

République Algérienne Démocratique Et Populaire

Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique

Université El-Hadj Lakhdar – Batna

Faculté des sciences

Département de chimie

MEMOIRE

POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE MAGISTER

Option : CHIMIE ORGANIQUE

Présenté par :

NAIT SAID NADIA

**ETUDE PHYTOCHIMIQUE DES EXTRAITS
CHLOROFORMIQUES DES PLANTES: « *PITURANTHOS
CHLORANTHUS* » ET « *MARRUBIUM VULGARE* »**

SOUTENUE LE 24 / 05 / 2007

DEVANT LE JURY D'EXAMEN

-Mr. M. Laabassi

-Mr. A. Dibi

-Mr. Y. Bouzaher

-Mr. M. R. Y. El Hilou

-Mr. M.C. Aberkane

Prof- U-Batna

Prof-U-Batna

Prof- U-Batna

Prof- C.U.O.E. Bouaghi

C.C- U-Batna

Président

Rapporteur

Examineur

Examineur

Invité

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE.....1

PREMIERE PARTIE

CHAPITRE I : TRAVAUX ANTERIEURS

I-1-Description Botanique.....	2
I-1-1-Famille des Lamiaceae.....	2
I-1-2-Genre Marrubium.....	2
I-1-3-Espèce <i>Marrubium vulgare</i>	3
I-1-3-1-Le nom vernaculaire.....	3
I-1-3-2-Distribution.....	3
I-2-Usages traditionnels.....	3
I-3-Place dans la systématique.....	4
I-4-Etudes chimiques antérieures.....	6
I-4-1-Sur la famille.....	6
I-4-2-Sur le genre.....	13
I-4-3-Sur l'espèce.....	22

CHAPITRE II : ETUDE DES TERPENOIDES ET DES DITERPENOIDES

II-Les Terpénoides.....	26
II-1-Définition.....	26
II-2-Nomenclature.....	26
II-3-Biosynthèse des terpènes.....	27
II-3-1-Formation du GGPP.....	27
II-4-Formation des diterpènes bicycliques.....	30
II-4-1-Les labdanes.....	31
II-4-2-Les clérodanes et les néo-clérodanes.....	31
II-4-3-Lesséco-clérodanes.....	33
II-5-Diagramme des diterpènes bicycliques.....	33
II-5-1-Les labdanes et les nor- labdanes.....	33
II-5-2-Clérodanes et néo-clérodanes.....	34
II-5-3-les séco-clérodanes.....	44
II-6-Formation des diterpènes tricycliques.....	45
II-7-Les diterpènes tétracycliques.....	46
II-8-Synthèse totale des diterpènes.....	47
II-9-Intérêt des diterpènes.....	48

CHAPITRE III : ISOLEMENT DES COMPOSES ET

DETERMINATION DE LEURS STRUCTURES

III-1-Extraction.....	49
III-2-Elimination de la chlorophylle.....	49
III-3-Séparation et Purification.....	49
III-4-Détermination de structures.....	52
III-4-1-COMPOSE A.....	52

CHAPITRE IV : PARTIE EXPERIMENTALE

IV-1-Matériel utilisés.....	56
IV-2-Extraction.....	57
IV-3-Contrôle chromatographique des extraits.....	57
IV-3-1-Extrait étheropétrolique.....	57
IV-3-2-Extrait butanolique.....	57
IV-3-3-Extrait chloroformique.....	57
IV-4-Séparation et purification.....	57
IV-4-1-Extrait chloroformique.....	57
IV-4-1-1-Etude du lot N° 8.....	59
IV-5-Caractéristiques Spectrales.....	60
Conclusion	62

BIBLIOGRAPHIE.....63

DEUXIEME PARTIE

CHAPITRE V : TRAVAUX ANTERIEURS

I-1-Description Botanique.....	68
I-2-Usages traditionnels.....	70
I-3-Toxicité.....	70
I-4-Etudes chimiques antérieures.....	70
I-4-1-Genre <i>Pituranthos</i>	70
I-4-2-Espèce <i>Pituranthos chloranthus</i>	77

CHAPITRE VI : ETUDE DES STEROÏDES

II-1-Etymologie.....	79
II-2-Généralités.....	79
II-2-1-Nomenclature.....	81
II-2-2-Stéréochimie.....	83
II-3-Définition des stèrols.....	84
II-4-Classification et répartition des stèrols.....	85
II-4-1- Définition des phytostèrols.....	85

II-4-2-Propriétés pharmacologique des phytostérols et leur emploi	86
II-5-Biogenèse des stérols.....	87

CHAPITRE VII : ISOLEMENT DES COMPOSES ET

DETERMINATION DE LEURS STRUCTURES

III-1-Extraction.....	95
III-2-Séparation et Purification.....	97
III-3-Détermination de structures.....	97
III-3-1-COMPOSE B.....	97

CHAPITRE VIII : PARTIE EXPERIMENTALE

IV-1-Extraction.....	102
IV-2-Contrôle chromatographique des extraits.....	102
IV-2-1-Extrait cyclohexanique.....	102
IV-2-2-Extrait chloroformique.....	102
IV-2-3-Extrait méthanolique.....	102
IV-3-Séparation et purification.....	102
IV-3-1-Extrait chloroformique.....	103
IV-3-1-1-Etude du lot N° 2.....	104
IV-4-Caractéristiques Spectrales.....	105

Conclusion.....	107
------------------------	------------

BIBLIOGRAPHIE.....	108
---------------------------	------------

CONCLUSION GENERALE.....	112
---------------------------------	------------

ANNEXE : SPECTRE IR, RMN, SM DES COMPOSES A ET B.	
--	--

ABREVIATIONS UTILISEES

COSY : correlation spectroscopy

HSQC : heteronuclear single quantum correlation

HMBC : heteronuclear multiple bond correlation

MS/MS : mass spectroscopy/ mass spectroscopy

s: singulet

sl: singulet large

d: doublet

dd: doublet de doublet

ddd: doublet de doublet de doublet

dt: doublet de triplet

tt: triplet de triplet

td: treplet de doublet

m: multiplet

Me: méthyle

AcOEt: acétate d'éthyle

MVA: acide mévalonique

ATP: adénosine triphosphate

IPP: phosphate d'isopentenyle

DMAPP: pyrophosphate de diméthylallyle

GPP: géranylpyrophosphate

FPP: farnesylpyrophosphate

INTRODUCTION GENERALE

Ce travail est consacré essentiellement à l'étude chimique de deux plantes. *Le Marrubium vulgare*, plante vivace a tiges épaisses, cotonneuses, très feuillées, appartenant à la famille des Lamiacées et le *Pituranthos chloranthus*, plante toxique appartenant à la famille des Ombellifères.

Notre intérêt est basé sur la richesse avérée des genres en substances naturelles d'un grand intérêt biologique, comme le genre *Marrubium* riche en flavonoides, irridiodes et en labdanes diterpéniques et la présence des alcaloides dans le genre *Pituranthos*.

Marrubium vulgare est une plante utilisée en médecine traditionnelle dans le traitement du rhume et de la fièvre. La plante *Pituranthos chloranthus* est commune dans tout le Sahara septentrional et occidental, elle est également utilisée contre les céphalées, sous forme de cataplasmes sur la tête. Cette richesse nous a donné une motivation sans égal pour la conduite de ce travail.

Ce mémoire produit l'étude chimique de la plante *Marrubium vulgare* plus connue sous le nom vernaculaire Marriout et la plante *Pituranthos chloranthus* appelée localement Guezzeh.

Ce travail est constitué de deux parties :

La première partie comprend quatre chapitres:

Chapitre I : Travaux chimiques antérieurs réalisés sur la famille et le genre de *Marrubium vulgare*.

Chapitre II : Etude des terpènes et des diterpènes.

Chapitre III : Isolement des produits et détermination de leurs structures.

Chapitre IV : Partie expérimentale.

La deuxième partie comprend aussi quatre chapitres :

Chapitre V : Travaux chimiques antérieurs réalisés sur la famille et le genre de *Pituranthos chloranthus*.

Chapitre VI : Etude des stéroles.

Chapitre VII : Isolement des produits et détermination de leurs structures.

Chapitre VIII : Partie expérimentale.

PREMIERE PARTIE

**ETUDE DE LA PLANTE
MARRUBIUM
VULGARE**

Chapitre I

TRAVAUX ANTERIEURS

I-1-Description Botanique

I-1-1-Famille des Lamiaceae

La famille des Lamiaceae (labiées) comprend près de 200 genre et 4000 espèces [1] dont la plupart ont une importance économique due à leur production d'huiles essentielles. Des études biologiques d'huile essentielles des espèces de genre *Thymus* on montré des activités, anti-microbiennes, anti-inflammatoires, en plus de leurs utilisation en cosmétique et en agroalimentaire [2-3].

Un très grand nombre de genres de la famille des Lamiaceae sont des sources riches en terpénoides, flavonoides et iridoides glycosylés. Le genre *Phlomis* comprenant près de 100 espèces est particulièrement riche en flavonoides, phénylétanoides, phénylpropanoides et en iridoides glycosylés. Le genre *Salvia* (Sauge), comprenant près de 900 espèces majoritairement riche en diterpénoides [4] et le genre *Marrubium* (Marrube) qui est l'objectif de notre recherche comprend près de 30 espèces qui peuvent se trouver dans un nombreux pays du globe [5].

Une étude récente sur l'antioxydant des plantes médicinale au Nouveau Mexique a été réalisée [13]. Le tableau (1) donne quelque notion : le nom commun, les parties de les plantes et leurs utilisations et la capacité de l'antioxydant (6-hydroxy-2, 5,7-tétraméthylchroman-2-carboxylique acide = Trolox).

Nom Scientifique	Nom Commint	Partie de la plante	utilisation	Capacité antioxydant (μmole Trolox équivalent/g poids sec)
<i>Marrubium vulgare</i>	Mastranzo	Feuillet	Rhume et Fièvre	560
<i>Mentha spicata</i>	Yerbabuena	//	Trouble d'estomac	169
<i>Ocimuim basilicum</i>	Albacar	//	/	160
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Romero	//	Remède de Rhume,	476
<i>Salvia officinales</i>	Salvia	//	fièvre Indigestion	442

Tableau (1): Présentation de la capacité antioxydant des plantes, le nom commun, les parties de les plantes et leurs utilisations

I-1-2-Genre *Marrubium*

Selon Gaston.B [5]: Le Marrube (des mots hébreux : mar, rob, suc amer). En Anglais : Harehound, En Italien : Marrubio.

Le calice est à dents non épineuse, au nombre de 10 ou de 20 (plus rarement de 5) [7], à 10 nervures principales, la corolle, dont le tube est renfermé dans le calice présente une lèvre supérieure dressée, terminée par deux lobes et une lèvre inférieure à 3 lobes dont le médian est plus grand. Les 4 étamines sont renfermées dans le tube de la corolle, à filets parallèles, à athées tout les fertiles et dont les loges sont opposées bout à bout. Les 4 parties du fruit sont arrondies au sommet. Ce sont des plantes vivaces, blanche-cotonneuse, à feuilles crénelées, rugueuses et à nervures en réseau, à fleurs blanches [5].

I-1-3-Espèce *Marrubium vulgare*

LeMarrube vulgaire [synonyme: *Marrubium album* (Cariot et Saint-large)] est une plante, d'aspect blanchâtre à odeur forte et désagréable, de 30 à 80cm de hauteur. Ses fleurs blanches, relativement petites, apparaissent du mois de Mai jusqu'au mois de Septembre, et parfois encore en hiver. Les feuilles ont toutes un pétiole [5,6]. Ce dernier est très allongé chez les feuilles inférieures, au contraire très court et bordé par deux prolongements du limbe chez les feuilles supérieures. Le limbe est fortement ridé en réseau, irrégulièrement crénelé, à contour largement ovale ou arrondi, se rétrécissant en coin à sa base, velues cotonneux et blanchâtre sur la face inférieure, poilue mais verte (rarement blanchâtre) sur la face supérieure. L'inflorescence est allongée et formée de groupes successifs renfermant chacun de nombreuses fleurs. Les petites bractées qui accompagnent les fleurs sont très étroites et crochues dans leurs parties supérieures. Le calice est velu-cotonneux, avec un anneau de poils vers l'intérieur en haut du tube du calice, il est terminé par 6 à 10 dents crochues. La corolle, couverte de petits poils à l'extérieur, présente un tube courbé, resserré, vers le milieu et ayant, à ce niveau, à l'intérieur, un anneau de poils, qui est disposé transversalement. La lèvre supérieure est dressée en deux lobes obtenus à leur sommet. Le lobe médian de la lèvre inférieure est de contour arrondi et crénelé à son sommet. Les nectaires forment 4 lobes alternant avec les 4 parties de l'ovaire, qui sont aiguës à leur sommet dont l'antérieure est un peu plus large que les autres.

C'est une plante vivace, à tiges épaisses, cotonneuses, très feuillées, qui se perpétue et se multiplie par des bourgeons nés sur la tige souterraine [5].

I-1-3-1-Le nom vernaculaire

En Algérie est connu par le nom Marriouth [7], au Maroc c'est Merrîwt [8], un autre en Tunis Marroubia [6].

I-1-3-2-Distribution

Elle pousse dans toute l'Afrique du nord, presque toute l'Europe [5-7-8] Centre et Sud-ouest de l'Asie. Au Canaries naturalisé dans l'Amérique du Nord et dans l'Amérique du Sud [5].

I-2 Usages traditionnels

L'espèce *Marrubium vulgare*, appelée localement Marriouth, est largement utilisée en médecine traditionnelle. Au Maroc la décoction de la plante est employée comme antidiabétique, seule ou associée au Fenugrec, à la Globulaire turbith, à l'Ivette, à l'Armoise blanche, au Lupin blanc, au Thym. La décoction est prescrite également comme anti-typhoïdique, anti-diarrhéique, fébrifuge, anti-ictérique, expectorant, tonique et stimulant (pour les malades alités). Les diabétiques édulcorée généralement la décoction avec le miel ou les raisins secs [8]. En usage externe, la plante hachée et couramment utilisée en cataplasmes sur le front et les tempes contre les fièvres, et sur les abcès. Alors que dans le "Jbel Bou Iblane" le Marrube est mâché contre les maux de dents. En médecine traditionnelle Tunisienne on reconnaît au Marrube un certain nombre de propriétés : le décocté préparé à partir de la plante entière est utilisé dans l'hypertension, les hémorroïdes et aussi antirhumatismal, analeptique cardiaque, antiseptique pulmonaire. Il est réputé pour purifier le lait des femmes qui allaitent. Il est utilisé en bain de bouche et en usage externe dans le traitement des brûlures [6].

I-3-Place dans la systématique

Royaume : Plantes
Sous royaume : Tracheobiontes
Embranchement : Spermatophytes
Division : Magnoliophytes
Classe : Magnolipsides
Sous classe : Asteridae
Ordre : Lamiales
Famille : lamiaceae
Genre : *Marrubium*
Espèce : *Marrubium vulgare*



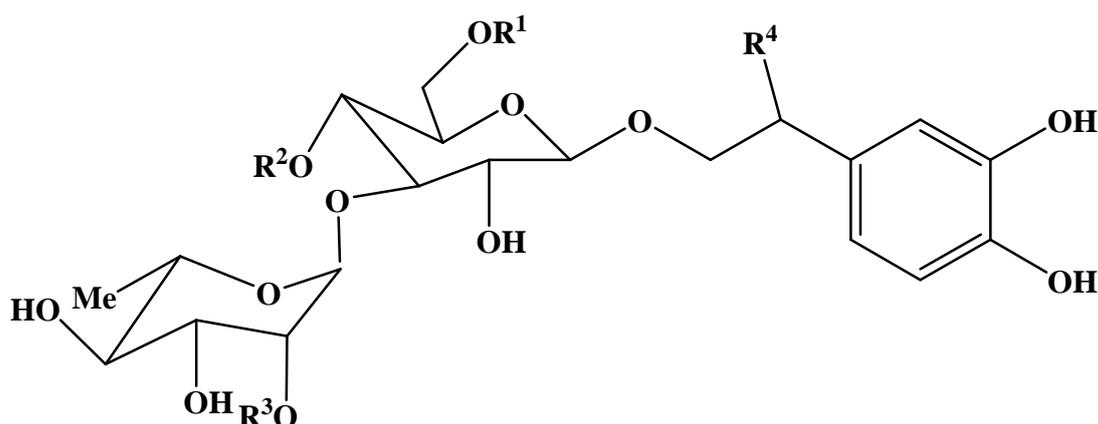
Marrubium vulgare

I-4-Etudes chimiques antérieures

I-4-1-Sur la famille :

La famille de Lamiaceae est très étudiée du point de vue chimique, ce qui a permis d'isoler un grand nombre de substances connues pour leurs diverses activités biologiques, à titre d'exemples, les diterpènes, les flavonoïdes, les huiles essentielles, les iridiodes glycosilés.

Une étude chimique réalisée par Jens A et collaborateurs [10], a mis en évidence plusieurs composés de type 3,4-dihydroxyphényléthanoïde glycosiles dans la famille des Lamiaceae. Il s'agit de: Deaffeoylacteoside 1, Acteoside 2, Isoocteoside 3, Leucosceptoside A 4, Lavandulifolioside (Stachyoside A) 5, Leonoside A 6, Phlinoside A 7, Phlinoside B 8, Phlinoside C 9, Premcoryoside 10, Teucriosid 11, β -Hydroxyacteoside (compneoside II) 12. Dans le tableau (2) sont reportés les différents composés de 3,4-dihydroxyphényléthanoïde.



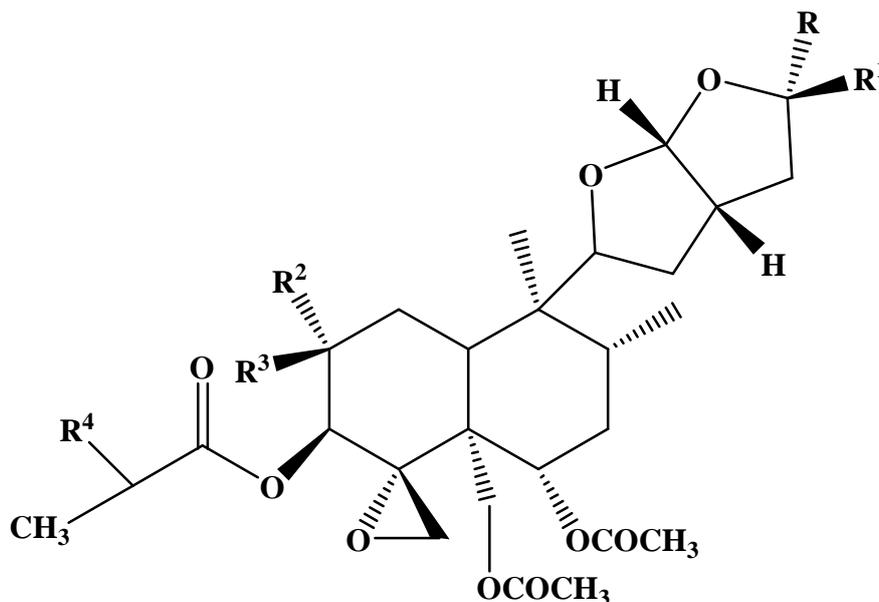
N°	R ¹	R ²	R ³	R ⁴
<u>1</u>	H	H	H	H
<u>2</u>	H	Caffeoyl	H	H
<u>3</u>	Caffeoyl	H	H	H
<u>4</u>	H	Feruloyl	H	H
<u>5</u>	H	Caffeoyl	Ara	H
<u>6</u>	H	Feruloyl	Ara	H
<u>7</u>	H	Caffeoyl	Glu	H
<u>8</u>	H	//	Xyl	H
<u>9</u>	H	//	Rha	H
<u>10</u>	IRI(X: ')	//	H	H
<u>11</u>	H	//	Lyx	H

<u>12</u>	H	//	H	OH
-----------	---	----	---	----

Tableau (2)

Une étude plus récente effectuée sur l'extrait acétonique de *Ajuga pseudoiva*[9] à permis de mettre en évidence cinq clérodane diterpénoides, Hativene A 13, Hativene B 14, Hativene C 15, Lupulin A 16, 14,15-Dihydroajugapitin 17.

Les composés sont reportés dans le tableau (3)



N°	R	R ¹	R ²	R ³	R ⁴
<u>13</u>	H	OMe	OH	H	CH ₃
<u>14</u>	OMe	H	OH	H	CH ₃
<u>15</u>	OMe	H	H	OH	CH ₃
<u>16</u>	H	OMe	OH	H	C ₂ H ₅
<u>17</u>	H	H	OH	H	C ₂ H ₅

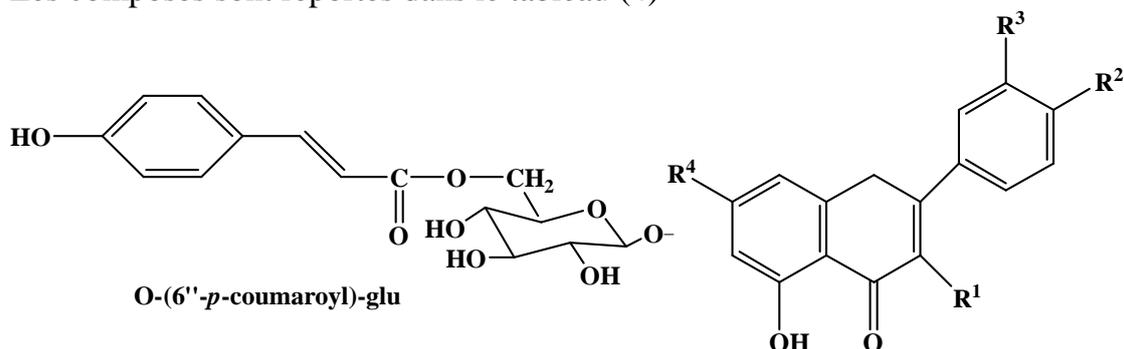
Tableau (3)

Les structures ont été établies par les différentes méthodes d'analyse spectroscopique RMN et MS.

L'étude chimique de *Patchouli* [11] a permis également de mettre en évidence la présence de *p*-coumaroyl glucoside de Apigenin et d'autres flavonoides.

Pachypodol 18, Ombuine 19, Apigenin 20, Rhamnetin 21, Apigenin-7-O-β-D-(6''-*p*-coumaroyl)-glucoside 22, Apigetrin 23, Apigenin-7-O-β-D-(6''-Acétyl)-glucoside 24, Quiqueloside 25.

Les composés **18** et **19** sont isolés de l'extrait n-hexane de *Patchouli*. Par contre, les composés de **20** à **23** sont isolés de l'extrait acétate d'éthyle. Les composés sont reportés dans le tableau (4)



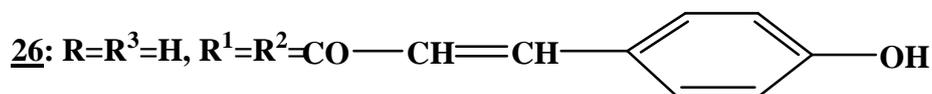
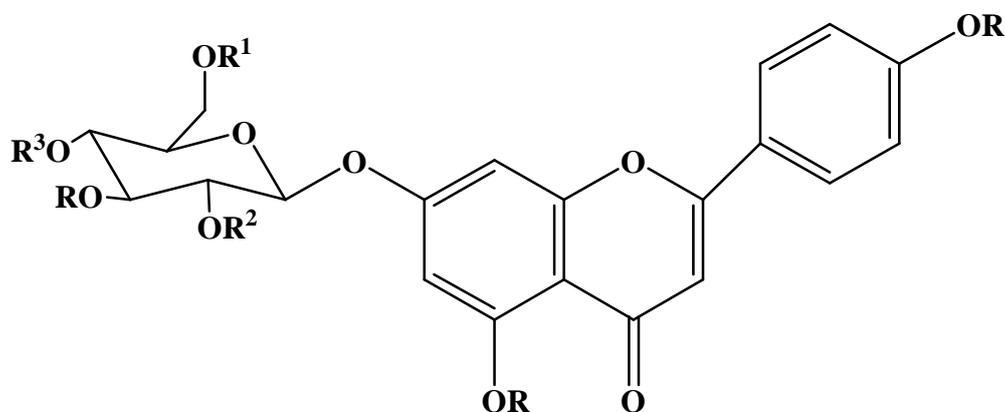
N°	R ¹	R ²	R ³	R ⁴
18	OMe	OH	OMe	OMe
19	OH	OMe	OH	OMe
20	H	OH	H	OH
21	OH	OMe	OH	OMe
22	H	OH	H	O-(6''- <i>p</i> -coumaroyl)-glu
23	H	OH	H	O-glu
24	H	OH	H	O-(6''-acétyle)-glu
25	H	O- <i>p</i> -coumaroyl	H	O-glu

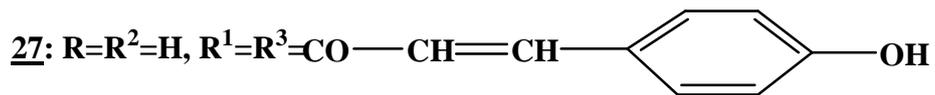
Tableau (4)

Deux structures de Apigenin glucosides ont été obtenues à partir des parties aériennes de *Anisomeles ovata* [12].

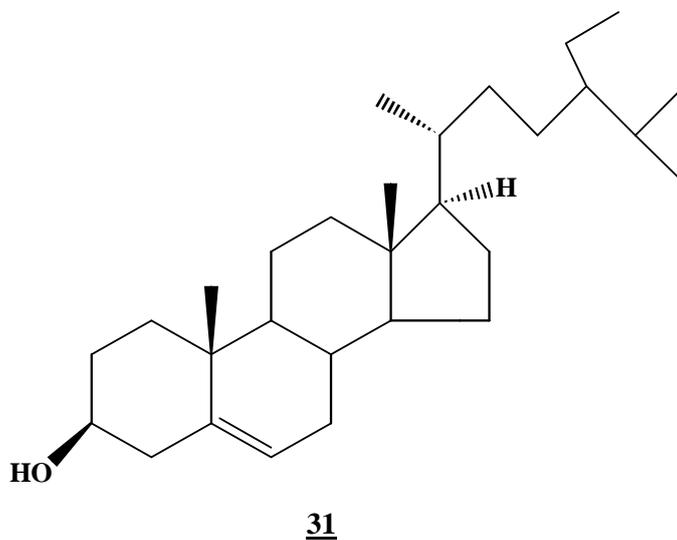
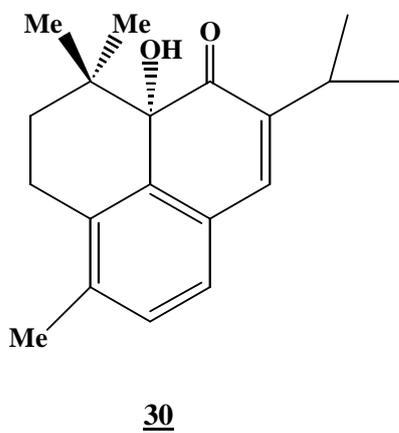
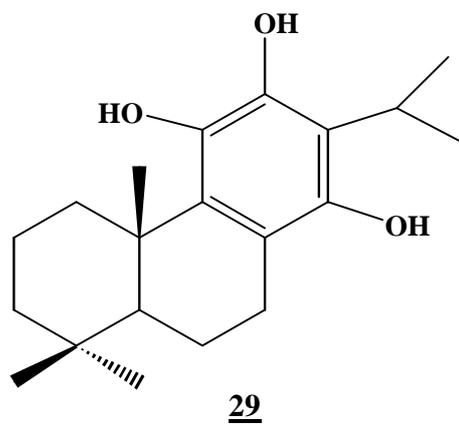
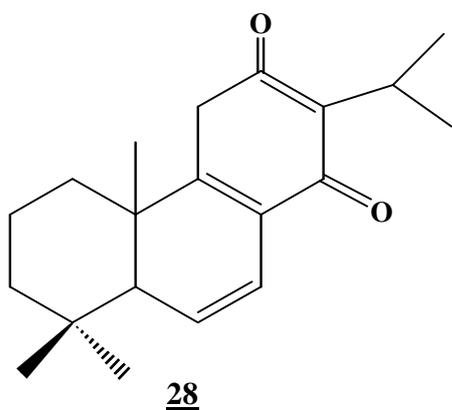
Apigenin-7-O-β-D-(2'',6''-di-O-*p*-coumaroyl) glucoside **26**.

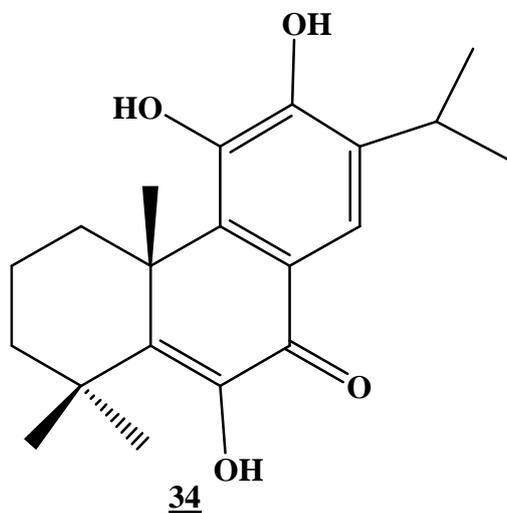
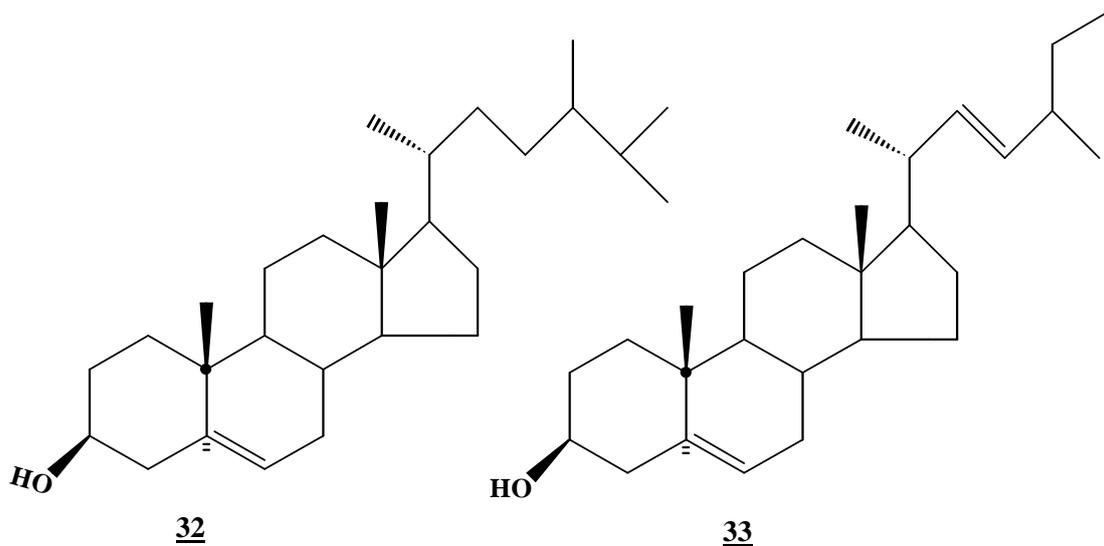
Apigenin-7-O-β-D-(4'',6''-di-O-*p*-coumaroyl) glucoside **27**.





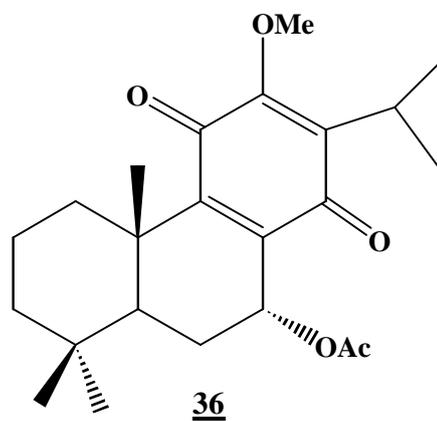
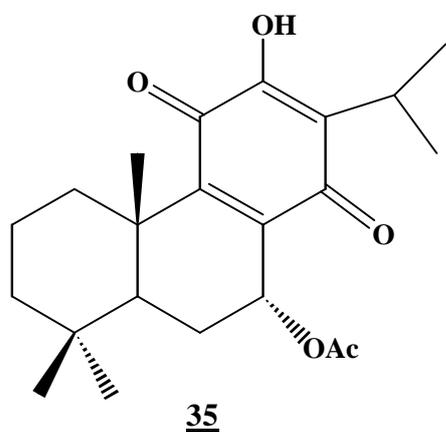
Une étude menée sur l'extrait acétinique des racines de *Silvia jaminiane* [4], a permis d'obtenir 7 composés à savoir:
 6,7-Déhydroroyléanone **28**, 11, 12, 14-Trihydrobieta-6, 8, 11, 13-tétreène (Cryptanol) **29**, Microstegiol **30**, β -Sitostérol **31**, Campesterol **32**, Stigmastérol **33**, 6-Hydroxysalvinolone **34**.

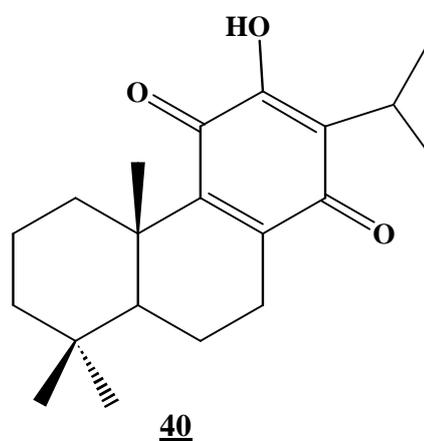
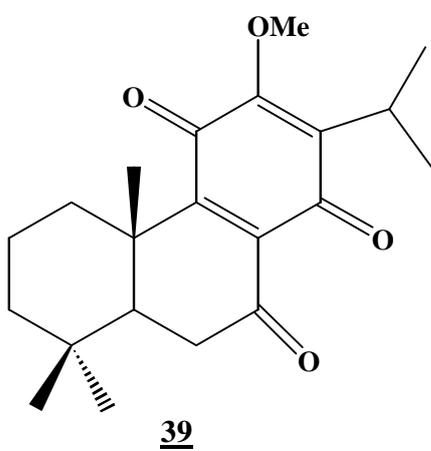
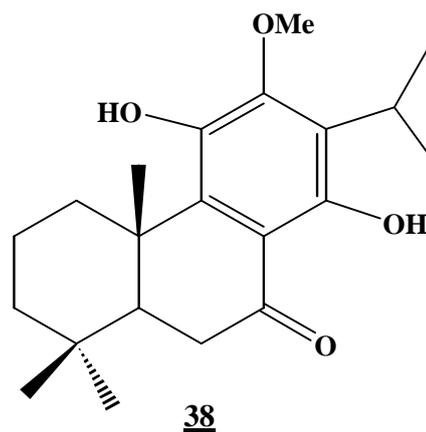
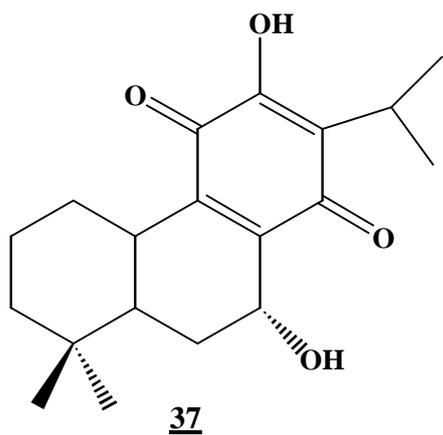




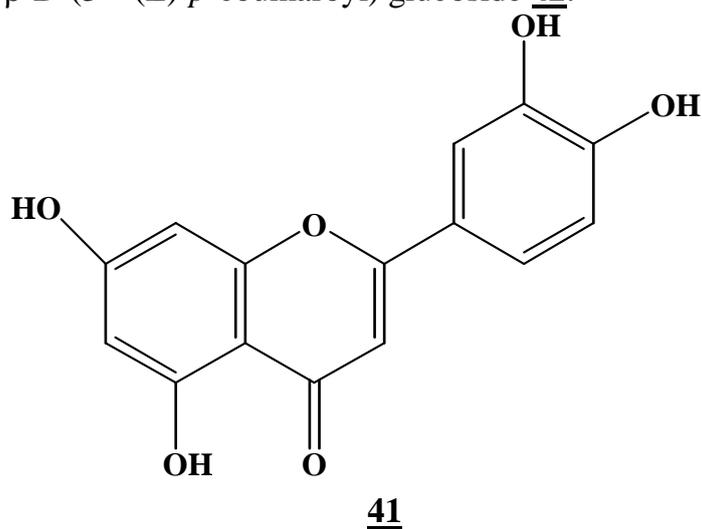
De l'extrait acétonique des racines de *Salvia barrelieri* [4] on a pu isoler
6 composés.

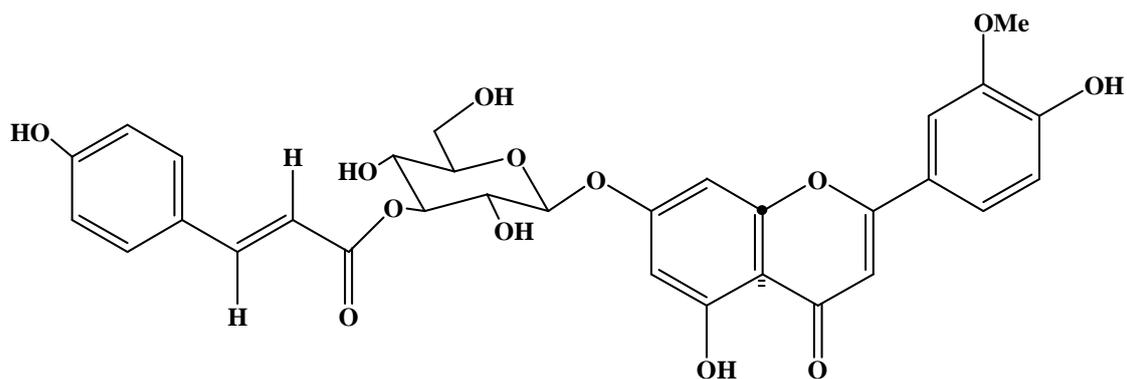
7- α -Acetoxyroyleanone **35**, 12-Méthoxy-7-acétoxyroyléanone **36**,
Harminone **37**, 11,14-Dihydroxy-12-méthoxy-6-oxoabbieta-8,11,13-triène **38**,
12-Méthoxy-7-oxoroyleanone **39**, Royléanone **40**.





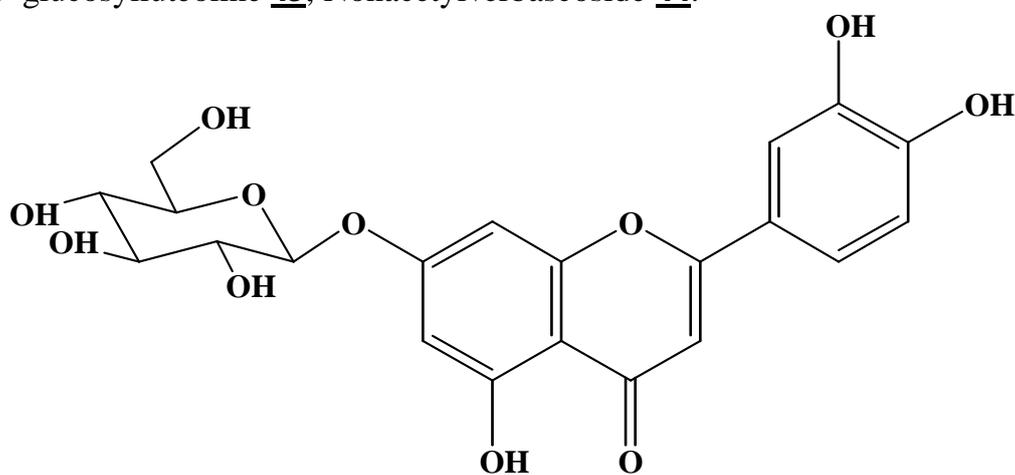
Une autre étude réalisée sur les parties aériennes de l'extrait d'acétate d'éthyle de *Phlomis crinita* [4] a donné deux produits: Lutéoline **41**, Chrysoeriol-7- β -D-(3''-(E)-*p*-coumaroyl) glucoside **42**.



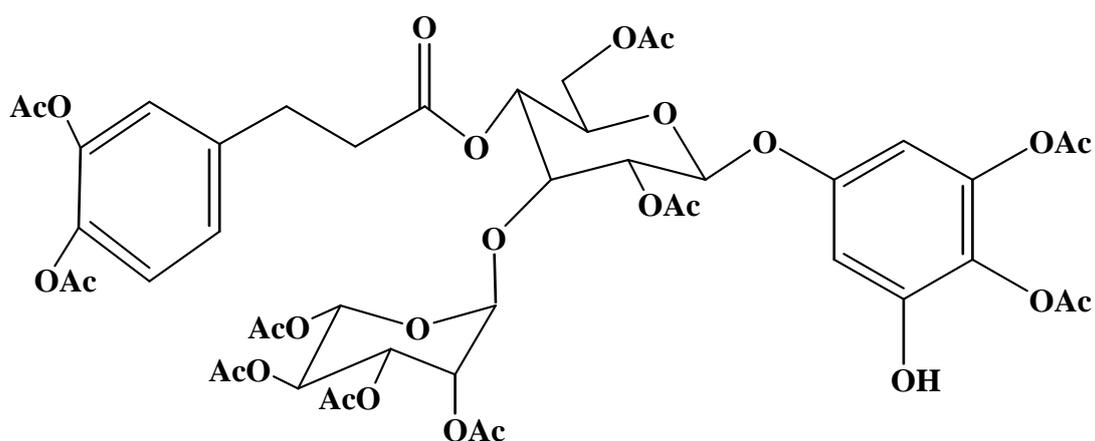


42

De l'extrait butanolique de *Phlomis crin* ont isolé deux autres composés: 7-O-β-D-glucosyllutéoline **43**, Nonacetylverbascoside **44**.



43



44

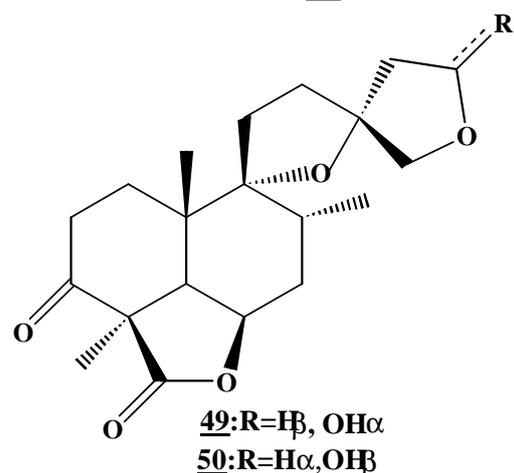
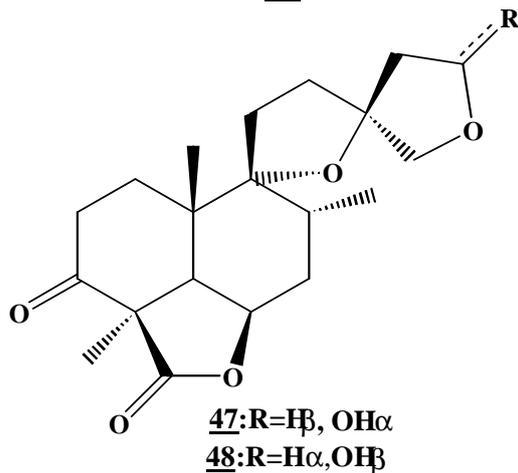
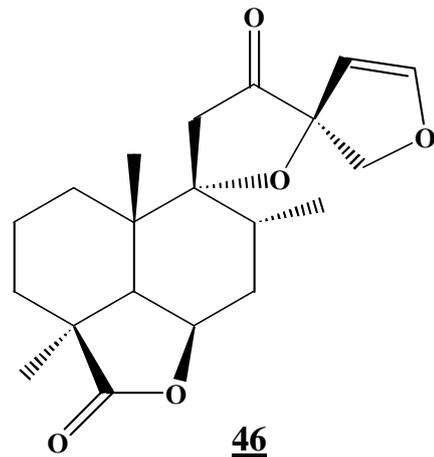
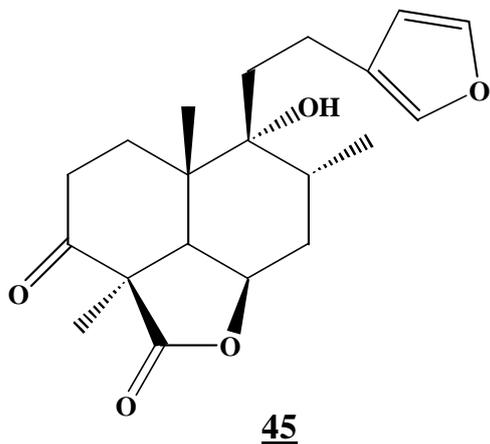
Ces structures ont été déterminées par les méthodes spectroscopiques IR, UV, RMN, et spectrométrie de masse MS.

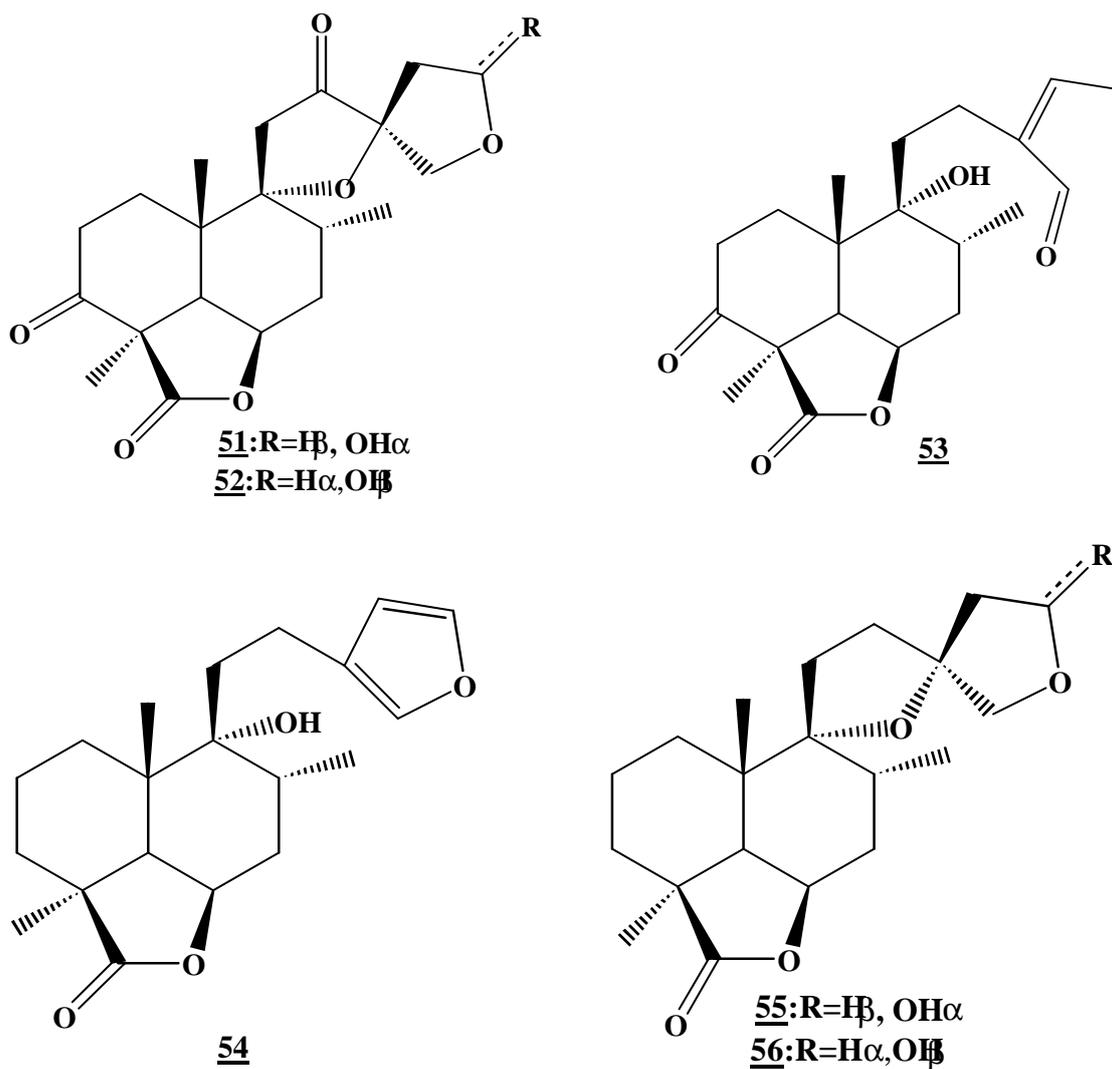
I-4-2-Sur le genre :

Les études phytochimiques effectuées sur le genre *Marrubium* [14] au regard des données bibliographiques. Ces études ont permis d'isoler un grand nombre de métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les iridiodés, les sesquiterpènes, les diterpènes et les triterpènes.

Anstasia et collaborateurs [14] ont particulièrement étudié l'espèce *Marrubium velutinum* et *Marrubium cyleneum*. Leurs études sont abouties, par l'identification de douze labdanes diterpéniques.

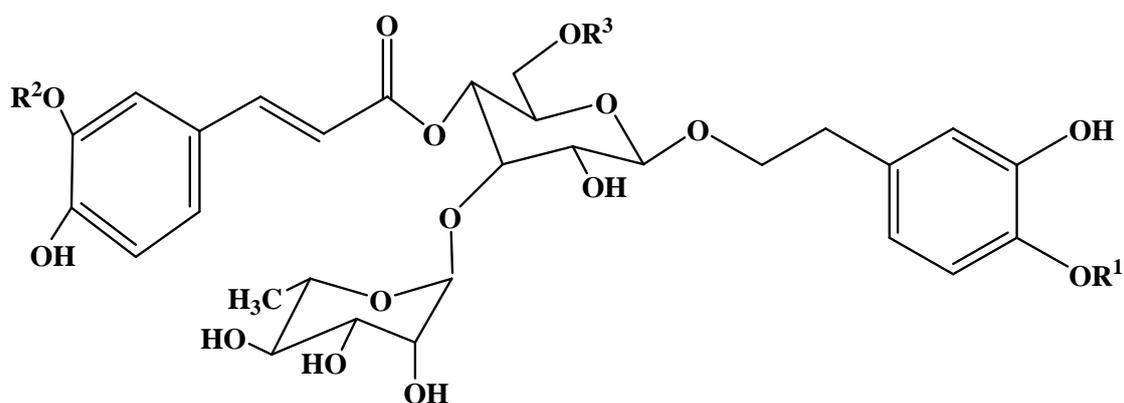
Peregrinine **45**, Marrubinone B **46**, 9 α ,13R :15,16-bisepoxy-15 α -hydroxy-3-oxo-labdan-6 β , olide **47**, 9 α ,13R :15,16-bisepoxy-15 β -hydroxy-3-oxo-labdan-6 β , olide **48**, Velutine A **49**, 15-epi-velutine A **55**, Velutine B **51**, 15-epi-velutine B **52**, Velutine C **53**, Marrubiin **54**, Cyllenine A **55**, 15-epi-cyllenine A **56**.





Une étude phytochimique faite par Ihsan Calis et collaborateurs [15], sur les parties aériennes de *Marrubium alysson*, a abouti à l'isolement et à l'identification de six nouveaux produits : Alyssonoside **57**, Verbascoside **58**, Leucosceptoside A **59**, Martynoside **60**, Forsythoside B **61**, Leucosceptoside B **62**.

Les composés sont classés dans le tableau (5).

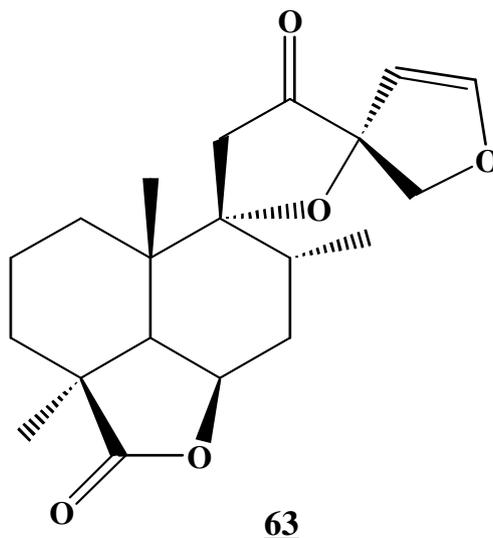


N°	R ¹	R ²	R ³
<u>57</u>	H	CH ₃	Apiose
<u>58</u>	H	H	H
<u>59</u>	H	CH ₃	H
<u>60</u>	CH ₃	CH ₃	H
<u>61</u>	H	H	Apiose
<u>62</u>	CH ₃	CH ₃	Glucose

Tableau (5)

Ces composés ont été également identifiés par les méthodes spectroscopiques : IR, UV, RMN et spectromètre de masse type FAB.

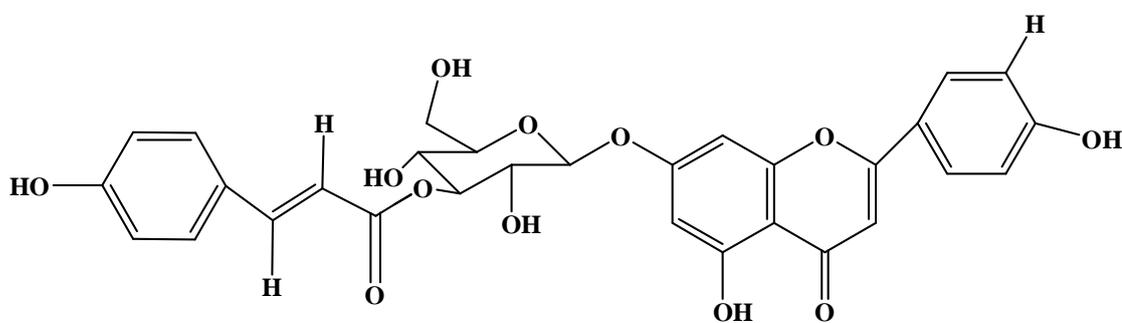
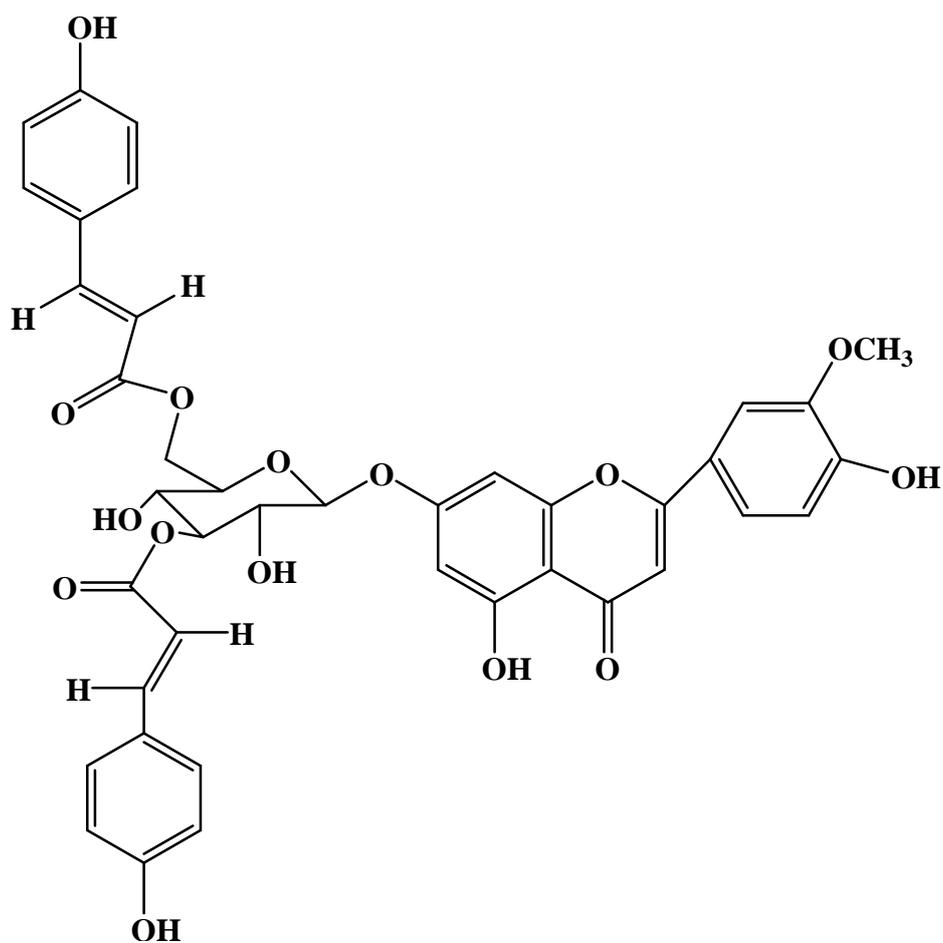
L'étude chimique de *Marrubium astracanicum* [16] réalisée sur l'extrait méthanolique des parties aériennes a permis de mettre en évidence la présence de deux labdanes diterpéniques, appelés: Marrubinone A 63 et Marrubinone B (structure 46).

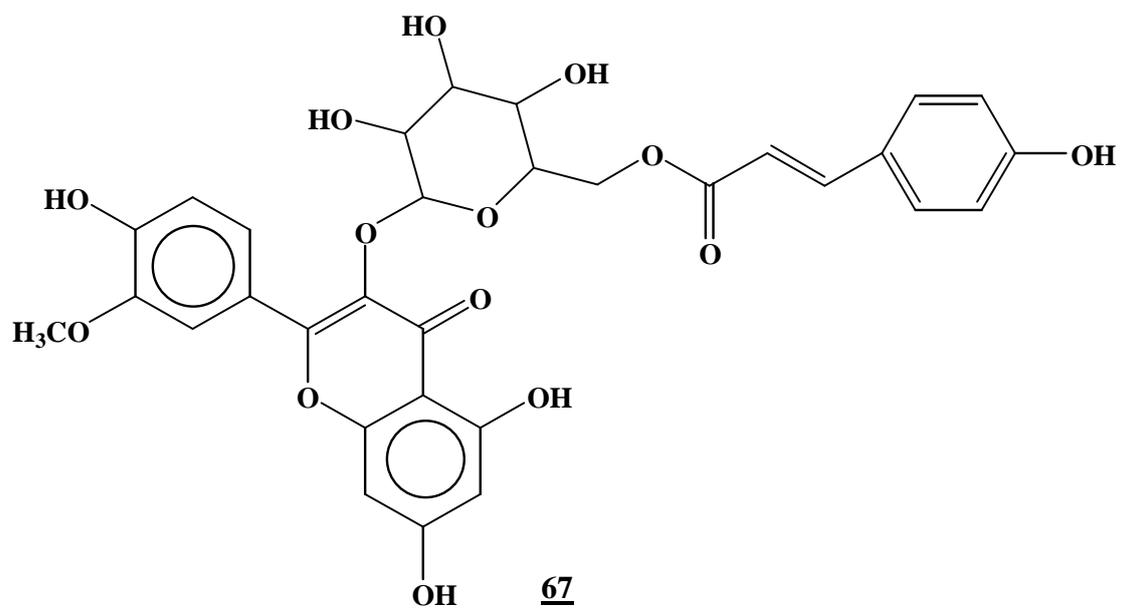
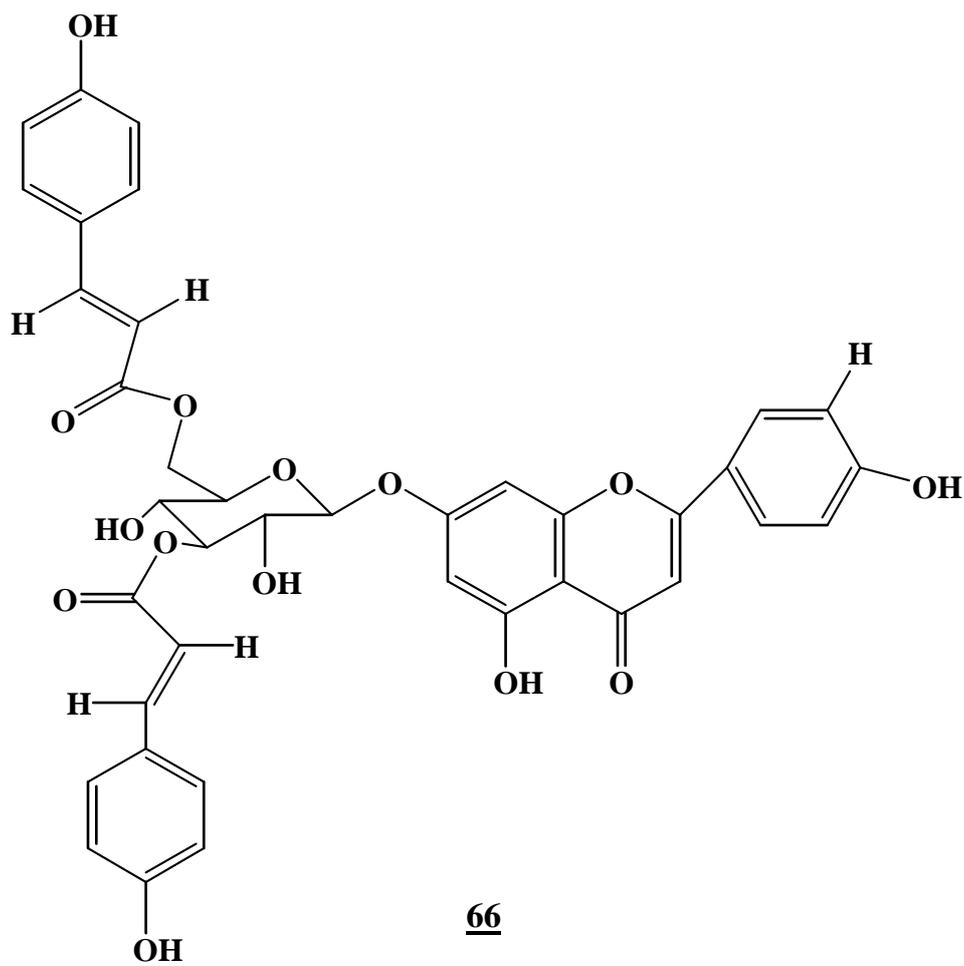


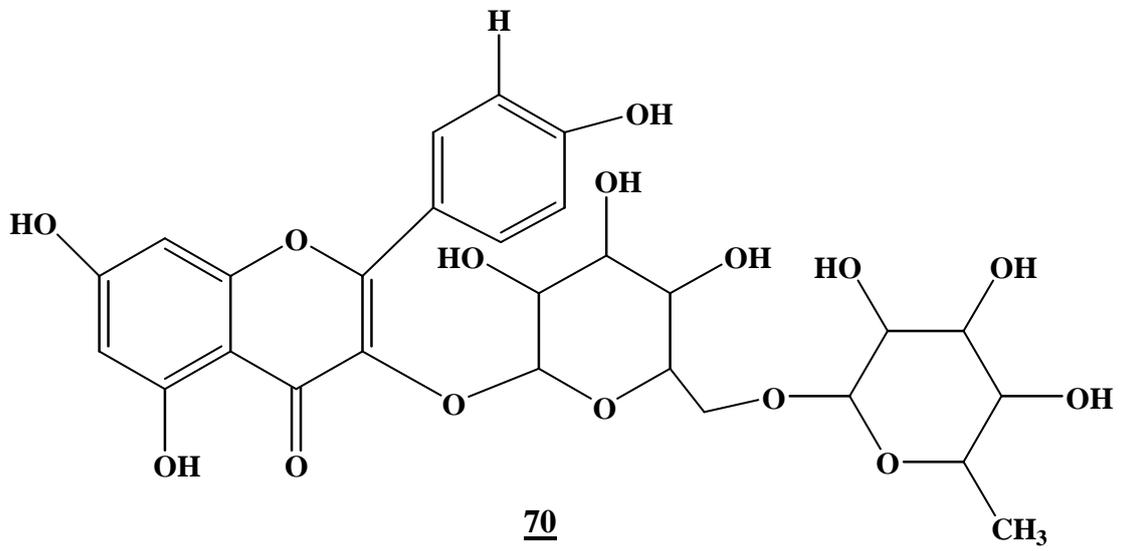
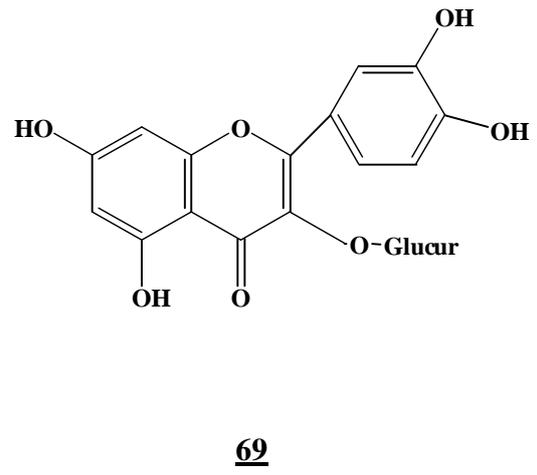
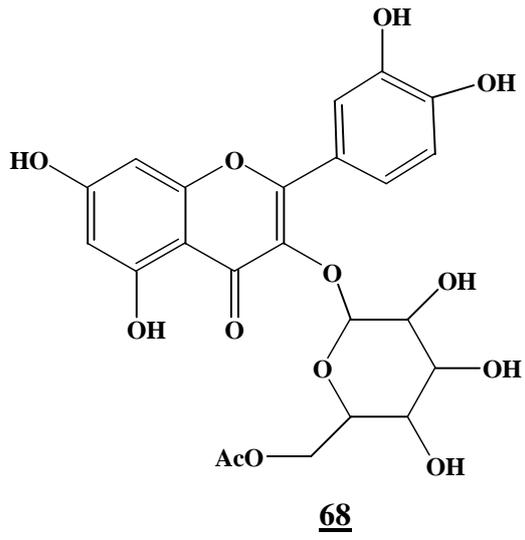
Ces structures ont été établies par les méthodes spectroscopiques : RMN, IR, UV et le spectromètre de masse.

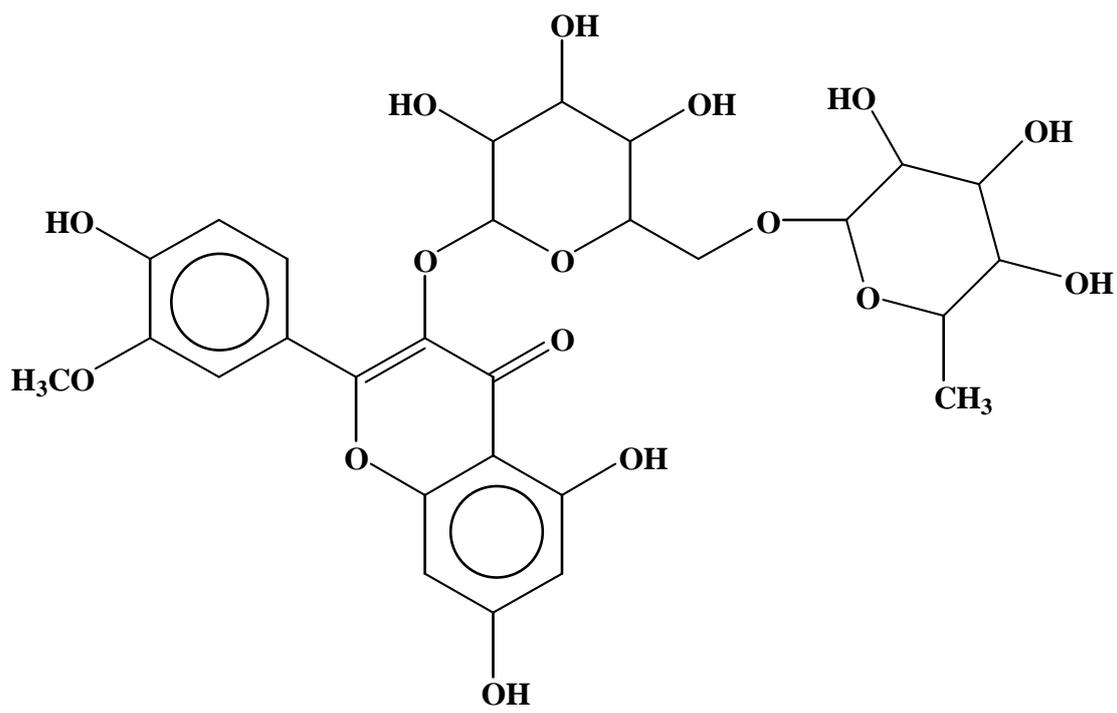
Une autre étude chimique, beaucoup plus récente, effectuée sur l'extrait méthanolique des parties aériennes de *Marrubium velutinum* [17], a permis d'isoler onze flavonoïdes et huit phényléthanoides glucosides il s'agit de : Chrysoeriol-7-O-(3'',6''-di-O-E-p-coumaroyl)-β-D-glucopyranoside 64, Apigenin-7-O-(3'-O-E-p-coumaroyl)-β-D-glucopyranoside [19] 65, Apigenin-7-O-(3'',6''-di-O-E-p-coumaroyl)-β-D-glucopyranoside [18] 66, Isorhamnetin 3-O-(6''-O-E-p-coumaroyl)-β-D-glucopyranoside [29] 67, Quercetin 3-O-(6''-acétyl)-β-D-glucopyranoside [20] 68, Isoquercitrin [4] 69, Kaempferol-3-O-β-

D-rutinoside [21] **70**, Isorhamnetin 3-O- β -D-rutinoside [22] **71**, Chrysoeriol [4] **72**, Isorhamnetin 3-O- β -D- glucopyranoside [23] **73**, Isorhamnetin 7-O-(6`-O-E-p-coumaroyl)- β -D-glucopyranoside[24] **74**; Acteoside (voire structure **58**) ; Leucosceptoside A (voire structure **59**) ; Echinocoside [25] **75**, Forsythoside B [26]**76**, Alyssonoside (voire structure **57**) ; Stachyoside A [4] **77**, et les deux tétrasacchridique phenylethanoid glucosides qui sont des groupe rares à les trouvée dans les métabolisme secondaire : Velutinoside I **78** et Velutinoside II **79** [17].

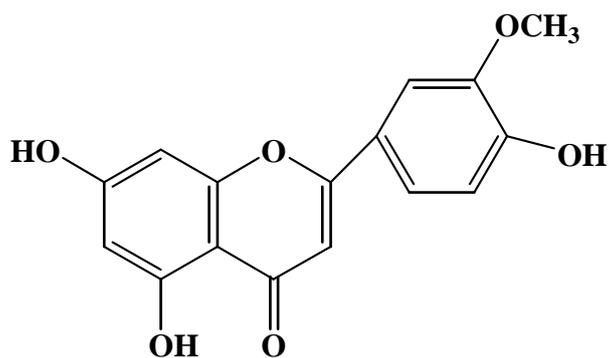




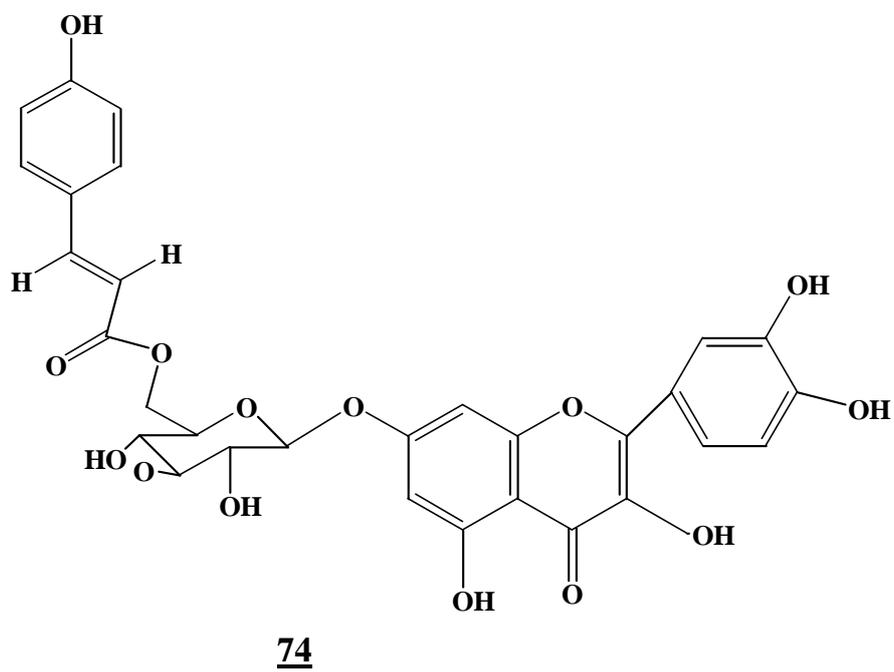
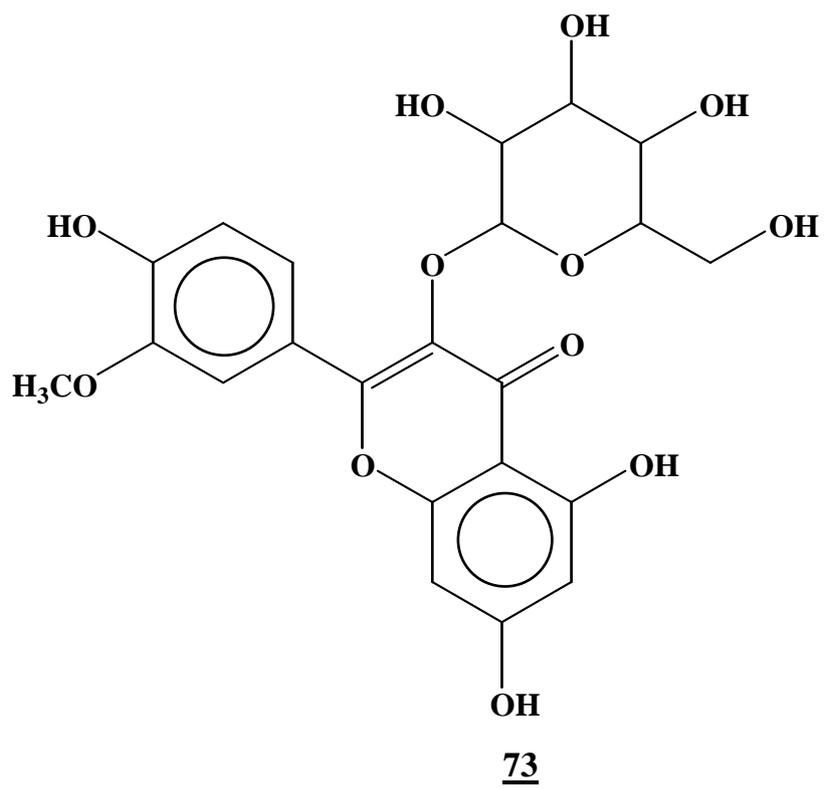


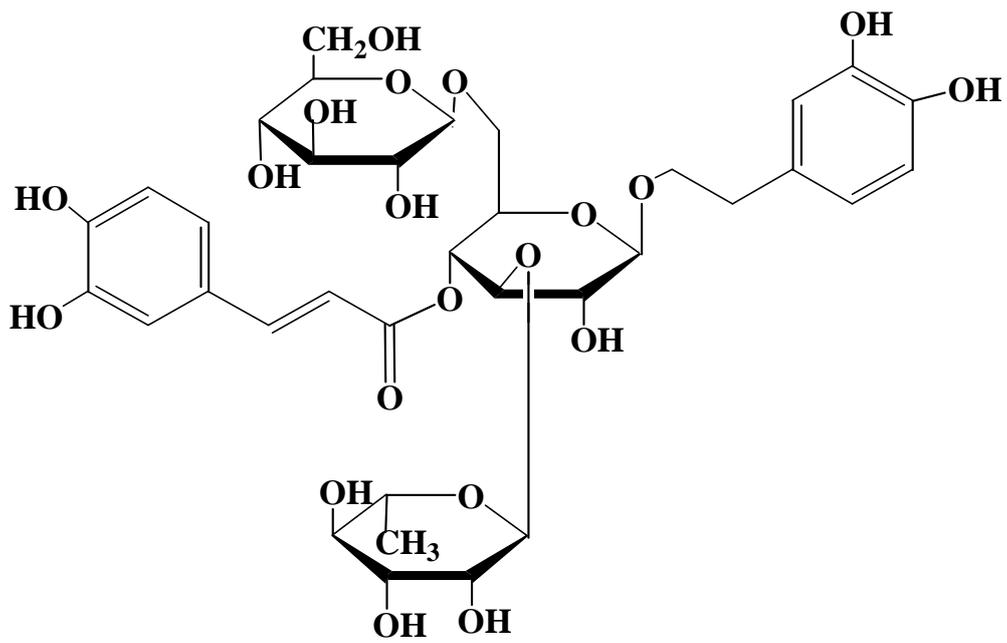


71

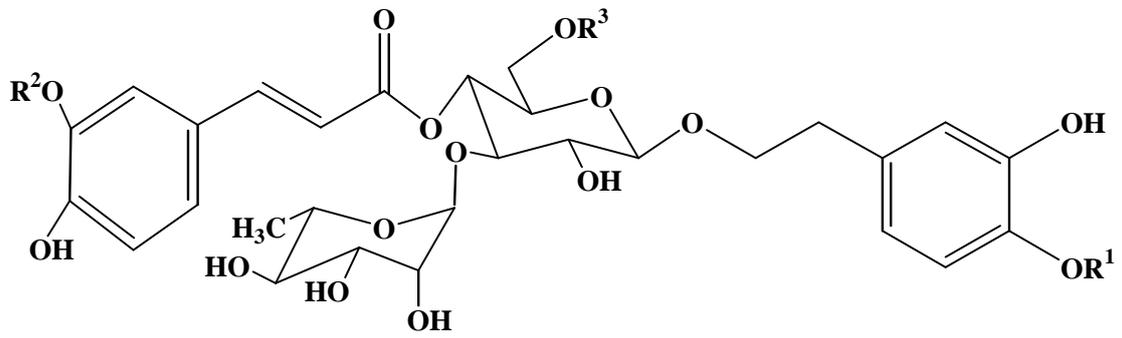


72



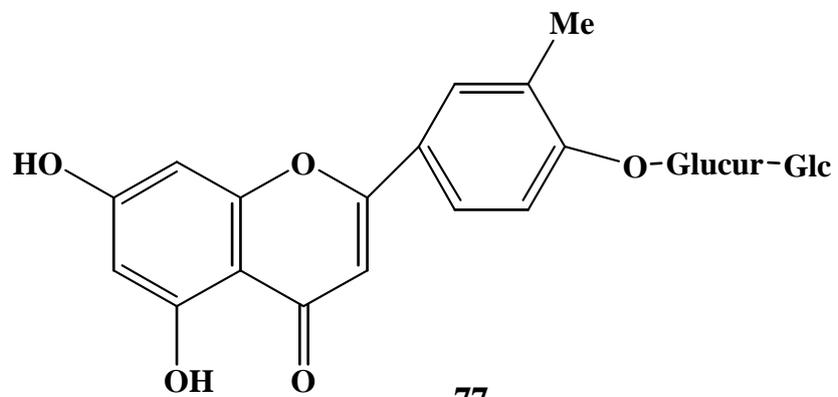


75

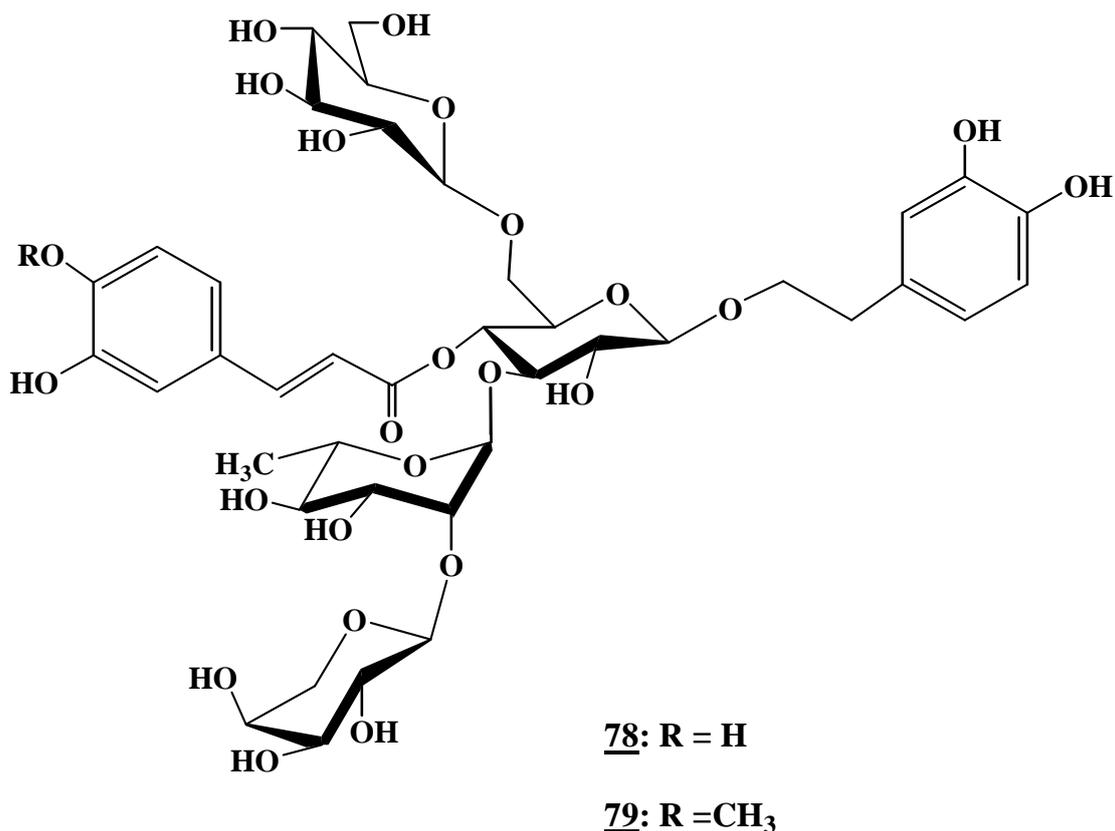


76

$R^1 = R^2 = H, R^3 = \beta\text{-Apiosyl}$



77



Notiq et collaborateur ont particulièrement étudié l'espèce *M.polydon* [28]. Cette étude a révélé la présence d'un perfuranique labdane diterpène : 9 α , 13R, 15,16-diepoxy-12-oxo-labd-14en-19,6 β -olide (polyodonine) (voire structure **63**), similaire à celui de *M.Astracanicum*, de *M.velutinum* et au *M.friwoldskyanum*.Boiss [30-31-32].

L'étude de l'extrait acétonique de la partie aérienne de *M.trachyticum* [33], à permis d'isoler la marrubiin (**54**) isolée aussi de *M.vulgare*, *M.supinum*, *M.globosum*, *M.anisodon* [33].

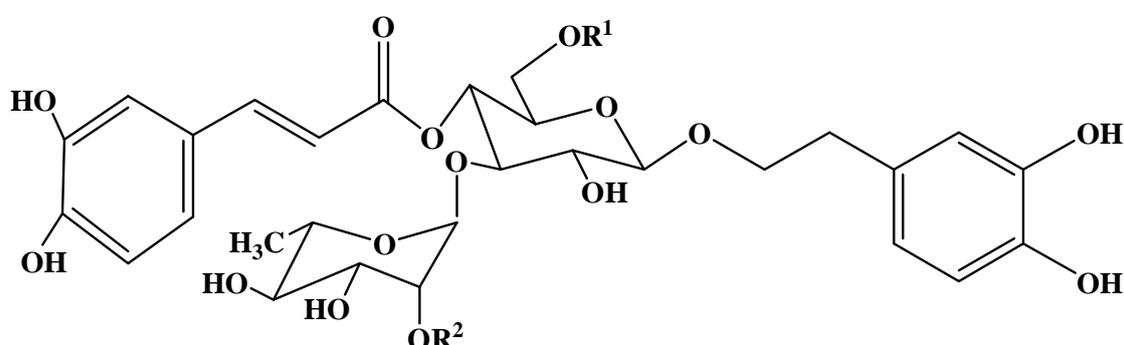
Les huiles essentielles du genre *Marrubium* ont fait l'objet d'un grand nombre d'études par les chimistes Iraniens. La séparation réalisée sur le *M.Cuneatum* Russell [34] par GC-MS à donner une grande quantité de la Bicyclogermacrène (37.9%) et Germacrène D (24.1%).

Les mêmes méthodes appliquée sur *M.parviflorum* où on voie que le pourcentage de β -caryophyllene est majoritaire 15.6% et *M.vulgare* qui est riche en β -Bisabolene 25.4% [35] Dans *M.velutinum* ces le γ -muurolène 27.78%, β -caryophyllene 24.25%, β -caryophyllene oxyde 6.03% tandis que dans *M.peregrinum* est (Z)- β -farnesène 16.47% et (E)- β -farnesène 24.16% [36].

I-4-3-Sur l'espèce :

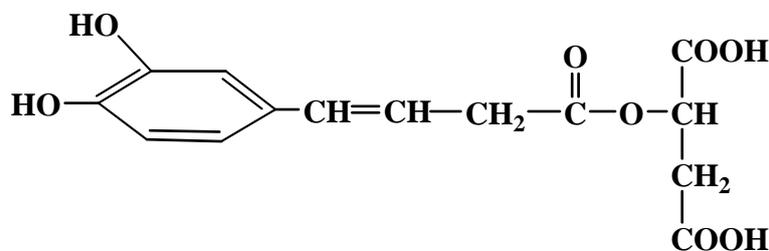
Une recherche bibliographique exhaustive faite sur l'espèce *Marrubium vulgare* nous a permis de révéler la présence des diterpènes et les phenyléthanoides glucosidiques où elle contient un principe amer dû à la présence de γ -lactone [8].

Françoise et collaborateur [37] ont pu isoler cinq composés phenyléthanoides glucosidiques. Les mêmes résultats ont été obtenus par Sevser et collaborateur [38]. Ces structures sont : Acteoside (voir structure **58**), Forsythoside B (voir structure **76**), Aenarioside **81**, ballotetroside **82**, et un phenylethanoïde non glucosidique ; (+)E-Caffeoyl-L-malique acide **83**. Ces composés ont été trouvés dans les parties aériennes de l'extrait butanolique.



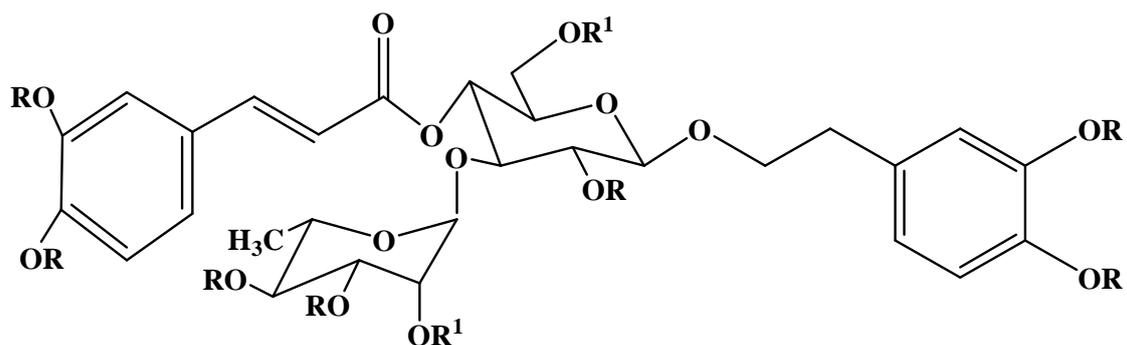
81: $R^1 = \beta\text{-D-Xylose}$, $R^2 = \text{H}$

82: $R^1 = \beta\text{-D-Apiose}$, $R^2 = \alpha\text{-L-Arabinose}$



83

Une autre étude plus récente effectuée sur l'extrait méthanolique des parties aériennes du *Marrubium vulgare* [39] a révélé deux produits phenylethanoidiques le premier : 3,4-dihydroxy- β -phenylethoxy-O- $[\beta\text{-D-apiofuranosyl-(1} \rightarrow 2)\text{-}\alpha\text{-L-rhamnopyranosyl-(1} \rightarrow 3)]\text{-}[\beta\text{-D-apiofuranosyl-(1} \rightarrow 6)]\text{-4-O-caffeoyl-}\beta\text{-D-glucopyranoside}$ **84** = Marruboside, le deuxième composé est Marruboside acétylé **85**.

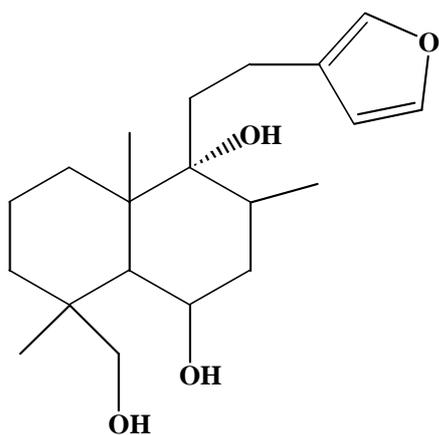


84: R=H, R¹= β-D-Apiose

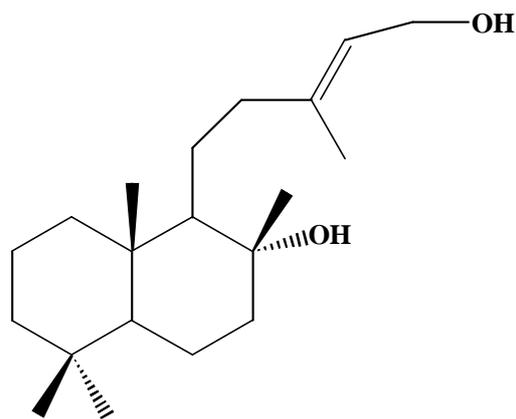
85: R=Ac, R¹= β-D-Apiose

Ces structures sont identifiées par les différentes méthodes d'analyse spectroscopique UV, RMN et spectrométrie de masse ESI-MS.

Popa et collaborateur [40] ont pu isoler deux composés diterpénique : Marrubiol **86**, 13-Labdene-8,15-diol ;(5β, 8α, 13E)-form **87**.



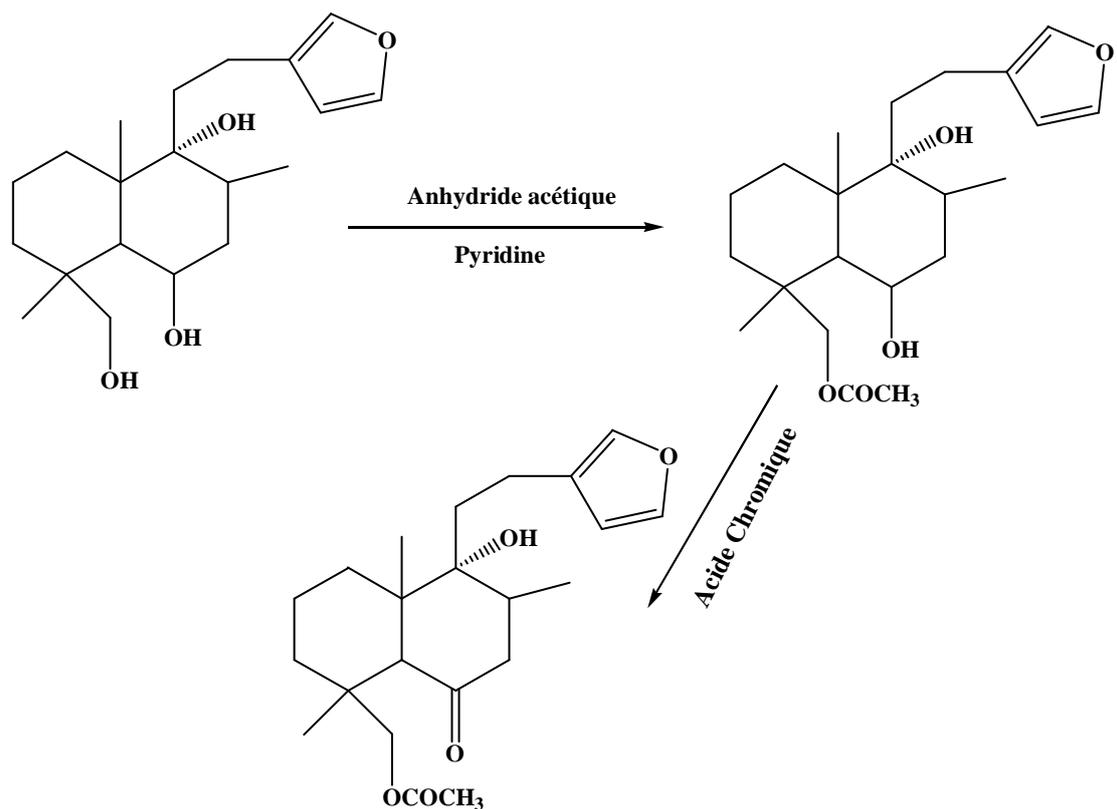
86



87

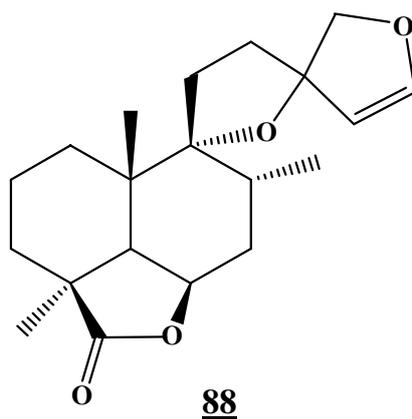
Ces structures ont été identifiées par IR spectroscopie.

La réaction de Marrubiol avec l'acétique anhydride dans le pyridine donne facilement un mono acétate d'où l'oxydation de ce dernier avec l'acide chromique donne un hydroxy cétone.



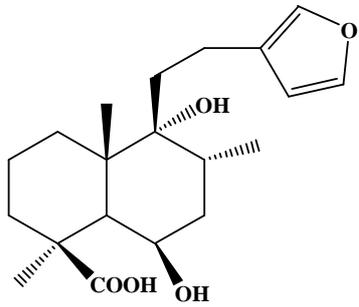
Un autre travail récent réalisée par Sanae et collaborateur [41] a permis de déterminée l'activité de relaxation du marrubiol .

M.S.Henderson et collaborateur [42] ont pu isoler un produit majoritaire de l'extrait acétonique des parties aériennes. Il s'agit de : Premarrubiin **88**, comme on peut le l'obtenue par une petite conversion de la Marrubiin par la chaleur.

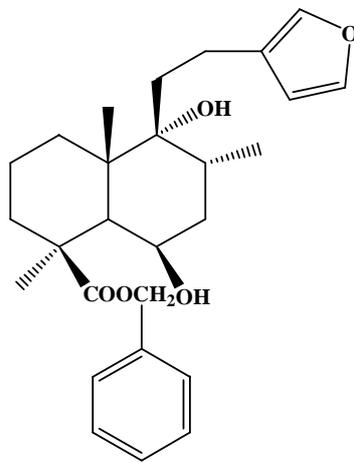


Une étude faite depuis 1842 [42] indique la présence d'un composé majoritaire le Marrubiin (structure **54**) dans le *M. vulgare*, mais les études sont encore en cours par les chimistes brésilien C.Meyre-Silva et collaborateur [43], pour déterminer l'effet analgésique potentiel du Marrubiin et ses dérivés.

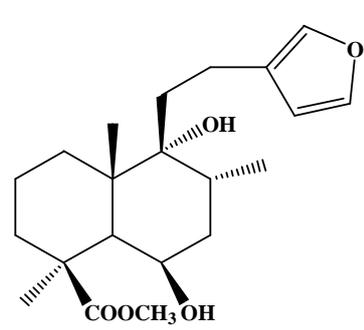
Les dérivés Marrubiiniques sont :
Acide Marrubiinique **89**, Marrubenol (structure **86**), Acide Marrubiinique
benzyle ester **90**, Acide Marrubiinique méthyle ester **91**.



89



90



91

Chapitre II

ETUDE DES TERPENOIDES ET DES DITERPENOIDES

II-Les Terpénoïdes

II-1-Définition :

Les terpénoïdes constituant un ensemble connu et très vaste des métabolites secondaires des végétaux, ce sont des molécules polyéniques qu'on trouve également dans le règne animal.

En 1887, O.Wallach croyait que les terpènes devaient être construits à partir d'unités isopréniques [10]. Cette hypothèse a été renouvelée en 1953 par Ruzicka [11]. En une règle générale qui postule que chaque groupe de terpènes est issu de la condensation « tête à queue » d'un nombre variable d'unités isopréniques.

Les terpènes sont subdivisés selon le nombre d'entités isoprène qui sont incorporées dans leurs structures. En monoterpènes (C_{10}), sesquiterpènes (C_{15}), diterpènes (C_{20}), sesterpènes (C_{25}), triterpènes (C_{30}).

II-2-Nomenclature :

La numérotation des différents types de diterpènes utilisée de nos jours est celle qui est préconisée par Rowe [12] dans son ouvrage : la nomenclature systématique des diterpènes cycliques.

Quelques exemples (schéma II, 1)

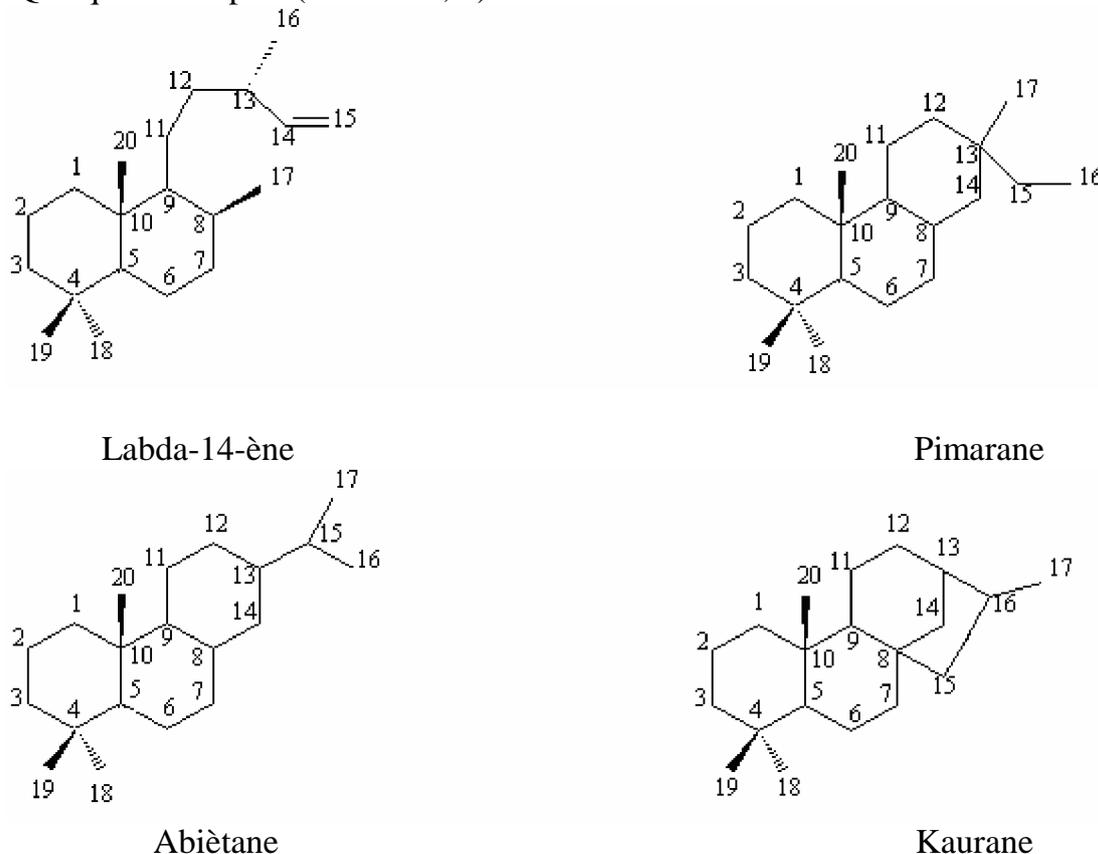


Schéma (II, 1)

II-3-Biosynthèse des terpènes :

Les trois séquences réactionnelles fondamentales qui justifient l'existence de tous les terpènes et même des stéroïdes sont les suivantes :

- 1- Formation des unités réactives en C₅ à partir de l'acétate, via le mévalonate.
- 2- Couplage tête-à-queue des unités isopréniques impliquées dans la formation des mono – ses qui, di, sester – et polyterpènes.
- 3- Couplage queue-à-queue des unités en C₁₅ et en C₂₀ permettant l'élaboration des précurseurs des tri terpènes et des carotènes.

Nous nous décrivons dans ce chapitre la biosynthèse des diterpènes [13,17].

II-3-1-Formation du GGPP

Dans l'étape initiale du processus, deux molécules d'acétate-CoA se condensent grâce à une β -cétotriolase (1') pour conduire à l'acétoacétyl-CoA qui, à son tour, réagit sur une troisième molécule d'acétyl-CoA en présence d'une enzyme condensant 3-hydroxy-3-méthylglutaryl-Coenzyme synthase (2') pour former le 3-hydroxy-3-méthylglutaryl-CoenzymeA. (Schéma II, 2)

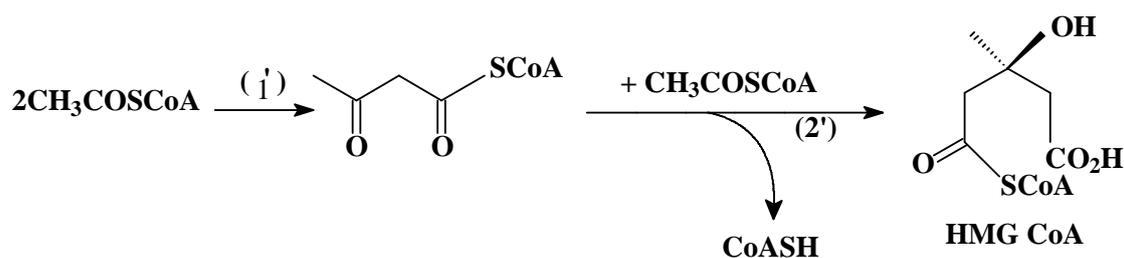


Schéma (II, 2)

La réduction du carbonyle, combiné au CoA en alcool, mène à l'acide mévalonique (MVA). Elle est catalysée par un enzyme réductase (HMG-CoA réductase) (3') et en présence de NADPH (schéma II, 3).

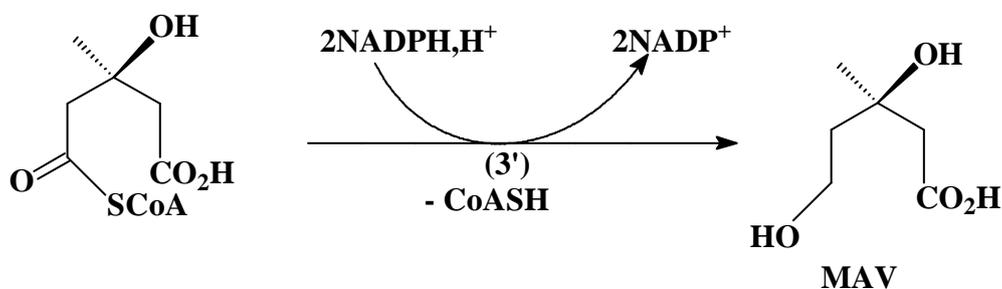
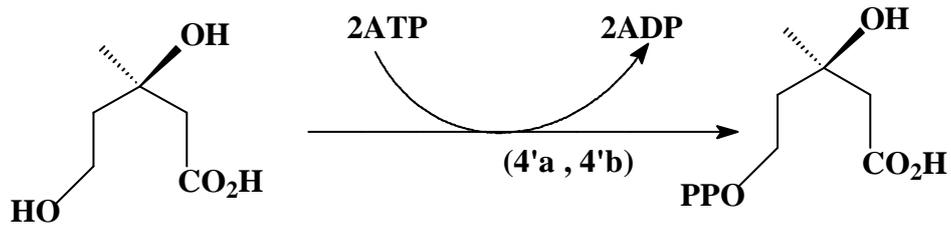


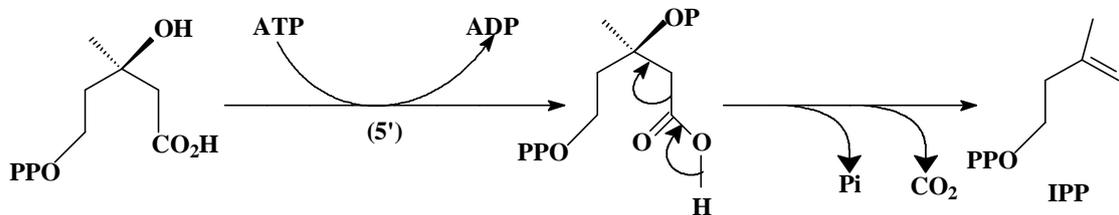
Schéma (II, 3)

L'acide mévalonique subit une double phosphorylation par l'ATP, en présence de la mévalonate Kinase (4'a) et la phosphomévalonate Kinase (4'b),

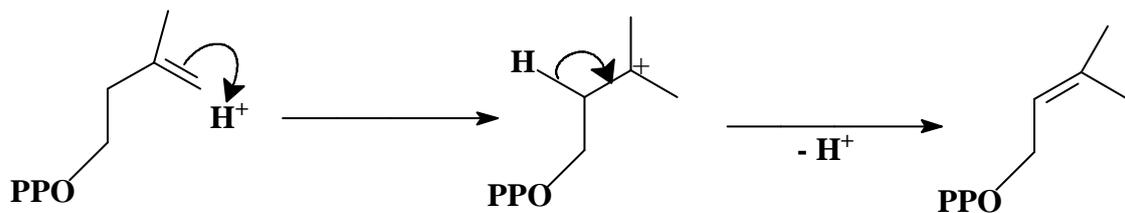
lui cédant ainsi deux groupements phosphates pour former un pyrophosphate (schéma II, 4).



Une nouvelle phosphorylation permet d'activer l'acide mévalonique pyrophosphate facilitant ainsi sa décarboxylation en présence du mévalonate 5-diphosphate décarboxylase (5') pour conduire au matériau de construction des terpènes, le pyrophosphate d'isopentényle (schéma II, 5).



Le phosphate d'isopentenyle (IPP) s'isomérise en pyrophosphate de diméthylallyle (DMAPP), par addition d'un proton du milieu suivie d'une élimination du H-Pro-2R (schéma II, 6).



Une addition stéréosélective du DMAPP sur la double liaison de l'IPP en présence de la GPP synthase, conduit au géranylpyrophosphate (GPP). Précurseur des monoterpènes (schéma II, 7).

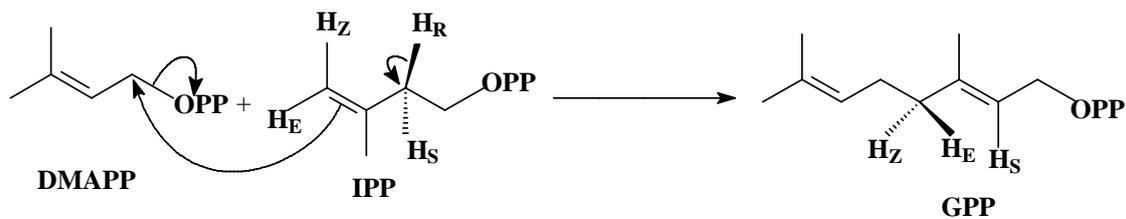


Schéma (II, 7)

L'addition du GPP sur l'IPP se fait également par un couplage tête à queue conduisant au farnesylpyrophosphate (FPP) et ainsi de suite pour former le (GGPP) par addition du FPP sur l'IPP, qui est la matière première de tous les diterpènes (schéma II, 8 et II, 9).

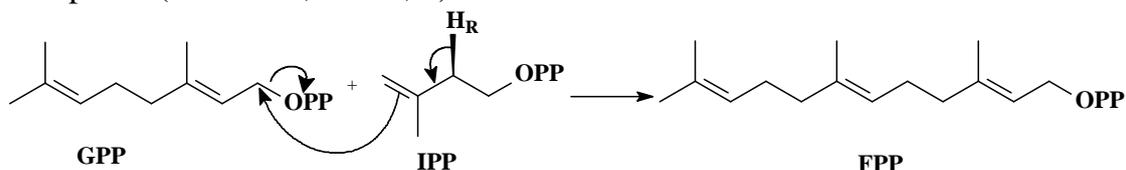


Schéma (II, 8)

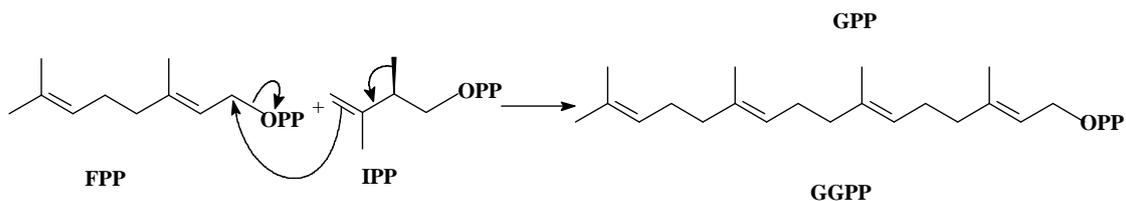


Schéma (II, 9)

Il existe deux modes de cyclisation de GGPP (précurseur) :

Mode 1 :

Cyclisation induite par le départ du groupe pyrophosphate, formation d'un carbocation et alkylation d'une double liaison par celui-ci. Il s'agit le plus souvent de celle de l'isopropylène terminal, ce que conduit à la formation d'un macrocycle. Le cation macrocyclique poly-insaturé est très réactif, il peut être stabilisé (ex : élimination d'un proton, formation de cembrène) ou, et c'est fréquent, conduire à une structure polycyclique par substitution nucléophile intramoléculaire (Taxane, Tiglane...) (schéma II, 10)

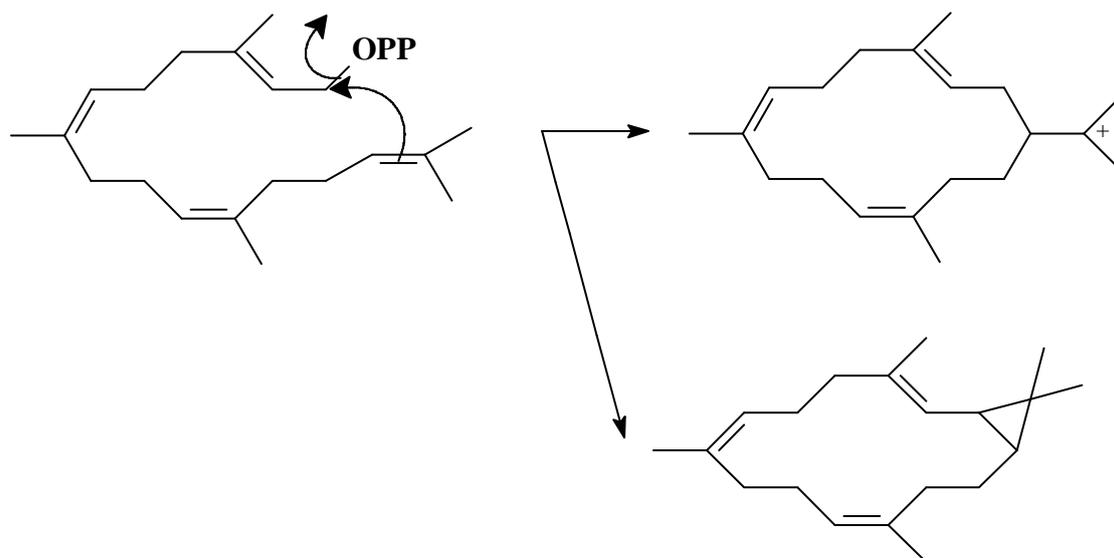


Schéma (II, 10)

Mode 2 :

Cyclisation acido-catalysée du GGPP similaire à celle qui intervient dans l'élaboration des triterpènes mais sans époxydation préalable, il se forme une décaline substituée. Cette cyclisation conduit à de diterpènes bicycliques, elle peut se poursuivre pour donner lieu à des diterpènes tricycliques ou à des diterpènes tétracycliques (schéma II, 11).

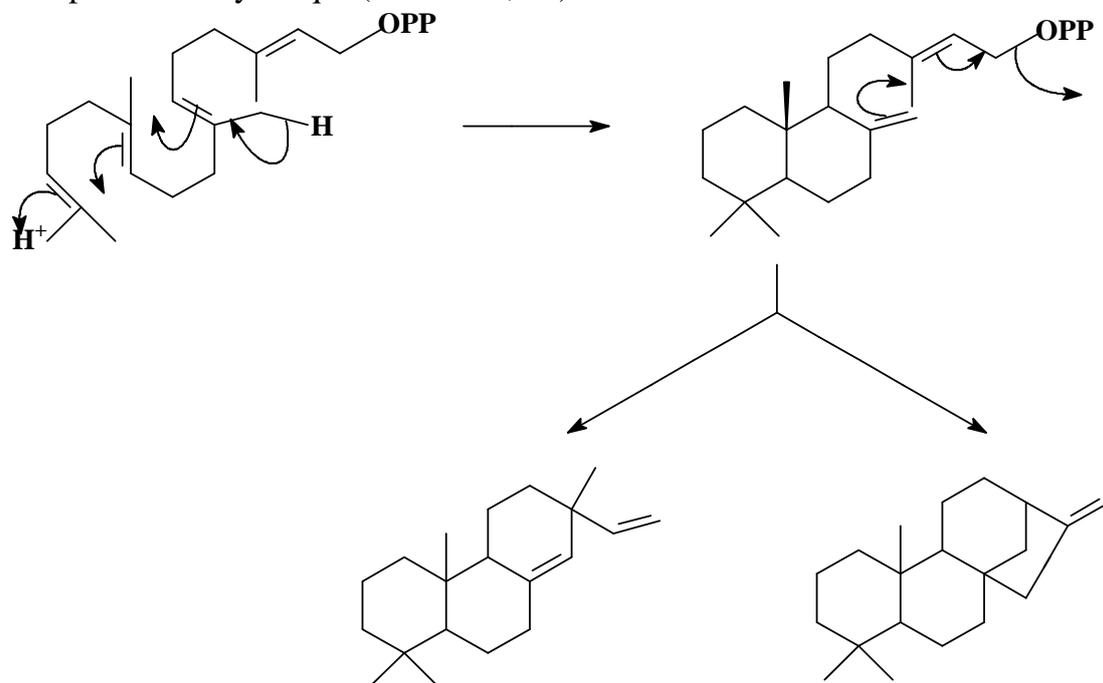


Schéma (II, 11)

II-4-Formation des diterpènes bicycliques :

La cyclisation acido-catalysée du GGPP peut conduire à deux séries d'énantiomères qui diffèrent par des configurations opposées des carbones 5, 9, 10. La série est dite normale lorsque la fusion des cycles AetB est identique à celle des stéroïdes et est « enantio » lorsque c'est l'antipode (schéma II, 12).

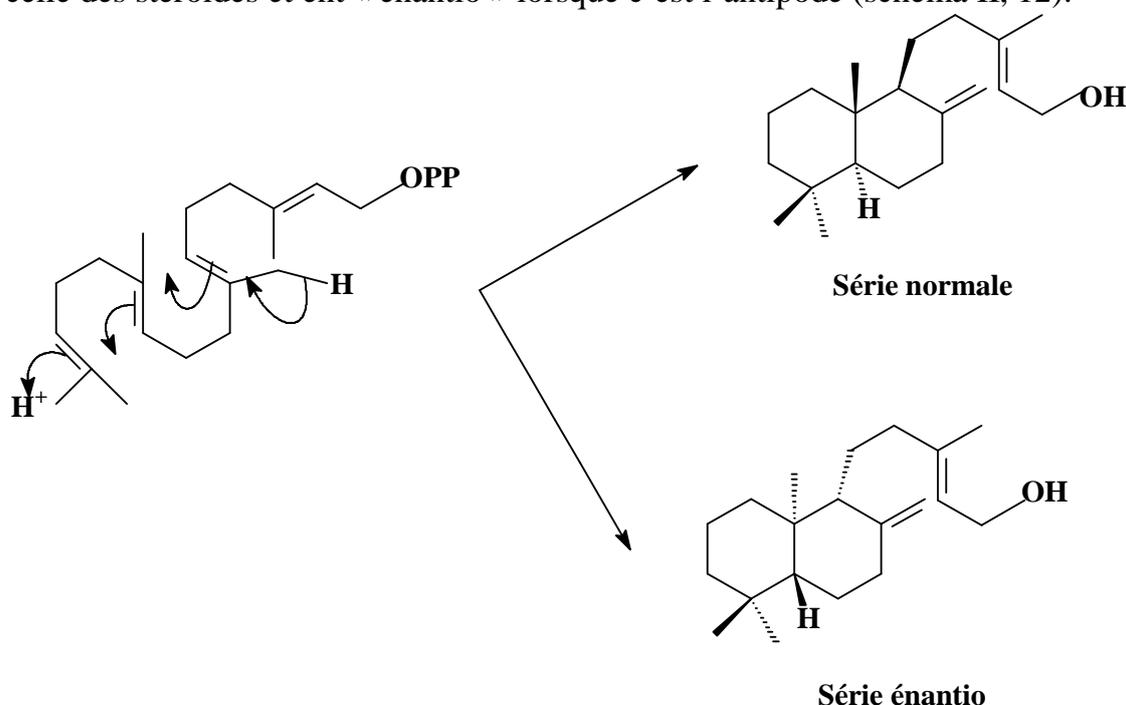


Schéma (II, 12)

Le réarrangement le plus fréquent implique un déplacement de protons et de méthyles et conduit aux clérodanes on l'appelle réarrangement Friedo (schéma II, 13).

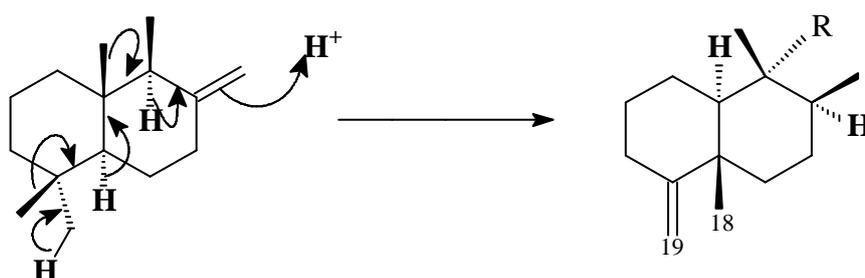


Schéma (II, 13)

Les néoclérodanes ont des configurations des carbones C₅, C₈, C₉, C₁₀, inversées à celle des clérodanes.

II-4-1-Les labdanes :

Les labdanes ont comme squelette de base celui de la décaline (schéma II, 14).

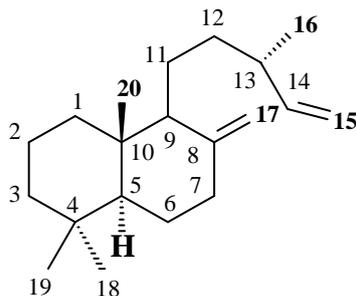


Schéma (II, 14)

Le carbone 4 porte 2 méthyles, le carbone 1 porte un méthyle en position β et le carbone 9, une chaîne latérale de 6 carbones. Ce type de diterpènes possède également une double liaison exocyclique en C_8 (les composés **92** et **98**) qui peut être réduite en 8α -OH, 8β -Me (composés de **94** à **96**). Dans certains composés, il se produit une lactonisation de la chaîne latérale en C_8 (composés de **102** à **106**) ou une epoxydation en C_8 (composés **99-101**).

II-4-2-Les clérodanes et les néo-clérodanes

Les néo-clérodanes contiennent 2 cycles hexagonaux. Le carbone 8 porte un méthyle en position α et le carbone 10 porte un hydrogène en position β , le carbone 9 étant substitué par un méthyle en α et une chaîne latérale (Schéma II, 15).

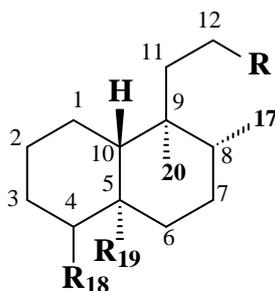


Schéma (II, 15)

On peut diviser ce type de composés en 4 catégories [4].

1^{ère} catégorie : (composés de **109-143**)

En plus du squelette de base décrit, il y a une double liaison entre C_3 et C_4 . D'une part le carbone C_{12} de la chaîne latérale porte soit une δ lactone insaturée qui ferme en C_{15} ou en C_{16} ou un groupement furane (excepté le composé **143**), d'autre part les carbones C_4 et C_5 sont souvent soit substitués par des groupes

hydroxyles carboxyles ou des méthyles soit impliqués dans une lactonisation en C₁₉.

2^{ème} catégorie

Elle comporte 2 groupes.

1- 1^{er} groupe : (composés de 144-167)

Il est représenté par un squelette de base de la décaline, la chaîne latérale se

lactonise en C₁₂, ce même carbone porte un groupement furane. Le substituant en C₁₀ a une stéréochimie β et le méthyle en C₉ a par contre une stéréochimie α, les substituant porte par les carbones 4 et 5 constituent une deuxième lactone dans la plupart des composés.

On constate que parmi les composés de ce groupe, seulement 2 sont saturés. Les autres possèdent une ou deux doubles liaisons. Dans certains cas, la deuxième double liaison est remplacée par un époxyde. Les composés **166** et **167** présentent des particularités. Dans le premier, le groupement furane est remplacé par une troisième lactone et le second possède une seule lactone qui ferme en C₁₀.

2- 2^{ème} groupe : (composés de 168-177)

Les structures des composés de ce groupe sont identiques à celles du premier groupe cependant, la structure du substituant porté par le carbone 10 a une stéréochimie α caractérisant ainsi les clérodanes.

3^{ème} catégorie (composés de 178 à 183)

Tous les composés (**178-183**) de cette catégorie ont un oxapentacycle accolé en à C₉ sur le squelette de la décaline et possèdent une lactone fermant en C₁₉ et un époxy entre C₇ et C₂₀, excepté pour le composé **178**. Le noyau A est caractérisé par une ou deux double liaisons. Dans certains composés, l'une des doubles liaisons est remplacée par un époxyde.

4^{ème} catégorie (composés de 184 à 190)

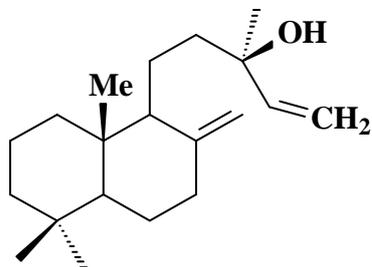
Dans tous les composés (93-99) de cette catégorie, l'oxapentacycle est fusionné en sur la décaline en C₈ et C₉. Le carbone C₁₂ porte une δ-lactone insaturée ou un furane. Le noyau A contient une double liaison carbone-carbone entre C₂ et C₃ ou entre C₃ et C₄.

II-4-3-Les séco-clérodanes (composés de 191 à 200)

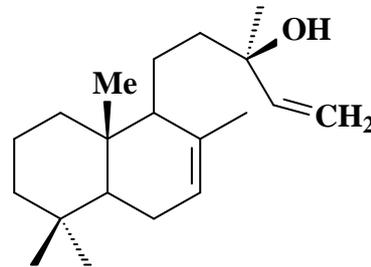
Dans ce type de diterpènes, nous avons regroupé les composés qui présentent une rupture d'une liaison carbone-carbone qui se produit entre les carbones C₅ et C₆ ou C₅ et C₁₀ ou bien C₉ et C₁₀.

II-5-Diagramme des diterpènes bicycliques :

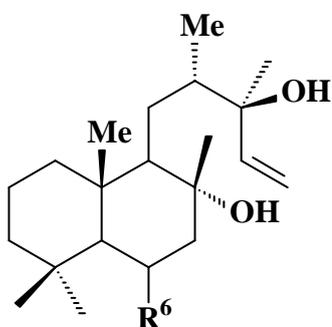
II-5-1-Les labdanes et les nor- labdanes



(92) Manool



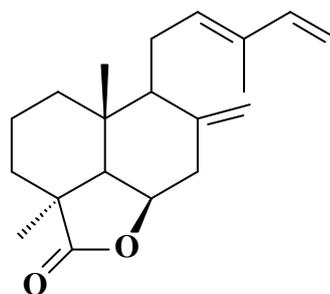
(93) Δ^7 -Manool



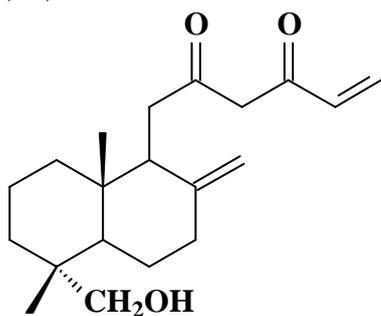
(94) Sclaréol (R= H)

(96) 6 β -Hydroxysclaréol (R= OH)

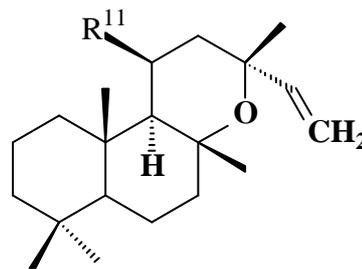
(97) Ent-sclaréol



(95) Labda-8(17),12 E,14-triène6,19-olide



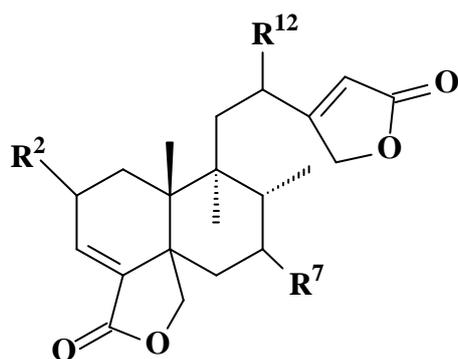
(98) Salvinine



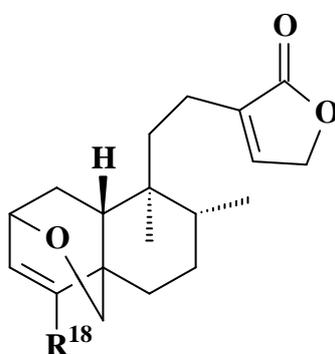
(99) Manoyloxide (R¹¹= H)

(100) 11 β -Hydroxymanoyloxide (R¹¹=OH)

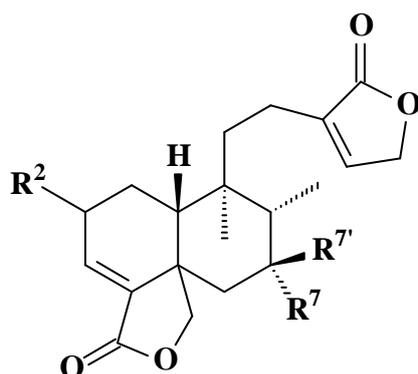
(101) 8,11-Diépimanoyloxide



- (113) Semiatriine ($R^2 = R^{12} = \text{OH}$, $R^7 = \text{H}$)
 (114) 7 α -Hydroxynéo-clérodane-3,13-dien-18,19:15,16-diolide ($R^2 = R^{12} = \text{H}$, $R^7 = \text{OH}$)
 (115) 7-Oxonéo-clérodane-3,13-dien-18,19:15,16-diolide ($R^2 = R^{12} = \text{H}$, $R^7 = \text{O}$)
 (116) Kerlinolide ($R^2 = \text{H}$, $R^7 = \text{OAc}$, $R^{12} = \text{OH}$)

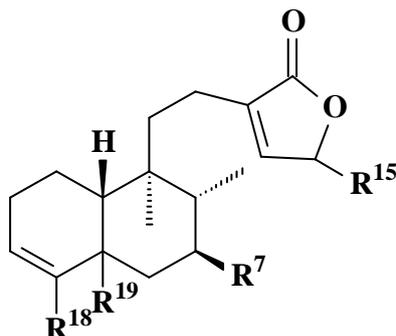


- (117) Brevifloralactone ($R^{18} = \text{CH}_2\text{OAc}$)
 (118) Brevifloralactoneacétate ($R^{18} = \text{CH}_2\text{OAc}$)

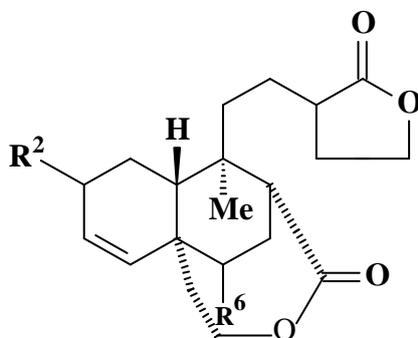


- (119) 7 α -Acétoxy-2 β -hydroxy-ent-clérodan-3-13-dien-18,19:16,15-diolide ($R^2 = \text{OH}$, $R^7 = \alpha\text{OAc}$)
 (120) 7 β -hydroxy-ent-clérodan-3-13-dien-18,19:16,15-diolide ($R^2 = \text{H}$, $R^7 = \beta\text{OH}$)
 (121) 7 α -Hydroxy-ent-clérodan-3-13-dien-18,19:16,15-diolide ($R^2 = \text{H}$, $R^7 = \alpha\text{OH}$)
 (122) 7 α -Acétoxy-ent-clérodan-3-13-dien-18,19:16,15-diolide ($R^2 = \text{H}$, $R^7 = \alpha\text{OAc}$)

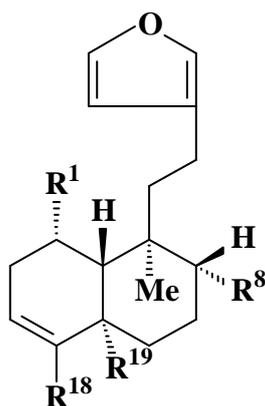
- (123) 2 β ,7 α -Dihydroxy-ent-clérodan-3-13-dien-18,19:16,15-diolide ($R^2=$
 $R^7=OH$)
- (124) 2 β -Acétoxy-7 α -hydroxy-ent-clérodan-3-13-dien-18,19:16,15-diolide
($R^2= \beta OAc$, $R^7=\alpha OH$)
- (125) 7-Oxo-ent-clérodan-3-13-dien-18,19:16,15-diolide ($R^2= OH$, $R^7=\alpha OAc$)
- (126) 2 β -Hydroxy-ent-clérodan-3-13-dien-18,19:16,15-diolide ($R^2= OH$,
 $R^7=H$)
- (127) 2 β -Hydroxy-7-Oxo-ent-clérodan-3-13-dien-18,19:16,15-diolide ($R^2=$
 OH , $R^7=O$)



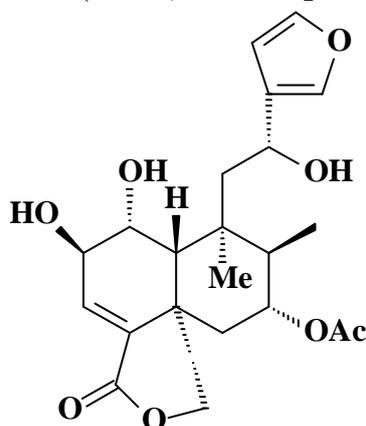
- (128) 7 β ,18,19-Trihydroxy-ent-cléroda-3,13-dien-16,15-olide ($R^7= OH$, $R^{15}=$
 H , $R^{18}= R^{19}= CH_2OH$)
- (129) Acide clérodermique ($R^7= R^{15}= H$, $R^{18}= CH_2OH$, $R^{19}=Me$)
- (130) Acide 15,18,acétoxy-ent-cléroda-3,13-dien-16,15-oic ($R^7= H$, $R^{15}= OAc$,
 $R^{18}= CH_2Oac$, $R^{19}= CO_2H$)



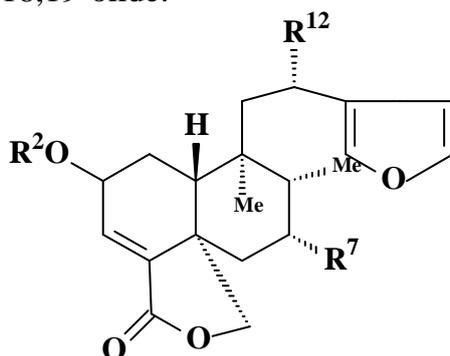
- (131) Salvimadrensinol ($R^2= OH$, $R^6= H$)
- (132) Salvimadrensinone ($R^2= O$, $R^6= H$)
- (133) Salvimadrensin ($R^2= H$, $R^6= OH$)



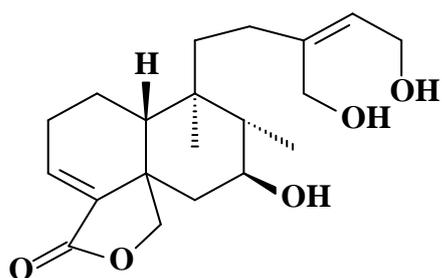
- (134) Acide Kerlinique ($R^1=H$, $R^8 = R^{18} = Me$, $R^{19} = CO_2H$)
 (135) Acide hardwickique ($R^1=H$, $R^8 = R^{19} = Me$, $R^{18} = CO_2H$)
 (136) Divinatorine A ($R^1=OH$, $R^8 = R^{19} = Me$, $R^{18} = CO_2H$)
 (137) Divinatorine B ($R^1=H$, $R^8 = CH_2OH$, $R^{19} = Me$, $R^{18} = CO_2Me$)
 (138) Divinatorine C ($R^1=H$, $R^8 = CH_2Oac$, $R^{19} = Me$, $R^{18} = CO_2H$)



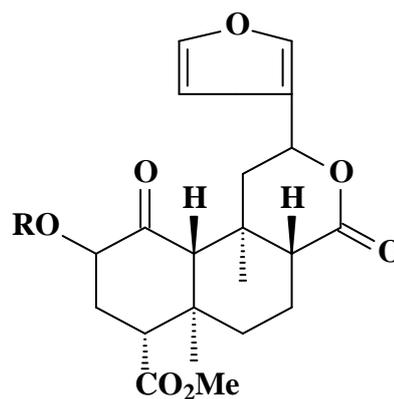
- (139) Ent-(5R,9R,10S)-7 α -acétoxy-15,16-époxy-1s,2s,12-trihydroxycyléroda-3,13(16),14-trién-18,19-olide.



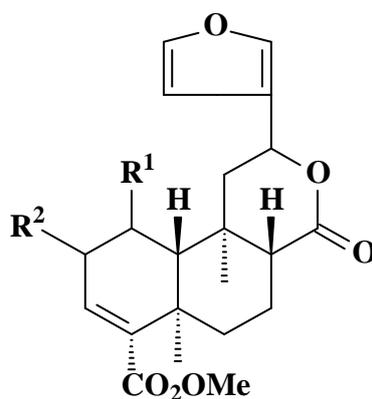
- (140) Amarisolide ($R^2 = \beta$ -D-glucosyle, $R^7 = R^{12} = H$)
 (141) Salvigresine ($R^2 = Ac$, $R^7 = OAc$, $R^{12} = OH$)
 (142) 2 α -Hydroxy-7 α -acétoxy-12-oxo-15,16-époxy-neoclérodan-3,13(16),14-trién-18:19-olide ($R^2 = H$, $R^7 = OAc$, $R^{12} = O$)



(143) Portulide C



(144) Salvnorine A (R= Ac)



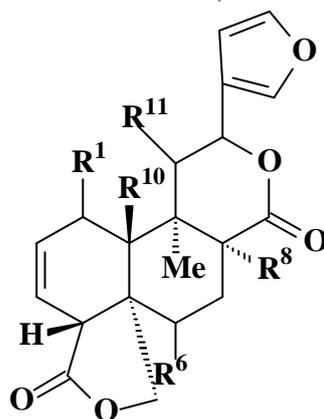
(145) Salvnorine B ($R^1 = R^2 = H$)

(146) Salvnorine C ($R^1 = R^2 = OAc$)

(147) Salvnorine D ($R^1 = OAc, R^2 = OH$)

(148) Salvnorine E ($R^1 = OH, R^2 = OAc$)

(149) Salvnorine F ($R^1 = OH, R^2 = H$)



(150) Salviarine ($R^1 = R^6 = R^8 = R^{10} = R^{11} = H$)

(151) 6- β -Hydroxysalvirine ($R^1 = R^8 = R^{10} = R^{11} = H, R^6 = OH$)

(152) 6-Acétoxysalvirine ($R^1 = R^8 = R^{10} = R^{11} = H, R^6 = OAc$)

(153) 10-Acétoxysalvirine ($R^1 = R^6 = R^8 = R^{11} = H, R^{10} = OAc$)

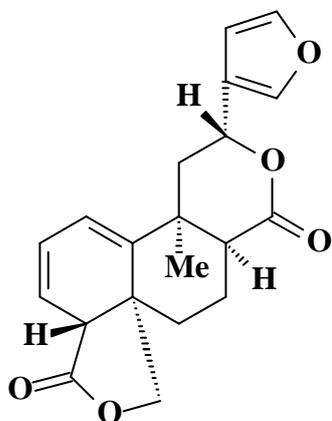
(154) 15,16-Epoxy-8 α -hydroxynecléroda-2,13(16),14-triéne-17,12R:18,19-diolide ($R^1 = R^{11} = H, R^8 = OH$) (8 α -Hydroxysalviarine)

(155) 7,8 β -Dihydroxysalviriacoccine ($R^{10} = OH$) (10 β -Hydroxysalviarine)

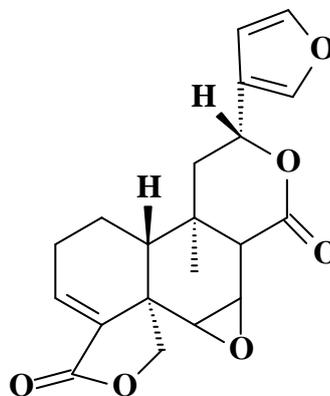
(156) Splendidine ($R^1 = R^{11} = \text{OAc}$, $R^8 = \text{OH}$)

(157) Splenolide A ($R^1 = \text{OH}$, $R^8 = R^{11} = \text{H}$)

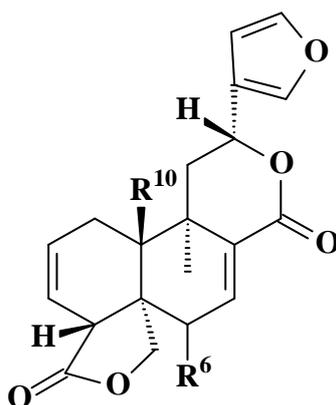
(158) Splenolide B ($R^1 = R^8 = \text{H}$, $R^{11} = \text{OAc}$)



(159) 1(10) Dehydrosalviarine

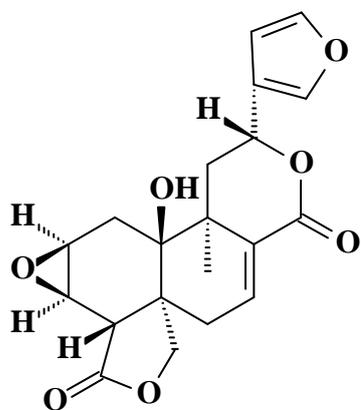


(160) Dérivé de linearifoline

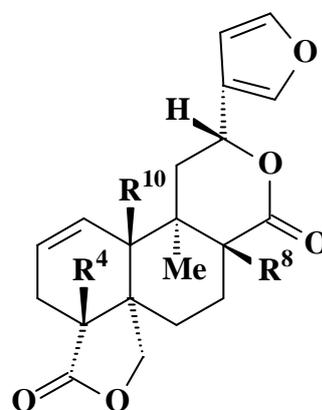


(161) Salviacoccine ($R^6 = \text{H}$, $R^{10} = \text{OH}$)

(162) 6 β -Hydroxy-7,8-dehydrobacchatricunaetine ($R^6 = \text{OH}$, $R^{10} = \text{H}$)

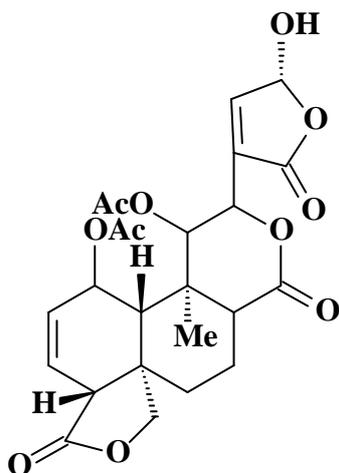


(163) Epoxysalviacoccine

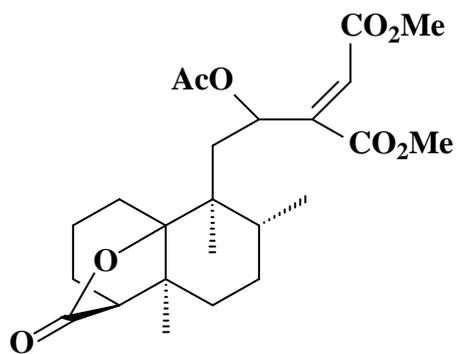


(164) Infuscatine ($R^4 = R^8 = R^{10} = \text{OH}$)

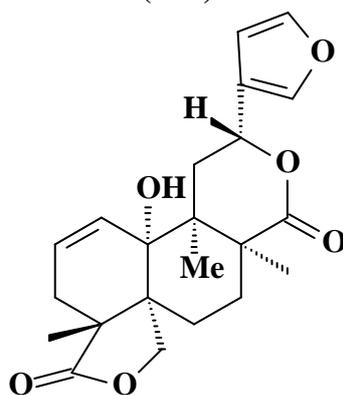
(165) Genesnerofoline A ($R^4 = R^8 = R^{10} = \text{H}$)



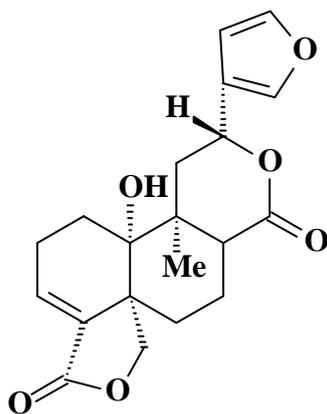
(166) 1 β ,11 β -Diacétoxy-15-hydroxy-transclérodan-2,13-dieno-12,17 :15,16,19,18-triolide (Splenolide C)



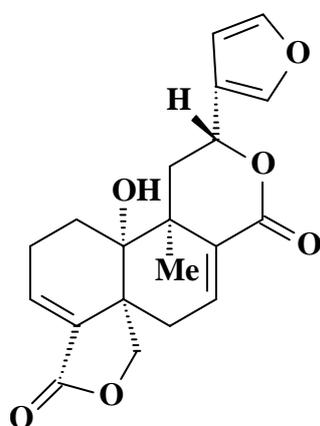
(167)



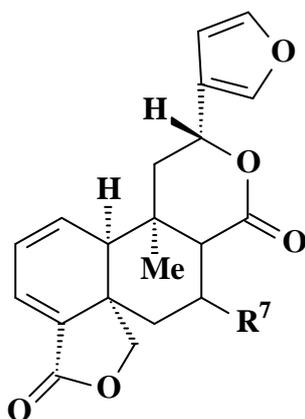
(168) Ent(-4S,5R,9S,10R)-15,16-époxyclérodan-1,13(16),14-triéne-17,12 :18,19-diolide



(169) Ent-(5R,9R)-15,16-époxy-10S-hydroxycyléroda-3,13(16),14-triéne-17,12S:18,19-diolide

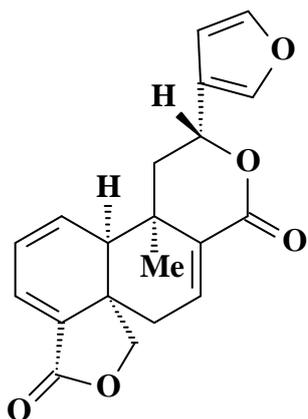


(170) Ent-(4S,5R)-15,16-époxy-10S-hydroxycyléroda-3,7,13(16),14-tétraéne-17,12S:18,19-diolide

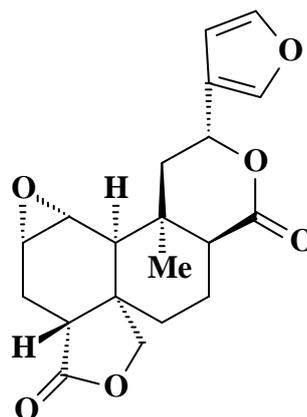


(171) 7,8 α -Dihydrogensnerofoline **B** ($R^7 = H$)

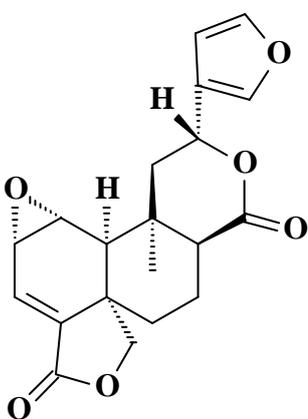
(172) 7 α -Acétoxy-7,8 α -dihydrogensnerofoline **B** ($R^7 = OAc$)



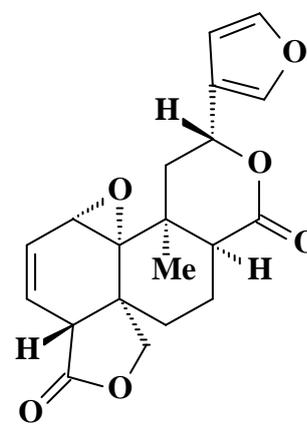
(173) Gensnerfoline **B** ($R^7 = H$)



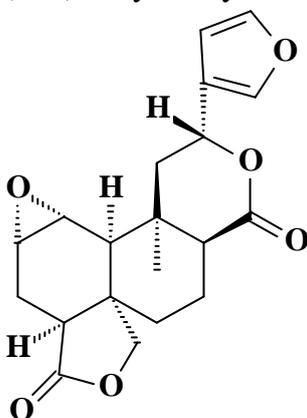
(174) Polystachyne **D**



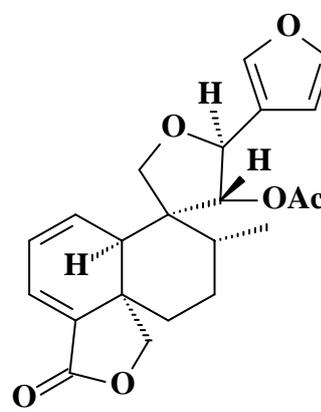
(175) Polystachyne **E**



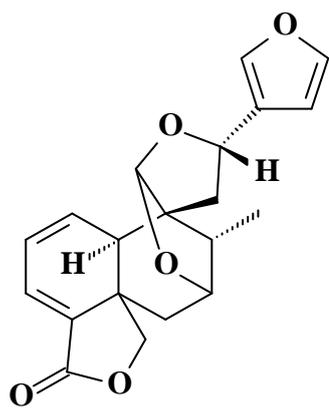
(176) 1 α ,10 α -Epoxysalviarine



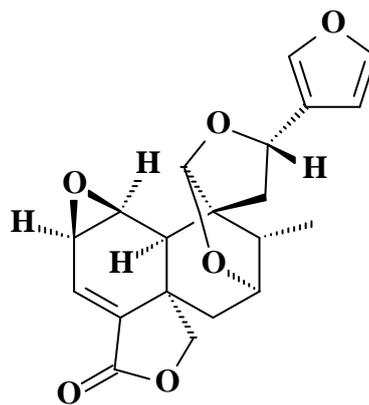
(177) 1 α ,2 α -Epoxy-3,4-dihydrolinearilactone



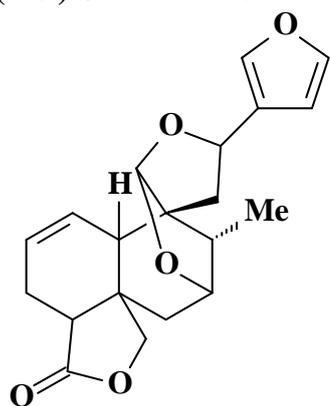
(178) Salvifoline



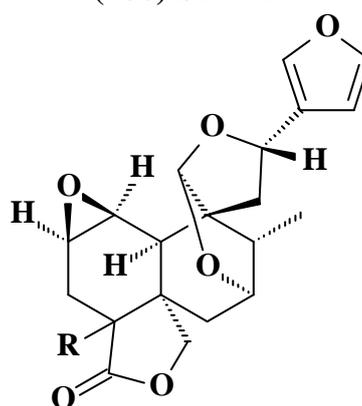
(179) Salvifaricine



(180) Salvifarine

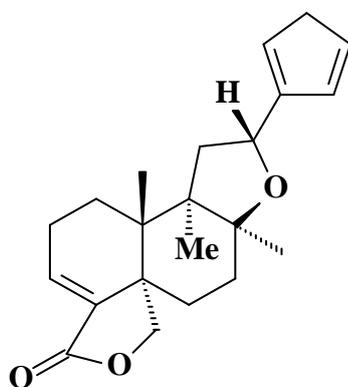


(181) Polystachyne A

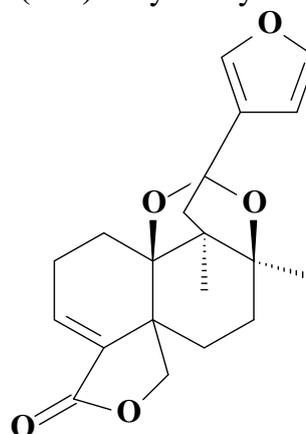


(182) Polystachyne B (R= α H)

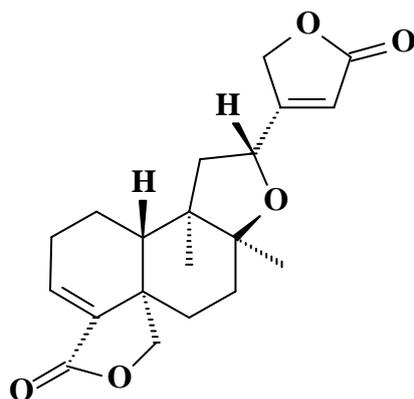
(183) Polystachyne C (R= β H)



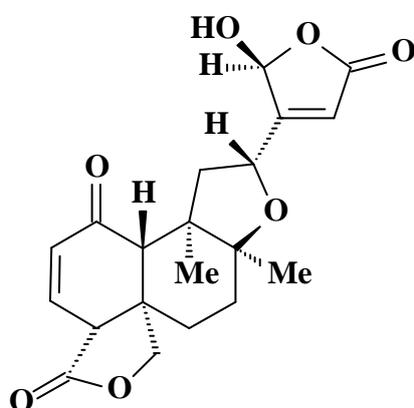
(184) Dehydrokerline



(185) Salvianduline D

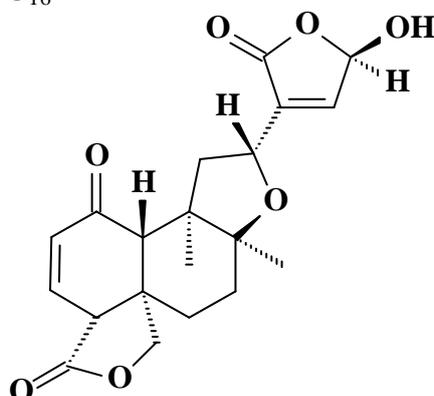


(186) 8,12(R) Epoxyneocléroda-3-13(14)diène-18,19:15,16-diolide (kerline)



(187) 16-Hydroxy-1-oxo-8 :12(R)-epoxyneocléroda-13(14)diène-18,19:15,16-diolide

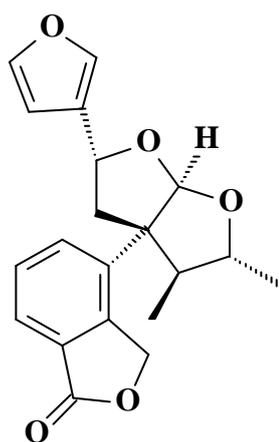
(188) Epimère de 103 à C₁₆



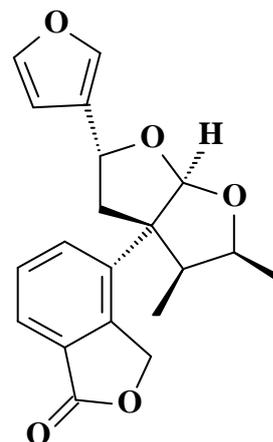
(189) 15-Hydroxy-1-oxo-8 :12(R)-epoxyneocléroda-2,13(14)diène-18,19:16,15-diolide

(190) Epimère de 188 en C₁₅

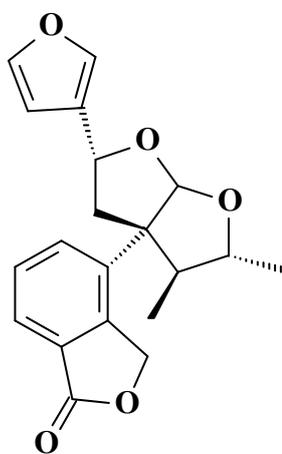
II-5-3-les séco-clérodanes



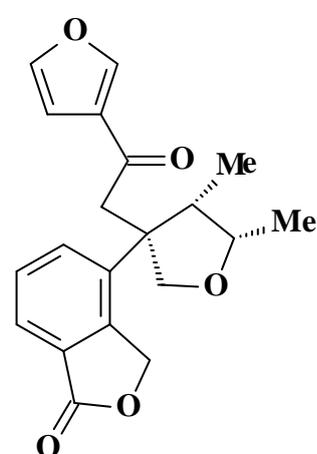
(191) Rhyacophilline



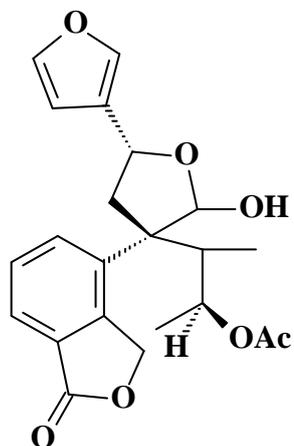
(192) 7-Epirhyacophilline



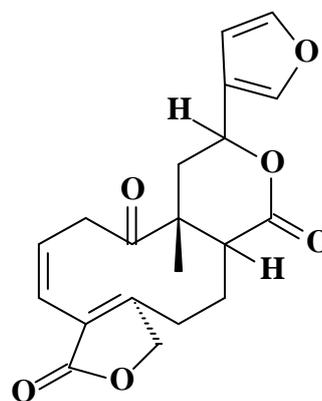
(193) 7,8-Didehydrorhyacophilline



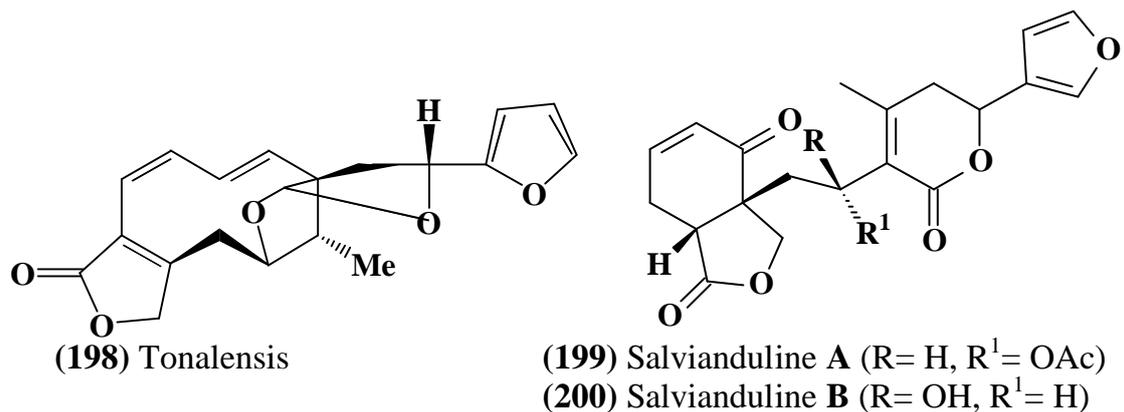
(194) Salvireptalolide



(195) Salviaduline C



(196) Cardiophyllidine



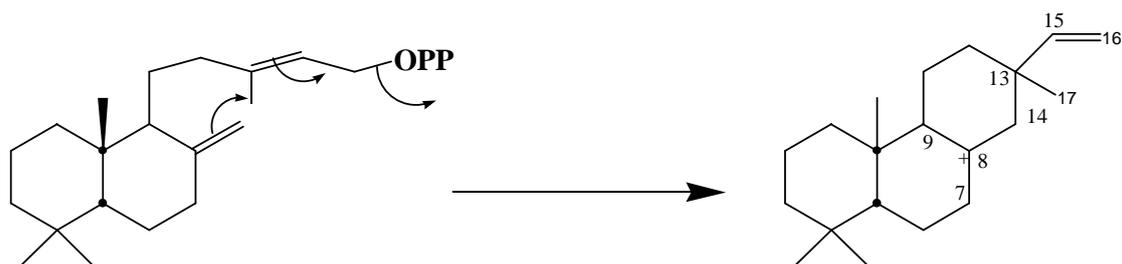
II-6-Formation des diterpènes tricycliques

Lorsque le pyrophosphate du labdane agit en tant que groupe partant, il se forme un carbocation qui se cyclise de différentes façons. L'attaque du C₁₃ par la double liaison exo cyclique, la migration de la double liaison 13(14) suivie de la stabilisation du cation par élimination d'un proton en C₇ ou C₁₄ ou même en C₉, conduit ainsi aux pimaranes et leurs dérivés (schéma 16). La migration du méthyle en C₁₃ sur le groupement vinyle du pimarane conduit aux abietanes. Le déplacement du méthyle en C₁₃ du pimarane sur le C₁₄ ou la migration de l'isopropyle de l'abietane au C₁₂ ou C₁₄ conduit à une autre classe de diterpène appelée cassane. Le déplacement du méthyle en C₁₀ à C₉ dans les pimaranes conduit aux rosanes.

II-7-Les diterpènes tétracycliques

Les enchaînements tétracycliques sont, pour leur part, issus de la cyclisation du cation ent-pimarenyle.

Le schéma II,17 illustre certaines de ces possibilités de cyclisation



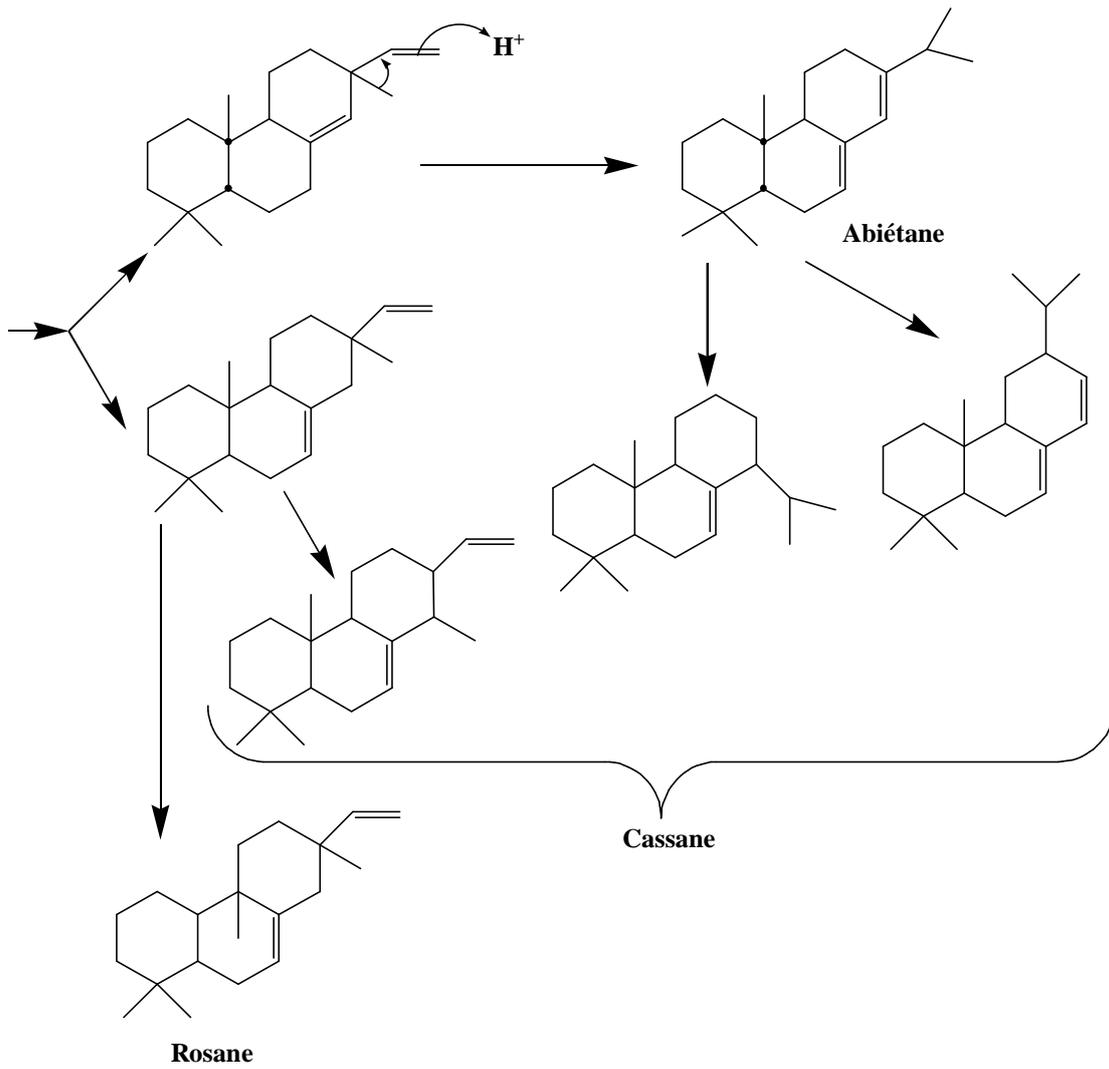


Schéma (II, 16)

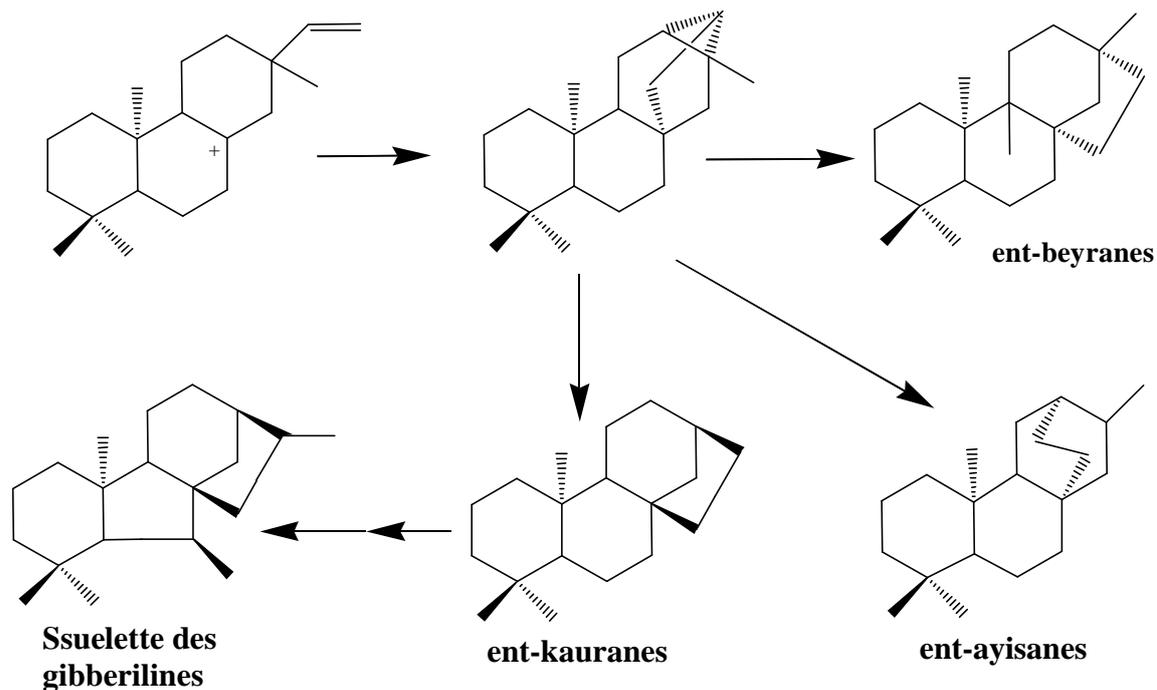
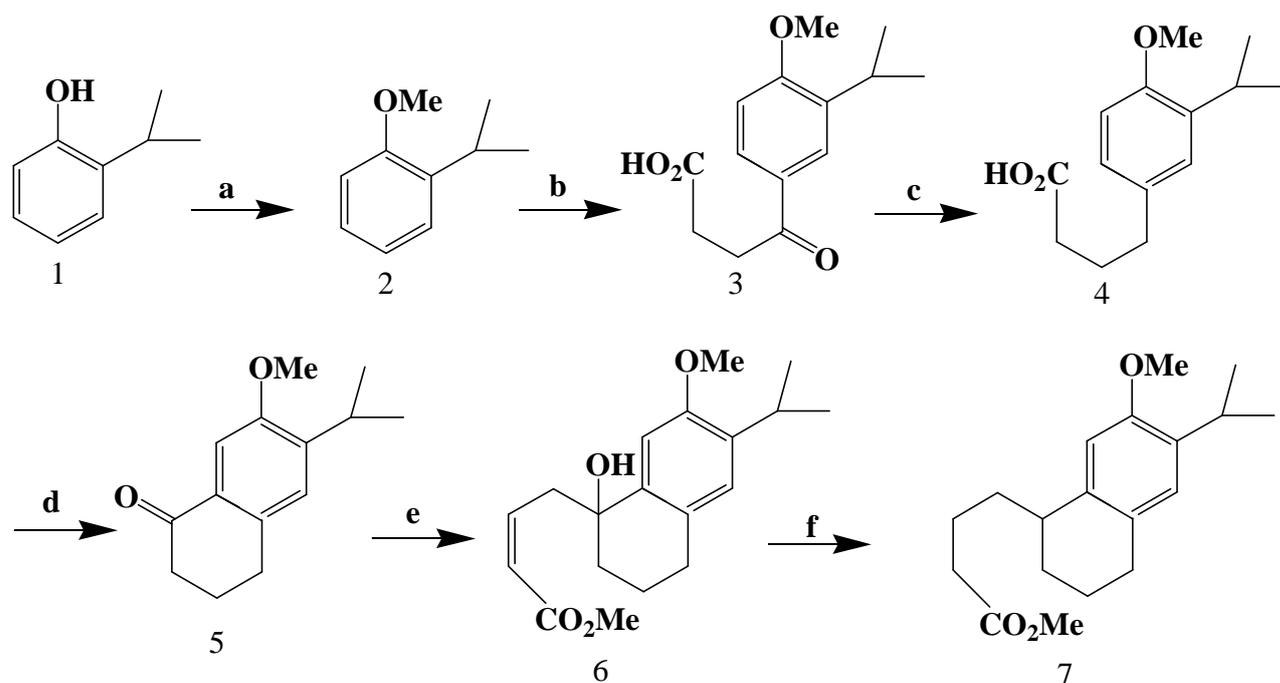
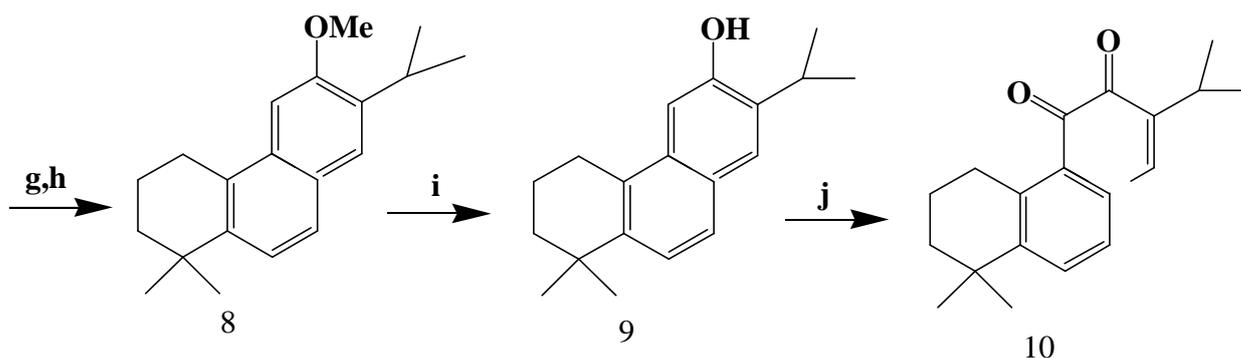


Schéma (II, 17)

II-8-Synthèse totale des diterpènes

Des travaux sur la synthèse totale des diterpènes ont été décrits en 1968, par H.KAKISAWA et Coll [18], puis quelques années après, par NASIPURI et Coll [19]. Ces structures ont été obtenues par des séries de réactions classiques. En l'occurrence, ils ont préparé le miltirone (10) en 9 étapes à partir d'un produit commercial le 2-isopropylphénol-1 (schéma II, 18)





Réactif et conditions : (a) Me_2SO_4 , aq, NaOH ; (b) $(\text{CH}_2\text{CO})_2\text{O}$, AlCl_3 , $\text{C}_6\text{H}_5\text{NO}_2$; (c) Zn / $\text{HgCl}_2, \text{HCl}$, chaleur ; (d) P_2O_5 , H_3PO_4 , chaleur ; (e) Zn, $\text{BrCH}_2\text{CH}=\text{CHCO}_2\text{Me}$, THF, ultasone ; (f) H_2 / Pd-C.280-300°C ; (g) MeMgI , Et_2O , (h) P_2O_5 , H_3PO_4 , chaleur ; (i) BBr_3 , CH_2Cl_2 , 0°C ; (j) sel de Fremy (nitrosodisulfonate de potassium), KH_2PO_4 , H_2O .

Schéma (II, 18)

II-9-Intérêt des diterpènes

Les diterpènes sont abondants chez les Lamiales et les Asterales – plus de 1200 produits repartis en une centaine de squelettes ont été décrits chez les seules Astéraceae – Ils sont plus dispersés chez les Gentianales, les Géraniales et les Fabales (10), ils suscitent un grand intérêt, certains sont très connus tels que le taxol qui est un diterpènes complexe isolé en 1962 de l'écorce des troncs de l'if du pacifique *Taxus brevifolia*. Il constitue une nouvelle arme cliniquement approuvée très efficace dans l'arsenal contre le développement des tumeurs cancéreuse chez l'homme. En 1994 les chimistes organiciens sont parvenus à deux synthèse totales de cette molécule qu'est le taxol [25].

Les diterpènes sont pourvus des propriétés thérapeutiques suivantes :

- anti-hypertensive de la torskoline isolée du *Plectranthus barbatus*[10]
- anti-retrovirale de la prostratine d'*Homothantus nutans* [10]
- anti-tumorale [26-28]
- anti-inflammatoire et analgésiques du borjatriol isolé de *Sedretis mugronensis*[10]
- anti-oxydante des diterpènes phynoliques du Romarin et de la Sauge [29]
- édulcorante du stévioside de l'herbe sacrée d Paraguay [30]
- hallucinogène marqué de Salvinorine A, diterpène actif de *Salvia divinorum* [31]
- anti-bactérienne du Totarol et Ferruginol vis-à-vis du MRSA [32] (*Staphylococcus aureus* résistant au méthicilline)
- antivirale [33]
- antibiotique [34-36]
- antimalarique [37]

Chapitre III

ISOLEMENT DES COMPOSES ET DETERMINATION DE LEURS STRUCTURES

III-1-Extraction :

1Kg des parties aériennes de la plante *Marrubium vulgare* séchée et broyée est mise à macérer dans le mélange Méthanol + Eau (80% /20%) pendant 48 heures.

Après filtration, le filtrat obtenu est concentré. Ce dernier est soumis successivement à l'extraction par: Ether de pétrole, chloroforme et enfin le butanol. Cette opération a permis d'avoir 3 extraits dont les poids sont successivement : 15 g, 44 g et 100g.

Le schéma (III, 1) résume ce protocole d'extraction.

III-2-Elimination de la chlorophylle

Une masse de 14 g de l'extrait chloroformique est diluée dans 200 ml d'éthanol. On a ajouté une solution de 3 % d'acétate de plomb ($\text{Pb}(\text{OAc})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), le mélange est laissé sous agitation pendant 24 heures. La filtration et l'évaporation de ce dernier a permis d'avoir une phase aqueuse qui a subi une extraction répétée par le chloroforme et on a eu une masse de 6 g.

Le schéma (III, 2) résume cette opération.

III-3-Séparation et Purification

L'analyse chromatographique sur couche mince montre une grande richesse en produit de l'extrait chloroformique par rapport à l'extrait étheropétrolique ou butanolique, pour ces raisons nous sommes intéressés à l'extrait chloroformique.

Une masse de 6 grammes de ce dernier a été mise à chromatographier sur une colonne de gel de silice en phase et pression normales.

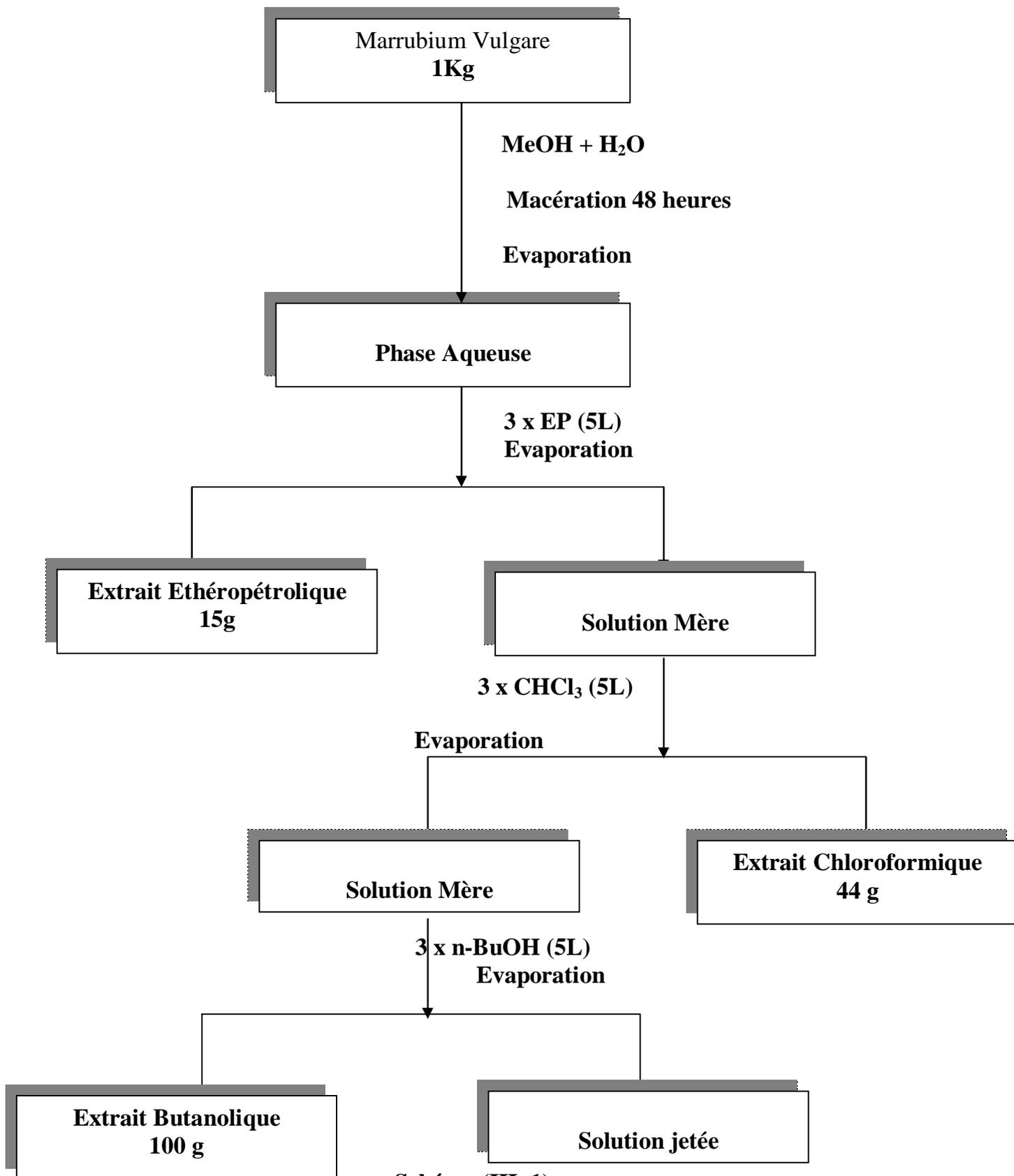


Schéma (III, 1)

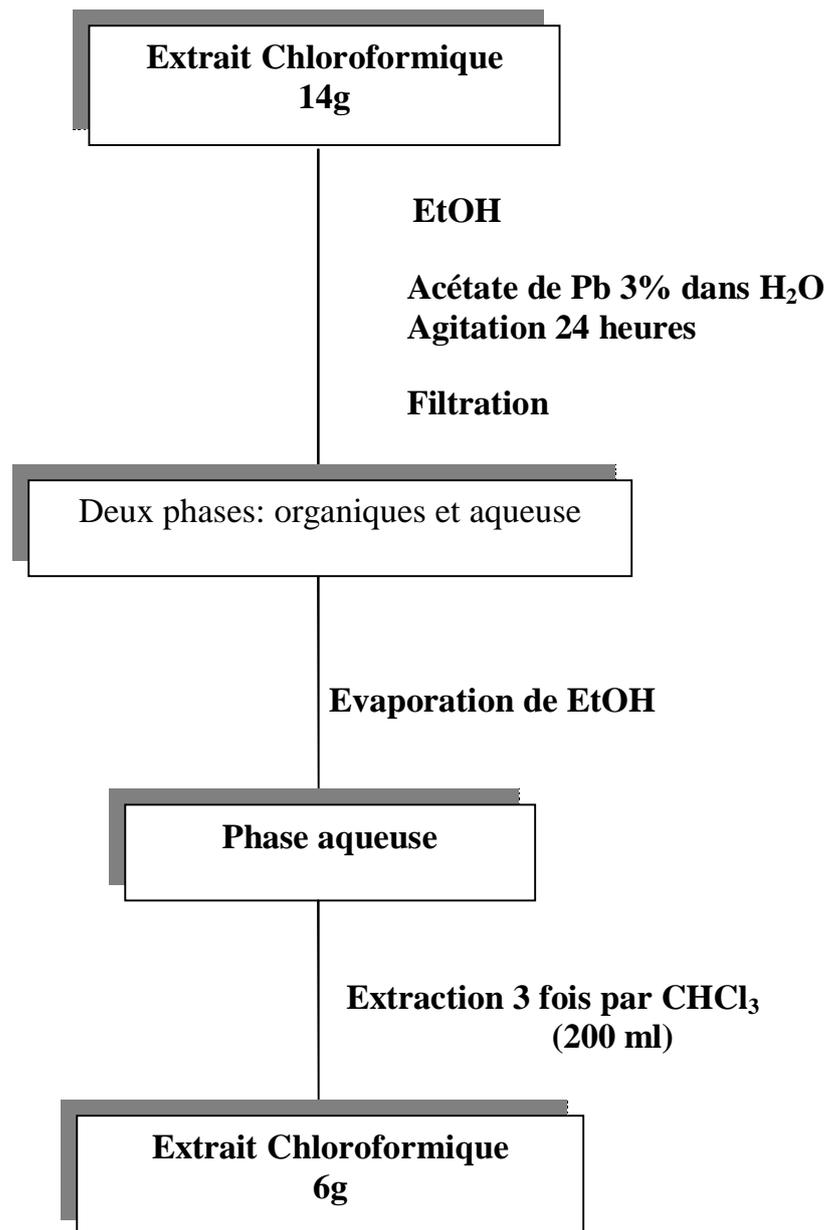
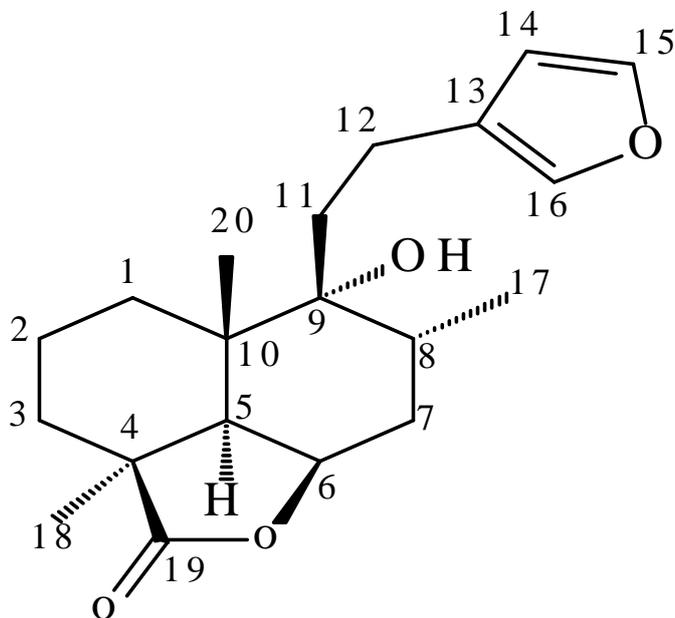


Schéma (III, 2)

III-4-Détermination de structures

III-4-1-Composé A : 15,16-Epoxy-9 α -hydroxy-13(16) ,14-labdien-19,6 β -olide.



Marrubiin

Le spectre RMN ^1H du composé présente les signaux suivants :

Les signaux de cyclo furanique [43]:

-trois singulets larges à 7.22 ppm, 7.37 ppm et à 6.26 ppm correspondant respectivement aux protons H-16, H-15 et H-14.

Les signaux de labdane:

-Un doublet à 0.96 ppm correspondant au proton H-17 avec la constante de couplage

$J = 6.49\text{Hz}$.

-Deux singulets à 1.28 ppm et 1.05 ppm correspondant au protons méthylique H-18, H-20.

-Un doublet à 2.24 ppm correspondant au proton H-5 avec la constante de couplage

$J_{\text{H-5,H-6}} = 4.61\text{ Hz}$.

-Un multiplet à 4.48 ppm correspondant au proton H-6

L'expérience de corrélation proton-proton ou COSY H – H montre clairement les deux systèmes de corrélation attendus entre :

- Les protons H-12 ($\delta = 2.53$ ppm) et H-11 ($\delta = 1.75 - 1.90$ ppm).
- Les protons H-14 ($\delta = 6.26$ ppm) et H-15 ($\delta = 7.35$ ppm).

-Les protons H-1a et H-1b, H-2a et H-2b, H-3a et H-3b, H-6 et H-7a, H-6 et H-7b, H-8 et H-7b, ce sont les protons qui appartiennent au système bicyclique.

- Les protons H-8 ($\delta = 2.12$ ppm) et H-17 ($\delta = 0.95$ ppm).

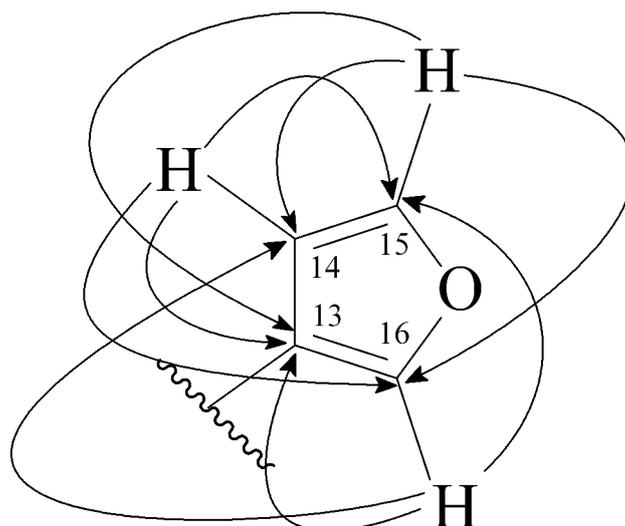
L'expérience de corrélation carbone-proton (C-H) ou HSQC montre les couplages directs en $^1J_{C-H}$ entre :

- Le proton H-16 et son carbone C-16 (138.5 ppm).
- Le proton H-15 et son carbone C-15 (143.0 ppm).
- Le proton H-14 et son carbone C-14 (110.7 ppm).
- Le proton H-5 et son carbone C-5 (44.8 ppm).
- Le proton H-6 et son carbone C-6 (76.2 ppm).
- Le proton H-11 et son carbone C-11 (35.1 ppm).
- Le proton H-12 et son carbone C-12 (21.0 ppm).
- Le proton méthylique H-17 et son carbone C-17 (16.5 ppm).
- Le proton méthylique H-18 et son carbone C-18 (22.9 ppm).
- Le proton méthylique H-20 et son carbone C-20 (22.2 ppm).

L'expérience hétéro nucléaire (HMBC) montre les couplages en $^2J_{C-H}$ et en $^3J_{C-H}$ entre :

a) dans le cyclo furanique:

- Le proton H-15 et trois carbones résonnant à 110.7 ppm, 125.0 ppm et 138.5 ppm. Ces déplacements chimiques sont attribués respectivement aux carbones en C-14, C-13 et C-16.
- Le proton H-14 et trois carbones C-15 (143.0 ppm), C-13 (125.0 ppm) et C-16 (138.5 ppm).
- Le proton H-16 et trois carbones résonnant à 143.0 ppm, 125.0 ppm et 110.7 ppm, correspondant respectivement aux carbones en C-15, C-13 et C-14.

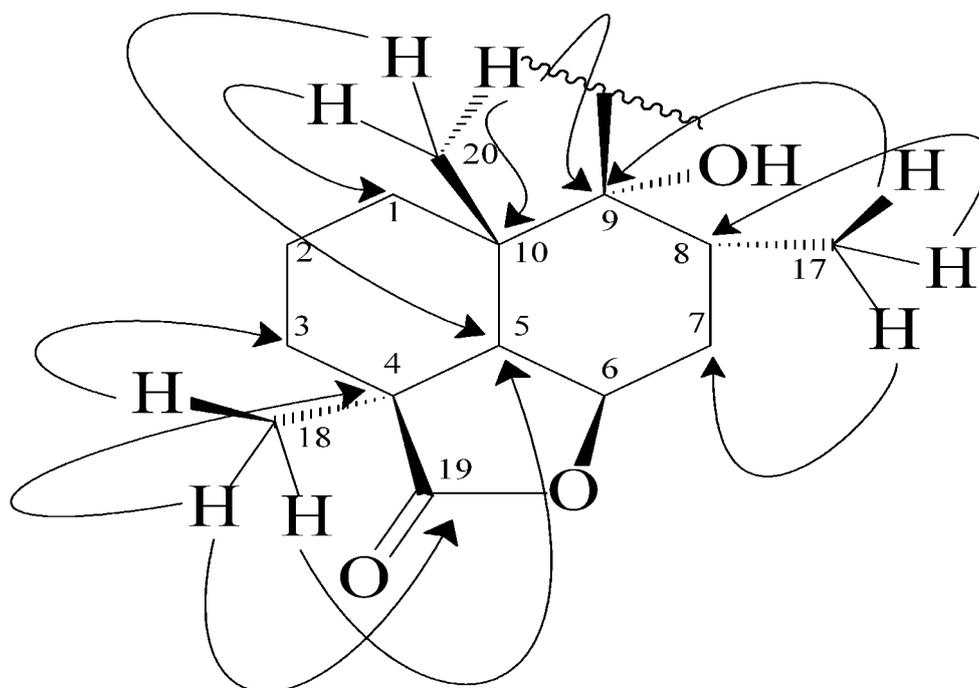


b) dans le cyclo labdanique et lactonique:

-Le proton H-17 et trois carbones C-8 (32.3 ppm), C-9 (75.7 ppm), C-7 (31.5 ppm).

-Le proton H-18 et quatre carbones résonnant à 28.3 ppm, 43.8 ppm, 183.8 ppm, 44.8ppm correspondant respectivement aux carbones e C-3, C-4, C-19, C-5.

-Le proton H-20 et quatre carbones C-1 (28.6ppm), C-10 (39.7 ppm), C-5 (44.8 ppm), C-9 (75.9 ppm).



Le spectre RMN ^{13}C montre la présence de 20 atomes de carbones. Ces déplacements présentent une grande similitude avec celle de la littérature [63] qui sont réparties selon le RMN de ^{13}C (J modules) en:

- 3 CH₃ primaire
- 6 CH₂ secondaire
- 6 CH tertiaire
- 5 C quaternaire

Le tableau (6) résume les déplacements chimiques et leurs DEPT:

Carbone	Déplacement Chimique δ_c (ppm)	DEPT
C1	28.6	CH₂
C2	18.1	CH₂
C3	28.3	CH₂
C4	43.8	C
C5	44.8	CH
C6	76.2	CH
C7	31.5	CH₂
C8	32.3	CH
C9	75.7	C
C10	39.7	C
C11	35.1	CH₂
C12	21.0	CH₂
C13	125.0	C
C14	110.5	CH
C15	143.0	CH
C16	138.8	CH
C17	16.5	CH₃
C18	22.9	CH₃
C19	183.8	C

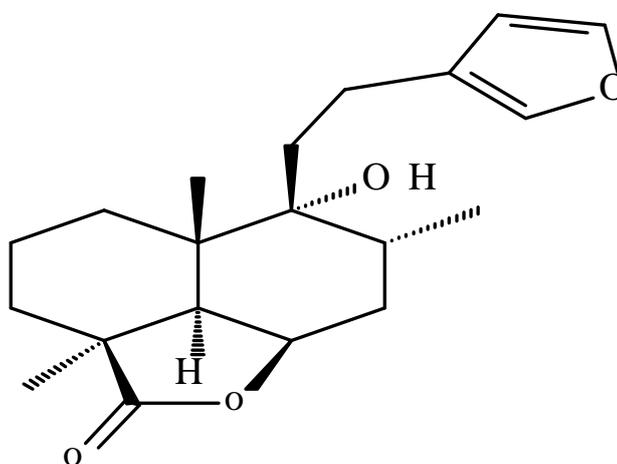
C20	22.2	CH₃
------------	-------------	-----------------------

Tableau (6)

Les spectres de masses obtenus en ionisation par électroflashe ou ESI (Electro Spray Ionisation) présentent des pics en mode positif $[M + Na]^+ = 355.2$

Le spectre MS/MS enregistré en mode positif indique un pic à $m/z = 311(M - 44)$ correspondant à la perte de CO_2 .

Les différentes méthodes d'analyses spectroscopiques à savoir : RMN 1H , RMN ^{13}C , COSY H-H, HSQC, HMBC et la spectrométrie de masse ESI conduisent alors à attribuer sans équivoque la structure suivante pour le composé A.



Marrubiin

Chapitre IV

PARTIE EXPERIMENTALE

IV-1-Matériel utilisés

Les chromatographies analytiques sur couche mince (CCM) et préparatives sur couche épaisse (CCE), ont été effectuées sur plaques de silice Kieselgel 60 F₂₅₄ Merck.

Les chromatographies sur colonne sont réalisées avec le gel de silice Kieselgel 60-230-400 mesh, Merck.

Les solvants utilisés sont des solvants de commerce purs : Acétate d'éthyle, l'éther de pétrole, chloroforme, méthanol, n-butanol. Ces derniers sont distillés au préalable.

Les spectres IR sont enregistrés dans des pastilles de KBr sur un appareil de type SLIMADZU IR-470 du département de chimie de l'université de BATNA.

Les spectre de Masse sont enregistrés en electrospray ESI (Electro Spray Ionisation), en modes positif, sur un spectromètre de masse de type Brucker LC-MS/MS type esquire-LC, du Centre de Recherche sur les Substances Naturelles Unité Mixte de Recherche CNRS- Pierre Fabre- UMR 1973-Toulouse (France).

Les spectre de résonance magnétique nucléaire de proton (RMN ¹H 1D et 2D) sont enregistrés dans le CDCl₃ sur un appareil Brucker 500 MHz du laboratoire de Pharmacognosie – CNRS-UMR 6013- Université de Reims Champagne – Ardenne (France).

Les déplacements chimiques sont relatifs au tétraméthylsilane (TMS), et les constantes de couplage sont exprimées en Hz.

Les spectres de résonance magnétique nucléaire du carbone 13 (J-modulé) sont enregistrés dans CDCl₃ sur un appareil Brucker 125 MHz du laboratoire de Pharmacognosie- CNRS- UMR 6013- Université de Reims Champagne – Ardenne (France).

IV-2-Extraction

Les parties aériennes (1Kg) de la plante *Marrubium vulgare* séchées puis réduites en poudre, sont mises à macérer pendant 48 heures dans l'éther de pétrole (3 fois 5 litres). Après filtration, les extraits étheropétroliques sont réunis et concentrés à sec sous pression réduite. 15 grammes de cet extrait ont été ainsi obtenus, soit un rendement de 1.5 %.

Le résidu obtenu est ensuite extrait trois fois par le chloroforme suivant le même protocole décrit précédemment donnant ainsi 44 grammes d'extrait chloroformique.

Le rendement est de 4.4 %.

Les marcs sont ensuite repris par 5 litres de n-butanol, après filtration et évaporation du solvant, 99.28 grammes d'extrait butanolique ont été obtenus, soit un rendement de 9.9 %.

IV-3-Contrôle chromatographique des extraits

IV-3-1-Extrait étheropétrolique :

Les chromatographies sur couche mince (CCM) effectuées sur l'extrait étheropétrolique dans les systèmes d'élution suivants : Ether de pétrole-Acétate d'éthyle: 97/3, 95/5, 85/15 montrent, après examen par la lumière UV et vaporisation par la vanilline sulfurique, suivie par chauffage à plusieurs taches et une traînée.

IV-3-2-Extrait butanolique :

L'extrait butanolique examiné par CCM, avec les systèmes d'élution suivants: Chloroforme – méthanol : 80/20, 70/30 et 50/50, présente une traînée très importante.

IV-3-3-Extrait chloroformique :

L'analyse par CCM de l'extrait chloroformique dans les systèmes d'élution : chloroforme pur, chloroforme – méthanol: 98/2 montre, sous la lumière UV (254 nm) deux tâches de R_f proche se révélant à la vanilline sulfurique et chauffage en mauve, et en rose avec d'autres tâches qui sont invisibles en UV et qui sont très proches et donnant des différentes couleurs (bleue, rose, mauve, marron et jaune) avec la vanilline sulfurique.

IV-4-Séparation et purification

Les techniques de séparations utilisées sont la chromatographie sur colonne de gel de silice et la chromatographie préparative sur gel de silice.

IV-4-1-Extrait chloroformique

Une masse de 6 grammes de l'extrait chloroformique est soumise à une chromatographie sur colonne de gel de silice, l'élution a été initialement effectuée par l'éther de pétrole dont on augmente progressivement la polarité par addition d'acétate d'éthyle puis par un gradient de méthanol dans le chloroforme, et enfin par le méthanol pur.

Des fractions de 50 millilitres sont prélevées: Ainsi 400 fractions sont obtenues.

Les résultats de ce fractionnement sont représentés dans le tableau (7):

Fraction	Eluant	Observation en CCM
1 – 16	Ether de pétrole	Rien
	Ether de pétrole /Acétate d'éthyle	
17 – 37		Mélange complexe
38 – 72	95 / 5	Tâche + traînée
73 – 166	90 / 10	3 tâches + traînée
167 – 218	85 / 15	//
219 – 273	80 / 20	Tâche + traînée
274 – 298	70 / 30	//
299 – 338	60 / 40	Mélange complexe
339 – 360	50 / 50	Rien
361 – 374	30 / 70	Rien
	Chloroforme	
	Chloroforme / Méthanol	
375 – 378		Mélange
379 - 400	90 / 10	Rien
	80 / 20	

Tableau (7)

Les fractions sont étudiées sur des plaques de chromatographie sur couche mince (CCM), examinées sous la lumière UV à 254 et 366 nm et révélées par la vanilline sulfurique, puis chauffées à 100°C.

Les fractions présentant des similitudes sont réunies donnant ainsi 24 lots (Tableau 8)

N° lots	Fraction	Poids (mg)	Observation en CCM
1	1 – 21	100	Rien
2	22 – 37	60	Mélange
3	38 – 41	50	//

4	42 – 47	30	Tache + Traînée
5	48 – 72	80	Mélange
6	73 – 85	100	2 Taches + Traînée
7	86 – 89	200	//
8	90 – 95	400	//
9	96 – 103	210	//
10	104 – 117	550	3 Taches + Traînée
11	118 – 138	150	Tache + Traînée
12	139 – 166	700	Mélange complexe
13	167 – 179	480	3 Taches + Traînée
14	180 – 197	1990	2 Taches + Traînée
15	198 – 218	100	2 Taches + Traînée
16	219 – 238	70	Taches + Traînée
17	239 – 263	90	//
18	264 – 273	20	//
19	274 – 298	40	//
20	299 – 321	80	Mélange complexe
21	322 – 338	130	//
22	339 – 360	100	//
23	361 – 374	100	Néant
24	375 - 378	150	Mélange complexe

Tableau (8)

IV-4-1-1-Etude du lot N° 8 :

Echantillon à chromatographie : 400 mg

Gel de silice : 16g

Le fractionnement de ce lot a été réalisé comme suit :

Fraction	Eluant	Observation en CCM
	Ether de pétrole / Acétate d'éthyle	
1 – 5	95 / 5	Néant
6 – 12	90 / 10	Tache + Traînée
13 – 50	85 / 15	Deux taches + Traînée
51 - 60	80 /20	//

Tableau (9)

Le rassemblement des fractions similaires donne 4 sous lots (tableau 10) :

N°lots	Fractions	Poids (mg)	Observation en CCM
1	1 – 5	0	Néant
2	6 – 16	60	Tache + Traînée

3	17 – 55	280	Deux taches + Traînée
4	56 - 60	60	Deux taches + Traînée

Tableau (10)

Le sous lot N° 3 (280 mg) montrant en CCM deux taches de R_f quasi similaire pouvant correspondre à deux composés dont un est majoritaire mais inséparables par la chromatographie sur colonne de gel de silice.

L'addition d'acétate d'éthyle au mélange de ces produits permet la formation de cristaux, et une huile jaunâtre. Le prélèvement de cette huile, suivi de rinçage successif conduit à un dépôt de cristaux blanc de masse égale à 95 mg.

IV-5- Caractéristiques Spectrales :

15,16-Epoxy-9 α -hydroxy-13(16) ,14-labdien-19,6 β -olide : Marrubiin

Formule brute : $C_{20}H_{28}O_4$

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

- 1.73 (m. 1H) = H – 1a
- 1.51 (m. 1H) = H – 1b
- 1.66 (m. 1H) = H – 2a
- 1.30 (m. 1H) = H – 2b
- 2.09 (m. 1H) = H – 3a
- 1.44 (m . 1H) = H – 3b
- 2.23 (d. J = 4.61. 1H) = H – 5
- 4.73 (m. 1H) = H – 6
- 2.16 (m. 1H) = H – 7a
- 1.69 (m. 1H) = H – 7b
- 2.12 (m. 1H) = H – 8
- 1.90 (m. 1H) = H – 11a
- 1.75 (m. 1H) = H – 11b
- 2.53 (m . 2H) = H – 12
- 6.26 (sl. 1H) = H – 14
- 7.35 (sl. 1H) = H – 15
- 7.22 (sl. 1H) = H – 16
- 0.95 (d. J = 6.49. 3H) = H – 17
- 1.28 (s. 3H) = H – 18
- 1.05 (s. 3H) = H – 20

Spectre de RMN de ^{13}C : (125 MHz, $CDCl_3$, TMS)

- 28.6 ($CH_2 - 1$)
- 18.1 ($CH_2 - 2$)

28.3 (CH₂ – 3)
43.8 (C – 4)
44.8 (CH – 5)
76.2 (CH – 6)
31.5 (CH₂ – 7)
32.3 (CH – 8)
75.7 (C – 9)
39.7 (C – 10)
35.1 (CH₂ – 11)
21.0 (CH₂ – 12)
125.0 (C – 13)
110.7 (CH – 14)
143.0 (CH – 15)
138.6 (CH – 16)
16.5 (CH₃ – 17)
22.9 (CH₃ – 18)
183.8 (C – 19)
22.2 (CH₃ – 20)

Spectre IR: (KBr) cm⁻¹

3463.53 (hydroxyle)
2935.13 (C = C)
2869.56 (CH)
1740.44 (C = O)

Spectre de Masse: (m / z)

355.2 = [M + Na]⁺
371 = [M + K]⁺
311 = [(M + Na) – CO₂]⁺

CONCLUSION

Conclusion

Le présent travail reporte une étude chimique réalisée sur l'extrait chloroformique des parties aériennes de *Marrubium vulgare*. Cette investigation a contribué incontestablement à compléter la connaissance des composés chimiques des Lamiacées en général, et le genre *Marrubium* en particulier.

Un produit diterpénique A a été isolé par chromatographie en phase normale.

L'élucidation de la structure de ce composé a été réalisée au moyen des méthodes modernes d'analyse spectroscopique, particulièrement la RMN ^1H , la RMN ^{13}C et la RMN 2D (COSY, HSQC, HMBC).

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

- [1] R-Edouard Spichiger ; V.Savolainen ; M.Figeat, Avec la collaboration de M.Perret.
Botanique Systématique Des Plantes à Fleurs. **296**. presses polytechniques et universitaires Romandes.
- [2] K.Miura, H.Kikuzaki, N. Nakatani, J. Agric.
Food Chem., 2002, **50**, 1845.
- [3] M.D.Guillen, M.J.Manzanos.
Plant. Food Chem., 1998, **63**, 373.
- [4] A.Kabouche.
Thèse de doctorat d'état Chimie, 2005, Univ de Constantine, Algérie.
- [5] G.Bonnier.
Flore Complète. Tome :09. **25-26**. La Végétation de la France, Suisse et Belgique.
- [6] M-K.Boukef.
Médecine Traditionnelle et Pharmacopée
Les plantes de la médecine traditionnelle tunisienne, Agence de Coopération Culturelle et Technique, **163-164**, Paris, France.
- [7] Quezel. F et Santa. S.
Nouvelle Flore de L'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales, Vol. 1-2, **801-802**, Ed.CNRS, Paris France, 1962,1963.
- [8] Bellakhdar. J.
Médecine Arabe Ancienne et Savoirs Populaires
La pharmacopée marocaine traditionnelle, Ibs Press, **341**,1997.
- [9] H.Ben Jannet, F.Harzallah-Skhiri, Z.Mighri, M.S.J.Simmonds, W.M.Blaney.
Responses of *Spodoptera littoralis* larvae to Tunisian plant extracts to neoclerodane diterpenoid from *Ajuga pseudoiva* leaves. Fitoterapia 71, **105-112**, 2000.
- [10] Jens A. Pedersen.
Distribution and taxonomic implications of flavonols in the family Lamiaceae determined by ESR spectroscopy. Biochemical Systematics and Ecology 28, **229-253**, 2000.
- [11] H.Itokawa, K.Suto, and K.Takeyo.
Studies on Novel *p*-coumaroyl glucoside of apigenin and on other flavonoids isolated from *Patchouli* (Labiatae), Chem. Pharm. Bull. 29 (1), **254-256**, 1981.
- [12] L. J.M. Rao, G.N.K.Kumari and N.S.P.Rao.
Two further Acylated flavone glucosides from *Anisomeles ovata*. Phytochemistry, vol. 22, No. 4, pp. **1058-1060**, 1983. Printed in Great Britain.
- [13] T.J.VanderJagt, R.Ghattas, D.J.VanderJagt, M. Crossey, R.H.Glew.
Comparisan of the total antioxidant content of 30 widely used medicinal plants of New Mexico. Life Sciences 70, **1035-1040**, 2002.

- [14] A. Karioti, J. Heilmann, H.Skaltsa.
Labdane diterpene from *Marrubium velutinum* and *Marrubium cylleneum*,
Phytochemistry 66, **1060-1066**, 2005.
- [15] I.Çalis, M. Hosny, T. Khalifa and P.Rüedi.
Phenylpropanoid glycosides from *Marrubim alysson*, Phytochemistry, Vol
31, No.10, pp. **3624-3626**, 1992.
- [16] A. Iida, Y.Tanaka, T.Mihara, M.Tabata, G. Honda, T.Shingu, Y.Takeda,
Y.Takaishi, E.Yesilada, E.Sezik, and T. Fujita.
Marrubinones A and B, New diterpenoids from *Marrubium astracanicum*
(Labiatae), Chem. Pharm. Bull. Vol.43. No. 9, **1454-1457**, 1995.
- [17] A. Karioti, H. Skaltsa, J. Heilmann, O.Sticher.
Acylated Flavonoid and Phenylethanoid glycosides from *Marrubium
velutinum*, Phytochemistry 64, **655-660**, 2003.
- [18] Rao, L.J.M., Kumari, G.N.K., Roa, N.S.P.
1982. Anisifilin-A, a new acylated flavone glucoside from *Anisomeles ovata*
R.Br. Heterocycles 19, **1655-1661**.
- [19] El-Ansari, M.A., Namuvaz, M.A., Saleh, N.A.M.,
1995. Stachysetin, α -diapigenin-7-glucoside-p,p'-dihydroxytruxinate from
Stachys aegyptiaca. Phytochemistry 40, **3147-3149**.
- [20] Wagner, H., Iyengar, M.A., Michahelles, E., Herz, W.
1971. Quercetin-3-(*O*-acetyl)- β -D-glucopyranosid in *Plummera floribunda*
und *Helenium hoopesii*. Phytochemistry 10, **2547-2548**.
- [21] Vermes, B., Farkas, L., N6grádi, M., Wagner, H., Dirscherl, R.
1976. The synthesis of afzelin, paeonoside and Kaemferol 3-*O*- β -
rutoside. Phytochemistry 15, **1320-1321**.
- [22] Hörhammer, L., Wagner, H., Arndt, H.G., Farkas, L.
1966. Isolierung und Synthese zweier Flavonolglykoside von *Cereus
grandiflorus* Mil. Chemische Berichte 99, **1384-1387**.
- [23] Rahman, W., Ilyas, M.
1962. Flower pigments, Flavonoids from *Argemone mexicana* Linn.
(Papaveraceae). J. Org. Chem. 27, **153-155**.
- [24] Kubo, I., Yokokawa, Y.
1992. Two tyrosinase inhibiting flavonol glucosides from *Buddleia coriacea*.
Phytochemistry 31, **1075-1577**.
- [25] Stoll, A., Renz, J., Brack, A.
1950. Isolierung und Konstitution des Echinacosids, eines Glykosods aus
den Wurzeln von *Echinacea angustifolia* D.C. Helv. Chim. Acta 33, 1877-
1893.
- [26] Endo, K., Takahashi, K., Abe, T., Hikino, H.
1982. Structure of forsythoside B, an antibacterial principale of *Forsythia
koreana* stems. Heterocycles 19, **261-264**.
- [27] Warashina, T., Miyase, T., Ueno, A.
1992. Phenylethanoid and lignan glycosides from *Verbascum thapsus*.
Phytochemistry 31, **961-965**.
- [28] Natiq A. R. Hatam, Andea and Karlheinz Seifert.

- Polyodonine, a prefuranic labdane diterpene from *Marrubium polydon*. *Phytochemistry*, Vol. 40, No.5, pp. **1575-1576**, 1995.
- [29] Zadororhny, A.M., Zapesochnaya, G.G., Pervykh, L.N., Shehavlinsky, A. N., Kovtum, L.S., Svanidze, N. V.
1986. Investigation of the herb *Aerva lanata*. I. O-acylglycosides of flavonoids. *Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal* 20, **855-858**.
- [30] Savona, G., Bruno, M. and Rodriguez, B.
Phytochemistry 23, **191**. 1984.
- [31] Fang, J. M., Wang, K. C. and Cheng, Y. S.
Phytochemistry 30, **3383**. 1991.
- [32] Rao, L. J. M., Kumari, G. N. K. and Rao, N. S. P.
J. Nat. Prod. 48, **150**. 1985.
- [33] G. S. Çitoğlu, F. Aksit.
Occurrence of marrubiin and ladanein in *Marrubium trachyticum* Boiss. From Turkey, *Biochemical Systematics and Ecology* 30. **885-886**. 2002.
- [34] Z. Baher Nik, M. Mirza and F. Shahmir.
Essential oil of *Marrubium cuneatum* Russell and its secretory elements, *Flavour Fragr. J.* 19. **233-235**. 2004.
- [35] Mahnaz. K, Leila. G, Elham.H.M, Abbas.H, and Abbas.S.
Chemical composition of the essential oils of *Marrubium parviflorum* Fisch. & C. A. Mey. And *Marrubium vulgare* L. from Iran. *Flavour Fragr. J.* 20. **224-226**. 2005.
- [36] Diamanto m.l, Helen D. S, Theophanis C.
Essential oil of *Marrubium velutinum* Sm. And *Marrubium peregrinum* L., growing wild in Greece. *Flavour Fragr. J.* 14. **290-292**. 1999.
- [37] Françoise. M.N, Sevser. S, Abdelmejid. K, Marie.c. J-C, Patrik. D and François. B.
Natural phenylpropanoids inhibit lipoprotein-induced endothelin-1 secretion by endothelial cells. *JJP.* 2004, 56: **1607-1611**.
- [38] Sevser . S, Nancy.G, Monique. T, François. B.
Isolation and pharmacological activity of phenylpropanoid esters from *Marrubium vulgare*. *Journal of Ethnopharmacology* 79. **389-392**. 2002.
- [39] Sevser.S, Thierry.H and François. B.
Marruboside, a new phenylethanoid glycoside from *Marrubium vulgare* L. *Natural Product Letters*, Vol. 16, No. 3, pp. **195-199**. 2002.
- [40] D. P. Popa, G. S. Pasechnik, and Phan. T. A.
Marrubiol, a new diterpenoid from *Marrubium vulgare*. *Khimiya Prirodnykh Soedinenii*, Vol. 4, No. 6, pp. **345-348**, 1968.
- [41] Sanae.E.B, Maurice.W, Marie-C. H, Badiaa.L, Joëlle. Q-L & Nicole.M.
Characterisation of marrubiol, a diterpene extracted from *Marrubium vulgare*, as an L-type calcium channel blocker. *British Journal of Pharmacology* (2003) 140, **1211-1216**.
- [42] M. S. Henderson and R. McCrindle.
Premarrubiin. A diterpenoid from *Marrubium vulgare* L. *J.Chem. Soc. (C)*, **2014-2015**, 1969.

- [43] C. Meyre-Silva, R.A. Yunes, V. Schlemper, F. Campos-Buzzi, V. Cechinel-Filho.
Analgesic potential of marrubiin derivatives, a bioactive diterpene present in *Marrubium vulgare* (Lamiaceae). *Il Farmaco* 60 (2005), **321-326**.
- [44] J. Bruneton
Pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales, (3^{ème} Edition), 1999. pp **463**.
- [45] L. Ruzicka.
Experientia. 1953, 9, **357**.
- [46] J. W. Rowe.
Common and systematic nomenclature of Cyclic Diterpenes. Forest Products Research Laboratory, Wisconsin. 1968.
- [47] M. H. Beale.
Nat Prod Rep. 1991, 8, **455**.
- [48] J. M. Hanson.
Diterpenoids in P. M. Dey and J. B. Harborne (Editors). *Methods in Plant Biochemistry*, Edited by B. V. Charlwood and D.V. Banthorpe, 1991, Vol. 7.
- [49] H. Kakisawa, M. Taheishi, T. Kusumi.
Tetrahedron Lett., 1968, **3783**.
- [50] T. K. John, G. S. Rao. Krishna.
Proc. Indian Acad. Sci. A, 1978, 87A(8), **235**.
- [51] K. P. C. Vollhardt, N.E. Schore.
Traité de Chimie Organique, Ed. De Boeck & Larcier, 1999, pp **149**.
- [52] S. M. Kupchan, A. Karim, C. Marcks.
J. Org. Chem., 1969, 34, **3912**.
- [53] S. M. Kupchan, A. Karim, C. Marcks.
J. Amer. Chem. Soc., 1968, 90, **5923**.
- [54] J. Gao, G. Han.
Phytochemistry, 1997, 44, **759**.
- [55] C. H. Brieskorn H. Mitchel.
Tetraherdron Lett., 1968, **3447**.
- [56] J. R. Hanson, B. H. Oliveira.
Nat. Prod. Rep., 1993, 10, **301**.
- [57] D. J. Siebert.
J. Ethnopharmacol., 1994, 43, **53**.
- [58] G. B. Evas, R. H. Furneaux, M. B. Gravestock, G. P. Lynch, G. k. Scott.
Bioorg. & Med. Chem., 1999, 7, **1953**.
- [59] O. Batista, M. F. Simoes, A. Duarte, M. L. Vaidiera, M. C. De La Tore, B. Rodriguez.
Phytochemistry . 1995, 38, **167**.
- [60] C. W. Brandt, L. G. Neubauer.
J. Chem. Soc., 1939, **1031**.
- [61] A. Ulubelen, G. Topcu, C Eris, U. Sonmez, M. Kartal, S. Kurucu C. b. Johansson.
Phytochemistry, 1994, 36, **971**.

- [62] H. Achenbach, R. Walbel, M. H. H. Nkunya, H. Wenen.
Phytochemistry, 1992, 31, **3781**.
- [63] W. Knöss, B. Reuter, J. Zapp.
Biosynthesis of the labdane diterpene marrubiin in *Marrubium vulgare* via
a non-mevalonate pathway. *Biochem. J.* (1997) 326 (449-454)(Printed in
Great Britain)

DEUXIEME PARTIE

ETUDE DE LA PLANTE PITURANTHOS CHLORANTHUS

Chapitre V

TRAVAUX ANTERIEURS

V-1-Description botanique

Les Umbellifères sahariennes sont différentes les unes des autres et leur détermination n'offre pas de grandes difficultés. Exclusivement, la distinction entre les espèces de *Pituranthos* est souvent difficile [1].

En effet, elles ne se distinguent les unes des autres que par la couleur des fleurs et la taille de leur pédoncule [2].

Le genre *Pituranthos* possède plus de vingt espèces, dont certaines sont spécifiques à l'Afrique du nord [3-5] et sont souvent rencontrées dans les régions arides ou désertiques.

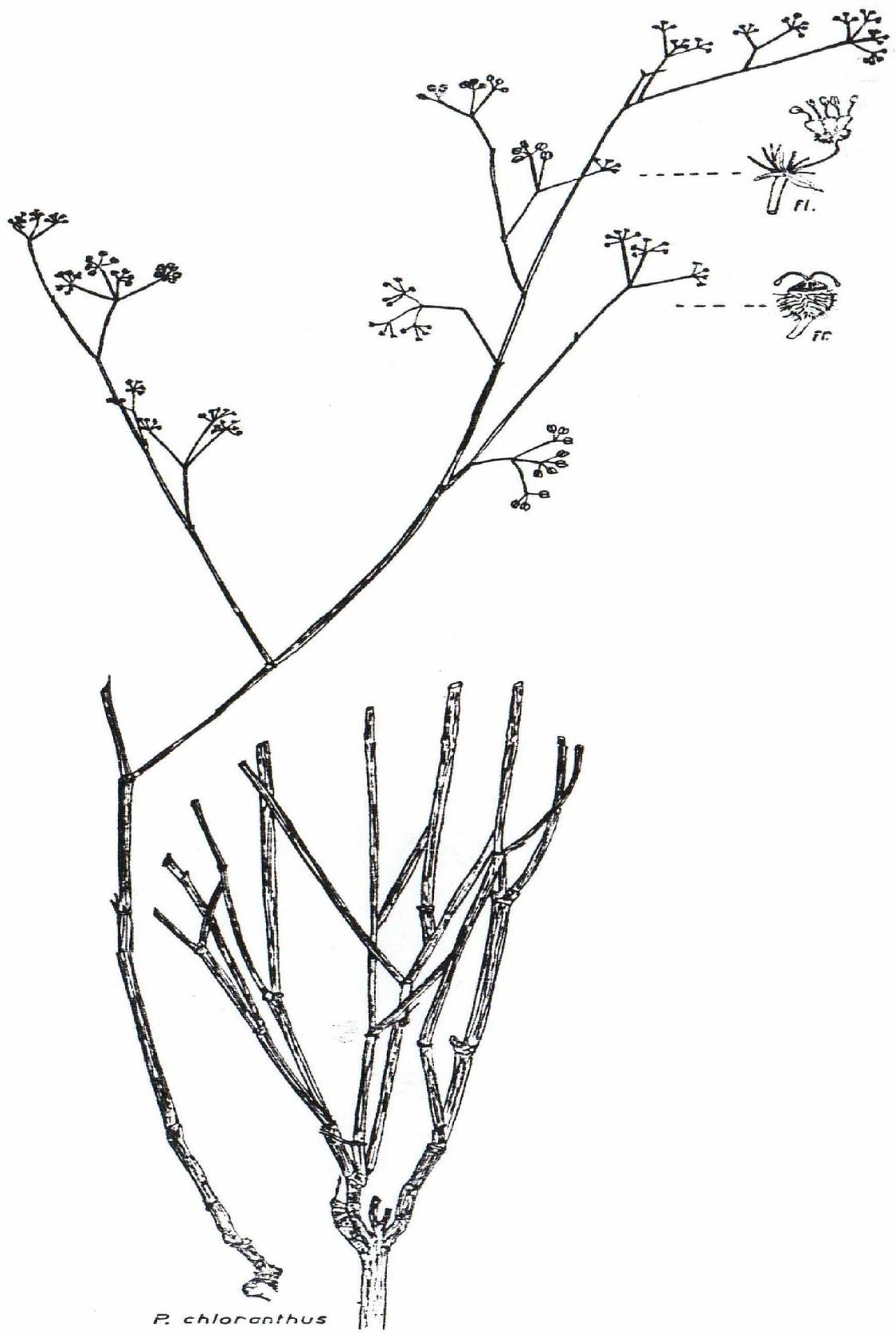
Le potentiel floristique algérien de ce genre comporte les espèces suivantes:

- *Pituranthos chloranthus*, l'objet de notre travail, espèce particulièrement moins présente.
- *Pituranthos scoparius*, espèce abondante dans les Aurès.
- *Pituranthos battandieri* (Mair): endémique au Sahara marocain et l'oranie [6].

Quezel [3] a décrit le genre *Pituranthos* comme une plante vivace, totalement aphyllé, à tige très ramifiée, portant des ombelles à involucre et involucelles polyphylles est des percarpes ovoïdes à six bandelettes.

L'espèce *Pituranthos chloranthus* (Coss et Dur) Benth et Houk, selon Ozenda [1] est une plante dont les tiges sont ramifiées dès la base, plus ou moins dichotomes et portant des ombelles longuement pédonculées; pétales verdâtres à nervures dorsales pubescentes et larges, fruits poilus.

L'espèce *Pituranthos chloranthus* est commun dans tout le Sahara septentrional et occidental jusqu'à EL Golea et au Tademaït au sud.



P. chloranthus

Pituranthos chloranthus

V-2-Usages traditionnels

L'espèce *Pituranthos chloranthus* est appelée localement *Guezzeh*, d'après Gatefossé (1921), le *Pituranthos chloranthus* est employé, en cataplasmes sur la tête, contre les céphalées [6].

Les huiles obtenues des tiges et des graines du *Pituranthos scoparius* sont largement utilisées comme remède contre le rhumatisme et la fièvre [7].

Les espèces *triradiatus* et *tortuosus*, sont utilisées par la population bedouine contre les douleurs d'estomac, les parasites intestinaux ou comme agent régulateur de la menstruation chez les femmes [8].

V-3-Toxicité

Les nomades connaissent le haut pouvoir allergisant des plantes du genre *Pituranthos* pour les animaux, en période de leur floraison [6].

En effet, le pollen des espèces *chloranthus* et *scoparius* engendrent des ophtalmies graves, quand il pénètre dans les yeux des animaux. Le dromadaire en particulier y est très sensible. Très allergisant, ce pollen rend les animaux aveugles pendant plusieurs jours. Les nomades traitent ces ophtalmies en instillant dans les yeux du dromadaire, du jus de tabac ou en introduisant du sel sous les paupières [6].

V-4-Étude chimiques antérieures

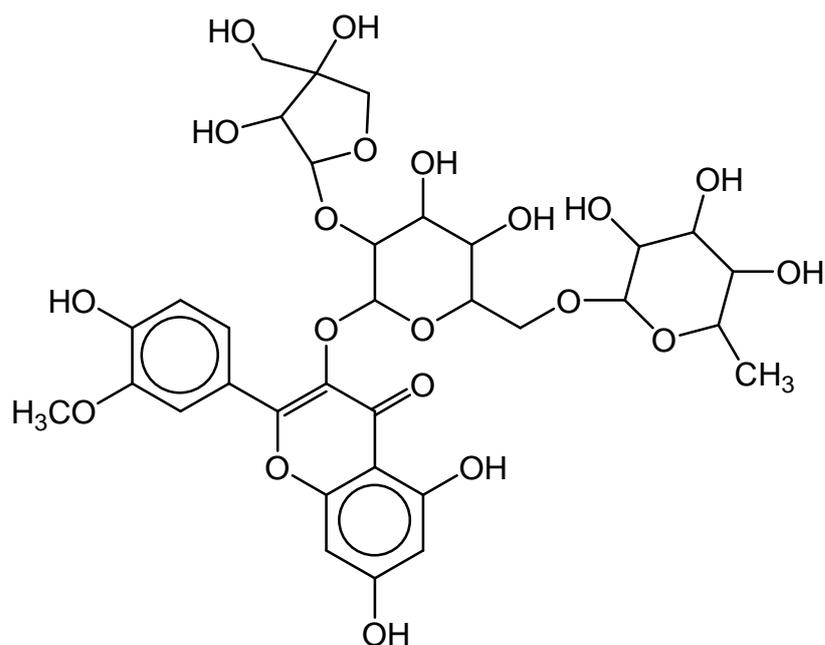
Une recherche bibliographique exhaustive faite sur les espèces du genre *Pituranthos*, nous a permis de constater que ces plantes sont peu étudiées et que leur composition chimique reste à déterminer.

V-4-1-Genre Pituranthos

Les études phytochimiques effectuées sur le genre *Pituranthos* d'après des données bibliographiques, concernent les espèces suivantes: *chloranthus*, *scoparius*, *tortuosus* et *triradiatus*.

L'espèce *battandieri* n'est pratiquement pas été étudiée chimiquement.

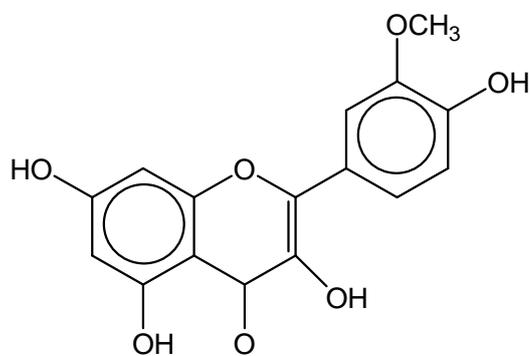
L'étude effectuée par Singab et collaborateurs [9] sur l'espèce *Pituranthos tortuosus* a permis d'isoler un flavonoïde glucoside nouveau **201**. Il s'agit du glucopyranosyloxy-3trihydroxy-4',5,7méthoxy-3`flavone,2"-O-β-D-rhamnopyranosyl 6"-O-α-L-rhamnopyranosyl.



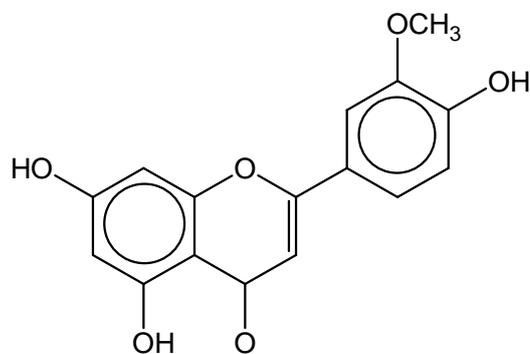
201

Cette structure moléculaire a été établie sans ambiguïté par RMN multi-impulsionnelle.

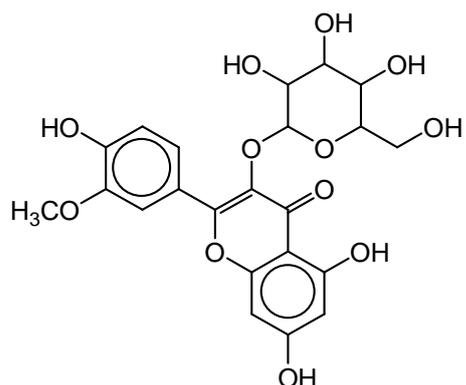
La même étude a également identifiés quatre composés flavoniques connus. Ces composés sont: isorhamnetine **202**, chrysoériol **203**, isorhamnetine3-O-glucoside **204** et isorhamnetine3-O-rutinoside **205**.



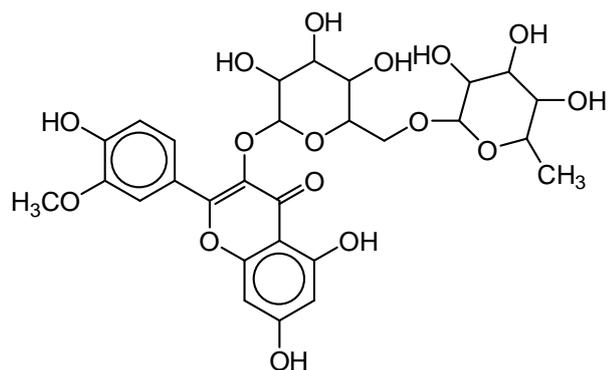
202



203



204

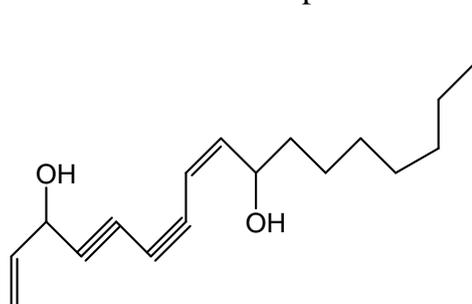


205

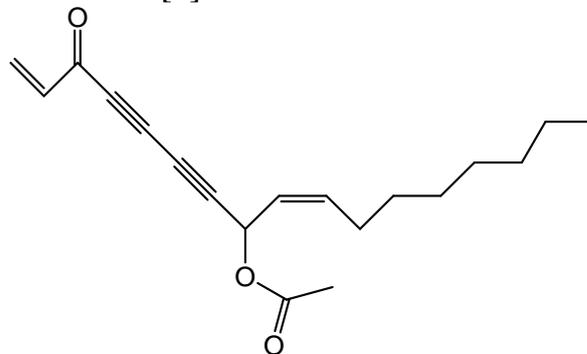
Diverses fractions de l'extrait de cette plante, de même que les composés isolés, ont fait l'objet de tests biologiques relatifs à l'activité anti-tumorale. Ces tests ont montré que le chrysoériol **203** et l'isorhamnetine **202** sont actifs alors que l'isorhamnetine-3-O-glucoside **204** est faiblement actif. L'isorhamnetine-3-O-rutinoside **205** et glucopyranosyloxy-3 trihydroxy-4', 5, 7methoxy-3'flavone; 2''-O- β-D-apiofuranosyl6''-O- α-L-rhamnopyranosyl **201** sont rarement actifs.

Les structures de ces composés ont été déterminées également par les méthodes d'analyse spectroscopiques (RMN, SM,...).

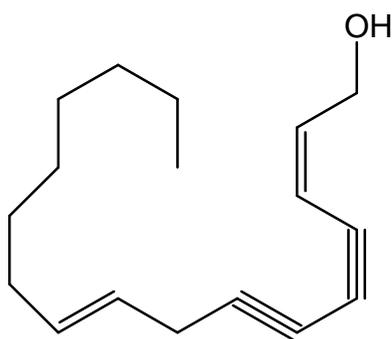
Les composés (**206** - **211**), considérés comme des huiles végétales, ont été caractérisés aussi dans l'espèce *Pituranthos tortuosus* [9]:



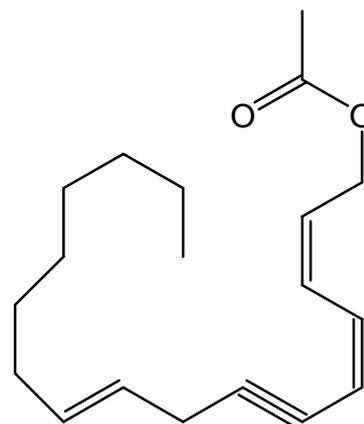
206
heptadecadiene-1,8 diyne-4,6
diol-3,10



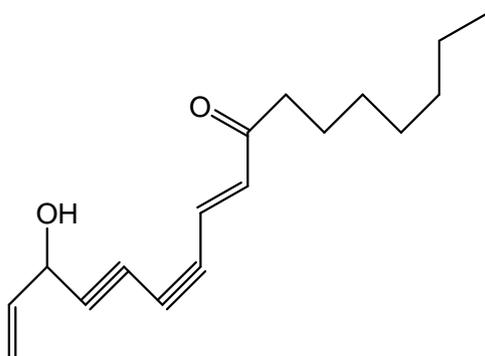
207
heptadecadiene-1,9 diyne-4,6
(8S,9Z), cétone-3,Ac-8



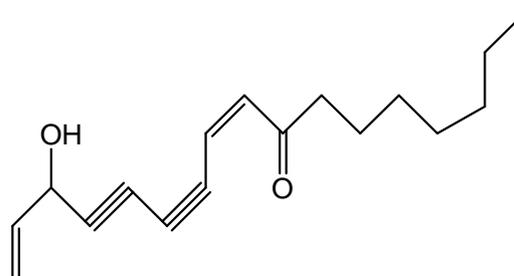
208
Heptadecadiene-2,9 diyne-4,6 ol-1



209
heptadecadiene-2,9 diyne-4,6,
Ac-1



210



211

Une autre étude récente sur l'espèce *Tortuosus* a été réalisée par A. Abdelwahed et collaborateurs [10] sur les parties aériennes. Cette étude a permis d'extraire de l'huiles essentiels ou 11% de sabinene, 10.9% de linonene, 7.0% de p-cynene, 5.5% de α -pinene et 26.2% de myrtenol majoritaire au mois de Novembre où 39.6% de terpinen-4-ol au mois d'Avril.

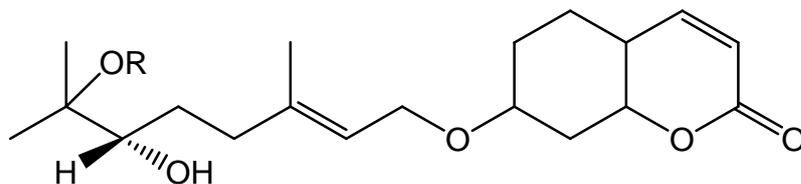
Ces composés ont été analysés par CG et CG-MS [10]. Le tableau (11) englobe la nature et le nombre de composés identifiés.

Nature de composer	Nombre de composés identifiés
Monoterpènes	17
Monoterpènes contenant de l'oxygène	24
Sesquiterpènes	10
Phénols	3
phthalides	2
Totale	56

Tableau (11): Nombre de composés identifiés de l'espèce *Tortuosus*

Une étude chimique sur les jeunes pousses du *Pituranthos triradiatus*, a été réalisée par Halim A.F et collaborateurs [11]. Celle-ci a abouti à l'isolement et l'identification de deux monoterpoides coumariniques nouveaux:

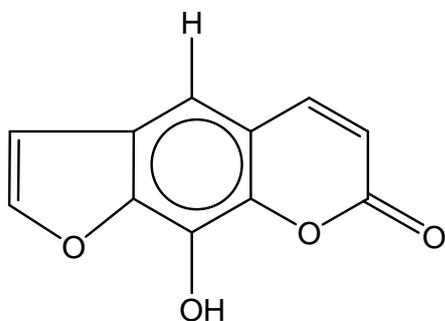
(-)-S-trans-marmine **212** et pituranthoside(-)-s-trans-marmine-7'-O- β -D-glucopyranoside **213**.



212: R = H

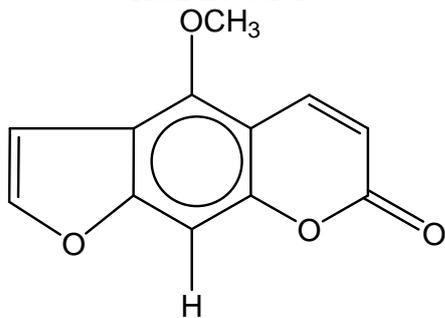
213: R = β -D-Glc

A l'issue de ces travaux [11], trois furocoumarines **214**, **215** et **216** et une coumarine **217** connues, ont été également isolées et identifiées.



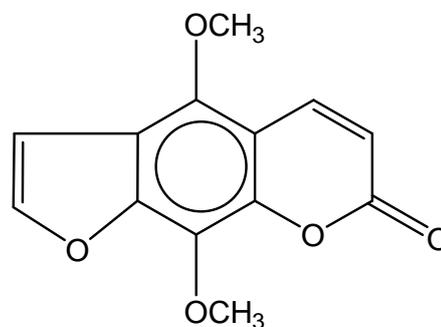
214

Xanthotoxol



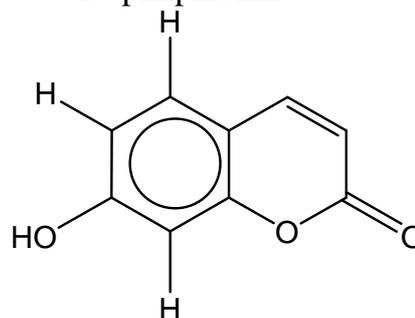
216

Bergaptene



215

Isopimpinelline

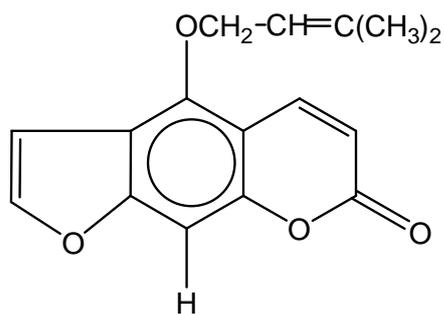


217

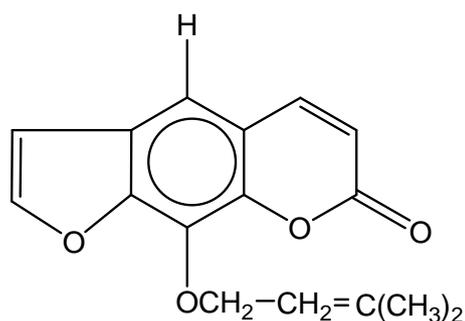
Umbelliferone

Les structures de tous les composés isolés des pousses du *pituranthos triradiatus*, on été détermines par les méthodes d'analyse spectroscopiques RMN 1D et 2D.

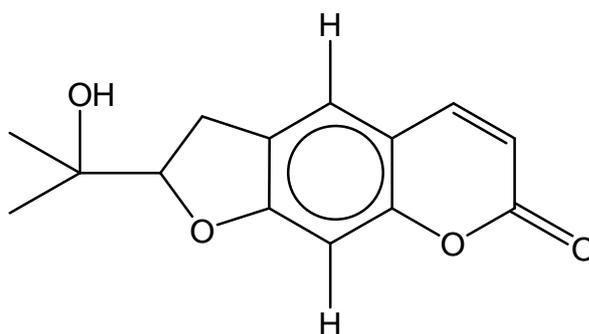
D'autres étude phytochimique [12.13] effectuées antérieurement par les mêmes chercheurs sur les racines du *P.triradiatus* [11], ont permis d'isoles en plus les composés **212**, **214**, **215**, **216** et **217** cités précédemment, les composées coumariniques suivants:



218
Isoimperatorine



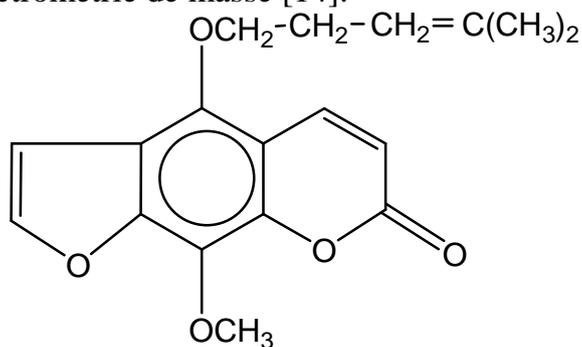
219
Imperatorine



220
marmesine

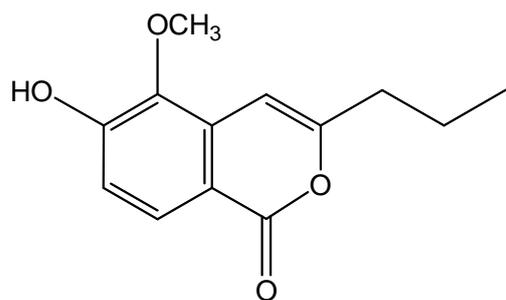
Par ailleurs, les composés furocoumariniques **215**, **216**, **218**, **219** et **221** ont été isolés, par chromatographie analytique HPLC. Des pousses de ce plant [14].

Leurs structures ont été établies conjointement, par la spectroscopie RMN du proton et la spectrométrie de masse [14].

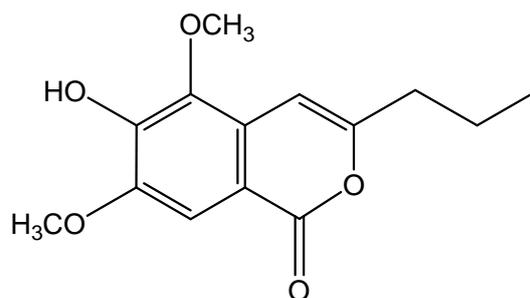


221
Cnidiline

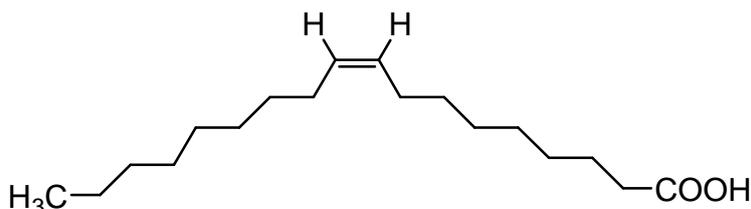
Une étude récente a été effectuée sur les racines de l'espèce *Pituranthos scoparius* [15]. Cette étude a permis d'isoler deux nouveaux composés isocoumariniques : hydroxy-6méthoxy-5propyl-3isocoumarine **222** et diméthoxy-5,7hydroxy-6propyl-3isocoumarine **223** et un acide gras: l'acide oléique **224**.



222



223



224

Les structures ont été identifiées par les différentes méthodes d'analyse spectroscopique (RMN¹H, RMN¹³C) et la spectrométrie de masse.

Une étude chimique très récente [16] a permis également de mettre en évidence des huiles essentielles dans les graines et les tiges de la plante telles que: l' α -pinène, l'apiol, le bornyl-acétate, monoterpènes, les dérivés phénoliques et ses quiterpènes.

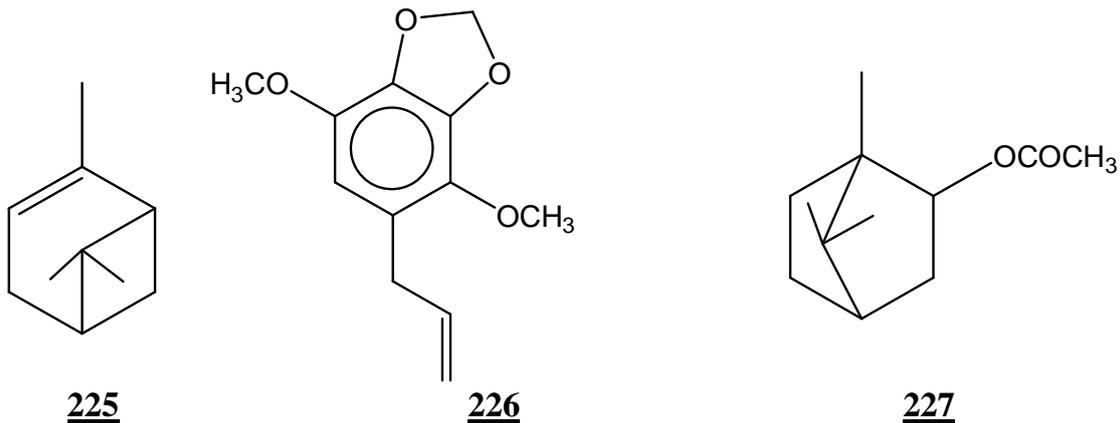
Par ailleurs, les huiles essentielles obtenues par distillation des graines et des tiges du *Pituranthos scoparius* ont été analysées par CG-MS [17.18.19].

L'analyse a permis d'identifier approximativement 94 composés [17] Ces produits sont portés dans le tableau (12).

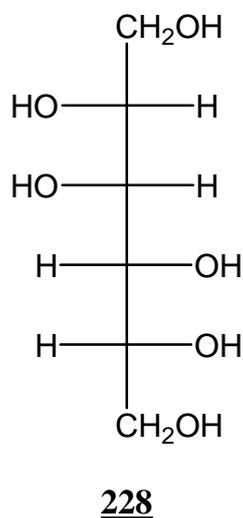
Nature de composé	Nombre de composés identifiés
Aromatique	4
Monoterpène	12
Ses quiterpène	18
Oxyde	2
Aldehyde	8
Cetone	10
Alcool	24
Dérivés phénoliques	9
Autres composés	7
Total	94

Tableau (12): Nombre de composés identifiés du *Pituranthos scoparius*

Les huiles essentielles extraites des tiges contiennent 34% du composé α -pinène **225** et 15% d'apiol **226** [17.18]. Pour les huiles extraites des graines, la concentration atteint 52% pour l'apiol, 11% pour l' α -pinène et 21% pour le bornyl-acétate **227**.



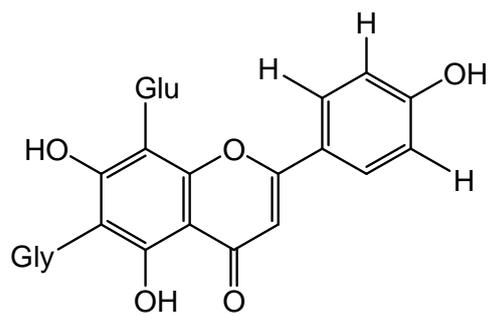
Des quantités appréciables de manitol 228 ont été extraites aussi du *P.scoparius* [6].



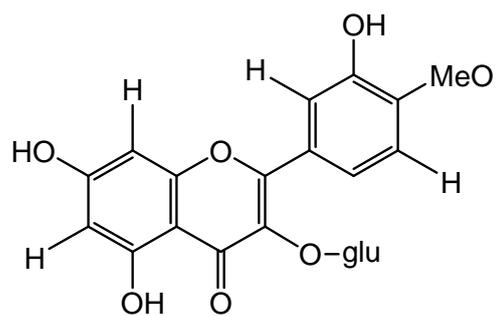
V-4-2-Espèce *Pituranthos chloranthus*

La recherche bibliographique relative aux études chimiques de l'espèce *chloranthus* montrent que quatre flavonoïde glucosidique ont été isolées des parties aériennes de l'espèce *Pituranthos chloranthus* collecté dans la région d'El Hoggar, de l'extrait n-butanolique par A.touil et collaborateurs [20].

Les composés 204, 205 ont été isolés des espèces *Pituranthos triraditus* et *Pituranthos torluosus* [9.21], par contre les composés apigénin-6,8-di-C-glucoside (vicénin-2) 229 [22] et tamarixétin-3-O-glucoside 230 [23] sont identifiés pour la première fois dans le genre *Pituranthos*.



229



230

Ces structures ont été confirmées par l'analyse spectroscopique UV, RMN¹H et RMN¹³C et la spectrométrie de masse MS.

Chapitre VI

ETUDE DES STEROIDES

ETUDE DES STEROIDES

VI-1-Etymologie

Le terme stéroïde tire son origine du mot grec "Stéréos" signifiant "Solide" et désignant toutes les molécules qui se caractérisent par la présence d'un cycle perhydrocyclopentaphénanthrénique (Gonane) (fig1) [24.25.26].

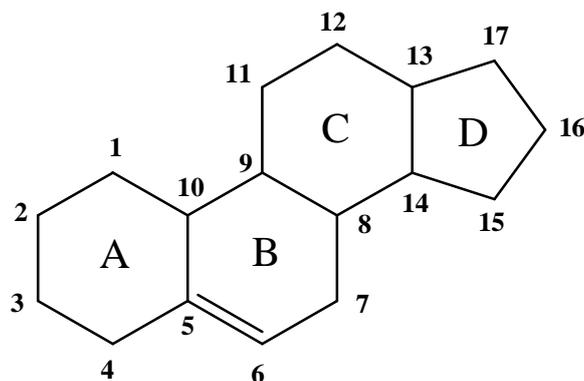
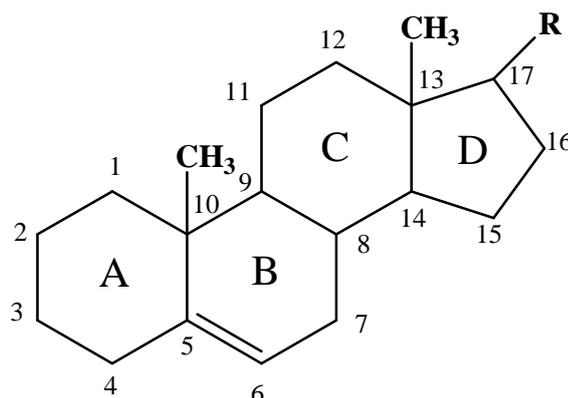


Fig 1

VI-2-Généralités

Les stéroïdes représentent un ensemble de molécules dérivées du cholestérol ou de ses homologues particulièrement abondants dans les végétaux et les animaux. Cette classe de substances naturelles présente une sous-classe de triterpènes dont la structure chimique, de base et un système tetracyclique. Les quatre cycles sont désignés par les lettres A, B, C, D en débutant par le cycle en bas à gauche [27.28.29] comme il est présenté dans la fig2.



Stéroïde

R = diverses chaînes latérales

Fig 2

Les atomes de carbones sont numérotés en commençant par le cycle A, ils comportent généralement des méthyles en C₁₀ et C₁₃ appelés méthyles

angulaires, souvent une chaîne alkyle en C₁₇. Les deux cycles A et B peuvent avoir aussi des insaturations au niveau des carbones C-4 et C-5 [24.30.31] (fig3).

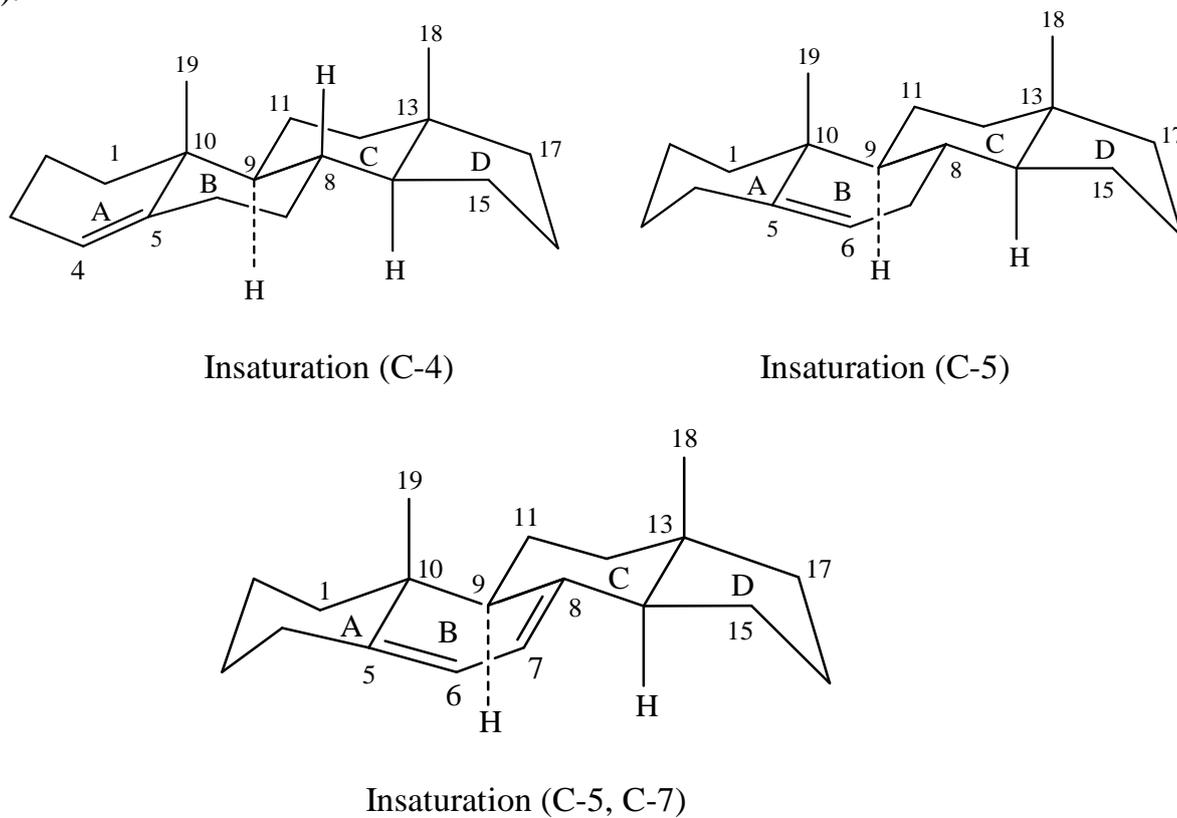
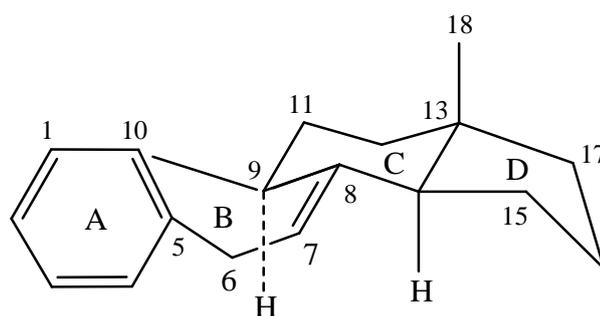


Fig 3

Dans certains composés stéroïdiques, notamment les œstrogènes, le cycle A peut être aromatique. Aromaticité qui s'accompagne obligatoirement de la perte du méthyle angulaire branché en C-10 [28.32] (fig4).

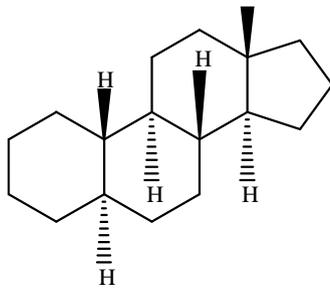


Le cycle A-aromatique

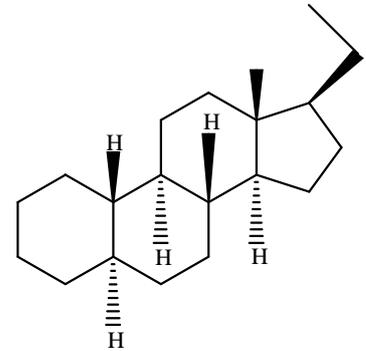
Fig 4

VI-2-1-Nomenclature

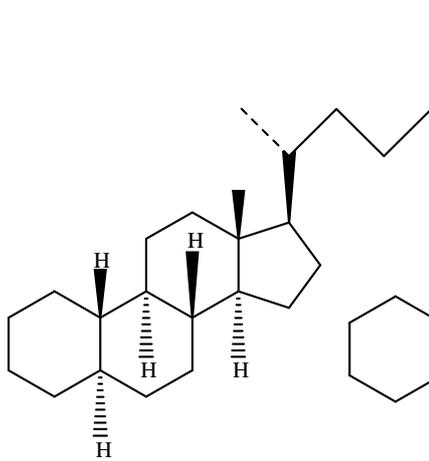
La nomenclature systématique des stéroïdes est basée sur des séries d'hydrocarbures initiales tels que: œstrane, pregnane, cholane, cholestane, ergostane, compestane, stigmastane et poriferastane qui sont représentés dans la figure5 [30.33.34].



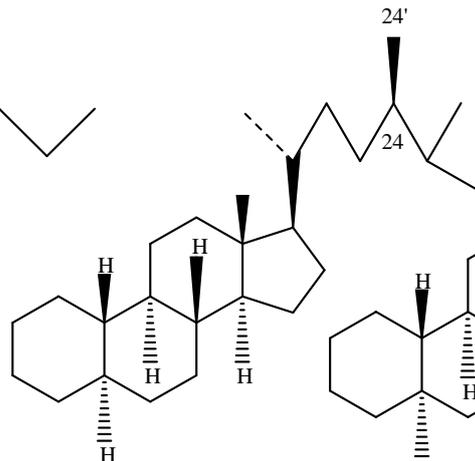
œstrane



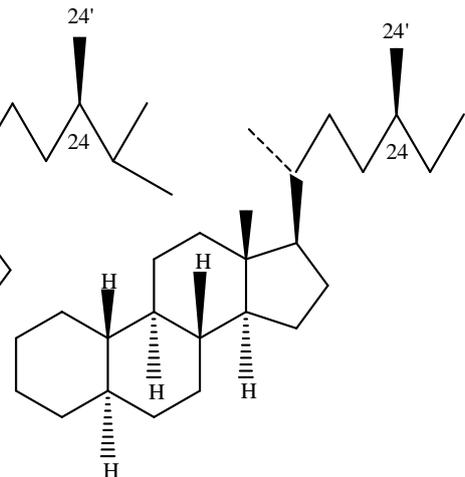
Pregnane



Cholane



Ergostane



Campestone

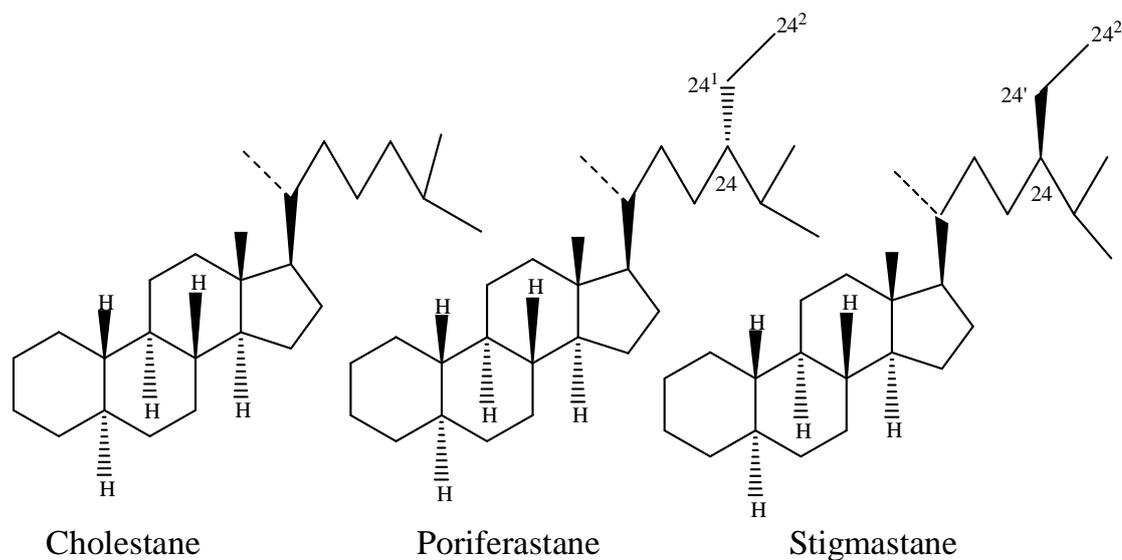


Fig 5

Les hydrocarbures tri terpéniques à squelettes lanostane et cycloartane, sont également utilisés dans la nomenclature systématique des stéroïdes [30.33.34] (fig6).

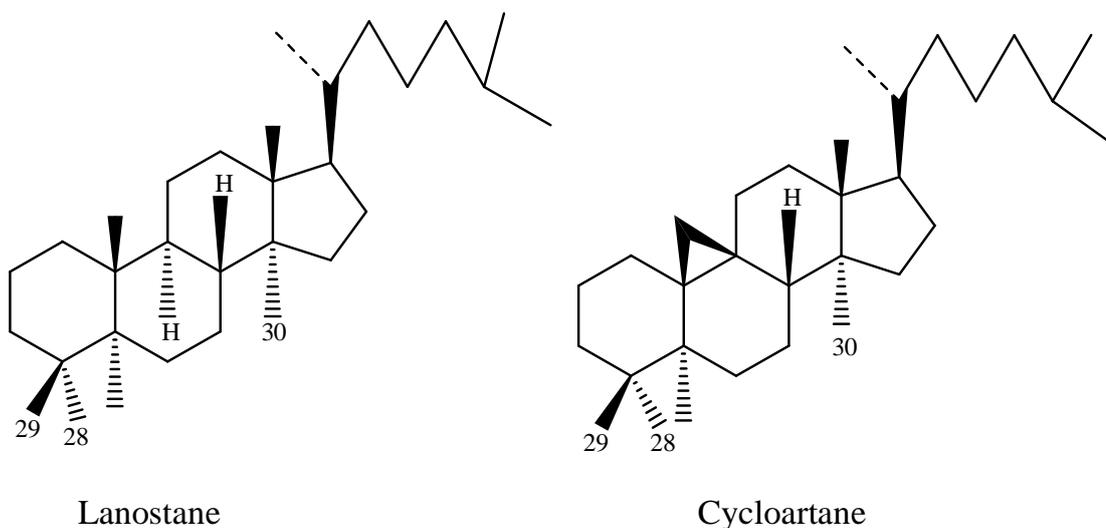


Fig 6

La nomenclature de l'insaturation au niveau du squelette stéroïdique, par le symbole $\Delta^{x,y,z}$ où x, y, z indiquent les positions des liaisons insaturées. On a comme exemple, le nom systématique du cholestérol s'écrit Δ^5 -cholestane-3ol au lieu de cholest-5ène-3ol. Le groupement fonctionnel prioritaire est ajouté comme un suffixe au nom original du squelette stéroïdique. D'autres groupements sont ajoutés comme préfixes par l'utilisation de termes spécifiques [25.30.35] tels:

-Le terme Nor: indiquant la contraction d'un cycle.

- Le terme Homo: présentant l'expansion d'un cycle.
- Le terme Seco: indiquant la scission d'une liaison.
- Le terme Des: indiquant l'élimination d'un cycle.
- Le terme Abéo: indiquant la contraction d'un cycle et l'expansion simultanée d'un cycle contigu.

VI-2-2-Stéréochimie

La liaison entre la stéréochimie et l'activité biologique est plus marquée dans le champ stéroïdique. La stéréochimie des stéroïdes au niveau des carbones C-5 et C-14 est représentée par les deux symboles α et β . α présentant face inférieur du cycle et β la face supérieur, ceci par rapport aux méthyles angulaires axiaux de conformation β , CH₃-18 et CH₃-19.

Les stéroïdes naturels, l'orientation de la chaîne latérale est le plus souvent β et la jonction entre les cycle B et C, est généralement de type trans. La forme Cis peut être préparée synthétiquement. La jonction entre les cycles C/D est souvent de type trans, [25.30.34.36.37] (fig7).

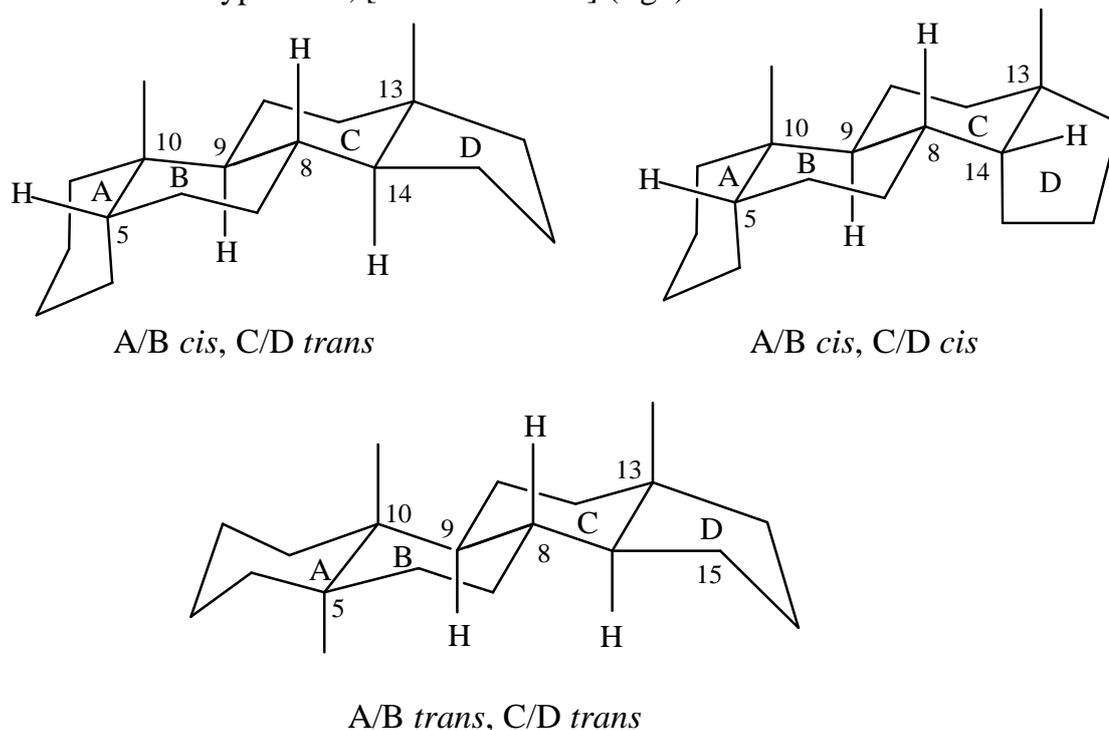


Fig 7

La jonction trans des trois cycles A, B et C représente une molécule rigide (fig8). Cette rigidité occasionne inévitablement des tensions stériques, du fait que la molécule ne présente pas l'inter conversion habituelle du cyclohexane [27.38.39].

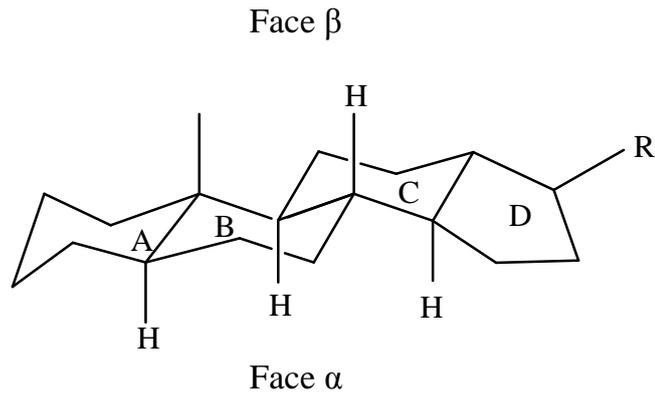


Fig 8

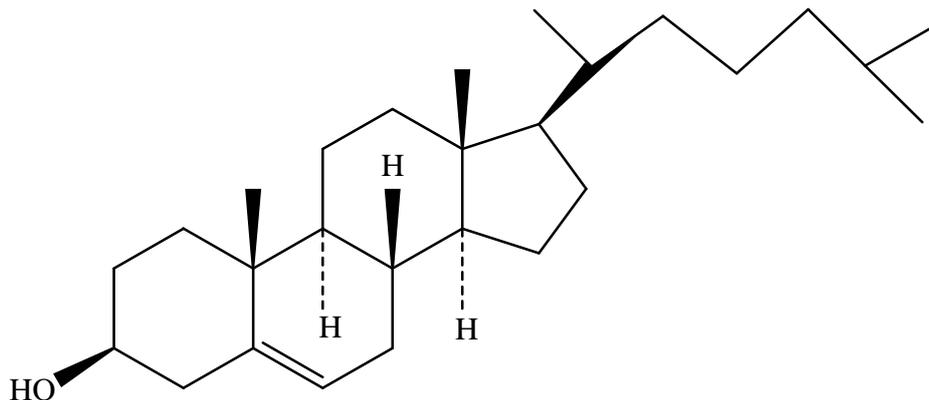
VI-3-Définition des stérols

Les stérols sont des stéroïdes dérivant des triterpènes, formant ainsi tout un groupe d'alcools solides [25.31.40], très répandus dans les règnes:

- Végétal, depuis les champignons inférieurs jusqu'aux plantes supérieures [25].
- Animal, de la bactérie aux métazoaires [25] (spongiaire, madrépores, vers, mollusques, insectes, reptiles, mammifères) les plus complexe [25].
- Minéral, dans les sédiments d'origine organique bien qu'en fait provenant initialement de végétaux ou d'animaux [25].

Ils comportent au niveau de leurs structures, un hydroxyle en position C-3 d'orientation β , éventuellement des doubles liaisons, en général une double liaison entre les carbones 5 et 6 ainsi qu'une chaîne latérale rattachée au sommet 17 du noyau polycyclique dérivé du phénanthrène [25.39] .

Ils sont les constituants des membranes de divers métabolites cellulaires, dont le plus caractéristique est le cholestérol (fig 9) détecté par Conradi dans les calculs biliaires [39.41].



Cholestérol

Fig 9

VI-4-Classification et répartition des stérols

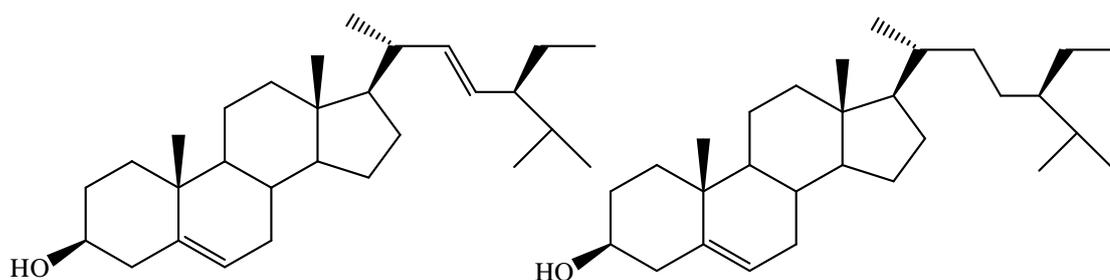
Pratiquement il n'existe aucune classification spéciale de stérols. Selon l'origine biologique [25.40.41], on a pris l'habitude de suivre la répartition des stérols suivantes:

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

Notre direction est vers les phytostérols qui étudie les plantes supérieures.

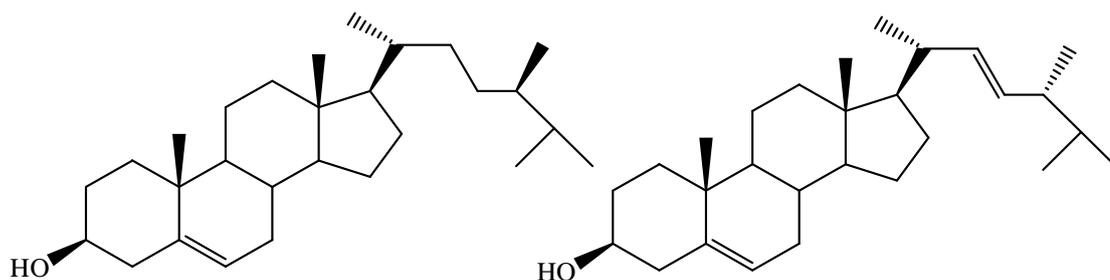
VI-4-1-Définition des phytostérols

Les phytostérols qui sont des composés naturellement présents dans la fraction lipidique des plantes supérieures et apparaissant ainsi comme des graisses végétales identiques en structure au cholestérol (graisse animale), peuvent différer également des stérols l'alkylation supplémentaire de la chaîne latérale en C-24. Le stigmastérol **231**, le β -sitostérol **232**, le campestérol **233** et le brassicastérol **234**, sont la meilleure illustration.



231 Stigmastérol

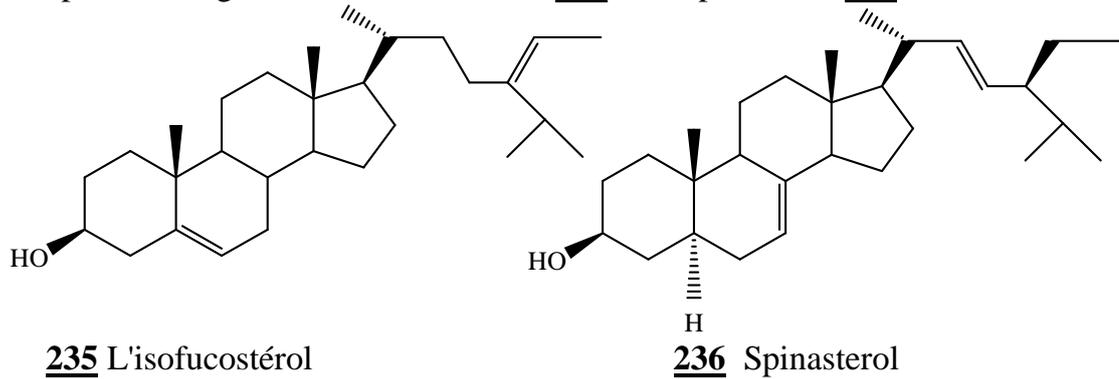
232 β -Sitostérol



233 Campestérol

234 Brassicastérol

On peut citer également l'isofucostérol 235 et le spinastérol 236.



Ils s'avèrent tous posséder un noyau cholestérol avec une chaîne latérale modifiée [25.40.42.43].

Ces composés, ne peuvent être apportés que par l'alimentation des plantes, mais leur concentration est cependant variable. On les trouve en concentration assez élevée dans les huiles de graines et de noix non transformées et dans une moindre mesure, dans les fruits et légumes.

VI-4-2-Propriétés pharmacologique des phytostérols et leur emploi

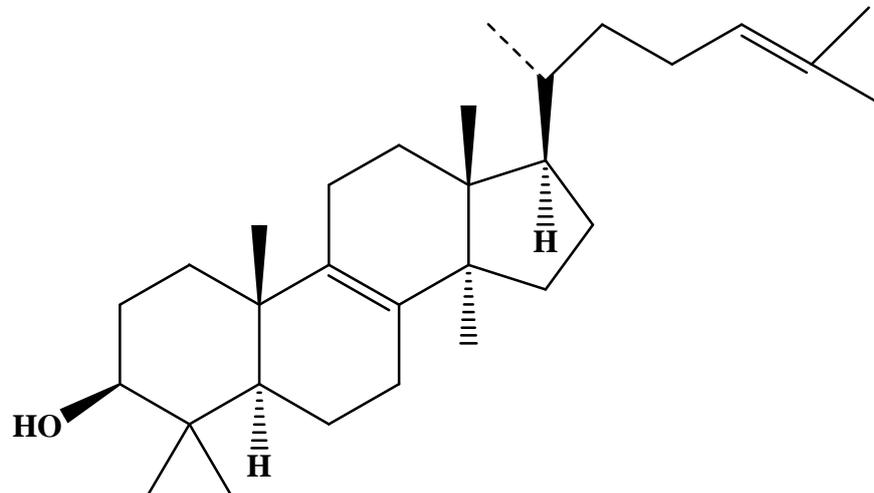
Les phytostérols ainsi que les stérols en général, possèdent une gamme étendue d'effets thérapeutiques. Plusieurs études ont montré que ces derniers réduisent l'absorption du cholestérol dans l'intestin grêle. Il en ressort ainsi qu'il est nécessaire de consommer des stérols quotidiennement afin de maintenir leur concentration dans notre organisme. Ce dernier ne pouvant les produire lui-même. Comme ces graisses végétales ont une structure semblable à celle du cholestérol. Il se peut qu'elles retentissent sans absorption. Réduisant ainsi la quantité de cette substance dans l'organisme. Elles joueraient ainsi un rôle important dans le bon état de fonctionnement du système immunitaire [45].

Certains stérols se sont montrés très actifs sur les cellules cancéreuses du sein et de la prostate [43.45].

Le β -sitostérol est le constituant majoritaire dans les phytomédicaments ils sont prescrits pour améliorer les symptômes de l'hypertrophie bénigne de la prostate (BPH) [45.46]

VI-5-Biogenèse des stérols

La biogenèse des stérols est semblable à celle des terpènes. Ce constat est étayé par l'alcool tetracyclique lanostérol qui a des propriétés proches à celles des stérols [47.48].



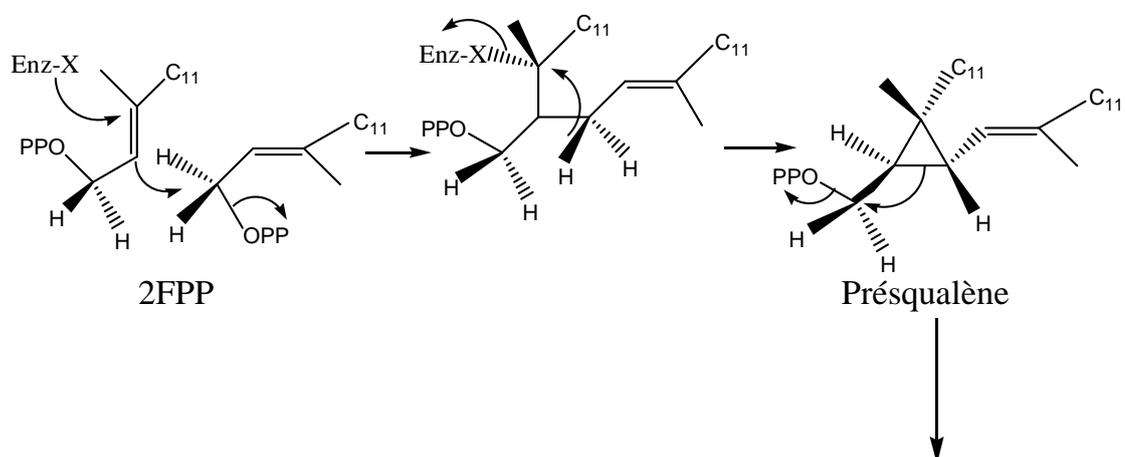
Lanostérol

Les expériences basées sur le marquage iso typique au niveau des plantes, ont montré qu'à partir du squalène, trans polyène terpénique à 30 atomes de carbone s'accumulant en grande quantité dans le foie de requin et de nombreux animaux, ainsi que dans l'huile d'olive, débutent les synthèses de stérols d'origine végétale ou animale comme le stigmastérol, β -sitostérol, cholestérol, la vitamine D [39.40].

Le précurseur universel du squalène ainsi que de tous les terpènes est l'acide mevalonique la première étape est expliquée dans la première partie formation du GGPP de schéma (2) aux schéma (8) page (-).

La biosynthèse du squalène débute par l'enchaînement de deux molécules de FPP, en passant par le pyrophosphate alcool ou présqualène[39.49.50].

Cette étape nécessite toutefois l'intervention d'une enzyme spécifique le squalène synthétase [25] (fig 10).



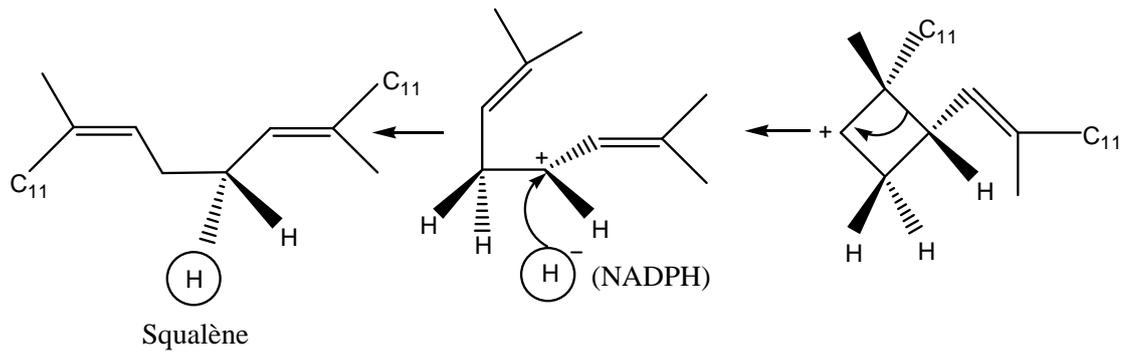


Fig 10

Le squalène est ensuite converti par oxydation, en époxy-2,3squalène (Fig 11)

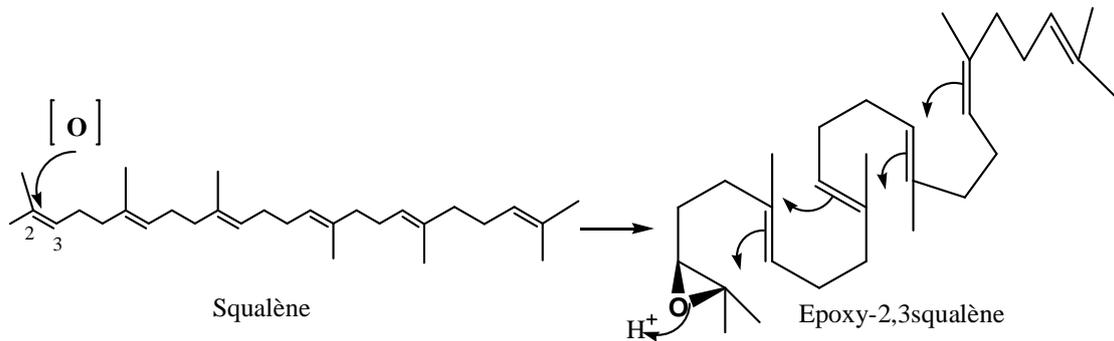
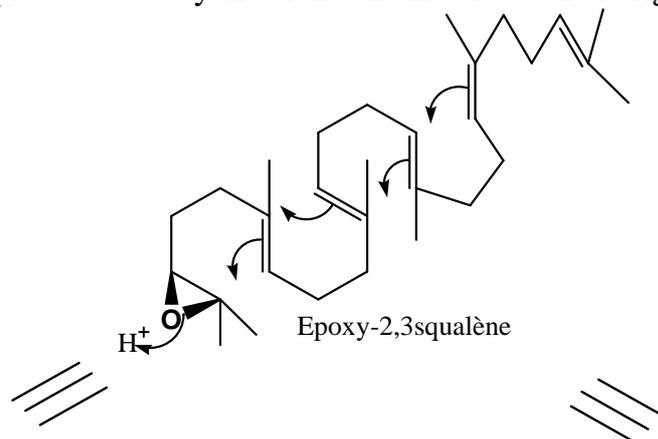


Fig 11

De la conformation initiale de l'époxy 2.3 squalène, dépend l'orientation de la biosynthèse vers les stéroïdes d'une part et les triterpènes, d'autre part [45.46], il apparaît ainsi que:

- _ Si l'époxy 2.3 squalène est maintenu dans une conformation chaise-bateau-chaise, la cyclisation conduit à un cation protostane qui se réarrange ensuite en cycloarténol ou lanosterol.
- _ Si l'époxy 2.3 squalène est maintenu dans une conformation chaise-chaise-chaise, la cyclisation conduit à un cation ce dernier peut subir un réarrangement, formant un cycle supplémentaire qui conduit aux tri terpènes penta cycliques de type deanane, ursane et lupane[45.51].

Ces deux processus de cyclisation sont illustrés dans la fig 12.



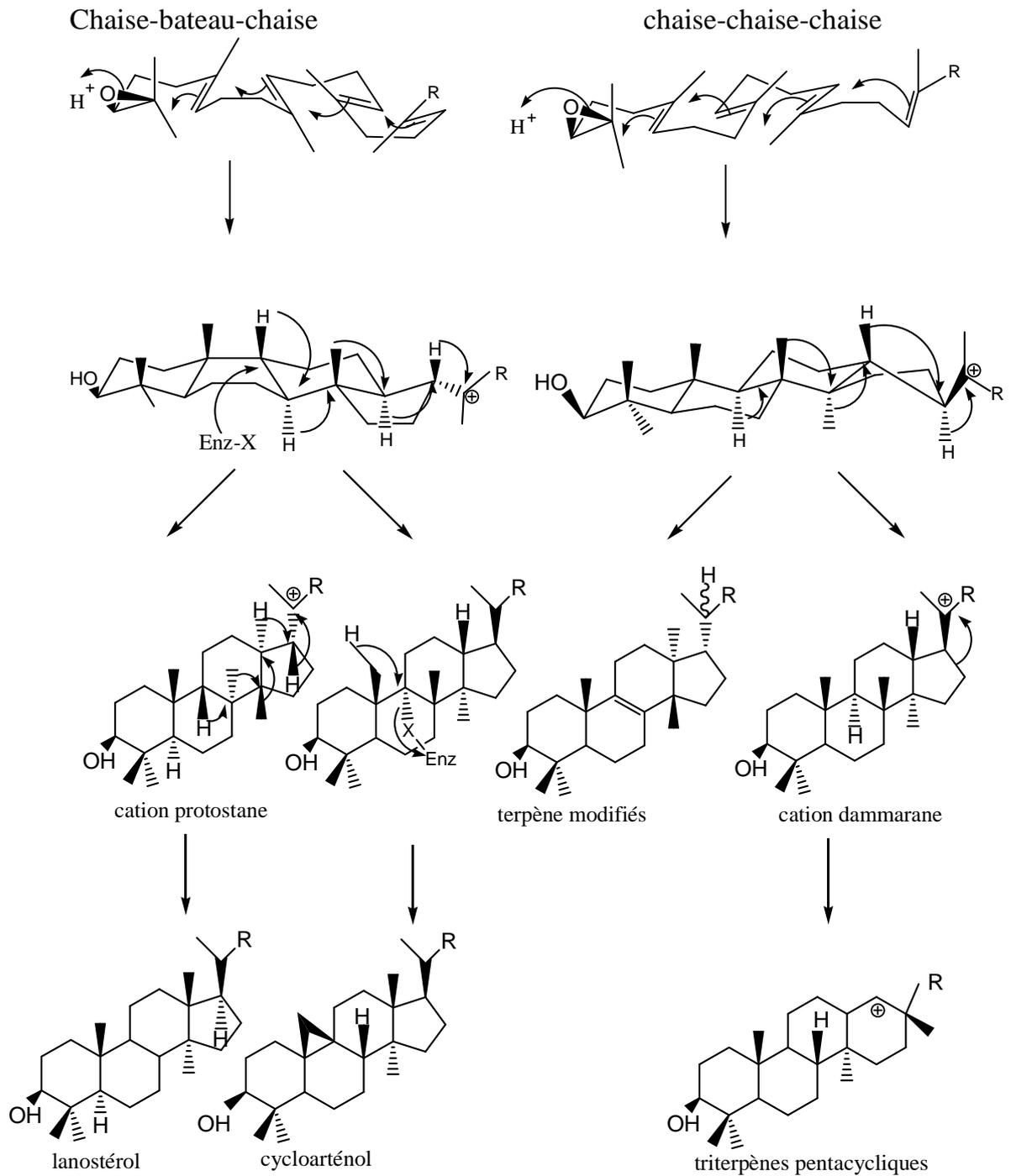


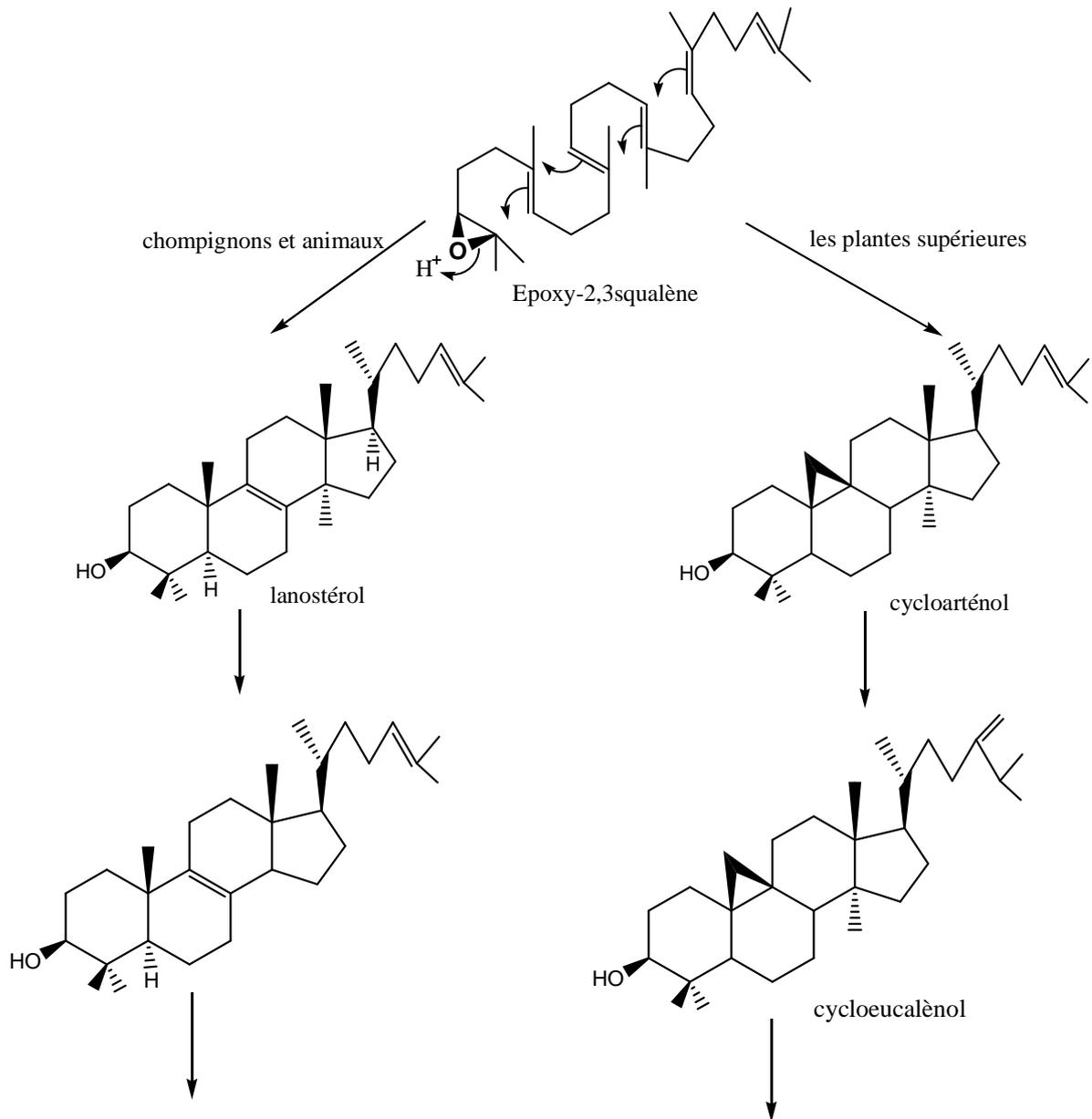
Fig 12

L'époxy-2.3 squalène (fig 13) est transformé en cycloartérol chez les végétaux réalisant la photosynthèse, par l'intermédiaire du cycloeucaoléol et de l'obtusifoliol. Celui-ci conduit aux phytostérols.

Par contre, chez les organismes ne réalisant pas la photosynthèse (animaux, champignons, levures) l'époxy-2.3 squalène est transformée en lanostérol et zymostérol. Les levures et certains champignons convertissent ce dernier en ergostérol, alors que les animaux supérieurs et les invertébrés le

transforment en cholestérol les végétaux chlorophylliens ou non, synthétisent aussi du cholestérol.

Probablement à partir du cycloarténol et par l'intermédiaire de lanostérol [25.36.52].



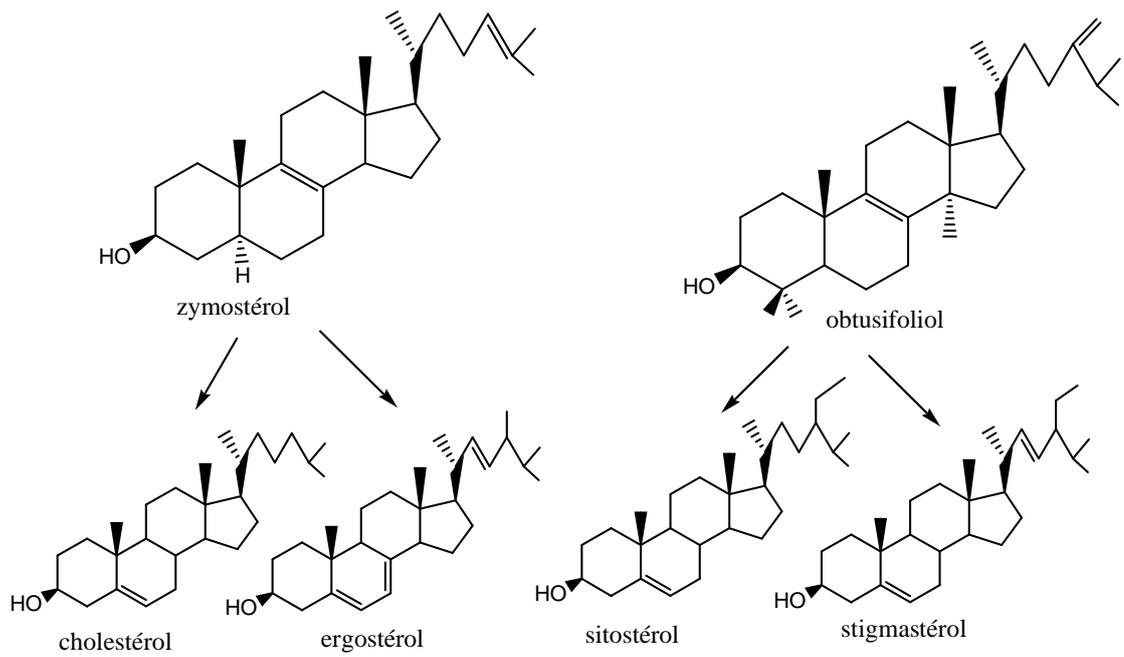
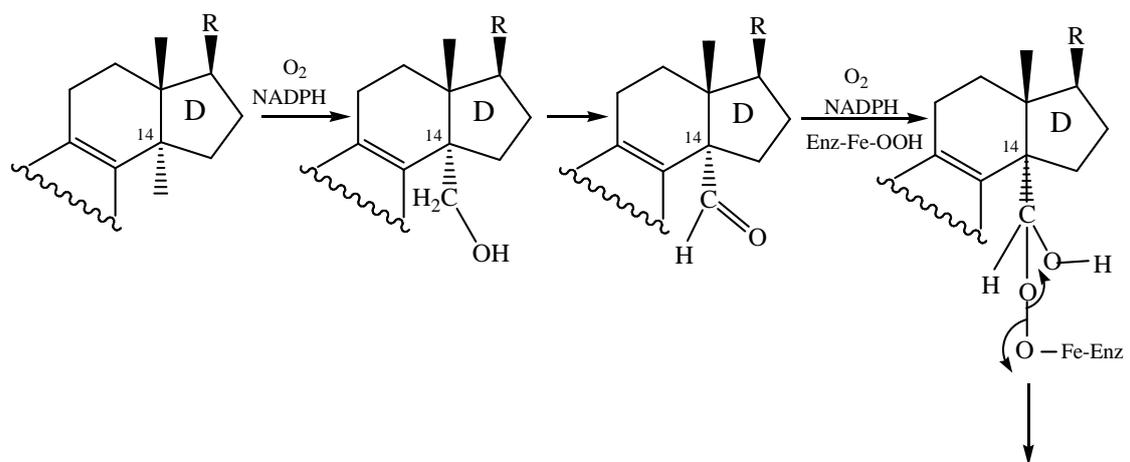


Fig 13

Pour passer d'un squelette à 30 atomes de carbones tels le cycloarténol ou le lanostérol, à un squelette à 27 atomes de carbones ou moins, c'est-à-dire aux stéroïdes ou aux stérols, implique une déméthylation progressive en C-14 et en C-4, une repture du cyclopropane et un déplacement de la double liaison engendrée par cette rupture. Le méthyle en C-14 est le premier qui doit être éliminé après oxydation sous forme d'acide formique. Les deux méthyles en C-4 sont transformés par une suite d'oxydation:

$\text{CH}_3 \rightarrow \text{CH}_2\text{OH} \rightarrow \text{CHO} \rightarrow \text{COOH}$, se terminant par une décarboxylation facilitée par une oxydation préalable de l'hydroxyle en C-3, conduisant à un α -cétoacide (fig 14 et 15).



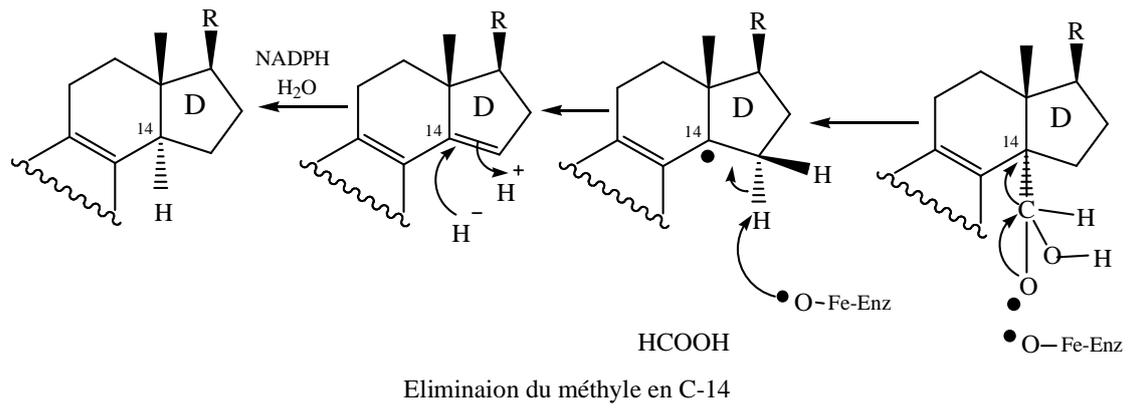


Fig 14

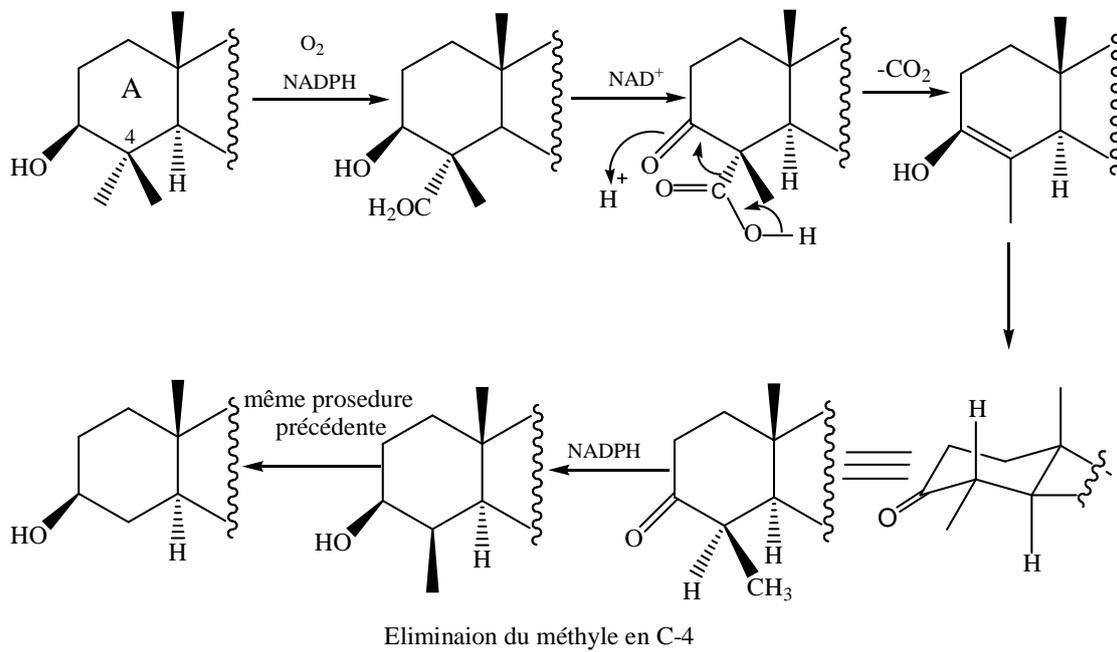


Fig 15

L'ouverture du cyclopropane due à l'attaque d'un nucléophile enzymatique engendre une double liaison en position $\Delta^{8,9}$, illustrée par la fig 16.

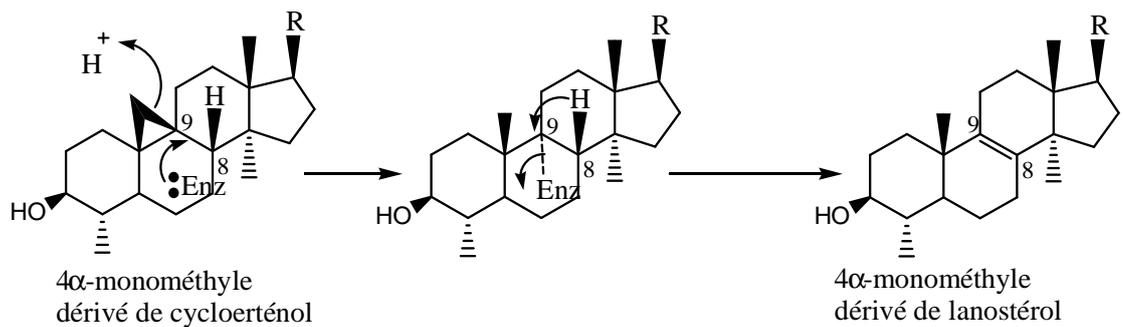


Fig 16

La double liaison engendrée par la rupture du cyclopropane, subit un déplacement vers la position $\Delta^{5,6}$, comme il est représenté dans la fig 17.

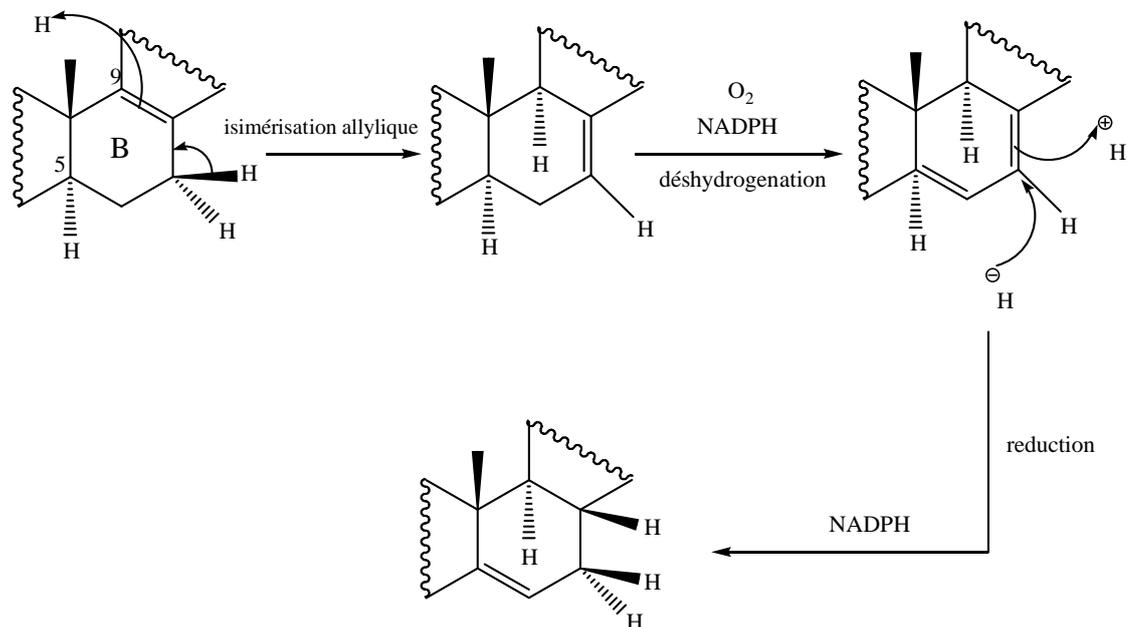


Fig 17

La chaîne latérale des stéroïdes, particulièrement les phytostéroïdes, peut avoir un ou deux carbones supplémentaires fixées en C-24, soit sous forme d'un groupe méthyle ou méthylène, soit sous forme d'un groupe éthyle ou éthylène. L'introduction de ces carbones supplémentaires au niveau de la chaîne latérale, se fait par méthylation impliquant la s-adénosylméthionine [45.53.54], comme il est indiqué dans la fig 18.

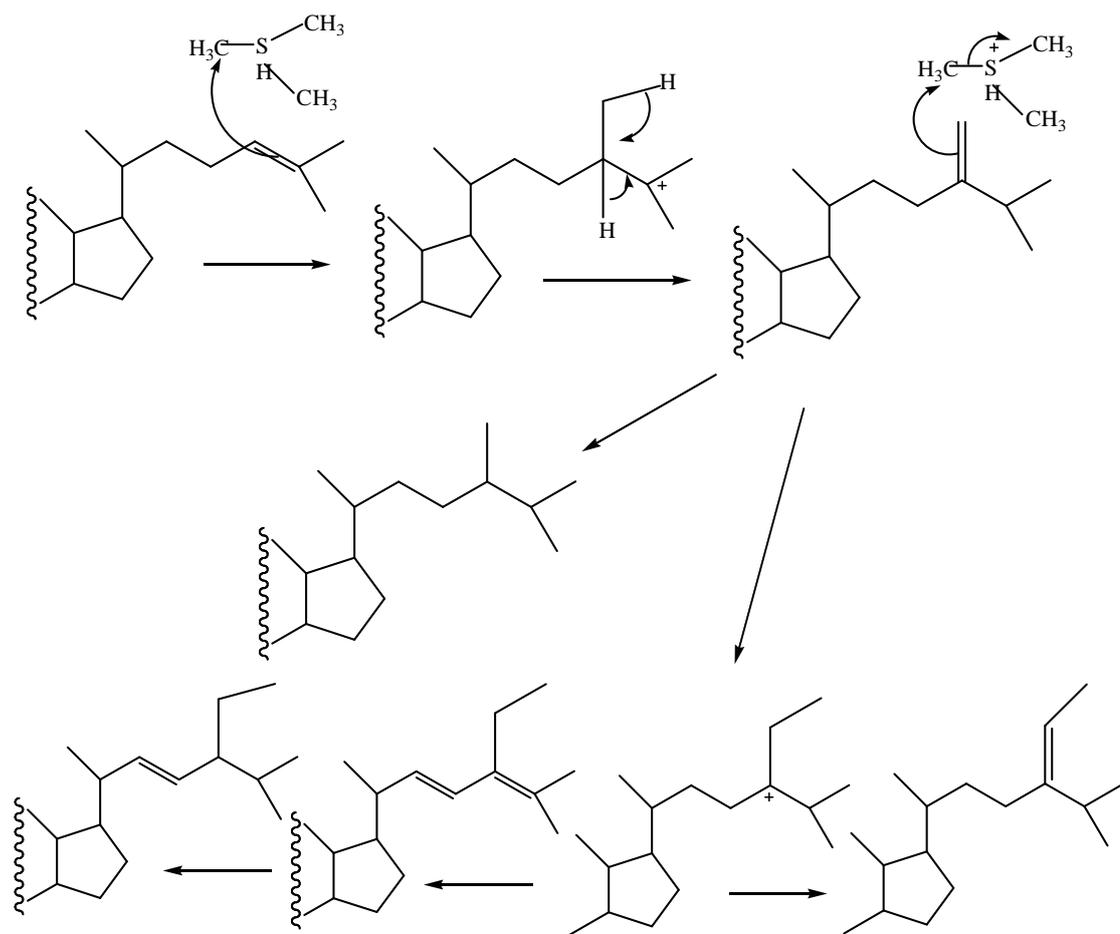


Fig 18

Chapitre VII

ISOLEMENT DES COMPOSES ET DETERMINATION DE LEURS STRUCTURES

VIII-1-Extraction

L'extraction et la séparation de notre travail ont porté sur les parties aériennes de la plante *Pituranthos chloranthus*. Il a été réalisé selon le protocole suivant:

Les parties aériennes réduites en poudre (1.2Kg) sont macérées par 10litres de cyclohexane pendant 24heures. Après filtration et évaporation à sec sous pression réduite, 15grammes de cet extrait ont été obtenus. Le résidu obtenu est extrait par 10litre de Chloroforme, donnant ainsi 10grammes d'extrait chloroformique. Les marcs issus de la filtration de l'extrait chloroformique sont finalement extraits par 10litre méthanol - eau 20% après évaporation du solvant, pour avoir 58grammes de l'extrait hydromethanolique.

VIII-2-Control chromatographique

VIII-2-1-Extrait cyclohexanique

Les CCM effectuées sur l'extrait cyclohexanique dans les systèmes d'éluion: éther de pétrole - acétate d'éthyle 70/30 ,50/50 montrent après examen à lumière UV (254,366 nm)et révélation à la vanilline Sulfurique , un ensemble de plusieurs taches empêtrées dans une traînée de couleur marron.

VIII-2-2-Extrait chloroformique

L'examination des CCM sur l'extrait chloofornique dans les systèmes de solvant : éther de pétrole - acétate d'éthyle 70/30, 60/40, 50/50, chlooforme - méthanol 99/1, 95/5, 90/10 nous a permis d'observer après examen à la lumière UV et vaporisation à la vanilline Sulfurique pas moins de trois taches majoritaires de couleur rose violette, marron, dont l'une est visible en UV (254 nm).

VIII-2-3-Extrait méthanolique

La réalisation des CCM sur l'extrait methanolique parle système de solvant : chlooforme - méthanol 90/10, 85/15, 70/30, 50/50, montre une traînée plus importante, traduisant un mélange complexe de produits dans la séparation est difficile.

VIII-3-Séparation et purification

La technique de séparation et de purification mises en œuvre, sont la chromatographie sur colonne de gel de silice notre étude à concerné l'extrait chloroformique des parties aériennes.

VIII-3-1-Extrait chloroformique

5g de l'extrait chloroformique des parties aériennes de la plante *Pituranthos chloranthus* sont mis à chromatographier sur une colonne de gel de Silice (200g), sous pression normale l'élution à été effectuée par le solvant : éther de pétrole pur, puis par un gradient de l'acétate d'éthyle de l'éther de pétrole, chloroforme pur, ensuite par un gradient de méthanol dans le chloroforme, et enfin par le méthanol pur.

Des fraction de 50ml sont réunies à chaque fois les résultats obtenus de ce fractionnement ont présenté dans le tableau (14).

Fractions récupérées	Eluant de la colonne	Examen à la CCM
1-29	EP	Rien
30-34	5 % ACoEt	2 Taches + Traînée
35-44	//	//
44-51	//	//
52-54	10%	Mélange complexe +Traînée
55-67	//	//
68-76	//	//
77-84	15%	3 Taches + Traînée
85-88	//	//
89-108	//	//
109-128	20%	Mélange complexe + Traînée
129-146	//	//
147-161	//	//
162-185	//	//
186-196	//	//
197-209	//	//
210-220	//	//
221-227	25%	Traînée
228-233	//	//
234-236	//	//
237-244	30%	Mélange complexe + Traînée
245-249	//	//
250-260	40%	Traînée
261-269	//	//
270-279	//	//
280-293	50%	Mélange complexe + Traînée
294-303	//	//
309-315	75%	Traînée

316-320	//	//
321-328	100%	Traînée
329-333	//	//
334-337	Me OH 100%	Traînée
338-340	//	Rien

Tableau (14)

L'examen de ce fractionnement par CCM, permet de rassembler les fractions semblables en 14 Lots (tableau 15) :

N° du lot	Fraction	Poids (mg)	Observation
1	1-29	00	Rien
2	30-51	450	2 Taches + Traînée
3	52-76	700	Mélange complexe +Traînée
4	77-88	200	3 Taches + Traînée
5	89-108	500	Mélange complexe
6	109-146	300	Traînée
7	147-185	150	2Taches + Traînée
8	186-220	470	Traînée
9	221-236	360	Traînée
10	237-249	470	Mélange Complexe
11	250-279	300	Traînée
12	280-308	500	Mélange complexe
13	309-320	200	Traînée
14	321-333	200	Traînée

Tableau (15)

Le lot N° 2 le plus intéressant car présente une Tache peut correspondre à un produit.

VIII-3-1-1-Etude du lot N°2:

Poids : 450mg.

Colonne : gel de silice (18g).

La purification de ce lot a été faite suivant le tableau (16) :

N°	Fractions récupérées	Eluant de la colonne	Poids	Examen à la CCM
1	1-6	EP	00	Rien
2	7-11	1%	30	Mélange
3	12-16	1%	90	Traînée
4	17-22	3%	80	Traînée
5	23-29	5%	120	2Tache+Traînée
6	31-41	5%	100	Tache+Traînée

7	42-48	10%	20	Traînée
8	49-55	15%	10	Traînée

Tableau (16)

Le sous lot N°6 à subi une autre purification sur colonne de gel de silice. A l'issue de cette purification, le composé B (10mg) a été ainsi obtenu à l'état pur.

VIII-4- Caractéristiques spectrales

Composé B :

Formule brute : C₂₉H₅₀O.

Nom systématique: 24-ethyl-cholest-5-èn-3ol.

Nom trivial : β -Sitosterol.

Etat physique : solide blanc.

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

Spectre de RMN ¹H (500MH₃, CDCI₃, TMS)

1.77 (m, 1H) = H-1a.

1.01 (m, 1H) = H-1e.

1.74 (m, 1H) = H-2a.

1.44 (m, 1H) = H-2e.

3.45 (tt, J_{aa}=11.16, J_{ae}=4.46, 1H) =H-3.

2.23 (ddd, J_{gem}= 13.02, J_{ea}= 5.08, J_{aly}=2.10, 1H) =H-4a.

2.16 (dt, J_{gem}=J_{aa}=12.22, J_{aly}=2.24, 1H) =H-4e.

5.28 (d, J=5.26) =H-6.

1.90 (m, 1H) =H-7a.

1.45 (m, 1H) =H-7e.

1.39 (m, 1H) =H-8.

0.86 (m, 1H) =H-9.

1.43 (m, 1H) =H-11a.

1.37 (m, 1H) =H-11e.

1.95 (m, 1H) =H-12a.

1.09 (m, 1H) =H-12e.

1.04 (m, 1H) =H-14.

1.51 (m, 1H) =H-15a.

1.01 (m, 1H) =H-15e.

1.76 (m, 1H) =H-16a.
 1.21 (m, 1H) =H-16e.
 0.92 (m, 1H) =H-17.
 0.62 (s, 3H) =H-18.
 0.95 (s, 3H) =H-19.
 1.29 (m, 1H) =H-20.
 0.86 (d, $J_{ae}=6.84$, 3H) =H-26.
 0.77 (d, $J_{ae}=6.86$, 3H) =H-27.
 1.19 (m, 2H) =H-28.
 0.78 (t, $J=7.42$, 3H) =H-29.

Spectre de RMN ^{13}C : (125 MHz, CDCl_3 , TMS) tableau (17)

N°	$\delta\text{c(ppm)}$	DEPT	N°	$\delta\text{c(ppm)}$	DEPT
C ₁	37,3	CH ₂	C ₁₆	28,2	CH ₂
C ₂	31,7	CH ₂	C ₁₇	56,8	CH
C ₃	71,8	CH	C ₁₈	11,9	CH ₃
C ₄	42,3	CH ₂	C ₁₉	19,4	CH ₃
C ₅	140,78	C	C ₂₀	36,2	CH
C ₆	121,72	CH	C ₂₁	18,8	CH ₃
C ₇	31,7	CH ₂	C ₂₂	34,0	CH ₂
C ₈	32,0	CH	C ₂₃	26,1	CH ₂
C ₉	50,2	CH	C ₂₄	45,9	CH
C ₁₀	36,5	C	C ₂₅	29,2	CH
C ₁₁	21,1	CH ₂	C ₂₆	19,0	CH ₃
C ₁₂	39,8	CH ₂	C ₂₇	19,8	CH ₃
C ₁₃	42,29	C	C ₂₈	23,1	CH ₂
C ₁₄	56,1	CH	C ₂₉	12,0	CH ₃
C ₁₅	24,3	CH ₂			

Tableau (17): Déplacement chimique du carbone

Spectre masse (m/z):

$$437.4 = [\text{M}+\text{Na}]^+$$

$$301.1 = [\text{M}-\text{C}_8\text{H}_{17}]^+$$

Chapitre VIII

PARTIE EXPERIMENTALE

VIII-1-Extraction

L'extraction et la séparation de notre travail ont porté sur les parties aériennes de la plante *Pituranthos chloranthus*. Il a été réalisé selon le protocole suivant:

Les parties aériennes réduites en poudre (1.2Kg) sont macérées par 10litres de cyclohexane pendant 24heures. Après filtration et évaporation à sec sous pression réduite, 15grammes de cet extrait ont été obtenus. Le résidu obtenu est extrait par 10litre de Chloroforme, donnant ainsi 10grammes d'extrait chloroformique. Les marcs issus de la filtration de l'extrait chloroformique sont finalement extraits par 10litre méthanol - eau 20% après évaporation du solvant, pour avoir 58grammes de l'extrait hydromethanolique.

VIII-2-Control chromatographique

VIII-2-1-Extrait cyclohexanique

Les CCM effectuées sur l'extrait cyclohexanique dans les systèmes d'éluion: éther de pétrole - acétate d'éthyle 70/30 ,50/50 montrent après examen à lumière UV (254,366 nm)et révélation à la vanilline Sulfurique , un ensemble de plusieurs taches empêtrées dans une traînée de couleur marron.

VIII-2-2-Extrait chloroformique

L'examination des CCM sur l'extrait chlooformique dans les systèmes de solvant : éther de pétrole - acétate d'éthyle 70/30, 60/40, 50/50, chlooforme - méthanol 99/1, 95/5, 90/10 nous a permis d'observer après examen à la lumière UV et vaporisation à la vanilline Sulfurique pas moins de trois taches majoritaires de couleur rose violette, marron, dont l'une est visible en UV (254 nm).

VIII-2-3-Extrait méthanolique

La réalisation des CCM sur l'extrait methanolique parle système de solvant : chlooforme - méthanol 90/10, 85/15, 70/30, 50/50, montre une traînée plus importante, traduisant un mélange complexe de produits dans la séparation est difficile.

VIII-3-Séparation et purification

La technique de séparation et de purification mises en œuvre, sont la chromatographie sur colonne de gel de silice notre étude à concerné l'extrait chloroformique des parties aériennes.

VIII-3-1-Extrait chloroformique

5g de l'extrait chloroformique des parties aériennes de la plante *Pituranthos chloranthus* sont mis à chromatographier sur une colonne de gel de Silice (200g), sous pression normale l'élution à été effectuée par le solvant : éther de pétrole pur, puis par un gradient de l'acétate d'éthyle de l'éther de pétrole, chloroforme pur, ensuite par un gradient de méthanol dans le chloroforme, et enfin par le méthanol pur.

Des fraction de 50ml sont réunies à chaque fois les résultats obtenus de ce fractionnement ont présenté dans le tableau (14).

Fractions récupérées	Eluant de la colonne	Examen à la CCM
1-29	EP	Rien
30-34	5 % ACoEt	2 Taches + Traînée
35-44	//	//
44-51	//	//
52-54	10%	Mélange complexe +Traînée
55-67	//	//
68-76	//	//
77-84	15%	3 Taches + Traînée
85-88	//	//
89-108	//	//
109-128	20%	Mélange complexe + Traînée
129-146	//	//
147-161	//	//
162-185	//	//
186-196	//	//
197-209	//	//
210-220	//	//
221-227	25%	Traînée
228-233	//	//
234-236	//	//
237-244	30%	Mélange complexe + Traînée
245-249	//	//
250-260	40%	Traînée
261-269	//	//
270-279	//	//
280-293	50%	Mélange complexe + Traînée
294-303	//	//
309-315	75%	Traînée
316-320	//	//

321-328	100%	Traînée
329-333	//	//
334-337	Me OH 100%	Traînée
338-340	//	Rien

Tableau (14)

L'examen de ce fractionnement par CCM, permet de rassembler les fractions semblables en 14 Lots (tableau 15) :

N° du lot	Fraction	Poids (mg)	Observation
1	1-29	00	Rien
2	30-51	450	2 Taches + Traînée
3	52-76	700	Mélange complexe +Traînée
4	77-88	200	3 Taches + Traînée
5	89-108	500	Mélange complexe
6	109-146	300	Traînée
7	147-185	150	2Taches + Traînée
8	186-220	470	Traînée
9	221-236	360	Traînée
10	237-249	470	Mélange Complexe
11	250-279	300	Traînée
12	280-308	500	Mélange complexe
13	309-320	200	Traînée
14	321-333	200	Traînée

Tableau (15)

Le lot N° 2 le plus intéressant car présente une Tache peut correspondre à un produit.

VIII-3-1-1-Etude du lot N°2:

Poids : 450mg.

Colonne : gel de silice (18g).

La purification de ce lot a été faite suivant le tableau (16) :

N°	Fractions récupérées	Eluant de la colonne	Poids	Examen à la CCM
1	1-6	EP	00	Rien
2	7-11	1%	30	Mélange
3	12-16	1%	90	Traînée
4	17-22	3%	80	Traînée
5	23-29	5%	120	2Tache+Traînée
6	31-41	5%	100	Tache+Traînée
7	42-48	10%	20	Traînée

8	49-55	15%	10	Traînée
---	-------	-----	----	---------

Tableau (16)

Le sous lot N°6 à subi une autre purification sur colonne de gel de silice. A l'issue de cette purification, le composé B (10mg) a été ainsi obtenu à l'état pur.

VIII-4- Caractéristiques spectrales

Composé B :

Formule brute : C₂₉H₅₀O.

Nom systématique: 24-ethyl-cholest-5-èn-3ol.

Nom trivial : β-Sitosterol.

Etat physique : solide blanc.

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

Spectre de RMN ¹H (500MH₃, CDCl₃, TMS)

1.77 (m, 1H) = H-1a.

1.01 (m, 1H) = H-1e.

1.74 (m, 1H) = H-2a.

1.44 (m, 1H) = H-2e.

3.45 (tt, J_{aa} = 11.16, J_{ae} = 4.46, 1H) = H-3.

2.23 (ddd, J_{gem} = 13.02, J_{ea} = 5.08, J_{aly} = 2.10, 1H) = H-4a.

2.16 (dt, J_{gem} = J_{aa} = 12.22, J_{aly} = 2.24, 1H) = H-4e.

5.28 (d, J = 5.26) = H-6.

1.90 (m, 1H) = H-7a.

1.45 (m, 1H) = H-7e.

1.39 (m, 1H) = H-8.

0.86 (m, 1H) = H-9.

1.43 (m, 1H) = H-11a.

1.37 (m, 1H) = H-11e.

1.95 (m, 1H) = H-12a.

1.09 (m, 1H) = H-12e.

1.04 (m, 1H) = H-14.

1.51 (m, 1H) = H-15a.

1.01 (m, 1H) = H-15e.

1.76 (m, 1H) = H-16a.

1.21 (m, 1H) =H-16e.
 0.92 (m, 1H) =H-17.
 0.62 (s, 3H) =H-18.
 0.95 (s, 3H) =H-19.
 1.29 (m, 1H) =H-20.
 0.86 (d, $J_{ae}=6.84$, 3H) =H-26.
 0.77 (d, $J_{ae}=6.86$, 3H) =H-27.
 1.19 (m, 2H) =H-28.
 0.78 (t, $J=7.42$, 3H) =H-29.

Spectre de RMN ^{13}C : (125 MHz, CDCl_3 , TMS) tableau (17)

N°	$\delta\text{c(ppm)}$	DEPT	N°	$\delta\text{c(ppm)}$	DEPT
C ₁	37,3	CH ₂	C ₁₆	28,2	CH ₂
C ₂	31,7	CH ₂	C ₁₇	56,8	CH
C ₃	71,8	CH	C ₁₈	11,9	CH ₃
C ₄	42,3	CH ₂	C ₁₉	19,4	CH ₃
C ₅	140,78	C	C ₂₀	36,2	CH
C ₆	121,72	CH	C ₂₁	18,8	CH ₃
C ₇	31,7	CH ₂	C ₂₂	34,0	CH ₂
C ₈	32,0	CH	C ₂₃	26,1	CH ₂
C ₉	50,2	CH	C ₂₄	45,9	CH
C ₁₀	36,5	C	C ₂₅	29,2	CH
C ₁₁	21,1	CH ₂	C ₂₆	19,0	CH ₃
C ₁₂	39,8	CH ₂	C ₂₇	19,8	CH ₃
C ₁₃	42,29	C	C ₂₈	23,1	CH ₂
C ₁₄	56,1	CH	C ₂₉	12,0	CH ₃
C ₁₅	24,3	CH ₂			

Tableau (17): Déplacement chimique du carbone

Spectre masse (m/z):

$$437.4 = [\text{M}+\text{Na}]^+$$

$$301.1 = [\text{M}-\text{C}_8\text{H}_{17}]^+$$

CONCLUSION

Conclusion

L'étude phytochimique réalisée séparément sur les parties aériennes de *Pituranthos chloranthus*, plante endémique à notre région nous a conduit à l'isolement par les méthodes classiques de chromatographie d'un composé naturel β -sitostérol.

La détermination de la structure de ce composé par les méthodes modernes d'analyse spectroscopique, particulièrement les techniques de la RMN 2D (COSY, HMBC, HSQC) à permis d'identifier outre le β -sitostérol.

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Ozenda, P.
Flore du Sahara, 1958, Ed. CNRS Paris France.
- [2] Haba, H.
Thèse de magister chimie, 2002, Univ. Batna Algérie.
- [3] Quezel, F. et Sanata, S.
Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales, Vol. 1-2
Ed. CNRS, Paris France, 1962, 1963.
- [4] Nègre, R.
Petite Flore des Régions Arides du Maroc Occidental, Tome 2 Ed. CNRS,
Paris France 1962.
- [5] Kaabeche, M.
Les Groupements Végétaux de la région de Bousaada, Thesis Université
Paris Sud, 1990.
- [6] Bellakhdar, J.
Médecine Arabe Ancienne et Savoirs Populaires
La pharmacopée marocaine traditionnelle, ibis Press, 1997.
- [7] Al kadi, A. A.
Usage de quelques plantes dans la médecine populaire en Libye, 1989, Vol 1-2.
- [8] Novak, I. ; Buzas, G. ; Minker, E. ; Kolfai, M. et Szendrei, K.
Planta med . 1966, 14, p: 57.
- [9] Singab, A.N. ; Khalifa, T. ; Mahran, G.H; Okada. Y. ; Matsumaru, Y.;
Nishino, H. ; Okuyama, T.
Natural Medicines, 1998, Vol. 52 (2), p: 191-194.
- [10] A. Abdelwahed, N. Hayder, S. Kilani, A. Mahmoud, J. Chibani, M.
Hammami, L. Chekir-Gherdira and K. Ghedira.
Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from
Tunisian *Pituranthos tortuosud* (Coss.) Maire. *Flavour Fragr. J.* 2006 ; 21:
129-133.
- [11] Halim, A.F. ; Saad, H. –E.A ; Lahloub, M.F. et Ahmed, A.F.
Phytochemistry, 1995, Vol.40 (30), p: 927-929.
- [12] Halim, A.F. ; Saad, H. –E.A ; Lahloub, M.F. et Ahmed, A.F.
37 th. Annual Congress of the Society for Medicinal Plant Research,
Braunschweig Germany, 5-9 Septembre 1989.
- [13] Halim, A.F. ; Saad, H. –E.A ; Lahloub, M.F. et Ahmed, A.F.
Mansoura J. Pharm. Sci., 1991,7,p: 402.
- [14] Ashkenazy, D.; Friedman, J. et Kashman, Y.
Journal of Medicinal Plant Research, 1983, Vol. 47, p: 218-220.
- [15] Haba ,H. Benkhaled,M. Massiot,G. Log, C. Lavaud, C.
Natural Product research, Vol 18, N° 5, October 2004, pp. 409-413.
- [16] Vernin, G. ; Zamkotsian, R.-M Verbin, G.; Ghiglione, C.; Dahia,M.et
Parkanyi, C.
Abstracts of Papers American Chemical Society, 1999, Vol.217 (1-2), p:
AGFD.
- [17] Vernin, G. ; Lageot,C.; Ghiglione, C.; Dahia,M.et Parkanyi, C.

- Journal of Essential Oil Research, 1999, Vol.11 (6), p: 673-676.
- [18] P. Vérité, A. Nacer, Z. Kabouche and E. Segbuin.
Composition of seeds and stems essential oils of *Pituranthos scoparius* (Coss.& Dur.) Schinz. *Flavour fragr. J.* 2004; 19: 562-564.
- [19] N. Boutaghane, A. Nacer, Z. Kabouche, and B. Ait-Kaki
Chemistry of Natural Compounds, Vol. 40, No. 6, 2004.
- [20] A. Touil, S. Rhouati, and J. Creche
Flavonoid glycosides from *Pituranthos chloranthus*. *Chemistry of compounds*, Vol. 42, No. 1, 2006.
- [21] N. Shalaby.
Modelling, measurement and control, C: Energetics, chemistry and engineering, *Earth, Resources, Environment, Biomedical problems*, 57 (1), 17-35 (1998).
- [22] G., Almani, S., Benayache, F., Benayache, H., Dendougui, et M., Jay.
Métabolisme flavonique de *Centaurea nicaensis* All, *J.Soc.Alg. Chim.*(1998), 8, N° 1,29.
- [23] R, Benakcha.
Thèse de magister chimie-constantine,2001.
- [24] Arnaud.P.
Cours de chimie organique, Bordas, Paris, 441,1985.
- [25] Gaignautl, J.C., Bidet.D.,Gaillard. M., Perronnet.J.
Stérols et steroids, Paris, 11-31,1997.
- [26] Lehinger.A.
Principes de biochimie, Flammarion, 315, 1989.
- [27] Mcmurry, J.
Chimie organique-les grands principes Cours et exercices corrigés, 4ème édition, Paris, 515,1989.
- [28] Klyne,W., Tame, N.D.
La chimie des stéroïdes, Paris, 13, 1966.
- [29] Baker,R. A., Evans, D.A., Grayson,D.D.H.,Jones, R.C.F.,Lough, A.K.,Moore,P.R., Thaller, V.
Aliphatic and related natural product chemistry, 1979.
- [30] Paul Mdeurick.
Medicinal natural products, a biosynthetic approach. 2ème edition, Wiley, 2002.
- [31] Barton, D.H.R
The conformation of the steroid nucleus, *Experientia*, 6, 316-320,1950.
- [32] Moore,J.A.,Alain,S.
Chimie organique moderne, Msson, Montréal, Toronto, 335-343, 1975.
- [33] Wilson, C.O., Gisvold, O., Doerge,R.F.
Text book of organic medicinal and pharmaceutical chemistry,J .B., Lippincott 7ème édition, 734, 1977.
- [34] Grahm-Solomons, T.W.
Fundamentals organic chemistry United States of America, 915, 1994.
- [35] Simmonds, R. J.
Chemistry of biomolecules, 151, 1992.

- [36] Ikan, R.
Natural products, 2^{ème} edition, Academic Press, New York, Boston, 127,153,1991.
- [37] Hill, R.S., Making, H.L., Kirk, D.N.M., Murphy, G.M.
Dictionary of steroids-chemical data-structures and bibliographies, London, Chapman & Hall, 1991.
- [38] Finar, I
Organic chemistry-stereochemistry and the chemistry of natural products, 5^{ème} edition, Great Britain, 518, 1994.
- [39] Mann, J., Davidson, R.S., Hobbs, J.B., Banthorpe, D.V., Harborne, J.B.
Natural products: Their chemistry and biological significance, 1^{ère} edition, Longman, England, 331-343, 1994.
- [40] Courtios, J.E., Perlés, R.
Précis de chimie biologique, 2^{ème} édition, Masson et Cie, Paris, 424-437, 1971.
- [41] Boulanger, P., Polonovski, J., Tayeau, F., Mandl, P., Biserte, G.
Biochimie médicale-les constituants des organismes vivants, Masson et Cie, Paris 100, 1966.
- [42] Grassé, P. P., Lavcolette, P., Holland, A., Nigon, V., Wolf, E.
Biologie générale, Paris, 193, 1969.
- [43] Shoppee, C.W., Shopper, E.
Steroids-Sterols and bile acids-Chemistry of carbon compounds, New York, Elsevier, 17, 765-825, 1953.
- [44] Heller, R.
Biologie végétale II: Nutrition et métabolisme, Paris, 1969.
- [45] Bruneton, J.
Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales, 3^{ème} édition, Tec & Doc, Paris, 661-758, 1999.
- [46] Bruneton, J.
Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales, 3^{ème} édition, Tec & Doc, Paris, 387-402, 1993.
- [47] Schroepfer, G.Jr.
Biochem, 54, 435-621, 1975.
- [48] Roberts, J.D., Caserio, M.S., Conia, J.M.
Chimie organique moderne, Menlo & Park, Paris, 784-797, 1977
- [49] Murphy, V.
Secondary metabolism, 2^{ème} édition, Clarendon press. Oxford, 1987.
- [50] Richter, G.
Métabolisme des végétaux-Physiologie et biochimie, Presses polytechniques, 300-302, 1993.
- [51] Haralampidis, K., Trojanowska, M., Etosbown, A.E.
Biotechnology, 75, 31-49, 2002.
- [52] William, C. E.
Trease and Evans-Pharmacognosy, 15^{ème} édition, W.B. Saunders, Company limited, London, 290-297, 2002.
- [53] Herbert, R.B.

The biosynthesis of secondary metabolism, Khapman & Hall, London, New York, 1989.

[54] Mahler, H.R., Cordes, E.H.

Biology chemistry, 2^éme edition, Harper & row, 748,1971.

[55] Sarg, T.M.,Salam.N.A.A.El-Damiaty.M.,Khafagy.S.M.

Sci.Pharm.,49, 262-264, 1981.

[56] Riaz, A.K.,Anil,K.S., Pawan, K.A.

Phytochemistry., 45, 1295-1296, 1997.

CONCLUSION GENERALE

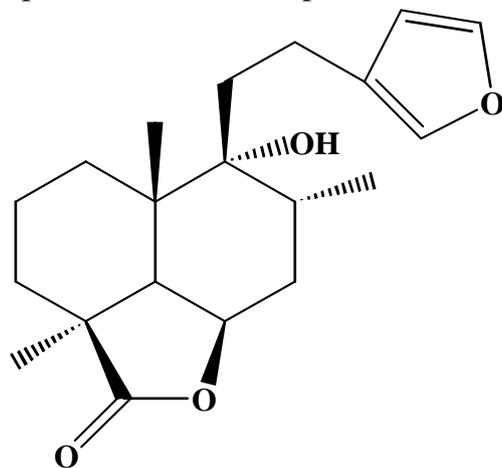
CONCLUSION GENERALE

Le travail qui m'a été confié est réalisée séparément d'un part sur l'extrait chloroformique des parties aériennes de la plante *Marubium vulgare*, a conduit à l'isolement par les méthodes classiques de chromatographie d'un seul composé naturel A, de type diterpéniques.

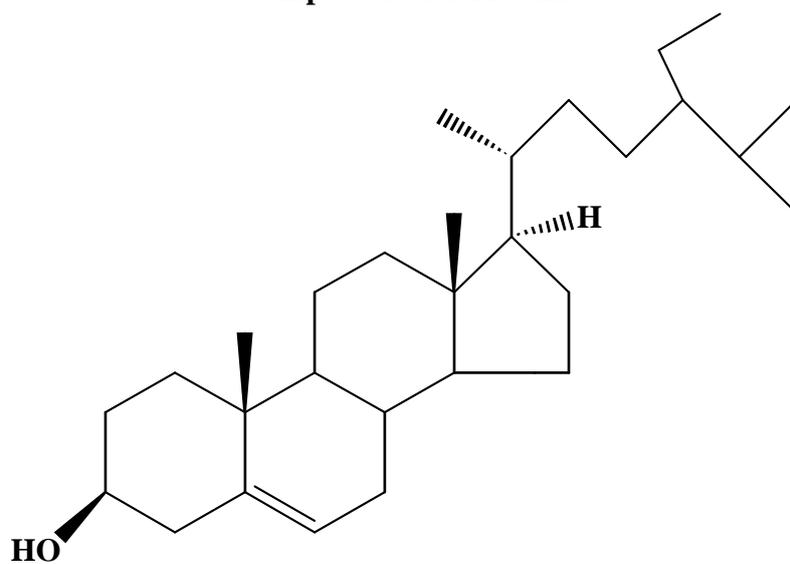
Ce qui nous a conduit d'autre part à l'étude de l'extrait chloroformique des parties aériennes de la plante *Pituranthos chloranthus* qui a permis d'isoler un autre composé naturel B de type stéroïdique.

L'élucidation structurale de ces composés a été réalisée au moyen des méthodes modernes d'analyse spectroscopique, particulièrement la RMN ^1H , la RMN ^{13}C et la RMN 2D (COSY, HSQC, HMBC).

En conclusion, notre travail à permis d'isoler et de déterminer les structures de deux composés A et B correspondant aux formules suivantes :



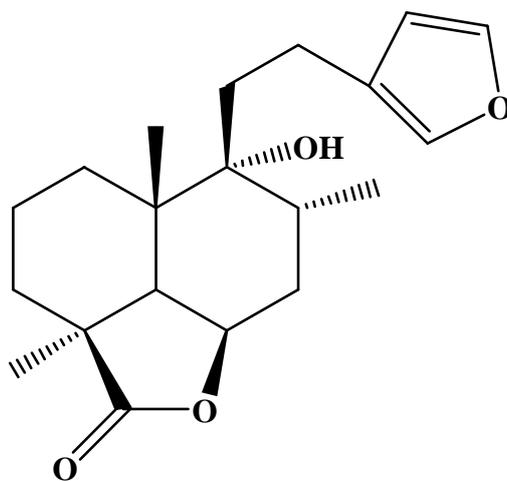
Composé A : Marrubiin



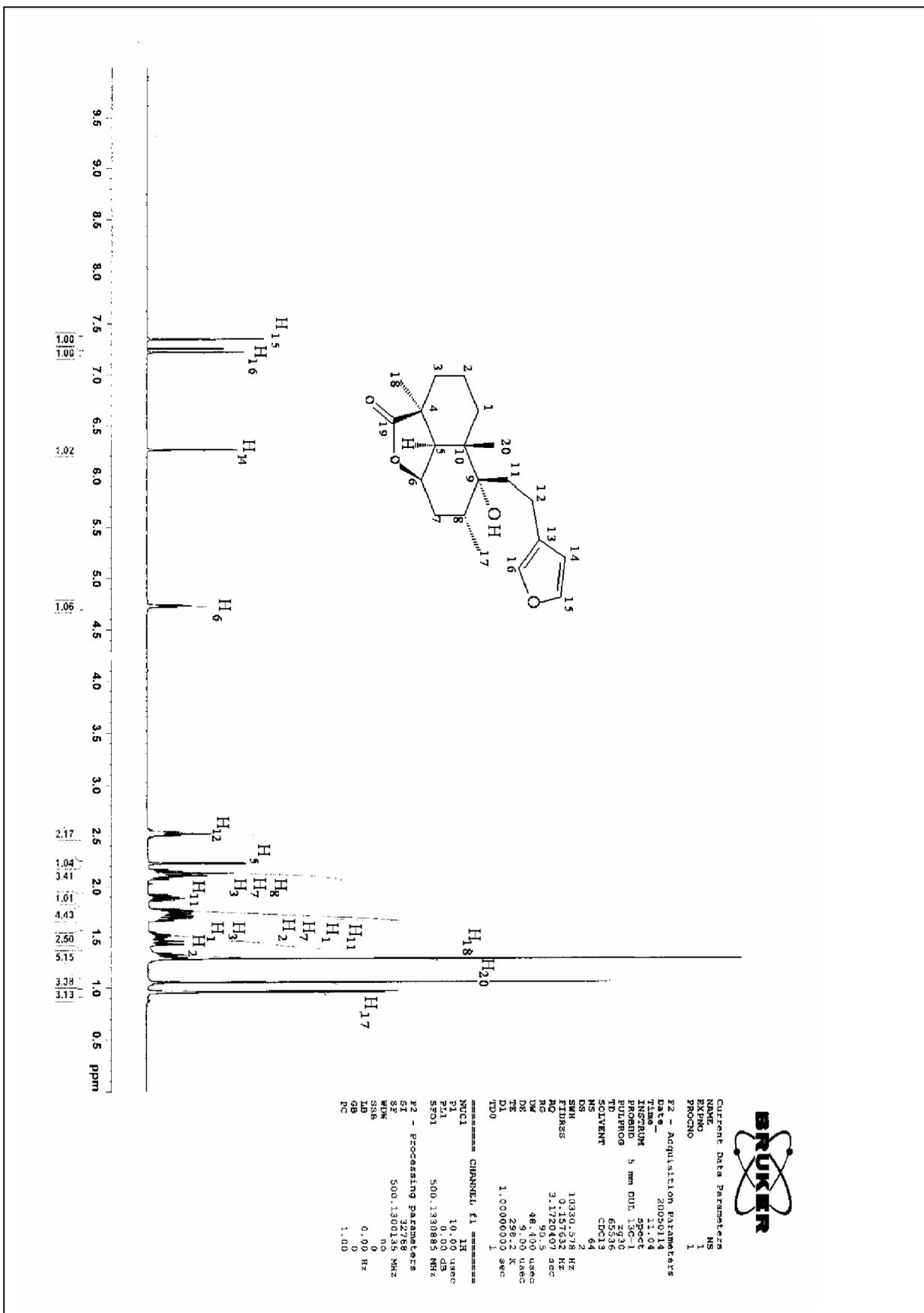
Composé B : β -Sitostirol

ANNEXE

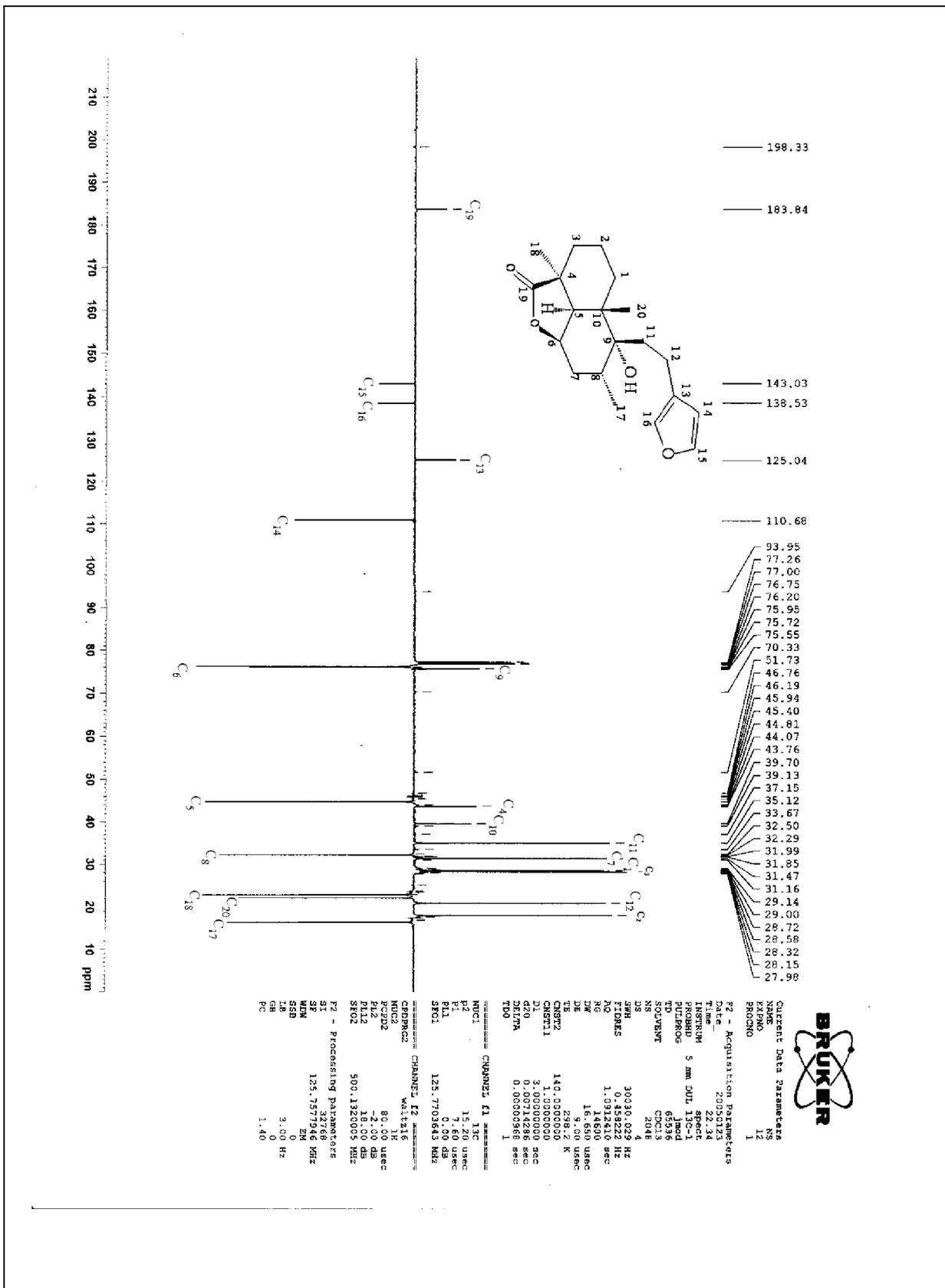
Composé A



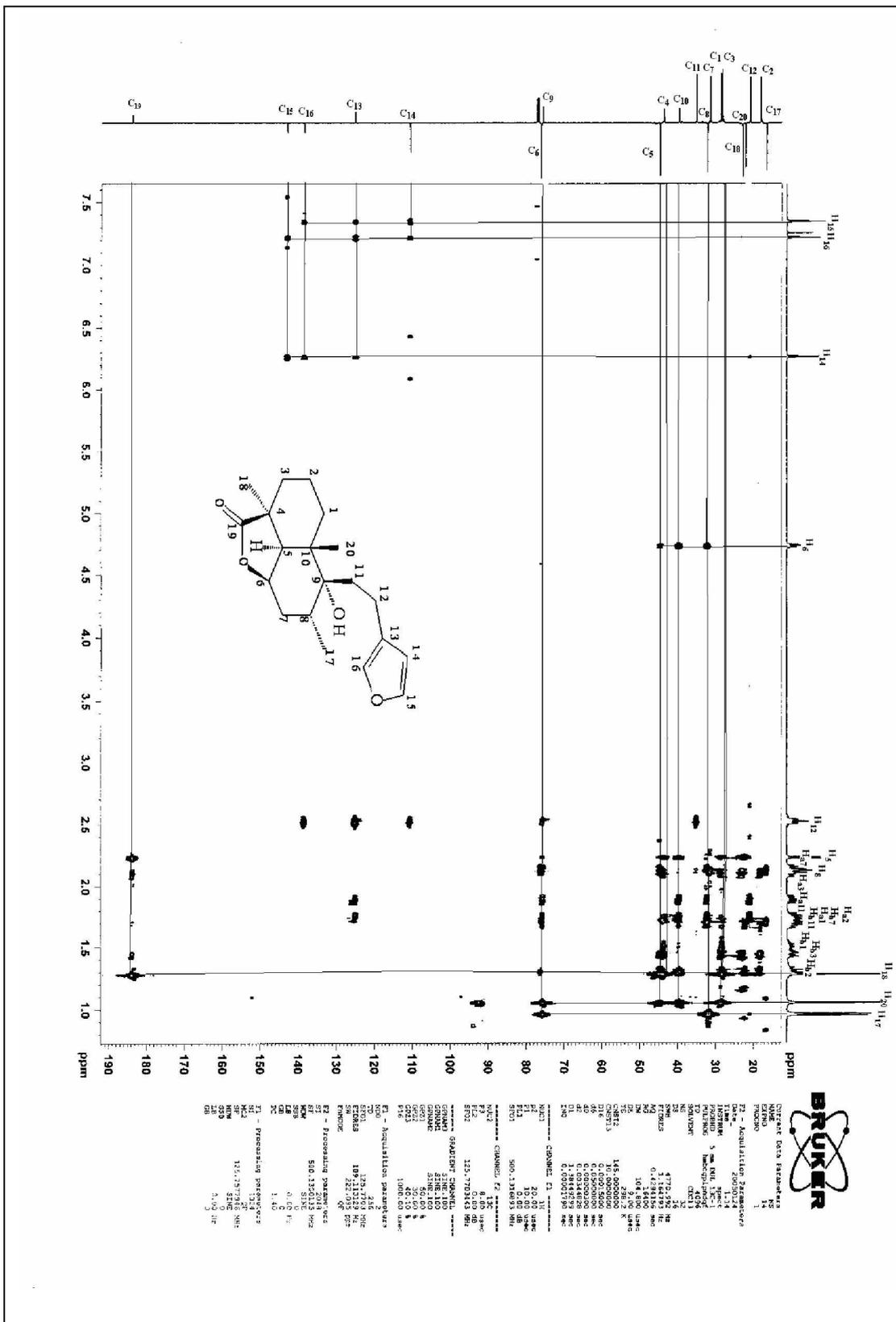
15,16-Epoxy-9 α -hydroxy-13(16),14-labdien-19,6 β -olide



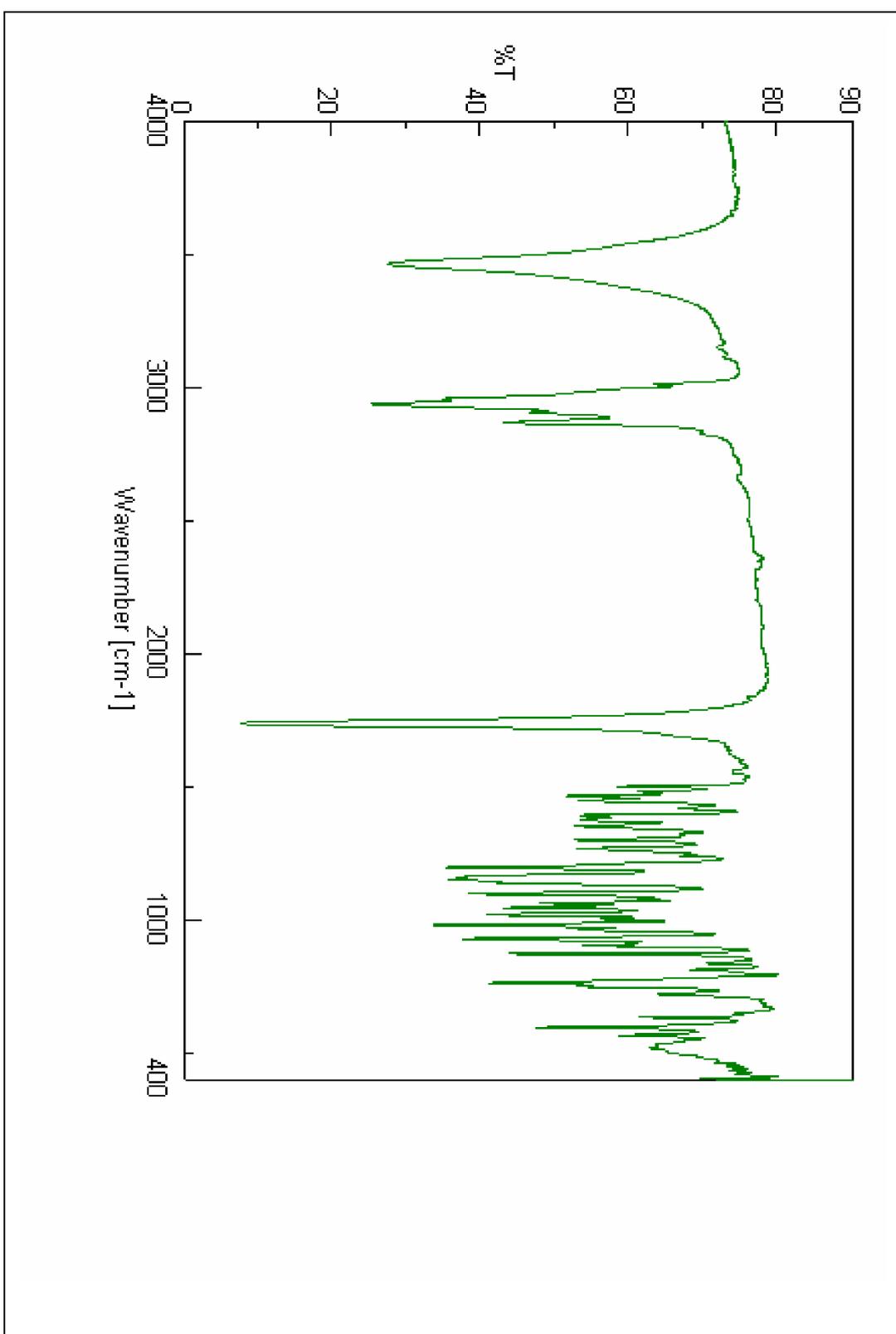
SPECTRE RMN ¹H DU COMPOSE A



SPECTRE RMN ¹³C DU COMPOSE A



SPECTRE HMBC C-H DU COMPOSE A



SPECTRE IR DU COMPOSE A

Mass Spectrum List Report

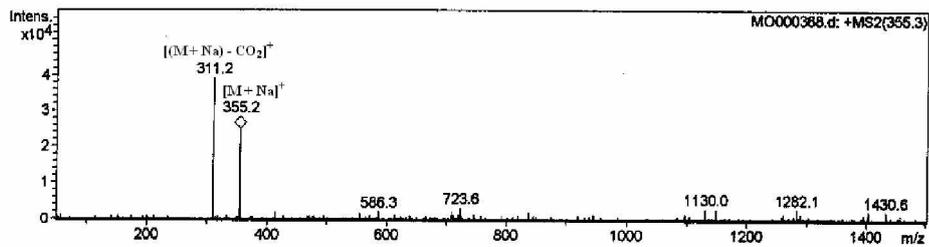
Analysis Info

Analysis Name MO000368.d Acquisition Date 02/21/05 12:10:41
Method infusion.MS Operator LONG Christophe
Sample Name NS Instrument Esquire-LC_00088
Comment NS

Targety mass 400, Compound stability 150%, Trap drive Level 100%

Acquisition Parameter

Ion Source Type	ESI	Ion Polarity	Positive	Alternating Ion Polarity	n/a
Mass Range Mode	Std/Normal	Scan Begin	50.00 m/z	Scan End	1500.00 m/z
Capillary Exit	127.3 Volt	Skim 1	47.7 Volt	Trap Drive	34.4
Accumulation Time	19535 μ s	Averages	5 Spectra	Auto MS/MS	Off



#	m/z	I%	S/N
1	311.2	100	2621.8
2	355.2	63	1659.1
3	356.2	18	489.7
4	709.5	5	136.2
5	723.6	8	212.4
6	1130.0	8	199.7
7	1147.7	7	178.9
8	1282.1	7	191.0
9	1401.9	6	145.2
10	1430.6	6	149.7

SPECTRE DE MASSE DU COMPOSE A

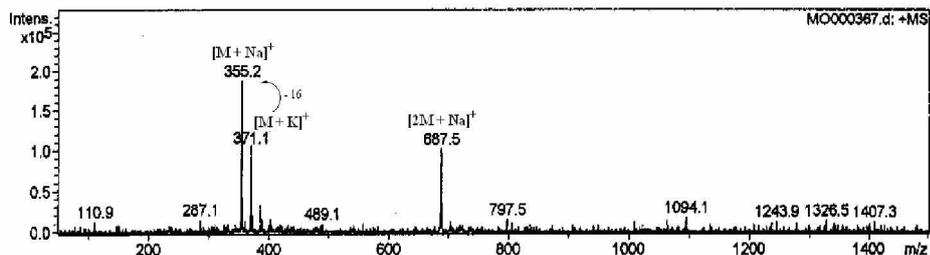
Mass Spectrum List Report

Analysis info

Analysis Name MO000367.d Acquisition Date 02/21/05 12:09:55
Method Infusion.MS Operator LONG Christophe
Sample Name NS Instrument Esquire-LC_00088
Comment NS
Targety mass 400, Compound stability 150%, Trap drive Level 100%

Acquisition Parameter

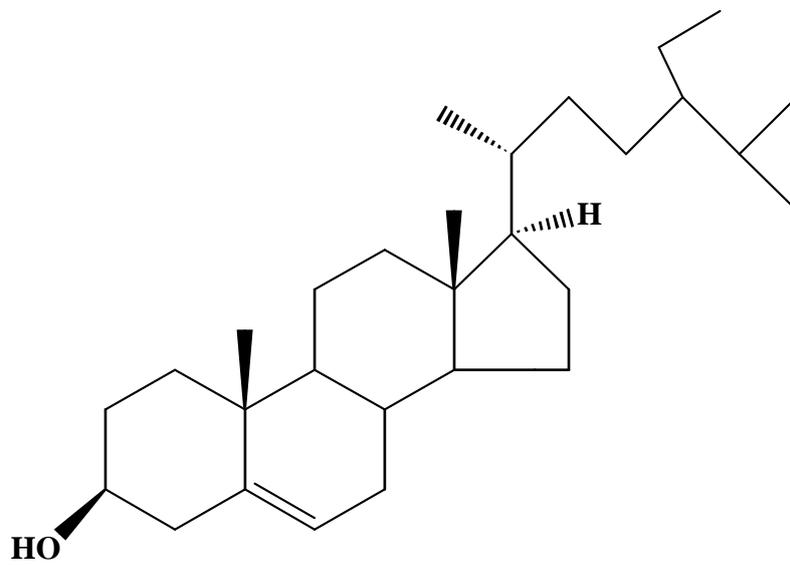
Ion Source Type	ESI	Ion Polarity	Positive	Alternating Ion Polarity	n/a
Mass Range Mode	Std/Normal	Scan Begin	50.00 m/z	Scan End	1500.00 m/z
Capillary Exit	127.3 Volt	Skim 1	47.7 Volt	Trap Drive	34.4
Accumulation Time	1182 µs	Averages	10 Spectra	Auto MS/MS	Off



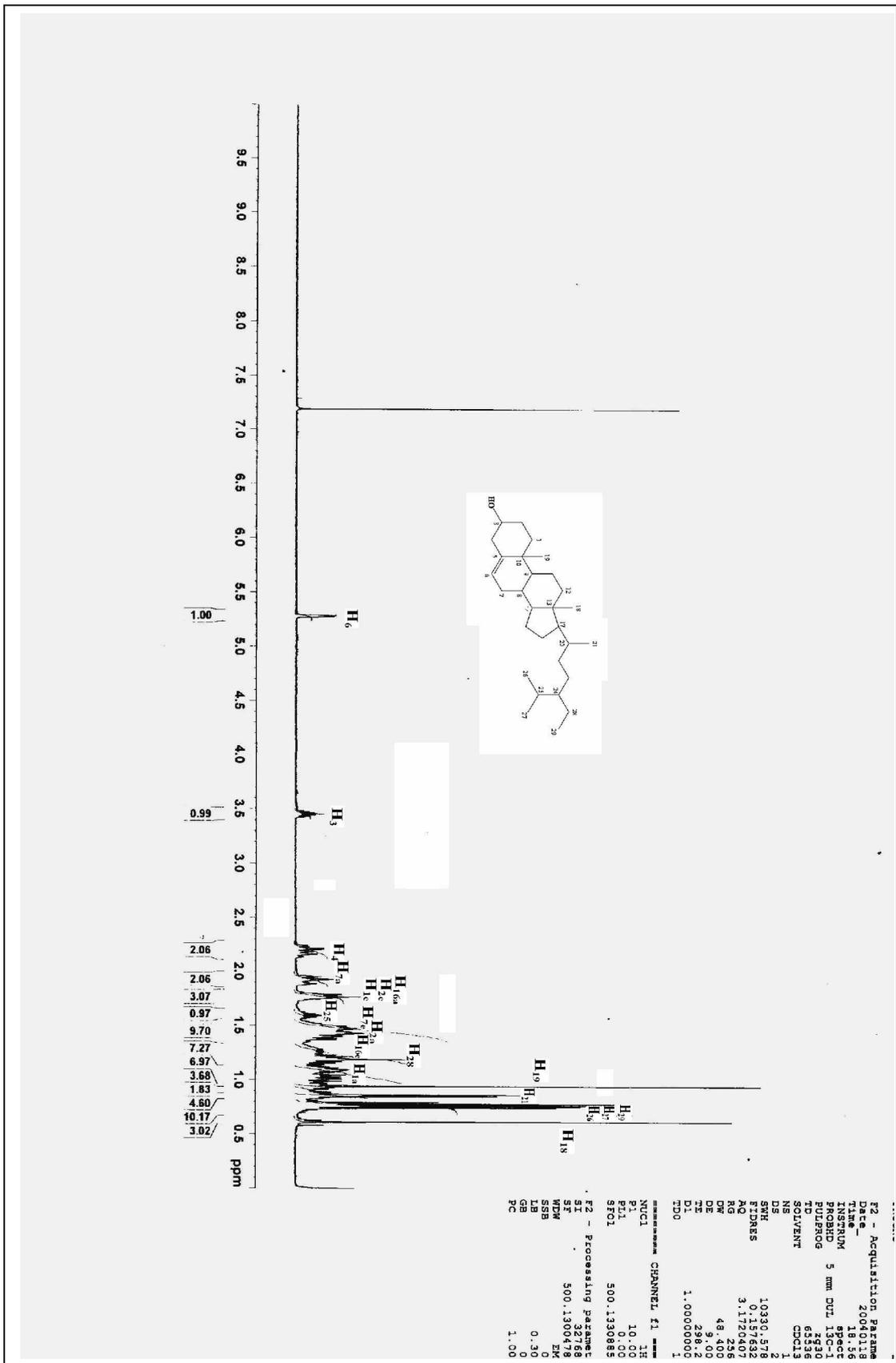
#	m/z	I%	S/N
1	355.2	100	215.7
2	356.2	22	48.3
3	368.1	10	22.5
4	371.1	53	113.4
5	372.1	10	22.5
6	373.2	11	23.3
7	387.2	18	37.8
8	685.5	12	26.8
9	687.5	54	117.2
10	688.6	19	41.2

SPECTRE DE MASSE DU COMPOSE A

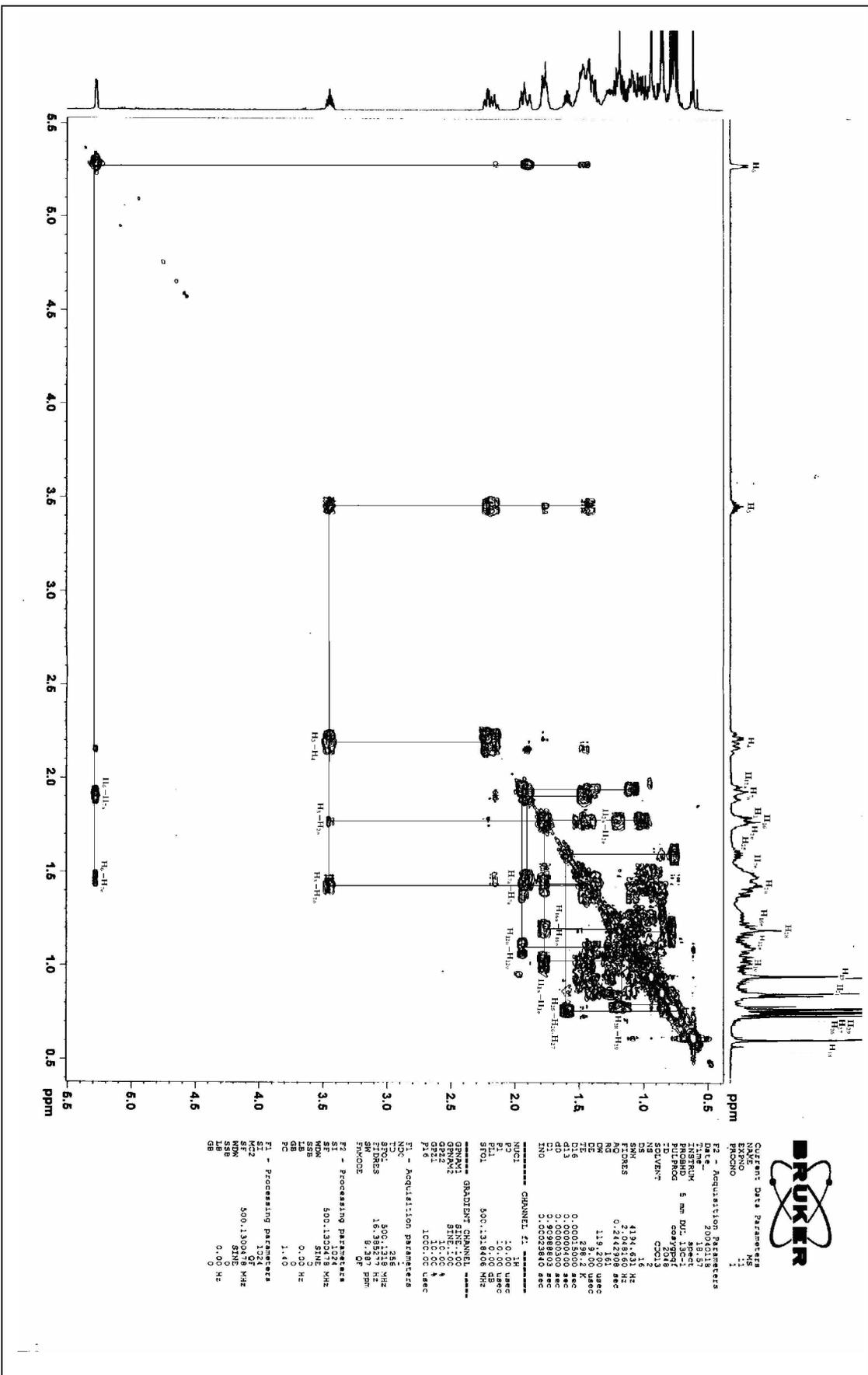
Composé B



24-ethyl-cholest-5-èn-3ol

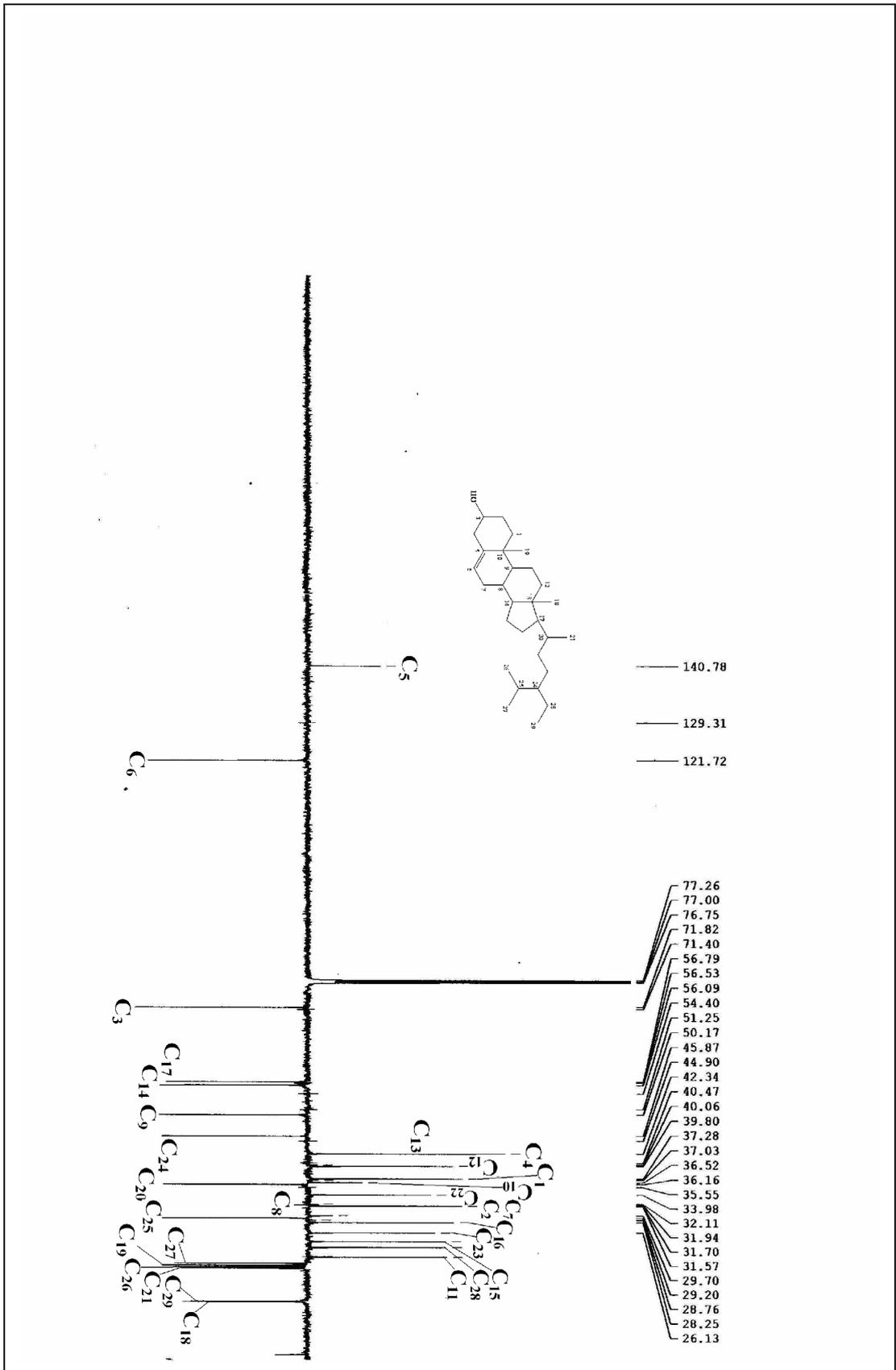


SPECTRE RMN ¹H DU COMPOSE B

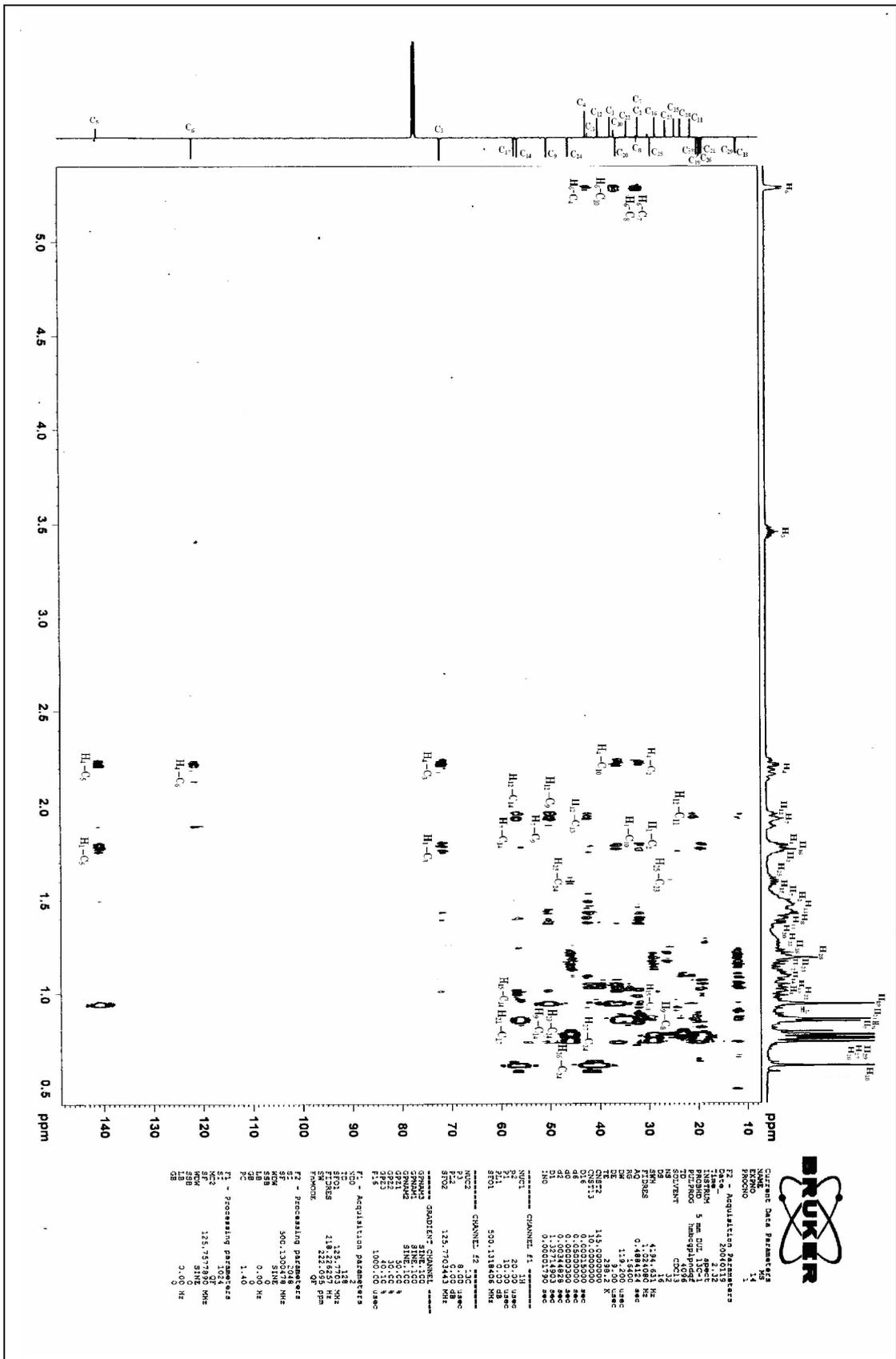


Current Data Parameters
 EXPNO 1
 PROCNO 1
 F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20040118
 Time 14:27
 INSTRUM spect
 PROBD 5 mm DUL 13C-1
 P1 12.00
 P2 0.00
 SOLVENT CDCl3
 NS 12
 DS 1
 SWH 4134.631 Hz
 FIDRES 0.242450 Hz
 AQ 0.161 sec
 RG 119
 DM 119 200 usec
 DE 298.2 K
 TE 300.2 K
 D1 0.0002000 sec
 d15 0.0000000 sec
 dD 0.0000000 sec
 DD 0.0000000 sec
 SFO 500.130408 MHz
 CHANNEL F2
 NUC1 13C
 P1 12.00 usec
 PL 0.00 usec
 SFO1 500.130408 MHz
 ***** GRABPRT CHANNEL *****
 GRABPRT
 GRABPR SINE:100
 GRABPR SINE:100
 GRABPR 1
 GRABPR 10.00 usec
 P16 1000.00 usec
 F1 - Acquisition Parameters
 NUC 1H
 P1 12.00 usec
 SFO 500.130408 MHz
 SFO1 500.130408 MHz
 P16 1000.00 usec
 F2 - Processing parameters
 SI 1024
 SF 500.130408 MHz
 SFO 500.130408 MHz
 SF 500.130408 MHz
 SSB 2
 GB 0.00 Hz
 PC 1.40
 F1 - Processing parameters
 SI 1024
 SF 500.130408 MHz
 SFO 500.130408 MHz
 SF 500.130408 MHz
 SSB 2
 GB 0.00 Hz
 PC 1.40

SPECTRE COSY H-H DU COMPOSE B



SPECTRE RMN ^{13}C DU COMPOSE B



SPECTRE HMBC C-H DU COMPOSE B

Mass Spectrum List Report

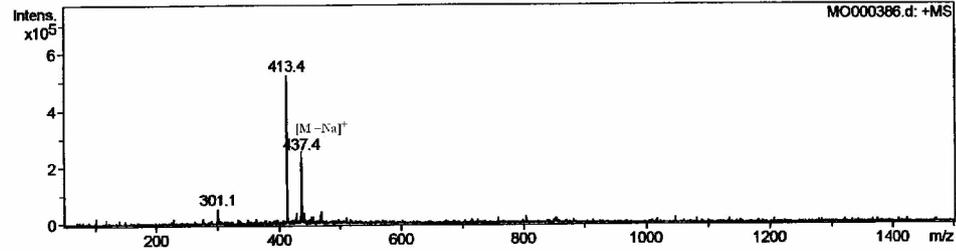
Analysis Info

Analysis Name: MO000386.d
Method: infusion.MS
Sample Name: MS
Comment: MS
Target mass 400, CS 100%, TDL 100%

Acquisition Date: 03/15/04 12:38:29
Operator: LONG Christophe
Instrument: Esquire-LC_00088

Acquisition Parameter

Ion Source Type	ESI	Ion Polarity	Positive	Alternating Ion Polarity	n/a
Mass Range Mode	Std/Normal	Scan Begin	50.00 m/z	Scan End	1500.00 m/z
Capillary Exit	113.0 Volt	Skim 1	38.3 Volt	Trap Drive	34.4
Accumulation Time	554 μ s	Averages	10 Spectra	Auto MS/MS	Off



#	m/z	I%	S/N
1	301.1	10	41.5
2	413.4	100	415.6
3	414.3	23	97.0
4	429.3	7	29.3
5	435.5	5	22.7
6	437.4	45	186.5
7	438.4	13	52.2
8	441.4	7	29.3
9	467.3	6	23.8
10	469.4	8	32.6

SPECTRE DE MASSE DU COMPOSE B

Mass Spectrum List Report

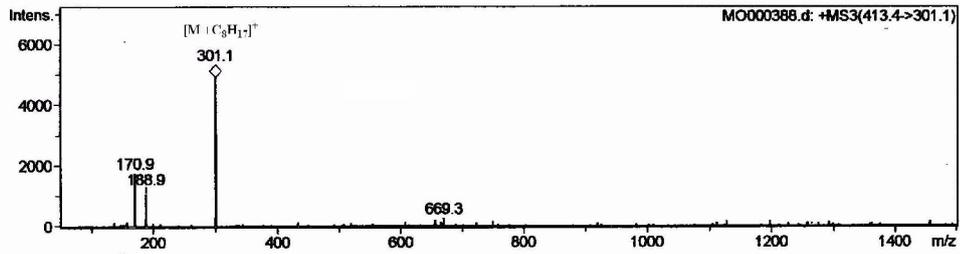
Analysis Info

Analysis Name: MO000388.d
Method: infusion.MS
Sample Name: MS
Comment: MS
Target mass 400, CS 100%, TDL 100%

Acquisition Date: 03/15/04 12:39:47
Operator: LONG Christophe
Instrument: Esquire-LC_00088

Acquisition Parameter

Ion Source Type	ESI	Ion Polarity	Positive	Alternating Ion Polarity	n/a
Mass Range Mode	Std/Normal	Scan Begin	50.00 m/z	Scan End	1500.00 m/z
Capillary Exit	113.0 Volt	Skim 1	38.3 Volt	Trap Drive	34.4
Accumulation Time	200000 µs	Averages	5 Spectra	Auto MS/MS	Off



#	m/z	I%	S/N
1	170.9	36	676.5
2	188.9	22	414.3
3	301.1	100	1892.1
4	302.0	7	140.4
5	669.3	5	100.5

SPECTRE DE MASSE DU COMPOSE B

