

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE HADJ LAKHDAR-BATNA 1

FACULTE DES SCIENCES DE LA MATIERE

DEPARTEMENT DE CHIMIE

Filière : Chimie

THESE DE DOCTORAT EN SCIENCES

Spécialité : Chimie Organique

Présentée par

M^{elle} LARAOUI HABIBA

Thème

**Métabolites secondaires de *Fumana montana*
et *Fumana thymifolia* (Cistaceae)**

Soutenue publiquement le 24/11/2016

Devant le JURY

Hamada HABA	Professeur Université de Batna 1	Président
Mohammed BENKHALED	Professeur Université de Batna 1	Rapporteur
Ammar DIBI	Professeur Université de Batna 1	Examineur
Salah AKKAL	Professeur Université de Constantine 1	Examineur
Belgacem LEGSEIR	Professeur Université de Annaba	Examineur
Hocine DENDOUGUI	Professeur Université de Ouargla	Examineur

Année Universitaire : 2015/2016

احمد رضا العكالمي

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier mon directeur de thèse, Monsieur le Professeur ***BENKHALED Mohammed***, pour m'avoir accueilli au sein du Laboratoire de Chimie et Chimie de l'environnement (LCCE) de la Faculté des Sciences de la Matière de l'Université de Batna-1, et permis de faire mon travail de thèse. Je lui suis reconnaissante de m'avoir fait bénéficier tout au long de ce travail de sa grande compétence, de sa rigueur intellectuelle, de son dynamisme, et particulièrement de sa patience et tous les efforts qu'il a consentis sans cesse durant de la rédaction de cette thèse, que je n'oublierai jamais.

Je remercie sincèrement, Monsieur ***HABA Hamada***, Professeur à l'Université de Batna-1, qu'il trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance tant pour son encadrement sans faille que pour ses recommandations et avis judicieux durant mon travail de paillasse. Je tiens aussi à lui adresser un grand merci pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider le jury de ma thèse de Doctorat.

Je suis très honorée de la présence à mon jury de thèse, du professeur ***DIBI Ammar*** de l'Université de Batna-1, le professeur ***AKKAL Salah*** de l'Université de Constantine- 1, le professeur ***LEGSEIR Belgacem*** de l'Université de Annaba et le professeur ***DENDOUGUI Hocine*** de l'Université de Ouargla. Je tiens à les assurer de ma profonde reconnaissance pour l'intérêt qu'ils portent à ce travail et le temps consacré à la lecture de cette thèse.

J'exprime mes sincères remerciements à Monsieur le professeur ***OUJJEHIIH Bachir***, du département d'Agronomie de l'Institut des Sciences Vétérinaires et Agronomiques, pour l'identification botanique des espèces étudiées dans le cadre de ce travail et le Docteur ***LONG Christophe***, du Centre de Recherche sur les Substance Naturelles CNRS-Pierre Fabre, pour la réalisation des spectres de RMN et masse.

A titre plus personnel, je remercie chaleureusement le Docteur ***BITAM Fatma***, Maitre de Conférences à l'Université de Batna-2, pour ses orientations, sa gentillesse et pour m'avoir fait profiter de ses connaissances et expériences. Je tiens à te remercier surtout pour le soutien moral ininterrompu et les nombreux conseils tout le long de ma thèse.

Mes remerciements iront également à toutes les personnes qui, grâce à leur disponibilité et à leur bonne humeur, m'ont soutenu en rendant agréable les moments passés ensemble : **Nouara, Rofia, Abla et Lynda**.

Cette liste de personnes n'est pas exhaustive, et afin de n'oublier personne, je remercie tous mes collègues du laboratoire de Chimie et Chimie de l'Environnement (LCCE), **Sonia, Sawsen, Leila, Samira, Hasna, Imane** et également ma collègue ***HARKATI Dalal***, enseignante à l'Université de Biskra, pour leur disponibilité et gentillesse.

Finalement, toute ma gratitude et amour vont à mes chers parents qui n'ont jamais douté de moi et qui m'ont aidé et encouragé tout au long de ma vie et mes études. A mes frères **Hamza, Fares** et sœurs **Asma, Nadjla** pour leur patience et leur soutien pendant cette longue épreuve que représente cette thèse, sans s'oublier **Nour El Houda, Djamel, Nabil** et mes chers petits **Amine, Wassim, Nihal et Lyna**.

Dédicaces

*Tout d'abord, je remercie mon «Dieu» tout puissant
de m'avoir donné la volonté, le courage et la patience pour réaliser
ce travail de recherche.*

Cette thèse est dédiée...

A ma mère et mon père,

A toute ma famille,

Abréviations et symboles

CC	Chromatographie sur Colonne
CCM	Chromatographie sur Couche Mince
CCE	Chromatographie sur Couche Epaisse
CDCl₃	Chloroforme deutéré
CD₃OD / MeOD	méthanol deutéré
CLHP	Chromatographie Liquide Haute Performance
CLV	Chromatographie Liquide sous Vide
CoASH	Coenzyme A
COSY H-H	Correlated Spectroscopy
CPG	Chromatographie en Phase Gazeuse
<i>d</i>	doublet
<i>dd</i>	doublet de doublets
<i>ddd</i>	doublet de doublets de doublets
DMSO-d₆	diméthylsulfoxyde deutéré
Gal	galactose
Glc	glucose
HMBC	Heteronuclear Multiple Bonding Connectivity
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Connectivity
<i>J</i>	constante de couplage exprimée en Hz
<i>m</i>	multiplet
<i>nd</i>	non déterminé
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
Rha	rhamnose
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
RP-18	silice greffée en C-18
<i>s</i>	singulet
<i>sl</i>	singulet large
SM- ESI	Spectrométrie de Masse par Electro Spray
SM- ESI-HR	Spectrométrie de Masse par Electro Spray Haute Résolution
SiO₂	gel de silice normale
<i>t</i>	triplet
Tol	toluène

uma	unité de masse atomique
UV	Ultraviolet
Xyl	xylose
δ	déplacement chimique exprimé en ppm

SOMMAIRE

Introduction	1
---------------------------	---

Chapitre I : Etudes antérieures

I.1. Présentation de la famille Cistaceae.....	3
I.2. Caractéristiques botaniques.....	4
I.3. Position systématique.....	4
I.4. Propriétés médicinales et intérêt biologique des plantes Cistaceae.....	5
I.4.1. Vertus médicinales.....	5
I.4.2. Activités biologiques.....	5
I.5. Propriétés non médicinales.....	7
I.6. Principaux métabolites secondaires des plantes Cistaceae.....	7
I.6.1. Flavonoïdes	7
I.6.1.1. Flavonols et flavones.....	8
I.6.1.2. Flavan-3-ols et proanthocyanidines.....	8
I.6.2. Diterpènes	15
I.6.3. Composés volatils.....	21
I.6.4. Autres classes de métabolites secondaires.....	23

Chapitre II : Composés phénoliques

II.1. Généralités sur les composés phénoliques.....	27
II.2. Phénols simples.....	28
II.3. Acides phénoliques.....	28
II.3.1. Classification.....	28
II.3.1.1. Acides phénoliques dérivés de l'acide benzoïque.....	29
II.3.1.2. Acides phénoliques dérivés de l'acide cinnamique.....	29
II.4. Biogénèse des phénols simples et acides phénols.....	29
II.5. Flavonoïdes.....	31
II.5.1. Définition.....	31
II.5.2. Classification des flavonoïdes.....	32

II.5.3. Biosynthèse des flavonoïdes.....	33
II.5.4. Activités biologiques des flavonoïdes.....	35

Chapitre III : Etude phytochimique de l'espèce *Fumana montana* Pomel

III.1. Etude phytochimique de l'espèce <i>Fumana montana</i>	36
III.1.1. Rappel botanique.....	36
III.1.2. Résultats et discussion.....	37
III.1.2.1. Extraction.....	37
III.1.2.2. Séparation et purification.....	38
III.1.2.3. Détermination structurale des composés isolés.....	39
III.1.2.3.1. Elucidation structurale du composé 1.....	41
III.1.2.3.2. Elucidation structurale du composé 2.....	55
III.1.2.3.3. Elucidation structurale du composé 3.....	61
III.1.2.3.4. Elucidation structurale du composé 4.....	68
III.1.2.3.5. Elucidation structurale du composé 5.....	72
III.1.2.3.6. Elucidation structurale du composé 6.....	77
III.1.2.3.7. Elucidation structurale du composé 7.....	80
III.1.2.3.8. Elucidation structurale du composé 8.....	85
III.1.2.3.9. Elucidation structurale du composé 9.....	89
III.1.2.3.10. Elucidation structurale du composé 10.....	91
III.1.2.3.11. Elucidation structurale du composé 11.....	94
III.1.2.3.12. Elucidation structurale du composé 12.....	100
III.1.2.3.13. Elucidation structurale du composé 13.....	103
III.1.2.3.14. Elucidation structurale du composé 14.....	111
III.1.2.3.15. Elucidation structurale du composé 15.....	118
III.1.2.3.16. Elucidation structurale du composé 16.....	119
III.1.2.3.17. Elucidation structurale du composé 17.....	121
III.2. Conclusion.....	123

Chapitre IV : Etude phytochimique de l'espèce *Fumana thymifolia*

IV.1. Etude phytochimique de l'espèce <i>Fumana thymifolia</i>	125
IV.1.1. Rappel botanique.....	125
IV.1.2. Résultats et discussion.....	126
IV.1.2.1. Extraction.....	126
IV.1.2.2. Séparation et purification.....	127
IV.1.2.3. Caractérisation des produits obtenus.....	128
IV.1.2.3.1. Détermination structurale du composé 18.....	129
IV.2. Conclusion.....	140
Conclusion générale	141

Chapitre V : Partie expérimentale

V.1. Matériels et appareillage.....	146
V.1.1. Matériel végétal.....	146
V.1.2. Méthodes chromatographiques analytiques.....	146
V.1.2.1. Chromatographie sur couche mince (CCM).....	146
V.1.2.2. Chromatographie liquide sous vide (VLC).....	146
V.1.2.3. Chromatographie sur colonne ouverte (CC).....	146
V.1.2.4. Chromatographie liquide haute performance (CLHP).....	147
V.1.3. Méthodes physico-chimiques.....	147
V.1.3.1. Pouvoir rotatoire.....	147
V.1.3.2. Spectrométrie UV-Visible.....	147
V.1.3.3. Spectrométrie de masse.....	148
V.1.3.4. Spectroscopie RMN.....	148
V.2. Etude de l'espèce <i>Fumana montana</i> Pomel.....	148
V.2.1. Extraction.....	148
V.2.2. Séparation et purification.....	148
V.2.2.1. Fractionnement et purification de l'extrait AcOEt.....	148
V.2.2.2. Fractionnement et purification de l'extrait <i>n</i> -BuOH.....	158
V.2.3. Composés isolés de l'espèce <i>Fumana montana</i> Pomel.....	163
V.3. Etude de l'espèce <i>Fumana thymifolia</i>	167

V.3.1. Extraction.....	167
V.3.2. Séparation et purification.....	168
V.3.2.1. Fractionnement et purification de l'extrait AcOEt.....	168
V.3.3. Composés isolés de l'espèce <i>Fumana thymifolia</i>	171
Références bibliographiques.....	172

Introduction

Les produits de la nature ont toujours été utilisés en médecine traditionnelle, et cela depuis l'antiquité, pour le traitement de nombreuses maladies et affections. Depuis, les diverses méthodes d'investigation chimiques mises en œuvre ont permis d'obtenir une vaste gamme de métabolites secondaires bioactifs provenant des deux sources, marine et terrestre. Un nombre important de ces métabolites constitue encore un facteur essentiel dans l'industrie pharmaceutique. Si les efforts de recherche et de développement de médicaments d'origine naturelle se sont quelque peu essouffés, il n'en demeure pas moins que les produits naturels continuent de fournir une diversité structurale de tout premier ordre, offrant ainsi des opportunités certaines à la chimie combinatoire standard pour découvrir principalement des agents médicamenteux de faible masse moléculaire [1]. Si l'on tient compte du fait qu'une petite partie (moins de 10 %) de la biodiversité a été évaluée biologiquement, beaucoup de composés naturels dotés d'activités biologiques potentielles attendent leur découverte, permettant de mieux cerner cette diversité chimique naturelle toujours surprenante.

Les plantes sont connues pour leurs vertus thérapeutiques, depuis des millénaires. Elles se sont adaptées à leur environnement en produisant divers métabolites secondaires pour faire face aux agressions externes dues aux bactéries, insectes, champignons ainsi qu'aux conditions climatiques. Leurs propriétés ethnopharmacologiques ont servi comme source primaire pour la découverte de médicaments. Selon l'OMS, 80 % de la population mondiale a encore recours à des traitements à base de plantes, faisant partie de ce qu'on appelle "médecine traditionnelle" [2]. Les connaissances associées à cette dernière ont encouragé d'autres recherches sur les plantes médicinales comme source de médicaments potentiels. Elles ont conduit à l'isolement de nombreux produits naturels qui sont devenus des produits pharmaceutiques bien connus.

Les polyphénols font justement partie de ces métabolites secondaires produits par les plantes pour se prémunir des attaques d'organismes externes. Il a été établi que les polyphénols alimentaires (acide caféique, acide vanillique, génistéine, taxifoline, catéchine, quercétine, rutine.....) jouent un rôle important dans la santé humaine. En effet, une consommation élevée de fruits, légumes, riches en polyphénols, abaisse remarquablement le risque de contracter de nombreuses maladies comme le cancer, les maladies cardiovasculaires, les inflammations chroniques et autres maladies dégénératives [3, 4]. Ces maladies, selon des études récentes, sont liées au stress oxydatif des espèces réactives de l'oxygène et l'azote. Phytochimiquement, les polyphénols sont les responsables principaux des activités antioxydantes totales des fruits, plus que la vitamine C. Ils se sont avérés comme des antioxydants puissants capables de neutraliser les radicaux libres, en donnant un électron ou un atome d'hydrogène.

Les plantes appartenant à la famille Cistaceae qui, à l'instar de la flore méditerranéenne, constituent une ressource végétale qui n'a cessé, depuis des siècles, d'être utilisée par les populations autochtones pour leurs propriétés médicinales, sont très pourvues en composés polyphénoliques. Ces derniers sont constitués essentiellement de flavonoïdes de types flavonol, flavanol et flavone, d'où notre intérêt à étudier chimiquement deux plantes Cistaceae appartenant au genre *Fumana*, *F. montana* Pomel et *F. thymifolia* (L.) Spach ex Webb (Cistaceae). Le but évident est d'élargir nos connaissances quant à la composition chimique des plantes de la famille Cistaceae qui compte environ 200 espèces réparties en 8 genres (*Cistus*, *Fumana*, *Halimium*, *Helianthemum*, *Tuberaria*, *Crocyanthemum*, *Hudsonia* et *Lechea*) [5]. Notre intérêt, tout aussi évident, se justifie également par le fait que ces deux plantes n'ont fait l'objet d'aucune étude chimique antérieure conséquente. La seule étude mentionnée reporte une caractérisation chimique par Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG) des huiles essentielles issues des parties aériennes de l'espèce *Fumana thymifolia* [6].

Notre travail de recherche sera présenté globalement en cinq chapitres :

Le premier chapitre sera consacré à une étude bibliographique incluant la présentation de la famille Cistaceae, les multiples usages traditionnels des plantes de cette famille, leurs propriétés biologiques ainsi que les principaux résultats phytochimiques antérieurs réalisés sur les genres les plus étudiés, à savoir *Cistus*, *Halimium* et *Helianthemum*.

Le deuxième chapitre présentera les composés phénoliques, leur définition, leur classification, leur biosynthèse ainsi que leur intérêt thérapeutique.

L'interprétation et la discussion des résultats phytochimiques personnels obtenus dans le cadre de cette étude réalisée sur les deux espèces, *Fumana montana* et *Fumana thymifolia*, seront exposées dans les troisième et quatrième chapitres.

Enfin le cinquième chapitre est réservé à la description des protocoles expérimentaux ainsi que les méthodes d'analyse structurale utilisées au cours de cette investigation chimique.

Chapitre I

Etudes antérieures

I.1. Présentation de la famille Cistaceae

Les plantes de la famille Cistaceae sont en général des arbustes, sous-arbrisseaux et plus rarement des plantes herbacées. Elles peuvent être vivaces ou annuelles et sont caractéristiques des milieux secs et ensoleillés [7]. Selon Beatriz Guzman [5], cette famille compte environ 200 espèces réparties en 8 genres que sont *Cistus*, *Fumana*, *Halimium*, *Helianthemum*, *Tuberaria*, *Crocانthemum*, *Hudsonia* et *Lechea*. Les espèces qui caractérisent tous ces genres sont principalement localisées dans les zones tempérées du nord, particulièrement dans la région méditerranéenne (Tableau I.1). En effet, toutes les espèces relevant des cinq premiers genres mentionnés ci-dessus, sont distribuées presque exclusivement dans le bassin méditerranéen. Les espèces constituant les trois derniers genres cités se rencontrent dans les régions tempérées de l'Amérique [8, 9] (Figure I.1).

Tableau I.1. Distribution géographique des huit taxons des Cistaceae

Taxon	Nombre d'espèces	Localisation	Références
<i>Helianthemum</i>	~ 110	-Europe centrale et méridionale, Russie, Asie centrale, Afrique du Nord (Algérie, Maroc, Tunisie, Lybie,...), Amérique	[5], [13], [14], [15]
<i>Cistus</i>	~ 21	- Régions méditerranéennes, Afrique du Nord.	[10], [11], [5], [12]
<i>Crocانthemum</i>	~ 20	- Côtes atlantiques d'Amérique (Californie et Mexique)	[5], [21]
<i>Lechea</i>	~ 17	-Amérique du Nord	[5], [21]
<i>Tuberaria</i> = <i>Xolantha</i>	~ 12	-Régions méditerranéennes occidentales et méridionales du Nord	[5], [22], [23], [24]
<i>Fumana</i>	~ 9	-Europe méridionale, régions méditerranéennes	[13], [16], [17]
<i>Halimium</i>	~ 8	-Europe méridionale, Afrique du Nord, région méditerranéenne occidentale.	[5], [18], [19]
<i>Hudsonia</i>	~ 2	- Amérique du Nord.	[5], [20], [21]

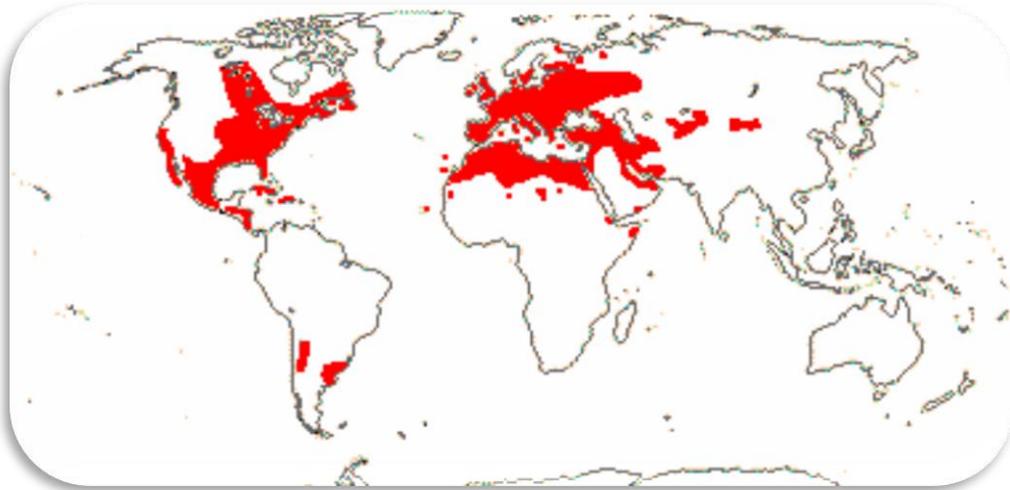


Figure I.1. Répartition géographique des plantes Cistaceae

I.2. Caractéristiques botaniques

La petite famille Cistaceae est considérée comme l'une des plus difficiles à étudier du point de vue botanique. Elle tire son nom du mot grec "Kisthos" qui signifie capsule [25, 26]. Les plantes de cette famille sont généralement à fleurs régulières, bisexuées, solitaires ou arrangées en cymes. Elles présentent généralement 5 sépales dont deux plus réduits et 5 pétales. Les étamines sont nombreuses. L'ovaire est composé de 5 à 10 carpelles comprenant 2 ou plusieurs ovules. Les feuilles sont opposées, simples, stipulées et portent dans de nombreux cas des glandes sécrétrices d'huiles volatiles (*Cistus* et *Helianthemum*) ou des poils glanduleux [25, 27].



Figure. I.2. Différents rameaux florifères des espèces Cistaceae

I.3. Position systématique

Les plantes Cistaceae forment une famille de plantes dicotylédones. Cette famille a souvent été considérée comme voisine des Violaceae. De nombreux reclassements au niveau

de l'ordre ont été réalisés : Bixales (Takhtajan 1987), Violales (Cronquist 1988), Malvales (Dahlgren 1989), Violales (Thorne 1992) et Cistales (Takhtajan 1997), suite à des modifications basées sur des critères morphologiques et anatomiques qui se sont avérés complexes. Cependant, des analyses moléculaires récentes basées sur des séquences d'ADN ont permis de classer la famille Cistaceae dans l'ordre des Malvales [5].

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Dilleniidae
Ordre	Malvales
Famille	Cistaceae

I.4. Propriétés médicinales et intérêt biologique des plantes Cistaceae

I.4.1. Vertus médicinales

Les plantes Cistaceae, particulièrement celles appartenant au genre *Cistus* et constituées de petits arbustes poussant à l'état sauvage en Méditerranée occidentale (Portugal, Espagne, Sud de la France, Italie, Algérie, Maroc), sont fréquemment employées en médecine traditionnelle pour leurs divers effets : analgésique, antimicrobien, antitumoral, antiviral, anti-inflammatoire, antifongique, gastroprotecteur et antioxydant [29, 30, 31].

L'espèce *Cistus ladaniferus* L., plus connue sous le nom Ciste à gomme, sécrète du labdanum qui est une sorte de gomme-résine produite par les glandes oléifères présentes au niveau des feuilles, rameaux et des sommités fleuries de la plante. Cette résine extraite par immersion du Ciste dans de l'eau chaude carbonatée, est un produit noirâtre possédant une odeur ambrée et une saveur amère. Le labdanum est utilisé comme médicament stimulant, astringent et hémostatique [32].

La même plante est largement utilisée en thérapeutique traditionnelle pour guérir un bon nombre de maladies. Dans la région d'Al Haouz-Rhamna (Maroc), la poudre des graines associée avec celle de la nigelle (*Nigella sativa*) est employée pour traiter le diabète [33]. Elle est aussi utilisée à grande échelle par les populations locales du nord du Maroc comme anti-

acide, antidiarrhéique et antispasmodique [34]. En Espagne, les infusions de ses feuilles et fleurs sont employées comme remède pour soulager les maux gastriques, l'inflammation et nettoyer les blessures [35].

En Algérie, les feuilles de *C. albidus* L. sont consommées sous forme de tisane, en infusion dans du thé, comme digestif [36]. Cette plante est aussi utilisée contre les maux d'intestins [36].

Cistus creticus L. (Syn. *C. incanus* ou *C. villosus*), espèce très répandue sur le pourtour du bassin méditerranéen, est un arbrisseau mesurant environ un mètre. La décoction de ses feuilles agit contre les coliques [37].

En Turquie, l'espèce *C. salvifolius* L. est utilisée contre les hémorragies et la bronchite [37].

L'espèce *Helianthemum glomeratum* est utilisée au Mexique pour le traitement de la diarrhée et la dysenterie [38].

Dans la médecine populaire libyenne, *Helianthemum kahiricum* est utilisée traditionnellement pour soigner l'ulcère gastrique [39].

I.4.2. Activités biologiques

Les extraits aqueux des feuilles de *C. ladanifer* et *C. populifolius*, contenant les tanins ellagiques ont montré un pouvoir antioxydant, antimicrobien et une activité cytotoxique contre des cellules cancéreuses humaines [40].

Ángela Rubio-Moraga et ses collaborateurs ont confirmé le pouvoir antioxydant et antimicrobien chez les Cistaceae par une récente étude biologique effectuée sur onze taxons du genre *Helianthemum*. Une forte relation a été trouvée entre les profils polyphénoliques des différents extraits (aqueux et méthanolique) des feuilles de chaque taxon et les activités antioxydante et antibactérienne. En effet, les espèces *H. alypoides*, *H. cinereum* subsp. *rotundifolium*, *H. hirtum*, *H. asperum*, et *H. marifolium* subsp. *marifolium* sont caractérisées par la présence des dérivés des acides galliques et ellagiques ainsi que les tanins ellagiques. Le profil polyphénolique de *H. apenninum* subsp. *cavanillesianum*, *H. syriacum*

et *H. polygonoides* est constitué principalement de flavonoïdes. Par ailleurs, les espèces *Helianthemum cinereum*, *Helianthemum alypoides* et *Helianthemum marifolium* ont présenté des activités de piégeage de radicaux libres et antimicrobiennes importantes [41].

Les investigations pharmacologiques réalisées sur l'extrait méthanolique de l'espèce *H. glomeratum* ont montré des propriétés anti-giardiales, suite à des tests réalisés sur des souris infectées par le parasite intestinal *Giardia lamblia* [38].

I.5. Propriétés non médicinales

Les plantes Cistaceae sont également cultivées et utilisées comme plantes ornementales.

Les graines pilées de la plupart des Cistes sont consommées dans les campagnes marocaines, comme amuse-gueule et en cuisine comme chapelure pour les gâteaux [37].

Les cendres des fruits de *C. albidus* L. mélangées aux fruits de *Juniperus phoenicea* sont utilisées comme moyen de tatouage [37].

Certains genres Cistaceae (*Fumana*, *Tuberaria* et *Helianthemum*) peuvent présenter des associations symbiotiques mycorhiziennes avec les truffes (*Terfez* et *Tuber*) [31], tandis que beaucoup de ces espèces jouent un rôle important en tant que plantes pionnières dans les zones perturbées et la stabilisation des sols contre l'érosion [20].

I.6. Principaux métabolites secondaires des plantes Cistaceae

Les investigations phytochimiques effectuées sur un nombre important d'espèces de la famille Cistaceae, ont concerné essentiellement les genres *Cistus*, *Halimium* et *Helianthemum*. Elles ont globalement mis en évidence la présence de diterpènes, de polyphénols (flavonoïdes) et les huiles essentielles.

I.6.1. Flavonoïdes

Les flavonoïdes isolés ou mis en évidence dans les plantes Cistaceae sont constitués essentiellement de flavonols *O*-méthoxylés et/ou *O*-glycosylés, flavanols et flavones. Bien que des génines de type myricétine, apigénine, lutéoline, gossypétine, herbacétine et

isorhamnétine ont été isolées, la présence de flavonoïdes dérivés du kaempférol et quercétine est particulièrement remarquable dans cette famille.

I.6.1.1. Flavonols et Flavones

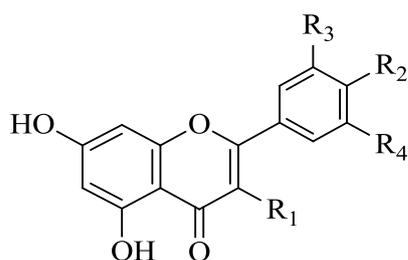
Le genre *Cistus* est caractéristique de la région méditerranéenne. La comparaison chimique des résines fraîchement récoltées de différentes espèces de ce genre telles que *Cistus ladanifer*, *C. palinhae*, *C. albanicus*, et *C. parviflorus*, effectuée par Peter Proksch et Paul-Gerhard Gülz, a permis de définir les flavonoïdes *O*-méthoxylés comme marqueurs chimio-taxonomiques [42, 43]. On citera entre autres : kaempférol 3-méthyl éther, quercétine 3,7,3'-triméthyl éther, myricétine 3,7,3',4'-tetraméthyl éther, gossypétine 3,8,3',4'-tetraméthyl éther,

Tableau I.2. Distribution des Flavonols et Flavones dans le genre *Cistus*

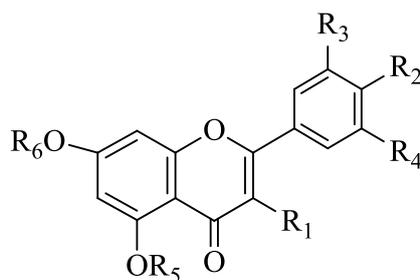
	Structure	Espèce	Réf.
1	Kaempférol	<i>C. laurifolius</i>	44
2	Quercétine		
3	Myricétine	<i>C. monspeliensis</i>	45
4	Isorhamnétine	<i>C. ladanifer</i>	46
5	Lutéoline	<i>C. laurifolius</i>	44
6	Apigénine		
7	Jaranol	<i>C. palinhae</i>	47
8	Genkwanine		
9	Kaempférol 3-méthyl éther	<i>C. palinhae</i>	47
		<i>C. albanicus</i> ,	43
		<i>C. parviflorus</i>	
10	Kaempférol 3,7-diméthyl éther	<i>C. laurifolius</i>	44
		<i>C. parviflorus</i>	43
11	Kaempférol 3,4'-diméthyl éther	<i>C. albanicus</i>	
		<i>C. parviflorus</i>	
12	Kaempférol 7-méthyl éther	<i>C. parviflorus</i>	
13	Kaempférol 4'-méthyl éther		

14	Kaempférol 3,7,4'-triméthyl éther		
15	Lutéoline 7-méthyl éther	<i>C. laurifolius</i>	44
16	Apigénine 7-méthyl éther		
17	Quercétine 3-méthyl éther		
18	Quercétine 7-méthyl éther		
19	Quercétine 5-méthyl éther		
20	Quercétine 3'-méthyl éther		
21	Quercétine 3,7-diméthyl éther		
22	Quercétine 7,3'-diméthyl éther		
23	Quercétine 3,4'-diméthyl éther		
24	Quercétine 5,3'-diméthyl éther		
25	Quercétine 3,5,3'-triméthyl éther		
26	Quercétine 3,3'-diméthyl éther	<i>C. laurifolius</i>	44
27	Quercétine 3,7,3'-triméthyl éther	<i>C. parviflorus</i>	43
28	Myricétine 3,7,3',4'-tetraméthyl éther	<i>C. parviflorus</i>	43
29	Myricétine 3,7,4',5'-tetraméthyl éther	<i>C. monspeliensis</i>	45
30	Gossypétine 3,8,3',4'-tetraméthyl éther	<i>C. parviflorus</i>	43
31	Gossypétine 3,7,8,3',4'-pentaméthyl éther	<i>C. albanicus</i>	43
32	Gossypétine 3,8,3'-triméthyl éther		
33	Herbacétine 3,7,8,4'-tetraméthyl éther		
34	Herbacétine 3,8,4'-triméthyl éther		
35	Herbacétine 3,8-pentaméthyl éther		
36	Quercétagetine 3,6,3'-triméthyl éther		
37	Quercétagetine 3,6-diméthyl éther		
38	6-hydroxy kaempférol 3,6,4'-triméthyl éther		
39	6-hydroxy kaempférol 3,6-diméthyl éther		
40	Myricétine-3- <i>O</i> -rutinoside		
41	Myricétine-3- <i>O</i> -glucoside		

42	Quercétine-3- <i>O</i> -sophoroside	<i>C. ladanifer</i>	46
43	Quercétine-3- <i>O</i> -galactoside-7-rhamnoside		
44	Quercétine-3- <i>O</i> -rutinoside		
45	Quercétine-3- <i>O</i> -xylosyl (1→6) glucoside		
46	Quercétine-3- <i>O</i> -glucoside		
47	Quercétine-3- <i>O</i> -rhamnosyl (1→2) galactoside		
48	Kaempférol-3- <i>O</i> -glucoside		
49	Kaempférol-3- <i>O</i> -rutinoside		
50	Isorhamnétine-3- <i>O</i> -glucoside		
51	Isorhamnétine-3- <i>O</i> -xylosyl (1→6) glucoside		
52	Apigénine-6- <i>C</i> -glucoside		
53	Apigénine-6- <i>C</i> -rutinoside		

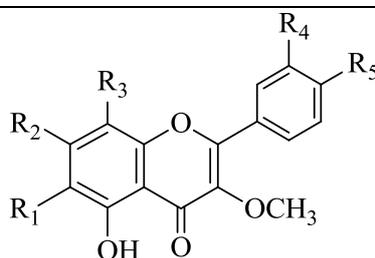


N°	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
1	OH	OH	H	H
2	OH	OH	OH	H
3	OH	OH	OH	OH
5	H	OH	OH	H
6	H	OH	H	H

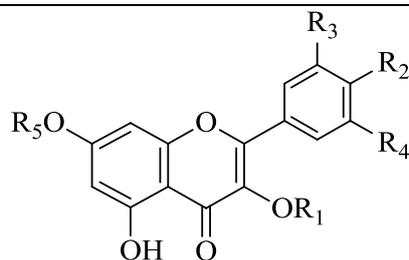


N°	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆
4	OH	OH	OCH ₃	H	H	H
7	OCH ₃	OH	H	H	H	CH ₃
8	H	OH	H	H	H	CH ₃
9	OCH ₃	OH	H	H	H	H
10	OCH ₃	OH	H	H	H	CH ₃
11	OCH ₃	OCH ₃	H	H	H	H
12	OH	OH	H	H	H	CH ₃
13	OH	OCH ₃	H	H	H	H
14	OCH ₃	OCH ₃	H	H	H	CH ₃
15	H	OH	OH	H	H	CH ₃

16	H	OH	H	H	H	CH ₃
17	OCH ₃	OH	OH	H	H	H
18	OH	OH	OH	H	H	CH ₃
19	OH	OH	OH	H	CH ₃	H
20	OH	OH	OCH ₃	H	H	H
21	OCH ₃	OH	OH	H	H	CH ₃
22	OH	OH	OCH ₃	H	H	CH ₃
23	OCH ₃	OCH ₃	OH	H	H	H
24	OH	OH	OCH ₃	H	CH ₃	H
25	OCH ₃	OH	OCH ₃	H	H	CH ₃
26	OCH ₃	OH	OCH ₃	H	H	H
27	OCH ₃	OH	OCH ₃	H	H	CH ₃
28	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	OH	H	CH ₃
29	OCH ₃	OCH ₃	OH	OCH ₃	H	CH ₃

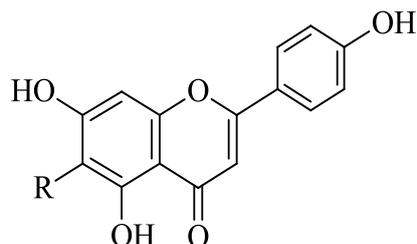


N°	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
30	H	OH	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃
31	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃
32	H	OH	OCH ₃	OCH ₃	OH
33	H	OCH ₃	OCH ₃	H	OCH ₃
34	H	OH	OCH ₃	H	OCH ₃
35	H	OH	OCH ₃	H	OH
36	OCH ₃	OH	H	OCH ₃	OH
37	OCH ₃	OH	H	OH	OH
38	OCH ₃	OH	H	H	OCH ₃
39	OCH ₃	OH	H	H	OH



N°	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
40	Rha 1-6Glc	OH	OH	OH	H
41	Glc	OH	OH	OH	H
42	Glc 1-2Glc	OH	OH	H	H
43	Gal	OH	OH	H	Rha

44	Rha 1 \rightarrow 6Glc	OH	OH	H	H
45	Xyl 1 \rightarrow 6Glc	OH	OH	H	H
46	Glc	OH	OH	H	H
47	Rha 1 \rightarrow 2Gal	OH	OH	H	H
48	Glc	OH	H	H	H
49	Rha 1 \rightarrow 6Glc	OH	H	H	H
50	Glc	OH	OCH ₃	H	H
51	Xyl 1 \rightarrow 6Glc	OH	OCH ₃	H	H



N°	R
52	Glc
53	Rha 1 \rightarrow 6Glc

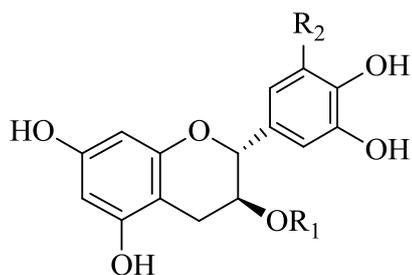
I.6.1.2. Flavan-3-ols et proanthocyanidines

Les études phytochimiques réalisées par Frank Peterleit et ses collaborateurs, dans leurs recherches systématiques des polyphénols des cistes, ont permis l'isolement et l'identification de flavonoïdes de types flavan-3-ol et proanthocyanidine (Tableau I.3).

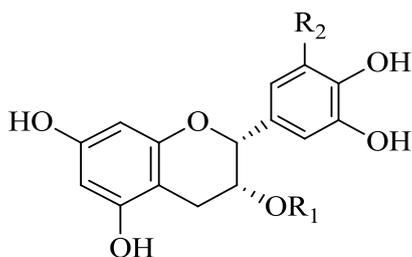
Tableau I.3. Distribution des flavan-3-ols et proanthocyanidines dans le genre *Cistus*

	Structure	Espèce	Réf.	
54	Epicatechine-(4 β \rightarrow 6)-catéchine	<i>C. incanus</i>	49	
55	Epigallocatechine-3- <i>O</i> -gallate-(4 β \rightarrow 6)-galloocatechine			
56	Epigallocatechine-(4 β \rightarrow 8)-catéchine			
57	Epigallocatechine-(4 β \rightarrow 8)-galloocatechine			
58	Epigallocatechine-3- <i>O</i> -gallate-(4 β \rightarrow 8)-galloocatechine			
59	Gallocatechine-(4 α \rightarrow 8)-galloocatechine-(4 α \rightarrow 8)-galloocatechine			
60	Catéchine			50
61	Gallocatechine			
62	Catéchine-3- <i>O</i> - α -L-rhamnoside			
63	Gallocatechine-3- <i>O</i> -gallate			

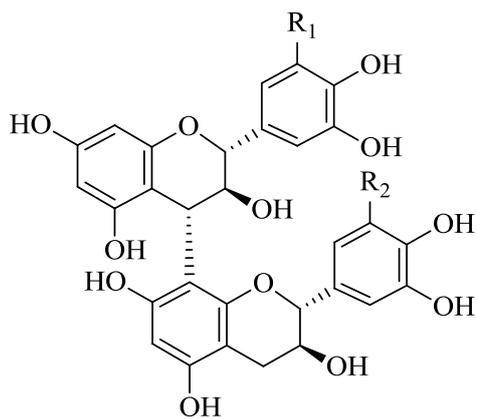
64	Epicatechine-(4β→8)-catéchine		
65	Catéchine-(4α→8)-catéchine		
66	Gallocatéchine-(4α→6)-gallocatéchine		
67	Gallocatéchine-(4α→8)-gallocatéchine		
68	Gallocatéchine-(4α→8)-catéchine		
69	Catéchine-(4α→8)-gallocatéchine		
70	Gallocatéchine-(4α→8)-gallocatéchine-(4α→8)-catéchine		
71	Epicatechine	<i>C. salvifolius</i>	51
72	Epigallocatéchine		
73	Epicatechine-3- <i>O</i> -gallate		
74	Epigallocatéchine-3- <i>O</i> -gallate		
75	Epigallocatéchine-3- <i>O</i> -(4-hydroxybenzoate)		
76	Epigallocatéchine-(4β→8)-épigallocatéchine		
77	Epigallocatéchine-3- <i>O</i> -gallate-(4β→8)-épigallocatéchine		
78	Epigallocatéchine-(4β→8)-épigallocatéchine-3- <i>O</i> -gallate		
79	Epigallocatéchine-(4β→6)-épigallocatéchine-3- <i>O</i> -gallate		



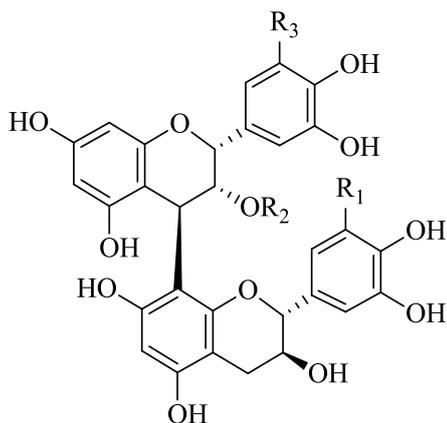
N°	R ₁	R ₂
60	H	H
61	H	OH
62	Rha	H
63	Galloyl	OH



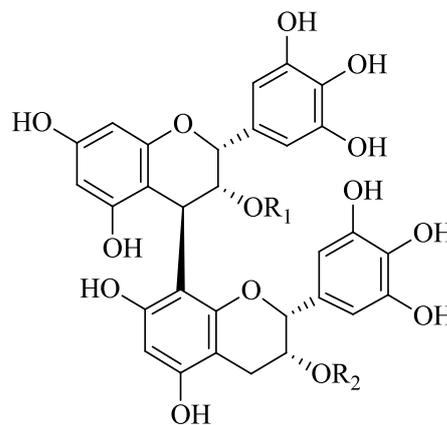
N°	R ₁	R ₂
71	H	H
72	H	OH
73	Galloyl	H
74	Galloyl	OH
75	(4-hydroxy)-benzoyl	OH



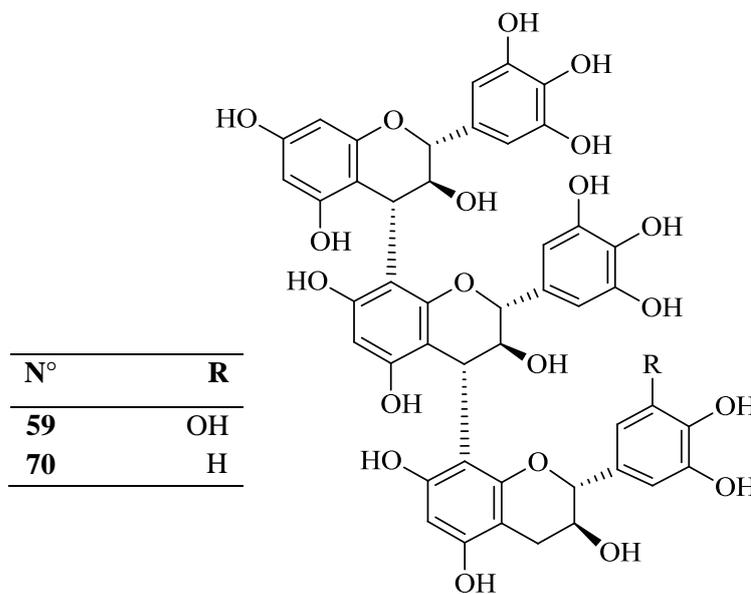
N°	R ₁	R ₂
65	H	H
67	OH	OH
68	OH	H
69	H	OH



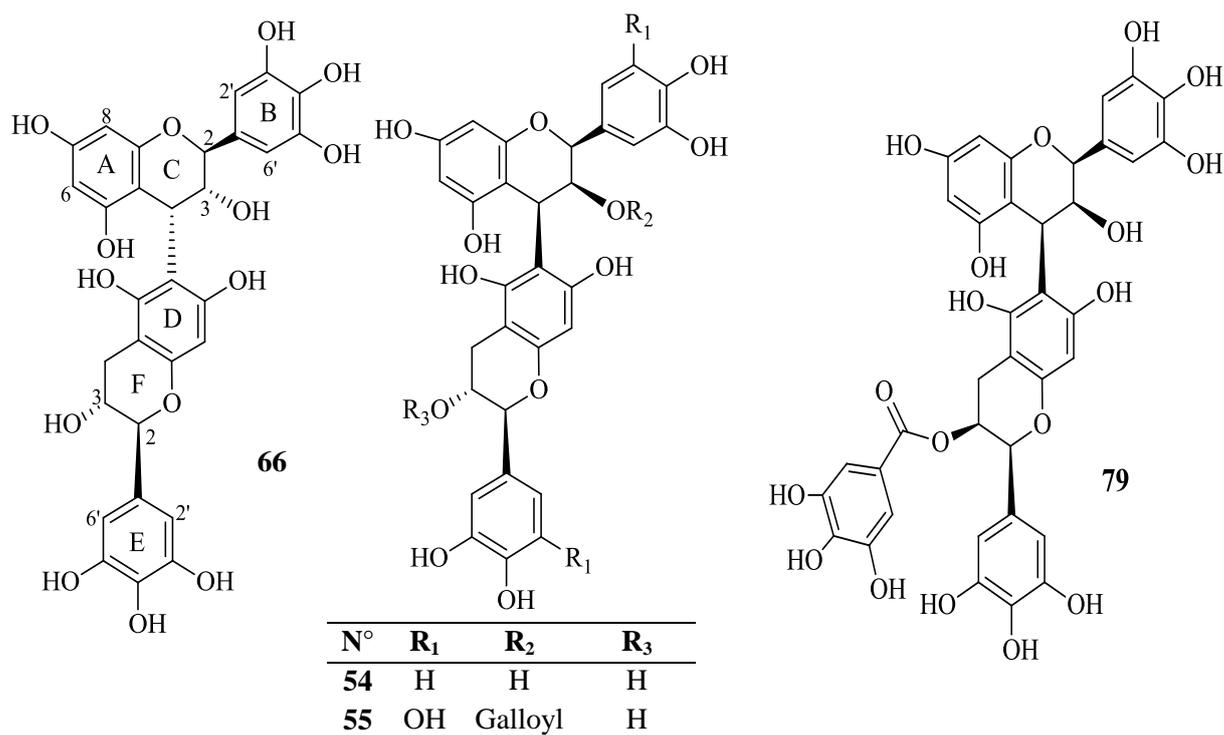
N°	R ₁	R ₂	R ₃
56	H	H	OH
57	OH	H	OH
58	OH	Galloyl	OH
64	H	H	H



N°	R ₁	R ₂
76	H	H
77	galloyl	H
78	H	galloyl



N°	R
59	OH
70	H



I.6.2. Diterpènes

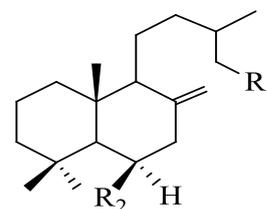
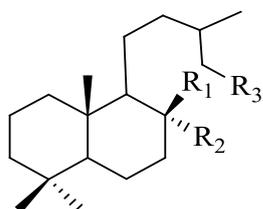
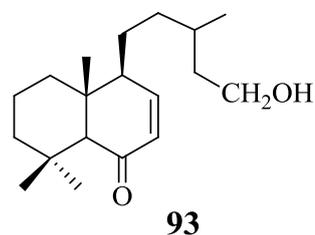
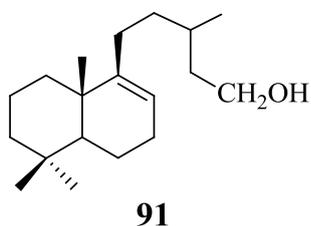
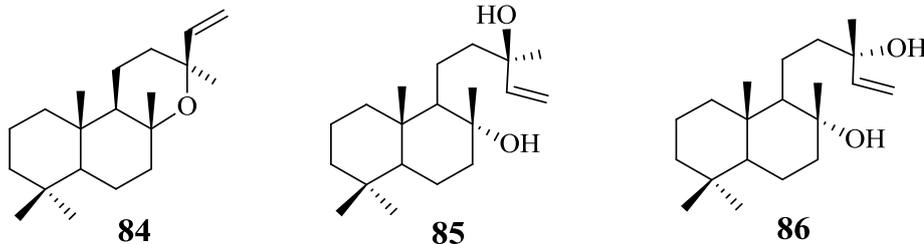
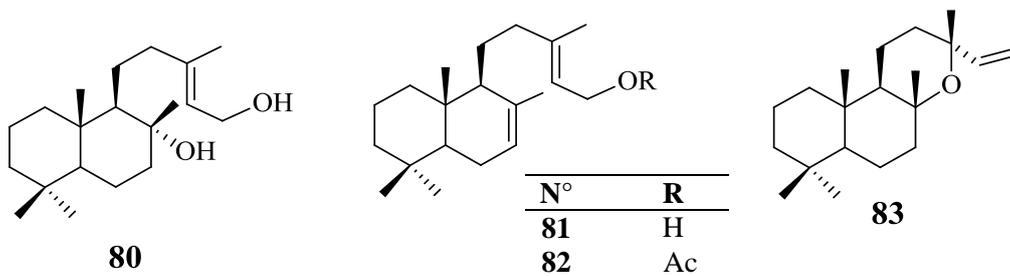
Les diterpènes constituent un groupe de substances naturelles très important au sein des espèces relevant de la famille Cistaceae. Les investigations phytochimiques réalisées, particulièrement sur les plantes de genres *Cistus* et *Halimium*, ont permis l'isolement de composés diterpéniques à squelette labdane (source de la gomme labdanum), halimane, valparane et tormésane (Tableau I.4). Leurs structures moléculaires ont été établies grâce aux méthodes d'analyse spectroscopiques et chimiques.

Tableau I.4. Diterpènes isolés des plantes des genres *Cistus* et *Halimium*.

N°	Structure	Espèce	Réf.
80	(5,8,9,10R)-labd-13(<i>E</i>)-èn-8,15-diol	<i>C. incanus</i>	52
81	(5,8,9,10R)-labd-7,13(<i>E</i>)-dièn-15-ol		
82	(5,8,9,10R)-labd-7,13(<i>E</i>)-dièn-15-yl acétate		
83	8,13-époxylabd-14-ène		
84	13-épi-8,13-époxylabd-14-ène		
85	labd-14-èn-8,13-diol		
86	13-épi-sclareol		

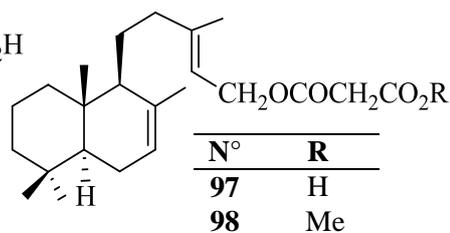
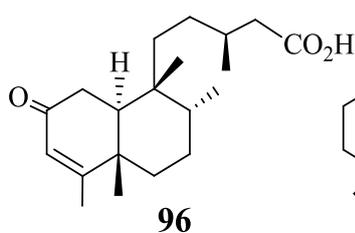
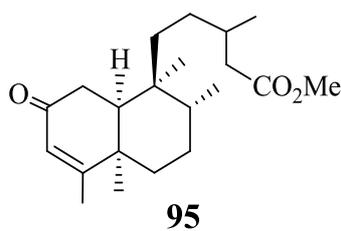
87	8-hydroxy-15- β -phényl propionoxy-labdane	<i>C. palinhae</i>	47
88	8-hydroxy-15-acétoxy-labdane		
89	8,15-labdanediol		
90	8- <i>épi</i> -15-labdanediol		
91	8-labdèn-15-ol		
92	8(17)-labdèn-15-ol		
93	6-oxo-7-labdèn-15-ol		
94	6 β -hydroxy-8(17)-labdèn-15-ol		
95	(5R,8R,9S,10S)-méthyl-2-oxo-3- <i>cis</i> -clérodèn-15-oate		
96	Acide (5S,8R,9R,10S,13S)-2-oxo-3-clérodèn-15-oïque		
97	Acide (13 <i>E</i>)-labd-7,13-dièn-15-yl malonique	<i>C. creticus</i>	54
98	Acide malonique (13 <i>E</i>)-labd-7,13-dièn-15-yl-méthyl diester		
99	di-((13 <i>E</i>)-labd-13-ène, 8 α -ol-15-yl) malonate		
100	di-((13 <i>E</i>)-labd-7,13-dièn-15-yl) malonate		
101	Acide cativique	<i>C. symphytifolius</i>	55
102	Acide labdénique		
103	Acide labdanolique		
104	Acide cistadiénique		
105	Acide cistenolique		
106	15,18-diacétoxy-3-èn- <i>cis</i> -clérodane	<i>C. monspeliensis</i>	56
107	15-acétoxy-3-èn- <i>cis</i> -clérodan-18-ol		
108	Acide 15-acétoxy- <i>cis</i> -clérodan-3-èn-18-oïque		
109	15-acétoxy- <i>cis</i> -clérodan-3-èn-18-al		
110	15-hydroxy- <i>cis</i> -clérodan-3-èn-18-al		
111	Méthyl 2 α ,3 β -dihydroxy-4(18)-neo-clérodèn-15-oate	<i>C. populifolius</i>	57
112	Méthyl 6 β ,8-dihydroxy- <i>ent</i> -13(<i>E</i>)-labdèn-15-oate	<i>C. laurifolius</i>	58
113	Acide salmantique		59
114	Salmantidol		

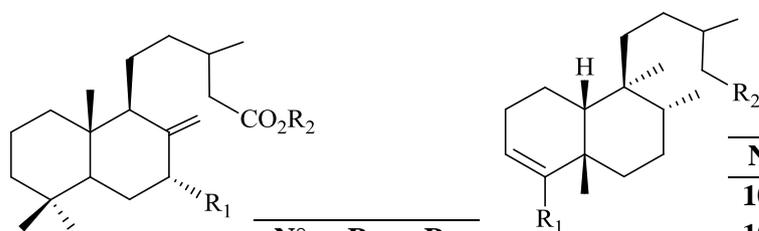
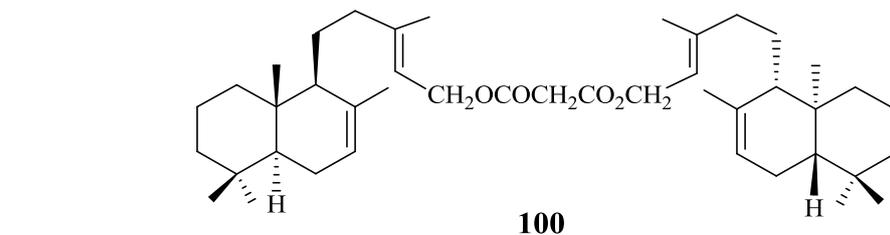
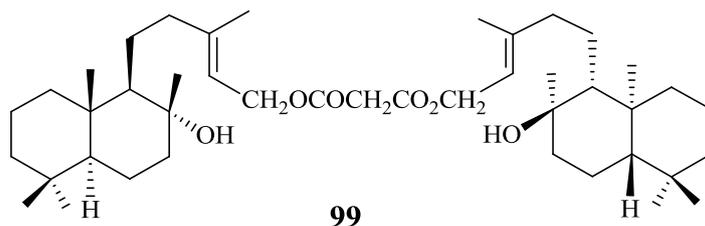
115	Méthyl 15-Z-cinnamoyloxy-7-labdèn-17-oate	<i>H. verticillatum</i>	60	
116	Acide acétoxyhydrohalimique		61	
117	Acide hydrohalimique			
118	Méthyl 15-acétoxy-1(10)- <i>ent</i> -halimèn-18-oate			
119	Méthyl 15-cinnamoyloxy-1(10)- <i>ent</i> -halimèn-18-oate			
120	Méthyl 15-hydroxy-2-oxo-1(10)- <i>ent</i> -halimèn-18-oate			
121	Méthyl-(13S,14S)-époxy-15-hydroxy-1(10)- <i>ent</i> -halimèn-18-oate			
122	Méthyl-(13R,14R)-époxy-15-hydroxy-1(10)- <i>ent</i> -halimèn-18-oate			62
123	Méthyl-14S,15-dihydroxy-1(10),13(16)- <i>ent</i> -halimadièn-18-oate			
124	Méthyl-14R,15-dihydroxy-1(10),13(16)- <i>ent</i> -halimadièn-18-oate			
125	(4S)-2 β -acétoxyvalparol-15-en-2-one			
126	Valpara-3,15-dièn-2 β -ol	<i>H. viscosum</i>	63	
127	3 α -hydroxyvalpara-4,15-dièn-2-one			
128	2 β -acétoxyvalparol-8(14)-èn-3-one			
129	2 β -acétoxyvalpara-4,15-dièn-3 β -ol			
130	Valparène			
131	Valpara-2,15-dièn-1,4-dione	65		
132	3 α ,4 α -époxyvalpar-15-èn-2-one			
133	Tormésol	66		
134	8,15-diacétoxy-7(20),16-tormésadièn-11-ol	67		
135	Covilanone	68		
136	Fregenedadiol	69		



N°	R ₁	R ₂	R ₃
87	Me	OH	CH ₂ OCO(CH ₂) ₂ C ₆ H ₅
88	Me	OH	CH ₂ OAc
89	Me	OH	CH ₂ OH
90	OH	Me	CH ₂ OH

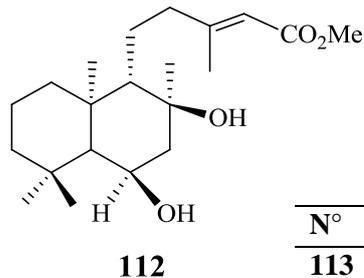
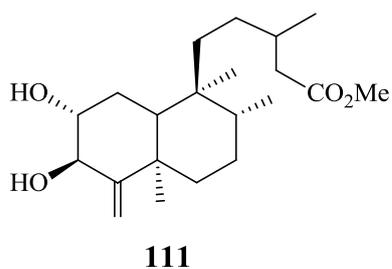
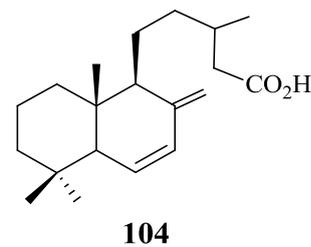
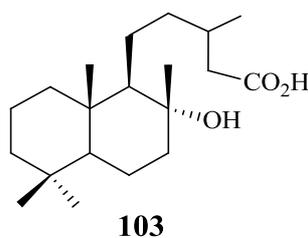
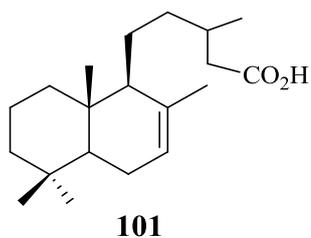
N°	R ₁	R ₂
92	CH ₂ OH	H
94	CH ₂ OH	OH



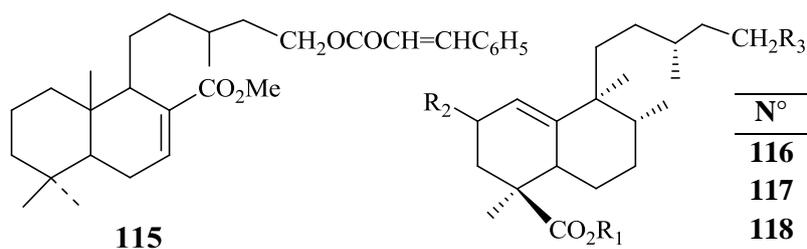


N°	R ₁	R ₂
102	H	H
105	OH	H

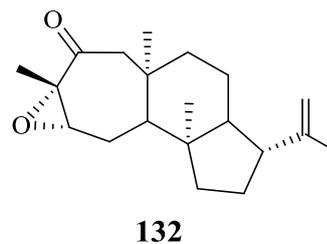
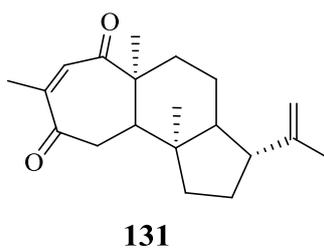
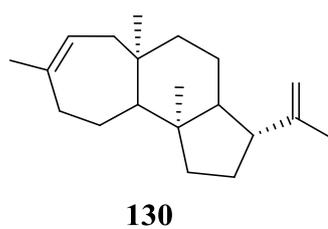
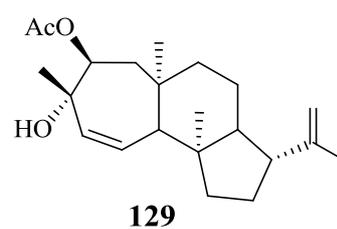
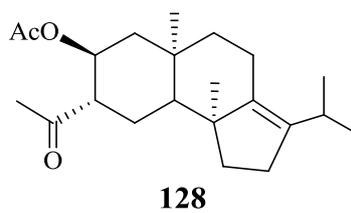
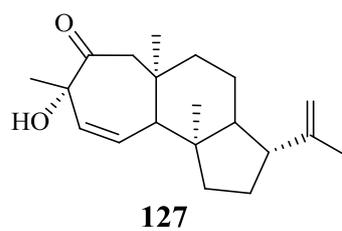
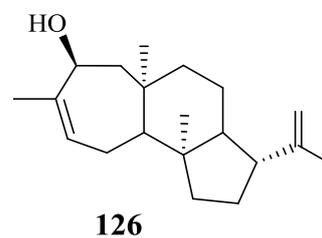
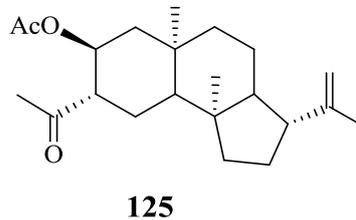
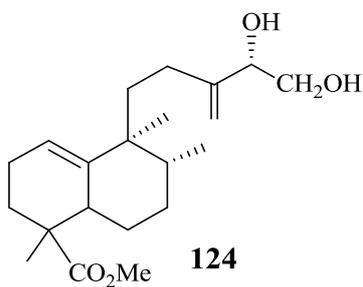
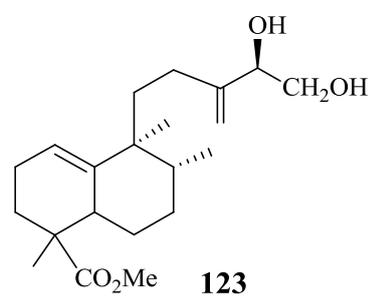
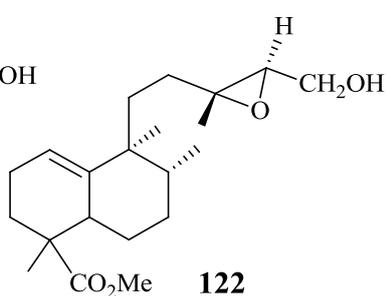
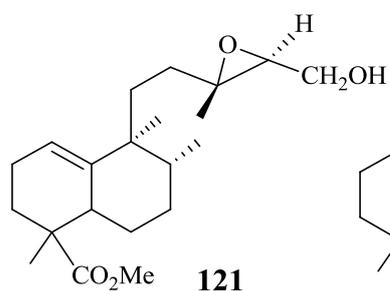
N°	R ₁	R ₂
106	CH ₂ OCOCH ₃	CH ₂ OCOCH ₃
107	CH ₂ OH	CH ₂ OCOCH ₃
108	CO ₂ H	CH ₂ OCOCH ₃
109	CHO	CH ₂ OCOCH ₃
110	CHO	CH ₂ OH

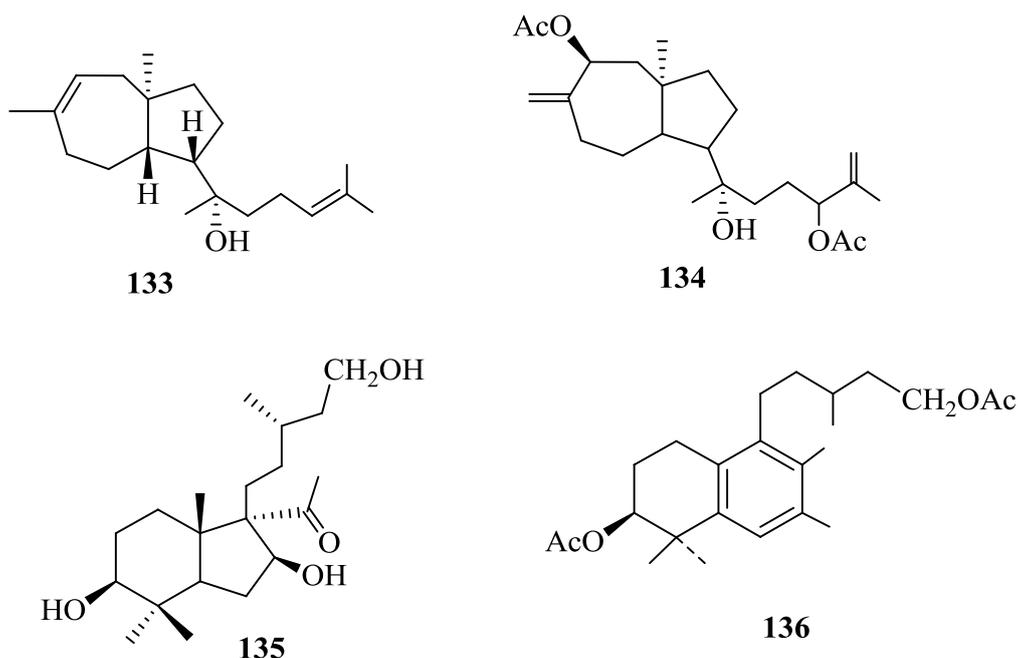


N°	R ₁	R ₂	R ₃
113	CO ₂ H	O	H
114	CH ₂ OH	H α OH	H



N°	R ₁	R ₂	R ₃
116	H	H	OAc
117	Me	H	OH
118	Me	H	OAc
119	Me	H	OCOCH=CHC ₆ H ₅
120	Me	=O	OH





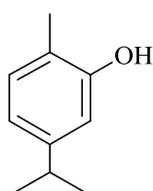
I.6.3. Composés volatils

La composition générale des huiles essentielles extraites de quelques plantes Cistaceae est un mélange de terpènes (monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes labdaniques) et leurs dérivés esters [70]. Les études les plus représentatives sont celles qui ont été menées par D. Angelopoulou et al. (2001) et C. Robles et S. Garzino (2000), sur deux cistes qui sont *C. parviflorus*, *C. monspeliensis* et sur les parties aériennes de l'espèce *Helianthemum kahiricum* [72]. Les principaux composants des huiles essentielles de ces espèces sont reportés dans le tableau I.4.

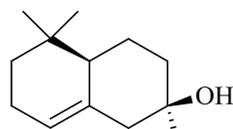
Tableau I.4. Composants majoritaires des huiles essentielles de quelques plantes Cistaceae

N°	Structure	Espèce	Réf.
137	Carvacrol	<i>C. parviflorus</i>	70
138	<i>cis</i> - α -ambrinol		
139	α -humulène		
140	δ -cadinène		
141	Oxyde de caryophyllène		

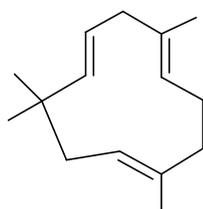
142	cèdr-8(15)-ène-9- α -ol		
143	Nezukol		
144	labd-13(<i>E</i>)- α -15-yl acétate		
145	Benzoate de benzyle		
146	dihydro- β -ionone	<i>C. monspeliensis</i>	71
147	α -cadinol		
148	Nonacosane		
149	Acide myristique		
150	Camphre	<i>H. kahiricum</i>	72
151	Eugénol		
152	<i>E</i> - β -ionone		
153	Géranyl acétone		
154	Garnésyl acétone		



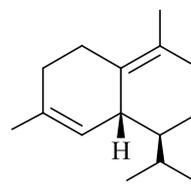
137



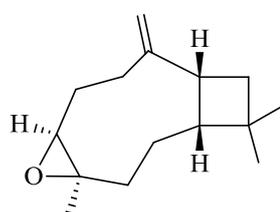
138



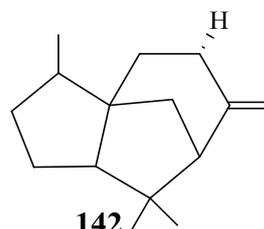
139



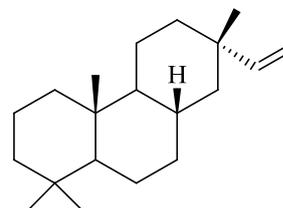
140



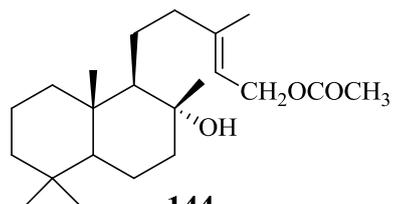
141



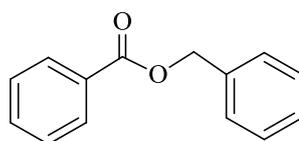
142



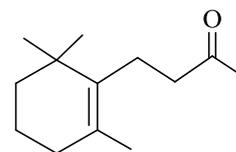
143



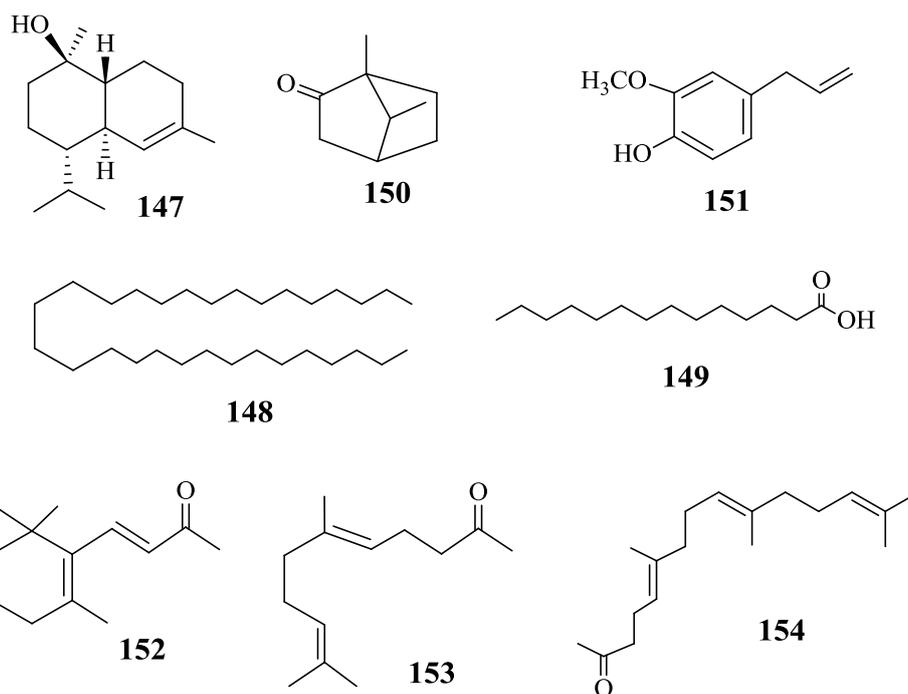
144



145



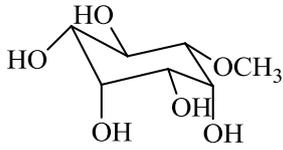
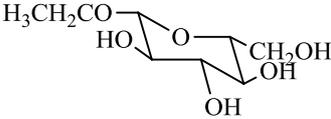
146

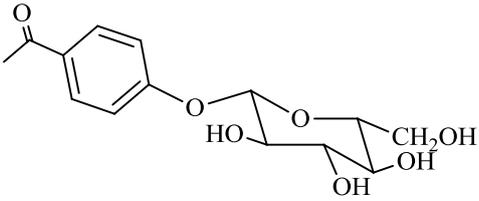
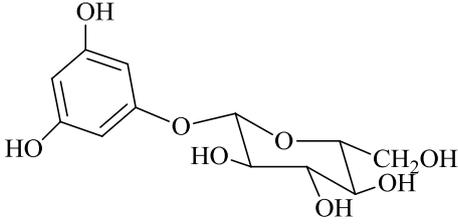
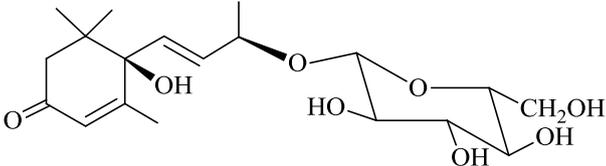
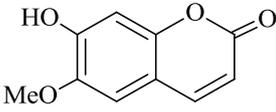
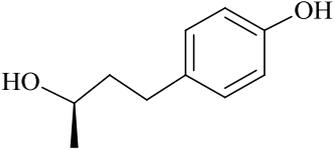
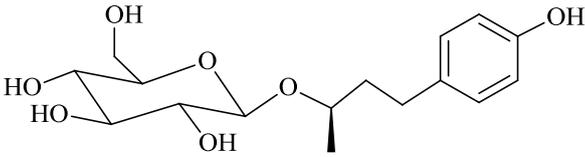


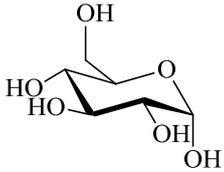
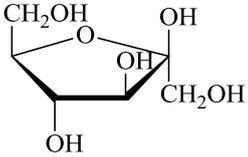
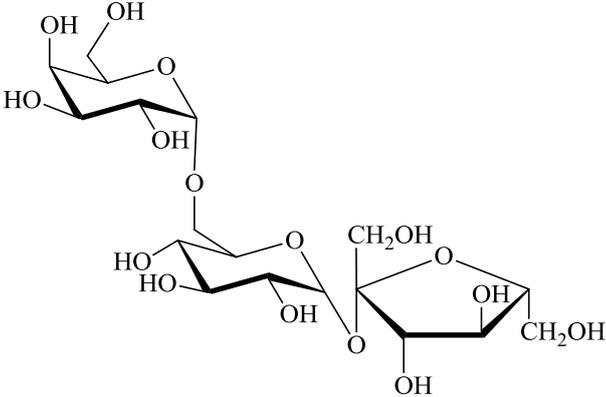
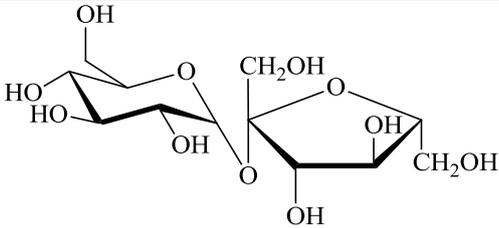
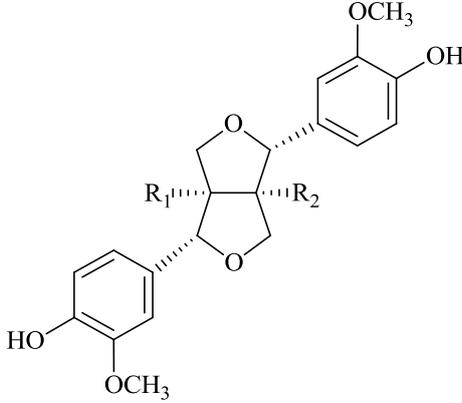
I.6.4. Autres classes de métabolites secondaires

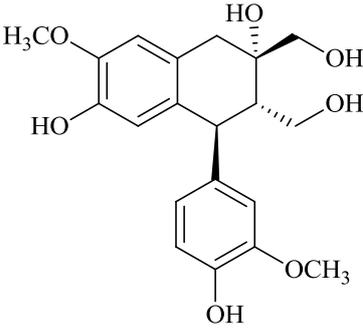
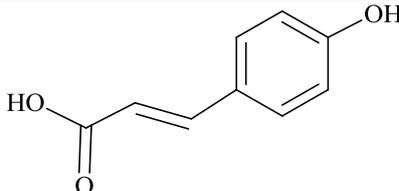
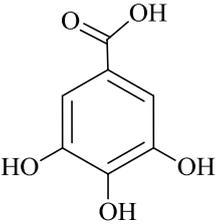
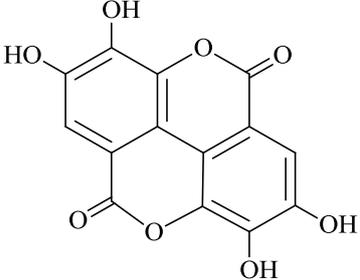
D'autres classes de composés ont été identifiées dans diverses espèces Cistaceae (Tableau I.5).

Tableau I.5 : Autres métabolites secondaires isolés de plantes de la famille Cistaceae

Molécules	Plantes	Ref.
 <p>1-<i>O</i>-méthyl-épi-inositol 155</p>	<i>C. laurifolius</i>	58
 <p>β-D-glucopyranosyloxyéthane 156</p>		

 <p>4-β-D-glucopyranosiloxyacétophénone 157</p>		
 <p>1,3-dihydroxy-5-β-D-glucopyranosiloxybenzène 158</p>		
 <p>Roséoside 159</p>		
 <p>Scopolétine 160</p>		44
 <p>(-)-Betulgénole 161</p>	<i>C. palinhae</i>	47
 <p>(-)-Rhododendrine 162</p>	<i>C. salvifolius</i>	51

 <p>α-D-(+)-Glucose 163</p>		
 <p>β-D-(-)-Fructose 164</p>		
 <p>D-(+)-Raffinose 165</p>	<p><i>C. ladanifer</i></p>	<p>73</p>
 <p>D-(+)-Saccharose 166</p>		
 <p>1-<i>O</i>-acétyl prinsépiol $R_1 = \text{OCOCH}_3, R_2 = \text{OH}$ 167 1α-hydroxy pinorésinol $R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{OH}$ 168</p>	<p><i>Helianthemum sessiliflorum</i></p>	<p>74</p>

 <p>(+)-cycloolivil 169</p>				
 <p>Acide <i>p</i>-coumarique 170</p>				
 <p>Acide gallique 171</p>	<i>Tuberaria lignosa</i>	75		
 <p>Acide ellagique 172</p>				

Chapitre II

Composés phénoliques

II.1. Généralités sur les composés phénoliques

Les composés phénoliques (polyphénols) sont des métabolites secondaires des végétaux. Ils sont largement présents dans tous les organes de la plante [76]. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié un ou plusieurs groupes hydroxyles, libres ou engagés dans une autre fonction chimique (éther, méthylique, ester,...) [77]. Les composés phénoliques possèdent une grande diversité structurale et sont classés en flavonoïdes et non flavonoïdes [78].

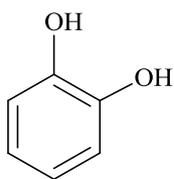
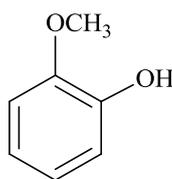
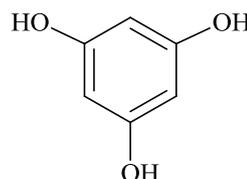
Les principales classes de composés phénoliques sont regroupées dans le tableau II.1.

Tableau II.1: Principales classes de composés phénoliques

Squelette carboné	Classe	Exemple
Non flavonoïdes		
C ₆	Phénols simples	Catéchol
C ₆ -C ₁	Acides hydroxybenzoïques	<i>p</i> -hydroxybenzoïque
C ₆ -C ₃	Acides hydroxycinnamiques	Acides caféique et férulique
	Coumarines	Scopolétine, esculétine
C ₆ -C ₄	Naphtoquinones	Juglone
C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbènes	Resvératrol
(C ₆ -C ₃) ₂	Lignanes	Pinorésinol
(C ₆ -C ₃) _n	Lignines	Matairésinol
(C ₆ -C ₃ -C ₆) _n	Tanins condensés	prodelphinidine
(C ₆ -C ₁) _n	Tanins hydrolysables	Castalagine
Flavonoïdes		
C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes	Kaempférol, quercétine Cyanidine, pélargonidine Catéchine, épicatechine Naringénine Daidzéine
	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Flavonols ➤ Anthocyanes ➤ Flavanols ➤ Flavanones Isoflavonoïdes	

II.2. Phénols simples

Les phénols simples comme le catéchol, le guaiacol et autre phloroglucinol forment une série de composés possédant un ou plusieurs groupements hydroxyyles liés à un noyau aromatique. Ils sont plutôt rares dans la nature à l'exception de l'hydroquinone rencontrée dans plusieurs familles de plantes, notamment Ericaceae et Rosaceae et le plus souvent à l'état de glucoside du diphénol (arbutoside) ou de son monométhyléther [77].

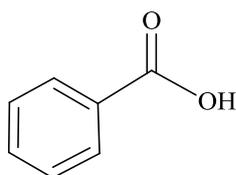
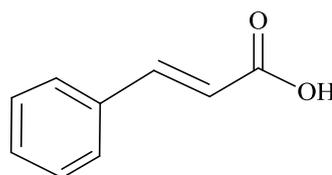
**Catéchol****Guaiacol****Phloroglucinol****Hydroquinone****Arbutoside**

II.3. Acides phénoliques

Les acides phénoliques sont des composés phénoliques possédant un groupement carboxyle. Ces composés regroupent les acides benzoïques et hydroxycinnamiques. Les acides benzoïques sont formés à partir de l'acide cinnamique et possèdent une structure en C6-C1, tandis que les acides hydroxycinnamiques dérivent de l'acide *p*-coumarique, lui même formé à partir de l'acide cinnamique.

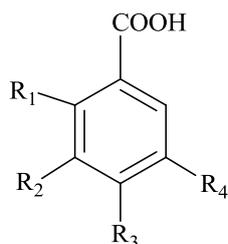
II.3.1. Classification

On distingue deux classes appartenant à cette catégorie. Les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique.

**Acide benzoïque****Acide cinnamique**

II.3.1.1. Acides phénoliques dérivés de l'acide benzoïque

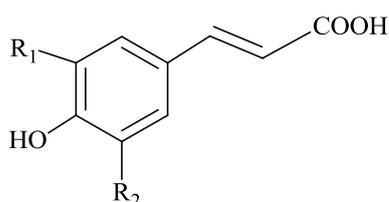
Les acides phénoliques en C6-C1, dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque, sont très communs aussi bien sous forme libre que combinés à l'état d'ester ou d'hétéroside [79]. Ces composés sont issus de la dégradation de la chaîne latérale des composés cinnamiques.



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Acide <i>p</i> -hydroxy benzoïque	H	H	OH	H
Acide protocatéchique	H	OH	OH	H
Acide vanillique	H	OH	OH	OCH ₃
Acide gallique	H	OH	OH	OH
Acide syringique	H	OCH ₃	OH	OCH ₃
Acide salicylique	OH	H	H	H
Acide gentisique	OH	H	H	OH

II.3.1.2. Acides phénols dérivés de l'acide cinnamique

Les acides hydroxycinnamiques sont principalement composés des acides *p*-coumarique, caféique, férulique et sinapique [76]. On les trouve à l'état libre ou combiné (esters, amide, glucosides). Ils acylent fréquemment les métabolites les plus divers [77].



	R ₁	R ₂
Acide <i>p</i> -coumarique	H	H
Acide caféique	H	OH
Acide férulique	H	OCH ₃
Acide sinapique	OCH ₃	OCH ₃

II.4. Biogénèse des phénols simples et acides phénols

Les composés phénoliques sont issus de deux grandes voies d'aromagenèse, la voie de l'acide shikimique et de l'acétate.

La voie la plus courante est celle qui, via le shikimate, joue un rôle critique pour contrôler le métabolisme de la voie du phénylpropanoïde (Figure II.1) [80].

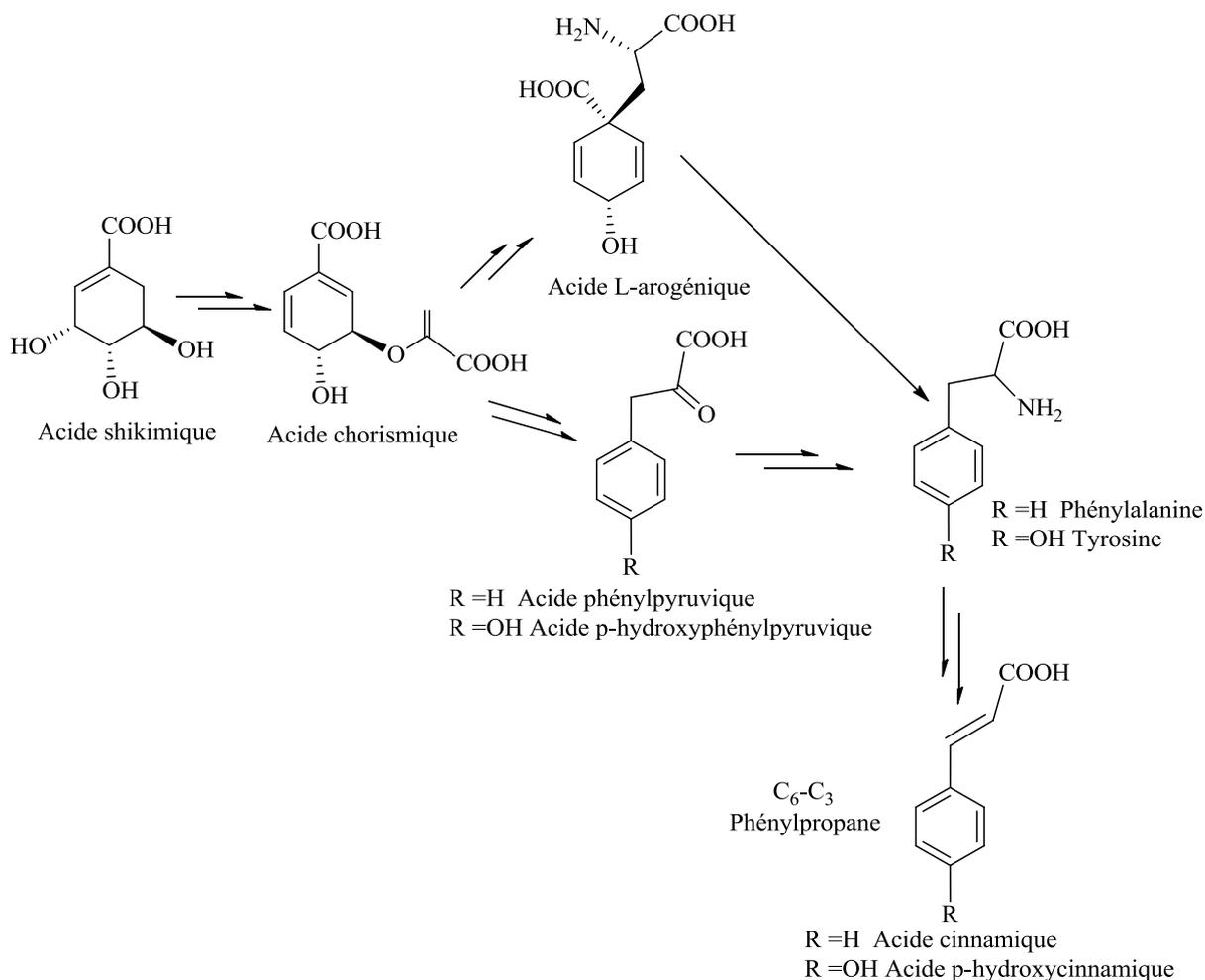


Figure II.1: Biogénèse des phénylpropanes C₆-C₃ (voie shikimique)

Les composés de type C₆-C₁ (dérivés de l'acide benzoïque), sont issus d'une dégradation de la chaîne latérale des acides cinnamiques correspondants (certains composés de type C₆-C₂ proviennent des cinnamates). La décarboxylation des acides benzoïques permet d'obtenir les composés phénoliques simples (Figure II.2) [77].

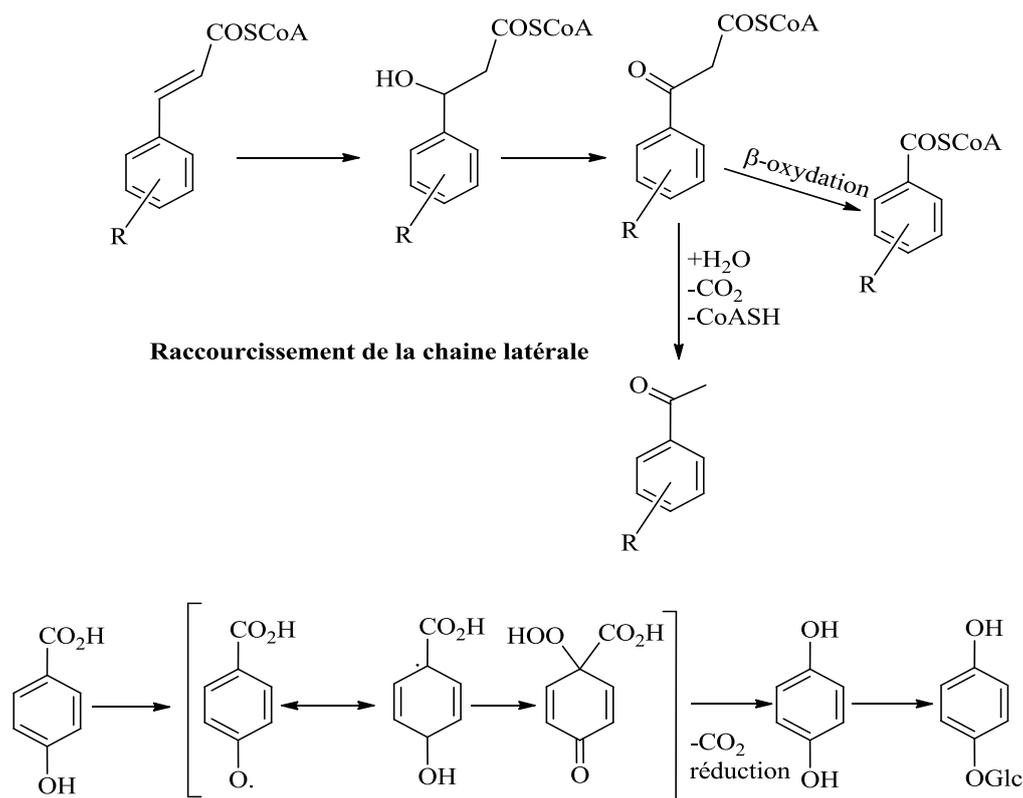


Figure II.2: Biogénèse des phénols simples et acides phénols

II.5. Flavonoïdes

II.5.1. Définition

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires de plantes, définis comme étant des pigments rencontrés dans la plupart des végétaux responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. La coloration due à la présence de flavonoïdes est généralement la coloration jaune. Cette classe de métabolites possède une origine biosynthétique commune. De ce fait, ils partagent tous le même élément structural de base, à savoir l'enchaînement 2-phénylchromane (Figure II.3). Ces molécules sont le plus souvent sous forme d'hétérosides [77].

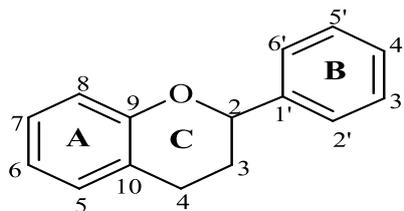
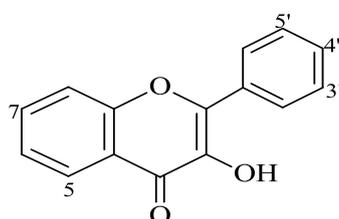


Figure II.3: 2-phénylchromane

Ces polyphénols pourraient avoir un rôle dans certains processus d'oxydo-réduction, de croissance, de respiration et dans la morphogénèse des plantes. En outre, il est démontré que leur forte absorption dans l'UV protège les plantes des rayonnements nocifs [81].

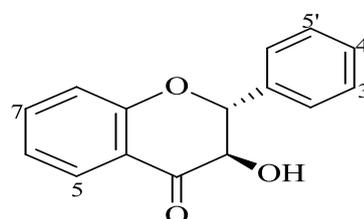
II.5.2. Classification des flavonoïdes

Les flavonoïdes peuvent être classés en plusieurs groupes selon le degré d'oxydation du cycle pyranique. En général, les flavonoïdes peuvent être hydroxylés en positions 3, 5, 7, 3', 4', 5' et/ou 6'. Un ou plusieurs de ces groupes hydroxyles sont fréquemment méthylés, acétylés, prénylés ou sulfatés. Ils peuvent être présents sous forme C- ou O-glycosylés [77]. La Figure II.4 illustre les principales classes de flavonoïdes.



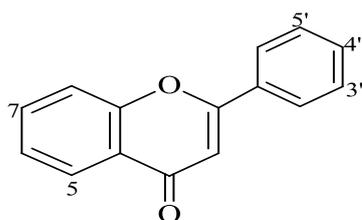
Flavonols

	5	7	3'	4'	5'
Kaempférol	OH	OH		OH	
Myricétine	OH	OH	OH	OH	OH
Quercétine	OH	OH	OH	OH	



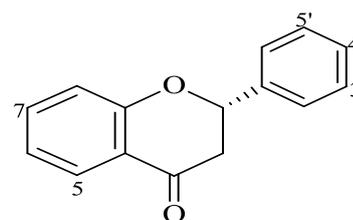
Dihydroflavonols

	5	7	3'	4'
Taxifoline	OH	OH	OH	OH
Fusetine		OH	OH	OH



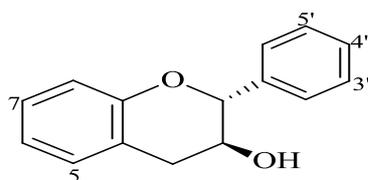
Flavones

	5	7	3'	4'
Apigénine	OH	OH		OH
Chrysrine	OH	OH		
Lutéoline	OH	OH	OH	OH



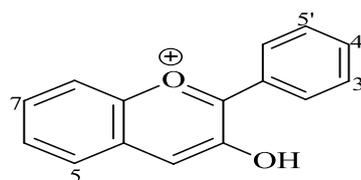
Flavanones

	5	7	3'	4'
Hespérétine	OH	OH	OH	OMe
Naringénine	OH	OH		OH



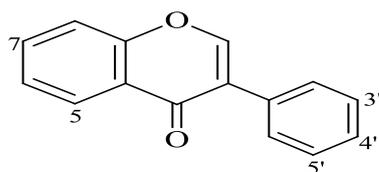
Flavanols

	5	7	3'	4'	5'
Catéchine	OH	OH	OH	OH	
Gallocatéchine	OH	OH	OH	OH	OH



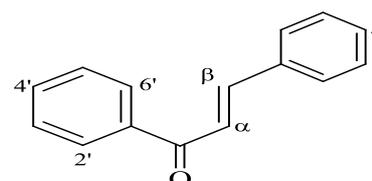
Anthocyanes

	5	7	3'	4'	5'
Cyanidine	OH	OH	OH	OH	
Delphinidine	OH	OH	OH	OH	OH



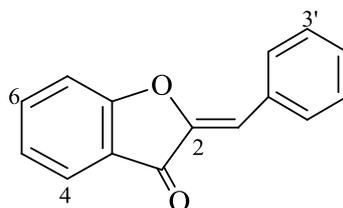
Isoflavones

	5	7	4'
Daidzeine		OH	OH
Génistéine	OH	OH	OH



Chalcones

	2'	4'	6'	4
Davidigénine	OH	OH		OH
Asebogénine	OH	OMe	OH	OH



Aurones

	6	7	3'	4
Leptosidine	OH	OMe	OH	OH
Maritiméine	OH	OH	OH	OH

Figure II.4: Structures des différents squelettes flavonoïdiques

II.5.3. Biosynthèse des flavonoïdes

La biosynthèse des flavonoïdes débute par la formation de thioester d'acide 3,5,7-trioxyoctanoïque à travers plusieurs étapes d'addition de l'acétyl-S-CoA et le malonyl-S-CoA. La réaction entre ce précurseur et le *p*-hydroxycinnamyl-S-CoA permet de former une chalcone (Figure II.5). En présence d'une isomérase, cette dernière est en équilibre avec une (2*S*)-flavanone. Cette chalcone est également le précurseur de toutes les classes de flavonoïdes [77].

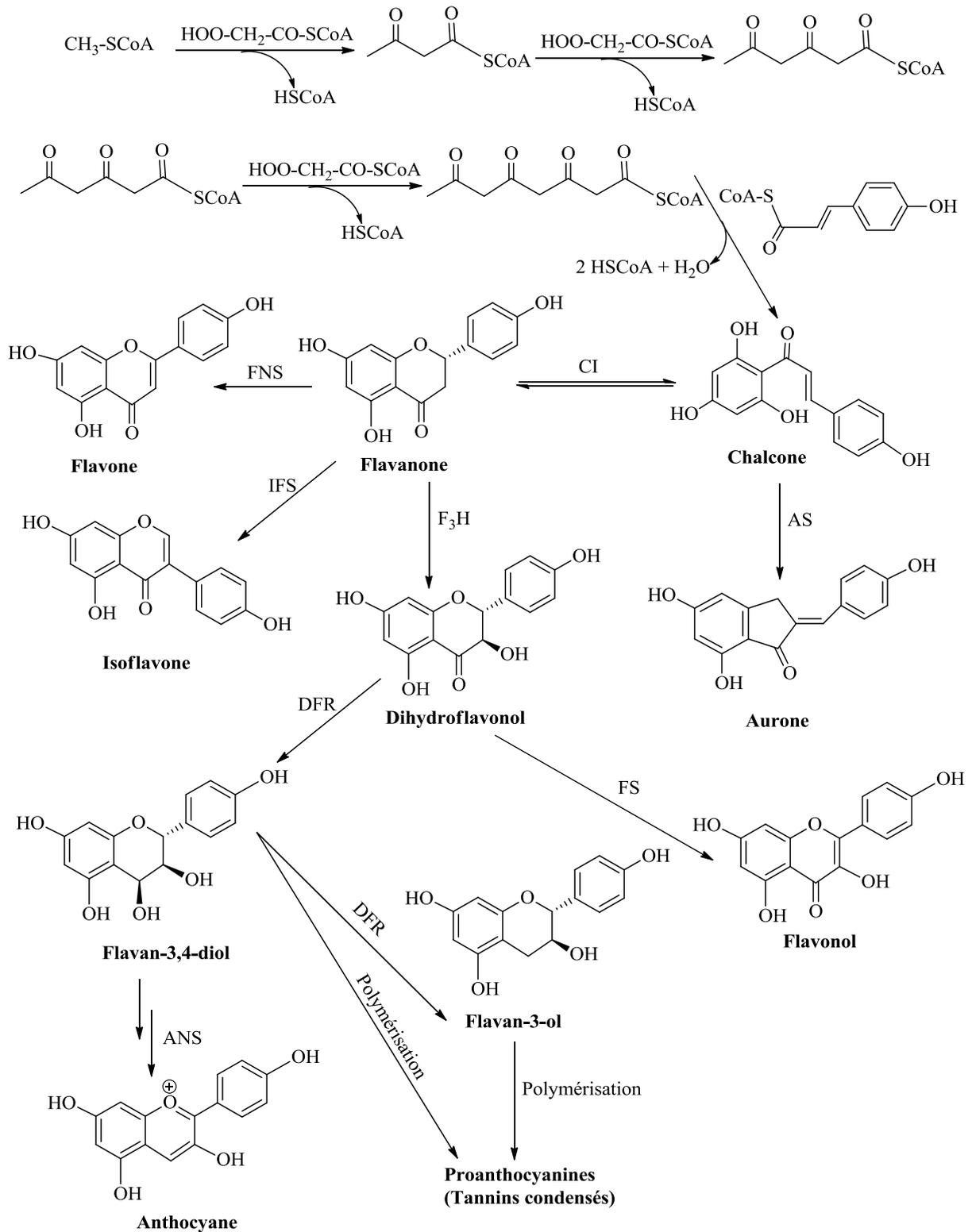


Figure II.5: Biosynthèse des flavonoïdes

CI: chalcone isomérase ; F₃H: flavanone 3-hydroxylase ; IFS: isoflavone synthase ;
DFR: dihydroflavonol réductase ; FS: flavonol synthase ; ANS: anthocyanin synthase ;
FNS: flavone synthase ; AS: aurone synthase.

II.5.4. Activités biologiques des flavonoïdes

Les flavonoïdes (polyphénols) possèdent diverses propriétés biologiques, notamment anti-oxydantes, vasculoprotectrices, anti-hépatotoxiques, anti-allergiques, anti-inflammatoires, anti-ulcéreuses et antitumorales [82].

Le pouvoir anti-oxydant des flavonoïdes dépend essentiellement de la disposition des groupements fonctionnels au niveau des cycles A, B et C. En effet, le degré de substitution par les groupements hydroxyles, peut avoir une influence majeure sur les différents mécanismes de cette activité comme le piégeage des radicaux libres ainsi que sur leur capacité de chélation des ions métalliques [83, 84].

De nombreux aglycones comme la quercétine et l'apigénine sont réputés pour leur activité hépato-protectrice [85]. La cyanidine-3-*O*- β -glucoside (**C3G**) (Figure II.6) réduit la peroxydation lipidique et protège contre le développement de la stéatose hépatique [86].

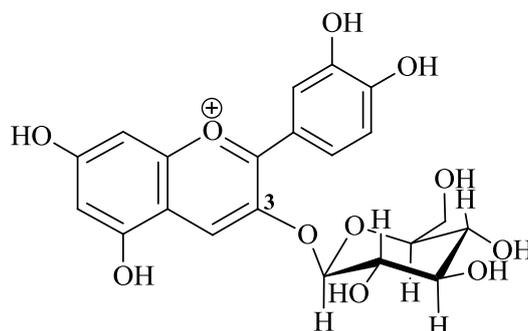


Figure II.6: Cyanidine-3-*O*- β -glucoside

Les flavonoïdes sont synthétisés par les plantes pour se défendre, d'où leur pouvoir antimicrobien envers un large éventail de micro-organismes. Différentes classes de flavonoïdes sont responsables de cette activité comme les flavones, flavonols, isoflavones et flavanones [87].

Une alimentation (fruits et légumes) contenant les flavonoïdes, joue un rôle important dans la prévention contre le cancer de la prostate, du poumon, de l'estomac et du sein [88].

Chapitre III

Etude phytochimique de l'espèce

Fumana montana Pomel

III.1. Etude phytochimique de l'espèce *Fumana montana* Pomel

III.1.1. Rappel botanique

L'espèce *Fumana montana* Pomel (Figure III.1), est un chaméphyte pouvant être rampant ou redressé. Elle ne dépasse pas 25 cm de haut et possède des tiges minces à poils glanduleux étalés de 0,1 à 0,2 mm. Les fleurs sont éparses sur les tiges. Les feuilles axillantes ne sont pas modifiées et sont quelquefois simplement réduites. Les pédoncules floraux sont un peu plus longs que la feuille qui les axille. Ils sont glanduleux, étalés et arqués à l'extrémité. La capsule est largement déhiscente, tombant après la dissémination des graines, laissant le pédoncule sur la plante [89].



Figure III.1: Espèce *Fumana montana*

Comme toutes les espèces du genre *Fumana*, ce taxon se rencontre dans les endroits calcaires et secs, le plus souvent sur des affleurements rocheux. Il est largement représenté dans la quasi-totalité des pays du bassin méditerranéen à l'exception de la partie orientale et est particulièrement présent au Maroc, en Algérie et en Tunisie [89].

L'espèce *Fumana montana*, connue également sous le nom de *Fumana ericoides* (Cav.) Gand, n'a fait l'objet d'aucune investigation chimique. La seule étude réalisée est d'ordre biologique. Cette dernière a mis en évidence une activité larvicide envers les *Culex quinquefasciatus* Say [90].

III.1.2. Résultats et discussion

III.1.2.1. Extraction

950 g de la plante entière de *Fumana montana* Pomel, préalablement séchés et broyés sont mis à macérer deux fois dans un mélange méthanol/eau (80:20) pendant 48 h à température ambiante. Après filtration et évaporation non à sec, la phase aqueuse (600 ml) est soumise à une extraction liquide-liquide en utilisant quatre solvants organiques à polarité croissante (éther de pétrole, dichlorométhane, acétate d'éthyle et *n*-butanol). L'évaporation à sec des différents solvants a permis d'obtenir 3,5 g de l'extrait éthropétrolique, 4,8 g de l'extrait dichlorométhane, 11 g de l'extrait acétate d'éthyle et 41 g de l'extrait *n*-butanolique. Le protocole de cette extraction est résumé dans le schéma ci-après (Figure III.2).

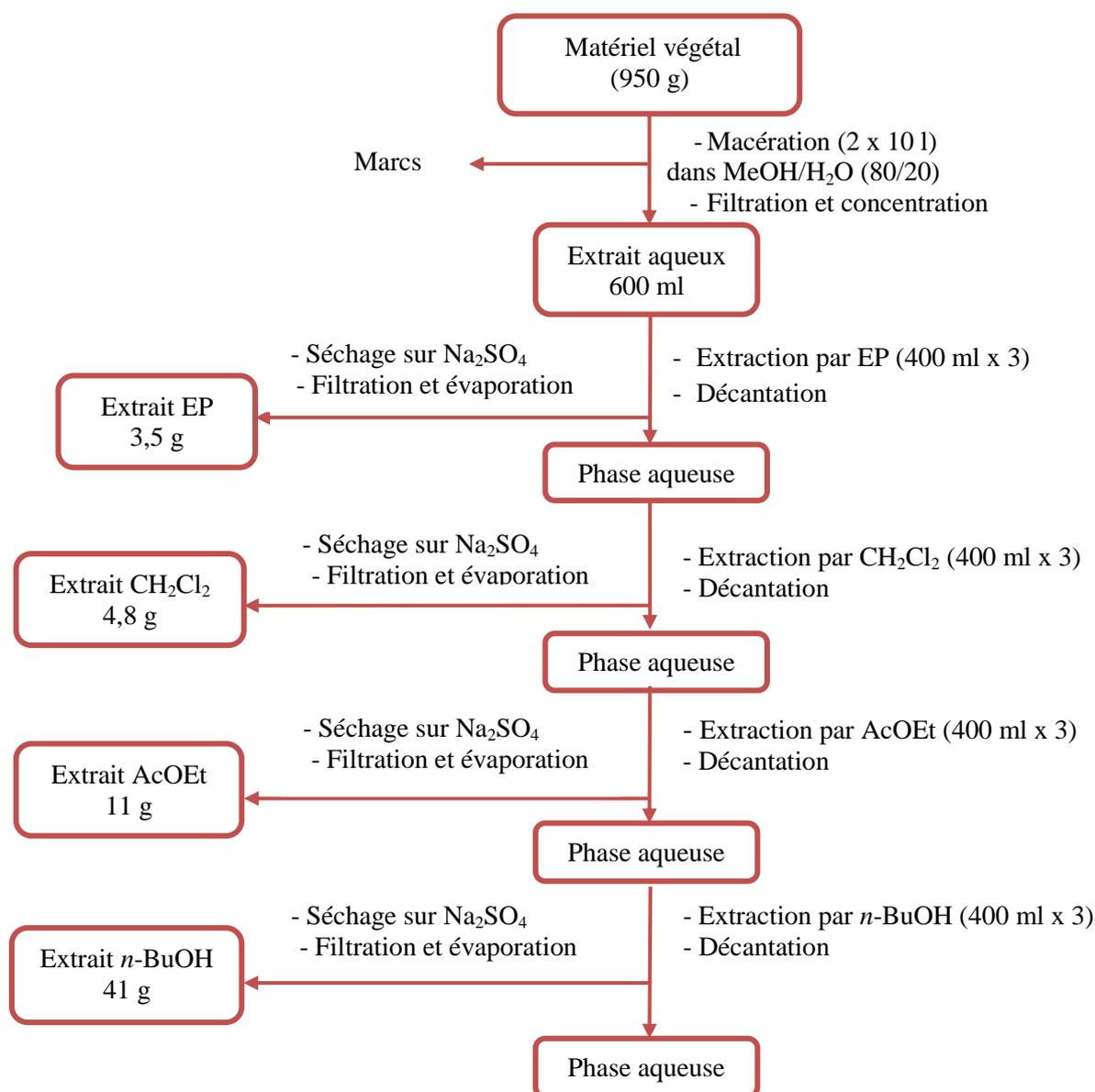


Figure III.2: Schéma d'extraction de la plante *Fumana montana*

III.1.2.2. Séparation et purification

Les profils CCM des extraits obtenus révèlent la richesse des extraits acétate d'éthyle et *n*-butanol en métabolites secondaires, comparativement aux autres extraits. L'analyse de ces deux extraits par CCM, après révélation à la lumière UV et par une solution acide, a montré une grande richesse en composés phénoliques, d'où notre choix de les soumettre à une investigation chimique.

Ainsi 7 g des extraits acétate d'éthyle et butanolique ont été initialement fractionnés par une chromatographie liquide sous vide (VLC) sur gel de silice greffée RP-18. L'éluion réalisée dans un mélange eau-méthanol à différents gradients (80-20 à 0-100) a permis de récolter douze fractions F₁-F₁₂ pour l'extrait acétate d'éthyle et cinq pour l'extrait butanolique. Quatre fractions du premier extrait et deux du second, jugées intéressantes chimiquement sont soumises à une étude chimique en vue de déterminer leur métabolisme secondaire.

Après séparation et purification de ces différentes fractions par l'emploi de divers procédés chromatographiques et recristallisation, 14 composés purs dont trois se sont avérés nouveaux ont été isolés de l'extrait acétate d'éthyle (Figure III.3) et trois de l'extrait butanolique (Figure III.4).

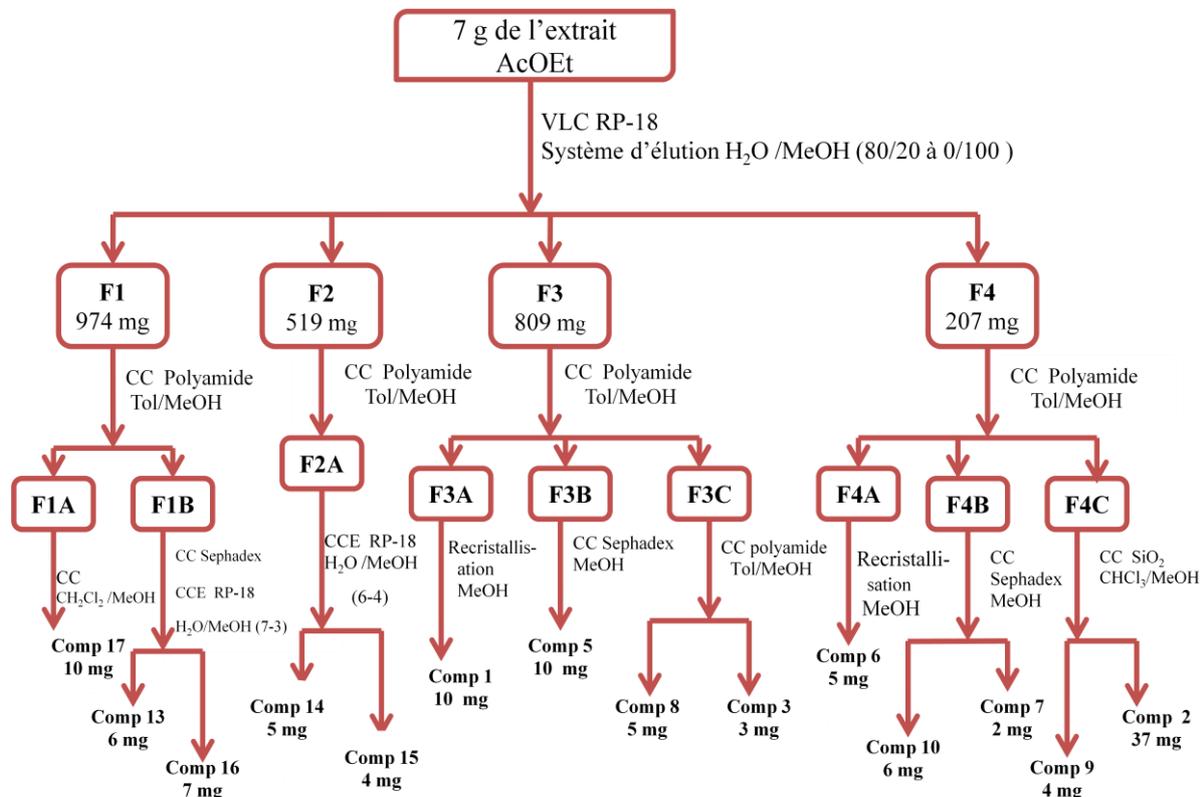


Figure III. 3: Isolement des composés purs à partir de l'extrait acétate d'éthyle de *F. montana*

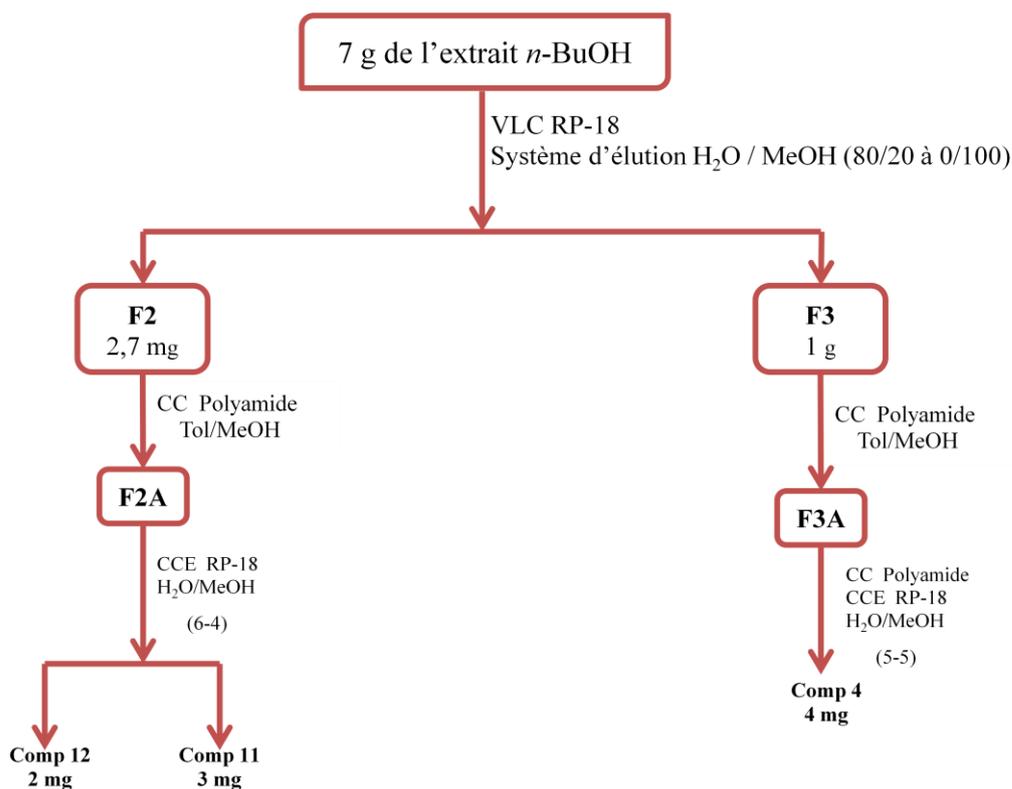
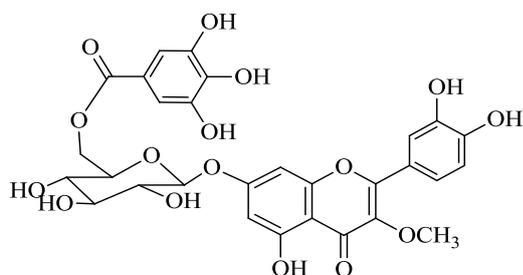


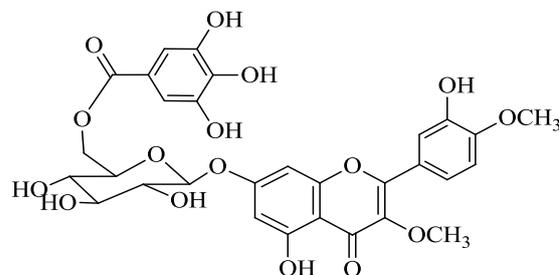
Figure III.4. Schéma d'isolement des composés polaires de l'extrait *n*-BuOH de *F. montana*

III.1.2.3. Détermination structurale des composés isolés

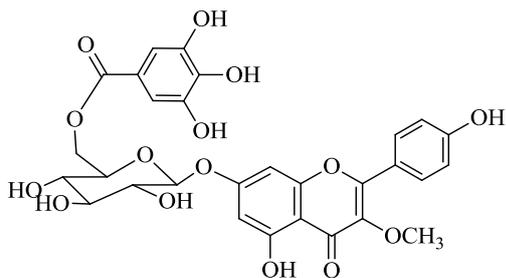
La détermination structurale des composés isolés, à partir des extraits acétate d'éthyle et butanolique de *Fumana montana* Pomel, a été réalisée au moyen des diverses techniques spectroscopiques : RMN 1D et 2D (COSY H-H, HSQC *J*-modulé, HMBC, NOESY), UV, spectrométrie de masse haute résolution HR-ESI. Ces techniques complétées par la mesure du pouvoir rotatoire et la comparaison avec les données de la littérature, ont permis de déterminer sans ambiguïté la structure des composés phénoliques représentés ci-après.



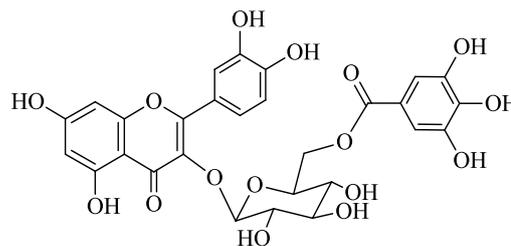
3-méthoxy-7-*O*-β-(6''-galloyl)glucopyranoside) quercétine (1) (Nouveau)



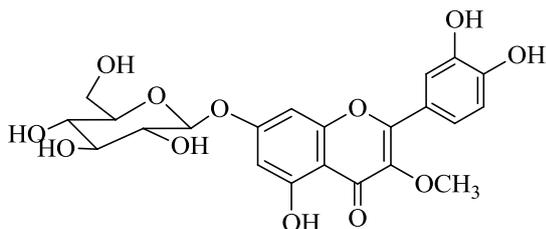
3,4'-diméthoxy-7-*O*-β-(6''-galloyl)glucopyranoside) quercétine (2) (Nouveau)



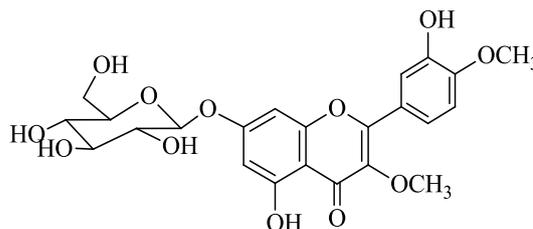
3-méthoxy-7-O-β-(6''-galloylglucopyranoside)
kaempférol (3) (Nouveau)



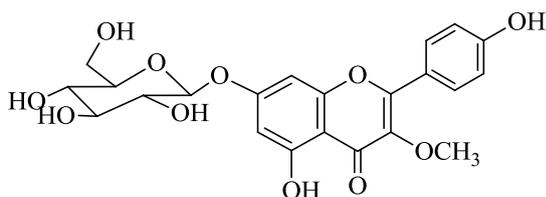
3-O-β-(6''-galloylglucopyranoside)
quercétine (4)



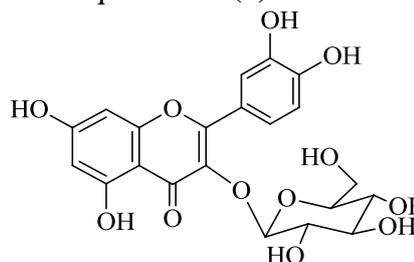
3-méthoxy-7-O-β-glucopyranoside
quercétine (5)



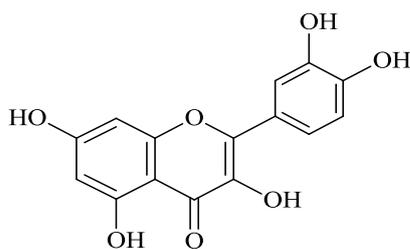
3,4'-diméthoxy-7-O-β-glucopyranoside
quercétine (6)



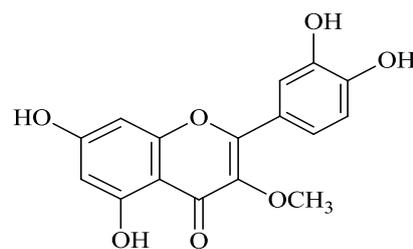
3-méthoxy-7-O-β-glucopyranoside
kaempférol (7)



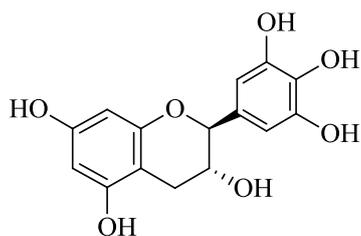
Isoquercétrine (8)



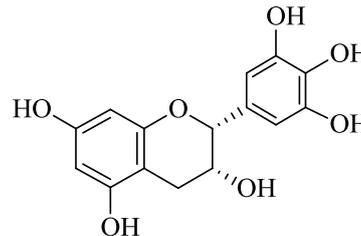
Quercétine (9)



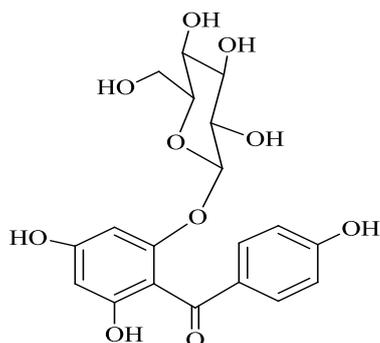
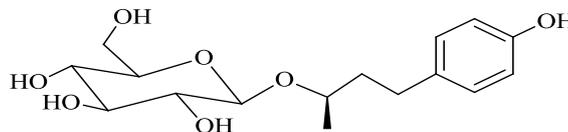
3-méthoxy quercétine (10)



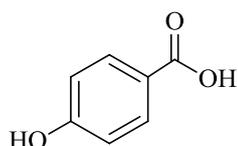
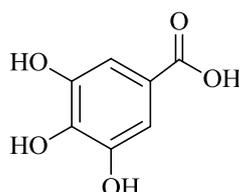
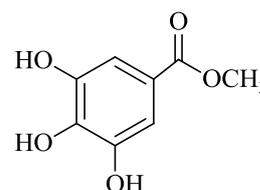
(-)-Gallocatéchine (11)



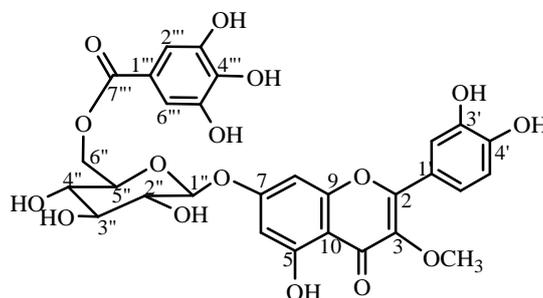
(-)-Epigallocatéchine (12)

Iriflophénone-2-*O*-β-glucoside (13)

(-)-Rhododendrine (14)

Acide para-hydroxybenzoïque
(15)Acide gallique
(16)Gallate de méthyle
(17)

III.1.2.3.1. Elucidation structurale du composé 1



3-méthoxy-7-*O*-β-(6''-galloyl)glucopyranoside) quercétine

Ce composé se présente sous forme d'une poudre de couleur jaune brillant soluble dans le méthanol et donnant une coloration verte après révélation par une solution acide et chauffage. Sa fluorescence noire violette sous lampe UV à 365 nm est caractéristique d'une flavone ou d'un flavonol substitué en 3 (3-OR) [91].

Cette hypothèse structurale est confirmée sur le spectre UV (Figure III.5) enregistré dans le méthanol, par la présence de deux bandes d'absorption maximale à 358 nm (bande I) et 258 nm (bande II). Le déplacement bathochromique ($\Delta\lambda = + 80$ nm) de la bande I observé après addition du chlorure d'aluminium (AlCl_3) à la solution méthanolique, indique la présence d'un groupement hydroxyle en position 5.

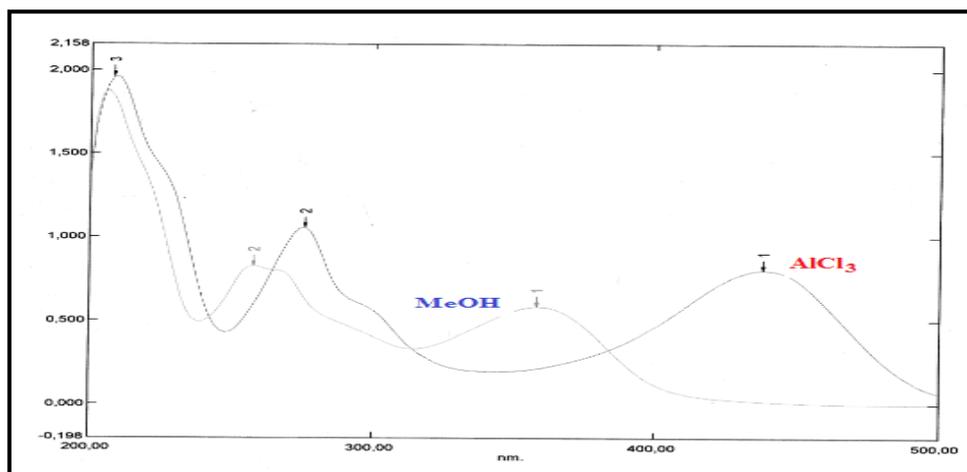


Figure III.5: Spectre UV du composé 1

Les spectres de masse ESI du composé 1, enregistrés en modes positif (Figure III.6) et négatif (Figure III.7), présentent respectivement des pics d'ions pseudomoléculaires à $m/z = 653$ $[M+Na]^+$ et 629 $[M-H]^-$, soit une masse moléculaire de 630 uma correspondant à une formule brute en $C_{29}H_{26}O_{16}$. Cette dernière est confirmée par la présence d'un pic d'ion pseudomoléculaire observé sur le spectre de masse à haute résolution HR-ESIMS (Figure III.8), à $m/z = 653,1122$ (calc. $C_{29}H_{26}O_{16}Na$, 653,1113).

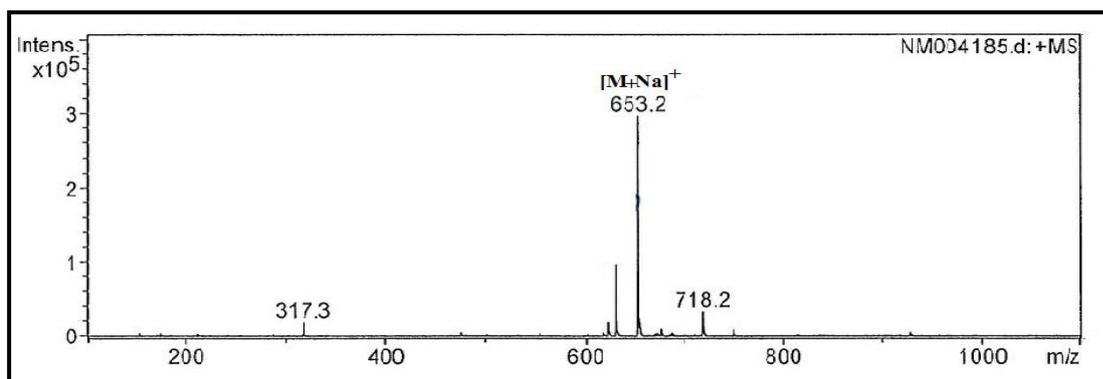


Figure III.6: Spectre de masse ESI⁺ du composé 1

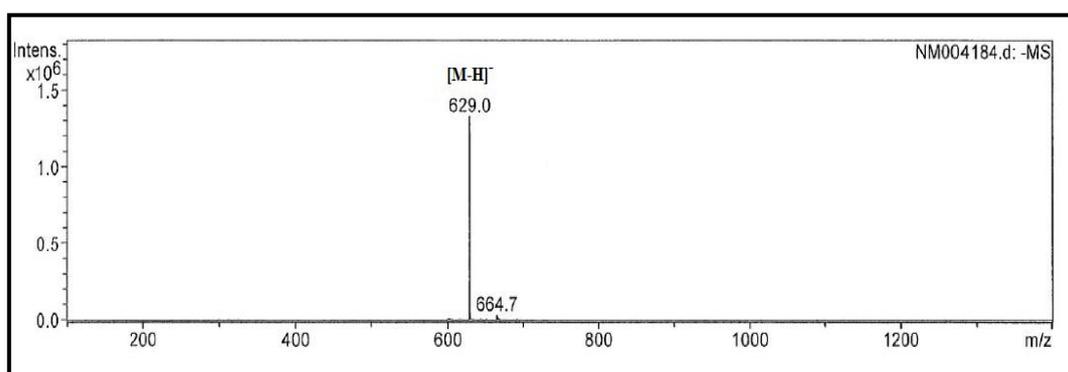


Figure III.7: Spectre de masse ESI⁻ du composé 1

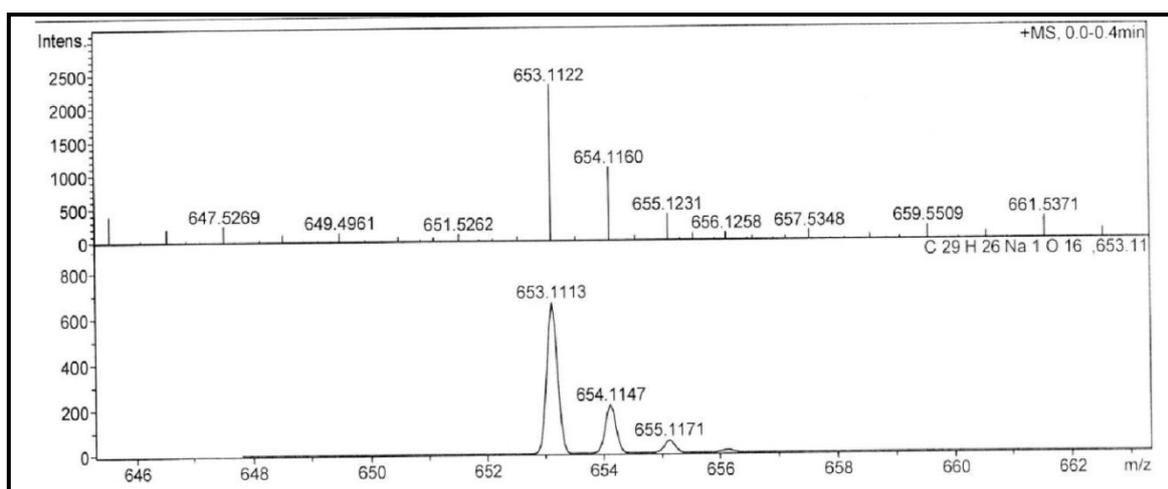


Figure III.8: Spectre de masse HR-ESI du composé 1

Le spectre RMN ^1H (Figure III.9) de ce composé, enregistré à 500 MHz dans un mélange $\text{CDCl}_3/\text{MeOD}$, montre un profil typique d'un flavonoïde glycosylé avec la présence de signaux de protons aromatiques résonant entre 6,40 et 7,70 ppm et osidiques sortant dans l'intervalle 3,50-5,20 ppm. Le signal du proton anomère (H-1'') qui suggère l'existence d'une seule unité osidique, est repéré à 5,10 ppm (1H, *d*, $J = 7,8$). Le même spectre indique clairement la présence d'un signal de groupement méthoxyle résonant à 3,80 ppm.

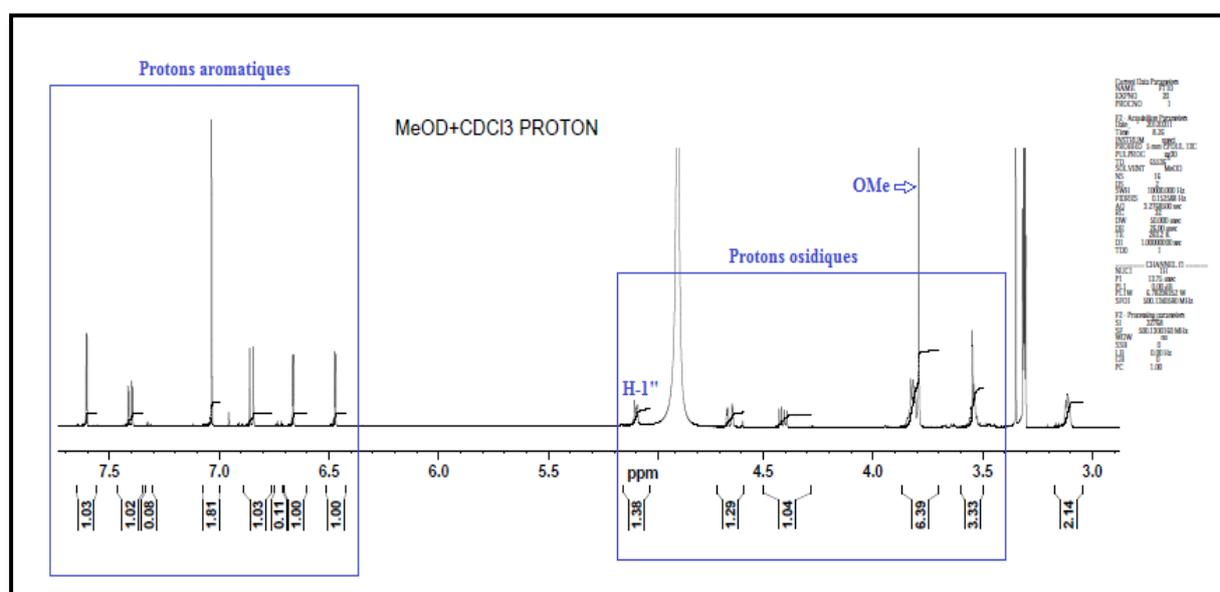


Figure III.9: Spectre RMN ^1H (500 MHz, $\text{CDCl}_3+\text{MeOD}$) du composé 1

Le spectre RMN ^{13}C *J*-modulé (Figure III.10) montre la présence d'un nombre important de signaux. Les signaux résonant entre 95 et 180 ppm sont caractéristiques de carbones aromatiques du flavonoïde. On identifie aussi un carbone du groupement méthoxyle détecté à 60,8 ppm, deux carbonyles à δ_{C} 180,2 et 168,4 correspondant respectivement au

signal du carbone C-4 d'un flavonoïde et à celui d'un carbonyle d'ester. Ce dernier suggérerait la présence d'un groupement acylant. Par ailleurs, il est aussi observé des signaux correspondant aux carbones quaternaires et C-H aromatiques : δ 164,4 (C), 162,7 (C), 158,7 (C), 157,9 (C), 150,0 (C), 146,4 (C), 146,3 (C), 139,8 (C), 139,8 (C), 122,7 (C), 122,5 (C), 121,2 (C), 116,7 (CH), 116,5 (CH), 110,2 (CH), 107,7 (C), 100,6 (CH), 95,8 (CH). Les six signaux CH résonant entre 64 et 101 ppm sont attribuables aux carbones de l'unité osidique (Figure III.10).

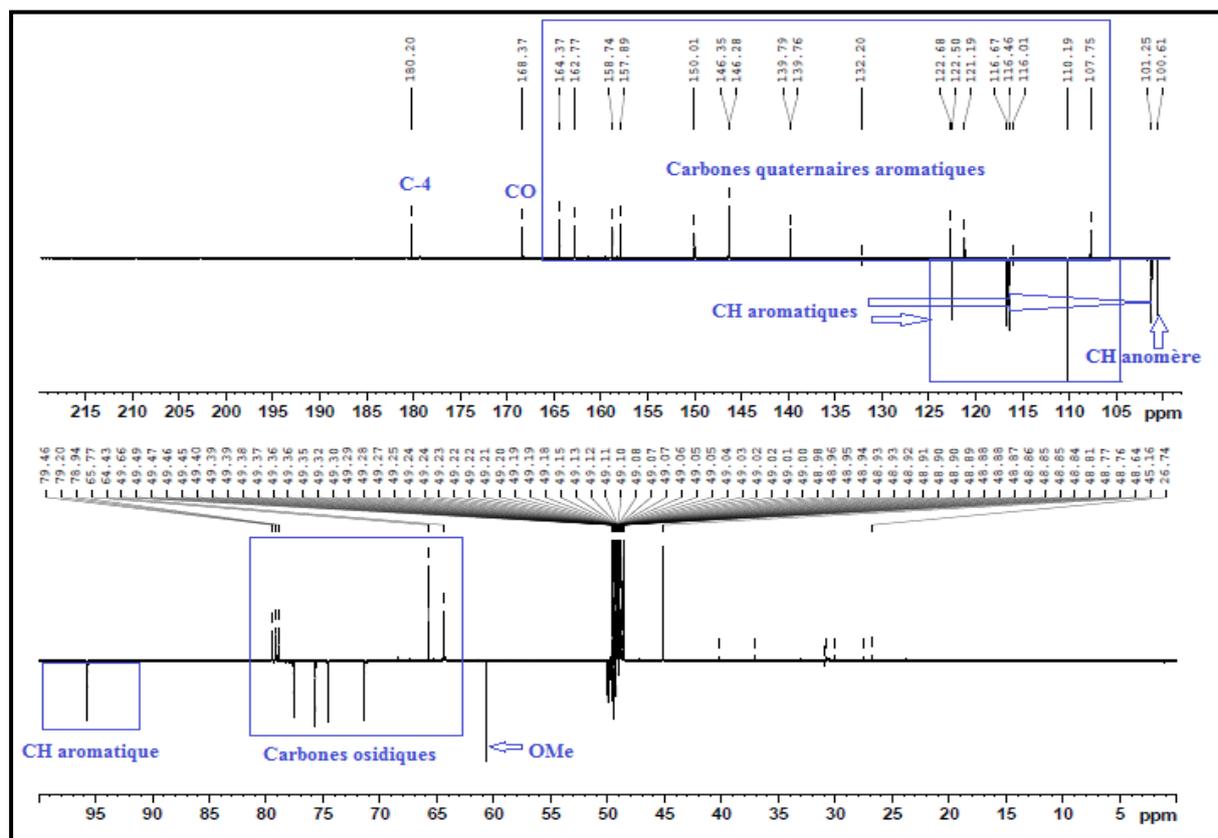


Figure III.10: Spectre RMN ^{13}C J-modulé (250 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{MeOD}$) du composé 1

A l'issue de cette première analyse, il apparaît donc que le composé 1 est un flavonoïde de nature flavone ou flavonol substitué en OH-3 constituant la partie aglycone, porteur d'une unité osidique et d'un groupement acyle de nature aromatique comme le montrent les spectres RMN ^1H et ^{13}C .

L'élucidation structurale consistera donc à identifier l'aglycone, la partie osidique et le groupement acyle ainsi que leur point de branchement au niveau de la molécule.

Identification de la partie aglycone

L'identification de l'aglycone est initiée par analyse du spectre RMN ^1H (Figure III.11) qui exhibe des signaux résonant à δ_{H} 7,60 (1H, *d*, $J = 2,2$ Hz), δ_{H} 6,85 (1H, *d*, $J = 8,5$ Hz) et δ_{H} 7,40 (1H, *dd*, $J = 8,5; 2,2$ Hz), caractéristiques des protons H-2', H-5' et H-6' du cycle B disubstitué du flavonoïde. Les deux doublets résonant à δ_{H} 6,47 et δ_{H} 6,66, d'intégration 1H chacun avec la même valeur de constantes de couplage (2,2 Hz), sont attribuables aux protons H-6 et H-8 du cycle A.

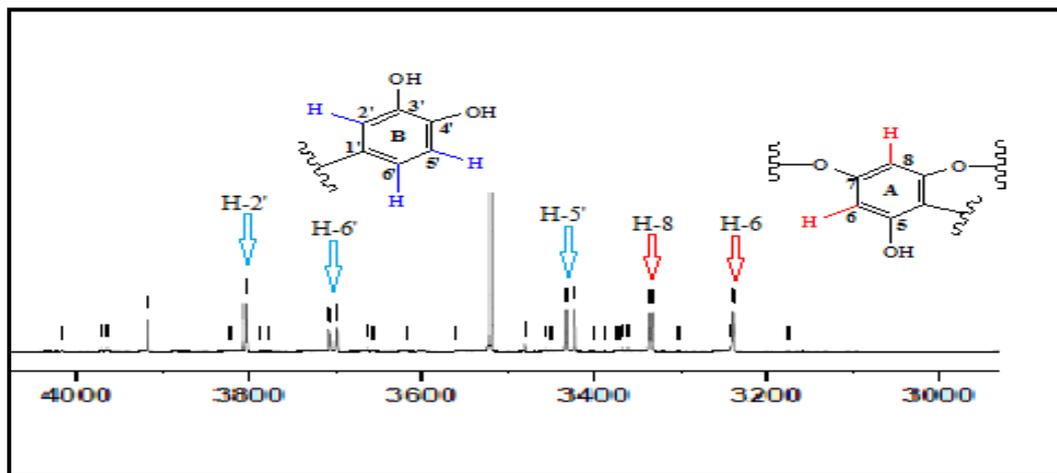


Figure III.11: Spectre RMN ^1H de la partie aglycone du composé 1

Ceci est confirmé par l'analyse des couplages homonucléaires observés sur le spectre COSY H-H (Figure III.12), où l'on observe les couplages entre les protons :

- ◇ H-6 et H-8, H-2' et H-6'. Leur valeur $J = 2,2$ Hz correspond à un couplage méta.
- ◇ H-5' et H-6'. La valeur ($J = 8,5$ Hz) traduit un couplage ortho.

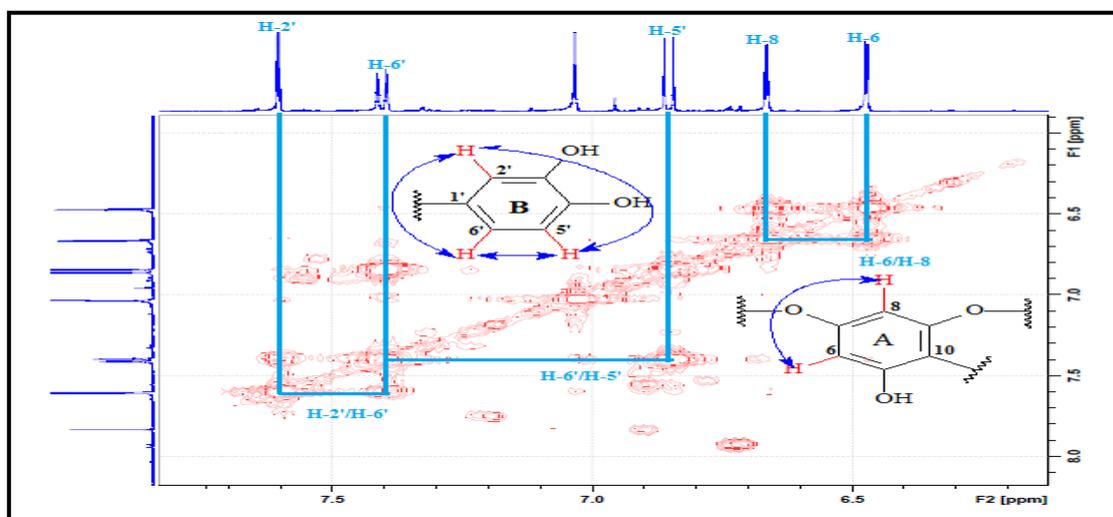


Figure III.12: Spectre COSY H-H de la partie aglycone du composé 1

A partir des protons cités précédemment, l'expérience HSQC *J*-modulé (Figure III.13) permet d'identifier les carbones C-2' (δ_C 116,7), C-5' (δ_C 116,5), C-6' (δ_C 122,5), C-6 (δ_C 100,6) et C-8 (δ_C 95,8).

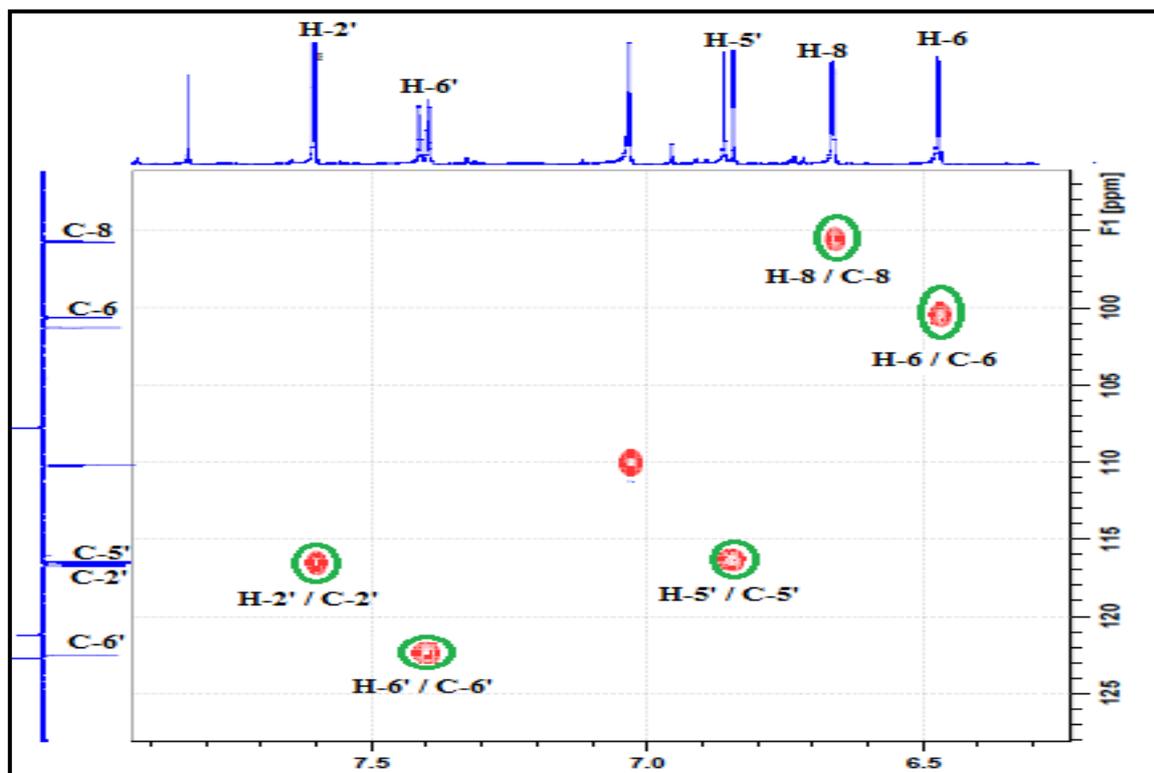


Figure III.13: Spectre HSQC de la partie aglycone du composé 1

L'expérience HMBC (Figure III.14) montre clairement une corrélation entre les protons H-2'/ H-6' du cycle B et un carbone quaternaire résonant à δ_C 157,9, correspondant au carbone C-2 de l'aglycone. Cette valeur de déplacement chimique est en faveur d'un flavonol substitué en position 3. Le signal carbone observé à δ_C 139,8 est attribuable au carbone C-3.

Toutes ces données spectrales ainsi que la valeur des déplacements chimiques des carbones C-2 et C-3 comparées avec celles de la littérature, laissent suggérer que la génine est un flavonol nommé quercétine, substituée en 3 [92, 93] par un groupement méthoxyle. Ceci est confirmé par expérience HMBC (Figure III.14) qui montre clairement un couplage hétéronucléaire longue distance entre les protons (3H, *s*, δ_H 3,80) de ce dernier et le carbone C-3 (δ_C 139,8).

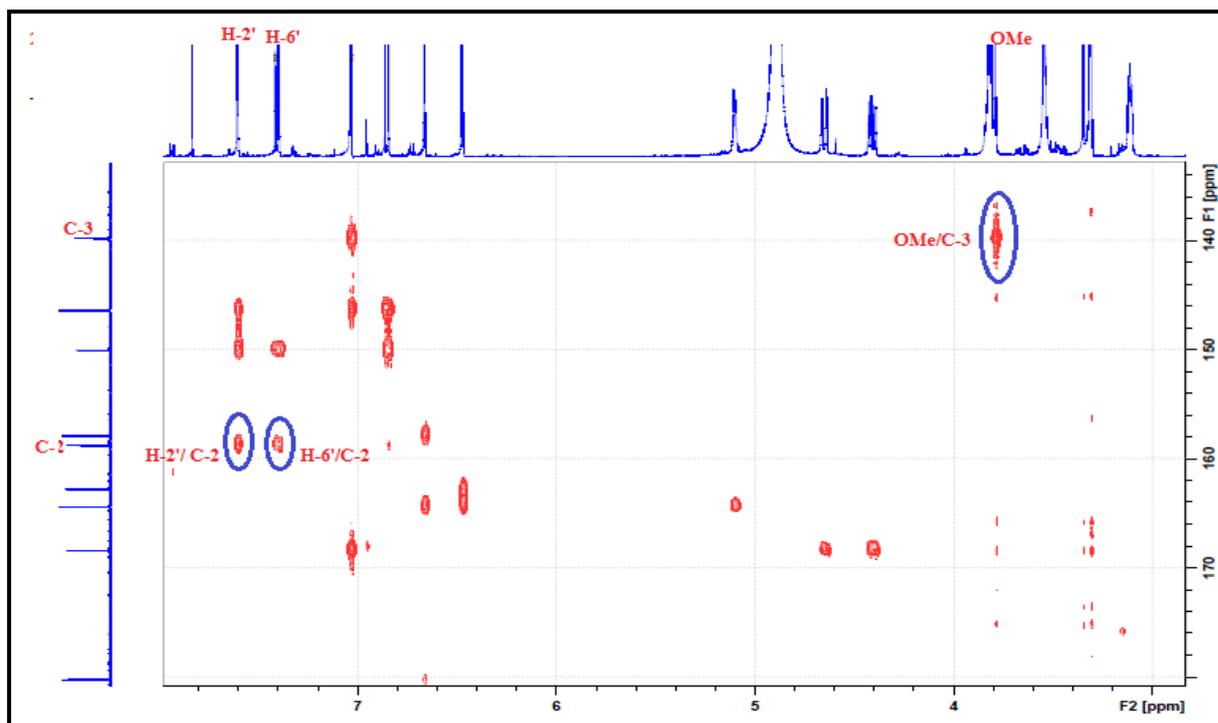


Figure III.14: Spectre HMBC de la partie aglycone du composé 1

Cette localisation est confirmée par le spectre de corrélation NOESY où une tâche de corrélation entre les protons O-CH₃ et H-2' du noyau B est observée (Figure III.15).

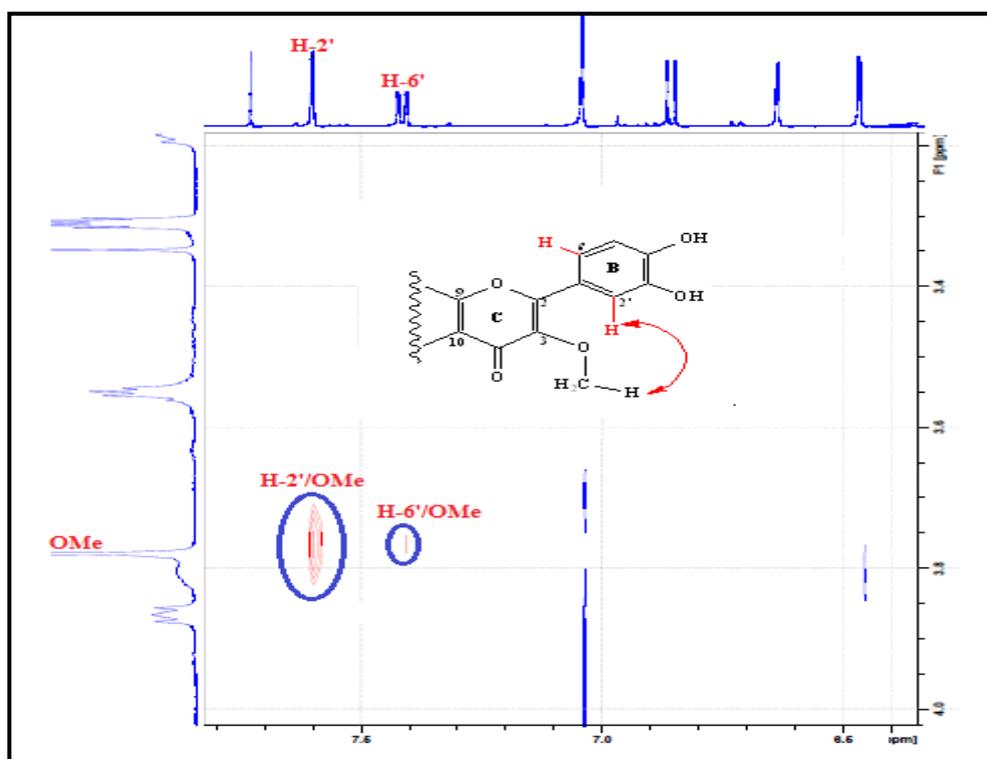


Figure III.15: Spectre NOESY du groupement méthoxyle du composé 1

L'analyse du spectre HMBC (Figures III.16 et III.17) permet également de visualiser les couplages longue distance entre :

- ◇ les protons H-2'/H-6' et un carbone quaternaire oxygéné C-4' (δ_C 150,0).
- ◇ le proton H-5' et deux carbones quaternaires C-3' (δ_C 146,4) et C-1' (δ_C 122,7).
- ◇ les protons H-6/ H-8 du cycle A et les carbones quaternaires C-10 (δ_C 107,7) et C-7 (δ_C 164,4).
- ◇ le proton H-6 et le carbone oxygéné C-5 (δ_C 162,7).
- ◇ le proton H-8 et un carbone quaternaire résonant à δ_C 158,7, ne pouvant être que le carbone C-9.

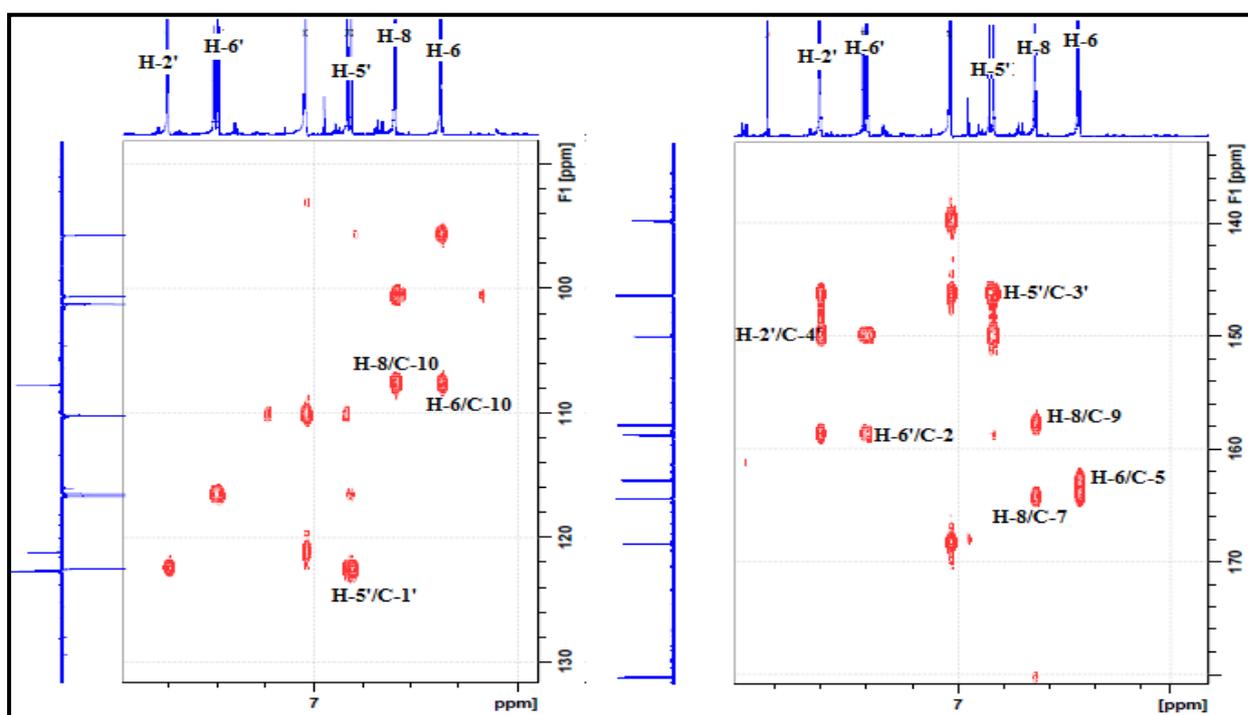


Figure III.16: Spectre HMBC de la partie aglycone du composé 1

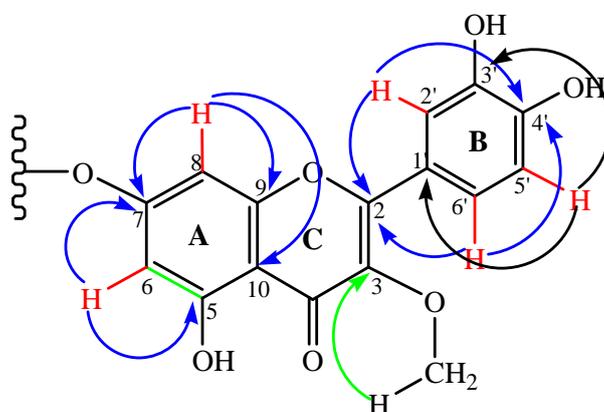
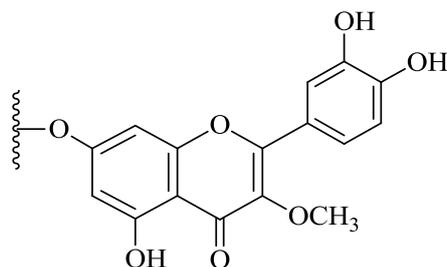


Figure III.17: Corrélations HMBC de la partie aglycone

Ainsi la partie aglycone du composé **1** est identifiée sans ambiguïté comme étant la quercétine 3-*O*-méthoxylée.



Partie osidique

L'unité osidique a été identifiée par analyse COSY H-H (Figure III.18) qui montre clairement la présence d'un système de spins à sept protons d'un hexose. En effet, partant du signal de proton anomérique H-1'' sortant à 5,10 ppm (1H, *d*, $J = 7,8$ Hz) cité précédemment, on relie à travers leurs taches de corrélation, les protons H-2'' (3,54 ppm, *t*, $J = 7,8$ Hz), H-3'' (3,55 ppm, *t*, $J = 7,8$ Hz), H-4'' (3,53 ppm, *t*, $J = 7,8$ Hz), H-5'' (3,82 ppm, *m*) et enfin les 2 protons H-6'' (4,65 ppm, *dd*, $J = 12,0; 2,2$ Hz, H-6''*a* ; 4,41 ppm, *dd*, $J = 12,0; 5,6$ Hz, H-6''*b*). Les grandes valeurs de constantes de couplage permettent d'identifier un glucose de configuration β ($J_{1'',2''} = 7,8$ Hz).

A signaler que le déblindage important de signaux de protons H-6''*a* et H-6''*b* laisse suggérer que le groupement acylant de nature aromatique, estérifie l'hexose en C-6.

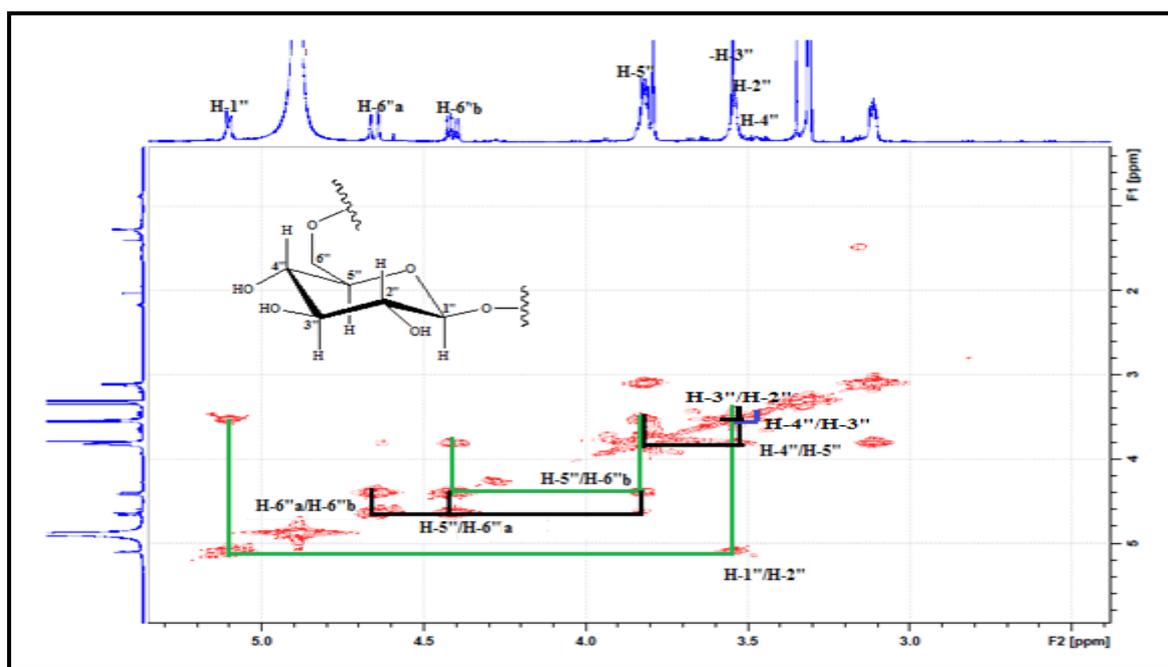


Figure III.18: Spectre COSY H-H de la partie osidique du composé **1**

L'analyse du spectre HSQC *J*-modulé (Figure III.19) permet d'identifier sans ambiguïté les carbones du sucre: C-1'' (101,2 ppm), C-2'' (74,5 ppm), C-3'' (77,8 ppm), C-4'' (71,1 ppm), C-5'' (76,0 ppm) et C-6'' (64,4 ppm).

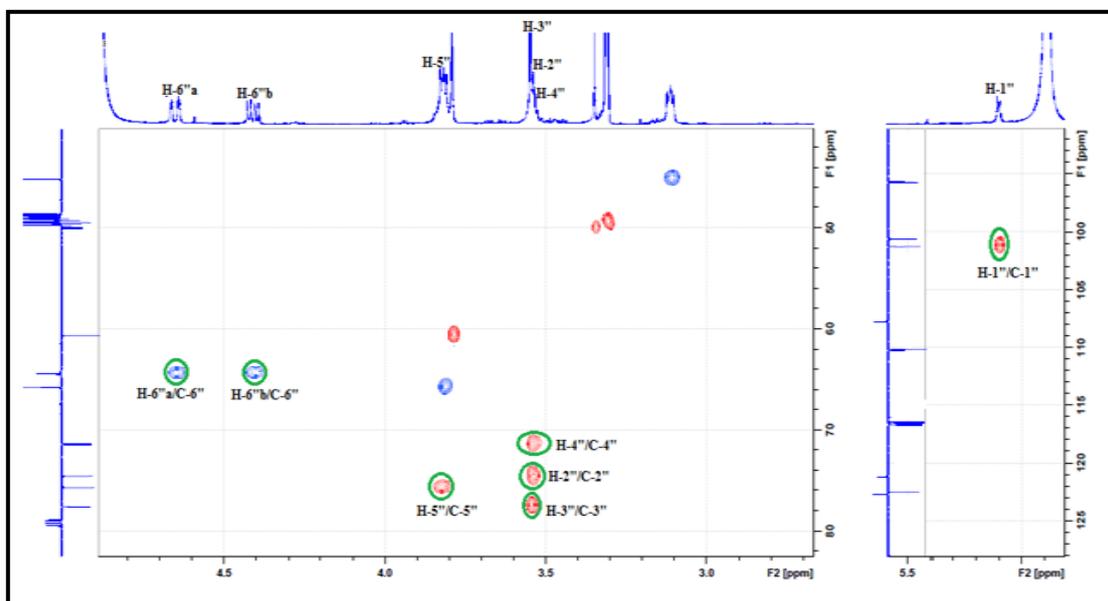


Figure III.19: Spectre HSQC *J*-modulé de la partie osidique du composé 1

Le point de branchement du sucre est déterminé par expérience HMBC (Figure III.20) qui exhibe une corrélation entre le proton anomère H-1'' (δ_H 5,10) du β -D-glucose et le carbone C-7 (δ_C 164,4) de l'aglycone. Ceci est également confirmé par expérience NOESY qui montre un effet NOE entre le proton H-6 (δ_C 6,47) et le proton anomérique H-1'' (Figure III.21).

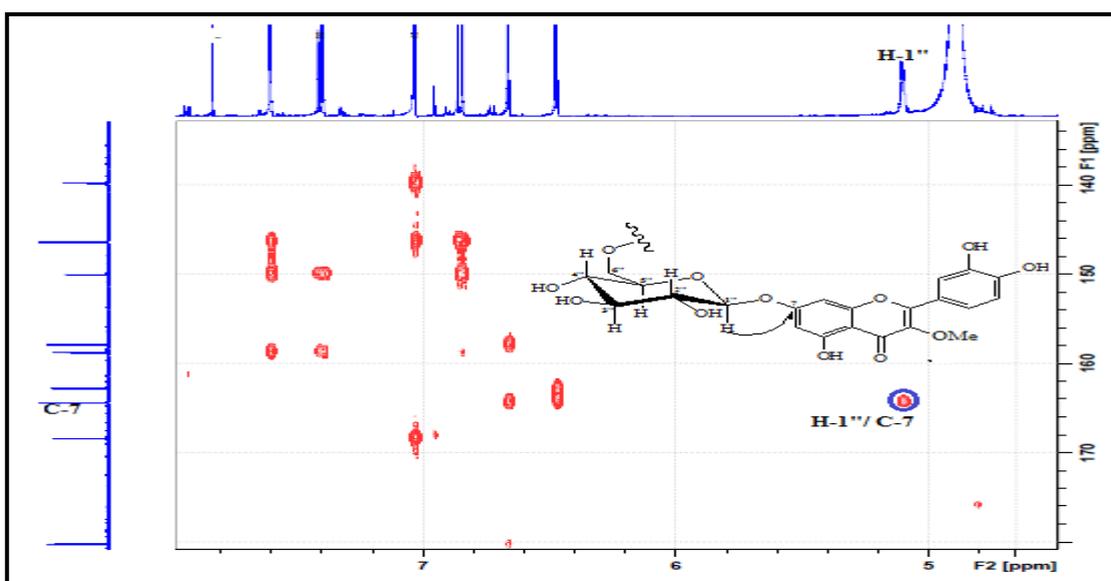


Figure III.20: Spectre HMBC de la partie osidique du composé 1

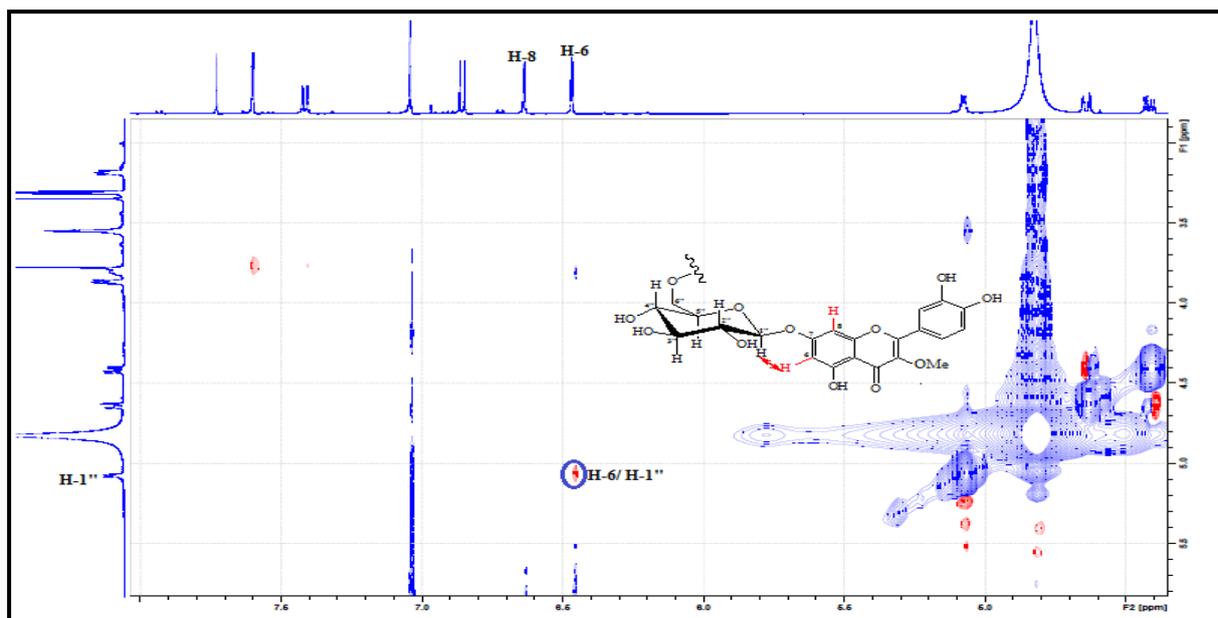


Figure III.21: Spectre NOESY de la partie osidique du composé 1

Partie acyle

L'analyse des spectres HSQC et RMN ^1H (Figure III.22) révèle la présence d'un signal de deux protons aromatiques magnétiquement équivalents résonant à δ_{H} 7,03. Ces derniers ne présentent aucun couplage sur le spectre COSY H-H. Leur corrélation directe avec deux carbones sortant à δ_{C} 110,2, attestant de la présence d'un noyau aromatique symétrique, permet de suggérer l'existence d'un groupement galloyle.

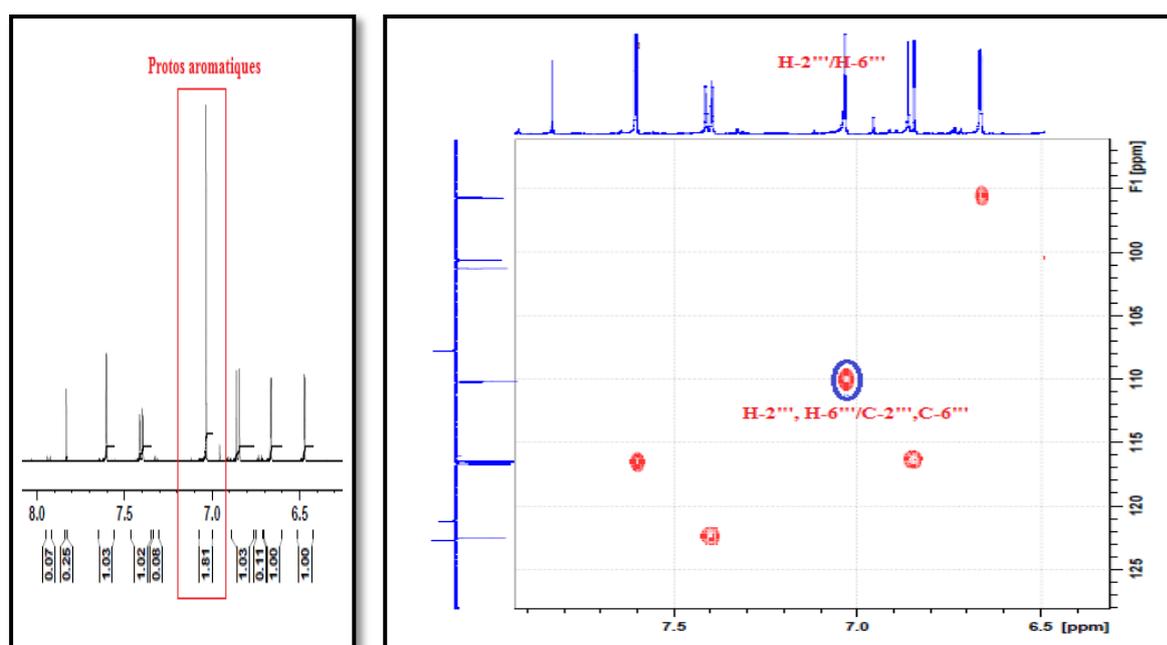


Figure III.22: Spectre RMN ^1H et HSQC exhibant les protons galloyliques du composé 1

Le spectre HMBC (Figures III.23 et III.24) confirme bien la présence supplémentaire d'un noyau aromatique 1,3,4,5-tetrasubstitué, et cela par l'observation des couplages hétéronucléaires longue distance entre les protons H-2'''/H-6''' (δ_H 7,03) et :

- ◇ trois carbones aromatiques quaternaires oxygénés dont deux carbones équivalents résonnant respectivement à δ_C 139,8 (C-4''') et 146,3 (C-3'''/C-5''').
- ◇ un carbone aromatique quaternaire repéré à 121,2 ppm correspondant au carbone C-1'''.
- ◇ le carbonyle d'ester résonnant à δ_C 168,4.

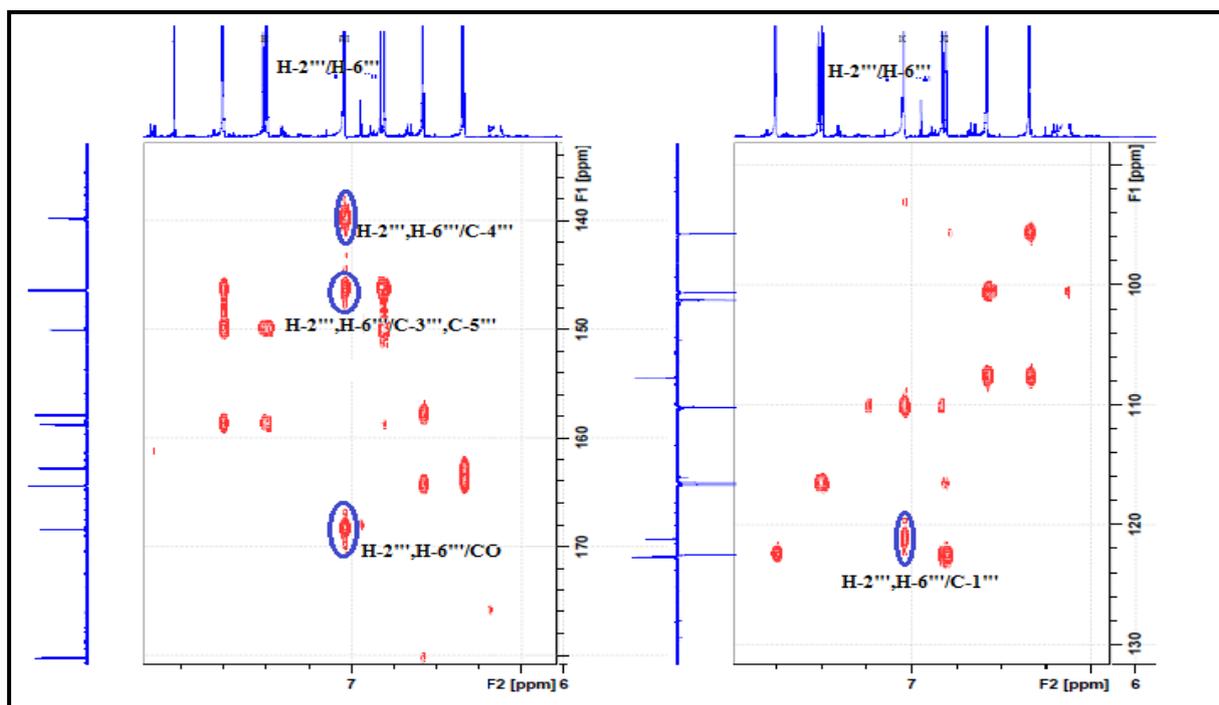


Figure III.23: Spectre HMBC de la partie acyle du composé 1

A l'issue de cette analyse et en tenant compte de la masse moléculaire de ce composé égale à 630 uma et les unités structurales déjà identifiées, ce groupement est déterminé comme étant un galloyle estérifiant donc, comme il a été décrit précédemment, le glucose en C-6.

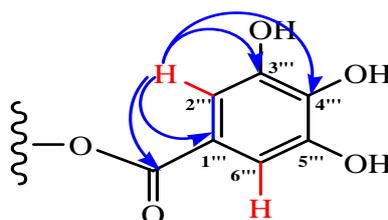


Figure III.24: Corrélations HMBC observées pour le groupement galloyle

Le spectre HMBC (Figure III.25) qui montre une tache de corrélation entre les protons H-6''a (δ_H 4,65) et H-6''b (δ_H 4,41) du glucose et le carbone C-7''' (δ_C 168,4) du galloyle, confirme bien que la fonction alcool primaire en C-6'' du sucre est estérifiée par le groupement galloyle.

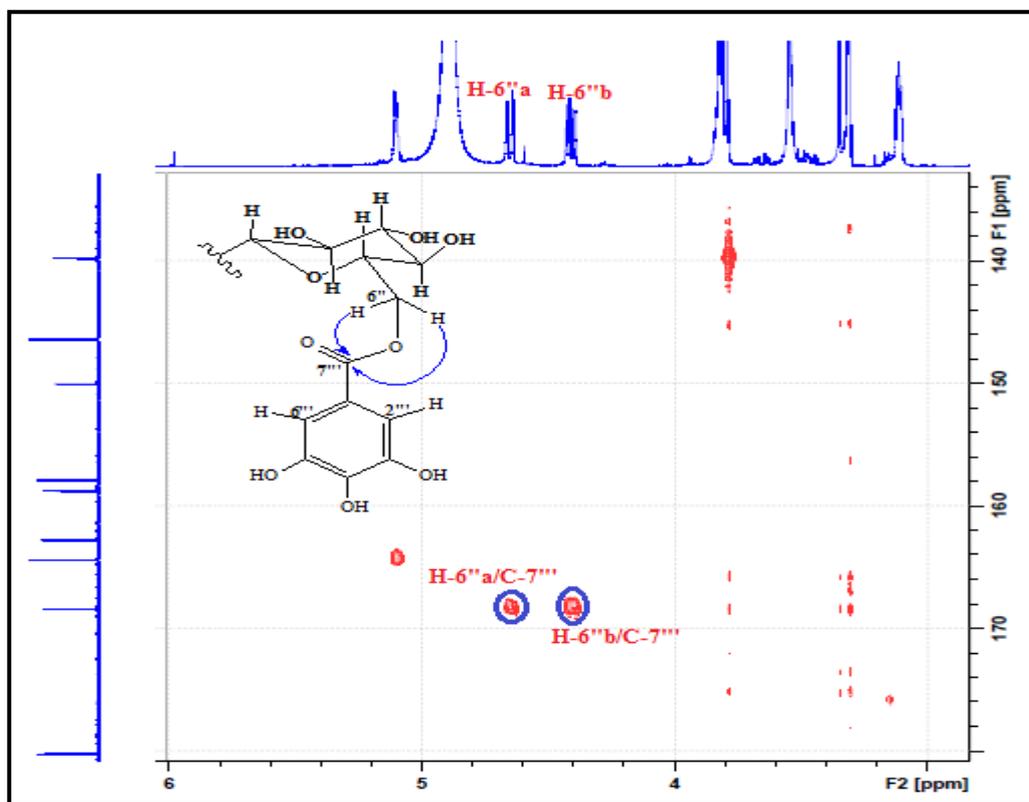
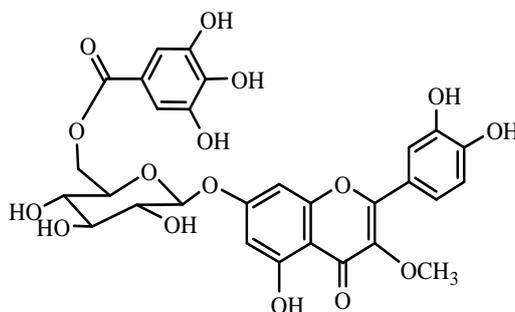


Figure III.25: Corrélation HMBC des protons H₂-6'' du composé 1

L'ensemble de ces données ainsi que la valeur du pouvoir rotatoire $[\alpha]_D = -115,4^\circ$ ($C = 0,77$ g/100 ml, MeOH) permettent d'identifier le composé **1** au 3-méthoxy-7-O-β-(6''-galloyl)glucopyranoside) quercétine. A notre connaissance, ce composé n'avait jamais été décrit auparavant.

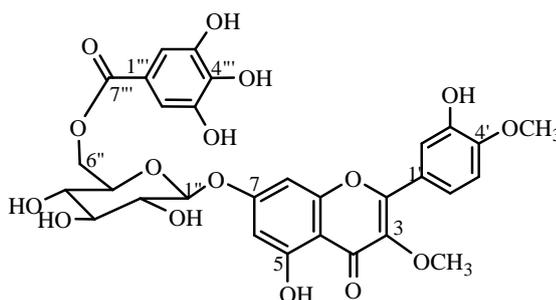


Les déplacements chimiques des protons et carbones de ce composé sont rassemblés dans le tableau ci-dessous.

Tableau III.1: Déplacements chimiques RMN ^1H et ^{13}C du composé 1 dans MeOD- CDCl_3

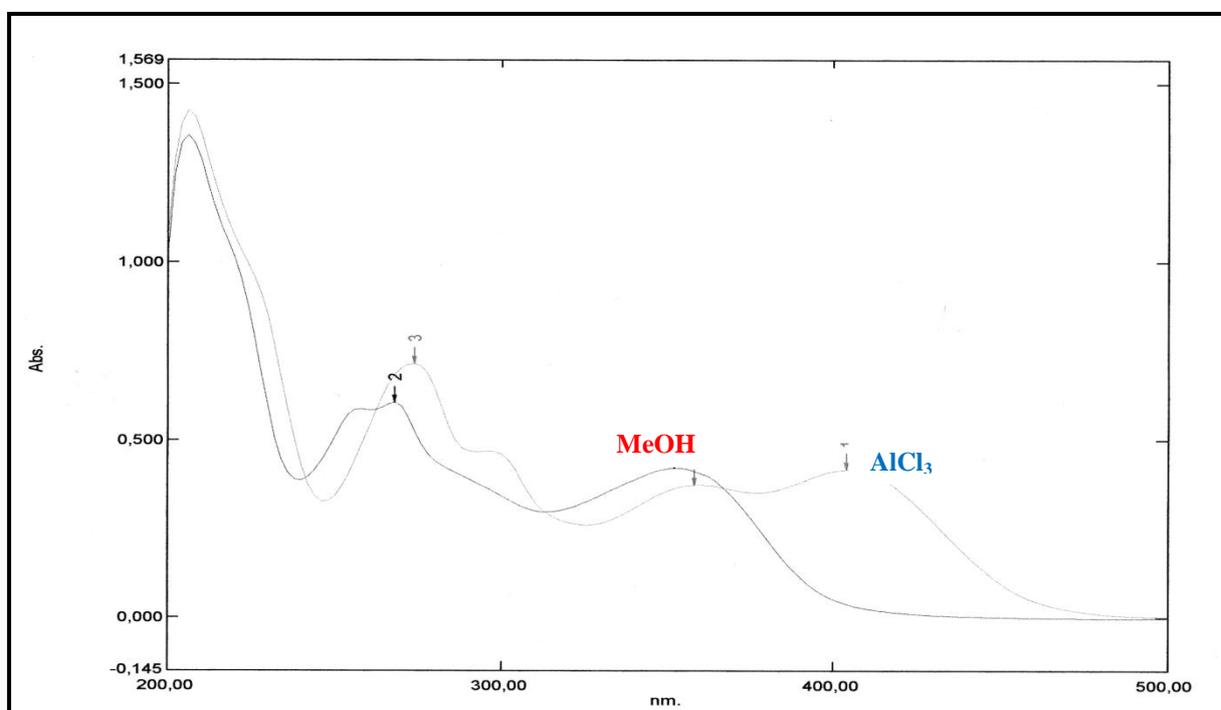
Position	δ_{H} <i>m</i> (J en Hz)	δ_{C}
Aglycone		
2	-	157,9
3	-	139,8
4	-	180,2
5	-	162,7
6	6,47 <i>d</i> (2,2)	100,6
7	-	164,4
8	6,66 <i>d</i> (2,2)	95,8
9	-	158,7
10	-	107,7
1'	-	122,7
2'	7,60 <i>d</i> (2,2)	116,7
3'	-	146,4
4'	-	150
5'	6,85 <i>d</i> (8,5)	116,5
6'	7,40 <i>dd</i> (8,5; 2,2)	122,5
3-OMe	3,80 <i>s</i>	60,8
β-D-Glucopyranosyl		
1''	5,10 <i>d</i> (7,8)	101,2
2''	3,54 <i>t</i> (7,8)	74,5
3''	3,55 <i>t</i> (7,8)	77,8
4''	3,53 <i>t</i> (7,8)	71,1
5''	3,82 <i>m</i>	76
6''a	4,65 <i>dd</i> (12,0; 2,2)	64,4
6''b	4,41 <i>dd</i> (12,0; 5,6)	
Galloyl		
1'''	-	121,2
2'''	7,03 <i>s</i>	110,2
3'''	-	146,3
4'''	-	139,8
5'''	-	146,3
6'''	7,03 <i>s</i>	110,2
7'''	-	168,4

III.1.2.3.2. Elucidation structurale du composé 2

**3,4'-diméthoxy-7-O- β -(6''-galloylglucopyranoside) quercétine**

Le composé **2** est obtenu sous forme d'une poudre marron soluble dans le méthanol. La fluorescence noire violette sous la lumière UV à la longueur d'onde 365 nm laisse supposer qu'il s'agit d'une flavone ou d'un flavonol substitué en OH-3.

Le spectre UV-Visible (Figure III.26) de ce composé enregistré dans le méthanol montre deux bandes d'absorption maximales à 352 nm (bande I) et 268 nm (bande II), similaires à celles observées pour le composé **1** discuté précédemment. Ces absorptions sont caractéristiques d'un système insaturé des flavonoïdes. L'addition de AlCl_3 provoquant un déplacement bathochromique de la bande I, indique la présence d'un OH libre en 5.

**Figure III.26: Spectre UV du composé 2**

Le spectre de masse ESI du composé **2** (Figure III.27) enregistré en mode négatif exhibe un pic d'ion pseudomoléculaire à m/z 643 [M-H]⁻, soit une masse moléculaire de 644 uma, correspondant à la formule brute C₃₀H₂₈O₁₆.

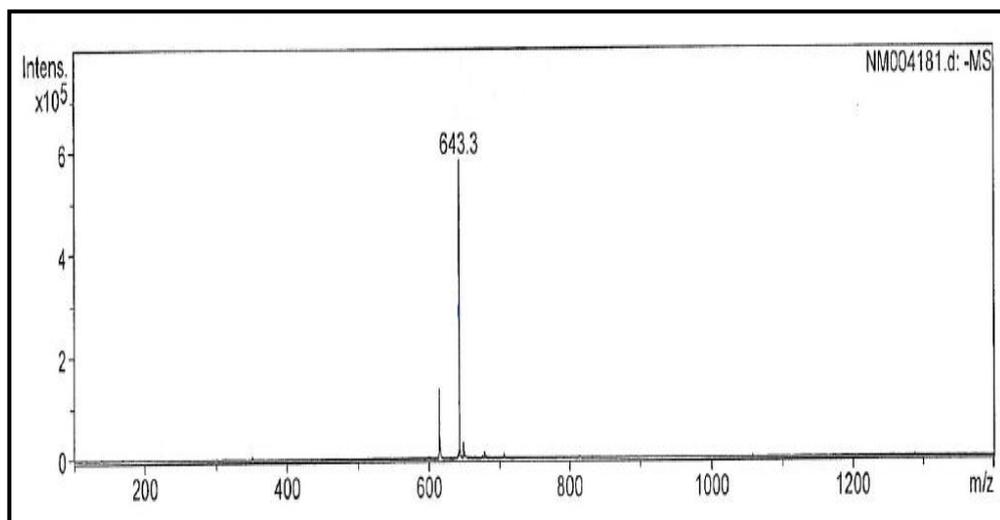


Figure III.27: Spectre de masse ESI du composé **2**

Le spectre de masse à haute résolution HR-ESI (Figure III.28) du composé **2** présente un pic d'ion pseudomoléculaire à m/z 667,1271 (calc. C₃₀H₂₈O₁₆Na, 667,1270).

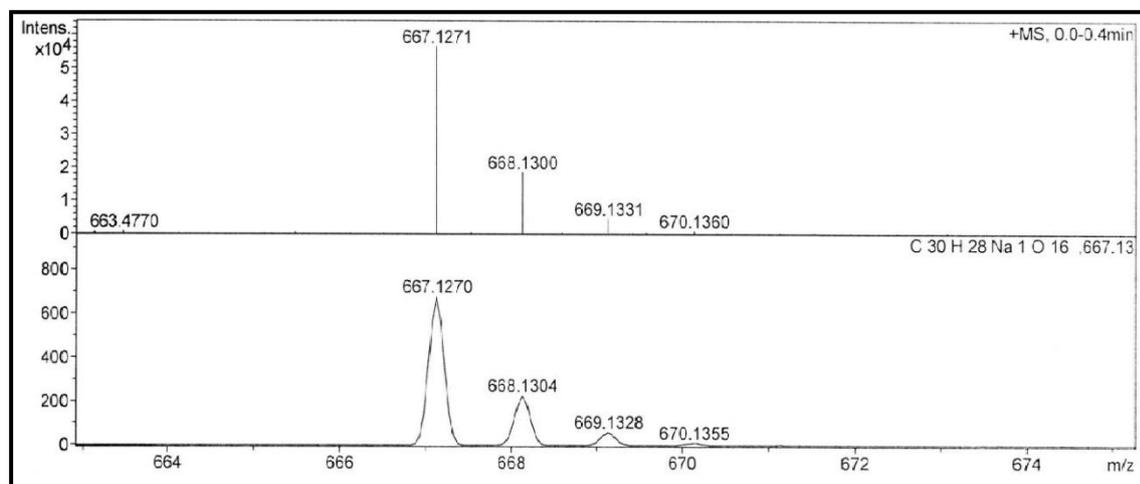


Figure III.28: Spectre de masse HR-ESI du composé **2**

Son spectre RMN ¹H (Figure III.29), enregistré dans un mélange MeOD-CDCl₃, est très voisin de celui du composé **1**. Il permet de reconnaître entre autres:

- ◇ les deux protons H-6 et H-8 du cycle A résonant à δ_H 6,45 (*d*, *J* = 2 Hz) et 6,64 (*d*, *J* = 2 Hz) respectivement.

- ◇ les protons H-2', H-5' et H-6' caractéristiques du cycle B repérés respectivement à 7,59 ($d, J = 2,2$ Hz), 6,92 ($d, J = 8,5$) et 7,39 ($dd, J = 8,5; 2,2$ Hz).
- ◇ le proton anomère H-1'' sortant à δ_H 5,08 ($d, J = 7,5$) et les deux protons géminés H₂-6'' [δ_H 4,36 ($dd, J = 12 ; 6,2$ Hz), H-6''b et δ_H 4,71 ($dd, J = 12 ; 2$ Hz), H-6''a] du β -D-glucose.
- ◇ les deux protons aromatiques magnétiquement équivalents H-2'''/H-6''' à 7,03 ppm, suggérant la présence du groupement galloyle.
- ◇ le groupement méthoxyle OMe-3 [δ_H 3,78 (3H, s)].

L'observation sur le spectre proton d'un signal singulet d'intégration 3H à 3,93 ppm, atteste la présence d'un second groupement méthoxyle comparativement au composé **1**. La différence de masse de l'ordre de 14 uma entre les composés **1** ($M = 630$) et **2** ($M = 644$) confirme ce constat.

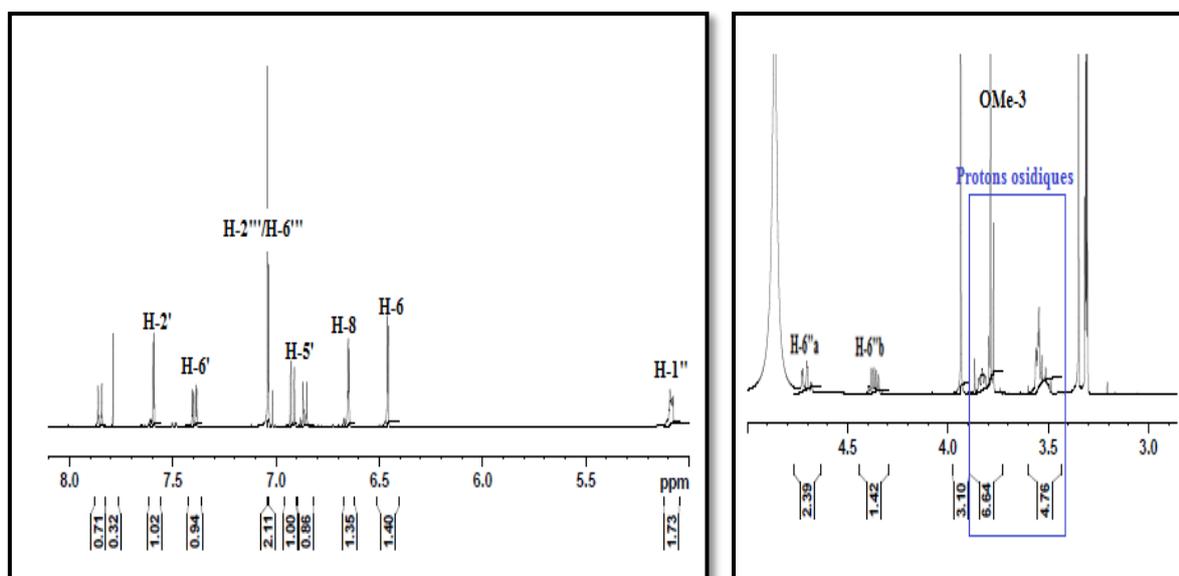


Figure III.29: Spectre RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃+MeOD) du composé **2**

L'analyse conjuguée des spectres COSY H-H, HMBC et HSQC montre clairement la totale similitude de l'aglycone pour les deux composés **1** et **2**. En effet le spectre RMN ¹³C (Figure III.30) montre les signaux des carbones résonant à δ_C 180,1 (C-4), 164,3 (C-7), 162,6 (C-5), 157,8 (C-9), 158,2 (C-2), 151,6 (C-4'), 147,1 (C-3'), 139,9 (C-3), 123,7 (C-1'), 112,2 (C-5'), 122,1 (C-6'), 116,2 (C-2'), 107,7 (C-10), 100,7 (C-6) et 95,6 (C-8). Le déplacement chimique du signal de carbone C-5' du cycle B de ce composé de l'ordre 112,2 ppm indique que le nouveau groupement méthoxyle OCH₃ (δ_H 3,78/ δ_C 56,5) est porté par le carbone C-4' (δ_C 151,6) du même cycle.

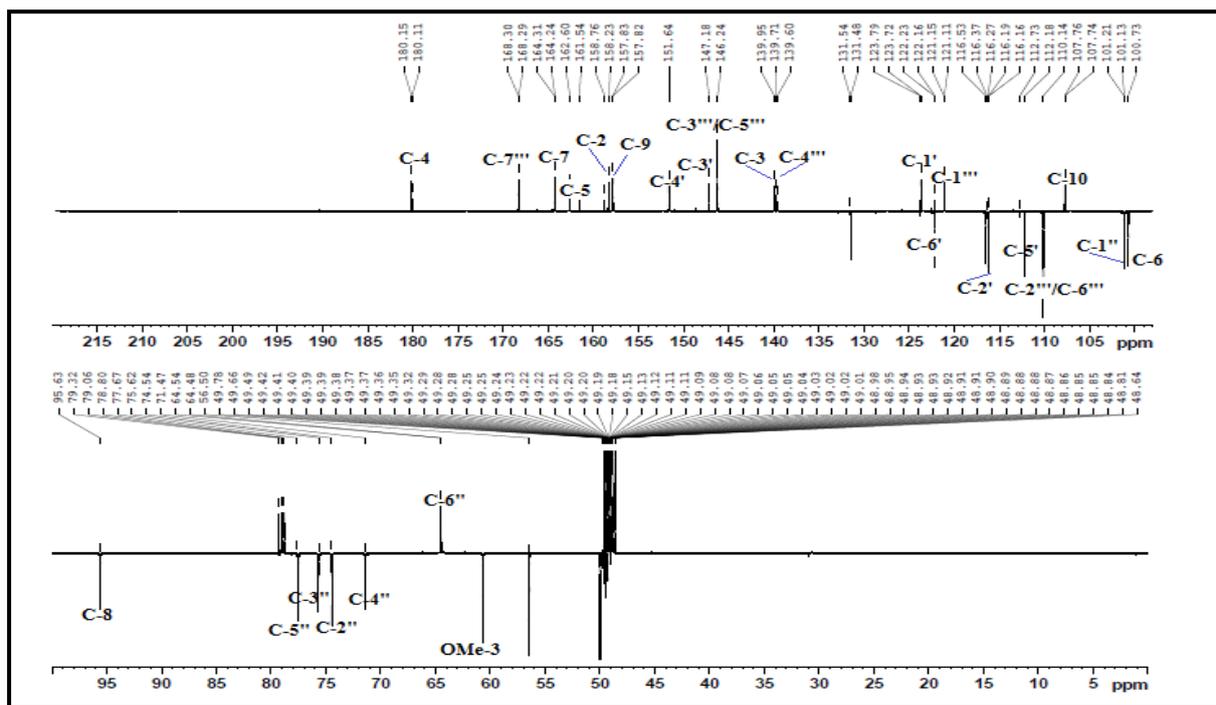


Figure III.30: Spectre RMN ^{13}C J -modulé du composé 2

Les points de branchement du glucose et de l'unité galloyle ainsi que la position du premier groupement méthoxyle OCH_3 [δ_{H} 3,78 (3H, s)] sur la génine assignés par expérience HMBC (Figures III.31 et III.32) se sont avérés similaires à ceux observés pour le composé 1. La même expérience HMBC permet également de confirmer la position du second groupement méthoxyle en C-4' (δ_{C} 151,6) de la génine, et cela à travers une corrélation entre ce dernier et les protons OCH_3 [δ_{H} 3,93 (3H, s)].

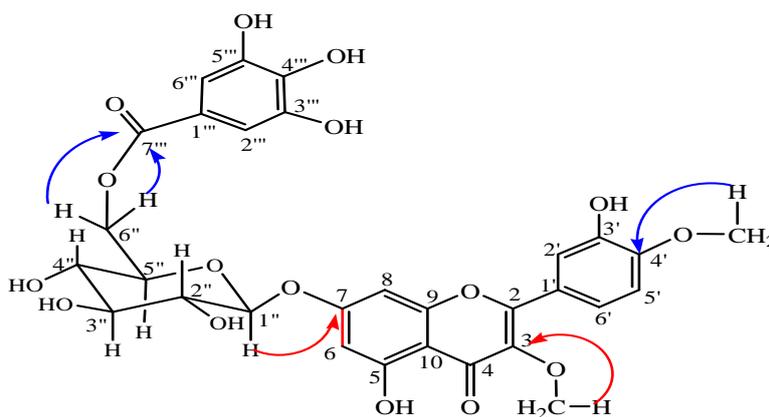


Figure III.31: Corrélations HMBC pertinentes observées pour le composé 2

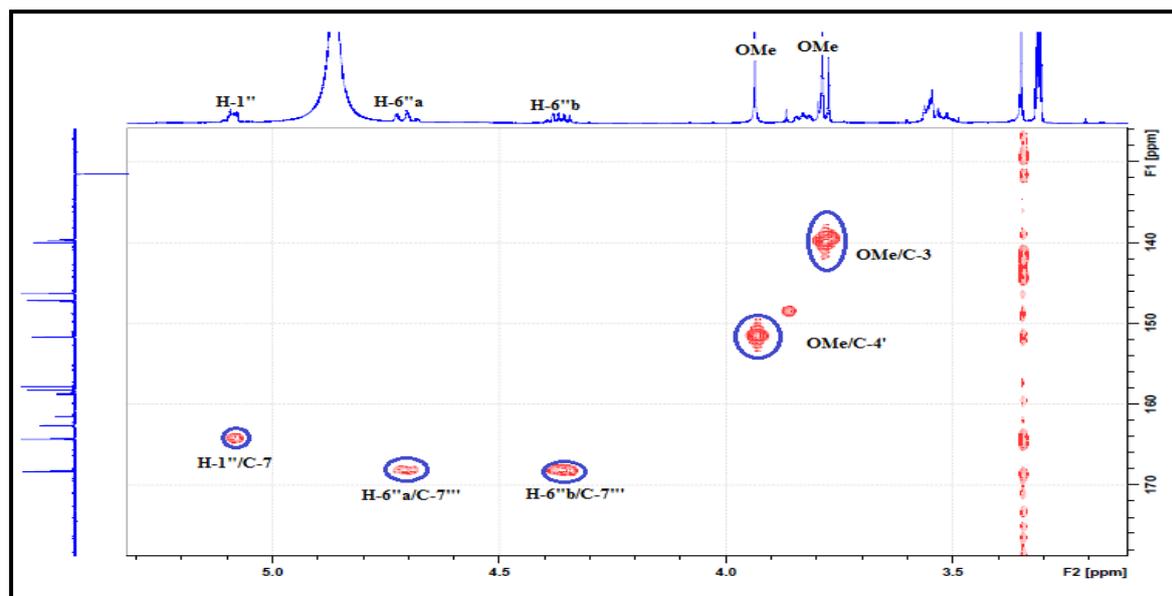


Figure III.32: Spectre HMBC du composé 2

Cette localisation est également confirmée par analyse du spectre NOESY (Figure III.33), qui montre une corrélation entre les protons de ce groupement et le proton H-5' (δ_H 6,92).

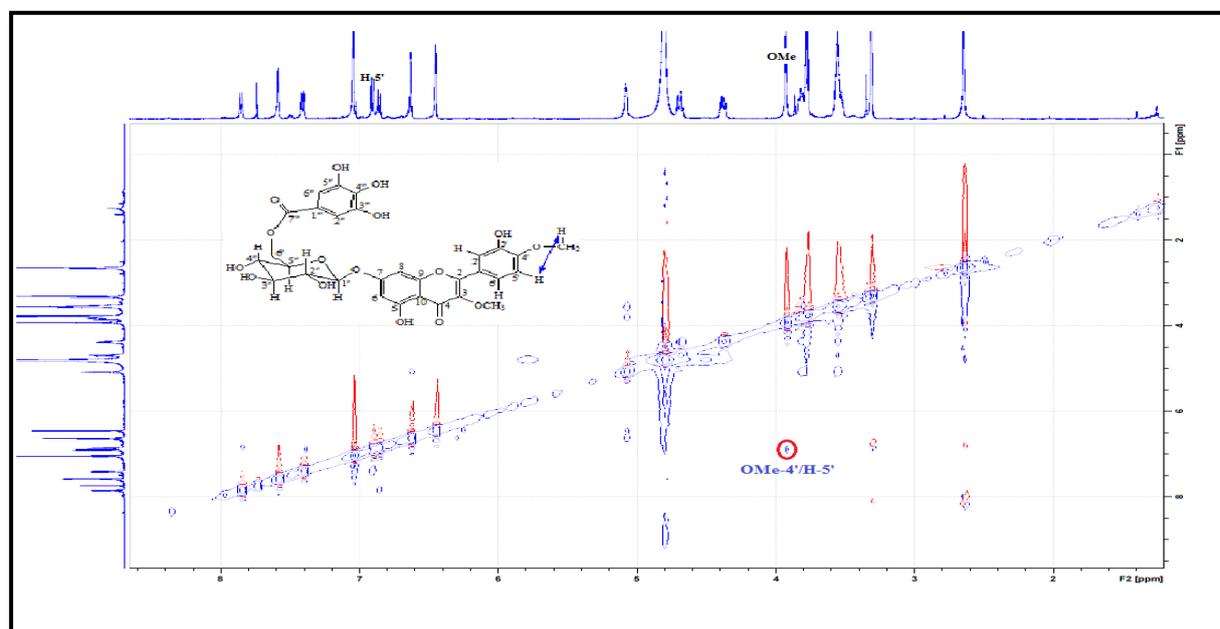


Figure III.33: Spectre NOESY du composé 2

Tous les déplacements chimiques des protons et carbones (Tableau III.2) assignés conjointement par les expériences COSY H-H, HSQC, et la valeur du pouvoir rotatoire ($[\alpha]_D = -121,7^\circ$, $C = 1,18$ g/100 ml dans MeOH) permettent d'attribuer au composé **2** la nouvelle structure 3,4'-diméthoxy-7-O- β -(6''-galloyl)glucopyranoside) quercétine.

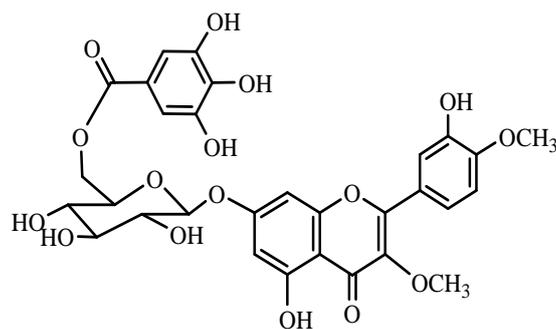
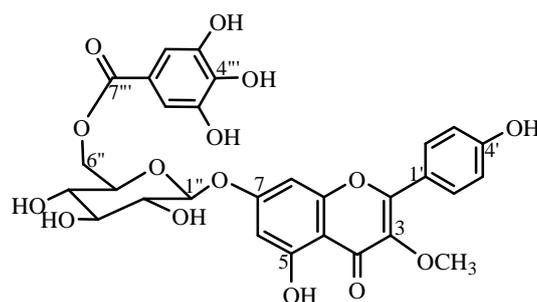


Tableau III.2: Déplacements chimiques RMN ^1H et ^{13}C du composé 2 dans MeOD- CDCl_3

Position	δ_{H} <i>m</i> (J en Hz)	δ_{C}
Aglycone		
2	-	158,2
3	-	139,9
4	-	180,1
5	-	162,6
6	6,45 <i>d</i> (2)	100,7
7	-	164,3
8	6,64 <i>d</i> (2)	95,6
9	-	157,8
10	-	107,7
1'	-	123,7
2'	7,59 <i>d</i> (2,2)	116,2
3'	-	147,1
4'	-	151,6
5'	6,92 <i>d</i> (8,5)	112,2
6'	7,39 <i>dd</i> (8,5; 2,2)	122,1
3-OMe	3,78 <i>s</i>	60,8
4'-OMe	3,93 <i>s</i>	56,5
β-D-Glucopyranosyl		
1''	5,08 <i>d</i> (7,5)	101,2
2''	3,53 <i>t</i> (8,8)	74,5
3''	3,54 <i>m</i>	75,6
4''	3,51 <i>t</i> (8,8)	71,4
5''	3,83 <i>m</i>	77,6
6''a	4,71 <i>dd</i> (12, 2)	64,5
6''b	4,36 <i>dd</i> (12, 6,2)	
Galloyl		
1'''	-	121,1
2'''	7,03 <i>s</i>	110,1
3'''	-	146,2
4'''	-	139,7
5'''	-	146,2
6'''	7,03 <i>s</i>	110,1
7'''	-	168,3

III.1.2.3.3. Elucidation structurale du composé 3

**3-méthoxy-7-O- β -(6''-galloylglucopyranoside) kaempférol**

Le composé **3** se présente sous forme d'une poudre marron soluble dans le méthanol. Il est visible sous la lumière UV à 254 et 365 nm (il donne une fluorescence noire violette à la longueur d'onde 365 nm). Son spectre UV enregistré dans le méthanol (Figure III.34) montre des absorptions maximales à 266 (bande II) et 344 nm (bande I), caractéristiques d'un flavonoïde de type flavone ou flavonol substitué en 3 (3-OR).

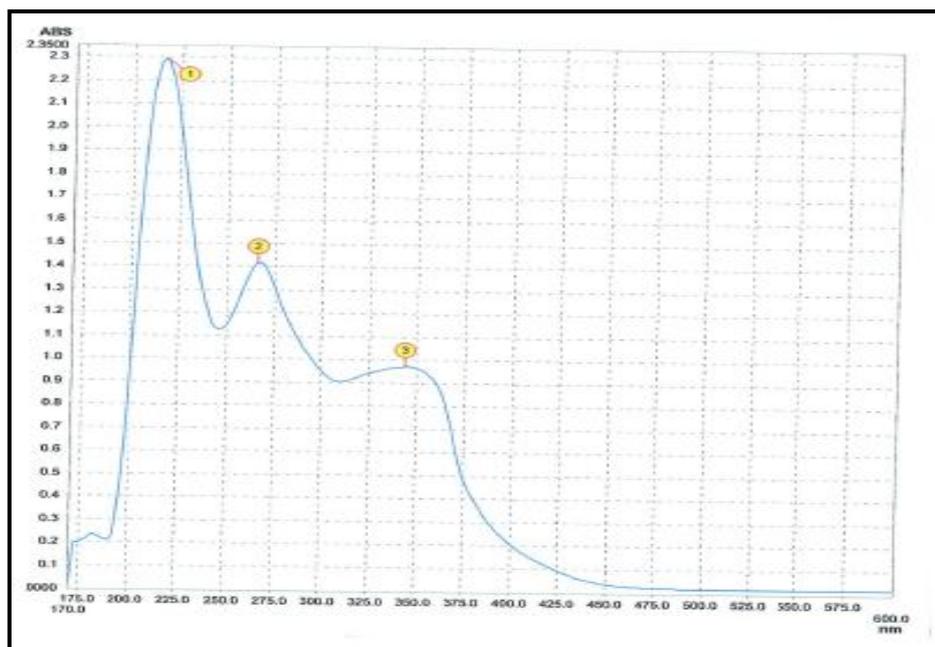


Figure III.34: Spectre UV du composé 3

Le spectre de masse ESI (Figure III.35) de ce composé, enregistré en mode positif, montre un pic d'ion pseudomoléculaire à $m/z = 637 [M+Na]^+$, correspondant à une masse moléculaire de 614 uma et une formule brute en $C_{29}H_{26}O_{15}$.

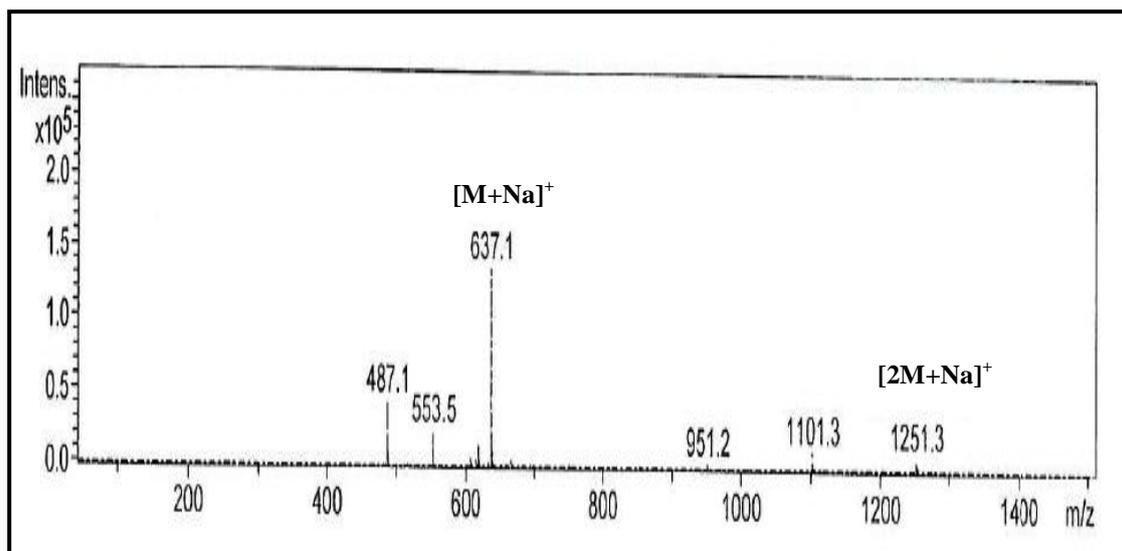


Figure III.35 : Spectre de masse ESI⁺ du composé 3

Cette formule brute est confirmée par la masse calculée (cal. $C_{29}H_{26}O_{15}Na$, $m/z = 637,1164$) obtenue à partir de son spectre de masse à haute résolution HR-ESI (Figure III.36) qui indique un pic à $m/z = 637,1165$.

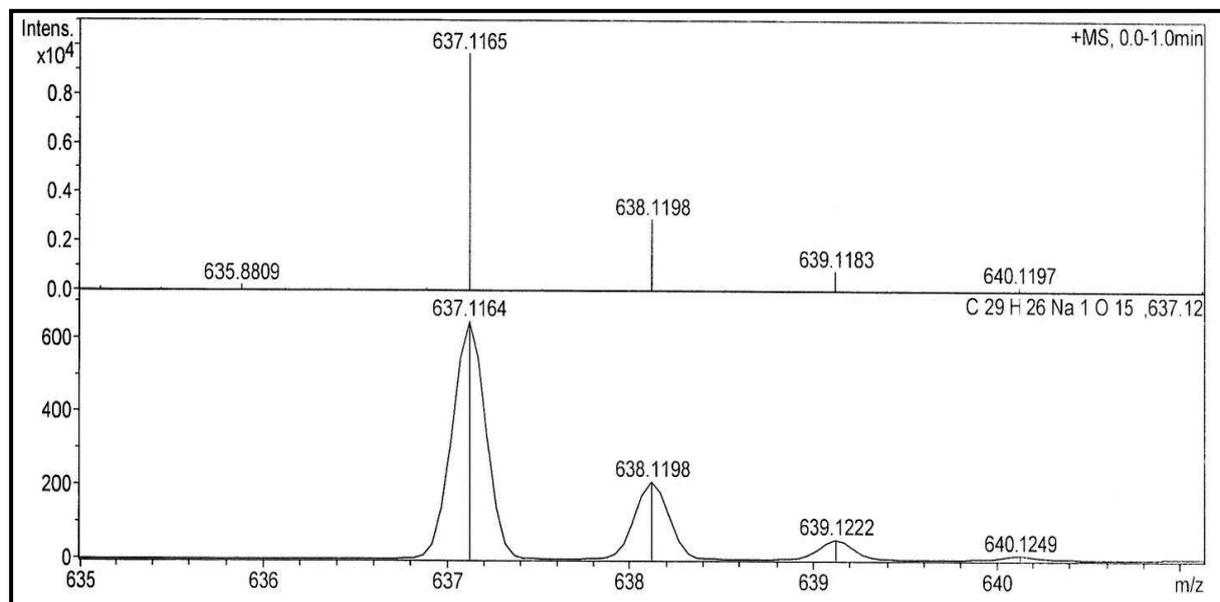


Figure III.36: Spectre de masse HR-ESI du composé 3

Son spectre RMN 1H (Figure III.37) présente beaucoup de similitudes avec celui du composé **1** précédemment identifié, notamment au niveau des parties osidique et acyle, avec la présence d'un β -D-glucose [H-1'' (δ_H 5,12, d , $J = 7,6$ Hz)] et un groupement galloyle [δ_H 7,03 (s , 2H, H-2''', H-6''')]. La différence notable se situe au niveau de l'aglycone, et cela par l'apparition (Figure III.37) de deux doublets déblindés s'intégrant pour deux protons chacun

résonant à δ_H 6,87 (2H, *d*, $J = 8,9$ Hz) et 7,86 (2H, *d*, $J = 8,9$ Hz), attribuables respectivement aux protons H-3'/H-5' et H-2'/H-6' du cycle B parasubstitué en position 4'. Ceci permet de suggérer la présence d'un kaempférol 3-*O*-méthoxyle comme partie aglycone. Les deux signaux à δ_H 6,47 (1H, *d*, $J = 2,1$ Hz) et 6,70 (1H, *d*, $J = 2,1$ Hz) formant un système AX, sont attribuables respectivement aux protons H-6 et H-8 du cycle A de ce kaempférol.

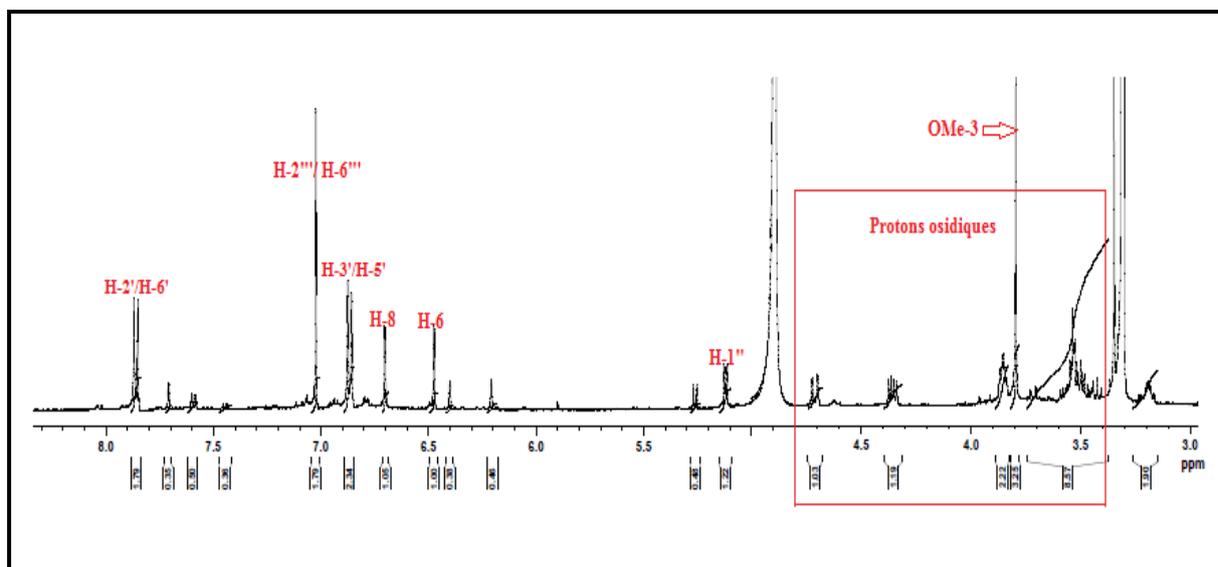


Figure III.37: Spectre RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) du composé 3

L'expérience COSY H-H en apporte la confirmation (Figure III.38).

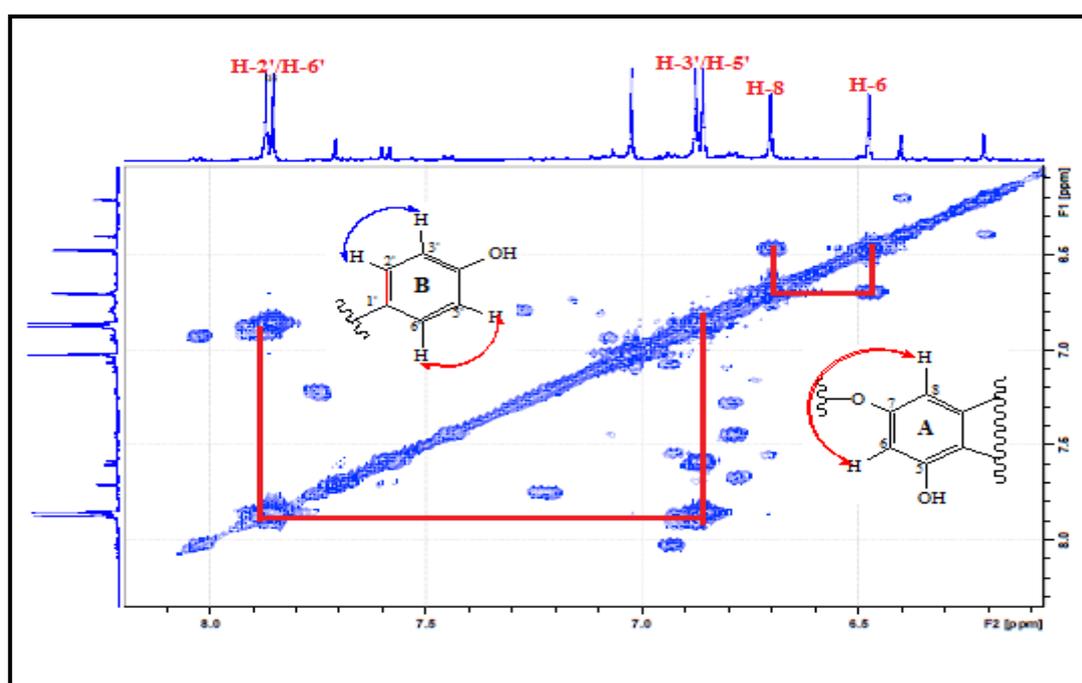


Figure III.38: Spectre COSY H-H de l'aglycone du composé 3

L'expérience HSQC (Figure III.39) a permis d'identifier les carbones C-6 (δ_C 100,8), C-8 (δ_C 95,6), C-2'/ C-6' (δ_C 131,7) et C-3'/ C-5' (δ_C 116,6).

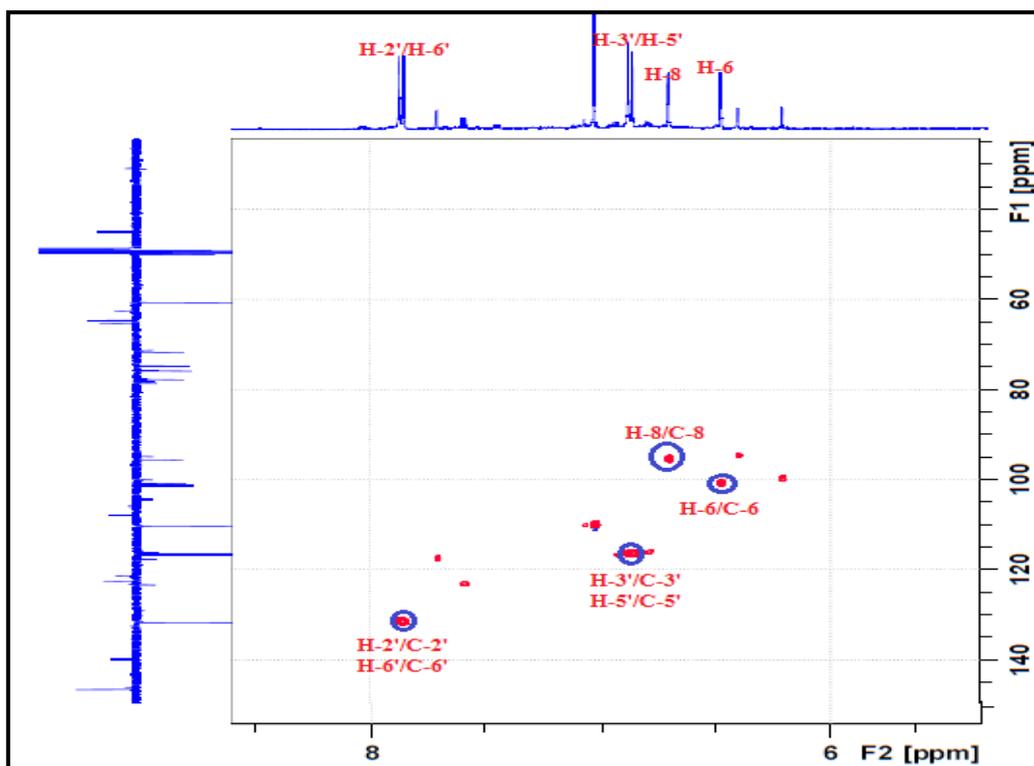


Figure III.39: Spectre HSQC de l'aglycone du composé 3

Le spectre HMBC (Figure III.40) montre les corrélations entre :

- ◇ les protons H-3'/H-5' du cycle B et deux carbones quaternaires résonant à δ_C 122,5 et 161,9 attribuables respectivement aux carbones C-1' et C-4' oxygéné.
- ◇ les protons H-2'/H-6' et deux carbones quaternaires oxygénés à δ_C 159,0 et 161,9 s'accordant aux carbones C-2 et C-4' respectivement.
- ◇ le proton H-8 et deux carbones quaternaires à δ_C 107,9 et 158,1 attribuables respectivement aux carbones C-10 et C-9 oxygéné.
- ◇ le proton H-6 et deux carbones quaternaires oxygénés à δ_C 162,9 et 164,5, ne pouvant être que les carbones C-5 et C-7.

Sur le même spectre HMBC, on peut observer également les couplages H-6/C-8, H-8/C-6, H-3'/C-5', H-5'/C-3', H-2'/C-6' et H-6'/C-2'.

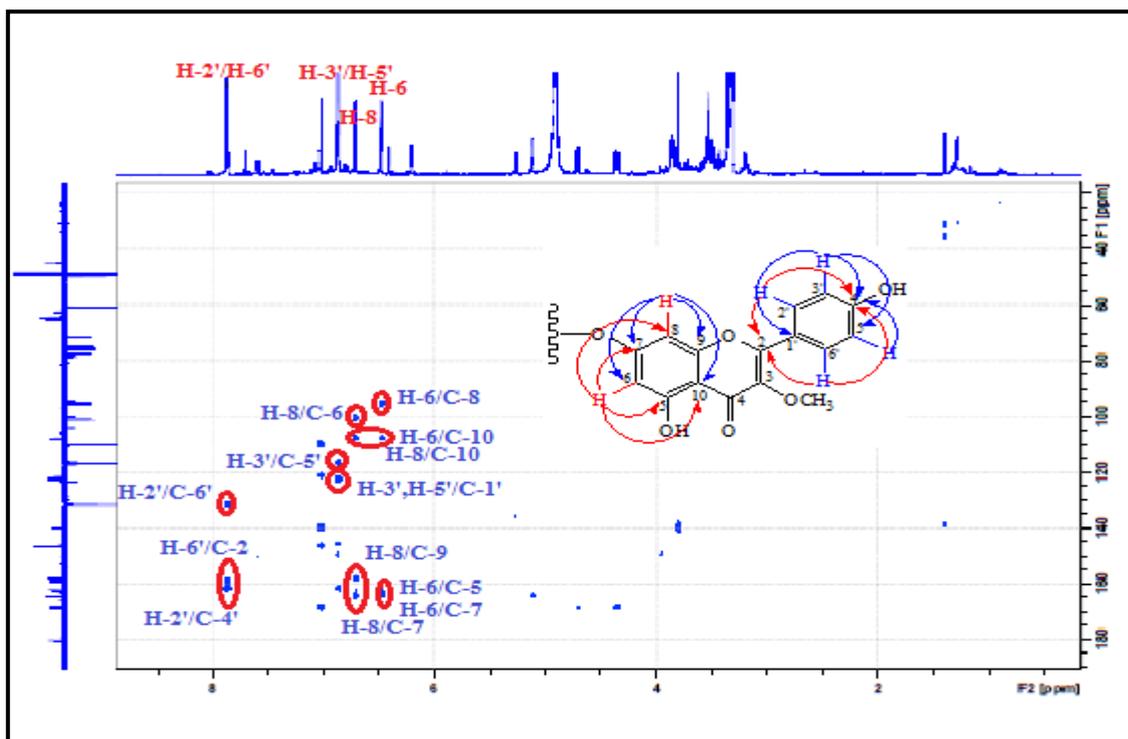


Figure III.40 : Spectre HMBC du composé 3

L'analyse conjointe des spectres HSQC, HMBC et COSY H-H confirme effectivement la similitude de la partie osidique (β -D-glucose) et le groupement galloyle du composé **3** ainsi que leurs points de branchement en tout point identiques avec ceux du composé **1**. En effet, l'expérience HMBC (Figure III.41) montre des corrélations entre le proton anomère du β -D-glucose H-1'' résonant à 5,12 ppm et le carbone C-7 (164,5 ppm) de la génine, les protons H-6''a (δ_H 4,71)/H-6''b (δ_H 4,36) du sucre et le carbone C-7''' (168,4 ppm) du galloyle.

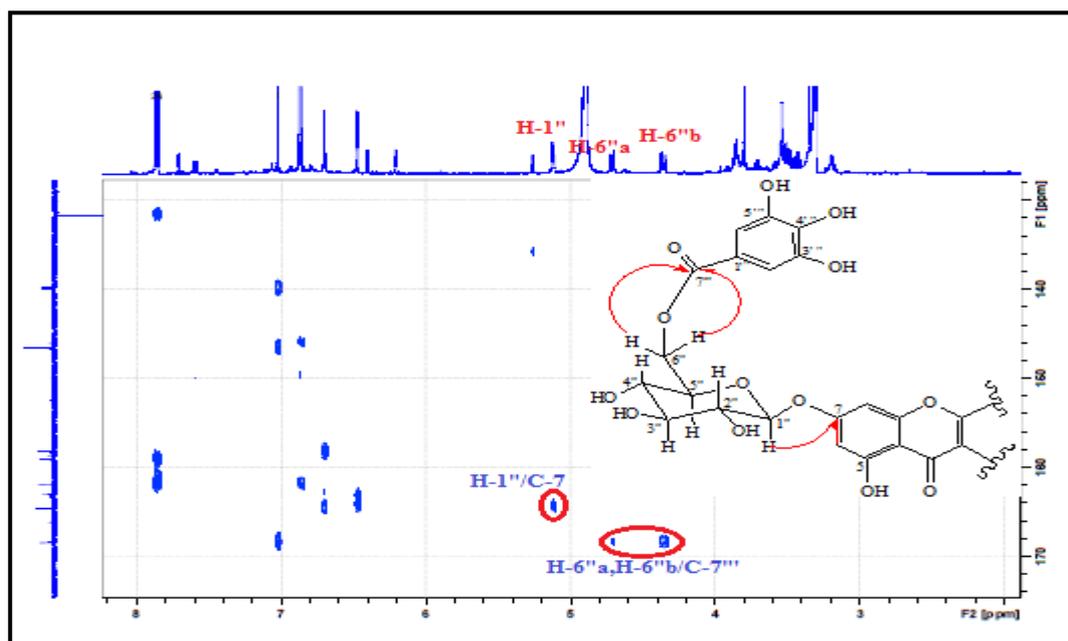


Figure III.41: Spectre HMBC illustrant la position du sucre et le groupement galloyle

La localisation du groupement méthoxyle en C-3 de l'aglycone est confirmée par expérience NOESY (Figures III.42 et III.43) et cela par l'observation d'une tache de corrélation entre les protons de ce groupement repérés à 3,80 ppm et les protons H-6'/H-2' (δ_H 7,86) du cycle B.

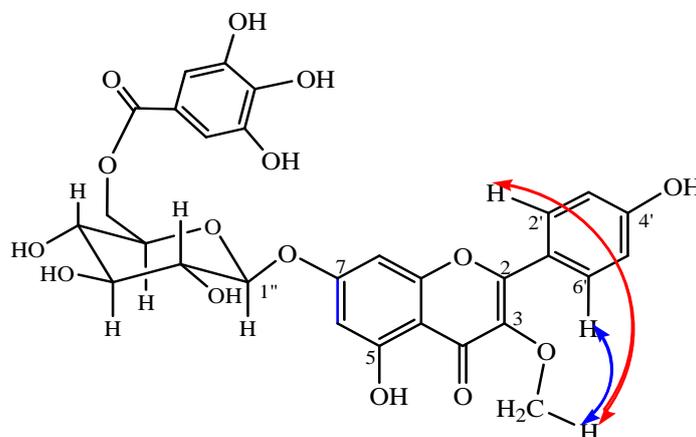


Figure III.42: Corrélations NOESY localisant la position du méthoxyle (composé 3)

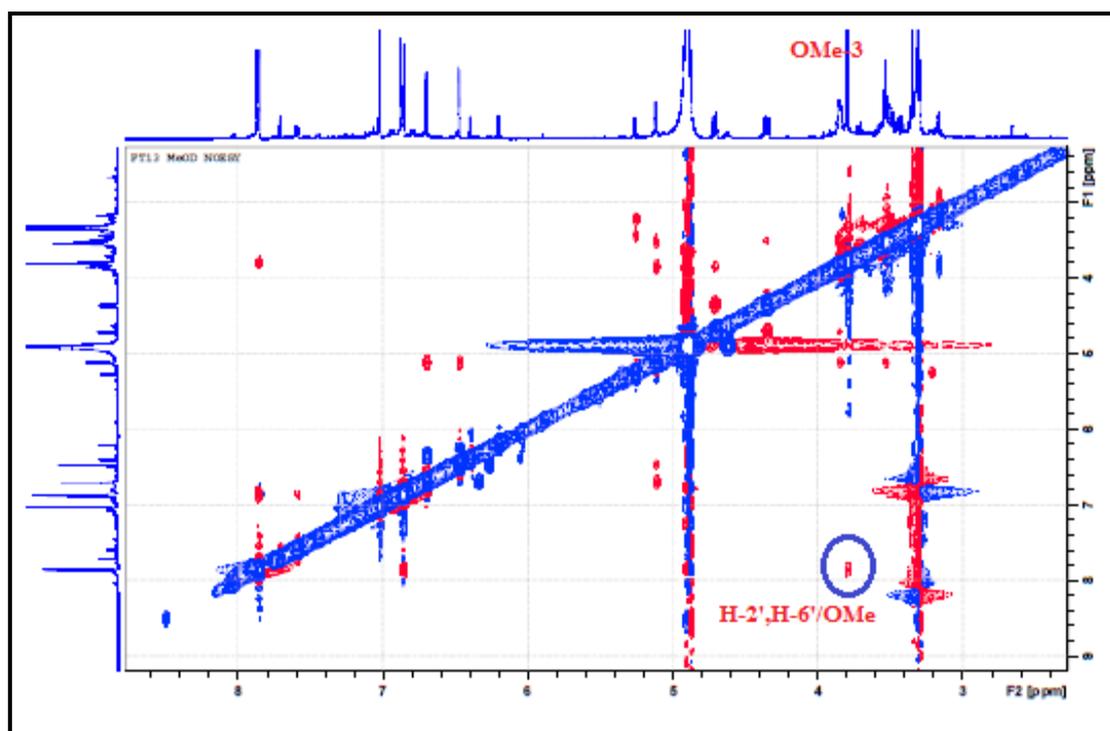
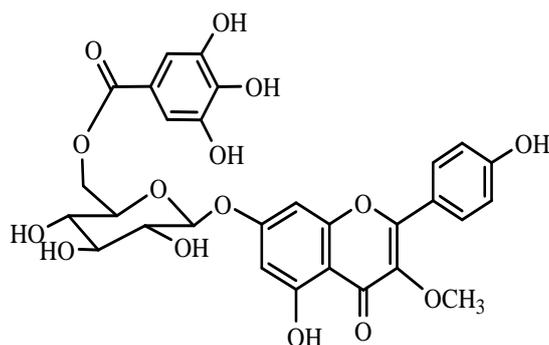


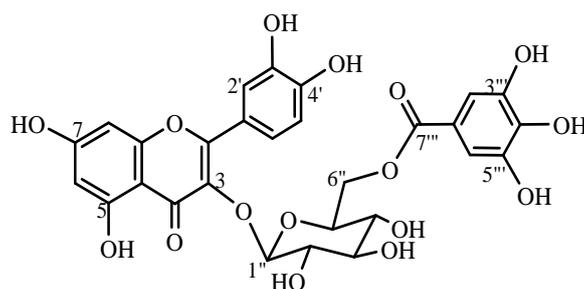
Figure III.43: Spectre NOESY du composé 3

En se basant sur ces données spectroscopiques, ainsi que la valeur du pouvoir rotatoire ($[\alpha]_D = -62$, $C = 2,583$ g/ 100 ml, MeOH), le composé **3** est identifié sans ambiguïté au 3-méthoxy-7-*O*- β -(6''-galloyl)glucopyranoside) kaempférol. Ce composé n'a fait l'objet d'aucune citation antérieure.

Tableau III.3: Déplacements chimiques RMN ^1H et ^{13}C du composé 3 dans MeOD

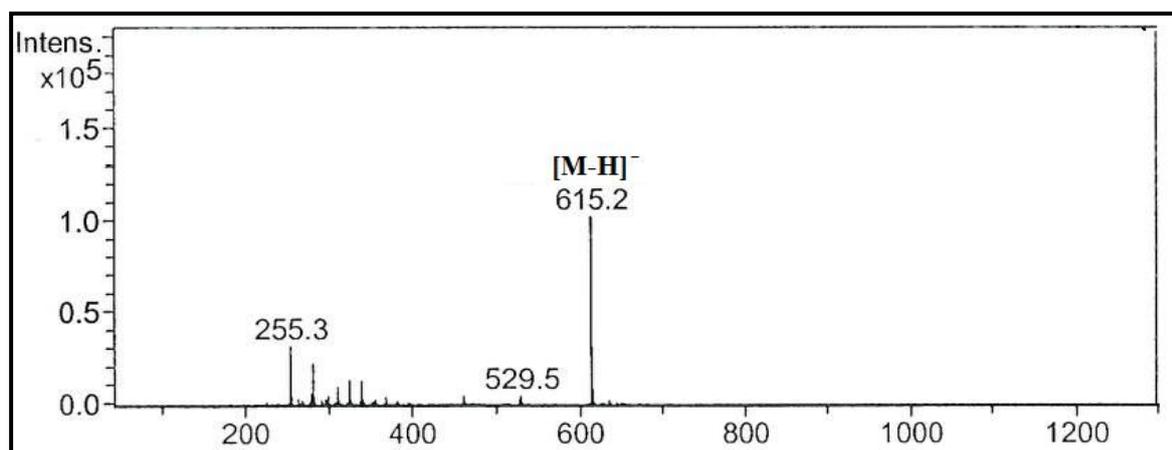
Position	δ_{H} m (J en Hz)	δ_{C}
Aglycone		
2	-	159,0
3	-	139,8
4	-	180,3
5	-	162,9
6	6,47 <i>d</i> (2,1)	100,8
7	-	164,5
8	6,70 <i>d</i> (2,1)	95,6
9	-	158,1
10	-	107,9
1'	-	122,5
2'	7,86 <i>d</i> (8,9)	131,7
3'	6,87 <i>d</i> (8,9)	116,6
4'	-	161,9
5'	6,87 <i>d</i> (8,9)	116,6
6'	7,86 <i>d</i> (8,9)	131,7
3-OMe	3,80 <i>s</i>	60,7
β-D-Glucopyranosyl		
1''	5,08 <i>d</i> (7,6)	101,2
2''	3,53 <i>t</i> (8,8)	75,0
3''	3,54 <i>m</i>	78,0
4''	3,49 <i>t</i> (8,8)	71,7
5''	3,85 <i>m</i>	76,0
6''a	4,71 <i>dd</i> (12, 2,1)	64,6
6''b	4,36 <i>dd</i> (12, 6,2)	
Galloyl		
1'''	-	121,4
2'''	7,02 <i>s</i>	110,2
3'''	-	146,5
4'''	-	139,8
5'''	-	146,5
6'''	7,02 <i>s</i>	110,2
7'''	-	168,4

III.1.2.3.4. Elucidation structurale du composé 4



Tellimoside

Le spectre de masse ESI du composé **4**, enregistré en mode négatif (Figure III.44), présente un pic d'ion pseudomoléculaire à m/z 615 $[M-H]^-$. Ceci correspond à une masse moléculaire de 616 uma et une formule brute en $C_{28}H_{24}O_{16}$.

Figure III.44: Spectre de masse ESI⁻ du composé 4

Les spectres RMN 1H et ^{13}C (Figures III.45 et III.46) du composé **4**, supportés par les expériences COSY H-H, HMBC et HSQC, sont globalement similaires à ceux du composé **1**. En effet, on identifie aisément :

- ◇ la même aglycone de type quercétine à travers les signaux caractéristiques du cycle A (H-6 [δ_H 6,18 (*d*, $J = 2,5$ Hz)/ δ_C 100,1], H-8 [δ_H 6,34 (*d*, $J = 2,5$ Hz)/ δ_C 94,9]), et du cycle B (H-2' [δ_H 7,53 (*d*, $J = 2,5$ Hz)/ δ_C 117,3], H-5' [δ_H 6,71 (*d*, $J = 8,7$ Hz)/ δ_C 116,1], H-6' [δ_H 7,55 (*dd*, $J = 8,7 ; 2,5$ Hz)/ δ_C 123,7]).
- ◇ la même unité osidique, en l'occurrence un β -D-glucose acylé en C-6 par un groupement galloyle à travers les signaux caractéristiques suivants : CH-1'' [δ_H 5,21 (*d*, $J = 7,5$ Hz)/ δ_C 104,3], CH-2'' [δ_H 3,50 (*dd*, $J = 7,5 ; 8,9$ Hz)/ δ_C 76,0], CH-3'' [δ_H 3,44 (*t*, $J = 8,9$ Hz)/ δ_C 78,2], CH-4'' [δ_H 3,42 (*m*)/ δ_C 71,7], CH-5'' [δ_H 3,45 (*m*)/ δ_C

75,8], CH₂-6''a [δ_H 4,32 (*dd*, $J = 11,9 ; 5$ Hz)/ δ_C 64,5], CH₂-6''b [δ_H 4,26 (*dd*, $J = 11,9 ; 2,2$ Hz)/ δ_C 64,5] et CH-2'''/CH-6''' [δ_H 6,94 (2H, *s*)/ δ_C 110,3].

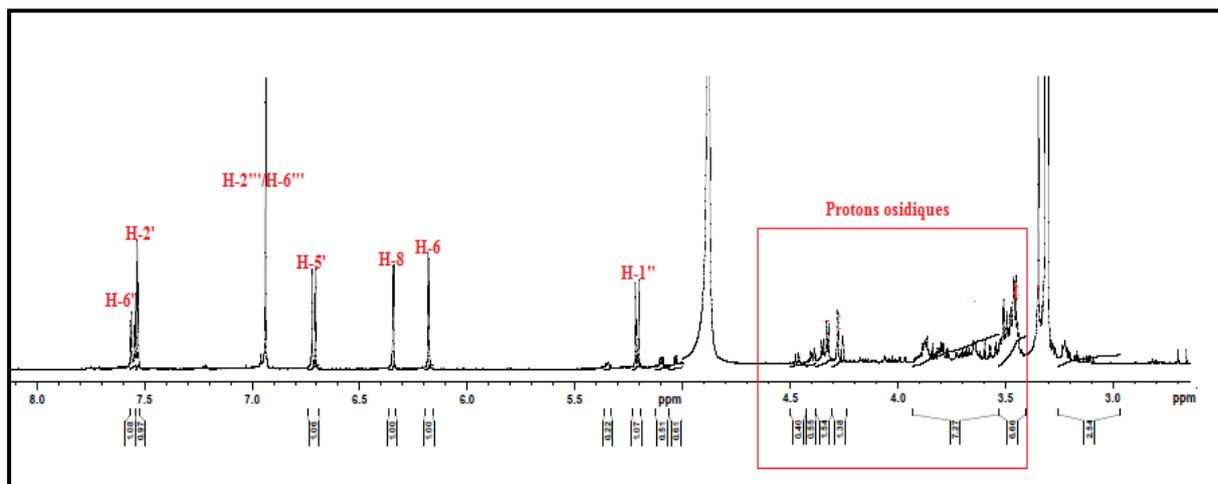


Figure III.45: Spectre RMN ¹H enregistré dans MeOD du composé 4

Cette analyse appuyée par celle des spectres COSY H-H, HSQC et HMBC, permet d'attribuer tous les carbones du composé 4.

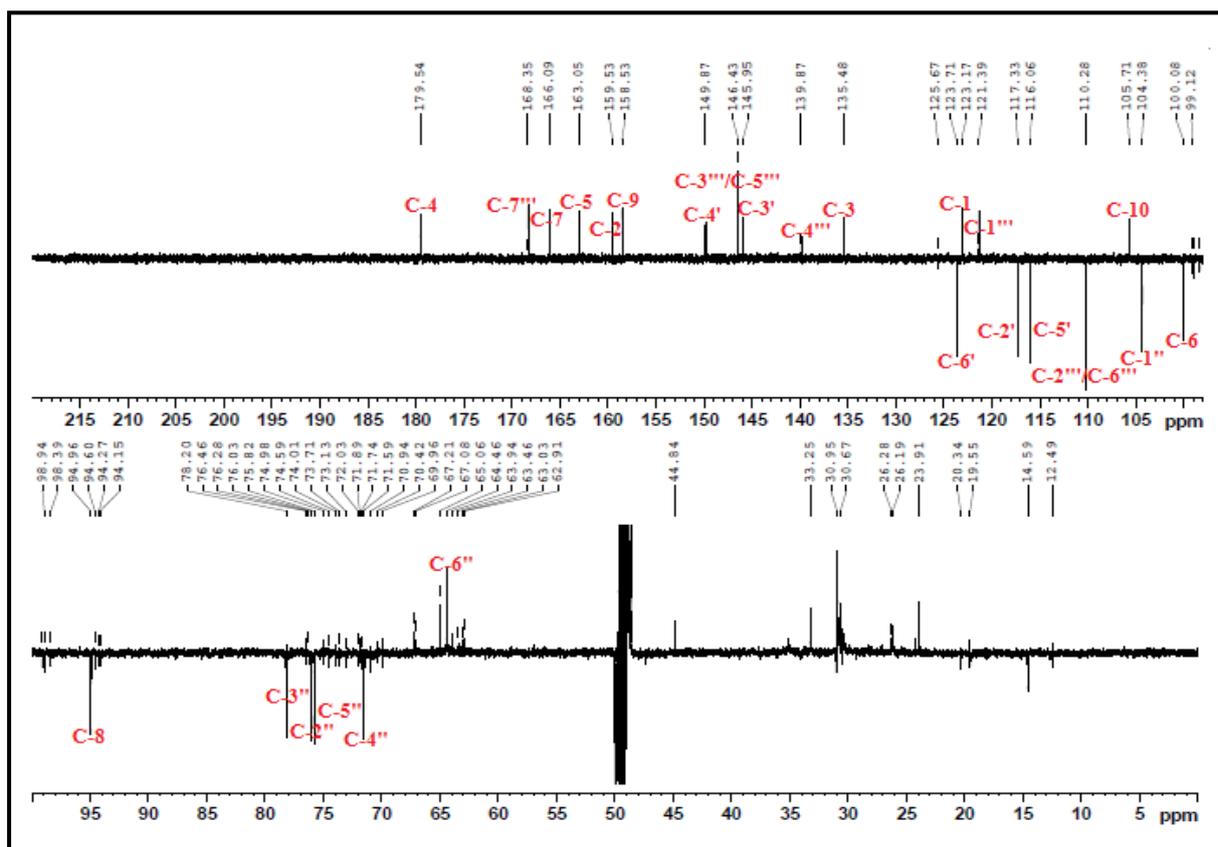


Figure III.46: Spectre RMN ¹³C du composé 4

La différence remarquable entre les composés **1** et **4** s'illustre, sur les deux spectres, par la disparition du groupement méthoxyle (δ_H 3,80, δ_C 60,8) observée pour le composé **1**. Ceci est confirmé par différence de masse de 14 uma entre ces deux composés.

Il reste maintenant à localiser la position des unités glucosyle et galloyle sur la génine.

Ceci est confirmé par expérience HMBC (Figure III.47) qui montre une corrélation en $^3J_{C-H}$ entre le proton anomère H-1'' du glucose (δ_H 5,21) et le carbone C-3 (δ_C 135,5) de la génine. La même expérience HMBC permet de confirmer le site de fixation de l'unité galloyle en C-6'' du glucose, à travers les couplages entre les protons H₂-6'' (4,26 et 4,32 ppm) du glucose et le carbone C-7''' (168,4 ppm) du groupement galloyle.

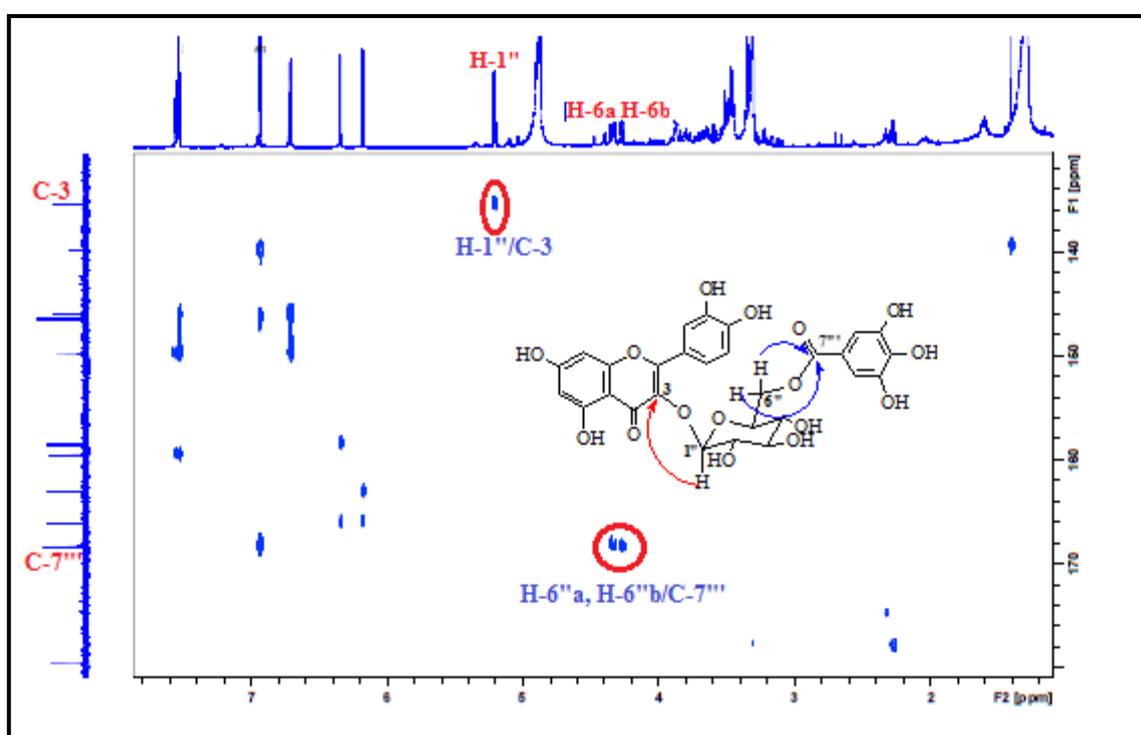
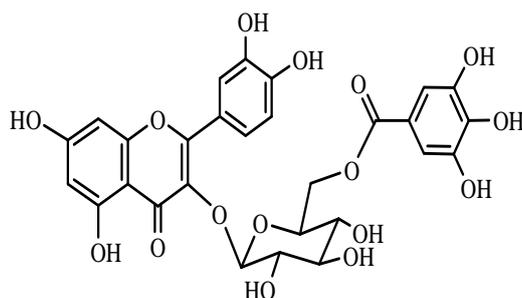


Figure III.47: Spectre HMBC du composé **4**

Toutes les données spectrales de ce composé ainsi que la valeur du pouvoir rotatoire ($[\alpha]_D = -54$, $C = 0,3$, MeOH) indiquent que le composé **4** est identique au 3-O- β -(6''-galloylglucopyranoside) quercétine. Ce flavonol glycosylé, connu sous le nom de Tellimside et isolé antérieurement à partir de différentes espèces comme *Tellima grandiflora* (Saxifragaceae) [94] et *Ailanthus altissima* (Simaroubaceae) [95], est décrit pour la première fois dans la famille Cistaceae.

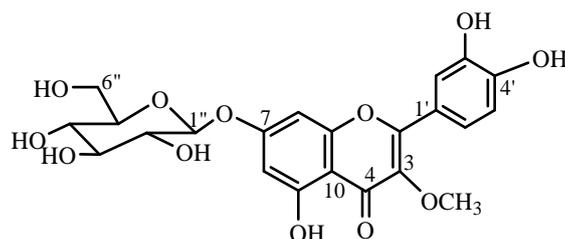


Le tableau ci-après reproduit tous les déplacements chimiques des protons et carbones du composé 4.

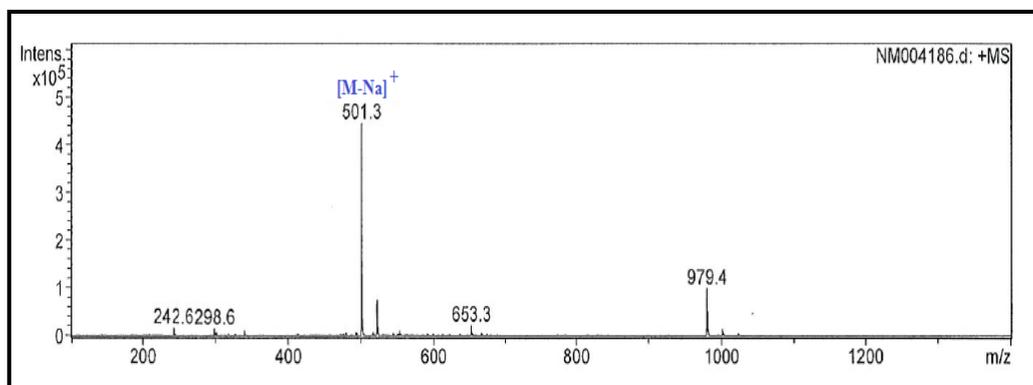
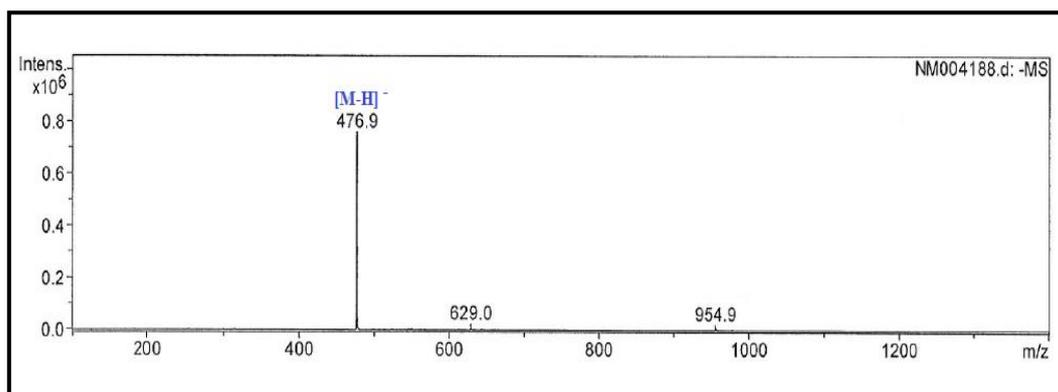
Tableau III.4: Déplacements chimiques RMN ^1H et ^{13}C du composé 4 dans MeOD

Position	δ_{H} m (J en Hz)	δ_{C}
Aglycone		
2	-	159,5
3	-	135,5
4	-	179,5
5	-	163,1
6	6,18 <i>d</i> (2,5)	100,1
7	-	166,1
8	6,34 <i>d</i> (2,5)	95,0
9	-	158,5
10	-	105,7
1'	-	123,2
2'	7,53 <i>d</i> (2,5)	117,3
3'	-	145,9
4'	-	150,0
5'	6,71 <i>d</i> (8,7)	116,1
6'	7,55 <i>dd</i> (8,7; 2,5)	123,7
β-D-Glucopyranosyl		
1''	5,21 <i>d</i> (7,5)	104,4
2''	3,50 <i>dd</i> (7,5; 8,9)	76,0
3''	3,44 <i>t</i> (8,9)	78,2
4''	3,42 <i>m</i>	71,7
5''	3,45 <i>m</i>	75,8
6''a	4,32 <i>dd</i> (11,9 ; 5)	64,5
6''b	4,26 <i>dd</i> (11,9; 2,2)	
Galloyl		
1'''	-	121,4
2'''	6,94 <i>s</i>	110,3
3'''	-	146,4
4'''	-	139,9
5'''	-	146,4
6'''	6,94 <i>s</i>	110,3
7'''	-	168,3

III.1.2.3.5. Elucidation structurale du composé 5

**3-méthoxy-7-O- β -glucopyranoside quercétine**

Le spectre de masse enregistré en modes positif (Figure III.48) et négatif (Figure III.49), présente respectivement des pics d'ions pseudomoléculaires à $m/z = 501$ $[M-Na]^+$ et 476,9 $[M-H]^-$, correspondant à une structure en $C_{22}H_{22}O_{12}$, soit une masse moléculaire égale à 478.

**Figure III.48: Spectre de masse ESI⁺ du composé 5****Figure III.49: Spectre de masse ESI⁻ du composé 5**

Les spectres RMN ^1H (Figure III.50) et ^{13}C (Figure III.51), enregistrés dans le DMSO- d_6 et appuyés par les analyses HMBC et HSQC, sont très voisins de ceux du composé **1** (Figures III.52 et III.53), notamment au niveau de la génine et l'unité osidique.

Il apparait que leur différence se caractérise par la disparition du groupement galloyle dans le cas du composé **5**. On citera l'absence de signaux caractéristiques [$(\delta_{\text{H}} 7,03$ (H-2''/H-6'') δ_{C} 110,2), δ_{C} 168,4 (C-7''), δ_{C} 121,2 (C-1''), δ_{C} 146,3 (C-3''/C-5'') et δ_{C} 139,8 (C-4'')] observés pour le composé **1**. La différence de 152 uma, entre les masses des deux composés déduite de leurs spectres de masse, est un argument supplémentaire.

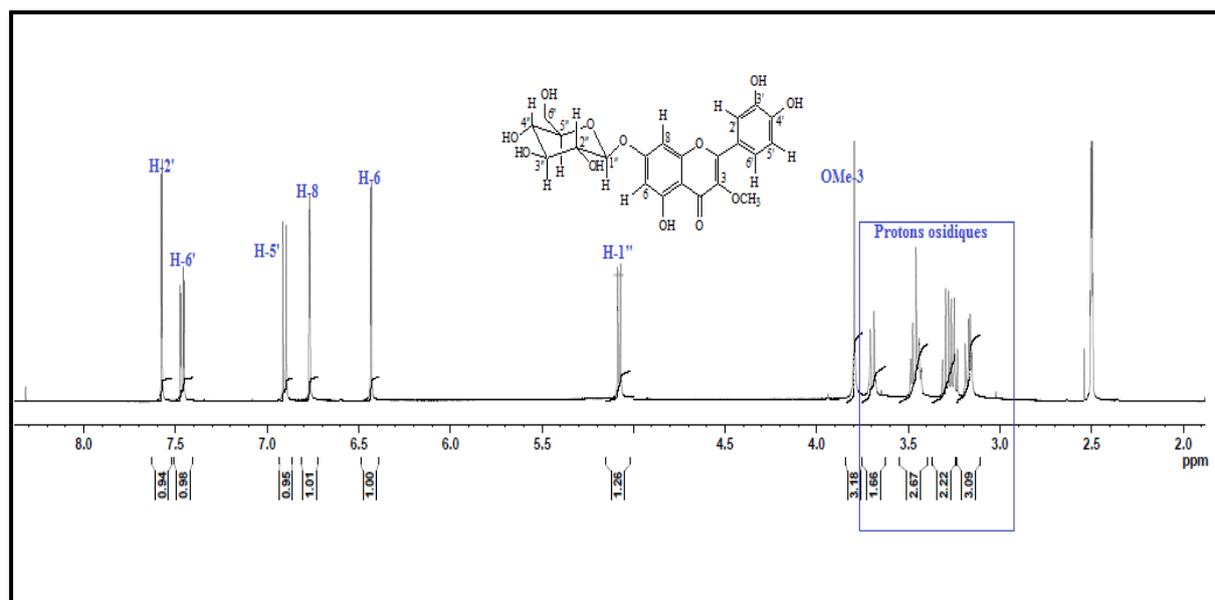


Figure III.50: Spectre RMN ^1H du composé **5**

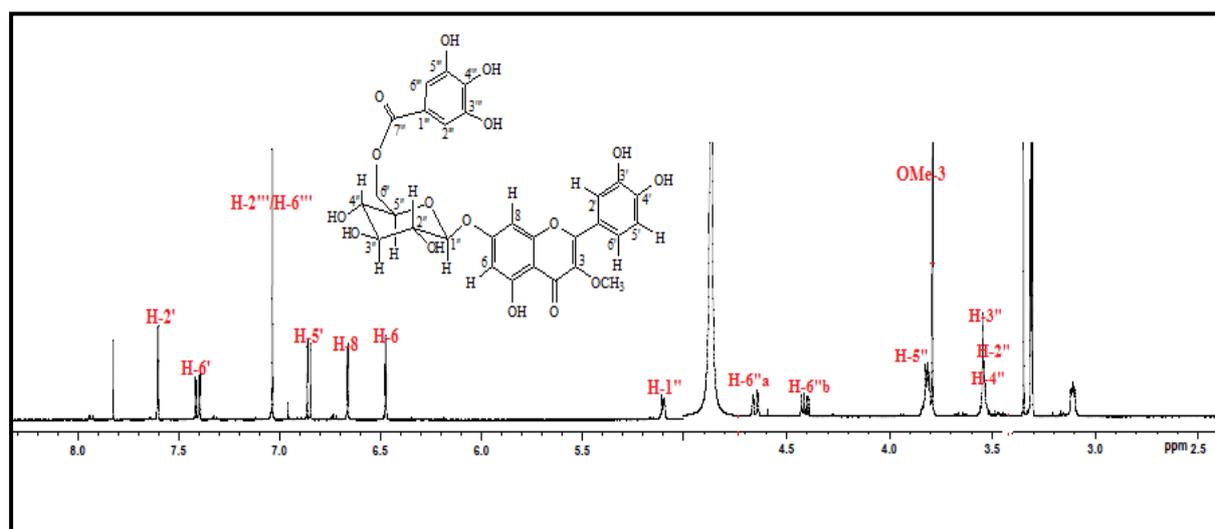


Figure III.51: Spectre RMN ^1H du composé **1**

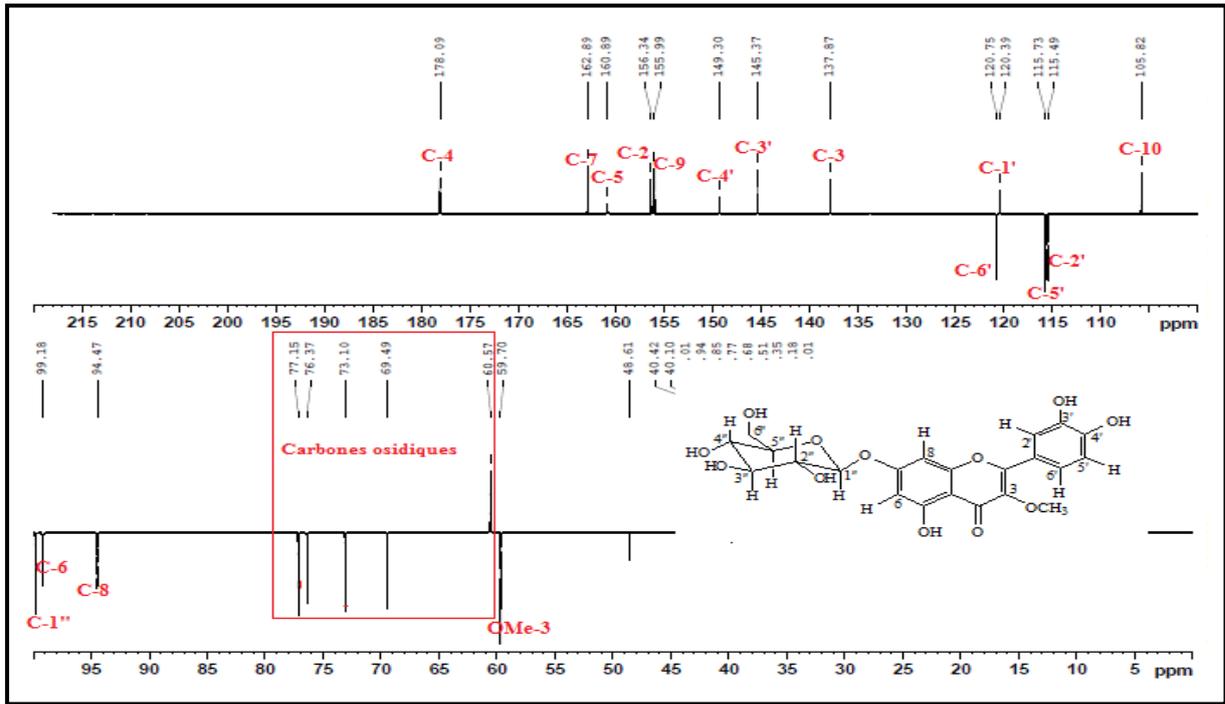


Figure III.52: Spectre RMN ^{13}C J-modulé du composé 5

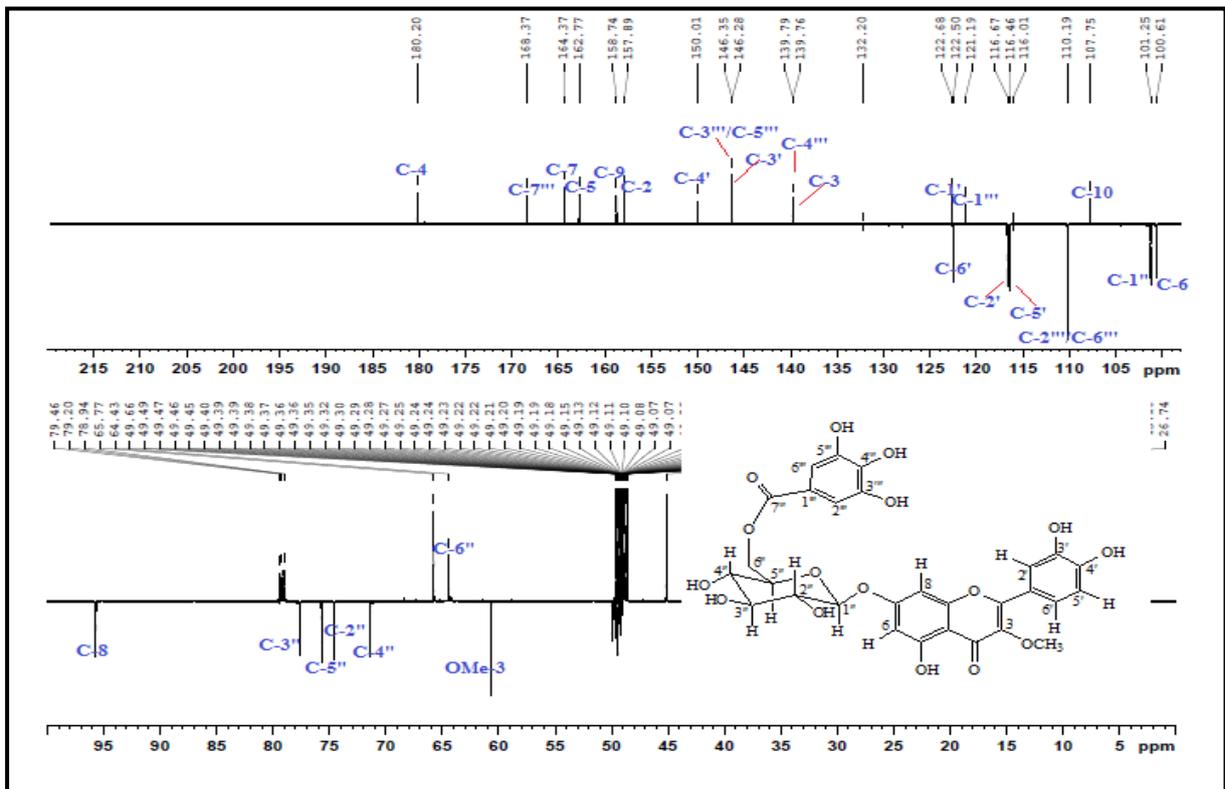


Figure III.53: Spectre RMN ^{13}C J-modulé du composé 1

L'analyse des spectres COSY H-H et HSQC (Figure III.54) de la partie osidique permet d'assigner tous les déplacements chimiques des protons et carbones de l'unité osidique identifiée au β -D-glucose à travers les valeurs de constantes de couplage.

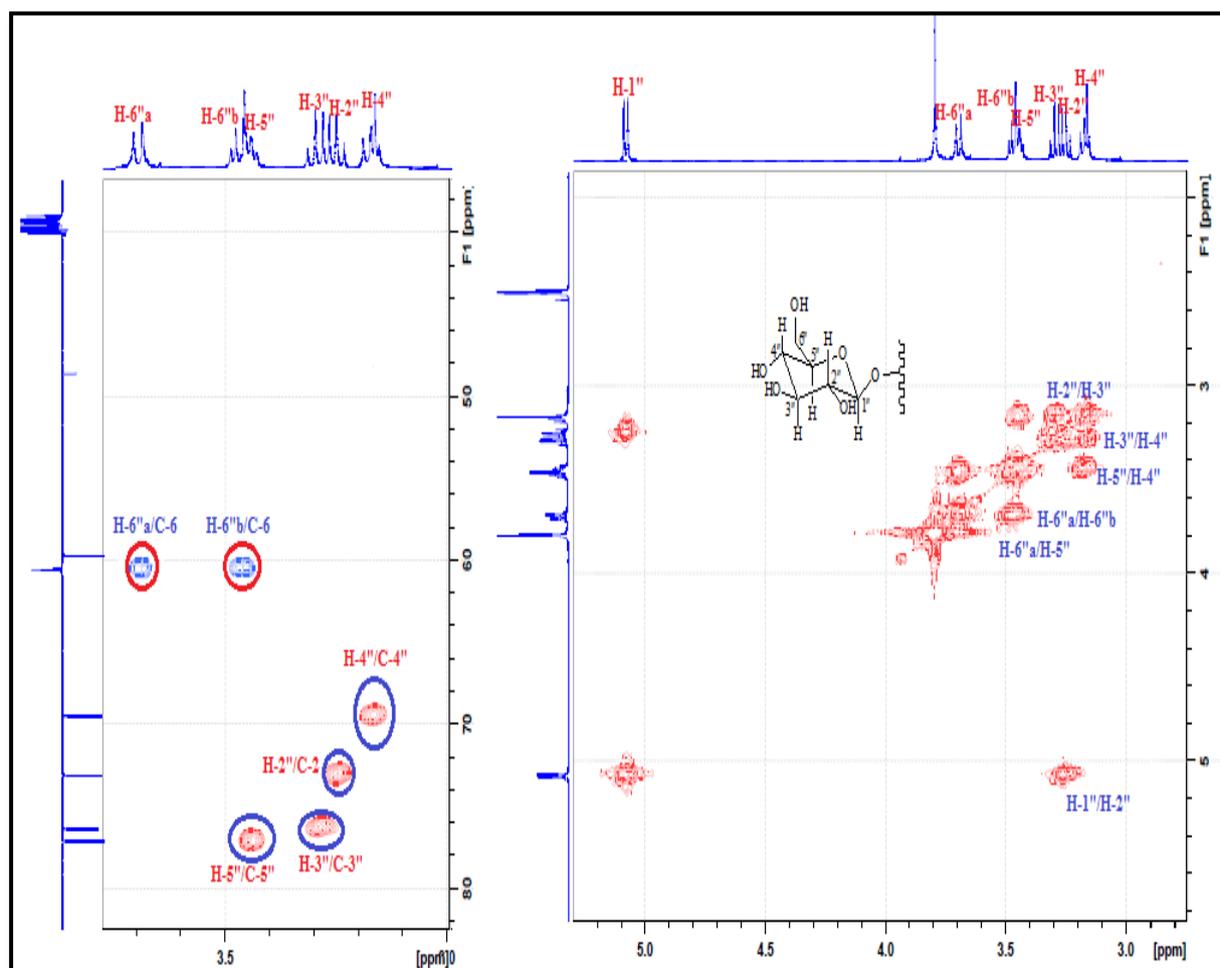
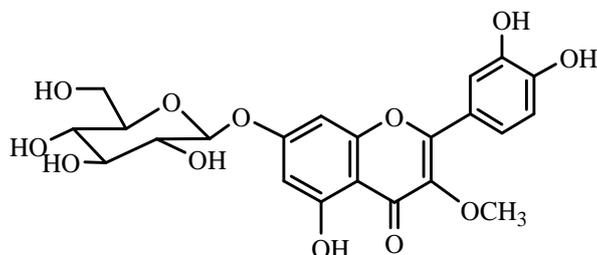


Figure III.54: Spectres COSY H-H et HSQC de la partie osidique du composé 5

Le blindage des signaux de protons H-6''a (δ_H 3,70) et H-6''b (δ_H 3,46) comparativement aux déplacements chimiques (δ_H 4,65 et 4,41) des mêmes protons du composé **1**, illustre bien la présence d'un hydroxyle libre en C-6 du glucose. Ceci est conforté également par le blindage du signal du carbone C-6 résonant à 60,6 ppm au lieu de 64,4 ppm pour le composé **1**.

Les points de branchement de l'unité glucosyle et du groupement méthoxy sont déterminés par expérience HMBC qui met en évidence les corrélations entre le proton anomère H-1'' (δ_H 5,08) et le carbone C-7 (δ_C 162,9) de la génine d'une part, les protons méthoxyliques (δ_H 3,80) et le carbone C-3 (δ_C 137,8) d'autre part.

Toutes les données spectrales (Tableau III.5) ainsi que la valeur du pouvoir rotatoire ($[\alpha]_D = -56^\circ$, $C = 0,266$; MeOH) permettent de proposer, sans ambiguïté, pour le composé **5** la structure suivante: 3-méthoxy-7-*O*- β -glucopyranoside quercétine, rencontré antérieurement dans l'espèce *Achillea nobilis* appartenant à la famille Asteraceae [96]. Ce composé est isolé pour la première fois de la famille Cistaceae.

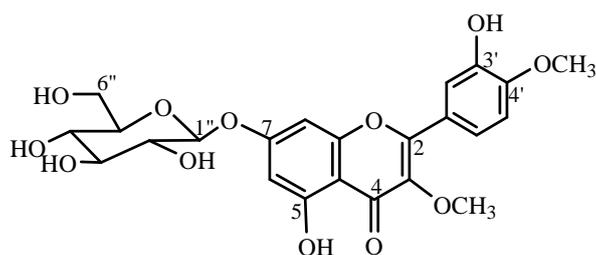


Le tableau suivant reproduit tous les déplacements chimiques des protons et carbones du composé **5**.

Tableau III.5: Déplacements chimiques RMN ^1H et ^{13}C du composé **5 dans $\text{DMSO-}d_6$**

Position	δ_{H} m (J en Hz)	δ_{C}
Aglycone		
2	-	156,3
3	-	137,8
4	-	178,1
5	-	160,9
6	6,43 d (2,1)	99,2
7	-	162,9
8	6,77 d (2,1)	94,5
9	-	155,9
10	-	105,8
1'	-	120,4
2'	7,57 d (2,2)	115,5
3'	-	145,4
4'	-	149,3
5'	6,90 d (8,5)	115,7
6'	7,46 dd (8,5; 2,2)	120,7
3-OMe	3,80 s	59,7
β-D-Glucopyranosyl		
1''	5,08 d (7,7)	99,2
2''	3,25 dd (9,1 ; 7,7)	73,1
3''	3,30 m	76,4
4''	3,18 m	69,5
5''	3,42 m	77,2
6''a	3,70 dd (12,1; 2,2)	60,6
6''b	3,46 dd (12,1; 5,6)	

III.1.2.3.6. Elucidation structurale du composé 6

**3,4'-diméthoxy-7-O-β-glucopyranoside quercétine**

Le spectre de masse ESI⁻ du composé **6** (Figure III.55), révèle un pic d'ion pseudomoléculaire à m/z 491 [M-H]⁻, soit une masse moléculaire de 492 uma qui correspond à une formule brute en C₂₃H₂₄O₁₂.

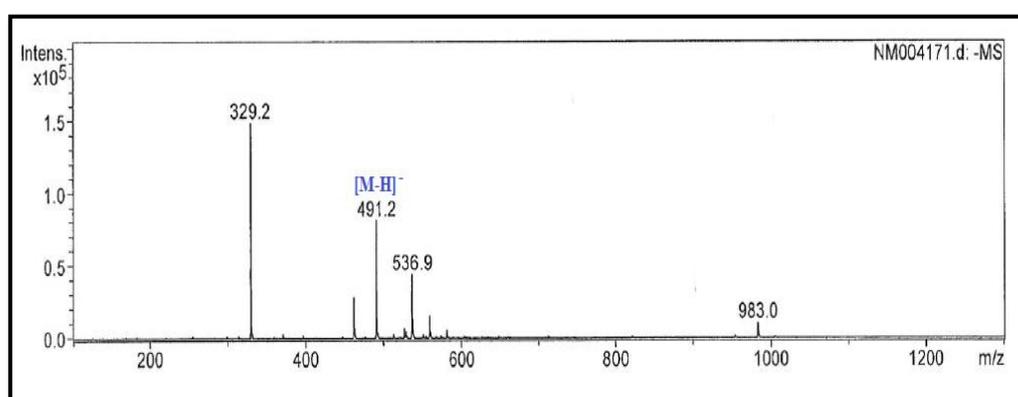


Figure III.55: Spectre de masse ESI⁻ du composé 6

L'analyse conjointe des spectres RMN ¹H, ¹³C, COSY H-H, HSQC et HMBC ainsi que la comparaison avec les données de la littérature [96], indiquent clairement que le composé **6** est de même structure que les composés **1**, **2** et **5** identifiés précédemment, c'est-à-dire à squelette quercétine porteur du β-D-glucose en C-7 et du méthoxyle en C-3. En effet, on identifie sur les spectres proton et carbone (Figures III.56 et III.57) les signaux correspondant aux:

- ◇ protons et carbones caractéristiques d'une génine de type quercétine : H-6 [δ_H 6,44 (*d*, $J = 1,9$ Hz)/ δ_C 99,2], H-8 [δ_H 6,78 (*d*, $J = 1,9$ Hz)/ δ_C 94,5], H-2' [δ_H 7,50-7,60 (*m*)/ δ_C 115,1], H-5' [δ_H 7,12 (*d*, $J = 9,3$ Hz)/ δ_C 111,9], et H-6' [δ_H 7,50-7,60 (*m*)/ δ_C 120,4].
- ◇ six protons et carbones du β-D-glucose: CH-1'' [δ_H 5,08 (*d*, $J = 7,8$ Hz)/ δ_C 99,8], CH-2'' [δ_H 3,20-3,30 (*m*)/ δ_C 73,1], CH-3'' [δ_H 3,20-3,30 (*m*)/ δ_C 76,4], CH-4'' [δ_H 3,16 (*t*, J

= 8,8 Hz)/ δ_C 69,5], CH-5'' [δ_H 3,40-3,50 (m)/ δ_C 77,1], CH₂-6''a [δ_H 3,69 (dd, $J = 10$; 4,1 Hz)/ δ_C 60,6], CH₂-6''b [δ_H 3,40-3,50 (m)/ δ_C 60,6].

◇ trois protons et carbone du groupement méthoxyle substituant la génine en C-3: OCH₃ [δ_H 3,80 (3H, s)/ δ_C 59,8].

Cette analyse a abouti également à identifier un autre groupement méthoxyle OCH₃ [δ_H 3,86 (3H, s)/ δ_C 55,7], positionné en C-4' du cycle B de cet aglycone.

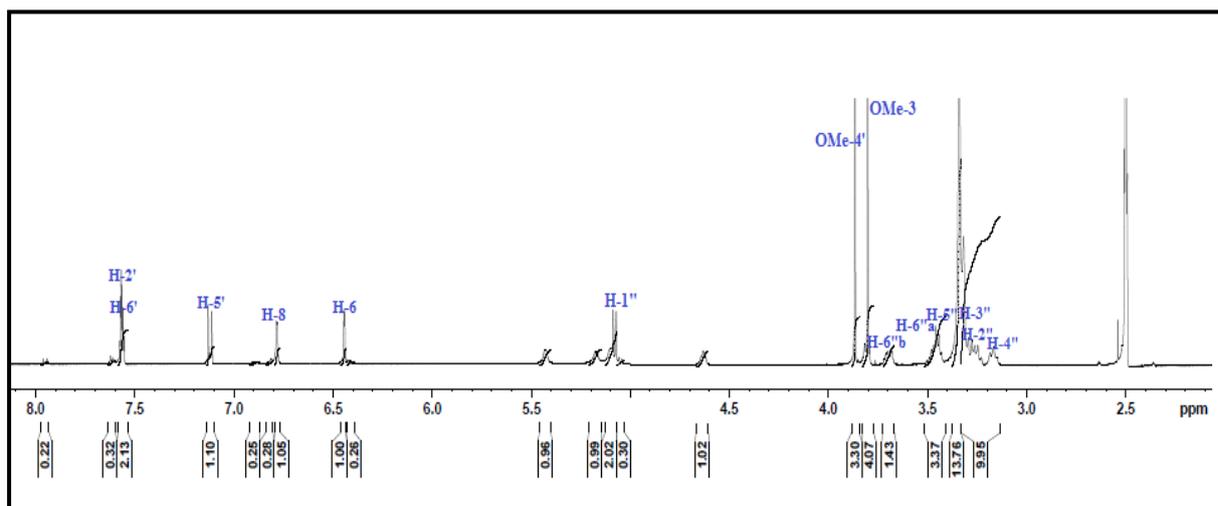


Figure III.56: Spectre RMN ¹H du composé 6

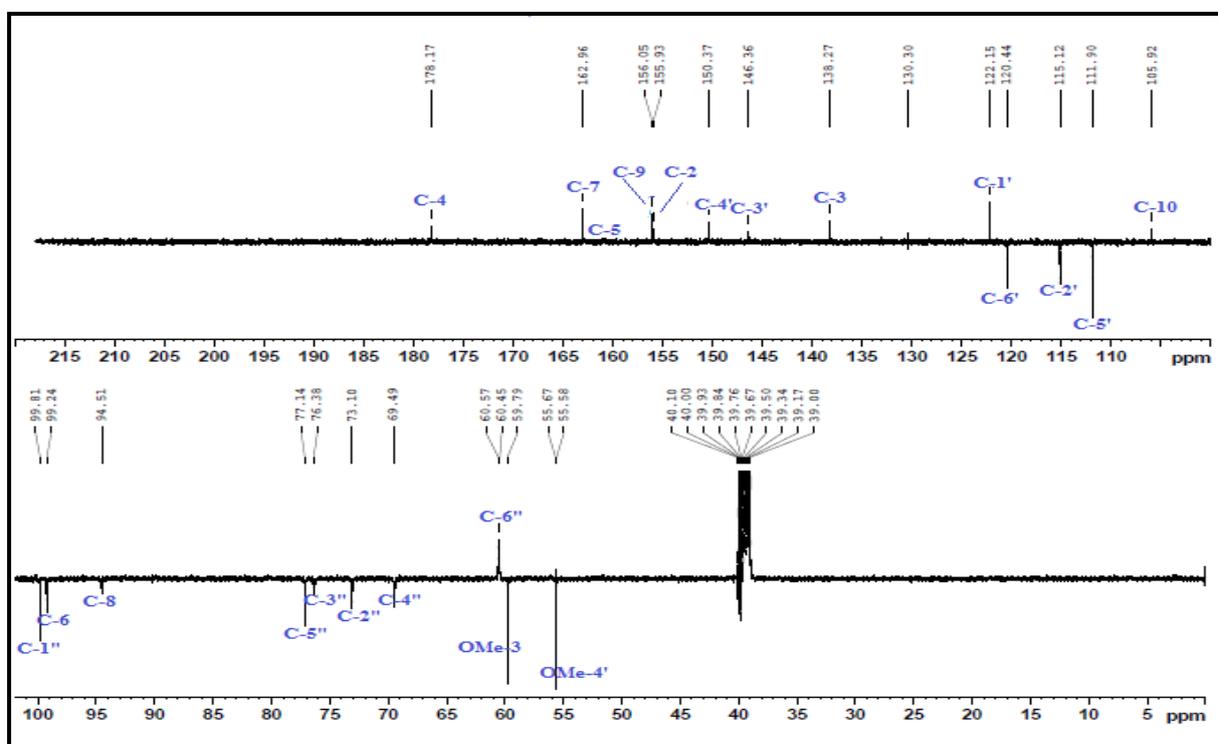


Figure III.57: Spectre RMN ¹³C J-modulé du composé 6

Les points de fixation sur la génine, des deux groupements méthoxyles en C-3 et C-4' et du β -D-glucose en C-7, sont confirmés par expérience HMBC (Figure III.58) qui montre :

- ◇ un couplage longue distance entre les protons du premier groupement OCH_3 (δ_{H} 3,80) et le carbone quaternaire oxygéné C-3 (δ_{C} 138,3), et celui du second groupement OCH_3 (δ_{H} 3,86) et C-4' (δ_{C} 150,4).
- ◇ un couplage entre le proton anomère du glucose à δ_{H} 5,08 (*d*, $J = 8$ Hz, H-1'') et le carbone quaternaire C-7 résonant à 162,9 ppm.

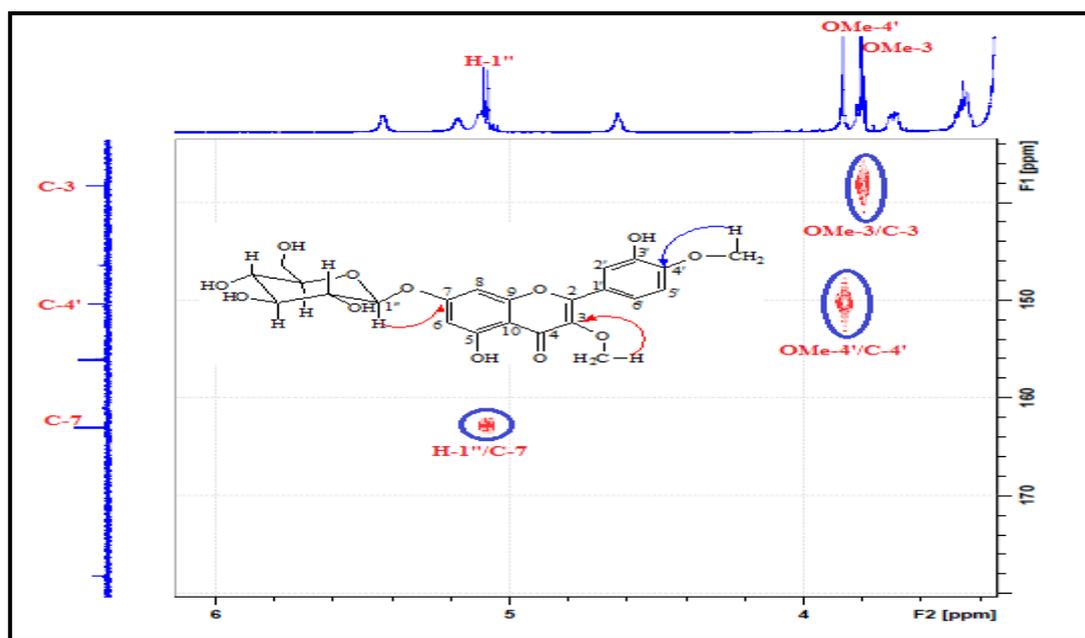
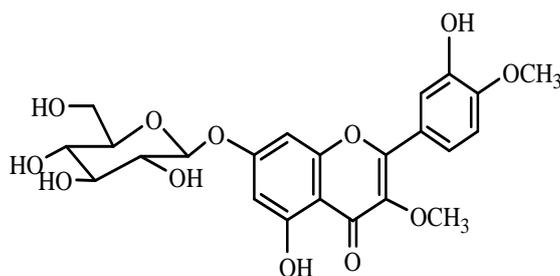


Figure III.58 : Spectre HMBC du composé 6

Ces données spectrales ainsi que la mesure du pouvoir rotatoire $[\alpha]_{\text{D}} = -49,7^{\circ}$ ($C = 0,175$ g/ 100 ml, MeOH) ont permis d'établir sans ambiguïté la structure du composé **6** : 3,4'-diméthoxy-7-*O*- β -glucopyranoside quercétine. Ce dernier a été isolé à partir de diverses espèces comme *Artemisia incanescens* (Asteraceae) [97] et *Dillenia indica* (Dilleniaceae) [98]. Il est décrit pour la première fois dans la famille Cistaceae.

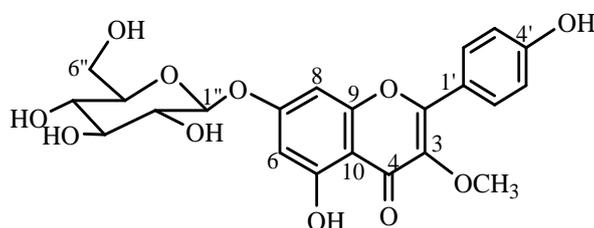


Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé **6** sont rassemblés dans le tableau III.6.

Tableau III.6: Déplacements chimiques RMN ^1H et ^{13}C du composé 6 dans $\text{DMSO-}d_6$

Position	δ_{H} m (J en Hz)	δ_{C}
Aglycone		
2	-	155,9
3	-	138,3
4	-	178,2
5	-	161,0
6	6,44 d (2)	99,2
7	-	162,9
8	6,78 d (2)	94,5
9	-	156,1
10	-	105,9
1'	-	122,2
2'	7,50-7,60 m	115,1
3'	-	146,4
4'	-	150,4
5'	7,12 d (8,5)	111,9
6'	7,50-7,60 m	120,4
3-OMe	3,80 s	59,8
4'-OMe	3,86 s	55,7
β-D-Glucopyranosyl		
1''	5,08 d (7,8)	99,8
2''	3,20-3,30 m	73,1
3''	3,20-3,30 m	76,4
4''	3,16 t (8,8)	69,5
5''	3,40-3,50 m	77,1
6''a	3,69 dd (10 ; 4,1)	60,6
6''b	3,40-3,50 m	60,6

III.1.2.3.7. Elucidation structurale du composé 7



3-méthoxy-7-O- β -glucopyranoside kaempférol

Le spectre de masse ESI de ce composé, enregistré en modes négatif (Figure III.59) et positif (Figure III.60), présente respectivement des pics d'ions pseudomoléculaires à

$m/z = 461 [M-H]^-$ et $485 [M+Na]^+$. Ceci est en accord avec une masse moléculaire de 462 uma et une formule brute en $C_{22}H_{22}O_{11}$.

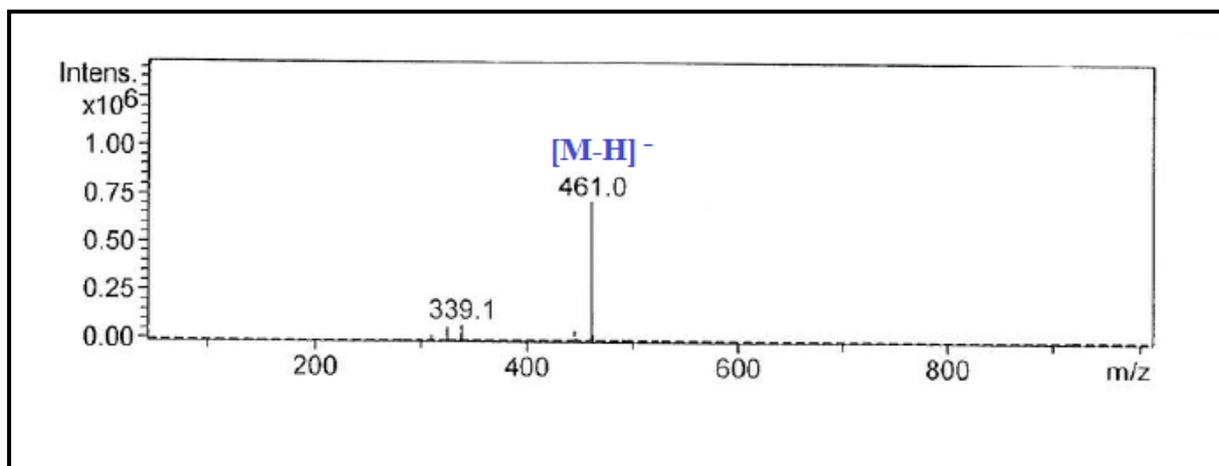


Figure III.59: Spectre de masse ESI⁻ du composé 7

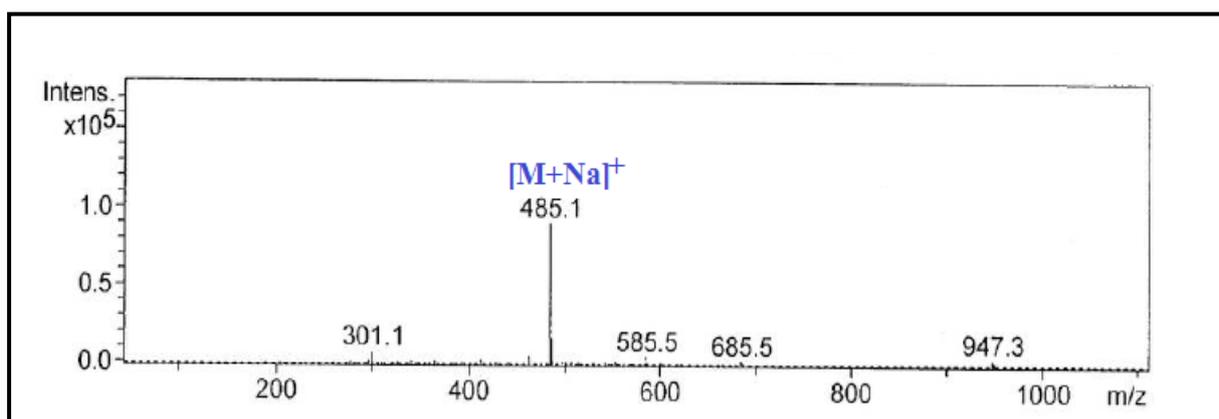


Figure III.60: Spectre de masse ESI⁺ du composé 7

Les spectres RMN 1H et ^{13}C J -modulé (Figures III.61 et III.62) du composé 7 présentent de grandes similitudes avec ceux du composé 3. En effet, on reconnaît aisément les signaux caractéristiques :

- ◇ du kaempférol: H-6 [δ_H 6,28 ($d, J = 2$ Hz)/ δ_C 101,4], H-8 [6,39 ($d, J = 2$ Hz)/ δ_C 90,9], H-3'/H-5' [δ_H 6,93 ($d, J = 8,8$ Hz)/ δ_C 116,7] et H-2'/H-6' [8,02 ($d, J = 8,8$ Hz)/ δ_C 131,5]. L'identification de tous ses carbones a été confirmée au moyen des expériences HMBC et HSQC.
- ◇ du groupement méthoxyle : OCH_3 [δ_H 3,81 (s)/ δ_C 60,6].
- ◇ de la même unité osidique : H-1" [δ_H 5,01 ($d, J = 7,6$ Hz)/ δ_C 103,9], C-2" (δ_C 74,9), C-3" (δ_C 78,4), C-4" (δ_C 71,4), C-5" (δ_C 78,5), C-6" (δ_C 62,6).

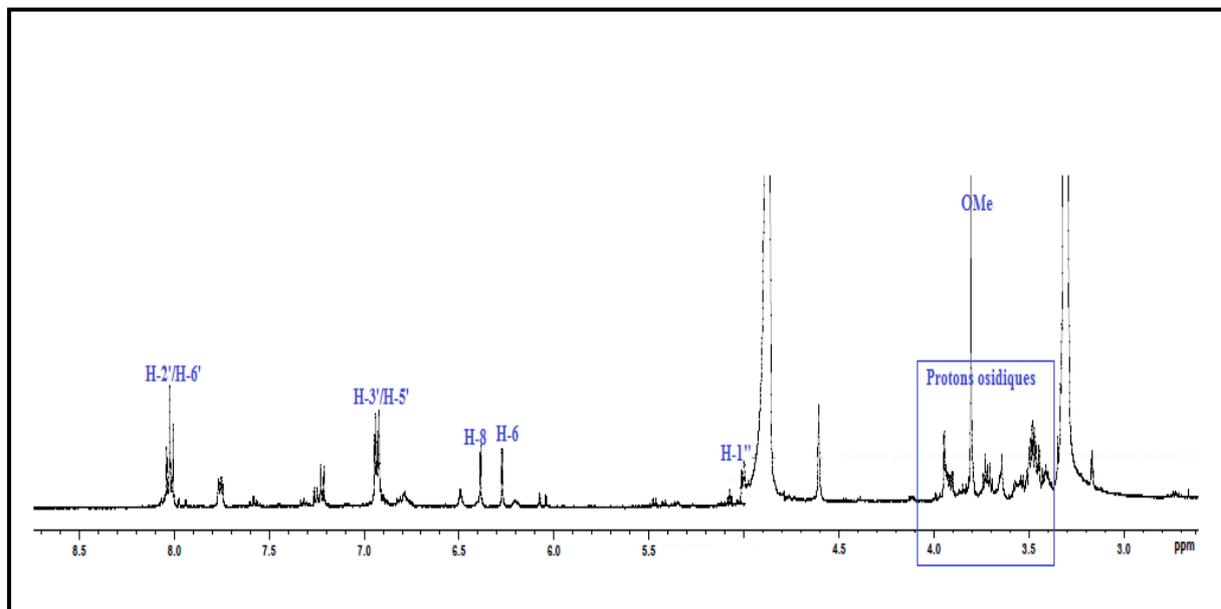


Figure III.61: Spectre RMN ^1H du composé 7

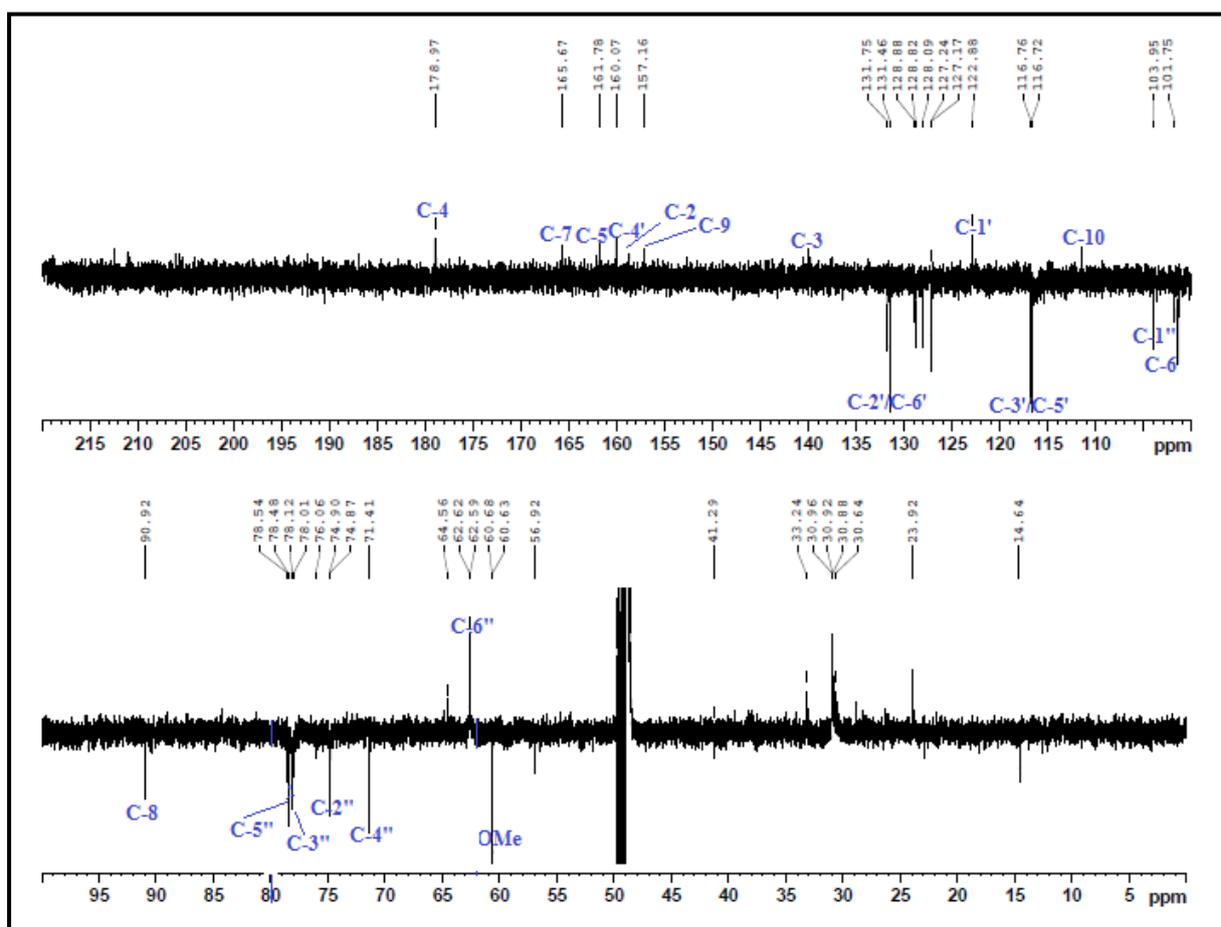


Figure III.62: Spectre RMN ^{13}C J -modulé du composé 7

La différence remarquable entre les composés **3** et **7** réside en la disparition des signaux des protons et carbones du groupement galloyle [(δ_{H} 7,02 (H-2'''/H-6'''), δ_{C} 110,2), δ_{C} 168,4 (C-7'''), δ_{C} 139,8 (C-4'''), δ_{C} 146,5 (C-3'''/ C-5''') et δ_{C} 121,4] substituant le composé **3** en position C-6'' du glucose. Ceci explique la différence de masse de 152 uma entre les masses moléculaires des deux composés **3** (M = 614) et **7** (M = 462).

L'analyse du spectre COSY H-H (Figure III.63) confirme la nature de l'unité osidique, à savoir un glucose de configuration β , à travers les corrélations H-1'' (δ_{H} 5,01, *d*, $J = 7,6$ Hz)/H-2'' (δ_{H} 3,48, *t*, $J = 7,6$ Hz), H-2''/H-3'' (δ_{H} 3,45, *t*, $J = 7,6$ Hz), H-3''/H-4'' (δ_{H} 3,40, *t*, $J = 7,8$ Hz), H-4''/H-5'' (δ_{H} 3,55, *m*), H-5''/H-6''a (δ_{H} 3,91, *dd*, $J = 12; 2$ Hz) et H-5''/H-6''b (δ_{H} 3,72, *dd*, $J = 12; 5,6$ Hz). Le blindage des signaux des protons H-6''a (δ_{H} 3,91) et H-6''b (δ_{H} 3,72), indique clairement que le β -D-glucose du composé **7** est porteur d'un OH libre.

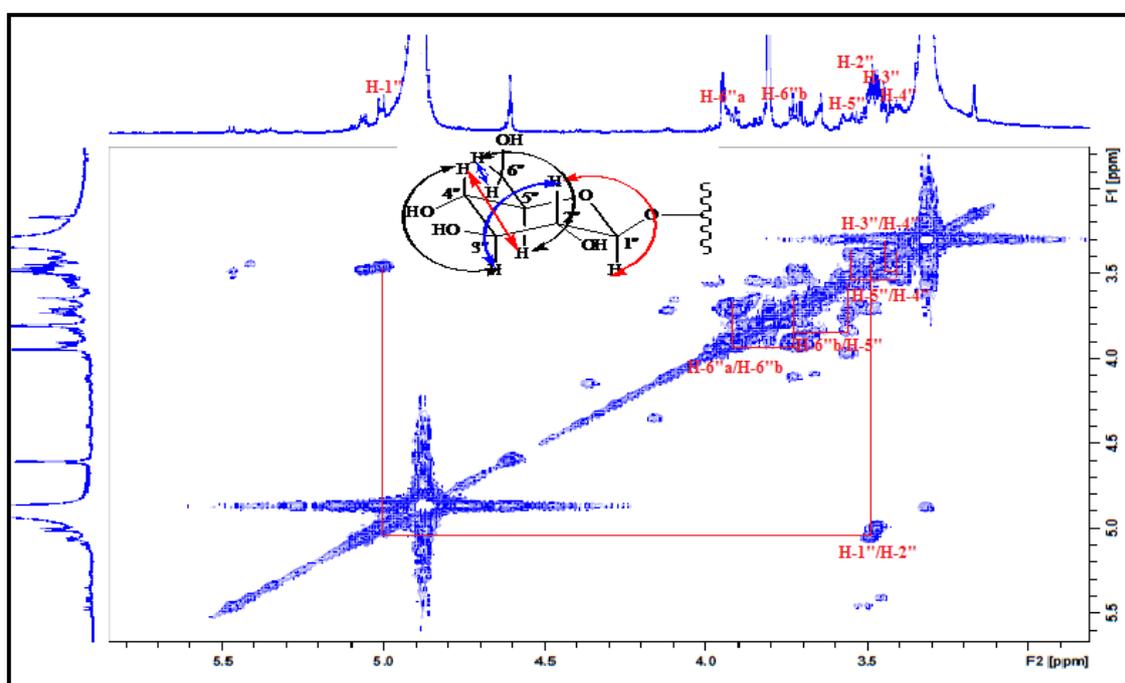


Figure III.63: Spectre COSY H-H de la partie osidique du composé **7**

Les points de fixation de l'unité glucosyle et du groupement méthoxyle, similaires à ceux établis pour le composé **3**, sont confirmés par expérience HMBC (Figure III.64) qui montre des corrélations entre le proton anomère H-1'' (δ_{H} 5,01, *d*, $J = 7,6$ Hz) et le carbone C-7 (δ_{C} 165,7), les protons du groupement OCH₃ (δ_{H} 3,81, *s*) et le carbone C-3 (δ_{C} 139,5) du kaempférol.

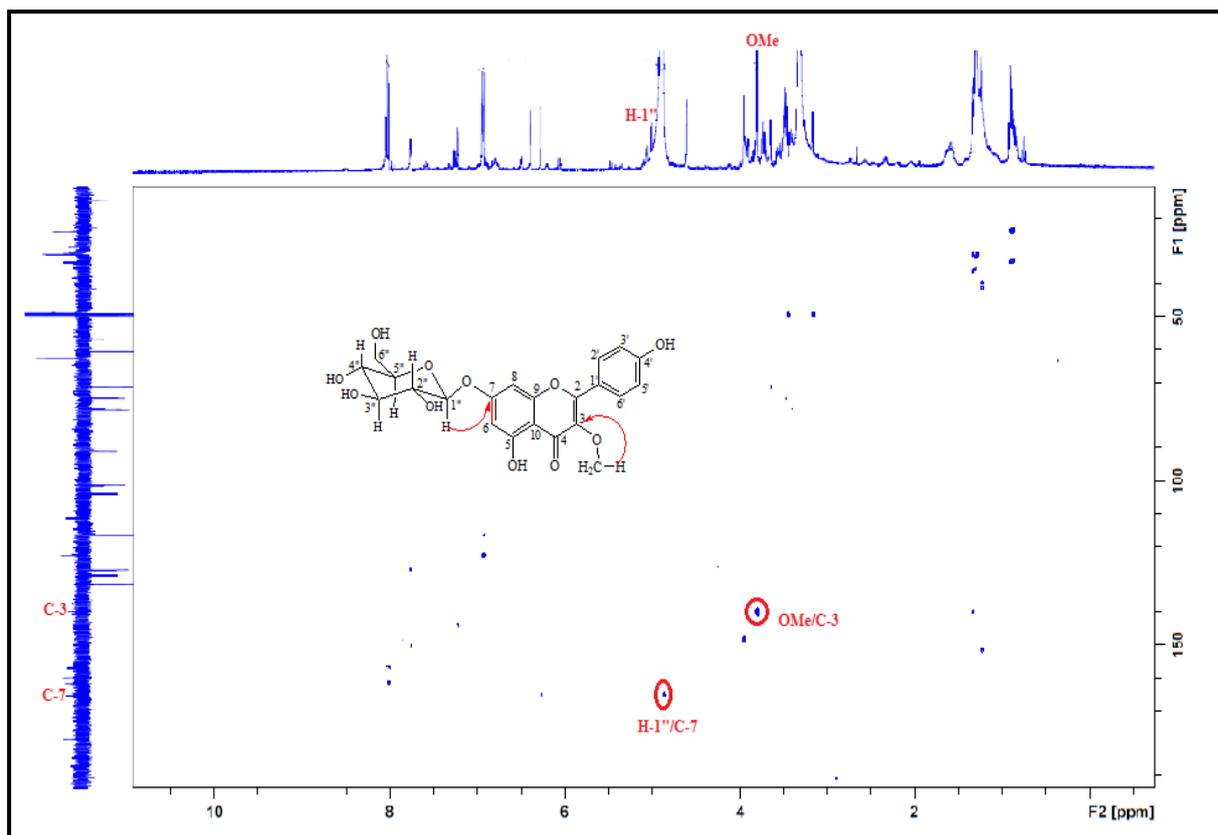
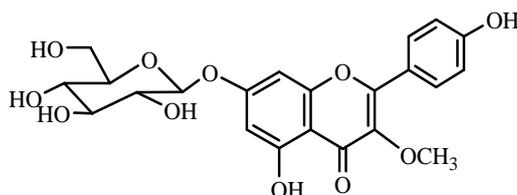


Figure III.64: Spectre HMBC du composé 7

L'ensemble de ces données spectroscopiques permet d'attribuer pour le composé 7 la structure suivante : 3-méthoxy-7-*O*- β -glucopyranoside kaempférol.



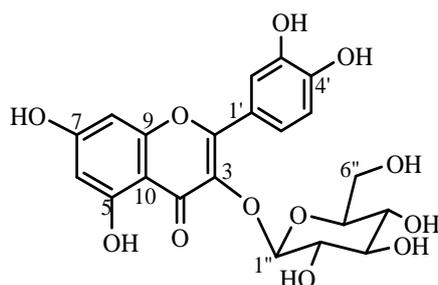
Ce composé qui est décrit pour la première fois dans la famille Cistaceae, a été antérieurement isolé des espèces *Haplopappus foliosus* (Asteraceae) [99] et *Smyrnum perfoliatum* (Apiaceae) [100].

Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé 7 sont regroupés dans le tableau III.7.

Tableau III.7: Déplacements chimiques RMN ^1H et ^{13}C du composé 7 (MeOD)

Position	δ_{H} m (J en Hz)	δ_{C}
Aglycone		
2	-	158,0
3	-	139,5
4	-	178,9
5	-	161,8
6	6,28 d (2)	101,4
7	-	165,7
8	6,39 d (2)	90,9
9	-	157,2
10	-	111,4
1'	-	122,8
2'	8,02 d (8,8)	131,5
3'	6,93 d (8,8)	116,7
4'	-	160,1
5'	6,93 d (8,8)	116,7
6'	8,02 d (8,8)	131,5
3-OMe	3,81 s	60,6
β-D-Glucopyranosyl		
1''	5,01 d (7,6)	103,9
2''	3,48 t (7,6)	74,9
3''	3,45 t (7,6)	78,1
4''	3,40 t (7,6)	71,4
5''	3,55 m	78,5
6''a	3,91 dd (12 ; 2)	62,6
6''b	3,72 dd (12 ; 5,6)	62,6

III.1.2.3.8. Elucidation structurale du composé 8

**Isoquercitrine**

L'analyse des spectres RMN ^1H et ^{13}C J -modulé (Figures III.65 et III.66), supportée par les expériences COSY H-H, HSQC et HMBC, montre clairement que le composé **8** (comme le composé **4**) est une quercétine glucosylée. En effet, on identifie :

- ◇ les signaux caractéristiques de la quercétine : H-6 [δ_{H} 6,20 (d , $J = 2,1$ Hz)/ δ_{C} 100,0], H-8 [δ_{H} 6,39 (d , $J = 2,1$ Hz)/ δ_{C} 94,8], H-2' [δ_{H} 7,71 (d , $J = 2,2$ Hz)/ δ_{C} 117,6], H-5' [δ_{H}

6,87 (d, $J = 8,5$ Hz)/ δ_C 116,2], H-6' [δ_H 7,59 (dd, $J = 8,5 ; 2,2$ Hz)/ δ_C 123,2]. Les carbones quaternaires de cette génine sont repérés à δ_C 179,6 (C-4), 166,3 (C-7), 163,2 (C-5), 159,1 (C-2), 158,6 (C-9), 150,0 (C-4'), 146,1 (C-3'), 135,7 (C-3), 123,2 (C-1'), 105,8 (C-10).

- ◇ les signaux caractéristiques du β -D-glucose : CH-1'' [δ_H 5,26 (d, $J = 7,6$ Hz)/ δ_C 104,5], CH-2'' [δ_H 3,48 (dd, $J = 7,6 ; 8,9$ Hz)/ δ_C 75,9], CH-3'' [δ_H 3,43 (t, $J = 8,9$ Hz)/ δ_C 78,2], CH-4'' [δ_H 3,35 (t, $J = 8,9$ Hz)/ δ_C 75,9], CH-5'' [δ_H 3,22 (ddd, $J = 8,9 ; 5,3 ; 2,3$ Hz)/ δ_C 78,8], CH₂-6''b [δ_H 3,57 (dd, $J = 11,9 ; 5,3$ Hz)/ δ_C 62,6], CH₂-6''a [δ_H 3,72 (dd, $J = 11,9 ; 2,3$ Hz)/ δ_C 62,6].

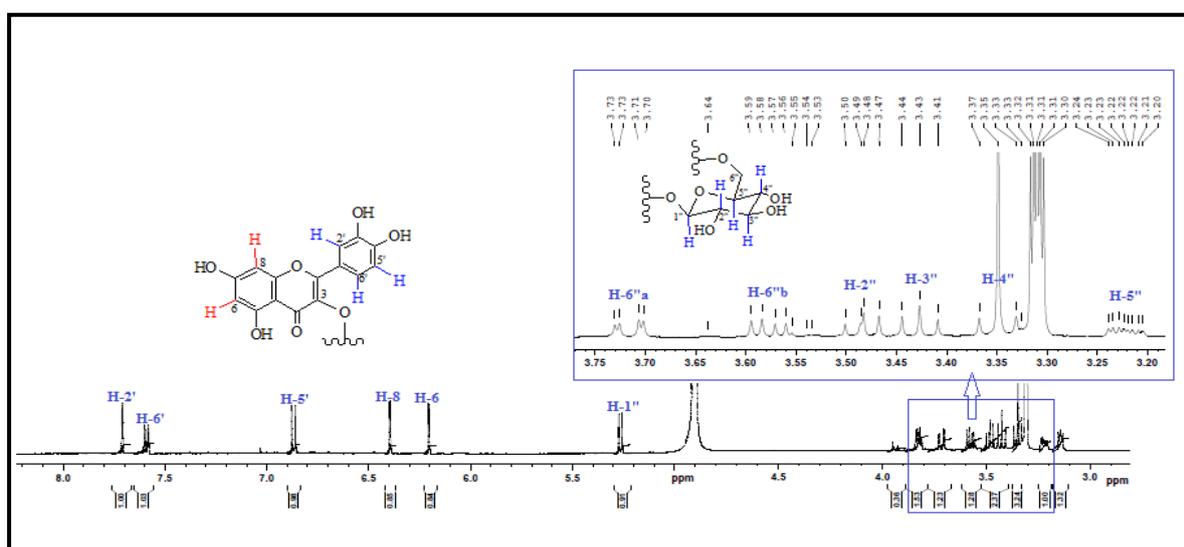


Figure III.65 : Spectre RMN ¹H du composé 8 (MeOD)

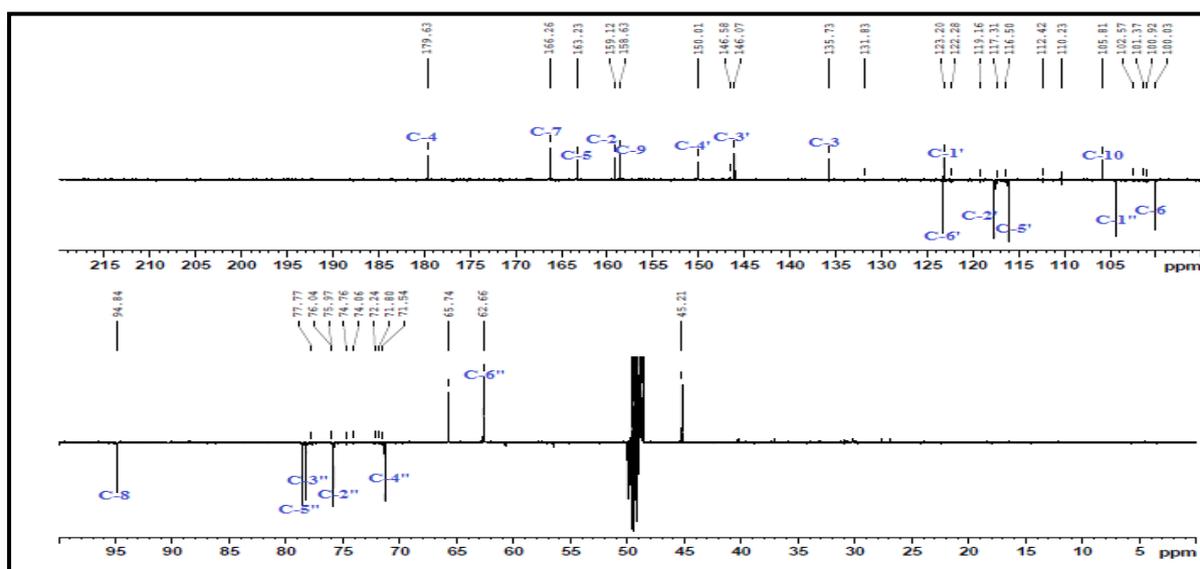


Figure III.66: Spectre RMN ¹³C J-modulé du composé 8

La seule et unique différence constatée, et cela par comparaison avec le composé **4**, a trait à la disparition du groupement galloyle en C-6'' du glucose.

Le spectre de masse ESI du composé **6** enregistré en mode positif (Figure III.67), révèle un pic d'ion pseudomoléculaire à m/z 487 $[M+Na]^+$, soit une masse moléculaire $M = 464$ uma et une formule brute en $C_{21}H_{20}O_{12}$. La différence de masse de l'ordre de 152 uma entre les composés **8** ($M = 616$) et **4** ($M = 464$) confirme l'absence du groupement galloyle.

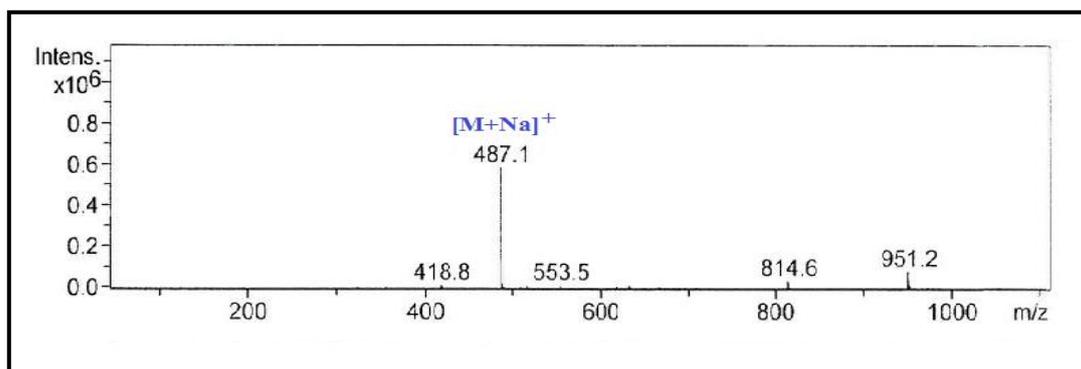


Figure III.67: Spectre de masse ESI⁺ du composé **8**

Le point d'attachement de l'unité osidique est confirmé par expérience HMBC (Figure III.68) qui montre une corrélation entre le proton anomère H-1'' [δ_H 5,26 (d , $J = 7,6$ Hz)] du glucose et le carbone C-3 (δ_C 135,7) de la génine.

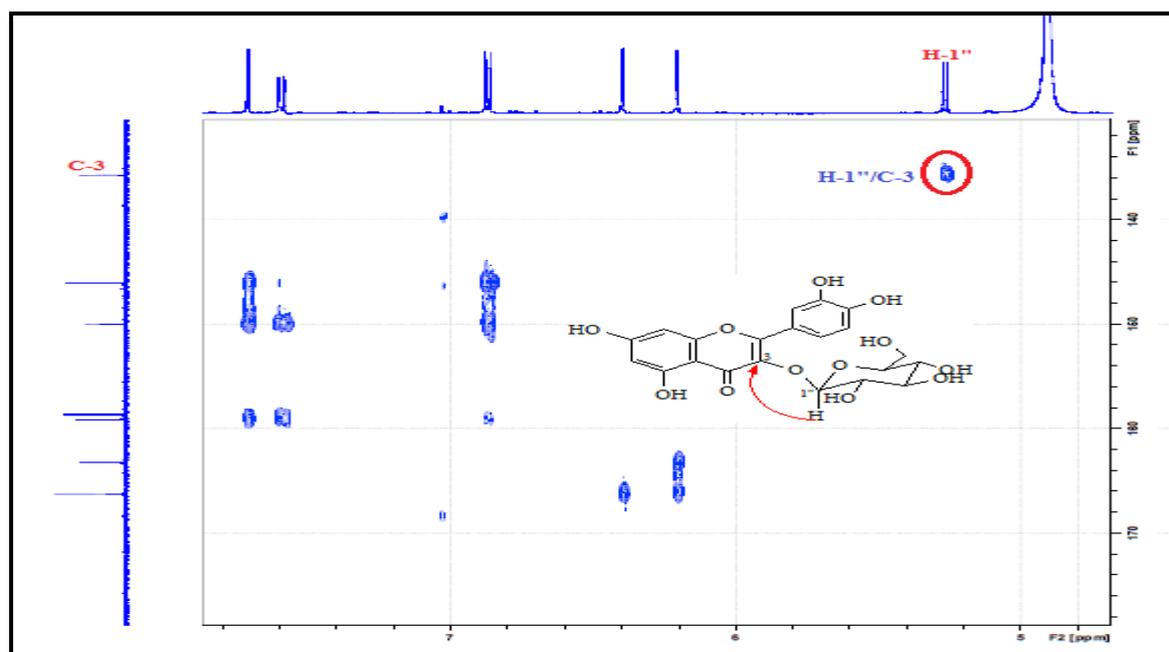
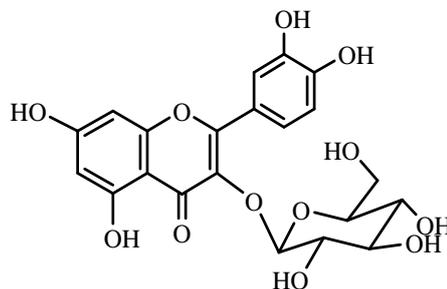


Figure III.68: Spectre HMBC mettant en évidence le point de branchement du sucre

En vertu de cette analyse (Tableau III.8), il a été établi sans ambiguïté pour ce composé, la structure: quercétine-3-O- β -D-glucopyranoside.



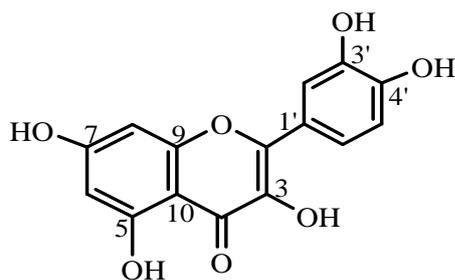
Ce composé appelé Isoquercitrine (Isoquercétine) a été isolé antérieurement des espèces appartenant à la famille Cistaceae comme *Helianthemum glomeratum* [101], *Helianthemum sessiliflorum* [74], *Cistus ladanifer* [102], *Cistus incanus* [103] et *Tuberaria lignosa* [75].

Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé **8** sont rassemblés dans le tableau III.8.

Tableau III.8: Déplacements chimiques RMN ^1H et ^{13}C du composé **8 (MeOD)**

Position	δ_{H} m (J en Hz)	δ_{C}
Aglycone		
2	-	159,1
3	-	135,7
4	-	179,6
5	-	163,2
6	6,20 d (2,1)	100,0
7	-	166,3
8	6,39 d (2,1)	94,8
9	-	158,6
10	-	105,8
1'	-	123,2
2'	7,71 d (2,2)	117,3
3'	-	146,1
4'	-	150,0
5'	6,87 d (8,5)	116,5
6'	7,59 dd (8,5; 2,2)	123,2
β-D-Glucopyranosyl		
1''	5,26 d (7,6)	104,5
2''	3,48 dd (7,6; 8,9)	75,9
3''	3,43 t (8,9)	78,2
4''	3,35 t (8,9)	71,5
5''	3,22 ddd (8,9; 5,3; 2,3)	78,5
6''a	3,72 dd (11,9; 2,3)	62,6
6''b	3,57 dd (11,9 ; 5,3)	

III.1.2.3.9. Elucidation structurale du composé 9



Quercétine

Le spectre UV-Visible (Figure III.69) de ce composé enregistré dans le méthanol montre deux bandes d'absorption maximales à 356 nm, (bande I) et 257 nm (bande II) caractéristiques d'un système insaturé des flavonoïdes. L'addition de AlCl_3 provoque un déplacement bathochromique de la bande I, indiquant la présence d'un OH libre en 5.

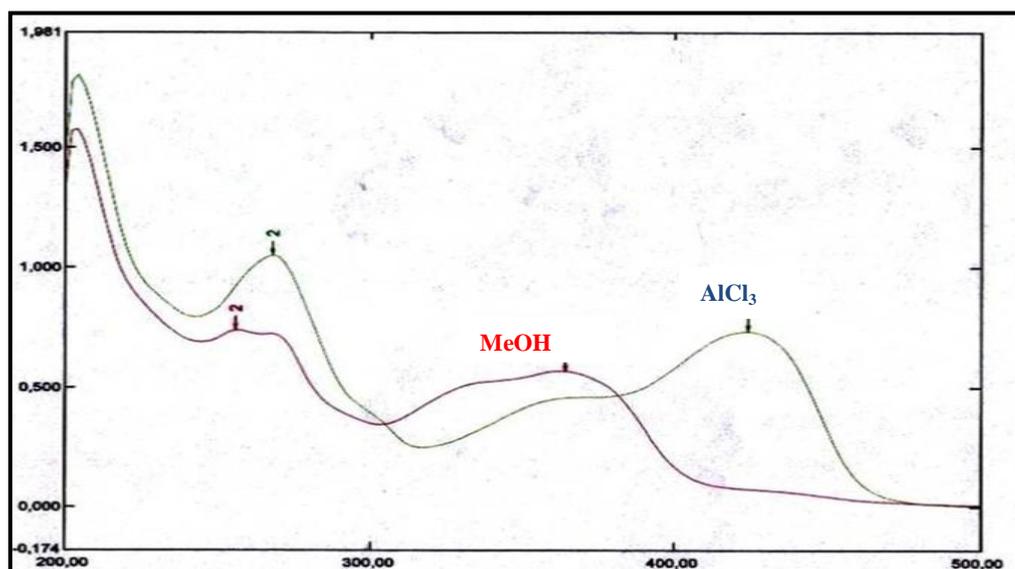


Figure III.69: Spectre UV du composé 9

L'analyse des spectres RMN ^1H et ^{13}C (Figure III.71 et III.72), spectre de masse ESI (Figure III.70), ainsi que la comparaison avec les données de la littérature [104] ont permis d'identifier le composé 9 à la quercétine. Ce composé a été isolé antérieurement des espèces *Cistus ladanifer* [102] et *Cistus laurifolius* [44]. De nombreuses études pharmacologiques ont montré qu'il possède des propriétés anti-inflammatoires [105], anti-oxydantes [106] ainsi qu'une activité antiallergique [107].

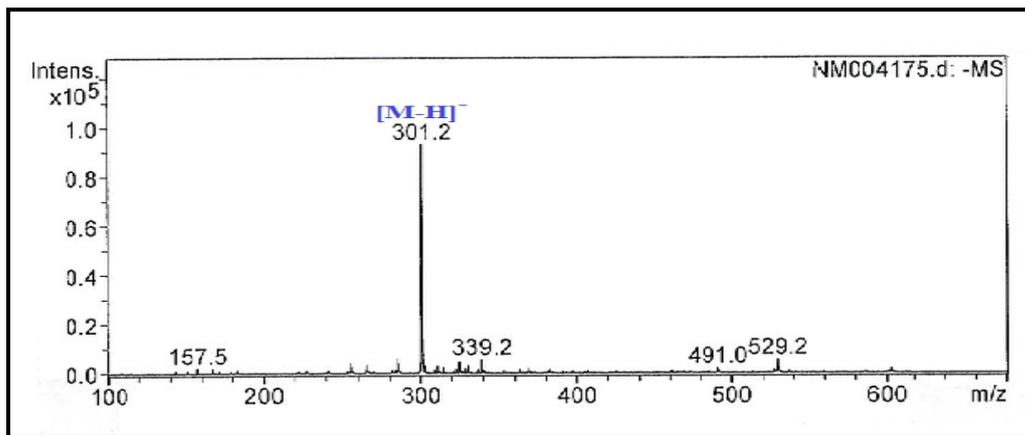


Figure III.70: Spectre de masse ESI⁻ du composé 9

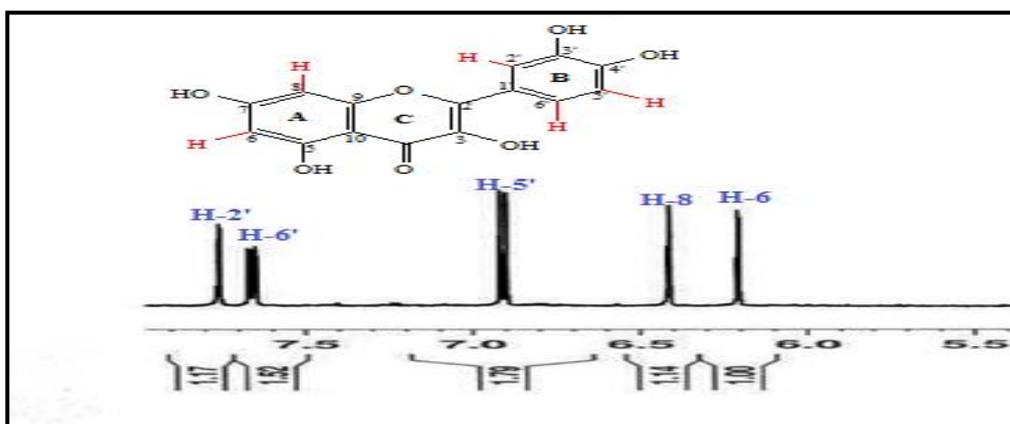


Figure III.71: Spectre RMN ¹H du composé 9

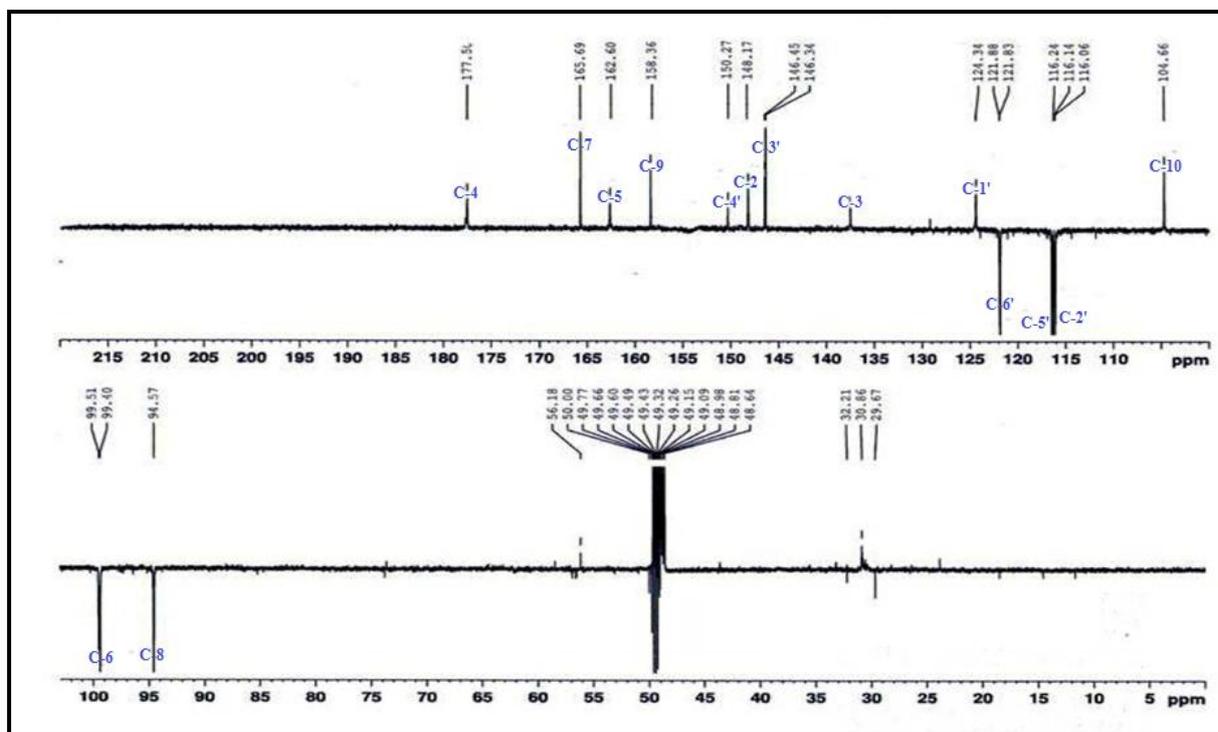


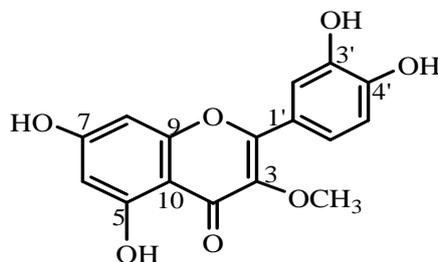
Figure III.72 : Spectre RMN ¹³C J-modulé du composé 9

Les déplacements chimiques des signaux observés en RMN ^1H et ^{13}C sont réunis dans le tableau III.9.

Tableau III.9: Déplacements chimiques RMN ^1H et ^{13}C du composé 9 dans MeOD

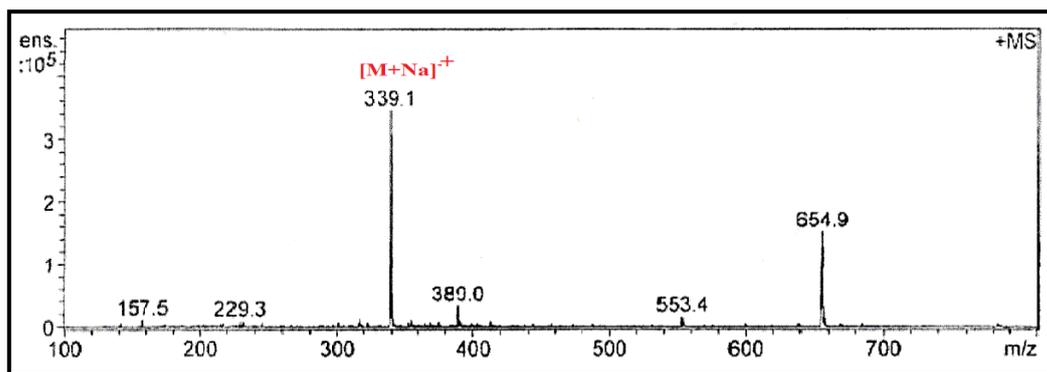
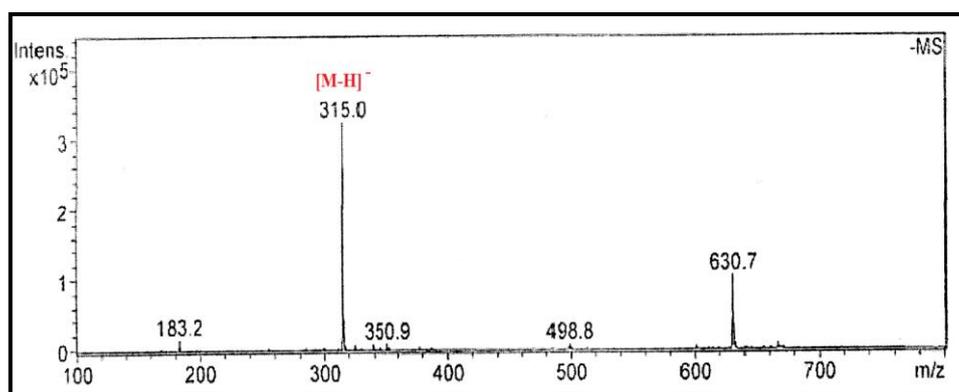
Position	δ_{H} m (J en Hz)	δ_{C}
2	-	148,2
3	-	137,2
4	-	177,5
5	-	162,6
6	6,20 d (2)	99,4
7	-	165,7
8	6,40 d (2)	94,6
9	-	158,4
10	-	104,7
1'	-	124,3
2'	7,75 d (2,1)	116,1
3'	-	146,3
4'	-	150,3
5'	6,90 d (8,5)	116,2
6'	7,65 dd (8,5; 2,1)	121,8

III.1.2.3.10. Elucidation structurale du composé 10

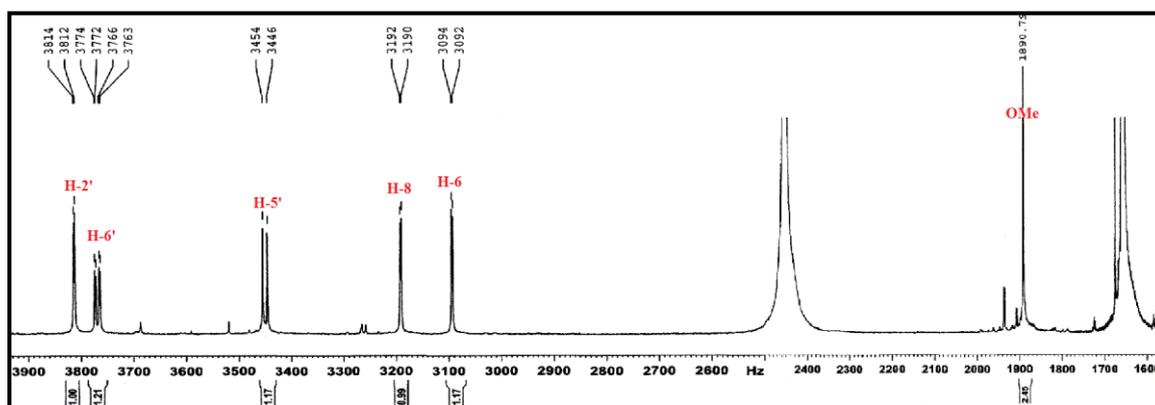


3-méthoxy quercétine

Le spectre de masse ESI du composé **10**, enregistré en modes positif (Figure III.73) et négatif (Figure III.74), présente respectivement des pics d'ions pseudomoléculaires à $m/z = 339$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ et 315 $[\text{M}-\text{H}]^-$, soit une masse moléculaire égale à 316 uma correspondant à une formule brute en $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_7$.

Figure III.73: Spectre de masse ESI⁺ du composé 10Figure III.74: Spectre de masse ESI⁻ du composé 10

Le spectre RMN ¹H (Figure III.75) de ce composé enregistré dans le MeOD présente une forte similitude avec celui du composé **9** décrit précédemment. En effet, on observe les mêmes signaux caractéristiques des protons de l'aglycone quercétine: H-6 [δ_H 6,19 (*d*, *J* = 2,1 Hz)], H-8 [δ_H 6,40 (*d*, *J* = 2,1 Hz)], H-2' [δ_H 7,63 (*d*, *J* = 2,4)], H-5' [δ_H 6,90 (*d*, *J* = 8,8 Hz)] et H-6' [δ_H 7,52 (*dd*, *J* = 8,8 ; 2,4 Hz)]. La seule différence remarquable réside dans l'apparition d'un signal singulet résonant à 3,78 ppm, attestant la présence d'un groupement méthoxyle.

Figure III.75: Spectre RMN ¹H (500 MHz, MeOD) du composé 10

Le spectre RMN ^{13}C J -modulé (Figure III.76) montre clairement tous les signaux des carbones de la quercétine (composé **9**), à l'exception de la valeur du déplacement chimique du carbone C-2 de l'ordre de 158,1 ppm au lieu de 148,2 ppm dans le cas de la quercétine. Le déblindage important de l'ordre de + 9,9 ppm de ce signal, traduit une substitution à ce niveau par le groupement méthoxyle OCH_3 (δ_{C} 60,6).

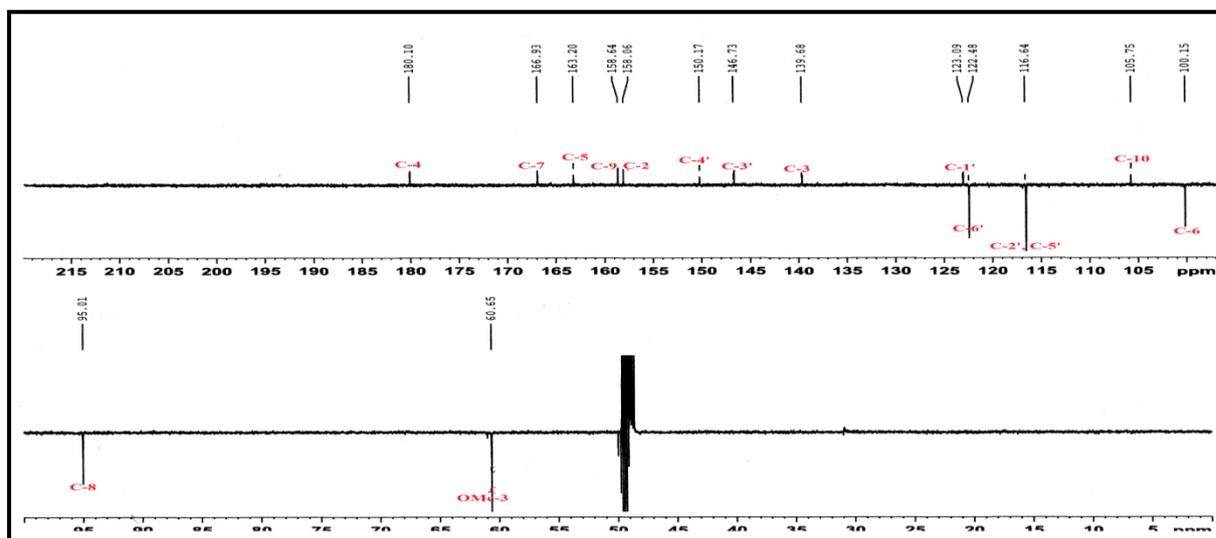


Figure III.76: Spectre RMN ^{13}C J -modulé du composé **10**

La corrélation $^3J_{\text{H-C}}$ observée sur le spectre HMBC (Figure III.77) entre les protons méthoxyliques (δ_{H} 3,78) et le carbone C-3 (δ_{C} 139,7) de l'aglycone, confirme la substitution à ce niveau par le groupement OCH_3 .

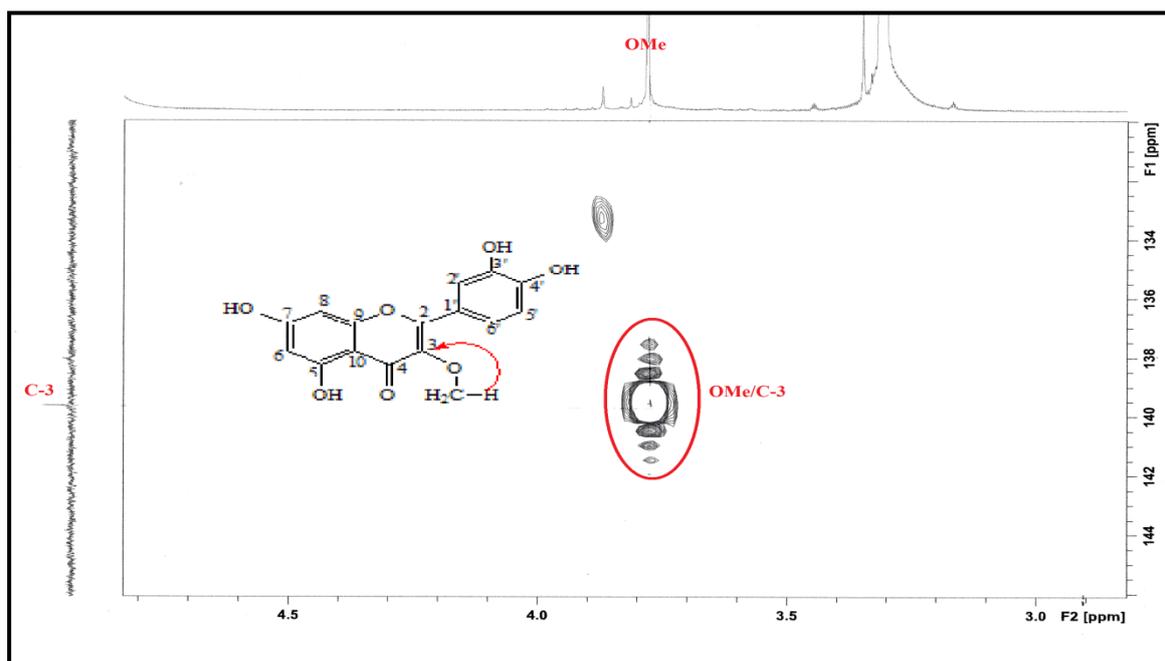
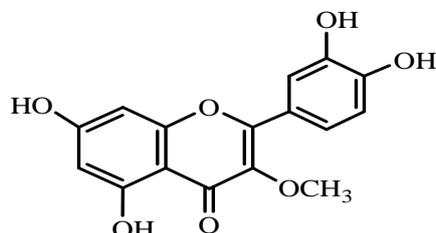


Figure III.77: Spectre HMBC du composé **10**

Ces données spectrales comparées à celles de la littérature [96] permettent d'attribuer pour le composé **10** la structure : 3-méthoxy quercétine. Ce composé a été rencontré au niveau de plantes Cistaceae comme *Cistus laurifolius* [44]. Il présente une activité anti-Helicobacter pylori [108].

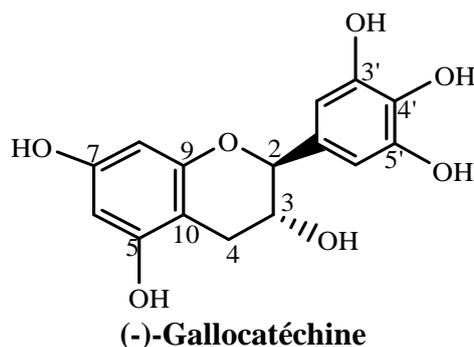


Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé **10** sont rassemblés dans le tableau III.10.

Tableau III.10: Déplacements chimiques RMN ^1H et ^{13}C du composé **10 dans MeOD**

Position	δ_{H} m (J en Hz)	δ_{C}
2	-	158,1
3	-	139,7
4	-	180,1
5	-	163,2
6	6,19 d (2,1)	100,2
7	-	166,9
8	6,40 d (2,1)	95,0
9	-	158,6
10	-	105,8
1'	-	123,1
2'	7,63 d (2,4)	116,6
3'	-	146,7
4'	-	150,2
5'	6,90 d (8,8)	116,6
6'	7,52 dd (8,8; 2,4)	122,5
3-OMe	3,78 s	60,7

III.1.2.3.11. Elucidation structurale du composé **11**



Le spectre de masse ESI, enregistré en mode négatif (Figure III.78), du composé **11** présente un pic d'ion pseudomoléculaire à $m/z = 305$ $[M-H]^-$ correspondant à une masse moléculaire de 306 uma et une formule brute en $C_{15}H_{14}O_7$.

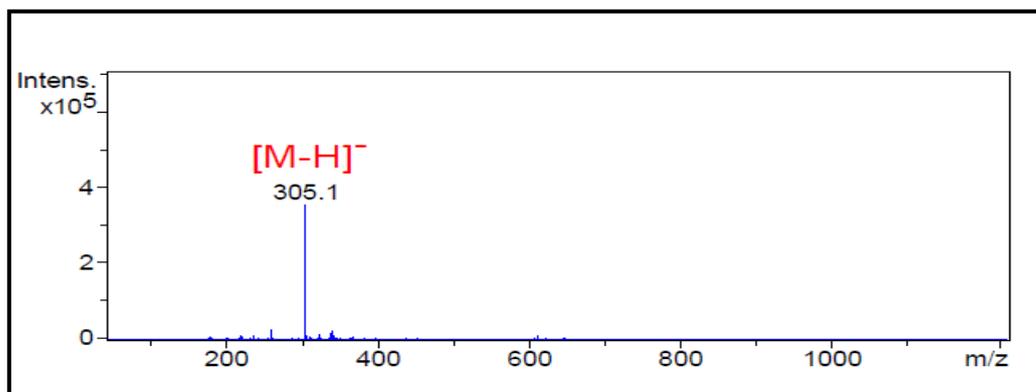


Figure III.78: Spectre de masse ESI⁻ du composé **11**

Le spectre RMN 1H (Figure III.79) de ce composé, enregistré dans le méthanol deutéré, révèle la présence de quatre protons aromatiques entre 5,5 et 6,5 ppm se répartissant en :

- ◇ deux protons résonant à δ_H 5,86 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H) et 5,92 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H) appartenant à un même système de spins, confirmé par analyse COSY H-H (Figure III.80). Ils sont identifiables respectivement aux protons H-8 et H-6 du cycle A d'un flavonoïde.
- ◇ deux protons sortant à δ_H 6,40 (2H, s, H-2'/H-6'), ne présentant aucun couplage sur le spectre COSY, très caractéristiques de protons magnétiquement équivalents du cycle B 1',3',4',5'-tétrasubstitué d'un flavonoïde.

Les signaux de leurs carbones respectifs résonant à δ_C 96,4 (C-6), 95,7 (C-8) et 107,3 (C-2'/C-6') ont été assignés par expérience HSQC (Figure III.80).

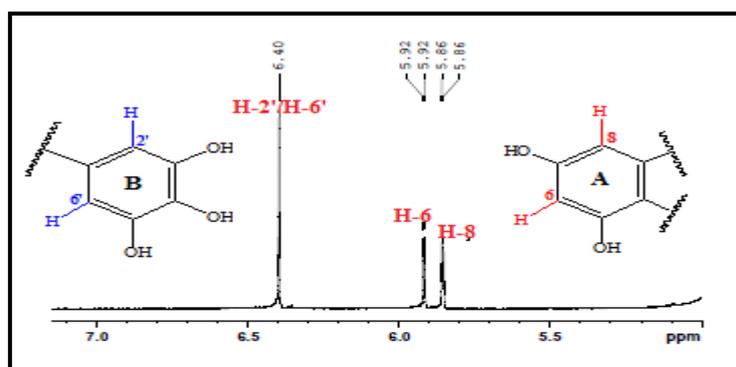


Figure III.79: Spectres RMN 1H de la zone aromatique du composé **11**

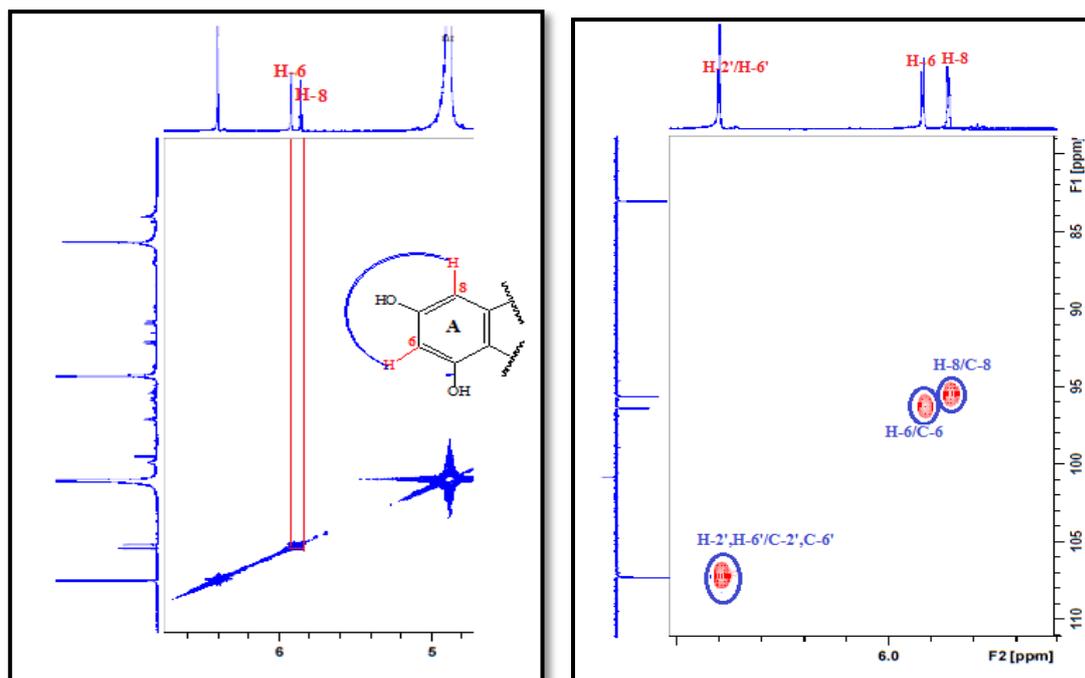


Figure III.80: Spectres COSY H-H et HSQC de la zone aromatique du composé 11

Par ailleurs, le spectre RMN ^1H (Figure III.81) montre un signal doublet à 4,52 ppm (1H, *d*, $J = 7,3$ Hz) d'un proton porté par un carbone oxyméthine, deux signaux blindés résonant sous forme de doublet de doublets à δ_{H} 2,50 (1H, *dd*, $J = 16,2 ; 8$ Hz), 2,81 (1H, *dd*, $J = 16,2 ; 5,4$ Hz) caractéristiques de deux protons géminés non équivalents, un signal doublet de doublets de doublets à 3,95 ppm (1H, *ddd*, $J = 8 ; 7,3 ; 5,4$ Hz) d'un proton $-\text{CH}-\text{OH}$. Tous ces protons ainsi inclus dans un même système de spins, sont très caractéristiques de protons H-2, H-3 et H-4 du cycle C d'un flavanol [109].

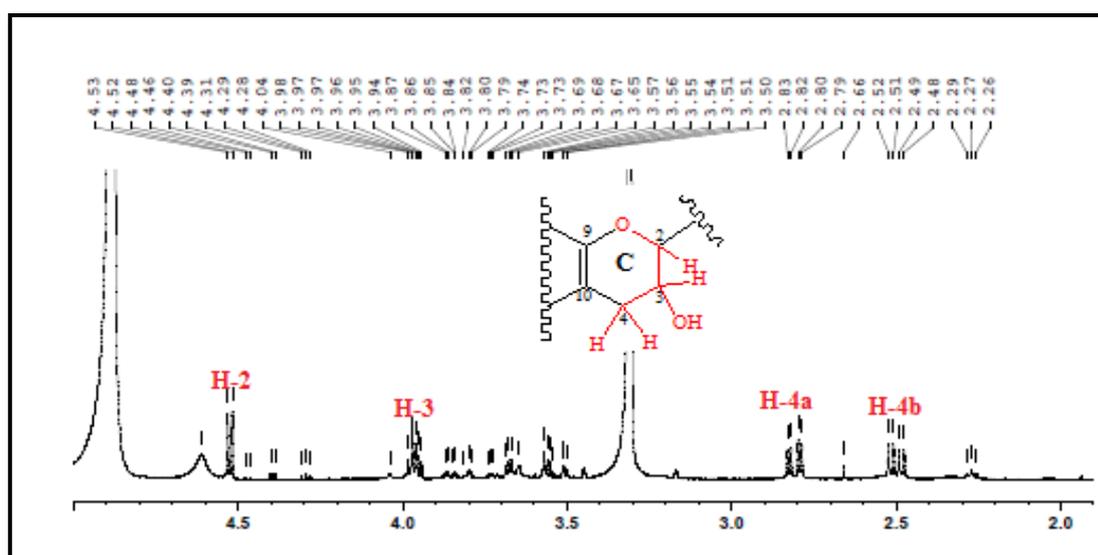


Figure III.81: Spectre RMN ^1H de la zone aliphatique du composé 11

Le spectre COSY H-H (Figure III.82) confirme la présence de ce système de spins à travers les couplages homonucléaires H-4a (δ_H 2,81, *dd*, $J = 16,2 ; 5,4$ Hz)/H-4b (δ_H 2,50, *dd*, $J = 16,2 ; 8$ Hz), H-3 (δ_H 3,95, *ddd*, $J = 8 ; 7,3 ; 5,4$ Hz)/ H-2 (δ_H 4,52, *d*, $J = 7,3$ Hz) et enfin H-3/H₂-4.

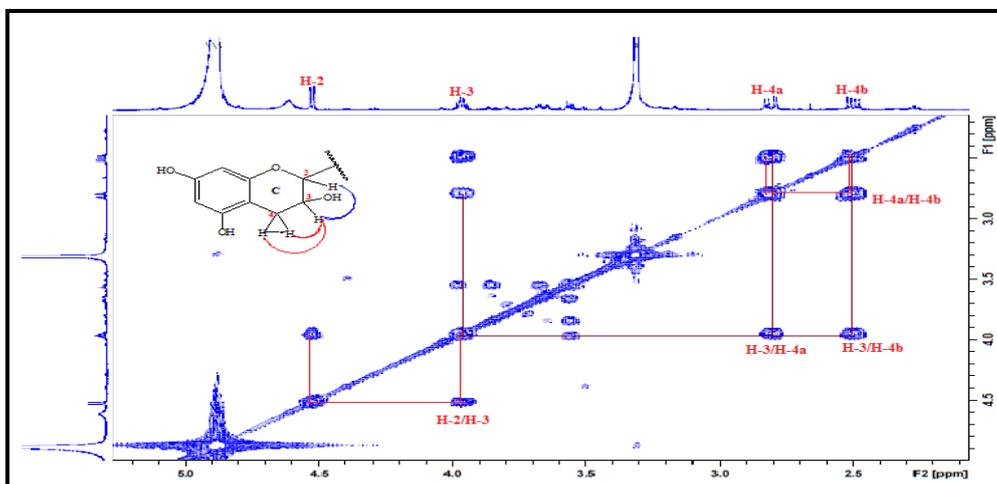


Figure III.82 : Spectre COSY H-H de la zone aliphatique du composé 11

L'analyse HSQC (Figure III.83) permet de caractériser les carbones du cycle C de ce flavanol à travers les corrélations H-2/C-2 (83,0 ppm), H-3/C-3 (68,9 ppm), H₂-4/C-4 (28,3 ppm).

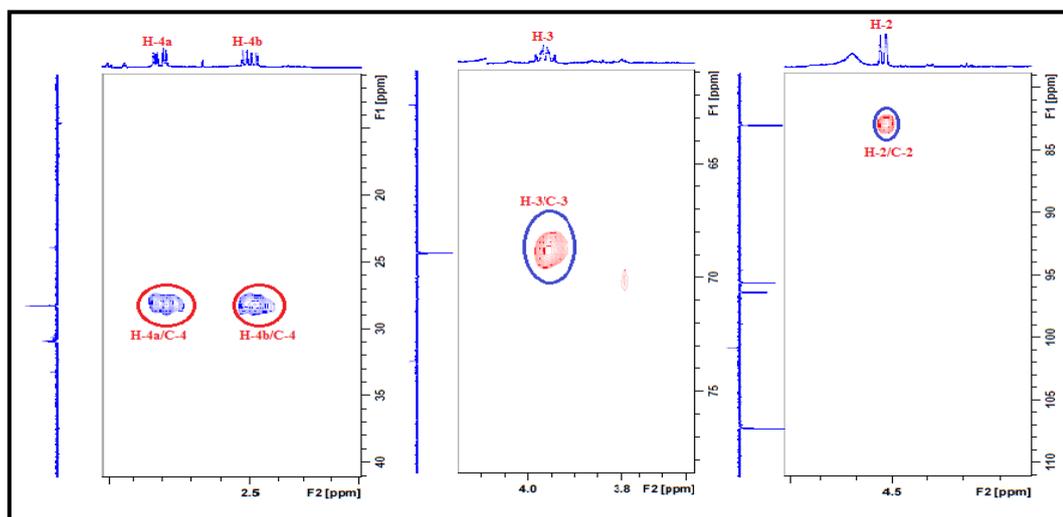


Figure III.83: Spectre HSQC de la zone aliphatique du composé 11

L'analyse du spectre HMBC (Figure III.84, III.85) confirme la nature flavanolique du composé **11** et cela par l'observation des corrélations attendues entre :

- ◇ les protons H-2, H-4a et H-4b du cycle C et un carbone quaternaire sortant à 156,9 ppm, attribuable au carbone C-9.
- ◇ les protons H₂-4/H-3 et un carbone quaternaire à 100,9 ppm, s'accordant au carbone C-10.
- ◇ le proton H-2 et un carbone quaternaire repéré à 131,7 ppm correspondant au carbone C-1' du cycle B. Il couple également avec les carbones C-2' et C-6' (δ_C 107,3).

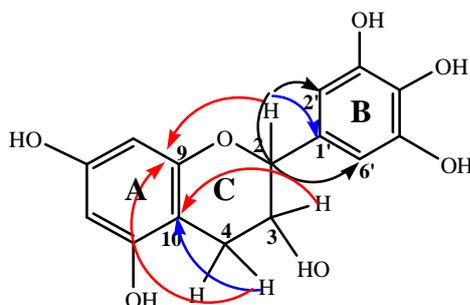


Figure III.84: Principales corrélations HMBC des protons H-2, H-3 et H₂-4

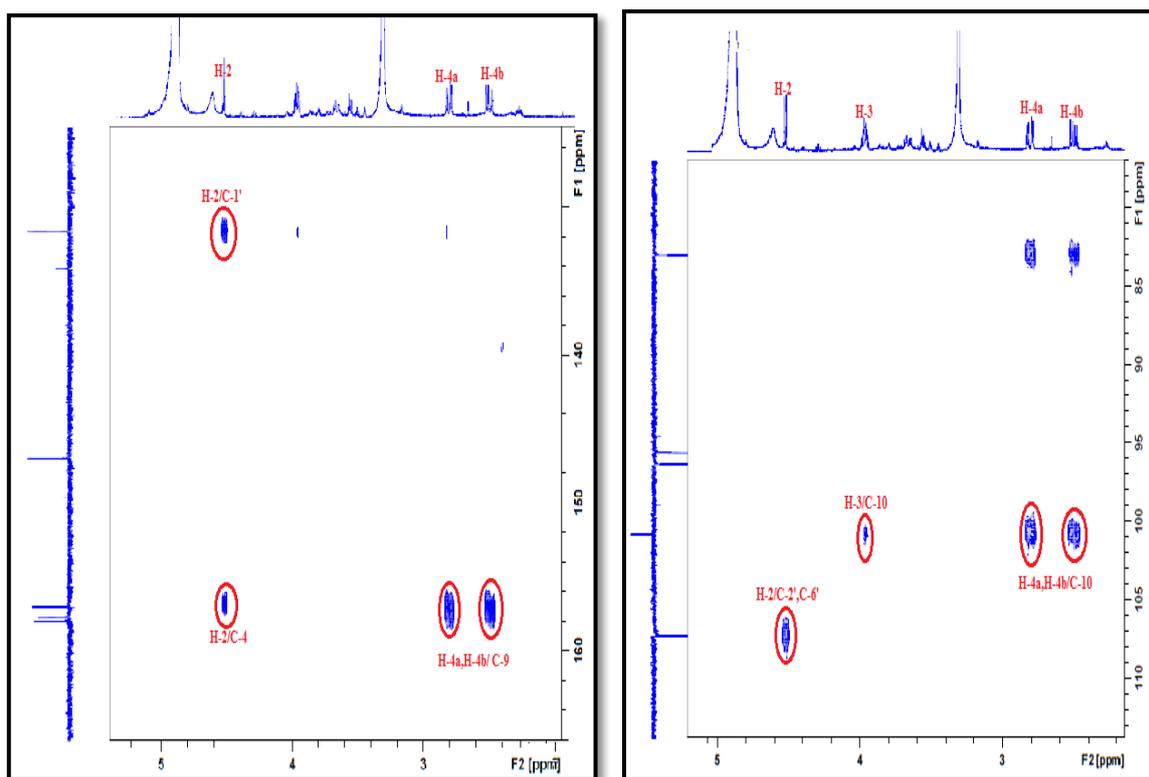


Figure III.85: Spectre HMBC mettant en évidence les corrélations des protons H-2, H-3 et H₂-4 du composé 11

L'analyse combinée des spectres HSQC et HMBC permet de caractériser tous les carbones de ce composé connu sous le nom de gallocatéchine (Figure III.86).

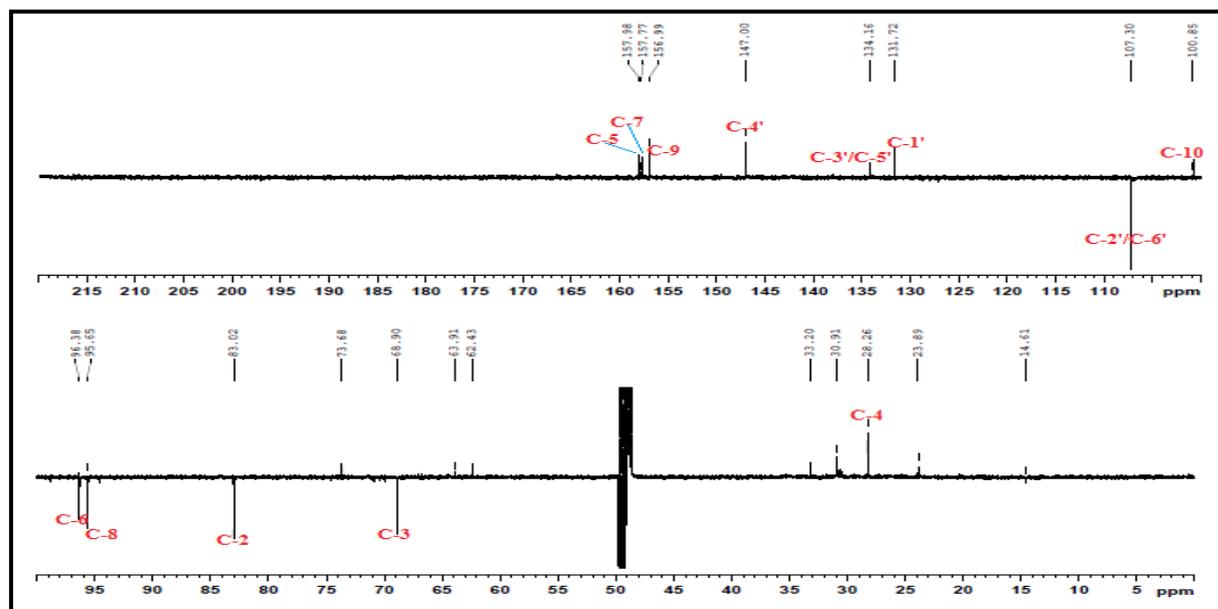
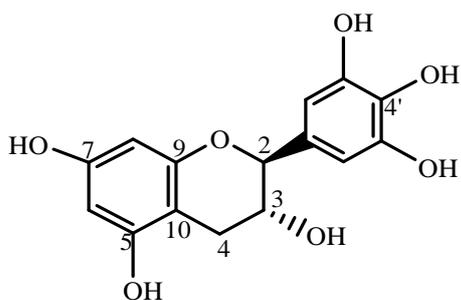
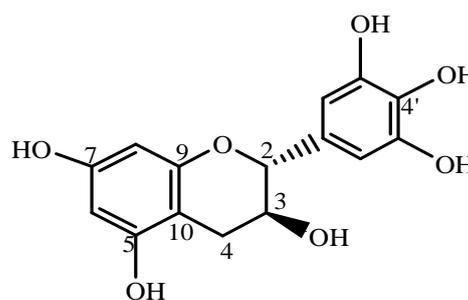


Figure III.86: Spectre RMN ^{13}C J -modulé du composé **11**

Il reste maintenant à élucider la stéréochimie au niveau des carbones C-2 et C-3. La grande valeur de constante de couplage $J_{\text{H-2/H-3}}$ (7,3 Hz) traduisant une position trans-diaxiale entre les protons H-2 et H-3, laisse suggérer, pour le composé **11**, deux structures énantiomères possibles: (-)-Gallocatéchine avec une configuration (2S, 3R) et (+)-Gallocatéchine avec une configuration (2R, 3S).

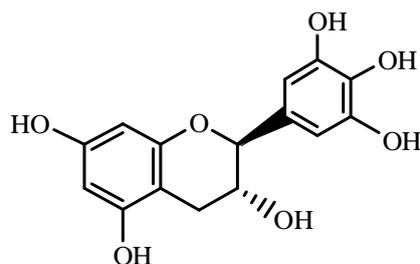


(-)-Gallocatéchine



(+)-Gallocatéchine

La valeur du pouvoir rotatoire $[\alpha]_{\text{D}} = -22^{\circ}$ ($C = 0,2$ g/100 ml, MeOH) indiquant une configuration (2S,3R) [110] ainsi que toutes les données spectrales comparées à celles de la littérature, permettent d'attribuer sans ambiguïté au composé **11**, plus connu sous le nom de (-)-Gallocatéchine, la structure suivante : (2S, 3R)-2-(3',4',5'-trihydroxyphényl) chromane-3,5,7-triol. Il a été identifié antérieurement dans un nombre important des plantes Cistaceae [51, 50, 74]. On citera *Cistus salvifolius*, *Cistus incanus* et *Helianthemum sessiliflorum*.

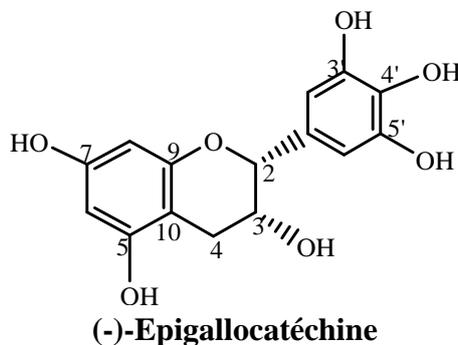


Les déplacements chimiques de tous les protons et carbones sont présentés dans le tableau III.11.

Tableau III.11: Déplacements chimiques RMN ^1H et ^{13}C du composé 11 dans MeOD

Position	δ_{H} m (J en Hz)	δ_{C}
2	4,52 <i>d</i> (7,3)	83,0
3	3,95 <i>ddd</i> (8; 7,3; 5,4)	68,9
4a	2,81 <i>dd</i> (16,2; 5,4)	28,3
4b	2,50 <i>dd</i> (16,2; 8)	
5	-	157,9
6	5,92 <i>d</i> (2,2)	96,4
7	-	157,7
8	5,86 <i>d</i> (2,2)	95,7
9	-	156,9
10	-	100,9
1'	-	131,7
2'	6,40 <i>s</i>	107,3
3'	-	134,2
4'	-	147,0
5'	-	134,2
6'	6,40 <i>s</i>	107,3

III.1.2.3.12. Elucidation structurale du composé 12



Le spectre de masse ESI (Figure III.87) du composé **12** est totalement identique à celui du composé précédent. Il présente un pic d'ion pseudomoléculaire à m/z 305 $[\text{M}-\text{H}]^-$, ce

qui correspond à une formule brute s'établissant en $C_{15}H_{14}O_7$ pour une masse moléculaire de 306 uma. Il s'agit donc d'un isomère du composé **11**, identifié précédemment.

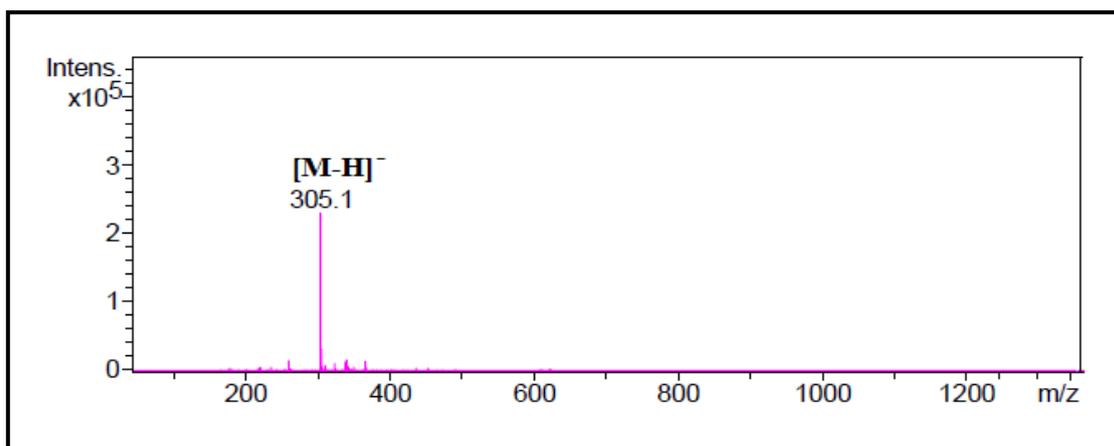


Figure III.87: Spectre ESI⁻ du composé **12**

Son spectre RMN 1H (Figure III.88) enregistré dans MeOD, montre une totale similitude structurale avec le composé **11**. On reconnaît les signaux des protons aromatiques H-6 [δ_H 5,93 (1H, *d*, $J = 2,2$)], H-8 [5,95 (1H, *d*, $J = 2,2$)], H-2'/H-6' [6,54 (2H, *s*)], en plus du signaux de protons caractéristiques du cycle C d'un flavanol, repérés à δ_H 4,77 (1H, *d*, $J = 1,5$ Hz, H-2), 4,19 (1H, *ddd*, $J = 4,5 ; 3,1 ; 1,5$ Hz, H-3), 3,87 (1H, *dd*, $J = 16,5 ; 4,5$ Hz, H-4a) et 3,75 (1H, *dd*, $J = 16,5 ; 3,1$ Hz, H-4b).

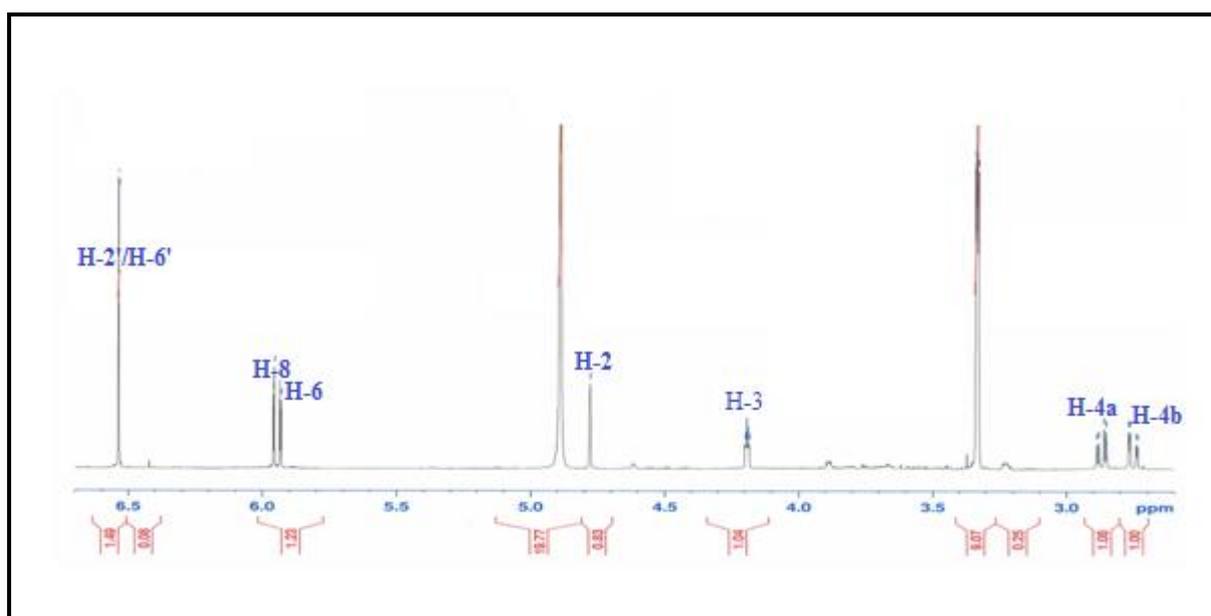


Figure III.88: Spectre RMN 1H du composé **12**

Cette analyse ajoutée à celle du spectre de masse qui montre que le composé **12** est de même masse moléculaire (306 uma) que le composé **11**, indique clairement qu'ils sont stéréoisomères.

La petite valeur de la constante de couplage $J_{H-2/H-3} = 1,5$ Hz traduisant une position *cis* pour les H-2 et H-3, permet d'attribuer au composé **12**, la structure de l'épigallocatechine, flavanol connu qui existe sous les deux formes énantiomères suivantes (Figure III.89) :

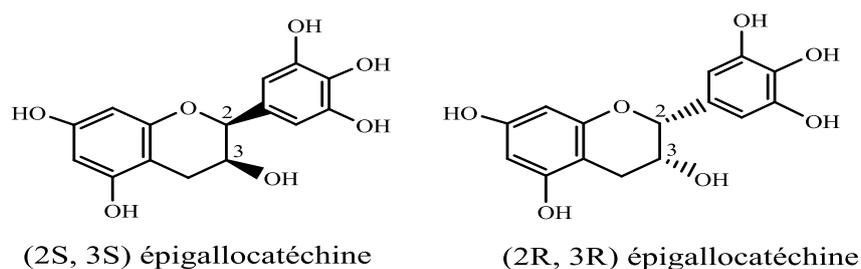


Figure III.89: Formes stéréo-isomères de l'épigallocatechine

La valeur du pouvoir rotatoire $[\alpha]_D = -33,5^\circ$ ($C = 0,42$ g/100 ml, MeOH) indique clairement que le composé **12** n'est autre que (2R,3R)-Epigallocatechine ou (2R,3R)-2-(3',4',5'-trihydroxyphenyl)chromane-3,5,7-triol.

Tous les carbones de ce flavanol ont été assignés par analyse des spectres RMN ^{13}C (Figure III.90) ainsi que la comparaison avec les données de la littérature [111].

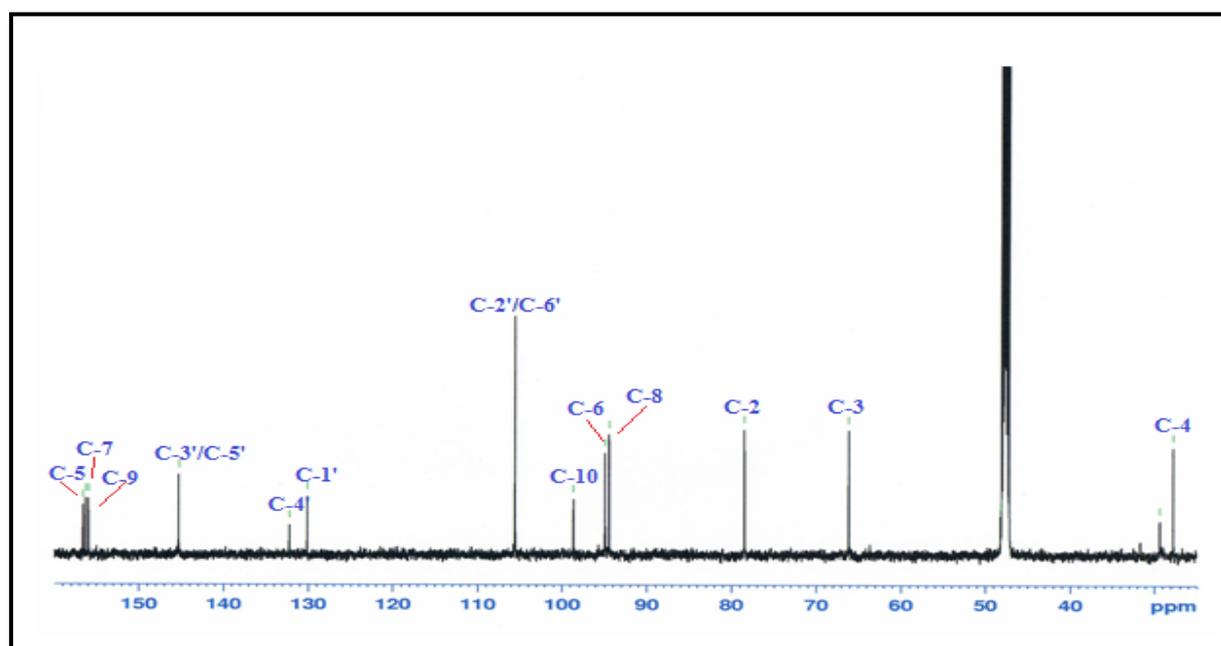


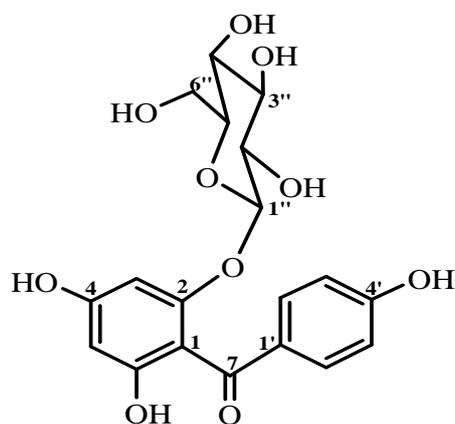
Figure III.90: Spectre RMN ^{13}C du composé 12

Ce composé a été isolé antérieurement de différentes espèces de la famille Cistaceae comme *Cistus salvifolius* [51] *Helianthemum glomeratum* [112] et *Helianthemum sessiliflorum* [74].

Tableau III.12: Déplacements chimiques RMN ^1H et ^{13}C du composé 12 dans CD_3OD

Position	δ_{H} m (J en Hz)	δ_{C}
2	4,77 <i>d</i> (1,5)	78,4
3	4,19 <i>ddd</i> (4,5; 3,1; 1,5)	66,1
4a	3,87 <i>dd</i> (16,5; 4,5)	27,7
4b	3,75 <i>dd</i> (16,5; 3,1)	
5	-	156,5
6	5,93 <i>d</i> (2,2)	94,9
7	-	156,2
8	5,95 <i>d</i> (2,2)	94,4
9	-	155,9
10	-	98,6
1'	-	130,1
2'	6,54 <i>s</i>	105,5
3'	-	145,2
4'	-	132,1
5'	-	145,2
6'	6,54 <i>s</i>	105,5

III.1.2.3.13. Elucidation structurale du composé 13



Iriflophénone-2-*O*- β -glucoside

Le spectre UV (Figure III.91) du composé **13** présente une bande d'absorption maximale à 290 nm, mettant en évidence son caractère conjugué, voire aromatique.

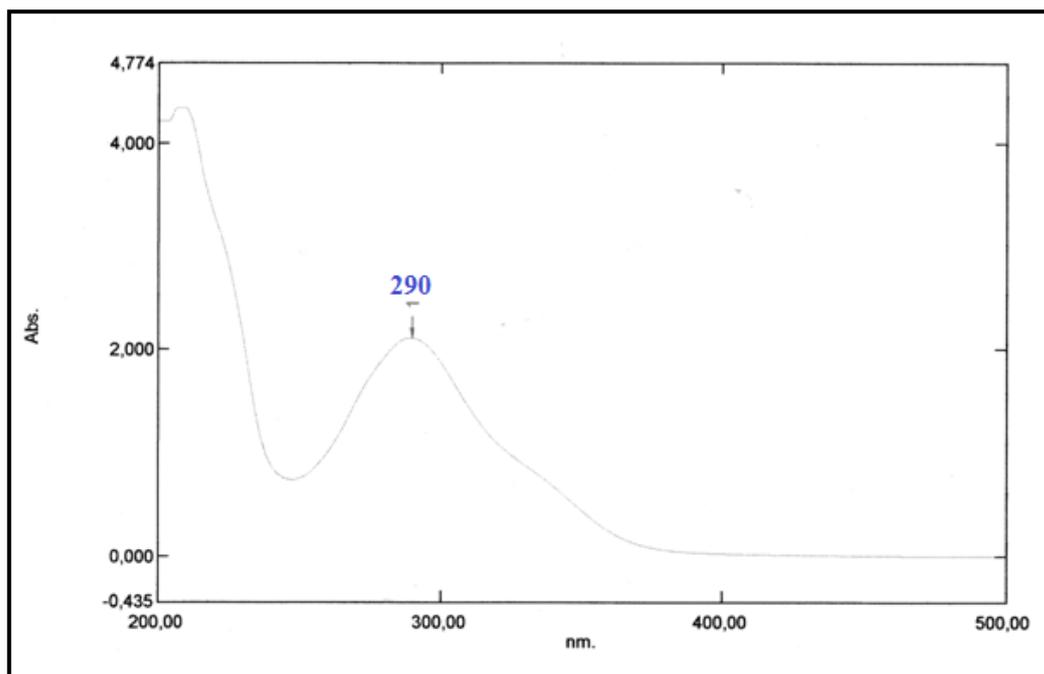


Figure III.91: Spectre UV du composé 13

Le spectre de masse ESI de ce composé (Figure III.92) exhibe deux pics d'ions pseudomoléculaires à m/z 407 $[M-H]^-$ et 814 $[2M-H]^-$, en accord avec une formule brute en $C_{19}H_{20}O_{10}$ et une masse moléculaire de 408 uma.

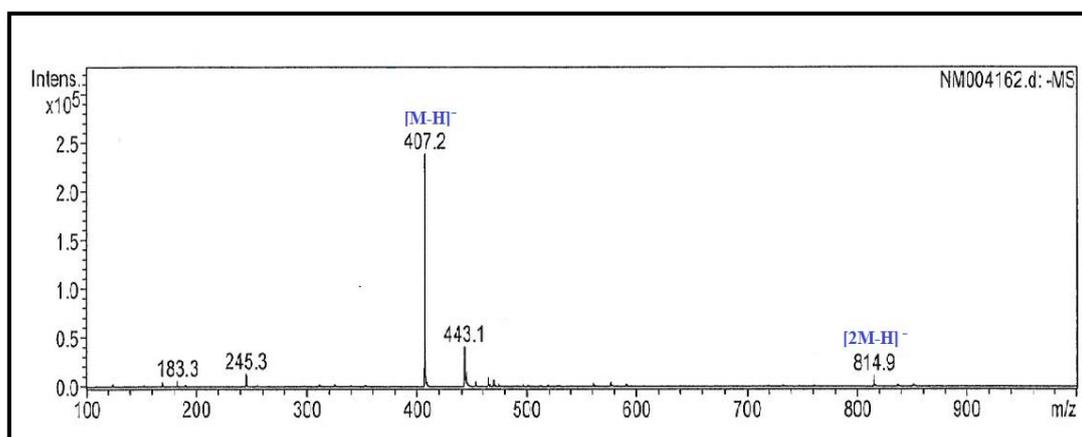


Figure III.92: Spectre de masse ESI du composé 13

Son spectre RMN 1H (Figure III.93), enregistré dans MeOD, renseigne d'emblée sur son caractère aromatique, à travers les signaux résonant entre 6 et 8 ppm. Il est également observé des signaux de protons osidiques entre 3 et 4 ppm et un signal de proton anomérique repéré à 4,82 ppm (1H, *d*, 7,7 Hz).

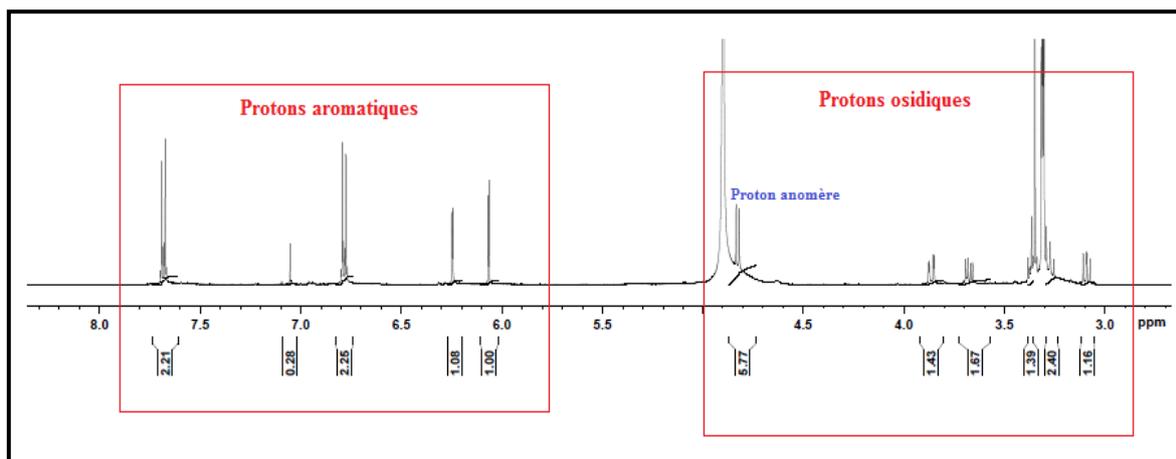


Figure III.93: Spectre RMN ¹H du composé 13

Le spectre RMN ¹³C *J*-modulé (Figure III.94) de ce composé présente des signaux de carbones aromatiques à δ_C 163,8 (C), 162,6 (C), 159,8 (C), 158,8 (C), 133,6 (2 CH), 132,4 (C), 115,9 (2 CH) et 110,4 (C), 98,3 (CH), 95,9 (CH). Les six signaux CH résonant entre 62 et 102 ppm sont attribuables aux carbones de l'unité osidique. Le caractère "benzophénonique" du composé est exprimé par un signal à δ_C 197,6, typique d'un carbone carbonyle d'une benzophénone [113]. Ce caractère est également attesté par le spectre UV à travers l'absorption à 290 nm [114].

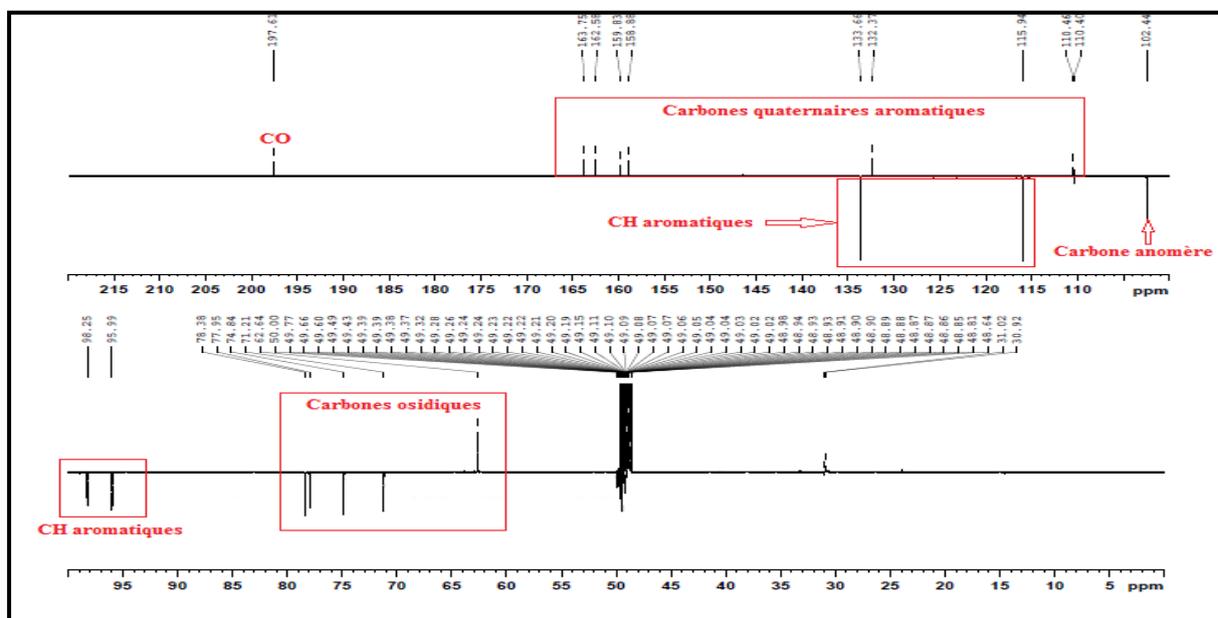
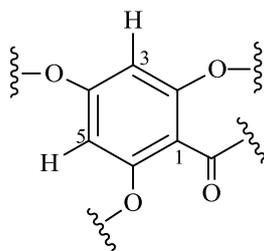


Figure III.94: Spectre RMN ¹³C *J*-modulé du composé 13

Cette première analyse, laisse suggérer que le composé 13 est une benzophénone porteuse d'une unité osidique.

L'élucidation structurale de ce composé est initiée par analyse du spectre RMN ^1H (Figure III.95) qui exhibe des signaux à δ_{H} 6,07 (1H, *d*, $J = 2$ Hz) et δ_{H} 6,24 (1H, *d*, $J = 2$ Hz), caractéristiques de 2 protons positionnés en méta d'un noyau aromatique tétrasubstitué. L'absence de corrélation HMBC entre ces derniers et le carbone du carbonyle autorise, pour ce noyau aromatique, la structure suivante :



Les deux doublets d'intégration 2H chacun, formant un système AB et résonant à δ_{H} 7,68 ($J = 8,8$ Hz) et δ_{H} 6,78 ($J = 8,8$ Hz), sont attribuables respectivement aux protons H-2'/H-6' et H-3'/H-5' du second noyau aromatique :

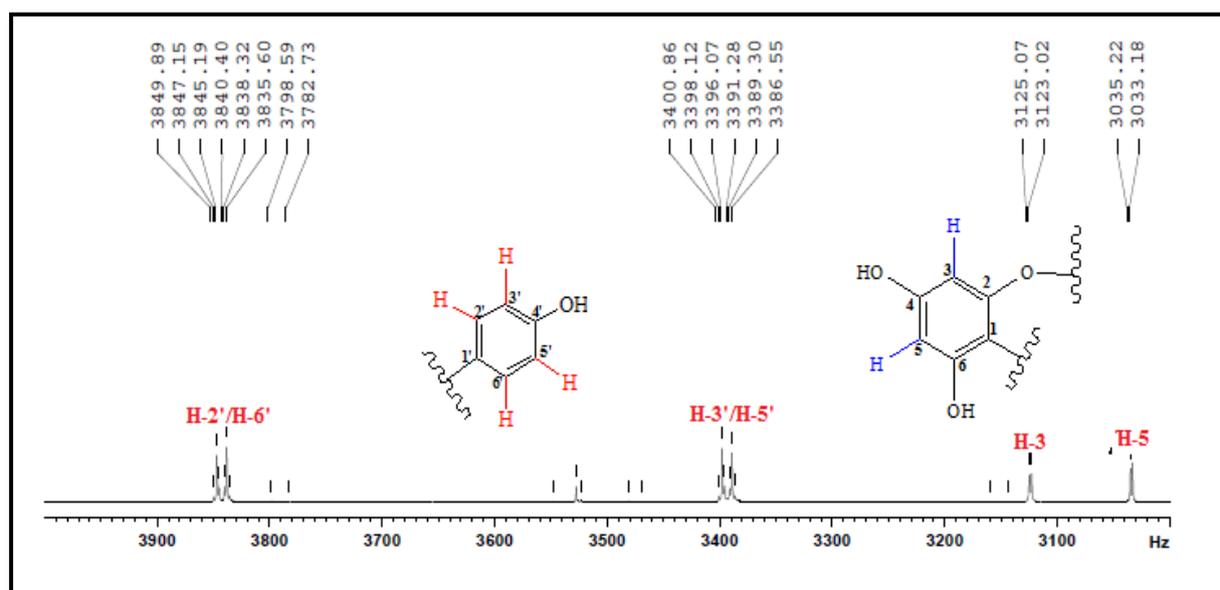
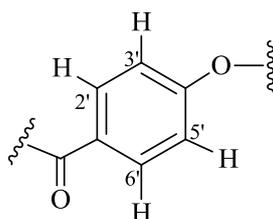


Figure III.95: Spectre RMN ^1H de la zone aromatique du composé 13

Ceci est confirmé par expérience COSY H-H (Figure III.96) qui montre clairement les deux systèmes de spins constituant les protons cités précédemment. Les signaux de leurs carbones résonant à δ_C 95,9 (C-3), δ_C 98,3 (C-5), δ_C 115,9 (C-3'/C-5'), δ_C 133,6 (C-2'/C-6')

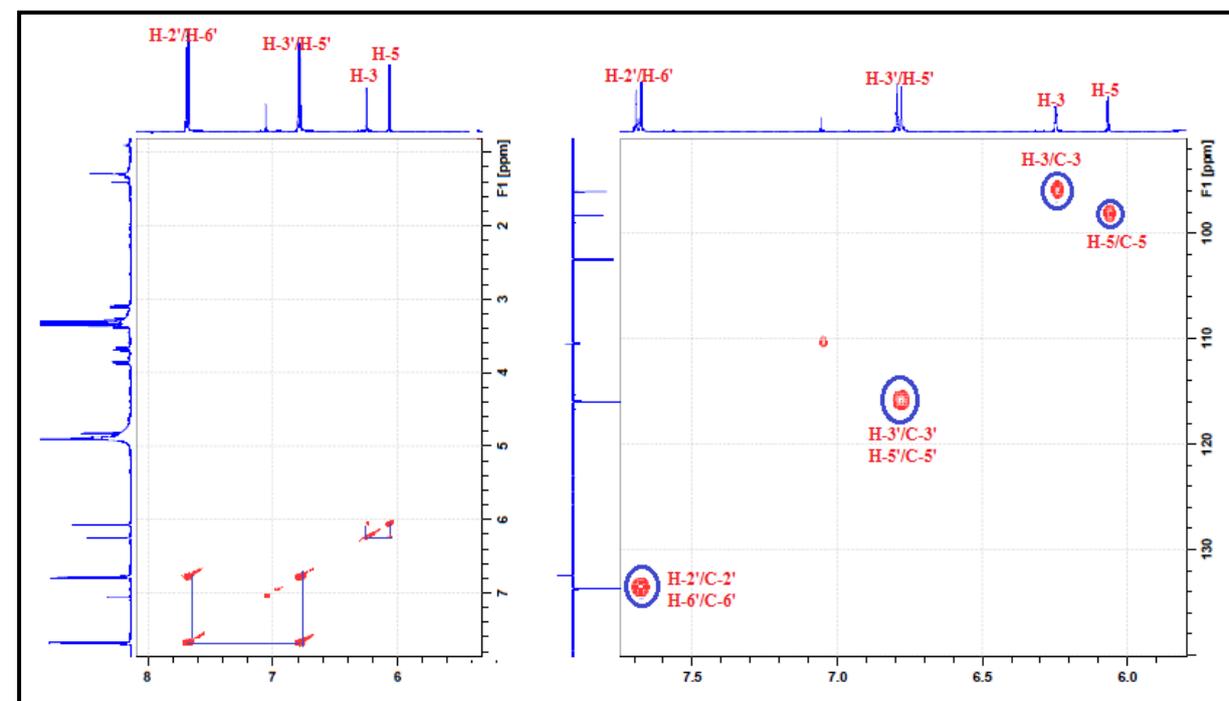


Figure III.96: Spectres COSY H-H et HSQC de la zone aromatique du composé 13

Le spectre HMBC (Figure III.97) permet d'identifier les autres carbones de ces deux cycles aromatiques et cela par l'observation des corrélations entre :

- ◇ le proton H-3 et deux carbones quaternaires résonant à δ_C 158,8 et 162,6 attribuables respectivement aux carbones oxygénés C-2 et C-4.
- ◇ le proton H-5 et un carbone quaternaire oxygéné à δ_C 159,8, correspondant au carbone C-6.
- ◇ les deux protons H-3, H-5 et un carbone quaternaire sortant à 110,4 ppm, ne pouvant être que le carbone C-1.
- ◇ les protons H-3'/H-5' et un carbone quaternaire à 132,4 ppm, s'accordant au carbone C-1'.
- ◇ Les protons H-2', H-3' et un carbone quaternaire oxygéné repéré à 162,6 ppm, correspondant au carbone C-4'.

Le même spectre HMBC (Figure III.97), outre la corrélation en $^3J_{C-H}$ observée entre les protons H-2'/H-6' et le carbonyle (δ_C 197,6), montre clairement un couplage entre le proton anomère (δ_H 4,82) de l'unité osidique et le carbone C-2 (δ_C 158,8) du noyau benzophénone, indiquant sa substitution à ce niveau par l'unité osidique.

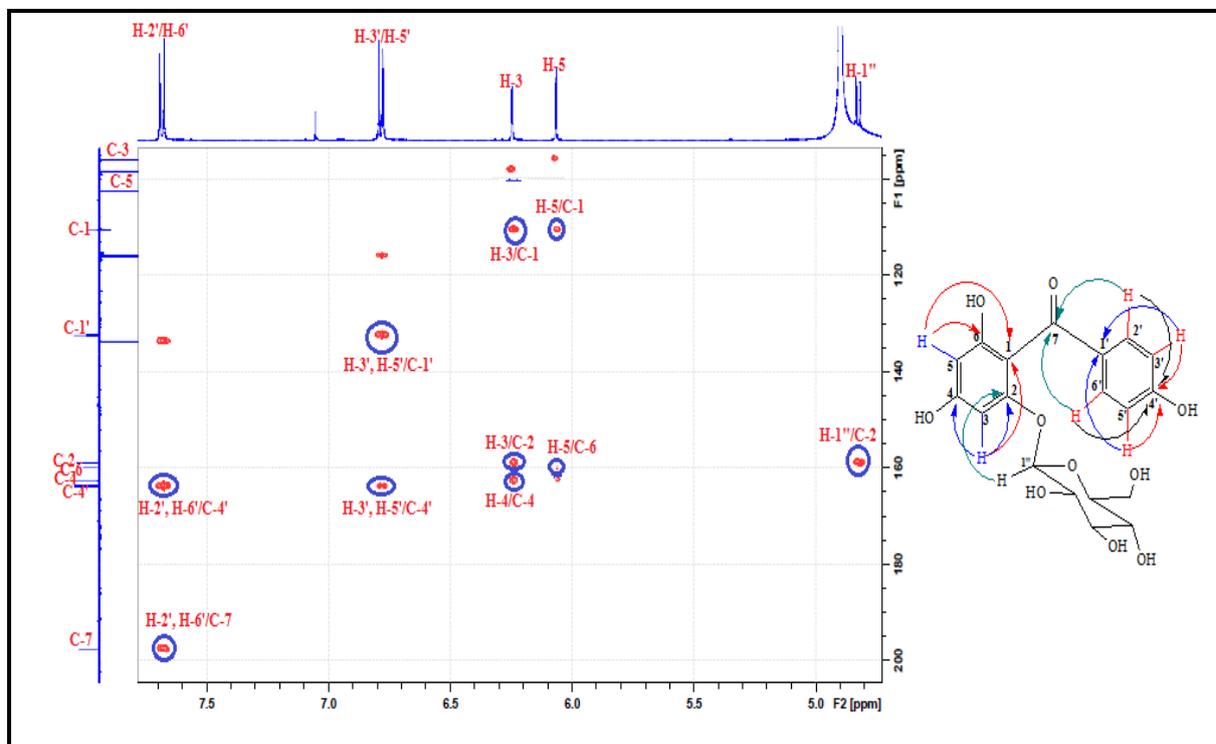


Figure III.97: Spectre HMBC du composé 13

L'identification de l'unité osidique à un hexose est attestée par analyse du spectre de masse ESI⁻ (Figure III.98) qui montre un pic de fragmentation à m/z 245 ($[M-H-162]^-$), (Figure III.99), lié à la perte d'une unité hexosyle.

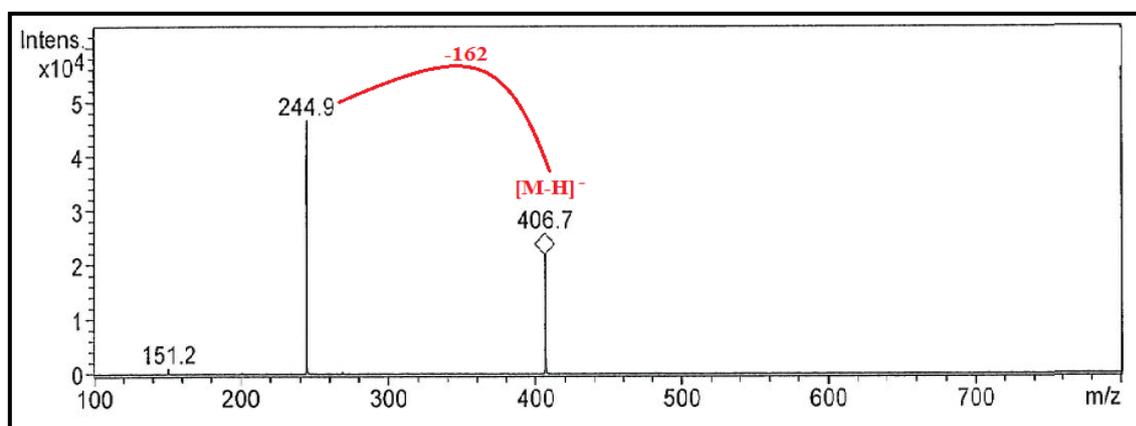


Figure III.98: Spectre ESI-MS (mode négatif) du composé 13

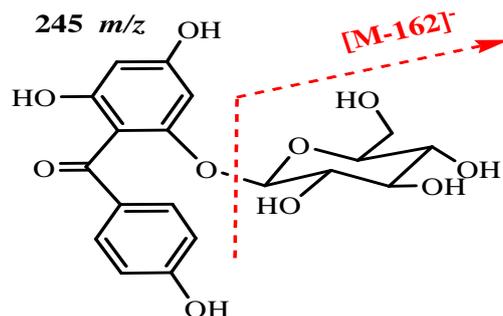
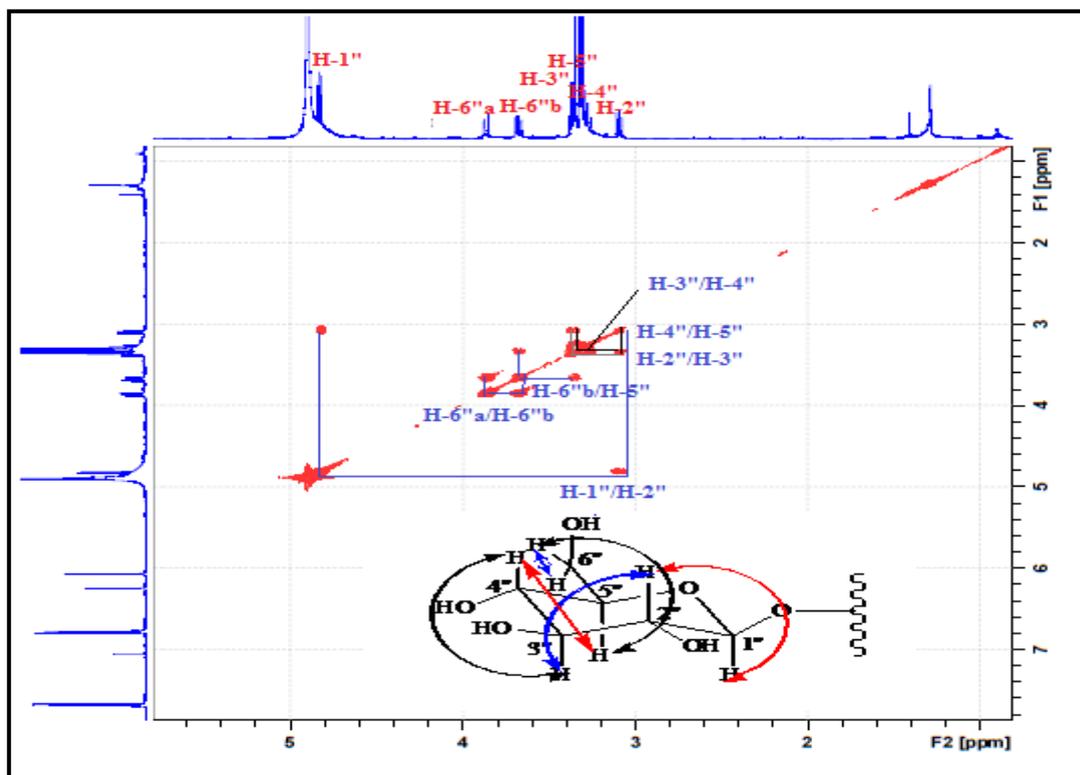


Figure III.99: Fragmentation du composé 13

L'identification de l'unité osidique repose essentiellement sur l'expérience COSY H-H (Figure III.100) qui montre la présence d'un système de spins à sept protons d'un hexose. En effet, partant du proton anomère H-1'' résonnant à δ_{H} 4,82 (*d*, $J = 7,7$ Hz) cité précédemment, il est observé les couplages H-1''/H-2'' (3,09 ppm, *dd*, $J = 7,7$; 9,2 Hz), H-2''/H-3'' (3,37 ppm, *t*, $J = 9,2$ Hz), H-3''/H-4'' (3,27 ppm, *t*, $J = 9,2$ Hz), H-4''/H-5'' (3,32 ppm, *m*) et enfin H-5''/H-6'' (3,85 ppm, *dd*, $J = 12,1$; 2,2 Hz, H-6''a ; 3,68 ppm, *dd*, $J = 12,1$; 5,6 Hz, H-6''b). Les grandes valeurs de constantes de couplage permettent d'identifier un glucose de configuration β ($J_{1''-2''} = 7,7$ Hz).

Figure III.100: Spectre COSY H-H du β -D-glucose

L'analyse combinée des spectres HSQC et HMBC permet d'assigner tous les signaux de carbones de ce composé (Figure III.101).

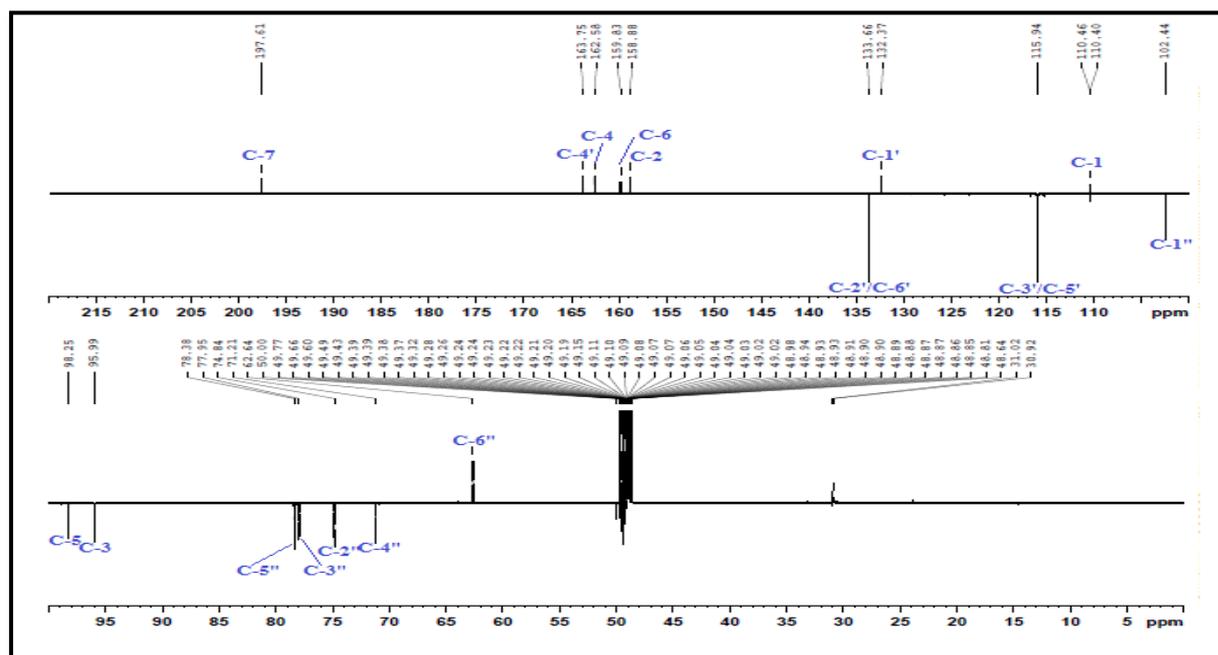
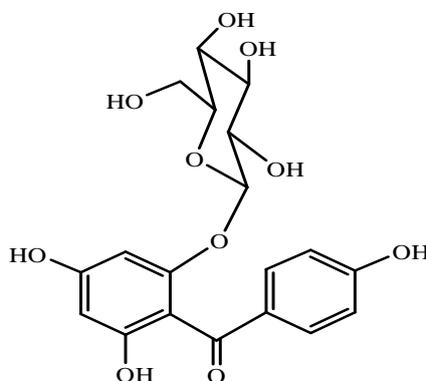


Figure III.101: Spectre RMN ^{13}C J-modulé du composé 13

L'ensemble de ces données spectroscopiques (Tableau III.13) et la valeur du pouvoir rotatoire $[\alpha]_{\text{D}} = -15,2^{\circ}$ ($C = 0,466 \text{ g}/100 \text{ ml}$, MeOH) permettent d'attribuer pour le composé **13**, appelé Iriflophénone-2-*O*- β -D-glucopyranoside, la structure suivante: 2-*O*- β -D-glucosyl-4,4',6-trihydroxybenzophénone. Ce composé a été rencontré uniquement dans deux espèces de plantes : *Coleogyne ramosissima* (Rosaceae) [115] et *Planchonella obovata* (Sapotaceae) [116]. Il a été donc identifié ici pour la troisième fois et la première fois dans la famille Cistaceae.

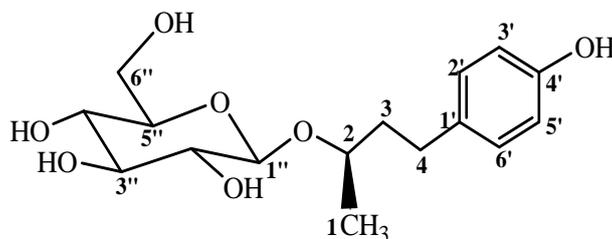


Les déplacements chimiques des protons et carbones de ce composé sont rassemblés dans le tableau ci-après (Tableau III.13).

Tableau III.13: Déplacements chimiques RMN ^1H et ^{13}C du composé 13 (MeOD)

Position	δ_{H} m (J en Hz)	δ_{C}
Aglycone		
1	-	110,4
2	-	158,8
3	6,24 <i>d</i> (2)	95,9
4	-	162,6
5	6,07 <i>d</i> (2)	98,3
6	-	159,8
7	-	197,6
1'	-	132,4
2'	7,68 <i>d</i> (8,8)	133,6
3'	6,78 <i>d</i> (8,8)	115,9
4'	-	163,8
5'	6,78 <i>d</i> (8,8)	115,9
6'	7,68 <i>d</i> (8,8)	133,6
β-D-Glucopyranosyl		
1''	4,82 <i>d</i> (7,7)	102,4
2''	3,09 <i>dd</i> (7,7 ; 9,2)	74,8
3''	3,37 <i>t</i> (9,2)	77,9
4''	3,27 <i>t</i> (9,2)	71,2
5''	3,32 <i>m</i>	78,4
6''a	3,85 <i>dd</i> (12,1 ; 2,2)	62,6
6''b	3,68 <i>dd</i> (12,1 ; 5,6)	

III.1.2.3.14. Elucidation structurale du composé 14

**(-)-Rhododendrine**

Le spectre de masse ESI⁺ (Figure III.102) du composé **14**, présente un pic d'ion pseudomoléculaire à $m/z = 351$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$, correspondant à une masse moléculaire de 328 uma et une formule brute en $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_7$.

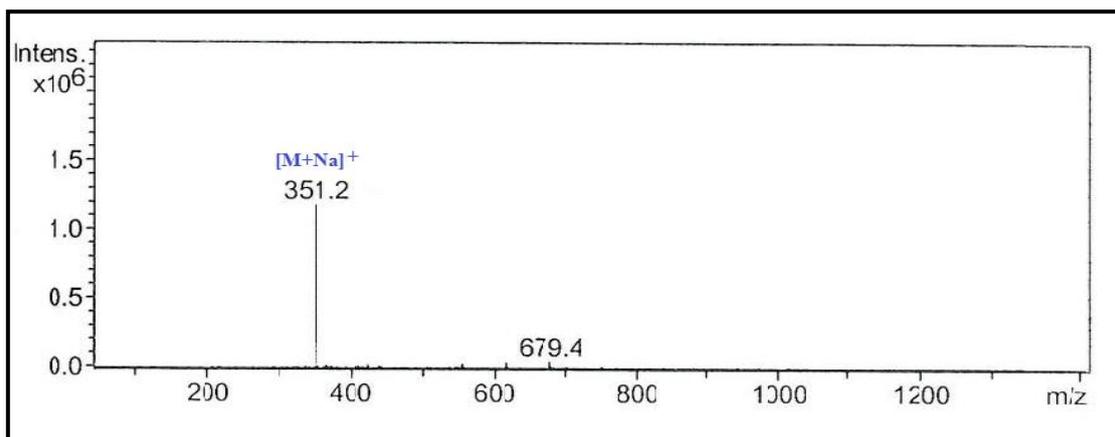


Figure III.102: Spectre de masse ESI⁺ du composé 14

Le spectre RMN ¹H (Figure III.103) de ce composé, à travers les signaux de quatre protons résonnant à δ_H 6,68 (2H, d, $J = 8,8$ Hz) et 7,02 (2H, d, $J = 8,8$ Hz), permet d'identifier un noyau aromatique paradisubstitué, comme le montre également l'expérience COSY H-H (Figure III.104).

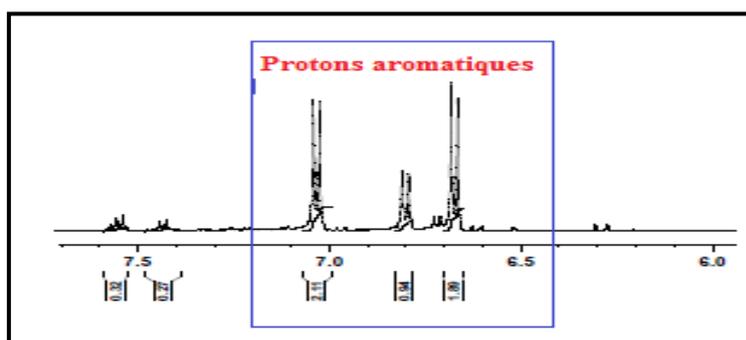


Figure III.103: Spectre RMN ¹H (zone aromatique) du composé 14

L'expérience HSQC a permis d'assigner les déplacements chimiques (δ_C 116,1 et 130,5) des carbones qui les portent (Figure III.104).

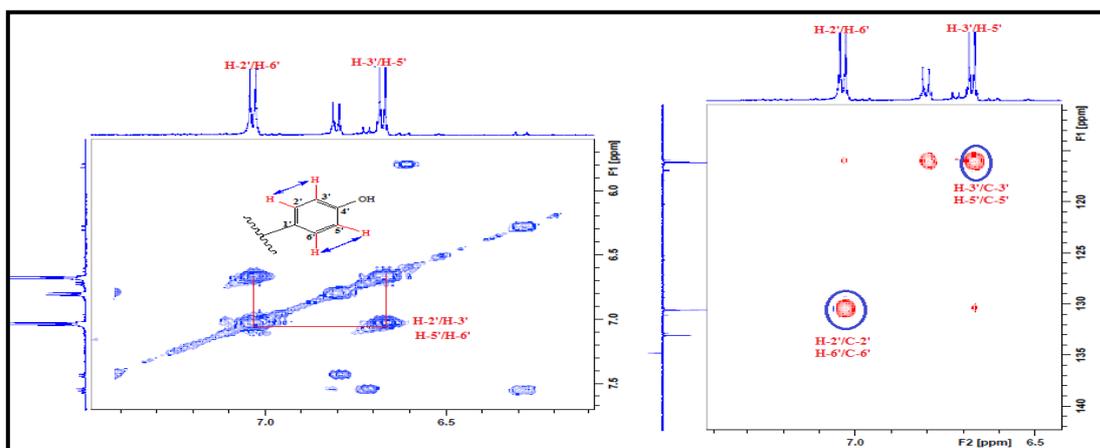


Figure III.104: Spectres COSY H-H et HSQC (zone aromatique) du composé 14

Sur le spectre RMN ^1H (Figure III.105), il est également observé un signal d'un proton oxyméthine à δ_{H} 3,90 (1H, *nd*) trois signaux correspondant à 4 protons méthyléniques, deux non équivalents à δ_{H} 1,68 (1H, *m*) et 1,85 (1H, *m*), deux équivalents à δ_{H} 2,62 (2H, *m*), et enfin un signal doublet d'intégration 3H de protons méthyliques résonant à δ_{H} 1,20 (3H, *d*, $J = 6$ Hz).

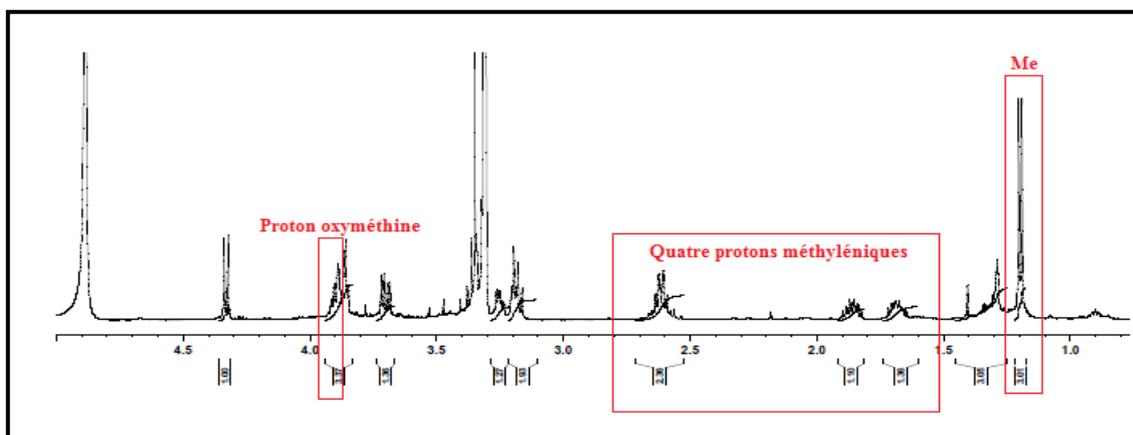


Figure III.105: Spectre RMN ^1H de la zone aliphatique du composé 14

L'expérience COSY H-H (Figure III.106) montre clairement que ces protons sont inclus dans un même système de spins, mettant en évidence la présence d'une chaîne aliphatique. En effet, à partir des protons du groupement méthyle (δ_{H} 1,20, *d*, $J = 6$ Hz, Me-1), on relie le proton nommé H-2 (δ_{H} 3,90, *nd*) du groupement oxyméthine, les deux protons non équivalents CH_2 -3 (δ_{H} 1,85, *m*, H-3a) et (δ_{H} 1,68, *m*, H-3b), et enfin les protons équivalents CH_2 -4 (δ_{H} 2,62, 2H, *m*, H-4).

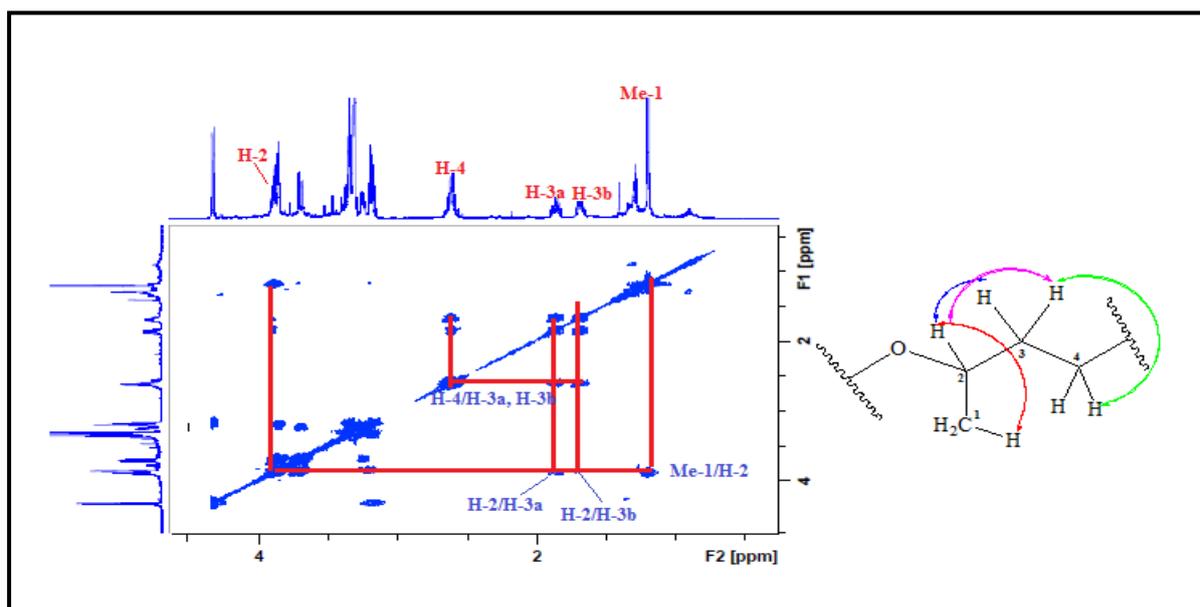


Figure III.106: Spectre COSY H-H de la zone aliphatique du composé 14

L'expérience HSQC (Figure III.107) a permis d'assigner les déplacements chimiques de tous les carbones de cette chaîne aliphatique C-1 (δ_C 20,1), C-2 (δ_C 75,2), C-3 (δ_C 40,7) et C-4 (δ_C 31,9).

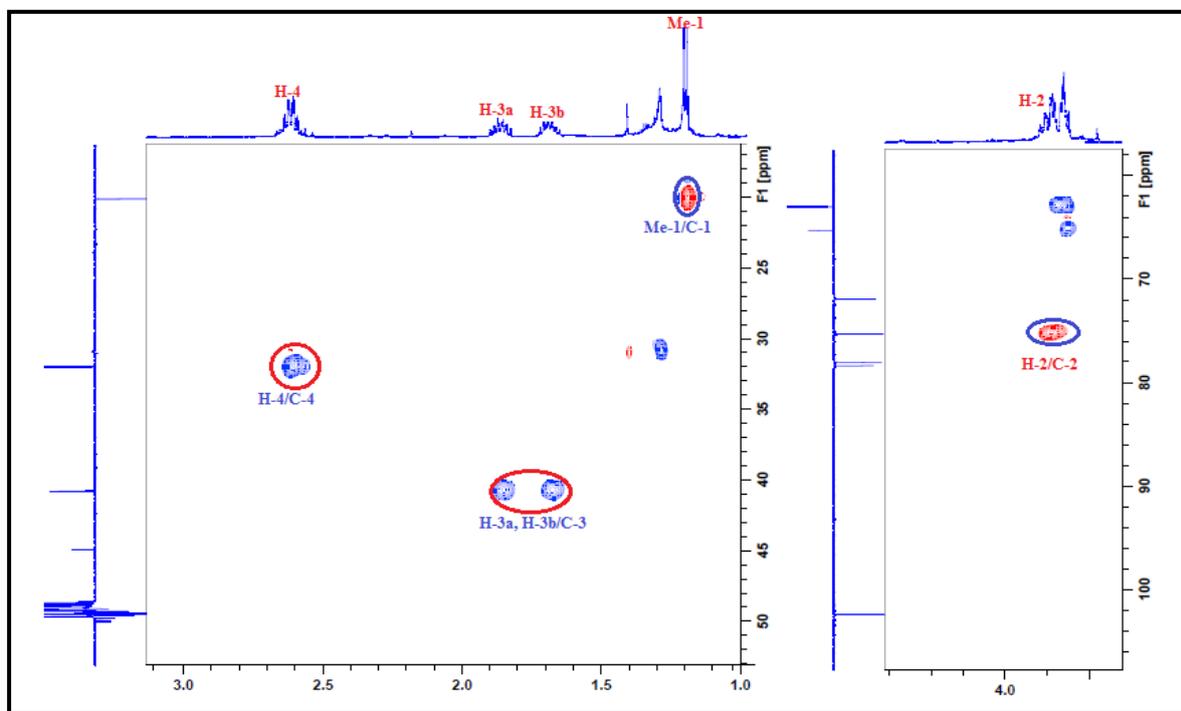


Figure III.107: Spectre HSQC de la zone aliphatique du composé 14

Le spectre RMN ^1H (Figure III.108) exhibe également des signaux caractéristiques de protons osidiques sortant dans l'intervalle 3,20-4,50 ppm mettant en évidence l'existence d'une seule unité osidique, et dont le proton anomère (H-1'', d , $J = 8$ Hz) est repéré à δ_H 4,33.

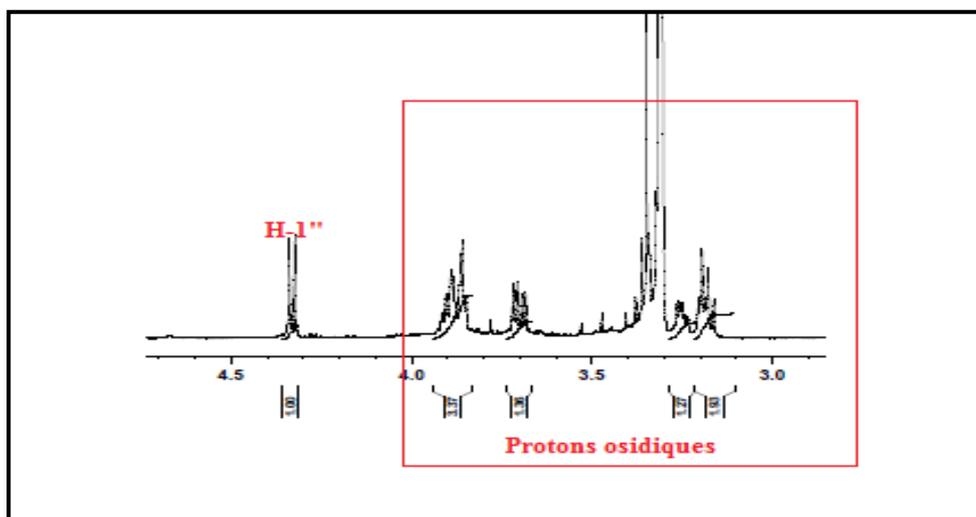


Figure III.108: Spectre RMN ^1H (région 1,20-4,50 ppm) du composé 14

Le spectre COSY H-H (Figure III.109) permet d'identifier sept protons d'un hexose, à travers les couplages H-1''/H-2'' (3,18 ppm, *dd*, $J = 9,2 ; 8$ Hz), H-2''/H-3'' (3,36 ppm, *t*, $J = 9,2$ Hz), H-3''/H-4'' (3,34 ppm, *nd*), H-4''/H-5'' (3,25 ppm, *ddd*, $J = 8,2 ; 5,5 ; 2,5$ Hz) et enfin H-5''/H-6''a (3,88 ppm, *dd*, $J = 11,8 ; 2$ Hz) et H-6''b (3,71 ppm, *dd*, $J = 11,8 ; 5,5$). Les valeurs de constantes de couplage permettent d'identifier un glucose de configuration β ($J_{1''-2''} = 8$ Hz).

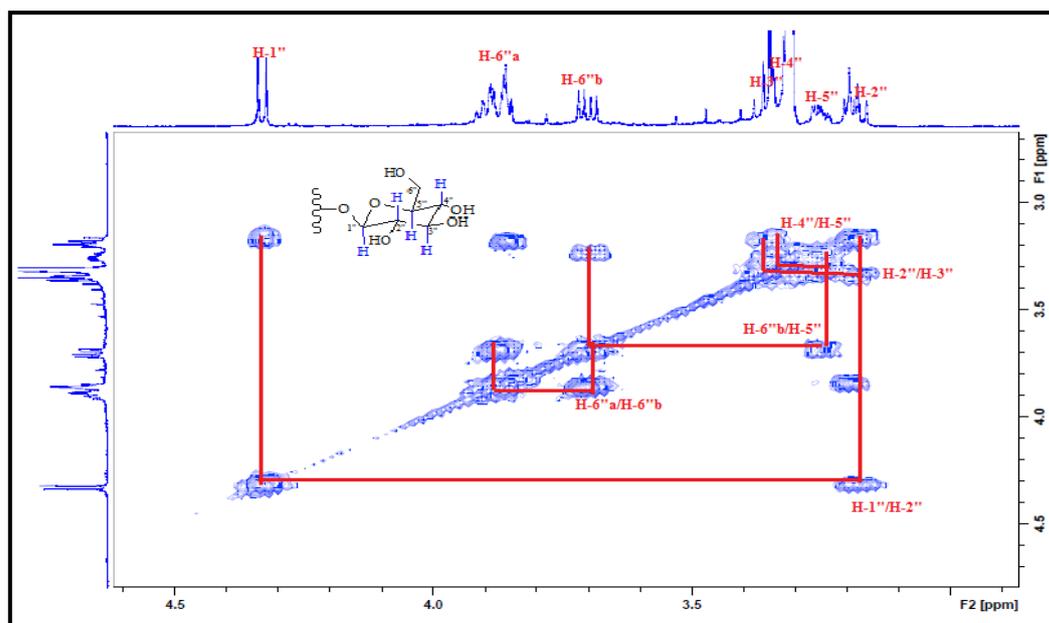
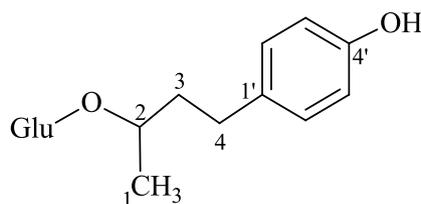


Figure III.109: Spectre COSY H-H du glucose

Il apparaît ainsi que le composé **14** est un dérivé phénolique constitué d'un noyau aromatique paradisubstitué, porteur d'une unité glucosyle et d'une chaîne aliphatique dont la structure a été élucidée plus haut. Le branchement de cette dernière sur le noyau aromatique est attesté par l'analyse HMBC (Figure III.110) qui met en évidence un couplage hétéronucléaire en $^3J_{C-H}$ entre les protons H₂-4 de cette chaîne (δ_H 2,62) et les carbones aromatiques C-2'/C-6' (δ_C 130,5) déterminés précédemment. En outre, l'observation d'une corrélation HMBC entre le proton anomère H-1'' du glucose (δ_H 4,33) et le carbone C-2 (δ_C 75,2) de la chaîne aliphatique permet d'établir l'enchaînement illustré ci-dessous.



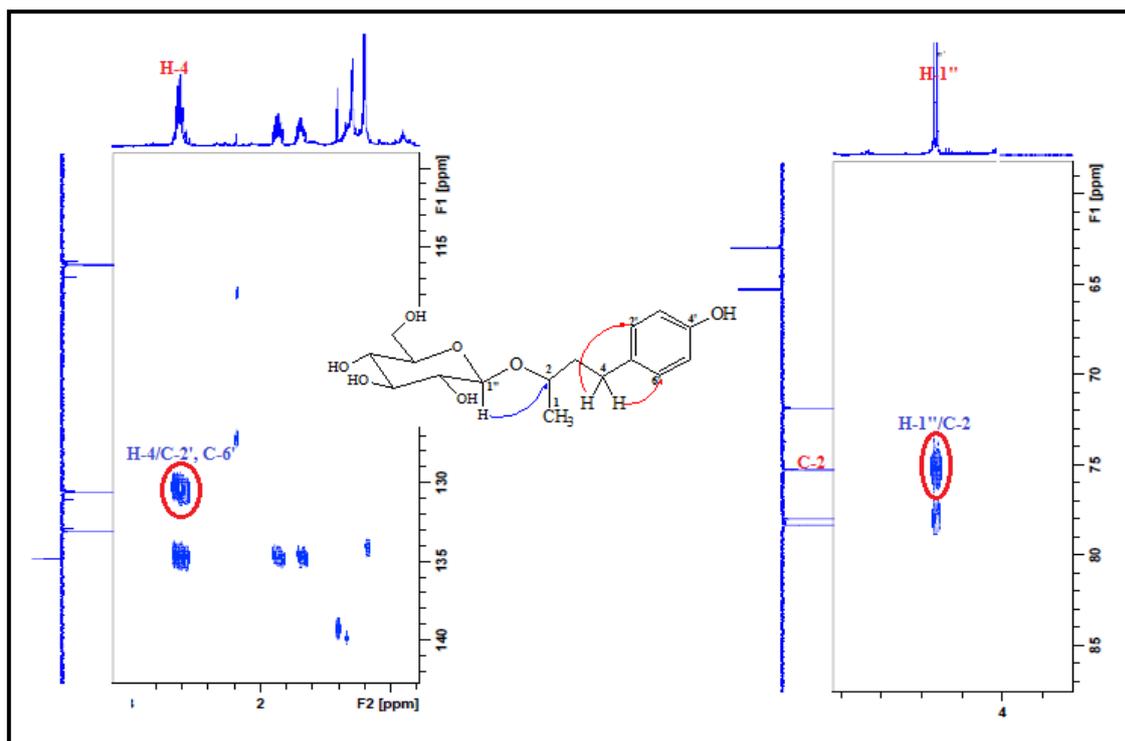
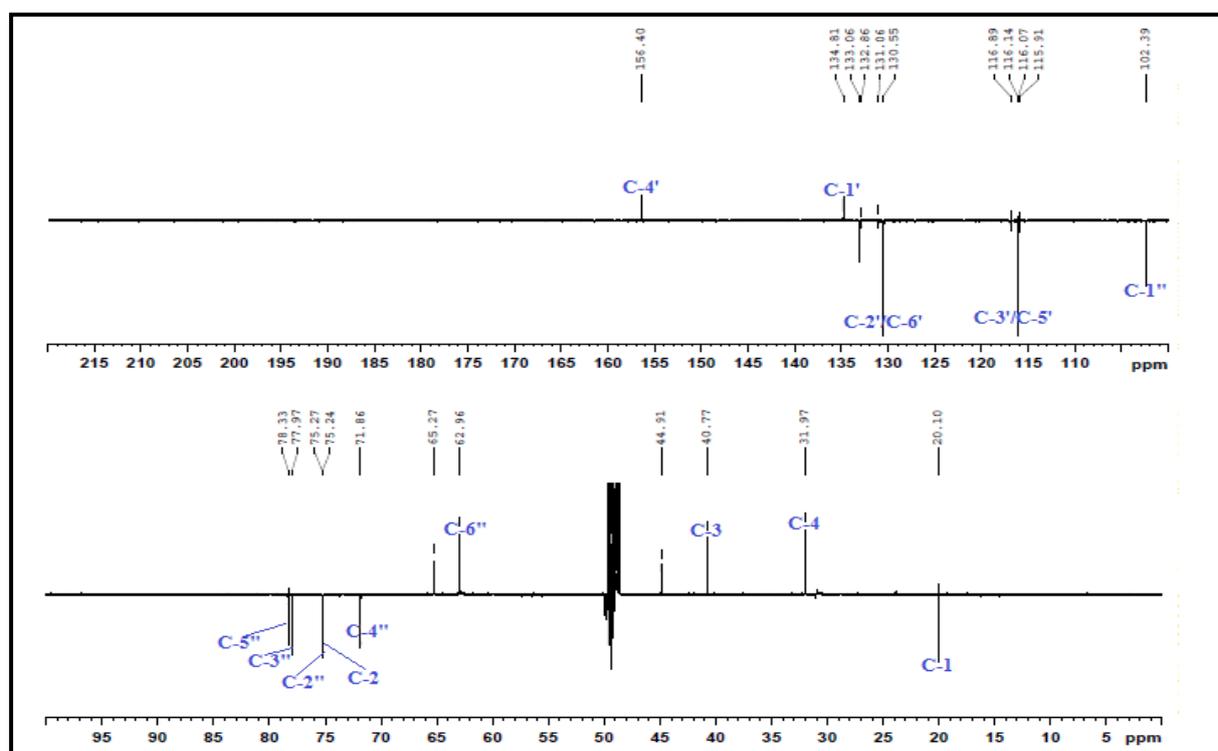
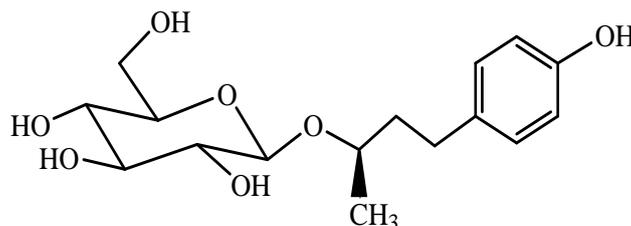


Figure III.110: Spectre HMBC du composé 14

Par ailleurs, l'analyse conjuguée des spectres HSQC et HMBC permet d'assigner tous les signaux de carbones de ce composé (Figure III.111).

Figure III.111: Spectre RMN ^{13}C J-modulé du composé 14

Toutes ces données spectrales (Tableau III.14) établies par RMN ^1H , ^{13}C , COSY H-H, HMBC et HSQC, la valeur du pouvoir rotatoire $[\alpha]_{\text{D}} = -17,6^\circ$ ($C = 0,1 \text{ g}/100 \text{ ml}$, MeOH) ainsi que la comparaison avec les données de la littérature [117], permettent d'attribuer sans ambiguïté pour le composé **14** la structure suivante: 4-(*p*-hydroxyphényl) but-2-yl- β -D-glucopyranoside. Ce composé, est connu sous le nom de Bétuloside [118], a été isolé précédemment d'une plante Cistaceae : *Cistus salvifolius* [51]. Il est décrit pour la première fois dans le genre *Fumana*.

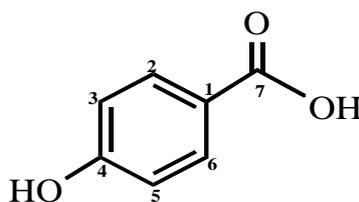


Les déplacements chimiques des protons et carbones de ce composé sont rassemblés dans le tableau III.14 ci-dessous.

Tableau III.14: Déplacements chimiques RMN ^1H et ^{13}C du composé 14 (MeOD)

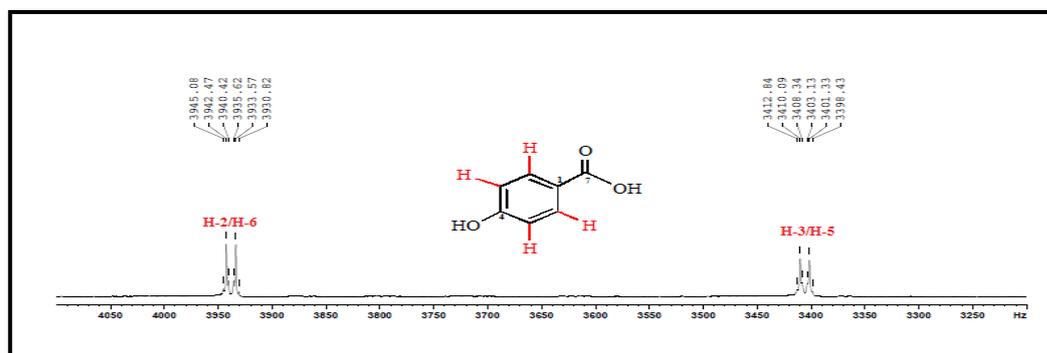
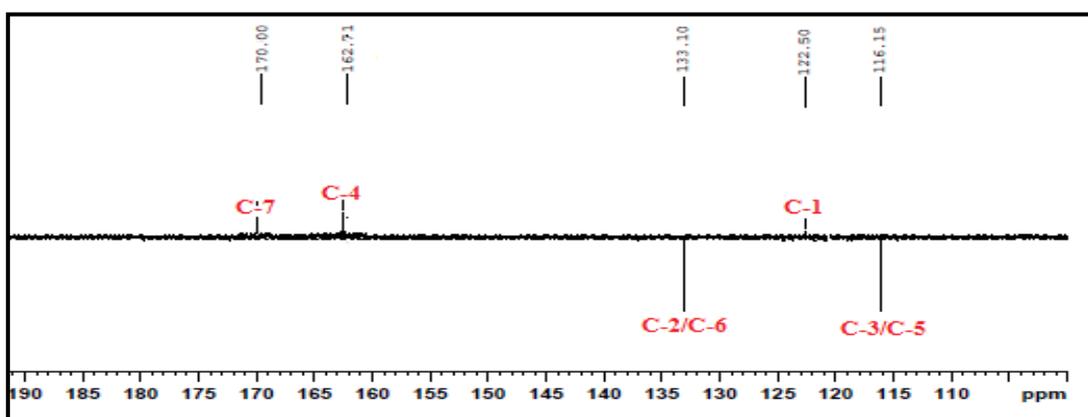
Position	δ_{H} <i>m</i> (J en Hz)	δ_{C}
Aglycone		
1	1,20 <i>d</i> (6)	20,1
2	3,90 <i>m</i>	75,2
3a	1,85 <i>m</i>	40,7
3b	1,68 <i>m</i>	40,7
4	2,62 <i>m</i>	31,9
1'	-	134,8
2'	7,02 <i>d</i> (8,2)	130,5
3'	6,68 <i>d</i> (8,2)	116,1
4'	-	156,4
5'	6,68 <i>d</i> (8,2)	116,1
6'	7,02 <i>d</i> (8,2)	130,5
β-D-Glucopyranosyl		
1''	4,33 <i>d</i> (8)	102,4
2''	3,18 <i>dd</i> (9,2 ; 8)	75,2
3''	3,36 <i>t</i> (9,2)	77,9
4''	3,34 <i>nd</i>	71,8
5''	3,25 <i>ddd</i> (8,2 ; 5,5 ; 2,5)	78,3
6''a	3,88 <i>dd</i> (11,8 ; 2)	62,9
6''b	3,71 <i>dd</i> (11,8 ; 5,5)	

III.1.2.3.15. Elucidation structurale du composé 15

Acide *p*-hydroxybenzoïque

Le composé **15** a été obtenu sous forme d'une poudre blanche qui donne une tache visible en UV (366 et 254 nm), donnant sur CCM une couleur bleue après pulvérisation par une solution acide et chauffage.

L'analyse des spectres RMN ^1H et ^{13}C *J*-modulé (Figure III.112 et III.113) ainsi que la comparaison avec les données de la littérature [119] ont permis d'identifier le composé **15** à l'acide carboxylique *p*-hydroxybenzoïque. Ce composé a été isolé précédemment à partir de plantes Cistaceae comme *Cistus ladanifer* [120], *Helianthemum sessiliflorum* [74]. Il est décrit pour la première fois dans le genre *Fumana*.

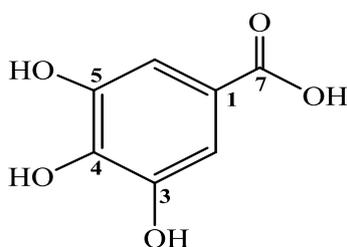
Figure III.112: Spectre RMN ^1H du composé 15Figure III.113: Spectre RMN ^{13}C *J*-modulé du composé 15

Les valeurs des déplacements chimiques des protons et carbones du composé **15** sont rassemblées dans le tableau III.15.

Tableau III.15: Déplacements chimiques RMN ^1H et ^{13}C du composé 15 (MeOD)

Position	δ_{H} m (J en Hz)	δ_{C}
1	-	122,5
2	7,87 d (8,8)	133,1
3	6,81 d (8,8)	116,2
4	-	162,7
5	6,81 d (8,8)	116,2
6	7,87 d (8,8)	133,1
7	-	170,0

III.1.2.3.16. Elucidation structurale du composé 16



Acide gallique

Le composé **16** a été isolé sous forme de cristaux bruns. Il est visible en UV (254 et 366 nm) et réagit sur CCM en donnant une coloration bleue après pulvérisation par une solution acide et chauffage.

Son spectre RMN ^1H , enregistré dans MeOD à 500 MHz (Figure III.114), montre la présence d'un seul signal à δ_{H} 7,02 (2H, s), attestant la présence d'un noyau aromatique symétrique tétrasubstitué.

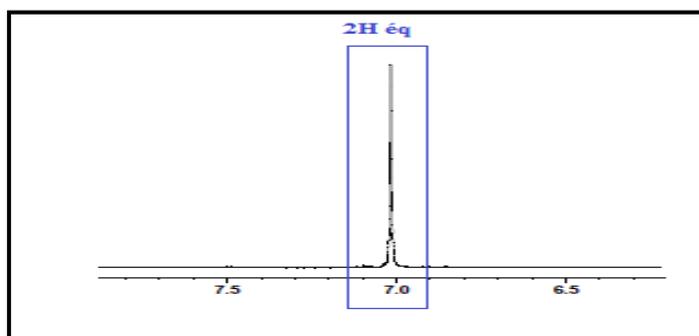


Figure III.114: Spectre RMN ^1H du composé 16

Son spectre de masse obtenu par ionisation douce (ESIMS) montre en mode négatif (Figure III.115), deux pics d'ions pseudomoléculaires à $m/z = 339$ $[2M-H]^-$ et 169 $[M-H]^-$, soit une masse moléculaire de 170 uma correspondant à une formule brute en $C_7H_6O_5$.

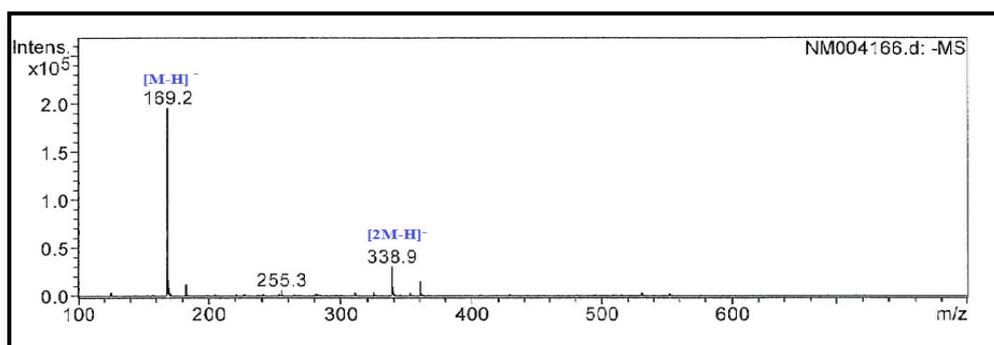
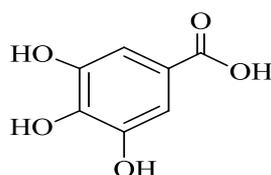


Figure III.115: Spectre de masse ESI⁻ du composé 16

Ceci permet de suggérer que notre composé est constitué d'un noyau aromatique porteur de trois groupements hydroxyles et d'un groupement carboxyle, nous orientant vers un composé dérivé de l'acide benzoïque, connu sous le nom d'acide gallique.



Ce constat est confirmé aisément sur le spectre RMN ^{13}C J -modulé (Figure III.116) qui permet de reconnaître tous les signaux des carbones de l'acide gallique [39], à savoir le signal du carbone $\underline{C}OOH$ (δ_C 168,2), deux signaux intenses à δ_C 108,8 et 145,5 correspondant respectivement aux carbones aromatiques C-2/C-6 et C-3/C-5 ainsi que les deux signaux résonant à δ_C 121,2 et 137,8 des carbones quaternaires C-1 et C-4.

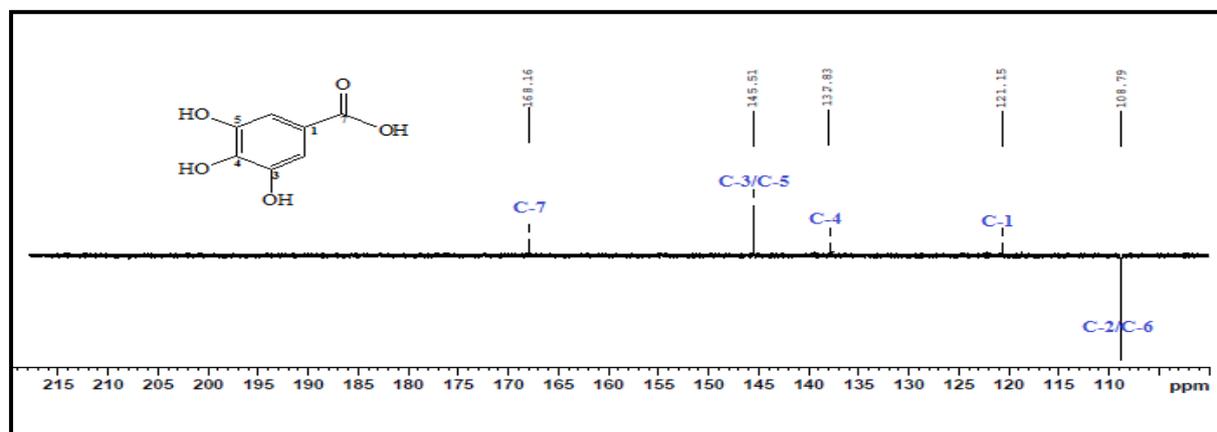


Figure III.116: Spectre RMN ^{13}C J -modulé du composé 16

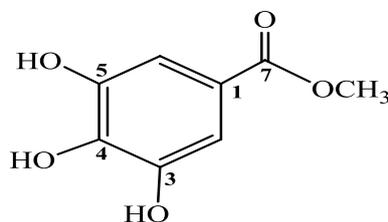
Ces données spectroscopiques ainsi que la comparaison, aussi bien avec les données de la littérature [111] qu'avec un échantillon témoin, ont permis d'identifier le composé **16** à l'acide 3,4,5-trihydroxybenzoïque nommé acide gallique. Ce composé a été isolé antérieurement de différentes espèces de la famille Cistaceae comme *Cistus ladanifer* [48], *Tuberaria lignosa* [75] et *Helianthemum sessiliflorum* [74]. Il possède un pouvoir antioxydant, anti-inflammatoire, anti-carcinogène et antimicrobien [121, 122].

Les déplacements chimiques des signaux observés en RMN ^1H et ^{13}C sont réunis dans le tableau III.16.

Tableau III.16: Déplacements chimiques RMN ^1H et ^{13}C du composé 16 (MeOD)

Position	δ_{H} m (J en Hz)	δ_{C}
1	-	121,2
2	7,02 <i>s</i>	108,2
3	-	145,5
4	-	137,8
5	-	145,5
6	7,02 <i>s</i>	108,2
7	-	168,2

III.1.2.3.17. Elucidation structurale du composé 17



Gallate de méthyle

Le composé **17** a été obtenu sous forme de cristaux blancs. Il montre une tache visible en UV (254 et 366 nm), se colorant en bleu après pulvérisation sur CCM par une solution acide puis chauffage.

Son spectre de masse ESI^+ (Figure III.117) exhibe deux pics d'ions pseudomoléculaires à $m/z = 391$ $[2\text{M}+\text{Na}]^+$ et 207 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, soit une masse moléculaire de 184 uma correspondant à une formule brute en $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_5$.

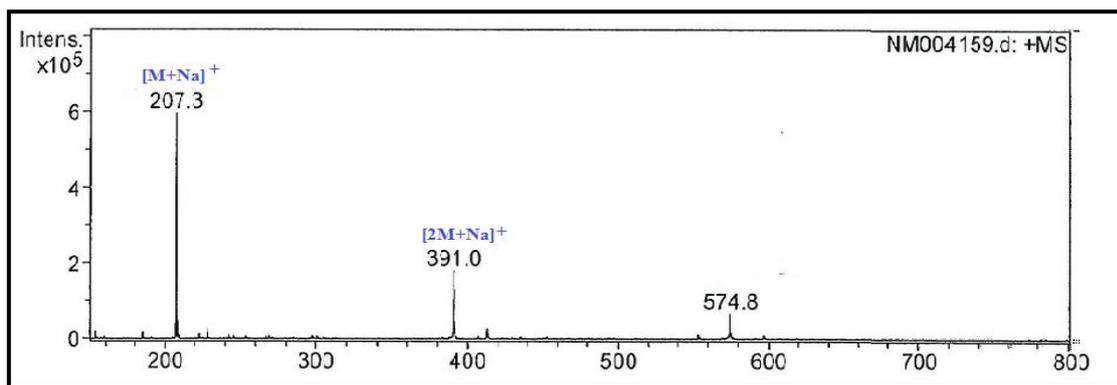


Figure III.117: Spectre de masse ESI⁺ du composé 17

Les spectres RMN ^1H et ^{13}C *J*-modulé (Figure III.118 et III.119) du composé 17 montrent une forte similitude structurale avec le composé 16. La seule différence remarquable réside en l'apparition des signaux de protons et carbone d'un groupement méthoxyle (δ_{H} 3,80/ δ_{C} 52,4). Le déplacement chimique du carbone de l'ordre de 52,4 ppm est caractéristique d'un méthoxyle d'ester [123].

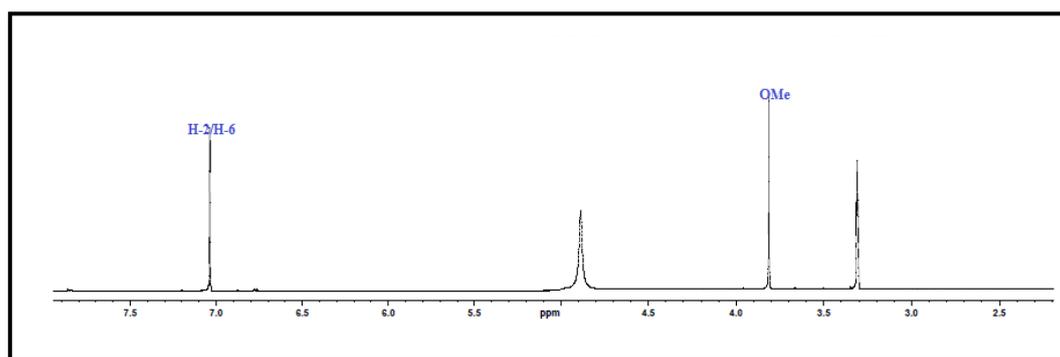


Figure III.118: Spectre RMN ^1H du composé 17

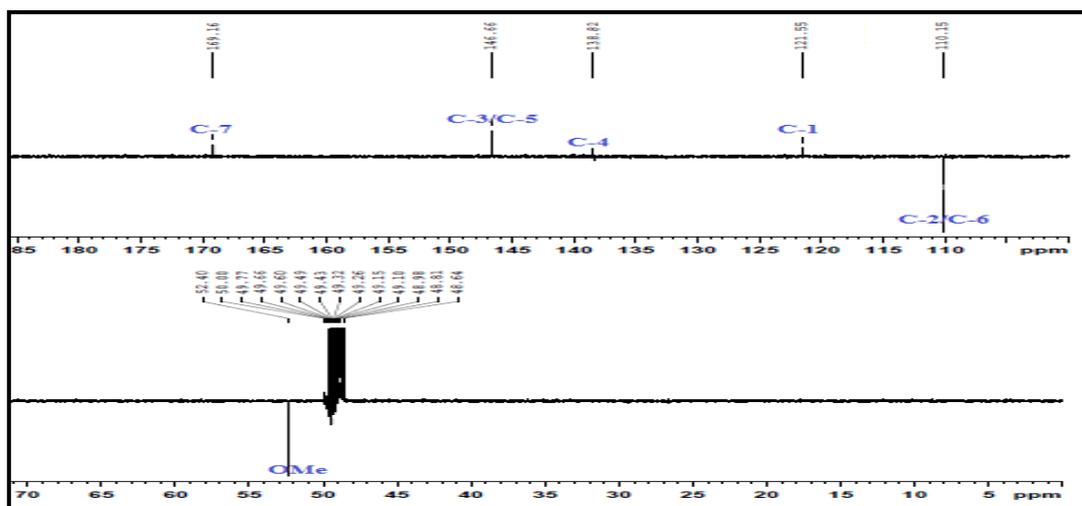
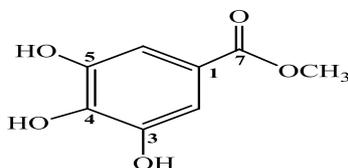


Figure III.119: Spectre RMN ^{13}C *J*-modulé du composé 17

Ces données spectrales et la comparaison avec les données de la littérature [123], permettent d'identifier ce composé au 3,4,5-trihydroxybenzoate de méthyle, connu sous le nom gallate de méthyle.



Le gallate de méthyle, qui originellement est le composé majoritaire de l'espèce *Galla Rhois* (Anacardiaceae) [124], a été également rencontré dans un nombre important d'espèces appartenant à diverses familles botaniques. On citera *Klainedoxa gabonensis* (Irvingiaceae) [125], *Labisia pumila* Benth. (Myrsinaceae) [126] et *Givotia rottleriformis* Griff. (Euphorbiaceae) [127].

Il est à signaler que de nombreuses études biologiques effectuées sur ces deux composés (acide gallique **AG** et gallate de méthyle **GM**), confèrent à ces derniers un intérêt biologique évident, notamment un potentiel antiprolifératif sur les cellules tumorales épidermoïdes A431 humaines [127].

Les valeurs des déplacements chimiques des protons et carbones du composé **17** sont regroupées dans le tableau III.17.

Tableau III.17: Déplacements chimiques RMN ^1H et ^{13}C du composé **17 (MeOD)**

Position	δ_{H} m (J en Hz)	δ_{C}
1	-	121,5
2	7,02 <i>s</i>	110,1
3	-	146,6
4	-	138,4
5	-	146,6
6	7,02 <i>s</i>	110,1
7	-	169,1
COOCH ₃	3,80 <i>s</i>	52,4

III.2. Conclusion

Ce travail consacré à l'étude phytochimique de la plante *Fumana montana* Pomel appartenant à la famille Cistaceae, espèce n'ayant fait l'objet d'aucune investigation chimique antérieure, a révélé sa grande richesse en métabolites secondaires à squelettes phénolique et polyphénolique. L'extraction de la plante entière et les séparations chromatographiques

successives ont permis d'isoler 17 composés constitués majoritairement de flavonoïdes. Trois flavonols glycosylés et acylés se sont avérés nouveaux.

Ces métabolites secondaires identifiés et caractérisés par différentes techniques spectroscopiques, particulièrement la RMN 2D et la spectrométrie de masse ESI-MS, se répartissent en :

- douze flavonoïdes (10 flavonols et 2 flavanols) dont les trois premiers sont nouveaux :
 - ◇ 3-méthoxy-7-*O*-β-(6''-galloylglucopyranoside) quercétine
 - ◇ 3,4'-Diméthoxy-7-*O*-β-(6''-galloylglucopyranoside) quercétine
 - ◇ 3-méthoxy-7-*O*-β-(6''-galloylglucopyranoside) kaempférol
 - ◇ 3-*O*-β-(6''-galloylglucopyranoside) quercétine
 - ◇ 3-méthoxy-7-*O*-β-glucopyranoside quercétine
 - ◇ 3,4'-diméthoxy-7-*O*-β-glucopyranoside quercétine
 - ◇ 3-méthoxy-7-*O*-β-glucopyranoside kaempférol
 - ◇ quercétine
 - ◇ 3-méthoxy quercétine
 - ◇ isoquercétrine
 - ◇ (-)-gallocatéchine
 - ◇ (-)-épigallocatéchine

- un dérivé benzophénone glycosylé: Iriflophénone-2-*O*-β-glucoside
- un phénol glycosylé : (-)-Rhododendrine
- trois dérivés de l'acide benzoïque :
 - ◇ Acide *p*-hydroxybenzoïque
 - ◇ Acide gallique
 - ◇ Gallate de méthyle

D'un point de vue chimiotaxonomique, ces résultats sont en parfait accord avec les données de la littérature dans la mesure où les flavonoïdes, notamment les flavonols et flavanols, sont les constituants dominants de la famille Cistaceae [44, 51]. Il est important de signaler que c'est la première fois que des flavonols acylés par un groupement galloyle ont été décrits au sein de la famille Cistaceae, tout comme l'Iriflophénone-2-*O*-β-glucoside.

Chapitre IV

Etude phytochimique de l'espèce

Fumana thymifolia

IV.1. Etude phytochimique de l'espèce *Fumana thymifolia*

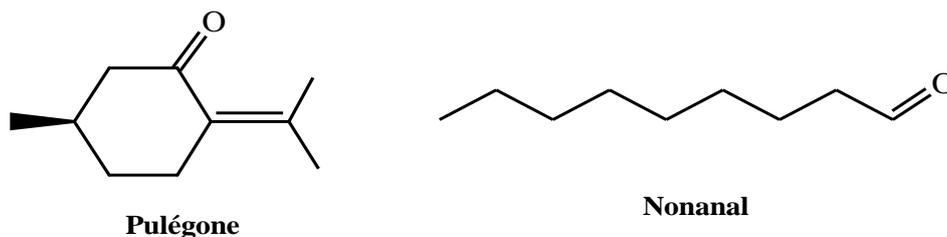
IV.1.1. Rappel botanique

Fumana thymifolia (L.) Spach ex Webb (Figure IV.1), connue sous le nom *Fumana* à feuilles de thym, est une espèce thermophile à caractères héliophile et xérophile. Elle est glanduleuse et atteint 10 à 20 cm de long. Les feuilles sont plus vertes que celles des autres *Fumana*, persistantes, linéaires à bords plus ou moins enroulés en dessous. Les stipules se terminent par une soie. Les fleurs jaunes, réunies en grappe terminale courte, sont munies de bractées. Les pétales, non tachés à la base, dépassent un peu le calice. Les pédicelles, plus longs que les sépales, sont pubescents visqueux, étalés ou dressés. La capsule, égalant à peine les sépales, a 6 graines réticulées [128].



Figure IV.1: Espèce *Fumana thymifolia*

Fumana thymifolia, comme *Fumana montana*, est une espèce méditerranéenne qui se développe généralement dans un bioclimat semi-aride à variante tempérée [129]. Elle est très commune en Algérie et pousse dans les pâturages rocaillieux et calcaires [13]. Cette espèce a fait l'objet d'une seule étude phytochimique [130]. Cette étude a permis de caractériser par analyse GC/MS l'huile essentielle issue de ses parties aériennes. Ainsi trente-neuf composés, ont été isolés de cette huile dont la pulégone (19,8%) et le *n*-nonanal (9,5%) sont les constituants majoritaires.



IV.1.2. Résultats et discussion

IV.1.2.1. Extraction

1 Kg de la plante entière de *Fumana thymifolia*, séché et broyé, a été soumis à une double extraction hydro-alcoolique EtOH-H₂O (70:30) à température ambiante. Après filtration et concentration, l'extrait aqueux est soumis à une extraction liquide-liquide en utilisant successivement des solvants à polarité croissante : éther de pétrole, acétate d'éthyle et *n*-butanol. Le schéma ci-dessous (Figure IV.2) résume les différentes étapes de l'extraction.

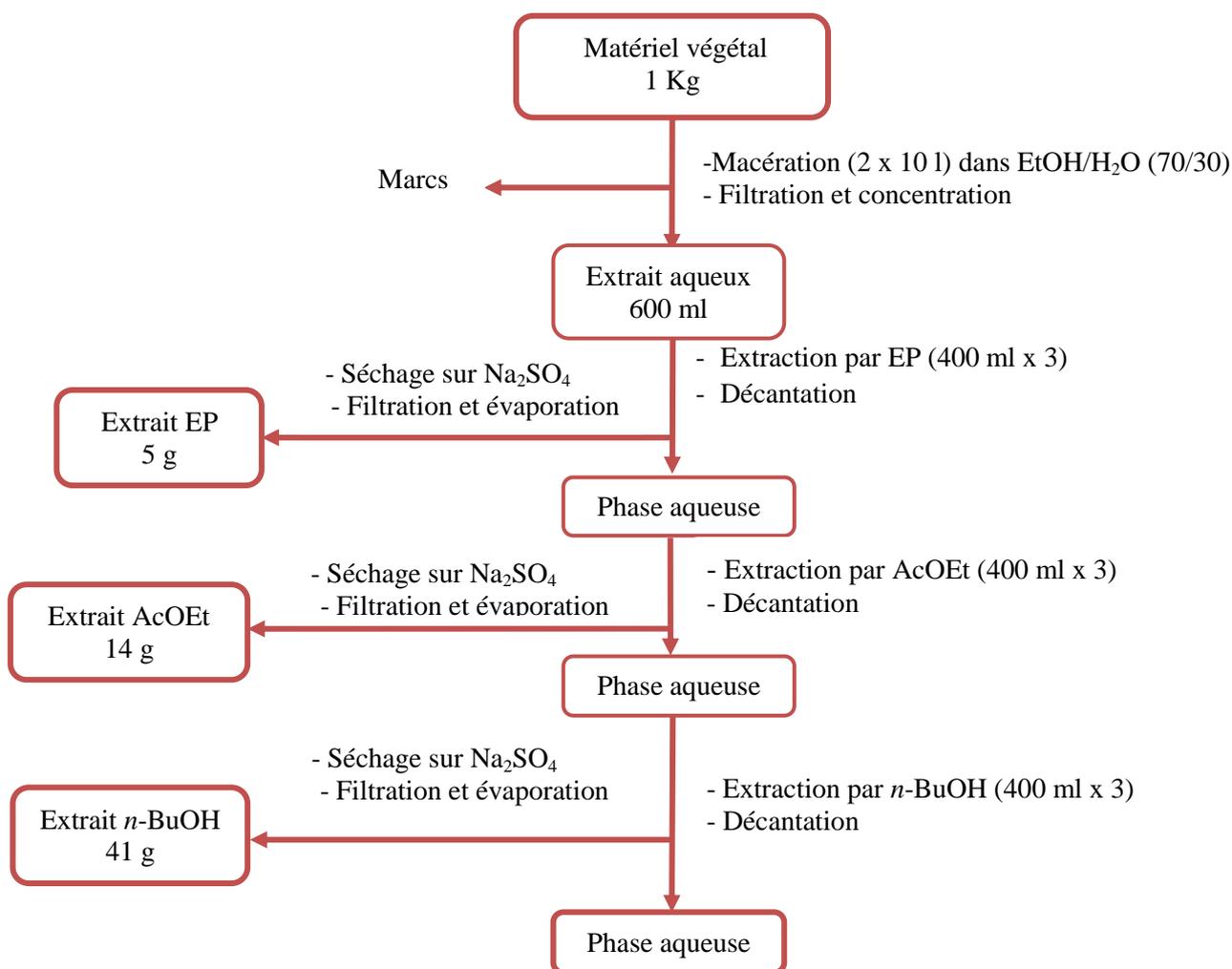


Figure IV.2: Protocole d'extraction de la plante *Fumana thymifolia*

IV.1.2.2. Séparation et purification

Les profils CCM en phase normale des trois extraits (EP/AcOEt/BuOH) de *Fumana thymifolia*, après révélation par une solution acide et chauffage, se sont d'emblée avérés quasiment identiques à ceux des mêmes extraits de *Fumana montana*. Ce qui n'est pas surprenant dans la mesure où ces deux espèces vivent dans un même biotope.

L'extrait AcOEt a été choisi pour investigation chimique en raison de son profil CCM qui traduit une richesse plus apparente en métabolites secondaires.

Cet extrait (7g) est soumis à un fractionnement préalable par une chromatographie liquide sous vide (CLV), sur silice en phase inverse RP-18, en utilisant un mélange MeOH/H₂O à divers gradients (20/80 à 100/0). Ceci a permis de collecter 5 fractions (F₁-F₅). La fraction F₁, la plus importante quantitativement (3,5 g) et présentant en CCM des taches majoritaires visible en UV (254 nm), est soumise à différentes séparations chromatographiques (chromatographies sur colonne de gel de silice normale, polyamide SC-6, CCE sur phase inverse et liquide à haute performance) comme le montre le protocole de séparation ci-après (Figure IV.3). La purification finale de l'extrait a fourni 8 composés purs.

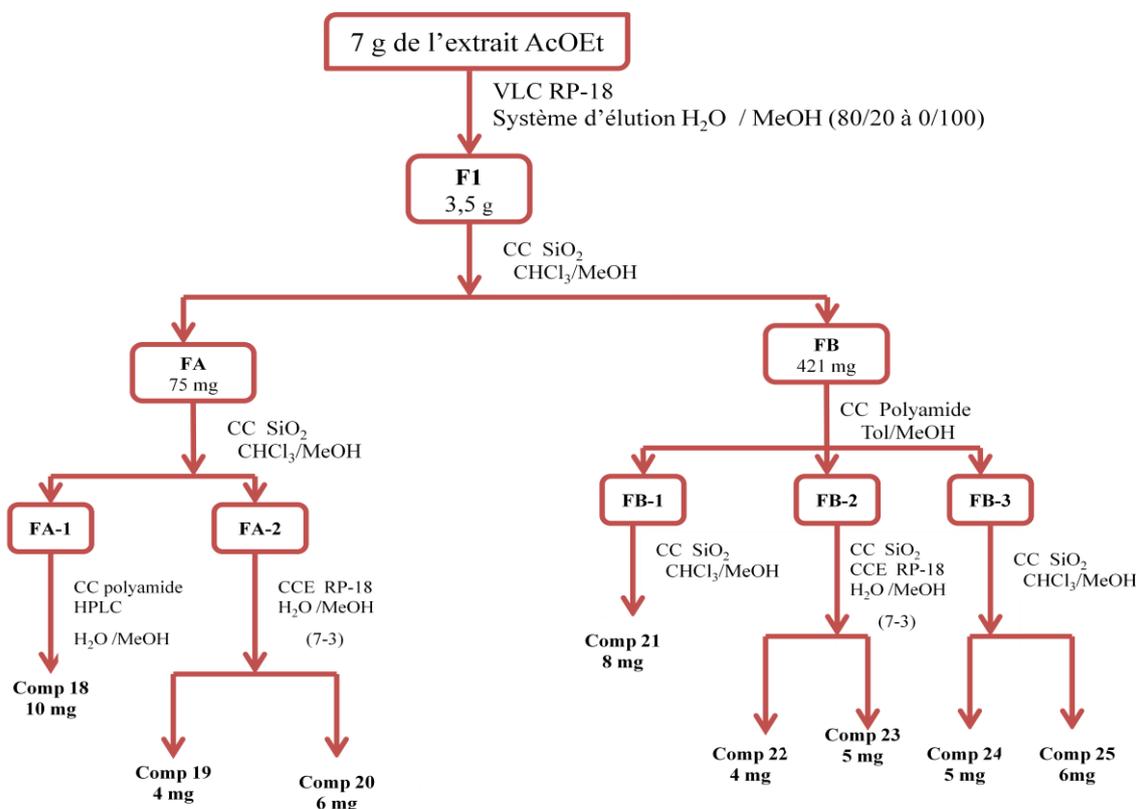
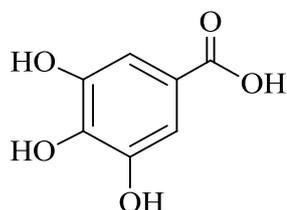
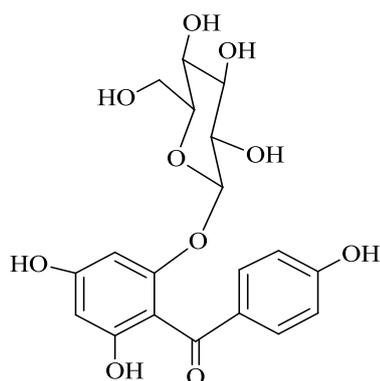
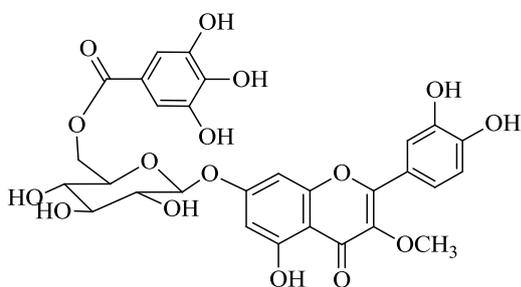
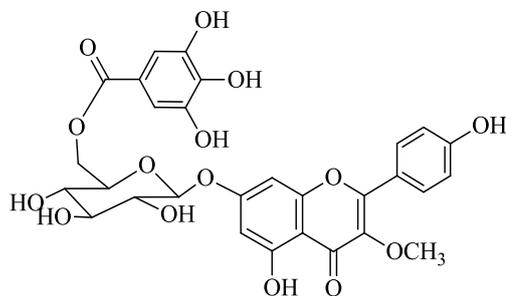
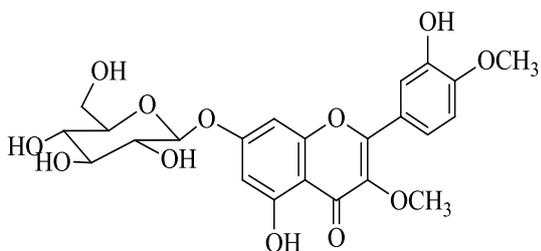
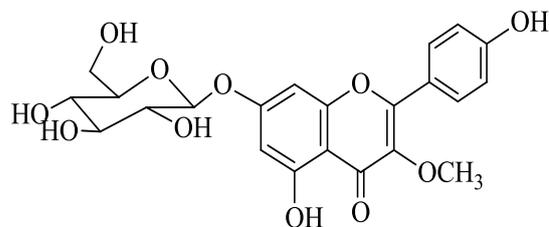
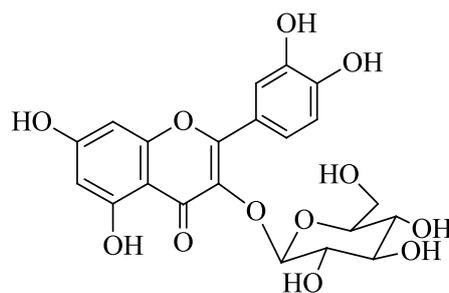


Figure IV.3: Protocole de séparation de l'extrait acétate d'éthyle de *F. thymifolia*
IV.1.2.3. Caractérisation des produits obtenus

Les composés isolés ont été caractérisés essentiellement par les méthodes d'analyse spectroscopiques, RMN 1D, RMN 2D (COSY H-H, HSQC et HMBC) et spectrométrie de masse ESIMS.

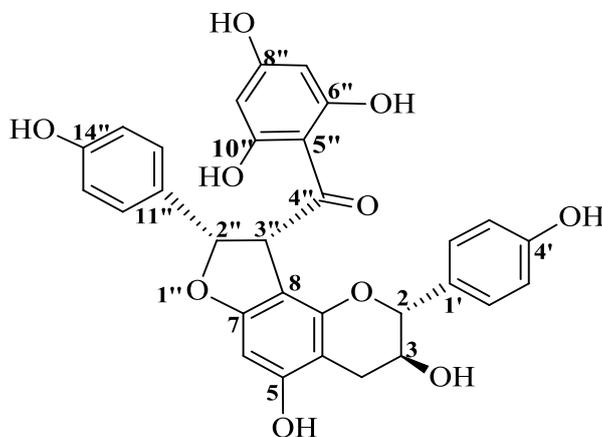
L'élucidation structurale a permis de reconnaître sept composés (composés **1**, **3**, **6**, **7**, **8**, **13** et **16**) décrits précédemment lors de l'investigation chimique de *Fumana montana*.

Acide gallique (**16**)Iriflophénone-2-*O*- β -glucoside (**13**)3-méthoxy-7-*O*- β -(6''-galloylglucopyranoside) quercétine (**1**)3-méthoxy-7-*O*- β -(6''-galloylglucopyranoside) kaempférol (**3**)3,4'-diméthoxy-7-*O*- β -glucopyranoside quercétine (**6**)3-méthoxy-7-*O*- β -glucopyranoside kaempférol (**7**)

Isoquercitrine (**8**)

Le composé **18** est de structure différente.

IV.1.2.3.1. Détermination structurale du composé **18**

Dihydrodaphnodorine **B**

Le spectre de masse ESI (Figure IV.4) du composé **18**, enregistré en mode négatif, présente un pic d'ion pseudomoléculaire à $m/z = 543$ $[M-H]^-$ correspondant à une masse moléculaire de 544 uma et une formule brute en $C_{30}H_{24}O_{10}$.

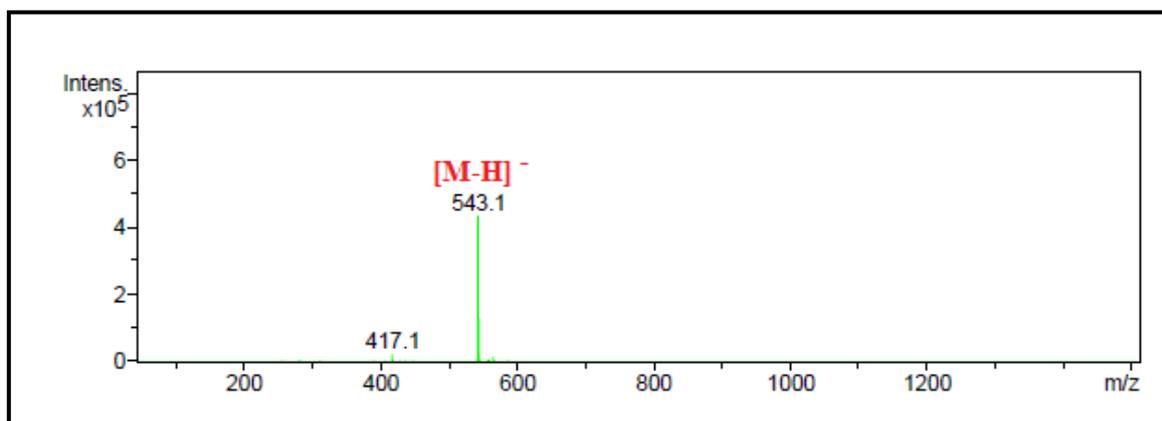


Figure IV.4: Spectre de masse ESI⁻ du composé **18**

Le spectre RMN ^1H (Figure IV.5) de ce composé révèle la présence de 12 signaux correspondant à 17 protons se répartissant en :

- ◇ quatre signaux, sous forme de doublet chacun (d , $J = 8,6$ Hz, 2H), détectés à δ_{H} 6,55, 6,67 et 7,10 correspondant à 8 protons aromatiques.
- ◇ deux signaux singulets résonant à δ_{H} 6,02 (1H, s) et 5,63 (2H, sl).
- ◇ quatre signaux d'intégration 1H chacun, à δ_{H} 2,55 (dd , $J = 16 ; 8,2$ Hz), 2,81 (dd , $J = 16 ; 5,1$ Hz), 3,91 (m) et 4,71 (d , $J = 7,3$ Hz).
- ◇ deux autres signaux résonant à δ_{H} 5,94 (1H, d , $J = 10,6$ Hz) et 6,04 (1H, d , $J = 10,6$ Hz).

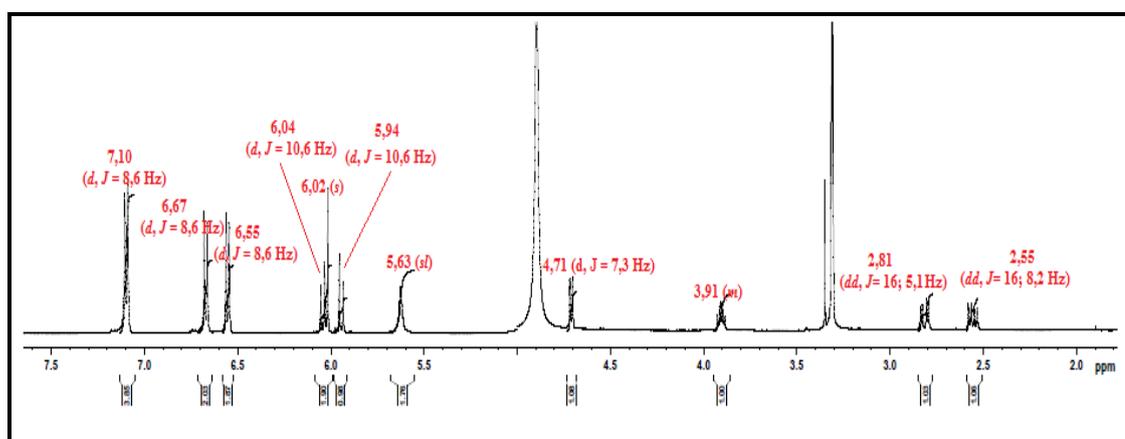
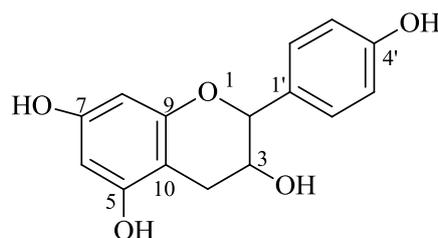


Figure IV.5: Spectre RMN ^1H (MeOD) du composé 18

La simplicité du spectre RMN ^1H de ce composé d'allure phénolique contrastant avec sa masse moléculaire relativement importante, laisse suggérer que ce dernier est de forme dimère, voire biflavonoïdique.

L'analyse combinée des spectres RMN ^1H (Figure IV.6), RMN ^{13}C J -modulé (Figure IV.6) permet d'identifier un squelette flavanolique déjà décrit dans le cas de la gallocatéchine (Composé **12** de *Fumana montana*), à la différence que ce squelette est plutôt de type afzéléchol [131].



Structure de l'afzéléchol

En effet, on identifie les signaux de protons et carbones caractéristiques de cet aglycone: H-6 [δ_H 6,02 (*s*)/ δ_C 90,3], H-2'/H-6' [δ_H 7,10 (*d*, $J = 8,6$ Hz)/ δ_C 129,0], H-3'/H-5' [δ_H 6,67 (*d*, $J = 8,6$ Hz)/ δ_C 115,4], H-2 [δ_H 4,71 (*d*, $J = 7,3$ Hz)/ δ_C 82,5], H-3 [δ_H 3,91 (*m*)/ δ_C 69,3], H-4a [δ_H 2,81 (*dd*, $J = 16 ; 5,1$ Hz)/ δ_C 28,4], H-4b [δ_H 2,55 (*dd*, $J = 16 ; 8,2$ Hz)/ δ_C 28,4], C-1' (δ_C 131,8), C-4' (δ_C 158,0), C-5 (δ_C 157,9), C-7 (δ_C 162,1), C-8 (δ_C 105,8), C-9 (δ_C 152,5), C-10 (δ_C 101,4).

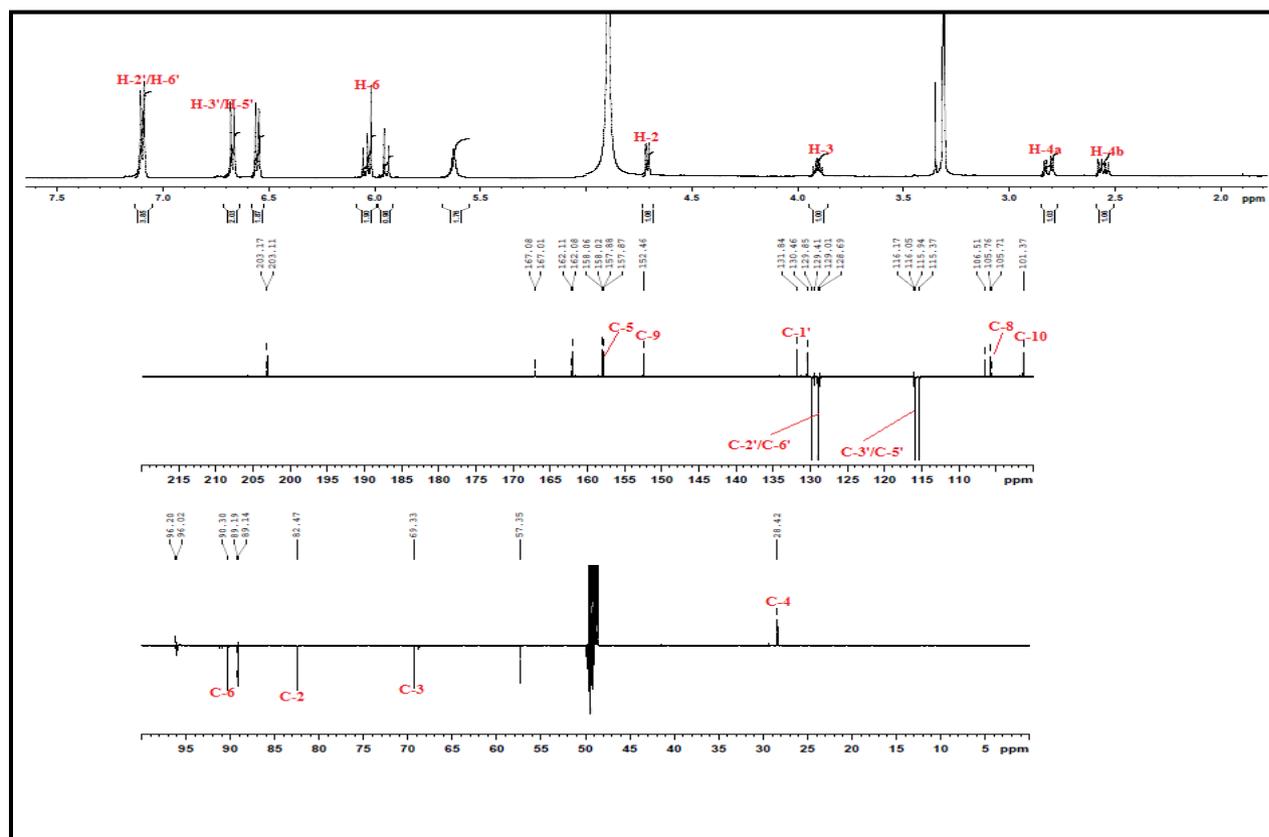
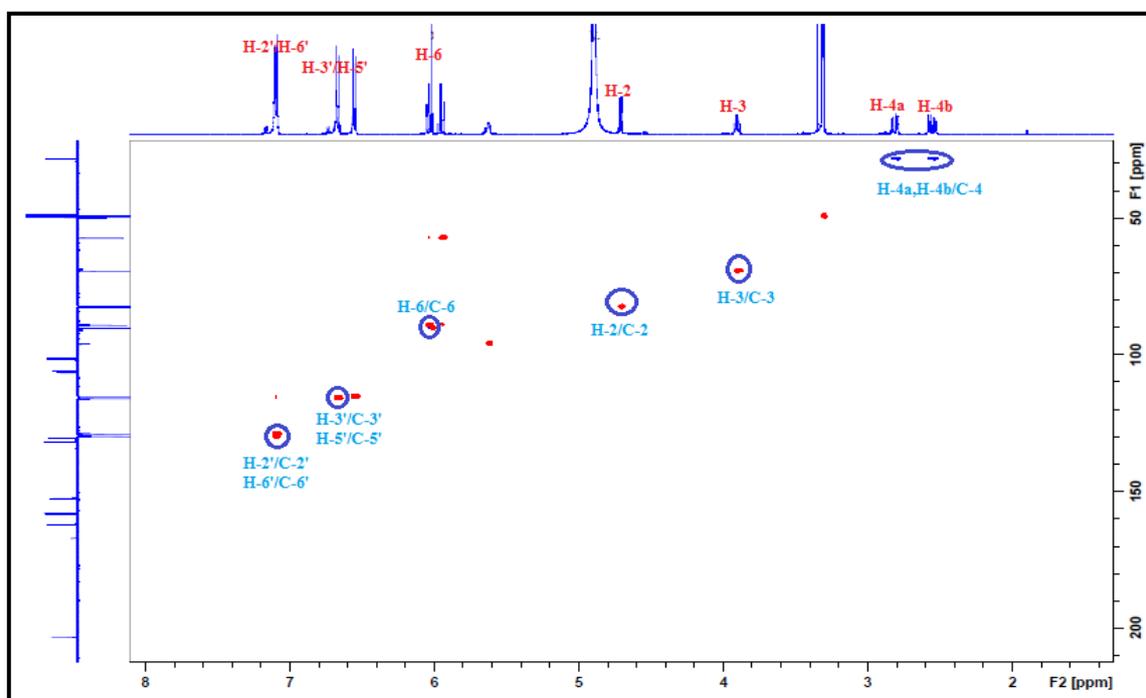
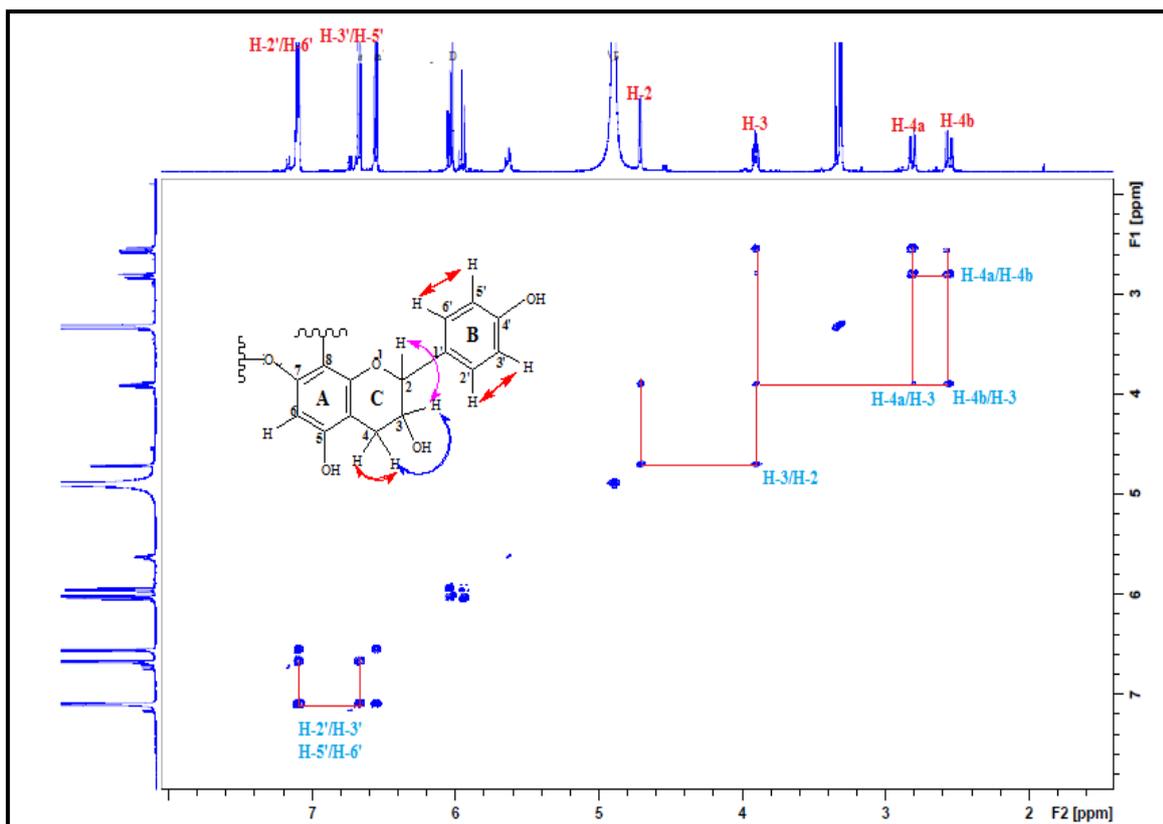


Figure IV.6: Spectre RMN ^1H et ^{13}C *J*-modulé de l'unité afzéléchol

Toutes ces attributions ont été confirmées par analyse des spectres COSY H-H (Figure IV.7), HSQC (Figure IV.8) et HMBC (Figures IV.9 et IV.10).



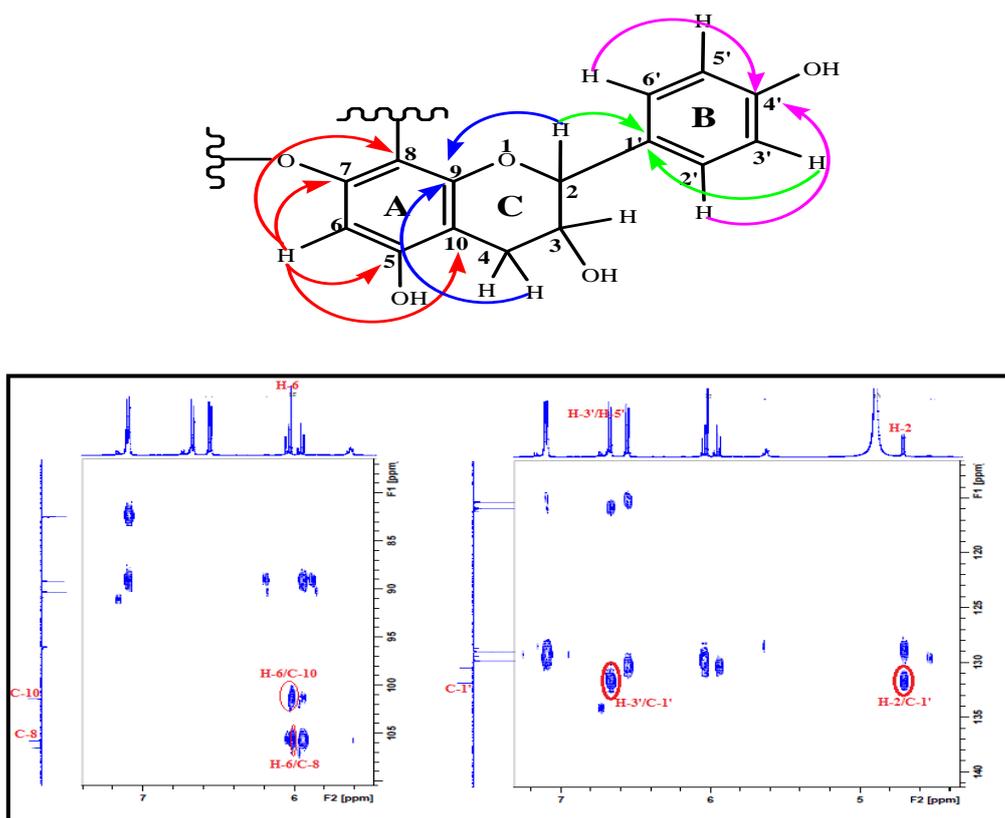


Figure IV.9: Spectre HMBC identifiant les carbones C-1', C-8 et C-10

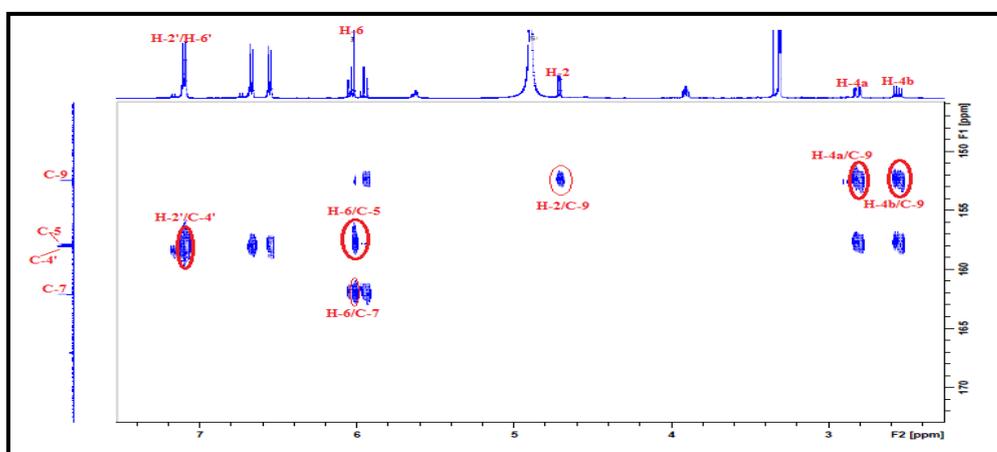


Figure IV.10: Spectre HMBC identifiant les carbones C-9, C-5, C-7 et C-4'

Les seules différences constatées au niveau de notre composé par rapport à l'afzéléchol, se situent au niveau des carbones C-8 et C-7. En effet, la valeur de déplacement chimique du carbone C-8 de l'ordre de 105 ppm, devenu quaternaire au lieu d'un carbone C-H dans le cas de l'afzéléchol (δ_C 95,5), indique que ce dernier est engagé dans une liaison de type carbone-carbone. De même que la valeur de déplacement chimique du carbone C-7

(δ_C 162,1) suggère qu'il est porteur d'une fonction éther au lieu d'une fonction hydroxyle libre pour l'afzéléchol (δ_{C-7} 156,2).

Le motif afzéléchol (unité 1) substitué en C-8 et C-7 ayant été caractérisé en tant que partie aglycone, il reste à identifier le ou les motifs positionnés sur cette dernière.

Comme il a été reporté précédemment, la masse moléculaire relativement importante comparée aux spectres RMN ^1H et ^{13}C (Figure IV.6) d'apparence simple, plaide pour un composé biflavonoïdique. En effet ces derniers exhibent d'autres signaux typiques d'une seconde unité flavonoïdique. De plus, les masses moléculaires du composé **18** ($M = 544$ uma) et de l'unité structurale identifiée ($M = 272$ uma) confirment l'hypothèse d'un produit à squelette biflavonoïdique, avec cependant des unités structurales différentes au regard des spectres protons et carbones.

L'élucidation structurale de la deuxième unité est initiée à partir de protons vicinaux résonant à δ_H 5,94 ($d, J = 10,6$ Hz, H-3'') et 6,04 ($d, J = 10,6$ Hz, H-2'') déjà cités. Ces protons appartenant donc à un même système de spins (Figure IV.12), présentent des couplages directs $^1J_{\text{H-C}}$ (Figure IV.12) avec les carbones qui les portent, sortant à δ_C 57,4 (C-3'') et 89,2 (C-2''). Leur valeur de déplacement chimique atteste qu'ils sont inclus dans un système $-1''\text{O}-2''\text{CH}-3''\text{CH}-4''\text{C}=\text{O}$ [132]. L'expérience HMBC (Figure IV.14), à travers une corrélation longue distance entre les protons H-2''/H-3'' et un carbone quaternaire d'un carbonyle sortant à 203,2 ppm, en apporte la confirmation. Cette valeur de déplacement chimique témoigne que ce carbonyle est lié à un noyau aromatique [113].

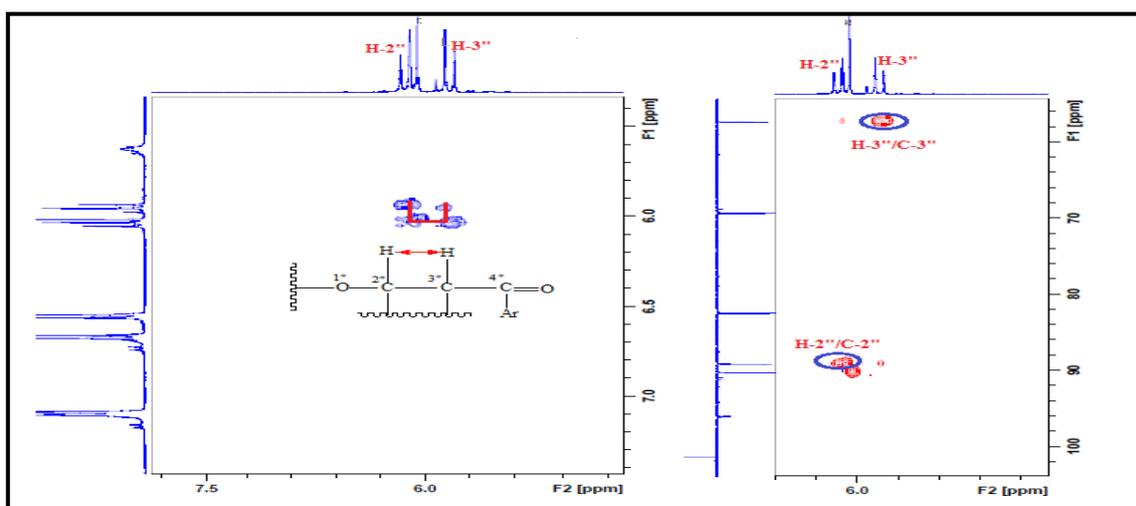


Figure IV.12: Spectres COSY H-H et HSQC partiels du composé **18**

Par ailleurs, les couplages HMBC (figures IV.13 et IV.14) entre les protons H-2''/H-3'' (unité 2) et les carbones C-7 (δ_C 162,1), C-8 (δ_C 105,7) du cycle A (unité 1) confirment la substitution de l'afzéléchol au niveau de ces derniers et permettent d'identifier un cycle furanique faisant la jonction entre les deux unités du biflavonoïde.

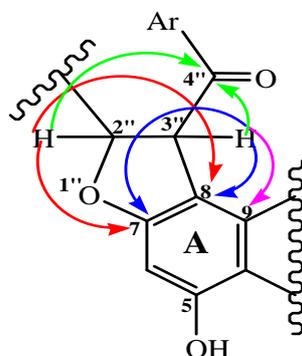


Figure IV.13: Corrélations HMBC des protons H-2'' et H-3''

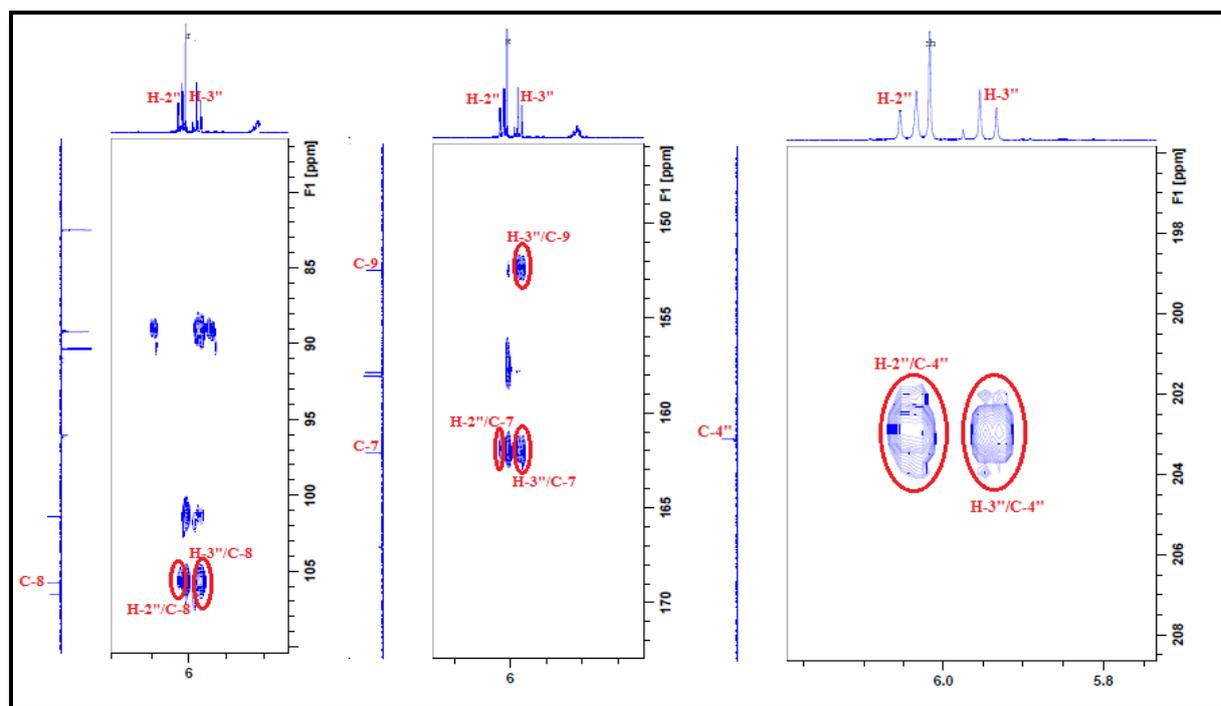
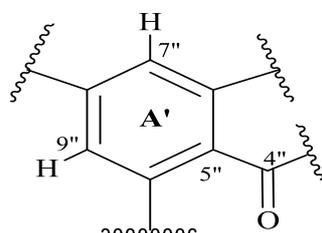


Figure IV.14: Spectre HMBC identifiant le noyau furane du composé 18

Par ailleurs, l'analyse combinée des spectres COSY H-H (Figure IV.15) et HSQC (Figure IV.16) met en évidence la présence de deux noyaux aromatiques nommés A' et B'.

L'identification du noyau A' est initiée à partir de deux protons équivalents résonant à δ_H 5,63 (sl), appartenant à un système de spins isolé. La valeur de déplacement chimique de l'ordre de 96,2 ppm, typique de carbones aromatiques et déterminée par expérience HSQC

révèle qu'il s'agit de deux groupements CH constituant un noyau aromatique tétrasubstitué. L'absence de corrélation HMBC entre ces protons et le carbone du carbonyle autorise, pour ce noyau aromatique, la structure suivante :



L'identification du second noyau B' à un aromatique paradisubstitué est lié à l'observation sur les spectres RMN ^1H et COSY H-H, de deux signaux de quatre protons aromatiques formant un système AB et résonant à δ_{H} 6,55 (2H, *d*, $J = 8,6$ Hz) et 7,10 (2H, *d*, $J = 8,6$ Hz), nommés respectivement H-13''/H-15'' et H-12''/H-16''. Leurs carbones porteurs sont détectés à δ_{C} 115,4 (C-13''/C-15'') et 129,4 (C-12''/C-16'').

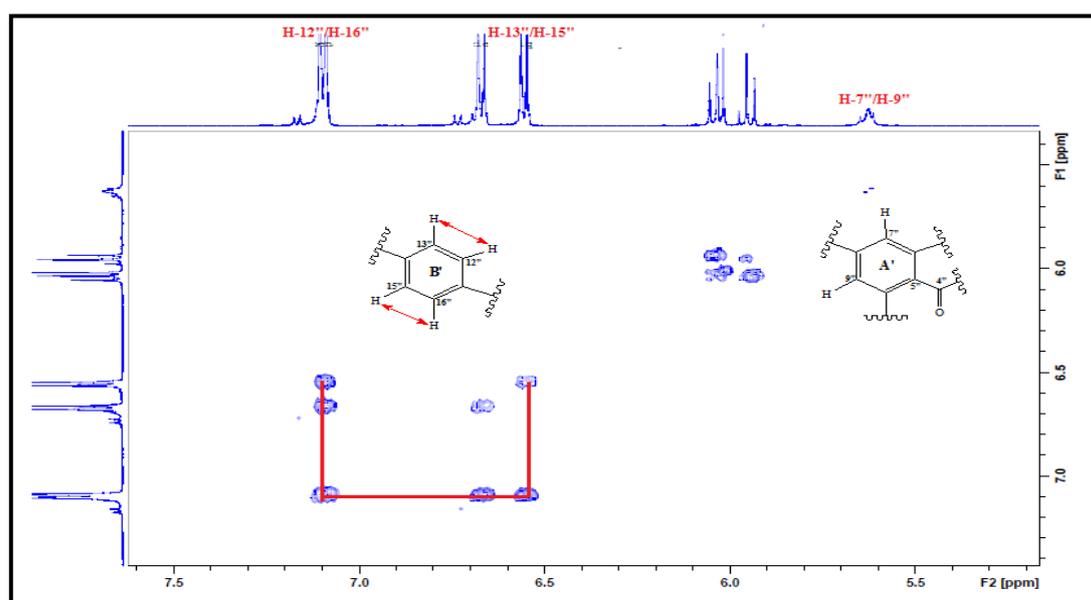
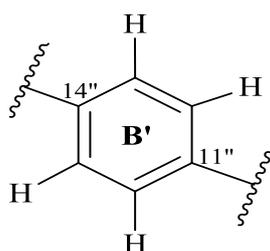


Figure IV.15: Spectre COSY H-H de la deuxième unité du composé 18 (Cycles A' et B')

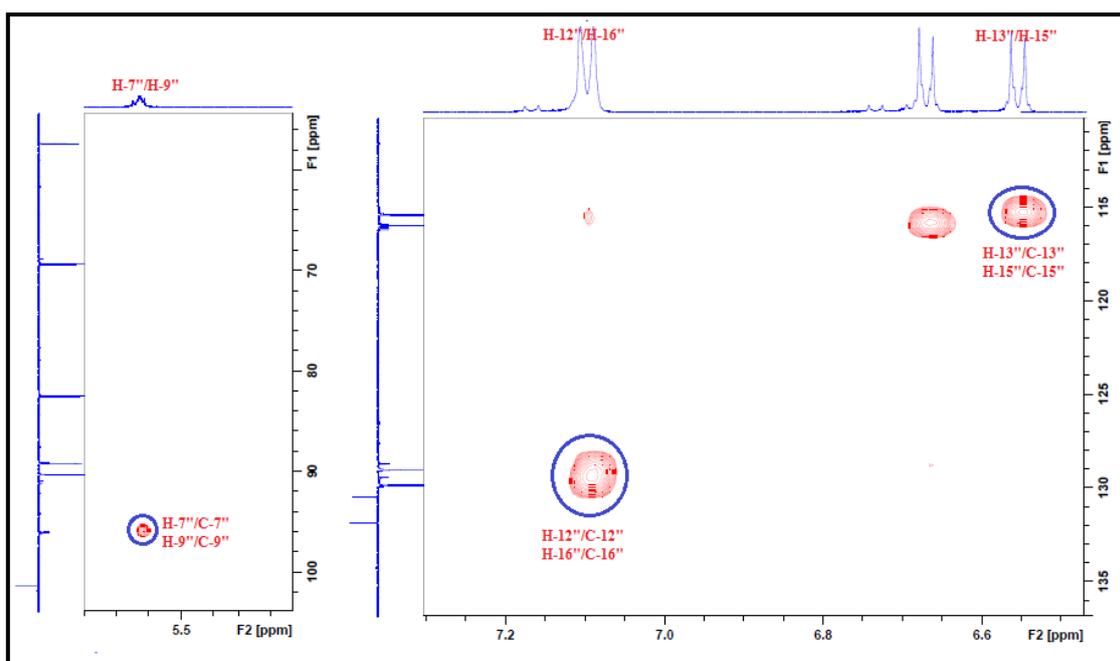


Figure IV.16: Spectre HSQC de la deuxième unité du composé 18 (Cycles A' et B')

Le spectre HMBC (Figure IV.18) a permis de caractériser les carbones quaternaires de ces deux cycles. La corrélation en $^3J_{H-C}$ observée entre les protons H-12''/H-16'' (δ_H 7,10, *d*, $J = 8,6$ Hz) et un carbone aromatique oxygéné détecté à δ_C 158, ne pouvant être que le carbone C-14'' du cycle B'. Ce dernier corrèle avec les protons H-13''/ H-15'' (δ_H 6,55, *d*, $J = 8,6$ Hz), eux-mêmes couplant avec un carbone quaternaire non oxygéné à δ_C 130,5, attribuable au carbone aromatique C-11''. De plus, le couplage hétéronucléaire en $^3J_{C-H}$ entre les protons H-12''/H-16'' du cycle B' et le carbone C-2'' (δ_C 89,2), permet d'attribuer sans ambiguïté à la seconde unité de ce biflavonoïde un squelette de type dihydrochalcone (Figure IV.17) [133].

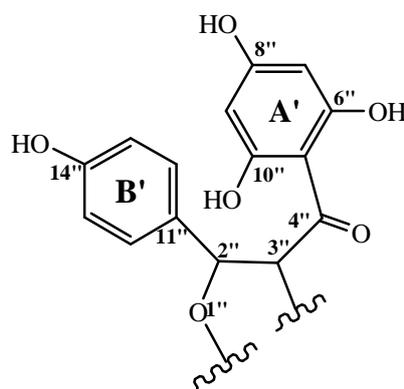


Figure IV.17: Squelette de la seconde unité flavonoïdique (Dihydrochalcone)

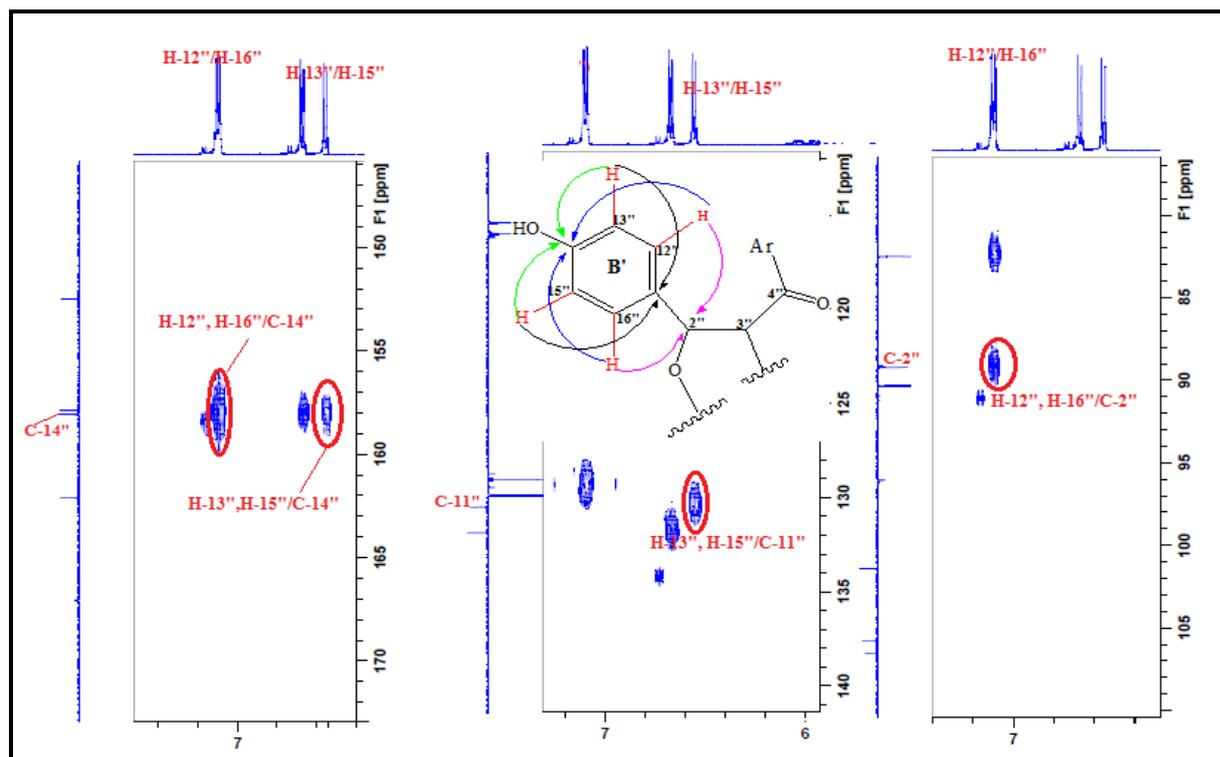
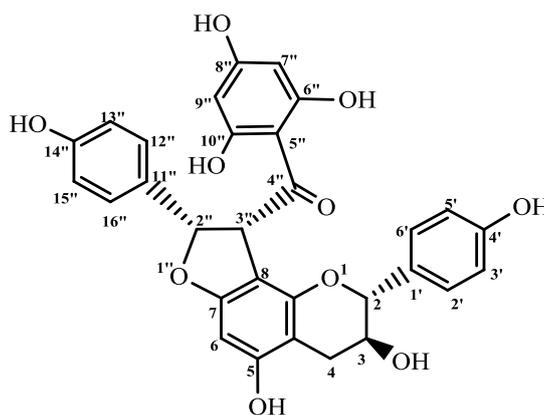


Figure IV.18: Spectre HMBC déterminant la seconde unité flavonoïdique (Dihydrochalcone)

Toutes ces données spectrales qui se sont avérées totalement identiques à celles de la dihydrodaphnodorine B [133] isolée de *Daphne odora* (Thymelaeaceae), permettent d'assigner sans ambiguïté pour le composé **18** la structure suivante :



Ce composé est décrit pour la première fois dans la famille Cistaceae.

Les déplacements chimiques des protons et carbones de ce composé sont rassemblés dans le tableau IV.1.

Tableau IV.1: Déplacements chimiques RMN ^1H et ^{13}C du composé 18 (MeOD)

Position	δ_{H} m (J en Hz)	δ_{C}
2	4,71 d (7,3)	82,5
3	3,91 m	69,3
4a	2,81 dd (16 ; 5,1)	28,4
4b	2,55 dd (16 ; 8,2)	
5	-	157,9
6	6,02 s	90,3
7	-	162,1
8	-	105,7
9	-	152,5
10	-	101,4
1'	-	131,6
2'	7,10 d (8,6)	129,0
3'	6,67 d (8,6)	115,9
4'	-	158,0
5'	6,67 d (8,6)	115,9
6'	7,10 d (8,6)	129,0
2''	6,04 d (10,6)	89,2
3''	5,94 d (10,6)	57,4
4''	-	203,2
5''	-	105,8
6''	-	157,8
7''	5,63 sl	96,2
8''	-	167,0
9''	5,63 sl	96,2
10''	-	157,8
11''	-	130,5
12''	7,10 d (8,6)	129,4
13''	6,55 d (8,6)	115,4
14''	-	158,0
15''	6,55 d (8,6)	115,4
16''	7,10 d (8,6)	129,4

IV.2. Conclusion

Ce travail reporte l'investigation chimique de *Fumana thymifolia* (L.) Spach ex Webb (Cistaceae), espèce commune à toute la région méditerranéenne. Cette plante a montré une forte activité inhibitrice contre la protéine IspC d'*Escherichia coli* [134]. Cette étude effectuée sur l'extrait acétate d'éthyle a permis d'isoler et de caractériser huit composés naturels dont sept ont été décrits précédemment lors de l'investigation chimique de *Fumana montana*. Ils se répartissent comme suit :

➤ cinq flavonols :

◇ 3-méthoxy-7-*O*- β -(6''-galloylglucopyranoside) quercétine

- ◇ 3-méthoxy-7-*O*-β-(6''-galloylglucopyranoside) kaempférol
 - ◇ 3,4'-diméthoxy-7-*O*-β-glucopyranoside quercétine
 - ◇ 3-méthoxy-7-*O*-β-glucopyranoside kaempférol
 - ◇ Isoquercétrine
-
- un dérivé benzophénone glycosylé: Iriflophénone-2-*O*-β-glucoside.
 - un dérivé de l'acide benzoïque : Acide gallique
 - un biflavonoïde : Dihydrodaphnodorine B

La dihydrodaphnodorine B a été isolée pour la première fois dans la famille Cistaceae.

Conclusion générale

Ce travail a porté sur l'investigation phytochimique de *Fumana montana* Pomel et *Fumana thymifolia* (L.) Spach ex Webb (Cistaceae), deux espèces méditerranéennes appartenant à la famille Cistaceae et récoltées dans la région des Aurès (Djerma). Cette étude rentre dans le cadre des activités principales de notre laboratoire destinées à la valorisation de la flore locale, notamment nord-saharienne et de la région des Aurès, par la découverte de nouveaux métabolites secondaires dotés d'activités biologiques dignes d'intérêt.

L'analyse des extraits acétate d'éthyle et *n*-butanolique de *Fumana montana* ainsi que l'extrait acétate d'éthyle de *F. thymifolia*, a mené à l'isolement et l'identification de dix huit produits naturels constitués principalement de composés polyphénoliques, majoritairement à squelette flavonoïdique. Trois flavonols glycosylés et acylés, isolés à partir de l'espèce *Fumana montana*, se sont avérés nouveaux. Il est à signaler que *F. montana* n'a fait l'objet d'aucune investigation chimique antérieure.

Ce travail a montré que les deux plantes en question ont globalement la même composition chimique. En effet, sept métabolites secondaires sur huit isolés de *F. thymifolia* ont été rencontrés au niveau de l'espèce *F. montana*. Ceci n'est pas surprenant dans la mesure où ces dernières, en dehors du fait qu'elles appartiennent à un même genre, cohabitent dans un même biotope.

L'isolement de ces métabolites secondaires a été essentiellement fondé sur la combinaison de différentes techniques chromatographiques, à savoir la chromatographie liquide sous vide (CLV) sur silice greffée en C-18, la chromatographie sur colonne ouverte (gel de silice normale, polyamide SC6 et Sephadex LH-20), la chromatographie préparative sur couche épaisse en phase inverse (RP-18) et la chromatographie liquide haute performance (CLHP).

Ces métabolites secondaires identifiés et caractérisés par différentes techniques spectroscopiques impliquant la RMN 1D (^1H , ^{13}C *J*-modulé), la RMN 2D (COSY H-H, HSQC, HMBC et NOESY), UV, la spectrométrie de masse ESI et haute résolution HRESIMS, la mesure des pouvoirs rotatoires et la comparaison avec les données de la littérature, se répartissent en :

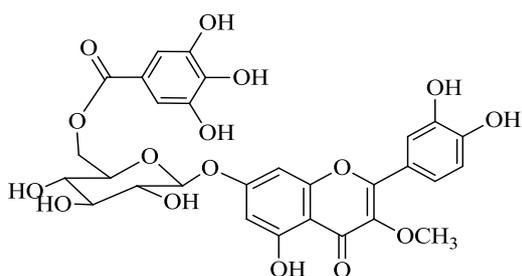
- douze flavonoïdes (10 flavonols et 2 flavanols) dont les trois premiers sont nouveaux :
 - ◇ 3-méthoxy-7-*O*-β-(6''-galloylglucopyranoside) quercétine
 - ◇ 3,4'-diméthoxy-7-*O*-β-(6''-galloylglucopyranoside) quercétine

- ◇ 3-méthoxy-7-*O*-β-(6''-galloylglucopyranoside) kaempférol
 - ◇ 3-*O*-β-(6''-galloylglucopyranoside) quercétine
 - ◇ 3-méthoxy-7-*O*-β-glucopyranoside quercétine
 - ◇ 3,4'-diméthoxy-7-*O*-β-glucopyranoside quercétine
 - ◇ 3-méthoxy-7-*O*-β-glucopyranoside kaempférol
 - ◇ quercétine
 - ◇ 3-méthoxy quercétine
 - ◇ isoquercétrine
 - ◇ (-)-gallocatéchine
 - ◇ (-)-épigallocatéchine
- un dérivé benzophénone glucosylé: Iriflophénone-2-*O*-β-glucoside
 - un phénol glucosylé : (-)-Rhododendrine
 - trois dérivés de l'acide benzoïque :
 - ◇ Acide *p*-hydroxybenzoïque
 - ◇ Acide gallique
 - ◇ Gallate de méthyle
 - un biflavonoïde connu sous le nom de Dihydrodaphnodorine B

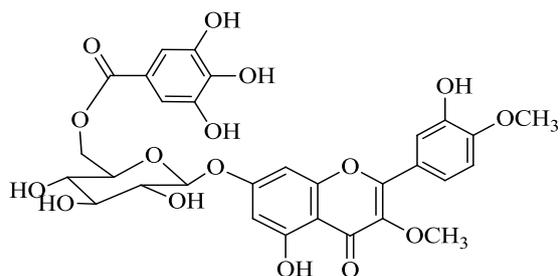
Les résultats obtenus dans le cadre de ce travail sont en parfait accord avec les données de la littérature dans la mesure où les flavonoïdes, notamment les flavonols et flavanols, sont les constituants dominants de la famille Cistaceae. Il est important de mentionner que c'est la première fois que de flavonols estérifiés par un groupement galloyle, isolés de l'espèce *Fumana montana* Pomel, ont été rencontrés au sein de la famille Cistaceae. Cette étude constitue également le premier rapport scientifique indiquant la présence de composés de types benzophénone comme l'Iriflophénone-2-*O*-β-glucoside (Rosaceae, Sapotaceae) et biflavonoïde comme la dihydrodaphnodorine B (Thymelaeaceae), au niveau des plantes relevant de cette famille.

En conclusion, ces résultats confirment une fois de plus que les flavonoïdes sont les composés dominants de la famille Cistaceae. Cette classe de composés naturels est connue pour leurs diverses activités biologiques, anti-inflammatoires, antibactériennes, anti-oxydantes et anti-tumorales. Dans ce but, des études biologiques sur les produits nouveaux sont envisagées.

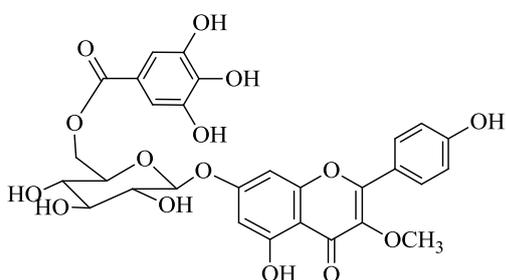
Produits isolés de *Fumana montana* Pomel



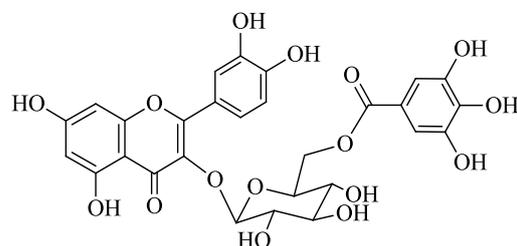
3-méthoxy-7-*O*-β-(6''-galloylglucopyranoside) quercétine (1) (Nouveau)



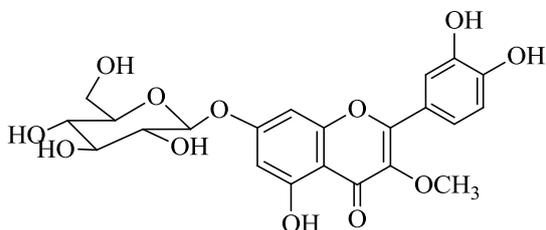
3,4'-Diméthoxy-7-*O*-β-(6''-galloylglucopyranoside) quercétine (2) (Nouveau)



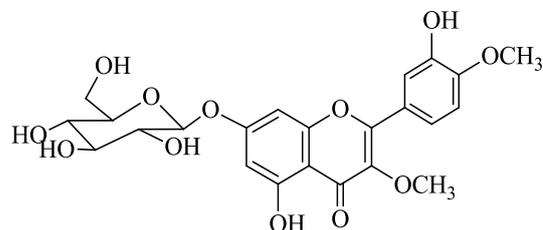
3-méthoxy-7-*O*-β-(6''-galloylglucopyranoside) kaempférol (3) (Nouveau)



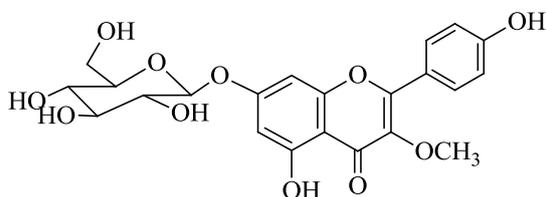
3-*O*-β-(6''-galloylglucopyranoside) quercétine (4)



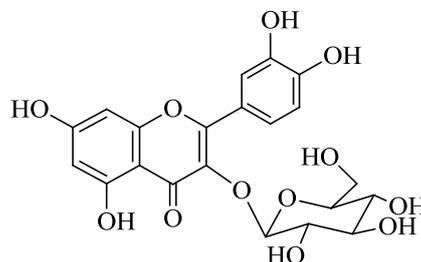
3-méthoxy-7-*O*-β-glucopyranoside quercétine (5)



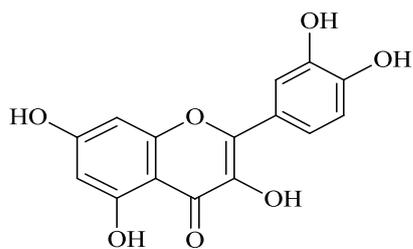
3,4'-diméthoxy-7-*O*-β-glucopyranoside quercétine (6)



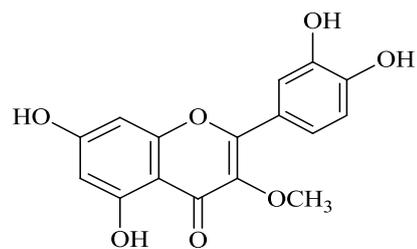
3-méthoxy-7-*O*-β-glucopyranoside Kaempférol (7)



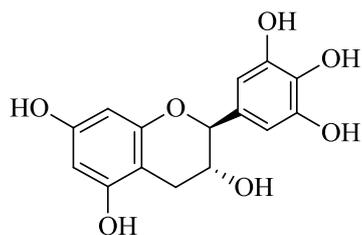
Isoquercétrine (8)



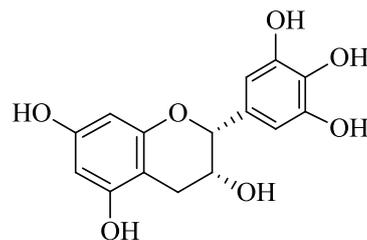
Quercétine (9)



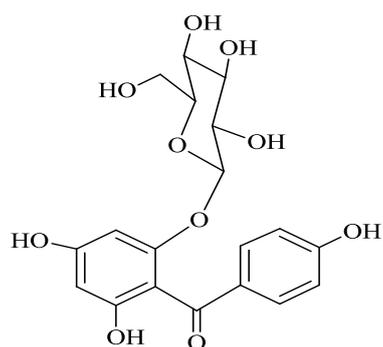
3-méthoxy quercétine (10)



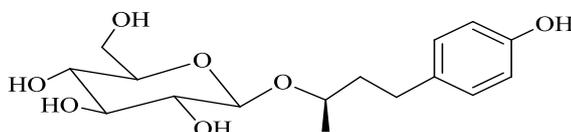
(-)-Gallocatéchine (11)



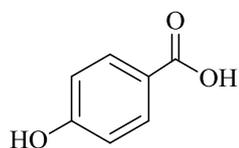
(-)-Epigallocatéchine (12)



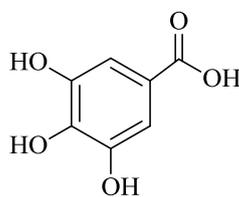
Iriflophénone-2-O-β-glucoside (13)



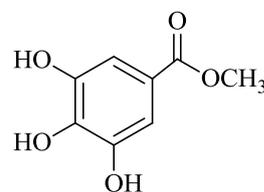
(-)-Rhododendrine (14)



Acide para-hydroxybenzoïque
(15)



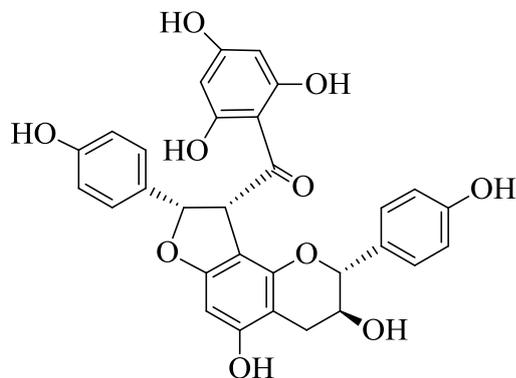
Acide gallique
(16)



Gallate de méthyle
(17)

Produits isolés de *Fumana thymifolia* (L.) Spach ex Webb

Les composés (1), (3), (6), (7), (8), (13) et (16) ont été également isolés de *F. thymifolia*



Dihydrodaphnodorine B (18)

Chapitre V

Partie expérimentale

V.1. Matériels et appareillage

V.1.1. Matériel végétal

Les plantes *Fumana montana* Pomel et *Fumana thymifolia* (L.) Spach ex Webb ont été récoltées aux mois de mai 2009 et 2011 dans la région de Batna (Djerma). Elles ont été identifiées par le Professeur Bachir Oudjehih, de l'Institut des Sciences Agronomiques et Vétérinaires de l'Université de Batna 1.

V.1.2. Méthodes chromatographiques analytiques

V.1.2.1. Chromatographie sur couche mince (CCM)

Les analyses par chromatographie sur couche mince ont été effectuées avec des plaques de silice normale, Kieselgel 60 F254 Merck, 250 µm (10 ou 20 x 20 cm) et RP-18 F254S, 200 µm Merck (5 x 10, 10 x 20 cm). Les CCE préparatives ont été réalisées également sur des plaques de silice RP-18 F254S, 200 µm Merck (5 x 10, 20 x 20 cm).

Après développement dans des cuves en verre, les plaques sont observées sous lampe UV à 254 et 366 nm. Le révélateur utilisé est un mélange d'acide sulfurique 25 %, acide acétique 25 % et d'eau 50 %.

V.1.2.2. Chromatographie liquide sous vide (CLV)

Cette technique qui consiste en un fractionnement grossier de l'extrait brut, a l'avantage d'être rapide et consomme moins de solvants comparativement aux méthodes chromatographiques classiques. La célérité de la méthode n'occasionne pas les phénomènes d'isomérisation constatés lors de fractionnements par chromatographie sur colonne ouverte. Des chromatographies en phase inverse (une silice greffée Lichroprep RP-18 Merck 40-63 µm), sont mises en œuvre pour les extraits polaires et sur silice Kieselgel Merck (70-230 mesh, 63-200 µm) pour les extraits apolaires. Les fractionnements ont été effectués dans un entonnoir cylindrique filtrant sur verre fritté n° 4. Le poids de silice correspond à 10 fois le poids de l'extrait à fractionner.

V.1.2.3. Chromatographie sur colonne ouverte (CC)

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

- ◇ Silice Kieselgel Merck (230-400 Mesh), en phase normale.

- ◇ Polyamide SC6.
- ◇ Sephadex LH-20, en utilisant 40 fois le poids de l'échantillon à purifier.

Les quantités de silice et de polyamide utilisées sont généralement 30 fois supérieures à la quantité de l'extrait.

V.1.2.4. Chromatographie liquide haute performance (CLHP)

Les opérations de chromatographie liquide à haute performance (CLHP) ont été effectuées sur un appareillage constitué des éléments suivants :

- ◇ une pompe P580 A quaternaire avec dégazeur intégré
- ◇ un passeur d'échantillon ASI 100
- ◇ un détecteur UV/Visible à barrette de diodes UVD 170S/340S
- ◇ une colonne X-Ferre RP-18 (100 x 4,6 mm)

dans les conditions d'élution suivantes :

- ◇ Mode : gradient
- ◇ Système de solvants : H₂O/MeOH
- ◇ Débit : 1 ml/min
- ◇ Détection : $\lambda = 220$ nm

V.1.3. Méthodes physico-chimiques

V.1.3.1. Pouvoir rotatoire $[\alpha]_D$

Les pouvoirs rotatoires spécifiques sont mesurés sur un polarimètre électronique Perkin-Elmer 241 à 20 °C. La mesure a été réalisée dans une cuve de 1 ml et d'une longueur de 10 cm, en utilisant la raie D du sodium (589 nm) comme source lumineuse. Le solvant de solubilisation ainsi que la concentration de l'échantillon sont indiqués dans chaque cas. La valeur du pouvoir rotatoire ($[\alpha]_D$) est exprimée en degrés.

V.1.3.2. Spectrométrie UV-Visible

Les spectres UV des composés isolés ont été mesurés dans le méthanol à l'aide d'un spectrophotomètre de type UV KONTRON Logiciel UVS900Lite. Les mesures sont effectuées dans des cuves en quartz contenant 2 ml de solution.

V.1.3.3. Spectrométrie de masse

Les spectres de masse des produits isolés ont été enregistrés en modes positif et négatif, au moyen d'un spectromètre de type Brüker LC-MS/MS de type esquire-LC, du Centre de Recherche sur les Substances Naturelles CNRS-Pierre Fabre de Toulouse (France).

V.1.3.4. Spectroscopie RMN

Les spectres RMN ont été mesurés à 500 MHz (^1H) et 125 MHz (^{13}C) sur des appareils de type Brüker Avance DRX-500 du Centre de Recherche sur les Substances Naturelles de Toulouse (UMS CNRS-Pierre Fabre 2597). Les échantillons ont été dissous dans des solvants deutérés $\text{CD}_3\text{OD}/\text{MeOD}$, CDCl_3 et $\text{DMSO}-d_6$. Les déplacements chimiques δ ont été exprimés en ppm par rapport au signal du tétraméthylsilane (TMS), utilisé comme référence interne. Les constantes de couplage sont exprimées en Hz.

V.2. Etude de l'espèce *Fumana montana* Pomel

V.2.1. Extraction

950 g de la plante entière de *Fumana montana* Pomel, préalablement séchés et broyés, sont mis à macérer deux fois dans un mélange méthanol/eau (80:20) pendant 48 h à température ambiante. Après filtration et concentration, la phase aqueuse (600 ml) est soumise à une extraction liquide-liquide en utilisant quatre solvants organiques à polarité croissante (éther de pétrole, dichlorométhane, acétate d'éthyle et *n*-butanol). L'évaporation à sec des différents solvants a permis d'obtenir 3,5 g de l'extrait éthropétrolique, 4,8 g de l'extrait dichlorométhane, 11 g de l'extrait acétate d'éthyle et 41 g de l'extrait *n*-butanolique. Les CCM réalisées sur les trois extraits dans différents systèmes de solvants, mettent en relief la richesse relative des extraits acétate d'éthyle et *n*-butanol en métabolites secondaires, d'où notre intérêt à les soumettre à des investigations chimiques en vue de déterminer leur composition chimique.

V.2.2. Séparation et purification

V.2.2.1. Fractionnement et purification de l'extrait AcOEt

7 g de l'extrait acétate d'éthyle de la plante entière sont soumis à une chromatographie liquide sous vide (VLC) sur gel de silice en phase inverse RP-18. L'élution a été réalisée au moyen d'un mélange $\text{H}_2\text{O}-\text{MeOH}$ (Tableau V.1). Les fractions recueillies sont ensuite

soumises à une chromatographie sur couche CCM (Figure V.1), visualisées à la lumière UV aux longueurs d'onde 254 et 366 nm, révélées et chauffées à 100 °C.

Tableau V.1 : Fractionnement de l'extrait AcOEt

Eluant colonne		Fractions regroupées	Eluant CCM	Poids en mg	
H ₂ O/MeOH	80/20	F ₁	CHCl ₃ /MeOH 85/15	974	
	80/20				
	70/30	F ₂		519	
	70/30				
	60/40	F ₃		809	
	60/40				
	60/40				
	40/60	F ₄		207	
	40/60	F ₅		112	
	20/80	F ₆		130	
	20/80	F ₇		64	
	10/90	F ₈		CHCl ₃ /MeOH 93/7	167
	10/90				
	MeOH	100			F ₉
F ₁₀			230		
F ₁₁			57		
F ₁₂			100		

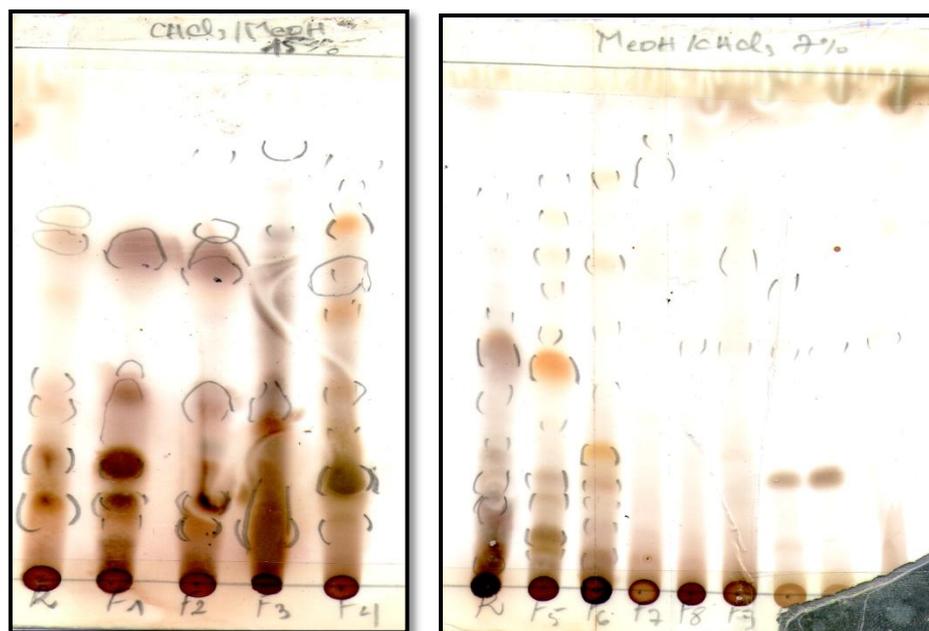


Figure V.1: CCM en phase normale des fractions (F1 à F12) de la chromatographie liquide sous vide (VLC) de l'extrait AcOEt

Purification de la fraction F₁ (974 mg)

Ce fractionnement est réalisé par une chromatographie sur colonne de polyamide, utilisant comme phase mobile, un mélange de solvants toluène/MeOH (Tableau V.2). Ceci a permis d'obtenir 14 sous fractions (F₁₋₁-F₁₋₁₄).

Tableau V.2 : Rassemblement des sous fractions de F₁

Eluant colonne		Fractions regroupées	Poids en mg
toluène/MeOH	99/1	F ₁₋₁	7
	97/3		
	95/5	F ₁₋₂	20
	90/10	F ₁₋₃	13
		F ₁₋₄	9,2
	80/20	F ₁₋₅	45
F ₁₋₆		92,4	

	70/30	F ₁₋₇	42
	70/30	F ₁₋₈	74
	60/40	F ₁₋₉	40
		F ₁₋₁₀	40
	50/50	F ₁₋₁₁	36
		F ₁₋₁₂	21,2
	40/60	F ₁₋₁₃	137
		F ₁₋₁₄	33,3

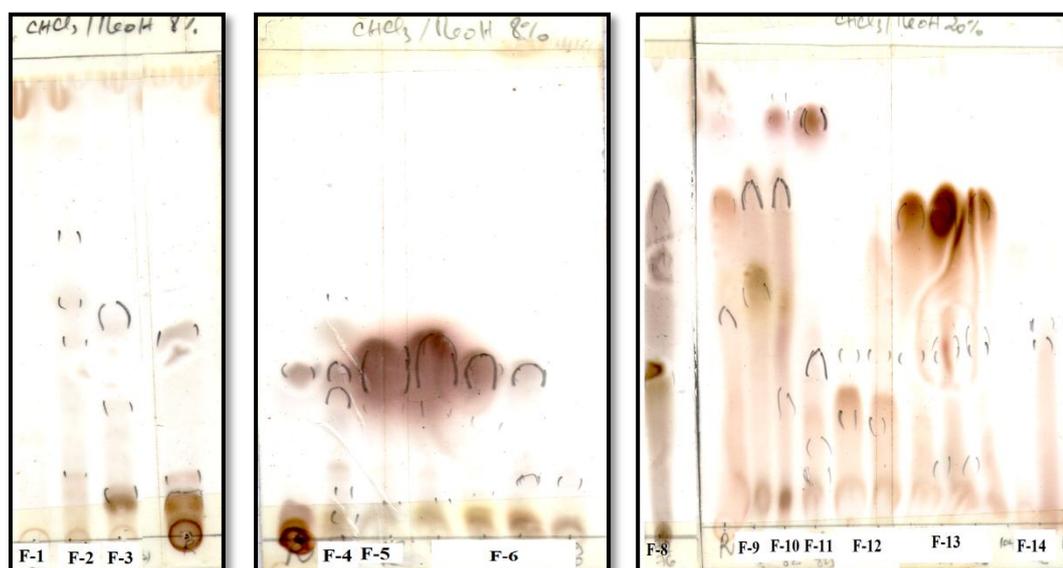


Figure V.2: CCM récapitulative des sous fractions de F₁

La sous fraction F₁₋₅ (45 mg) est soumise à une chromatographie sur colonne de gel de silice en phase normale. L'élution réalisée par un mélange CH₂Cl₂/MeOH (99-1, 97-3 et 95-5) a abouti à l'isolement, du composé **17** (10 mg) (Figure V.3).



Figure V.3: CCM en phase normale du composé 17

La purification de la sous fraction F₁₋₉ (40 mg) menée successivement par une chromatographie sur colonne de Sephadex LH-20 éluée par MeOH, suivie d'une CCE de silice RP-18 dans un mélange MeOH/H₂O (30-70), a abouti à l'isolement des composés **13** (6 mg) et **16** (7 mg) (Figure V.4).

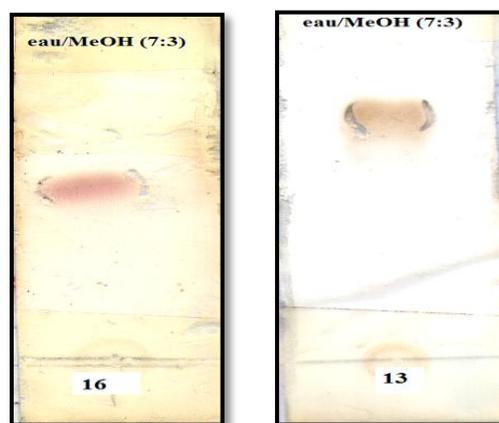


Figure V.4: CCM en phase inverse RP-18 des composés **13** et **16**

Purification de la fraction F₂ (519 mg)

Le fractionnement est réalisé par une chromatographie sur colonne de polyamide, utilisant le mélange toluène/MeOH à divers gradients (Tableau V.3). Ceci a permis de récolter 9 sous fractions (F₂₋₁-F₂₋₉) (Figure V.5).

Tableau V.3: Rassemblement des sous fractions de F₂

Eluant colonne		Fractions regroupées	Poids en mg
toluène/MeOH	90/10	F ₂₋₁	12,2
		F ₂₋₂	6,5
	85/15	F ₂₋₃	40,5
		F ₂₋₄	27,4
	80/20	F ₂₋₅	3,2
	70/30	F ₂₋₆	24,3
	60/40	F ₂₋₇	32,2
	40/60	F ₂₋₈	96,7
	20/80	F ₂₋₉	43

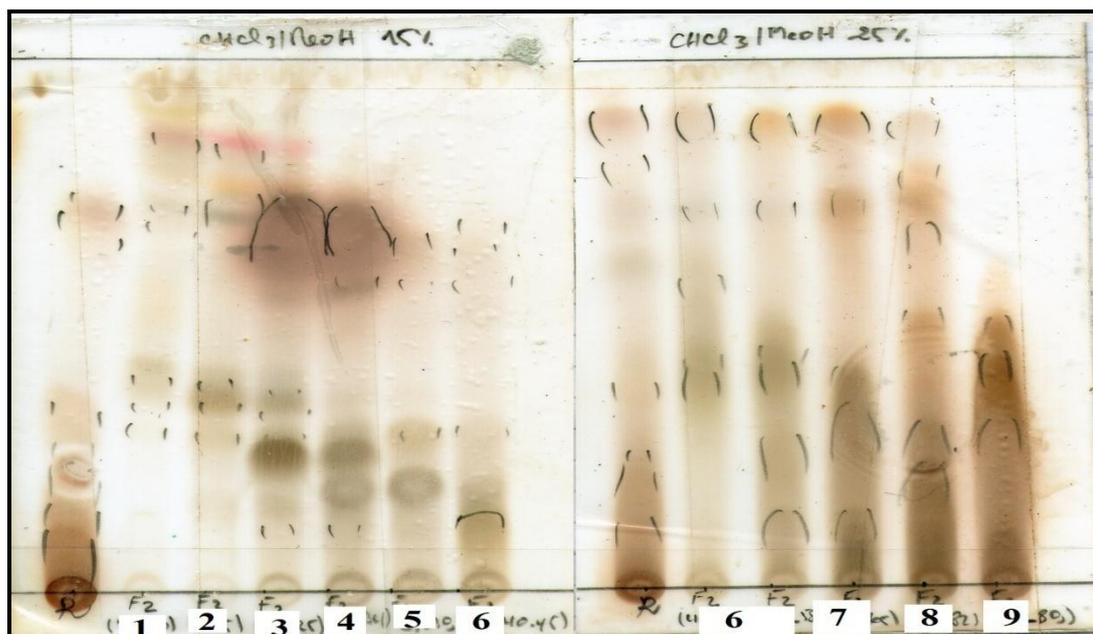


Figure V.5 : CCM en phase normale des sous fractions de F₂

Les sous fractions F₂₋₃ (40,5 mg) et F₂₋₄ (27,4 mg) réunies, sont soumises à une chromatographie sur colonne de Sephadex LH-20 dans MeOH. Une chromatographie préparative sur silice RP-18 dans un mélange H₂O/MeOH (60/40), a permis d'obtenir à l'état pur, les composés **14** (5 mg) et **15** (4 mg) (Figure V.6).

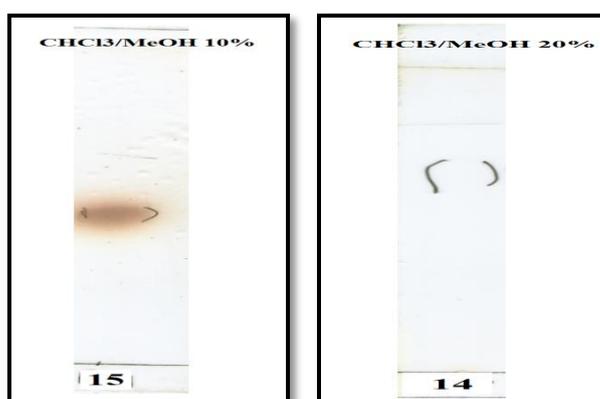


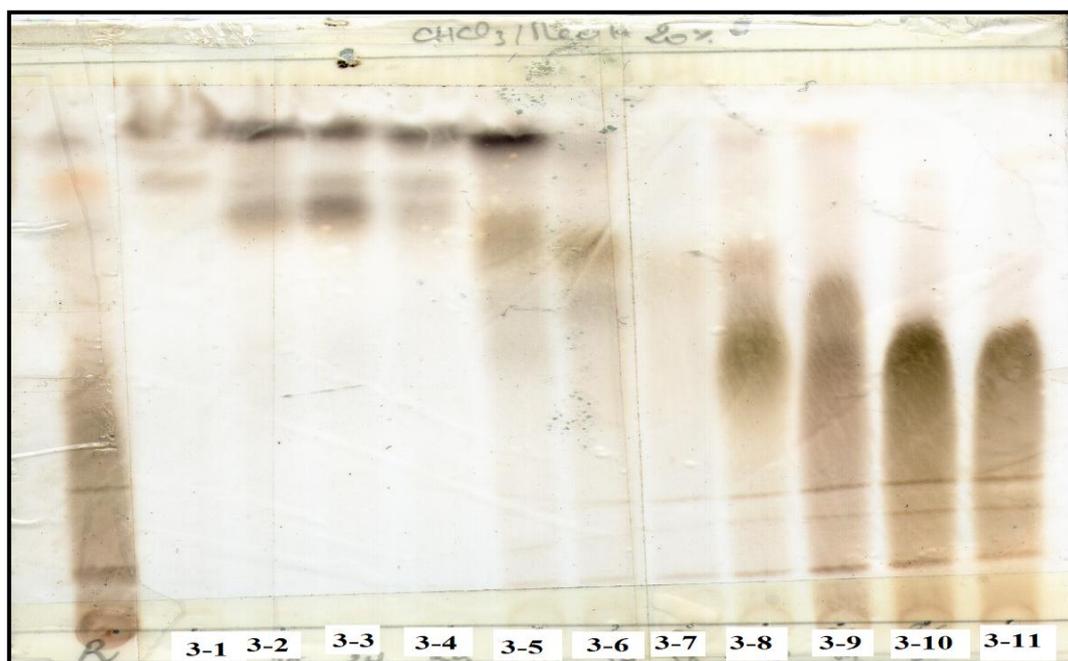
Figure V.6 : CCM en phase normale des composés 14 et 15

Purification de la fraction F₃

Le traitement de la fraction F₃ (809 mg) par une chromatographie sur colonne ouverte de polyamide, dans un mélange toluène/MeOH (Tableau V.4), a permis de recueillir 11 sous fractions qui vont de F₃₋₁ à F₃₋₁₁ (Figure V.7).

Tableau V.4: Rassemblement des sous fractions de F₃

Eluant colonne		Fractions regroupées	Poids en mg
toluène/MeOH	90/10	F ₃₋₁	27
		F ₃₋₂	16
	85/15	F ₃₋₃	20
		F ₃₋₄	9
		F ₃₋₅	30
	80/20	F ₃₋₆	22
		F ₃₋₇	7
	70/30	F ₃₋₈	25
	60/40	F ₃₋₉	182
	40/60	F ₃₋₁₀	306
	40/60	F ₃₋₁₁	36

**Figure V.7:** CCM en phase normale des sous fractions de F₃

La recristallisation dans le méthanol de la sous fraction F_{3-8} (25 mg) a permis d'accéder au composé **1** (10 mg) (Figure V.8).

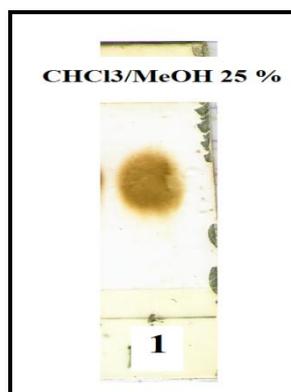


Figure V.8 : CCM en phase normale du composé 1

Le composé **5** (10 mg) (Figure V.9) a été isolé, suite à une purification de la sous fraction F_{3-11} (36 mg) au moyen d'une colonne de polyamide éluee par un mélange toluène/méthanol (70-30, 65-35 et 60-40).

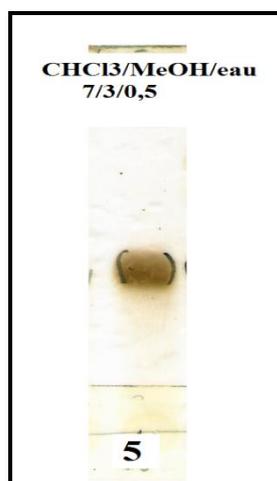


Figure V.9: CCM en phase normale du composé 5

La sous fraction F_{3-9} (182 mg) est soumise à une chromatographie sur colonne de polyamide, au moyen d'un mélange toluène/MeOH (70-30, 65-35 et 60-40). Cette purification a permis d'obtenir les deux composés **3** (3 mg) et **8** (5 mg) (Figure V.10).



Figure V.10: CCM en phase normale des composés 3 et 8

Purification de la fraction F₄

Le fractionnement de F₄ (207 mg) par chromatographie sur colonne ouverte de polyamide, dans un mélange toluène/MeOH (Tableau V.5), a permis de recueillir 9 sous fractions allant de F₄₋₁ à F₄₋₉.

Tableau V.5: Rassemblement des sous fractions de F₄

Eluant colonne		Fractions regroupées	Poids en mg
toluène/MeOH	90/10	F ₄₋₁	10
		F ₄₋₂	10
	85/15	F ₄₋₃	25
		F ₄₋₄	18
	80/20	F ₄₋₅	12
	70/30	F ₄₋₆	20
		F ₄₋₇	82
		F ₄₋₈	28
	60/40	F ₄₋₉	45

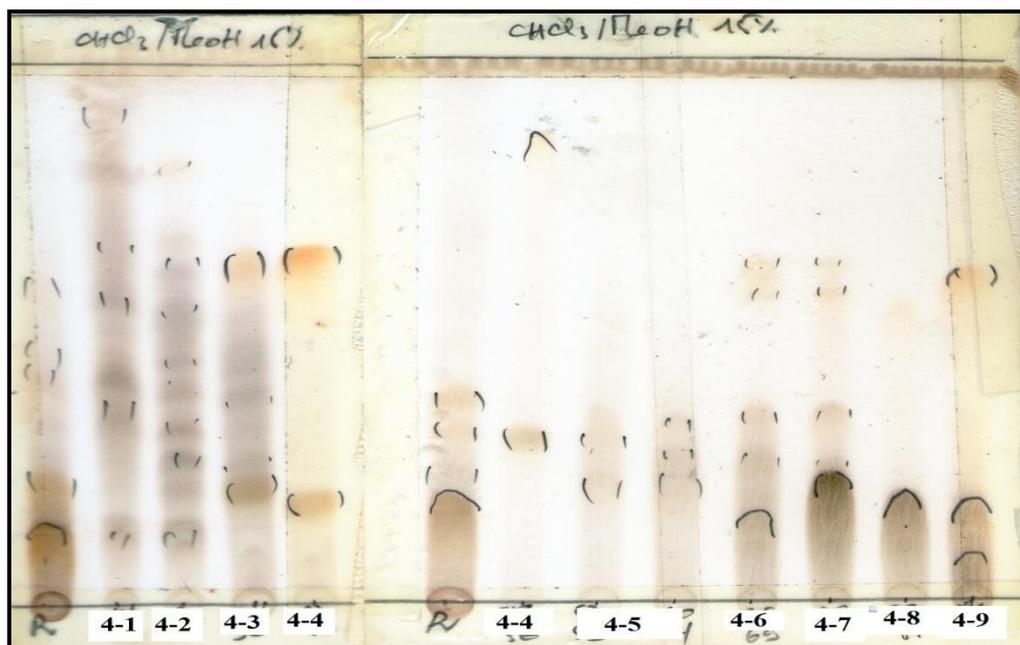


Figure V.11: CCM récapitulative des sous fractions de F₄

La filtration de la fraction F₄₋₃ (25 mg) sur une colonne de Sephadex LH-20 dans le méthanol, suivie d'une recristallisation dans le méthanol a abouti à l'isolement du composé **6** (5 mg) (Figure V.12).

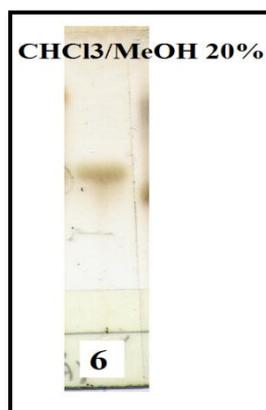


Figure V.12: CCM en phase normale du composé **6**

La filtration de la sous fraction F₄₋₄ (18 mg) sur une colonne de Sephadex LH-20 dans MeOH, a conduit aux composés **7** (2 mg) et **10** (8 mg) (Figure V.13).



Figure V.13: CCM en phase normale des composés 7 et 10

Une chromatographie sur colonne de gel de silice normale effectuée sur la fraction F₄₋₇ (82 mg) dans un mélange CHCl₃/MeOH (95-5, 92-8, 88-12), a permis d'isoler les composés **2** (37 mg) et **9** (4 mg) à l'état pur (Figure V.14).

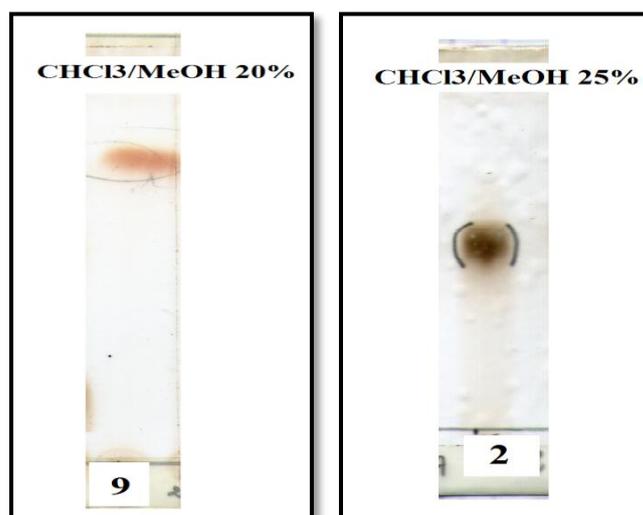


Figure V.14: CCM en phase normale des composés 2 et 9

V.2.2.2. Fractionnement et purification de l'extrait *n*-BuOH

7 g de l'extrait *n*-butanolique sont soumis à une chromatographie liquide sous vide (VLC) sur gel de silice en phase inverse RP-18. L'éluion a été réalisée au moyen d'un mélange H₂O-MeOH à différents gradients (Tableau V.6). Les fractions recueillies sont soumises à une chromatographie sur couche CCM, visualisées à la lumière UV aux longueurs d'onde 254 et 366 nm, révélées et chauffées à 100 °C. Elles sont ensuite rassemblées conformément au tableau V.6.

Tableau V.6: Fractionnement de l'extrait *n*-BuOH

Eluant colonne		Fractions regroupées	Eluant CCM	Poids en mg
H ₂ O/MeOH	80/20	F' ₁	CHCl ₃ /MeOH/H ₂ O 7/3/0,5	50
	80/20	F' ₂		2700
	70/30	F' ₃		1640
	70/30			
	60/40	F' ₄		180
	60/40	F' ₅		430
	60/40			
	40/60	F' ₆	CHCl ₃ /MeOH/H ₂ O 7/3/0,1	255
	40/60	F' ₇		216
	20/80			
	20/80	F' ₈		174
	10/90			
	10/90			
MeOH	100			

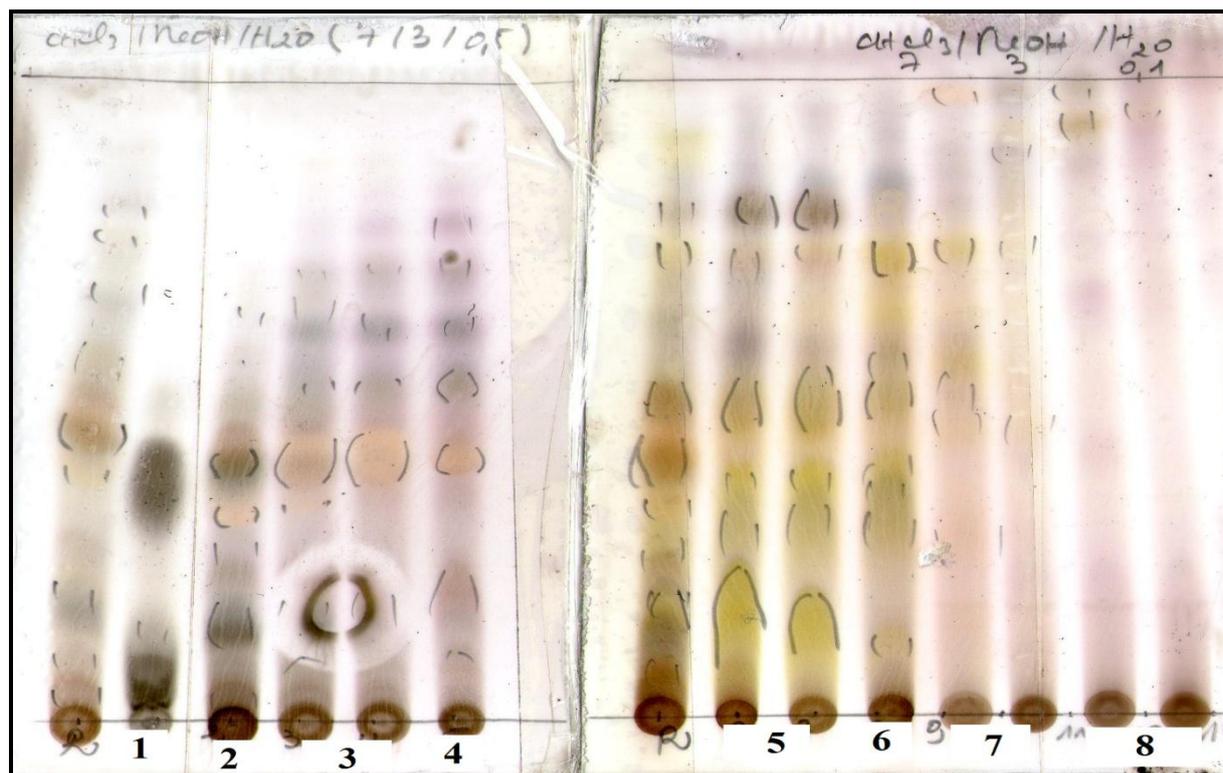


Figure V.15: CCM (phase normale) récapitulative des fractions de l'extrait n-BuOH obtenues par VLC

Purification de la fraction F₃ (1 g)

Le fractionnement par chromatographie sur colonne ouverte de polyamide dans un mélange toluène/MeOH (Tableau V.5), a permis de recueillir 9 sous fractions allant de F'₃₋₁ à F'₃₋₉ (Figure V.16).

Tableau V.5: Rassemblement des sous fractions de F₃

Eluant colonne		Fractions regroupées	Poids en mg
toluène/MeOH	95/5	F' ₃₋₁	6
	90/10	F' ₃₋₂	4
		F' ₃₋₃	7
	85/15	F' ₃₋₄	13
		F' ₃₋₅	113
	80/20	F' ₃₋₆	45

	70/30 60/40	F' ₃₋₇	97
	40/60	F' ₃₋₈	137
	20/80	F' ₃₋₉	109

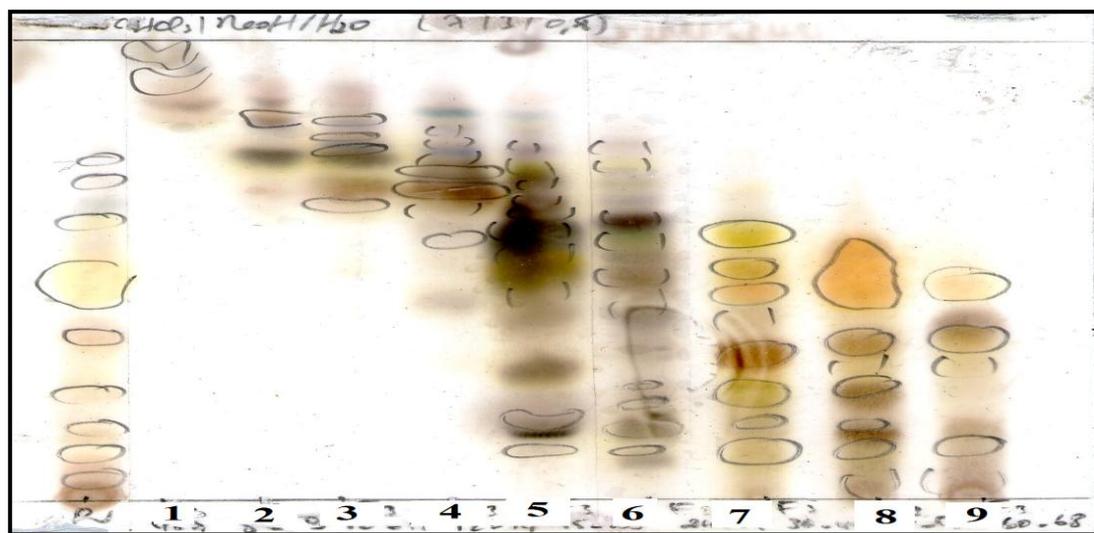


Figure V.16: CCM (phase normale) récapitulative des sous fractions de F'₃

Le fractionnement de la sous-fraction F'₃₋₉ (109 mg) par chromatographie sur colonne de polyamide, au moyen d'un mélange toluène/MeOH (90:10 à 50:50), suivie d'une purification sur CCE en phase inverse utilisant le système H₂O/MeOH (50/50), a permis d'obtenir le composé **4** (4 mg) à l'état pur (Figure V.17).



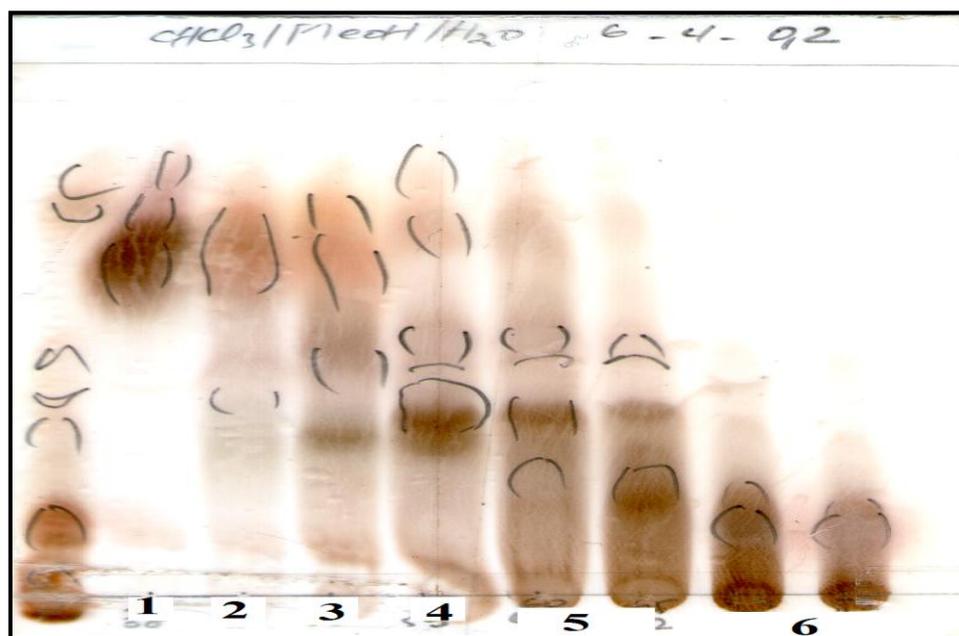
Figure V.17: CCM (silice en phase normale) du composé 4

Purification de la fraction F'₂

Le fractionnement de F'₂ (2,7 g) par chromatographie sur colonne ouverte de polyamide, en utilisant comme éluant un mélange toluène/MeOH à différents gradients (Tableau V.6), a permis de collecter 6 sous fractions allant de F'₂₋₁ à F'₂₋₆ (Figure V.18).

Tableau V.6: Rassemblement des sous fractions de F'₂

Eluant colonne		Fractions regroupées	Poids en mg
toluène/MeOH	90/10 85/15	F' ₂₋₁	173
	80/20	F' ₂₋₂	288,6
	75/25	F' ₂₋₃	208
	70/30	F' ₂₋₄	102
	60/40	F' ₂₋₅	166
	50/50	F' ₂₋₆	349

**Figure V.18:** CCM (phase normale) récapitulative des sous fractions de F'₂

La sous-fraction F'_{2-1} (173 mg) est mise à fractionner sur une colonne de polyamide, au moyen d'un système toluène/MeOH à différents gradients (90:10 à 50:50). Une chromatographie préparative sur silice RP-18, utilisant le système de solvants H₂O/MeOH (60/40), a permis d'isoler les composés **11** (3 mg) et **12** (2 mg) à l'état pur (Figure V.19).

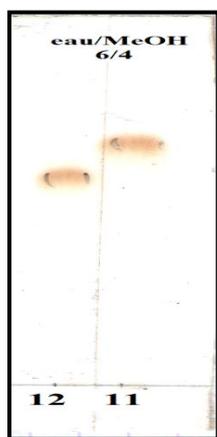


Figure V.19: CCM en phase inverse RP-18 des composés **11** et **12**

V.2.3. Composés isolés de l'espèce *Fumana montana* L.

V.2.3.1. Composé 1

3-méthoxy-7-O-β-(6''-galloylglucopyranoside) quercétine

Formule brute: C₂₉H₂₆O₁₆

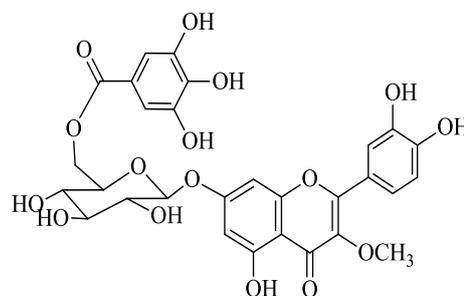
[α]_D: - 115.4° (C = 0,77, MeOH)

MS: ESI (mode positif) *m/z*: 653 [M+Na]⁺

(mode négatif) *m/z*: 629 [M-H]⁻

RMN ¹H (500 MHz) et RMN ¹³C (125 MHz)

dans MeOD-CDCl₃ (Tableau III.1, page 54)



V.2.3.2. Composé 2

3,4'-diméthoxy-7-O-β-(6''-galloylglucopyranoside) quercétine

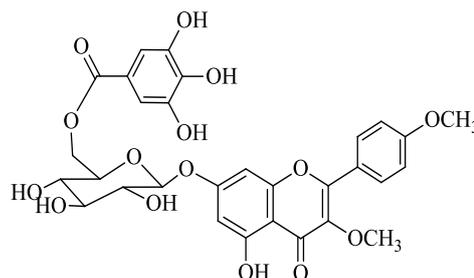
Formule brute: C₃₀H₂₈O₁₆

[α]_D: - 121,7°, (C = 1,18, MeOH)

MS: ESI (mode négatif) *m/z*: 643 [M-H]⁻

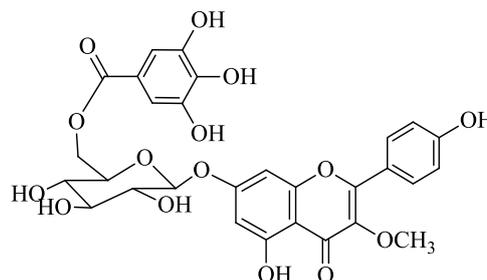
RMN ¹H (500 MHz) et RMN ¹³C (125 MHz)

dans MeOD-CDCl₃ (Tableau III.2, page 60)



V.2.3.3. Composé 33-méthoxy-7-*O*-β-(6''-galloylglucopyranoside) kaempférol**Formule brute:** C₂₉H₂₆O₁₅**[α]_D:** - 62°, (C = 2,583, MeOH)**MS:** ESI (mode positive) *m/z*: 637 [M+Na]⁺RMN ¹H (500 MHz) et RMN ¹³C (125 MHz)

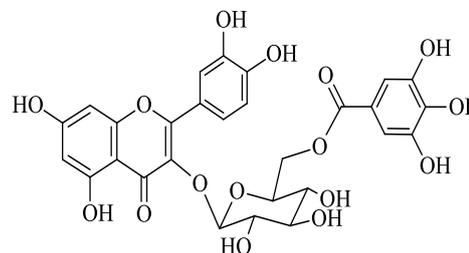
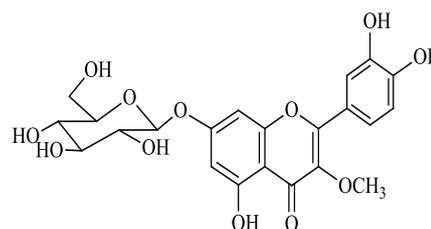
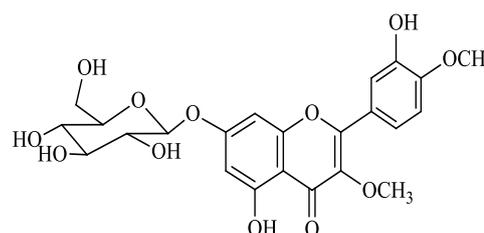
dans MeOD (Tableau III.3, page 67)

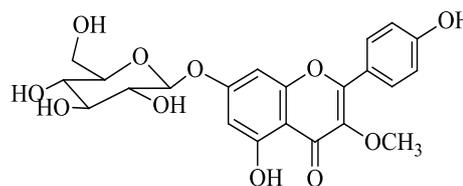
**V.2.3.4. Composé 4**

Tellimoside

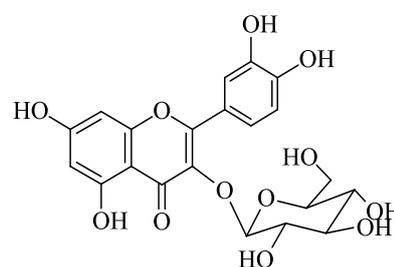
Formule brute: C₂₈H₂₄O₁₆**[α]_D:** - 54°, (C = 0,3, MeOH)**MS:** ESI (mode négatif) *m/z*: 615 [M-H]⁻RMN ¹H (500 MHz) et RMN ¹³C (125 MHz)

dans MeOD (Tableau III.4, page 71)

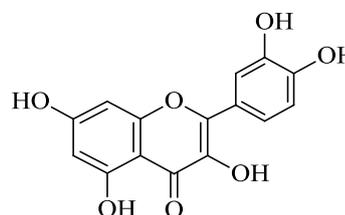
**V.2.3.5. Composé 5**3-méthoxy-7-*O*-β-glucopyranoside quercétine**Formule brute:** C₂₂H₂₂O₁₂**[α]_D:** -56°, (C = 0,266, MeOH)**MS:** ESI (mode positif) *m/z*: 501 [M-Na]⁺(mode négatif) *m/z*: 476,9 [M-H]⁻RMN ¹H (500 MHz) et RMN ¹³C (125 MHz)dans DMSO-*d*₆ (Tableau III.5, page 76)**V.2.3.6. Composé 6**3,4'-diméthoxy-7-*O*-β-glucopyranoside quercétine**Formule brute:** C₂₃H₂₄O₁₂**[α]_D:** - 49,7° (C = 0,175, MeOH)**MS:** ESI (mode négatif) *m/z*: 491 [M-H]⁻RMN ¹H (500 MHz) et RMN ¹³C (125 MHz)dans DMSO-*d*₆ (Tableau III.6, page 80)

V.2.3.7. Composé 73-méthoxy-7-*O*-β-glucopyranoside kaempférol**Formule brute:** C₂₂H₂₂O₁₁**MS:** ESI (mode négatif) *m/z*: 461 [M-H]⁻
(mode positif) *m/z*: 485 [M+Na]⁺RMN ¹H (500 MHz) et RMN ¹³C (125 MHz)
dans MeOD (Tableau III.7, page 85)**V.2.3.8. Composé 8**

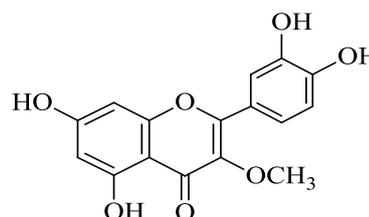
Isoquercétrine

Formule brute: C₂₁H₂₀O₁₂**MS:** ESI (mode positif) *m/z*: 487 [M+Na]⁺
RMN ¹H (500 MHz) et RMN ¹³C (125 MHz)
dans MeOD (Tableau III.8, page 88)**V.2.3.9. Composé 9**

Quercétine

Formule brute: C₁₅H₁₀O₇**MS:** ESI (mode négatif) *m/z*: 301 [M-H]⁻
RMN ¹H (500 MHz) et RMN ¹³C (125 MHz)
dans MeOD (Tableau III.9, page 91)**V.2.3.10. Composé 10**

3-méthoxy quercétine

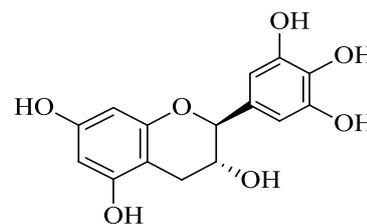
Formule brute: C₁₆H₁₂O₇**MS:** ESI (mode négatif) *m/z*: 315 [M-H]⁻
(mode positif) *m/z*: 339 [M+Na]⁺
RMN ¹H (500 MHz) et RMN ¹³C (125 MHz)
dans MeOH (Tableau III.10, page 94)

V.2.3.11. Composé 11

(-)-Gallocatéchine

Formule brute: C₁₅H₁₄O₇**[α]_D:** - 22° (C = 0,2, MeOH)**MS:** ESI (mode négatif) *m/z*: 305 [M-H]⁻RMN ¹H (500 MHz) et RMN ¹³C (125 MHz)

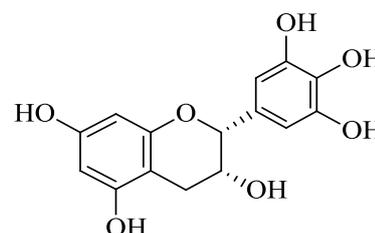
dans MeOD (Tableau III.11, page 100)

**V.2.3.12. Composé 12**

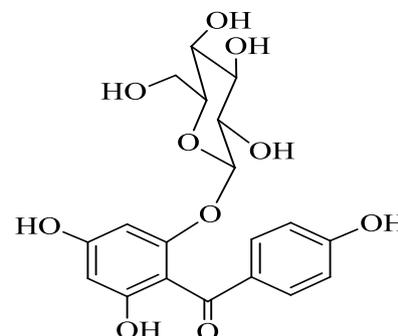
(-)-Epigallocatéchine

Formule brute: C₁₅H₁₄O₇**[α]_D:** -33,5° (C 0,42, MeOH)**MS:** ESI (mode négatif) *m/z*: 305 [M-H]⁻RMN ¹H (500 MHz) et RMN ¹³C (125 MHz)

dans MeOD (Tableau III.12, page 103)

**V.2.3.13. Composé 13**Iriflophénone-2-*O*-β-D-glucopyranoside**Formule brute:** C₁₉H₂₀O₁₀**[α]_D:** - 15,2° (C 0,466, MeOH)**MS:** ESI (mode négatif) *m/z*: 407 [M-H]⁻, 814 [2M-H]⁻RMN ¹H (500 MHz) et RMN ¹³C (125 MHz)

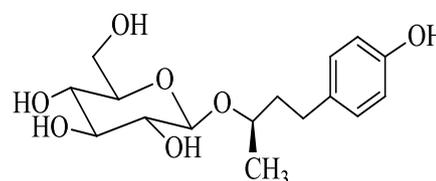
dans MeOD (Tableau III.13, page 111)

**V.2.3.14. Composé 14**

(-)-Rhododendrine

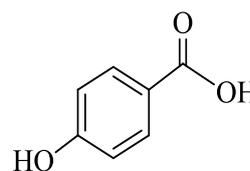
Formule brute: C₁₆H₂₄O₇**[α]_D:** - 17,6° (C = 0,1, MeOH)**MS:** ESI (mode positif) *m/z*: 351 [M+Na]⁺RMN ¹H (500 MHz) et RMN ¹³C (125 MHz)

dans MeOD (Tableau III.14, page 117)



V.2.3.15. Composé 15Acide *p*-hydroxybenzoïque**Formule brute:** C₇H₆O₃RMN ¹H (500 MHz) et RMN ¹³C (125 MHz)

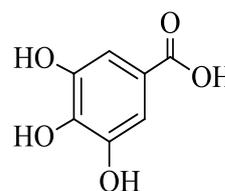
dans MeOD (Tableau III.15, page 119)

**V.2.3.16. Composé 16**

Acide gallique

Formule brute: C₇H₆O₅**MS:** ESI (mode négatif) *m/z*: 339 [2M-H]⁻ et 169 [M-H]⁻RMN ¹H (500 MHz) et RMN ¹³C (125 MHz)

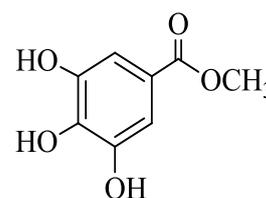
dans MeOD (Tableau III.16, page 121)

**V.2.3.17. Composé 17**

Gallate de méthyle

Formule brute: C₈H₈O₅**MS:** ESI (mode positif) *m/z*: 391 [2M+Na]⁺, 207 [M+Na]⁺RMN ¹H (500 MHz) et RMN ¹³C (125 MHz)

dans MeOD (Tableau III.17, page 123)

**V.3. Etude de l'espèce *Fumana thymifolia*****V.3.1. Extraction**

La plante entière (1 Kg) de *Fumana thymifolia*, préalablement séchée et broyée, est mise à macérer pendant 48 h dans un mélange hydro-alcoolique (EtOH-H₂O : 70-30). La macération est effectuée 2 fois avec renouvellement de solvants. La filtration et l'évaporation ont permis d'obtenir 600 ml de phase aqueuse. L'extraction de cette dernière par des solvants à polarité croissante (éther de pétrole, acétate d'éthyle et *n*-butanol) et suivie d'une évaporation à sec, ont donné trois extraits: éthéropétrolique (5 g), acétate d'éthyle (14 g) et *n*-butanol (41 g).

V.3.2. Séparation et purification

V.3.2.1. Fractionnement et purification de l'extrait AcOEt

7 g de l'extrait acétate d'éthyle de la plante entière sont soumis à une chromatographie liquide sous vide (VLC) sur gel de silice en phase inverse RP-18. L'élution a été réalisée au moyen d'un mélange H₂O-MeOH à différents gradients (Tableau V.7). Les fractions recueillies sont soumises à une chromatographie sur couche mince (Figure V.20), visualisées à la lumière UV aux longueurs d'onde 254 et 366 nm et révélées à une solution acide et chauffage à 100 °C. Le tableau V.7 reporte les différentes fractions obtenues.

Tableau V.7: Fractionnement de l'extrait AcOEt

Eluant colonne		Fractions	Fractions regroupées	Eluant CCM	Poids en mg	
H ₂ O/MeOH	80/20	1	F'' ₁	CHCl ₃ /MeOH 85/15	3700	
	80/20	2				
	70/30	3				
	70/30	4				
	60/40	5	F'' ₂		700	
	60/40	6				
	60/40	7				
	40/60	8				
	40/60	9				
	20/80	10	F'' ₃		CHCl ₃ /MeOH 93/7	500
	20/80	11				
10/90	12					
MeOH	100	14	F'' ₄		1200	
	100	15				
	100	16				

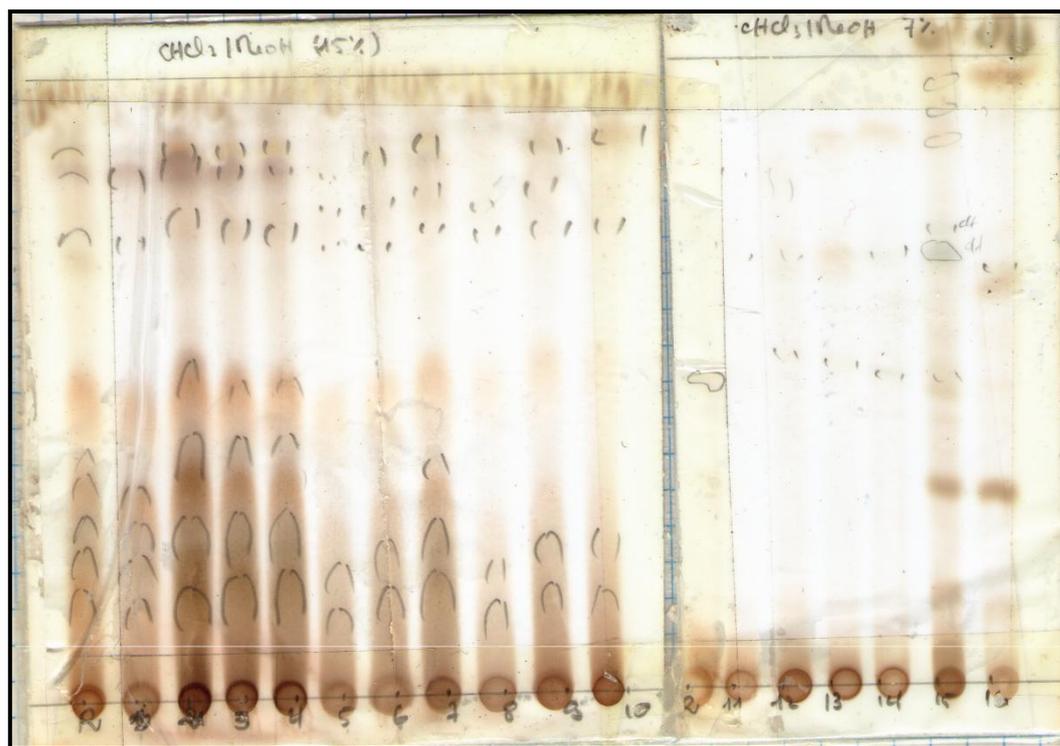


Figure V.20: CCM récapitulative des fractions de la VLC de l'extrait AcOEt

Purification de la fraction F''₁

Le fractionnement de F''₁ (3,7 g) par chromatographie sur colonne ouverte de polyamide, en utilisant comme éluant le mélange toluène/MeOH (Tableau V.8), a permis de collecter 18 sous fractions qui vont de F''₁₋₁ à F''₁₋₁₈ (Figure V.21).

Tableau V.6: Rassemblement des sous fractions de F''₁

Eluant colonne		Fractions regroupées	Poids en mg
toluène/MeOH	98/2	F'' ₁₋₁	22
	96/4	F'' ₁₋₂	23
		F'' ₁₋₃	38
		F'' ₁₋₄	24
		F'' ₁₋₅	161
		F'' ₁₋₆	71
	94/6	F'' ₁₋₇	88

	90/10	F'' ₁₋₈	193
	90/10	F'' ₁₋₉	124
95/15		F'' ₁₋₁₀	178
		F'' ₁₋₁₁	166
		F'' ₁₋₁₂	421
		F'' ₁₋₁₃	265
80/20		F'' ₁₋₁₄	213
		F'' ₁₋₁₅	911
70/30		F'' ₁₋₁₆	217
		F'' ₁₋₁₇	170
		F'' ₁₋₁₈	44

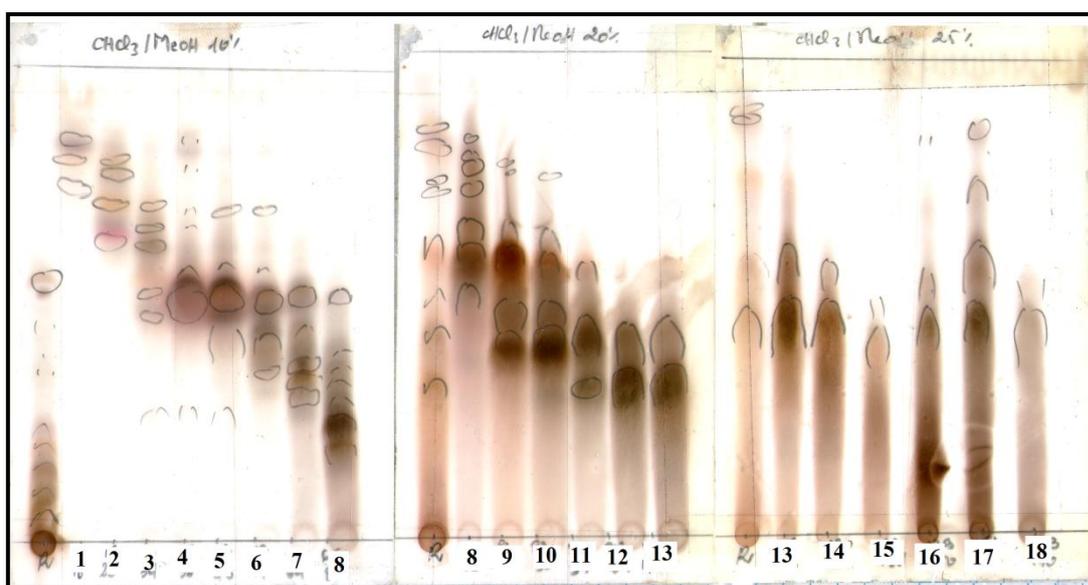


Figure V.21: CCM récapitulative en phase normale des sous fractions de F''₁

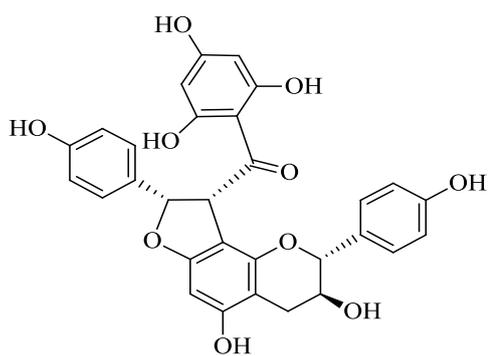
La sous-fraction F''₁₋₉ (124 mg) est soumise à une chromatographie sur colonne de polyamide. L'élution est effectuée au moyen d'un système toluène/MeOH (90:10 à 50:50). Une chromatographie CLPH semi-préparative dans le système H₂O-MeOH (75-25, 40- 60), a abouti à l'isolement du composé **18** (10 mg).

V.3.3. Composés isolés de l'espèce *Fumana thymifolia***V.3.3.1. Composé 18**

Dihydrodaphnodorine B

Formule brute: C₃₀H₂₄O₁₀**MS:** ESI (mode négatif) *m/z*: 543 [M-H]⁻RMN ¹H (500 MHz) et RMN ¹³C (125 MHz)

dans MeOD (Tableau V.1, page 139)



Références

Bibliographiques

- [1] D. A. Dias, S. Urban, U. Roessner (2012). A Historical Overview of Natural Products in Drug Discovery. *Metabolites*, 2: 303-336.
- [2] N. R. Farnsworth, R.O. Akerele, A.S. Bingel, D.D. Soejarto, Z. Guo (1985). Medicinal Plants in Therapy. *Bull World Health Organ*, 63: 965–981.
- [3] J. A. Milner (1994). Reducing the risk of cancer. In *Functional Foods: Designer Foods, Pharmafoods, Nutraceuticals*; Goldberg, I., Ed.; Chapman & Hall: New York, NY, USA, 39-70.
- [4] G. G. Duthie, K.M. Brown (1994). Reducing the risk of cardiovascular disease. In *Functional Foods: Designer Foods, Pharmafoods, Nutraceuticals*; Goldberg, I., Ed.; Chapman & Hall: New York, NY, USA, 19-38.
- [5] B. Guzmán, P. Vergas (2009). Historical biogeography and character evolution of Cistaceae (Malvales) based on analysis of plastid *rbcL* and *trnL-trnF* sequences *Organisms. Diversity & Evolution*, 9: 83–99.
- [6] M. Couladis, O. Tzakou (2001). The Oil of *Fumana thymifolia* (L.) Spach ex Webb from Greece. *Journal of Essential Oil Research*, 13: 434-435.
- [7] M. C. F. Proctor (1978). Cistaceae, Flowering plants of the world: Heywood, V.H. (ed). Oxford University Press, Oxford, 108-109.
- [8] P. M. Dansereau (1939). Monographie du genre *Cistus* L. *Boissiera*, 4: 1-90.
- [9] W. Greuter, H.M. Burdet, G. Long (1984). Cistaceae. In: *Med-checklist*. Vol. I. Conservatoire et Jardin botaniques, Ville de Genève. M.ed- Checklist Trust of OPTIMA, Genève, 315-330.
- [10] P.Ellul, M., Boscaiu, O. Vicente, V. Moreno, J.A. Rosselló (2002). Intra- and interspeciWc variation in DNA content in *Cistus* (Cistaceae). *Annals of Botany*, 90: 345–351.
- [11] B. Guzmán, P. Vargas (2005). Systematics, character evolution, and biogeography of *Cistus* L. (Cistaceae) based on ITS, *trnL-trnF*, and *matK* sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 37: 644–660.
- [12] G. Kamari, C. Blanché, S. Siljak-Yakovlev (2009). Mediterranean chromosome number reports 19. *Flora Mediterranea*, 19: 313-336.
- [13] P. Quezel, S. Santa (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Vol. 1–2. CNRS, Paris, France.
- [14] V. Stevanović, V. Matevski, K. Tan (2009). *Helianthemum marmoreum* (Cistaceae), a new species from the Central Balkans. *Botanica Serbica*, 33: 13-19.

- [15] P. Sánchez-Gómez, J. F. Jiménez, J. B. Vera (2011). *Helianthemum motae* (Cistaceae), a new species from southeastern Spain. *Annals of Botany Fennici*, 48: 49-56.
- [16] J. Güemes (1999). A new species of *Fumana* (Cistaceae) from Rif Morocco. *Folia Gebot.*, 34: 363-372.
- [17] S. Toth, A. Révay (2011). *Oncopodium lidiae* sp. nov. (Hyphomycetes) on *Fumana procumbens* from Hungary. *Mycologia Balcanica*, 8: 89-91.
- [18] M. Zunzunegui, F. L. Baco, M.C. Diaz Barradas, F. G. Novo (1999). Seasonal changes in phytochemical efficiency in leaves of *Halimium halimifolium*, a mediterranean semideciduous shrub. *Photosynthetica*, 37 (1): 17-31.
- [19] L. Zaiter, M. Bouheroum, L. Hammoud, D. Sarri, S. Benayache, F. Leon, I. Brouard, J. Bermejo, F. Benayache (2010). Phytochemical study of *Halimium halimifolium*. *Chemistry of Natural Compounds*, 47: 1023-1024.
- [20] H. B. Massicotte, R.L. Peterson, L.H. Melville, L.E. Tackaberry (2010). *Hudsonia ericoides* and *Hudsonia tomentosa*: Anatomy of mycorrhizas of two members in the Cistaceae from Eastern Canada. *Botany*, 88: 607-616.
- [21] L. Civeyrel, J. Leclercq, J-P. Demoly, Y. Agnan, N. Quèbre, C. Péliissier, T. Otto (2011). Molecular systematics, character evolution, and pollen morphology of *Cistus* and *Halimium* (Cistaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 295: 23-54.
- [22] M. J. Gallego, A. Aparicio (1993). Karyological study in the genus *Tuberaria* Sect. *Scorpioides* (Cistaceae): taxonomic and evolutionary inferences. *Plant Systematics and Evolution*, 184: 11-25.
- [23] J. Herrera (2004). Lifetime fecundity and floral variation in *Tuberaria guttata* (Cistaceae), a Mediterranean annual. *Plant Ecology*, 172: 219-225.
- [24] M. Castro, P. Fraga, N. Torres, J. A. Rossello (2007). Cytotaxonomical observations on flowering plants from the Balearic Islands. *Annals of Botany Fennici*, 44: 409-415.
- [25] H. Baillon (1872). *Histoire des plantes, Monographie des Bixacées : Cistacées et Violacées*. Librairie Hachette, Paris, 356 p.
- [26] Achille H. (1876). *Nouveaux éléments de botanique*. Onzième Ed., Librairie F. Savy, Paris. 712 p.
- [27] J. Herrera (1992). Flower variation and breeding systems in the Cistaceae. *Plant Systematics and Evolution*, 179 : 245-255.

- [28] O. Reyes, L. Trabaud (2009). Germination behaviour of 14 Mediterranean species in relation to fire factors: smoke and heat, *Plant Ecology* 202: 113–121.
- [29] S. Baslar, Y. Dogan, H. H. Mert (2002). A study on the soil-plant interactions of some *Cistus* L. species distributed in West Anatolia. *Turkish Journal of Botany*, 26: 149–159.
- [30] O. Ustun, I. Gurbuz, S. Kusmenoglu, S. Turkoz (2004). Fatty acid content of three *Cistus* species growing in Turkey. *Chemistry of Natural Compounds*, 40: 526-528.
- [31] B. Wang, Y. L. Qiu (2006). Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. *Mycorrhiza*, 16: 299-363.
- [32] P. Fournier (1947). *Le livre des plantes médicinales et vénéneuses de France*. Tome I. Ed. Paul Lechatelier.
- [33] O. Benkhighe, F. Ben Akka, S. Salhi, M. Fadli, A. Douira, L. Zidane (2014). Catalogue des plantes médicinales utilisées dans le traitement du diabète dans la région d'Al Haouz-Rhamna (Maroc). *Journal of Animal & Plant Sciences*, 23: 3539-3568.
- [34] M. Aziz, N. Tab, A. Karim, H. Mekhfi, M. Bnouham, A. Ziyat, A. Melhaoui, A. Legssyer (2006). Relaxant effect of aqueous extract of *Cistus ladaniferus* on rodent intestinal contractions. *Fitoterapia*, 77: 425-428.
- [35] J. M. Crespo Martín, J. A. Cardenal Galván, D. Peral Pacheco, J.R. Vallejo Villalobos (2009). Jara pringosa (*Cistus ladanifer*), usos, utilidades y curiosidades en Extremadura. *Revista de Estudios Extremeños*, Tomo LXV; número III, 1637-1650
- [36] J. Bammi, A. Douira (2002). Les plantes médicinales dans la forêt de l'achach (plateau central, Maroc). *Acta Botanica Malacitana* 27: 131-145.
- [37] J. Bellakhdar (1998). *Pharmacopée traditionnelle marocaine, Médecine arabe ancienne et savoirs populaires*. Ibis Press, Paris, 770.
- [38] E. Barbosa, F. Calzada, R. Campos (2006). Antigiardial activity of methanolic extracts from *Helianthemum glomeratum* Lag. And *Rubus coriifolius* Focke in suckling mice CD-1. *Journal of Ethnopharmacology*, 108: 395-397.
- [39] S. G. Alsabri, M. A. M. Ebsaim, S. S. Mohamed, N. H. M. Omer, N. S. Ghnan, S. A. M. Edawdi, S. K. Al-Shalmani, J. Mezogi (2014). Antiulcer property of Libyan *Helianthemum kahiricum* plant. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2 (5): 80-84.

- [40] E. Barrajon-Catalán, S. Fernández-Arroyo, D. Saura, E. Guillén, A. Fernández-Gutiérrez, A. Segura-Carretero, V. Micol (2010). Cistaceae aqueous extracts containing ellagitannins show antioxidant and antimicrobial capacity, and cytotoxic activity against human cancer cells. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 2273–2282.
- [41] Á. Rubio-Moraga, J. Argandoña, B. Mota, J. Pérez, A. Verde, J. Fajardo, J. Gómez-Navarro, R. Castillo-López, O. Ahrazema, L. Gómez-Gómez (2013). Screening for polyphenols, antioxidant and antimicrobial activities of extracts from eleven *Helianthemum* taxa (Cistaceae) used in folk medicine in south-eastern Spain. *Journal of Ethnopharmacology*, 148: 287–296.
- [42] P. Proksch, P.-G. Gülz (1984). Methylated flavonoids from *Cistus ladanifer* and *Cistus palhinhae* and their taxonomic implications. *Phytochemistry*, volume 23, Issue 2, 470–471.
- [43] T. Vogt, P. Proksch, P.-G. Gülz, E. Wollenweber (1987). Rare 6- and 8-*O*-methylated epicuticular flavonols from two *Cistus* species. *Phytochemistry*, Vol. 26, No. 4, pp. 1027-1030.
- [44] T. Vogt, P. -G. Gülz (1994). Accumulation of flavonoids during leaf development in *Cistus laurifolius*. *Phytochemistry*, Vol. 36, No. 3, pp. 591-597.
- [45] K. Dimas, C. Demetzos, D. Angelopoulou, A. Kolokouris, T. Mavromoustakos (2000). Biological activity of Myricetin and its derivatives against human leukemic cell lines *in vitro*. *Pharmacological Research*, Vol. 42, No. 5, pp. 475-478.
- [46] F. Tomás-Lorente., M. M. Garcia-Grau, J. L. Nieto, F. A. Tomás-Barberán (1992). Flavonoids from *Cistus ladanifer* bee pollen. *Phytochemistry*, Vol. 31, No. 6, pp. 2027-2029.
- [47] J. D. P. Terreza, J. G. Urones, I.S. Marcos, L. Nùñez, P. Basabe (1983). Diterpenoids and flavonoids from *Cistus palinhae*. *Phytochemistry*, Vol. 22, No. 12, pp. 2805-2808.
- [48] L. Barros, M. Duenas, C. T. Alves, S. Silva, M. Henriques, C. S. Buelga, I. C. F. R. Ferreira (2013). Antifungal activity and detailed chemical characterization of *Cistus ladanifer* phenolic extracts. *Industrial Crops and Products*, 41: 41-45.
- [49] A. Danne, F. Petereit, A. Nahrstedt (1993). Proanthocyanidins from *Cistus incanus*. *Phytochemistry*, Vol. 34, No. 4, pp. 1129-1133.

- [50] F. Petereit, H. Kolodziej, A. Nahrstedt (1991). Flavan-3-ols and proanthocyanidins from *Cistus incanus*. *Phytochemistry*, Vol. 30, No. 3, 981-985.
- [51] A. Danne, F. Petereit, A. Nahrstedt (1994). Flavan-3-ols, prodelphinidins and further polyphenols from *Cistus salvifolius*. *Phytochemistry*, 37 (2): 533-538.
- [52] C. Demetzos, C. Harvala, S.M. Philianos (1990). A new labdane-type diterpene and other compounds from the leaves of *Cistus incanus* ssp. *Creticus*. *Journal of Natural Products*, Vol. 53, No. 5, 1365-1368.
- [53] J. G. Urones, P. Basabe, I. S. Marcos, D. Diez Mrtin, V. Jiménez, M. J. Sexmero, B. Gómez, A. M. Z. Slawin, D. J. Williams (1991). (5S, 8R, 9R, 10S, 13S)-2-oxo-3-cleroden-15-oic acid from *Cistus palinhae*. *Phytochemistry*, 30, No.10, pp. 3471-3473.
- [54] C. Demetzos, S. Mitaku, A. L. Skaltsounis, M. C. C. Harvala, F. Libot (1994). Diterpene esters of malonic acid from the resin 'Ladano' of *Cistus creticus*. *Phytochemistry*, Vol. 35, No. 4, pp. 979-981.
- [55] M. T. Calabuig, M. Cortés, C. G. Francisco, R. Hernández, E. Suárez (1981). Labdane diterpenes from *Cistus symphytifolius*. *Phytochemistry*, Vol. 20, No. 9, pp. 2255-2258.
- [56] E. Kalpoutzakis, N. Aligiannis, A.-L. Skaltsounis, S. Mitakou (2003). *Cis*-clerodane type diterpenes from *Cistus monspeliensis*. *Journal of Natural Products*, Vol. 66, No. 2, pp. 316-319.
- [57] J. G. Urones, I. S. Marcos, P. Basabe, A. Jimenez, A. Gomez, A. M. Lithgow (1995). 2 α , 3 β -dihydroxy-4(18)-neo-cleroden-15-oic acid from *Cistus populifolius*. *Phytochemistry*, Vol. 38, No. 2, pp. 443-445.
- [58] J. D. Pascual Teresa, J. G. Urones, I. S. Marcos, P. B. Barcala, N. M. Garrido (1986). Diterpenoid and other components of *Cistus laurifolius*. *Phytochemistry*, Vol. 25, No. 5, pp. 1185-1187.
- [59] J. D. Pascual Teresa, J. G. Urones, I. S. Marcos, F. Bermejo, P. Basabe (1983). A rearranged labdane: salmantic acid from *Cistus laurifolius*. *Phytochemistry*, Vol. 22, No. 12, pp. 2783-2785.
- [60] J. G. Urones, I. S. Marcos, D. D. Martin, M. C. Alonso, F. M. S. Brito Palma, J. M. L. Rodilla (1989). Minor labdane diterpenoids from *Halimium verticillatum*. *Phytochemistry*, Vol. 28, No. 2, pp. 557-560.

- [61] D. I. M. D. Mendonça, J. M. L. Rodilla, A. M. Lithgow, I. S. Marcos (1997). Hydrohalimic acids from *Halimium viscosum*. *Phytochemistry*, Vol. 44, No. 7, pp. 1301-1307.
- [62] J. G. Urones, I. S. Marcos, M. J. S. Cuadrado, P. Basabe, A. M. Lithgow Bertelloni (1990). *Ent*-halimane diterpenes from *Halimium viscosum*. *Phytochemistry*, Vol. 29, No. 4, pp. 1247-1251.
- [63] J. M. L. Rodilla, D. I. M. Mendonça, J. G. Urones, R. F. Moro (1998). Hydroxylated diterpenoids from *Halimium viscosum*. *Phytochemistry*, Vol. 49, No. 3, pp. 817-822.
- [64] J. G. Urones, I. S. Marcos, P. Basabe, C.A. Alonso, D. Diez, N. M. Garrido, I. M. Oliva, J. S. Rodilla, A. M. Z. Slawin, D. J. Williams (1990). Valparene: a tricyclic diterpene hydrocarbon with a new carbon skeleton. *Phytochemistry*, Vol. 31, No. 31, pp. 4501-4504.
- [65] J. M. L. Rodilla, D. I. M. Mendonça, J. G. Urones, R. F. Moro, D. J. Williams (1998). Tricyclic diterpenes from *Halimium viscosum*. *Phytochemistry*, Vol. 47, No. 8, pp. 1545-1549.
- [66] J. G. Urones, I. S. Marcos, N. M. Garrido, J. D. Pascual Teresa, A. S. F. Martin (1989). A diterpene alcohol from *Halimium viscosum*. *Phytochemistry*, Vol. 28, No. 1, pp. 183-187.
- [67] J. G. Urones, I. S. Marcos, N. M. Garrido (1990). Tormesane derivatives of *Halimium viscosum*. *Phytochemistry*, Vol. 29, No. 10, pp. 3243-3246.
- [68] J. M. L. Rodilla, M. I. Ismael, L. A. Silva, J. P. Cesário Serrano, J. G. Urones, F. Sanz (2002). Covilanone: a new rearranged labdane type diterpene. *Tetrahedron Letters* 43 4605-4608.
- [69] J. G. Urones, I. S. Marcos, N. M. Garrido, R. F. Moro (1990). Fregenedadiol: a rearranged labdane from *Halimium viscosum*. *Phytochemistry*, Vol. 29, No. 9, pp. 3042-3044.
- [70] D. Angelopoulou, C. Demetzos, D. Perdetzoglou (2001). An interpopulation study of the essential oils of *Cistus parviflorus* L. growing in Crete (Greece). *Biochemical Systematics and Ecology*, 29: 405-415.
- [71] C. Robles, S. Garzino (2000). Intraspecific variability in the essential oil composition of *Cistus monspeliensis* leaves. *Phytochemistry*, 53: 71-75.

- [72] K. Javidnia, A. Nasiri, R. Miri, A. Jamalian (2007). Composition of the essential oil of *Helianthemum kahiricum* Del. From Iran. *Journal of Essential Oil Research*, 19, 52-53.
- [73] R. Guimaraes, L. Barros, A. M. Carvalho, M. J. Sousa, J. S. Morais, I. C. F. R. Ferreira (2009). Aromatic plants as a source of important phytochemicals: Vitamins, sugars and fatty acids in *Cistus ladanifer*, *Cupressus lusitanica* and *Eucalyptus gunnii* leaves. *Industrial Crops and Products*, 30: 427-430.
- [74] I. Benabdelaziz, H. Haba, C. Lavaud, D. Harakat, M. Benkhaled (2015). Lignans and Other Constituents from *Helianthemum sessiliflorum* Pers. *Records of Natural Products*, 9 (3): 342-348.
- [75] J. Pinela, L. Barros, M. Duenas, A. M. Carvalha, C. S. Buelga, I. C. F. R. Ferreira (2012). Antioxidant activity, ascorbic acid, phenolic compounds and sugars of wild and commercial *Tuberaria lignosa* samples: Effects of drying and oral preparation methods. *Food Chemistry*, 135: 1028-1035.
- [76] T. Beta, S. Nam, J.E Dexter. H.D. Sapirstein (2005). Phenolic Content and antioxidant activity of Pearled Wheat and Roller-Milled fractions. *Cereal Chem.*, 82(4), 390-393.
- [77] J. Bruneton (1993). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. 4^{ème} édition, Lavoisier, Paris, France.
- [78] P. Sarni-Manchado, V. Cheynier (2006). *Les polyphénols en agroalimentaire*. Tec & Doc éditions. France.
- [79] P. Ribéreau-Gayon (1968). *Les composés phénoliques des végétaux*. Ed. Dunod Paris, 254.
- [80] Y. Kening, D. L. Vincenzo, B. Normand (1995). Creation of a metabolic sink for tryptophan alters the phenylpropanoid pathway and the susceptibility of potato to *Phytophthora infestans*. *The plant cell*, 7: 1787-1799.
- [81] René Milcent (2003). *Chimie organique hétérocyclique*. Les Ulis Cedex A, France.
- [82] K. ghedira (2005). Les flavonoïdes: Structures, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie* (4): 162-169.
- [83] E. H. Kelly, R. T. Anthony, J. B. Dennis (2002). "Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships," *Journal of Nutritional Biochemistry*, vol. 13, no. 10, pp. 572-584.

- [84] A. K. Pandey, A. K. Mishra, A. Mishra (2012). "Antifungal and antioxidative potential of oil and extracts derived from leaves of Indian spice plant *Cinnamomum tamala*," Cellular and Molecular Biology, vol. 58, pp. 142–147.
- [85] A. R. Tapas, D. M. Sakarkar, R. B. Kakde (2008). "Flavonoids as nutraceuticals: a review," Tropical Journal of Pharmaceutical Research, vol. 7, pp. 1089–1099.
- [86] W. Zhu, Q. Jia, Y. Wang, Y. Zhang, M. Xia (2012). "The anthocyanin cyanidin-3-O- β -glucoside, a flavonoid, increases hepatic glutathione synthesis and protects hepatocytes against reactive oxygen species during hyperglycemia: involvement of a cAMP-PKA-dependent signaling pathway," Free Radical Biology and Medicine, vol. 52, no. 2, pp. 314–327.
- [87] T. P. T. Cushnie, A. J. Lamb (2005). "Antimicrobial activity of flavonoids" International Journal of Antimicrobial Agents, vol. 26, no. 5, pp. 343–356.
- [88] C. T. Ho, T. Osawa, M. T. Huang, R. T. Rosen (1994). Food Phytochemicals for Cancer Prevention II. Teas, Spices, and Herbs, American Chemical Society, Oxford University Press.
- [89] J. Güemesa, C. Raynaudb, T. C. Raynaud (1991). *Fumana ericoides* et *Fumana procumbens* (Dunal) Gren. et Godr. (Cistaceae) en Afrique du Nord. Bulletin de la Société Botanique de France, 138, Lettres Botaniques (2) 167- 176.
- [90] R. Pavela (2008). Larvicidal effects of various Euro-Asiatic plants against *Culex quinquefasciatus* Say larvae (Diptera: Culicidae). Parasitology Research 102, 555–559.
- [91] K.R. Markham (1982). Techniques of flavonoids identification. Edition Academic Press, London.
- [92] K. R. Markham, B. Ternai, R. Stanley, H. Geiger, T. J. Mabry (1978). Carbone - 13 NMR studies of flavonoids-III: Naturally occurring flavonoid glycosides and their acylated derivatives. Tetrahedron, 34: 1389-1397.
- [93] N. Saito, J. Cheng, M. Ichimura, M. Yokoi, Y. Abe, T. Honda (1994). Flavonoids in the acyanic flowers of *Pharbitis nil*. Phytochemistry, 35: 687–691.
- [94] F. W. Collin, B. A. Bohn, C. K. Wilkins (1975). Flavonol glycoside gallates from *Tellima grandiflora*. Phytochemistry, 14, 1099-1102.
- [95] H.H. Barakat (1998). Chemical investigation of the constitutive phenolics of *Ailanthus altissima*; the structure of a new flavones glycoside gallate. Natural Product Sciences, 4 (3): 153-157.

- [96] L. Krenn, A. Miron, E. Pemp, U. Petr, B. Kopp (2003). Flavonoids from *Achillea nobilis* L. Z Naturforsch., 58:11–16.
- [97] O. Barberá, J. A. Marco, J. F. Sanz, J. Sánchez-Parareda (1986). 3-methoxyflavones and coumarins from *Artemisia incanescens*. Phytochemistry, 25 (10): 2357-2360.
- [98] K. P. Tiwari, S. S. D. Srivastava (1979). Pigments from the stem bark of *Dillenia indica*. Planta Medica, 38(2): 188–189.
- [99] A. Ulubelen, E. Ayanoglu, W. D. Clark, G. K. Brown, T. J. Mabry (1980). Flavonoids from *Haplopappus foliosus*. Journal of Natural Products, 45: 363–364.
- [100] A. Ulubelen, H. Abdolmaleky, T. J. Mabry (1982). Flavonoid glycosides from *Smyrniium perfoliatum*, *S. creticum* and *S. rotundifolium*. Journal of Natural Products, 45: 507-507.
- [101] F. Calzada, A. D. Alanis (2007). Additional antiprotozoal flavonol glycosides of the aerial parts of *Helianthemum glomeratum*. Phytotherapy research, 21: 78-80.
- [102] F. T. Lorente, M. M. Garcia-Grau, J. L. Nieto, F. A. T. Barberan (1992). Flavonoids from *Cistus ladanifer* bee pollen. Phytochemistry, 31: 2027-2029.
- [103] P. Riehle, M. Vollmer, S. Rohn (2013). Phenolic compounds in *Cistus incanus* herbal infusions, antioxidant capacity and thermal stability during the brewing process. Food Research International, 53: 891-899.
- [104] Y. H. Choi, H. K. Kim, H. J. M. Linthorst, J. G. Hollander, A. W. M. Lefeber, C. Erkelens, J.-M. Nuzillard, R. Verpoorte (2006). NMR metabolomics to revisit the tobacco mosaic virus infection in *Nicotiana tabacum* leaves. Journal of Natural Products, 69:742–748.
- [105] J. P. Tarayre, H. Laouressgues (1977). Advantages of a combination of proteolytic enzymes, flavonoids and ascorbic acid in comparison with non steroid anti-inflammatory agents. Arzneimittel forschung. 27, 1144–1149.
- [106] G. T. McAnlis, J. McEneny, J. Pearce, I. S. Young (1999). Absorption and antioxidant effects of quercetin from onions, in man. Eur. J. Clin. Nutr. 53, 92–96.
- [107] S. M. Thornhill, A. M. Kelly. (2000). Natural treatment of perennial allergic rhinitis. Alternative Medicine Review, 5: 448–454.
- [108] O. Ustun, B. Ozcelik, Y. Akyon, U. Abbasoglu, E. Yesilada (2006). Flavonoids with anti-*Helicobacter pylori* activity from *Cistus laurifolius* leaves. Journal of Ethnopharmacology, 108: 457-46.

- [109] M. Stobiecki, M. Popenda (1994). Flavan-3-ols from seeds of *Lupinus angustifolius*. *Phytochemistry*, vol 37, No. 6, pp. 1707-1711.
- [110] Y. -G. Chen, L. -N. Hai, Y. Liu, X. -R. Liao (2009). DNA cleavage agents from *Schisandra propinqua* var. *sinensis*. *African Journal of Biotechnology*, 8: 4650-4652.
- [111] X. Y. Guo, N. L. Wang, L. Bo, Y. H. Li, Q. Xu, X. S. Yao (2007). Chemical constituents from *Pithecellobium clypearia* and their effects on T lymphocytes proliferation. *Journal of Physics and Chemistry of Solid*, 16: 208-213.
- [112] M. Meckes, F. Calzada, A. T. Contreras, R. C. Rivera (1999). Antiprotozoal properties of *Helianthemum glomeratum*. *Phytotherapy research*, 13: 102-105.
- [113] H. Winarno, W. E. Katrin (2009). Benzophenone glucoside isolated from the ethyl acetate extract of the bark of *mahkota dewa* [*phaleria macrocarpa* (scheff.) boerl.] and its inhibitory activity on leukemia L1210 cell line. *Indonesian Journal of Chemistry*, 9 (1):142 – 145.
- [114] R. M. Silverstein, G. C. Bassler, T. C. Morrill (1991). *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 5th ed., John Wiley & Sons, Inc., New York.
- [115] H. Ito, E. Nishitani , T. Konoshima , M. Takasaki , M. Kozuka , T. Yoshida (2000). Flavonoid and benzophenone glycosides from *Coleogyne ramosissima*. *Phytochemistry*, 54(7): 695-700.
- [116] S. -S. Lee, C. -C. Tseng, C. -K. Chen (2010). Three new benzophenone glucosides from leaves of *Planchonella obovata*. *Helvetica Chimica Acta*, 93: 522-529.
- [117] J. Hongzho, S. Yanbo, Y. Eri, C. Motoi, T. Minoru (2001). Phenolic glucosides from Inner Bark of Shirakamba, *Betula platyphylla* Shukatchev var. *japonica* Hara. *Eurasian Journal of Forest Research*, 3: 49-54.
- [118] H. Fuchono, S. Konishi, T. Satoh, A. Yagi, K. Saitsu, T. Tatsumi, N. Tanaka. (1996). Chemical Evaluation of *Betula* Species in Japan. II Constituents of *Betula platyphylla* var. *Taponica*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 44:1033-1038.
- [119] N. dürüst, S. özden, E. umur, Y. dürüst, M. küçükislamoğlu (2002). The Isolation of Carboxylic Acids from the Flowers of *Delphinium formosum*. *Turkish Journal of Chemistry*, 25: 93-97.
- [120] J. M. Herranz, P. Ferrandis, M. A. Copete, E. M. Duro, A. Zalacain (2006). Effect of allelopathic compounds produced by *Cistus ladanifer* on germination of 20 Mediterranean taxa. *Plant Ecology*, 184: 259-272.

- [121] S. -H. Kim, C. -D. Jun, K. Suk, B. -J. Choi, H. Lim, S. Park, S. H. Lee, H. -Y. Shin, D.-K. Kim, T. -Y. Shin (2006). Gallic acid inhibits histamine release and pro-inflammatory cytokine production in mast cells. *Toxicological Sciences*, 91: 123–131.
- [122] Z. Lu, G. Nie, P. S. Belton, H. Tang, B. Zhao (2006). Structureactivity relationship analysis of antioxidant ability and neuroprotective effect of gallic acid derivatives. *Neurochemistry International*, 48: 263–274
- [123] G. -Q. Yuan, Q. -Q. Li, J. Qin, Y. -F. Ye, W. Lin (2012). Isolation of methyl gallate from *Toxicodendron sylvestre* and its effect on tomato bacterial Wilt. *Plant Disease*, 96: 1143-1147.
- [124] J. -G. Choi, O. -H. Kang, Y. -S. Lee, Y. -C. Oh, H. -S. Chae, H. -J. Jang, D. -W. Shin, D. -Y. Kwon (2009). Antibacterial activity of methyl gallate isolated from *Galla rhois* or Carvacrol combined with nalidixic acid against nalidixic acid resistant bacteria. *Molecules*, 14, 1773-1780.
- [125] A. Ekouya, B. G. Itoua, A. Ouabonzi, J. -M. Ouamba (2006). Isolement du gallate de methyl et evaluation de l'activité antibactérienne et antitumorale de quelques extraits de *Klainedoxa gabonensis* Pierre ex Engl. *Phytothérapie*, 3, 117-120.
- [126] D. Mohd Nazrul Hisham, J. Mohd Lip, J. Mohd Noh, A. Normah, M.F. Nurul Nabilah (2011). Identification and isolation of methyl gallate as a polar chemical marker for *Labisia pumila* Benth. *Journal of Tropical Agriculture and Food Science*, 39 (2): 279-284.
- [127] S. Kamathama, N. Kumarb, P. Gudipalli (2015). Isolation and characterization of gallic acid and methyl gallate from the seed coats of *Givotia rottleriformis* Griff. And their anti-proliferative effect on human epidermoid carcinoma A431 cells. *Toxicology Reports* 2: 520–529.
- [128] M. G. dune. Livre Flore Forestière Française : Région méditerranéenne. 3^{ème} édition, 641-649.
- [129] M. Bouazza, A. Mahboubi, R. Loisel, N. Benabadji (2001). Bilan de la Flore de La Région de Tlemcen (Oranie – Algérie). *Forêt méditerranéenne*, 130-136.
- [130] M. Couladis, O. Tzakou (2001). The Oil of *Fumana thymifolia* (L.) Spach ex Webb from Greece. *Journal of Essential Oil Research*, 13: 434-435.
- [131] N. Harikrishna, K. Nagaraju, S. Trilokanath and C. Venkata Rao (2015). Chemical Constituents from *Cycas beddomei* and Their Bioactivity Studies. *International Journal of Pharmacology and Clinical Sciences*, 4: 427-432.

- [132] Y. M. Andersen, K. R. Markham (2006). *Flavonoids: chemistry, biochemistry, and applications*. Taylor & Francis Group, 1-1197.
- [133] M. Taniguchi, A. Fujiwara, K. Baba (1997). Three flavonoids from *Daphne odora*. *Phytochemistry*, 45: 183-188.
- [134] J. Kaiser, M. Yassin, S. Prakash, N. Safi, M. Agami, S. Lauw, E. Ostrozhenkova, A. Bacher, F. Rohdich, W. Eisenreich, J. Safi, A. Golan-Goldhirsh (2007). Anti-malarial drug targets: screening for inhibitors of 2C-methyl-D-erythritol 4-phosphate synthase (IspC protein) in Mediterranean plants. *Phytomedicine*, 14: 242–249.

Résumé

Le présent travail rentrant dans le cadre du programme de recherche de notre laboratoire destiné à la valorisation de la flore locale par la recherche éventuelle de nouveaux principes actifs d'origine végétale, porte sur l'investigation phytochimique de deux plantes appartenant à la famille Cistaceae : *Fumana montana* Pomel et *Fumana thymifolia* (L.) Spach ex Webb. La sélection de ces deux espèces est basée d'une part sur la grande utilisation en médecine traditionnelle des plantes Cistaceae et sur le fait que ces deux plantes n'ont pas été explorées chimiquement.

Cette étude a permis l'isolement par les méthodes chromatographiques (VLC, CC, CCE et CLHP) et la caractérisation par les méthodes spectroscopiques (RMN, Masse et UV) de dix-huit métabolites secondaires constitués de douze flavonoïdes, un dérivé benzophénone glucosylé, un phénol glucosylé, trois dérivés de l'acide benzoïque et un biflavonoïde.

A partir des extraits acétate d'éthyle et *n*-butanolique de la plante *Fumana montana*, dix-sept composés ont été isolés. Ils sont constitués majoritairement de flavonoïdes dont trois flavonols glucosylés et acylés se sont avérés nouveaux.

L'extrait acétate d'éthyle de *Fumana thymifolia*, a fourni huit composés dont sept ont été rencontrés lors de l'investigation chimique de *Fumana montana*. Le huitième composé est un biflavonoïde décrit pour la première fois au niveau de la famille Cistaceae.

Les structures moléculaires des composés isolés ont été élucidées principalement par l'utilisation des techniques de RMN 1D et 2D (^1H , ^{13}C *J*-modulé, COSY H-H, HSQC *J*-modulé, HMBC et NOESY), la spectrométrie de masse (ESI-MS et HR-MS), la mesure du pouvoir rotatoire et par la comparaison avec les données de la littérature.

D'un point de vue chimiotaxonomique, la composition chimique de ces deux espèces appartenant au genre *Fumana* est en parfait accord avec celle des plantes Cistaceae. Les flavonoïdes, notamment les flavonols et flavanols, sont les constituants dominants.

Mots clés: *Fumana montana*, *Fumana thymifolia*, Cistaceae, Flavonoïdes, RMN 1D et 2D, Spectrométrie de masse.

Abstract

This work is focused on the phytochemical investigation of two plants belonging to the family Cistaceae: *Fumana montana* Pomel and *Fumana thymifolia* (L.) Spach ex Webb. The choice of selected plants has relied, on one hand, on the wide use in traditional medicine of Cistaceae plants, and on the other hand, as the species have not been the subject of any previous exhaustive chemical investigation.

This study led to the isolation by chromatographic methods (VLC, CC, TLC and HPLC) and characterization by spectroscopic methods (NMR, Mass and UV) of eighteen secondary metabolites, including twelve flavonoids, a glucosylated derivative of benzophenone, a glucosylated phenol, three derivatives of benzoic acid and a biflavonoid.

From the following extracts, ethyl acetate and *n*-butanol of *Fumana montana*, seventeen compounds were isolated. They mostly consist of flavonoids, including three new acylated flavonol glucosides.

The ethyl acetate extract of *Fumana thymifolia*, provided eight compounds including seven previously described in the chemical investigation of *Fumana montana* and a biflavonoid reported for the first time in the genus *Fumana* and family Cistaceae.

The structures of isolated compounds were established particularly by the use of 1D and 2D NMR techniques (^1H , J -modulated ^{13}C , COSY H-H, HSQC J -modulated, HMBC and NOESY), mass spectrometry (ESI-MS and HR-MS), and measurement of the optical rotations and by comparison with literature data.

The chemical composition of two *Fumana* species is discussed from a chemotaxonomic consideration and is in perfect agreement with Cistaceae plants which contain flavonoids, including flavonols and flavanols, as the dominant compounds.

Keywords: *Fumana montana*, *Fumana thymifolia*, Cistaceae, Flavonoids, 1D and 2D NMR, Mass spectrometry.

ملخص

هذا العمل المدرج في اطار برنامج البحث لمخبرنا الذي يتمحور حول تثمين النباتات المحلية وذلك بالبحث عن مركبات طبيعية جديدة, يركز على الدراسة الفيتوكيميائية للنبتين *Fumana thymifolia* و *Fumana montana* من عائلة Cistaceae. اختيار النبتتين يعتمد من جهة على انتمايهما الى عائلة Cistaceae المعروفة باستعمالات نباتاتها في الطب التقليدي ومن جهة أخرى لعدم دراستهما كيميائيا.

سمحت هذه الدراسة بعزل و تحديد بنية ثمانية عشر مركب طبيعي وذلك باستعمال الطرق الكروماتوغرافية (CLHP , CCE , CC , VLC) و باستعمال طرق التحليل الطيفي. تنقسم هذه المركبات الى اثنا عشر فلافونويد, مشتق بانزوفينون سكري, فينول سكري, ثلاثة مركبات من مشتقات حمض البنزويك و ثنائي الفلافونويد.

انطلاقا من المستخلصين AcOEt و *n*-OHuB للنبنة *Fumana montana* تم فصل سبعة عشر مركب طبيعي, تشمل غالبيتها على الفلافونويدات منها ثلاثة فلافونولات جليكوزيلية جديدة.

مستخلص EtAcO للنبنة *Fumana thymifolia* منح ثمانية مركبات طبيعية, سبعة منها تم مصادفتها أثناء الدراسة الكيميائية للنبنة *Fumana montana*. المركب الثامن ذو الصيغة ثنائي الفلافونويد تم عرضه لأول مرة في عائلة Cistaceae.

تحديد الصيغ الكيميائية للمركبات الطبيعية المعزولة من النبتتين تم بواسطة التحاليل المطيافية المختلفة وخاصة مطيافية الرنين النووي المغناطيسي بجميع أنواعها, مطيافية الكتلة, حساب زاوية التدوير النوعي والمقارنة مع معطيات الدراسات السابقة.

تتفق هذه الدراسة الكيميائية لهتين النبتتين من نوع *Fumana* مع الدراسات السابقة لنباتات عائلة Cistaceae اتفاقا تاما, حيث تعتبر الفلافونويدات و بشكل خاص الفلافونولات و الفلافانولات المركبات المهيمنة في هذه العائلة.

الكلمات المفتاحية : *Fumana thymifolia*, *Fumana montana*, Cistaceae, الفلافونويدات, مطيافية الرنين المغناطيسي, مطيافية الكتلة.