

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

Université Mentouri- Constantine
Faculté des Sciences

EXACTES

Département de Chimie

N° d'ordre:.....

Série:

THESE

Présentée pour obtenir le diplôme de Doctorat d'Etat

En Chimie Organique- Option: Phytochimie

Thème

**Recherche et Détermination Structurale des Métabolites
Secondaires de *Achillea ligustica* (Anthemideae), et
Ranunculus cortusifolius (Ranunculaceae)**

Par:

Sous la direction du professeur:

Azzedine BOUDJERDA

Fadila BENAYACHE

Devant le jury:

M^f Samir BENAYACHE Professeur, univ. Mentouri Constantine Président

M^{me} Fadila BENAYACHE Professeur, univ .Mentouri –Constantine Directrice

de thèse, Rapporteur.

M^f Mohamed LAABASSI .Professeur univ.Elhadj Lakhdar Batna Examineur

M^f Abderrahmane TENIOU Professeur, univ .Mentouri Constantine..... Examineur

M^f Smail KHELLILI. M.C., univ. Abdelhek Benhamouda Jijel Examineur

Mebrouk BELGHOBSSI... M.C., univ . Abdelhek Benhamouda Jijel Examineur

Dédicaces

✚ A la mémoire de mon père.

✚ A ma mère que Dieu la protège.

✚ A ma femme, et à mes enfants pour leur soutien dans les moments les plus difficiles.

✚ A tous mes amis.

Je dédie ce modeste travail

Azzedine.

Remerciements:

Il m'est très difficile d'exprimer en quelques lignes toute ma gratitude à M^{me} le professeur **Fadila BENAYACHE** ma directrice de thèse, leader et guide scientifique. Sa disponibilité permanente et son aide ont été d'un soutien dont je suis particulièrement reconnaissant. Sa compétence et ses conseils avisés m'ont été d'un grand secours. Merci encore, pour m'avoir donné la chance d'effectuer ce travail dans votre groupe et de m'avoir fait confiance.

J'exprime toute ma gratitude et mes remerciements au Professeur Jaime BERMEJO. de l'instituto de productos Naturales y agrobiologia, Antonio GONZALEZ la Laguna (Tenerife), Pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire, durant mon détachement, pour son encadrement attentif, son enthousiasme et ses compétences.

Je tiens à remercier vivement le Professeur Samir.BENAYACHE université Mentouri de Constantine pour l'intérêt qu'il a porté à mon travail. C'est pour moi un honneur qu'il ait accepté de présider le jury de cette thèse.

Je suis sensible à l'honneur que me font Messieurs M.LAABASSI Professeur de l'université Elhadj Lakhdar de Batna et A.TENIOU Professeur à l'université de Constantine. Pour leur participation au jury. Je leur adresse mes sincères remerciements, ainsi que ma plus vive reconnaissance.

Mes sincères remerciements à Messieurs M.BELGHOSI et S.KELILI maitres de Conférences à l'univeristé de Jijel, d'avoir bien voulu examiner ce travail

Ma profonde reconnaissance et mes grands remerciements sont adressés à Messieurs Francisco LEON, Ignacio BROUARD et V.P.GARCIA chercheurs à l'instituto de productos Naturales y Agrobiologia, la Laguna, pour l'enregistrement des spectres RMN mono et bidimensionnelles et les spectres de masse, pour leur soutien et leur compréhension.

Je remercie tout particulièrement mes collègues R . MEKKIOU et R.SEGHIRI pour leurs aides et conseils si précieux.

Mes remerciements vont également à tous ceux qui ont apporté concours à la réalisation de ce travail de loin ou de près.

Que soient aussi remerciés les membres de ma famille qui m'ont toujours encouragé à terminer cette thèse.Leur soutien a été formidable.

Sommaire

Introduction générale.....

Références bibliographiques.....

CHAPITRE I : Le matériel végétal étudié

I-1: La famille des astéracées (composées).....

I-1-1: Généralités.....

I-1-2: Caractéristiques générales.....

I-1-3: La sous-famille des astéracées (composées)..

I-1-4: Importances économiques des composées (astéracées)

I-1-5: Les métabolites secondaires les plus courants chez les
composées.....

I-1-5-a: Les terpènes.....

I-1-5-b: Les lactones sesquiterpéniques

a: Les guaianolides.....

b: les germacranolides.....

c:Les eudesmanolides.....

d:Les élémanolides.....

I-1-5-c: Les alcaloïdes.....

I-1-5-d: Les flavonoïdes.....

I-1-6: Le genre *Achillea*

I-1-6-1: Description du genre.....

I-1-6-2: Caractéristiques du genre.....

I-1-6-3: Principales espèces.....

I-1-6-4: Distribution et aire géographique.....

I-1-6-5: Caractère chimique du genre *Achillea*

I-1-6-6 : Importance économique et thérapeutique du genre
Achillea.....

I-1-6-7:	Intérêt biologique du genre <i>Achillea</i>
I-2 :	La famille des Ranunculaceae (ranunculacées).....
I-2-1:	Généralités.....
I-2-2:	La sous-famille des Ranunculaceae.....
I-2-3:	L'espèce <i>Ranunculus cortusifolius</i>
I-2-3-1:	Description de l'espèce.....
Références bibliographiques.....	

Chapitre II : Les métabolites secondaires.

II-1:	Introduction
II-2:	Les terpénoïdes
II-2-1:	Les monoterpènes.....
II-2-2:	Les sesquiterpènes.....
II-2-3:	Les diterpènes.....
II-2-4:	Les triterpènes.....
II-2-5:	Les stéroïdes.....
II-2-6:	Les stérols.....
II-3:	Les composés phénoliques.....
II-3-1:	Les tanins.....
II-3-2:	Les flavonoïdes.....
II-4:	Les acides gras.....
II-5:	Les acylglycérols.....
Références bibliographiques.....	

Chapitre III : partie expérimentale

III-1:	Etude chimique de l'espèce <i>Achillea ligustica</i> All.....
III-1-1:	Etude bibliographique.....
III-1-2:	Description de la plante.....
III-1-3:	Place dans la systématique.....

III-1-4:Extraction de <i>Achilléa ligustica</i> All.....	
III-1-5:Etude de l'extrait.....	
III-1-6:Séparation chromatographique sur colonne.....	
III-1-7:Etude des fractions.....	
III-2:Etude chimique de l'espèce <i>Ranunculus Cortusifolius</i>	
III-2-1: Etude bibliographique.....	
III-2-2: Description de la plante.....	
III-2-3:Distribution et aire géographique.....	
III-2-4:Classification classique.....	
III-2-5:Extraction de <i>Ranunculus Cortusifolius</i>	
III-2-6:Fractionnement de l'extrait.....	
III-2-7:Etude des fractions	
Conclusion.....	

Références bibliographiques.....

Chapitre IV : Résultats et discussions.

IV-1:Identification des produits isolés de l'espèce <i>Achillea ligustica</i> All.....	
IV-1-1:Elucidation structurale du composé A _{5f} _{3,2} : 1	
IV-1-2: Elucidation structurale du composé B ₃₀ (BF _{3,3}) : 2	
IV-1-3: Elucidation structurale du composé E _{33,4,2} ...: 3	
IV-1-4: Elucidation structurale du composé E _{33,2,1} 4	
IV-1-5: Elucidation structurale du composé E ₄₇ : 5	
IV-1-6: Elucidation structurale du composé F ₄₋₇ ...: 6	
IV-1-7: Elucidation structurale du composé F _{11-A} ...: 7 ...	
IV-1-8: Elucidation structurale du composé J ₁₀₃₋₂ ...: 8	
IV-1-9: Elucidation structurale du composé J _{103A1} ...: 9	
IV-1-10: Elucidation structurale du composé J _{103B} ...: 10 ...	

IV-2: Identification des produits isolés de l'espèce *Ranunculus
cortusifolius*.....

IV-2-1: Elucidation structurale du composé J_{fr}-18-q... : **11**...

IV-2-2: Elucidation structurale du composé J_{fr}-18-a... : **12**

IV-2-3: Elucidation structurale du composé J_{fr}-23 : **13**

IV-2-4: Elucidation structurale du composé F₁₂₋₄₃..... : **14**

IV-2-5: Elucidation structurale du composé F_{5,2,3}..... : **15**

IV-2-6: Elucidation structurale du composé F_{4-A}..... : **16**

IV-2-7: Elucidation structurale du composé B_{14,1}..... : **17**

IV-2-8: Elucidation structurale du composé C₉..... : **18**

IV-2-9: Elucidation structurale du composé D_{10,6,3}..... : **19**

Conclusion

Références bibliographiques.....

Conclusion générale.....

Introduction

générale

Introduction Générale:

Les plantes ont de tout temps été utilisées par les humains pour soulager peines, douleurs, émotions et chagrins. Les plantes médicinales disposent de nombreuses vertus curatives, pouvant servir de modèles pour l'industrie pharmaceutique. [1]

Ce pendant, l'usage des plantes médicinales peut apporter directement des réponses à certains problèmes de santé, mais avant de pouvoir recommander l'usage de telle ou telle espèce pour une maladie, il est nécessaire de valider l'usage traditionnel qui en est fait. En d'autres termes, il convient d'évaluer scientifiquement l'activité pharmacologique de la plante médicinale retenue, et appréciée si celle-ci confirme sa réputation. De plus, il est impératif de vérifier également l'absence de toxicité des plantes employées. L'usage de plantes médicinales locales, en réponse à des problèmes de santé peut être perçu comme une alternative aux médicaments, en particulier dans les pays du sud où ces médicaments sont souvent chers, peu accessibles et quelquefois contrefaits.

Dans ce contexte notre étude s'attelle à l'investigation phytochimique de *Achillea ligustica* appartenant à la famille des composées (asteracées), et *Ranunculus cotusifolius*, plante médicinale appartenant à la famille des ranunculacées, endémique pour les îles Canaries, Madères et Açores .

Le but de nos travaux étant de rechercher des molécules nouvelles à activité biologique potentielle

Le genre *Achillée* fait partie de la famille des composées (astéracées), compte environ 1200 genres et 2600 espèces présentes dans toutes les régions du monde à l'exception des pôles[1]

Les espèces de ce genre sont utilisées dans la médecine traditionnelle pour les activités analgésique, antipyrétique [3], antiallergique [4], anti-inflammatoire [5], antitumorales mais aussi anti-cancéreuses, antioxydant [6] et antihémorragique [7].

Les études chimiques des espèces du genre *Achillée*, ont montré leur richesse en terpénoïdes [8], flavonoïdes [9, 10], et en lactones sesquiterpéniques [11], ces composés sont répartis dans toutes les organes des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs...).

Le genre *Ranunculus* fait partie de la famille des renonculacées elle comprend 1500 espèces et 50 genres [2]

Préférant les régions humides, froides et même glaciales, se sont des plantes d'altitude. Leurs études phytochimiques ont montré la présence de nombreux composés bioactives, notamment toxiques. Les travaux effectués sur ce genre ont montré une diversité structurale très importante. En effet, la plupart des grandes classes des substances naturelles : flavonoïdes, alcaloïdes, acides gras, acylglycérides, stéroïdes, triterpènes ont été mise en évidence dans diverses espèces.

Les travaux que nous avons effectués sur *Achillea ligustica* et *Ranunculus cortusifolius* dans ce cadre sont reportés dans cette thèse sous forme de quatre chapitres

Dans le chapitre un, sont reportées des études bibliographiques effectuées sur les deux genres et les deux espèces sélectionnés.

Dans le chapitre deux, nous reportons les résultats de notre analyse de la littérature concernant les métabolites secondaires d'une façon générale.

Le chapitre trois est consacré à nos travaux expérimentaux basés essentiellement sur l'extraction, l'isolement et la purification par des méthodes chromatographiques diverses des composants des extraits à ébullition de l'éthanol (Soxhlet) de deux espèces étudiées.

Le chapitre quatre renferme toutes les démarches suivies pour les déterminations structurales des composés isolés. Ces études combinent les résultats d'analyse par spectroscopie d'absorption IR, par SMIE à basse et haute résolution par **RMN ¹H et RMN ¹³C**, RMN 2D, (COSY, HSQC, HMBC et ROESY). L'ensemble des résultats de nos travaux est terminé par une conclusion générale.

CHAPITRE I

Le Matériel végétal

étudié

I-1-La Famille des astéracées (composées).

I-1-1- Généralités:

La famille des astéracées ou composées est une des familles les plus importantes du règne végétal, famille de plantes dicotylédones elle comprend près de 13 000 espèces réparties en 1500 genres. Ce sont essentiellement des plantes herbacées même s'il existe des arbres, des arbustes ou des lianes dans cette famille.

Son nom scientifique: asteraceae a été introduit par Martynov en (1820)

Le nom Compositae revient à Giseke dès (1792)

I-1-2- Caractéristiques générales:

Les astéracées ont la caractéristique commune d'avoir des fleurs réunies en capitules, c'est-à-dire serrées les uns à coté des autres, sans pédoncules, placées sur l'extrémité d'un rameau ou d'une tige et entourées d'une structure formée par des bractées florales. Cette structure en forme de coupe ou de collecte est appelée un involucre.

La fleur des astéracées est très particulière: les étamines sont soudées par leurs anthères déhiscentes vers l'intérieur. Sous les stigmates sont situés des «brosses à pollen». La croissance rapide du style permet un brossage du pollen et sa récupération. Une fois que le stigmate à traversé le tube formé par les anthères, les stigmates se déplient et exposent leur face gluante au pollen. Il faut penser qu'à ce moment-là, du nectar est sécrété.

Les fleurs des astéracées, appelées aussi fleurons, se présentent sous deux formes:

- Des languettes, ou ligules, dans lesquelles, les équivalents de pétales sont soudés, généralement par cinq, parfois par trois, reconnaissable seulement aux deux dents de la languette, et ou un pétale prédomine.
- Des tubes terminés par des lèvres, imperceptibles ou s'ouvrant plus ou moins largement en cinq lobes.

Dans le premier cas on parle de fleurons ligulés, dans le second, de fleurons tubulés.

Le capitule peut présenter trois aspects différents:

- Fleurons tous ligulés (chicorée, pissenlit, laitue etc....)
- Fleurons tous tubulés (charbon, crise, centaurée etc....)

- Fleurons périphériques ligulés entourant un disque de fleurons tubulés (marguerite, aster, séneçon etc....)

Les fruits sont des akènes, souvent couronnés d'une aigrette de soies appelée *Pappus* qui favorise la dispersion des grains par le vent.

Pour déterminer la plupart des plantes de cette famille, il est nécessaire de récolter des capitules défloris, portant des fruits mûrs ou au moins déjà bien formés l'observation des bractées de l'involucre est également très importante [] .

I-1-3- Les sous-famille des astéracées (composées):

Les composées sont divisés en trois sous-familles: les tubuliflores, les radiées et les liguliflores.

Les premières ont une inflorescence uniquement composée de fleurs tubuleuses régulières, les secondes ont des fleurs tubuleuses régulières au centre (c'est ce qu'on appelle le disque) et des fleurs tubuleuses irrégulières ou ligulées tout autour en forme de couronne (c'est le rayon). Le calice de chaque fleur est très réduit mais peut également être absent ou transformé en une touffe de poils, qui demeure autour de la graine et en facilite la dissémination.

I-1-4- Importance économique des composées:

Cette vaste famille est économiquement importante, elle fournit des plantes alimentaires: laitues (*Lactuca*), endives, chicorée (*cichorium*), artichauts (*Cynara*), Salsifs (*Tragopogon*), scorsonères (*Scerzonera*), estragon (*Artemisia*) topinambour (*Heliantus tuberosus*)...

Le tournesol (*Heliantus annuus*) est cultivé pour son huile riche en acides gras insaturés et ses tourteaux. Plusieurs espèces de cette famille sont utilisées en pharmacie:

Le semen-contra (*Artemisia cina* Berg), l'Arnica (*Arnica montana* L), la camomille (*Matricaria chamomilla* L. et *Anthemis nobilis* L.) le pied- de- chat (*Antennaria Dioica* L. .Gaertn.), le Tussilage (*Tussilago farfara* L.)... []

De nombreuses composées sont des plantes ornementales notamment celles des genres: *Chrysanthemum*, *Dahlia*, *Tanacetum*, *Rudbeckia*, *Zinnia*, *Cosmos*, *Callistephus*, *Calendula*, ..etc. []

I-1-5-Les métabolites secondaires les plus courants chez les composées

La recherche bibliographique réalisée sur cet axe montre que la majorité d'études phytochimiques effectuées sur un nombre important d'espèces de la famille des composées souligne la richesse ainsi que la diversité structurale de ces plantes en métabolites secondaires [] .

Parmi ces composés les plus importants sont des terpènes, des lactones sesquiterpéniques, des alcaloïdes et des flavonoïdes.

I-1-5-a- Les terpènes:

Les terpènes forment un groupe de produits naturels largement représentés dans les végétaux. De structures très diversifiées ils ont un intérêt chimique considérable. Ils constituent le principe odoriférant des végétaux. Cette odeur est due à la libération des molécules très volatiles contenant 10, 15, 20 atomes de carbones. Extraites ces molécules sont employées comme condiments (girofle) ou comme parfum (rose, lavande). Ils ont un caractère commun du point de vue structural. En effet, ils sont formés de l'assemblage d'un nombre d'unités penta carbonées ramifiées dérivées du 2-methylbutadiène, appelées unités isopréniques $(C_5H_8)_n$. Ces squelettes peuvent être arrangés de façon linéaire ou bien former des anneaux. De ce fait une classification rationnelle, basée sur ce nombre qu'ils renferment, est possible (tableau I-1.) [] .

Tableau I-1 : Classification des terpènes.

Monoterpènes	C_{10}
Sesquiterpènes	C_{15}
Diterpènes	C_{20}
Sesterpènes	C_{25}
triterpènes et stéroïdes	C_{30}
Tetraterpènes	C_{40}
polyterpènes	$(C_{10})_n$ avec $n > 8$

I-1-5-b- Les lactones sesquiterpéniques:

Les lactones sesquiterpéniques constituent un groupe important de substances naturelles dans la famille des composés [], des études montrent que plus de 90% des lactones sesquiterpéniques ont été isolées de cette famille [] et plus de 3000 structures sont connues [] .

A ce groupe appartiennent "les principes amers " de nombreuses composés []. Suivant la structure du squelette sesquiterpénique on les divise en : guaianolides, germacranolides, eudesmanolides, xanthanolides, pseudoguaianolides, élemanolides, séco-eudesmanolides, éremofilanolides et bakkenolides. Les recherches ont montré que certaines lactones sesquiterpéniques sont biologiquement actives et possèdent des propriétés cytotoxique [] , anti microbienne [], anti fongique [], anti-inflammatoire [], anti parasitaire [], anti bactérienne []...

Les différents types de ces substances sont distribués sur les différentes tribus de cette grande famille suivant le tableau I-2 [] .

**Tableau I: Distribution des différents types de sesquiterpènes lactones
qui existent dans les différents tribus de la famille des
composées.**

Tribu (nombre de genre)	Nombre de genres des sesquiterpènes lactones	Types de lactones présent
Eupatorieae (50)	4	Germacranolides Elemanolides Guaianolides Ambrosanolides Seco-Ambrosanolides
Vernonieae (50)	4	Germacranolides Elemanolides Guaianolides
Astereae (100)	1	Germacranolides Guaianolides Elemanolides
Inuleae (100)	5	Guaianolides Xanthanolides Ambrosanolides Helenanolides Seco-Eudesmanolides Seco-Ambrosanolides Germacranolides

**Tableau I :Distribution des différents types de lactones sesquiterpéniques
qui existent dans les différents tribus de la famille des
composées.**

Tribu (nombre de genre)	Nombre de genres contenant des lactones sesquiterpéniques	Types de squelettes sesquiterpéniques
Heliantheae (250)	24	Elemanolides Guaianolides Eudesmanolides Xantanolides Ambrosanolides Helenanolides Seco-Eudesmanolides Seco-Ambrosanolides Seco-Helenanolides
Senecioneae (50)		Germacranolides Xanthanolides Eremophilanolides Helenanolides Bakkenolides
Anthemideae (50)	10	Germacranolides Elemanolides Guaianolides Helenanolides Cadinanolides Chrymoranolides
Arcototeae- Calenduleae (50)	1	Guaianolides

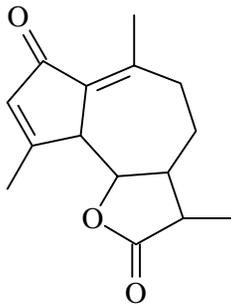
Cyanareae (50)	8	Germacranolides Elemnolides Guaianolides Eudesmanolides
Mutisieae (55)	1	Eudesmanolides
Lactuceae (75)	7	Germanocranolides Eudesmanolides Guaianolides

Ce tableau I-2 montre que les types les plus abondants sont:

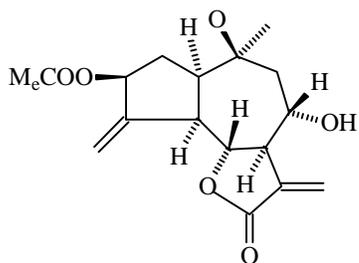
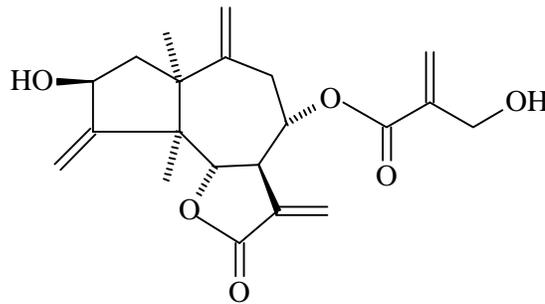
a- Les guaianolides:

Le noyau comporte un cycle pentagonale et un cycle heptagonale uni à l'anneau lactonique, à ce groupe appartiennent les lactones génératrice d'azulène telles que L'achilline 1 (*Achillea millefolium* L)[], la cyanaropicrine 2 (*Volutariacrupinoides*)[], Salograveolide B 3 (*Centaurea solinitana*)[], Cebelline N 4 (*Centaurea bella*)[]

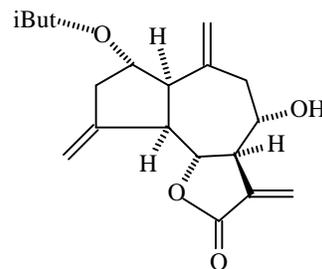
1 Achilline



2 Cyanaropicrine



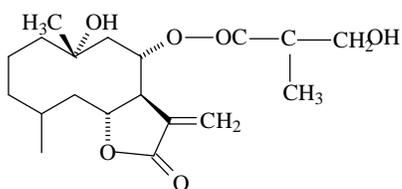
3 Salograveolide B



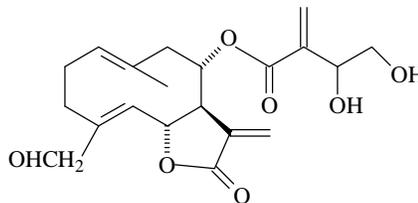
4 Cebelline N

b- Les germacranolides:

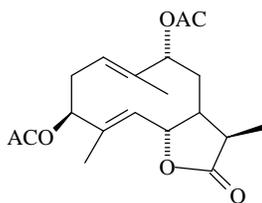
Un cycle à 10 atomes est uni à l'anneau lactonique. Ils sont largement distribués dans la famille des composés [], parmi ces nombreuses structures, on peut citer: La lartiopicine 5 des feuilles de bardane, la cnicine 6 du charbon-beni (*Cnicus benedictus* L) [] et de *centaurea lippii* [], la sinténine 7 de *Achillea sintenisii* [] et *Achillea micrantha* [], 11 β ,13-dihydrocnicine du *Centaurea pullata* [].



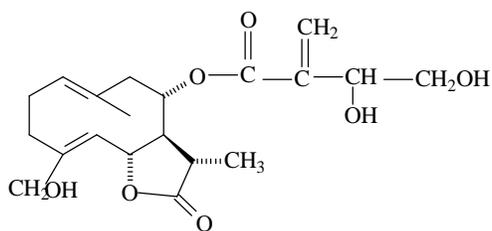
5 Lartiopicine



6 Cnicine



7 Sinténine



8 11B,13-dihydrocnicine

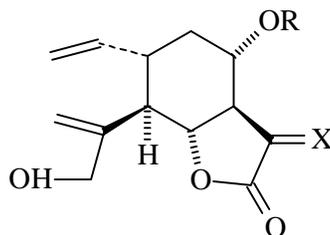
c-Les eudesmanolides:

Ils sont formés du squelette 1,7-diméthyl,4-isopropyl-bicyclo[0,4,4] decane qui se déduit du squelette germacrane par cyclisation formant deux cycles hexagonaux.

d-les élémanolides:

Ce sont des séco-eudesmanolides 2-3 ils dérivent par un réarrangement cope des germacrane 1(10)-4(5) diéneolides.

On peut citer: la melintensine 13 de *Centaurea melitensis* et *Centaurea aspera* [] la 11,13-dihydro melintensine 14 de *Centaurea aspera* [].



R= H

; H

X = CH

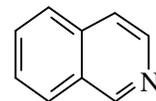
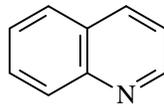
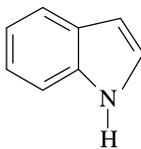
; β -H, α -CH

I-1-5-c-Les alcaloïdes:

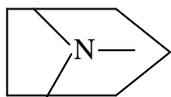
Les alcaloïdes sont des substances organiques d'origine naturelle, possédant au moins un atome d'azote hétérocyclique. Généralement les alcaloïdes ont des propriétés très basiques. Ce sont des substances particulièrement intéressantes pour leurs activités pharmacologiques très variées ainsi que pour leur toxicité [], selon leur composition chimique et surtout leur structure moléculaire, les alcaloïdes peuvent être divisés en plusieurs groupes.

- Des phenylalanines : capsaïcine du piment, colchicine du colchique;
- Des alcaloïdes isoquinoléiques : morphine, éthylmorphine, codeine et papevérine contenues dans l'opium du pavot;
- Des alcaloïdes indoliques : ergométrine, ergotamine, ergotoxine de l'ergot des céréales;
- Des alcaloïdes quinoléiques : tige feuillée de la rue commune;
- Des alcaloïdes pyridiques et piperidiques : ricinine du ricin, trigonelline du fenugrec, la conine (poison violent) de la ciguë;
- Des alcaloïdes des dérivés du tropane : la scopolamine et l'atropine de la belladone;
- Des alcaloïdes stéroïdes : racine de veratre, douce-amère ou aconite (aconitine) par exemple.

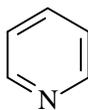
Les principaux cycles azotés des alcaloïdes sont de type (schéma 1,6). Indol (1), Quinoline(2), Isoquinoline(3), Tropane(4), Pyridine(5), Quinolizidine(6), la morphine(7) et Solanidine(8) (stéroïdes) .



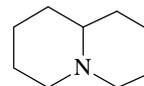
14



15



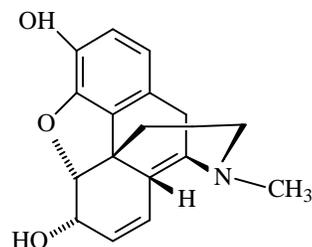
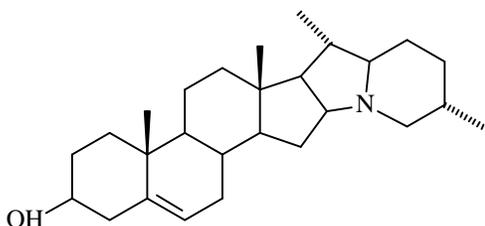
16



17

18

19



20

21

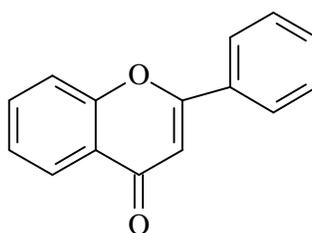
Schéma I-6: Les principaux cycles azotés des alcaloïdes

I-1-5-d- Les Flavonoïdes:

Les flavonoïdes sont des substances appartenant à la famille des polyphénols. Ils constituent les pigments de la plupart des végétaux et interviennent dans la coloration des feuilles, des fleurs, et des fruits. En automne, les couleurs caractéristiques des feuilles des arbres sont dues aux anthocyanes et aux carotènes qui ne sont pas masqués par la chlorophylle.

A l'état naturel on trouve très souvent les flavonoïdes sous formes d'hétérosides, une ou plusieurs de leurs fonctions hydroxyles sont alors glycolysées (les oses étant le glucose le galactose, le rhamnose, ou l'arabinose). la partie autre que l'ose est appelé aglycone.

Le nom de flavonoïdes vient du fait que ces molécules ont toutes une structure semblable à celle de la molécule de flavone (ou 2-phényl chromone):

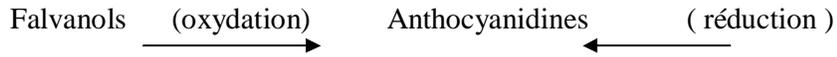


Les flavonoïdes sont divisés en plusieurs classes qui se différencient par le degré de saturation de l'hétérocycle de l'aglycone, son oxydation et sa conformation spatiale:

- Les flavonols

- Les anthocyanidines (ou anthocyanidols)
- Les flavanols

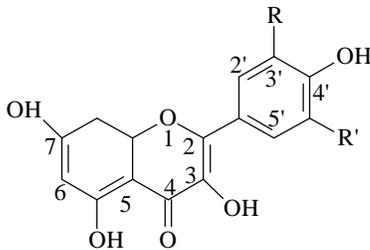
Les anthocyanidines peuvent être obtenues soit à partir de flavonols (par réduction) ou par oxydation des flavanols.



Les flavonoïdes sont solubles dans l'eau chaude et les alcools

1) Les flavonols:

Ce sont des pigments jaunes présents notamment dans la pellicule des raisins et dans les feuilles des vignes. Leur forme aglycone est très stable .

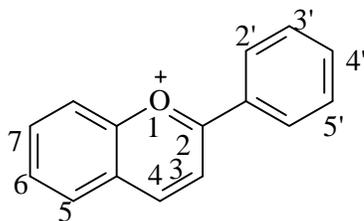


$R_{3'}$	$R_{5'}$	
H	H	Kaempférol
OH	H	Quercétine*
OH	OH	Myricétine
OCH ₃	H	Isorhamnétine

Forme aglycone des principaux flavonols.

2) Les anthocyanidines (ou anthocyanidols):

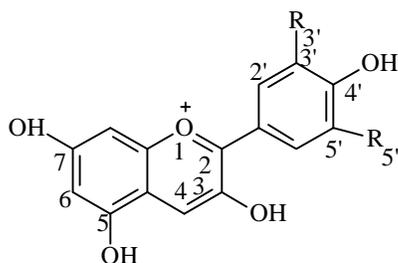
Ils constituent la partie aglycone des anthocyanes. Les anthocyanidines ont pour structure de base l'ion flavylum



R'	R	
H	H	Pélagonidine

Ils ont une structure commune polyhydroxylée, le tableau 1-x comporte la formule de six anthocyanidine :

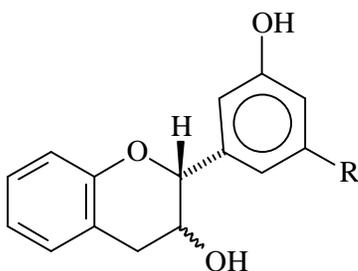
OH	H	Cyanidine
OCH ₃	H	Paconidine
OH	OH	Delphinidine
OCH ₃	OCH ₃	Malvidine
OH	OCH ₃	Pétunidine



Principaux Anthocyanidols.

3) Les flavan-3-ols:

Ils ont également une structure polyhydroxylée, le tableau 1- ;;;reporte quelques exemples



Le tableau I :quelques exemples de flava-3ols

3-OH	R	
β	H	(+)Catéchine
α	H	(-)Epicatéchine
β	OH	(+)Gallocatéchine
α	OH	(-)Epigallocatéchine

4-Propriétés des flavonoïdes:

De nos jours, les propriétés des flavonoïdes sont largement étudiés dans le domaine médical où on leur reconnait des activités anti-virales, anti-tumorales, anti-inflammatoires, anti-allergiques, anti-cancéreuses.[]

I-1-6-Le genre *Achillea*

I-1-6-1-Description du genre:

Le genre *Achillea* regroupe diverses plante de la famille des astéracées(ou composées) dont la plus connue est l'achillée mille feuille(*Achillea millefolium*).Le nom du genre correspond au latin *Achillea*,lui-même emprunté au grec Akhileos,herbe d'Achille.

L'achillée est une plante medicinale dont les vertus lui ont valu son nom.

Le héros grec aurait guéri telèphe qu'il avait lui-même blessé, à l'aide de l'achillée mille feuille.

I-1-6-2-Caractéristiques du genre:

Plantes herbacées vivaces à fleurs alternes, comme pour toutes les composées, ce qu'on appelle communément«fleur» est un capitule.

Les capitules des achillées sont formés d'un disque de fleurs tubulées hermaphrodites entourées de fleurs ligulées femelles. Les ligules, presque toujours blanches, sont assez courtes, le plus souvent à trois dents.

Très nombreux sur la plante,les capitules sont groupés en inflorescences appelées Carymbes.

Les fruits sont des akènes.

I-1-6-3-Principales espèces:

-*Achillea ageratum* L.

- // *atrata* L.

- // *chamaemelifolia* pourr.

-*Achillea distans* Waldst.et Kit. ex wild.

- // *erba-ratta* All.

- // filipendulena lam.
- Achillea ligustica All.
- // macrophylla L.
- // mille folium L.
- // moschata Wulfen.
- // narra L.
- // nobilis L.
- // odorata L.
- // ptarmica L.
- // setacea waldst et kit.
- Achillea tomentosa L.

I-1-6-4- Distribution et aire géographique:

Le genre Achillée(*Achillea*) est largement distribué en Europe, en Asie du centre et de l'ouest, au nord de l'Afrique, et au nord de l'Amérique

Lieux: sauvage, zone découverte, prairies, forêts claires, décombres, talus, berges, bord des fossés et jardins, jusqu'à 2500 m.

I-1-6-5- Caractère chimique du genre *Achillea*:

D'après l'étude bibliographique que nous avons menée, les travaux phytochimiques sur le genre Achillée ont permis d'identifier plus d'une centaine de composés qui sont essentiellement des terpénoïdes[], des flavonoïdes[], et des lactones sesquiterpéniques[]. Le tableau I-2 rassemble un nombre d'espèces du genre *Achillea* et leur contenu lactones sesquiterpéniques, les structures respectives sont données dans le schéma I-X.

Tableau N°I-2: Quelques sesquiterpéniques lactones isolées de différentes espèces du genre *Achillea*.

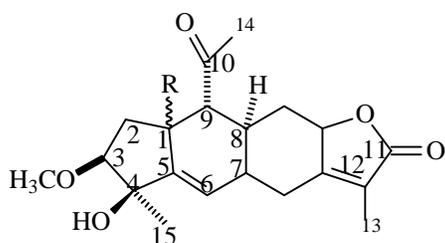
Nom de l'espèce	Nom du composé isolé	N° de la structure	Réf
<i>A. ligustica</i> (espèce étudiée)	Ligustolide-A.	<u>1</u> a	24
	Ligustolide-B.	<u>1</u> b	
	3-deshydroxy-iso-seco-tanaparholide.	<u>2</u>	
	8-hydroxy-3-méthoxy-iso-seco-tanaparholide.	<u>3</u>	
	2 α -chloro-iso-seco-tanaparholide.	<u>4</u>	
	4 α ,10 α -Dihydroxy-1B,2B-époxy-	<u>5</u>	
	5 α ,7 α H-guaia-11(13)-en-12,6 α -olide.	<u>6</u>	
	Matricarin.		
	Désacetyl-matricarin.	<u>7</u>	

<i>A. ligustica (espèce étudiée)</i>	Artecalin. Iso-apressin.	<u>8</u> <u>9</u>		24
<i>A. depressa</i>	Apressin	<u>10</u>		25
<i>A. santolina</i>	Leucodin. 5-Hydroxyleucodin 3,9-diacetoxy,13-hydroxy-(10),4,7(11)- germacratrien-12,6-olide.	<u>11</u> <u>11a</u> <u>11</u> <u>11b</u> <u>13</u>		26
<i>A. asplenifolia</i>	8 α -acétoxytannunolide. 8 α -acétoxy-6-epi-tannunolide. 8 α -angeloyloxytannunolideB 8 α -angeloyloxy-6-epi-tannunolide B. 8 α -angeloyloxy-11-epi-tannunolide C.	<u>14</u>	<u>14a</u> <u>14b</u> <u>14c</u> <u>14d</u> <u>14e</u>	
	8 α -angeloyloxy-4 α -methoxy-guaia- 1(10),2-diène-12,6 α -olide. 8 α -angeloyloxy-4 β -methoxy-guaia- 1(10),2-diène-12,6 α -olide. 8-desaetyl-8-angelol-4-epi-matricin.	<u>15</u>	<u>15a</u> <u>15b</u> <u>15c</u>	27

Tableau N°I-2: Quelques sesquiterpéniques lactones isolées de différentes espèces du genre Achillée.

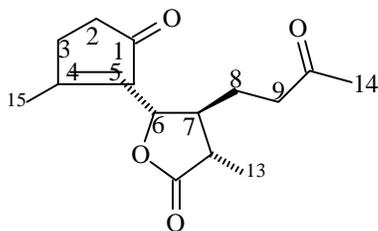
Nom de l'espèce	Nom du composé isolé	N° de la structure	Réf
<i>A. asplenifolia</i>	13-acetoxy-3 β -isovaleroyloxygermacra-1(10)E,4E,7(11)-trien-12,6 α -olide.	<u>16a</u>	27
	13-acety-3 β -(2-methylbutyrolxy)-germacra-1(10)E,4E,7(11)-trien-12,6 α -olide.	<u>16b</u>	
	13-hydroxy-3 β isovaleroyloxygermacra-1(10)E,4E,7(11)-trien-12,6 α -olide.	<u>16</u>	
	13-hydroxy-3 β -(2-methylbutyroylxy)-germacra-1(10)E,4E,7(11)-trien_12,6 α -olide.	<u>16c</u> <u>16d</u>	
	3 β -isovaleroyloxy-8 α -hydroxy-11(α H),13-dihydrocostunolide.	<u>17a</u>	
	3 β -(2-methylbutyroyloxy)-8 α -hydroxy-11(α H),13-dihydrocostunolide.	17	<u>17b</u>
	8 α -angeloyloxy-1 α ,2 α ,4 α ,5 α -diepoxy-10 β -hydroxy-6 β H,7 α H,11 β H-12,6 α -guaianolide.	<u>18</u>	
<i>Acollina</i>	1 β ,4 β -Epoxy-6 β ,7 α ,11 α -selinan-6,12-olide.	<u>19</u>	
	8 α -Angeloxo-2 β ,10 β -dihydroxy-4 β -methoxymethyl-2,4-epoxy-6 β H,7 α H,11 β -1(5)-guaien-12,6 α -olide.	<u>20</u>	
	8 α -Angeloxo-2 α ,4 α ,10 β -trihydroxy-6 β H,7 α H,11 β H-1(5)-guaien-12,6 α -olide.	<u>21</u>	
	4-hydroxy-bisabol-1-one.	<u>22</u>	

	4-hydroxy-11-hydroperoxy-9-bisabolen-1-one.	<u>23</u>	28
	11, 13-dehydrodesacetylmaticarin.	<u>24</u>	
	3-oxa-achillicin	<u>25</u>	
	8 α -tigloyloxy-11(β H),13-dihydro-10-epi-tanaparthin- α -peroxide.	<u>26</u>	
	8 α -isobutyryloxy-11(β H),13-dihydro-10-epi-tanaparthin- α -peroxide.	<u>27</u>	
	8 α -angeloxyartabsin.	<u>28</u>	

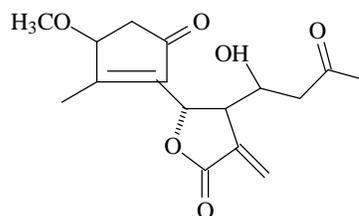


1 \bar{a} = R= α -OH

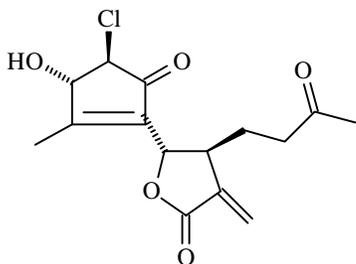
1b $\bar{}$ R= β -OH



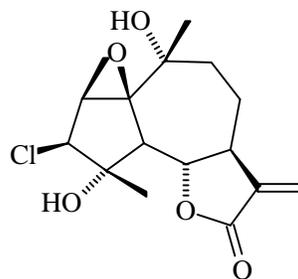
(2)



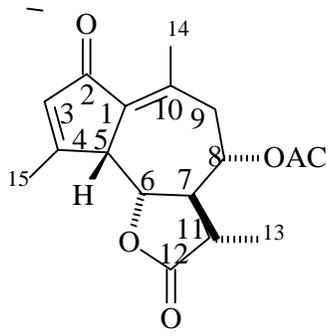
(3)



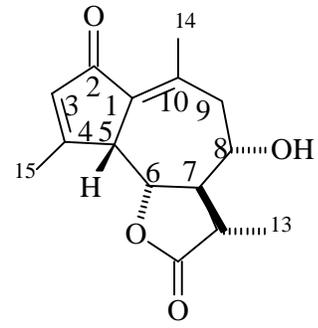
(4)



(5)

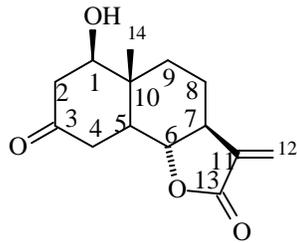


(6)

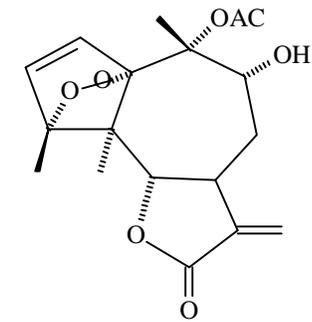


(7)

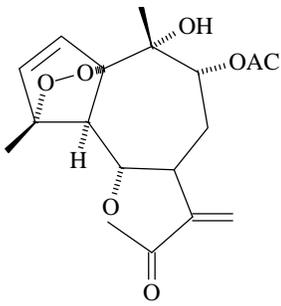
Shéma.1:structures chimiques de quelques lactones sesquiterpéniques isolés de différentes espèces du genre *Achillée*.



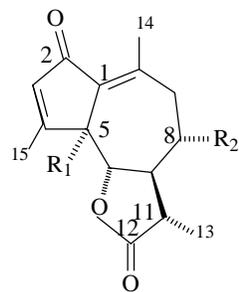
(8)



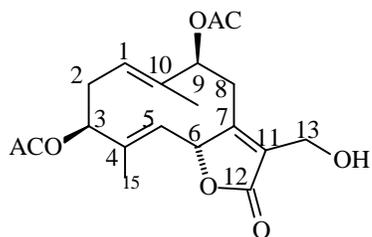
(9)



(11)

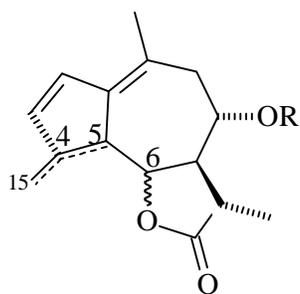


(10)



	R ₁	R ₂
<u>11a</u>	H	H
<u>11b</u>	OH	H

(13)



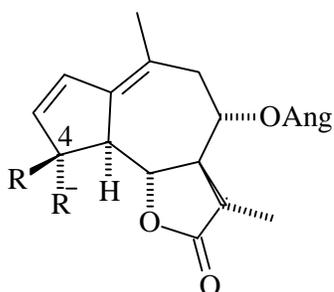
14a	$\Delta^{4,5}, R=Ac, 6\alpha H$
14b	$\Delta^{4,5}, R=Ac, 6\beta H$
14c	$\Delta^{4,5}, R=Ang, 6\alpha H$
14d	$\Delta^{4,5}, R=Ang, 6\beta H$
14e	$\Delta^{4,5}, R=Ang, 6\beta H$

(14)

Fig.I.2: Structures chimiques de quelques sesquiterpènes

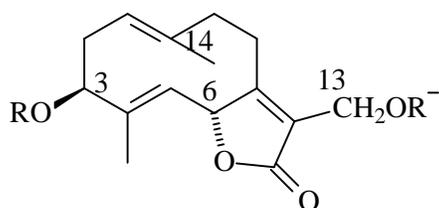
lactones isolés de différentes espèces du genre

Achillée.



	R	R'
15a	CH ₃	OCH ₃
15b	OCH ₃	CH ₃
15c	OH	CH ₃

(15)



16

	R	R'
16a	ival	AC
16b	2MeBu	AC
16c	ival	H
16d	2MeBu	H

	R
--	---

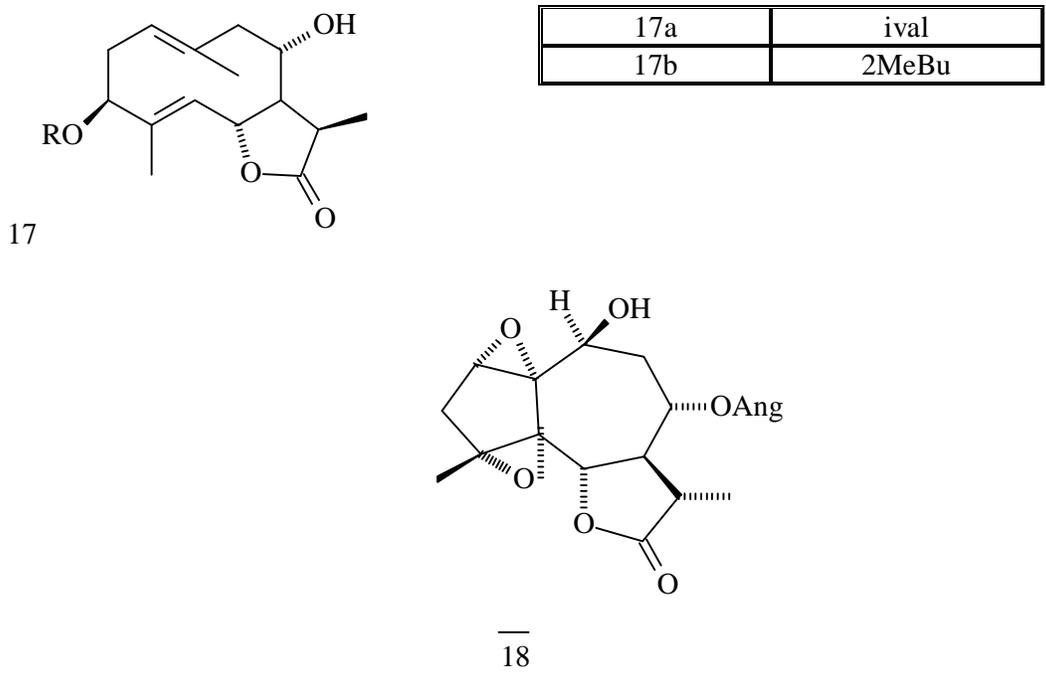
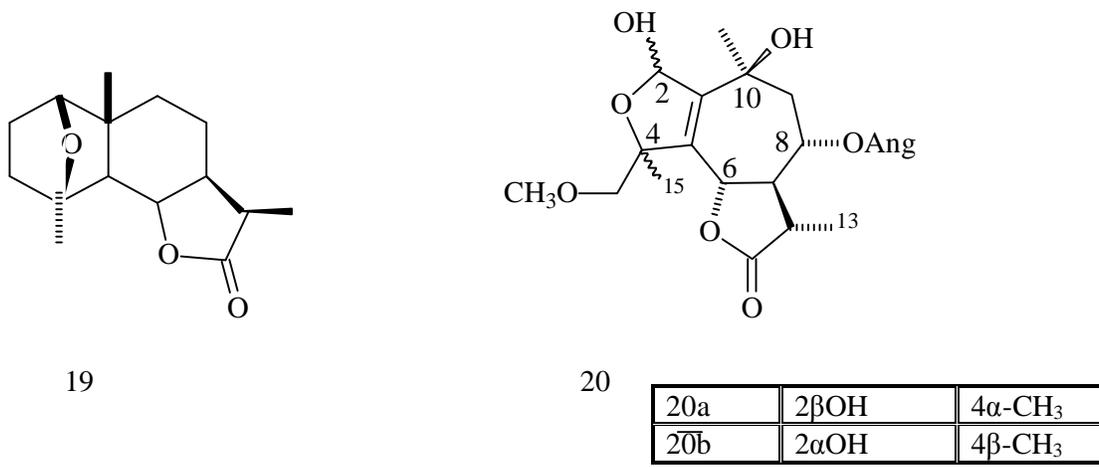
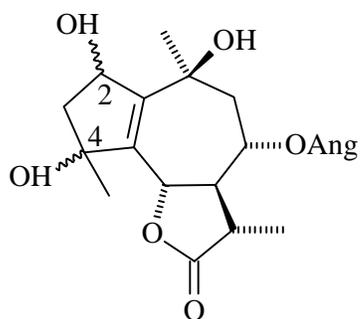


Fig.3: Structures chimiques de quelques sesquiterpènes

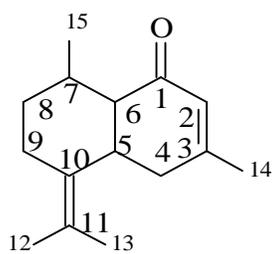
lactones de différentes espèces du genre *Achillée*.



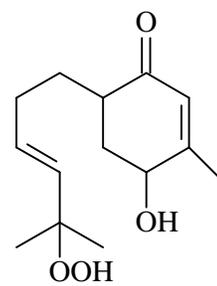


21

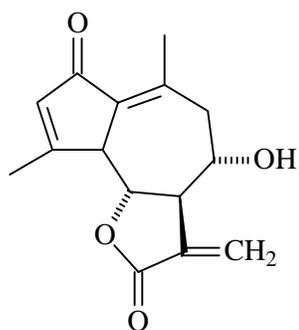
21a	2 β , 4 β -diOH
21b	2 α , 4 α H



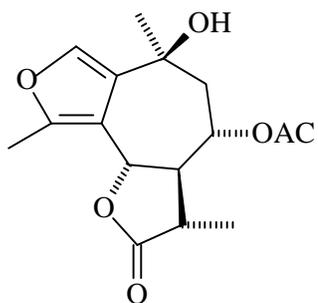
22



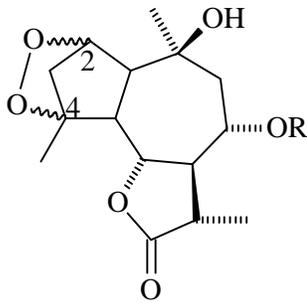
23



24

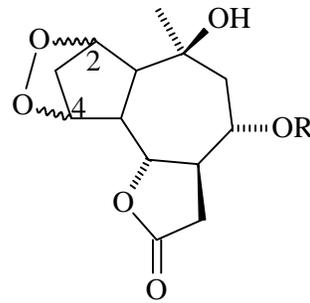


25



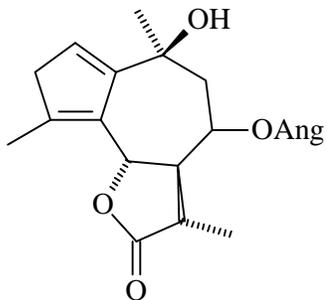
2=Tg,2 α ,4 α -endoperoxide

26



R=L Bu,2 α ,4 α -endoperoxide

27



28

schéma : Structures chimiques de quelques lactones sesquiterpéniques isolées de différentes espèces du genre *Achillea*.

I-1-6-6-Importance économique et thérapeutique du genre *Achillae*:

L'espèce, est utilisée dans de nombreux produits de phytothérapie en Europe, notamment comme anti-inflammatoire, pour le soulagement des spasmes de la colique, comme tonique de l'estomac et stimulant de la production de l'acide biliaire. En outre *Achillea* est utilisée contre le rhume, les crampes, la fièvre, les troubles rénaux, le mal de dent et les irritations cutanées. *Achillea* est généralement reconnue inoffensive dans les boissons uniquement si le produit fini est exempt de thujane. Selon certaines sources, *Achillea* est présente dans plus de 20 produits pharmaceutiques commercialisés au Canada, et elle est très populaire dans les produits de phytothérapie commercialisés en Europe.

On la considère comme une culture oléagineuse d'importance secondaire, mais la production annuelle de cette huile est importante et peut atteindre 800 tonnes dont la valeur est estimée à 88 millions de dollars US.

Plus d'une centaine de composés chimiques ont été identifiés dans le genre *Achillea*. Ce sont les lactones que renferment les huiles volatiles qui présentent le plus d'intérêt. Un dérivé métabolique de lactone, l'azulène, a déjà été considéré comme le constituant principalement responsable des propriétés anti-inflammatoires de *Achillea*. Toutefois la valeur médicinale de cette plante pourrait être due aux chamazulène, et aux terpénoïdes tels le 1,8-Cinéole, le β -Caryophyllène, le limonène et le camphre, qui ont des effets anti-inflammatoires, antispasmodiques ou antioxydants. La présence d'achilleine, un alcaloïde ayant des propriétés hémostatiques, pourrait expliquer son usage traditionnel contre le saignement des plaies et des lésions. Récemment, l'analyse des composés volatils des racines, des tiges, des feuilles et des fleurs de *Achillea filipendulina*, de *A. tomentosa* et de *A. millefolium* a mené à l'identification de plus de 125 composés. Tous les tissus de la plante, peu importe l'espèce, renferment de l' α -pinène, du β -pinène, du camphène, du limonène, du 1,8-cinéole et du p-cymène [].

Les principaux constituants volatils de la partie aérienne de la plante sont l' α -pinène et le camphène, alors que les esters dominent dans les tissus de la racine.

Les constituants monoterpéniques comportent pour 56 à 99,3% des composés volatils des parties aériennes, alors que les composés monoterpéniques représentent 40 à 63,2% des tissus de la racine.

I-1-6-7-Intérêt biologique du genre *Achillea*:

La recherche bibliographique menée sur l'intérêt biologique des espèces du genre *Achillea ligustica* a montré que cette espèce est utilisée en médecine traditionnelle depuis l'ancien temps, principalement comme anthelminthique, contre les douleurs gastriques et névralgiques, ainsi comme un anti-inflammatoire des maladies de la peau. []

Elle a été aussi utilisée dans le cataplasme pour soulager l'entorse et les morsures d'insectes et a une réputation pour stopper l'hémorragie []. C'est une plante qui n'est pas toxique elle a été traditionnellement additionnée aux gâteaux.

Son extrait méthanolique a montré des activités pharmacologiques comme anti-inflammatoires [], et antiallergique. []

I-2-Famille des *Ranunculaceae* (Ranunculacées):

I-2-1-Généralités:

Les *ranunculacées* ou *ranunculacées* sont une famille de plantes dicotylédones selon Watson et Dallwitz, elle comprend 1500 espèces réparties en 50 genres parmi lesquelles:

*Aconitum ou Aconits

*Actaea ou Actées

Adonis ou Adonis

Anémone ou anémones, Nigella ou nigelles, Pulsatilla, Ranunculus,

Etc.

Ce sont des plantes herbacées (quelques arbustes et lianes), annuelles ou pérennes, rhizomateuses ou tubéreuses, elles poussent dans les régions froides à tropicales, avec un maximum dans les régions tempérées de l'hémisphère nord []

Classification classique:

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Magnoliidae
ordrd	Ranunculales
Famille	Ranunculaceae

I-2-3-Espèce *Ranunculus cortusifolius*:

I-2-3-1-Description de l'espèce :

Cette espèce est endémique aux îles Madère, Açores et Canaries, il est facile de l'identifier par ses grandes et lumineuses fleurs jaunes, présentes de mars à juin et pouvant atteindre 5 centimètres de diamètre formant de grandes inflorescences de corymbes. *Ranunculus* ou *Renoncule* comme elle est appelée populairement, est une plante herbacée qui peut atteindre jusqu'à 1 mètre de hauteur.

Cette plante coriace se développe à des altitudes entre 700 et 1500 mètres[]

Dans ce travail nous nous sommes intéressés dans un premier temps à l'espèce *Ranunculus cortusifolius* dans le cadre d'un projet reliant notre laboratoire et l'Instituto de Productos Naturales y Agrobiologia la Laguna (Tenerife)

Références bibliographiques:

- [1] Garcia M.D., Puerta R., Martinez S., Sàenzm M . T., 1997 phytoter.Res., 11, 376-379.
- [2] Ahmed A. Ahmed. Tamas Gàti, Taha A. Hussein, Aptahal T.Ali, olga A.Tzakou, Maria A. Couladis, Tom J. Mabry and Gabor Toth. 2003. Tetrahedron 59, 3729-3735.
- [3] Maurizid Bruno and Werner Herz, 1988. phytochemistry, vol.27, N°.6, 1871-1872,
- [4] Shahat, A.A., Cos, P., Bruyne, T.D., Apers, S., Hammouda, F.M., Ismail, S.I. Azzam, S., Claeys, M Goovaerts, E., Pieters, L., Berghe, D.V. and Vlietinck, A.J.
Antiviral and Antioxidant activity of Flavonoids and Proanthocyanidins from *Crataegus sinaica*, 2002. Planta Med., 68, 539-541

- [5] Simonpoli, P.1993.In Arburi, Arbigliule, Savoirs populaires sur les plantes de corse, Parc naturel Regional de la corse, Ajaccio, corsica.
- [6] Maurizid Bruno and Werner Herz, 1988 phytochemistry, vol.27, N°.6, 1871-1872,
- [7] Valant-Vetschera, K.M., Wollenweber, E. 1988.Biochem.syst.Ecol., 16, 403-409.
- [8] Ahmed, A.A., EL-Sayed, N.H.; Mabry, T.J.1989. Revista latinoamericana de Quimica, 20,5 .
- [9] Todorova, H.N.; Krasteva, H.I; Markova, H.H., Tsankova, E.T.; Taskova, R.M.;
Peey.D.R. 1998.Phytochemistry, 49, 2371
- [10] [http:// fr.wikipedia.org/ wiki/Asteraceae.](http://fr.wikipedia.org/wiki/Asteraceae)
- [11] J.L. Guignard, 1994. Abrégé botanique, 9ème edition,203-204
- [12] J.L. Guignard; L. Cossen ; M. Henry, 1998. Abrégé de phytochimie,121.
- [13] Maurizid Bruno and Werner Herz, 1988 phytochemistry, vol.27, N°.6, pp.1871-1872.
- [14] H. Werners, 1977. in the biology and chemistry of the compositae,1,337-357. (Ed.V.H. Heywood; J .B.Harborne, B.L.Turner), Academic Press, London.
- [15] N.H.Fisher, E.J.Oliver, H.D. Fisher, 1979. The biogénese and chemistry of sesquiterpenes lactones.
- [16] F.C.Seaman, In the botanical Review. Sesquiterpénes lactones as taxonomic characters in Astéraceae, 1982, 48, 121,Botanical Garden, New York.
- [17] R-R.Paris;H-Moyse, 1971. Précis de matière Médical, Tom III, Paris, 397.
- [18] E.J.Park; J.Kim, 1998.planta Medica 64, 752.
- [19] A.F.Barrero; M. M. Herrador, J.F.Quilez, R. Alvarez-Manzaneda; D.Portal; J.A.Gavin; D.J.Gravalos; M.S, Simmonds; W.M.Balaney, 1999. J.Antimicros chemother 43, 333.
- [20] R.V.Burim; R.Cannalle; J.L.Lopes; W.Vichnewski; C.S.Takahashi, 2001. Tetratogcarcinog Mytagen 21, 383.
- [21] M.Maroz, Y.Kashman and J. 1999.Neeman, Planta Medica 53, 803.
- [22]V.Vajs; N.Todorovic; M.Ristic; V.Tesevic; B.Todorovic; P.Janackovic; P.Martin,
1999.phytochemistry 52, 383.
- [23] J.Y.Ch; K.U.Baik; J.H.Jung; M.H. Park, 2000.European Journal of pharmacology 399-407.
- [24] J.Bruneton, 1999 Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales 501, techniques et documentation, Paris.

- [25] A.Karioti; H.Skaltsa; D. Lazari; M.Sokovic; B.Garcia; C.Harvala, 2002.Z Naturforsch., 57, 75- 80.
- [26] www.yahoo.com. Toxicology Sesquiterpenes lactones.
- [27] J. Breinluch, 1970.pharm.Zig. 115, 1699-1700 et 1713-1716.
- [28] N. Zaabate, Thèse Magister 2002, Université de Constantine.
- [29] W. M. Daniewski ; G .Nowak ; E.Pankowska ; T. Georgialis ; E. Routsis ; U. Rychlewska and B. Szezepanski, 1993. Phytochemistry, 34(02), 445-447.
- [30] W.M. Daniewski and G. Nowak, 1993. Phytochemistry, 32(01), 204-205
- [31]P.J. Tteisseire,1991 Chimie des substances odorantes, Techniques et documentations-Lavoisier,219.
- [32] R-R.Paris;H-Moyse, 1971.Précis de matière Médical Tom III, Paris, 397.
- [33] N. Mezache, Thèse de Magister, 2002, Université de Constantine.
- [34] N.Goren ; S.ÖKsuz and A. Ulubelen, 1988, Phytochemistry, 27(07), 2346-2347
- [35] N.A.R. Hatan; N.J. Youssif ; A.Pozel and K. Seifert, 1992.Phytochemistry.31,2160.
- [36]F. Benayache; S. Benayache; K.Medjroubi,G.Massiot;P.Aclinou;B.Drodz and G.Nowak,1992. Phytochemistry,31(12), 4359-4360.
- [37]A.G.Gonzalez, J.M.Artega; J.L.Brencton, 1975.phytochemistry 14, 2039.
- [38] M. T. Picher, E. Sevan and A.Totrajada, 1984. phytochemistry 23, 1995.
- [39]G. Richter, 1993, Metabolisme des végétaux, physiologie et biochimie, Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne.
- [40] S.W. Pelletier, 1983 Alkaloids. chemical and biological perspectives. Edition John Wiley. New York.
- [41] Shahat, A.A.,Cos, P., Bruyne, T.D.Apers, S., Hammouda, F.M., Ismail, S.I. Azzam, S., Claeys, M Goovaerts, E., Pieters, L., Berghe, D.V. and Vlietinck, A.J.
- Antiviral and Antioxidant activity of Flavonoids and Proanthocyanidins from *Crataegus sinaica*, 2002.Planta Med., 68, 539-541
- [42] Nakujima, T., Manishi, M.I. ; Yamamoto, K., Cyong, J.C.and Hirai, K.
- Inhitory effects of Baicalein, A. Flavonoïds in Scutellaria Root, On Eotaxin Production by human Dermal Fibroblasts, 2001.Planta Med., 67, 132-135.
- [43] Di Carlo, G. ; Mascolo, N. ; Izzo, A.A., Capasso, F., 1999.

Flavonoïds: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. Review. Lfe Sci.,65: 337-53.

[44] Gutteridg, J.M.L., and Halliwell, B. 1994.

Antioxidants in nutrition, Health and Disease . Oxford University Press. Oxford.

[45] [http:// fr.wikipedia.org/wiki/achilea](http://fr.wikipedia.org/wiki/achilea)

[46] Maurizid Bruno and Werner Herz, 1988.phytochemistry, vol.27, N°6,1871-1872,

[47] Valant-Vetschera, K.M.; Wollenweber, E.1988.Biochem.Syst.Ecol.16,605.

[48] Ahmed, A.A.;EL sayed, N.H.; Mabry, T.J. 1989. Revista lationo americana de quimica, 20, 5.

[49] Ulubelen, A.; Öksüz, S.; Schuster, A. 1990. phytochemistry, 29, 3948-3949.

[50] Rucker, G.; Hanns, D.; Breuer, L.Archive. 1990.pharmaceutical,32,678-679.

[51] Ahmed A. Ahmed. Tamas Gàti, Taha A. Hussein, Aptehal T.Ali, olga A.Tzakou, Maria A.

Couladis, Tom J. Mabry and Gabor Toth. 2003. Tetrahedron 59, 3729-3735.

[52]Snezana Trifunovic, Ivana Aljabčić, Vlatka Vajs, Slobodan Macura, Slobodan Milosavljevic,2005. Biochemical Systematics and Ecology, 33. 317-322.

[53] Basma A.A.A.Balboul, Ahmed A.Ahmed.; Hideaki otsuka; Masahiko, Masarukido and

Yoshio Takeda. 1997.phytochemistry, vol.46, N°6, 1045-1049.

[54] Milkan. Todorova, Bozhanka Mikhova, Antoaneta Trendafilova Antonina Vitkva,

Helmut Duddeek, Mincho Anchev 2006.Biochemical systematic and ecology 34 ,136-143.

[55] Milka Todorova, Antoaneta Trendafilova, Bozhanka Mikhova, Antonina vitkova, Helmut

Duddeek.2007. phytochemistry 68 ,1722-1750.

[56] Simonpoli, P.1993 in Arburi, Arbe , Arbigliule,Savoirs populaires sur les plantes de corse, Parc naturel Regional de la corse, Ajaccio, corsica.

[57] Goldberg, A.S. ; Mueller , E.C. ; Eigen, De Salve, S.J. 1969 Pharm. Sci. 58,883-941.

[58]Conforti F., Loizzo, M.R., Statti, G.A. Menichini, F.,2005 Biological Pharmaceutical Bulletin 28, 1791

[59]<http://fr.wikipedia.org/wiki/ranunculaceae>.

[60]<http://plants.usda.gov/java/profile>

CAPITRE II

LES

METABOLITES

SECONDAIRES

II-1-Introduction

Les métabolites secondaires sont souvent considérés comme n'étant pas essentiels à la vie de la plante [1]. Ils sont bio synthétisés à partir de métabolites primaires et jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement, contribuant ainsi à la survie de l'organisme dans son écosystème. Plus de 8500 métabolites secondaires sont déjà connus. Les plus grands groupes sont les alcaloïdes, les terpénoïdes, les stéroïdes et les composés phénoliques. Ils présentent une énorme valeur économique (en particulier pour l'industrie pharmaceutique et en cosmétique). Les principales voies de biosynthèse de ces composés sont souvent complexes peuvent être schématisées, comme reporté dans la schémaII-1[2].

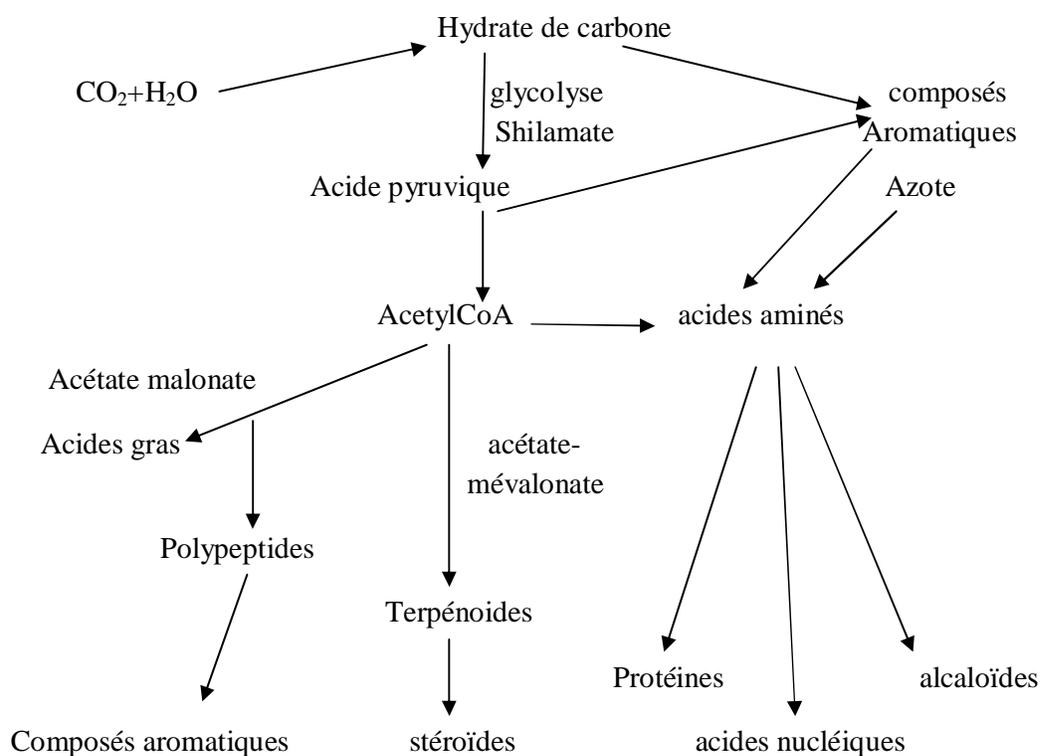


Schéma II-1: Les principales voies de biosynthèse impliquées dans la production des métabolites secondaires des végétaux.

II-2-Terpénoïdes:

Les terpénoïdes sont largement distribués dans la nature, principalement dans le royaume des plantes. Ils peuvent être considérés comme des dérivés des oligomères de l'isoprène



Ils sont formés de l'assemblage d'un nombre entier d'unités penta carbonées ramifiées dérivées du 2-méthylbutadiène, appelées unités isopréniques $(\text{C}_5\text{H}_8)_n$. Ces squelettes peuvent être arrangés de façon linéaire ou bien former des anneaux. De ce fait les terpènes sont classifiés comme suit:

-Monoterpènes, $\text{C}_{10}\text{H}_{16}$.

.Sesquiterpènes, $\text{C}_{15}\text{H}_{24}$.

-Diterpènes, $\text{C}_{20}\text{H}_{32}$.

-Triterpènes, $\text{C}_{30}\text{H}_{48}$.

-Tetraterpènes, $\text{C}_{40}\text{H}_{66}$.

-Polyterpènes, $(\text{C}_5\text{H}_8)_n$.

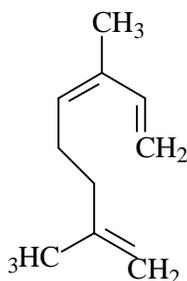
Les terpénoïdes sont très abondant dans les huiles essentielles. Ils se composent d'un mélange complexe de terpènes ou sesquiterpènes, alcools, aldéhydes, cétones, acides, et esters [3].

II-2-1- Monoterpènes

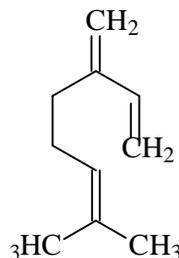
Les monoterpènes se divisent en trois groupes: Acyclique, monocyclique, et bicyclique.

II-2-1-a- Les monoterpènes acycliques

Parmi les plus importants on trouve l'ocimène et le myrcène.

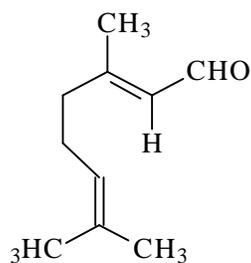


Ocimène

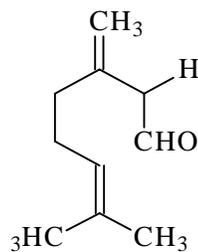


Myrcène

Aldéhydes:

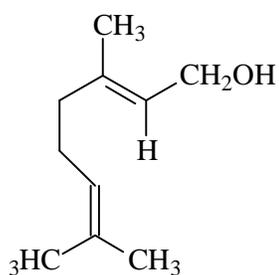


Géraniale

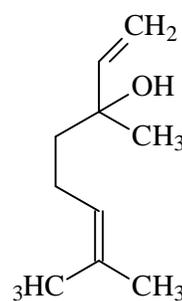


Neral

Alcools:



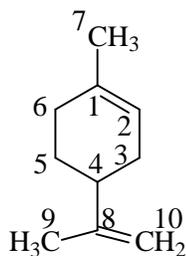
Géraniol



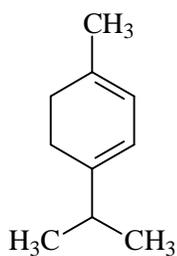
Linalool

II-2-1-b- Les Monoterpènes monocycliques:

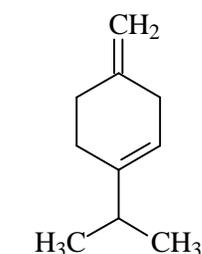
Parmi les hydrocarbures importants on a:



limonène

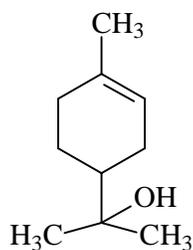


α-terpinène

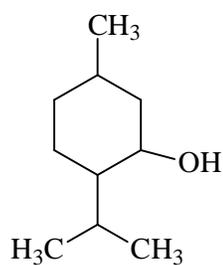


β-terpinène

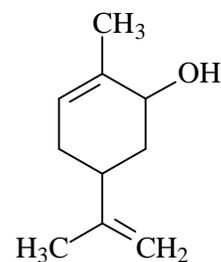
Alcools:



α-Terpinéol

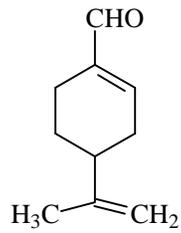


Menthol

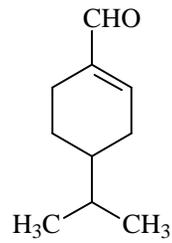


Carvéol

Aldéhydes:

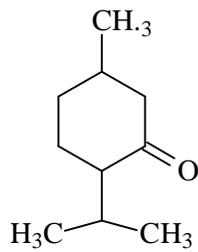


Perillaldéhyde

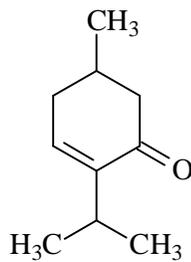


phellandral

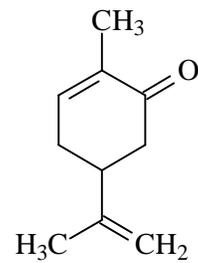
Cétones:



Menthone

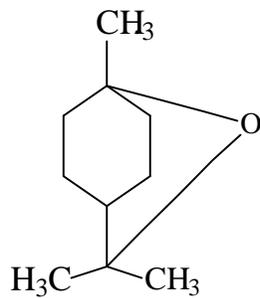


Pipéritone

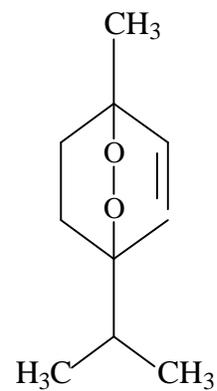


Carvone

Oxides:



1,8-Cénole

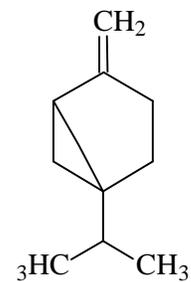
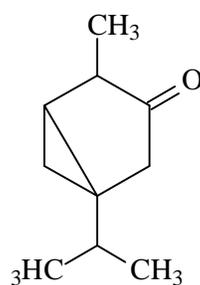
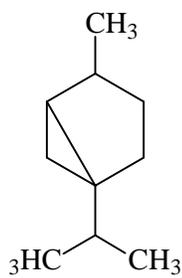


Ascaridde

II-2-1-c- Les monoterpène bicycliques

Les monoterpènes bicycliques peuvent être divisés en cinq groupes:

Groupe Thujane:

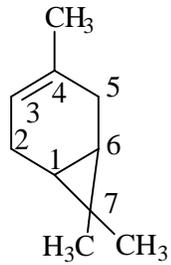


α - Thujène

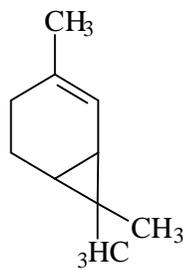
Thujone

Sabinol

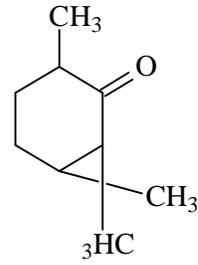
Groupe Carane:



Car-3-ène

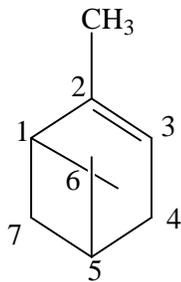


Car-4-ène

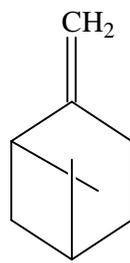


Carone

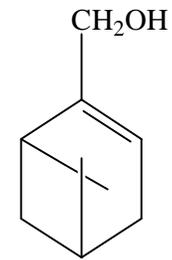
Groupe pinane:



α -pinène

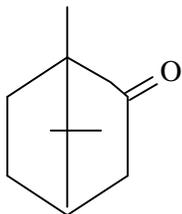


β -pinène

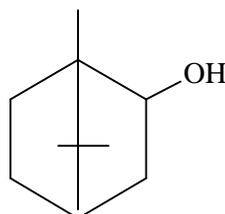


Myrtenol

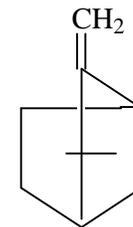
Groupe Camphane:



Camphre

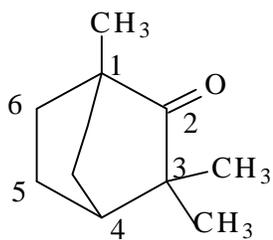


Borénole

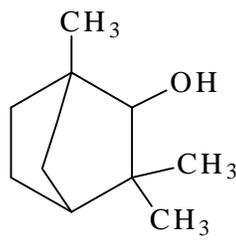


Camphène

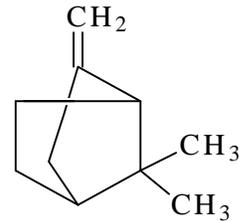
Groupe Fenchane:



Fenchone



Alcool Fenchyl

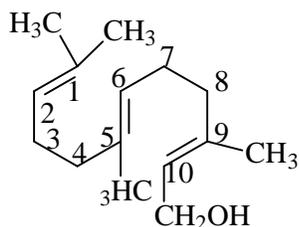


α -Fenchene

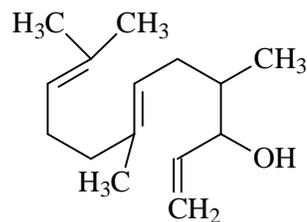
II-2-2-Les Sesquiterpènes:

Le squelette de base de ces composés est constitué de 15 atomes de carbone, soit l'union de trois unités isopréniques. Les sesquiterpènes sont des composés insaturés et peuvent être acycliques, monocycliques, bicycliques et tricycliques.

a- Sesquiterpènes acycliques

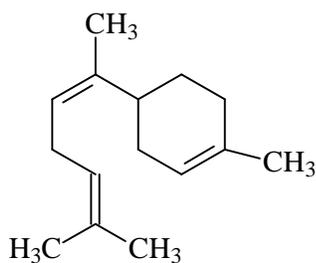


Farnésol

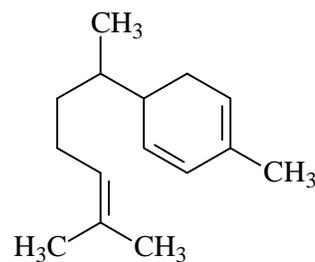


Nérolidol

b- Sesquiterpènes monocycliques

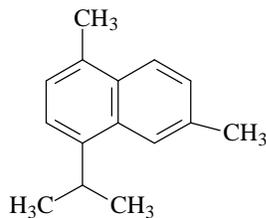


α -Bisabolène

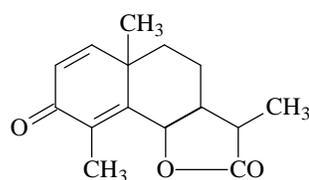


Zingiberene

c- Sesquiterpènes bicycliques



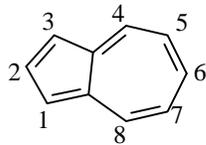
Cadalene



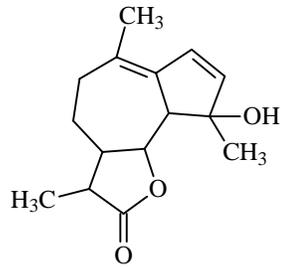
Santonine

d- Azulènes

Plusieurs huiles essentielles ont une couleur bleue ou violette, ou peuvent prendre des couleurs pareilles après deshydrogénation avec du sulphure, Selenium ou du palladium. Ces couleurs sont caractéristiques de ce type de composés.



Azulène

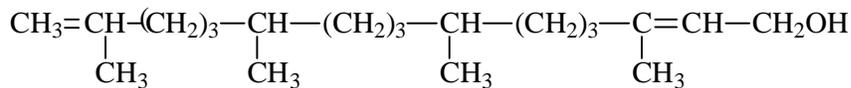


Artabsin

II-2-3- Diterpènes:

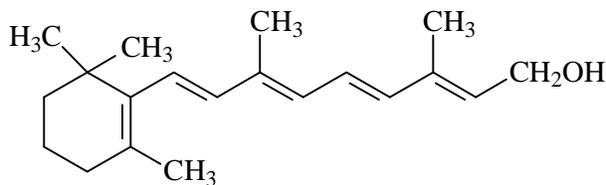
Ce sont des hydrocarbures en $C_{20}H_{32}$, résultant du couplage de quatre unités isopréniques, on les rencontre dans les résines des plantes.

a- Diterpènes acycliques:



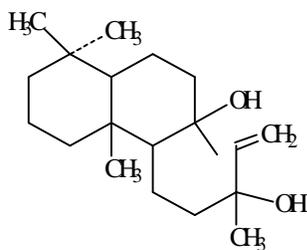
Phytol

b- Diterpènes monocycliques:

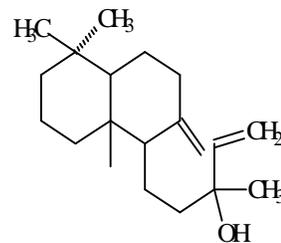


Vitamine A₁

c- Diterpènes bicycliques



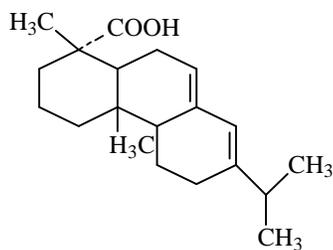
Sclareol



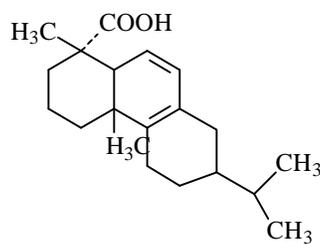
Manool

d -Diterpènes tricycliques

Parmi cette large gamme de composés on peut citer l'acide abiétique et acide lévopimarique.



Acide abiétique



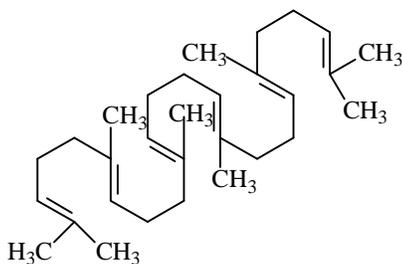
acide lévopimarique

II-2-4-Triterpènes:

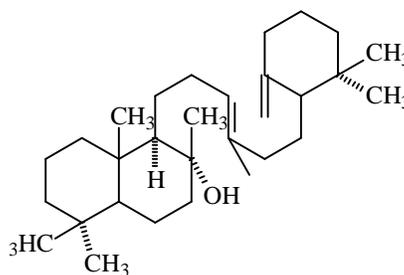
Les triterpènes sont des composés en C_{30} . Ils sont très répandus dans le royaume des plantes et des animaux, où ils se produisent à l'état libre comme esters, ou comme glycosides. Ils peuvent être répartis en trois groupes : acycliques; tetracycliques; pentacycliques.

Les principaux produits triterpéniques sont:

a-Triterpènes acycliques:

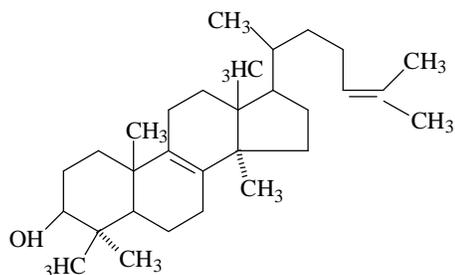


Squalène

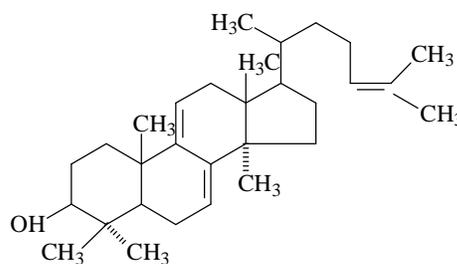


Ambrène

b- Triterpènes tétracycliques



Lanostérol

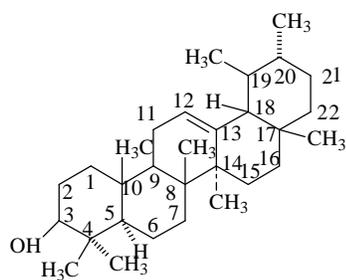


Angostérol

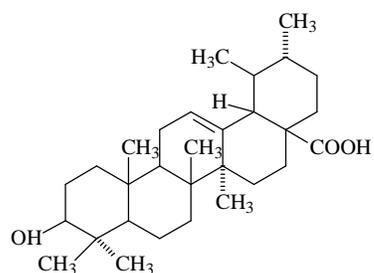
c- Triterpènes pentacycliques:

Les triterpènes sont largement répandus chez les plantes et le royaume des animaux où on les rencontre à l'état libre, des esters ou comme des glycosides. Ils peuvent être classés en trois groupes: acycliques; tétracycliques; pentacycliques.

Groupe α -Amyrine:

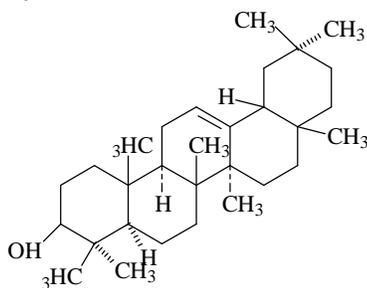


α -Amyrine

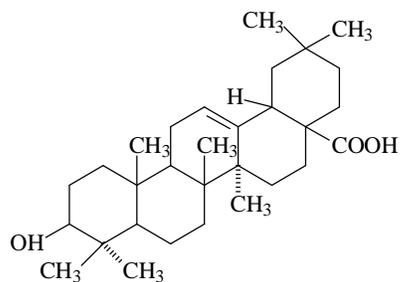


Acide ursolique

Groupe β -Amyrine

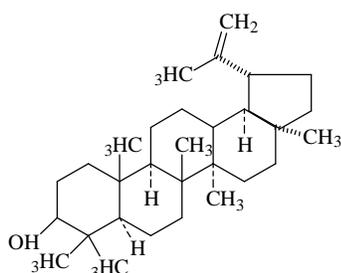


β -Amyrine

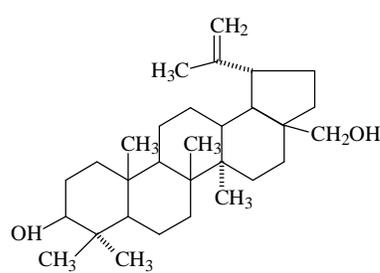


acide oléanolique

Groupe lupéol:



lupéol



Bétuline

II-2-5-Les stéroïdes

Abondant dans les végétaux et les animaux, ils ont en commun une structure chimique comportant un squelette perhydrocyclopentanophénanthrène, (avec une numérotation UIPAC spécifique.) (schéma II-2.)

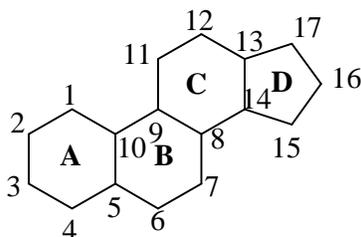


Schéma. II-2: noyau perhydrocyclopentanophénanthrène.

Ils comportent généralement des méthyles en C-10 et C-13 et souvent une chaîne alkyle en C-17. α et β sont des affixes spécifiques selon que le groupe substituant est en dessous ou au-dessus du plan de la molécule projetée selon le schéma précédent.

Bien que n'étant pas des terpènes, ils sont bio génétiquement dérivés des terpènes. Quelques exemples de stéroïdes sont donnés dans les schémas: II-3, II-4, et II-5

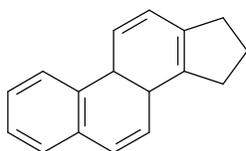


Schéma II-3: Cyclopentano- Phénanthrène

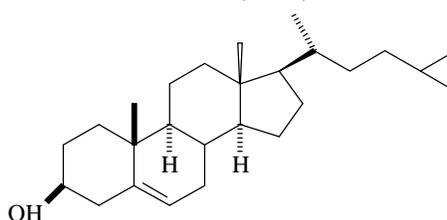


schéma II-4: Le cholestérol

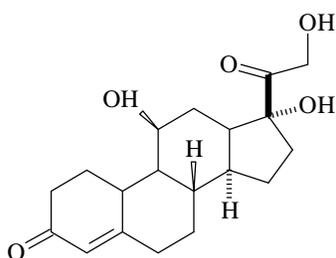


Schéma. II-5: le cortisol.

II-2-6-Les stérols:

Les stérols et stanols végétaux ont une structure très comparable à celle du cholestérol. Les stérols sont naturellement présents en petites quantités dans de nombreux fruits, légumes, fruits secs, céréales, légumineuses, huiles végétales et autres sources végétales, ce sont des éléments essentiels des membranes cellulaires végétales.

Les stanols sont présents à l'état de traces dans le même type d'aliment et résultent de l'hydrogénation des phytostérols lors de leur transformation en produits à usage commercial.

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, estérifié (glycosylés) ou estérifié (stérides: sans intérêt pharmacologique connu) de deux méthyles en position 10 β , 13 β et d'une chaîne carbonée en 17 β (schéma II-6 [4].

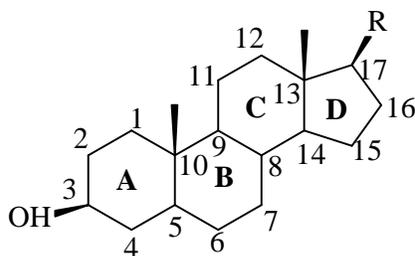
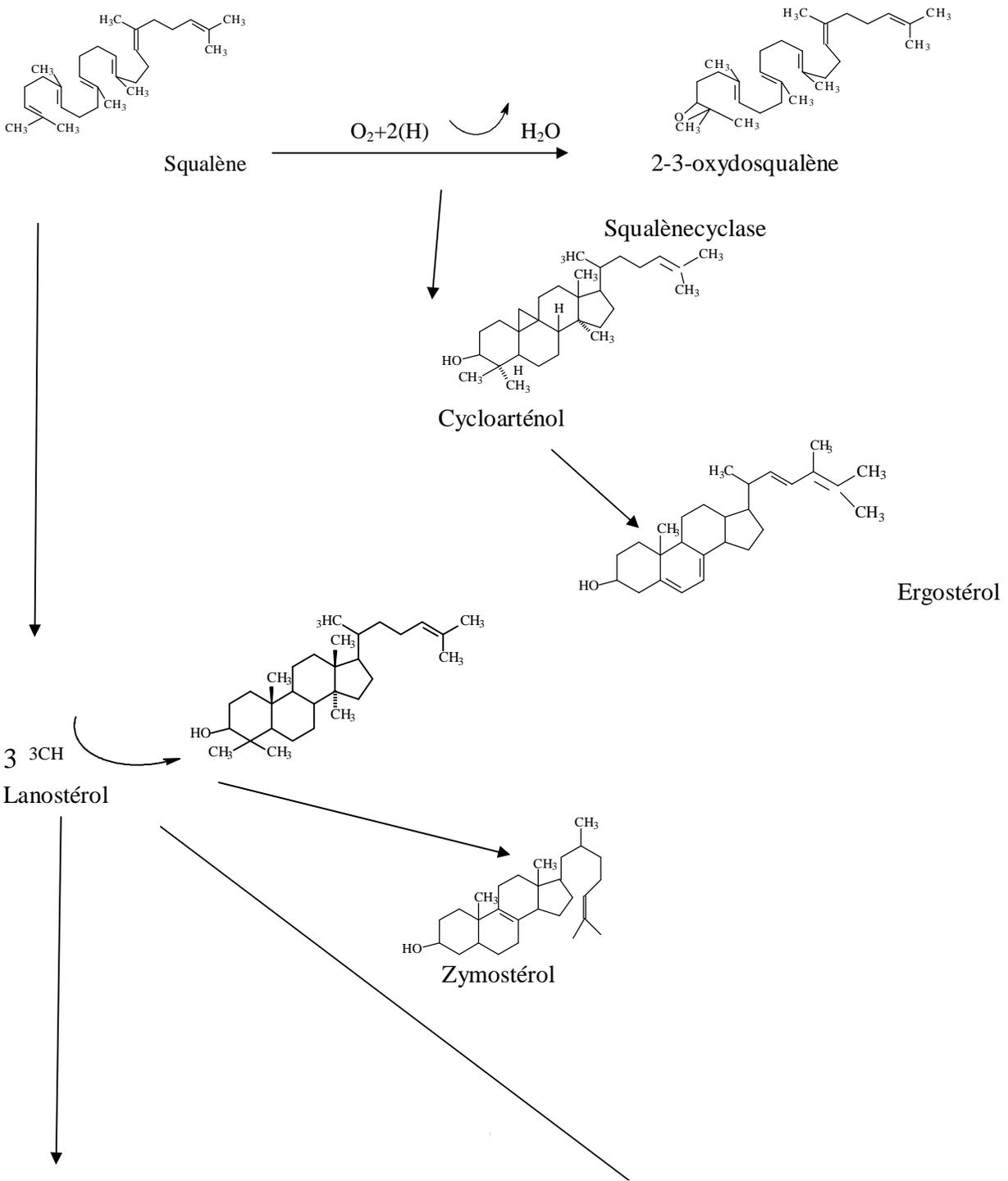


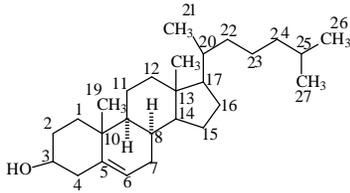
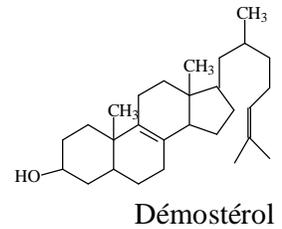
schéma II-6: noyau gonane et ses chaînes latérales couramment rencontrées.

De nombreux stérols sont insaturés, en C₅ (souvent); simultanément en C₇ et C₂₂ (assez souvent) et en C₇ (parfois). Ils sont alors appelés stérols par opposition à leurs homologues saturés, les stanols.

Bio génétiquement les stérols proviennent de la polycyclisation selon divers modes du 2,3 époxysqualène, produit de l'oxydation enzymatique du squalène, hydrocarbure à 30 atomes de carbone. 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 d'une perte d'un proton [5,6].

Le squalène précurseur des autres phytostérols, s'oxyde en présence du NADPH et de l'oxygène moléculaire (O₂) conduisant aux 2,3 oxydes de squalène, lequel sous l'action d'une squalène cyclase se transforme en cycloarténol, par la suite 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 9β-19-cyclopropanique [7]. La voie de synthèse des stérols est reportée dans le schéma II-7





Cholestérol

schéma II-7: voie de synthèse des stérols.

II-3-Les composés phénoliques:

Ce sont des métabolites secondaires présents chez toutes les plantes vasculaires et chez les algues. Ils comprennent un cycle aromatique porteur d'un ou plusieurs groupements hydroxyles. Ils interviennent dans les interactions plante-plante (alléopathie, inhibition de la germination et de la croissance) [8]. Certains flavonoïdes et surtout les tannins, astringents, sont des antiappétants protégeant les plantes de la prédation de nombreux animaux [9, 10]. Les polyphénols et les flavonoïdes, sont des composés phénoliques présent dans les végétaux. Ils possèdent des propriétés antioxydantes, et peuvent contribuer à prévenir l'apparition de plusieurs maladies (cancers, maladies cardiovasculaires et maladies liées aux vieillissements) en neutralisant les radicaux libres du corps [11].

Ils se trouvent dans toutes les parties de la plante. Les polyphénols regroupent une multitude de composés et représentent un des groupes les plus importants distribués dans les végétaux. On peut les classer en quatre familles: les acides phénoliques, les flavonoides, les tannins et les lignanes.

II-3-1-Les tanins:

Les tanins sont des substances d'origine organique que l'on trouve pratiquement dans tous les végétaux et dans toutes les parties (écorces, racines, feuilles, etc....) caractérisées par leur activité astringente (sensation de dessèchement de la bouche).

Les tanins dérivés de l'acide gallique et d'autres acides phénoliques, ne sont pas exactement des acides, mais ils résultent de l'estérification, par ces acides, des fonctions alcooliques du glucose. Leur structure chimique est très variable, mais comporte toujours une partie polyphénolique. Ils sont divisés en deux catégories: les tanins hydrolysables (groupe principalement responsable des effets toxiques pouvant apparaître lors de la consommation de certains plantes) et des tanins condensés (ils ne traversent pas la barrière intestinale, ils sont donc moins toxiques que les tanins hydrolysables). Leur intérêt médical 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 employés 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 [12, 13].

II-3-2- Les flavonoïdes:

Introduction:

Les flavonoïdes font partie d'un ensemble très diversifié de molécules polyphénoliques. Ce sont des composés à quinze atomes de carbone. Du point de vue structural, les flavonoïdes se répartissent en quinze familles de composés, dont les plus importantes sont:

Les flavones, les flavonols, les flavanones, les flavanols, les isoflavones, les isoflavanones, les chalcones, les aurones, et les anthocyanes.

Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous forme libre (aglycone) ou sous la forme de glycosides.

Répartition:

Les composés flavoniques au sens strict, sont des pigments jaunes responsables de la coloration de certaines fleurs [14]. A l'exception des algues, ces composés sont les constituants caractéristiques du règne végétal chlorophyllien [15].

Abondants dans les plantes supérieures, particulièrement dans certaines familles comme les polygonacées, les rutacées, les légumineuses, les ombellifères et composées [16, 17], ils sont présents dans les feuilles, les fleurs, les racines, le bois, l'écorce, le pollen, le nectar et les graines [17, 18],

mais ils peuvent également se trouver dans le règne animal c'est le cas des glandes à sécrétion odoriférante du castor par exemple [19]. On les trouve dissoutes dans les vacuoles à l'état d'hétérosides ou comme constituants de plastes particuliers, les chromoplastes [20].

Structure et biosynthèse des flavonoïdes:

Les flavonoïdes possèdent un squelette de base à quinze atomes de carbone constitué de deux cycles en C₆ (A et B) reliés par une chaîne en C₃ (Schéma II-8) [21].

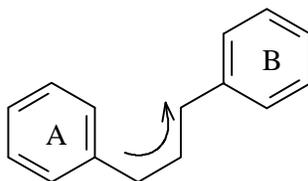
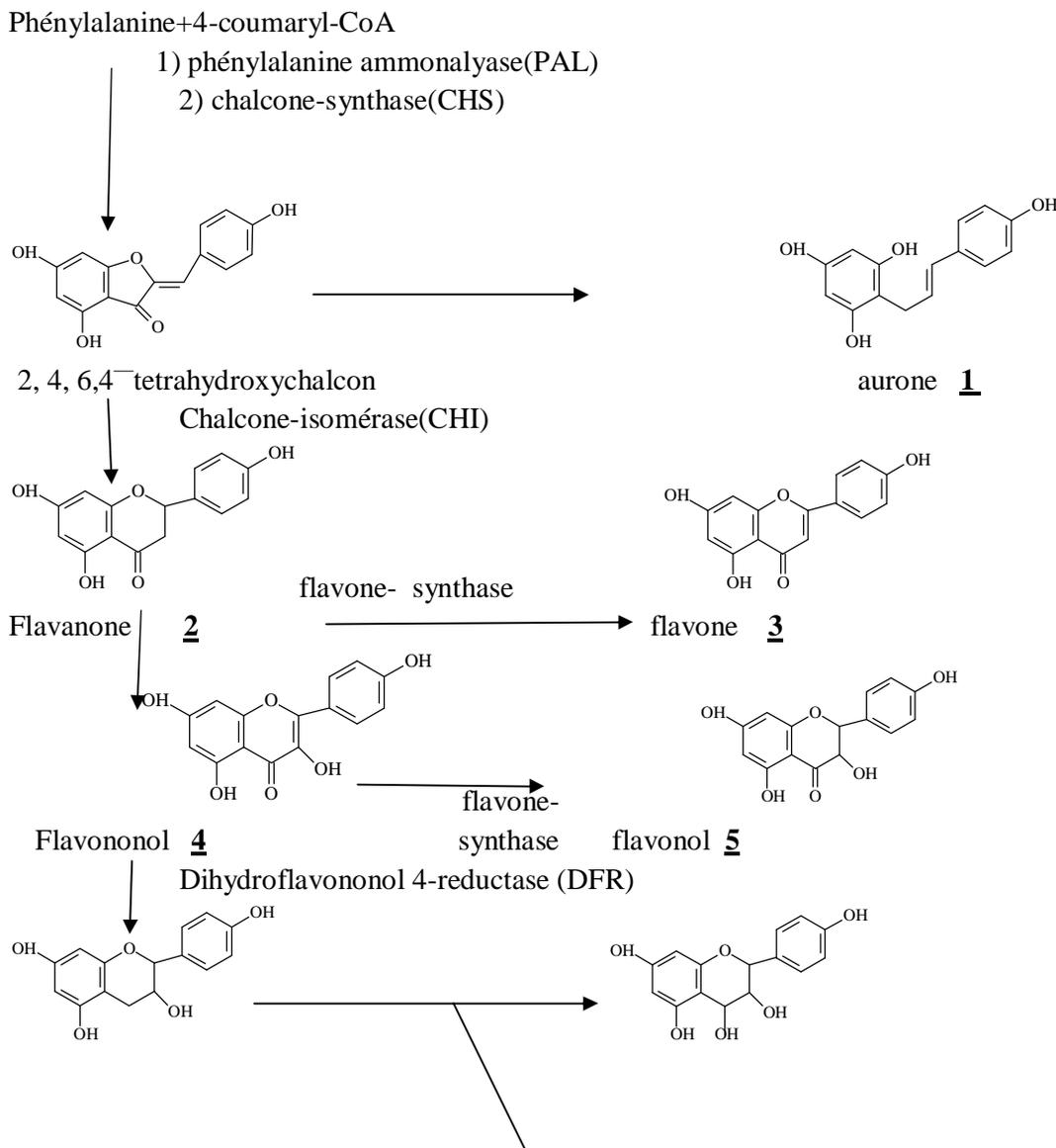


Schéma II-8: Structure de base des flavonoïdes.

Leur biosynthèse (Schéma 8) se fait à partir d'un précurseur commun. La 4,2',4',6' tetrahydroxychalcone [22, 23]. Par l'action des enzymes, cette chalone de couleur jaune, est métabolisée en différentes classe de flavonoïdes: flavanone (2), aurone (1) (jaune), 2,3

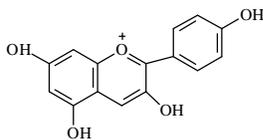
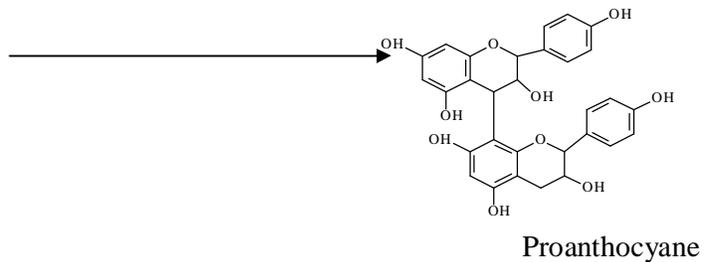
dihydroflavonol (4), flavone (3) (ivoire),anthocyanidine(7) (rouge-bleu), flavonol (5) (jaune), catéchine (6).....Des étapes ultérieures, surtout de glycosilation et d'acylation, amènent les flavonoïdes à la forme définitive dans laquelle ils se trouvent in vivo [24]. La biosynthèse de ces composés est illustrée dans le schéma II-9

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



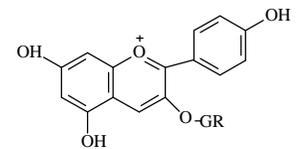
Leucoanthocyanidine

catéchine 6



Anthocyanidine 7

uridine flavonoïdes
3-o-glycosyltransféresa (UFGR)



Anthocyane

Schéma II-9):schéma illustrant la biosynthèse des flavonoïdes.

Propriétés des flavonoïdes:

Les flavonoïdes sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs: racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines, bois...

Certains flavonoïdes sont plus spécifiques de certains tissus. Les anthocyanes sont plutôt dans les parties externes des fruits, fleurs et feuilles. Les chalcones se trouvent le plus fréquemment dans les pétales des fleurs. Ce sont des pigments naturels au même titre que les chlorophylles (couleur verte) et les caroténoïdes (nuances jaunes et orangées). Leur fonction principale est la pigmentation des plantes (aspect esthétique, culminant dans les fleurs des végétaux supérieurs).

Les flavonoïdes, en particulier les anthocyanes, sont les seules molécules du règne végétal capable de produire une vaste gamme de couleurs, susceptibles de donner des teintes allant du jaune-orange au bleu, en passant par le pourpre et le rouge. Les flavones, auronnes et chalcones donnent plutôt des couleurs jaunes, beige voir blanche, ou participent aux nuances produites par les anthocyanes et les caroténoïdes.

Un des rôles des couleurs chez les plantes est d'attirer les insectes et cela afin de déclencher la fécondation, les charges de pollen de graines de façon à en assurer la dissémination nécessaire à la reproduction de l'espèce.

Si tous les flavonoïdes n'absorbent pas dans le domaine du visible, ils présentent tous une bande dans l'ultra-violet proche du visible. Certains insectes, telle que l'abeille, distinguent les fréquences de radiations dans le domaine ultra-violet et visible et montrent des préférences pour certaines teintes. C'est pourquoi la possibilité de changement de couleur est largement utilisée par les plantes pour assurer la survie de l'espèce. On peut également noter que les flavonoïdes, en repoussant certains insectes par leur goût désagréable, peuvent également jouer un rôle dans la protection de ces plantes. Le monde animal est lui aussi très concerné par les flavonoïdes. On trouve par exemple de la chrysin (8), de la quercétine (9) de la galangine (10) dans la propolis des abeilles (Schéma 9). Ces insectes la fabriquent à partir des sécrétions des bourgeons de nombreux arbres comme le bouleau,

l'aulne, l'épicéa, le sapin, le saule, l'orme, et la modifier par leurs enzymes salivaires. Les abeilles mettent instinctivement en œuvre les propriétés antifongiques et antibactériennes des polyphénols pour aseptiser leur ruche et en colmater les fentes. Les propriétés cicatrisantes et anti-infectieuses de la propolis étaient entre autres utilisées par les civilisations égyptiennes, romaines, grecques et incas. De nos jours, les propriétés des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médicale où on leur reconnaît des activités antivirales [25] anti-tumorales [26], anti-inflammatoires [27, 28], anti-allergiques [29], anticancéreuses [30, 31].

Par exemple, les proanthocyanidols présents dans le vin rouge, peu présent dans le vin blanc, ont une activité protectrice contre l'infarctus du myocarde, et s'opposeraient aux processus de formation des plaques athéromateuses dans nos artères.

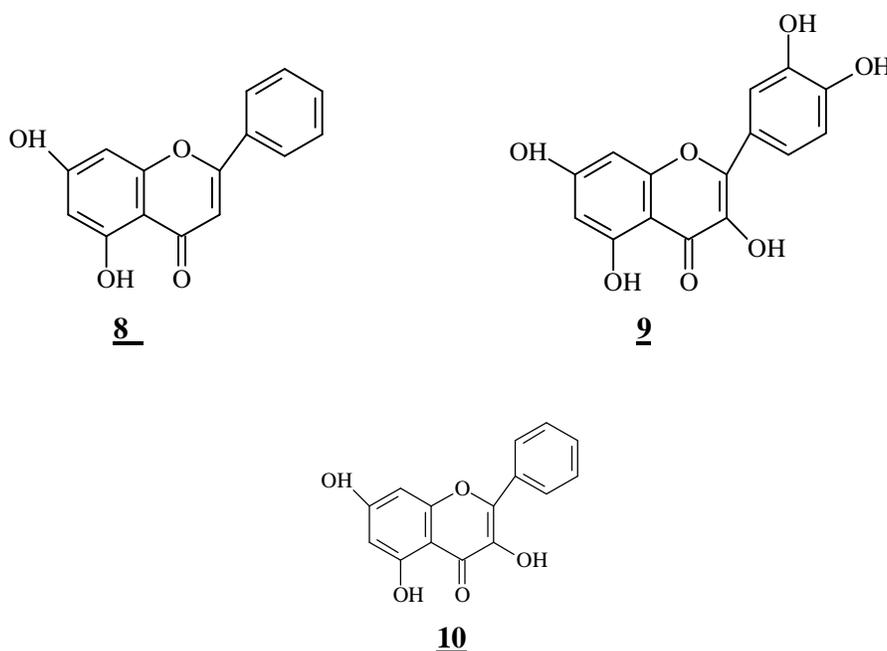


Schéma II-10: structure de la chrysin (8), de la quercétine (9), de la galangine (10).

II-3-3-Acide gras:

Les acides gras sont des acides carboxyliques caractérisés par une répétition de groupements méthylène CH_2 formant une chaîne carbonée généralement constituée d'un nombre pair d'atomes de carbone. C'est cette chaîne carbonée qui confère aux acides gras leur caractère hydrophobe [32]. La classe des acides gras peut se diviser en 13 sous-classes dont les principales sont:

*Les acides gras et leurs dérivés: cette sous-classe très riche comprend en premier lieu les acides gras à chaîne linéaire (schéma II -11) de formule semi développée.



Les acides gras à chaîne linéaire sont des acides gras saturés dont dérivent les autres sous-classes, notamment celle des acides gras insaturés (schéma II- 12).

*Les eicosanoïdes: ils sont formés à partir de l'acide 5Z, 8Z, 11Z, 14Z- eicosatétraénoïque, plus communément appelé acide arachidonique (schéma II -13).

Cet acide possède 20 atomes de carbone et 4 insaturations (4 doubles liaisons).

Les eicosanoïdes les plus connus sont sans doute les prostaglandines (schéma II-14).

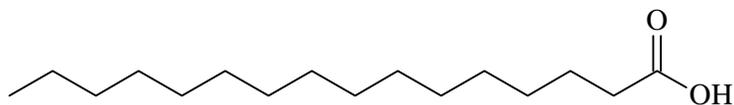


Schéma II- 11:un acide gras à chaîne linéaire: l'acide hexadécanoïque, ou acide palmitique.

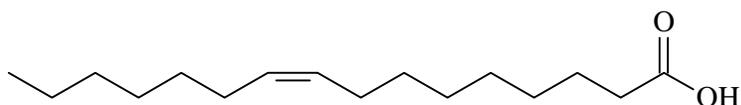


schéma II-12:un acide gras insaturé: l'acide 9Z octadécénoïque Ou acide oléique.

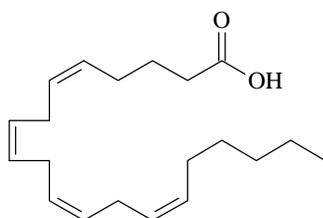


Schéma II-13:l'acide arachidonique
Précurseur des eicosanoïdes.

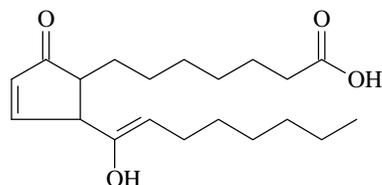


schéma II- 14:un eicosanoïde:
La prostaglandine A₁.

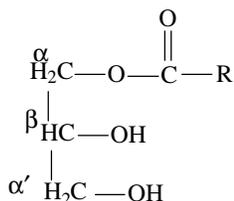
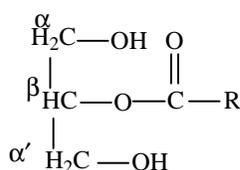
II-3-4:Acylglycérol:

Dans le milieu vivant les acides gras sont souvent à l'état estérifiés notamment par le glycérol.

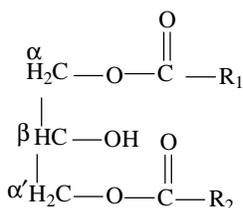
Les acylglycérols, également appelé glycérides ou glycérolipides, sont des esters d'acides gras et de glycérol. Ils font partie des lipides. La présence des trois groupements hydroxyles fait que:

Si c'est deux fonctions hydroxyles voisines du glycérol qui sont estérifiés, il s'agit d'un α , β -diglycéride, dans le cas où les deux fonctions hydroxyles estérifiés sont en position 1 et 3 du glycérol, il s'agit d'un α , α' diglycéride (schémas II- 15 et II-16)

Différents types de glycérides:

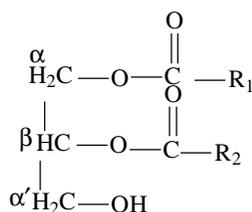


Schema II- 15: β -monoglyceride.



Schema II-17: α, α' diglycéride.

Schema II-16: α -monoglyceride.



Schema II- 18: α, β diglycéride.

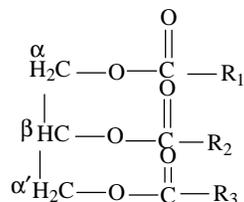


Schéma II-19: Triglycéride.

*Monoacylglycérols (Monoglycérides):

Selon que la fonction hydroxyle OH du glycérol soit celle du milieu (sur le carbone β) ou une périphérique (sur le carbone α ou α'), il s'agit respectivement d'un β -monoglycéride (schéma. II- 15) ou d'un α -monoglycéride (schéma II.-16).

*Diacylglycérols (diglycérides):

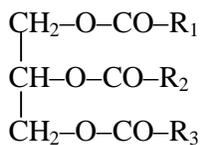
Les schémas II-17 et II-18 présentent les deux types de glycérols.

Si les deux acides gras sont identiques ($R_1 = R_2$), c'est un diglycéride homogène. Dans le cas contraire, il s'agit d'un diglycéride hétérogène.

*Triacylglycérols (triglycérides):

Les schémas II-19 et II-20 présentent un triglycéride. Si les trois acides gras sont identiques, il s'agit d'un triglycéride homogène. Sinon, c'est un triglycéride mixte.

La formule semi développée des triacylglycérols est:



Avec R_1 , R_2 , et R_3 trois chaînes alkyles.

Le schéma II- 20 illustre un triglycéride homogène pris en exemple:

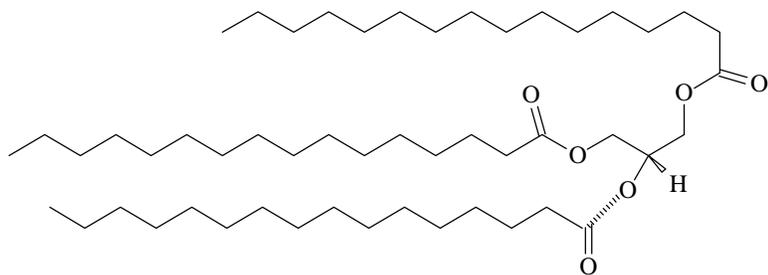


Schéma20: tripalmitoylglycérol.

Il est à noter que les groupes hydroxyles OH libres du glycérol chez les mono et diacylglycérols peuvent aussi être substitués par des sucres via une liaison glycosidique.

Références bibliographiques:

- [1] Raven, P.M. Evert, R.F. et Eichhorn, 2000. S.E. Biologie végétale. De Boeck. Université S.a. 944p. ISBN: 2-7445-0102-6, Paris.
- [2] Panda, N. and Khush, G.S., 1995 Secondary plant Metabolites for insect Resistance. In Host plant Resistance to insects. Wallingford, UK: CAB international, 22-26.
- [3] Natural products, their chemistry and biological significance authors: J.Hann, R.S. Davidson, J. B. Hobbs D.V. Banthorpe and J.B. Harbone.
- [4] L.J. Valdes, 1994. A.J. Psychoactive Drugs. 26, 277-283.
- [5] Harrison, D.M., 1990, Natural Product Reports., 7, 459-484.
- [6] Minotto, P., 1981, Biosynthesis of natural products. John Wiley and Sons., New York. Chichester. Brisbane. Toronto.
- [7] J. Bruneton., 1999, pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3^{ème} Edition, éditeur technique et documentation, Paris. 472-670.
- [8] Oliver-Bever Bep, 1986. Medical plants in tropical est Africa, Cambridge university Press.
- [9] Harbone, J.B., and Ingham, J.L., 1978, Biochemical aspects of the evolution of higher plants with their fungal parasites in Biochemical aspects of plant and animal coevolution. Annual Proe. phytochem. Soc. Europe, ed. H.I.B. (Ed.: Academic Press.), 343-405.

- [10] Harbone, J.B., 1988 Introduction to ecological biochemistry. London: Academic Press.
- [11] Rice-Evans, C.A.; Miller, N.J.; Paganga, G. 1996 Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic Acids. *Free Radic. Biol. Med.* 20, 933-956.
- [12] Harbone, J. B. 1964. Biochemistry of phenolic compounds, Academic Press, New York.
- [13] Peeking A., Picand et B., Hacene k., Lokiec F., Guérin P., 1987, oligomères procyanidoliques (Endotélon) et système lymphatique. *Artères et Veines*, 6, 512-3.
- [14] J.B. Harbone and T.J. Mabry, 1982 the flavonoids advances in reaserch, , edition chapman and Hall, London.
- [15] J.F. Gonnet, these de doctorat d'état, 1989, université claudes-Bernard, Lyon.
- [16] Oliver-Bever Bep, 1986 Medical plants in tropical est Africa, Cambridge university Press.
- [17] M. Paris et M. Hurabielle, 1981 Abrégé de matière médicale (pharmacognosie), Tome I, Edition Masson, Paris, New York.
- [18] J.B. Harbone, 1988 the flavonoids, edition chapman et Hall
- [19] K.R. Markham, 1982 Techniques of flavonoids identification, Academic press, London.
- [20] J.L. Guignard; L. Cosson; K. Henry, 1985 Abrégé de phytochimie, 143, Ed. masson, Paris.
- [21] Harbone, J.B. 1964, Biochemistry of phenolic compounds, Academic press, New York.
- [22] Peeking A., Picand et B., Hacène K., Lokiec F., Guérin P., 1987 oligomères procyanidoliques (Endotélon) et système lymphatique. *Artères et veines*; 6, 512-3.
- [23] Guilhou J.J., Dereure O., Marzin. 1997, Efficacy of Daflon 500mg in venous Legulcer healing: a double-blind, randomized, controlled versus placebo trial in 107 patients, *Angiology* ; 48, 77-85.
- [24] J. Bruneton., 1993 Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales, techniques et documentation Lavoisier , 272-279.

- [25] J.F. Christopher and G.H.Neil-Towers, 1992 phytochemistry, 31(9), 3017-3020.
- [26] Stavric and T.I. Matula, 1992 Flavonoids in food; their significance for nutrition and Health, 274-294.
- [27] E.Middleton; J.R.C.Kandaswami, 1992 Biochem.pharmacol, 43(6), 1167-1179.
- [28] A.Manthy -john; N, Guthrie et K. Ghamann, 2001 current medical chemistry, 8(2), 135-153.
- [29] L.Ruzika. 1959, proc.chem, Soc, 541, London.
- [30] W. Cisonski, 1984. Herba pol, , 30, 219-231.
- [31] S.H. Ryu; B. T. Yoo; B .Z. Ahn et M. Y .Pack, 1985 Arch. Der pharm, , 318, 659.
- [32] (en) FahyE.,Subramaniam; Brown H.A ; Glass Ck., Merrill A.H. Jc., Murphy R. C, Raetz C.R, Russel D.W.,Seyama Y.,shaw w., Shimizut., Spener F., Van Meer G.,Van Nieuwenhze M.S, White S.H.,Witztum. J. L., Dennis E. A 2005 A comprehensive classification system for lipids, J lipids Res, Vol 46 (5) 839-861.

CHAPITRE III

PARTIE

EXPERIMENTALE

III-1: Etude bibliographique du genre *Achillea*

Les parties aériennes des espèces du genre *Achillea* sont très utilisées en médecine traditionnelle [1-4], les espèces de ce genre ont fait l'objet d'investigations phytochimiques qui ont montré leur richesse en métabolites secondaires notamment les huiles essentielles [5-7], les flavonoïdes [8-11] et les lactones sesquiterpéniques [12-15].

Dans le cadre de notre programme de recherche, nous avons choisi les plantes des astéracées [16-19], nous nous sommes intéressés à l'espèce *Achillea ligustica* All.

III-1-1: Etude chimique de *Achillea ligustica* All.

III-1-2: Etude bibliographique:

La recherche bibliographique que nous avons menée a montré que plusieurs études ont été menées sur *Achillea ligustica* All., récoltés dans diverses régions d'Europe. Ces études concernent les huiles essentielles [20-23], les flavonoïdes [24], les lactones sesquiterpéniques [25-26], des pipéridines amides [27], des lignanes [28] et des activités biologiques de l'extrait méthanolique de cette espèce [29].

III-1-3: Description de la plante:

Plante vivace de 30-100 cm, à souche courte et peu rameuse. Tiges anguleuses. Feuilles des rosettes et basilaires à 5-7 segments de chaque côté. Inflorescences en corymbe relativement lâche. Fleurons à corolle ne coiffant pas ou coiffant à peine l'ovaire ou l'akène, elle pousse dans les forêts claires et aux bords des ruisseaux [30].

III-1-4: Place dans la systématique:

Règne	—————>	Plantae.
Embranchement	—————>	Magnoliophyta.
Classe	—————>	Magnoliopsida
Sous-classe	—————>	Asteridae
Ordre	—————>	Astérale
Genre	—————>	<i>Achillea</i>
Espèces	—————>	<i>ligustica</i> .

III-1-5: Extraction de *Achillea ligustica* All.

Les parties aériennes de *Achillea ligustica* All., ont été récoltées en période de floraison (juin) dans la région de Jijel. Après séchage à l'abri des rayons solaires et de l'humidité, 224 g ont été extrait dans un appareil de Soxhlet avec de l'éthanol pendant 48 heures, après concentration sous vide à une température n'excédant pas 40 °C, un extrait de 72 g a été obtenu.

III-1-5: Etude de l'extrait éthanolique de *Achillea ligustica* All.

Cette étude a débuté par la recherche de la meilleure phase stationnaire et du meilleur éluant, qui oriente vers le gel de silice 60 (230-400 mesh, Merck), ainsi cet extrait (72 g) mélangé à un peu de silice dans l'hexane, puis séché sous vide jusqu'à obtention d'une poudre homogène. Cette poudre a été déposée sur une colonne chromatographique préparée dans l'hexane.

L'élution débute avec le *n*-hexane dont la polarité sera augmentée par addition progressive de l'acétate d'éthyle et du méthanol.

Des fractions de 400 ml sont recueillies et analysées par chromatographie sur couche mince.

Les plaques sont examinées sous UV (254 et 365 nm) puis révélées à l'acide sulfurique (acide acétique 80%, acide sulfurique 4% et eau 16%) et chauffées à 100 °C pendant 3 minutes.

Les pots présentant la même composition sont réunis donnant ainsi 21 fractions, les résultats de l'opération sont groupés dans tableau III-1-a.

Tableau III-1-a: Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de l'extrait brute de *Achillea ligustica*.

N° de la fraction	Système d'éluion %			Poids (mg)	Observations
	<i>n</i> -hexane	Acétate d'éthyle	Méthanol		
F ₁	90	10	0	660	Mélange séparable
F ₂	90	10	0	100	Mélange séparable
F ₃	85	15	0	90	Mélange complexe
F ₄	80	20	0	98	Mélange complexe
F ₅	70	30	0	350	Mélange séparable
F ₆	65	35	0	400	Mélange séparable
F ₇	50	50	0	340	Taches allongées
F ₈	30	70	0	510	Mélange complexe
F ₉	0	100	0	370	Mélange complexe
F ₁₀	0	95	5	790	Mélange séparable
F ₁₁	0	90	10	500	Mélange complexe
F ₁₂	0	80	20	440	Traînée
F ₁₃	0	70	30	600	Traînée
F ₁₄	0	60	40	250	Mélange complexe
F ₁₅	0	50	50	1500	Mélange complexe
F ₁₆	0	40	60	450	Mélange complexe
F ₁₇	0	30	70	520	Mélange complexe
F ₁₈	0	20	80	1500	Mélange complexe
F ₁₉	0	10	90	9700	Mélange complexe
F ₂₀	0	5	95	640	Mélange complexe
F ₂₁	0	0	100	1320	Mélange complexe

***Etude de la fraction F₁:**

La fraction F₁ (600 mg) éluée avec hexane : AcOEt 9:10 a été rechromatographiée sur colonne de gel de silice type 60 (230-400 mesh, Merck), avec comme système éluant le benzène. Le rassemblement final des fractions a été effectué sur la base d'analyses par C.C.M analytique. Le résultat de la progression de cette colonne est illustré dans le tableau III-1-b.

Tableau III-1-b: Résultats de l'étude de la fraction F₁.

Nom de la sous fraction	Système éluant	Poids (mg)	Observations
F _{1,1} =A ₅ f ₁	Benzène	22,0	Mélange
F _{1,2} =A ₅ f ₂	Benzène	36,0	Mélange de plusieurs produits
F _{1,3} =A ₅ f ₃	Benzène	53,7	Mélange séparable
F _{1,4} =A ₅ f ₄	Benzène	42,0	Mélange complexe
F _{1,5} =A ₅ f ₅	Benzène	30,0	Couleur marron (traînée)

***Etude de la sous fraction A₅f₃ (F_{1,3}):**

Nous avons procédé pour cette sous fraction à une purification sur colonne de Sephadex LH-20 en utilisant comme éluant le système: Hexane : CH₂Cl₂: MeOH 2 : 2: 1

Le résultat de cette opération est reporté dans le tableau III-1-c

Tableau III-1-c: Résultat de la purification sur colonne de sephadex LH-20 de la sous fraction A₅f₃.

Poids: 53,7 mg

poids de Sephadex ≈ 2 g

Produits	Poids (mg)	Observations
F _{1,3,1} =A ₅ f _{3,1}	10,7 mg	graisse
F _{1,3,2} =A ₅ f _{3,2}	9,0	Produit pur
F _{1,3,3} =A ₅ f _{3,3}	4,2	Mélange

***Etude de la fraction F₂:**

La fraction F₂ (100 mg) est dissoute dans l'acétate d'éthyle, puis mélangée à une petite quantité de gel de silice, l'ensemble est séché sous vide, puis pulvérisé jusqu'à obtention d'une poudre homogène. Cette poudre est déposée sur une colonne de gel de silice (230-400 mesh, Merck) préparée dans le système *n*-Hexane : AcOEt 9 : 1. Notons que le suivi de la séparation et le rassemblement final des fractions, a été effectué sur la base d'analyses par C.C.M analytiques, cela a permis de réunir 4 fractions. Le résultat de cette opération est présenté dans le tableau III-1-d.

Tableau III-1-d: Résultat du fractionnement sur colonne de la fraction F₂ de *Achillea ligustica*.

Nom de fraction	Poids (mg)	Qbservations
F _{2,1} =BF ₁	10 ,0	Mélange
F _{2,2} =BF ₂	12,9	Graisse
F _{2,3} =BF ₃	41,0	Produit assez pur
F _{2,4} =BF ₄	3,8	Mélange complexe

La sous fraction BF₃ a subit une purification sur une colonne de Sephadex LH-20 éluée par le système Hexane : CH₂Cl₂ : MeOH 2 : 2 : 1, a permis d'isoler le produit pur BF_{3,3} (21 mg)=B30.

***Etude de la fraction F₅:**

La fraction F₅ (350 mg) éluée avec *n*-Hexane : AcOEt 70 : 30, a été chromatographiée sur colonne de gel de silice, utilisant comme système d'élution le *n*-Hexane : AcOEt en gradient de polarité pour obtenir 3 sous fractions. Ces trois sous fractions ont été éluées avec Hexane : AcOEt 80:20, 70:30 et 2:1 respectivement, donnent après purification sur plaques préparatives de gel de silice développées dans le système CH₂Cl₂ : Me₂CO 40 : 1, à donné trois produits purs:

*F_{5,1} (6 mg) = E_{33,4,2}

*F_{5,2} (8 mg) = E_{33,2,1}

*F_{5,3} (7 mg) = E₄₇

***Etude de la fraction F₆:**

La fraction F₆ (400 mg) éluée par le système Hexane : AcOEt 65:35, a été chromatographiée sur colonne de gel de silice avec comme système d'élution CH₂Cl₂ : Me₂CO 20 :1, suivie d'une purification sur plaques préparatives de gel de silice éluées par le système *n*-Hexane : AcOEt 4:1 a mené à l'isolement de deux produits purs:

F_{6,1}(5,5 mg) et F_{6,2} (4 mg).

NB: F_{6,1} = F₄₋₇ et F_{6,2} = F_{11-A}

***Etude de la fraction F₁₀:**

La fraction F₁₀ (790 mg) éluée avec le système AcOEt : MeOH 95 : 5 a subit en premier lieu, une chromatographie sur colonne de gel de silice éluée par le système CH₂Cl₂ : MeOH 20:1, suivie d'une purification sur plaques préparatives de gel de silice, développés par le système *n*-Hexane : Et₂O 2 : 3 menant à trois produits purs:

F_{10,1} (7 mg) = J103-2.

F_{10,2} (10,1mg) = J103A₁.

F_{10,3} (6 mg) = J103B

L'étude de *Achillea ligustica* All. a permis l'isolement, à l'état pur et natif de 10 produits.

III-2: Etude bibliographique du genre *Ranunculus*:

L'étude bibliographique que nous avons menée sur le genre *Ranunculus* a montré que ce genre renferme des esters d'acides éthyléniques [31], des flavonoïdes diversement glycosylés [32-35], triglycérides [36], des alcaloïdes [37] et la protoanémone [38].

III-2-1: Etude chimique de *Ranunculus cortusifolius*:

III-2-2: Etude bibliographique:

La recherche bibliographique que nous avons menée sur *Ranunculus cortusifolius*, espèce endémique aux îles Madères, Canaries et Açores, a montré que cette plante n'a fait l'objet d'aucune étude phytochimique.

III-2-2: Description de la plante:

Plante herbacée vivace rhizomateuse, sa hauteur est de 50 à 120 cm, avec des feuilles cordées de longueur 30 cm, et de large 25 cm, coriaces arrondies, lobées, plus au moins pubescentes, aux marges dentelées. Les fleurs sont groupées en corymbes, de couleur jaune vif de diamètre 5 cm [39].

III-2-3: distribution:

Elle pousse en Europe atlantique (Madères, Canaries, Açores). Elle peut être cultivée, et pousse dans des prairies entre 500 et 800 m d'altitude. Sa période de floraison Mai-Juin.

III-2-4: Classification classique:

Règne	→	Plantae
Sous-règne	→	Tracheobionta
Division	→	Magnoliophyta
Classe	→	Magnoliopsida
Sous-classe	→	Magnoliidae
Ordre	→	Ranunculales
Famille	→	Ranunculaceae

Genre → *Ranunculus*
Espèce → *Cortusifolius*

III-2-5:Extraction de *Ranunculus cortusifolius*:

L'extraction des parties aériennes (feuilles et fleurs) de *Ranunculus cortusifolius* a été effectuée dans un appareil de Soxhlet, ou le matériel végétal transformé en poudre est introduit avec de l'éthanol pendant 72 heures. Après concentration sous vide, nous avons obtenu 83 g d'extrait sous forme de sirop. Ce dernier a été adsorbé sur du gel de silice, ensuite fractionné sur une grande colonne (longueur :1m, diamètre : 6 cm)de gel de silice (230-400 mesh, Merck), l'élution a été réalisée par l'hexane enrichi progressivement en acétate d'éthyle, avec introduction du méthanol vers la fin.

Les pots recueillis sont analysés par chromatographie sur couche mince.

Les pots présentant la même composition sont réunis donnant ainsi 19 fractions.

Les pots recueillis sont analysées par chromatographie sur couche mince (C.C.M).Les pots présentant la même composition sont réunis donnant ainsi 19 fractions.

III-2-6:Fractionnement de l'extrait:

Un premier fractionnement de l'extrait de *Ranunculus cortusifolius* (83g) a été réalisé par chromatographie sur une colonne de gel de silice 60 (230-400 mesh, Merck), montée dans l'hexane.

L'extrait dissout dans l'acétone est mélangée à une petite quantité de gel de silice, l'ensemble est séché sous vide, puis pulvérisé jusqu'à obtention d'une poudre homogène. Cette poudre est déposée sur la colonne préparée dans l'hexane. L'élution à été réalisée par de l'hexane enrichi progressivement en acétate d'éthyle, avec introduction du méthanol. Les fractions sont regroupées suivant la similitude de leur profil chromatographique sur plaques analytiques de gel de silice qui après développement dans des cuves en verre avec les systèmes adéquats, ont été visualisées à la lumière du jour et sous lampe UV à 254 et 365nm, puis révélées à l'acide sulfurique et chauffées pendant 3mn à 100°C. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau III-2-a.

Tableau III-2-a: Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de l'extrait éthanolique(Soxhlet) de *Ranunculus cortusifolius*:

Nom de la fraction	Système d'éluion %			Poids de la fraction (mg)
	<i>n</i> -Hexane	Acétate d'éthyle	MeOH	
F ₀	100	0	0	0(rien)
F ₁	90	10	0	928,2
F ₂	90	10	0	134,5
F ₃	85	15	0	676,2
F ₄	85	15	0	243,9
F ₅	85	15	0	281,8
F ₆	85	15	0	290,4
F ₇	80	20	0	406,8
F ₈	80	20	0	501,7
F ₉	70	30	0	317,1
F ₁₀	60	40	0	304,3
F ₁₁	50	50	0	244,6
F ₁₂	40	60	0	319,8
F ₁₃	30	70	0	1309,0
F ₁₄	20	80	0	337,7
F ₁₅	10	90	0	280,0
F ₁₆	0	100	0	211,6
F ₁₇	0	70	30	15000,0
F ₁₈	0	50	50	18500,0
F ₁₉	0	0	100	14000,0

Seules les fractions les moins complexes et les plus abondantes ont été étudiées.

***Etude de la fraction F₁**

Cette fraction chromatographiée sur colonne de Séphadex LH-20 éluee par le système *n*-Hexane : CH₂Cl₂ : MeOH 2 : 2 : 1 a donnée trois composés : F_{1a}, F_{1b} et F_{1c}.

La C.C.M de ces composés révèle que:

*F_{1a} (J_{fr-18-q}) est un produit pur dont le poids est de 7 mg.

*F_{1b} et F_{1c} sont des mélanges très complexes

*Etude de la fraction F₃:

La fraction F₃ a été recristallisée dans l'hexane additionné progressivement d'acétate. Après filtration, séchage lent (à l'air libre), des cristaux sous forme d'aiguilles blanches sont formés. Ces cristaux insolubles dans le méthanol, sont purifiés par lavages successifs à l'aide de ce solvant, séchés puis pesés (8 mg). Dissout dans l'acétate d'éthyle et déposé sur une plaque analytique de gel de silice, éluée par le système *n*-Hexane : AcOEt 2:8, ce produit reste sous forme d'un spot unique sous lumière UV (254 nm). Après révélation à l'acide sulfurique la plaque ne comporte que cette tache d'où un produit pur (Jfr-18-a) et chauffé pendant 3mn, la plaque ne comporte que cette tache d'où un produit pur.

*Etude de la fraction F₅:

Cette fraction chromatographiée sur une colonne de Séphadex LH-20 éluée par le système *n*-Hexane: CH₂Cl₂: MeOH 2 : 2: 1. a permis d'obtenir trois composés notés F_{5,1}, F_{5,2} et F_{5,3}.

La C.C.M de ses composés révèle que:

F_{5,1} et F_{5,3} sont des mélanges complexes.

F_{5,2} est un mélange dont la séparation sur plaques préparatives de gel de silice, éluées par le système Hexane : AcOEt 7:3 a mené à deux produits. Le résultat est reporté dans le tableau III-2-b

Tableau III-2-b:Résultats de la chromatographie sur couche mince de la fraction F_{5,2}.

Poids:30 mg 2 plaques préparatives Eluant : Hexane : ACoEt 7:3

Bandes	Composée	Poids (mg)	Observations
1 ^{ère} bande	F _{5,2,2}	8,0	Mélange visible sous UV (366), couleur jaune
2 ^{ème} bande	F _{5,2,3}	12,0	Produit pur

***Etude de la fraction A = F₂+F₄:**

La fraction A (378,4 mg) dissoute dans de l'acétate d'éthyle, est mélangée à une petite quantité de gel de silice, l'ensemble est séché sous vide, puis pulvérisé jusqu'à obtention d'une poudre homogène. Cette poudre est déposée sur une colonne de gel de silice, préparée dans l'hexane, éluee par le système *n*-hexane : acétate d'éthyle avec des polarités croissantes. Le suivi de la séparation et le rassemblement final des fractions, a été effectué sur la base d'analyses par C.C.M analytique. Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau III-2-c.

Tableau III-2-c : Résultats de la séparation sur colonne de la fraction A.

Nom de la fraction	Système d'élution %		Poids (mg)	Observations
	<i>n</i> -Hexane	AcOEt		
A ₁	95	5	9,8	Mélange complexe
A ₂	95	5	19,2	Mélange séparable
A ₃	90	10	140,7	Mélange séparable
A ₄	90	10	26,5	Mélange complexe
A ₅	90	10	19,7	Mélange complexe

***Etude de la sous fraction A₂:**

Nous avons soumis les 191,7 mg de cette sous fraction à une purification sur colonne de Séphadex LH-20, éluee par le système *n*-Hexane : H₂Cl₂ : MeOH 2 : 2 : 1.

Deux bandes notées A_{2,1} et A_{2,43} ont été récupérées.

*A_{2,1} est un mélange complexe.

*A_{2,43} est un produit pur dont le poids est de 77,3 mg.

N.B : A_{2,43} = F_{12,43}.

***Etude de la sous fraction A₃:**

La sous fraction A₃ (140,7 mg) a été chromatographiée sur une colonne de gel de silice 60, (230-400 mesh, Merck), avec comme système éluant *n*-Hexane : AcOEt en gradient de polarité

Le tableau III-2-d: reporte les résultats de cette colonne, après regroupement des pots effectués, selon le résultat des tests chromatographiques sur plaques analytiques

Poids: 140,7 mg

poids de silice: 4,2 g.

Nom de la fraction	Système d'élution %		Poids (mg)	Observations
	<i>n</i> -Hexane	AcOEt		
A _{3,1}	95	5	7,3	Monotache produit pur
A _{3,2}	95	5	15,0	Couleur marron (traînée)
A _{3,3}	90	10	5,0	Mélange complexe (masse faible)
A _{3,4}	90	10	6,0	Mélange complexe

***Etude des fractions F₆ et F₇ : (FA)**

Testées par chromatographie analytique sur couche mince, les fractions F₆ et F₇ se sont avérées de compositions très similaires, aussi nous les avons réunies en une seule fraction F_A (697,2 mg) cette dernière a été chromatographiée sur colonne de gel de silice (type 60, 230-400mesh, Merck), avec comme système éluant *n*-Hexane : acétate d'éthyle en gradient de polarité. Les résultats de cette colonne sont récapitulés dans le tableau III-2-e.

Tableau III-2-e : Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de la fraction F_A.

Nom de la fraction	Système d'élution %		Poids (mg)	Observations
	<i>n</i> -Hexane	ACoEt		
F _{1-A}	90	10	50,0	Mélange complexe
F _{2-A}	85	15	29,0	Mélange de produits
F _{3-A}	80	20	15,0	Monotache (produit pur)
F _{4-A}	75	25	20,0	Monotache (produit pur)
F _{5-A}	70	30	60,0	Mélange complexe

La purification de la fraction F_A (F₆+F₇) a permis l'obtention de deux produits purs F_{3-A} de poids 15 mg et F_{4-A} de poids 20 mg.

***Etude des fractions F₈, F₉ et F₁₀ (B):**

D'après les résultats des tests analytiques sur plaque C.C.M de gel de silice, les fractions F₈, F₉ et F₁₀ se sont avérées de compositions similaires, aussi nous les avons réunies en une seule fraction B.

Le mélange de ces trois fractions (1,12 g) est déposé sur une colonne de gel de silice (230-400 mesh, Merck) (33,6 g) éluée par le système *n*-Hexane : acétate d'éthyle avec des polarités croissantes. Les résultats de cette colonne sont récapitulés dans le tableau III-2-f.

Tableau III-2-f: Résultats de la séparation sur colonne de la Fraction B

Nom de la fraction	Système d'éluion %		Poids (mg)	Observations
	<i>n</i> -Hexane	AcOEt		
B ₁	90	10	14,9	Mélange
B ₂	90	10	13,0	Mélange plusieurs produits
B ₃	90	10	9,6	Mélange
B ₄	85	15	40,0	Mélange séparable
B ₅	80	20	128,5	Mélange complexe
B ₆	80	20	28,3	Traînée
B ₇	75	25	18,4	Traînée
B ₈	75	25	82,6	Mélange complexe
B ₉	70	30	94,5	Mélange complexe
B ₁₀	70	30	83,8	Mélange complexe
B ₁₁	65	35	17,1	Mélange plusieurs produits
B ₁₂	65	35	15,0	Mélange plusieurs produits
B ₁₃	60	40	20,3	Mélange complexe
B ₁₄	60	40	34,4	Mélange séparable
B ₁₅	50	50	57,0	Mélange complexe

*L'étude de la sous fraction B₄ sur plaques préparatives de gel de silice à donner les résultats illustrés sur le tableau III-2-g.

Tableau III-2-g: Résultats de la chromatographie sur couche mince de la sous fraction B₄

Poids: 40 mg 3 plaques préparatives Eluant : Hexane : Et₂O 3 : 1

Bandes	Produits	Poids (mg)	Observations
1 ^{ère} bande	B _{4,1}	5,0	Monotache, couleur marron (produit pur)
2 ^{ème} bande	B _{4,2}	5,8	Monotache

Cette opération a menée à la purification d'un produit pur B_{4,1}=5,0 mg

*L'étude de la sousfraction B₁₄ sur plaques préparatives de gel de silice a donné les résultats illustrés sur le tableau III-2-h.

Tableau III-2-h: Résultats de la chromatographie sur couche mince préparative de la sous fraction B₁₄

Poids : 34,4 mg 3 plaques préparatives, éluant : *n*-Hexane : AcOEt 1:1

Bandes	Produits	Poids (mg)	Observations
1 ^{ère} Bande	B _{14,1}	4,4	Monotache (produit pur)
2 ^{ème} Bande	B _{14,2}	3,5	Mélange

Cette opération a permis l'obtention d'un produit pur noté B_{14,1}

***Etude des fractions F₁₄, F₁₅, et F₁₆:**

Testées par chromatographie analytique sur couche mince, les fractions F₁₄, F₁₅ et F₁₆ se sont avérées de compositions très similaires, ainsi nous les avons réunies en une fraction C (829,3 mg).

Cette fraction, dissoute dans de l'acétate d'éthyle et du méthanol, est mélangée à une petite quantité de gel de silice. L'ensemble est séché sous vide, puis pulvérisé jusqu'à obtention d'une poudre homogène. Cette poudre est déposée sur une colonne de gel de silice (25 g) et éluee par le, *n*-Hexane : AcOEt : Méthanol avec des polarités croissantes. Le suivi de la séparation et le rassemblement final des fractions, a été effectué sur la base d'analyse par C.C.M analytique. Cela a permis de réunir 14 fractions. Les résultats de cette opération sont regroupés dans le tableau III-2-i

Tableau III-2-i : Résultats de la chromatographie sur colonne de la fraction C

Nom de la fraction	Système d'éluion %			Poids (mg)	Observations
	<i>n</i> -Hexane	AcOEt	MeOH		
C ₁	75	25	0	6,4	Mélange de produit
C ₂	70	30	0	11,0	Mélange séparable
C ₃	70	30	0	4,1	Mélange complexe
C ₄	60	40	0	27,0	Mélange complexe
C ₅	50	50	0	23,0	Mélange complexe
C ₆	40	60	0	9,0	Mélange séparable
C ₇	30	70	0	146,7	Mélange complexe
C ₈	20	80	0	85,0	Mélange complexe
C ₉	0	100	0	191,3	Monotache produit assez pur
C ₁₀	0	80	20	181,1	Semblable à C ₉
C ₁₁	0	80	20	73,4	Mélange complexe
C ₁₂	0	60	40	35,0	Mélange
C ₁₃	0	50	50	14,7	Mélange séparable
C ₁₄	0	30	70	63,6	Mélange complexe

Quoique le composé C₉ à l'état natif soit assez pur, son évolution sur le gel de silice 60, étant assez difficile pour permettre une purification extrême. Ses spectres préliminaires montraient la présence d'impuretés, aussi après étude de son spectre IR qui montrait en particulier une bande intense dans la zone des vibrations de valence des fonctions hydroxyles (3417 cm⁻¹) et une bande

intense à (1763 cm^{-1}) caractéristique d'une fonction lactone, aussi nous avons procédé à son acétylation.

***Acétylation de la fraction C₉**

Cette réaction a eu lieu dans le milieu pyridine en présence d'anhydride acétique sous agitation magnétique à température ambiante pendant 24 heures. Donnant ainsi le composé C₉ acétylé.

***Colonne de purification de la fraction C₉ Acétylée**

Nous avons procédé directement à une purification sur colonne de gel de silice (60 PF₂₅₄ contenant du plâtre, Merck) éluée par le système *n*-Hexane : AcOEt 1:1. Deux bandes notées C_{9AC} et C_{9AC,1} ont été récupérées.

- C_{9AC} est un produit pur dont le poids est de 45 mg.

- C_{9AC,1} représente un mélange complexe dont le poids est de 6 mg.

***Etude de la fraction C₂:**

Nous avons procédé à une C.C.M sur plaques préparatives de gel de silice, éluée par le système Benzène : AcOEt 85 :15. Cette opération a mené à un produit pur, mais en faible quantité. Pour ce produit seuls les spectres RMN ¹H et COSY ¹H-¹H ont pu être enregistrés .La combinaison de leur résultats n'a pas permis sa détermination structurale.

Tableau III-2-j: Résultats de la chromatographie sur couche mince de la fraction C₂:

Poids:11mg 2plaques Eluant: Benzène : ACoEt (85 : 15)

Bandes	Composés	Poids (mg)	Observations
1 ^{ère} bande	C ₂	1,2	Monotache (produit pur)
2 ^{ème} bande	C _{2,1}	5,0	Mélange complexe

***Etude des fractions F₁₇ et F₁₈ : D**

Testées par chromatographie analytique sur couche mince, les fractions F₁₇ et F₁₈ se sont avérées de compositions similaires, aussi nous les avons réunies en une fraction D. Cette dernière a été chromatographiée sur une colonne de gel de silice (230-400 mesh, Merck). Cette fraction D (33,5g) a été dissoute dans un minimum de dichlorométhane, est introduite à l'aide d'une pipette sur la colonne effectuée par du dichlorométhane avec addition progressive de l'acétate d'éthyle puis de méthanol.

Des fractions de 25 ml sont recueillies et analysées par chromatographie analytique sur couche mince. Les plaques sont examinées sous UV (254 et 365 nm), puis révélées à l'acide sulfurique, et chauffées à 100°C pendant 3 mn.

Les fractions présentant la même composition sont réunies donnant ainsi 16 fractions. Les résultats de cette opération sont regroupés dans le tableau III-2-k.

Tableau III-2-k: Résultats de la chromatographie sur colonne de la fraction D:

Nom de la fraction	Système d'éluion %			Poids (mg)	Observations
	CH ₂ Cl ₂	AcOEt	MeOH		
D ₁	100	0	0	7,0	Mélange
D ₂	90	10	0	20,0	Mélange de plusieurs produits
D ₃	90	10	0	15,0	Mélange
D ₄	80	20	0	7,5	Mélange
D ₅	80	20	0	10,7	Mélange complexe
D ₆	80	20	0	23,9	Mélange complexe
D ₇	70	30	0	12,0	Mélange de produits
D ₈	60	40	0	23,8	Mélange de produits
D ₉	50	50	0	37,2	Mélange de produits
D ₁₀	97,5	0	2,5	45,0	Mélange séparable
D ₁₁	96,5	0	3,5	196,0	Mélange complexe
D ₁₂	95	0	5	149,0	Mélange séparable
D ₁₃	83	0	17	356,0	Mélange séparable
D ₁₄	80	0	20	50,1	Mélange séparable
D ₁₅	75	0	25	72,0	Mélange complexe
D ₁₆	66,5	0	33,5	535,0	Mélange complexe

***Etude de la sous fraction D₁₀:**

La purification extrême de la sous fraction D₁₀ n'a pas été possible à l'état natif, vu son évolution difficile sur gel de silice 60. Ainsi après étude de son spectre IR qui, en particulier montre, la présence d'une bande large et intense à $\nu=3393\text{ cm}^{-1}$ caractéristique de groupements hydroxyyles et ne montre, aucune bande dans la zone d'absorption relatives aux carbonyles d'esters, nous avons procédé à son acétylation.

***Acétylation de la sous fraction D₁₀:**

Cette réaction a eu lieu dans le milieu pyridine en présence d'anhydride acétique sous agitation magnétique à température ambiante pendant 24 heures.

Donnant ainsi le composé D₁₀ acétylé.

***Colonne de purification de la sous fraction D₁₀acétylée:**

Nous avons procédé à une purification sur colonne de gel de silice (60 PF₂₅₄ contenant du plâtre, Merck) éluée par le système *n*-Hexane : acétate d'éthyle en gradient de polarité. Le tableau III-2-1 montre les résultats de cette colonne après regroupement des lots selon les tests chromatographiques sur couche mince.

Tableau III-2-1:Résultats de la purification sur colonne de la sous fraction D₁₀ acétylé:

Nom de la fraction	Système d'éluion %		Poids (mg)	Observations
	<i>n</i> -Hexane	AcOEt		
D _{10,1}	70	30	7,0	Mélange de produits.
D _{10,2}	70	30	10,0	Mélange
D _{10,3}	70	30	8,5	Mélange
D _{10,4}	60	40	14,2	Mélange complexe
D _{10,5}	60	40	9,0	Mélange
D _{10,6}	50	50	16,0	Mélange séparable
D _{10,7}	50	50	14,8	Mélange de produits.
D _{10,8}	50	50	8,7	Mélange
D _{10,9}	50	50	5,3	Mélange
D _{10,10}	50	50	3,9	Mélange
D _{10,11}	50	50	2,9	Mélange
D _{10,12}	50	50	10,3	Mélange séparable
D _{10,13}	30	70	11,4	Mélange complexe.

***Etude de la sous fraction D_{10,6}**

La purification de cette sous fraction a été réalisée par chromatographie sur plaques préparatives de gel de silice éluées par le système Benzène : Acétate d'éthyle 3:1. Les résultats obtenus sont reportés dans le tableau III-2-m.

Tableau III-2-m: Résultats de la C.C.M de la sous fraction D_{10, 6}:

Poids:16 mg, 2 plaques préparatives, Eluant: Benzène : AcOEt (3 :1)

Bandes	Composés	Poids (mg)	Observations
1 ^{ère} bande	D _{10, 6,1}	6,5	Monotache (produit pur)
2 ^{ème} bande	D _{10, 6,2}	2,5	Monotache, visible UV 366nm
3 ^{ème} bande	D _{10, 6,3}	5,0	Monotache (produit pur)

Ainsi la purification de D_{10, 6} à permis l'isolement et la purification de deux produits D_{10, 6,1} et D_{10,6,3}.

Etude de la fraction D₁₂:

Cette fraction à subit une séparation sur colonne de gel de silice, avec comme éluant :

CH₂Cl₂ : Acetone : MeOH en gradient de polarité. Le résultat de la progression de cette colonne est illustré sur le tableau III-2-n.

Tableau III-2-n: Résultat de la séparation par chromatographie sur colonne de la fraction D₁₂.

Poids:149mg poids de silice≈5mg

Nom de la fraction	Système éluant %			Poids (mg)	Observations
	CH ₂ Cl ₂	Acetone	MeOH		
D _{12, 1}	10	80	10	7,0	Mélange complexe
D _{12, 2}	10	80	10	9,0	Mélange
D _{12, 3}	10	80	10	6,0	Mélange complexe
D _{12, 4}	5	80	15	4,0	Mélange
D _{12, 5}	5	80	15	10,0	Mélange complexe
D _{12, 6}	0	80	20	17,6	Produit pur
D _{12, 7}	0	80	20	16,9	Produit pur

L'ensemble des produits isolés à l'état pur et natif de *Achillea ligustica* All. est reporté dans le tableau III-2-o.

Tableau III-2-o : Produits isolés de *Achillea ligustica* All.

Références	Numéro	Poids (mg)
A _{5f3, 2,2}	1	9,0 mg
BF _{3, 3} = B ₃₀	2	21,0 mg
E _{33, 2,1}	3	8,0 mg
E _{33, 4,2}	4	6,0 mg
E ₄₇	5	7,0 mg
F ₄₋₇	6	5,5 mg
F _{11-A}	7	4,0 mg
J ₁₀₃₋₂	8	7,0 mg
J _{103A1}	9	10,1 mg
J _{103B}	10	6,0 mg

L'étude de la plante *Ranunculus cortusifolius* a permis l'isolement à l'état pur et natif de 12 produits et de deux produits purs et acétylés.

L'ensemble de ces produits est reporté dans le tableau III-2-p.

Tableau III-2-p: Produits isolés de *Ranunculus cortusifolius*

Références	Numéro	Poids (mg)	Observations
			/
J _{fr-18-q}	1	7,0	/
J _{fr-18-q}	2	7,3	/
J _{fr-23}	3	5,0	/
F _{12-43-A2-43}	4	77,3	/
F _{5,2,3}	5	12,0	/
F _{4-A}	6	20,0	/
B _{14,1}	7	4,4	/
C ₉	8	45,0	Acétylé
D _{10, 6,3}	9	5,0	Acétylé
D _{10, 6,1}	10	6,5	Structure en cours de détermination
D _{12, 6}	11	17,6	Structure en cours de détermination
D _{12, 7}	12	16,9	Structure en cours de détermination
C ₂	13	1,2	Faible quantité

Conclusion:

Au cours de notre travail expérimentale concernant l'investigation phytochimique de *Achillea ligustica* All. et *Ranunculus cortusifolius* effectuée essentiellement par extraction dans un appareil de Soxhlet à ébullition de l'éthanol, suivi de séparation sur colonne chromatographique et plaques préparatives de gel de silice 60. Nous avons isolés à l'état pur et natif 10 produits en quantité suffisante pour la détermination des structures à partir de *Achillea ligustica* All. et de 12 produits purs et de 2 produits acétylés de *Ranunculus cortusifolius*.

Références bibliographiques:

- [1] Wichtl, M., 1994. Herbal Drug and Phytopharmaceuticals. Scientific Publishers: Stuttgart.
- [2] Simonpoli, P., 1993. In Arburi, Arbe, Arbigliule, Savoirs Populaires sur les plantes de corse; Parc Naturel Regional de la corse: Ajaccio, Corsica.
- [3] Orkiszewska. A., Lobarzewsky, R., Jedrizejewska, M. Polish Patent, B1 119889, 1985.
- [4] Goldberg, A.S.E.C., Eigen, E., De Salve, S., 1969. J. Pharm.Sci., 58,883.
- [5] Sadyrbekov, D.T., Suleimenov, E.M., Tikhonova, E.V., Atazhanova, G.A., Tkachev, A.V., Adekenov, S.M., 2006. Chem.Nat.Compounds 42, 294.
- [6] Boskovic, Z., Radulovic, N., Stojanovic, G., 2005, Chem. Nat. Compounds, 41, 674.
- [7] Patel, B.A., Kao, L.C., Cotrese, N.A., Minkiewicz, J.V.; Heck, R.F., 1979. J. Org. Chem. 44, 918.
- [8] Krenn, L., Miron, A., Pemp, E., Peter, U., Kopp, B., 2003. Zeitschrift fuer Naturforschung, C: Journal of Biosciences 58, 11.
- [9] Long, C., Sauleau, P., David, B., Lavaud, C., Cassabois, V., Ausseil, F., Massiot, G., 2003. Phytochemistry 64, 567.
- [10] Valent-Vetschera, K.M., WollenWeber, E. 1988a. Biochem. Syst. Ecol. 16, 403.
Valent-Vetschera, K.M., WollenWeber, E. 1988b. Biochem. Syst. Ecol. 16, 605.
- [11] Valent-Vetschera, K., 1985. Biochem. Syst. Ecol. 13, 15.
Valent-Vetschera, K., 1987. Biochem. Syst. Ecol. 15, 45.
- [12] Todorova, M.N., Mikhova, B., Trendafilova, A., Vitkova, A., Duddeck, H. Anchev, M., 2006. Biochem. Syst. Ecol. 34, 136.

- [13] Todorova, M., Trendafilova, A., Mikhova, B., Vitkova, A., Duddeck, H., 2007. *Phytochemistry* 68, 1722.
- [14] Balboul, B.A.A.A., Ahmed, A.A., Otsuka, H., Bando, M., Kido, M., Takeda, Y., 1997. *Phytochemistry* 46, 1045.
- [15] Ulubelen, A., Oksuz, S., Schuster, A., 1990. *Phytochemistry* 29, 3948.
- [16] Zaiter, L., Bouheroum, M., Benayache, S., Benayache, F., Leon, F., Brouard, I., Quintana, J., Estévez F., Bermejo J., 2007. *Biochem. Syst. Ecol.* 35, 533.
- [17] Dendougui, H., Jay, M., Benayache, F., Benayache, S., 2006. *Biochem. Syst. Ecol.* 34, 718.
- [18] Seghiri, R., Mekkiou, R., Boumaza, O., Benayache, S., Bermejo, J., Benayache, F., 2006. *Chem. Nat. Compounds* 42, 610.
- [19] Bentamène, A., crèche, J., Petit, G., Bermejo-Barrera J., Benayache, S., Benayache, F., 2005. *Biochem. Syst. Ecol.* 33, 1061.
- [20] Filippi, J.J., Lanfranchi, D.A., Prado, S., Baldovini, N., Meierhenrich, U.J., 2006. *J. Agric. Food Chem.* 54, 6308.
- [21] Tuberoso, C.I.G., Kowalczyk, A., Coroneo, V., Russo, M.T., Dessi, S., Cabras, P., 2005. *J. Agric. Food Chem.* 53, 10148.
- [22] Tzakou, O., Loukis, A., Verykokidou, E., Roussis, V., 1995a. *J. Essent. Oil Res.* 7, 549.
- [23] Maffei, M., Germano, F., Doglia, G., Chialva, F., 1993. *J. Essent. Oil Res.* 5, 61.
- [24] Tzakou, O., Couladis, M., Verykokidou, E., Loukis, A., 1995b. *Biochem. Syst. Ecol.* 23, 569.

- [25] Ahmed, A.A., Gati, T., Hussein, T.A., Ali, A.T., Tzakou, O.A., Couladis, M.A., Mabry, T.J., Toth, G., 2003. *Tetrahedron* 59, 3729.
- [26] Bruno, M., Herz, W., 1988. *Phytochemistry* 27, 1871.
- [27] Greger, H., Zdero, C., Bohlmann, F., 1984. *Phytochemistry* 23, 1503.
- [28] Stojanovic, G., Hashimoto, T., Asakawa, Y., Palic, R., 2005. *Biochem.Syst.Ecol.*33, 207.
- [29] Conforti, F., Loizzo, M.R., Statti, G.A., Menichini, F., 2005. *Biological & Pharmaceutical Bulletin* 28, 1791.
- [30] P. Quezel and S. Santa, (1963), *Nouvelle Flore de L'Algérie et des régions désertiques et Meridionales*, Tome II, edition CNRS, Paris.
- [31] Yingxiong, Ke Zhong Deng, Wen Yuan Gao, Yuan Qiang Guo and Tie Jun Zhang, 2007, *Chinese Chemical letters*, 18, 1364-1366.
- [32] J. L. Fiasson, K. Gluchoff-Fiassom and G. Dahlgren. 1997, *Biochemical Systematics and Ecology* 25, 327-333.
- [33] Kenjiro Toki, Masakazu Takeuchi, Noriosaito and Toshio Honda, 1996. *Scientia Horticulturae* 66, 1055-1057.
- [34] K. Gluchoff-Fiasson, J.L. Fiasson and J. Favre-Bonvin, 1994. *Phytochemistry* 37, 1629-1633.
- [35] L. Kausky, *Aquatic Botany* 39, 159-172.
- [36] Paolo Pupillo and Rita Faggiani, 1979. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 194, 581-592.
- [37] A. Bonora, B. Tosi, G. Dall'olio and A. Bruni, 1990. *Phytochemistry* 29, 2389-2390.

[38] Hiroyuki Minakata, Hajime Komura, Koji Nakanishi and Tusneokada, 1983 Mutation
research/Genetic Toxicology 116, 317-322.

[39] <http://wikipedia.org/wiki/reonocule>

Résultats

Et

Discussions

IV-1-1: Elucidation structurale du composé A₅f_{3,2,2} : 1

Le spectre RMN ¹³C (spectre n° IV-1-1-1) et les séquences DEPT 135 et 90 montrent 12 atomes de carbone dont 3 atomes de carbone quaternaires (hybridés sp²) parmi lesquels 1 C=O à δ=171,3 ppm caractéristique d'un éster

*1 carbone quaternaire éthylénique à δ= 131,7 ppm

*1 carbone quaternaire à δ= 127,7 ppm

*1 CH éthylénique à δ= 127,4 ppm

*1 CH éthylénique à δ= 122,2 ppm

*1 CH₂ oxygéné δ=60,3 ppm

*1 CH₂ à δ=37,3 ppm

*1 CH₃ à δ= 27,0 ppm

*1 CH₃ à δ=25,4 ppm

*1 CH₃ à δ= 23,7 ppm

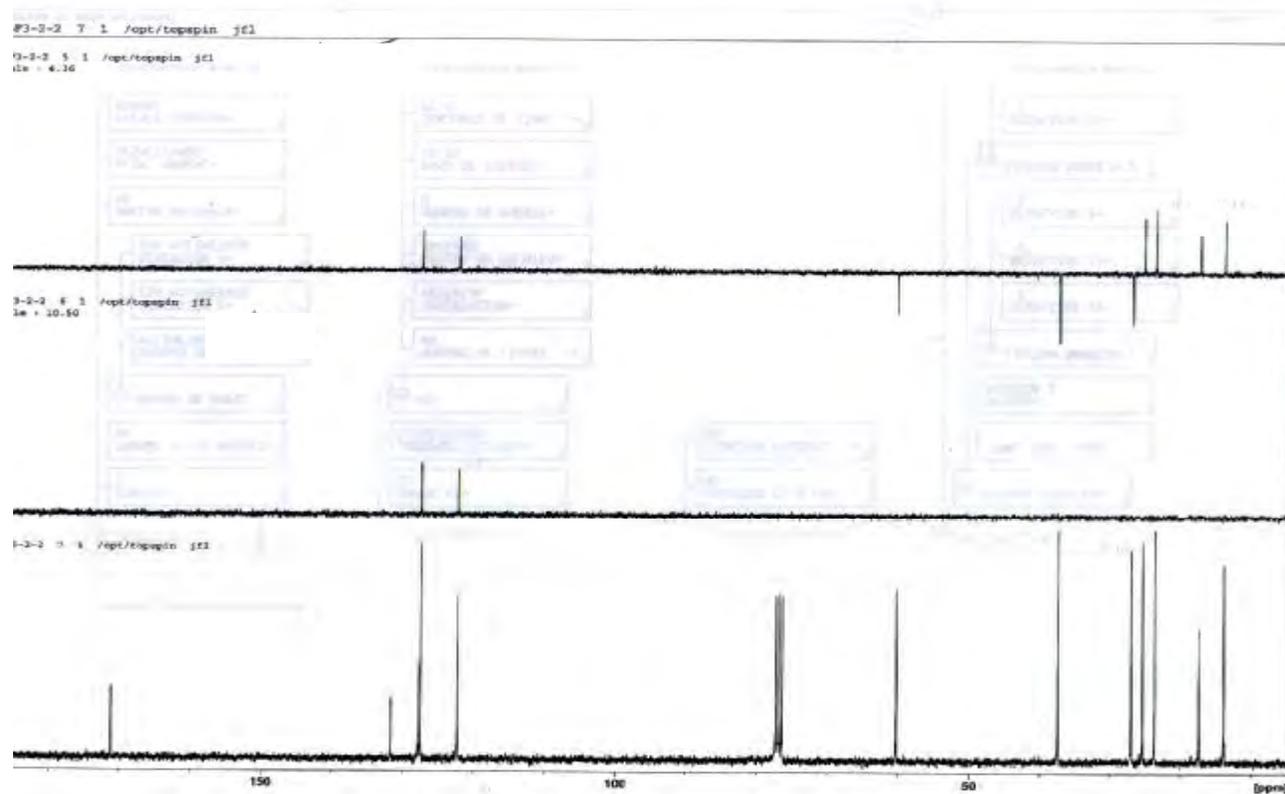
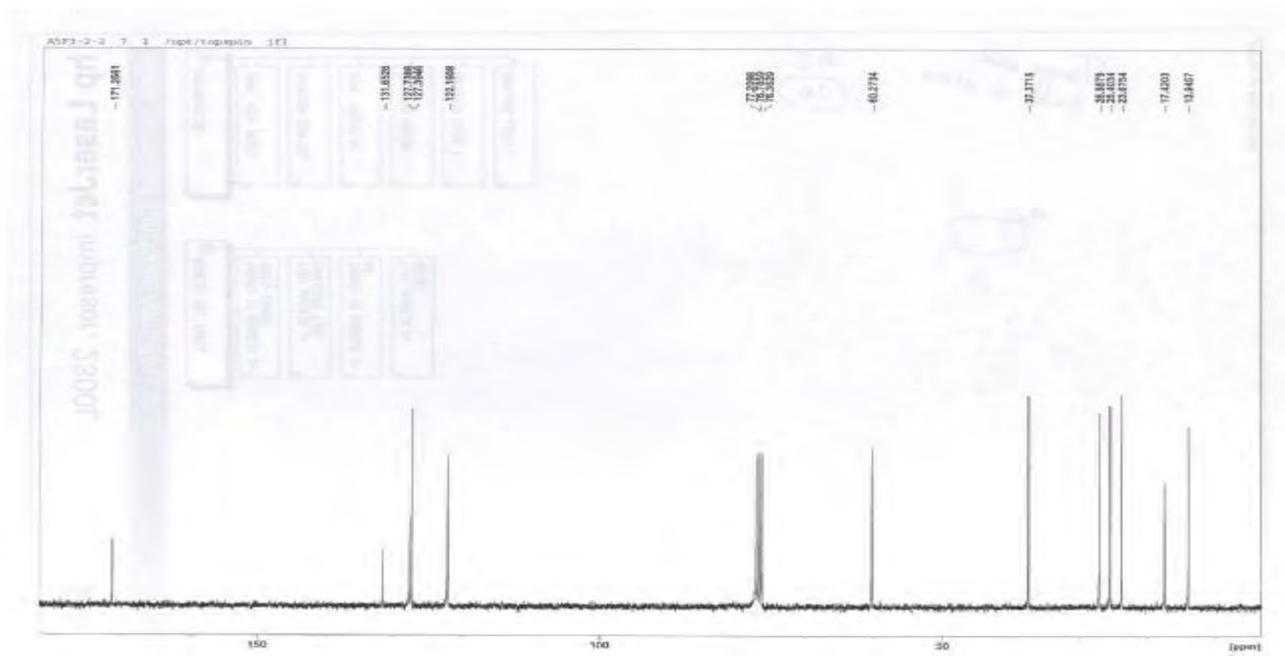
*1 CH₃ à δ= 17,4 ppm

Le spectre RMN ¹H (spectre n°IV-1-1-2) montre 2 CH éthyléniques sous forme de triplets qui ne couplent pas entre eux à δ=5,26 ppm et 5,01 ppm sur le spectre COSY¹H-¹H (spectre n°IV-1-1-3), un quadruplet d'intégration 2H à δ = 4,07 ppm correspondant au CH₂ oxygéné.

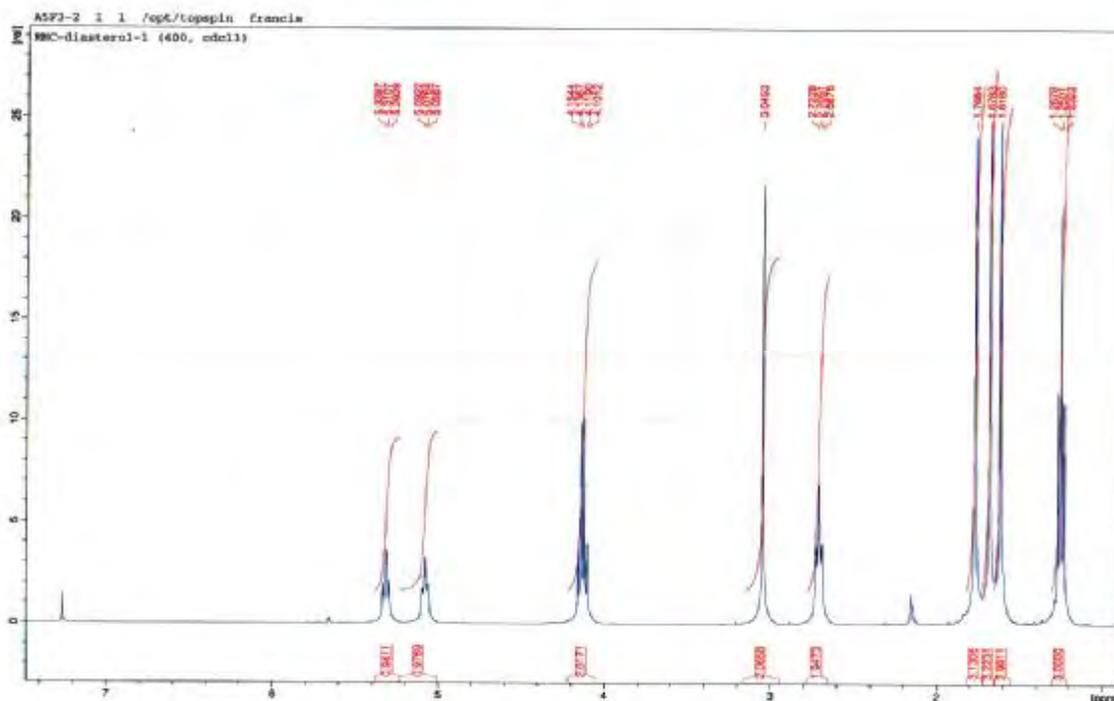
-Un signal d'intégration 2H à δ= 2,99 ppm attribuable à CH₂.

-Un autre signal d'intégration 2H sous forme de multiplet à δ=2,66 ppm attribuable à un CH₂ non oxygéné

-Trois signaux d'intégration 3H chacun attribuable à 3 CH₃ à δ=1,71 ; 1,62 et 1,51 ppm.



Spectre IV-1.1: Spectre RMNC13 (70MHz, CDCl₃; δ_{ppm}) du composé 1



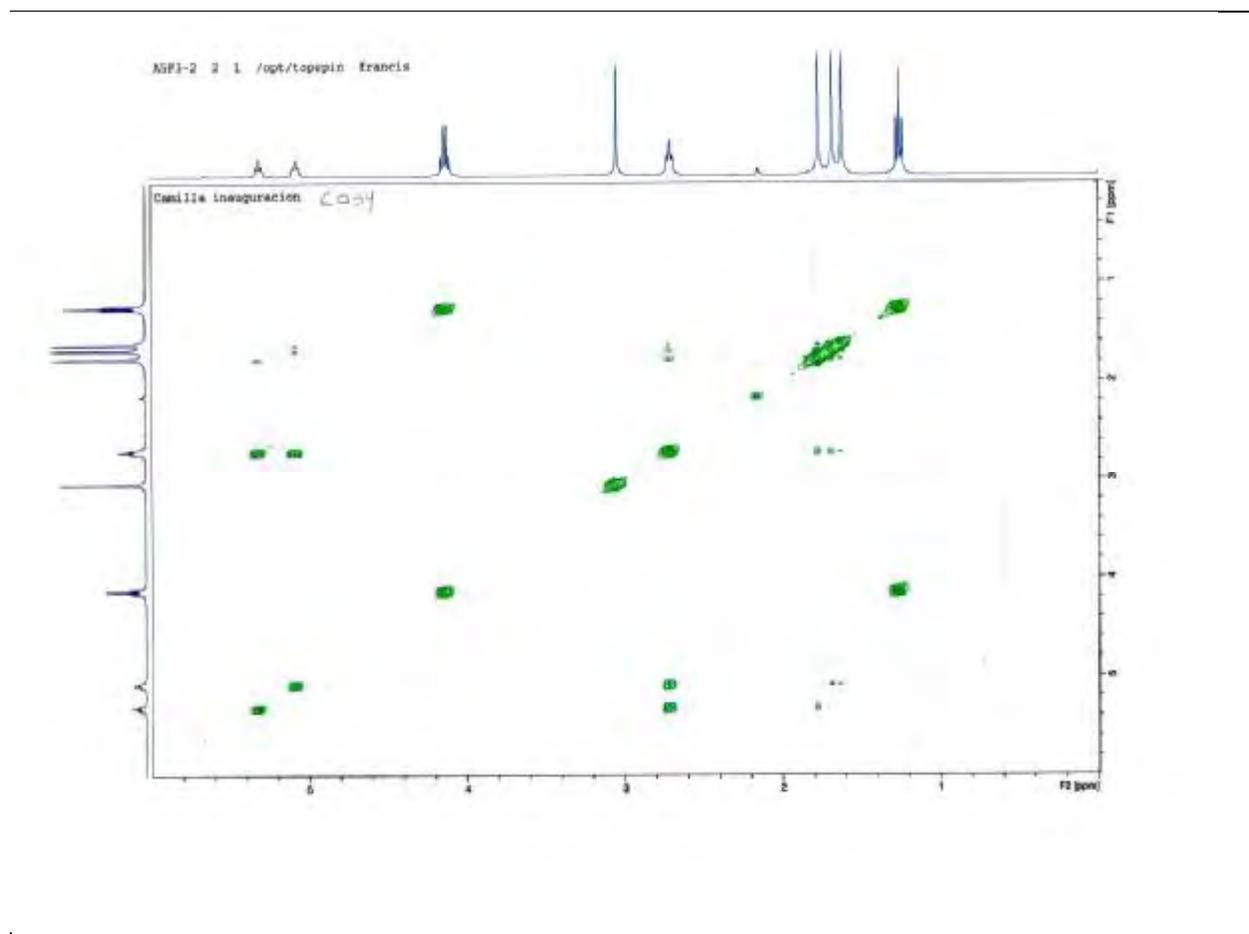
Spectre n°IV-1-1-2 : RMN ¹H (400MHZ, , CDCL₃; δppm) du composé **1**

Tableau IV-1-1-2:Résultats de la RMN ¹H (5000MHZ, CDCl₃ ,δppm) du composé **1**

Déplacement chimique(ppm)	Intégration	Multiplicité J(Hz)	Attribution
5.26	1H	t(J=7,Hz)	H-6
5.01	1 H	t (J=6,5Hz)	H-4
4.07	2 H	q	-O CH ₂ - CH ₃
2.99	2 H	s	H-2
2.66	2 H	m	H-5
1.71	3 H	s(large)	CH ₃
1.62	3 H	s(large)	CH ₃
1.56	3 H	s(large)	CH ₃

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

Carbone	$\delta(\text{ppm})$	DEPT 90	DEPT 135
1	171,2	-	C
7	131,6	-	C
3	127,7	-	C
4	127,4	CH	CH
6	122,2	CH	CH
-O CH ₂ - CH ₃	60,3	-	CH ₂
2	37,4	-	CH ₂
5	27,0	-	CH ₂
CH ₃ (O CH ₂ - CH ₃)	25 ,4	-	CH ₃
9	23,7	-	CH ₃
8	17 ,4	-	CH ₃



Spectre n°IV-1-1-3: Spectre COSY (^1H - ^1H) (400MHz, CDCl_3 ; δ ppm) du composé **1**

IV-1-2:Elucidation structurale du composé B₃₀:2

Les spectres RMN¹³C et DEPT 135 (spectre n°IV-1-2-1) de ce composé montrent la présence de 15 atomes de carbones, ces données combinées à celles des spectres RMN¹H (spectre n°IV-1-2-2), de l'expérience HSQC (spectre n°IV-1-2-3) et de l'expérience HMBC (spectre n°IV-1-2-4) permettent la répartition suivante:

-Deux carbones éthyléniques quaternaires à $\delta = 154,3$ ppm et $\delta = 133,7$ ppm.

-Un CH éthylénique à $\delta = 121,8$ ppm.

-Un CH₂ éthylénique à $\delta = 105,9$ ppm dont la valeur du déplacement chimique indique qu'il s'agit de la double liaison exocyclique.

Dans la zone des carbones hybridés sp³ on dénombre:

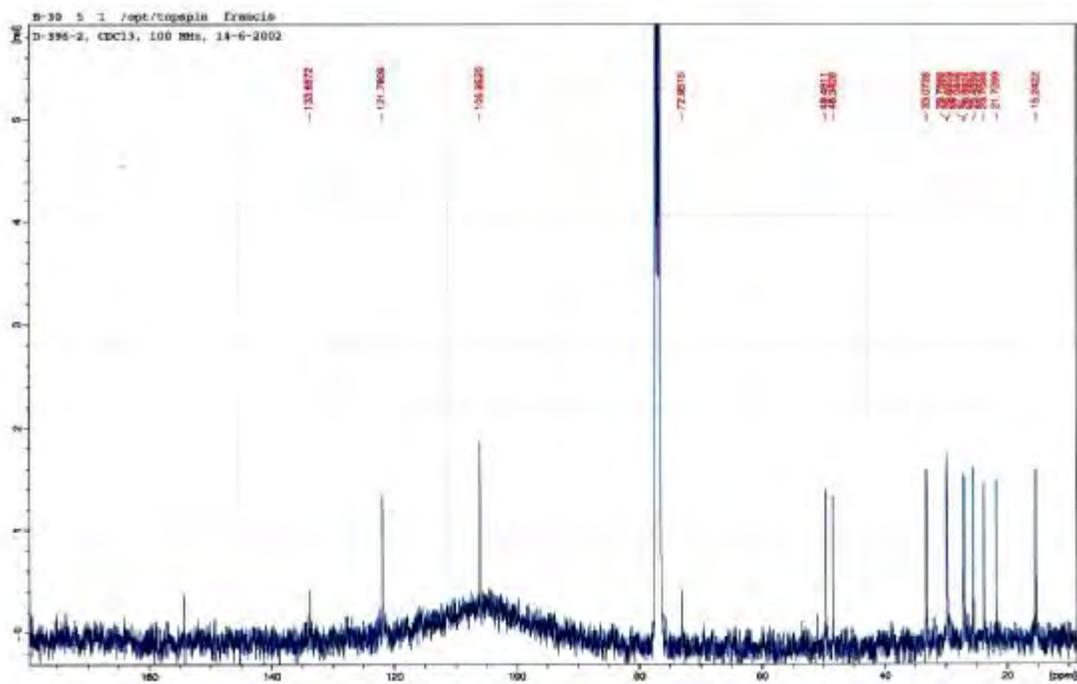
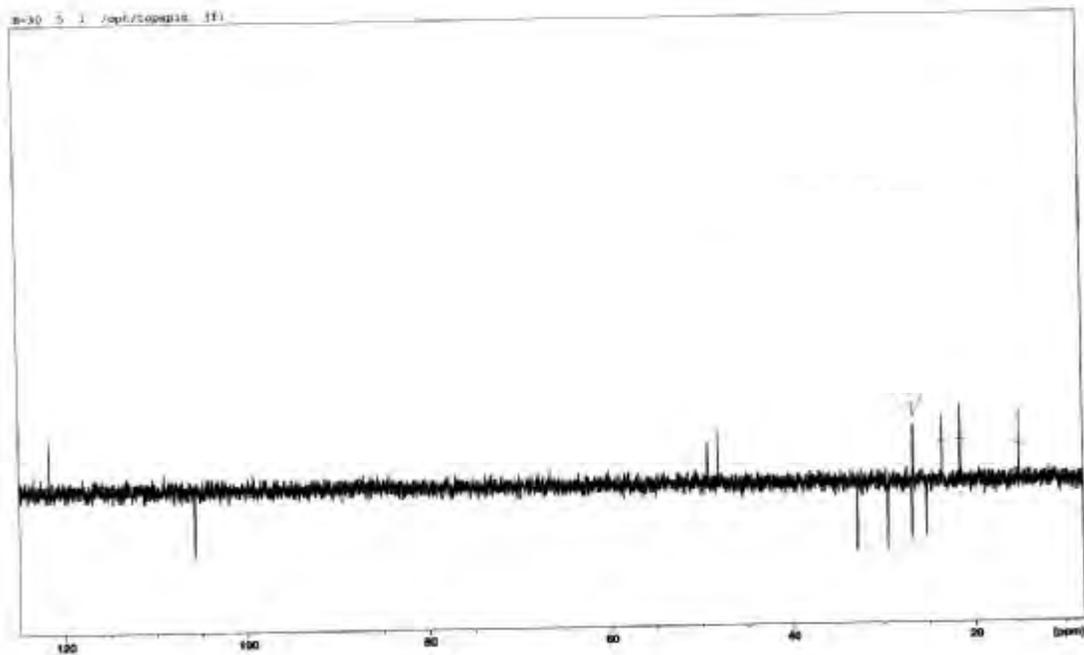
-Un carbone quaternaire oxygéné à $\delta = 73,0$ ppm.

-Trois CH à $\delta = 49,5$; $48,3$ ppm et $26,9$ ppm.

-Quatre CH₂ à $\delta = 33,1$ ppm ; $29,8$ ppm ; $27,0$ ppm et $25,5$ ppm.

-Trois CH₃ à $\delta = 23,7$; $21,7$ et $15,2$ ppm

Un décompte de l'ensemble de ces noyaux mène à la formule brute partielle C₁₅ H₂₃ O.



Spectres n°IV-1-2-1 : Spectres RMN¹³C et DEPT 135 du composé 2

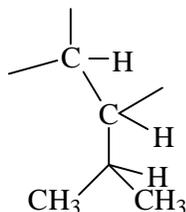
Dans cette structure, il n'y a qu'un seul atome de carbone oxygéné, vu la valeur de son déplacement chimique il ne peut être qu'hydroxylé, ce qui mène à la formule brute finale: $C_{15}H_{24}O$ soit une molécule à 4 insaturations.

Jusqu'à présent le nombre d'insaturations engagées est de 2 à savoir deux doubles liaisons dont une exocyclique. Cette observation mène au fait que cette molécule renferme un bicyclic.

Sur le spectre COSY¹H- H¹ (spectre n°IV-1-2-5), il apparaît clairement que les protons des deux méthyles résonant sous forme de doublet chacun à $\delta = 0,78$ ppm, ($J = 6,9$ Hz) $\delta_C = 15,2$ ppm et $\delta = 0,90$ ppm ($J = 7,0$ Hz), $\delta_C = 21,7$ ppm; corrélient avec le proton apparaissant sous forme d'un multiplet à $\delta = 1,98$ ppm ($\delta_C = 26,9$ ppm) formant ainsi un groupement isopropyle.

Sur le même spectre, ce dernier proton montre une corrélation avec le proton apparaissant sous forme d'un multiplet à $\delta = 1,29$ ppm ($\delta_C = 49,5$ ppm) ceci est confirmé par le spectre HMBC qui montre en effet des corrélations nettes entre l'atome de carbone de ce groupement et les protons des deux méthyles de l'isopropyle.

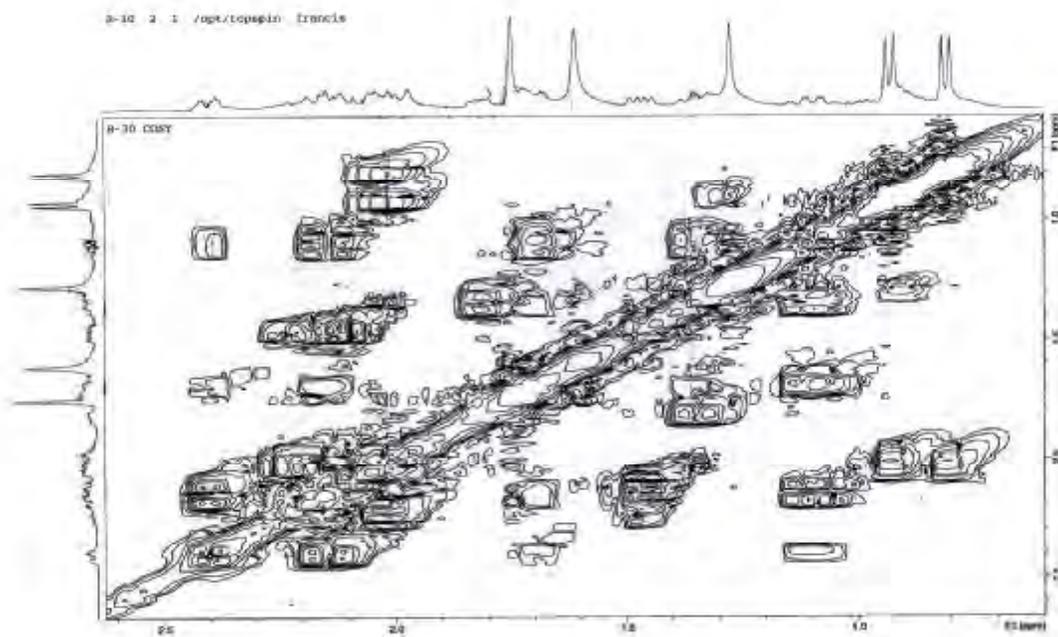
Par ailleurs, et toujours sur le même spectre ce dernier proton ($\delta_H = 1,29$ ppm) montre une corrélation avec le proton apparaissant sous forme de doublet ($J = 8,3$ Hz; $3,5$ Hz) à $\delta = 1,81$ ppm ($\delta_C = 48,3$ ppm), menant ainsi à l'enchaînement:



Toujours sur le spectre COSY¹H- H¹ ce dernier proton ($\delta = 1,81$ ppm) montre une corrélation avec le proton éthylénique lequel montre une corrélation à longue distance avec les protons du méthyle à $\delta = 1,72$ ppm ($\delta_C = 23,7$ ppm), prévoyant ainsi la position de ce groupement méthyle sur le carbone quaternaire éthylénique à ($\delta_C = 133,7$ ppm). Cette dernière donnée est confirmée du spectre HMBC qui montre des corrélations nettes entre le carbone du CH éthylénique ($\delta_C = 121,8$ ppm) et le carbone quaternaire éthylénique ($\delta_C = 133,7$ ppm) et les protons du groupement méthyle.



Spectre n°IV-1-2-2: Spectre RMN¹H (400MHz, CDCl₃, δ ppm) du composé **2**



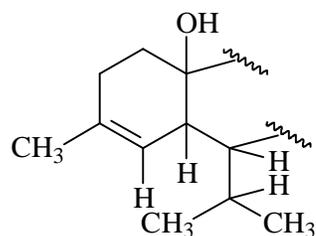
Spectre n°IV-1-2-5 : Spectre COSY¹H-¹H (400MHz, CDCl₃; δ ppm) du composé 2

Par ailleurs le spectre HMBC montre des corrélations entre ce proton à δ=1,81 ppm et le carbone quaternaire oxygéné à δ=73,0 ppm. Cette observation suppose une jonction entre ces deux noyaux qui ne peuvent être que les deux têtes de pont du bicycle.

Un réexamen du spectre HMBC et particulièrement les carbones formant la double liaison intracyclique permettent d'observer une corrélation entre ces deux atomes de carbones et les protons du groupement CH₂ résonnant sous forme de multiplets recouvert par d'autres signaux à δ=2,11 ppm et δ=2,00ppm (δ_C=27,0 ppm) signifiant le voisinage de ce groupement et du carbone quaternaire éthylénique porteur du méthyle.

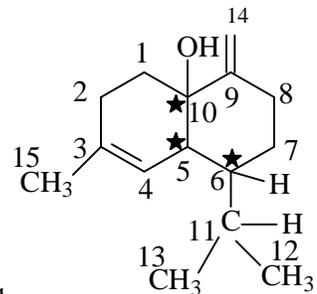
Par ailleurs, le carbone quaternaire de cette double liaison montre clairement en plus de ces corrélations, une corrélation avec les protons du groupement CH₂ résonnant sous forme de multiplets à δ= 1,96 ppm et δ=1,44 ppm (δ_C=29,8 ppm) signifiant la jonction de ces deux groupements CH₂. Les protons de ce dernier groupement CH₂ montrent des corrélations nettes avec le carbone quaternaire oxygéné notamment Hydroxylé vu la présence d'un hydroxyle dans cette molécule, signifiant la fermeture du premier cycle du bicycle

:



Toujours sur le spectre HMBC, le carbone quaternaire hydroxylé, montre des corrélations avec les protons de la double liaison exocyclique permettant de la placer sur le carbone en α du groupement OH. Il ne reste plus à placer que deux groupements CH₂ restants. Comme on s'attend à un autre cycle, il suffit de les placer entre le carbone quaternaire de la double liaison exocyclique et le carbone porteur du groupement isopropyle. Ceci est vérifié par les corrélations observées entre le carbone du groupement CH₂ à δ_C=33,1ppm (δ_H=2,40 ppm, dt $J=13,6; 3,2$ et δ_H=2,00 ppm, m) et les deux protons de la double liaison exocyclique, et les corrélations observées sur le spectre COSY¹H-¹H entre les protons de ce groupement CH₂ et ceux du groupement CH₂ résonnant l'un sous forme d'un multiplet à δ=1,67 ppm et l'autre sous forme d'un.

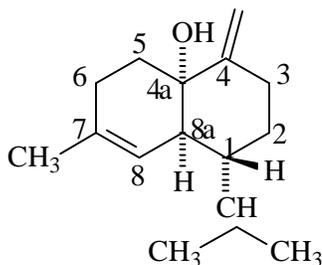
quadruplet de doublets à δ=1,07 ppm ($J=12,8\text{Hz}; 3,8\text{Hz}$), δ_C=25,5 ppm. L'ensemble de ces données



mène à la formule plane reportée sur le schéma IV- Schéma IV-1-2-1

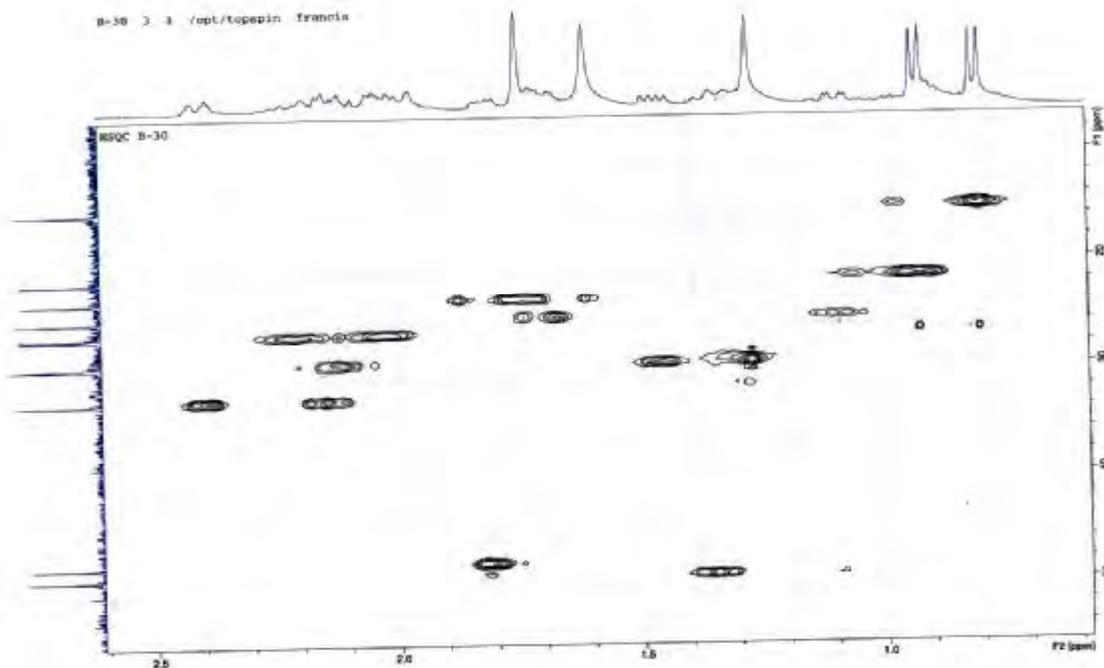
La stéréochimie de C-1 peut être déduite de la valeur de la constante de couplage (13,6Hz) relevée dans le signal de H-2 axial. Cette valeur signifie une interaction du type axiale-axiale entre H-2 et H-1 d'où une orientation axiale ou β de H-1.

Cette orientation β est appuyée par la valeur de la constante de couplage (8,3Hz) entre ce proton et le proton H-8a, qui en conséquence doit avoir une orientation α .

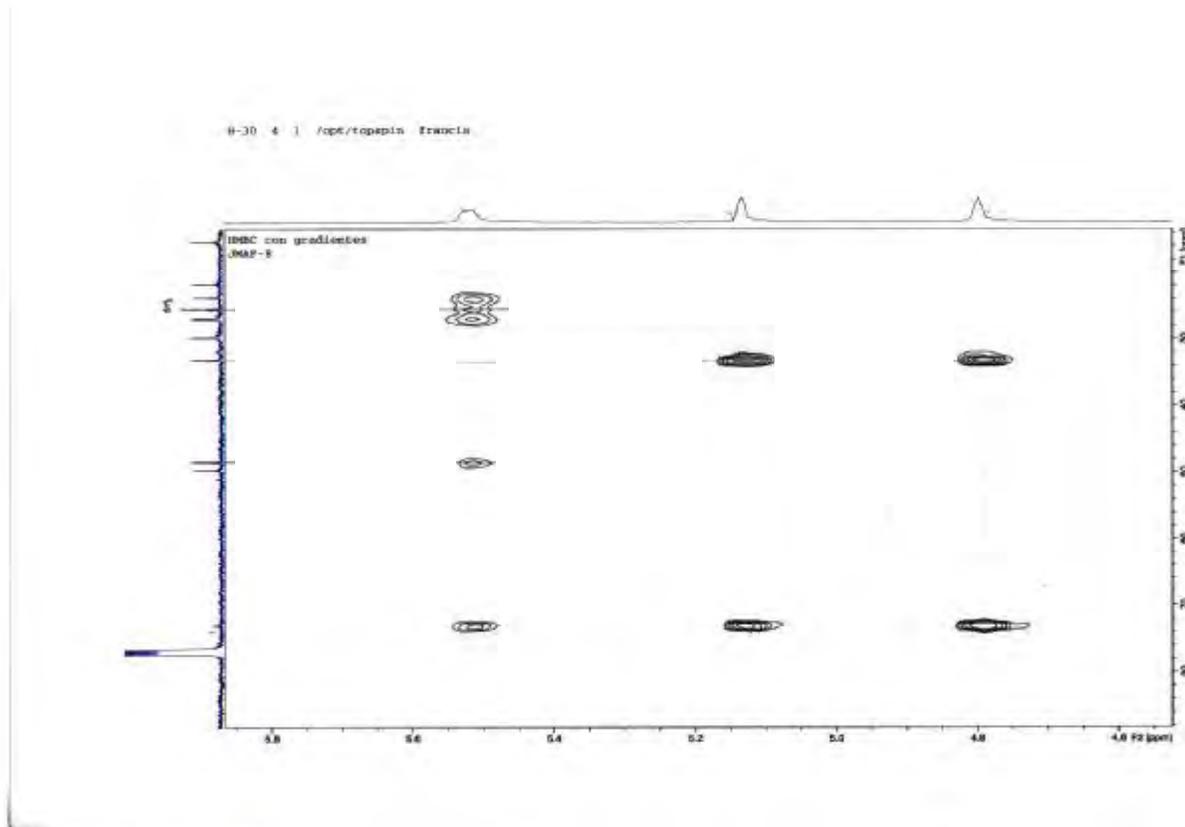


Ces données sont en parfaite conformité avec celle du composé:

4a(2H)-Naphthalénol, 1,2,3,5,6,8a-hexahydro-7-méthyl-4-méthylène-1-(1-méthyléthyl)-(1 α ,4 α ,8 α) dans lequel le groupement OH admet une orientation α [2].



Spectre n°IV-1-2-4-a : Spectre HMBC du composé 2



Spectre n°IV-1-2-4-b : Spectre HMBC du composé **2**

IV-1-3 : Elucidation structurale du composé E_{33,2,1} : **3**

Le spectre de masse sous impact électronique et à haute résolution (spectre n° IV-1-3-1) montre un pic moléculaire de masse exacte 234,1629 (33.72%) correspondant à une formule brute C₁₅ H₂₂ O₂ (calculée 234.1620) soit une molécule à 5 insaturations.

La combinaison des données des spectres RMN ¹³C (spectre n° IV-1-3-2) RMN ¹H (spectre n°IV-1-3-3),HSQC (spectre n° IV-1-3-4) et HMBC (spectre n° IV-1-3-5) permet de répartir les 15 atomes de carbone sous forme de:

Une fonction cétone non conjuguée à $\delta = 212,3$ ppm.

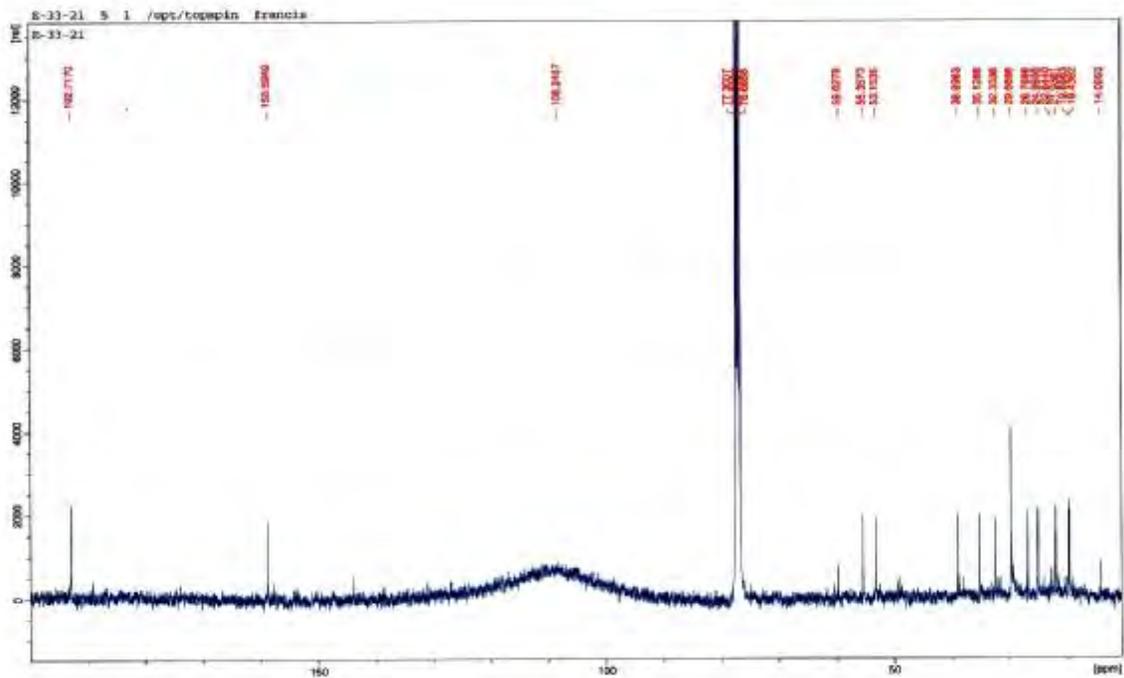
-Un groupement aldéhyde à $\delta_H = 9,35$ ppm singulet, ($\delta_C = 192,7$ ppm).

-Quatre CH₂ sp³ non oxygénés.

-Un CH éthylénique à $\delta_H = 6,63$ ppm résonant sous forme d'un doublet ($J = 5,4$ Hz), ($\delta_C = 158,6$ ppm).

-3 CH sp³ non oxygénés dont un formant un groupement isopropyle avec deux des trois méthyles observés sur le spectre proton, résonant sous forme d'un doublet d'intégration 6H à $\delta = 0,94$ ppm.

-Un carbone quaternaire à $\delta = 59,6$ ppm.



Spectre n° IV-1-3-2 : Spectre RMN ^{13}C (150MHz, CDCl_3 ; δppm) du composé **3**

En tenant compte du nombre d'insaturations engagées (3), il apparaît clairement que ce composé renferme un daucène bicyclique.

Le proton éthylénique corrèle sur le spectre HMBC, avec le carbone aldéhydique, le carbone quaternaire éthylénique corrèle avec le proton aldéhydique. Ces deux observations sont en faveur de l'enchaînement reporté dans le schéma IV-1-3-1

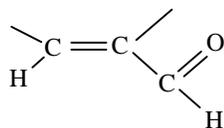
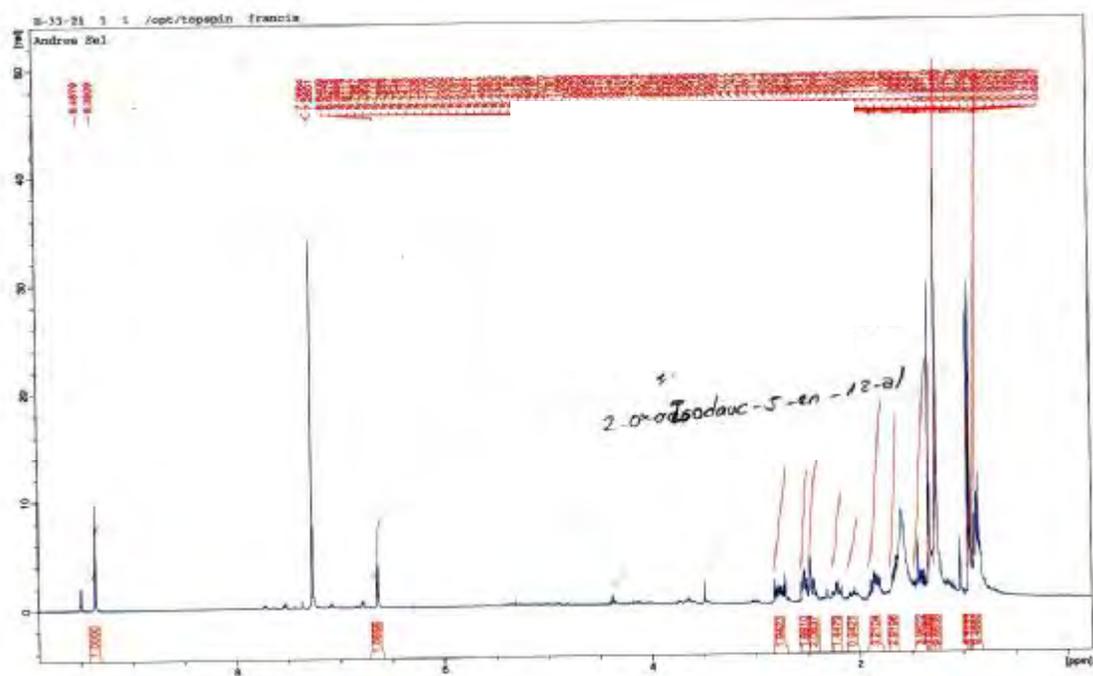
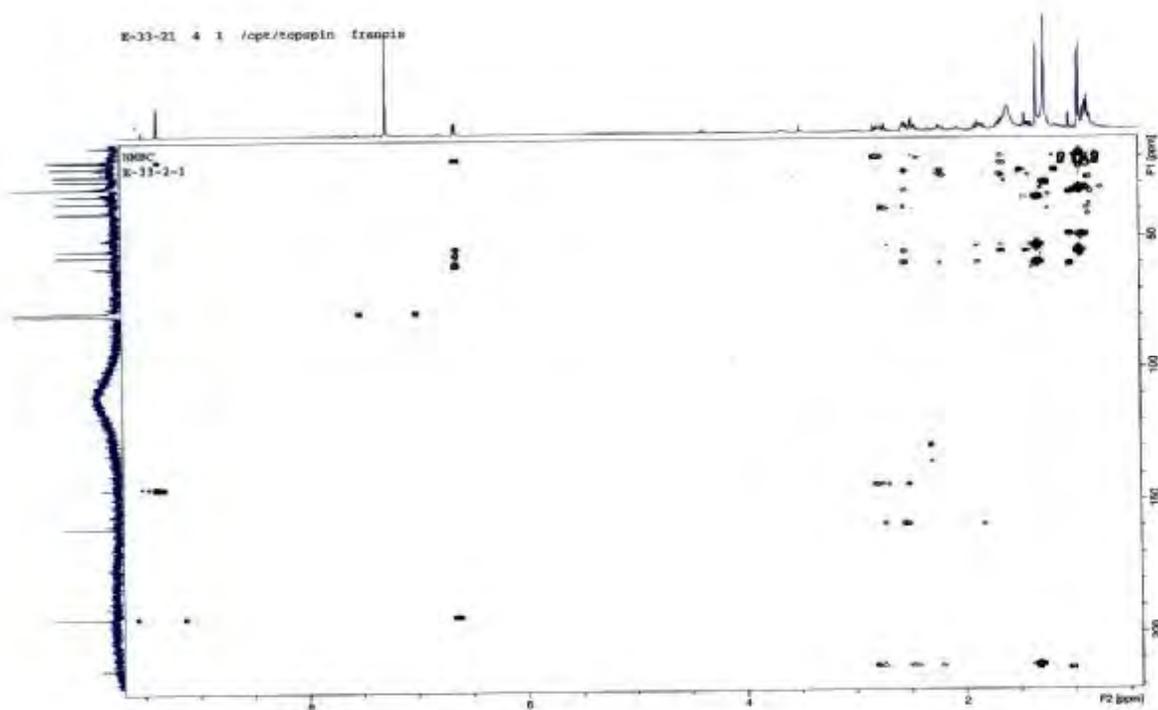


Schéma IV-1-3-1



Spectre n°IV-1-3-3 : Spectre RMN ^1H (400MHz, CDCl_3 ; δ ppm) du composé **3**



Spectre n° IV-1-3-5: spectre HMBC (400MHz, CDCl_3 ; δ ppm) du composé **3**

La position du proton éthylénique en position β du CO et non pas en α est appuyée par la corrélation unique sur le spectre COSY¹H-¹H (spectre n° IV-1-3-5) entre ce proton éthylénique et le proton du groupement CH sp³ résonant sous forme d'un multiplet partiellement recouvert par d'autres signaux à $\delta_{\text{H}}=2,52$ ppm ($\delta_{\text{C}}=53,2$ ppm).

Le carbone de ce groupement CH corréle sur le spectre HMBC avec les protons du CH₃ tertiaire à $\delta=1,25$ ppm ($\delta_{\text{C}}=25,0$ ppm) signifiant que le carbone de ce CH et le carbone porteur de ce groupement CH₃ délimitent la jonction des deux cycles de ce bicyclic et que cette jonction ne comporte qu'une liaison délimitée par le carbone quaternaire à $\delta=59,6$ ppm et le CH à $\delta_{\text{C}}=53,2$ ppm. Ceci est appuyé par la corrélation sur le spectre COSY¹H-¹H du proton de ce CH et le proton du CH dont le signal apparaît recouvert par d'autres signaux à $\delta=1,84$ ppm ($\delta_{\text{C}}=55,4$ ppm). Cette attribution est vérifiée par la corrélation observée entre ce carbone et le proton éthylénique.

Toujours sur le spectre HMBC, ce carbone ($\delta_{\text{C}}=55,4$ ppm) montre une corrélation nette avec les protons des deux méthyles formant un groupement isopropyle précédemment signalés. La présence de ce groupement isopropyle est amplement confirmée par le spectre SMIE qui admet comme pic de base le signal $m/z=191$ Da correspondant à M-43. Les protons de ces deux groupements méthyles précédemment signalés à $\delta=0,94$ ppm ($J=6,6$ Hz) correspondent sur le spectre HSQC aux atomes de carbone à $\delta=19,4$ et $21,9$ ppm.

Le fait que ces deux carbones soient différents signifie que ces 2 groupements CH₃ sont diastéréotopiques et que l'équivalence magnétique de leurs protons n'est que fortuite.

L'ensemble de toutes ces données permet d'écrire l'enchaînement reporté sur le schéma IV-1-3-2

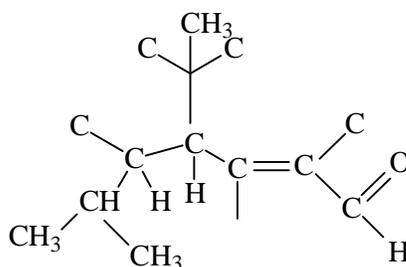
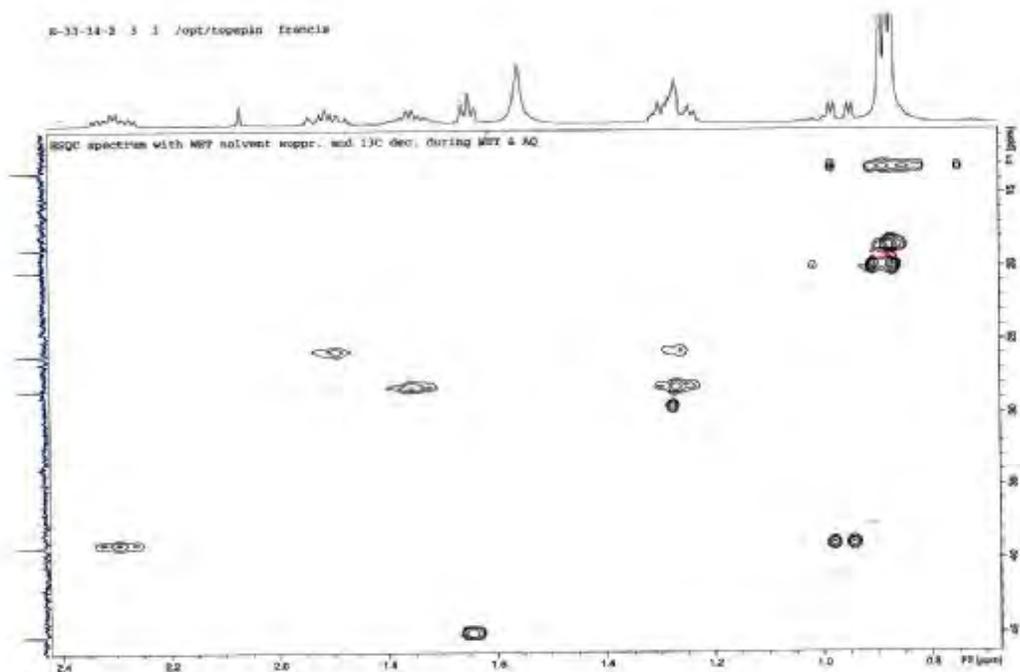
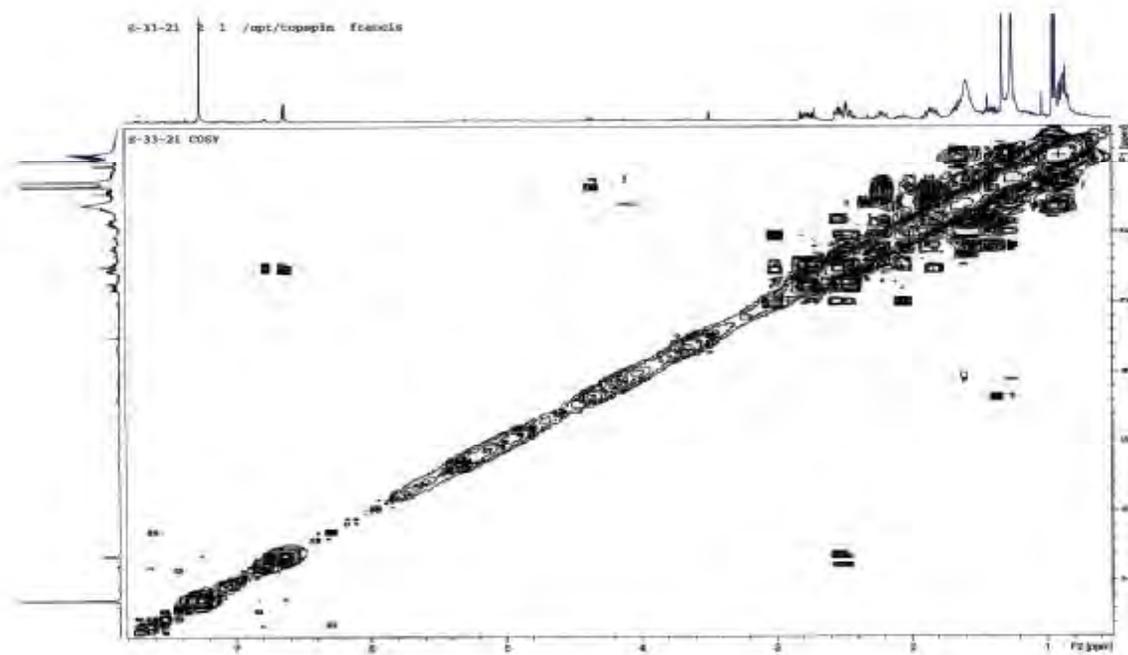


Schéma IV-1-3-2

Sur le spectre HMBC, le carbone du groupement CH éthylénique montre des corrélations avec les protons du groupement CH₂ apparaissant sous forme de multiplet à $\delta=2,53$ et $2,73$ ppm ($\delta_{\text{C}}=19,7$ ppm), par contre le carbone quaternaire éthylénique montre des corrélations avec les protons de ce groupement CH₂ et ceux du CH₂ apparaissant également sous forme de multiplets à $\delta=2,76$ et $2,76$ ppm ($\delta_{\text{C}}=38,9$ ppm). L'ensemble de ces protons montre des corrélations sur ce même spectre avec le carbone de la fonction cétone, lequel corréle avec les protons du méthyle à $\delta=1,32$ ppm permettant ainsi l'établissement d'un cycle à 7 chaînons.



Spectre n° IV-1-3-4: Spectre HSQC (400MHz, CDCl₃; δppm) du composé 3



Spectre n° IV-1-3-5: Spectre COSY¹H-¹H (400MHz, CDCl₃; δppm) du composé **3**

La localisation des atomes de carbone des deux groupements CH₃ de l'isopropyle permet de localiser le proton du CH de ce groupement à δ=1,66 ppm (δ_C=32,3 ppm), grâce à sa corrélation avec les atomes de carbone de ces deux méthyles. Ce proton montre une corrélation avec le carbone du groupement CH₂ à δ_C=26,28 (δ_H=1,80 et 1,36 ppm) que l'on peut par conséquent placer en β par rapport au carbone porteur de ce proton..

Sur le spectre COSYH-¹H les protons de ce CH₂ corrélient avec ceux du CH₂ apparaissant sous forme de multiplets à δ=2,20 et 1,40 ppm (δ_C=35,1 ppm).

Le carbone de ce groupement CH₂ montre une corrélation nette avec les protons du CH₃ à δ=1.32 ppm signifiant la fermeture de ce cycle sur le carbone porteur de ce méthyle, soit la formation d'un cycle à 5 chaînons d'où la structure plane reporté sur le schéma IV-1-3-3

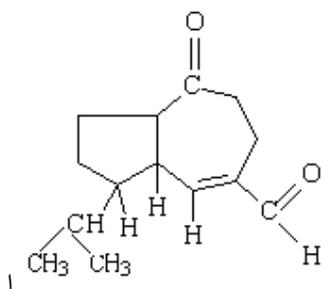


Schéma:IV-1-3-3

L'analyse de nos résultats spectroscopiques et en particulier les déplacements chimiques sont en parfait accord avec la structure: 2 -oxoisodauc-5-èn-12-al [4] reporté dans le schéma IV-1-3-4

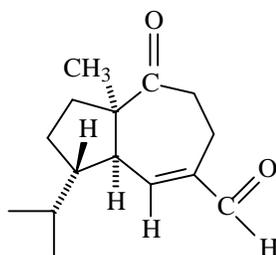


Schéma:IV-1-3-4

IV-1-4 : Elucidation structurale du composé E_{33,34,2} (F_{5,1}) : 4

L'étude combinée des spectres RMN¹H (spectre n°IV-1-3 -1), RMN¹³C (spectre n°IV-1-3-2) ,HSQC (spectre n°IV-1-3 -3), montre la présence de 10 atomes de carbone que nous pouvons répartir comme suit:

*3CH₃ tertiaires (singulets) à $\delta_H=0,87$ ppm ($\delta_C =13,3$ ppm) ; $\delta_H=0,88$ ppm ($\delta_C =18,6$ ppm) ; $\delta_H=0,89$ ppm ($\delta_C =20,2$ ppm).

*3CH₂ non oxygénés:

-Le premier apparaît à $\delta_H=1,90$ ppm multiplet et 1,28 ppm, multiplet couvert par le signal d'un autre proton ($\delta_C =25,9$ ppm).

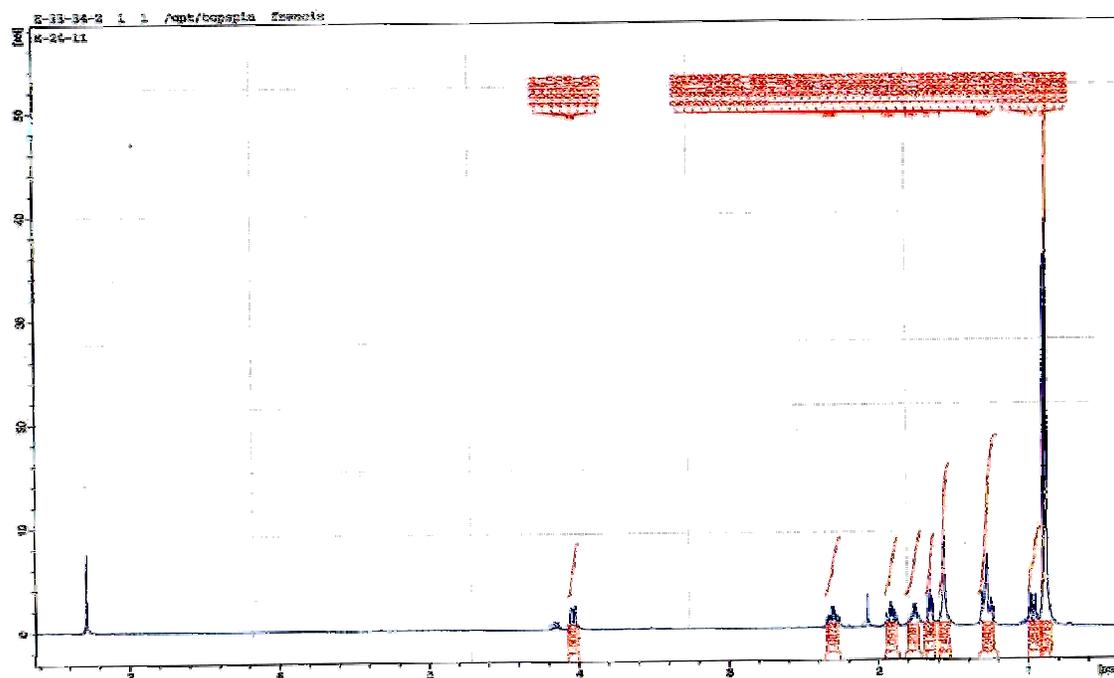
-Le second apparaît à $\delta=1,75$ ppm multiplet et 1,28 ppm recouvert par le signal d'un des protons du CH₂ précédent ($\delta_C =28,3$ ppm).

-Le troisième apparaît sous forme de multiplets à 0,96 ppm, et 2,29 ppm, ($\delta_C =39,0$ ppm).

*2CH.

-Le premier non oxygéné donne un signal à $\delta_H=1,65$ ppm (*t*, $J=8,6$ Hz) $\delta_C=45,1$ ppm.

-Le deuxième oxygéné d'après les valeurs des déplacements chimiques, donne un signal sous forme d'un doublet large à $\delta=4,03$ ppm ($J=10$ Hz).



Spectre n°IV-1-3 -1: Spectre RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3 ; δ ppm) du composé **4**

Le carbone porteur de ce proton recouvert par les signaux du CDCl_3 est aisément détecté à $\delta=77,2$ ppm grâce au spectre de l'expérience HMBC .

Un recours au spectre de l'expérience HMBC (spectre n°IV-1-3-4) permet la localisation de deux carbones quaternaires à $\delta=49,0$ ppm et $48,0$ ppm grâce à leur corrélation avec les protons de certains groupements hydrocarbonés précédemment signalés.

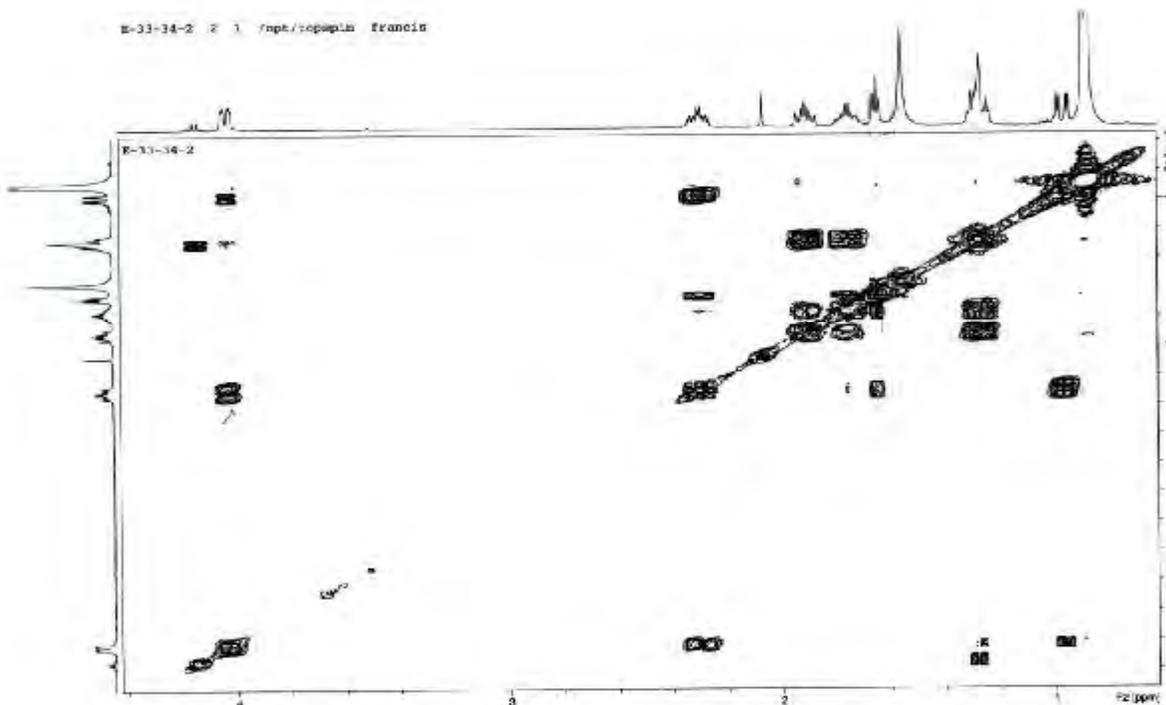
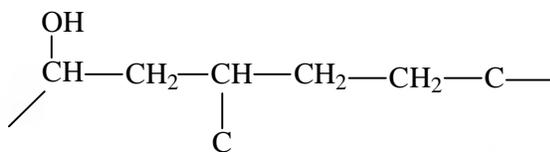
Un décompte des noyaux des groupements ainsi observés, mène à la formule brute partielle $\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{O}$.

Les valeurs des déplacements chimiques de l'ensemble des carbones et le fait qu'un seul soit oxygéné et hybridé sp^3 impose la présence d'un hydroxyle dans cette molécule. Ceci mène à la formule brute totale $\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$ soit une molécule à deux insaturations.

D'après notre étude précédente cette molécule ne renferme aucune double liaison, ce qui oriente vers un bicyclic.

L'examen du spectre $\text{COSY}^1\text{H}-^1\text{H}$ (spectre n°IV-1-3- 5) montre des corrélations entre le proton du CH oxygéné et ceux du CH_2 à $\delta_{\text{H}}=2,29$ et $0,96$ ppm lesquels corrélerent avec le proton du groupement CH à $\delta=1,65$ ppm. Ce proton corréle à son tour avec les protons du groupement CH_2 à $\delta=1,28$ et $1,75$ ppm.

Ces derniers noyaux corrélerent avec ceux du groupement CH_2 à $\delta=1,90$ ppm et $1,28$ ppm. L'ensemble de ces données mène à l'enchaînement:



Spectre n°IV-1-3 -2: Spectre COSY¹H-¹H (400MHz, CDCl₃; δ ppm) du composé **3**

Un retour vers le spectre HMBC permet de confirmer cet enchainement et montre en particulier une corrélation entre le carbone du CH oxygéné et les protons du CH₂ à δ=1,90 et 1,28 ppm, suggérant ainsi la jonction de ce CH et un des deux carbones quaternaires. Le carbone de ce CH oxygéné corréle également avec les protons du méthyle à δ=0,87 ppm, ce qui suppose la substitution du carbone quaternaire voisin de ce groupement par ce groupement méthyle.

Ce carbone quaternaire ne peut être lié qu'au deuxième carbone quaternaire lequel est obligatoirement porteur des deux méthyle restants et est relié au carbone du groupement CH à δ=45,1ppm (δ_H= 1,65 ppm)

Ceci est d'ailleurs vérifié par la corrélation entre le proton de ce groupement et le carbone quaternaire à δ=49,0 ppm. Ces données mènent à la structure plane reportée dans le schéma IV-1-3-1

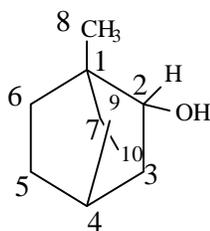
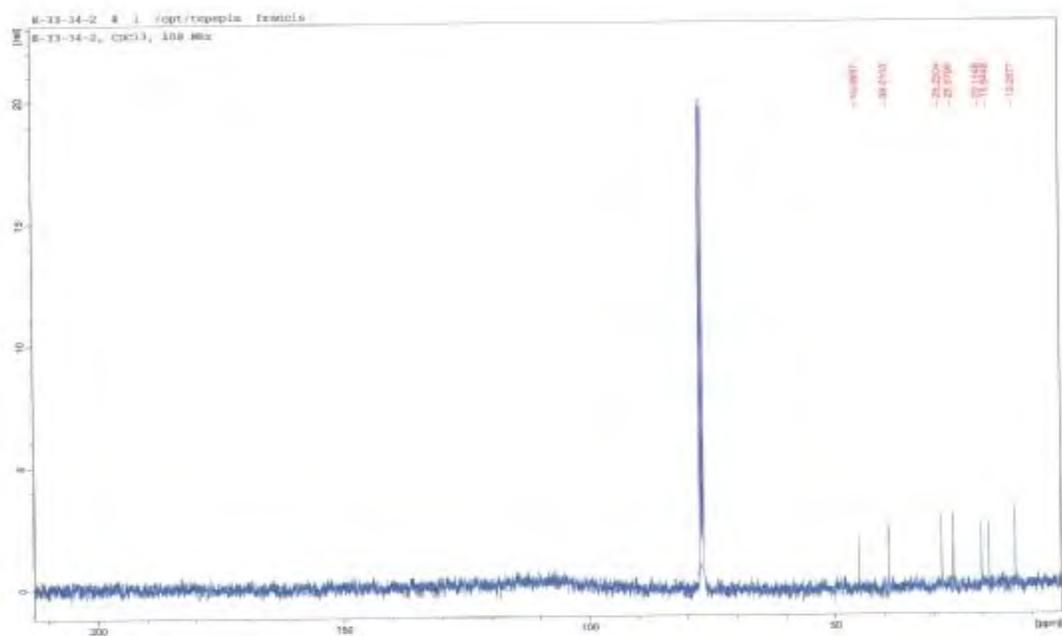


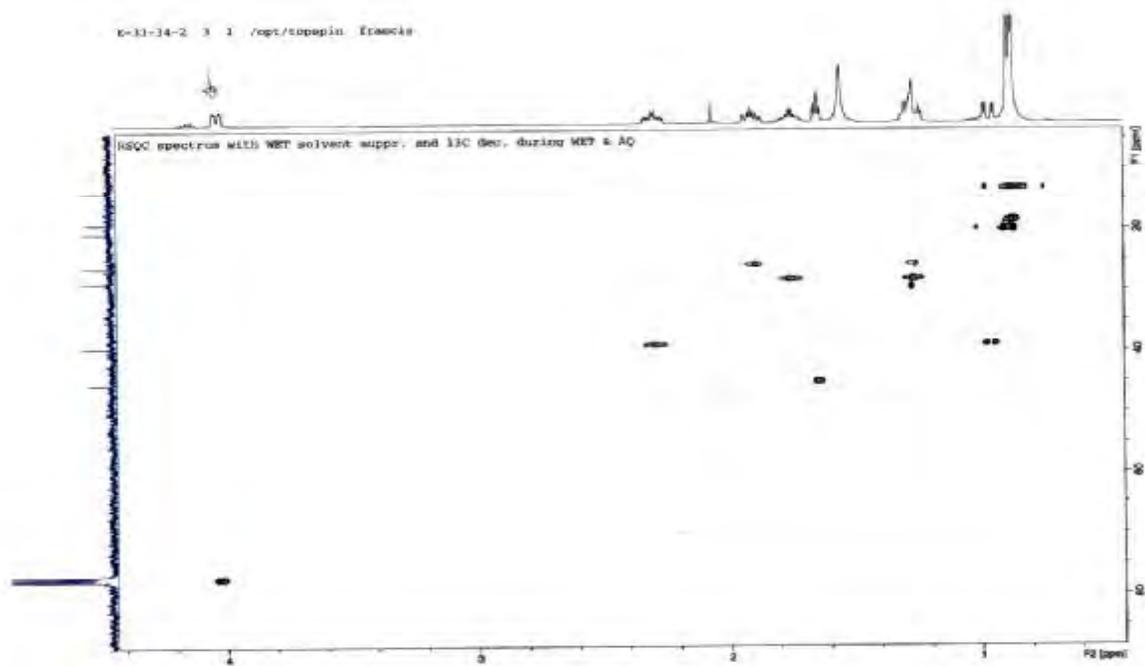
Schéma IV-1-3-1

Nos données spectroscopiques reportés dans le tableau IV-1-3-1 sont en parfait accord avec celles de la littérature correspondant au bornéol [3] dont la structure est reportée dans le schéma IV-1-3-1.

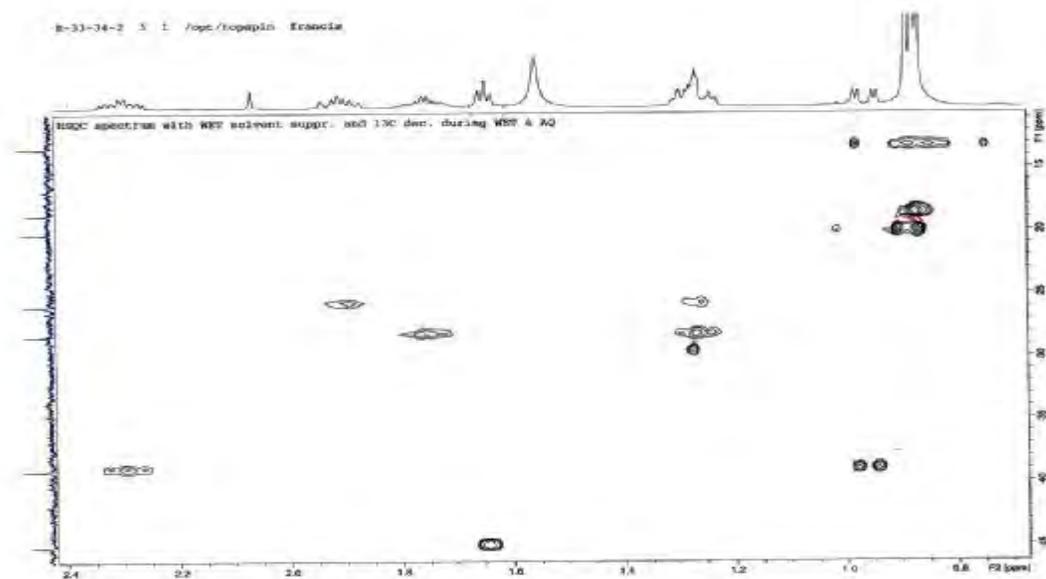
D'après la valeur des constantes de couplage relevées dans le signal de H-2 (dl, J =10,0 Hz), il apparaît clairement que H-2 admet une orientation axiale, en conséquence, le groupement OH admet une orientation équatoriale. Cette molécule est commune pour le genre *Achillea*.



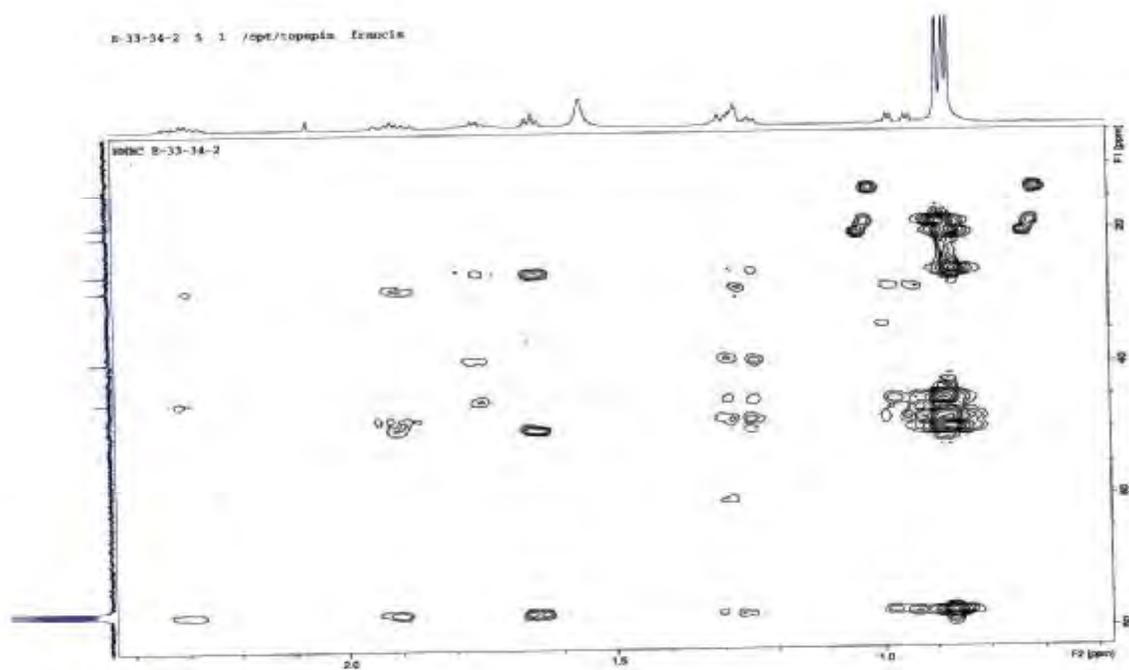
Spectre n°IV-1-3-2 : Spectre RMN¹³C (100MHz, CDCl₃; δ ppm) du composé **4**



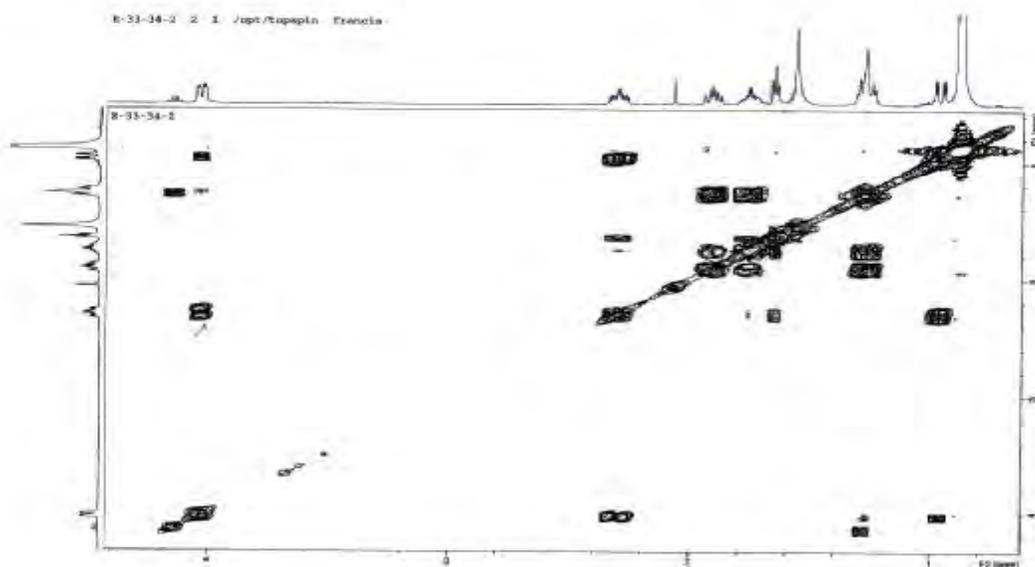
Spectre n°IV-1-3 -3-a : Spectre HSQC (400MHz, CDCl₃; δppm) du composé **4**



Spectre n°IV-1-3 -3-b : Spectre HSQC (400MHz, CDCl₃; δppm) du composé **4**



Spectre n°IV-1-3 -4 : Spectre HMBC (400MHz, CDCl₃; δppm) du composé **4**



Spectre n°IV-1-3 -5:spectre COSY (400MHz, CDCl₃ ; δppm) du composé **4**

Tableau IV-1-3-a: Données de la RMN¹H (400 MHz, CDCl₃, δ ppm).

δ (ppm)	Intégration	Multiplicité J (Hz)	Attribution
4.03	1H	dl (10,0)	H-2
2.29	1 H	m	H-3
1.90	1 H	m	H-6
1.75	1 H	m	H-5
1.65	1 H	tl (8,6)	H-4
1.28	1 H	m	H-6
1.28	1 H	m	H-5
0.96	1 H	m	H-3
0.89	3 H	s	CH ₃ -9
0.88	3 H	s	CH ₃ -10
0.87	3 H	s	CH ₃ -8

Tableau IV-1-3-b: Données de la RMN¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ ppm).

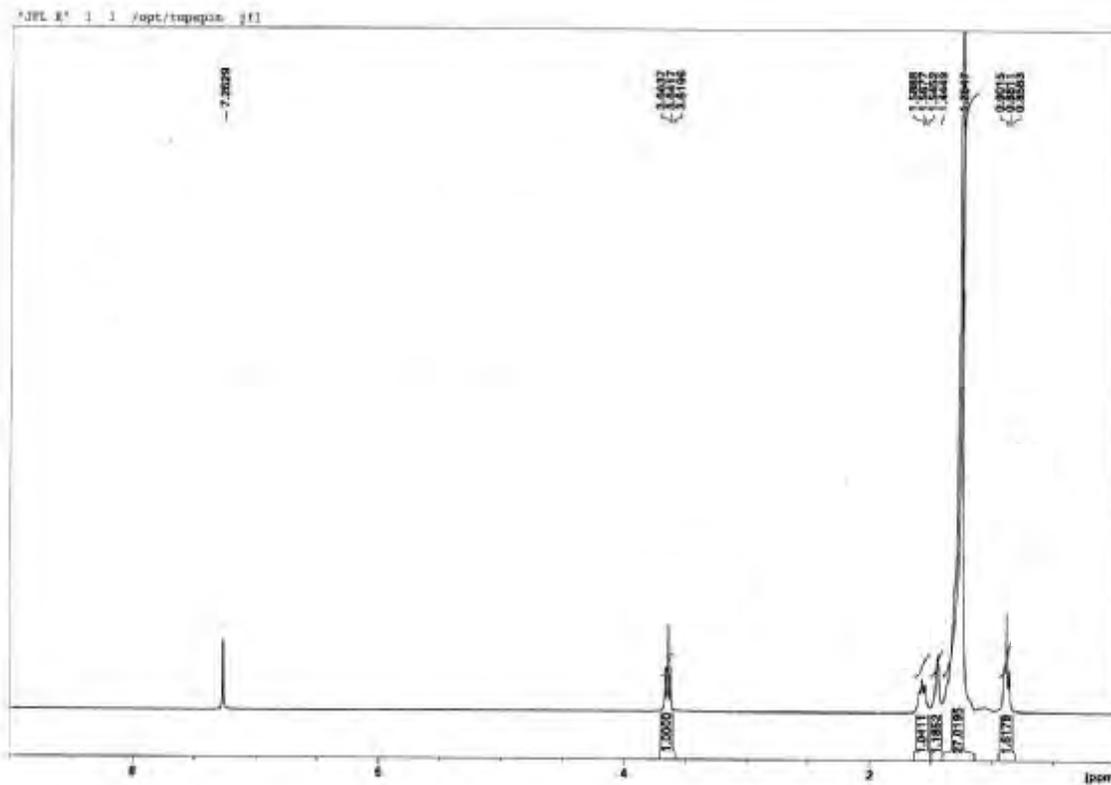
δ (ppm)	13.3	18.6	20.2	25.9	28.3	39.0	45.1	48.0	49.0	77.1
C	C-8	C-9	C-10	C-6	C-5	C-3	C-4	C-7	C-1	C-2

IV-1-5:Elucidation structurale du composé E₄₇:5

L'examen du spectre RMN ¹H (spectre n° IV-1-5-1) montre un signal d'intégration 2H sous forme d'un triplet à δ=3,64 ppm prévoyant un enchaînement O-CH₂-CH₂-, voisin d'un autre CH₂ justifié par la présence d'un multiplet d'intégration 2H à δ=1,57 ppm, ce spectre montre également un signal intense d'intégration 54H, prévoyant un enchaînement de 27 unités CH₂.

Ce spectre montre par ailleurs un triplet d'intégration 3H à δ=0,88 ppm, attribuable au CH₃ d'une chaîne linéaire que l'on peut représenter sous la forme -O-CH₂- CH₂- (CH₂)₂₆ - CH₂-CH₃,et un singulet qui disparaît après addition de D₂O attribuable par conséquent à un groupement hydroxyle d'où la structure:

CH₃-CH₂- (CH₂)₂₆-CH₂ - CH₂-OH soit le tridecan-1-ol ou triacontanol []. Ce résultat est confirmé par le spectre RMN ¹³C qui montre en particulier la présence d'un CH₂ oxygéné à δ=63,03 ppm,un groupement CH₃ à δ=22,67 ppm , 3 CH₂ à δ=32,80 ; 31,91 et 25,72 ppm et un ensemble de CH₂ centré à 29,68 ppm.



Spectre n°IV-1-5 -1 : Spectre RMN¹H (400MHZ, CDCl₃; ppm) du composé **5**

L'examen du spectre de masse sous impact électronique (spectre IV-1-5-2) confirme ce résultat, notamment la présence de la chaîne linéaire par les signaux à $m/z=420$ Da correspondant à $[M-H_{20}]^{+}$,

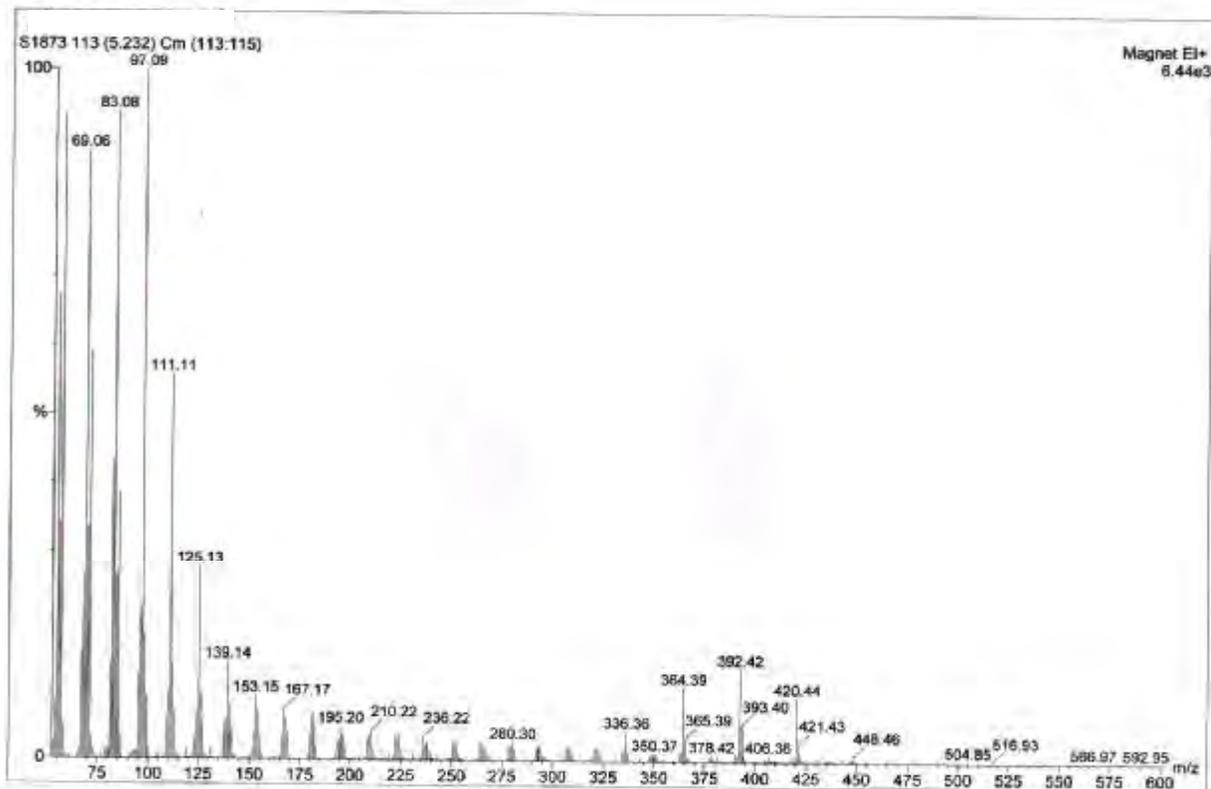
* $m/z=392$ correspondant à $[420-CH_2=CH_2]^{+}$;

* $m/z=364$ correspondant à $[392 - CH_2=CH_2]^{+}$;

$m/z=336$ correspondant à $[364-CH_2=CH_2]^{+}$, et.....

Ceci en matière de réarrangement de l'ion obtenu après perte de H₂O.

Les ruptures de cet ion ont mené aux ions à $m/z=55$; 69 ; 83 ; 97 ; 111 ; 125 ; 139 ; 153 ; 167 ; 181 ; 195 , comme attendu pour ce type de produit..



Spectre n°IV-1-5 -2 : Spectre SMIE du composé 5

IV-1-6:Elucidation structurale du composé F₄₋₇:6

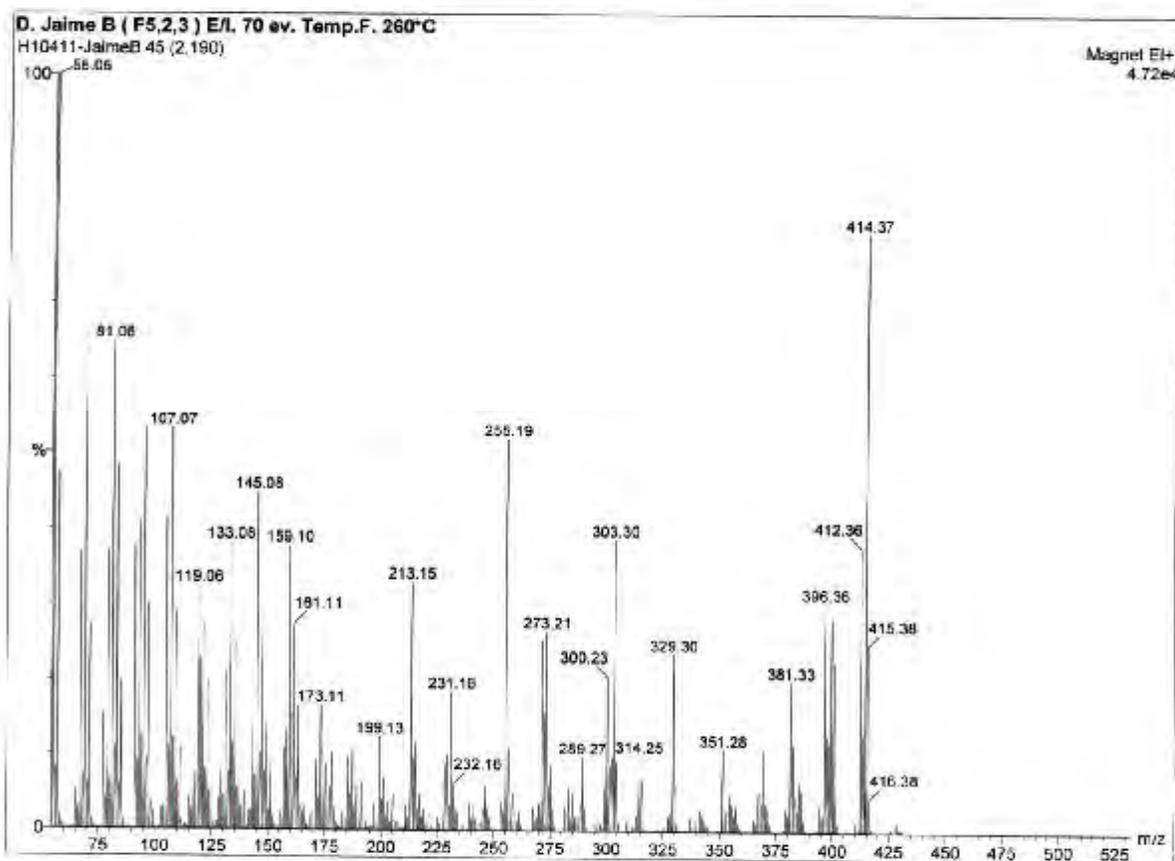
Le spectre de masse SMIE du composé 6 donne une masse de l'ion moléculaire à $m/z=414$ (78,31%) correspondant à la formule brute $C_{29}H_{50}O$, soit un composé a cinq insaturations. Ces données nous ont incité à réaliser le test de LIEBERMANN & BURCHARD relatif à la mise en évidence des stérols et 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 $m/z=396$ (30,12%) 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 $m/z=381$ (21,69 %) correspondant au départ d'un radical méthyle, ce qui est largement attendu pour les stérols.

La structure stérol est appuyée par le signal à $m/z=273$ (26,51%) correspondant à la perte de la chaîne latérale ($C_{10}H_{21}$) par l'ion moléculaire 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 de ce stérol sont résumées dans le tableau IV-1-6-1.



Spectre n° IV-1-6-1: Spectre SMIE du composé **6**

Tableau IV-1-6-a: Données du SMIE du composé **6**

$[M-C_{10}H_{21}]^+$	$[M-18-15]^+$	$[M-18]^+$	$[M-15]^+$	$[M]^+$	Fragment
273	381	396	399	414	<i>m/z</i>
26,51	21,69	30,12	27,71	78,31	Int.Rel.(%)

L'examen du spectre RMN 1H de ce produit (spectre n° IV-1-6-2) enregistré dans $CDCl_3$ montre:

*Un doublet large à $\delta=5,35$ ppm d'intégration 1H correspondant au proton éthylénique connu avec la numérotation H-6.

*Un multiplet d'intégration 1H à $\delta=3,53$ ppm correspondant à un proton sur un carbone oxygéné, notamment le H-3 d'un stérol.

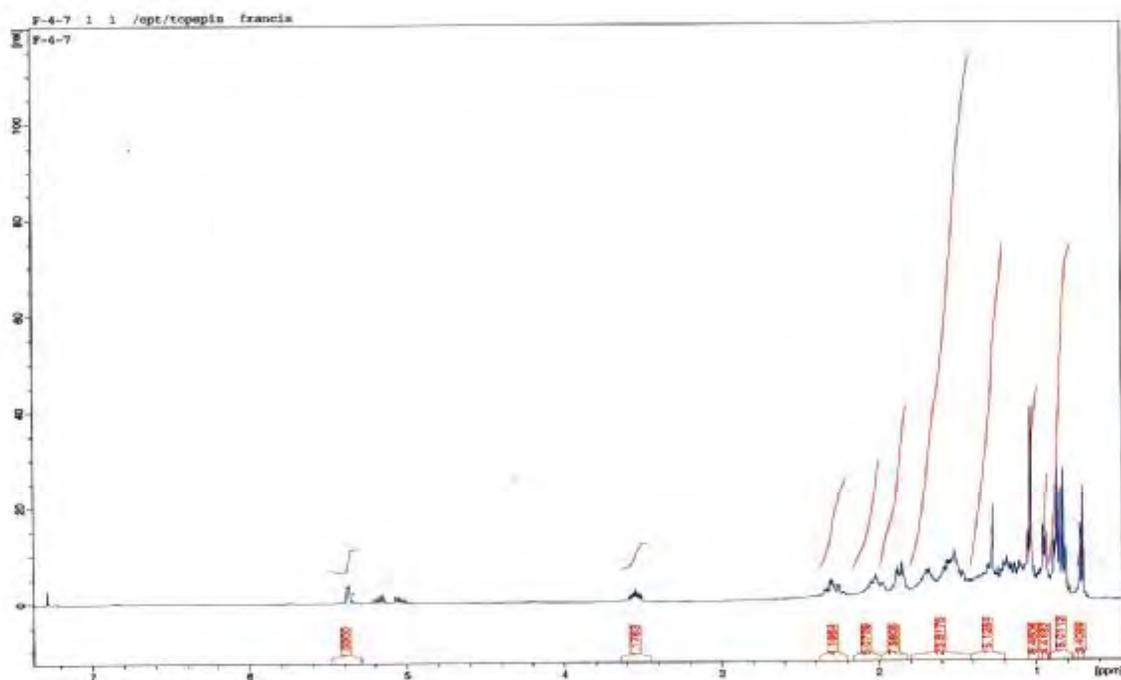
*Un singulet à $\delta=0,68$ ppm d'intégration 3H attribuable au méthyle 18.

*Deux doublets et un triplet superposés d'intégration 9H centrés à $\delta=0,86$ ppm correspondant à deux méthyles isopropyliques qui sont diastéréotopiques et par conséquent magnétiquement non équivalents et au méthyle du groupement éthyle respectivement.

Le tableau IV-1-6-2, rassemble les données de la RMN 1H de ce composé.

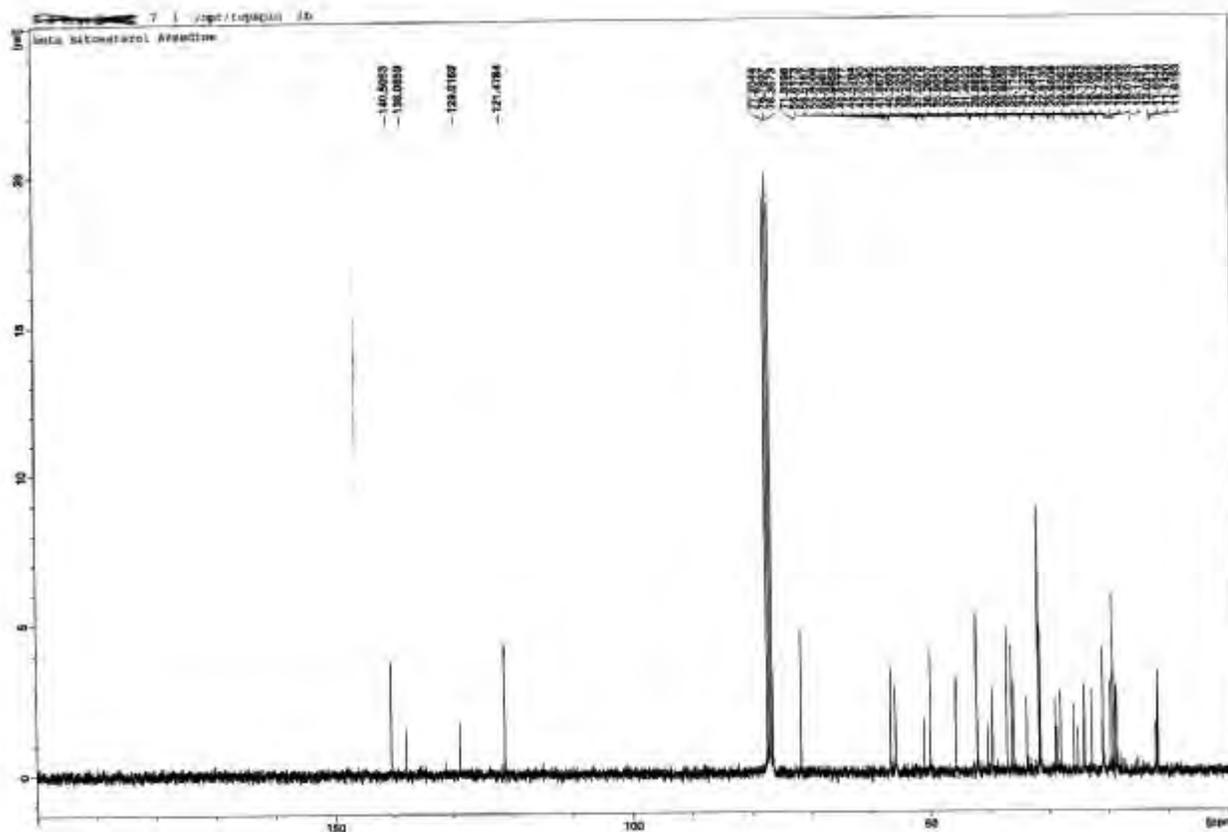
Tableau IV-1-6-2: données RMN ¹H du composé **6**

Déplacement chimique δ (ppm)	Intégration	MultiplicitéJ(Hz)	Attribution
5,35	1H	s large	H-6
3,53	1H	m	H-3
2,25	2H	dl (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 (7,0)	CH ₃ -21
1,01	3H	s	CH ₃ -19



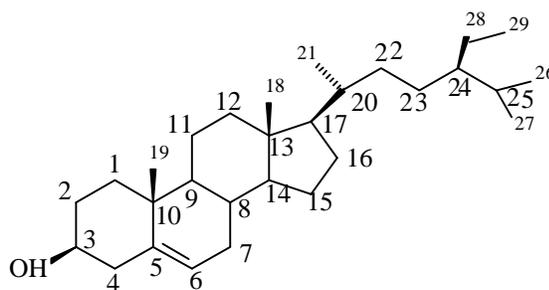
Spectre n° IV-1-6-2:spectre RMN ¹H (300MHz, CDCL₃; δ ppm) du composé **6**

Le spectre RMN ¹³C et les séquences DEPT 135 et 90 (spectre n°IV-1-6-3) confirment la présence de la double liaison trisubstituée par les signaux à δ = 140,8 ppm, relatif à un carbone éthylénique quaternaire (C-5) et à δ = 121,7 ppm relatif à un CH oxygéné à δ = 71,7 ppm relatif au carbone portant la fonction alcool (C-3). Les valeurs des déplacements chimiques sont caractéristiques des positions attribuées .



Spectre n° IV-1-6-3: Spectre RMN ^{13}C (50MHz, CDCl_3 , δ ppm) du composé **6**

L'ensemble de ces données comparé aux résultats de la littérature [27] ainsi que la co-chromatographie avec un échantillon authentique mène au β -Sitostérol, d'où la structure reportée dans le schéma IV-1-6-1



β -Sitostérol

Schéma IV-1-6-1

Il faut signaler que cet échantillon est contaminé par du stigmastérol reconnaissable par les signaux sous forme de doublets de doublets $\delta = 5,15$ ($J=15,1 ; 8,4\text{Hz}$) et à $\delta = 5,01$ ($J=15,1 ; 8,4\text{Hz}$) correspondant aux protons de la double liaison trans C-22 - C-23

IV-1-7: Elucidation structurale du composé F_{11-A} : 7

Le spectre de masse à haute résolution (spectre n°IV-1-7-1), donne une masse exacte pour le pic moléculaire à $m/z=166,0999(14,46\%)$ correspondant à la formule brute C₁₀H₁₄O₂ (calculée=166,0994) soit un composé à 4 insaturations.

Elemental Composition Report

Page 1

Multiple Mass Analysis: 176 mass(es) processed - displaying only valid results

Tolerance = 20.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 50.0

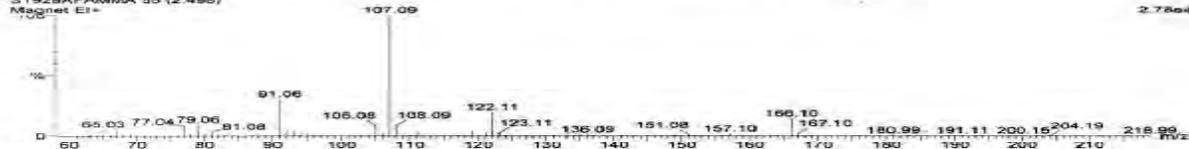
Isotope cluster parameters: Separation = 1.0 Abundance = 1.0%

Monoisotopic Mass, Odd and Even Electron Ions

582 formula(s) evaluated with 44 results within limits (up to 50 closest results for each mass)

S1929AFAMMA 55 (2.495)

2.78e4



Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Score	Formula
166.0999	14.46	166.0994	0.5	3.1	4.0	1	C10 H14 O2
165.0921	0.12	165.0916	0.5	3.3	4.5	1	C10 H13 O2
164.0861	0.19	164.0837	2.4	14.4	5.0	1	C10 H12 O2
152.0846	0.27	152.0837	0.9	5.7	4.0	1	C9 H12 O2
151.0777	0.31	151.0759	1.8	11.9	4.5	1	C9 H11 O2
150.0667	0.17	150.0645	2.2	14.8	4.0	1	C10 H14 O
149.0894	0.43	149.0966	2.8	18.5	4.5	1	C10 H13 O
149.0823	0.25	149.0603	2.0	13.7	5.5	1	C9 H9 O2
147.0820	0.17	147.0810	1.0	6.9	5.9	1	C10 H11 O
138.0059	0.46	138.0045	1.4	10.4	3.0	1	C9 H14 O
137.0891	0.71	137.0966	2.5	17.9	3.5	1	C9 H13 O
137.0826	0.17	137.0603	2.5	18.6	4.5	1	C8 H9 O2
136.0805	1.35	136.0888	1.7	12.4	4.0	1	C9 H12 O
135.0833	0.82	135.0810	2.3	17.1	4.5	1	C9 H11 O
135.0467	0.22	135.0446	2.1	15.5	5.5	1	C8 H7 O2
134.0811	0.27	134.0996	1.8	11.6	4.0	1	C10 H14
133.0841	0.65	133.1017	2.4	17.8	4.0	1	C10 H13
132.0953	0.27	132.0939	1.4	10.6	5.0	1	C10 H12
130.0797	0.32	130.0783	1.4	11.1	6.0	1	C10 H10
129.0701	0.32	129.0704	-0.3	-2.3	6.5	1	C10 H9
128.0649	0.27	128.0626	2.3	18.0	7.0	1	C10 H8
127.0858	0.11	127.0949	1.0	8.1	7.1	1	C10 H7
126.0704	0.16	126.0691	1.3	10.4	3.0	1	C7 H10
125.0998	0.29	125.0966	0.2	1.3	2.0	1	C8 H13 O
125.0671	0.20	125.0603	1.8	14.8	3.5	1	C7 H9 O2
124.0897	0.47	124.0888	0.9	7.1	3.0	1	C8 H12 O
123.0818	2.41	123.0810	0.8	6.6	3.5	1	C8 H12 O
122.1809	18.75	122.1096	1.3	11.1	4.0	1	C8 H14
122.0744	0.24	122.0732	1.2	10.1	4.0	1	C8 H10 O
121.1022	2.43	121.1017	0.5	3.9	3.5	1	C9 H13
121.0660	0.51	121.0653	0.7	5.5	4.0	1	C8 H9
119.0864	4.78	119.0861	0.3	2.7	4.0	1	C9 H11
119.0891	0.10	119.0497	1.8	15.0	5.0	1	C8 H7 O
118.0789	0.29	118.0783	0.6	5.5	5.0	1	C9 H10
117.0718	0.67	117.0704	1.4	11.7	5.0	1	C9 H9
116.0641	0.14	116.0626	1.5	12.9	6.0	1	C9 H8
115.0860	0.51	115.0848	1.2	10.6	6.0	1	C9 H7
112.0895	0.41	112.0888	0.7	6.1	2.0	1	C7 H12 O
110.1113	0.27	110.1096	1.8	16.8	2.0	1	C8 H14
108.0949	8.46	108.0939	0.9	8.3	3.0	1	C8 H12
74.0155	0.14	74.0157	-0.2	-2.0	6.0	1	C6 H8
69.0351	0.35	69.0340	1.1	15.4	2.5	1	C4 H5
68.0257	0.13	68.0262	-0.5	-7.6	3.0	1	C4 H4 O

Spectre n°IV-1-7-1: Spectre SMHR du composé 7

L'examen du spectre RMN¹³C (spectre n°IV-1-7-2), montre la présence de dix signaux confirmant les données de la masse à haute résolution. Ces signaux peuvent être répartis comme suit:

-3 carbones quaternaires dont:

-Un CO caractéristique d'une γ - lactone α, β saturée à $\delta=177,1$ ppm.

-Un éthylénique à $\delta=134,5$ ppm.

-Un carbone hybridé sp^3 non oxygéné à $\delta=35,2$ ppm.

-3 groupements CH dont:

*Un éthylénique à $\delta=133,0$ ppm.

*Un CH hybridé sp^3 oxygéné à $\delta=78,3$ ppm, la valeur de son déplacement chimique indique qu'il correspond au point de fermeture de la lactone.

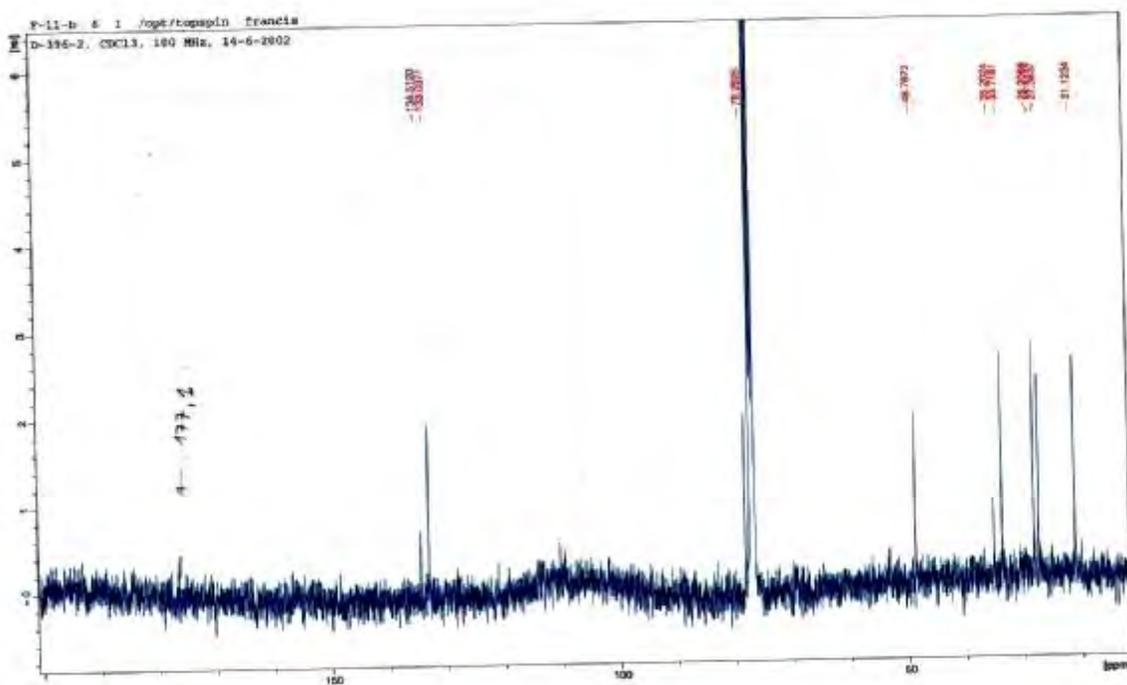
*Un CH hybridé sp^3 non oxygéné à $\delta=48,8$ ppm.

-Un groupement CH_2

à $\delta=33,7$ ppm.

03 groupements méthyles

à $\delta= 28,2 ; 27,4$ et $21,1$ ppm



Spectre n°IV-1-7-2: Spectre RMN¹³C (100MHz, CDCl₃; δ ppm) du composé **7**

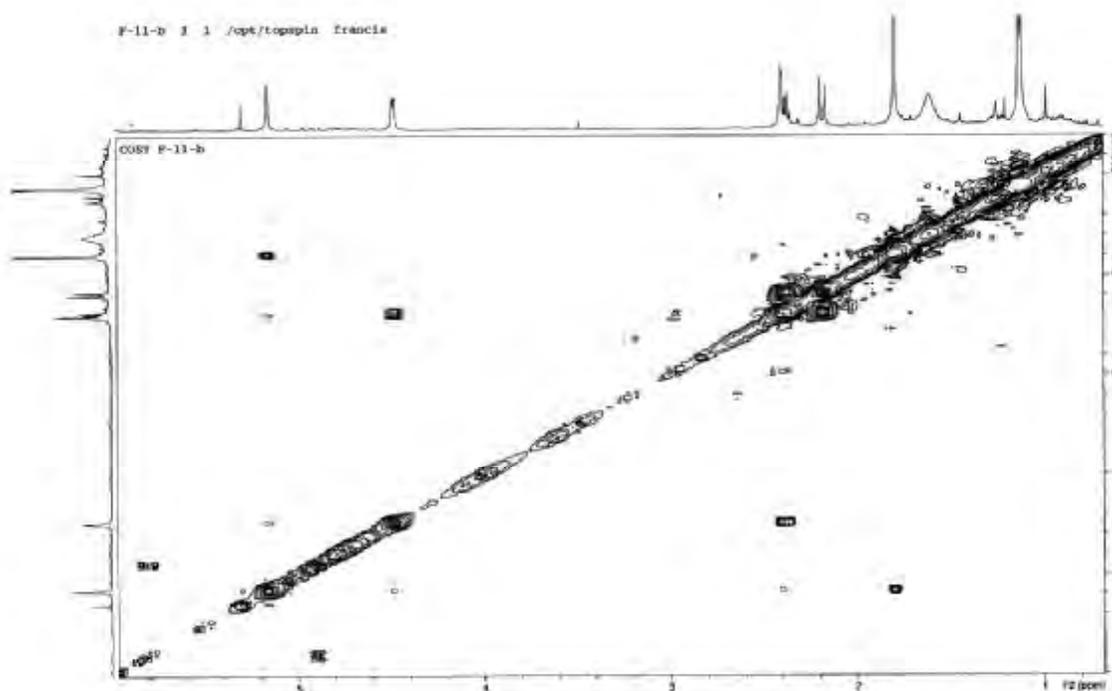
En matière d'insaturations et jusqu'à présent, ce composé renferme une double liaison délimitée par un CH et un carbone quaternaire et un carbonyle de lactone ce qui mène à trois insaturations. Comme cette molécule doit en contenir quatre, cela suppose la présence d'un cycle supplémentaire dans cette molécule.

La combinaison des données des spectres RMN¹³C (spectre n°IV-1-7-1), HSQC spectre n°IV-1-7-2), RMN¹H spectre n°IV-1-7-3) et spectre COSY¹H-¹H (spectre n°IV-1-7-4), montre:

-Une corrélation longue sur le spectre COSY¹H-¹H entre le proton éthylénique et les protons du CH_3 à $\delta=1,79$ ppm (d, $J=1,5$ Hz), $\delta C=21,1$ ppm, signifiant la substitution du carbone quaternaire éthylénique par ce méthyle, ceci est appuyé par la valeur du déplacement chimique des protons de ce

méthyle. Ce proton éthylénique montre également un couplage longue distance avec le proton du groupement CH de fermeture de la lactone, ce qui suppose la jonction du carbone porteur de ce noyau au carbone quaternaire éthylénique.

Par ailleurs, le proton de ce groupement CH corrèle sur le spectre COSY avec le proton du groupement CH₂ à $\delta=2,39$ ppm (m) et $\delta= 2,18$ ppm (dl; $J=10,6$ Hz) suppose leur enchaînement.



Spectre n°IV-1-7-4 : Spectre COSY¹H-¹H (400MHz, CDCl₃; δ ppm) du composé **7**

Sur le spectre HMBC les deux protons de ce CH₂ corrèlent avec le carbone à $\delta_C =48,8$ ppm, lequel corrèle également avec le proton de fermeture de la lactone.

Ce carbone montre également des corrélations avec les protons des méthyles à $\delta=1,13$ ppm ($\delta_C=28,2$ ppm) et 1,12 ppm ($\delta_C=27,4$ ppm), lesquels corrèlent avec le carbone quaternaire à $\delta=35,2$ ppm, ceci d'une part, d'autre part, ce carbone montre une corrélation avec le proton éthylénique, orientant ainsi vers la présence d'un carbone quaternaire diméthyles entre ce groupement CH et le CH éthylénique, et par conséquent la fermeture du cycle attendu. Ainsi la jonction lactone serait une δ lactone dont le C=O est directement relié à ce groupement CH. L'ensemble de ces données mène à la structure plane reportée dans le schéma IV-1-7-1

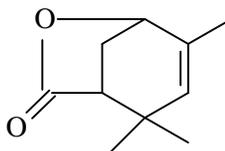
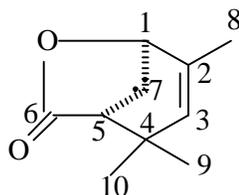


Schéma IV -1-7-1

Un réexamen des valeurs des déplacements chimiques, des constantes de couplages et leurs comparaisons avec les résultats de la littérature [8] tant vers la structure du filifolide A. Dont la structure est donnée au schéma IV -1-7-2



Filifolide A

Schéma IV -1-7-2

Tableau IV-1-7-1 : données RMN¹H (400MHz, CDCl₃, δppm)

Déplacement chimique δ (ppm)	Intégration	Multiplicité (J Hz)	Attribution
5,15	1 H	d(1,3)	H-3
4,47	1 H	dl (4,8)	H-1
2,40	1 H	m	H-5
2,39	2 H	dl (10,6)	H-7
2,18	1 H	dl (10,6)	H-7
1,79	3 H	s	H-9
1,13	3 H	s	H-10
1,12	3 H	s	

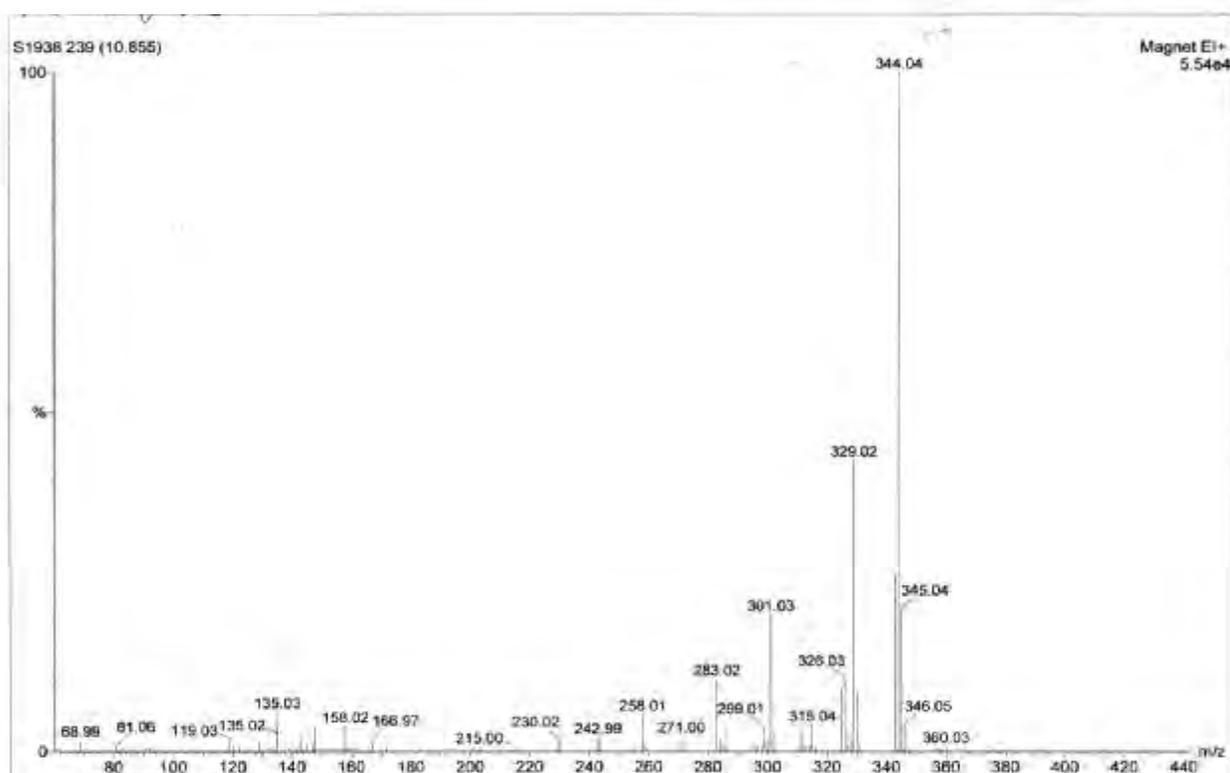
Tableau IV-1-7-2:Données de la RMN¹³C (100MHz, CDCl₃, δppm)

δ(ppm)	21,1	27,4	28,2	33,7	35,2	48,8	78,2	133,0	134,5	177,1
C	C-8	C-9	C-10	C-7	C-4	C-5	C-1	C-3	C-2	C-6

IV-1-8: Elucidation structurale du composé F_{10, 1}: j 103-2 : 8

Ce composé de couleur jaune à l'œil nu donne une fluorescence violette sous la lumière de wood ($\lambda=365\text{nm}$) caractéristique d'une flavone ou d'une flavonol 3-OR. Son spectre de masse sous impact électronique à haute résolution montre une masse exacte à 344.0876 correspondant à une formule brute C₁₈H₁₆O₇ dont la masse calculée est de 344.0896, orientant vers une molécule à 11 insaturations, en accord avec une structure flavonique.

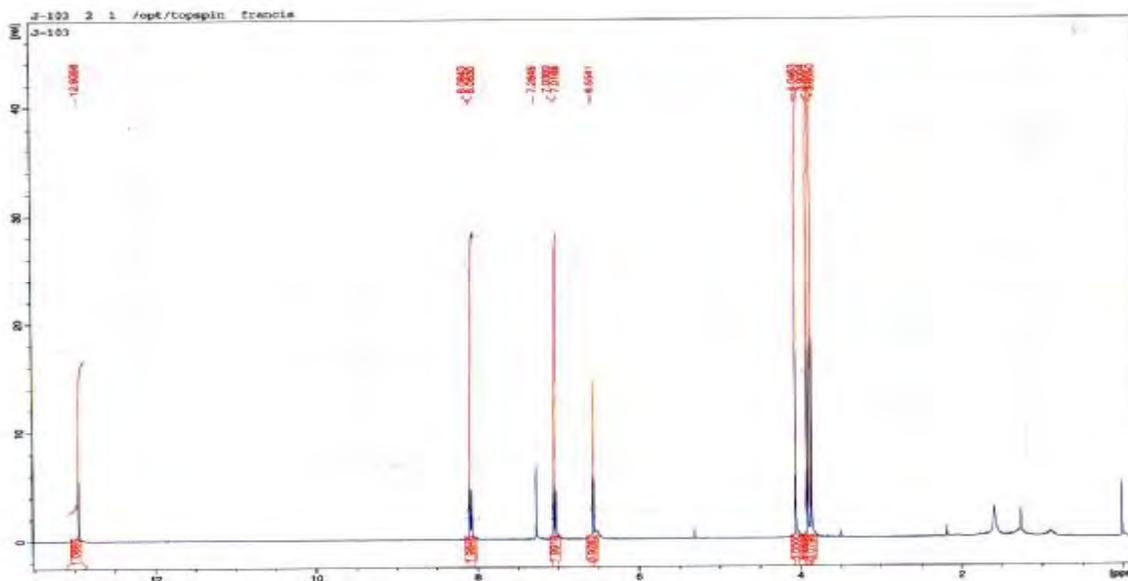
Par ailleurs, cette formule brute (C₁₈H₁₆O₇) indique la présence de trois groupements méthoxyles et deux groupements hydroxyles sur le squelette flavonique. Le spectre SMIE (spectre n°IV-1-8-1) de ce composé montre un pic moléculaire à 344 (100%) confirmant ces données et montre également un ion $m/z=329$ Da confirmant la présence de groupement méthoxyles sur cette molécule.



Spectre n°IV-1-8-1 : spectre SMIE du composé 8

Le spectre RMN ¹H de ce composé (spectre n°IV-1-8-2) montre un singulet d'intégration 1H à $\delta=12,94$ ppm, caractéristique d'un OH en C-5 d'un flavonoïde. Un système AB d'intégration 2H pour chaque signal à $\delta=8,07$ ppm et $\delta=7,02$ ppm ($J=8,5\text{Hz}$) caractéristique d'un noyau parasubstitué. Ces protons sont par conséquent attribuables à H-2' et H-6' et H-3' et H-5' respectivement. Ce spectre montre également un signal d'intégration 1H à $\delta=6,55$ ppm attribuable à H-6 ou H-8 ou H-3.

Trois singulets d'intégration 3H chacun à $\delta=4,05$; $3,90$ et $\delta=3,86$ ppm attribuables à 3 méthoxyles confirmant ainsi les données de la spectrométrie de masse.



Spectre n°IV-1-8-2 : Spectre RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3 , δppm) du composé **8**

L'examen du spectre de l'expérience HMBC (spectre n°IV-1-8-3) optimisé à une constante de couplage de 8Hz montre une corrélation entre le proton de l'hydroxyle en C-5 et le carbone quaternaire non oxygéné à

$\delta=105,9$ ppm permettant ainsi son attribution à C-10.

Ce proton corrèle également avec deux autres atomes de carbones tous deux quaternaires oxygénés.

L'un à $\delta=129,7$ ppm attribuable à C-6. Ce carbone corrélant aux protons du méthoxyle à $\delta=4,05$ ppm ($\delta\text{c}=60,7$ ppm) et par conséquent méthoxylé.

L'autre atome de carbone à $\delta=151,6$ ppm est attribuable à C-5.

-L'attribution de C-6 permet d'attribuer le singulet à $\delta=6,6$ ppm à H-8 grâce à la corrélation observée entre ces deux noyaux menant ainsi à une structure de type flavonol 3-OR.

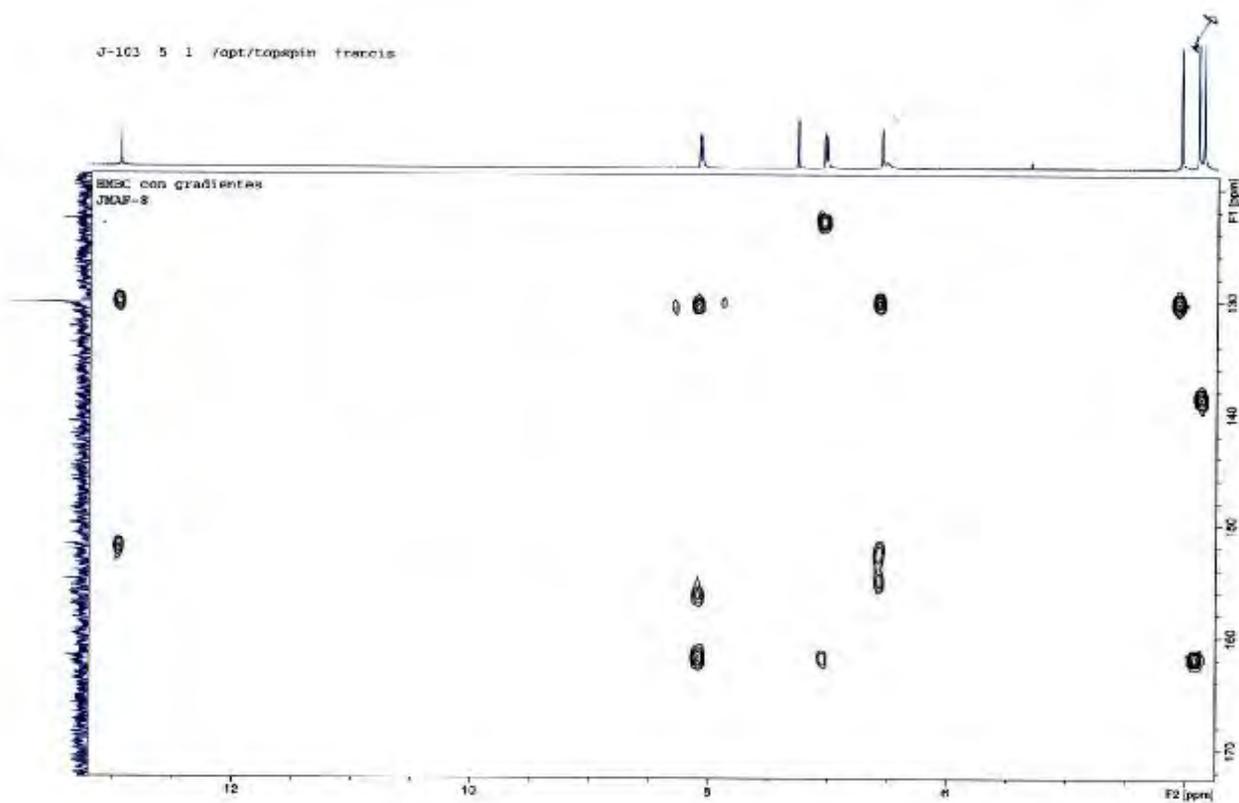
Toujours sur le même spectre l'attribution de H-8 confirme celle de C-10 et permet de localiser C-9 et C-7 à $\delta=152,0$ et $155,9$ ppm respectivement.

Par ailleurs, les corrélations observées entre H-3' et H-5', H-6' et H-2' permettent de localiser C-4' à $\delta=161,5$ ppm. Ce noyau corrélant avec les protons du méthoxyles à $\delta=3,90$ ppm ($\delta\text{c}=55,2$ ppm) et par conséquent méthoxylé.

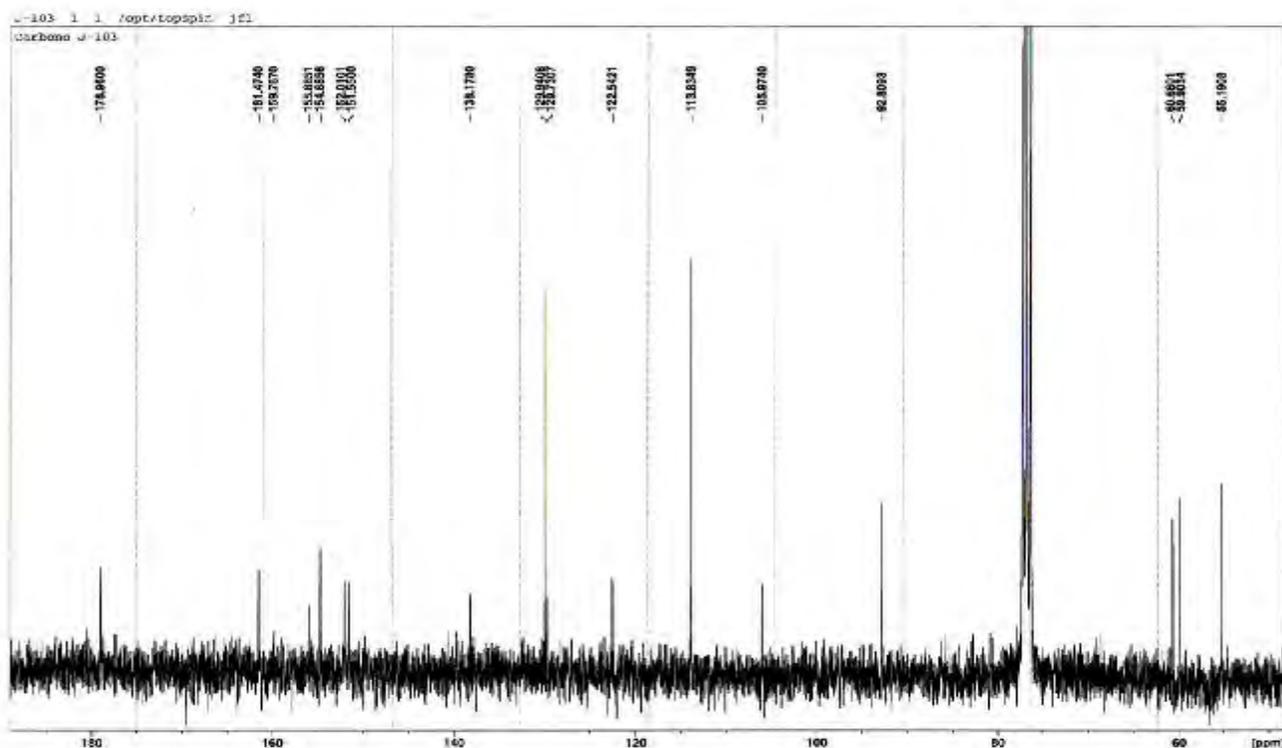
Ce spectre montre également une corrélation entre les protons du méthoxylé à $\delta=3,86$ ppm ($\delta\text{c}=59,9$ ppm), et le carbone à $\delta=138,2$ ppm attribuable à C-3.

La localisation de C-1' à $\delta=122,5$ ppm est déduite de sa corrélation avec les protons H-3' et H-5', celle de C-2 ($\delta=158,9$ ppm) est déduite de sa corrélation avec H-2' et H-6'.

Le signal à $\delta=179,0$ ppm est attribuable à C-4 (carbonyle doublement conjugué C-4).



Spectre IV-1-8-3 : Spectre HMBC du composé **8**



Spectre IV-1-8-4 : Spectre RMN ^{13}C du composé **8**

L'ensemble de ces données mène à l'hydroxylation de C-7 et la structure est reportée dans le schéma IV-1-8-1

Cette molécule est connue sous le nom de santine [8] ou 5,7-dihydroxy 4', 6,3-triméthoxyflavone.

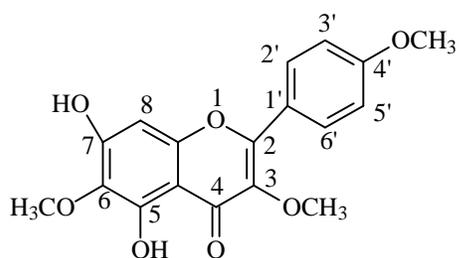


Schéma IV-1-8-1

Les données RMN ^1H et RMN ^{13}C sont reportés dans les tableaux (IV-1-8-1), (IV-1-8-2) respectivement

Tableau n° (IV-1-8-1) : données de la RMN ¹H du composé **8**

Déplacement chimique δ(ppm)	Intégration	Multiplicité (J Hz)	attribution
12,94	1H	S	OH-5
8,07	2H	d (8,5 Hz)	H-2', H-6'
7,02	2H	d (8,5 Hz)	H-3', H-5'
6,55	1H	s	H-8
4,05	3H	s	6-OCH ₃
3,90	3H	s	4-OCH ₃
3,86	3H	s	3-OCH ₃

Tableau n° (IV-1-8-b): données de la RMN ¹³C du composé **8**

Déplacement chimique δ(ppm)	Attribution	HMBC (¹³ C -H)
159,0	C-2	H-2', H-6'
138,2	C-3	OCH ₃ (C-3)
179,0	C-4	
151,6	C-5	OH-5
129,7	C-6	OH-5, OCH ₃ (C-6)
155,9	C-7	
92,8	C-8	
152,0	C-9	
105,9	C-10	OH-5
122,5	C-1'	H-3', H-5'
129,9	C-2'	
113,8	C-3'	
161,5	C-4'	
113,8	C-5'	
129,7	C-6'	
59,9	OCH ₃ (C-3)	
55,2	OCH ₃ (C-4')	
60,7	OCH ₃ (C-6)	

IV-1-9:Elucidation structurale du composé J_{103A1} : **9**

Le composé **9** a été obtenu sous forme de cristaux. Son spectre HR-EI-MS (spectre n° IV-1-9-1) montre une masse exacte pour le pic moléculaire à m/z 372,0988 (calc. 372,0976) et m/z 374,0932 (calc. 374,0946). Ce spectre montre également les signaux à m/z 337,1299 [M-Cl]⁺ (calc. 337,1287), 319,1173 [M-Cl-H₂O]⁺ (calc. 319,1182), 301,1062 [M-Cl-2H₂O]⁺ (cal. 301,1076), 296,0616 (cal. 296,0629) et 294,0669 (cal. 294,0659) [M-CH₃CO₂H-H₂O]⁺, suggérant que ce composé renferme deux groupements hydroxyles et un groupement acétate et confirmant la présence de l'atome de Chlore. Son spectre RMN ¹H (spectre n° IV-1-9-2) montre deux signaux caractéristiques de protons d'un groupement exométhyle formant un couplage allylique et conjugués avec le carbonyle d'une lactone sesquiterpénique à δ 6,21 (*d*, *J* = 3,5 Hz, H-13a) et δ 5,41 (*d*, *J* = 3,2 Hz, H-13b). Dans le spectre COSY ¹H-¹H (spectre n° IV-1-9-3), les corrélations de H-13a and H-13b mènent à l'attribution de H-7 à δ 3,54,

qui, à son tour mène à H-6 à δ 4,21 dont le signal apparaît sous forme d'un doublet de doublets ($J = 11,0 ; 9,9$ Hz). Sur le spectre HSQC (spectre n° IV-1-9-4), ce proton corrèle avec le carbone à δ 81,3 ; indiquant une lactone sesquiterpénique fermée en C-6. Les corrélations de H-6 dans le spectre COSY $^1\text{H}-^1\text{H}$ permettent l'attribution de H-5 à δ 3,13 résonant sous forme d'un doublet ($J = 11,0$ Hz). La multiplicité de H-5 est en faveur d'un C-4 tétrasubstitué. Un ré-examen du spectre RMN ^1H confirme la présence du groupement acétate en montrant un singulet de 3H à δ 2,16 (δ 21,3 tiré du spectre HSQC), ce spectre montre également la présence de deux autres groupements méthyles. Un de ces deux méthyles (δ 18,0, δ 1,74) corrèle avec H-5 dans le spectre relatif à l'expérience HMBC (spectre n° IV-1-9-5) (Figure 1) ne peut être que C-15; tandis que l'autre (δ 23,5, δ 1,51) ne peut par conséquent être que C-14. Dans le même (HMBC), les protons de C-15 corréleront avec C-romateur en graphite. Les intensités des taches réparties par plans de réseau réciproque ont été mesurées avec le programme COLLECT (Bruker AXS BV, 1997-2004), puis indexées et traitées avec le programme Denzo SMN et enfin mises à la même échelle avec le programme HKL 2000 [] (Otwinowski et Minor, 1997). L'essentiel des données cristallines, des conditions d'enregistrement et des paramètres d'affinement est rassemblé dans le tableau IV-1-9-1. La structure cristalline a été résolue par les méthodes directes avec le progra5, avec l'atome de carbone quaternaire à δ 67,4 qui peut être attribué à C-4 et avec l'atome de carbone du CH à δ 3,62 permettant son attribution à C-3. Un retour vers le spectre COSY $^1\text{H}-^1\text{H}$, particulièrement, les corrélations de H-7, mènent à l'attribution du multiplet à δ 1,96 et du doublet large ($J = 15,6$ Hz) à δ 1,96 à H-8 et H-8 respectivement (δ 31,9). Dans le même spectre, ces deux protons montrent des corrélations avec le proton correspondant au doublet de doublets ($J = 7,3 ; 1,7$ Hz) à δ 5,09 suggérant son attribution à H-9. La valeur du déplacement de H-9 indique que le groupement acétate est placé sur C-9 (δ 74,6). Cette substitution est appuyée par la présence d'une corrélation observée sur le spectre HMBC entre H-9 et l'atome de carbone du carbonyle à δ 169,9 attribué au groupement acétate (C-1') grâce à sa corrélation avec les protons du groupement méthyle à δ 2,16 (CH₃-2'). Ce spectre montre également des corrélations entre H-13a, H-13b et le carbone à δ 169,9. Cette observation indique que C-12 et C-1' ont le même déplacement chimique et confirme la présence de 17 atomes de carbone dans cette structure. Par ailleurs, ce spectre (HMBC) montre des corrélations entre H-8 et les protons du CH₃-14 avec le carbone quaternaire hydroxylé à δ 77,5 qui peut être attribué à C-10. L'hydroxylation de C-10 appuyée par la corrélation observée entre lui et le proton du groupement hydroxyle à δ 4,10. Cette hypothèse est confirmée par la corrélation entre le proton de l'hydroxyle et C-9. Toujours sur le même spectre (HMBC), H-3 et les protons du CH₃-14 corréleront avec the carbone quaternaire à δ 61,6 qui ne peut être attribué qu'à C-1. Cet atome de carbone doit être hydroxylé vu la valeur de son déplacement chimique et sa corrélation avec le proton du groupement hydroxyle à δ 4,10. Ce spectre (HMBC) montre également des corrélations entre C-5, C-4, C-3, C-1 et le proton du singulet large à δ 4,14 (δ 61,6), permettant son attribution à H-2. Ces observations suggèrent un squelette de type guaianolide pour cette lactone sesquiterpénique. La formule moléculaire C₁₇H₂₁O₇Cl du composé **9** indique la présence de 7 insaturations, qui, ajoutée aux valeurs des déplacements chimiques de C-3 et C-4, suggèrent une fonction époxyde dans ces positions. Par conséquent, l'atome de chlore, doit être en C-2.

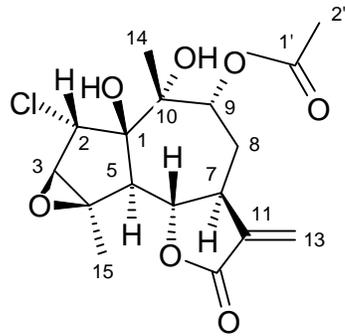
La stéréochimie de C-5, C-6, C-7 et C-9 découlent des valeurs des constantes de couplage suggérant une disposition *trans* pour H-5, H-6 et H-7 et une orientation- pour H-9. La stéréochimie de C-1, C-2, C-3, C-4 et C-10 est déduite du spectre 2D ROESY $^1\text{H}-^1\text{H}$. En effet, les interactions ROESY H-5/H-3, H-5/CH₃-15, suggèrent une configuration 3, 4 -epoxy, par contre the interactions ROESY de H-9/OH-1, H-7/OH-10, et CH₃-14/H-2 indiquent une orientation- pour OH-1, une orientation-

pour OH-10, et une orientation- pour l'atome de chlore. Ainsi le composé **9** est identifié comme : as 2 -chloro-9 -acetoxy-1 ,10 -dihydroxy-3 ,4 -epoxy-5 ,7 -H-guaia-11(13)-en-12,6 -olide. Ce produit est nouveau, nous l'avons appelé : Algérianolide.

La structure moléculaire et la configuration relative du composé **9** (algérianolide) ont été également établies par une analyse de diffraction de rayons X (schéma 2). Les données de diffraction ont été collectées à température ambiante à l'aide d'un diffractomètre Kappa CCD de type Bruker-Nonius en utilisant un rayonnement issu d'une anti-cathode en molybdène Mo ($\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$) monochromatisé avec un monochromateur SIR 2004 [] (Burla,2005) puis affinée avec le programme SHELX-97 [] (Sheldrick,1997) en combinant et moyennant l'intensité des paires de Friedel. Mise à part les atomes H, les autres atomes ont été affinés avec les facteurs d'agitation thermique anisotropes par moindres carrés avec matrices complètes sur F^2 . Tous les atomes H ont été positionnés de façon géométrique et ceux du groupement méthyle ont été affinés en conservant la rigidité du groupe.

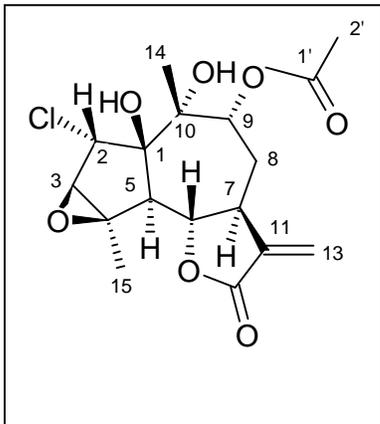
Les atomes H des groupes méthyles ont été affinés avec $U_{iso}(\text{H}) = 1,5 U_{eq}(\text{C})$ alors que les autres atomes H ont été affinés avec $U_{iso}(\text{H}) = 1,2 U_{eq}(\text{C})$.

Algerianolide (**9**): Cristaux incolores. mp 215° , $[\alpha]_D^{20} = +42,35^\circ$ (c 0,85 CHCl_3), $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): . . 1 (1H, d, $J = 3,5 \text{ Hz}$, H-13a), 5,41 (1H, d, $J = 3,2 \text{ Hz}$, H-13b), 5,09 (1H, dd, $J = 7,3 ; 1,7 \text{ Hz}$, H-9), . . 1 (1H, dd, $J = 11,0 ; 9,9 \text{ Hz}$, H-6), . 1 (1H, brs, H-2), 3,62 (1H, brs, H-3), 3,54 (1H, m, H-7), 3,13 (1H, d, $J = 11,0 \text{ Hz}$, H-5), 2,21 (1H, m, H-8) ..1,96 (1H, brd, $J = 15.6 \text{ Hz}$, H-8 ..1 . . .s, CH_3 -15), 1,51 (3H, s, CH_3 -14), 2,16 (3H, s, CH_3 -2'), 4,10 (1H, s, OH-1), 2,33 (1H, s, OH-10); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): 169,9 (C-12 & C-1'), 138,5 (C-11), 119,4 (C-13), 84,5 (C-1), 81,3 (C-6), 77,5 (C-10, recouvert par le signal du solvant, attribué grâce au spectre de l'expérience HMBC), 74,6 (C-9), 67,4 (C-4), 63,7 (C-3), 61,6 (C-2), 46,4 (C-5), 41,6 (C-7), 31,9 (C-8), 23,5 (C-14), 18,0 (C-15), 21,3 (C-2'); HREIMS m/z 374,0932 (calc. pour $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{O}_7^{37}\text{Cl}$, 374,0946), 372,0988 (calc. pour $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{O}_7^{35}\text{Cl}$, 372,0976). EIMS m/z 337 $[\text{M}-\text{Cl}]^+$ (0,5), 319 $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$ (6,9), 296 $[\text{M}-\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$ (0,4), 294 $[\text{M}-\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$ (1,2), 277 $[\text{M}-\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}]^+$ (4,6), 271 $[\text{M}-\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}-\text{CO}-\text{CH}_3]^+$ (1,8), 269 $[\text{M}-\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}-\text{CO}-\text{CH}_3]^+$ (5,5), 259 $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$ (7,7), 250 (7,5), 243 (1,9), 241 (3,7), 231 (5,5), 217 (6,3), 216 (4,9), 215 (4,4), 191 (3,4), 189 (4,0), 183 (5,9), 165 (7,9), 161 (7,0), 151 (6,8), 137 (15,7), 111 (100).



9

Algérianolide



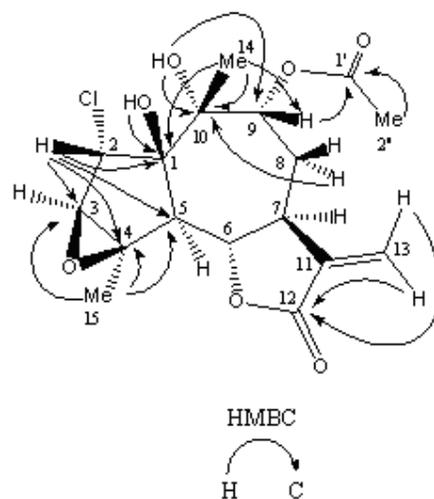


Figure 1: Corrélations HMBC les plus importantes du composé **9** (Algérianolide)

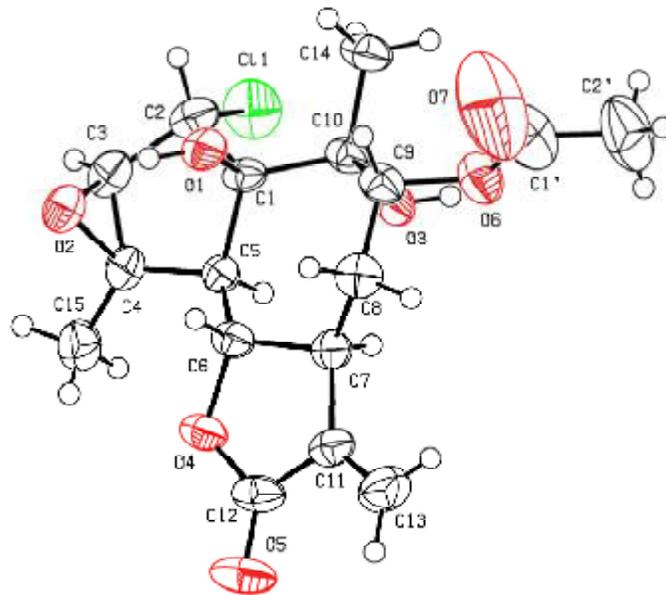


Figure 2: Vue de la molécule, montrant le schéma de numérotation des atomes

Displacement ellipsoids are plotted at the 50% probability level.

Tableau IV-2-: Données cristallographiques et affinement de structure du composé **9**

Ces données ont été déposées au centre des données cristallographiques de Cambridge

(deposit number CCDC 655386). Data Acquisition - the Cambridge Crystallographic Data Centre

deposit@ccdc.cam.ac.uk <http://www.ccdc.cam.ac.uk/deposit>

Telephone: (44) 01223 762910 Facsimile: (44) 01223 336033

Postal Address: CCDC, 12 Union Road, CAMBRIDGE CB2 1EZ, UK

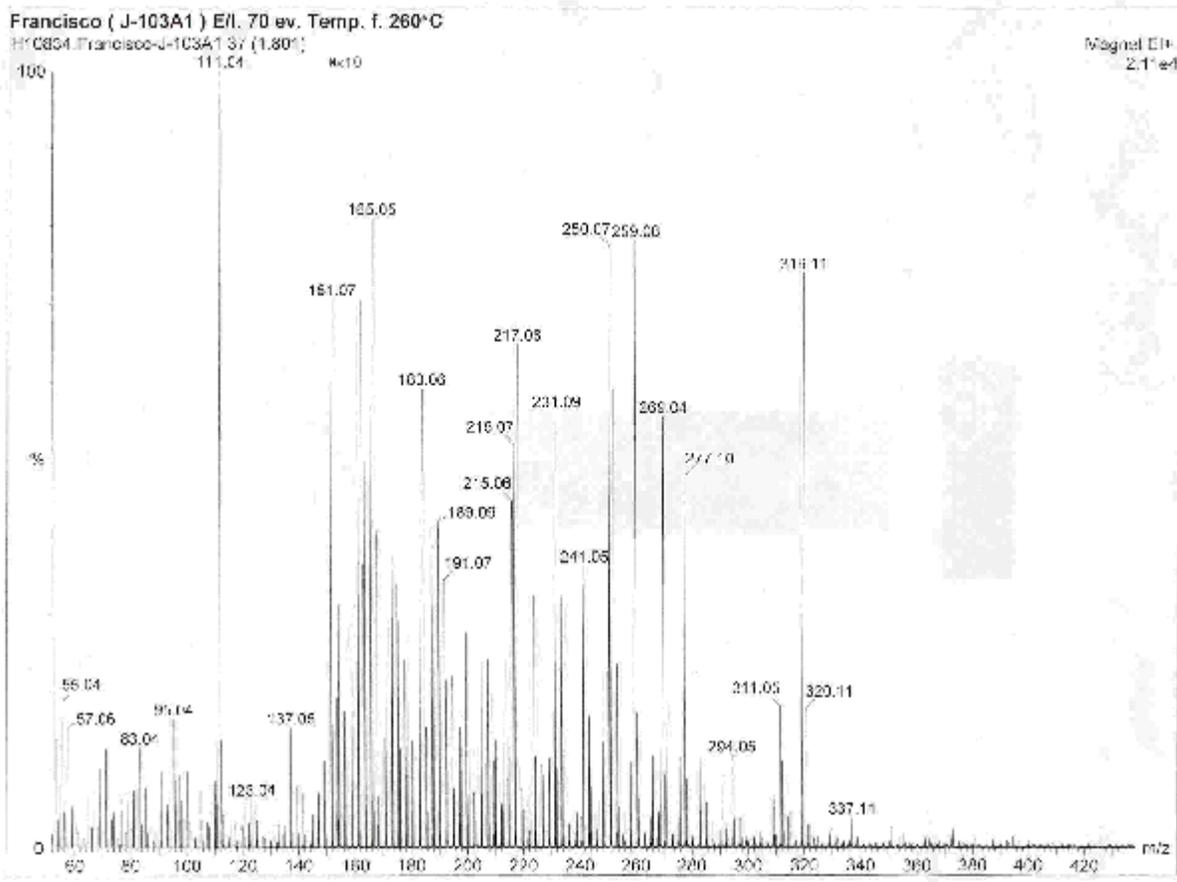
Composé 9	
Formule empirique	C ₁₇ H ₂₁ Cl O ₇
Masse molaire M	372.79
Température (°K)	293(2)
Longueur d'onde λ (Å)	0.71073
Système Cristallin	Monoclinic
Groupe d'espace	P 21
Paramètres cristallins	
a (Å)	5.9050(10)
b (Å)	15.5380(10)
c (Å)	10.1160(10)
β (°)	104.774(11)
Volume V (Å ³)	897.5(2)
Unités formulaires par maille Z	2
Densité calculée D _c (g.cm ⁻³)	1.380
Coefficient d'absorption μ (Mo-K α) (mm ⁻¹)	0.248
Taille du Cristal (mm)	0.45 x 0.20 x 0.08
Intervalle angulaire pour θ (°)	2.1 – 28.7
Intervalle des indices	$-7 \leq h \leq 7$; $-20 \leq k \leq 21$; $-13 \leq l \leq 13$

Nombre de Reflections	15100 / 4334
Rint (facteur de reliabilité)	0.055
Correction d'absorption	aucune
Methode d'affinement	Par moindres carrés avec matrice complète sur F^2
Données /contraintes/paramètres	4334/0/229
R finaux indices [$I > 2\sigma(I)$]	R=0.052; wR2=0.1428; S=1.13
Schémas de pondération, w	$1/[\sigma^2(F_o^2)+(0.0804P)^2]$, $P=(F_o^2+2F_c^2)/3$
Maximum déplacement / erreur	0.00/0.00
Parametre de Flack	0.04(7)
Plus grands pics et trou dans la Fourier différence ($e \text{ \AA}^{-3}$)	0.35/-0.42

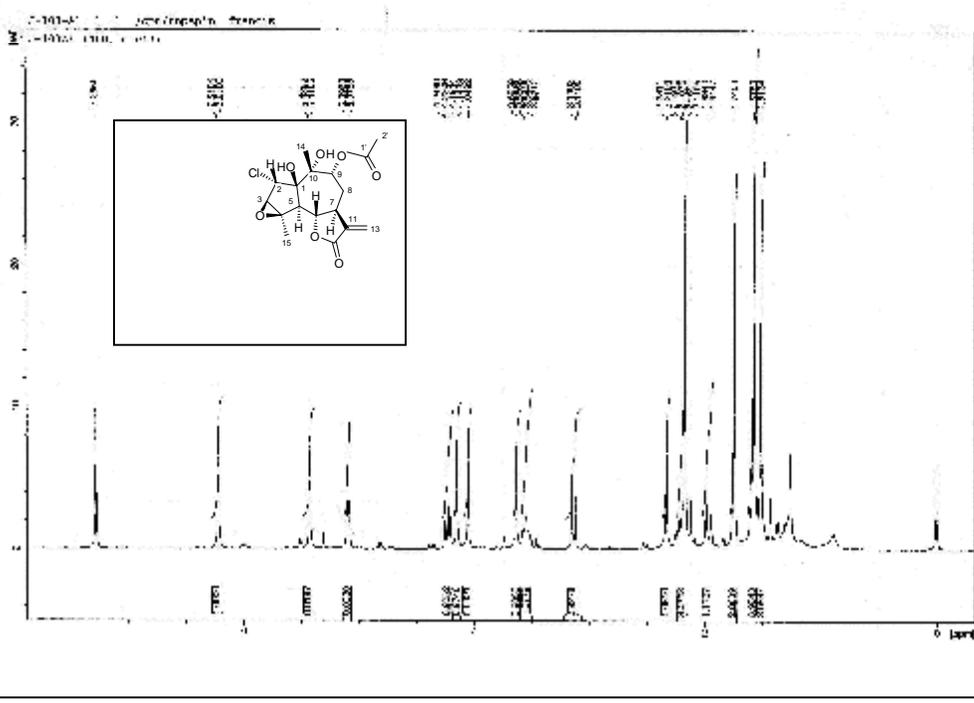
Minimum:	1.00				1.5		
Maximum:	100.00		200.0	5.0	50.0		
Mass	RN	Calc. Mass	mDa	EBM	DBE	Formula	
351.9353	2.07	351.9355	-0.2	-0.7	13.0	C15 H4 O6	35C1 37C1
351.0284	1.24	351.0272	1.2	3.5	10.5	C16 H12 O7	35C1
350.0552	1.24	350.0557	-0.5	-1.9	10.0	C17 H15 O6	35C1
348.0968	1.24	348.0976	-0.8	-2.2	5.0	C15 H21 O7	35C1
346.0816	2.07	346.0819	-0.3	-1.0	6.0	C15 H19 O7	35C1
345.0904	2.07	345.0919	-1.5	-4.3	6.5	C16 H20 O6	37C1
345.0825	1.66	345.0838	-1.3	-3.6	6.5	C17 H21 O3	35C1 37C1
345.0745	2.49	345.0741	0.4	1.1	6.5	C19 H19 O7	35C1
345.0307	1.24	345.0322	-1.5	-4.3	3.5	C12 H17 O7	37C1
345.0149	3.32	345.0166	-1.7	-4.9	12.5	C17 H10 O6	35C1
345.0109	3.32	345.0111	-0.2	-0.4	8.5	C15 H13 O5	35C1 37C1
344.1020	1.24	344.1027	-0.7	-1.9	6.0	C16 H21 O6	35C1
344.0683	2.90	344.0662	0.0	0.1	7.0	C15 H17 O7	35C1
344.0623	2.49	344.0607	1.6	4.5	3.0	C13 H20 O6	35C1 37C1
344.0465	1.66	344.0477	-1.2	-3.4	8.0	C15 H15 O7	37C1
343.9910	1.24	343.9902	0.8	2.4	14.0	C17 H7 O6	37C1
343.0769	2.49	343.0762	0.7	1.9	7.5	C16 H18 O6	37C1
343.0689	3.32	343.0682	0.7	2.1	7.5	C17 H19 O3	35C1 37C1
343.0571	2.49	343.0585	-1.4	-4.0	7.5	C15 H16 O7	35C1
343.0532	2.49	343.0529	0.3	0.8	3.5	C13 H19 O6	35C1 37C1
343.0413	1.24	343.0399	1.4	4.2	8.5	C15 H14 O7	37C1
342.9583	2.49	342.9590	-0.7	-2.1	10.5	C14 H7 O6	35C1 37C1
342.9464	1.66	342.9460	0.4	1.3	15.5	C16 H2 O7	37C1
342.9386	1.66	342.9379	0.7	2.1	15.5	C17 H3 O4	35C1 37C1
342.9227	1.24	342.9226	0.1	0.2	11.5	C13 H3 O7	35C1 37C1
342.1060	2.49	342.1048	1.2	3.5	7.0	C17 H21 O5	37C1
342.0863	2.07	342.0870	-0.7	-2.1	7.0	C16 H19 O6	35C1
341.0986	4.15	341.0970	1.6	4.8	7.5	C17 H20 O5	37C1
341.0790	1.66	341.0792	-0.2	-0.6	7.5	C16 H18 O6	35C1
341.0751	1.24	341.0737	1.4	4.2	3.5	C14 H21 O5	35C1 37C1
341.0594	1.24	341.0606	-1.2	-3.5	8.5	C16 H16 O6	37C1
341.0515	1.24	341.0525	-1.0	-3.0	8.5	C17 H17 O3	35C1 37C1
341.0436	2.90	341.0428	0.8	2.3	8.5	C15 H14 O7	35C1
341.0358	2.90	341.0373	-1.5	-4.3	4.5	C13 H17 O6	35C1 37C1
341.0151	1.66	341.0161	0.0	-0.3	9.5	C16 H13 O4	35C1 37C1
340.0688	2.07	340.0658	1.0	2.9	4.0	C14 H20 O5	35C1 37C1
339.0911	2.07	339.0813	-0.9	-0.7	8.5	C17 H18 O5	37C1
339.0577	3.73	339.0580	-0.3	-0.9	4.5	C14 H19 O5	35C1 37C1
339.0460	2.49	339.0449	1.1	3.1	9.5	C16 H14 O6	37C1
339.0264	1.24	339.0272	-0.8	-2.2	3.5	C15 H12 O7	35C1
338.0943	6.64	338.0946	-0.3	-1.0	4.0	C14 H21 O7	37C1
338.0748	2.90	338.0735	1.3	3.8	9.0	C17 H17 O5	37C1
337.1299	4.15	337.1287	1.2	3.5	7.5	C13 H21 O7	M-O2
337.0871	2.49	337.0868	0.3	0.9	4.5	C14 H20 O7	37C1
337.0833	2.90	337.0843	-1.0	-2.9	8.5	C17 H18 O5	35C1 37C1
337.0794	2.49	337.0787	0.7	2.0	4.5	C15 H21 O4	35C1 37C1
336.9551	1.24	336.9540	1.1	3.2	16.5	C17 H2 O6	35C1
336.1216	2.90	336.1209	0.7	2.1	3.0	C13 H20 O7	
336.0984	1.66	336.0976	0.8	2.4	4.0	C14 H21 O7	35C1

Minimum:	1.00				1.3			
Maximum:	100.00		200.0	5.0	50.0			
Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula		
335.1126	2.07	335.1131	-0.5	-1.4	8.5	C17 H19 O7		
335.0695	1.24	335.0698	-0.3	-0.8	4.5	C14 H20 O7	35C1	
335.0702	1.66	335.0712	-1.0	-2.9	5.5	C14 H18 O7	37C1	
		335.0686	1.6	4.7	9.5	C17 H16 O5	35C1	
335.0509	1.24	335.0500	0.9	2.6	10.5	C17 H14 O5	37C1	
334.1066	3.32	334.1053	1.3	4.0	9.0	C17 H18 O7		
334.0969	2.07	334.0997	-0.8	-2.4	5.0	C15 H21 O6	37C1	
334.0836	1.66	334.0819	1.7	5.0	5.0	C14 H19 O7	35C1	
334.0412	1.24	334.0422	-1.0	-3.0	11.0	C17 H13 O5	37C1	
		334.0400	1.2	3.6	2.0	C11 H18 O7	35C1	37C1
333.0730	1.66	333.0741	-1.1	-3.3	5.5	C14 H18 O7	35C1	
332.1037	3.73	332.1027	1.0	3.1	5.0	C15 H18 O6	35C1	
332.0684	1.66	332.0696	-1.2	-3.6	10.0	C17 H16 O7		
332.0646	1.24	332.0641	0.5	1.6	5.0	C15 H19 O6	37C1	
332.0616	1.66	332.0607	0.9	2.6	2.0	C12 H20 O6	35C1	37C1
331.9546	1.24	331.9538	0.8	2.5	14.0	C15 H3 O7	37C1	
331.0954	2.49	331.0948	0.6	1.7	5.5	C15 H20 O6	35C1	
331.0763	1.24	331.0762	0.1	0.2	6.5	C15 H18 O6	37C1	
331.0572	1.24	331.0585	-1.3	-3.8	6.5	C14 H16 O7	35C1	
331.0381	1.66	331.0373	0.8	2.3	11.5	C17 H12 O5	35C1	
330.9981	1.24	330.9990	-0.9	-2.8	9.5	C13 H7 O6	35C1	37C1
330.9390	1.24	330.9379	1.1	3.4	14.5	C16 H3 O4	35C1	37C1
330.9238	1.24	330.9226	1.2	3.5	10.5	C12 H3 O7	35C1	37C1
330.1053	1.24	330.1048	0.5	1.5	6.0	C16 H21 O5	37C1	
330.0882	2.49	330.0870	-0.8	-2.5	6.0	C15 H19 O6	35C1	
330.0748	1.24	330.0740	0.8	2.6	11.0	C17 H14 O7		
330.0672	1.24	330.0684	-1.2	-3.7	7.0	C15 H17 O6	37C1	
330.0596	2.07	330.0603	-0.7	-2.3	7.0	C16 H18 O3	35C1	37C1
330.0520	1.24	330.0506	1.4	4.1	7.0	C14 H15 O7	35C1	
330.0330	2.07	330.0320	1.0	2.9	8.0	C14 H13 O7	37C1	
330.0292	1.66	330.0295	-0.3	-0.9	12.0	C17 H11 O5	35C1	
330.0254	1.24	330.0240	1.4	4.3	8.0	C15 H14 O4	35C1	37C1
329.0801	2.90	329.0782	0.9	2.8	6.5	C15 H16 O6	35C1	
329.0726	1.24	329.0737	-1.1	-3.2	2.5	C13 H21 O5	35C1	37C1
329.0536	1.66	329.0525	1.1	3.3	7.5	C16 H17 O3	35C1	37C1
329.0423	3.73	329.0428	-0.5	-1.5	7.5	C14 H14 O7	35C1	
329.0385	3.32	329.0373	1.2	3.7	3.5	C12 H17 O6	35C1	37C1
329.0233	1.66	329.0242	-0.9	-2.8	8.5	C14 H12 O7	37C1	
		329.0217	1.6	4.9	12.5	C17 H10 O5	35C1	
328.1075	3.32	328.1078	-0.3	-0.8	6.0	C16 H21 O5	35C1	
328.0810	2.07	328.0811	-0.1	+0.3	7.0	C17 H20 O2	35C1	37C1
327.9790	1.24	327.9775	1.5	4.7	14.0	C16 H5 O6	35C1	
327.0999	1.24	327.0999	0.0	+0.1	6.5	C16 H20 O5	35C1	
327.0810	4.98	327.0813	-0.3	-1.0	7.5	C16 H18 O5	37C1	
327.0735	4.15	327.0733	0.2	0.7	7.5	C13 H19 O2	35C1	37C1
327.0622	1.66	327.0635	-1.3	-4.1	7.5	C15 H16 O6	35C1	
327.0584	1.66	327.0580	0.4	1.2	3.5	C13 H19 O5	35C1	37C1
327.0509	1.24	327.0505	0.4	1.3	12.5	C17 H11 O7		
327.0284	1.66	327.0272	1.2	3.8	8.5	C14 H12 O7	35C1	

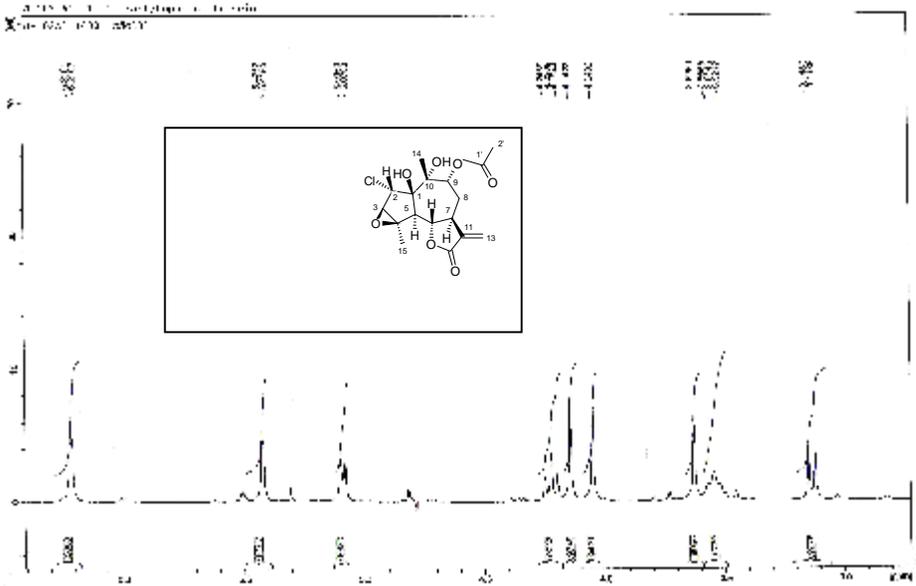
Minimum:	1.00				1.5		
Maximum:	100.00		200.0	5.0	50.0		
Base	BA	Calc. Mass	mDa	FFM	OBE	Formula	
326.9341	1.66	326.9333	0.8	2.6	15.5	C15 O7 35C1	
326.1105	1.73	326.1099	0.6	1.9	7.0	C17 H21 O4	37C1
326.0555	2.07	326.0946	0.9	2.7	3.0	C13 H21 O7	37C1
326.0917	1.66	326.0921	-0.4	-1.2	7.0	C16 H19 O5	38C1
325.1278	2.49	325.1287	-0.9	-2.9	6.5	C16 H21 O7	
325.1016	1.24	325.1021	-0.5	-1.4	7.5	C17 H20 O4	37C1
325.0866	2.49	325.0868	-0.2	-0.6	3.5	C13 H20 O7	37C1
325.0829	1.66	325.0843	-1.4	-4.2	7.5	C16 H18 O5	35C1
325.0791	1.24	325.0787	0.4	1.1	3.5	C14 H21 O4	35C1 37C1
325.0566	3.32	325.0576	-1.0	-3.1	8.5	C17 H17 O2	35C1 37C1
325.0481	2.07	325.0479	1.2	3.7	8.5	C15 H14 O6	35C1
324.1219	2.07	324.1209	1.0	3.1	7.0	C16 H20 O7	
324.0958	2.49	324.0942	1.6	4.8	8.0	C17 H19 O4	37C1
324.0771	2.49	324.0765	0.6	2.0	9.0	C16 H17 O5	35C1
324.0398	1.66	324.0401	-0.3	-0.8	9.0	C15 H13 O6	35C1
324.0361	1.66	324.0345	1.6	4.8	5.0	C13 H16 O5	35C1 37C1
323.9615	1.24	323.9618	-0.3	-0.8	7.0	C11 H8 O7	35C1 37C1
323.9055	1.24	323.9042	1.3	3.9	13.0	C13 O6 35C1	37C1
323.1118	2.49	323.1131	-1.3	-4.0	7.5	C16 H19 O7	
323.1043	1.66	323.1050	-0.7	-2.2	7.5	C17 H20 O4	35C1
323.0894	1.24	323.0898	-0.4	-1.1	3.5	C13 H20 O7	35C1
323.0708	2.05	323.0712	-0.4	-1.1	4.5	C13 H18 O7	37C1
323.0671	1.24	323.0686	-1.5	-4.7	8.5	C16 H16 O5	35C1
323.0496	2.90	323.0500	-1.4	-4.4	9.5	C16 H14 O5	37C1
323.0411	1.24	323.0420	-0.9	-2.7	9.5	C17 H15 O2	35C1 37C1
323.0150	1.24	323.0136	1.4	8.2	10.5	C15 H10 O6	37C1
322.1010	1.24	322.0997	1.3	4.0	4.0	C14 H21 O6	37C1
322.0974	1.66	322.0972	0.2	0.7	8.0	C17 H19 O4	35C1
322.0826	2.49	322.0819	0.7	2.1	4.0	C13 H19 O7	35C1
322.0789	1.66	322.0786	0.3	0.7	9.0	C17 H17 O4	37C1
322.0640	1.66	322.0633	0.7	2.1	5.0	C13 H17 O7	37C1
322.0602	1.24	322.0608	-0.6	-1.8	9.0	C16 H15 O5	35C1
322.0417	1.24	322.0422	-0.5	-1.6	10.0	C16 H13 O5	37C1
321.1342	2.07	321.1336	0.4	1.2	7.5	C17 H21 O6	
321.0972	3.73	321.0974	-0.2	-0.7	8.5	C16 H17 O7	
321.0898	5.81	321.0894	0.4	1.8	8.5	C17 H18 O4	35C1
321.0824	5.81	321.0839	-1.4	-4.4	4.5	C15 H21 O3	35C1 37C1
321.0750	2.07	321.0741	0.9	2.8	4.5	C13 H18 O7	35C1
321.0713	1.24	321.0708	0.5	1.7	9.5	C17 H16 O4	37C1
321.0565	2.49	321.0555	1.0	3.1	5.5	C13 H16 O7	37C1
321.0528	2.49	321.0530	-0.2	-0.5	9.5	C16 H14 O5	35C1
320.9604	1.66	320.9616	-1.2	-3.8	12.5	C14 H4 O7	37C1
		320.9591	1.3	4.1	16.5	C17 H2 O5	35C1
320.9530	1.24	320.9535	-0.5	-1.7	12.5	C15 H5 O4	35C1 37C1
320.1260	1.66	320.1260	0.0	0.0	8.0	C17 H20 O6	
320.1038	8.30	320.1027	1.1	3.5	4.0	C14 H21 O6	35C1
320.0891	6.64	320.0896	-0.5	-1.6	9.0	C16 H16 O7	
320.0854	5.39	320.0841	1.3	4.2	5.0	C14 H19 O4	37C1
320.0817	4.98	320.0815	0.2	0.5	9.0	C17 H17 O4	35C1

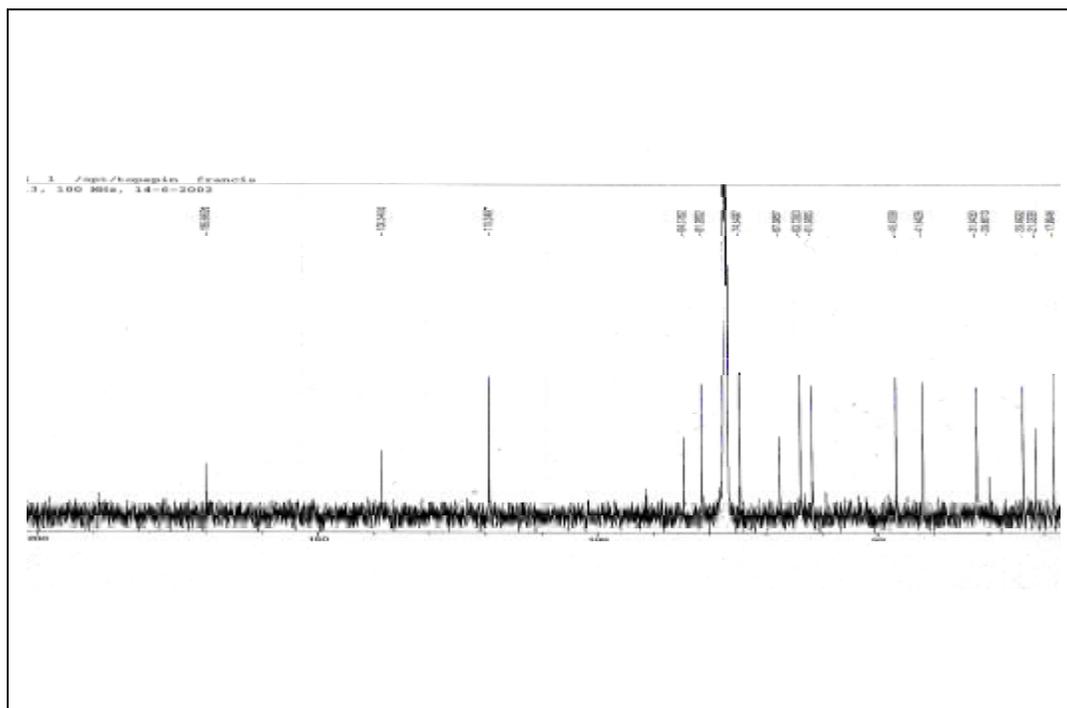


¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) of compound 1



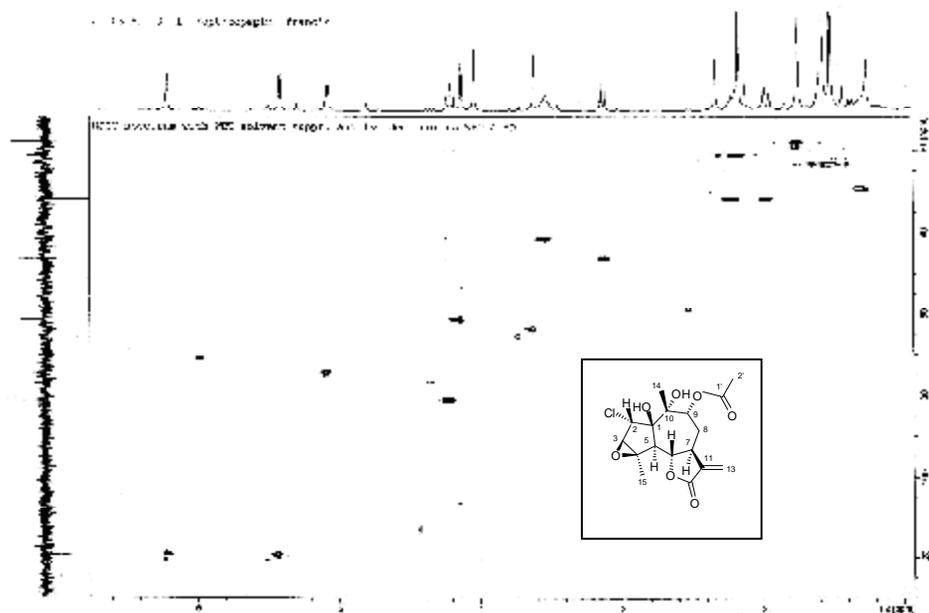
Etalment : RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) du composé **9**





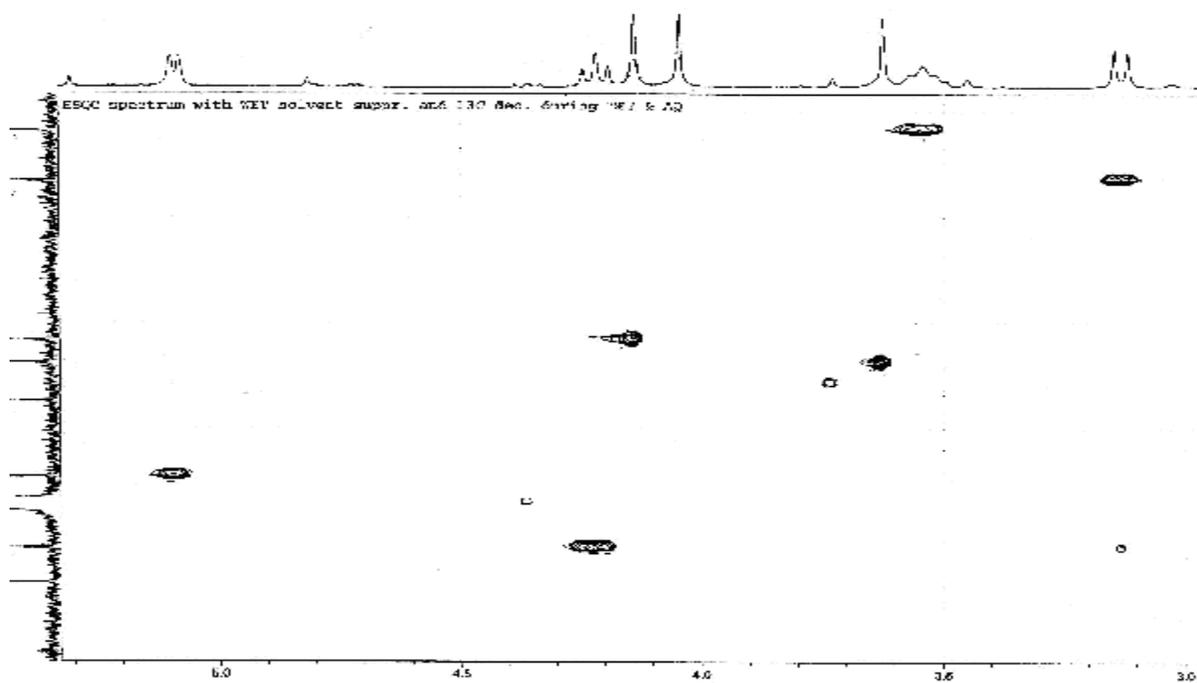
¹³C NMR
(CDCl₃,
100 MHz)
of
compound
1

HSQC
experimen
t spectrum
(CDCl₃, 400
MHz) of
compound
1

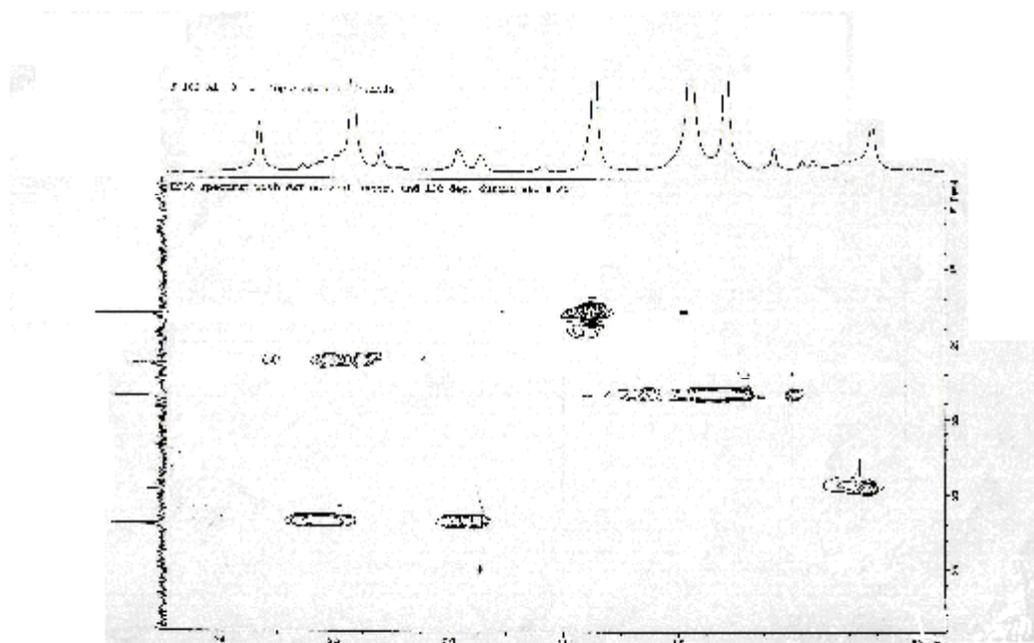


HSQC experiment spectrum (CDCl₃, 400 MHz) of compound 1: Expansion

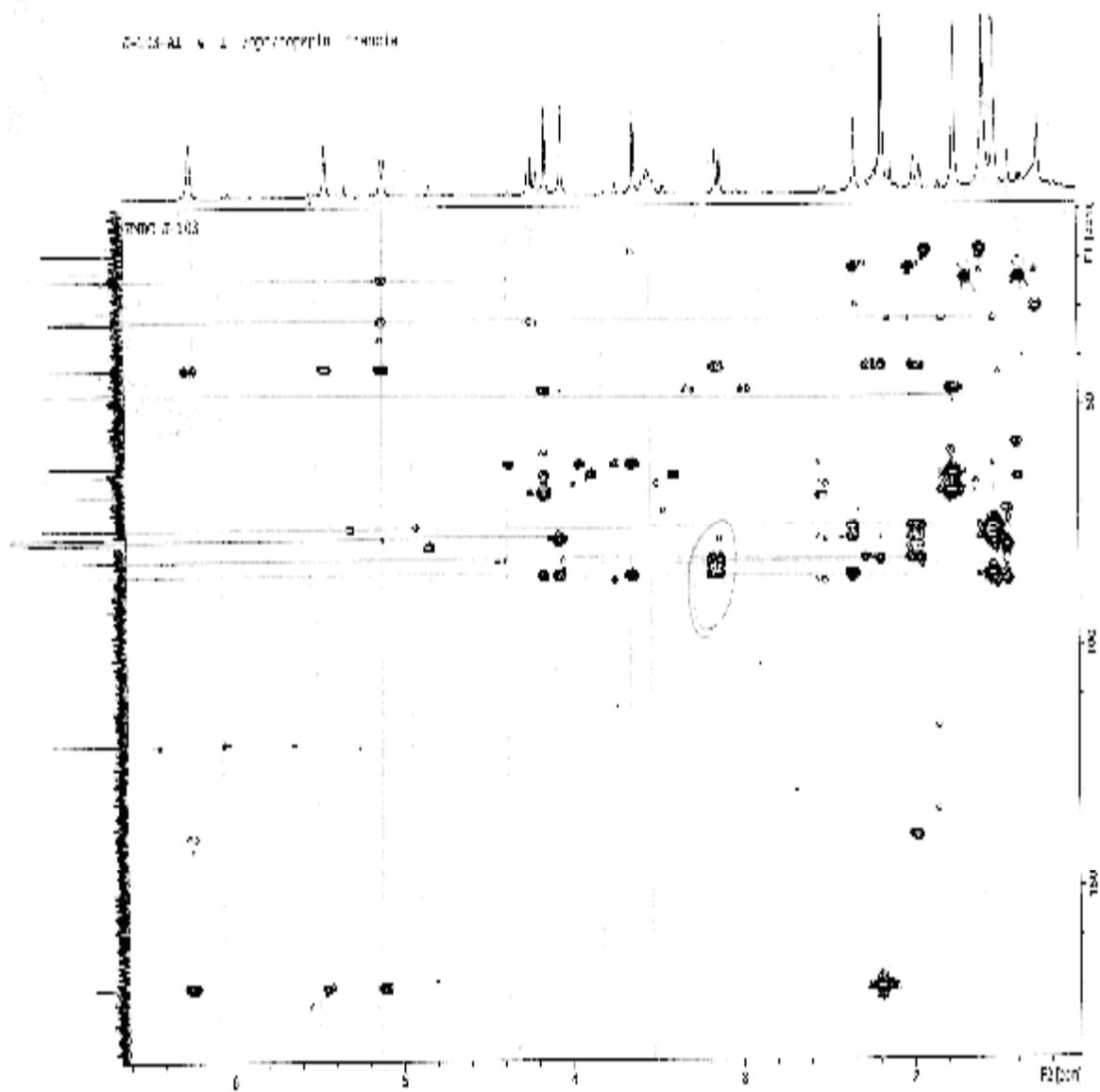
0103 Al 3 1 /opu/topspin francis



HSQC experiment spectrum (CDCl₃, 400 MHz) of compound 1: Expansion

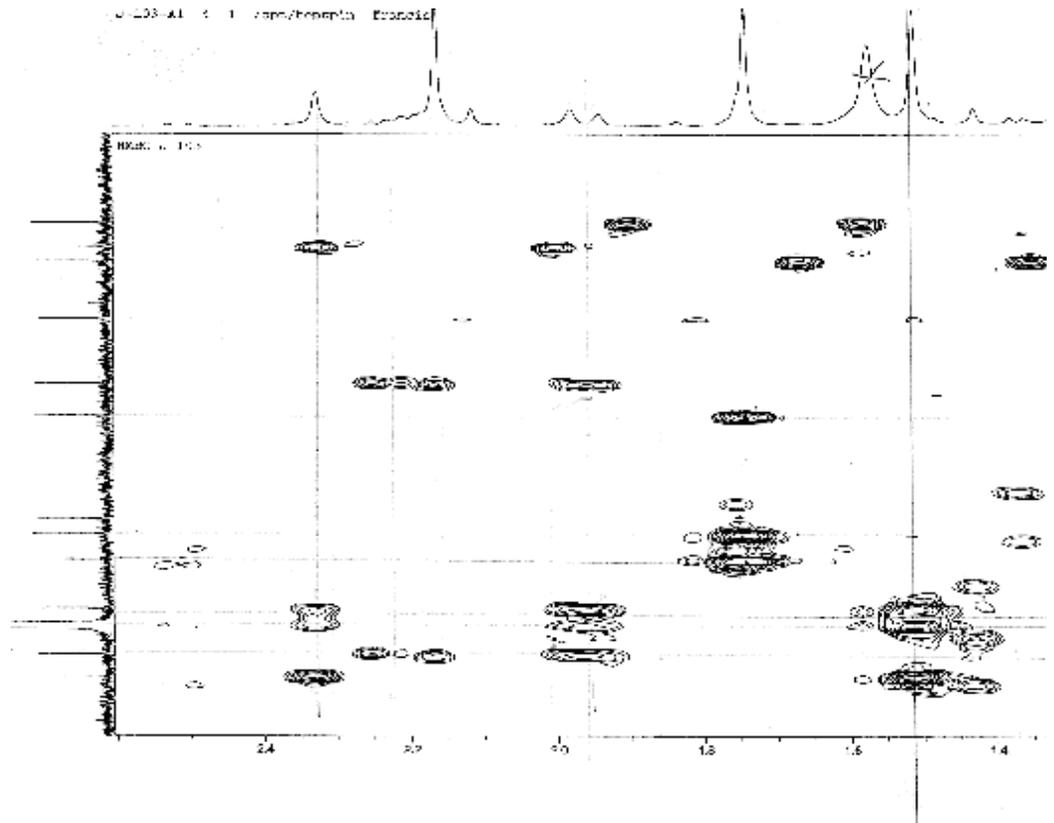


COSY ^1H - ^1H spectrum (CDCl_3 , 400 MHz) of compound 1



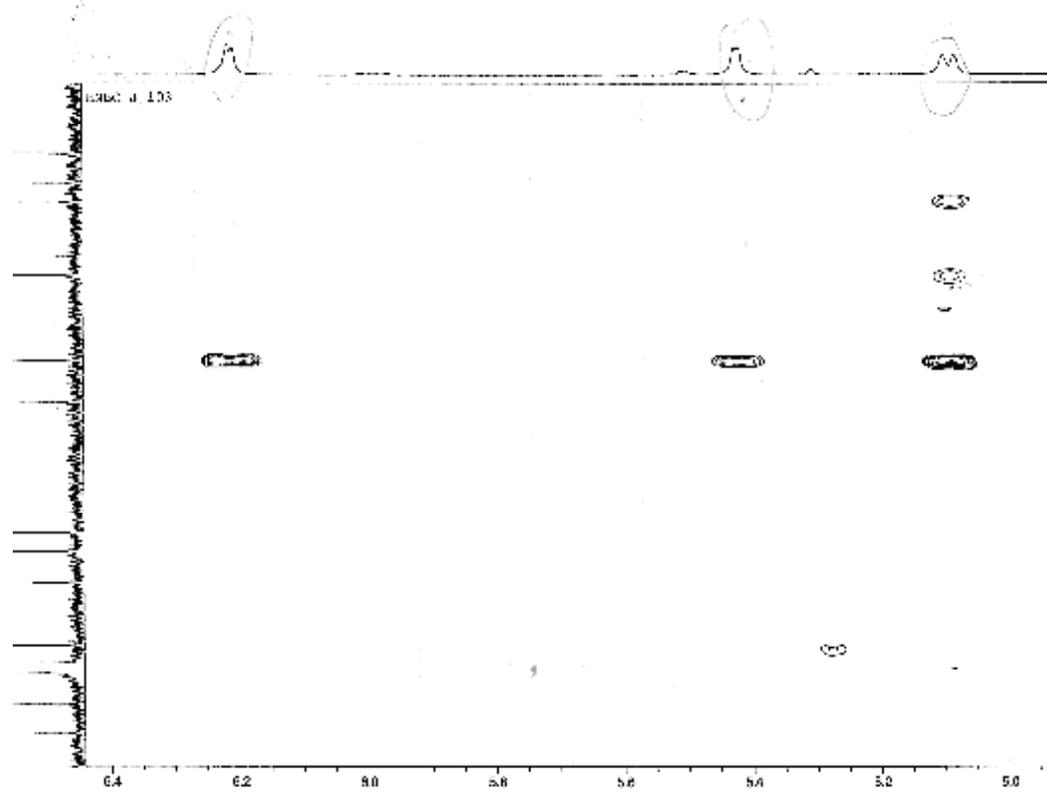
HMBC experiment spectrum (CDCl_3 , 400 MHz) of compound 1: Expansion

01-03-AL 1 1 (nm/brnpln) Etanoid



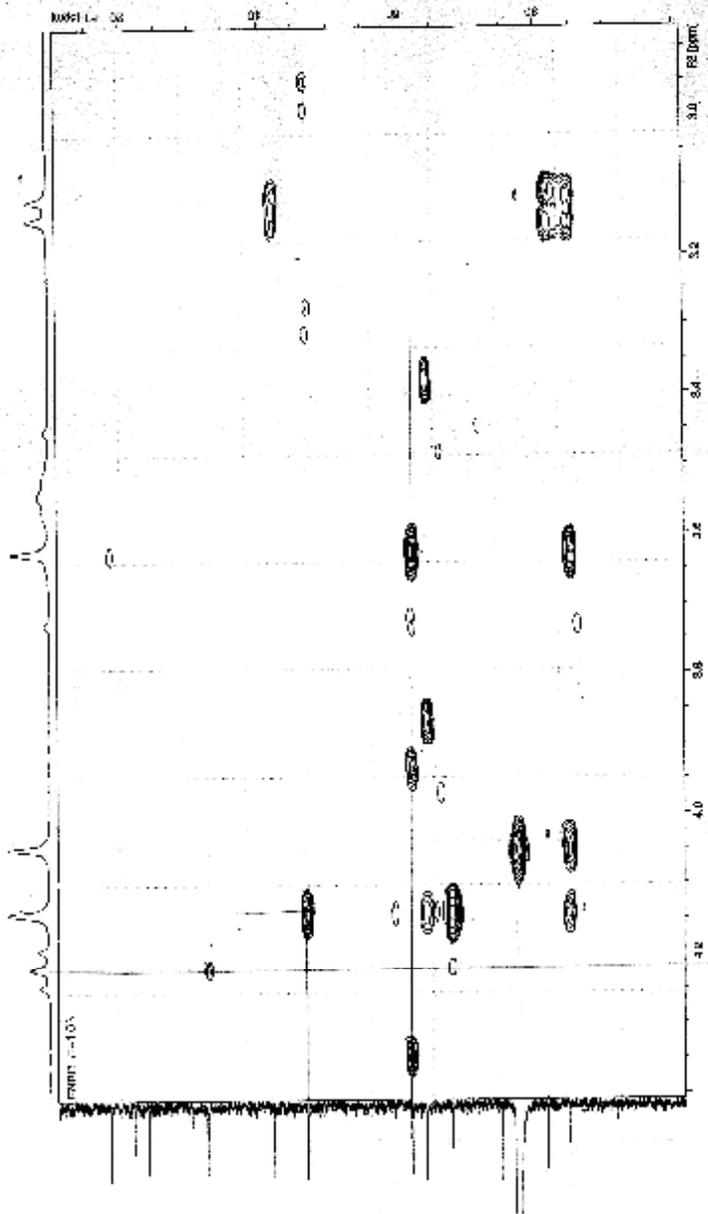
HMBC experiment spectrum (CDCl₃, 400 MHz) of compound 1: Expansion

J 103 A1 4 1 7/10/2019 11:00:00



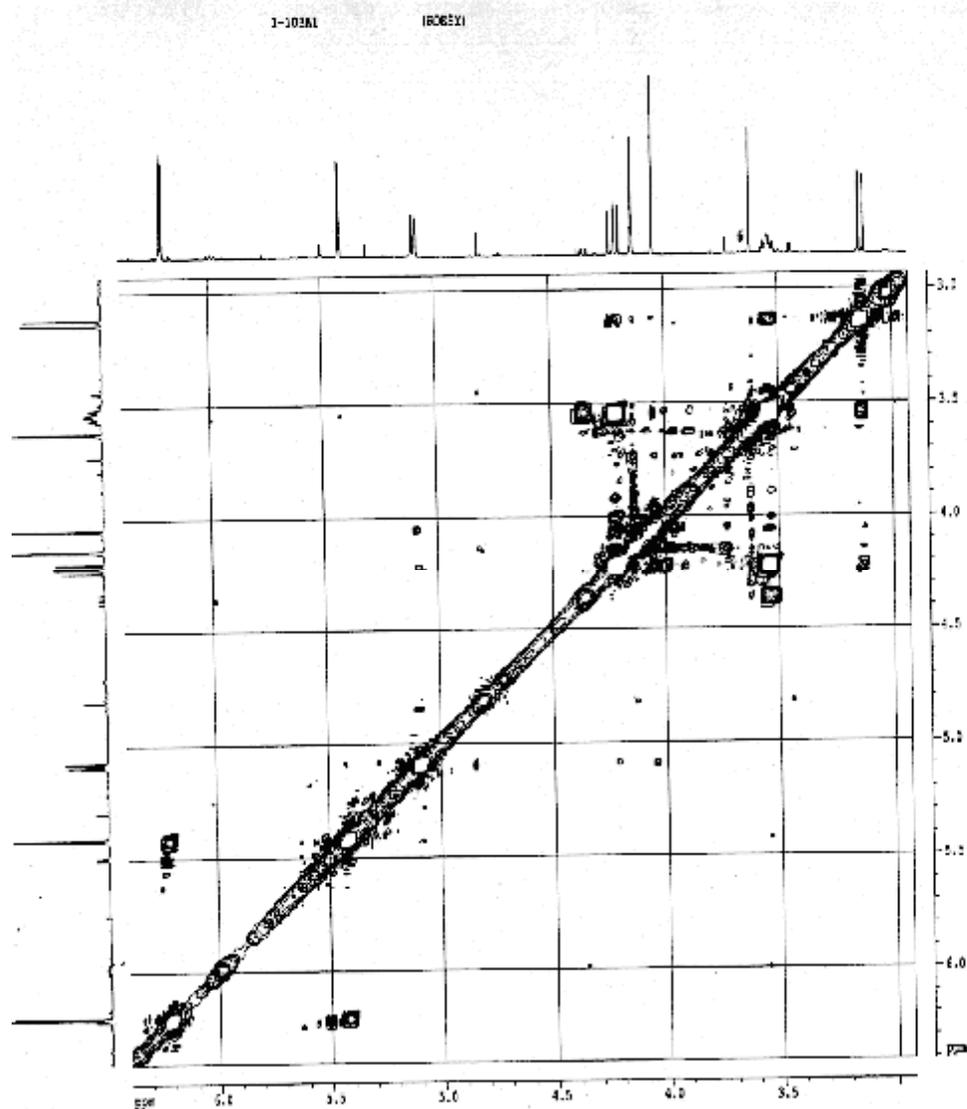
HMBC experiment spectrum (CDCl₃, 400 MHz) of compound 1: Expansion

7-15-68 4 1 Analytical - 100023



ROESY experiment spectrum (CDCl₃, 500 MHz) of compound 1

ROESY experiment spectrum (CDCl3, 500 MHz) of compound 1: Expansion



Current Date: 7/2
 NAME: 1-102A1
 METHOD: 2D
 PROCNO: 1

F2 - Acquisition
 INSCN: 216412
 TIME: 11.2
 INSTRUM: spect
 PULPROG: zgpg30
 TD: 65536
 F2: 500.13233
 SFO: 500.13233
 AQ: 1.0000000
 RG: 1024
 DI: 0.0001562
 DE: 0.0001562
 TE: 300.2

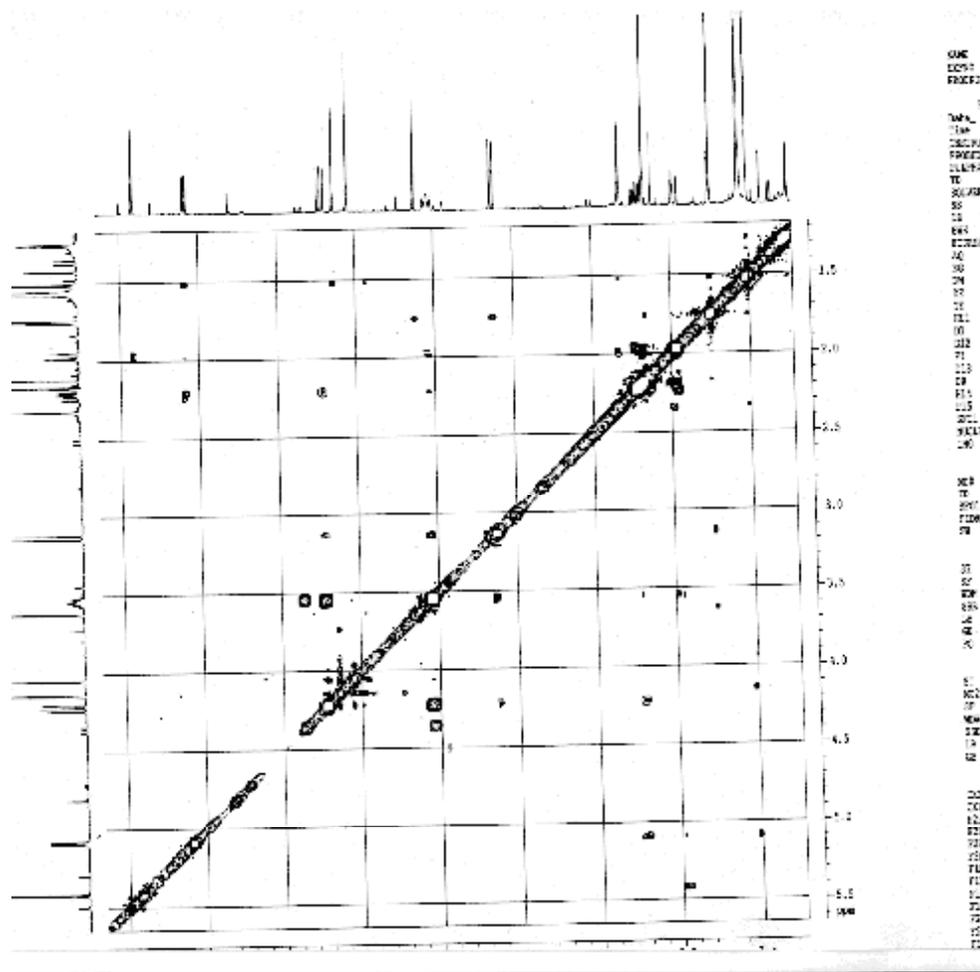
F1 - Acquisition
 MD: 1
 TD: 65536
 SFO: 500.13233
 AQ: 1.0000000
 RG: 1024
 DI: 0.0001562
 DE: 0.0001562
 TE: 300.2

F2 - Processing
 SI: 32768
 SF: 500.13233
 HF: 500.13233
 WDW: EM
 SSB: 0
 GB: 0
 PC: 1

F1 - Processing
 SI: 32768
 SF: 500.13233
 HF: 500.13233
 WDW: EM
 SSB: 0
 GB: 0

2D NMR plot:
 CB2: 72
 CB3: 28
 F2F2D: 6
 F2F2D: 1159
 ESPT: 2
 ESPT: 1464
 FUSO: 6
 FUSO: 3093
 FUSO: 2
 TUNE: 1464
 F2F2D: 0.13
 F2F2D: 35.71
 F2F2D: 3.17
 F2F2D: 44.54

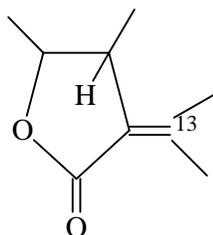
ROESY experiment spectrum (CDCl3, 500 MHz) of compound 1: expansion



Le composé Algérianolide a été obtenu comme un cristal incolore . Son spectre de masse sous impact électronique et à haute résolution montre des pics à $m/z = 372,0988$ (calculée =372,0976) et $m/z = 374,0932$ (calculée =374,0946), correspondant à la formule moléculaire $C_{17}H_{21}O_7Cl$. Ce spectre montre également des signaux à $m/z = 337,1299$ [M-Cl]+ (calculée =337,1287) , 319,1173 [M-Cl-H₂O]+ (calculée = 319,1182), 301,1062 [M-Cl-2H₂O]+ (calculée =301,1076), 296,0616 (calculée =296,0629)et 294,0669 (calculée =294,0659) [M-CH₃CO₂H-H₂O]+,ce qui suggère que ce composé contient deux groupements hydroxyles, un groupement acétate et confirme la présence de l'atome de Cl dans ce composé .

L'examen du spectre RMN ¹H montre deux doublets à $\delta=6,21$ ppm ($J=3,5$ Hz) et $\delta=5,41$ ppm ($J=3,2$ Hz) caractéristique d'une double liaison exocyclique conjuguée avec une fonction carbonyle relative à une lactone sesquiterpénique.

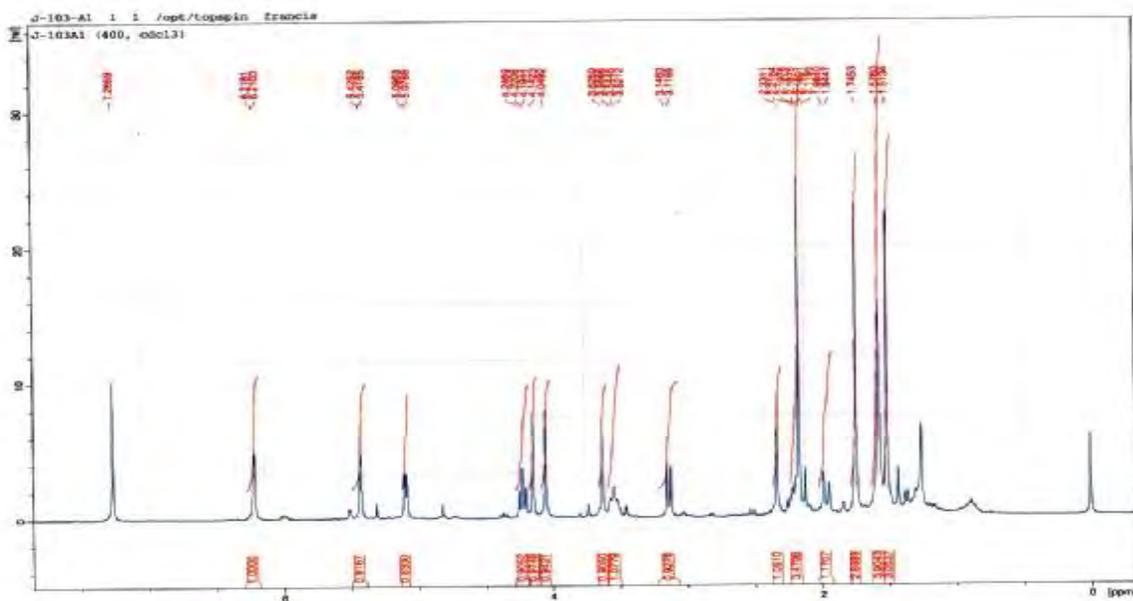
Ces signaux sont attribuables à H-13_a et H-13_b respectivement. Le couplage ayant lieu avec H-7 à longue distance étant un couplage allylique avec H-7:



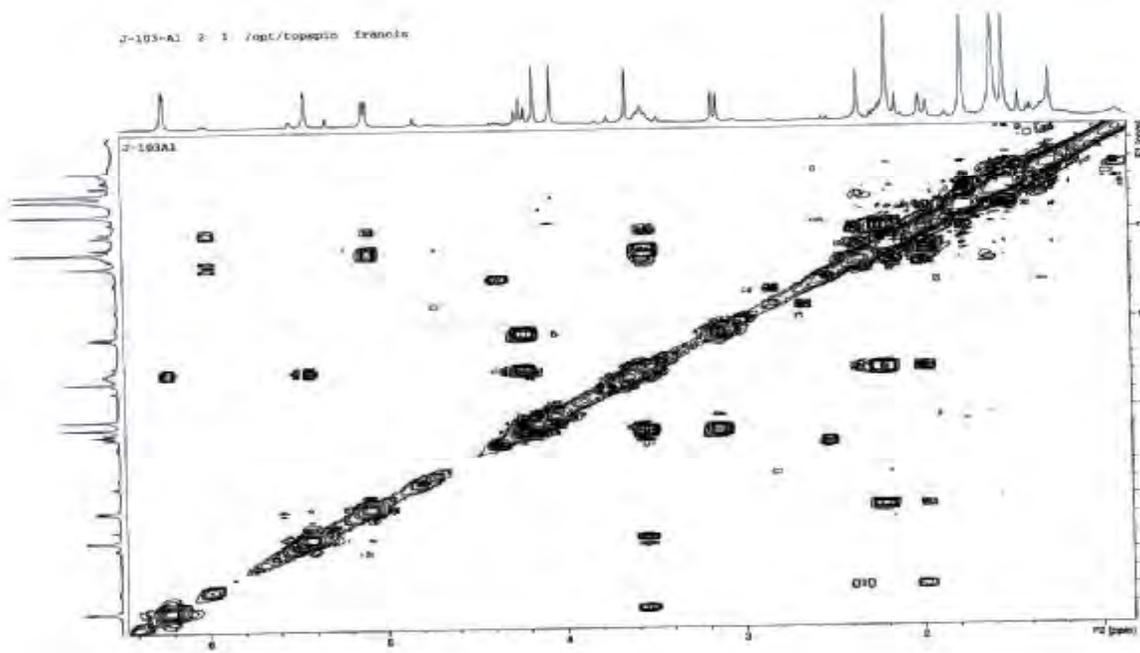
La localisation de H-13_a et H-13_b permet grâce au spectre COSY ¹H-¹H (spectre n°IV-1-9-1) l'attribution de H-7 à $\delta=3,54$ ppm sous forme de multiplet.

Toujours sur le même spectre H-7 montre trois autres corrélations:

- La première avec un proton dont le signal apparait sous forme de doublet de doublet à $\delta=4,21\text{ppm}$ ($J=11,0 ; 9,9\text{Hz}$), d'après sa multiplicité et son déplacement chimique. Ce noyau ne peut être que H-6



Spectre n° IV-1-9-1 : Spectre RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3 , δ ppm) du composé **9**



Spectre n°IV-1-9-2 : Spectre COSY¹H-¹H (500 MHz, CDCl₃, δ ppm) du composé **9**

Sur le spectre HSQC (spectre n°IV-1-9-2), H-6 corrèle avec le carbone à δ=81,3 ppm (C-6), le déplacement chimique de ce carbone est caractéristique du carbone de fermeture d'une lactone sesquiterpénique. Cette donnée oriente vers un 6-12 olide.

-Les deux autres taches de corrélations concernent deux protons portés par le même atome de carbone (δ_c=31,9 ppm), les signaux de ces deux protons qui peuvent être que H-8_β et H-8_α apparaissent sous forme d'un multiplet à δ=2.21 ppm et sous forme d'un doublet large à δ=1,96 ppm (*J*=15,6 Hz) respectivement

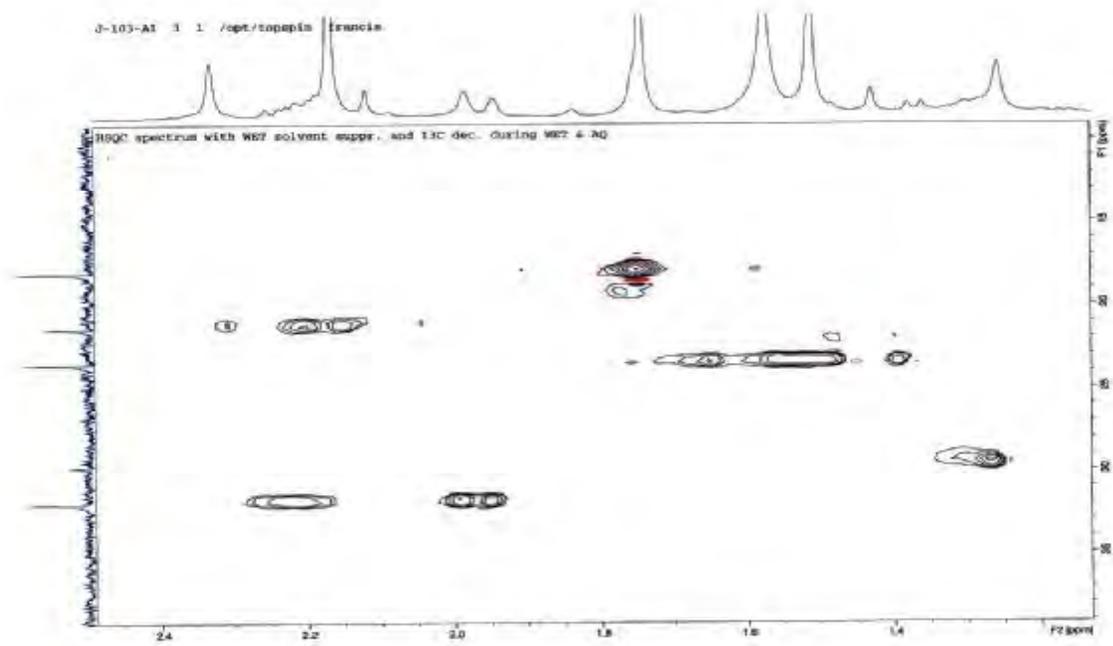
La présence de ces protons en C-8 confirme bien la fermeture de la lactone en C-6.

L'attribution des protons en C-8 mène à celui de H-9 grâce à leurs taches de corrélations COSY ¹H-¹H.

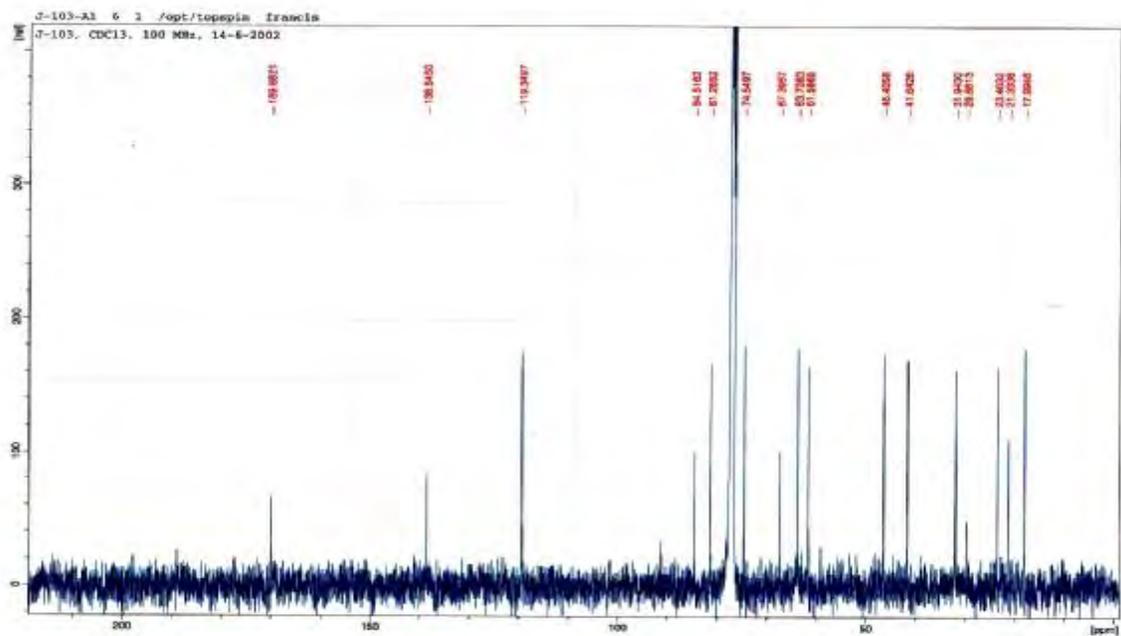
Le signal relatif à ce noyau apparaît sous forme d'un doublet de doublet à δ=5,09 ppm (*J*=7,3 ; 1,7 Hz). La valeur du déplacement chimique de ce noyau suppose une oxygénation en C-9.

Ce substituent oxygéné ne peut-être que le groupement Acétate.

L'examen du spectre HSQC (spectre n° IV-1-9-3) permet de localiser C-9 à δ=74,55 ppm



Spectre n° IV-1-9-3: Spectre HSQC (500 MHz, CDCl_3 , ppm) du composé **9**



Spectre n° IV-1-9-3: Spectre RMN ^{13}C (500 MHz, CDCl_3 , δ ppm) du composé **9**

Sur le spectre COSY ^1H - ^1H , H-9 ne montre aucune corrélation, cela suppose que C-10 est quaternaire.

Un réexamen du spectre COSY ^1H - ^1H et l'attribution de H-6 mène à la localisation de H-5 sous forme d'un doublet à $\delta=3,13$ ppm ($J=11,1\text{Hz}$), $\delta_{\text{C-5}}=46,1$ ppm, la multiplicité de H-5 oriente vers un C-4 quaternaire.

Un retour vers le spectre RMN ^1H montre en plus du méthyle du groupement acétate $\delta_{\text{H}}=2,16$ ppm ($\delta_{\text{C}}=21,3$), la présence des deux autres méthyles qui ne peuvent être que sur les atomes de carbone C-14 et C-5 du squelette sesquiterpénique.

Vu que cette molécule ne comporte que 17 atomes de carbones, ceci est vérifié par l'examen du spectre HMBC (Spectre n° IV-1-9-4) qui montre en particulier une corrélation entre C-9 et les protons du méthyles à $\delta=1,51$ ppm permettant ainsi leurs attribution à la position C-14 ($\delta_{\text{C}}=23,5$ ppm)

Par ailleurs le carbone C-5 montre une tache de corrélation avec les protons du méthyle à $\delta=1,74$ ppm permettant ainsi leurs attribution à la position C-5 ($\delta_{\text{C}}=18,0$ ppm).

Les protons du C-15 montrent deux taches de corrélations:

-La première avec un C-H à $\delta_{\text{C}}=63,7$ ppm ($\delta_{\text{H}}=3,62\text{ppm}$) attribuable à C-3.

-La deuxième avec un carbone quaternaire à $\delta_{\text{C}}=67,4$ ppm attribuable à C-4.

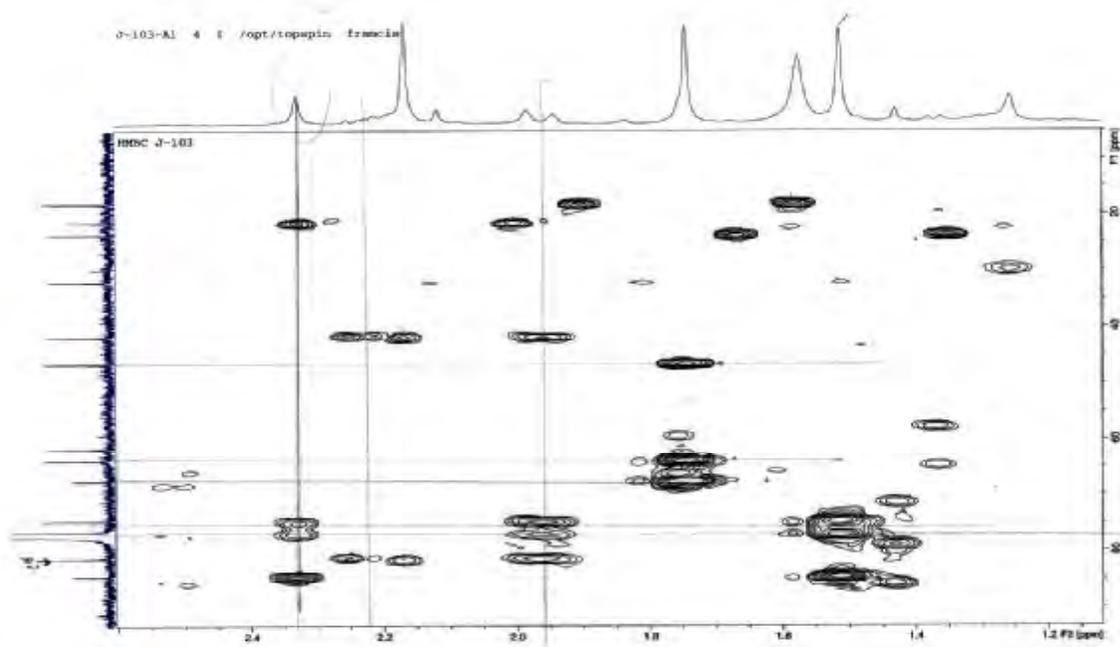
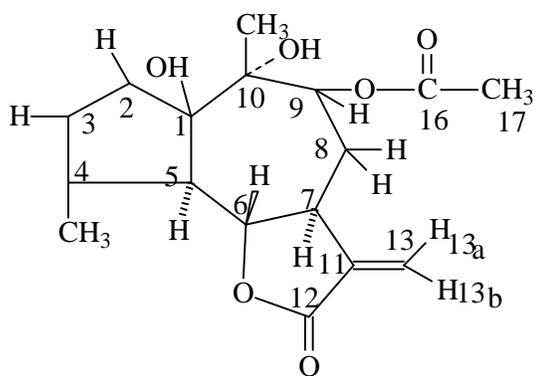
Le même spectre montre également des taches de corrélations entre les protons H-14, H-8 équatoriale et un carbone quaternaire recouvert par les signaux du CDCl_3 à $\delta=77,2$ ppm attribuable à C-10.

D'après son déplacement chimique, ce carbone est notamment hydroxylé, ceci est vérifié par les corrélations observées entre le proton de l'hydroxyle à $\delta=2,32$ ppm et cet atome de carbone ainsi que le carbone C-9.

Ce spectre montre également une tache de corrélation entre H-3 et le carbone quaternaire à $\delta=84,5$ ppm attribuable à C-1, vu son déplacement chimique, il est oxygéné notamment hydroxylé, en effet ce carbone montre une tache de corrélation avec le proton du groupement hydroxyle à $\delta=4,14$ ppm supposant sa substitution par ce groupement.

Toujours sur le spectre HMBC, le C-5, C-4 et C-1 corrélient avec le même proton dont le signal apparaît sous forme d'un singulet large à $\delta=4,14$ ppm ce proton ne peut être attribué qu'à H-2.

Par ailleurs le fait que C-5 et C-1 corrélient avec un même noyau suppose une jonction C-5—C-1 orientant ainsi vers un squelette sesquiterpénique du type guaianolide.



Spectre n° IV-1-9-4: spectre HMBC (500 MHz, CDCl₃, δ ppm) du composé **9**

Tableau IV-1-9-a : Résultats de la RMN ¹H du composé **9**

δ (ppm)	Intégration	Multiplicité (J Hz)	Attribution
6,21	1H	d (3,5)	H _{13a}
5,41	1 H	d (3,2)	H _{13b}
5,09	1 H	d d (7,3 ; 1,7)	H-9
4,21	1 H	d d (11,0 ; 9,9)	H-6
4,14	2 H	m	H-2
3,54	1 H	m	H-7
3,13	1 H	d (11,1)	H-5
2,21	1 H	m	H-8 β
1,96	1 H	d (15,6)	H-8 α
2.16	3 H	s	-OCOCH ₃
1,74	3 H	s	CH ₃ -14
1,51	3 H	s	CH ₃ -15

Tableau IV-1-9- : Résultats du RMN ¹³C du composé **9**

Carbone	δ (ppm)	HSQC
1	84,5	C
2	61,6	CH ₂
3	63,7	CH ₂
4	67,4	C
5	46,4	CH
6	81,3	CH
7	67,4	CH
8	31,9	CH ₂
9	74,5	CH
10	77,2	C
11	138,5	C
12	169,9	C
13	119,3	CH ₂
14	23,5	CH ₃
15	18,0	CH ₃
16	18,5	C
17	21,3	CH ₃

La structure moléculaire et la configuration relative du composé ont été aussi établis par une analyse de diffraction de rayons X (schéma 2). Les données de diffraction ont été collectées à température ambiante à l'aide d'un diffractomètre Kappa CCD de type Brucker-Nonius en utilisant un rayonnement issu d'une anti-cathode en molybdène Mo ($\lambda = 0,71073$) monochromatisé avec un monochromateur en graphite. Les intensités des taches réparties par plans de réseau réciproque ont été mesurées avec le programme COLLECT (Brucker AXS BV ,1997-2004), puis indexées et traitées avec le programme Denzo SMN et enfin mises à la même échelle avec le programme HKL 2000

(Otwinowski et Minor,1997).L'essentiel des données cristallines, des conditions d'enregistrement et des paramètres d'affinement est rassemblé dans le tableau-1.La structure cristalline a été résolue par les méthodes directes avec le programme SIR 2004 (Burla,2005) puis affinée avec le programme SHELX-97 (Sheldrick,1997) en combinant et moyennant l'intensité des paires de Friedel. Mise à part les atomes H, les autres atomes ont été affinés avec les facteurs d'agitation thermique anisotropes par moindres carrés avec matrices complètes sur F2. Tous les atomes H ont été positionnés de façon géométrique et ceux du groupement méthyle ont été affinés en conservant la rigidité du groupe.

Les atomes H des groupes méthyles ont été affinés avec $U_{iso}(H) = 1,5 U_{eq}(C)$ alors que les autres atomes H ont été affinés avec $U_{iso}(H) = 1,2 U_{eq}(C)$.

Algerianolide (**1**) : cristal incolore, mp215°, $[\alpha]_D^{20} = +42,35$ (c 0,85 CHCl₃),RMN H (400 MHz,CDCl₃) : $\delta = 6,21$ (1H,d, J= 3,5 Hz, H-13a),5,41 (1H, d, J= 3,2 Hz ,H-13b), 5,09 (1H, dd, J= 7,3 ; 1,7 Hz, H-9), 4,21 (1H, dd, J = 11,0 ; 9,9 Hz, H-6), 4,14 (1H, s large, H-2), 3,62 (1H,s large, H-3), 3,54 (1H, m, H-7), 3,13 (1H, d, J = 11,0 Hz, H-5), 2,21 (1H, m, H-8 β), (1H,d large, J= 15,6 Hz, H-8 α), 1,74 (3H, s, CH₃-15), 1,51 (3H, s, CH₃-14), 2,16 (3H, s, CH₃-2'), 4,10 (1H, s, OH-1), 2,33 (1H, s, OH-10) ; RMN C13 (100 MHz, CDCl₃) : $\delta = 169,9$ (C-12 et C-1'), 138,5 (C-11), 119,4 (C-13), 84,5 (C-1), 81,3 (C-6), 77,5 (C-10 caché par le signal du solvant,attribué par le spectre de l'expérience HMBC), 74,6 (C-9), 67,4 (C-4),63,7 (C-3), 61,6 (C-2), 46,4 (C-5),41,6 (C-7), 31,9 (C-8), 23,5 (C-14), 18,0 (C-15), 21,3 (C-2') ; SMHREI m/z= 374,0932 (calculée pour C₁₇H₂₁O₇Cl₃₇, 374,0946), 372,0988 (calculée pour C₁₇H₂₁O₇Cl₃₅, 372,0976).

SMIE m/z = 337 [M-Cl]⁺ (0,5), 319[337-H₂O]⁺ (6,9), 296 [M-CH₃CO₂H-H₂O]⁺ (0,4),

294 [M-CH₃CO₂H-H₂O]⁺ (1,2), 277 [337-CH₃CO₂H]⁺ (4,6), 271 [M-CH₃CO₂H-CO-CH₃]⁺

(1,8), 269 [M-CH₃CO₂H-CO-CH₃]⁺ (5,5), 259 [277-H₂O]⁺ (7,7), 250 (7,5), 243 (1,9), 241

(3,7), 231 (5,5), 217 (6,3), 216 (4,9), 215 (4,4), 191 (3,4), 189 (4,0),183 (5,9), 165 (7,9),

161 (7,0), 151 (6,8), 137 (15,7), 111 (100).

Composé 9

Formule empirique C₁₇H₂₁ Cl O₇

Masse molaire M 372,79

Température (K) 293 (2)

Longueur d'onde λ (Å) 0,71073

Système cristallin Monoclinique

Groupe d'espace	P 21
Paramètres cristallins	
a (Å)	5,9050 (10)
b (Å)	15,5380 (10)
c (Å)	10,1160 (10)
β (°)	104,774 (11)
Volume V (Å ³)	897,5 (2)
Unités formulaires par maille Z	2
Densité calculée D _c (g. cm ⁻³)	1,380
Coefficient d'absorption μ (Mo-K α) (mm-1)	0,248
Taille du cristal (mm)	0,45 x 0,20 x 0,08
Intervalle angulaire pour θ	2,1-28,7
Intervalles des indices	$-7 \leq h \leq 7$; $-20 \leq K \leq 21$; $-13 \leq l \leq 13$
Nombre de réflexions	15100 / 4334
R _{int} (facteur de reliabilité)	0,055
Correction d'absorption	Aucune
Méthode d'affinement	Pour moindres carrés avec matrice complète sur F ²
Données / contraintes / paramètres	4334 / 0 / 229
R finaux (I > 20 (I))	R = 0,052 ; w R ² = 0,1428 ; S = 1,13
Schémas de pondération , w	$1 / [\sigma^2 (F_o^2) + (0,0804P)^2]$, $P = (F_o^2 + 2F_c^2) / 3$

Maximum déplacement / Erreur	0,00 /0,00
Paramètre de Flack	0,04 (7)
Plus grand pics et trou dans la fourier difference(e. A°-3)	0,35 /-0,42

Tableau 1 : données du cristal et structure de refinement du composé 9

IV-1-10:Elucidation structurale du composé J_{103B}:10

Le spectre SMIE du composé **10** donne un pic à $m/z=180$ Da, correspondant au pic moléculaire et à la formule brute C₁₀ H₁₂ O₃.

L'examen simultané des spectres de RMN ¹H (spectre n°IV-1-10-1), RMN ¹³C (spectre n°IV-1-10-2) et HSQC (spectre n°IV-1-10-3) montrent :

- un système AB caractéristique d'un noyau aromatique para substitué à $\delta=7,93$ ppm , $\delta_c=130,2$ ppm et $\delta =6,94$ ppm $\delta_c=113,9$ ppm ($J=9,9$ Hz),

- un singulet d'intégration 2H à $\delta =4,65$ ppm $\delta_c=75,2$ ppm correspondant à un CH₂ Hybridé sp³ oxygéné

-et deux singulets d'intégration 3H chacun à $\delta=3,88$ ppm, $\delta_c=55,5$ ppm et $\delta =3,50$ ppm , $\delta_c=59,4$ ppm attribuable à 2-OCH₃

Un décompte de l'ensemble de ces noyaux suggère la présence d'un groupe carbonyle dans cette molécule

Spectre n°IV-1-10-2: Spectre RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3 , ppm) du composé **10**

L'examen du spectre HMBC (spectre n°IV-1-10-4) montre en effet, une corrélation entre les protons du CH_2 et le carbone d'un carbonyle à $\delta=195$ ppm qui montre à son tour une corrélation avec les protons du doublet du noyau aromatique à $\delta=7,93$ ppm.

Ces observations ajoutées à la valeur du déplacement chimique de ce carbonyle suggère la présence d'un CO de cétone entre le noyau aromatique et le groupement CH_2 oxygéné qui ne peut par conséquent être que méthoxylé vu la présence de 2 méthoxyles dans cette molécule. Ceci est d'ailleurs vérifié par la présence d'une corrélation sur le spectre HMBC entre les protons du méthoxyle à $\delta=3,50$ ppm et le carbone du groupement CH_2 .

Toujours sur le même spectre les protons du OCH_3 à $\delta=3,88$ ppm montrent une corrélation avec un carbone quaternaire à $\delta=165$ ppm lequel corréle avec les protons du noyau aromatique à $\delta=7,93$ ppm suggérant ainsi la substitution de ce noyau par le groupement OCH_3 , l'ensemble de ces données mène à la 4', α - diméthoxyacétophénone, dont la structure est reportée dans le schéma IV-1-10-1

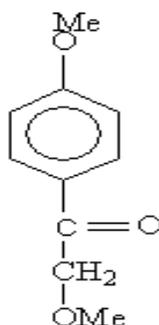
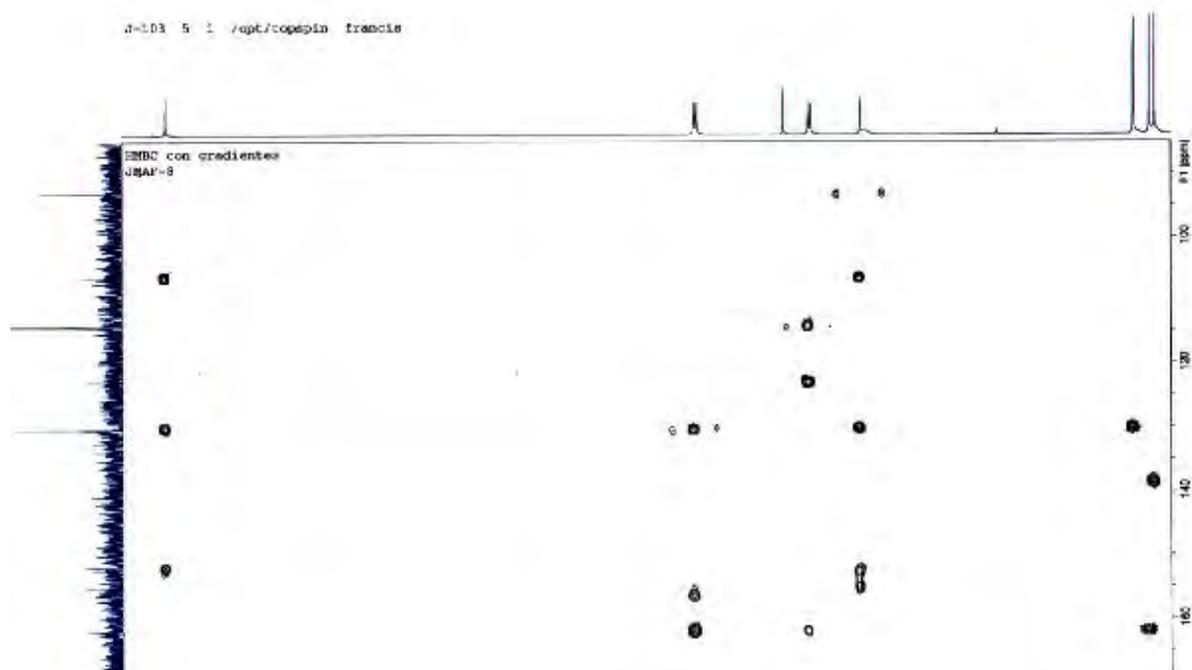


Schéma IV-1-10-1: 4, α' -iméthoxyacétophénone

Spectre n°IV-1-10-3: Spectre HSQC (500 MHz, CDCl₃ ppm), du composé **10**



Spectre n°IV-1-10-4: Spectre HMBC (500 MHz, CDCl₃, ppm) du composé **10**

Ces données spectrales sont conformes à ceux de la littérature [11] et sont reportées dans le tableau IV-1-10-1 et IV-1-10-2.

Tableau IV-1-10-1: Résultats de la RMN ¹H du composé **10**

Déplacement chimique (ppm)	Intégration	Multiplicité <i>J</i> (Hz)	Attribution
7,93	2H	d (9,9)	H-2' et H-6'
6,94	2 H	d (9,9)	H-3' et H-5'
4,65	2 H	s	H-2
3,88	3 H	d (7,6)	OCH ₃ - α
3.50	3 H	d (8,5)	OCH ₃ -4'

Tableau IV-1-10-2 : Résultats du RMN ¹³C du composé 10

Carbone	δ (ppm)
1	195
4'	165,0
2'	130,2
6'	130,2
5'	113,9
3'	113,9
2	75,2
OCH ₃ -4'	59,4
OCH ₃ - α	55,5

IV-2-1-: Elucidation structurale du composé J_f-18-q

Le spectre RMN¹H de ce composé (spectre n° IV-2-1-1) montre des signaux caractéristiques d'une entité de type glycérol monoestérifié notamment:

Deux doublets de doublets d'intégration 1H chacun à $\delta= 4,21$ ppm ($J=11,7 ; 4,7$ Hz) et $\delta=4,16$ ppm ($11,7 ; 6,0$ Hz)

Un multiplet d'intégration 1H à $\delta= 3,94$ ppm

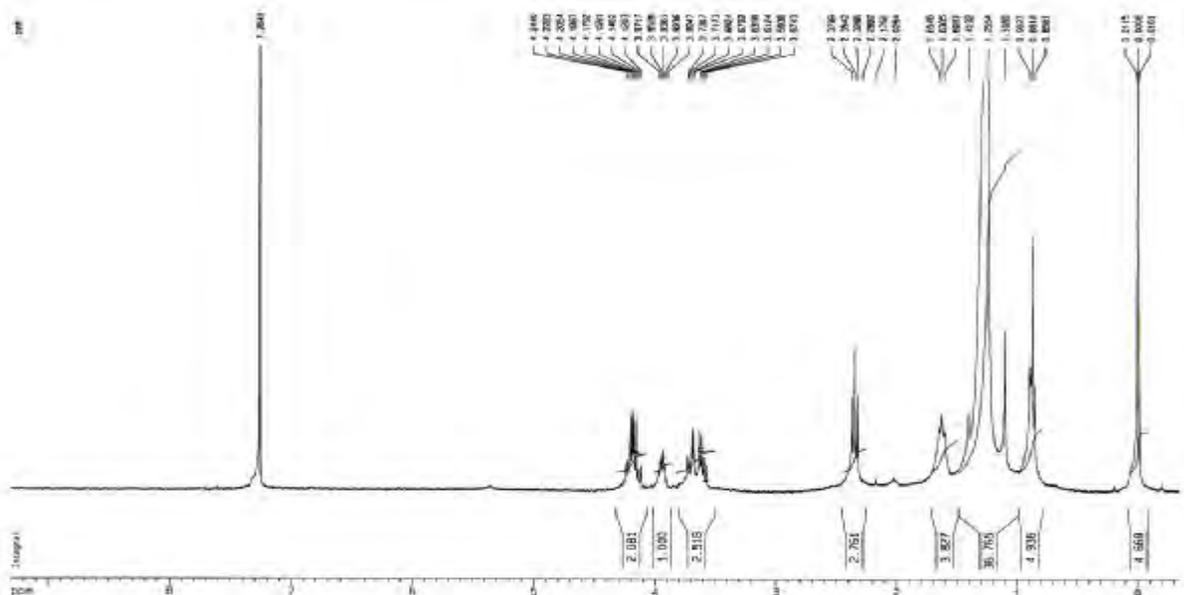
Deux doublets de doublets à $\delta=3,69$ ppm ($J=11,5 ; 4,0$ Hz) et $\delta= 3,59$ ppm ($J= 11,5 ; 5,8$ Hz)

Ces signaux sont attribuables aux CH₂-1, CH-2, et CH₂-3 du glycérol respectivement vu le déplacement chimique du CH₂-1, l'estérification à lieu sur l'hydroxyle de ce groupement ceci

est appuyé par le fait que les 2H relatifs aux deux groupements CH₂ sont magnétiquement non équivalents.

La partie acide de ce glycéride est de type chaîne linéaire saturée.

En effet, ce spectre montre la présence d'un signal sous forme d'un triplet à $\delta = 2,35$ ppm ($J = 7,4$ Hz) attribuable au CH₂-2 de la chaîne de l'acide, un triplet à $\delta = 0,88$ ppm ($J = 6,5$ Hz) attribuable au CH₃ terminal de la chaîne et un ensemble de CH₂ résonnant dans l'intervalle [1,1 - 1,7 ppm]



Spectre n° IV-2-1-1: Spectre RMN¹H (400 MHz, CDCl₃, δ ppm) du composé **11**

Ces données sont confirmées par le spectre RMN ¹³C (spectre n°IV-2-1-2) qui montre un signal à $\delta = 174,1$ ppm attribuable au carbonyle de ce glycéride, un CH à $\delta = 70$, ppm attribuable au CH-2 du glycérol.

Deux CH₂ à $\delta = 64,9$ et $63,1$ ppm attribuables aux deux CH₂ du glycérol, un CH₃ à $\delta = 13,9$ ppm attribuable au méthyle terminal de la chaîne de l'acide gras, et un ensemble de CH₂ dans l'intervalle [22,5-37,9] dont le CH₂-2 de la chaîne de l'acide et celui à $\delta = 37,9$ ppm

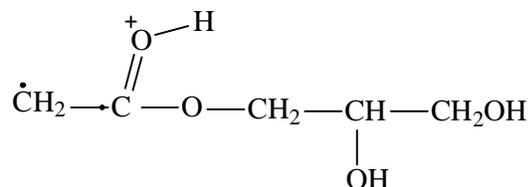


Spectre n°IV-2-1-2: Spectre ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 , ppm) du composé **11**

Le nombre de groupements CH_2 de la chaîne de l'acide peut être évalué par l'étude du spectre de masse (spectre n°IV-2-1-3) qui montre en particulier l'ion à $m/z=323$ correspondant à la formule brute $\text{C}_{23} \text{H}_{47}$...et qui représente en fait le R^+ de l'ester. Cet ion se réarrange avec perte de 3×28 pour donner l'ion à $m/z=239$, correspondant à $\text{C}_{17} \text{H}_{35}$ qui se réarrange à son tour pour donner l'ion à $m/z=211$.

La longueur de cette chaîne est confirmée par l'ion à $m/z=412$ correspondant à l'ion moléculaire après réarrangement avec perte de $\text{H}_2\text{C}=\text{O}$ de la partie glycérique, ce qui mène à une formule brute totale de $\text{C}_{27} \text{H}_{54} \text{O}_4$.

La partie glycérol mono estérifiée est aisément détectable sur le spectre de masse notamment par le signal à $m/z=134$ correspondant au réarrangement de Mac LAFFERTY avec transfert de H^+ vers le carbonyle menant ainsi à l'ion :



Cet ion se réarrange à son tour en perdant deux molécules de H_2O pour donner l'ion à $m/z=98$ (91,30%) confirmant ainsi la monoestérification du glycérol.

L'étude du spectre RMN ^{13}C et ses séquences DEPT confirme ces données et donne :

-3 signaux caractéristiques de l'entité glycérol à $\delta = 70,0$ ppm (C-2) ; $64,9$ ppm(C-1) ; $63,1$ ppm(C-3)

- $\delta = 174,1$ ppm (C-1') ; $37,9$ ppm (C-2') ; $33,9$ ppm (C-3')

-[$28,9 - 31,0$] ppm (C-4'-C-21')

- $\delta = 24,7$ (C-22') ppm ; $22,5$ ppm (C-23') ; $13,9$ ppm (C-24')

Ainsi la molécule concernée est : **Glycérol-1-Tétracosanoate**[12] dont la structure est reportée dans le schéma IV-2-1-1

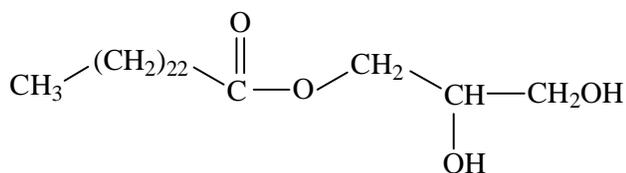
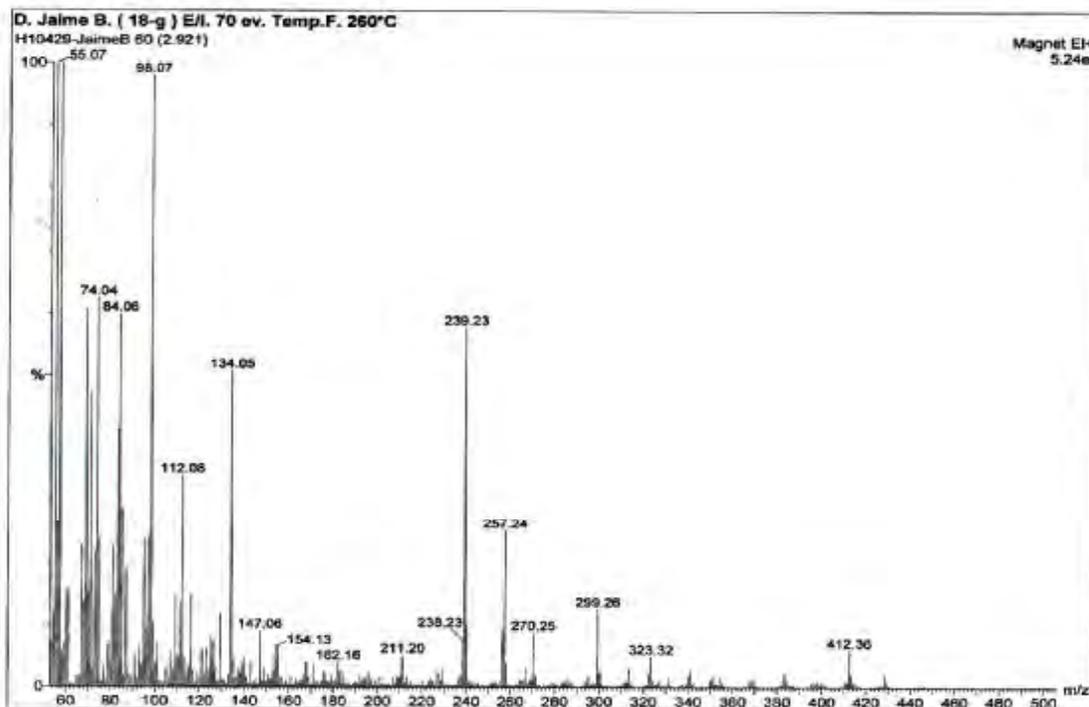


Schéma IV-2-1-1



Spectre n°IV-2-1-3 : Spectre SMIE du composé **11**

Les données spectrales relatives à ce composé sont reportées dans les tableaux IV-2-1-1 et IV-2-1-2

Tableau IV-2-1-1: Résultats du RMN ^1H du composé **11**

Déplacement chimique δ (ppm)	Integration	Multiplicité J (Hz)	Attribution
-------------------------------------	-------------	-----------------------	-------------

4.21	1H	dd (11,7 ; 4,7)	H-1a
4.16	1H	dd (11,7 ; 6,0)	H-1b
3.94	1H	m	H-2
3.69	1H	dd (11,5 ; 4,0)	H-3a
3.59	1H	dd (11,5 ; 5,8)	H-3b
2.35	2 H	t (7,4)	H-2'
1,63	2 H	m	H-23'
1,1-1,7	40H	massif	H-3'-H-22'
0,88	3 H	t (6,5)	CH3-24'

Tableau IV-2-1-b: Résultats du RMN ^{13}C du composé **11**

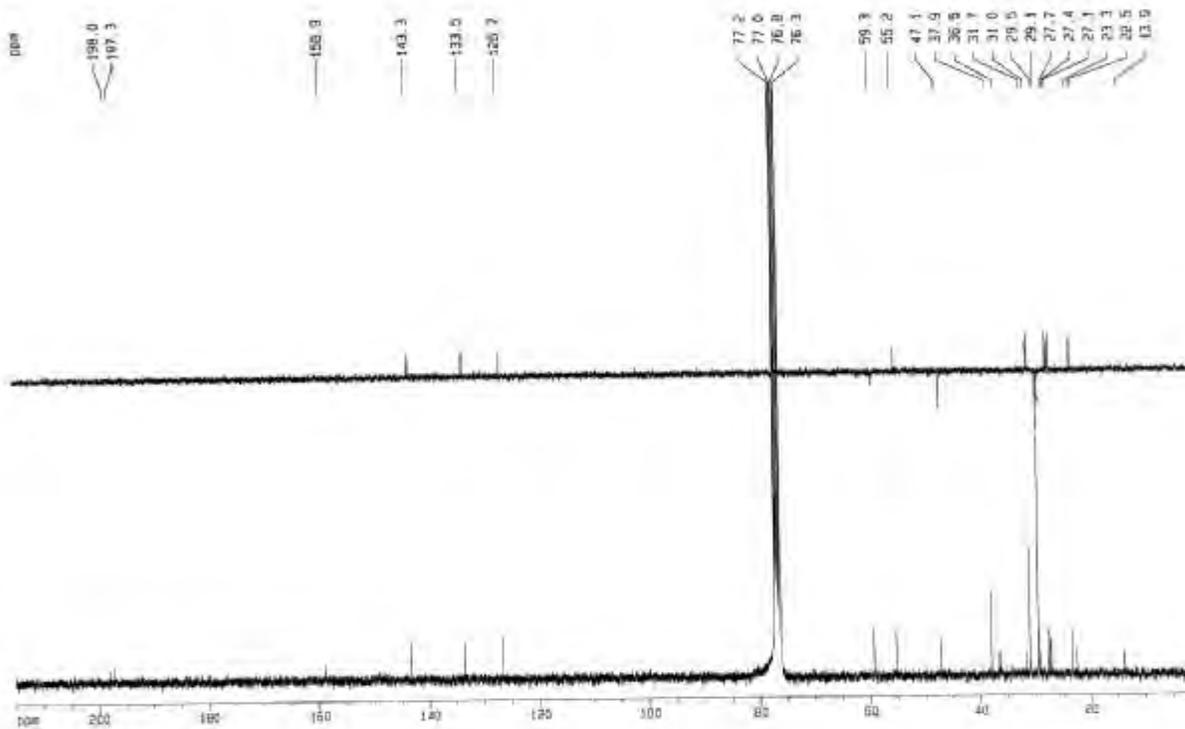
Carbone	δ (ppm)
1'	174,1
2	70,0
3	64,3
4	63,1
2'	37,9
3'	33,9
[4' -21']	[28,9 - 31,0]
22'	24,7
23'	22,5
24'	13,9

IV-2-2: Elucidation structurale du composé $\text{J}_{\text{fr-18-a}}$: **12**

Le spectre RMN ^{13}C (spectre n° IV-2-2-1) et les séquences DEPT (IV-2-2-2) montrent:

-2 signaux à $\delta=198,0$ et $197,3$ ppm correspondant à deux fonctions cétones conjuguées

-4 signaux correspondants à un carbone éthylénique quaternaire à $\delta=158,9$ ppm et 3 CH éthyléniques à $\delta=143,3$; $133,5$; et $126,7$ ppm. Ces 4 atomes de carbone éthyléniques ne peuvent être que ceux formant les deux doubles liaisons conjuguées avec les deux fonctions cétones.



Spectre n°IV-2-2-1:spectre RMN ^{13}C et les séquences DEPT (100 MHz, CDCl_3 , ppm) du composé 12

L'étude du spectre proton relatif à ce composé combinée aux données du spectre relatif à l'expérience HSQC (spectre n° IV-2-2-2) et celles de l'expérience COSY ^1H - ^1H (spectre n° IV-2-2-3) montrent que:

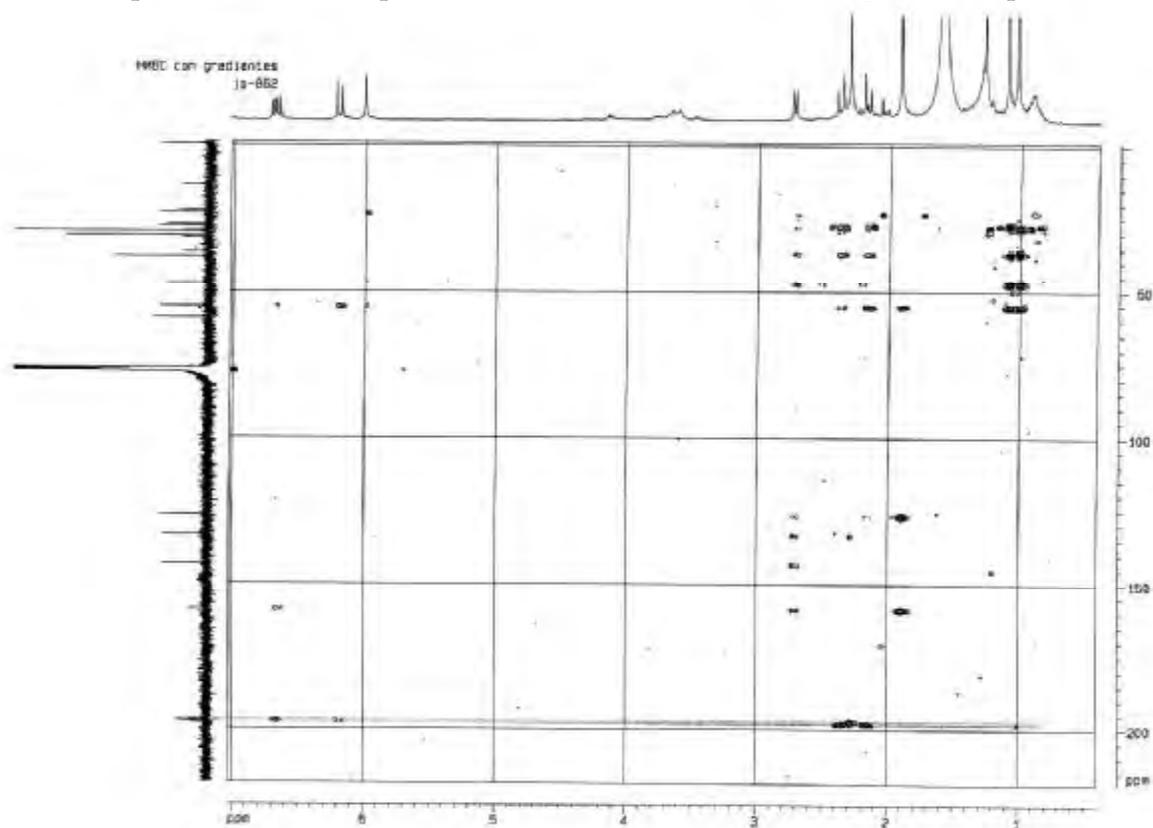
-Les deux groupements CH éthyléniques ont une stéréochimie trans aisément déterminée grâce à la constante de couplage entre les deux protons. En effet, l'un des résonne sous forme d'un doublet à $\delta=6,20$ ppm ($J=15,8$ Hz) $\delta_c=133,5$ ppm, l'autre résonne sous forme d'un doublet de doublets à $\delta=6,69$ ppm ($J=15,8$ Hz et $9,5$ Hz) $\delta_c=143,4$ ppm pour ce dernier proton, le deuxième couplage résulte d'une interaction avec le CH sp^3 résonnant sous forme d'un doublet à $\delta=2,73$ ppm ($J=9,5$ Hz) $\delta_c=55,2$ ppm.

Par ailleurs, l'étude du spectre relatif à l'expérience HMBC (spectre n° IV-2-2-4) montrent des corrélations nettes entre:

-Le proton à $\delta=6,20$ ppm et le carbone du carbonyle à $\delta=197,3$ ppm et le carbone du méthyle à $\delta_c=27,4$ ppm. ($\delta=2,31$ ppm) ces données mènent à l'enchaînement:



Spectre n° IV-2-2-3: spectre COSY ^1H - ^1H (400MHz, CDCl_3 , δppm) du composé 12



Spectre n° IV-2-2-4: spectre HMBC du composé 12

Le spectre proton montre également:

-2singulets relatifs à 2CH₃ à $\delta=1,03$ ppm ($\delta_c=27,1$ ppm) et $\delta=1,10$ ppm ($\delta_c=27,7$ ppm), sur le spectre HMBC les protons de ces méthyles corréleront avec le carbone quaternaire à $\delta=37,9$ ppm signifiant que ces deux groupements sont portés par ce noyau. Les protons de ces méthyles corréleront également avec le carbone du groupement CH à $\delta=55,2$ ppm, signifiant que le carbone quaternaire est voisin de ce CH.

Un retour vers le spectre proton permet de localiser un système AB à $\delta=2,38$ ppm et $\delta=2,18$ ppm ($J=16,6$ Hz ; ($\delta_c=47,1$ ppm)). Les protons de ce système AB donnent sur le spectre HMBC des les corrélations d'un groupement CH₂ avec le carbone quaternaire précédemment cité prévoyant ainsi la jonction de ce carbone quaternaire avec ce groupement CH₂.

Toujours sur le spectre HMBC les noyaux du système AB corréleront avec le carbone du carbonyle à $\delta=198,0$ ppm, prévoyant ainsi la jonction du carbonyle au groupement CH₂. Comme d'après la valeur de son déplacement chimique la fonction cétone doit être conjuguée, il convient alors de placer la double liaison en α de ce carbonyle. Cette double liaison doit être déterminée par un groupement CH et un carbone quaternaire.

Toujours sur le spectre HMBC les deux carbones de cette double liaison montrent des corrélations avec le proton à $\delta=2,73$ ppm et corréleront également avec les protons du méthyle à $\delta=1,92$ ppm ($\delta_c=23,3$ ppm) imposant ainsi la substitution de cette double liaison par le groupement CH₃ et prévoyant par conséquent la présence du carbone éthylénique quaternaire en α de ce CH. Le proton éthylénique serait par conséquent en α du CO.

L'ensemble de ces analyses spectrales mène à la structure plane reporté dans le schéma VI-2-2-1

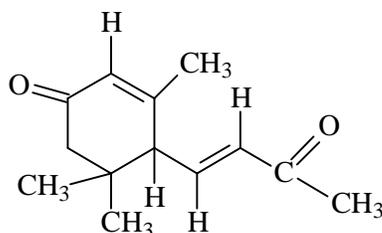


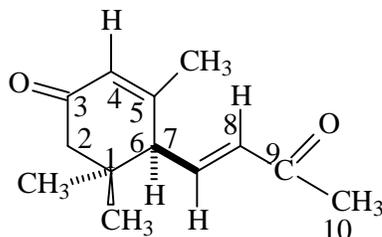
Schéma VI-2-2-1

La stéréochimie de la double liaison a été définie (E) d'après les valeurs de la constante de couplage ($J_{H7-H8}=15,8$ Hz) par contre celle du carbone C-6 est déterminée d'après l'étude du spectre NOESY (spectre n° VI-2-2-5) qui montre en particulier une corrélation entre H-6 et les deux CH₃ 11 et 12, d'après le déplacement chimique de ces 2 CH₃ il est possible d'attribuer celui à $\delta=1,03$ ppm au méthyle pseudo axiale et l'autre à ($\delta=1,10$ ppm) au CH₃ pseudo équatoriale.

Cette corrélation NOESY des deux groupements CH₃ avec H-6 signifie une orientation pseudo équatoriale de H-6 et par conséquent une orientation pseudo axiale pour la chaîne.

Cette hypothèse est vérifiée par les corrélations observées entre les noyaux du système AB et les protons des 2 CH₃. En effet l'examen du modèle moléculaire permet d'attribuer le signal à $\delta=2,18$ ppm au H-2 pseudo équatoriale d'une part à cause de sa corrélation avec les deux groupements CH₃ et d'autre part à cause de sa position par rapport à la zone positivante du cône d'anisotropie de la double liaison du carbonyle ce qui abaisse relativement son déplacement chimique. Par contre le signal à $\delta=2,38$ ppm sera attribué à H-2 pseudo axiale. Ce dernier noyau montre une corrélation avec

le méthyle pseudo équatoriale ($\delta=1,0$ ppm) confirmant ces attributions. Par ailleurs, ce spectre montre une corrélation entre le proton éthylénique H-7 et H-2 pseudo axiale confirmant ainsi l'orientation pseudo axiale de la chaîne latérale. L'ensemble de ces données mène à une configuration (6R,7E) donnant ainsi la 3-oxo- α -ionone [13,14] dont la structure est reportée dans le schéma IV-2-2-1



Schema IV-2-2-1: 3-oxo- α -ionone

L'ensemble des données spectroscopiques relatives à cette molécule est reporté dans les tableaux IV-2-2-1 et IV-2-2-2:

Tableau IV-2-2-1: Résultats du RMN ^1H du composé 12

Attribution	Multiplicité (J Hz)	Intégration	Déplacement chimique δ (ppm)
H-7	dd(15,8)	1H	6,69
H-8	d(15,8)	1 H	6,20
H- 4	s	1 H	6,01
H-6(pseudo équatoriale)	d(9,5)	1 H	2,73
H-2(pseudo axiale)	d(16,6)	1 H	2,38
H3-10	s	3 H	2,31
H-2(pseudo équatoriale)	d(16,6)	1 H	2,18
H3-13	s	3 H	1,92
H311(pseudo équatoriale)	s	3 H	1,10
H3-12(pseudo axiale)	s	3 H	1,03

Tableau IV-2-2-b: Résultats du RMN ^{13}C du composé 12

δ (ppm)	Carbone
198,0	3
197,3	9
158,9	5
143,3	7
133,5	8
126,7	4
55,2	6
47,1	2
37,9	1
27,7	11
27,4	10
27,1	12
23,3	13

IV-2-3:Elucidation structurale du composé J_{fr-23}:13

Le spectre SMIEHR (spectre n° IV-2-3-1) de cette molécule montre un pic moléculaire à $m/z=192,0412$ correspondant à une formule brute C₁₀ H₈ O₄ (masse calculée 192,0423) prévoyant un composé à 7 insaturations.

Ce spectre montre un réarrangement de l'ion moléculaire avec perte de CO ($m/z=164,0486$, C₉ H₈ O₃, calculée (164.0473) prévoyant la présence d'au moins un CO dans la molécule.

Elemental Composition Report

Multiple Mass Analysis: 1038 mass(es) processed - displaying only valid results
Tolerance = 10.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 50.0
Isotope matching not enabled

Monoisotopic Mass, Odd and Even Electron Ions
3705 formula(e) evaluated with 75 results within limits (up to 50 closest results for each mass)

Spectre n° IV-2-3-1: spectre SMIEHR du composé 13

Le spectre RMN ^{13}C (spectre n° IV-2-3-2) montre la présence de 5 signaux que l'on peut répartir grâce aux séquences DEPT en:

*Un CH_2 à $\delta_c=23,7$ ppm.

*2CH éthyléniques à $\delta=120,0$ ppm et 153,0 ppm.

*1 carbone quaternaire hybridé sp^3 et oxygéné à $\delta=90,1$ ppm.

*1 carbone quaternaire relatif à un carbonyle de lactone α,β insaturée à $\delta_c=170,6$ ppm

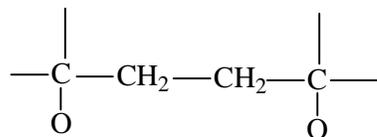
Le fait que ce spectre ne présente que 5 signaux signifie une symétrie dans cette molécule. D'après ces données le carbone quaternaire à $\delta=90,1$ ppm ne peut être que le carbone de fermeture de la lactone



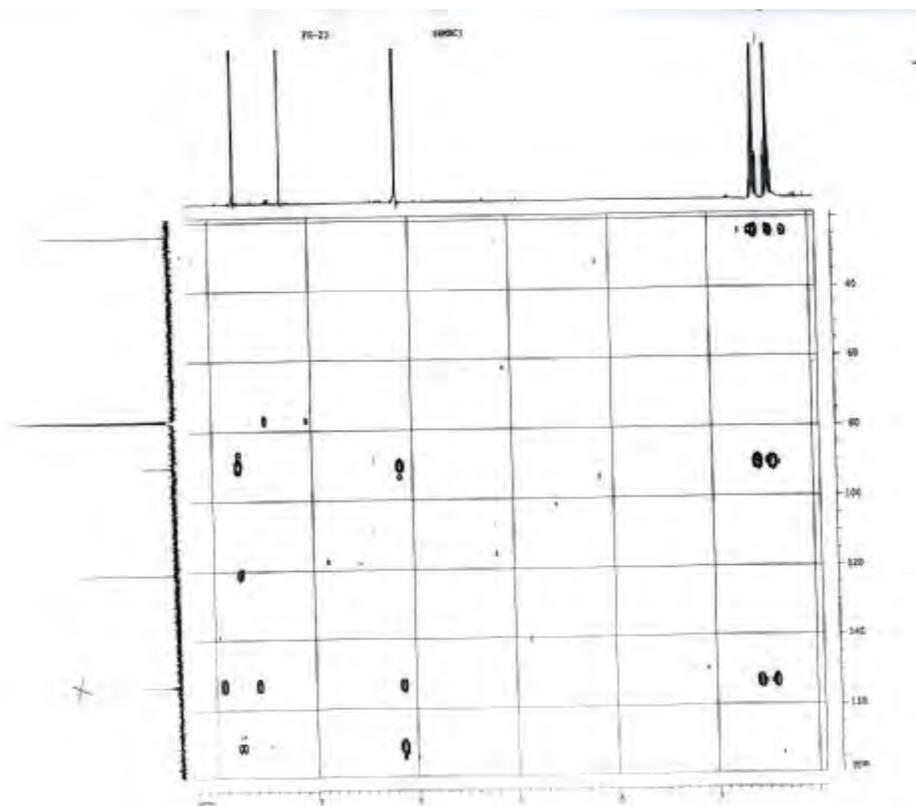
Spectre n° IV-2-3-2: spectre RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 , δppm) du composé 13

Sur le spectre HMBC (spectre n° IV-2-3-3) le carbone du carbonyle montre une corrélation avec les deux protons éthyléniques lesquels montrent une corrélation avec le carbone de fermeture de la lactone ce qui indique une γ - lactone et confirme le fait qu'elle soit α,β insaturée.

Le carbone quaternaire à $\delta=90,1$ ppm corréle avec les protons relatifs au signal du système $\text{AA}'\text{BB}'$ centré à $\delta=2,44$ ppm prévoyant ainsi un enchaînement $\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2$. Comme cette molécule est symétrique on s'attend à ce que les deux groupements CH_2 soient reliés à deux carbones quaternaires identiques. En matière d'insaturation:



vue la symétrie de cette molécule les deux cycles lactoniques et leurs insaturations consomment 6 insaturations. Cette observation impose une jonction carbone quaternaire- carbone quaternaire.



Spectre n° IV-2-3-3 :spectre HMBC (400 MHz, CDCl₃, δ ppm) du composé 13

L'ensemble de ces données est en parfait accord avec ceux de la littérature [15] relatifs à l'anémone dont la structure est reportée dans le schéma IV-2-3-1.



Schéma IV-2-3-1: Anémone

Les données spectroscopiques sont reportées dans le tableau IV-2-3-1

Tableau IV-2-3-1: Résultats du RMN ¹³C du composé 13

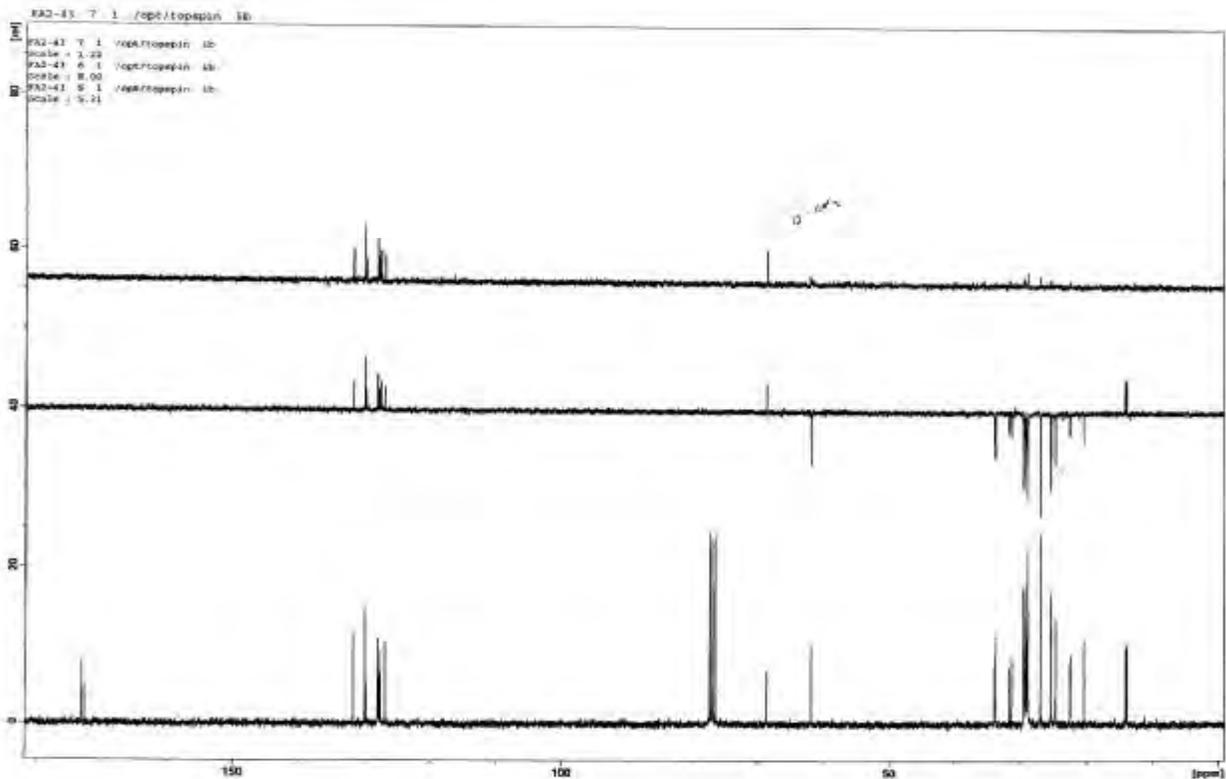
Carbone	δ(ppm)
1	170,6
2	153,0
3	120,0
4	90,1
5 et 5'	23,7

Cette molécule a été isolée de *Drymaria diandra* [] et *Pulsatilla alpina* sous espèce *apifolia* []

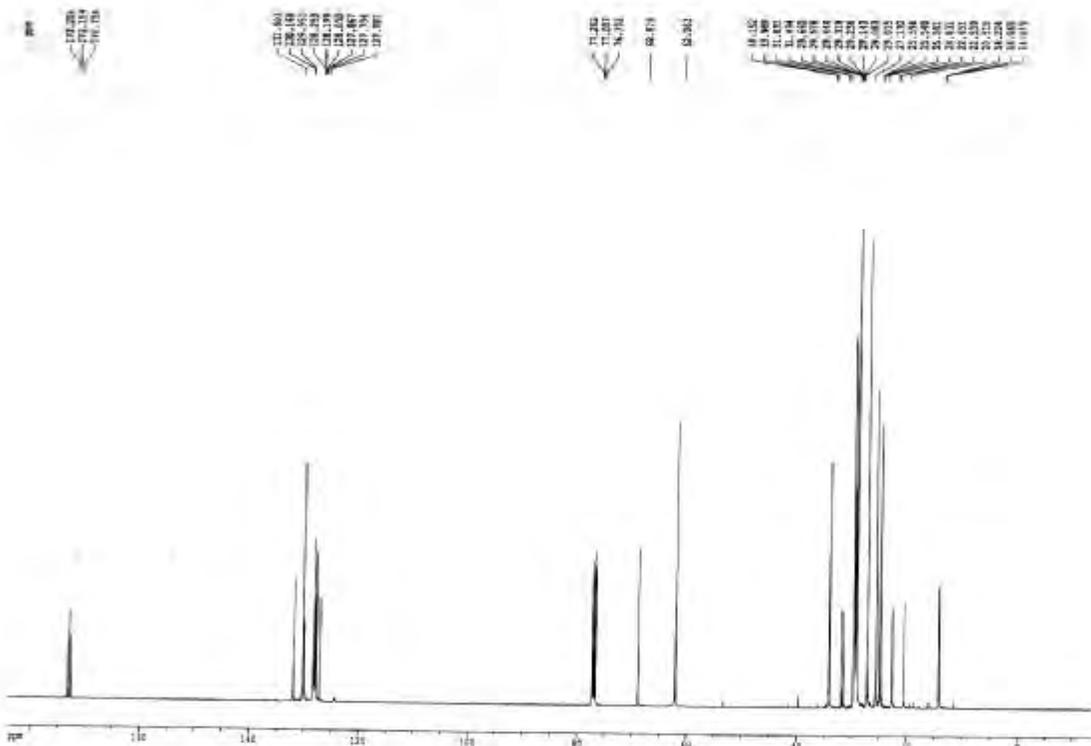
En effet l'examen du spectre relatif à l'expérience HMBC (Spectre n°IV-2-4-2) de ce composé montre des corrélations nettes entre les protons de ces groupements CH₂ et CH et les trois carbonyles à $\delta=173,0$; $172,9$; $172,5$ ppm, respectivement.

L'examen simultané des spectres RMN ¹H ,RMN ¹³C, HSQC (spectre n°IV-2-4-2),HMBC et SMIE, montrent que les parties acides de ce triglycéride sont de types acide gras dont les chaînes renferment 18 atomes de carbone chacune. La première chaîne renferme 1 CH₃ résonant sous forme d'un triplet à $\delta=0,97$ ppm voisin d'un CH₂ résonant sous forme d'un multiplet partiellement recouvert par d'autres signaux à $\delta=2,05$ ppm, les signaux relatifs à ce groupement CH₂ corrélerent sur le spectre COSY(spectre n°IV-2-4-3) avec un proton éthylénique dont le signal est recouvert par d'autres signaux d'intégration 13 H à $\delta=5,32$ ppm prévoyant l'enchaînement CH₃-CH₂ .CH=CH-.

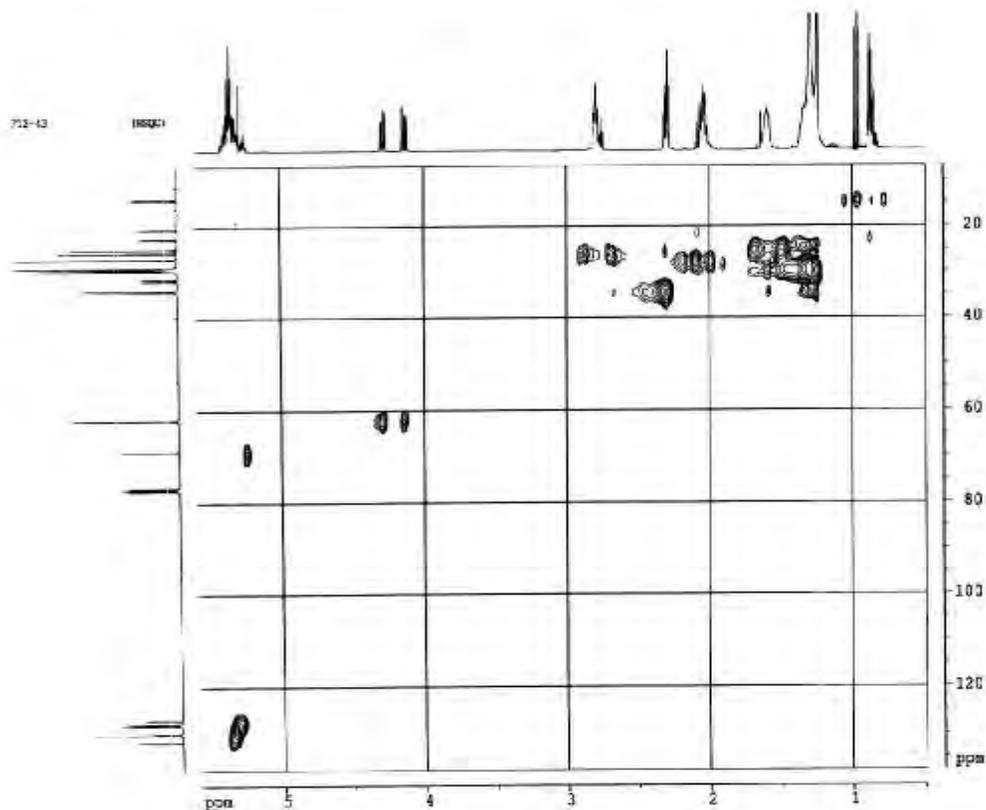
Ces CH éthyléniques corrélerent avec d'autres groupements CH₂ notamment pour cette chaîne avec le CH₂ résonant sous forme de triplet à $\delta=2,76$ ppm ($\delta_c=25,3$ ppm) ($J=8$ Hz).



F 12-43



Spectre n°IV-2-4-2 :spectre RMN¹³C et ses séquences DEPTdu composé F-12-43



Spectre n°IV-2-4-3 :spectre HSQC (400 MHz, CDCl₃, ppm) du composé 14

Ces données ajoutées à celle du spectre SMIE qui montre en particulier le signal à $m/z=599$ correspondant à la perte de cet acide par réarrangement de $[M+H]^+$, sont en faveur d'une chaîne correspondant à l'acide linoléique ou acide 9,12,15 octadécatriénonique (9z,12z,15z), dont la structure est reportée dans le schéma IV-2-4-1 [] .

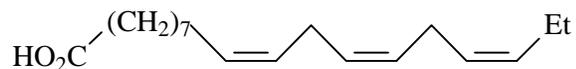


Schéma IV-2-4 -1

Les chaînes des deux autres acides semblent identiques vu la similarité des valeurs des déplacements chimiques de leurs noyaux respectifs. On observe en effet une très légère différence de déplacement chimique entre les méthyles terminaux de ces chaînes (2 triplets à $\delta=0,88$ ppm et $\delta=0,87$ ppm). Par ailleurs, le spectre COSY montre une corrélation entre ces méthyles et 2 groupements CH₂ dont les signaux recouverts par ceux d'autres CH₂ apparaissent à $\delta=1,30$ ppm. La valeur de leur déplacement chimique appuyée par le spectre COSY qui ne montre aucune corrélation entre ces noyaux et les protons éthyléniques, suggèrent l'enchaînement :

¹⁸CH₃-¹⁷CH₂-¹⁶CH₂- pour ces deux chaînes, ce qui suppose l'absence de la double liaison C₁₅-C₁₆ par rapport à la chaîne précédente.

Les signaux des autres noyaux restent à peu près au même déplacement chimique, signifiant seulement la réduction de la liaison C₁₅-C₁₆ par rapport à l'acide linoléique, ce qui mène à l'acide linoléique soit:

L'acide 9,12-octadécadiénoïque(9z,12z) dont la structure est reportée dans le schéma IV-2-4-2.

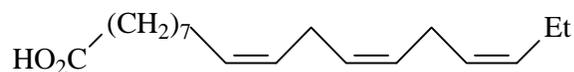


Schéma IV-2-4 -2

Ces données sont confirmées par ceux du spectre de masse qui montre en particulier le pic à $m/z=597$

Correspondant à la perte de l'acide linoléique par réarrangement de [M+H] []

L'emplacement de ces trois chaînes sur le glycérol doit se faire de façon à ce que le carbone du CH du glycérol doit être chiral du fait que les protons de CH₂ du glycérol sont diastéréotopiques complète

(vu qu'ils résonnent sous forme de système ABX) et non A₂X, ce qui mène à placer en position les deux chaînes en position C-1 et C-2 menant au **1,2dilinoléoyl-3-linoléinoyl-glycérol ou triglycéride LLLn** [17] dont la structure est reportée dans le schéma IV-2-4-3

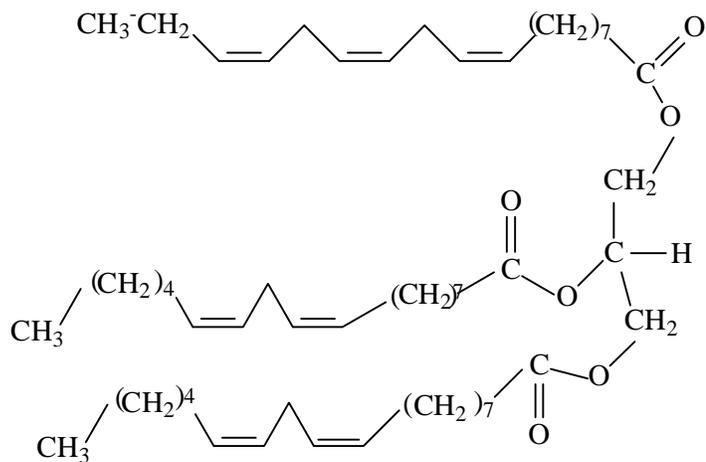
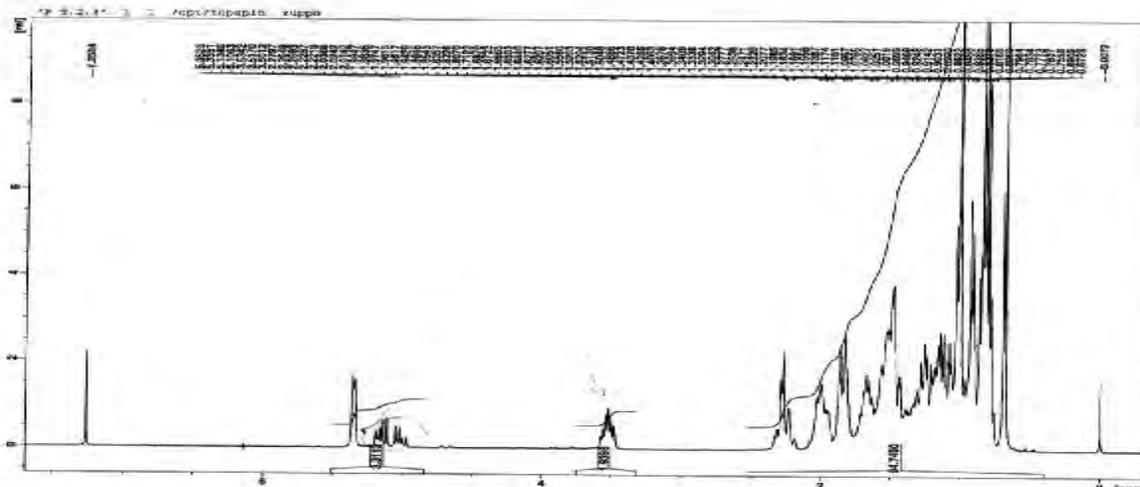


Schéma IV-2-4-3 : **1,2dilinoléoyl-3-linoléinoyl-glycérol ou triglycéride LLLn**

IV-2-6: Elucidation structurale du Composé F5,2,3 : 15

Le spectre RMN ^1H de ce composé est parfaitement identique a celui de F4-7 décrit précédemment dans *Achillea* pour le β -sitostérol, légèrement contaminé par du stigmastérol.

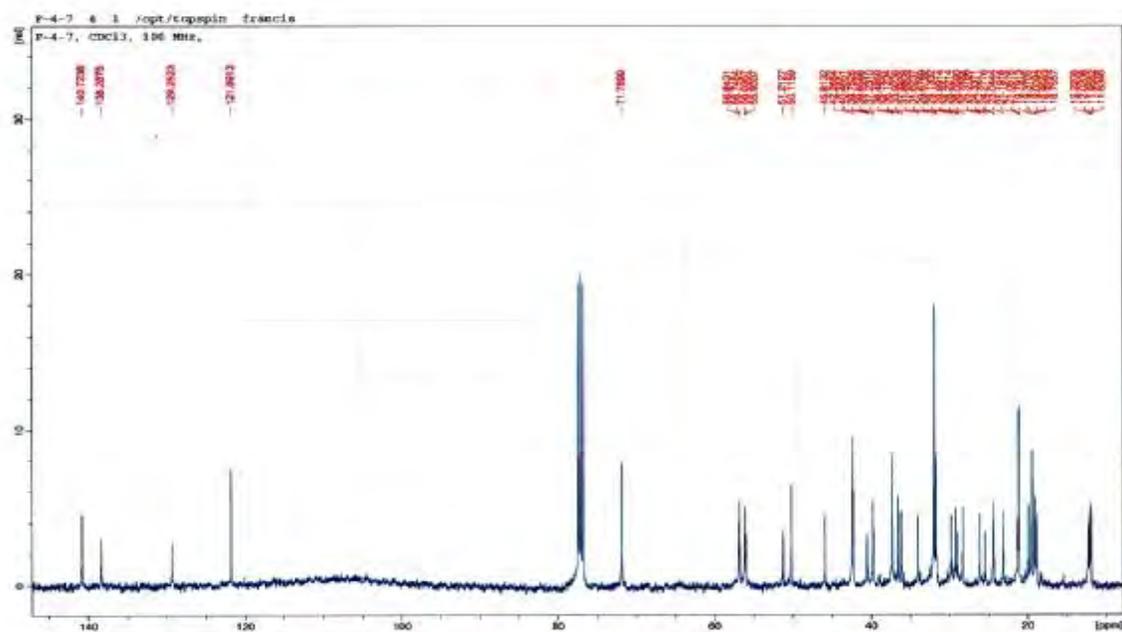


Spectre IV-2-5-1 : Spectre RMN ^1H (400MHz, CDCl $_3$, δ ppm) du composé **15**

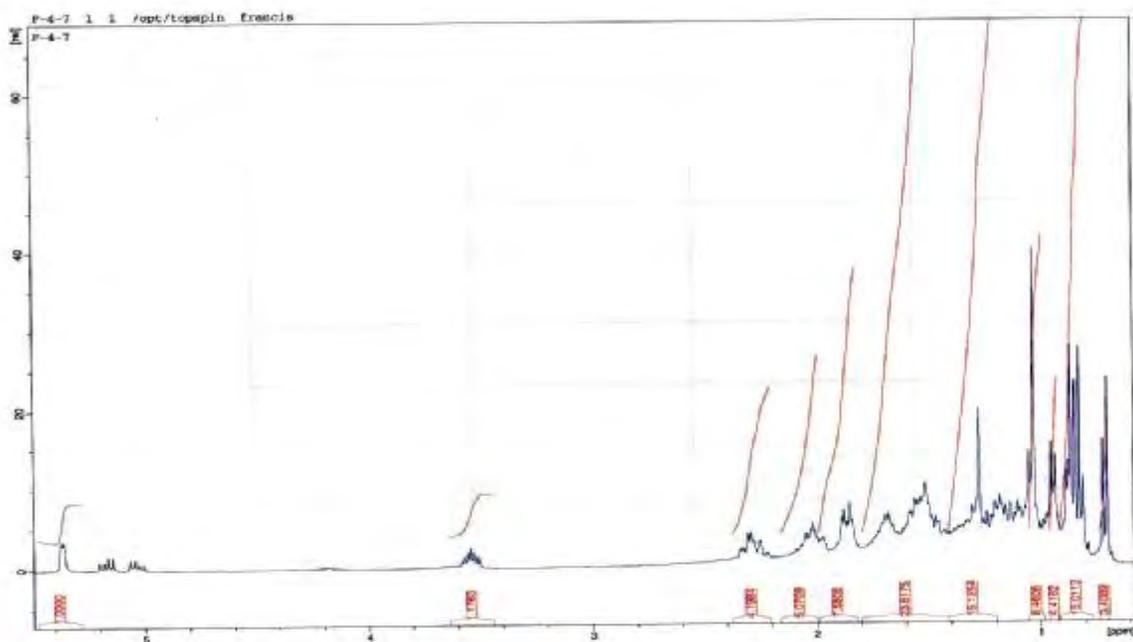
IV-2-6:Elucidation structurale du Composé F $_{4,A}$: 16

Le spectre de masse de ce composé montre un pic moléculaire à $m/z=398$ orientant vers la formule brute $\text{C}_{28}\text{H}_{46}\text{O}$, soit une molécule comportant 6 insaturations. L'examen du spectre RMN ^1H (spectre n°IV-2-6-1) notamment l'étalement de la zone entre 0,5 et 1,05 ppm montre la présence du quatre méthyles secondaires et deux méthyles tertiaires à $\delta=1,01$; 0,91 ; 0,83 ; 0,81 ; 0,79 et 0,54 ppm et caractéristiques des méthyles 21, 25, 27, 28, 19 et 18 d'un stérol du type érgostérol [].

Vu le nombre de protons il apparaît clairement qu'il s'agit de l'érgostérol dihydrogéné, autrement dit une des trois doubles liaisons de l'érgostérol est saturée. En effet, le spectre RMN ^{13}C (spectre n°IV-2-6-2) montre clairement la présence de seulement trois CH éthyléniques à $\delta=135,7$; 131,9 ; 117,5ppm.Cette observation oriente vers le maintien de la double liaison C-22- C-23 et la saturation de la double liaison C-5- C-6 ou la double liaison C-7- C-8.



Speetre n°IV-2-6-2 : Speetre RMN ^{13}C (125MHz, CDCl_3 , ppm) du composé **16**



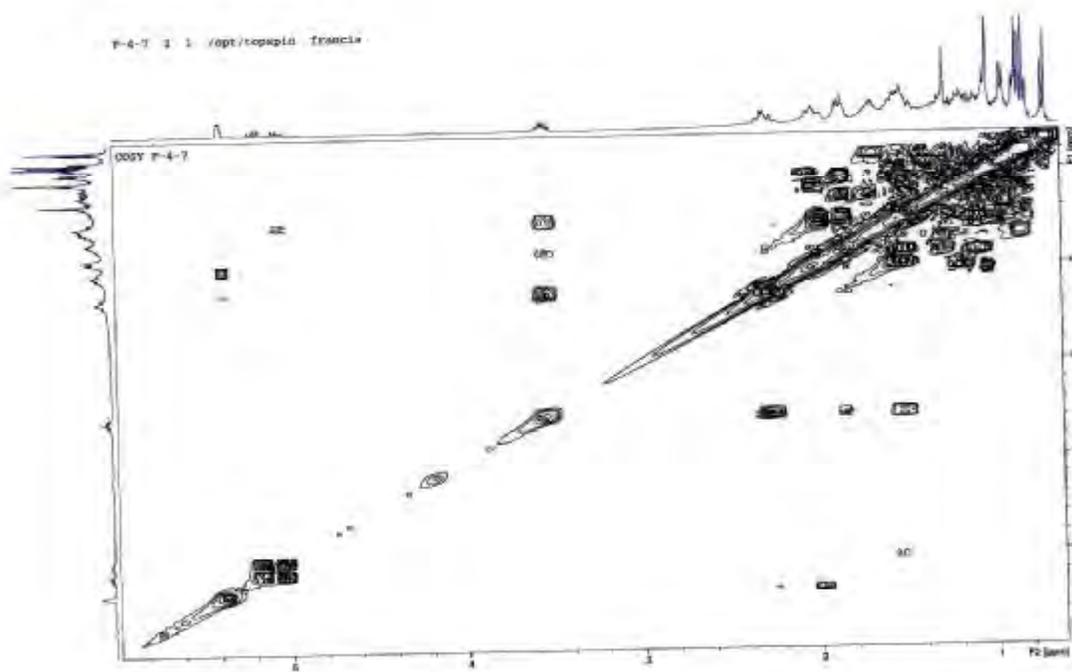
Spectre n° IV-2-6-2 : Spectre RMN ^1H ((500 MHz, CDCl_3 , ppm) du composé **16**

L'examen du spectre COSY ^1H - ^1H (spectre n°IV-2-6-3) permet la localisation de H_{-20} grâce à sa corrélation avec le CH_{3-21} , ce même spectre montre une corrélation entre H_{-20} et l'un des protons éthyléniques à $\delta=5,19$ (dd, $J=15,5$; $6,9\text{Hz}$) confirmant ainsi le maintien de la double liaison C-22- C-23.

Connaissant H_{-3} multiplet à $\delta=3,59$ ppm, il est aisé toujours, grâce au spectre COSY ^1H - ^1H d'attribuer H_{-4} et $\text{H}_{-4'}$ multiplet centré à $\delta=1,80$ ppm.

Ces noyaux montrent une corrélation avec le proton éthyléniques à $\delta=5,15$ ppm qui ne peut être que H_{-6} . Cette corrélation correspondant à un couplage longue distance (4J) entre H_{-4} , $\text{H}_{-4'}$ et H_{-6} rendu

possible par la présence de la double liaison qui par conséquent doit se trouver entre C-5- C-6. Ces données sont appuyées par le spectre relatif à l'expérience HMBC qui montre en particulier une corrélation entre les protons du CH_3 -21 et le CH éthylénique à $\delta=135,7$ ppm permettant son attribution au C-22 par ailleurs, la corrélation entre les protons du CH_3 -25 et le carbone éthylénique à $\delta=131,9$ ppm permet l'attribution de ce dernier à C-23



Spectre n°IV-2-6-3 : Spectre COSY ^1H - ^1H (500 MHz, CDCl_3 , ppm) du composé **16**

Le maintien de la double liaison de la chaîne latérale est confirmé par le spectre de masse qui montre en particulier la présence à $m/z=273$ correspondant à la perte du radical $C_9 H_{17}$ composant cette chaîne latérale.

Cet ion ($m/z=273$) subit par la suite deux réarrangements, le premier avec perte de H_2 menant à l'ion $m/z=271$, le second avec perte de H_2O menant à l'ion $m/z=255$. L'apparition de cet ion confirme bien la présence de la fonction hydroxyle dans la partie tétra cyclique. Ainsi cette molécule correspond au **7-dihydroérgostérol** représenté sur le schéma IV-2-6-1

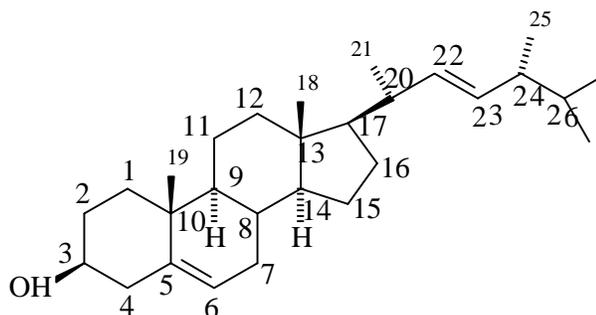


Schéma IV-2-6-1: **7-dihydroérgostérol**

La stéréochimie des centres chiraux est déduite par rapport aux données de la littérature [18].

Les données relatives aux études spectroscopiques sont reportées dans le tableau n° IV-2-6-1

Tableau n° IV-2-6-1: Résultats du RMN¹H du composé **16**

Déplacement chimique δ (ppm)	Intégration	Multiplicité	Attribution
5,19	1H	dd (1,5 ; 6,9)	H-22
5,15	1 H	m	H-6
3,59	1 H	m	H-3
1,80	2 H	m	H-4 , H-4'
1,01	3 H	s	CH ₃ (21)
0,91	3 H	s	CH ₃ (25)
0,83	3 H	s	CH ₃ (27)
0,81	3 H	s	CH ₃ (28)
0,79	3 H	s	CH ₃ (19)
0,54	3 H	s	CH ₃ (18)

IV-2-7: Elucidation structurale du Composé **B_{14,1}** : **17**

Le spectre RMN ¹H (spectre n° IV-2-7-1) de ce produit notamment la zone des CH₃ et la zone entre 6 et 6,5 ppm montre des signaux orientant vers une structure apparentée à l'ergostérol cette hypothèse est appuyée par les spectres ¹³C (spectre n° IV-2-7-2) et les spectres relatif aux 'expériences DEPT, HSQC (spectre n° IV-2-7-3), et HMBC qui montrent en particulier les signaux:

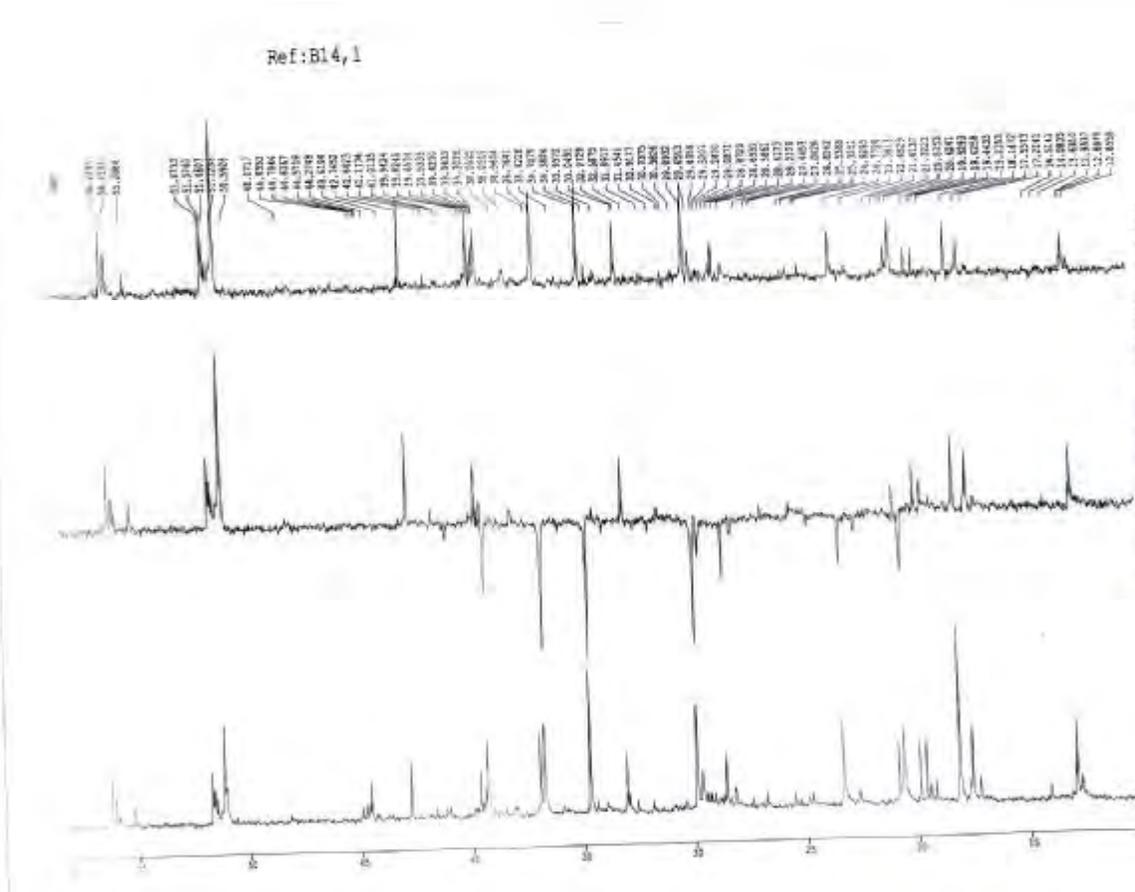
*1 CH à $\delta=66,3$ ppm attribuable à C-3 ($\delta_H=3,97$ ppm).

*2 CH éthyléniques à $\delta_c=130,7$ ($\delta_H=6,44$ ppm ; m) et à $\delta_c=135,5$ ppm ($\delta_H=6,21$ ppm ; m).

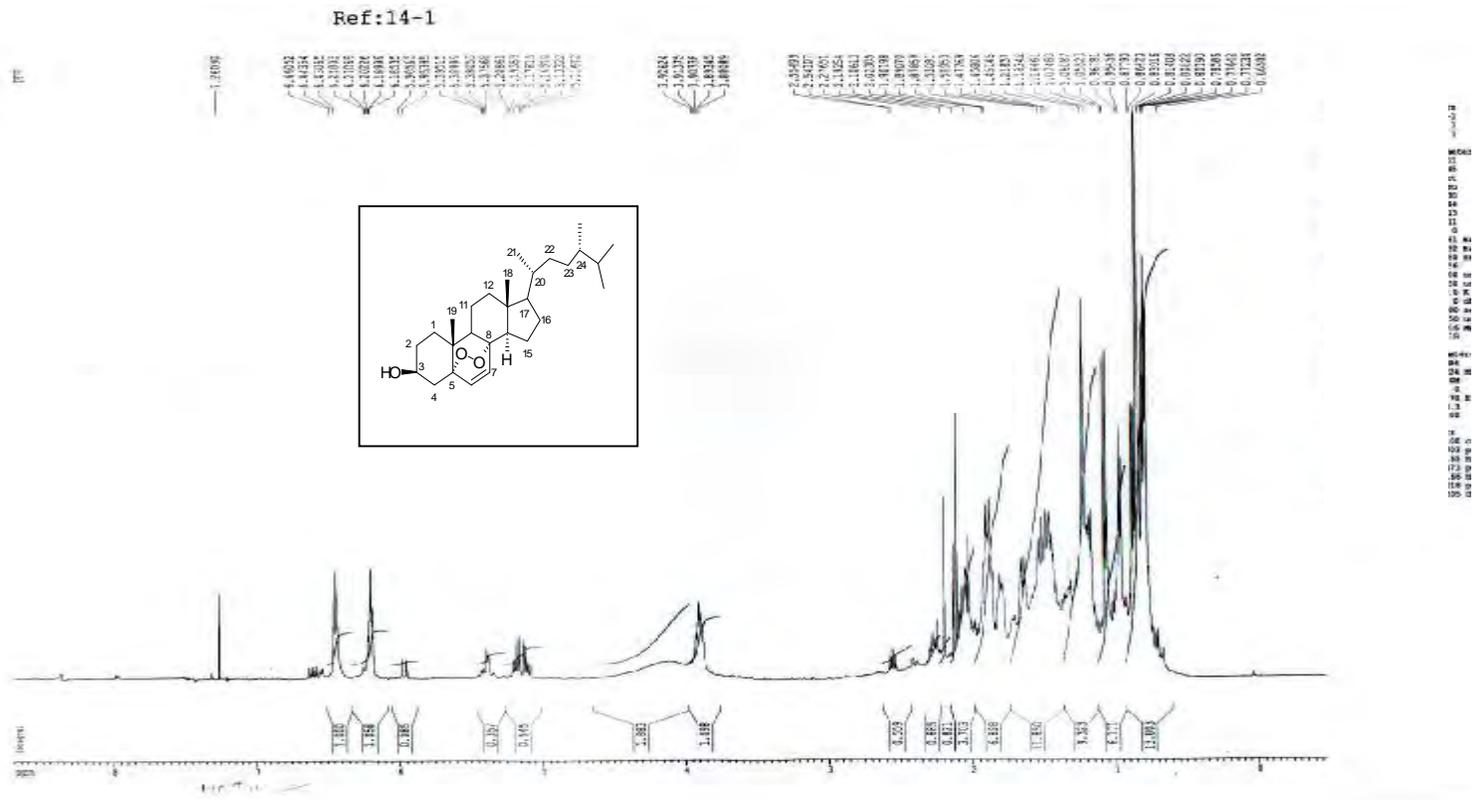
*2 carbones quaternaires oxygénés à $\delta_c=82,2$ et $\delta_c=79,5$ ppm.

L'ensemble de ces quatre atomes de carbone ainsi que la valeur de leur déplacement chimique sont caractéristiques des atomes de carbone:

C-6, -C-7, C-8, -C-5 respectivement, une structure apparentée au préoxyde d'érgostérol[19].



Spectre n° IV-2-7-2: Spectre RMN ^{13}C (500 MHz, CDCl_3 , ppm) du Composé **17**



Spectre n° IV-2-7-1 : Spectre RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3 , ppm) du Composé **17**

Ces observations sont confirmées par la corrélation sur le spectre relatif à l'expérience HMBC, entre les 2 carbones quaternaires oxygénés et les 2 protons éthyléniques. Par ailleurs, ni le spectre ^{13}C , ni le spectre RMN ^1H ne montrent d'autres signaux appartenant à cette molécule dans la zone éthylénique, ce qui suggère l'absence d'autres doubles liaisons dans cette structure et mène par conséquent à une chaîne latérale saturée.

L'ensemble de ces données est appuyée par le spectre de masse sous impact électronique (spectre n° IV-2-7-4) qui montre en particulier un signal à $m/z=429$ correspondant à $[\text{M}^{+\circ}-1]$, un signal à $m/z=412$ correspondant à $[\text{M}^{+\circ}-18]$ et confirmant la présence de l'hydroxyle dans cette molécule.

Le pic intense à $m/z=368$ Da correspondant à la perte d'une molécule de H_2O_2 et une molécule d'éthylène confirme bien la structure proposée.

L'ensemble de cette étude mène à la structure du **22-dihydropéroxyde d'ergostérol**

(schéma IV-2-7-1).

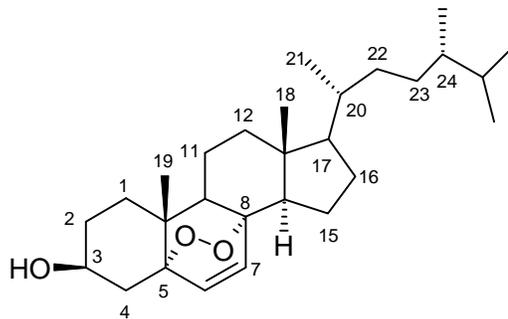
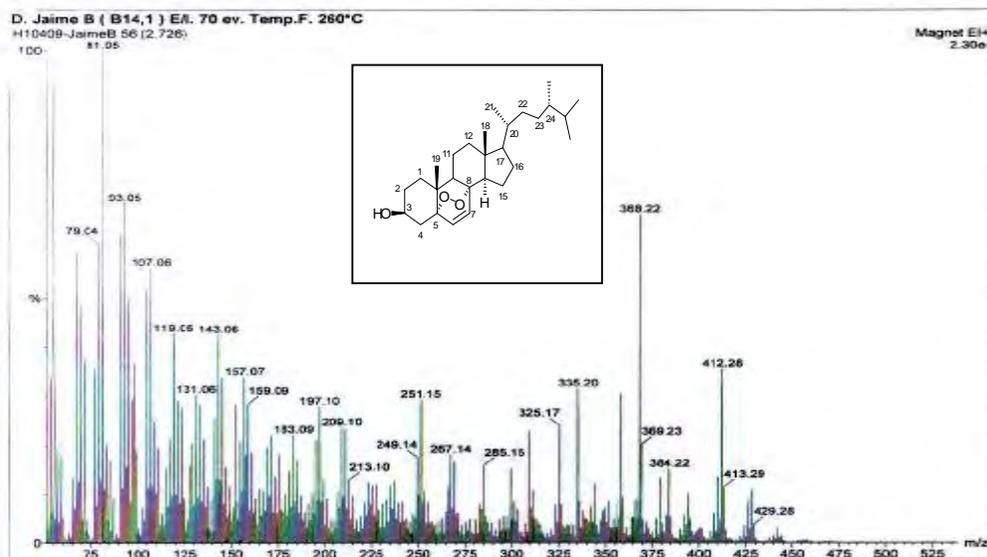


Schéma IV-2-7-: 22-dihydroperoxyde d'ergostérol

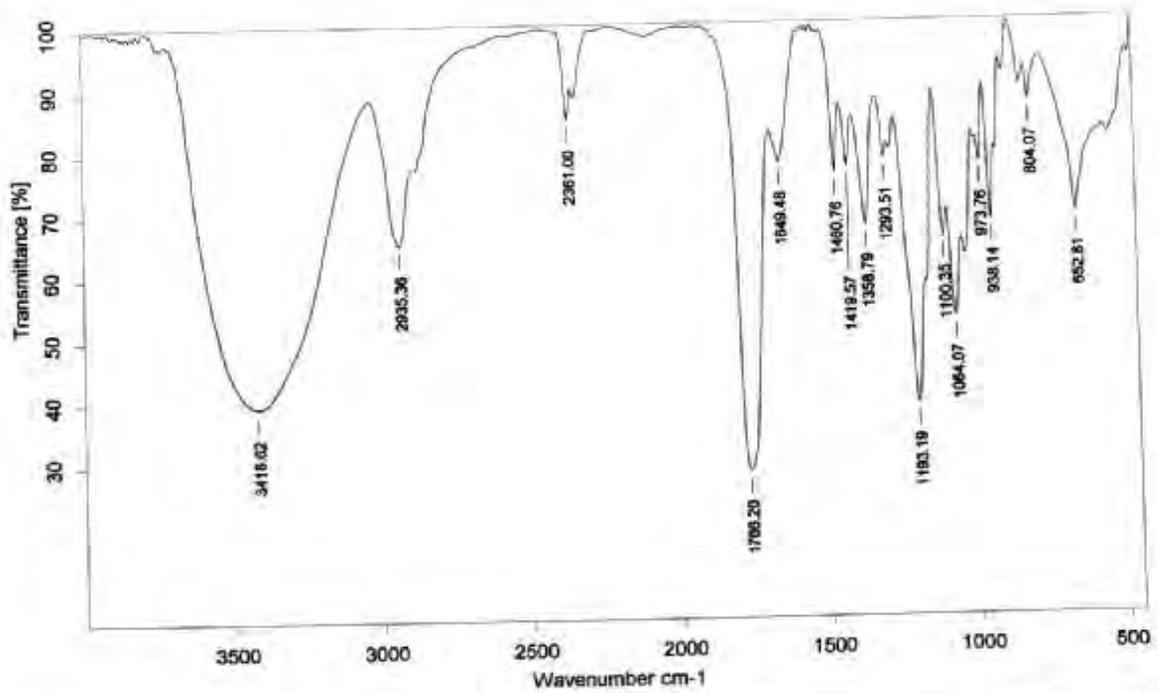
Il est à noter que cet échantillon renferme également d'après des signaux caractéristiques, du stigmasterol et du peroxyde d'ergostérol.



Spectre n° IV-2-7-3 : Spectre SMIE du composé **17**

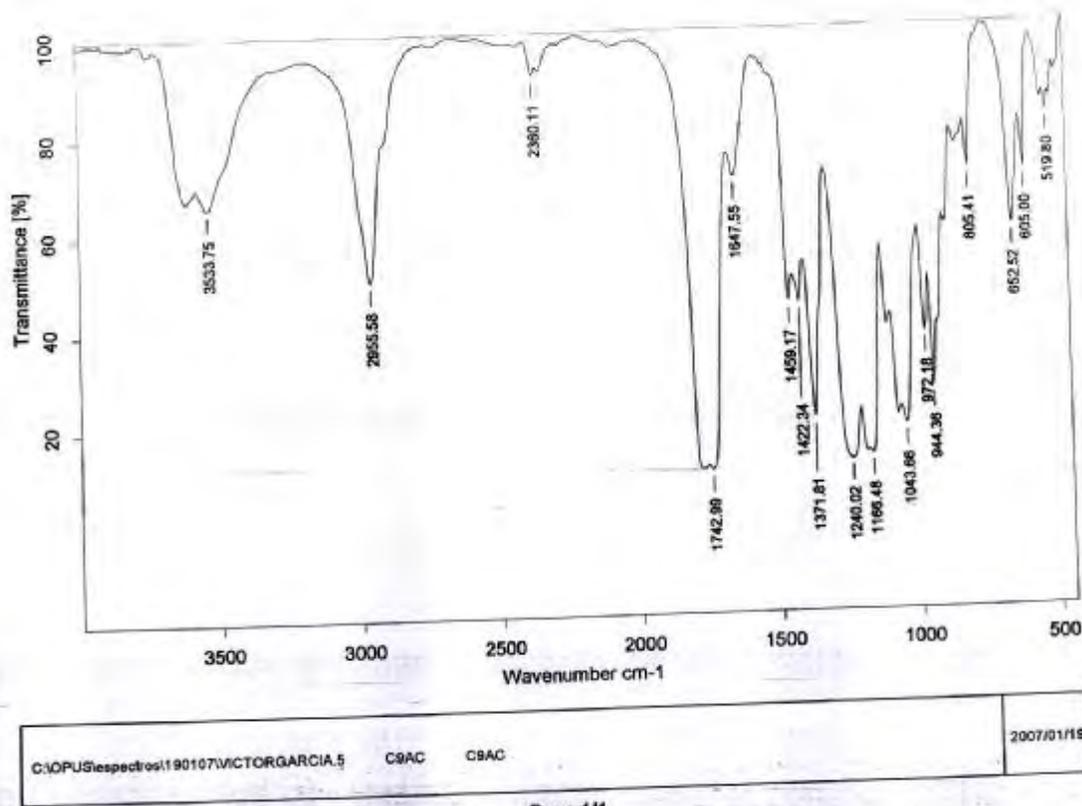
IV-2-8:Elucidation structurale du composé C₉:18

Le spectre IR (spectre n°IV-2-8-1) de cette molécule montre une bande de vibration de valence relative à une fonction hydroxyle à 3419cm^{-1} , et une bande de vibration de valence à 1766 cm^{-1} , caractéristique d'un carbonyle lactonique. Après acétylation le spectre IR de l'échantillon résultant montre en plus de la bande au carbonyle de la lactone une bande à 1743 cm^{-1} , attribuable au carbonyle de la fonction acétate introduite. donnée est appuyée par la bande relative au groupement hydroxyle, ce qui suggère la présence d'une fonction alcool dans cette molécule à l'état natif.



C:\OPUS\spectros\190107\VICTORGARCIA.3 C9P C9P 2007/01/19

Spectre n°IV-2-8-1: Spectre IR du composé C₉ à l'état natif

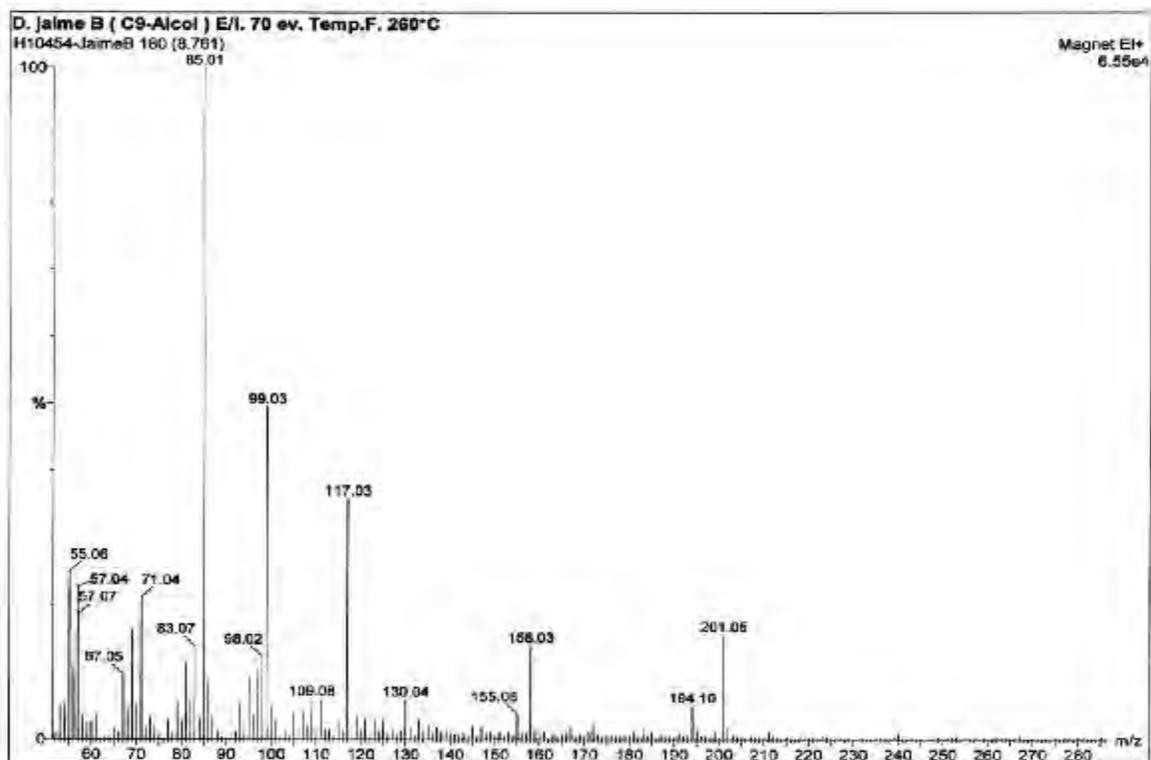


Spectre n°IV-2-8-1: Spectre IR du composé C_9 acétylé

Le spectre de masse (spectre n°IV-2-8-2) à haute résolution de l'échantillon après acétylation montre une masse exacte de l'ion $[M+H]^+$ à $m/z=159,0671$ (1,63%) correspondant à la formule brute $C_7 H_{11} O_4$ (masse calculée 159,0657). L'obtention de l'ion correspondant à la molécule protonnée est commun aux lactones. Par ailleurs, ce spectre montre un pic à $m/z=117,0558$ (1,39%) correspondant à un réarrangement avec élimination de cétène et formation de l'alcool correspondant (masse calculée 117,0552) pour la formule brute $C_5 H_9 O_3$. La fonction hydroxyle résultante est confirmée par le pic à $m/z=99,0439$ (2,45%) correspondant à la perte d'une molécule de $H_2 O$ (masse calculée 99,0446 pour la formule brute $C_5 H_7 O_2$).

L'ion correspondant à la lactone hydroxylée et protonnée (117,0558) se réarrange également avec perte d'une molécule de CH_3OH en donnant l'ion à $m/z=85,0283$ (100%) masse calculée 85,0290 pour la formule brute $C_4 H_5 O_2$.

La perte de la molécule de CH_3OH signifie la présence d'un groupement CH_2OH dans cette lactone. Toutes ces données sont confirmées par le spectre de masse de l'échantillon natif, qui après protonation donne l'ion à $m/z=117$ suivi de la perte d'une molécule de $H_2 O$ donnant l'ion à $m/z=99$ et qui se réarrange également en perdant une molécule de CH_3OH pour donner l'ion à $m/z=85$ dont le signal constitue le pic de base.



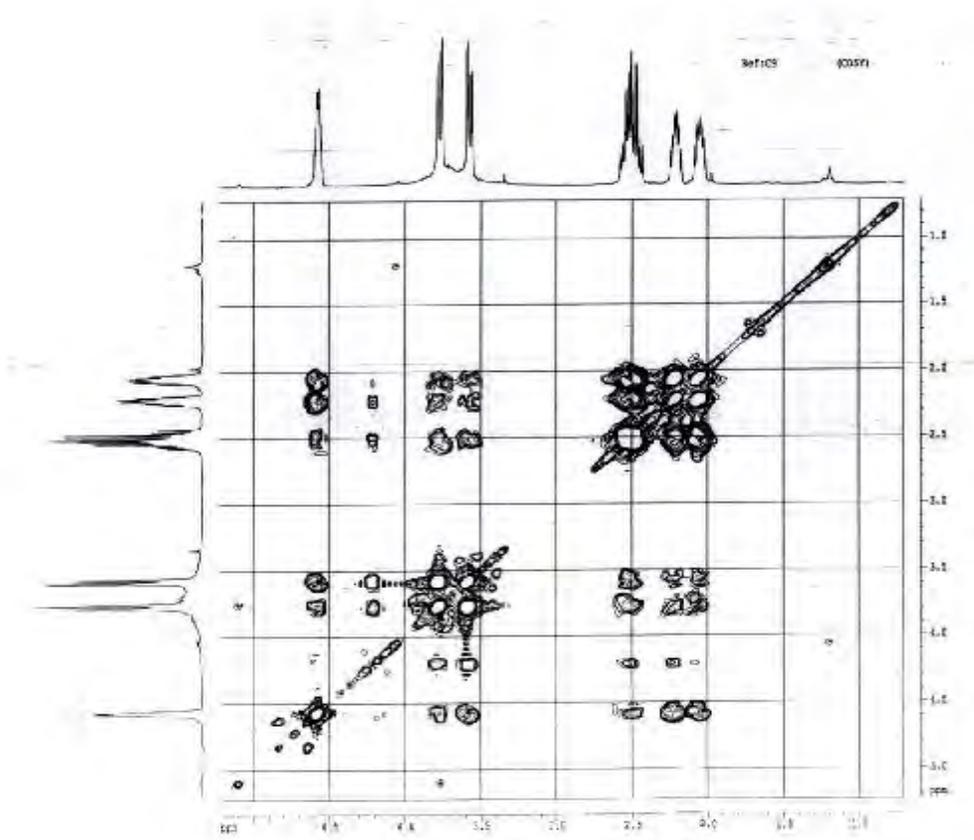
Spectre n°IV-2-8-2 : Spectre SMHR du composé **18**

L'examen du spectre RMN ^{13}C (spectre n°IV-2-8-3) et ses séquences DEPT 135, et 90 confirme la présence de la fonction lactone par le signal d'un carbonyle quaternaire à $\delta=178,5$ ppm, et confirme également la présence du groupement CH_2 hydroxyle à $\delta=63,8$ ppm, et montre en plus un groupement CH oxygéné à $\delta=81,2$ ppm et qui ne peut correspondre d'après la valeur de son déplacement chimique qu'au CH de la fermeture de la fonction lactone. Ces spectres montrent également deux groupements CH_2 sp^3 non oxygénés à $\delta=28,6$ et $23,1$ ppm. L'ensemble de ces données ainsi que le spectre de masse à haute résolution mène à la formule brute $\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_3$ pour le composé natif non protoné soit une molécule comportant deux insaturations, ce qui suppose le cycle et le carbonyle de la lactone.

Spectre n°IV-2-8-3: Spectre RMN¹³ C et ses séquences DEPT du composé **18**

L'examen simultané des spectres HSQC (spectre n°IV-2-8-4), COSY (spectre n°IV-2-8-5) et proton (spectre n°IV-2-8-6) montrent:

*L'enchaînement $\begin{array}{c} \text{O} \\ | \\ \text{C} \\ | \\ \text{O} \\ | \\ \text{CH} \\ | \\ \text{CH}_2 \\ | \\ \text{OH} \end{array}$ grâce à la corrélation entre le proton relatif au multiplet à $\delta=4,57$ ($\delta_c=81,2$ ppm) et les deux doublets de doublets à $\delta=3,77$ ($J=12,5 ; 3,0$ Hz) et $\delta=3,58$ ($J=12,5 ; 4,8$ Hz) ($\delta_c=63,8$ ppm)



. Spectre n°IV-2-8-4: Spectre COSY¹ H-¹ H du composé **18**

*L'enchaînement CH- CH₂. CH₂- grâce aux corrélations observées entre le CH préalablement décrit et les protons du CH₂ résonant sous forme de multiplets à $\delta=2,21$ ppm et $\delta=2,05$ ppm ($\delta_c=23,1$ ppm) et les corrélations entre les protons de ce dernier CH₂ et les protons du CH₂ résonant sous forme de multiplet centré à $\delta=2,51$ ppm et $\delta_c=28,6$ ppm .Par ailleurs, le spectre HMBC montre une corrélation nette entre ces derniers protons et le carbone du carbonyle de la lactone signifiant leur jonction. Ces données mènent à la structure plane reportée dans le schéma IV-2-8-1

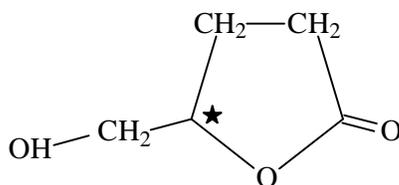
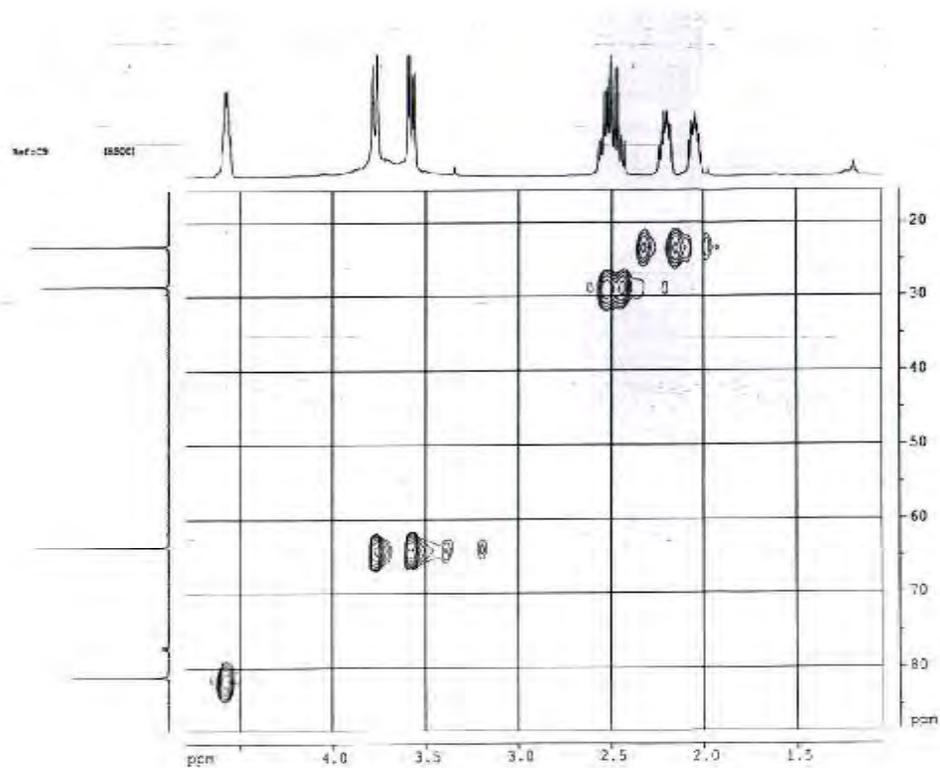
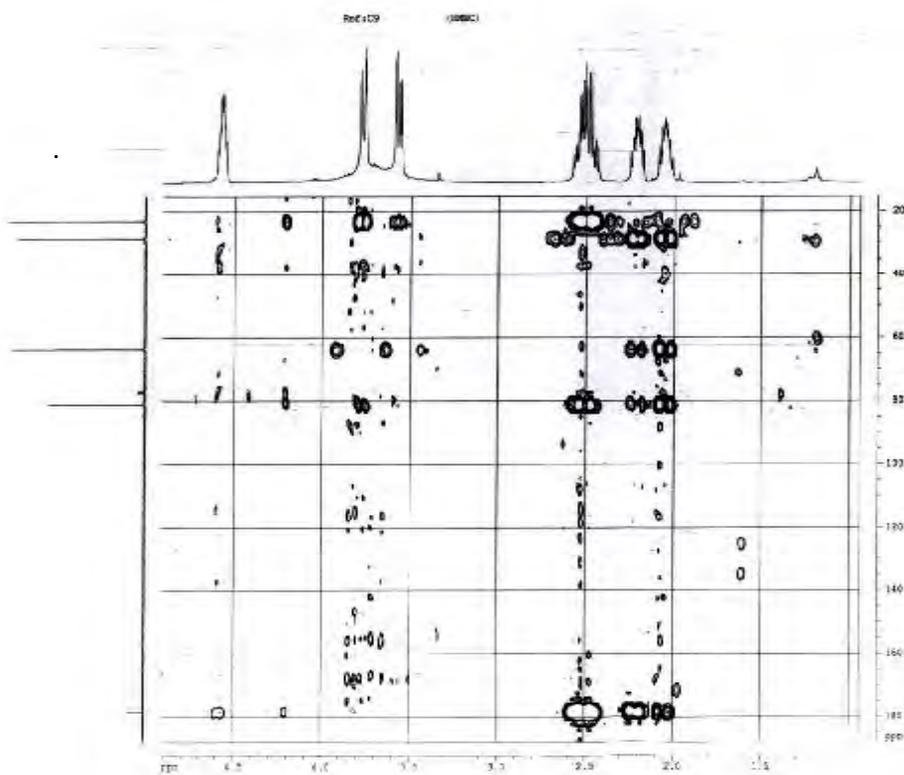


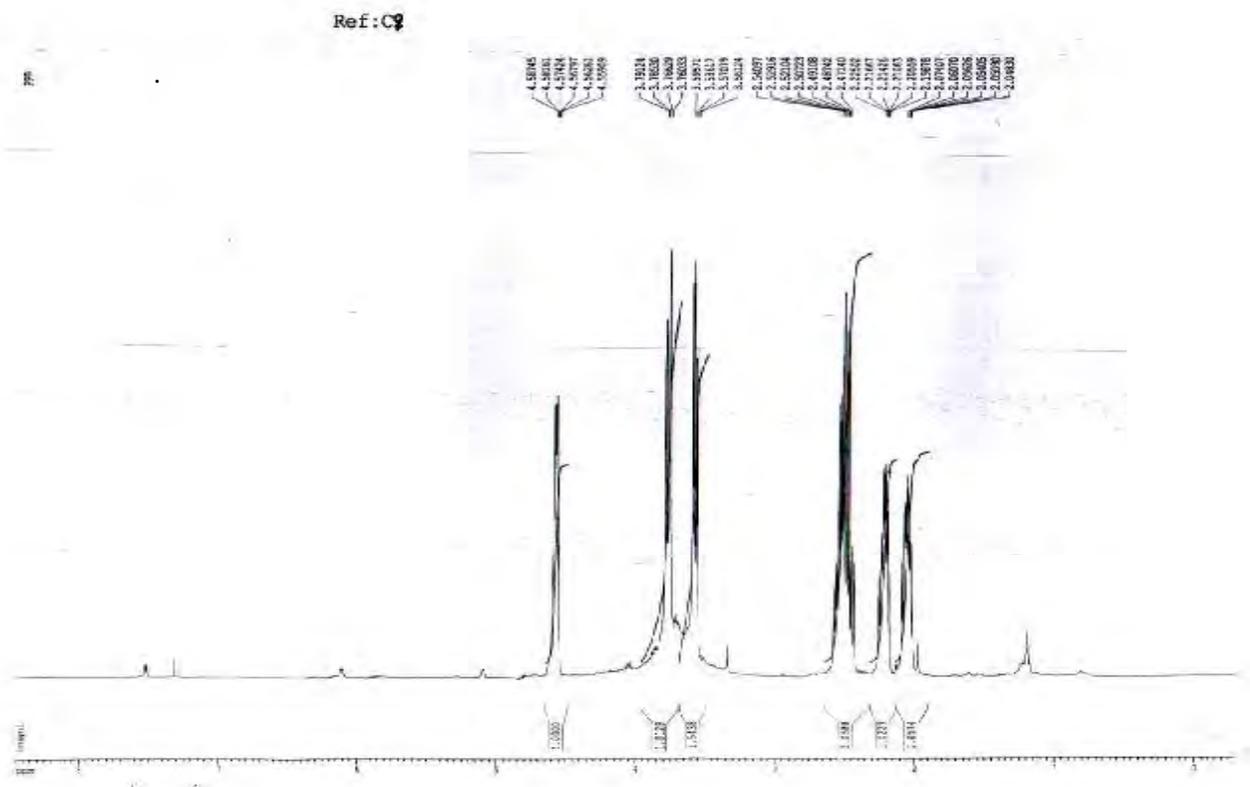
Schéma IV-2-8-1:structure plane du γ -Hydroxyméthyl- γ -Butyrolactone



. Spectre n°IV-2-8-5: Spectre HSQC (500 MHz, CDCl_3 , δ , ppm) du composé **18**



Spectre n°IV-2-8-6: Spectre HMBC (500 MHz, CDCl_3 , δ , ppm) du composé **18**



Spectre n°IV-2-8-7: Spectre RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3 , δ , ppm) du composé **18**

Cette molécule est connue dans la littérature avec les deux configurations (R) et (S) du carbone asymétrique γ , mais uniquement par des procédures synthétiques. Afin de déterminer la stéréochimie du centre chiral, nous avons eu recours à l'évaluation du pouvoir rotatoire spécifique de l'énantiomère que nous avons isolé. Calculé dans le chloroforme à une concentration de 3,9 g/l, sous un faisceau à la longueur d'onde de 589 nm (raie D du sodium), la valeur est de +42,3.

Cette valeur correspond à la configuration absolue (S) du centre asymétrique γ [].

Soit la **γ -hydroxyméthyl γ -butyrolactone**.

Cette molécule est connue uniquement par des procédures synthétiques, qui ont permis l'obtention des deux énantiomères,

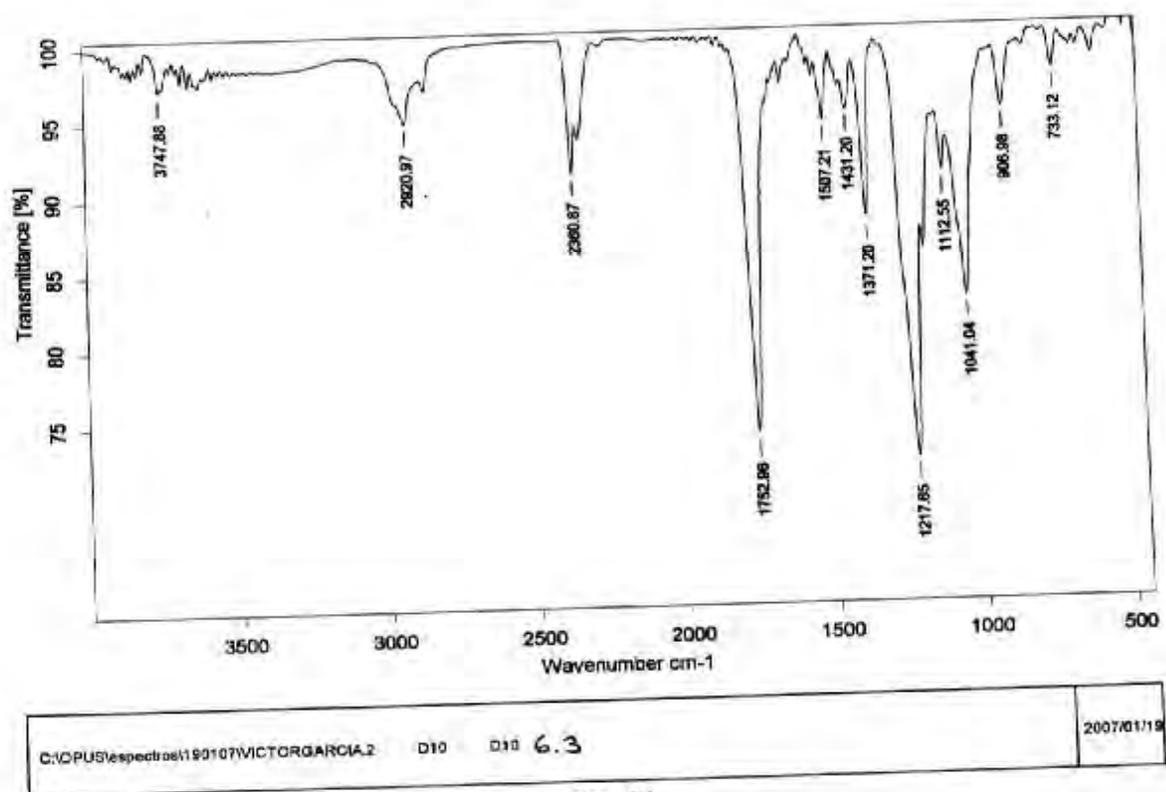
la **(-R) γ -hydroxyméthyl- γ -butyrolactone**. [20,21]. Elle est par conséquent nouvelle comme produit naturel.

IV-2-9: Elucidation structurale du composé D_{10,6,3}

Le spectre IR de ce composé (spectre n°IV-2-9-1) à l'état natif avant purification montre une bande indiquant la présence de groupements hydroxyles, ce spectre ne montre par contre pas de bandes de vibration relatives à des fonctions carbonyles.

La séparation et la purification ultime de ce composé ont été impossibles à l'état natif, aussi nous avons eu recours à l'acétylation de ce composé. En effet, après une réaction d'acétylation prolongée (24 heures d'agitation à température ambiante dans le milieu pyridine en présence d'anhydride acétique) la purification de ce composé sur plaques préparatives de gel de silice à été aisée.

Le spectre IR du composé après acétylation (spectre n°IV-2-9-2) montre en effet, la disparition des bandes larges relatives aux vibrations de valence des groupements hydroxyles et l'apparition de deux bandes intenses à 1753 et 1217cm^{-1} caractéristiques des vibrations de valences de groupements carbonyles et de groupements ether d'acétates.



Spectre n°IV-2-9-1': Spectre IR du composé $D_{10,6,3}$ (après acétylation)

Le spectre de masse à haute résolution (spectre n°IV-2-9-3), montre une masse exacte du pic moléculaire à $m/z=568,1785$ correspondant à la formule brute $C_{26}H_{32}O_{14}$ (calculée $568,1792$), soit une molécule comportant 11 insaturations.

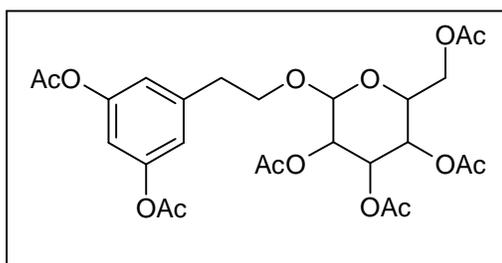
Ce spectre montre également des signaux à $m/z=526,1730$, calculée $526,1686$ pour $C_{24}H_{30}O_{13}$, relatif à un réarrangement avec perte de cétène orientant ainsi vers la présence d'un groupe acétate, la perte de cétène se poursuit grâce notamment à l'apparition des signaux à $m/z=484,1601$, calculée $484,1581$ pour $C_{22}H_{28}O_{12}$; $m/z=442,1457$, calculée $442,1475$ pour $C_{20}H_{26}O_{11}$, montrant ainsi la présence d'au moins 3 groupements acétates et informant sur la présence d'au moins 3 groupements hydroxyles dans le composé natif.

S1938 239 (10.855)

Magnet EI+
5.54e4

100

344.04

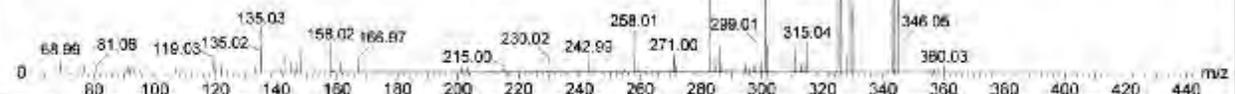


%

329.02

301.03

345.04



Spectre n°IV-2-9-2: spectre SMIE du composé D_{10,6,3}.

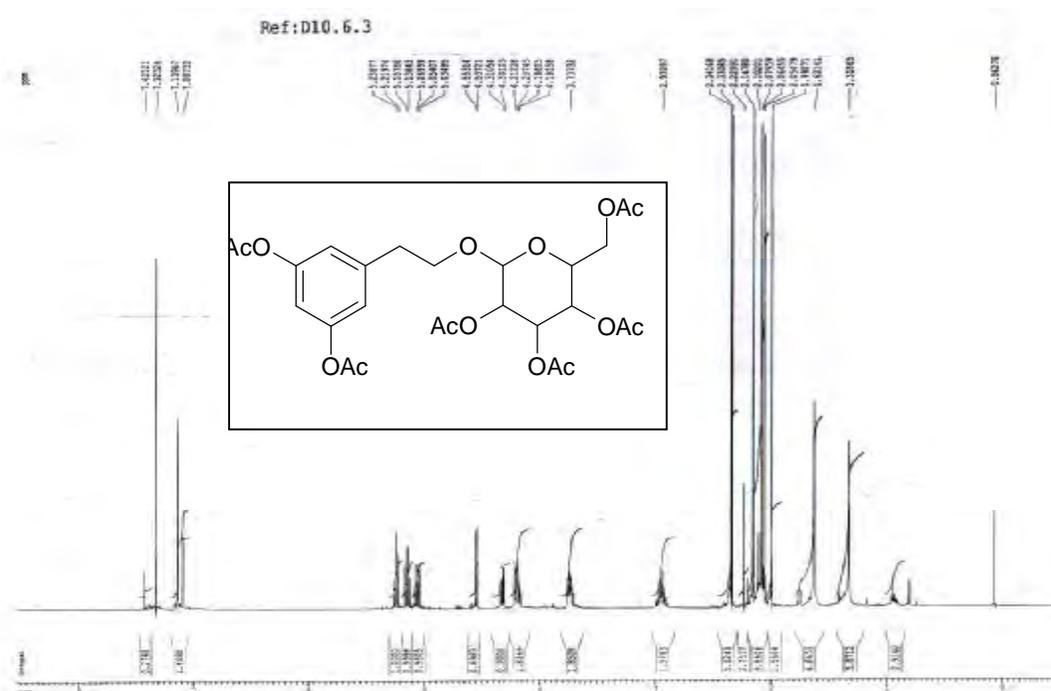
L'examen du spectre proton du composé acétylé révèle la présence de 6 groupements CH₃ caractéristiques des groupements acétates à $\delta=2,34$; 2,33 ; 2,15 ; 2,08 ; 2,05 et 1,99 ppm orientant ainsi vers la présence de 6 groupements acétates dans le composé acétylé et par conséquent 6 groupements hydroxyles dans le composé natif.

Ce spectre proton montre également:

- Un singulet large d'intégration 2H à $\delta=7,14$ ppm porté, d'après le spectre HSQC (spectre n°IV-2-9-4) par les atomes de carbone à $\delta_C=123,2$ et $\delta_C=127,2$ ppm et un singulet large d'intégration 1H à $\delta=7,09$ ppm porté l'atome de carbone à $\delta_C=123,8$ ppm. Ces noyaux sont caractéristiques de protons aromatiques en position méta.

Ce spectre montre également:

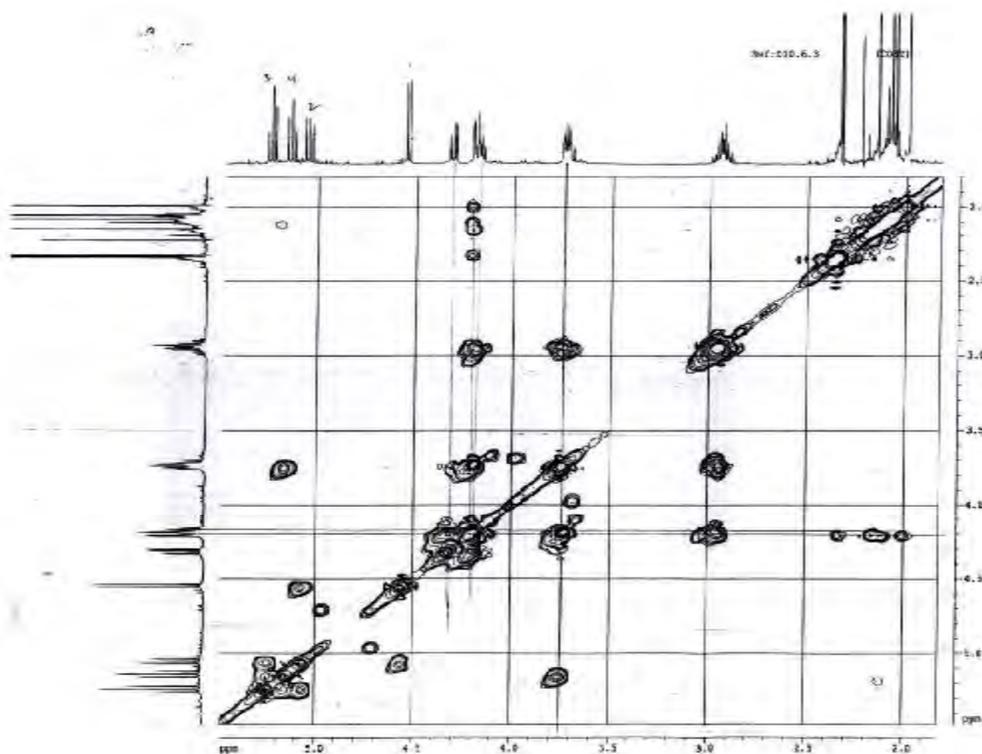
-Un doublet d'intégration 1H à $\delta=4,54$ ppm ($J=8,0$ Hz) caractéristique du proton anomérique d'un sucre. Sur le spectre HSQC ce proton corrèle avec l'atome de carbone à $\delta=100,7$ ppm indiquant une jonction O-sucre de la génine. Les signaux relatifs à ce substituant glycosyle peuvent être attribués grâce à la combinaison des études des spectres COSY ¹H-¹H et HSQC. Ainsi la corrélation observée entre le proton anomérique de ce glycosyle et le noyau résonant à $\delta=5,05$ ppm ($\delta_C=71,9$ ppm) sous forme d'un doublet de doublets ($J=9,6$; $8,0$ Hz) permet son attribution à H-2 du sucre que nous notons H-2''.



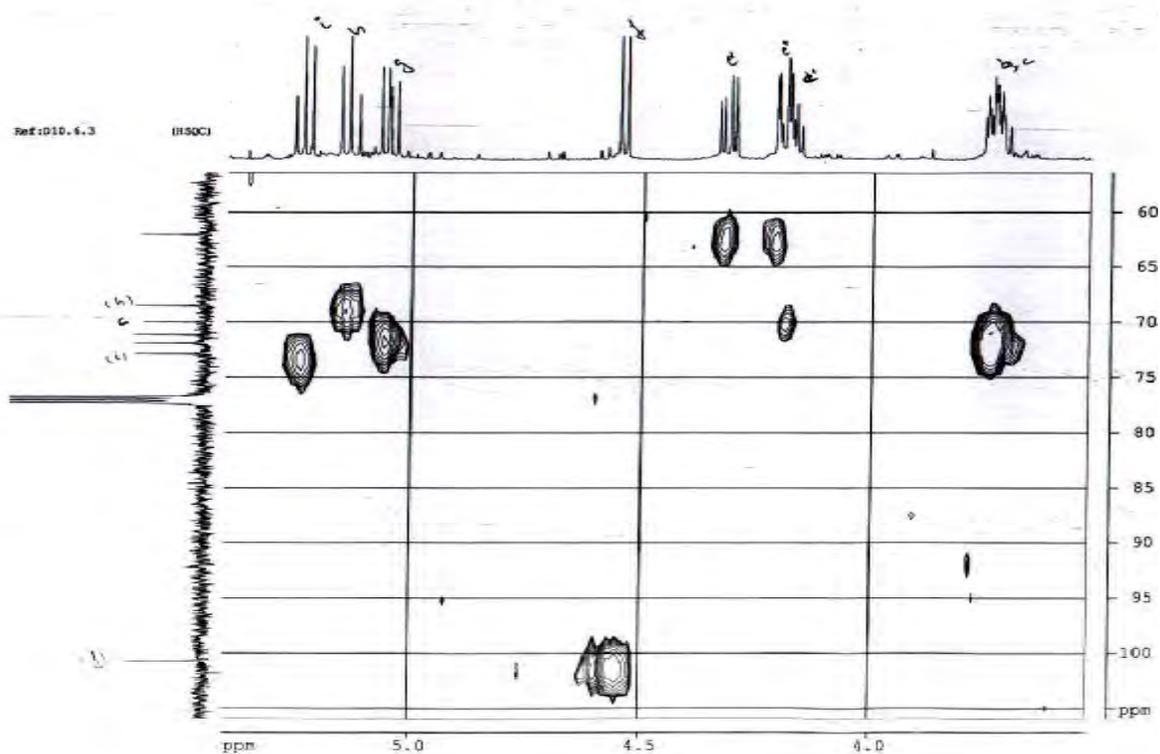
Spectre n°IV-2-9-3: spectre RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3 , δ , ppm) du composé 19

Les valeurs des constantes de couplage évaluées dans ce signal reflètent deux interactions de type axial-axial indiquant une jonction du type β du glycosyle et une orientation axiale de H-2'' excluant alors le manose et le rhamnose de cette substitution.

La localisation de H-2'' mène à l'attribution de H-3'' à $\delta=5,24$ ppm sous forme d'un triplet ($J=9,6$ Hz). La valeur de cette constante de couplage indiquant une interaction du type axial-axial signifie une orientation axiale de H-4'' excluant alors le galactosyle comme substituant et oriente par conséquent vers un glucosyle. Les signaux relatifs au groupement CH_2 apparaissant sous forme de deux doublets de doublets à $\delta=4,32$ ppm ($J=12,3$; 4,8 Hz) et à $\delta=4,20$ ppm ($J=12,3$; 2,4 Hz) sont attribuables à H-6''a et H-6''b respectivement de ce glucosyle. Ces deux noyaux ainsi que H-4'' dont la localisation (triplet à $\delta=5,14$ ppm ; $J=9,6$ Hz), a été aisée grâce à sa corrélation avec H-3'', corrélient avec le noyau dont le signal apparait sous forme d'un multiplet à $\delta=3,73$ ppm, superposé avec le signal d'un autre proton, qui ne peut être attribué qu'à H-5''.



Spectre n°IV-2-9-3: spectre COSY ^1H - ^1H (500 MHz, CDCl_3 , δ , ppm) du composé 19



Spectre n°IV-2-9-4 : Spectre HSQC (500 MHz, CDCl₃, δ (ppm) du composé **19**

La nature du sucre est également confirmée par la multiplicité du signal H-4".

Ces études spectrales révèlent également la présence de deux groupements CH₂ vicinaux formant un système ABMX à δ=2,95 et 2,93 (δ_c=35,3 ppm) ; 4,18 et 3,74 ppm (δ_c=70,0 ppm). La valeur du déplacement chimique des protons et du carbone de ce dernier groupement suggèrent son oxygénation.

L'étude du spectre relatif à l'expérience HMBC révèle une corrélation entre les protons du groupement CH₂ à δ=2,95 et 2,93 ppm et les carbones du noyau aromatique à δ_c=127,2 ppm et le carbone à δ_c=123,2 ppm signifiant d'une part que ce groupement CH₂ est directement attaché au noyau aromatique, d'autre part que les deux protons à δ=7,14 ppm sont en position ortho et ortho prime par rapport à la chaîne CH₂-CH₂-O-.

Par ailleurs ce spectre montre une corrélation nette:

Entre le proton anomérique et le carbone du groupement CH₂-O- signifiant l'enchaînement -CH₂-CH₂-O- glucosyle dans cette structure.

Ainsi en tenant compte de la multiplicité des signaux des protons du noyau aromatique, il est parfaitement envisageable de placer le troisième H du noyau aromatique en position para par rapport à la chaîne.

L'ensemble de ces données mène à la structure du composé natif reportée dans le schéma IV-2-9-1.

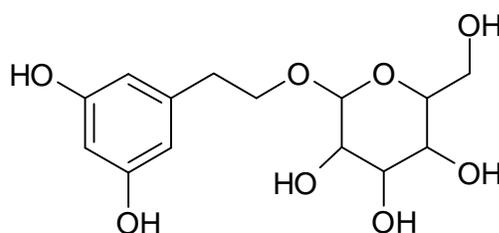


Schéma IV-2-9-1:2-(3,5-dihydroxyphényl)-1-*O*-β-glucopyranosyléthane.

Ce produit est nouveau en tant que produit naturel, il est connu uniquement en des procédures synthétiques [22].

Ce composé et ses dérivés similaires sont utilisée comme substance médicinale antioxydante [1].

Les données spectroscopiques relatives au composé acétylé sont reportées dans la tableau IV-2-9-1.

Tableau IV-2-9-1 : Données spectroscopiques relatives au composé **19** acétylé.

Position	H δ (ppm) <i>J</i> (Hz)	C δ (ppm)
1	4,18 m 3,74 m	70,0
2	2,95 m 2,93 m	35,3
1'	4,54 d (8,0)	137,4
2'	7,14 s l	123,2*
3'		141,5**
4'	7,09 s l	123,8
5'		141,5**
6'	7,14 s l	127,2*
1''	4,54 d (8,0)	100,7
2''	5,05 dd (9,6 ; 8,0)	71,2
3''	5,24 t (9,6)	72,9
4''	5,14 t (9,6)	68,5
5''	3,73 m	71,9
6''	4,32 dd (12,3 ; 4,8) 4,20 dd (12,3 ; 2,4)	62,0

*Ces noyaux peuvent être échangés

**Valeurs déduites du spectre HMBC

Ainsi, nos travaux sur *Ranunculus cortusifolius* (Ranunculaceae), une espèce qui n'a jamais fait l'objet d'études phytochimiques auparavant, ont permis la détermination structurale de neuf composés dont 7 à l'état natif et deux acétylés. Parmi ces composés, deux sont nouveaux en tant que substances naturelles. Il faut signaler, que les structures des produits purifiés et non actuellement déterminées sont en cours d'établissement.

Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons reporté, les établissements de structures de 19 produits dont 10 isolés de *Achillea ligustica*, parmi lesquels une lactone sesquiterpénique nouvelle, ces résultats ont fait l'objet d'une publication internationale. Les 9 autres produits ont été isolés de *Ranunculus cortusifolius*, ces résultats feront l'objet d'une publication, actuellement en cours de rédaction.

Au cours de ces travaux d'établissement de structure, nous avons eu recours aux techniques spectroscopiques les plus sophistiquées, notamment les expériences de RMN multi impulsionsnelle et bidimensionnelle et les modes d'ionisation douce de la spectrométrie de masse à haute et basse résolution.

Références bibliographiques:

- [1] Patel, B.A., Kaol, L.C., Cortese, N.A., Minkiewicz, J.V., Heck, R.F., 1979. *J.org.Chem.* 44, 918
- [2] Filippi, J.J., Lanfranchi, D.A., Prado, S., Baldovini, N., Meierhenrich, U.J., 2006. *J.Agric.Food chem.* 54, 6308.
- [3] Filippi, J.J., Lanfranchi, D.A., Prado, S., Baldovini, N., Meierhenrich, U.J., 2006. *J.Agric.Food chem.* 54, 6308., Tsanjova, E., Ognyanov, I., 1985. *Planta Med.* 2, 180.
- [4] Ahmed, A.A., Hussein, N.S., Saller, M., Malbry, T.J., 1995. *Revista Latino Americana de quimica* 23, 76.
- [5] Ahmed, Ahmed A., Hussein, Nadias; Saller, Mark; Mabry, Tom J. Faculty science, El-Minia university, El-Minia, EGYPT. *Revista Latino Americana de quimica* (1995), volume date 1994, 23(2), 76-77.
- [6] Ferheen, S., Ahmed, E., Afza, N., Malik, A., 2005. *Journal of the chemical Society of Pakistan* 27, 219.
- [7] Ness, D.W., Norton, R.A., Benson, M., 1992. *phytochemistry* 31, 805.
- [8] Torrance, S.J., Steelink, C., 1974. *J.org.chem.* 39, 1068.
- [9] Williams, C.A., Harbone, J.B., Geiger, H., Hoult, J.R.S., 1999. *phytochemistry* 5, 417.
- Long, C., Sauleau, P., David, B., Lavaud, C., Cassaboïs, V., Ausseil, F., Massiot, G., 2003. *phytochemistry* 64, 567.
- [10] Ferraboschi, Patrizia; Grisenti, Paride; Manzocchi, Ada; Santaniello, Enzo, Dipartimento chimica Biochimica Medica, Univ. degli studi di Milano, Milano, Italy. *Tetrahedron* (1994), 50(35), 10539-48.

[11] Ferraboschi, Patrizia; Grisenti, Paride; Manzocchi, Ada; Santaniello, Enzo.

Dipartimento chimica Biochimica Medica, Univ. degli studi di Milano, Milano, Italy. *Tetrahedron* (1994), 50(35), 10539-48.

[12] Sultana, Nasim; Amstrong, James A.; Waterman, Peter G. *phytochemistry Research laboratories, department of pharmaceutical sciences, university of Strahclyde, Glasgow, UK. Phytochemistry* (1999), 52(5), 895-900.

[13] Mahran, G.H., Saber, A.H., el-Alfy, T., 1968 *planta Med.* 16, 323.

[14] Kern, J.R., Cardellina, J.H., 1983. *J. Ethnopharmacol* 8, 121.

[15] Pei-Wen Hsieh; Fang-Rong chang, Hsin-Fu yen, yang-chang wu, *Biochemical systematic and Ecology* 31(2003)541-543.

[16] Ness, D. W., Norton, R. A., Benson, M., (1992), *phytochemistry*, 31, pp805-811.

[17] Imbs, A. B.; Nevshupova, N. V.; Pham, L. Q. *inst. Marine Biol., Far East Branch Russ. Acad sci, Vladivostok, Russia. Journal of the American oil chemists society* (1998), 75(7), 865-870.

[18] Mallavadhani, Uppuluri V.; Sudhakar, Akella V. S., Sat yana rayana, K. V. S., Moha patra, Anita; Li, Wenkui; Van Bree men, Richard B. *Regional Research laboratory (CSIR), center of Herbal Drugs; Orissa, India. Food chemistry* (2005), 95(1), 58-64.

[19] Takei, Toshiyuki; yoshida, Mitsuru; ohnichi Kame yama, Mayumi; Kobri, Masuko. *Fukushima Prefectural Forestry Research center, Fukushima, Japan. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* (2005), 69(1), 212-215.

[20] Ho, Pak-Tsun; Davies, Nancy. *Guelph-Waterloo cent. Grad. Work chem., univ. Waterloo, on, can. Synthesis* (1983), (6), 462.

[21] Marson, Charles M; randall, Linda, Winter, Mark J. *Departement of chemistry, the university, Sheffield, UK. Tetrahedron letters* (1994), 35(36), 6717-20.

[22] Shi, Lifu; Cai; Zhen; Yad, Bin. *The second Military Medical University of PLA, Peop. Rep. China) . Faming Zhuanli shenging Gongkai Shuomingshu* (2004), 10pp.

CONCLUSION

GENERALE

L'homme a, de tout temps, utilise ou tenté d'utiliser pour se soigner les produits à sa disposition dans la nature. L'intérêt des produits naturels comme principes actifs ou sources d'inspiration pour la conception de nouveaux médicaments découle de leur rôle de médiateurs de communication chimique dans le vivant. Si les antibiotiques constituent à ce point de vue des exemples immédiats, de nombreux métabolites secondaires naturels se montrent dignes d'intérêt.

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés aux différents métabolites secondaires issus de deux plantes différentes. L'une appartenant à la famille des composées du genre *Achillea* l'autre à la famille des renonculacées du genre *Ranunculus*

Après extraction alcoolique des parties aériennes des deux plantes, nous avons soumis l'extrait brut obtenu aux différentes méthodes chromatographiques qui ont permis l'obtention des 10 produits à partir de *Achillea ligustica* All. et 12 produits à partir de *Ranunculus cortusifolus*

Pour l'établissement des structures des composés isolés, nous avons fait appel aux différentes techniques physico-chimiques notamment:

La spectroscopie RMN¹H, la RMN¹³C et leurs séquences bidimensionnelles, ainsi que la spectrométrie de masse à haute résolution au mode I.E et FAB et par diffraction de RX

Ainsi, l'étude phytochimique de l'extrait brut menée sur *Achillea ligustica* à permis l'isolement de 10 produits qui sont :

*(E)-ethyl-3, 7-dimethyl-3, 6-octadiénoate

*4a (2H) – Naphtalénol, 1,2,3,5,6,8a hexahydro-7-méthyl-4-méthylène-1-(1-méthylethyl), (1 α ,4 α ,8 α)

*10-Oxo-isodauc-3-ène-15al

*Bornéole

*Tridecan-1-ol

* β -sitostérol

*Filifolide A

*5, 7dihydroxy 4',6,3- triméthoxyl flavone

* *Une lactone sesquiterpénique nouvelle à qui nous avons donné le nom Algerianolide

*4'- α -diméthoxyacétophénone

L'étude phytochimique de l'extrait de *Ranunculus Cortusifolius*, à permis l'isolement et la détermination structurales de 12 produits à l'état natif et 2 après acétylation:

Les 12 produits à l'état natif

*Glycéryl-1-tétracosanoate

*3-Oxo- α -ionone

*Anémone

*1,2-dilinéoloyl-3-linolénol-glycérol

* β -sitostérol

*7-dihydroérgostérol

*22-dihydropéroxyl d'ergostérol

* (S) (+) γ -hydroxyméthyl- γ -butyrolactone

*2-(3, 5-dihydroxyphényl)-1-O- β -glucopyranosylethane

NB : Les produits restants sont en cours de détermination de structure

Les 2 après acétylation:

(S) (+) γ -hydroxyméthyl- γ -butyrolactone acétate

2-(3',5'-dihydroxyphényl) -1-O - β - glucopyranosylethane acétate

Les résultats obtenus montrent que l'espèce *Achillea Ligustica* est riche en composés terpéniques

Ces métabolites soulignent des propriétés biologiques remarquables qui sont signalées dans des travaux scientifiques publiés dans la littérature.

Ce travail apporte une nouveauté à ce genre qui réside dans le fait que c'est la première fois qu'une lactone sesquiterpénique portant un atome de chlore en C-2 est isolé de ce genre

Il est important de signaler que ces deux acétylés et leurs correspondants hydroxylés sont nouveaux autant que produits naturels.

Résumé:

En Afrique et par tout dans le monde, les médicaments traditionnels à base de plantes sont utilisés pour traiter les maladies chroniques et aiguës, dans les zones rurales et urbaines. L'intérêt pour les thérapeutiques traditionnelles n'est pas nouveau, mais il s'est accru ces dernières années du fait des progrès introduits notamment grâce aux nouvelles stratégies incluant des disciplines nouvelles telles que : l'ethnopharmacologie les criblages biologiques robotisés et l'accès aux bases de données bibliographique, et du renouveau d'intérêt pour les ressources renouvelables et pour la médecine traditionnelle.

Dans ce travail, notre intérêt s'est porté sur l'isolement de métabolites secondaires à la recherche de nouvelles molécules susceptibles d'être bio actives.

En ce qui concerne le choix des espèces à étudiés, notre critère principal a été l'endémisme et le fait que l'Algérie soit une des régions les plus stratégiques et les plus privilégiées en matière de flore et de connaissance de la médecine traditionnelle. De ce fait nous avons sélectionné deux espèces :

- *Achillea ligustica*, espèce très utilisée dans nos régions montagneuses sur les blessures les plaies ouvertes et les douleurs gastriques et

- *Ranunculus cortusifolius*, une espèce endémique des îles Canaries, Madères et Açores est utilisée dans la médecine traditionnelle de ces régions

Après extraction des parties aériennes de ces deux espèces suivie d'une séparation et purification, ce travail a mené à l'obtention à l'état pur de 22 composés dont 19 ont été identifiés par la combinaison des données spectroscopiques notamment: la RMN¹H, la RMN¹³C et les séquences bidimensionnelles (COSY(¹H-¹H), HSQC, HMBC et ROESY), par diffraction de RX ainsi que la spectrométrie de masse HRIE⁺ et HRFAB⁺, ces composés sont :

*.(E)-ethyl-3, 7-dimethyl-3, 6-octadiénoate

*4a (2H) – Naphtalénol, 1,2,3,5,6,8a hexahydro-7-méthyl-4-méthylène-1-(1-méthylethyl), (1 α ,4 $\alpha\alpha$,8 $\alpha\alpha$)

- *10-Oxo-isodauc-3-ène-15al *Bornéole *Tridecan-1-ol
- * β -sitostérol *Filifolide A *5, 7dihydroxy 4',6,3- trimethoxyl flavone
- *Une lactone sesquiterpénique nouvelle à qui nous avons donné le nom Algerianolide.
- *4'- α -diméthoxyacétophénone
- *Glycéryl-1-tétracosanoate *3-Oxo- α -ionone *Anémonine
- *1,2-dilinoléoyl-3-linolénol-glycérol * β -sitostérol *7-dihydroérgostérol
- *22-dihydropéroxyl d'ergostérol *(S) (+) γ -hydroxymethyl- γ -butyrolactone
- *2-(3, 5-dihydroxyphényl)-1-O- β -glucopyranosylethane

Ce travail à fait l'objet d'une publication dans le journal Biochemical systemtics and Ecology.

Ceux concernant *Ranunculus cortusifolius* sont en cours de publication .

Summary:

In Africa and all over the world, traditional medicines made from plants are used to treat acute and chronic diseases, in rural and urban areas. Interest in traditional therapy is not new, but it has increased in recent years as a result of advances introduced particularly thanks to new strategies including dislines news such as the ethonopharmacologie the screenings and biological robotic access the bibliographic databases, and the renewed interest in renewable resources and traditional medicine.

In this work, our interest was focused on the isolation of secondary metabolites in the search for new molecules which can be organic active.

Regarding the choice of species studied, our primary endpoint was endemism and the fact that Algeria is one of the most strategic and most privileged in terms of flora and knowledge of traditional medicine. So we selected two species:

- *Achilléa ligustica*, a species widely used in our mountainous regions on the wounds open wounds and stomach pains and
- *Ranunculus cortusifolius*, an endemic species in the Canary Islands, Maderes and the Azores is used in traditional medicine in these regions

After extraction of parts of these two species followed by separation and purification, this work led to the acquisition in its purest form of 22 compounds which 19 were identified by a combination of spectroscopic data including: RMN1H, RMN13C and sequences two-dimensional (COZY (1H-1H), HSQC, and HMBC ROESY), RX diffraction and mass spectrometry HRIE + and HRFAB +, these compounds are:

- * (E) -ethyl-3, 7-dimethyl-3, 6-octadiènoate
- * 4 a (2H)-Naphtalénol,1,2,3,5,6,8a hexahydro-7-methyl-4-méthylène-1-(1-méthylethyl) (1 α , 4a

$\alpha,8\alpha$)

- * 10-Oxo-isodauc-3-ène-15al * Bornéole * Tridecan-1-ol
- * β -sitostérol * Filifolide A * 5, 7dihydroxy 4', 6,3-triméthoxyl flavone
- * A lactone sesquiterpénique news to which we have given the name Algerianolide.
- * 4'- α - diméthoxyacétophénone

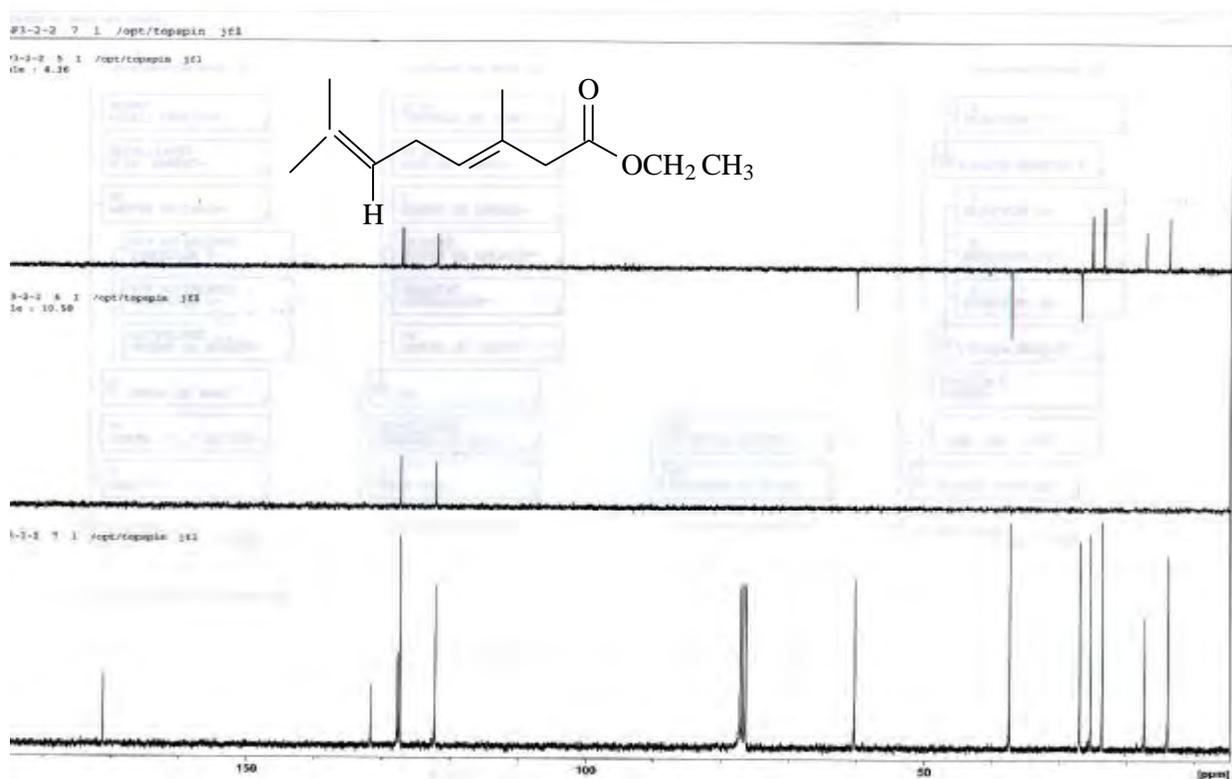
- * Glycéryl-1-tétracosanoate * 3-Oxo- α - ionone * Anémonine
- * 1.2-dilinoléoyl-3-linolénol-glycérol * β -sitostérol * 7-dihydroérgostérol
- * 22-dihydropéroxyl of ergosterol * (S) (+) γ - hydroxyméthyl- γ - butyrolactone
- * 2 - (3, 5-dihydroxyphényl) -1-O- β -glucopyranosylethane

This work is the subject of a publication in the journal Biochemical systematics and Ecology. Those on *Ranunculus cortusifolius* be displayed soon.

IV-1-1: Elucidation structurale du composé A₅f_{3, 2,2} : 1

Le spectre RMN ¹³C (spectre n° IV-1-1-1) et les séquences DEPT 135 et 90 montre 12 atomes de carbone dont 3 atomes de carbone quaternaires (hybridés sp²) parmi lequel 1C=O à δ=171,3 ppm caractéristique d'un éster

- *1 carbone quaternaire éthylénique à δ= 131,7 ppm
- *1 carbone quaternaire à δ= 127,7 ppm
- *1 CH éthylénique à δ= 127,4 ppm
- *1 CH éthylénique à δ= 122,2 ppm
- *1 CH₂ oxygéné δ=60,3 ppm
- *1 CH₂ à δ=37,3 ppm
- *1 CH₃ à δ= 27,0 ppm
- *1 CH₃. à δ=25,4 ppm
- *1 CH₃ à δ= 23,7 ppm



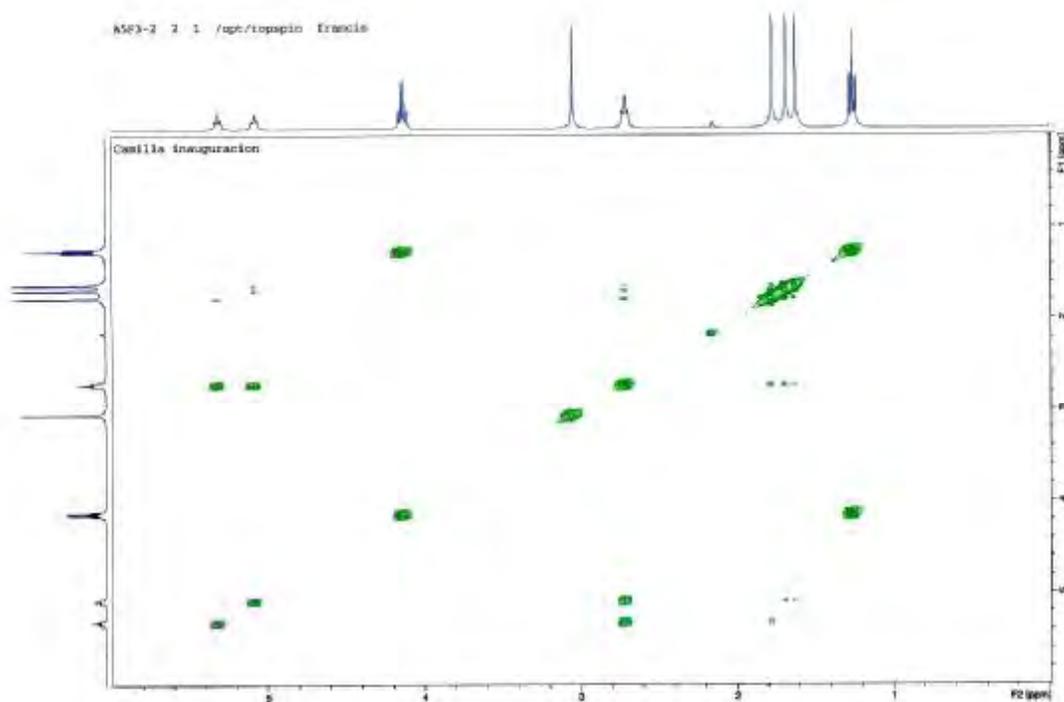
Spectre IV-1.1: Spectre RMNC13 (70MHz, CDCl₃; δ_{ppm}) du composé 1

La combinaison de l'ensemble de ces observations mène à la formule brute $C_{12}H_{20}O_2$. Vu que cette molécule doit contenir une fonction et uniquement un autre carbone oxygéné. Cette molécule doit en conséquence comporter 3 insaturations. D'après les données du spectres RMN ^{13}C , il apparaît clairement que les trois insaturations sont engagées à savoir: le carbonyle de l'ester et deux doubles liaisons. Par conséquent, il s'agit d'une molécule linéaire.

La combinaison des données des spectres COSY 1H - 1H (spectre n° IV-1-1-1), RMN 1H (spectre n°IV-1-1-2) et HSQC (spectre n° IV-1-1-3) montrent que les deux CH éthyléniques ne couplent pas entre eux, ce qui suppose que les deux doubles liaisons sont délimitées par un groupement CH et un carbone quaternaire.

Par ailleurs, les protons du groupement CH_2 oxygénés résonent sous forme d'un quadruplet ($\delta H=4,07ppm$; $J= 7,1Hz$) ce qui suppose sa jonction à un groupement CH_3 .

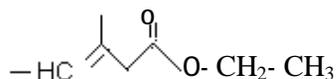
En effet, le triplet à $\delta = 1,96ppm$ ($J =7,1 Hz$) confirme cette hypothèse et oriente vers un ester éthylénique.



Spectre n° IV-1-1-1: Spectres COSY 1H - 1H du composé 1

Sur le spectre HMBC (spectre n° IV-1-1-4) Le carbone du carbonyle corrèle avec les protons du CH₂

Résonant sous forme d'un singulet à $\delta = 2,99$ ppm ($\delta_c = 37,4$ ppm) prévoyant leur jonction, les protons de ce groupement CH₂, ainsi que les protons du méthyle résonant sous forme d'un singulet à $\delta = 1,71$ ppm ($\delta_c = 23,7$ ppm) corrélient avec le CH et le carbone quaternaire éthylénique à $\delta = 127,4$ ppm ($\delta_H = 5,26$ ppm ; $J = 7,0$ Hz) et $127,7$ ppm permettant l'enchaînement

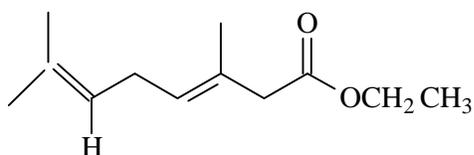


Le proton de ce groupement CH éthylénique ainsi que le proton de l'autre CH éthylénique ($\delta_c = 122,2$ ppm), ($\delta_H = 5,02$ ppm, t ; $J = 7,0$ Hz) corrélient avec le carbone du groupement CH₂ à

$\delta_c = 27,0$ ppm, ($\delta_H = 2,65$ ppm, t ; $J = 7,0$ Hz).

Signalons que ce groupement CH₂ est placé entre les deux doubles liaisons. En conséquence les deux groupements méthyles restants résonant sous forme de singulet à $\delta_H = 1,56$ ppm ($\delta_c = 17,4$ ppm) et

$\delta_H = 1,62$ ppm ($\delta_c = 25,4$ ppm) peuvent être placés sur le carbone quaternaire éthylénique à $\delta_c = 131,7$ ppm, ceci est en accord avec les corrélations observées sur le spectre HMBC entre les protons de ces deux méthyles et ce carbone ce qui mènent à la structure :



Ces données sont conformes à celles de la littérature [1].

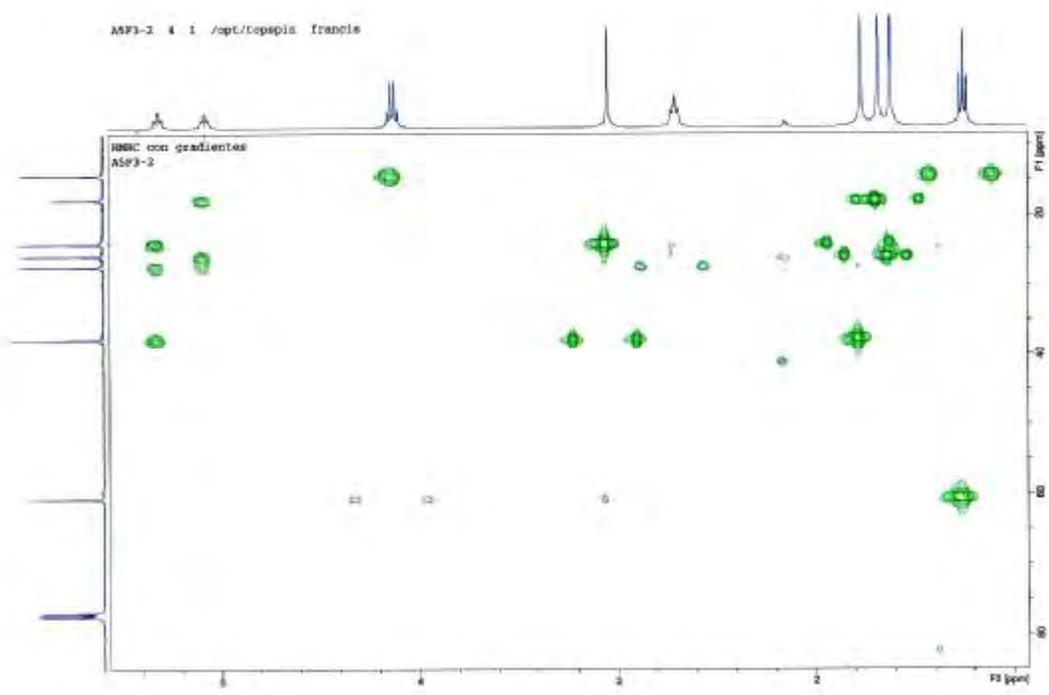
Les données spectrales de ce composé sont données dans les tableaux IV 1-1-a et IV-1-1-b.

Tableau IV 1-1-a : Résultats de la RMN¹H du composé A5 f_{3,2,2}.

Déplacement chimique	Intégration	Multiplicité J (Hz)	Attribution
5,31	1H	t (7,1)	H- 4
5,07	1H	t (7,1)	H-6
4,14	2H	q (7,08)	O- CH ₂ - CH ₃
3,04	2H	s	H-2
2,71	2H	t (7,1)	H-5
1,76	3H	s	CH ₃ -3
1,67	3H	s	CH ₃ - 7
1,61	3H	s	CH ₃ - 7
1,25	3H	t (7, 1)	O- CH ₂ - CH ₃

Tableau IV-1-1-b: Résultats RMN¹³C du composé As f3, 2,2.

Carbone	δ (ppm)	DEPT 90	DEPT 135
1	171,3	-	C
7	131,7	-	c
3	127,7	-	C
4	127,4	CH	CH
6	122,2	CH	CH
O- (CH ₂)- CH ₃	60,3	-	CH ₂
2	37,4	-	CH ₂
5	27,0	-	CH ₂
CH ₃ -7	25,4	-	CH ₃
CH ₃ -3	23,7	-	CH ₃
CH ₃ -7	17,4	-	CH ₃
O- CH ₂ - (CH ₃)	13,9	-	CH ₃



Spectre n° IV-1-1-4: Spectre HMBC du composé 1

IV-1-2:Elucidation structurale du composé B₃₀:2

Les spectres RMN¹³C et DEPT 135 (spectre n°IV-1-2-1) de ce composé montrent la présence de 15 atomes de carbones, ces données combinées à celles des spectres RMN¹H (spectre n°IV-1-2-2), de l'expérience HSQC (spectre n°IV-1-2-3) et de l'expérience HMBC (spectre n°IV-1-2-4) permettent la répartition suivante:

-Deux carbones éthyléniques quaternaires à $\delta = 154,3$ ppm et $\delta = 133,7$ ppm.

-Un CH éthylénique à $\delta = 121,8$ ppm.

-Un CH₂ éthylénique à $\delta = 105,9$ ppm dont la valeur du déplacement chimique indique qu'il s'agit de la double liaison exocyclique.

Dans la zone des carbones hybridés sp³ on dénombre:

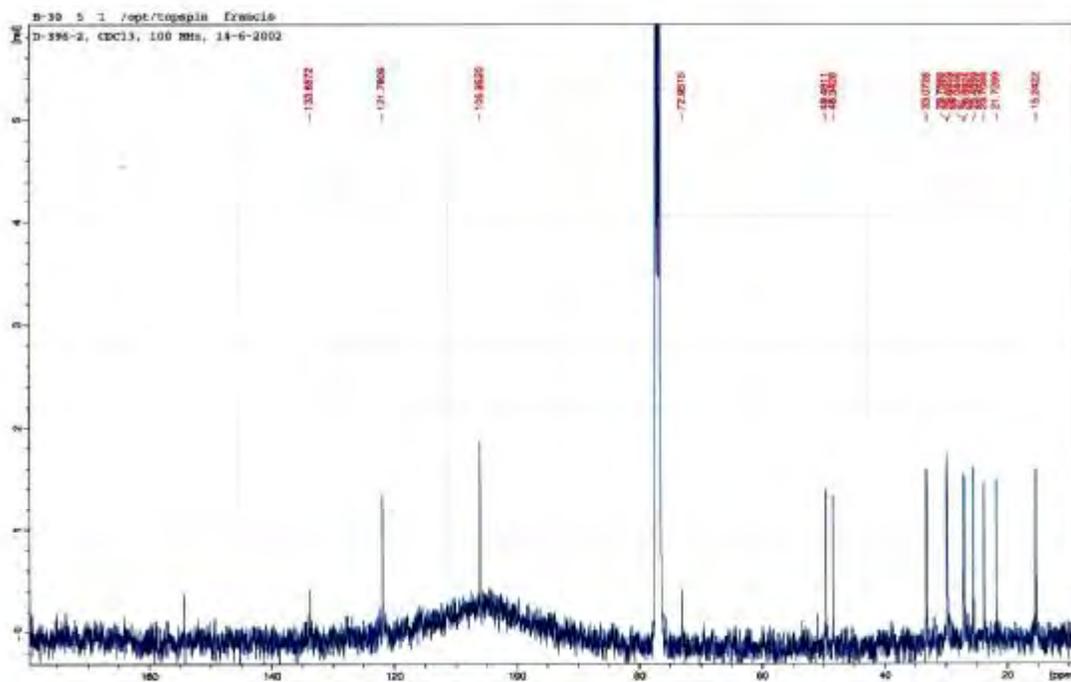
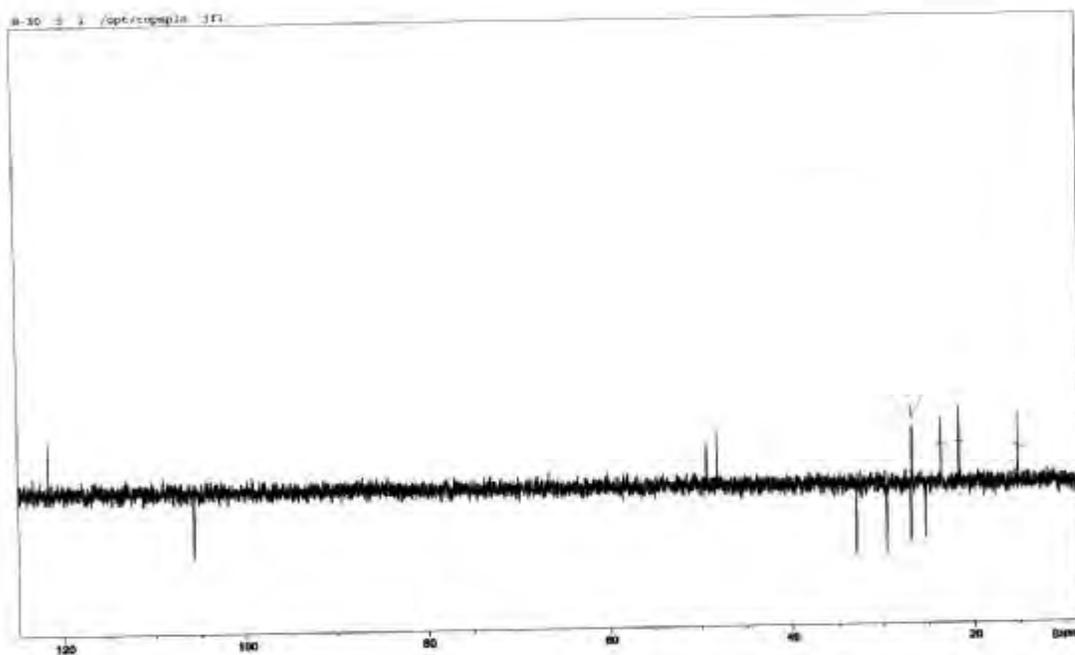
-Un carbone quaternaire oxygéné à $\delta = 73,0$ ppm.

-Trois CH à $\delta = 49,5$; $48,3$ ppm et $26,9$ ppm.

-Quatre CH₂ à $\delta = 33,1$ ppm ; $29,8$ ppm ; $27,0$ ppm et $25,5$ ppm.

-Trois CH₃ à $\delta = 23,7$; $21,7$ et $15,2$ ppm

Un décompte de l'ensemble de ces noyaux mène à la formule brute partielle C₁₅ H₂₃ O.



Spectres n°IV-1-2-1 : Spectres RMN¹³C et DEPT 135 du composé 2

Dans cette structure, il n'y a qu'un seul atome de carbone oxygéné, vu la valeur de son déplacement chimique il ne peut être qu'hydroxylé, ce qui mène à la formule brute finale: $C_{15}H_{24}O$ soit

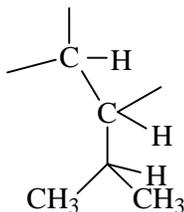
une molécule à 4 insaturations.

Jusqu'à présent le nombre d'insaturations engagées est de 2 à savoir deux doubles liaisons dont une exocyclique. Cette observation mène au fait que cette molécule renferme un bicyclic.

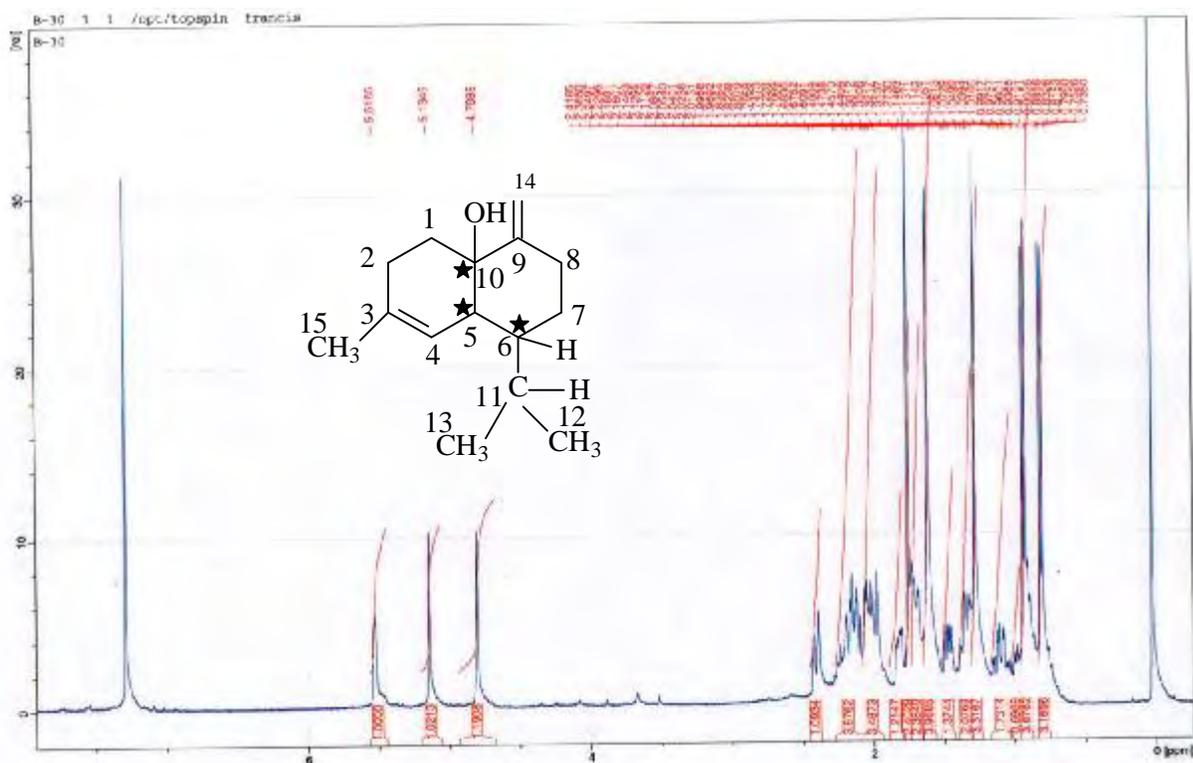
Sur le spectre COSY 1H - H^1 (spectre n°IV-1-2-5), il apparaît clairement que les protons des deux méthyles résonant sous forme de doublet chacun à $\delta = 0,78$ ppm, ($J = 6,9$ Hz) $\delta_C = 15,2$ ppm et $\delta = 0,90$ ppm ($J = 7,0$ Hz), $\delta_C = 21,7$ ppm; corrélient avec le proton apparaissant sous forme d'un multiplet à $\delta = 1,98$ ppm ($\delta_C = 26,9$ ppm) formant ainsi un groupement isopropyle.

Sur le même spectre, ce dernier proton montre une corrélation avec le proton apparaissant sous forme d'un multiplet à $\delta = 1,29$ ppm ($\delta_C = 49,5$ ppm) ceci est confirmé par le spectre HMBC qui montre en effet des corrélations nettes entre l'atome de carbone de ce groupement et les protons des deux méthyles de l'isopropyle.

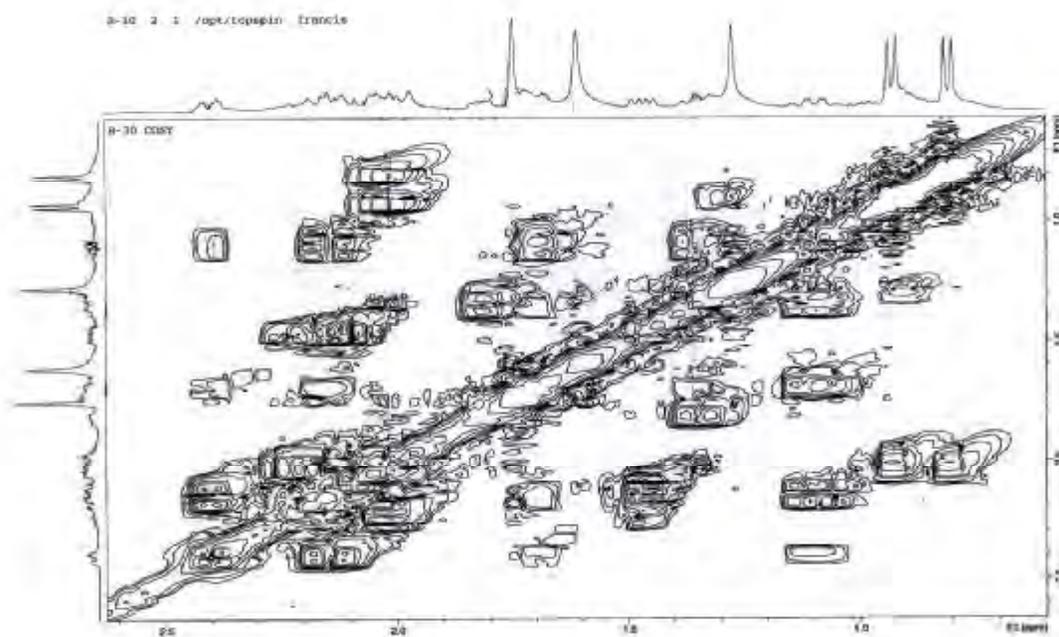
Par ailleurs, et toujours sur le même spectre ce dernier proton ($\delta_H = 1,29$ ppm) montre une corrélation avec le proton apparaissant sous forme de doublet ($J = 8,3$ Hz; $3,5$ Hz) à $\delta = 1,81$ ppm ($\delta_C = 48,3$ ppm), menant ainsi à l'enchaînement:



Toujours sur le spectre COSY 1H - H^1 ce dernier proton ($\delta = 1,81$ ppm) montre une corrélation avec le proton éthylénique lequel montre une corrélation à longue distance avec les protons du méthyle à $\delta = 1,72$ ppm ($\delta_C = 23,7$ ppm), prévoyant ainsi la position de ce groupement méthyle sur le carbone quaternaire éthylénique à ($\delta_C = 133,7$ ppm). Cette dernière donnée est confirmée du spectre HMBC qui montre des corrélations nettes entre le carbone du CH éthylénique ($\delta_C = 121,8$ ppm) et le carbone quaternaire éthylénique ($\delta_C = 133,7$ ppm) et les protons du groupement méthyle.



Spectre n°IV-1-2-2: Spectre RMN¹H (400MHz, CDCl₃, δ ppm) du composé 2



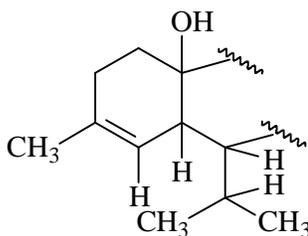
Spectre n°IV-1-2-5 : Spectre COSY¹H-¹H (400MHz, CDCl₃; δ ppm) du composé 2

Par ailleurs le spectre HMBC montre des corrélations entre ce proton à δ=1,81 ppm et le carbone quaternaire oxygéné à δ=73,0 ppm. Cette observation suppose une jonction entre ces deux noyaux qui ne peuvent être que les deux têtes de pont du bicyclic.

Un réexamen du spectre HMBC et particulièrement les carbones formant la double liaison intracyclique permettent d'observer une corrélation entre ces deux atomes de carbones et les protons du groupement CH₂ résonnant sous forme de multiplets recouvert par d'autres signaux à δ=2,11 ppm et δ=2,00 ppm (δ_C=27,0 ppm) signifiant le voisinage de ce groupement et du carbone quaternaire éthylénique porteur du méthyle.

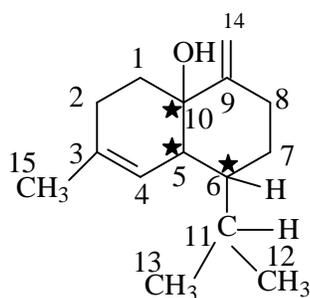
Par ailleurs, le carbone quaternaire de cette double liaison montre clairement en plus de ces corrélations, une corrélation avec les protons du groupement CH₂ résonnant sous forme de multiplets à δ= 1,96 ppm et δ=1,44 ppm (δ_C=29,8 ppm) signifiant la jonction de ces deux groupements CH₂. Les protons de ce dernier groupement CH₂ montrent des corrélations nettes avec le carbone quaternaire oxygéné notamment Hydroxylé vu la présence d'un hydroxyle dans cette molécule, signifiant la fermeture du premier cycle du bicyclic

:



Toujours sur le spectre HMBC, le carbone quaternaire hydroxylé, montre des corrélations avec les protons de la double liaison exocyclique permettant de la placer sur le carbone en α du groupement OH. Il ne reste plus à placer que deux groupements CH₂ restants. Comme on s'attend à un autre cycle, il suffit de les placer entre le carbone quaternaire de la double liaison exocyclique et le carbone porteur du groupement isopropyle. Ceci est vérifié par les corrélations observées entre le carbone du groupement CH₂ à δ_C=33,1 ppm (δ_H=2,40 ppm, dt $J=13,6; 3,2$ et δ_H=2,00 ppm, m) et les deux protons de la double liaison exocyclique, et les corrélations observées sur le spectre COSY¹H-¹H entre les protons de ce groupement CH₂ et ceux du groupement CH₂ résonnant l'un sous forme d'un multiplet à δ=1,67 ppm et l'autre sous forme d'un

quadruplet de doublets à δ=1,07 ppm ($J=12,8\text{Hz}; 3,8\text{Hz}$), δ_C=25,5 ppm. L'ensemble de ces données

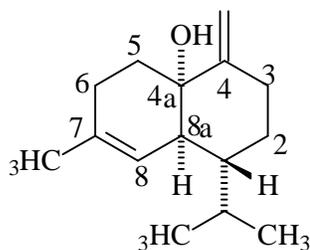


mène à la formule plane reportée sur le schéma IV-1-2-1

Schéma IV-1-2-1

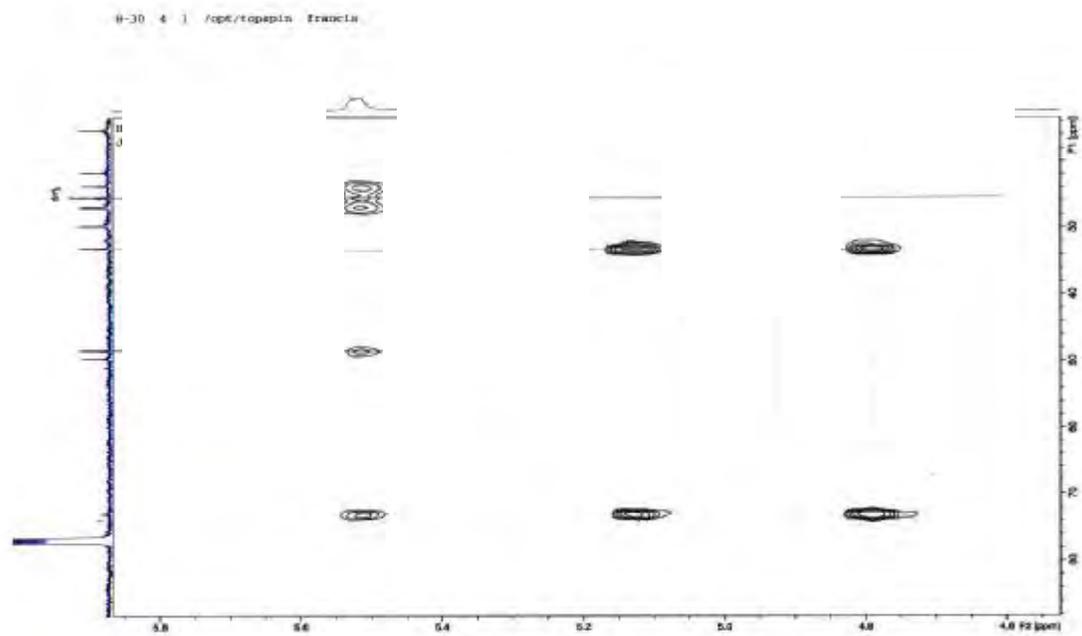
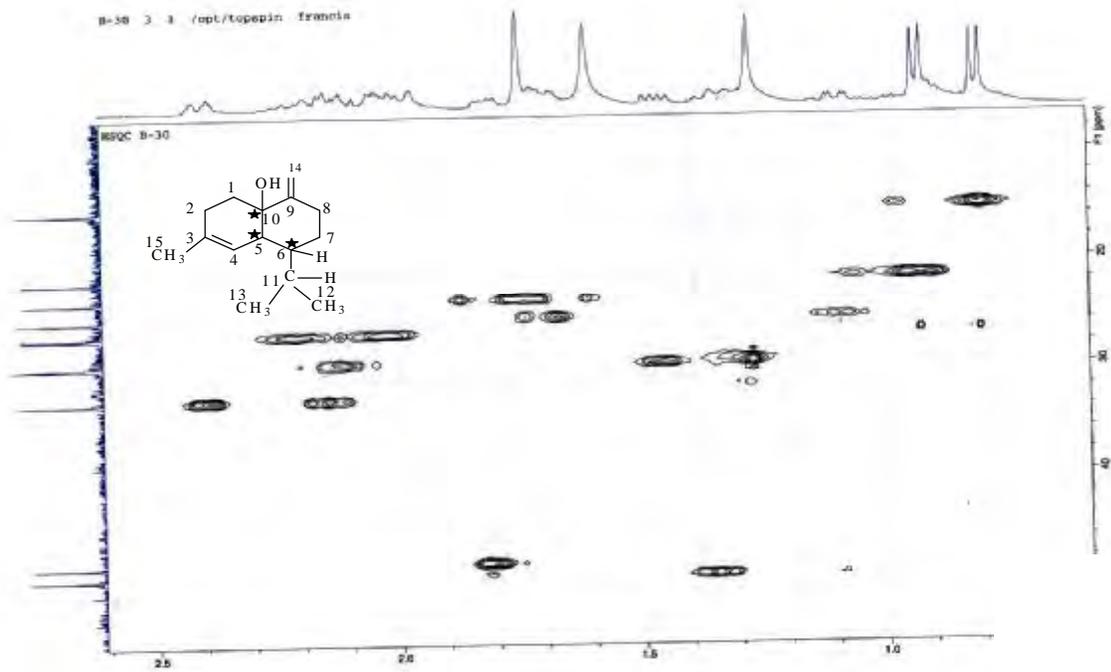
La stéréochimie de C-1 peut être déduite de la valeur de la constante de couplage (13,6 Hz) relevée dans le signal de H-2 axial. Cette valeur signifie une interaction du type axiale-axiale entre H-2 et H-1 d'où une orientation axiale ou β de H-1.

Cette orientation β est appuyée par la valeur de la constante de couplage (8,3 Hz) entre ce proton et le proton H-8a, qui en conséquence doit avoir une orientation α .



Ces données sont en parfaite conformité avec celle du composé:

4a(2H)-Naphthaléno[1,1,2,3,5,6,8a]-hexahydro-7-méthyl-4-méthylène-1-(1-méthyléthyl)-(1 α ,4 $\alpha\alpha$,8 $\alpha\alpha$) dans lequel le groupement OH admet une orientation α [2].



Spectre n°IV-1-2-4-b : Spectre HMBC du composé 2

IV-1-3 : Elucidation structurale du composé E_{33,2,1} : 3

Le spectre de masse sous impact électronique et à haute résolution (spectre n° IV-1-3-1) montre un pic moléculaire de masse exacte 234,1629 (33.72%) correspondant à une formule brute C₁₅ H₂₂ O₂ (calculée 234.1620) soit une molécule à 5 insaturations.

La combinaison des données des spectres RMN ¹³C (spectre n° IV-1-3-2) RMN ¹H (spectre n°IV-1-3-3),HSQC (spectre n° IV-1-3-4) et HMBC (spectre n° IV-1-3-5) permet de répartir les15 atomes de carbone sous forme de:

Une fonction cétone non conjuguée à $\delta= 212,3$ ppm.

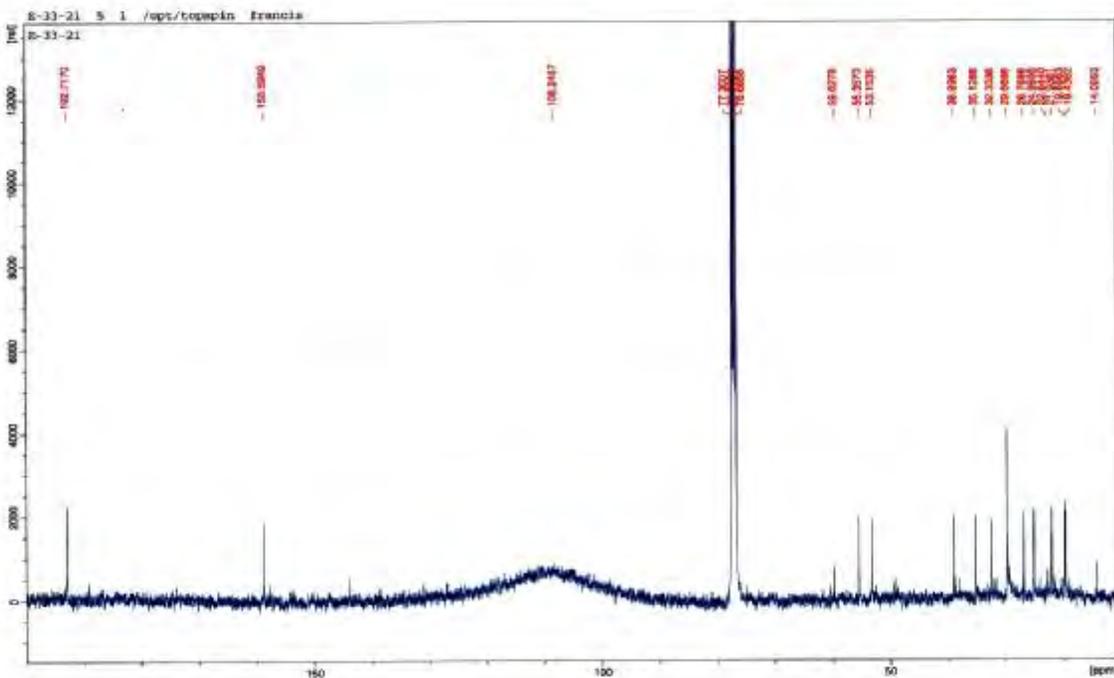
-Un groupement aldéhyde à $\delta_H=9,35$ ppm singulet, ($\delta_C=192,7$ ppm).

-Quatre CH₂ sp³ non oxygénés.

-Un CH éthylénique à $\delta_H=6,63$ ppm résonant sous forme d'un doublet ($J=5,4$ Hz), ($\delta_C=158,6$ ppm).

-3 CH sp³ non oxygénés dont un formant un groupement isopropyle avec deux des trois méthyles observés sur le spectre proton, résonant sous forme d'un doublet d'intégration 6H à $\delta=0,94$ ppm.

-Un carbone quaternaire à $\delta=59,6$ ppm.



Spectre n° IV-1-3-2 : Spectre RMN ¹³C (150MHz, CDCl₃; δ ppm) du composé 3

En tenant compte du nombre d'insaturations engagées (3), il apparaît clairement que ce composé renferme un daucène bicyclique.

Le proton éthylénique corrèle sur le spectre HMBC, avec le carbone aldéydique, le carbone quaternaire éthylénique corrèle avec le proton aldéydique. Ces deux observations sont en faveur de l'enchaînement reporté dans le schéma IV-1-3-1

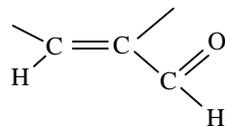
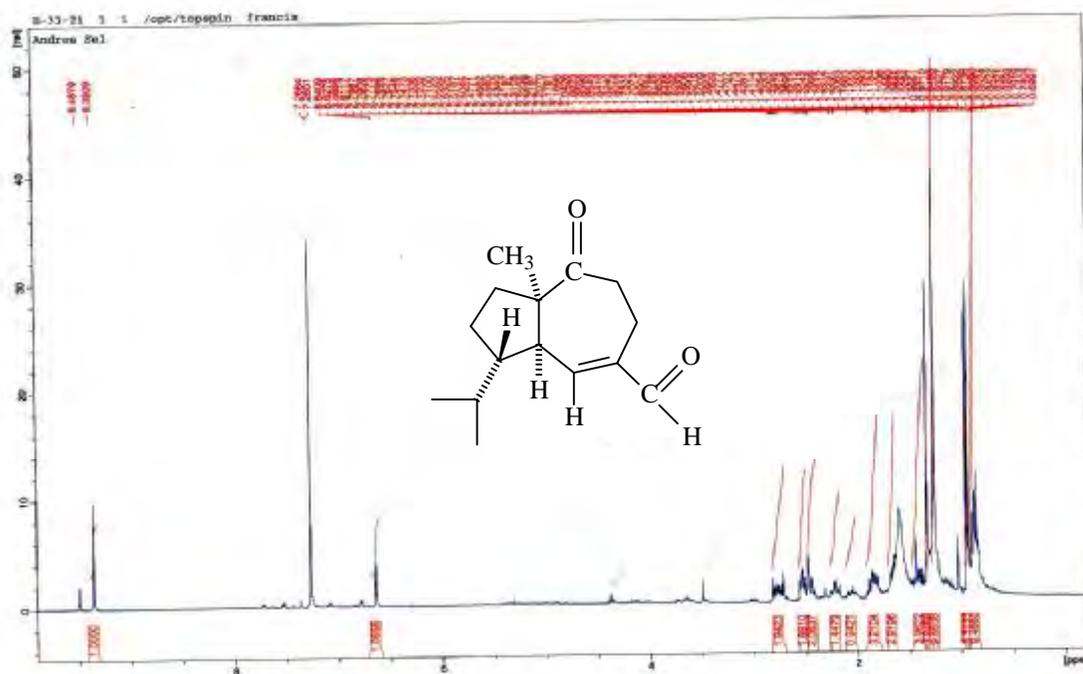
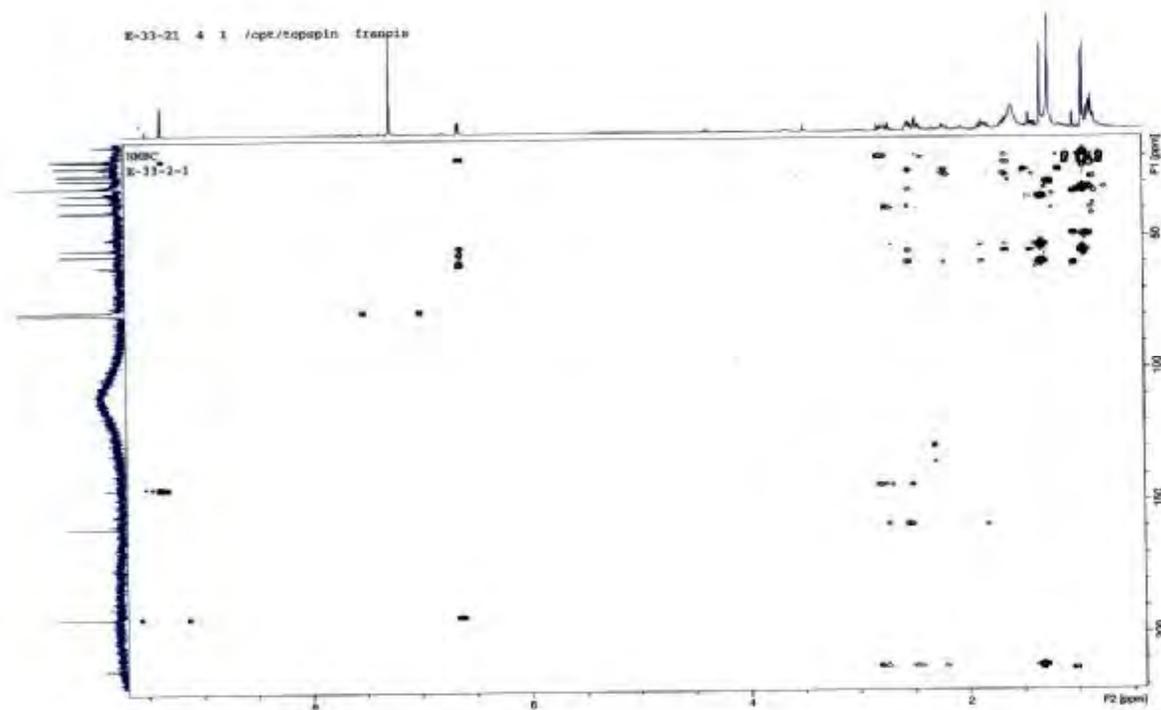


Schéma IV-1-3-1



Spectre n°IV-1-3-3 : Spectre RMN ^1H (400MHz, CDCl_3 ; δ ppm) du composé **3**



Spectre n° IV-1-3-5: spectre HMBC (400MHz, CDCl₃; δppm) du composé **3**

La position du proton éthylénique en position β du CO et non pas en α est appuyée par la corrélation unique sur le spectre COSY¹H-¹H (spectre n° IV-1-3-5) entre ce proton éthylénique et le proton du groupement CH sp³ résonant sous forme d'un multiplet partiellement recouvert par d'autres signaux à δ_H=2,52 ppm (δ_C=53,2 ppm).

Le carbone de ce groupement CH corréle sur le spectre HMBC avec les protons du CH₃ tertiaire à δ=1,25 ppm (δ_C=25,0 ppm) signifiant que le carbone de ce CH et le carbone porteur de ce groupement CH₃ délimitent la jonction des deux cycles de ce bicyclic et que cette jonction ne comporte qu'une liaison délimitée par le carbone quaternaire à δ=59,6 ppm et le CH à δ_C=53,2 ppm. Ceci est appuyé par la corrélation sur le spectre COSY¹H-¹H du proton de ce CH et le proton du CH dont le signal apparaît recouvert par d'autres signaux à δ=1,84 ppm (δ_C=55,4 ppm). Cette attribution est vérifiée par la corrélation observée entre ce carbone et le proton éthylénique.

Toujours sur le spectre HMBC, ce carbone (δ_C=55,4 ppm) montre une corrélation nette avec les protons des deux méthyles formant un groupement isopropyle précédemment signalés. La présence de ce groupement isopropyle est amplement confirmée par le spectre SMIE qui admet comme pic de base le signal *m/z*= 191Da correspondant à M-43. Les protons de ces deux groupements méthyles précédemment signalés à δ=0,94 ppm (*J*=6,6Hz) correspondant sur le spectre HSQC aux atomes de carbone à δ=19,4 et 21,9 ppm.

Le fait que ces deux carbones soient différents signifie que ces 2 groupements CH₃ sont diastéréotopiques et que l'équivalence magnétique de leurs protons n'est que fortuite.

L'ensemble de toutes ces données permet d'écrire l'enchaînement reporté sur le schéma IV-1-3-2

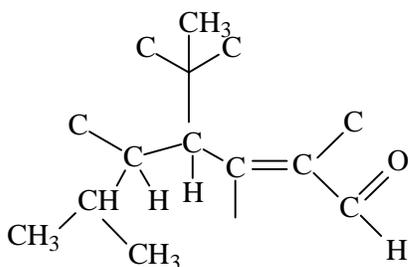
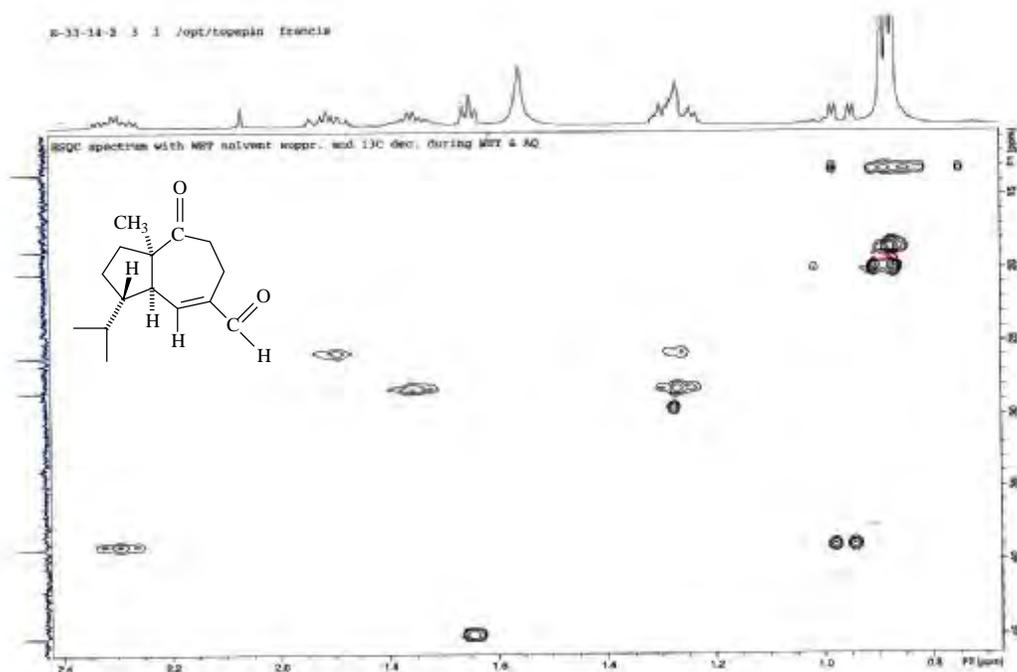
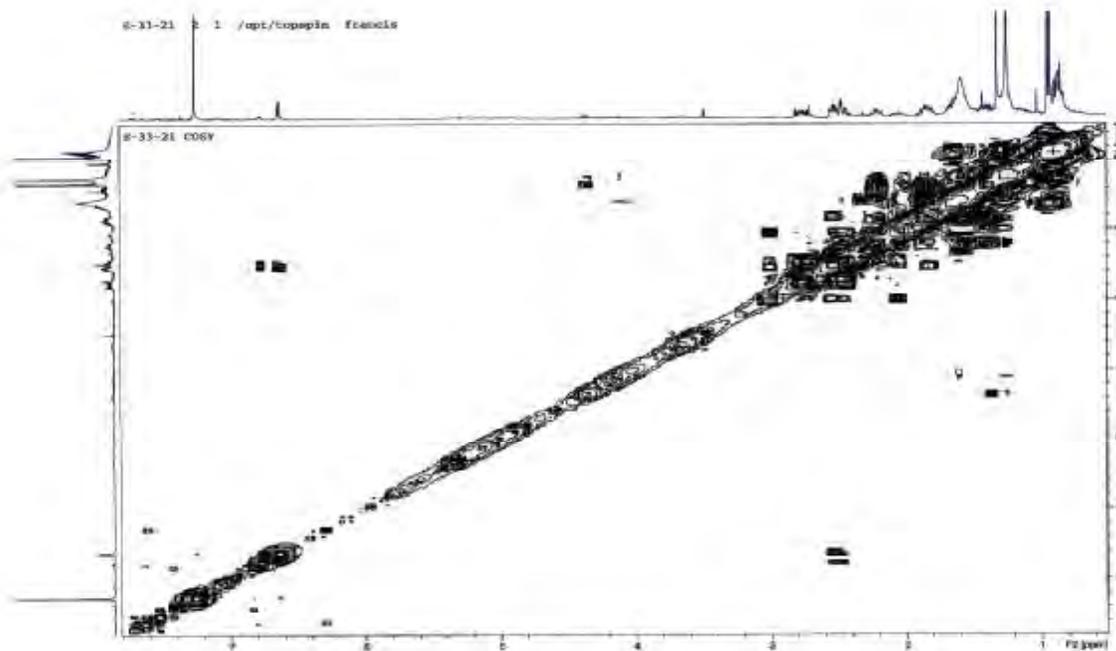


Schéma IV-1-3-2

Sur le spectre HMBC, le carbone du groupement CH éthylénique montre des corrélations avec les protons du groupement CH₂ apparaissant sous forme de multiplet à $\delta=2,53$ et $2,73$ ppm ($\delta_C=19,7$ ppm), par contre le carbone quaternaire éthylénique montre des corrélations avec les protons de ce groupement CH₂ et ceux du CH₂ apparaissant également sous forme de multiplets à $\delta=2,76$ et $2,76$ ppm ($\delta_C=38,9$ ppm). L'ensemble de ces protons montre des corrélations sur ce même spectre avec le carbone de la fonction cétone, lequel corrèle avec les protons du méthyle à $\delta=1,32$ ppm permettant ainsi l'établissement d'un cycle à 7 chaînons.



Spectre n° IV-1-3-4: Spectre HSQC (400MHz, CDCl₃; δ ppm) du composé **3**



Spectre n° IV-1-3-5: Spectre COSY¹H-¹H (400MHz, CDCl₃; δppm) du composé **3**

La localisation des atomes de carbone des deux groupements CH₃ de l'isopropyle permet de localiser le proton du CH de ce groupement à δ=1,66 ppm (δ_C=32,3 ppm), grâce à sa corrélation avec les atomes de carbone de ces deux méthyles. Ce proton montre une corrélation avec le carbone du groupement CH₂ à δ_C=26,28 (δ_H =1,80 et 1,36 ppm) que l'on peut par conséquent placer en β par rapport au carbone porteur de ce proton..

Sur le spectre COSYH-¹H les protons de ce CH₂ corrélient avec ceux du CH₂ apparaissant sous forme de multiplets à δ=2,20 et 1,40 ppm (δ_C=35,1 ppm).

Le carbone de ce groupement CH₂ montre une corrélation nette avec les protons du CH₃ à δ=1.32 ppm signifiant la fermeture de ce cycle sur le carbone porteur de ce méthyle, soit la formation d'un cycle à 5 chaînons d'où la structure plane reporté sur le schéma IV-1-3-3

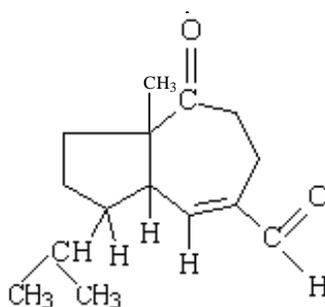


Schéma:IV-1-3-3

L'analyse de nos résultats spectroscopiques et en particulier les déplacements chimiques sont en parfait accord avec la structure: 2-oxoisodauc-5-èn-12-al [4, 5] reporté dans le schéma IV-1-3-4

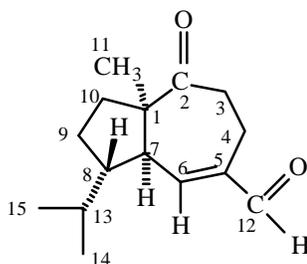


Schéma:IV-1-3-4

IV-1-4 : Elucidation structurale du composé E_{33,34,2} (F_{5,1}) : 4

L'étude combinée des spectres RMN¹H (spectre n°IV-1-3 -1), RMN¹³C (spectre n°IV-1-3-2), HSQC (spectre n°IV-1-3 -3), montre la présence de 10 atomes de carbone que nous pouvons répartir comme suit:

*3CH₃ tertiaires (singulets) à $\delta_H=0,87$ ppm ($\delta_C=13,3$ ppm) ; $\delta_H=0,88$ ppm ($\delta_C=18,6$ ppm) ; $\delta_H=0,89$ ppm ($\delta_C=20,2$ ppm).

*3CH₂ non oxygénés:

-Le premier apparaît à $\delta_H=1,90$ ppm multiplet et 1,28 ppm, multiplet couvert par le signal d'un autre proton ($\delta_C=25,9$ ppm).

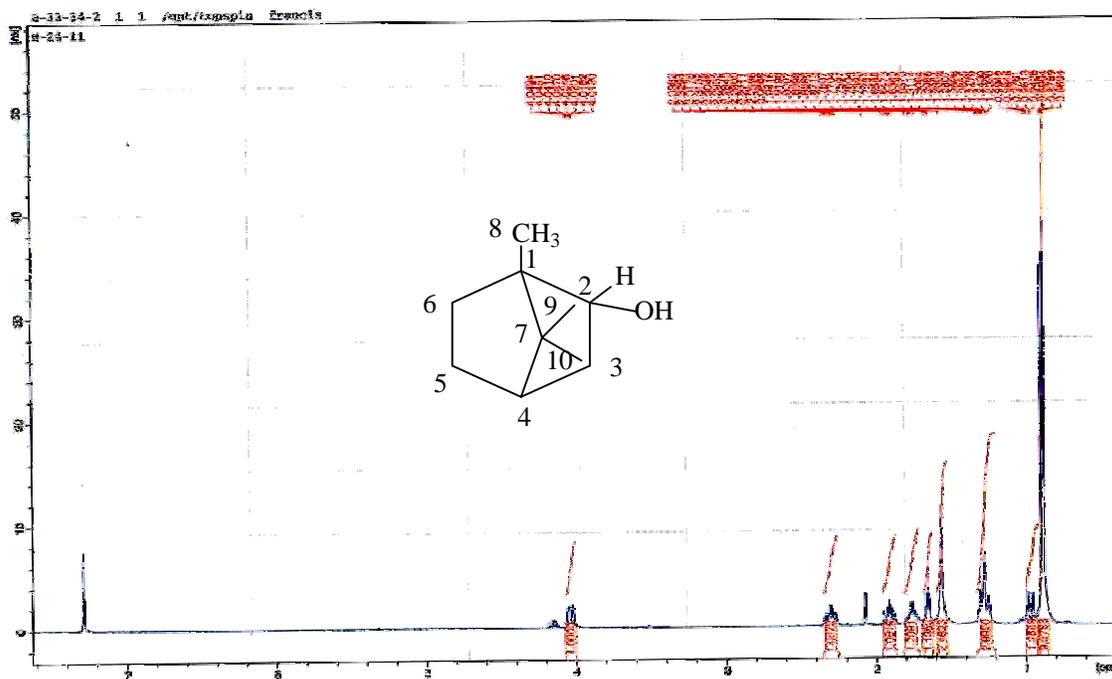
-Le second apparaît à $\delta_H=1,75$ ppm multiplet et 1,28 ppm recouvert par le signal d'un des protons du CH₂ précédent ($\delta_C=28,3$ ppm).

-Le troisième apparaît sous forme de multiplets à 0,96 ppm, et 2,29 ppm, ($\delta_C=39,0$ ppm).

*2CH.

-Le premier non oxygéné donne un signal à $\delta_H=1,65$ ppm (*t*, $J=8,6$ Hz) $\delta_C=45,1$ ppm.

-Le deuxième oxygéné d'après les valeurs des déplacements chimiques, donne un signal sous forme d'un doublet large à $\delta_H=4,03$ ppm ($J=10$ Hz).



Spectre n°IV-1-3 -1: Spectre RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3 ; δ ppm) du composé **4**

Le carbone porteur de ce proton recouvert par les signaux du CDCl_3 est aisément détecté à $\delta=77,2$ ppm grâce au spectre de l'expérience HMBC .

Un recours au spectre de l'expérience HMBC (spectre n°IV-1-3-4) permet la localisation de deux carbones quaternaires à $\delta=49,0$ ppm et $48,0$ ppm grâce à leur corrélation avec les protons de certains groupements hydrocarbonés précédemment signalés.

Un décompte des noyaux des groupements ainsi observés, mène à la formule brute partielle $\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{O}$.

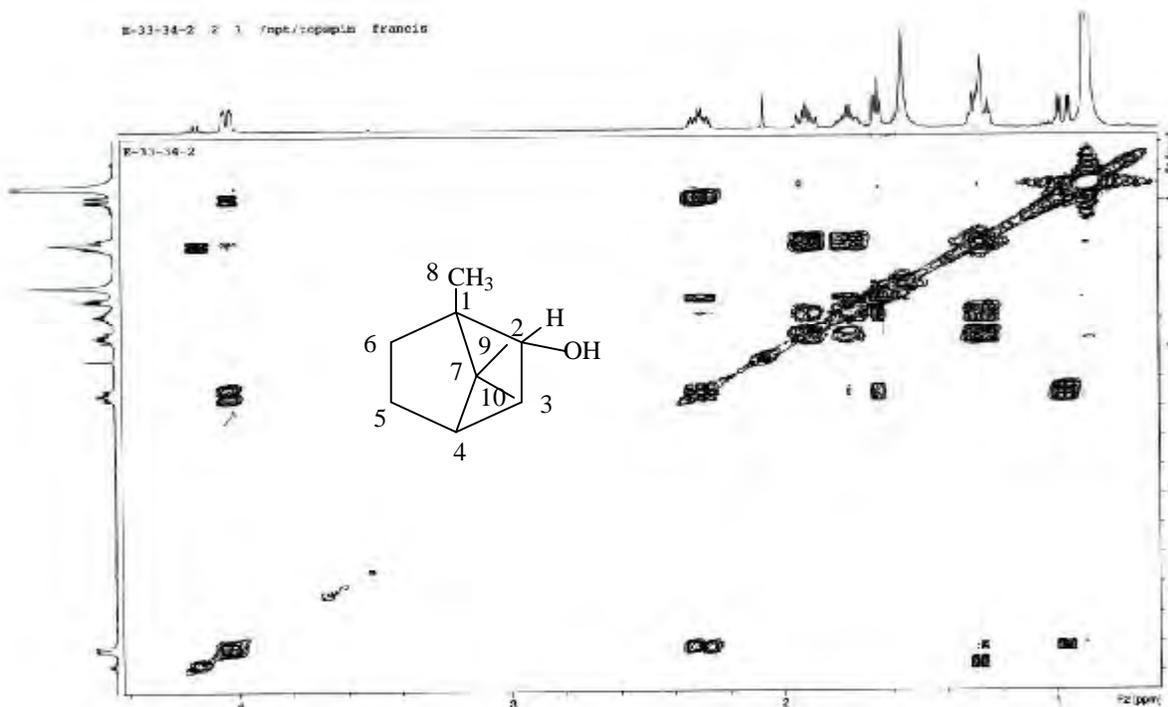
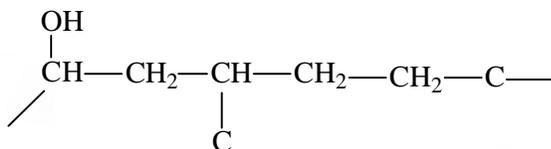
Les valeurs des déplacements chimiques de l'ensemble des carbones et le fait qu'un seul soit oxygéné et hybridé sp^3 impose la présence d'un hydroxyle dans cette molécule. Ceci mène à la formule brute totale $\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$ soit une molécule à deux insaturations.

D'après notre étude précédente cette molécule ne renferme aucune double liaison, ce qui oriente vers un bicyclic.

L'examen du spectre COSY ^1H - ^1H (spectre n°IV-1-3- 5) montre des corrélations entre le proton du CH oxygéné et ceux du CH_2 à $\delta_{\text{H}}=2,29$ et $0,96$ ppm lesquels corrént avec le proton du groupement CH à $\delta=1,65$ ppm. Ce proton corréle à son tour avec les protons du groupement CH_2 à $\delta=1,28$ et $1,75$ ppm.

Ces derniers noyaux corrént avec ceux du groupement CH_2 à $\delta=1,90$ ppm et $1,28$ ppm.

L'ensemble de ces données mène à l'enchaînement:

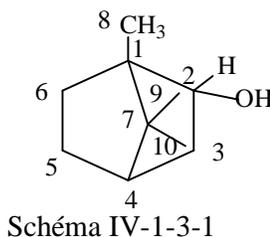


Spectre n°IV-1-3 -2: Spectre COSY¹H-¹H (400MHz, CDCl₃; δ ppm) du composé **3**

Un retour vers le spectre HMBC permet de confirmer cet enchaînement et montre en particulier une corrélation entre le carbone du CH oxygéné et les protons du CH₂ à δ=1,90 et 1,28 ppm, suggérant ainsi la jonction de ce CH et un des deux carbones quaternaires. Le carbone de ce CH oxygéné corrèle également avec les protons du méthyle à δ=0,87 ppm, ce qui suppose la substitution du carbone quaternaire voisin de ce groupement par ce groupement méthyle.

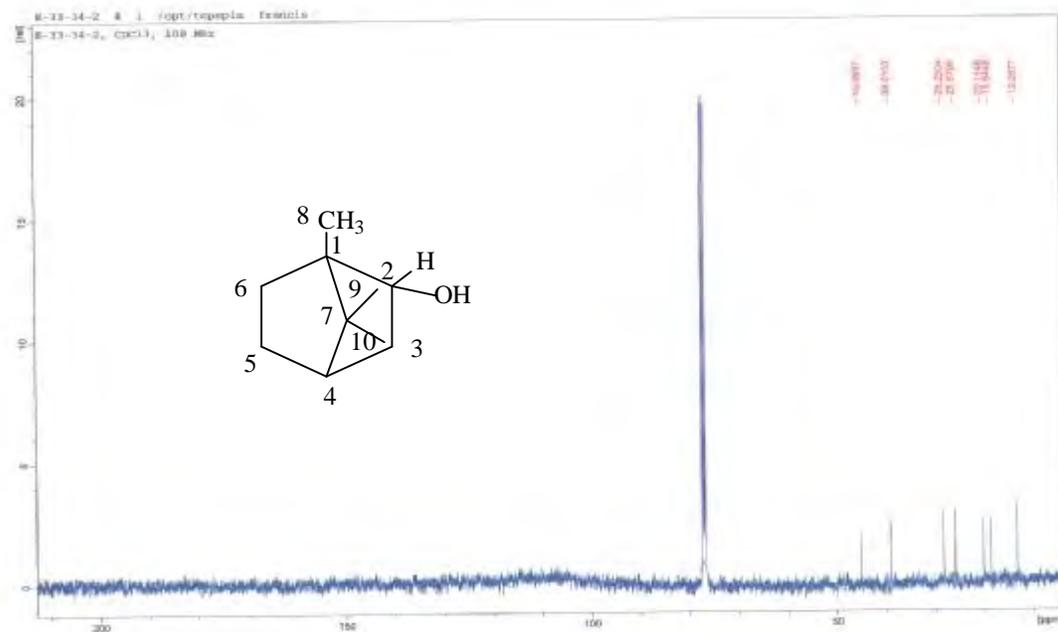
Ce carbone quaternaire ne peut être lié qu'au deuxième carbone quaternaire lequel est obligatoirement porteur des deux méthyle restants et est relié au carbone du groupement CH à δ=45,1ppm (δ_H= 1,65 ppm)

Ceci est d'ailleurs vérifié par la corrélation entre le proton de ce groupement et le carbone quaternaire à δ=49,0 ppm. Ces données mènent à la structure plane reportée dans le schéma IV-1-3-1

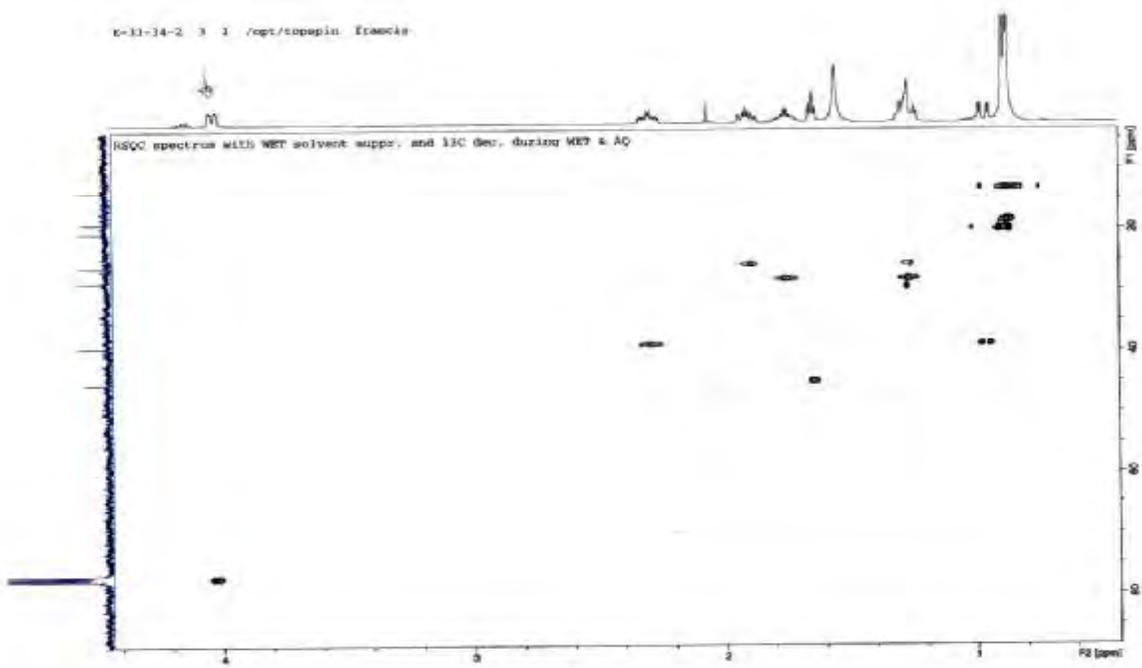


Nos données spectroscopiques reportés dans le tableau IV-1-3-1 sont en parfait accord avec celles de la littérature correspondant au bornéol [3] dont la structure est reportée dans le schéma IV-1-3-1.

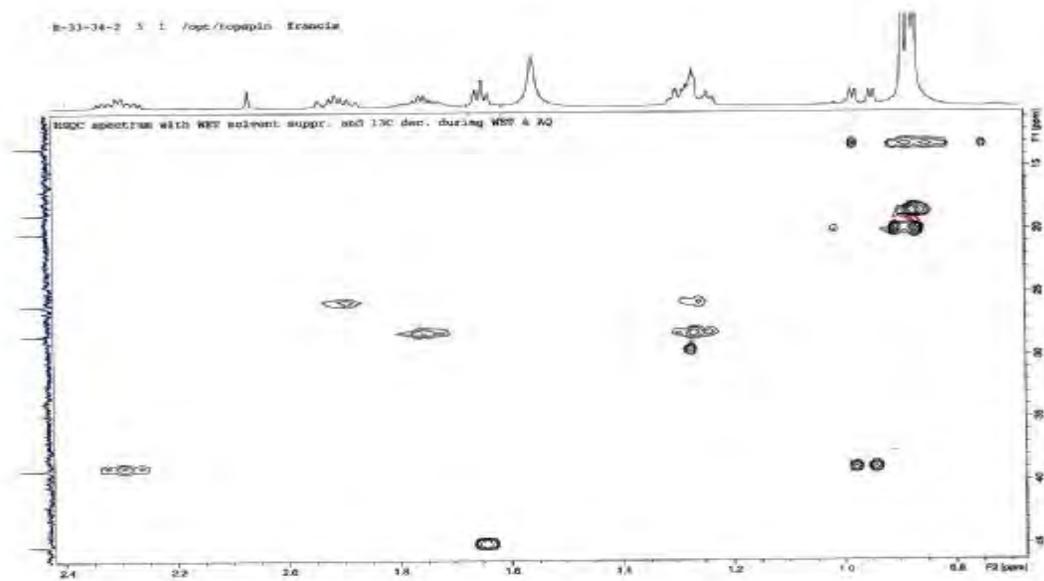
D'après la valeur des constantes de couplage relevées dans le signal de H-2 (dl, $J = 10,0$ Hz), il apparaît clairement que H-2 admet une orientation axiale, en conséquence, le groupement OH admet une orientation équatoriale. Cette molécule est commune pour le genre *Achillea*.



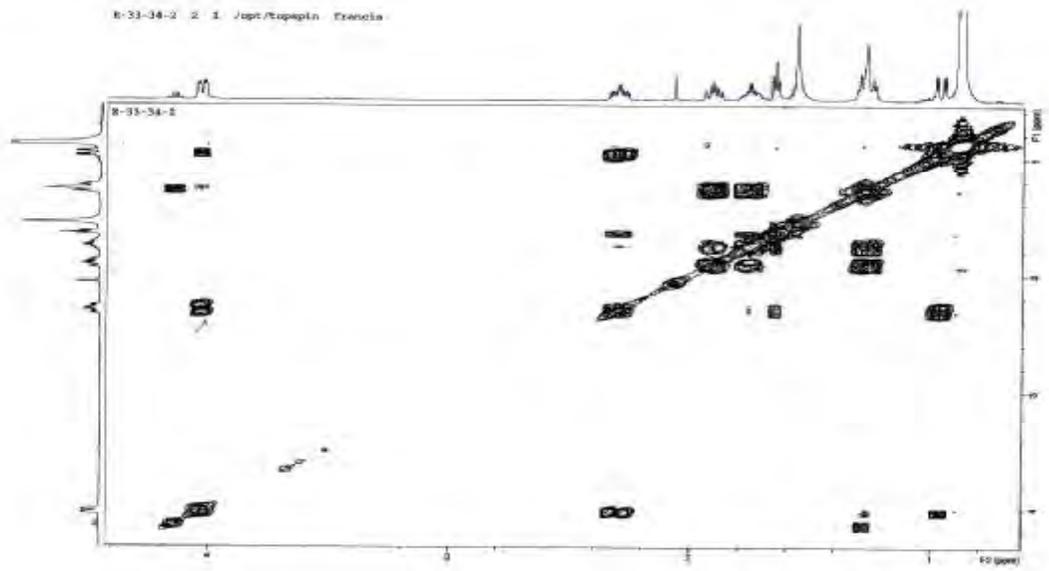
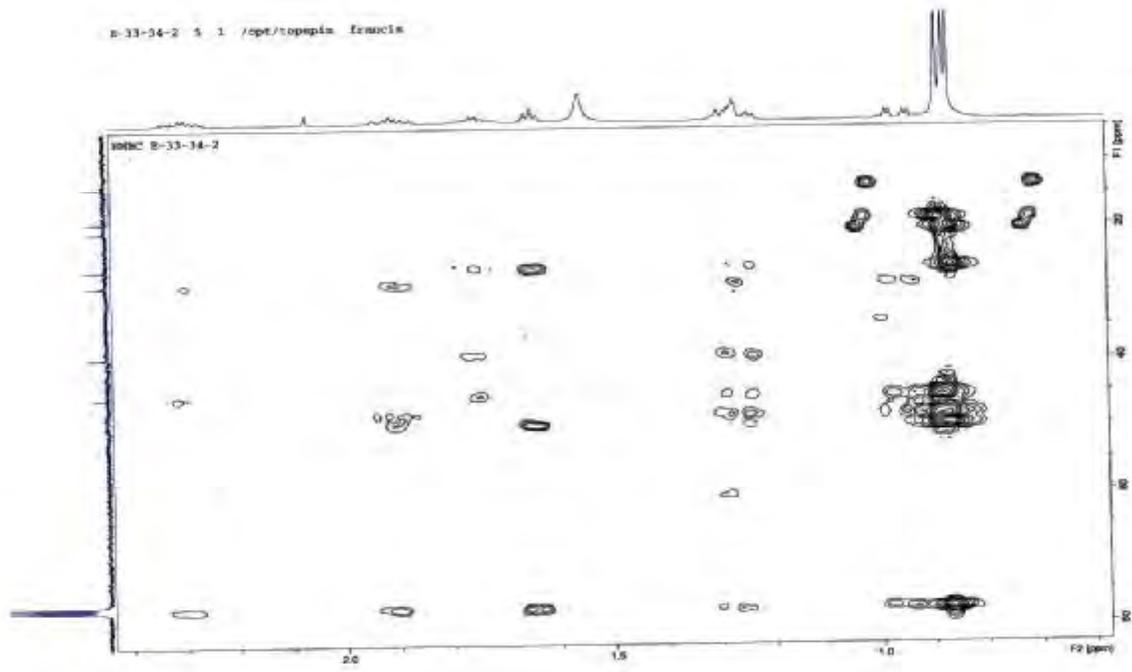
Spectre n°IV-1-3-2 : Spectre RMN¹³C (100MHz, CDCl₃; δ ppm) du composé **4**



Spectre n°IV-1-3 -3-a : Spectre HSQC (400MHz, CDCl₃; δppm) du composé **4**



Spectre n°IV-1-3 -3-b : Spectre HSQC (400MHz, CDCl₃; δppm) du composé **4**



Spectre n°IV-1-3 -5:spectre COSY (400MHz, CDCl₃ ; δppm) du composé 4

Tableau IV-1-3-a: Données de la RMN¹H (400 MHz, CDCl₃, δ ppm).

δ (ppm)	Intégration	Multiplicité J (Hz)	Attribution
4.03	1H	dl (10,0)	H-2
2.29	1 H	m	H-3
1.90	1 H	m	H-6
1.75	1 H	m	H-5
1.65	1 H	tl (8,6)	H-4
1.28	1 H	m	H-6
1.28	1 H	m	H-5
0.96	1 H	m	H-3
0.89	3 H	s	CH ₃₋₉
0.88	3 H	s	CH ₃₋₁₀
0.87	3 H	s	CH ₃₋₈

Tableau IV-1-3-b: Données de la RMN¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ ppm).

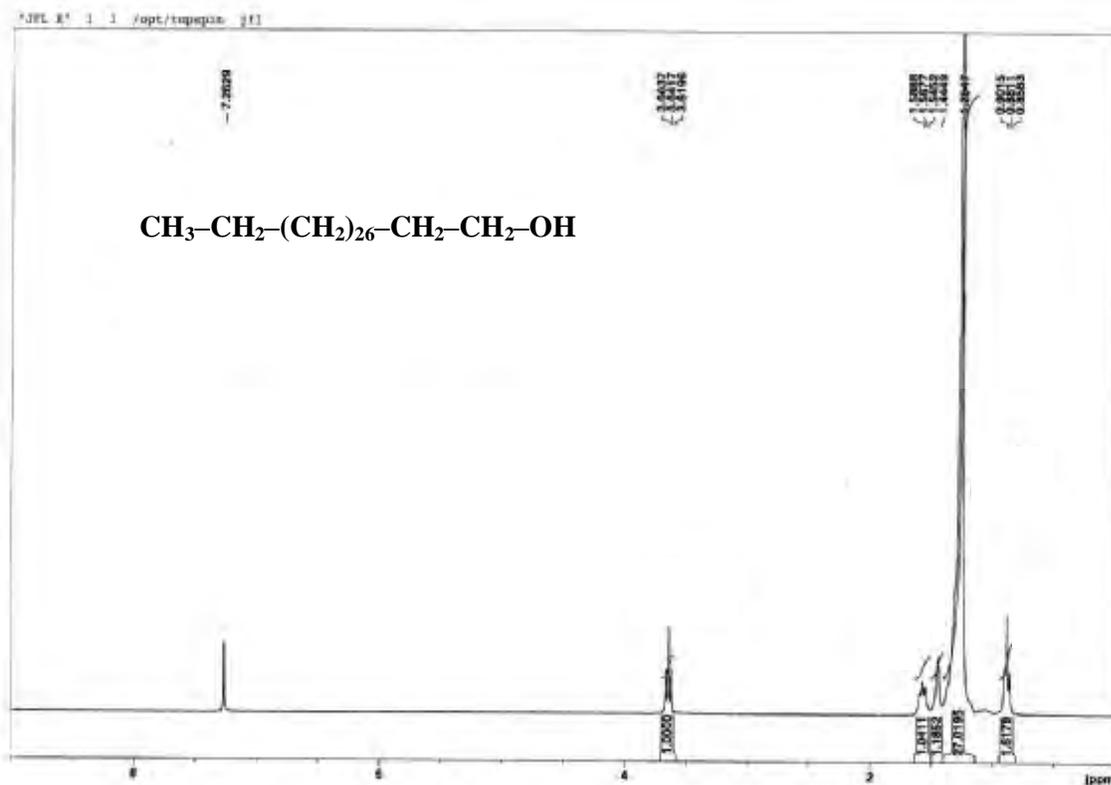
δ (ppm)	13.3	18.6	20.2	25.9	28.3	39.0	45.1	48.0	49.0	77.1
C	C-8	C-9	C-10	C-6	C-5	C-3	C-4	C-7	C-1	C-2

IV-1-5:Elucidation structurale du composé E_{47:5}

L'examen du spectre RMN ¹H (spectre n° IV-1-5-1) montre un signal d'intégration 2H sous forme d'un triplet à δ=3,64 ppm prévoyant un enchaînement O-CH₂-CH₂-, voisin d'un autre CH₂ justifié par la présence d'un multiplet d'intégration 2H à δ=1,57 ppm, ce spectre montre également un signal intense d'intégration 54H, prévoyant un enchaînement de 27 unités CH₂.

Ce spectre montre par ailleurs un triplet d'intégration 3H à δ=0,88 ppm, attribuable au CH₃ d'une chaîne linéaire que l'on peut représenter sous la forme -O-CH₂-CH₂- (CH₂)₂₆-CH₂-CH₃, et un singulet qui disparaît après addition de D₂O attribuable par conséquent à un groupement hydroxyle d'où la structure:

CH₃-CH₂-(CH₂)₂₆-CH₂-CH₂-OH soit le tridecan-1-ol ou triacontanol [6]. Ce résultat est confirmé par le spectre RMN ¹³C qui montre en particulier la présence d'un CH₂ oxygéné à δ=63,03 ppm, un groupement CH₃ à δ=22,67 ppm, 3 CH₂ à δ=32,80 ; 31,91 et 25,72 ppm et un ensemble de CH₂ centré à 29,68 ppm.



Spectre n°IV-1-5 -1 : Spectre RMN¹H (400MHZ, CDCl₃; ppm) du composé **5**

L'examen du spectre de masse sous impact électronique (spectre IV-1-5-2) confirme ce résultat, notamment la présence de la chaîne linéaire par les signaux à $m/z=420$ Da correspondant à $[M-H_{20}]^+$,

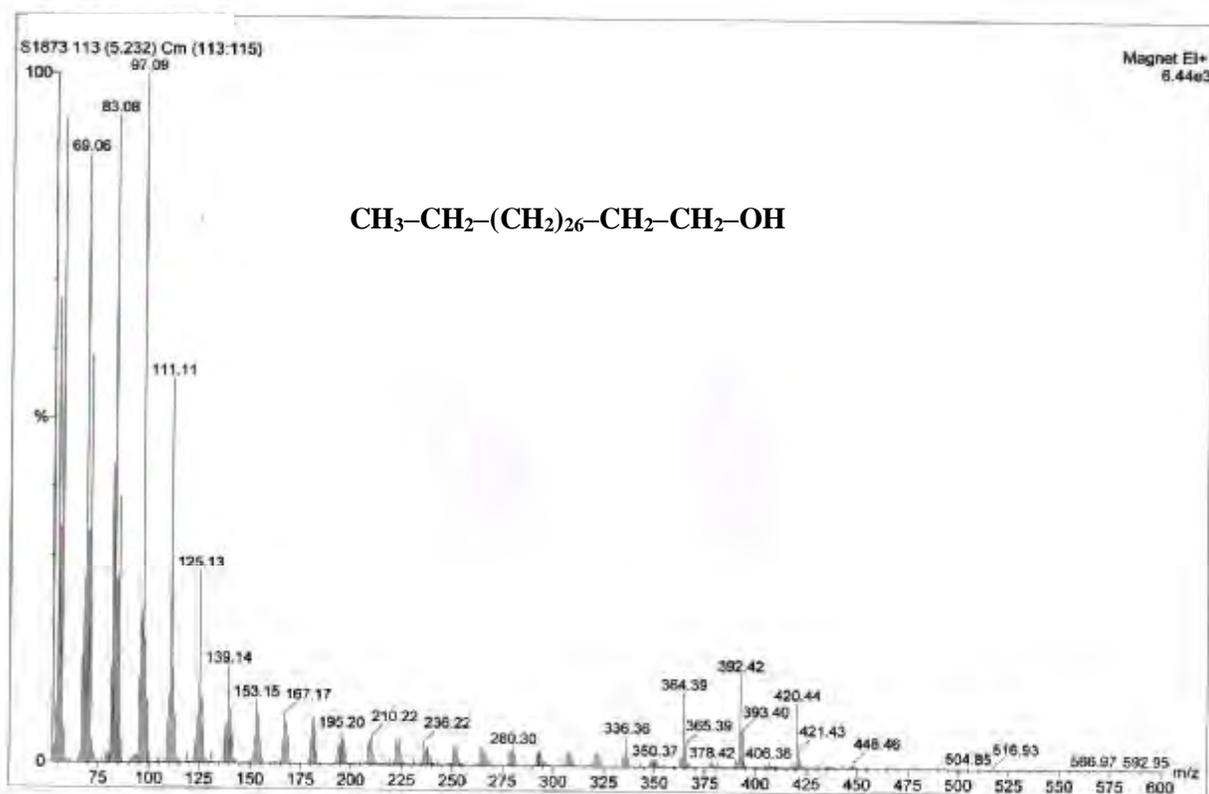
* $m/z=392$ correspondant à $[420-CH_2=CH_2]^+$;

* $m/z=364$ correspondant à $[392-CH_2=CH_2]^+$;

$m/z=336$ correspondant à $[364-CH_2=CH_2]^+$, et.....

Ceci en matière de réarrangement de l'ion obtenu après perte de H_2O .

Les ruptures de cet ion ont mené aux ions à $m/z=55$; 69 ; 83 ; 97 ; 111 ; 125 ; 139 ; 153 ; 167 ; 181 ; 195 , comme attendu pour ce type de produit..



Spectre n°IV-1-5 -2 : Spectre SMIE du composé 5

IV-1-6:Elucidation structurale du composé F_{4-7:6}

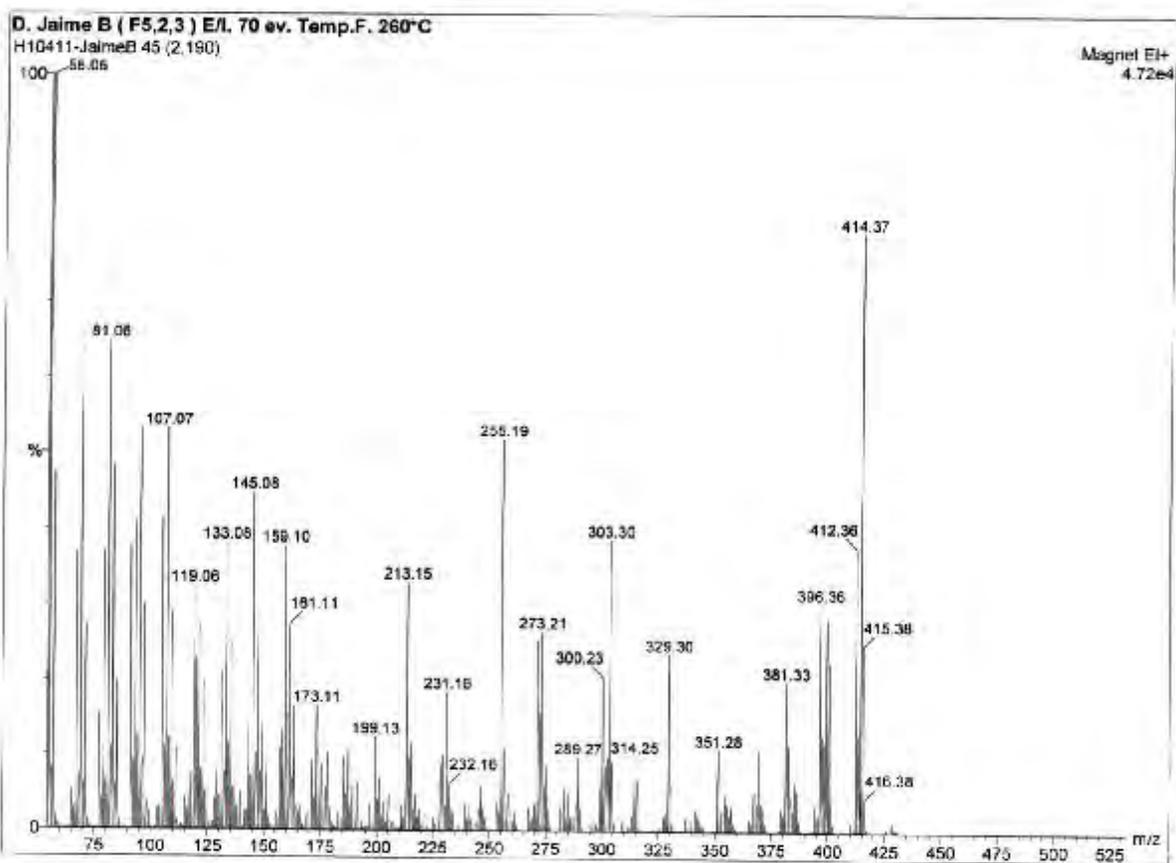
Le spectre de masse SMIE du composé 6 donne une masse de l'ion moléculaire à $m/z=414$ (78,31%) correspondant à la formule brute C₂₉H₅₀O, soit un composé a cinq insaturations. Ces données nous ont incité à réaliser le test de LIEBERMANN & BURCHARD relatif à la mise en évidence des stérols et des triterpènes. En effet, après addition de CHCl₃ 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 $m/z=396$ (30,12%) 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 $m/z=381$ (21,69 %) correspondant au départ d'un radical méthyle, ce qui est largement attendu pour les stérols.

La structure stérol est appuyée par le signal à $m/z=273$ (26,51%) correspondant à la perte de la chaîne latérale (C₁₀H₂₁) par l'ion moléculaire 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 de ce stérol sont résumées dans le tableau IV-1-6-1.



Spectre n° IV-1-6-1: Spectre SMIE du composé **6**

Tableau IV-1-6-a: Données du SMIE du composé **6**

$[M-C_{10}H_{21}]^+$	$[M-18-15]^+$	$[M-18]^+$	$[M-15]^+$	$[M]^+$	Fragment
273	381	396	399	414	<i>m/z</i>
26,51	21,69	30,12	27,71	78,31	Int.Rel.(%)

L'examen du spectre RMN 1H de ce produit (spectre n° IV-1-6-2) enregistré dans $CDCl_3$ montre:

*Un doublet large à $\delta=5,35$ ppm d'intégration 1H correspondant au proton éthylénique connu avec la numérotation H-6.

*Un multiplet d'intégration 1H à $\delta=3,53$ ppm correspondant à un proton sur un carbone oxygéné, notamment le H-3 d'un stérol.

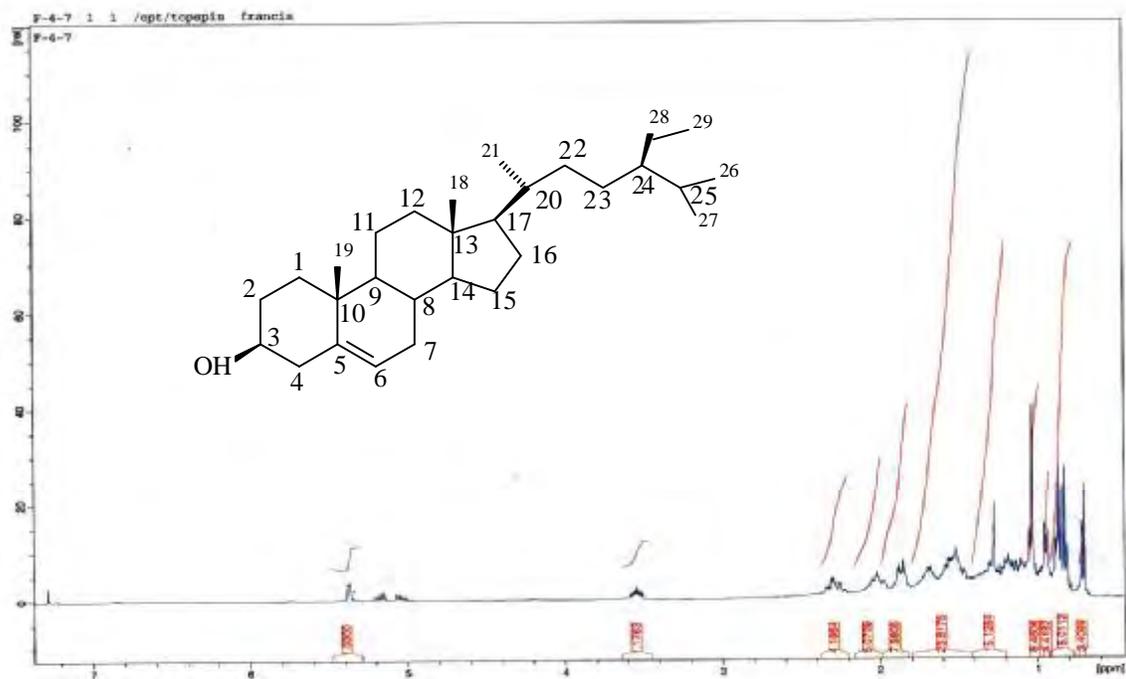
*Un singulet à $\delta=0,68$ ppm d'intégration 3H attribuable au méthyle 18.

*Deux doublets et un triplet superposés d'intégration 9H centrés à $\delta=0,86$ ppm correspondant à deux méthyles isopropyliques qui sont diastéréotopiques et par conséquent magnétiquement non équivalents et au méthyle du groupement éthyle respectivement.

Le tableau IV-1-6-2, rassemble les données de la RMN 1H de ce composé.

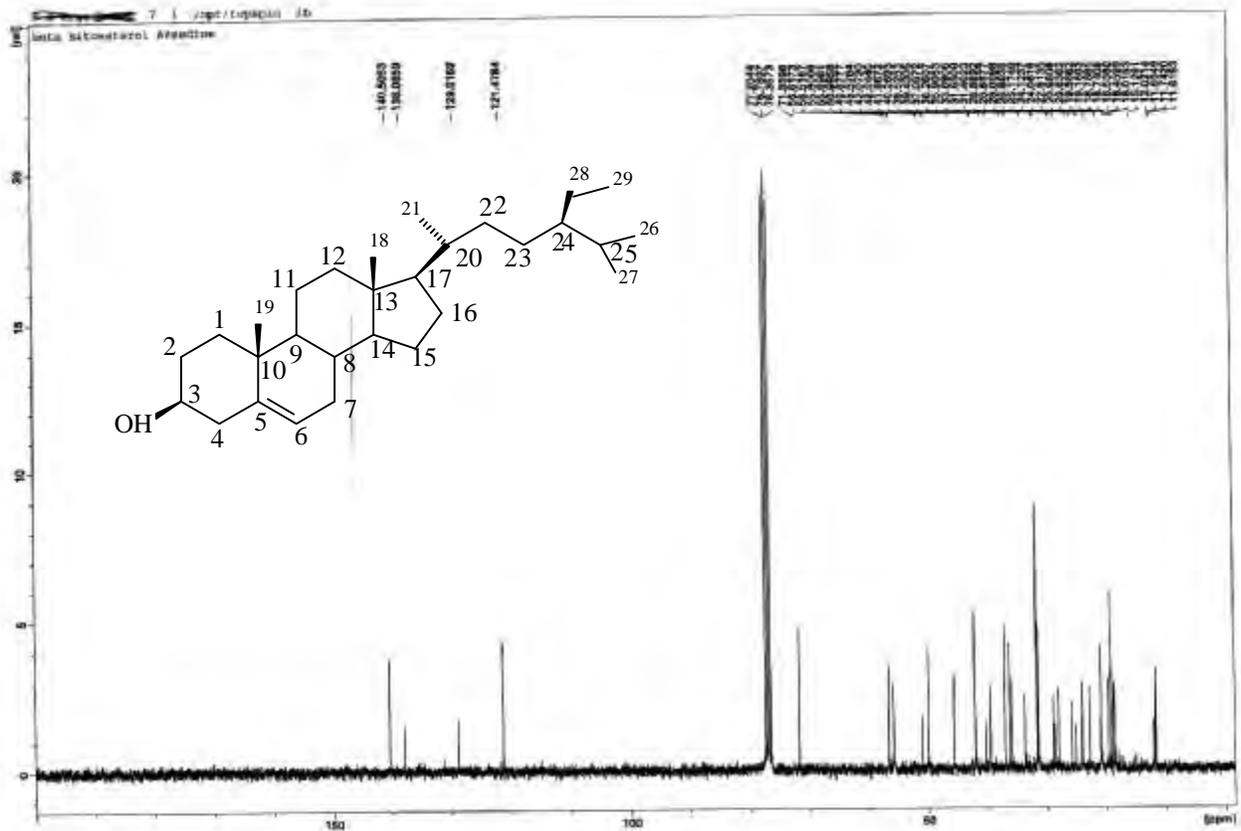
Tableau IV-1-6-2: données RMN 1H du composé **6**

Déplacement chimique δ (ppm)	Intégration	MultiplicitéJ(Hz)	Attribution
5,35	1H	s large	H-6
3,53	1H	m	H-3
2,25	2H	dl (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 (7,0)	CH ₃ -21
1,01	3H	s	CH ₃ -19



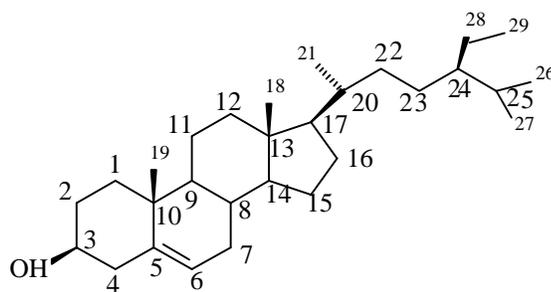
Spectre n° IV-1-6-2: Spectre RMN ¹H (300MHz, CDCl₃; δppm) du composé **6**

Le spectre RMN ¹³C et les séquences DEPT 135 et 90 (spectre n°IV-1-6-3) confirment la présence de la double liaison trisubstituée par les signaux à δ= 140,8 ppm, relatif à un carbone éthylénique quaternaire (C-5) et à δ= 121,7 ppm relatif à un CH oxygéné à δ= 71,7 ppm relatif au carbone portant la fonction alcool (C-3). Les valeurs des déplacements chimiques sont caractéristiques des positions attribuées.



Spectre n° IV-1-6-3: Spectre RMN ^{13}C (50MHz, CDCl_3 , δ ppm) du composé **6**

L'ensemble de ces données comparé aux résultats de la littérature [7] ainsi que la co-chromatographie avec un échantillon authentique mène au β -Sitostérol, d'où la structure reportée dans le schéma IV-1-6-1



β -Sitostérol

Schéma IV-1-6-1

Il faut signaler que cet échantillon est contaminé par du stigmastérol reconnaissable par les signaux sous forme de doublets de doublets $\delta = 5,15$ ($J=15,1$; 8,4Hz) et à $\delta = 5,01$ ($J=15,1$; 8,4Hz) correspondant aux protons de la double liaison trans C-22 - C-23

IV-1-7: Elucidation structurale du composé F_{11-A} : 7

Le spectre de masse à haute résolution (spectre n°IV-1-7-1), donne une masse exacte pour le pic moléculaire à $m/z=166,0999$ (14,46%) correspondant à la formule brute C₁₀H₁₄O₂ (calculée=166,0994) soit un composé à 4 insaturations.

Elemental Composition Report

Page 1

Multiple Mass Analysis: 176 mass(es) processed - displaying only valid results

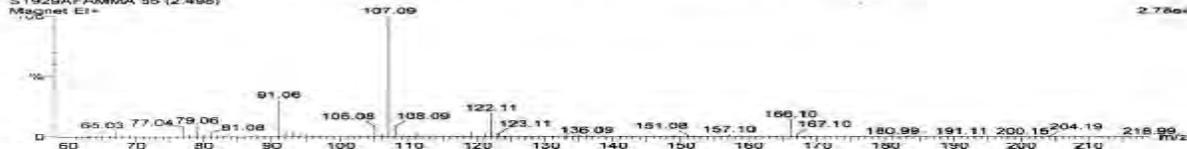
Tolerance = 20.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 50.0

Isotope cluster parameters: Separation = 1.0 Abundance = 1.0%

Monoisotopic Mass, Odd and Even Electron Ions

582 formula(e) evaluated with 44 results within limits (up to 50 closest results for each mass)

S1929AFAMMA 55 (2.495)



Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Score	Formula
166.0999	14.46	166.0994	0.5	3.1	4.0	1	C10 H14 O2
165.0921	0.12	165.0916	0.5	3.3	4.5	1	C10 H13 O2
164.0861	0.19	164.0837	2.4	14.4	5.0	1	C10 H12 O2
152.0846	0.27	152.0837	0.9	5.7	4.0	1	C9 H12 O2
151.0777	0.31	151.0759	1.8	11.9	4.5	1	C9 H11 O2
150.1067	0.17	150.1045	2.2	14.9	4.0	1	C10 H14 O
149.0954	0.43	149.0966	2.8	18.5	4.5	1	C10 H13 O
149.0623	0.25	149.0603	2.0	13.7	5.5	1	C9 H9 O2
147.0820	0.17	147.0810	1.0	6.9	5.5	1	C10 H11 O
138.1059	0.46	138.1045	1.4	10.4	3.0	1	C9 H14 O
137.0991	0.71	137.0966	2.5	17.9	3.5	1	C9 H13 O
137.0626	0.17	137.0603	2.3	16.6	4.5	1	C8 H9 O2
136.0805	1.35	136.0888	1.7	12.4	4.0	1	C9 H12 O
135.0633	0.82	135.0810	2.2	17.1	4.5	1	C9 H11 O
135.0467	0.22	135.0446	2.1	15.5	5.5	1	C8 H7 O2
134.1111	0.27	134.1096	1.5	11.6	4.0	1	C10 H14
133.1041	0.69	133.1017	2.4	17.8	4.5	1	C10 H13
132.0953	0.27	132.0939	1.4	10.6	3.0	1	C10 H12
130.0797	0.12	130.0783	1.4	11.1	6.0	1	C10 H10
129.0701	0.22	129.0704	0.3	2.3	7.5	1	C10 H9
128.0649	0.17	128.0626	2.3	18.0	5.0	1	H8 O2
127.0558	0.11	127.0548	1.0	8.1	7.5	1	C10 H7
126.0704	0.18	126.0691	1.3	16.4	3.0	1	C8 H7
126.0588	0.29	126.0566	2.2	17.3	2.5	1	C8 H13
125.0621	0.20	125.0603	1.8	14.8	3.5	1	C7 H9 O2
124.0897	0.47	124.0888	0.9	7.1	3.0	1	C8 H12 O
124.0818	2.41	124.0810	0.8	6.6	3.0	1	C8 H11 O
122.1109	19.75	122.1096	1.3	11.1	3.0	1	C9 H14
122.0744	0.24	122.0732	1.2	10.1	4.0	1	C9 H10
121.1022	2.43	121.1017	0.5	3.5	3.5	1	C8 H13
121.0660	0.31	121.0653	0.7	5.5	4.5	1	C8 H9
119.0864	4.78	119.0861	0.3	2.7	4.5	1	H11
119.0491	0.18	119.0497	-0.6	-5.0	5.5	1	C8 H7 O
118.0789	0.29	118.0783	0.6	5.5	5.0	1	C9 H10
117.0719	0.67	117.0704	1.4	11.7	5.5	1	H9
116.0641	0.44	116.0626	1.3	12.9	6.0	1	C8 H8
115.0660	0.51	115.0548	1.2	10.6	6.0	1	C9 H7
112.0895	0.41	112.0888	0.7	6.1	2.0	1	C7 H12
110.1114	0.27	110.1096	1.8	16.8	2.0	1	C8 H14
108.0948	8.98	108.0939	0.9	8.3	3.0	1	C8 H12
94.0155	0.14	94.0157	-0.2	-2.0	6.0	1	C6 H2
69.0351	0.35	69.0340	1.1	15.4	2.5	1	C4 H5
68.0257	0.13	68.0262	-0.5	-7.6	3.0	1	C4 H4

Spectre n°IV-1-7-1: Spectre SMHR du composé 7

L'examen du spectre RMN¹³C (spectre n°IV-1-7-2), montre la présence de dix signaux confirmant les données de la masse à haute résolution. Ces signaux peuvent être répartis comme suit:

-3 carbones quaternaires dont:

- Un CO caractéristique d'une γ - lactone α, β saturée à $\delta=177,1$ ppm.
- Un éthylénique à $\delta=134,5$ ppm.
- Un carbone hybridé sp^3 non oxygéné à $\delta=35,2$ ppm.

-3 groupements CH dont:

*Un éthylénique à $\delta=133,0$ ppm.

*Un CH hybridé sp^3 oxygéné à $\delta=78,3$ ppm, la valeur de son déplacement chimique indique qu'il correspond au point de fermeture de la lactone.

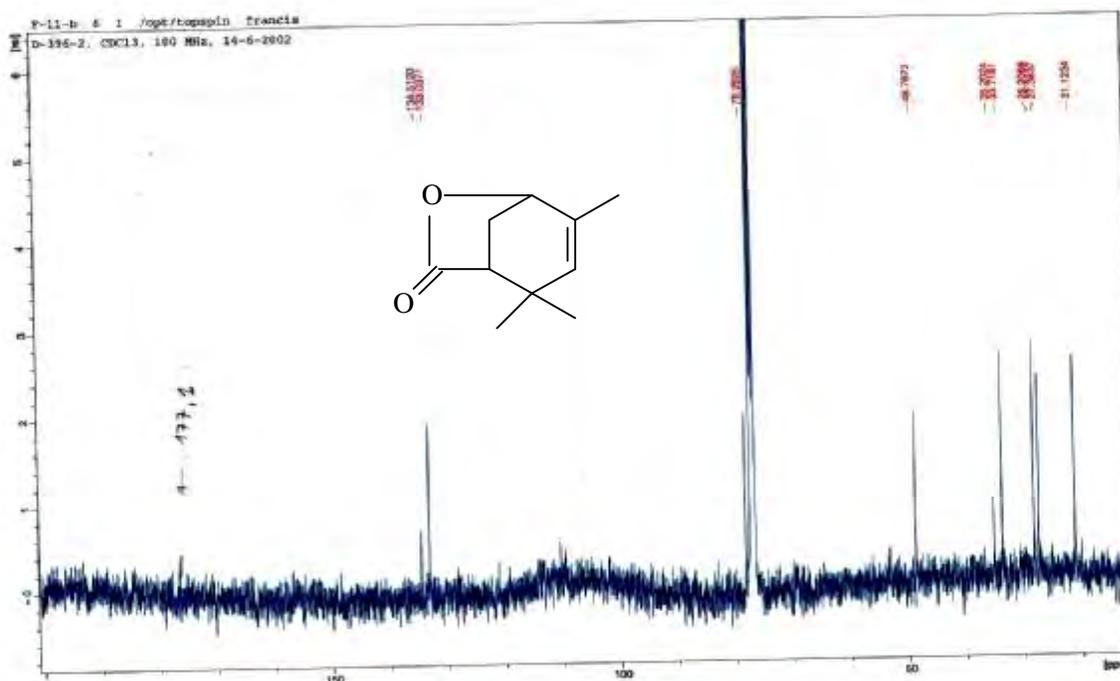
*Un CH hybridé sp^3 non oxygéné à $\delta=48,8$ ppm.

-Un groupement CH_2

à $\delta=33,7$ ppm.

03 groupements méthyles

à $\delta= 28,2 ; 27,4$ et $21,1$ ppm



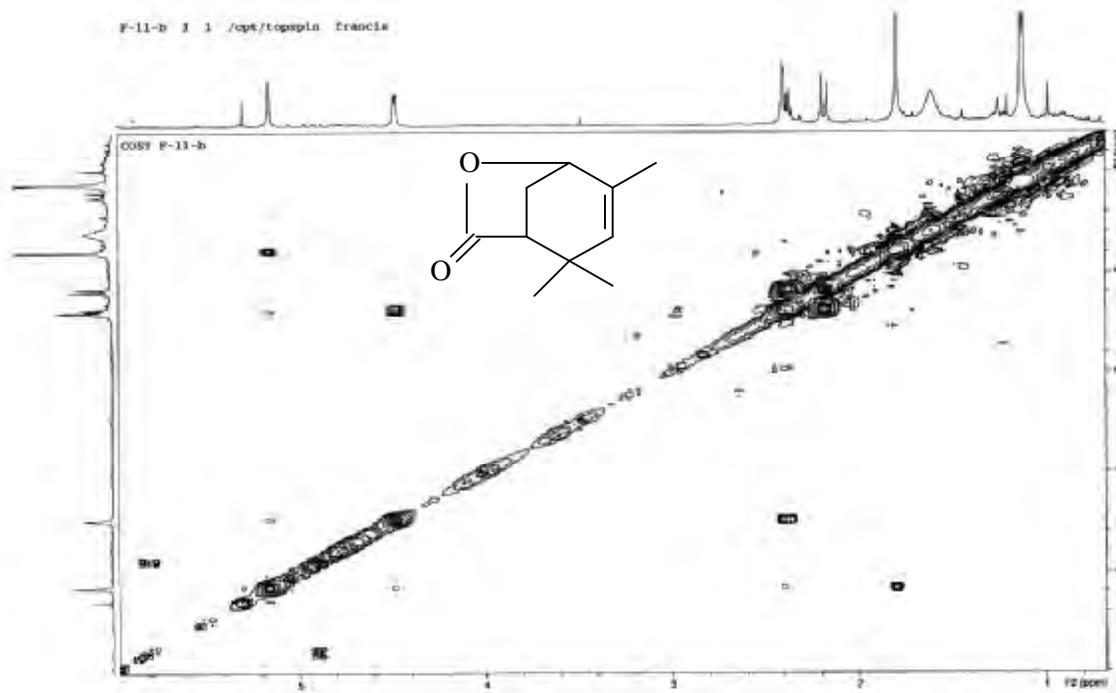
Spectre n°IV-1-7-2: Spectre RMN ^{13}C (100MHz, $CDCl_3$, δ ppm) du composé 7

En matière d'insaturations et jusqu'à présent, ce composé renferme une double liaison délimitée par un CH et un carbone quaternaire et un carbonyle de lactone ce qui mène à trois insaturations. Comme cette molécule doit en contenir quatre, cela suppose la présence d'un cycle supplémentaire dans cette molécule.

La combinaison des données des spectres RMN ^{13}C (spectre n°IV-1-7-1), HSQC spectre n°IV-1-7-2), RMN 1H spectre n°IV-1-7-3) et spectre COSY 1H - 1H (spectre n°IV-1-7-4), montre:

-Une corrélation longue sur le spectre COSY¹H-¹H entre le proton éthylénique et les protons du CH₃ à $\delta=1,79$ ppm (d, $J=1,5$ Hz), $\delta_C=21,1$ ppm, signifiant la substitution du carbone quaternaire éthylénique par ce méthyle, ceci est appuyé par la valeur du déplacement chimique des protons de ce méthyle. Ce proton éthylénique montre également un couplage longue distance avec le proton du groupement CH de fermeture de la lactone, ce qui suppose la jonction du carbone porteur de ce noyau au carbone quaternaire éthylénique.

Par ailleurs, le proton de ce groupement CH corréle sur le spectre COSY avec le proton du groupement CH₂ à $\delta=2,39$ ppm (m) et $\delta= 2,18$ ppm (dl; $J=10,6$ Hz) suppose leur enchaînement.



Spectre n°IV-1-7-4 : Spectre COSY¹H-¹H (400MHz, CDCl₃; δ ppm) du composé **7**

Sur le spectre HMBC les deux protons de ce CH₂ corrélent avec le carbone à $\delta_C =48,8$ ppm, lequel corréle également avec le proton de fermeture de la lactone.

Ce carbone montre également des corrélations avec les protons des méthyles à $\delta=1,13$ ppm ($\delta_C=28,2$ ppm) et 1,12 ppm ($\delta_C=27,4$ ppm), lesquels corrélent avec le carbone quaternaire à $\delta=35,2$ ppm, ceci d'une part, d'autre part, ce carbone montre une corrélation avec le proton éthylénique, orientant ainsi vers la présence d'un carbone quaternaire diméthyles entre ce groupement CH et le CH éthylénique, et par conséquent la fermeture du cycle attendu. Ainsi la jonction lactone serait une δ lactone dont le C=O est directement relié à ce groupement CH. L'ensemble de ces données mène à la structure plane reportée dans le schéma IV-1-7-1

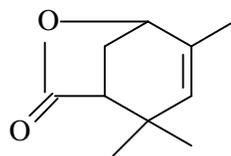
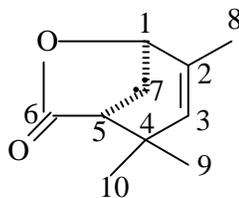


Schéma IV -1-7-1

Un réexamen des valeurs des déplacements chimiques, des constantes de couplages et leurs comparaisons avec les résultats de la littérature [8] tant vers la structure du filifolide A. Dont la structure est donnée au schéma IV -1-7-2



Filifolide A

Schéma IV -1-7-2

Tableau IV-1-7-1 : Données RMN¹H (400MHz, CDCl₃, δppm)

Déplacement chimique δ (ppm)	Intégration	Multiplicité (J Hz)	Attribution
5,15	1 H	d(1,3)	H-3
4,47	1 H	dl (4,8)	H-1
2,40	1 H	m	H-5
2,39	2 H	dl (10,6)	H-7
2,18	1 H	dl (10,6)	H-7
1,79	3 H	s	H-9
1,13	3 H	s	H-10
1,12	3 H	s	

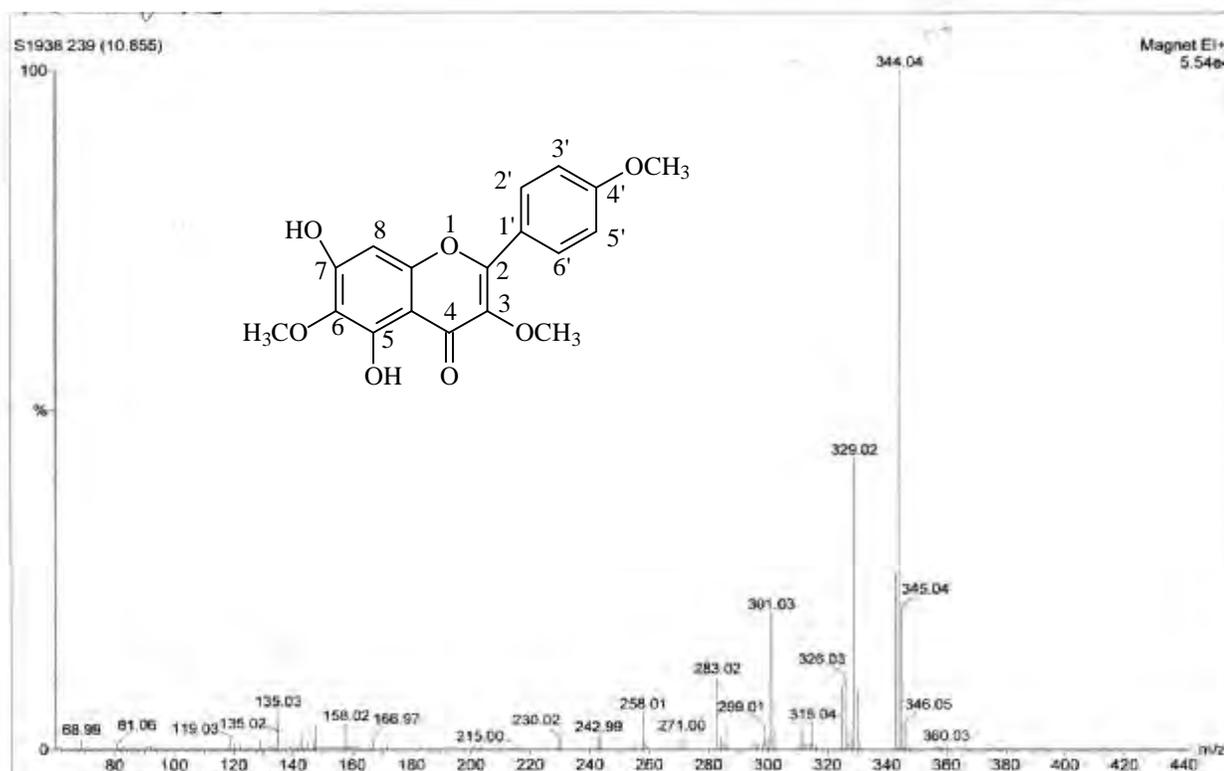
Tableau IV-1-7-2:Données de la RMN¹³C (100MHz, CDCl₃, δppm)

δ(ppm)	21,1	27,4	28,2	33,7	35,2	48,8	78,2	133,0	134,5	177,1
C	C-8	C-9	C-10	C-7	C-4	C-5	C-1	C-3	C-2	C-6

IV-1-8: Elucidation structurale du composé F₁₀, 1: j 103-2 : 8

Ce composé de couleur jaune à l'œil nu donne une fluorescence violette sous la lumière de wood ($\lambda=365\text{nm}$) caractéristique d'une flavone ou d'une flavonol 3-OR. Son spectre de masse sous impact électronique à haute résolution montre une masse exacte à 344.0876 correspondant à une formule brute C₁₈H₁₆O₇ dont la masse calculée est de 344.0896, orientant vers une molécule à 11 insaturations, en accord avec une structure flavonique.

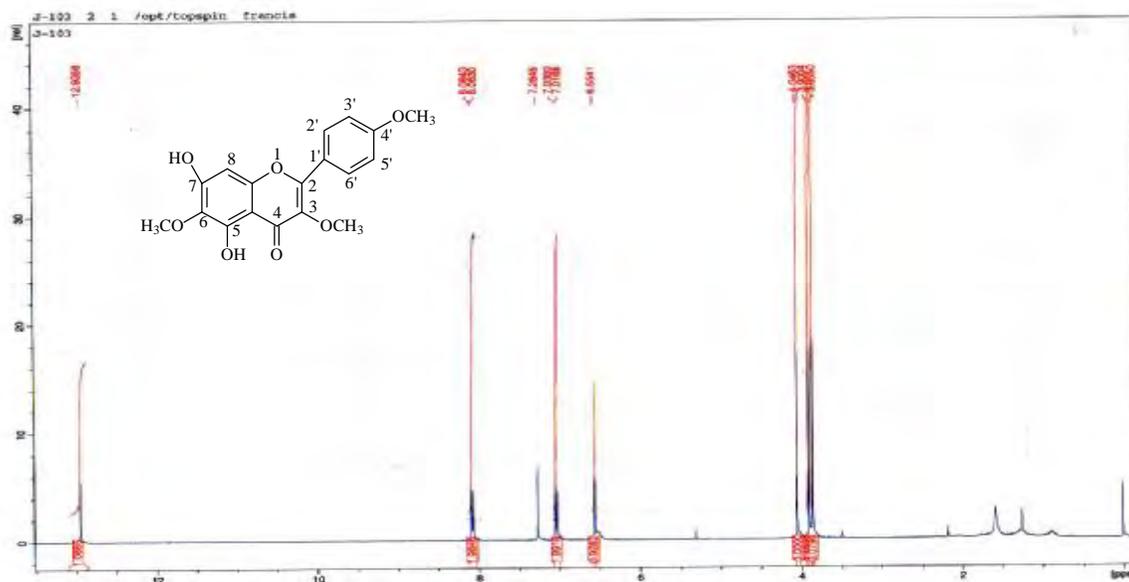
Par ailleurs, cette formule brute (C₁₈H₁₆O₇) indique la présence de trois groupements méthoxyles et deux groupements hydroxyles sur le squelette flavonique. Le spectre SMIE (spectre n°IV-1-8-1) de ce composé montre un pic moléculaire à 344 (100%) confirmant ces données et montre également un ion $m/z=329$ Da confirmant la présence de groupement méthoxyles sur cette molécule.



Spectre n°IV-1-8-1 : spectre SMIE du composé 8

Le spectre RMN ^1H de ce composé (spectre n°IV-1-8-2) montre un singulet d'intégration 1H à $\delta=12,94$ ppm, caractéristique d'un OH en C-5 d'un flavonoïde. Un système AB d'intégration 2H pour chaque signal à $\delta=8,07$ ppm et $\delta=7,02$ ppm ($J=8,5\text{Hz}$) caractéristique d'un noyau parasubstitué. Ces protons sont par conséquent attribuables à H-2' et H-6' et H-3' et H-5' respectivement. Ce spectre montre également un signal d'intégration 1H à $\delta=6,55$ ppm attribuable à H-6 ou H-8 ou H-3.

Trois singulets d'intégration 3H chacun à $\delta=4,05$; 3,90 et $\delta=3,86$ ppm attribuables à 3 méthoxyles confirmant ainsi les données de la spectrométrie de masse.



Spectre n°IV-1-8-2 : Spectre RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3 , δppm) du composé **8**

L'examen du spectre de l'expérience HMBC (spectre n°IV-1-8-3) optimisé à une constante de couplage de 8Hz montre une corrélation entre le proton de l'hydroxyle en C-5 et le carbone quaternaire non oxygéné à

$\delta=105,9$ ppm permettant ainsi son attribution à C-10.

Ce proton corrèle également avec deux autres atomes de carbones tous deux quaternaires oxygénés.

L'un à $\delta=129,7$ ppm attribuable à C-6. Ce carbone corrèlant aux protons du méthoxyle à $\delta=4,05$ ppm ($\delta\text{c}=60,7$ ppm) et par conséquent méthoxylé.

L'autre atome de carbone à $\delta=151,6$ ppm est attribuable à C-5.

-L'attribution de C-6 permet d'attribuer le singulet à $\delta=6,6$ ppm à H-8 grâce à la corrélation observée entre ces deux noyaux menant ainsi à une structure de type flavonol 3-OR.

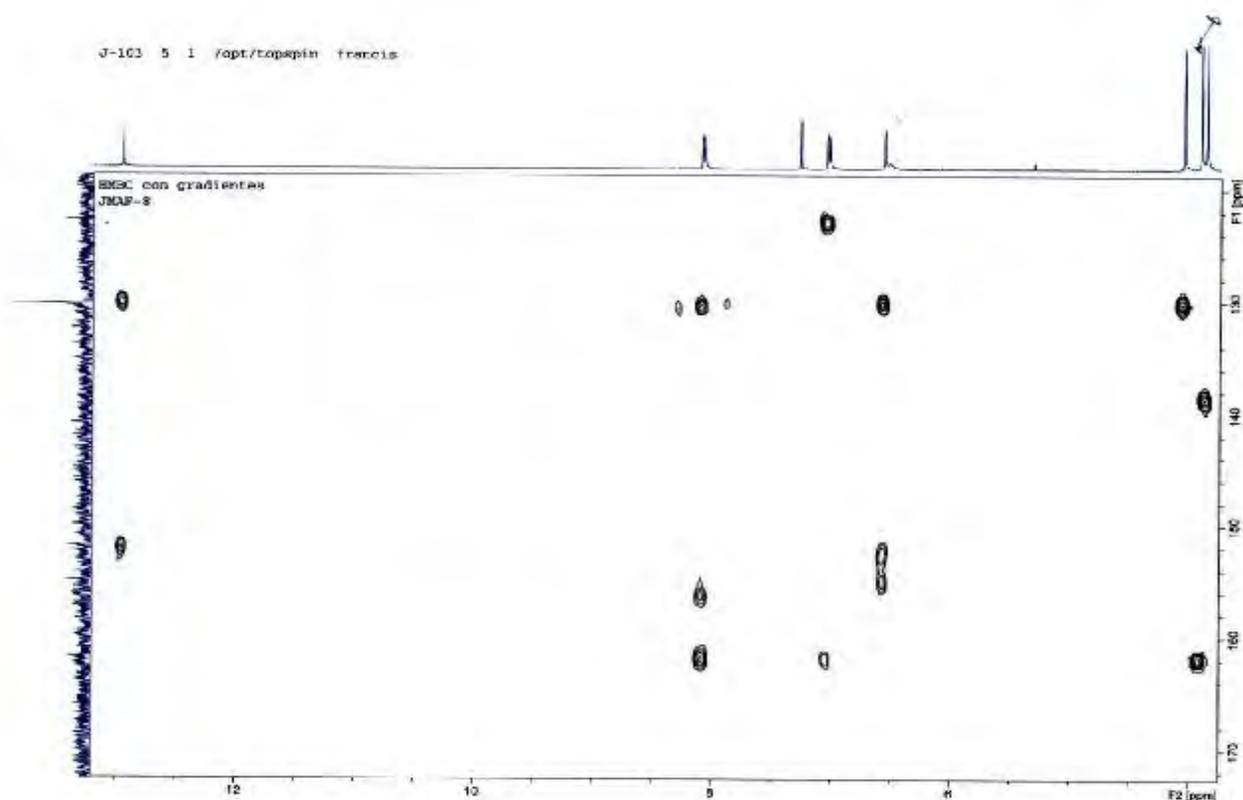
Toujours sur le même spectre l'attribution de H-8 confirme celle de C-10 et permet de localiser C-9 et C-7 à $\delta=152,0$ et $155,9$ ppm respectivement.

Par ailleurs, les corrélations observées entre H-3' et H-5', H-6' et H-2' permettent de localiser C-4' à $\delta=161,5$ ppm. Ce noyau corrélant avec les protons du méthoxyles à $\delta=3,90$ ppm ($\delta_c=55,2$ ppm) et par conséquent méthoxylé.

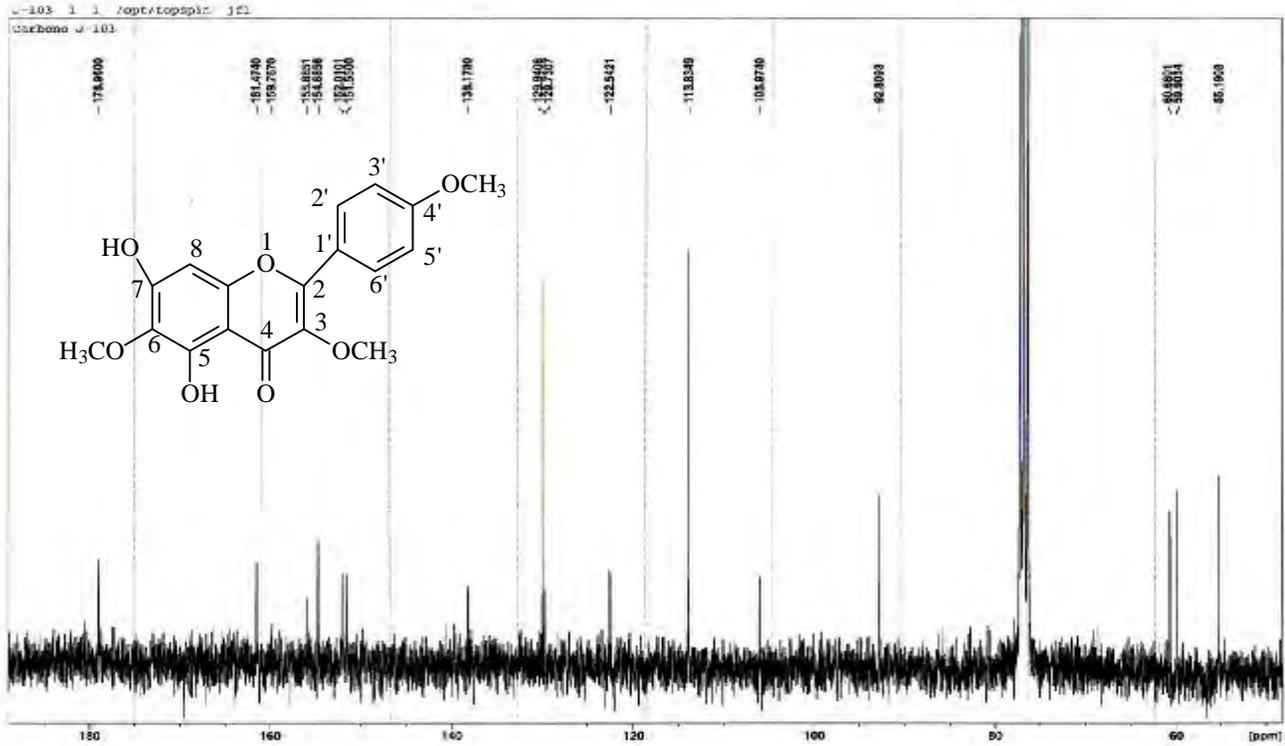
Ce spectre montre également une corrélation entre les protons du méthoxylé à $\delta=3,86$ ppm ($\delta_c=59,9$ ppm), et le carbone à $\delta=138,2$ ppm attribuable à C-3.

La localisation de C-1' à $\delta=122,5$ ppm est déduite de sa corrélation avec les protons H-3' et H-5', celle de C-2 ($\delta_c=158,9$ ppm) est déduite de sa corrélation avec H-2' et H-6'.

Le signal à $\delta=179,0$ ppm est attribuable à C-4 (carbonyle doublement conjugué C-4).



Spectre IV-1-8-3 : Spectre HMBC du composé 8



Spectre IV-1-8-4 : Spectre RMN ^{13}C du composé **8**

L'ensemble de ces données mène à l'hydroxylation de C-7et la structure est reportée dans le schéma IV-1-8-1

Cette molécule est connue sous le nom de santine [9] ou 5,7-dihydroxy 4', 6,3-triméthoxyflavone.

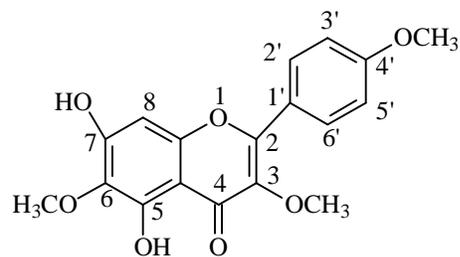


Schéma IV-1-8-1

Les données RMN ^1H et RMN ^{13}C sont reportés dans les tableaux (IV-1-8-1), (IV-1-8-2) respectivement

Tableau n° (IV-1-8-1) : données de la RMN ^1H du composé **8**

Déplacement chimique $\delta(\text{ppm})$	Intégration	Multiplicité (J Hz)	attribution
12,94	1H	S	OH-5
8,07	2H	d (8,5 Hz)	H-2', H-6'
7,02	2H	d (8,5 Hz)	H-3', H-5'
6,55	1H	s	H-8
4,05	3H	s	6-OCH ₃
3,90	3H	s	4-OCH ₃
3,86	3H	s	3-OCH ₃

Tableau n° (IV-1-8-b): Données de la RMN ^{13}C du composé **8**

Déplacement chimique $\delta(\text{ppm})$	Attribution	HMBC (^{13}C -H)
159,0	C-2	H-2', H-6'
138,2	C-3	OCH ₃ (C-3)
179,0	C-4	
151,6	C-5	OH-5
129,7	C-6	OH-5, OCH ₃ (C-6)
155,9	C-7	
92,8	C-8	
152,0	C-9	
105,9	C-10	OH-5
122,5	C-1'	H-3', H-5'
129,9	C-2'	
113,8	C-3'	
161,5	C-4'	
113,8	C-5'	
129,7	C-6'	
59,9	OCH ₃ (C-3)	
55,2	OCH ₃ (C-4')	
60,7	OCH ₃ (C-6)	

IV-1-9: Elucidation structurale du composé J_{103A1} : 9

Le composé **9** a été obtenu sous forme de cristaux. Son spectre HR-EI-MS (spectre n° IV-1-9-1) montre une masse exacte pour le pic moléculaire à m/z 372,0988 (calc. 372,0976) et m/z 374,0932 (calc. 374,0946). Ce spectre montre également les signaux à m/z 337,1299 [M-Cl]⁺ (calc. 337,1287), 319,1173 [M-Cl-H₂O]⁺ (calc. 319,1182), 301,1062 [M-Cl-2H₂O]⁺ (calc. 301,1076), 296,0616 (calc. 296,0629) et 294,0669 (calc. 294,0659) [M-CH₃CO₂H-H₂O]⁺, suggérant que ce composé renferme deux groupements hydroxyles et un groupement acétate et confirmant la présence de l'atome de Chlore. Son spectre RMN ¹H (spectre n° IV-1-9-2) montre deux signaux caractéristiques de protons d'un groupement exométhyle formant un couplage allylique et conjugués avec le carbonyle d'une lactone sesquiterpénique à δ 6,21 (*d*, *J* = 3,5 Hz, H-13a) et δ 5,41 (*d*, *J* = 3,2 Hz, H-13b). Dans le spectre COSY ¹H-¹H (spectre n° IV-1-9-3), les corrélations de H-13a and H-13b mènent à l'attribution de H-7 à δ 3,54, qui, à son tour mène à H-6 à δ 4,21 dont le signal apparaît sous forme d'un doublet de doublets (*J* = 11,0 ; 9,9 Hz). Sur le spectre HSQC (spectre n° IV-1-9-4), ce proton corrèle avec le carbone à δ _C 81,3 ; indiquant une lactone sesquiterpénique fermée en C-6. Les corrélations de H-6 dans le spectre COSY ¹H-¹H permettent l'attribution de H-5 à δ 3,13 résonant sous forme d'un doublet (*J* = 11,0 Hz). La multiplicité de H-5 est en faveur d'un C-4 tétrasubstitué. Un ré-examen du spectre RMN ¹H confirme la présence du groupement acétate en montrant un singulet de 3H à δ 2,16 (δ _C 21,3 tiré du spectre HSQC), ce spectre montre également la présence de deux autres groupements méthyles. Un de ces deux méthyles (δ _C 18,0, δ 1,74) corrèle avec H-5 dans le spectre relatif à l'expérience HMBC (spectre n° IV-1-9-5) (Figure 1) ne peut être que C-15; tandis que l'autre (δ _C 23,5, δ 1,51) ne peut par conséquent être que C-14. Dans le même (HMBC), les protons de C-15 corrèlent avec C-romateur en graphite. Les intensités des taches réparties par plans de réseau réciproque ont été mesurées avec le programme COLLECT (Bruker AXS BV, 1997-2004), puis indexées et traitées avec le programme Denzo SMN et enfin mises à la même échelle avec le programme HKL 2000 [10] (Otwinowski et Minor, 1997). L'essentiel des données cristallines, des conditions d'enregistrement et des paramètres d'affinement est rassemblé dans le tableau IV-1-9-1. La structure cristalline a été résolue par les méthodes directes avec le progra5, avec l'atome de carbone quaternaire à δ _C 67,4 qui peut être attribué à C-4 et avec l'atome de carbone du CH à δ _C 3,62) permettant son attribution à C-3. Un retour vers le spectre COSY ¹H-¹H, particulièrement, les corrélations de H-7, mènent à l'attribution du multiplet à δ 1,96 à H-8 et H-8 respectivement (δ _C 31,9). Dans le même spectre, ces deux protons montrent des corrélations avec le proton correspondant au doublet de doublets (*J* = 7,3 ; 1,7 Hz) à δ 5,09 suggérant son attribution à H-9. La valeur du déplacement de H-9 indique que le groupement acétate est placé sur C-9 (δ _C 74,6). Cette substitution est appuyée par la présence d'une corrélation observée sur le spectre HMBC entre H-9 et l'atome de carbone du carbonyle à δ _C 169,9 attribué au groupement acétate (C-1') grâce à sa corrélation avec les protons du groupement méthyle à δ 2,16 (CH₃-2'). Ce spectre montre également des corrélations entre H-13a, H-13b et le carbone à δ _C 169,9. Cette observation indique que C-12 et C-1' ont le même déplacement chimique et confirme la présence de 17 atomes de carbone dans cette structure. Par ailleurs, ce spectre (HMBC) montre des corrélations entre H-8 et les protons du CH₃-14 avec le carbone quaternaire hydroxylé à δ _C 77,5 qui peut être attribué à C-10. L'hydroxylation de C-10 appuyée par la corrélation observée entre lui et le proton du groupement hydroxyle à δ 3,13. Cette hypothèse est confirmée par la corrélation entre le proton de l'hydroxyle et C-9. Toujours sur le même spectre (HMBC), H-3 et les protons du CH₃-14 corrèlent avec le carbone quaternaire à δ _C 77,5 qui ne peut être attribué qu'à C-1. Cet atome de carbone doit être hydroxylé vu la valeur de

son déplacement chimique et sa corrélation avec le proton du groupement hydroxyle à 4,10. Ce spectre (HMBC) montre également des corrélations entre C-5, C-4, C-3, C-1 et le proton du singulet large à $\delta_{\text{H}} 4,14$ ($\delta_{\text{C}} 61,6$), permettant son attribution à H-2. Ces observations suggèrent un squelette de type guaianolide pour cette lactone sesquiterpénique. La formule moléculaire $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{O}_7\text{Cl}$ du composé **9** indique la présence de 7 insaturations, qui, ajoutée aux valeurs des déplacements chimiques de C-3 et C-4, suggèrent une fonction époxide dans ces positions. Par conséquent, l'atome de chlore, doit être en C-2.

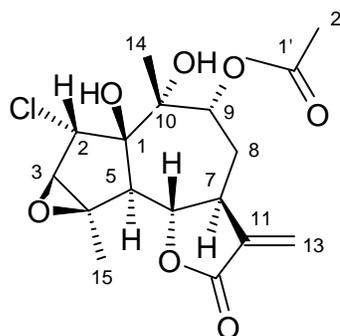
La stéréochimie de C-5, C-6, C-7 et C-9 découlent des valeurs des constantes de couplage suggérant une disposition *trans* pour H-5, H-6 et H-7 et une orientation- pour H-9. La stéréochimie de C-1, C-2, C-3, C-4 et C-10 est déduite du spectre 2D ROESY ^1H - ^1H . En effet, les interactions ROESY H-5/H-3, H-5/ CH_3 -15, suggèrent une configuration 3,4-époxy, par contre les interactions ROESY de H-9/OH-1, H-7/OH-10, et CH_3 -14/H-2 indiquent une orientation- pour OH-1, une orientation- pour OH-10, et une orientation- pour l'atome de chlore. Ainsi le composé **9** est identifié comme : as 2-chloro-9-acetoxy-1,10-dihydroxy-3,4-époxy-5,7-H-guaia-11(13)-en-12,6-olide. Ce produit est nouveau, nous l'avons appelé : Algérianolide.

La structure moléculaire et la configuration relative du composé **9** (algérianolide) ont été également établies par une analyse de diffraction de rayons X (schéma 2). Les données de diffraction ont été collectées à température ambiante à l'aide d'un diffractomètre Kappa CCD de type Bruker-Nonius en utilisant un rayonnement issu d'une anti-cathode en molybdène Mo ($\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$) monochromatisé avec un monochromateur SIR 2004 [11] (Burla, 2005) puis affinée avec le programme SHELX-97 [12] (Sheldrick, 1997) en combinant et moyennant l'intensité des paires de Friedel. Mise à part les atomes H, les autres atomes ont été affinés avec les facteurs d'agitation thermique anisotropes par moindres carrés avec matrices complètes sur F^2 . Tous les atomes H ont été positionnés de façon géométrique et ceux du groupement méthyle ont été affinés en conservant la rigidité du groupe.

Les atomes H des groupes méthyles ont été affinés avec $U_{\text{iso}}(\text{H}) = 1,5 U_{\text{éq}}(\text{C})$ alors que les autres atomes H ont été affinés avec $U_{\text{iso}}(\text{H}) = 1,2 U_{\text{éq}}(\text{C})$.

Algérianolide (**9**): Cristaux incolores. mp 215°, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +42,35^\circ$ (c 0,85 CHCl_3), ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 5,41 (1H, d, $J = 3,5$ Hz, H-13a), 5,41 (1H, d, $J = 3,2$ Hz, H-13b), 5,09 (1H, dd, $J = 7,3$; 1,7 Hz, H-9), 4,14 (1H, dd, $J = 11,0$; 9,9 Hz, H-6), 4,10 (1H, brs, H-2), 3,62 (1H, brs, H-3), 3,54 (1H, m, H-7), 3,13 (1H, d, $J = 11,0$ Hz, H-5), 2,21 (1H, m, H-8), 1,96 (1H, brd, $J = 15,6$ Hz, H-8), 1,51 (3H, s, CH_3 -15), 1,51 (3H, s, CH_3 -14), 2,16 (3H, s, CH_3 -2'), 4,10 (1H, s, OH-1), 2,33 (1H, s, OH-10); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): 169,9 (C-12 & C-1'), 138,5 (C-11), 119,4 (C-13), 84,5 (C-1), 81,3 (C-6), 77,5 (C-10, recouvert par le signal du solvant, attribué grâce au spectre de l'expérience HMBC), 74,6 (C-9), 67,4 (C-4), 63,7 (C-3), 61,6 (C-2), 46,4 (C-5), 41,6 (C-7), 31,9

(C-8), 23,5 (C-14), 18,0 (C-15), 21,3 (C-2'); HREIMS m/z 374,0932 (calc. pour $C_{17}H_{21}O_7^{37}Cl$, 374,0946), 372,0988 (calc. pour $C_{17}H_{21}O_7^{35}Cl$, 372,0976). EIMS m/z 337 $[M-Cl]^+$ (0,5), 319 $[337-H_2O]^+$ (6,9), 296 $[M-CH_3CO_2H-H_2O]^+$ (0,4), 294 $[M-CH_3CO_2H-H_2O]^+$ (1,2), 277 $[337-CH_3CO_2H]^+$ (4,6), 271 $[M-CH_3CO_2H-CO-CH_3]^+$ (1,8), 269 $[M-CH_3CO_2H-CO-CH_3]^+$ (5,5), 259 $[277-H_2O]^+$ (7,7), 250 (7,5), 243 (1,9), 241 (3,7), 231 (5,5), 217 (6,3), 216 (4,9), 215 (4,4), 191 (3,4), 189 (4,0), 183 (5,9), 165 (7,9), 161 (7,0), 151 (6,8), 137 (15,7), 111 (100).



9

Algérianolide

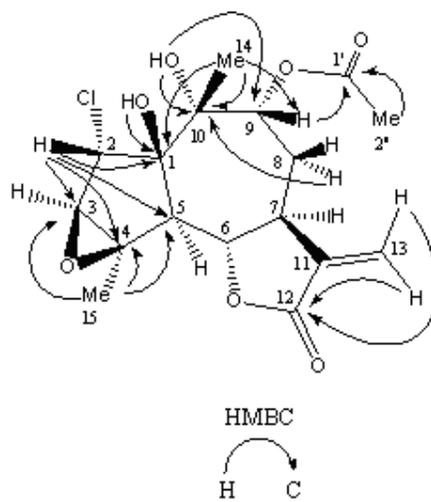
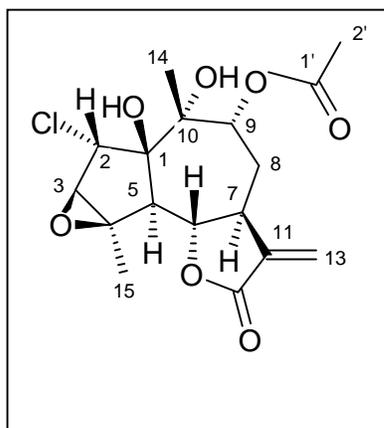


Figure 1: Corrélations HMBC les plus importantes du composé **9** (Algérianolide)

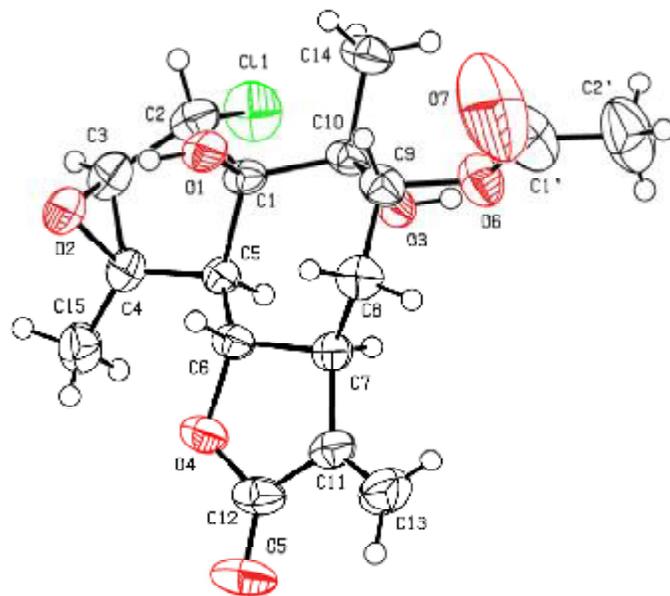


Figure 2: Vue de la molécule, montrant le schéma de numérotation des atomes

Displacement ellipsoids are plotted at the 50% probability level.

Tableau IV-2-: Données cristallographiques et affinement de structure du composé **9**

Ces données ont été déposées au centre des données cristallographiques de Cambridge

(deposit number CCDC 655386). Data Acquisition - the Cambridge Crystallographic Data Centre

deposit@ccdc.cam.ac.uk <http://www.ccdc.cam.ac.uk/deposit>

Telephone: (44) 01223 762910 Facsimile: (44) 01223 336033

Postal Address: CCDC, 12 Union Road, CAMBRIDGE CB2 1EZ, UK

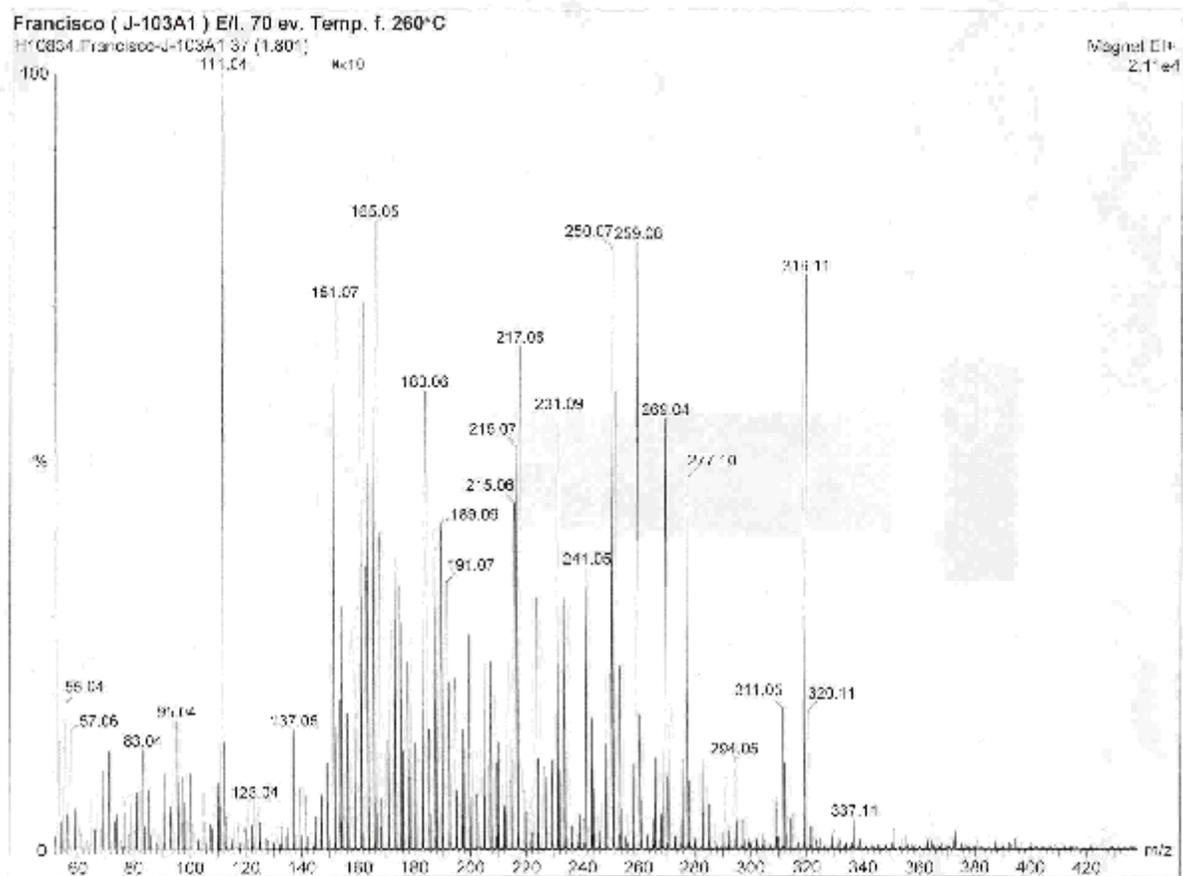
Composé 9	
Formule empirique	C ₁₇ H ₂₁ Cl O ₇
Masse molaire M	372.79
Température (°K)	293(2)
Longueur d'onde λ (Å)	0.71073
Système Cristallin	Monoclinic
Groupe d'espace	P 21
Paramètres cristallins	
a (Å)	5.9050(10)

b (Å)	15.5380(10)
c (Å)	10.1160(10)
β (°)	104.774(11)
Volume V (Å ³)	897.5(2)
Unités formulaires par maille Z	2
Densité calculée Dc (g.cm ⁻³)	1.380
Coefficient d'absorption μ (Mo-K α) (mm ⁻¹)	0.248
Taille du Cristal (mm)	0.45 x 0.20 x 0.08
Intervalle angulaire pour θ (°)	2.1 – 28.7
Intervalle des indices	-7 \leq h \leq 7; -20 \leq k \leq 21; -13 \leq l \leq 13
Nombre de Reflections	15100 / 4334
Rint (facteur de reliabilité)	0.055
Correction d'absorption	aucune
Methode d'affinement	Par moindres carrés avec matrice complète sur F ²
Données /contraintes/paramètres	4334/0/229
R finaux indices [I > 2 σ (I)]	R=0.052; wR2=0.1428; S=1.13
Schémas de pondération, w	1/[σ^2 (Fo2)+(0.0804P) ²], P=(Fo2+2 Fc2)/3
Maximum déplacement / erreur	0.00/0.00
Parametre de Flack	0.04(7)
Plus grands pics et trou dans la Fourier différence (e Å ⁻³)	0.35/-0.42

Minimum:	1.00				1.5		
Maximum:	100.00		200.0	5.0	50.0		
Mass	RA	Calc. Mass	mDa	EBM	DBE	Formula	
351.9353	2.07	351.9355	-0.2	-0.7	13.0	C15 H4 O6 35C1	37C1
351.0284	1.24	351.0272	1.2	3.5	10.5	C16 H12 O7 35C1	
350.0552	1.24	350.0557	-0.5	-1.5	10.0	C17 H15 O8 35C1	
348.0968	1.24	348.0976	-0.8	-2.2	5.0	C15 H21 O7 35C1	
346.0816	2.07	346.0819	-0.3	-1.0	6.0	C15 H19 O7 35C1	
345.0904	2.07	345.0919	-1.5	-4.3	6.5	C16 H20 O6 37C1	
345.0825	1.66	345.0838	-1.3	-3.6	6.5	C17 H21 O3 35C1	37C1
345.0745	2.49	345.0741	0.4	1.1	6.5	C19 H19 O7 35C1	
345.0907	1.24	345.0322	-1.5	-4.3	3.5	C12 H17 O7 35C1	37C1
345.0149	3.32	345.0166	-1.7	-4.9	12.5	C17 H10 O6 35C1	
345.0109	3.32	345.0111	-0.2	-0.4	9.5	C15 H13 O5 35C1	37C1
344.1020	1.24	344.1027	-0.7	-1.9	6.0	C16 H21 O6 35C1	
344.0663	2.90	344.0662	0.0	0.1	7.0	C15 H17 O7 35C1	
344.0623	2.49	344.0607	1.6	4.5	3.0	C13 H20 O6 35C1	37C1
344.0465	1.66	344.0477	-1.2	-3.4	8.0	C15 H15 O7 37C1	
343.9910	1.24	343.9902	0.8	2.4	14.0	C17 H7 O6 37C1	
343.0769	2.49	343.0762	0.7	1.9	7.5	C16 H18 O6 37C1	
343.0689	3.32	343.0682	0.7	2.1	7.5	C17 H19 O3 35C1	37C1
343.0571	2.49	343.0585	-1.4	-4.0	7.5	C15 H16 O7 35C1	
343.0532	2.49	343.0529	0.3	0.8	3.5	C13 H19 O6 35C1	37C1
343.0413	1.24	343.0399	1.4	4.2	8.5	C15 H14 O7 37C1	
342.9583	2.49	342.9590	-0.7	-2.1	10.5	C14 H7 O6 35C1	37C1
342.9464	1.66	342.9460	0.4	1.3	15.5	C16 H2 O7 37C1	
342.9386	1.66	342.9379	0.7	2.1	15.5	C17 H3 O4 35C1	37C1
342.9227	1.24	342.9226	0.1	0.2	11.5	C13 H3 O7 35C1	37C1
342.1060	2.49	342.1048	1.2	3.5	7.0	C17 H21 O5 37C1	
342.0863	2.07	342.0870	-0.7	-2.1	7.0	C16 H19 O6 35C1	
341.0986	4.15	341.0970	1.6	4.8	7.5	C17 H20 O5 37C1	
341.0790	1.66	341.0792	-0.2	-0.6	7.5	C16 H18 O6 35C1	
341.0751	1.24	341.0737	1.4	4.2	3.5	C14 H21 O5 35C1	37C1
341.0594	1.24	341.0606	-1.2	-3.5	8.5	C16 H16 O6 37C1	
341.0515	1.24	341.0525	-1.0	-3.0	8.5	C17 H17 O3 35C1	37C1
341.0435	2.90	341.0429	0.6	1.3	8.5	C15 H14 O7 35C1	
341.0358	2.90	341.0373	-1.5	-4.3	4.5	C13 H17 O6 35C1	37C1
341.0151	1.66	341.0161	0.0	-0.1	9.5	C16 H13 O4 35C1	37C1
340.0668	2.07	340.0658	1.0	2.9	4.0	C14 H20 O5 35C1	37C1
339.0911	2.07	339.0913	-0.2	-0.7	8.5	C17 H18 O5 37C1	
339.0577	3.73	339.0590	-0.3	-0.9	4.5	C14 H19 O5 35C1	37C1
339.0460	2.49	339.0449	1.1	3.1	9.5	C16 H14 O6 37C1	
339.0264	1.24	339.0272	-0.8	-2.2	9.5	C15 H12 O7 35C1	
338.0543	6.64	338.0546	-0.3	-1.0	4.0	C14 H21 O7 37C1	
338.0748	2.90	338.0735	1.3	3.8	9.0	C17 H17 O5 37C1	
337.1299	4.15	337.1297	1.2	3.5	7.5	C13 H21 O7	→ M-CR
337.0871	2.49	337.0868	0.3	0.9	4.5	C14 H20 O7 37C1	
337.0833	2.90	337.0843	-1.0	-2.9	8.5	C17 H18 O5 35C1	
337.0794	2.49	337.0787	0.7	2.0	4.5	C15 H21 O4 35C1	37C1
336.9551	1.24	336.9540	1.1	3.2	16.5	C17 H2 O6 35C1	
336.1216	2.90	336.1209	0.7	2.1	3.0	C13 H20 O7	
336.0984	1.66	336.0976	0.8	2.4	4.0	C14 H21 O7 35C1	

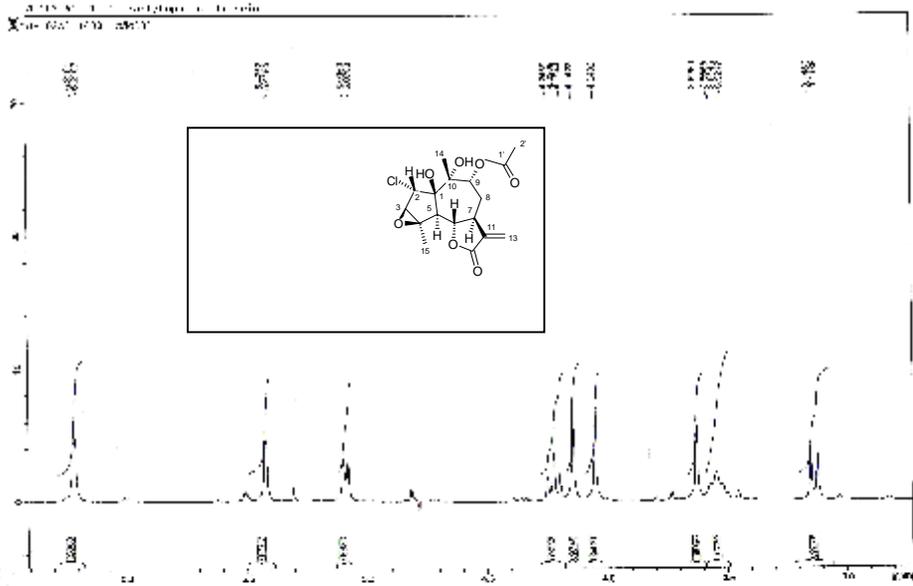
Minimum:	1.00				1.5					
Maximum:	100.00		200.0	5.0	50.0					
Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula				
335.1126	2.07	335.1131	-0.5	-1.4	8.5	C17	H19	O7		
335.0895	1.24	335.0898	-0.3	-0.8	4.5	C14	H20	O7	35C1	
335.0702	1.66	335.0712	-1.0	-2.9	5.5	C14	H18	O7	37C1	
		335.0686	1.6	4.7	9.5	C17	H16	O5	35C1	
335.0509	1.24	335.0500	0.9	2.6	10.5	C17	H14	O5	37C1	
334.1066	3.32	334.1053	1.3	4.0	9.0	C17	H18	O7		
334.0969	2.07	334.0997	-0.8	-2.4	5.0	C15	H21	O6	37C1	
334.0836	1.66	334.0819	1.7	5.0	5.0	C14	H19	O7	35C1	
334.0412	1.24	334.0422	-1.0	-3.0	11.0	C17	H13	O5	37C1	
		334.0400	1.2	3.5	2.0	C11	H18	O7	35C1	37C1
333.0730	1.66	333.0741	-1.1	-3.3	5.5	C14	H18	O7	35C1	
332.1037	3.73	332.1027	1.0	3.1	5.0	C15	H21	O6	35C1	
332.0684	1.66	332.0896	-1.2	-3.6	10.0	C17	H16	O7		
332.0846	1.24	332.0841	0.5	1.6	6.0	C15	H19	O6	37C1	
332.0616	1.66	332.0607	0.9	2.6	2.0	C12	H20	O6	35C1	37C1
331.9546	1.24	331.9538	0.8	2.5	14.0	C15	H3	O7	37C1	
331.0954	2.49	331.0948	0.6	1.7	5.5	C15	H20	O6	35C1	
331.0763	1.24	331.0762	0.1	0.2	6.5	C15	H18	O6	37C1	
331.0572	1.24	331.0585	-1.3	-3.8	6.5	C14	H16	O7	35C1	
331.0381	1.66	331.0373	0.8	2.3	11.5	C17	H12	O5	35C1	
330.9581	1.24	330.9580	-0.9	-2.8	9.5	C13	H7	O6	35C1	37C1
330.9390	1.24	330.9379	1.1	3.4	14.5	C16	H3	O4	35C1	37C1
330.9238	1.24	330.9226	1.2	3.5	10.5	C12	H3	O7	35C1	37C1
330.1053	1.24	330.1048	0.5	1.5	6.0	C16	H21	O5	37C1	
330.0862	2.49	330.0870	-0.8	-2.5	6.0	C15	H19	O6	35C1	
330.0748	1.24	330.0740	0.8	2.6	11.0	C17	H14	O7		
330.0672	1.24	330.0684	-1.2	-3.7	7.0	C15	H17	O6	37C1	
330.0596	2.07	330.0603	-0.7	-2.3	7.0	C16	H18	O3	35C1	37C1
330.0520	1.24	330.0506	1.4	4.1	7.0	C14	H15	O7	35C1	
330.0330	2.07	330.0320	1.0	2.9	8.0	C14	H13	O7	37C1	
330.0292	1.66	330.0295	-0.3	-0.9	12.0	C17	H11	O5	35C1	
330.0254	1.24	330.0240	1.4	4.3	8.0	C15	H14	O4	35C1	37C1
329.0801	2.90	329.0792	0.9	2.8	6.5	C15	H18	O6	35C1	
329.0726	1.24	329.0737	-1.1	-3.2	2.5	C13	H21	O5	35C1	37C1
329.0536	1.66	329.0525	1.1	3.3	7.5	C16	H17	O3	35C1	37C1
329.0423	3.73	329.0428	-0.5	-1.5	7.5	C14	H14	O7	35C1	
329.0385	3.32	329.0373	1.2	3.7	3.5	C12	H17	O6	35C1	37C1
329.0233	1.66	329.0242	-0.9	-2.8	8.5	C14	H12	O7	37C1	
		329.0217	1.6	4.9	12.5	C17	H10	O5	35C1	
328.1075	3.32	328.1078	-0.3	-0.8	6.0	C16	H21	O5	35C1	
328.0810	2.07	328.0811	-0.1	+0.3	7.0	C17	H20	O2	35C1	37C1
327.9790	1.24	327.9775	1.5	4.7	14.0	C16	H5	O6	35C1	
327.0999	1.24	327.0999	0.0	+0.1	6.5	C16	H20	O5	35C1	
327.0810	4.98	327.0813	-0.3	-1.0	7.5	C16	H18	O5	37C1	
327.0735	4.15	327.0733	0.2	0.7	7.5	C13	H19	O2	35C1	37C1
327.0622	1.66	327.0638	-1.3	-4.1	7.5	C15	H16	O6	35C1	
327.0584	1.66	327.0580	0.4	1.2	3.5	C13	H19	O5	35C1	37C1
327.0509	1.24	327.0505	0.4	1.3	12.5	C17	H11	O7		
327.0284	1.66	327.0272	1.2	3.8	8.5	C14	H12	O7	35C1	

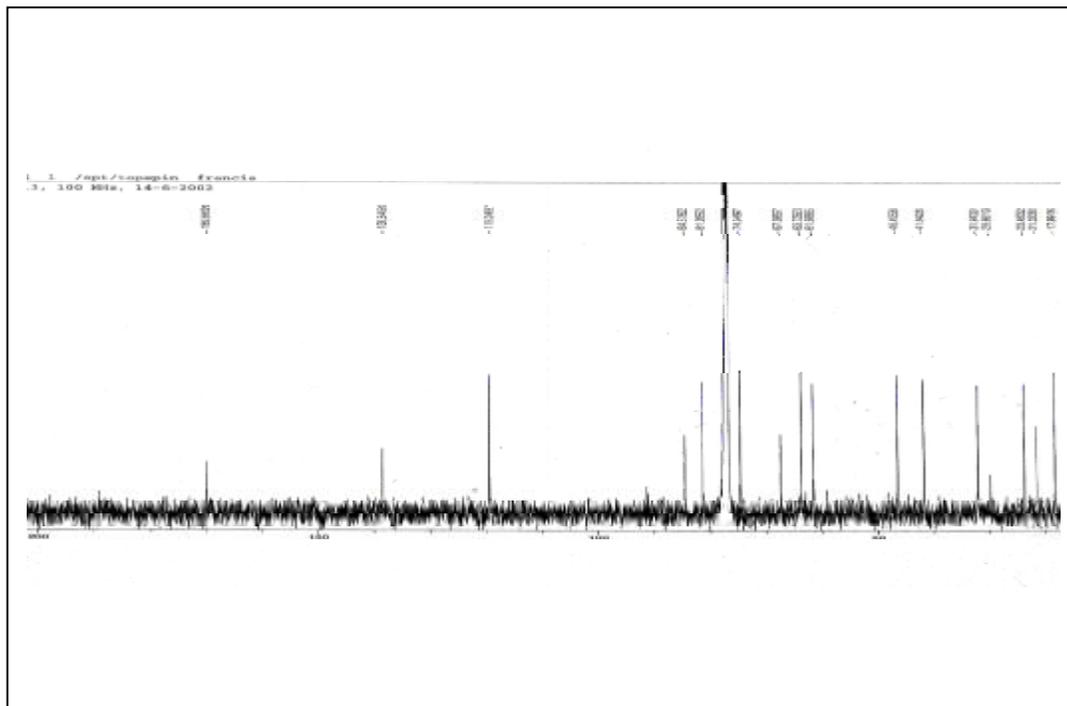
Minimum:	1.00				1.5		
Maximum:	100.00		200.0	5.0	50.0		
Mass	BA	Calc. Mass	mbE	PPM	DBE	Formula	
326.9341	1.66	326.9333	0.8	2.6	15.5	C15 O7 35Cl	
326.1105	3.73	326.1099	0.6	1.9	7.0	C17 H21 O4 37Cl	
326.0555	2.07	326.0946	0.9	2.7	3.0	C13 H21 O7 37Cl	
326.0917	1.66	326.0921	-0.4	-1.2	7.0	C15 H19 O5 35Cl	
325.1278	2.49	325.1287	-0.9	-2.9	6.5	C16 H21 O7	
325.1016	1.24	325.1021	-0.5	-1.4	7.5	C17 H20 O4 37Cl	
325.0866	2.49	325.0868	-0.2	-0.6	3.5	C17 H20 O7 37Cl	
325.0829	1.66	325.0843	-1.4	-4.2	7.5	C16 H18 O5 35Cl	
325.0791	1.24	325.0787	0.4	1.1	3.5	C14 H21 O4 35Cl 37Cl	
325.0566	3.32	325.0576	-1.0	-3.1	8.5	C17 H17 O2 35Cl 37Cl	
325.0491	2.07	325.0479	1.2	3.7	8.5	C15 H14 O6 35Cl	
324.1219	2.07	324.1209	1.0	3.1	7.0	C16 H20 O7	
324.0958	2.49	324.0942	1.6	4.8	9.0	C17 H19 O4 37Cl	
324.0771	2.49	324.0765	0.6	2.0	9.0	C16 H17 O5 35Cl	
324.0398	1.66	324.0401	-0.3	-0.8	9.0	C15 H13 O6 35Cl	
324.0361	1.66	324.0345	1.6	4.8	5.0	C13 H16 O5 35Cl 37Cl	
323.9615	1.24	323.9618	-0.3	-0.9	7.0	C11 H8 O7 35Cl 37Cl	
323.9055	1.24	323.9042	1.3	3.9	13.0	C13 O6 35Cl 37Cl	
323.1118	2.49	323.1131	-1.3	-4.0	7.5	C16 H19 O7	
323.1043	1.66	323.1050	-0.7	-2.2	7.5	C17 H20 O4 35Cl	
323.0894	1.24	323.0898	-0.4	-1.1	3.5	C13 H20 O7 35Cl	
323.0788	2.09	323.0712	-0.4	-1.1	4.5	C19 H18 O7 37Cl	
323.0671	1.24	323.0686	-1.5	-4.7	8.5	C16 H16 O5 35Cl	
323.0486	2.90	323.0500	-1.4	-4.4	9.5	C16 H14 O5 37Cl	
323.0411	1.24	323.0420	-0.9	-2.7	9.5	C17 H15 O2 35Cl 37Cl	
323.0150	1.24	323.0136	1.4	4.2	10.5	C15 H10 O6 37Cl	
322.1010	1.24	322.0997	1.3	4.0	4.0	C14 H21 O6 37Cl	
322.0974	1.66	322.0972	0.2	0.7	6.0	C17 H19 O4 35Cl	
322.0826	2.49	322.0819	0.7	2.1	4.0	C18 H19 O7 35Cl	
322.0789	1.66	322.0786	0.3	0.7	9.0	C17 H17 O4 37Cl	
322.0640	1.66	322.0633	0.7	2.1	5.0	C13 H17 O7 37Cl	
322.0602	1.24	322.0608	-0.6	-1.9	9.0	C18 H15 O5 35Cl	
322.0417	1.24	322.0422	-0.5	-1.6	10.0	C16 H13 O5 37Cl	
321.1342	2.07	321.1338	0.4	1.2	7.5	C17 H21 O6	
321.0972	3.73	321.0974	-0.2	-0.7	3.5	C16 H17 O7	
321.0898	5.81	321.0894	0.4	1.4	8.5	C17 H18 O4 35Cl 37Cl	
321.0824	5.81	321.0838	-1.4	-4.4	4.5	C15 H21 O3 35Cl 37Cl	
321.0750	2.07	321.0741	0.9	2.8	4.5	C13 H18 O7 35Cl	
321.0713	1.24	321.0708	0.5	1.7	9.5	C17 H16 O4 37Cl	
321.0565	2.49	321.0555	1.0	3.1	5.5	C13 H16 O7 37Cl	
321.0528	2.49	321.0530	-0.2	-0.5	9.5	C16 H14 O5 35Cl	
320.9604	1.66	320.9616	-1.2	-3.8	12.5	C14 H4 O7 37Cl	
		320.9591	1.5	4.1	16.5	C17 H2 O5 35Cl	
320.9530	1.24	320.9535	-0.5	-1.7	12.5	C15 H5 O4 35Cl 37Cl	
320.1260	1.66	320.1260	0.0	0.0	8.0	C17 H20 O6	
320.1038	8.30	320.1027	1.1	3.5	4.0	C14 H21 O6 35Cl	
320.0891	6.64	320.0896	-0.5	-1.6	9.0	C16 H18 O7	
320.0854	5.39	320.0841	1.3	4.2	5.0	C14 H19 O6 37Cl	
320.0817	4.98	320.0815	0.2	0.5	9.0	C17 H17 O4 35Cl	



¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) of compound 1

Étalement : RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) du composé **9**

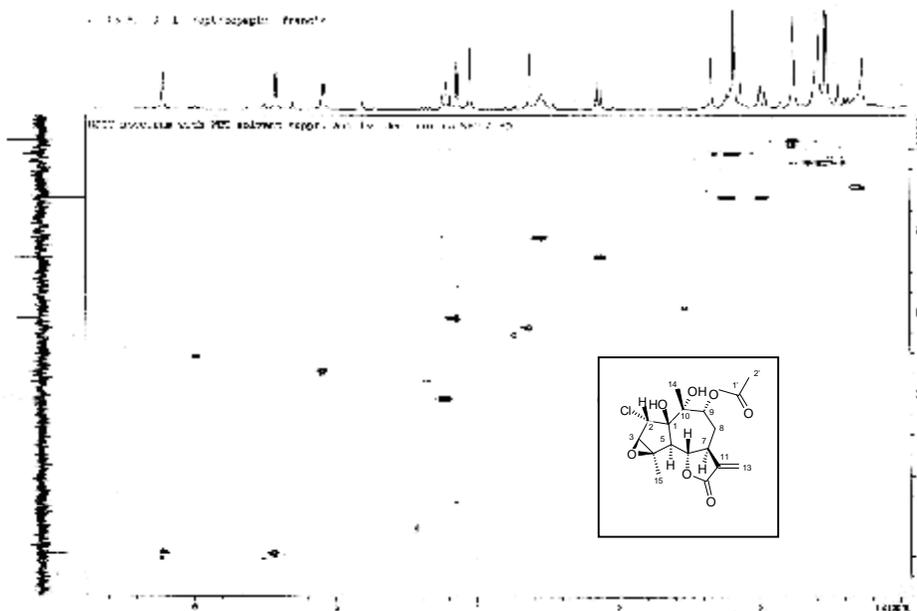




^{13}C NMR
 (CDCl₃,
 100
 MHz) of
 compound
 1

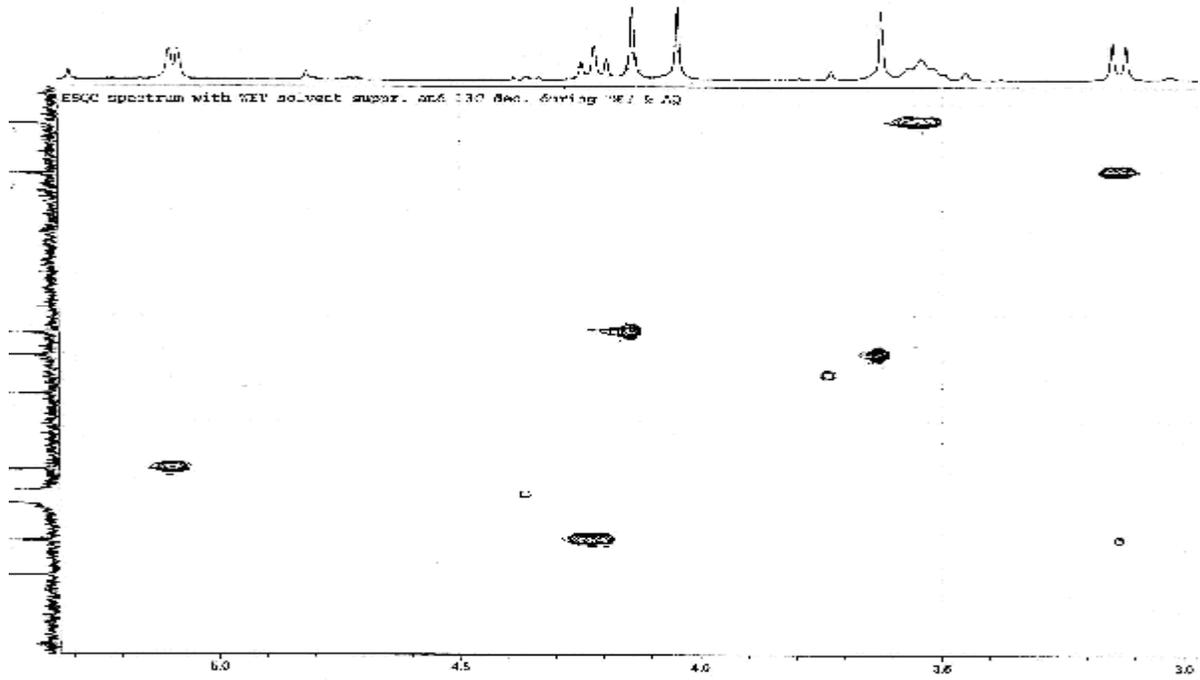
HSQC
 experiment
 spectrum
 (CDCl₃,
 400
 MHz) of

Cl
 :
 C

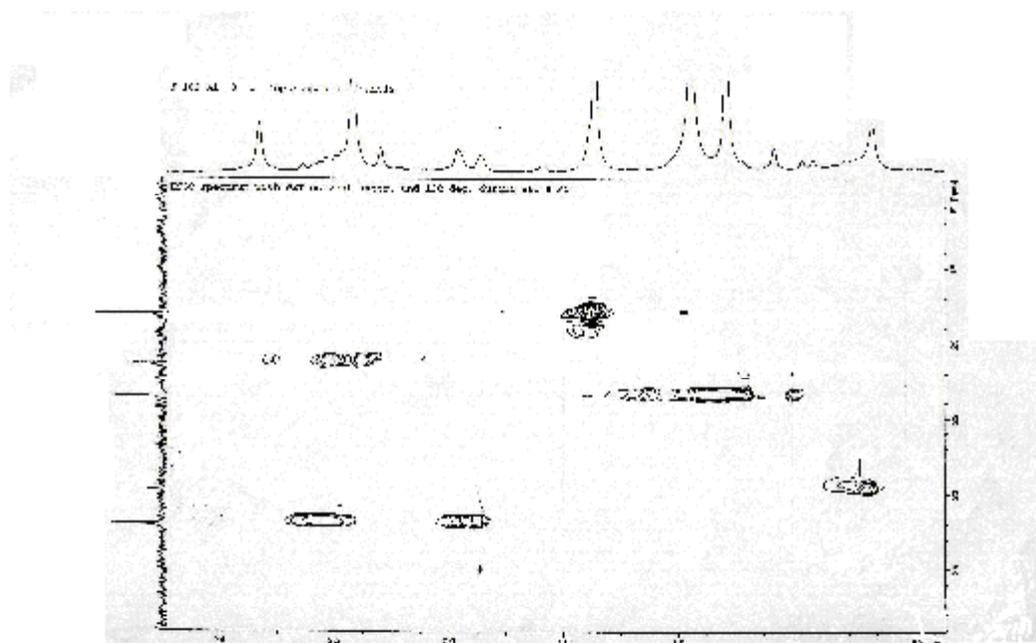


HSQC experiment spectrum (CDCl_3 , 400 MHz) of compound 1: Expansion

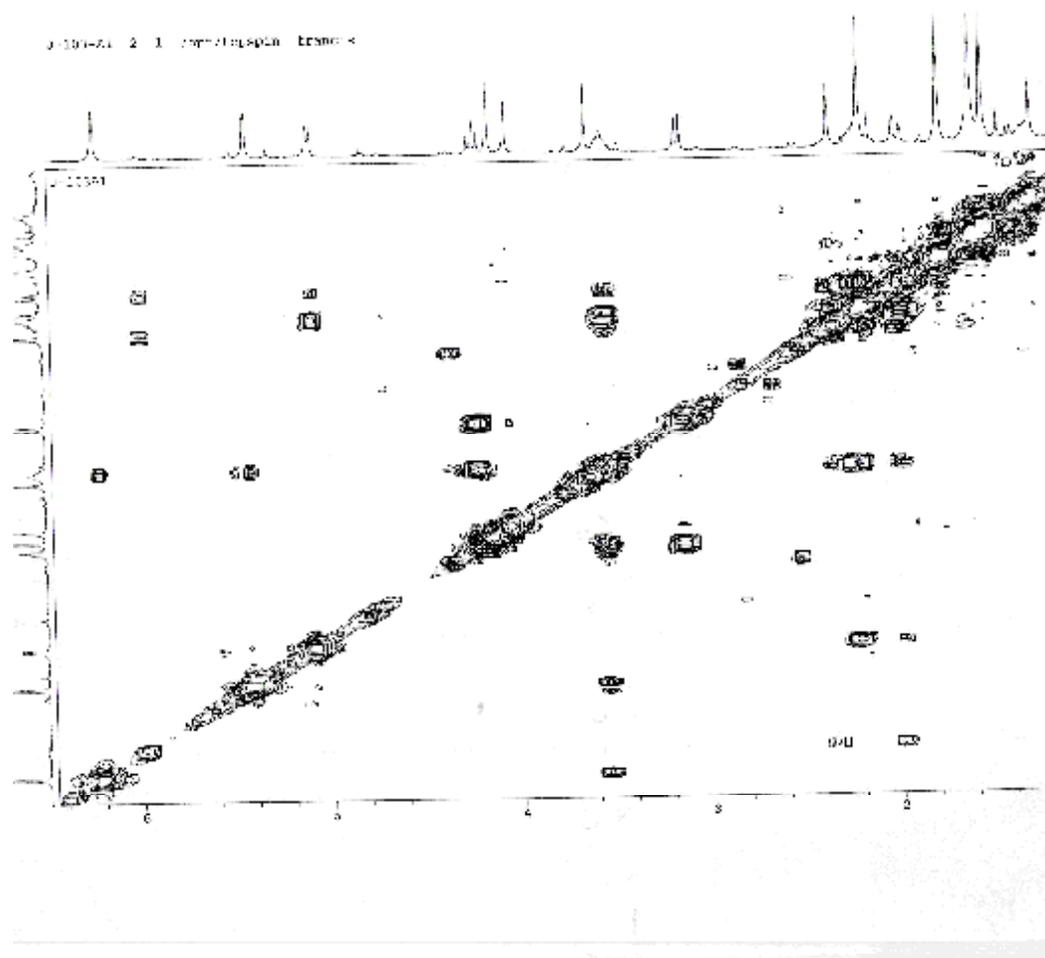
0133 Al 3 1 /op./topapin francis



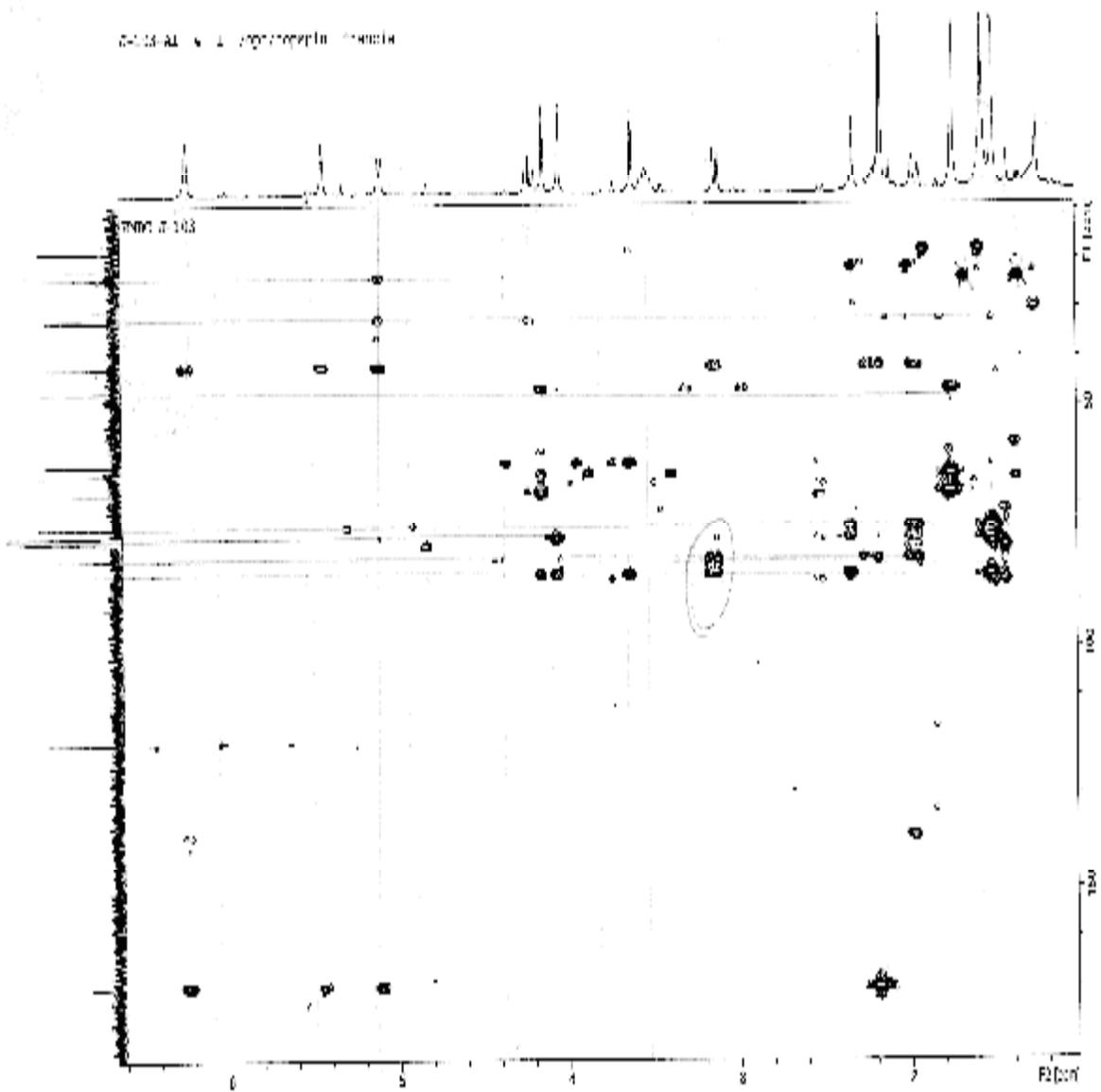
HSQC experiment spectrum (CDCl₃, 400 MHz) of compound 1: Expansion



COSY ^1H - ^1H spectrum (CDCl_3 , 400 MHz) of compound 1

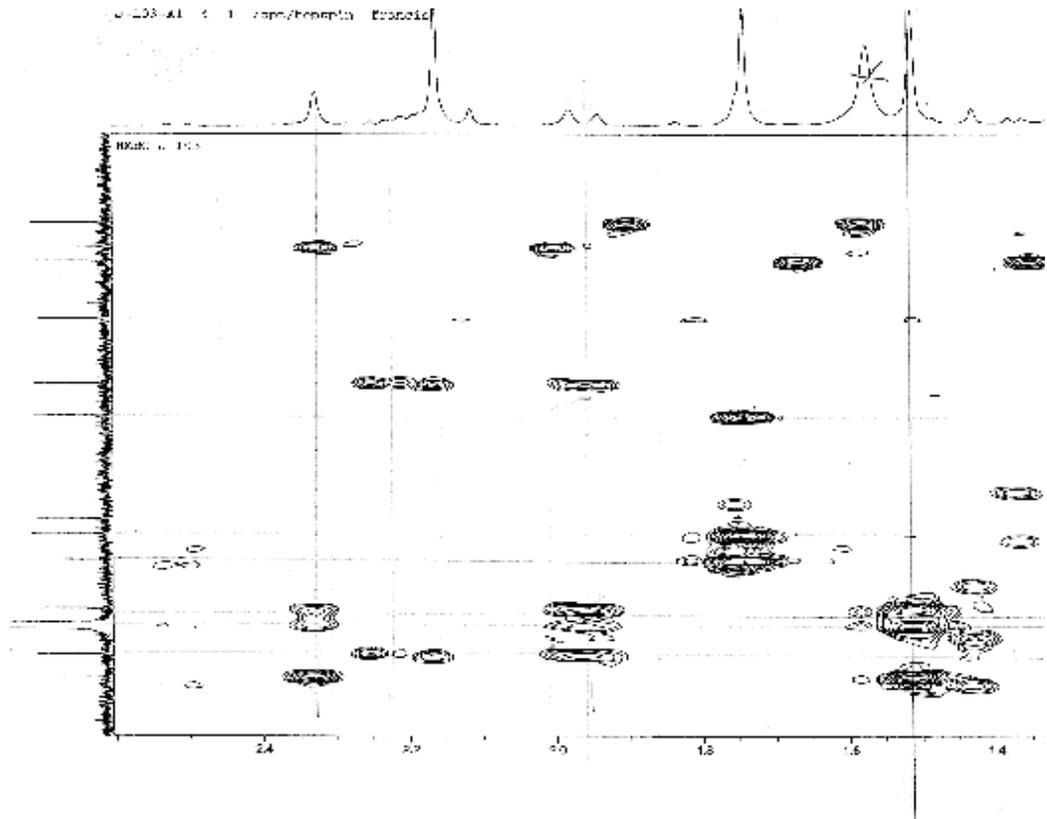


HMBC experiment spectrum (CDCl₃, 400 MHz) of compound 1



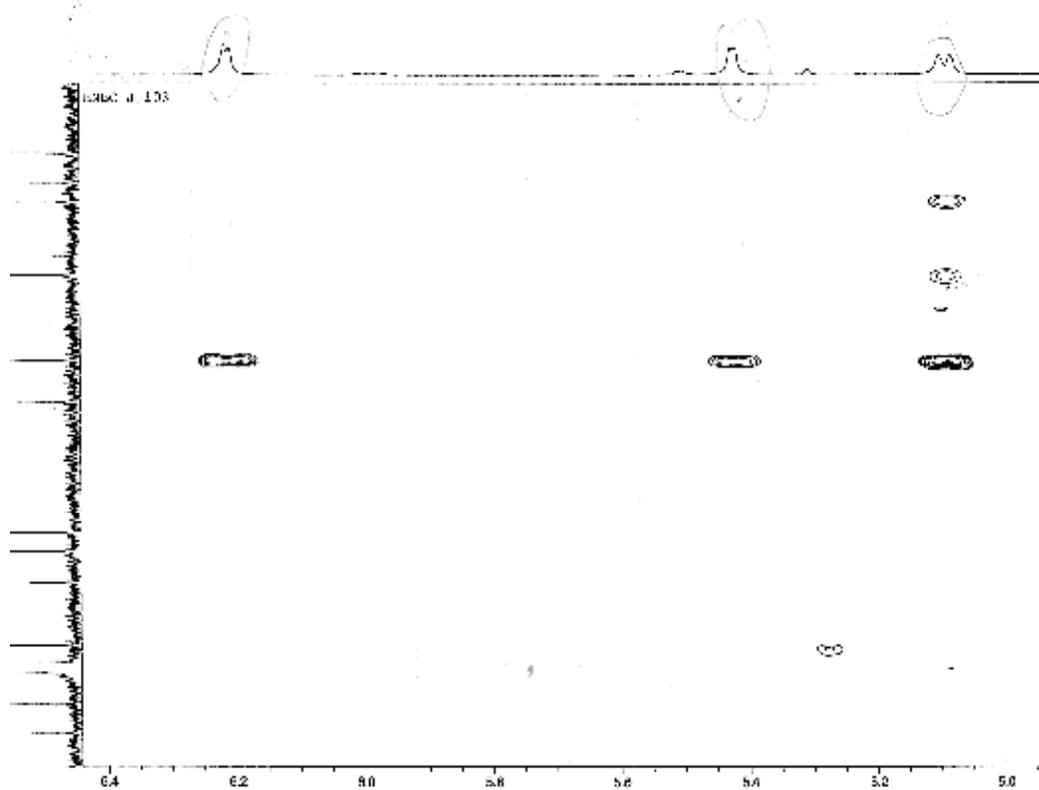
HMBC experiment spectrum (CDCl₃, 400 MHz) of compound 1: Expansion

0123-01 1 1 / ppm/centimetre H2O(d1)



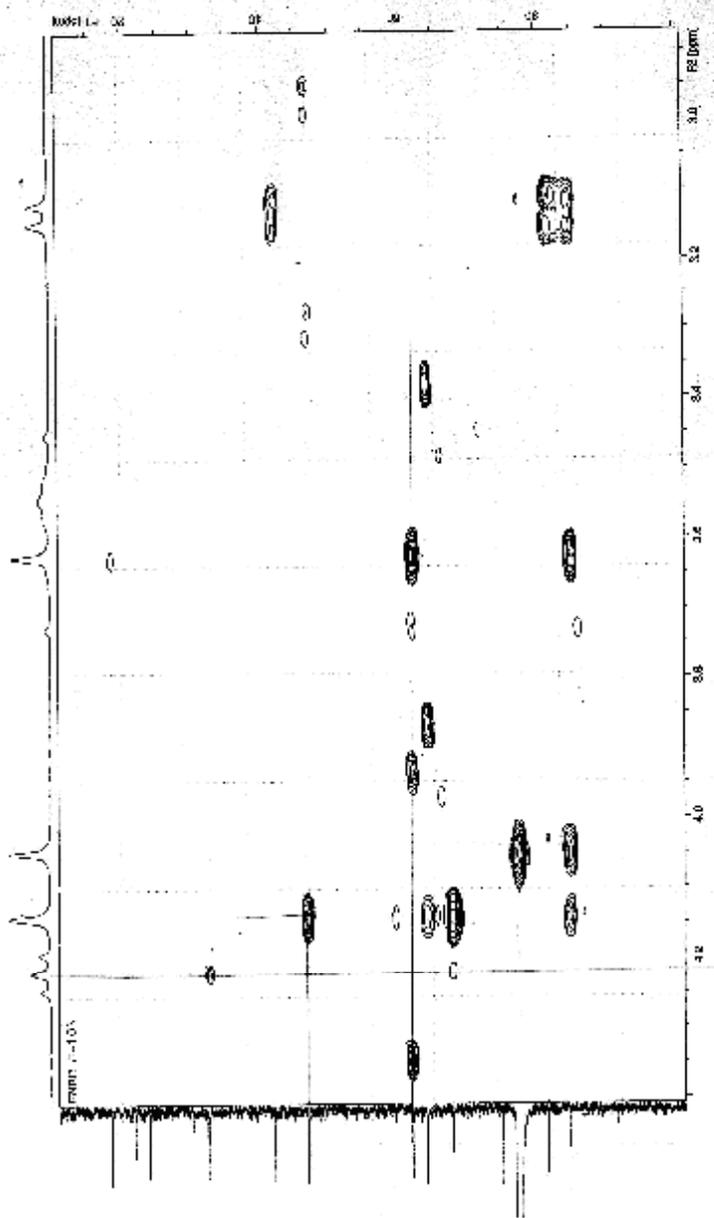
HMBC experiment spectrum (CDCl₃, 400 MHz) of compound 1: Expansion

J 103 A1 4 2 /mpk/keqeqin /Francis



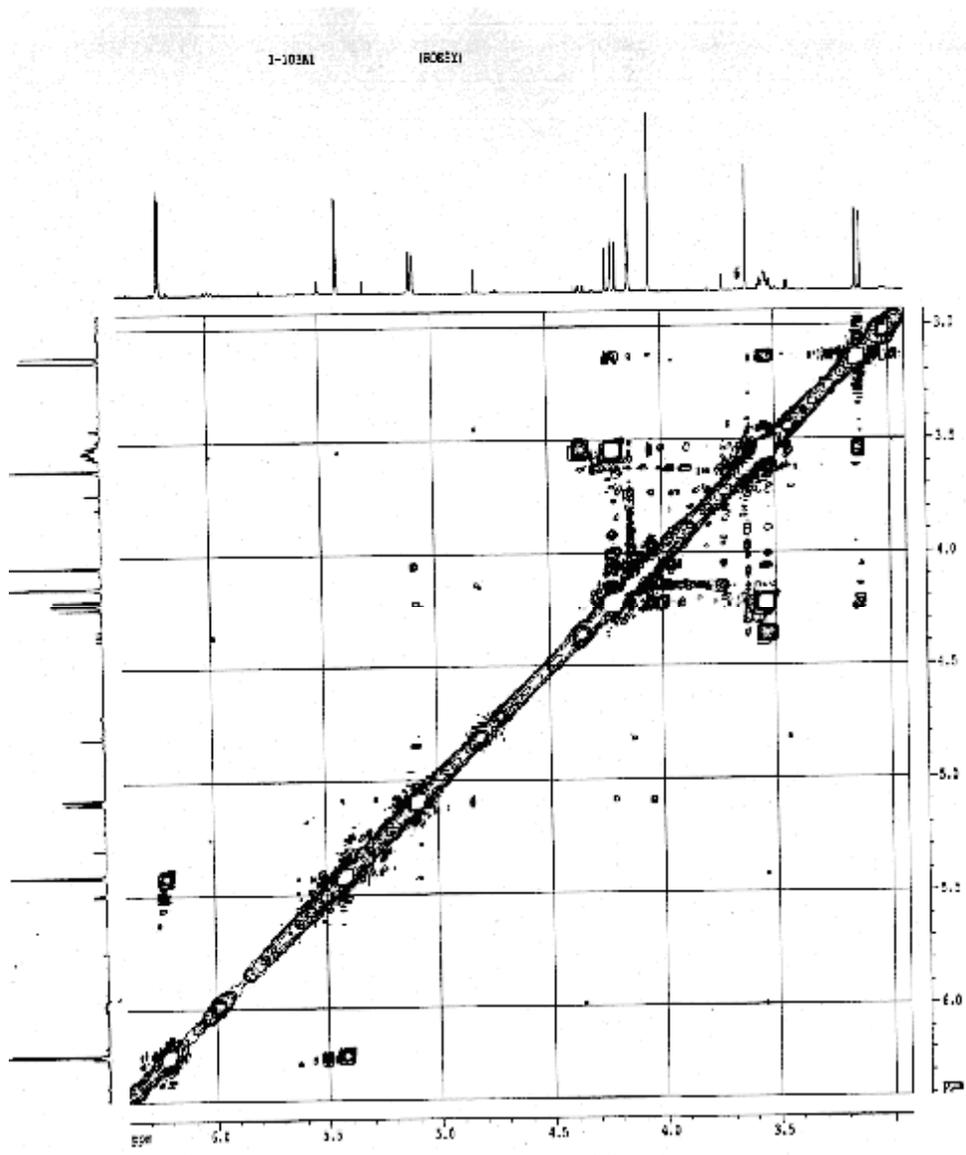
HMBC experiment spectrum (CDCl₃, 400 MHz) of compound 1: Expansion

Figure 4.1. Multi-Log₁₀ Example



ROESY experiment spectrum (CDCl₃, 500 MHz) of compound 1

ROESY experiment spectrum (CDCl3, 500 MHz) of compound 1: Expansion



Current Date: 20

NAME: 1-103A1
 EXPNO: 1
 PROCNO: 1

F2 - Acquisition
 INSCN: 238472
 TIME: 11.2
 INSTRUM: spect
 PULPROG: zgpg30
 F2: 500.13273
 ECLAVERT: 182
 FE: 1
 AS: 1

SI: 655.45
 FIDRES: 4.63440
 AQ: 0.103474
 RG: 385
 DM: 101.90
 DE: 184.2
 TE: 300

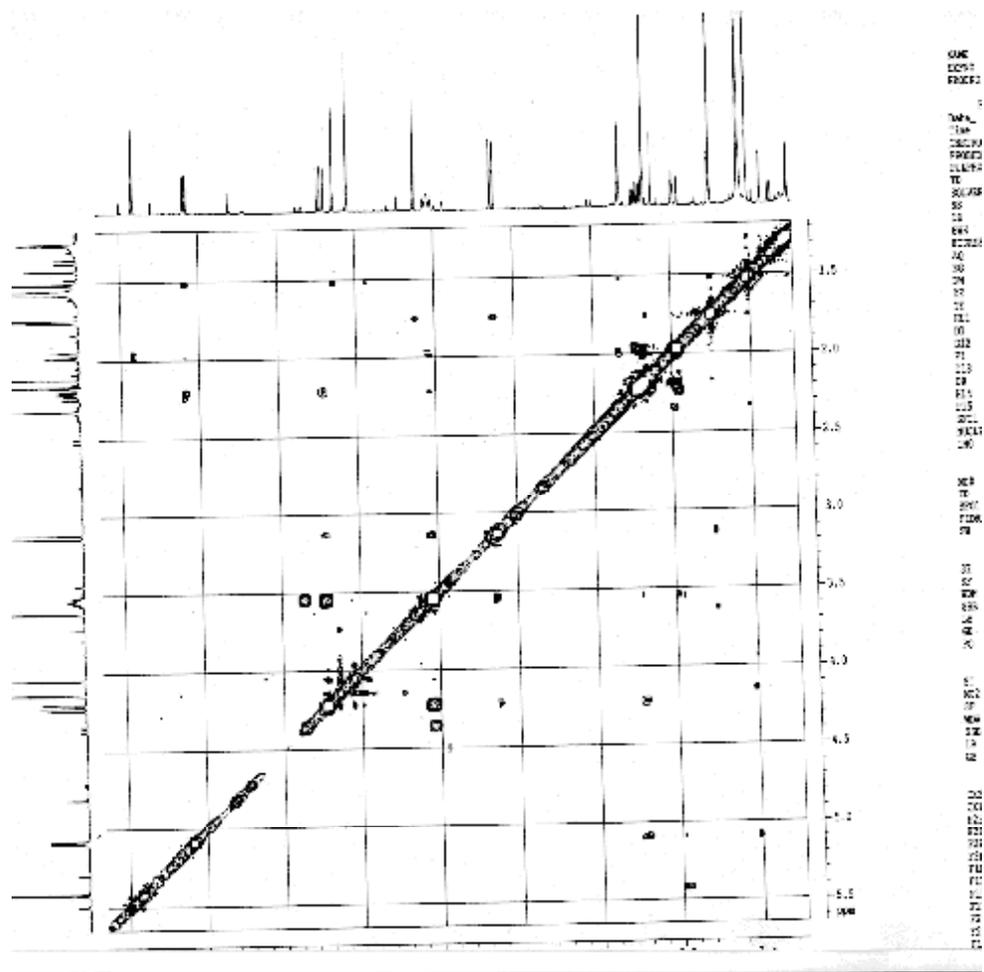
F1 - Acquisition
 MD: 1
 SI: 500.13273
 FWHM: 26.5323
 SN: 3.3

F2 - Processing
 SI: 12
 SF: 500.13273
 MW: 53
 SFO: 0.
 GB: 1
 PC: 1

F1 - Processing
 SI: 11
 SF: 500.13273
 MW: 8
 SFO: 0
 GB: 0

2D NMR plot:
 SI: 12
 SF: 28
 FIDRES: 6.
 FWHM: 3159
 SN: 2.
 SFO: 1466
 FIDRES: 6.
 FWHM: 3000
 SN: 2.
 SFO: 1466
 FWHM: 3.13
 SN: 35.71
 FWHM: 3.13
 SN: 66.54

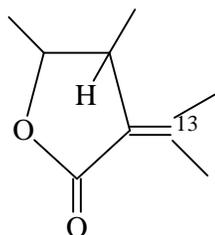
ROESY experiment spectrum (CDCl3, 500 MHz) of compound 1: expansion



Le composé Algérianolide a été obtenu comme un cristal incolore . Son spectre de masse sous impact électronique et à haute résolution montre des pics à $m/z = 372,0988$ (calculée =372,0976) et $m/z = 374,0932$ (calculée =374,0946), correspondant à la formule moléculaire $C_{17}H_{21}O_7Cl$. Ce spectre montre également des signaux à $m/z = 337,1299$ [M-Cl]+ (calculée =337,1287) , $319,1173$ [M-Cl-H₂O]+ (calculée = 319,1182), $301,1062$ [M-Cl-2H₂O]+ (calculée =301,1076), $296,0616$ (calculée =296,0629)et $294,0669$ (calculée =294,0659) [M-CH₃CO₂H-H₂O]+,ce qui suggère que ce composé contient deux groupements hydroxyles, un groupement acétate et confirme la présence s de l'atome de Cl dans ce composé .

L'examen du spectre RMN ¹H montre deux doublets à $\delta=6,21$ ppm ($J=3,5$ Hz) et $\delta=5,41$ ppm ($J=3,2$ Hz) caractéristique d'une double liaison exocyclique conjuguée avec une fonction carbonyle relative à une lactone sesquiterpénique.

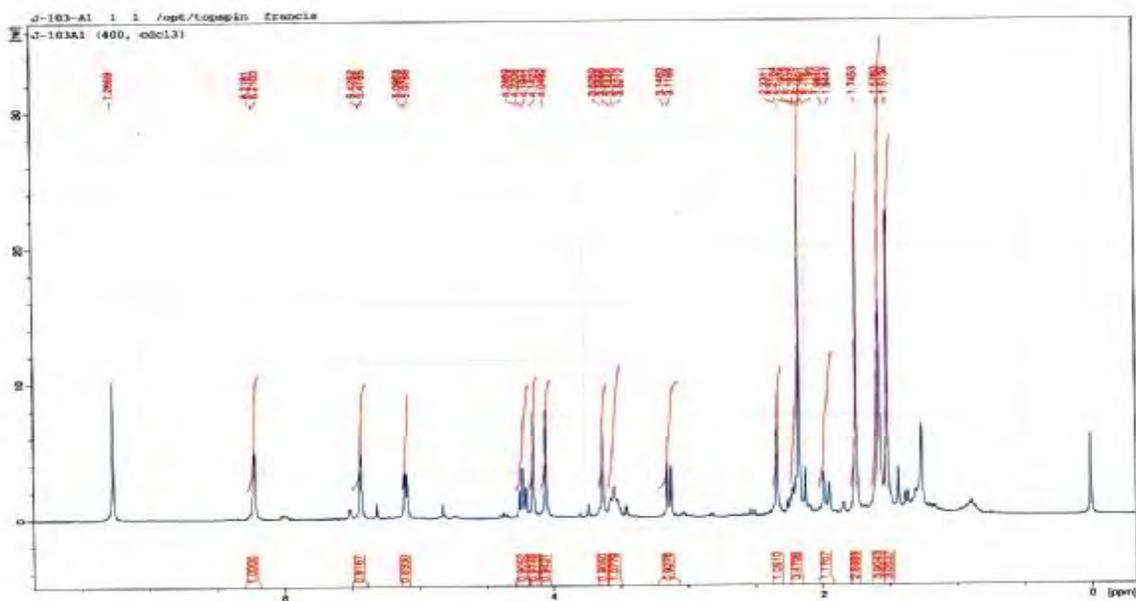
Ces signaux sont attribuables à H-13_a et H-13_b respectivement. Le couplage ayant lieu avec H-7 à longue distance étant un couplage allylique avec H-7:



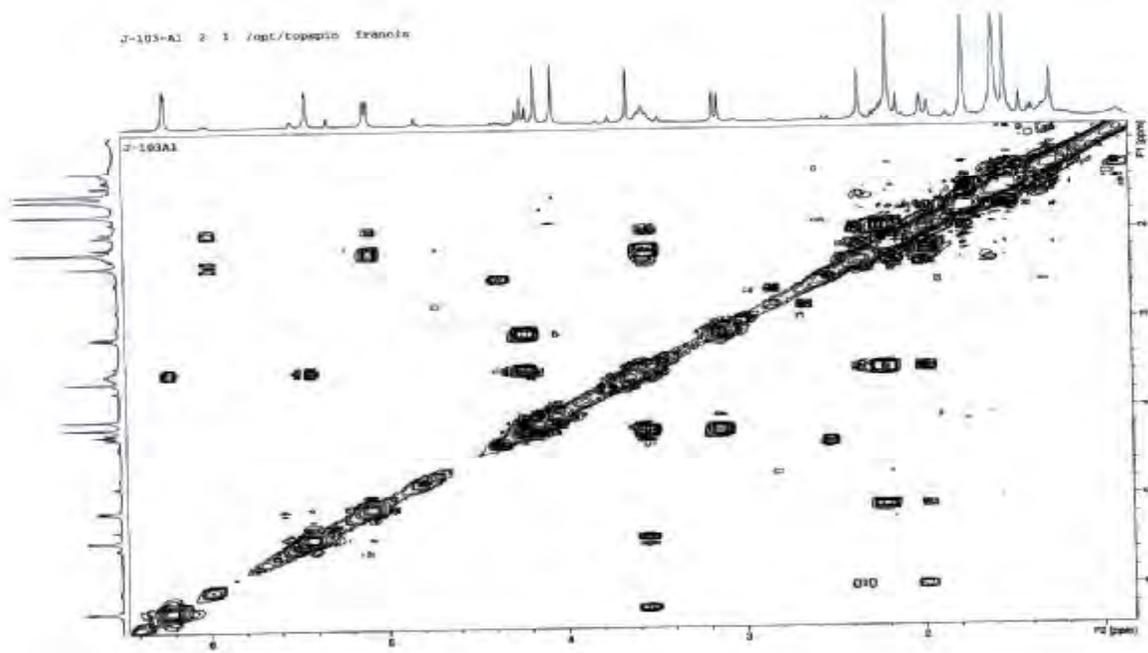
La localisation de H-13_a et H-13_b permet grâce au spectre COSY ¹H-¹H (spectre n°IV-1-9-1) l'attribution de H-7 à $\delta=3,54$ ppm sous forme de multiplet.

Toujours sur le même spectre H-7 montre trois autres corrélations:

- La première avec un proton dont le signal apparait sous forme de doublet de doublet à $\delta=4,21\text{ppm}$ ($J=11,0 ; 9,9\text{Hz}$), d'après sa multiplicité et son déplacement chimique. Ce noyau ne peut être que H-6



Spectre n° IV-1-9-1 : Spectre RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3 , δ ppm) du composé **9**



Spectre n°IV-1-9-2 : Spectre COSY¹H-¹H (500 MHz, CDCl₃, δ ppm) du composé **9**

Sur le spectre HSQC (spectre n°IV-1-9-2), H-6 corrèle avec le carbone à $\delta=81,3$ ppm (C-6), le déplacement chimique de ce carbone est caractéristique du carbone de fermeture d'une lactone sesquiterpénique. Cette donnée oriente vers un 6-12 olide.

-Les deux autres taches de corrélations concernent deux protons portés par le même atome de carbone ($\delta_c=31,9$ ppm), les signaux de ces deux protons qui peuvent être que H-8_β et H-8_α apparaissent sous forme d'un multiplet à $\delta=2,21$ ppm et sous et sous forme d'un doublet large à $\delta=1,96$ ppm ($J=15,6$ Hz) respectivement

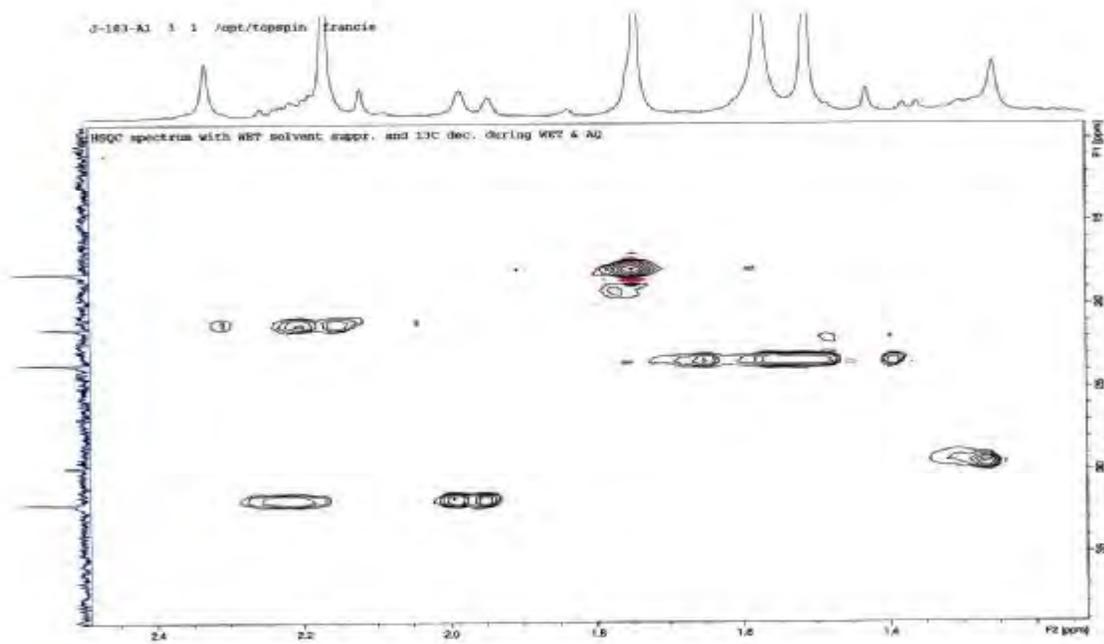
La présence de ces protons en C-8 confirme bien la fermeture de la lactone en C-6.

L'attribution des protons en C-8 mène à celui de H-9 grâce à leurs taches de corrélations COSY ¹H-¹H.

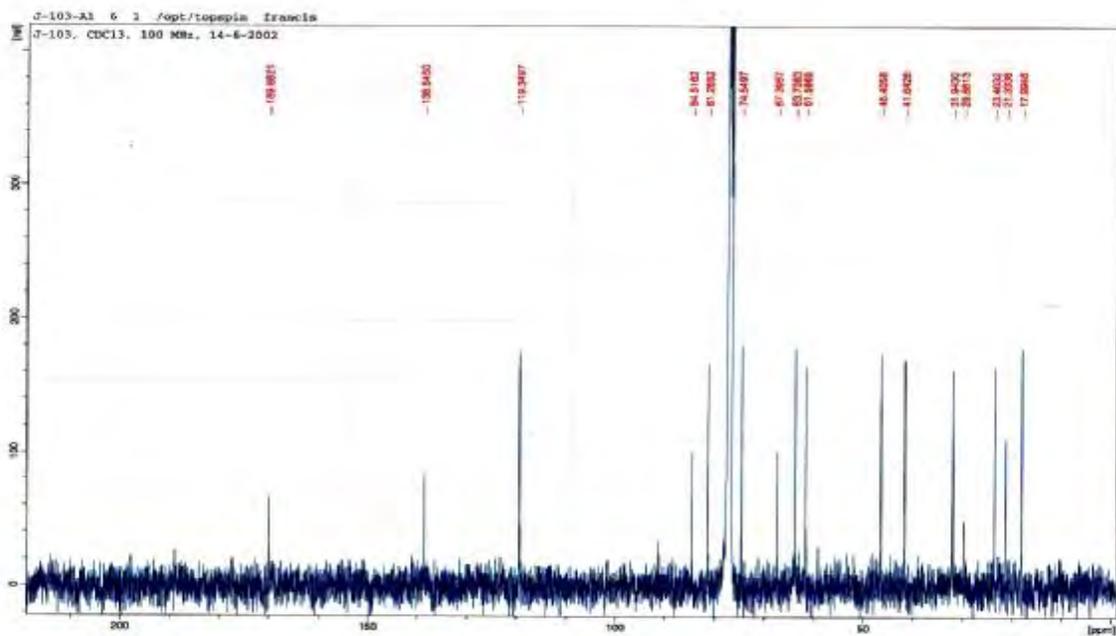
Le signal relatif à ce noyau apparaît sous forme d'un doublet de doublet à $\delta=5,09$ ppm ($J=7,3 ; 1,7$ Hz). La valeur du déplacement chimique de ce noyau suppose une oxygénation en C-9.

Ce substituent oxygéné ne peut-être que le groupement Acétate.

L'examen du spectre HSQC (spectre n° IV-1-9-3) permet de localiser C-9 à $\delta=74,55$ ppm



Spectre n° IV-1-9-3: Spectre HSQC (500 MHz, CDCl_3 , ppm) du composé **9**



Spectre n° IV-1-9-3: Spectre RMN ^{13}C (500 MHz, CDCl_3 , δ ppm) du composé **9**

Sur le spectre COSY ^1H - ^1H , H-9 ne montre aucune corrélation, cela suppose que C-10 est quaternaire.

Un réexamen du spectre COSY ^1H - ^1H et l'attribution de H-6 mène à la localisation de H-5 sous forme d'un doublet à $\delta=3,13$ ppm ($J=11,1$ Hz), $\delta_{\text{C-5}}=46,1$ ppm, la multiplicité de H-5 oriente vers un C-4 quaternaire.

Un retour vers le spectre RMN ^1H montre en plus du méthyle du groupement acétate $\delta_{\text{H}}=2,16$ ppm ($\delta_{\text{C}}=21,3$), la présence des deux autres méthyles qui ne peuvent être que sur les atomes de carbone C-14 et C-5 du squelette sesquiterpénique.

Vu que cette molécule ne comporte que 17 atomes de carbones, ceci est vérifié par l'examen du spectre HMBC (Spectre n° IV-1-9-4) qui montre en particulier une corrélation entre C-9 et les protons du méthyles à $\delta=1,51$ ppm permettant ainsi leurs attribution à la position C-14 ($\delta_{\text{C}}=23,5$ ppm)

Par ailleurs le carbone C-5 montre une tache de corrélation avec les protons du méthyle à $\delta=1,74$ ppm permettant ainsi leurs attribution à la position C-5 ($\delta_{\text{C}}=18,0$ ppm).

Les protons du C-15 montrent deux taches de corrélations:

-La première avec un C-H à $\delta_{\text{C}}=63,7$ ppm ($\delta_{\text{H}}=3,62$ ppm) attribuable à C-3.

-La deuxième avec un carbone quaternaire à $\delta_{\text{C}}=67,4$ ppm attribuable à C-4.

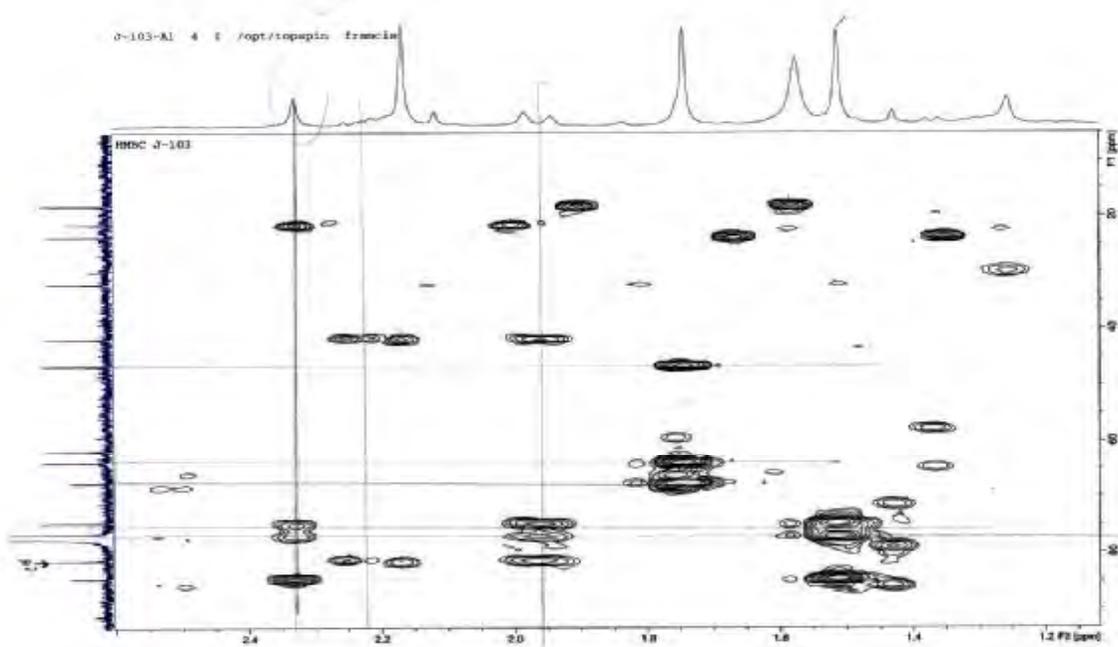
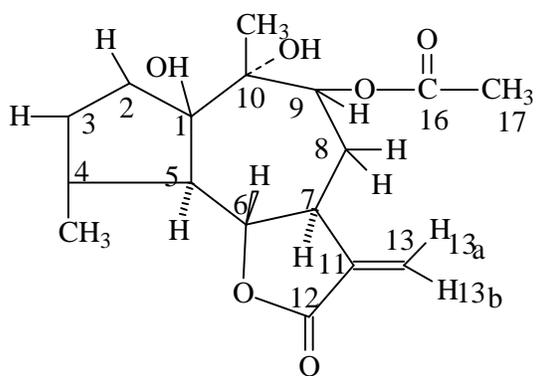
Le même spectre montre également des taches de corrélations entre les protons H-14, H-8 équatoriale et un carbone quaternaire recouvert par les signaux du CDCl_3 à $\delta = 77, 2$ ppm attribuable à C-10.

D'après son déplacement chimique, ce carbone est notamment hydroxylé, ceci est vérifié par les corrélations observées entre le proton de l'hydroxyle à $\delta=2,32$ ppm et cet atome de carbone ainsi que le carbone C-9.

Ce spectre montre également une tache de corrélation entre H-3 et le carbone quaternaire à $\delta=84,5$ ppm attribuable à C-1, vu son déplacement chimique, il est oxygéné notamment hydroxylé, en effet ce carbone montre une tache de corrélation avec le proton du groupement hydroxyle à $\delta=4,14$ ppm supposant sa substitution par ce groupement.

Toujours sur le spectre HMBC, le C-5, C-4 et C-1 corrélient avec le même proton dont le signal apparaît sous forme d'un singulet large à $\delta=4,14$ ppm ce proton ne peut être attribué qu'à H-2.

Par ailleurs le fait que C-5 et C-1 corrélient avec un même noyau suppose une jonction C-5—C-1 orientant ainsi vers un squelette sesquiterpénique du type guaïanolide.



Spectre n° IV-1-9-4: spectre HMBC (500 MHz, CDCl₃, δ ppm) du composé **9**

Tableau IV-1-9-a : Résultats de la RMN ¹H du composé **9**

δ (ppm)	Intégration	Multiplicité (J Hz)	Attribution
6,21	1H	d (3,5)	H _{13a}
5,41	1 H	d (3,2)	H _{13b}
5,09	1 H	d d (7,3 ; 1,7)	H-9
4,21	1 H	d d (11,0 ; 9,9)	H-6
4,14	2 H	m	H-2
3,54	1 H	m	H-7
3,13	1 H	d (11,1)	H-5
2,21	1 H	m	H-8β
1,96	1 H	d (15,6)	H-8α
2.16	3 H	s	-OCOCH ₃
1,74	3 H	s	CH ₃ -14
1,51	3 H	s	CH ₃ -15

Tableau IV-1-9- : Résultats du RMN ¹³C du composé **9**

Carbone	δ(ppm)	HSQC
1	84,5	C
2	61,6	CH ₂
3	63,7	CH ₂
4	67,4	C
5	46,4	CH
6	81,3	CH
7	67,4	CH
8	31,9	CH ₂
9	74,5	CH
10	77,2	C
11	138,5	C
12	169,9	C
13	119,3	CH ₂
14	23,5	CH ₃
15	18,0	CH ₃
16	18,5	C
17	21,3	CH ₃

La structure moléculaire et la configuration relative du composé ont été aussi établis par une analyse de diffraction de rayons X (schéma 2).Les données de diffraction ont été collectées à température ambiante à l'aide d'un diffractomètre Kappa CCD de type Brucker-Nonius en utilisant un rayonnement issu d'une anti-cathode en molybdène Mo ($\lambda = 0,71073$) monochromatisé avec un monochromateur en graphite. Les intensités des taches réparties par plans de réseau réciproque ont été mesurées avec le programme COLLECT (Brucker AXS BV ,1997-2004), puis indexées et traitées avec le programme Denzo SMN et enfin mises à la même échelle avec le programme HKL 2000

(Otwinowski et Minor,1997).L'essentiel des données cristallines, des conditions d'enregistrement et des paramètres d'affinement est rassemblé dans le tableau-1.La structure cristalline a été résolue par les méthodes directes avec le programme SIR 2004 (Burla,2005) puis affinée avec le programme SHELX-97 (Sheldrick,1997) en combinant et moyennant l'intensité des paires de Friedel. Mise à part les atomes H, les autres atomes ont été affinés avec les facteurs d'agitation thermique anisotropes par moindres carrés avec matrices complètes sur F2. Tous les atomes H ont été positionnés de façon géométrique et ceux du groupement méthyle ont été affinés en conservant la rigidité du groupe.

Les atomes H des groupes méthyles ont été affinés avec Uiso (H) = 1,5 Uéq (C) alors que les autres atomes H ont été affinés avec Uiso (H) = 1,2 Uéq (C).

Algerianolide (**1**) : cristal incolore, mp215°, [α]₂₀^D = + 42,35 (c 0,85 CHCl₃),RMN H (400 MHz,CDCl₃) : δ = 6,21 (1H,d, J= 3,5 Hz, H-13a),5,41 (1H, d, J= 3,2 Hz ,H-13b), 5,09 (1H , dd, J= 7,3 ; 1,7 Hz, H-9), 4,21 (1H, dd, J = 11,0 ; 9,9 Hz, H-6), 4,14 (1H, s large, H-2), 3,62 (1H,s large, H-3), 3,54 (1H, m, H-7), 3,13 (1H, d, J = 11,0 Hz, H-5), 2,21 (1H, m, H-8 β), (1H,d large, J= 15,6 Hz, H-8 α), 1,74 (3H, s, CH₃-15), 1,51 (3H, s , CH₃-14), 2,16 (3H, s, CH₃-2'), 4,10 (1H, s, OH-1), 2,33 (1H, s, OH-10) ; RMN C13 (100 MHz, CDCl₃) : δ = 169,9 (C-12 et C-1'), 138,5 (C-11), 119,4 (C-13), 84,5 (C-1), 81,3 (C-6), 77,5 (C-10 caché par le signal du solvant,attribué par le spectre de l'expérience HMBC), 74,6 (C-9), 67,4 (C-4),63,7 (C-3), 61,6 (C-2), 46,4 (C-5),41,6 (C-7), 31,9 (C-8), 23,5 (C-14), 18,0 (C-15), 21,3 (C-2') ; SMHREI m/z= 374,0932 (calculée pour C₁₇H₂₁O₇Cl₃7, 374,0946), 372,0988 (calculée pour C₁₇H₂₁O₇Cl₃5, 372,0976).

SMIE m/z = 337 [M-Cl]+ (0,5), 319[337-H₂O]+ (6,9), 296 [M-CH₃CO₂H-H₂O]+ (0,4),

294 [M-CH₃CO₂H-H₂O]+ (1,2), 277 [337-CH₃CO₂H]+ (4,6), 271 [M-CH₃CO₂H-CO-CH₃]

+

(1,8), 269 [M-CH₃CO₂H-CO-CH₃]+ (5,5), 259 [277-H₂O]+ (7,7), 250 (7,5), 243 (1,9),

241 (3,7), 231 (5,5), 217 (6,3), 216 (4,9), 215 (4,4), 191 (3,4), 189 (4,0),183 (5,9), 165 (

7,9), 161 (7,0), 151 (6,8), 137 (15,7), 111 (100).

Composé 9

Formule empirique	C ₁₇ H ₂₁ Cl O ₇
Masse molaire M	372,79
Température (K)	293 (2)
Longueur d'onde λ (Å)	0,71073

Systeme cristallin	Monoclinique
Groupe d'espace	P 21
Parametres cristallins	
a (A°)	5,9050 (10)
b (A°)	15,5380 (10)
c (A°)	10,1160 (10)
β (°)	104,774 (11)
Volume V (A° ³)	897,5 (2)
Unités formulaires par maille Z	2
Densité calculée Dc (g. cm ⁻³)	1,380
Coefficient d'absorption μ (Mo-K α) (mm ⁻¹)	0,248
Taille du cristal (mm)	0,45 x 0,20 x 0,08
Intervalle angulaire pour θ	2,1-28,7
Intervalles des indices	$-7 \leq h \leq 7$; $-20 \leq K \leq 21$; $-13 \leq l \leq 13$
Nombre de réflexions	15100 / 4334
Rint (facteur de reliabilité)	0,055
Correction d'absorption	Aucune
Méthode d'affinement	Pour moindres carrés avec matrice complète sur F2
Données / contraintes / paramètres	4334 / 0 / 229
R finaux (I > 20 (I))	R = 0,052 ; w R 2 = 0,1428 ; S = 1,13

Schémas de pondération , w	$1 / [\sigma^2 (F_o2) + (0,0804P)^2], P=(F_o2 + 2F_c2) / 3$
Maximum déplacement / Erreur	0,00 /0,00
Paramètre de Flack	0,04 (7)
Plus grand pics et trou dans la fourier difference(e. A°-3)	0,35 /-0,42

Tableau 1 : donnée s du cristal et structure de refinement du composé 9

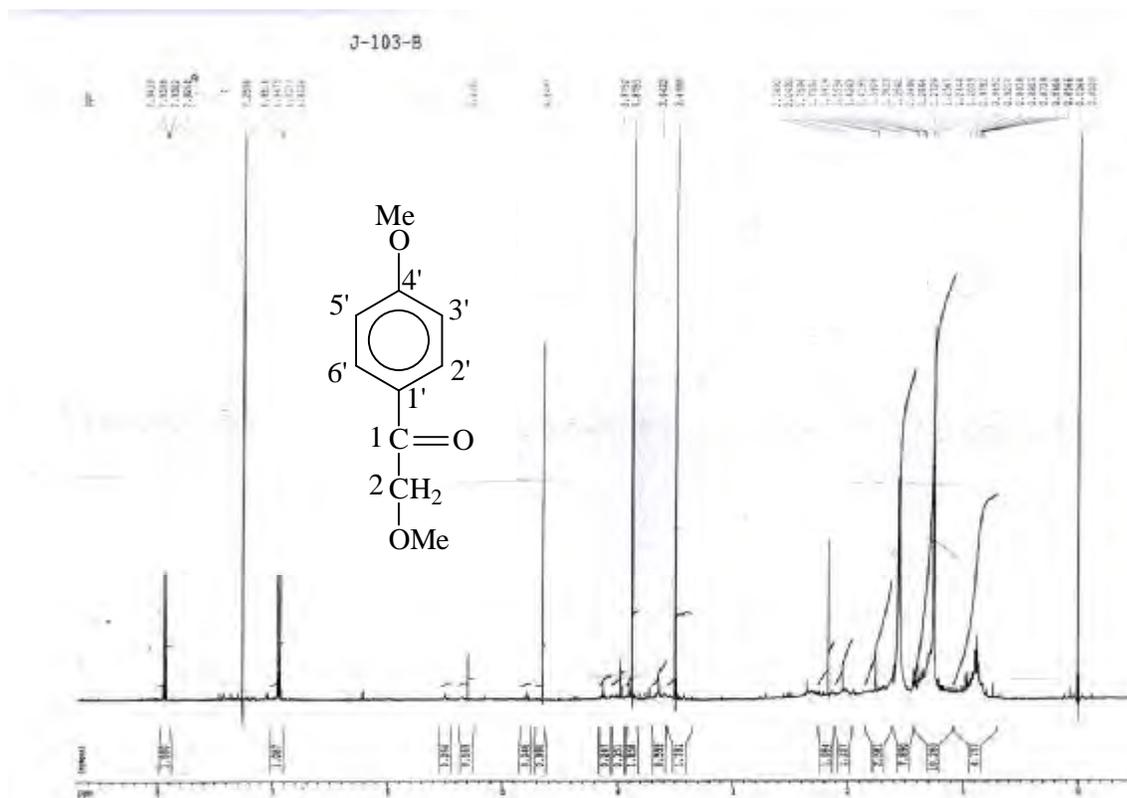
IV-1-10: Elucidation structurale du composé J_{103B}:10

Le spectre SMIE du composé **10** donne un pic à $m/z=180$ Da, correspondant au pic moléculaire et à la formule brute C₁₀H₁₂O₃.

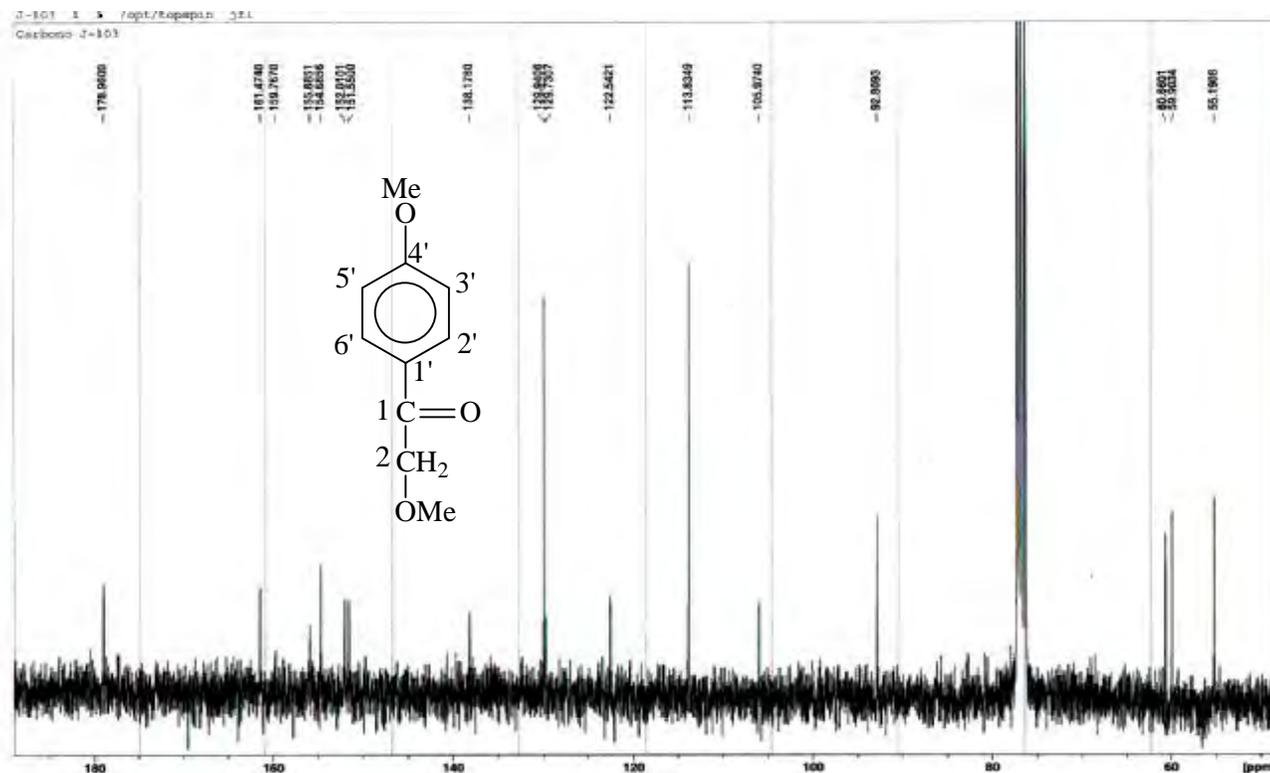
L'examen simultané des spectres de RMN ¹H (spectre n°IV-1-10-1), RMN ¹³C (spectre n°IV-1-10-2) et HSQC (spectre n°IV-1-10-3) montrent :

- un système AB caractéristique d'un noyau aromatique para substitué à $\delta=7,93$ ppm, $\delta_c=130,2$ ppm et $\delta=6,94$ ppm $\delta_c=113,9$ ppm ($J=9,9$ Hz),
- un singlet d'intégration 2H à $\delta=4,65$ ppm $\delta_c=75,2$ ppm correspondant à un CH₂ Hybridé sp³ oxygéné
- et deux singlets d'intégration 3H chacun à $\delta=3,88$ ppm, $\delta_c=55,5$ ppm et $\delta=3,50$ ppm, $\delta_c=59,4$ ppm attribuable à 2-OCH₃

Un décompte de l'ensemble de ces noyaux suggère la présence d'un groupe carbonyle dans cette molécule



Spectre n°IV-1-10-1: Spectre RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃, δ ppm) du composé 10



Spectre n°IV-1-10-2: Spectre RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3 , ppm) du composé 10

L'examen du spectre HMBC (spectre n°IV-1-10-4) montre en effet, une corrélation entre les protons du CH_2 et le carbone d'un carbonyle à $\delta=195$ ppm qui montre à son tour une corrélation avec les protons du doublet du noyau aromatique à $\delta=7,93$ ppm.

Ces observations ajoutées à la valeur du déplacement chimique de ce carbonyle suggère la présence d'un CO de cétone entre le noyau aromatique et le groupement CH_2 oxygéné qui ne peut par conséquent être que méthoxylé vu la présence de 2 méthoxyles dans cette molécule. Ceci est d'ailleurs vérifié par la présence d'une corrélation sur le spectre HMBC entre les protons du méthoxyle à $\delta=3,50$ ppm et le carbone du groupement CH_2 .

Toujours sur le même spectre les protons du OCH_3 à $\delta=3,88$ ppm montrent une corrélation avec un carbone quaternaire à $\delta=165$ ppm lequel corréle avec les protons du noyau aromatique à $\delta=7,93$ ppm suggérant ainsi la substitution de ce noyau par le groupement OCH_3 , l'ensemble de ces données mène à la **4', α - diméthoxyacétophénone**, dont la structure est reportée dans le schéma IV-1-10-1

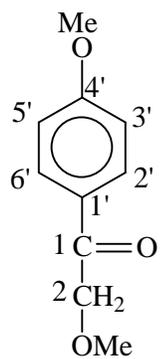
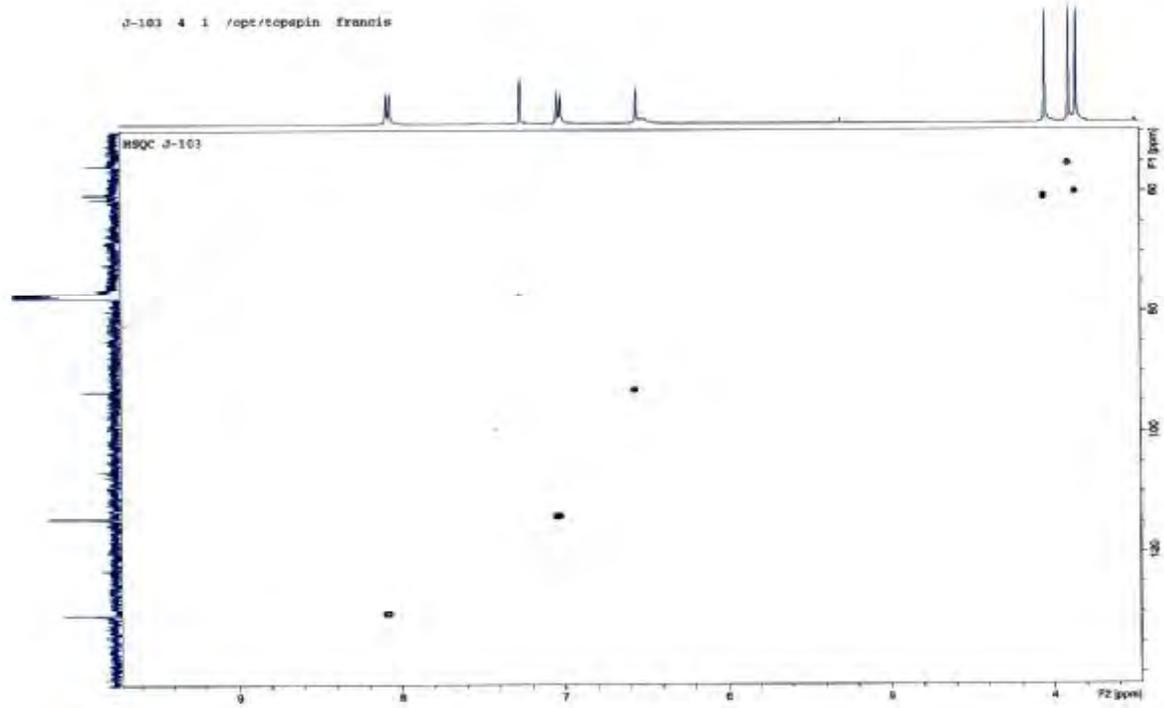
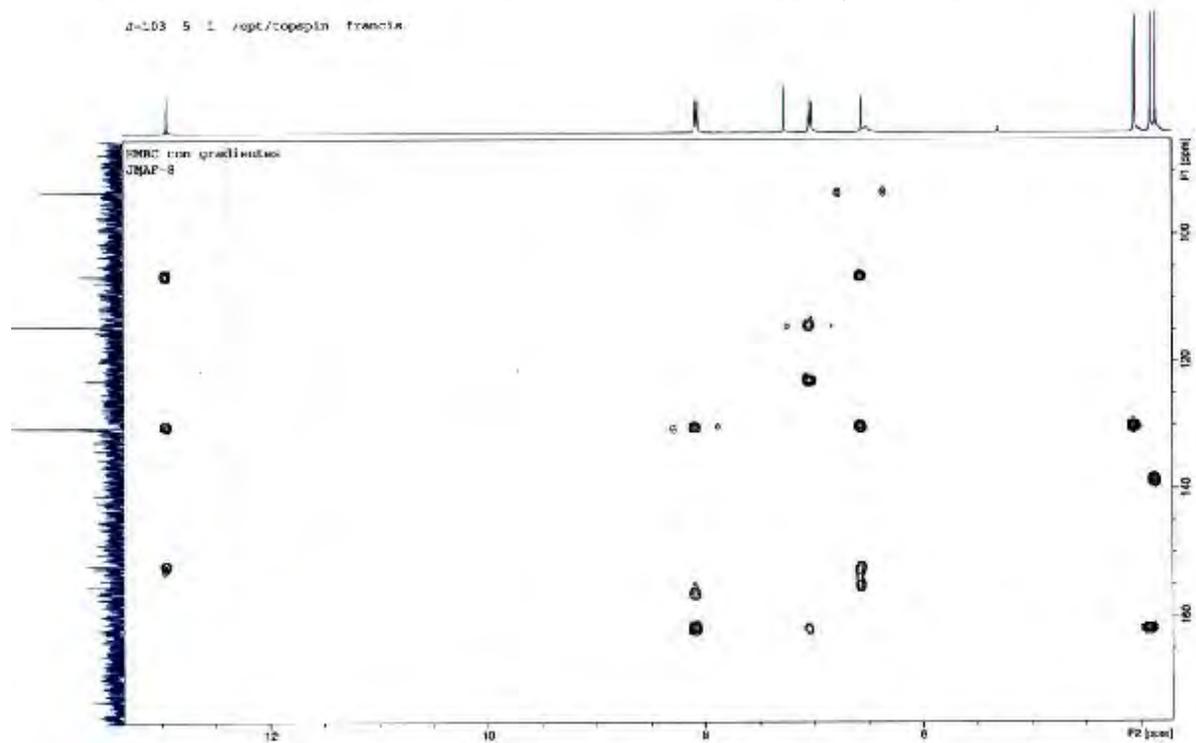


Schéma IV-1-10-1: **4, α' -diméthoxyacétophénone**



Spectre n°IV-1-10-3: Spectre HSQC (500 MHz, CDCl₃ ppm), du composé 10



Spectre n°IV-1-10-4: Spectre HMBC (500 MHz, CDCl₃, ppm) du composé 10

Ces données spectrales sont conformes à ceux de la littérature [13] et sont reportées dans le tableau IV-1-10-1 et IV-1-10-2.

Tableau IV-1-10-1: Résultats de la RMN ¹H du composé **10**

Déplacement chimique (ppm)	Intégration	Multiplicité <i>J</i> (Hz)	Attribution
7,93	2H	d (9,9)	H-2' et H-6'
6,94	2 H	d (9,9)	H-3' et H-5'
4,65	2 H	s	H-2
3,88	3 H	d (7,6)	OCH ₃ -α
3.50	3 H	d (8,5)	OCH ₃ -4'

Tableau IV-1-10-2 : Résultats du RMN ¹³C du composé **10**

Carbone	δ (ppm)
1	195
4'	165,0
2'	130,2
6'	130,2
5'	113,9
3'	113,9
2	75,2
OCH ₃ -4'	59,4
OCH ₃ -α	55,5

IV-2-1-: Elucidation structurale du composé **J_{fr}-18-q**

Le spectre RMN¹H de ce composé (spectre n° IV-2-1-1) montre des signaux caractéristiques d'une entité de type glycérol monoestérifié notamment:

Deux doublets de doublets d'intégration 1H chacun à δ= 4,21 ppm (*J*=11,7 ; 4,7 Hz) et δ=4,16 ppm (11,7 ; 6,0 Hz)

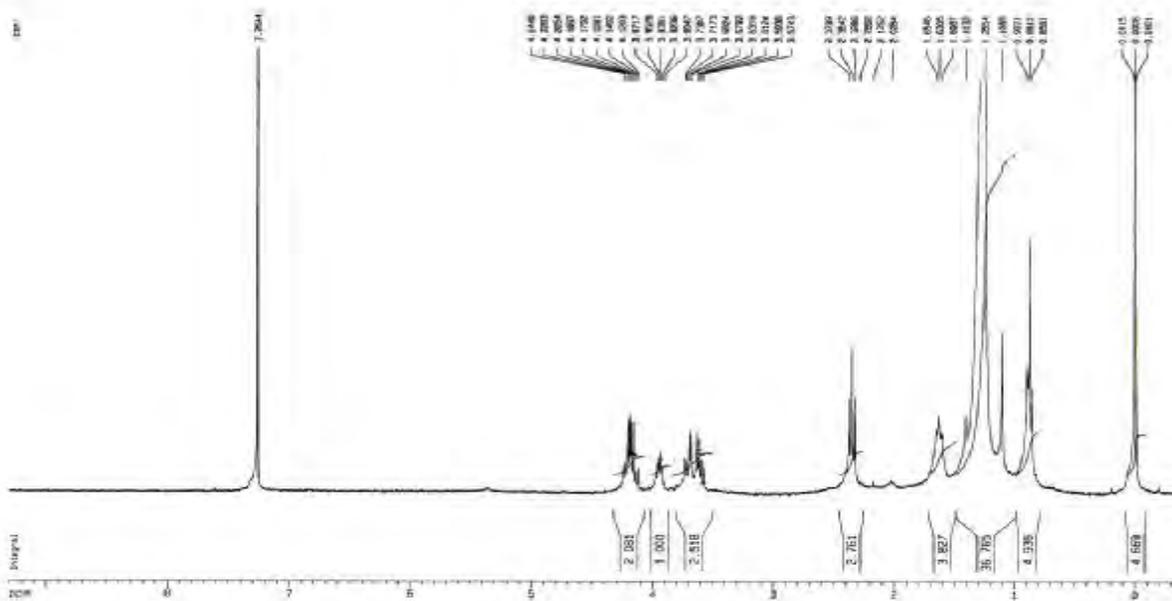
Un multiplet d'intégration 1H à δ= 3,94 ppm

Deux doublets de doublets à δ=3,69ppm (*J*=11,5 ; 4,0 Hz) et δ= 3,59 ppm (*J*= 11,5 ; 5,8 Hz)

Ces signaux sont attribuables aux CH₂-1, CH-2, et CH₂-3 du glycérol respectivement vu le déplacement chimique du CH₂-1, l'estérification à lieu sur l'hydroxyle de ce groupement ceci est appuyé par le fait que les 2H relatifs aux deux groupements CH₂ sont magnétiquement non équivalents.

La partie acide de ce glycéride est de type chaîne linéaire saturée.

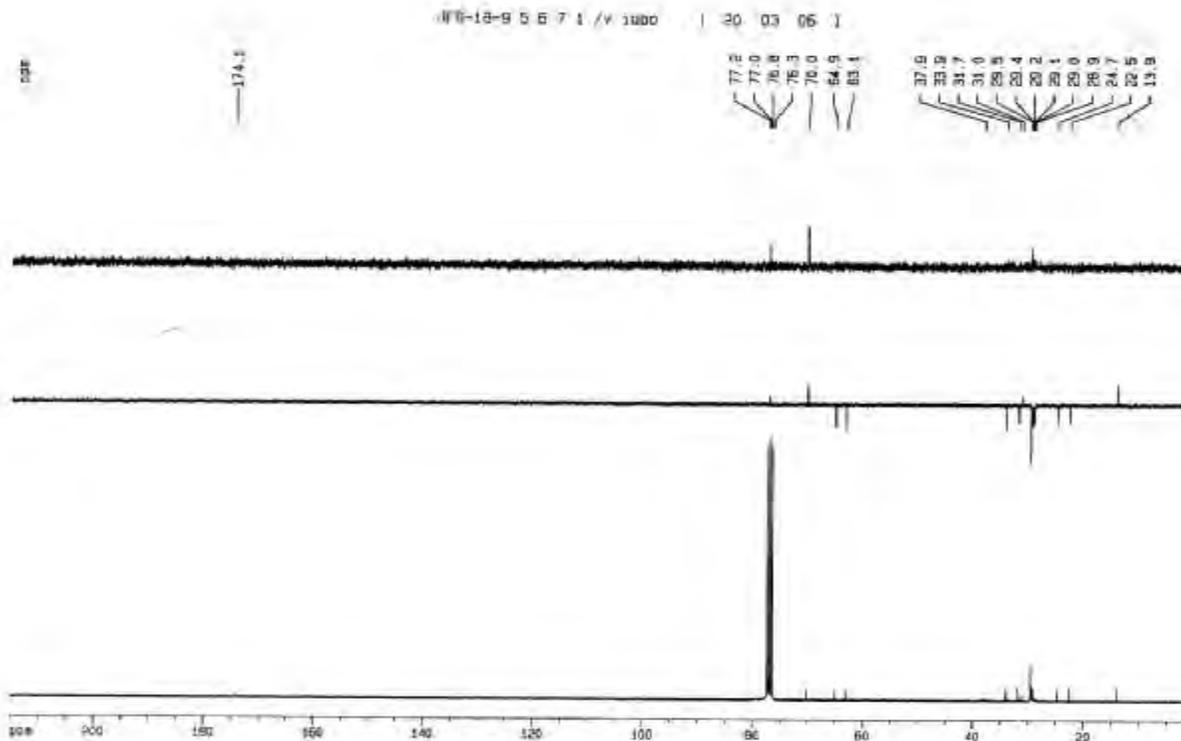
En effet, ce spectre montre la présence d'un signal sous forme d'un triplet à δ= 2,35 ppm (*J*=7,4Hz) attribuable au CH₂-2 de la chaîne de l'acide, un triplet à δ= 0,88 ppm (*J*=6,5 Hz) attribuable au CH₃ terminal de la chaîne et un ensemble de CH₂ résonnant dans l'intervalle [1,1 - 1,7 ppm]



Spectre n° IV-2-1-1: Spectre RMN¹H (400 MHz, CDCl₃, δppm) du composé 11

Ces données sont confirmées par le spectre RMN ¹³C (spectre n°IV-2-1-2) qui montre un signal à δ=174,1ppm attribuable au carbonyle de ce glycéride, un CH à δ=70, ppm attribuable au CH-2 du glycérol.

Deux CH₂ à δ=64,9 et 63,1 ppm attribuables aux deux CH₂ du glycérol, un CH₃ à δ=13,9 ppm attribuable au méthyle terminal de la chaîne de l'acide gras, et un ensemble de CH₂ dans l'intervalle [22,5-37,9] dont le CH₂-2 de la chaîne de l'acide et celui à δ=37,9 ppm

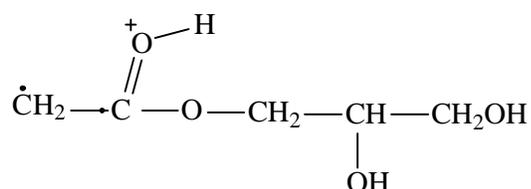


Spectre n°IV-2-1-2: Spectre ¹³C (100 MHz, CDCl₃, ppm) du composé 11

Le nombre de groupements CH₂ de la chaîne de l'acide peut être évalué par l'étude du spectre de masse (spectre n°IV-2-1-3) qui montre en particulier l'ion à $m/z=323$ correspondant à la formule brute C₂₃ H₄₇ ...et qui représente en fait le R⁺ de l'ester. Cet ion se réarrange avec perte de 3X28 pour donner l'ion à $m/z=239$, correspondant à C₁₇ H₃₅ qui se réarrange à son tour pour donner l'ion à $m/z=211$.

La longueur de cette chaîne est confirmée par l'ion à $m/z=412$ correspondant à l'ion moléculaire après réarrangement avec perte de H₂C=O de la partie glycérique, ce qui mène à une formule brute totale de C₂₇ H₅₄ O₄.

La partie glycérol mono estérifiée est aisément détectable sur le spectre de masse notamment par le signal à $m/z=134$ correspondant au réarrangement de Mac LAFFERTY avec transfert de H⁺ vers le carbonyle menant ainsi à l'ion :



Cet ion se réarrange à son tour en perdant deux molécules de H₂O pour donner l'ion à $m/z=98$ (91,30%) confirmant ainsi la monoestérification du glycérol.

L'étude du spectre RMN ¹³C et ses séquences DEPT confirme ces données et donne :

-3 signaux caractéristiques de l'entité glycérol à $\delta = 70,0$ ppm (C-2) ; 64,9 ppm(C-1) ; 63,1 ppm(C-3)

- $\delta = 174,1$ ppm (C-1') ; 37,9 ppm (C-2') ; 33,9 ppm (C-3')

- [28,9 - 31,0] ppm (C-4'-C-21')

- $\delta = 24,7$ (C-22') ppm ; 22,5 ppm (C-23') ; 13,9 ppm (C-24')

Ainsi la molécule concernée est : **Glycérol-1-Tetracosanoate**[14] dont la structure est reportée dans le schéma IV-2-1-1

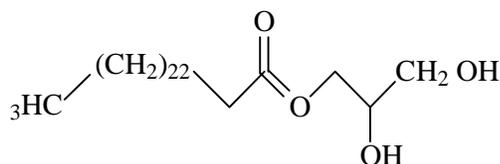
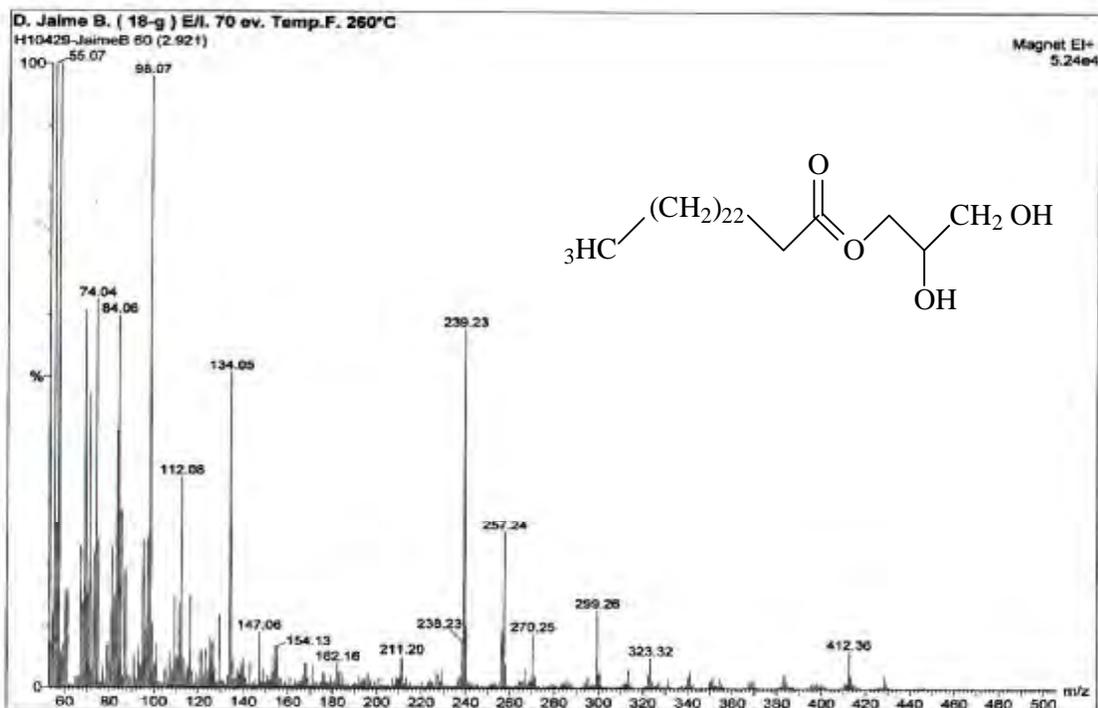


Schéma IV-2-1-1



Spectre n°IV-2-1-3 : Spectre SMIE du composé 11

Les données spectrales relatives à ce composé sont reportées dans les tableaux IV-2-1-1 et IV-2-1-2

Tableau IV-2-1-1: Résultats du RMN ^1H du composé 11

Déplacement chimique δ (ppm)	Intégration	Multiplicité J (Hz)	Attribution
4.21	1H	dd (11,7 ; 4,7)	H-1a
4.16	1H	dd (11,7 ; 6,0)	H-1b
3.94	1H	m	H-2
3.69	1H	dd (11,5 ; 4,0)	H-3a
3.59	1H	dd (11,5 ; 5,8)	H-3b
2.35	2 H	t (7,4)	H-2'
1,63	2 H	m	H-23'
1,1-1,7	40H	massif	H-3'-H-22'
0,88	3 H	t (6,5)	CH ₃ -24'

Tableau IV-2-1-b: Résultats du RMN ^{13}C du composé **11**

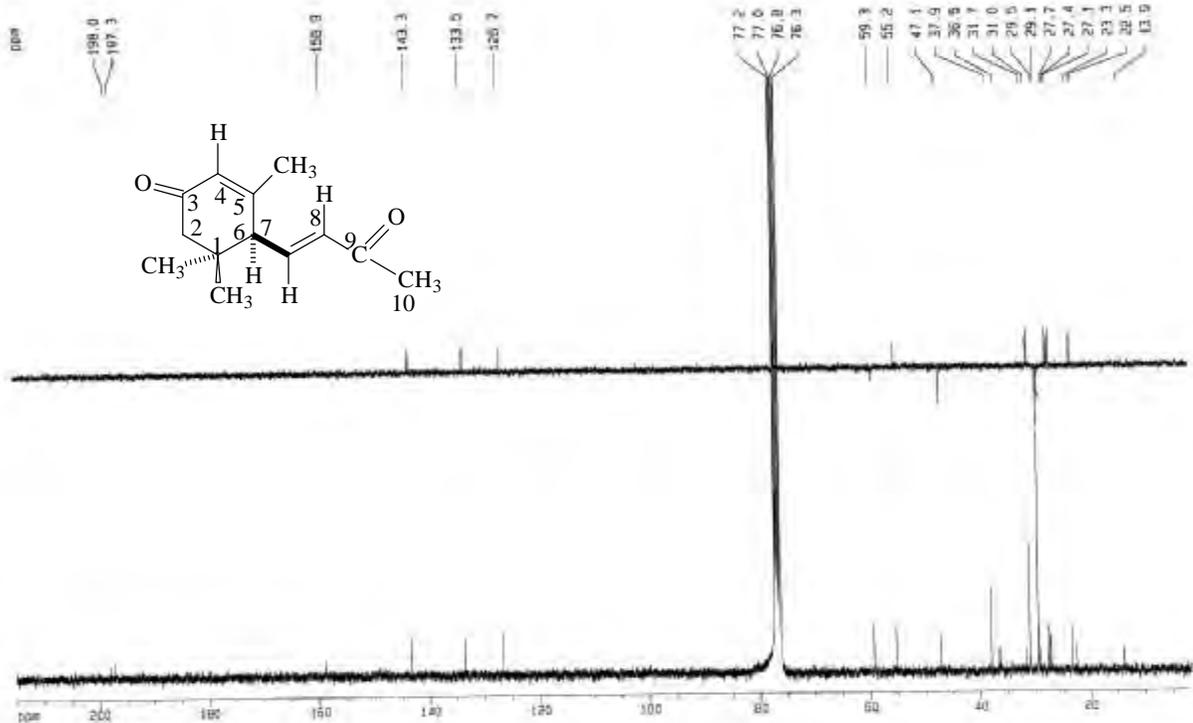
Carbone	δ (ppm)
1'	174,1
2	70,0
3	64,3
4	63,1
2'	37,9
3'	33,9
[4' -21']	[28,9 - 31,0]
22'	24,7
23'	22,5
24'	13,9

IV-2-2: Elucidation structurale du composé $\text{J}_{\text{fr-18-a-}}:12$

Le spectre RMN ^{13}C (spectre n° IV-2-2-1) et les séquences DEPT (IV-2-2-2) montrent:

-2 signaux à $\delta=198,0$ et $197,3$ ppm correspondant à deux fonctions cétones conjuguées

-4 signaux correspondants à un carbone éthylénique quaternaire à $\delta=158,9$ ppm et 3 CH éthyléniques à $\delta=143,3$; $133,5$; et $126,7$ ppm. Ces 4 atomes de carbone éthyléniques ne peuvent être que ceux formant les deux doubles liaisons conjuguées avec les deux fonctions cétones.



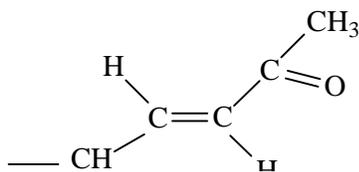
Spectre n°IV-2-2-1: Spectre RMN ^{13}C et les séquences DEPT (100 MHz, CDCl_3 , ppm) du composé 12

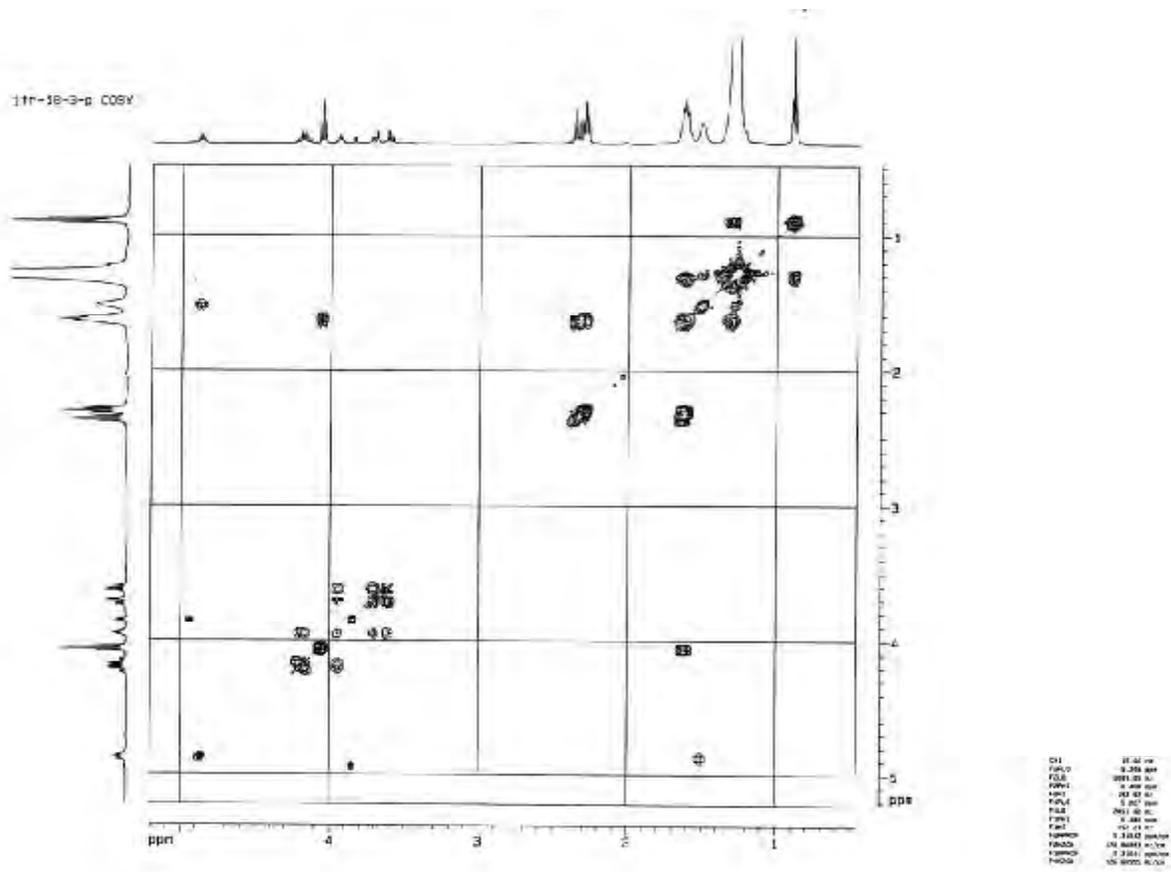
L'étude du spectre proton relatif à ce composé combinée aux données du spectre relatif à l'expérience HSQC (spectre n° IV-2-2-2) et celles de l'expérience COSY ^1H - ^1H (spectre n° IV-2-2-3) montrent que:

-Les deux groupements CH éthyléniques ont une stéréochimie trans aisément déterminée grâce à la constante de couplage entre les deux protons. En effet, l'un des résonne sous forme d'un doublet à $\delta=6,20$ ppm ($J=15,8$ Hz) $\delta_c=133,5$ ppm, l'autre résonne sous forme d'un doublet de doublets à $\delta=6,69$ ppm ($J=15,8$ et $9,5$ Hz) $\delta_c=143,4$ ppm pour ce dernier proton, le deuxième couplage résulte d'une interaction avec le CH sp^3 résonnant sous forme d'un doublet à $\delta=2,73$ ppm ($J=9,5$ Hz) $\delta_c=55,2$ ppm.

Par ailleurs, l'étude du spectre relatif à l'expérience HMBC (spectre n° IV-2-2-4) montre des corrélations nettes entre:

-Le proton à $\delta=6,20$ ppm et le carbone du carbonyle à $\delta=197,3$ ppm et le carbone du méthyle à $\delta_c=27,4$ ppm. ($\delta=2,31$ ppm) ces données mènent à l'enchaînement:





Spectre n° IV-2-2-3: Spectre COSY ^1H - ^1H (400MHz, CDCl_3 , δppm) du composé 12



Spectre n° IV-2-2-4: Spectre HMBC du composé 12

Le spectre proton montre également:

-2singulets relatifs à 2CH_3 à $\delta=1,03$ ppm ($\delta_c=27,1$ ppm) et $\delta=1,10$ ppm ($\delta_c=27,7$ ppm), sur le spectre HMBC les protons de ces méthyles corrélerent avec le carbone quaternaire à $\delta=37,9$ ppm signifiant que ces deux groupements sont portés par ce noyau. Les protons de ces méthyles corrélerent également avec le carbone du groupement CH à $\delta=55,2$ ppm, signifiant que le carbone quaternaire est voisin de ce CH.

Un retour vers le spectre proton permet de localiser un système AB à $\delta=2,38$ ppm et $\delta=2,18$ ppm ($J=16,6$ Hz ; ($\delta_c=47,1$ ppm)). Les protons de ce système AB donnent sur le spectre HMBC des les corrélations d'un groupement CH_2 avec le carbone quaternaire précédemment cité prévoyant ainsi la jonction de ce carbone quaternaire avec ce groupement CH_2 .

Toujours sur le spectre HMBC les noyaux du système AB corrélerent avec le carbone du carbonyle à $\delta=198,0$ ppm, prévoyant ainsi la jonction du carbonyle au groupement CH_2 . Comme d'après la valeur de son déplacement chimique la fonction cétone doit être conjuguée, il convient alors de placer la double liaison en α de ce carbonyle. Cette double liaison doit être délimitée par un groupement CH et un carbone quaternaire.

Toujours sur le spectre HMBC les deux carbones de cette double liaison montrent des corrélations avec le proton à $\delta=2,73$ ppm et corrélerent également avec les protons du méthyle à $\delta=1,92$ ppm ($\delta_c=23,3$ ppm) imposant ainsi la substitution de cette double liaison par le groupement CH_3 et prévoyant par conséquent la présence du carbone éthylénique quaternaire en α de ce CH. Le proton éthylénique serait par conséquent en α du CO.

L'ensemble de ces analyses spectrales mène à la structure plane reporté dans le schéma VI-2-2-1

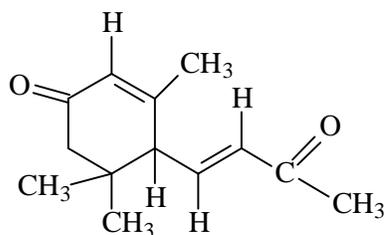
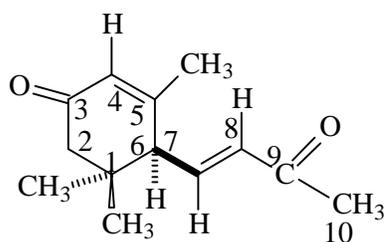


Schéma VI-2-2-1

La stéréochimie de la double liaison a été définie(E) d' après les valeurs de la constante de couplage ($J_{H-7-H-8} = 15,8\text{Hz}$) par contre celle du carbone C-6 est déterminée d'après l'étude du spectre NOESY(spectre n° VI-2-2-5)qui montre en particulier une corrélation entre H-6 et les deux CH_3 11et 12,d'après le déplacement chimique de ces 2 CH_3 il est possible d'attribuer celui à $\delta = 1,03$ ppm au méthyle pseudo axiale et l'autre à ($\delta = 1,10$ ppm) au CH_3 pseudo équatoriale.

Cette corrélation NOESY des deux groupements CH_3 avec H-6 signifie une orientation pseudo équatoriale de H-6 et par conséquent une orientation pseudo axiale pour la chaîne.

Cette hypothèse est vérifiée par les corrélations observées entre les noyaux du système AB et les protons des 2 CH_3 . En effet l'examen du modèle moléculaire permet d'attribuer le signal à $\delta = 2,18$ ppm au H-2 pseudo équatoriale d'une part à cause de sa corrélation avec les deux groupements CH_3 et d'autre part à cause de sa position par rapport à la zone positivante du cône d'anisotropie de la double liaison du carbonyle ce qui abaisse relativement son déplacement chimique. Par contre le signal à $\delta = 2,38$ ppm sera attribué à H-2 pseudo axiale. Ce dernier noyau montre une corrélation avec le méthyle pseudo équatoriale ($\delta = 1,0$ ppm) confirmant ces attributions. Par ailleurs, ce spectre montre une corrélation entre le proton éthylénique H-7et H-2 pseudo axiale confirmant ainsi l'orientation pseudo axiale de la chaîne latérale. L'ensemble de ces données mène à une configuration (6R, 7 E) donnant ainsi la **3-oxo- α -ionone** [15,16] dont la structure est reportée dans le schéma IV-2-2-1



Schema IV-2-2-1: **3-oxo- α -ionone**

L'ensemble des données spectroscopiques relatives à cette molécule est reporté dans les tableaux IV-2-2-1 et IV-2-2-2 :

Tableau IV-2-2-1: Résultats du RMN 'H du composé **12**

Attribution	Multiplicité (J Hz)	Intégration	Déplacement chimique δ (ppm)
H-7	dd(15,8)	1H	6,69
H-8	d(15,8)	1 H	6,20
H- 4	s	1 H	6,01
H-6(pseudo équatoriale)	d(9,5)	1 H	2,73
H-2(pseudo axiale)	d(16,6)	1 H	2,38
H3-10	s	3 H	2,31
H-2(pseudo équatoriale)	d(16,6)	1 H	2,18
H3-13	s	3 H	1,92
H3-11(pseudo équatoriale)	s	3 H	1,10
H3-12(pseudo axiale)	S	3 H	1,03

Tableau IV-2-2-b: Résultats du RMN ¹³C du composé **12**

δ (ppm)	Carbone
198,0	3
197,3	9
158,9	5
143,3	7
133,5	8
126,7	4
55,2	6
47,1	2
37,9	1
27,7	11
27,4	10
27,1	12
23,3	13

IV-2-3:Elucidation structurale du composé **J_{fr-23}:13**

Le spectre SMIEHR (spectre n° IV-2-3-1) de cette molécule montre un pic moléculaire à $m/z=192,0412$ correspondant à une formule brute C₁₀ H₈ O₄ (masse calculée 192,0423) prévoyant un composé à 7 insaturations.

Ce spectre montre un réarrangement de l'ion moléculaire avec perte de CO ($m/z=164,0486$, C₉ H₈ O₃, calculée (164.0473) prévoyant la présence d'au moins un CO dans la molécule.

Elemental Composition Report

Page 1

Multiple Mass Analysis: 1038 mass(es) processed - displaying only valid results
Tolerance = 10.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 50.0
Isotope matching not enabled

Monoisotopic Mass, Odd and Even Electron Ions
3705 formula(e) evaluated with 75 results within limits (up to 50 closest results for each mass)

S1599 272 (12.324)
Magnet EI+

96.01

3.45e4

Spectre n° IV-2-3-1: Spectre SMIEHR du composé 13

Le spectre RMN ^{13}C (spectre n° IV-2-3-2) montre la présence de 5 signaux que l'on peut répartir grâce aux séquences DEPT en:

*Un CH_2 à $\delta_c=23,7$ ppm.

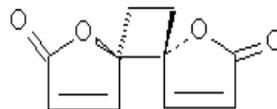
*2CH éthyléniques à $\delta=120,0$ ppm et 153,0 ppm.

*1 carbone quaternaire hybridé sp^3 et oxygéné à $\delta=90,1$ ppm.

*1 carbone quaternaire relatif à un carbonyle de lactone α, β insaturée à $\delta_c=170,6$ ppm

Le fait que ce spectre ne présente que 5 signaux signifie une symétrie dans cette molécule. D'après ces données le carbone quaternaire à $\delta =90,1$ ppm ne peut être que le carbone de fermeture de la lactone

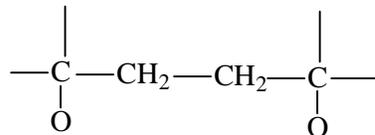




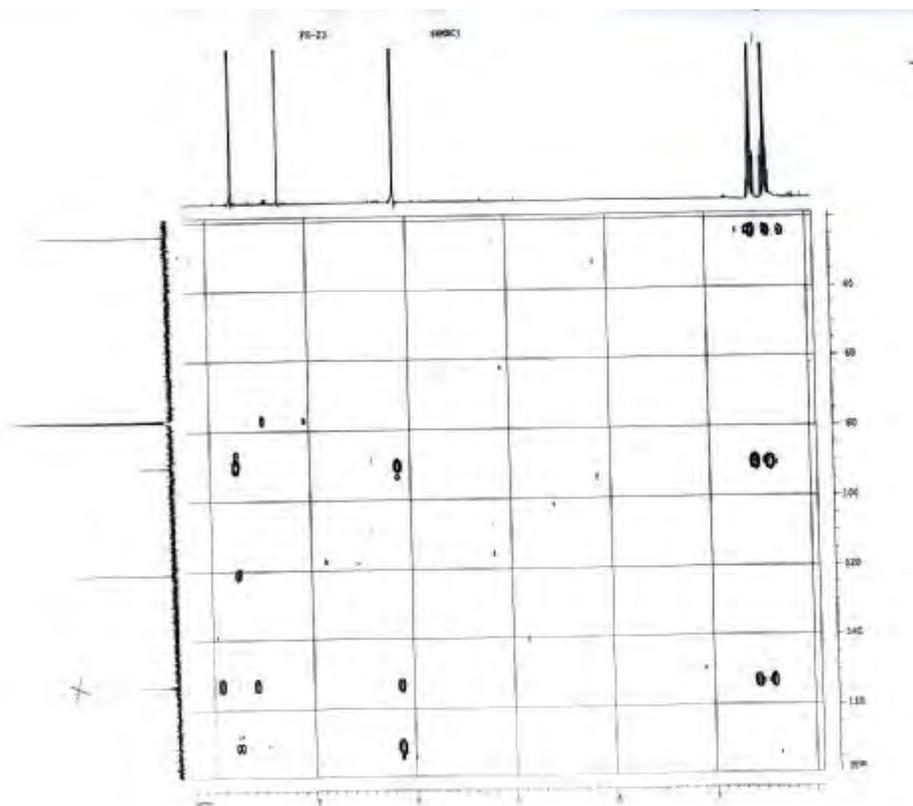
Spectre n° IV-2-3-2 : Spectre RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 , δ ppm) du composé **13**

Sur le spectre HMBC (spectre n° IV-2-3-3) le carbone du carbonyle montre une corrélation avec les deux protons éthyléniques lesquels montrent une corrélation avec le carbone de fermeture de la lactone ce qui indique une γ - lactone et confirme le fait qu'elle soit α, β insaturée.

Le carbone quaternaire à $\delta=90,1$ ppm corréle avec les protons relatifs au signal du système AA'BB' centré à $\delta=2,44$ ppm prévoyant ainsi un enchaînement C-CH₂- CH₂. Comme cette molécule est symétrique on s'attend à ce que les deux groupements CH₂ soient reliés à deux carbones quaternaires identiques. En matière d'insaturations.



vue la symétrie de cette molécule les deux cycles lactoniques et leurs insaturations consomment 6 insaturations. Cette observation impose une jonction carbone quaternaire- carbone quaternaire.



Spectre n° IV-2-3-3 : Spectre HMBC (400 MHz, CDCl₃, δ ppm) du composé **13**

L'ensemble de ces données est en parfait accord avec ceux de la littérature [17] relatifs à l'**anémonine** dont la structure est reportée dans le schéma IV-2-3-1.



Schéma IV-2-3-1: **Anémone**

Les données spectroscopiques sont reportées dans le tableau IV-2-3-1

Tableau IV-2-3-1: Résultats du RMN ¹³C du composé **13**

Carbone	δ(ppm)
1	170,6
2	153,0
3	120,0
4	90,1
5 et 5'	23,7

Cette molécule a été isolée de *Drymaria diandra* [18] et *Pulsatilla alpina* sous espèce *apifolia* [19]

IV-2-4:Elucidation structurale du composé:F-12-43 :14

Le spectre SMIE de ce composé montre un pic moléculaire à $m/z=876$ Da correspondant à une formule brute $C_{57}H_{96}O_6$.

L'examen simultané des spectres protons (Spectre n°IV-2-4-1) et HSQC montrent des signaux caractéristiques d'un glycérol notamment 1 CH résonant sous forme de multiplet à $\delta=5,28$ ppm

($\delta_c=68,6$ ppm), prévoyant une estérification de la fonction hydroxyle du groupement CH du glycérol et 2 multiplets d'intégration 2H chacun relatif au 4 protons des 2 groupements CH_2 du glycérol formant un système ABX avec le proton du CH, à $\delta=4,29$ ppm (dd, $J=11,9$; 4,3) et 4,14 ppm (dd, $J=11,9$; 6,0)

($\delta_c=61,8$ ppm), d'après le déplacement chimique de ces 4 noyaux, il apparaît que les deux hydroxyles attachés à ces deux groupements sont également estérifiés, ce qui prévoit un triglycéride.

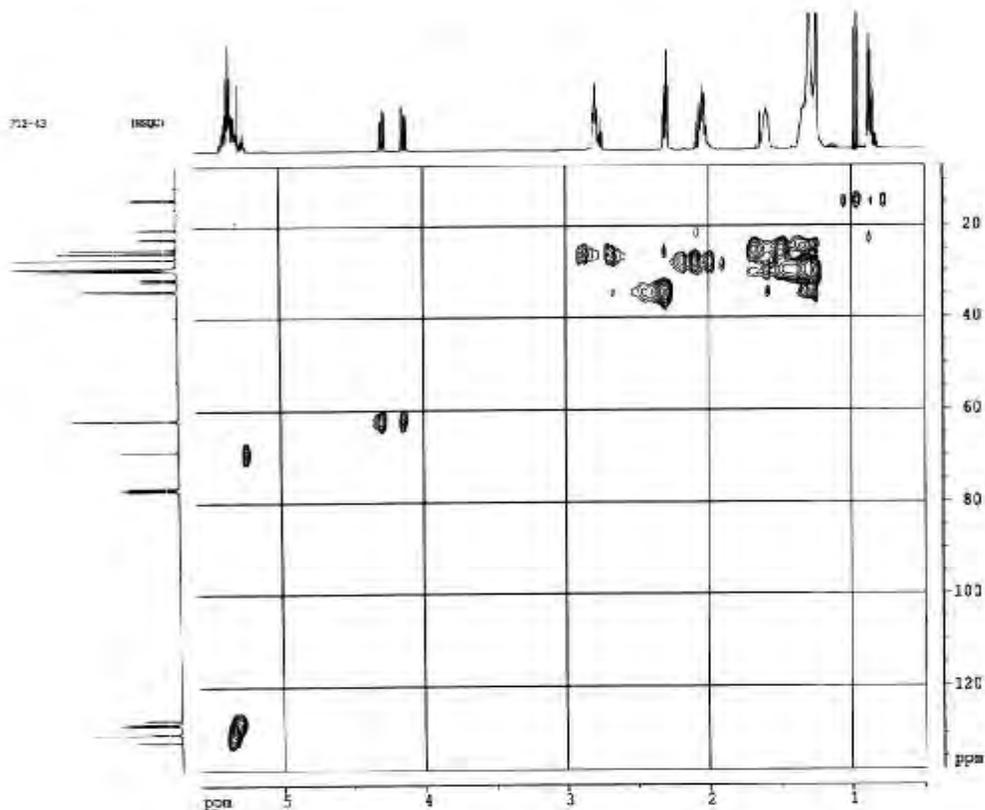


Spectre n°IV-2-4-1: Spectre RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$, δ ppm) du composé **14**

En effet, l'examen du spectre relatif à l'expérience HMBC (Spectre n°IV-2-4-2) de ce composé montre des corrélations nettes entre les protons de ces groupements CH₂ et CH et les trois carbonyles à $\delta=173,0$; $172,9$; $172,5$ ppm, respectivement.

L'examen simultané des spectres RMN ¹H ,RMN ¹³C, HSQC (spectre n°IV-2-4-2),HMBC et SMIE, montrent que les parties acides de ce triglycéride sont de types acide gras dont les chaînes renferment 18 atomes de carbone chacune. La première chaîne renferme 1 CH₃ résonant sous forme d'un triplet à $\delta=0,97$ ppm voisin d'un CH₂ résonant sous forme d'un multiplet partiellement recouvert par d'autres signaux à $\delta=2,05$ ppm, les signaux relatifs à ce groupement CH₂ corrélerent sur le spectre COSY (spectre n°IV-2-4-3) avec un proton éthylénique dont le signal est recouvert par d'autres signaux d'intégration 13 H à $\delta=5,32$ ppm prévoyant l'enchaînement CH₃-CH₂.CH=CH-.

Ces CH éthyléniques corrélerent avec d'autres groupements CH₂ notamment pour cette chaîne avec le CH₂ résonant sous forme de triplet à $\delta=2,76$ ppm ($\delta_c=25,3$ ppm) ($J=8$ Hz).



Spectre n°IV-2-4-3 : Spectre HSQC (400 MHz, CDCl₃, ppm) du composé **14**

Ces données ajoutées à celle du spectre SMIE qui montre en particulier le signal à $m/z=599$ correspondant à la perte de cet acide par réarrangement de $[M + H]$, sont en faveur d'une chaîne correspondant à l'acide linoléique ou acide 9, 12,15 octadécatriéonique (9z, 12z, 15z), dont la structure est reportée dans le schéma IV-2-4-1;

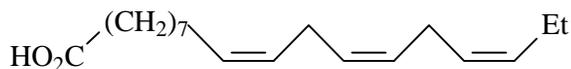


Schéma IV-2-4 -1

Les chaînes des deux autres acides semblent identiques vu la similarité des valeurs des déplacements chimiques de leurs noyaux respectifs. On observe en effet une très légère différence de déplacement chimique entre les méthyles terminaux de ces chaînes (2 triplets à $\delta=0,88$ ppm et $\delta=0,87$ ppm). Par ailleurs, le spectre COSY montre une corrélation entre ces méthyles et 2 groupements CH₂ dont les signaux recouverts par ceux d'autres CH₂ apparaissent à $\delta=1,30$ ppm. La valeur de leur déplacement chimique appuyée par le spectre COSY qui ne montre aucune corrélation entre ces noyaux et les protons éthyléniques, suggèrent l'enchaînement :

¹⁸CH₃-¹⁷CH₂-¹⁶CH₂- pour ces deux chaînes, ce qui suppose l'absence de la double liaison C₁₅-C₁₆ par rapport à la chaîne précédente.

Les signaux des autres noyaux restent à peu près au même déplacement chimique, signifiant seulement la réduction de la liaison C₁₅-C₁₆ par rapport à l'acide linoléique, ce qui mène à l'acide linoléique soit:

L'acide 9,12-octadecadiénoïque (9z, 12z) dont la structure est reportée dans le schéma IV-2-4-2.

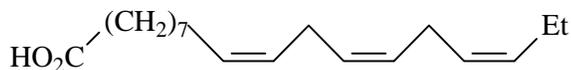


Schéma IV-2-4 -2

Ces données sont confirmées par ceux du spectre de masse qui montre en particulier le pic à $m/z=597$

Correspondant à la perte de l'acide linoléique par réarrangement de [M+H]

L'emplacement de ces trois chaînes sur le glycérol doit se faire de façon à ce que le carbone du C-2 du glycérol doit être chiral du fait que les protons de CH₂ du glycérol sont diastéréotopiques

(vu qu'ils résonnent sous forme de système ABX) et non A₂X, ce qui mène à placer les deux chaînes en position C-1 et C-2 menant au **1,2dilinoléoyl-3-linoléinoyl-glycérol ou triglycéride LLLn** [20] dont la structure est reportée dans le schéma IV-2-4-3

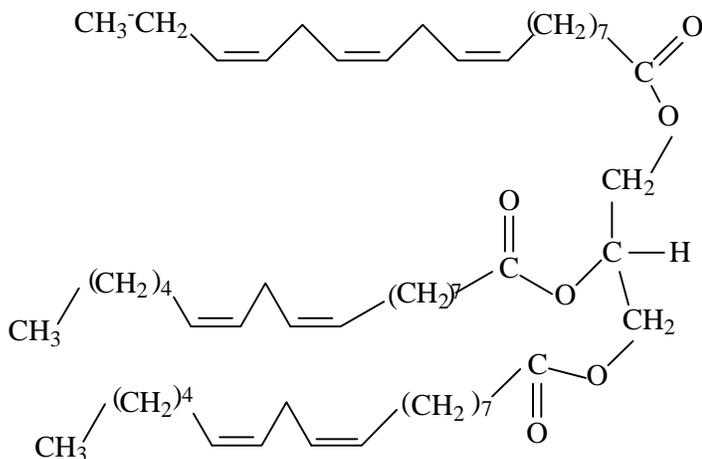
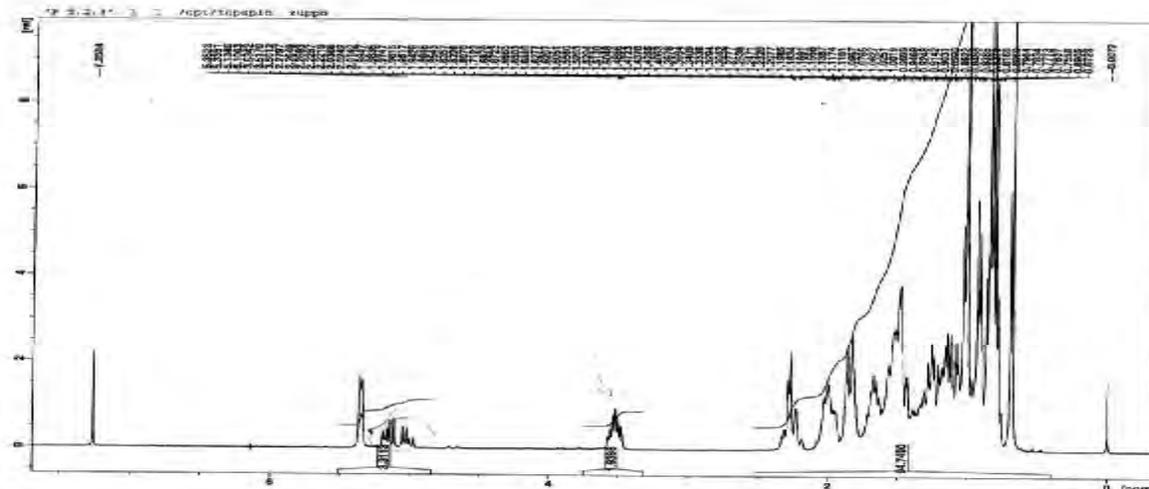


Schéma IV-2-4-3 : **1,2dilinoléoyl-3-linoléinoyl-glycérol ou triglycéride LLLn 14**

IV-2-6: Elucidation structurale du Composé F5, 2,3

Le spectre RMN ^1H de ce composé est parfaitement identique à celui de F4-7 décrit précédemment dans *Achillea* pour le β -sitostérol, légèrement contaminé par du stigmastérol.

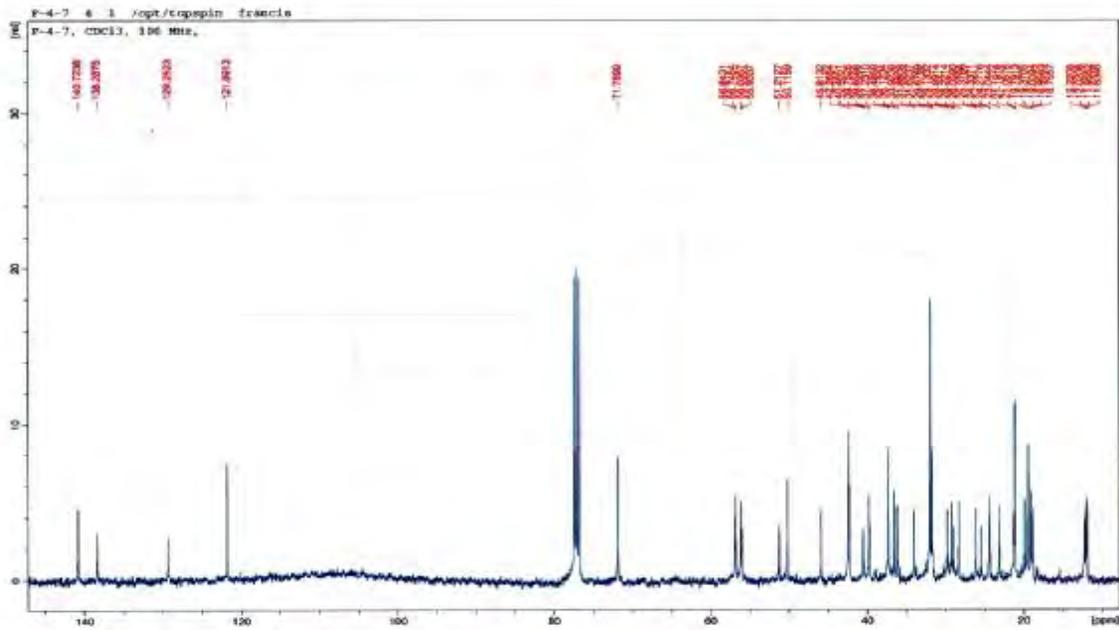


Spectre IV-2-5-1 : spectre RMN ^1H (400MHz, CDCl $_3$, δ ppm) du composé **15**

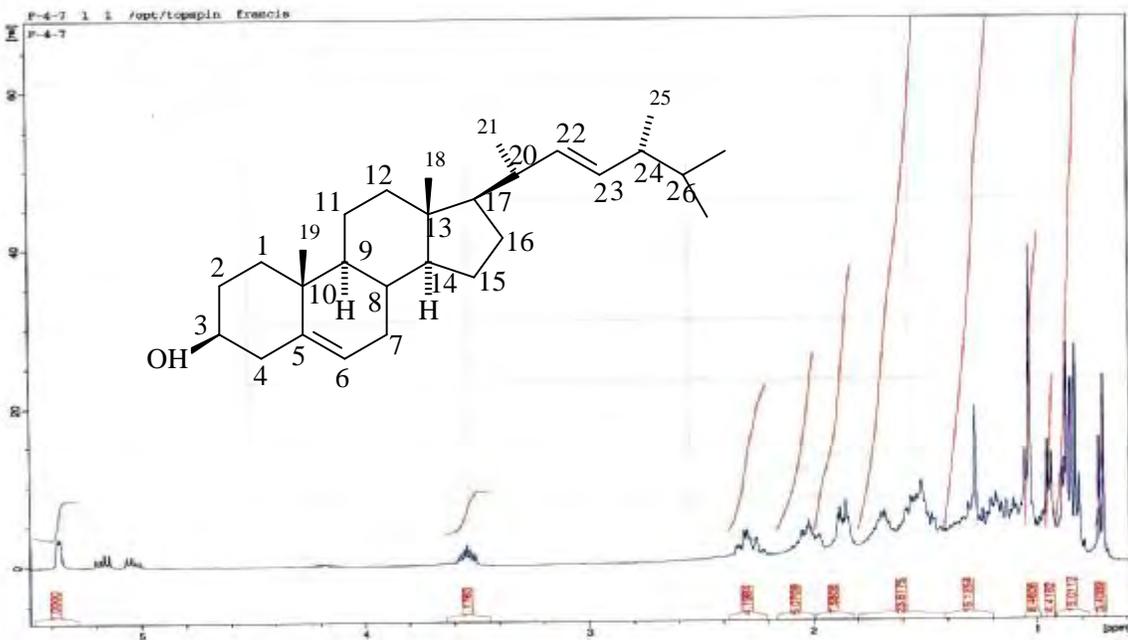
IV-2-6:Elucidation structurale du Composé F $_{4,A}$: **16**

Le spectre de masse de ce composé montre un pic moléculaire à $m/z=398$ orientant vers la formule brute $\text{C}_{28}\text{H}_{46}\text{O}$, soit une molécule comportant 6 insaturations. L'examen du spectre RMN ^1H (spectre n°IV-2-6-1) notamment l'étalement de la zone entre 0,5 et 1,05 ppm montre la présence de quatre méthyles secondaires et deux méthyles tertiaires à $\delta=1,01$; 0,91 ; 0,83 ; 0,81 ; 0,79 et 0,54 ppm et caractéristiques des méthyles 21, 25, 27, 28, 19 et 18 d'un stérol du type érgostérol [21].

Vu le nombre de protons il apparaît clairement qu'il s'agit de l'érgostérol dihydrogéné, autrement dit une des trois doubles liaisons de l'érgostérol est saturée. En effet, le spectre RMN ^{13}C (spectre n°IV-2-6-2) montre clairement la présence de seulement trois CH éthyléniques à $\delta=135,7$; 131,9 ; 117,5ppm. Cette observation oriente vers le maintien de la double liaison C-22- C-23 et la saturation de la double liaison C-5- C-6 ou la double liaison C-7- C-8.



Spectre n°IV-2-6-2 : Spectre RMN ^{13}C (125MHz, CDCl_3 , ppm) du composé **16**



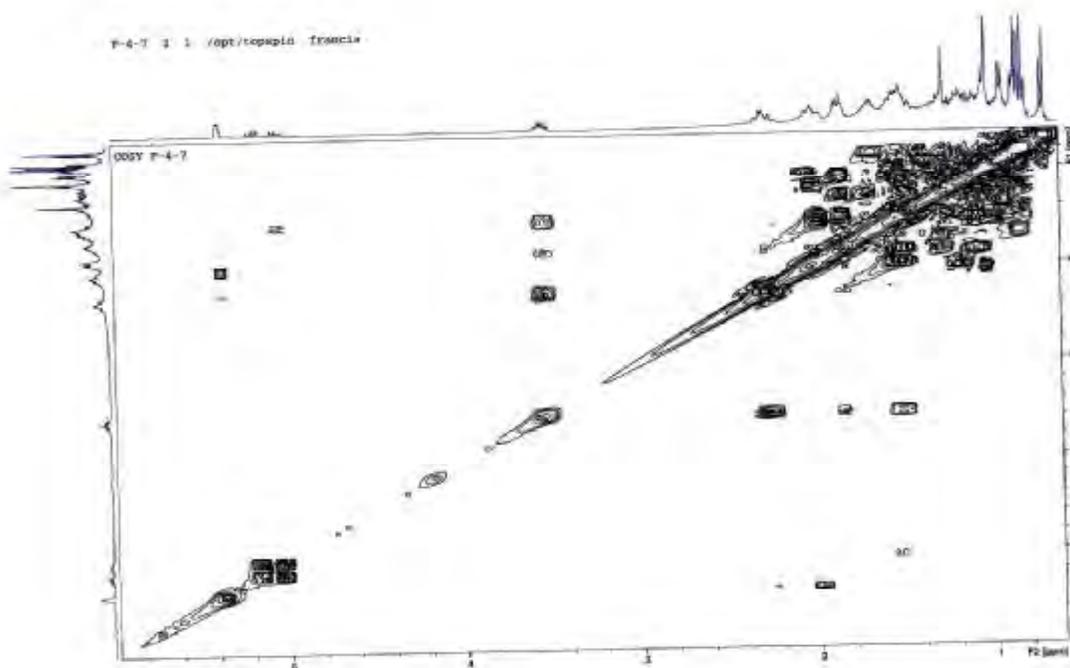
Spectre n° IV-2-6-2 : Spectre RMN ^1H ((500 MHz, CDCl_3 , ppm) du composé **16**

L'examen du spectre COSY¹H-¹H (spectre n°IV-2-6-3) permet la localisation de H-20 grâce à sa corrélation avec le CH₃₋₂₁, ce même spectre montre une corrélation entre H-20 et l'un des protons éthyléniques à δ=5,19 (dd, J=15,5 ; 6,9Hz) confirmant ainsi le maintien de la double liaison C-22-C-23.

Connaissant H-3 multiplet à δ=3,59 ppm, il est aisé toujours, grâce au spectre COSY¹H-¹H d'attribuer H-4 et H-4' multiplet centré à δ=1,80 ppm.

Ces noyaux montrent une corrélation avec le proton éthyléniques à δ=5,15 ppm qui ne peut être que H-6.

Cette corrélation correspondant à un couplage longue distance (⁴J) entre H-4, H-4' et H-6 rendu possible par la présence de la double liaison qui par conséquent doit se trouver entre C-5- C-6. Ces données sont appuyées par le spectre relatif à l'expérience HMBC qui montre en particulier une corrélation entre les protons du CH₃-21 et le CH éthylénique à δ=135,7 ppm permettant son attribution au C-22 par ailleurs, la corrélation entre les protons du CH₃-25 et le carbone éthylénique à δ=131,9 ppm permet l'attribution de ce dernier à C-23



Spectre n°IV-2-6-3 : Spectre COSY¹H-¹H (500 MHz, CDCl₃, ppm) du composé 16

Le maintien de la double liaison de la chaîne latérale est confirmé par le spectre de masse qui montre en particulier la présence à m/z=273 correspondant à la perte du radical C₉ H₁₇ composant cette chaîne latérale.

Cet ion (m/z=273) subit par la suite deux réarrangements, le premier avec perte de H₂ menant à l'ion m/z=271, le second avec perte de H₂O menant à l'ion m/z=255. L'apparition de cet ion confirme

bien la présence de la fonction hydroxyle dans la partie tétra cyclique. Ainsi cette molécule correspond au **7-dihydroérgostérol** représenté sur le schéma IV-2-6-1

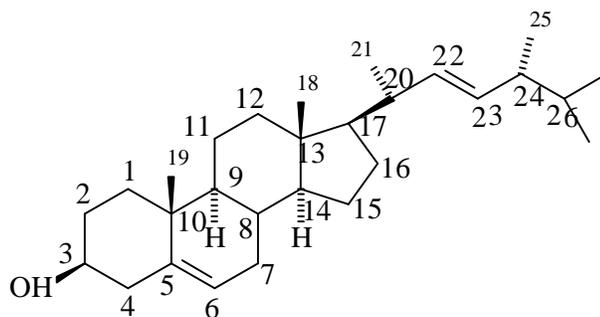


Schéma IV-2-6-1: **7-dihydroérgostérol**

La stéréochimie des centres chiraux est déduite par rapport aux données de la littérature [22].

Les données relatives aux études spectroscopiques sont reportées dans le tableau n° IV-2-6-1

Tableau n° IV-2-6-1: Résultats du RMN¹H du composé **16**

Déplacement chimique δ (ppm)	Intégration	Multiplicité	Attribution
5,19	1H	dd (1,5 ; 6,9)	H-22
5,15	1 H	m	H-6
3,59	1 H	m	H-3
1,80	2 H	m	H-4 , H-4'
1,01	3 H	s	CH ₃ (21)
0,91	3 H	s	CH ₃ (25)
0,83	3 H	s	CH ₃ (27)
0,81	3 H	s	CH ₃ (28)
0,79	3 H	s	CH ₃ (19)
0,54	3 H	s	CH ₃ (18)

IV-2-7: Elucidation structurale du Composé B_{14,1} : 17

Le spectre RMN¹H (spectre n° IV-2-7-1) de ce produit notamment la zone des CH₃ et la zone entre 6 et 6,5 ppm montre des signaux orientant vers une structure apparentée à l'ergostérol cette hypothèse est appuyée par les spectres ¹³C (spectre n° IV-2-7-2) et les spectres relatif aux 'expériences DEPT, HSQC (spectre n° IV-2-7-3), et HMBC qui montrent en particulier les signaux:

*1 CH à $\delta=66,3$ ppm attribuable à C-3($\delta_H=3,97$ ppm).

*2 CH éthyléniques à $\delta_c=130,7$ ($\delta_H=6,44$ ppm ; m) et à $\delta_c=135,5$ ppm ($\delta_H=6,21$ ppm ; m).

*2 carbones quaternaires oxygénés à $\delta_c=82,2$ et $\delta_c=79,5$ ppm.

L'ensemble de ces quatre atomes de carbone ainsi que la valeur de leur déplacement chimique sont caractéristiques des atomes de carbone:

Spectre n° IV-2-7-1 : spectre RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3 , ppm) du Composé **17**

Ces observations sont confirmées par la corrélation sur le spectre relatif à l'expérience HMBC, entre les 2 carbones quaternaires oxygénés et les 2 protons éthyléniques. Par ailleurs, ni le spectre ^{13}C , ni le spectre RMN ^1H ne montrent d'autres signaux appartenant à cette molécule dans la zone éthylénique, ce qui suggère l'absence d'autres doubles liaisons dans cette structure et mène par conséquent à une chaîne latérale saturée.

L'ensemble de ces données est appuyée par le spectre de masse sous impact électronique (spectre n° IV-2-7-4) qui montre en particulier un signal à $m/z=429$ correspondant à $[\text{M}^{+\circ}-1]$, un signal à $m/z=412$ correspondant à $[\text{M}^{+\circ}-18]$ et confirmant la présence de l'hydroxyle dans cette molécule.

Le pic intense à $m/z=368$ Da correspondant à la perte d'une molécule de H_2O_2 et une molécule d'éthylène confirme bien la structure proposée.

L'ensemble de cette étude mène à la structure du **22-dihydropéroxyde d'ergostérol** [23].

(Schéma IV-2-7-1).

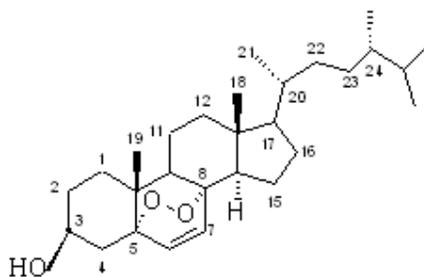
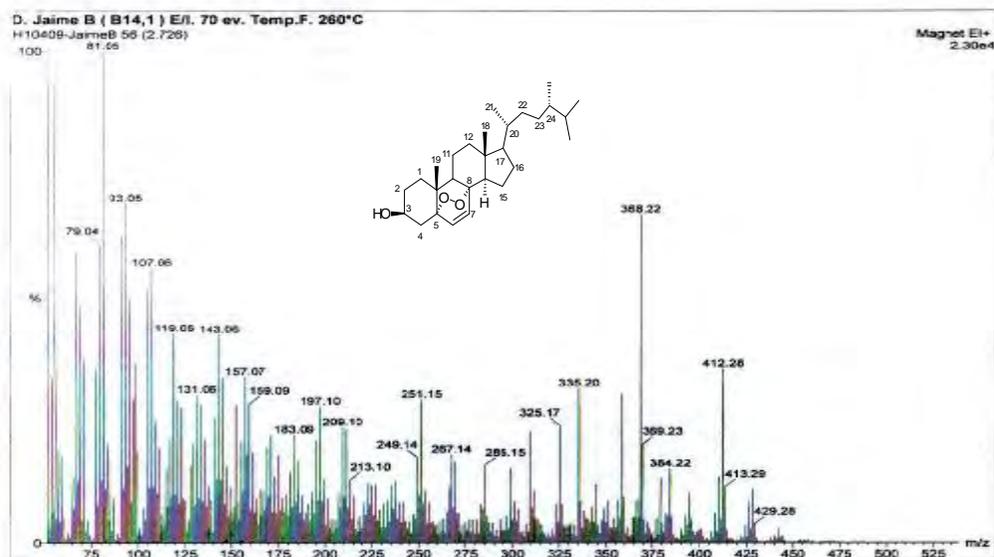


Schéma IV-2-7-1: **22-dihydropéroxyde d'ergostérol**

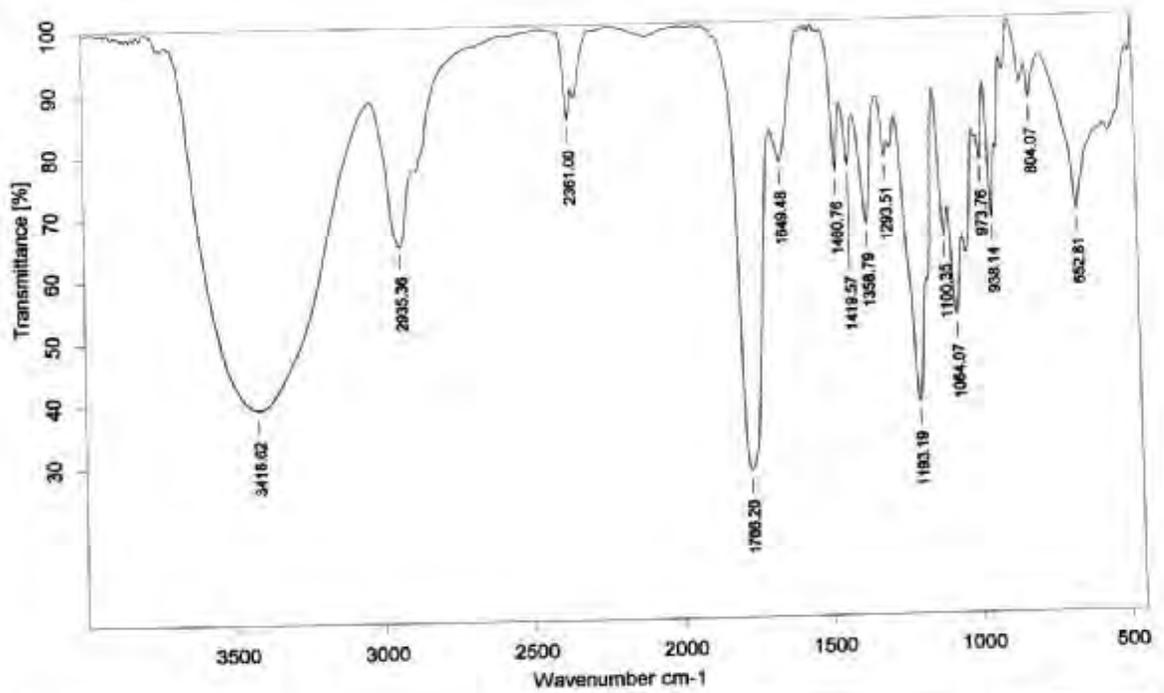
Il est à noter que cet échantillon renferme également d'après des signaux caractéristiques, du stigmastérol et du peroxyde d'ergostérol.



Spectre n° IV-2-7-3 : Spectre SMIE du composé **17**

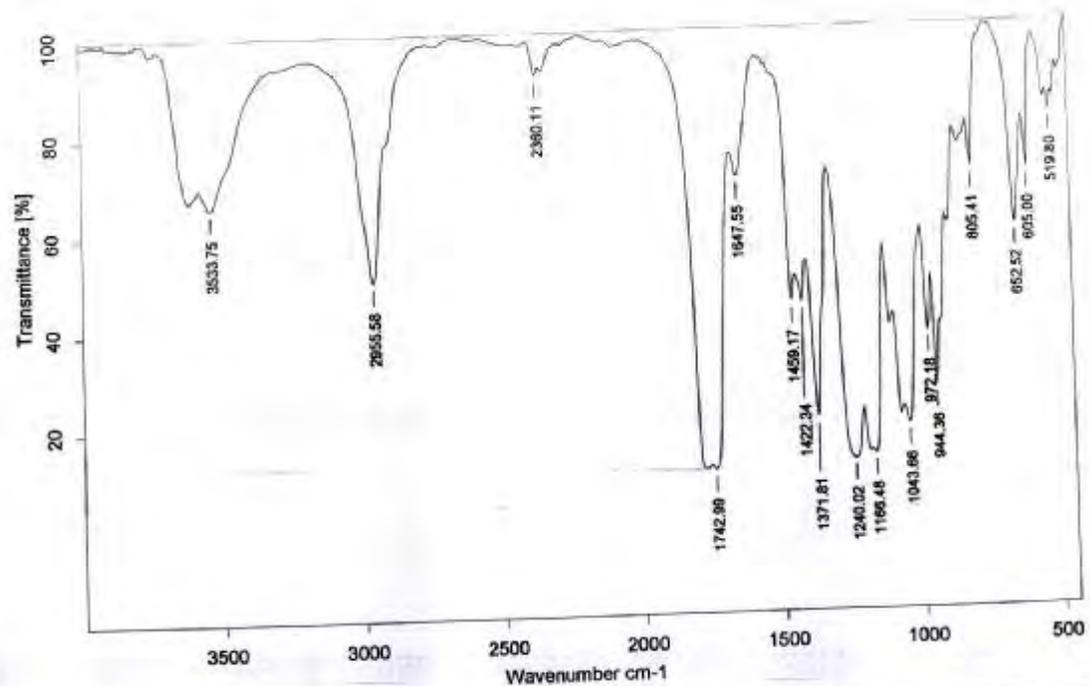
IV-2-8:Elucidation structurale du composé **C₉:18**

Le spectre IR (spectre n°IV-2-8-1) de cette molécule montre une bande de vibration de valence relative à une fonction hydroxyle à 3419cm^{-1} , et une bande de vibration de valence à 1766cm^{-1} , caractéristique d'un carbonyle lactonique. Après acétylation le spectre IR de l'échantillon résultant montre en plus de la bande au carbonyle de la lactone une bande à 1743cm^{-1} , attribuable au carbonyle de la fonction acétate introduite. Cette donnée est appuyée par la diminution de l'intensité de la bande relative au groupement hydroxyle, ce qui suggère la présence d'une fonction alcool dans cette molécule à l'état natif.



C:\OPUS\spectros\190107\VICTORGARCIA.3 C9P C9P 2007/01/19

Spectre n°IV-2-8-1: Spectre IR du composé C₉ à l'état natif



C:\OPUS\spectres\190107\VICTOR.GARCIA.5

C9AC

CBAC

2007/01/19

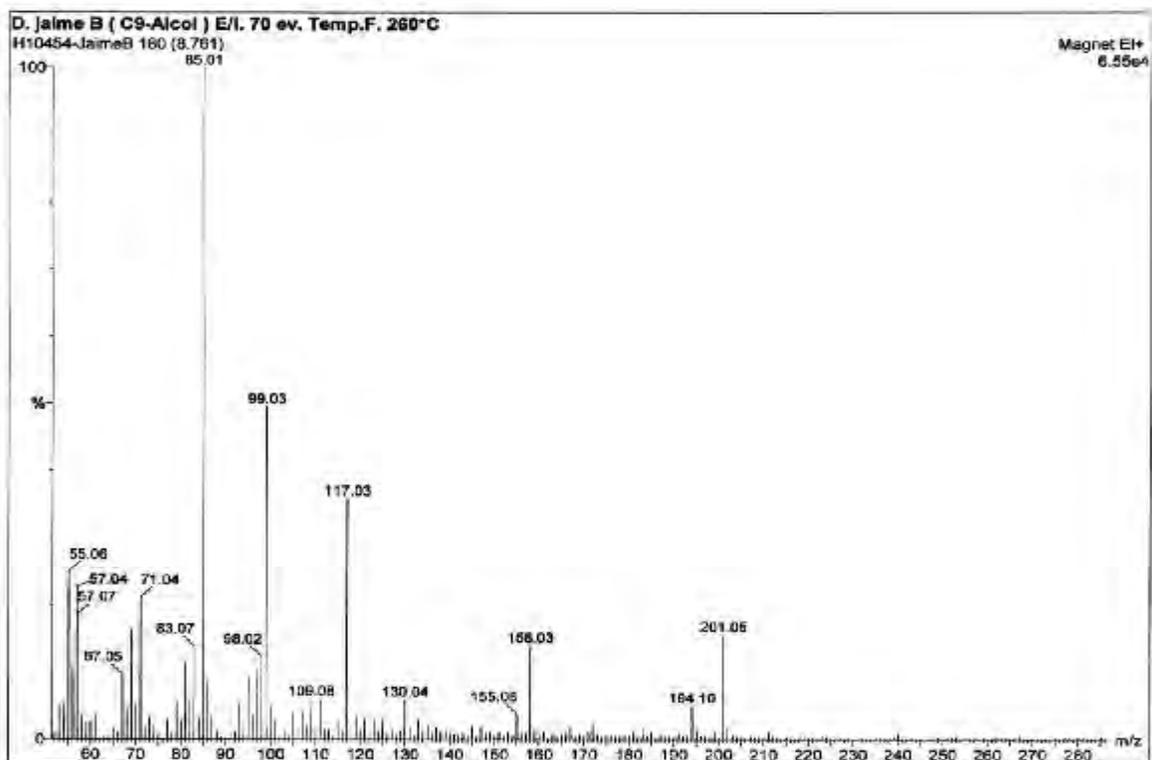
Page 1/1

Spectre n°IV-2-8-1: Spectre IR du composé C₉ acétylé

Le spectre de masse (spectre n°IV-2-8-2) à haute résolution de l'échantillon après acétylation montre une masse exacte de l'ion $[M+H]^+$ à $m/z=159,0671(1,63\%)$ correspondant à la formule brute C₇ H₁₁ O₄ (masse calculée 159,0657). L'obtention de l'ion correspondant à la molécule protonnée est commun aux lactones. Par ailleurs, ce spectre montre un pic à $m/z=117,0558(1,39\%)$ correspondant à un réarrangement avec élimination de cétène et formation de l'alcool correspondant (masse calculée 117,0552) pour la formule brute C₅ H₉ O₃. La fonction hydroxyle résultante est confirmée par le pic à $m/z=99,0439(2,45\%)$ correspondant à la perte d'une molécule de H₂ O (masse calculée 99,0446 pour la formule brute C₅ H₇ O₂).

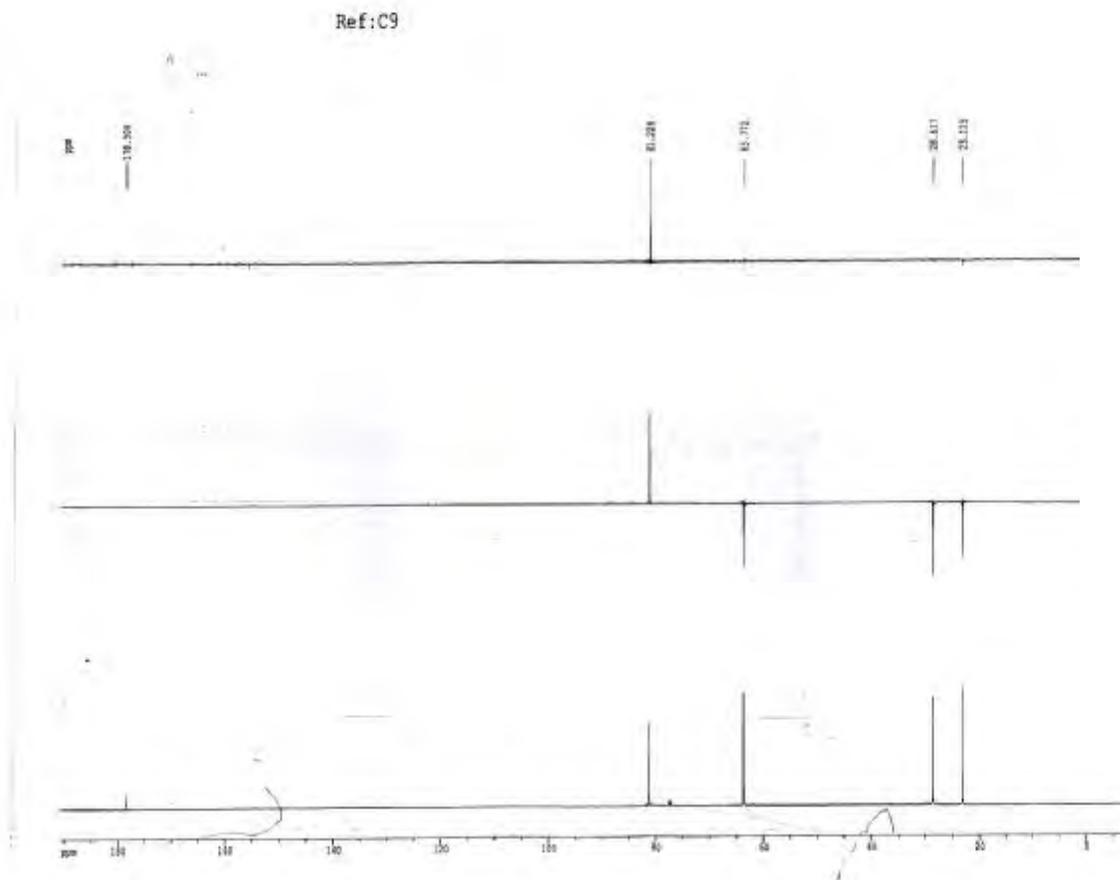
L'ion correspondant à la lactone hydroxylée et protonnée (117,0558) se réarrange également avec perte d'une molécule de CH₃OH en donnant l'ion à $m/z=85,0283(100\%)$ masse calculée 85,0290 pour la formule brute C₄ H₅ O₂.

.La perte de la molécule de CH₃OH signifie la présence d'un groupement CH₂OH dans cette lactone. Toutes ces données sont confirmées par le spectre de masse de l'échantillon natif, qui après protonation donne l'ion à $m/z=117$ suivi de la perte d'une molécule de H₂ O donnant l'ion à $m/z=99$ et qui se réarrange également en perdant une molécule de CH₃OH pour donner l'ion à $m/z=85$ dont le signal constitue le pic de base.



Spectre n°IV-2-8-2 : Spectre SMIEHR du composé **18**

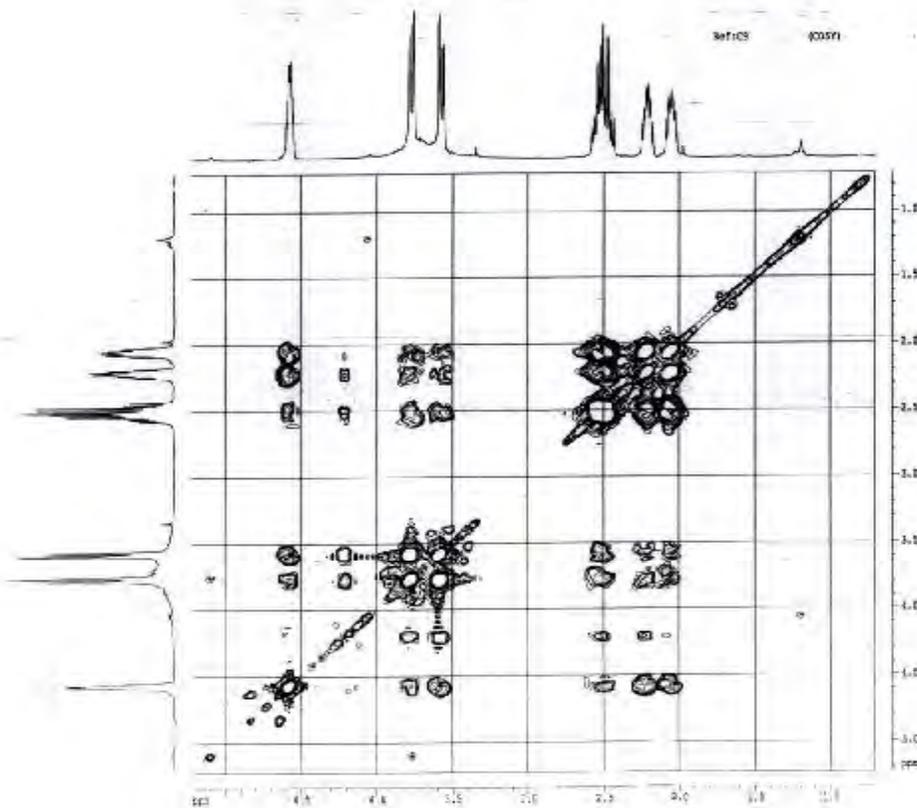
L'examen du spectre RMN ^{13}C (spectre n°IV-2-8-3) et ses séquences DEPT 135, et 90 confirme la présence de la fonction lactone par le signal d'un carbonyle quaternaire à $\delta=178,5$ ppm, et confirme également la présence du groupement CH_2 hydroxyle à $\delta=63,8$ ppm, et montre en plus un groupement CH oxygéné à $\delta=81,2$ ppm et qui ne peut correspondre d'après la valeur de son déplacement chimique qu'au CH de la fermeture de la fonction lactone. Ces spectres montrent également deux groupements CH_2 sp^3 non oxygénés à $\delta=28,6$ et $23,1$ ppm. L'ensemble de ces données ainsi que le spectre de masse à haute résolution mène à la formule brute $\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_3$ pour le composé natif non protoné soit une molécule comportant deux insaturations, ce qui suppose le cycle et le carbonyle de la lactone.



Spectre n°IV-2-8-3: Spectre RMN¹³C et ses séquences DEPT du composé **18**

L'examen simultané des spectres HSQC (spectre n°IV-2-8-4), COSY (spectre n°IV-2-8-5) et proton (spectre n°IV-2-8-6) montrent:

*L'enchaînement $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{C}-\text{O}-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{OH} \end{array}$ grâce à la corrélation entre le proton relatif au multiplet à $\delta=4,57$ ($\delta_c=81,2$ ppm) et les deux doublets de doublets à $\delta=3,77$ ($J=12,5 ; 3,0$ Hz) et $\delta=3,58$ ($J=12,5 ; 4,8$ Hz) ($\delta_c=63,8$ ppm)



. Spectre n°IV-2-8-4: Spectre COSY¹ H-¹ H du composé **18**

*L'enchaînement CH- CH₂- CH₂- grâce aux corrélations observées entre le CH préalablement décrit et les protons du CH₂ résonant sous forme de multiplets à $\delta=2,21$ ppm et $\delta=2,05$ ppm ($\delta_c=23,1$ ppm) et les corrélations entre les protons de ce dernier CH₂ et les protons du CH₂ résonant sous forme de multiplet centré à $\delta=2,51$ ppm et $\delta_c=28,6$ ppm. Par ailleurs, le spectre HMBC montre une corrélation nette entre ces derniers protons et le carbone du carbonyle de la lactone signifiant leur jonction. Ces données mènent à la structure plane reportée dans le schéma IV-2-8-1

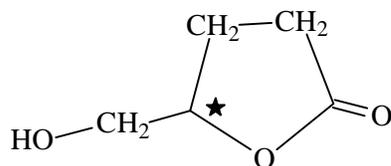
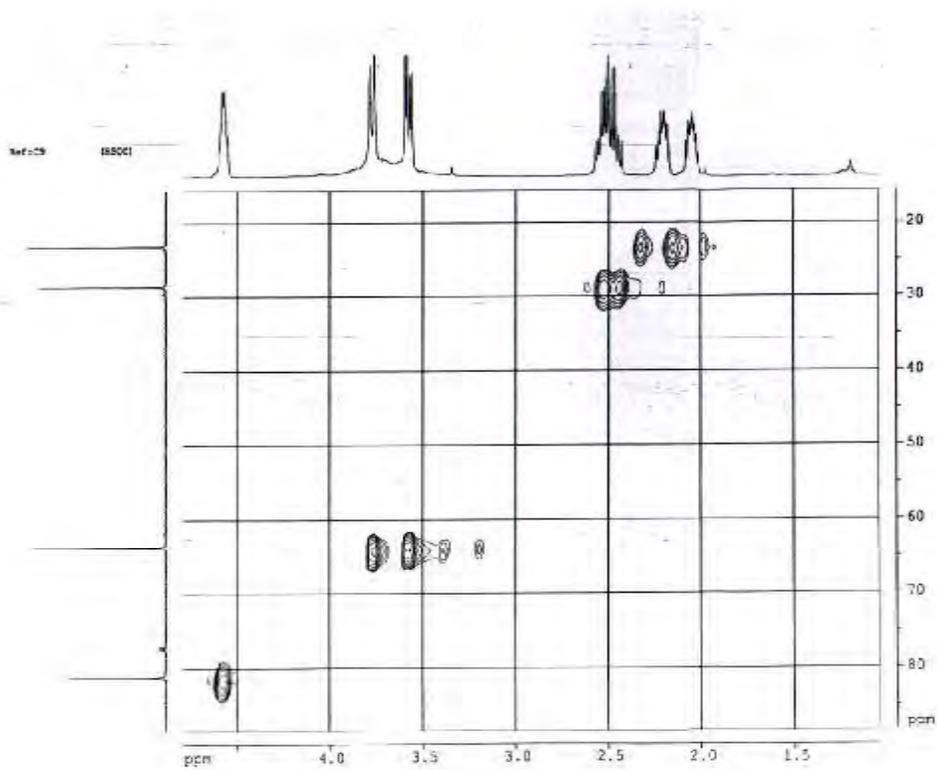
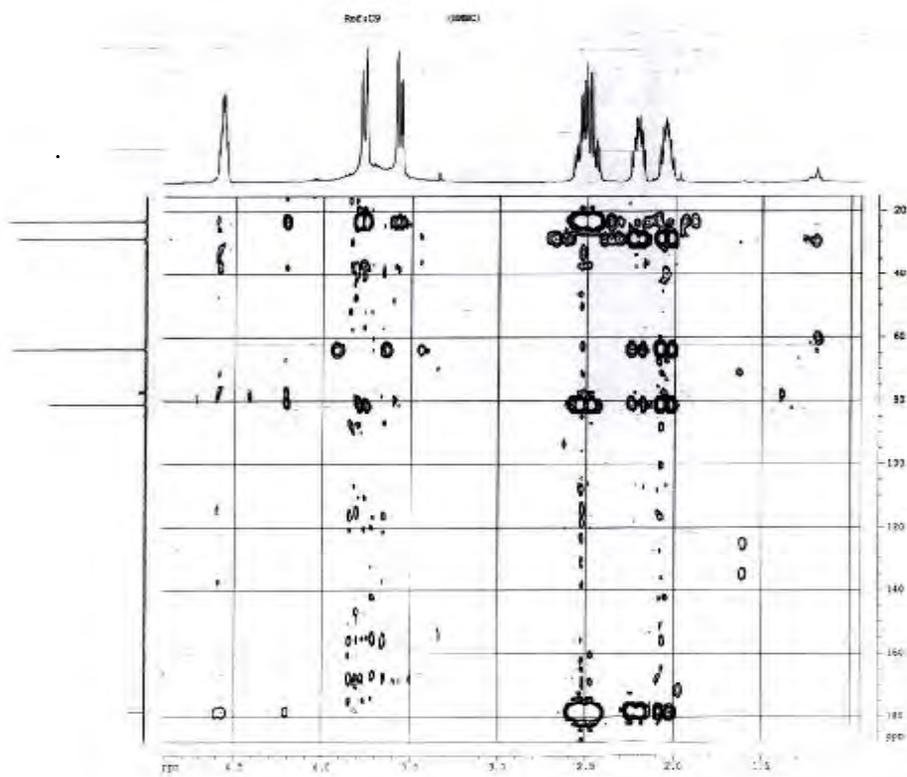


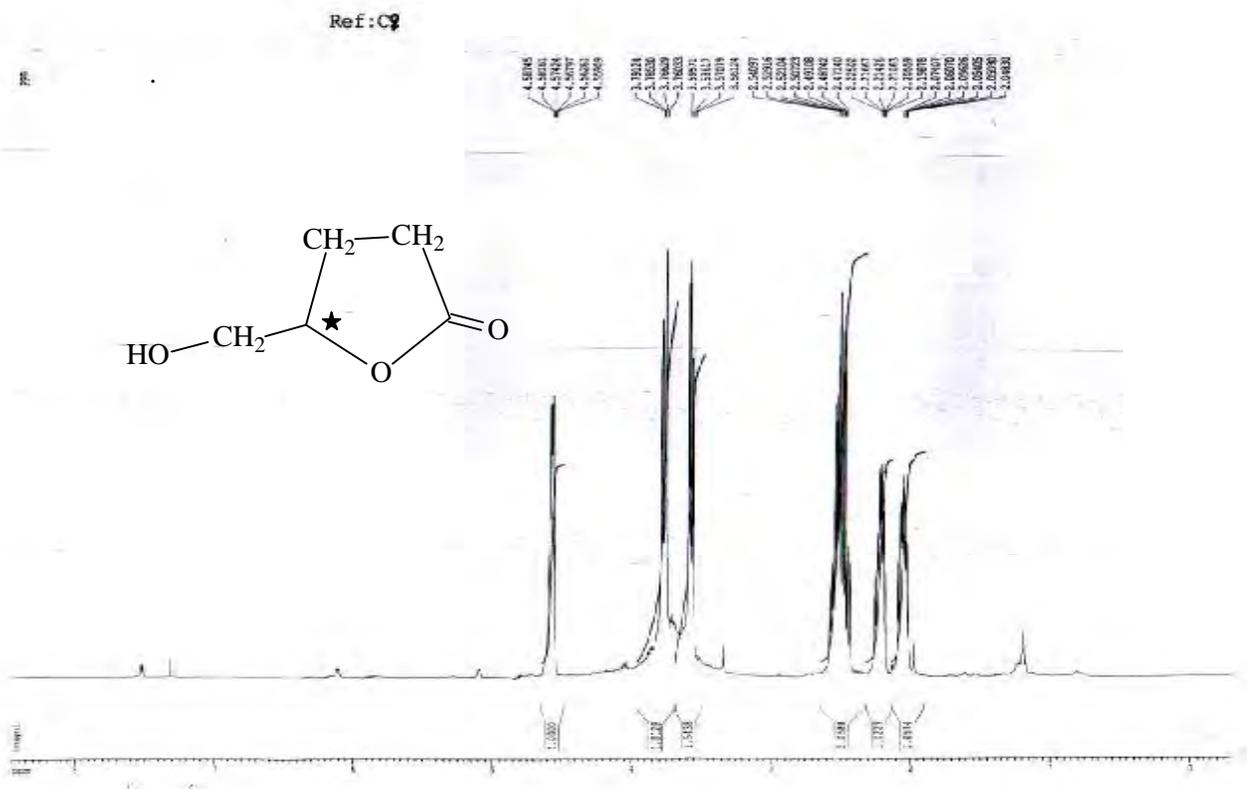
Schéma IV-2-8-1: Structure plane du γ -Hydroxyméthyl- γ -Butyrolactone.



. Spectre n°IV-2-8-5: Spectre HSQC (500 MHz, CDCl₃, δppm) du composé **18**



Spectre n°IV-2-8-6: Spectre HMBC (500 MHz, CDCl₃, ppm) du composé **18**

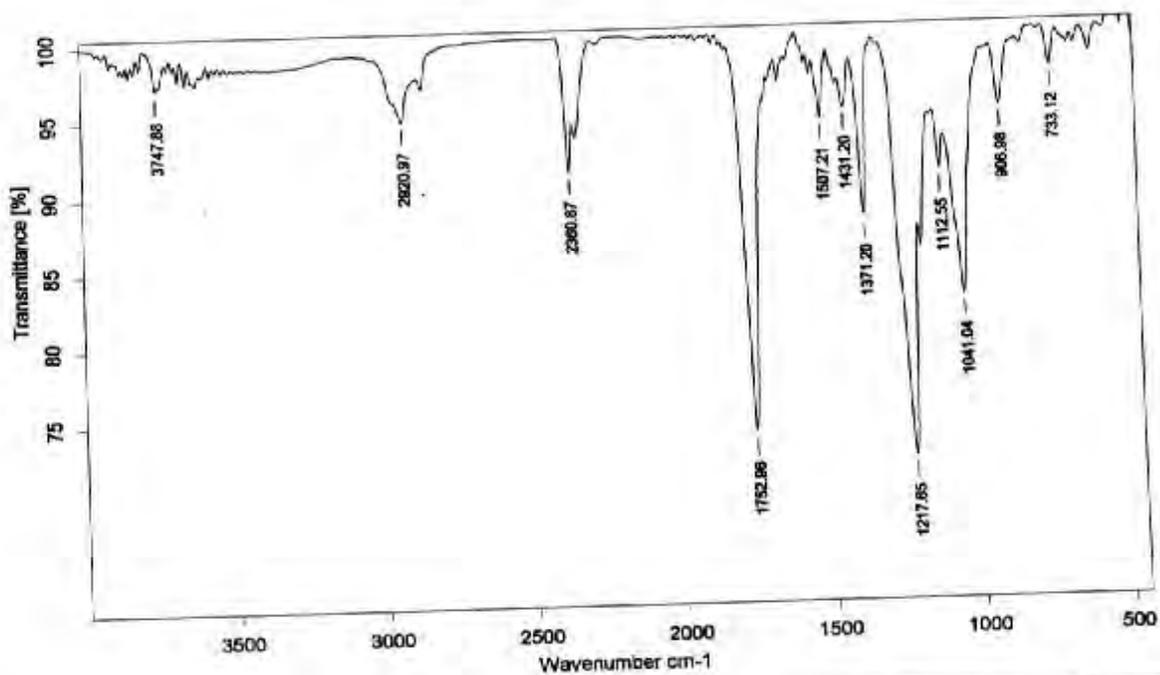


IV-2-9: Elucidation structurale du composé D_{10, 6,3} : 19

Le spectre IR de ce composé à l'état natif avant purification montre une bande indiquant la présence de groupements hydroxyles, ce spectre ne montre par contre pas de bandes de vibration relatives à des fonctions carbonyles.

La séparation et la purification ultime de ce composé ont été impossibles à l'état natif, aussi nous avons eu recours à l'acétylation. En effet, après une réaction d'acétylation prolongée (24 heures d'agitation à température ambiante dans le milieu pyridine en présence d'anhydride acétique) la purification de ce composé sur plaques préparatives de gel de silice à été aisée.

Le spectre IR de ce composé après acétylation (spectre n°IV-2-9-1) montre en effet, la disparition des bandes larges relatives aux vibrations de valence des groupements hydroxyles et l'apparition de deux bandes intenses à 1753 et 1217cm⁻¹ caractéristiques des vibrations de valences de groupements carbonyles et de groupements éther d'acétates.

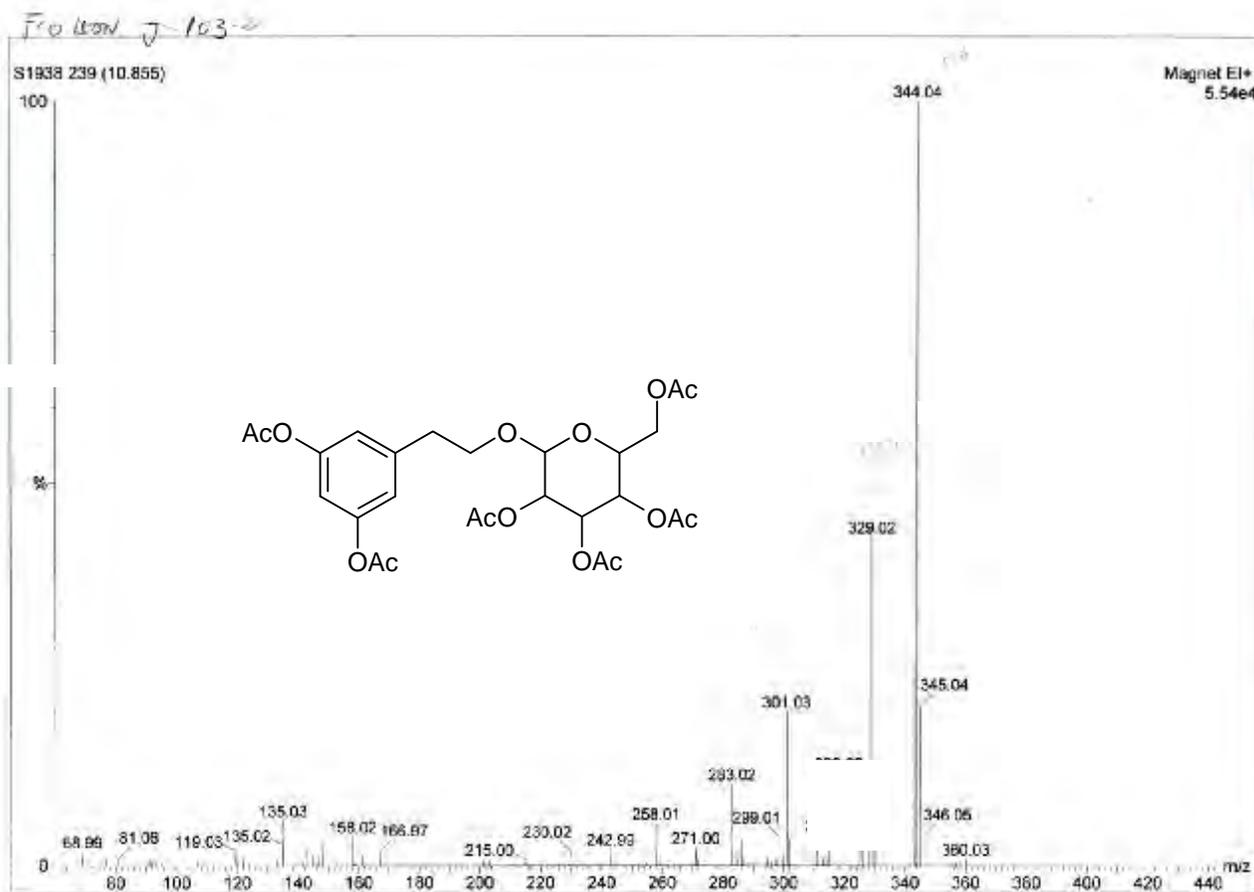


C:\CPUS\spectrae\199107\VICTOR\GARCIA\2	D10	D10	6.3	200701/19
---	-----	-----	-----	-----------

Spectre n°IV-2-9-1: Spectre IR du composé 19 (après acétylation)

Le spectre de masse à haute résolution (spectre n°IV-2-9-3), montre une masse exacte du pic moléculaire à $m/z=568,1785$ correspondant à la formule brute C₂₆H₃₂O₁₄ (calculée 568,1792), soit une molécule comportant 11 insaturations.

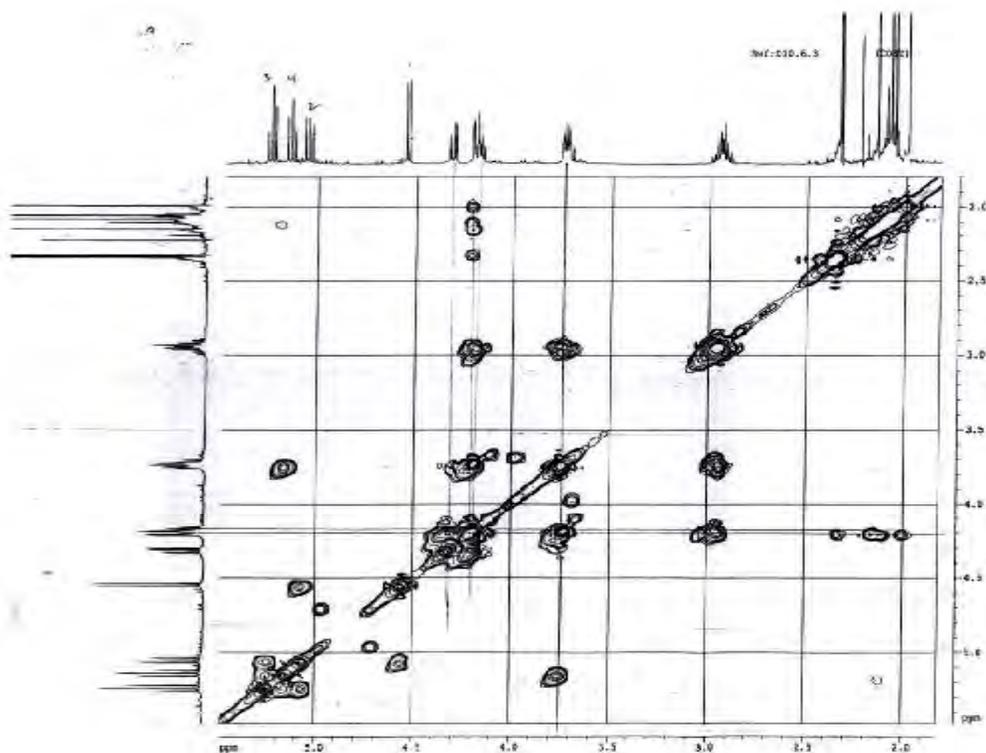
Ce spectre montre également des signaux à $m/z=526,1730$, calculée $526,1686$ pour $C_{24}H_{30}O_{13}$, relatif à un réarrangement avec perte de cétène orientant ainsi vers la présence d'un groupe acétate, la perte de cétène se poursuit grâce notamment à l'apparition des signaux à $m/z=484,1601$, calculée $484,1581$ pour $C_{22}H_{28}O_{12}$; $m/z=442,1457$, calculée $442,1475$ pour $C_{20}H_{26}O_{11}$, montrant ainsi la présence d'au moins 3 groupements acétates et informant sur la présence d'au moins 3 groupements hydroxyles dans le composé natif.



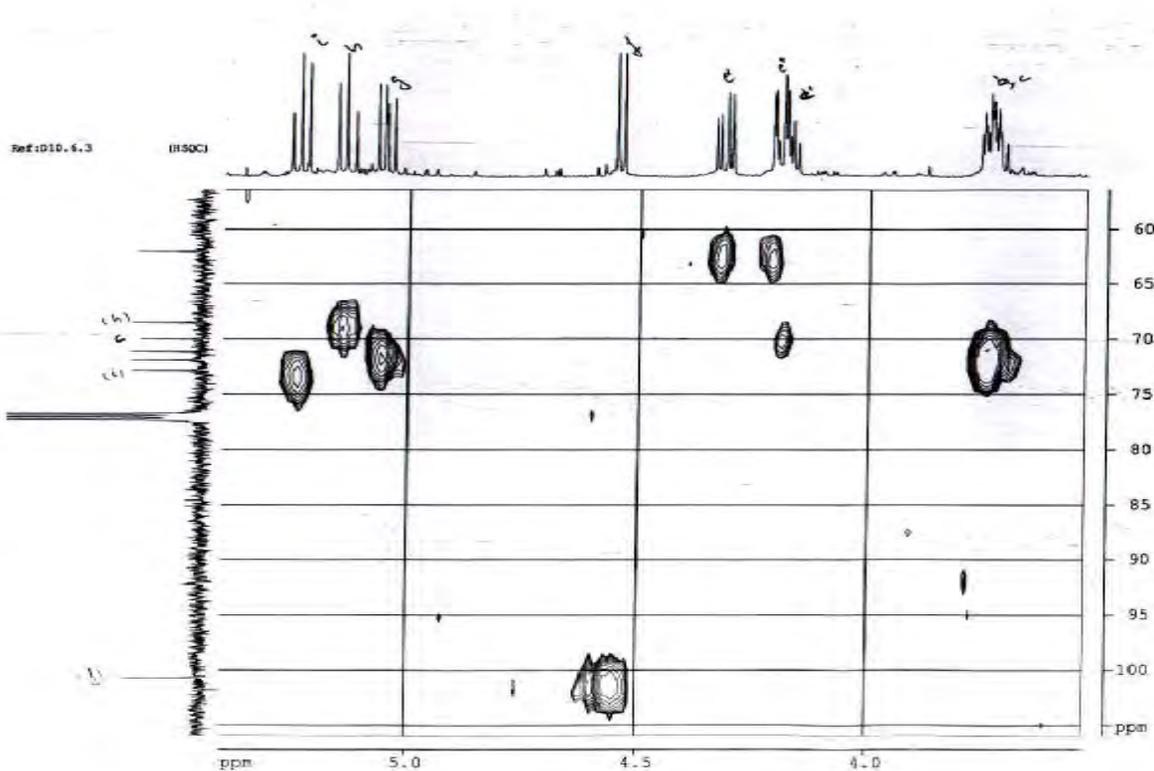
Spectre n°IV-2-9-2: Spectre SMIE du composé **19**

Les valeurs des constantes de couplage évaluées dans ce signal reflètent deux interactions de type axial-axial indiquant une jonction du type β du glycosyle et une orientation axiale de H-2'' excluant alors le manose et le rhamnose de cette substitution.

La localisation de H-2'' mène à l'attribution de H-3'' à $\delta=5,24$ ppm sous forme d'un triplet ($J=9,6$ Hz). La valeur de cette constante de couplage indiquant une interaction du type axial-axial signifie une orientation axiale de H-4'' excluant alors le galactosyle comme substituant et oriente par conséquent vers un glucosyle. Les signaux relatifs au groupement CH₂ apparaissant sous forme de deux doublets de doublets à $\delta=4,32$ ppm ($J=12,3$; 4,8 Hz) et à $\delta=4,20$ ppm ($J=12,3$; 2,4 Hz) sont attribuables à H-6''a et H-6''b respectivement de ce glucosyle. Ces deux noyaux ainsi que H-4'' dont la localisation (triplet à $\delta=5,14$ ppm ; $J=9,6$ Hz), a été aisée grâce à sa corrélation avec H-3'', corrélent avec le noyau dont le signal apparaît sous forme d'un multiplet à $\delta=3,73$ ppm, superposé avec le signal d'un autre proton, qui ne peut être attribué qu'à H-5''.



Spectre n°IV-2-9-3: Spectre COSY ¹H-¹H (500 MHz, CDCl₃, δ ppm) du composé **19**



Spectre n°IV-2-9-4 : Spectre HSQC (500 MHz, CDCl₃, δ ppm) du composé **19**

La nature du sucre est également confirmée par la multiplicité du signal H-4".

Ces études spectrales révèlent également la présence de deux groupements CH₂ vicinaux formant un système ABMX à δ=2,95 et 2,93 (δ_c=35,3 ppm) ; 4,18 et 3,74 ppm (δ_c=70,0 ppm). La valeur du déplacement chimique des protons et du carbone de ce dernier groupement suggèrent son oxygénation.

L'étude du spectre relatif à l'expérience HMBC révèle une corrélation entre les protons du groupement CH₂ à δ=2,95 et 2,93 ppm et les carbones du noyau aromatique à δ_c=127,2 ppm et le carbone à δ_c=123,2 ppm signifiant d'une part que ce groupement CH₂ est directement attaché au noyau aromatique, d'autre part que les deux protons à δ=7,14 ppm sont en position ortho et ortho prime par rapport à la chaîne CH₂-CH₂-O-.

Par ailleurs, ce spectre montre une corrélation nette:

Entre le proton anomérique et le carbone du groupement CH₂-O- signifiant l'enchaînement -CH₂-CH₂-O- glucosyle dans cette structure.

Ainsi en tenant compte de la multiplicité des signaux des protons du noyau aromatique, il est parfaitement envisageable de placer le troisième H du noyau aromatique en position para par rapport à la chaîne.

L'ensemble de ces données mène à la structure du composé natif reportée dans le schéma IV-2-9-1.

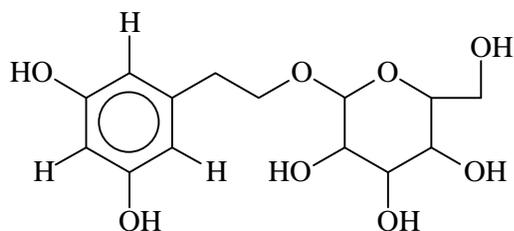


Schéma IV-2-9-1:2-(3,5-dihydroxyphényl)-1-O-β-glucopyranosyléthane.

Ce produit est nouveau en tant que produit naturel, il est connu uniquement par des procédures synthétiques [25].

Ce composé et ses dérivés similaires sont utilisés comme substance médicinale antioxydante [25]

Les données spectroscopiques relatives au composé acétylé sont reportées dans le tableau IV-2-9-1.

Tableau IV-2-9-1 : Données spectroscopiques relatives au composé **19** acétylé.

Position	H δ (ppm) <i>J</i> (Hz)	C δ (ppm)
1	4,18 m 3,74 m	70,0
2	2,95 m 2,93 m	35,3
1'	4,54 d (8,0)	137,4
2'	7,14 s l	123,2*
3'		141,5**
4'	7,09 s l	123,8
5'		141,5**
6'	7,14 s l	127,2*
1''	4,54 d (8,0)	100,7
2''	5,05 dd (9,6 ; 8,0)	71,2
3''	5,24 t (9,6)	72,9
4''	5,14 t (9,6)	68,5
5''	3,73 m	71,9
6''	4,32 dd (12,3 ; 4,8) 4,20 dd (12,3 ; 2,4)	62,0

*Ces noyaux peuvent être échangés

**Valeurs déduites du spectre HMBC

Ainsi, nos travaux sur *Ranunculus cortusifolius* (Ranunculaceae), une espèce qui n'a jamais fait l'objet d'études phytochimiques auparavant, ont permis la détermination structurale de neuf composés dont 7 à l'état natif et deux acétylés. Parmi ces composés, deux sont nouveaux en tant que substances naturelles. Il faut signaler, que les structures des produits purifiés et non actuellement déterminées sont en cours d'établissement.

Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons reporté, les établissements de structures de 19 produits dont 10 isolés de *Achillea ligustica*, parmi lesquels une lactone sesquiterpénique nouvelle, ces résultats ont fait l'objet d'une publication internationale. Les 9 autres produits ont été isolés de *Ranunculus cortusifolius*, ces résultats feront l'objet d'une publication, actuellement en cours de rédaction.

Au cours de ces travaux d'établissement de structure, nous avons eu recours aux techniques spectroscopiques les plus sophistiquées, notamment les expériences de RMN multi impulsionsnelle et bidimensionnelle et les modes d'ionisation douce de la spectrométrie de masse à haute et basse résolution.

Références bibliographiques:

- [1] Patel, B. A., Kao, L. C., Cortese, N. A., Minkiewicz, J. V., Heck, R. F., 1979. *J. org. Chem.* 44, 918
- [2] Filippi, J. J., Lanfranchi, D. A., Prado, S., Baldovini, N., Meierhenrich, U. J., 2006. *J. Agric. Food chem.* 54, 6308.
- [3] Filippi, J. J., Lanfranchi, D. A., Prado, S., Baldovini, N., Meierhenrich, U. J. 2006. *J. Agric. Food chem.* 54, 6308., Tsankova, E. , Ognyanov, I., 1985. *Planta Med.* 2, 180.
- [4] Ahmed, A. A., Hussein, N. S., Saller, M., Malbry, T. J., 1995. *Revista Latino Americana de quimica* 23, 76.
- [5] Ahmed, Ahmed A., Hussein, Nadias; Saller, Mark; Mabry, Tom J. Faculty science, El-Minia university, El-Minia, Egypt. *Revista Latino Americana de quimica* (1995), volume date 1994, 23(2), 76-77.
- [6] Ferheen, S., Ahmed, E., Afza, N., Malik, A., 2005. *Journal of the chemical Society of Pakistan* 27, 219.
- [7] Ness, D. W., Norton, R. A., Benson, M. 1992 *phytochemistry* 31, 805.
- [8] Torrance, S. J., Steelink, C., 1974. *J. org. chem.* 39, 1068.
- [9] Williams, C. A., Harbone, J. B., Geiger, H., Hoult, J. R. S., 1999. *phytochemistry* 5, 417.
- Long, C., Sauleau, P., David, B., Lavaud, C., Cassabois, V., Ausseil, F., Massiot, G., 2003, *phytochemistry* 64, 567
- [10] Otwinowski, Z. , Minor. , 1997 *Processing of X-ray Diffraction Data Collected in Oscillation Mode, Methods in Enzymology*, volume 276: *Macromolecular Crystallography*, part A, p.307-326
- [11] Burla, M. C. , Caliandro, R. , Camalli, M. , Carrozzini , B. , Cascarazo, G. L., De Caro, L. , Giacovazzo, C. , Polidori, G. , Spagna, R. , Sir 2004: An improved tool for crystal structure determination and refinement 2005. *J. Appl. Cryst.* 38, 381-388.
- [12] Sheldrick , G. M., 1997, *SHELXL-97*, Program for the refinement of crystal structures , university of Göttingen, Germany.
- [13] Ferraboschi, Patrizia; Grisenti, Paride; Manzocchi, Ada; Santaniello, Enzo., *Tetrahedron* (1994), 50 (35), 10539-48.
- [14] Sultana, Nasim; Armstrong, James A.; Waterman, Peter G. *phytochemistry Research laboratories, department of pharmaceutical sciences, university of Strathclyde, Glasgow, UK. Phytochemistry* (1999), 52(5), 895-900.
- [15] Mahran, G. H., Saber, A. H., el-Alfy, T., 1968 *planta Med.* 16, 323.
- [16] Kern, J. R., Cardellina, J. H., 1983. *J. Ethnopharmacol* 8, 121.
- [17] Pei-Wen Hsieh; Fang-Rong Chang, Hsin-Fu Yen, Yang-Chang Wu, *Biochemical Systematics and Ecology* 31(2003)541-543

- [18] Hsich, Pei-Wen; chang, Fang-Rong ; Yen, Hsin-Fu ; Wu, Yang-chang. *Biochemical Systematics and Ecology* (2003), 31(5), 541-543.
- [19] Martin M.L ; Ortiz de Urbina AV; Montero.M. J; carron R ; San Roman.L.*Journal of ethnopharmacology* (1988), 24 (2-3), 185-91
- [120] Michael Holcapek, Pavel Jandera, Jan Fisher, Botivoj Prokes.*Journal of chromatography A*, 858 (1999), 13-31.
- [21] Mónica.Varga, Tibor Bartók, Akos Mesterhazy *Journal of chromatography A*, 1103 (2006) 278-283
- [22]Mallavadhani,Uppuluri V.;Sudhakar,Akella V.S.,Sat yana rayana,K.V.S.,Mohapatra,Anita;Li,Wenkui;Van Bree men,Richard B.Regional Research laboratory(CSIR),center for Herbal Drugs;Orissa,India.*Food chemistry*(2005),95(1),58-64.
- [23]K.Kahlos,L.Kangas,R.Hiltunen,1989.*Planta Medica*,55,389.
- [24]A.Cavé,C.chaboche, B.Figadere, J.C.Harmange, A.Laurens,J.F.Peyrat, M. Pichon, M. Szlosek, J. Cotte-Laffite, A.M.Quéro, 1997.*Eur.J.Med.Chem.*?32?617-623.
- [25]Shi,Lifu;Cai;Zhen;Yad,Bin.(The second Military Medical University of PLA,Peop.Rep. China) .*Faming Zhuanli shenging Gongkai Shuomingshu* (2004), 10pp.

Carter, Jr. R. M. Sweet, Eds.Academic Press New York.

CONCLUSION

GENERALE

L'homme a, de tout temps, utilisé ou tenté d'utiliser pour se soigner les produits à sa disposition dans la nature. L'intérêt des produits naturels comme principes actifs ou sources d'inspiration pour la conception de nouveaux médicaments découle de leur rôle de médiateurs de communication chimique dans le vivant. Si les antibiotiques constituent à ce point de vue des exemples immédiats, de nombreux métabolites secondaires naturels se montrent dignes d'intérêt.

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés aux différents métabolites secondaires issus de deux plantes différentes. L'une appartenant à la famille des composées du genre *Achillea* l'autre à la famille des renonculacées du genre *Ranunculus*

Après extraction alcoolique des parties aériennes des deux plantes, nous avons soumis l'extrait brut obtenu aux différentes méthodes chromatographiques qui ont permis l'obtention des 10 produits à partir de *Achillea ligustica* All. et 12 produits à partir de *Ranunculus cortusifolius*

Pour l'établissement des structures des composés isolés, nous avons fait appel aux différentes techniques physico-chimiques notamment:

La spectroscopie RMN¹H, la RMN¹³C et leurs séquences bidimensionnelles, ainsi que la spectrométrie de masse à haute résolution au mode I.E et FAB et par diffraction de RX

Ainsi, l'étude phytochimique de l'extrait brut menée sur *Achillea ligustica* à permis l'isolement de 10 produits qui sont :

*.(E)-ethyl-3, 7-dimethyl-3, 6-octadiénoate

*4a(2H) – Naphtalénol,1,2,3,5,6,8a hexahydro-7-methyl-4-méthylène-1-(1-méthylethyl),(1 α ,4 α ,8 α)

*2-Oxoisodauc-5-ène-12al

*Bornéole

*Tridecan-1-ol

* β -sitostérol

*Filifolide A

*5, 7dihydroxy 4', 6,3- triméthoxyl flavone (Santine)

* *Une lactone sesquiterpénique nouvelle à qui nous avons donné le nom Algerianolide

*4'- α -diméthoxyacétophénone

L'étude phytochimique de l'extrait de *Ranunculus Cortusifolius*, a permis l'isolement et la détermination structurale de 12 produits à l'état natif et 2 après acétylation:

Les 12 produits à l'état natif

*Glycéryl-1-tétracosanoate

*3-Oxo- α -ionone

*Anémone

*1,2-dilinoléoyl-3-linolénoyl-glycérol

* β -sitostérol

*7-dihydroérgostérol

*22-dihydropéroxyde d'ergostérol

*(S) (+) γ -hydroxyméthyl- γ -butyrolactone

*2-(3, 5-dihydroxyphényl)-1-O- β -glucopyranosylethane

NB : Les produits restants sont en cours de détermination de structure

Les 2 après acétylation:

(S) (+) γ -hydroxyméthyl- γ -butyrolactone acétate

2-(3',5'-dihydroxyphényl) -1-O- β - glucopyranosylethane acétate

Les résultats obtenus montrent que l'espèce *Achilléa Ligustica* est riche en composés terpéniques

Ces métabolites soulignent des propriétés biologiques remarquables qui sont signalées dans des travaux scientifiques publiés dans la littérature.

Ce travail apporte une nouveauté à ce genre qui réside dans le fait que c'est la première fois qu'une lactone sesquiterpénique portant un atome de chlore en C-2 est isolé de ce genre

Il est important de signaler que ces deux acétylés et leurs correspondants hydroxylés sont nouveaux autant que produits naturels.

Résumé:

En Afrique et par tout dans le monde, les médicaments traditionnels à base de plantes sont utilisés pour traiter les maladies chroniques et aiguës, dans les zones rurales et urbaines. L'intérêt pour les thérapeutiques traditionnelles n'est pas nouveau, mais il s'est accru ces dernières années du fait des progrès introduits notamment grâce aux nouvelles stratégies incluant des disciplines nouvelles telles que : l'éthnopharmacologie les criblages biologiques robotisés et l'accès aux bases de données bibliographique, et du renouveau d'intérêt pour les ressources renouvelables et pour la médecine traditionnelle.

Dans ce travail, notre intérêt s'est porté sur l'isolement de métabolites secondaires à la recherche de nouvelles molécules susceptibles d'être bio actives.

En ce qui concerne le choix des espèces à étudiés, notre critère principal a été l'endémisme et le fait que l'Algérie soit une des régions les plus stratégiques et les plus privilégiées en matière de flore et de connaissance de la médecine traditionnelle. De ce fait nous avons sélectionné deux espèces :

- *Achillea ligustica*, espèce très utilisée dans nos régions montagneuses sur les blessures, les plaies ouvertes et les douleurs gastriques et

- *Ranunculus cortusifolius*, une espèce endémique des îles Canaries, Madères et Açores est utilisée dans la médecine traditionnelle de ces régions

Après extraction des parties aériennes de ces deux espèces suivie d'une séparation et purification, ce travail a mené à l'obtention à l'état pur de 22 composés dont 19 ont été identifiés par la combinaison des données spectroscopiques notamment: la RMN¹H, la RMN¹³C et les séquences bidimensionnelles (COSY(¹H-¹H), HSQC, HMBC et ROESY), par diffraction de RX ainsi que la spectrométrie de masse HRIE⁺ et HRFAB⁺, ces composés sont :

*.(E)-ethyl-3, 7-dimethyl-3, 6-octadiénoate

*4a (2H) – Naphtalénol, 1,2,3,5,6,8a hexahydro-7-méthyl-4-méthylène-1-(1-méthylethyl), (1 α ,4 α ,8 α)

*2-Oxo-isodauc-3-ène-12 al

*Bornéole

*Tridecan-1-ol

* β -sitostérol

*Filifolide A

*5, 7dihydroxy 4', 6,3- triméthoxyl flavone

*Une lactone sesquiterpénique nouvelle à qui nous avons donné le nom Algerianolide.

*4'- α -diméthoxyacétophénone

*Glycéryl-1-tétracosanoate

*3-Oxo- α -ionone

*Anémone

*1,2-dilinoléoyl-3-linolénol-glycérol

* β -sitostérol

*7-dihydroérgostérol

*22-dihydroperoxyde d'ergostérol

*(S) (+) γ -hydroxyméthyl- γ -butyrolactone

*2-(3, 5-dihydroxyphényl)-1-O- β -glucopyranosylethane

Ce travail a fait l'objet d'une publication dans le journal Biochemical systematics and Ecology.

Ceux concernant *Ranunculus cortusifolius* sont en cours de publication.

Summary:

In Africa and all over the world, traditional medicines made from plants are used to treat acute and chronic diseases, in rural and urban areas. Interest in traditional therapy is not new, but it has increased in recent years as a result of advances introduced particularly thanks to new strategies including disciplines news such as the ethonopharmacologie the screenings and biological robotic access the bibliographic databases, and the renewed interest in renewable resources and traditional medicine.

In this work, our interest was focused on the isolation of secondary metabolites in the search for new molecules which can be organic active.

Regarding the choice of species studied, our primary endpoint was endemism and the fact that Algeria is one of the most strategic and most privileged in terms of flora and knowledge of traditional medicine. So we selected two species:

- *Achilléa ligustica*, a species widely used in our mountainous regions on the wounds open wounds and stomach pains and
- *Ranunculus cortusifolius*, an endemic species in the Canary Islands, Maderes and the Azores is used in traditional medicine in these regions

After extraction of parts of these two species followed by separation and purification, this work led to the acquisition in its purest form of 22 compounds which 19 were identified by a combination of spectroscopic data including: RMN¹H, RMN¹³C and sequences two-dimensional (COZY (¹H-¹H), HSQC, and HMBC ROESY), RX diffraction and mass spectrometry HRIE + and HRFAB +, these compounds are:

- * (E) -ethyl-3, 7-dimethyl-3, 6-octadièneoate
- * 4 a (2H)-Naphthaléno1,1,2,3,5,6,8a hexahydro-7-méthyl-4-méthylène-1-(1-méthylethyl) (1 α , 4 α , 8 $\alpha\alpha$)
- * 2-Oxoisodauc-5-ène-12al * Bornéole * Tridecan-1-ol
- * β -sitostérol * Filifolide A * 5, 7dihydroxy 4', 6.3-triméthoxyl flavone
- * A lactone sesquiterpénique news to which we have given the name Algerianolide.
- * 4'- α - diméthoxyacétophénone

- * Glycéryl-1-tétracosanoate * 3-Oxo- α - ionone * Anémone
- * 1,2-dilinoléoyl-3-linolénolyl-glycérol * β -sitostérol * 7-dihydroérgostérol
- * 22-dihydropéroxyde of ergosterol * (S) (+) γ - hydroxyméthyl- γ - butyrolactone
- * 2 - (3, 5-dihydroxyphényl) -1-O- β -glucopyranosylethane

This work is the subject of a publication in the journal Biochemical systematics and Ecology. Those on *Ranunculus cortusifolius* be displayed soon.