (2005)**, thèse de magistère, étude phytochimique et pharmacologique des algues rouges de l'espèce *Jania rubens* pp. 61-62.
- [2] **P. Boiteau, B. Pasich et A.Rakoto Ratsimamanga, (1964)**, Les triterpénoïdes en physiologie végétale et animale, ed. Gautier-Villars Paris.
- [3] **K. Chaudari and H.M. Chawla, (1987)**,
J. Nat. Prod. (Lloydia), **50**, 1183.
- [4] **S. Oksuz and G. Topçu.(1987)**,
Phytochem., **26**, 3082.
- [5] **G. Morales and J. L. Mc, Larghlu, (1989)**,
J. Nat. Prod. (Lloydia), **52**, 381.
- [6] **E. Plotis., N.D. Bjorkwist., O. Bjorkqwuist and S. Sarkanen. (1973)**,
J. Amer. Chem. Soc., **91**, 23
- [7] **W. David Nes, Robert A. Norton and Mabry Benson. (1992)**,
Phytochem. , **31**, 805.
- [8] **T. J. Mabry, K. R. Markham and M. B. Thomas, (1970)**,
The Systematic Identification of Flavonoids Springer-Verlag, New York. Heidelberg.
Berlin.
- [9] **R. G. Cooke., (1971)**, Aust. J. Chem., 24, 1257.
- [10] **Shibnath Ghosal, Yattendra Kumar, Dilipk. (1986)**,
Phytochem., **27**, 1097.
- [11] **H. Z. Xue, Z. Z. Lu., C. Konno. , D. D. Soejarto., G. A. Cordel., H. S. S. Fong and W. Hodgson., (1988)**, Phytochem., **27**, 233.
- [12] **M. Sawadogo., A. V. Tessier and P. Delavau., (1985)**,
Ann. Pharm. Fr., **43**, 89.
- [13] **S. Hunneck and J. M. Lehn, (1963)**,
Bull. Soc. Chim. Fr. 321.
- [14] **C. Djerassi, R M. Mc. Donald and A. J. Lem., J. Amer., (1953)**,
Chem. Soc., **75**, 5940.
- [15] **J. Zimmermann., (1936)**, Helv. Chim. Acta., 19, 246.
- [16] **A. G. Perkin, (1909)**, J. Chem. Soc., 95, 2181.
- [17] **J. B. Harbone, (1962)**, Phytochem., **8**, 1449.
- [18] **K. R. and T.J. Mabry, (1968)**, Phytochem., **7**, 791.
- [19] **L. Farkas. (1964)**, Tet. Lett., 3919

- [20] **R.R. Paris.**, (1965), C.R. Acad. SCI. PARIS
- [21] **W. Rahman**, (1964), J. Org. Chem., **27**, 153
- [22] **L. Horhammer.** (1966), Tet. Lett., 567
- [23] **B. Gentili.**, (1964), Tet., **20**, 2313
- [24] **A. Ulubellen, S. Oksuz, B. Halfon, Y. Aynehchi, T. J. Mabry and S. A. Matlin.**, (1984), Phytochem., **23**, 2941.
- [25] **A. G. Perkin** (1998), The naturel organic colouring Matters, Longman.
- [26] **E. C. Bate-smiths, Margaret Davenport and J.B. Harbone**, (1967), phytochem., **6**, 1407.
- [27] **Ness, D.W., Norton, R.A., Benson, M.**, (1992), Phytochemistry, **31**, pp. 805-811.
- [28] **Guang-Nong Zhang a, Ling-Yan Zhong c, S.W. Annie Bligh d, Ying-Li Guo c, Chao-Feng Zhang a, Mian Zhang a, Zheng-Tao Wang a,b, Luo-Shan Xu** (2005), Phytochemistry, **66**, pp.1113–1120.
- [29] **W. Kisiel, K. Michalska**, (2002), Fitoterapia, **73**, pp. 544-546.
- [30] **I. W. Southon and J. Buckingham**, Dictionary of Alcaloids 1035.

RESUME

La phytochimie est en liaison étroite avec la pharmacologie, qui, à son tour est en collaboration étroite avec la médecine. Les métabolites secondaires issus des plantes ont des effets thérapeutiques remarquables, notamment les polyphénols, les terpènes, et les alcaloïdes. Cette étude porte sur l'investigation phytochimique et structurale de : *Genita tricuspidata* Desf, plante endémique appartenant à la famille des légumineuses, et *Haloxylon scoparium*, plante médicinale appartenant à la famille des chénopodiacées.

Dans cette thèse, nous avons présenté, une étude bibliographique sur la famille et le genre de ces deux plantes, ainsi que les principaux métabolites secondaires qu'elles recèlent et l'intérêt thérapeutique de quelques unes de ces espèces. Aussi, nous avons présenté un aperçu général sur les différents squelettes terpéniques et leurs biogénèses.

Les différentes méthodes chromatographiques de séparation utilisées dans notre expérimentation ont permis l'isolement de vingt produits des phases polaires et semi polaires de *G. tricuspidata* Desf et la détermination structurale de treize d'entre eux.

Concernant l'espèce *H. scoparium*, cette étude a permis l'isolement de six produits et la détermination structurale de quatre d'entre eux.

Toutes les structures ont été établies par les méthodes d'analyse spectroscopique modernes.

MOTS CLES :

Phytochimie, plantes médicinales, métabolites secondaires, Fabaceae, Chenopodiaceae.

ABSTRACT

Phytochemistry is in close connection with the pharmacology, which, in its turn is in close cooperation with medicine. The secondary metabolites resulting from the plants have remarkable therapeutic effects, in particular the polyphenols, terpenes, and alkaloids. This study relates to the phytochemical and structural investigation of *Genita tricuspidata* Desf. endemic plant belonging to the Fabaceae family and *Haloxylon scoparium*, medicinal plant belonging to the Chenopodiaceae family.

In this thesis, we presented a bibliographical study on the family and the kind of these two plants, as well as the principal secondary metabolites which they conceal and therapeutic interest of some of these species. Also, we presented highlights on the various terpenic skeletons and their biogenesis.

The various chromatographic methods used in our experimentation led to the isolation of twenty compounds from the polar and the semi polar phases of *G. tricuspidata* Desf. and the structural determination of thirteen of them.

Concerning the species *H. scoparium*, this study allowed the isolation of six compounds and the determination of four of them.

All the structures were established through modern spectroscopic analysis.

Key Words:

Phytochemistry, medicinal plants, secondary metabolites, Fabaceae, Chenopodiaceae.