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

Université El-Hadj Lakhdar Batna
Faculté des Sciences
Département de Chimie

MEMOIRE

Pour l'obtention du diplôme de

MAGISTER

En CHIMIE ORGANIQUE

Présenté par :

M^elle^ : ***SMADI ABLA***

ETUDE DE L'EXTRAIT CHLOROFORMIQUE D' OUDNEYA AFRICANA

Devant le jury :

A. Dibi	Prof.	U. de Batna	Président
S. Dridi	M. C.	U. de Batna	Rapporteur
R. Mekkiou	M. C.	U. de Constantine	Examinateur
H. Dendougui	M. C.	U. de Ouargla	Examinateur

REMERCIEMENTS

Avant toute chose, je tiens à remercier Dieu le tout puissant, pour m'avoir donnée la force et la patience.

Ce travail a été effectué au laboratoire de chimie et chimie de l'environnement, au département de chimie, à la faculté des sciences de l'université de Batna, sous la direction du Dr ***DRIDI Seloua****, maître de conférences à l'université de Batna*

Je tiens à la remercier tout particulièrement pour tous ses efforts et pour le soutien qu'elle m'a témoignée tout au long de cette étude placée sous sa direction, Ses compétences scientifiques, ses encouragements dans mes moments de doute et la confiance qu'elle m'a accordée m'ont permis de mener à bien ce travail.

Je tiens à remercier Monsieur le Professeur ***DIBI Amar*** *de l'Université de Batna, d'avoir assuré la présidence du jury de thèse et pour ces nombreux conseils.*

J'exprimer également ma gratitude à Madame ***MEKKIOU Ratiba****, Maître de conférence de l'Université de Constantine, pour avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse*

Je remercie également Monsieur ***DENDOUGUI Hocine****, Maître de conférence de l'Université de Ouargla d'avoir accepté de faire partie de ce jury.*

Je tiens à remercier Messieurs les Professeurs ; T. BENDAIKHA, M. BENKHALED, M. LAABASSI, pour leurs aides et tous leurs précieux conseils.

Je remercie en particulier Mademoiselle K. OULMI, chargé de cours à l'Université de Batna pour son soutien et ses précieux conseils, ainsi que Mademoiselle F. BITAM, chargé de cours à l'Université de Batna, pour son aide, sa disponibilité et sa bonne humeur et Mademoiselle H. HARKAT, chargé de cours à l'Université de Batna, pour sa gentillesse et son aide.

Je suis aussi très reconnaissante à Madame A. BENFARHI, chargé de cours à l'Université de Batna et Monsieur H. HABA, chargé de cours à l'Université de Batna, pour ses conseils et son aide.

Un merci tout particulier à mes amies : H. SOUKEHAL, H. LARAOUI, L. GOULEA, N. SOURI, R. MEZAACHE et N. ZIANI.

Abréviations Utilisées

AcOEt :	**A**cétate d'éthyle
ASG:	**A**cylated **S**teryl **G**lucoside.
BAW:	**B**utanol / **A**cetic acid / **W**ater
CCM	**C**hromatographie sur **c**ouche **m**ince
$CHCl_3$:	**C**hloroforme
COSY:	**C**orrelation **S**pectroscopy (Spectroscopie de corrélation).
Cy:	**C**yanidine
d:	**d**oublet.
DEPT	**D**istortionless **E**nhancement by **P**olarisation **T**ransfer
dl:	**d**oublet **l**arge
EI-MS:	**E**lectron **I**mpact **M**ass **S**pectrum.
ESI-MS	**E**lectro **S**pray **I**onisation **M**ass **S**pectrum
FS:	**F**ree **S**terol.
GC-MS:	**G**as **C**hromatography and **M**ass **S**pectroscopy analysis.
Gen:	**G**enthiobiose.
GLC:	**G**lucosinolate
Glu:	**G**lucose
HMBC:	**H**eteronuclear **M**ultiple **B**ond **C**orrelation
HMG-CoA	3-**H**ydroxy-3-**M**éthylgluraryl-**Co**enzyme **A.**
HPLC:	**H**igh **P**erformance **L**iquid **C**hromatography.
HSQC:	**H**eteronuclear **S**ingle **Q**uantum **C**orrelation.
HS-SPME:	**H**eadspace **S**olid-**P**hase **M**icro **E**xtraction
LDL/ HDL:	**L**ow **D**ensity **L**ipoprotein / **H**igh **D**ensity **L**ipoprotein
m:	**m**ultiplet.
MeOH :	**M**éthanol
MS/MS:	**M**ass **S**pectroscopy / **M**ass **S**pectroscopy.
Pel:	**P**elargonidine
quin:	**q**uintuplet
s:	**s**ingulet.

Rf :	**F**acteur de retardement.
Sam:	**S**ambubioside.
SE:	**S**teryl **F**atty-acid ester.
SG:	**S**teryl **G**lucoside.
Soph:	**S**ophoroside
t:	**t**riplet.
TMS	**T**étraméthylsilane

Sommaire

INTRODUCTION GENERALE **1**

CHAPITRE I : ***TRAVAUX ANTERIEURS*** **5**

Partie A : LA FAMILLE DE BRASSICACEAE **6**

1. ETUDE BOTANIQUE 7

1.1. *Généralités* 7

1.2. *Description botanique* 7

1.3. *Utilisation* 8

2. ETUDE CHIMIQUE 8

2.1. *Les Glucosinolates* 8

2.2. *Les Alcaloïdes* 11

2.3. *Les Flavonoïdes* 16

2.3.1. *Les flavones* 17

2.3.2. *Les flavonols* 18

2.3.3. *Les flavanones et les flavanols* 20

2.3.4. *Les isoflavonoïdes* 22

2.3.5. *Les anthocyanosides* 23

2.4. *Les acides phénoliques* 24

2.4.1. *Les acides phénoliques dérivés des acides benzoïques* 25

2.4.1. *Les acides phénoliques dérivés des acides cinnamiques* 26

2.5. *Les terpènes* 28

2.5.1. *Les Monoterpènes et les Sesquiterpènes* 28

2.5.2. *Les stérols* 29

2.5.3. *Les saponines* 31

2.6. *Autres composés* 32

3. Usages traditionnels et propriétés thérapeutiques 34

4. Toxicité 35

Partie B : L'espèce *Oudneya africana* **36**

1. Etude botanique 37

1.1. *Place dans la systématique* 37

1.2. *Description botanique* 37

1.3. *Utilisation traditionnelle* 39

2. Etude chimique 39

3. Activités biologiques 40

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 41

CHAPITRE II : GENERALITE SUE LES PHYTOSTEROLS ET LES SAPONINES **47**

LES PHYTOSTEROLS 48

1. Généralités 49

2. Les stérols végétaux 50

2.1. *Nomenclature* 51

2.2. *Classification chimique* 52

2.3. *Stéréochimie* 53

2.4. *Distribution* 54

3. Intérêt pharmacologique des phytostérols 54

LES SAPONINES 56

1. Structure de la partie aglycone 57

1.1-*Saponines triterpèniques* 57

1.2- *Saponines stéroïdiques* 58

2. Structure de la partie osidique 59

3. Propriétés biologiques et pharmacologiques 59

4. Biosynthèse des stérols 61

4.1. *Origine des unités en* C_5 61

4.2. *Biosynthèse du squalène* 63

4.3. *Formation des phytostérols.* 66

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 68

CHAPITRE III : ***ISOLEMENT DES COMPOSES ET DETERMINATION DE LEURS STRUCTURES*** **70**

1. Extraction 71

2. Séparation et Purification 71

3. Détermination des structures 73

3.1. *Le composé OA_1* 73

3.2. *Le composé OA_2* 77

3.3. *Le composé OA_3* 89

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 101

CONCLUSION GENERALE **102**

CHAPITRE I*V* : ***PARTIE EXPERIMENTALE*** **105**

1. Généralités 106

2. Matériel végétal 107

3. Extraction 107

4. Contrôle chromatographique 107

4.1. *L'extrait éthéropétrolique* 107

4.2. *L'extrait chloroformique* 108

4.3. *L'extrait butanolique* 108

5. Etude de l'extrait chloroformique 108

5.1. *Séparation* 108

5.2. *Purification* 110

5.1.1. *Etude du lot N° 5* 111

5.1.2. *Etude du lot N° 6* 112

5.1.3. *Etude du lot N° 15* 112

6. Caractéristique spectrales des composés 114

INTRODUCTION GENERALE

Les organismes vivants (plantes, organismes marins..) contiennent de nombreux métabolites secondaires de structures variées, dont la fonction biochimique n'est pas toujours connue. L'inventaire le plus récent montre que parmi environ 400 000 espèces des végétaux connus [1], on estime que seulement 15-25% ont été investigués sur les plans phytochimiques et pharmacologiques [2]. Et moins de 10 % des organismes marins (qui couvrent 70 % de la surface de la terre [3]), 1% seulement des espèces bactériennes et moins de 5 % des champignons ont été étudiés pour leurs compositions chimiques [4].

Les métabolites secondaires des végétaux, dépassant actuellement 100 000 substances identifiées, appartiennent à trois classes principales [5,2]:

- les terpènes (un groupe de lipides),
- les composés phénoliques,
- les alcaloïdes.

On trouve des métabolites secondaires dans toutes les parties des plantes, mais ils sont distribués différemment selon leurs rôles défensifs.

Les végétaux ont toujours été employés par l'homme pour se soigner. Certaines plantes médicinales sont ainsi identifiées depuis l'Antiquité. Elles sont employées, soit sous leur forme naturelle, soit pour extraire le principe actif recherché et sont utilisées dans les secteurs industriels de l'agriculture, de l'alimentation et dans les secteurs pharmaceutiques.

Les principes actifs végétaux sont présents à faible dose et peuvent jouer différents rôles ; ils permettent aux plantes de se défendre contre les insectes, les bactéries ou les champignons, favorisent leur croissance et améliorent leurs échanges avec le milieu environnant… [6].

La flore Algérienne est caractérisée par sa diversité florale: Méditerranéenne, Saharienne et une flore Paléo Tropicale, estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques. Ces espèces sont pour la plupart spontanées avec un nombre non négligeable (15 %) d'espèces endémiques [7]. Ce qui a donné à la pharmacopée traditionnelle une richesse inestimable.

Notre travail s'inscrit dans le cadre de la recherche de molécules d'origine végétale jouissant d'activités biologiques. Et dans le but de poursuivre ce programme, nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique de l'espèce *Oudneya africana*, plante Saharienne endémique, appartenant à la famille des Brassicacées (Crucifères) [7,8], et qui n'a fait l'objet que d'une seule étude chimique récente |9] et dont les activités; anti-inflammatoire [10], anti-bactérienne et anti-fongique ont été bien établies [11].

Les principales parties de ce travail sont traitées selon le plan suivant :

- Le premier chapitre est consacré aux études antérieures incluant : La présentation botanique de la famille des Brassicacées et l'espèce *Oudneya africana*, ces principaux métabolites secondaires, les usages traditionnels et les activités biologiques, ainsi que la toxicité de quelques espèces appartenant à cette famille.
- Dans le deuxième chapitre, nous étudierons les phytostérols et les saponines. Cette étude inclus : La définition et la classification de ces derniers, leurs activités biologiques ainsi que leurs biosynthèses.
- Le troisième chapitre est consacré au travail personnel consistant en la séparation, la purification et la détermination de structure des composés obtenus.

Enfin une conclusion générale qui résume l'ensemble de résultats obtenus.

Références bibliographiques

[1] Patrice Waridel,

Thèse de doctorat**,** Université de Lausanne, **2003.**

[2] E. Pichersky, D. R.Gang,

TIPS, Vol. 5, 439-445, **2000**.

[3] G. M. Cragg, D. J. Newman,

*Pharmaceutical Biology***,** Vol. 39, 8-17, **2001**.

[4] G. M. Cragg, D. J. Newman,

Chem. Br.,Vol. 37, 22-26, **2001**.

[5] B. Dave Oomah,

Bulletin IBP, numéro 1, Canada, **2003.**

[6] Alain-Michel Boudet, Bruno David,

Hgrobiosiences, (31) 1-6, **2003**.

[7] P. Ozenda,

Flore du Sahara, Ed. CNRS, Paris, France, 250-259, **1977**.

[8] P. Quézel, S. Santa,

Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tomme II, CNRS, Paris, France, 387-398, **1963**.

[9] P. Stocker, M. Yousfi, C. Salmi, J. Perrier, J.M. Brunel, A. Moulin.

Biochimie, Vol. 87, 507-512, **2005.**

[10] P. Stocker, M. Yousfi, O. Djerridane, J. Perrier, J.M. Brunel, A. Moulin.

Biochimie, Vol. 86, 919-925, **2004.**

[11] K. Bouhadjera, T. Kebir, A. Baba-Ahmed, M. Bendahou.

Pakistan journal of biological sciences, Vol. 8 (6), 834-838, **2005**.

CHAPITRE I

TRAVAUX ANTERIEURS

Partie : A

La famille des Brassicacées (Crucifères)

1. *Etude botanique*

1.1. *Généralités*

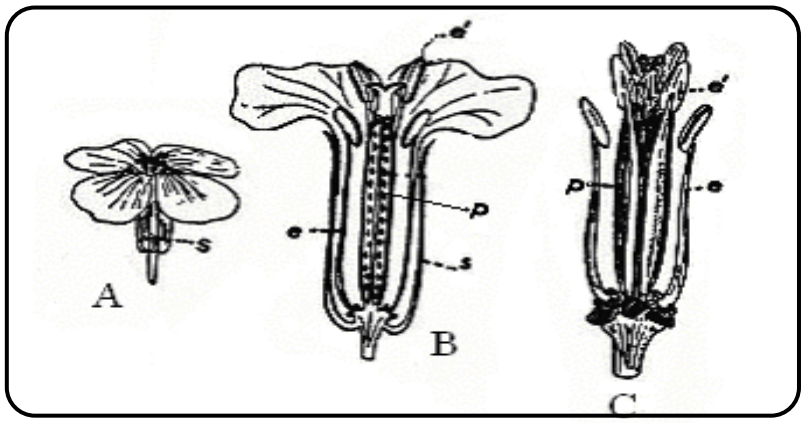
La famille des Crucifères ou Brassicacées est connue depuis longtemps, comme étant la famille de la moutarde, c'est une famille très importante ; elle se compose de 13-19 tribus, répartie en 350 genres et plus de 3500 espèces [1-2]. Elle se trouve surtout dans les régions tempérées et froides [3]. Ce sont principalement des plantes variables ; annuelles, bisannuelles ou vivaces [4].

1.2. *Description botanique*

Le terme **Crucifère** signifie qui porte une **croix**, c'est-à-dire la forme des fleurs dont les quatre pétales opposés se croisent pour former une croix (Figure I-1).

Les feuilles sont généralement alternées et sans stipules. La structure florale est très caractéristique de cette famille [3-4]:

- Calice composé de 4 sépales.
- Corolle formée de 4 pétales.
- Androcée ordinairement constitué de 6 étamines tétradynames (4 intérieures longues et 2 extérieures courtes).
- Gynécée formé de 2 carpelles.
- Fruit : silique ou silicule.



s: sépales, e: étamines externes, e': étamines internes, p: pistil.

Figure I-1: Organisation florale chez les Brassicacées [3].

1.3. *Utilisation*

La famille des Brassicacées, est parmi les dix familles des plantes les plus économiquement importantes [1]. En effet, de nombreuses espèces sont utilisées comme plantes alimentaires : les choux-fleurs, les choux de Bruxelles, les choux de brocolis (*Brassica oleracea*), le colza (*Brassica napus*), le navet (*B. rapa)*, le radis (*Raphanus sativus*), le cresson alénois (*Lepidium campestre*),….

Certaines Brassicaceae sont utilisées comme condiments telles que : la moutarde noire (*Brassica nigra*), la moutarde chinoise (*B. juncea*), la moutarde blanche (*Sinapis alba*), le raifort (*Armoracia rusticana*), la diplotaxe (*Diplotaxis harra*), et d'autres sont employées comme sources industrielles des huiles végétales : *Brassica*, *Crambe, Eruca*.

La famille comporte beaucoup de plantes ornementales, en particulier : les alyssons ou alyssums (*Alysum* ou *Lobularia*), les giroflées (*Erysimum*) et l'isatis des teinturiers ou pastel (*Isatis tinctoria*) qui donne une teinture bleue qui a été remplacée progressivement par l'indigo puis par des produits de synthèse.

2. *Etudes chimiques*

La recherche bibliographique réalisée sur la famille des Brassicacées montre que la majorité des études phytochimiques effectuées révèle sa richesse en métabolites secondaires notamment les **Glucosinolates** (plus de 100 structures), les **Flavonoïdes** et les **Stérols.**

2.1. *Les Glucosinolates*

Les glucosinolates (GLC) sont des hétérosides soufrés, anioniques, responsables des odeurs fortes dégagées par les Brassicacées [5]. La structure de base des glucosinolates comporte un glucose (Glu), un groupe sulfate et une génine variable (R). La molécule existe généralement sous la forme de sels de potassium [5,6].

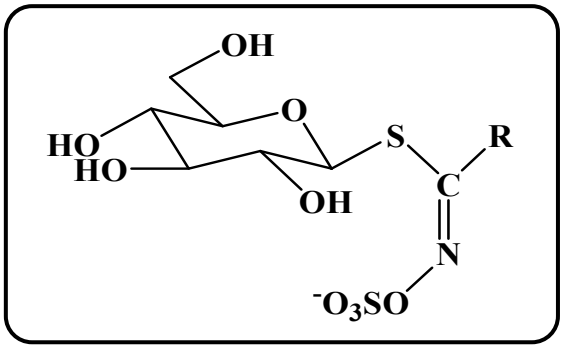


Figure I-2: Structure de base des glucosinolates.

Il a été démontré que les GLC s'hydrolysent en petites molécules par des enzymes (les myrosinases), libérées par la cellule végétale (figure I-3) [5-7]. Ces produits d'hydrolyse des glucosinolates manifestent une action anti-fongique et anti-bactérienne *in vitro* [6,8].

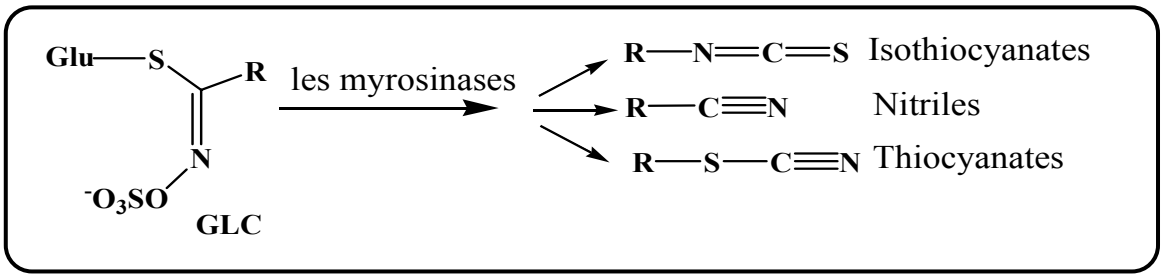
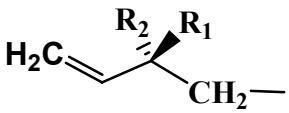
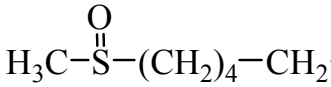


Figure I-3

Dans les Brassicacées, plus de 100 GLC ont été identifiés [7,9]. Le tableau **I-1** rassemble les trois classes des glucosinolates ; aliphatiques, aromatiques et indoliques, qui ont été analysées et isolées dans quelques espèces de cette famille.

N°	Nom des GLC	structure de la chaîne latérale «R»	Espèce	Réf
1	Gluconapine R_1, R_2 = H		*Brassica napus*, *B. juncea*, *Isatis tinctoria*	[6] [10] [11]
2	Progoitrine R_1=H, R_2 = OH			
3	Glucoalyssine		*B. napus* *Arabidopsis thaliana*	[6] [12]

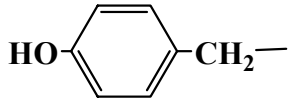
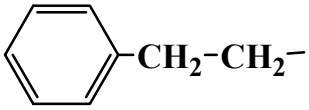
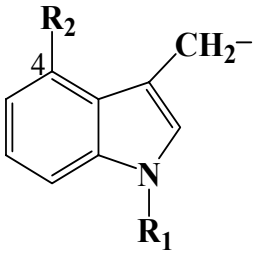
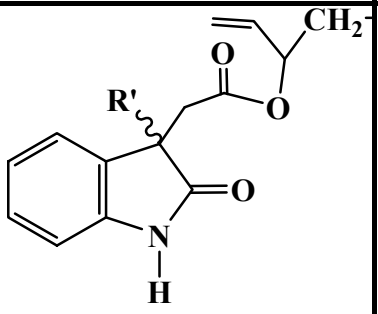
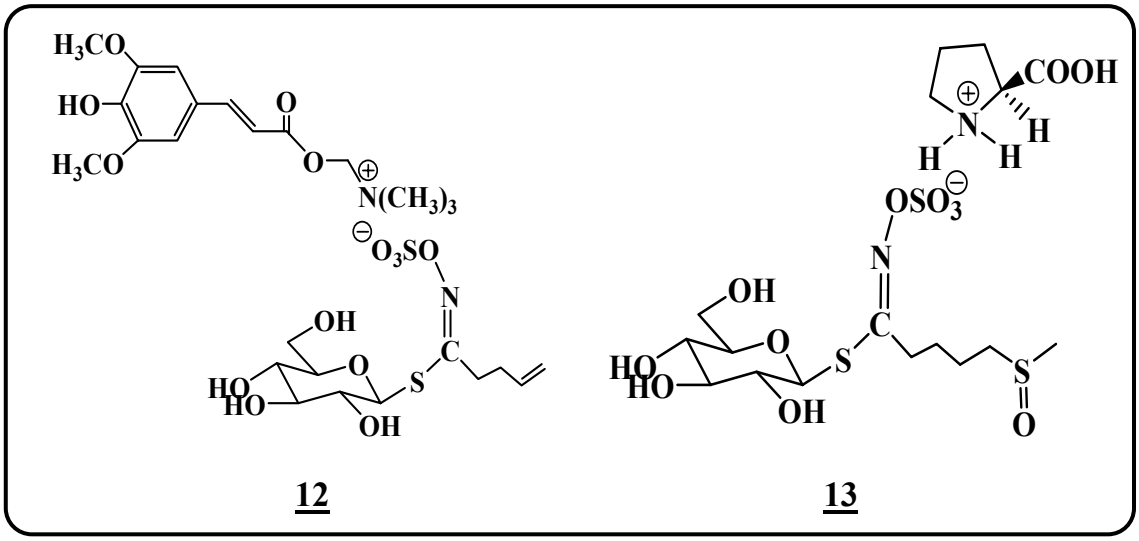
4	ρ-hydroxybenzyl glucosinolate		*B. juncea*	[13]
5	Gluconasturtiine		*B. oleracea*, *Lepidium sativum*	[10] [14]
6	Glucobrassicine (R_1, R_2=H)		*Brassica napus*, *Isatis tinctorial* *Arabidopsis thaliana*	[6] [11] [12]
7	4-méthoxyglucobrassicine (R_1=H, R_2=OCH_3)			
8	4-hydroxyglucobrassicine (R_1=H, R_2=OH)			
9	Neoglucobrassicine (R_1=OCH_3, R_2=H)			
10	Glucoisatisine (R'=H)		*Isatis tinctorial*	[11]
11	3'-hydroxyglucoisatisine R'=OH			

Tableau I-1 : Les Glucosinolates.

D'autre GLC se présentant sous forme de sels d'ammonium quaternaires ont été isolés de cette famille comme le Boreavane **12** (*Boreava orientalis*) [15] et le L-prolinium 4-(méthylsulfinyl)butyl glucosinolate **13** (*Cardaria draba*) [16].



12 **13**

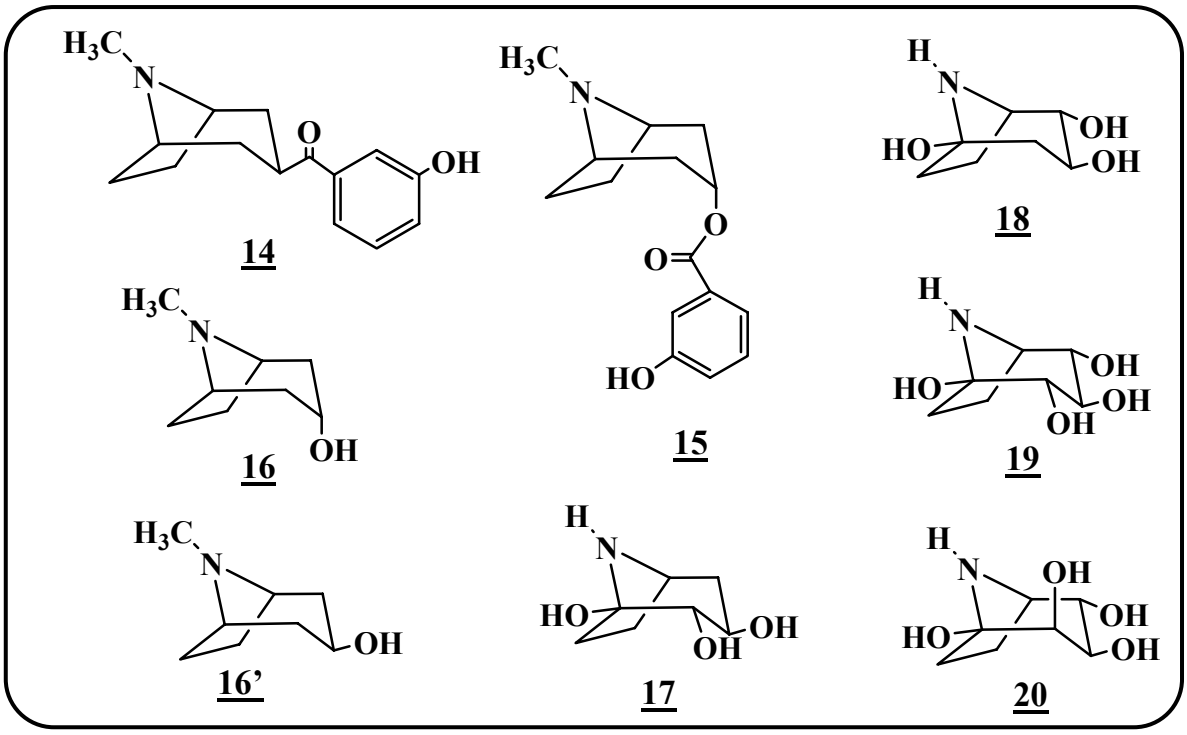
2.2. Les Alcaloïdes

Ce sont des composés azotés alcalins dérivés des acides aminés. Ils sont particulièrement actifs sur le système nerveux. Nombre d'entre eux sont utilisés comme médicament (morphine, quinine, caféine, nicotine, cocaïne…).

Dans les Brassicacées, les alcaloïdes sont surtout représentés par les tropaniques, les imidazoliques et les indoliques.

➢ **Alcaloïdes tropaniques** : Ils ont en commun dans leur formule un élément bicyclique ; le tropane ou l'un de ses dérivés. On les trouve surtout chez les Solanacées mais aussi de façon sporadique chez les Brassicacées [17,18] comme le *m*-hydroxybenzoyltropane **14** isolé de *Cochlearia arctica* [17], la Cochlearine **15** isolée de *Cochlearia officinalis* [18].

L'isolement de la Cochlearine à partir de *C. officinalis* a suscité un screening des alcaloïdes tropaniques dans toutes les espèces *Cochlearia*. Ce screening a montré que toutes les *Cochlearia* investiguées accumulaient plus de 0.5 % de : la Cochlearine **15**, la tropine **16**, la pseudotropine **16'** et la calystégine ; un dérivé de la pseudotropine [18].



L'investigation poussée plus loin, a montré une large distribution de la Calystégine avec ses diverses structures (A3 **17**, A5 **18**, B3 **19** et B2 **20**) dans différents genres de la famille comme il apparaît dans la figure **I-4**.

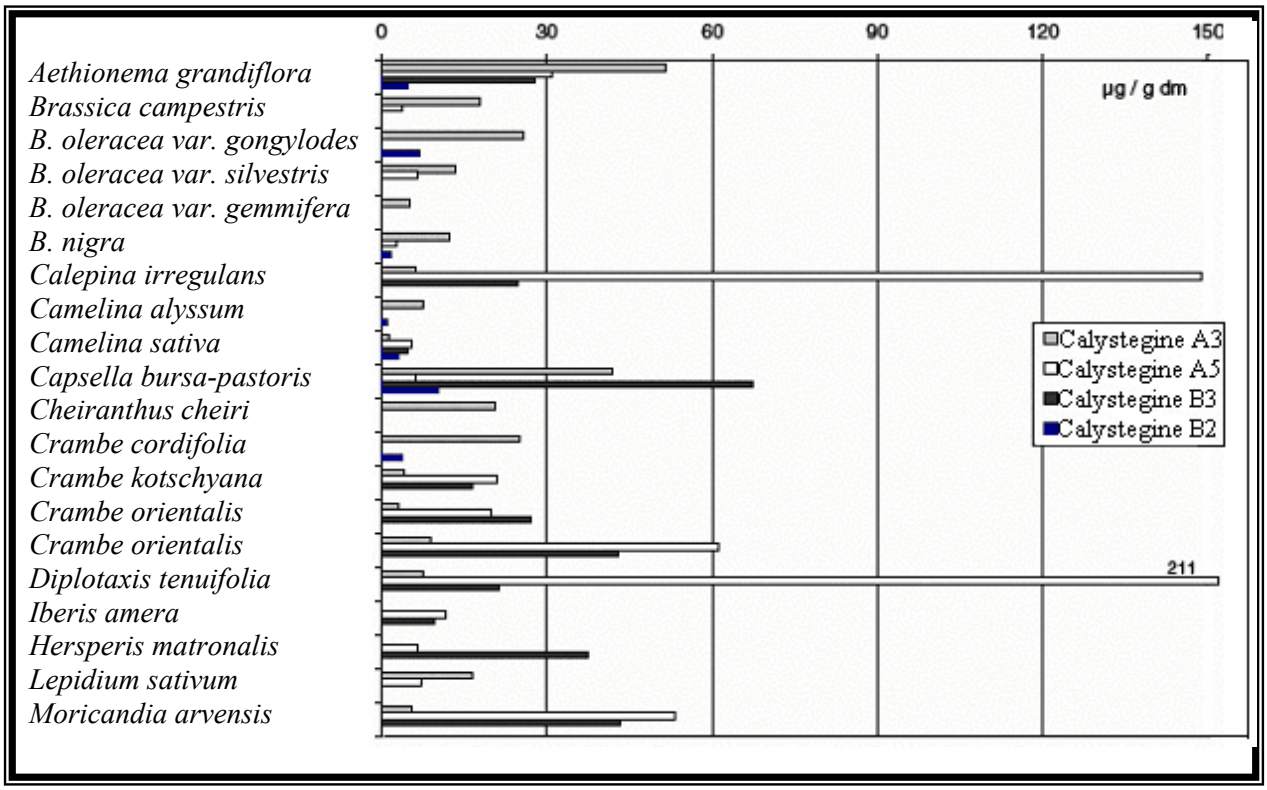
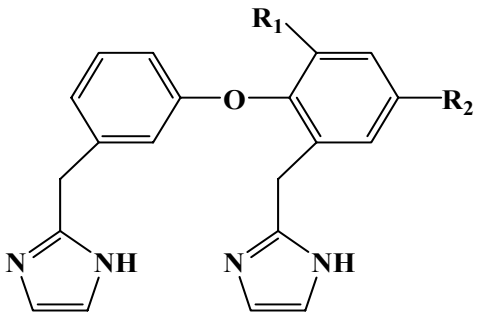


Figure I-4 : Distribution des Calystegines dans la famille des Brassicacées

Ce résultat permet de conclure que sur le plan chimiotaxonomique, les alcaloïdes tropaniques sont des composés typiques pour les Brassicacées.

➢ **Alcaloïdes imidazoliques** : Les alcaloïdes possédant un noyau imidazole sont très peu nombreux [5], mais présentent une bonne présence dans les Brassicacées.

En effet, l'étude chimique de l'extrait acétate d'éthyle des graines de *lepidium sativum*, a permis d'isoler dix alcaloïdes imidazoliques de la famille Lepidine, dont six dimériques ; Lépidine A, B, C, D, E et F (**21** à **26**) et quatre monomériques ; Semilépidine A et B (**27** et **28**) et Semilépinoside A et B (**29** et **30**) [19].

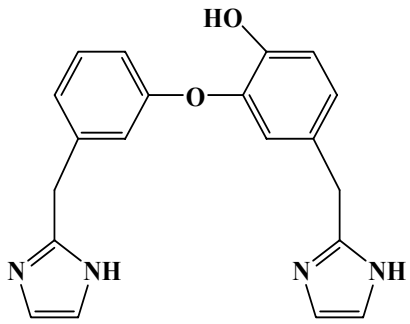


21, R_1= OCH_3, R_2=H

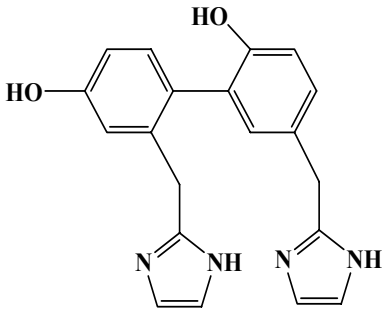
22, R_1= OH, R_2=H

23, R_1=H, R_2= OCH_3

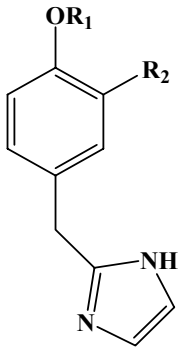
24, R_1= H, R_2=OH



25



26



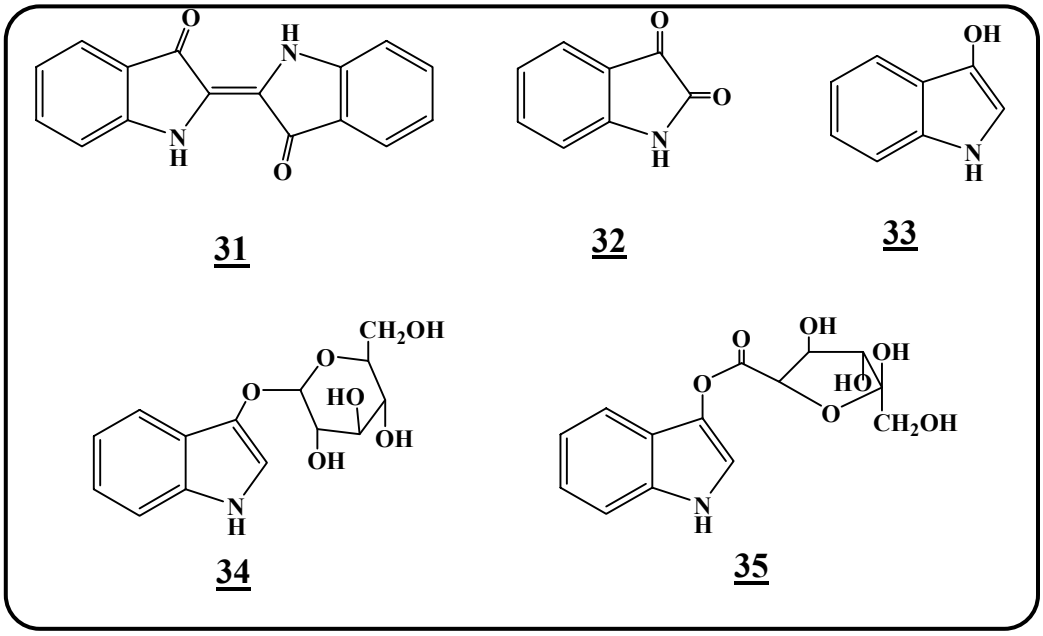
27, R_1= H, R_2=H

28, R_1=H, R_2=OMe

29, R_1= β-D-Galactose, R_2=H

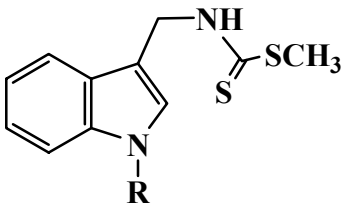
30, R_1=β-D-Galactose, R_2=OMe

➢ **Alcaloïdes indoliques** : L'indigo bleu (Indigotine **31**) est l'un des plus anciens colorants connus, il a été isolé à partir de *Isatis tinctoria* [20], qui a également fourni l'indicane **32**, l'isatane B **33,** l'isatine **34** et l'indoxyl **35**.



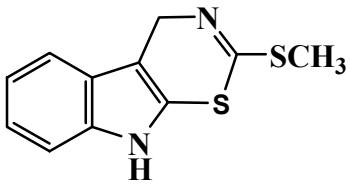
Les Brassicasées subissant un stress, tel que l'inoculation par le *Pseudomonas cichorii* produisent des dérivés indoliques soufrés qui sont des Phytoalexines comme : la brassinine **36**, la méthoxybrassinine **37** et la cyclobrassinine **38** ainsi que d'autres constituants de structures proches.

Les structures suivantes sont relatives à quelques phytoalexines élaborées par différents genres Brassicaceae (*Sinapis alba, Brassica napus, Raphanus sativus, Arabidopsis thaliana* et *Camelina sativa*…) [21-23].

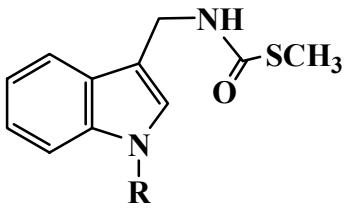


36, R=H

37, R= OMe

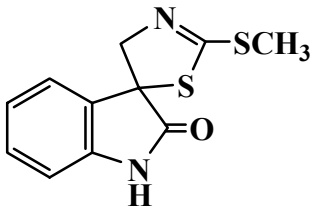


38

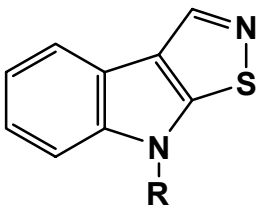


39, R=H

40, R= OMe

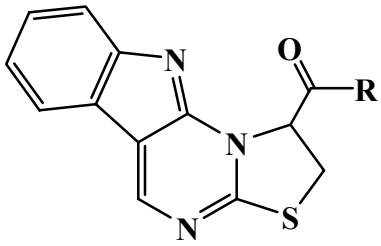


41



42, R=H

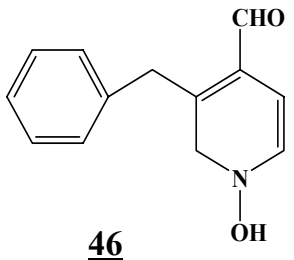
43, R= OMe



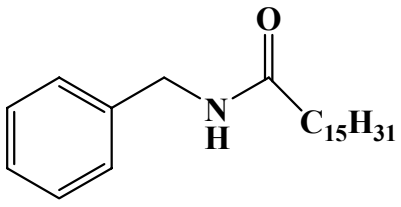
44, R=OH

45, R= $NHCH_2COOH$

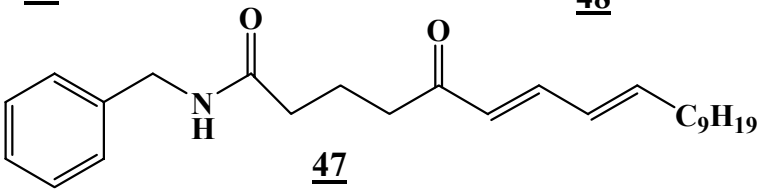
➢ **Autres alcaloïdes** : D'autres espèces du genre *Lepidium* montrent la présence d'Alcamides [24] ; les tubercules de *Lepidium meyenii* (Maca) contiennent le 3-Benzyl-1,2-dihydro-*N*-hydroxypyridine-4-carbaldéhyde, appelé Macaridine **46**, ainsi que le dérivé de macamide : le *N*-benzyl-5-oxo-6*E*,8*E*-octadécadiènamide **47** et le *N*-benzylhexadécanamide **48**.



46

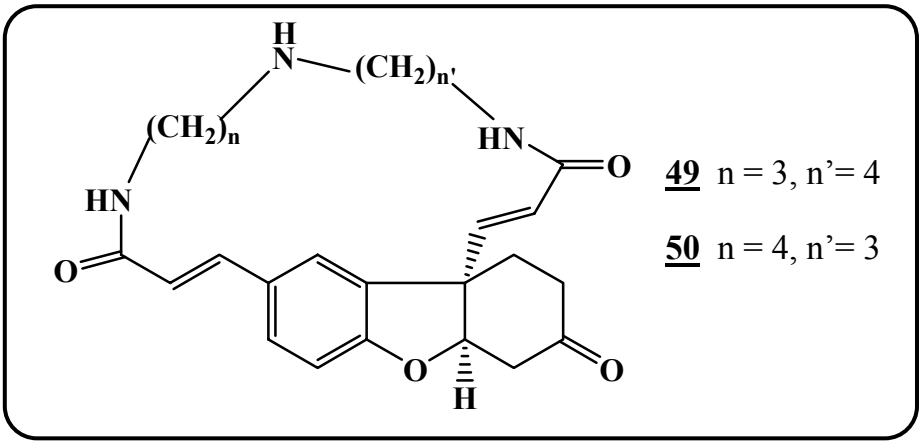


48



47

La Lunarine **49** est un isomère de la Lunaridine **50**; ces deux alcaloïdes ont été isolés des graines de la *Lunaria biennis* Moench [25].

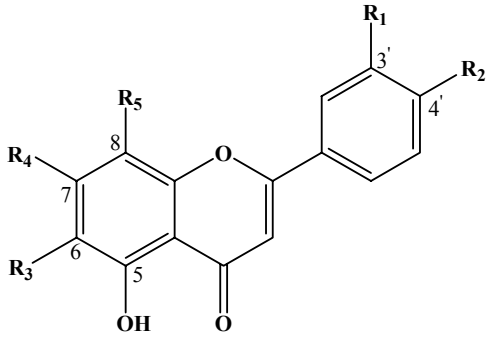


2.3. *Les flavonoïdes*

Les flavonoïdes représentent un groupe très intéressant de métabolites secondaires des plantes. Ils sont groupés en plusieurs classes qui incluent les flavonols, les flavones, les flavanols, les isoflavones et les anthocyanes.

Plusieurs espèces de Brassicaceae ont été examinées pour leurs profils flavonoïdiques [2]. Les flavonols (Tableau **I-3**) sont la classe la plus commune des flavonoïdes avec les flavones (Tableau **I-2**), par contre les flavonones (Tableau **I-4**) sont représentés seulement dans quelques genres de cette famille [2].

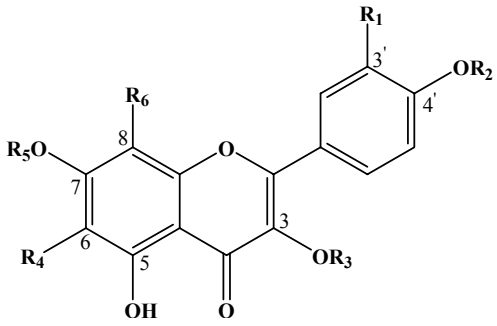
2.3.1. *Les flavones*



N°	Nom du composé	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5
51	Lutéoline	OH	OH	H	OH	H
52	Lutéonine 7-O-glucoside	OH	OH	H	O-Glu	H
53	Lutéonine 7-O-di glucoside	OH	OH	H	O-Glu-Glu	H
54	Apigénine	H	OH	H	OH	H
55	Apigénine 6,8-di-C-glycoside	H	OH	Glu	OH	Glu
56	Chrysoériol	OCH_3	OH	H	OH	H
57	Chrysoériol 4' -[(6"-O-acetyl)-β-glucoside]	OCH_3	6"-Ac-Glu	H	OH	H
58	Isovitéxine 6"-O-β-glucoside	H	OH	O-Glu-Glu	OH	H
59	Lutoeoline 3'-O-methyl-6-C-glucoside	OCH_3	OH	Glu	OH	H
60	Lutoeoline -6-C-glucoside	OH	OH	Glu	OH	H

Tableau I-2 *:* Structures chimiques de quelques flavones isolées de différents genres de la famille des Brassicacées.

2.3.2. ***Les flavonols***



N°	Nom du composé	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	R_6
61	Kaempférol	H	H	H	H	H	H
62	Kaempférol 7-glucoside	H	H	H	H	Glu	H
63	Kaempférol 3,7-di glucoside	H	H	Glu	H	Glu	H
64	Kaempférol 3-O-sophoroside-7-O-β-glucoside	H	H	Soph	H	Glu	H
65	Kaempférol 3-(2-O-E-sinapoyl sophoroside)-7-O-β-glucoside	H	H	R'	H	Glu	H
66	Kaempférol 4'-(6-O-E-sinapoyl-β-glucoside)-3,7-di-O-β-glucoside	H	R	Glu	H	Glu	H
67	Kaempférol 3-O-sophoroside-7-O-(2-O-E-sinapoyl-β- glucoside	H	H	Soph	H	R	H
68	Kaempférol 3-O-β-(β-glucosyl 1→2 glucoside)-7-O-β-(β-glucosyl 1 →4 glucoside)	H	H	Glu-Glu	H	Glu-Glu	H
69	Kaempférol 3-O-[2-O-(β-xylosyl) -β-galactoside]	H	H	Xyl-Gal	H	H	H
70	Isorhamnétine	OMe	H	H	H	OH	H
71	Isorhamnétine 3,7-O-di-β-glucoside	OMe	H	Glu	H	Glu	H
72	Isorhamnétine 7-glucoside	OMe	H	H	H	Glu	H

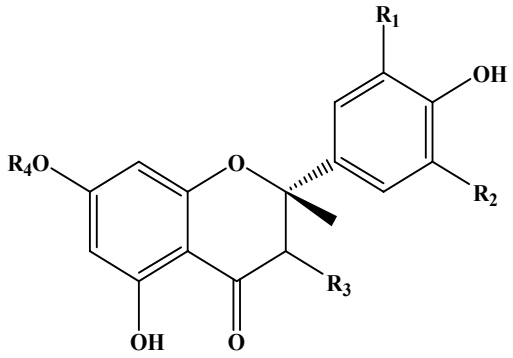
73	Isorhamnétine 3-O-sophoroside-7-O-glucoside	OMe	H	Soph	H	Glu	H
74	Quercétine	OH	H	H	H	H	H
75	Quercétine 3-O-sophoroside-7-O-glucoside	OH	H	Soph	H	Glu	H
76	Quercétine 3,3',4'-tri-O-β-glucoside	O-Glu	Glu	Glu	H	H	H
77	Moricandine	OH	Glu	Glu	H	Rha	H
78	Quercétine 3'-(6-sinapoyl-O-β-glucoside)-3,4'-di-O-β- glucoside	R	Glu	Glu	H	H	H
79	Quercétine 3-(2-sinapoyl-O-β-glucoside)-3'-(6-sinapoyl-O-β-glucoside)-4'-O-β-glucoside	R	Glu	R	H	H	H
80	Quercétine 3-O-[2-O-(β-xylosyl) -β-galactoside]	OH	H	Xyl-Gal	H	H	H
81	Quercétine 3-(2-E-sinapoyl-O-β-sophoroside)-7-O-β-glucoside	OH	H	R'	H	Glu	H
82	3,5,6,7,8-pentahydroxy-4'-méthoxyFlavone	H	Me	H	OH	H	OH
83	3,5,6,7,8-pentahydroxyFlavone	H	H	H	OH	H	OH

R: Sinapoyl-O-β-glucoside,

R': Sinapoyl-O-β-sophoroside,

Tableau I-3*:* Structures chimiques de quelques flavonols isolées de différents genres de la famille des Brassicacées.

2.3.3. *Les flavanones et les flavanols*



N°	Nom du composé	R_1	R_2	R_3	R_4	Origine	Réf
84	Naringénine	H	H	H	H	*Matthiola incana*	[26]
85	Naringénine 7-O-glucoside	H	H	H	Glu		
86	dihydrokaempférol	H	H	OH	H		
87	Dihydrokaempférol 7-O-glucoside	H	H	OH	Glu		
86	dihydrokaempférol	H	H	OH	H	*Brassica carinata*	[27]
88	dihydroquercétine	OH	H	OH	H		
89	dihydromyricétine	H	OH	OH	H		

Tableau I-4 *:* Structures chimiques de quelques flavanones et flavanols isolées de quelques genres de la famille des Brassicacées.

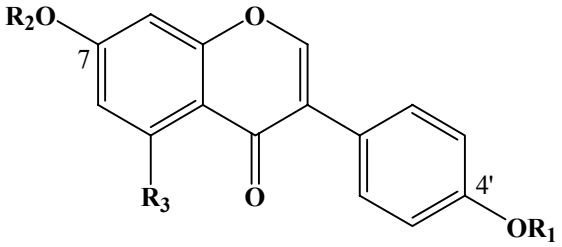
Le tableau **I-5** résume la composition flavonoïdique (flavonols et flavones) de la famille des Brassicacées.

Genre	Espèce	Tissue	Flavonols et Flavones	Réf.
Armoracia	*rusticana*	Feuilles	**69 80**	[28]
Brassica	*alba*	Racines	**54 82 83**	[29]
	napus	Feuilles/Fleurs	**51 70 74/64 65 75 81**	[2] / [30]
		Graines	**64 65 66 67**	[31]
	oleracea	Feuilles	**64 / 68**	[32]/[33]
		//	**64 65 / 64 73 75**	[33]/[34]
	rapa	-	**71**	[35]
	carinata	Graines/Feuille	**61 74**	[27]
Eruca	*sativa*	Feuilles	**76 78 79**	[36]
Sinapis	*alba*	Feuilles/Fleurs	**61 70 74**	[2]
	arvensis	Feuilles/Fleurs	**62 63 64 71 72 73 75**	[34]
Camelina	*Sativa*	Feuilles	**74**	[2]
Crambe	*hispanica*	Feuilles	**51 54**	[2]
	abyssinica	Feuilles	**51 54 74**	[2]
	glabrata	Feuilles	**51 70 74**	[2]
Moricandia	*arvensis*	Fleurs	**77**	[37]
Coronopus	*didymus*	Partie aérienne	**56 57**	[38]
Thlaspi	*arvense*	Feuilles	**51 54**	[2]
Alliaria	*petiolata*	Feuilles	**58**	[39]
Barbarea	*Vulgaris*	Partie aérienne	**59 60**	[40]
Porodiodoxa	*chionophilum*	Feuilles	**52 53 55**	[41]

Tableau I-5: Distribution des flavonoïdes dans la famille des Brassicacées

2.3.4. ***Les isoflavonoïdes***

Les études sur les isoflavonoïdes dans la famille des Brassicacées ont été limitées seulement à quelques espèces [42]. Mazur a isolé la Daidzéine **94** et la Genistéine **95** à partir de *Brassica oleracea*. Les extraits des feuilles et des tiges d'*Arabidopsis thaliana* et des jeunes plantes de *Lepidium sativa* ont été analysés par HPLC-MS-SIM et par d'autres méthodes spécifiques aux isoflavonoïdes. Elles ont permis d'isoler: la Daidzéine, la Genistéine, la Biochanine A et leurs dérivés substitués en position 4' ou 7 [42].



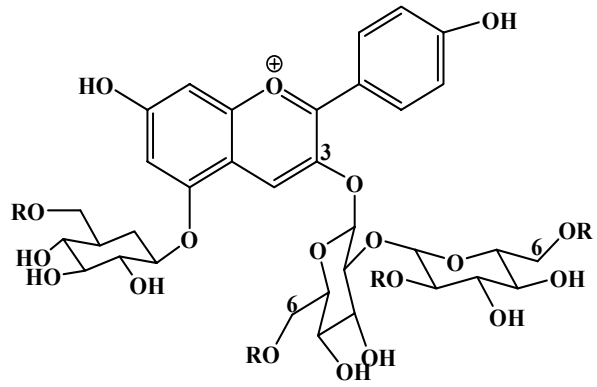
N°	Nom	R_1	R_2	R_3	Source
90	Isoformononétine	H	CH_3	H	*Arabidopsis thaliana*, *Lepidium sativa*
91	Daidzine	H	Glu	H	
92	Ononine	CH_3	Glu	H	
93	Formononétine	CH_3	H	H	
94	Daidzéine	H	H	H	*B. oleracea*, *A. thaliana*, *L. sativa*
95	Genistéine	H	H	OH	
96	Biochanine A	CH_3	H	OH	*A. thaliana*, *L. sativa*
97	Prunétine	H	CH_3	OH	
98	Genistine	H	Glu	OH	
99	Sissotrine	CH_3	Glu	OH	

Tableau I-6 *:* Structures chimiques de isoflavonoïdes.

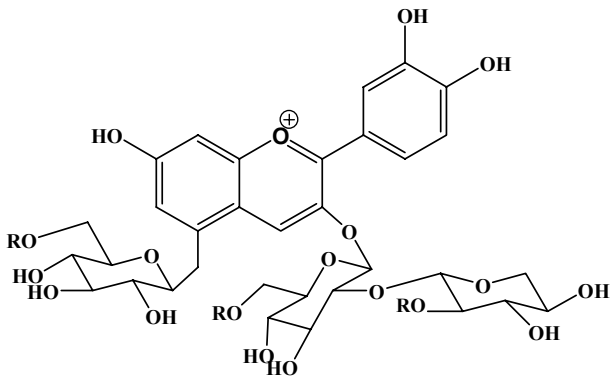
2.3.5. ***Les Anthocyanosides***

L'anthocyane est un groupe de pigments responsables de la coloration de la plupart des fleurs et des fruits. Ces pigments existent sous la forme d'hétérosides. Les antocyanosides et leurs génines sont des dérivés du cation 2-phénylbenzopyrylium.

Du point de vue chimiotaxonomique, deux types d'anthocyanosides ont été détectés dans cette famille : l'anthocyanine 3-sophoroside **100** et l'anthocyanine 3-sambubioside **101** [43].



Pel 3-sopho-5-glu **100**



Cy 3-sam-5-glu **101**

Figure I-5 : Squelettes de base de l'anthocyanine 3-sophoroside et l'anthocyanine 3-sambubioside

Le tableau **I-7** résume les types d'anthocyanosides isolés à partir de six espèces de cette famille.

Les espèces	Anthocyanines	Polyacylés (R)	Réf.
Brassica oleracea	Cy 3-sopho-5-glu	Acide ρ- coumarique, férulique, sinapique	[43]
Raphanus sativus	Pel 3-sopho-5-glu	Acide ρ- coumarique, férulique, caféique.	[44]
Arabidapsis thaliana	Cy 3-sam-5-glu	Acide ρ- coumarique, férulique, sinapique, caféique.	[45]
Matthiola incana	Pel 3-sam-5-glu	Acide ρ- coumarique, férulique, sinapique, caféique	[46]
	Cy 3-sam-5-glu		[47]
Orychophragonus violaceus	Cy 3-sam-5-glu	Acide ρ- coumarique, férulique, sinapique, caféique	[43]
Sinapis alba	Cy 3-sam-5-glu Cy 3-sam-5- sopho	Acide ρ- coumarique, férulique, sinapique.	[43]

Tableau I-7*:* Les anthocyanosides dans la famille de Brassicaceae

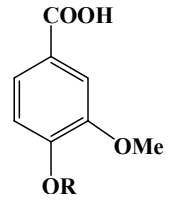
2.4. ***Les acides phénoliques***

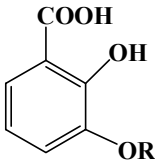
Les acides phénoliques sont tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique, dérivés des acides benzoïques (C_6-C_1) ou des acides cinnamiques (C_6-C_3).

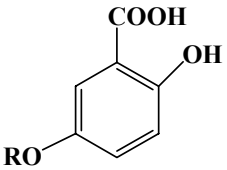
2.4.1. Les acides phénoliques dérivés des acides benzoïques

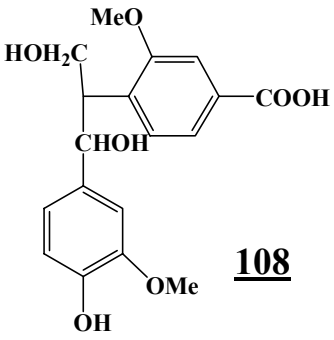
Les composés volatils obtenus à partir de l'espèce *Arabidopsis thaliana*, ont été détectés par HS-SPME et GC-MS [48]. L'analyse de ces derniers a permis d'identifier 12 composés aromatiques : l'Anisole, le 3,5-Diméthylanisole, le Benzaldéhyde, la Benzophénone, l'Alcool benzylique, le Phénylacétaldéhyde, le Benzoate méthylique, le Benzoate Benzylique, l'Alcool 2-phényléthylique, le Salicylate de méthyle, le 2,6-Diméthyl benzaldéhyde et le ρ-éthoxybenzoate d'éthyle.

Une autre étude chimique, effectuée sur l'extrait méthanolique des fruits de *Bereava orientalis* [49], a révélé également la présence de sept acides benzoïques (**102** à **108**).







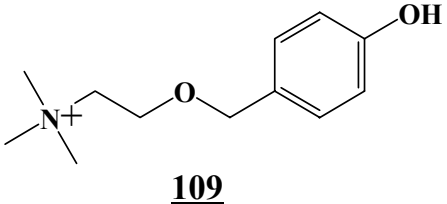


R = Glu : **102** **104** **106** **108**

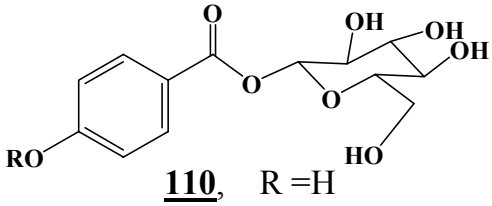
R =H : **103** **105** **107**

L'espèce *Hesperis matronalis* à son tour a fourni : le Phénylacétaldéhyde, l'Acétate benzylique, l'Alcool benzylique, l'Alcool phényléthylique et l'Acétate phényléthylique [50].

La 4-hydroxybenzylcholine **109** a été isolée à partir des graines de *Sinapis alba* [51]. Le β-glucopyranosyl 4-hydroxybenzoate **110** et le β-glucopyranosyl 4-O-β-glucopyranosylbenzoate **111** ont été isolés des fleurs de *Moricandia arvensis* [37].



109

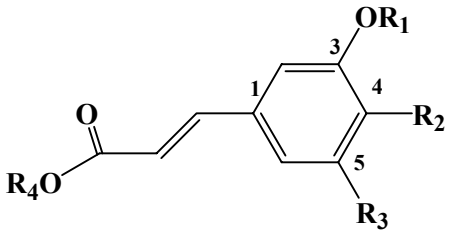


110, R =H

111, R = Glu

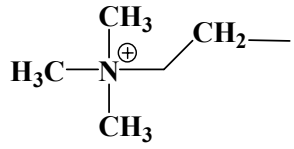
2.4.2. Les acides phénoliques dérivés des acides cinnamiques :

Les acides phénoliques en C_6-C_3, sont très communs dans la famille des Brassicacées. Le tableau **I-8** donne une idée sur la distribution de ces dérivés dans les différentes espèces.



N°	Nom	R_1	R_2	R_3	R_4	Source	Réf.
112	Acide sinapique	Me	OH	OMe	H	*Brassica carinata* *Bereava orientalis*	[27] [15]
113	Méthylsinapeate	Me	OH	OMe	Me	*Brassica carinata*	[27]
114	1-O-E-caféoyl-β-genthiobiose	H	OH	H	Gen	*Brassica napus*	[31]
115	1-O-E-(5-hydroxy féruloyl) -β-glucoside	Me	OH	OH	Glu	*Brassica napus* *Arabidopsis thaliana*	
116	1-O-E-sinapoyl-β-glucoside	H	OH	OMe	Glu	*B. napus, A. thaliana* *Raphanus sativus*	
117	1-O-E-caféoyl-β-glucoside	H	OH	H	Glu	*Moricandia arvensis*	[37]
118	β-glucosyl 4-O-β-glucosyl caféate	H	OGlu	H	Glu		
119	Méthyl-3-O-β-glucosyl -5-hydroxycinnamate	Glu	H	OH	Me		
120	Méthyl-4-O-β-glucosyl caféate	H	OGlu	H	Me		
121	6-O-sinapoyl-β-fructofuranosyl(2▶1)-α-glucopyranoside	Me	OH	OMe	Fru-Glu	*Iberis amara*	[52]

122	Sinapoylmalate	Me	OH	OMe	R’	*Brassica napus*, *Raphanus sativus* *Arabidopsis thaliana*	[31]
123	Sinapine	Me	OH	OMe	R ’’	*Bereava orientalis* *Raphanus sativus* *Arabidopsis thaliana*	
124	Sinapine-O-glucoside	Me	O-Glu	OMe	R’’	*Alliaria officinalis*	[53]

R’’, 

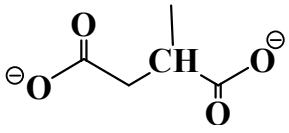
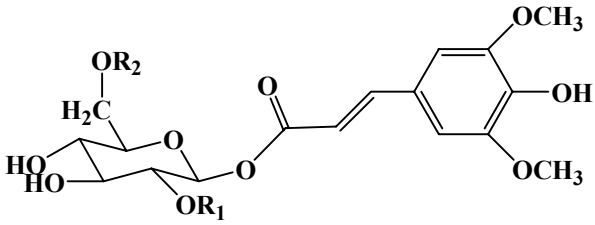
R’, 

Tableau I-8

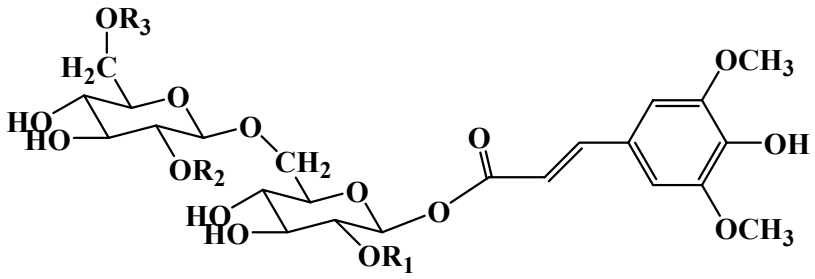
Les esters des glucosides di et trisinapate sont connus dans plusieurs espèces de Brassicaceae tel que : *Brassica napus* et *Raphanus sativus.*



N°	R_1	R_2	Espèce	Réf.
125	Sinapoyl	H	*Brassica napus*, *Raphanus sativus*	[31] [54]
126	H	Sinapoyl		
127	Sinapoyl	Sinapoyl	*Boreava orientalis*	[55]

Tableau I-9

Les esters de gentiobiose di et trisinapate ou férulate sont répandus dans certaines espèces de Brassicaceae et surtout dans le genre *Brassica*.



N°	R_1	R_2	R_3	Source	Réf.
128	Sinapoyl	H	H	*Brassica napus, B. oleracea, Boreave orientalis*	[31] [56]
129	Sinapoyl	Sinapoyl	H		
130	Sinapoyl	H	Sinapoyl	*Brassica napus*	[31]
131	Feruloyl	Sinapoyl	H	*Brassica oleracea Boreave orientalis*	[56]
132	Feruloyl	H	H		

Tableau I-10

2.5. *Les terpènes*

Les terpénoïdes sont largement distribués dans la nature, ils peuvent être considérés comme des dérivés des oligomères de l'isoprène. On classe ces molécules en: Monoterpènes, Sesquiterpènes, Diterpènes, Triterpènes,…. Certains triterpènes évoluent en stéroïdes.

2.5.1. *Monoterpènes et Sesquiterpènes*

Beaucoup d'espèces de la famille des Brassicacées contiennent les mono- et les sesquiterpènes:

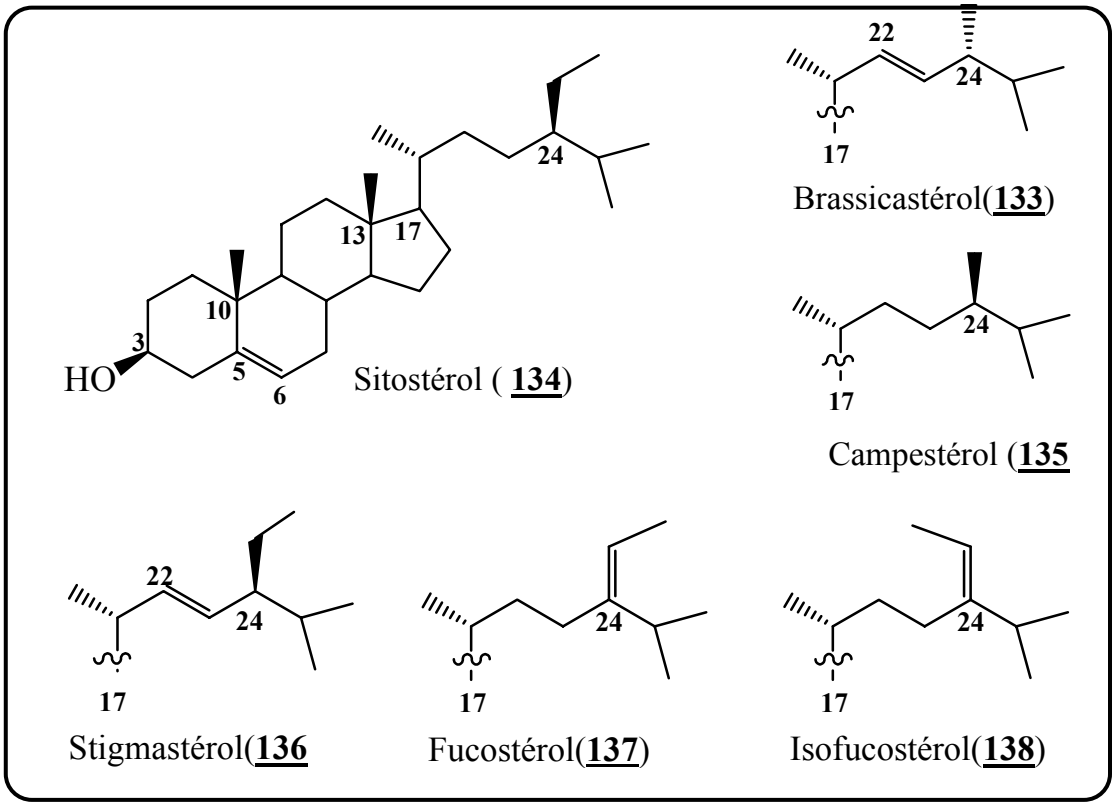
L'étude de l'huile essentielle de l'espèce *Arabidopsis thaliana*, a révélé la présence de 24 monoterpènes et 26 sesquiterpènes. Leurs structures ont été identifiées par l'application de l'HS-SPME couplée à La GC-MS [48].

Une autre étude chimique effectuée sur les fleurs de *Herperis matronalis* a permis d'identifier 12 monoterpènes. Ces derniers sont les principaux composés du parfum émis des fleurs de cette espèce [50].

2.5.2. ***Les stérols***

Les stérols sont présents dans de nombreuses espèces de Brassicacées, ils se diffèrent entre eux par la structure de la chaîne latérale R.

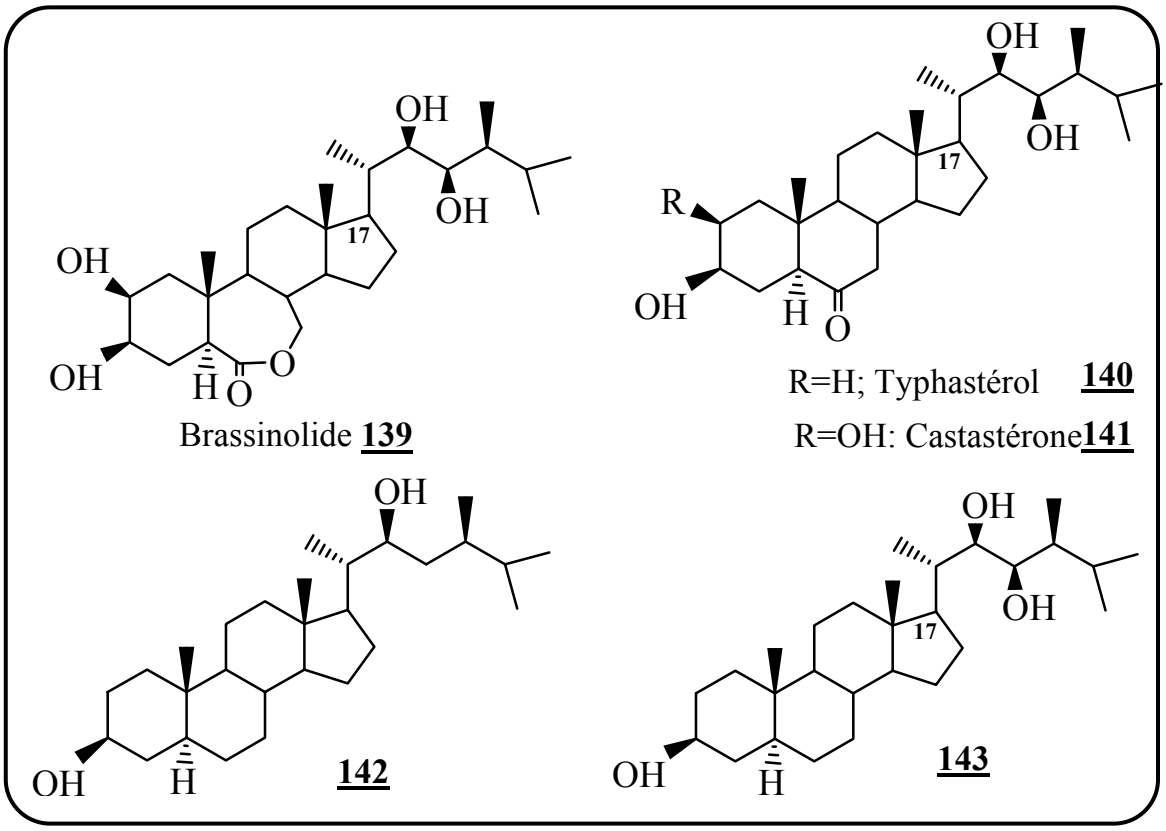
Le Brassicastérol **133** a été isolé pour la première fois de *Brassica napus* [57]. Les stérols extraits à partir de cette espèce se composent de : Brassicastérol (12%), Sitostérol **134** (57%) et Campestérol **135** (30%) [58]. Ce dernier a été isolé initialement de cette famille (*Brassica campestris*) [59].



Plusieurs études phytochimiques effectuées sur l'espèce *Arabidopsis thaliana* [60] ont permis d'isoler des phytostérols comme: le Sitostérol **134**, le

Campestérol **135,** le Brassicastérol **133**, le Stigmastérol **136**, le Fucostérol **137**, l'isofucostérol **138** et leurs dérivés saturés ; le Campastanol et le stigmastanol**.** Des Brassinostéroïds ont également été isolés des graines de cette espèce [61] tels que : le Brassinolide **139,** le Typhastérol **140**, la Castastérone **141**, la 6-déoxocastastérone **142** et le 6-déoxotyphastérol **143**. Ces brassinostéroïds sont des polyhydroxyles et sont caractérisés par la présence d'une cétone en 6.

Le Brassinolide **139** est le composé le plus actif des stéroïdes hormonaux, caractérisé par la présence d'une fonction lactone sur le cycle B [62], il a été isolé pour la première fois du pollen de Navet (*Brassica napus* L) en 1979 et caractérisé par les rayons X [62,63].



Brassinolide **139**

R=H; Typhastérol **140**

R=OH: Castastérone**141**

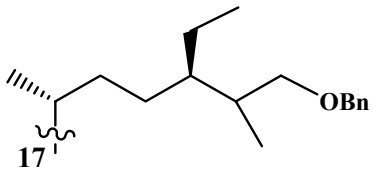
142

143

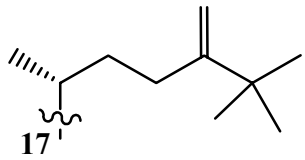
Une autre étude effectuée par Saba et collaborateurs sur l'espèce *Lepidium sativum* [64], a permis d'isoler un nouveau stérol ; le Stigmast-5-en-3-β,27-diol 27-benzoate **144**.

L'étude menée par Taro Matsumoto et collaborateurs sur l'espèce *Brassica juncea* [65], a également permis d'isoler un nouveau stérol: le 24-méthylène-25-méthylcholestérol **145**.

Par ailleurs, le composé 22-dehydrocampestérol a été isolé, par chromatographie HPLC en phase inverse à partir des graines de cette même espèce. Ce stérol a été précédemment isolé d'un certain organisme marin, mais n'a pas été détecté auparavant dans les plantes supérieures [66].



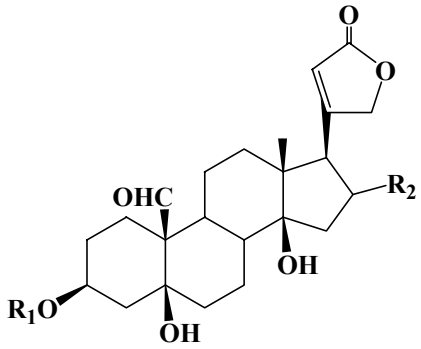
144

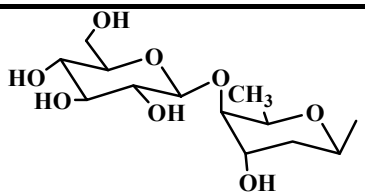
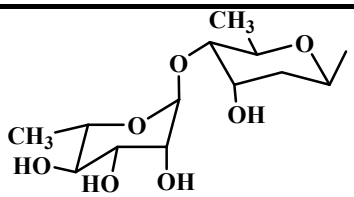


145

2.5.3. *Les saponines*

Les saponines sont des substances naturelles, composées de deux parties : une partie aglycone (triterpène ou stéroïdes) et une autre partie osidique à une, deux ou trois chaînes de sucres. Elles sont peu présentes dans la famille des Brassicacées. Toute fois, deux études phytochimiques réalisées par Zhen-Huan Lei et collaborateurs [67,68] sur l'espèce *Erysimum cheirathoides*, ont permis d'isoler sept saponines monodesmosides . La partie aglycone de ces dernières est connue sous le nom de Strophanthidine qui est une génine de type cardénolide.



N°	Nom	R_1	R_2
146	Cheiranthoside I		OH
147	Olitoriside		H
148	Cheiranthoside II		OH
149	Cheiranthoside III		H

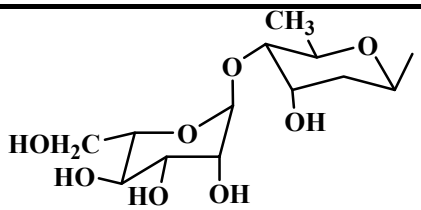
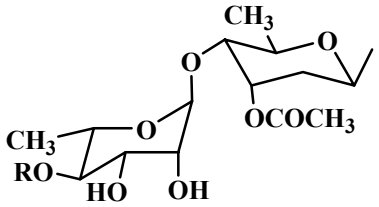
150	Erysimoside		H
151	Cheiranthoside IV R=H		H
152	Cheiranthoside V R=Glu		H

Tableau I-11

2.6. *Autres composés*

Diverses autres classes de métabolites primaires ont été caractérisées et identifiées dans les brassicacées : les lipides, les polysaccharides et les acides gras.

2.6.1. *Les acides gras*

La grande majorités des acides gras se répartit en deux groupes : acides gras saturés et leurs homologues insaturés. Dans les deux groupes, les plus fréquents ont 16, 18 ou 20 atomes de carbone.

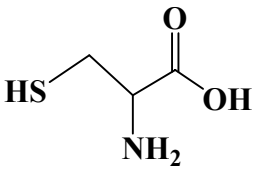
Une étude chimique effectuée sur 15 espèces de Brassicaceae, a révélé la richesse de ces dernières en acides gras tel que : l'acide érucique (22 :1) (*Crambe*, *Sinapis*) et l'acide linolénique (18 :3) (*Matthiola*, *lepidium*) [69]. Les graines de *sinapis alba* L. et *crambe abyssinica* L. contiennent des huiles, riches en acide érucique (50-60 %), ce qui donne une grande valeur industrielle à ces espèces [70].

Les esters 6-O-glucopyranosyl de l'acide palmitique, oléique, linoléique et linolénique ont été identifiés à partir du pollen de *Brassica napus* [71].

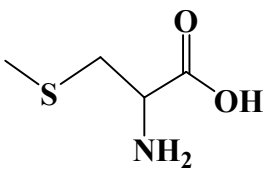
2.6.2. ***Les composés soufrés***

En plus des glucosinolates et leur produits d'hydrolyse et des alcaloïdes indoliques soufrés, le soufre est largement présent dans la famille des Brassicacées, dans différentes structures simples telles que :

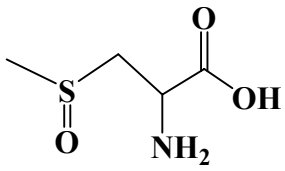
- La cystéine **153**, un acide aminé et ses dérivés présents dans les genres *Brassica* et *Raphanus* [72].



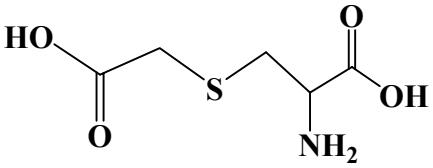
153



154

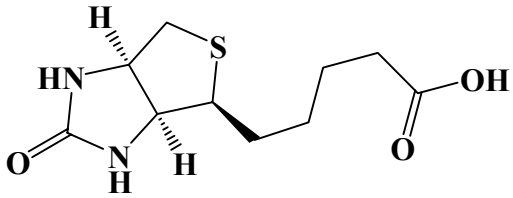


155



156

- La Biotine ou vitamine H extraite des feuilles de *Raphanus sativus*.



157

Cette étude bibliographique montre bien la diversité du métabolisme secondaire dans cette famille.

3. Usages traditionnels et propriétés thérapeutiques

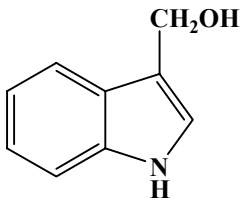
Selon Bellakhdar [73], la famille des brassicacées est l'objet d'une grande utilisation en médecine traditionnelle Marocaine, elle est utilisée soit par voie externe ou par voie interne.

- Les feuilles de choux (*Brassica oleracea*) sont utilisées en cataplasmes (bouillie médicinale épaisse appliquée sur la peau) comme usage externe, contre toutes les maladies des reins. Les différentes espèces du genre *Diplotaxis* sont utilisées pour la préparation de cataplasmes rubéfiants.
- D'autres espèces comme *Brassica napus, Brassica nigra, Diplotaxis divers, Eremophyton chevallieri, Eruca vesicaria,* sont utilisées par voie interne comme réchauffants, le plus souvent une cuillère a soupe de poudre de graine de la plante dans un verre de lait chaud où mélangée avec de miel.
- L'*Anastatica hierochuntica*, *Lepidium sativum* sont utilisées pour activer l'accouchement chez les femmes. *Anastatica hierochuntica, Sinapis alba*, *Lepidium sativum* sont indiquées dans le traitement de la stérilité.

En médecine traditionnelle chinoise, l'espèce *Erysimum cheranthoides* est utilisée pour traiter les maladies cardiaques [67] et aussi pour soulager les fièvres [68].

Les plantes de la famille Brassicaceae sont bien connues par leurs propriétés anti-fongiques [72,74], anti-inflammatoires [47,75-76] et anti-oxydantes [27,47].

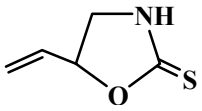
Une autre propriété médicinale attribuée à la famille des Brassicacées est son effet anticancéreux [6, 9, 77-81]. Cette activité est due principalement à la présence des glucosinolates et notamment le composé Indol-3-Carbinol (I3C) **158** résultant de l'hydrolyse de la Glucobrassicanine [80].



Structure de **I3C 158**

4. ***Toxicité***

Plusieurs espèces de la famille Brassicaceae contiennent les glucosinolates, ces composés sont responsables dans un nombre de cas de l'activité anticancéreuse, mais aussi de la toxicité de ces espèces [5,6,9]. Les thiocyanates minéraux, captent l'iode et empêchent sa fixation thyroïdienne. Pour d'autres espèces c'est la goitrine **159** résultant de l'hydrolyse de la Progoitrine, qui inhibe l'incorporation de l'iode et la formation de la thyroxine [5].

Progoitrine **2** ⟶ 

Goitrine **159**

Partie : B

L'espèce Oudneya *africana* R.Br.

Le genre *Oudneya* appartient à la tribu Brassiceae [1]. Il comporte une seule espèce ; *africana* [3], objet de notre travail.

1. Etude botanique

Oudneya africana, plante endémique du Sahara septentrional [4].elle se rencontre en Algérie, en Tunisie, au Maroc et en Libye. En Algérie elle se trouve dans le Mezab, El Golea, Ouargla et Biskra [3]. La floraison s'effectue pendant l'hiver et le printemps.

1.1. *Place dans la systématique*

Embranchement :	Spermaphyte
Classe :	dicotylédone
Ordre :	Pariétale
Famille :	Brassicaceae ou Crucifèrae
Sous famille :	Brassicoideae.
Tribu :	Brassiceae
Genre :	*Oudneya*
Espèce :	*africana*
Synonyme :	*Henophyton deserti* (Coss. & Dur.)

1.2. *Description botanique*

L'espèce *Oudneya africana* R. Br., est un arbrisseau avec rameaux allongés et érigés. Les feuilles entières en spatules, charnues et épaisses. Les fleurs en grappe courte, roses ou pourprées, elles se développent en siliques ascendantes qui renferment plusieurs graines aillées (12 à 20), disposées en deux rangs [3-4].

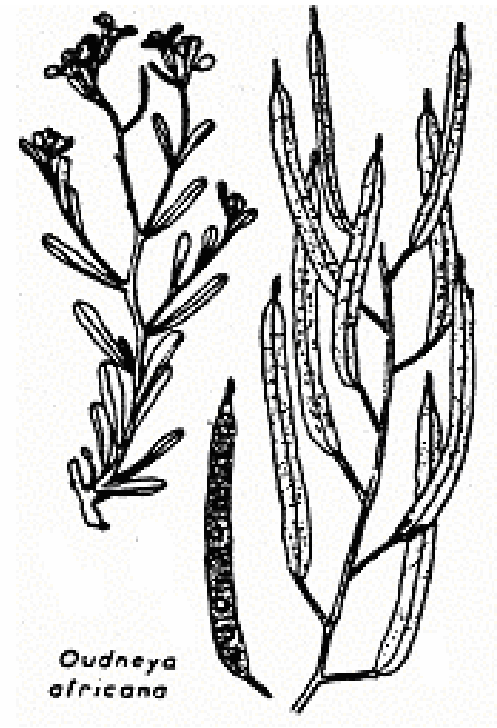


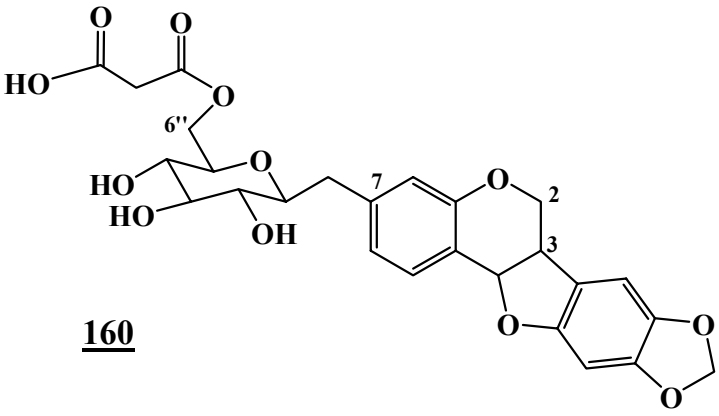
Figure I-6: L'espèce *Oudneya africana* (R. Br.)

1.3. *Utilisation traditionnelle*

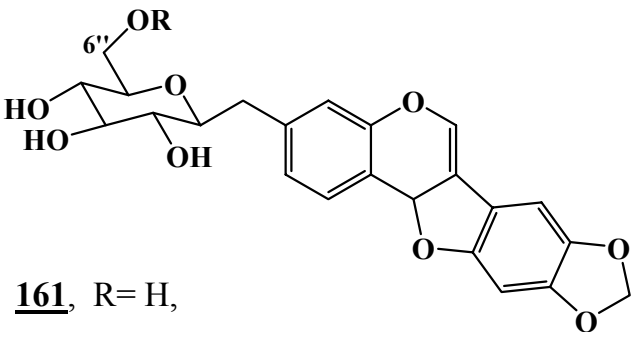
Oudneya africana, connue sous le nom arabe "Alga" ou "Hannet l'ibel", est largement exploitée en Algérie et au Maroc. L'utilisation de cette espèce en phytothérapie est relativement ancienne au Maroc, elle est consommée comme bon traitement pour les maladies de l'intestin [73]. Au sud Algérien, elle est indiquée pour les maladies de la peau en usage externe, sous forme de pâte, mélangée avec du Henné (*Lawsonia inermis*).

2. Etude chimique

Une recherche bibliographique exhaustive réalisée sur l'espèce *Oudneya africana* a montré que cette dernière est très peu étudiée. La seule étude chimique concernant cette espèce est relativement récente. Cette étude réalisée par Stocker et collaborateurs [82], a permis de mettre en évidence la présence de trois isoflavonoïdes : Maackiaine 3-O-(6''-O-malonyl-β-glucoside) [isoflavone 7- O-(6''-O-malonyl-β-glucoside] **160**, Judaicine 7-O-glucoside **161** et Judaicine 7-O-(6''-O-malonylglucoside) **162**.



160



161, R= H,

162, R= malonyl.

Les structures de ces composés ont été déterminées par les méthodes d'analyse chromatographiques HPLC et spectroscopiques (RMN ^{1}H et ^{13}C et spectrométrie de masse).

3. *Activités biologiques* :

Diverses fractions de l'extrait phénolique de cette plante de même que les trois composés isolés, ont fait l'objet de tests biologiques. Ces tests ont permis de mettre en évidence pour le composé **160** une activité inhibitrice de l'acylase I avec une valeur de K_i égale à 11 μM [82].

Une autre étude a été réalisée par la même équipe de chercheurs [76], sur 15 plantes de l'Atlas Algérien. Cette dernière a permis de montrer que la plupart de ces espèces, y compris l'espèce *Oudneya africana* présentent des propriétés anti-inflammatoires.

Les analyses antimicrobiennes ont prouvé que les extraits des stéroïdes des feuilles et les fruits empêchent la croissance des *pseudomonas* et montrent un large spectre antifongique[83].

Références bibliographiques:

[1] S.I. Warwirk

Guide to wild germplasm of Brassica and Allied crops (Tribe Brassiceae, Brassicaceae): Introduction, 2end Edition, **1993**.

[2] J. Ongilagha, A. Bala, R. Hallett, M. Gruber, J. Soroka, N. Westcott

Biochemical Systematics and Ecology, Vol. 31, 1309-1332, **2003**.

[3] P. Ozenda

Flore du Sahara, Ed. CNRS, Paris, France, 250-259, **1977**.

[4] P. Quézel, S. Santa

Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tomme II, CNRS, Paris, France, 387-398, **1963**.

[5] P. Bruneton.

Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes médicinales, 3eme édition, Tec&Doc., Paris, 199-204, **1999**.

[6] F. Rafael, C. Elena, R. C. Marcedes Del.

Phytochemistry, Vol. 66, 175-185, **2005**.

[7] L. Onofrio, R. Bernardi, D. Gueyrard, P. Rollin, S. Palmieri.

Tetrahedron: Asymmetry, Vol. 10, 4775-4780, **1999**.

[8] W. Fahey Jed, T. Amy Zalcmann, P. Talalay.

Phytochemistry, Vol. 56 (1), 5-51, **2001**.

[9] G.S. Stoewsand.

Food and Chemical Toxicology, Vol. 33 (6), 537-543, **1995**.

[10] G. Dungey Stephen, Joseph P. Sang, Neil E. Rothnie et al.

Phytochemistry, Vol. 27 (3), 815-817, **1988**.

[11] A. Fréchard, N. Fabre, C. Péane et al.

Tetrahedron Letters, Vol. 42, 9015-9017, **2001**.

[12] M. Reichelt, P. D. Brrown et al

Phytochemistry, Vol. 59 (6), 663-671, **2002**.

[13] N. Fabre. , M. Bon, I. Moulis, E. Stanislas

Phytochemistry, Vol. 45 (3), 525-527, **1997**.

[14] V. Gil, A. J. Macleod

Phytochemistry, Vol. 19 (7), 1369-1374, **1980**.

[15] A. Sakushima, M. Coskut, T. Maoka

Phytochemistry, Vol. 40 (2), 483-485, **1995**.

[16] A. Fréchard, N. Fabre, S. Hannedouche, I. Fourasté

Fitoterapia, Vol. 73, 177-178, **2002**.

[17] J. William Griffin, G. David Lin

Phytochemistry, Vol. 53 (6), 623-637, **2000**.

[18] A. Brock, T. Herzfeld, R. Paschke, M. Koch, B. Dräger

Phytochemistry, Vol. 67 (18), 2050-2057, **2006**.

[19] H. Ulrich, G. Heidrun, Meinhart H. Zenk

Phytochemistry, Vol. 49 (6), 1791-1795, **1998**.

[20] T. Maugard, E. Enaud, P. Choisy, M. Dominique Legoy

Phytochemistry, Vol. 58, 897-904, **2001**.

[21] K. Monde, M. Takasugi, A. Shirata

Phytochemistry, Vol. 39 (3), 581-586, **1995**.

[22] M. Soledade C. Pedras, Kevin C. Smith

Phytochemistry, Vol. 46 (5), 833-837, **1997**.

[23] J. Hurter, T. Ramp, B. Patrian, E. Staè dler, P. Roessingh et al

Phytochemistry, Vol. 51, 377-382, **1999**.

[24] M. Ilias, Z. Jianping, D. Chuck Dunbar, Ikhlas. A. Khan

Phytochemistry, Vol. 59, 105-110, **2002**.

[25] C. Poupat, H.P. Husson, B. C. Das, P. Bladon, P. Potier

Tetrahedron, Vol. 28 (11), 3103-3111, **1972**.

[26] Gert Forkmann

Phytochemistry, Vol. 18 (12), 1973-1975, **1979**.

[27] M.A. Susan, Margaret Y. Gruber, J. S. Graham, Alister D. Muir

Phytochemistry, Vol. 62, 663-672, **2003**.

[28] M. Lone Larsen, K. Jens Nielsen, H. Sorensen

Phytochemistry, Vol. 21 (5), 1029-1033, **1982**.

[29] M. A. Ponce, J. M. Scervino, R. Erra-Balsells, J. A. Ocampo, A. M. Godeas

Phytochemistry, Vol. 65 (23), 3131-3134, **2004**.

[30] L. C. Olsson, M. Veit, G. Weissenbock, J.F. Bornman

Phytochemistry, Vol. 49 (4), 1021-1028, **1998**.

[31] A. Baumert, C. Milkowski, J. Schmid, N. Manfred, V. Wray, S. Dieter

Phytochemistry, Vol. 66, 1334-1345, **2005**.

[32] Jens K. Nielsen, N. Rikke, Carl E. Olsen

Phytochemistry, Vol. 49 (7), 2171-2176, **1998**.

[33] Jens K. Nielsen, Carl E. Olsen, Marianne, K. Petersen

Phytochemistry, Vol. 34 (2), 539-544, **1993**.

[34] A.B. Durkeet, Jeffrey B. Harborne

Phytochemistry, Vol. 12 (5), 1085-1089, **1973**.

[35] Katsunori Sasaki, Takashi Takahashi

Phytochemistry, Vol. 61 (3), 339-343, **2002**.

[36] W. Bernhard, , M. Karin, B. Barbara, P. Schreier, T. Gabor

Phytochemistry, Vol. 57 (4), 547-551, **2001**.

[37] H. Braham, Z. Mighri, H. Ben Jannet, S. Matthew et Pedro M. Abreu

J. Nat. Prod., Vol. 68, 517-522, **2005**.

[38] M. Beena, K. Indira Priyadarsini, M. Kumar, M. K. Unnikrishnan, H. Mohan.

Bioorganic & Medicinal Chemistry, Vol. 11, 2677-2685, **2003**.

[39] Meena Haribal, J. Alan A. Renwick.

Phytochemistry, Vol. 47 (7), 1237-1240, **1998**.

[40] F. Senatore, M. D'Agostino, Irene Dini.

J. Agric. Food Chem., Vol. 48 (7), 2659-2662, **2000**.

[41] Maria A. Del Pero Matrinez, Claudia S. Carmona.

Biochemical Systematics and Ecology, Vol. 16 (4), 419-420, **1988**.

[42] O. Lapcik, D. Honys, R. Koblovska, Z. Mackova, M. Vitkova, B. Klejdus.

Plant physiology and biochemistry, Vol. 44 (2-3), 106-114, **2006**.

[43] T. Honda, F. Tatsuzawa, N. Kobayashi, H. Kosai et al

Phytochemistry, Vol. 66 (15), 1844-1851, **2005**.

[44] T. Otsuki, H. Matsufuji, M. Takeda, M. Toyoda, Y. Goda

Phytochemistry, Vol. 60 (1), 79-87, **2002**.

[45] Stephen J. Bloor, Sharon Abrahams
Phytochemistry, Vol. 59 (3), 343-346, **2002**.

[46] N. Saito, F. Tatsuzawa, A. Nishiyama, M. Yokoi, A. Shigihara
Phytochemistry, Vol. 38 (4), 1027-1032, **1995**.

[47] N. Saito, F. Tatsuzawa, A. Hongo, K. Wla, M. Yokoi, A. Shigihara
Phytochemistry, Vol. 41 (6), 1613-1620, **1996**.

[48] Jens Rohloff, Atle M. bones
Phytochemistry, Vol. 66 (15), 1844-1845, **2005**.

[49] A. Sakushima, M. Coskum, T. Maoka
Phytochemistry, Vol. 40 (1), 257-261, **1995**.

[50] Jens K. Nielsen, H.B. Jakobsen, Friis, K. Hansen, J. Moller, Carl E. Olsen
Phytochemistry, Vol. 38 (4), 847-851, **1995**.

[51] S. Clausen, O. Olsen, H. Srensen;
Phytochemistry, Vol. 21 (4), 917-922, **1982**.

[52] N. Fabre, P. Urizzi, J. P. Souchard, A. Fréchard, C. Claparols et al
Fitoterapia, Vol. 71, 425-428, **2000**.

[53] M.L. Lone, O. Ole, P. Annette, S. Hilmer
Phytochemistry, Vol. 22 (1), 219-222, **1983**.

[54] D Strack, B. Dahlbender, L. Grotjahn, Victor Wray
Phytochemistry, Vol. 23 (3), 657-659, **1984**.

[55] A. Sakushima, C. Maksut, T. Mekin, T.Nevin.
Phytochemistry, Vol. 35 (6), 1481-1484, **1994**.

[56] Keith R. Price, F. Cancesccelli, Ian J. Colquhoun, Michael J. C. Rhodes.
Phytochemistry, Vol. 45 (8), 1683-1687, **1997**.

[57] Robert A. Moreau, Bruce D. Whitaker, Kevin B. Hicks
Progress in Lipid Research, Vol.41, 457-500, **2002**.

[58] M. Venkatramesh, B. Karunanadaa et al
Phytochemistry, Vol. 62, 39-46, **2003**.

[59] J.C. Gaignaut, D. Bitdet, M. Gaillard, J. Perronnet
Stérols et stéroïdes, Paris, 11-31, **1989**.

[60] G. W. Patterson, S. Hugly, D. Hrrisson

Phytochemistry, Vol. 33 (6), 1381-1383, **1993**.

[61] S. Fujioka, T. Noguchi, Y. Yokao, S. Takatsuto, S. Yoshida
Phytochemistry, Vol. 48 (4), 595-599, **1998**.

[62] Young-Soo Kim, Tae-Wuk Kim, Seong Kim
Phytochemistry, Vol. 66, 1000-1006, **2005**.

[63] Saba, M. Haseeb Mughal, M. Ali, M. Iqbal, P.S. Srivastava
Phytochemistry, Vol. 50, 1375-1377, **1999**.

[64] T. Matsumoto, Satoshi Asano, Toshihiro Itoh
Phytochemistry, Vol. 22 (11), 2619-2620, **1983**.

[65] T. Matsumoto, N. Shimizu, T. Shigemoto, T. Itoh, T. Iida, A. Nishioka
Phytochemistry, Vol. 22 (3), 789-790, **1983**.

[66] T. Matsumoto, N. Shimizu, S. Asano, T. Itoh
Phytochemistry, Vol. 22 (8), 1830-1832, **1983**.

[67] L. Zhen-Huan, Y. Shoji, N. Toshihiro, S. Tai-Bao, X. Jin-Zhe
Phytochemistry, Vol. 49 (6), 1801-1803, **1998**.

[68] L. Zhen-Huan, Y. Shoji, N. Toshihiro, S. Tai-Bao, X. Jin-Zhe
Phytochemistry, Vol. 41 (4), 1187-1189, **1996**.

[69] Z. Yaniv, Y. Elber, M. Zur, D. Schafferman
Phytochemistry, Vol. 30 (3), 841-843, **1991**.

[70] Z. Yaniv, E. Shabelsky, Dan Schafferman, I. Granot, Tal Kipnis
Industrial Crops and Products, Vol. 9 (1), 1-8, **1998.**

[71] Michael D. Grove, Gayland F. Spencer, Philip E. Pfeffer, N. Mandava
Phytochemistry, Vol. 17 (7), 1187-1189, **1978**.

[72] Franky R. G. Terras, S. Torrekens, F. Van Leuven, W. Rupert Osborn et al
FEBS letters, Vol. 316 (3), 233-240, **1993**.

[73] J. Bellakhdar
Médecine arabe ancienne et savoir populaires.
La pharmacopée marocaine traditionnelle, Ibris Press, 213-224, **1997**.

[74] P.R. Schreiner, R.T. Koide;
New phytol., Vol. 123, 99-105, **1993**.

[75] Yu-Ling Ho, Yuan-Shiun Chang;

Phytochemistry, Vol. 9 (5), 419-424, **2002**.

[76] P. Stocker, M. Yousfi, O. Djerridane, J. Perrier, J.M. Brunel, A. Moulin;
Biochimie, Vol. 86, 919-925, **2004**.

[77] Jed W. Fahey, Amy T. Zalemann, Paul Talalay;
Phytochemistry, Vol. 56 (1), 5-51, **2001**.

[78] K. Jin Seok, K. Dae Joong, A. Byeongwoo, N. Ki Taek, K. Sok Kim et al.
Cancer Letters, Vol. 169 (2), 147-154, **2001**.

[79] R. Mcdanell, A. E. Macleana B. Hanley, R. K. Hanleyet, G. R. Fenwick
Food and Chemical Toxicology, Vol. 26 (1), 59-70, **1988**.

[80] D. Joong Kim, D. H. Shim et al.
Mutation Research / Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, Vol. 523-524, 99-107, **2003**.

[81] S. Yogeshwer, K. Neetu, K. Sarika, Imtiaz A. Siddiqui, A. Annu;
Nutrition and Cancer, Vol.50 (2), 214-220, **2004**.

[82] P. Stocker, M. Yousfi, C. Salmi, J. Perrier, J.M. Brunel, A. Moulin;
Biochimie, Vol. 87, 507-512, **2005**.

[83] K. Bouhadjera, T. Kebir, A. Baba-Ahmed, M. Bendahou;
Pakistan journal of biological sciences, Vol. 8(6), 834-838, **2005**.

CHAPITRE II

GENERALITES SUR LES PHYTOSTEROLS ET LES SAPONINES

LES PHYTOSTEROLS

1. *Généralités*

Les stéroïdes constituent une sous-classe des triterpènes basés sur le squelette tétracyclique, dérivant du noyau cyclopentanoperhydrophénanthrénique [1-3] (figure ***II-1***). Tous les stéroïdes partagent la même structure de base ; ils possèdent quatre cycles (A, B, C et D) dont un avec une longue queue aliphatique R, et deux groupes méthyles angulaires aux carbones 10 et 13, et dans la plupart des cas une double liaison portée sur le carbone 5. La numérotation des cycles et des carbones est standardisée pour tous les stéroïdes, comme il est représenté dans la figure **II-1**.

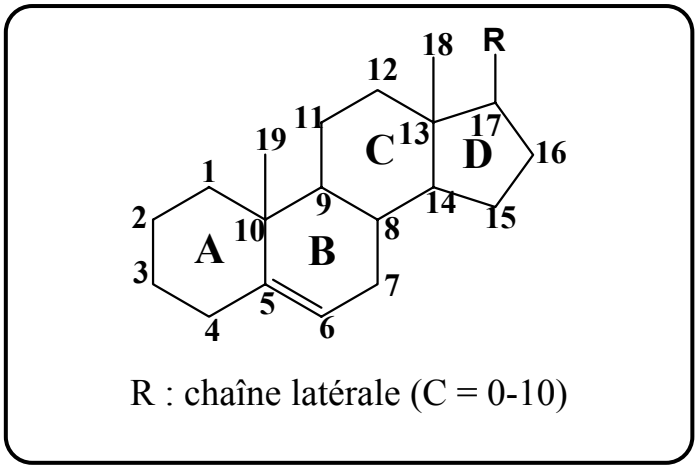
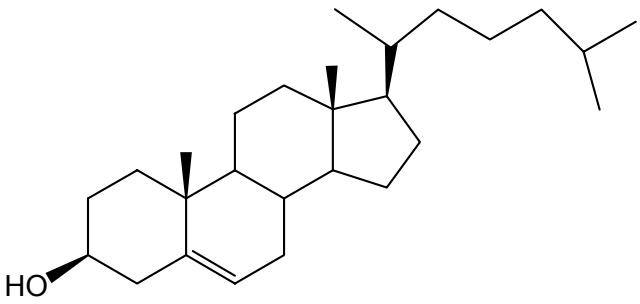


Figure II-1: noyau de stéroïde

Les stérols sont des stéroïdes comprenant au moins un groupement hydroxyle « OH » dans la plupart des cas sur le carbone 3 [1,3], leur structure est très semblable à celle du cholestérol **1** où de ces homologues.



Cholestérol 1

Selon l'origine biologique on peut classer les stérols en quatre répartitions [4] :

- stérols chez les animaux **(Zoo stérols**)
- stérols chez les végétaux **(Phytostérols)**
- stérols chez les champignons inférieurs **(Mycostérols)**
- Stérols chez les algues.

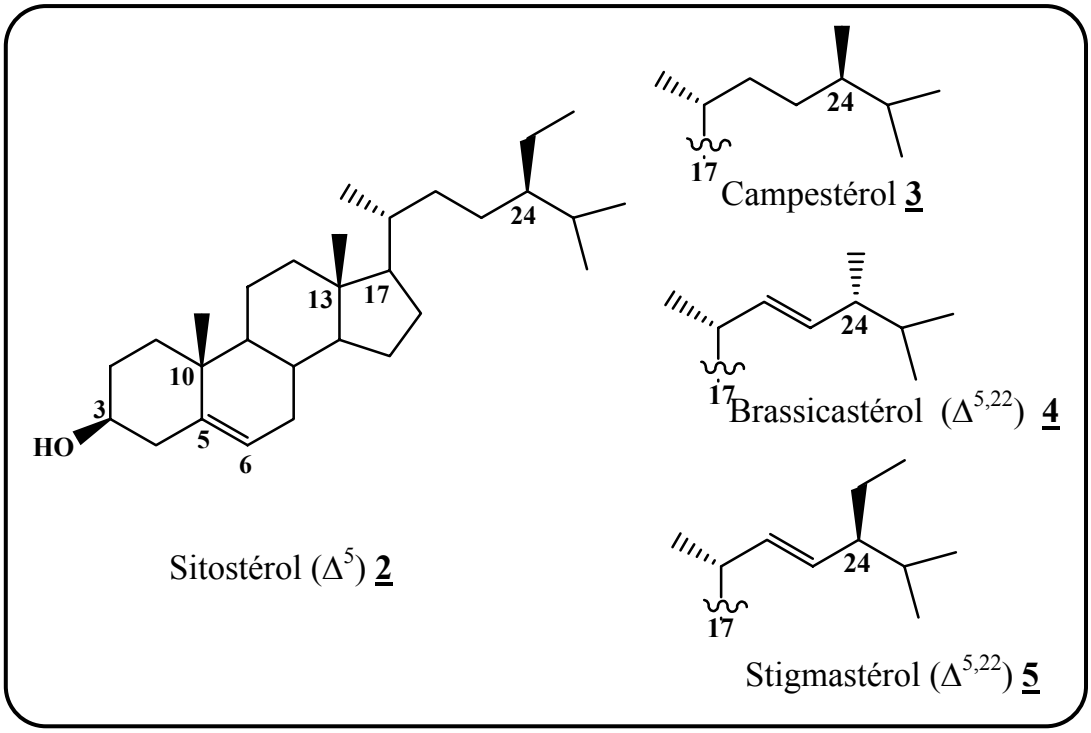
2. *Les stérols végétaux*

Les stérols végétaux, également connus sous le nom de phytostérols, sont des graisses communes à toutes les plantes supérieures [5].

Les phytostérols se diffèrent également des autres stérols par une modification dans la chaîne latérale R, cette dernière peut comporter un groupement méthyle ou éthyle fixé sur le carbone C_{24} et dans des cas, une double liaison supplémentaire en C_{22} [4,6-9]:

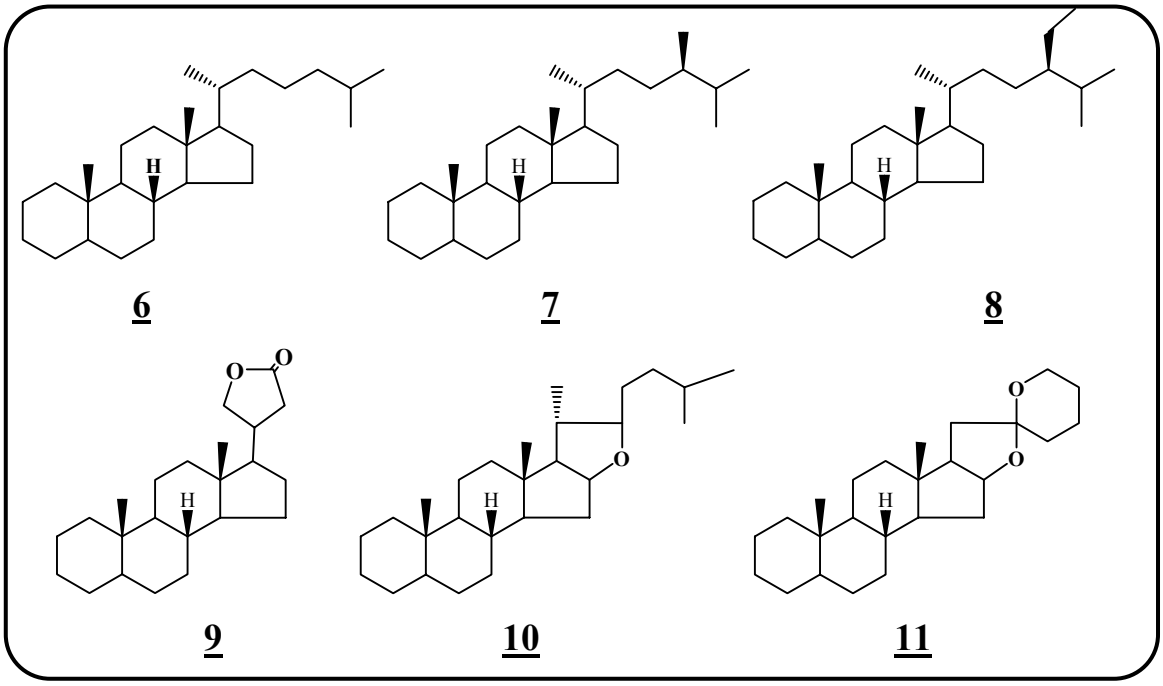
La structure des stérols végétaux (phytostérols) est apparentée à celle du cholestérol et ils jouent dans les membranes végétales le même rôle que le cholestérol dans les membranes animales.

Les principaux phytostérols d'origine végétale comprennent le β-Sitostérol **2**, le Campestérol **3** et le Stigmastérol **5**.



2.1. *Nomenclature*

La nomenclature des stéroïdes naturels est basée généralement sur le nom du squelette de base tel que: Cholestane **6**, Campestane **7**, Stigmastane **8**, Cardanolide **9**, Furostane **10**, Spirostane **11** [2,11].



Le symbole $\Delta^{x,y}$ est très utilisé dans les stéroïdes pour représenter l'insaturation au niveau du squelette stéroïdique.

Les stérols végétaux possèdent généralement une double liaison ou plus; ils sont alors appelés les phytostérols par contre leurs analogues saturés sont appelés les phytostanols [6,8]. Les stérolines sont les glycosides des stérols.

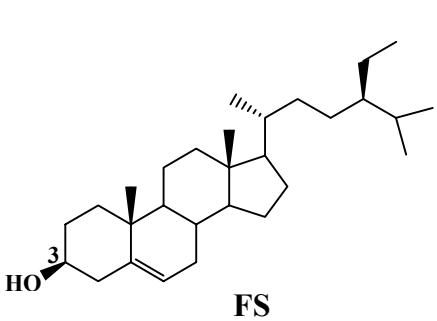
Tableau II-1 : Les phytostérols les plus communs.

N°	Nom trivial	Nom systématique
1	Δ^{5}-Cholestérol	Cholest-5-èn-3β-ol
2	Δ^{5}-Sitostérol	Stigmast-5-èn-3β-ol
3	Δ^{5}-Campestérol	Campest-5-èn-3β-ol
4	$\Delta^{5,22}$-Brassicastérol	(22*E*)-ergosta-5,22-dièn -3β-ol
5	$\Delta^{5,22}$-Stigmastérol	(22*E*)-stigmasta-5,22-dièn -3β-ol
12	Δ^{7}-Spinastérol	(22*E*)-stigmasta-7,22-dièn -3β-ol

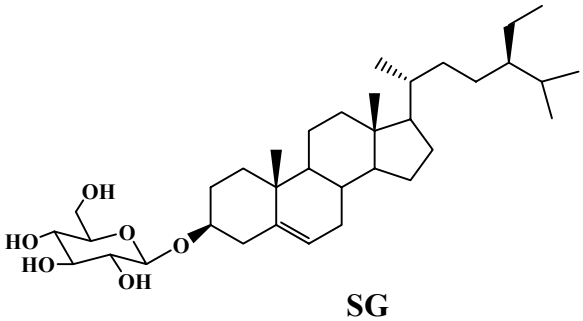
2.2. *Classification chimiques*

Dans tous les tissus végétaux, on peut classer les phytostérols selon la forme de la fonction OH en C_3 en deux groupes [6,11,12]:

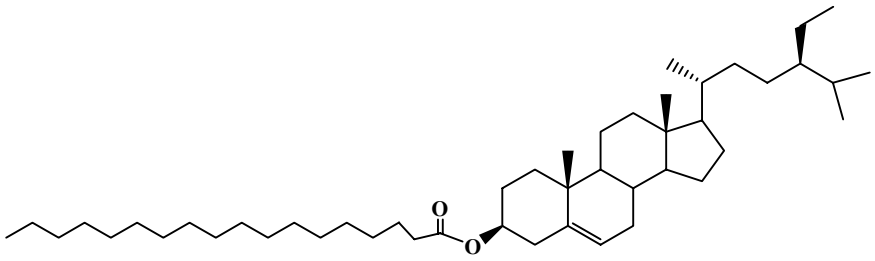
- Les phytostérols libres **FS**.
- Les phytostérols conjugués, ces derniers peuvent se présenter sous trois formes :
  - Sous forme d'ester d'acide gras **SE**; le groupe hydroxyle est lié avec un acide gras.
  - Sous forme d'ester d'un glucoside **SG** ; le groupe OH est lié avec un hexose le plus généralement le glucose
  - Sous forme d'ester d'un glucoside acylé **ASG**, ce dernier diffère de **SG** par l'addition d'un acide gras estérifié en OH_6 de l'hexose.



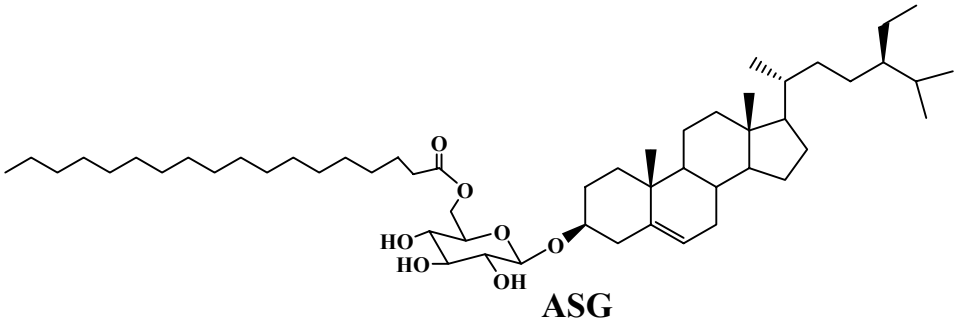
FS



SG



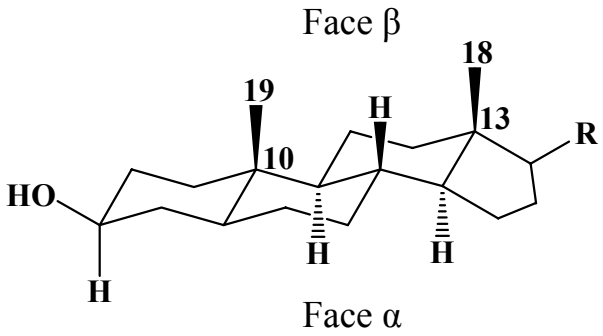
SE



ASG

2.3. ***Stéréochimie***

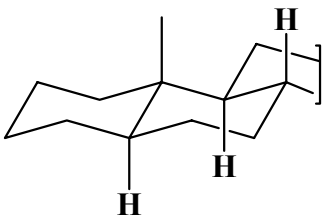
Les stérols sont caractérisés par la stéréochimie de l'arrangement des substituants. Le substituant qui est en position *trans* par rapport au méthyle angulaire le plus proche est désigné par la lettre **α** et celui en position *cis* est désigné par la lettre **β**. Le groupement hydroxyle peut être attaché soit en position *cis* ou *trans* par rapport au méthyle porté par le carbone C_{10} [1].



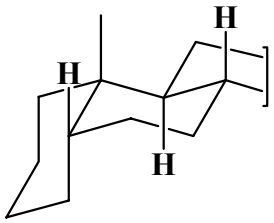
Les carbones C_{18} et C_{19}, respectivement unis à C_{13} et C_{10}, sont des méthyles angulaires axiaux de configuration β. L'orientation de la chaîne latérale est en β par rapport au cycle D [4].

La jonction entre les cycles B et C, C et D est toujours de type *trans* [1,2], mais le problème se pose au niveau de la jonction entre les cycles A et B, dans le cas où la double liaison en C_5 et C_6 est réduite. On distingue deux possibilités [1,3]:

- *trans* décalane : la jonction des cycles A et B est *trans* (H_5 α).
- *cis* décalane : la jonction est *cis* (H_5 dans ce cas en positionβ).



trans Décalane



cis Décalane

2.4. *Distribution*

Les stérols végétaux, sont très répandus dans la nature. Le Cholestérol est présent notamment chez les animaux mais aussi accompagne les phytostérols dans la plupart des plantes supérieures. Il représente **1-2 %** de tous les stérols végétaux [6], a l'exception de quelques espèces du genre *Solanum* (Solanaceae) qui produisent des quantités relativement élevées en cholestérol [4,6]; dans les fractions de **FS** et **SE** de six espèces de ce genre, le taux du cholestérol s'élève à **5%** et dans l'espèce *S. pseudocapsicum*, il peut atteindre **10** à **22%**. Chez les Brassicacées, le Cholestérol est le stérol majoritaire dans les mûres d'*Arabidopsis* ; il constitue **26%** de tous les stérols [6].

Le Sitostérol et le Sigmastérol, sont les phytostérols les plus fréquemment rencontrés chez les plantes supérieures [4,6], ils représentent plus de **80 %** des stérols existants [4]. Le Campastérol se produit par un rapport **2 :1** avec son épimère le 22-dihydrobrassicastérol [6]. Le Brassicastérol trouvé principalement dans la famille de Brassicaceae est représenté par un taux de **10 %** [4,6].

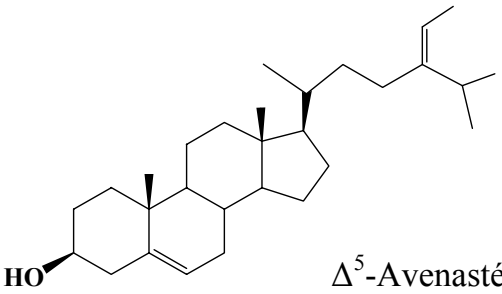
Les Δ^7-phytostérols tel que le Spinastérol sont généralement peu nombreux dans les plantes, mais ils se trouvent en quantités importantes dans les Cucurbitacées [6].

3. *Intérêt pharmacologique des phytostérols*

Les phytostérols sont des produits naturels avec un intérêt pharmacologique important, ils constituent les composés principaux dans un certain nombre de plantes médicinales. Ces derniers sont étudiés en raison de leur diversité structurale, de leurs activités pharmacologiques telles que : anticholestérolémique, anti-tumorale, antidiabétique et anti-inflammatoire et également en raison de leur faible toxicité [13].

Les phytostérols réduisent l'absorption du Cholestérol par action au niveau de l'intestin. Cette absorption intestinale dépend de la configuration du C_{24} et du nombre de carbone de la chaîne latérale, elle est diminuée avec l'augmentation de ce dernier ; le Campestérol (1.89% ± 0.27%) est mieux absorbé que le Sitostérol (0.512% ± 0.038%) [8,14].

D'autres études ont confirmé que l'Avenastérol et d'autres phytostérols qui contiennent un groupe éthylène possèdent des propriétés antioxydantes et anti-polymériques [6].



Δ^5-Avenastérol

Le β-Sitostérol, seul ou en combinaison avec des phytostérols similaires, réduit les niveaux sanguins en Cholestérol. Son étroite ressemblance chimique avec le cholestérol lui permet d'être incorporé dans les membranes cellulaires et de bloquer l'absorption du cholestérol par inhibition compétitive. Le Sitostérol n'est pas bien absorbé par l'organisme (5 à 10%), lorsqu'il est consommé en même temps que le Cholestérol, il bloque efficacement son absorption.

Une étude réalisée par Tanya J. Howell [8] a démontré que seul le mélange de phytostérols enrichi d'une petite concentration de Sitostanol avait abaissé le niveau plasmatique total du Cholestérol LDL et augmenté le ratio HDL / LDL dans la circulation ; le mélange de phytostérols enrichi de Sitostanol est donc un agent réducteur de Cholestérol plus efficace.

Plusieurs études ont montrés que le bêta-Sitostérol, comme son glucoside la bêta-Sitostéroline, possède des propriétés anti-inflammatoires, anti-diabétiques, anti-néoplasiques, et anti-cancéreuses. Ils ne présentent aucune toxicité par voie orale [5,11].

D'autres travaux, notamment sur l'homme, ont montré des effets du bêta-Sitostérol sur l'hyperplasie bénigne de la prostate HBP. Le mécanisme de son action n'est pas encore entièrement élucidé [5,11,15].

Sur le plan industrie pharmaceutique, les phytostérols tel que le Sitostérol et le Sigmastérol, qui sont les précurseurs biogénétiques de nombreux stéroïdes hormonaux des plantes [12], constituent une matière première pour l'hémisynthèse de stéroïdes hormonaux [4].

LES SAPONINES

Les saponines constituent un vaste groupe d'hétérosides très fréquents chez les végétaux. Ce sont des composés tensio-actifs, qui forment des solutions colloïdales et font apparaître de la mousse comme le savon (en latin, *sapo* signifie savon) [16,17]. Les saponines sont des molécules composées de deux parties :

- Une partie aglycone ou génine, c'est la partie triterpène ou stéroïde de la molécule.
- Une partie osidique à une, deux ou trois chaînes de sucres.

1. *Structure de la partie aglycone*

Selon que l'aglycone est un triterpène ou un stéroïde, on distingue deux classes de saponines: saponines triterpéniques et saponines stéroïdiques.

1.1. *Saponines triterpéniques*

La grande majorité des saponines végétales appartiennent à ce groupe ; environ 750 saponines avec 360 aglycones différentes [16]. Elles sont principalement présentes chez les dicotylédones [9,15]. La plupart des génines triterpéniques sont des molécules pentacycliques: Oleanane, Ursane, Hopane, Dammarane, et plus rarement tétracycliques : Lanostane.

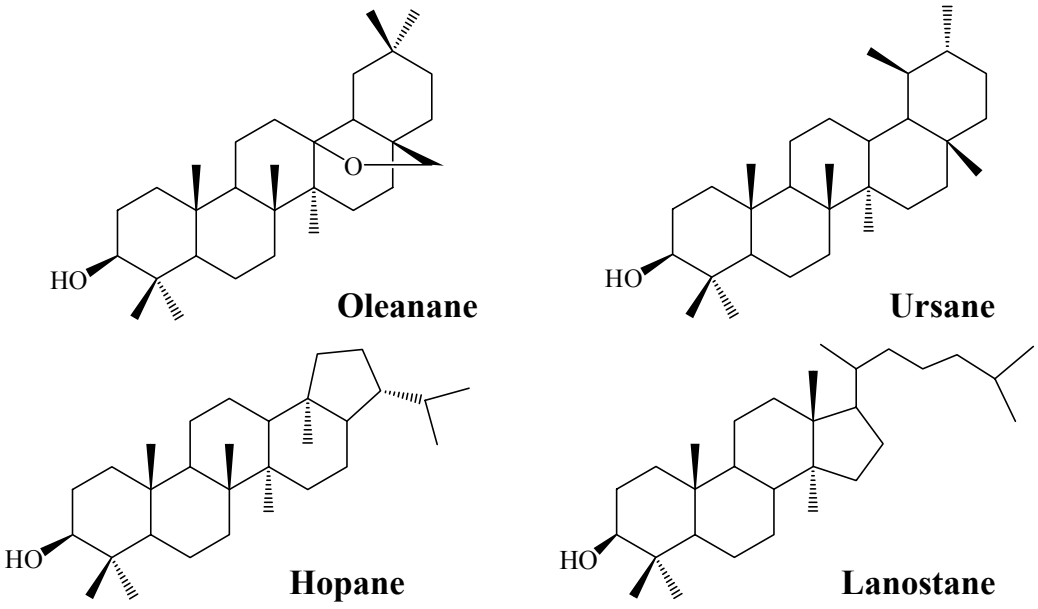


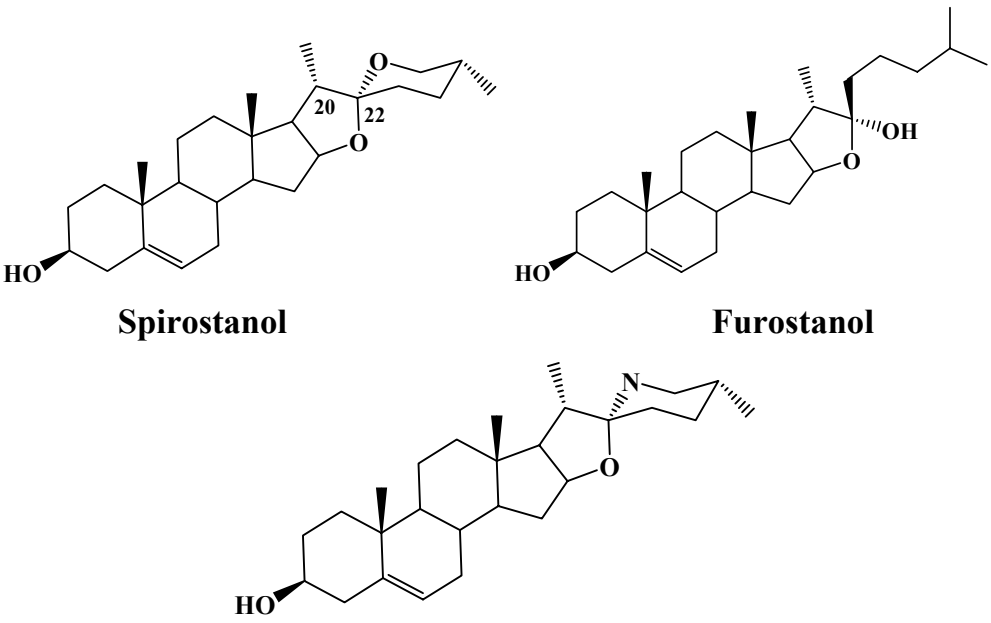
Figure II-2: Les squelettes de base des saponines à génine triterpénique

1.2. *Saponines stéroïdiques*

Les composés de ce groupe sont surtout présents chez les monocotylédones [2,9,15]. Les saponines stéroïdiques tombent dans deux classifications principales et une mineure:

- Les hétérosides de spirostanols où la génine est un squelette hexacyclique désignée par le terme de *spirostane*.
- Les hétérosides de furostanols où la structure de la génine est pentacyclique ; on parle dans ce cas de *furostane*.
- Les hétérosides d'amines stéroïdiques (pseudo- alcaloïdes).

Dans les saponines stéroïdiques l'aglycone ou sapogénine comprend 27 atomes de carbone.



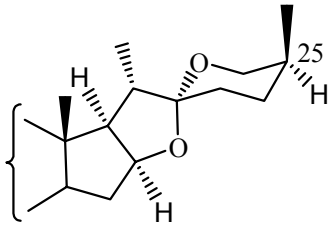
Spirostanol **Furostanol**

Alcaloïde stéroïdique

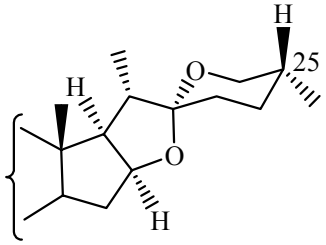
Figure II-3: Les squelettes de base des saponines à génine stéroïdique

- La fusion des cycles B et C, C et D est toujours *trans*, celle des cycles D et E est toujours *cis*. Les configurations des carbones C_{20} et C_{22} sont respectivement *S* et *R*. Cette configuration est maintenue chez les sapogénines naturelles [15].

- La double liaison en 5,6 peut être conservée ou réduite, ce qui détermine l'existence de dérivés à cycles A /B fusionnés en *trans* (la conformation du H_5 est α) ou en *cis* (la conformation du H_5 est β).
- Dans le cas du squelette hexacyclique du type *Spirostane* qui comporte de nombreux carbones asymétriques, seuls la configuration du carbone C_{25} peut varier, et dans ce cas, on a deux séries de génines :
  - Les néosapogénines de configuration *S* (le méthyle est axial)
  - Les isosapogénines de configuration *R* (le méthyle est équatorial)



Néosapogénines : 25 *S*-spirostane



Isosapogénines : 25 *R*-spirostane

2. Structure de la partie osidique

Les sucres les plus communs attachés aux génines sont : D-glucose, D-galactose, D-xylose, D-ribose, L-arabinose, D-rhamnose et l'acide uronique et l'acide D-glucuronique chez les saponines triterpéniques. La partie glycoside peut être linéaire ou ramifiée, et la chaîne osidique des saponines peut comporter jusqu'à 11 sucres. Les saponines triterpèniques peuvent être mono, Bi, ou tridesmosides, mais les saponines stéroïdiques sont en général monodesmosides [15, 16], la deuxième chaîne osidique, quand elle existe, éthérifie l'hydroxyle porté par le carbone C_{26} [15].

3. *Propriétés biologiques et pharmacologiques*

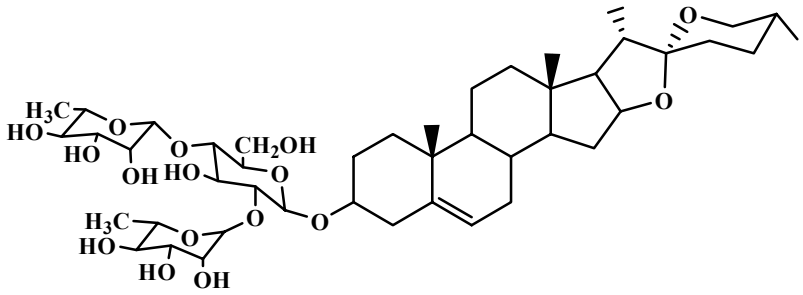
Les saponines jouent un rôle important dans la nature. Ce sont des composés à fort pouvoir hémolytique, cette propriété dépend de la nature de la génine et du nombre des unités osidiques. La comparaison des activités des saponines monodesmosides et bidesmosides a prouvé que les saponines monodesmosides sont généralement plus hémolytiques [15,18].

Les saponines sont aussi connues par leur activité anti-fongique. Les saponines à génine stéroïdique sont des fongicides plus efficaces que les saponines à génine triterpénique [16].

La plupart des saponines possèdent des propriétés cytotoxiques [15], anti-tumorales [15,19] et sont toxiques à l'égard des animaux à sang froid, surtout les poissons [15,16].

Certaines saponines ont des propriétés médicinales importantes. On peut citer :

- La Dioscine (saponine à génine stéroïdique) trouvé dans certain légumes, est connue par son activités anti-fongique et anti-tumoral [20].



Dioscine

- Les saponines de certaines variétés de Luzerne comme l'acide médicagéniques et l'acide luzernique, présentent également des propriétés antinutritionnelles [21].

4. *Biosynthèse des stérols*

Tous les terpènes et les stéroïdes sont constitués par l'assemblage d'un nombre variable d'unités pentacarbonées (l'isoprène). Le principe de la réaction proposé en 1922 par Ruzicka, sous la forme d'une hypothèse est transformé après plus de trente années, en une règle générale, dont le principe a été, depuis, confirmé expérimentalement [10,15].

4.1. *Origine des* unités en C_5

On connaît deux voies métaboliques de synthèse pour l'unité isoprénique (l'origine des unités IPP & DMAPP)

- Voie du mévalonate
- Voie de GAP/pyruvate

4.1.1. Voie du mévalonate

Des expériences avec des précurseurs marqués (marquage isotopique) appropriés ont permis d'esquisser la séquence réactionnelle de la synthèse des stérols. Le véritable précurseur universel des terpènes et des stérols est l'acide mévalonique obtenu par condensation de deux molécules de l'acétyl-CoA « acétate activé ». La condensation aldolique de l'acéto-acétyl-CoA avec une nouvelle molécule de l'acétyl-CoA, catalysée par l'enzyme *HMG-CoA synthase*, suivie par une réduction accomplie par l'enzyme *HMG-CoA réductase*, permet d'engendrer l'acide mévalonique (MVA). Selon le processus général suivant :

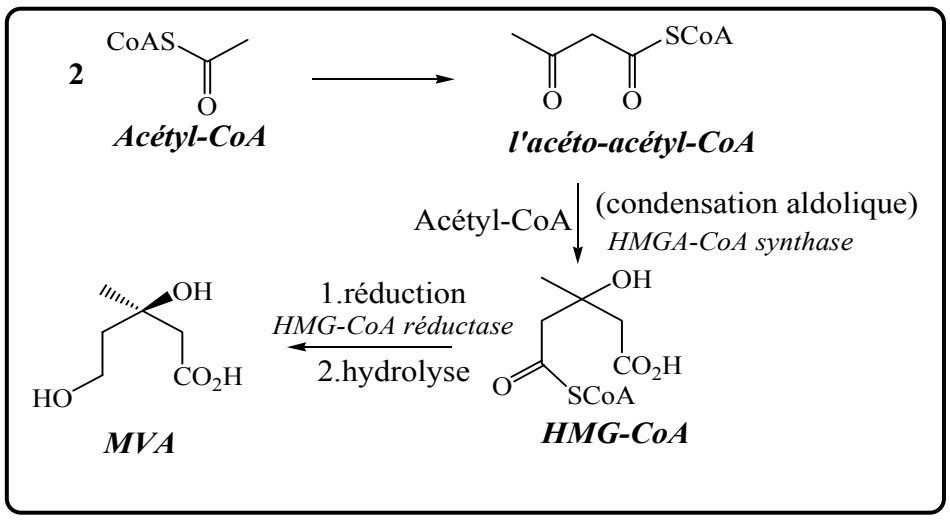


Figure II-4

L'acide mévalonique est ensuite transformé par une double phosphorylation, une élimination et une décarboxylation en pyrophosphate d'isopenténylе IPP. Ce dernier est isomérisé en diméthyallylpyrophosphate DMAPP.

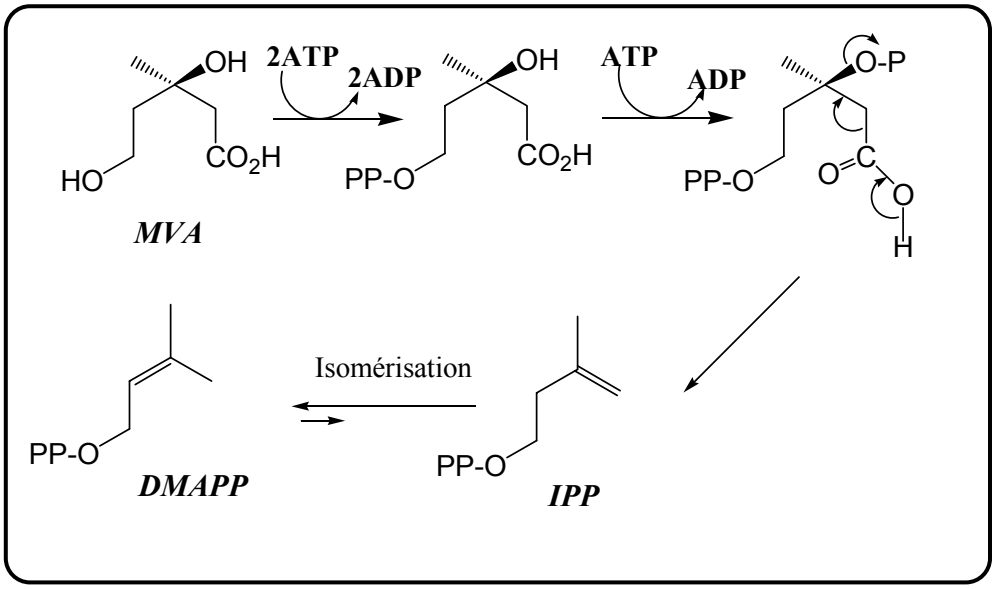


Figure II-5

4.1.2. *Voie de GAP/ pyruvate*

En 1993, Rohmer Sahm & Arigoni élucidèrent une autre voie de l'IPP & DMAPP [22]. Cette nouvelle voie de biosynthèse de l'isopenténylpyrophosphate (IPP) à partir de GAP/pyruvate comprend la séquence réactionnelle suivante [15,22] (Figure II-6) :

◆ Condensation d'une unité dicarbonée issue de la décarboxylation d'une molécule de pyruvate sur le carbone du carbonyle du phosphate de glycéraldéhyde (GAP).

◆ Transposition et réduction du premier intermédiaire en 5 carbones, le 1-désoxy-D-xylulose-5-phosphate, pour former le 2-C-méthyl-D-érythritol-4-phosphate, précurseur probable de l'IPP.

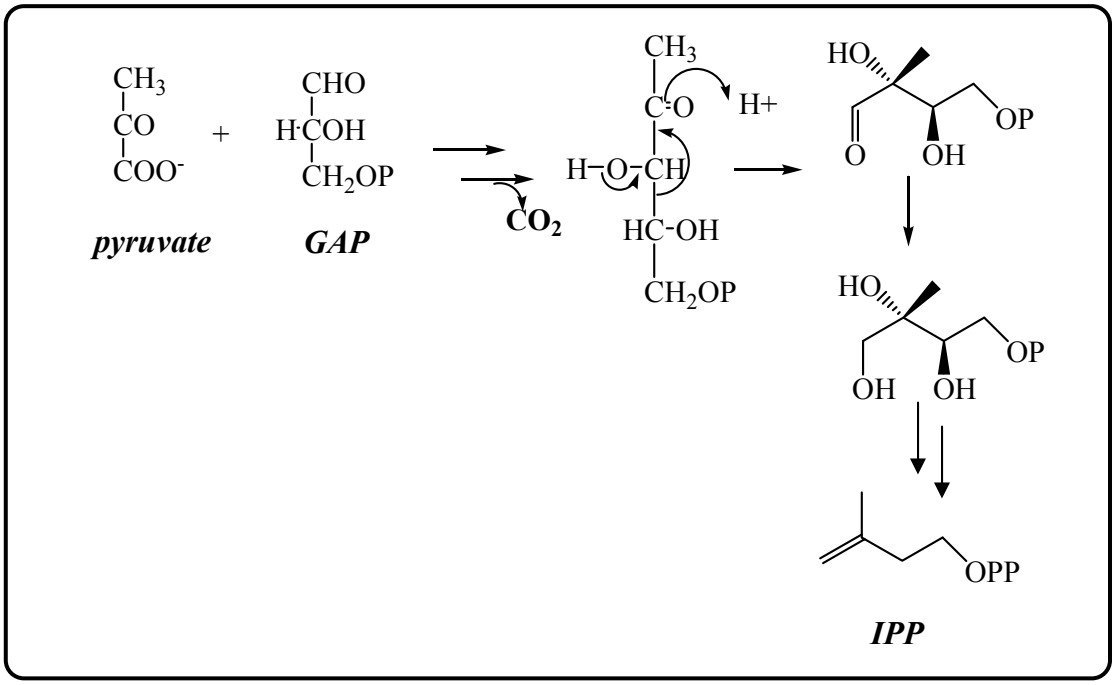


Figure II-6

Dans les plantes supérieures, le processus acétate- mévalonate opère surtout dans le cytoplasme et dans les mitochondries et synthétise les stérols, les sesquiterpènes et les ubiquinones. Par contre, par la voie GAP/ pyruvate, sont élaborés les hemi-, mono-, sesqui- et diterpènes avec les caroténoïdes et les phytols des chaînes de la chlorophylle [23].

4.2. ***Biosynthèse du squalène***

L'addition d'une molécule d'IPP sur une molécule de DMAPP par une condensation *tète à queue*, donne le géranylpyrophosphate GPP (précurseur de monoterpènes), le même mécanisme permet l'addition de l'IPP sur le GPP pour donner le farnésylpyrophosphate FPP (précurseur des sesquiterpènes), puis sur le FPP pour donner le géranylgéranylpyrophosphate GGPP (précurseur des diterpènes).

Le précurseur des stérols ou triterpènes est le squalène, il se forme par un assemblage *queue à queue* de deux unités de farnésylpyrophosphate FPP.

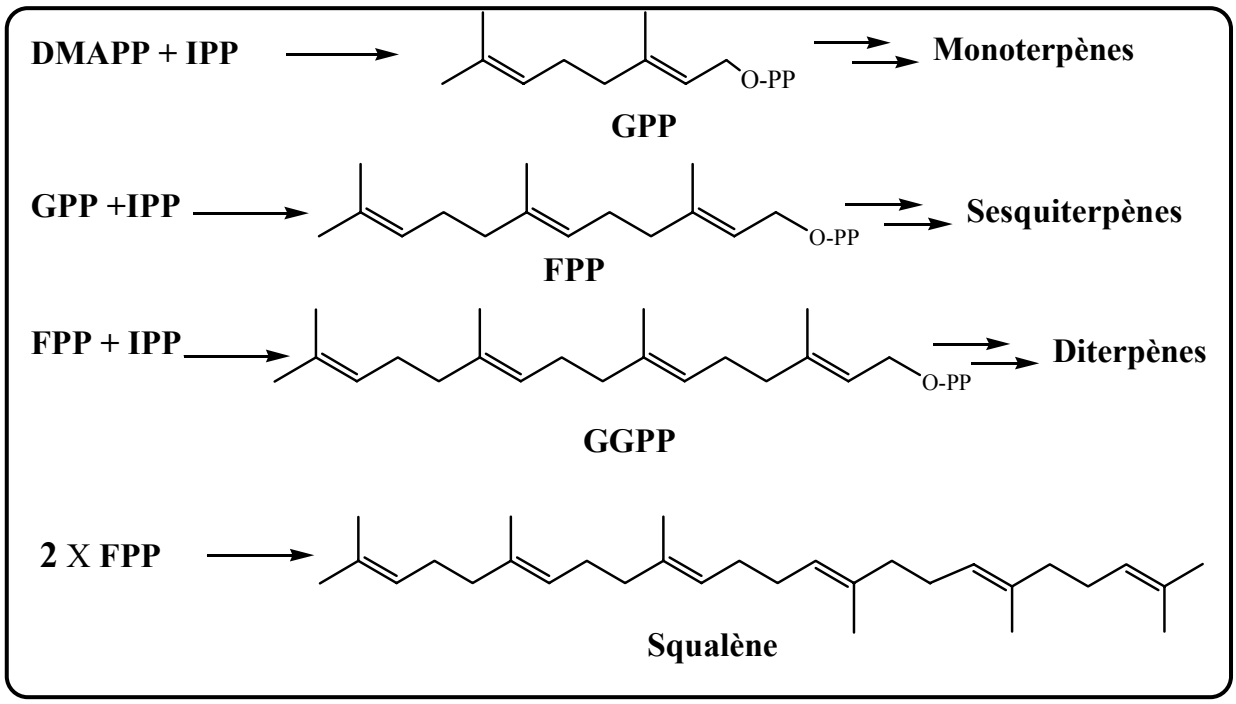


Figure II-7

Le squalène est ensuite oxydé en époxy-2,3-squalène. Le cycle époxy s'ouvre par addition d'un proton, l'oxygène reste fixé sur le carbone 3, où il constitue le groupe hydroxyle caractéristique de tous les stérols [9]. Cette ouverture initie la cyclisation. C'est de la conformation initiale de l'époxysqualène que dépend l'orientation de la biosynthèse vers les triterpènes ou vers les stéroïdes [15,16].

✧ Si la conformation de l'époxysqualène est chaise-bateau-chaise-bateau, la cyclisation conduit à un cation protostane qui se réarrange ensuite en cycloarténol (chez les végétaux) ou lanostérol (chez les animaux), s'est à dire aux stéroïdes.

✧ Si la conformation de l'epoxysqualène est chaise-chaise-chaise-bateau, la cyclisation conduit à un cation dammarane qui peut aussi réarranger :

- Soit par formation d'un cycle supplémentaire ce qui conduit aux triterpènes pentacycliques : oléananes, ursanes,…
- Soit par des migrations concertées conduisant aux triterpènes tétracycliques modifiés.

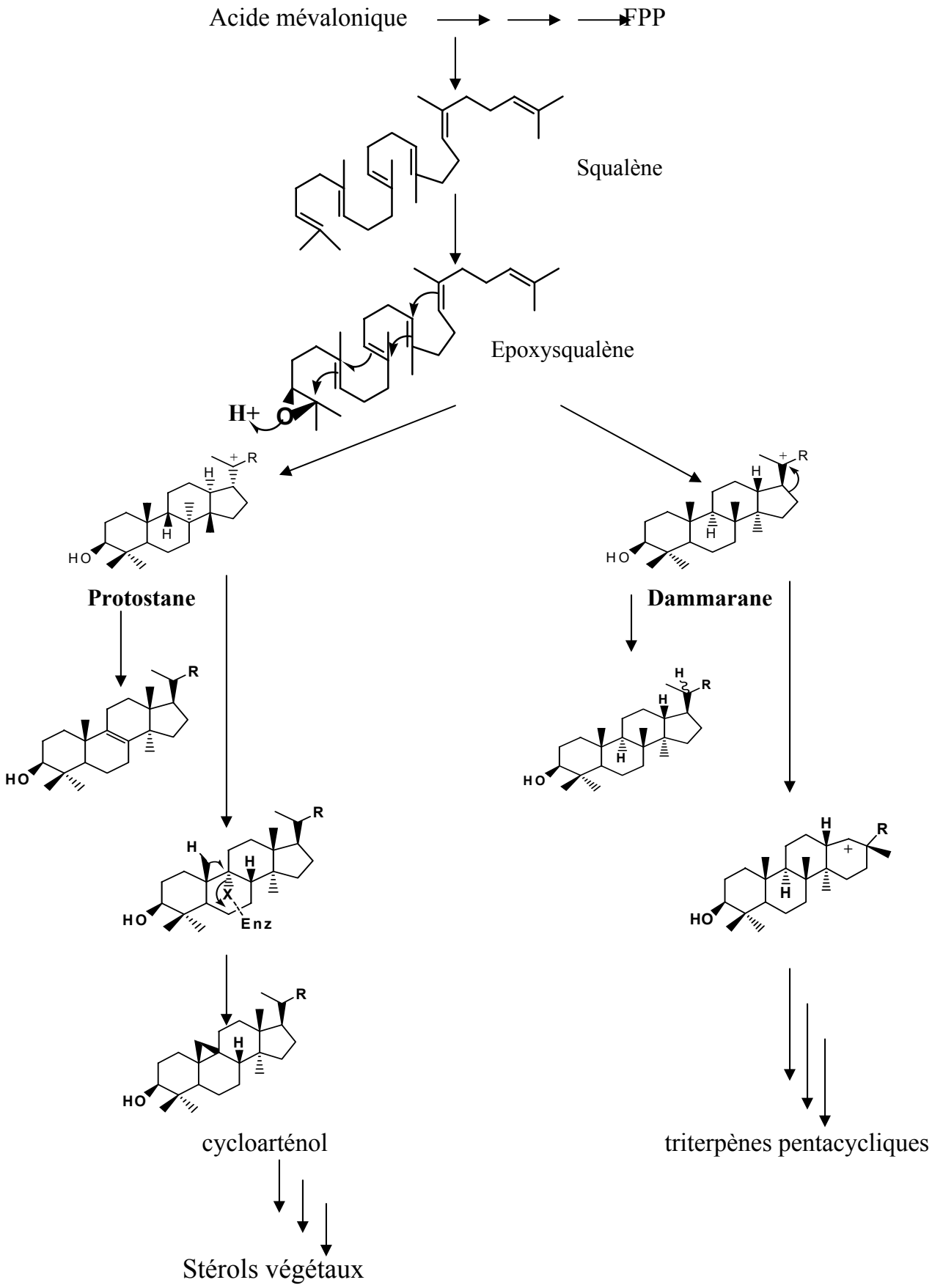


Figure II-8 : Biosynthèse des stérols végétaux et tritrpènes.

4.3. *Formation des phytostérols*

Les animaux et les champignons élaborent du lanostérol, ce dernier est facilement transformé en cholestérol. Chez les plantes, le premier produit stable est le cycloarténol qui constitue le précurseur pour les stérols caractéristiques des plantes supérieures ; les phytostérols [9,15].

Le passage d'un squelette en C-30 tel que le cycloarténol à un squelette en C-27 c'est-à-dire aux stérols, comprend des déshydrogénations, des déméthylations (en C_4 et C_{14}), des déplacements des doubles liaisons et l'acylation de la chaîne latérale au niveau du carbone 24. Les deux méthyles en C_4 sont perdus par une suite d'oxydations terminées par une décarboxylation, le méthyle en C_{14} est éliminé après oxydation sous forme d'acide formique [2,15,17].

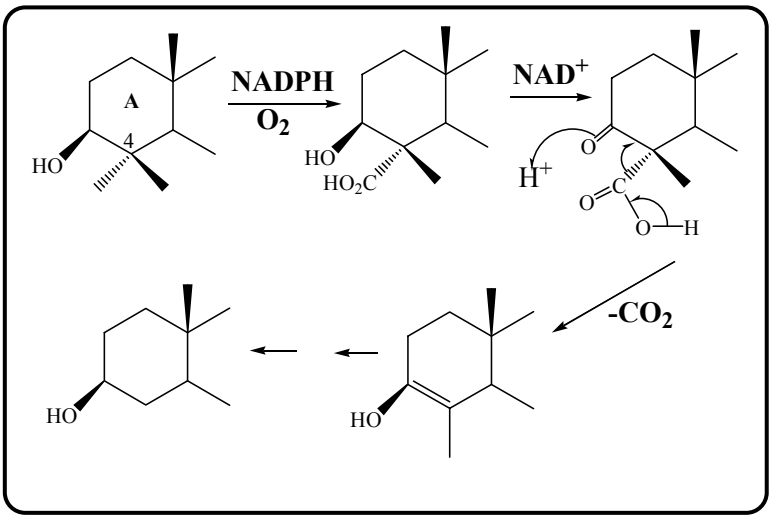


Figure II-9 : Elimination des méthyles en 4

L'introduction des carbones supplémentaires de la chaîne latérale des stéroïdes se fait, dans de nombreuses biosynthèses, par fixation d'une ou deux unités de groupes méthyles. Cette méthylation implique la S-adenosylméthionine. Comme le montre la figure II-10.

La première méthylation précède généralement les désméthylations en C_4 et C_{14}, la seconde étant habituellement plus tardive [15].

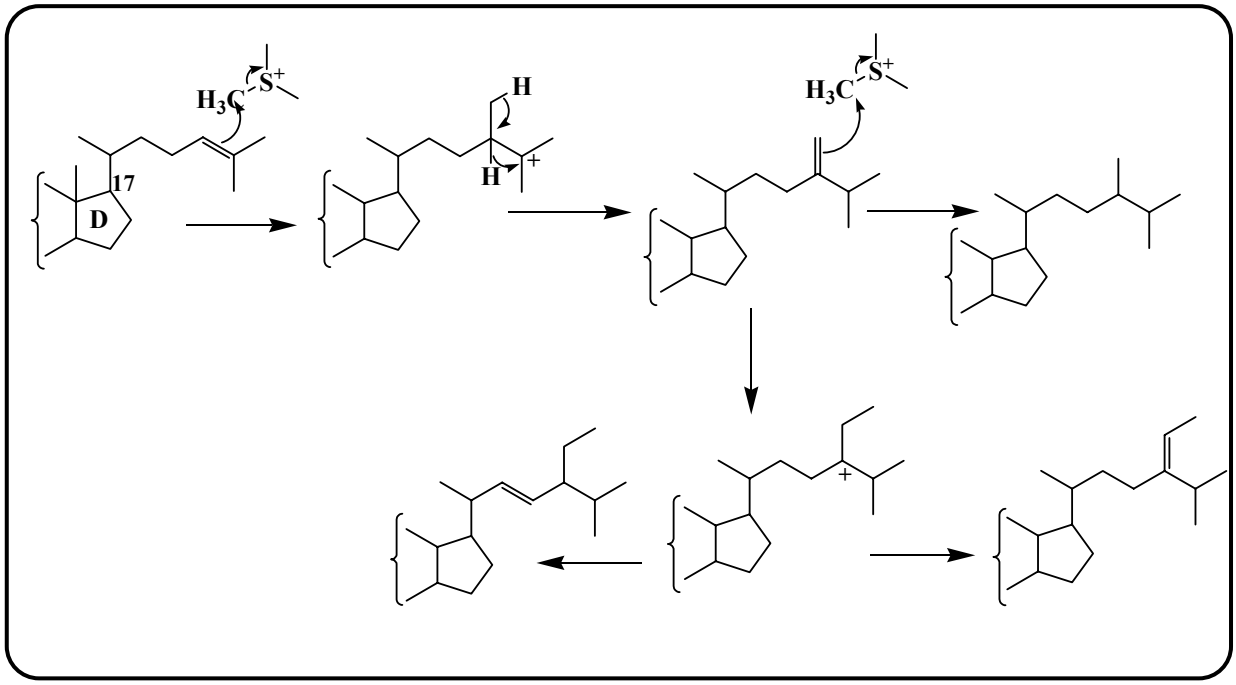


Figure II-10

Références bibliographiques:

[1] A. N. Nesmey Anov, N. A. Nesmey Anov

*Fundamentals of Organic Chemistry***,** Vol. 4**,** Mir Publishers, Moscow, **1980**.

[2] Paul Mdeurick

Medicinal Natural Products, A biosynthetic Approach, 2ème Edition, Wiley, 232-251, **2002**.

[3] Reginald H. Garrett, Charles M. Grisham

Biochimie, 2ème Edition, DeBoeck Université, 106-109, **2000.**

[4] J.C. Gaignaut, D. Bitdet, M. Gaillard, J. Perronnet

Stérols et stéroïdes, Partie I**,** Paris, 11-31, **1989**.

[5] Plant Sterols and Sterolins,

Alternative Medicine Review, Vol. 6, N° 2, 203-206**2001**.

[6] Robert A. Moreau, Bruce D. Whitaker, Kevin B. Hicks

*Progress in Lipid Research***,** Vol.41, 457-500, **2002.**

[7] Manoj D. Patel, Paul D. Thompson

Atherosclerosis Vol. 186, 12–19, **2006**.

[8] Tanya J. Howell,

Effects of Natural and Synthetic Phytosterol Administration on Cholesterol Metabolism in Normolipidemic Humans, National Library of Canada, **1997**.

[9] Gerhard Richter

Métabolisme des végétaux, Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, 300-308, **1993**.

[10] IUPAC**,** Pure *Appl. Chem*., Vol. 71, 587-643, **1999**.

[11] Kark H. Pegel

South African Journal of Science, Vol. 93, 263-268, **1997**.

[12] Patrick Breinholder, Livia Mosca, Wolfgang Lindner

Journal of Chromatography B, Vol. 777, 67–82, **2002.**

[13] Cecile Corbiere

Thèse de doctorat, Université de Limoges, **2003**.

[14] David Kritchevsky, Shirley C. Chen

Nutrition Research, Vol. 25, 413–428, **2005**

[15] Jean Bruneton

Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes médicinales**,** 3eme édition, Tec&Doc., Paris, **1999**.

[16] John Michael Berger

Thèse de doctorat PhD, Virginia, **2001**.

[17] Kosmas Haralampidis, Miranda Trojanowska, Anne E. Osbourn

Advances in Biochemical Engineering / Biotechnology, Vol.75, 32-44, **2002**.

[18] L. Voutquenne, C. Lavaud, G. Massiot, L. Le Men-Olivier

Pharmaceutical Biology, Vol. 40 (4), 253-262, **2002**.

[19] Shao Y, Chin CK, Ho CT, Ma W, Garrison SA, Huang MT

Cancer Lett., Vol. 104 (1), 31-36, **1996**.

[20] Ke Li, Yingwu Wang, Jingkai Gu, Xiaoyan Chen, Dafang Zhong

Journal of Chromatography B, Vol. 817, 271–275, **2005**.

[21] Pascale Pracos

*Agronomie***,** Vol. 8 (9), 793-799, **1988.**

[22] Alan C. Spivey

Biosynthesis & Biomimetic Synthesis of Isoprenoids: Terpenes, Imperial College, London, **2005**.

[23] V. Shanker Dubey, R. Bhalla, R. Luthra

J. Biosci., Vol. 28 (5), 637-646, **2003**.

CHAPITRE III

ISOLEMENT DES COMPOSES ET DETERMINATION DE LEURS STRUCTURES

1. *Extraction*

Les parties aériennes (feuilles et tiges) de la plante sont séchées puis finement broyées. Un Kg de la poudre obtenue, est mis à macérer pendant 24 heures dans un mélange méthanol-eau (80 :20 *v/v*). Cette opération est répétée trois fois avec renouvellement du solvant. Après filtration et concentration à chaque fois, La phase aqueuse obtenue subit une série d'extractions liquide-liquide par des solvants non miscibles à l'eau et de polarité croissante ; d'abord par l'éther de pétrole qui élimine la chlorophylle et les lipides, puis par le chloroforme qui extrait les produits peu polaires et enfin par le n-butanol qui entraîne les composés polaires et la majorité des hétérosides. Les phases organiques sont séchées sur Na_2SO_4, filtrées et évaporées à sec.

2. *Séparation et Purification*

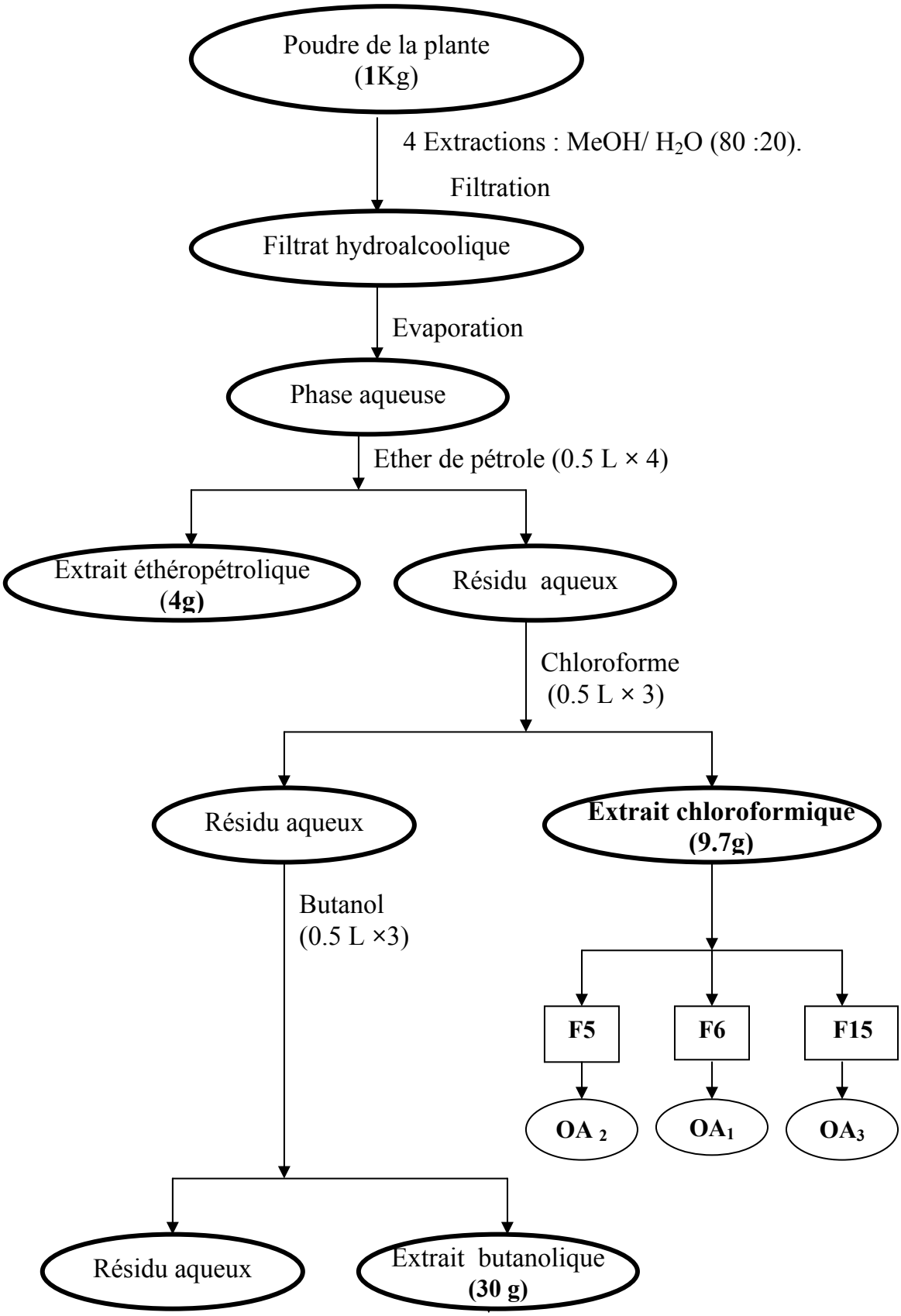
Les trois extraits obtenus sont analysés par chromatographie sur couche mince (CCM), les plaques CCM sont examinées sous la lumière UV (254 et 365 nm). Différents réactifs ont été utilisés pour la révélation des CCM : les vapeurs d'iode, la vanilline sulfurique et une solution diluée d'acide sulfurique (H_2SO_4).

Notre travail a porté sur l'extrait chloroformique à cause de sa richesse en produits peu polaires séparables. Une prise de **4 g** de cet extrait**,** est chromatographiée sur une colonne de gel de silice préparée dans l'éther de pétrole. L'élution est réalisée au moyen d'un mélange d'éther de pétrole / acétate d'éthyle puis acétate d'éthyle / méthanol de polarité croissante. Des fractions de 50 ml ont été collectées à chaque fois et examinées par chromatographie sur couche mince.

Ce fractionnement suivi d'une purification sur colonnes de silice a permis d'obtenir à l'état pur, trois composés **OA_1**, **OA_2** et **OA_3**. Le tableau suivant montre les résultats de la séparation et purification.

composé	Poids (mg)	Eluant de CCM	Rf
OA_1	17	AcOEt / E de p 1/9	0.65
OA_2	33	AcOEt / E de p 1/9	0.54
OA_3	07	MeOH /$CHCl_3$ 2/8	0.60

Tableau III-1



SchémaIII-1 : Schéma général d'extraction

3. *Détermination des structures*

L'élucidation des structures des trois produits est basée sur les données spectroscopiques (RMN ^{1}H, RMN ^{13}C, RMN 2D, IR, MS-EI et MS-ESI).

3.1. *Le composé OA_1*

Ce composé se présente sous forme de palettes brillantes ; aspect caractéristique des acides gras.

Son spectre infrarouge IR (Figure N° III-1) indique la présence des groupements : hydroxyle à 3405.67cm^{-1}, carbonylique à 1698.02 cm^{-1} et montre également des bandes d'absorption des liaison C-H aliphatiques à 2914.88, 2849.30 cm^{-1}.

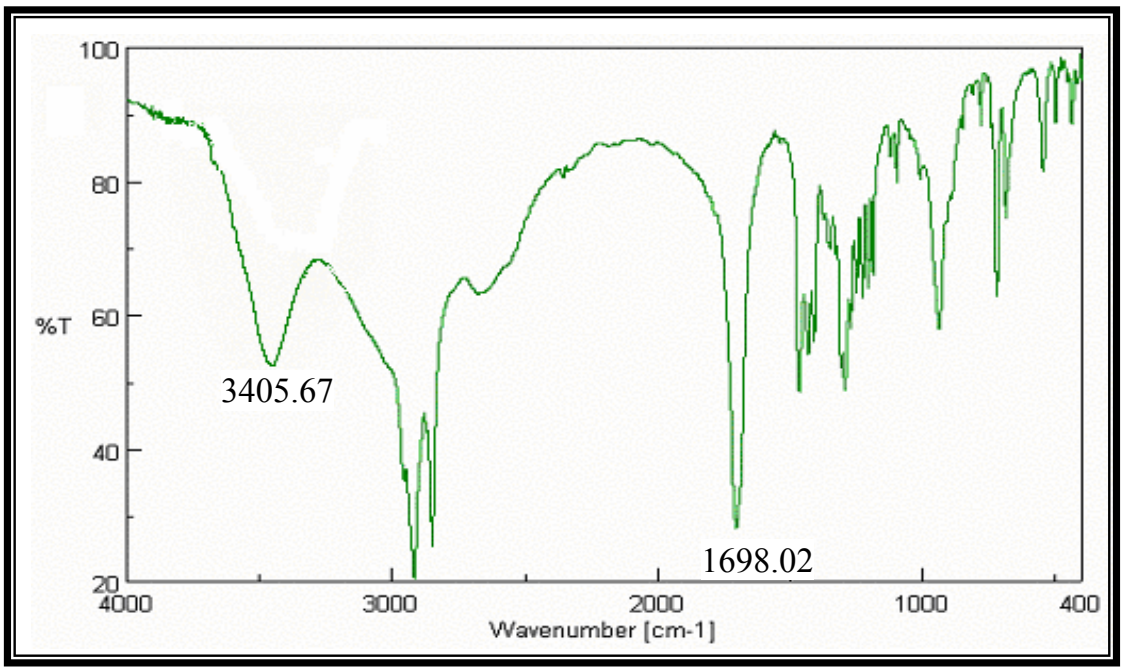


Figure N° III-1: Spectre IR du composé OA_1

Son spectre de masse (Figure N° III-2) montre un pic moléculaire à *m/z* 256 correspondant à la formule brute $C_{16}H_{32}O_2$, qui correspond bien à celle de l'acide palmitique. Ce spectre présente également un ion à m/z 228 correspondant au départ d'une molécule CO.

Le spectre de ce composé ressemble aux séries des amas des hydrocarbures à intervalles de masse de 14 unités (*m/z* : 213.0, 199, 185, 171, 157,..). Le pic de base

à *m/z* 73 est le résultat de la fragmentation en γ du carbonyle avec rétention de la charge sur le fragment contenant l'atome d'oxygène.

Les principaux fragments sont récapitulés dans le tableau suivant :

Fragment	$M^{+\cdot}$	$[M\text{-}CO]^{+\cdot}$	$[M\text{- }CO\text{-Me}]^{+}$	$[M\text{- }CO\text{-}C_3H_7]^{+}$	$[M\text{-}C_{13}H_{27}]^{+}$
m/z	256,1	228,0	213	185	73

Tableau III-2

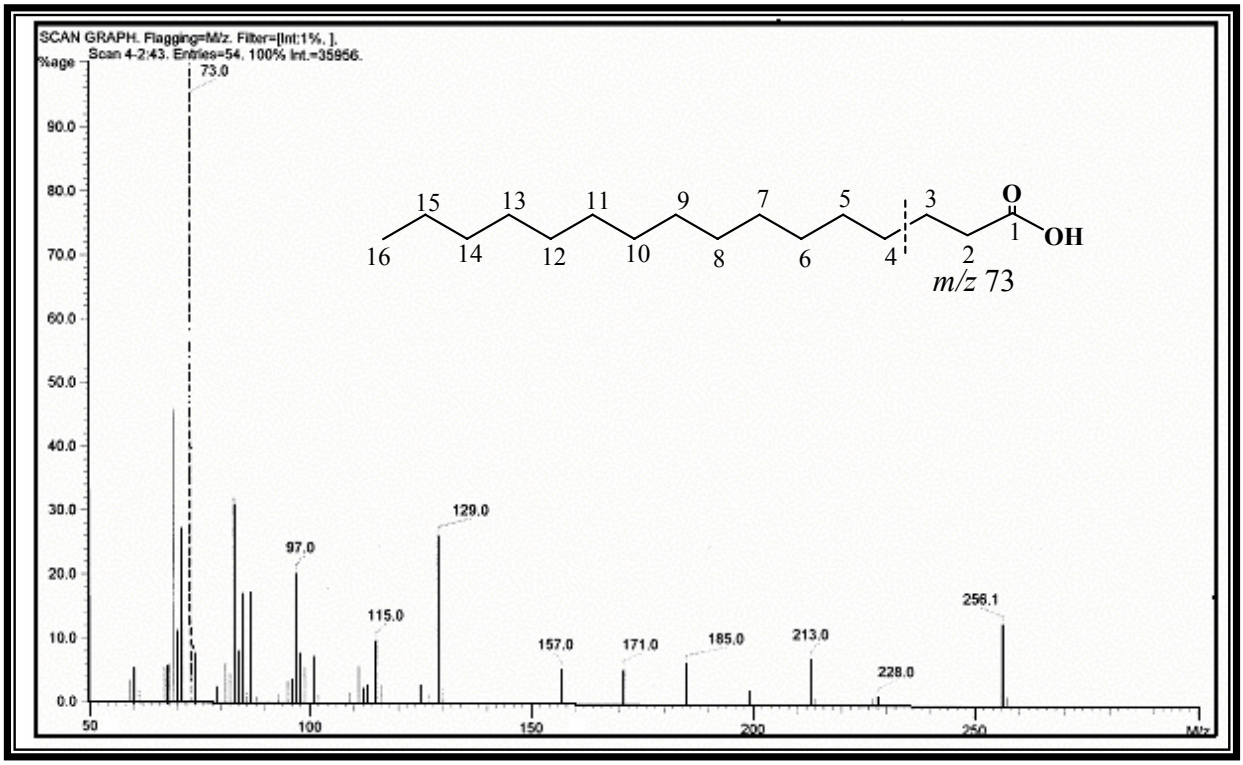


Figure N° III-2 : Spectre de masse (MS-EI) du composé $\mathbf{OA_1}$

Le spectre RMN ^{1}H confirme la structure avancée pour le composé $\mathbf{OA_1}$, en effet, il présente un ensemble de signaux dans le champ fort, caractéristiques d'un hydrocarbone saturé. Ce spectre (Figure N° III-2 et III-3) montre également:

- Un signal triplet à δ = 0.86 ppm (*J*= 6.62 Hz) correspondant au groupe méthyle CH_3
- Un signal large à δ = 1.23 ppm correspondant à plusieurs groupements méthylènes (CH_2-4 à CH_2-15).

- Un signal quintuplet à δ = 1.61 ppm (*J* = 7.2 Hz) correspondant à un groupement méthylène CH_2-3.
- Un signal triplet à δ = 2.32 ppm (*J* = 7.4 Hz) caractéristique du groupement méthylène CH_2-2 adjacent au carbonyle.

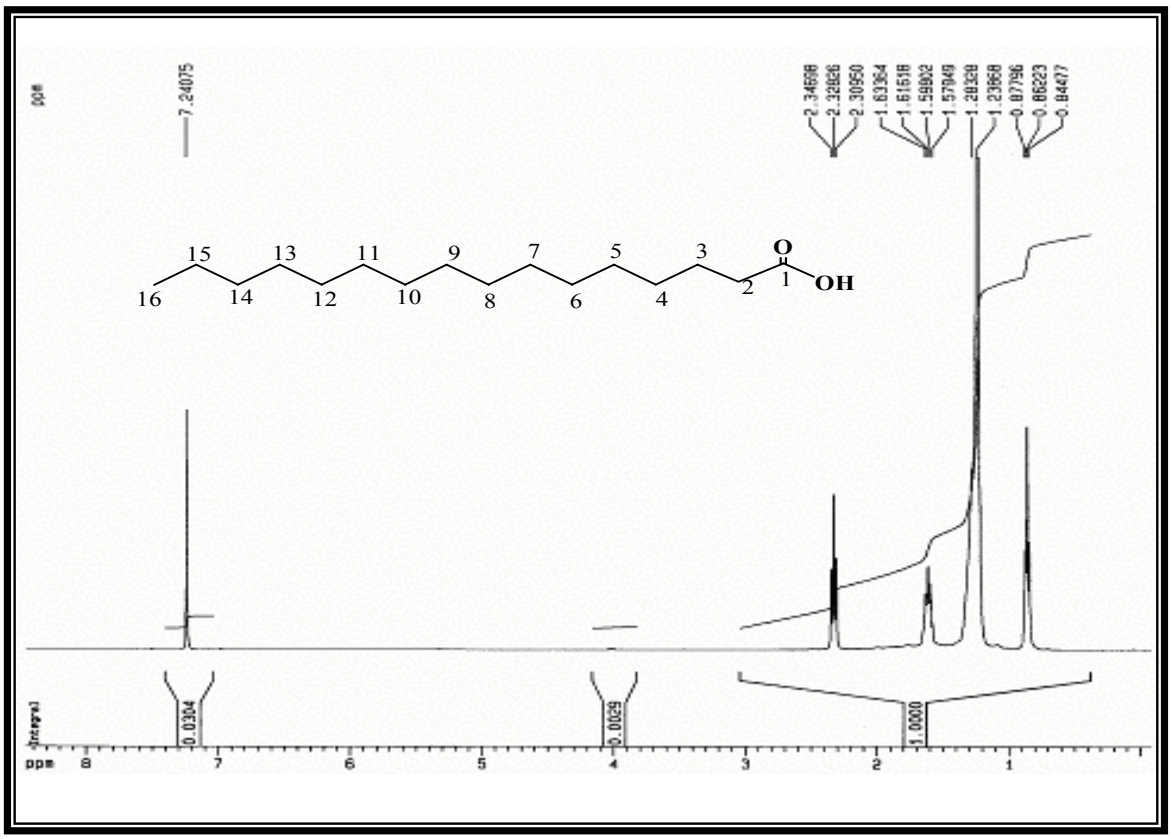


Figure N° III-3: Spectre RMN ^{1}H du composé **OA_1**

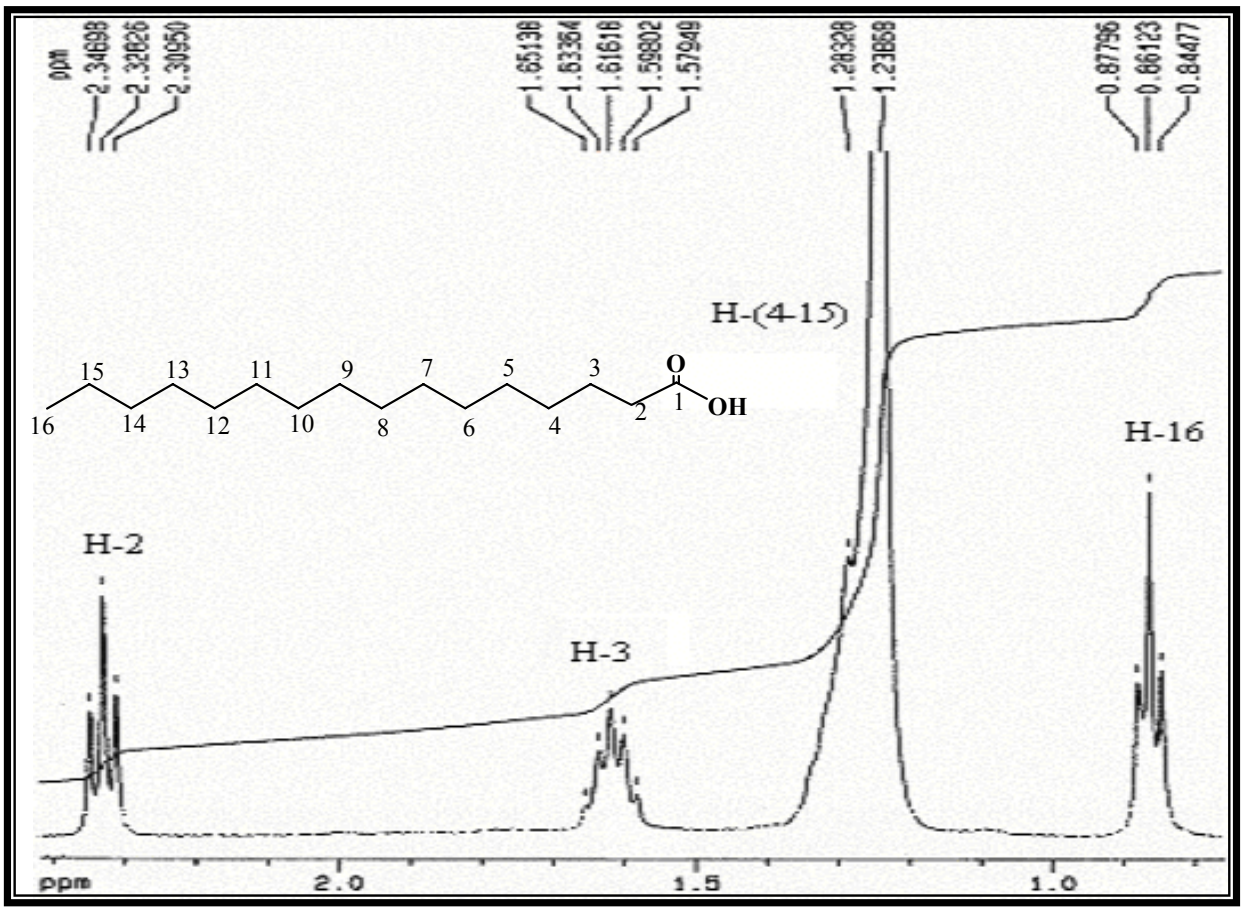
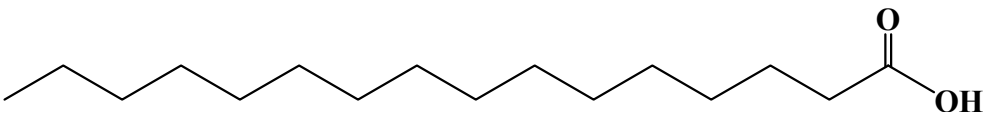


Figure N° III-4: Spectre RMN ^{1}H étalé du composé $\mathbf{OA_1}$.

Ces données sont donc bien relatives à l'acide palmitique.



Acide palmitique

L'acide palmitique est le constituant saturé prépondérant des huiles végétales [1].

3.2. *Le composé OA_2*

Le composé **OA_2** a été obtenu sous forme de cristaux (Invisible à l'UV). Il a répandu directement au test de Liebermann, ceci indique que ce composé est un hydrocarbone de type stéroïdique.

Le spectre Infrarouge IR (Figure N° III-5) de ce composé indique la présence de groupements hydroxyle (3421.10 cm^{-1}), oléfinique (1639.20 cm^{-1}) et des bandes d'absorption des liaisons C-H aliphatiques à 2943.80 et 2863.77 cm^{-1}.

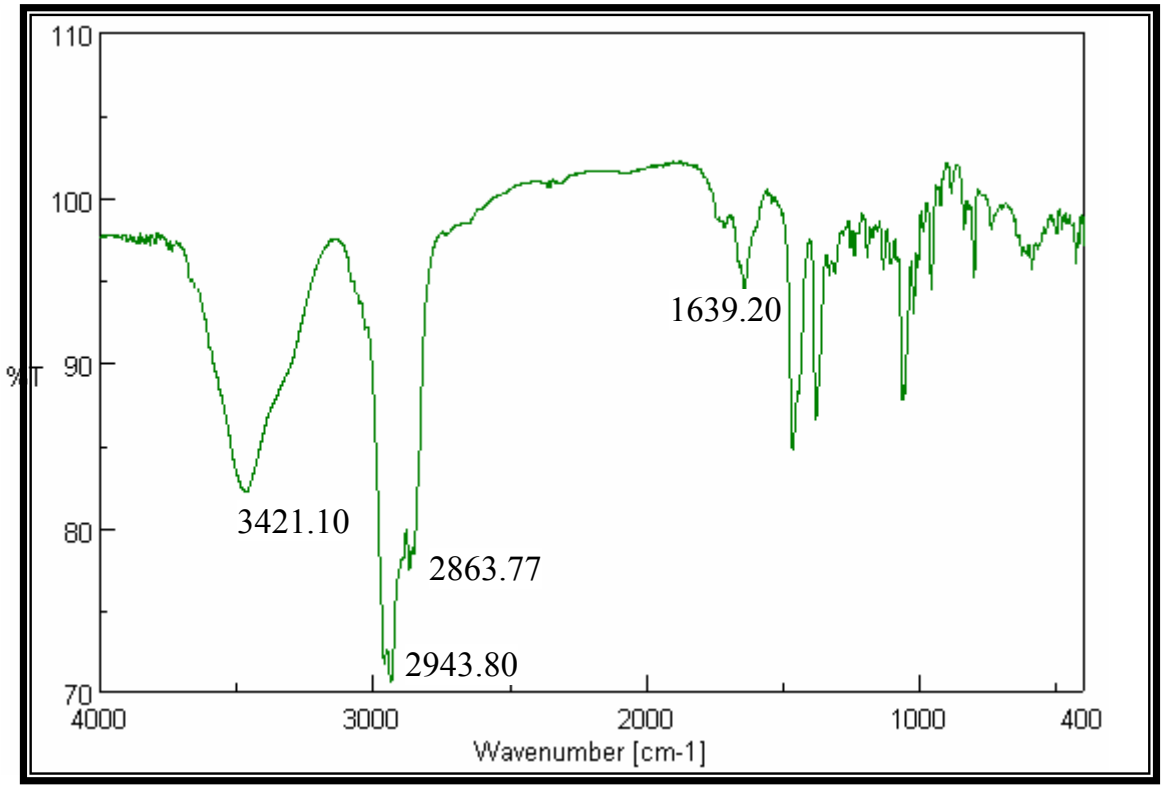


Figure N° III-5: Spectre IR du composé **OA_2**

Le spectre RMN ^1H (Figure N° III-6) du composé **OA_2** indique un ensemble de signaux méthyliques qui oriente aussi vers une structure de type stérol.

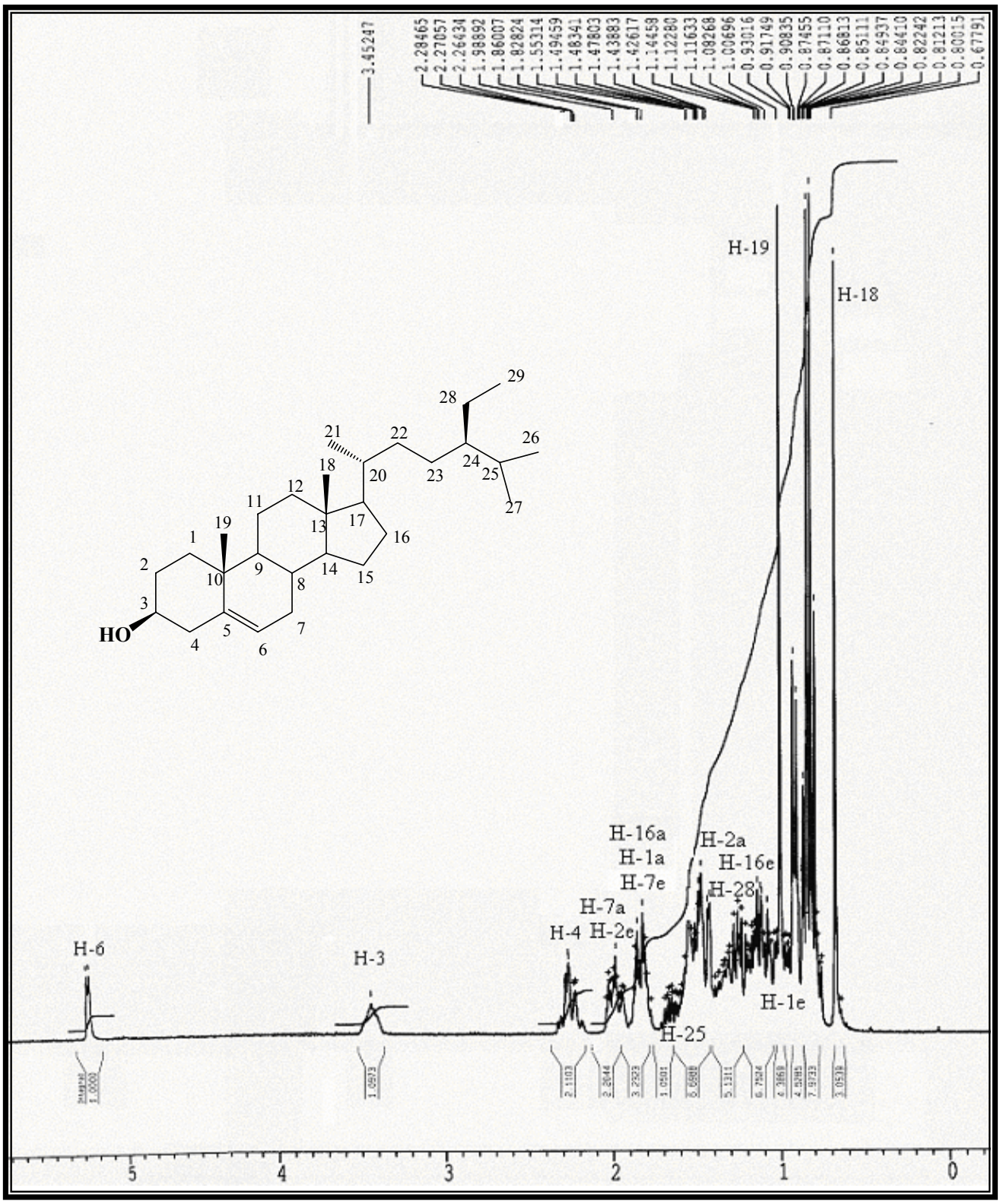


Figure N° III-6: Spectre RMN ^{1}H du composé $\mathbf{OA_2}$

Ce spectre (**Figure N° III-7**) présente dans la région méthylique les signaux suivants :

- Deux signaux singulets résonnant à champ fort (δ_H = 0.67 ppm et δ_H =1.00 ppm), s'intégrant pour trois protons chacun, correspondant respectivement aux deux groupements méthyliques CH_3-18 et CH_3-19.
- Un signal à δ_H = 0.92 ppm sous forme de doublet (*J* = 6.3 Hz), attribuable au groupement méthyle : CH_3-21.
- Enfin, Un signal multiplet (deux doublet et un triplet superposés) résonant à δ = 0.78 ppm et δ = 0.85 ppm correspondant aux trois groupements méthyliques suivants : CH_3-26, CH_3-27et CH_3-29.

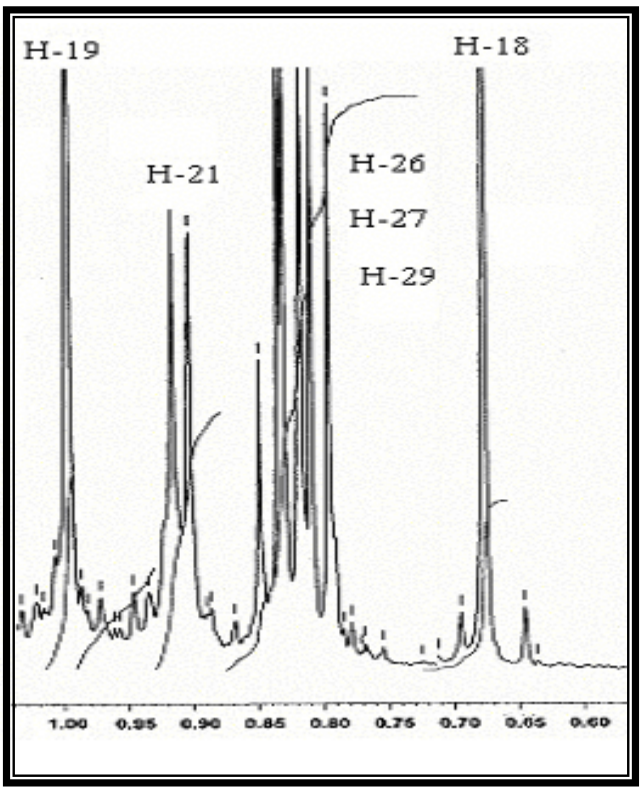


Figure N° III-7: Spectre RMN ^{1}H étalé (région 0.65-1.05) du composé **OA_2**

En plus de ces signaux, le spectre RMN ^{1}H montre :

- Un signal multiplet d'intégration 1 proton résonant à δ_H = 3.45 ppm, correspondant au proton H-3.
- Un signal à δ_H = 5,26 ppm sous forme de doublet large (*J* = 8.4 Hz), caractéristique d'un proton oléfinique H-6.

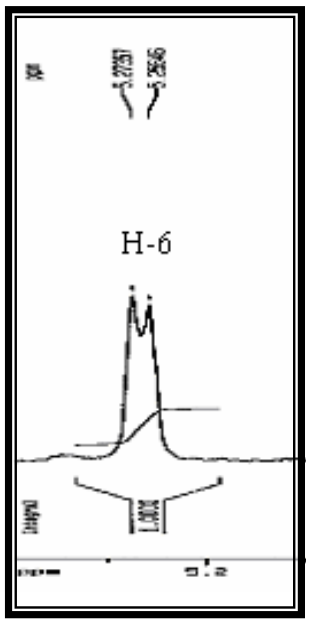


Figure N° III-8: Spectre RMN ^{1}H étalé (région 5.2) du composé $\mathbf{OA_2}$

L'étude du spectre RMN ^{13}C (**Figure N° III-9**) de ce composé montre la présence de **29** atomes de carbone. Ce dernier confirme la présence de la double liaison par les signaux à : δ_C =140.78 ppm correspondant a un carbone quaternaire C-5, et à δ_C = 121.72 ppm relatif à un carbone éthylénique C-6.

Le spectre RMN ^{13}C montre aussi les signaux :

- Six signaux méthyliques résonant à champ fort entre 11.9 et 19.8 ppm correspondant à six carbones méthyliques.
- Un signal à δ_C = 71.82 ppm attribué à C-3 portant un groupement hydroxyle.

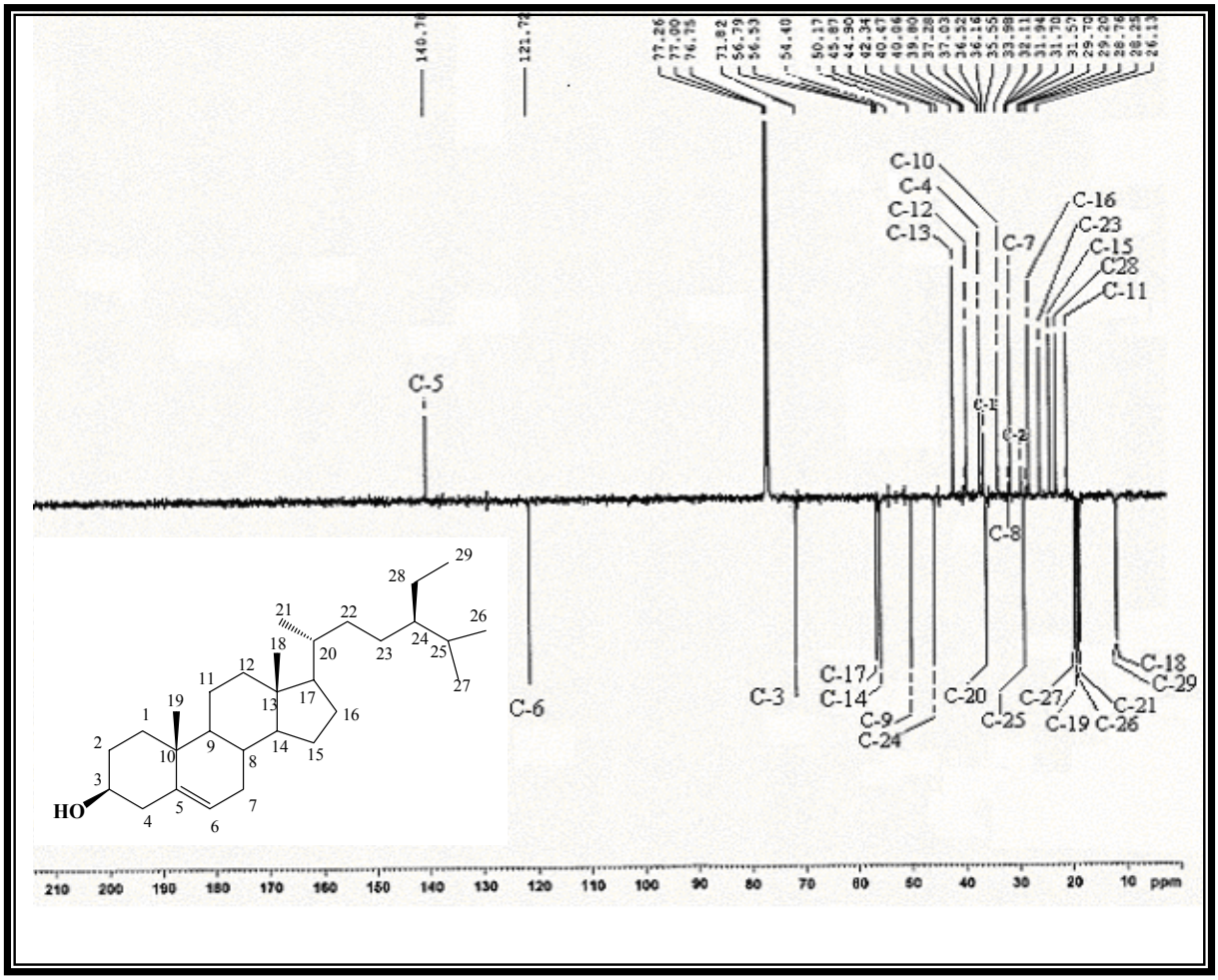
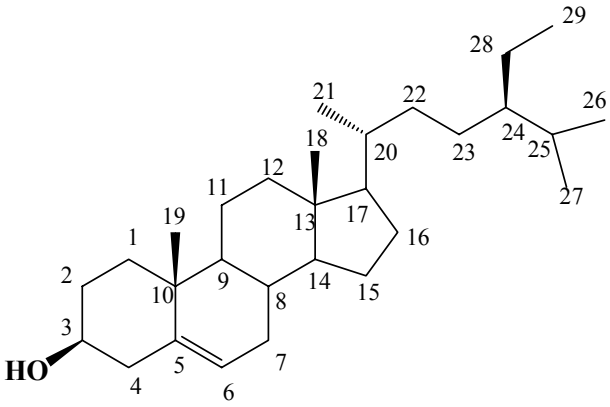


Figure N° III-9: Spectre RMN ^{13}C du composé **OA_2**

Ces données sont caractéristiques d'un phytostérol qui porte un groupement hydroxyle (OH) sur le carbone 3 et une double liaison en C_5-C_6 [2].



L'expérience COSY H-H (**Figure N° III-10**) montre clairement les corrélations attendues entre :

- Le proton H-3 et les deux protons vicinaux H-4 à δ_H = 2.27 ppm.
- Le proton H-3 et deux protons résonants à δ_H = 1.42 ppm et 1.79 ppm, correspondant aux H-2a et H-2e.
- Le proton oléfinique H-6 et deux protons H-7a et H-7e résonants respectivement à δ_H = 1.92 ppm et δ_H = 1.47 ppm.
- Le proton H-26 à δ_H = 0.78 ppm et le proton H-25 à δ_H = 1.63 ppm.
- Le proton H-28 à δ_H = 1.20 ppm et le proton H-29 à δ_H = 0.80 ppm.
- Le proton H-1a à δ_H = 1.79 ppm et le proton H-1e à δ_H = 1.05 ppm
- Le proton H-2a à δ_H = 1.42 ppm et le proton H-2e à δ_H = 1.80 ppm

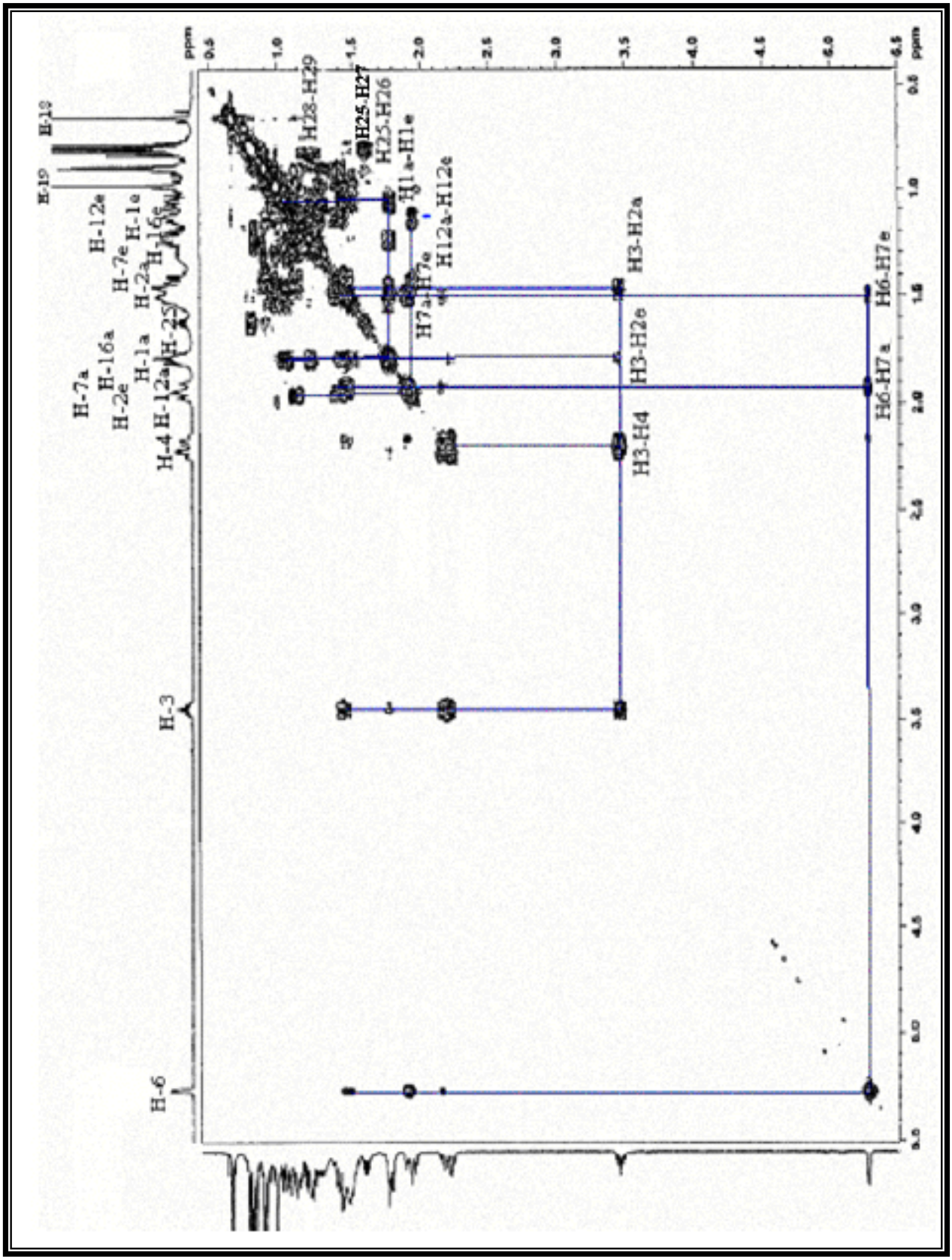


Figure N° III-10: Spectre COSY H-H du composé **OA_2**

L'expérience de corrélation directe carbone-proton ou HSQC (**Figure N° III-11**) montre les couplages en J^1_{C-H} entre :

- Le proton H-3 et son carbone C-3 à δ_C = 71.8 ppm.
- Le proton méthylique H-18 et son carbone C-18 résonant à δ_C = 11.9 ppm.
- Le proton méthylique H-19 et son carbone C-19 résonant à δ_C = 19.4 ppm.
- Les protons méthyliques H-26, H-27 et H-29 et leurs carbones C-26, C-27 et C-29 résonant respectivement à δ_C = 19.0 ppm, δ_C = 19.8 ppm et δ_C = 12.0 ppm.
- Le proton oléfinique H-6 et le carbone C-6 à δ_C = 121.72 ppm.
- Le proton H-25 et son carbone C-25 à δ_C = 29.2 ppm.

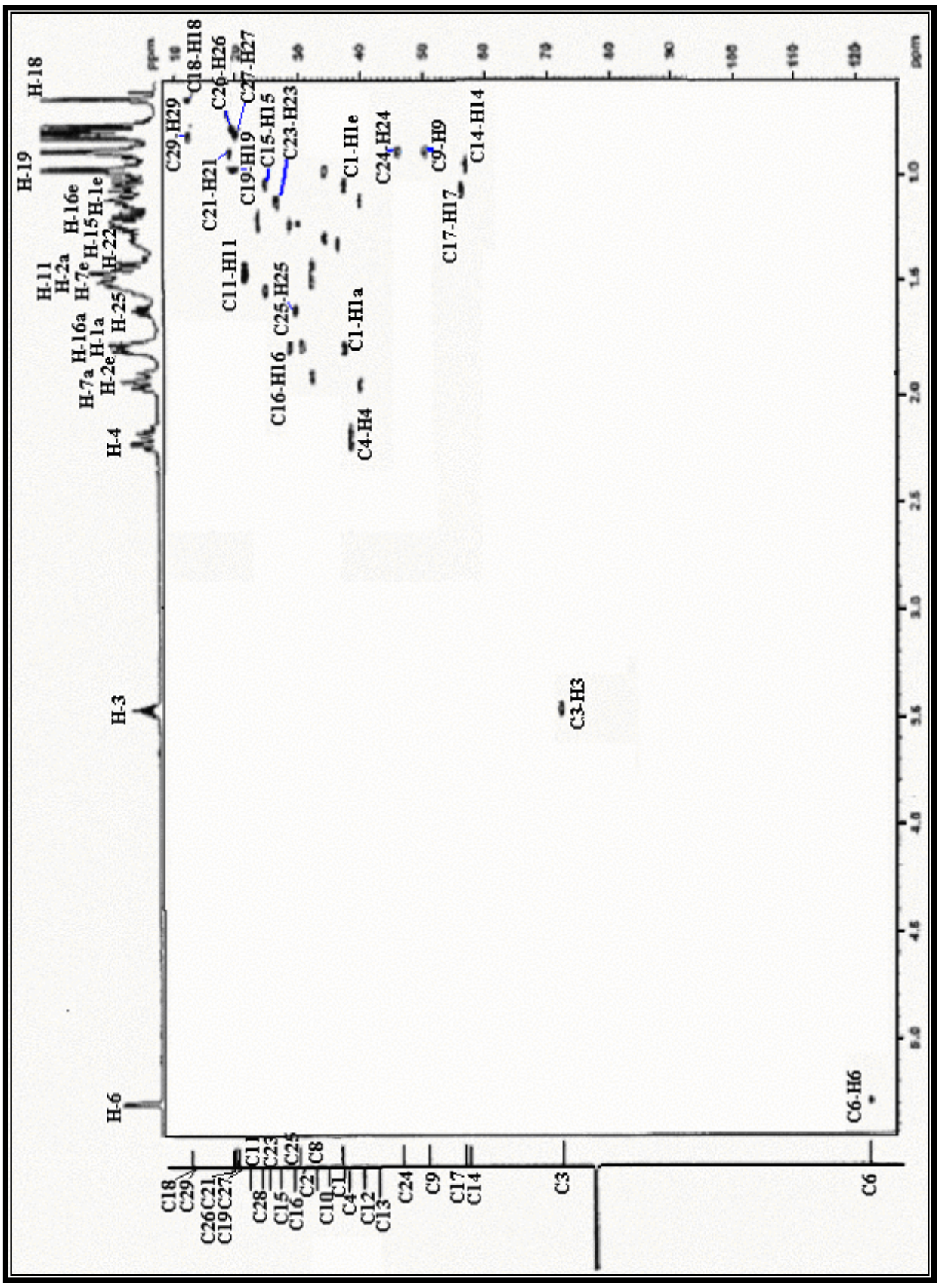


Figure N°III-11: Spectre HSQC du composé **OA_2**

L'expérience de corrélation carbone-proton longue distance ou HMBC (**Figure N° III-12**), permet d'attribuer une partie des carbones par observation de leurs corrélations J^2 et J^3 avec les protons des méthyles angulaires.

- Le méthyle CH_3-18 corrèle avec :

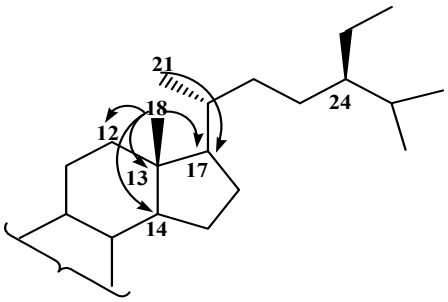


Schéma III-2 : Corrélation C-H en J^2 et J^3 du méthyle angulaire 18.

- Un carbone quaternaire C-13 résonant à δ = 37.03 ppm.
- Le carbone C-12 résonant à δ = 39.80 ppm.
- Le carbone C-14 résonant à δ = 56.53 ppm.
- Un carbone résonant à δ = 54.40 ppm attribué à C-17 identifié par la corrélation présente avec le méthyle 21 résonant à δ = 18.8 ppm.

- Le méthyle CH_3-19 corrèle avec les carbones suivants :

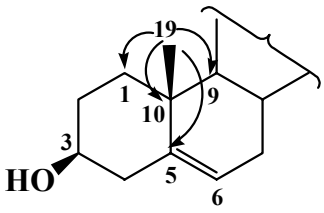


***Schéma* III-3** : Corrélation C-H en J^2 et J^3 du méthyle angulaire 19.

- Un carbone quaternaire C-10 résonant à δ = 33.98 ppm.
- Le carbone C-5 résonant à δ = 140.78 ppm.
- Le carbone C-9 résonant à δ = 50.17 ppm.
- Un carbone résonant à δ = 36.52 ppm C-1.

- Le proton oléfinique présente des taches de corrélation avec les carbones C-7 et C-8 résonant à δ = 31.70 ppm et 31.94 ppm respectivement et le carbone C-4 résonant à δ = 37.03 ppm.

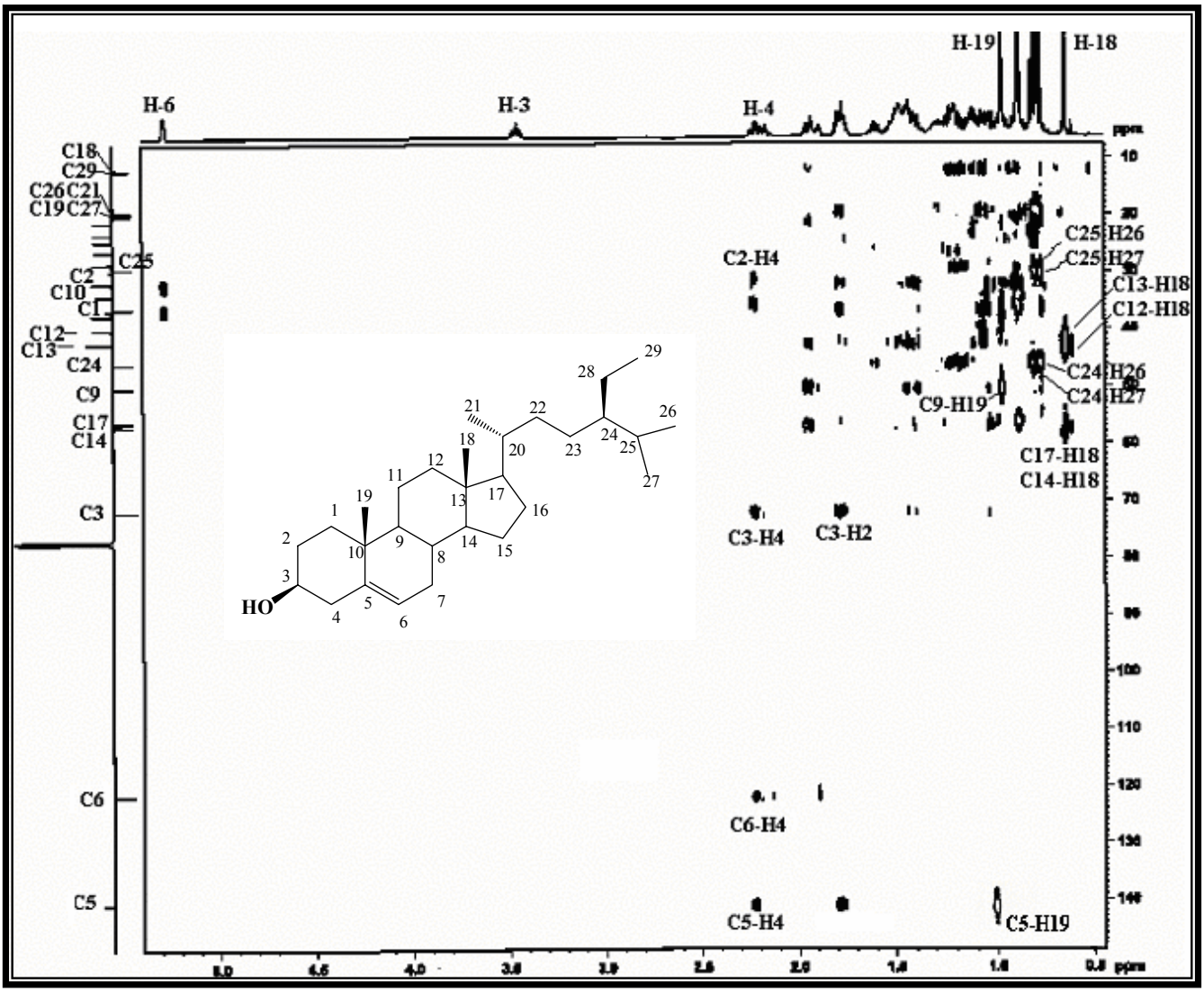


Figure N° III-12: Spectre HMBC du composé **OA_2**

Spectre de masse

Le spectre de masse (MS-EI) du composé **OA_2** donne une masse exacte du pic moléculaire à *m/z* 414 correspondant à la formule brute **$C_{29}H_{50}O$**.

Il montre également les fragments suivants :

- Un pic à *m/z* 396 correspondant à la perte d'une molécule d'eau confirmant ainsi la présence d'un groupement hydroxyle libre.
- Un fragment à *m/z* 272.9 correspondant à la perte de la chaîne latérale ($C_{10}H_{21}$) qui est connue pour les stérols [2,3].

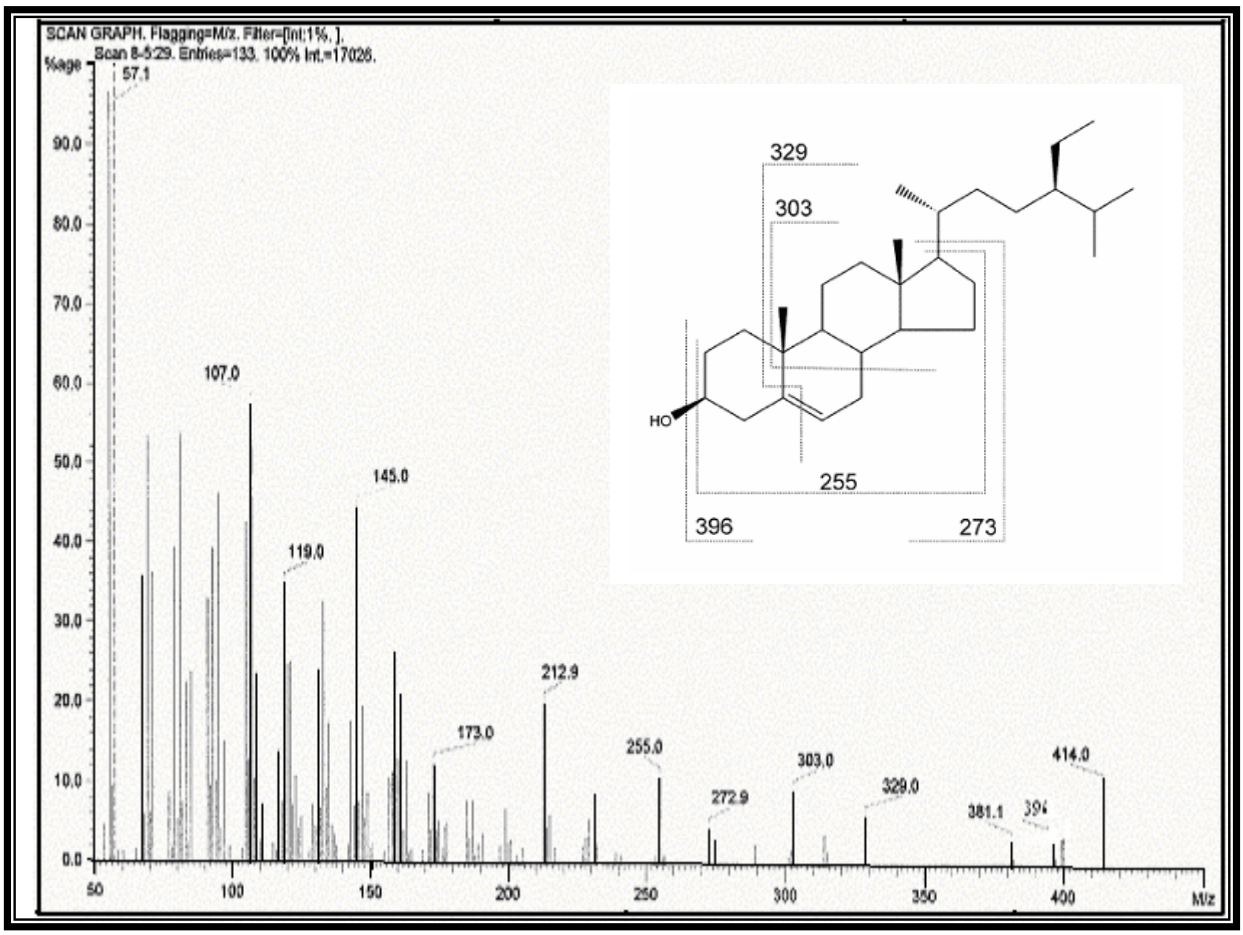


Figure N° III-13: Spectre de masse (MS-EI) du composé $\mathbf{OA_2}$

Les valeurs des ions caractéristiques des fragmentations des stérols sont résumées dans le tableau **III-3** :

Fragment	$M^{+.}$	$[M-H_2O]^{+.}$	$[M-Me-H_2O]^{+}$	$[M-C_{10}H_{21}]^{+}$
m/z	414	396	381,1	272,9

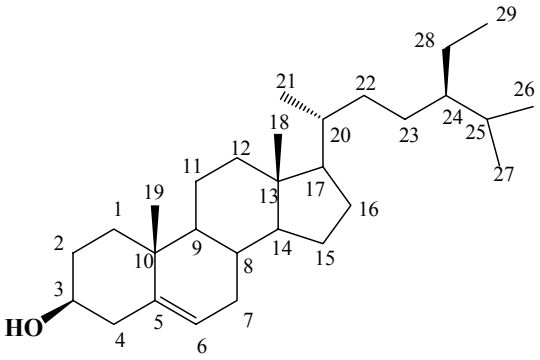
Tableau III-3

Les déplacements chimiques des protons et des carbones sont récapitulés dans le tableau N° III-4.

N°	δ_C (ppm)	δ_H (ppm)	*J* (Hz)
1 (CH_2)	36.52	1.05, 1.79	-
2 (CH_2)	29.70	1.42, 1.80	-
3 (CH)	71.82	3.45	-
4 (CH_2)	37.03	2.27	-
5 (C)	140.78	-	-
6 (CH)	121.72	5.26	8.4
7 (CH_2)	31.70	1.47, 1.92	-
8 (CH)	31.94	1.39-1.55	-
9 (CH)	50.17	0.81-0.89	-
10 (C)	33.98	-	-
11 (CH_2)	21.19	1.36-1.58	-
12 (CH_2)	39.80	1.10, 1.98	-
13 (C)	42.34	-	-
14 (CH)	56.53	0.91-0.99	-
15 (CH_2)	24.31	1.49-1.58	-
16 (CH_2)	28.25	1.22, 1.79	-
17 (CH)	54.40	1.03-1.08	-
18 (CH_3)	11.9	0.67	-
19 (CH_3)	19.40	1.00	-
20 (CH)	36.16	1.26-1.35	-
21 (CH_3)	18.84	0.92	6.3
22 (CH_2)	34.00	1.02, 1.26	-
23 (CH_2)	26.13	1.08-1.19	-
24 (CH)	44.90	0.81-0.89	-
25 (CH)	29.20	1.63	-
26 (CH_3)	19.00	0.75-0.85	-
27 (CH_3)	19.80	0.75-0.85	-
28 (CH_2)	23.10	1.20	-
29 (CH_3)	12.00	0.75-0.85	-

Tableau III-4

L'ensemble de ces données spectrales concordent bien avec la structure du β-sitostérol.



Stigmast-5-èn-3β-ol (β-sitostérol)

3.3. *Le composé OA_3*

Le composé **OA_3** se présente sous forme d'une poudre amorphe blanche, soluble dans le mélange Chloroforme / Méthanol (50/50). Le spectre IR de ce composé montre les bandes d'absorption : à 1647.76 cm^{-1} caractéristique d'un groupement oléfinique et une bande d'absorption large centrée à 3398.9 cm^{-1} correspondant au groupement hydroxyle lié.

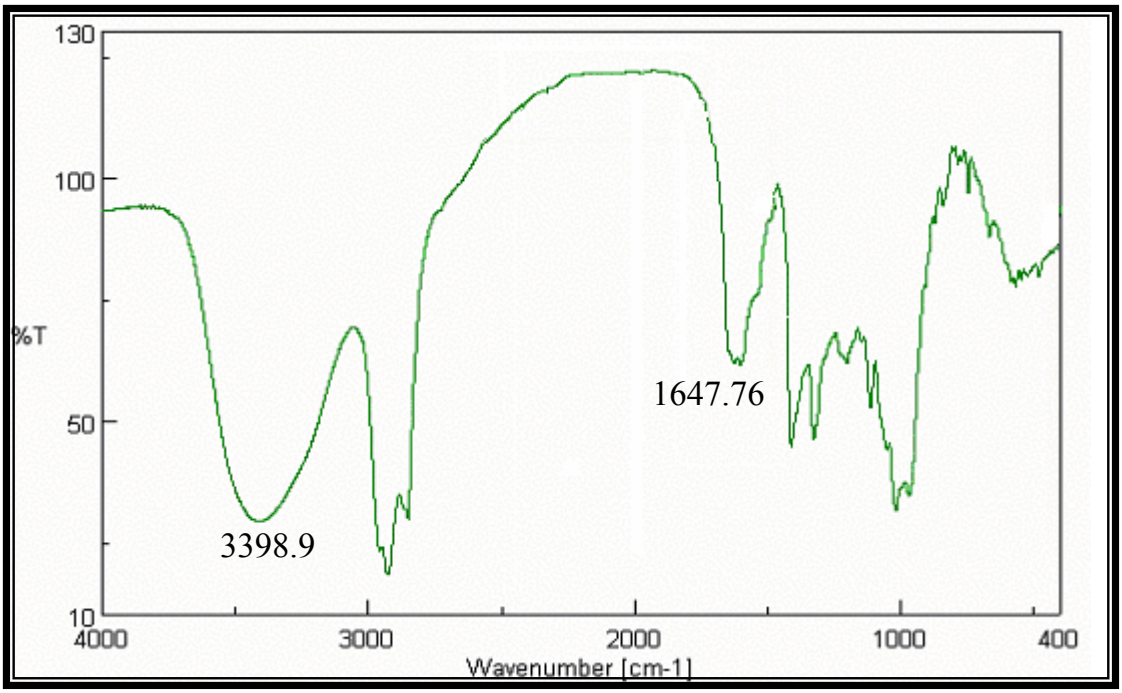


Figure N°III-14 : Spectre IR du composé **OA_3**

Les spectres RMN ^{1}H et RMN ^{13}C montrent que le composé **OA_3** est de même squelette stéroïdique que le composé **OA_2** décrit précédemment, mais avec en plus un ensemble de pic dans les régions : 3 à 4.5 ppm (spectre RMN ^{1}H) et 60 à 101 ppm (spectre RMN ^{13}C) caractéristiques de protons et carbones d'un sucre. Ces données orientent vers une saponine à génine stéroïdique.

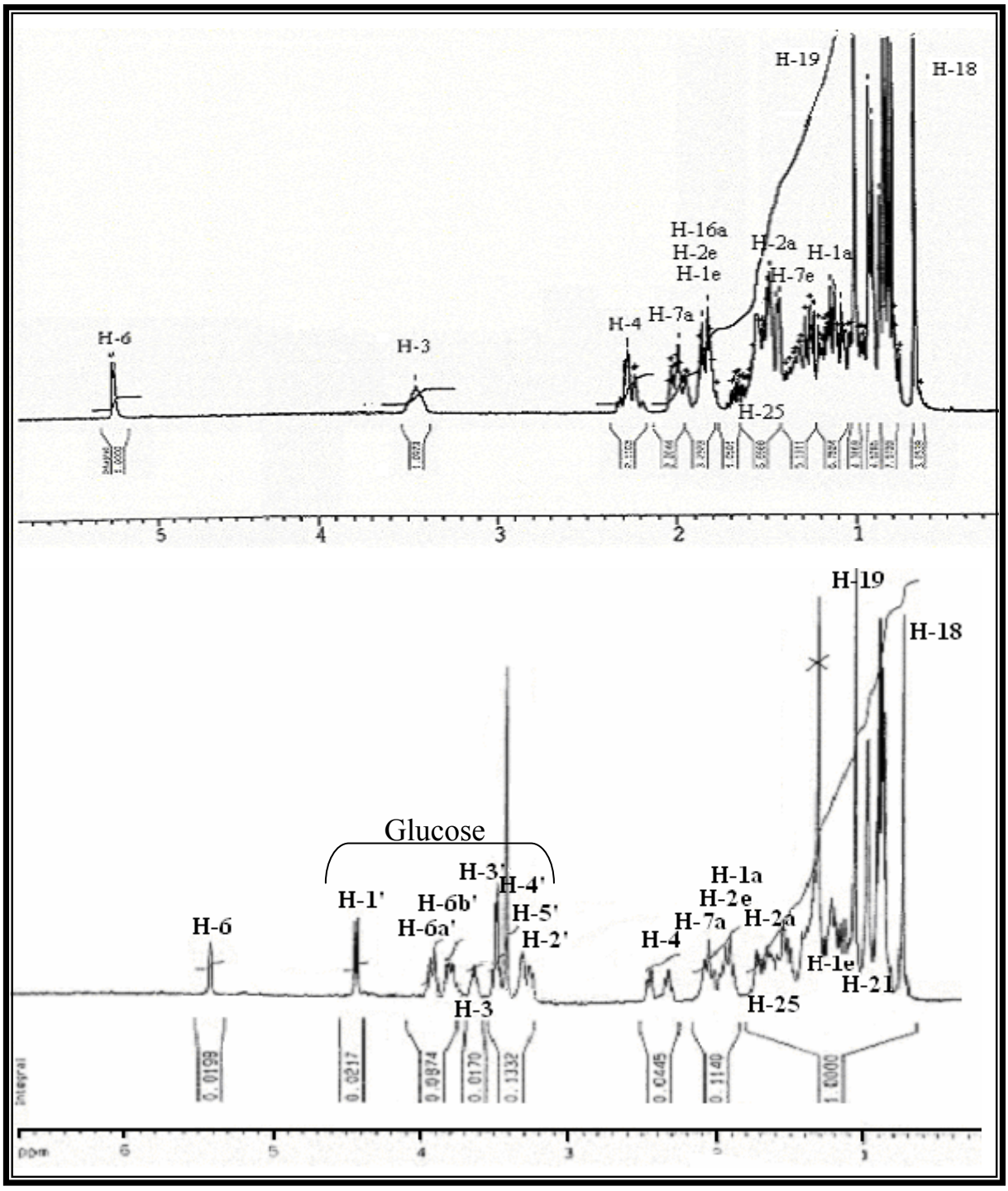


Figure N°III-15: Spectres RMN ^{1}H des composés **OA_2** (haut) **OA_3** (bas)

Les spectres de masse de ce composé obtenu par ESI (Figure N° III-16) permettent de confirmer la formule brute de la saponine en $C_{35}H_{60}O_6$ (M=576). En effet, on observe en mode positif des pics à m/z 615.5 et m/z 599.5 correspondant aux $[M+K]^+$ et $[M+Na]^+$ respectivement, et en mode négatif un pic à m/z 611.4 correspondant à l'ion $[M+Cl]^-$.

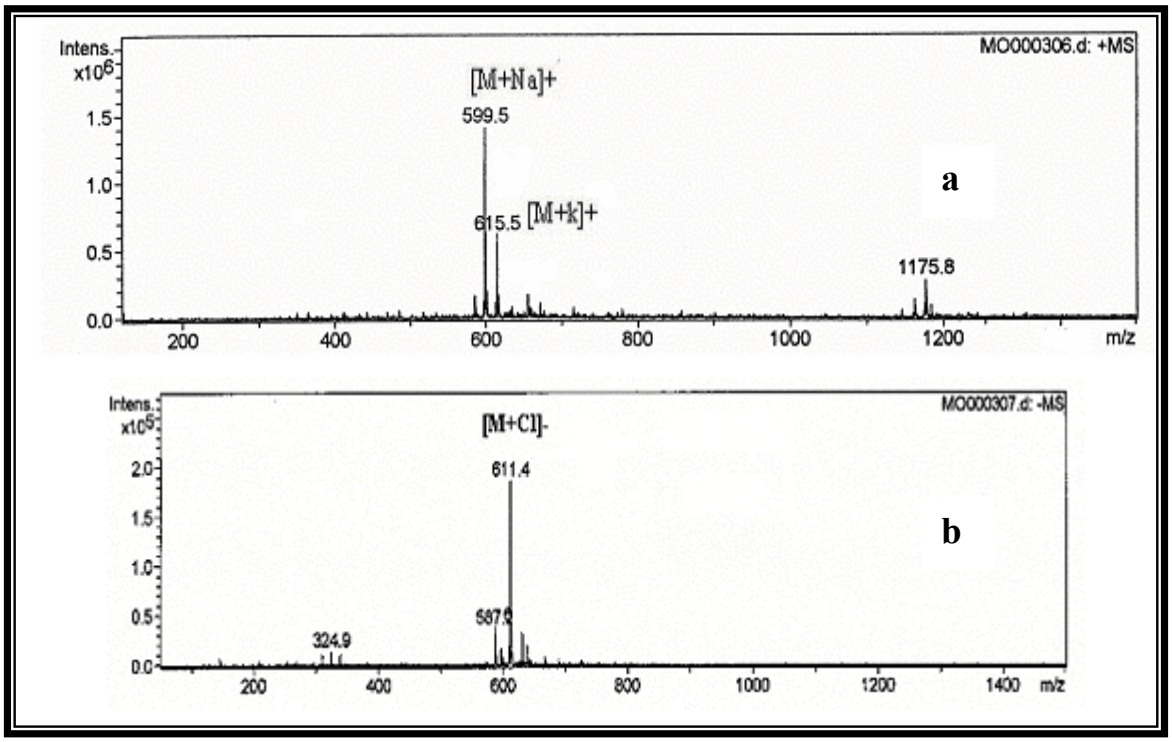


Figure N° III-16: Spectres de masse en mode positif (**a**) et en mode négatif (**b**).

3.3.1. *Identification de la partie aglycone*

L'analyse du spectre RMN ^1H à 400 MHz (**Figure N° III-17**) de la saponine **OA_3** met en évidence une aglycone stéroïdique qui présente des analogies avec le composé **OA_2**.

- Deux signaux singulets résonnant à champ fort (δ = 0.73 et 1.02 ppm) correspondant respectivement aux deux méthyles angulaires 18 et 19.
- Un signal doublet large à δ 5.41 ppm caractéristique du proton oléfinique H-6.
- Un signal doublet à δ= 0.93 ppm (J=6.3 Hz) caractéristique du groupement méthyle CH_3-21.
- Un signal multiplet à δ = 0.79 et 0.90 ppm correspondant aux groupements méthyliques suivants : CH_3-26, CH_3-27 et CH_3-29.

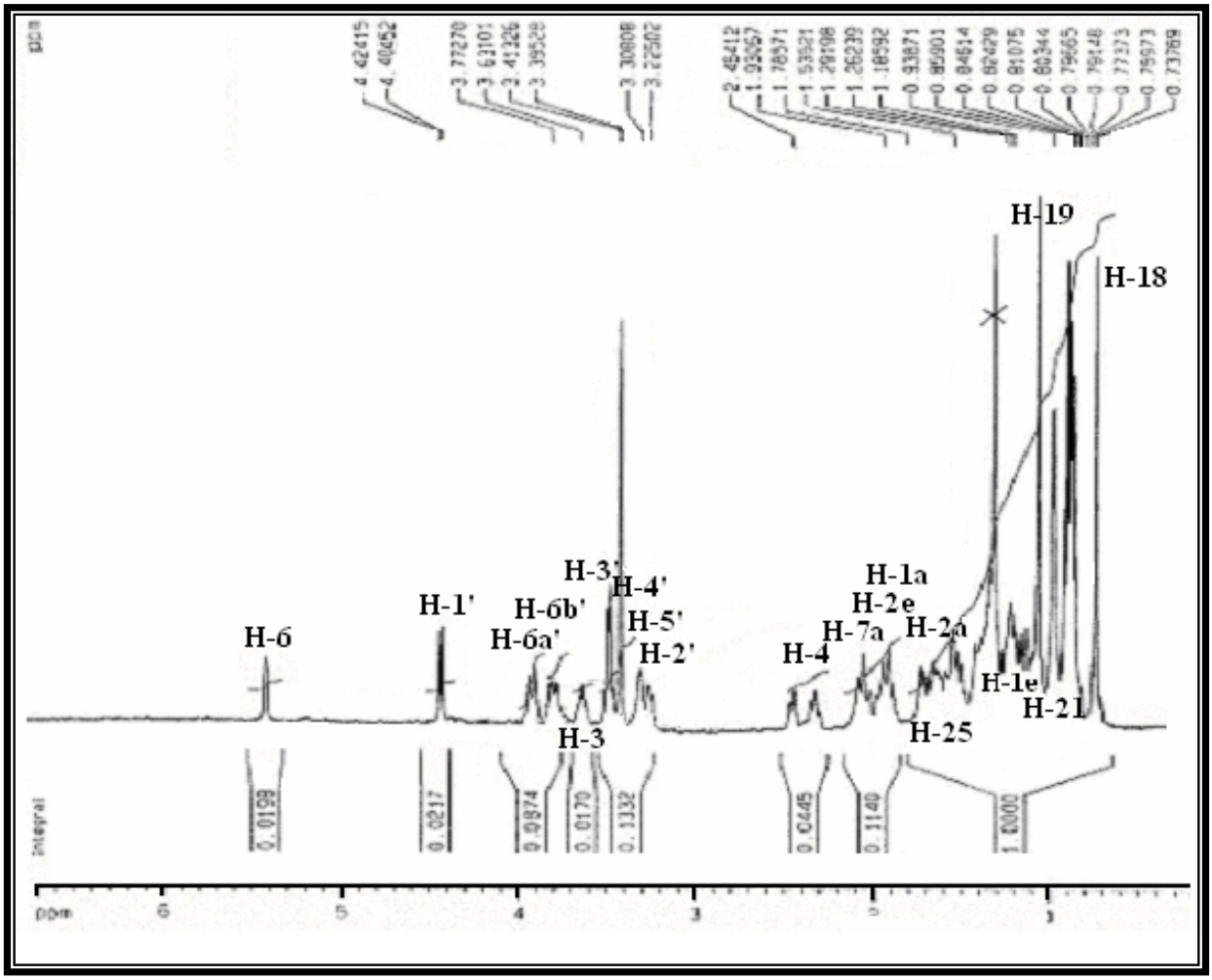


Figure N° III-17: Spectre RMN ^{1}H du composé **OA_3**

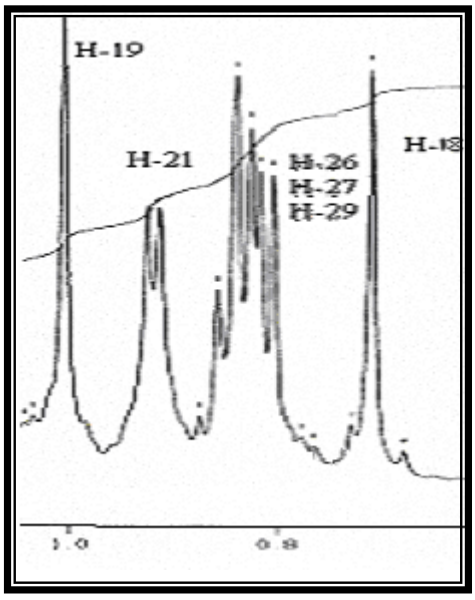


Figure N° III-18: Spectre RMN ^{1}H étalé (0.6-1.0 ppm) du composé **OA_3**

L'étude du spectre RMN ^{13}C de ce composé et les séquences DEPT (**Figure N° III-19**) montrent la présence de **35** atomes de carbones.

Les signaux caractéristiques de cette génine sont :

- Six signaux résonnant à 11.61 ppm, 11.71ppm, 18.54 ppm, 18.78 ppm, 19.07 ppm, 19.52 ppm attribués respectivement aux méthyles suivants: CH_3-18, CH_3-29, CH_3-21, CH_3-26, CH_3-19, CH_3-27.
- Deux signaux résonnant à 121.96 ppm (C-5) et 140.15 ppm (C-6) confirment la présence de la double liaison en C_5-C_6.
- Un signal résonant à 79.01 ppm, attribué à C-3, le déblindage de ce dernier par rapport au C_3 du β-Sitostérol indique que celui-ci est substitué par un sucre.

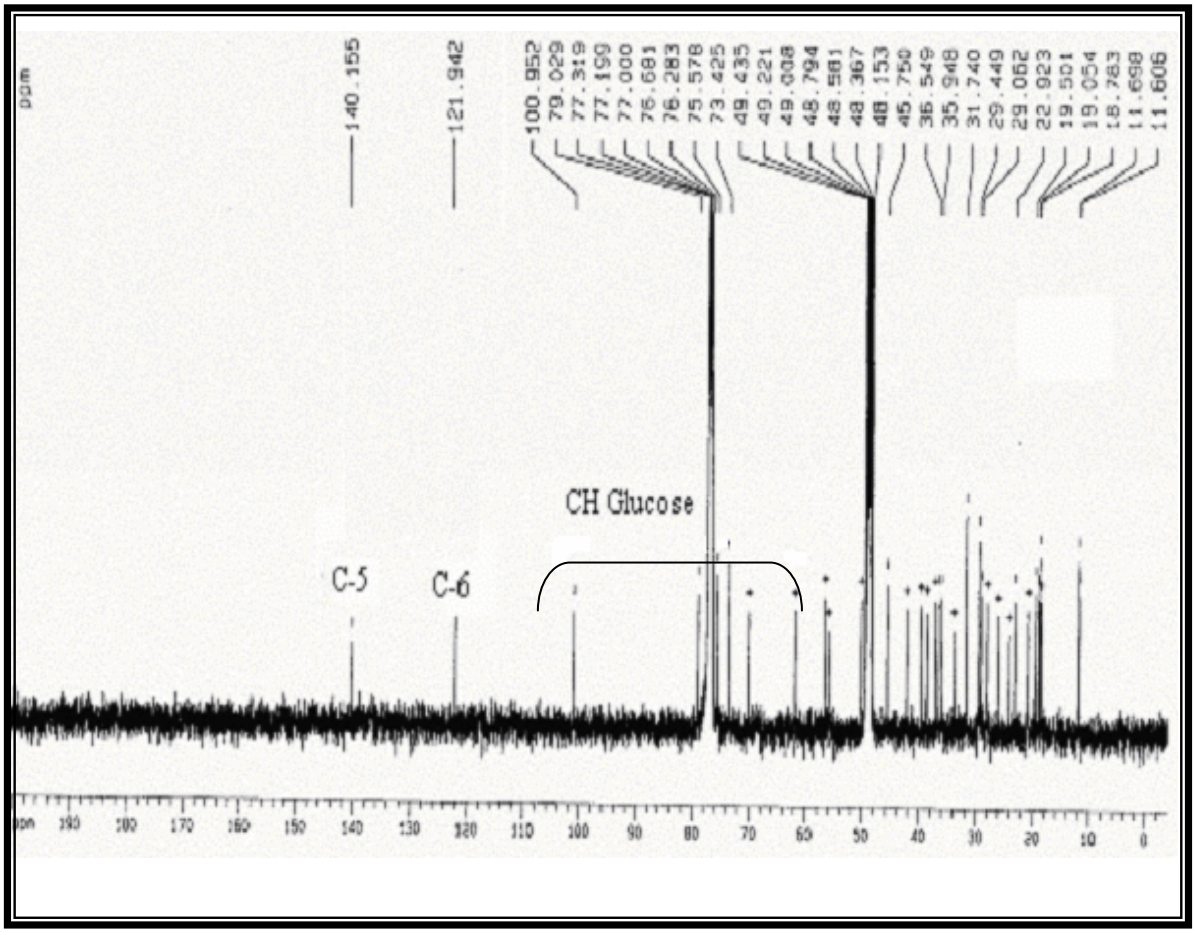


Figure N°III-19 : Spectre RMN ^{13}C du composé **OA_3**

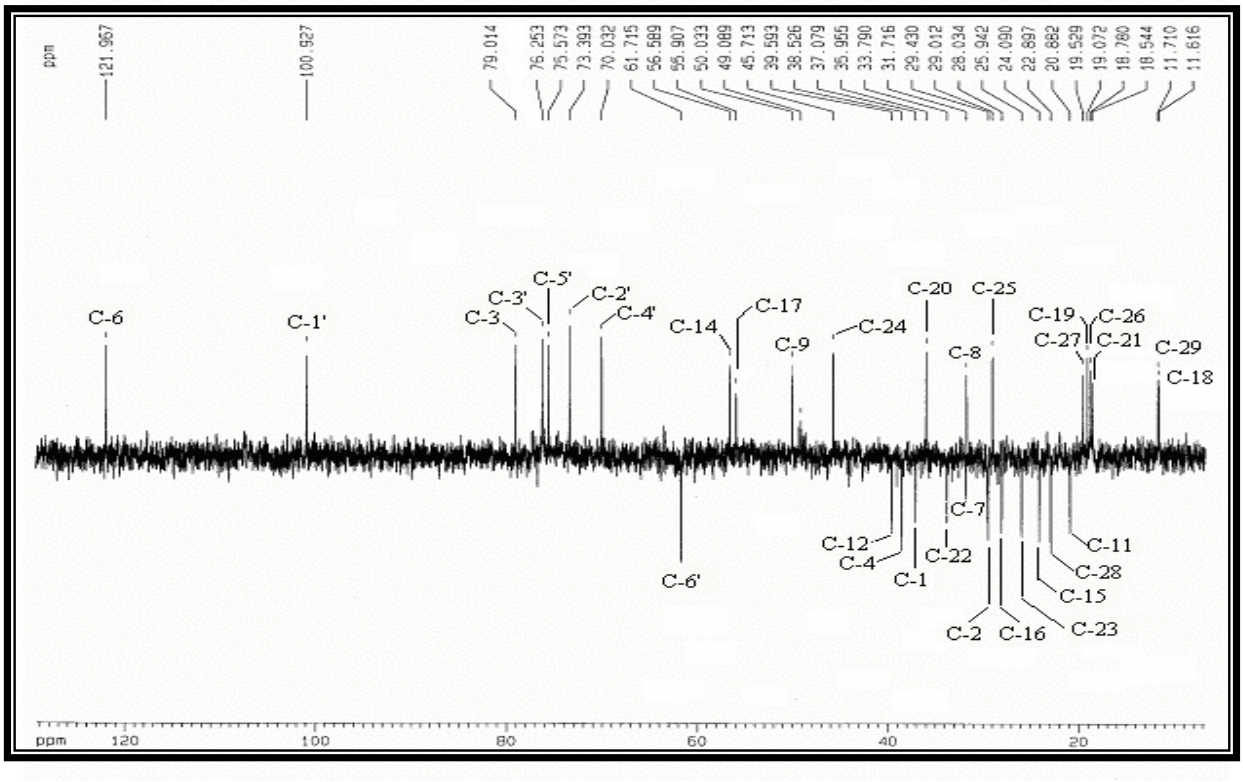


Figure N°III-20 : Spectre RMN ^{13}C DEPT du composé $\mathbf{OA_3}$

Les déplacements chimiques des autres carbones de la partie aglycone de cette saponine sont presque identiques aux déplacements chimiques des carbones du composé $\mathbf{OA_2}$ décrit précédemment, sauf en ce qui concerne le déplacement chimique du C-3.

L'expérience COSY H-H du composé $\mathbf{OA_3}$ permet aussi de retrouver comme pour le composé $\mathbf{OA_2}$, toutes les corrélations permettant de caractériser la partie aglycone.

Les déplacements chimiques des protons et des carbones de la partie aglycone sont rassemblés dans le tableau III-5.

N°	δ_C (ppm)	δ_H (ppm)	J (Hz)
1 (CH_2)	37.079	1.89 *m*, 1.09 *m*	-
2 (CH_2)	29.430	1.61 *m*, 1.92 *m*	-
3 (CH)	79.014	3.63 *m*	-
4 (CH_2)	38.526	2.30 *m*, 2.42 *m*	-
5 (C)	140.15	-	-
6 (CH)	121.96	5.41 *dl*	-
7 (CH_2)	31.716	1.52 *m,* 2.01 *m*	-
8 (CH)	31.716	1.48 *m*	-
9 (CH)	50.033	0.97 *m*	-
10 (C)	36.548	-	-
11 (CH_2)	20.882	1.5 *m*	-
12 (CH_2)	39.593	2.1 *m*, 1.10 *m*	-
13 (C)	42.166	-	-
14 (CH)	56.589	1.07 *m*	-
15 (CH_2)	24.090	1.08- 1.60	-
16 (CH_2)	28.034	1.20 *m*, 1.77 *m*	-
17 (CH)	55.907	1.08 *m*	-
18 (CH_3)	11.616	0.73 *s*	-
19 (CH_3)	19.072	1.02 *s*	-
20 (CH)	35.955	1.35 *m*	-
21 (CH_3)	18.544	0.93 *d*	6.3
22 (CH_2)	33.790	1.02, 1.32 *m*	-
23 (CH_2)	25.942	1.15 *m*	-
24 (CH)	45.713	0.96 *m*	-
25 (CH)	29.012	1.70 *m*	-
26 (CH_3)	18.78	0.79-0.90 *m*	-
27 (CH_3)	19.529	0.79-0.90 *m*	-
28 (CH_2)	22.897	1.21-1.32 *m*	-
29 (CH_3)	11.710	0.79-0.90 *m*	-

Tableau III-5

3.3.2. *Identification de la partie osidique*

La présence d'un proton résonnant à 4.41 ppm sous forme d'un doublet (J =7.9 Hz) suggère la présence d'un sucre, le signal en question est caractéristique d'un proton anomérique.

L'expérience COSY H-H permet, à partir de ce proton anomérique l'attribution de tous les autres protons.

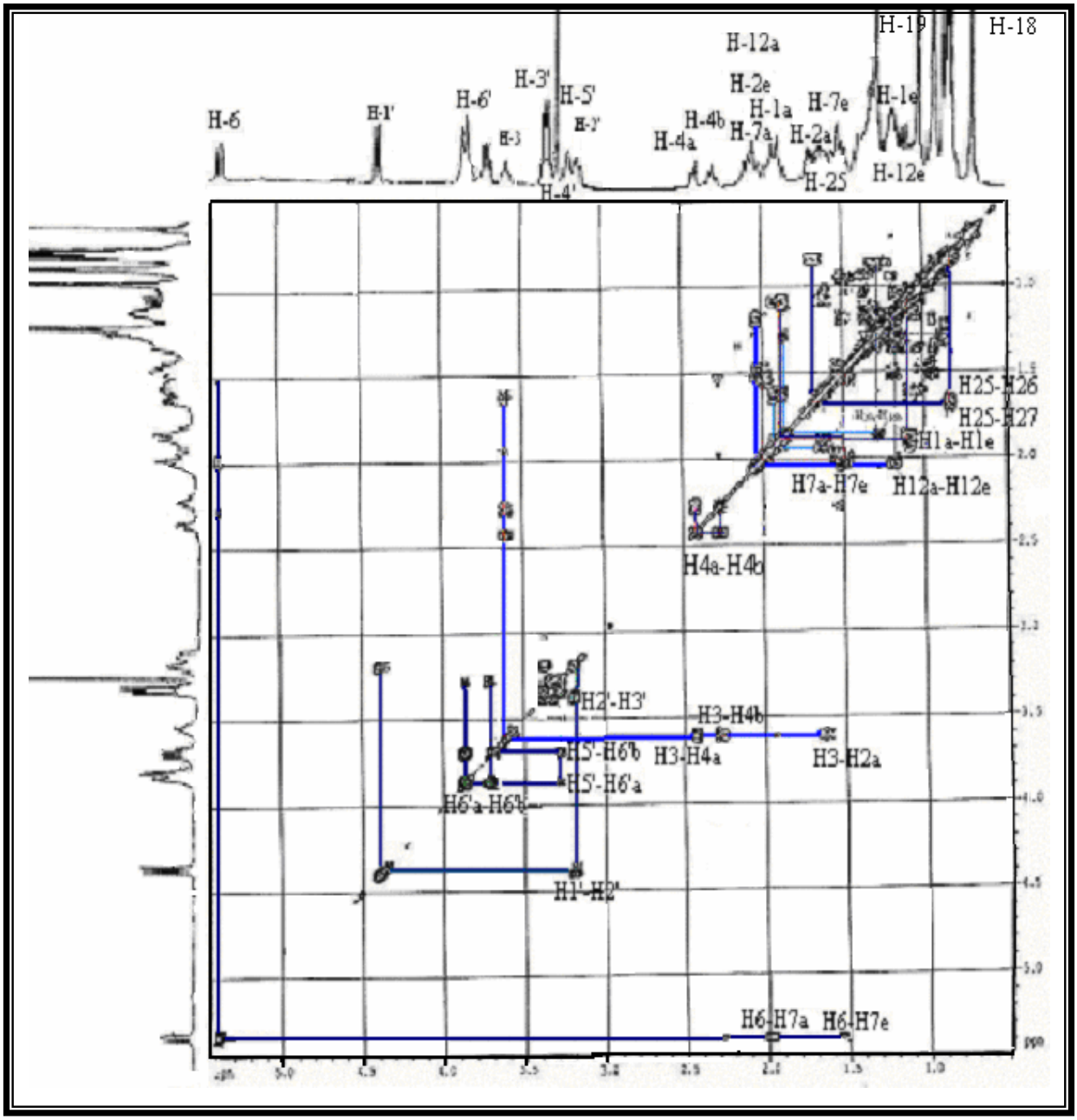


Figure N°III-21:Spectre COSY H-H du composé OA_3

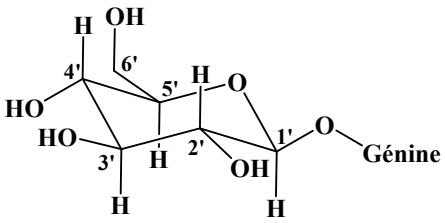
En effet, l'expérience montre les couplages suivants :

- Le proton anomère H-1' et le proton H-2' résonnant à δ_H =3.20 ppm.
- Le proton H-2' et le proton H-3' résonnant à δ_H =3.39 ppm.
- Le proton H-3' et le proton H-4' résonnant à δ_H =3.32 ppm.
- Le proton H-4' et le proton H-5' résonnant à δ_H =3.28 ppm sous forme de multiplet.

- Le proton H-5' et deux protons résonnant à δ_H =3.77 ppm et δ_H =3.89 ppm sous forme de doublet de doublet attribués respectivement aux protons H-6'a et H-6'b.

Ce qui permet donc d'identifier un hexose. Les grandes taches de corrélation traduisant de grandes constantes de couplage (7.9 Hz), indiquent que l'hexose en question est un glucose de configuration β.

L'analyse du spectre RMN ^{13}C dans la région 61-101 ppm montre la présence de six signaux correspondant aux carbones du sucre.



β-Glucose

Les déplacements chimiques des protons et des carbones de la partie osidique sont présentés dans le tableau III-6.

N° de Carbone	δ_c (ppm)	δ_H (ppm)
1' (CH)	100.92	4.41 *d*
2' (CH)	73.39	3.20 *m*
3' (CH)	76.25	3.39 *m*
4' (CH)	70.03	3.32 *m*
5' (CH)	75.57	3.28 *m*
6' (CH_2)	61.71	3.77 *dd*
		3.89 *dd*

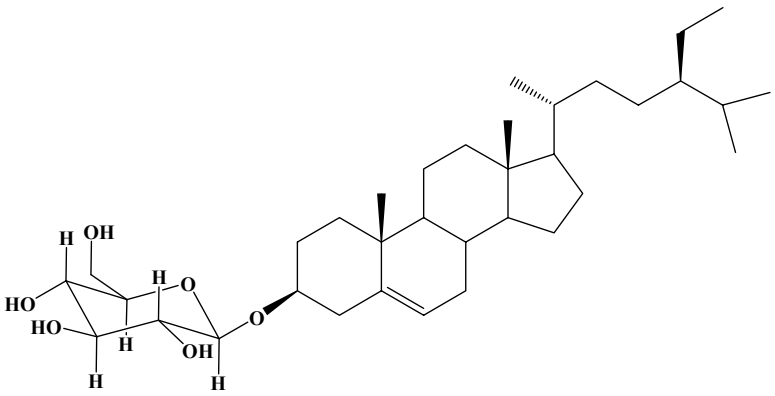
Tableau III-6

Le tableau N III-7 reproduit les déplacements chimiques des carbones et protons du composé **OA_3**.

N°	δ_C (ppm)	δ_H (ppm)
Aglycone		
1 (CH_2)	37.079	1.89, 1.09
2 (CH_2)	29.430	1.61, 1.92
3 (CH)	79.014	3.63
4 (CH_2)	38.526	2.3, 2.42
5 (C)	140.15	-
6 (CH)	121.96	5.41
7 (CH_2)	31.716	1.52, 2.01
8 (CH)	31.716	1.48
9 (CH)	50.033	0.97
10 (C)	36.548	-
11 (CH_2)	20.882	1.5
12 (CH_2)	39.593	2.10, 1.10
13 (C)	42.166	-
14 (CH)	56.589	1.07
15 (CH_2)	24.090	1.08-1.60
16 (CH_2)	28.034	1.20, 1.77
17 (CH)	55.907	1.08
18 (CH_3)	11.616	0.73
19 (CH_3)	19.072	1.02
20 (CH)	35.955	1.35
21 (CH_3)	18.544	0.93
22 (CH_2)	33.790	1.02, 1.32
23 (CH_2)	25.942	1.15
24 (CH)	45.713	0.96
25 (CH)	29.012	1.70
26 (CH_3)	18.78	0.79-0.90
27 (CH_3)	19.529	0.79-0.90
28 (CH_2)	22.897	1.21-1.32
29 (CH_3)	11.710	0.79-0.90
Glucose		
1' (CH_2)	100.927	4.41
2' (CH_2)	73.393	3.20
3' (CH_2)	76.253	3.39
4' (CH_2)	70.032	3.32
5' (CH_2)	75.573	3.28
6' (CH_2)	61.715	3.77
		3.89

Tableau III-7 : les déplacements chimiques des C et des H du composé ***OA_3***

Toutes ces données spectrales comparées avec celles de la littérature [2,4,5] permettent de confirmer la structure suivante :



Sitostérol -β-Glucoside

Références bibliographiques

[1] Jean Bruneton,

Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes médicinales**,** 3e édition, Tec&Doc., Paris, **1999**.

[2] H. Kojima, N. Sato, A. Hatano, H. Ogura.

Phytochemistry, Vol. 29 (7), 2351-2355, **1990**.

[3] Robert A. Moreau, Bruce D. Whitaker, Kevin B. Hicks,

*Progress in Lipid Research***,** Vol. 41, 457-500, **2002.**

[4] A. Lendl, I. Werner, S. Glasl, C. Kletter, P. Mucaji, A. Presser, G. Reznicek,

Phytochemistry, Vol. 66(19) ,2381-2387,**2005**.

[5] Pawan K. Agrawal

Phytochemistry, Vol. 31(10) ,3307-3330,**1992**.

CONCLUSION

Dans la présent travail, nous nous somme intéressés par l'étude phytochimique d'une plante endémique du Sahara septentrional; *Oudneya africana* R.Br., appartenant à la famille des Brassicacées.

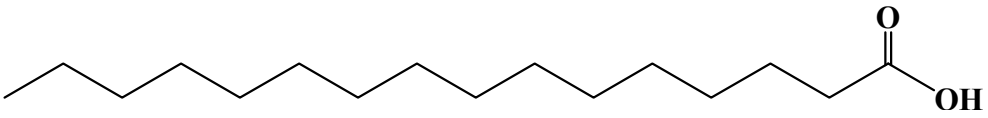
Malgré l'importance biologique et médicinale d'*Oudneya africana*, cette espèce a été très peu étudiée. La seule étude chimique antérieure sur cette espèce a mentionné la présence de trois isoflavonoïdes.

Dans notre étude la séparation et la purification de l'extrait chloroformique sur colonnes de gel de silice, a permis d'isoler différentes molécules : un acide gras **OA_1**, un stérol **OA_2** et une saponine stéroïdique **OA_3**.

L'élucidation de ces structures a été réalisée au moyen des méthodes d'analyses modernes RMN mono et bidimensionnel (COSY, HMBC, HSQC), IR ainsi que la spectrométrie de masse EI et ESI.

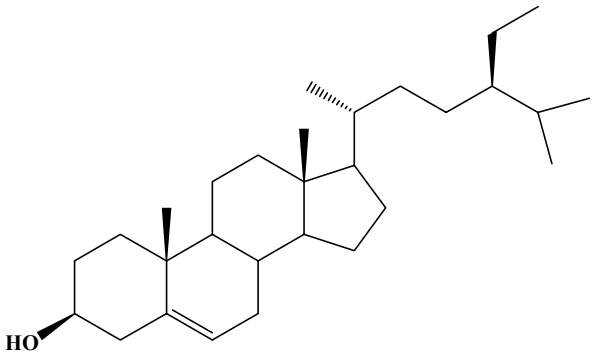
L'étude phytochimique menée sur *Oudneya africana* a permis donc l'isolement et la détermination structurale de ces trois composés :

- Un acide gras ; l'acide Palmitique.



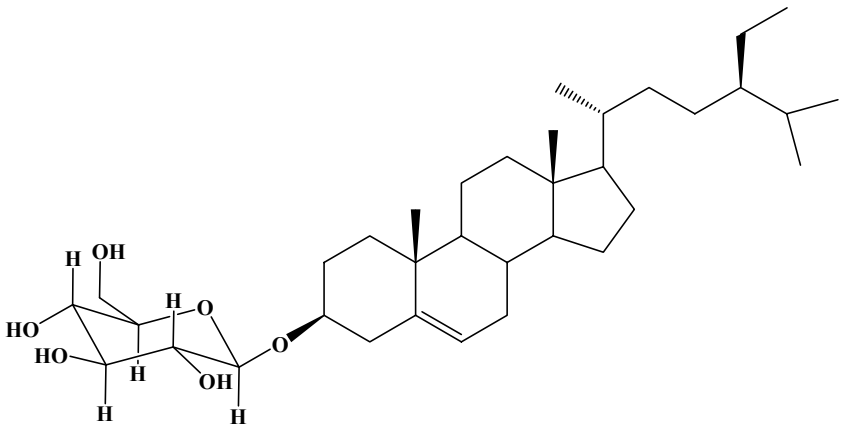
Composé OA_1 : Acide palmitique

- Un phytostérol ; le β-sitostérol.



Composé OA_2 : β-sitostérol

- Une saponine stéroidique ; le β-sitostérol-β-O-Glucopyranoside.



Composé OA_3: β-sitostéroline

CHAPITRE IV

PARTIE EXPERIMENTALE

1. *Généralités*

Les Chromatographies analytiques sur Couches Minces **CCM** ont été effectuées sur plaques de silice Kieselgel 60 F_{254} Merck à support aluminium

Les chromatographies sur colonne sont réalisées sur silice 60 Kieselgel (320-400-mesh)

Les solvants utilisés sont des solvants du commerce : l'éther de pétrole, le chloroforme, l'acétate d'éthyle et le méthanol sont distillés au préalable.

Les spectres IR sont enregistrés dans des pastilles de KBr sur un appareil de type Jasco FT/IR-4100 du Département de Chimie, de l'Université de Batna.

Les spectres de résonance magnétique nucléaire du proton (RMN ^{1}H) mono et bidimensionnel (1D, 2D) sont enregistrés dans le $CDCl_3$ et CD_3OD sur un appareil Bruker (400 et 500 MHz) du centre de recherche HEJ de l'Université de Karachi, Pakistan.

Les spectres de résonance magnétique nucléaire du carbone 13 (RMN ^{13}C) et la séquence DEPT 135 sont enregistrés dans le $CDCl_3$ et CD_3OD sur un appareil Brucker (100 et 125 MHz) du centre de recherche HEJ de l'Université de Karachi, Pakistan.

Les spectres de masse (composé OA_1 et OA_2) sont enregistrés en EI (**E**lectron **I**mpact) sur un spectromètre de masse du type Jeol JMS 600, du centre de recherche HEJ de l'Université de Karachi, Pakistan.

Le spectre de masse du composé OA_3 est enregistré en électroflash ESI (**E**lectron **S**pray **I**onisation), en modes négatif et positif, sur un spectromètre de masse Brucker LC-MS/MS, du centre de recherche sur les substances naturelles UMS, Toulouse, France.

2. *Matériel végétal*

L'identification de la plante a été réalisée par le botaniste Ahmed SEGA, responsable du musée naturel de Golea.

La récolte a été faite au mois de mars 2003, en période de floraison, dans la région de Ghardaïa. L'étude chimique a été effectuée sur la partie aérienne de cette espèce.

3. *Extraction*

Les parties aériennes (1 Kg) de cette plante séchées puis finement broyées, sont mises à macérer pendant 24 heures dans un mélange méthanol-eau (80 :20 *v/v*). Cette opération est répétée trois fois. Après filtration et concentration à chaque fois. La phase aqueuse obtenue est extraite plusieurs fois à l'éther de pétrole. Les phases étheropétroliques sont réunies et séchées sur sulfate de sodium puis évaporées à sec, pour donner 4 g de l'extrait étheropétrolique. La phase aqueuse est alors reprise par le chloroforme selon le même protocole, donnant ainsi 9.7 g de l'extrait chloroformique.

Enfin, elle est épuisée par le butanol. Après séchage par Na_2SO_4 et filtration suivie de concentration, 30 g de l'extrait Butanolique ont été obtenus

4. *Contrôle chromatographique*

Les trois extraits obtenus ont été soumis à une chromatographie sur couche mince, en utilisant différents systèmes : Ether de pétrole / AcOEt, $CHCl_3$ / MeOH et BAW (4/1/5).

4.1. *L'extrait éthéropétrolique*

Les Chromatographies sur Couche Mince (CCM) effectuées sur l'extrait éthéropétrolique dans les systèmes de solvants : éther de pétrole / acétate d'éthyle 95/5, 80/20, montrent trois taches visibles vertes caractéristiques des chlorophylles et d'autres taches apparemment des graisses qui apparaissent après vaporisation par la vanilline sulfurique suivie par un chauffage à 100 °C.

4.2. *L'extrait chloroformique*

L'extrait chloroformique est analysé par Chromatographie sur Couche Mince dans les systèmes : éther de pétrole / acétate d'éthyle 7/3, 5/5 et 6/4. Les CCM sont examinées sous la lumière UV à 254 et 366 nm et révélées par la vanilline sulfurique. La révélation montre plusieurs taches dont deux sont majoritaires

4.3. *L'extrait butanolique*

L'analyse par CCM de l'extrait butanolique dans les systèmes d'élution suivants : MeOH / $CHCl_3$ avec les proportions, 80 / 20, 50 / 50 et BAW 4/1/1. Permet d'observer plusieurs petites taches empêtrées dans une traînée de couleur marron.

5. *Etude de l'extrait chloroformique*

La séparation et la purification ont été réalisées par chromatographie sur colonne de gel de silice en phase et pression normales.

5.1 *Séparation*

Une prise de **4 g** de l'extrait chloroformique est soumise à une chromatographie sur colonne de gel de silice (**160 g**). L'élution est réalisée au moyen d'un mélange éther de pétrole / acétate d'éthyle puis acétate d'éthyle / méthanol de polarité croissante, et enfin par du méthanol pur. Des fractions de 50 ml sont collectées. Les fractions obtenues sont rassemblées dans le tableau **IV-1**

Fractions	Eluant de la colonne	Observations en CCM
0-8	éther de pétrole pur éther de pétrole / AcOEt	Néant
9-14	99 / 1	Néant
15-18	97 / 3	Mélange de 3 taches
19-29	97 / 3	Mélange complexe
30-46	95 / 5	Deux taches + traînée

47-50	95 / 5	Tache +traînée
51-68	95 / 5	Tache +traînée
69-75	93 / 7	Deux taches + traînée
76-88	93 / 7	Mélange de 4 taches
89-100	90 / 10	Mélange complexe
101-114	90 / 10	Traînée
115-128	90 / 10	Traînée
129-145	80 / 20	Mélange complexe
146-187	80 / 20	Mélange complexe
188-198	70 / 30	Mélange complexe
199-205	70 / 30	Traînée marron
206-236	50 / 50	Mélange complexe
237-245	50 / 50	Traînée marron
246-254	70 / 30	Deux taches + traînée
255-264	90 / 10	Taches Maj. + traînée
265-271	Acétate d'éthyle pur	Taches Maj. + traînée
	AcOEt / méthanol	
272-287	99 / 1	Mélange complexe
288-296	95 / 5	Mélange complexe
297-309	90 / 10	Traînée
310-320	50 / 50	Traînée
321-328	30 / 70	Néant
328-330	Méthanol	Néant

Tableau IV-1 : Fractionnement de l'extrait Chloroformique**.**

Ces différentes fractions subissent une chromatographie sur CCM, puis examinées sous la lumière UV et révélées par les vapeurs d'iode et la vanilline sulfurique. Les fractions de cette colonne qui présentent des similitudes sont réunies en 19 lots (Tableau **IV-2**)

N° du lot	Fractions	Poids (mg)	Observations
1	0-14	00	Néant
2	15-18	26.5	Mélange de 3 taches
3	19-29	66.2	Mélange complexe
4	30-46	36	Deux taches + traînée
5	**47-68**	**100**	**Tache +traînée**
6	**69-75**	**65.6**	**Deux taches + traînée**
7	76-88	165.7	Mélange de 4 taches
8	89-100	147.3	Mélange complexe
9	101-128	142	Traînée
10	129-198	112.4	Mélange complexe
11	199-205	117	Traînée marron
12	206-236	276	Mélange complexe
13	237-245	305	Traînée marron
14	246-254	41	Deux taches + traînée
15	**255-271**	**95.5**	**Taches Maj. + traînée**
16	272-287	260	Mélange complexe
17	288-296	450	Mélange complexe
18	297-320	505	Traînée marron
19	321-330	00	Néant

Tableau IV-2 : Rassemblement des fractions de l'extrait Chloroformique.

5.2. ***Purification***

Les **19** lots sont ensuite examinés par chromatographie sur couche mince dans les systèmes de solvants acétate d'éthyle / éther de pétrole et $CHCl_3$ / MeOH avec différentes proportions, ce qui nous a permis la sélection des lots N° **5**, **6** et **15**.

5.1.1. *Etude du lot N° 5*

Le lot N° **5** de masse égale à 100 mg, est chromatographié sur colonne de gel de silice (4g). La purification de ce lot a été effectuée selon le tableau **IV-3**.

Fractions	Eluant de la colonne	Observations en CCM
1-5	Ether de pétrole	Néant
	Ether de pétrole / AcOEt	
6-10	99 / 1	Néant
11-21	97 / 3	Traînée
22-36	95 / 5	Tache + petite traînée
37-48	95 / 5	Tache + petite traînée
49-54	90/10	Mélange complexe
55-63	80/20	Néant

Tableau IV-3

Les fractions semblables sont regroupées en 5 sous lots (Tableau **IV-4**)

N° du lot	fractions	Poids (mg)	Observations en CCM
1	1-10	00	Néant
2	11-21	10	Traînée
3	**22-48**	**53**	**Tache + petite traînée**
4	49-54	31	Mélange complexe
5	55-63	00	Néant

Tableau IV-4

Une nouvelle chromatographie sur colonne de gel de silice (éther de pétrole / AcOEt : 95/5) réalisée sur 53 mg du sous lot N° **3**, a permis d'isoler à l'état pur le composé $\mathbf{OA_2}$. Sa pureté est certifiée par CCM dans différents éluant, qui montrent une tache de couleur verte après révélation par le réactif de LIBERMMAN et chauffage ; coloration qui atteste de la présence d'un stérol.

5.1.2. *Etude du lot N° 6*

65.6 mg du lot N° **6** ont été chromatographiés sur colonne de gel de silice (**2g**). L'étude de ce lot a été effectuée comme suit (Tableau **IV-5**)

Fractions	Eluant de la colonne	Observations en CCM
	Ether de pétrole / AcOEt	
0-11	99 / 1	Néant
12-18	97 / 3	Traînée
19-52	99 / 5	Tache + petite traînée
53-67	93 / 7	Mélange complexe
68-75	90 / 10	Néant

Tableau IV-5

Les fractions présentant des analogies ont été rassemblées en 5 sous lots.

N° du lot	Fractions	Poids (mg)	Observations en CCM
1	0-11	00	Néant
2	12-18	12	Traînée
3	**19-52**	**23**	**Tache + petite traînée**
4	53-67	28	Mélange complexe
5	6875	00	Néant

Tableau IV-6

Le sous lots N° **3** filtré sur colonne de gel de silice, dans le mélange éther de pétrole / acétate d'éthyle (95 / 5) a donné le composé $\boldsymbol{OA_1}$ pur (17mg).

5.1.3. *Etude du lot N° 15*

Le lot N° **15** (95.5 mg) a subi une précipitation dans le méthanol, le précipité obtenu (54 mg) est chromatographié sur colonne de gel de silice. L'élution a été faite au moyen d'un gradient acétate d'éthyle dans l'éther de pétrole: 50 / 50, 40 / 60, 30 / 70, et enfin par l'acétate d'éthyle pur (Tableau **IV-7**).

Fractions	Eluant de la colonne	Observations en CCM
	Ether de pétrole / AcOEt	
0-8	50 / 50	Néant
9-14	40 / 60	Traînée
15-34	30 / 70	Mélange complexe
35-47	30 / 70	Tache + traînée
48-57	10 / 90	Tache + traînée
58-64	Acétate d'éthyle	Traînée
65-71	//	Néant

Tableau IV-7

Les fractions similaires sont regroupées en **5** sous lot dans le tableau suivant :

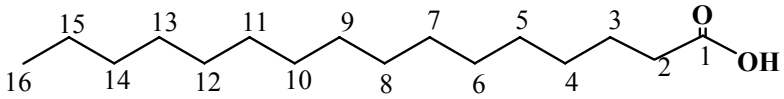
N° du lot	fractions	Poids (mg)	Observations en CCM
1	0-8	00	Néant
2	9-14	09	Traînée
3	15-34	15	Mélange complexe
4	**35-57**	**12**	**Tache + traînée**
5	58-64	10	Traînée
6	65-71	05	Néant

Tableau IV-8

Le sous lot N° **4** soumis à une nouvelle chromatographie sur gel de silice (Elution : éther de pétrole / AcOEt 30/70), a permis d'isoler le composé OA_3 a l'état pur (**7** mg).

6. *Caractéristiques spectrales des composés*

6.1. *Composé OA_1*



Formule brute : $C_{16}H_{32}O_2$

Nom systématique : Acide hexadécanoïque.

Nom trivial : Acide palmitique.

Masse moléculaire : 256.

Comportement chromatographique :

- Rf = 0.65 (système d'élution : éther de pétrole / acétate d'éthyle 90/10 *v/v*)
- Invisible sous la lumière UV.
- Coloration avec la vanilline sulfurique : rose claire.

Spectre RMN ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$, TMS)

2.32 (2H, *t*, *J*=7.4 Hz, H-2)

1.61 (2H, *quin*, *J*=7.2 Hz, H-3)

1.24 (24H, *sl*)

0.86 (3H, *t*; *J*=6.6 Hz, H-16)

Spectre IR: (KBr) cm^{-1}

2914.88, 2849.30 cm^{-1}(CH), 1698.02 cm^{-1} (C=O), 3405.67 (OH)

Spectre de masse: (m/z)

$[M]^+ = 256.1$.

$[M–CO]^+ = 228$.

$[M–CO–Me]^{+\cdot} = 213$.

$[M– CO –C_3H_7]^{+\cdot} = 185$.

6.2. *Composé OA_2 :*

Formule brute : $C_{29}H_{50}O$

Nom systématique : 24-éthyl-cholest-5-èn-3-ol ou Stigmast-5-èn-3β-ol.

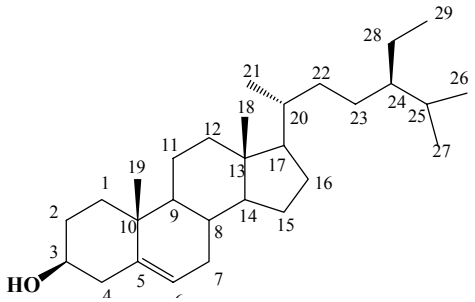
Nom trivial : β-sitostérol.

Synonyme : Nimbostérol, Cupréol, Québrachol, Rhamnol, Vérostérol, Slanutostérol, Raphanistérol, Papaveristérol, Angélicine.

Masse moléculaire : 414.

Etat physique : Cristaux.

Point de fusion : Pf = 136-137 °C.



Comportement chromatographique :

- Rf = 0,54 (système d'élution : éther de pétrole/acétate d'éthyle 90/10 *v/v*)
- Invisible sous la lumière UV.
- Coloration avec la vanilline sulfurique : rose foncée.

Spectre RMN ^{1}H: (500 MHz, $CDCl_3$, TMS)

1.79 (1H, *m*, H-1a), 1.05 (1H, *m*, H-1 e)

1.42 (1H, *m*, H-2a), 1.80 (1H,*m*, H-2e)

3.45 (1H, *m*, H-3)

2.27 (2H, *m*, H-4)

5.26 (1H, *dl*, H-6)

1.92(1H, *m*, H-7a), 1.47(1H, *m*, H-7e)

1.39-1.55 (1H, *m*, H-8)

0.81-0.89 (1H, *m*, H-9)

1.36-1.58 (2H, *m*, H-11)

1.98 (1H, *m*, H-12a), 1.10 (1H, *m*, H-12e)

0.91-0.99 (1H, *m*, H-14)

1.49-1.58 (2H, *m*, H-15)

1.79 (1H, *m*, H-16a), 1.22 (1H, *m*, H-16e)

1.03-1.08 (1H, *m*, H-17)

0.67 (3H, *s*, H-18)

1.00 (3H, *s,* H-19)

1.26-1.35 (1H, *m*, H-20)

0.92 (3H, *d*, *J*=6.3 Hz, H-21)

0.95-1.05 (1H, *m*, H-22a), 1.20-1.30 (1H, *m*, H-22b)

1.08-1.19 (2H, *m*, H-23)

0.81-0.89 (1H, *m*, H-24)

1.63 (1H, *m*, H-25)

0.75- 0.85 (6H, *m*, H-26, H-27, H-29)

1.20 (2H, *m*, H-28)

Spectre RMN ^{13}C (125 MHz, $CDCL_3$, TMS)

36.52 (CH_2-1); 29.70 (CH_2-2); 71.82 (CH-3); 37.03 (CH_2-4); 140.78 (C-5); 121.72 (CH-6); 31.70 (CH_2-7); 31.94 (CH-8); 50.17 (CH-9); 33.98 (C-10); 21.19 (CH_2-11); 39.80 (CH_2-12); 42.34 (C-13); 56.53 (CH-14), 24.31 (CH_2-15); 28.25 (CH_2-16); 54.40 (CH-17); 11.90 (CH_3-18); 19.40 (CH_3-19); 36.16 (CH-20); 18.84 (CH_2-21); 34.00 (CH_2-22); 26.13 (CH_2-23); 44.90 (CH-24); 29.20 (CH-25); 19.00 (CH_3-26); 19.80 (CH_3-27); 23.10 (CH_2-28), 12.00 (CH_3-29).

Spectre IR: (KBr) cm^{-1}

2943.8, 2863.7 cm^{-1} (CH), 1639.2 cm^{-1} (C=C), 3421.1 cm^{-1} (OH)

Spectre de masse: (m/z)

$[M]^+ = 414$

$[M-H_2O]^+ = 396$

$[M-Me-H_2O]^{+\cdot} = 381.1$

$[M-C_{10}H_{21}]^{+\cdot} = 272.9$

6.3. ***Composé OA_3:***

Formule brute: $C_{35}H_{60}O_6$

Nom systématique : 24-éthyl-cholest-5-èn-3-O- β-D-glucopyranosyl.

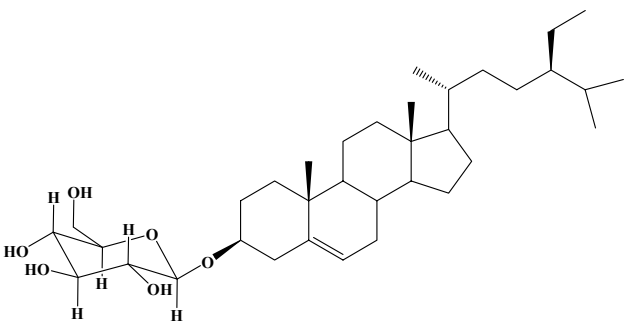
Nom trivial : β-Sitoglucoside.

Synonyme : Daucostérol, Eleuthéroside A, Alexandrine, Sitogluside, Sitostéroline

Masse moléculaire : 576.

Etat physique : solide blanc.

Point de fusion: Pf = 283-286 °C.



Comportement chromatographique:

- Rf = 0.60 (système d'élution : $CHCl_3$ / MeOH 80/20 *v/v*)
- Invisible sous la lumière UV.
- Coloration avec la vanilline sulfurique : rose foncée.

Spectre RMN ^1H (400 MHz, $CDCL_3$ + MeOD, TMS)

La génine:

1.89 (1H, *m*, H-1a), 1.09 (1H, *m*, H-1e)

1.61 (1H, *m*, H-2a), 1.92 (1H, *m*, H-2e)

3.63 (1H, *m*, H-3)

2.30 (1H, *m*, H-4a), 2.42 (1H, *m*, H-4b)

5.41 (1H, *dl*, H-6)

2.01(1H, *m*, H-7a), 1.52 (1H, *m*, H-7e)

1.48 (1H, *m*, H-8)

0.97 (1H, *m*, H-9)

1.5 (2H, *m*, H-11)

2.1 (1H, *m*, H-12a), 1.10 (1H, *m*, H-12e)

1.07 (1H, *m*, H-14)

1.08-1.60 (2H, *m*, H-15)

1.77 (1H, *m*, H-16a), 1.20 (1H, *m*, H-16e)

1.08 (1H, *m*, H-17)

0.73 (3H, *s*, H-18)

1.02 (3H, *s*, H-19)

1.35 (1H, *m*, H-20)

0.93 (3H, *d*, *J*=6.3, H-21)

1.02-1.32 (2H, *m*, H-22)

1.15 (2H, *m*, H-23)

0.96 (1H, *m*, H-24)

1.60-1.75 (1H, *m*, H-25)

0.79-0.90 (6H, *m*, H-26, H-27, H-29)

1.21-1.32 (2H, *m*, H-28)

Le Glucose:

4.41 (1H, *d, J*=7.9 Hz, H-1')

3.2 (1H, *m*, H-2')

3.39 (1H, *m*, H-3')

3.32 (1H, *m*, H-4')

3.28 (1H, *m*, H-5')

3.77 (1H, *dd*, *J*=3.16, 12Hz, H-$6_{a'}$); 3.89 (1H, *dd*, *J*=3.16, 12Hz, H-$6_{b'}$)

Spectre RMN ^{13}C (100 MHz, $CDCL_3$ + CD_3OD, TMS)

La Génine: 37.07 (CH_2-1); 29.43 (CH_2-2); 79.01 (CH-3); 38.52 (CH_2-4); 140.15 (C-5); 121.96 (CH-6); 31.71 (CH_2-7); 31.71 (CH-8); 50.03 (CH-9); 36.54 (C-10); 20.88 (CH_2-11); 39.59 (CH_2-12); 42.16 (C-13); 56.58 (CH-14), 24.09 (CH_2-15); 28.03 (CH_2-16); 55.90 (CH-17); 11.61 (CH_3-18); 19,.07 (CH_3-19); 35.95 (CH-20); 18.54 (CH_2-21); 33.79 (CH_2-22); 25.94 (CH_2-23); 45.71 (CH-24); 29.01 (CH-25); 18.78 (CH_3-26); 19.52 (CH_3-27); 22.89 (CH_2-28), 11.71(CH_3-29).

Le Glucose: 100.92 (CH-1'); 73.39 (CH-2'); 76.25 (CH-3'); 70.03 (CH-4'); 75.57 (CH-5'); 61.71 (CH_2-6').

Spectre IR: (KBr) cm^{-1}

3398.9 cm^{-1} (OH); 2929.34, 2856.06 cm^{-1} (CH), 1647.75 cm^{-1} (C=C)

Spectre de masse: (m/z)

$[M+Na]^+$ = 599.5.

$[M+K]^+$ = 615.5.

$[M+Cl]^-$ = 611.5.

مـلـخـص:

هذا العمل مخصص للدراسة الكيميائية النباتية للجنس *Oudneya africana* الذي ينتمي إلى العائلة النباتية Brassicaceae و المتواجد بالصحراء ا لشمالية الإفريقية.

مختلف طرق الاستخلاص، الفصل و التنقية أجريت على الجزء العلوي لهذه النبتة. و قد سمحت هذه الدراسة بالحصول على ثلاث مركبات: l'acide palmitique , β-Sitostérol وβ-Sitostéroline .

تم التعرف على بنية هذه المركبات باستخدام طرق التحليل الفيزيائي الحديثة (MS-ESI, MS-EI ,RMN ^{1}H, RMN ^{13}C).

و قد عرضا هذه الدراسة حسب المحاور التالية :

- دراسة ببليوغرافية على العائلة النباتية Brassicaceae و الجنس *Oudneya africana* *خاصة فيما يتعلق بمركبات الأيض الثانوي و أهميتها البيوطبية.*
- نظرة عامة حول الستيرويدات و الصابونينات.
- مناقشة النتائج المتحصل عليها.

كلمـــــــات المفتاح:

Brassicaceae, *Oudneya africana*، الستيرويدات،RMN

Résumé :

Le présent travail est consacré à l'étude phytochimique de l'espèce *Oudneya africana*, plante endémique, qui appartient à la famille des Brassicacées et qui se trouve notamment en Sahara septentrional.

Les différentes méthodes d'extraction, de séparation et de purification ont été réalisées sur les parties aériennes de cette plante. Ces travaux ont permis l'isolement de trois composés : un acide gras ; l'acide palmitique, un stérol ; le β-Sitostérol et une saponine stéroïdique ; la β-Sitostéroline.

L'élucidation des structures des différents composés est réalisée au moyen des techniques physico-chimiques modernes (RMN ^{1}H et RMN ^{13}C, MS-EI, MS-ESI)

Dans cette étude phytochimique, nous avons présenté :

- Les travaux antérieurs réalisés sur la famille de Brassicaceae et l'espèce *Oudneya africana*, notamment les principaux métabolites secondaires et leurs intérêts thérapeutiques.
- Un aperçu général sur les phytostérols et les saponines.
- Présentation et interprétation des résultats obtenus

Mots clés :

Oudneya africana, Brassicaceae, phytostérols, saponine stéroïdique, RMN