REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

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

Mémoire

Pour l'obtention du diplôme de Magister en chimie organique Présenté par BOUZGHAIA Badra

Etude phytochimique de la plante Bassia muricata

Soutenu le:

DEVANT LE JURY

ABERKANE MOHAMMED CHERIF	M.C A U.Batna	Président
DIBI AMMAR	Pr. U. Batna	Rapporteur
MALEK RASOUL YASSINE EL HILOU	Pr. U.O.El Bouaghi	Examinateur
HABA HAMADA	M.C A U.Batna	Examinateur

Remerciements

Avant tout je remercie mon DIEU tout puissant, qui m'a donné, la volonté, le courage et

la patience et qui a guidé mes pas vers le droit chemin durant mes années d'études

Ce travail a été effectué dans le laboratoire de chimie et chimie de l'environnement, au

département de chimie, à la faculté des sciences de l'université de Batna.

Le grand merci à Monsieur **DIBI AMMAR** Professeur à l'université de Batna de m'avoir

proposé le sujet de ce mémoire et d'avoir porté une attention constante à mon travail et ses

aboutissements. Il a assuré la direction de ce travail et je tiens à lui exprimer ma profonde pour

la confiance qu'il m'a accordée.

J'exprime mes sincères remerciements à Monsieur ABERKANE MOHAMMED

CHERIF, maître de Conférence à l'université de Batna de m'avoir fait l'honneur de présider ce

jury et de juger ce travail.

Je remercie vivement Monsieur MALEK RASOUL YASSINE EL HILOU, Professeur

au U.O.El.Bouaghi qui ont bien voulu lire ce travail et faire partie du jury.

J'aimerais également remercier vivement monsieur le docteur Haba Hamada, maître de

conférences de l'université de Batna pour avoir accepté de faire partie de ce jury de mémoire et

pour ses conseils et son aide.

J'exprime mes vifs remerciements à Mme ARAAR FATIHA, enseignante à l'université

de Batna pour son aide.

J'aimerais également remercier vivement mon amie SOUMIA MOUFFOK pour son

aide constante et ses précieux conseils pendant toute la durée de ce travail.

Enfin Je remercie mes amies : luiza brakna, wassila, sonia, Soria.

Dédicaces.

Je dédie ce travail:

A mon très cher père, je suis très reconnaissante et j'aurai tant aimé partager la joie de ma réussite avec lui.

A m'a belle-mère, qui ma supportée et m'a aidée dans les pires moments, car tu as toujours cru en moi, je suis que je suis maintenant; merci maman.

A mon mari, qui par sa compréhension, sa tendresse et ses encouragements, a soutenu sans cesse mes efforts durant la réalisation de ce travail.

A mes chers enfants: lokmane et adam.

A mes frères: azou, youcef, fateh.

A mes sœurs: wided, hanene, chaima.

A mes oncles: mahmoud, hichem, kamel, tahar.

A mes tantes, ma grande-père, et la famille de mon mari

Merci à tous

Abréviations

AcOEt: Acétate d'éthyle EP: Ether de pétrole

MeOH: Méthanol

CHCI₃: Chloroforme

EtOH: Ethanol

CD₃OD:

Na₂SO₄: Sulfate de Sodium

CDCI₃: Chloroforme deutéré

CCM: Chromatographie sur couche mince

CC: Chromatographie sur colonne ouverte

Méthanol deutéré

VLC: Chromatographie liquide sous vide

SiO₂: Gel de silice normale

s: Singulet

sl: Singulet large

d: Doublet

dd: Doublet de doublets

td: Triplet de doublets

m: Multiplet

RMN ¹**H**: Résonance magnétique nucléaire du proton

RMN ¹³**C**: Résonance magnétique nucléaire du carbone 13

HMBC: Heteronuclear multiple bond correlation

HSQC: Heteronuclear single quantum correlation

COSY H-H: Correlation spectroscopy H-H

SM: Spectrométrie de masse

ESI: Spectrométrie de masse par ionisation douce (Electrospray)

δ: Déplacement chimique

J: Constante de couplage

uma: Unité de masse atomique

m/z: Masse/charge d'un ion

ATP: Adénosine triphosphate

DMAPP: Diméthylallyl diphosphate

MVA: Mévalonate

NADPH: □ Nicotinamid □ adénine dinucléotide phosphate

FDP: Farnésyl diphosphate

GDP: Géranyl diphosphate

GGDP: Géranyl géranyl diphosphate

R: Radicale
Glc: Glucose

Gal: Galactose

Rut Rutinose

CoA: Coenzyme-A
°C: Degré celsuis

F: Fraction

ppm: Partie par million

Hz: Hertz

épi : Epimère

OMe: Méthoxyle

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE
Chapitre I- Rappel bibliographique
I-1- Description botanique de la Famille Chenopodiaceae
I-2- Description botanique du genre <i>Bassia</i>
I-3- Métabolites secondaires isolés des plantes Chenopodiaceae
I-4- Métabolites secondaires isolés du genre Bassia.
Chapitre II- Etude des Flavonoïdes et Triterpénoïdes
II-1- Les flavonoïdes
II-1-1- Généralités
II-1-2- Structure
II-1-3- Classification
II-1-4- Localisation et distribution des flavonoïdes
II-1-5- Effets biologiques et pharmacologiques des flavonoïdes
II-1-6- Propriétés physiques
II-1-7- Biosynthèse des flavonoïdes
II-2-Les triterpènes
II-2-1- Introduction
II-2-2- Biosynthèse des triterpènes
II-2-3- Intérêts des triterpènes
Chapitre III- Etude phytochimique de l'espèce <i>Bassia</i> muricata (L.)
III-1- Rappel botanique
III-2- Extraction
III-3- Séparation et purification des composés

III-3-1- Séparation et purification des composants de l'extrait chloroformique
III-3-1-1- Elucidation structurale du composé BM ₁
III-3-2- Séparation et purification des composants de l'extrait Butanolique
III-3-2-1- Elucidation structurale du composé BM ₂
III-3-2-2- Elucidation structurale du composé BM ₃
CONCLUSION
Chapitre IV- Partie expérimentale
IV-1- Matériel et appareillage
IV-1-1- Récolte de la plante Bassia muricata (L)
IV-1-2- Chimie extractive
IV-1-2-1- Chromatographie sur couche mince (CCM)
IV-1-2-2- Chromatogrphie liquide sous vide VLC
IV-1-2-3- Chromathographie sur colonne ouverte CC
IV-1-3- Chimie structurale
IV-1-3-1-Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN)
IV-1-3-2-Spectrométrie de masse (SM)
IV-1-3-3-Pouvoir rotatoire ($[\alpha]_D$)
IV-1-4-Etude de l'espèce Bassia muricata
IV-1-4-1-Extraction de l'espèce Bassia muricata
IV-1-4-2-Contrôle chromatographique
IV-1-4-3-Etude de l'extrait CHCl ₃ de <i>Bassia muricata</i>
IV-1-4-4-Purification
IV-1-4-4-1-Etude de la fraction F ₂
IV-1-4-5-Etude de l'extrait <i>n-butanol</i> de <i>Bassia muricata</i>
IV-1-4-6-1-Etude de la fraction F ₄
IV-1-4-6-2-Etude de la fraction F ₂

IV-1-5-Composés isolés de l'espèce Bassia muricata (L)	87
Bibliographie	89
Liste des Figures	93
Liste des Tableaux	95
Abstract	96
ملخص	97
Résumé	98

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en dermopharmacie. Parmi ces composés on retrouve dans une grande mesure les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapeutique. La Pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche trouve chez les plantes des molécules actives nouvelles, ou des matières premières pour la hemi-synthèse.

On a longtemps employé des remèdes traditionnels à base de plantes sans savoir à quoi étaient dues leurs actions bénéfiques. L'isolement de principes actifs datant du XIX ème siècle, en améliorant la connaissance des structures, a fait progressivement se séparer et parfois s'opposer une phytothérapie traditionnelle souvent empirique avec une thérapeutique officielle incluant les principes chimiques et végétaux dont la pharmacologie était mieux connue. Cette thérapeutique officielle accepte parfois avec une certaine méfiance l'emploi de végétaux ou d'extraits complexes de végétaux dont l'action est confirmée par l'usage sans être attribuée de façon certaine à une molécule type.

Dans le monde, 80% des populations ont recours à des plantes médicinales pour se soigner, par manque d'accès aux médicaments prescrits par la médecine moderne mais aussi parce que ces plantes ont souvent une réelle efficacité. Aujourd'hui, le savoir des tradipraticiens est de moins en moins transmis et tend à disparaître. C'est pour cela que l'ethnobotanique et l'ethnopharmacologie emploient à recenser, partout dans le monde, des plantes réputées actives et dont il appartient à la recherche moderne de préciser les propriétés et valider les usages. La recherche de nouvelles molécules doit être entreprise au sein de la biodiversité végétale en se servant des données ethnopharmacologiques. Cette approche permet de sélectionner des plantes potentiellement actives et d'augmenter significativement le nombre de découvertes de nouveaux principes actifs [1].

Dans le cadre de la valorisation de la flore de la région des Aurès et du nord du Sahara Algérien, par la recherche de nouveaux composés d'origine végétale à intérêts thérapeutiques, notre laboratoire a entamé un programme de recherche destiné à l'étude chimique de cette flore. L'endémisme et l'utilisation éventuelle en médecine traditionnelle demeurent nos critères principaux de sélection de plantes en vue d'une investigation chimique.

C'est dans ce contexte que nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique de la plantes *Bassia muricata* de la famille Chenopodiaceae. L'étude phytochimique des parties aériennes de cette espèce a abouti particulièrement à l'identification de trois Produits.

Notre travail sera présenté comme suit :

Chapitre I: Rappel bibliographique

Chapitre II : Etude des Flavonoïdes et Triterpénoïdes

Chapitre III : Etude phytochimique de l'espèce Bassia muricata (L.)

Chapitre IV : Partie expérimentale

Chapitre I Rappel bibliographique

I-1-Description botanique de la Famille Chenopodiaceae (Salsolaceae)

Les chénopodiacées sont d'une étude délicate. la petitesse de leurs fleurs, la fragilité de leurs rameaux et de leurs fruits, rendent difficile la récolte d'échantillons complets. Beaucoup d'espèces se ressemblent, même d'un genre à l'autre ; et surtout certaines d'entre elles présentent un polymorphisme étonnant qui fait que l'aspect de la plante varie d'un pied à l'autre, voire d'une branche à l'autre, suivant l'état de développement et la saison. La détermination des plantes de cette famille demande donc un peu d'attention, mais il ne faut pas se laisser rebuter par quelques difficultés au début. bien observer les caractères, et ne pas se fier à l'aspect général de la plante à déterminer.

Les chénopodiacées sont en général des plantes buissonnantes, rarement des herbes (*Chenopodium*, *Bassia*). Quelques genres ont des feuilles à limbe plat et bien développé (*Atriplex*, *Beta*, *Chenopodium*), mais très souvent les feuilles se réduisent à une gaine entourant la tige et terminée par un limbe réduit à une pointe coriace, les rameaux présentant alors un aspect articulé. les fleurs sont toujours petites, peu visibles, cachées en partie entre des bractées ; la floraison est en général automnale.

Le périanthe est formé de cinq pièces ordinairement membraneuses, persistant autour de fruit; dans une partie des genres, elles ne subissent pas de modification appréciable (*Chenopodium, Halocnemum*), mais souvent elles s'accroissent après la floraison, de différentes manières; chez *Beta, Traganum, Nucularia*, elles constituent une enveloppe indurée soudée à sa base avec le fuit; chez Bassia, elles s'ornent d'un éperon sur le dos; chez Atriplex, elles forment des ailes verdâtres triangulaires, soudées entre elles et cachant le fruit; chez *Salsola, Anabasis, Haloxylon* et *Halogeton*, elles se développent en ailes membraneuses étalées comme une corolle, tantôt blanc-jaunâtre, parfois (certains *Haloxylon* et *Halogeton*) vivement colorées en rose ou en rouge-violacé.

Les étamines sont en nombre variable, généralement inférieur à cinq. L'ovaire comporte une seule loge contenant un ovule ; il est surmonté généralement par deux stigmates ; à maturité, il donne un achaine à paroi mince laissant apercevoir le contour de la graine de sorte que la forme et l'orientation de celle-ci peuvent souvent être observées sans qu'il soit nécessaire de disséquer le fruit. Cette graine est ordinairement aplatie en une lentille, disposée suivant les genres dans un plan vertical ou horizontal ; cette orientation de la graine est importante à examiner pour séparer des genres que leur morphologie rapproche beaucoup (*Anabasis* et *Haloxylon* par exemple).

Les Chénopodiacées comprennent plus de cent genres et un millier d'espèces. Ce sont essentiellement des plantes de terrains salés vivant surtout sous les climats arides ou semi-arides : Bassin méditerranéen et Sahara, Moyen-Orient, steppes et déserts de l'Asie centrale, de l'Afrique du Sud, de l'Australie et des deux Amériques. En Europe toutefois, cette famille compte quelques dizaines de représentants : ce sont, soit des plantes de terrains salés littoraux ou sublittoraux (Salicornes de la Camargue par ex.), soit des plantes nitrophiles poussant sur les décombres (Chénopodes), et surtout deux importantes plantes cultivées, la Betterave et l'Epinard.

Le Sahara compte une trentaine d'espèces de Chénopodiacées, mais leur nombre va en diminuant nettement, ainsi que leur importance dans l'ensemble de la flore, lorsque s'accentue le caractère désertique :

L'endémisme est faible, la plupart des Chénopodiacées sahariennes se retrouvant dans d'autres régions et notamment en Orient; toutefois le Sahara possède deux genres endémiques, l'un dans le Sud-oranais (Fredolia), l'autre dans le Sahara central et occidental (Nucularia).

La classification des Chénopodiacées repose essentiellement sur la structure de la graine et la forme de l'embryon, caractères d'une observation assez délicate; la clef ci-dessous est une clef artificielle, valable pour les espèces sahariennes seulement.

- I Feuilles à limbe plat et large (1 cm au moins), triangulaire, en fer de flèche ou en cœur à la base.
 - **A**. Feuilles d'un vert sombre, non glauques ni farineuses; périanthe durci à maturité autour de la graine (Beta).
 - **B**. Feuilles d'un vert clair, glauques ou farineuses.
 - 1. Périanthe non accrescent ; herbes des décombres : (Chenopodium).
 - 2. Périanthe formant deux ailes autour du fruit, herbes ou buissons des terrains un peu salés (Atriplex).
- **II** Feuilles à limbe étroit, ou très réduit.
 - **A**. Plante herbacée, laineuse, d'un gris-blanchâtre, à feuilles molles et étroites, tiges rougeâtres (Bassia).

- **B**. Buisson en boule, formé d'innombrables rameaux serrés les uns contre les autres en une masse compacte, dure et hérissée de petites épines, vert-pâle (Fredolia).
 - C. Plante n'ayant pas les caractères précédents.

1-Feuilles opposées :

- I -Feuilles soudées l'une à l'autre dans chaque paire, sur leur plus grande longueur, formant ainsi des fourreaux qui entourent les rameaux et leur donnent un aspect articulé.
- **A**. Périanthe non ailé à maturité; fleurs par groupes de trois à l'aisselle de chaque bractée; 1 ou 2 étamines.
- 1- Bractées florales non soudées deux à deux; 1 étamine. (Halocnemum)
- **2-** Bractées florales soudées par paires comme les feuilles, de sorte que les fleurs paraissent insérées au fond de cupules; 2 étamines.
- **1**°) Epi floral de plus de 5 mm de diamètre; chaque groupe de trois fleurs inséré dans une fossette unique (Arthrocnemum).
- 2°) Epi floral de moins de 5 mm de diamètre; chaque fleur dans une fossette (Salicornia).
- **B**. Périanthe ailé à maturité.
 - 1. Graine verticale (Anabasis).
 - 2. Graine horizontale (Haloxylon).
- **II** Feuilles non soudées entre elles.
- A-Périanthe non ailé à maturité, mais transformé en une coque dure (Nucularia).
- **B**-Périanthe ailé à maturité (Salsola).

2-Feuilles alternes:

- A.Périanthe non ailé à maturité.
 - 1. Périanthe induré à maturité, formant une coque autour du fruit. (Traganum).
 - 2. Périanthe non induré à maturité.
 - 1°) Feuilles dures, épineuses (Cornulaca).
 - **2**°) Feuilles molles, charnues, non piquantes (Suaeda).
 - A. Périanthe ailé à maturité.
 - 1. Graine horizontale (Salsola).
 - **2**. Graine verticale.
 - 1°) Fruit entouré de deux ailes, provenant des deux pièces périanthaires

externes (Agathophora).

2°) Fruit entouré de cinq ailes (Halogeton). [2]

I-2-Description botanique du genre Bassia

Ce genre compte quelque vingt-six espèces d'annuelles et de vivaces, dont la vaste aire de distribution couvre les régions tempérées chaudes de l'hémisphère Nord. Ce sont des plantes sans grand intérêt ou des adventices.

L'une d'elle est cependant parfois cultivée pour son feuillage délicat. Rappelant celui du cyprès, et son port fourni. Le genre fait partie de la famille de l'arroche (chénopodiaceae) et la plupart de ses espèces croissent en habitat assez salin. Leur port est arbustif, et leurs branches rameuses portent de petites et étroites feuilles charnues, les menues fleurs paraissant à l'aisselle des feuilles passent souvent inaperçues.

Culture : facile à obtenir en tout sol léger, bien drainé, au soleil, l'espèce cultivée exige de l'eau au printemps et en début d'été. Laisser un peu sécher, à partir du milieu de l'été, pour obtenir un feuillage plus coloré. Multiplier par semis sous abri à la fin de l'hiver.

[3]

I-3- Métabolites secondaires isolés des plantes Chenopodiaceae

Une recherche bibliographique exhaustive réalisée sur les plantes de la famille Chenopodiaceae, montre que cette dernière a été très étudiée chimiquement.

Les structures de différentes molécules isolées de cette famille citée dans le tableau suivant :

Tableau 1: Métabolites secondaires isolés de la famille Chenopodiaceae

Nom du composé	Structure	Plante	Réf
3,4-dihydroxy cinnamic acide	HO (CH ₂) ₂₁ CH ₃	Halocnemum strobilaceum	[4]

3-O-β-D- xylopyranosyl-(1 → 2)-O-β-D- glucuronopyranosyl akebonic acid 28-O-β- D-glucopyranoside	HOOC HO OH HO OH	Salsola imbricata	[5]
3-O-β-D- xylopyranosyl-(1 2)-O-β-D- glucuronopyranosyl- 29-hydroxyoleanolic acid 28-O-β- D- glucopyranoside	HOOC OH OH HO OH		
Quercetin-4'-O-β-D-galactoside	OH OR ₁ OH OR ₂	Cornulaca monacantha	[6]
Luteolin-7-O-rhamnoside	R_1 =Galactose , R_2 =OH, R_3 =H R_3 O R_2 OH R_3 O R_2 OH R_3 O R_2 OH R_3		

Luteolin-7-O-	QН		
glucoside	$\bigcirc OR_1$		
	$R_{3}O$		
	R_2		
	Y Y2		
	он Д		
	U	Cornulaca	
		monacantha	[6]
	R ₁ =H, R ₂ =H, R ₃ =Glucose CH ₂ OR ₅		[O]
Monacanthin A	CH ₂ OR ₅		
	R_4O		
	R_3O OR ₁		
	OR_2		
	ДОН		
	·		
	0		
	$R_1=R_2=R_3=R_4=$ OH		
	$\mathbf{R}_1 = \mathbf{R}_2 = \mathbf{R}_3 = \mathbf{R}_4 = \mathbf{C}$		
	ОН		
	ОН		
	0		
	P - / - / OM		
	$R_{5}=$ OH		
Monacanthin B	CH ₂ OR ₅		
	R_4O		
	N 40		
	$R \cap $		
	R_3O OR ₁		
	OR_2		
	OH		
	0		
	$R_1=R_2=R_3=$ OH		
	ОН		
	R ₄ =H		
	OH		
	0		
	R ₅ =OH		
	//		

Penta-O-galloyl- β -D-glucose $R_4O \longrightarrow O \\ R_3O \longrightarrow OR_1 \\ OH \\ OH \\ Cornulaca \\ monacantha$ $[6]$ $1,2,3,6\text{-tetra-O-} \\ \text{galloyl-}\beta$ -D-glucose $R_4O \longrightarrow O \\ R_1=R_2=R_3=R_4=R_5= \\ OH \\ OH$ $R_1=R_2=R_3=R_5= \\ OH$
$\begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$
$R_{1}=R_{2}=R_{3}=R_{4}=R_{5}= $
$R_{1}=R_{2}=R_{3}=R_{4}=R_{5}= $
$R_{1}=R_{2}=R_{3}=R_{4}=R_{5}= $
$R_{1}=R_{2}=R_{3}=R_{4}=R_{5}= $
$\begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$
$\begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$
$\begin{array}{c c} & & & & & & & & & & & & & & & & & & &$
$\begin{array}{c c} & & & & & & & & & & & & & & & & & & &$
$1,2,3,6$ -tetra-O- galloyl- β -D-glucose R_4O OH R_3O OH
R_4O O O O O O O O O O
galloyl- β -D-glucose R_4O O OR_2 OR_1 O
R_3O OR_2 OH
OR ₂ OH OH
OR ₂ OH OH
OR ₂ OH OH
ОН
0
$R_1=R_2=R_3=R_5=$ OH
\ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \
ОН
$R_4=H$
Patuletin-3-O-β-
gentiobioside
ОН
но
HO O
H ₃ CO Chenopodium
OH O foliosum Asch [7]
o
ОН
\mathbf{o}
$O \mid \overline{HO}$
OH OH
HQ OH OH
HO
HO

		T	
6-methoxykaempferol-3-O-β-D-gentiobioside	HO OH OH OH		
	он ^{но} R=H		
	N-11		
Spinacetin-3-O-β-gentiobioside	HO OH OOH OOH	Chenopodium foliosum Asch	[7]
	HO OH OH OH		
	D. O.GYY		
Gomphrenol-3-O-β-D-gentiobioside	R=OCH ₃		
	HO OH OH		
	R=H		

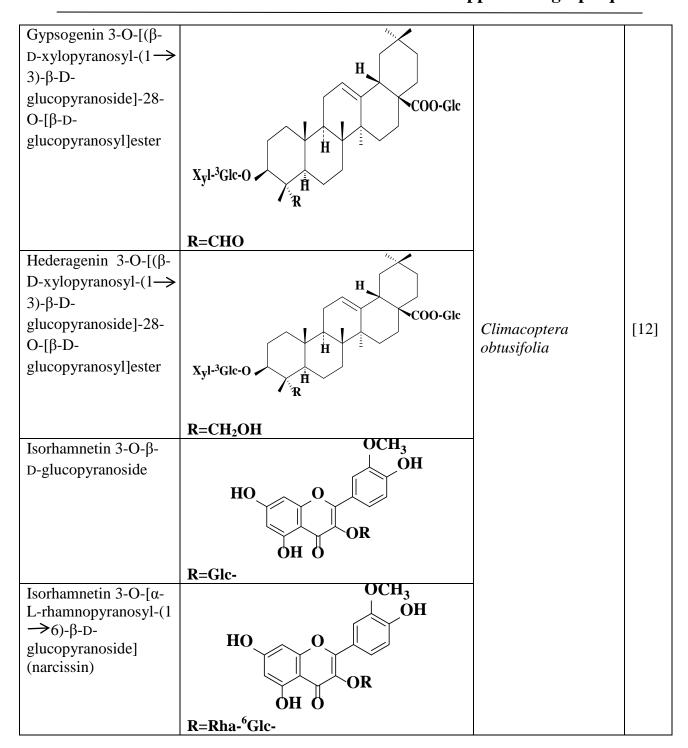
6,7-methylenedioxy- 3,5,4'- trihydroxyflavone 3- O-α-L- rhamnopyranosyl-(1 →2)(β-D- glucopyranosyl-(1→ 6)-β-D- glucopyranoside	HO OH OH OH	Chenopodium foliosum Asch	[7]
N-trans-feruloyl 4'-O-methyldopamine N-trans-feruloyl 3'-O-	R ₂ 3' R ₃ R ₃ R ₁ R=R ₂ =OH R ₁ =R ₃ =OCH ₃	- Chenopodium album	[8]
methyldopamine	$R=R_3=OH$ $R_1=R_2=OCH3$		

N-trans-feruloyl tyramine	$\begin{array}{c c} R_2 \\ 3' \\ R_3 \\ R_1 \end{array}$		
	$R=R_3=OH$ $R_1=OCH_3$ $R_2=H$		
N-trans-4-O- methylferuloyl 3',4'-O- dimethyldopamine	$\begin{array}{c c} R_2 \\ 7 & 0 \\ 7 & 9 & N \\ R & 3 \\ R_1 \end{array}$	Chenopodium album	[8]
	D D D OCH		
	$R=R_1=R_2=R_3=OCH_3$		
N-trans-4-O- Methylcaffeoyl 3'-O- methyldopamine	$\begin{array}{c c} R_2 \\ 7 & 0 \\ R & 3 \\ R_1 \end{array}$		
	$R=R_2=OCH_3$ $R_1=R_3=OH$		
N-trans-4-O- Methylferuloyl 4'-O- methyldopamine	$\begin{array}{c c} R_2 \\ 7 \\ 9 \\ N \\ 7' \end{array}$ $\begin{array}{c} R_3 \\ 4' \end{array}$ $\begin{array}{c} R_3 \\ R_1 \end{array}$		
	$R=R_1=R_3=OCH_3$ $R_2=OH$		

N-trans-Feruloyl tryptamine	HO OCH ₃	Chenopodium album	[8]
3β-[(O-β-D-glucopyranosyl-(1 → 3)-α-L-arabinopyranosyl) oxy]-23-oxo-olean-12-en-28-oic acid β-D-glucopyranoside	29 30 12 18 22 HO OH 24 6 27 CHO 28 R=β-D-Glc(1-3)-α-L-Ara		
3)-α-L- arabinopyranosyl) oxy]-27-oxo-olean- 12-en-28-oic acid β-D- glucopyranoside	Results a substitute of the s	Chenopodium quinoa Willd	[9]
3-O-α-L- arabinopyranosyl serjanic acid 28-O-β- D-glucopyranosyl ester	COOCH ₃ COOCH ₃ COO HO OH OH HO		
	R=α-L-Ara		

	TANA.	T	
3-О-β-D-	COOCH ₃		
glucuronopyranosyl			
serjanic acid 28-O-β-			
D-glucopyranosyl	дор НО		
ester	COO		
ester	HO		
	HO/		
	RO		
	R=β-D-GlcA		
		Chenopodium quinoa	[9]
3-Ο-β-D-	COOCH ₃	Willd	[2]
glucopyranosyl-(1 ->		***************************************	
2)- β-D-			
II =			
glucopyranosyl- (1 ->	C00 H0		
3)-α-L-			
arabinopyranosyl	ООН		
serjanic acid 28-O-β-	H0/		
D-glucopyranosyl	RO		
ester			
	•		
	R= β-D-Glc(1 \longrightarrow 2)- β-D-Glc(1 \longrightarrow 3)-α-		
	L-Ara		
	2		
Kaempferol 3-O-α-L-	OH		
rhamnopyranoside-7-			
Ο-β-D-	R_2O		
xylopyranosyl(1→2)-			
O-α-L-	OR ₁		
rhamnopyranoside	он О		
	, and the second		
		Chenopodium	[10]
	ОН	murale	
	$\mathbf{K}_1 = \langle \ \rangle$		
	0-0H CH ₃ OH		
	H ₃ C 70		
	HO /		
	$R_2 = MO$		
	$\mathbf{o} \overset{\mathbf{o}}{\nearrow}$		
	но он		
	110		

kaempferol	, ОН		
quercetin	НО О ОН ОН	- Chenopodium murale	[10]
	он о		
Kaempferol-3,7-dirhamnoside	Rha-O OH OR OH		
	R=Rha		
Kaempferol-3-O-β-D-	Rha-O OH		
glucopyranoside-7-O-	Kila-O O		
α-L- rhamnopyranoside	OH O		
	R=Glu		
Kaempferol-3-O-[4-β- D-apiofuranosyl]-α-L- rhamnopyranoside-7- O-α-L- rhamnopyranoside	H ₃ C OH OH OH OH CH ₃	Chenopodium murale	[11]
	НО ОН Н ОН ОН ОН		
Kaempferol-3-O-[4-β- D-xylopyranosyl]-α- L-rhamnopyranoside- 7-O-α-L- rhamnopyranoside	H ₃ C O O O H CH ₃ OH OH O-R		
	R=Xyl		



I-4-Métabolites secondaires isolés du genre Bassia

Le genre *Bassia* fait partie de la famille Chenopodiaceae dont les représentants, de part leur intérêt économique et thérapeutique, ont fait l'objet de nombreuses études phytochimiques. Néanmoins, vu le nombre d'espèces non encore étudiées, ce genre constitue

encore une source importante des produits naturels tels que les saponines, les flavonoïdes et d'autres métabolites secondaires.

Voici quelques exemples de molécules des principales classes de métabolites secondaires dans le genre *Bassia*.

Tableau 2: Métabolites secondaires isolés du genre Bassia

Nom du composé	Structure	Plante	Réf
Madlongiside A	H ₃ C CH ₃ OH OH HO HO HO HO HO HO HO HO		
Madlongiside B	HO HO OH HO OH HO OH OH HO OH	Bassia (Madhuca) longifolia	[13]
Madlongiside C	H ₃ C CH ₃ OH OH OH HO H ₃ C H OH OH OH		

Madlongiside D	H ₃ C CH ₃ H C OH OH OH OH OH OH OH OH OH	Bassia (Madhuca) longifolia	[13]
Mi-saponin A	HO H		[13], [14], [15]
Mi-saponin A	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	Bassia butyracea	[13], [14], [15]

Butyroside C	HOOC O O O O O O O O O O O O O O O O O O		
Butyroside D	H ₃ C CH ₃ H ₀ CH ₃ OH OH OH HOOC OH OH HOOC OH OH HOOC OH	Bassia butyracea	[16]

	3,OH		1
Quercetin-3-O-			
(6"-caffeoyl)-	HO 7 O O		
sophoroside	4'		
	3		
	o O O O		
	HO 1" C_O 6"	Bassia	[17]
		muricata	
	HO\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\		
	HO HO		
	он о		
	HOOO		
	HOOH_1		
	R=H		
Quercetin-3-O-	3' OH		
(6"-feruloyl)-	110		
sophoroside	HO 7 O O		
sophorosiae			
	$0 \qquad \stackrel{5}{\text{OH}} \qquad 0$		
	о он о		
	HO 1" 6" 6"		
	HO_2"\\		
	HO \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \		
	HO		
	он о		
	0		
	НО		
	HO		
	R=Me		

Chapitre II Etude des Flavonoïdes et Triterpénoïdes

II-1-Les flavonoïdes:

II-1-1-Généralités:

Le nom flavonoïde proviendrait du terme flavedo, désignant la couche externe des écorces d'orange [18], cependant d'autres auteurs supposaient que le terme flavonoïde a été plutôt prêté du flavus ; (flavus=jaune) [19,20].

Les flavonoïdes ont été isolés par le scientifique E.Chervreul en 1814, mais ont été réellement découverts qu'en 1930 par Albert Szent-Györgyui, désignés sous le nom de vitamine P, en raison de leur efficacité à normaliser la perméabilité des vaisseaux sanguins, cette dénomination fut abandonnée lorsqu'on se rendit compte que ces substances ne correspondaient pas à la définition officielle des vitamines, il devient clair que ces substances appartiennent aux flavonoïdes [21].

Les travaux relatifs aux flavonoïdes sont multiples depuis la découverte du célèbre "french paradox" correspondant à un bas taux de mortalité cardiovasculaire observé chez les habitants des régions méditerranéennes, associant une consommation de vin rouge à une prise importante de graisses saturées [22,20]. Prés de 4000 flavonoïdes ont été décrits [23].

II-1-2-Structure:

Les flavonoïdes ont tous la même structure chimique de base, ils possèdent un squelette carboné de quinze atomes de carbones constitué de deux cycles aromatiques (A) et (B) qui sont reliés entre eux par une chaîne en C3 en formant ainsi l'hétérocycle (C) [24]. Généralement, la structure des flavonoïdes est représentée selon le système C6-C3- C6 [25] en formant une structure de type diphényle propane dont des groupements hydroxyles, oxygènes, méthyles, ou des sucres peuvent être attachés sur les noyaux de cette molécule [26,20].

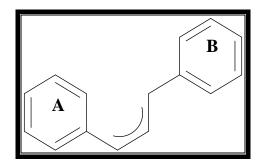


Figure II-1: Squelette de base des flavonoïdes

II-1-3-Classification:

La chaîne en C3 formante un hétérocycle après condensation avec un OH phénolique du noyau A [27]. La structure chimique des flavonoïdes reportée dans la figure (II-2) contient un squelette C15 constitué par un noyau chromane et un noyau aromatique placé en position 2, 3 ou 4.

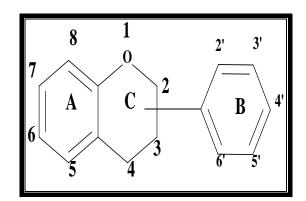


Figure II-2 : La structure chimique des flavonoïdes

Les flavonoïdes se répartissent en plusieurs familles de composés comme la figure (II-3) le montre :

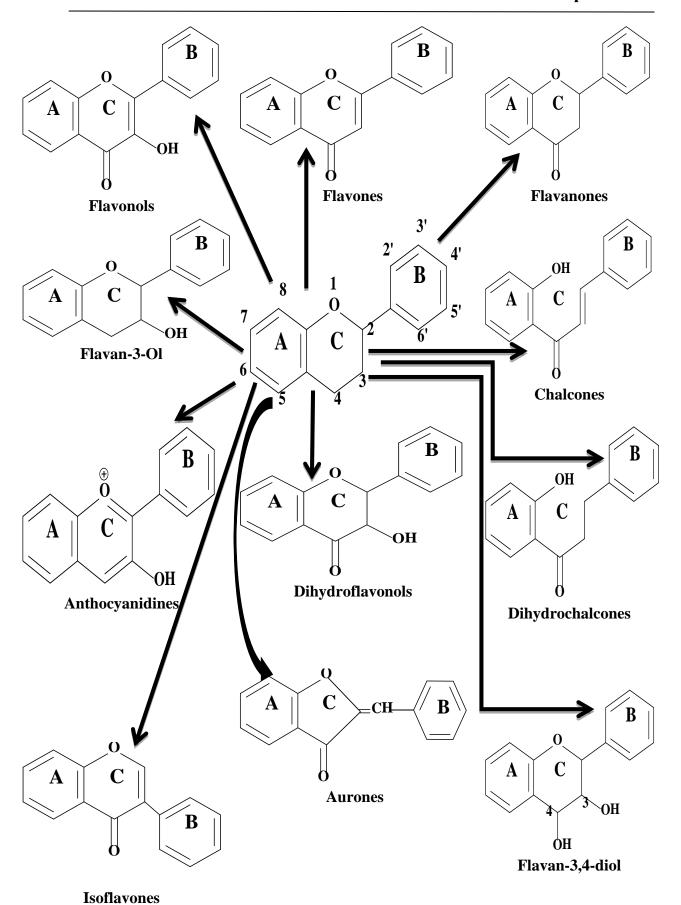


Figure II-3: Les differents familles des flavonoïdes

II-1-4-Localisation et distribution des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires des plantes. Ces molécules ont été identifiées dans presque toutes les parties de la plante : les feuilles, les racines, les tiges, les fleures , les graines et l'écorce [28]. Les flavonoïdes sont trouvés dans les fruits, les légumes, les noix, les herbes, les épices, aussi bien que dans le thé et le vin rouge. En effet, le thé, les agrumes, les pommes, l'huile d'olive, les oignons, le cacao et plusieurs autres fruits et légumes sont très riches en flavonoïdes, les flavanols et les flavonols y seraient les plus abondants [29].

II-1-5-Effets biologiques et pharmacologiques des flavonoïdes

La principale propriété, initialement attribuée aux flavonoïdes, est d'être vasculoprotectrices et vagotoniques, car ils sont capables de diminuer la perméabilité des capillaires sanguins et de renforcer leur résistance [30]. Actuellement, les flavonoïdes sont connus par de remarquables activités pharmaco biologiques comme entre autres des effets, antivirales, antimicrobiens et anticancéreux [26,31] antiallergiques, anti-inflammatoires, anti-thrombotiques, anti-tumoraux et hépato protecteurs [32]. Ces activités sont attribuées en partie aux propriétés anti-oxydantes de ces composés naturels.

II-1-6-Propriétés physiques

En générale, les hétérosides flavoniques sont hydrosolubles et solubles dans les solvants polaires (acétone, alcools) et dans l'eau. Bon nombre d'entre eux ont une hydrosolubilité plutôt faible (rutoside, hespéridoside).

Pour la plupart, les génines sont solubles dans les solvants organiques apolaires, lorsqu' elles ont au moins un groupe phénolique libre. Elles se dissolvent bien dans les solutions d'hydroxydes alcalins [33,34,35].

II-1-7-Biosynthèse des flavonoïdes

L'étape clé de la formation des flavonoïdes consiste en la condensation de trois molécules de malonyl-CoA avec un ester du coenzyme A et d'un acide hydroxycinnamique, en règle générale le 4-coumaroyl-CoA, aboutissant à la 4,2,4',6'-tetrahydroxychal cone par catalyse au moyen de la chal cone synthase. Cette chal cone s'isomérise en flavanone par effet de la chal cone isomérase qui induit une cyclisation stéréospécifique conduisant à la seule

(2S)-flavanone. Cette chalcone peut aussi se cycliser en aurone. Elle est le précurseur de toutes les classes de flavonoïdes [36] (Figure II-4).

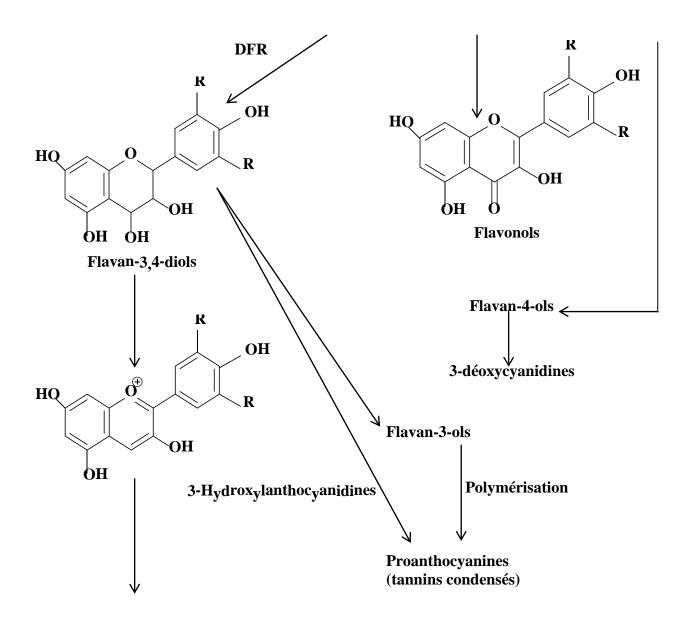


Figure II-4: Schéma de la biosynthèse des flavonoïdes

CS: chalcone synthase; CI: chalcone isomérase; F3H: Flavanone 3-hydroxylase; IFS: isoflavone synthase; DRF: dihydroflavonol reductase; FS: flavonol synthase; AS: anthocyanin synthase. R=-H, -OH ou -OCH3 et OS = -O-sucre

II-2- Les triterpenes

II-2-1- Introduction

Les triterpènes sont des composés en C30. De la famille des terpènes. Ils sont très répandus dans le royaume des plantes et des animaux, où ils se produisent à l'état libre comme esters, ou comme glycosides. Ils peuvent être répartis en trois groupes : acycliques; tetracycliques et pentacycliques.

Parmi ces groupes, la famille des triterpènes tétracycliques présente une importance particulière par son homogénéité et surtout par ses rapports étroits avec les stéroïdes [37], Leur structure de base commune est le noyau stérane [38]. Les triterpènes et leurs dérivés sont intégralement biosynthétisés par tous les êtres vivants avec deux exceptions : les bactéries qui ne les utilisent pas et les insectes qui les empruntent aux plantes souvent de façon spécifique puis les transforment [39].

Les principaux produits triterpéniques sont:

a- Triterpènes acycliques

b-Triterpènes tétracycliques

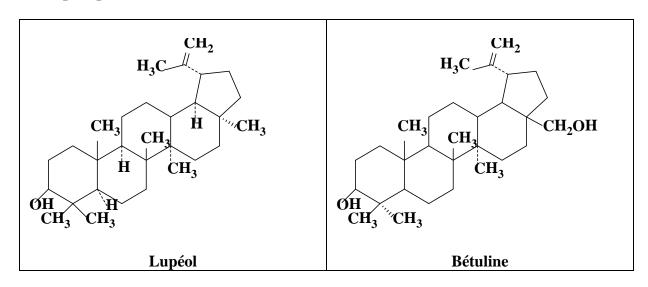
c- Triterpènes pentacycliques

Groupe α -Amyrine

Etude des Flavonoïdes et Triterpénoïdes

Groupe β-Amyrine

Groupe lupéol



II-2-2- Biosynthèse des triterpènes

La diversité des structures des composés terpéniques rend délicate toute tentative de généralisation quant à leur biogenèse. Toutefois, Il est important de rappeler que la biosynthèse des terpènes est conditionnée par la mise à contribution de trois séquences réactionnelles fondamentales [30-41] :

- formation de " l'isoprène actif " à partir de l'acétate via l'acide mévalonique
- couplage " tête à queue " des unités en C5 justifiant l'existence des mono, sesqui, di et polyterpènes.
- couplage queue à queue des unités en C15 ou C20 formant des triterpènes et tétraterpènes.

1ère étape :

Condensation aldolique de l'acétyl coenzyme-A sur l'acétoacétyl coenzyme-A [42] :

2éme étape :

Réduction (irréversible) par le NADPH en acide 3R-mévalonique (MVA) [43] :

3ème étape :

Conversion du MVA en isopenténylpyrophosphate (IPP) par phosphorylation suivie d'une décarboxylation assistée (élimination E2) par le départ du groupe phosphate [44] :

isopenténylpyrophosphate (IPP)

4ème étape:

Isomérisation de l'IPP en pyrophosphate d'isopentén-3-yle ou le diméthylallylpyrophosphate (DMAPP) [45] :

Pour finir, l'isoprène synthase, une enzyme en marge de ce processus biosynthétique localisée au niveau des chloroplastes catalyse l'élimination du motif diphosphate du DMAPP en le transformant en isoprène, un hémiterpène émis par les plantes et qui a en réalité une action protectrice [46] :

Après l'isomérisation de l'IPP en DMAPP, cette dernière molécule est condensée avec une, deux ou trois unités d'IPP, par l'intermédiaire de prényltransférases et permet respectivement la formation de :

- géranyl diphosphate (GDP: C-10)
- farnésyl diphosphate (FDP: C-15)
- géranylgéranyl diphosphate (GGDP: C-20).

Ces trois prényl-diphosphates acycliques subissent de nombreux réarrangements pour conduire aux squelettes carbonés parents de chaque classe de terpénoïdes. Ainsi, le GDP permet la formation des monoterpènes. Le FDP conduit aux sesquiterpènes et triterpènes et enfin le GGDP aux diterpènes et tétraterpènes [30,40].

Le couplage queue-à-queue de deux unités en C-15, farnésylpyrophosphate (FPP) suivi d'une oxydation permet l'élaboration de l'époxysqualène, précurseur des triterpènes et stéroïdes [30-41] (Figure II-5).

Figure II-5: Formation du squalène

L'ouverture de l'époxyde amorce la cyclisation, l'enzyme responsable de cette cyclisation stabilise la conformation du polyisoprène de telle sorte que les impératifs stéréoélectroniques soient entièrement respectés. C'est de la conformation initiale de l'époxysqualène sur la surface de l'enzyme que dépend l'orientation de la biosynthèse vers les triterpènes tétra- ou pentacycliques. L'époxysqualène adopte la conformation chaise-chaise-chaise-bateau, la cyclisation aboutit par conséquent à un autre cation appelé dammaranyle. Ce dernier peut évoluer afin de donner naissance aux triterpènes tétracycliques et pentacycliques (Figure II-6).

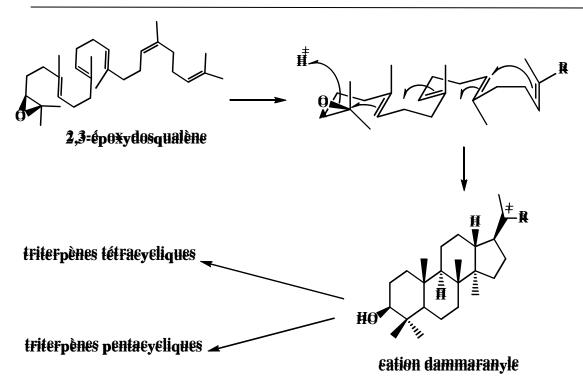


Figure II-6: Schéma de biogenèse des triterpènes tétra- et pentacycliques

II-2-3- Intérêts des triterpènes

L'utilisation industrielle et l'intérêt thérapeutique des triterpènes et stéroïdes représentent un enjeu capital dans le domaine de la recherche des substances naturelles. Les propriétés pharmacologiques diverses [30,41] attribuées à ces composés ont permis leur classement en tant qu'un groupe de métabolites secondaires de grande importance. Ces composés manifestent entre autres :

- des potentialités thérapeutiques dans les différents domaines : cytostatiques, antiinflammatoires, analgésiques, insecticides, molluscicides,etc.
- -un intérêt considérable dans le secteur de l'industrie pharmaceutique particulièrement la production de médicaments stéroïdiques ayant des propriétés : contraceptifs, anabolisants, antiinflammatoires,...etc.
- un intérêt thérapeutique concernant l'extraction des molécules bioactives, pour l'obtention des formes galéniques simples ou pour celle de préparation phytothérapique.
- une importance économique du fait de leur utilisation dans les industries agroalimentaires.

Chapitre III

Etude phytochimique de l'espèce

Bassia muricata (L.)

Etude phytochimique de l'espèce Ba	issia muricata (L.) Ascherson
------------------------------------	-------------------------------

III-1-Rappel botanique

L'espèce *Bassia muricata* (*L*) (FigureIII-1) est une plante velue, très rameuse, à tiges couchées, feuilles grises, étroites velues ; fleurs par deux à l'aisselle des feuilles, comprenant un ovaire à deux styles, cinq étamines et un calice laineux dont chaque sépale porte sur son dos une épine jaunâtre qui s'allonge beaucoup à maturité. — Commun dans tout le Sahara, surtout dans les sols argileux. [2]





Figure- III-1: Photograhie de Bassia muricata (L.) Ascherson





Coupe longitudinale d'une fleur de Bassia, très grossie, passant par l'axe de la corne d'un sépale.



Calice fructifère montrant les cornes des sépales développées en longues épines.

Figure-III-2: Bassia muricata (L.) Ascherson. d'après Ozenda

Les systématiciens de la botanique s'accordent à classer cette espèce comme suit :

Règne	Plantae
Sous-Règne	Tracheobionta
Enchainement	Spermatophyta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Caryophyllidae
Ordre	Caryophyllales
Famille	Chenopodiaceae

Genre	Bassia
Espèse	Bassia muricata (L.)
Synonymes	Echinopsillon muricatus (L) , Salsola muricata L

Utilisation en médecine traditionnelle

La plante *Bassia muricata* est utilisée en médecine traditionnelle pour traiter les maladies rénales et rhumatismales.

III-2-Extraction

Les parties aériennes de la plante *Bassia muricata* sont séchées puis finement broyées. (1200g) de la poudre obtenue mis à macérer à températeur ambiante dans un mélange (Methanol /Eau :80/20) pendant 48 heures. Cette macération est répétée trois fois avec un renouvellement du solvant. Après filtration et concentration à chaque fois non à sec à températeur de 40 °C, la phase aqueuse obtenue subit une série d'extraction successives de type liquide-liquide par des solvants de polarité croissante : éther de pétrole puis par le chloroforme et enfin par le *n-butanol* .

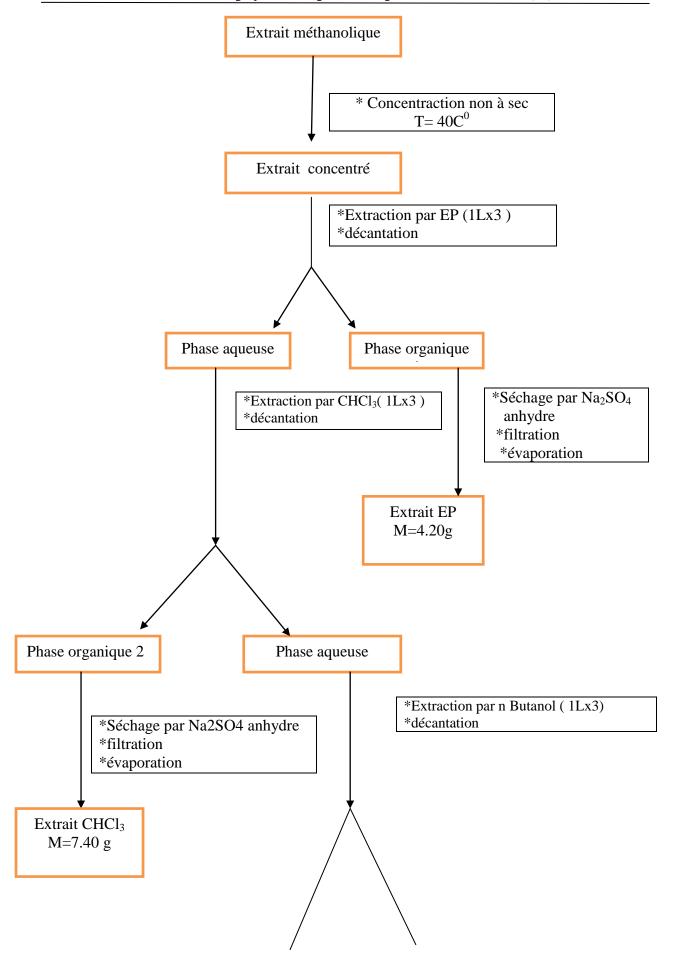
Les trois phases organiques récupérées sont séchées avec du Na₂SO₄ anhydre puis filtrées, concentrées sous pression réduite à sec et pesées. On obtient :

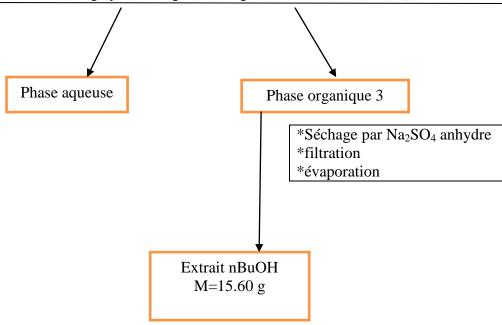
- 4.20 g de l'extrait éthéropétrolique à rendement 0.35%
- 7.40 g de l'extrait chloroformique à rendement 0.62%
- 15.60 g de l'extrait butanolique à rendement 1.30 %

Le schéma suivant montre les opérations d'extraction de notre plante « parties aériennes de *Bassia muricata*» (FigIII-3)

Poudre de la plante
Bassia muricata 1200 g

* Macération trois fois dans (MeOH/H₂O 80/20%)
48h à chaque macération
*filtration





III -3 : protocole d'extraction des parties aériennes de la plante Bassia muricata (L.)

III-3-Séparation et purification des composés

On utilise les différentes méthodes chromatographiques au laboratoire :

- chromatographique liquide sous vide sur silice normale VLC.
- Chromatographique sur colonne de gel de silice en phase normale CC.
- Chromatographie sur plaque préparative en phase normale CPP.
- Chromatographique sur colonne de séphadex LH-20.

III-3-1-Séparation et purification des composants de l'extrait chloroformique

L'extrait CHCl₃ (7.40 g) est soumis à un fractionnement par une chromatographique liquide sous vide (VLC) sur silice normale ,en utilisant des gradients d'élution (Ep /ACOEt) et (ACOEt/MeOH) allant de $(0\% \ à \ 100\%)$ et $(0\% \ à \ 40\%)$ respectivement. On obtient 11 fractions.

III-3-1-1-Elucidation structurale du composé BM₁

24-éthylcholest-5-èn-3-ol (β-sitostérol)

Le composé BM_1 est le 24-éthylcholest-5-èn-3-ol, un stéroïde nommé communément β -sitostérol, se présente sous forme d'une poudre blanche, soluble dans le chloroforme, et se colore sur CCM en rose après révélation par l'acide sulfurique et chauffage.

Les spectres de masse du composé BM_1 obtenues en ionisation par ESI (Electrospray), enregistrés en mode négatif (Figure III-4) et mode positif (Figure III-5), présentent des pics d'ions pseudomoléculaires à $m/z = 413 \, [\text{M-H}]^-$ et 437 $[\text{M+Na}]^+$ respectivement, correspondant à une masse moléculaire de 414 uma et une formule brute en $C_{29}H_{50}O$.

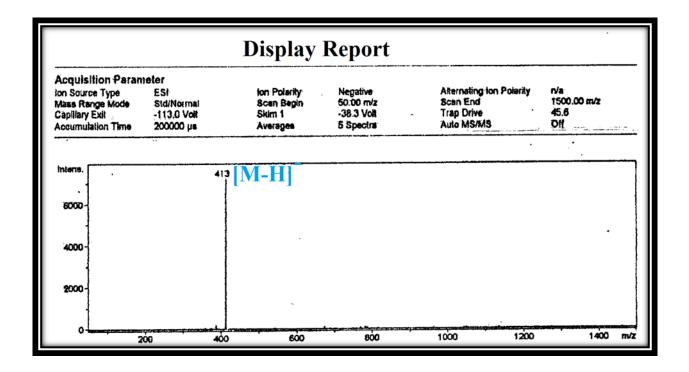


Figure III-4: Spectre de masse ESI-MS (mode négatif) du composé BM₁

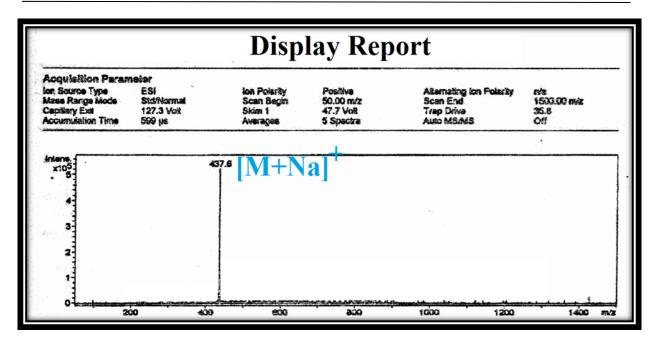


Figure III-5 : Spectre de masse ESI-MS (mode positif) du composé BM₁

Le spectre MS/MS en mode positif (Figure III-6), du pic de l'ion pseudo-moléculaire à $m/z = 437 \, [\text{M+Na}]^+$ révèle un pic de fragmentation à m/z = 405, soit une différence de 32 uma indiquant le départ des groupements CH₃ et OH, ce qui est largement attendu pour les stérols.

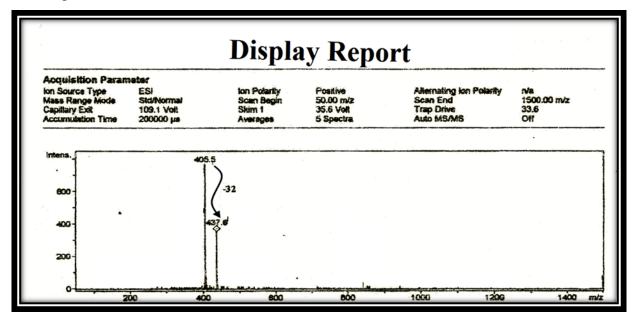


Figure III-6 : Spectre de masse MS/MS (mode positif) du composé BM₁

Le spectre RMN 13 C J-modulé (Figure III-7) montre la présence de 29 atomes de carbones, dont six signaux méthyles résonnant à : 11,8 ppm , 12,0 ppm , 18,8 ppm , 19,8 ppm

19,4 ppm , 19,0 ppm attribués aux méthyles suivants : CH_3 -18 , CH_3 -29 , CH_3 -21 , CH_3 -26 , CH_3 -19 , CH_3 -27.

Et montre également :

- trois carbones quaternaires à : δ_C = 140, 7 ppm, δ_C = 42, 3 ppm et à δ_C = 36, 5 ppm correspondant respectivement aux : C-5, C-13, C-10.
- le carbone C-3 prend la fonction OH apparaît à $\delta_C = 71, 8$ ppm.
- un signal caractéristique du carbone oléfinique C-6 résonne à δ_C = 121, 7 ppm.

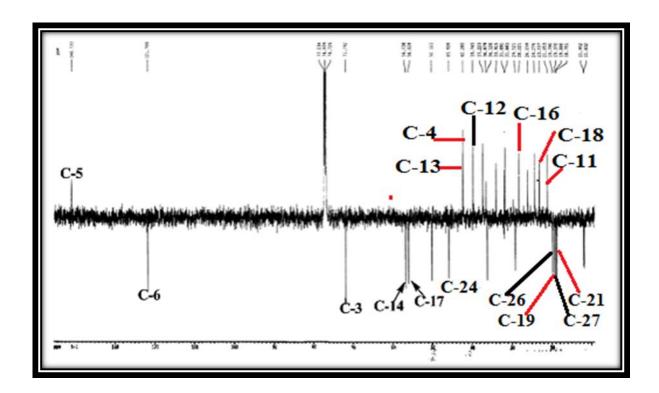
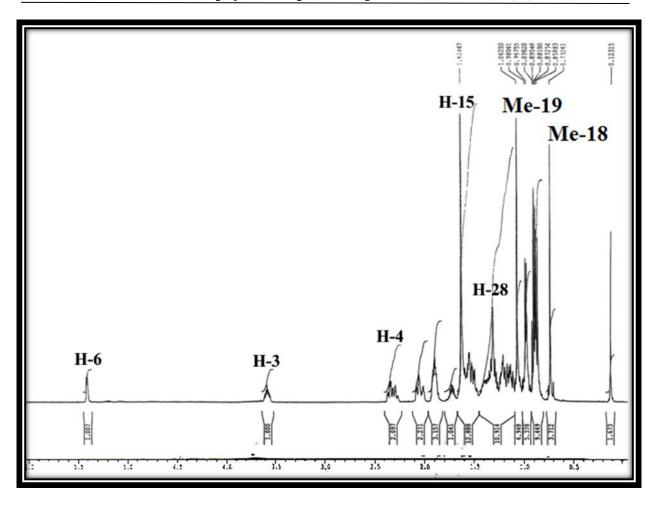


Figure III-7: Spectre RMN ¹³C J-modulé du composé BM1

Le spectre RMN ¹H montre la présence de :

- Deux signaux singlets résonnent à δ_H = 0,74 ppm, δ_H = 1, 06 ppm correspondant respectivement aux deux méthyles : CH₃-18, CH₃-19.
- un doublet à δ_H = 0,93 ppm correspondant au groupement CH₃-21.
- -deux signaux doublets et un signal triplet à $\delta_H=0.88$ ppm, 0.87 ppm, 0.89 ppm correspondant respectivement aux méthyles : CH₃-26, CH₃-27, CH₃-29.
- -Un signal multiplet à δ_H =1 ,31ppm correspondant d'un proton H-28.
- un signal doublet de doublet à $\delta_H = 5,40$ ppm caractéristique d'un proton oléfinique H-6.
- -On observe un signal triplet de triplet résonne à $\delta_H=3$, 58 ppm caractéristique d'un proton H-3.



FigureIII-8 : Spectre RMN¹H du composé BM1

D'autre part l'expérience COSY H-H montre les couplages:

* H₂-1 (1,90 H-1a; 1,13 H-1b) ppm /H₂-2 (1,88 H-2a; 1,56 H-2b) ppm /H-3(3,58 ppm) / H₂-4 (2,34 H-4a; 2,30 H-4b) ppm.

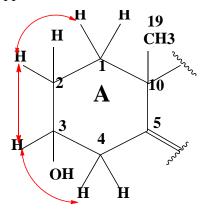


Figure III-9: Corrélations COSY du cycle A

^{*} H-6 (5,40 ppm) / H_2 -7 (1,50 ppm) /H-8 (2,03 ppm) / H-9 (0,98 ppm).

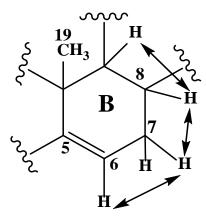


Figure III-10: Corrélations COSY du cycle B

* H-9/ H_2 -11 résonant à 1,55 ppm (H-11a) et 1,50 ppm (H-11b) et H_2 -11/ H_2 -12 à 2,06 ppm (H-12a) et 1,21 ppm (H-12b).

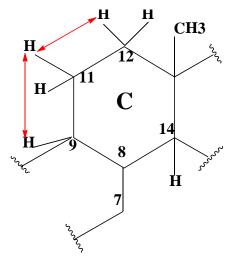


Figure III-11: Corrélations COSY du cycle C

* H-14 (1,04 ppm)/H₂-15 (1,63 H-15a; 1,11 H-15b) ppm /H₂-16(1,89 H-16a; 1,30 H-16b) ppm /H-17 (1,16 ppm).

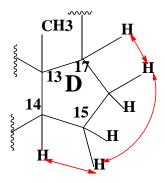


Figure III-12: Corrélations COSY du cycle D

* H-17 (1,16) ppm /H-20 (1,4) ppm /H₃-21 (0,93) ppm et H₂-22 (1,36 H-22a ; 1,07 H-22b) ppm /H₂-23 (1,21) ppm /H-24 (0,97) ppm /(H₂-28 (1,31) ppm /H₃-29 (0,89) ppm) et (H-25 (1,71) ppm /H₃-26 (0,88) ppm et H₃-27 (0,87) ppm).

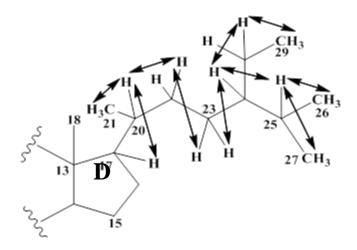
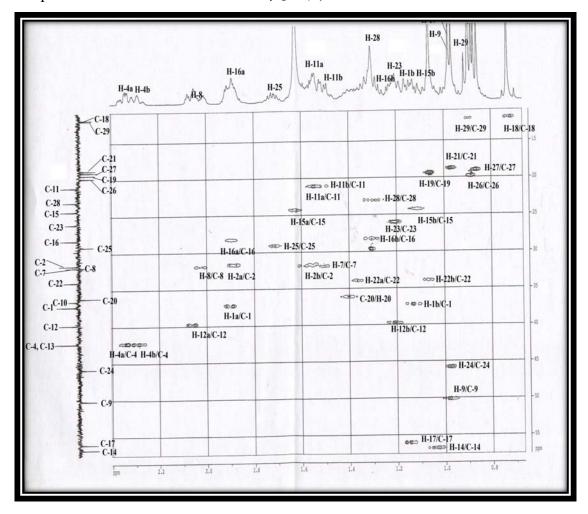


Figure III-13 : Corrélations COSY de la chaîne latérale du composé BM₁

A partir des protons identifiés par expérience COSY H-H , l'expérience HSQC J-modulé (Figure III-14) permet d'attribuer les déplacements chimiques des carbones du composé BM_2 . en effet, le spectre HSQC montre les couplages entre :

- Les deux protons H-1a et H-1b et leur carbone C-1 (δ_C 37,2).
- Les deux protons H-2a et H-2b et leur carbone C-2 ($\delta_{\rm C}$ 31,6).
- Les deux protons H-4a et H-4b et leur carbone C-4 (δ_C 42,3).
- Les deux protons H-11a et H-11b et leur carbone C-11 (δ_C 21,1).
- Les deux protons H-12a et H-12b et leur carbone C-12 ($\delta_{\rm C}$ 39,7).
- Les deux protons H-15a et H-15b et leur carbone C-15 ($\delta_{\rm C}$ 24,3).
- Les deux protons H-16a et H-16b et leur carbone C-16 (δ_C 28,2).
- Les deux protons H-22a et H-22b et leur carbone C-22 ($\delta_{\rm C}$ 33,9).
- Les protons H-7 et leur carbone C-7 (δ_C 31,9).
- Le proton H-8 et leur carbone C-8 (δ_C 31,8).
- Le proton H-9 et leur carbone C-9 (δ_C 50,1).
- Le proton H-14 et leur carbone C-14 (δ_C 56,7).
- Le proton H-17 et leur carbone C-17 ($\delta_{\rm C}$ 56,0).
- Les protons H-18 et leur carbone C-18 ($\delta_{\rm C}$ 11,8).
- Les protons H-19 et leur carbone C-19 (δ_C 19,4).
- Le proton H-20 et leur carbone C-20 ($\delta_{\rm C}$ 36,1).
- Les protons H-21 et leur carbone C-21 ($\delta_{\rm C}$ 18,8).
- Les protons H-23 et son carbone C-23 ($\delta_{\rm C}$ 26,0).
- Le proton H-24 et son carbone C-24 (δ_C 45,8).
- Le proton H-25 et son carbone C-25 (δ_C 29,1).
- Les protons H-26 et son carbone C-26 ($\delta_{\rm C}$ 19,8).

- Les protons H-27 et leur carbone C-27 ($\delta_{\rm C}$ 19,0).
- Les protons H-28 et leur carbone C-28 ($\delta_{\rm C}$ 23,0).
- Les protons H-29 et leur carbone C-29 (δ_C 12,0).



FigureIII-14: Spectre HSQC J-modulé du composé BM₁

Les protons H_2 -1 et H_2 -4 montrent en HMBC (Figure III-15) des corrélations en 2 J et 3 J avec deux carbones quaternaires résonant à δ_C 140,7 et 36,5 attribuables respectivement aux carbones C-5 et C-10, aussi ces deux protons corrèlent en HMBC avec les carbones C-2 et C-3. Les protons H_2 -1 couplent avec un carbone méthyle à δ_C 19,4 et δ_H 1,06 indiquant la présence du Me-19 au niveau du carbone C-10. Les protons du Me-19 corrèlent en HMBC avec deux carbones C-10 et un carbone méthine C-9.

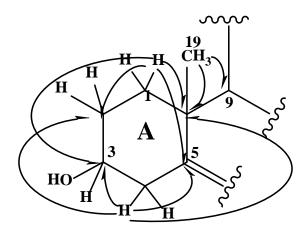


Figure III-15: Corrélations HMBC du cycle A

Le spectre HMBC (Figure III-16) montre une tache de corrélation entre le proton H-4 et un carbone éthylénique CH résonant à 121,7 ppm C-6. Les deux protons H-6 et H-9 corrèlent simultanément avec deux carbones dont un carbone secondaire CH₂ (C-7) à δ_C 31,9 et l'autre un carbone tertiaire CH (C-8) à δ_C 31,8.

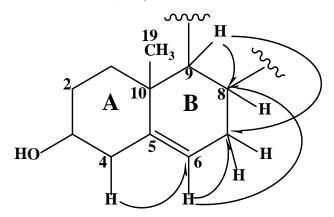


Figure III-16: Corrélations HMBC du cycle B

Les protons H_2 -7, H-9 et H_2 -12 couplent en 3J sur le spectre HMBC avec un carbone méthine C-14. les protons H-14 et H_2 -12 corrèlent avec un carbone quaternaire résonant à 42,3 ppm et un groupement méthyle à 11,8 ppm qui ne peuvent être que les carbones C-13 et C-18 respectivement.

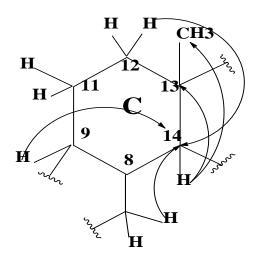


Figure III-17: Corrélations HMBC du cycle C

L'expérience HMBC (Figure III-18) montrant des corrélations entre le proton H-17 et les carbones C-12, C-13, C-18, les protons H_2 -16 et les carbones C-13 et C-17 conduit à la fermeture du cycle D.

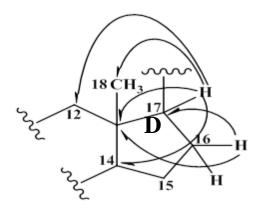


Figure III-18: Corrélations HMBC du cycle D

Le spectre HMBC (Figure III-19) présente des corrélations à longue distance C-H en 2 J , 3 J et 4 J relatives à la chaîne latérale entre :

*les protons du groupement Me-21 et les carbones C-17 (J³), C-20 (J²), C-22 (J³).

*les protons H₂-23 et les carbones C-20 (J³), C-22 (J²), C-24(J²), C-27(J⁴).

* le proton H-25 et les carbones C-23(J³), C-24(J²), C-26(J²), C-27(J²), C-28(J³).

*les protons H_2 -28 et les carbones C-24(J^2), C-25(J^3), C-29(J^2).

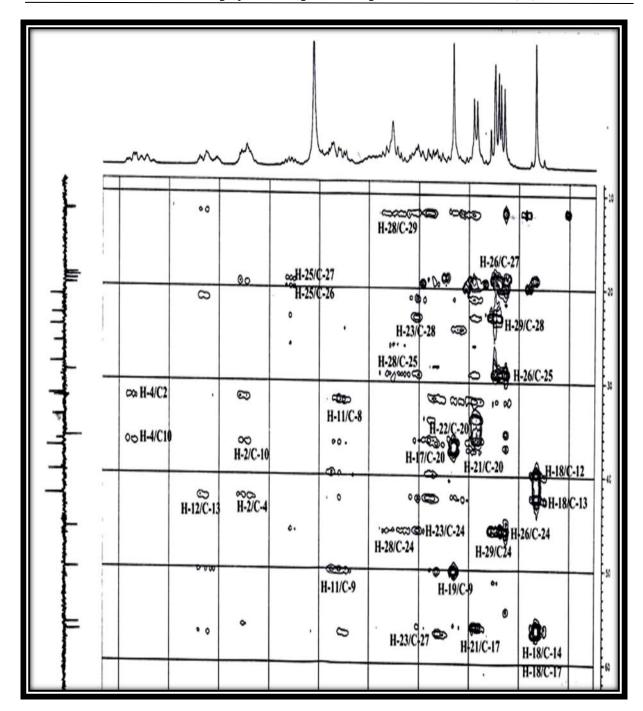
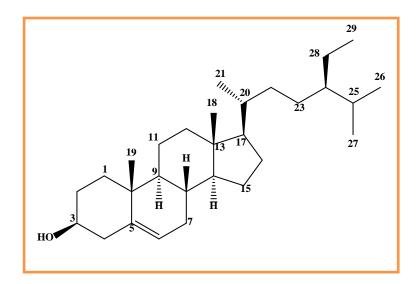


Figure III-19: Spectre HMBC du composé BM₂

L'ensemble de ces données et la valeur du pouvoir rotatoire de ce composé mesurée dans le chloroforme [α]_D= -30° (C= 0,80 g/100 ml), permettent d'attribuer sans ambiguïté pour ce composé la structure suivante: 24-éthylcholest-5-èn-3-ol ou β -sitostérol (**BM**₁).



Le β -sitostérol, seul ou en association avec d'autres phytostérols, diminue les niveaux sanguins du cholestérol. Enfin, plusieurs études montrent l'intérêt du β -sitostérol dans le traitement de l'hyperplasie de la prostate [47].

Tableau 3: Déplacements chimiques en RMN 1 H (500 MHz) et RMN 13 C (125 MHz) de BM $_{1}$ dans CDCl $_{3}$.

Position	δH m J Hz	δС
1	1,90 H-1a m; 1,13 H-1b m	37,2
2	1,88 H-2a m ; 1,56 H-2b m	31,6
3	3,58 tt 11,3 ; 5,3	71,8
4	2,34 H-4a <i>ddd</i> (13,0; 5,0; 2,0) , 2,30 H-4b <i>td</i> 11,0; 2,0	42,3
5	-	140,7
6	5,40 dd 5,2; 2,3	121,7
7	1,50 m	31,9
8	2,03 td 12,1; 2,4	31,8
9	0,98 m	50,1
10	-	36,5
11	1,55 H-11a m; 1,50 H-11b qd 10,8; 4,6	21,1
12	2,06 H-12a dt 12,8; 3,6 ; 1,21 H-12b m	39,7
13	-	42,3
14	1,04 m	56,7
15	1,63 H-15a m; 1,11 H-15b tm 11,2	24,3
16	1,89 H-16a m; 1,30 H-16b m	28,2
17	1,16 t 10,0	56,0
18	0,74 s	11,8

19	1,06 s	19,4
20	1,4 m	36,1
21	0,93 d 6,5	18,8
22	1,36 H-22a m; 1,07 H-22b m	33,9
23	1,21 m	26,0
24	0,97 m	45,8
25	1,71 m	29,1
26	0,88 d 6,9	19,8
27	0,87 d 6,9	19,0
28	1,31 m	23,0
29	0,89 t 7,4	12,0

III-3-2-Séparation et purification des composants de l'extrait Butanolique

L'extrait butanolique (15.6 g) est soumis à un fractionnement par une chromatographie liquide sous vide sur silice normale, en utilisant des gradients d'élution (CHCl $_3$ /MeOH) allant de (0½ à 100½). On obtient 16 fractions.

III-3-2-1-Elucidation structurale du composé BM₂

Il s'agit d'une saponine stéroïdique, β -sitostéryl 3β -D-glucopyranoside (BM_2) connu sous le nom Daucostérol. se présente sous forme d'une poudre blanche, soluble dans le mélange méthanol et chloroforme, et se colore sur CCM en violet après révélation par l'acide sulfurique et chauffage.

Les spectres de masse ESI-MS du composé BM_2 enregistrés en mode positif (FigureIII-20) et négatif (FigureIII-21), montrent des pics d'ions pseudo-moléculaires à m/z =599 [M+Na]⁺ et 611 [M+Cl]⁻ correspondant à une masse moléculaires de 576 uma et une formule brute $C_{35}H_{60}O_6$.

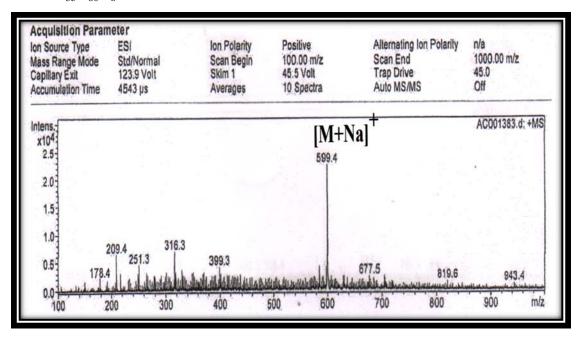


Figure III-20 : Spectre de masse ESI-MS (mode positif) du composé BM₂

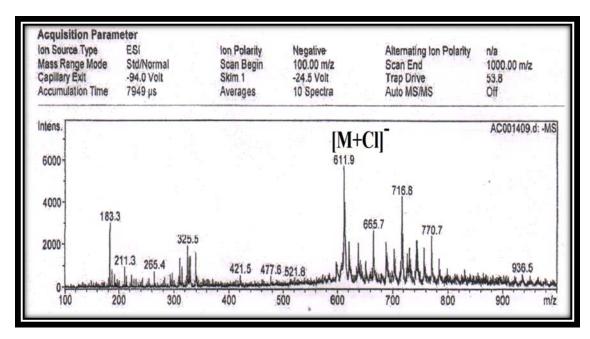


Figure III-21: Spectre de masse ESI-MS (mode négatif) du composé BM₂

Hormis les signaux de protons et carbones (Tableau 3) de la génine stéroïdique (β sitostérol) identifiables par comparaison avec le composé précédent **BM**₁ et les données de la littérature [50], Le spectre RMN ¹H (FigureIII-22) montre plusieurs signaux déblindés entre

3 et 4.5 ppm, correspondant aux protons d'une unité osidique. Le signal observé à δ_H 4.35 (d, J=8.2 Hz) est d'un proton anomère d'un sucre.

Ces constatations indiquent qu'on est en présence d'un stérol monoglycosylé.

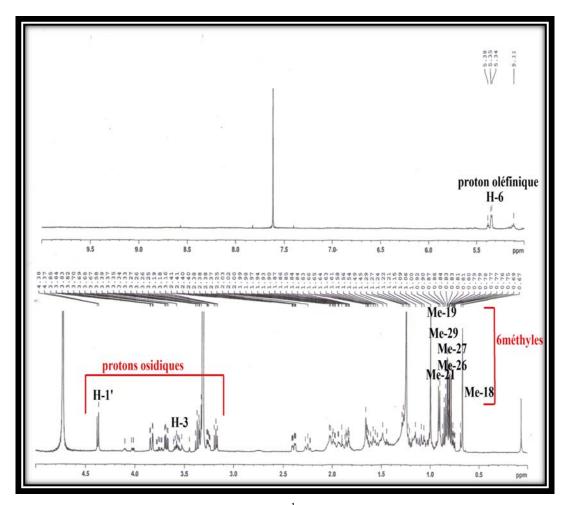


Figure III-22 : Spectre RMN¹H du composé BM₂

L'expérience COSY H-H (FigureIII-24) permet d'identifier sept protons appartenant au même système de spins d'un hexose. Partant du proton anomérique H-1' résonant à 4.35 ppm (1H, d, J=8.2Hz), on relie à travers leurs taches de corrélations les protons H-1' et H-2' (1H, t, J=8.6 Hz), H-2' et H-3' (1H, t, J=8.6 Hz), H-4' et H-5' (1H, m), H-5' et H-6'a (1H, dd, J=12 ; 5.4 Hz), H-5' et H-6'b (1H, dd, J=12 ; 2.7 Hz). Les grandes constantes de couplage entre tous les protons indiquant que ces protons sont axiaux et permettent par conséquent d'identifier un glucose de configuration β (J $_{\text{H-1'-H-2'}}$ =8.2Hz).

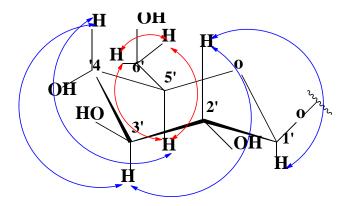


Figure III-23 : Corrélations COSY du composé BM₂ (partie glucose)

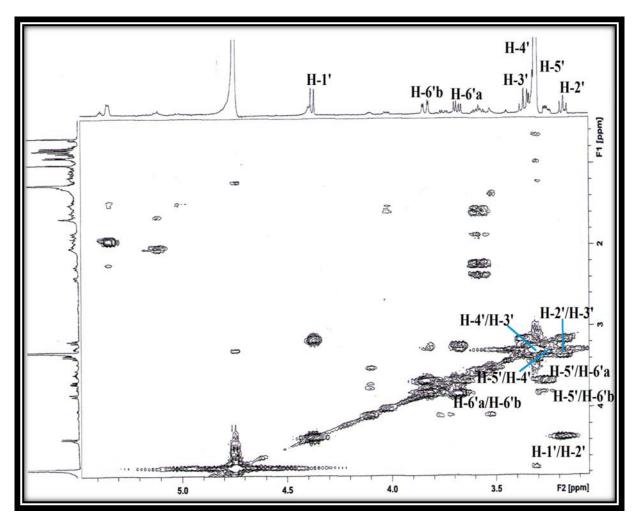


Figure III-24: Spectre COSY H-H du glucose

L'expérience HSQC J-modulé (FigureIII-26 et III-26-1) permet d'attribuer les déplacements chimiques de tous les carbones de glucose (tableau 4). En effet, le spectre HSQC montre les couplages entre :

- Le proton H-1' et son carbone C-1' (δ_C 102.0).
- Le proton H-2' et son carbone C-2' (δ_C 74.6).
- Le proton H-3'et son carbone C-3' (δ_C 77.6).
- Le proton H-4'et son carbone C-4' (δ_C 71.2).

- Le proton H-5'et son carbone C-5' ($\delta_{\rm C}$ 77.2).
- Les deux protons géminés H-6'a et H-6'b et leur carbone C-6' ($\delta_{\rm C}$ 62.5).

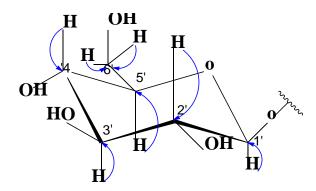


Figure III-25 : Corrélations HSQC du composé BM₂ (partie glucose)

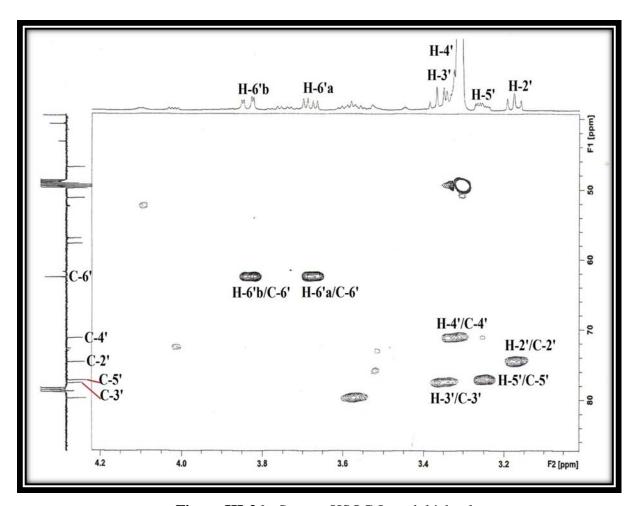


Figure III-26 : Spectre HSQC J-modulé du glucose

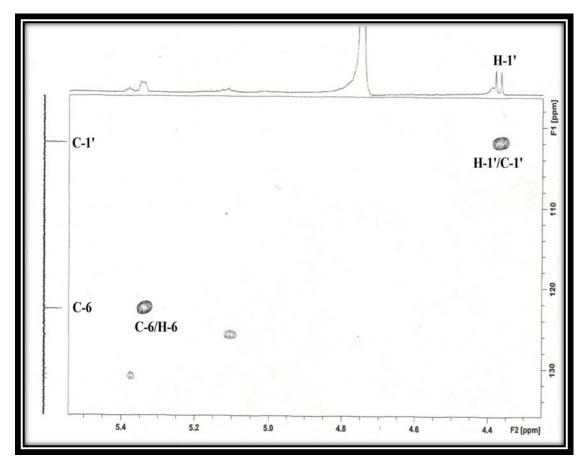


Figure III-26-1 : Spectre HSQC J-modulé du glucose

Le spectre HMBC (figureIII-28) visualisant une corrélation entre le proton H-3 de la génine et le carbone C-1'(δ_C 102.02) du glucose , confirme que ce sucre est attaché à l'hydroxyle en position C-3 du stérol.

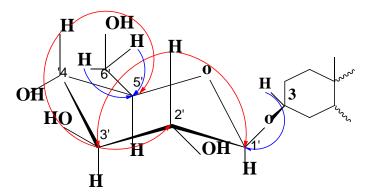


Figure III-27 : Corrélations HMBC de la partie osidique

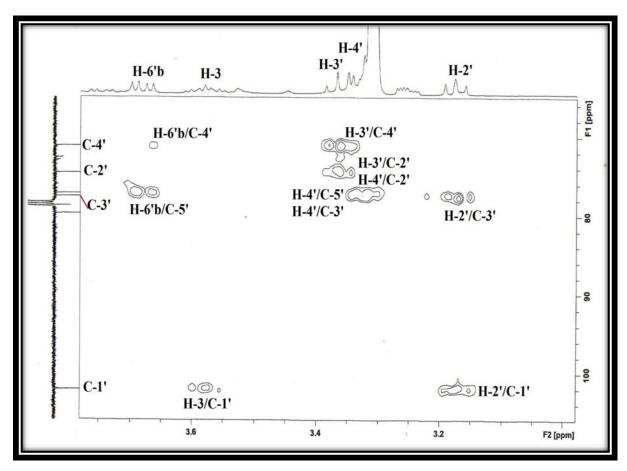


Figure III-28 : Spectre HMBC de la partie osidique

A l'issue de cette analyse tous les protons et carbones du composé BM_2 sont identifiés (Tableau 4).

Tableau 4: Déplacements chimiques en RMN 1 H (500 MHz) et RMN 13 C (125 MHz) de BM_{2} dans CDCl $_{3}$ + MeOD.

Position	δH m, J Hz	δC
1	1.85m H-1a	38.2
	1.06 m H-1b	
2	1.90 m H-2a	30.4
	1.59 m H-2b	
3	3.58 m	79.7
4	2.42 ddd, J=13 ; 6 ; 3 Hz H-4a	39.4
	2.24 td, J=13; 3; Hz H-4b	
5	-	141.3
6	5.35 d, J=5.9 H-6	122.7
7	2.02 m H-7a	32.7
	1.93 m H-7b	

Etude phytochimique de l'espèce Bassia muricata (L.) Ascherson

8	1.45 m	32.8
9	0.91 m	51.2
10	-	37.5
11	1.47 m	21.9
12	1.82 m H-12a	40.7
	1.15 m H-12b	
13	-	43.2
14	0.95 m	57.9
15	1.56 m	25.0
16	1.83 m	29.0
17	1.10 m	57.1
18	0.38 s	12.4
19	1.00 s	19.9
20	1.35 m	37.0
21	0.81 d, J=6.7 H-21	19.3
22	Non déterminé	34.8
23	2.2 m H-23a	26.8
	1.15 m H-23b	
24	0.91 m	46.9
25	0.65 m	29.9
26	0.79 m	19.4
27	0.81 m	20.3
28	1.65 m	23.8
29	0.82 m	12.4
1'	4.35 d 8.2 H-1'	102.0
2'	3.17 t 8.6 H-2'	74.6
3'	3.35 t 8.6 H-3'	77.6
4'	3.32 m H-4'	71.2
5'	3.25 m H-5'	77.2
6'	3.67 dd 12 ; 5.4 H-6'a	62.5
	3.85 dd 12 ; 2.7 H-6'b	

L'ensemble de ces données et la mesure du pouvoir rotatire $[\alpha]_D$ = -41,5° (C = 0,39 g/100ml, MeOH), permettent d'attribuer pour ce composé la structure suivante : β -sitostéryl 3 β -D-glucopyranoside (BM_2) nommé également Daucostérol.

Des études réalisées sur ce composé montrent qu'il présente des propriétés antiinflammatoire, anti-cholestérol [49] et immunomodulatrice [50]. Il est également utilisé dans le traitement de l'hyperplasie de la prostate [51] et joue un rôle dans le renforcement du système immunitaire (tuberculose, VIH,....) [52].

III-3-2-2-Elucidation structurale du composé BM₃

Le composé BM_3 est l'isorhamnétin-3-O-[O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \longrightarrow 6)- β -D-galactopyranoside]. Ce flavonoïde se présente sous forme d'une poudre jaune soluble dans le méthanol . Ce composé affiche une fluorescence violette sous la lumière UV à 365 nm.

le test appliqué à ce composé est basée sur l'exposition des CCM à la vapeur de l'ammoniaque NH₄OH, l'apparition de la couleur jaune sur CCM a permis de suggérer la présence de flavonoïde.

Le spectre RMN¹H dans le CD₃OD à 500 MHz (Figure III-29 et III-30) montre les signaux des protons aromatiques résonant entre 6 et 8,5 ppm, des protons osidiques sortant entre 3,2 et 5,5 ppm.

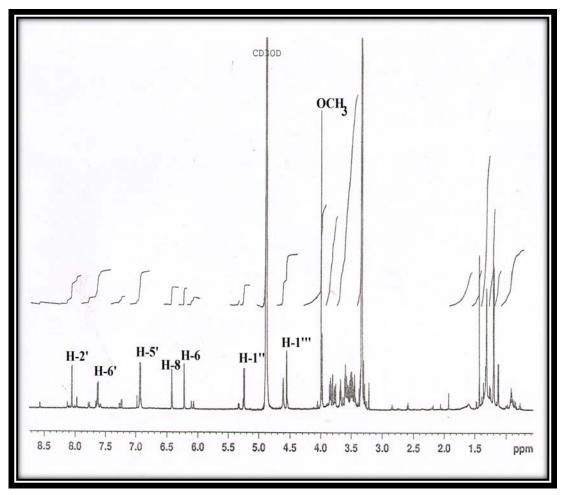
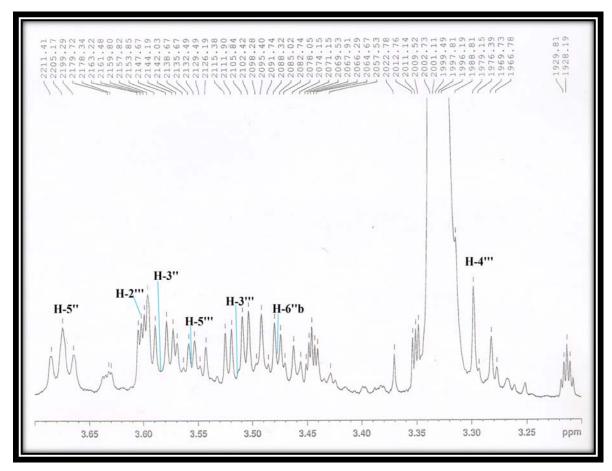


Figure III-29: spectre RMN ¹H (500MHZ, CD₃OD) du composé BM₃



FigureIII-30: spectre RMN ¹H de la partie osidique du composé BM3

L'analyse structurale des spectres RMN ¹H (Figure III-29), HSQC J-modulé (Figure III-31) et COSY H-H (Figure III-32) du composé BM₃ indique :

- Un signal à δ_H 6,22 sortant sous forme d'un doublet corrélant sur le spectre HSQC J-modulé avec un carbone résonant à δ_C 98,92.
- Un signal repéré à δH 6,42 sous forme d'un doublet également corrélant sur le spectre HSQC J-modulé avec un carbone résonant à 93,69 ppm. Ces deux protons appartiennent à un même système de spin selon le spectre COSY H-H (Figure III-32) correspondant aux protons H-6 (δ_H 6,22) et H-8 (δ_H 6,42) du cycle A du flavonol.
- Trois protons aromatiques résonant à δ_H 8,05 (d, J=2 Hz) (C-2'), 6,93 (d, J=8,4 Hz) (C-5'), et 7,63 (dd, J=8,4; 2 Hz) (C-6'). Ces protons sont caractéristiques d'un noyau aromatique trisubstitué, ne pouvant être que le cycle B du flavonol.
- Un méthoxyle à δ_H 3,98 (s) et δ_C 55,52.
- Un proton résonant à 5,24 ppm (C-1'') sous forme d'un doublet (J=7,8 Hz) corrélant sur le spectre HSQC J-modulé avec un carbone à 103,60 ppm attribuable à un proton anomérique.

• Un proton repéré à 4,56 ppm (C-1''') sous forme d'un doublet corrélant sur le spectre HSQC J-modulé avec un carbone à 100,53 ppm correspondant à un second proton anomérique.

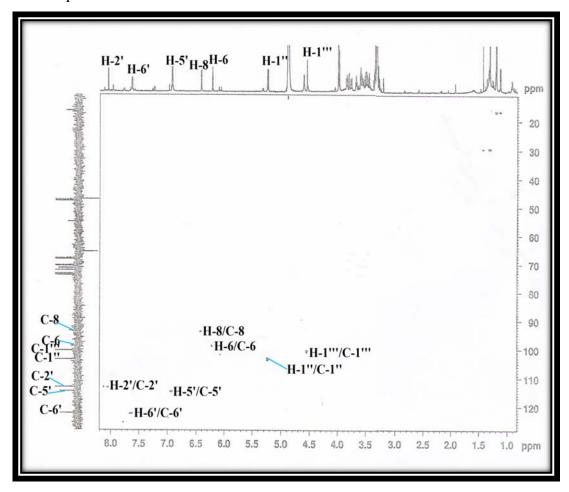


Figure III-31: spectre HSQC J-modulé du composé BM₃

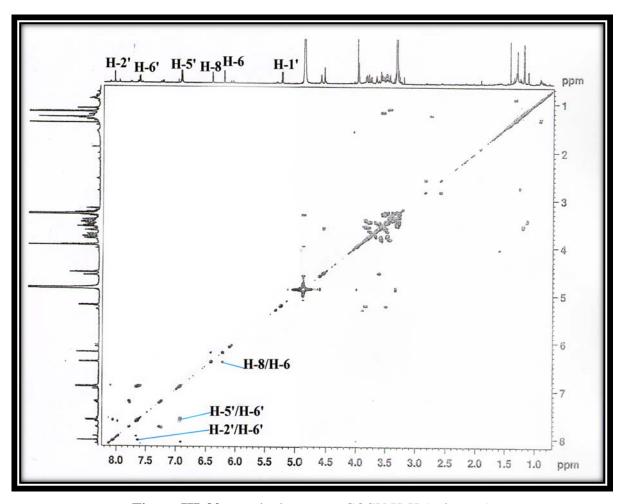


Figure III-32: partie du spectre COSY H-H (aglycone)

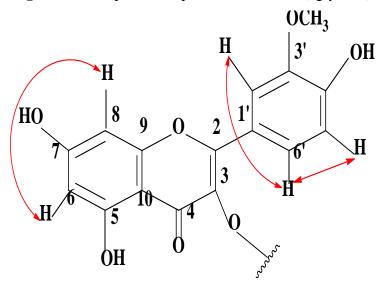


Figure III-33 : corrélations COSY de partie du l'aglycone

Sur le spectre RMN 13 C (Figure III-34) de BM $_3$, sont observés 28 signaux correspondant à 28 atomes de carbone qui sont répartis comme suit :

- Un méthyle (C-6''') lié à un carbone sp³ à 16,56 ppm.
- Un méthoxyle détecté à 55,52 ppm.
- Un carbonyle à 177,96 ppm (C-4).

- Sept carbones aromatiques oxygénés résonant entre 133 et 168 ppm (C-2, C-3, C-5, C-7, C-9, C-3', C-4').
- Deux carbones aromatiques quaternaires non oxygénés (C-1') et (C-10) résonant à 122,34 et 103,94 ppm
- Cinq carbones aromatiques méthines entre 93 et 122 ppm.
- Dix CH résonant entre 68 et 104 ppm correspondant aux carbones d'au moins de deux unités osidiques.
- Un groupement oxyméthylène à δ_C 67,1

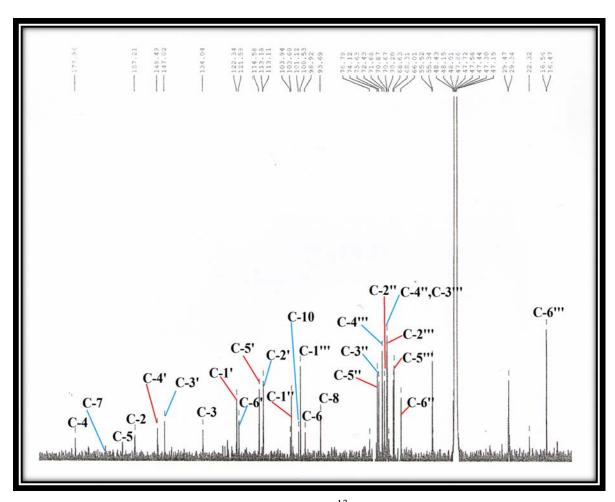


Figure III-34 : spectre RMN ¹³C du composé BM₃

Identification de la partie aglycone

L'élaboration de la structure de la partie aglycone du flavonol peut commencer par l'analyse des corrélations hétéronucléaires longue distance HMBC que présentent les protons H-6 et H-8 du cycle A, déjà identifiés. En effet, ces deux protons corrèlent en ²J avec un carbone aromatique oxygéné C-7 (167,5 ppm) et en ³J avec un carbone aromatique quaternaire C-10 (103,94 ppm).

Les carbones C-5 (162,0 ppm) et C-9 (157,3 ppm) sont identifiés suite aux corrélations qu'ils présentent en ²J avec les protons H-6 et H-8 respectivement. Cette analyse nous permet d'attribuer tous les protons et carbones du cycle A.

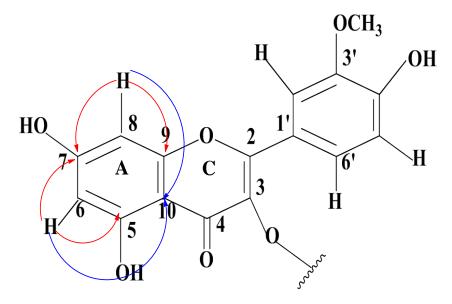


Figure III-35: Corrélations HMBC du noyau A

Le carbone C-2 détecté à 157,21 ppm plaidant en faveur d'une glycosylation en C-3 [55], corrèle en ³J en HMBC avec deux protons repérés à 8,05 ppm (d, J=2Hz) et 7,63 (dd, J = 8,4; 2 Hz) correspondant aux protons aromatiques H-2' et H-6' respectivement du cycle B.

La constante de couplage J=8,4 Hz, indique que le proton H-6' est adjacent d'un proton qui ne peut être que H-5' (6,93 ppm, d, J=8,4 Hz, couplage ortho).

L'expérience HSQC J-modulé permet d'identifier leurs carbones à δ_C 113,16 (C- 2'), 121,59 (C- 6') et 114,56 (C- 5'). Le carbone C-4' est assigné à δ_C 147,49 suite aux corrélations qu'ils montrent en 2J et 3J sur le spectre HMBC (Figures III-36 et III-37) avec les protons H-6' , H-5'et H-2' . Ces deux derniers ainsi que les protons du groupement méthoxyle (3,98 ppm) couplent en HMBC (Figures III-36 et III-37) avec un carbone résonant à 147,02 ppm ne pouvant être que le carbone C-3'. Ceci confirme bien la substitution de ce carbone par un groupement méthoxyle. Les protons H-5' et H-2' corrèlent en HMBC avec le carbone quaternaire C-1' sortant à 122,34 ppm (Figures III-36 et III-37).

Donc, tous les protons et carbones des cycles B et C sont caractérisés.

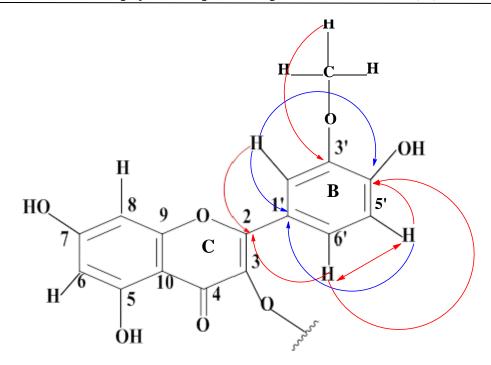


Figure III-36 : Corrélations HMBC du noyau B

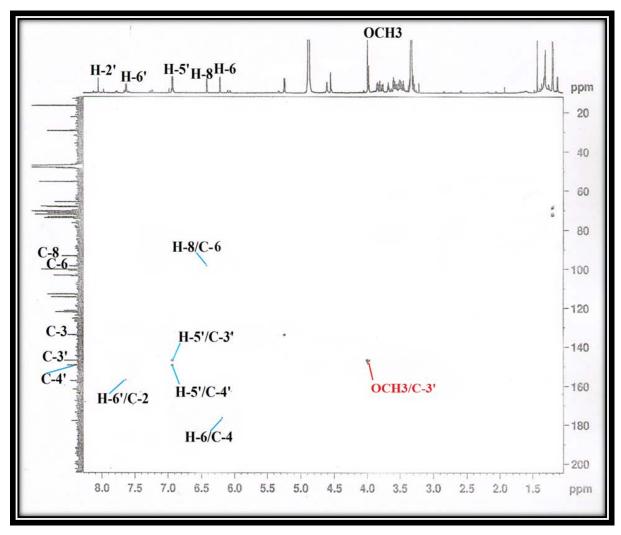


Figure III-37 : Spectre HMBC de la partie aglycone du composé BM₃

Au terme de ces attributions, la partie aglycone du flavonol est identifiée à l'isorhamnétine [54].

Isorhamnétine

Identification de la partie osidique

L'ensemble des signaux observés sur le spectre RMN ¹H entre 3,2 et 5,5 ppm (Figure III-29) suggère la présence de deux unités osidiques. En effet, à partir du proton anomérique H-1'' (5,24 ppm, d, J = 7,8 Hz), le spectre COSY H-H (Figure III-38) permet de repérer un système de spins à sept protons attestant ainsi de la présence d'un hexose. Sur ce spectre, il est observé les couplages entre les protons :

- H-1' '/H-2' ' (3,84 ppm, dd, J = 9,6; 7,8 Hz, H-2' ').
- H-2' '/H-3' '(3,58 ppm, dd, J =10,6; 3,4 Hz, H-3' ').
- H-3' '/H-4' ' (3,80 ppm, dl, J = 2,9 Hz, H-4' ').
- H-4' '/H-5' '(3,67 ppm, tl, J = 5,9 Hz, H-5' ').
- H-5' '/H₂-6' ' (3,77 ppm, dd, J =5.8; 3.4 Hz, H-6' 'a; 3,47 ppm, dd, J = 10,3; 7,0 Hz H-6' 'b).

Les grandes valeurs de constantes de couplage mentionnées ci-dessus impliquent que tous ces protons sont axiaux, sauf le proton H-4'' est équatorial parce que la constante de couplage de ce dernier est petit par rapport la constante de couplage de la position axial (il est grand). Par conséquent, cet hexose est identifié à un galactose de configuration β .

Les carbones de ce galactose ont été assignés par expérience HSQC J-modulé (Figure III-39): C-2' ' (71,68 ppm), C-3' ' (73,63 ppm), C-4' ' (70,67 ppm), C-5' ' (74,12 ppm), C-6' ' (66,01 ppm).

Partant du signal résonnant à 4,56 ppm attribuable au deuxième proton anomérique (d, J=1,6 Hz, H-1' ' ').

Le spectre COSY H-H (Figure III-38) indique les couplages entre les protons :

- H-1' ''/H-2' '' (3,6 ppm, dd, J=3,4; 1,6 Hz).
- H-2' ' '/H-3' ' ' (3,51 ppm, dd, J=9,5; 3,5 Hz).
- H-3' ', '/H-4' ', '(3,3 ppm, t, J=9,5 Hz).
- H-4' '' /H-5' '' (3,56 ppm, m).
- H-5' ' '/H-6' ' ' (1,2 ppm, d, J=6,2Hz).

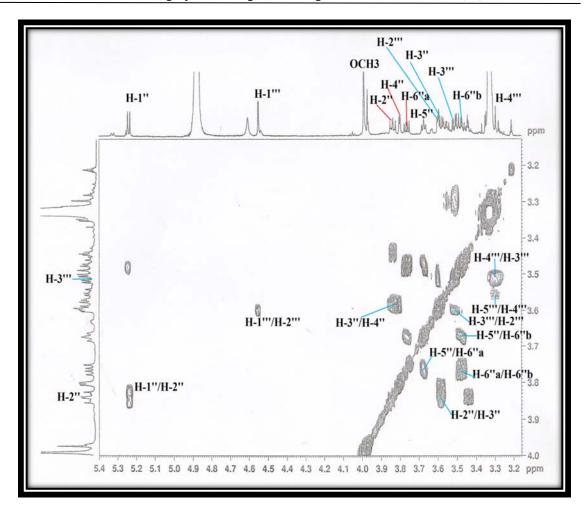


Figure III-38: Spectre COSY H-H de la partie osidique du composé BM₃

L'analyse du spectre HSQC J-modulé (Figure III-39) permet d'identifier les carbones de cet déoxyhexose : C-2' ' ' (70,2 ppm), C-3' ' ' (70,67 ppm), C-4' ' ' (72,42 ppm), C-5' ' ' (68,31 ppm) et C-6' ' ' (16,56 ppm). Il en résulte que cet hexose est un rhamnose de configuration α .

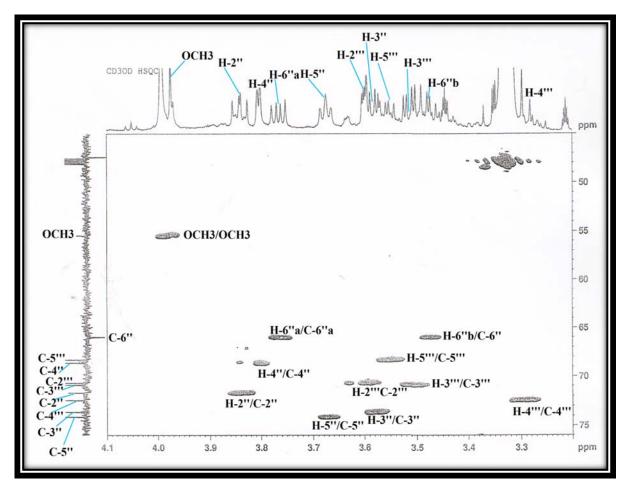


Figure III-39: Spectre HSQC J-modulé de la partie osidique du composé BM₃

L'analyse du spectre HMBC permet de déterminer l'enchaînement des deux unités osidiques: galactose et rhamnose. En effet, la corrélation observée entre le proton anomérique H-1''' du rhamnose et le carbone du groupement oxyméthylène C-6'' du galactose permet d'établir le séquençage des sucres constituant la partie osidique (Figure III-40).

Le point de branchement de la partie osidique avec la partie aglycone (isorhamnétine) est établi par l'analyse du spectre HMBC. Ce dernier montre une tache de corrélation entre le carbone C-3 du flavonol résonant à δ_C 134,04 et le proton anomérique du galactose H-1'' repéré à 5,24 ppm, ce qui permet de lier l'enchaînement osidique au carbone C-3 (Figure III-42). Cette glycosylation est confirmée aussi par le déplacement chimique du carbone C-2 (157,21 ppm) [53]. Ce carbone se trouverait plus blindé (148 ppm) dans le cas où le carbone C-3 porte un groupement hydroxyle libre [55].

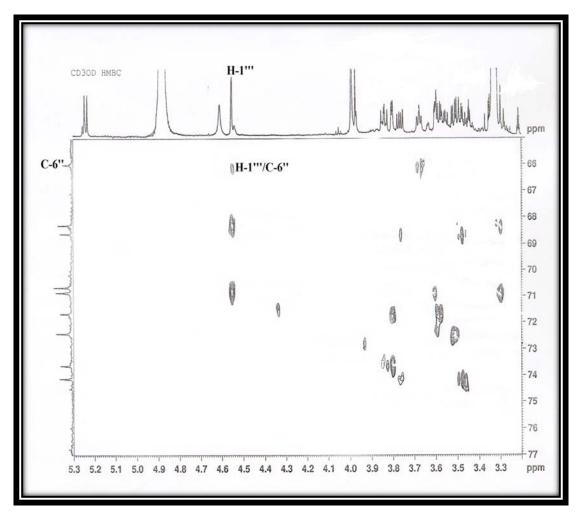


Figure III-40 : Spectre HMBC mettant en évidence l'enchainement des sucres

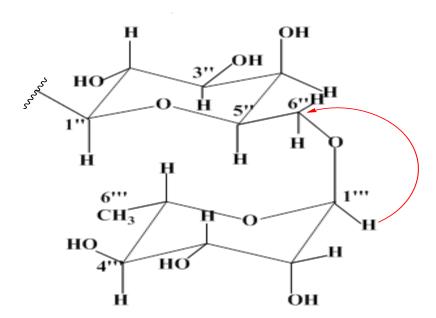
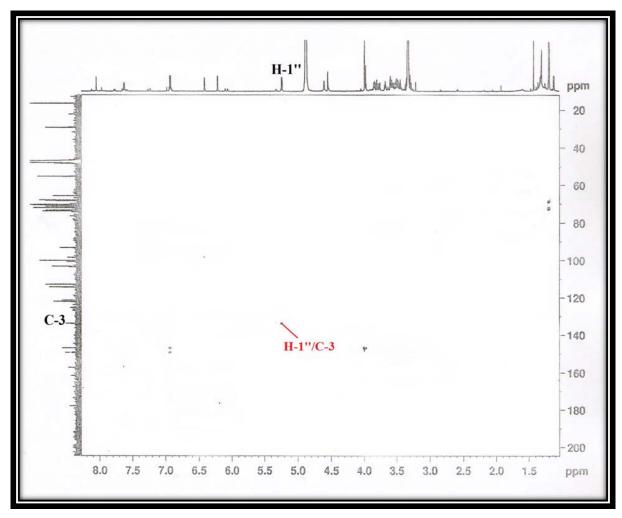
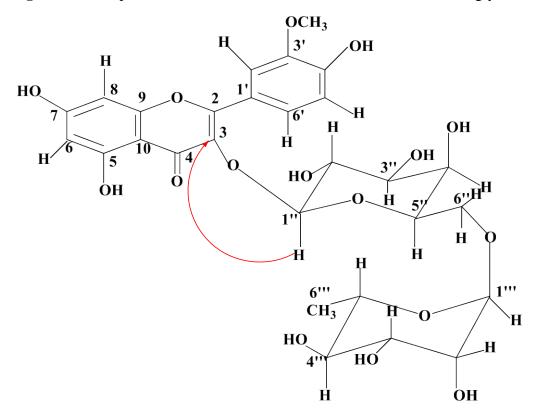


Figure III-41 : Corrélation HMBC mettant en évidence l'enchainement des sucres



FigureIII-42 : Spectre HMBC montrant le branchement des sucres à l'aglycone



FigureIII-43 : Corrélation HMBC montrant le branchement des sucres à l'aglycone

A l'issue de cette analyse, le composé BM_3 est : l'isorhamnétine-3-O-[O- α -L rhamnopyranosyl-(1 \longrightarrow 6)- β -D-galactopyranoside].

Et tous les protons et carbones du BM3 sont attribués dans le tableau suivant :

Tableau 5 : Déplacements chimiques en RMN 1 H (500 MHz) et RMN 13 C (125 MHz) de BM $_3$ dans CD $_3$ OD

Position	δН	multiplicité	J(HZ)	δC
2	1	-	-	157,21
3	-	-	-	134,04
4	-	-	-	177,96
5	-	-	-	162,0
6	6,22	d	1,9	98,92
7	-	-	-	167,5
8	6,42	d	1,9	93,69
9	-	-	-	157,3
10	-	-	-	103,94
1'	-	-	-	122,34
2'	8,05	d	2	113,16
3'	-	-	-	147,02
4'	-	-	-	147,49
5'	6,93	d	8,4	114,56
6'	7,63	dd	2;8,4	121,59

Etude phytochimique de l'espèce Bassia muricata (L.) Ascherson

OCH ₃	3,98	S	-	55,52
1''	5,24	d	7,8	103,60
2''	3,84	dd	9,6;7,8	71,68
3''	3,58	dd	10,6; 3,4	73,63
4''	3,80	dl	2,9	70,67
5''	3,67	tl	5,9	74,12
6''	H-6''a=3,77	dd	5,8;3,4	66,01
	H-6''b=3,47	dd	10,3 ; 7,0	
1,,,	4,56	d	1,6	100,53
2'''	3,6	dd	3,4 ; 1,6	70,2
3'''	3,51	dd	3,5 ; 9,5	70,67
4'''	3,3	t	9,5	72,42
5'''	3,56	m	-	68,31
6'''	1,2	d	6,2	16,56

CONCLUSION

Cette étude phytochimique, que nous avons menée sur l'isolement et la détermination des métabolites secondaires des phases chloroformique et butanolique des parties aériennes de *Bassia muricata* (*L.*) a permis l'obtention et la détermination structurale de trois composés:

- deux triterpénoïdes: 24-éthylcholest-5-èn-3-ol (β-sitostérol) et β-sitostéryl 3β-D-glucopyranoside (Daucostérol).
- Un flavonoide diglycosylé de type flavonol: l'isorhamnétin-3-O-[O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→6)-β-D-galactopyranoside].

La méthodologie de séparation, isolement et purification des constituants chimiques de cette plante a été essentiellement fondée sur la combinaison de différentes méthodes chromatographiques (VLC, CC, CCM) utilisant divers supports (silice normale, Séphadex LH-20). La détermination structurale des métabolites secondaires isolés a été réalisée grâce à l'exploitation combinée de techniques spectroscopiques diverses incluant la spectrométrie de masse (ESI-MS) et essentiellement la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN).

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

Les composés isolés à l'issue de cette investigation chimique de *Bassia muricata* (*L*), correspondent aux structures suivantes :

Chapitre IV

Partie expérimentale

IV-1-Matériel et appareillage

IV-1-1-Récolte de la plante Bassia muricata (L)

La plante *Bassia muricata* a été récoltée dans la région de Biskra au mois de Mai 2009, Elle a été identifiée par le professeur Bachir Oudjehih du département d'Agronomie de l'institut des sciences vétérinaires et agronomiques de l'université de Batna.

IV-1-2-Chimie extractive

IV-1-2-1-Chromatographie sur couche mince (CCM)

Les chromatographies analytiques sur couche mince (CCM), ont été effectuées sur plaques de silice Kieselgel 60 F₂₅₄ Merck,250 um (20x20 cm).Les plaques sont révélées par une lampe UV (254 nm,366 nm) après élution dans le solvant puis révélation par la vanilline sulfurique ou par l'acide sulfurique et chauffées jusqu'à apparition de taches de diverses couleurs. Qui identifier les différentes familles moléculaires présentes dans la plante.

IV-1-2-2-Chromatogrphie liquide sous vide (vlc)

La chromatographie liquide sous vide (VLC) est un mode chromatographique simple, rapide, efficace et peu coûteux. La VLC est couramment utilisée pour la séparation de produits naturels et s'effectue sur colonne de verre, au bas de laquelle est appliquée une dépression pour accélérer le débit d'élution (La silice Kieselgel merck (70-230 mesh, 63-200 µm) est mise dans un entonnoir cylindrique filtrant sur verre fritté n°4.). La phase stationnaire peut être aussi bien polaire, qu'apolaire. Après mise en suspension dans un solvant adéquat, la phase stationnaire est déposée dans une colonne de dimension appropriée, au fond de laquelle un filtre en laine de verre a été déposé, puis tassée et séchée par application du vide. L'échantillon peut être alors déposé délicatement à la surface de la phase stationnaire.

IV-1-2-3-Chromathographie sur colonne ouverte (cc)

Les phases stationnaires utilisées au cours des différentes opérations de séparation et de purification sont énumérées comme suivant :

-en phase normale, une silice Kieselgel Merck (70-230 mesh), en utilisant 30 à 40 fois le poids de L'échantillon, objet des procédures de purification.

-sephadex LH-20, en utilisant 40 fois le poids de l'échantillon à purifier. L'élution est effectuée à pression atmosphérique. Les fractions recueillies sont regroupées selon les résultats de l'analyse par CCM.

IV-1-3-Chimie structurale

IV-1-3-1-Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN)

Les spectres de résonance magnétique nucléaire RMN ¹H et RMN ¹³C (RMN 1D et RMN 2D) sont enregistrés dans CD₃OD sur un appareil Brucker à 400 MHz, du centre de recherche école nationale supérieure de chimie de RENNES Avenue du général Leclerc Campus de Beaulieu France.

Les positions des pics (déplacements chimiques) sont données en échelle δ et exprimées en partie par millions (ppm), le TMS est utilisé comme référence interne (δ =0).

Les spectres sont enregistrés dans le chloroforme deutéré CDCl₃ (sauf indication contraire). Les constantes de couplage (*J*) sont exprimées en Hertz (Hz).

Les notations suivantes sont utilisées pour décrire la multiplicité des signaux :

s: singlet, d: doublet, t: triplet, m: multiplet, dd: doublet de doublet, ddd: doublet de doublet ; ddt: doublet de doublet triplet; dl: doublet large; q: quadruplet; Cq: carbone quaternaire etc......

IV -1-3-2-Spectrométrie de masse (SM)

Les spectres de masse des produits isolés sont enregistrés sur un spectromètre de masse (waters Q-TOF2), du centre de recherche école nationale supérieure de chimie de RENNES Avenue du général Leclerc Campus de Beaulieu France.

La technique electrospray en mode positif et negatif à basse et haute résolutions a été utilisée.

IV-1-3-3-Pouvoir rotatoire ($[\alpha]_D$)

Le pouvoir rotatoire des composés présentant un ou plusieurs carbones asymétriques a été déterminé avec un polarimètre PE-241 à 22,5 °C. (Perkin-Elmer). La rotation α de la lumière polarisée par les produits dissous dans du MeOH avec concentration (0,34g / 100 ml).

a été mesurée dans une cuve de 1 ml et une longueur de 10 cm, à température ambiante. La raie D (589 nm) d'une lampe à sodium a été utilisée comme source de lumière incidente.

IV-1-4-Etude de l'espèce Bassia muricata

IV-1-4-1-Extraction de l'espèce Bassia muricata

La poudre d'une masse 1200 grammes des parties aériennes de la plante préalablement séchée, mise à macérer pendant 48 heures dans (MeOH/H₂O :80/20) sous agitation ,et cette macération est répétée trois fois avec renouvellement du solvant, et après filtration et élimination du solvant (concentraction non à sec) à 40 °C, la phase aqueuse obtenue subit une série d'extraction liquide-liquide trois fois par les solvants : l'éther de pétrole (1Lx3), chloroforme (1Lx3), n-butanol (1Lx3).

Les trois phases organiques ainsi obtenues (EP,CHCl₃, *n-BuOH*) sont séchées sur sulfate de sodium Na₂SO₄ anhydre puis filtrées et concentrées à sec sous pression réduite, ce qui donné 4,2 g de l'extrait étheropétrolique,7,4 g de l'extrait chloroformique et 15,6 g de l'extrait butanolique.

IV-1-4-2-Contrôle chromatographique

L'examen par chromatographie sur couche mince (CCM) des trois extraits obtenus précédemment, en utilisant le système d'élution (CHCl₃/MeOH), les profils CCM de ces extraits montrent que les deux extraits chloroformique et butanolique sont riches en produits.

IV-1-4-3-Etude de l'extrait CHCl3 de Bassia muricata

7,4 grammes de l'extrait chloroformique, ont été mis à chromatographie liquide sous vide. en utilisant Le gel de silice normale comme phase stationnaire (47g). L'élution est réalisée successivement, par des solvants à polarité croissante : éther de pétrole, éther de pétrole / acétate d'éthyle, l'acétate d'éthyle / méthanol, Des fractions de 50 ml ont été prélevées à chaque fois et examinées par chromatographie sur couche mince (CCM). Les plaques sont visualisées sous la lumière UV (254 nm – 366 nm). Puis révélées à la vanilline sulfurique, après rassemblement des fractions présentant des similitudes.

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 6 : Fractionnement de l'extrait chloroformique

Fractions	Eluant de colonne	Observations sur CCM
1	EP	Néant

2	EP	Néant
_	EP /AcOEt	1 (Cant
	El //ICOEt	
3	99 /1	Néant
4	97/3	Néant
5	95/5	Néant
6	95/5	Néant
7	93/7	Néant
8	93/7	Néant
9	90/10	Néant
10	90/10	Néant
11	90/10	Une tache
12	85/15	Une tache
13	85/15	Une tache
14	85/15	Une tache
15	85/15	Deux taches
16	80/20	Deux taches
17	80/20	Deux taches
18	80/20	Deux taches
19	80/20	Deux taches +trainait
20	75/25	Deux taches +trainait
21	75/25	Deux taches +trainait
22	75/25	Tache +trainait
23	70 /30	Tache +trainait
24	70/30	Mélange complexe
25	70/30	Mélange complexe
26	70/30	Une tache +trainait
27	65/35	Une tache +trainait
28	65/35	Une tache +trainait
29	65/35	Une tache +trainait
30	65/35	Deux taches
31	65/35	Deux taches
32	60/40	Deux taches
33	60/40	Deux taches
34	60/40	Trois taches
35	50/50	Trois taches
36	50/50	Trois taches
37	50/50	Trois taches
38	40/60	Trois taches
39	40/60	Néant
40	30/70	Néant
41	30/70	Néant
42	20/80	Néant
43	10/90	Néant
44	AcOEt	Néant
	AcOEt/MeOH	
45	99/1	Trainait
46	97/3	Trainait
47	95/5	Trainait

48	90/10	Trainait
49	80/20	Trainait
50	70/30	Trainait
51	60/40	Trainait

Et nous avons acquis 11 fractions indiqués dans le tableau suivant :

Tableau 7 : Rassemblement des fractions de l'extrait chloroformique

Fractions	Fractions collectées	Poids (mg)	Observations sur CCM
$\mathbf{F_1}$	1-10	/	Néant
$\mathbf{F_2}$	11-14	13.2	Deux taches
$\mathbf{F_3}$	15-18	18.1	Trois taches+trainait
$\mathbf{F_4}$	19-21	44.2	Plusieurs taches
\mathbf{F}_{5}	22-23	83.9	une tache+trainait
$\mathbf{F_6}$	24-25	90.5	Plusieurs taches
$\mathbf{F_7}$	26-29	1570.7	Plusieurs taches
$\mathbf{F_8}$	30-33	1855.2	Plusieurs taches
F9	34-38	1362.5	Plusieurs taches+trainait
$\mathbf{F_{10}}$	39-44	1120.0	Plusieurs taches+trainait
F ₁₁	45-51	1237.1	trainait

IV-1-4-4-Purification

IV-1-4-4-1-Etude de la fraction F_2 :

La fraction F_2 a subi une purification par précipitation de faible quantité de l'acétone, et après lavage plusieurs fois de ce dernier, le composé BM_1 (5,4mg) à été isolé à l'état pur.et la CCM montre la présence d'une tache invisible à 254 nm se colorant en rose après révélation par l'acide sulfurique et chauffage (Figure IV-1)



Figure IV-1: Plaque CCM du Produit BM₁

IV-1-4-5-Etude de l'extrait n-butanol de Bassia muricata

15,6 grammes de l'extrait butanolique, ont été mis à chromatographie liquide sous vide. en utilisant Le gel de silice normale comme phase stationnaire (99g). L'élution est réalisée successivement, par des solvants à polarité croissante : chloroforme, chloroforme/méthanol, méthanol pur.les fractions de 50 ml sont soumises à une chromatographie sur couche mince (CCM). Les plaques sont examinées sous la lumière UV à 254 et 366 nm, révélées par la vanilline sulfurique et chauffées.

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 8 : Fractionnement de l'extrait butanolique

Fractions	Eluant de la colonne	Observation sur CCM
1	CHCI	Nicont
1	CHCl ₃	Néant
2	CHCl ₃	Néant
3	CHCl ₃	Néant
4	CHCl ₃	Néant
	CHCl 3/MeOH	
5	99/1	Néant
6	99/1	Néant
7	99/1	Néant
8	99/1	Néant
9	99/1	Néant

10	97/3	Néant
11	97/3	Néant
12	97/3	Néant
13	97/3	Néant
14	97/3	Néant
15	97/3	Néant
16	97/3	Néant
17	95/5	Néant
18	95/5	Néant
19	95/5	Néant
20	95/5	Néant
21	95/5	Néant
22	93/7	une tache
23	93/7	une tache
24	93/7	une tache
25	93/7	une tache
26	93/7	une tache
27	93/7	une tache
28	93/7	une tache
29	93/7	une tache
30	93/7	une tache
31	93/7	une tache
32	93/7	une tache
33	93/7	une tache
34	93/7	une tache
35	93/7	une tache
36	93/7	Tache +trainait
37	90/10	Tache +trainait
38	90/10	Tache +trainait
39	90/10	une tache
40	90/10	trois taches
41	80/20	trois taches +trainait
42	80/20	trois taches +trainait
43	80/20	trois taches +trainait
44	80/20	trois taches +trainait
45	80/20	mélange complexe
46	80/20	trainait
47	80/20	trainait
48	80/20	trainait
49	80/20	trainait
50	80/20	trainait
51	80/20	une grande tache
52	80/20	une grande tache
53	80/20	une grande tache+trainait
54	80/20	une grande tache+trainait
55	80/20	une grande tache+trainait
56	80/20	trois taches+trainait
57	80/20	trois taches
58		
	80/20	trois taches
59	80/20	trois taches
60	80/20	trois taches

61	80/20	trois taches
62	80/20	trois taches
63	70/30	Plusieurs taches
64	70/30	Plusieurs taches
65	70/30	Plusieurs taches
66	70/30	Plusieurs taches
67	70/30	Plusieurs taches
68	70/30	Plusieurs taches
69	70/30	Plusieurs taches
70	70/30	Plusieurs taches
71	70/30	Plusieurs taches
72	70/30	trainait
73	70/30	trainait
74	70/30	trainait
75	70/30	trainait
	CHCl ₃ /MeOH/H ₂ O	
76	70/30/1	trainait
77	70/30/1	trainait
78	70/30/1	Plusieurs taches
79	70/30/1	Plusieurs taches
80	70/30/1	Plusieurs taches
81	70/30/1	Plusieurs taches
82	70/30/3	Plusieurs taches
83	70/30/3	Plusieurs taches
84	70/30/3	Plusieurs taches
85	70/30/3	Plusieurs taches
86	70/30/3	Plusieurs taches
87	70/30/5	Plusieurs taches
88	70/30/5	Plusieurs taches
89	70/30/5	Plusieurs taches
90	70/30/5	Plusieurs taches
91	70/30/5	Plusieurs taches
92	60/40/7	Plusieurs taches
93	60/40/7	Plusieurs taches
94	60/40/7	Plusieurs taches
95	60/40/7	Plusieurs taches
96	60/40/7	Plusieurs taches
97	60/40/7	Plusieurs taches
98	МеОН	Néant
99	МеОН	Néant
100	МеОН	Néant
101	МеОН	Néant
102	МеОН	Néant
103	МеОН	Néant

Ces différentes fractions récupérées subissent une chromatographie sur CCM, puis examinées sous la lumière UV à 254 nm et révélées par la vanilline sulfurique ; les fractions

présentant le même profil CCM sont réunies pour donner 16 fractions t indiqués dans tableau suivant :

Tableau 9 : Rassemblement des fractions de l'extrait butanolique

Fractions	Fractions collectées	Poids (mg)	Observations sur CCM
$\mathbf{F_1}$	1-21	/	Néant
$\mathbf{F_2}$	22-35	21,2	une tache+trainait
$\mathbf{F_3}$	36-38	27,4	trainait
$\mathbf{F_4}$	39	17,3	Deux taches
\mathbf{F}_{5}	40	1433,5	Plusieurs taches
$\mathbf{F_6}$	41-44	1623,8	Plusieurs taches
$\mathbf{F_7}$	45	2845,1	Plusieurs taches
$\mathbf{F_8}$	46-50	1453,8	quatre taches+trainait
F ₉	51-52	1221,1	Plusieurs taches+trainait
$\mathbf{F_{10}}$	53-55	1621,0	Plusieurs taches+trainait
$\mathbf{F_{11}}$	56	720,5	Trois taches+trainait
\mathbf{F}_{12}	57-62	536,5	Trois taches
\mathbf{F}_{13}	63-71	957,7	Plusieurs taches
$\mathbf{F_{14}}$	72-77	1555,7	trainait
\mathbf{F}_{15}	78-97	1228,1	trainait
F ₁₆	98-103	503,6	trainait

IV-1-4-6-Purification

IV-1-4-6-1-Etude de la fraction F₄:

La fraction F_4 (17,3mg) soumise à une purification par précipitation de faible quantité de méthanol, et après lavage plusieurs fois de ce MeOH, le composé BM_2 (8,5mg) à été isolé à l'état pur et la CCM montre la présence d'une tache invisible à 254 nm se colorant en violet à l'acide sulfurique et chauffage (Figure IV-2)

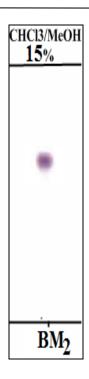


Figure IV-2: Plaque CCM du Produit BM₂

IV-1-4-6-2-Etude de la fraction F_2 :

La fraction F_2 a subi une purification par précipitation de faible quantité de chloroforme, et après lavage plusieurs fois de ce dernier, le composé BM_3 (8.8mg) à été isolé à l'état pur. et la CCM montre la présence d'une tache visible à 254 nm se colorant en jaune à l'ammoniac et en même couleur à l'acide sulfurique et chauffage (Figure IV-3).

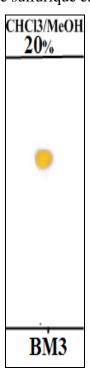


Figure IV-3: Plaque CCM du Produit BM₃

IV-1-5-Composés isolés de l'espèce Bassia muricata (L)Ascherson

IV-1-5-1-Composé BM₁

24-éthylcholest-5-èn-3-ol (β-sitostérol)

Formule brute : C₂₉H₅₀O

Poids moléculaire : 414 g.mol-1

Rapport frontal Rf: 0,53

(CHCl₃/MeOH:95/5)

Point de fusion : 136,4 °C

Pouvoir rotatoire : [α]D = -30° (C= 0,8,

CHCl3)

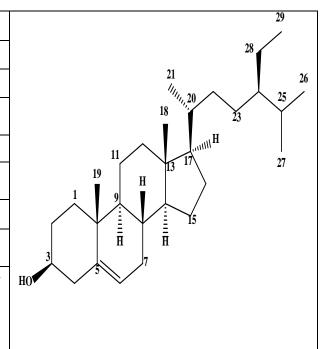
Quantité du produit : 5,4 mg

Aspect: poudre blanche

MS: ESI (mode positif) m/z = 437 [M+Na]+ESI (mode négatif) $m/z = 413 [M-H]^{-}$

RMN¹H (500 MHz) et RMN ¹³C (125 MHz)

dans CDCl3 (Tableau .., page ..)



IV-1-5-2-Composé BM₂

β-sitostér	yl	3β-D-glucopyranoside

(Daucostérol)

Formule brute : C₃₅H₆₀O₆

Poids moléculaire : 576 g.mol⁻

Rapport frontal Rf: 0,58

(CHCl₃/MeOH:85/15)

Point de fusion: 285,2 °C

Pouvoir rotatoire $[\alpha]_D$ = - 41,5° (C=0,39

mg/100ml, MeOH).

Quantité du produit : 8,5 mg

Aspect: poudre blanche

MS: ESI (mode positif) m/z = 599 [M+Na]+ESI (mode négatif) $m/z = 611 [M+Cl]^{-}$

IV-1-5-3-Composé BM₃

isorhamnétine-3-O-[O-α-L-rhamnopyranosyl- (1→6)-β-D-galactopyranoside]	н ОСН ₃
Formule brute : C ₂₈ H ₃₂ O ₁₆	HQ 8 9 Q 2 1
Poids moléculaire : 624 g/mol	7 H OH
Rapport frontal Rf :0,54	
(CHCl ₃ /MeOH:80/20)	$\begin{bmatrix} 1 & 1 & 0 & Ho \\ & & & \end{bmatrix}$
Quantité du produit : 8,8 mg	он о по о н 5 ¹ / ₅ 6 н Н
Aspect: poudre jaune	н
	6'''
	CH ₃ H O H
	HO HO
	н он

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Gurib-Fakim, A., 2006. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. Molecular Aspects of Medicine. 27, 1-93.
- [2] Ozenda, P., 1991. Flore et végétation du Sahara. In : CNRS (Ed.), Paris, France.
- [3] Geoff, B., Sue, F., Denise, G., Sarah, G., Michelle, H., 2005. Botanica: Encyclopédie de botanique et d'horticulture, vol :36. p133.
- [4] Simon, G., Mathero, k.T., Alexander, I.G., 1999. Acaffeic acid ester from *Halocnemum strobilaceum*. Phytochemistry 51, 465-467.
- [5] Arafa, I.H.,Milena, M.,Mohamed, G.S.,Usama, A.M.,Moatz, M.T.,Angela, P.,Sonia, P., 2011.Triterpene saponins from *Salsola imbricata*. Phytochemistry letters 4, 353-356.
- [6] Fayez, E.K., Mary, H.G., 2001. Polyphenols from Cornulaca monacantha. Phytochemistry 58; 611-613.
- [7] Zlatina, K.N., Daniel, B., Stefan, N., Jorj, H., Parasker, T.N., 2011. Flavonol glycosides from *Chenopodium foliosum*. Phytochemistry letters 4, 367-371.
- [8] Francesca, C.,Brigida, D.,Marina, D.G.,Cinzia, D.M.,Annunziata,G.,Lucio, P.,Armando, Z.,2003. Cinnamic acid amides from *Chenopodium album*: effects on seeds germination and plant growth. Phytochemistry 64, 1381-1387.
- [9] Tiwatt, K., Piyanut, T., walee, C., Michael, W., 2008., Triterpene saponins from *Chenopodium quinoa willd*. Phytochemistry 69, 1919-1926.
- [10] El-sayed, N.H., Awwaad, A.S., Hifnawy, M.S., Mabry, T.J.,1999. A flavonol triglycoside from *Chenopodium murale*. Phytochemistry 51, 591-593.
- [11] Ahmed,A.G., Galal,T.M., Masatake,N., 2000. Two flavonoid glycosides from *Chenopodium murale*. Phytochemistry 53, 299-303.
- [12] Balakyz,Y.,Ahmed,M.M.,Ahmed,A.,Aisha,K.,Burasheva,G.Sh.,Abilov,Zh.A.,Iqbal,C.M.,A tta,U.R.,2006. Bioactive flavonoids and saponins from *Climacoptera obtusifolia*. Phytochemistry 67, 2392-2397.
- [13] Yoshikawa, K., Tanaka, M., Arihara, S., Pal, B.C., Roy, S.K., Matsumura, E., Katayama, S., 2000. New oleanene triterpenoid saponins from *Madhuca longifolia*. J. N. P. 63, 1679-1681.
- [14] Kitagawa, T., Pitot, H.C., 1975. The regulation of serine dehydratase and glucose-6-phosphatase in hyperplastic nodules of rat liver during diethylnitrosamine and N-2-

- fluorenyalacetamide feeding. Cancer Res. 35, 1075-1084.
- [15] Nigam,S.K., Li,X.C., Wang, D.Z., Misra,G.,Yang C.R, 1992. Triterpenoid saponins from *Madhuca butyracea*. Phytochemistry 31, 3169-3172.
- [16] Li, X.C., Liu, Y.Q., Wang, D.Z., Yang, C.R., Nigam, S.K., Misra, G., 1994. Triterpenoid saponins from *Madhuca butyracea*. Phytochemistry 37, 827-829.
- [17] Mohamed, S.K.,khaled, M.M., Hashim, A.H., Kazuhiro, O., Ryoji, K., Kazuo, Y., 2001. Acylated flavonoid glycosides from *Bassia muricata*. Phytochemistry 57, 1259-1262.
- [18] Hertog, M.G.L., Hollman, P.C.H., 1993. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wine and fruit juices. J.Agr.food chemistry41,1242-1250.
- [19] Karaali, A., Boyacioălu, D., Günez, G., Özçelik, B., 2004. Flavonoids in fruit and vegetables: their impact on food quality, nutrition and health–STREP or CA. European commision's the 6th framework program for research. Istanbul technical university. Turkey.
- [20] Malešev, D., Kuntić, V., 2007. Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions. Journal of the Serbian chemical society. 72, 921-939.
- [21] Nijveldt, R. J., Van Nood, E., Van Hoorn, D. E. C., Boelens, P. G., Van Norren, K., Van Leeuwen, P. A. M., 2001. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. American journal of clinical nutrition. 74, 418-425.
- [22] Ghedira, k., 2005. Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. Phytothérapie 3 , 162-169.
- [23] Medić-Šarić, M., Jasprica, I., Smolćić-Bubalo, A., Monar, A., 2004. Optimisation of chromatography of flavonoids and phenolic acids. Croatica chemica acta CCACAA.77 (1-2), 361-366.
- [24] W –Erdman, J., Balentine, J. D., Arab, L., Beecher, G., Dwyer, J. T., Folts, J., HarnlyHollman, J.P., L –Keen ,C.,Mazza, G., Messina, M., Scalbert, A., Vita, J., Williamson,G.,Burrowes, J., 2007. Flavonoids and heart health: Proceeding of the ILSI North America flavonoids workshop, may 31-june 1, 2005, Washington. Journal of Nutrition. 137 (3 supp1): 718 s-737 s.
- [25] Emerenciano, V. P., Barbosa, K. O., Scotti, M. T., Ferriro, M. J. P., 2007. Self organisating maps in chemotaxonomic studies of Asteraceae: a classification of tribes using flavonoid data. Journal of brazilian chemical society. 18, 891-899.
- [26] Narayana, K. R., Reddy, M. S., Chaluvadi, M. R., Krishna, D. R., 2001. Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. Indian

- journal of pharmacology. 33, 2-16.
- [27] Guignard, J. L., Cosson, L., Hery, M., 1985. Abrégé de phytochimie, Paris, New York, Barcelone.
- [28] Lee, Y.J., Erdos, G., Hou, Z., Kim, S.H., Kim, J.H., Cho, J.M., Corry, P.M., 1994. Mechanism of quercetin-induced suppression and delay of heat shock gene expression and thermotolerance.
- [29] Schewe, T., Sies, H., 2003. Flavonoids as protectants against prooxidant enzymes. Biologie médicale. 34, 243-253.
- [30] Brunneton, J., 1999. Flavonoïdes. In: Pharmacognosie, Phytochimie: Plantes médicinales, 3ème édition, Technique et Documentation (Paris), pp. 310-353.
- [31] Seyoum, A., Asres, K., El-Fiky, F.K.,2006. Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. Journal of phytochemistry 67, 2058-2070.
- [32] Middleton, E., Kandaswami, C., Theoharidies, T.C., 2000. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. Pharmacological reviews.52, 673-751.
- [33] Cotelle, N., 2001. Role of flavonoids in oxidative stress. Current topics in medicinal chemistry. 1, 569-590.
- [34] Lin, J.K., Weng, M.S., 2006. Flavonoids as Nutraceuticals. In: The science of flavonoids. Grotewold, Eds, Springer, Pp. 217.
- [35] Heim, E.K., Tagliaferro, A.R., Bobilya, D.J.,2002. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. The Journal of Nutritional Biochemistry. 13, 572-584.
- [36] Shirley, B. W.,1996. Trends in plant science. 1, 377.
- [37] Benavides, A., Bassarello, C., Montoro, P., Vilegas, W., Piacente, S., Pizza, C., 2007. Flavonoids and isoflavonoids from *Gynerium sagittatum*. Phytochemistry 68, 1277–1284.
- [38] Lapcik, O., 2007. Isoflavonoids in non-leguminous taxa. Phytochemistry 68, 2909-2916.
- [39] Di Carlo, G., Mascolo, N., Izzo, A.A., Capasso, F., 1999. Life Sci. 65, 337-353.
- [40] Dey, P. M., Harborne, J. B., 1991. Methods in plant biochemistry, Terpenoids. Academic press. Vol:7.
- [41] Manitto, P., 1981. Biosynthesis of natural products. New york. 235.
- [42] Dewick, P. M., 1999. The biosynthesis of C5-C25 terpenoid compound. Nat. Prod. Rep. 16, 97-130.
- [43] Mc castill, D., Croteau, R., 1998. Some caveats for bioengineering terpenoid metabolism in

- plants. Tibtech. 16, 348-355.
- [44] Schulte, A. E., Van Der Heijden, R., Verpoorte, R., 1999. Microplate enzyme-coupled assays of mevalonate and phosphomevalonate kinase from *Catharanthus roseus* suspension cultured cells. Anal. Biochem. 269, 245-254.
- [45] Bonanno, J. B., Edo, C., Eswar, N., Pieper, U., Romanowski, M. J., Ilyin, V., Gerchman, S. E., Kycia, H., Studier, F. W., Sali, A., Burley, S. K., 2001. Structural genomics of enzymes involved in sterol/isoprenoid biosynthesis. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 98, 12896-12901.
- [46] Sharkey, T. D., Yeh, S., 2001. Isoprene emission from plants. Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant. Mol. Biol. 52, 407-436.
- [47] Dae-Sup, P., Choi, S. Z., Ran, K. K., Mee, L. S., Ro, L. K., Suhkneung, P., 2004. Immunomodulatory activity of triterpenes and phenolic compounds from *Viscum album L.* Journal of applied pharmacology. 11, 1-4.
- [48] Janssen, K., Mensink, R. P., Cox, F. J., Harryvan, J. L., Hovenier, R., Hollman, P. C., Katan, M. B., 1998. Effects of the flavonoids quercetin and apigenin on hemostasis in healthy volunteers: results from an in vitro and a dietary supplement study. Am. J. Clin. Nutr. 67, 255-262.
- [49] Wang, N., Can, C., Cardiol, J., 2001.17, 715-721.
- [50] Kruger, P.B., Patent, E., 1994. 58, 73-74.
- [51] Auradatif, B.Y.G., Fink, C.S., 2000.36, 74-78.
- [52] Park, E.H., Kahng, J.H., Lee, S.H., Shin, K.H., 2001. 72, 288-290.
- [53] Markham, K. R., Ternai, B., Stanley, R., Geiger, H., Mabry, T. J., 1978. Carbon-13 NMR studies of flavonoids—III: Naturally occurring flavonoid glycosides and their acylated derivatives. Tetrahedron. 34, 1389-1397.
- [54] Cao, X., Wei, Y., Lto, Y., 2009. Preparative isolation of isorhamnetin from Stigma maydis using high seed counter current chromatoghraphy. J. Liq. Chromatogr. Relat. technol. 32, 273-280.
- [55] Kubo, I., Yokokaw, Y., 1992. Two tyrosinase inhibiting flavonol glycosides from *Buddleia coriacea*. Phytochemistry 31, 1075-1077.

LISTE DES FIGURES

Figure II-1	Squelette de base des flavonoïdes	23
Figure II-2	La structure chimique des flavonoïdes	23
Figure II-3	Les differents familles des flavonoïdes	24
Figure II-4	Schéma de la biosynthèse des flavonoïdes	28
Figure II-5	Formation du squalène	33
Figure II-6	Schéma de biogenèse des triterpènes tétra- et pentacycliques	34
Figure-III-1	Photograhie de Bassia muricata (L.) Ascherson	35
Figure III-2	Bassia muricata (L.) Ascherson. d'après Ozenda	36
Figure III-3	protocole d'extraction des parties aériennes de la plante Bassia	
	muricata (L.) Ascherson.	39
Figure III-4	Spectre de masse ESI-MS (mode négatif) du composé BM ₁	40
Figure III-5	Spectre de masse ESI-MS (mode positif) du composé BM ₁	41
Figure III-6	Spectre de masse MS/MS (mode positif) du composé BM_1	41
Figure III-7	Spectre RMN ¹³ C J-modulé du composé BM1	42
Figure III-8	Spectre RMN ¹ H du composé BM1	43
Figure III-9	Corrélations COSY du cycle A.	43
Figure III-10	Corrélations COSY du cycle B.	44
Figure III-11	Corrélations COSY du cycle C	44
Figure III-12	Corrélations COSY du cycle D.	44
Figure III-13	Corrélations COSY de la chaîne latérale du composé BM ₁	45
Figure III-14	Spectre HSQC J-modulé du composé BM ₁	46
Figure III-15	Corrélations HMBC du cycle A	47
Figure III-16	Corrélations HMBC du cycle B.	47
Figure III-17	Corrélations HMBC du cycle C	48
Figure III-18	Corrélations HMBC du cycle D.	48
Figure III-19	Spectre HMBC du composé BM ₂	49
Figure III-20	Spectre de masse ESI-MS (mode positif) du composé BM ₂	52
Figure III-21	Spectre de masse ESI-MS (mode négatif) du composé BM ₂	52

Figure III-22	Spectre RMN ¹ H du composé BM ₂	53
Figure III-23	Corrélations COSY Du composé BM ₂ (partie glucose)	54
Figure III-24	Spectre COSY H-H du glucose	54
Figure III-25	Corrélations HSQC Du composé BM ₂ (partie glucose)	55
Figure III-26	Spectre HSQC J-modulé du glucose	55
FigureIII-26-1	Spectre HSQC J-modulé du glucose	56
Figure III-27	Corrélations HMBC de la partie osidique	56
Figure III-28	Spectre HMBC de la partie osidique	57
Figure III-29	spectre RMN $^1\mbox{H}$ (500MHZ , CD3OD) du composé BM_3	60
Figure III-30	spectre RMN ¹ H de la partie osidique du composé BM ₃	61
Figure III-31	spectre HSQC J-modulé du composé BM ₃	62
Figure III-32	partie du spectre COSY H-H (aglycone)	63
Figure III-33	corrélations COSY de partie du l'aglycone	63
Figure III-34	spectre RMN ¹³ C du composé BM ₃	64
Figure III-35	Corrélation HMBC du noyau A	65
Figure III-36	Corrélation HMBC du noyau B	66
Figure III-37	Spectre HMBC de la partie aglycone du composé BM ₃	67
Figure III-38	Spectre COSY H-H de la partie osidique du composé BM ₃	69
Figure III-39	Spectre HSQC J-modulé de la partie osidique du composé BM ₃	70
Figure III-40	Spectre HMBC mettant en évidence l'enchainement des sucres	7 1
Figure III-41	Corrélation HMBC mettant en évidence l'enchainement des sucres	7 1
Figure III-42	Spectre HMBC montrant le branchement des sucres à l'aglycone	72
Figure III-43	Corrélation HMBC montrant le branchement des sucres à l'aglycone.	72
Figure IV-1	Plaque CCM du Produit BM ₁	82
Figure IV-2	Plaque CCM du Produit BM ₂	86
Figure IV-3	Plaque CCM du Produit BM ₃	86

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1	Métabolites secondaires isolés de la famille chenopodiaceae	6
Tableau 2	Métabolites secondaires isolés du genre Bassia	17
Tableau 3	Déplacements chimiques en RMN ¹ H (500 MHz) et RMN ¹³ C (125MHz)	
	de BM ₁ dans CDCl3	50
Tableau 4	: Déplacements chimiques en RMN ¹ H (500 MHz) et RMN ¹³ C (125	
	MHz) de BM ₂ dans CDCl ₃ + MeOD	57
Tableau 5	Déplacements chimiques en RMN ¹ H (500 MHz) et RMN ¹³ C (125 MHz)	
	de BM ₃ dans CD ₃ OD	73
Tableau 6	Fractionnement de l'extrait chloroformique	79
Tableau 7	Rassemblement des fractions de l'extrait chloroformique	81
Tableau 8	Fractionnement de l'extrait butanolique	82
Tableau 9	Rassemblement des fractions de l'extrait butanolique	85

Abstract

This work has focused on the phytochemical study of the species *Bassia muricata* (*L*.) belonging to the Chenopodiaceae family.

From the chloroform and butanol extracts of aerial parts of the species *Bassia muricata* (*L*.). three secondary metabolites were identified including one flavonoid, and two steroids.

The determination of structures has been realised by combining the results of spectroscopie methods wich are the: RMN ¹H, RMN ¹³C, HSQC, HMBC, COSYH-H, and mass spectrometry .

This work is subdivised to four chapters:

In the first chapter: we have reported the previous study on the family and the genus.

The second chapter: is devoted to the study of flavonoïds and triterpenes.

The third chapter: gathers the personal work completed on the laboratory.concerning: fractionation, separation, purification of the products and the eludication of their structures.

The fourth chapter: presents the experimental part.

Keywords: Phytochemistry, *Bassia muricata (L.)*, Flavonoïds, Triterpenes, NMR 1D and 2D, Mass spectroscopy.

ملخص

هذا العمل عبارة عن حصيلة للدراسة الفيتو كيميائية التي انجزت على نبتة Bassia muricata (L.) ابحاثنا متعلقة بالمستخلص الكلوروفورمي و البوتانولي للجزء الهوائي لهذه النبتة حيث تم تمييز ثلاث مركبات عضوية من الايض الثانوي منها فلافونويد، اثنان من الستيرويدات

تحديد بنية المركبات تمت بالاستعانة بمختلف التقنيات الطيفية:

La masse, COSY H-H, HMBC, HSQC, RMN ¹³C, RMN ¹H ينقسم هذا العمل الى اربعة محاور هي:

المحور الاول: يقوم على دراسة الاعمال السابقة حول العائلة و النوع.

المحور الثاني: خصص لدراسة الفلافونيدات و ثلاثي التربينات .

المحور الثالث: يضم كل الاعمال الشخصية المتعلقة بفصل المركبات, تنقيتها, تحديد بنيتها و ذلك في المخبر.

المحور الرابع: خصص للجزء العملي.

الكلمات المفتاحية:

فيتوكيمياء , Bassia muricata (L.), مطيافية ةالتكال , فلافونويدات , ثلاثي التربينات , الرنين المغناطيسي.

Résumé:

Le présent travail est le bilan d'une étude phytochimique, que nous avons menée sur *Bassia muricata (L.)* de la famille Chenopodiaceae.

Nos investigations ont été portées sur les extraits chloroformique et butanolique des parties aériennes de cette plante. Trois métabolites secondaires ont été caractérisés, un flavonoïde et deux steroides.

La détermination de structure a été réalisée par la combinaison des résultats des méthodes spectroscopiques : RMN ¹H, RMN ¹³C, HSQC, HMBC, COSYH-H et la spectrométrie de masse.

Ce travail est divisé en quatre chapitres :

Dans le premier chapitre : nous avons rapporté une étude antérieure sur la famille et le genre.

Le deuxième chapitre : est consacré à l'étude des flavonoïdes et des triterpènes.

Le troisième chapitre : regroupe les travaux personnels au niveau du laboratoire concernant : la séparation, le fractionnement, la purification des composés et l'élucidation de leurs structure.

Le dernier chapitre : est consacré au protocole expérimental.

Mots clés: Phytochimie, *Bassia muricata (L.)*, Flavonoïdes, Triterpènes, RMN 1D et 2D, Spectrométrie de masse.