

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET
POPULAIRE**

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE HADJ LAKHDAR-BATNA
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA MATIERE**

***MEMOIRE POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE
MAGISTER***

***Spécialité
CHIMIE***

***Présenté par
M^{elle} BEN ABDEL AZIZ IMANE***

Thème

***Etude des composés chimiques de
Scorzonera undulata
(Asteraceae)***

JURY

Hamada HABA	Maître de Conférences Université de Batna	Président
Mohammed BENKHALED	Professeur Université de Batna	Rapporteur
Belgacem LEGSEIR	Professeur Université de Annaba	Examineur
Hocine DENDOUGUI	Professeur Université de Ouargla	Examineur
Abdelhamid BENKOUIDER	Maître de Conférences Université de Batna	Examineur

2010/2011

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

UNIVERSITE HAJ LAKHDAR-BATNA

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA MATIERE

MEMOIRE POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE

MAGISTER

Spécialité

CHIMIE

Présenté par

M^{elle} BENABDELAZIZ IMANE

Thème

***Etude des composés chimiques de *Scorzonera
undulata ssp. alexandrina****

JURY

Hamada HABA	Maître de Conférences Université de Batna	Président
Mohammed BENKHALED	Professeur Université de Batna	Rapporteur
Belgacem LEGSEIR	Professeur Université de Annaba	Examineur
Hocine DENDOUGUI	Professeur Université de Ouargla	Examineur
Abdelhamid BENKOUIDER	Maître de Conférences Université de Batna	Examineur

2010/2011

Dédicace

Je dédie spécialement ce travail :

A mon père Djamel qui voulait tout le temps que je poursuive mes études jusqu'au bout avec un soutien incontestable. Si aujourd'hui j'ai réussi c'est pour toi et grâce à toi papa, merci d'avoir su susciter en moi la dignité et le sens de l'honneur puisque tu es toi-même source d'honneur.

A tata Samira , plus qu'une mère , tu es mon amie et ma confidente , aucun mot ne pourrait expliquer l'attachement, l'amour et la tendresse que j'éprouve envers toi.

Je voudrais simplement leur dire que je les aime de tout mon cœur.

A mes sœurs Sarah, Houda , Malek et la petite Racha

A mes deux frères Tarek et Wahid.

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

*Je prie le bon Dieu de me donner la force et les moyens de prendre toujours
soin de vous.*

*A la mémoire de ma mère Hayet, puisse Dieu t'accueillir dans son paradis
Repose en paix Mama.*

REMERCIEMENTS

*Ce mémoire a été réalisé au Laboratoire de synthèse Organique et Phytochimie du Département de chimie, de la faculté des Sciences de l'Université de Batna sous la direction du Professeur **Mohammed BENKHALED**.*

Avant d'exposer les travaux qui ont conduit à la réalisation de ce mémoire, je tiens à remercier tous ceux qui m'ont permis d'accomplir ce travail dans de bonnes conditions.

*J'adresse un grand merci à Monsieur le Professeur **Mohammed BENKHALED** mon directeur de travail, qu'il trouve ici l'expression de ma gratitude pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire et qu'il soit assuré de mon profond respect pour m'avoir fait bénéficier de son rigueur scientifique.*

*Ce travail aurait été incomplet sans la disponibilité et les orientations de Monsieur **Hamada HABA** Maître de Conférences à l'Université de Batna. A vrai dire, je ne sais pas comment vous remercier pour tout ce que vous m'avez apporté, transmis et appris tout au long de ce travail. Merci pour l'énorme contribution que m'avez apportée afin de mener à bien ce mémoire de Magister.*

*Mes vifs remerciements vont à Monsieur **Hamada HABA** Maître de Conférences à l'université de Batna pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider le jury de ma soutenance de Magister.*

*Je tiens à remercier aussi les membres du jury, le professeur **Belgacem LEGSEIR** de l'Université de Annaba, le professeur **Hocine DENDOUGUI** de l'Université de Ouargla et Monsieur **Abdelhamid BENKOUIDER** Maître de Conférences à l'Université de Batna, qui m'ont honoré en acceptant de faire partie du jury de mon mémoire.*

*Je tiens vivement à remercier le Docteur **Christophe LONG**, du centre de Recherche sur les Substance Naturelles CNRS-Pierre Fabre, pour son aide inestimable. Je remercie les Professeurs **Catherine LAVAUD** et **Ahcene BOUMENDJEL** de l'UFR de Pharmacie des Universités de Reims Champagne-Ardenne et **Joseph FOURIER** de Grenoble, pour la réalisation des spectres de RMN et masse.*

Je remercie tous ceux qui ont contribué d'une façon ou d'une autre, de près ou de loin, à l'élaboration de ce travail.

ABRÉVIATIONS

AcOEt :	Acétate d'éthyle
EP :	Ether de pétrole
MeOH :	Méthanol
CHCl₃ :	Chloroforme
CH₂Cl₂	Dichlorométhane
CDCl₃ :	Chloroforme deutéré
CD₃OD :	Méthanol deutéré
CCM :	Chromatographie sur couche mince
CC :	Chromatographie sur colonne ouverte
CCE :	Chromatographie sur couche épaisse préparative
VLC :	Chromatographie liquide sous vide
SiO₂ :	Gel de silice normale
RP- 18 :	Silice greffée en C-18
<i>s</i> :	Singulet
<i>sl</i> :	Singulet large
<i>d</i> :	Doublet
<i>dd</i> :	Doublet de doublets
<i>td</i> :	Triplet de doublets
<i>m</i> :	Multiplet
RMN ¹H :	Résonance magnétique nucléaire du proton
RMN ¹³C :	Résonance magnétique nucléaire du carbone 13
HMBC :	Heteronuclear multiple bond correlation

HSQC :	Heteronuclear single quantum correlation
COSY H-H :	Correlation spectroscopy H-H
SM :	Spectrométrie de masse
ESI :	Spectrométrie de masse par ionisation douce (Electrospray)
EI :	Impacte électronique
δ :	Déplacement chimique
<i>J</i> :	Constante de couplage
uma :	Unité de masse atomique
<i>m/z</i> :	Masse/charge d'un ion
Glc :	Glucose
Gla :	Galactose
Rut	Rutinose
CoA :	Coenzyme-A
F :	Fraction
ppm :	Partie par million
Hz :	Hertz

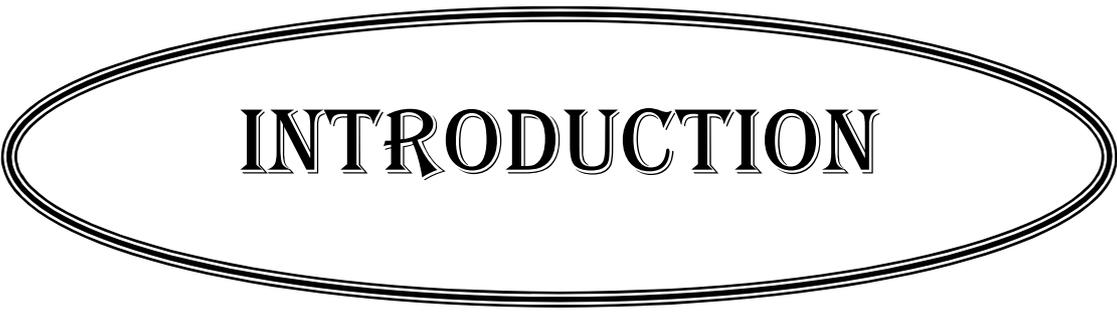
SOMMAIRE

Introduction	1
1^{ère} Partie : Rappel bibliographique	4
Chapitre I : Aspects botaniques	5
Classification de <i>Scorzonera undulata</i> ssp. <i>alexandrina</i>	6
I. Famille des Asteraceae.....	7
I. 1. Caractères principaux.....	7
I. 2. Utilisation des plantes Asteraceae.....	7
I. 3. Distribution géographique.....	8
II. Genre <i>Scorzonera</i>	8
II. 1. Caractères principaux.....	8
II. 2. Distribution géographique.....	8
II. 3. Intérêt commercial, nutritionnel et pharmacologique.....	9
III. Espèce <i>Scorzonera undulata</i> ssp. <i>alexandrina</i>	9
III. 1. Noms vernaculaires.....	9
III. 2. Description botanique.....	10
III. 3. Distribution géographique.....	10
III. 4. Propriétés et usages.....	10
Chapitre II : Etudes phytochimiques antérieures	12
I. Etudes phytochimiques antérieures sur le genre <i>Scorzonera</i>	13
I. 1. Coumarines et isocoumarines	13
I. 2. Dérivés de stilbènes.....	14
I. 3. Flavonoïdes	15
I. 4. Sesquiterpènes.....	16
I. 5. Triterpènes.....	18

I. 6. Autres composés.....	20
II. Etude phytochimique antérieure sur l'espèce <i>S. undulata</i> ssp. <i>deliciosa</i>	23
Chapitre III : Généralités sur les triterpènes.....	25
III. 1. Définition.....	26
III. 2. Mode de cyclisation.....	26
III. 3. Classification	29
III. 4. Nomenclature.....	30
III. 5. Biosynthèse des triterpènes	30
III. 6. Stérols.....	32
III. 6. 1. Structure chimique.....	32
III. 6. 2. Diversité des stérols.....	32
III. 6. 3. Rôle structural.....	34
III. 7. Saponines.....	34
III. 7. 1. Saponines triterpéniques.....	35
III. 7. 2. Propriétés biologiques des saponines triterpéniques	35
Chapitre IV : Généralités sur les flavonoïdes	36
IV. 1. Définition.....	37
IV. 2. Structure chimique.....	37
IV. 3. Biosynthèse des flavonoïdes	37
IV. 4. Classes de flavonoïdes.....	40
IV. 5. Substitution du squelette flavonique.....	41
IV. 5. 1. <i>O</i> -substitution.....	41
IV. 5. 1. a. Hydroxylation.....	41
IV. 5. 1. b. <i>O</i> -méthylation.....	42
IV. 5. 1. c. <i>O</i> -glycosylation.....	42
IV. 5. 2. <i>C</i> -substitution.....	42
IV. 5. 2. a. <i>C</i> -méthylation.....	42

IV. 5. 2. b. C-glycosylation.....	43
IV. 6. Distribution au sein des plantes.....	44
IV. 7. Propriétés biologiques.....	44
2^{ème} Partie : Travaux personnels.....	45
Chapitre V : Etude phytochimique de l'espèce <i>S.undulata</i> ssp. <i>alexandrina</i>.....	46
V. 1. Extraction et fractionnement.....	47
V. 2. Purification des composés.....	47
V. 2. 1. Extrait acétate d'éthyle.....	48
V. 2. 2. Extrait méthanolique.....	49
V. 3. Détermination de structure des composés.....	51
V. 3. 1. Détermination de structure du composé SU1.....	51
V. 3. 2. Détermination de structure du composé SU2.....	61
V. 3. 3. Détermination de structure du composé SU3.....	70
V. 3. 4. Détermination de structure du composé SU4.....	78
V. 3. 5. Détermination de structure du composé SU5.....	84
V. 4. Conclusion.....	87
Chapitre VI : Partie expérimentale.....	91
I. Matériels et appareillage.....	92
I. 1. Matériel végétal.....	92
I. 2. Méthodes préparatives.....	92
I. 2. 1. Chromatographie sur couche mince (CCM)	92
I. 2. 2. Chromatographie sur couche épaisse préparative.....	92
I. 2. 3. Chromatographie liquide sur colonne ouverte (CC).....	93
I. 2. 3. a. Chromatographie d'adsorption	93
I. 2. 3. b. Chromatographie d'exclusion.....	93
I. 2. 4. Chromatographie liquide sous vide (VLC).....	93
I. 3. Méthodes d'indentification structurale.....	93

I. 3. 1. Spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (RMN).....	93
I. 3. 2. Spectrométrie de masse (SM).....	94
I. 3. 3. Pouvoir rotatoire ($[\alpha]_D$).....	94
II. Etude phytochimique.....	94
II. 1. Obtention des extraits.....	94
II. 2. Fractionnement et purification des extraits	94
II. 2. 1. Fractionnement de l'extrait acétate d'éthyle	95
II. 2. 1. a. Etude de la fraction F ₃	95
II. 2. 1. b. Etude de la fraction F ₈	98
II. 2. 1. c. Etude de la fraction F ₉	100
II. 2. 1. d. Etude de la fraction F ₁₁	101
II. 3. Fractionnement de l'extrait méthanolique.....	102
II. 3. 1. Etude de la fraction F ₃	103
III. Composés isolés de l'espèce <i>S. undulata</i> ssp. <i>alexandrina</i>	106
Bibliographie	111
Résumé	119
ملخص	120



INTRODUCTION

INTRODUCTION

La phytothérapie tient actuellement une large place dans la société en matière de santé car elle constitue un des fondements de la médecine populaire. Cependant, pour la plupart des plantes médicinales, la notion d'efficacité repose simplement sur une tradition ancestrale d'utilisation et il n'y a aucune base scientifique permettant d'expliquer comment le produit agit. La difficulté est encore plus grande quand il s'agit de préparations comprenant de multiples plantes dont on ne sait laquelle est potentiellement efficace.

Conscients de ces difficultés, les adeptes de la phytothérapie ont commencé à réaliser des travaux expérimentaux pour déterminer quelles sont les molécules porteuses de l'effet thérapeutique dans les plantes et leur mécanisme d'action.

Dans ce domaine, la phytochimie tient une bonne place car elle se charge d'étudier ces substances actives, leurs structures, leurs distributions dans la plante, leurs modifications et les processus de transformation qui se produisent au cours de la vie de la plante. Elle est en liaison étroite avec la pharmacologie qui étudie les effets des biomolécules sur l'organisme humain, le mécanisme et la vitesse de leur action, leur absorption ainsi que leur élimination.

Le présent travail qui rentre en droite ligne du programme de recherche de notre laboratoire destiné principalement à la valorisation de la flore locale par la découverte éventuelle de principes actifs nouveaux, s'inscrit donc dans cette recherche de nouvelles biomolécules qui peuvent trouver un usage thérapeutique. Dans cette perspective, nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique d'une plante nommée *Scorzonera undulata* ssp. *alexandrina* (Boiss.) Maire, plante méditerranéenne appartenant à la famille Asteraceae. Cette dernière largement distribuée dans le règne végétal s'avère très pourvue en métabolites secondaires d'un grand intérêt biologique comme les flavonoïdes et sesquiterpènes lactones qui s'imposent comme les marqueurs chimiotaxonomiques de la famille Asteraceae en général. Le genre *Scorzonera* est également riche en métabolites secondaires biologiquement actifs. On citera pour exemple les composés triterpéniques à squelette taraxastéranes isolés de *Scorzonera latifolia* qui ont montré des activités analgésiques certaines.

Il est à souligner que l'espèce *S. undulata* ssp. *alexandrina*, objet de ce travail, n'a fait l'objet d'aucune investigation chimique antérieure.

La première partie de ce travail, constituée de quatre chapitres, est consacrée tout d'abord à un rappel bibliographique, incluant les aspects botaniques (famille, genre, espèce), les études phytochimiques antérieures effectuées sur le genre, généralités sur les triterpènes et flavonoïdes.

La deuxième partie qui comprend deux chapitres, concerne les travaux personnels. Elle passe en revue, dans son premier chapitre, l'étude phytochimique de l'espèce *S. undulata* ssp. *alexandrina*, l'interprétation des résultats et la détermination structurale des composés isolés. Le dernier chapitre est consacré aux travaux expérimentaux décrivant toutes les étapes menant aux produits purs.

Notre travail sera présenté comme suit :

1^{ère} Partie : Rappel bibliographique

Chapitre I : Aspects botaniques

Chapitre II : Etudes phytochimiques antérieures

Chapitre III : Généralités sur les triterpènes

Chapitre IV : Généralités sur les flavonoïdes

2^{ème} Partie : Travaux personnels

Chapitre V : Etude phytochimique de l'espèce *S. undulata* ssp. *alexandrina*

Chapitre VI : Partie expérimentale

1^{ERE} PARTIE

Rappel

bibliographique

CHAPITRE I

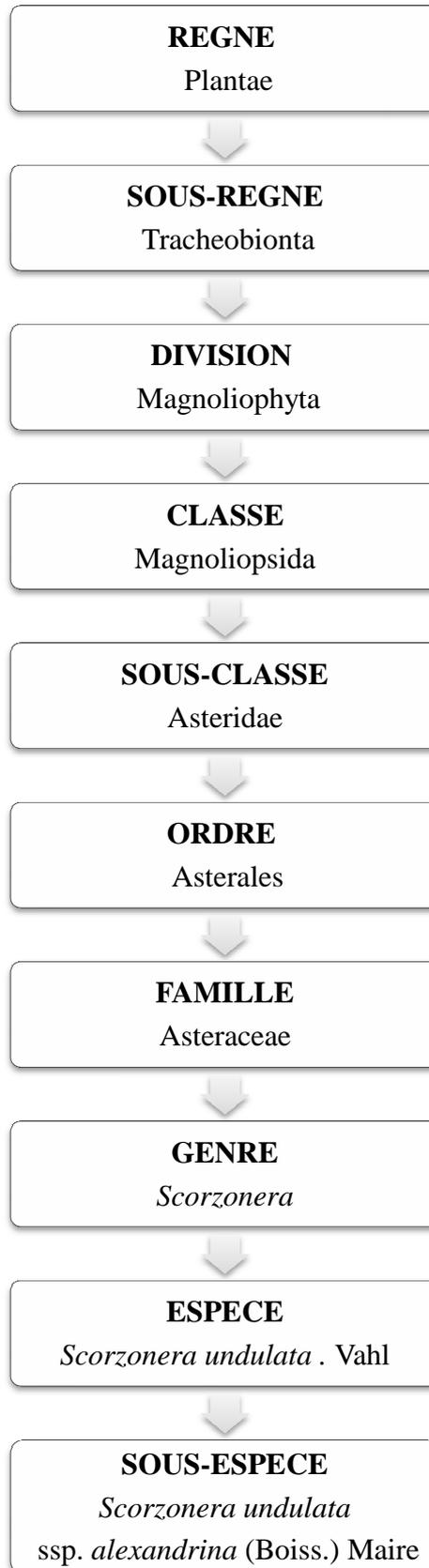
Aspects botaniques

Rappel bibliographique

Aspects botaniques

Classification de *Scorzonera undulata* ssp. *alexandrina*

La classification botanique de cette plante peut être résumée de la façon suivante :



Rappel bibliographique

Aspects botaniques

Pour bien situer *Scorzonera undulata* ssp. *alexandrina* dans la systématique, nous ferons dans un premier temps une description succincte des Asteraceae, famille à laquelle appartient cette plante. Nous aborderons par la suite le genre *Scorzonera* avant de décrire de façon détaillée, les caractères botaniques de l'espèce *S. undulata* ssp. *alexandrina*.

I. Famille des Asteraceae

La famille Asteraceae (Martynov1820) ou Compositae (Giseke1792) (Astéracées ou Composées) est l'une des plus grandes familles de plantes à fleurs avec environ 1100 genres répertoriés actuellement et 25000 espèces [1]. Ce sont des arbustes à feuillage persistant, des sous-arbrisseaux, des plantes vivaces (grâce à des rhizomes, tubercules et racines pivotantes), des plantes herbacées annuelles ou bisannuelles. Les caractères décrits ci-dessous sont ceux rencontrés le plus fréquemment mais il faut être conscient de la grande hétérogénéité de cette famille [1].

I. 1. Caractères principaux

Les plantes astéraceae ont la caractéristique commune de posséder des fleurs réunies en capitules, sans pédoncules, placées sur l'extrémité d'un rameau ou d'une tige et entourées d'une structure formée par des bractées florales. Cette structure en forme de coupe ou de collerette est appelée un involucre [2].

Leur fleur est très particulière : les étamines sont soudées par leurs anthères déhiscentes vers l'intérieur. Sous les stigmates sont situées des « brosses à pollen ». La croissance rapide du style permet un brossage du pollen et sa récupération. Une fois que le stigmate a traversé le tube formé par les anthères, les stigmates se déplient et exposent leur face gluante au pollen [2].

Les fruits sont des akènes, souvent couronnés d'une aigrette de soie appelée *pappus* qui favorise la dispersion des graines par le vent [2].

I. 2. Utilisation des plantes Asteraceae

Certains genres faisant partie de cette vaste famille sont comestibles. On citera les genres *Lactuca* (laitue), *Cichorium* (endive et scarole), *Cynara* (artichaut), *Tragopogon* (salsifis), *Helianthus* (topinambour), *Helianthus* (tournesol) [2].

Plus de 200 genres sont cultivés pour être utilisés comme plantes ornementales (*chrysanthème* du genre *Chrysanthemum*, *marguerite* du genre *Aster*, etc) ou constitués de plantes adventices (*laiteron* du genre *Sonchus*, *chardon* du genre *Silybum*, *pissenlit* du genre *Taraxacum*, etc). Certains comme le genre *Pyrethrum* fournissent un insecticide [1, 2].

Rappel bibliographique

Aspects botaniques

I. 3. Distribution géographique

La famille Asteraceae est distribuée dans le monde entier à l'exception de l'Antarctique, mais de manière très diverse dans les régions tropicales et subtropicales d'Amérique du Nord, à l'est des Andes brésiliennes, l'Australie, l'Afrique australe, la région méditerranéenne, l'Asie centrale et le sud-ouest de la Chine [1].

II. Genre *Scorzonera*

Le genre *Scorzonera* de la famille Asteraceae et dont les plantes qui le constituent sont appelées scorsonères, regroupe diverses plantes de la famille Asteraceae (ou Composées) comprend environ 170 espèces. Ces plantes sont herbacées vivaces ou bisannuelles [3].

Le nom du genre est emprunté à l'italien *Scorzonera* (*Scorza* signifie écorce et *Nera* noire) ou au castillan *Escorzonera*. Dans les deux cas, le sens est le même. Ce genre tire son nom de sa propriété supposée à soigner la morsure d'une vipère noire nommée *Scorzone* en italien et *Escorçó* en catalan [3].

II. 1. Caractères principaux

Ce genre offre les caractères suivants [4, 5]:

- feuilles beaucoup plus longues que larges, généralement entières.
- capitules homogames, multiflores.
- involucre allongé, presque cylindrique, composé de folioles nombreuses, imbriquées, inégales, pointues, membraneuses sur leurs bords.
- réceptacle nu ou seulement muni de papilles.
- calathide composée de demi - fleurons nombreux, étalés en rayons, hermaphrodites, à languette linéaire, tronquée et divisée en cinq dents au sommet.
- ovaire oblong, surmonté d'un style filiforme à deux branches stigmatiques recourbées en dehors.
- akènes allongés, fusiformes, plumeux et entremêlés.

II. 2. Distribution géographique

Les espèces du genre *Scorzonera* (Asteraceae) sont distribuées à travers le monde. Ce genre se rencontre principalement dans les zones sèches d'Europe et d'Asie [5].

La plupart des scorsonères africaines sont des plantes méditerranéennes [5]. En Algérie, ce genre ne comprend pas moins de huit espèces qui sont : *S. caespitosa* Pomel, *S. coronopifolia* Desf., *S. fasciata* Pomel, *S. laciniata* L., *S. pygmaeae* S., *S. undulata* Vahl, ssp. *alexandrina* (Boiss.) Maire et ssp. *deliciosa* (Guss.) Maire [6].

Rappel bibliographique

Aspects botaniques

II. 3. Intérêt commercial, nutritionnel et pharmacologique

Les scorzonères ont été largement étudiées, en raison notamment de leur importance économique. De nombreuses espèces étant utilisées dans l'alimentation. La plupart des salsifis qu'on trouve dans le commerce sont en fait des scorzonères. On citera par exemple *S. hispanica* [3, 7], *S. austriaca* [8], *S. humilis* [7], *S. cretica* [9] ou encore *S. laciniata* [3].

Dans la pharmacopée traditionnelle, les scorzonères sont utilisées dans le traitement de nombreuses affections et pour certaines propriétés thérapeutiques comme le montre le tableau ci-dessous :

Tableau II. 3 : Utilisation en médecine traditionnelle de quelques scorzonères

Espèce	Utilisation
<i>S. austriaca</i>	Peste, anthrax, l'inflammation et la mammite [8]
<i>S. hispanica</i>	Particulièrement contre les maladies pulmonaires et les rhumes [3]
<i>S. divaricata</i>	Ulcères toxiques et malins [3]
<i>S. pseudodivaricata</i>	Diarrhée, les maladies parasitaires [3]
<i>S. radiata</i>	Fièvre causée par les infections bactériennes [10]

III. Espèce *Scorzonera undulata* ssp. *alexandrina*

III. 1. Noms vernaculaires

L'espèce *Scorzonera undulata* ssp. *alexandrina* est connue sous différents noms suivant les pays, voire les régions [11] :

Langue du pays	Nom
Anglais	Viper's grass, black salsify
Français	Scorzonère à feuilles ondulées
Arabe	Guiz

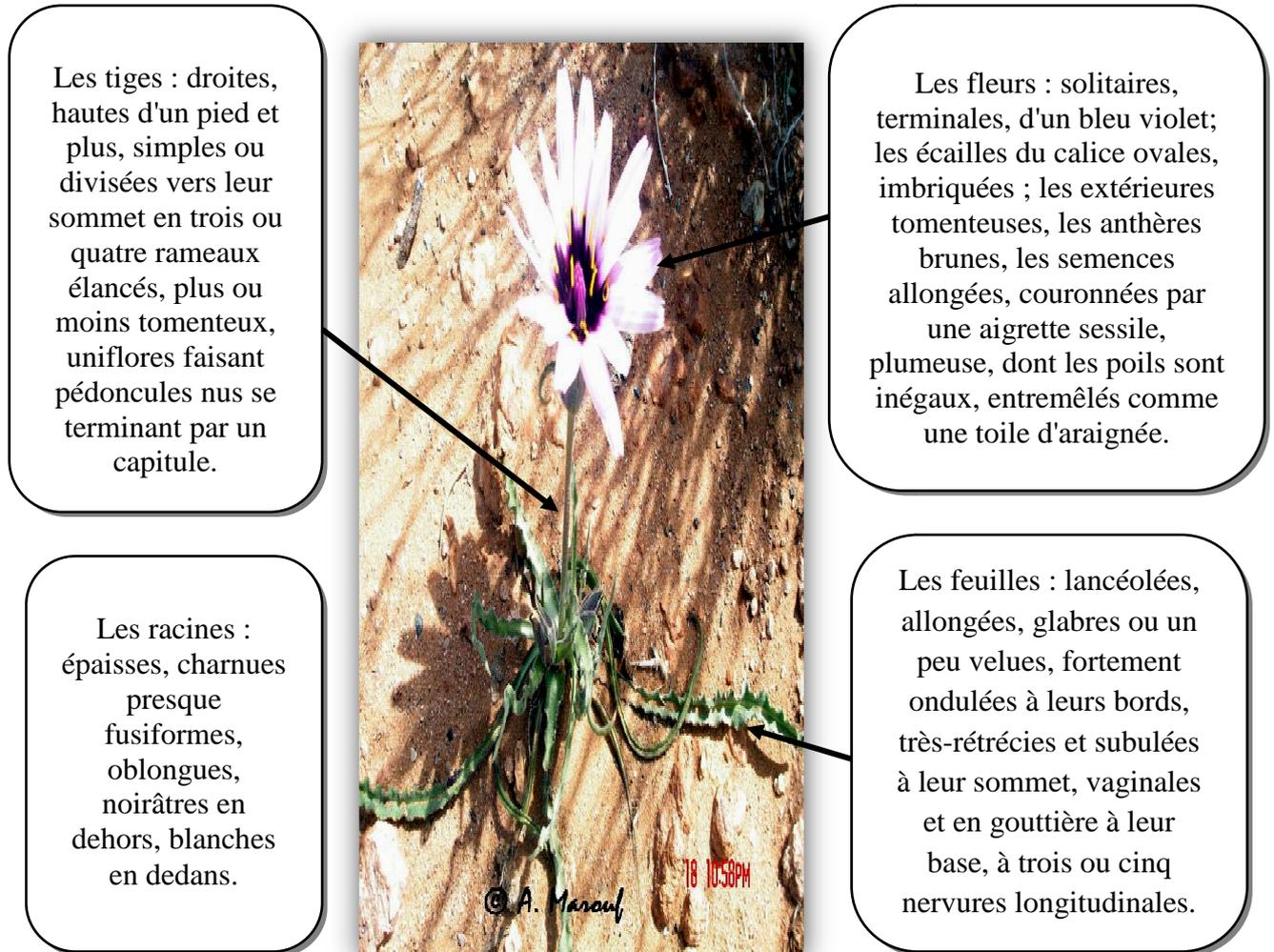
Il est à signaler que l'étude botanique de *Scorzonera undulata* ssp. *alexandrina*, reste difficile, limitée et très controversée car cette espèce a fait l'objet de très peu d'études descriptives [1].

Rappel bibliographique

Aspects botaniques

III. 2. Description botanique

Scorzonera undulata ssp. *alexandrina* est une plante vivace, furfuracée dont les différentes parties sont décrites ci-dessous [4, 5].



II. 3. Distribution géographique

S. undulata ssp. *alexandrina* est un géophyte qui se développe à bords de chemins. L'espèce est signalée en Sicile et en Afrique du Nord, en particulier dans les steppes et la région pré-saharienne, allant de l'Egypte au Maroc [11].

III. 4. Propriétés et usages

Cette espèce est connue par l'usage que l'on fait de ses fleurs, ses feuilles, ses tiges et ses racines comme aliment. Les fleurs sont la partie de la plante la plus utilisée. Son goût chocolaté fait qu'on l'ajoute aux salades servant ainsi d'aromatisant. Elles ont un arôme qui rappelle la vanille ; et apparaissent au printemps [11].

Rappel bibliographique

Aspects botaniques

La racine peut se manger dès le premier hiver qui suit le semis de ses graines. Elle est alors charnue et très délicate, a une saveur douce et sucrée. On peut également consommer les feuilles surtout celles qui sont jeunes, fraîches et tendres offrant un aliment très agréable pendant la période pluvieuse [12].

Cette plante qui n'est pas mentionnée de manière irréfutable dans la pharmacopée traditionnelle, est utilisée dans le traitement des morsures de serpents [6].

CHAPITRE II

*Etudes phytochimiques
antérieures*

Rappel bibliographique

Etudes phytochimiques antérieures

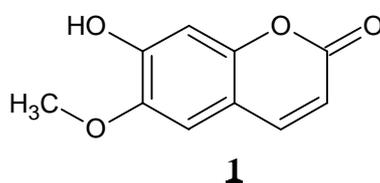
I. Etudes phytochimiques antérieures sur le genre *Scorzonera*

Les plantes du genre *Scorzonera*, à l'instar des plantes des autres genres de la famille Asteraceae, ont fait l'objet d'investigations chimiques ayant abouti à l'isolement de coumarines, isocoumarines, dérivés stilbéniques, flavonoïdes, sesquiterpènes, triterpènes et autres composés phénoliques.

A noter que flavonoïdes et sesquiterpènes en général ou sesquiterpènes sont considérés comme les marqueurs chimiotaxonomique de la famille Asteraceae [13].

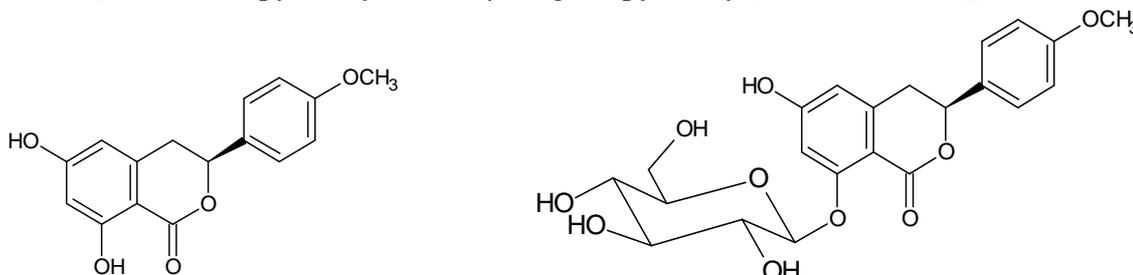
I. 1. Coumarines et isocoumarines

Les travaux effectués sur les espèces *S. divaricata* et *S. pseudodivaricata* ont permis d'isoler un composé coumarinique du nom de scopoletine **1** [13].



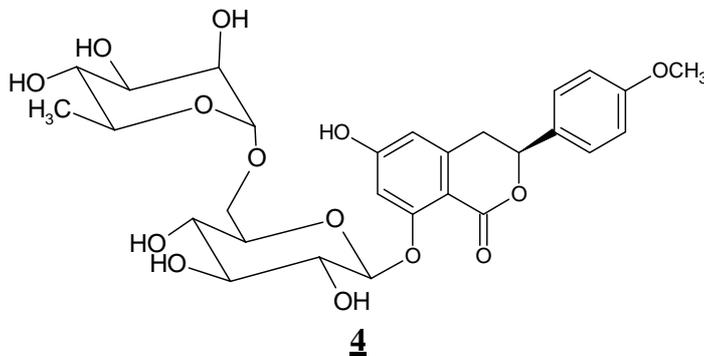
D'autres investigations chimiques menées sur l'extrait méthanolique de l'espèce *S. cretica* [14] ont permis de d'identifier trois nouvelles dihydroisocoumarines nommées :

- 6,8-dihydroxy-3-(4-méthoxyphenyl)isochroman-1-one **2**
- 8-*O*-β-D-glucopyranosylscorzocreticine **3**
- 8-*O*-[α-L-rhamnopyranosyl (1→6)-β-D-glucopyranosyl]scorzocreticine **4**



2

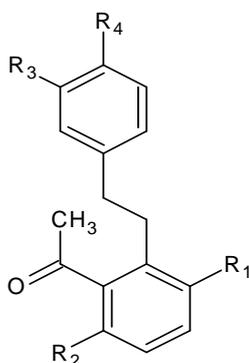
3



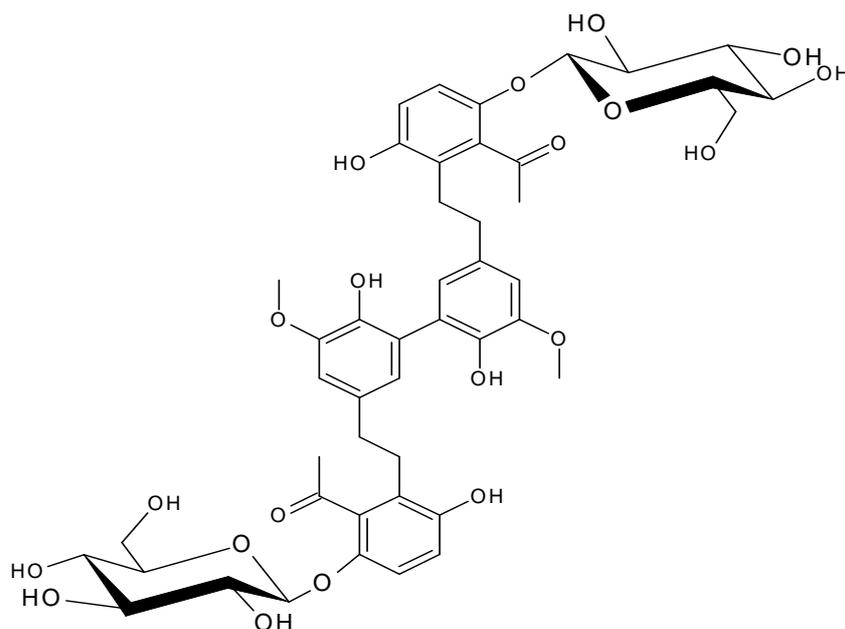
Rappel bibliographique
Études phytochimiques antérieures

I. 2. Dérivés de stilbènes

L'étude phytochimique de l'extrait méthanolique des parties aériennes de la plante médicinale *S. radiata* [15] a montré la présence de cinq nouveaux dihydrostilbènes **5**, **6**, **7**, **8** et **9**. Des analyses biologiques ont montré que ces composés possèdent des activités antioxydantes [15].



	R₁	R₂	R₃	R₄
5 6 7	OH OH OH		OCH ₃ OCH ₃ H	OH OCH ₃ OH
8		OH	OCH ₃	OCH ₃



Rappel bibliographique

Études phytochimiques antérieures

I. 3. Flavonoïdes

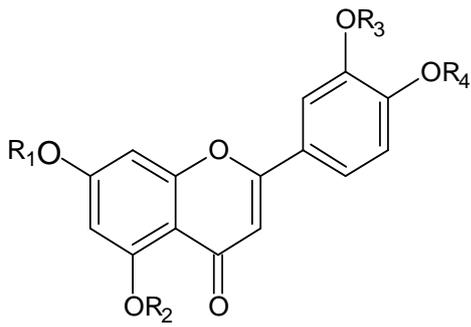
Les composés flavoniques sont des substances naturelles très répandues dans le genre *Scorzonera* et peuvent être à juste titre considérés comme des marqueurs chimiotaxonomiques. Les flavonoïdes décrits à ce jour pour les scorzonères sont quasiment des flavonols ou flavones hydroxylés et/ou *O*-glycosylés. L'apigénine, la lutéoline, le kaempferol et la quercétine sont les flavonoïdes les plus fréquemment cités dans la littérature pour ce genre. La quercétine a été le principal composé de toutes les espèces étudiées. Le tableau ci-dessous répertorie les dérivés flavonoïdiques isolés de quelques espèces du genre *Scorzonera* [16].

Tableau I. 3 : Les dérivés flavonoïdiques isolés de quelques espèces du genre *Scorzonera*

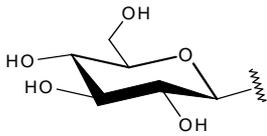
Espèces	Flavonoïdes	Réf
<i>S. austriaca</i>	Lutéoline 3'-(6- <i>E-p</i> -coumaroyl- β -D-glucopyranoside) 11	[17]
<i>S. crispatula</i>	Quercétine 17 Lutéoline 10	[18]
<i>S. divaricata</i>	Apigénine 16 Kaempferol-3- <i>O</i> -rutinoside 15	[13]
<i>S. pseudodivaricata</i>	Lutéoline 10 Lutéoline-7- <i>O</i> -glucoside 12 Lutéoline-5- <i>O</i> -glucoside 13	[13]
<i>S. columnae</i>	Quercétine 17 Apigénine 16 Lutéoline 10 Quercétine 3- <i>O</i> -(6- <i>O</i> -caffeoyle)-galactoside 18	[19]
<i>S. pusilla</i>	Quercétine 17 Lutéoline 10	[18]
<i>S. pseudolanata</i>	Quercétine 17	[18]
<i>S. mollis</i>	Quercétine 17 Lutéoline 10	[18]
<i>S. laciniata</i>	Quercétine 17 Lutéoline 10 Apigénine 16	[18]
<i>S. hispanica</i>	Quercétine 17	[18]
<i>S. hirsuta</i>	Quercétine 17 Lutéoline 10 Kaempferol 14	[18]
<i>S. graminifolia</i>	Quercétine 17 Lutéoline 10	[18]

Rappel bibliographique

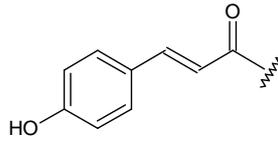
Études phytochimiques antérieures



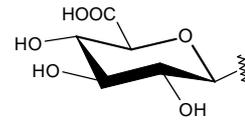
	R_1	R_2	R_3	R_4
10	H	H	H	H
11	H	H	Cou-6-Glc	H
12	Glu	H	H	H
13	H	Glu	H	H



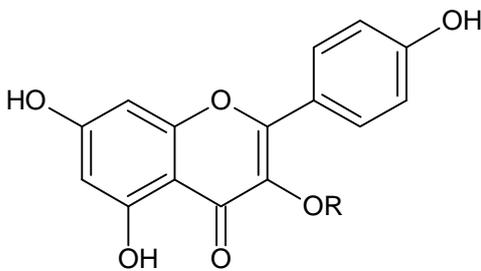
Glc : β -D-glucosyle



Cou : coumaroyle

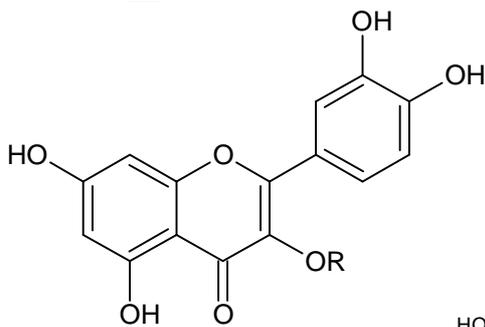
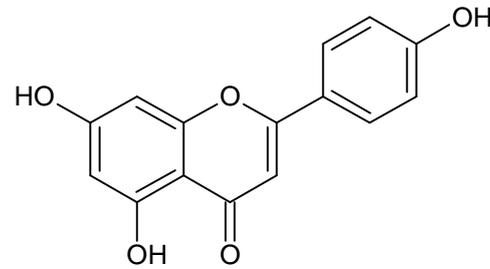


Glu : β -D-glucuronyle



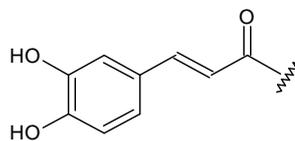
14 : R = H

15 : R = Rut

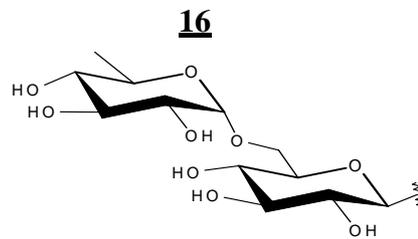


17 : R = H

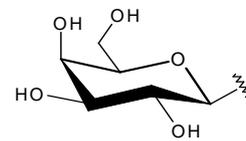
18 : R = Caf-6-Gal



Caf : caffeoyle



Rut : β -D-rutinosyle



Gal : β -D-galactosyle

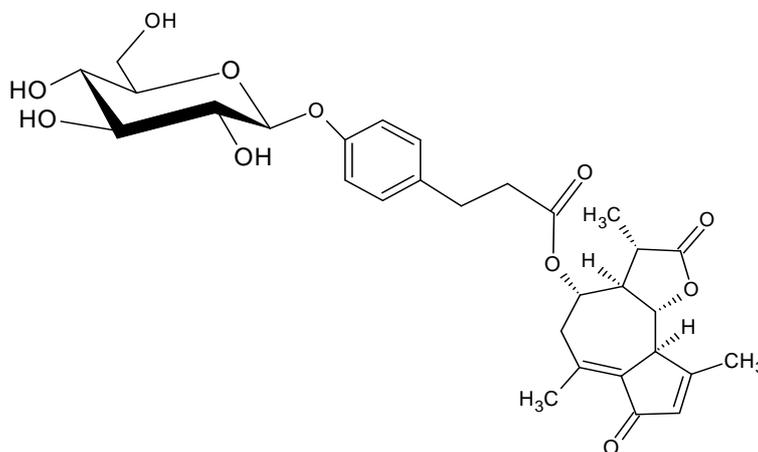
I. 4. Sesquiterpènes

Les différentes études phytochimiques réalisées jusqu'à présent sur le genre *Scorzonera* ont mis en évidence la présence de sesquiterpènes lactones, sesquiterpènes lactones glucosides et dimères de guaianolides.

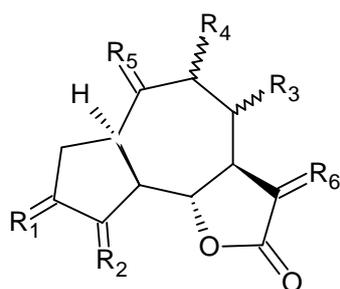
Rappel bibliographique

Études phytochimiques antérieures

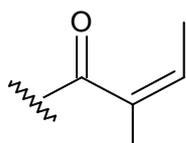
Le sesquiterpène lactone glucoside **19** ainsi que les trois sesquiterpènes lactones **20**, **21** et **22** sont isolés respectivement à partir de *S. pseudodivaricata* [13] et *S. hispanica* [20]. Le composé **21** nommé scorzoside a été isolé pour la première fois à partir de cultures de tissus de *S. hispanica* et il n'a jamais été signalé dans "les plantes normales" de *S. hispanica* [21].



19

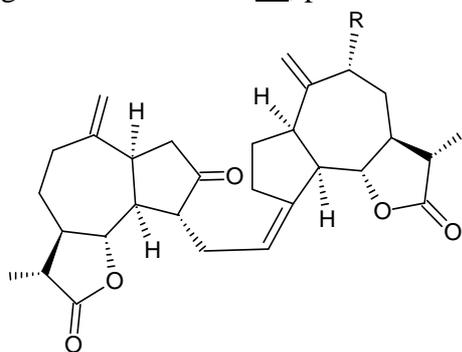


	20	21	22
R₁	H, H	H, H	α H, β O-Ang
R₂	CH ₂	CH ₂	CH ₂
R₃	H	H	α OGlc
R₄	α OGlc	α OGlc	H
R₅	CH ₂	CH ₂	CH ₂
R₆	CH ₂	αCH ₃ , βH	αCH ₃ , βH



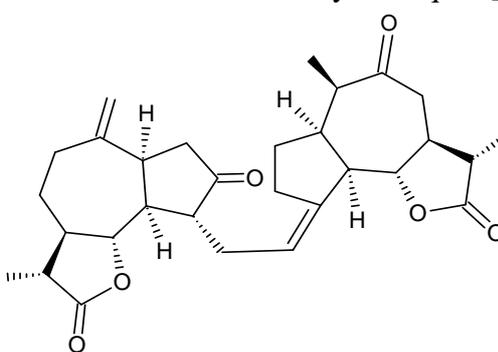
Ang : angeloyle

Deux nouveaux guaianolides dimères **23** et **24** liés par une liaison carbone-carbone rare, ont été isolés des racines de *S. austriaca* [22]. Le composé **25** obtenu par acylation du guaianolide dimère **23**, présente des activités anticancéreuses et cytotoxiques [22].



23 : R = OH

25 : R = OAc

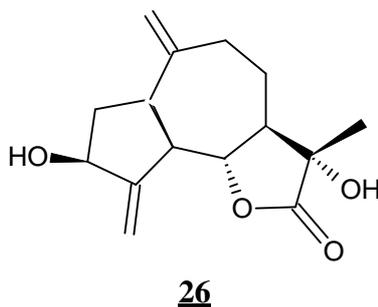


24

Rappel bibliographique

Etudes phytochimiques antérieures

De la même espèce [23], il a été identifié également le sesquiterpène lactone **26**.

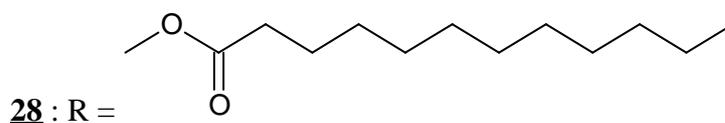
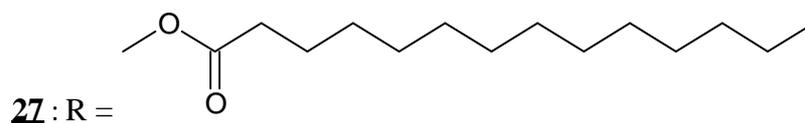
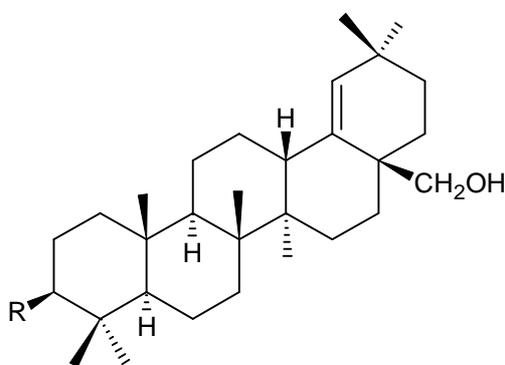


I. 5. Triterpènes

Les composés triterpéniques, notamment à squelettes lupane et taraxerane, ont été également mis en évidence à l'issue des investigations chimiques menées sur les différentes plantes du genre *Scorzonera*. Ainsi une étude effectuée par B. wang et collaborateurs [24] sur les parties aériennes de l'espèce *S. mongolica*, a révélé la présence de deux nouveaux esters d'acide gras triterpéniques :

- Le 3 β -tétradécanoylmoradiolo **27**.
- Le 3 β -dodécanoylmoradiolo **28**.

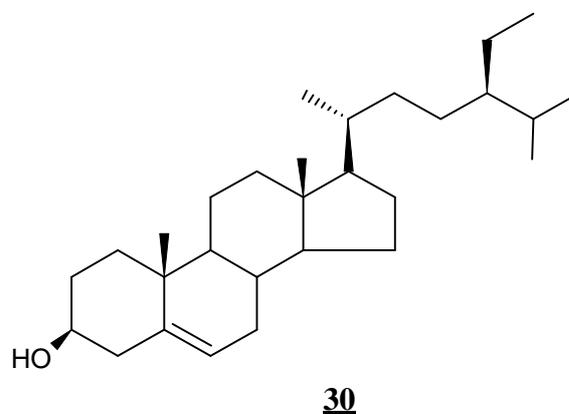
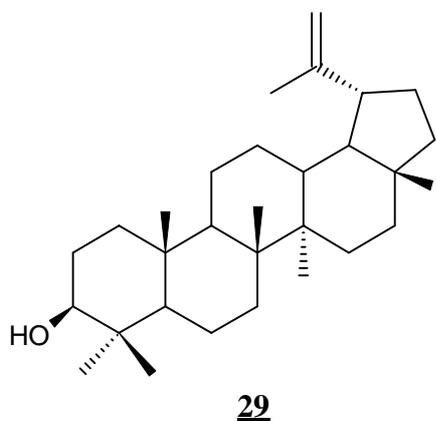
Leurs structures ont été déterminées par les méthodes chimiques et spectroscopiques d'analyse.



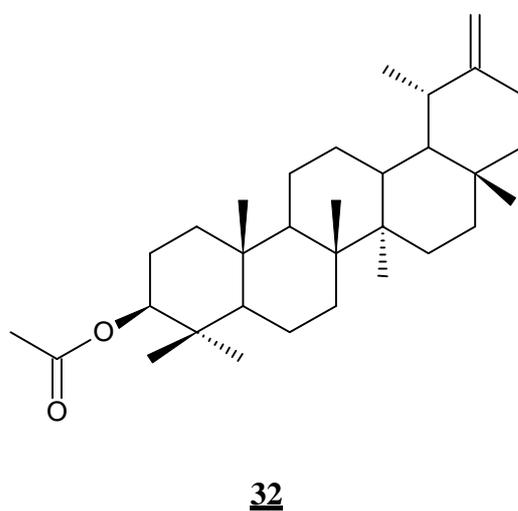
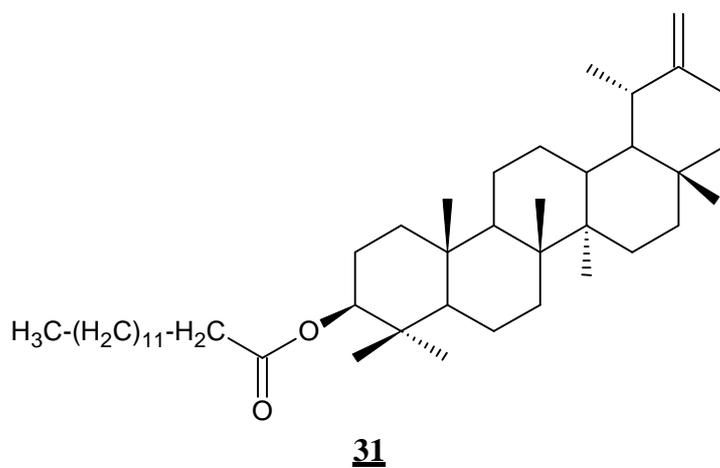
Rappel bibliographique

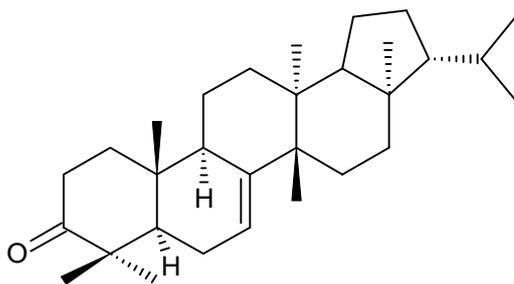
Etudes phytochimiques antérieures

D'autres triterpènes connus ont été caractérisés au niveau de l'espèce *S. columnae* [18]. Il s'agit du lupéol **29** et du β -sitostérol **30**. Le lupéol **29** a été également isolé des racines de *S. aristata* [25].



Une étude chimique effectuée sur l'espèce *S. latifolia* [26], a permis d'isoler trois composés triterpéniques appelés taraxasteryl myristate **31**, taraxasteryl acétate **32** et fern-7-èn-3-one **33**.



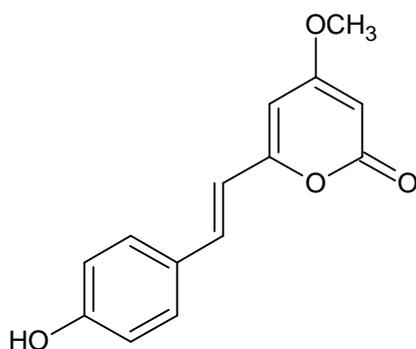


33

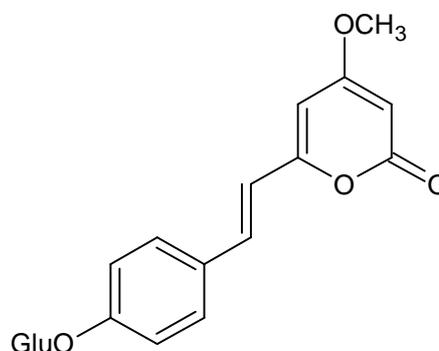
I. 6. Autres composés

Divers travaux ont abouti à l'isolement d'autres classes de composés dans le genre *Scorzonera*. On peut citer les kavalactones et les acides quiniques. Une étude effectuée sur l'espèce *S. austriaca* [17] a permis l'identification de deux kavalactones que sont :

- 12-hydroxy-desméthoxyyangonine **34**.
- 12-β-D-glucopyranoside-desméthoxyyangonine **35**.



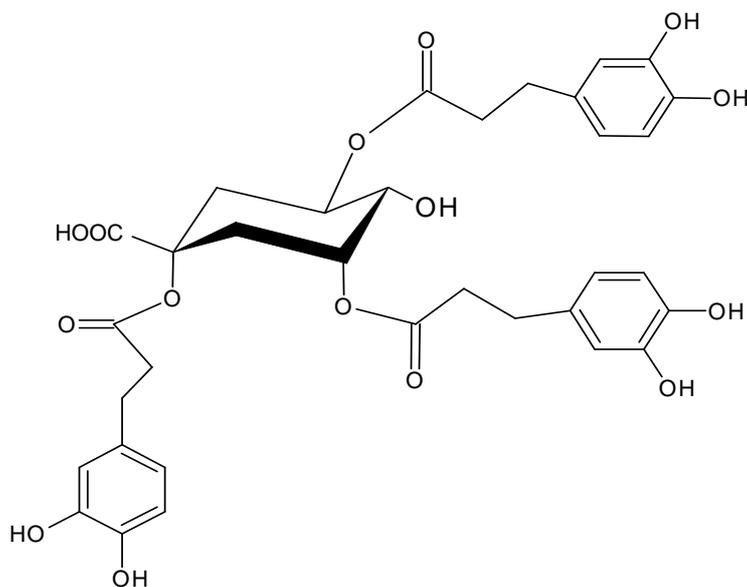
34



35

L'investigation phytochimique de *S. laciniata* [27] a donné un nouvel acide dérivé de l'acide quinique, acide 1,3,5-tridihydrocafféoylquinique **36** plus connu sous l'appellation d'acide podospermique. Il est considéré comme le représentant d'une nouvelle classe de composés polyphénoliques d'origine naturelle dérivant de l'acide dihydrocafféoylquinique.

Rappel bibliographique
Etudes phytochimiques antérieures

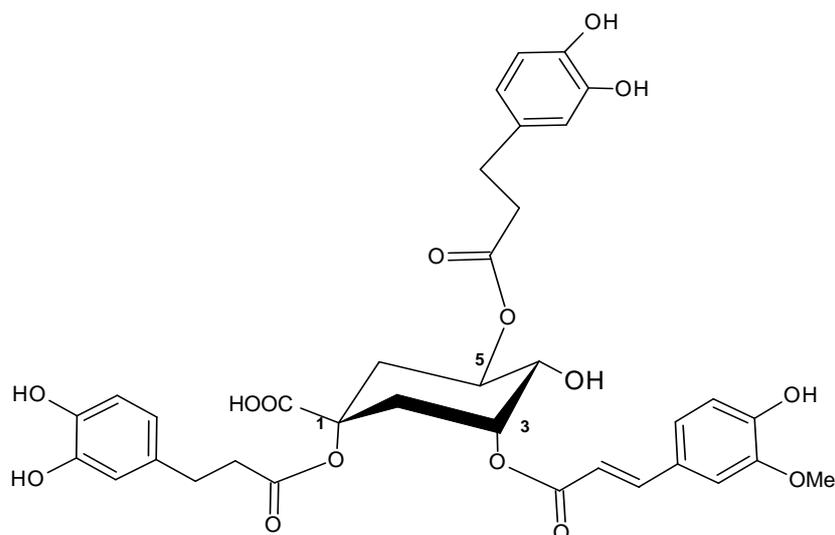


36

Il agit en tant que piègeur des radicaux et est facteur d'intérêt pour la nutrition humaine [27].

La séparation chromatographique de l'extrait acétate d'éthyle obtenu à partir des parties aériennes de la plante *S. divaricata* [13], a donné deux nouveaux dérivés de l'acide quinique **37** et **38**, substitués par un groupement féruloyle et deux substituants dihydrocaffeoyles.

Pour l'acide féruloylepodospermique **37**, les deux substituants dihydrocaffeoyles sont localisés en positions 1 et 5 de l'acide quinique, tandis que le groupe féruloyle est localisé en position 3.

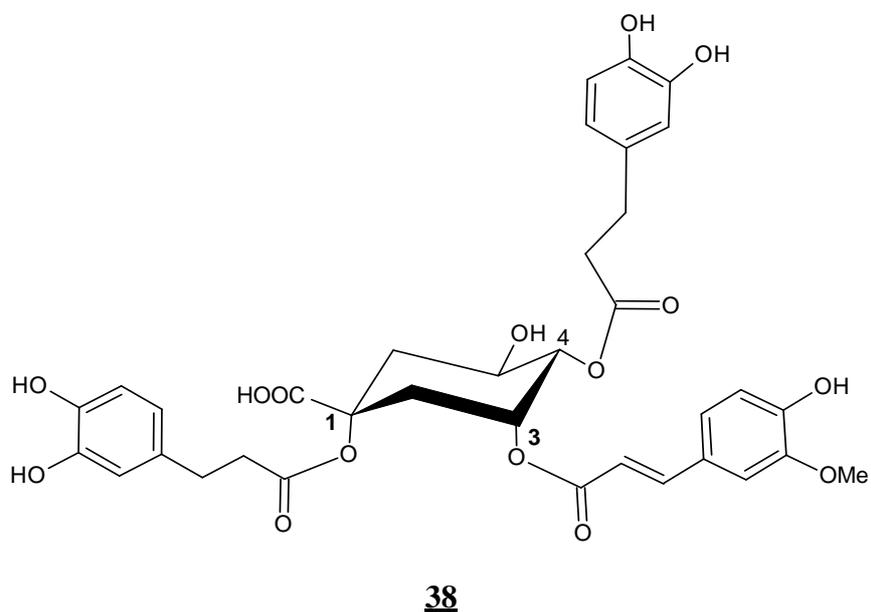


37

Rappel bibliographique

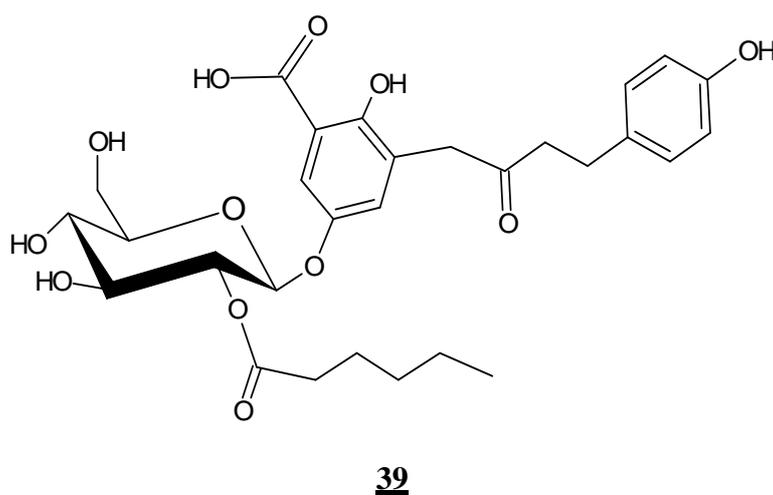
Etudes phytochimiques antérieures

Pour l'acide feruloylpodospermique **38**, les substituants sont liés aux carbones C-1, C-3 et C-4.



Ces deux composés suscités présentent une forte activité antioxydante par essai au DDPH [13].

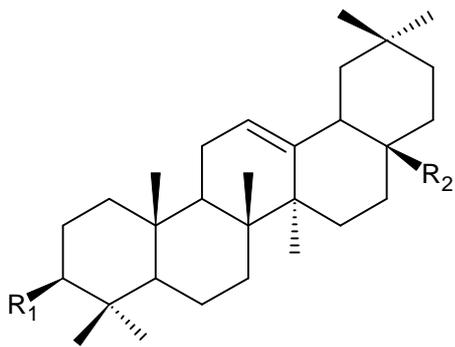
Par ailleurs, des travaux réalisés sur les parties aériennes de *S. pseudodivaricata* [13], plante médicinale Mongole, ont permis d'isoler un nouvel acide nommé Scorzoneric **39**.



Rappel bibliographique
Etudes phytochimiques antérieures

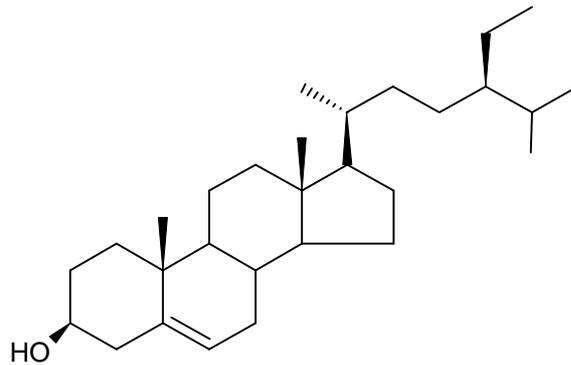
II. Etude phytochimique antérieure sur l'espèce *Scorzonera undulata* ssp. *deliciosa* (Guss.) Maire

L'espèce *Scorzonera undulata* est représentée localement par deux sous espèces nommées *deliciosa* et *alexandrina*. Cette dernière, objet de ce travail, n'a fait l'objet d'aucune investigation chimique antérieure. Une étude chimique réalisée sur la sous espèce *deliciosa* a permis d'isoler et d'identifier huit composés naturels, à squelette triterpénique principalement [28] et qui sont représentés ci-dessous.

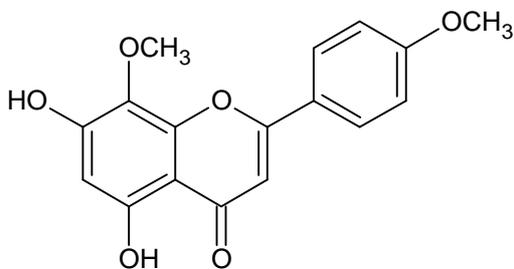


β -amyrine acétate
 $R_1 = \text{OAc}$, $R_2 = \text{Me}$

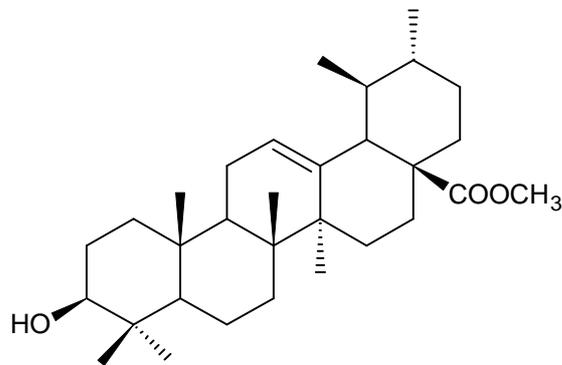
méthyloléanate
 $R_1 = \text{OH}$, $R_2 = \text{COOMe}$



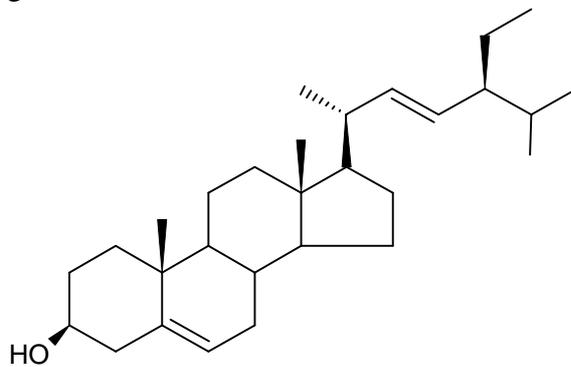
β -sitostérol



galangustine

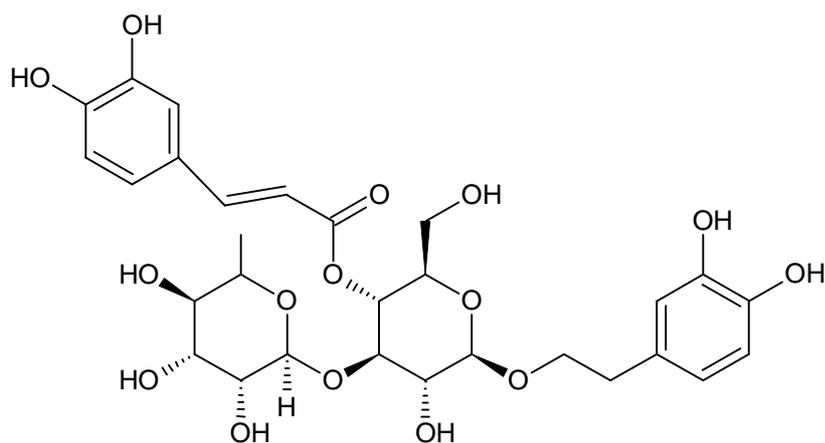


méthylursolate

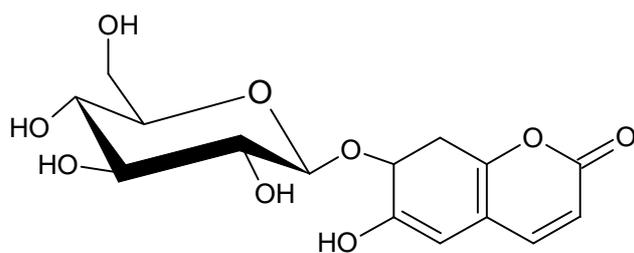


stigmastérol

Rappel bibliographique
Etudes phytochimiques antérieures



acéteoside



6-hydroxy-7-O- β -D-glycopyranosylcoumarine

Sur les huit composés caractérisés, les galangustine et acéteoside ont été isolés pour la première fois du genre *Scorzonera* [28].

CHAPITRE III

Généralités sur les triterpènes

Rappel bibliographique

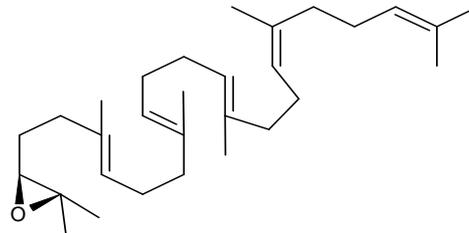
Généralités sur les triterpènes

III. 1. Définition

Les triterpènes sont une classe de métabolites secondaires composés de 30 atomes de carbone. Au niveau biosynthétique, les 4000 différents squelettes connus jusqu'à ce jour et isolés de sources naturelles, proviennent de la cyclisation du 3S-2,3-époxydo-2,3-dihydrosqualène et parfois directement du squalène [29].



Squalène



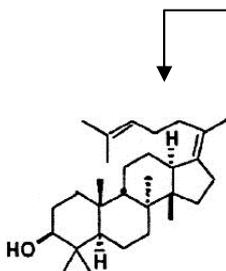
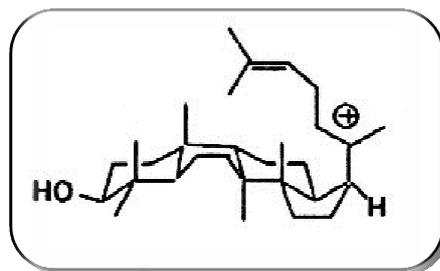
3S-2,3-époxydo-2,3-dihydrosqualène

Les nombreuses activités biologiques des triterpènes en font un groupe de produits naturels de première importance. Ils sont fréquemment rencontrés dans la nature sous une forme glycosylée dite saponine et responsables d'une multitude d'activités thérapeutiques et biologiques (cytostatique, antivirale, insecticide, anti-inflammatoire, molluscicide, analgésique) [30].

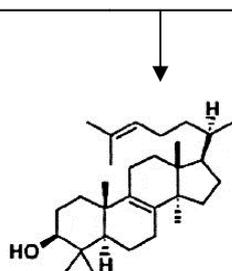
III. 2. Mode de cyclisation

La diversité des structures triterpéniques peut être expliquée par les différents modes de cyclisation [31]:

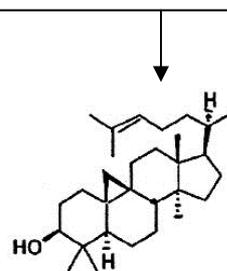
➤ Chaise-bateau-chaise-bateau-chaîne latérale



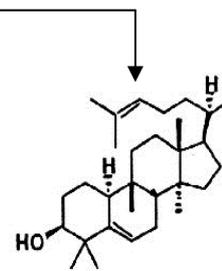
protosta-17(20),
24-dien-3-ol



lanostérol



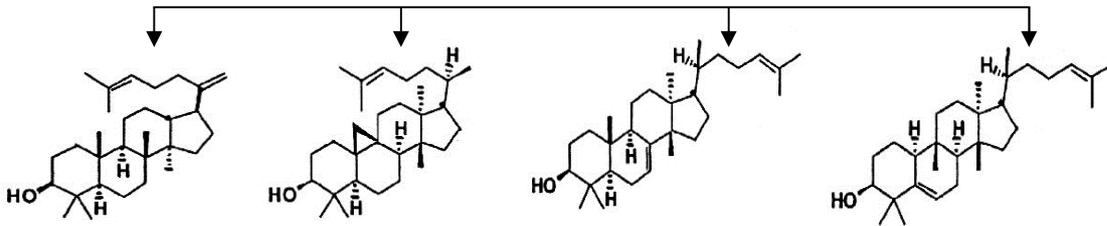
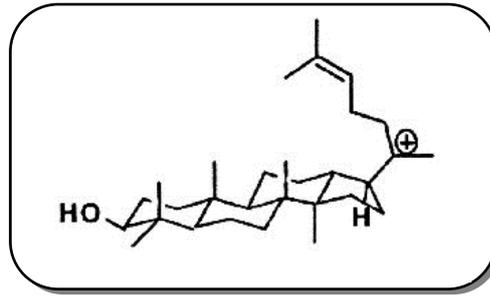
cycloartenol



cucurba-5,24-diéanol

Rappel bibliographique
Généralités sur les triterpènes

➤ **Chaise- chaise-chaise-bateau-chaîne latérale**



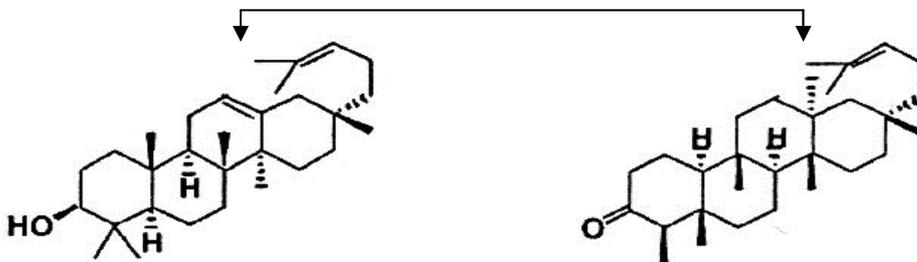
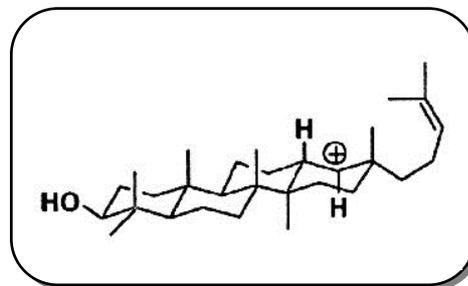
dammara-17(20)
24-diène-3-ol

cycloroylenol

tirucalla-7,24-diène-3-ol

euferol

➤ **Chaise- chaise-chaise-chaise-chaîne latérale**

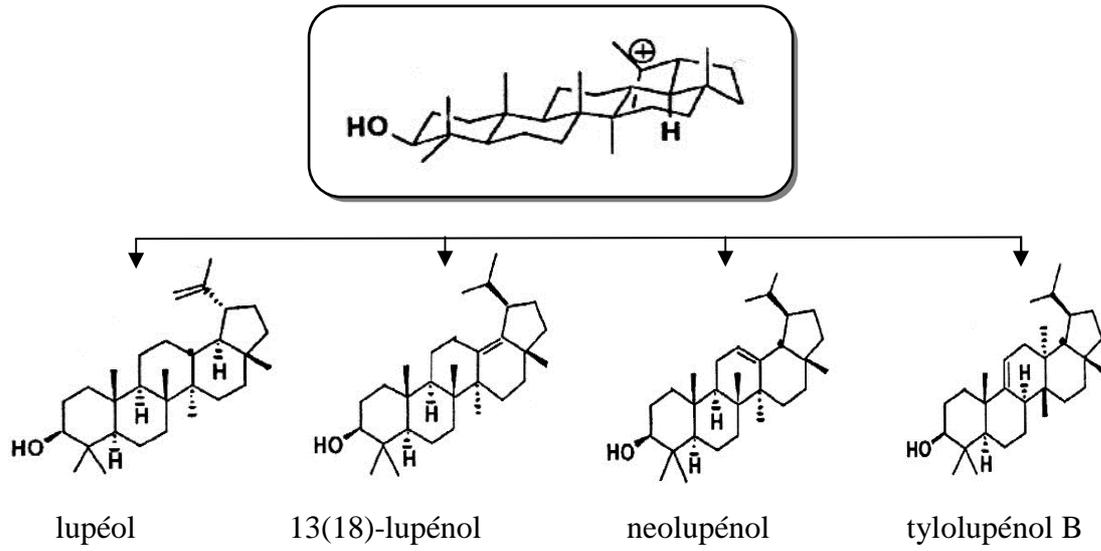


bacchara-12,21-diène-3-ol

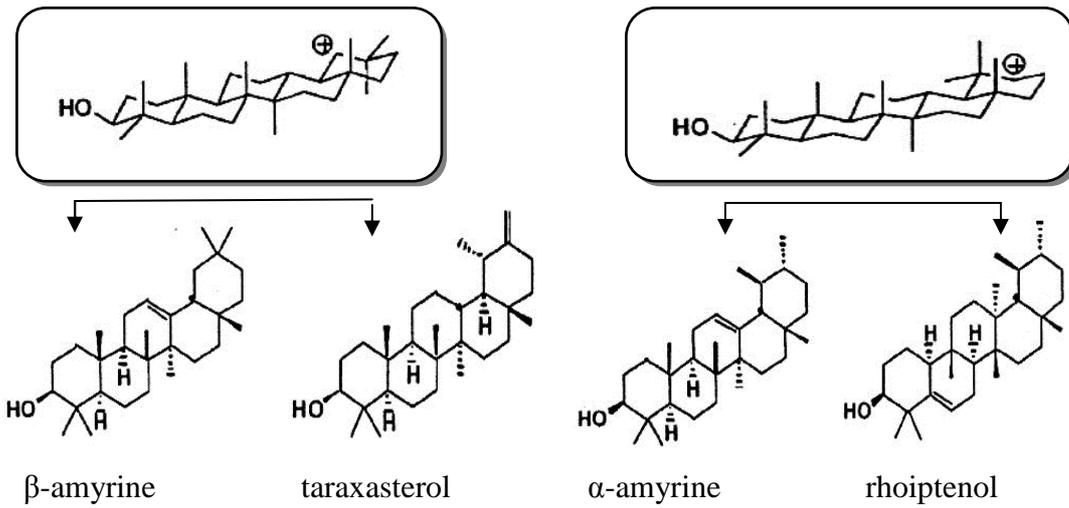
shionone

Rappel bibliographique
Généralités sur les triterpènes

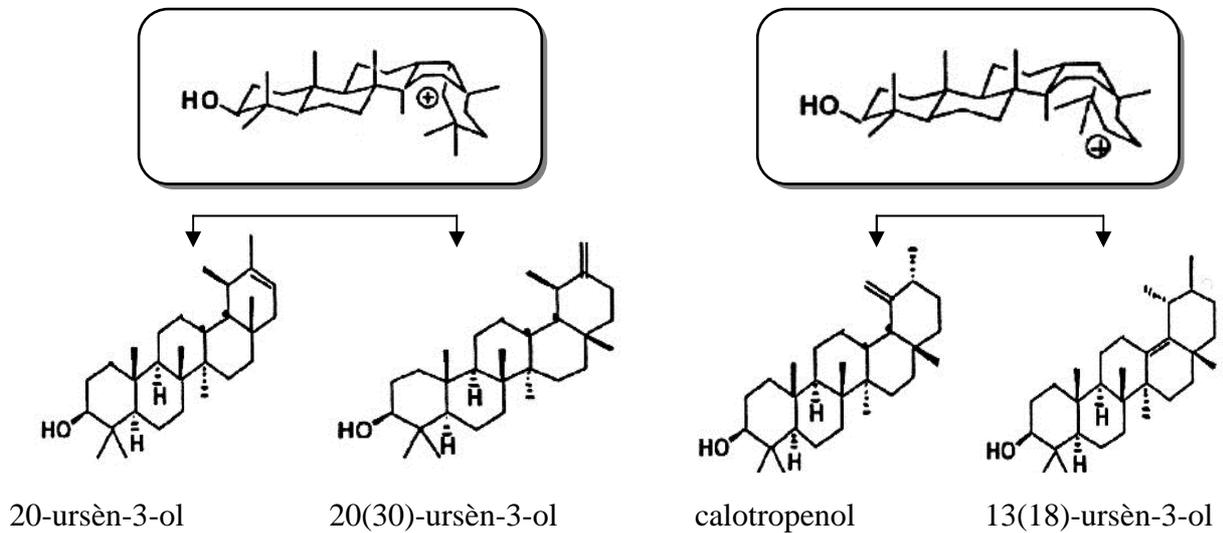
➤ **Chaise- chaise-chaise-chaise-bateau-chaîne isopropylique**



➤ **Chaise- chaise-chaise-chaise-chaise**



➤ **Chaise-chaise-chaise-bateau-chaise**



Rappel bibliographique

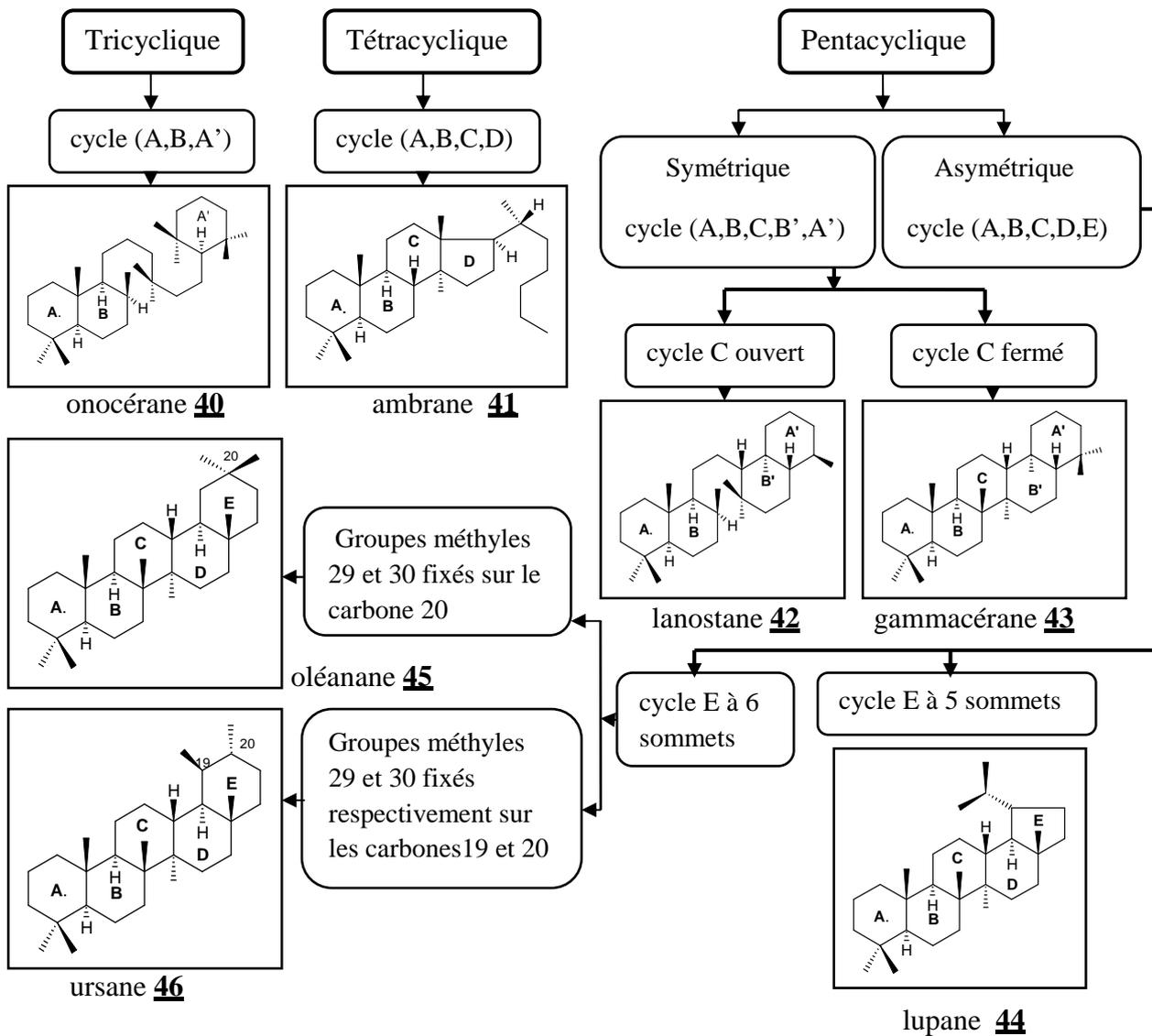
Généralités sur les triterpènes

III. 3. Classification

Les divers squelettes triterpéniques peuvent être classés en :

- composés aliphatiques comme le squalène, surtout rencontré dans le règne animal et qui se trouve également dans l'insaponifiable d'huiles végétales (Olive, lin, arachide).
- composés tricycliques comme l'onocérane.
- composés tétracycliques tels les stéroïdes et les phytostéroïls.
- composés pentacycliques très fréquents chez les plantes comme les α et β amyrines.

Cette classification est basée sur la structure du squelette carboné de l'hydrocarbure saturé dont dérivent les triterpènes [32]. On distingue les squelettes de base suivants :



Rappel bibliographique

Généralités sur les triterpènes

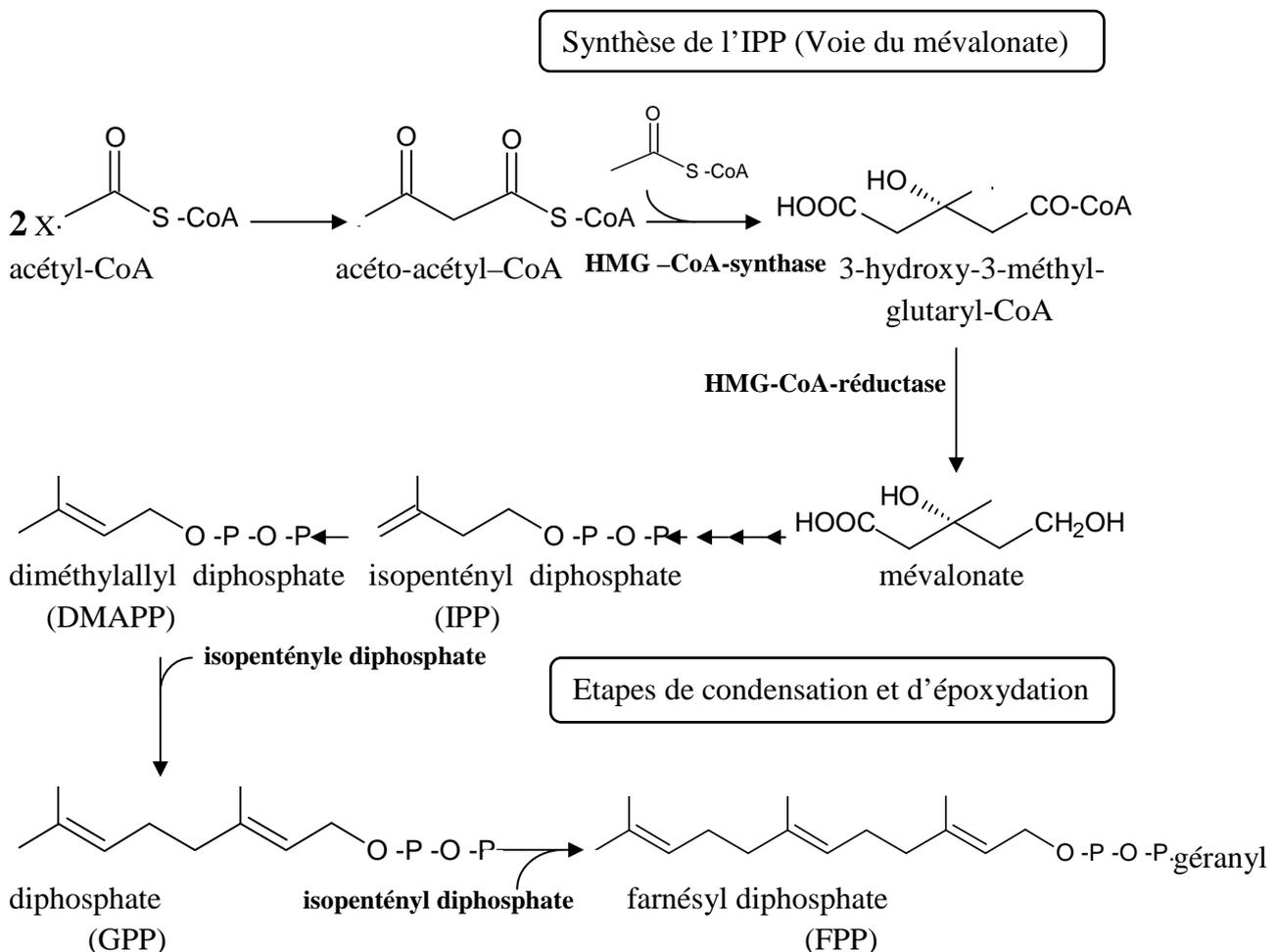
III. 4. Nomenclature

Les noms des triterpénoïdes dérivent du nom de l'hydrocarbure qui constitue leur squelette [32] comme :

Onocéra	pour le squelette onocérane 40
Ambra	pour le squelette ambrane 41
Lanosta	pour le squelette lanostane 42
Gammacéra	pour le squelette gammacérane 43
Lupa	pour le squelette lupane 44
Oléana	pour le squelette Oléanane 45
Ursa	pour le squelette Ursane 46

III. 5. Biosynthèse des triterpènes

La biosynthèse des triterpènes s'articule autour de trois grandes séquences. Elle commence d'abord par la synthèse de l'IPP (isopentényl diphosphate) qui est la molécule de base de la synthèse des terpènes, suivie de la condensation successive de six molécules d'IPP pour former l'époxyde de squalène qui est le précurseur de tous les triterpènes [33]. Enfin la transformation différenciée de cet époxyde aboutit aux divers squelettes majeurs décrits précédemment [30, 31, 34, 35].



Rappel bibliographique
Généralités sur les triterpènes

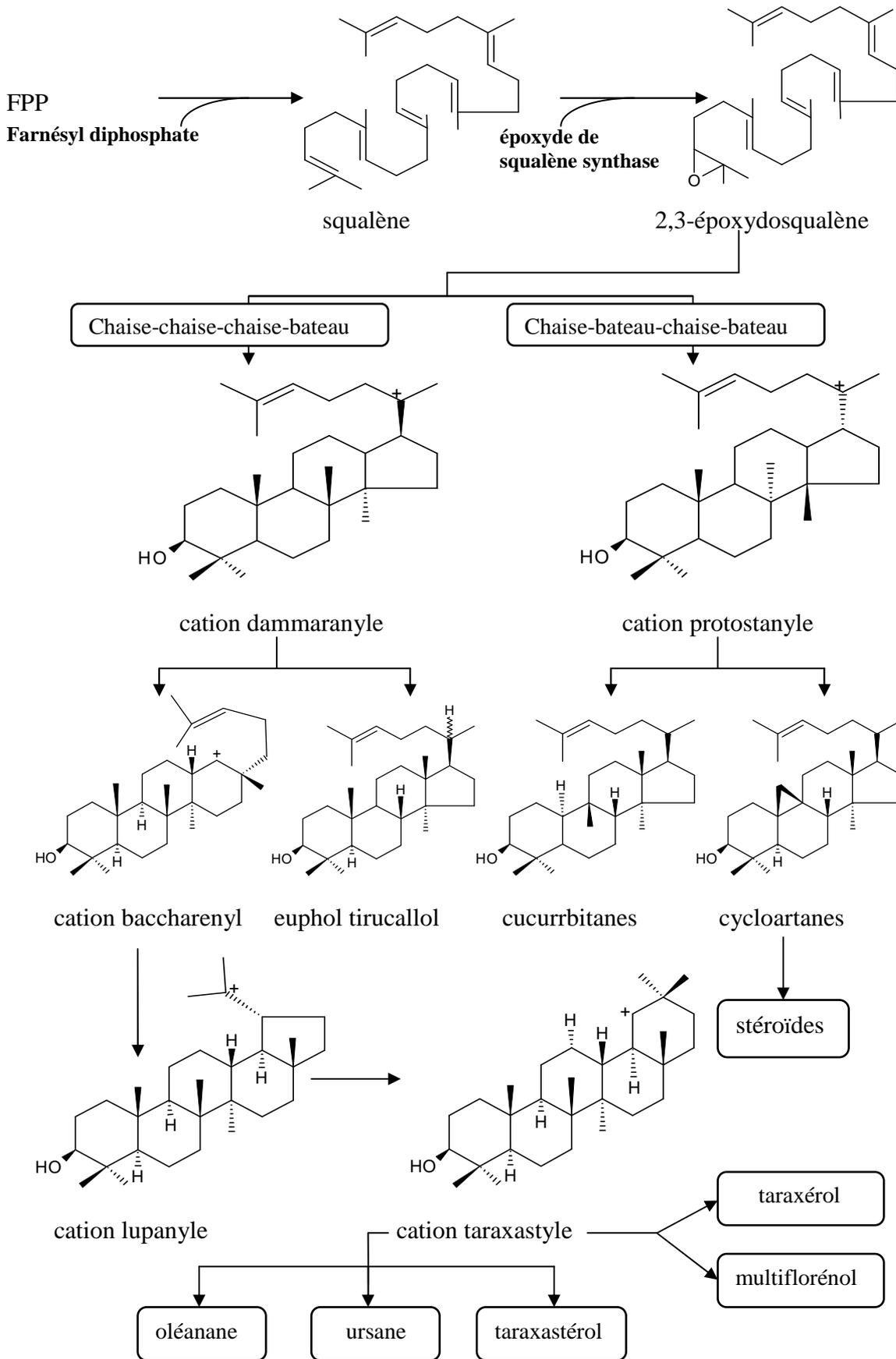


Figure III. 5 : Schéma de biosynthèse de certaines familles de triterpènes.

III. 6. Stérols

III. 6. 1. Structure chimique

Les stérols sont des lipides neutres possédant une structure rigide. Ce sont également des molécules amphiphiles. Ils sont composés de 4 cycles hydrocarbonés nommés A, B, C et D qui forment une structure plane et rigide de nature apolaire. Située sur le carbone C-3, une fonction alcool en position β confère un caractère polaire à la molécule. L'ensemble de la molécule est amphiphile : une tête hydrophile au niveau de la fonction alcool, un squelette hydrophobe formé par les cycles. Sur ce squelette sont fixés deux types de résidus : un groupement méthyle sur les carbones C-10 et C-13 et une chaîne alkyle de 8 à 10 carbones, plus ou moins ramifiée sur le carbone C-17. Les intermédiaires biosynthétiques comportent également des groupements méthyles sur les carbones C-4 et/ou C-14 (Figure III. 6. 1) [36].

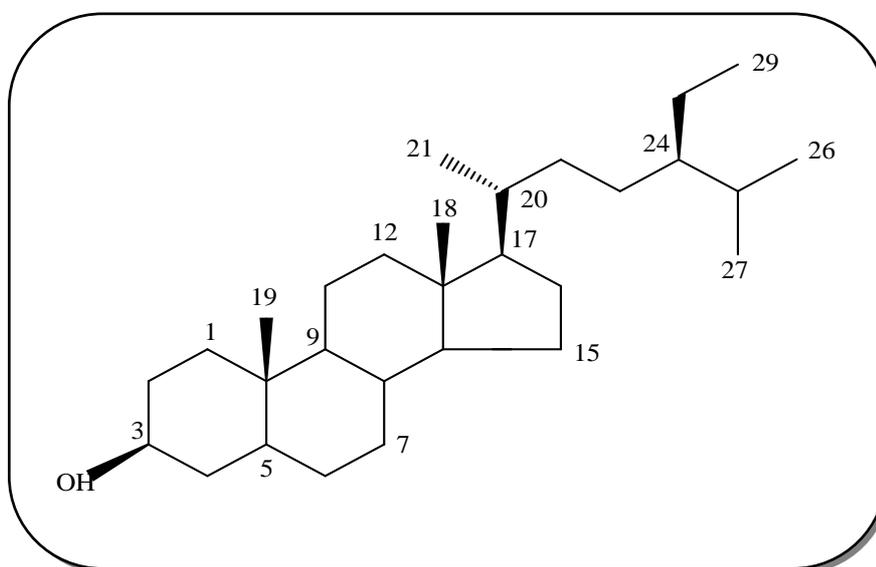


Figure III. 6. 1 : Numérotation du squelette carboné des stérols d'après la nomenclature I.U.P.A.C.

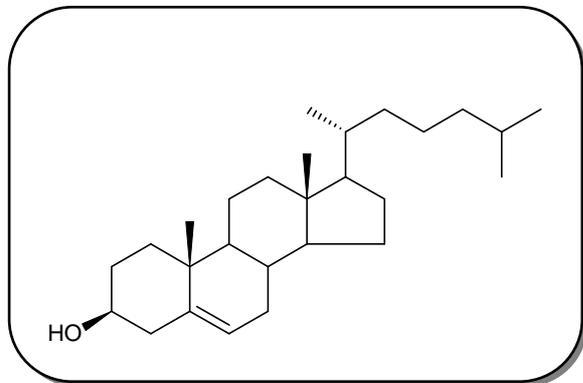
III. 6. 2. Diversité des stérols

Les stérols, différents selon les organismes, peuvent être regroupés en trois familles : stérols fongiques, stérols animaux et stérols végétaux. La Figure III. 6. 2 illustre ces trois familles par leurs principaux représentants. Le stérol majeur des fongiques est l'ergostérol dont la particularité est la présence de deux liaisons alcéniques conjuguées. Les membranes animales contiennent un stérol prépondérant : le cholestérol. Ce stérol peut être soit prélevé directement, soit métabolisé à partir de phytostérols comme chez les insectes [37]. Les mammifères, quant à eux, synthétisent le cholestérol. Chez l'homme une partie provient de l'alimentation. Les végétaux contiennent un mélange complexe de stérols composés essentiellement de sitostérol, campestérol et stigmastérol [33]. Ces trois stérols diffèrent des stérols décrits précédemment par la présence d'une insaturation en position 22 (cas du stigmastérol) et la longueur de la chaîne alkyle greffée sur le carbone C-24 (un seul carbone

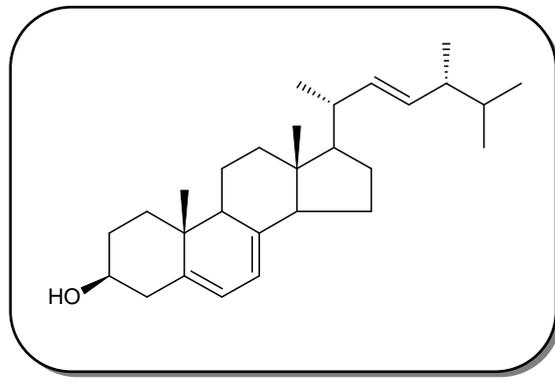
Rappel bibliographique

Généralités sur les triterpènes

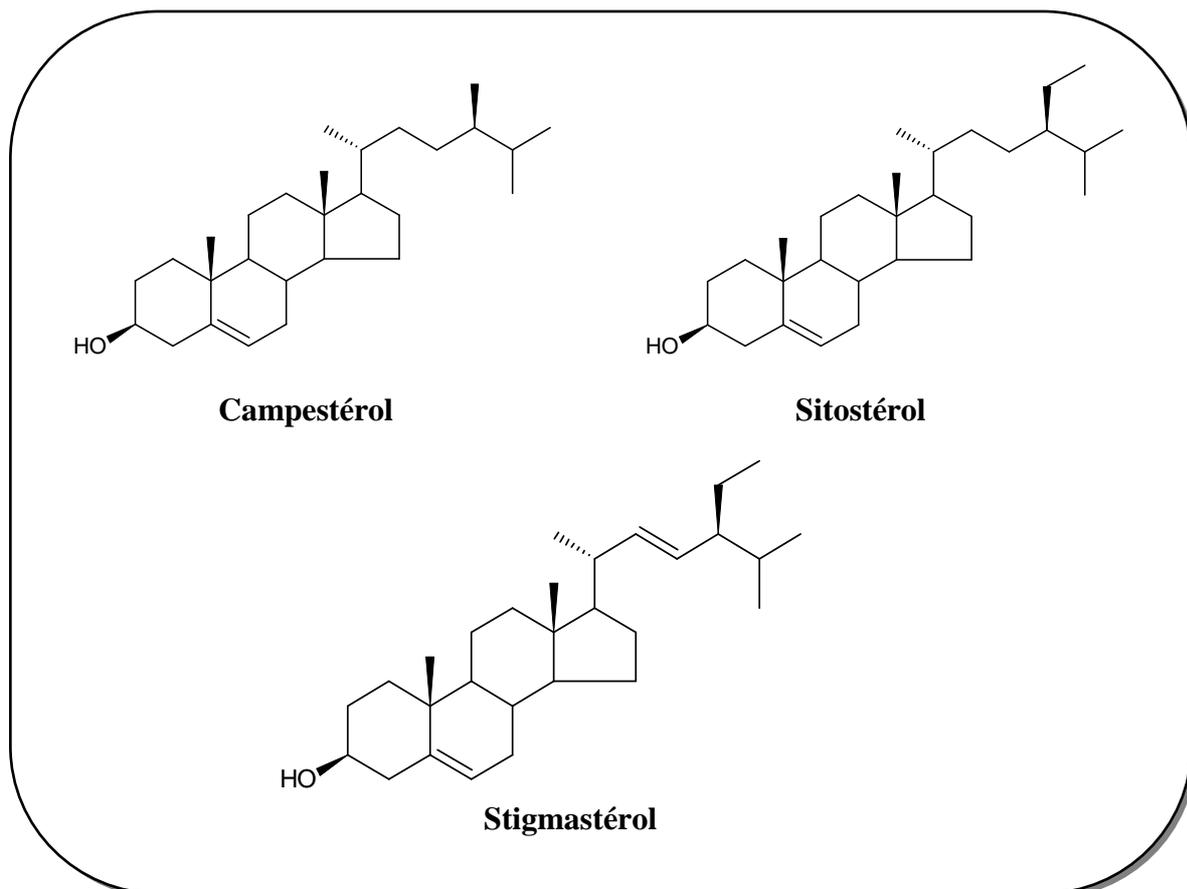
dans le cas du campestérol, deux pour le sitostérol et le stigmastérol). Cependant, de nombreux autres stérols végétaux sont connus notamment comme intermédiaires biosynthétiques. La composition stérolique varie toutefois selon les familles de plantes [38].



Cholestérol
(Vertébrés)



Ergostérol
(Champignons)



(Plantes supérieures)

Figure III. 6. 2 : Structure des principaux stérols

III. 6. 3. Rôle structural

Le rôle premier des stérols est de renforcer les membranes cellulaires. Grâce à leur propriété amphiphile, les stérols s'intègrent dans la bicouche lipidique (Figure III. 6. 3). La fonction hydroxyle polaire est dirigée soit vers la face interne, soit vers la face externe de la bicouche. La fonction hydroxyle se trouve ainsi en contact soit avec le milieu intracellulaire, soit avec le milieu extracellulaire. Le squelette hydrocarboné apolaire s'intercale entre les acides gras des phospholipides en interagissant par des liaisons de type Van der Waals. L'addition de stérols à une bicouche de phospholipides provoque la condensation de la membrane et donc son renforcement [39].

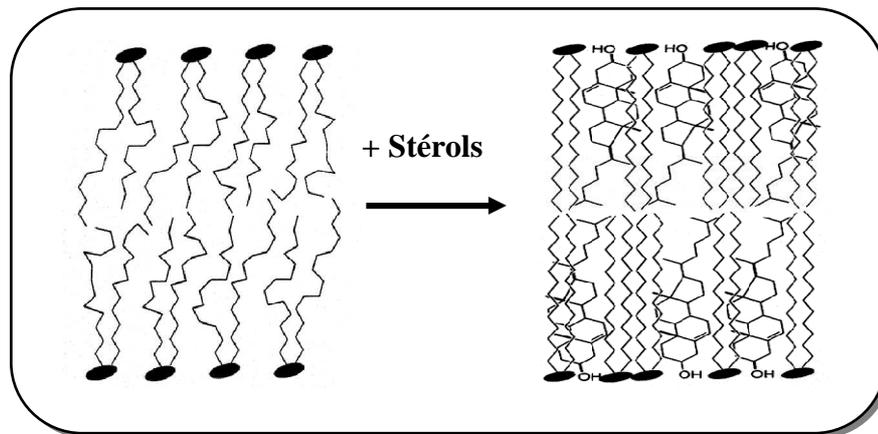


Figure III. 6. 3 : Rôle des stérols dans la structuration des membranes plasmiques

Les stérols renforcent différemment les membranes, en fonction du type de chaîne latérale. Ainsi, au niveau des stérols de plantes, le sitostérol est le stérol le plus efficace pour réduire la perméabilité des membranes et ordonner les chaînes d'acides gras des phospholipides [40]. Par opposition, le stigmasterol qui possède juste une insaturation supplémentaire par rapport au sitostérol est très peu efficace pour remplir ces deux fonctions. De même, le sitostérol et le campestérol sont les stérols les plus efficaces pour ordonner la membrane cellulaire. Ils sont même plus efficaces que le cholestérol. Chez les plantes, il est probable que le sitostérol joue un rôle membranaire analogue au cholestérol chez les animaux [41].

III. 7. Saponines

Saponosides ou saponines sont un groupe de métabolites secondaires fréquemment rencontrés chez les végétaux. Ils tirent leur nom du latin *sapo* signifiant savon en raison de leur propriété à former des solutions moussantes en présence d'eau [30]. Les unités saccharides qui constituent les saponines sont communes glucose, galactose, arabinose, rhamnose, xylose, fucose et acide glucuronique. La partie sucre de la molécule peut compter jusqu'à 11 oses liés à la génine par une liaison de type acétal [30].

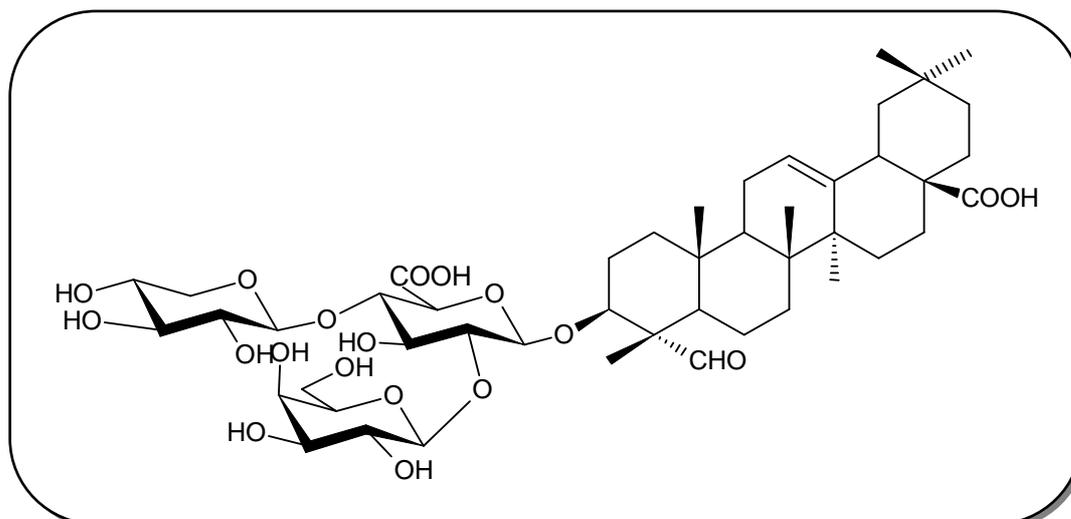


Figure III. 7 : Saponine triterpénoïde de type oléanane [42].

III. 7. 1. Saponines triterpéniques

La grande majorité des saponines végétales appartiennent à ce groupe. Elles sont principalement présentes chez les dicotylédones. Leur aglycone possède dans la plupart du temps une structure de base pentacyclique, plus rarement tétracyclique. Les sapogénines triterpéniques les plus abondantes sont la β -amyrine, l'acide ursolique et l'acide oléanolique [29].

III. 7. 2. Propriétés biologiques des saponines triterpéniques

Les saponines triterpéniques sont considérées par certains chercheurs comme étant responsables de la plupart des activités biologiques des plantes utilisées en médecine traditionnelle orientale [43]. En effet, la littérature scientifique rapporte des propriétés médicinales très variées anticarcinogénique, anti-inflammatoire, antitumorale, antivirale, antifongique, antithrombique, cardiovasculaire, cytotoxique, immunomodulatrice, spermicide et molluscicide [44, 45].

CHAPITRE IV

Généralités sur les flavonoïdes

IV. 1. Définition

Occupant une place dominante dans la grande classe des composés phénoliques, les flavonoïdes sont des métabolites secondaires ubiquistes des plantes qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Les flavonoïdes sont des substances naturellement présentes dans tous les organes du système végétal, des racines jusqu'aux fruits [46]. Ces molécules ont fait l'objet de plusieurs travaux. Ils portent essentiellement sur la mise au point des différentes techniques d'extraction, leur identification, leur fonctionnalisation et leurs propriétés. L'intérêt pour ces composés est justifié par les nombreux effets biologiques qu'on leur attribue, anti-tumoral, anti-radicalaire, anti-inflammatoire, analgésique, antiallergique, antispasmodique, antibactérienne, hépatoprotecteur, estrogénique et/ou anti-estrogénique [29, 47].

IV. 2. Structure chimique

Flavonoïde est le terme générique attribué à des composés possédant un squelette à 15 carbones et qui à son niveau le plus simple, consiste en deux cycles phényles, les cycles A et B connectés par un pont à trois carbones (structure en C6-C3-C6). Le pont en C3 entre les cycles A et B est communément cyclisé pour former le cycle C (Figure IV.2) [30].

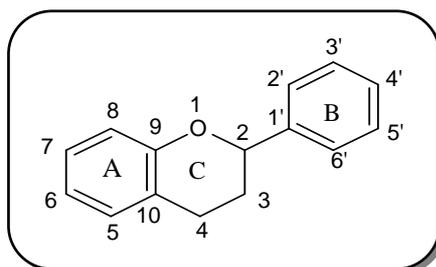


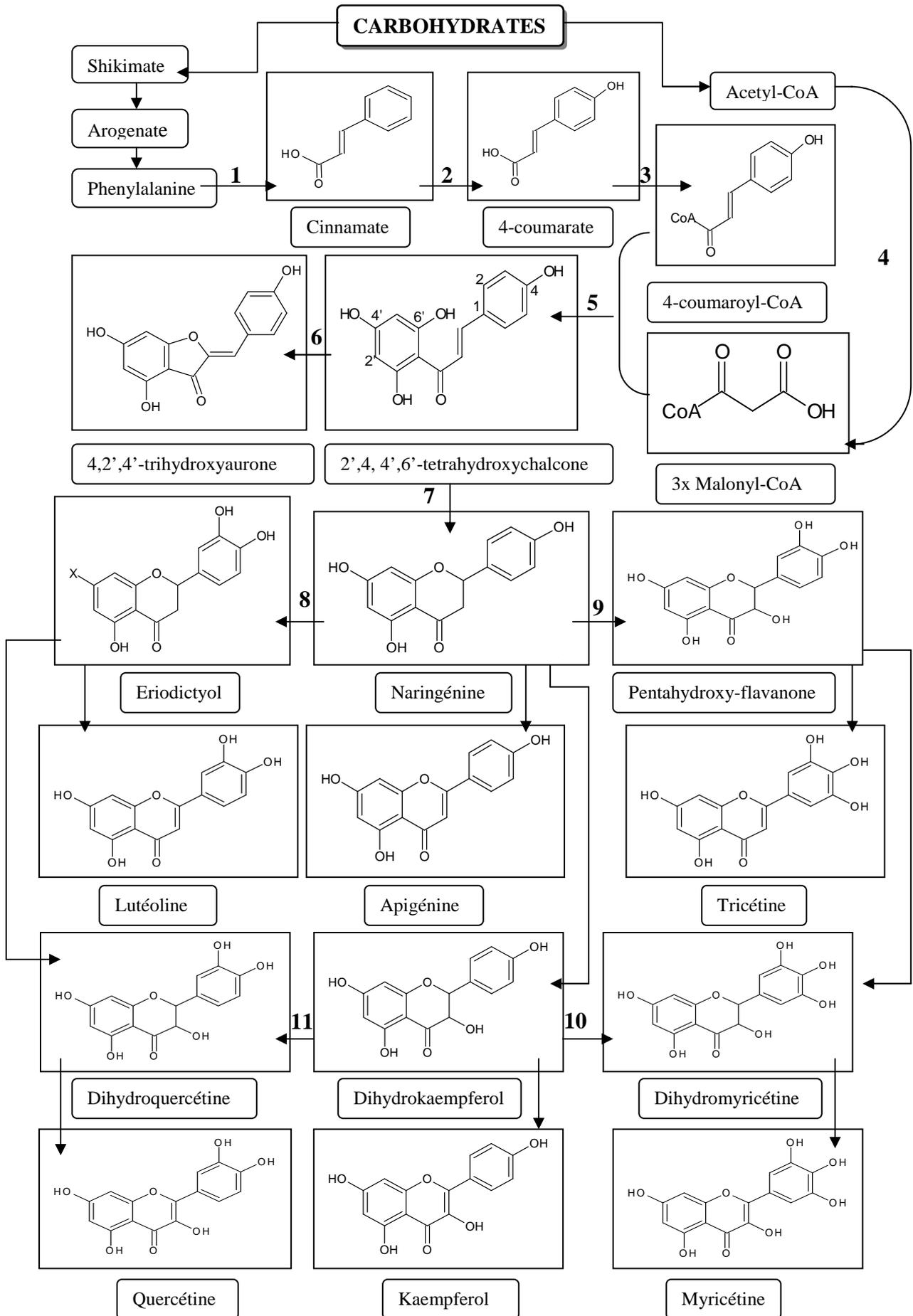
Figure IV.2 : Structure de base des flavonoïdes.

IV. 3. Biosynthèse des flavonoïdes

Tous les flavonoïdes sont formés via un intermédiaire commun : la 4,2',4',6'-tétrahydroxychalcone. Ce précurseur dérive de la condensation de trois molécules de malonylcoenzyme A, qui correspond au cycle A et d'une molécule de 4-coumaroylcoenzyme A permettant la formation des cycles B et C. Ce mécanisme est catalysé par la chalcone synthase. La cyclisation de cette chalcone par la chalcone isomérase forme la 5,7,4'-trihydroxyflavanone (naringénine) conduisant au squelette de base des flavonoïdes (Figure IV.3). Plusieurs enzymes (synthase, réductase, hydroxylase) contribuent à l'apparition des flavonoïdes. Dans chaque classe, les molécules sont ensuite diversifiées par hydroxylation (flavonoïde-3'-hydrolase, flavonoïde-3',5'-hydroxylase), méthylation (O-méthyltransférase), glycosylation, (flavonoïde glycosyl transférase), acylation (acyl-CoA transférase) ou polymérisation [48, 49, 50].

Rappel bibliographique

Généralités sur les flavonoïdes



Rappel bibliographique

Généralités sur les flavonoïdes

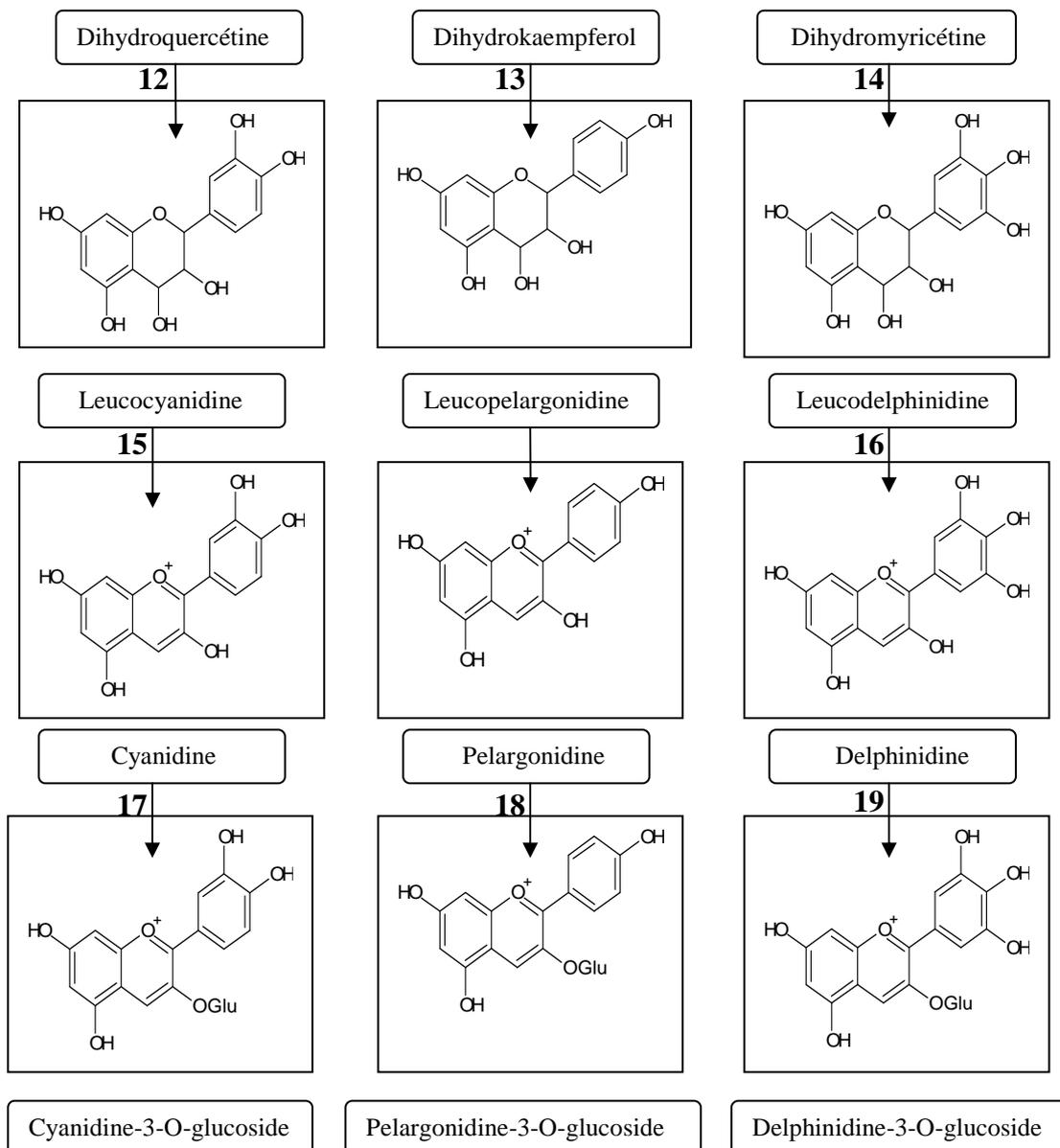


Figure IV.3 : Biosynthèse des flavonoïdes

1 : Phenylalanine ammonia-lyase
2 : Cinamate 4-hydroxylase
3 : 4-coumarate :CoAliaze
4 : Acetyl-CoA carboxylase
5 : Chalcone-synthase
6 : Aurone-synthase
7 : Chalcone-isomerase
8 : Flavonoïde -3'-hydroxylase
9 : Flavonoïde-3',5'-hydroxylase

10 : Flavonoïde-3',5'-hydroxylase
11 : Flavonoïde-3'-hydroxylase
12 : Dihydroflavanonol-4-réductase
13 : Dihydroflavanonol-4-réductase
14 : Dihydroflavanonol-4-réductase
15 : Leucoanthocyanidine dioxygénase
16 : Leucoanthocyanidine dioxygénase
17, 18, 19 : 3-O-glucosyl-transférase

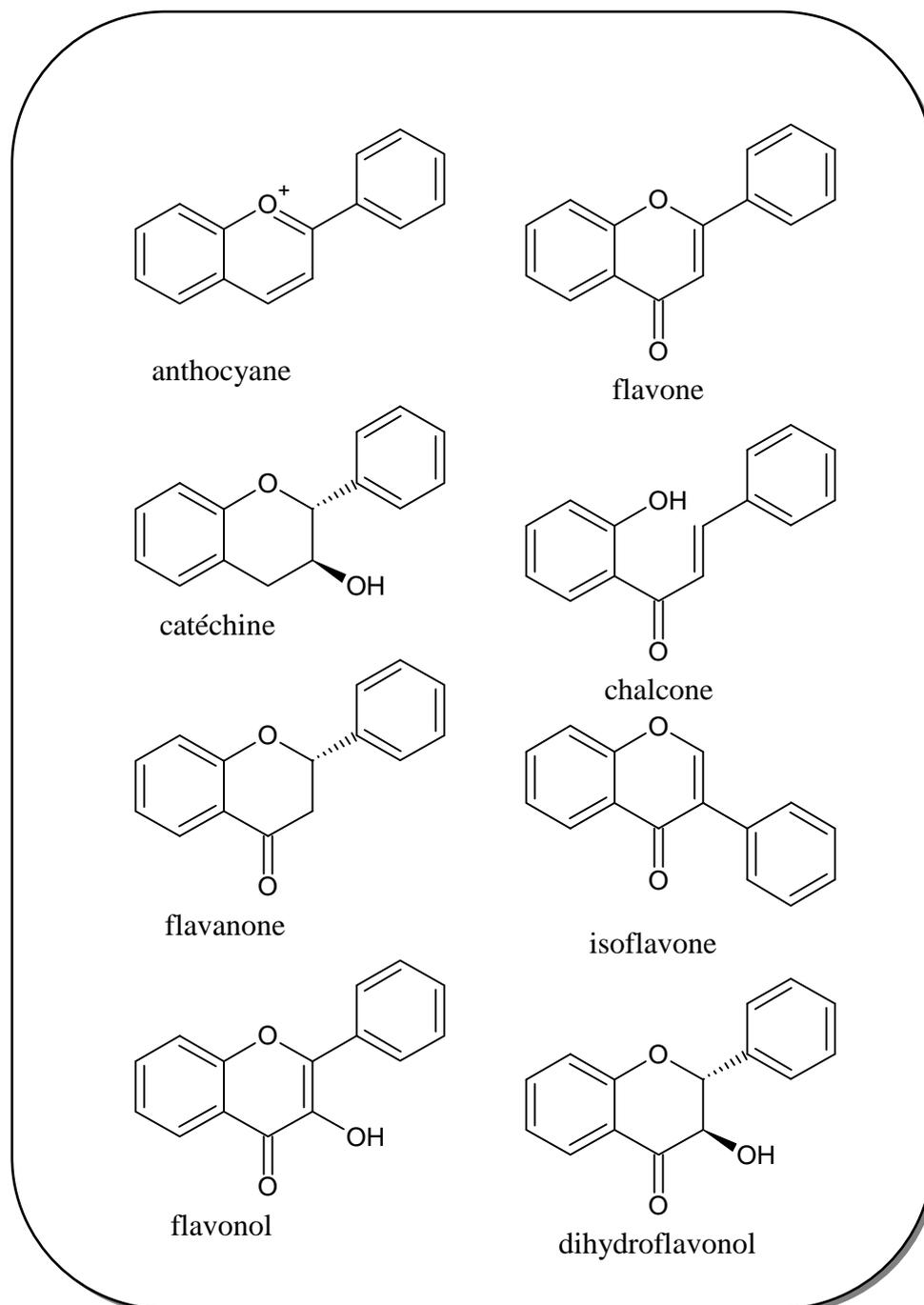
Rappel bibliographique

Généralités sur les flavonoïdes

IV. 4. Classes de flavonoïdes

Chaque classe de flavonoïdes se distingue en fonction de la cyclisation et du degré d'insaturation et d'oxydation du cycle C, tandis que les composés individuels au sein d'une même classe se distinguent par la substitution des cycles A et B.

Parmi les nombreuses classes de flavonoïdes présentées, les principales sont : anthocyane catéchine, flavanone, flavonol, flavone, chalcone, isoflavone, dihydroflavonol, flavane, aurone [50].



Rappel bibliographique
Généralités sur les flavonoïdes

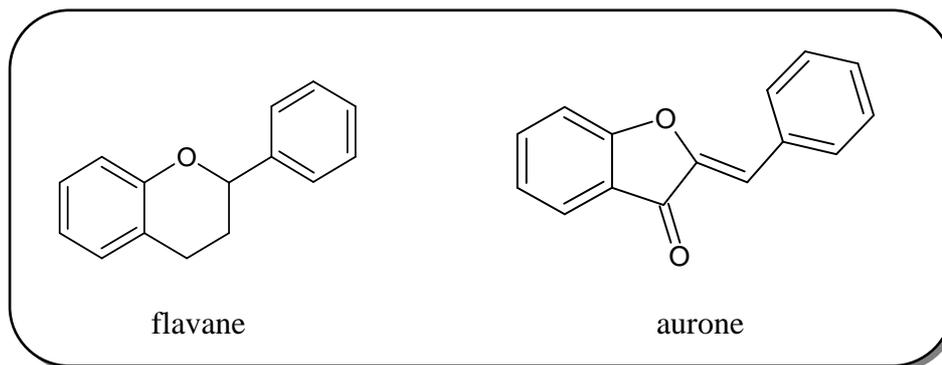


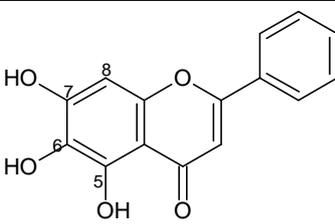
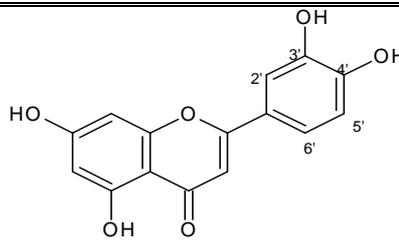
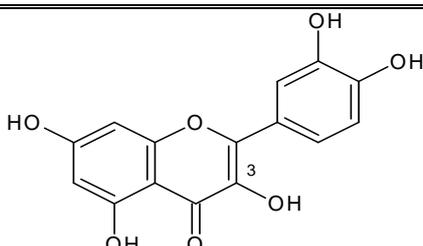
Figure IV.4 : Les diverses classes de flavonoïdes

IV. 4. Substitution du squelette flavonique

Il existe différents processus de substitution du squelette flavonique, à l'origine de la grande diversité des structures flavoniques. Elles se regroupent en sous classes. Les composés variés de chaque sous classe se distinguent par le nombre, la position et la nature des substituants (groupements hydroxyles, méthoxyles et autres) sur les trois cycles A, B et C [50].

IV. 5. 1. O-substitution

IV. 5. 1. a. Hydroxylation

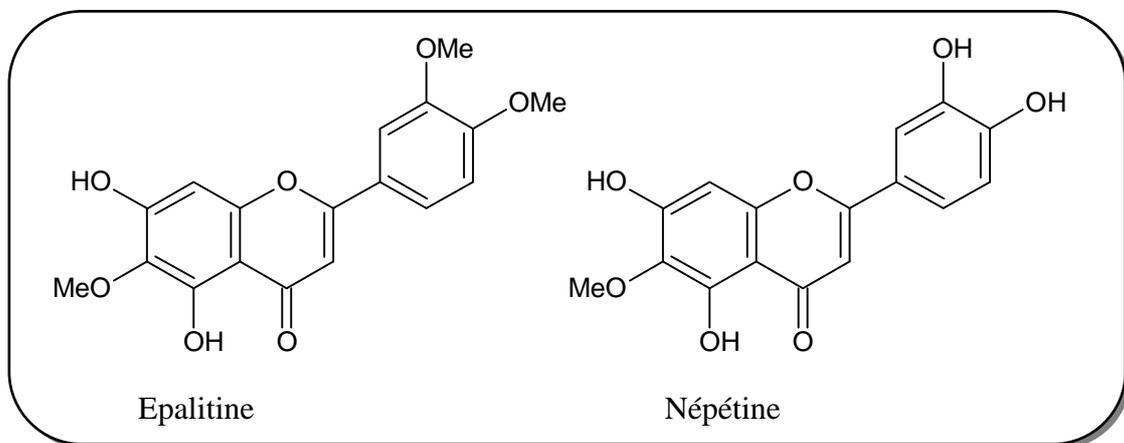
Cycle A	
<p>La plupart des flavones et flavonols sont substitués par deux hydroxyles en C-5 et C-7, qui sont considérés comme originaux et existent avant la constitution du noyau chalcone. D'autres substitutions sont possibles avec des fréquences variables (hydroxyles en C-6 et en C-8) [51].</p>	
Cycle B	
<p>Le cycle B est substitué en C-4' avant la formation du squelette chalcone ou disubstitué en C-3' et C-4'. Il est moins fréquemment trisubstitué en C-3', C-4' et C-5'. Les autres positions C-2' et C-6' ne sont qu'exceptionnellement substituées [52].</p>	
Cycle C	
<p>Pour le cycle C, la substitution a lieu sur la position 3 donnant à titre d'exemple, la quercétine [53].</p>	

Rappel bibliographique

Généralités sur les flavonoïdes

IV. 5. 1. b. *O*-méthylation

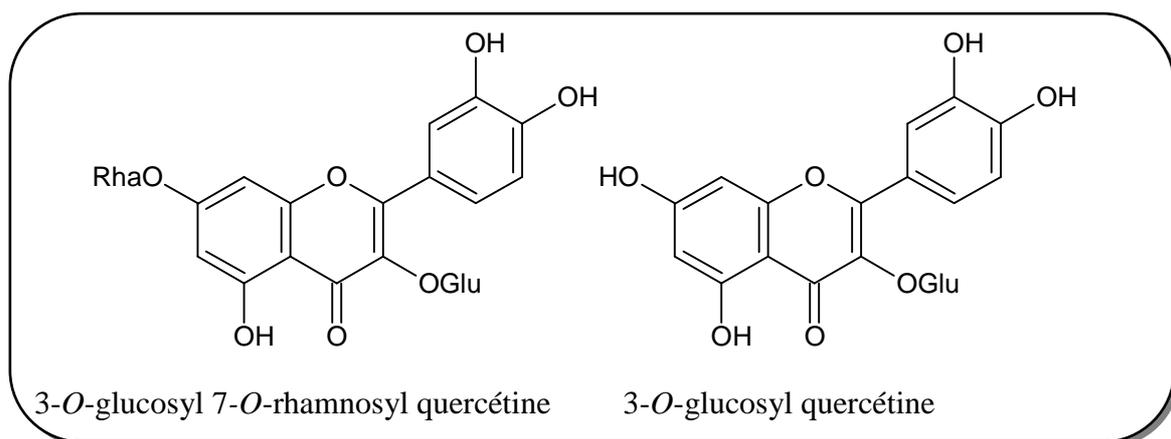
La méthylation fait partie de la biosynthèse de plusieurs flavonoïdes. Elle joue un rôle important dans la couleur de ces derniers [54].



IV. 5. 1. c. *O*-glycosylation

La liaison s'effectue entre un hydroxyle phénolique et un autre d'un sucre. Un deuxième sucre peut se rattacher à la structure flavonique à partir d'un autre OH phénolique ou un OH alcoolique du sucre déjà fixé.

La *O*-glycosylation se fait préférentiellement avec l'hydroxyle en C-7 chez les flavones et les flavanones, en C-3 chez les flavonols. Parfois, elle se fait sur les deux hydroxyles de la même molécule [55].



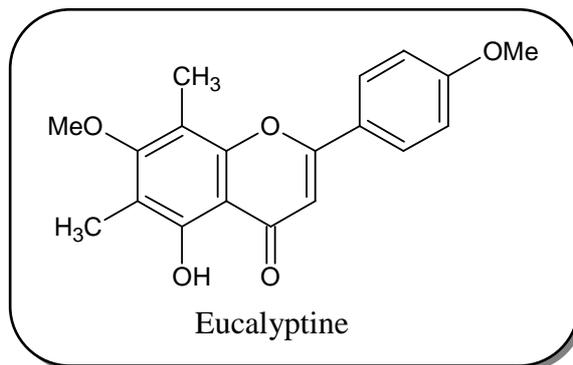
IV. 5. 2. *C*-substitution

IV. 5. 2. a. *C*-méthylation

Le groupement méthyle est directement lié au cycle benzénique par une liaison carbone-carbone [54].

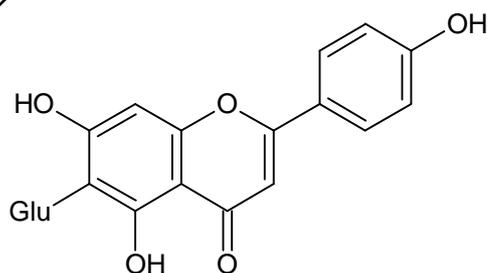
Rappel bibliographique

Généralités sur les flavonoïdes

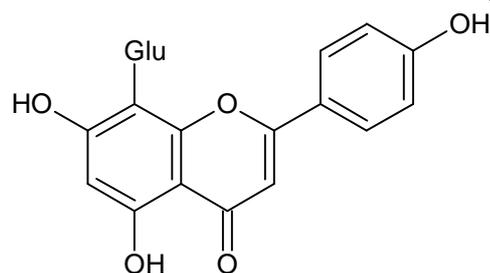


IV. 5. 2. b. C-glycosylation

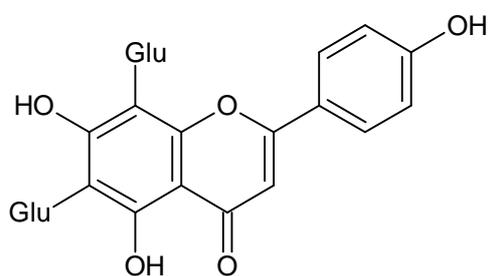
Le sucre est directement lié au cycle benzénique par une liaison carbone- carbone très résistante aux acides, contrairement aux O-glycosides. Dans cette glycosylation, la liaison s'établit entre le carbone du sucre et celui en position 6 et/ou 8 du flavonoïde, le plus souvent une flavone. Dans certains composés, les deux modes de glycosylation coexistent [55].



Apigénine 6-C-glucoside



Apigénine 8-C-glucoside



Apigénine 6,8-C-glucoside

IV. 6. Distribution au sein des plantes

Les flavonoïdes existent dans tous les végétaux supérieurs vascularisés où ils peuvent être localisés dans les divers organes : racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines, bois...[30]. Certains flavonoïdes sont plus spécifiques à une partie de la plante. Ainsi, les anthocyanes sont plutôt localisés dans les parties externes des fruits, fleurs et feuilles, alors que les chalcones se rencontrent plus fréquemment dans les pétales des fleurs [56].

Dans la majorité des cas, les flavonoïdes sont présents sous forme glycosylée dans les plantes car la glycosylation a pour effet de les rendre moins réactifs et plus hydrosolubles permettant alors leur stockage dans les vacuoles des cellules épidermiques des fleurs, de l'épiderme et du mésophylle des feuilles, des parenchymes des tiges et racines [56].

Il est à noter que flavanones et flavones sont souvent présentes dans une même plante. Flavones et flavonols ne se trouvent généralement pas ensemble, pas plus que les flavanols et anthocyanes [57].

IV. 7. Propriétés biologiques

La plante fabrique des flavonoïdes pour se protéger de l'oxydation, réaction stimulée par le rayonnement solaire. Plus l'ensoleillement augmente, plus les teneurs en flavonoïdes augmentent et particulièrement dans les parties les plus exposées [58].

Le rôle principal de ces pigments est la protection des plantes face aux agressions du rayonnement UV. Ils servent également à attirer l'attention des insectes pollinisateurs ou au contraire, à dessiner des formes pour éloigner les prédateurs. Certains flavonoïdes sont mêmes toxiques pour les insectes [59].

Leur combinaison avec les caroténoïdes permet l'apparition des diverses couleurs qui caractérisent les fleurs. Il est à préciser que certains flavonoïdes présents dans les feuilles peuvent prendre une ascendance sur les pigments chlorophylliens (couleur verte). La coloration vive des feuilles d'automne est due aux carotènes ainsi qu'à la transformation de grandes quantités de flavonols incolores en anthocyanes lors de la dégradation de la chlorophylle [58].

Les flavonoïdes sont également des inhibiteurs d'enzymes, des agents chélatants des métaux nocifs pour les plantes. De plus, ils jouent un rôle certain dans la photosensibilisation, les transferts d'énergie, la morphogenèse, la détermination sexuelle, la photosynthèse et la régulation des hormones de croissance des plantes [60].

2^{ÈME} PARTIE

*Travaux
personnels*

CHAPITRE V

*Etude phytochimique de
l'espèce*

*S. undulata ssp.
alexandrina*

V. 1. Extraction et fractionnement

La plante séchée et broyée, d'un poids de 1 kg, est soumise à une extraction solide-liquide à température ambiante, en utilisant successivement des solvants de polarité croissante : éther de pétrole, acétate d'éthyle et méthanol. Le schéma ci-dessous reproduit les différentes étapes de l'extraction.

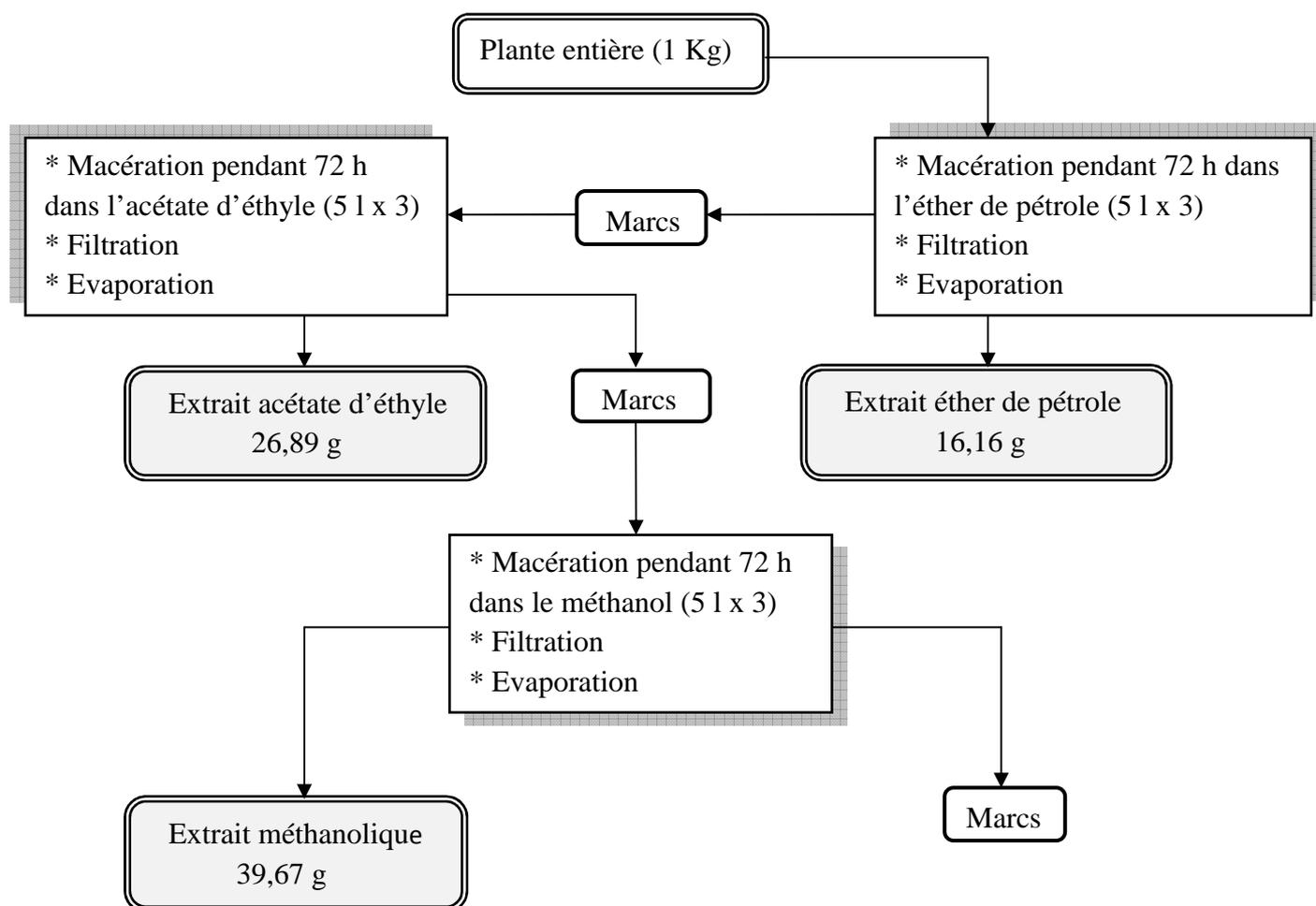


Figure V. 1 : Schéma d'extraction de l'espèce *S. undulata* ssp. *alexandrina*

V. 2. Purification des composés

Les différents extraits obtenus, éthéropétrolique (16,16 g), acétate d'éthyle (26,89 g) et méthanolique (39,67 g) sont analysés par CCM dans des systèmes d'élution compatibles avec la nature de l'extrait, et ce dans le but d'évaluer globalement leur richesse en métabolites secondaires. Les résultats des tests chromatographiques nous ont incités à explorer chimiquement les extraits acétate d'éthyle et méthanolique. Cependant, si l'extrait acétate d'éthyle a fait l'objet d'une étude chimique approfondie, l'extrait méthanolique n'a été soumis qu'à une investigation chimique partielle.

Avant d'entamer le fractionnement des deux extraits cités, des tests chromatographiques par CCM ont été préalablement effectués dans différents systèmes d'éluion :

- chloroforme-méthanol (99-1, 97-3, 95-5, 90-10) pour l'extrait acétate d'éthyle.
- chloroforme-méthanol (95-5, 90-10, 80-20, 70-30) et chloroforme- méthanol-eau (60-40-7, 70-30-3, 70-30-5) pour l'extrait méthanolique.

Le meilleur profil chromatographique a été obtenu avec les systèmes suivants :

- chloroforme-méthanol (95 : 5) pour l'extrait acétate d'éthyle.
- chloroforme-méthanol-eau (60 : 40 : 7) pour l'extrait méthanolique.

V. 2. 1. Extrait acétate d'éthyle

Un premier fractionnement de 6 g d'extrait acétate d'éthyle a été réalisé par une chromatographie liquide sous vide (VLC) sur gel de silice normale en utilisant un gradient d'éluion éther de pétrole-acétate d'éthyle et acétate d'éthyle-méthanol allant de (100-0) à (0-100) . Cette phase de séparation a permis de recueillir 13 fractions (F_1 à F_{13}). Les fractions F_3 , F_8 , F_9 , F_{10} , F_{11} jugées intéressantes au vu de leur profil CCM ont fait l'objet d'investigations chimiques approfondies.

La fraction F_3 soumise à une chromatographie sur colonne de gel de silice dans un mélange éther de pétrole-acétate d'éthyle à différents gradients (100-0, 99-1, 98-2, 96-4), puis à une chromatographie sur couche épaisse CCE (99-1) et enfin une chromatographie sur colonne de gel de silice en utilisant comme éluant cyclohexane-dichlorométhane (100-0, 99-1, 97-3, 95-5, 90-10, 80-20), a permis d'isoler à l'état pur les deux composés **SU1** (3,6 mg) et **SU2** (3 mg).

Le fractionnement de la fraction F_8 par chromatographie sur colonne de gel de silice au moyen du mélange chloroforme-méthanol à différents gradients (100-0, 99-1, 97-3, 95-5, 93-7, 90-10, 80-20) a permis de récolter 10 sous-fractions. Une filtration sur colonne de Séphadex LH-20 dans un mélange chloroforme-méthanol (100-0, 99-1, 97-3, 93-7) comme éluant, suivie d'une recristallisation dans le chloroforme a permis d'aboutir au composé **SU5** (8,8 mg).

Les fractions F_9 et F_{10} rassemblées car présentant en CCM beaucoup de similitudes, sont mises à chromatographier sur une colonne de Séphadex LH-20 dans un mélange chloroforme-méthanol (100-0, 99-1). 7 sous-fractions allant de F_9 (1-9) à F_9 (57-68) ont été recueillies. Une recristallisation de la quatrième sous- fraction F_9 (18-24) dans le méthanol a permis d'obtenir le produit **SU4** pur (5 mg). La dernière sous-fraction F_9 (57-68) a donné directement le produit **SU3** (7 mg) à l'état pur. Ce dernier a été également isolé à partir de la fraction F_{11} par une chromatographie sur une colonne de Séphadex LH-20 dans un mélange chloroforme-méthanol (100-0, 93-7) puis une recristallisation dans le méthanol. 5 mg de ce produit ont été obtenus.

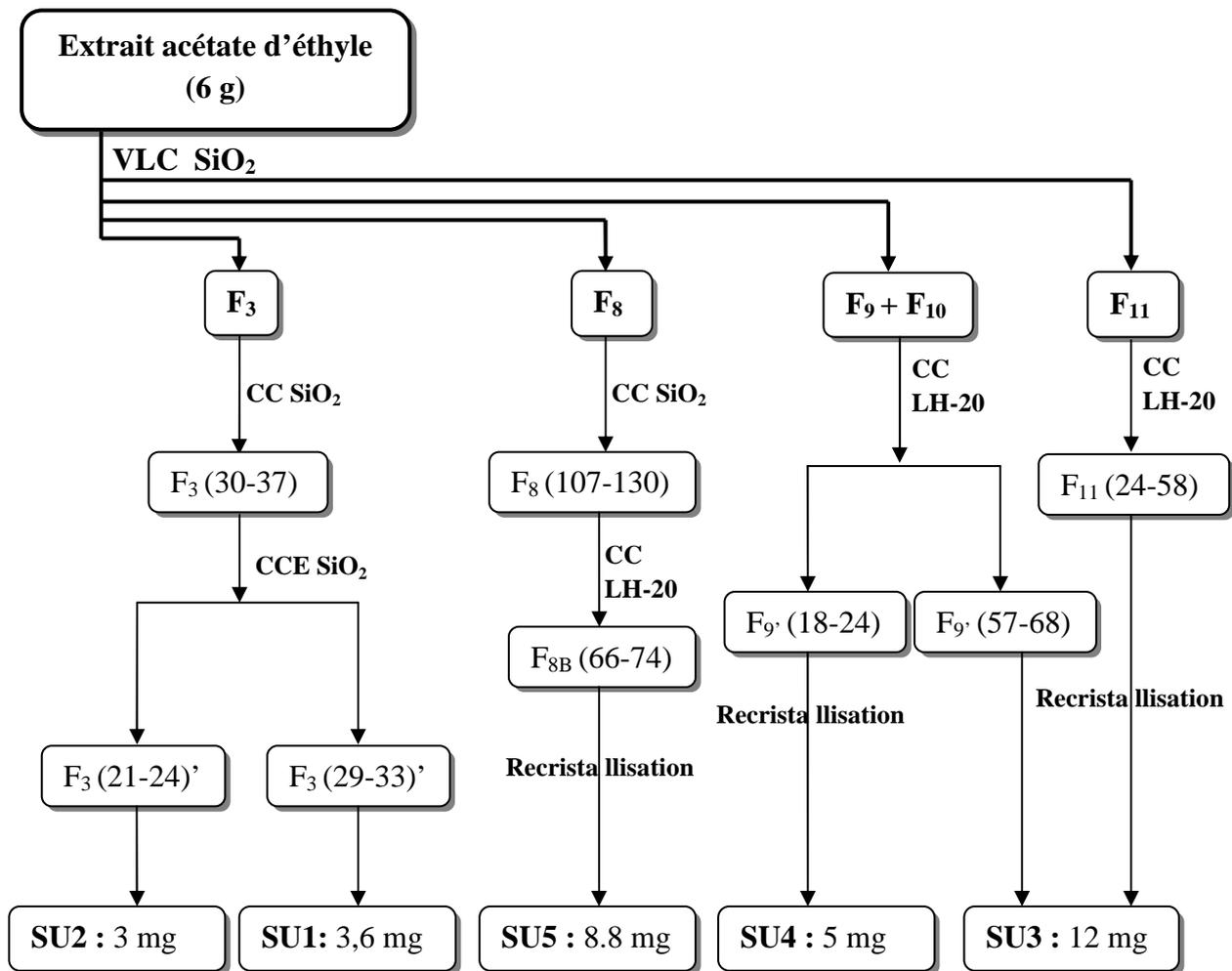


Schéma V. 2. 1 : Fractionnement de l'extrait acétate d'éthyle.

V. 2. 2. Extrait méthanolique

Le fractionnement de 10 g de l'extrait méthanolique a été effectué par chromatographie liquide sous vide (VLC) sur gel de silice greffée RP-18. Ce fractionnement, mené au moyen d'un système d'élution eau-méthanol (90-10) puis méthanol pur, a permis de collecter 11 fractions (F₁ à F₁₁).

La fraction F₃, la plus importante du point de vue masse, est soumise à une filtration sur colonne de Séphadex LH-20 dans le méthanol. Cette filtration a permis de recueillir 6 sous-fractions allant de F₃ (1-11) à F₃ (75-81). La sous-fraction F₃ (12-40) est soumise à une filtration sur colonne de gel de silice dans un mélange dichlorométhane-méthanol (100-0, 99-1, 97-3, 95-5, 90-10, 80-20, 60-40), permettant de collecter 6 autres sous-fractions allant de F_{3A} (1-66) à F_{3A} (1-66). La sous-fraction F_{3A} (25-35) a permis d'isoler le produit SU6 (5,3 mg) à l'état pur.

L'identification de ce composé de masse moléculaire égale à 818 uma et qui s'apparente à un flavonoïde glycosilé selon le spectre RMN ^1H enregistré à 500 MHz, n'a pas encore été élucidée. En effet, sa structure apparemment complexe nécessite une analyse spectrale approfondie, en cours actuellement.

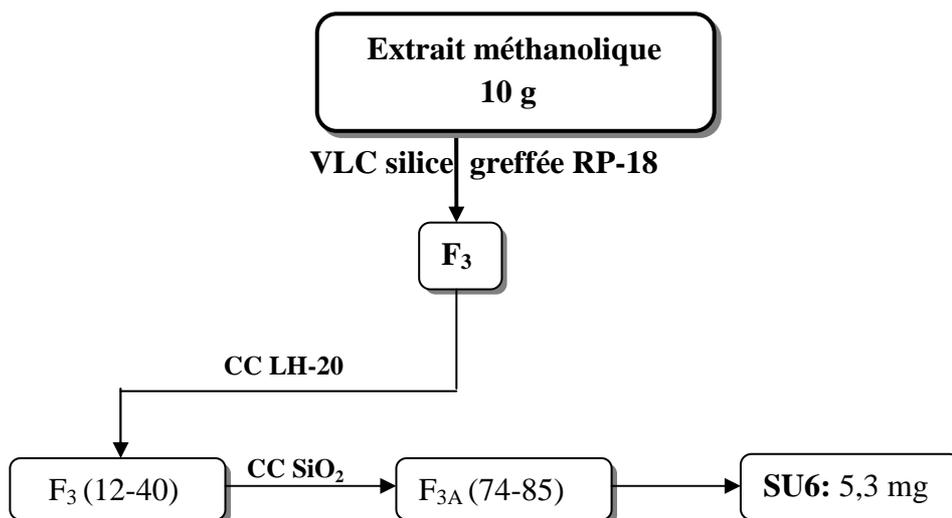
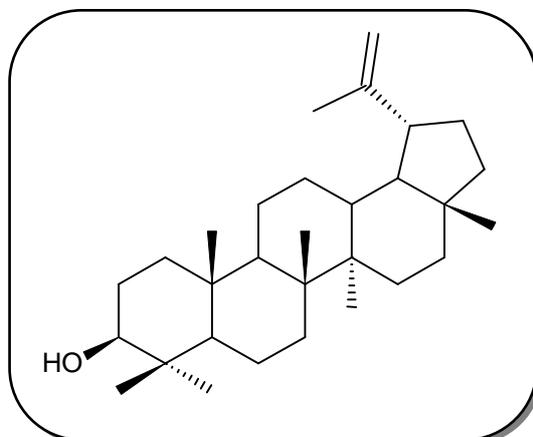


Schéma V. 2. 2 : Fractionnement de l'extrait méthanolique

Les travaux de séparation et de purification ont ainsi nécessité l'utilisation de différentes techniques chromatographiques (VLC, CC, CCM, etc). A l'issue de chaque étape de séparation, les fractions obtenues sont analysées par CCM (gel de silice en phase normale) en vue de réunir les fractions qui présentent le même profil ou déterminer un nouveau support chromatographique ainsi qu'un nouveau système de solvants susceptible de mieux séparer les composés.

V. 3. Détermination structurale des composés

V. 3. 1. Détermination structurale du composé SU1



Le spectre de masse réalisé en impact électronique (Figure V. 3. 1. a) montre un pic d'ion moléculaire à $m/z = 426 [M]^+$, correspondant à une formule brute en $C_{30}H_{50}O$.

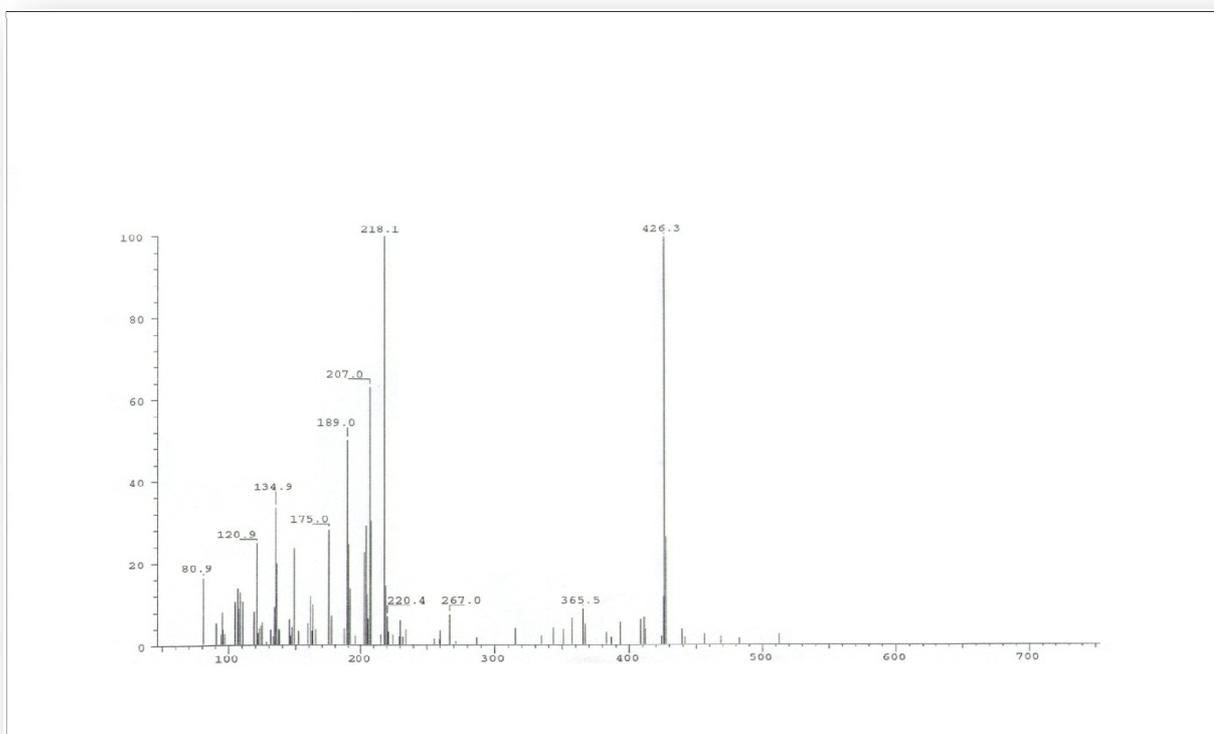


Figure V. 3. 1. a : Spectre de masse du composé SU1

Le spectre RMN ^1H (Figure V. 3. 1. b), enregistré dans le chloroforme deutéré, montre la présence de six signaux singulets de protons de groupements méthyles résonant à 0,81, 0,84, 0,86, 1, 1,02 et 1,07 ppm. L'observation également d'un signal doublet de doublet (δ_{H} 3,35, dd , $J = 12,5, 5$ Hz) d'un proton porté par un carbone oxygéné nous oriente vers une molécule de nature triterpénique.

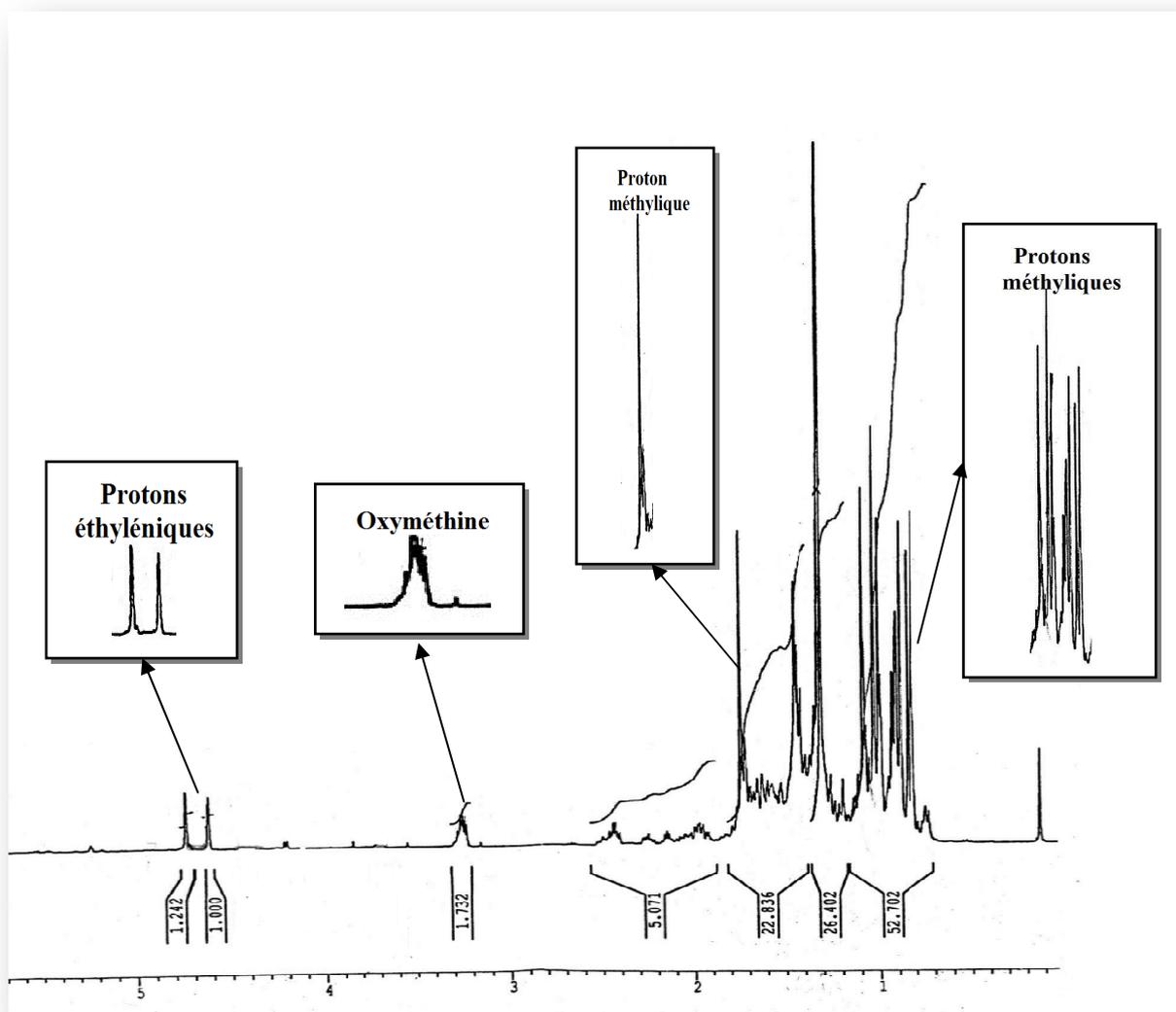
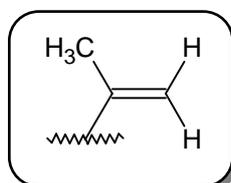


Figure V. 3. 1. b: Spectre RMN ^1H du composé SU1

Ce spectre montre aussi la présence de deux signaux doublets d'intégration 1H chacun et résonant à 4,62 et 4,75 ppm caractéristiques de protons oléfiniques. Leur très faible constante de couplage, de l'ordre de 0,3 Hz, laissant suggérer qu'il s'agit de deux protons CH_2 éthyléniques ainsi que la présence d'un signal singulet de protons méthyliques à 1,72 ppm permettent d'entrevoir la présence du système de spins suivant :



Travaux personnels

Etude phytochimique de l'espèce *S. undulata* ssp. *alexandrina*

La présence d'un tel système est confirmée par expérience COSY H-H (Figure V. 3. 1. c) qui montre les corrélations entre les protons CH₂ oléfiniques et les protons constituant le groupement CH₃ (δ_H 1,72).

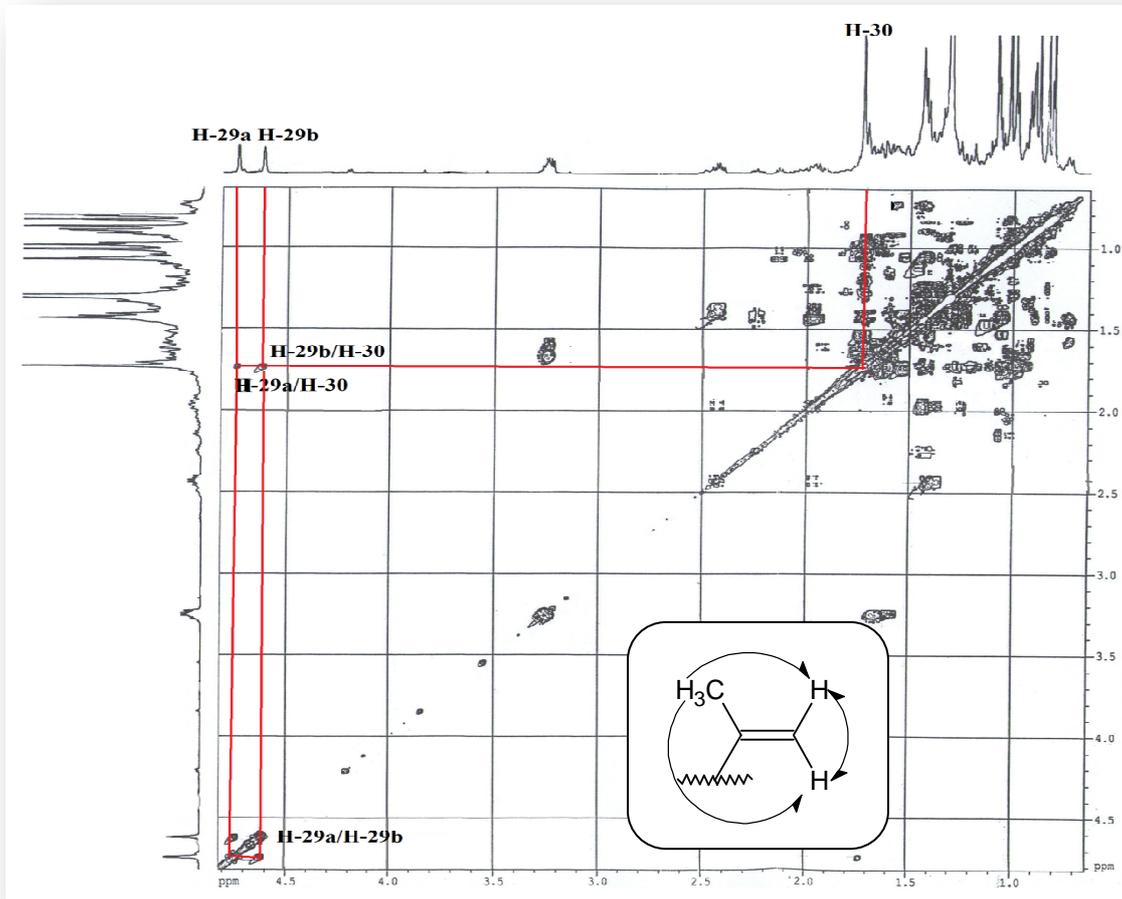
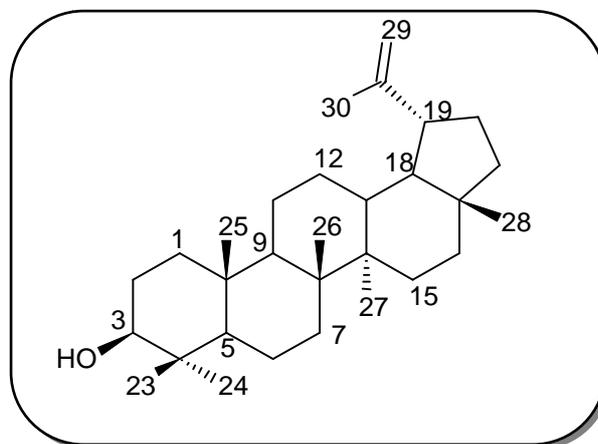


Figure V. 3. 1. c : Spectre COSY du composé SU1

Cette première analyse RMN ¹H, en plus des résultats obtenus par spectrométrie de masse, indique que ce composé est de nature triterpénique à squelette lupane.



Squelette lupane

Etude phytochimique de l'espèce *S. undulata* ssp. *alexandrina*

Le spectre RMN ^{13}C (Figure V. 3. 1. d) en apporte la confirmation et cela par l'observation des signaux de :

- sept groupements méthyles résonant entre 14,5 et 27,9 ppm.
- un carbone oxydé apparaissant à δ_{C} 78,9, suggérant la présence d'un groupement hydroxyle substituant le carbone en C-3 du triterpène.
- deux carbones éthyléniques, l'un secondaire (δ_{C} 109,3) et l'autre quaternaire (δ_{C} 151), mettant ainsi en évidence le caractère lupane du triterpène.

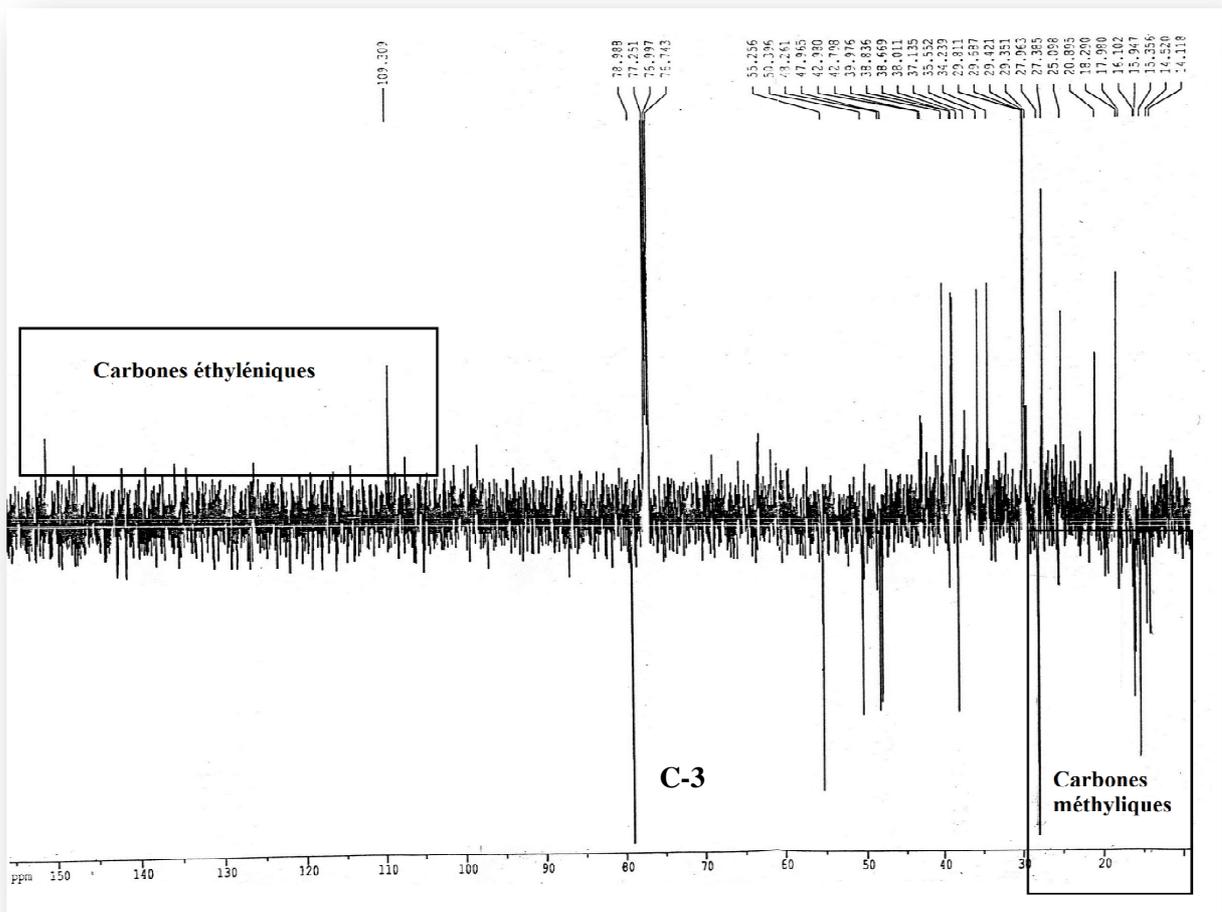


Figure V. 3. 1. d : Spectre RMN ^{13}C J-modulé du composé SU1

L'expérience HMBC a conduit à l'établissement des principaux couplages hétéronucléaires C-H longue distance du composé. A partir des sept méthyles, elle met clairement en évidence les corrélations en 2J et 3J , qui permettent d'identifier et caractériser un grand nombre de carbones de ce composé. Ainsi, les protons méthyliques Me-23 et Me-24 résonant respectivement à δ_{H} 1,02 et 0,81, sont identifiés à travers les corrélations qu'ils présentent avec le carbone oxygéné C-3 (δ_{C} 78,9) identifié précédemment. Ils permettent d'identifier également les carbones C-4 (δ_{C} 38,8) et C-5 (δ_{C} 55,2). Ce dernier permet de caractériser les protons méthyliques Me-25 (δ_{H} 0,86), eux aussi permettent d'assigner les déplacements chimiques du carbone secondaire C-1 (δ_{C} 38,6), les carbones C-10 (δ_{C} 37,1) et C-9 (δ_{C} 50,3). Ce dernier corrèle de son côté avec des protons repérés à 1,07 ppm attribuables

Etude phytochimique de l'espèce *S. undulata* ssp. *alexandrina*

au groupement méthyle Me-26. Les corrélations C-H longue distance observées à partir de ce groupement, permettent de caractériser le carbone secondaire C-7 (δ_C 34,2) ainsi que les carbones quaternaires C-8 (δ_C 43) et C-14 (δ_C 42,7). Ces deux derniers présentent des corrélations avec un signal d'intégration 3H sortant à 1 ppm attribuable aux protons du groupement méthyle Me-27. Le spectre HMBC montre pour ces protons les corrélations C-H en 3J attendues avec les carbones C-13 (δ_C 38) et C-15 (δ_C 27,3) (Figure V. 3. 1. 1).

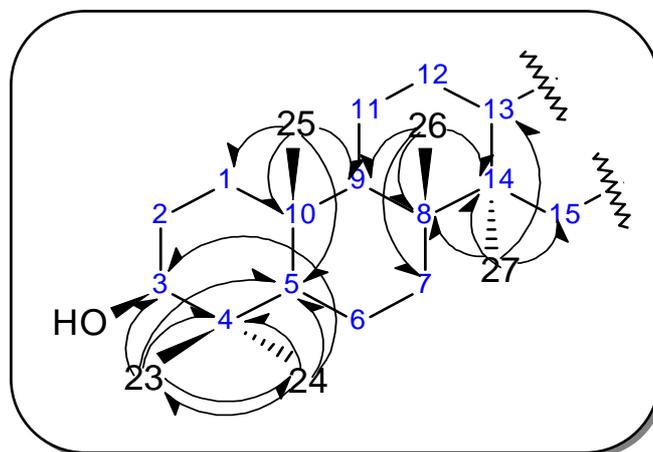


Figure V. 3. 1. 1 : Corrélations HMBC observées pour le composé SU1

Partant du signal d'intégration 3H résonant à 1,72 ppm du groupement méthyle Me-30 qui fait partie du système oléfinique décrit précédemment et ayant permis d'entrevoir une structure de nature "lupane" pour notre composé, l'expérience HMBC a aussi permis de mettre en évidence les corrélations entre les protons de ce groupement et le carbone secondaire oléfinique C-29 repéré à 109,3 ppm, de même que le carbone quaternaire oléfinique C-20 sortant à 151 ppm. La dernière corrélation observée est due au carbone C-19 résonant à 47,9 ppm. La confirmation de la localisation des deux protons oléfiniques H-29a (δ_H 4,75, *d*, $J= 0,3$ Hz) et H-29b (δ_H 4,62, *d*, $J= 0,3$ Hz) est déduite des couplages qu'ils présentent avec les carbones C-19 et C-30 du groupement Me-30 (δ_C 19,8) (Figure V. 3. 1. 2).

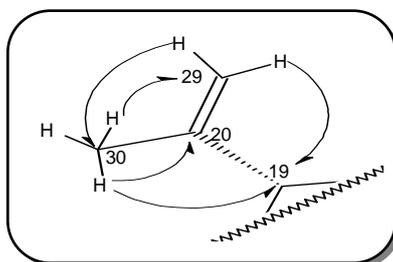


Figure V. 3. 1. 2 : Corrélations HMBC observées pour le composé SU1

A partir du proton H-19 identifié par expérience HSQC du fait de la corrélation C-H directe qu'il présente avec le carbone C-19 (δ_C 47,9), on caractérise le carbone C-18 (δ_C 1,41), les carbones C-21 (δ_C 29,8) et C-22 (δ_C 39,9). Ces attributions sont confirmées par les corrélations observées à partir des signaux correspondant aux trois protons du dernier groupement méthyle Me-28 résonant à 0,84 ppm et montrant par expérience HSQC

un couplage direct avec leur carbone C-28 (δ_C 17,9). Ces protons méthyliques corrèlent également avec le carbone quaternaire C-17 (δ_C 42,9), les carbones C-16 et C-22 sortant respectivement à 35,5 et 39,9 ppm (Figure V. 3. 1. 3).

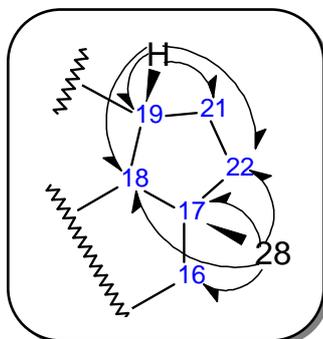


Figure V. 3. 1. 3 : Corrélations HMBC observées pour le composé SU1

Comme on le voit, l'analyse HMBC (Figure V. 3. 1. e) et particulièrement dans le cas des triterpènes, constitue une méthode de choix pour caractériser la majorité des carbones et donc de déterminer efficacement la structure du composé, et cela par les corrélations observées à partir des méthyles angulaires.

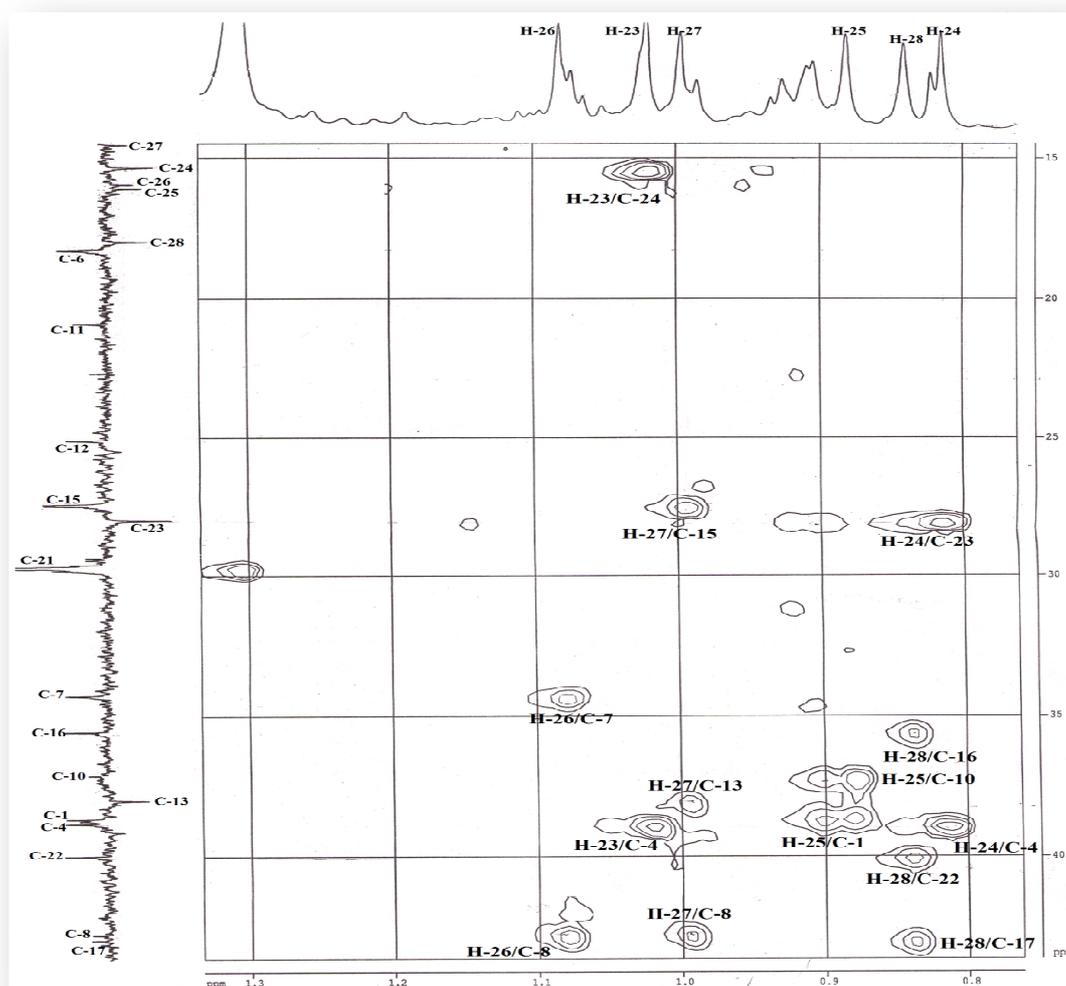


Figure V. 3. 1. e: Spectre HMBC du composé SU1

Les autres atomes de carbone constituant le squelette triterpénique sont déterminés par le traitement combiné des expériences HSQC (Figure V. 3. 1. f) et COSY H-H (Figure V. 3. 1. g). Les corrélations directes observées sur le spectre HSQC permettent de caractériser chacun des carbones méthyliques.

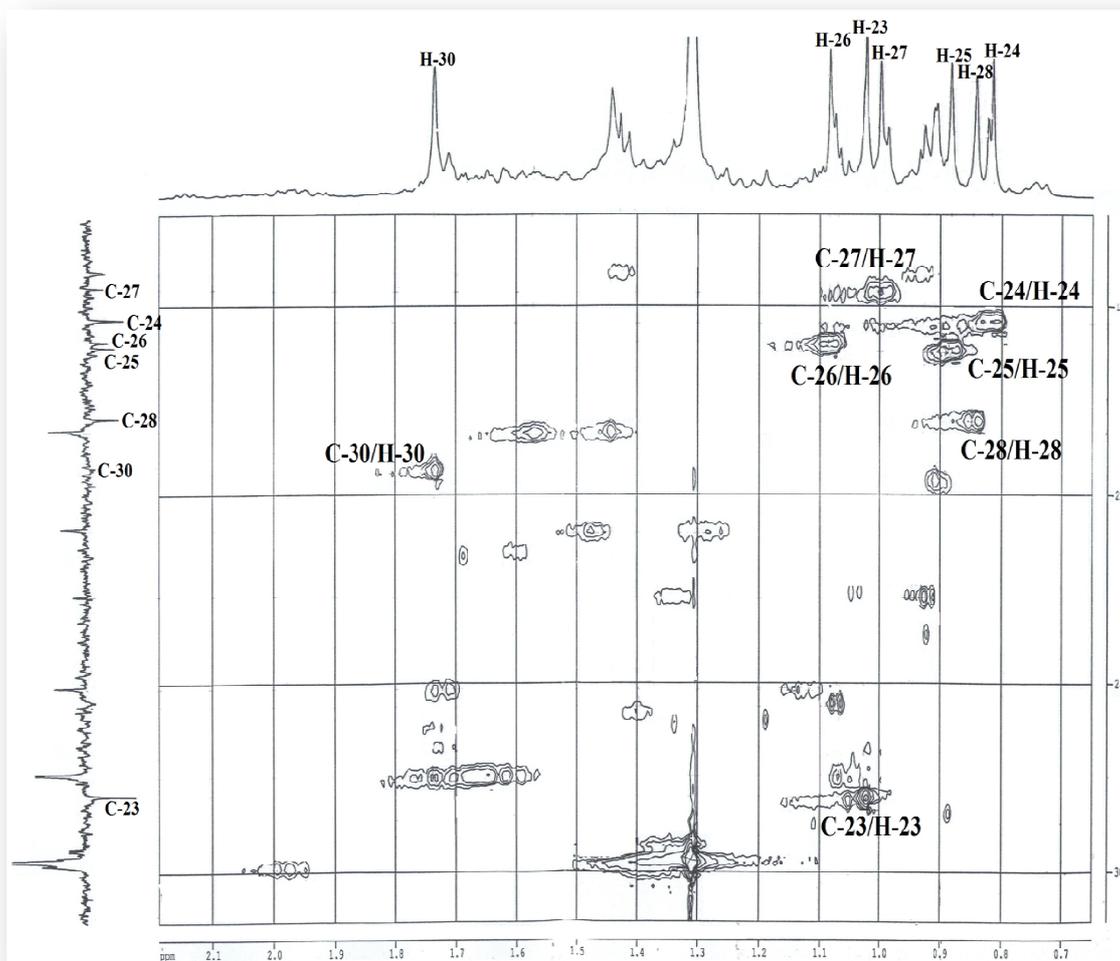


Figure V. 3. 1. f : Spectre HSQC du composé SU1

Le carbone C-2 a été identifié par expérience HSQC de fait du son couplage direct avec deux signaux résonant à 1,06 et 1,61 ppm, attribuables aux protons méthyléniques H-2. Ces derniers ont été préalablement localisés par expérience COSY H-H (Figure V. 3. 1. g), du fait de la corrélation qu'ils présentent avec le proton H-3 (δ_H 3,35, *dd*, $J = 12,5, 5$ Hz).

De la même manière, la caractérisation du carbone C-6 a été établie sur la base de son couplage HSQC avec les protons H-6 qui le substituent et qui sont localisés à 1,45 et 1,55 ppm. La position de ces derniers est déterminée par la corrélation observée sur la carte COSY H-H, avec le proton H-5 (δ_H 0,73, *dd*, $J = 10, 2,5$ Hz).

L'attribution préalable des protons non équivalents H-21a (δ_H 1,97) et H-21b (δ_H 1,31) par expérience COSY H-H, en raison de leur corrélation avec le proton H-19 décrit

précédemment et repéré à 2,42 ppm, a permis de déterminer le déplacement chimique du carbone C-21 (29,8 ppm) au moyen de l'expérience HSQC.

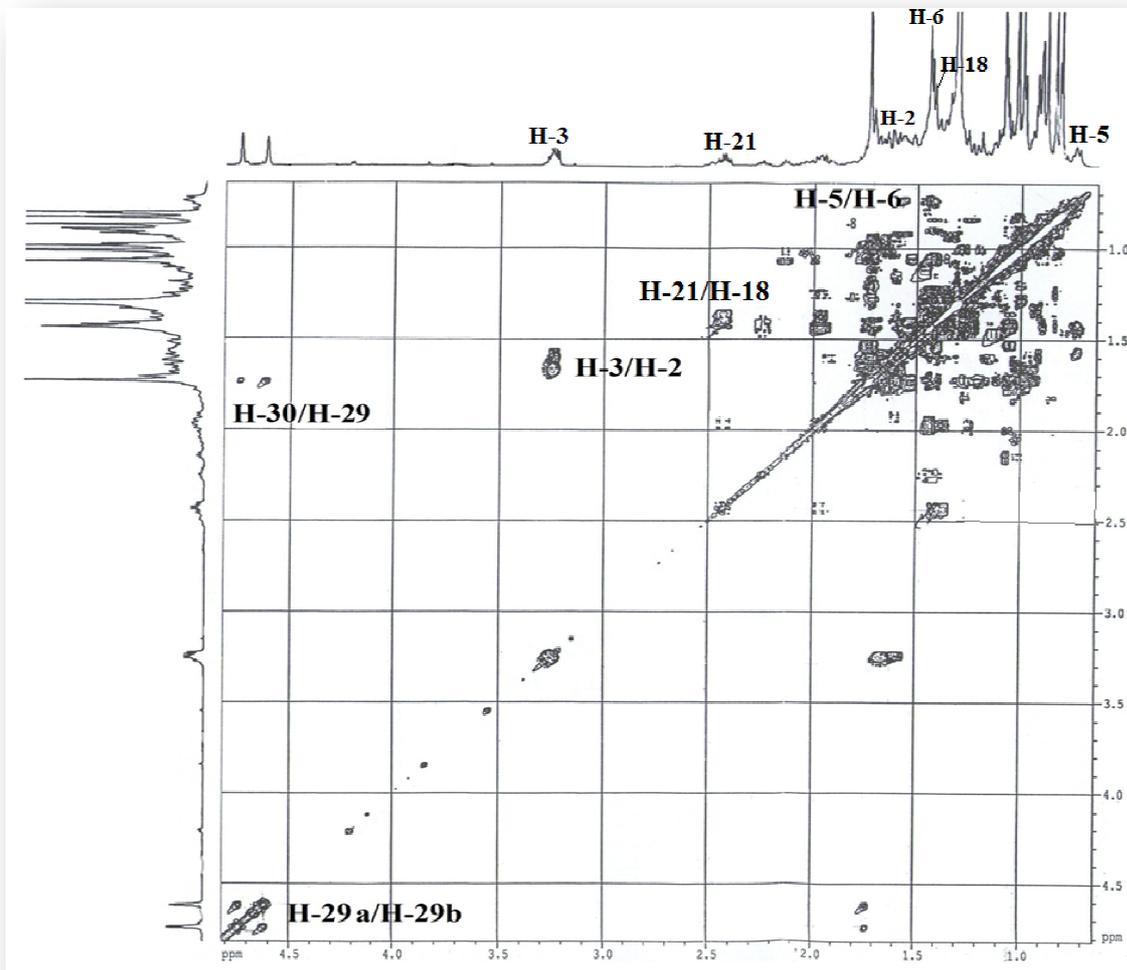
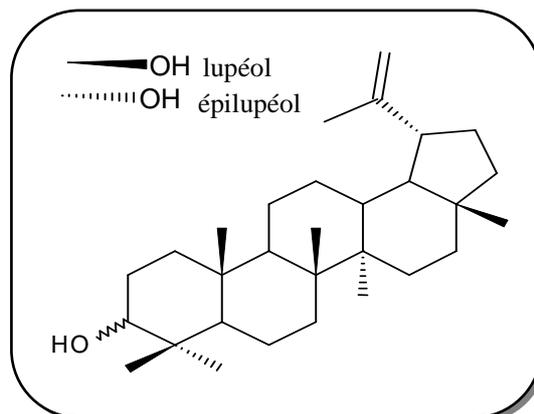
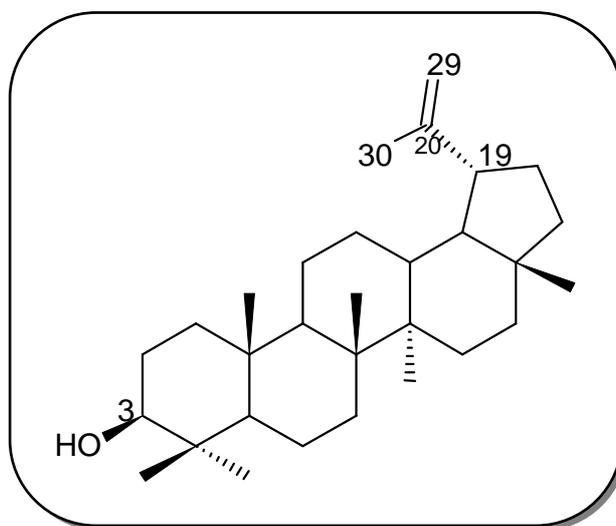


Figure V. 3. 1. g : Spectre COSY du composé SU1

Cette analyse complète axée principalement sur la RMN multiimpulsionnelle et qui a permis d'assigner tous les déplacements chimiques des protons et carbones de notre composé à même d'identifier sans ambiguïté sa structure, nous oriente vers deux structures probables en fonction de la stéréochimie au niveau du carbone C-3, à savoir le lupéol ou l'épilupéol.



La grande valeur de constante de couplage du proton H-3, de l'ordre de 12,5 Hz, traduisant une position β -OH en C-3, oriente vers le lupéol.



Lupéol

La stéréochimie au niveau du carbone C-19 est confirmée au vu de la valeur des constantes de couplage du signal du proton H-19 qui se présente sous forme d'un triplet de doublet avec des constantes de couplage égales à 5 et 10 Hz. Cette dernière valeur consacrant un couplage axial-axial avec les protons H-18 et H-21, atteste que le proton H-19 est β orienté. Le groupement isoprényle étant alors en position α -équatoriale (Figure V. 3. 1. 4).

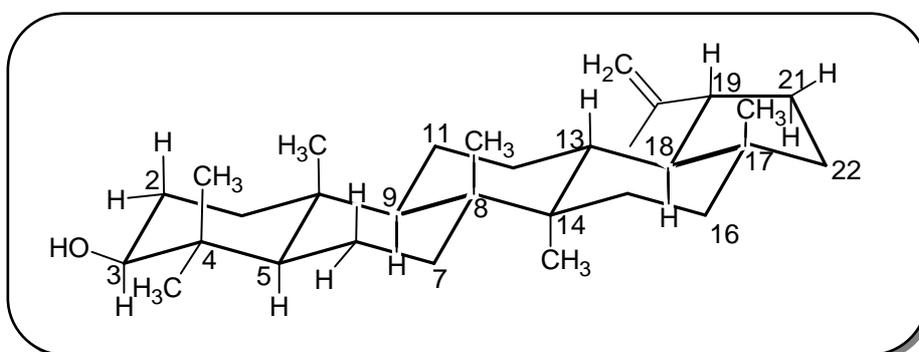


Figure V. 3. 1. 4 : Structure tridimensionnelle du composé SU1

Sur la base de cette analyse, de la mesure du pouvoir rotatoire réalisée dans CHCl_3 ($[\alpha]_D = +26,2^\circ$, $C=0,83$) et par comparaison avec les données de la littérature [61, 62], le composé SU1 est identifié sans ambiguïté comme étant le (20)29-lupèn-3 β -ol ou lupéol. Ce triterpène de la famille du lupane le plus souvent rencontré dans le règne végétal a été antérieurement isolé du genre *Scorzonera*. On citera les espèces *S. columnae* [18] et *S. aristata* [25]. Il est connu principalement pour ses propriétés anti-inflammatoires et antiarthritiques [63, 64]. D'autres analyses biologiques in vitro lui attribuent des activités anticancéreuses et antiangiogéniques [65].

Travaux personnels

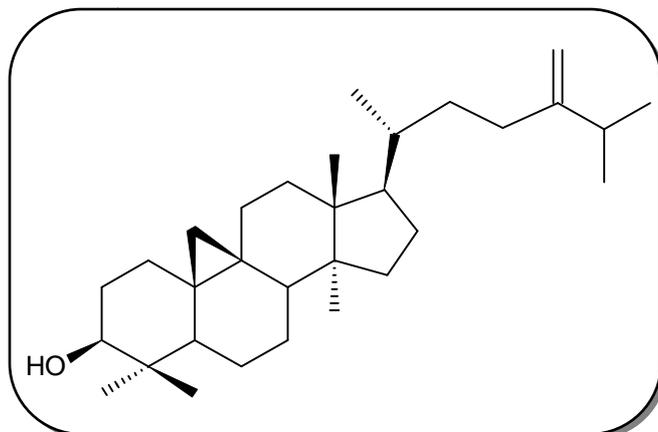
Etude phytochimique de l'espèce *S. undulata* ssp. *alexandrina*

Les déplacements chimiques des protons et carbones ayant permis de déterminer la structure de ce composé et établis par expériences COSY H-H, HMBC et HSQC sont illustrés dans le tableau V. 3. 1 ci-dessous.

Tableau V. 3. 1 : Déplacements chimiques en RMN ¹H (500 MHz) et RMN ¹³C (125 MHz) du composé SU1 dans CDCl₃

Position	J-mod	δ_H m, J (Hz)	δ_C
1	CH ₂	1,69 m H-1a 0,92m H-1b	38,6
2	CH ₂	1,61 m H-2a 1,06 m H-2b	27,3
3	CH	3,35 dd, 12,5; 5 H-3 α	78,9
4	C	-	38,8
5	CH	0,73 dd, 10; 2,5 H-5 α	55,2
6	CH ₂	1,55 m H-6a 1,45 m H-6b	18,2
7	CH ₂	1,43 m	34,2
8	C	-	43
9	CH	1,35 m H-9 α	50,3
10	C	-	37,1
11	CH ₂	1,48 m H-11a 1,25 m H-11b	20,8
12	CH ₂	1,72 m H-12a 1,12 m H-12b	25
13	CH	1,7 m H-13 β	38
14	C	-	42,7
15	CH ₂	1,61 m H-15a 1,06 m H-15b	27,3
16	CH ₂	1,51 m	35,5
17	C	-	42,9
18	CH	1,41 m H-18 α	48,2
19	CH	2,42 td, 10; 5 H-19 β	47,9
20	C	-	151
21	CH ₂	1,97 m H-21a 1,31 m H-21b	29,8
22	CH ₂	1,43 m H-22a 1,25 m H-22b	39,9
23	CH ₃	1,02 s	27,9
24	CH ₃	0,81 s	15,3
25	CH ₃	0,86 s	16,1
26	CH ₃	1,07 s	15,9
27	CH ₃	1 s	14,5
28	CH ₃	0,84 s	17,9
29	CH ₂	4,75 d, 0,3 H-29a 4,62 d, 0,3 H-29b	109,3
30	CH ₃	1,72 s	19,8

V. 3. 2. Détermination structurale du composé SU2



Le spectre de masse réalisé sous impact électronique (Figure V. 3. 2. a) du composé **SU2** donne un pic d'ion moléculaire à $m/z = 440,4111$ $[M]^+$, correspondant à une formule brute en $C_{31}H_{52}O$. Par ailleurs, on observe un fragment à $m/z = 422,3974$ $[M-18]^+$, dû à la perte d'une molécule d'eau.

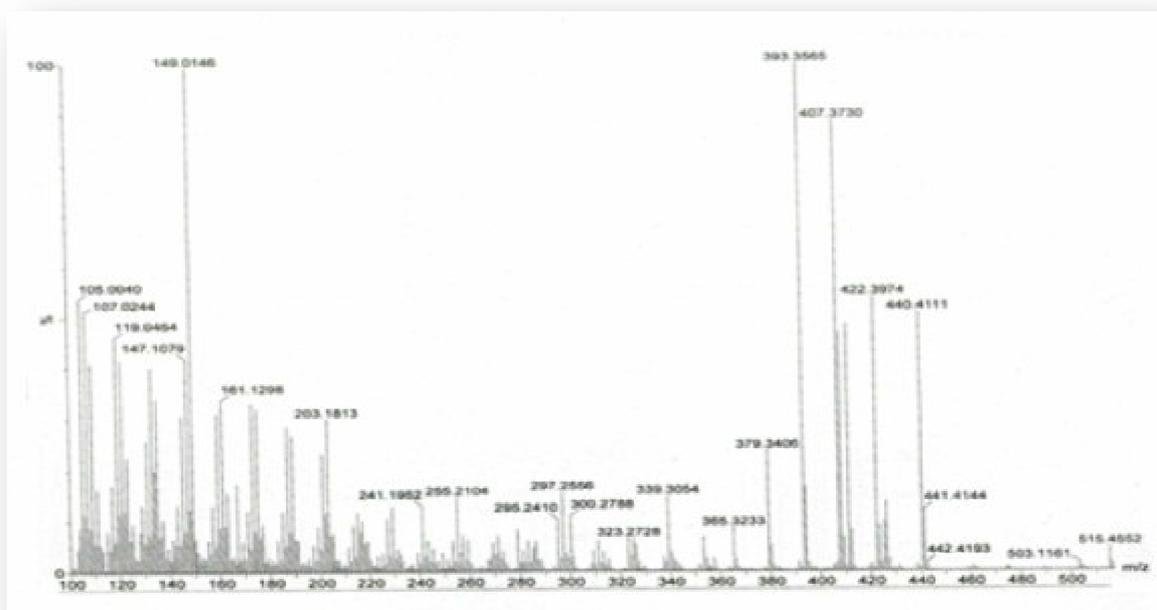


Figure V. 3. 2. a : Spectre de masse du composé **SU2**

L'examen du spectre RMN¹H enregistré à 500 MHz dans le chloroforme deutéré (Figure V. 3. 2. b) a révélé la présence de sept signaux résonant à champ fort et de multiplicités différentes, dans un intervalle allant de 0,84 à 1,05 ppm, correspondant à sept groupements méthyles. Quatre apparaissent sous forme de singulets à 0,84, 0,93, 0,99 et 1,02 ppm, les trois autres sous forme de doublets résonant à δ_H 0,9 (3H, *d*, $J = 6,7$ Hz), δ_H 1,05 (3H, *d*, $J = 6,6$ Hz) et δ_H 1,06 (3H, *d*, $J = 6,6$ Hz). Comme pour le composé SU1 décrit

Etude phytochimique de l'espèce *S. undulata* ssp. *alexandrina*

précédemment, la détection de ces signaux dans cette zone permet également d'attribuer une nature triterpénique pour ce composé qui est aussi porteur d'un groupement hydroxylé en C-3 comme l'atteste la présence d'un signal doublet de doublet ($J = 11, 4,1$ Hz) s'intégrant pour un proton à 3,32 ppm. Outre les signaux doublets de méthyles cités plus haut, l'observation de deux signaux fortement blindés résonant à δ_H 0,36 (1H, *sl*) et 0,58 (1H, *sl*) très caractéristiques de deux protons exo et endo d'un noyau cyclopropane tétrasubstitué, permet d'attester que notre triterpène est à squelette cycloartanol [66].

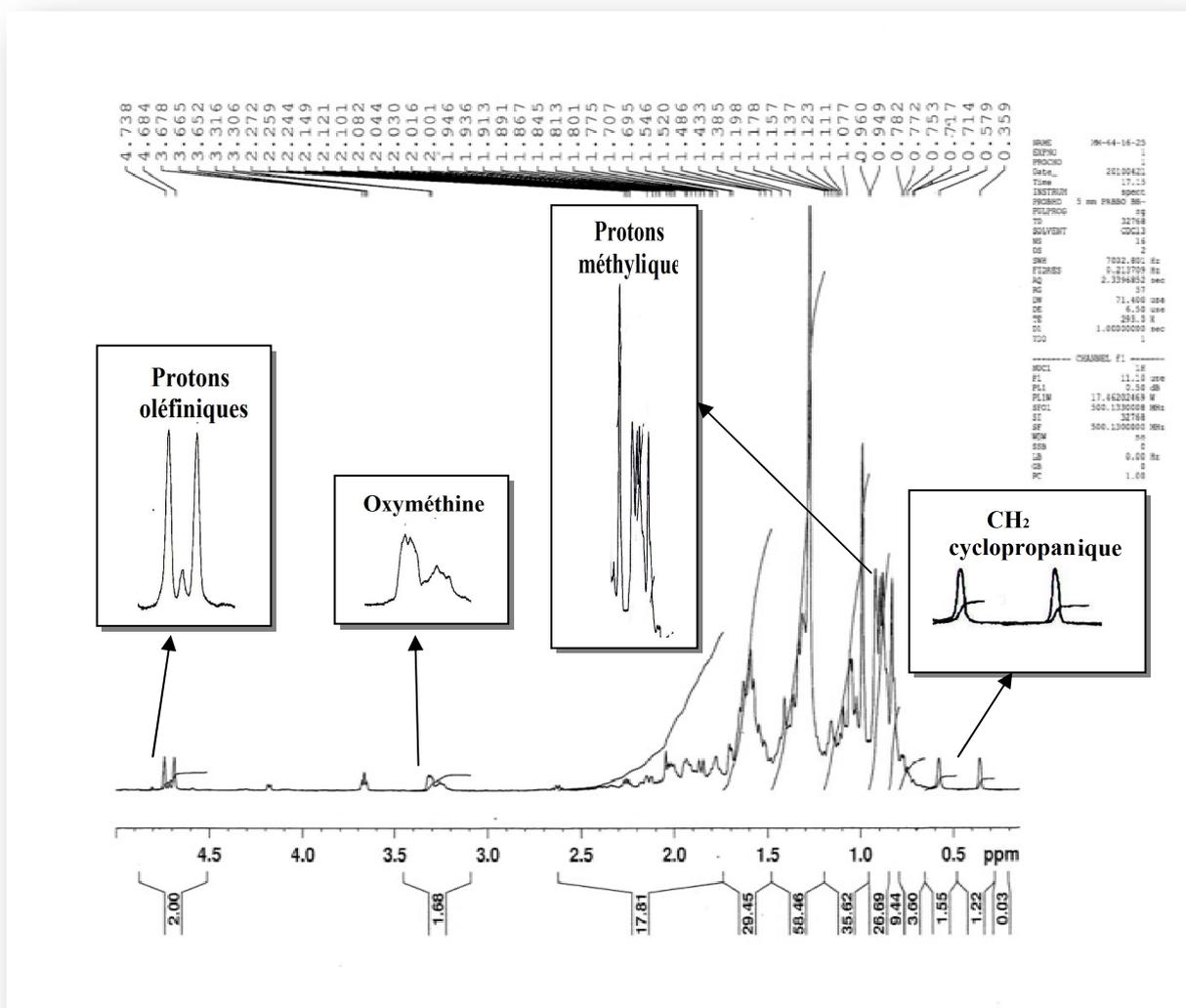


Figure V. 3. 2. b : Spectre RMN 1H du composé SU2

Le spectre RMN 1H montre également, dans la région déblindée, la présence de deux signaux sous forme de larges singulets à 4,69 et 4,74 ppm, attribuables à deux protons d'un groupement CH_2 oléfinique, assurant l'existence d'une double liaison exocyclique.

Le spectre RMN ^{13}C (Figure V. 3. 2. c) confirme la nature triterpénique du composé et cela par l'observation de signaux correspondant à sept méthyles, douze méthylènes, six méthines et six carbones quaternaires. On identifie aisément les signaux des deux carbones

oléfiniques à 156,9 et 105,9 ppm, de même que le signal du carbone oxyméthine repéré à 78,8 ppm.

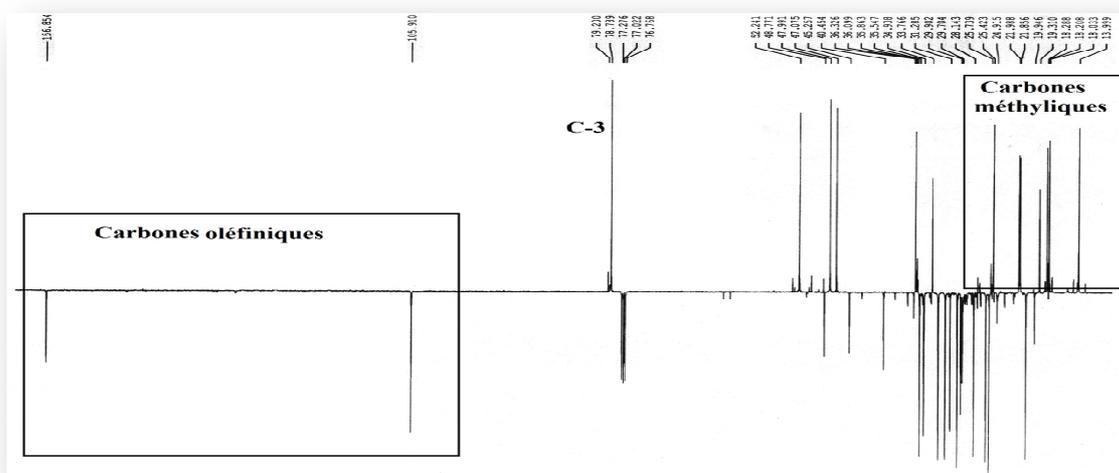


Figure V. 3. 2. c : Spectre RMN ^{13}C J -modulé du composé SU2

Comme pour le composé **SU1** décrit précédemment, l'analyse du spectre HMBC (Figure V. 3. 2. d) a apporté plus de précision sur la répartition des carbones et cela par l'analyse des corrélations observées à partir des groupements méthyles. En effet, ce spectre montre des corrélations C-H en 3J entre le carbone C-3 (δ_{C} 78,8) et les protons méthyliques localisés à δ_{H} 0,99 (Me-28) et δ_{H} 0,84 (Me-29). Ces protons corrént également avec les carbones C-4 (δ_{C} 40,4) et C-5 (δ_{C} 47,1). Ce dernier corrént avec les deux protons H-19 localisés à δ_{H} 0,36 (*sl*, H-19 exo) et 0,58 (*sl*, H-19 endo) du cyclopropane, eux même donnant des couplages en 2J (Figure V. 3. 2. 1) avec les carbones quaternaires C-9 (δ_{C} 20), C-10 (δ_{C} 26) et en 3J avec les deux carbones secondaires C-1 (δ_{C} 31,9), C-11 (δ_{C} 26,4) et le carbone quaternaire C-8 sortant à 48 ppm qui corrént à son tour avec les protons du groupement méthyle Me-30 (δ_{H} 0,93, *s*). Partant de ce dernier, on identifie le carbone secondaire C-15 (δ_{C} 35,5) et les deux carbones quaternaires C-14 (δ_{C} 48,8) et C-13 (δ_{C} 45,3) qui corrént avec des protons d'un groupement méthyle ne pouvant être que Me-18 (δ_{H} 1,02, *s*). Les corrélations observées à partir de ce groupement, permettent de caractériser les carbones C-12 (δ_{C} 32,8) et C-17 (δ_{C} 52,2).

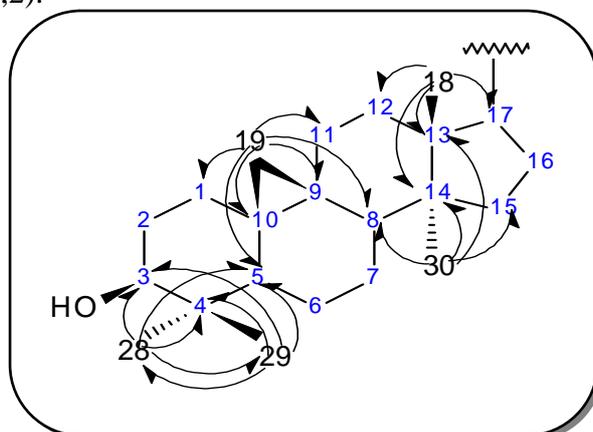


Figure V. 3. 2. 1 : Corrélations HMBC observées pour le composé SU2

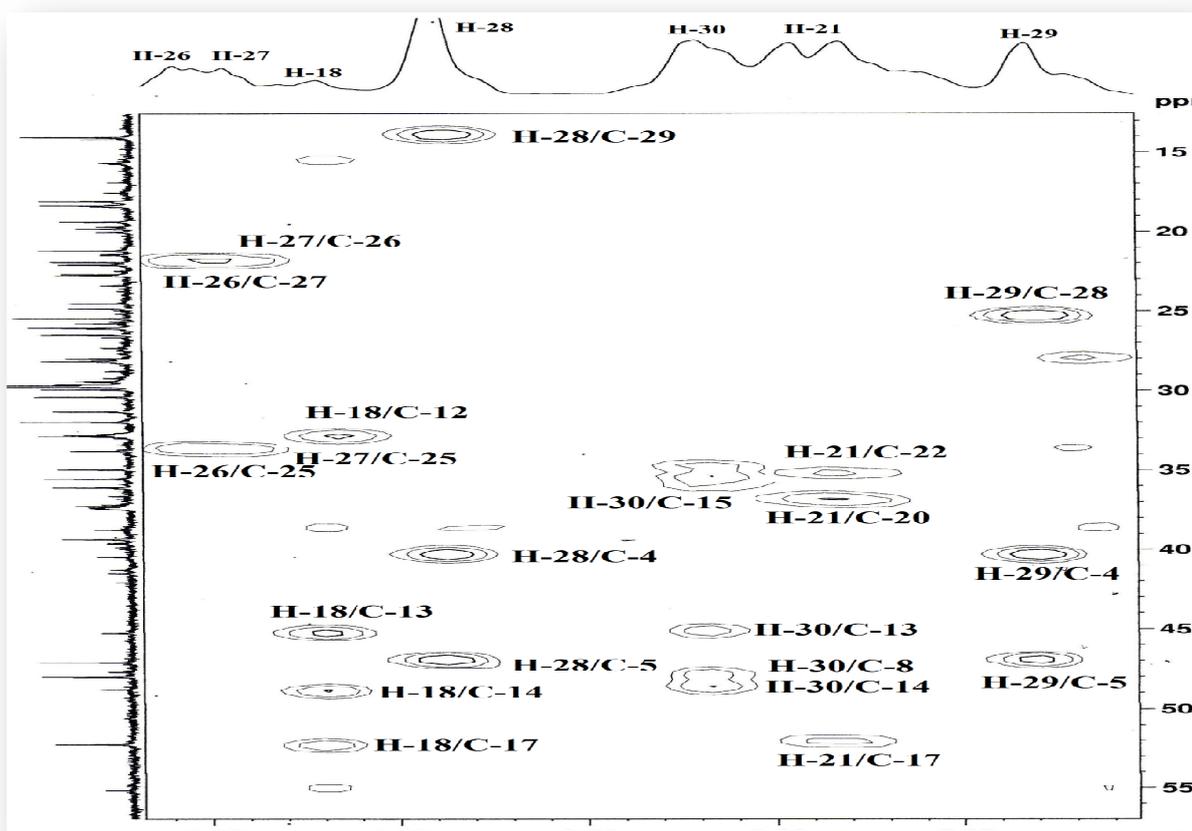


Figure V. 3. 2. d : Spectre HMBC du composé SU2

Les corrélations observées à partir des signaux doublets des protons de groupements méthyles (Me-21, Me-26 et Me-27) et singulets larges du groupement CH₂ oléfinique (H-31a et H-31b) permettent de caractériser tous les protons et carbones constituant la chaîne latérale du composé (Figure V. 3. 2. 2). On identifie ainsi les corrélations entre :

- les protons du groupement méthyle Me-21 et les carbones C-17 (δ_C 52,2), C-20 (δ_C 36,1) et C-22 (δ_C 34,9).
- les protons oléfiniques H-31a (δ_H 4,74), H-31b (δ_H 4,69) décrits précédemment et les carbones C-23 (δ_C 31,3) et C-25 (δ_C 33,8).
- les protons méthyliques Me-26 et Me-27 et le carbone quaternaire C-24 (δ_C 156,9) ainsi que le méthine C-25 (δ_C 33,8).

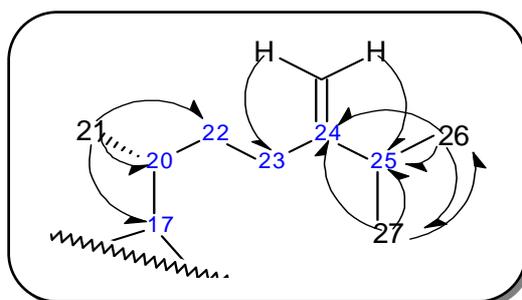


Figure V. 3. 2. 2 : Corrélations HMBC observées pour la chaîne latérale du composé SU2

Etude phytochimique de l'espèce *S. undulata* ssp. *alexandrina*

La présence de cette chaîne latérale déduite des données HMBC, est confirmée par analyse du spectre COSY H-H (Figure V. 3. 2. e). Ce dernier montre les couplages attendus entre les protons du méthyle Me-21 et le proton H-20, les protons H-22 et les protons H-23, les protons méthyliques Me-26, Me-27 et le proton H-25. Une corrélation entre les protons oléfiniques H-31a et H-31b est également mise en évidence (Figure V. 3. 2. 3).

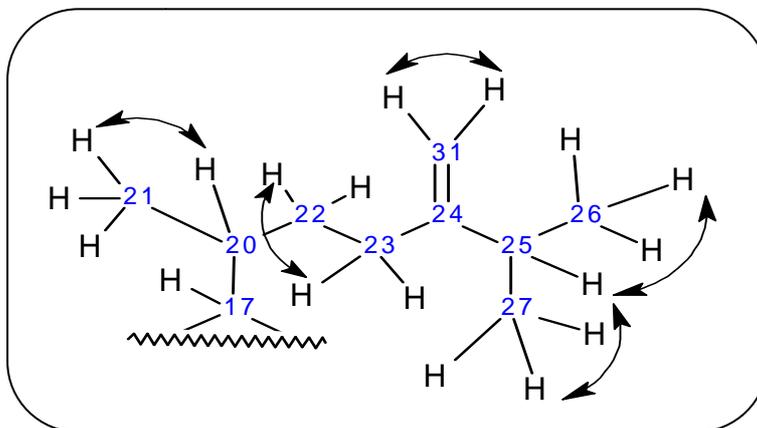


Figure V. 3. 2. 3: Corrélations COSY H-H observées pour la chaîne latérale du composé SU2

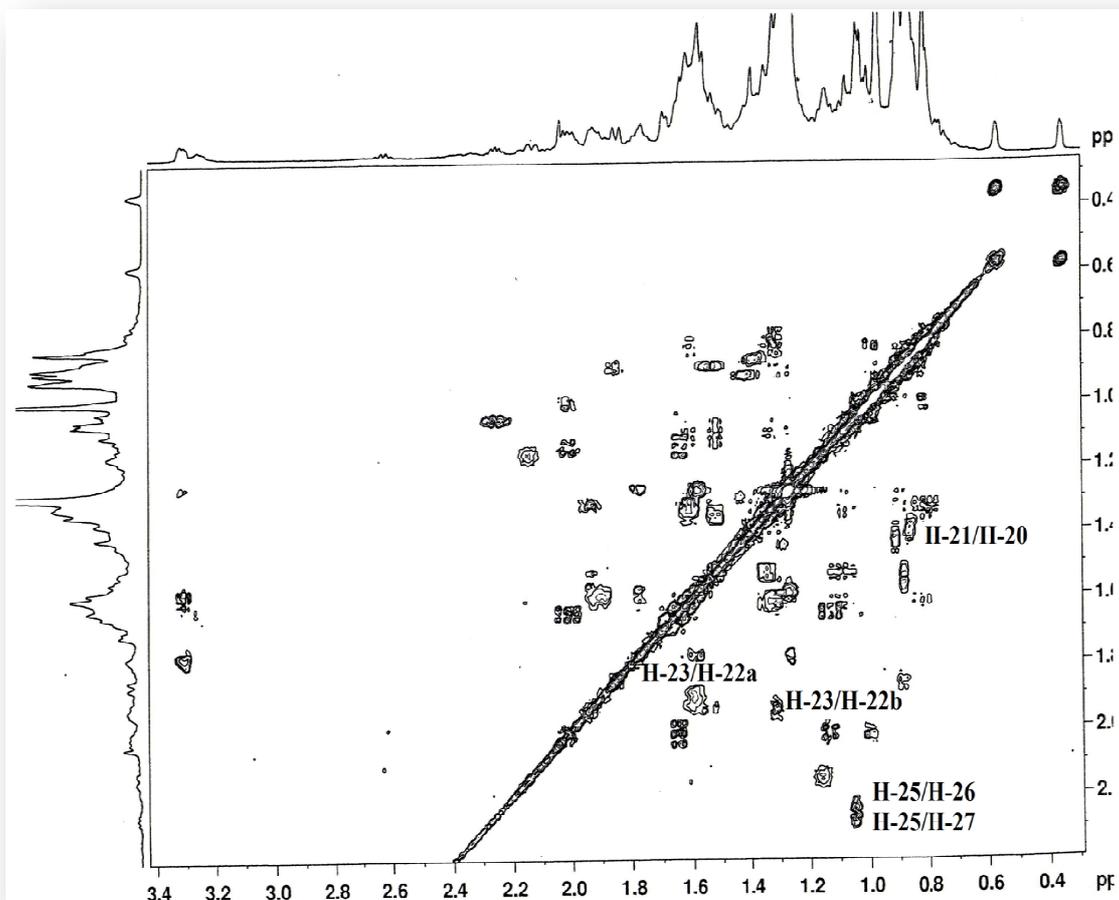


Figure V. 3. 2. e : Spectre COSY H-H du composé SU2

L'analyse conjointe des spectres COSY H-H et HSQC (Figure V. 3. 2. f) permet l'identification des protons et carbones non encore attribués. Les carbones méthyliques sont aisément identifiés à travers les couplages HSQC qu'ils présentent avec leurs protons préalablement identifiés par HMBC. La détermination du carbone C-16 (28,10 ppm) est due à la corrélation qu'il présente avec deux protons sortant à 1,93 et 1,31 ppm sur le spectre HSQC. Ces derniers ont été identifiés par expérience COSY H-H sur la base de leur corrélation avec le proton H-17 (δ_H 1,62) préalablement assigné par HMBC. De la même manière, le carbone C-7 a été caractérisé de par sa corrélation HSQC avec le proton H-7a (δ_H 1,35) préalablement mis en évidence du fait de son couplage COSY H-H avec le proton H-8 sortant à 1,53 ppm identifié précédemment. Les carbones C-6 (21,1 ppm) et C-2 (30,3 ppm) ont été assignés de manière similaire.

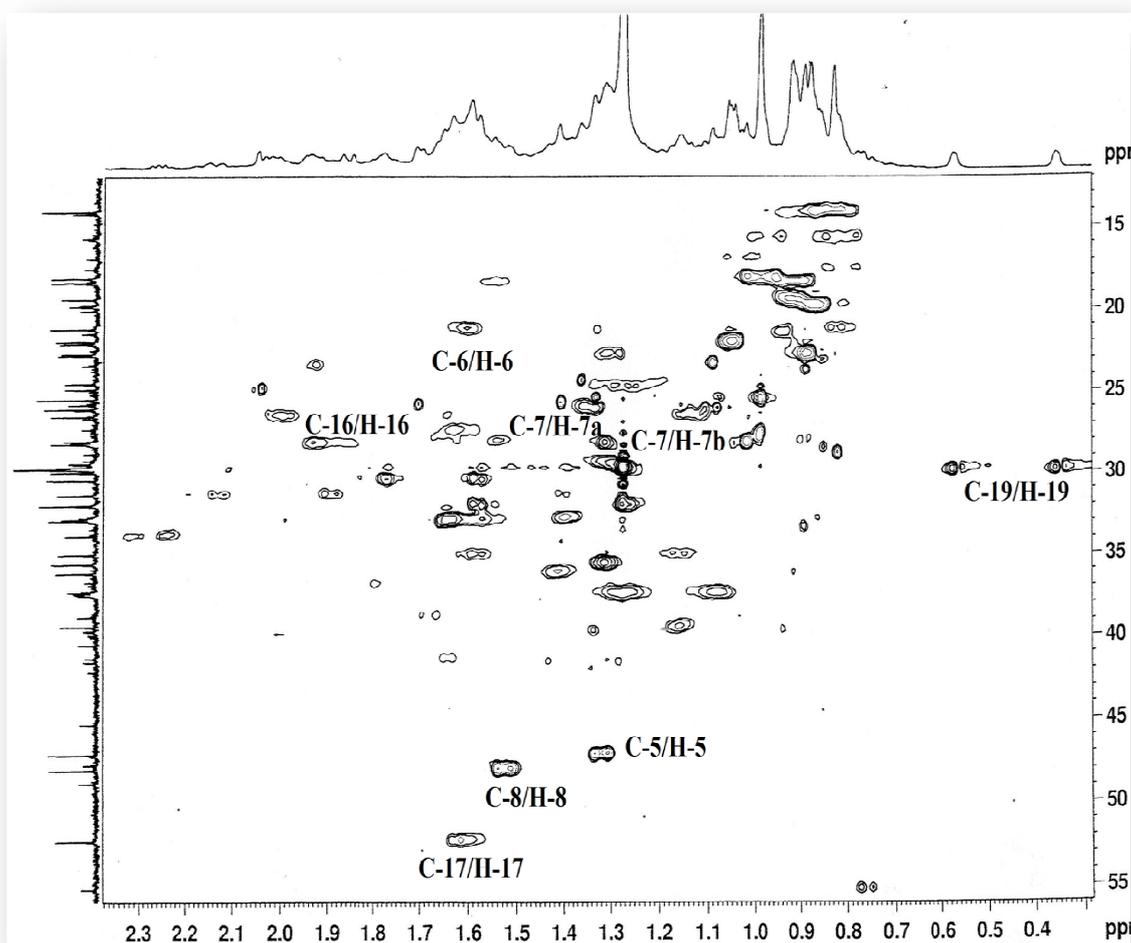


Figure V. 3. 2. f : Spectre HSQC du composé SU2

La structure plane (Figure V. 3. 2. 4) proposée pour le composé SU2 étant clairement démontrée par l'exploitation de toutes ces données spectroscopiques (RMN, MS), il nous fallait démontrer sa stéréochimie pour confirmer qu'il s'apparente bel et bien à un composé naturel décrit dans la littérature et nommé 24-méthylèncycloartanol [67].

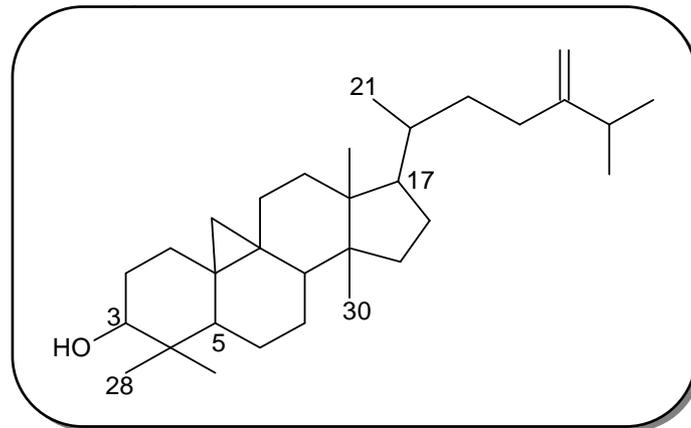


Figure V. 3. 2. 4 : Structure plane du composé SU2

La stéréochimie de ce composé a été établie en analysant les corrélations observées sur le spectre NOESY (Figure V. 3. 2. g). Le proton H-3 d'orientation α (δ_H 3,32, *dd*, $J = 11$ 4,1 Hz) est pris comme point de référence. Les effets NOE qu'il présente avec les protons H-5 (δ_H 1,32) et H-28 (δ_H 0,99) indiquent qu'ils sont également α orientés. L'orientation α du groupement méthyle Me-30 se trouve confirmée du fait de sa corrélation avec le proton H-5. Les effets NOE observés entre les protons Me-30, H-17 et Me-21 traduisent leur α orientation.

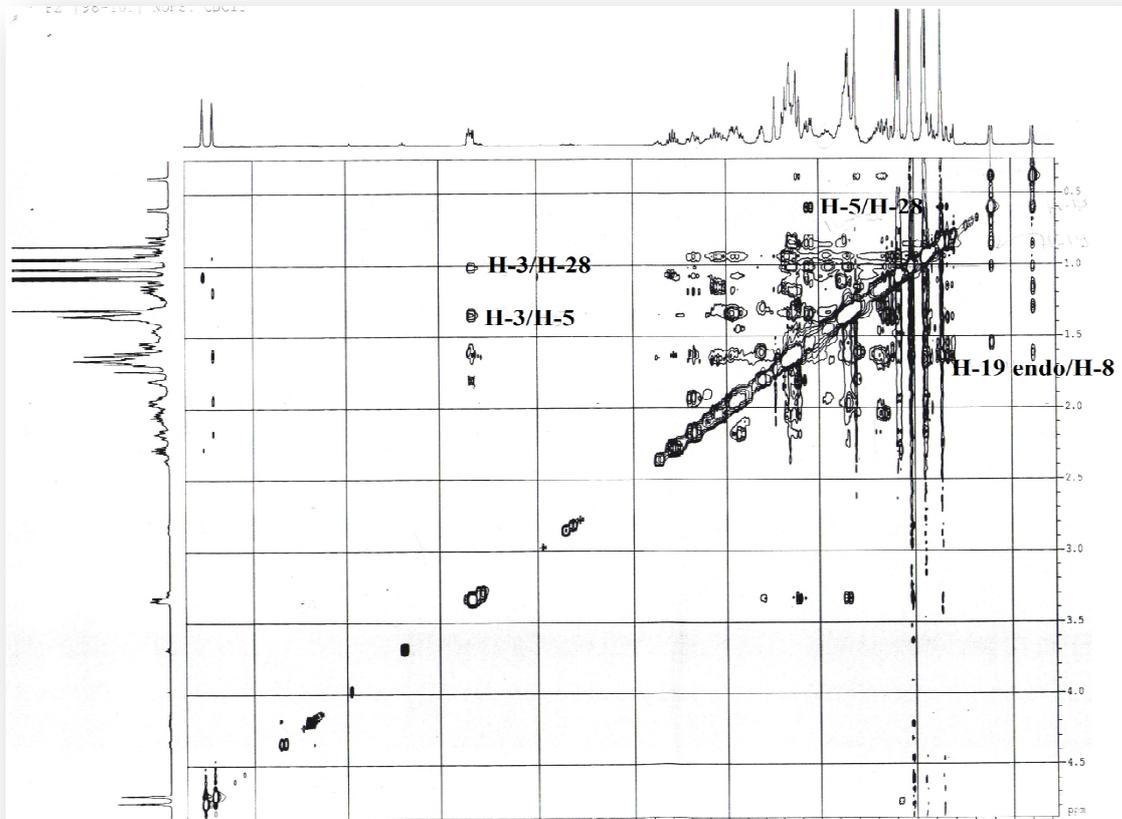


Figure V. 3. 2. g : Spectre NOESY du composé SU2

Etude phytochimique de l'espèce *S. undulata* ssp. *alexandrina*

L'orientation β du cycle cyclopropane est prise conventionnellement car adoptée pour un nombre important de composés naturels à squelette 9,19-cyclotriterpénoïde [68]. Les corrélations observées entre les protons H-19 endo et exo faisant partie du noyau cyclopropanique et les groupements Me-18 et Me-29 suggèrent une β orientation pour ces derniers (Figure V. 3. 2. 5).

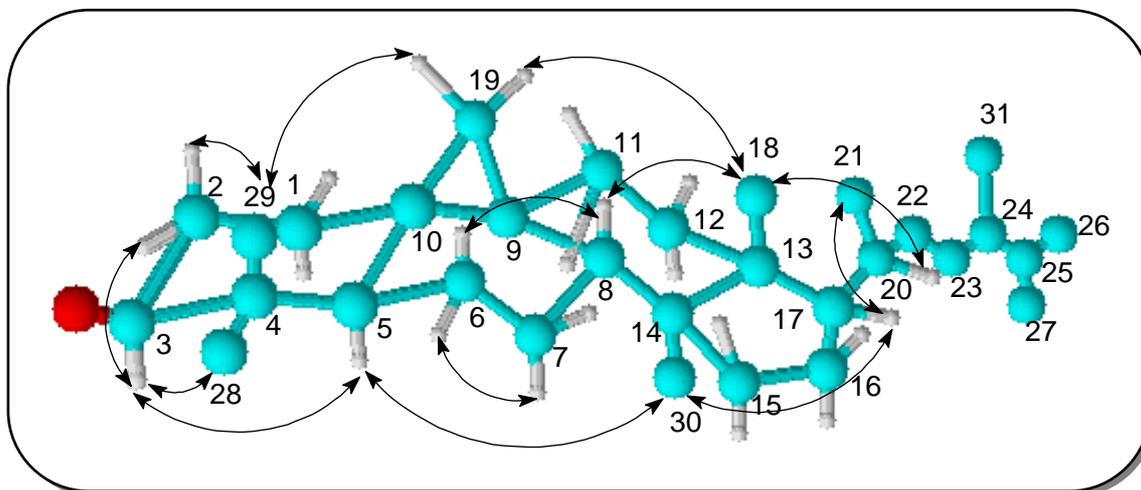
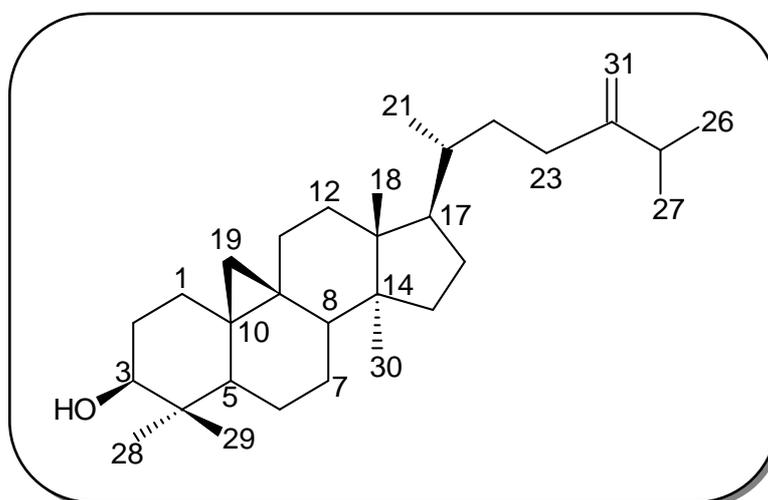


Figure V. 3. 2. 5 : Corrélations NOESY observées pour le composé SU2

L'ensemble de toutes ces données, la valeur du pouvoir rotatoire ($[\alpha]_D = +39,9^\circ$, $C = 0,99$ dans CHCl_3) ainsi que la comparaison avec les résultats de la littérature [66], nous ont permis d'identifier sans équivoque le composé **SU2** au 24-méthylèncycloartanol.



24-méthylèncycloartanol

Les déplacements chimiques des protons et carbones qui ont permis de déduire la structure exacte du composé **SU2** sont rassemblés dans le tableau V. 3. 2.

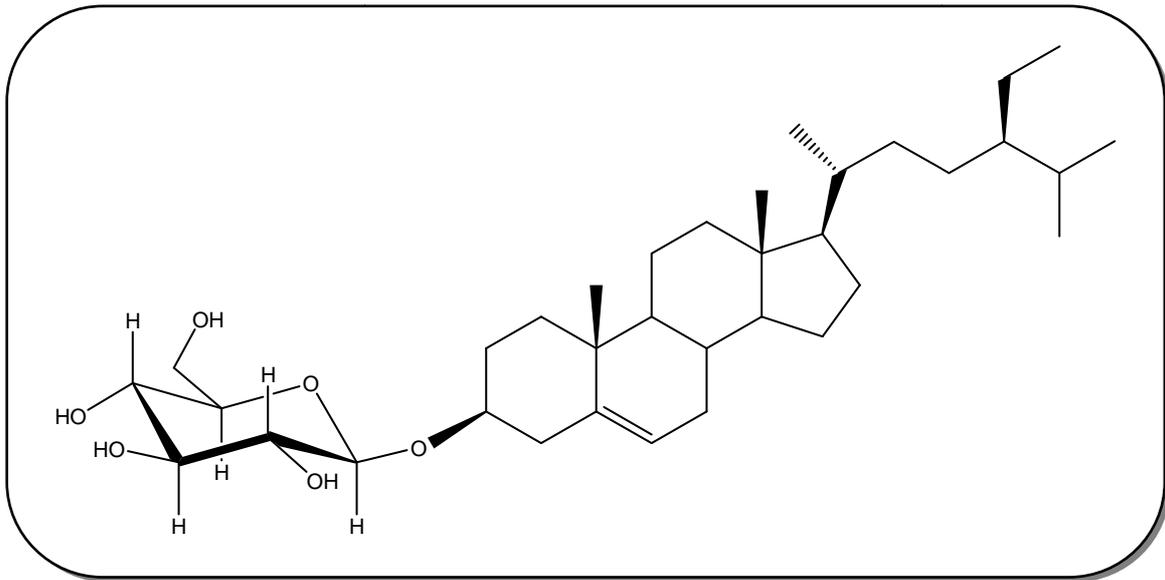
Travaux personnels

Etude phytochimique de l'espèce *S. undulata* ssp. *alexandrina*

Tableau V. 3. 2 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (500 MHz) et RMN ^{13}C (125 MHz) du composé SU2 dans CDCl_3 .

Position	J-mod	$\delta_{\text{H}} m J$ (Hz)	δ_{C}
1	CH ₂	1,59 <i>m</i> H-1a 1,28 <i>m</i> H-1b	31,9
2	CH ₂	1,77 <i>m</i> H-2a 1,58 <i>m</i> H-2b	30,3
3	CH	3,32 <i>dd</i> , 11 ; 4,1 H-3 α	78,8
4	C	-	40,4
5	CH	1,32 <i>m</i> H-5 α	47,1
6	CH ₂	1,60 <i>m</i> H-6a 0,83 <i>m</i> H-6b	21,1
7	CH ₂	1,35 <i>m</i> H-7a 1,15 <i>m</i> H-7b	26
8	CH	1,53 <i>dd</i> , 12,6; 4,4 H-8 β	48
9	C	-	20
10	C	-	26
11	CH ₂	1,99 <i>m</i> H-11a 1,16 <i>m</i> H-11b	26,4
12	CH ₂	1,64 <i>m</i>	32,8
13	C	-	45,3
14	C	-	48,8
15	CH ₂	1,31 <i>m</i>	35,5
16	CH ₂	1,93 <i>m</i> H-16 a 1,31 <i>m</i> H-16b	28,1
17	CH	1,62 <i>m</i> H-17 α	52,2
18	CH ₃	1,02 <i>s</i>	18
19	CH ₂	0,36 <i>sl</i> H-19 exo 0,58 <i>sl</i> H-19 endo	29,9
20	CH	1,41 <i>m</i> H-20	36,1
21	CH ₃	0,9 <i>d</i> , 6,7	18,3
22	CH ₂	1,59 <i>m</i> H-22a 1,15 <i>m</i> H-22b	34,9
23	CH ₂	2,13 <i>m</i> H-23a 1,89 <i>m</i> H-23b	31,3
24	C	-	156,9
25	CH	2,24 <i>sept</i> , 6,9	33,8
26	CH ₃	1,05 <i>d</i> , 6,6	21,8
27	CH ₃	1,05 <i>d</i> , 6,6	22
28	CH ₃	0,99 <i>s</i>	25,4
29	CH ₃	0,84 <i>s</i>	14
30	CH ₃	0,93 <i>s</i>	19,3
31	CH ₂	4,74 <i>sl</i> H-31a 4,69 <i>sl</i> H-31b	105,9

V. 3. 3. Détermination structurale du composé SU3



Les spectres de masse ESI de ce composé, enregistrés en modes positif (Figure V. 3. 3. a. 1) et négatif (Figure V. 3. 3. a. 2), montrent des pics d'ions pseudo-moléculaires à $m/z = 599$ $[M+Na]^+$ et 575 $[M-H]^-$, donnant une masse moléculaire égale à 576 uma en accord avec une formule brute en $C_{35}H_{60}O_6$.

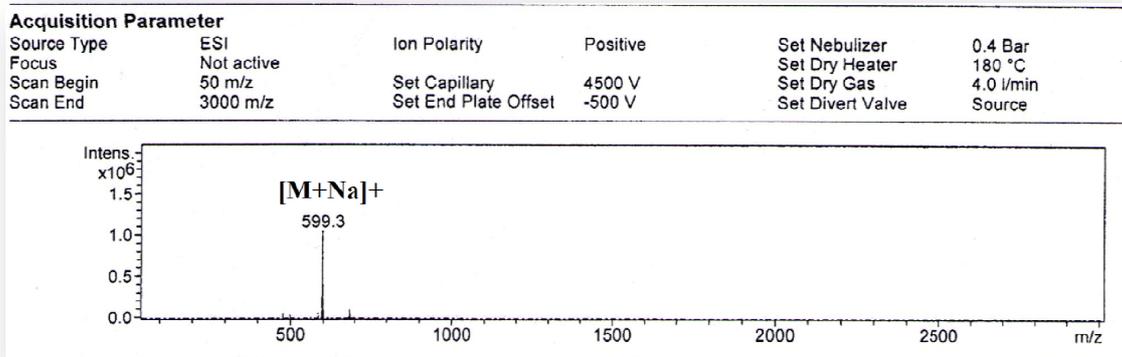


Figure V. 3. 3. a. 1 : Spectre de masse ESI (mode positif) du composé SU3

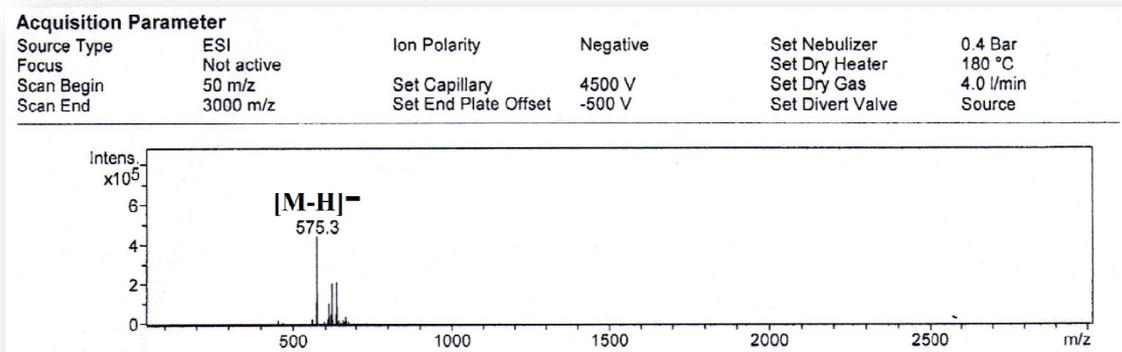


Figure V. 3. 3. a. 2 : Spectre de masse ESI (mode négatif) du composé SU3

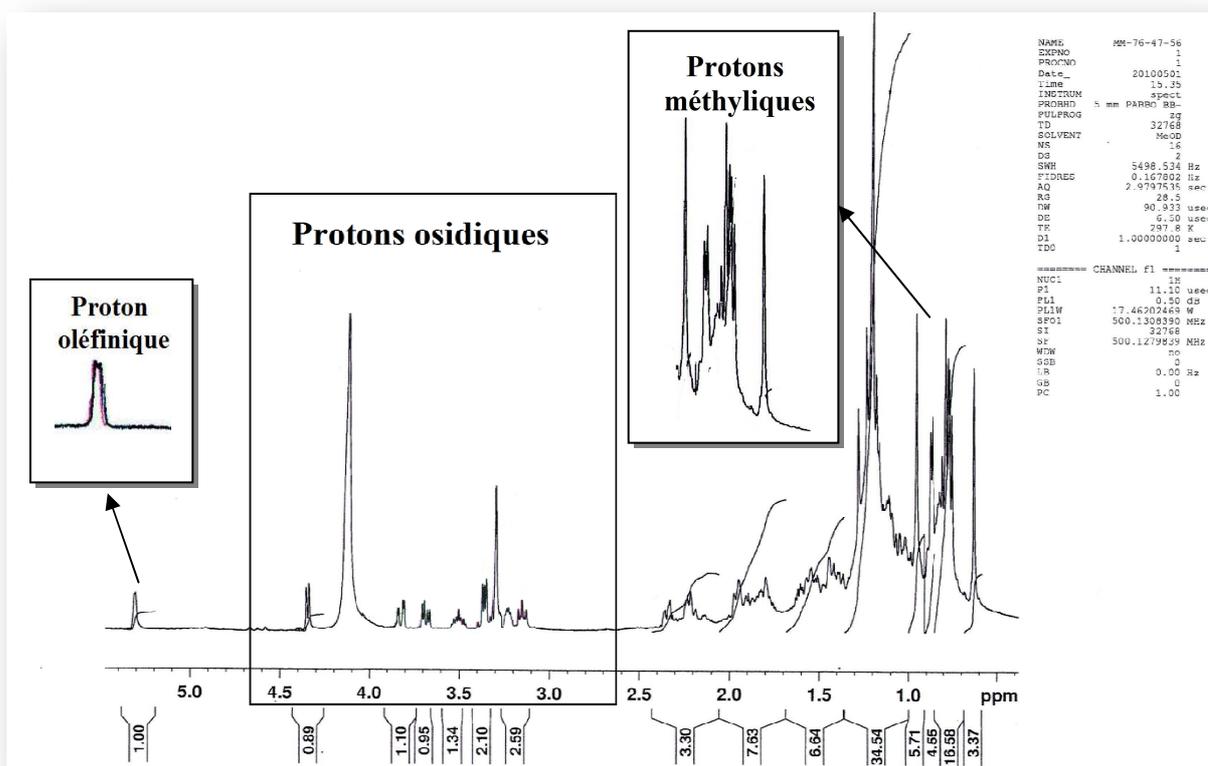
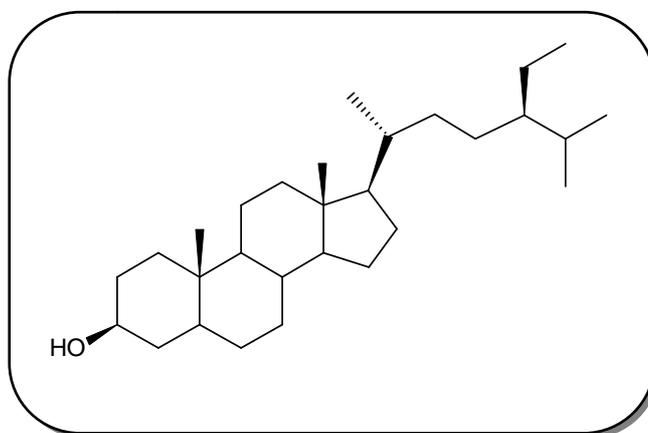


Figure V. 3. 3. b : Spectre RMN ^1H du composé SU3

Comme pour les produits décrits précédemment, l'ensemble des informations récoltées au niveau du spectre RMN ^1H (Figure V. 3. 3. b) montre que ce composé fait également partie de la classe des triterpènes, notamment en raison de la présence de six signaux à haut champ d'intégration 3H chacun correspondant à des groupements méthyliques repérés à 0,61 (s), 0,95 (s), 0,75 (d, $J = 6,7$ Hz), 0,76 (d, $J = 6,7$ Hz), 0,85 (d, $J = 6$ Hz) et 0,80 ppm (t, $J = 7,5$ Hz). En outre, l'observation d'un signal multiplet à 3,53 ppm attribuable au proton H-3 ainsi que d'un signal de proton oléfinique à δ_{H} 5,30 (1H, dl, $J = 5$ Hz) atteste de l'appartenance de ce composé à la famille des stérols.



Squelette stérol

Etude phytochimique de l'espèce *S. undulata* ssp. *alexandrina*

Ce spectre suggère aussi l'existence d'une unité osidique en raison du nombre de signaux résonnant entre 3 et 4 ppm et d'un signal doublet (1H, $J = 7,8$ Hz) localisé à 4,35 ppm caractéristique d'un proton anomère de sucre (Figure V. 3. 3. b').

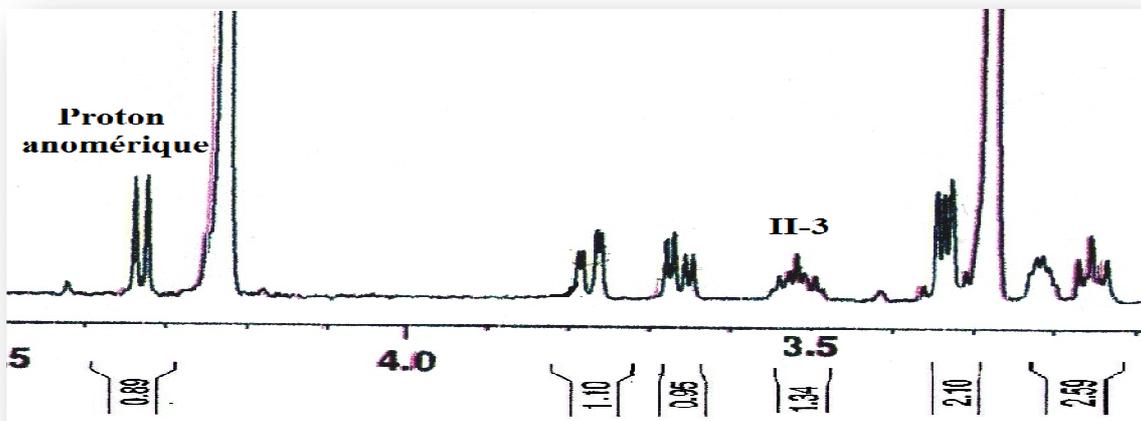


Figure V. 3. 3. b' : Spectre RMN ^1H de la zone osidique du composé SU3

Les données obtenues par l'analyse du spectre RMN ^{13}C (Figure V. 3. 3. c) confirment bien nos hypothèses en ce qui concerne la génine avec la localisation :

- de six carbones méthyliques à (δ_{C} 12), (δ_{C} 12,1), (δ_{C} 18,9), (δ_{C} 19,1), (δ_{C} 19,4) et (δ_{C} 19,9).
- d'un carbone oxyméthine à 79,3 ppm attribuable au carbone C-3. La valeur du déplacement chimique de ce dernier indique qu'il est le point de branchement de la génine avec le sucre.
- de deux carbones oléfiniques, l'un quaternaire sortant à δ_{C} 140,8 et un carbone CH à δ_{C} 122,3.

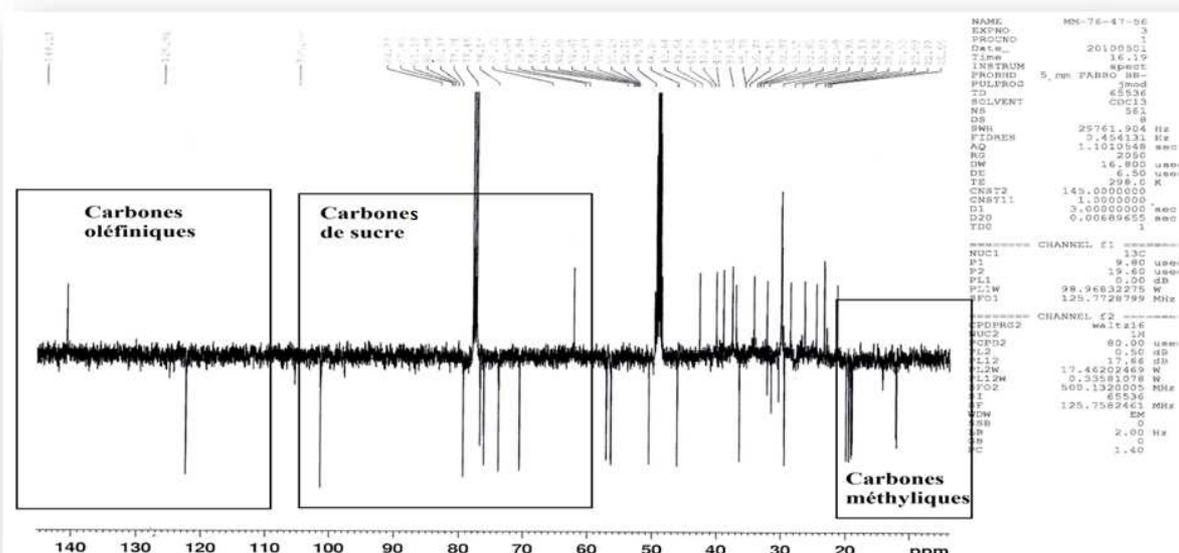


Figure V. 3. 3. c : Spectre RMN du composé SU3

Etude phytochimique de l'espèce *S. undulata* ssp. *alexandrina*

De même que pour l'unité osidique, le spectre RMN ^{13}C (Figure V. 3. 3. c') montre la présence :

- d'un carbone anomérique à δ_{C} 101,3 (C-1').
- de quatre groupements CH à (δ_{C} 70, 5), (δ_{C} 73,8), (δ_{C} 76,1) et (δ_{C} 76,7).
- d'un carbone méthylénique CH_2 sortant à 62 ppm.

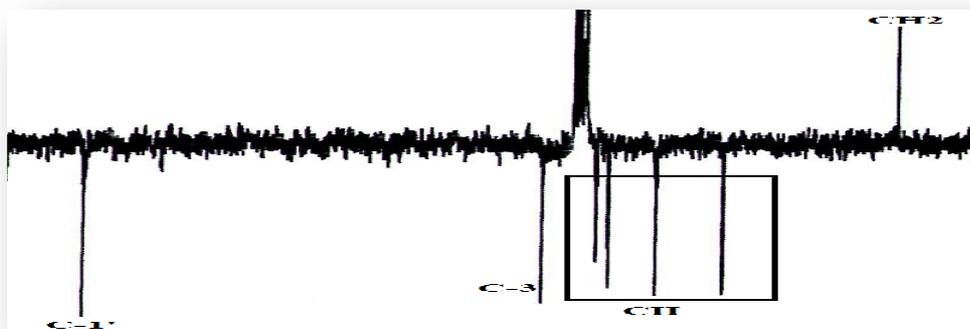


Figure V. 3. 3. c' : Spectre RMN ^{13}C de la zone osidique du composé SU3

L'expérience COSY H-H (Figure V. 3. 3. d') permet l'identification de cette unité osidique par l'observation des corrélations entre les différents protons. Partant du proton anomère H-1' (δ_{H} 4,35, *d*, $J = 7,8$ Hz), les corrélations mises en évidence entre les protons :

- H-1' et H-2' (δ_{H} 3,19, *t*, $J = 7,8$ Hz).
- H-2' et H-3' (δ_{H} 3,38, *t*, $J = 7,9$ Hz).
- H-3' et H-4' (δ_{H} 3,35, *t*, $J = 7,7$ Hz).
- H-4' et H-5' (δ_{H} 3,23, *m*).
- H-5' et les deux protons H-6'a (δ_{H} 3,81, *dd*, $J = 11,9, 2,9$ Hz) et H-6'b (δ_{H} 3,70, *dd*, $J = 11,9, 4,9$ Hz).

Permettent d'identifier un hexose. Les grandes valeurs de constantes de couplage indiquent qu'il s'agit d'un glucose de configuration β au regard de la constante de couplage $J_{1'-2'}$ égale à 7,8 Hz.

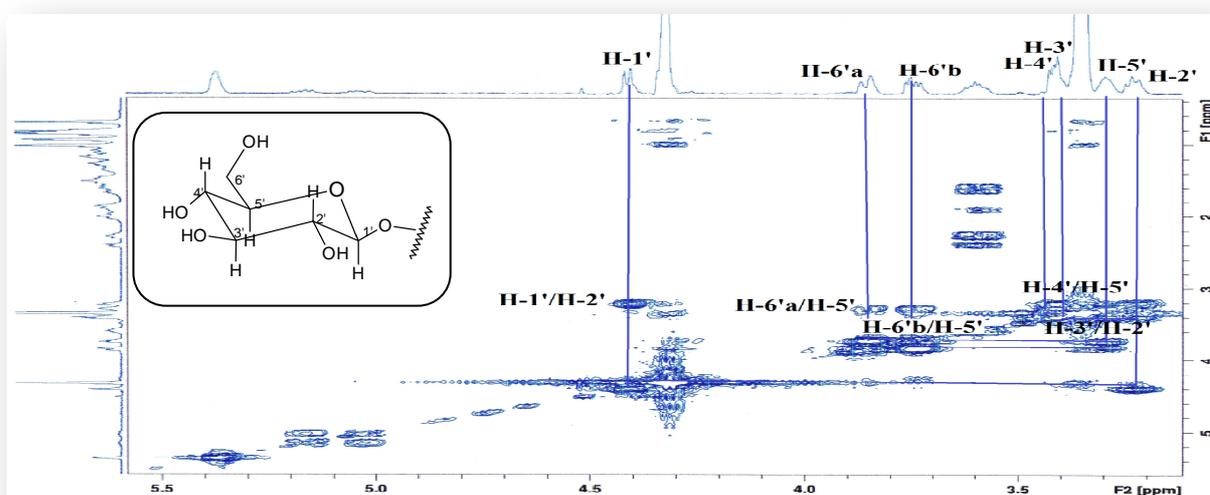


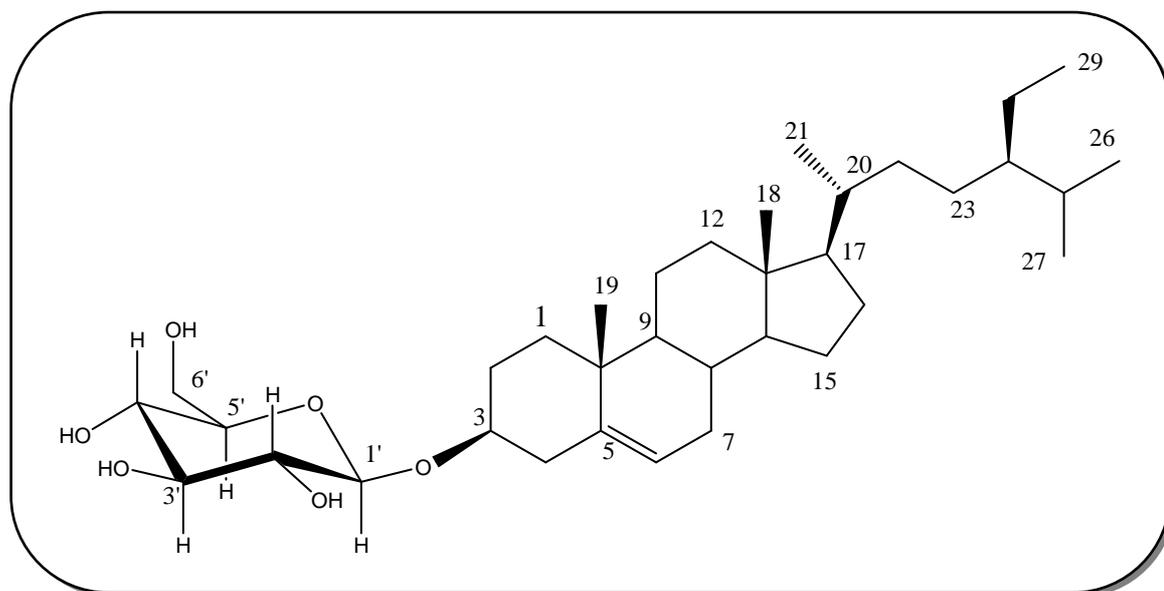
Figure V. 3. 3. d' : Spectre COSY H-H de la zone osidique du composé SU3

Travaux personnels

Etude phytochimique de l'espèce *S. undulata* ssp. *alexandrina*

A l'issue de ces résultats spectraux, de la valeur du pouvoir rotatoire ($[\alpha]_D = -43^\circ$, $C = 1,9$ g/100 ml dans CHCl_3) et de la comparaison avec les données de la littérature [69, 70], le composé **SU3** est identifié sans ambiguïté au 3β -D-glucopyranosyl β -sitostérol communément appelé Daucostérol [71].

Des études réalisées sur ce composé montrent qu'il présente des propriétés anti-inflammatoire, anti-cholestérol [72] et immunomodulatrice [73]. Il est également utilisé dans le traitement de l'hyperplasie de la prostate [74] et joue un rôle dans le renforcement du système immunitaire (tuberculose, VIH,...) [75].



3 β -D-glucopyranosyl β -sitostérol

Le tableau (V. 3. 3) englobe les déplacements chimiques des protons et carbones de ce composé.

Tableau V. 3. 3: Déplacements chimiques en RMN ^1H (500 MHz) et RMN ^{13}C (125 MHz) du composé SU3 dans CDCl_3

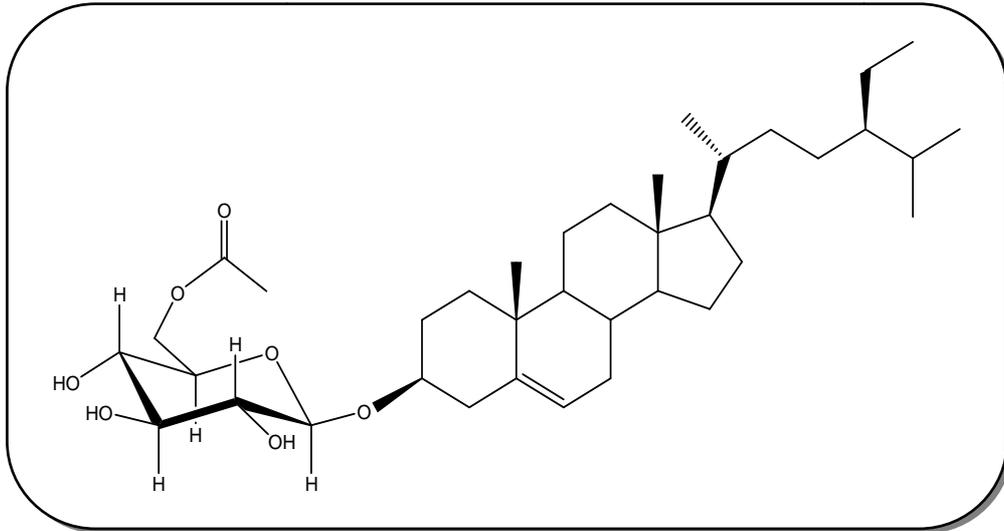
β-D-glucose			
Position	J-mod	δ_{H} m J (Hz)	δ_{C}
1'	CH	4,35 d, 7,8	101,3
2'	CH	3,19 t, 7,8	73,8
3'	CH	3,38 t, 7,9	76,7
4'	CH	3,35 t, 7,7	70,5
5'	CH	3,23 m	76,1
6'	CH ₂	3,81 dd, 11,9; 2,9 H-6'a 3,70 dd, 11,9; 4,9 H-6'b	62

Travaux personnels

Etude phytochimique de l'espèce *S. undulata* ssp. *alexandrina*

Génine			
Position	J-mod	δ_H <i>m J</i> (Hz)	δ_C
1	CH ₂	1,86 <i>m</i> H-1a 1,09 <i>m</i> H-1b	37,5
2	CH ₂	1,91 <i>m</i> H-2a 1,36 <i>m</i> H-2b	29,8
3	CH	3,53 <i>m</i> H-3 α	79,3
4	CH ₂	2,37 <i>dd</i> , 15, 5 H-4 α 2,29 <i>t</i> , 10 H-4 β	38,3
5	C	-	140,8
6	CH	5,30 <i>dl</i> , 5	122,3
7	CH ₂	1,96 <i>m</i> H-7a 1,56 <i>m</i> H-7b	32,1
8	CH	1,45 <i>m</i> H-8 β	32,1
9	CH	0,95 <i>m</i> H-9 α	50,4
10	C	-	36,9
11	CH ₂	1,53 <i>m</i> H-11a 1,48 <i>m</i> H-11b	21,2
12	CH ₂	2,1 <i>m</i> H-12a 1,17 <i>m</i> H-12b	40
13	C	-	42,5
14	CH	1,01 <i>m</i> H-14 α	57
15	CH ₂	1,59 <i>m</i> H-15a 1,10 <i>m</i> H-15b	24,5
16	CH ₂	1,85 <i>m</i>	28,4
17	CH	1,15 <i>m</i> H-17 α	56,3
18	CH ₃	0,61 <i>s</i>	12
19	CH ₃	0,95 <i>s</i>	19,4
20	CH	1,36 <i>m</i> H-20	36,3
21	CH ₃	0,85 <i>d</i> , 6	18,9
22	CH ₂	1,35 <i>m</i> H-22a 1,04 <i>m</i> H-22b	34,1
23	CH ₂	1,12 <i>m</i>	26,3
24	CH	0,98 <i>m</i>	46,1
25	CH	1,67 <i>m</i>	29,3
26	CH ₃	0,75 <i>d</i> , 6,7	19,1
27	CH ₃	0,76 <i>d</i> , 6,7	19,9
28	CH ₂	1,28 <i>m</i> H-28a 1,23 <i>m</i> H-28b	23,2
29	CH ₃	0,80 <i>t</i> , 7,5	12,1

V. 3. 4. Détermination structurale du composé SU4



Le spectre de masse du composé **SU4** (Figure V. 3. 4. a) obtenu en mode d'ionisation ESI positive, présente des pics d'ions pseudo-moléculaires $[M+Na]^+$ à $m/z = 641$ et $[M+K]^+$ à $m/z = 657$ indiquant une masse moléculaire égale à 618 uma correspondant à une formule brute en $C_{37}H_{62}O_7$.

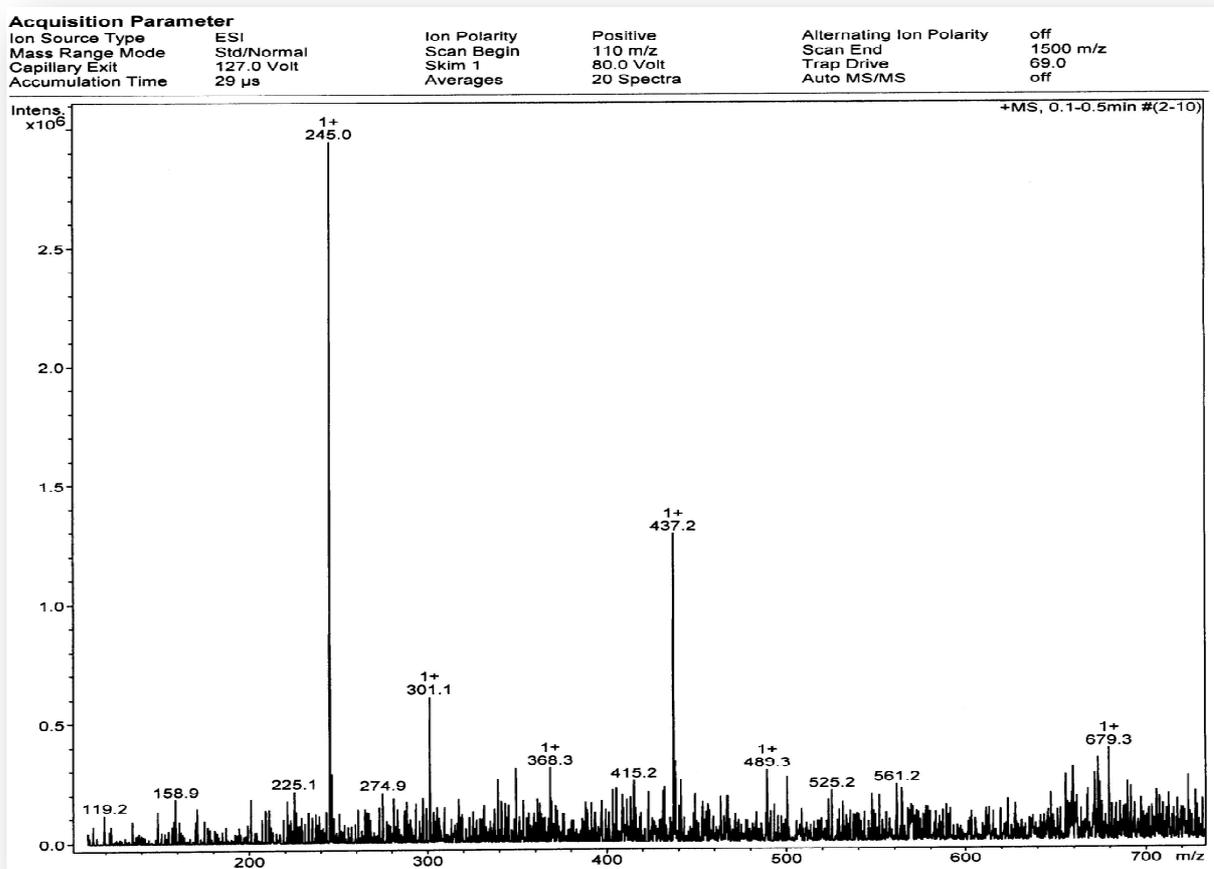


Figure V. 3. 4. a : Spectre de masse ESI (mode positif) du composé SU4

Etude phytochimique de l'espèce *S. undulata* ssp. *alexandrina*

Le spectre RMN ^1H (Figure V. 3. 4. b) de ce composé montre une similitude structurale avec le composé **SU3** décrit précédemment. Il permet tout d'abord de reconnaître tous les signaux de protons caractérisant la génine stéroïdique, à savoir :

- six signaux des six groupements méthyles résonant à δ_{H} 0,67 (3H, *s*, H-18), 1 (3H, *s*, H-19), 0,81 (3H, *d*, $J = 6,8$ Hz, H-26), 0,83 (3H, *d*, $J = 6,8$ Hz, H-27), 0,92 (3H, *d*, $J = 6,2$ Hz, H-21) et 0,87 (3H, *t*, $J = 7,7$ Hz, H-29).
- un signal à 3,60 ppm (1H, *m*) du proton H-3.
- un signal à 5,37 ppm (1H, *dl*, $J = 5,2$ Hz) du proton oléfinique H-6.

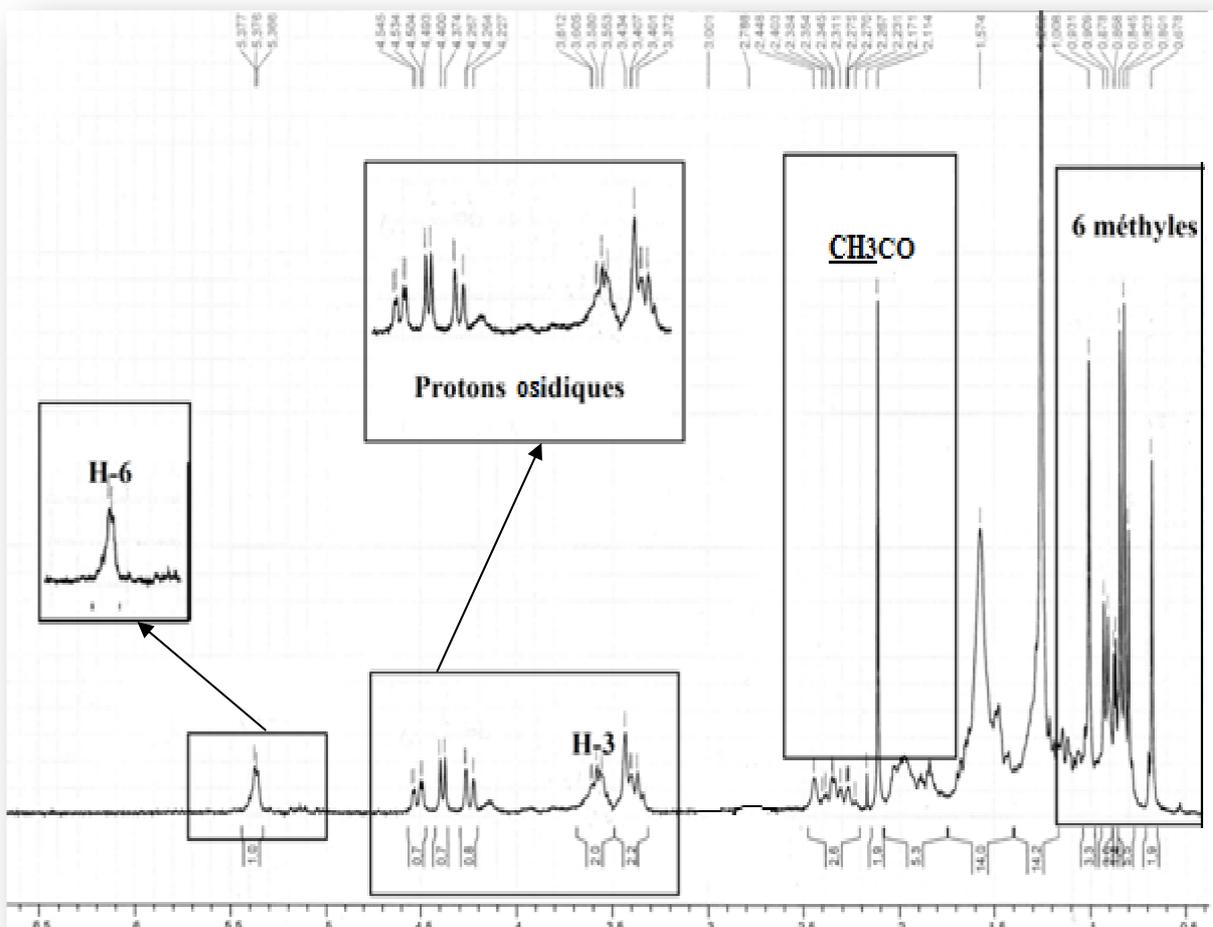


Figure V. 3. 4. b : Spectre RMN ^1H du composé SU4

Le spectre RMN ^1H permet également de reconnaître tous les signaux des protons du glucose substituant la génine. Les différences majeures par rapport au composé SU3 résident d'une part en l'apparition d'un signal singulet d'intégration 3H résonant à 2,11 ppm indiquant la présence d'un groupement acyle CH_3CO et d'autre part au niveau des déplacements chimiques des signaux des protons osidiques H-6'a et H-6'b sortant à 4,51 et 4,25 au lieu de 3,81 et 3,7 ppm observés pour le composé **SU3** (Figure V. 3. 4. c). Ce déblindage indique clairement que le groupement acyle CH_3CO substitue le carbone C-6' du β -D-glucose.

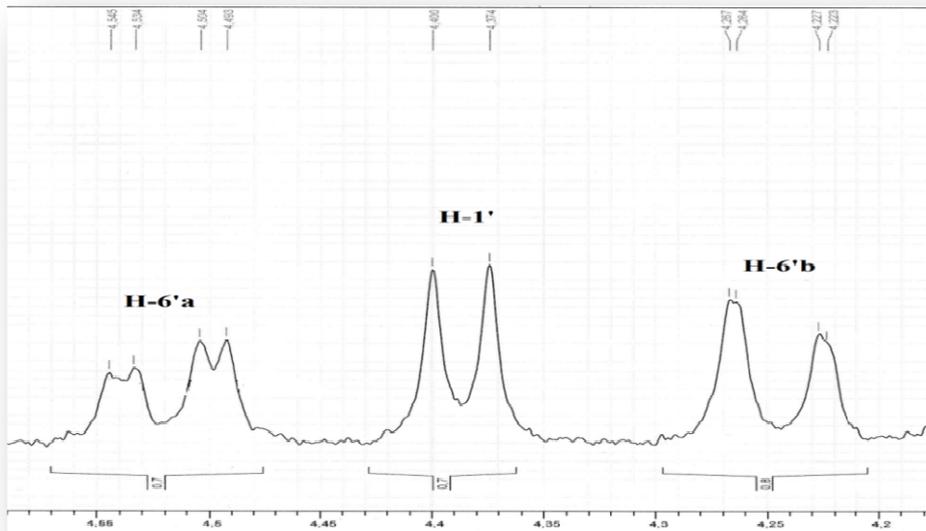
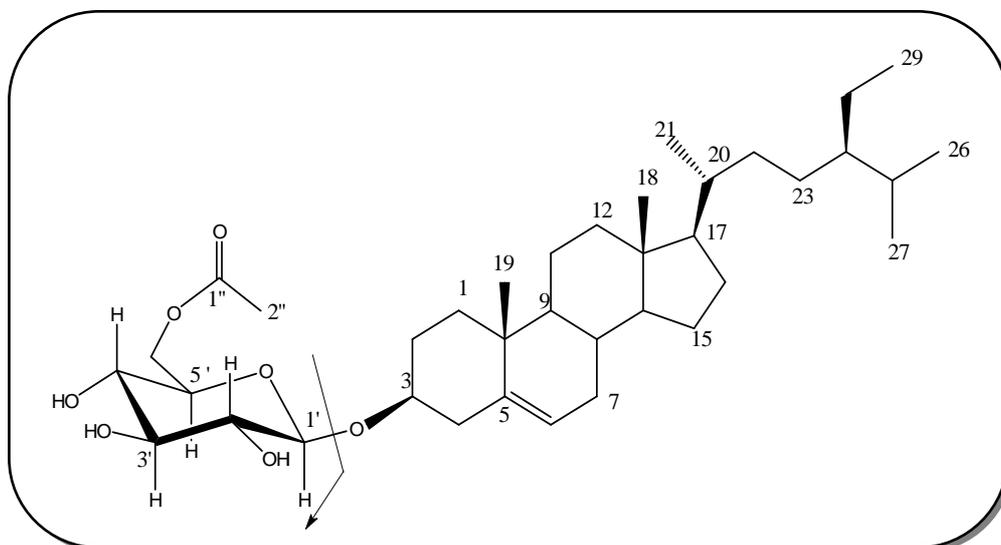


Figure V. 3. 4. c : Spectre RMN ^1H d'une partie de la zone osidique du composé SU4

Ceci est confirmé par le spectre de masse qui montre un pic de fragmentation (100%) à $m/z = 245$ correspondant au groupement [acétyl glucose + K^+] (Figure V. 3. 4. a).



Ces suggestions se trouvent renforcées par l'analyse du spectre RMN ^{13}C (Figure V. 3. 4. d) qui confirme la similitude structurale entre les composés SU4 et SU3. En effet le spectre RMN ^{13}C permet de reconnaître toutes les attributions des carbones établies pour le composé SU3. Cependant, il révèle en outre la présence d'un signal de carbone quaternaire et d'un signal de carbone CH_3 résonant respectivement à 171,5 et 21,5 ppm, confirmant ainsi la présence du groupement CH_3CO .

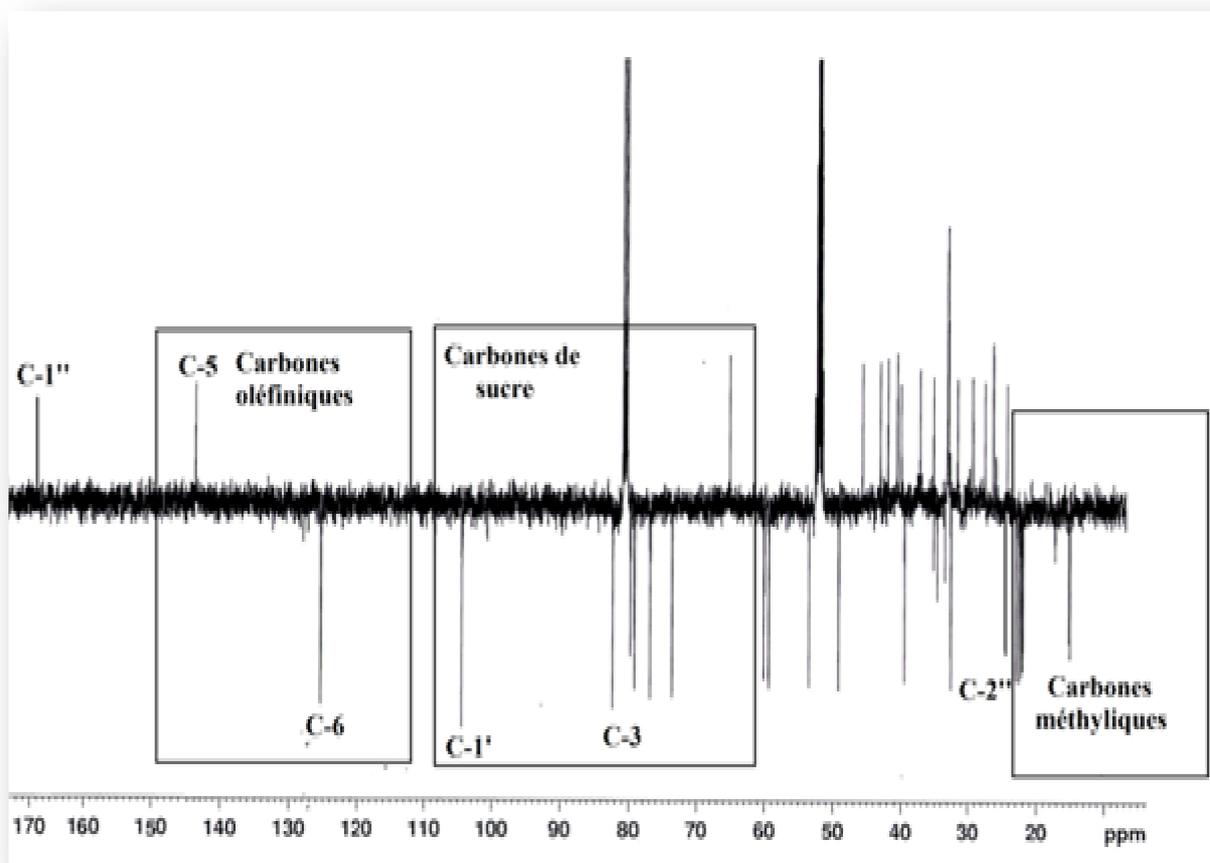
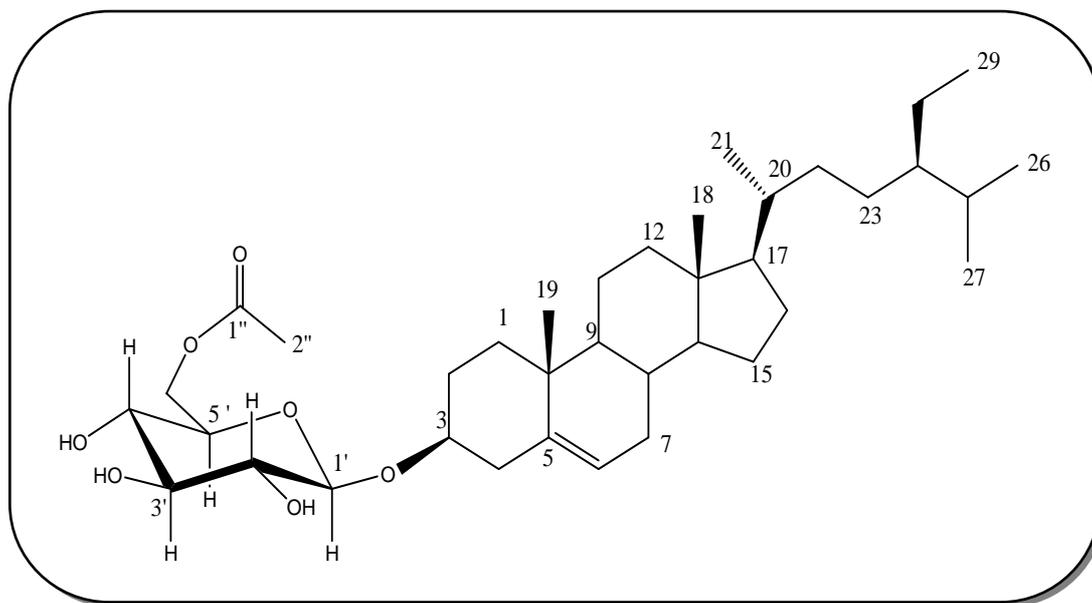


Figure V. 3. 4. d : Spectre RMN ^{13}C du composé SU4

Une comparaison des déplacements chimiques des signaux apparaissant sur ce spectre avec ceux du composé SU3, comme il a été déjà mentionné, confirme une fois de plus la nature de la génine et de l'unité osidique avec la présence de :

- six carbones de groupements méthyliques à δ_{C} 14 (C-18), 22 (C-19), 21,2 (C-21), 22,1 (C-26), 22,4 (C-27) et δ_{C} 15 (C-29), un carbone oxyméthine à δ_{C} 82 (C-3), deux carbones oléfiniques à δ_{C} 144 (C-5) et 125 (C-6).
- un carbone anomérique à δ_{C} 105 (C-1'), quatre carbones CH à δ_{C} 76 (C-2'), 79,1 (C-3'), 73,3 (C-4') et δ_{C} 79 (C-5'), un carbone méthylénique à δ_{C} 65 (C-6').

L'ensemble des données spectrales accumulées, en plus de la valeur du pouvoir rotatoire ($[\alpha]_{\text{D}} = -11,9^{\circ}$, $C=0,14$ dans CHCl_3), confirme que le présent composé s'apparente et est totalement identique au 3-O-(6-O-acetyl- β -D-glucopyranosyl) β -sitostérol ou stigmast-5-èn-3-ol, antérieurement isolé des fruits et graines d'une plante médicinale asiatique de la famille Myricaceae nommée *Myrica rubra* [76]. Il est décrit pour la première fois dans la famille Asteraceae en général et le genre *Scorzonera* en particulier.



3-O-(6-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl) β-sitostérol

Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé SU4 sont rassemblés dans le tableau (V. 3. 4).

Tableau V. 3. 3: Déplacements chimiques en RMN ¹H (500 MHz) et RMN ¹³C (125 MHz) du composé SU4 dans CDCl₃

Groupement acétate			
Position	J-mod	δ _H m J (Hz)	δ _C
1''	C	-	171,5
2''	CH ₃	2,11 s	21,5

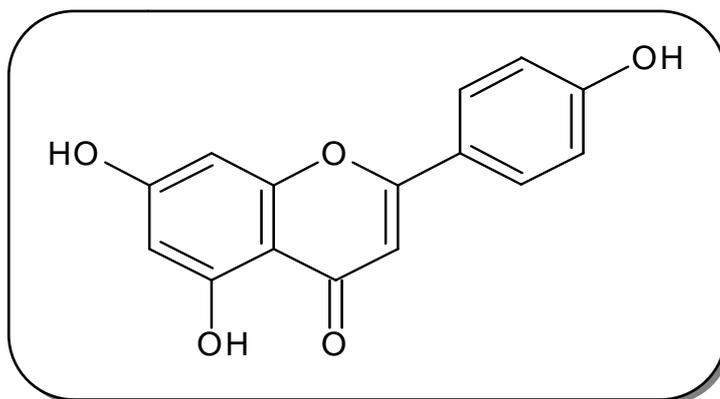
β-D-glucose			
Position	J-mod	δ _H m J (Hz)	δ _C
1'	CH	4,42 d, 7,7	105
2'	CH	3,26 t, 7,7	76
3'	CH	3,45 t, 7,8	79,1
4'	CH	3,42 t, 7,6	73,3
5'	CH	3,30 m	79
6'	CH ₂	4,51 dd, 11,7; 2,8 H-6'a 4,25 dd, 11,7; 4,8 H-6'b	65

Travaux personnels

Etude phytochimique de l'espèce *S. undulata* ssp. *alexandrina*

Génine			
Position	J-mod	δ_H <i>m J</i> (Hz)	δ_C
1	CH ₂	1,93 <i>m</i> H-1a 1,16 <i>m</i> H-1b	39,5
2	CH ₂	1,98 <i>m</i> H-2a 1,43 <i>m</i> H-2b	31,8
3	CH	3,60 <i>m</i> H-3 α	81,3
4	CH ₂	2,44 <i>dd</i> , 15, 5 H-4 α 2,36 <i>t</i> , 10 H-4 β	40,3
5	C	-	144
6	CH	5,37 <i>dl</i> , 5	125
7	CH ₂	2,03 <i>m</i> H-7a 1,63 <i>m</i> H-7b	34,1
8	CH	1,52 <i>m</i> H-8 β	34,1
9	CH	1,02 <i>m</i> H-9 α	52,4
10	C	-	38,9
11	CH ₂	1,60 <i>m</i> H-11a 1,55 <i>m</i> H-11b	23,2
12	CH ₂	2,17 <i>m</i> H-12a 1,24 <i>m</i> H-12b	42
13	C	-	44,5
14	CH	1,08 <i>m</i> H-14 α	59
15	CH ₂	1,66 <i>m</i> H-15a 1,17 <i>m</i> H-15b	26,5
16	CH ₂	1,92 <i>m</i>	30,4
17	CH	1,22 <i>m</i> H-17 α	58,3
18	CH ₃	0,67 <i>s</i>	14
19	CH ₃	1,00 <i>s</i>	22
20	CH	1,43 <i>m</i> H-20	38,3
21	CH ₃	0,92 <i>d</i> , 6	21,2
22	CH ₂	1,42 <i>m</i> H-22a 1,11 <i>m</i> H-22b	36,1
23	CH ₂	1,19 <i>m</i>	28,3
24	CH	1,05 <i>m</i>	48,1
25	CH	1,74 <i>m</i>	31,3
26	CH ₃	0,81 <i>d</i> , 6,8	21,1
27	CH ₃	0,83 <i>d</i> , 6,8	22,4
28	CH ₂	1,35 <i>m</i> H-28a 1,30 <i>m</i> H-28b	25,2
29	CH ₃	0,87 <i>t</i> , 7,7	15

V. 3. 5. Détermination structurale du composé SU5



La détermination de structure du composé **SU5** est basée sur les données d'analyse des spectres RMN ^1H , RMN ^{13}C et surtout sur la comparaison avec celles de la littérature [77, 78].

Ce composé qui se présente sous forme d'une poudre jaune fluorescente à la lumière UV ($\lambda = 365$ nm) et donnant une coloration jaune après révélation par une solution acide traduit sa nature flavonoïdique. Cette hypothèse est confirmée par l'analyse du spectre RMN ^1H (Figure V. 3. 5. b) qui montre plusieurs signaux de protons dans la zone attendue allant de 6 à 7,50 ppm.

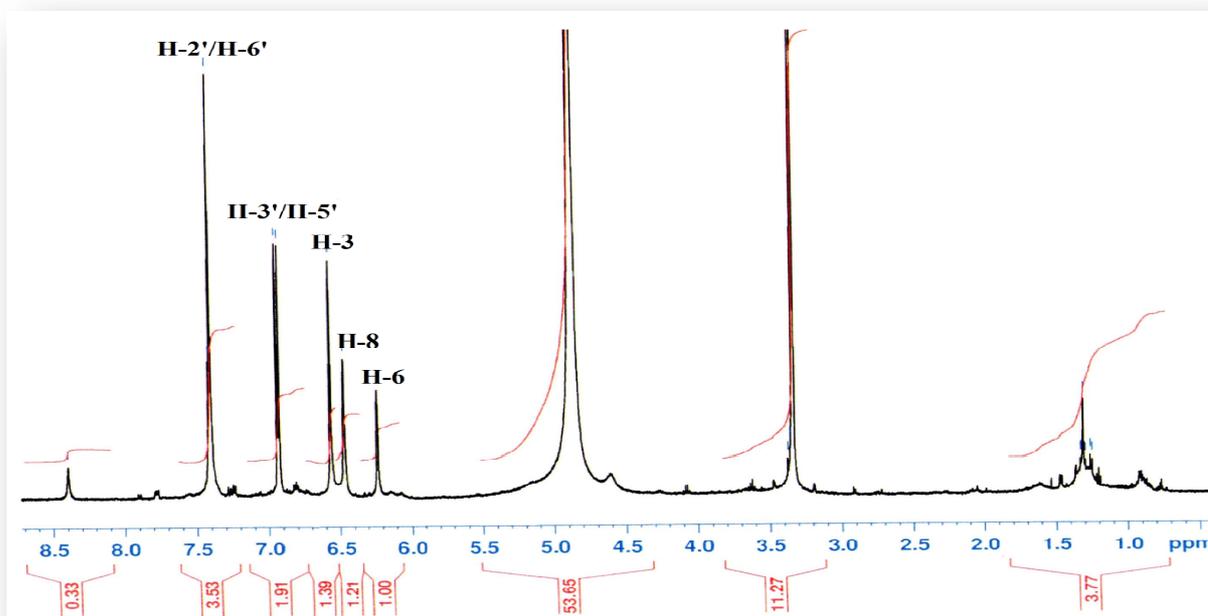


Figure V. 3. 5. b : Spectre RMN ^1H du composé SU5

Le spectre RMN ^1H présente :

- un signal singulet apparaissant à 6,59 ppm caractéristique du proton oléfinique H-3 d'une flavone.

Travaux personnels

Etude phytochimique de l'espèce *S. undulata* ssp. *alexandrina*

- deux signaux singulets larges résonant à 6,21 et 6,49 ppm attribués respectivement aux protons H-6 et H-8, impliquant la présence de deux groupements hydroxyles en positions 5 et 7.
- deux signaux doublets s'intégrant pour deux protons chacun et résonant à δ_H 7,40 (H-2'/H-6', *d*, *J* = 8,8 Hz) et δ_H 6,90 (H-3'/H-5', *d*, *J* = 8,8 Hz) caractéristiques de protons aromatiques symétriques.

Les spectres RMN ^{13}C (Figures V. 3. 5. c et V. 3. 5. d) montrent la présence de 15 atomes de carbone avec sept groupements CH résonant à δ_C 102,4 (C-3), 98,7 (C-6), 93,5 (C-8), 127,5 (C-2'/C-6') et δ_C 115,3 (C-3'/C-5'), huit carbones quaternaires résonant à δ_C 164,6 (C-2), 182,48 (C-4), 161,81 (C-5), 164,9 (C-7), 149,5 (C-9), 103,9 (C-10), 122,3 (C-1') et δ_C 158 (C-4').

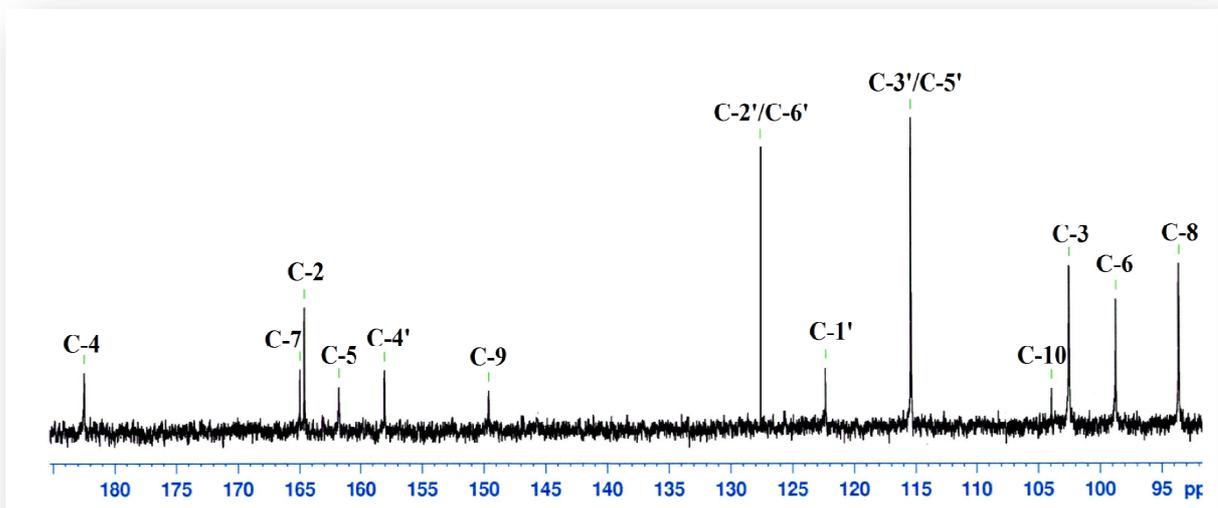


Figure V. 3. 5. c : Spectre RMN ^{13}C du composé SU5

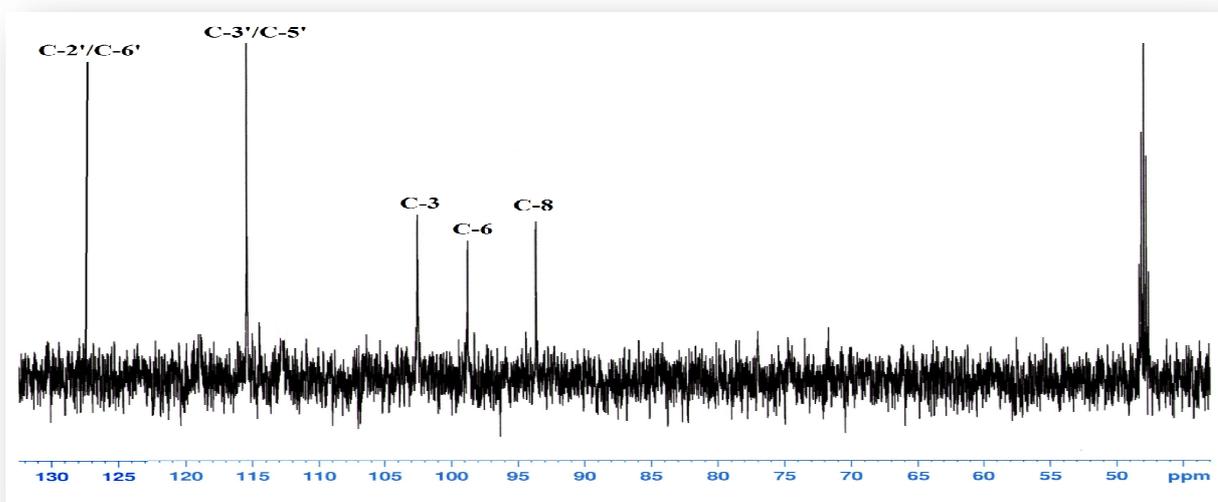
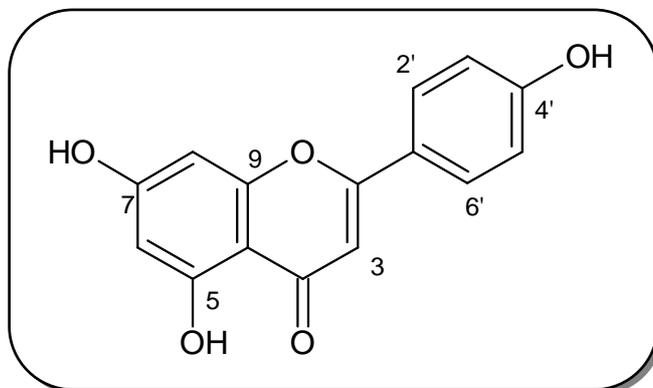


Figure V. 3. 5. d : Spectre DEPT 135 du composé SU5

Travaux personnels

Etude phytochimique de l'espèce *S. undulata* ssp. *alexandrina*

Toutes ces données spectrales se sont avérées identiques à celles d'une flavone trihydroxylée connue sous le nom d'apigénine (5,7,4'-trihydroxyflavone) isolée antérieurement de plusieurs espèces du genre *Scorzonera* dont *S. divaricata* [13], *S. columnae* [19] et *S. laciniata* [18].



Apigénine

Ce composé, présent chez de nombreuses plantes alimentaires [79], possède des activités anti-allergiques [79]. Il agit aussi comme un inhibiteur de croissance de larves [80]. Des études ont montré que l'apigénine agit de manière puissante dans la réduction des dommages génotoxiques induits par l'usage de médicaments anti-cancéreux, réduisant ainsi le développement de tumeurs secondaires pendant le traitement [81].

Les valeurs des déplacements chimiques des protons et carbones du composé **SU5** ou apigénine sont représentées dans le tableau ci-dessous.

Tableau V. 3. 3: Déplacements chimiques en RMN ^1H (500 MHz) et RMN ^{13}C (125 MHz) du composé SU5 dans CD_3OD

Position	J-mod	$\delta_{\text{H}} m J$ (Hz)	δ_{C}
2	C	-	164,6
3	CH	6,59 s	102,4
4	C	-	182,4
5	C	-	161,8
6	CH	6,21 s	98,7
7	C	-	164,9
8	CH	6,49 s	93,5
9	C	-	149,5
10	C	-	103,9
1'	C	-	122,3
2'	CH	7,40 d, 8,8	127,5
3'	CH	6,90 d, 8,8	115,3
4'	C	-	158,0
5'	CH	6,90 d, 8,8	115,3
6'	CH	7,40 d, 8,8	127,5

V. 4. Conclusion

Le présent travail décrit une investigation chimique d'une plante méditerranéenne nommée *Scorzonera undulata* ssp. *alexandrina* (Boiss.) Maire appartenant à la vaste famille Asteraceae. Cette dernière est connue par sa richesse en divers métabolites secondaires tels que les triterpénoïdes, les sesquiterpènes lactones et les flavonoïdes décrits comme composés typiques de cette famille. Cette étude effectuée sur les extraits acétate d'éthyle et méthanolique des parties aériennes et racines a mené à l'identification de cinq produits naturels se répartissant en :

Quatre triterpénoïdes :

- (20)29-lupèn-3 β -ol
- 24-méthylèncycloartanol
- 3 β -D-glucopyranosyl β -sitostérol
- 3-*O*-(6-*O*-acétyl- β -D-glucopyranosyl) β -sitostérol

Et un flavonoïde :

- 5,7,4'-trihydroxyflavone

La méthodologie de séparation, isolement et purification des constituants chimiques de cette plante a été essentiellement fondée sur la combinaison de différentes méthodes chromatographiques (VLC, CC, CCE, CCM) utilisant divers supports (silice normale, silice greffée RP-18 et Séphadex LH-20). La détermination structurale des métabolites secondaires isolés a été réalisée grâce à l'exploitation combinée de techniques spectroscopiques diverses incluant la spectrométrie de masse (SM-EI) et essentiellement la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN). Les constantes spectrales sont complétées le cas échéant par la mesure de l'activité optique.

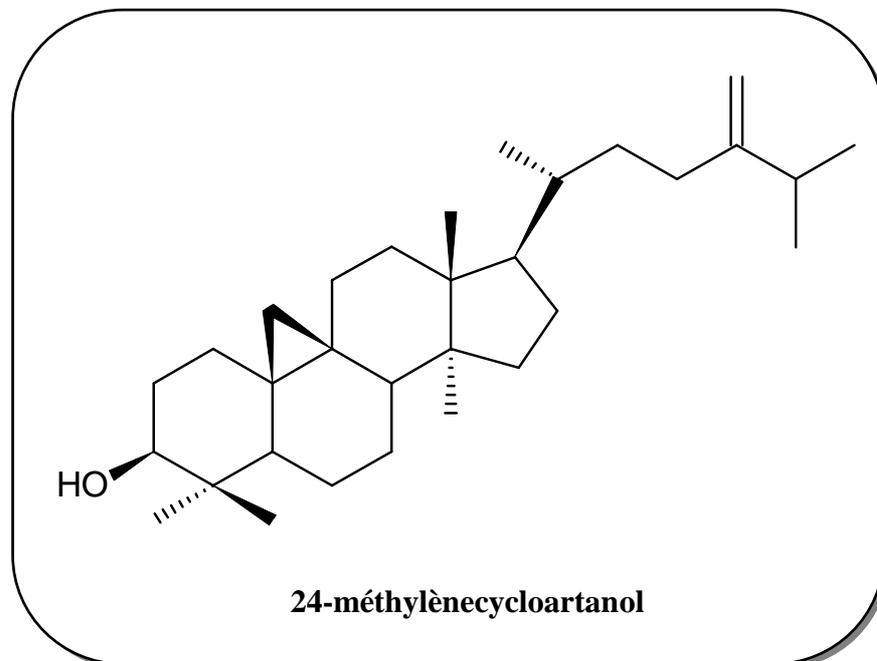
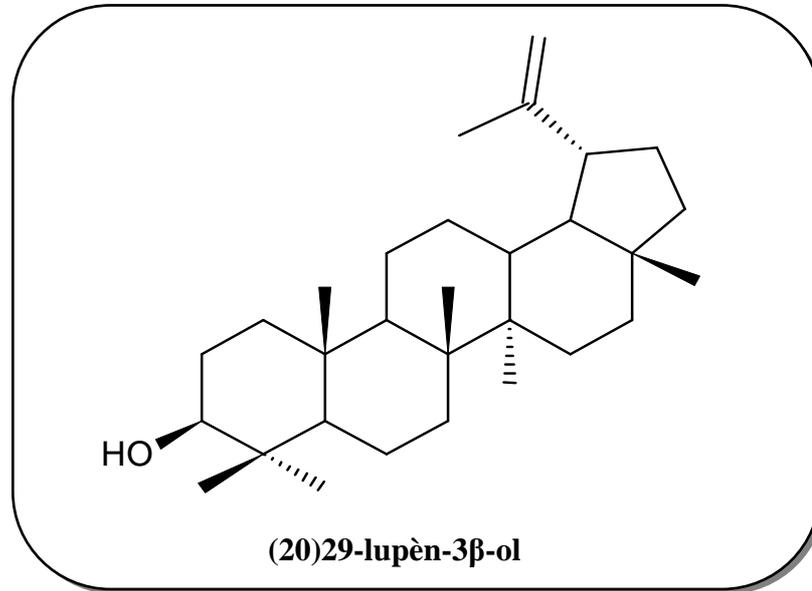
Les techniques de RMN monodimensionnelle (^1H , ^{13}C , DEPT, *J*-mod) et bidimensionnelle (COSY, HSQC, HMBC, NOESY) auxquelles nous avons fait conjointement appel, nous ont permis de réaliser la détermination structurale définitive et sans équivoque des métabolites secondaires isolés.

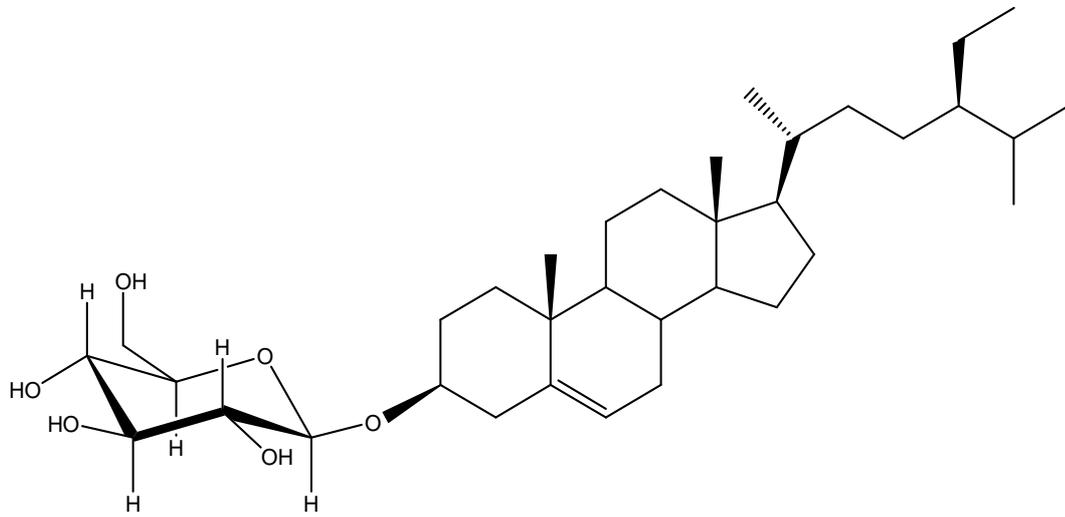
Les constituants chimiques identifiés et cités ci-dessous sont en accord avec la composition chimique des plantes Asteraceae en général où prédominent les triterpénoïdes et flavonoïdes considérés justement comme composés typiques de la famille. Le triterpène 3-*O*-(6-*O*-acétyl- β -D-glucopyranosyl) β -sitostérol est décrit pour la première fois dans la famille Asteraceae. Le composé 24-méthylèncycloartanol est, à notre connaissance, cité pour la première fois dans le genre *Scorzonera*. L'apigénine ou 5,7,4'-trihydroxyflavone, flavonoïde très présent dans le genre et isolé également dans le cadre de ce travail, peut être considéré comme métabolite secondaire typique du genre *Scorzonera*.

Travaux personnels

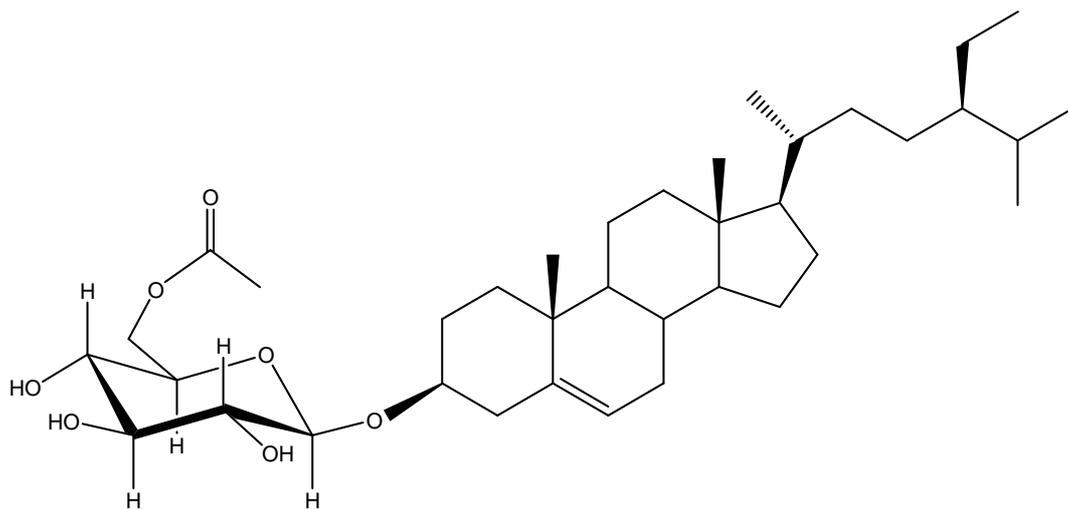
Etude phytochimique de l'espèce *S. undulata* ssp. *alexandrina*

Les composés isolés à l'issue de cette investigation chimique de *S. undulata* ssp. *alexandrina*, correspondent aux structures suivantes :





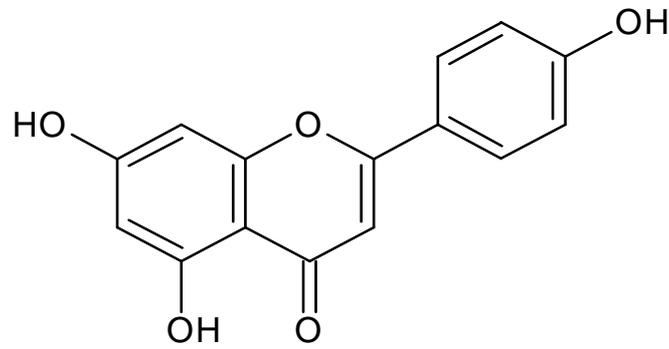
3β-D-glucopyranosyl β-sitostérol



3-O-(6-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl) β-sitostérol

Travaux personnels

Etude phytochimique de l'espèce *S. undulata* ssp. *alexandrina*



5,7,4'-trihydroxyflavone

CHAPITRE VI

Partie

expérimentale

I. Matériels et appareillage

I. 1. Matériel végétal

La plante *Scorzonera undulata* ssp. *alexandrina*, objet de cette étude, a été collectée dans son habitat naturel. Elle a été récoltée au mois de Juin 2009 aux alentours de *Aïn Touta* (wilaya de Batna). La détermination botanique de l'espèce a été réalisée par le Professeur Bachir Oudjehih, Département d'Agronomie, Institut des Sciences Vétérinaires et Agronomiques, Université de Batna.

Le matériel végétal (parties aériennes et racines) préalablement séché à l'abri de la lumière, est broyé puis pesé (1 kg).

I. 2. Méthodes préparatives

La chromatographie constitue aujourd'hui une méthode analytique largement utilisée pour la séparation, l'identification et éventuellement le dosage des constituants chimiques dans des mélanges complexes. Les facteurs qui interviennent dans le partage des molécules à séparer entre la phase stationnaire et la phase mobile sont : la solubilité dans un solvant liquide, la taille (la forme), la polarité, la charge électrique, la présence de groupements d'atomes formant des sites particuliers.

Au cours de ce travail, nous avons utilisé diverses techniques de chromatographie qui sont décrites ci-dessous.

I. 2. 1. Chromatographie sur couche mince (CCM)

Les analyses par chromatographie sur couche mince (CCM analytique) ont été effectuées sur des plaques de gel de silice 60 F₂₅₄ sur support aluminium Merck 250 µm (20 x 20 cm). Après développement dans des cuves en verre, les plaques sont observées à la lumière visible et sous une lampe UV à 254 et 366 nm. Selon les cas, elles sont ensuite révélées par une solution acide constituée par un mélange d'acide acétique à 10%, 10% d'acide sulfurique et 80% d'eau. Elles sont ensuite chauffées jusqu'à apparition des taches.

I. 2. 2. Chromatographie sur couche épaisse préparative

Dans cette technique, les plaques utilisées sont en verre et recouvertes de silice (Kieselgel 60 F₂₅₄ Merck, 250 µm, 20 x 20 cm). La plaque, une fois l'échantillon déposé, est développée dans une cuve saturée contenant l'éluant adéquat. Comme dans la CCM analytique, la plaque est séchée à température ambiante ou avec un sèche-cheveux. Les taches des constituants sont examinées sous lumière UV ou révélées sur une frange de la plaque par pulvérisation. Les composés fixés sur la silice sous forme d'une bande sont récupérés. En effet la bande grattée, dispersée dans une quantité de solvant puis filtrée permet de récupérer les composés voulus.

I. 2. 3. Chromatographie liquide sur colonne ouverte (CC)

I. 2. 3. a. Chromatographie d'adsorption

Des colonnes ouvertes de gel de silice (Kieselgel Merck, 70-230 mesh) ont été utilisées pour la phase de fractionnement. La taille des colonnes, le débit de la phase mobile ainsi que le volume des fractions récupérées ont été adaptés à la quantité des fractions à séparer. Le choix des conditions d'élution, le suivi de la séparation et le rassemblement final des sous-fractions ont été effectués sur la base d'analyses par CCM. Les échantillons ont été introduits au sommet de la colonne sous forme de poudre fine et homogène.

I. 2. 3. b. Chromatographie d'exclusion

Les chromatographies d'exclusion ou filtration sur gel ont été réalisées comme étapes de fractionnement et purification. Elles ont été effectuées sur Séphadex LH-20. Les échantillons à séparer sont introduits sous forme liquide après dissolution dans un volume minimal d'éluant. Le suivi des séparations et le rassemblement final des fractions sont menés sur la base d'analyses par CCM.

I. 2. 4. Chromatographie liquide sous vide (VLC)

Pour une séparation grossière, des chromatographies de partage en phase inverse sur silice greffée (Lichroprep RP-18 Merck, 40-63 μm) et d'adsorption en phase normale sur silice (Kieselgel Merck, 70-230 mesh, 63-200 μm) ont été réalisées selon le principe de la VLC. Le fractionnement sous vide a été effectué dans un entonnoir Büchner avec verre fritté, rempli avec la phase stationnaire (10 fois la masse de l'extrait). Les extraits bruts ont été introduits sous forme solide en les mélangeant avec la phase stationnaire. Des éluants à polarité croissante ou décroissante ont été choisis en fonction de la phase stationnaire utilisée. Des fractions de 100 ml ont été collectées à chaque fois.

I. 3. Méthodes d'indentification structurale

L'identification structurale des métabolites secondaires isolés s'appuie pour l'essentiel sur les techniques spectroscopiques suivantes: UV, RMN mono et bidimensionnelle ainsi que la spectrométrie de masse (SM).

I. 3. 1. Spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (RMN)

L'ensemble des spectres de RMN monodimensionnelle (^1H , ^{13}C , ^{13}C -DEPT, ^{13}C *J*-mod) et bidimensionnelle (^1H - ^1H COSY, ^1H - ^{13}C HSQC, ^1H - ^{13}C HMBC), est réalisé sur un appareil BRÜKER Avance DRX-500 du Centre de recherche sur les Substances Naturelles de Toulouse (UMS CNRS-Pierre Fabre 2597) et de l'Institut de Chimie Moléculaire de Reims (UMR CNRS 6229). Les échantillons ont été dissous dans des solvants deutérés CD_3OD ou CDCl_3 . Les déplacements chimiques δ ont été exprimés en ppm par rapport au signal du tétraméthylsilane (TMS), utilisé comme référence interne.

I. 3. 2. Spectrométrie de masse (SM)

Deux méthodes d'ionisation sont utilisées pour réaliser l'analyse par spectroscopie de masse :

- impact électronique (EI) effectué sur un appareil Maldimicro MX, micromasse walter.
- electrospray (ESI) sur un spectromètre Micromasse Q-TOF.

I. 3. 3. Pouvoir rotatoire ($[\alpha]_D$)

Le pouvoir rotatoire des composés isolés a été déterminé avec un polarimètre électronique PE-241 MC (Perkin-Elmer 241 à 20 °C) :

- la rotation α de la lumière a été mesurée dans une cuve de 1 ml et 10 cm de long à température ambiante.
- la raie D (589 nm) d'une lampe à sodium a été utilisée comme source de lumière incidente.
- le solvant de solubilisation et la concentration sont indiqués dans chaque cas.

II. Etude phytochimique

II. 1. Obtention des extraits

L'étude phytochimique est réalisée à partir de 1 kg de poudre sèche des parties aériennes et racines de *S. undulata* ssp. *alexandrina*. La poudre est préalablement dégraissée à l'éther de pétrole (5 L) pendant 72 h. Cette opération est répétée trois fois. La masse obtenue pour cet extrait est égale à 16,16 g.

Après filtration et évaporation à sec du solvant, le résidu provenant de cette extraction est ensuite mis à macérer dans l'acétate d'éthyle dans les mêmes conditions. Après filtration et évaporation à sec du solvant, 26,89 g d'extrait acétate d'éthyle ont été obtenus.

Le résidu résultant est repris trois fois par le méthanol. Après filtration et concentration à sec, un extrait méthanolique d'une masse de 39,67 g a été obtenu.

II. 2. Fractionnement et purification des extraits

La chromatographie liquide sous vide, avec gel de silice en phase normale pour l'extrait acétate d'éthyle et gel de silice greffée RP-18 pour l'extrait méthanolique, a été utilisée dans la première phase de fractionnement des extraits.

Travaux personnels
Partie expérimentale

II. 2. 1. Fractionnement de l'extrait acétate d'éthyle

L'élution est réalisée initialement par l'éther de pétrole dont on augmente la polarité par addition d'acétate d'éthyle (100-0 à 0-100), puis par l'acétate d'éthyle avec augmentation de la polarité par le méthanol (100-0 à 0-100). Après le fractionnement et rassemblement des fractions à profils chromatographiques similaires, 13 fractions (**F₁** à **F₁₃**) ont été obtenues (Figure II. 2. 1). Ces différentes fractions sont traitées individuellement par la suite en fonction de la complexité de leur composition, de leur masse et de l'intérêt porté à tel ou tel produit à isoler.

Tableau II. 2. 1 : Fractionnement de l'extrait acétate d'éthyle

Éluant	Fractions collectées	Masse en mg
E.P-AcOEt (97 – 3)	F ₁	629,8
E.P-AcOEt (95 – 5)	F ₂	689,7
E.P-AcOEt (90 – 10)	F ₃	300,7
E.P-AcOEt (80 – 20)	F ₄	1319,6
E.P-AcOEt (70 – 30)	F ₅	372,5
E.P-AcOEt (60 – 40)	F ₆	465,7
E.P-AcOEt (50 – 50) E.P-AcOEt (40 – 60)	F ₇	588,2
E.P-AcOEt (30 – 70)	F ₈	384,2
E.P-AcOEt (20 – 80)	F ₉	336,6
E.P-AcOEt (10 – 90) acétate d'éthyle pur	F ₁₀	232,1
AcOEt-MeOH (99 – 1) AcOEt-MeOH (97 – 3)	F ₁₁	162,6
AcOEt-MeOH (95 – 5) AcOEt-MeOH (90 – 10)	F ₁₂	176,1
AcOEt-MeOH (80 – 20) AcOEt-MeOH (60 – 40) AcOEt-MeOH (20 – 80) méthanol pur	F ₁₃	475

II. 2. 1. a. Etude de la fraction F₃

La purification de cette fraction est réalisée par chromatographie sur une colonne de gel de silice (15 g) avec un gradient de solvants éther de pétrole-acétate d'éthyle. 48 fractions ont été recueillies. Le tableau II. 2. 1. a. 1 englobe les résultats obtenus.

Travaux personnels
Partie expérimentale

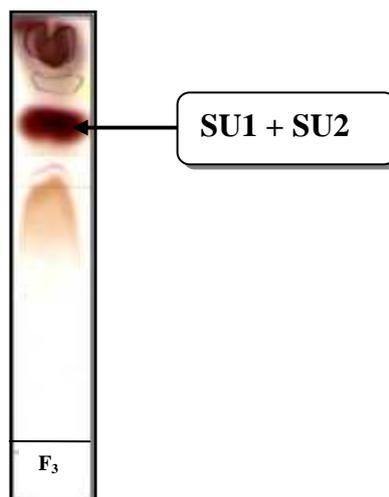
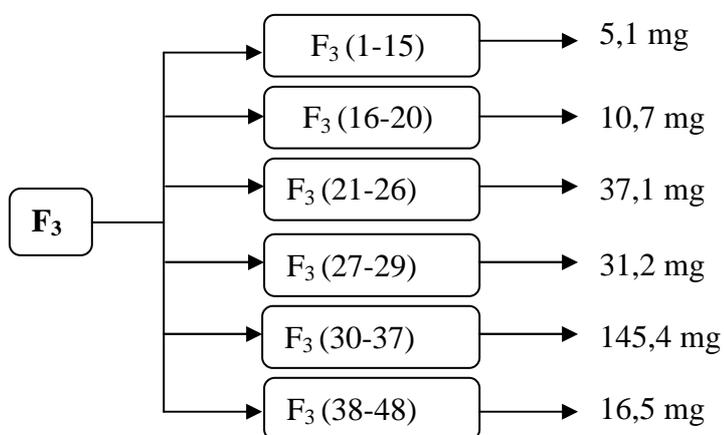


Figure II. 2. 1. a : CCM de la fraction F₃
(chloroforme-méthanol : 95-5)

Tableau II. 2. 1. a. 1: Résultats de la séparation par chromatographie
sur colonne de la fraction F₃

Fractions récupérées	Eluant de la colonne
1-6	éther de pétrole
7-13	E.P-AcOEt (99-1)
14-24	E.P-AcOEt (98-2)
25-48	E.P-AcOEt (96-4)

Le suivi de ce fractionnement par CCM (chloroforme-méthanol : 99-1), a permis de réunir les fractions présentant des similitudes en 6 sous-fractions allant de F₃ (1-15) à F₃ (38-48) comme il est rapporté dans le schéma ci-dessous.



La fraction F₃ (30-37), la plus importante quantitativement, a subi une chromatographie sur plaque préparative de gel de silice. Plusieurs systèmes de solvants ont été testés. Le mélange chloroforme-méthanol (99-1) s'est avéré le système adéquat.

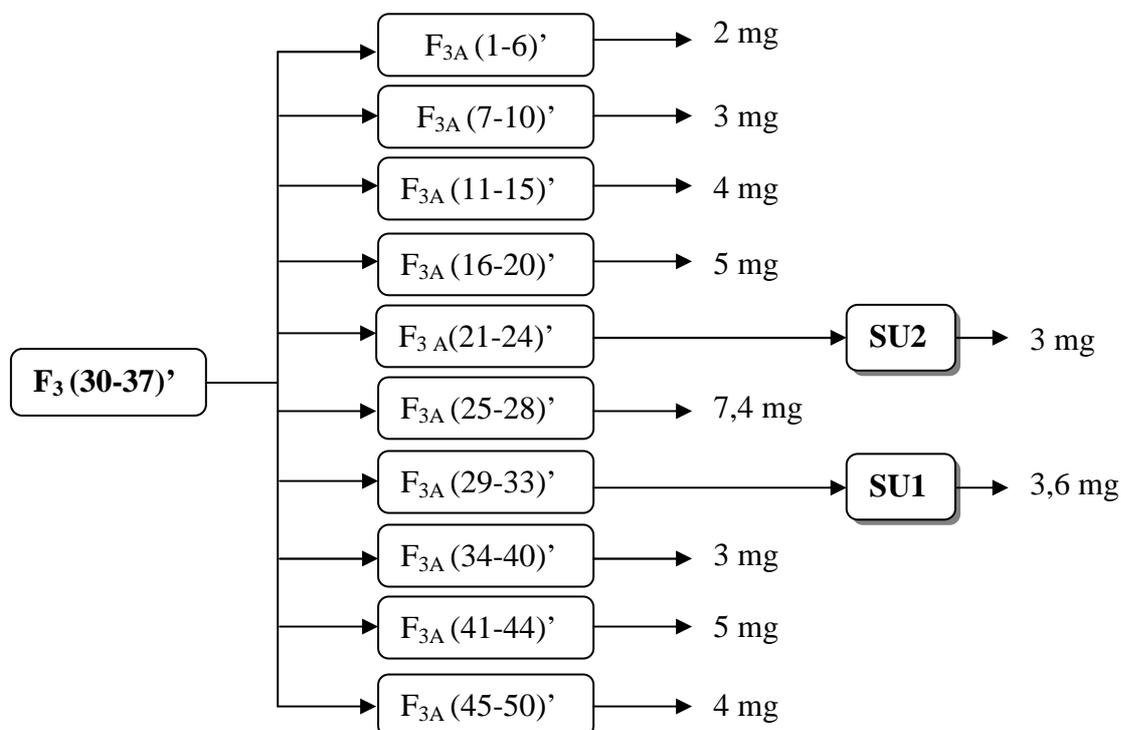
Travaux personnels
Partie expérimentale

Après double migration, la bande correspondant au produit majoritaire est récupérée. Son examen sur CCM montre qu'il s'agit en fait d'un mélange de deux composés (fraction F_3 (30-37)'). 40 mg de ce mélange sont ainsi déposés sur une colonne de gel de silice préparée dans le cyclohexane. L'élution est menée par un gradient cyclohexane-dichlorométhane (100-0, 99-1, 97-3, 95-5, 90-10, 80-20). La progression de cette colonne est reproduite dans le tableau (II. 2. 1. a. 2).

Tableau II. 2. 1. a. 2 : Résultats de la séparation de F_3 (30-37)'

Fractions récupérées	Eluant de la colonne
1- 6	cyclohexane
7- 10	cyclohexane-dichlorométhane (99-1)
11-15	cyclohexane-dichlorométhane (97-3)
16- 40	cyclohexane-dichlorométhane (95-5)
41- 44	cyclohexane-dichlorométhane (90-10)
45-50	cyclohexane-dichlorométhane (80-20)

Ces fractions sont regroupées, selon leur analyse par CCM (chloroforme-méthanol : 99-1) en 10 sous-fractions qui vont de F_{3A} (1-6)' à F_{3A} (45-50)' comme le montre le schéma ci-dessous. Les deux fractions F_{3A} (21-24)' et F_{3A} (29-33)' ont donné respectivement les produits **SU2** (3 mg) et **SU1** (3,6 mg).



Travaux personnels

Partie expérimentale

II. 2. 1. b. Etude de la fraction F₈

La purification de la fraction F₈ menée successivement par une chromatographie sur colonnes de gel de silice et Séphadex LH-20 puis une recrystallisation dans le chloroforme, a abouti à l'isolement du produit **SU5** (8,8 mg).

En effet, 384,2 mg de la fraction F₈ sont mis à séparer sur une colonne de gel de silice (20 g). Le système d'élution est constitué par un mélange chloroforme-méthanol à différents gradients : 100-0, 99-1, 97-3, 95-5, 93-7, 90-10 et enfin 80-20. Le tableau II. 2. 1. b. 1 reproduit les résultats de ce premier fractionnement.

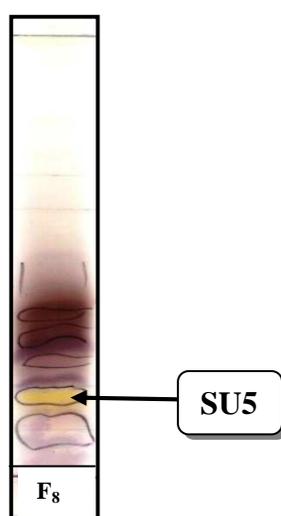


Figure II. 2. 1. b : CCM de la fraction F₈
(chloroforme-méthanol : 95-5)

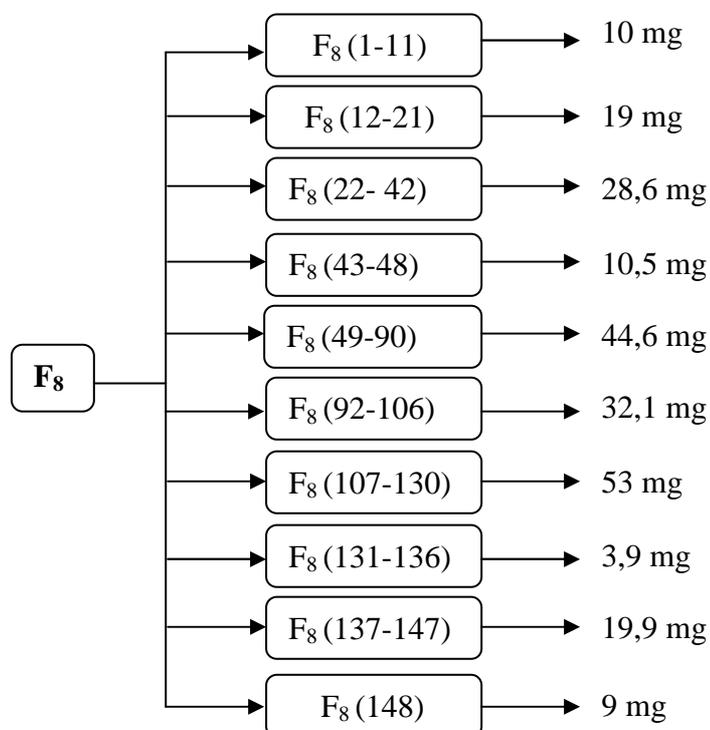
Tableau II. 2. 1. b. 1 : Résultats de la séparation de la fraction F₈

Fractions récupérées	Eluant de la colonne
1-89	CHCl ₃
90-108	CHCl ₃ - MeOH (99-1)
109-114	CHCl ₃ - MeOH (97-3)
115-125	CHCl ₃ - MeOH (95-5)
126-130	CHCl ₃ - MeOH (93-7)
131-137	CHCl ₃ - MeOH (90-10)
138-148	CHCl ₃ - MeOH (80-20)

Travaux personnels

Partie expérimentale

L'examen CCM (éluant : chloroforme-méthanol : 90-10) des fractions obtenues a permis de les rassembler en 10 sous-fractions allant de F₈ (1-11) à F₈ (148) comme indiqué ci-dessous.



La fraction F₈ (107-130) d'un poids 53 mg est ensuite mise à fractionner sur une colonne de Séphadex LH-20 dans un mélange chloroforme-méthanol à divers gradients : (100-0), (99-1), (97-3) et (93-7). (Tableau II. 2. 1. b. 2).

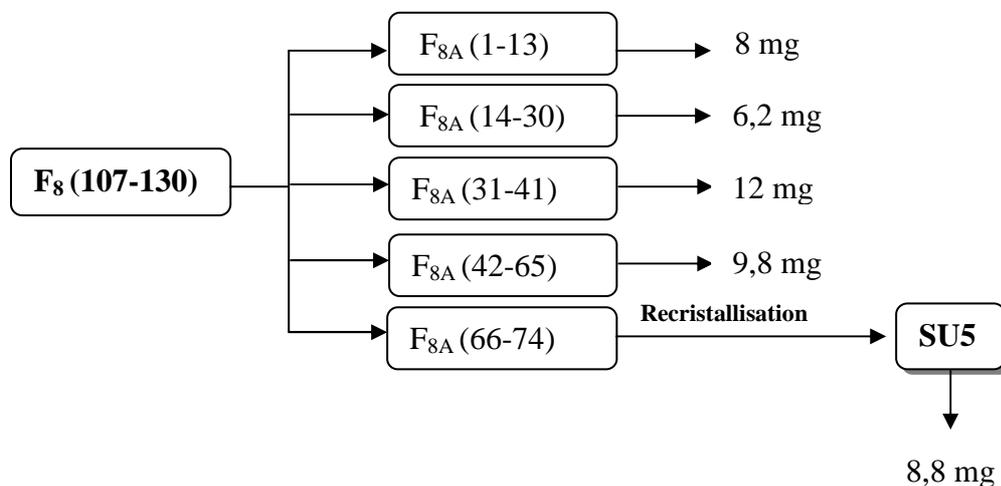
Tableau II. 2. 1. b. 2: Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de Séphadex de la fraction F₈ (107-130)

Fractions récupérées	Éluant de la colonne
1-46	chloroforme
47-48	chloroforme-méthanol (99-1)
49-61	chloroforme-méthanol (97-3)
61-74	chloroforme-méthanol (93-7)

Travaux personnels

Partie expérimentale

Cette étape de fractionnement a permis de récupérer 5 autres sous-fractions s'étalant de F_{8A} (1-13) à F_{8A} (66-74), comme il est indiqué dans le schéma ci-dessous.



Une recrystallisation dans le chloroforme de la fraction F_{8A} (66-74) d'une masse de 13 mg a donné le composé **SU5** (8,8 mg).

II. 2. 1. c. Etude de la fraction F_9 ($F_9 + F_{10}$)

Les deux fractions F_9 et F_{10} (568,7 mg) rassemblées au vu de leur profil chromatographique similaire, sont soumises à une chromatographie sur colonne de Séphadex LH-20. L'élution réalisée par un mélange chloroforme-méthanol (100-0, 99-1) a permis de récolter 79 fractions (Tableau II. 2. 1. c. 1).

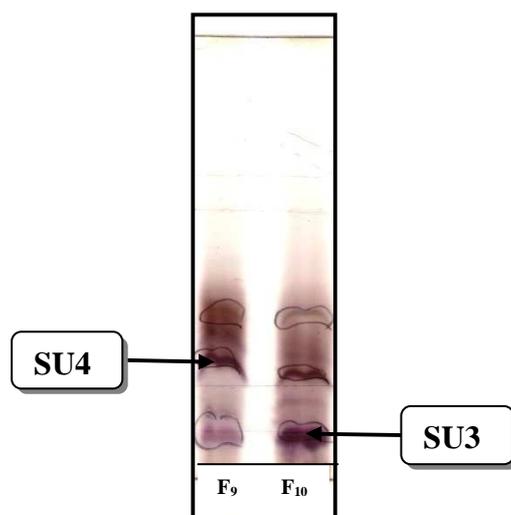


Figure II. 2. 1. c : CCM des fractions F_9 et F_{10}
(chloroforme-méthanol : 95-5)

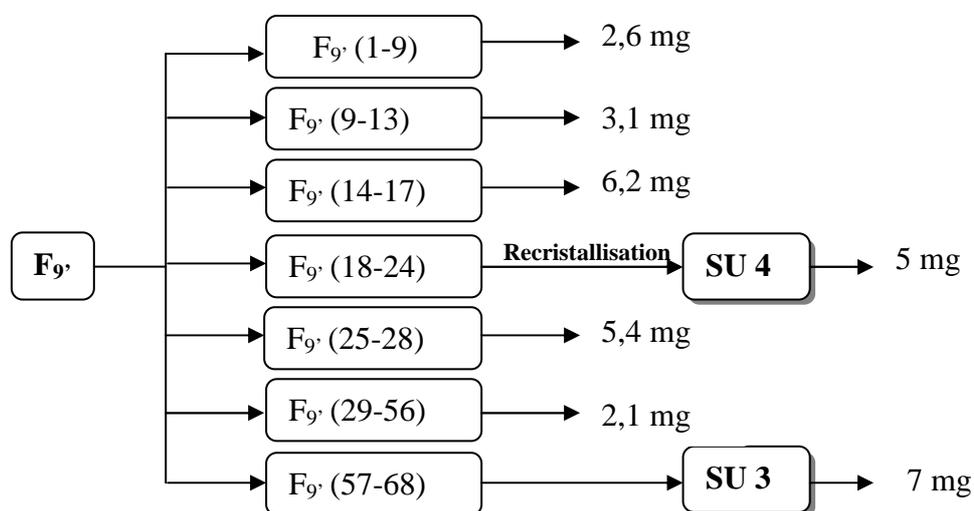
Travaux personnels
Partie expérimentale

Tableau II. 2. 1. c. 1 : Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de Séphadex de la fraction F₉

Fractions récupérées	Eluant de la colonne
1-61	chloroforme
63-79	chloroforme-méthanol (99-1)

Le suivi CCM (chloroforme-méthanol : 90-10) de ces fractions a permis de les rassembler en 7 sous-fractions s'étalant de F₉ (1-9) à F₉ (57-68). La fraction résultante F₉ (57-68) a donné directement le produit **SU3** pur (7 mg).

Une recrystallisation dans le méthanol de la fraction F₉ (18-24) a permis d'obtenir le composé **SU4**.



II. 2. 1. d. Etude de la fraction F₁₁

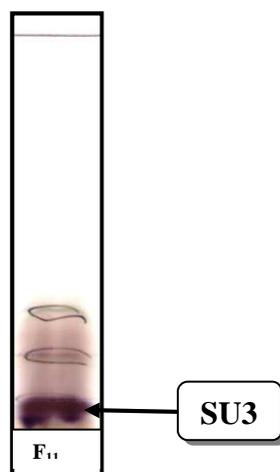


Figure II. 2. 1. d : CCM de la fraction F₁₁
(chloroforme-méthanol : 95-5)

Travaux personnels

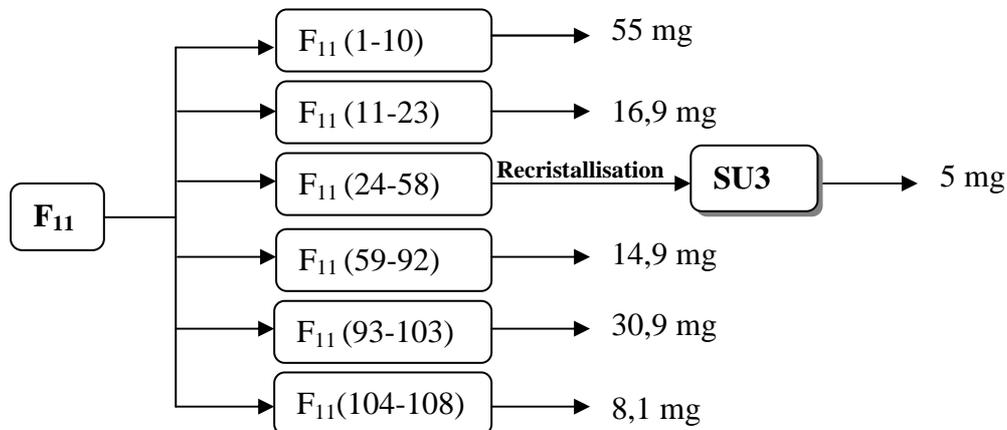
Partie expérimentale

Cette fraction a été soumise à une chromatographie sur colonne de Séphadex LH-20. L'élution menée par un mélange chloroforme-méthanol (100-0 et 93-7) a donné 108 fractions (Tableau II. 2. 1. d. 1). Leur analyse CCM a permis de les rassembler en 6 sous-fractions allant de F₁₁ (1-10) à F₁₁ (104-108).

Tableau II. 2. 1. d. 1 : Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de Séphadex de la fraction F₁₁

Fractions récupérées	Eluant de la colonne
1-98	chloroforme pur
99-108	chloroforme-méthanol (93-7)

La recrystallisation de la fraction F₁₁ (24-58) dans le méthanol a abouti au composé **SU3** (5 mg).



II. 3. Fractionnement de l'extrait méthanolique

Comme nous l'avons signalé précédemment, 10 g de l'extrait méthanolique ont été fractionnés par une chromatographie liquide sous vide sur gel de silice greffée RP-18. L'élution a été menée dans un système eau-méthanol à divers gradients (90-10 à 5-95) puis méthanol pur.

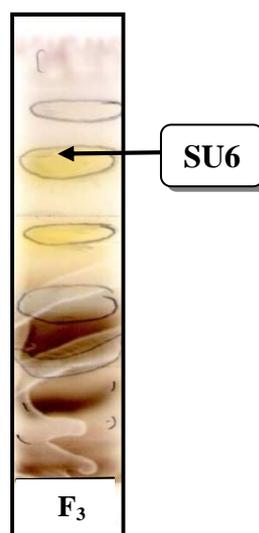
Cette étape préliminaire consistant en une séparation grossière, a donné 11 fractions allant de F₁ à F₁₁ (Tableau II. 3). Le suivi CCM a été effectué dans un mélange chloroforme-méthanol-eau (60-40-7).

Travaux personnels
Partie expérimentale

**Tableau II. 3 : Résultats de la séparation par VLC
de l'extrait méthanolique.**

Eluant	Fractions collectées	Masse en mg
eau-méthanol (90-10)	F ₁	300
eau-méthanol (90-10)	F ₂	763
eau-méthanol (80-20)	F ₃	1635,6
eau-méthanol (70-30)	F ₄	220,9
eau-méthanol (60-40)	F ₅	185,4
eau-méthanol (50-50)	F ₆	123,4
eau-méthanol (40-60)	F ₇	140,9
eau-méthanol (30-70) eau-méthanol (20-80)	F ₈	1045
eau-méthanol (10-90)	F ₉	71,5
eau-méthanol (5-95)	F ₁₀	255,1
méthanol	F ₁₁	330,6

II. 3. 1. Etude de la fraction F₃



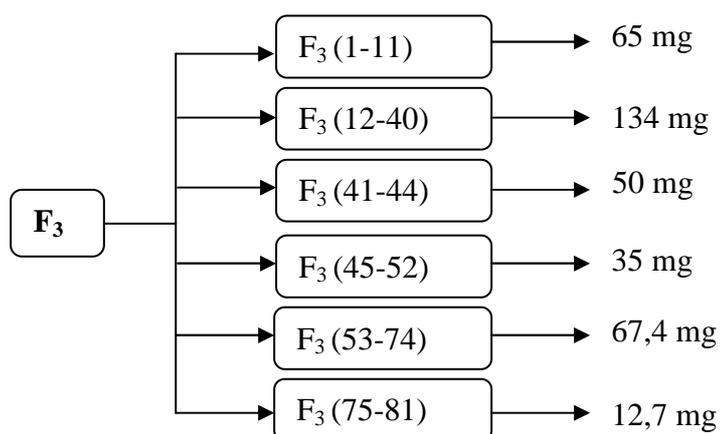
**Figure II. 3. 1 : CCM de la fraction F₃
(chloroforme-méthanol-eau : 60-40-7)**

Travaux personnels

Partie expérimentale

La fraction F_3 (Figure II. 3. 1) a été d'abord soumise à une chromatographie sur colonne de Séphadex LH-20 dans le méthanol. Ceci a permis de recueillir 6 sous-fractions allant de F_3 (1-11) à F_3 (75-81) comme le montre le schéma ci-dessous.

Les CCM réalisées sur les fractions obtenues ont été éluées par un mélange chloroforme-méthanol-eau (60-40-7).



La sous-fraction F_3 (12-40) résultante d'une masse de 134 mg est traitée par une chromatographie sur colonne de gel de silice (6 g) dans un mélange dichlorométhane-méthanol à différents gradients (100-0, 99-1, 97-3, 95-5, 90-10, 80-20, 60-40). Le tableau (II. 3. 1) reproduit les résultats de ce fractionnement ayant donné 114 fractions.

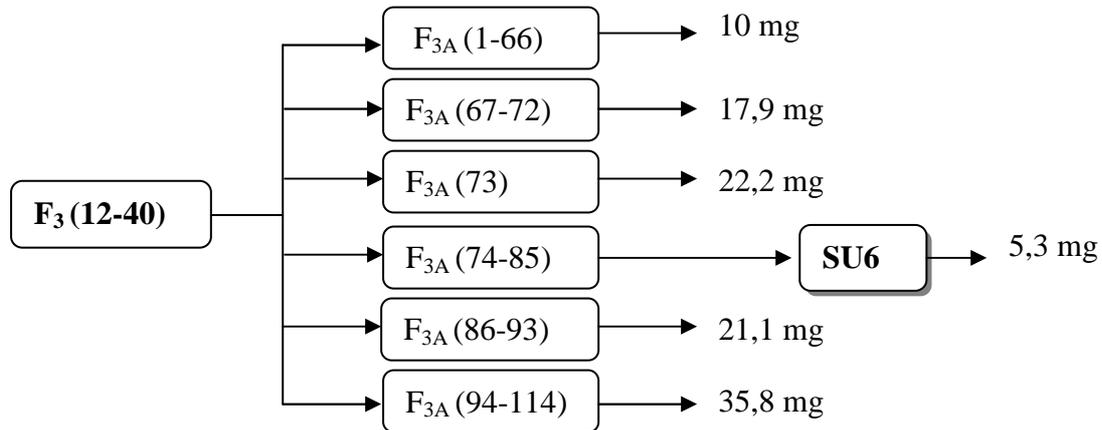
Tableau II. 3. 1 : Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de la fraction F_3 (12-40)

Fractions récupérées	Eluant de la colonne
1-6	dichlorométhane
7-24	dichlorométhane-méthanol (99-1)
25-45	dichlorométhane-méthanol (97-3)
46-56	dichlorométhane-méthanol (95-5)
57-66	dichlorométhane-méthanol (90-10)
67-105	dichlorométhane-méthanol (80-20)
106-114	dichlorométhane-méthanol (60-40)

Travaux personnels

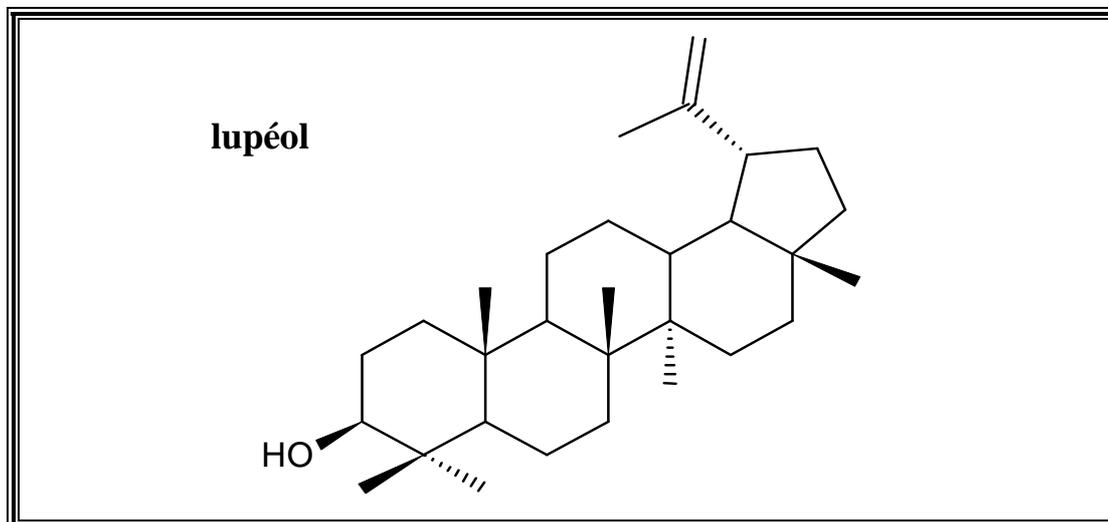
Partie expérimentale

L'examen CCM (chloroforme-méthanol-eau : 70-30-5) de ces fractions a permis de les rassembler en 6 sous-fractions allant de F_{3A} (1-66) à F_{3A} (94-114). La sous-fraction F_{3A} (74-85) a donné le produit **SU6** (5,3 mg). Ce dernier présente sur CCM et sous la lumière UV, une fluorescence verte.



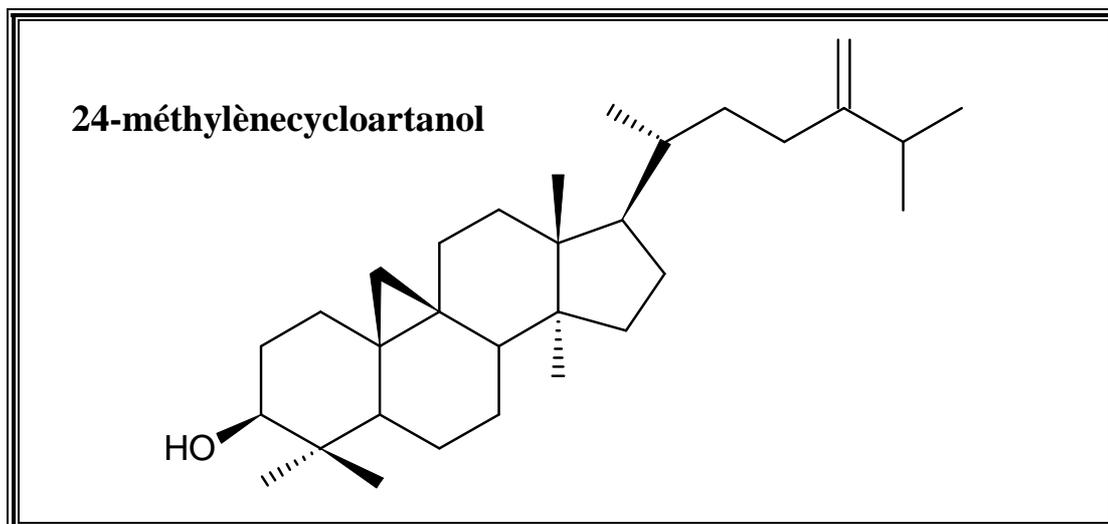
III. Composés isolés de l'espèce *S. undulata* ssp. *alexandrina*

III. 1. Composé SU1



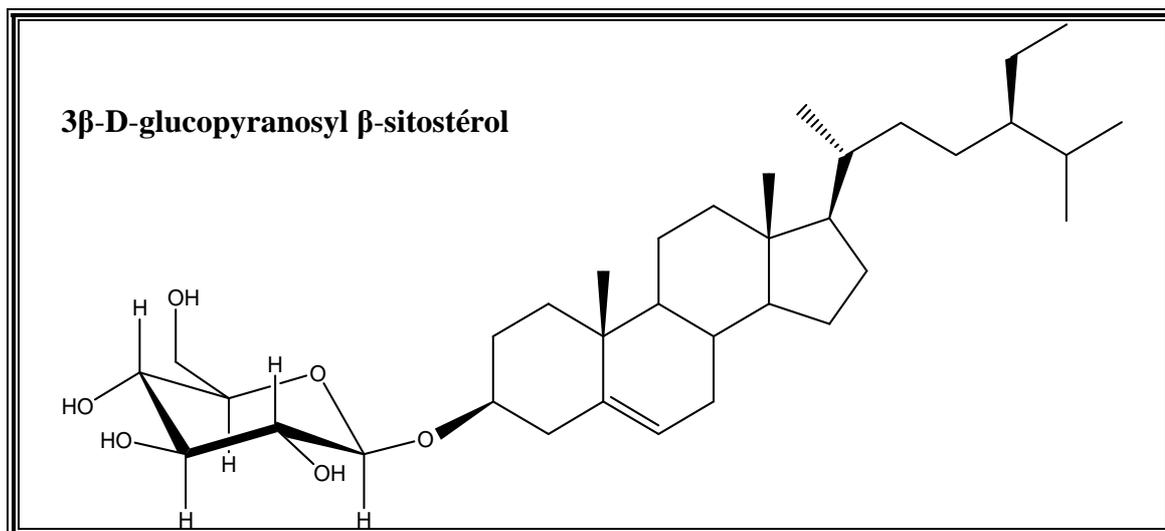
Formule brute	C ₃₀ H ₅₀ O
Poids moléculaire	426 g.mol ⁻¹
Quantité de produit	3,6 mg
Etat physique	Poudre blanche
Spectre de masse EI	$m/z = 426 [M]^+$
Spectre RMN¹³C (125 MHz, CDCl₃)	C-1 (38,6), C-2 (27,3), C-3 (78,9), C-4 (38,8), C-5 (55,2), C-6 (18,2), C-7 (34,2), C-8 (43,0), C-9 (50,3), C-10 (37,1), C-11 (20,8), C-12 (25,0), C-13 (38,0), C-14 (42,7), C-15 (27,3), C-16 (35,5), C-17 (42,9), C-18 (48,2), C-19 (47,9), C-20 (151,0), C-21 (29,8), C-22 (39,9), C-23 (27,9), C-24 (15,3), C-25 (16,1), C-26 (15,9), C-27 (14,5), C-28 (17,9), C-29 (109,3), C-30 (19,8).
Spectre RMN¹H (500 MHz, CDCl₃)	H-1a (1,69, <i>m</i>), H-1b (0,92, <i>m</i>), H-2a (1,61, <i>m</i>), H-2b (1,06, <i>m</i>), H-3α (3,35, <i>dd</i> , $J = 12,5, 5$ Hz), H-5α (0,73, <i>dd</i> , $J = 10, 2,5$ Hz), H-6a (1,55, <i>m</i>), H-6b (1,45, <i>m</i>), H-7 (1,43, <i>m</i>), H-9α (1,35, <i>m</i>), H-11a (1,48, <i>m</i>), H-11b (1,25, <i>m</i>), H-12a (1,72, <i>m</i>), H-12b (1,12, <i>m</i>), H-13β (1,7, <i>m</i>), H-15a (1,61, <i>m</i>), H-15b (1,06, <i>m</i>), H-16 (1,51, <i>m</i>), H-18α (1,41, <i>m</i>), H-19β (2,42, <i>td</i> , $J = 10, 5$ Hz), H-21a (1,97, <i>m</i>), H-21b (1,31, <i>m</i>), H-22a (1,43, <i>m</i>), H-22b (1,25, <i>m</i>), H-23 (1,02, <i>s</i>), H-24 (0,81, <i>s</i>), H-25 (0,86, <i>s</i>), H-26 (1,07, <i>s</i>), H-27 (1, <i>s</i>), H-28 (0,84, <i>s</i>), H-29a (4,75, <i>d</i> , $J = 0,3$ Hz), H-29b (4,62, <i>d</i> , $J = 0,3$ Hz), H-30 (1,72, <i>s</i>).

III. 2. Composé SU2



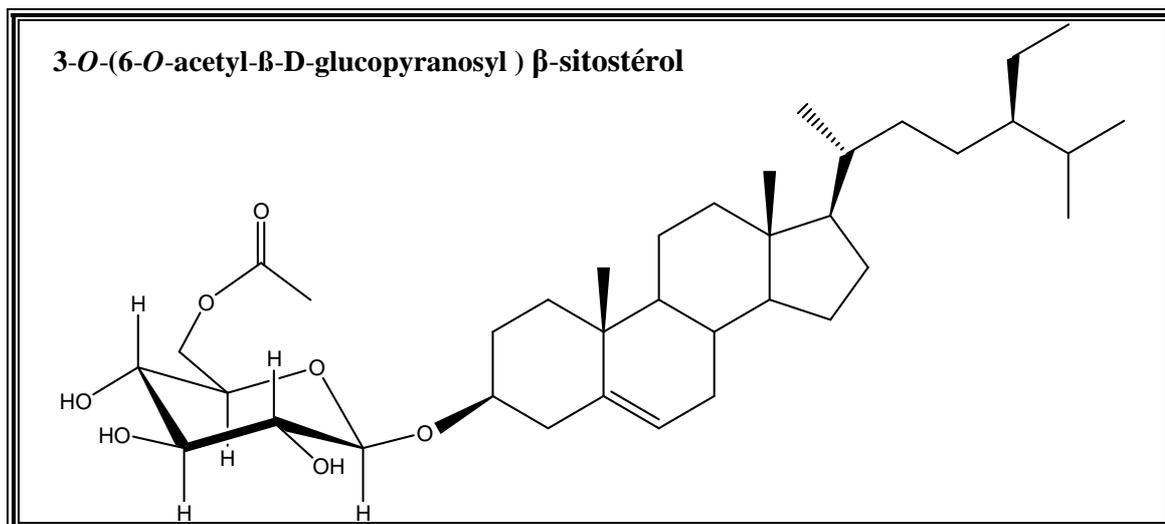
Formule brute	C ₃₁ H ₅₂ O
Poids moléculaire	440 g.mol ⁻¹
Quantité de produit	3 mg
Etat physique	Poudre blanche
Spectre de masse EI	$m/z = 440,4111 [M]^+$
Spectre RMN¹³C (125 MHz, CDCl₃)	C-1 (31,9), C-2 (30,3), C-3 (78,8), C-4 (40,4), C-5 (47,1), C-6 (21,1), C-7 (26,0), C-8 (48,0), C-9 (20,0), C-10 (26,0), C-11 (26,4), C-12 (32,8), C-13 (45,3), C-14 (48,8), C-15 (35,5), C-16 (28,1), C-17 (52,2), C-18 (18,0), C-19 (29,9), C-20 (36,1), C-21 (18,3), C-22 (34,9), C-23 (31,3), C-24 (156,9), C-25 (33,8), C-26 (21,8), C-27 (22,0), C-28 (25,4), C-29 (14,0), C-30 (19,3), C-31 (105,9).
Spectre RMN¹H (500 MHz, CDCl₃)	H-1a (1,59, <i>m</i>), H-1b (1,28, <i>m</i>), H-2a (1,77, <i>m</i>), H-2b (1,58, <i>m</i>), H-3α (3,32, <i>dd</i> , $J = 11, 4,1$ Hz), H-5α (1,32, <i>m</i>), H-6a (1,60, <i>m</i>), H-6b (0,83, <i>m</i>), H-7a (1,15, <i>m</i>), H-7b (1,35, <i>m</i>), H-8β (1,53, <i>dd</i> , $J = 12,6, 4,4$ Hz), H-11a (1,99, <i>m</i>), H-11b (1,16, <i>m</i>), H-12 (1,64, <i>m</i>), H-15 (1,31, <i>m</i>), H-16a (1,93, <i>m</i>), H-16b (1,31, <i>m</i>), H-17α (1,62, <i>m</i>), H-18 (1,02, <i>s</i>), H-19 exo (0,36, <i>sl</i>), H-19 endo (0,58, <i>sl</i>), H-20 (1,41, <i>m</i>), H-21 (0,9, <i>d</i> , $J = 6,7$ Hz), H-22a (1,59, <i>m</i>), H-22b (1,15, <i>m</i>), H-23a (2,13, <i>m</i>), H-23b (1,89, <i>m</i>), H-25 (2,24, <i>sept</i> , $J = 6,9$ Hz), H-26 (1,05, <i>d</i> , $J = 6,6$ Hz), H-27 (1,05, <i>d</i> , $J = 6,6$ Hz), H-28 (0,99, <i>s</i>), H-29 (0,84, <i>s</i>), H-30 (0,93, <i>s</i>), H-31a (4,74, <i>sl</i>), H-31b (4,69, <i>sl</i>).

III. 3. Composé SU3



Formule brute	C ₃₅ H ₆₀ O ₆
Poids moléculaire	576 g.mol ⁻¹
Quantité de produit	12 mg
Etat physique	Poudre blanche
Spectre de masse Mode positif Mode négatif	$m/z = 599 [M+Na]^+$ $m/z = 575 [M-H]^-$
Spectre RMN¹³C (125 MHz, CDCl₃ + CD₃OD)	C-1 (37,5), C-2 (29,8), C-3 (79,3), C-4 (38,3), C-5 (140,8), C-6 (122,3), C-7 (32,1), C-8 (32,1), C-9 (50,4), C-10 (36,9), C-11 (21,2), C-12 (40,0), C-13 (42,5), C-14 (57,0), C-15 (24,5), C-16 (28,4), C-17 (56,3), C-18 (12,0), C-19 (19,4), C-20 (36,3), C-21 (18,9), C-22 (34,1), C-23 (26,3), C-24 (46,1), C-25 (29,3), C-26 (19,1), C-27 (19,9), C-28 (23,2), C-29 (12,1), C-1' (101,3), C-2' (73,8), C-3' (76,7), C-4' (70,5), C-5' (76,1), C-6' (62,0).
Spectre RMN¹H (500 MHz, CDCl₃)	H-1a (1,86, <i>m</i>), H-1b (1,09, <i>m</i>), H-2a (1,91, <i>m</i>), H-2b (1,36, <i>m</i>), H-3 α (3,53, <i>m</i>), H-4 α (2,37, <i>dd</i> , <i>J</i> = 15, 5 Hz), H-4 β (2,29, <i>t</i> , <i>J</i> = 10 Hz), H-6 (5,30, <i>dl</i> , <i>J</i> = 5 Hz), H-7a (1,96, <i>m</i>), H-7b (1,56, <i>m</i>), H-8 β (1,45, <i>m</i>), H-9 α (0,95, <i>m</i>), H-11a (1,53, <i>m</i>), H-11b (1,48, <i>m</i>), H-12a (2,1, <i>m</i>), H-12b (1,17, <i>m</i>), H-14 α (1,01, <i>m</i>), H-15a (1,59, <i>m</i>), H-15b (1,10, <i>m</i>), H-16 (1,85, <i>m</i>), H-17 α (1,15, <i>m</i>), H-18 (0,61, <i>s</i>), H-19 (0,95, <i>s</i>), H-20 (1,36, <i>m</i>), H-21 (0,85, <i>d</i> , <i>J</i> = 6 Hz), H-22a (1,35, <i>m</i>), H-22b (1,04, <i>m</i>), H-23 (1,12, <i>m</i>), H-24 (0,98, <i>m</i>), H-25 (1,67, <i>m</i>), H-26 (0,75, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,7 Hz), H-27 (0,76, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,7 Hz), H-28a (1,28, <i>m</i>), H-28b (1,23, <i>m</i>), H-29 (0,80, <i>t</i> , <i>J</i> = 7,5 Hz), H-1' (4,35, <i>d</i> , <i>J</i> = 7,8 Hz), H-2' (3,19, <i>t</i> , <i>J</i> = 7,8 Hz), H-3' (3,38, <i>t</i> , <i>J</i> = 7,9 Hz), H-4' (3,35, <i>t</i> , <i>J</i> = 7,7 Hz), H-5' (3,23, <i>m</i>), H-6'a (3,81, <i>dd</i> , <i>J</i> = 11,9, 2,9 Hz), H-6'b (3,70, <i>dd</i> , <i>J</i> = 11,9, 4,9 Hz).

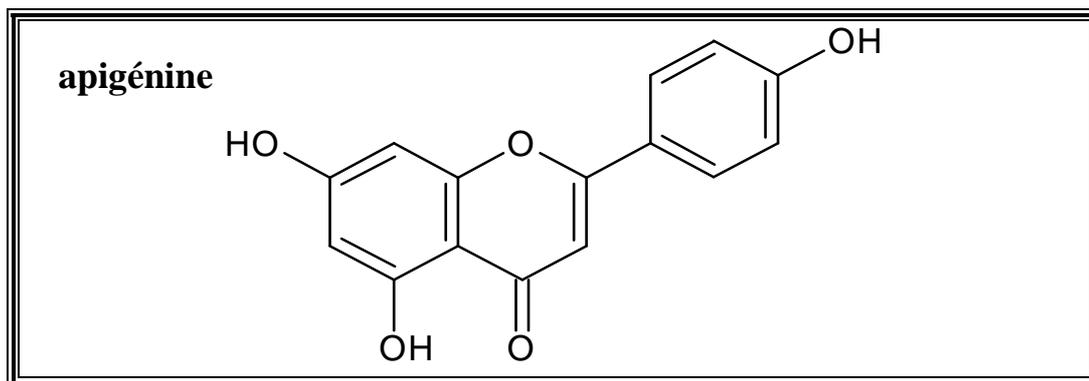
III. 4. Composé SU4



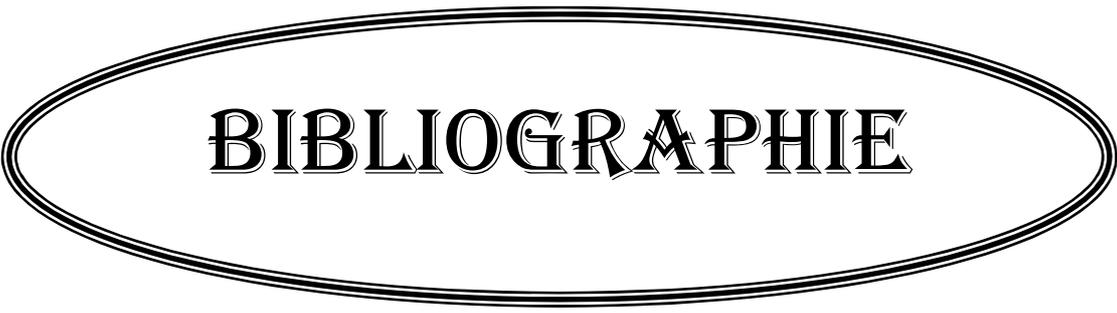
Formule brute	$C_{37}H_{62}O_7$
Poids moléculaire	618 g.mol ⁻¹
Quantité de produit	5 mg
Etat physique	Laque
Spectre RMN¹³C (125 MHz, CDCl₃)	C-1 (39,5), C-2 (31,8), C-3 (81,3), C-4 (40,3), C-5 (144), C-6 (125), C-7 (34,1), C-8 (34,1), C-9 (52,4), C-10 (38,9), C-11 (23,2), C-12 (42), C-13 (44,5), C-14 (59), C-15 (26,5), C-16 (30,4), C-17 (58,3), C-18 (14,0), C-19 (22), C-20 (38,3), C-21 (21,2), C-22 (36,1), C-23 (28,3), C-24 (48,1), C-25 (31,3), C-26 (21,1), C-27 (22,4), C-28 (25,2), C-29 (15), C-1' (105), C-2' (76), C-3' (79,1), C-4' (73,3), C-5' (79), C-6' (65), C-1'' (171,5), C-2'' (21,5).
Spectre RMN¹H (500 MHz, CDCl₃)	H-1a (1,93, <i>m</i>), H-1b (1,16, <i>m</i>), H-2a (1,98, <i>m</i>), H-2b (1,43, <i>m</i>), H-3α (3,60, <i>m</i>), H-4α (2,44, <i>dd</i> , <i>J</i> = 15, 5 Hz), H-4β (2,36, <i>t</i> , <i>J</i> = 10 Hz), H-6 (5,37, <i>dl</i> , <i>J</i> = 5 Hz), H-7a (2,03, <i>m</i>), H-7b (1,63, <i>m</i>), H-8β (1,52, <i>m</i>), H-9α (1,02, <i>m</i>), H-11a (1,60, <i>m</i>), H-11b (1,55, <i>m</i>), H-12a (2,17, <i>m</i>), H-12b (1,24, <i>m</i>), H-14α (1,08, <i>m</i>), H-15a (1,66, <i>m</i>), H-15b (1,17, <i>m</i>), H-16 (1,92, <i>m</i>), H-17α (1,22, <i>m</i>), H-18 (0,67, <i>s</i>), H-19 (1,00, <i>s</i>), H-20 (1,43, <i>m</i>), H-21 (0,62, <i>d</i> , <i>J</i> = 6 Hz), H-22a (1,42, <i>m</i>), H-22b (1,11, <i>m</i>), H-23 (1,19, <i>m</i>), H-24 (1,05, <i>m</i>), H-25 (1,74, <i>m</i>), H-26 (0,81, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,8 Hz), H-27 (0,83, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,8 Hz), H-28a (1,35, <i>m</i>), H-28b (1,30, <i>m</i>), H-29 (0,87, <i>t</i> , <i>J</i> = 7,7 Hz), H-1' (4,42, <i>d</i> , <i>J</i> = 7,7 Hz), H-2' (3,26, <i>t</i> , <i>J</i> = 7,7 Hz), H-3' (3,45, <i>t</i> , <i>J</i> = 7,8 Hz), H-4' (3,42, <i>t</i> , <i>J</i> = 7,6 Hz), H-5' (3,30, <i>m</i>), H-6'a (4,51, <i>dd</i> , <i>J</i> = 11,7, 2,8 Hz), H-6'b (4,25, <i>dd</i> , <i>J</i> = 11,7, 4,8 Hz), H-2'' (2,11, <i>s</i>).

Travaux personnels
Partie expérimentale

III. 5. Composé SU5



Formule brute	C ₁₅ H ₁₀ O ₅
Poids moléculaire	270 g.mol ⁻¹
Quantité de produit	8,8 mg
Etat physique	Poudre jaune
Spectre RMN¹³C (125 MHz, CDCl₃ + CD₃OD)	C-2 (164,6), C-3 (102,4), C-4 (182,4), C-5 (161,8), C-6 (98,7), C-7 (164,9), C-8 (93,5), C-9 (149,5), C-10 (103,5), C-1' (122,3), C-2' (127,5), C-3' (115,3), C-4' (158,0), C-5' (115,3), C-6' (127,5).
Spectre RMN¹H (500 MHz, CDCl₃)	H-3 (6,59, <i>s</i>), H-6 (6,21, <i>s</i>), H-8 (6,49, <i>s</i>), H-2' (7,40, <i>d</i> , <i>J</i> = 8,8 Hz), H-3' (6,90, <i>d</i> , <i>J</i> = 8,8 Hz), H-5' (6,90, <i>d</i> , <i>J</i> = 8,8 Hz), H-6' (6,90, <i>d</i> , <i>J</i> = 8,8 Hz),



BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

- [1] M-M. Zarem. Synopsis of the family Asteraceae in Egypte. International Journal of Agriculture et Biology, 2007. 7(5), 832-844.
- [2] Peter. H Raven, Rayfran Klimevert, Susane Eich Horn. Biologie végétale. Edition de Book University, 2000.
- [3] Mmabberly, Dj. The plant-Book, a probable dictionary of the higher plants. Edition Cambridge University, Cambridge, 1989.
- [4] P. Quezel, S. Santa. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Edition CNRS, Vol 1-2, Paris, 1963.
- [5] P. Ozenda. Flore et végétation du Sahara. Edition CNRS, Paris, 1991.
- [6] W-S. Beniston. Fleurs d'Algérie. Edition Entreprise Nationale de Livre, Algérie, 1984.
- [7] Hernandez Ber Mejo, Je. Culture marginalisées : 1492 une autre prespective. Leon, 1999.
- [8] B-C. Gao. The economic flora of Qinghai. Edition the Qinghai people, 1977.
- [9] M. Kotsos, N. Aligiannis, S. Mitaku, S. Skalts, A-L. Ounis, C. Harvala. The series cretan plants. Nat. Prod. Lrtt, 2001.
- [10] U. Ligaa. Medicinal plants from Mongolia used in Mongolian traditional medicine. Press KSA, Ulaanbaatar, 1996.
- [11] IUCN centre for Mediterranean cooperation. A guide to medicinal plant in North Africa. Malag, Spain, 2005.
- [12] Bellakhder.J. La pharmacopée Marocaine traditionnelle. Press IBIS, 1997.
- [13] N. Tsevegsuren, R. Edrada, W. Lin, R. Ebel, C. Torre, S.Ortilepp, V.Wray, P. Proksch. Biologically active natural products from Mongolian medicinal plants. *Scorzonera divaricata* and *Scorzonera pseudodivaricata*, J. Nat. Prod, 2007. 70; 962, 967.
- [14] S. Paraschos, P. Magiatis, E. Kalpoutzakis, C. Harvala, A-L. Skaltsounis. Three new dihydroisocoumarins from the greek endemic species *Scorzonera certica*. J. Nat. Prod, 2001. 64; 1585, 1587.
- [15] Y. Wang, R. Edrada-ebel, N. Tsevegsurem, J. Sendker, M. Braum, V. Wray, W. Lin, P. Proksch. Dihydrostilbene derivatives from the Mongolian medicinal plant *Scorzonera radiata*. J. Nat. Prod, 2009. 72; 671, 675.

- [16] U. Sareedenchai, C. Zidorn. Flavonoids as chemosystematic markers in the tribe Cichorieae of the Asteraceae. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2009. 123.
- [17] T-F. Jiang, Y-H. Wang, Z-H. Lu, M-E. Yue. Determination of kava lactones and flavonoid glycoside in *Scorzonera austriaca* by capillary zone electrophoresis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2007. 43; 854, 858.
- [18] S. Rees, J-B. Harborne . Flavonoids and other phenolics of cichorium and related members of the Lactuceae Compositae. *Bot. J. Linn. Soc*, 1984. 89; 313, 319.
- [19] F. Menichini, G. Statti, F. Delle, F. monache. Flavonoid glucosides from *Scorzonera columnae*. *Fitoterapia*, 1994. 65; 555, 556.
- [20] C. Zidorn, E-P. Ellmerer-müller, H. Stuppener. Sesquiterpenoids from *Scorzonera hispanica*. *Pharmazie*, 2000. 55; 550, 551.
- [21] O-V. Bryanskii, V-V. Tolsti Khina, S-V. Zinchenko, A-A. Semenov. A sesouiterpene glucoside from cultivated cells. *khim. Prir. Soedin*, 1992. 640, 645.
- [22] Y. Zhu, Q. Xiang wu, P. Zhuo hu, W. Suowu. Biguaiascorzolides a and b : two novel dimeric guaianolides with a rare skeleton, from *Scorzonera austriaca*. *Food Chemistry*, 2009. 114; 1316, 1320.
- [23] J. Li, Q-V. Wu, Y-P. Shi, Y. Zhu, *Chin.Chem.Lett*, 2004. 15; 1309, 1310.
- [24] B. Wang, G. Qiang li, P. Ju qiu, H. Shiguan. Two new olean-type triterpene fatty esters from *Scorzonera mongolica*. *Chinese Chichal Letters*, 2007. 18; 708, 710.
- [25] J. Manuela, B. Johanna, E. Ernest, Z. Christian. Natural products from *Scorzonera aristata*, Asteraceae. *National Product Communications*, 2010. 5(5); 725, 727.
- [26] Ö. Bahadir, G-S. Citoğlu, K. Šmejkal, S. Dall'acqua, H. Özbek, J. Cuacka, M. Zemlicka. Analgesic compounds from *Scorzonera latifolia*. *Journal of Ethnopharmacology*, 2010. 131; 83, 87.
- [27] C. Zidorn, B-O. Petersen, V. Udovičiči, T-O. Larsen, J-Ö. Dvus, J-M. Rollinger, K-H. Ongania , E-P. Ellmerer, H. Stuppner. Podospermic acid, 1, 3, 5-tri-*O*-(7, 8-dihydrocaffeoil) quinic acid from *Podospermum laciniatum*, Asteraceae. *Tetrahedron Letters*, 2005. 46; 1291, 1294.
- [28] B. Harkati, S. Akkal, C. Bayat, H. Laouer, M-G-D. Franca . Secondary metabolites from *Scorzonera undulata* ssp. *deliciosa* (Guss) Maire Asteraceae and their antioxidant activities. *Rec. Nat. Prod*, 2010. 4:3; 171, 175.
- [29] J. Bruneton. *Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales*. 2^{ème} Edition, Lavoisier, 1993.

- [30] J. Bruneton. Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales. 3^{ème} Edition. Techniques et documentation, Paris, 1999.
- [31] R. Xu, G-C. Fazio, S-P-T. Matsuda. On the origins of triterpenoid skeletal diversity. *Phytochemistry*, 2004. 65; 261, 291.
- [32] P. Boiteau, B. Pasich, A. Rakoto ratsimamanga. Les triterpénoïdes en physiologie végétale et animale. Paris, 1964.
- [33] P. Benvenise. Sterol metabolism. The arabidopsis book. Edition C.R. Rockville, 2002.
- [34] P-M. Dey, J-B. Herborne. Methods in plant biochemistry. Volume 7. Terpenoids academic press, 1991.
- [35] P. Manitto. Biosynthesis of natural products. John Willey et Sons, New yourk, 1991.
- [36] A. Noiriel. Etude d'une famille de gènes *Arabidopsis thaliana* homologues de la lécithine cholestérol acyltransférase humaine. Caractérisation d'une nouvelle phospholipase A1 et étude d'une stérol acyltransferase. Thèse de Doctorat en biologie moléculaire et biochimie végétale. Université Louis Pasteur Strasbourg I, 2004.
- [37] J-A. Svoboda, G-F. Weirich. Sterol metabolism in the Tabaco Hornworm *Manduca sexta*. *Lipids*, 1995. 30; 263, 267.
- [38] J-H. Alder, T-A. Salt. Pytosterol structure and composition in the chemosystematics of the caryophyllales. The methabolism structure function of pla nt sterols book. Edition Stumpf (PK), Mudd (JB), Ues (WD), 1987.
- [39] K-E. Bloch . Sterol structure and membrane function. *Critic.rev. biochemistry*, 1983. 14; 47, 91.
- [40] I. Schuler, A. Milon, Y . Nakatani, G. Arison, A-M. Albrecht, P. Benveniste, M-A. Hartmann . Differential effects of plant sterols on water : permeability and on acyl chain ordering of soybeau phosphatidylcholine bilayers. *Proc. Natl. Acad. Sci*, 1991. 88; 6926, 6930.
- [41] I. Schuler, G. Duportail, N. Glasser, P. Benvenise, M-A. Hartmann. Soybeau phosphatidylcholine vesicles containing plant sterols : afluorescence anisotropy study. *Biochem. Biophys. Acta*, 1990. 1028; 82, 88.
- [42] W. Nie, J-G. Luo, X-B. Wang, X. Wam, L-Y. Kong. Separation and purification technology, 2009. 65; 243, 247.

- [43] J. Liu, T. Henkel. Traditional Chinese medicine (TCM): are poly phenols and saponins the key ingredients triggering biological activities. *Curr. Med. Chem*, 2009. 9; 1483, 1485.
- [44] S-G. Sparg, M-E. Light, J. Vanstaden. Biological activities and distribution of plant saponins. *Ethnopharmacologie*, 2004. 94; 219, 243.
- [45] A-V. Rao, D-M. Gurfinkel. The bioactivity of saponins triterpenoid and steroidal glucosides. *Drug. Metab, Drug. Interact*, 2000. 17; 211, 235.
- [46] P-K. Arawal, K-R. Markham. Carbone-13 NMR of flavonoids. Edition Elsevier. Amesterdam, 1989.
- [47] O-M. Charles, O. Gisvold, R-F. Doerge. Textbook of organic medicinal and pharmaceutical chemistry. 7^{ème} Edition, (J-B) Lippincott company Philadelphia. Toronto, 1972.
- [48] B. Winkel-shirley. Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. *Current opinion in biotechnology*, 2002. 5; 218, 223.
- [49] G. Forkmann, S. Martens. Metabolic engineering and applications of flavonoids. *Current opinion in biotechnology*, 2001. 12; 155, 160.
- [50] J-B. Harborne. The flavonoids advances in research since 1986. Edition Chapman and Hall. London, 1988.
- [51] A-G. Gonzales, J-B. Barera, T-Z. Garcia, F-E. Rosas. *Phytochemistry*, 1984. 2071, 2072.
- [52] E. Gadeschi, Z-D. Jorge, G-M. Massanet, F-R. Luis. *Phytochemistry*, 1989. 28 (8) ; 2071, 2072.
- [53] S. Oksuz, B. Halfon, B. Term. *Planta. Med*, 1988. 54 (1); 89.
- [54] M. Jay, J-Z. *Naturforsh*, 1983. 38; 413.
- [55] A. Sutter, J. *Arch. Biochem. Biophys*, 1975. 170; 847.
- [56] T. Iwashina. The structure and distribution of the flavonoids in plants. *Journal of plant research*, 2000. 133 (3); 287, 299.
- [57] H-M. Merken, G-R. Beecher. Measurement of food flavonoids by high-performance liquid chromatography: a review. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2000. 48(3); 577, 599.

- [58] J-B. Harborne , C-A. Williams. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 2000. 55; 481, 504.
- [59] G-A. Cooper-driver, M. Bhattacharya. Role of phenolics in plant evolution. *Phytochemistry*, 1998. 49; 1165, 1174.
- [60] G. Dicarlo, N. Mascolo, A-A. Izzo, F. Capasso. Flavonoids : old and new aspects of class of natural therapeutic drugs. *Life sciences*, 1999. 65 (4); 337, 353.
- [61] S. Imam, I. Azhar, M. Mohtasheemul, M-S. Ali, S. Waseemuddin. Two triterpenes lupanone and lupeol isolated and identified from *Tamarindus indica* Linn. *Pak. J. Pharm. Sci*, 2007. 20 (2); 125, 127.
- [62] A-K. Jamal, W-A. Yaacob, L-B. Din. A chemical study on *Phyllanthus reticulatus*. *Journal of physical science*. 2002. 19 (2); 45, 50.
- [63] T. Geetha, P. Varalakshmi. *Fitoterapia*, 1998. 69; 13, 19.
- [64] N. Nigam, S. Prasad, J. George, Y. Shukla. *Biochemical and Biophysical research communication*, 2009. 381; 253, 258.
- [65] D-M. Moriarity, J. Hung, C-A. Yancey, P. Zhang, W-N. Setzer, R-O. Lawton, R-B. Bates, S. Caldera. Lupeol is the cytotoxic principale in the extract *Dendropanax cf. querceti*. *Planta Med*, 1998. 64; 370, 372.
- [66] J-P. Teresa, J-G. Urones, I-S. Marcos, M-J. Sexmero Cuadrado, R-F. Moro. Triterpenes from *Euphorbia broteri*. *Phytochemistry*, 1987. 26(6); 1767, 1776.
- [67] W-D. Nes, K. Koike, Z. Jia, Y. Sakamoto, T. Satou, T. Nikaido, J-F. Griffin. 19-cyclosterol analysis by H and C NMR, crystallographic observations, and molecular mechanic calculations. *J. Am. Chem. Soc*, 1998. 120; 5970, 5980.
- [68] Q-G. Ma, W-Z. Liu, X-Y. Wu, T-X. Zhou, G-W. Qin. Diterpenoids from *Euphorbia fischeriana*. *Phytochemistry*, 1997. 44; 663, 666.
- [69] M-M. Roberta, P-S. Schaffer. *Archives of Biochemistry and Biophyscis*, 1953. 47 (2); 419, 423.
- [70] G. Flamini, M. Pardini, I. Moreilli. *Phytochemistry*, 2001. 58; 1229, 1233.
- [71] L. Voutquene, C. Lavaud, G. Massiot, T. Sevent, H-A. Hadi. Cytotoxic polyisoprenes and glycosides of long-chain fatty alcohols from *Dimocarpus fumatus*. 1999. 50, 63-69.
- [72] N. Wang, C. *Can. J. Cardiol*, 2001. 17; 715, 721.
- [73] P-B. Kruger. *Eur. Patent*, 1994. 58; 73, 74.

- [74] B. Auradatif, Y. Gan, C-S. Fink. *Nutr. Cancer*, 2000. 36; 74, 78.
- [75] E-H. Park, J-H. Kahng, S-H. Lee, K-H. Shin. *Fitoterapia*, 2001. 72; 288, 290.
- [76] S. Al, T. Yoshihisa, N. Hiroyuki, I. Tadashi, S. Mitsunbu, O. Masato. Chemical constituents from fruits and seeds of *Myrica rubra* Myricaceae. *Net. Med*, 2005. 59(2); 70, 75.
- [77] B. Voirin. *Phytochemistry*, 1983. 22 (10); 2107, 2145.
- [78] V-A. Bandyukova, K. Khalatov, K-I. Alimov. *Khim. Prir. Soedin*, 1969. 5; 324, 325.
- [79] J. Park, S. Hyunkim, T. Sungkim. Inhibition of inter lukin-4 production in activated T celle via down-regulation of NF-AT DNA binding activity by Apigenin a flavonoid present in dietary plants. *Immunology letters*, 2006. 103; 108, 114.
- [80] I. Kawasaki, M-H. Jeong, B-K. Oh, Y-H. Shim. Apigenin inhibits larval growth of *Caenorhadditis elegans* through DAF-16 activation. *Journal homepage*, 2010. 584; 3587, 3591.
- [81] Y-H. Siddique, T. Beg, M. Afzal. Antigenotoxic effect of Apigenin against anti-cancerous drugs. *Toxicology in vitro*, 2008. 22; 625, 631.



RÉSUMÉ

RÉSUMÉ *****

Ce travail reporte une étude phytochimique de l'espèce *Scorzonera undulata* ssp. *alexandrina* (Boiss.) Maire appartenant à la famille Asteraceae. Famille connue pour sa richesse en divers métabolites secondaires d'un grand intérêt biologique, à l'instar des flavonoïdes, sesquiterpènes lactones et autres triterpénoïdes.

Nos travaux d'investigation chimique ont porté sur les extraits acétate d'éthyle et méthanolique de *S. undulata* ssp. *alexandrina*, plante n'ayant fait l'objet d'aucune étude phytochimique antérieure. Ces travaux ont conduit à l'isolement de cinq constituants chimiques et cela par utilisation de diverses techniques chromatographiques (VLC, CC, CCE et CCM). Leurs structures ont été établies sans ambiguïté par les méthodes spectroscopiques modernes, particulièrement la RMN multiimpulsionnelle et la spectrométrie de masse. La mesure des pouvoirs rotatoires et la comparaison avec les données de la littérature ont été également exploitées. Les produits naturels mis en évidence dans le cadre de ce travail et appartenant à deux classes de métabolites secondaires qui sont typiques de la famille et du genre, se répartissent comme suit :

- quatre triterpènes dont un décrit pour la première fois aussi bien dans le genre *Scorzonera* que la famille Asteraceae.
- un flavonoïde nommé l'apigénine considéré comme un composé typique du genre.

Les résultats obtenus et qui sont en pleine conformité avec ceux obtenus antérieurement pour la famille et le genre, traduisent encore une fois la prédominance des flavonoïdes et triterpénoïdes.

MOTS CLÉS *****

Phytochimie, Asteraceae, *Scorzonera undulata* ssp. *alexandrina* (Boiss.) Maire, Triterpènes, Flavonoïdes, RMN 1D et 2D, Spectrométrie de masse.

ملخص*****

يتمثل هذا العمل في دراسة فيتو كيميائية للنبتة *Scorzonera undulata* ssp. *alexandrina* (Boiss.) Maire التي تنتمي الى عائلة Asteraceae هذه العائلة معروفة بوفرتها بمختلف أنواع الأيض الثانوي ذات أهمية بيولوجية كبيرة. مثل الفلافونويدات، السكويتربين لاكتون والتريتربينات.

عملنا يتركز على المستخلصين أسيتات الإيثيل والميثانول للنبتة *S. undulata* ssp. *alexandrina* التي لم تخضع لأي دراسة كيميائية سابقة وقد أدى هذا البحث إلى عزل خمس مركبات طبيعية وذلك باستخدام تقنيات كروماتوغرافية مختلفة (CCM, CCE, CC, VLC).

تم تحديد صيغتها الكيميائية بواسطة التحليل الميغافية المختلفة وخاصة مطيافية الرنين النووي المغناطيسي RMN ومطافية الكتلة Masse والتدوير الكيرالي $[\alpha]_D$ والمقارنة مع المعطيات المكتوبة.

المركبات الطبيعية المتحصل عليها عن طريق هذا العمل تنتمي الى عائلتين من الأيض الثانوي هي نموذجية في كل من النوع والعائلة.

تُنقسم هذه المركبات كمايلي :

❖ أربع تريتربينات، أحدها يستخرج للمرة الأولى سواء في النوع *Scorzonera* أو من العائلة Asteraceae.

❖ فلا فونويد يسمى apigénine يعتبر مركب نموذجي في هذا النوع.

هذه النتائج تتطابق مع تلك المتحصل عليها من النوع والعائلة ويترجم مرة أخرى على وفرتهم بالفلا فونويدات والتريتربينات.

الكلمات المفتاحية*****

فيتوكيميا، Asteraceae، *Scorzonera undulata* ssp. *alexandrina* (Boiss.) Maire، التريتربينات، الفلافونويدات، RMN 1D و 2D و مطيافية الكتلة.