



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE COLONEL EL HADJ LAKHDAR BATNA

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE CHIMIE



MEMOIRE

POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE MAGISTER

Spécialité : Chimie

Présenté par :

BOUREZZANE SAWSEN

THEME

**ETUDE PHYTOCHIMIQUE DE LA
PLANTE *SANTOLINA
ROSMARINIFOLIA L.***

Devant le jury composé de :

BOUZAHER Yacine	Pr. Université de Batna	Président
DIBI Amar	Pr. Université de Batna	Rapporteur
ABERKANE M ^{ed} Cherif	M.C Université de Batna	Examineur
AL-HILLO Malek Rasoul Yacine	Pr. Université d'Oum El Bouaghi	Examineur
BENKHALED Mohammed	Pr. Université de Batna	Examineur

Année Universitaire : 2009-2010

Remerciements

J'ai eu la chance d'effectuer ce travail de recherche au laboratoire de chimie et chimie de l'environnement (LCCE) du département de chimie, faculté des sciences, Université El Hadj Lakhdar de Batna, sous la direction de Monsieur le Professeur **DIBI Ammar**.

Tout d'abord je tiens à le remercier pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire de chimie et d'avoir mis à ma disposition les moyens nécessaires pour réaliser ce travail. Pour son soutien et sa grande générosité qu'il soit assuré de ma profonde gratitude.

Je remercie sincèrement Monsieur le Docteur **ABERKANE Mohammed Cherif**, qu'il trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance. Sa gentillesse et sa disponibilité, ses compétences techniques et son efficacité ont fortement contribué à la réalisation de ce travail.

A Monsieur **BOUZAHER Yassine**, je le remercie de l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de présider le jury de ma thèse. Nous connaissons ses grandes qualités professionnelles et humaines.

Mes remerciements s'adressent aux membres du Jury; Monsieur **ABERKANE Mohammed Cherif**, Monsieur **BENKHALED Mohammed** et Monsieur **AL-HILLO Malek Rasoul Yassine** qui ont accepté très spontanément de faire partie de notre jury. Nous leurs sommes très reconnaissants d'avoir bien voulu évaluer ce travail.

Ce travail est le fruit d'une collaboration avec l'école de Rennes, France. Je dois remercier Monsieur **Paul MOSSET**, pour la réalisation des spectres RMN et Masse.

Ma très vive gratitude à Monsieur le Docteur **HABA Hamada**, il a su m'encourager et porter intérêt à ce travail. J'ai pu apprécier l'étendue de ses connaissances, sa disponibilité et ses grandes qualités humaines. Qu'il en soit vivement remercié.

J'adresse de sincères remerciements pour les discussions enrichissantes et suggestions qui ont contribué à ce travail aux Melles **BITAM Fatima**, **ARIF Souad** et **HARKAT Hassina**.

Je remercie aussi tous mes collègues et amis du laboratoire : **Mouna**, **Fouzia**, **Mme ARAR** et **Mme BAGOUR**. Merci à tous pour leur amitié et leur aide précieuse.

Je tiens enfin à redire le plaisir que j'ai eu à travailler au sein du laboratoire (LCCE), et j'en remercie ici tous les membres.

Toutes les personnes m'ayant permis de mener à bien ce travail sont assurées de ma gratitude.

Dédicace

Je dédie ce modeste mémoire spécialement à :

Mes chers Parents

Ma chère sœur Awatef

Mes chers frères : Naim, Rabi et Mouhsine

Mes chères tantes Meriem et Wahiba

Mes cousines et cousins Ahlam, Takieddine, Sara, Yassine et

Rania

Et toute la famille "BOUREZZANE, BENHAYA et BEZIANE"

*Qu'ils trouvent ici l'expression de ma très profonde
affection pour leurs apports quotidiens à la réalisation de ce
travail. Ils m'ont toujours donné l'espoir d'aller de l'avant. Je
m'astreins à un devoir de reconnaissance à l'égard de tous.*

ABREVIATIONS ET SYMBOLES

A, B, C	: désignation des composés naturels isolés dans le présent travail
AcOEt	: acétate d'éthyle
APG	: Angiosperm Phylogeny Group
ATP	: adénosine triphosphate
CDCl₃	: chloroforme deutéré
CHCl₃	: chloroforme
CH₂Cl₂	: dichloro méthane
CC	: chromatographie sur colonne ouverte de silice
CCM	: chromatographie sur couche mince
COSY H-H	: correlation spectroscopy
Cq	: carbone quaternaire
<i>d</i>	: doublet
<i>dd</i>	: doublet de doublet
<i>dl</i>	: doublet large
1D	: monodimensionnel
2D	: bidimensionnel
DMAPP	: diméthylallylpyrophosphate
EI	: impact électronique
EP	: éther de pétrole
Et₂O	: étherdiéthylique
FPP	: farnésylpyrophosphate
GPP	: géranylpyrophosphate
HSQC	: heteronuclear single quantum correlation
HMBC	: heteronuclear multiple bond correlation
Hz	: hertz
IPP	: isopenténylpyrophosphate
IR	: infra-rouge
<i>J</i>	: constante de couplage exprimée en Hz
<i>m</i>	: multiplet
Me	: méthyle
MeOH	: méthanol
ml	: millilitre

mg	: milligramme
MS	: Mass/Spectroscopy
MVA	: mévalonate
<i>m/z</i>	: masse/charge d'un ion
NADPH	: nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
nm	: nanomètre
ppm	: partie par million
<i>quint</i>	: quintuplet
Rf	: Rapport Frontal
RMN	: résonance magnétique nucléaire
RMN ¹H	: résonance magnétique nucléaire du proton
RMN ¹³C	: résonance magnétique nucléaire du carbone 13
<i>s</i>	: singulet
<i>S.</i>	: santolina
SiO₂	: gel de silice normale
ssp	: sous espèce
<i>t</i>	: triplet
<i>tt</i>	: triplet de triplet
TMS	: tétraméthylsilane
UV	: ultra-violet
δ	: déplacement chimique exprimé en ppm
<u>1</u>, <u>2</u>, <u>3</u>, ...	: désignation des composés mentionnés dans la littérature

TABLE DE MATIERES

INTRODUCTION GENERALE.....	01
----------------------------	----

CHAPITRE I- Travaux antérieurs

I.1 Description de la plante étudiée, sa famille et son genre.....	05
I.1.1 Famille des Astéracées.....	05
I.1.1.1 Généralités.....	05
I.1.1.2 Position systématique.....	05
I.1.1.3 Caractères morphologiques généraux.....	05
I.1.2 Genre <i>Santolina</i>	06
I.1.3 Espèce <i>Santolina rosmarinifolia</i> L.....	07
I.1.3.1 Généralités.....	07
I.1.3.2 Caractéristiques botaniques.....	07
I.1.3.3 Classification systématique.....	09
I.2 Propriétés biologiques et pharmacologiques du genre <i>Santolina</i>.....	09
I.2.1 Utilisation en médecine traditionnelle.....	09
I.2.2 Activités biologiques.....	10
I.3 Etudes chimiques antérieures du genre <i>Santolina</i>.....	11

CHAPITRE II- Etude des stéroïdes et phénylpropanoïdes

II.1 Etude des stéroïdes.....	24
II.1.1 Etymologie.....	25
II.1.2 Généralités.....	25
II.1.3 Classification et nomenclature.....	26
II.1.4 Stéréochimie.....	27
II.1.5 Les principaux stéroïdes.....	29
II.1.5.1 Les hormones.....	29
II.1.5.2 Les acides biliaires.....	30
II.1.5.3 Autres composés.....	31
II.1.6 Définition des stérols.....	31
II.1.7 Classification et répartition des stérols.....	32
II.1.8 Définition des phytostérols.....	32
II.1.9 Biosynthèse des stérols.....	33
II.1.10 Propriétés pharmacologiques des stérols.....	43
II.2 Etude des phénylpropanoïdes.....	44
II.2.1 Généralités.....	45
II.2.2 Biosynthèse des phénylpropanoïdes.....	45
II.2.3 Les produits dérivés du métabolisme des phénylpropanoïdes.....	49
II.2.3.1 Les coumarines.....	49
II.2.3.2 Les stilbènes, les flavonoïdes et leurs dérivés.....	49

II.2.3.3 Les dérivés d'acide hydroxycinnamique.....	49
II.2.3.4 La subérine.....	50
II.2.3.5 La lignine.....	50
II.2.4 Intérêts des composés phénylpropanoïdes.....	52

CHAPITRE III- Résultats et discussion

III.1 Extraction de <i>Santolina rosmarinifolia</i> L.....	54
III.2 Séparation et purification.....	55
III.3 Détermination des structures.....	56
III.3.1 Composé A	56
III.3.2 Composé B	66
III.3.3 Composé C	74
CONCLUSION GENERALE.....	75
BIBLIOGRAPHIE.....	78

CHAPITRE IV- Partie expérimentale

IV.1 Généralités.....	86
IV.2 Récolte du matériel végétal.....	86
IV.3 Extraction.....	86
IV.4 Contrôle chromatographique des extraits.....	87
IV.4.1 Extrait étheropétrolique.....	87
IV.4.2 Extrait dichlorométhane.....	87
IV.4.3 Extrait acétate d'éthyle.....	87
IV.4.4 Extrait méthanol.....	87
IV.5 Séparation et purification.....	88
IV.5.1 Traitement de la phase étheropétrolique.....	89
IV.5.2 Etude du lot F22.....	91
IV.5.3 Traitement de la phase acétate d'éthyle.....	92
IV.5.4 Etude du lot F'13.....	94
IV.6 Constantes physiques et données spectrales des composés isolés.....	96
IV.6.1 Composé A	96
IV.6.2 Composé B	98
IV.6.3 Composé C	99

INTRODUCTION GENERALE

Depuis longtemps, les plantes ont présenté un rôle très important pour l'humanité, car elles peuvent synthétiser un grand nombre de molécules organiques complexes dotées souvent d'activités biologiques potentielles. Elles constituent des merveilleuses usines végétales qui nous donnent la joie de guérir par un geste thérapeutique [1]. On s'en sert traditionnellement pour se soigner, se détendre, aromatiser la nourriture et conserver les aliments (ou les morts). Jusqu'à aujourd'hui, l'usage populaire des plantes reste d'une grande importance. D'après les données fournies par l'OMS (Organisation Mondiale de Santé), 80% de la population traitent leurs problèmes de santé par des remèdes traditionnels, d'une part parce qu'elles n'ont souvent pas accès aux médicaments prescrits par la médecine moderne et, d'autre part, parce que ces plantes ont souvent une réelle efficacité [2].

Aujourd'hui, la médecine par les plantes est une grande science, dans laquelle on part de la plante vers le principe actif. La majorité des médicaments actuels, sont d'origine végétale ou fabriqués à partir de leurs modèles (synthèse chimique des principes actifs).

Dans cette optique et dans le cadre du programme d'étude de la flore algérienne, particulièrement des Aurès et du Nord Sahara, dont le but est de mettre au point de nouvelles molécules naturelles et de pouvoir satisfaire au besoin de santé des populations, nous nous sommes intéressés, dans ce travail, à l'étude phytochimique d'une plante de la famille des Asteraceae, *Santolina rosmarinifolia* L., plante du bassin méditerranéen et qu'on trouve aussi dans la région des Aurès à Djerma, d'où on a fait sa récolte.

Cet intérêt est motivé par la recherche bibliographique exhaustive effectuée, qui montre la richesse du genre *Santolina* en substances naturelles d'un grand intérêt biologique. Cette recherche a révélé que l'espèce *Santolina rosmarinifolia* L. a fait l'objet de plusieurs études phytochimiques dont la plus récente est faite en 2007 [3].

Notre étude va donc porter sur l'étude des composés chimiques de *Santolina rosmarinifolia* L.

Ce travail de mémoire est subdivisé en quatre chapitres :

Chapitre I : Connaissances bibliographiques, botaniques et phytochimiques de l'espèce *Santolina rosmarinifolia* L., sa famille Asteraceae et son genre *Santolina*.

Chapitre II : Etude des stéroïdes et des phénylpropanoïdes.

Chapitre III : Analyse et discussion des résultats obtenus.

Chapitre IV : Fractionnement, purification et élucidation structurale des composés isolés.

Chapitre I

TRAVAUX ANTERIEURS

I.1 Description de la plante étudiée, sa famille et son genre

I.1.1 Famille des Asteraceae

I.1.1.1 Généralités

Autrefois les plantes Asteraceae (Martynov 1820) étaient connues sous le nom de Composées (Composacées, Compositae) (Giseke 1792). C'est l'une des plus vastes familles dans le règne végétal. Elle comprend plus de 1000 genres et entre 20.000 et 25.000 espèces [4,5].

I.1.1.2 Position systématique

Selon Engler, les Asteraceae appartiennent à l'ordre des Campanulales [4].

Pour Cronquist, cette même famille est rattachée au super-ordre des Asteridae et l'ordre des Asterales [4].

Dahlgren classe la famille des Asteraceae dans le super ordre des Asteriflorae et l'ordre des Asterales [4].

Thorne a élaboré une classification selon laquelle les Asteraceae se trouvent dans le super-ordre des Asterales et l'ordre des Asterales [4].

D'après APG II, l'immense famille des Asteraceae est subdivisée en cinq sous familles principales : Barnadesioïdées, Mutisioïdées, Carduoïdées, Cichorioïdées et Astéroïdées [5].

I.1.1.3 Caractères morphologiques généraux

Les plantes de la famille Asteraceae sont les plus importantes plantes à ovaires. Elles sont répandues dans le monde entier; surtout dans les régions tempérées; moins fréquentes dans les forêts tropicales humides [4,5]. Herbes érigées ou grimpantes, parfois arbustes ou arbres (Vernonia). Les Senecio et Espeletia des hautes montagnes tropicales sont des arbustes monocaules terminés par un mouchet de feuilles. Certaines Asteraceae sont également succulentes (Senecio polyodon, Othonna clavifolia,...). Les Asteraceae peuvent être annuelles, bisannuelles ou vivaces.

Les feuilles sont alternes ou opposées, parfois en rosettes basales (ou terminaux chez les arbustes monocaules), simples, entières ou découpées, parfois composées. Pas de stipules [4]. Latex fréquent dans les tiges [6].

Les Asteraceae sont caractérisées par l'inflorescence en capitule. Un capitule comprend un réceptacle commun, plat le plus souvent, sur lequel sont insérées de la base au sommet, en ordre spiralé : d'abord des bractées stériles vertes (parfois écailleuses, à crochets ou épineuses) formant un involucre, ensuite des petites bractées fertiles non vertes ou paillettes, axillant chacune une fleur. L'ensemble forme une fleur composée, ce qui justifie l'emploi du mot "Composées" pour désigner cette famille [5,7]. Suivant le type de fleur composant le capitule, on distingue trois types de capitules:

- Liguliflores dont les capitules sont uniquement composés de ligules (languettes comme les pissenlits, chicorées, etc.);
- Tubuliflores dont les capitules sont uniquement composés de tubules (petits tubes comme chez les chardons) ;
- Radiées : en faisant la synthèse des deux types de fleurons on obtient les radiées dont le capitule est composé de ligules imitant les pétales à la périphérie et de tubules imitant les étamines et le pistil au centre [4,6].

Cinq étamines soudées en tube par les anthères, autour du style. Dans tous les cas, le fruit provenant de l'ovaire infère est un akène surmonté généralement d'une aigrette de soies (Pappus) provenant du développement du calice après fécondation [4,5,8].

I.1.2 Genre *Santolina*

Le genre *Santolina* pousse dans la région méditerranéenne. Il présente plus de 10 espèces largement distribuées [9,10,11]. Les espèces les plus répandues sont : *S. viridis* W. (sud de France et nord de l'Espagne), *S. pectinata* Lag. (Péninsule Ibérique) et *S. chamaecyparissus* (plante commune dans le bassin méditerranéen) [10].

Il renferme des sous arbrisseaux de petite taille, ligneux et rustiques ; le feuillage est alterne, très finement pinné, à hélices foliaires minces ; les capitules en boule, jaunes, crème ou blancs, longuement pédicellés, sont composés de petites fleurs tubulaires [12].

Ce genre présente des plantes ornementales [13]. Plusieurs espèces ont été utilisées en médecine traditionnelle [14], d'autres sont utilisées aussi, dans la tradition populaire, comme insecticides car leurs feuillages aromatiques éloignent les insectes. Les huiles essentielles extraites du genre *Santolina* sont utilisées dans la fabrication des parfums [13,15].

I.1.3 Espèce *Santolina rosmarinifolia* L.

I.1.3.1 Généralités

L'espèce *Santolina rosmarinifolia* L. a plusieurs noms communs : Santoline verte [13], Santoline à feuilles de romarin [16,17], Green Lavender Cotton, Rosemary Lavender Cotton [18], *S. viridis* [13] et *S. virens* Miller [12,13,19]. Pour le nom vernaculaire: au Portugal ; elle s'appelle *Marcela* [2], au Maroc c'est *Ayrrar*, *Tayrart* [16], en Algérie c'est *Al-Kayssoum* [20].

C'est une plante vivace poussant entre 800 et 1300 m d'altitude [14,21], dans la région méditerranéenne : le Portugal, l'Espagne, l'Algérie [11,22], le Maroc [16], le sud de la France, la Péninsule Ibérique [14] et en Roumanie [3]. Elle pousse dans les régions caillouteuses, sèches et les pentes rocheuses [18].

I.1.3.2 Caractéristiques botaniques

L'espèce *Santolina rosmarinifolia* L. forme des buissons odorants, glabres, de couleur vert foncée et de 40-50 cm de hauteur. Les fleurs réunies en capitules fleurissent en juillet-août [12,18]. Les capitules de 8-15mm de diamètre, homogames, discoïdes, à fleurs tubuleuses, hermaphrodites (les périphériques à anthères parfois stériles). Corolle présentant une évagination qui coiffe le sommet de l'ovaire. Bractées de l'involucre imbriquées sur peu de rangs, oblongues et entourées par un appendice scarieux et lacéré [17,18,23]. Réceptacle convexe ou subhémisphérique, paléacé. Akènes non ailés, chauves, tétragones (ce dernier caractère est parfois difficile à observer sur le sec) ; entièrement dépourvus de côtes et de faisceaux libéro-ligneux saillants. Sous-arbrisseau suffrutescent, touffu, à tiges ligneuses. Rameux monosépales. Inflorescence en corymbe dense [17,23]. Feuilles aromatiques, étroitement linéaires, longues de 3-5 mm [17,18,23].

Il existe deux sous espèces de l'espèce *Santolina rosmarinifolia* L. La sous espèce typique "*rosmarinifolia*" est trouvée dans toutes les régions de distribution de cette espèce, elle a un aspect un peu tomenteux, alors que la sous espèce "*canescens*", réservée aux régions du sud de l'Espagne, possède un aspect densément tomenteux, de couleur blanc à gris [18].



Figure I.1: *Santolina rosmarinifolia* L. ssp *rosmarinifolia*

I.1.3.3 Classification systématique

Notre espèce est classée comme suit [11,17]

Règne : Plantae,

Embranchement : Angiospermes (plantes à fleurs),

Classe : Dicotylédones,

Sous classe : Asteridae Gamopétales,

Ordre : Asterales,

Division : Magnoliophyta (angiospermes phanérogames, plantes à fleurs et à fruits)

Famille : Asteraceae,

Tribu : Anthemideae [11,24],

Genre : *Santolina*,

Espèce : *Santolina rosmarinifolia* L.

I.2 Propriétés biologiques et pharmacologiques du genre *Santolina*

I.2.1 Utilisation en médecine traditionnelle

Santolina, altération de sanctolina, veut dire plante sainte, à cause de ses vertus médicinales [23]. Ce genre comporte plusieurs espèces, dont la majorité est largement utilisée en médecine populaire [9,14,24]. Ainsi *S. chamaecyparissus*, la plus populaire et courante en culture [12], a des propriétés analgésique, antispasmodique, anti-inflammatoire, digestive et antimicrobienne [11,25].

L'infusion des feuilles et des fleurs de *S. ligustica*, poussant en Italie, est utilisée contre les douleurs gastriques [15].

L'espèce *S. rosmarinifolia* L. est largement utilisée en médecine traditionnelle [26]. En Algérie, elle est employée comme stimulant, antispasmodique et vermifuge [20]. Au Portugal, la macération de la plante (fleurs sèches) dans l'eau sert comme antipyrétique. L'infusion des fleurs fraîches ou sèches est prescrite comme protecteur hépatique, hypotensive, intestinale, anti-inflammatoire et appétissante [2].

I.2.2 Activités biologiques

Pendant plusieurs années, le genre *Santolina* a fait l'objet de plusieurs investigations chimiques. Il s'avère que les produits isolés de ces espèces ont des activités biologiques différentes. Dans ce contexte, Giner et collaborateurs ont mis en évidence des propriétés analgésiques dans les extraits apolaires de *S. chamaecyparissus* [27,28]. Ils ont montré aussi l'effet inhibiteur de ces extraits contre les contractions des muscles induites par différents agonistes comme l'histamine et la sérotonine, ainsi qu'une activité anti-inflammatoire [27,29]. Une autre étude réalisée sur la même espèce, par Sala et collaborateurs, montre que cette plante est une bonne source des composés à effet inhibiteur de l'activité phospholipase A₂ *in vitro* et *in vivo* [25].

Des investigations chimiques réalisées par Silvan et collaborateurs, sur *S. oblongifolia*, ont conduit à l'isolement de coumarines et de flavonoïdes, ces composés ont montré une activité anti-inflammatoire [27,30,31].

L'étude effectuée sur l'espèce *S. insularis* par De Logu et collaborateurs, a révélé un potentiel antiviral des huiles essentielles contre les virus type HSV-1 et HSV-2 *in vitro*, ainsi qu'un effet inhibiteur sur leur transmission cell-to-cell [27].

Une autre étude réalisée sur les huiles essentielles de l'espèce *S. rosmarinifolia* L., par Loannou et collaborateurs, a révélé une activité antimicrobienne *in vitro* contre les souches de bactéries gram-positif et gram-négatif et aussi contre les fungus *Candida albicans* [3].

L'étude réalisée sur les huiles essentielles de l'espèce *S. corsica*, par Rossi et collaborateurs, a révélé aussi une activité antimicrobienne contre *staphylococcus aureus* [10,32].

I.3 Etudes chimiques antérieures du genre *Santolina*

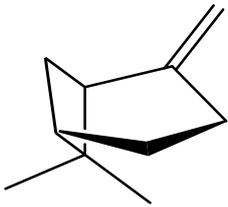
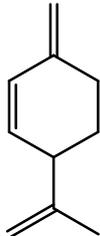
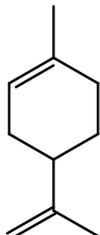
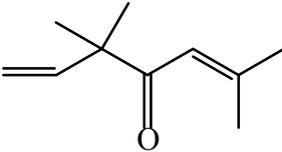
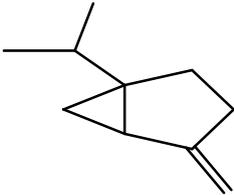
Une recherche bibliographique réalisée sur les espèces du genre *Santolina*, montre qu'elles ont fait l'objet de nombreuses investigations phytochimiques. Ce qui a permis d'isoler un grand nombre de substances connues pour leurs diverses activités biologiques, dont les plus majoritaires sont: des composés acycliques oxygénés, des eudesmanes [9], des germacrane type sesquiterpènes [9,11], des flavonoïdes, des acétylènes hétérocycliques, des dammaranes type triterpènes, spiroketalenols éther-type acétylènes et des coumarines [9].

Ces études ont montré aussi une présence importante des huiles essentielles [10]; composés naturels, volatils et complexes, caractérisés par une forte odeur et formés par les plantes aromatiques comme métabolites secondaires. Elles comprennent deux groupes de différentes origines : le premier est le groupe des terpènes et terpénoïdes, l'autre est le groupe des composés aromatiques et aliphatiques de faibles masses moléculaires [19]. Elles sont utilisées depuis longtemps comme bactéricide, virucide, fongicide, antiparasite, insecticide et aussi dans les applications médicales et cosmétiques. Aujourd'hui, elles sont employées en industrie pharmaceutique, sanitaire, cosmétique et agricole [33].

Les espèces suivantes: *S. chamaecyparissus*, *S. oblongifolia*, *S. ligustica*, *S. rosmarinifolia* L. et *S. canescens* sont riches en huiles, par exemple les monoterpènes, les sesquiterpènes et les dérivés acétyléniques [10]. Les études réalisées sur *S. rosmarinifolia* ssp. *rosmarinifolia*, objet de la présente étude, ont révélé la présence des composés acétyléniques dans les racines [34,20] et les huiles essentielles dans les parties aériennes [20].

La composition chimique du genre *Santolina* est très diversifiée. Les tableaux suivants illustrent quelques composés isolés.

Tableau 1 : Monoterpènes isolés du genre *Santolina*

N°	Nom	Structure	Source biologique	Activité pharmacodynamique
<u>1</u>	β -pinène		- <i>S. corsica</i> Jordan et Fourr [10] - <i>S. rosmarinifolia</i> L.ssp. <i>rosmarinifolia</i> [14,35] - <i>S. etrusca</i> [36]	
<u>2</u>	Myrcène		- <i>S. corsica</i> Jordan et Fourr [10] - <i>S. rosmarinifolia</i> L.ssp. <i>rosmarinifolia</i> [14,35] - <i>S. etrusca</i> [36]	
<u>3</u>	β -phellandrène		- <i>S. corsica</i> Jordan et Fourr [10] - <i>S. rosmarinifolia</i> L.ssp. <i>rosmarinifolia</i> [14,35]	
<u>4</u>	Limonene		- <i>S. corsica</i> Jordan et Fourr [10] - <i>S. rosmarinifolia</i> L.ssp. <i>rosmarinifolia</i> [14] - <i>S. oblongifolia</i> [34]	-Cytotoxique [33]
<u>5</u>	Artemisia ketone (3,3,6-trimethyl-1,5-heptadien-4-one)		- <i>S. corsica</i> Jordan et Fourr [10] - <i>S. rosmarinifolia</i> L.ssp. <i>rosmarinifolia</i> [14] - <i>S. oblongifolia</i> [34]	
<u>6</u>	Sabinene		- <i>S. corsica</i> Jordan et Fourr [10] - <i>S. rosmarinifolia</i> L.ssp. <i>rosmarinifolia</i> [14, 35]	- Antiappétant [11]

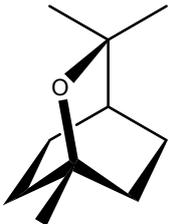
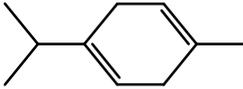
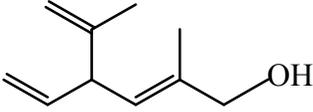
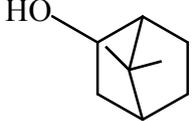
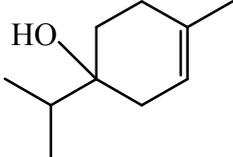
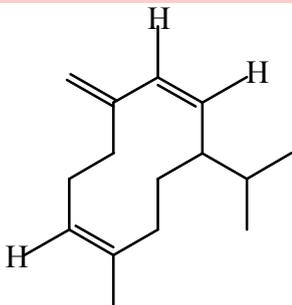
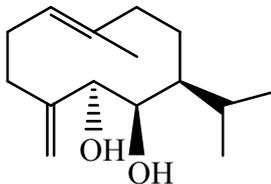
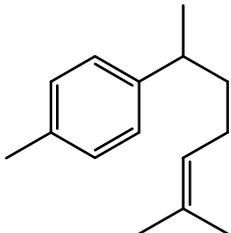
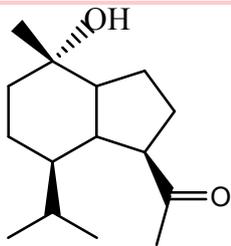
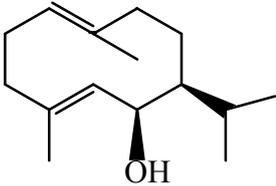
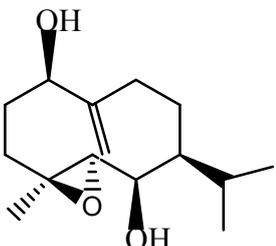
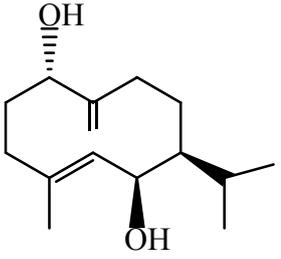
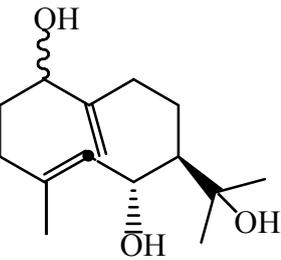
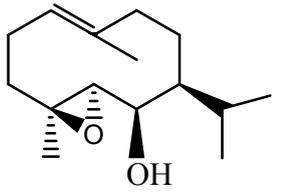
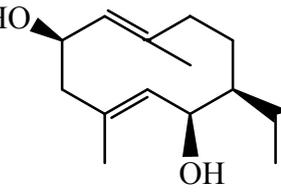
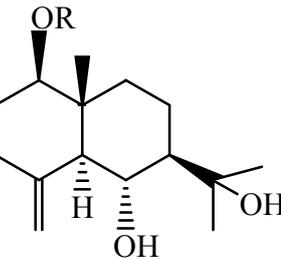
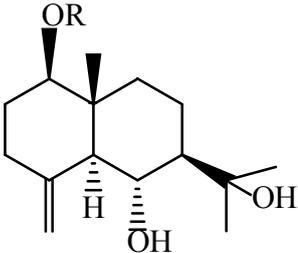
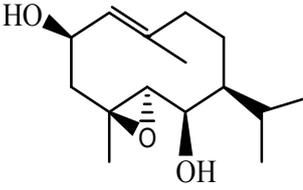
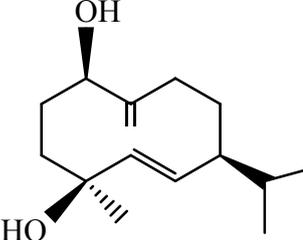
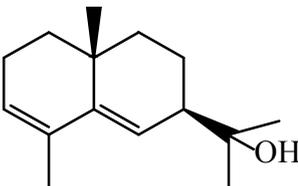
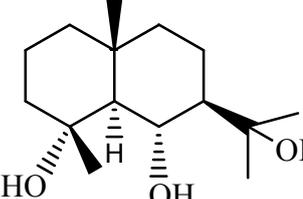
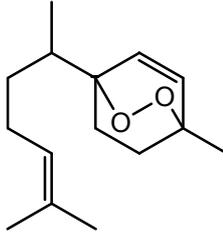
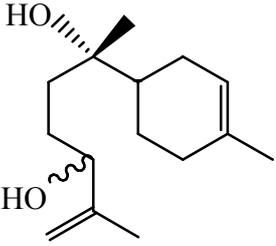
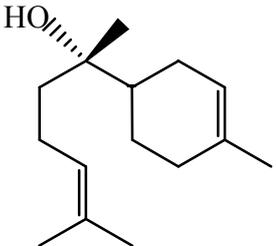
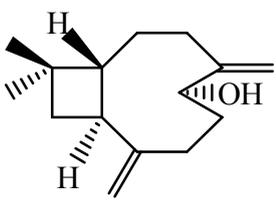
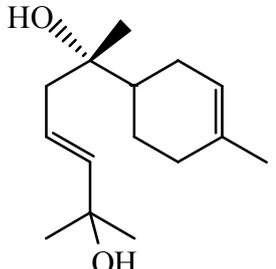
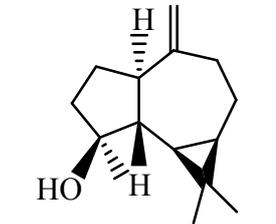
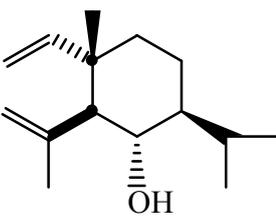
<p><u>7</u></p>	<p>1,8-Cineole: eucalyptol</p>		<p>-<i>S. corsica</i> Jordan et Fourr [10] -<i>S. rosmarinifolia</i> L. ssp. <i>rosmarinifolia</i> [14]</p>	<p>-Antibactérien [10] -Cytotoxique [33]</p>
<p><u>8</u></p>	<p>γ-Terpinène</p>		<p>-<i>S. corsica</i> Jordan et Fourr [10] -<i>S. chamaecyparissus</i> [37]</p>	
<p><u>9</u></p>	<p>Lyratol</p>		<p>-<i>S. corsica</i> Jordan et Fourr [10]</p>	<p>-Antibactérien [10]</p>
<p><u>10</u></p>	<p>Bornéol</p>		<p>- <i>S.corsica</i> Jordan et Fourr [10] -<i>S. rosmarinifolia</i> L. ssp. <i>rosmarinifolia</i> [11] - <i>S.Chamaecyparissus</i> [37]</p>	<p>-Cytotoxique [33]</p>
<p><u>11</u></p>	<p>Terpinène-4-ol = 4-Carvomenthenol</p>		<p>- <i>S. corsica</i> Jordan et Fourr [10] -<i>S. etrusca</i> [36] - <i>S. chamaecyparissus</i> [37]</p>	

Tableau 2 : Sesquiterpènes isolés du genre *Santolina*

N°	Nom	Structure	Source biologique	Activité pharmacodynamique
12	Germacrène D		- <i>S. rosmarinifolia</i> L. [11,20] - <i>S. chamaecyparissus</i> [37]	
13	(<i>E</i>)-7 α H-Germacra-1(10),4(15)-diène-5 α ,6 β -diol		- <i>S. rosmarinifolia</i> L. ssp. <i>canescens</i> [24]	
14	Ar-curcumene		- <i>S. rosmarinifolia</i> L. [14,24,35]	
15	α -Oplopenone		- <i>S. oblongifolia</i> [34] - <i>S. rosmarinifolia</i> L. ssp. <i>rosmarinifolia</i> [38]	
16	(1 <i>E</i> ,4 <i>E</i>)-7 α H-Germacra-1(10),4-dien-6 β -ol		- <i>S. rosmarinifolia</i> L. ssp. <i>canescens</i> [24]	
17	4 β ,5 α -Epoxy-7 α H-germacr-10(14)-ene-1 β ,6 β -diol		- <i>S. rosmarinifolia</i> L. ssp. <i>canescens</i> [24]	-Antiappétant [24]

<p>18</p>	<p>(E)-7αH-Germacra-4,10(14)-diène-1α,6β-diol</p>		<p>-<i>S. rosmarinifolia</i> L. ssp. <i>canescens</i> [24]</p>	
<p>19</p>	<p>R = α-OH: (E)-7αH-Germacra-4,10(14)-diène-1α,6α,11-triol R = β-OH: (E)-7αH-Germacra-4,10(14)-diène-1β,6α,11-triol</p>		<p>-<i>S. rosmarinifolia</i> L. ssp. <i>canescens</i> [24]</p>	
<p>20</p>	<p>Shiromool</p>		<p>-<i>S. rosmarinifolia</i> L. ssp. <i>canescens</i> [24]</p>	<p>-Antiappétent [24]</p>
<p>21</p>	<p>(E)-7αH-Germacra-1(10),4-diène-2β,6β-diol</p>		<p>-<i>S. rosmarinifolia</i> L. ssp. <i>canescens</i> [24]</p>	
<p>22</p>	<p>Derivé du β-eudesmol R = H: 1β,6α,11β-trihydroxy-(5α,7α)H-10βMe-Eudesm-4 ene</p>		<p>-<i>S. rosmarinifolia</i> L. [24,38]</p>	<p>-Antimicrobien [24] -Cytotoxique [24]</p>

<p>23</p>	<p>R = Ac 1β-Acetoxy- (5α,7α)H- 10βMe- Eudesm-4-ene- 6α,11β-diol</p>		<p>-<i>S. rosmarinifolia</i> L. ssp. <i>canescens</i> [24]</p>	
<p>24</p>	<p>(<i>E</i>)-4β,5α- Epoxy-7αH- germacr-1(10)- ene-2β,6β-diol</p>		<p>-<i>S. pinnata</i> [11] -<i>S. Chamaecyparissus</i> [11] -<i>S. rosmarinifolia</i> L. ssp. <i>canescens</i> [24]</p>	<p>- Antitumoral [11] -Cytotoxique [24] - Antiphospholipase A₂ [25]</p>
<p>25</p>	<p>(<i>E</i>)-7αH- Germacra- 5,10(14)-diène- 1β,4β-diol</p>		<p>-<i>S. rosmarinifolia</i> L. ssp. <i>canescens</i> [24]</p>	<p>-Phagostimulant[24]</p>
<p>26</p>	<p>7αH-10βMe- Eudesma-3,5- dien-11-ol</p>		<p>-<i>S. rosmarinifolia</i> L. ssp. <i>canescens</i> [24]</p>	<p>-Cytotoxique [24]</p>
<p>27</p>	<p>Pigmol</p>		<p>-<i>S. rosmarinifolia</i> L. [24,38]</p>	
<p>28</p>	<p>3,6- Epidioxybisa- bola-1,10-diène</p>		<p>-<i>S. rosmarinifolia</i> L. ssp. <i>canescens</i> [24]</p>	<p>-Antimicrobien [24]</p>

<p>29</p>	<p>Bisabola-2,11- diène-7α,10ζ- diol</p>	 <p>The structure shows a bicyclic sesquiterpene skeleton. It features a six-membered ring with a double bond and a methyl group, fused to a seven-membered ring. Two hydroxyl groups are attached to the seven-membered ring: one at the 7-position with a dashed bond (7α-OH) and one at the 10-position with a wedged bond (10ζ-OH). A side chain with a terminal double bond and a methyl group is attached to the seven-membered ring.</p>	<p>-<i>S. rosmarinifolia</i> L. ssp. <i>canescens</i> [24]</p>	
<p>30</p>	<p>(-)-α-Bisabolol</p>	 <p>The structure is similar to Bisabola-2,11-diene-7α,10ζ-diol, but it lacks the hydroxyl group at the 10-position. It has a hydroxyl group at the 7-position with a dashed bond (7α-OH).</p>	<p>-<i>S. rosmarinifolia</i> L. [11,24]</p>	
<p>31</p>	<p>Caryophyllodie nol</p>	 <p>The structure is a bicyclic sesquiterpene with a complex ring system. It features a four-membered ring fused to a six-membered ring, which is further fused to a seven-membered ring. There are several stereocenters indicated with wedged and dashed bonds, including hydrogens and hydroxyl groups. A side chain with a terminal double bond and a methyl group is also present.</p>	<p>-<i>S. rosmarinifolia</i> L. ssp. <i>canescens</i> [38,26]</p>	<p>-Antimicrobien [24]</p>
<p>32</p>	<p>Bisabola-2,9- diène-7α,11- diol</p>	 <p>The structure is similar to Bisabola-2,11-diene-7α,10ζ-diol, but the double bond in the side chain is at the 2-position. It has hydroxyl groups at the 7-position (7α-OH, dashed bond) and the 11-position (11ζ-OH, wedged bond).</p>	<p>-<i>S. rosmarinifolia</i> L. ssp. <i>canescens</i> [24]</p>	
<p>33</p>	<p>Spathulenol</p>	 <p>The structure is a bicyclic sesquiterpene with a complex ring system, including a four-membered ring fused to a six-membered ring, which is further fused to a seven-membered ring. It has a methyl group at the 1-position, a hydroxyl group at the 2-position, and a double bond at the 3-position. There are several stereocenters indicated with wedged and dashed bonds.</p>	<p>-<i>S. corsica</i> Jordan et Fourr. [10] -<i>S. oblongifolia</i> [34] -<i>S. rosmarinifolia</i> L. [24,38]</p>	
<p>34</p>	<p>6α- Hydroxyelemol</p>	 <p>The structure is a bicyclic sesquiterpene with a complex ring system, including a four-membered ring fused to a six-membered ring, which is further fused to a seven-membered ring. It has a methyl group at the 1-position, a hydroxyl group at the 6-position (6α-OH, dashed bond), and a double bond at the 7-position. There are several stereocenters indicated with wedged and dashed bonds.</p>	<p>-<i>S. rosmarinifolia</i> L. ssp. <i>canescens</i> [24]</p>	

<p>35</p>	<p>1β,6α- Dihydroxyeude sm-4(15)-ene</p>		<p>-<i>S. rosmarinifolia</i> L. ssp. <i>rosmarinifolia</i> [38]</p>	
<p>36</p>	<p>R = OH 1β- Hydroxyeudes ma-4(15),7- diène</p>		<p>-<i>S. rosmarinifolia</i> L. ssp. <i>canescens</i> [38]</p>	
<p>37</p>	<p>R = OAc 1β- Acetoxyeudesm a-4(15),7-diène</p>			
<p>38</p>	<p>β-Eudesmol</p>		<p>-<i>S. rosmarinifolia</i> L. [14,24,38] -<i>S. oblongifolia</i> [34]</p>	<p>-Cytotoxique [24] -Antiangiogénique [39] -Antimutagénique [40]</p>
<p>39</p>	<p><i>cis</i>-Bejarol</p>		<p>-<i>S. oblongifolia</i> [34]</p>	
<p>40</p>	<p>Nerolidol</p>		<p>-<i>S. corsica</i> Jordan et Fourr. [10] -<i>S. oblongifolia</i> [34]</p>	
<p>41</p>	<p>(6E,3R,5S,9S)- 9-Acetoxy-5- hydroxynerolidol</p>		<p>-<i>S. oblongifolia</i> [34] -<i>S. rosmarinifolia</i> L. ssp. <i>rosmarinifolia</i> [38]</p>	

Tableau 3 : Triterpènes et stéroïdes isolés du genre *Santolina*

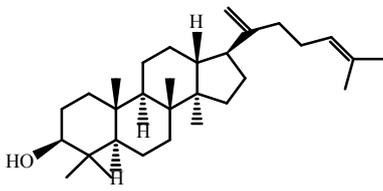
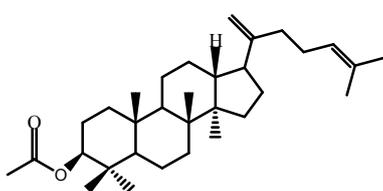
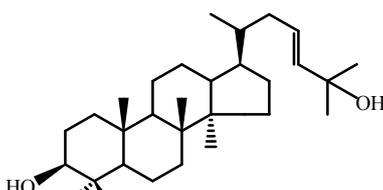
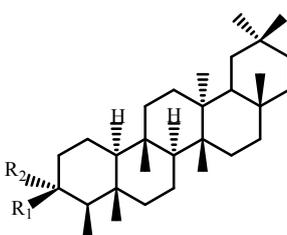
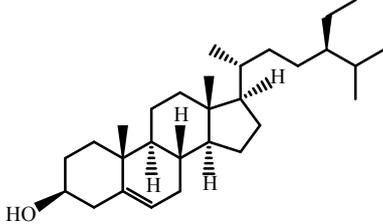
N°	Nom	Structure	Source biologique	Activité pharmacodynamique
<u>42</u>	Dammaradi enol (5 α -dammara-20[21],24-dien-3 β -ol)		- <i>S. corsica</i> Jordan et Fourr [9,40] - <i>S. rosmarinifolia</i> L. ssp. <i>canescens</i> [37] - <i>S. oblongifolia</i> [41]	-Cytotoxique [23]
<u>43</u>	Dammaradi enyl acétate		- <i>S. corsica</i> Jordan et Fourr [9,40] - <i>S. rosmarinifolia</i> L. ssp. <i>canescens</i> [37] - <i>S. oblongifolia</i> [39]	
<u>44</u>	Dammara-23-en-3 β ,25-diol.		- <i>S. oblongifolia</i> [39]	
<u>45</u>	$R_1=OH$ $R_2=H$ 3-Epifriedelinol		- <i>S. corsica</i> Jordan et Fourr [9,40] - <i>S. oblongifolia</i> [41]	-Cytotoxique [42]
<u>46</u>	Sitostérol		- <i>S. rosmarinifolia</i> L. ssp. <i>canescens</i> [37]	

Tableau 4 : Coumarines isolés du genre *Santolina*

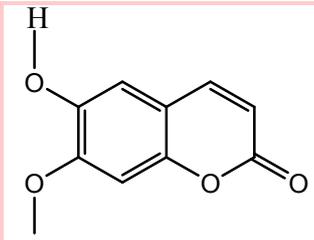
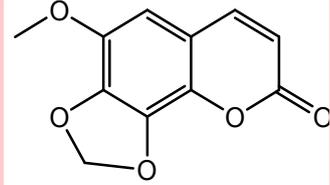
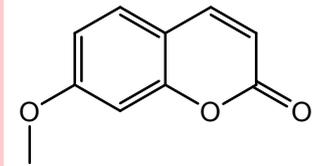
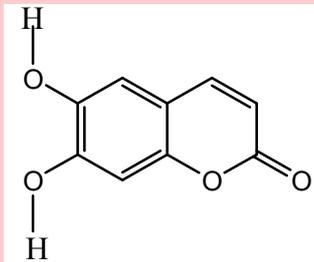
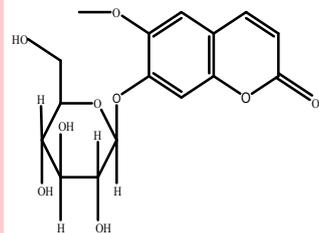
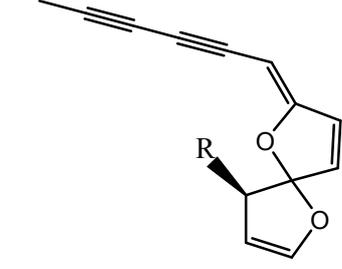
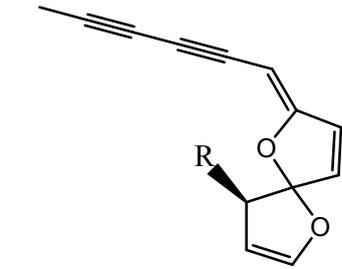
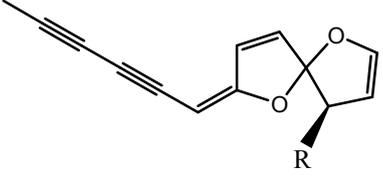
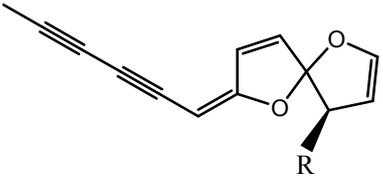
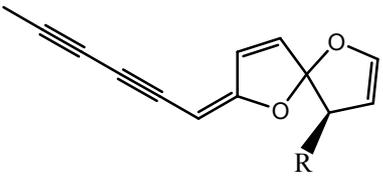
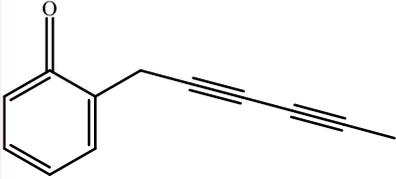
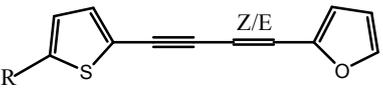
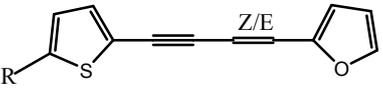
N°	Nom	Structure	Source biologique	Activité pharmacodynamique
<u>47</u>	6-Hydroxy-7-méthoxycoumarin (scopoletin)		- <i>S. rosmarinifolia</i> L.ssp. <i>rosmarinifolia</i> [38] - <i>S. oblongifolia</i> [44]	-Anti-inflammatoire [44] -Clivage d'AND [45]
<u>48</u>	6-Méthoxy-7,8-methylenedioxy		- <i>S. rosmarinifolia</i> L.ssp. <i>rosmarinifolia</i> [38]	
<u>49</u>	7-Méthoxycoumarin (herniarin)		- <i>S. oblongifolia</i> [44]	-Anti-inflammatoire [44]
<u>50</u>	6,7-Dihydroxycoumarin (aesculetin)		- <i>S. oblongifolia</i> [44]	-Anti-inflammatoire [44]
<u>51</u>	6-Méthoxy-7-glucosidylcoumarin (scopolin)		- <i>S. oblongifolia</i> [44]	-Anti-inflammatoire [44]

Tableau 5 : Dérivés acétyléniques isolés du genre *Santolina*

N°	Nom	Structure	Source biologique	Activité pharmacodynamique
52	Capillene (1phynylhexa-2,4-diyene)		<i>-S. rosmarinifolia</i> L. ssp. <i>rosmarinifolia</i> [14,35]	-Antimicrobien [46]
53	R = H (Z)-7-(2,4-Hexadiynilidene)-1,6-dioxaspiro[4.4]nona-2,8-diène		<i>-S. rosmarinifolia</i> L. ssp. <i>canescens</i> [24]	-Cytotoxique [24]
54	R = OAc (Z)-4-Acetoxy-7-(2,4hexadiynilidene)-1,6-dioxaspiro [4.4]nona-2,8-diène		<i>-S. rosmarinifolia</i> L. ssp. <i>canescens</i> [24,38,42] <i>-S. oblongifolia</i> [42]	-Antiappétant [24] -Cytotoxique [24]
55	R = H: (E)-7-(2,4-Hexadiynilidene)1,6-dioxaspiro [4.4] nona-2,8-diène		<i>-S. rosmarinifolia</i> L. [24,42] <i>-S. oblongifolia</i> [42]	-Cytotoxique [24]
56	R = OH: (E)-4-Hydroxy-7-(2,4 hexadiynilidene)-1,6-dioxaspiro [4.4] nona-2, 8-diène		<i>-S. rosmarinifolia</i> L. ssp. <i>canescens</i> [24,42] <i>-S. oblongifolia</i> [42]	

<p>57</p>	<p>R = OAc: (E)-4-Acetoxy-7-(2,4hexadiynylidene)-1,6-dioxaspiro [4.4] nona-2,8-diène</p>		<p>-<i>S. rosmarinifolia</i> L. ssp. <i>rosmarinifolia</i> [24,38,42] -<i>S. corsica</i> Jordan et Fourr [9] -<i>S. oblongifolia</i> [42]</p>	<p>-Antimicrobien [24] -Cytotoxique [24] -Antiappétant [24]</p>
<p>58</p>	<p>Capillin(1phenylhexa-2,4-diyne-1-one)</p>		<p>-<i>S. rosmarinifolia</i> L. ssp. <i>rosmarinifolia</i> [35,38]</p>	<p>-Antimicrobien [46]</p>
<p>59</p>	<p>R = H: (Z) - Furylthienylbutenyne (E)- Furylthienylbutenyne</p>		<p>-<i>S. corsica</i> Jordan et Fourr [9] - <i>S. rosmarinifolia</i> L. [42] -<i>S. oblongifolia</i> [42] -<i>S. corsica</i> Jordan et Fourr [9]</p>	
<p>60</p>	<p>R = -CH₂OAc: (Z) et (E)-Acetoxymethylfuryl Thienylbutenyne</p>		<p>-<i>S. corsica</i> Jordan et Fourr [9]</p>	

Chapitre II

ETUDE DES STEROIDES ET PHENYLPROPANOIDES

II.1 ETUDES

DES STEROIDES

II.1.1 Etymologie

Le terme stéroïde tire son origine du mot grec "Stéréos" signifiant "Solide" et désignant toutes les molécules comportant un squelette tétracyclique correspondant à un perhydrocyclopentanophénanthréne (Gonane) (Figure II.1.1) [48,49].

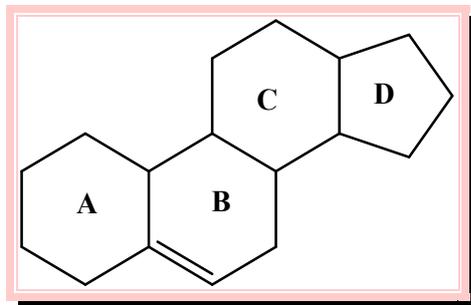
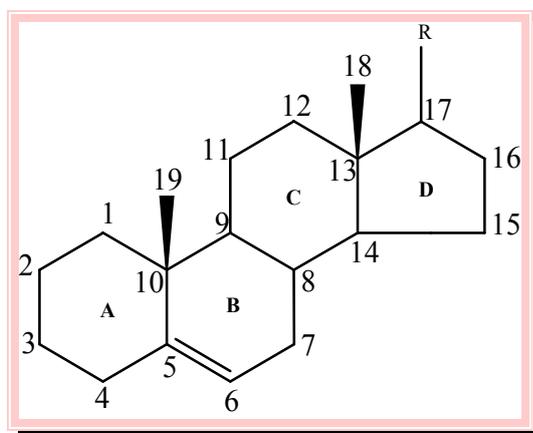


Figure II.1.1

II.1.2 Généralités

Les stéroïdes représentent un ensemble de molécules dérivées du cholestérol ou de ses homologues particulièrement abondants dans les végétaux et les animaux. Cette classe de substances naturelles présente une sous-classe de triterpènes. Les quatre cycles sont désignés par les lettres A, B, C et D.

La numérotation des atomes de carbone du squelette stéroïdique est comme suit : le carbone en haut du cycle A porte le n°1, les atomes des deux cycles A et B sont numérotés successivement en tournant dans le sens direct (1 à 10); on passe ensuite aux atomes du cycle C (11 à 14) puis D (15 à 17). Les radicaux méthyles liés aux carbones 13 et 10 sont désignés par les nombres 18 et 19. Enfin, une chaîne alkyle en C-17. Les deux cycles A et B peuvent avoir aussi des insaturations au niveau des carbones C-4 et C-5 (Figure II.1.2) [47,50,51].



Stéroïde

(R = diverses chaînes latérales)

Figure II.1.2

II.1.3 Classification et nomenclature

La classification qui consiste à prendre comme base trois hydrocarbures différents par la substitution sur les positions 10,13 et 17 conduit à trois séries de stéroïdes [50]:

1-Série oestrane (appelée aussi norandostane) qui ne comporte en plus des 4 cycles A, B, C, D qu'un méthyle en position 13. A cette série appartient l'oestrone **61**, hormone féminine (Figure II.1.3).

2-Série androstane, qui comporte deux méthyles en positions 10 et 13. Le principal représentant de cette série est la testostérone **62**, qui est une hormone masculine (Figure II.1.3).

3-Série prégnane, avec deux méthyles en 10 et 13 et un groupement éthyle en 17, comme dans le cas de la cortisone **63** (Figure II.1.3).

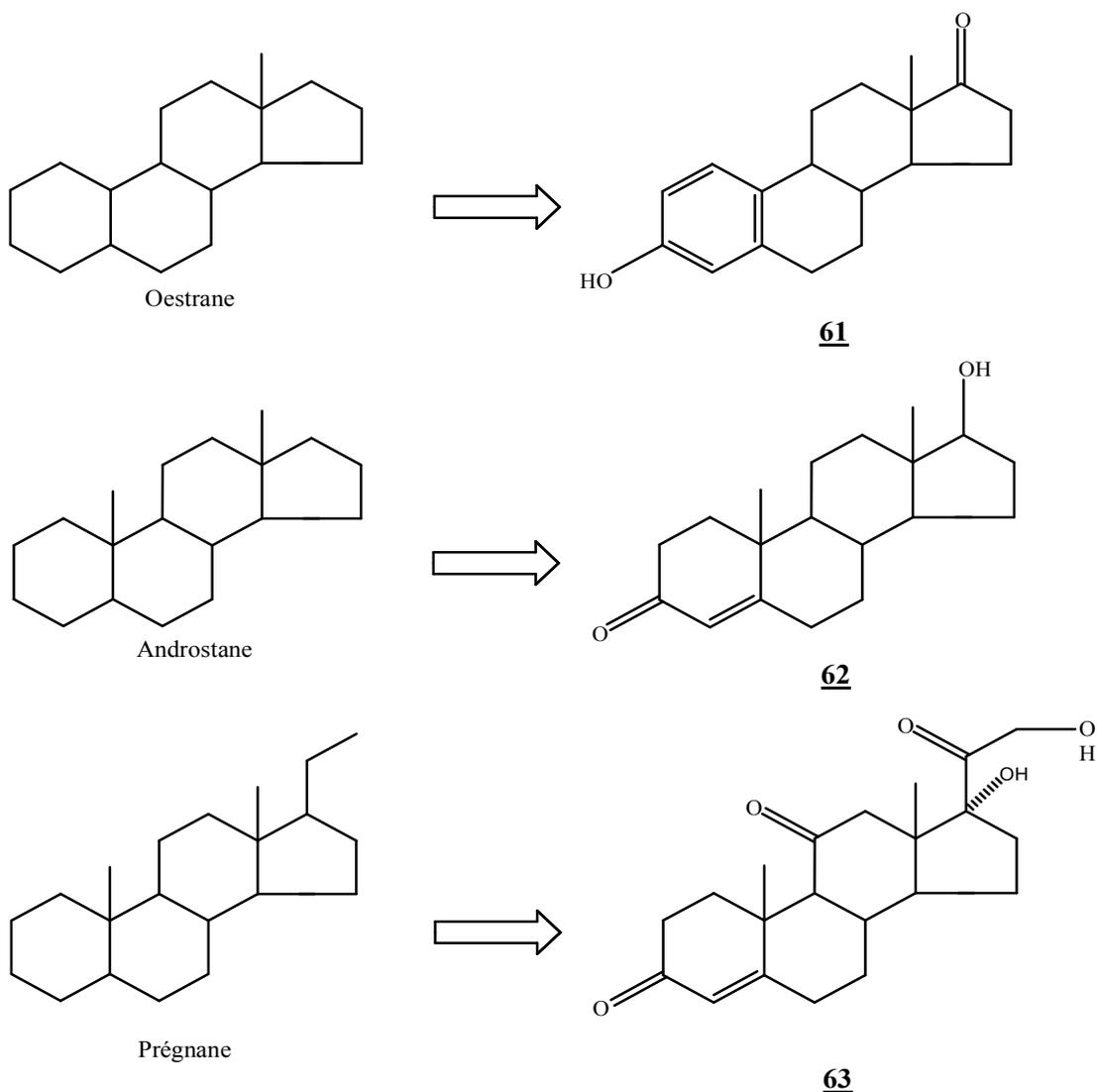
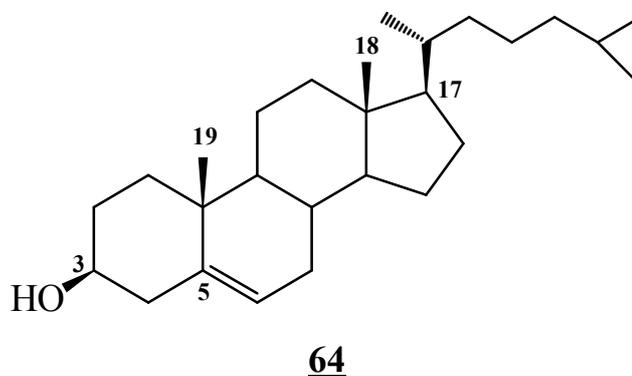


Figure II.1.3

En utilisant cette nomenclature, il est possible de rattacher tout stéroïde à l'un de ces squelettes ; la jonction *trans* ou *cis* des cycles A et B est précisée par la position des substituants, et indiquée en précisant en plus la stéréochimie de l'hydrogène en position 5 (α ou β). Dans cette nomenclature, la cortisone **63** peut également être nommée dihydroxy-17 α , 21 prégnène-4 trion-3, 11,20 [50].

La nomenclature de l'insaturation au niveau du squelette stéroïdique, par le symbole $\Delta^{x,y,z}$ ou x,y,z indiquent les positions des liaisons insaturées. A titre d'exemple, le nom systématique du cholestérol **64** s'écrit Δ^5 -cholestane-3ol au lieu de cholest-5ène-3ol. Le groupement fonctionnel prioritaire est ajouté comme un suffixe au nom original du squelette stéroïdique.



II.1.4 Stéréochimie

Comme on peut le constater dans le cas du cholestérol **64**, il y a un nombre élevé de carbones asymétriques, ce qui supposerait un grand nombre de stéréo-isomères. Cependant, seuls quelques composés existent à l'état naturel, et ceci est dû au fait que les jonctions entre les cycles B et C sont toujours de type *trans*. Les jonctions entre C et D sont toujours de type *trans*, avec cependant quelques exceptions pour les hétérosides cardiotoniques (Figure II.1.4) [47].

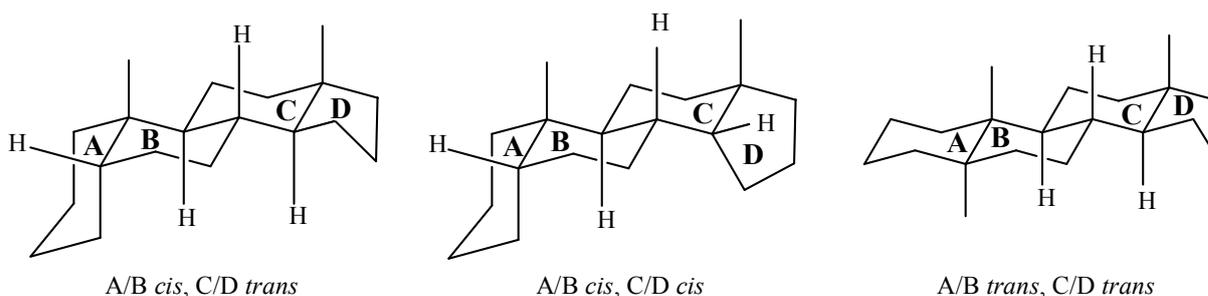
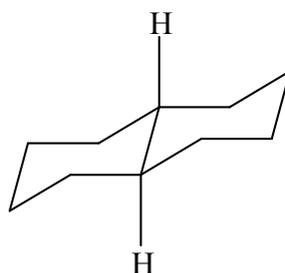


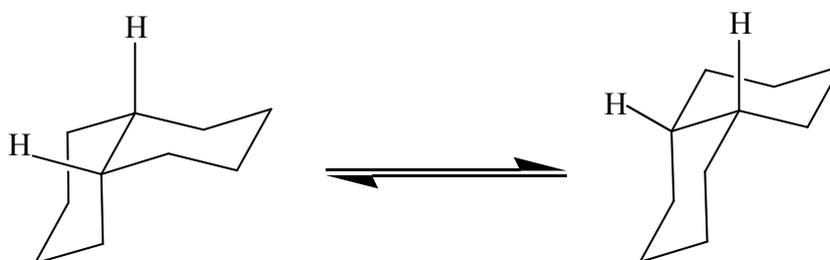
Figure II.1.4

La jonction entre les cycles A et B peut être soit

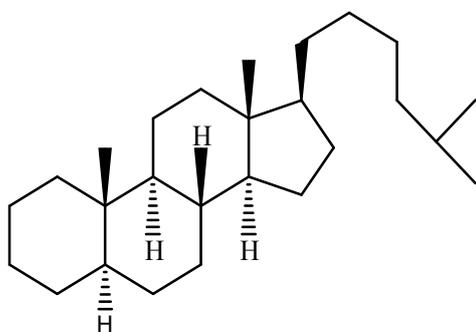
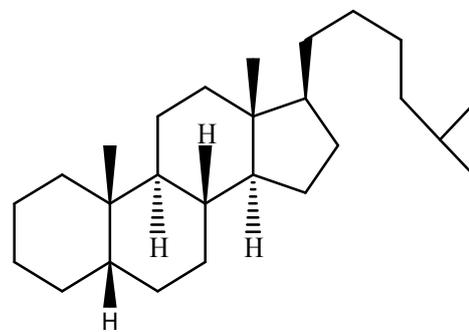
- ❖ de type *trans*, comme dans la *trans* décaline **65**:

**65**

- ❖ de type *cis*, comme dans la *cis* décaline **66**:

**66**

Le type *trans* comme dans le cholestane **67**, ou *cis* comme dans le cas du coprostanane **68**. Ces deux hydrocarbures proviennent de la réduction du cholestérol **64** et servent de base pour la nomenclature systématique des stéroïdes [47].

**67****68**

Les substituants du noyau cyclopentanoperhydrophénanthrène peuvent être liés à la face supérieure (espace β) ou à la face inférieure (espace α) [52]. Donc dans la chimie des stéroïdes, on parle de série normale dans le cas des stéroïdes rattachés au coprostane **68**; cette série se rencontre dans les acides biliaires et on l'appelle aussi 5β pour montrer que l'hydrogène en position 5 est en β . Pour ceux qui sont rattachés au cholestane **67**, on parle d'allo (5α) stéroïdes, comme il est indiqué dans la (figure II.1.5) [50].

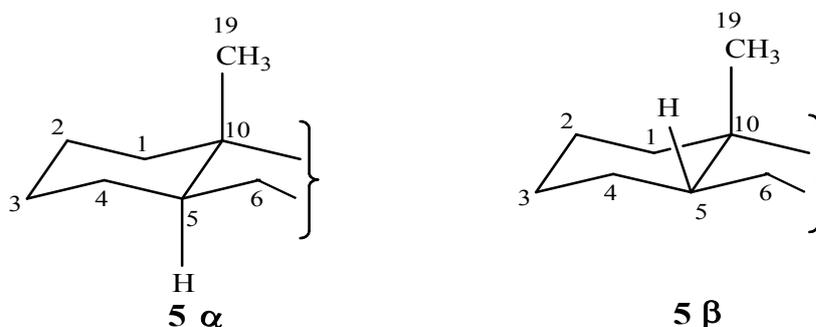


Figure II.1.5

La représentation de ces molécules dans l'espace montre une structure plutôt plate pour le cholestane **67**, avec des cycles cyclohexaniques en conformation chaise, les méthyles 18 et 19 sont dits angulaires et sont en position β , ce qui est pratiquement toujours le cas dans les stéroïdes [50].

II.1.4 Les principaux stéroïdes

Les stéroïdes les plus importants se retrouvent dans les hormones, les acides biliaires et certaines vitamines [50].

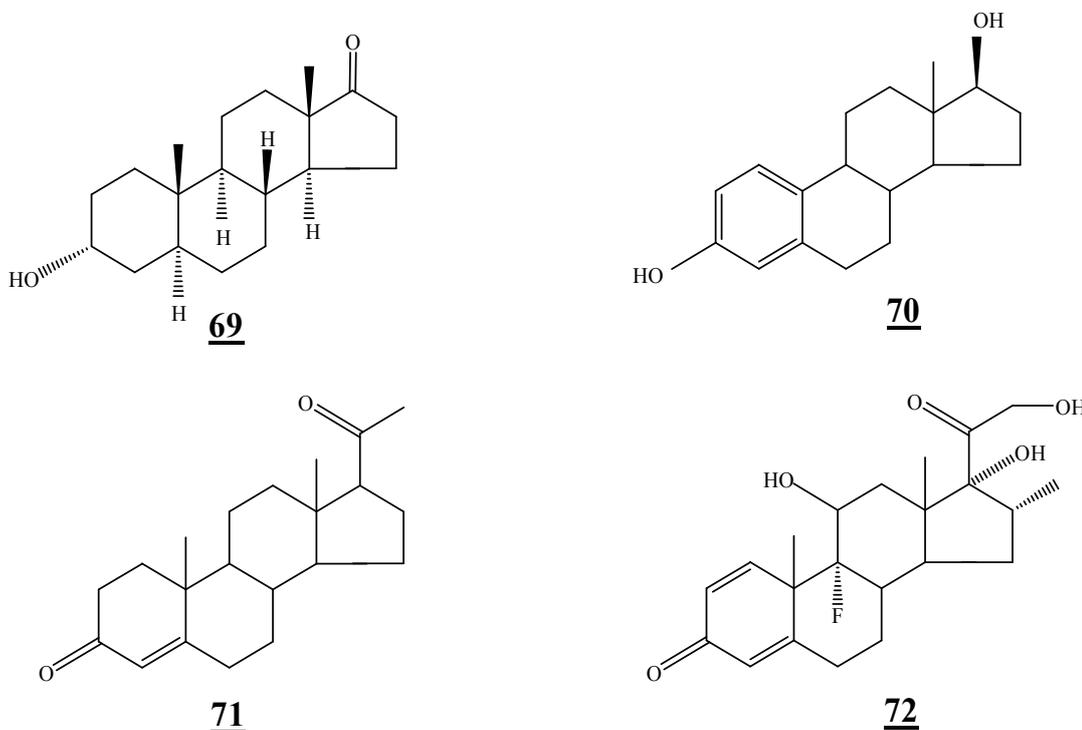
II.1.4.1 Les hormones

Les hormones sont bio synthétisées à partir du cholestérol. Leurs structures n'ont été élucidées que depuis une cinquantaine d'années en raison de leurs très faibles proportions dans l'organisme. Elles sont de trois types :

- Les hormones sexuelles mâles qu'on retrouve dans les urines sous forme d'androstérone **69**.
- Les hormones sexuelles femelles comme l'oestradiol **70**, qui peut donner l'oestrone **61**, dont la présence dans les urines dénote la grossesse. Il y'a aussi les hormones

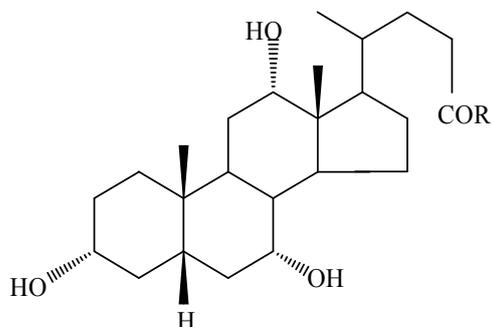
progestatives comme la progestérone **71** dont le rôle est de préparer la nidation et maintenir gestation.

- Les hormones corticoïdes dont la plus connue est la cortisone **63**, utilisée comme anti-inflammatoire. Elles ont la particularité d'être substituées en position 5 ou 9 comme la dexaméthasone **72**. Elles sont utilisées comme médicaments et se sont avérées plus actives que la cortisone [50].



II.1.4.2 Les acides biliaries

Les acides biliaries proviennent de la dégradation du cholestérol **64** au niveau du foie et sont sécrétés par la bile, d'où leur nom. Le plus important est l'acide cholique **73**, qu'on retrouve sous forme d'acide glycocholique **74**, dont le rôle est l'émulsification des graisses au cours de la digestion [50].



R= OH

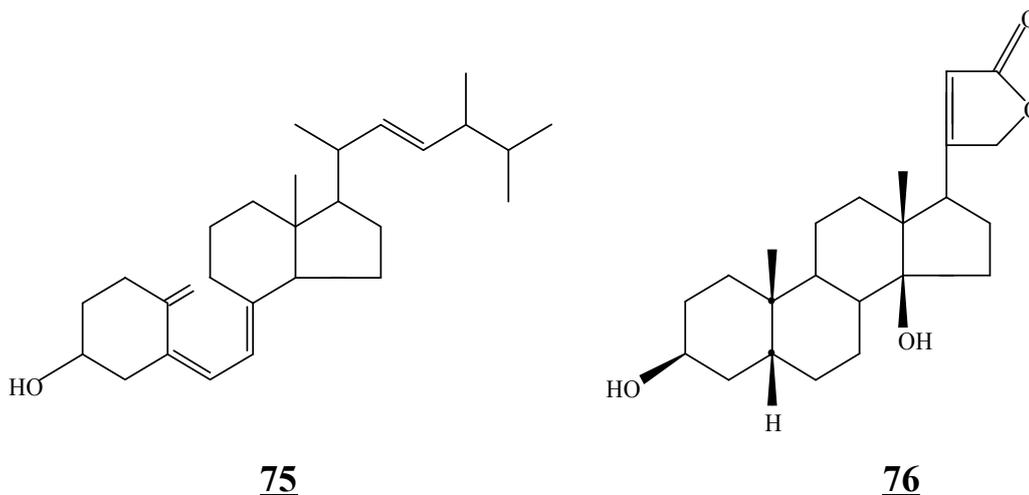
73

R= NH-CH₂-CO₂H

74

II.1.4.3 Autres composés

La vitamine D2 **75** joue un grand rôle dans le métabolisme des ions calcium. On peut citer un stéroïde particulier, la digitoxigénine **76** qui est présente dans certaines plantes sous forme de glycosides (combinaison avec un sucre). Cette dernière a la particularité d'avoir des jonctions *cis* pour A/B et pour C/D; elle sert à préparer la digitaline, qui est un médicament pour les affections cardiaques [50].



II.1.5 Définition des stérols

La majorité des stéroïdes sont des alcools, on les appelle stérols [50,52]. Ils sont très répandus dans les règnes :

- **Végétal**, depuis les champignons inférieurs jusqu'aux plantes supérieures [53].
- **Animal**, de la bactérie aux métazoaires (spongiaires, madrépores, vers, mollusques, insectes, reptiles, mammifères) les plus complexes [53].
- **Minéral**, dans les sédiments d'origine organique bien qu'en fait provenant initialement de végétaux ou d'animaux [53].

Ils comportent au niveau de leurs structures, un hydroxyle en position C-3 d'orientation β , éventuellement des doubles liaisons, en général une double liaison entre les carbones 5 et 6 ainsi qu'une chaîne latérale rattachée au sommet C-17 [47], par exemple le cholestérol **64**.

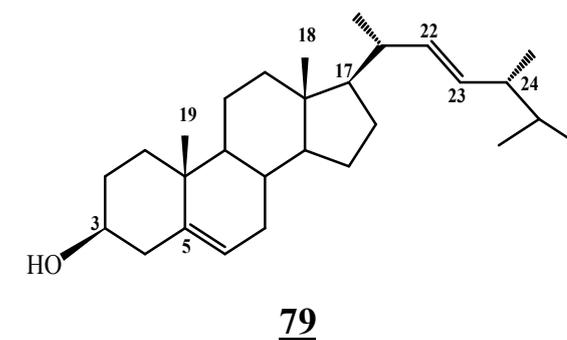
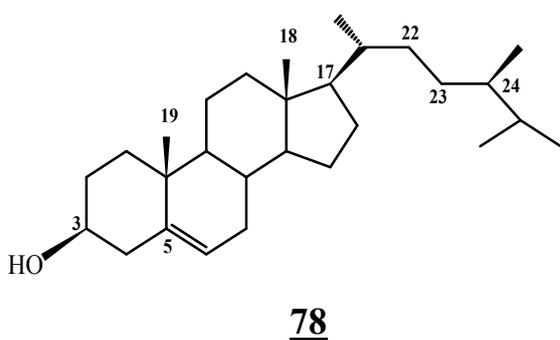
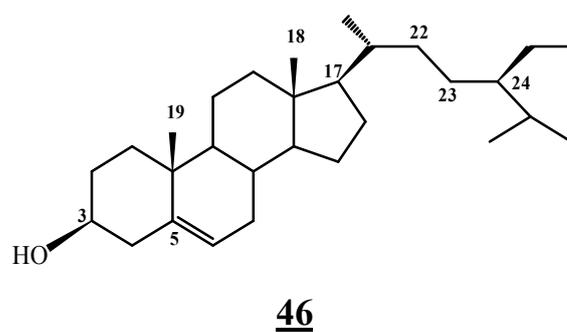
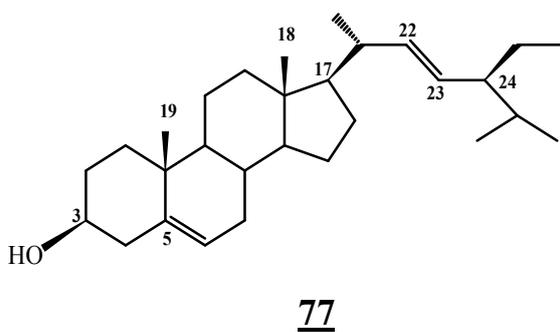
II.1.6 Classification et répartition des stérols

Il n'existe, à vrai dire, aucune classification spéciale des stérols. Selon l'origine biologique [48], on a pris l'habitude de répartir les stérols en :

- ❖ **Zoostérols** (stérols chez les animaux)
- ❖ **Mycostérols** (stérols chez les champignons inférieurs)
- ❖ **Phytostérols** (stérols chez les plantes supérieures)
- ❖ **Stérols chez les algues**

II.1.7 Définition des phytostérols

Les phytostérols (stérols végétaux) sont des composés naturellement présents dans la partie lipidique (grasse) des plantes [50,52], il existe plus que 100 différents phytostérols [48]. Ils apparaissent ainsi comme des graisses végétales identiques en structures au cholestérol **64** (graisse animale), peuvent différer également des stérols par l'alkylation supplémentaire de la chaîne latérale en C-24. Le β -sitostérol **46**, le stigmastérol **77**, le compèstérol **78** et le brassicastérol **79**, en sont la meilleure illustration [48].



II.1.8 Biosynthèse des stérols

Elaborés à partir des mêmes précurseurs, les terpènes et les stérols constituent sans doute le plus vaste ensemble connu de métabolites secondaires des végétaux [54].

Les stérols végétaux sont issus, via le squalène, du mévalonate. Tous les terpènes et les stérols, et c'est là un point commun essentiel, peuvent être considérés comme formés par l'assemblage d'un nombre entier d'unités pentacarbonés ramifiées dérivées du 2-méthylbutadiène: déjà, en 1887, O.Wallach envisageait que les terpènes devaient être construits à partir d'unités isopréniques et, quelques dizaines d'années plus tard (1953), Ruzicka, après plus de trente années consacrées à l'étude des terpènes, transformait cette hypothèse en une règle générale dont le principe a été, depuis, confirmé expérimentalement. Les stérols sont issus par condensation « tête-à-queue » d'unités isopréniques [54].

Les précurseurs des stérols sont des esters pyrophosphoriques d'alcools en $(C_5)_n$ formés au premier temps par l'addition séquentielle d'une unité en C_5 , le pyrophosphate d'isopentényle (IPP), sur une molécule *starter*, un pyrophosphate de pré-nol allylique, le premier terme de la série étant le pyrophosphate de diméthylallyle (DMAPP), ce qui les différencie par rapport aux terpènes c'est la suite de dégradation et de réarrangements du squelette triterpénique [54].

Biosynthèse de l'acide mévalonique à partir de l'acétyl-CoA

Initialement, le marquage isotopique permet de montrer que le squelette carboné des terpènes provenait de l'acétate. Ultérieurement, il fut démontré que l'acide mévalonique devait être un précurseur universel de ces composés. L'étape initiale du processus implique la condensation de deux molécules de l'acétyl-CoA : formation de l'acéto-acétate coenzyme A (Claisen) et condensation (aldolique) de celui-ci avec une molécule d'acétylcoenzyme A pour former 3-hydroxy-3-méthylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) (Schéma II.1.1) [54].

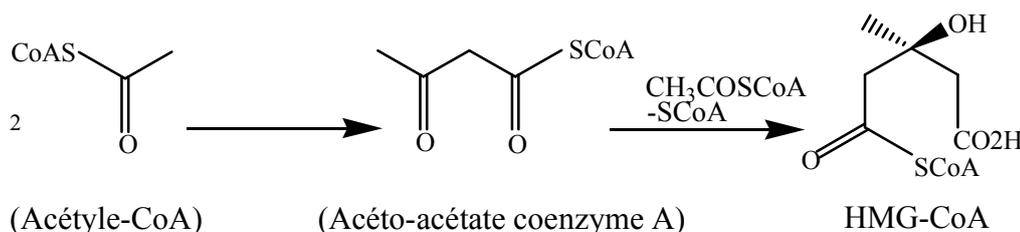


Schéma II.1.1

Une autre enzyme, l'hydroxyméthylglutaryl-coenzyme A-réductase, effectue la réduction NADPH-dépendante du 3-hydroxy-3-méthylglutaryl-coenzyme A (HMG-CoA) formé en acide 3R-mévalonique (MVA) (Schéma II.1.2) [54].

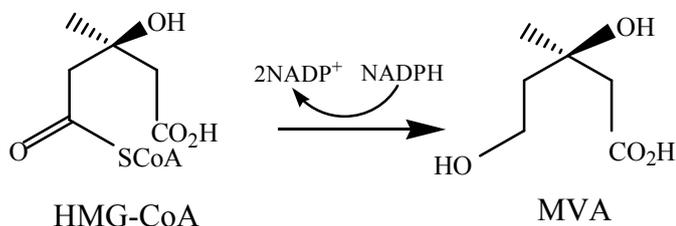


Schéma II.1.2

Biosynthèse du squalène à partir de l'acide mévalonique

La conversion de l'acide mévalonique en structures hémiterpéniques débute par une double phosphorylation (Schéma II.1.3) [54].

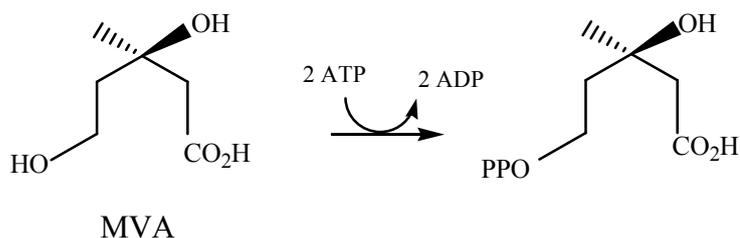


Schéma II.1.3

Une nouvelle phosphorylation permet d'introduire un bon groupe partant, le groupe pyrophosphate dont l'élimination assistera la décarboxylation : la mévalonate-5-diphosphate-décarboxylase induit la formation du pyrophosphate d'isopentényle (IPP) (Schéma II.1.4) [54].

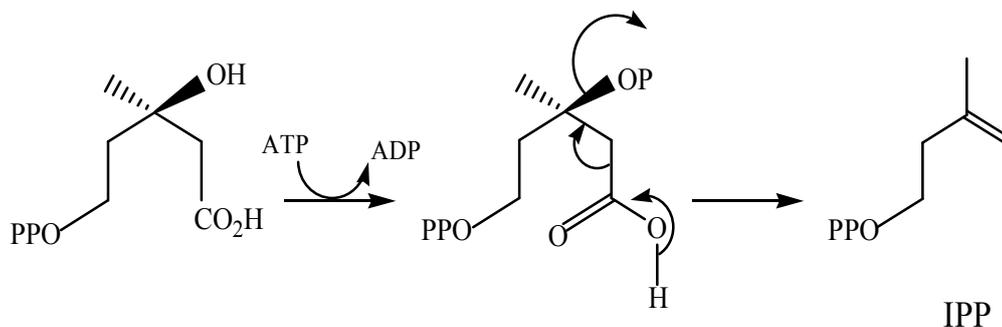


Schéma II.1.4

L'isopenténylpyrophosphate (IPP) est isomérisé par l'isopentényldiphosphate (DMAPP). Le réarrangement allylique 1,3 implique l'addition d'un proton du milieu et l'élimination du proton *pro-2R* (Schéma II.1.5) [54].

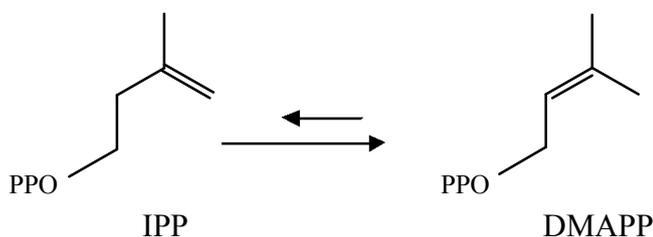


Schéma II.1.5

Ce DMAPP est hautement réactif : il est susceptible de subir une attaque nucléophile en C-1 avec départ concomitant du groupe pyrophosphate ; l'attaque peut être le fait d'une molécule d'IPP ou de toute autre molécule réactive [54].

L'addition du DMAPP sur la double liaison de l'IPP est catalysée par une prényltransférase, la GPP-synthase; la réaction implique l'ionisation du pyrophosphate d'allyle et le départ du groupe pyrophosphate qui permet l'attaque électrophile simultanée et stéréosélective du carbocation allylique formé sur la double liaison du pyrophosphate d'isopentényle. La condensation s'accompagne de l'élimination d'un proton H *pro-2R* de l'IPP. La même réaction de prénylation peut se poursuivre : l'addition du GPP sur un IPP conduit au farnésylpyrophosphate (FPP) et ainsi de suite pour former la série des pyrophosphates de prényls allyliques homologues. L'élongation est catalysée par des prényl-transférases dont certains sont spécifiques pour une longueur de chaîne donnée [54].

Les stéroïdes proviennent du squalène issu du couplage queue à queue de deux unités de FPP ($2 \times C_{15} = C_{30}$). Le mécanisme de ce couplage « queue à queue » n'a été que tardivement élucidé avec l'isolement d'un autre intermédiaire, le pyrophosphate de présqualène. La structure cyclopropanique de ce dernier permet de penser que la liaison C₂-C₃ d'un FPP est alkylée par une autre molécule de FPP et que l'élimination d'un proton conduit à la formation du cyclopropane. Si le milieu est déficient en NADPH, le pyrophosphate de squalène s'accumule; dans le cas contraire il se réarrange en squalène, sans doute par l'intermédiaire d'un carbocation cyclobutanique (Schéma II.1.7) [54,55].

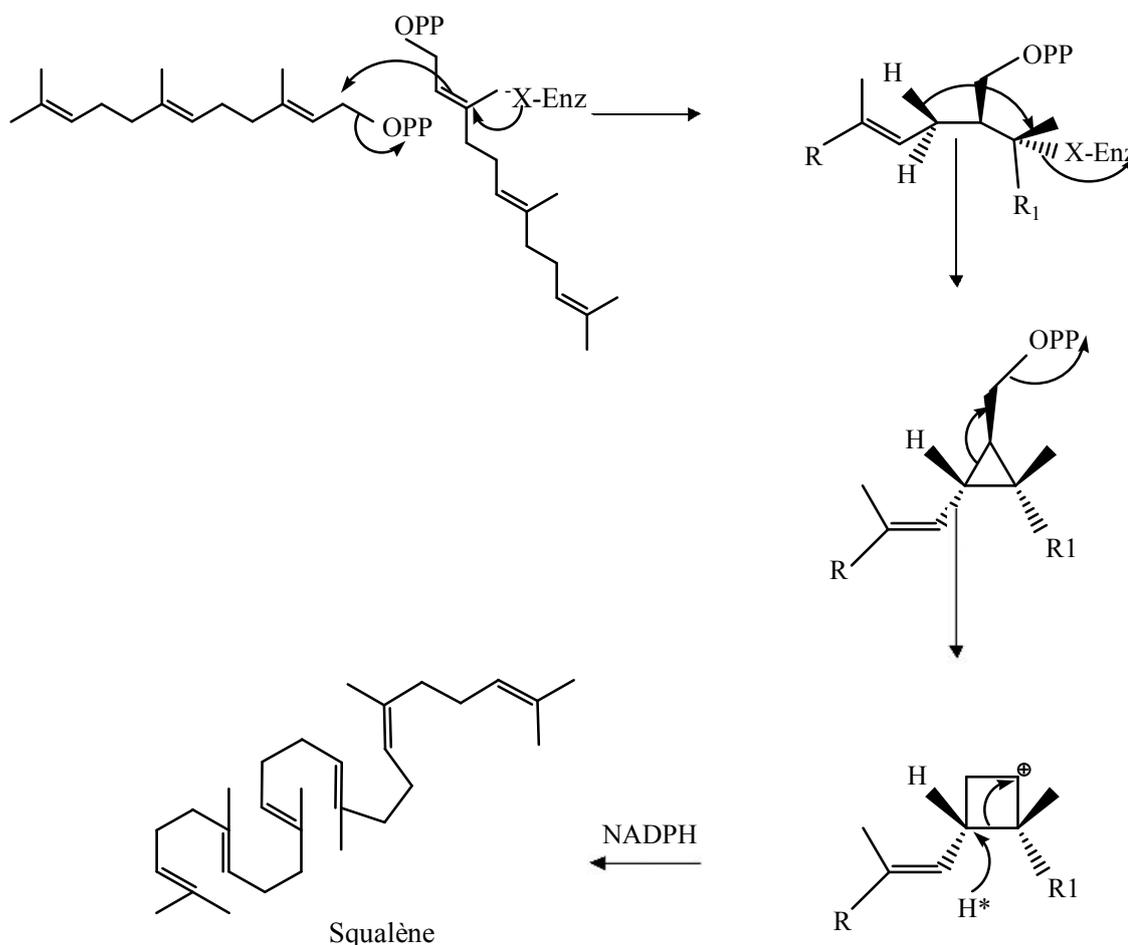


Schéma II.1.7

Biosynthèse de l'époxy 2,3-squalène à partir du squalène

Le squalène époxydase catalyse alors une réaction d'oxydation de la molécule pour former la fonction 3 β -alcool caractéristique des stéroïls.

Cette réaction porte sur la liaison éthylénique entre les carbones 3 et 4 du squalène. L'oxygène de la respiration sert d'oxydant : un des atomes d'oxygène formera un pont époxyde entre les carbones 3 et 4, tandis que l'autre formera une molécule d'eau avec les deux hydrogènes apportés par un NADPH et un proton (Schéma II.1.8) [55,56].

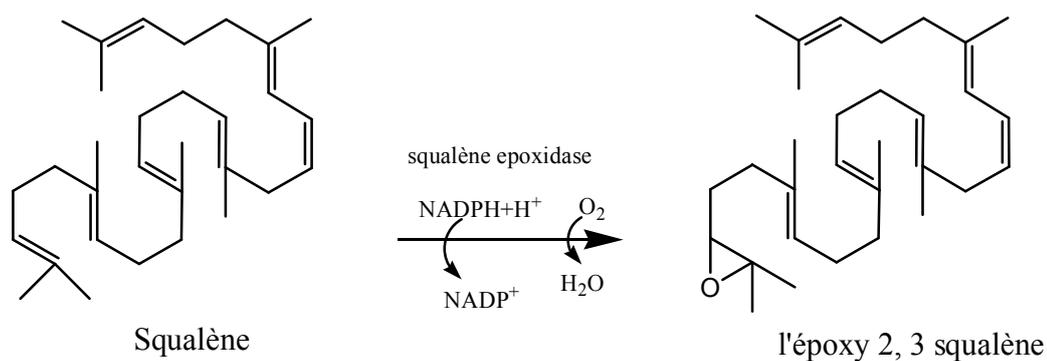


Schéma II.1.8

L'époxydation du squalène peut produire aussi des 24,25-époxy-squalènes, conduisant aux oxystérols (25-hydroxy cholestérol, par exemple) [56].

De la conformation initiale de l'époxy 2,3-squalène, dépend l'orientation de la biosynthèse vers les stérols d'une part et les triterpènes, d'autre part. Il apparaît ainsi que:

-Si l'époxy 2,3-squalène est maintenu dans une conformation chaise-bateau-chaise-bateau, la cyclisation conduit à un cation protostane qui se réarrange ensuite en cycloarténol ou lanostérol.

-Si l'époxy 2,3-squalène est maintenu dans une conformation chaise-chaise-chaise-bateau, la cyclisation conduit à un cation, ce dernier peut subir un réarrangement, formant un cycle supplémentaire qui conduit aux triterpènes penta cyclique [47].

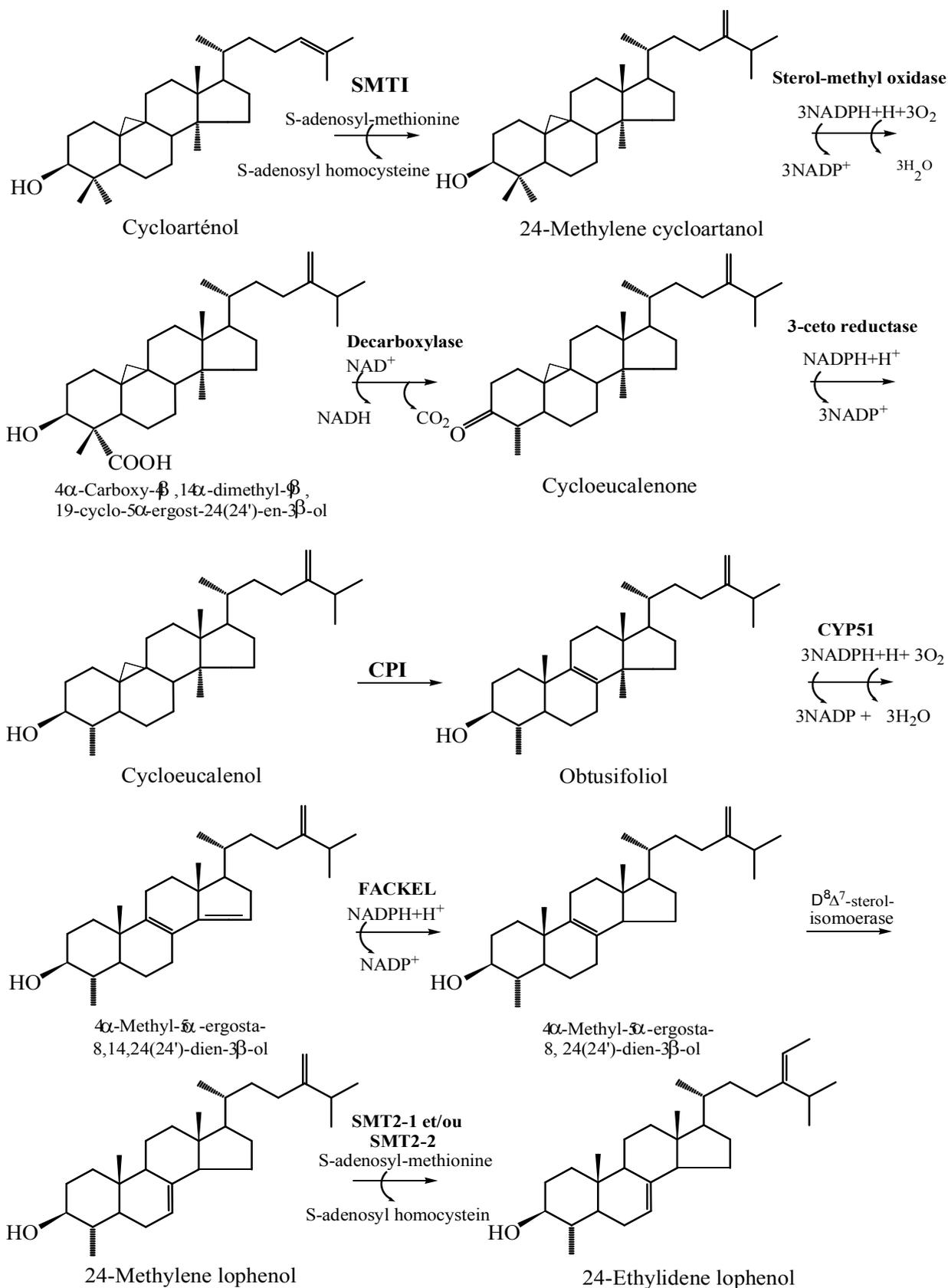
Biosynthèse des stérols à partir de l'époxy 2,3-squalène

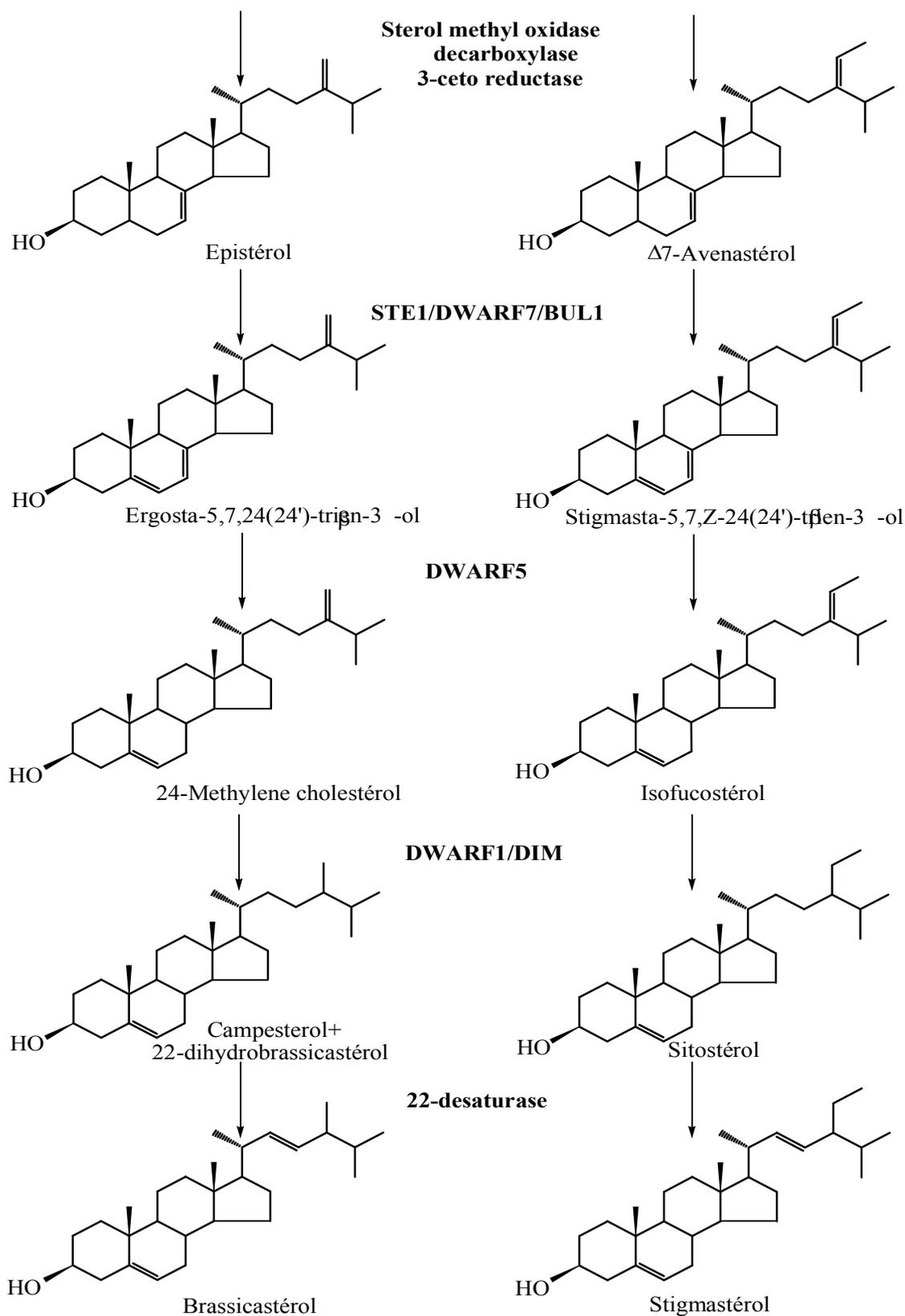
Chez les animaux le squalène 2,3 oxide est convertit en lanostérol, cette réaction arrive aussi dans les levures et les champignons. Tandis que le premier composé formé, chez les plantes supérieures et les algues, est le cycloarténol, isomère du lanostérol et possédant un cyclopropane au lieu de la double liaison Δ^8 (Schéma II.1.9) [47,55,57].

Chez les plantes supérieures, le cycloarténol peut être transformé aussi en cholestérol par la décyclisation du cyclopropane, désaturation des carbones 5 et 6, et enfin réduction de la double liaison Δ^{24} (Schéma II.1.9) [52].

Le passage du cycloarténol aux derniers stérols se produit dans trois étapes de déméthylation en positions C-4 et C-14 du squelette des stérols [58].

Le schéma II.1.10 présente les progressions les plus importantes qui se développent entre le cycloarténol et le stigmasterol [58].





SMT1,SMT2 = stérol-méthyltransférases; FACKEL = $\Delta^{8,14}$ -stérol- Δ^{14} -réductase; STE1/DWARF7/BUL1 = Δ^7 -stérol-C5(6)-désaturase; DWARF5 = $\Delta^{5,7}$ -stérol- Δ^7 -réductase; DWARF1/DIM = Δ^5 -stérol- Δ^{24} -réductase(isomérase); CPI = cyclopropyl stérol isomérase; CYP51 = obtusifoliol-14 α -diméthylase [63].

Schéma II.1.10 : Voie de biosynthèse des stéroïdes chez les plantes

Chez les animaux, le lanostérol est converti en cholestérol. La synthèse du cholestérol se fait dans le cytoplasme des cellules (surtout l'intestin et le foie) à partir du squalène. Les dernières réactions conduisant du lanostérol au cholestérol peuvent se dérouler de façon différente selon l'ordre dans lequel les enzymes interviennent : il en résulte plusieurs voies métaboliques, dont les intermédiaires ont été isolés dans le tissu hépatique de plusieurs espèces [50]. Toutefois le bilan reste le même, impliquant l'oxydation des méthyles 28, 29 et 30, puis la désaturation des carbones 5 et 6 par des chaînes respiratoires microsomiales en présence d'oxygène, et la désaturation des liaisons éthyléniques en 24-25 et en 7-8 par le NADPH (Schéma II.1.11) [51,52].

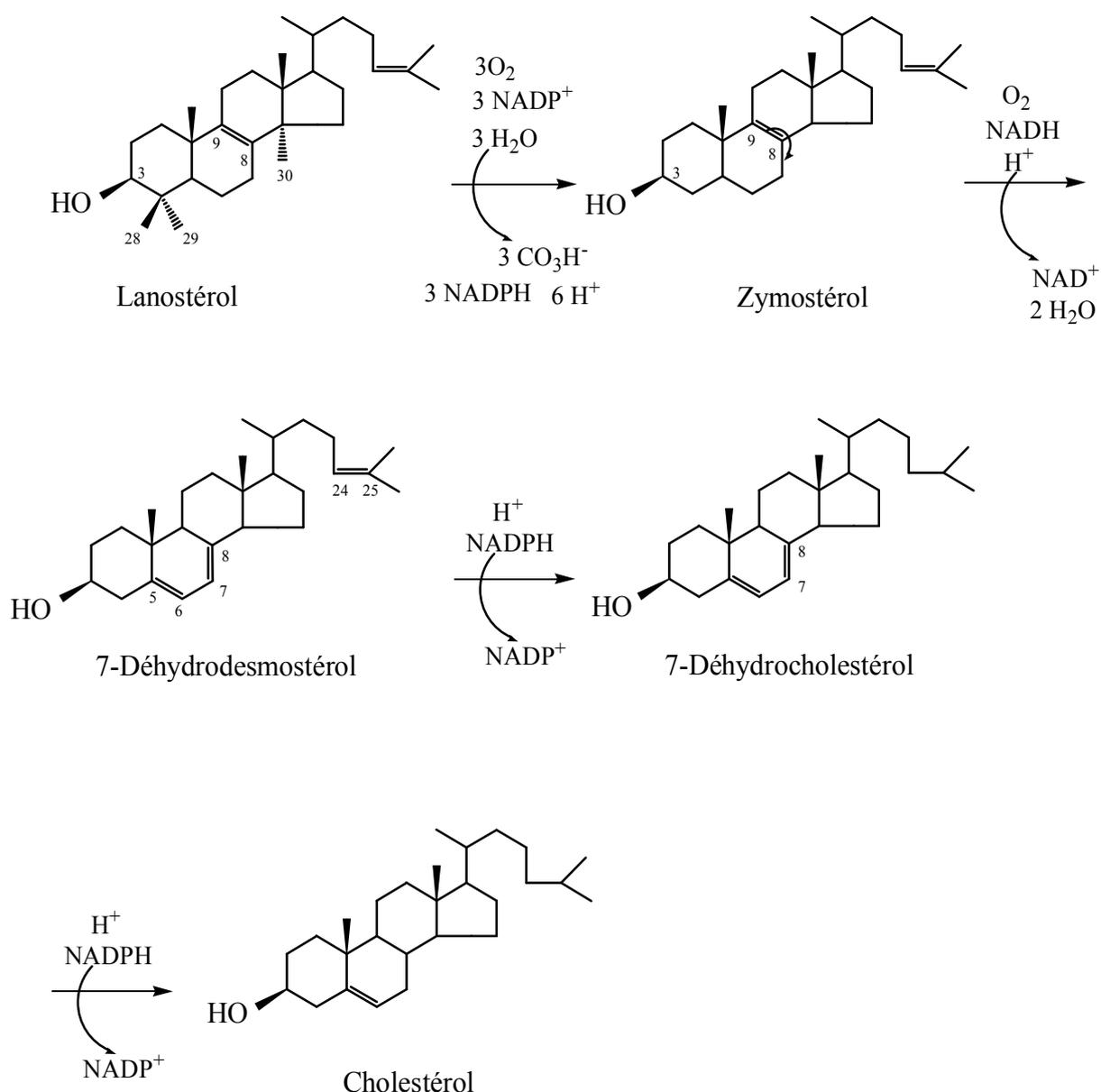


Schéma II.1.11 : Biosynthèse du cholestérol

Au delà du cholestérol, le métabolisme conduit aux acides biliaires et aux hormones [51]. Les levures et certains champignons convertissent le zymostérol en ergostérol (Schéma II.1.12) [51,59].

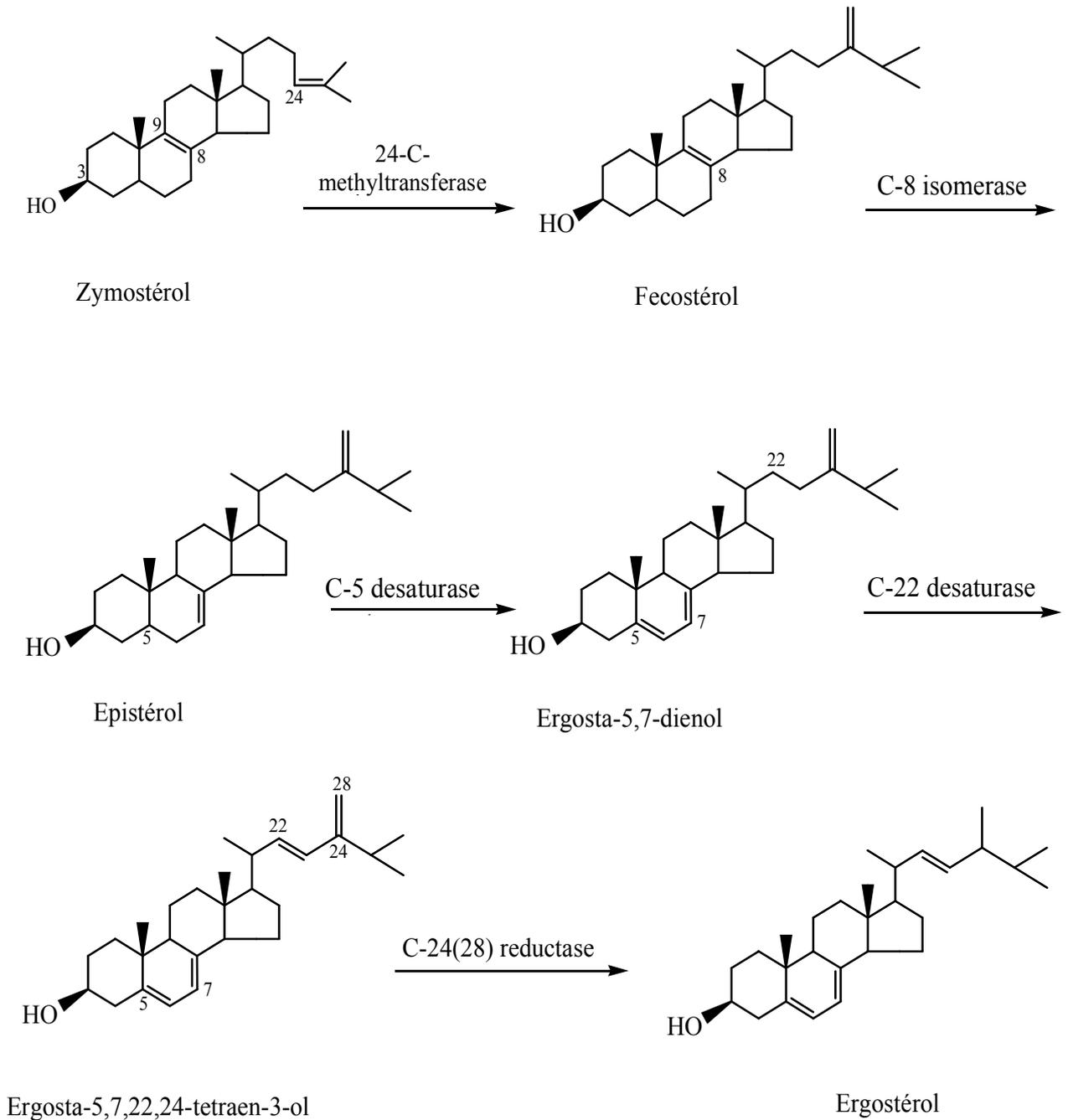


Schéma II.1.12 : Biosynthèse de l'ergostérol

II.1.9 Propriétés pharmacologiques des stérols

Les produits enrichis en phytostérols sont présentés comme aidant à la réduction du taux de cholestérol sanguin. L'excès de cholestérol qui touche près un adulte sur 5 est un des facteurs de risque majeur des maladies cardiovasculaires. Grâce à leur structure proche de celle du cholestérol, les phytostérols entrent en compétition avec lui dans l'intestin et empêchent son absorption. Le sitostérol est prescrit comme drogue pour diminuer le cholestérol aux années 1950, mais sa moindre solubilité et bioavabilité a fait rapidement diminuer son utilisation. Cependant, la solubilité des phytostérols a été améliorée par estérification, ceci est remarqué dans le premier produit commercial des phytostérols contenant les margarines. Des études ont dévoilé, par la suite, que 2-3 g/jour du phytostanyl ester, contenant la margarine a constamment réduit le taux du cholestérol [60].

Chez les animaux, le cholestérol contribue à la structure des membranes. Il est aussi le précurseur de plusieurs molécules bioactives importantes : les acides biliaires, qui sont produits dans le foie et qui émulsionnent les graisses alimentaires en vue de leur digestion et de leur absorption intestinale; des hormones stéroïdes produites par des cellules endocrines (ex. surrénales, ovaires, testicules); la vitamine D3 produite dans la peau et les reins. Les arthropodes ont besoin de cholestérol et d'autres stérols pour produire des membranes et des hormones ecdystéroïdes, qui contrôlent le développement [61,62].

Le stigmastérol et le stigmastérol 3 β -glucoside, isolés de la plante *Hertia cheirifolia*, présentent une activité anti-inflammatoire [63]. Le stigmastérol, a des effets antiperoxydative et antidiabétique, il est considéré aussi comme inhibiteur de thyroïde [64].

Les stérols aminés 6-aminocholestanols et 25-aminocholestéro montrent successivement une activité antimicrobienne et une activité antifongique très élevée [56].

II.2 ETUDE DES

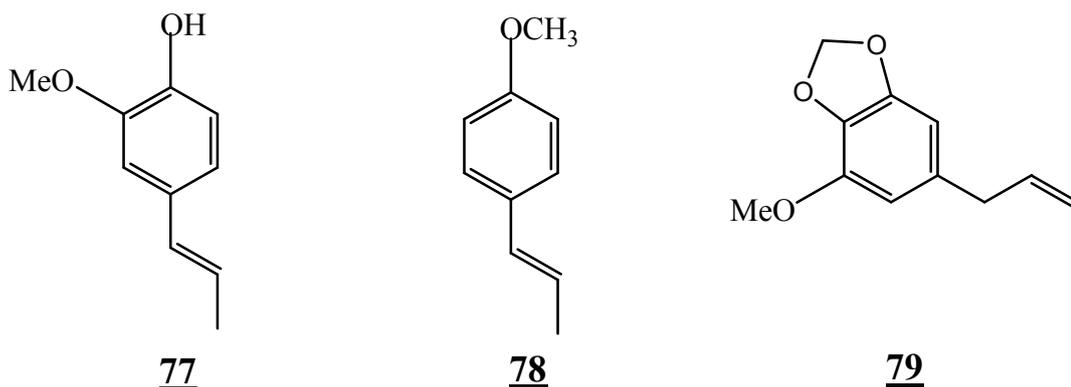
PHENYLPROPANOIDES

II.2.1 Généralités

Les composés phénoliques englobent une grande variété de substances possédant un ou plusieurs noyaux aromatiques, substitués par un ou plusieurs groupements hydroxyles. Ils forment une grande famille de composés chimiques très divers depuis les simples acides phénoliques jusqu'aux grands polymères complexes que sont par exemple, les tanins et la lignine. Les phénylpropanoïdes, dont nous allons parler, en font également partie [65].

Le métabolisme des phénylpropanoïdes est un métabolisme secondaire, spécifique du règne végétal. Tous les dérivés phénylpropanes possèdent le même squelette carboné : une chaîne latérale à trois carbones attachés au phénol [66], par exemple les hydroxycoumarines, les phénylpropènes, les lignanes et différents types d'acides hydroxycinnamiques (caféiques, coumariniques).

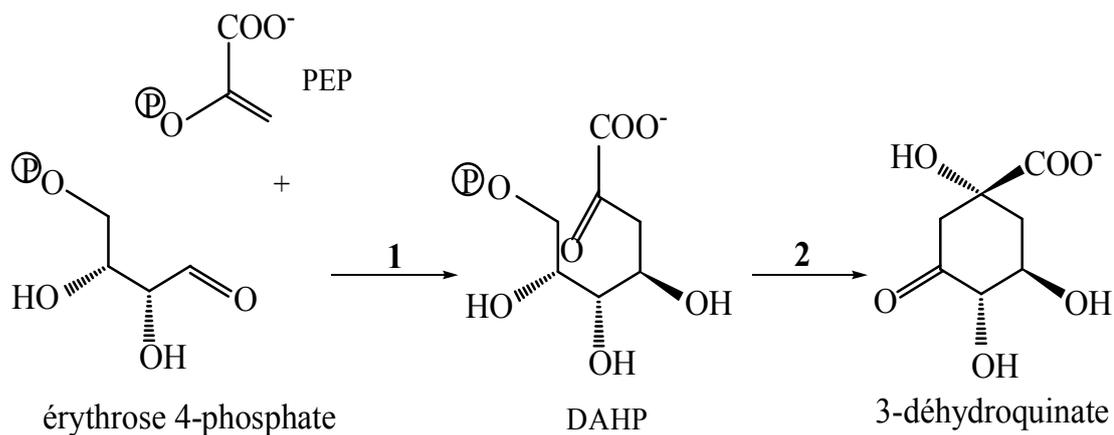
Les phénylpropènes ne sont pas en général des phénols, ils sont insolubles dans l'eau, ce sont des constituants des huiles essentielles (eugénol 77, anéthol 78, myristicine 79) [54].



II.2.2 Biosynthèse des phénylpropanoïdes

Les composés en C₆-C₃, souvent désignés collectivement par le terme de phénylpropanes, sont comme la plupart des composés secondaires phénoliques des métabolites de l'acide shikimique. Quel que soit le degré d'oxydation de leur chaîne latérale (alcool, aldéhyde, propène), ils proviennent des acides cinnamiques [54]. La formation de l'acide cinnamique se fait comme suit :

La première réaction est la condensation du phosphoénolpyruvate (PEP) avec l'érythrose-4-phosphate pour former un composé en C₇, le 3-désoxy-D-arabino-heptulosonate-7-phosphate (DAHP). La cyclisation du DAHP en 3-déhydroquinone est une réaction complexe qui met en jeu une condensation aldolique intramoléculaire intervenant après l'élimination du phosphate (Schéma II.2.1) [65,66].



1. DAHP synthase, NAD⁺
2. 3-déhydroquinase synthase

Schéma II.2.1

La déshydratation du 3-déhydroquinate est catalysée par un enzyme qui, en formant transitoirement une base de Schiff entre un résidu lysine et le carbonyle du 3-déhydroquinate, induit une élimination d'eau stéréospécifique, *cis* (Schéma II.2.2) [65,65].

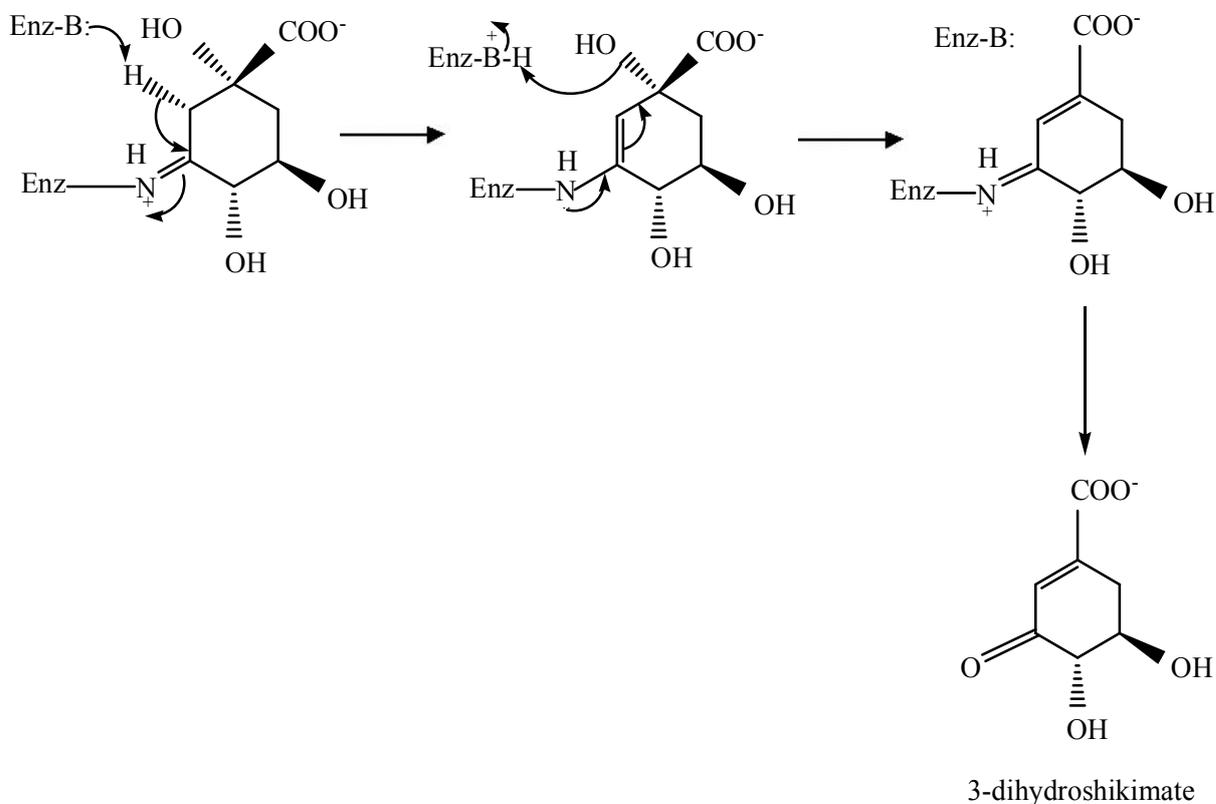
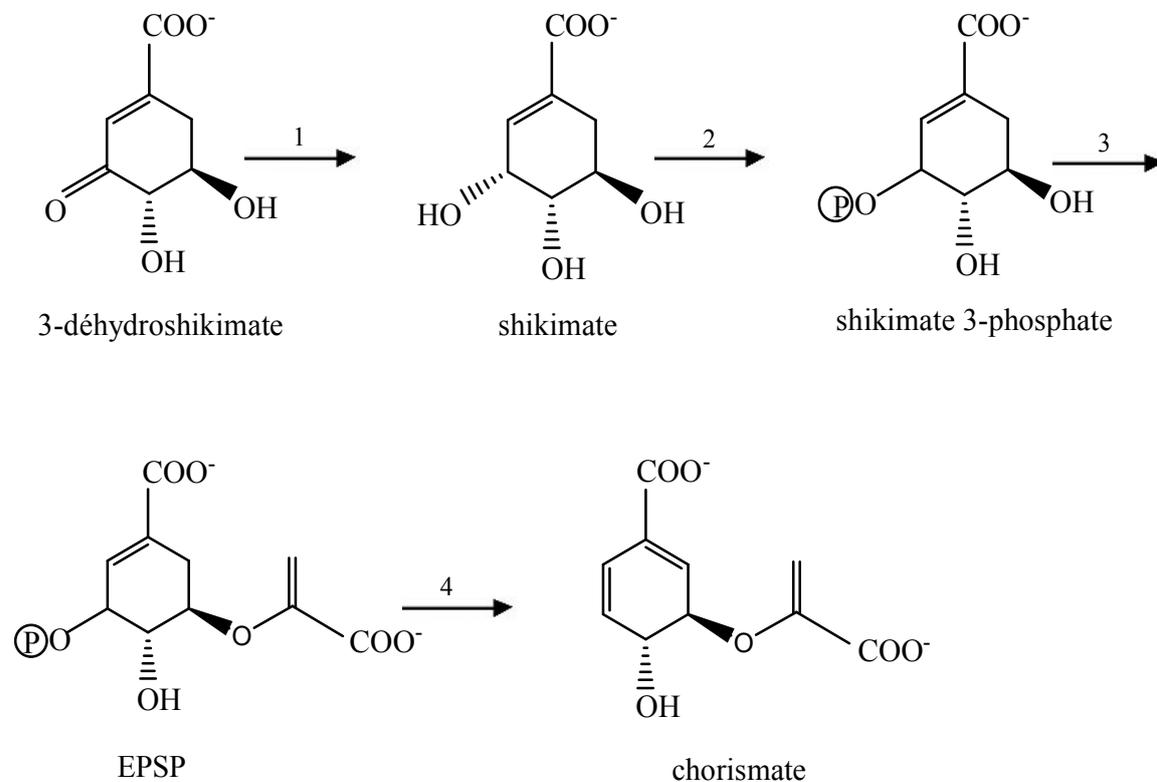


Schéma II.2.2

C'est après la réduction du 3-déhydroshikimate et la phosphorylation du shikimate que se produit la condensation avec une nouvelle molécule de PEP pour former un éther d'énol, le 5-énolpyruvylshikimate 3-phosphate (EPSP). Ce dernier conduit, via une *trans* 1,4-élimination inhabituelle, au chorismate (Schéma II.2.3) [65,66].



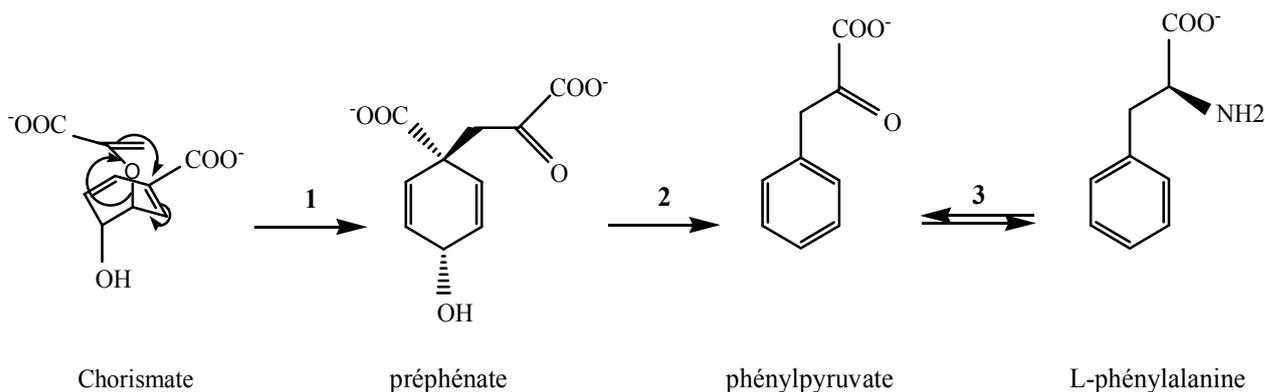
1. shikimate oxydoréductase, NADP+
2. shikimate kinase, ATP
3. EPSP synthase, PEP
4. chorismate synthase

Schéma II.2.3

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

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

temps, décarboxylé et aromatisé en L-phénylalanine (arogénate déshydratase) (Schéma II.2.4) [65,66].



1. Chorismate mutase
2. Chorismate mutase- préphénate-déshydratase
3. phénylpyruvate aminotransférase
4. préphénate aminotransférase

Schéma II.2.4

L'élimination stéréospécifique d'ammoniac à partir de la phénylalanine conduit à l'acide (*E*)-cinnamique (*trans*-cinnamique). La réaction est catalysée par la Phénylalanine Ammoniac Lyase (PAL), c'est une enzyme clé puisqu'elle contrôle effectivement l'orientation du carbone vers la production des composés phénoliques plutôt que vers la production des métabolites primaires comme les protéines. L'élimination d'ammoniac est favorisée par réaction de NH_2 avec un reste déhydroalanine du groupement prosthétique de l'enzyme (Schéma II.2.5) [65,66].

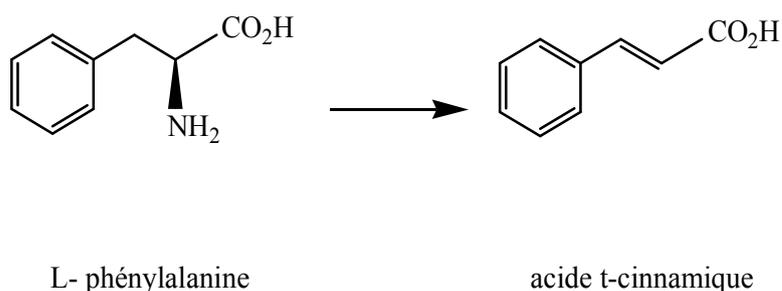


Schéma II.2.5

Le premier composé phénylpropane est l'acide *E*-cinnamique. Il va conduire à cinq autres acides hydroxycinnamiques qui diffèrent par leur degré d'hydroxylation et de méthylation. Les esters de CoA correspondant représentent les intermédiaires activés du métabolisme des phénylpropanoïdes. Les fonctions carboxyles estérifiées peuvent subir deux étapes de réduction conduisant successivement aux fonctions aldéhydes puis alcools. Trois de ces

composés alcools constituent des précurseurs de la lignine, les unités *p*-hydroxyphényle (H), gaïacyle (G) et syringyle (S) (Schéma II.2.6) [66].

II.2.3 Les produits dérivés du métabolisme des phénylpropanoïdes

Le motif phénylpropanique est par ailleurs susceptible de se cycliser (coumarines), de se dimériser (lignanes), de se polymériser (lignines), ou de voir sa chaîne latérale s'allonger (stilbènes, flavonoïdes) [54].

II.2.3.1 Les coumarines

Ce sont des composés phénoliques cyclisés qui dérivent des acides *E*-cinnamique et *p*-coumarique pour la majorité d'entre eux. Cependant, leur voie de biosynthèse peut varier d'une espèce à l'autre. En effet, la scopolétine de tabac dérive de l'acide férulique, tandis que des expériences d'apport de précurseurs marqués semblent montrer que ce n'est pas le cas chez le tournesol (Schéma II.2.6) [66].

II.2.3.2 Les stilbènes, les flavonoïdes et leurs dérivés

Cette section regroupe les flavonoïdes, isoflavonoïdes, flavanones, anthocyanes et stilbènes, tous formés à partir du *p*-coumaroyl-CoA. A l'exception des stilbènes, la première étape menant aux flavonoïdes et leurs dérivés est catalysée par la chalcone synthase (CHS) et conduit à la chalcone. Les stilbènes, quant à eux, sont synthétisés par la stilbène synthase (SS), une enzyme présentant des similarités avec la CHS (Schéma II.2.6) [66].

II.2.3.3 Les dérivés d'acides hydroxycinnamiques

Les esters de CoA semblent être la source principale des acides hydroxycinnamiques estérifiés aux parois. Dans les parois, les dérivés d'acides férulique et *p*-coumarique sont majoritairement recensés, parmi lesquels des dimères d'acide férulique. Ces phénols sont fixés covalamment aux polysaccharides des parois par des liaisons esters, par exemple à des arabinoxylanes ou des xyloglucanes [66].

La féruloylation des polysaccharides peut se faire au niveau de la paroi par la voie oxydative mais pourrait également se dérouler dans les membranes Golgiennes grâce à une enzyme de type transférase. Dans la paroi, les polysaccharides peuvent ainsi être liés à la

lignine via l'acide férulique et reliés entre eux grâce aux dimères d'acide férulique via des liaisons esters. Ces liaisons spécifiques des parois secondaires permettraient de les rigidifier et d'assurer leur hydrophobicité. Il existe une corrélation entre l'accumulation d'acide férulique et de son dimère (acide déhydrodiférulique) et la diminution de l'expansion cellulaire chez les graminées. D'autre part, les polysaccharides féruloylés pourraient servir de point d'ancrage à la lignification. Par ailleurs, des dérivés d'acide férulique et *p*-coumarique s'accumulent fortement dans les tissus élicités ou infectés. Les acides hydroxycinnamiques et notamment l'acide férulique pourraient également être estérifiés aux protéines pariétales par l'intermédiaire des résidus tyrosine ou cystéine [66].

Quant aux dérivés d'acides hydroxycinnamiques solubles, leur nature varie en fonction des espèces végétales. Par exemple, le glucoside d'alcool déhydroconiférylique (DCG), produit de la dimérisation de deux molécules d'alcool coniférylique suivie d'une glycosylation [66].

II.2.3.4 La subérine

La subérine est constituée de deux matrices de nature chimique différente mais en quantités similaires. L'une est formée d'acides gras constituant le domaine poly-aliphatique et la deuxième de dérivés phénylpropanes correspondant au domaine poly-phénolique [66].

II.2.3.5 La lignine

La lignine est un polymère très complexe que l'on retrouve dans toutes les plantes vasculaires (Ptéridophytes, Angiospermes et Gymnospermes), assurant les propriétés de rigidité et d'hydrophobicité des parois des tissus vasculaires. Ce polymère tridimensionnel est synthétisé au niveau de la paroi. Il résulte de la polymérisation oxydative, par des liaisons diverses, de trois unités monomériques ou monolignols : les alcools coumarylique, coniférylique et sinapylique (Schéma II.2.6) [66].

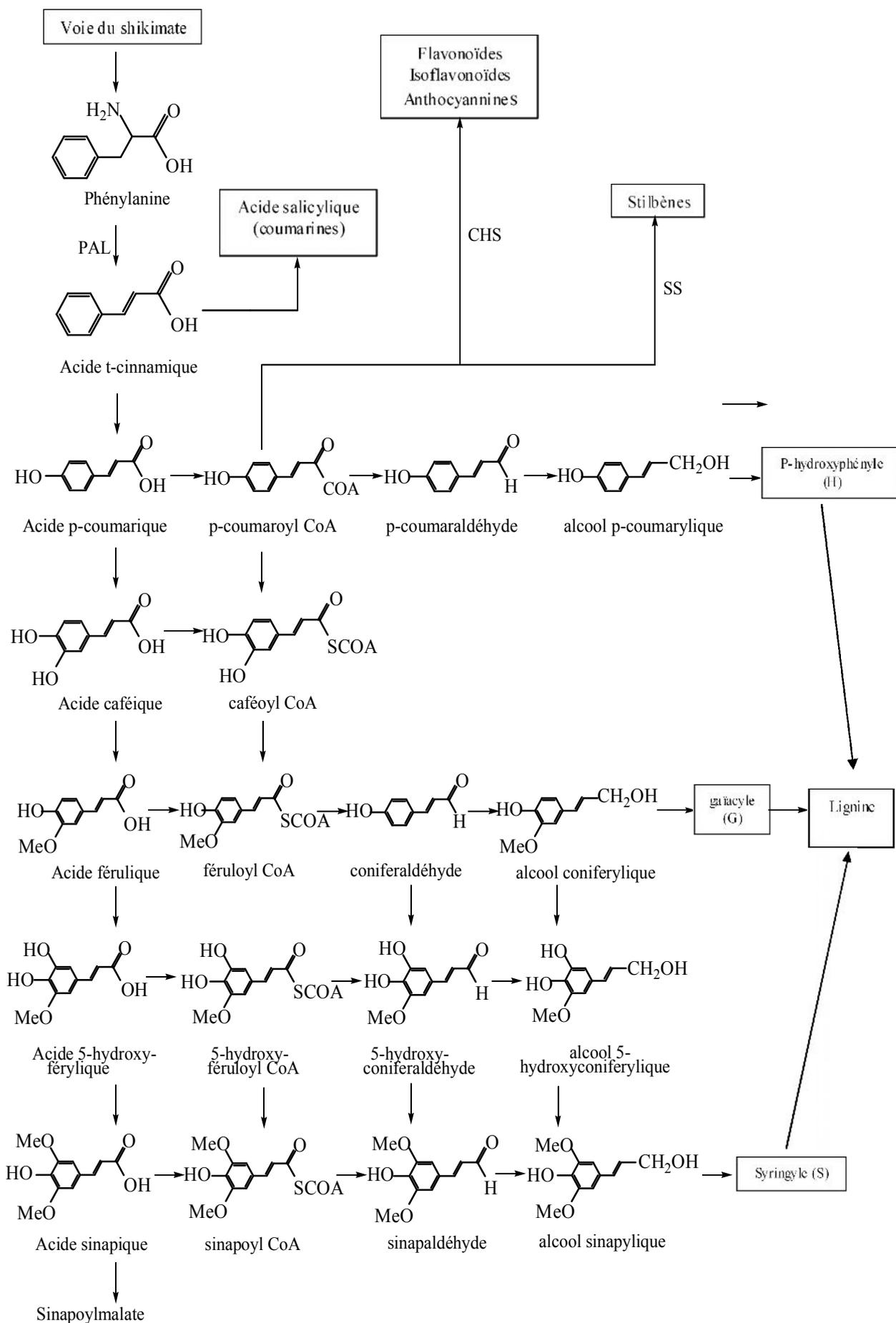


Schéma II.2.6 : Représentation simplifiée du métabolisme des phénylpropanoïdes

II.2.4 Intérêts des composés phénylpropanoïdes

L'intérêt thérapeutique des phénylpropanoïdes représente un enjeu capital dans le domaine de la recherche des substances naturelles. Ces composés sont impliqués dans des fonctions diverses telles que la fertilité, la pigmentation, la lignification et la protection contre des agents biotiques ou abiotiques [66]. Certains phénylpropanoïdes présentent une activité cytotoxique [67].

Les esters hétérosidiques phénylpropanoïques montrent des potentialités pharmacologiques intéressantes. Certains d'entre eux sont des inhibiteurs enzymatiques : inhibition de la phosphodiesterase de l'AMPc (forsythiaside, plantamajoside), inhibition de l'aldose réductase (verbascoside = actéoside). Le verbascoside, le forsythiaside et leurs homologues inhibent, aussi bien sur des granulocytes humains que sur des cellules péritonéales de Rat, la 5-lipoxygénase. Il en résulte une inhibition de la formation des hydroperoxydes et des leucotriènes qui pourrait justifier l'emploi, par la médecine traditionnelle orientale, des fruits de *Forsythia* dans le traitement de maladies inflammatoires ou allergiques. Plusieurs composés de cette série sont antibactériens et antifongiques [54].

Chapitre III

RESULTATS ET DISCUSSION

III.1 Extraction de *Santolina rosmarinifolia* L.

1,9 Kg des parties aériennes de *Santolina rosmarinifolia* L. ssp *rosmarinifolia*, séchées et pulvérisées, sont mis à macérer successivement dans quatre solvants de polarité croissante: d'abord par l'éther de pétrole, puis le dichlorométhane, ensuite l'acétate d'éthyle et enfin le méthanol. Chaque macération a duré 48 heures. Après filtration et évaporation à sec du solvant, quatre extraits ont été obtenus : 13,99 g de l'extrait étheropétrolique, 22,97 g de l'extrait dichlorométhane, 13,09 g de l'extrait acétate d'éthyle et 22,5 g de l'extrait méthanolique. Le protocole d'extraction est résumé dans le schéma III.1 suivant :

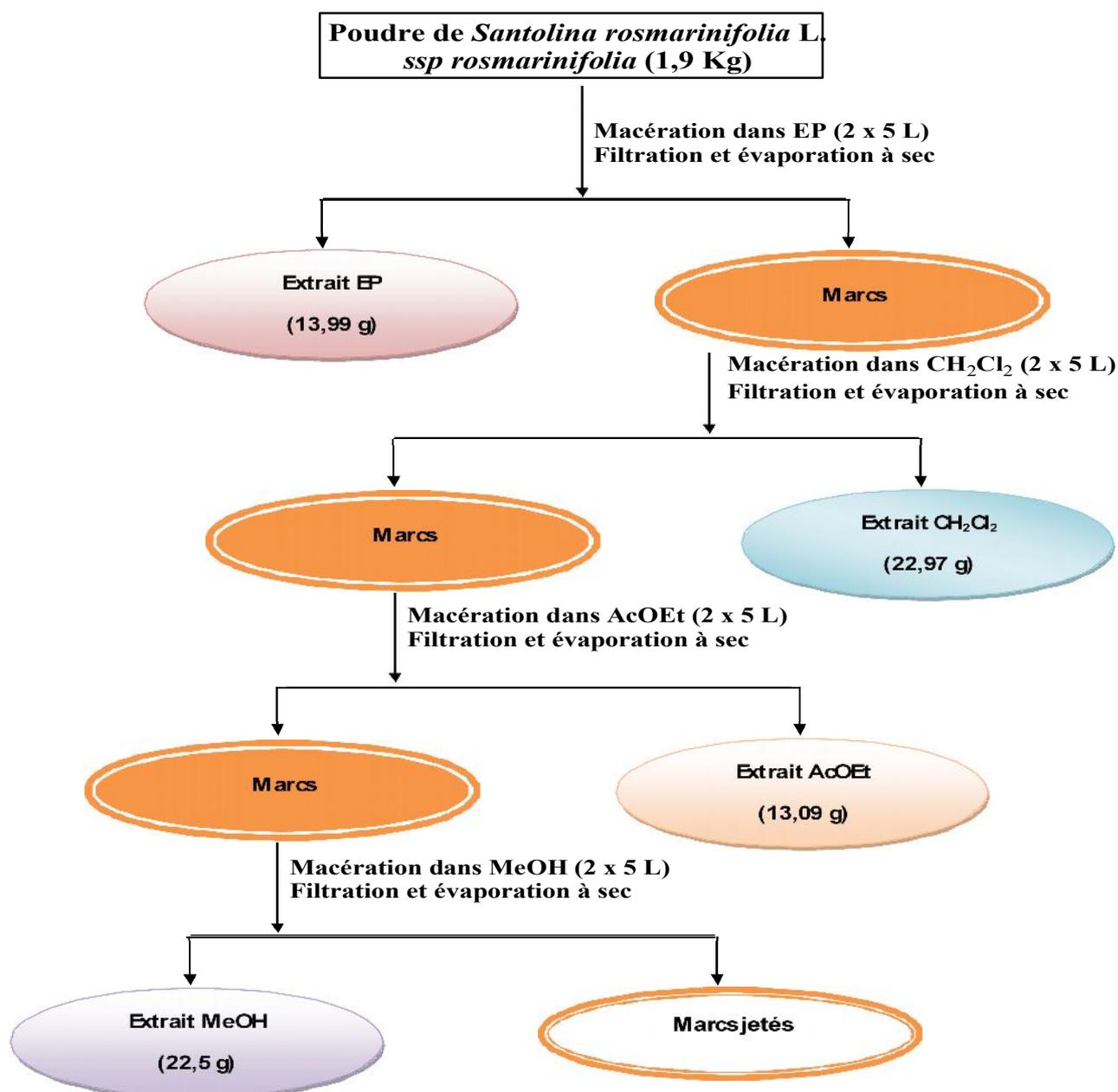


Schéma III.1 : Protocole d'extraction des parties aériennes de l'espèce *Santolina rosmarinifolia* L. ssp *rosmarinifolia*

III.2 Séparation et purification

Après examen par chromatographie sur couche mince (CCM) des quatre extraits : étheropétrolique, dichlorométhane, acétate d'éthyle et méthanol, il s'avère que l'extrait étheropétrolique est le plus tentant à étudier en premier, en raison d'une plus grande richesse en métabolites secondaires. En conséquence l'extrait étheropétrolique (10 g) a subi une chromatographie sur colonne de gel de silice en phase et pression normales. L'élution est réalisée en utilisant comme éluant EP/AcOEt à différents gradients. Des fractions de 200 ml ont été prélevées à chaque fois et examinées par chromatographie sur couche mince (CCM). Les plaques sont visualisées sous la lumière UV (254, 366 nm), puis révélées à la vanilline sulfurique. Les fractions présentant des similitudes sont réunies, donnant ainsi 29 fractions.

La fraction F22 a subi une chromatographie sur colonne de gel de silice en phase et pression normales. L'élution réalisée par le système de solvant EP/AcOEt à différents gradients, a permis d'obtenir 18 fractions.

La sous fraction F22.13 montre en CCM une tache majoritaire non visible à l'UV dans une petite traînée. Une recristallisation dans l'éther de pétrole de la fraction a permis d'obtenir le composé A (8,7 mg) à l'état pur.

L'extrait acétate d'éthyle s'avère aussi intéressant à étudier par rapport aux deux autres extraits dichlorométhanique et méthanolique. Une masse de 9 g de cet extrait a été mise à chromatographier sur colonne de gel de silice en phase et pression normales. L'élution est réalisée par un gradient de solvants : éther de pétrole pur, éther de pétrole/acétate d'éthyle, acétate d'éthyle pur, acétate d'éthyle/méthanol et méthanol pur. Des fractions de 150 ml ont été prélevées à chaque fois et examinées par chromatographie sur couche mince (CCM). Les plaques sont visualisées sous la lumière UV (254, 366 nm), puis révélées à la vanilline sulfurique. Les fractions présentant des similitudes sont réunies, donnant ainsi 27 fractions.

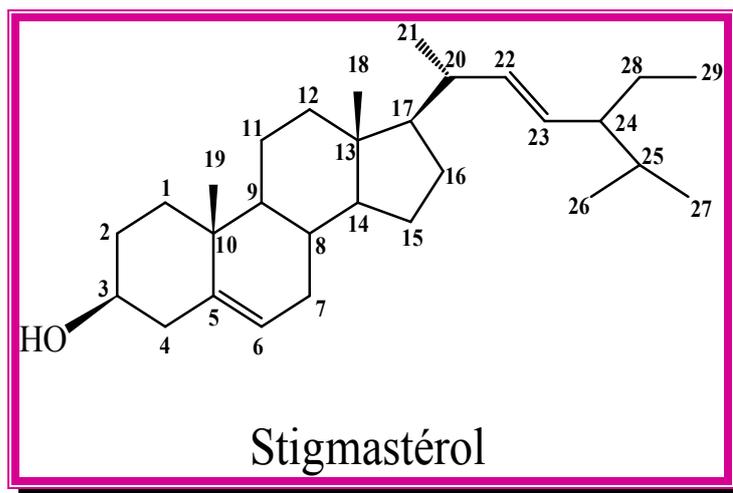
La fraction F'13 a subi une chromatographie sur colonne de gel de silice en phase et pression normales. L'élution réalisée par un gradient de solvant EP/AcOEt, a permis d'obtenir 11 fractions.

La sous fraction F'13.9 montre en CCM une tache majoritaire visible à l'UV dans une petite traînée. Une précipitation dans l'éther de pétrole a permis d'obtenir le mélange des deux composés **B** et **C** (5,1 mg).

III.3 Détermination de structures

Les trois composés isolés **A**, **B** et **C** ont été identifiés par analyses spectroscopiques particulièrement la RMN 1D et 2D ainsi que la spectrométrie de masse.

III.3.1 Composé A



Le composé **A**, invisible en UV, a été obtenu sous forme de cristaux blancs solubles dans le chloroforme. Le spectre de masse (figure III.1), obtenu par impact électronique (IE), montre un pic à $m/z = 412 [M]^+$, soit une masse moléculaire égale à 412 uma correspondant à une formule brute en $C_{29}H_{48}O$.

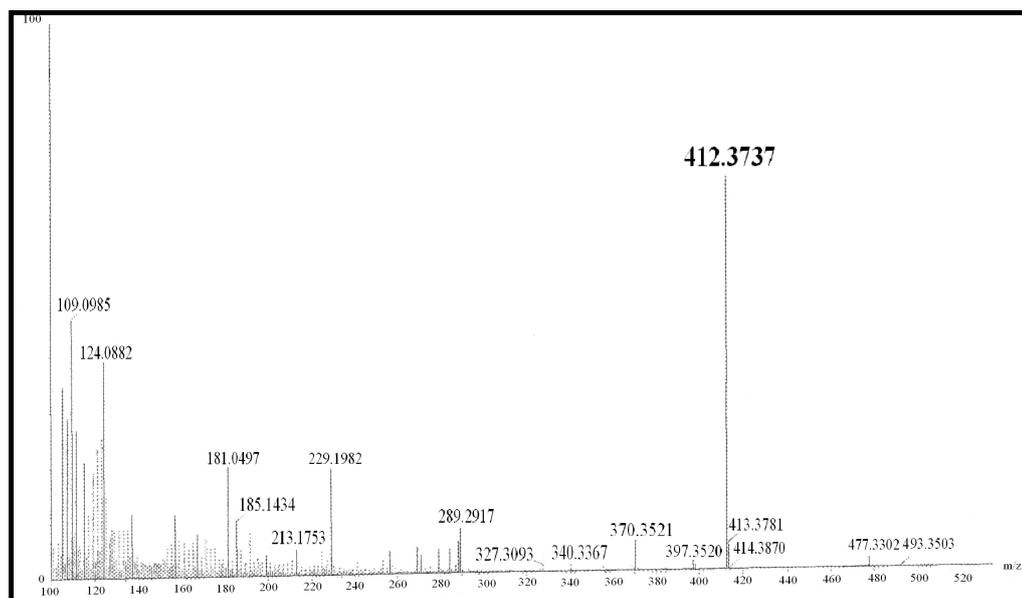


Figure III.1 : Spectre de masse du composé A

Sur le spectre IR (cm^{-1}) (figure III.2) nous notons la présence d'une bande d'absorption à 1654 cm^{-1} caractérisant une double liaison. Une autre bande d'absorption apparaissant vers 3400 cm^{-1} atteste la présence d'une fonction hydroxyle.

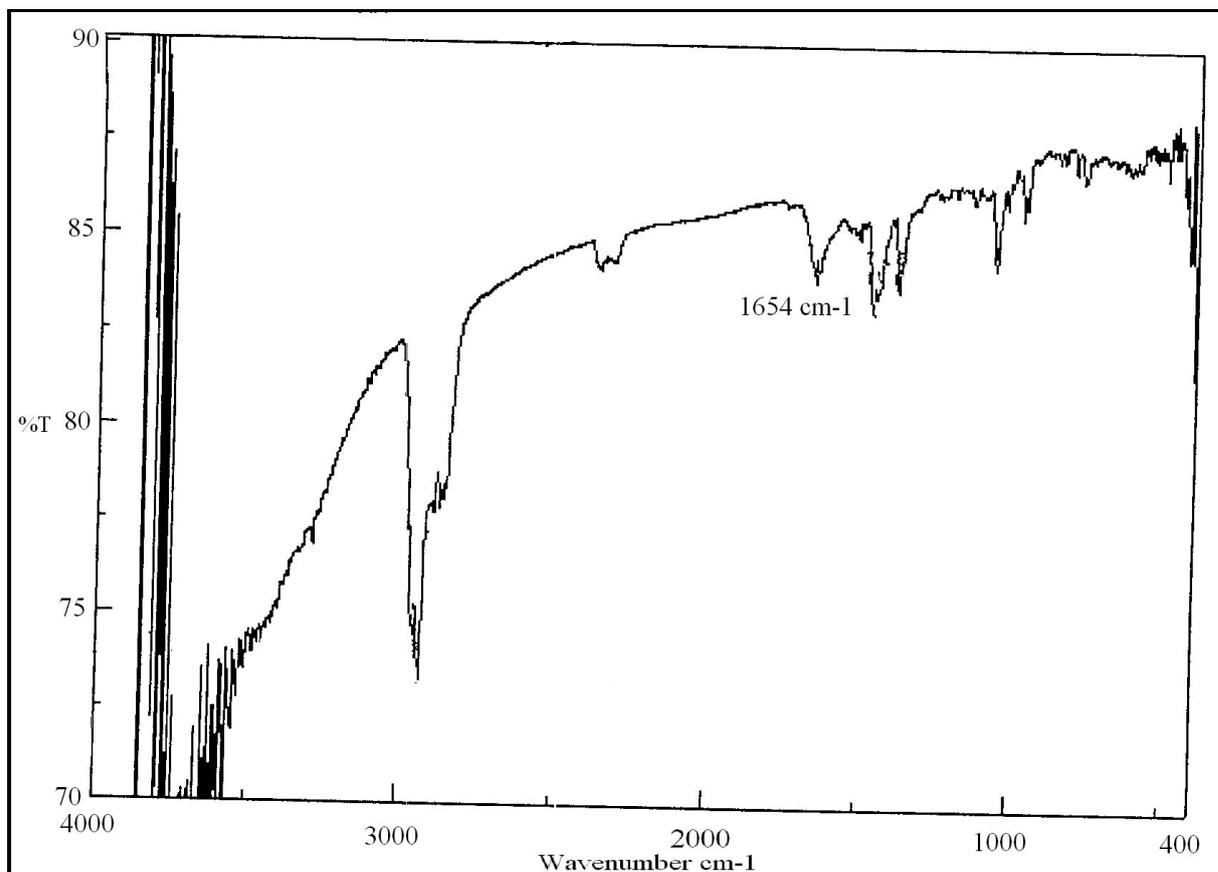


Figure III.2 : Spectre IR du composé A

Le spectre RMN ^1H enregistré dans CDCl_3 (figures III.3, III.4) permet l'observation des signaux suivants :

- ❖ Deux signaux à $\delta_{\text{H}} = 0,69$ et $\delta_{\text{H}} = 1,01$, chacun sous forme de singulet sont attribuables respectivement aux protons méthyliques H-18 et H-19.
- ❖ Trois signaux doublets à $\delta_{\text{H}} = 0,92$ ($J = 6,6 \text{ Hz}$), $\delta_{\text{H}} = 0,84$ ($J = 6,5 \text{ Hz}$) et $\delta_{\text{H}} = 0,79$ ($J = 6,5 \text{ Hz}$), correspondent respectivement aux protons méthyliques H-21, H-26 et H-27.
- ❖ Le signal à $\delta_{\text{H}} = 0,80$ ($J = 7,0 \text{ Hz}$) sous forme de triplet correspond à H-29.

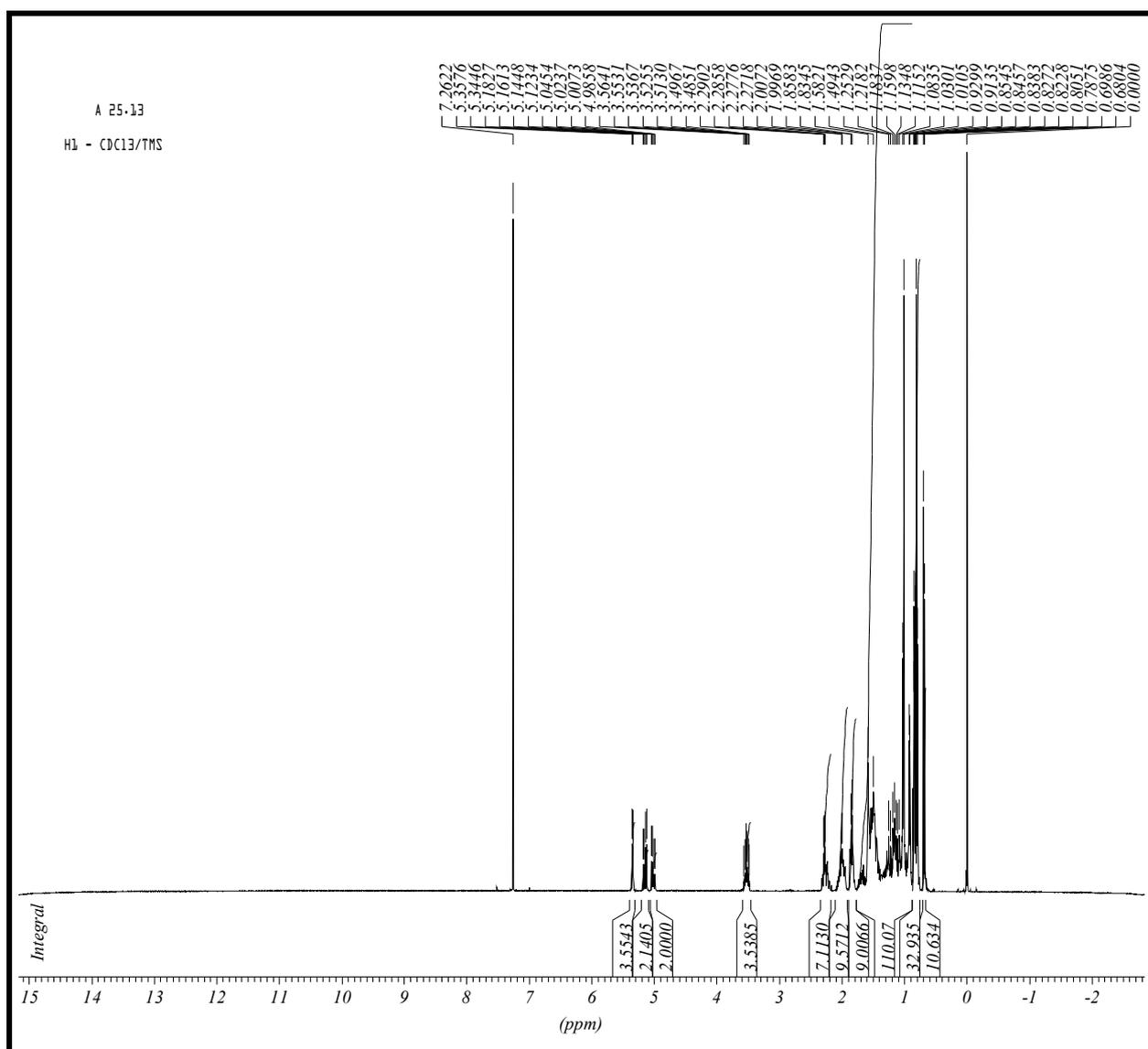


Figure III.3 : Spectre RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) du composé A

- ❖ Le signal sous forme de doublet large à $\delta_{\text{H}} = 5,35$ ($J = 5,2$ Hz) correspond à H-6.
- ❖ Deux signaux chacun sous forme de *dd* repérés à $\delta_{\text{H}} = 5,15$ ($J_{\text{trans}} = 15,2$, $J_{\text{cis}} = 8,6$ Hz) et $\delta_{\text{H}} = 5,01$ ($J_{\text{trans}} = 15,2$, $J_{\text{cis}} = 8,6$ Hz), sont attribuables respectivement à H-22 et H-23.
- ❖ Le signal déblindé sous forme de *tt* à $\delta_{\text{H}} = 3,52$ ($J_{\text{ax-ax}} = 11,0$, $J_{\text{ax-eq}} = 4,4$ Hz), correspond à H-3 (figure III.4).

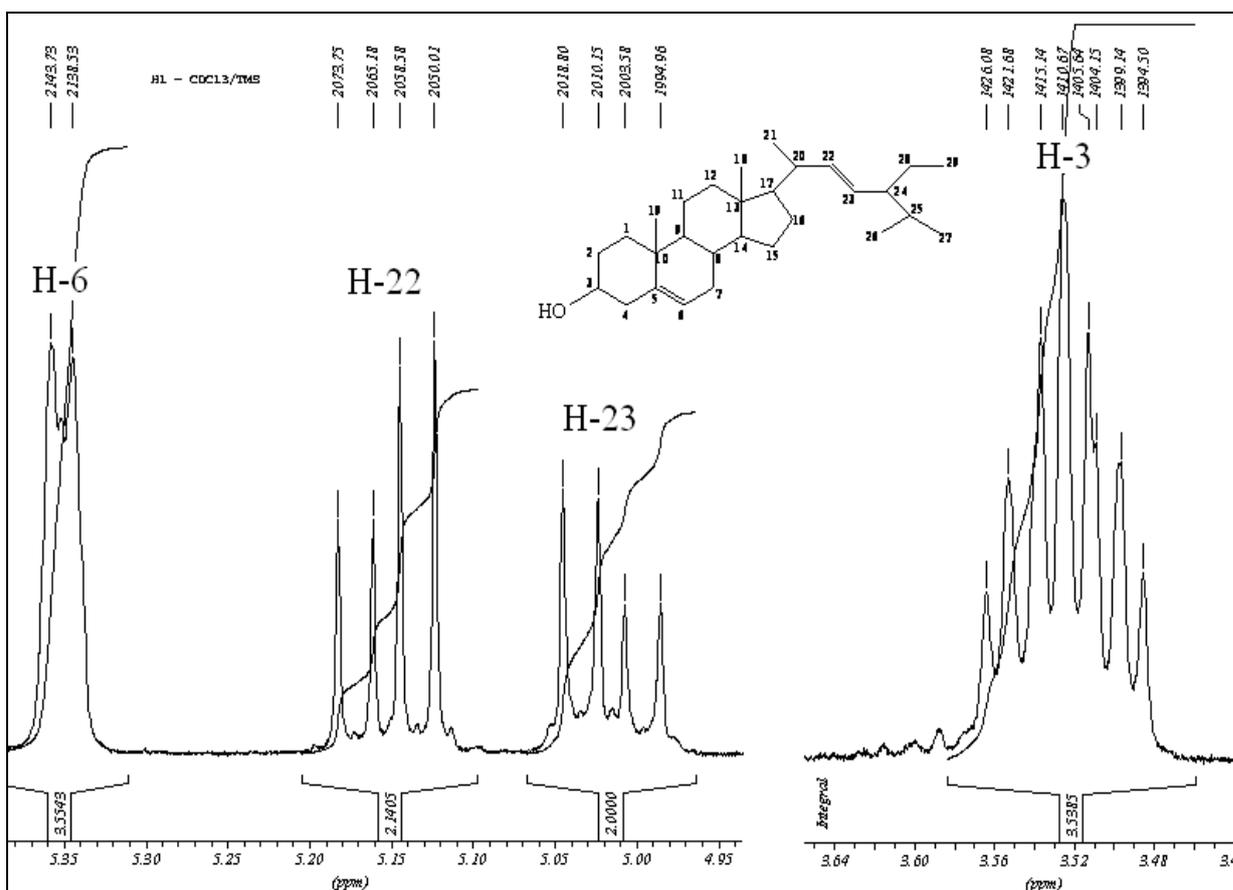


Figure III.4 : Spectre RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) du composé A (Région déblindée)

A partir de ces points de départ, le voisinage des atomes de carbone et d'hydrogène est étudié par les expériences bidimensionnelles COSY H-H, HSQC et HMBC.

L'expérience de corrélation proton-proton COSY H-H (figure III.5) montre les corrélations suivantes :

- ❖ Le proton H-22 et le proton H-23 apparaissant respectivement à $\delta_{\text{H}} = 5,15$ ppm et $\delta_{\text{H}} = 5,01$ ppm.
- ❖ Le proton H-6 et le proton H-7 apparaissant respectivement à $\delta_{\text{H}} = 5,35$ ppm et $\delta_{\text{H}} = (1,49-1,99)$ ppm.
- ❖ Le proton H-7 et le proton H-8 apparaissant respectivement à $\delta_{\text{H}} = (1,49-1,99)$ ppm et $\delta_{\text{H}} = 1,47$ ppm.
- ❖ Le proton H-8 et le proton H-9 apparaissant respectivement à $\delta_{\text{H}} = 1,47$ ppm et $\delta_{\text{H}} = 0,99$ ppm.
- ❖ Le proton H-3 et les protons H-4 et H-2 apparaissant respectivement à $\delta_{\text{H}} = 3,52$ ppm, $\delta_{\text{H}} = 2,29$ ppm et $\delta_{\text{H}} = (1,49-1,83)$ ppm.

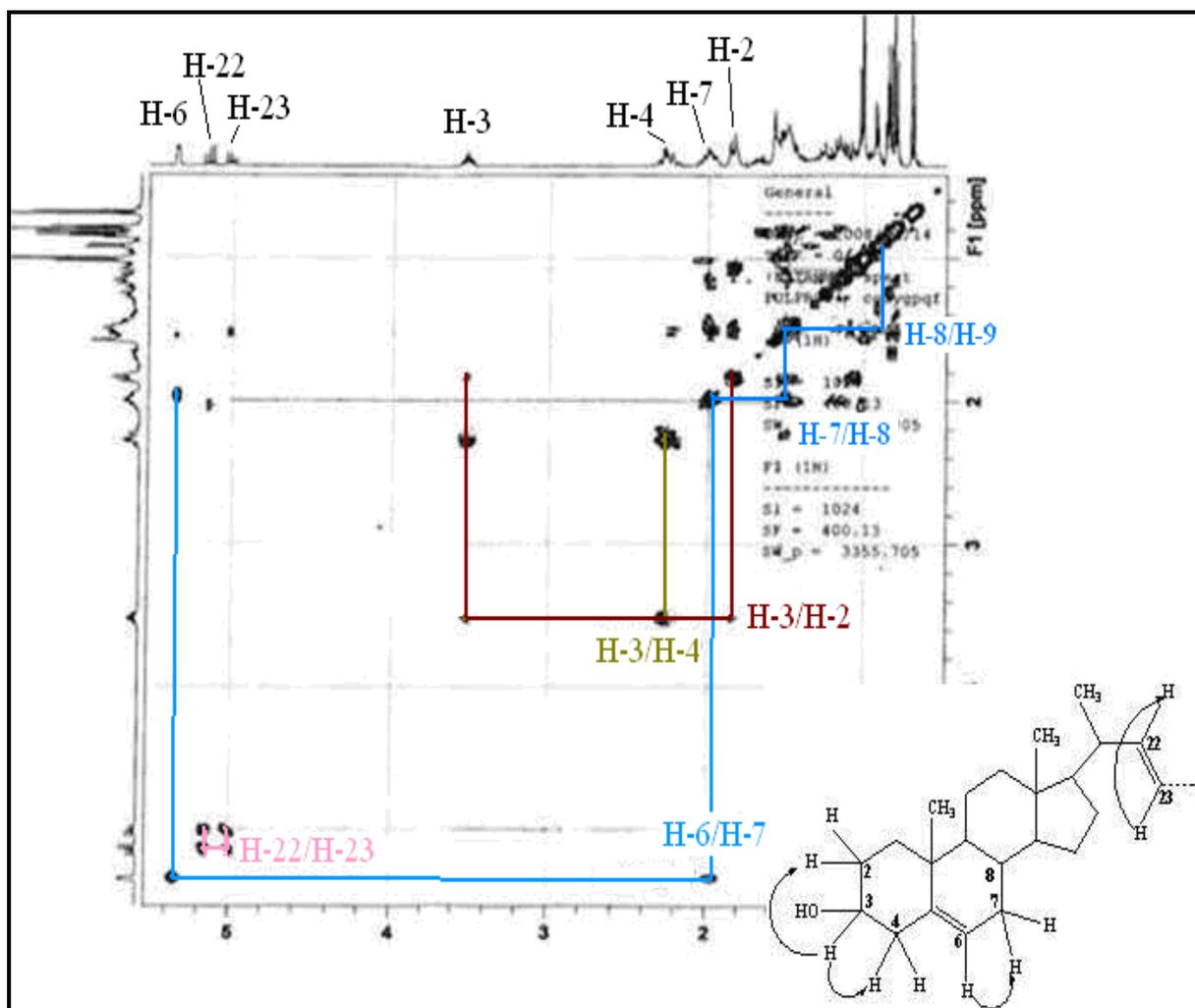


Figure III.5 : Spectre COSY H-H du composé A

L'expérience de corrélation carbone-proton HSQC (figure III.7) nous a permis d'attribuer les protons à leurs carbones. Chaque proton montre un couplage direct avec le carbone qui le porte. En effet on observe les couplages entre:

- ❖ Le proton H-3 à $\delta_H = 3,52$ et son carbone C-3 à $\delta_C = 71,8$.
- ❖ Le proton H-22 à $\delta_H = 5,15$ et son carbone C-22 à $\delta_C = 138,3$.
- ❖ Le proton H-23 à $\delta_H = 5,01$ et son carbone C-23 à $\delta_C = 129,3$.
- ❖ Le proton H-6 à $\delta_H = 5,35$ et son carbone C-6 à $\delta_C = 121,7$.
- ❖ Le proton H-29 à $\delta_H = 0,80$ et son carbone C-29 à $\delta_C = 12,2$.
- ❖ Le proton H-14 à $\delta_H = 1,03$ et son carbone C-14 à $\delta_C = 56,8$.
- ❖ Le proton H-17 à $\delta_H = 1,18$ et son carbone C-17 à $\delta_C = 56$.
- ❖ Le proton H-18 à $\delta_H = 0,69$ et son carbone C-18 à $\delta_C = 12,0$.
- ❖ Le proton H-24 à $\delta_H = 1,53$ et son carbone C-24 à $\delta_C = 51,2$.

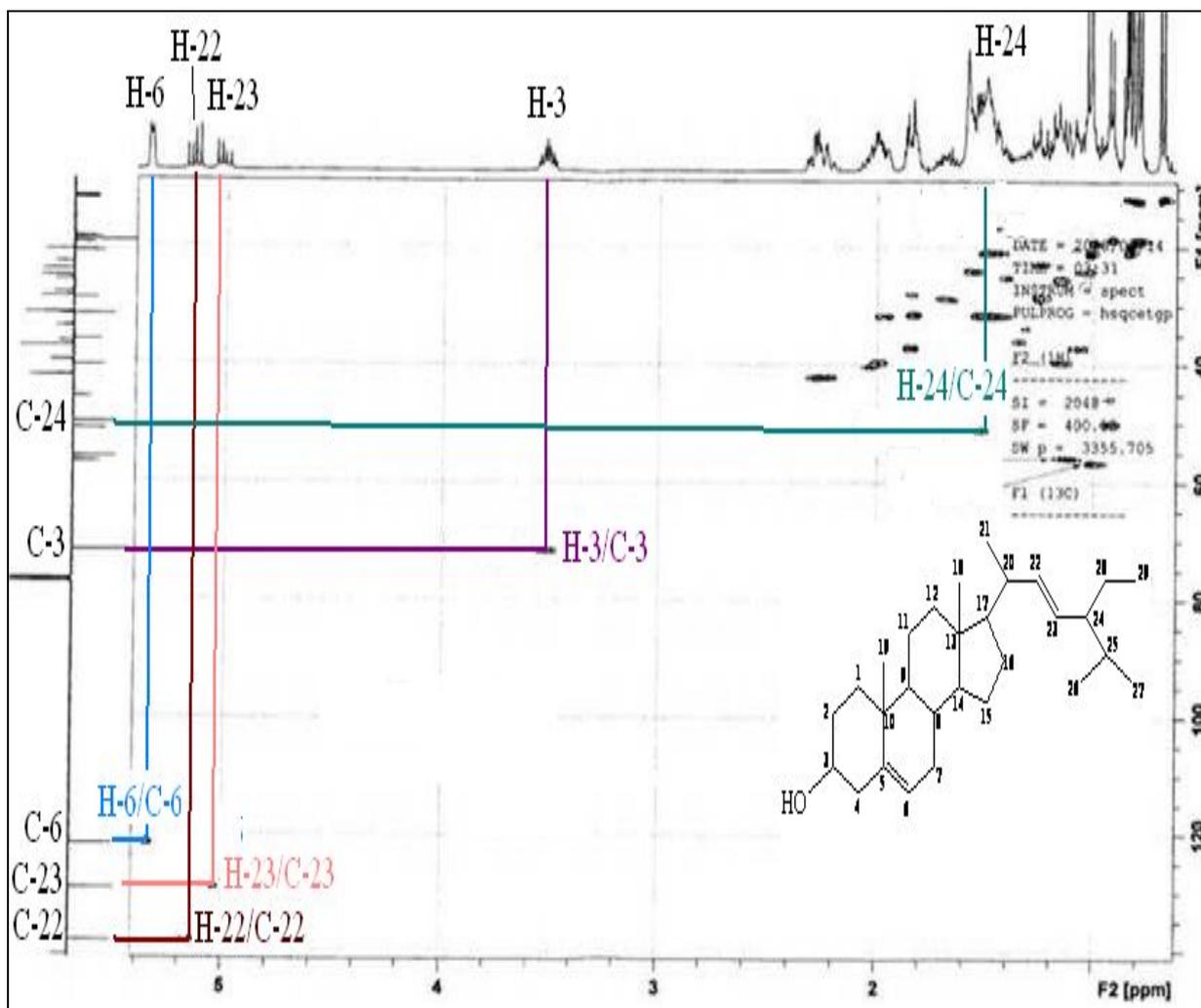


Figure III.7 : Spectre HSQC du produit A

L'expérience HMBC (Schéma III.1, figure III.8) met en évidence les corrélations carbone-proton longues distances à deux et à trois liaisons entre :

- ❖ Le proton H-6 et les carbones C-8 en 3J , C-7 en 2J , C-4 en 3J et C-10 en 3J .
- ❖ Le proton H-4 et les carbones C-10 en 3J , C-3 en 2J , C-6 en 3J et C-5 en 2J .
- ❖ Le proton H-22 et les carbones C-20 en 2J , C-24 en 3J et C-23 en 2J .
- ❖ Le proton H-23 et les carbones C-20 en 3J , C-24 en 2J et C-22 en 2J .

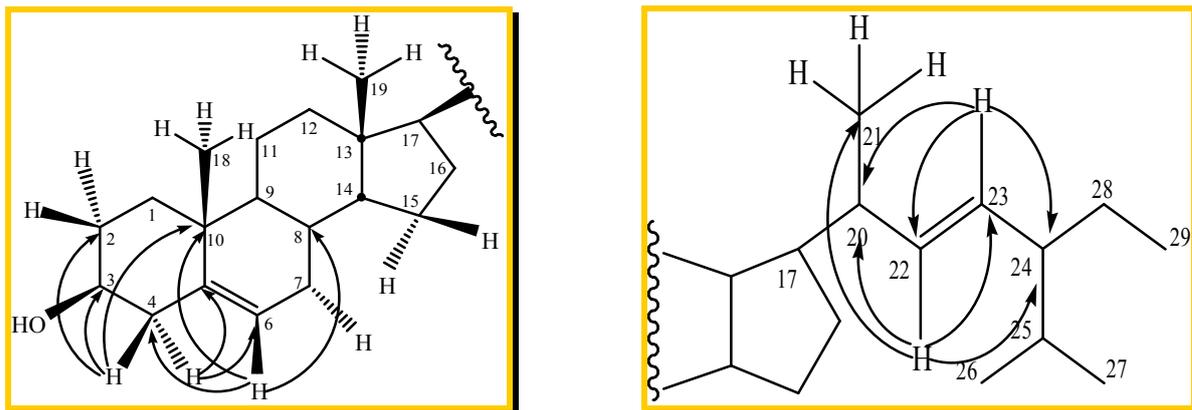


Schéma III.1 : Corrélations pertinentes observées en HMBC

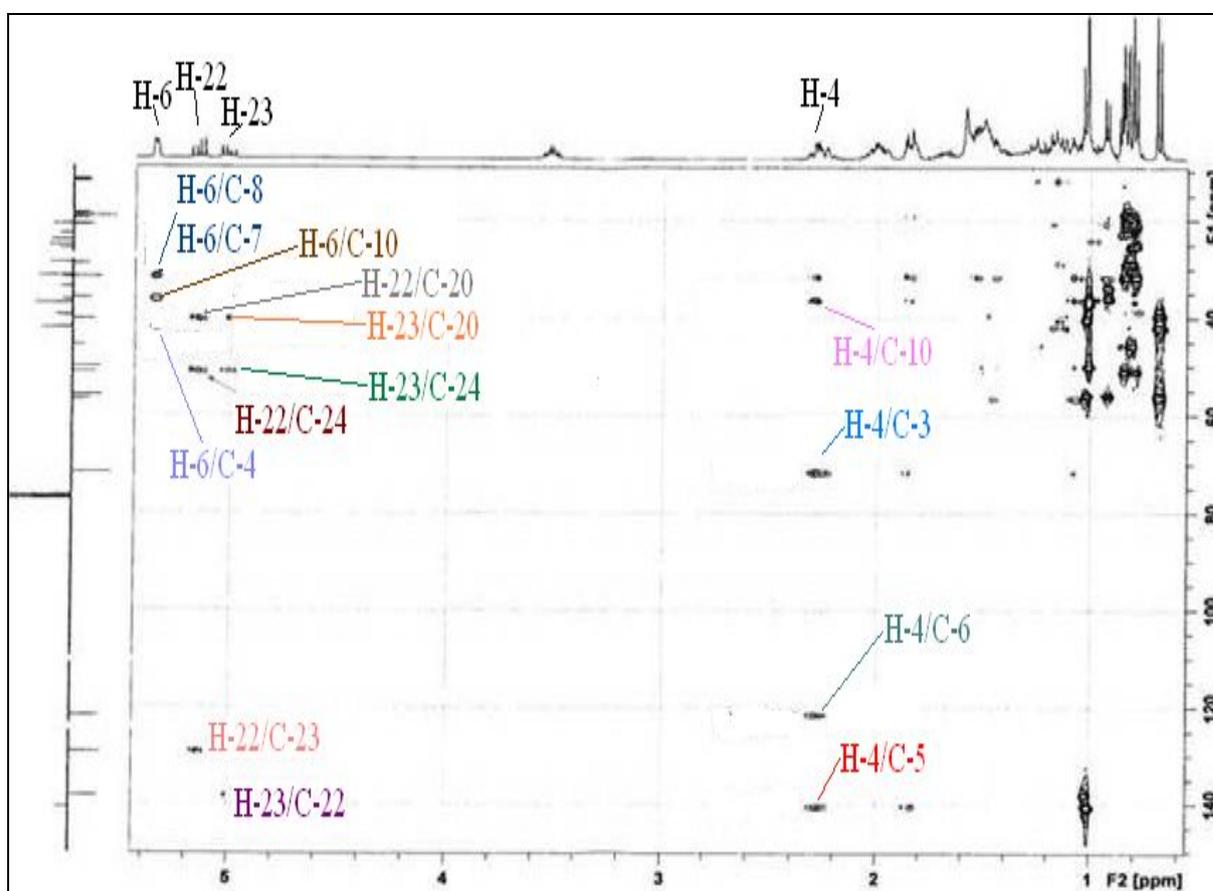


Figure III.8 : Spectre HMBC du composé A

Cette analyse spectrale s'appuyant sur les techniques de RMN bidimensionnelle, et la comparaison avec les données de la littérature, permettent d'attribuer les signaux de résonance des carbones du spectre RMN ^{13}C J modulé (figure III.6). En effet on observe la présence de 29 atomes de carbones avec en particulier les signaux suivants :

- ❖ Le signal apparaissant à $\delta_C = 140,7$ est attribuable à un carbone quaternaire sp^2 (C-5).
- ❖ Les signaux apparaissant à $\delta_C = 121,7$, $\delta_C = 129,3$ et $\delta_C = 138,3$ sont attribuables à des CH vinyliques (C-6, C-23, C-22).
- ❖ Le signal apparaissant à $\delta_C = 71,8$ correspond à un carbone porteur de la fonction OH (C-3).

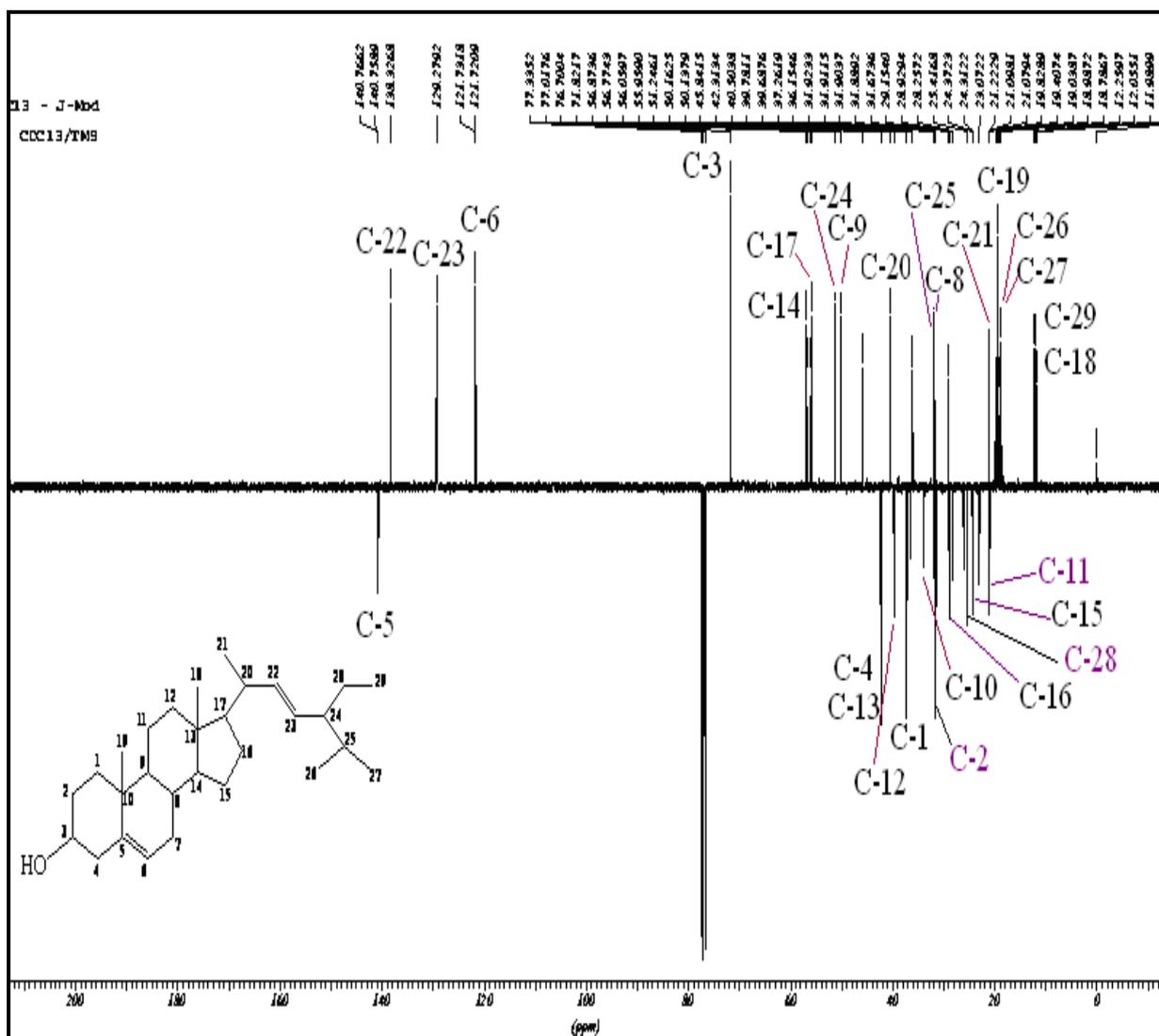


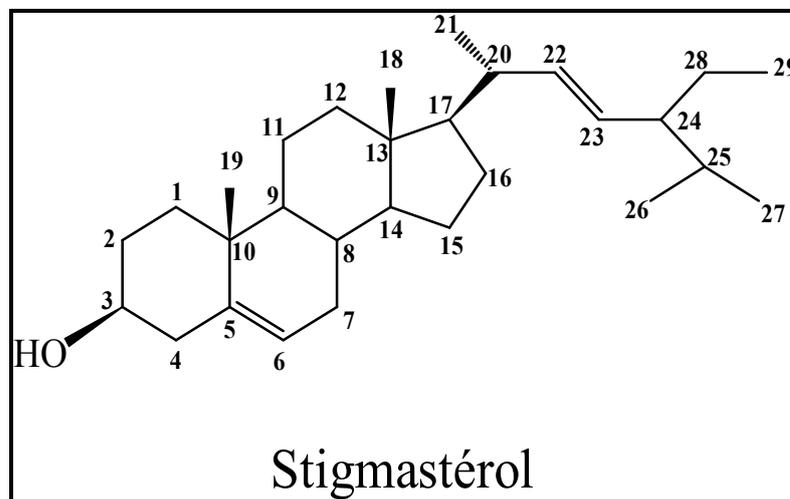
Figure III.6 : Spectre RMN¹³C J-Modulé du composé

Le tableau 6 suivant regroupe les déplacements chimiques des protons et carbones de ce composé:

Position	δ_C (ppm)	δ_H (ppm)	m	J (Hz)	Type du carbone
1	37,2	1,08-1,85	<i>m</i>	/	CH ₂
2	31,7	1,49-1,83	<i>m</i>	/	CH ₂
3	71,8	3,52	<i>tt</i>	$J_{ax-ax} = 11,0$, $J_{ax-eq} = 4,4$	CH
4	42,3	2,29	<i>m</i>	/	CH ₂
5	140,7	/	/	/	=C
6	121,7	5,35	<i>dl</i>	5,2	=CH
7	31,9	1,49-1,99	<i>m</i>	/	CH ₂
8	31,9	1,47	/	/	CH
9	50,1	0,92	/	/	CH
10	36,5	/	/	/	C
11	21,1	1,49	/	/	CH ₂
12	39,7	1,15-2,00	<i>m</i>	/	CH ₂
13	42,3	/	/	/	C
14	56,8	1,03	/	/	CH
15	24,4	1,25-1,49	<i>m</i>	/	CH ₂
16	28,9	1,03-1,58	<i>m</i>	/	CH ₂
17	56	1,18	/	/	CH
18	12,0	0,69	<i>s</i>	/	CH ₃
19	19,4	1,01	<i>s</i>	/	CH ₃
20	40,5	2,00	/	/	CH
21	21,2	0,92	<i>d</i>	6,6	CH ₃
22	138,3	5,15	<i>dd</i>	$J_{trans} = 15,2$, $J_{cis} = 8,6$	=CH
23	129,3	5,01	<i>dd</i>	$J_{trans} = 15,2$, $J_{cis} = 8,6$	=CH
24	51,2	1,53	/	/	CH
25	31,9	1,49	/	/	CH
26	21,1	0,84	<i>d</i>	6,5	CH ₃
27	19,0	0,79	<i>d</i>	6,5	CH ₃
28	25,4	1,13-1,44	<i>m</i>	/	CH ₂
29	12,2	0,80	<i>t</i>	7,0	CH ₃

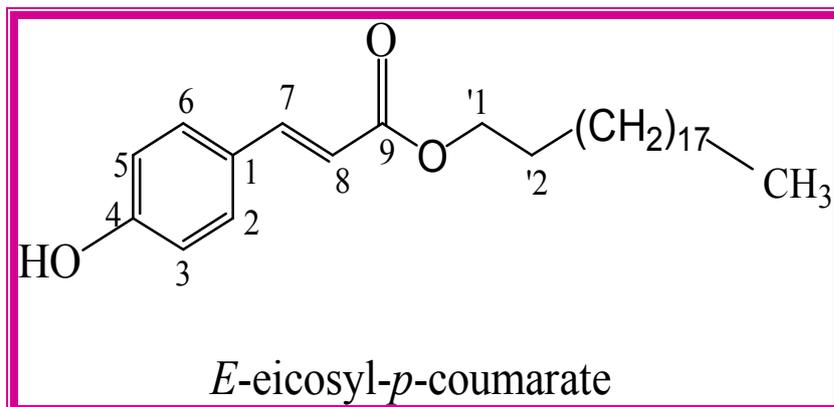
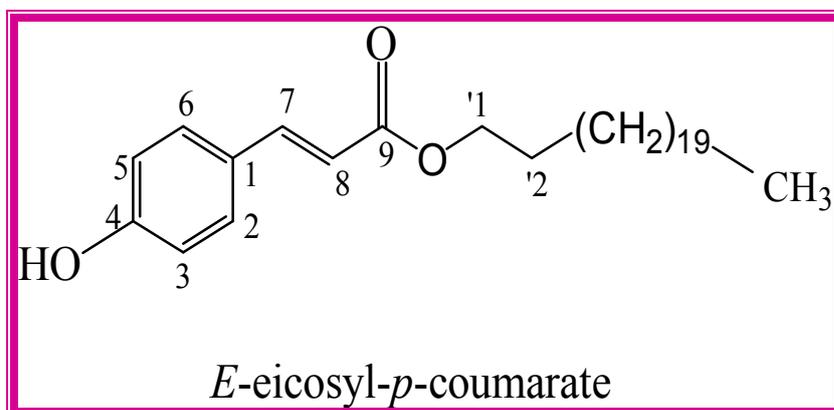
Tableau 6: Déplacements chimiques en RMN ¹H (400 MHz) et RMN ¹³C (100 MHz) de **A** dans CDCl₃

L'ensemble de données obtenues nous a permis, de donner sans hésitation la structure suivante au produit A. Il s'agit du 24-éthyle-cholest-5,22-dièn-3ol appelé également Stigmastérol. Il apparait que ce composé a été isolé pour la première fois dans le genre *Santolina*.



Composé A

III.3.2 Composé B et C

*Composé B**Composé C*

Le mélange des composés **B** et **C**, visible à l'UV, a été obtenu sous forme de poudre blanche soluble dans le chloroforme. La mesure du spectre de masse obtenu par impact électronique (IE) (figure III.9) présente deux pics d'ions moléculaires, le premier $m/z = 444$ $[M]^+$ correspondant à une formule brute en $C_{29}H_{48}O_3$, tandis que le deuxième pic d'ion moléculaire $m/z = 472$ $[M]^+$ correspond à une formule brute en $C_{31}H_{52}O_3$, ce qui laisse suggérer la présence de deux composés. Ce spectre présente également des fragments à m/z 147 $[M-297]^+$ et 164 $[M-280]^+$ correspondant respectivement à la perte du groupement $(O(CH_2)_{19}CH_3)$ et du groupement alkyle $C_{20}H_{40}$ pour le composé **B**, et la perte du groupement $(O(CH_2)_{21}CH_3)$ et du groupement alkyle $C_{22}H_{44}$ pour le composé **C**.

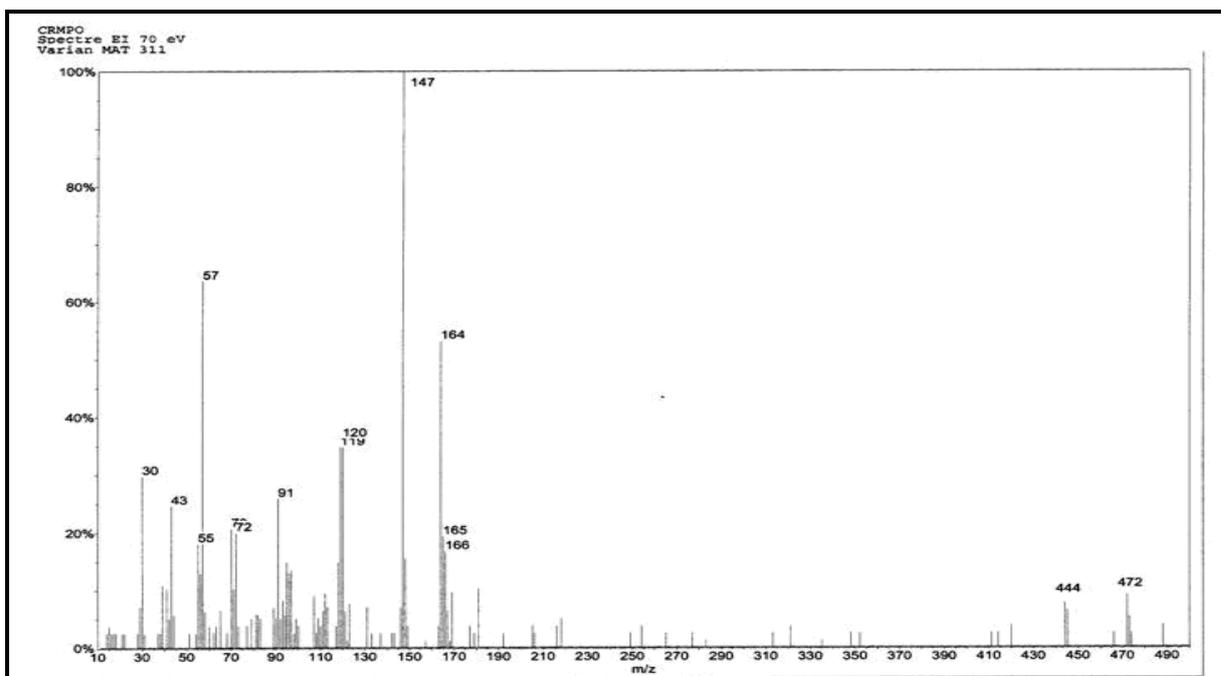


Figure III.9 : Spectre de masse EI-MS des composés B et C

Le spectre IR (figure III.10) montre la présence d'une large bande d'absorption à 3391 cm^{-1} du groupement hydroxyle et une bande à 1674 cm^{-1} attribuable à une fonction ester. Les bandes d'absorption apparaissant à 1603 , 1500 et 1455 cm^{-1} indiquent l'existence d'un système aromatique et de doubles liaisons.

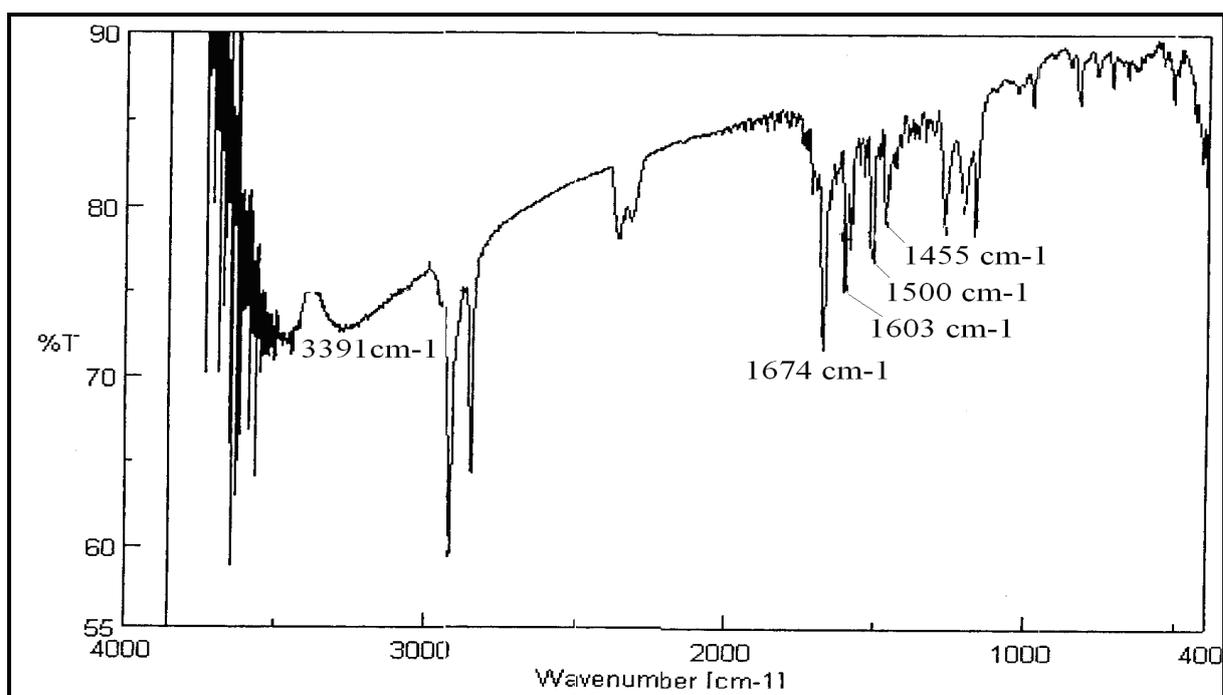


Figure III.10 : Spectre IR des composés B et C

Le spectre RMN¹H enregistré à 400 MHz dans CDCl₃ (figure III.11) montre les signaux suivants :

- ❖ Le signal sous forme de doublet à $\delta_{H-2/6} = 7,43$ ($J = 8,5$ Hz) correspond aux protons qui doivent être probablement aromatiques.
- ❖ Le signal sous forme de doublet à $\delta_{H-3/5} = 6,84$ ($J = 8,6$ Hz) est attribuable aux protons qui doivent être probablement aromatiques.
- ❖ Le signal sous forme de doublet à $\delta_{H-7} = 7,62$ ($J = 16,0$ Hz), correspondant à un proton éthylénique (H_{β}).
- ❖ Le signal sous forme de doublet à $\delta_{H-8} = 6,30$ ($J = 16,0$ Hz) est attribuable également à un proton éthylénique (H_{α}).
- ❖ Le signal déblindé, sous forme de triplet, à $\delta_{H-1} = 4,18$ ($J = 6,7$ Hz) correspond au groupement CH₂, son déblindage indique qu'il est lié à un hétéroatome (O-CH₂).
- ❖ Le signal à $\delta_{H-2} = 1,69$ sous forme de quintuplet correspondant au groupement méthylène CH₂ lié à 2 CH₂.
- ❖ Le signal sous forme de triplet à $\delta_{H-Me} = 0,88$ ($J = 7,0$ Hz) correspond aux protons du groupement méthyle CH₃ lié à un CH₂.
- ❖ Le signal à $\delta_H = 5,25$ sous forme de singulet correspond au proton du groupement hydroxyle OH.

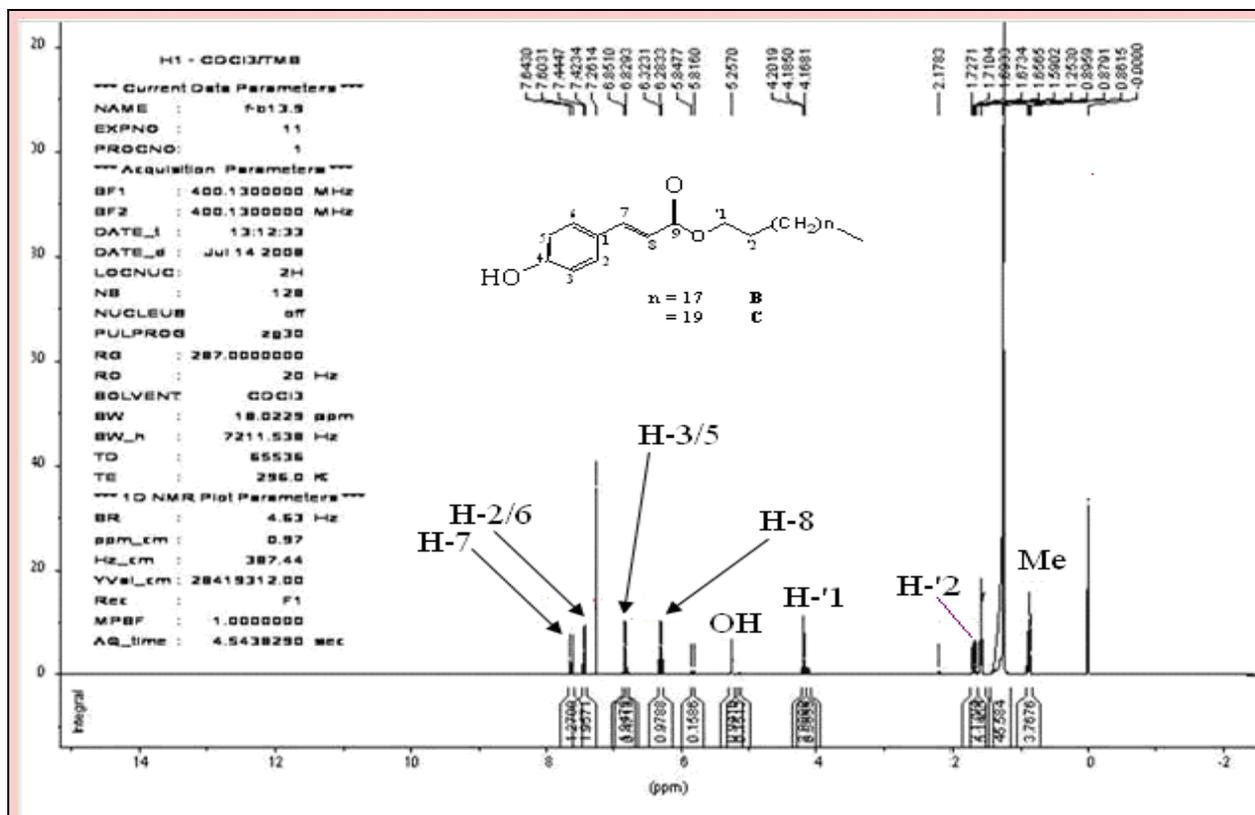


Figure III.11 : Spectre RMN¹H (400 MHz, CDCl₃) des composés B et C

Partant de ce premier constat, les autres protons ainsi que tous les carbones sont progressivement mis en évidence par expériences de corrélations bidimensionnelles COSY H-H, HSQC et HMBC. L'expérience de corrélation proton-proton ou COSY H-H (figure III.12) montre clairement les corrélations attendues entre :

- ❖ Le proton H-2 à $\delta_{H-2} = 7,43$ et le proton H-3 à $\delta_{H-3} = 6,84$.
- ❖ Le proton H-5 à $\delta_{H-5} = 6,84$ et le proton H-6 à $\delta_{H-6} = 7,43$.
- ❖ Le proton H-7 à $\delta_{H-7} = 7,62$ et le proton H-8 à $\delta_{H-8} = 6,30$.
- ❖ Le proton H-'1 à $\delta_{H-'1} = 4,18$ et le proton H-'2 à $\delta_{H-'2} = 1,69$.

On observe aussi le système de spin qui constitue l'enchaînement suivant :

O-CH₂-CH₂-(CH₂)_n-CH₃.

(H-'1)(H-'2)...

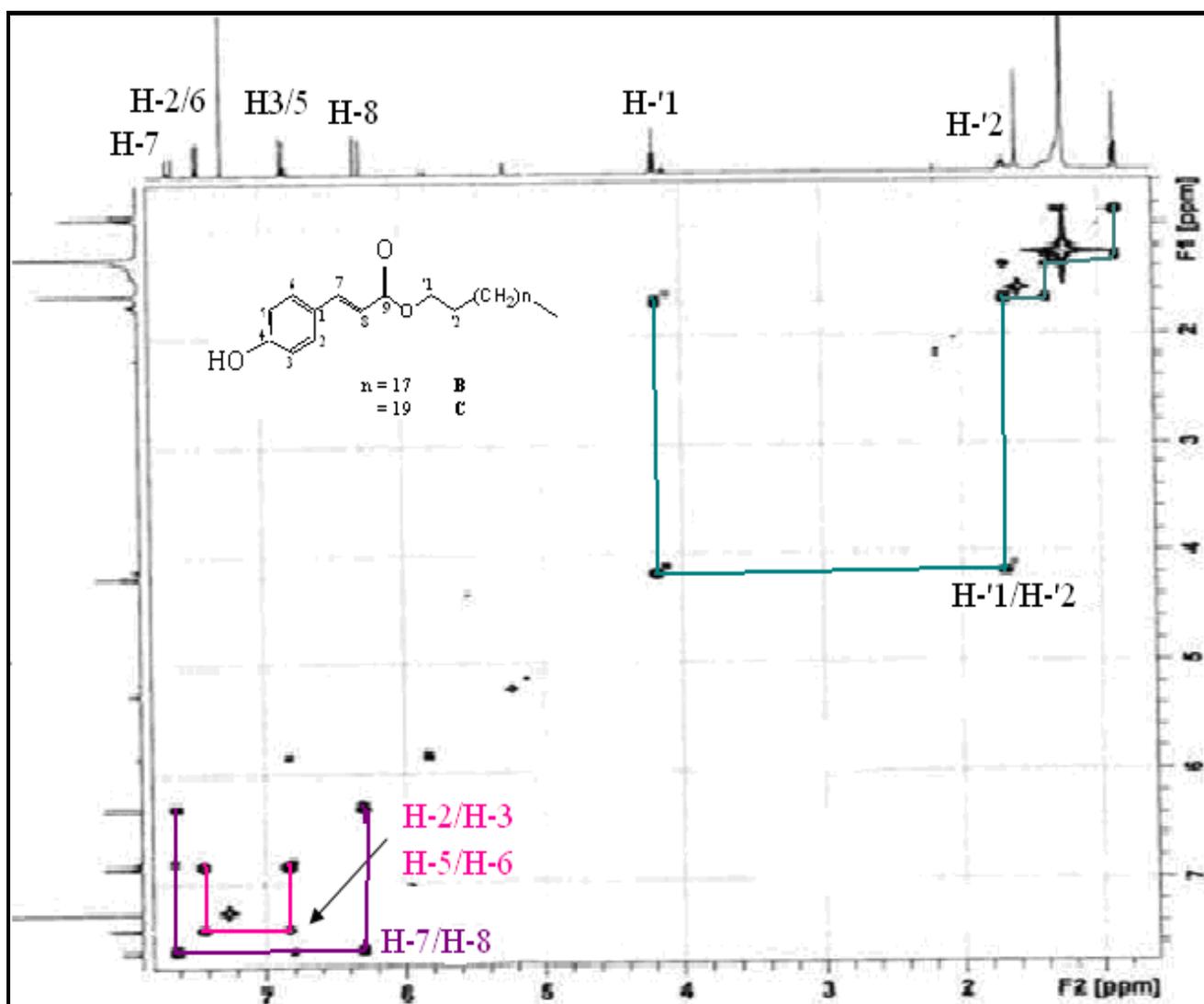


Figure III.12 : Spectre COSY H-H des composés B et C

L'expérience de corrélation carbon-proton HSQC (figure III.14) montre les corrélations hétéronucléaires H/C en 1J (corrélation directe) entre :

- ❖ H-2 à $\delta_{H-2} = 7,43$ corrèle avec C-2 à $\delta_{C-2} = 129,9$.
- ❖ H-3 à $\delta_{H-3} = 6,84$ corrèle avec C-3 à $\delta_{C-3} = 115,8$.
- ❖ H-5 à $\delta_{H-5} = 6,84$ corrèle avec C-5 à $\delta_{C-5} = 115,8$.
- ❖ H-6 à $\delta_{H-6} = 7,43$ corrèle avec C-6 à $\delta_{C-6} = 129,9$.
- ❖ H-7 à $\delta_{H-7} = 7,62$ corrèle avec C-7 à $\delta_{C-7} = 144,2$.
- ❖ H-8 à $\delta_{H-8} = 6,30$ corrèle avec C-8 à $\delta_{C-8} = 115,8$.
- ❖ H-'1 à $\delta_{H-'1} = 4,18$ corrèle avec C-'1 à $\delta_{C-'1} = 64,5$.
- ❖ H-'2 à $\delta_{H-'2} = 1,69$ corrèle avec C-'2 à $\delta_{C-'2} = 29,7$.
- ❖ H-Me à $\delta_H = 0,88$ corrèle avec C-CH₃ à $\delta_C = 14,1$.
- ❖ Hn entre 1,25-1,40 ppm montre plusieurs taches de corrélations à δ_C : 22,7 – 25,9 – (28,6-29,7) – 31,9 , ce qui implique la présence de plusieurs CH₂.

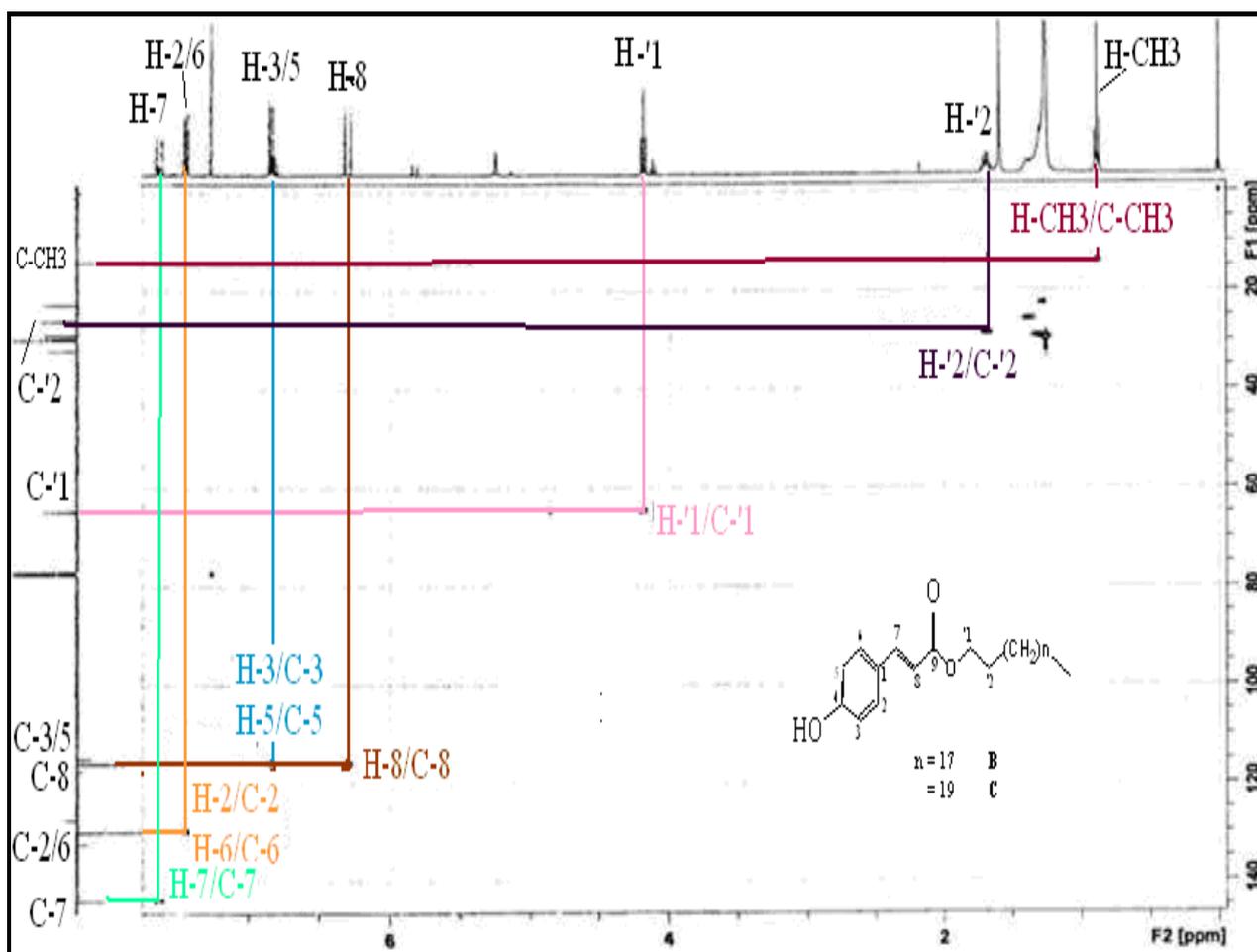


Figure III.14 : Spectre HSQC des produits B et C

L'expérience hétéronucléaire HMBC (figure III.15) montre les couplages en $^2J_{C-H}$ et en $^3J_{C-H}$ entre :

- ❖ Le proton H-7 et les carbones C-8 (115,8 ppm) en 2J , C-2 (129,9 ppm) en 3J , C-6 (129,9 ppm) en 3J et C-9 (167,5 ppm) en 3J .
- ❖ Le proton H-2 et les carbones C-6 (129,9 ppm) en 3J , C-7(144,2 ppm) en 3J et C-4 (157,5 ppm) en 3J .
- ❖ Le proton H-3 et les carbones C-1 (127,4 ppm) en 3J , C-5 (115,8 ppm) en 3J et C-4 (157,5 ppm) en 2J .
- ❖ Le proton H-8 et les carbones C-1(127,4 ppm) en 3J et C-9 (167,5 ppm) en 2J .
- ❖ Le proton H-1 et le carbone C-9 (167,5 ppm) en 3J .

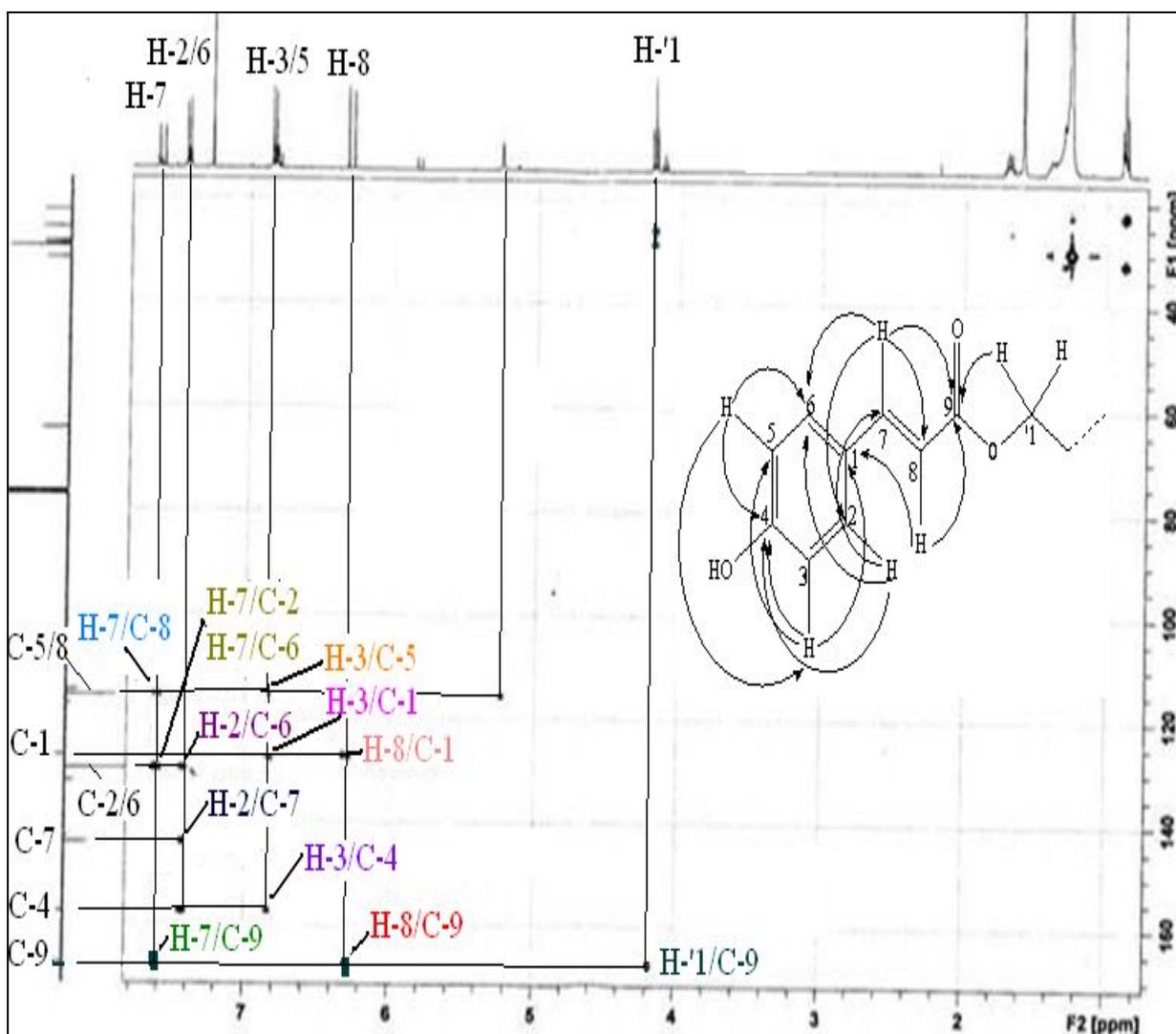


Figure III.15 : Spectre HMBC des composés B et C

L'attribution des signaux observés au spectre RMN¹³C *J* modulé (figure III.13) confirmant les structures proposées, est établie conjointement par les expériences de corrélation hétéronucléaire HSQC et HMBC:

- ❖ Le carbone quaternaire C-9 à $\delta_{C-9} = 167,5$ est attribuable au carbonyle de l'ester.
- ❖ Le carbone quaternaire C-4 porteur de la fonction OH apparaît à $\delta_{C-4} = 157,5$.
- ❖ Le carbone C $_{\alpha}$ (C-8) apparaît à $\delta_{C_{\alpha}} = 115,8$.
- ❖ Le carbone C $_{\beta}$ (C-7) apparaît à $\delta_{C_{\beta}} = 144,2$.
- ❖ Les carbones C-2/6 apparaissent à $\delta_{C2/6} = 129,9$ correspondent aux carbones aromatiques (sp²).
- ❖ Les carbones C-3/5 apparaissent à $\delta_{C3/5} = 115,8$ correspondent aux carbones aromatiques (sp²).
- ❖ Le carbone C-1 à $\delta_{C-1} = 64,5$ correspond au carbone du groupement (O-CH₂).
- ❖ Le signal méthylique à $\delta_{C-20} = 14,1$.

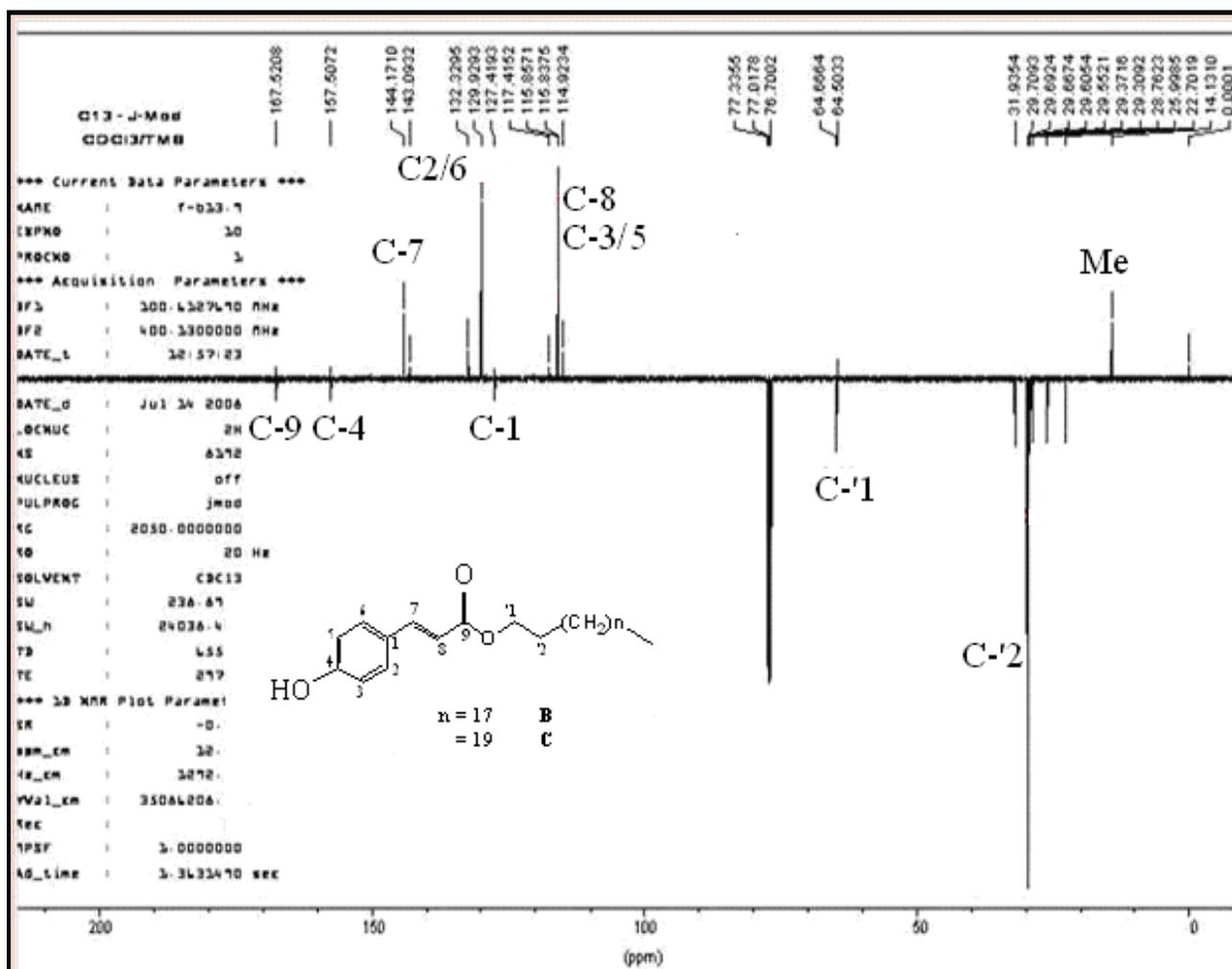


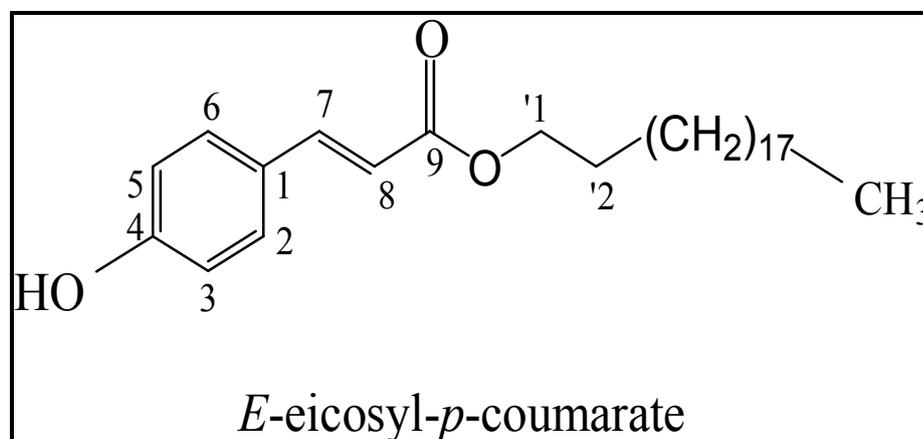
Figure III.13 : Spectre RMN¹³C *J*-modulé des composés B et

Le tableau 7 suivant reproduit les déplacements chimiques en RMN ^1H (400 MHz) et RMN ^{13}C (100 MHz) des deux composés **B** et **C** dans CDCl_3

Position	δ_{H} (ppm)	m	J (Hz)	δ_{C} (ppm)
1	/	/	/	127.4
2	7.43	<i>d</i>	8.5	129.9
3	6.84	<i>d</i>	8.6	115.8
4	/	/	/	157.5
5	6.84	<i>d</i>	8.6	115.8
6	7.43	<i>d</i>	8.5	129,9
7	7.62	<i>d</i>	16,0	144.2
8	6.30	<i>d</i>	16,0	115.8
9	/	/	/	167.5
'1	4.18	<i>t</i>	6.7	64.5
'2	1.69	<i>quint</i>	6,7	29.7
CH_3	0.88	<i>t</i>	7,0	14.1

Tableau 7

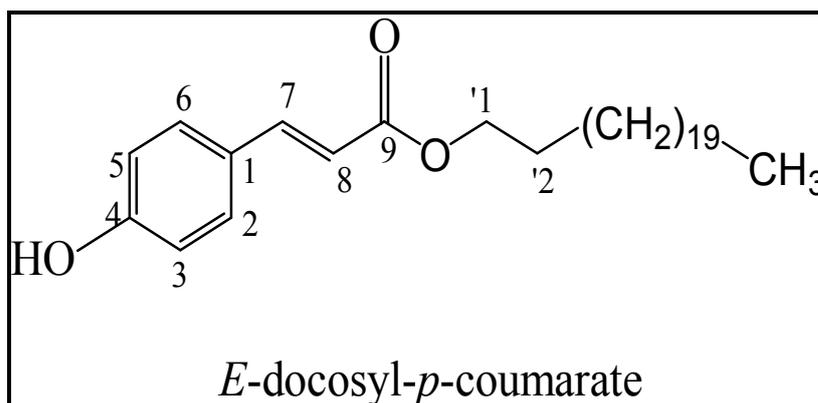
Cette analyse spectrale permet d'attribuer la structure suivante au composé **B**, il s'agit du *E*-eicosyle-*p*-coumarate.



Composé B

Ce composé a été isolé antérieurement de l'espèce *Stoebe cineria* [68]. Il apparaît que ce composé a été isolé pour la première fois dans le genre *Santolina*.

Cette analyse spectrale permet aussi d'attribuer sans ambiguïté la structure suivante au composé C, il s'agit du *E*-docosyle-*p*-coumarate.



Composé C

Ce composé a été isolé antérieurement de plusieurs espèces: *Bauhinia manca*, *Psiadia punctulata* [69] et de *Stoebe cineria* [68]. Il apparaît que ce composé a été isolé pour la première fois dans le genre *Santolina*.

CONCLUSION

GENERALE

Le présent travail de phytochimie est destiné à étudier les métabolites secondaires de la plante *Santolina rosmarinifolia* L. récoltée dans la région de Djerma, à la suite de recherche sur les plantes d'origine Algérienne, objectif primordial assigné par notre laboratoire, afin de découvrir l'intérêt biologique de ces végétaux et évaluer l'importance des trésors naturels de notre pays.

Cette étude a été réalisée séparément sur les extraits étheropétrolique et acétate d'éthyle des parties aériennes de cette plante. Elle nous a permis d'isoler, par les méthodes chromatographiques sur colonne de gel de silice, trois produits *A*, *B* et *C* ; un de type stéroïdique et deux phénylpropanoïdes.

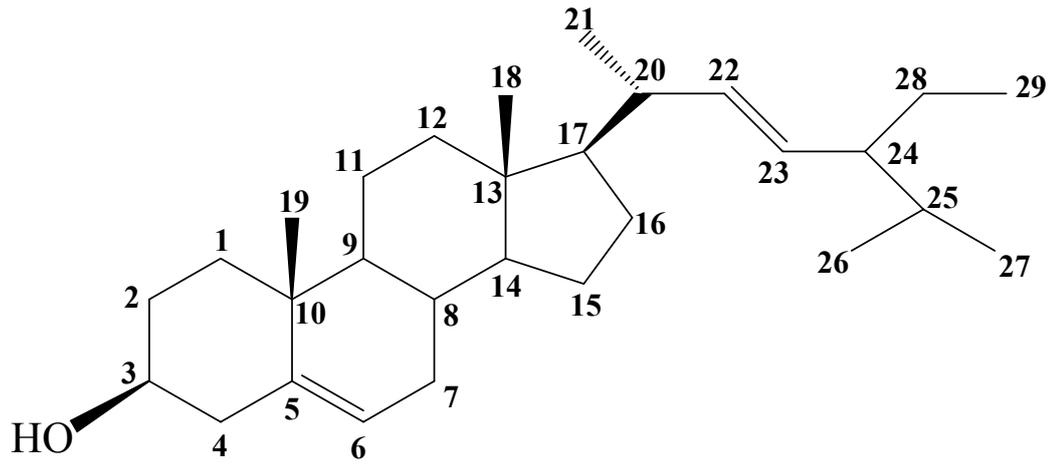
- ◆ **Composé A** : Stigmastérol (24-éthyle-cholest-5,22-dièn-3ol)
- ◆ **Composé B** : *E*-eicosyl *p*-coumarate
- ◆ **Composé C** : *E*-docosyl *p*-coumarate

L'extrait étheropétrolique a fourni un stérol (composé A), alors que l'extrait acétate d'éthyle a donné deux phénylpropanoïdes.

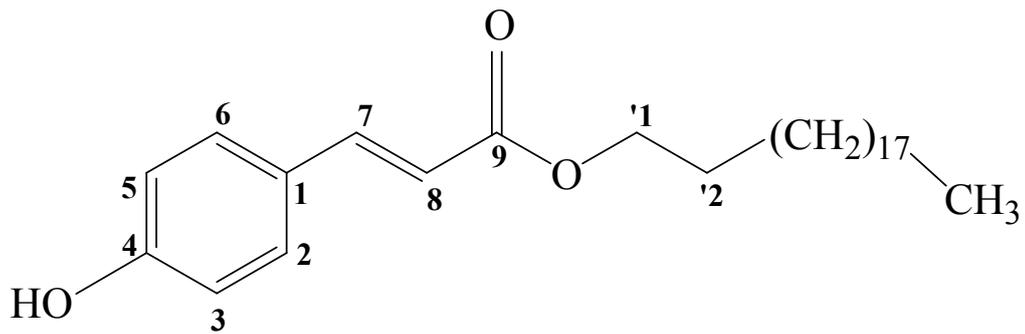
La détermination des structures de ces composés a été réalisée au moyen des méthodes d'analyses spectroscopiques : la RMN 1D (RMN¹H, RMN¹³C) et la RMN 2D (COSY, HSQC, HMBC), la spectroscopie de masse haute résolution (EI-MS) et l'infrarouge (IR).

Enfin, cette étude a permis d'isoler et de déterminer les structures de trois produits isolés pour la première fois dans le genre *Santolina*. Ceci montre que les constituants des végétaux dépendent de plusieurs facteurs, notamment du climat et de la nature du sol.

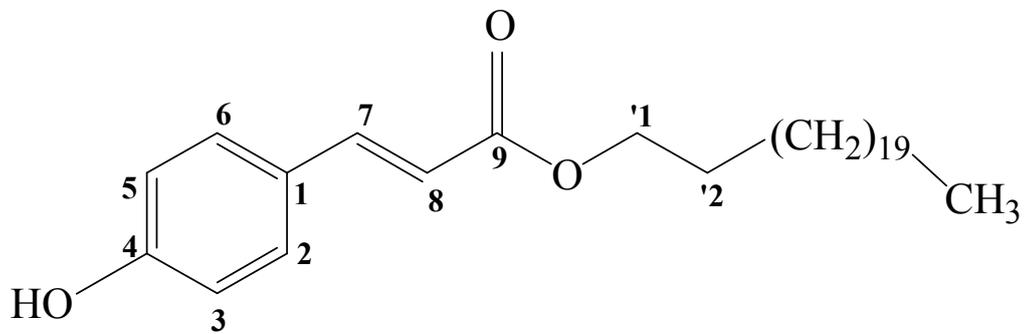
Les structures des produits isolés sont présentées ci-dessous :



Composé A : Stigmastérol



Composé B : E-eicosyl-p-coumarate



Composé C : E-Docosyl-p-coumarate

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Jean-Michel Hurtel. (2006).
Huiles essentielles et médecine. Aromathérapie
- [2] Novais , M. H.; Santos, I.; Mendes , S.; Pinto-Gomes, C.(2004).
Studies on pharmaceutical ethnobotany in Arrabida Natural Park (Portugal). Journal of Ethnopharmacology, 93, 183-195.
- [3] Loannou, E. ; Poiata, A. ; Hancianu, M. ; Tzakou, O. (2007).
Chemical composition and *in vitro* antimicrobial activity of the essential oils of flowers heads and leaves of *Santolina rosmarinifolia* L. from Romania. Natural Product Research, 21(1), 18-23.
- [4] Spichiger, R. E.; Savolainen V.V.; Figeat, M. et Jeanmonod, D. (2004).
Botanique Systématique des plantes à fleurs .3ème édition, 348-349.
- [5] Dupont, F. et Guignard, J. L. (2007).
Botanique systématique moléculaire. 14ème édition, 248.
- [6] Florin, J.M. (2008).
Les astéracées, une famille solaire. Biodynamis, N° 64.
- [7] Boullard, B. (1997).
Dictionnaire: Plantes et champignons. 2ème édition, 202.
- [8] Blamey, M.; Grey-wilson, C. (2003).
La flore d'Europe occidentale ; plus de 2400 plantes décrites et illustrées en couleurs.
- [9] Ferrari , B.; Tomi , F. ; Casanova , J. (2005).
Terpenes and acetylenes derivatives from the roots of *Santolina corsica* (Asreraceae). Biochemical Systematics and Ecology, 33, 445-449.
- [10] Liu, K.; Rossi, P. G.; Ferrari, B.; Berti, L.; Casanova, J. ; Tomi, F. (2007).
Composition, irregular terpenoids, chemical variability and antibacterial activity of the essential oil from *Santolina Corsica* Jordan et Fourr. Phytochemistry, 68(12), 1698-1705.
- [11] Kisiel, W.; Dawid-Pač, R.; Grabarczyk, H. ; Nowak, G. (2003).
Germacrane Derivatives from *Santolina pinnata* subs. *neapolitana*. Z.Naturforsch, 58c, 793-796.
- [12] Utrecht, Y. T.; Suzette, E.; Bennekom, S.R.; Haaksbergen, T. S. (1995).
Série Le Jardin (Arbustes), 63.
- [13] Gardner, J. A. (2005).
Herbs in bloom: a guide to growing herbs as ornamental plants, 296-298.

- [14] Palá-Paul, J.; Pérez-Alonso, M.J.; Velasco-Negueruela, A.; Palá-Paul, R.; Sanz, J. Conejero, Fco.(2001).
Seasonal variation in chemical constituents of *Santolina rosmarinifolia* L. ssp. *rosmarinifolia*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 29(7), 663-672.
- [15] Cornara, L.; La Rocca, A.; Marsili, S.; Mariotti, M.G. (2009).
Traditional uses of plants in the Eastern Riviera (Liguria, Italy). *Ethnopharmacology*, 125, 16-30.
- [16] TARRIER, M. ; DELACRE, J. (2007).
Carnets de voyages naturalistes au Maroc -Découverte, bioindication & menaces. Un état des lieux du Maroc naturel.
- [17] Quezel, P. ; SANTA, S. (1963).
Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales.Vol.1-2.Ed.CNRS, Paris .
- [18] Aniško, T. (2008).
When perennials bloom : an almanac for planning and planting. Timber Press, 409-410.
- [19] Lohmueller, F. A. (2006).
The Botanical System of the Plants (Das Botanisches System der Pflanzen).
- [20] Kabissi, I. (1998).
Dictionnaire des herbes et plantes médicinales. 3^{ème} édition, 279.
- [21] Barrero, A. F. ; Sanchez, J. F. and Arana, E.(1988).
Germacranolides from *Santolina rosmarinifolia* subsp. *Canescens*. *Phytochemistry*, 27(12), 3969-3970.
- [22] SkuhraVl, V. ; SkuhraV, M. 1998 (1999).
Gall midges (Cecidomyiidae, Diptera) of Los Monegros require protection of their biotops. *Bol. S.E.A.*, 24, 131-135.
- [23] Beloued, A. (1998).
Etymologie des noms de plantes du bassin méditerranéen.
- [24] Barrero, A. F. ; Mar Herrador, M.; Quilez, J. F. ; Alvarez-Manzaneda, R.; Portal, D. ; Gavin, J. A. ; Gravalos, D. G.; Simmonds, M.S.J. ; Blaney, W.M. (1999).
Bioactive sesquiterpenes from *Santolina rosmarinifolia* subs. *Canescens*. A conformational analysis of the germacrane ring. *Phytochemistry*, 51, 529-541.
- [25] Sala, A.; Recio, M.C; Giner, R.M.; Manez, S.; Rios, J.L. (2000).
Anti-phospholipase A₂ and anti-inflammatory activity of *Santolina chamaecyparissus*. *Life Science*, 66, 35-40.

- [26] Ushakov, V. A. ; Murav'eva, D. A. ; Bakina, L. A. (1976).
Monoterpene compounds of the essential oils of plants of the genus *Santolina* .
Chemistry of Natural Compounds, 12, 597-598.
- [27] De Logu, A.; Loy, G.; Pellerano, M.L.; Bonsignore, L.; Schivo, M.L. (2000).
Inactivation of HSV-1 and HSV-2 and prevention of cell-to-cell virus spread by
Santolina insularis essential oil. Antiviral Research, 48, 177-185.
- [28] Giner, R.M.; Rios, J.L; Villar, A. (1988).
CNS depressant effects, anti-inflammatory activity and anti-cholinergic actions of
Santolina chamaecyparissus extracts. Phetotherapy Research, 12, 37-41.
- [29] Giner, R.M.; Rios, J.L; Villar, A. (1989).
Inhibitory effects of *Santolina chamaecyparissus* extracts against spasmogen agonists.
Ethnopharmacol, 27, 1-6.
- [30] Silvan, A.M.; Abad, M.J; Bermejo, P.; Sollhuber, M.; Villar, A. (1996a).
Anti-inflammatory avtivity of coumarins from *Santolina oblongifolia*. J. Nat. Prod, 59,
1183-1185.
- [31] Silvan, A.M.; Abad, M.J; Bermejo, P.; Villar, A.; Sollhuber, M. (1996b).
Anti-inflammatory avtivity of three flavonoids from *Santolina oblongifolia*.
Phytotherapy Research, 10, 65-65.
- [32] Rossi, P.G; Panighi, J.; Luciani, A.; de Rocca Serra, D.; Maury, J.; Gonny, M.; Muselli,
A.; Bolla, J.M.; Berti, L. (2007).
Antibacterial action of essential oils from Corsica. Essential Oil Research, 19, 176-182.
- [33] Bakkali , F. ; Averbeck, S. ; Averbeck, D. ; Idaomar, M. (2008).
Biological effects of essential oils. Food and Chemical Toxicology, 46, 446-475.
- [34] De Pascual, T. J.; Vicente, S.; Gonzalez, M. S. and Bellido, I. S. (1983).
Nerolidol-5,8-oxides from the essential oil of *Santolina oblongifolia*. Phytochemistry,
22(10), 2235-2238.
- [35] Palá-Paul, J.; Pérez-Alonso, M.J.; Velasco Negueruela, A.; Ramos Vazuez, P.; Gomez-
Contreras, F.; Sanz, J. (1999). Essential oil of *Santolina rosmarinifolia* L. ssp.
rosmarinifolia: first isolation of capillene, a diacetylene derivative. Flavour and
fragrance journal, 14(2), 131-134.
- [36] Tirillini , B.; Ricci, A.; Pintore, G.; Chessa, M.; Menghini, L.; Pagiotti, R. (2007).
Essential oil composition of *Santolina etrusca* from Italy. Chemistry of Natural
Compounds, 43 (1), 44-46.

- [37] Fridlender, A.; Masotti, V.; Bessiere, J.M.; Viano, J. (2002). Composition des huiles essentielles de feuilles et de capitules de *Santolina chamaecyparissus* L. originaire du Gard (France). Société française de la chimie, Section PACA, XV^e Journée de la Chimie.
- [38] Maqua, M.P.; Vines, A.C.G.; Caballero, E.; Grande, M.C.; Medarde, M.; Bellido, I. S. (1988). Components from *Santolina rosmarinifolia*, subspecies *rosmarinifolia* and *canescens*. *Phytochemistry*, 27(11), 3664-3667.
- [39] Tsuneki, H.; Ma, E.L.; Kobayashi, S.; Sekizaki, N.; Maekawa, K.; Sasaoka, T.; Wang, M.W. and Kimura, I. (2005).
Antiangiogenic activity of β -eudesmol in vitro and in vivo. [European Journal of pharmacology](#), 512, 105-115.
- [40] Miyazawa, M. ; Shimamura, H. ; Nakamura, S. I. ; Kameoka, H. (1996) .
Antimutagenic activity of (+)- β -eudesmol and paeonol from *Dioscorea japonica*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 44, 1647-1650.
- [41] Ferrari, B. ; Tomi, F. and Casanova, J. (2005) .
Terpenes and acetylene derivatives from the roots of *Santolina corsica* (Asteraceae). [Biochemical Systematics and Ecology](#), 33, 445-449.
- [42] De Pascual, T. J.; Bellido, I. S.; Gonzalez, M. S. and Vicente, S. (1986).
Tetracyclic triterpenes and nerolidol derivatives from *Santolina oblongifolia*. *Phytochemistry*, 25(1), 185-190.
- [43] Huang, H.C.; Shen, C.C.; Chen, C.F.; Wu, Y.C. and Kuo, Y.H. (2000).
A Novel Agarofuran Sesquiterpene, Celahin D from *Celastrus hindsii Benth.* *Chem. Pharm. Bull.* 48(7), 1079-1080.
- [44] Silván, A. M.; Abad, M. J.; Bermejo, P.; Sollhuber, M. and Villar, A. (1996).
Anti-inflammatory Activity of Coumarines from *Santolina oblongifolia*. *Journal of Natural Product*, 59 (12), 1183-1185.
- [45] Ma, J.; Jones, S. H. and Hecht, S. M. (2004).
A coumarin from *Mallotus resinusus* that mediates DNA cleavage. *Journal of Natural Products*, 67 (9), 1614-1616.
- [46] [Sugimoto, N.](#); [Tada A.](#); [Yamazaki, T.](#); [Tanamoto, K.](#) (2007).
Antimicrobial activity and constituents in rumpu Roman extract as a natural food preservative. *Food Hygienics Society of Japan*, 48, 106-111.
- [47] Arnaud, P. (1985).
Cour de chimie organique, Bordas, Paris, 441.

- [48] Gaignautl, J.C.; Bidet, D.; Gaillard, M. ; Perronnet, J. (1997).
Stérols et stéroïdes, Paris, 11-31.
- [49] Lehinger, A. (1989).
Principe de biochimie, Flammarion, 315.
- [50] Rahal, S. (2004).
Chimie des Produits Naturels et des Etres Vivants, 39-44.
- [51] Raisonnier, A. (2003).
Lipides et lipoprotéines. Objectifs au cours de Biochimie PCEM2. Biochimie Métabolique et Régulations, Paris.
- [52] Khalik-uz-Zaman, S. M. (1999).
Studies on the chemical constituents of Asparagus species and synthesis of biotin analogues, Karachi, 19-34.
- [53] Adolf, W; Hecker, E.; Balmain, A.; Lhomme, M. F.; Nakatani, Y.; Ourisson, G.; Ponsinet, G.; Pryce, R.J.; Santhanakrishnan, T.S.; Matyukhina, L.G.; Saltikova, I.A. (1970). "Euphorbiasteroid" (Epoxyalthryol): A new tricyclic diterpene from Euphorbia lathyris L. Tetrahedron Letters, 26, 2241-2244.
- [54] Bruneton, J. (1993).
Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales, 2ème édition, Tec&Doc, Paris, 387-402.
- [55] Yoder, R. A.; Johnston, J. N. (2005).
A case study in biomimetic total synthesis: polyolefin carbocyclizations to terpenes and steroids. Chem Rev, 105(12), 4730-4756.
- [56] Beuchet, P.; Letourneux, Y. (1998).
Hemisynthèse de stérols marins polyhydroxyyles sulfates ou amines à partir de stéroïdes naturels. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 137, 37-53.
- [57] Danielsson, H. ; Sjovall, J. (1985).
Sterols and bile acids. New Comprehensive Biochemistry, 12, 175.
- [58] Benveniste, P. (2002).
Sterol Metabolism. The Arabidopsis Book.
- [59] Iwaki, T.; Iefuji, H.; Yoshikazu; Hiraga, A.H.; Morita, T.; Giga-Hama, Y.; Takegawa, K. (2008).
Multiple functions of ergosterol in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. Microbiology, 154, 830-841.
- [60] Neason, A.; Eskin, M. ; Tamir, S. (2006).
Dictionary of nutraceuticals and functional foods, 345.

- [61] Frénot, M; Vierling, E. (2002).
Biochimie des aliments: diététique du sujet bien portant, 2ème édition, 104-105.
- [62] Lodish ; Berk ; Matsudaira ; Kaiser ; Krieger ; Scott ; Zipursky ; Darnell. (2005).
Biologie moléculaire de la cellule, 3ème édition, 750-752.
- [63] Ammar, S.; Edziri, H.; Mahdjoub, M.A; Chatter, R.; Bouraoui, A.; Mighri, Z. (2009)
Spasmolytic and anti-inflammatory effects of constituents from *Hertia cheirifolia*.
Phytomedicine, 16, 1156-1161
- [64] Panda, S.; Jaffri, M.; Kar, A.; Meheta, B.K. (2009).
Thyroid inhibitory, antiperoxidative and hypoglycemic effects of stigmasterol isolated
from *Bueta monosperma*. Fitoterapia, 80, 123-126.
- [65] Hopkins, W. G. (2003).
Physiologie végétale, 2ème édition, 277-278.
- [66] Hoffmann, L. (2003).
Etude du métabolisme des phénylpropanoïdes; analyse de l'interaction de la caféoyl-
coenzyme A 3-O-méthyltransférase(CCoAOMT) avec son substrat et caractérisation
fonctionnelle d'une nouvelle acyltransférase, l'HydroxyCinnamoyl-CoA :
shikimate/quinate hydroxycinnamoyl Transférase (HCT), 4-10.
- [67] Liu, H.; Jensen, K.G.; My Tran, L.; Chen, M.; Zhai, L.; Olsen, C. E.; Shoel, H.;
Denmeade, S. R.; Isaacs, J. T.; Christensen, S. B. (2006).
Cytotoxic phenylpropanoids and an additional thapsigargin analogue isolated from
Thapsia garganica. Phytochemistry, 67, 2651–2658.
- [68] Bohlmann, F.; Suwita, A. (1978).
Neue phloroglucin-derivate aus *Leontonyx*-arten sowie weitere verbindungen aus
vertretern der tribus Inuleae. Phytochemistry, 17, 1929-1934.
- [69] Juma, B.F.; Yenesew, A; Midiwo, J.O.; Waterman, P.G. (2001).
Flavones and phenylpropanoids in the surface exudate of *Psiadia punctulata*.
Phytochemistry, 57, 571-574.

Chapitre IV

PARTIE

EXPERIMENTALE

IV.1 Généralités

Les chromatographies analytiques sur couches minces CCM ont été effectuées en phase normale sur des plaques Silicagel Kieselgel (60 F₂₅₄ Merck).

Les chromatographies sur colonne ouverte CC sont réalisées en phase normale sur Silicagel Kieselgel (230-400 Mesh).

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

Les spectres de masse sont enregistrés en IE (impact électronique), sur un spectromètre de masse Bruker LC-MS/MS type esquire-LC, de l'Ecole Nationale de Chimie de Rennes (France).

Les spectres de résonance magnétique nucléaire RMN ¹H et RMN ¹³C (RMN 1D et 2D) sont enregistrés dans le CDCl₃ sur un appareil Bruker 400 MHz 100 MHz respectivement, de l'Ecole Nationale de Chimie de Rennes (France).

Les spectres IR sont enregistrés sur pastilles de KBr au moyen d'un appareil de type JASCO FT/IR-4100, du Département de Chimie de l'Université de Batna.

IV.2 Récolte du matériel végétal

La plante *Santolina rosmarinifolia* L. ssp *rosmarinifolia* a été récoltée, en pleine floraison, au mois de juin 2006, dans la région de Djerma (à 20 Km au Nord Est de la ville de Batna) à 1000 m d'altitude. Son identification a été faite par le Professeur OUDJEHIIH Bachir du Département d'Agronomie de l'Université de Batna.

IV.3 Extraction

Notre travail d'extraction et de séparation a porté sur les parties aériennes de la plante, il a été réalisé selon le protocole suivant :

Les parties aériennes réduites en poudre (1,9 Kg) sont humectées par l'éther de pétrole (2 x 5 L) pendant 48 heures. Cette opération est répétée trois fois avec renouvellement du solvant. Après filtration et évaporation à sec sous pression réduite, 13,99 g de cet extrait ont été obtenus. Le résidu est ensuite mis à macérer dans le dichlorométhane (2 x 5 L), donnant ainsi 22,97 g de l'extrait dichlorométhane. Les marcs issus de la filtration de ce dernier sont ensuite extraits par l'acétate d'éthyle (2 x 5 L). Après évaporation du solvant, 13,09 g de l'extrait acétate d'éthyle ont été obtenus. Enfin, les marcs issus de la filtration de l'extrait

acétate d'éthyle sont ensuite extraits par le méthanol (2 x 5 L). Après évaporation du solvant, 22.5 g de l'extrait méthanolique ont été obtenus.

IV.4 Contrôle chromatographique des extraits

IV.4.1 Extrait étheropétrolique

Les chromatographies sur couches minces (CCM) effectuées sur l'extrait étheropétrolique dans les systèmes d'élution suivants : EP/AcOEt (95/5, 90/10, 85/15) montrent, après examen à la lumière UV (254, 366 nm) et révélation à la vanilline sulfurique, plusieurs taches de différentes couleurs et une traînée.

IV.4.2 Extrait dichlorométhane

L'extrait dichlorométhane examiné par CCM, avec les systèmes d'élution suivants : EP/AcOEt (95/5, 90/10, 85/15), CH₂Cl₂ pur, CHCl₃ pur, nous a permis d'observer, après examen à la lumière UV (254, 366 nm) et révélation à la vanilline sulfurique, des taches et une traînée similaires à celles de l'extrait étheropétrolique mais moins majoritaires.

IV.4.3 Extrait acétate d'éthyle

Une série d'essais chromatographiques a été réalisée sur couche mince (CCM). Le mélange EP/AcOEt : 60/40 s'est révélé être le système qui donne la meilleure résolution, du moins pour les produits relativement peu polaires, la CCM révèle, après examen à la lumière UV (254, 366 nm) et révélation à la vanilline sulfurique, plusieurs taches plus une traînée.

IV.4.4 Extrait méthanol

L'extrait méthanolique examiné par CCM, avec le système d'élution suivant : CHCl₃/MeOH 50/50 montre, après examen à la lumière UV (254, 366 nm) et révélation à la vanilline sulfurique, une traînée très importante traduisant un mélange complexe de produits dont la séparation s'annonce à priori difficile.

IV.5 Séparation et purification

La technique de séparation et de purification mise en œuvre, est la chromatographie sur colonne de gel de silice.

L'analyse des profils chromatographiques réalisés sur les quatre extraits dans des systèmes de solvants différents, montre bien que l'extrait étheropétrolique est le plus riche en produits, donc c'est le plus tentant à être étudié en premier (Figure IV.1).

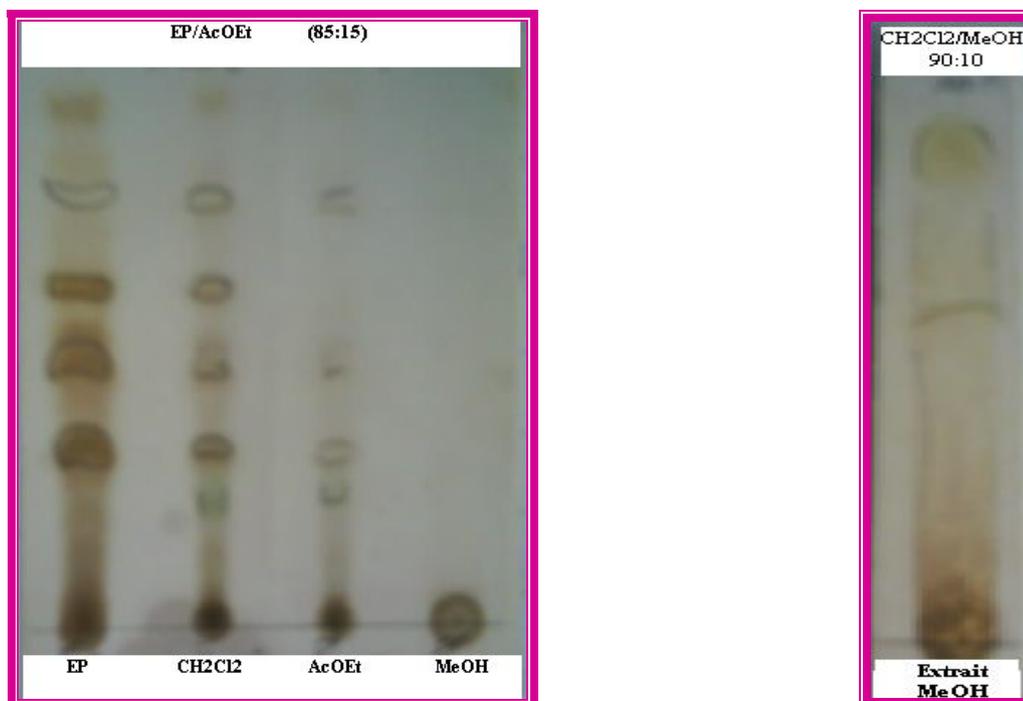


Figure IV.1

Le système d'éluion EP/AcOEt : 60/40 donne une meilleure résolution pour l'extrait acétate d'éthyle, ce qui nous a motivé à l'étudier aussi (Figure IV.2).



Figure IV.2 : Extrait acétate d'éthyle (EP/ AcOEt : 60/40)

IV.5.1 Traitement de la phase étheropétrolique

Une masse de 10 g de l'extrait étheropétrolique ainsi obtenue est soumise à une chromatographie sur colonne de gel de silice (300 g) en phase et pression normale, l'élution a été effectuée par le EP dont on augmente progressivement la polarité par l'addition de l'AcOEt.

Le fractionnement a été fait tous les 200 ml. L'examen très attentif par CCM à la lumière UV (254, 366 nm) et révélation à la vanilline sulfurique et chauffage, permet de rassembler les fractions présentant des similitudes en 29 fractions, le tableau 8 englobe les résultats obtenus.

N° de Lot	Fractions récupérées	Système d'éluion		Poids (mg)	Examen à la CCM
		EP	AcOEt		
F1	1-43	100	/	107,1	Néant
F2	44-57	100	/	78,5	Mélange complexe
F3	58-90	100	/	43,9	//
F4	91-116	100	/	10,7	//
F5	117-186	100	/	19,4	//
F6	187-302	100	/	233,9	//
F7	303-341	100	/	177,6	//
F8	342-402	100	/	161	//
F9	403-415	100	/	82,5	//
F10	416-545	100	/	122,5	//
F11	546-557	100	/	9,5	//
F12	558	100	/	10,6	//
F13	559-610	100	/	25,8	//
F14	611-714	100	/	119,2	//
F15	715-740	100	/	54,4	//
F16	741-779	100	/	15,1	//
F17	780-792	100	/	2,1	//
F18	793-861	100	/	8,8	//
F19	862-1122	100	/	10,7	//
F20	1123-1135	95	5	25,3	//
F21	1136-1162	95	5	204,3	//
F22	1163-1214	95	5	450	Mélange séparable
F23	1215-1253	95	5	254,1	Mélange complexe
F24	1254-1277	95	5	126,1	//
F25	1278-1329	90	10	363,8	//
F26	1330-1342	85	15	53,8	//
F27	1343-1420	85	15	292,9	//
F28	1421-1446	75	25	65,7	//
F29	1447-1498	65	35	100,4	Traînée

Tableau 8 : Fractionnement de l'extrait étheropétrolique

Le lot F22, jugé intéressant, est mis à chromatographier sur une colonne de gel de silice en phase et pression normales.

IV.5.1.1 Etude du lot F22

Poids de l'échantillon : 450 mg.

Support : gel de silice (13,4 g)

Le fractionnement de ce lot a été réalisé sur des fractions de 10 ml, le rassemblement des fractions similaires donne 18 sous lots (tableau 9).

N° de Lot	Fractions récupérées	Système d'élution		Poids (mg)	Examen à la CCM
		EP	AcOEt		
F22.1	1-3	100	/	10	Néant
F22.2	4	100	/	1	Trois taches
F22.3	5-6	100	/	7	Deux taches
F22.4	7	100	/	5	Mélange complexe
F22.5	8-10	100	/	19	//
F22.6	11-14	100	/	107	//
F22.7	15-18	100	/	23	//
F22.8	19-21	100	/	8	//
F22.9	22-23	100	/	2	//
F22.10	24-38	100	/	7	//
F22.11	39-41	100	/	25	//
F22.12	42-43	100	/	45	//
F22.13	44-45	100	/	66	Tache majoritaire+ petite traînée
F22.14	46-47	100	/	48	Mélange complexe
F22.15	48-59	99	/	0.5	Traînée
F22.16	60-71	97	3	2	Néant
F22.17	72-82	95	5	5	Traînée
F22.18	83	90	10	2	//

Tableau 9 : Fractionnement du lot F22 de l'extrait étheropétrolique

L'addition de l'éther de pétrole au mélange de produits, du sous lot F22.13, permet la formation de cristaux et une huile. Le prélèvement de cette huile, suivi du rinçage successif par l'éther de pétrole, conduit à un dépôt de cristaux blancs. Ces cristaux sont mis de nouveau en teste sur plaques CCM en utilisant un système d'éluion EP/Et₂O (60/40), après révélation à la vanilline sulfurique. Le résultat était une mono tache de couleur noire invisible à la lumière UV correspondant au composé A pur (8,7 mg) (Figure IV.3).

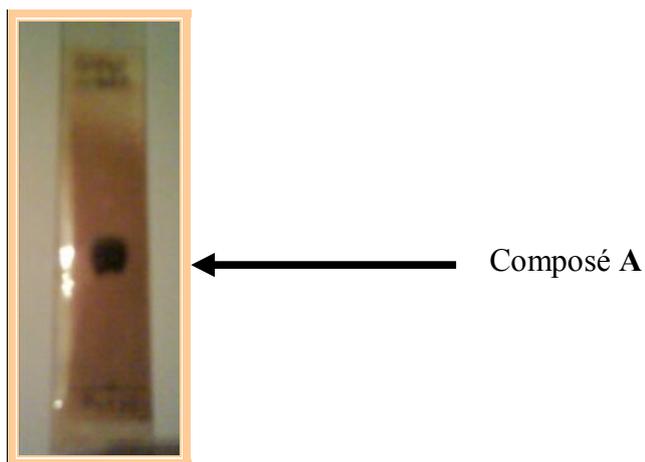


Figure IV.3 : Chromatogramme du composé A
(EP/Et₂O : 60/40)

IV.5.2 Traitement de la phase acétate d'éthyle

Une partie de l'extrait acétate d'éthyle (9 g) a été mise à chromatographier sous pression normale sur colonne de gel de silice normale d'un volume de 500 ml par enrobage (volume de silice utilisée : 50 ml). L'éluion a été effectuée au moyen de l'éther de pétrole pur puis avec un gradient d'éther de pétrole et d'acétate d'éthyle dont la polarité est progressivement variée dans des proportions allant de 99-1 jusqu'à l'acétate d'éthyle pur. Ensuite par un gradient de méthanol dans l'acétate d'éthyle : 99/1, 95/5, 90/10, 80/20, 60/40. Enfin l'éluion est achevée par le méthanol pur.

Les fractions de 150ml obtenues sont examinées attentivement par chromatographie sur couche mince (CCM), visualisées à l'UV (254 et 366 nm) et révélées à la vanilline sulfurique. Ceci nous a permis de rassembler les fractions présentant des analogies en 27 lots (tableau 10) :

N° de Lot	Fractions récupérées	Système d'élution	Poids (mg)	Examen à la CCM
Ether de pétrole pur				
F'1	1-13	//	17	Néant
F'2	14-16	//	69	Petite traînée
F'3	17-22	//	18	Trois taches
Ether de pétrole/Acétate d'éthyle				
F'4	23-25	99/1	5	Deux taches
F'5	26	//	4	//
F'6	27-50	95/5	19	Néant
F'7	51-52	90/10	734	Mélange complexe
F'8	53	//	19	//
F'9	54-58	//	63	//
F'10	59-67	//	58	//
F'11	68-69	//	24	//
F'12	70-79	//	233	//
F'13	80-87	//	246	Mélange séparable
F'14	88-105	80/20	842	Mélange complexe
F'15	106-115	//	438	//
F'16	116-134	75/25	296	//
F'17	135-146	70/30	174	//
F'18	147-163	60/40	379	//
F'19	164-174	40/60	512	//
F'20	175-197	20/80	724	//
F'21	198-225	//	774	//
F'22	226-241	Acétate d'éthyle pur	80	//
Acétate d'éthyle/Méthanol				
F'23	242-251	99/1	1	//
F'24	252-261	95/5	57	//
F'25	262-272	90/10	129	Traînée
F'26	273-280	80/20	135	//
F'27	281-290	Méthanol pur	117	//

Tableau 10 : Fractionnement de l'extrait acétate d'éthyle

Le lot F'13 jugé très intéressant, montrant plusieurs taches en CCM dont une tache marron très importante, est mis à chromatographier sur une colonne de gel de silice en phase et pression normales.

IV.5.2.1 Etude du lot F'13

Poids de l'échantillon : 246 mg

Support : gel de silice (7,38 g)

Le fractionnement de ce lot a été fait suivant le tableau 11 :

N° des lots	Fractions récupérées	Eluant de la colonne		Poids (mg)	Examen à la CCM
		Ether de pétrole	Acétate d'éthyle		
F'13.1	1-2	100	/	3	Deux taches
F'13.2	3-15	100	/	1	//
F'13.3	16-28	100	/	1	Trois taches
F'13.4	29-30	99	1	1	Deux taches
F'13.5	31-35	99	1	8	Trois taches
F'13.6	36-45	99	1	3	//
F'13.7	46-68	99	1	11	Mélange complexe
F'13.8	69-105	99	1	20	//
F'13.9	106-122	97	3	60	Tache majoritaire +trainée
F'13.10	123	95	5	5	Néant
F'13.11	124	/	100	20	Trainée

Tableau 11 : Fractionnement du lot F'13 de l'extrait acétate d'éthyle

Le sous lot F'13.9 présente une tache majoritaire plus une traînée. L'ajout de l'éther de pétrole, a conduit à un précipité dont l'examen par chromatographie sur couche mince montre une mono tache visible à l'UV, et donne une couleur marron après révélation à la vanilline sulfurique. Cette dernière correspond à un mélange de deux composés **B** et **C** (5,1mg) (Figure IV.4).

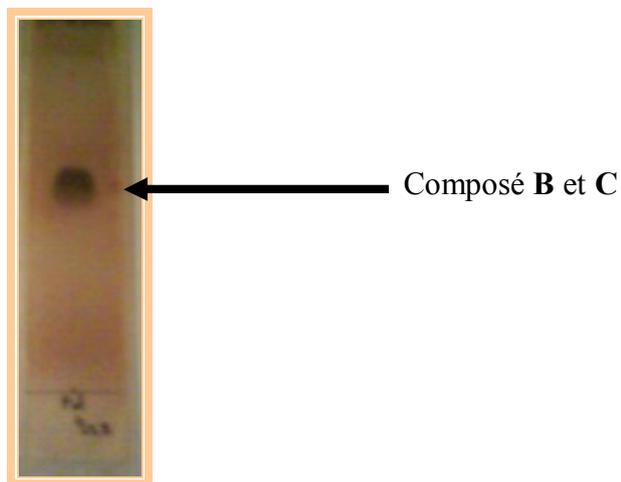
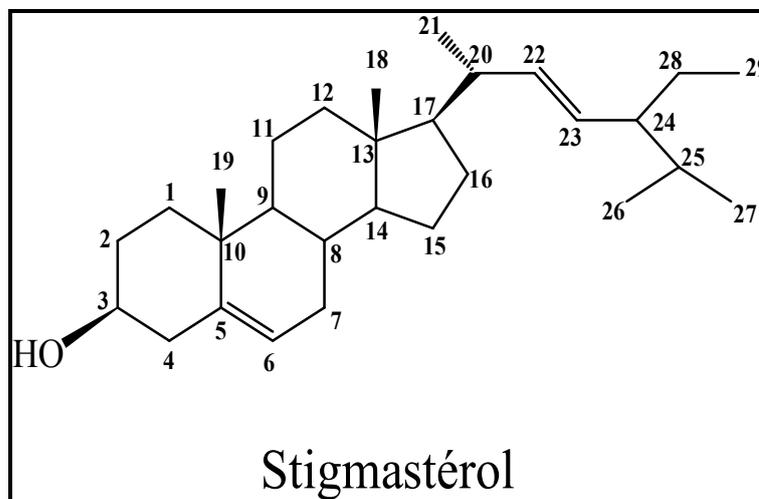


Figure IV.4 : Chromatogramme des composés **B** et **C**

EP/Et₂O : 70/30

IV.6 Constantes physiques et données spectrales des composés isolés:

IV.6.1 Composé A

Formule brute : C₂₉H₄₈O

Poids moléculaire : 412 g/mol

Quantité du produit : 8,7 mg

Aspect : cristaux blancs

Rf = 0,45 dans le système de solvant suivant : EP/Et₂O : 60/40

Composé non visible à l'UV et donne une couleur noir après révélation à la vanilline sulfurique.

IR : KBr ν_{\max} 3400 (OH), 1654 (C=C) cm⁻¹

EI-MS : 412 [M]⁺

RMN ¹H: (400 MHz, CDCl₃, TMS)

1,08-1,85 (*m*, 2H) = H-1

1,49-1,83 (*m*, 2H) = H-2

3,52 (*tt*, $J_{ax-ax} = 11,0$ Hz, $J_{ax-eq} = 4,4$ Hz, 1H) = H-3

2,29 (*m*, 2H) = H-4

5,35 (*dl*, $J = 5,2$ Hz, 1H) = H-6

1,49-1,99 (*m*, 2H) = H-7

1,47 (*m*, 1H) = H-8

0,92 (*m*, 1H) = H-9

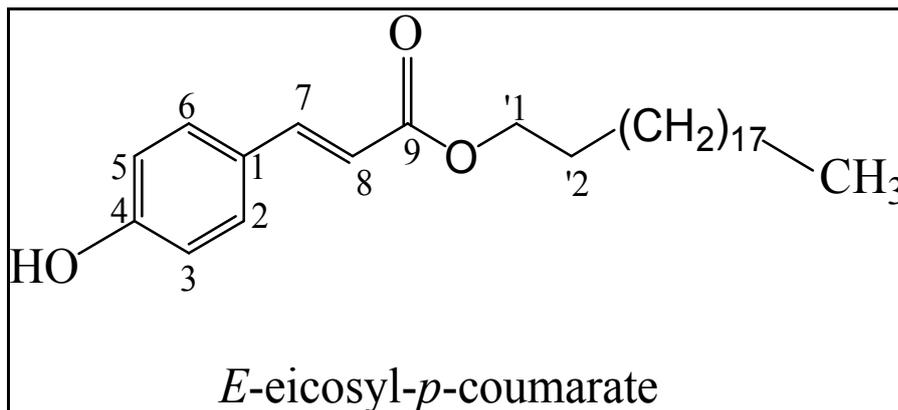
1,49 (*m*, 2H) = H-11

1,15-2,00 (*m*, 2H) = H-12

- 1,03 (*m*, 1H) = H-14
1,25-1,49 (*m*, 2H) = H-15
1,03-1,58 (*m*, 2H) = H-16
1,18 (*m*, 1H) = H-17
0,69 (*s*, 3H) = H-18
1,01 (*s*, 3H) = H-19
2,00 (*m*, 1H) = H-20
1,02 (*d*, $J = 6,6$ Hz, 3H) = H-21
5,15 (*dd*, $J_{trans} = 15,2$ Hz, $J_{cis} = 8,6$ Hz, 1H) = H-22
5,01 (*dd*, $J_{trans} = 15,2$ Hz, $J_{cis} = 8,6$ Hz, 1H) = H-23
1,53 (*m*, 1H) = H-24
1,49 (*m*, 1H) = H-25
0,84 (*d*, $J = 6,5$ Hz, 3H) = H-26
0,79 (*d*, $J = 6,5$ Hz, 3H) = H-27
1,13-1,44 (*m*, 2H) = H-28
0,80 (*t*, $J = 7,0$ Hz, 3H) = H-29

RMN ^{13}C : (100 MHz, CDCl_3 , TMS)

37,2 (CH₂-1) , 31,7 (CH₂-2) , 71,8 (CH-3) , 42,3 (CH₂-4) , 140,07 (=C-5) , 121,7 (=CH-6),
31,9 (CH₂-7) , 31,9 (CH-8) , 50,1 (CH-9) , 36,5 (C-10) , 21,1 (CH₂-11) , 39,7 (CH₂-12),
42,3(C-13) , 56,8 (CH-14) , 24,4(CH₂-15) , 28,9 (CH₂-16) , 56 (CH-17) , 12,0 (CH₃-18) ,
19,4 (CH₃-19), 40,5 (CH-20), 21,2 (CH₃-21), 138,3 (=CH-22), 129,3 (=CH-23), 51,2(CH-24),
31,9 (CH-25) , 21,1 (CH₃-26) , 19,0 (CH₃-27) , 25,4 (CH₂-28) , 12,2 (CH₃-29).

IV.6.2 Composé B

Formule brute : C₂₉H₄₈O₃

Poids moléculaire : 444 g/mol

Quantité du produit : 2,36 mg

Aspect : poudre blanche

R_f = 0,5 dans le système de solvant suivant : EP/Et₂O : 70/30

Composé visible à l'UV et donne une couleur marron après révélation à la vanilline sulfurique.

IR : KBr ν_{\max} 3391 (OH), 1674 (COOR) cm⁻¹

EI-MS : 444 [M]⁺

RMN ¹H : (400 MHz, CDCl₃, TMS)

7.43 (*d*, *J*= 8,5 Hz, 1H) = H-2

6,84 (*d*, *J*= 8,6 Hz, 1H) = H-3

6,84 (*d*, *J*= 8,6 Hz, 1H) = H-5

7,43 (*d*, *J*= 8,5 Hz, 1H) = H-6

7.62 (*d*, *J*= 16,0 Hz, 1H) = H-7

6.30 (*d*, *J*= 16,0 Hz, 1H) = H-8

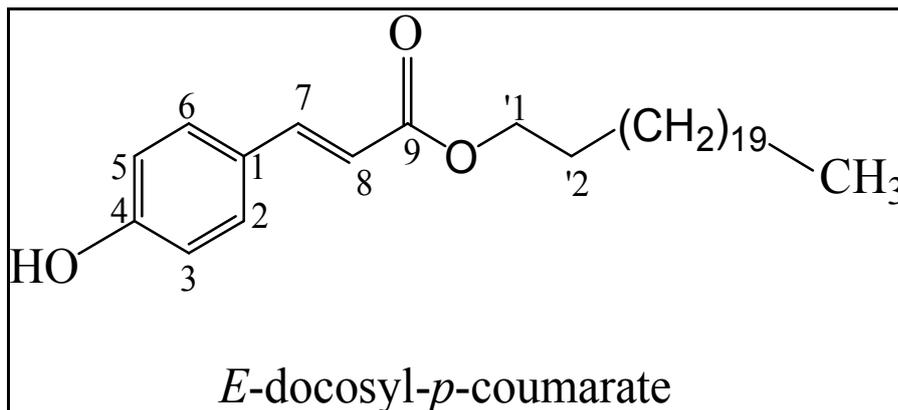
4.18 (*t*, *J*= 6.7 Hz, 2H) = H-'1

1,69 (*quint*, *J*= 6.7 Hz, 2H) = H-'2

0.88 (*t*, *J*= 7,0 Hz, 3H) = H-'20

RMN ¹³C : (100 MHz, CDCl₃, TMS)

127,4 (C-1), 129,9 (CH-2), 115,8 (CH-3), 157,5 (C-4), 115,8 (CH-5), 129,9 (CH-6), 144,2 (CH-7), 115,8 (CH-8), 167,5 (C-9), 64,5 (CH₂-'1), 29,7 (CH₂-'2), 14,1 (CH₃-'20).

IV.6.3 Composé C

Formule brute : C₃₁H₅₂O₃

Poids moléculaire : 472 g/mol

Quantité du produit : 2,73 mg

Aspect : poudre blanche

R_f = 0,5 dans le système de solvant suivant : EP/Et₂O : 70/30

Composé visible à l'UV et donne une couleur marron après révélation à la vanilline sulfurique.

IR : KBr ν_{\max} 3391 (OH), 1674 (COOR) cm⁻¹

EI-MS : 472 [M]⁺

RMN ¹H : (400 MHz, CDCl₃, TMS)

7,43 (*d*, *J*= 8,5 Hz, 1H) = H-2

6,84 (*d*, *J*= 8,6 Hz, 1H) = H-3

6,84 (*d*, *J*= 8,6 Hz, 1H) = H-5

7,43 (*d*, *J*= 8,5 Hz, 1H) = H-6

7,62 (*d*, *J*= 16,0 Hz, 1H) = H-7

6,30 (*d*, *J*= 16,0 Hz, 1H) = H-8

4,18 (*t*, *J*= 6,7 Hz, 2H) = H-'1

1,69 (*quint*, *J*= 6,7 Hz, 2H) = H-'2

0,88 (*t*, *J*= 7,0 Hz, 3H) = H-'22

RMN ¹³C : (100 MHz, CDCl₃, TMS)

127,4 (C-1), 129,9 (CH-2), 115,8 (CH-3), 157,5 (C-4), 115,8 (CH-5), 129,9 (CH-6), 144,2 (CH-7), 115,8 (CH-8), 167,5 (C-9), 64,5 (CH₂-'1), 29,7 (CH₂-'2), 14,1 (CH₃-'22).