

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

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

UNIVERSITE HADJ LAKHDAR-BATNA

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA MATIERE

FILIERE CHIMIE

THESE DE DOCTORAT EN SCIENCES

Spécialité

CHIMIE ORGANIQUE

Présentée par

M^{elle} BENABDELAZIZ IMANE

Thème

**Etude chimique des espèces
Helianthemum sessiliflorum et *Euphorbia pterococca***

Soutenue publiquement le 04/06/2015

JURY

Ammar DIBI	Professeur Université de Batna	Président
Hamada HABA	Professeur Université de Batna	Rapporteur
Mohammed BENKHALED	Professeur Université de Batna	Examineur
Abdelkrim CHERITI	Professeur Université de Béchar	Examineur
Nasser BELBOUKHARI	Professeur Université de Béchar	Examineur
Salah AKKAL	Professeur Université de Constantine-1	Examineur

2014/2015

Remerciements

Tout d'abord je dois reconnaître que ce travail de thèse de doctorat en phytochimie est le fruit de plusieurs mains et esprits conjugués. Il a été réalisé au sein du groupe de phytochimie affilié au laboratoire de chimie et chimie de l'environnement LCCE de la faculté des sciences, université de Batna.

Je dois commencer par exprimer ma profonde gratitude à mon encadreur, Monsieur le Professeur **Haba Hamada**, enseignant-chercheur au département des sciences de la matière, filière chimie pour m'avoir constamment guidé vers la lumière pendant ces quatre années de thèse de doctorat, pour m'avoir appris à aiguiser ma rigueur scientifique et aussi pour ses qualités humaines inestimables. Je le remercie également pour tous les conseils et orientations durant toute ma formation de doctorat.

J'adresse mes sincères remerciements à Monsieur le Professeur **Dibi Ammar** de l'Université de Batna pour avoir donné la vie à ce projet de thèse de doctorat. Ce travail n'aurait pas pu voir le jour sans son aide et je tiens également à le remercier pour l'insigne honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider le jury de ma soutenance.

Un grand merci à Monsieur le Professeur **Benkhaled Mohammed**, directeur du laboratoire de chimie et chimie de l'environnement (LCCE) de l'Université de Batna pour m'avoir accueilli dans son laboratoire et d'avoir accepté de juger ce travail.

Je remercie aussi les membres de jury, Messieurs les Professeurs **Cheriti Abdelkrim** et **Belboukhari Nasser** de l'Université de Béchar ainsi que Monsieur le Professeur **Akkal Salah** de l'Université de Constantine-1, qui m'ont honoré en acceptant de faire partie du jury de ma thèse.

Je voudrais remercier Monsieur le Professeur **Santiago Gomez-Ruiz** de l'Université de Rey Juan Carlos, Madrid, Espagne, pour son accueil chaleureux, sa disponibilité et sa grande générosité pendant mes deux stages de courte durée dans son laboratoire Comet-Nano du département de chimie inorganique et analytique.

Mes vifs remerciements vont à mon ami le Docteur **Jesús Ceballos-Torres** pour son soutien durant mes séjours à Madrid et pour ses précieux conseils.

Un grand merci à la technicienne **Sandra Carralero** pour sa patience pendant mon travail sur les analyses spectroscopiques particulièrement la RMN 2D. Mes remerciements s'adressent aussi aux membres du laboratoire Comet-Nano du département de chimie inorganique et analytique : Yolanda, Carmen, Pawla, Damián, Isabel, Mariano et Sanjiv pour l'attention régulière qu'ils m'ont témoignée sans réserve en m'intégrant dès les premiers instants dans leur environnement.

Mes remerciements vont aux Professeur **Catherine Lavaud** et Docteur **Dominique Harakat** de l'institut de chimie moléculaire ICMR de l'Université de Champagne-Ardenne, Reims, France, au technicien **Ramona Oehme** de l'institut de chimie analytique de l'Université Leipzig, Allemagne et aux Professeur **Jean-luc Wolfender** et Docteur **Laurence Marcourt** de l'université de Lausanne-Genève Suisse pour la réalisation des analyses spectroscopiques RMN 1D et 2D et Masse.

Mes remerciements les plus profonds vont à mes amies, tout particulièrement à **Benchadi Wassila**, qui a toujours été à mes côtés dans les moments les plus délicats, à Mouna, Awatef, Ahlam, Eve, Dalel, Meriem, Kawthar, Fatima, Sarah, Khadidja, Amira, Soria, Siham, Bedra pour leur soutien moral sans faille. Mille mercis aussi à mes camarades du laboratoire Habiba, Zina, Hassina et Leila pour les bons moments passés ensemble.

À la fin, je tiens à remercier toutes les personnes qui m'ont soutenu d'une façon ou d'une autre, de près ou de loin, tout au long de mon parcours scientifique.

Dédicaces

A mon père Djamel

Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que vous méritez pour tous les sacrifices que vous n'avez cessé de consentir durant toutes les phases de mon parcours scolaire et particulièrement l'étape universitaire. Vous avez fait plus qu'aucun père n'a fait pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et réussissent dans leurs études.

Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond respect et amour ; puisse Dieu vous préserver et vous accorder santé, longue vie et bonheur.

A ma mère Samira

Tu représentes pour moi la bonté extrême, le symbole de tendresse et l'exemple parfait du dévouement sans faille qui m'a toujours accompagnée. Tes prières et ta bénédiction m'ont mené là où je suis arrivée aujourd'hui. Jamais je ne te remercierais assez.

A mon frère Tarek

Mon ange gardien et mon fidèle compagnon dans les moments les plus délicats de cette vie. Je te dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

A la petite Racha

Ma chère petite sœur, ma fille, présente dans tous mes moments difficiles par son soutien moral "malgré son âge" et ses belles surprises. Je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur et de réussite.

A mes sœurs Malak, Houda et Sarah

Vous avez toujours été présentes pour m'encourager, votre affection et votre soutien m'ont été d'un grand secours tout au long de mes études.

Veillez trouvez dans ce travail ma reconnaissance pour tous vos efforts.

A la mémoire de ma mère Hayet

Puisse Dieu t'accueillir dans son Vaste Paradis.

Abréviations

Ac	Acétyl
Bz	Benzoyl
AcOEt	Acétate d'éthyle
EP	Ether de pétrole
EtOH	Ethanol
MeOH	Méthanol
CHCl₃	Chloroforme
CH₂Cl₂	Dichlorométhane
CDCl₃	Chloroforme deutéré
CD₃OD	Méthanol deutéré
<i>n</i>-BuOH	Butanol
CCM	Chromatographie sur couche mince
CC	Chromatographie sur colonne
CCE	Chromatographie sur couche épaisse
VLC	Chromatographie liquide sous vide
HPLC	Chromatographie liquide haute performance
SiO₂	Gel de silice normale
RP-18	Silice greffée en C-18
ax	Axial
éq	Equatorial
<i>s</i>	Singulet
<i>sl</i>	Singulet large
<i>d</i>	Doublet
<i>dl</i>	Doublet large
<i>dd</i>	Doublet de doublets
<i>ddd</i>	Doublet de doublets de doublets
<i>dt</i>	Doublet de triplets
<i>t</i>	Triplet
<i>td</i>	Triplet de doublets
<i>tdd</i>	Triplet de doublets de doublets

<i>ttd</i>	Triplet de triplets de doublets
<i>m</i>	Multiplet
$W_{1/2}$	Largeur spectrale à mi-hauteur
Cq	Carbone quaternaire
RMN ^1H	Résonance magnétique nucléaire du proton
1D	Monodimensionnelle
2D	Bidimensionnelle
RMN ^{13}C	Résonance magnétique nucléaire du carbone 13
HMBC	Heteronuclear multiple bond correlation
HSQC	Heteronuclear single quantum correlation
COSY	Correlation spectroscopy
TOCSY	Total correlation spectroscopy
ROESY	Rotating-frame overhauser effect spectroscopy
NOESY	Nuclear overhauser effect spectroscopy
ESI	Spectrométrie de masse par ionisation douce (Electrospray)
EI	Spectrométrie de masse par Impact électronique
IR	Infrarouge
UV-Vis	Ultraviolet-visible
δ	Déplacement chimique en ppm
<i>J</i>	Constante de couplage en Hz
λ	Longueur d'onde en nm
uma	Unité de masse atomique
<i>m/z</i>	Masse/charge d'un ion
Glc	Glucose
F	Fraction
ppm	Partie par million
Hz	Hertz

Sommaire

Introduction.....	1
Chapitre I : Aspects botaniques et études antérieures	
Partie I.....	5
I. 1. Famille Cistaceae.....	6
I. 2. Genre <i>Helianthemum</i>	6
I. 3. Espèce <i>Helianthemum lippii</i> Spach.....	6
I. 4. Espèce <i>Helianthemum sessiliflorum</i> Pers.....	7
I. 4. 1. Classification systématique.....	7
I. 4. 2. Noms communs.....	7
I. 4. 3. Description botanique.....	8
I. 4. 4. Répartition géographique.....	8
I. 5. Toxicité.....	9
I. 6. Propriétés pharmacologiques.....	9
I. 7. Intérêts de l'espèce <i>H. sessiliflorum</i> Pers.....	10
I. 7. 1. Intérêts écologiques.....	10
I. 7. 2. Intérêt pharmacopée.....	10
I. 7. 3. Intérêt pastoral.....	11
I. 8. Etudes antérieures sur la famille Cistaceae.....	11
I. 8. 1. Genre <i>Cistus</i>	11
I. 8. 2. Genre <i>Halimium</i>	24
I. 8. 3. Genre <i>Tuberaria</i>	29
I. 8. 4. Genre <i>Fumana</i>	30
I. 8. 5. Genre <i>Helianthemum</i>	31
Partie II.....	33
II. 1. Famille Euphorbiaceae.....	34
II. 2. Genre <i>Euphorbia</i>	34
II. 3. Espèce <i>Euphorbia pterococca</i> Brot.....	35
II. 3. 1. Classification systématique.....	35
II. 3. 2. Noms communs.....	35

II. 3. 3. Description botanique.....	35
II. 3. 4. Répartition géographique.....	36
II. 4. Toxicité.....	37
II. 5. Etudes antérieures sur le genre <i>Euphorbia</i>	37

Chapitre II : Généralités sur les polyphénols et les triterpènes

Partie I.....	60
I. 1. Généralités sur les polyphénols.....	61
I. 2. Biogénèse des polyphénols.....	61
I. 3. Principaux groupes des polyphénols.....	63
I. 3. 1. Acides phénols.....	63
I. 3. 2. Phénols simples.....	64
I. 3. 3. Coumarines.....	65
I. 3. 4. Lignanes.....	67
I. 3. 5. Stilbènes.....	69
I. 3. 6. Flavonoïdes.....	71
I. 4. Distribution des polyphénols.....	73
I. 5. Intérêts des polyphénols.....	73
Partie II.....	76
II. 1. Généralités sur les triterpènes.....	77
II. 2. Biogénèse des triterpènes.....	77
II. 3. Structures chimiques et classification.....	78
II. 4. Principaux groupes des triterpènes.....	79
II. 4. 1. Squalène.....	79
II. 4. 2. Triterpènes tétracycliques.....	79
II. 4. 3. Triterpènes pentacycliques.....	80
II. 5. Distribution et localisation des triterpènes.....	81
II. 6. Intérêts des triterpènes.....	81

Chapitre III : Etude phytochimique

Partie I.....	84
I. 1. Etude phytochimique de l'espèce <i>Helianthemum sessiliflorum</i> Pers.....	85
I. 1. 1. Extraction.....	85

I. 1. 2. Séparation et purification.....	86
I. 1. 3. Identification structurale des composés isolés.....	87
I. 1. 3. 1. Identification structurale du composé HS1	88
I. 1. 3. 2. Identification structurale du composé HS2	109
I. 1. 3. 3. Identification structurale du composé HS3	120
I. 1. 3. 4. Identification structurale du composé HS4	134
I. 1. 3. 5. Identification structurale du composé HS5	144
I. 1. 3. 6. Identification structurale du composé HS6	152
I. 1. 3. 7. Identification structurale du composé HS7	159
I. 1. 3. 8. Identification structurale du composé HS8	164
I. 1. 3. 9. Identification structurale du composé HS9	170
I. 1. 3. 10. Identification structurale du composé HS10	176
I. 1. 3. 11. Identification structurale du composé HS11	181
I. 1. 3. 12. Identification structurale du composé HS12	185
I. 1. 3. 13. Identification structurale du composé HS13	190
I. 1. 3. 14. Identification structurale du composé HS14	194
I. 1. 3. 15. Identification structurale du composé HS15	200
I. 1. 3. 16. Identification structurale du composé HS16	206
I. 1. 3. 17. Identification structurale du composé HS17	210
I. 1. 3. 18. Identification structurale du composé HS18	214
I. 1. 3. 19. Identification structurale des composés HS19 et HS20	217
I. 1. 3. 20. Identification structurale du composé HS21	225
I. 1. 3. 21. Identification structurale du composé HS22	228
I. 1. 3. 22. Identification structurale du composé HS23	229
I. 1. 3. 23. Identification structurale du composé HS24	230
I. 1. 3. 24. Identification structurale du composé HS25	232
I. 1. 3. 25. Identification structurale du composé HS26	233
I. 1. 3. 26. Identification structurale des composés HS27 et HS28	241
I. 1. 3. 27. Identification structurale du composé HS29	243
I. 1. 3. 28. Identification structurale du composé HS30	246
I. 1. 3. 29. Identification structurale du composé HS31	248
I. 1. 3. 30. Identification structurale du composé HS32	250
I. 2. Conclusion.....	252

Partie II.....	257
II. 1. Etude phytochimique de l'espèce <i>Euphorbia pterococca</i> Brot.....	258
II. 1. 1. Extraction.....	258
II. 1. 2. Séparation et purification.....	258
II. 1. 3. Identification structurale des composés isolés.....	260
II. 1. 3. 1. Identification structurale du composé EP1	260
II. 1. 3. 2. Identification structurale du composé EP2	276
II. 1. 3. 3. Identification structurale du composé EP3	282
II. 1. 3. 4. Identification structurale du composé EP4	287
II. 1. 3. 5. Identification structurale du composé EP5	292
II. 1. 3. 6. Identification structurale du composé EP6	298
II. 1. 3. 7. Identification structurale du composé EP7	304
II. 1. 3. 8. Identification structurale du composé EP8	309
II. 1. 3. 9. Identification structurale du composé EP9	313
II. 1. 3. 10. Identification structurale du composé EP10	319
II. 1. 3. 11. Identification structurale du composé EP11	323
II. 1. 3. 12. Identification structurale des composés EP12 et EP13	328
II. 1. 3. 13. Identification structurale du composé EP14	329
II. 1. 3. 14. Identification structurale du composé EP15	332
II. 2. Conclusion.....	337
 Conclusion générale.....	 341

Chapitre IV : Partie expérimentale

Partie I.....	345
I. 1. Matériel végétal.....	346
I. 1. 1. Récolte de la plante <i>Helianthemum sessiliflorum</i> Pers.....	346
I. 1. 2. Récolte de la plante <i>Euphorbia pterococca</i> Brot.....	346
I. 2. Méthodes analytiques et préparatives.....	346
I. 2. 1. Chromatographie sur (CCM) et/ou (CCE).....	346
I. 2. 2. Chromatographie liquide sur colonne (CC).....	346
I. 2. 3. Chromatographie liquide sous vide (VLC).....	347
I. 2. 4. Chromatographie liquide haute performance (HPLC).....	347

I. 3. Méthodes d'identification structurale.....	347
I. 3. 1. Pouvoir rotatoire.....	347
I. 3. 2. Spectrophotométrie Ultraviolet-visible.....	347
I. 3. 3. Spectrométrie Infra-rouge.....	347
I. 3. 4. Spectrométrie de masse (ESI) et (EI).....	348
I. 4. 5. Spectrométrie de résonance magnétique nucléaire (RMN).....	348
Partie II.....	359
II. 1. Etude phytochimique de l'espèce <i>Helianthemum sessiliflorum</i> Pers.....	350
II. 1. 1. Obtention des extraits.....	350
II. 1. 2. Fractionnement et purification de l'extrait acétate d'éthyle.....	350
II. 1. 3. Fractionnement et purification de l'extrait <i>n</i> -butanolique.....	358
II. 1. 4. Composés isolés de l'espèce <i>Helianthemum sessiliflorum</i> Pers.....	365
II. 2. Etude phytochimique de l'espèce <i>Euphorbia pterococca</i> Brot.....	375
II. 2. 1. Obtention des extraits.....	375
II. 2. 2. Fractionnement et purification de l'extrait acétonique.....	375
II. 2. 3. Composés isolés de l'espèce <i>Euphorbia pterococca</i> Brot.....	382
 Bibliographie.....	 387
 Résumé.....	 415
Abstract.....	416
ملخص	417



Introduction

Introduction

Etant donné l'intérêt immense que suscite actuellement l'emploi des plantes médicinales à travers le monde pour combattre diverses maladies ou préserver la santé de l'être humain, la connaissance de la composition chimique de ces plantes et la détermination de leurs activités biologiques revêtent une importance capitale car leurs propriétés médicinales sont sûrement dues aux substances chimiques qu'elles renferment.

Les espèces végétales produisent de nombreux métabolites primaires indispensables à leur développement. Ceux-ci comportent particulièrement des protéines, des lipides et des hydrates de carbones utilisés par les plantes pour leur subsistance et reproduction. De plus, elles synthétisent une vaste gamme de composés chimiques appelés métabolites secondaires se répartissant en polyphénols, terpénoïdes, alcaloïdes, acides gras....etc. Ces substances naturelles déterminent à quel point les plantes médicinales peuvent être bénéfiques dans le domaine de la santé sachant que plusieurs de leurs composés à certaines doses ont des propriétés thérapeutiques ou peuvent parfois être toxiques. Il est à noter qu'il n'y a pas une règle générale concernant la toxicité ou l'effet thérapeutique des mêmes biomolécules lorsqu'elles se trouvent dans la plante que si elles en sont extraites. En effet, des effets synergiques des constituants chimiques dans la plante, même ceux qui sont minoritaires, y peuvent intervenir. Ceci a été démontré particulièrement dans le cas des huiles essentielles [1].

En Afrique, l'utilisation des plantes médicinales est restée depuis des siècles le système de santé le moins cher et par conséquent le plus accessible. Ces plantes contribuent de façon significative à la vie des populations rurales et à l'équilibre sociétal en Afrique, particulièrement parmi les franges de la société les plus démunies [2, 3]. Il est à signaler que certaines plantes médicinales sont extrêmement efficaces, mais si dangereuses qu'elles ne doivent être administrées que par des connaisseurs de la médecine traditionnelle. D'autre part, la perte des savoirs autochtones autour des plantes médicinales s'accélère du fait des transformations socio-culturelles des sociétés, ainsi que de la disparition progressive des personnes âgées qui traditionnellement sont les gardiens de ces connaissances. Cette situation rend nécessaire de valoriser les savoirs traditionnels des guérisseurs concernant l'usage des plantes médicinales et d'explorer davantage la possibilité de les intégrer dans les systèmes médicaux modernes.

Dans ce contexte et dans le souci d'apporter des solutions concrètes à l'utilisation des plantes dans la pharmacopée traditionnelle, les études de fractionnement bioguidées

consacrées à la détermination des principes actifs des plantes médicinales ont deux intérêts principaux. Le premier concerne la mise en évidence de nouveaux principes actifs pour le développement de l'industrie de médicaments puisque 50 à 60% des produits pharmaceutiques utilisés aujourd'hui sont extraits de plantes ou sont synthétisés à partir de produits naturels [4-6]. Le second objectif est lié à la validation des médecines traditionnelles auxquelles 80% de la population africaine ont recours et ce, malgré les progrès spectaculaires accomplis récemment par la médecine moderne [2, 3].

Dans cet ordre d'idées, cette étude s'inscrit bien dans une démarche globale, faisant partie d'un programme de recherche exécuté par notre laboratoire depuis une quinzaine d'année, et consacré à l'investigation systématique des espèces végétales présentant un intérêt thérapeutique et s'étendant des Aurès au nord du Sahara.

En Algérie, les plantes médicinales forment un groupe relativement important mais avec un nombre modeste d'espèces étudiées pour une ou plusieurs activités biologiques ou d'un point de vue phytochimique. Parmi les nombreuses plantes médicinales encore non étudiées qui peuplent la riche flore saharo-algérienne, réservoir inestimable de molécules bioactives, nous avons sélectionné deux espèces végétales nommées *Helianthemum sessiliflorum* Pers. et *Euphorbia pterococca* Brot. qui appartiennent aux familles botaniques Cistaceae et Euphorbiaceae respectivement pour une étude phytochimique avec comme objectif principal d'identifier leur composition chimique [5, 6].

La famille Cistaceae est méditerranéenne et est représentée en Algérie par plusieurs espèces [7]. Les plantes de cette famille sont riches en métabolites secondaires, comme les flavonoïdes [8-10], diterpènes [11-13], huiles essentielles [14-17]..... etc. Aussi, elles possèdent des activités biologiques intéressantes, à savoir antimicrobienne, antiproliférative, anti-infection, anti-inflammatoire, antinociceptive [18-21].....etc.

Les plantes de la famille Euphorbiaceae se rencontrent partout dans le monde. Plusieurs espèces particulièrement du genre *Euphorbia* poussent en Algérie [22]. Nombreuses substances naturelles ont été isolées des euphorbes à savoir, les triterpènes, diterpènes, polyphénols [23-27].....etc. Ces composés sont doués d'activités biologiques potentielles comme antitumorale, anti-oxydante, antibactérienne, anti-uréase, anti-arthrite [28-30]....etc.

La première espèce étudiée dans ce travail de thèse de doctorat, *Helianthemum sessiliflorum* Pers. qui est commune dans tout le Sahara [22], est recommandée en médecine traditionnelle pour le traitement des lésions cutanées [31]. Elle présente une toxicité au moment de la floraison pour les dromadaires et possède des propriétés anti-inflammatoire et

analgésique [32]. La deuxième espèce, *Euphorbia pterococca* Brot., qui est récoltée dans la région des Aurès (Ichemoul), produit comme tous les euphorbes un latex toxique utilisé en médecine traditionnelle contre les verrues et pour expirer les épines [33].

Cette thèse de doctorat, contenant une introduction et une conclusion générale, est subdivisée en quatre grands chapitres où chaque chapitre réunit deux parties distinctes. Elle se termine par une bibliographie suivie des résumés en trois langues (français, anglais et arabe).

Le premier chapitre aborde les aspects botaniques et études chimiques antérieures. La première partie de ce chapitre est consacrée à la description botanique de la famille Cistaceae, le genre *Helianthemum* et l'espèce *H. sessiliflorum* Pers. ainsi qu'aux études phytochimiques antérieures effectuées sur quelques genres de cette famille. La deuxième partie suit le même enchaînement d'idées incluant une description botanique (famille Euphorbiaceae, genre *Euphorbia* et espèce *E. pterococca* Brot.) et les études chimiques antérieures sur les espèces du genre *Euphorbia*.

Le deuxième chapitre ayant trait à des généralités sur les polyphénols et les triterpènes est divisé également en deux parties. La première partie est consacrée à un rappel bibliographique et des généralités sur les polyphénols (acides phénoliques, phénols simples, coumarines, lignanes, stilbènes et flavonoïdes). La deuxième partie couvre les triterpènes (squalène, triterpènes tétracycliques et pentacycliques).

Le troisième chapitre concerne l'étude phytochimique des espèces *H. sessiliflorum* et *E. pterococca*. Dans ce chapitre, il est évoqué d'une façon générale l'extraction, la séparation et la purification des composés isolés. L'élucidation structurale des composés obtenus à l'état pur est présentée en détail. Chaque partie de ce chapitre est finalisée par une conclusion se rapportant à chaque plante étudiée. La fin de ce chapitre est consacrée à la présentation des résultats obtenus suite à cette étude phytochimique sous forme d'une conclusion générale.

Le quatrième chapitre englobe la partie expérimentale de cette investigation phytochimique. Il est décrit d'une façon détaillée dans la première partie le matériel végétal, les méthodes analytiques utilisées, les méthodes préparatives et d'identification structurale. Dans la deuxième partie, il est présenté toutes les procédures expérimentales (macération, extraction, fractionnement, isolement et purification) conduisant à l'obtention des produits **1-45** à l'état pur.



Chapitre **I**



Partie I

I. 1. Famille Cistaceae

La famille Cistaceae A. L. de Jussieu (famille du Ciste) est une famille de plantes dicotylédones qui comprend 200 espèces regroupées dans 7 genres (*Cistus*, *Fumana*, *Halimium*, *Helianthemum*, *Hudsonia*, *Lechea* et *Tuberaria*) dont deux principaux, *Helianthemum* (110 espèces) et *Cistus* (20 espèces). Cette famille est originaire du bassin méditerranéen, d'Asie Occidentale, d'Afrique du Nord et plus secondairement des Amériques [34, 35].

Les espèces de cette famille se présentent sous forme d'arbustes et de plantes herbacées, poilues et velues, à feuilles simples souvent opposées. Elles possèdent généralement des stipules; leurs fleurs hermaphrodites sont régulières, solitaires ou en cymes souvent racémiformes avec trois ou cinq sépales à cinq pétales. Les étamines sont nombreuses d'un style solitaire. Les fruits se fendent généralement en trois ou cinq valves [35].

I. 2. Genre *Helianthemum*

Le genre *Helianthemum* Tourn. est constitué d'environ 110 espèces qui se répartissent en majorité dans le bassin méditerranéen. Toutefois, certaines d'entre elles ont une distribution plus excentrique, les unes en Asie centrale et les autres en Nord de l'Europe [36].

Ce genre regroupe des espèces vivaces, ligneuses et chaméphytes à feuilles stipulées. Les fleurs pentamères sont le plus souvent toutes rassemblées du même côté. Leurs corolles grandes, colorées en jaune rarement en blanc ou en rose sont groupées en inflorescences de type cyme scorpioïde unipare. Leurs fruits ont une forme d'une capsule à trois valves, classique chez les Cistaceae [22, 37].

I. 3. Espèce *Helianthemum lippii* Spach

C'est un arbrisseau vivace très rameux à feuilles couvertes de très courts poils, ce qui donne une couleur blanchâtre à la plante. L'écorce des rameaux est également blanchâtre. Les feuilles comportent deux stipules. Leurs fleurs jaunes et petites en sessiles à cinq pétales sont réunies en grappes peu fournies. Après floraison, trois des cinq sépales s'allongent et deviennent obtus et courts tout en portant de longs poils blancs sur le dos s'étalant en étoile.

Cette espèce, extrêmement variable dans la forme et la taille de presque tous ses organes, a développé deux modifications principales indépendantes de toutes les variations des autres parties de la plante à savoir [38] :

- ◆ À fleurs pédicellées : *Helianthemum lavanduloefolium* Sieber.
- ◆ À fleurs sessiles : *Helianthemum sessiliflorum* Pers.

Ces différenciations ont conduit au cours du temps à la formation de deux espèces distinctes en l'occurrence *H. lavanduloefolium* et *H. sessiliflorum*.

I. 4. Espèce *Helianthemum sessiliflorum* Pers.

I. 4. 1. Classification systématique

L'espèce *H. sessiliflorum* Pers. (figure I. 4. 1) est classée sur le plan botanique selon la façon suivante [39] :

- Règne : Plantae
- Sous-règne : Tracheobionta
- Division : Angiospermes
- Classe : Dicotylédones
- Sous-classe : Dilleniidae
- Ordre : Malvales
- Famille : Cistaceae
- Genre : *Helianthemum* Tourn.
- Espèce : *H. sessiliflorum* Pers.

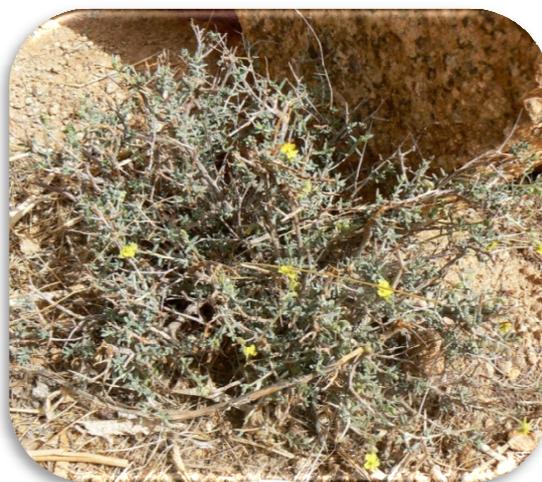


Figure I. 4. 1. Espèce *Helianthemum sessiliflorum* Pers. [39]

I. 4. 2. Noms communs

Cette espèce est désignée sous les noms vernaculaires «*tahwat, reguig, samari, omm eterfes*» [40] et possède aussi un nombre considérable de synonymes :

- *Cistus lippii* L.
- *Cistus sessiliflorum* Desf.
- *Helianthemum lippii* (L.) Dum. Cours.
- *Helianthemum lippii* var. *intrricatum* Murb.
- *Helianthemum lippii* var. *velutinum* (Pomel) Murb.
- *Helianthemum velutinum* Pomel.
- *Helianthemum lippii* var. *angustifolium* Willk.

Les principaux synonymes de cette espèce que l'on peut trouver dans la littérature sont : le synonyme de René Desfontaines et Edouard Spach (*Helianthemum lippii* var. *sessiliflorum* (Desf.) Spach) [38] et celui de Christiaan Hendrik Persoon (*Helianthemum sessiliflorum* Pers.) [41].

I. 4. 3. Description botanique

H. sessiliflorum Pers., espèce vivace, est un petit arbuste plus au moins rameux, s'élevant jusqu'à 45 cm, et est couverte sur toutes ses parties herbacées d'une pubescence cotonneuse soyeuse plus ou moins abondante [22, 41].

Feuilles



Linéaires ou lancéolées linéaires atteignant 20 x 3 mm, brièvement pétiolées à bords enroulés.

Fleurs



Sépales ovales-orbiculaires, obtus ou obscurément mucronulés, intérieurement glabres. Capsule mure toujours plus longue que les sépales.

Racines



Rameaux dressés et peu intriqués, allongés pouvant atteindre 40 cm

I. 4. 4. Répartition géographique

H. sessiliflorum Pers. croit généralement dans les régions désertiques sahariennes. La quasi-totalité de son aire couvre l'Afrique du Nord (du Maroc jusqu'en Libye) et se rencontre aussi en Egypte et au Soudan ainsi qu'en Syrie, au Qatar et en Arabie Saoudite [42-44].

En Algérie, cette plante est commune dans tout le Sahara et fait ainsi partie de la végétation désertique du Sud Algérien [22]. Pour le nord du pays où elle semble être rare, elle se rencontre au niveau des régions d'Oran (à l'embouchure de Macta) et de Boumerdès (à Zemouri) [41].

I. 5. Toxicité

De nombreuses espèces de la famille Cistaceae dont la plupart appartenant aux genres *Cistus* et *Helianthemum* ont une toxicité, de telle sorte que certains genres de bétail qui les consomment extériorisent des troubles protéiformes. Les conséquences de ces intoxications varient considérablement suivant l'espèce et la quantité consommée et pourraient même entraîner la mort [7, 45].

Au nombre de celles-ci, citons les espèces *Helianthemum tunetanum* et *H. kahiricum* dont l'ingestion entraîne chez les dromadaires une sorte d'arthrose [7], mentionnons aussi les espèces *Cistus laurtifolius*, *C. psilopsepalus*, *C. Landaniferus* et *C. salivifolius* qui provoquent des syndromes de rétention urinaire chez les moutons. En outre, pour l'espèce *Cistus monspeliensis*, sa consommation en grandes quantités par les chèvres, engendre des crises épileptiformes déclenchées par des stimuli extérieurs et de l'intoxication chronique, ainsi qu'un amaigrissement qui conduit dans certains cas à la mort [31, 45, 46].

L'espèce saharienne *H. sessiliflorum* est réputée toxique pour les dromadaires, surtout au moment de la floraison ; elle est accusée de provoquer des boiteries. Cette maladie, que les nomades algériens connaissent sous le nom de «*gaf*» ou de «*kraft*» selon les régions, se manifeste principalement par une sorte de rhumatisme et de paralysie de tous les membres, les pattes postérieures surtout, puis très vite survient la mort. Les femelles de ces animaux seraient les plus sensibles à cette maladie [40, 47].

Cependant la toxicité de la plante *H. sessiliflorum* reste loin d'être clairement élucidée [40].

I. 6. Propriétés pharmacologiques

En corrélation avec les différents usages traditionnels des plantes de la famille Cistaceae [47], diverses études biologiques ont été menées afin de déterminer les différentes activités biologiques susceptibles d'être exploitées ultérieurement à des fins thérapeutiques. La majorité d'entre elles concernent les effets anti-oxydant, antimicrobien [18], antiprolifératif [19], anti-infection [20], anti-inflammatoire, antinociceptif [21],..... etc.

Pour sa part, le genre *Helianthemum* a fait l'objet de nombreux travaux mettant en évidence des activités variées dont on peut citer : analgésique (*H. virgatum*) [48], phytoinhibitrice (*H. alypoides*) [49], anti-oxydante (*H. syriacum*), antimicrobienne

(*H. hirtum*), antiprotozoaire, antibactérienne et anti-giardiale pour l'espèce *H. glomeratum* [50-53].

Concernant l'espèce *H. sessiliflorum* et d'après les récents résultats des travaux de Abdul M. et ses collaborateurs (2012), l'activité anti-inflammatoire des parties aériennes, évaluée par la méthode *Corraegenen-induced paw edema*, est excellente à l'égard des extraits méthanolique et chloroformique, mais elle est absente dans l'extrait éthero-pétrolique. Ainsi, et par la même équipe, il a été démontré par l'utilisation de la méthode *hot-plate* la présence de l'activité analgésique dans les trois extraits cités précédemment [32].

I. 7. Intérêts de *H. sessiliflorum* Pers.

I. 7. 1. Intérêts écologiques

H. sessiliflorum Pers. est une plante des sols sablonneux. Elle est présente un peu partout au sein du Sahara, dans les Hamada et les rocailles calcaires de même que sur les dunes vives et les ergs et dans les hauteurs des montagnes sahariennes. Cette plante résiste aux conditions climatiques très variables [54], ce qui lui donne un rôle effectif en matière de stabilisation de sites vulnérables et d'atténuation des effets de la sécheresse contribuant ainsi à la lutte contre la désertification et la dégradation des terres [55].

L'autre important intérêt écologique de cette espèce concerne l'établissement d'associations symbiotiques mycorhiziennes avec des truffes de désert du genre *Terfezia* qui est désigné en Arabe dialectale par le terme «*terfes*» [56]. Cette mycorhization a plusieurs avantages pour les truffes ainsi que pour la plante. Les mycorhizes permettent à la plante d'acquérir plus d'eau et d'éléments nutritifs améliorant ses fonctions physiologiques [56], protégeant aussi la plante contre les métaux lourds [57] et augmentant son adaptation au stress abiotique comme la sécheresse et la salinité [58].

Cependant, cette truffe «*terfes*» qui pousse après la pluie au pied de l'espèce *H. sessiliflorum* mycorhizée fait l'objet d'un commerce au Sahara, et se vend relativement cher sur les marchés locaux [40].

I. 7. 2. Intérêt pharmacopée

H. sessiliflorum Pers. est traditionnellement utilisée, pour le traitement des affections dermatologiques, sous forme de poudre ou en compresse appliquée sur la partie concernée [31].

I. 7. 3. Intérêt pastoral

Cette espèce est une intéressante plante de pâturages qui contribue au régime alimentaire du bétail. Les bergers des steppes sablonneuses utilisent les pousses de *H. sessiliflorum* dans l'alimentation des chevreaux pendant la période de croissance [46].

I. 8. Etudes antérieures sur la famille Cistaceae

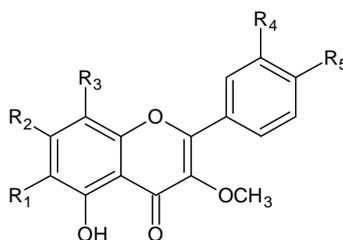
Les données phytochimiques se rapportant aux genres de la famille Cistaceae ont été rapidement développées pendant les vingt dernières années. En effet, une centaine d'espèces de cette famille ont déjà fait l'objet d'études phytochimiques et plusieurs centaines de composés ont été identifiés dont la majorité appartient à la classe des terpènes et phénols, plus précisément les dérivés diterpéniques et flavonoïdiques. Cependant, seulement deux genres (*Cistus* et *Halimium*) sont bien exploités sur le plan phytochimique.

I. 8. 1. Genre *Cistus*

Le genre *Cistus* comprend une vingtaine d'espèces caractéristiques de la région méditerranéenne. Un grand nombre de ces espèces ont fait, à ce jour, l'objet d'études chimiques et de très nombreux métabolites secondaires ont été isolés et caractérisés. Les recherches phytochimiques réalisées sur ce genre ont permis de mettre en évidence la domination des composés flavonoïdiques et diterpéniques dont les labdanes et clérodanes forment le plus grand groupe de diterpènes isolés des Cistes [59]. Nous reprenons, à la suite, les composés obtenus à partir des principales espèces du genre *Cistus*.

◆ Espèce *C. albanicus*

Les travaux effectués sur les feuilles de cette espèce par T. Vogt et al. (1986) ont permis d'isoler et identifier neuf composés flavonoïdiques de type flavonol [60].

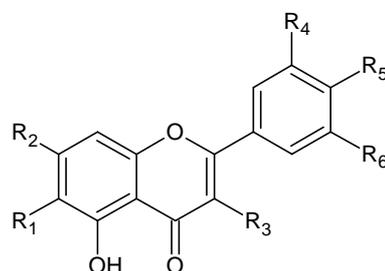


		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
(1)	Gossypétine 3,7,8,3',4'-pentaméthyl éther	H	OMe	OMe	OMe	OMe
(2)	Gossypétine 3,8,3'-triméthyl éther	H	OH	OMe	OMe	OH
(3)	Herbacétine 3,7,8,4'-tetraméthyl éther	H	OMe	OMe	H	OMe
(4)	Herbacétine 3,8,4'-triméthyl éther	H	OH	OMe	H	OMe
(5)	Herbacétine 3,8-diméthyl éther	H	OH	OMe	H	OH

	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
(6) Quercétagetine 3,6,3'-triméthyl éther	OMe	OH	H	OMe	OH
(7) Quercétagetine 3,6-diméthyl éther	OMe	OH	H	OH	OH
(8) 6-hydroxy kaempférol 3,6,4'-triméthyl éther	OMe	OH	H	H	OMe
(9) 6-hydroxy kaempférol 3,6-diméthyl éther	OMe	OH	H	H	OH

◆ **Espèce *C. ladanifer***

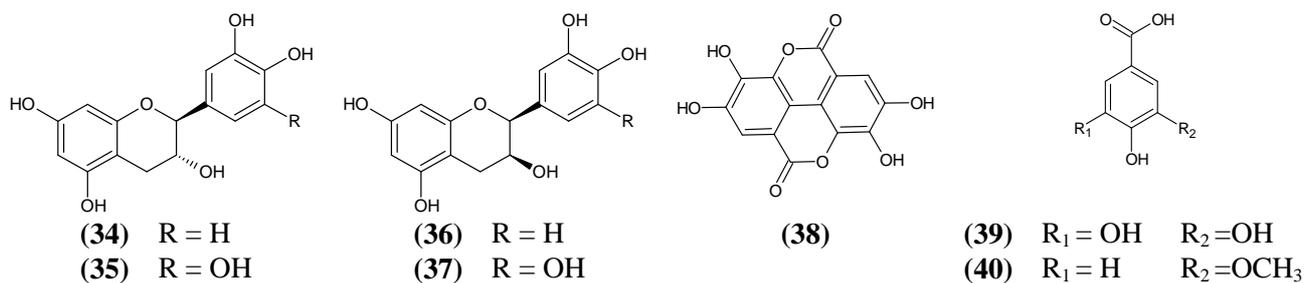
Cette espèce sécrète du labdanum qui est une sorte de gomme résine produite par les glandes oléifères présentes sur les feuilles, les rameaux et les sommités fleuries de la plante [61]. Plusieurs équipes de chercheurs ont étudié cette gomme résine révélant sa richesse en composés phénoliques dont les plus abondants sont les flavonoïdes dérivés du kaempférol et de la quercétine.



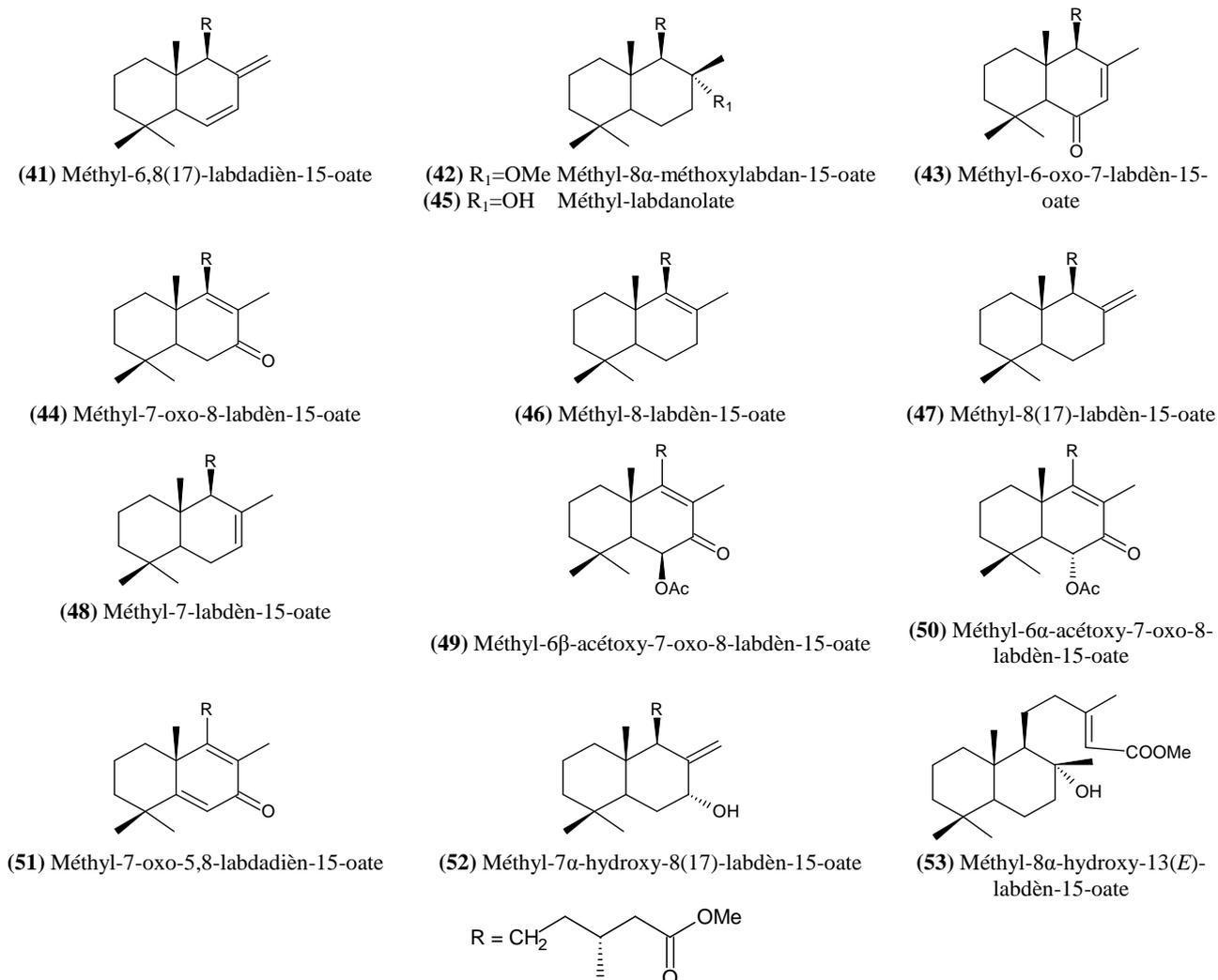
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	Réf.
(10) Quercétine	H	OH	OH	OH	OH	H	
(11) Quercétine-3- <i>O</i> -glucoside	H	OH	O-Glu	OH	OH	H	
(12) Quercétine-3- <i>O</i> -rutinoside	H	OH	O-Rut	OH	OH	H	
(13) Quercétine-3- <i>O</i> -sophoroside	H	OH	O-Glu(1→2)Glu	OH	OH	H	
(14) Quercétine-3- <i>O</i> -galactoside-7- <i>O</i> -rhamnoside	H	O-Rha	O-Gal	OH	OH	H	
(15) Quercétine-3- <i>O</i> -xylosyl (1→6) glucoside	H	OH	O-Xyl(1→6)Glu	OH	OH	H	
(16) Quercétine-3- <i>O</i> -rhamnosyl (1→2) galactoside	H	OH	O-Rha(1→2)Gala	OH	OH	H	
(17) Kaempférol	H	OH	OH	H	OH	H	
(18) Kaempférol-3- <i>O</i> -glucoside	H	OH	O-Glu	H	OH	H	[8]
(19) Kaempférol-3- <i>O</i> -rutinoside	H	OH	O-Rut	H	OH	H	
(20) Isorhamnétine	H	OH	OH	H	OH	OMe	
(21) Isorhamnétine-3- <i>O</i> -glucoside	H	OH	O-Glu	H	OH	OMe	
(22) Isorhamnétine-3- <i>O</i> -xylosyl (1→6) glucoside	H	OH	O-Xyl(1→6)Glu	H	OH	OMe	
(23) Myricétine	H	OH	OH	OH	OH	OH	
(24) Myricétine-3- <i>O</i> -rutinoside	H	OH	O-Rut	OH	OH	OH	
(25) Myricétine-3- <i>O</i> -glucoside	H	OH	O-Glu	OH	OH	OH	
(26) 3- <i>O</i> -méthyl kaempférol	H	OH	OMe	H	OH	H	
(27) 3,7- <i>O</i> -diméthyl kaempférol	H	OMe	OMe	H	OH	H	
(28) 3,4'- <i>O</i> -diméthyl kaempférol	H	OH	OMe	H	OMe	H	
(29) Apigénine	H	OH	H	H	OH	H	[9]
(30) 4'- <i>O</i> -méthyl apigénine	H	OH	H	H	OMe	H	
(31) 7- <i>O</i> -méthyl apigénine	H	OMe	H	H	OH	H	
(32) Apigénine-6- <i>C</i> -glucose	Glu	OH	H	H	OH	H	[10]
(33) Apigénine-6- <i>C</i> -rutinoside	Rut	OH	H	H	OH	H	

Les flavanols nommés catéchine (34), gallocatéchine (35), épicatechine (36) et épigallocatéchine (37) et les acides éllagique (38), gallique (39) et vanillique (40) sont les

autres composés phénoliques isolés du labdanum de cette plante par L. Barros et *al.* (2013) [10].

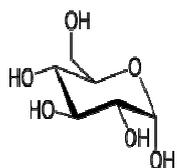
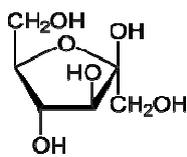
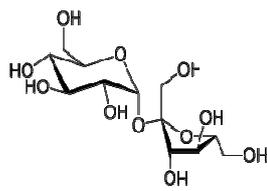


La gomme résine de l'espèce *C. ladanifer* a fait l'objet d'étude en 1982 par T. J. De Pascual et *al.* [62]. Ces travaux ont permis d'identifier plus d'une dizaine de diterpènes à squelette labdane, dont trois sont nouveaux (41, 44 et 49).

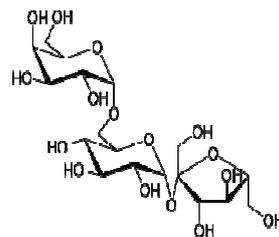


En plus des flavonoïdes et diterpènes, cette résine contient des sucres, des vitamines et des acides gras [63].

➤ Sucres

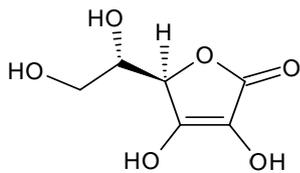
(54) α -D-(+)-Glucose(55) β -D-(-)-Fructose

(56) D-(+)-Saccharose

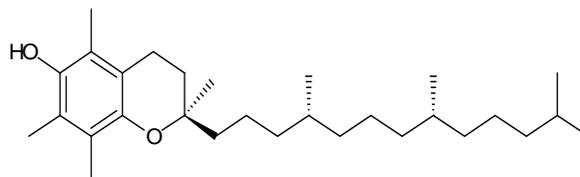


(57) D-(+)-Raffinose

➤ Vitamines

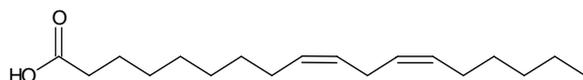


(58) Acide ascorbique

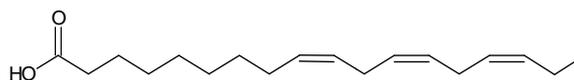


(59) Tocophérol

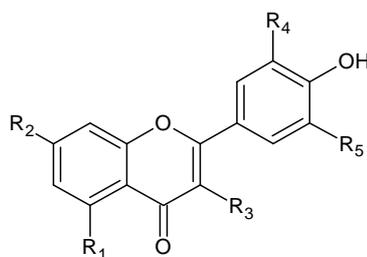
➤ Acides gras



(60) Acide linoléique

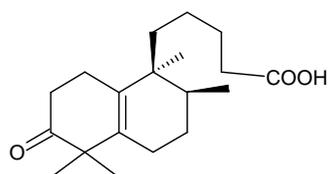
(61) Acide α -linoléique◆ Espèce *C. laurifolius*

La majorité des composés présents chez *C. laurifolius* sont des flavonoïdes aglycones et/ou méthoxylés où ces derniers sont représentés par les dérivés de la quercétine.

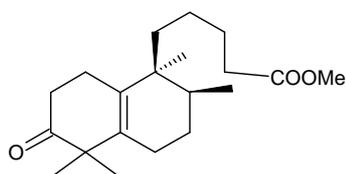


		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	Réf.
(10)	Quercétine	OH	OH	OH	OH	H	
(23)	Myricétine	OH	OH	OH	OH	OH	
(29)	Apigénine	OH	OH	H	H	H	[64]
(62)	Kaempférol	OH	OH	OH	H	H	
(63)	Lutéoline	OH	OH	H	OH	H	
(64)	5,3'-O-diméthyl quercétine	OMe	OH	OH	OMe	H	
(65)	3,5,3'-O-triméthyl quercétine	OMe	OH	OMe	OMe	H	[65]
(66)	3-O-méthyl quercétine	OH	OH	OMe	OH	H	
(67)	3,7-O-diméthyl quercétine	OH	OMe	OMe	OH	H	[66]
(27)	3,7-O-diméthyl kaempférol	OH	OMe	OMe	H	H	

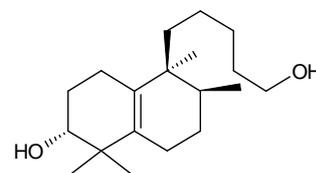
Les diterpènes isolés à partir de l'extrait hexane des parties aériennes de *C. laurifolius*, par T. J. De. Pascual et *al.* en 1983 (68-70), sont dominés par des structures issues du réarrangement du squelette labdane [67].



(68) Acide salmantique

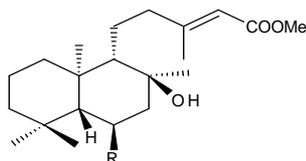


(69) Acide salmantique méthylester



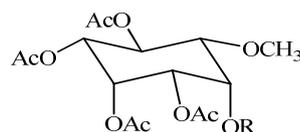
(70) Salmantidiol

Les travaux poursuivis en 1986 par les mêmes chercheurs sur l'extrait éthanolique ont permis d'identifier un nouveau diterpène polaire (71) avec d'autres dérivés du glucose (73-78) [68].



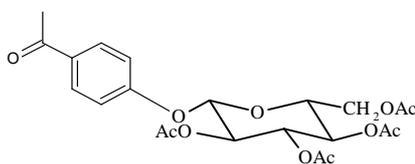
(71) R = OH : Méthyl-6β,8β-dihydroxy-ent-13(E)-labdan-15-oate

(72) R = OAc : Méthyl-6β-acétoxy-8β-hydroxy-ent-13(E)-labdan-15-oate

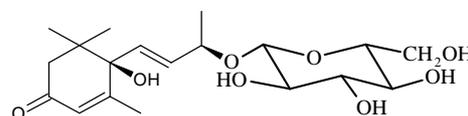


(73) R = Ac : 1-O-méthyl-pentaacétyl-épi-inosinol

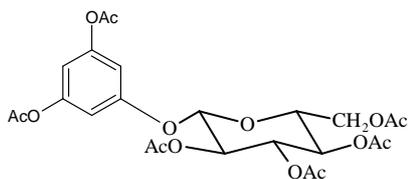
(74) R = H : 1-O-méthyl-3,4,5,6-tetraacétyl-épi-inosinol



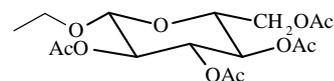
(75) 4β-D-glucopyranosiloxyacétophenone



(76) Roséoside



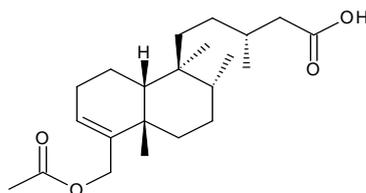
(77) 1,3-diacétoxy-5-(tetra-O-acétyl-β-D-glucopyranosiloxy)-benzene



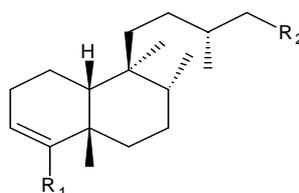
(78) β-D-glucopyranosiloxyéthane

◆ Espèce *C. monspeliensis*

L'analyse phytochimique de l'extrait hexane des parties aériennes de l'espèce *C. monspeliensis* a permis d'identifier un nouveau diterpène (79) à squelette clérodane [69].

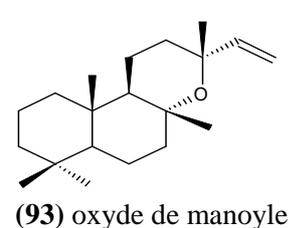
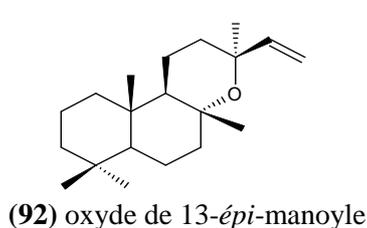
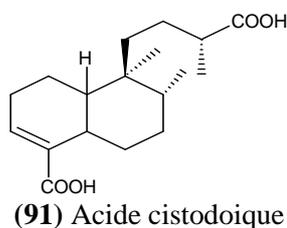
(79) Acide (+)-18-acétoxy-*cis*-clérodan-3-èn-15-oïque

Par la suite et à partir du même extrait, l'équipe de E. Kalpoutzakis (2003) a isolé plusieurs structures diterpéniques à squelette *cis*-clérodane (80-90) dont cinq sont nouvelles (80-84) [11].



	R₁	R₂
(80) 15,18-diacétoxy-3-ène- <i>cis</i> -clérodane	CH ₂ OCOCH ₃	CH ₂ OCOCH ₃
(81) 15-acétoxy-3-ène- <i>cis</i> -clérodan-18-ol	CH ₂ OH	CH ₂ OCOCH ₃
(82) Acide 15-acétoxy- <i>cis</i> -clérodan-3-èn-18-oïque	CO ₂ H	CH ₂ OCOCH ₃
(83) 15-acétoxy- <i>cis</i> -clérodan-3-èn-18-al	CH=O	CH ₂ OCOCH ₃
(84) 15-hydroxy- <i>cis</i> -clérodan-3-èn-18-al	CH=O	CH ₂ OH
(85) 15,18-dihydroxy- <i>cis</i> -clérodan-3-ène	CH ₂ OH	CH ₂ OH
(86) 18-acétoxy-3-ène- <i>cis</i> -clérodan-15-ol	CH ₂ OCOCH ₃	CH ₂ OH
(87) Acide 18-hydroxy- <i>cis</i> -clérodan-3-èn-15-oïque	CH ₂ OH	CO ₂ H
(88) Acide 15-hydroxy- <i>cis</i> -clérodan-3-èn-18-oïque	CO ₂ H	CH ₂ OH
(89) Acide 18-acétoxy- <i>cis</i> -clérodan-3-èn-15-oïque	CH ₂ OCOCH ₃	CO ₂ H
(90) Acide <i>cis</i> -clérodan-3-èn-15-oïque	CH ₃	CO ₂ H

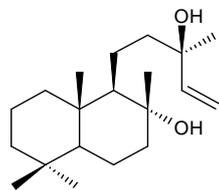
Les travaux de C. Robles et *al.* (2000) et D. Angelopoulou et *al.* (2002) ont été consacrés à l'étude des teneurs en huiles essentielles des feuilles et fruits de cette espèce. La composition chimique de l'huile essentielle des feuilles analysée par GC/MS révèle sa richesse en acide cistodoïque (91) (39,7%) et l'oxyde de 13-épi-manoyle (92) (50,4%) et les fruits sont dominés par les deux oxydes de manoyles (92 et 93) [12, 13].



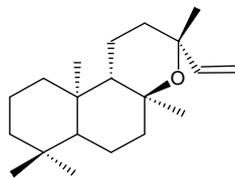
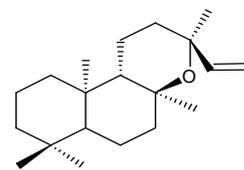
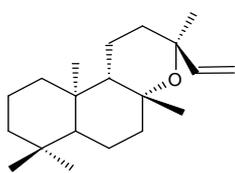
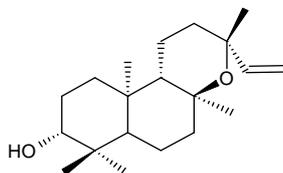
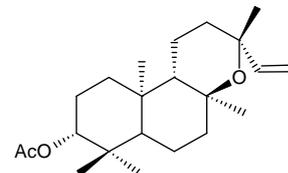
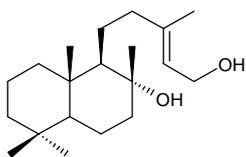
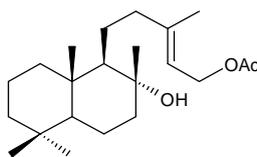
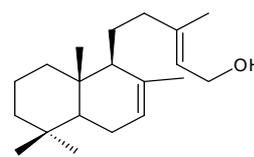
◆ Espèce *C. creticus*

Comme plusieurs espèces de la famille Cistaceae, cette plante produit une gomme résine connue sous le nom ladano [70]. La plupart des travaux réalisés sur cette résine ont

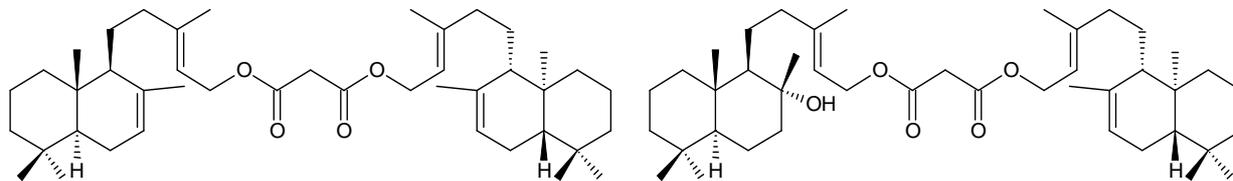
porté sur l'analyse de compositions chimiques des huiles essentielles où les études menées par C. Demetzos en 1999 et 2002 ont montré que l'huile essentielle de cette plante est caractérisée par la présence de diterpènes en proportion majoritaire, principalement des composés à squelette labdane (94-102) [71, 72].



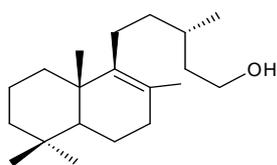
(94) Sclaréol

(95) *ent*-oxyde de 13-épi-manoylé(96) *ent*-oxyde de manoylé(97) *ent*-oxyde de 8-épi-manoylé(98) *ent*-3-β-hydroxy oxyde de 13-épi-manoylé(99) *ent*-3-β-acétoxy oxyde de 13-épi-manoylé(100) labd-13(*E*)-ène-8α-15-diol(101) 15-acétoxy-labd-13(*E*)-èn-8α-ol(102) labda-7,13(*E*)-dièn-15-ol

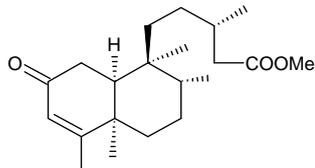
Ainsi, ces chercheurs ont isolé à partir de cette résine deux composés diterpéniques dont les structures sont nouvelles (103 et 104) [70].

(103) di-(13(*E*)-labd-7,13-dièn-15-yl) malonate(104) di-(13(*E*)-labd-13-èn-8α-ol-15-yl) malonate

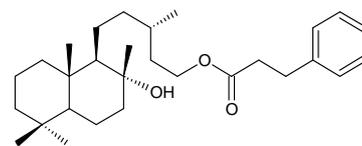
Cependant, peu d'études ont été portées sur la phytochimie des espèces *C. paliniae*, *C. populifolius* et *C. symphytifolius*. Ces travaux ont montré une nette domination des composés diterpéniques.

◆ Espèce *C. palinxae* (105-113) [73]

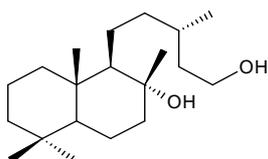
(105) 8-labdène-15-ol



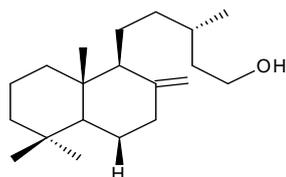
(106) (5R,8R,9S,10S)-méthyl-2-oxo-3-cis-clérodène-15-oate



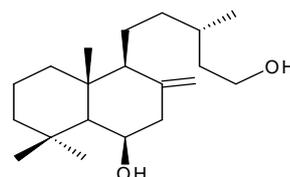
(107) 8α-hydroxy-15-phénylpropionoxy-labdane



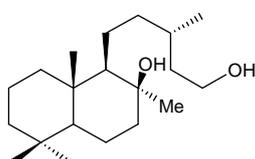
(108) 8,15-labdanediol



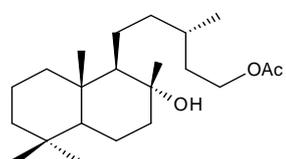
(109) 8(17)-labdène-15-ol



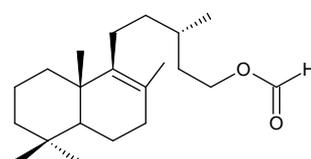
(110) 6β-hydroxy-8(17)-labdène-15-ol



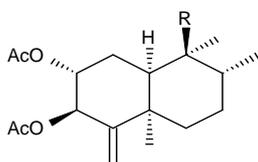
(111) 8-épi-15-labdanediol



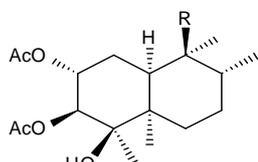
(112) 8α-hydroxy-15-acétoxy-labdane



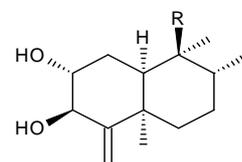
(113) 15-formyloxy-8-labdène

◆ Espèce *C. populifolius* (114-116) [74]

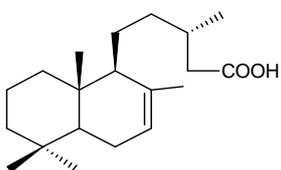
(114) Méthyl 2α,3β-diacétoxy-4(18)-neo-clérodène-15-oate



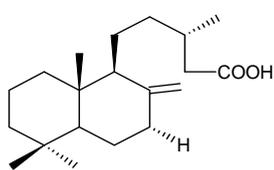
(115) Méthyl 2α,3β-diacétoxy-4β-hydroxy-neo-clérodane-15-oate



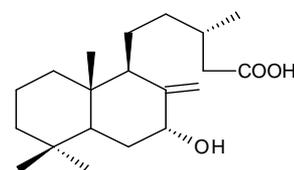
(116) Méthyl 2α,3β-dihydroxy-4(18)-neo-clérodène-15-oate

◆ Espèce *C. symphytifolius* (117-122)[75]

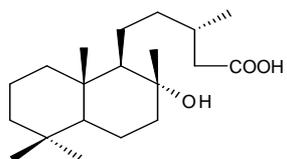
(117) Acide cativique



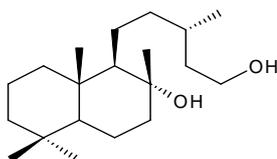
(118) Acide labdénique



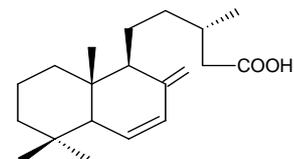
(119) Acide cisténolique



(120) Acide labdanolique



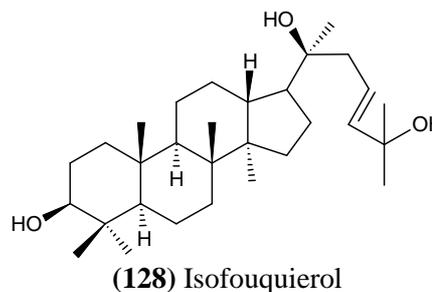
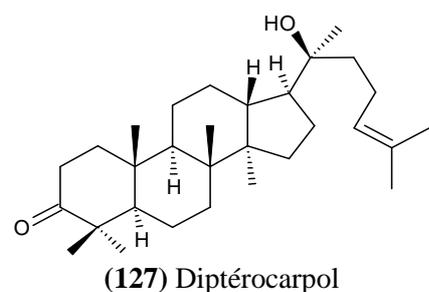
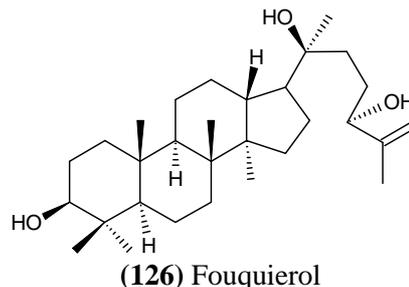
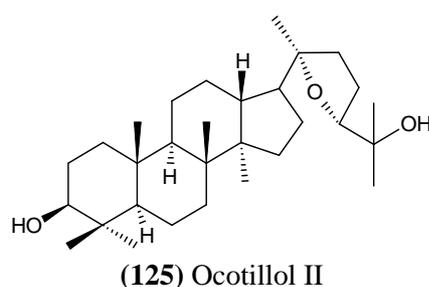
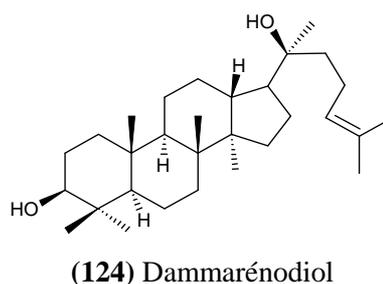
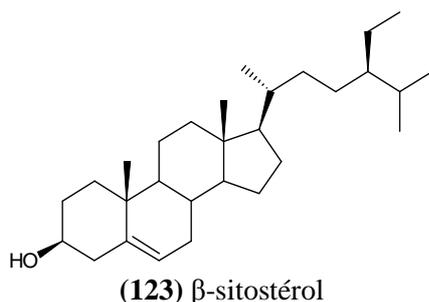
(121) Labdan-8α,15-diol



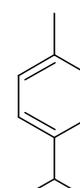
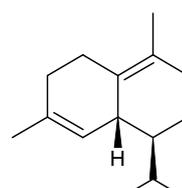
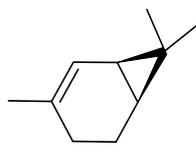
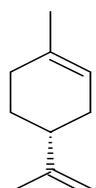
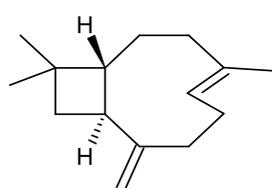
(122) Acide cistadiénique

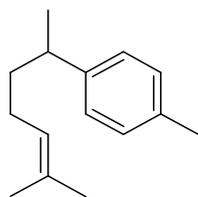
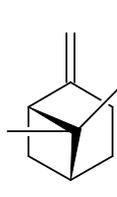
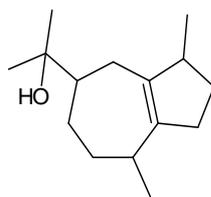
◆ Espèce *C. albidus*

D'après T. J. De Pascual, la première étude réalisée sur *Cistus albidus* par son groupe en 1978 a porté sur l'extrait hexanique et a permis de former trois fractions, une fraction acide constituée par des acides gras et l'acide labdanolique (120), une fraction phénolique composée de flavonoïdes dont la plupart ont également été identifiés dans d'autres espèces de Cistes et une fraction neutre renfermant des acides gras, des composés triterpéniques tels que le β -sitostérol (123), le dammarénodiol (124), l'ocotillol II (125), le fouquierol (126), le diptérocarpol (127) et l'isofouquierol (128) [76].

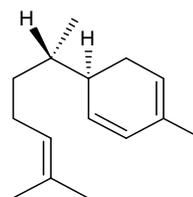
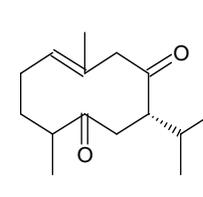


D'autres travaux réalisés sur cette espèce par les équipes de (J. Penuelas et *al.*) [14, 15] et (C. Robles et *al.*) [16] ont permis de conclure que *C. albidus* émet un pourcentage important de composés volatils dont les plus abondants sont :



(134) α -curcumène(135) β -pinène

(136) Guaiol

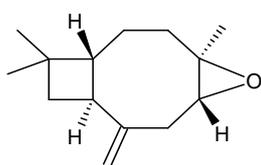
(137) α -zingibérène

(138) Curdione

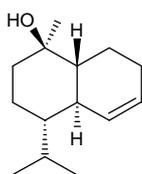
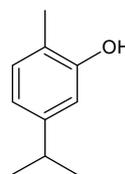
Parmi les travaux les plus récents sur les huiles essentielles des espèces du genre *Cistus*, on peut citer ceux menés par D. Angelopoulou et C. Demetzos [17, 77] sur les espèces *C. parviflorus* et *C. salvifolius*. Ces auteurs ont effectué une étude comparative sur la composition chimique des huiles essentielles obtenues à partir de plusieurs populations de ces deux espèces de Ciste.

◆ Espèce *C. parviflorus*

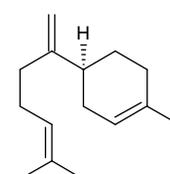
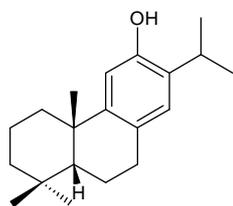
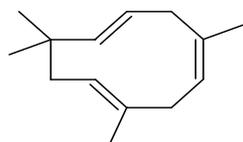
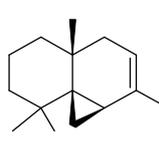
Concernant cette espèce, il a été évoqué l'existence de deux chimiotypes suite à l'analyse de neuf échantillons et l'identification de 114 composés représentant entre 85 et 96% de la composition chimique totale dont les sesquiterpènes et diterpènes oxygénés sont les composés majoritaires. Ces derniers sont l'oxyde de caryophyllène (139), l' α -épi-cadinol (140), le carvacrol (141), le (-)- β -bisabolène (142), le *cis*-ferruginol (143), le α -humulène (144), le (+)-thujopsène (145), le β -elemène (146), le 13-épi-oxyde de manoylène (92) et l'oxyde de manoylène (93) [17].



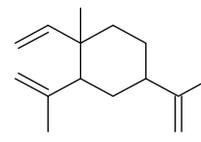
(139) L'oxyde de caryophyllène

(140) α -épi-cadinol

(141) Carvacrol

(142) (-)- β -bisabolène(143) *cis*-ferruginol(144) α -humulène

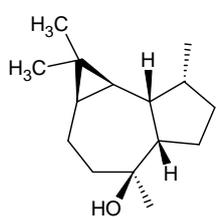
(145) (+)-thujopsène

(146) β -elemène

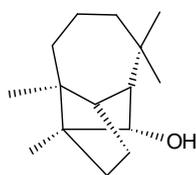
◆ Espèce *C. salvifolius*

Pour cette espèce, 167 composés représentant entre 96 et 100% de la composition chimique totale en huiles essentielles ont été identifiés. Cette plante est dominée par les

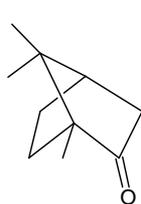
sesquiterpènes oxygénés et les principaux constituants sont le viridiflorol (147), le longibornéol (148), le camphre (149), le phyllocladène (150), le (-)-cuparène (151) et le *cis*-ferruginol (143) [77].



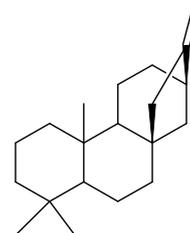
(147) Viridiflorol



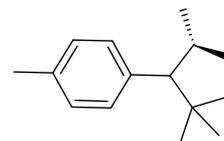
(148) Longibornéol



(149) Camphre



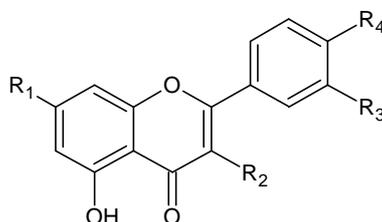
(150) Phyllocladène



(151) (-)-cuparène

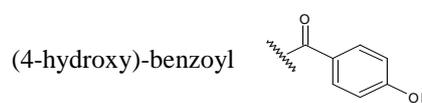
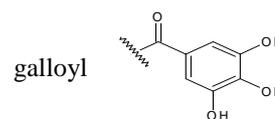
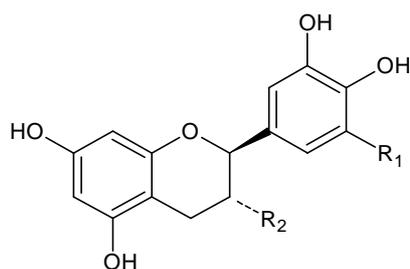
D'autres travaux ont permis de mettre en évidence des variations importantes concernant la composition chimique des extraits cyclohexanique et acétate d'éthyle de cette espèce notamment au niveau de la teneur en composés phénoliques. Les résultats de ces travaux ont montré la présence des flavan-3-ols sous forme de monomères et dimères (dont les composés (159-164) sont nouveaux) [78, 79], et constituent la classe majoritaire des composés phénoliques isolés suivi par les flavones et/ou flavonols méthoxylés [80] puis par les dérivés de phloroglucinol [78].

➤ Flavones et flavonols



		R₁	R₂	R₃	R₄
(31)	7-méthoxy apigénine	OMe	H	H	OH
(152)	4'-méthoxy apigénine	OH	H	H	OMe
(153)	7,4'-diméthoxy apigénine	OMe	H	H	OMe
(28)	3,4'-diméthoxy kaempférol	OH	OMe	H	OMe
(154)	3,7,4'-triméthoxy kaempférol	OMe	OMe	H	OMe
(155)	3,7,3'-triméthoxy quercétine	OMe	OMe	OMe	OH

➤ Flavan-3-ols (monomères)

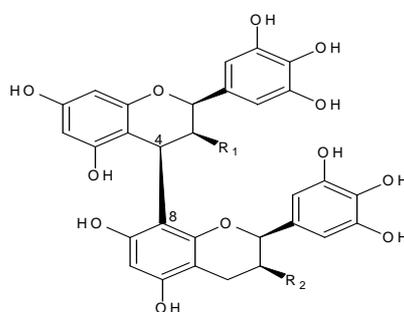


		R ₁	R ₂	Réf.
(34)	Catéchine	H	OH	
(35)	Gallocatechine	OH	OH	
(36)	Epicatechine	H	OH	
(37)	Epigallocatechine	OH	OH	
(156)	Gallocatechine-3- <i>O</i> -gallate	OH	O-galloyl	[78]
(157)	Epicatechine-3- <i>O</i> -gallate	H	O-galloyl	
(158)	Epigallocatechine-3- <i>O</i> -gallate	OH	O-galloyl	
(159)	Epigallocatechine-3- <i>O</i> - <i>p</i> -hydroxybenzoate	OH	O-(4-hydroxy)-benzoyl	

➤ Flavan-3-ols (dimères)

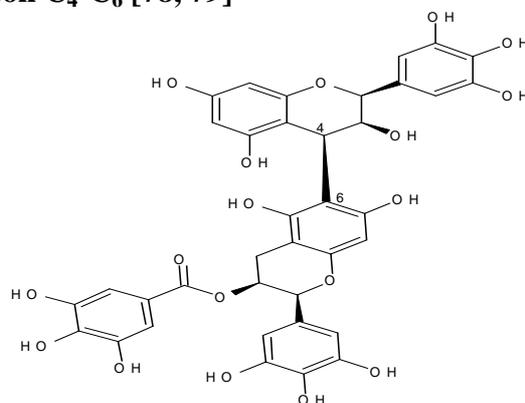
Les dimères de flavan-3-ols isolés de cette espèce sont de type prodelphinidines avec des unités épigallocatechines couplées par des liaisons C₄-C₈ ou C₄-C₆ [78, 79].

▪ Liaison C₄-C₈



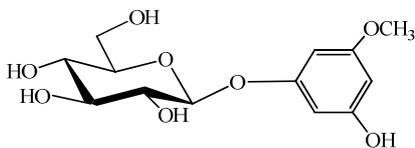
		R ₁	R ₂	Réf.
(160)	Epigallocatechine-(4β→8)-épigallocatechine	OH	OH	
(161)	Epigallocatechine-3- <i>O</i> -gallate-(4β→8)-épigallocatechine	O-galloyl OH	OH O-galloyl	[78]
(162)	Epigallocatechine-(4β→8)-épigallocatechine-3- <i>O</i> -gallate			
(163)	Epigallocatechine-3- <i>O</i> - <i>p</i> -hydroxy-benzoate-(4β→8)-épigallocatechine	O-(4-hydroxy)-benzoyl	OH	
(164)	Epigallocatechine-3- <i>O</i> - <i>p</i> -hydroxy-benzoate-(4β→8)-épigallocatechine-3- <i>O</i> -gallate	O-(4-hydroxy)-benzoyl	O-galloyl	[79]

▪ Liaison C₄-C₆ [78, 79]

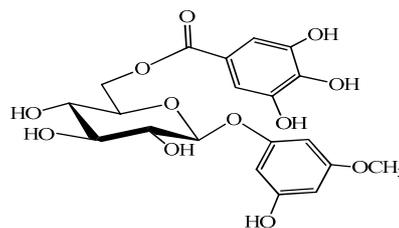


(165) Epigallocatechine-(4β→6)-épigallocatechine-3-*O*-gallate

➤ Dérivés de phloroglucinol [78]



(166) 1-*O*- β -D-glucopyranosyl-3-méthoxy-5-hydroxybenzene

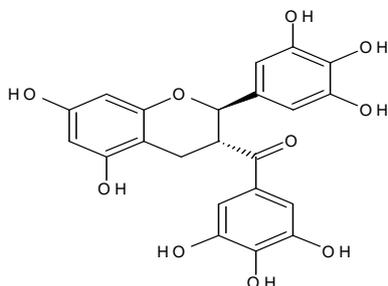


(167) 1-*O*- β -D-(6'-*O*-galloyl)-glucopyranosyl-3-méthoxy-5-hydroxybenzene

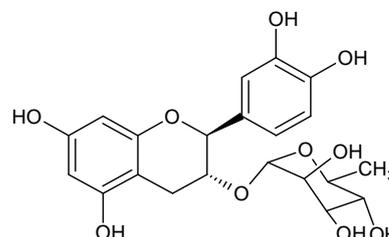
◆ Espèce *C. incanus*

Une étude similaire réalisée sur cette espèce a permis de confirmer une autre fois la domination des composés phénoliques dans ce genre. C'est dans l'extrait AcOEt des parties aériennes qu'ont été trouvés majoritairement les composés flavan-3-ols de toutes les formes monomères : catéchine (34), gallocatéchine (35), épicatechine (36), épigallocatéchine (37), gallocatéchine-3-*O*-gallate (156), gallocatéchine-3-gallate (168) et catéchine-3-*O*- α -L-rhamnoside (169) [81, 82], dimères et oligomères (proanthocyanidines) groupés sous forme procyanidines [81] et prodelfinidine [83].

➤ Monomères [81]

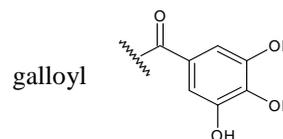
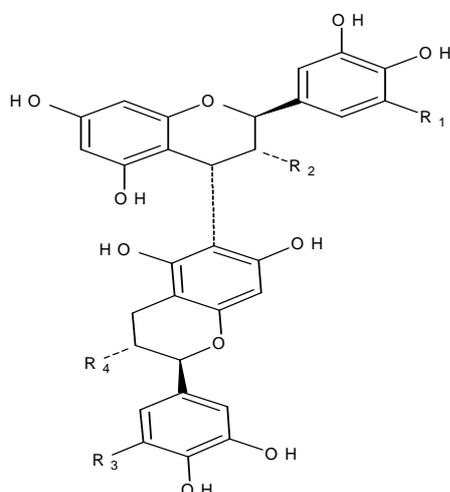


(168) Gallocatéchine-3-gallate

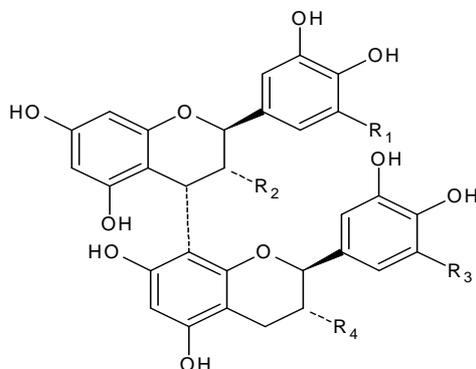


(169) Catéchine-3-*O*- α -L-rhamnoside

➤ Dimères

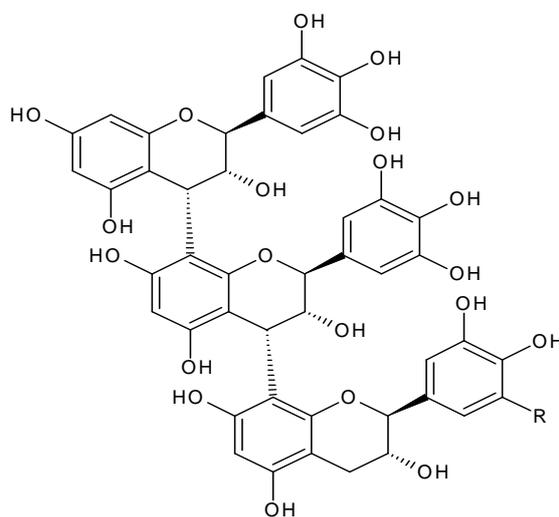


		R ₁	R ₂	C ₄ -C ₆	R ₃	R ₄	Réf.
(170)	Epicatéchine-(4β→6)-catéchine	H	▶OH	▶	HOH	[83]
(171)	Epigallocatechine-3-O-gallate-(4β→6)-gallocatechine	H	▶O-galloyl	▶	OHOH	
(172)	Gallocatechine-(4α→6)-gallocatechine	OHOH	OHOH	[81]



		R ₁	R ₂	C ₄ -C ₈	R ₃	R ₄	Réf.
(173)	Epigallocatechine-(4β→8)-catéchine	OH	▶OH	▶	HOH	[83]
(174)	Epigallocatechine-(4β→8)-gallocatechine	OH	▶OH	▶	OHOH	
(175)	Epigallocatechine-3-O-gallate-(4β→8)-gallocatechine	OH	▶O-galloyl	▶	OHOH	
(176)	Gallocatechine-(4α→8)-gallocatechine	OHOH	OHOH	[81]
(177)	Gallocatechine-(4α→8)-catéchine	OHOH	HOH	
(178)	Catéchine-(4α→8)-gallocatechine	HOH	OHOH	

► Oligomères



		R	Réf.
(179)	Gallocatechine-(4α→8)-gallocatechine-(4α→8)-catéchine	H	[81]
(180)	Gallocatechine-(4α→8)-gallocatechine-(4α→8)-gallocatechine	OH	[83]

I. 8. 2. Genre *Halimium*

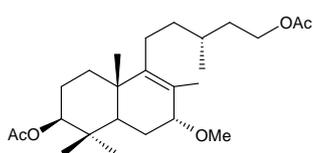
La plupart des produits naturels signalés et répertoriés dans le genre *Halimium* appartient au grand groupe de composés terpéniques et plus précisément aux diterpènes à

squelette labdane ; on retrouve également quelques composés phénoliques. Les diverses structures isolées des principales espèces de ce genre sont représentées ci-dessous.

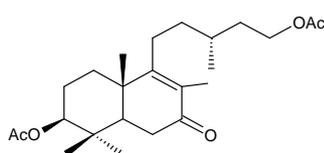
◆ **Espèce *H. viscosum***

Cette espèce est la plus étudiée dans ce genre. Les études phytochimiques réalisées sur ses parties aériennes révèlent sa richesse en composés diterpéniques. Les diterpènes décrits à ce jour pour *H. viscosum*, dont la plupart possède de nouvelles structures, peuvent être répartis en quatre squelettes représentés par les composés (181-234). Ces molécules ont un squelette labdanique [84] possédant généralement un réarrangement *ent*-labdane, nommé par J. D. Pascual et son équipe squelette *ent*-halimane [85]. Elles portent parfois un squelette tricyclique nommé valparane ou valparolane [86, 87]. Très rarement, ces molécules présentent un système bicyclique [5,3,0] décane nommé squelette tormésane [88].

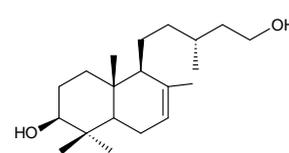
➤ **Squelette labdane (181-186) [84, 89]**



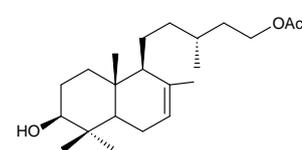
(181) 3β,15-diacétoxy-7α-méthoxy-8-labdène



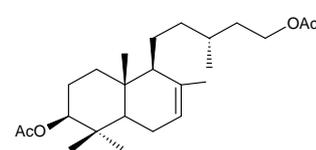
(182) 3β,15-diacétoxy-7-oxo-8-labdène



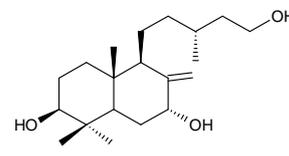
(183) 7-labdène-3β-15-diol



(184) 15-acétoxy-7-labdan-3β-ol

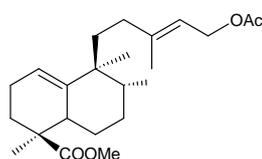


(185) 3β, 15-diacétoxy-7-labdane

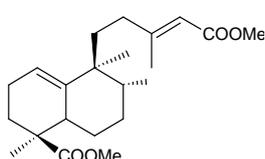


(186) 8(17)-labdane-3β,7α,15-triol

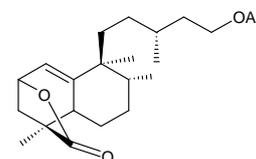
➤ **Squelette *ent*-labdane (*ent*-halimane) (187-210) [85, 89-91]**



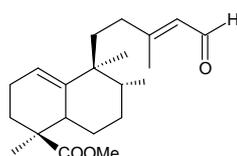
(187) Methyl-15-acétoxy-1(10),13(*E*)-*ent*-halimadiène-18-oate



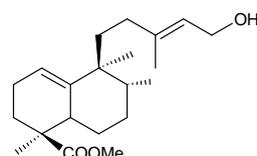
(188) Diméthyl-1(10), 13(*E*)-*ent*-halimadiène-15,18-dioate



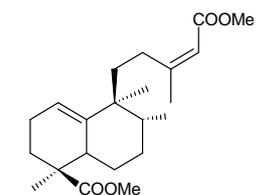
(189) 13*S*-*ent*-9,1-friedolabd-1(10)-èn-15-acétoxy-2*R*,18-olide



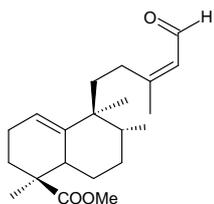
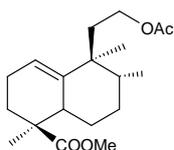
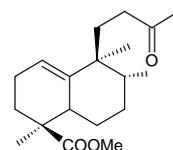
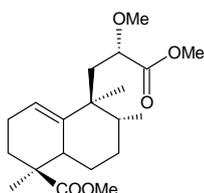
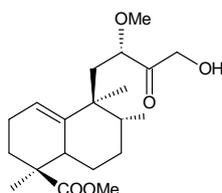
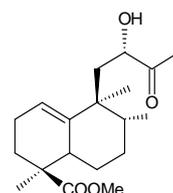
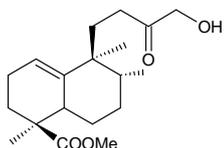
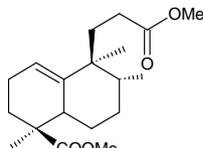
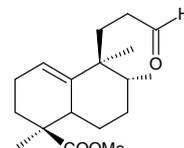
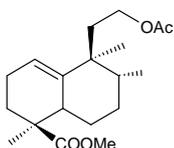
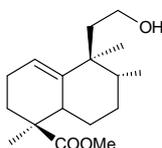
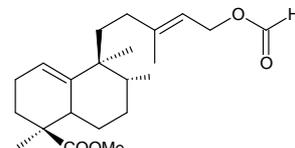
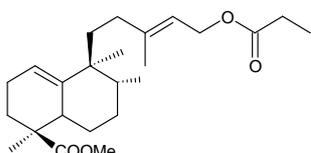
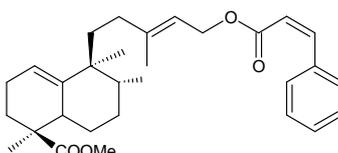
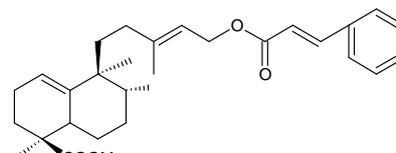
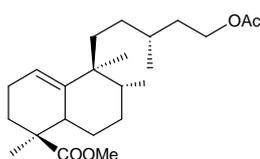
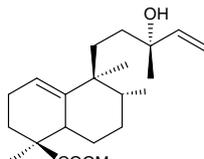
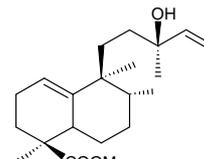
(190) Methyl-15-al-1(10),13(*E*)-*ent*-halimadiène-18-oate



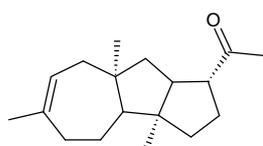
(191) Methyl-15-hydroxy-1(10),13(*E*)-*ent*-halimadiène-18-oate



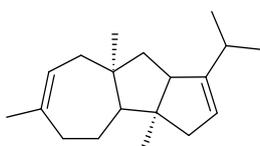
(192) Diméthyl-1(10),13(*Z*)-*ent*-halimadiène-15,18-dioate

(193) Méthyl-15-al-1(10),13(Z)-*ent*-halimadien-18-oate(194) Méthyl-12-acétoxy-13,14,15,16-tetranor-1(10)-*ent*-halimèn-18-oate(195) Méthyl-13-oxo-14,15-dinor-1(10)-*ent*-halimèn-18-oate(196) Méthyl-14,15,16-trinor-12(R,S)-méthyl-1(10)-*ent*-halimène-13,18-dioate(197) Méthyl-14,15-dinor-12(R,S)-méthoxy-16-hydroxy-13-oxo-1(10)-*ent*-halimèn-18-oate(198) Méthyl-14,15-dinor-12-hydroxy-13-oxo-1(10)-*ent*-halimèn-18-oate(199) Méthyl-14,15-dinor-16-hydroxy-13-oxo-1(10)-*ent*-halimèn-18-oate(200) Méthyl-14,15,16-trinor-1(10)-*ent*-halimèn-13,18-dioate(201) Méthyl-13,14,15,16-tetranor-12-al-1(10)-*ent*-halimèn-18-oate(202) Méthyl-13,14,15,16-tetranor-12-acétoxy-1(10)-*ent*-halimèn-18-oat(203) Méthyl-13,14,15,16-tetranor-12-hydroxy-1(10)-*ent*-halimèn-18-oate(204) Méthyl-15-formyloxy-1(10)-13(E)-*ent*-halimadien-18-oate(205) Méthyl-15-propionyloxy-1(10),13(E)-*ent*-halimadien-18-oate(206) Méthyl-15(Z)-cinamoyloxy-1(10),13(E)-*ent*-halimadien-18-oate(207) Méthyl-15(E)-cinamoyloxy-1(10),13(E)-*ent*-halimadien-18-oate(208) Méthyl-15-acétoxy-1(10)-*ent*-halimadien-18-oate(209) Méthyl-13R-hydroxy-1(10),14-*ent*-halimadien-18-oate(210) Méthyl-13S-hydroxy-1(10),14-*ent*-halimadien-18-oate

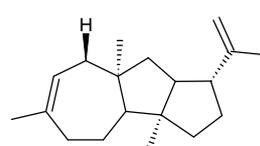
➤ **Squelette valparane (211-228) [86, 87, 92-94]**



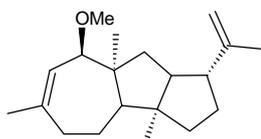
(211) Valparène



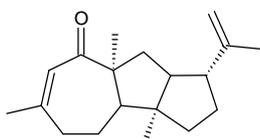
(212) 2,13-valparadiène



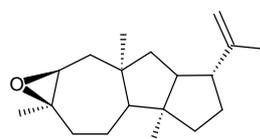
(213) 2,15-valparadiène



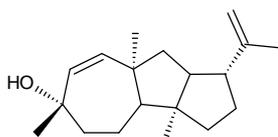
(214) 1β-méthoxy-2,15-valparadiène



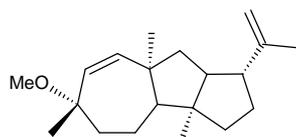
(215) 3,15-valparadièn-2-one



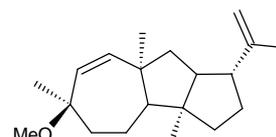
(216) 2,3-époxy-15-valparène



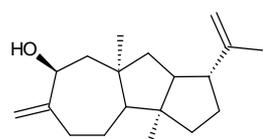
(217) 1,15-valparadièn-3β-ol



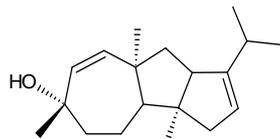
(218) 3α-méthoxy-1,15-valparadiène



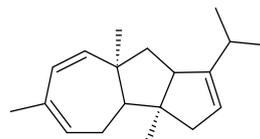
(219) 3β-méthoxy-1,15-valparadiène



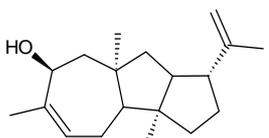
(220) 3(9),15-valparadièn-2β-ol



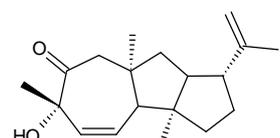
(221) 1,13-valparadièn-3α-ol



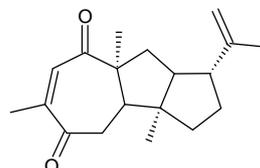
(222) 1,3,13-valparatriène



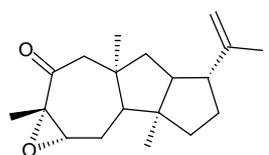
(223) 3,15-valparadièn-2β-ol



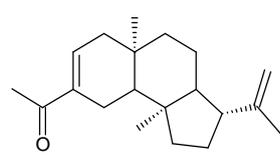
(224) 3α-hydroxy-4,15-valparadièn-2-one



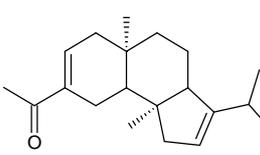
(225) 2,15-valparadiène-1,4-dione



(226) 3α,4α-époxy-15-valparèn-2-one

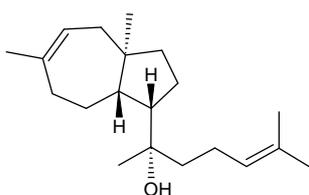


(227) Valparolone

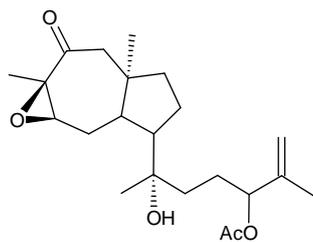


(228) 2(4),13-valparoladièn-3-one

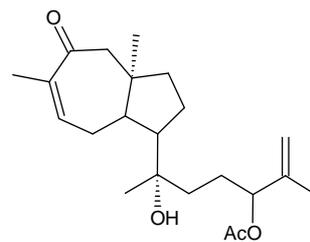
➤ **Squelette tormésane (229-234) [88, 94, 95]**



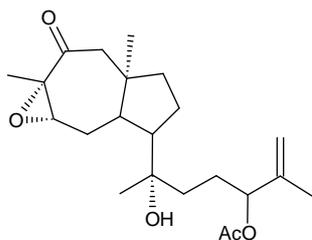
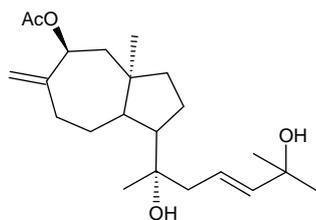
(229) Tormésol



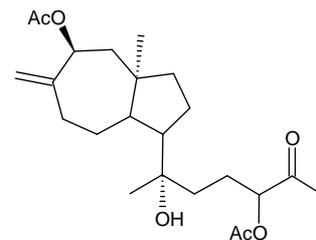
(230) 15-acétoxy-8-oxo-6,7β-époxy-16-tormésèn-11-ol



(231) 15-acétoxy-8-oxo-6,16-tormésadièn-11-ol

(232) 15-acétoxy-8-oxo-6,7 α -époxy-16-tormésène-11-ol

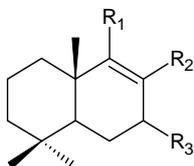
(233) 8-acétoxy-7(20),14-tormésadiène-11,16-diol



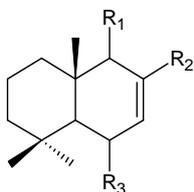
(234) 8,15-diacétoxy-7(20),16-tormésadiène-11-ol

◆ Espèce *H. verticillatum*

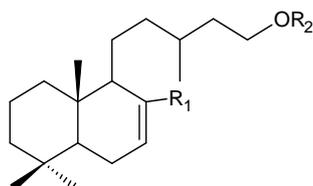
Les études de J. D. Urones et *al.* (1987 et 1993) ont permis d'isoler, à partir de l'extrait hexanique de cette espèce, plusieurs composés diterpéniques comme des principaux constituants des parties aériennes de *H. verticillatum* [96, 97].



	R ₁	R ₂	R ₃	Réf.	
(235)	Méthyl-15-acétoxy-7-oxo-8-labdène-17-oate	CH ₂ CH ₂ CH(Me)CH ₂ CH ₂ OAc	COOMe	O	
(236)	Méthyl-7 α ,15-dihydroxy-8-labdène-17-oate	CH ₂ CH ₂ CH(Me)CH ₂ CH ₂ OAc	COOMe	α OH	
(237)	Méthyl-7 β ,15-dihydroxy-8-labdène-17-oate	CH ₂ CH ₂ CH(Me)CH ₂ CH ₂ OH	COOMe	β OH	[97]
(238)	Méthyl-15-acétoxy-7 α -hydroxy-8-labdène-17-oate	CH ₂ CH ₂ CH(Me)CH ₂ CH ₂ OAc	COOMe	α OH	
(239)	17-nor-15-acétoxy-7-oxo-8-labdène	CH ₂ CH ₂ CH(Me)CH ₂ CH ₂ OAc	H	O	



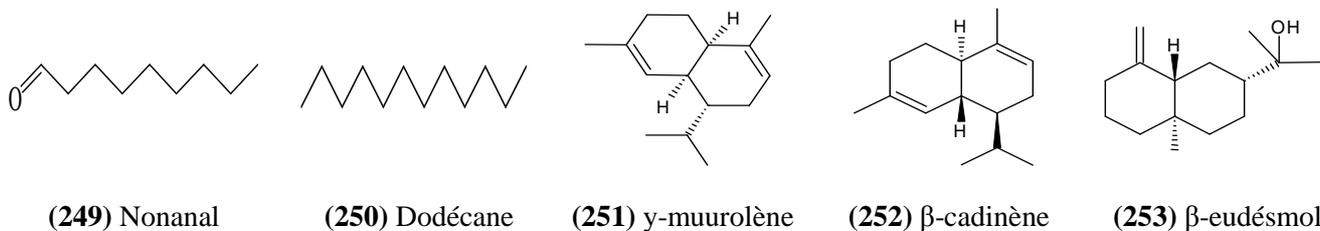
	R ₁	R ₂	R ₃	Réf.	
(240)	Méthyl-15-acétoxy-6-oxo-7-labdène-17-oate	CH ₂ CH ₂ CH(Me)CH ₂ CH ₂ OAc	COOMe	O	
(241)	Méthyl-15-hydroxy-6-oxo-7-labdène-17-oate	CH ₂ CH ₂ CH(Me)CH ₂ CH ₂ OH	COOMe	O	
(242)	Méthyl-6 β ,15-dihydroxy-7-labdène-17-oate	CH ₂ CH ₂ CH(Me)CH ₂ CH ₂ OH	COOMe	β OH	[97]
(243)	Méthyl-6 α ,15-dihydroxy-7-labdène-17-oate	CH ₂ CH ₂ CH(Me)CH ₂ CH ₂ OH	COOMe	α OH	



	R ₁	R ₂	Réf.	
(244)	Méthyl-15-acétoxy-7-labdène-17-oate	COOMe	Ac	
(245)	Méthyl-15-hydroxy-7-labdène-17-oate	COOMe	H	
(246)	Méthyl-15-cinnamoyloxy-7-labdène-17-oate	COOMe	Cinm	[96]
(247)	Méthyl-15-isobutyloxy-7-labdène-17-oate	COOMe	OCCH(Me) ₂	
(248)	Méthyl-15-formyloxy-7-labdène-17-oate	COOMe	OCH	

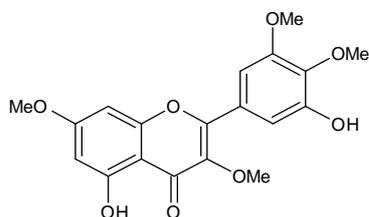
◆ Espèce *H. voldii*

La composition chimique en composés volatils représentant 88% de l'huile essentielle des feuilles de cette espèce, a été analysée par GC/MS à partir de l'extrait hexanique par C. Demetzos et *al.* (2001) où trente composés ont pu être identifiés. Les composés majoritaires de cette huile sont : nonanal (12,8%) (**249**), dodécane (10,6%) (**250**), *E*- β -caryophyllène (8,2%) (**129**), γ -muurolène (19,9%) (**251**), β -cadinène (3,5%) (**252**), l'oxyde de caryophyllène (5,1%) (**139**), β -eudésmol (3,6%) (**253**) et l'oxyde de manoylène (5,5%) (**93**) [98].

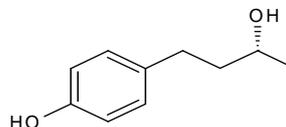


◆ Espèce *H. halimifolium*

Contrairement aux composés diterpéniques qui forment la classe dominante des phytoconstituants isolés du genre *Halimium*, la présence des dérivés phénoliques est très faible dans ce genre. En effet, et à notre connaissance seulement deux composés phénoliques (**254** et **255**) ont été décrits à partir des parties aériennes de l'espèce *H. halimifolium* [99].



(254) 3,7,3',4'-tetraméthoxy myrcétine



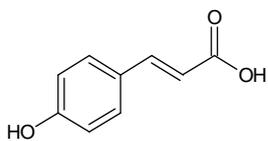
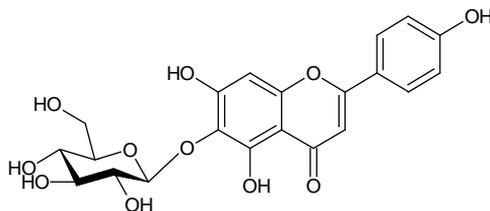
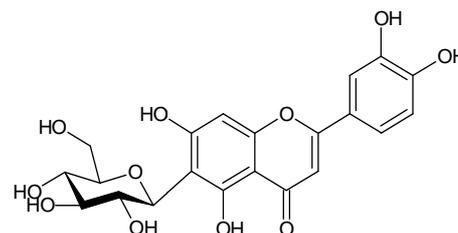
(255) Betuligénole

Les espèces des genres *Tuberaria*, *Fumana* et *Helianthemum* ont été peu étudiées sur le plan phytochimique où les données de la littérature se sont limitées à quelques espèces dont les constituants chimiques décrits sont des dérivés phénoliques.

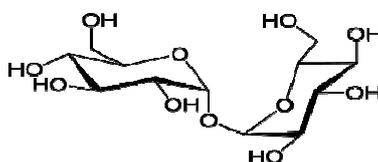
I. 8. 3. Genre *Tuberaria*

Les études portant sur ce genre concernent particulièrement l'espèce *T. lignosa* et elles ont été réalisées par L. M. Bedoya (2010) [100] et J. Penela (2012) [101]. Il ressort de ces études que cette espèce est riche en composés éllagitannins [100]. Aussi, elles ont permis d'isoler d'autres types de composés tels que les acides phénoliques : acide éllagique (**38**), acide gallique (**39**) et acide *p*-coumarique (**256**), les vitamines : acide ascorbique (**58**) et les flavonoïdes sous forme de flavones et flavonols : quercétine-3-*O*-glucoside (**11**), quercétine-

3-*O*-rutinoside (12), kaempférol-3-*O*-glucoside (18), kaempférol-3-*O*-rutinoside (19), apigénine-6-*O*-glucoside (257) et lutéoline-6-*C*-glucoside (258) [101].

(256) Acide *p*-coumarique(257) Apigénine-6-*O*-glucoside(258) lutéoline-6-*C*-glucoside

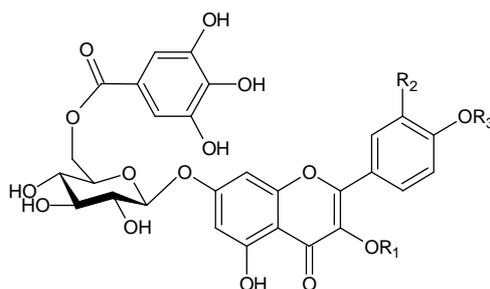
Les sucres libres comme α -D-(+)-glucose (54), β -D-(-)-fructose (55), D-(+)-saccharose (56), D-(+)-raffinose (57) et D-(+)-tréhalose ont été également isolés et identifiés (259) [101].



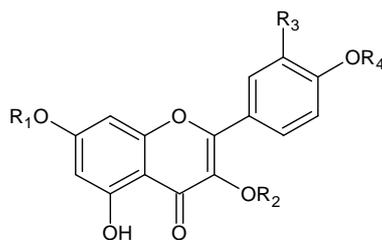
(259) D-(+)-Tréhalose

I. 8. 4. Genre *Fumana*

Concernant ce genre, il n'y a pas eu pratiquement de travaux de phytochimie menés sur les espèces de *Fumana*, seulement celui réalisé dans notre laboratoire par H. Laraoui et *al.* (2013) sur l'espèce *F. montana*. A l'issue de cette étude, plusieurs composés flavonoïdiques de type flavonol dont trois sont nouveaux (260-262) ont été caractérisés [102].



		R ₁	R ₂	R ₃
(260)	3-méthoxy-7- <i>O</i> - β -(6''-galloylglucopyranoside) quercétine	Me	OH	H
(261)	3,4'-diméthoxy-7- <i>O</i> - β -(6''-galloylglucopyranoside) quercétine	Me	OH	Me
(262)	3-méthoxy-7- <i>O</i> - β -(6''-galloylglucopyranoside) kaempférol	Me	H	H
(263)	7- <i>O</i> - β -(6''-galloylglucopyranoside) quercétine	H	OH	H

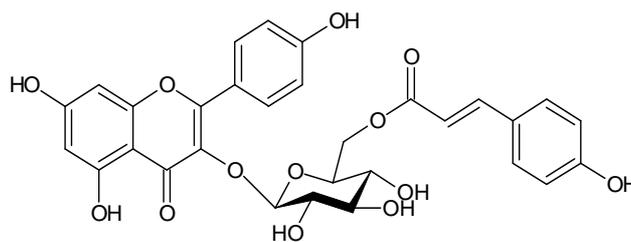


		R₁	R₂	R₃	R₄
(10)	Quercétine	H	H	OH	H
(66)	3-méthoxy quercétine	H	Me	OH	H
(264)	7- <i>O</i> -β-glucopyranoside quercétine	Glu	H	OH	H
(265)	3-méthoxy-7- <i>O</i> -β-glucopyranoside quercétine	Glu	Me	OH	H
(266)	3-méthoxy-7- <i>O</i> -β-glucopyranoside kaempférol	Glu	Me	H	H
(267)	3,4'-diméthoxy-7- <i>O</i> -β-glucopyranoside quercétine	Glu	Me	OH	Me

I. 8. 5. Genre *Helianthemum*

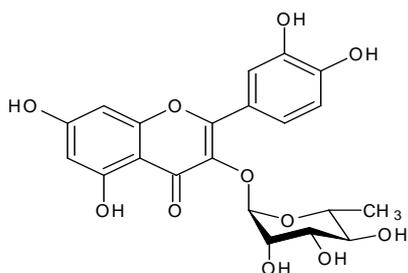
Ce genre fait partie des genres les plus importants de la famille Cistaceae avec environ 200 espèces et variétés [1]. Contrairement à d'autres genres de cette famille (*Cistus* et *Halimium*) ayant fait l'objet de plusieurs études phytochimiques depuis le début des années 60 [103], peu de travaux ont été consacrés à la composition chimique des espèces *Helianthemum*. Ces études menées par le groupe de F. Clazada [104, 105], au milieu des années 90, ont porté uniquement sur l'espèce *H. glomeratum*.

En effet, les travaux de cette équipe ont permis d'isoler en 1995 à partir de l'extrait méthanolique des parties aériennes de l'espèce *H. glomeratum*, trois flavonols : la quercétine (10), le kaempférol (62) et le tiliroside (260) [104].

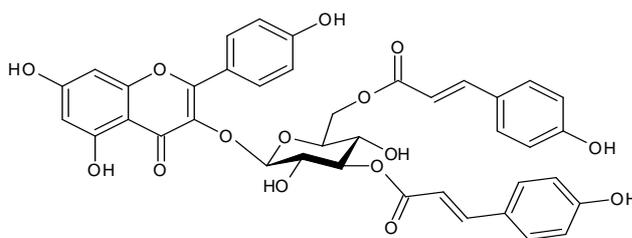


(260) Tiliroside

Puis en 1999, ce groupe a travaillé les racines de cette espèce où deux flavan-3-ols : épigallocatechine (37) et épigallocatechine-3-*O*-gallate (158) ont été isolés et identifiés [105]. Les derniers travaux de cette équipe sur les parties aériennes de *H. glomeratum* (2007) ont permis de purifier et caractériser quatre flavonols glycosylés : l'isoquercétrine (11), l'astragaline (18), la quercétrine (261) et le 3-*O*-(3'',6''-di-*O*-*E*-*p*-coumaroyl)-β-*D*-glucopyranoside kaempférol (262) [106].



(261) Quercétrine



(262) 3-O-(3'',6''-di-O-E-p-coumaroyl)-β-D-glucopyranoside kaempférol

D'autre part, il a été démontré que les composés phénoliques sont très abondants dans les espèces du genre *Helianthemum* [107, 108], à l'instar des travaux de F. G. Barroso et *al.* (2001) qui ont montré la richesse de l'espèce *H. almeriensis* en tanins [108]. Par ailleurs, les travaux de A. R. Moraga et *al.* (2013) ont mis en évidence la présence de flavonoïdes dans les espèces (*H. apenninum* subsp. *cavanillesianum*, *H. syriacum* et *H. polygonoides*) et des acides phénoliques : acide é gallique (38), acide gallique (39) et les éllagitanins dans les espèces (*H. alypoides*, *H. cinereum* subsp. *rotundifolium*, *H. hirtum*, *H. asperum* et *H. marifolium* subsp. *marifolium*) [107].



Partie **II**

II. 1. Famille Euphorbiaceae

Avec environ 307 genres regroupés dans cinq sous-familles (Pyllanthoideae, Oldfiedioideae, Acalyphoideae, Crotonoideae et Euphorbioideae), la famille Euphorbiaceae A. L. de Jussieu contient plus de 10000 espèces, nombre relativement important comparé à d'autres familles botaniques. Les trois genres *Euphorbia* (2000 espèces), *Croton* (1500 espèces) et *Phyllanthus* (700 espèces) couvrent à eux seuls près de la moitié des plantes de cette famille. Celle-ci possède une répartition mondiale, et elle est plus diversifiée dans l'Asie du Sud-Est (région Indo-Malaise) [35, 109].

Les plantes de cette famille, d'aspect très variable, se caractérisent essentiellement par la présence d'une sève blanche laiteuse, la plupart de temps irritante et vulnérante, mais parfois extrêmement toxique, allergène et corrosive selon les espèces [35]. Ces plantes sont dicotylédones et se rencontrent sous forme d'arbres, de plantes arborescentes, de buissons, de lianes, et de plantes herbacées, possédant généralement des feuilles alternes simples souvent très réduites, entières ou finement dentées, opposées ou verticillées et palmées. Les fleurs sont très variables et peuvent être classiques avec un périanthe, simplifiées et réduites sans périanthe, disposées en racèmes et épis ou panicules cymeuses. Cependant, les fruits sont généralement en capsule à trois loges contenant des graines souvent huileuses [22, 35].

II. 2. Genre *Euphorbia*

Ce genre, qui est considéré comme le genre le plus diversifié des groupes de plantes à fleurs avec plus de 2000 espèces, se caractérise par des inflorescences particulières nommées cyathe. Il renferme de nombreuses Euphorbes herbacées ou arbustes à travers le monde, essentiellement dans les climats tropicaux et subtropicaux, mais il est également connu pour ses nombreuses espèces de plantes succulentes, dont certaines ressemblent fortement aux cactus [22, 35].

Les Euphorbes présentent des tiges et des feuilles exsudant un latex blanc après éraflure. Elles possèdent des fleurs de très petite taille d'une inflorescence cymeuse, axillaires ou terminales, regroupées en cyathe avec une fleur femelle entourée par quelques fleurs mâles. Cette organisation est présente chez toutes les espèces *Euphorbia*, où la variation de ce genre s'exprime dans les caractéristiques du cyathe. Ce dernier peut montrer une variation étonnante d'un groupe à l'autre au sein du même genre [54].

II. 3. Espèce *Euphorbia pterococca* Brot.

II. 3. 1. Classification systématique

L'espèce *Euphorbia pterococca* Brot. (figure II. 3. 1) est classée comme suit [109]:

- **Embranchement :** Spermaphytes
- **Sous-embranchement :** Angiospermes
- **Classe :** Dicotylédones
- **Sous-classe :** Dialypétales
- **Famille :** Euphorbiaceae
- **Sous-famille :** Euphorbioideae
- **Tribu :** Euphorbieae
- **Sous-tribu :** Euphorbinae
- **Genre :** *Euphorbia* L.
- **Espèce :** *Euphorbia pterococca* Brot.



Figure II. 3. 1. Espèce *Euphorbia pterococca* Brot. [109]

II. 3. 2. Noms communs

L'espèce *Euphorbia pterococca* ou Euphorbe à coques aillées en français connue en Algérie par le nom «*El-haj-baba*» [110], et possède également quatre synonymes dont trois homotypiques :

- *Euphorbia bialata* Link.
- *Euphorbia pterococca* var. *pilosa* Lazare & Charpin.
- *Euphorbia pterococca* var. *pruinosa* C. V. icioso.

Et *Tithymalus pterococcus* (Brot.) Klotzsch & Garcke admis comme un synonyme hétérotypique [111].

II. 3. 3. Description botanique

L'espèce *Euphorbia pterococca* Brot. est une plante annuelle de 10 à 30 cm de hauteur avec une tige dressée munie sous l'ombelle de nombreux rameaux florifères où toutes ses parties sont glabres [54, 112].

Fleurs

Les ombelles et convexes, à cinq rayons grêles, trifurqués puis bifurqués. Les bractées florales sont ovales rhomboïdales denticulées au sommet, glandes entières, capsule petite, glabre et lisse, à coques globuleuses munies sur le dos de deux ailes écartées.

Feuilles

Les feuilles sont minces, éparses, obovales en coin, obtuses et finement denticulées sur les marges.

Racines

Les racines sont fines et charnues. Elles s'enfoncent perpendiculairement en terre.

II. 3. 4. Répartition géographique

Bien que présente mais peu fréquente dans les régions semi-arides et subhumides, l'espèce *E. pterococca* se rencontre dans les forêts, les broussailles, les matorrals et les lieux herbeux ombragés frais ou humides et même salés. Les plaines et les basses montagnes de l'Europe méditerranéenne (Espagne, Italie, Portugal et sud de la Grèce) [113], de la Corse méridionale, des Iles Canaries, des Baléares et de l'Afrique septentrional (Algérie, Maroc et Tunisie) sont également des endroits de son développement. En Algérie, elle est plus diversifiée dans le Tell et le littoral oranais [54, 114].

II. 4. Toxicité

La famille Euphorbiaceae est riche en espèces possédant des propriétés médicinales et employées en médecine traditionnelle contre les dysenteries, le choléra, les bronchites chroniques, les parasites intestinaux,.....etc, mais aussi des propriétés toxiques très actives et leur utilisation recommande une grande prudence [28-30]. Ce sont les tiges et les feuilles sécrétant un latex à la moindre blessure qui présentent le risque de toxicité le plus élevé [115], non seulement par ingestion (une sensation de brûlure, une hypersalivation, de l'inflammation, des douleurs stomacales, des vomissements, de la diarrhée sanglante et des phénomènes durables de gastro-entérite), mais aussi par contact avec la peau (une irritation, une éruption érythémateuse, des ampoules douloureuses et parfois des inflammations plus profondes) et les muqueuses. Les poussières de certaines espèces engendrent des inflammations des paupières, des bronchites, de la toux, des éternuements violents, des vertiges et des convulsions [33, 116, 117].

La toxicité des fruits et des graines est également à prendre en compte. A titre d'exemple, l'ingestion de l'huile de l'espèce *Ricinus communis* entraîne des souffrances atroces et déclenche une forte diarrhée pouvant conduire à la mort [118].

Comme ses congénères de cette famille, la sève blanche collante (latex) de l'espèce *E. pterococca* Brot. peut occasionner des lésions internes ou externes à l'organisme humain ou animal en cas de contact ou d'ingestion d'une quantité relativement faible, et conduirait à l'apparition de sérieux problèmes de santé [33].

II. 5. Etudes antérieures sur le genre *Euphorbia*

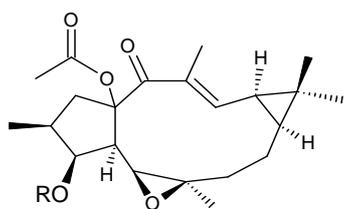
Les métabolites secondaires issus des plantes appartenant à la famille Euphorbiaceae, en particulier le genre *Euphorbia*, sont très nombreux et variés. D'ailleurs, il est à signaler que trois espèces *Euphorbia* (*E. guyoniana*, *E. retusa* et *E. bupleuroïdes*) ont été déjà étudiées dans notre laboratoire. Ces travaux ont permis l'isolement et la caractérisation de plus de 70 produits naturels se répartissant en diterpènes, triterpènes et composés phénoliques [23-27]. Pour cela, nous nous sommes limités aux travaux qui concernent les études phytochimiques réalisés durant ces deux dernières années (2013 et 2014).

Les études phytochimiques du genre *Euphorbia* ont permis d'établir un profil chimique pour ce genre où on rencontre fréquemment les terpènes dérivant du squelette jatrophané, lathyrane, myrsinol, *ent*-abiétane, casbane et tigliane pour les diterpènes, et du squelette

cycloartane, tirucallane, euphane, lanostane, érgostane et cholestane pour les triterpènes. Par ailleurs la composition chimique des espèces *Euphorbia* ne se limitait pas seulement aux composés terpéniques, mais elle renferme une grande variété de composés appartenant à différentes classes chimiques telles que les flavonoïdes, les coumarines, les lipides, les lignanes, les dérivés de phloroglucinole, les acides phénoliques.....etc. Près d'une soixantaine de nouvelles molécules ont été décrites à partir de ce genre uniquement l'année dernière (2014).

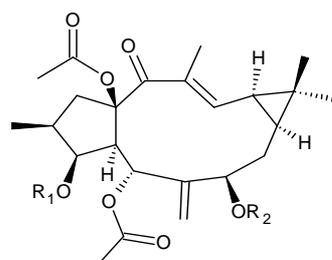
◆ Espèce *E. lathyris*

Les travaux réalisés sur les racines de l'espèce *E. lathyris* ont permis d'isoler dix nouvelles structures diterpéniques nommées *Euphorbia* factor L₁₂ à L₂₁ (262-271) et présentant des squelettes dérivés du lathyrane dont cinq (262, 266, 268, 274 et 277) ont été évalués pour leurs activités cytotoxiques contre les lignées de cellules cancéreuses C6 et MCF-7 [119].



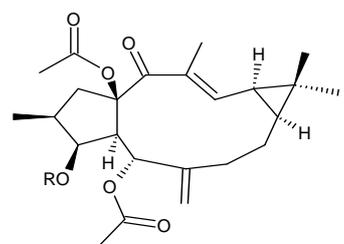
(262) R = benzoyl *Euphorbia* factor L₁₂

(263) R = phénylacétyl *Euphorbia* factor L₁₃



(264) R₁ = benzoyl R₂ = salicyl *Euphorbia* factor L₁₄

(272) R₁ = benzoyl R₂ = benzoyl *Euphorbia* factor L₅



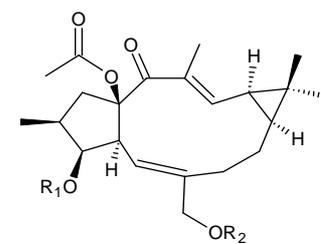
(265) R = acétyl *Euphorbia* factor L₁₅

(266) R = salicyl *Euphorbia* factor L₁₆

(273) R = benzoyl *Euphorbia* factor L₆

(274) R = phénylacétyl *Euphorbia* factor L₇

(275) R = nicotinoyl *Euphorbia* factor L₈



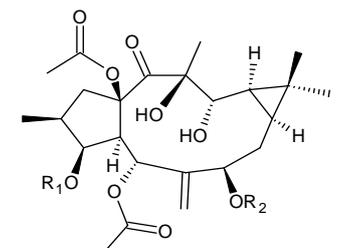
(267) R₁ = benzoyl R₂ = Ac *Euphorbia* factor L₁₇

(268) R₁ = phénylacétyl R₂ = Ac *Euphorbia* factor L₁₈

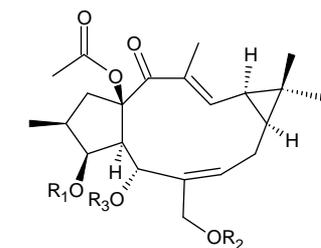
(269) R₁ = phénylacétyl R₂ = H *Euphorbia* factor L₁₉

(276) R₁ = cinnamyl R₂ = H *Euphorbia* factor L₁

(277) R₁ = hexanoyl R₂ = Ac *Euphorbia* factor L₂

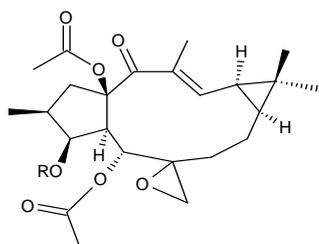
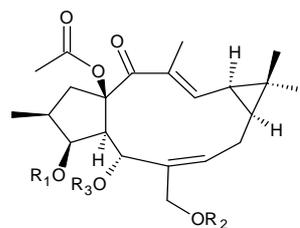
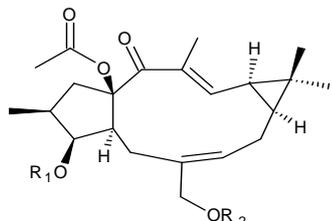
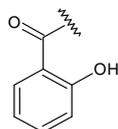


(271) R₁ = benzoyl R₂ = benzoyl
Euphorbia factor L₂₁

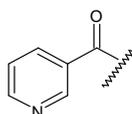


(270) R₁ = benzoyl R₂ = acétyl R₃ = H *Euphorbia* factor L₂₀

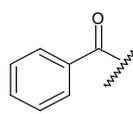
(278) R₁ = benzoyl R₂ = H R₃ = acétyl *Euphorbia* factor L₃

(279) R = benzoyl *Euphorbia* factor L₄(280) R = phénylacétyl *Euphorbia* factor L₁₁(281) R₁ = benzoyl R₂ = acétyl R₃ = acétyl*Euphorbia* factor L₁₀(282) R₁ = cinnamyl R₂ = acétyl *Euphorbia* factor L₉

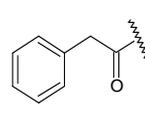
Salicyl



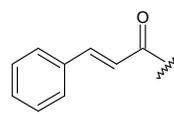
Nicotinoyl



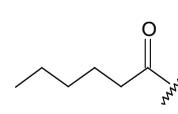
Benzoyl



Phénylacétyl



Cinnamyl

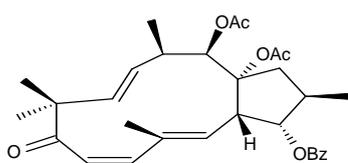


Hexanoyl

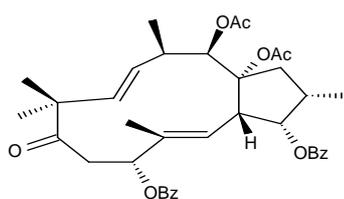
Ces composés présentent des structures jolkinols (262 et 263), 7-hydroxylathyrols (264, 271 et 272), lathyrols (265, 266 et 273-275), 17-hydroxyjolkinols (267-269 et 276), (277 et 278), 17-hydroxyisolathyrols (270, 281 et 282), et époxylathyrols (280 et 279) [119].

◆ Espèce *E. helioscopia*

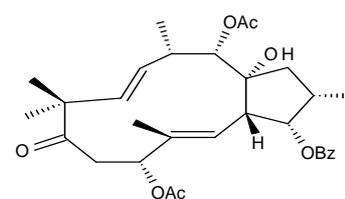
Concernant les dérivés du squelette jatrophane, 13 composés sont isolés à partir de la plante entière *E. helioscopia* dont trois (283-285) sont des diterpènes nouveaux [120].



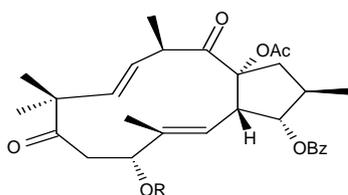
(283) Euphorbiapène A



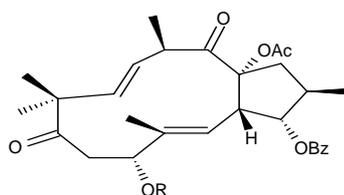
(284) Euphorbiapène B



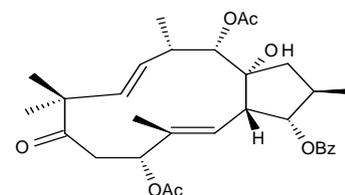
(285) Euphorbiapène C



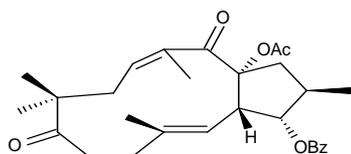
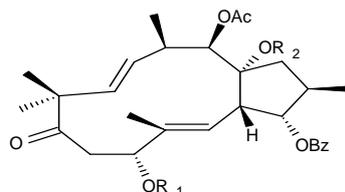
(286) R = benzoyl Euphorbiapène D



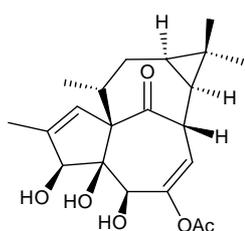
(287) R = acétyl Euphorbiapène D



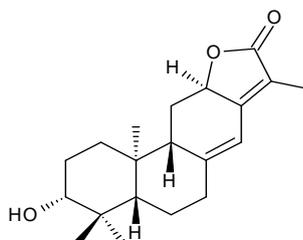
(288) Euphornine G

(289) 15-*O*-acétyl-3-*O*-benzoylcharaciol

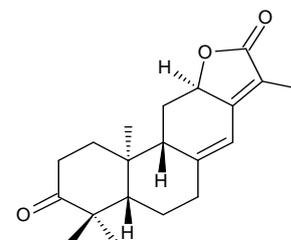
(290) R₁ = acétyl R₂ = H Euphormine H
 (291) R₁ = nicotinoyl R₂ = Ac Euphoheliosnoïde A
 (292) R₁ = benzoyl R₂ = Ac Euphoscopine C



(293) Ingenolmonoacétate

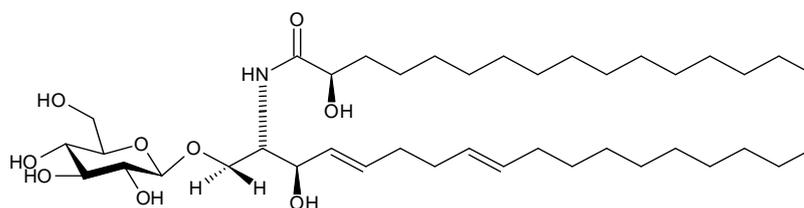
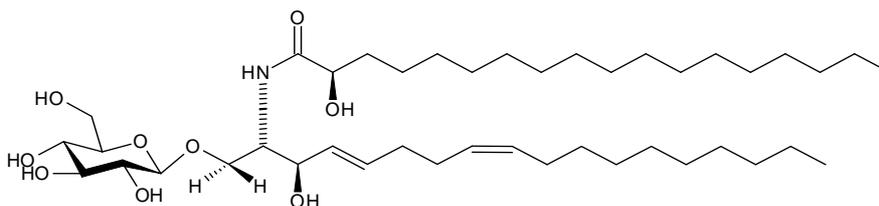
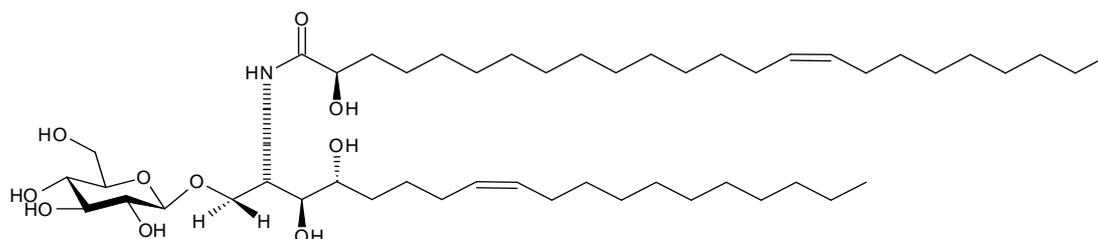


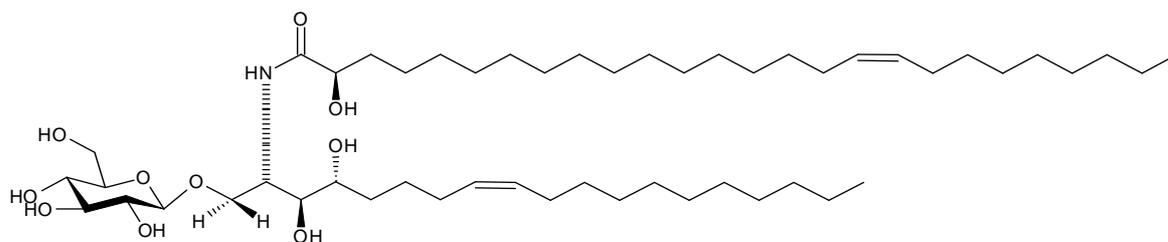
(294) Helioscopinolide A



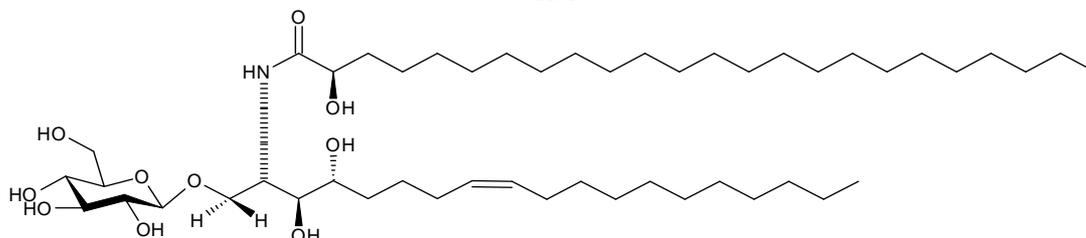
(295) Helioscopinolide E

D'autre part, il a été démontré que les parties aériennes de cette espèce contiennent d'autres types de composés, il s'agit de lipides où F. Cateni et *al.* (2014) ont pu isoler, à partir de l'extrait méthanolique, sept cérébrosides (296-302), un digalactosyldiacylglycérol (303) et un monogalactosyldiacylglycérol (304) [121].

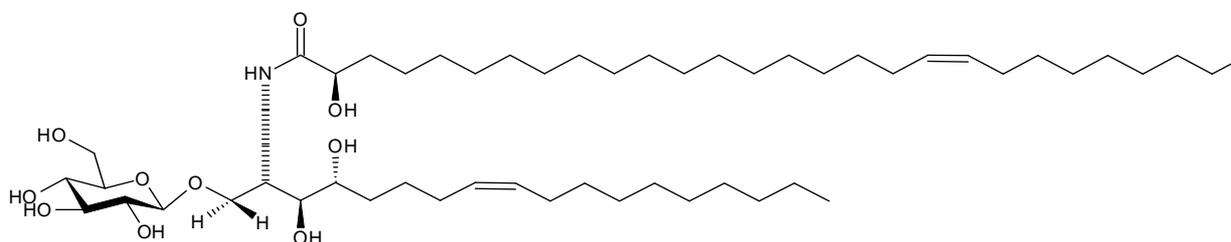
(296) 1-*O*-(β-D-glucopyranosyl)-(2*S*,3*S*,4*E*,8*E*)-2-[(2'*R*)-2'-hydroxyhexadécanylamino]-4(*E*),8(*E*)-octadiène-1,3-diol(297) 1-*O*-(β-D-glucopyranosyl)-(2*S*,3*S*,4*E*,8*Z*)-2-[(2'*R*)-2'-hydroxyhexadécanylamino]-4(*E*),8(*Z*)-octadiène-1,3-diol(298) 1-*O*-(β-D-glucopyranosyl)-(2*S*,3*S*,4*R*,8*Z*)-2-[(2'*R*)-2'-hydroxytétracosénoilamino]-8(*Z*)-octadécène-1,3,4-triol



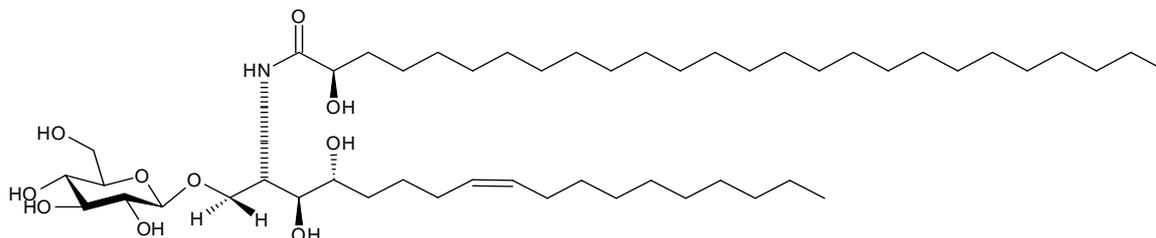
(299) 1-*O*-(β-D-glucopyranosyl)-(2*S*,3*S*,4*R*,8*Z*)-2-[(2'*R*)-2'-hydroxyhexacosenoilamino]-8(*Z*)-octadecène-1,3,4-triol



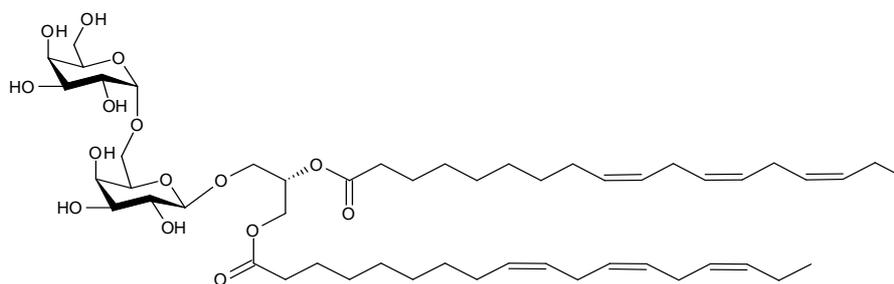
(300) 1-*O*-(β-D-glucopyranosyl)-(2*S*,3*S*,4*R*,8*Z*)-2-[(2'*R*)-2'-hydroxytetracosanoilamino]-8(*Z*)-octadecène-1,3,4-triol



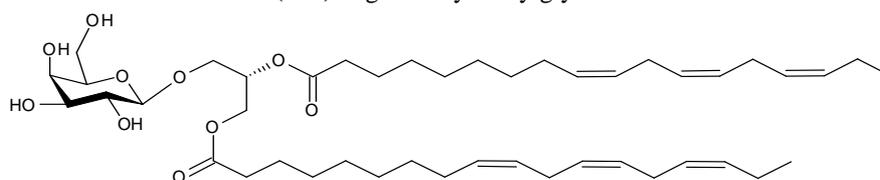
(301) 1-*O*-(β-D-glucopyranosyl)-(2*S*,3*S*,4*R*,8*Z*)-2-[(2'*R*)-2'-hydroxyoctacosenoilamino]-8(*Z*)-octadecène-1,3,4-triol



(302) 1-*O*-(β-D-glucopyranosyl)-(2*S*,3*S*,4*R*,8*Z*)-2-[(2'*R*)-2'-hydroxyhexacosanoilamino]-8(*Z*)-octadecène-1,3,4-triol



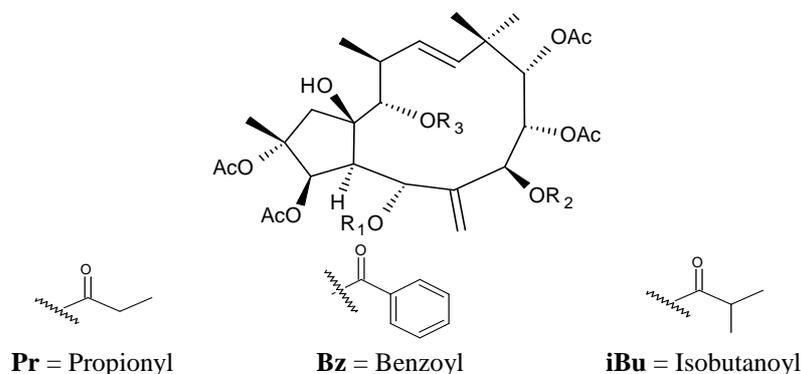
(303) Digalactosyldiacylglycérol



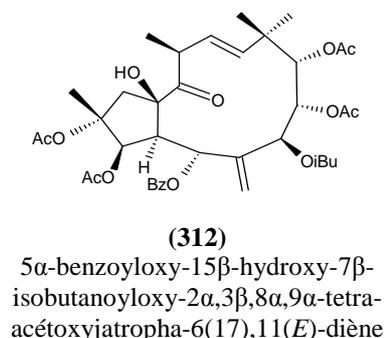
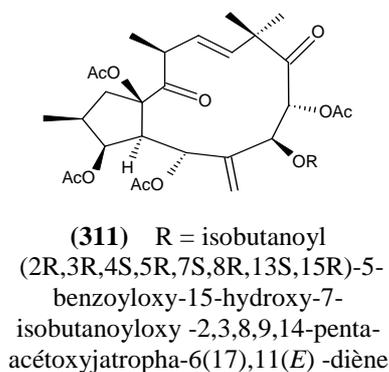
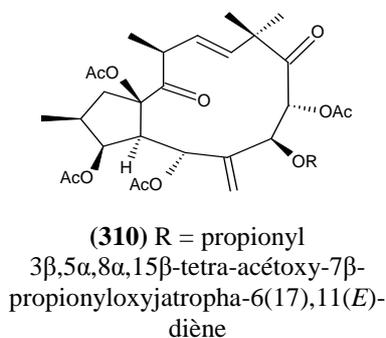
(304) Monogalactosyldiacylglycérol

◆ Espèce *E. sororia*

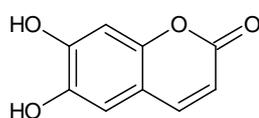
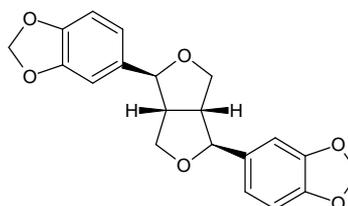
Par ailleurs, les dérivés du squelette jatrophane ont ainsi été isolés à partir de l'extrait acétonique de cette espèce où D. Lu *et al.* (2014) ont pu identifier six nouveaux composés diterpéniques (**305-310**) et deux diterpènes connus (**311** et **312**) [122].



		R₁	R₂	R₃
(305)	(2R,3R,4S,5R,7S,8S,9S,13S,14S,15R)-5-benzoyloxy-15-hydroxy-7-isobutanoyloxy-2,3,8,9,14-penta-acétoxyjatropha-6(17),11(<i>E</i>)-diène	Bz	iBu	Ac
(306)	15 α ,14 α -dibenzoyloxy-15 β -hydroxy-7 β -isobutanoyloxy-2 α ,3 β ,8 α ,9 α -tetra-acétoxyjatropha-6(17),11(<i>E</i>)-diène	Bz	iBu	Bz
(307)	14 α -benzoyloxy-15 β -hydroxy-5 α ,7 β -di-isobutanoyloxy-2 α ,3 β ,8 α ,9 α -tetra-acétoxyjatropha-6(17),11(<i>E</i>)-diène	iBu	iBu	Bz
(308)	14 α -benzoyloxy-15 β -hydroxy-5 α -isobutanoyloxy-7 β -propionyloxy-2 α ,3 β ,8 α ,9 α -tetra-acétoxyjatropha-6(17),11(<i>E</i>)-diène	iBu	Pr	Bz
(309)	14 α -benzoyloxy-15 β -hydroxy-7 β -isobutanoyloxy-5 α -propionyloxy-2 α ,3 β ,8 α ,9 α -tetra-acétoxyjatropha-6(17),11(<i>E</i>)-diène	Pr	iBu	Bz

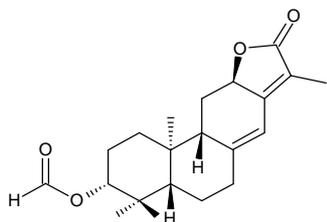


A l'issue de cette étude, deux composés polyphénoliques connus ont été également identifiés, il s'agit d'une coumarine (**313**) et un lignane de type pinorésinol (**314**) [122].

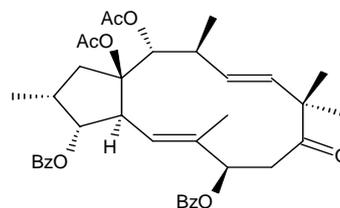
**(313)** 6,7-dihydroxy-coumarine**(314)** (+)-Sésamine

◆ Espèce *E. lunulata*

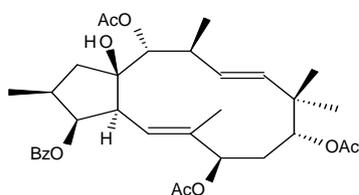
Il a été démontré que l'espèce *E. lunulata* contient des composés qui possèdent des activités biologiques contre plusieurs types de cellules cancéreuses. Ces composés sont des diterpènes de types *ent*-abiétane et jatropha, des triterpènes ou encore des stérols (315-327) [123].



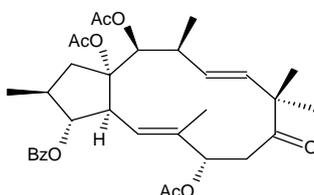
(315) *Ent*-3 α -formylabiéta-8(14),13(15)-dièn-16,12 β -olide



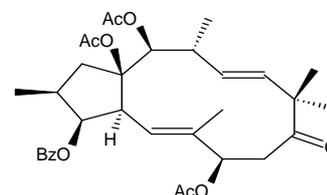
(316) 14 α ,15 β -diacétoxy-3 α ,7 β -dibenzoyloxy-9-oxo-2 β H,13 α H-jatropha-5(*E*),11(*E*)-diène



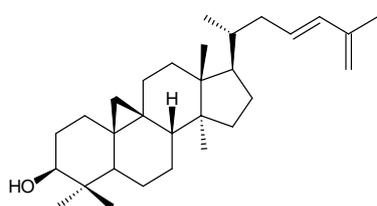
(317) Euphornine



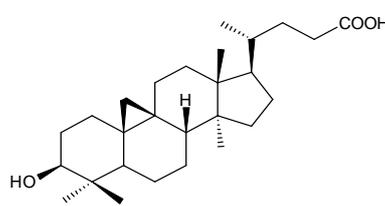
(318) Euphoscopine



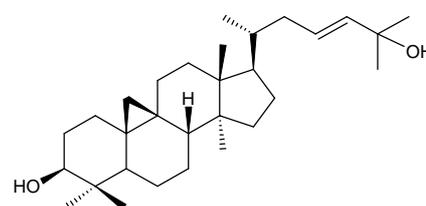
(319) Euphornine N



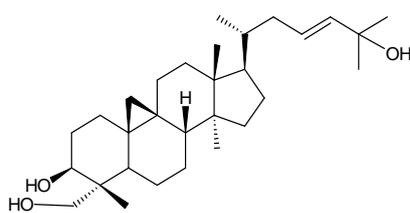
(320) Cycloartan-23,25-dièn-3 β -ol



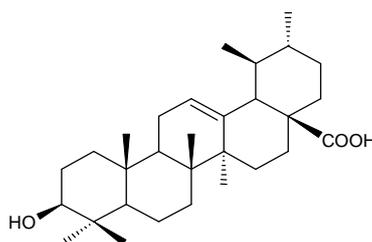
(321) Acide 25,26,27-trinor-3 β -hydroxycycloartan-24-oïque



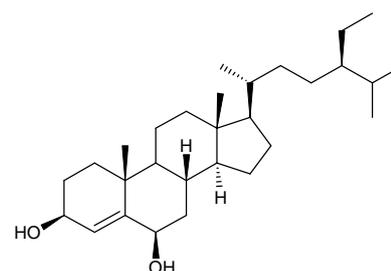
(322) Cycloart-23*E*-ène-3 β ,25-diol



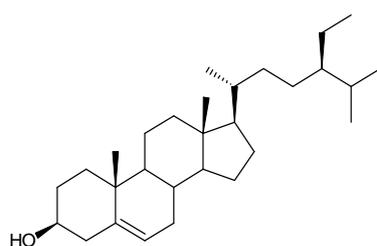
(323) Cycloart-23-ène-3 β ,25,28-triol



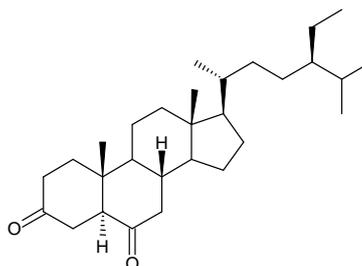
(324) Acide ursolique



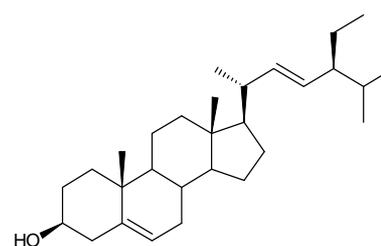
(325) Stigmast-4-ène-3 β ,6 β -diol



(123) β -sitostérol



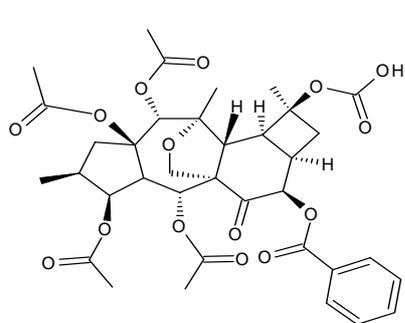
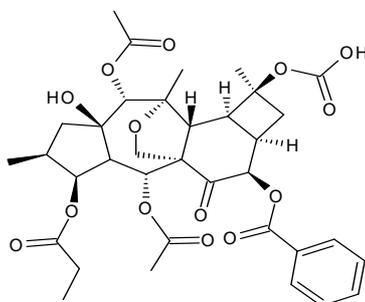
(326) Stigmastane-3,6-dione



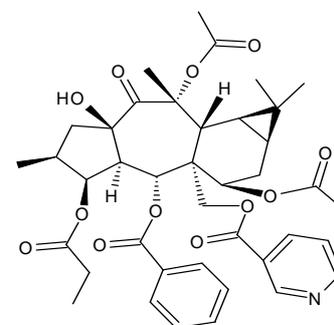
(327) Stigmastérol

◆ Espèce *E. nematocypa*

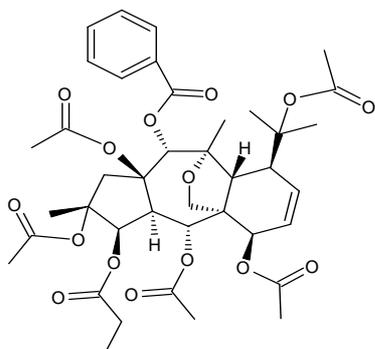
Cette espèce contient de nombreux composés diterpéniques qui appartiennent à trois types de structures : myrsinol (328-331), tiglane (332) et *ent*-abiétane (333-335). Ces composés représentent les métabolites secondaires majoritaires dans les racines de l'espèce *E. nematocypa* [124].

(328) 3,5,10,14,15-*O*-penta-acétyl-8-*O*-benzoyl-cyclomyrsinol

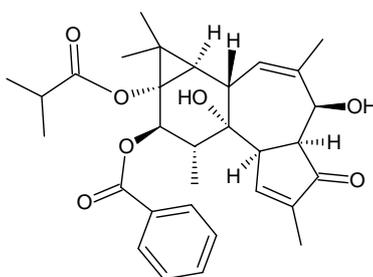
(329) Euphorprolitherine D



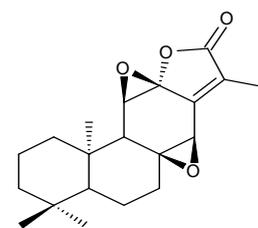
(330) Euphorbialoide C



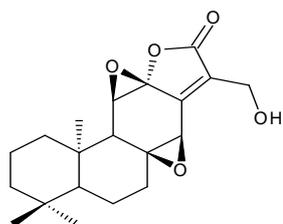
(331) Euphorprolitherine B



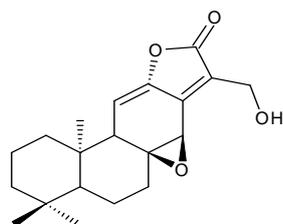
(332) Euphodendriane A



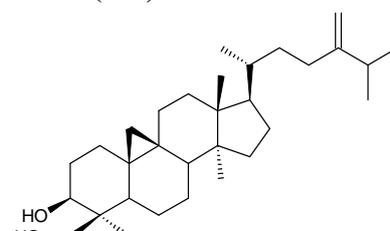
(333) Jolkinolide B



(334) 17-hydroxyjolkinolide B

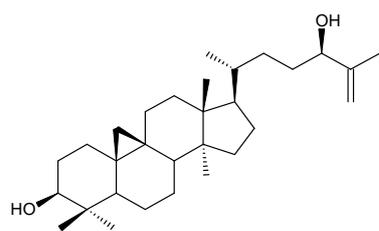


(335) 17-hydroxyjolkinolide A

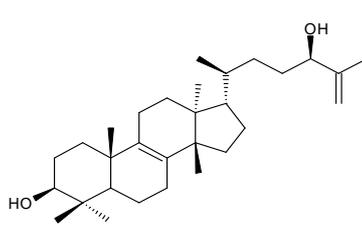


(336) 24-méthylèncycloartane-3β,28-diol

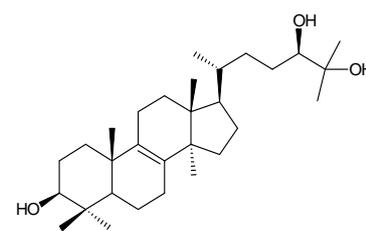
D'autres structures triterpéniques à squelettes cycloartane (336 et 337) et tirucallane (338 et 339) ont été isolées à partir de ces racines par le même groupe de recherche [124].



(337) Cycloart-25-ène-3β,24-diol



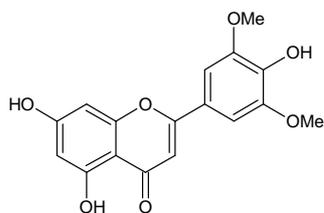
(338) Tirucalla-8,25-diène-3β,24-diol



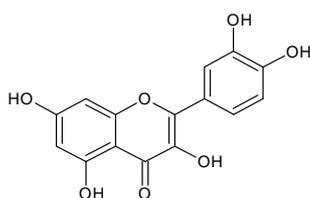
(339) Inoterpène A

◆ Espèce *E. tibetica*

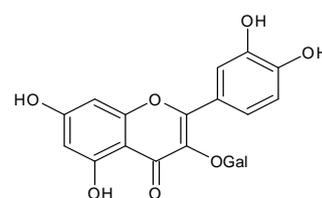
Les terpènes sont considérés comme étant les constituants les plus répandus au sein du genre *Euphorbia*, mais d'autres composés ont été ponctuellement isolés à partir de certaines espèces *Euphorbia* telles que *E. tibetica*. Les travaux de V. De-Song et al. (2014) réalisés sur cette espèce ont permis d'isoler 24 composés (10, 39 et 340-361) dont la majorité appartient à la classe des phénols [125].



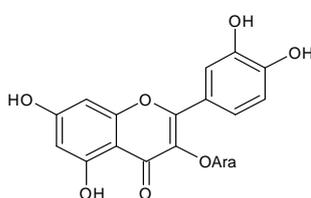
(340) Tricine



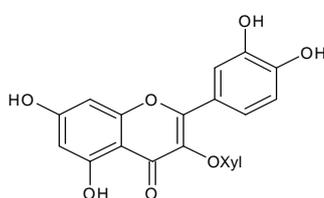
(10) Quercétine



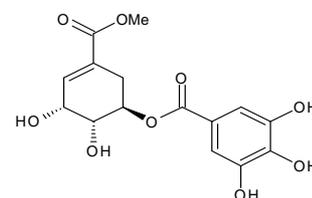
(341) Quercétine-3-O-β-D-galactoside



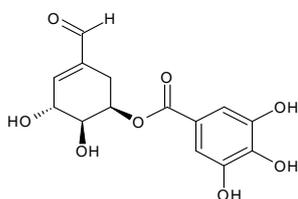
(342) Quercétine-3-O-α-L-arabinofuranoside



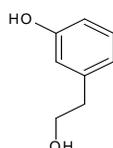
(343) Quercétine-3-O-β-D-xylopyranoside



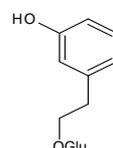
(344) Méthyl-4-épi-shikimate-3-O-gallate



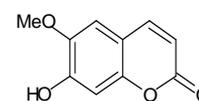
(345) Acide 3-O-galloylshikimate



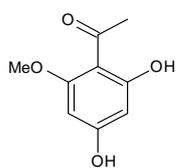
(346) 3-hydroxybenzeneethanol



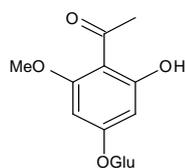
(347) 1-(3-hydroxyphenylethyl)-O-β-D-glucopyranoside



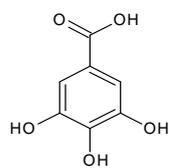
(348) Scopolétine E



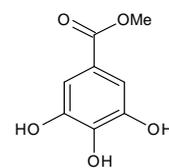
(349) 2,46-dihydroxy-6-méthoxy-acétophenone



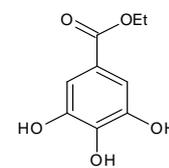
(350) Rodiolinazide



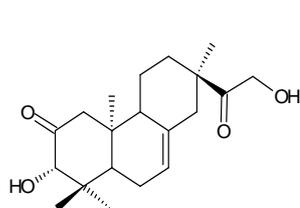
(39) Acide gallique



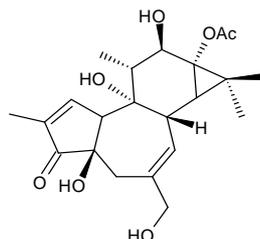
(351) Méthylgallate



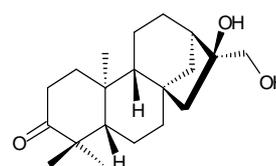
(352) Ethylgallate



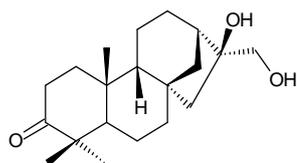
(353) Ent-3β,16-dihydroxyisopimar-7-ène-2,15-dione



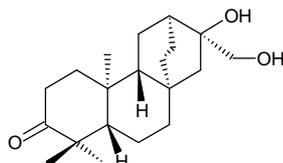
(354) Phorbol-13-acétate



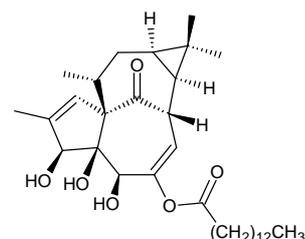
(355) (16S)-16,17-dihydroxy-ent-kauran-3-one



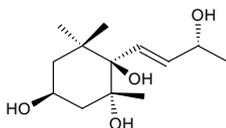
(356) (16R)-16,17-dihydroxyphyllolcladan-3-one



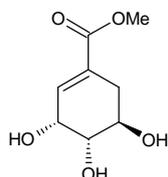
(357) Ent-16 α ,17-dihydroxyatisan-3-one



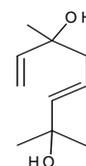
(358) Ingenol-20-myristinate



(359) (3S,5R,6R,7E,9R)-3,5,6,9-tetrahydroxy-7-megastigmane



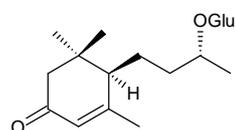
(360) Méthylshikimate



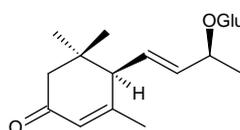
(361) 3,7-diméthyl-octa-1,5-diène-3,7-diol

◆ Espèce *E. stracheyi*

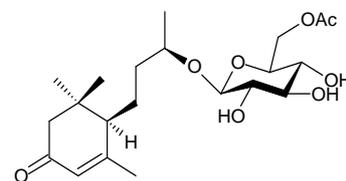
L'espèce *E. stracheyi* a fait l'objet d'une étude effectuée par Y. De-Sang *et al.* (2014). Celle-ci a témoigné de l'abondance remarquable de cette plante en métabolites secondaires incluant plusieurs classes chimiques. En effet, près de 39 composés ont été identifiés dont quatre ionones (362-365), deux sesquiterpènes (366 et 367), quinze diterpènes (368-385), deux triterpènes (386 et 387), un monosaccharide (388), neuf composés phénoliques (346, 351, 352 et 389-394), une coumarine (395) et deux flavonoïdes (396 et 397) [126].



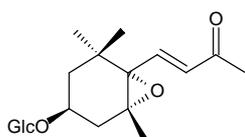
(362) Byzantionoside B



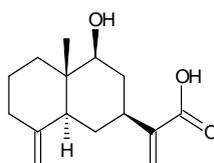
(363) (6R,9S)-3-oxo- α -ionol- β -D-glucopyranoside



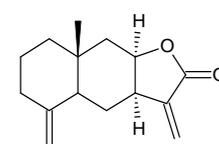
(364) Matenosides B



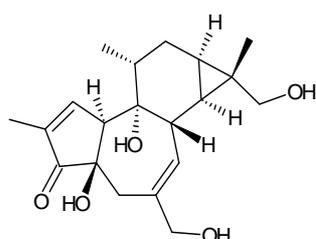
(365) Icariside B₂



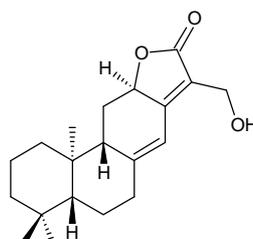
(366) Acide 9 β -hydroxycostus



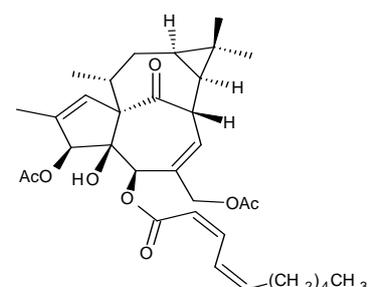
(367) Isoalantolactone



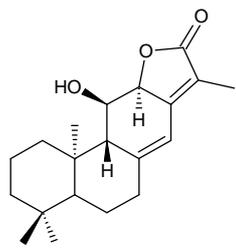
(368) Stracheyioïde A



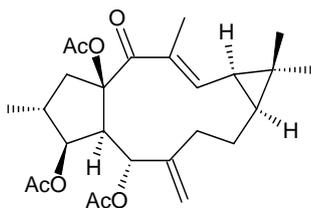
(369) Stracheyioïde C



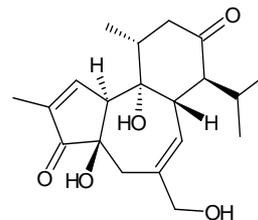
(370) Stracheyioïde B



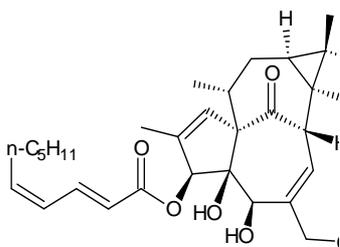
(371) *Ent*-11 β -hydroxyabiéta-8(14),13(15)-dièn-16,12-olide



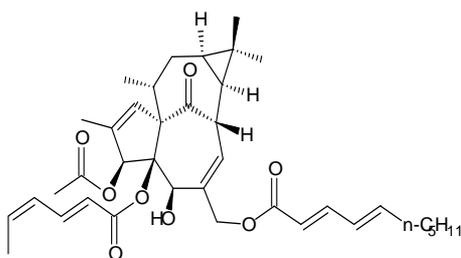
(372) (2R,3S,4R,5R,9S,11S,15R)-3,5,15-*O*-triacétyl-14-oxolathyra-6(17),12*E*-diène



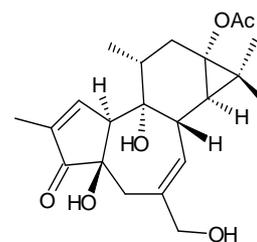
(373) Langduine A



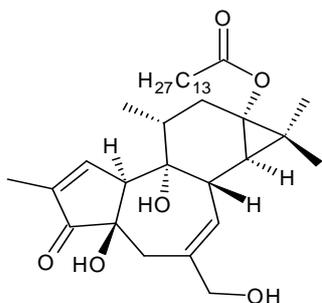
(374) 3-*O*-(2'*E*,4'*Z*-décadiénoyl)-20-*O*-acétylphorbol



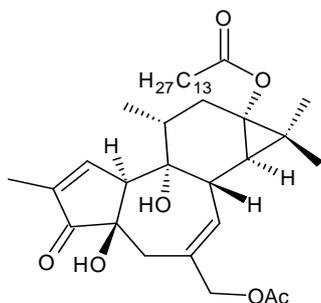
(375) Sikkimeoide E



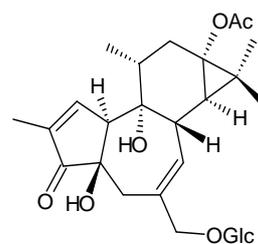
(376) Prostratine



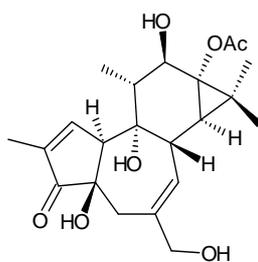
(377) 13-*O*-tétradécánoyl-12-deoxyphorbol



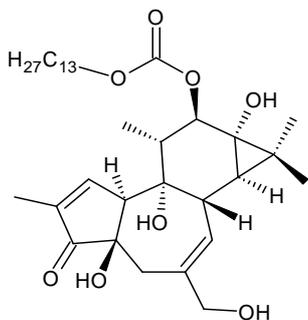
(378) 13-*O*-tétradécánoyl-20-*O*-acétyl-12-deoxyphorbol



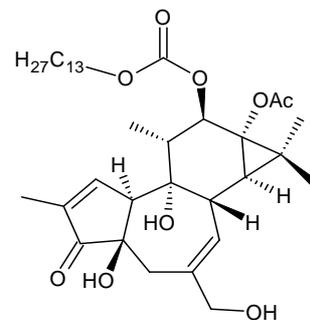
(379) Fischeroside A



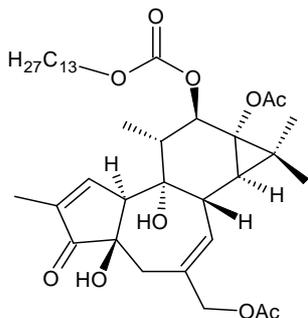
(380) 13-*O*-acétylphorbol



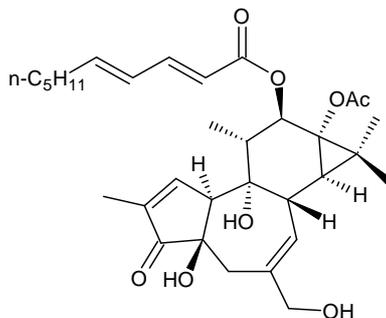
(381) 12-*O*-tétradécánoylphorbol



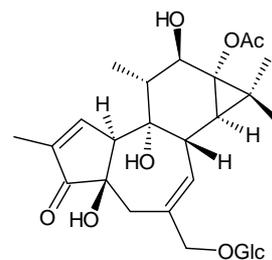
(382) 12-*O*-tétradécánoyl-13-*O*-acétylphorbol



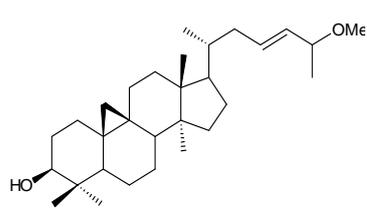
(383) 12-*O*-tétradécánoyl-13,20-*O*-diacétylphorbol



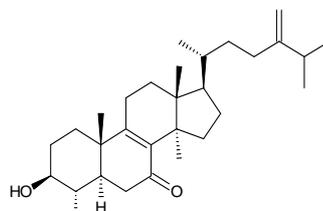
(384) 12-*O*-(2'*E*,4'*E*-décadiénoyl)-13-*O*-acétylphorbol



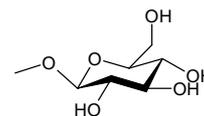
(385) Fischeroside C



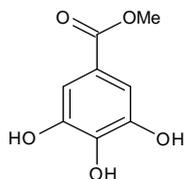
(386) 3β-hydroxy-cycloart-23-ène-25-méthylether



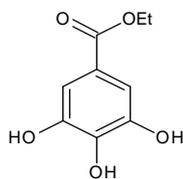
(387) 3β-hydroxy-4α,14α-diméthyl-5α-ergosta-8,24(28)-dièn-7-one



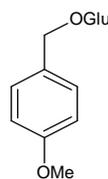
(388) Méthyl-glucopyranoside



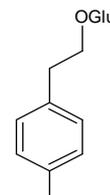
(351) Méthylgallate



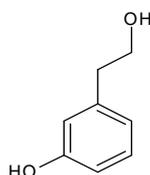
(352) Ethylgallate



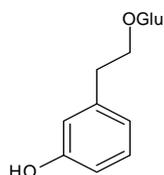
(389) 4-méthoxybenzyl-O-β-D-glucopyranoside



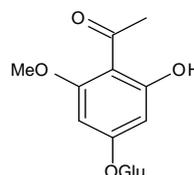
(390) Salidroside



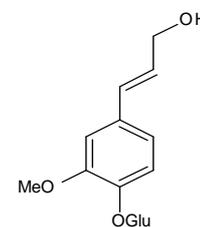
(346) 3-hydroxybenzene-éthanol



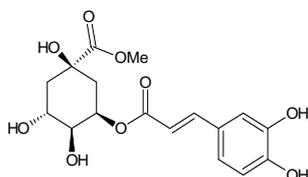
(391) 1-O-β-D-glucopyranosyl-2-(3-hydroxyphenyl) éthanol



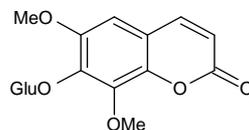
(392) 4-O-glycosyloxy-2-hydroxy-6-méthoxy-acétophénone



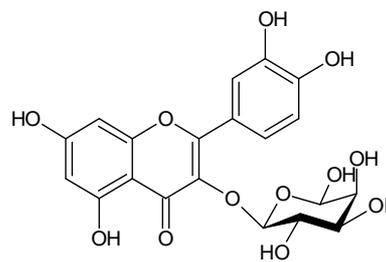
(393) Coniférine



(394) Acide neochlorogénique méthyle ester

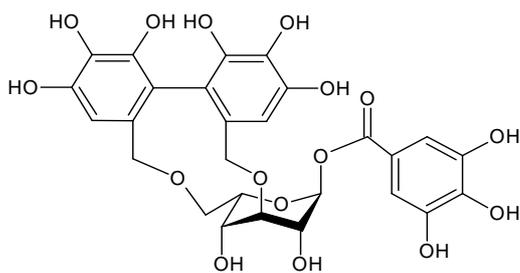


(395) Eleutheroside B1

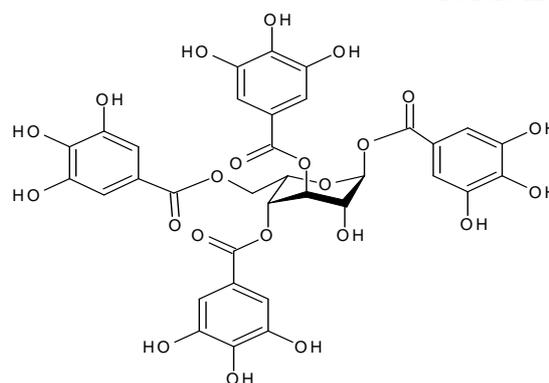
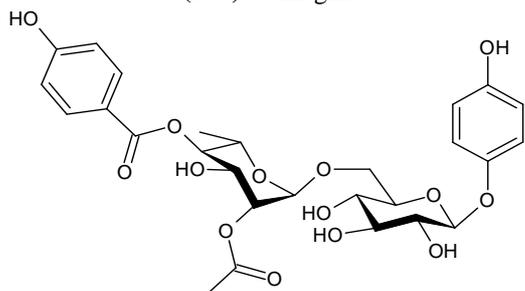
(396) R = H
Quercétine-3-O-β-D-galactoside(397) R = galloyl
Quercétine-3-O-(3''-O-galloyl)-β-D-galactopyranoside

◆ Espèce *E. humifusa*

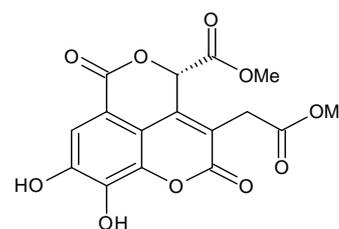
Des acides phénoliques ainsi que des dérivés glucosides (38 et 398-409) ont été isolés à partir de cette espèce par B. T. T. Luyen et *al.* (2014) [127]. De plus, l'évaluation des activités biologiques de cette plante a fait l'objet de plusieurs travaux et de nombreuses activités ont été signalées à savoir, anti-oxydantes, anti-HBV, hypolipidémiques, hypoglycémiques, hypotensives, inhibitrices α-glucosidase et anti-inflammatoires [127-129].



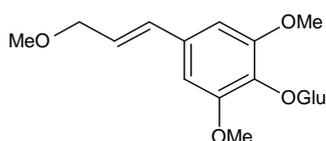
(398) Corilagine

(399) 1,3,4,6-tetra-*O*-galloyl- β -D-glucopyranoside

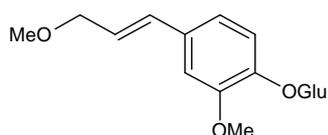
(400) Euphorbinoside



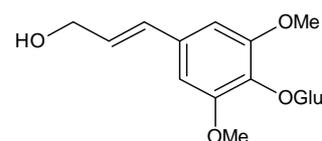
(401) Acide dehydropicrorhizaméthyl ether



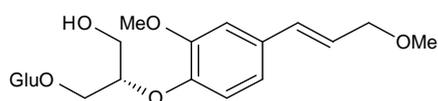
(402) Méthylsyringine



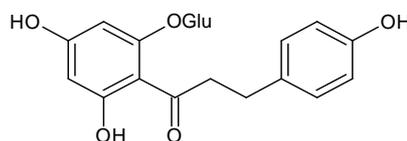
(403) Méthylconiferine



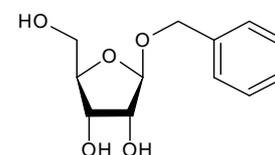
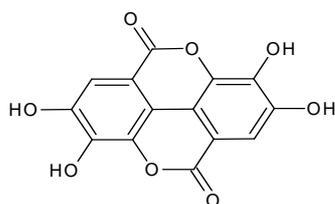
(404) Syringine



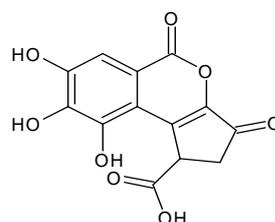
(405) Sphaerophyside SC



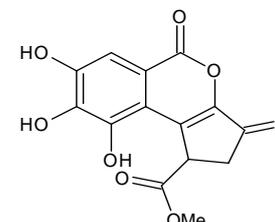
(406) Phlorizine

(407) Benzyl β -D-ribofuranoside

(38) Acide éllagique

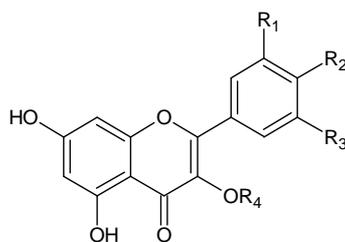


(408) Acide brevifoline carboxylique



(409) Méthylbrevifoline carboxylate

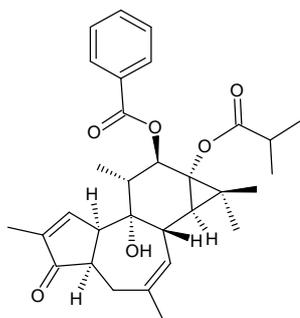
Ces auteurs ont également mis en évidence la présence de plusieurs composés flavonoïdiques (10, 11, 18 et 410-417) qui montrent leur domination remarquable dans la composition chimique de cette plante [127].



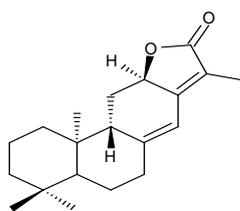
		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
(410)	Astragaline 2'',3''- <i>O</i> -digallate	H	OH	H	O-(2'',3''- <i>O</i> -galloyl)Glu
(411)	Astragaline 2''- <i>O</i> -gallate	H	OH	H	O-(2''- <i>O</i> -galloyl)Glu
(412)	Isoquercitrine 2''- <i>O</i> -gallate	OH	OH	H	O-(2''- <i>O</i> -galloyl)Glu
(413)	Quercitrine 2''- <i>O</i> -gallate	OH	OH	H	O-(2''- <i>O</i> -galloyl)Rha
(414)	Hyperine	OH	OH	H	O-Gala
(415)	Isoquercitrine	OH	OH	H	O-Glu
(416)	Rutine	OH	OH	H	O-Rut
(417)	Nicotiflorine	H	OH	H	O-Rut
(10)	Quercétine	OH	OH	H	H
(11)	Isomyricitrine	OH	OH	OH	O-Glu
(18)	Astragaline	H	OH	H	O-Glu

◆ Espèce *E. bupleuroides*

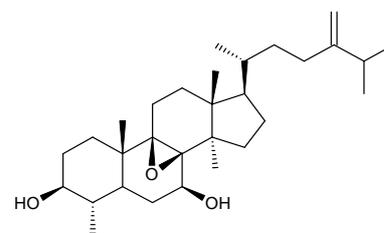
Une étude phytochimique a été réalisée par S. Aichour et *al.* (2014) [27] au niveau de notre laboratoire sur les racines de l'espèce *E. bupleuroides* conduisant à l'isolement et l'identification de trois structures nouvelles, un diterpène ester de type phorbol (418) et deux triterpènes tétracycliques (420 et 421), ainsi que 17 composés connus (34, 35, 123 et 421-434).



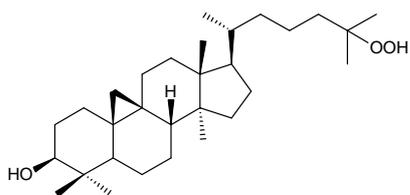
(418) 4,20-dideoxy(4 α)phorbol-12-benzoate 13-isobutyrate



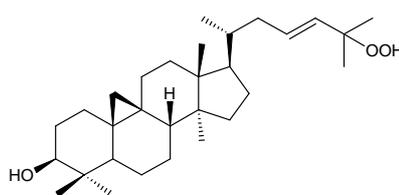
(419) Ent-abiéta-8(14),13(15)-dièn-16,12-olide



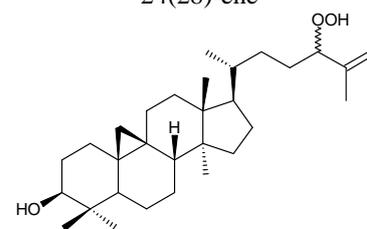
(420) 3 β ,7 β -dihydroxy-4 α ,14 α -diméthyl-8 β ,9 β -époxy-5 α -ergosta-24(28)-ène



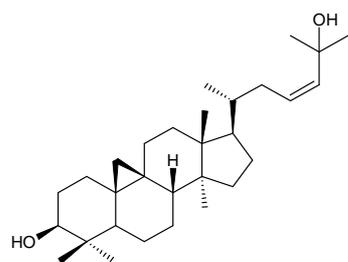
(421) 25-hydroperoxycycloart-3 β -ol



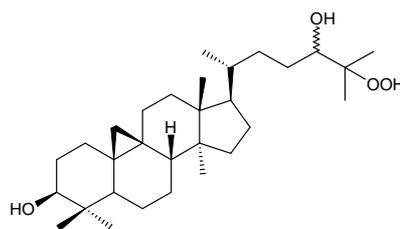
(422) 25-hydroperoxycycloart-23*E*-èn-3 β -ol



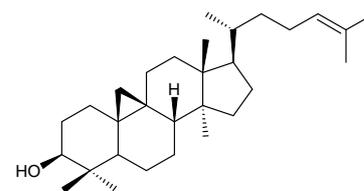
(423) 3 β -hydroxycycloart-25-èn-24-hydroperoxyde



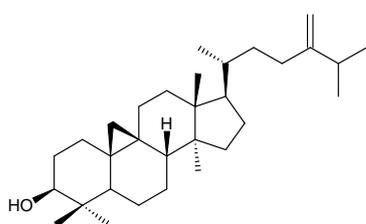
(424) Cycloart-23Z-ène-3β,25-diol



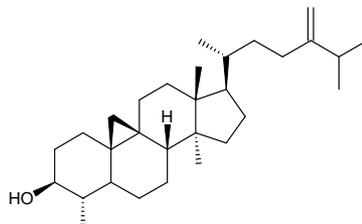
(425) Cycloart-3β,24,25-triol



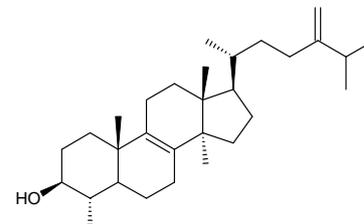
(426) Cycloarténol



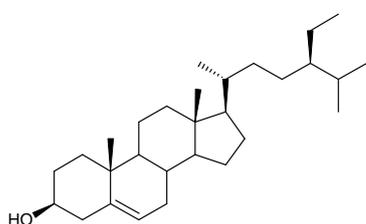
(427) 24-méthylèneglycoartanol



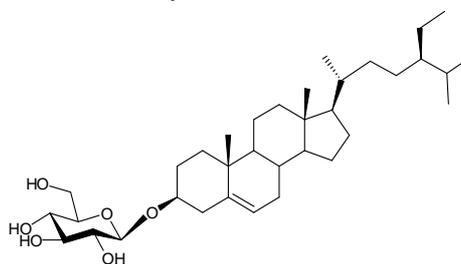
(428) Cycloeucaéanol



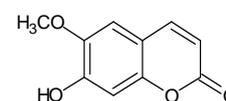
(429) Obtusifoliol



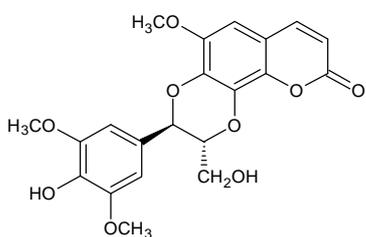
(123) β-sitostérol



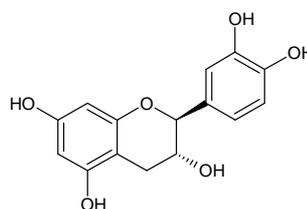
(430) Daucostérol



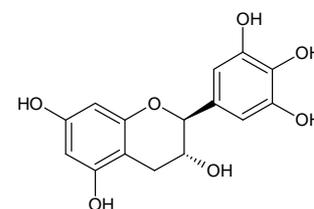
(431) Scopolétine



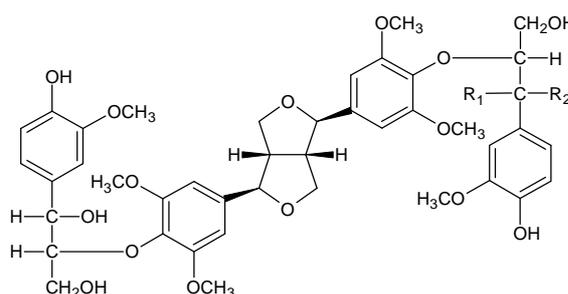
(432) Cléomiscosine C



(34) Catéchine



(35) Gallocatéchine



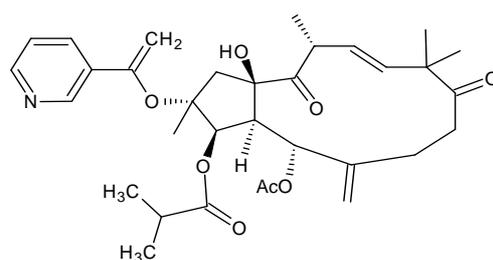
(433) R₁ = OH R₂ = H Hedyotisol A

(434) R₁ = H R₂ = OH Hedyotisol B

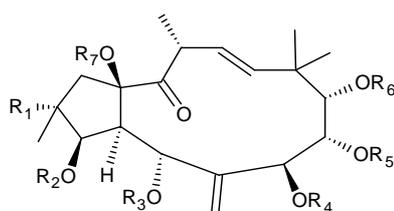
En 2013, plusieurs études s'intéressant à la phytochimie des plantes du genre *Euphorbia* montrent que la majorité (sinon la totalité) des travaux phytochimiques effectués sur un nombre appréciable d'espèces de ce genre certifie particulièrement de leur richesse en diterpènes à différents squelettes. A titre d'exemples, on peut citer :

◆ Espèce *E. dendroides*

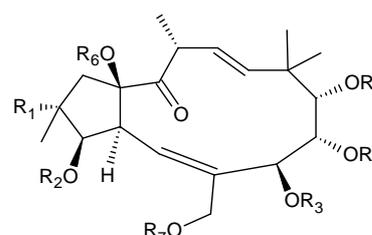
Un des traits les plus caractéristiques de ce genre réside dans le fait que plusieurs espèces sont riches en diterpènes connus comme étant responsables de la toxicité de ces plantes utilisées dans la médecine traditionnelle [33, 130]. Faisant partie de ce genre, le latex de cette espèce a fait l'objet d'étude menée par M. Jadranin et *al.* (2013), en conduisant à l'isolement de 15 diterpènes de type jatrophone, dont 12 sont nouveaux (435-449). Les propriétés pharmacologiques de ces produits ont été également étudiées [131].



(435) Euphodendrophane G



(436-446)



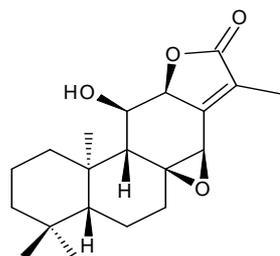
(447-449)

		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	Réf.
(436)	Euphodendrophane H	H	Pr	Ac	iBu	Bz	Nic	H	[131]
(437)	Euphodendrophane I	H	Pr	Ac	iBu	Nic	Nic	H	
(438)	Euphodendrophane J	H	Pr	Ac	iBu	iBu	Nic	H	
(439)	Euphodendrophane K	H	iBu	Ac	iBu	Bz	Nic	H	
(440)	Euphodendrophane L	H	iBu	Ac	iBu	Nic	Nic	H	
(441)	Euphodendrophane M	H	iBu	Ac	Ac	Nic	Ac	H	
(442)	Euphodendrophane N	H	Ac	Ac	iBu	Ac	Nic	H	
(443)	Euphodendrophane O	OAc	iBu	Ac	iBu	Ac	Nic	H	
(444)	Euphodendrophane P	OAc	iBu	Nic	iBu	Ac	Nic	H	
(445)	Euphodendrophane A	H	Pr	Ac	iBu	Ac	Nic	H	
(446)	Euphodendrophane B	H	iBr	Ac	iBu	Ac	Nic	H	
(447)	Euphodendrophane Q	OAc	Pr	iBu	Ac	Nic	Ac	Ac	
(448)	Euphodendrophane R	OAc	Ac	iBu	Nic	Nic	Ac	Ac	
(449)	Euphodendrophane S	OAc	Ac	iBu	Ac	Bz	Ac	Ac	

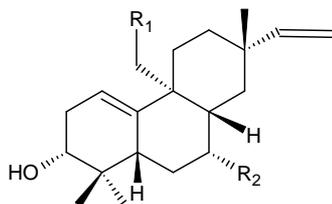
◆ Espèce *E. fischeriana*

La cytotoxicité des diterpènes issus des espèces de ce genre a été évaluée par plusieurs chercheurs. L'étude réalisée par H. B. Wang et *al.* (2013) s'intéresse aux racines de l'espèce *E. fischeriana*. Cette investigation révèle l'existence de quatre nouveaux diterpènes (450-453) avec sept autres déjà connus (454-460). Tous ces composés ont montré une cytotoxicité

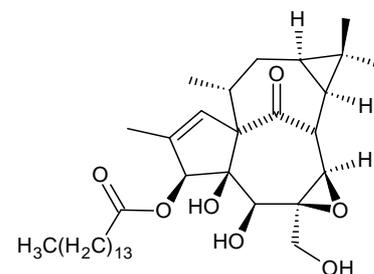
contre des lignées de cellules cancéreuses (A549, BEL7402, HCT116 et MDA-MB-231) [132].



(450) 11 β -hydroxy-8,14-époxy-ent-abiéta-13(15)-èn-16,12-olide

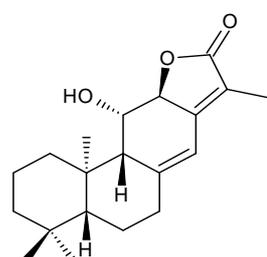


(451) R₁ = OH R₂ = H
3,20-dihydroxy-ent-1(10),15-rosadiène

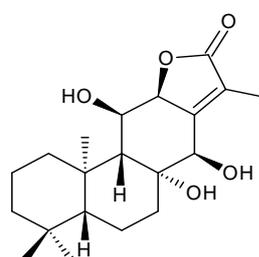


(453) Ingenol 6,7-époxy-3-tetradecanoate

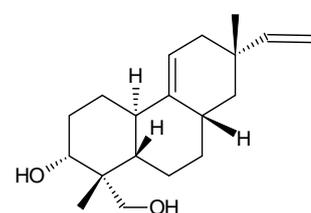
(452) R₁ = H R₂ = OH
3,7-dihydroxy-ent-1(10),15-rosadiène



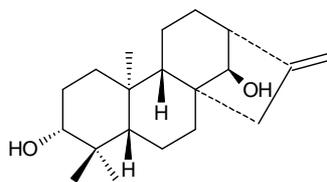
(454) Ent-11 β -hydroxyabiéta-8(14),13(15)-dièn-16,12 β -olide



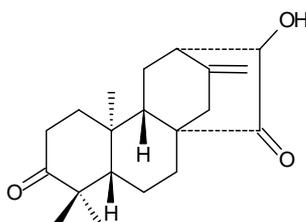
(455) Yuexiandajisu E



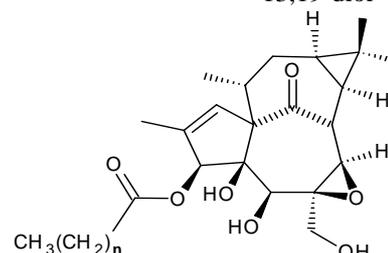
(456) Isopimara-9(11),15-diène-13,19-diol



(457) Ent-kaur-16-èn-14-ol



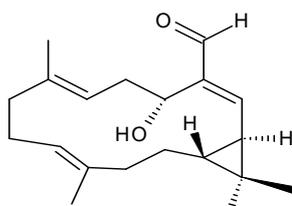
(458) ent-13-hydroxyatis-16-ène-3,14-dione



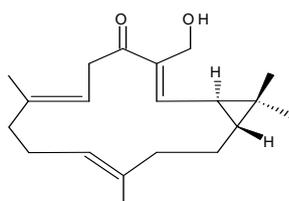
(459) n = 12 Ingenol-3-myristinate
(460) n = 14 Ingenol-3-palmitate

◆ Espèce *E. pekinensis*

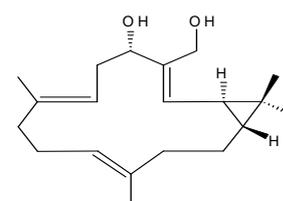
Le groupe de W. W. Tao (2013) a montré que l'analyse des métabolites secondaires extraits à partir des racines de l'espèce *E. pekinensis* conduit à l'isolement de sept diterpènes portant un squelette casbane (461-467). Ces composés se sont aussi avérés cytotoxiques contre de nombreuses lignées de cellules cancéreuses [133].



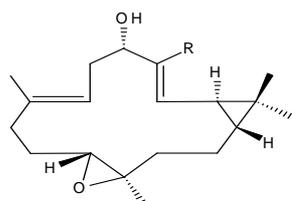
(461) Pekinenale



(462) Pekinenine A

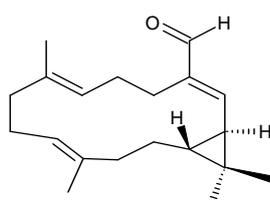


(463) Pekinenine C

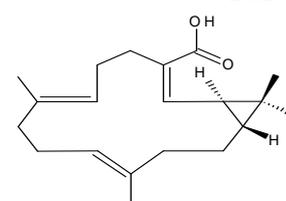


(464) R = CHO Pekinenine D

(465) R = COOH Pekinenine E



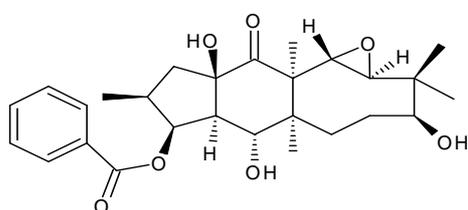
(466) Pekinenine F



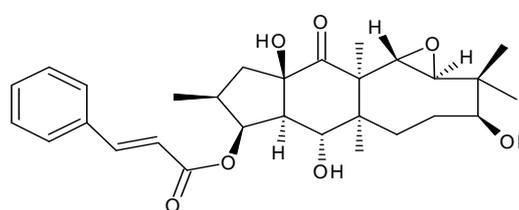
(467) Yuexiandajisu B

◆ Espèce *E. micractina*

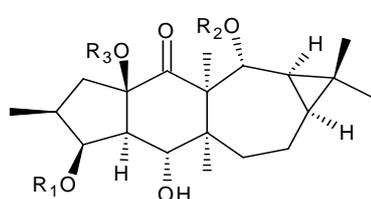
Y. Tian et *al.* (2013) ont largement contribué à l'étude de l'extrait éthanolique des racines de cette espèce où leurs travaux ont permis l'identification de 13 nouveaux diterpènes (468-480) [134]. En outre, une des caractéristiques de ces diterpènes réside dans le fait que les squelettes décrits par ces auteurs sont rares et ont été isolés seulement à partir des espèces *E. micractina* et *E. villosa* [134-137].



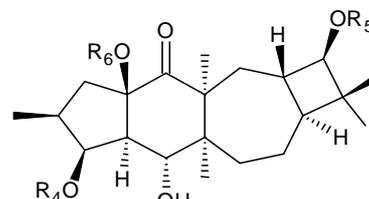
(468) Euphactine E



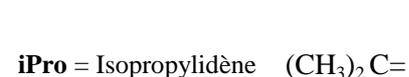
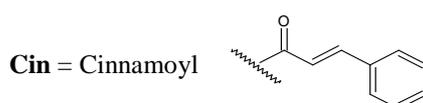
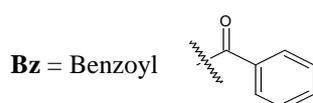
(469) Euphactine F



(470-476)



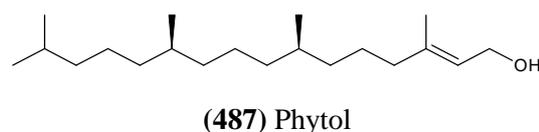
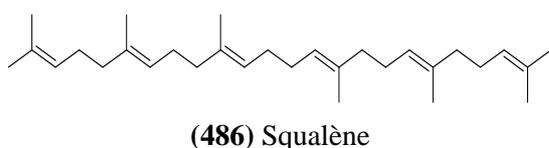
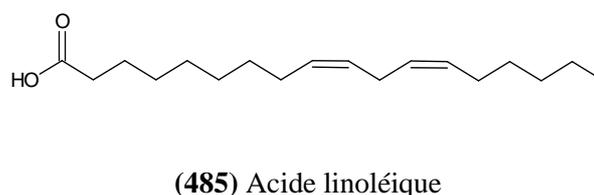
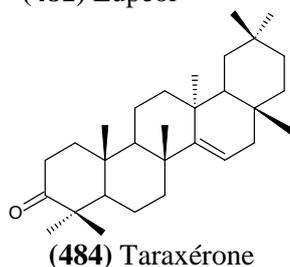
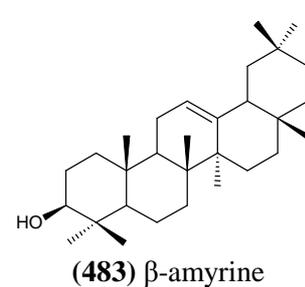
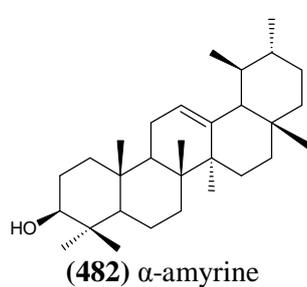
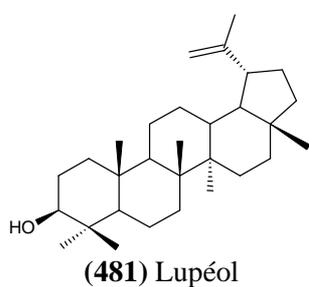
(477-480)



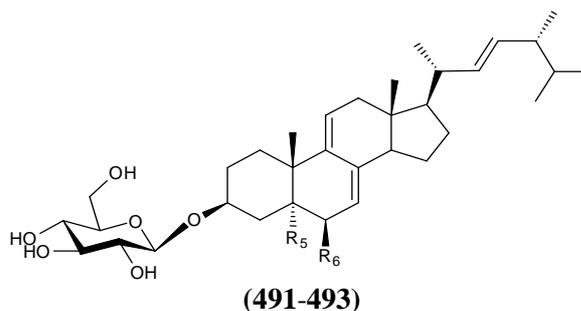
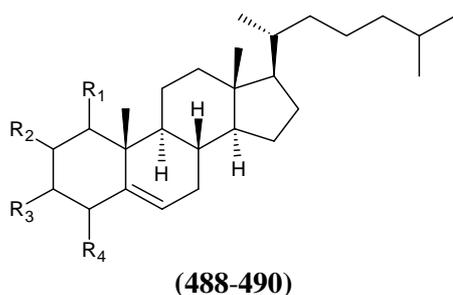
		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	Réf.
(470)	Euphoractine F	Bz	H	H	-	-	-	
(471)	Euphoractine G	Cin	H	H	-	-	-	
(472)	Euphoractine H	H	Me	Bz	-	-	-	
(473)	Euphoractine I	Bz	Et	H	-	-	-	
(474)	Euphoractine J	Cin	Me	H	-	-	-	
(475)	Euphoractine K	Cin	Et	H	-	-	-	[134]
(476)	Euphoractine L	Cin	iPro	iPro	-	-	-	
(477)	Euphoractine M	-	-	-	Bz	H	H	
(478)	Euphoractine N	-	-	-	Cin	H	H	
(479)	Euphoractine O	-	-	-	H	Me	Cin	
(480)	Euphoractine A	-	-	-	H	H	Cin	

◆ Espèce *E. hirta*

Les triterpènes tetra- et penta-cycliques ont été jusqu'ici les plus répandus dans le genre *Euphorbia*. Dix composés triterpéniques ont été décrits à partir de différentes parties de l'espèce *E. hirta* par C. Y. Ragasa et al. (2013). Les composés suivants 25-hydroperoxycycloart-23E-èn-3β-ol (422), 3β-hydroxycycloart-25-èn-24-hydroperoxyde (423), cycloarténol (426), lupéol (481), α-amyrine (482) et β-amyrine (483) ont été identifiés dans toutes les parties de cette plante, tandis que le taraxérone (484) a été isolé à partir des tiges. L'acide linoléique (485), le β-sitostérol (123) et le squalène (486) ont été décrits précédemment dans les racines. Concernant les feuilles, ces auteurs ont pu isoler le phytol (487) [138].

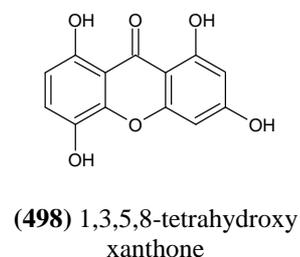
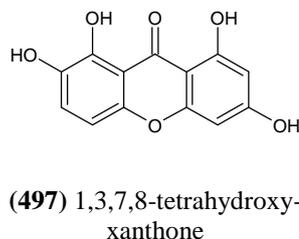
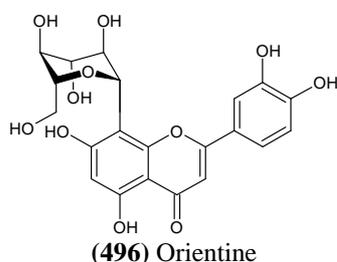
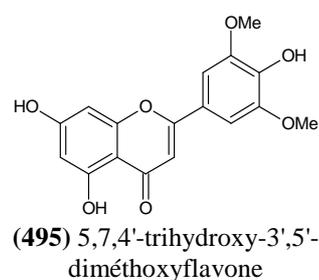
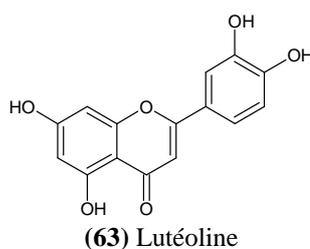
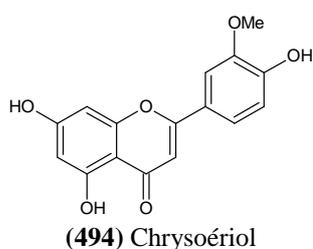
◆ Espèce *E. altotibetic*

L'analyse de l'extrait éthanolique des parties aériennes de l'espèce *E. altotibetic* a conduit à l'isolement de six composés stéroïdiques de types choléstane et érgostane identifiés, sur la base de leurs spectres RMN, comme nouveaux composés (488-493). Ces derniers ont montré une bonne activité cytotoxique en inhibant le cycle cellulaire des cellules cancéreuses. Ces résultats seraient en accord avec l'utilisation traditionnelle de la plante *E. altotibetic* dans le traitement du cancer [139].



	R₁	R₂	R₃	R₄	R₅	R₆
(488) Cholest-5-ène-2β,4β-diol	H	βOH	H	βOH	-	-
(489) Cholest-5-ène-1β,4β-diol	βOH	H	H	βOH	-	-
(490) Cholest-5-ène-1α,3β,4α-triol	αOH	H	βOH	αOH	-	-
(491) (22E)-ergosta-7,9,22-trièn-3β-ol β-D-glucoside	-	-	-	-	H	H
(492) 5α-méthoxy-(22E)-ergosta-7,9,22-trièn-3β-ol β-D-glucoside	-	-	-	-	OMe	H
(493) 6β-méthoxy-(22E)-ergosta-7,9,22-trièn-3β-ol β-D-glucoside	-	-	-	-	H	OMe

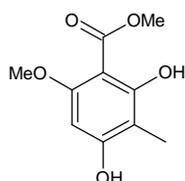
D'autres composés phénoliques ont été isolés à partir de cette espèce, il s'agit de quatre flavones (**63** et **494-496**) et deux dérivés du xanthone (**497** et **498**) [139].



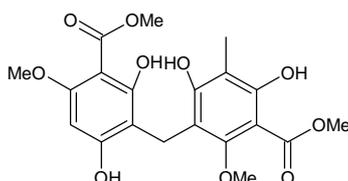
◆ Espèce *E. ebracteolata*

L'étude menée par C. J. Wang (2013) sur cette espèce a montré la présence de dérivés du phloroglucinol (**499-501**) en tant que métabolites majeurs confirmant ainsi les précédents travaux qui indiquent que ce type de composés sont les principaux constituants de l'espèce *E. ebracteolata*. Par ailleurs, ils ont aussi mis en évidence la présence de huit composés diterpéniques (**502-508**) [140].

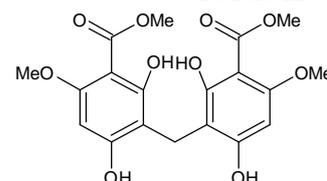
Partie II



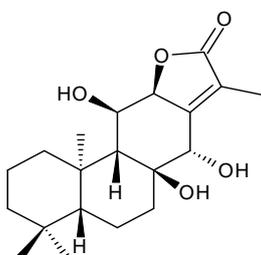
(499) 2,4-dihydroxy-6-méthoxy-3-méthylacétophénone



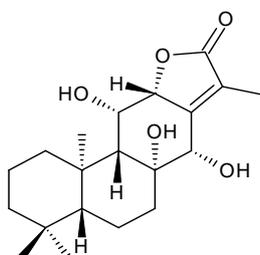
(500) 2,2',4,4'-tetrahydroxy-6,6'-diméthoxy-3,3'-diméthyl-7,5-biacétophénone



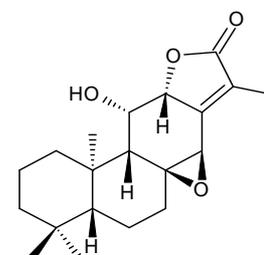
(501) 3,3'-diacétyl-4,4'-diméthoxy-2,2',6,6'-tetrahydroxydiphénylméthane



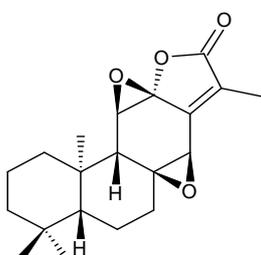
(502) Yuexiandajisu D



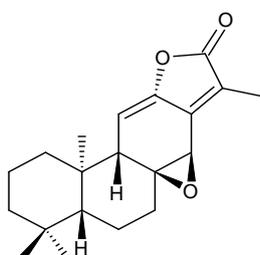
(503) Yuexiandajisu E



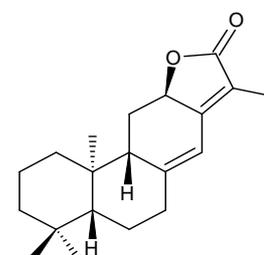
(504) Ebractéolatanolide A



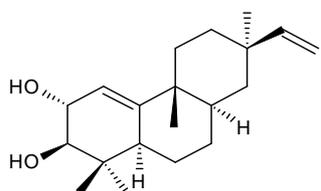
(333) Jolkinolide B



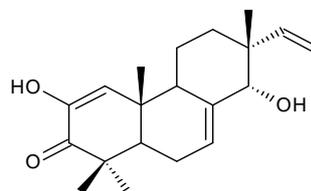
(505) Jolkinolide A



(506) Jolkinolide E



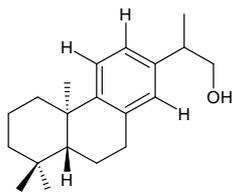
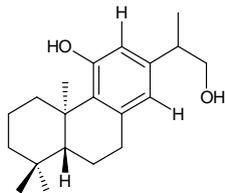
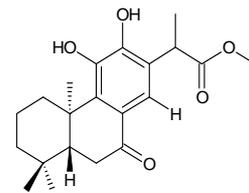
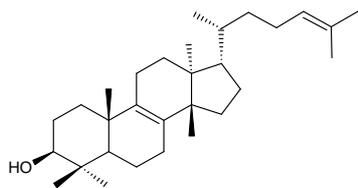
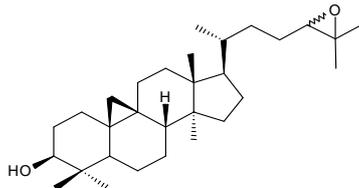
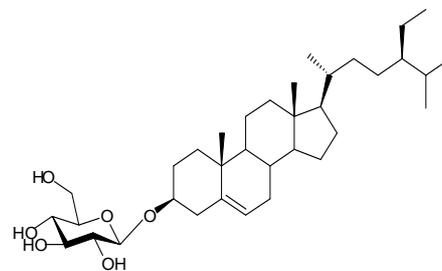
(507) Yuexiandajisu F



(508) Yuexiandajisu C

◆ Espèce *E. guyoniana*

Comme nous avons motionné précédemment et suite aux travaux réalisés par l'équipe de notre laboratoire H. Haba *et al.* en 2007 [23] et 2009 [24] sur *E. guyoniana* (récoltée dans le sud de l'Algérie), les racines de cette espèce ont fait l'objet d'une étude effectuée en 2013 par les mêmes auteurs et portant principalement sur la composition phytochimique de l'extrait chloroformique. Ce travail a révélé la présence de trois nouveaux composés diterpéniques de type *ent*-abiétane (509-511), ainsi que trois dérivés triterpéniques connus (430, 512 et 513) [26].

**(509)** *Ent*-abiéta-8,11,13-triène-16-ol**(510)** *Ent*-abiéta-8,11,13-triène-11,16-diol**(511)** Acide méthylester-11,12-dihydroxy-7-oxo-*ent*-abiéta-8,11,13-triène-16-oïque**(512)** Euphol**(513)** 24,25-époxy-cycloartanol**(430)** β-sitostérol *O*-β-D-glucoside



Chapitre **II**



Partie I

I. 1. Généralités sur les polyphénols

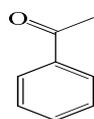
Les polyphénols, également dénommés composés phénoliques, forment un très vaste ensemble de substances naturelles aux structures extrêmement variées. L'élément structural de base qui les caractérise est la présence d'au moins d'un noyau benzénique auquel sont directement liés un ou plusieurs groupes hydroxyles libres ou engagés dans une autre fonction chimique (éther, ester ou encore hétéroside) [141]. A l'heure actuelle, plus de 10000 composés naturels satisfaisant à ces critères ont été isolés et identifiés [142]. Selon leurs caractéristiques structurales, ils se répartissent en différentes familles : anthocyanes, coumarines, lignanes, flavonoïdes, tanins, quinones, acides phénoliques, xanthones, stilbènes..... etc [143]. Ces structures sont des monomères, des polymères ou des composés complexes dont la masse moléculaire peut atteindre 9000 uma [144]. Ces métabolites secondaires sont synthétisés par les plantes pendant leur développement, mais aussi comme réponse aux conditions de stress tels que les infections, les blessures, les radiations UVetc [141, 145].

I. 2. Biogénèse des polyphénols

Les composés phénoliques des végétaux sont issus de deux grandes voies d'aromagnèse [141] :

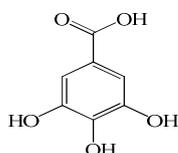
- La voie la plus courante est celle *via* le shikimate (l'acide shikimique). Elle transforme les oses aux amino-acides aromatiques (phénylalanine et tyrosine) puis, par désamination de ces derniers, aux acides cinnamiques et à leurs dérivés : acétophénones, acides phénols, coumarines, lignanes, lignines.... etc [146, 147].

Acétophénone



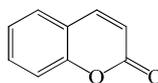
Phényléthanone

Acide phénol



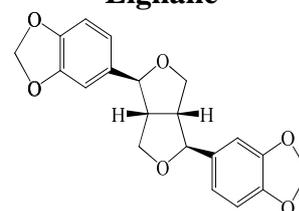
Acide gallique

Coumarine



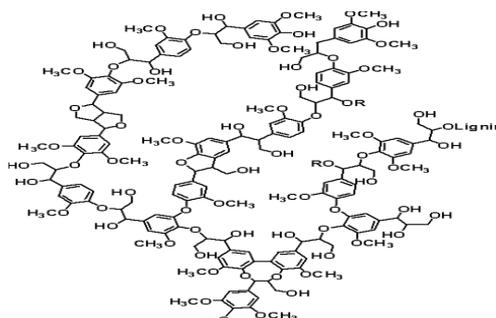
Coumarine

Lignane

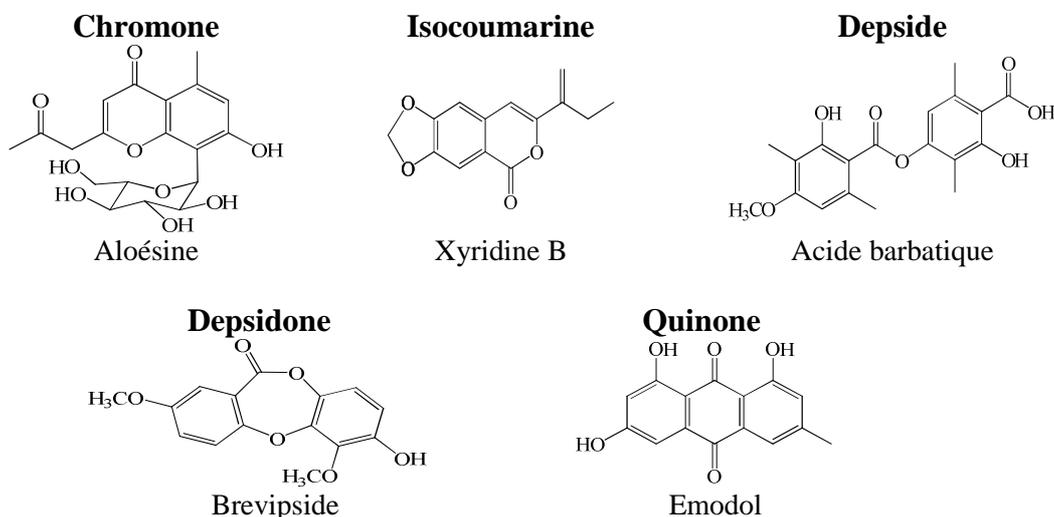


(+)-Sesamine

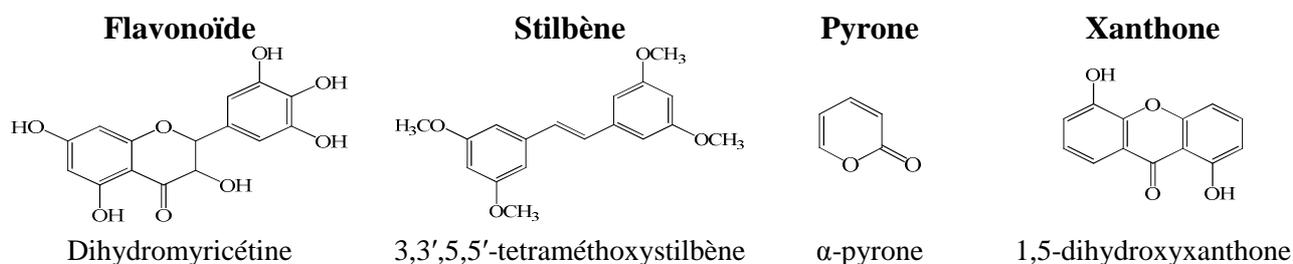
Lignine



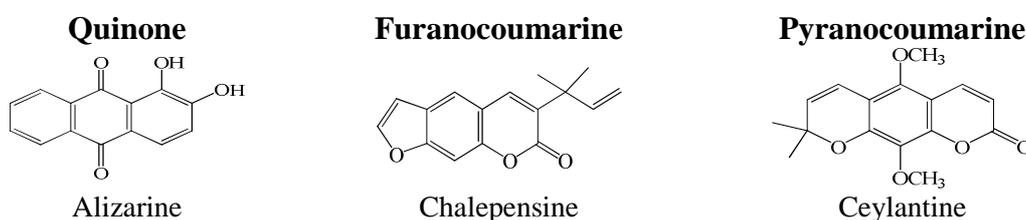
- L'autre voie part de l'acétate et conduit à des poly- β -cétoesters de longueurs variables (les polyacétates) qui engendrent par cyclisation (réaction de Claisen ou condensation aldolique), des composés souvent polycycliques : chromones, isocoumarines, depsides, depsidones, quinones.... etc [148, 149].

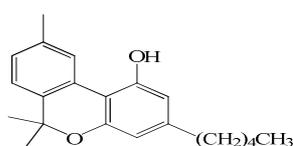


La pluralité structurale des composés phénoliques est due à cette double origine biosynthétique, et encore accrue par la possibilité très fréquente d'une participation simultanée du shikimate et de l'acétate à l'élaboration de composés d'origine mixte : flavonoïdes, stilbènes, pyrones, xanthones... etc [150, 151].

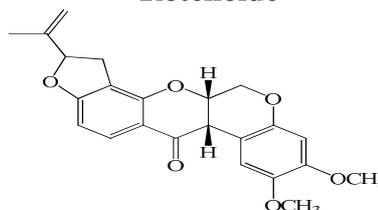


La participation d'un troisième synthon élémentaire (le mévalonate) est également possible bien que moins fréquente ; la voie mixte du shikimate et du mévalonate conduit aux dérivés de certaines quinones ou aux furano- et pyranocoumarines. La voie mixte acétate et mévalonate mène aux cannabinoïdes. Dans quelques cas, les trois précurseurs concourent à l'élaboration de la même structure comme les roténoïdes [152].



Cannabinoïde

Cannabinol

Roténoïde

Roténone

I. 3. Principaux groupes des polyphénols

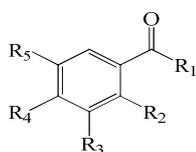
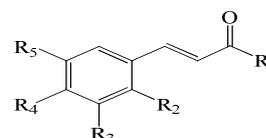
La structure, le nombre de noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui lient ces noyaux sont les caractères dominants de la classification des polyphénols dont on peut distinguer les principaux groupes suivants [153] :

I. 3. 1. Acides phénols

Le terme acide phénol peut s'appliquer à tous les composés aromatiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Ces composés se séparent en deux grands groupes dérivant de l'acide benzoïque ou de l'acide cinnamique : les acides hydroxybenzoïques (C_6-C_1) et les acides hydroxycinnamiques (C_6-C_3) [154].

◆ Structures chimiques et classification

Les acides phénols hydroxybenzoïques (C_6-C_1) sont très communs aussi bien sous forme libre que combinée à l'état d'ester ou d'hétéroside. On rencontre également les aldéhydes correspondant à ces acides dont la vanilline est le plus répandu [154].

Acides hydroxybenzoïques**Acides hydroxycinnamiques**

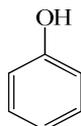
	R₁	R₂	R₃	R₄	R₅	
Benzoïque	OH	H	H	H	H	Cinnamique
Salicylique	OH	OH	H	H	H	<i>O</i> -coumarique
<i>p</i> -hydroxy benzoïque	OH	H	H	OH	H	<i>p</i> -coumarique
Gentisique	OH	OH	H	H	OH	-
Protocatéchique	OH	H	OH	OH	H	Caféique
Vanillique	OH	H	OCH ₃	OH	H	Férulique
Gallique	OH	H	OH	OH	OH	-
Syringique	OH	H	OCH ₃	OH	OCH ₃	Sinapique

Concernant les acides hydroxycinnamiques, ces derniers ont une distribution très large dans le règne végétal. Ils peuvent également être estérifiés, amidifiés ou combinés avec des

sucres. Ainsi, ils estérifient fréquemment les hydroxyles de nombreux métabolites secondaires : hétérosides flavonoïdiques, anthocyanosides, alcanols, saponosides et plus rarement alcaloïdes [154].

I. 3. 2. Phénols simples

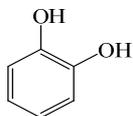
Les phénols simples sont la série des composés qui renferment un ou plusieurs groupements hydroxyles liés à un noyau aromatique dont l'acide phénique ou phénol est le représentant le plus simple [155].



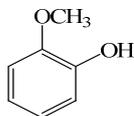
Acide phénique

◆ Structures chimiques et classification

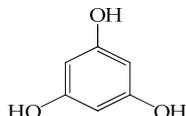
Les phénols simples comme le catéchol, le guaiacol et le phloroglucinol sont plutôt rares dans la nature à l'exception de l'hydroquinone qui existe dans plusieurs familles botaniques comme Ericaceae et Rosaceae, le plus souvent à l'état de glucoside du diphenol à l'instar de l'arbutoside ou son monométhyléther [154, 155].



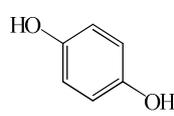
Catéchol



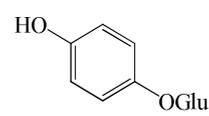
Guaiacol



Phloroglucinol



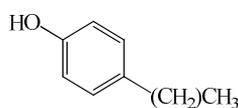
Hydroquinone



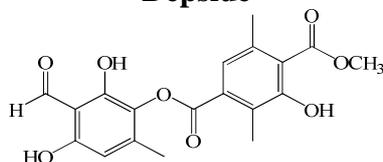
Arbutoside

En dehors de quelques rares cas, ces phénols peuvent être sous forme d'alkylphénols, de depsides, d'alcénylphénols ... etc [155].

Alkylphénol

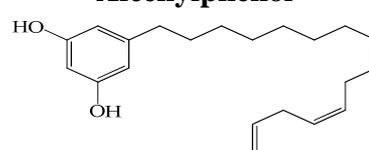
4-*n*-nonylphénol

Depside



Atranorine

Alcénylphénol



8Z,11Z,14-pentadécatriénylrésorcinol

◆ Biogénèse des acides phénols et des phénols simples

La voie de l'acide shikimique conduit à la formation du précurseur immédiat des acides phénols par désamination de la phénylalanine. La séquence biosynthétique qui suit, dénommée séquence des phénylpropanoïdes, permet la formation des acides hydroxycinnamiques (C₆-C₃), puis une β-oxydation aboutissant à la série des acides

hydroxybenzoïques (C_6-C_1). Une décarboxylation de ces derniers suivie par une réduction mène à la naissance des phénols simples (figure I. 3. 2) [156].

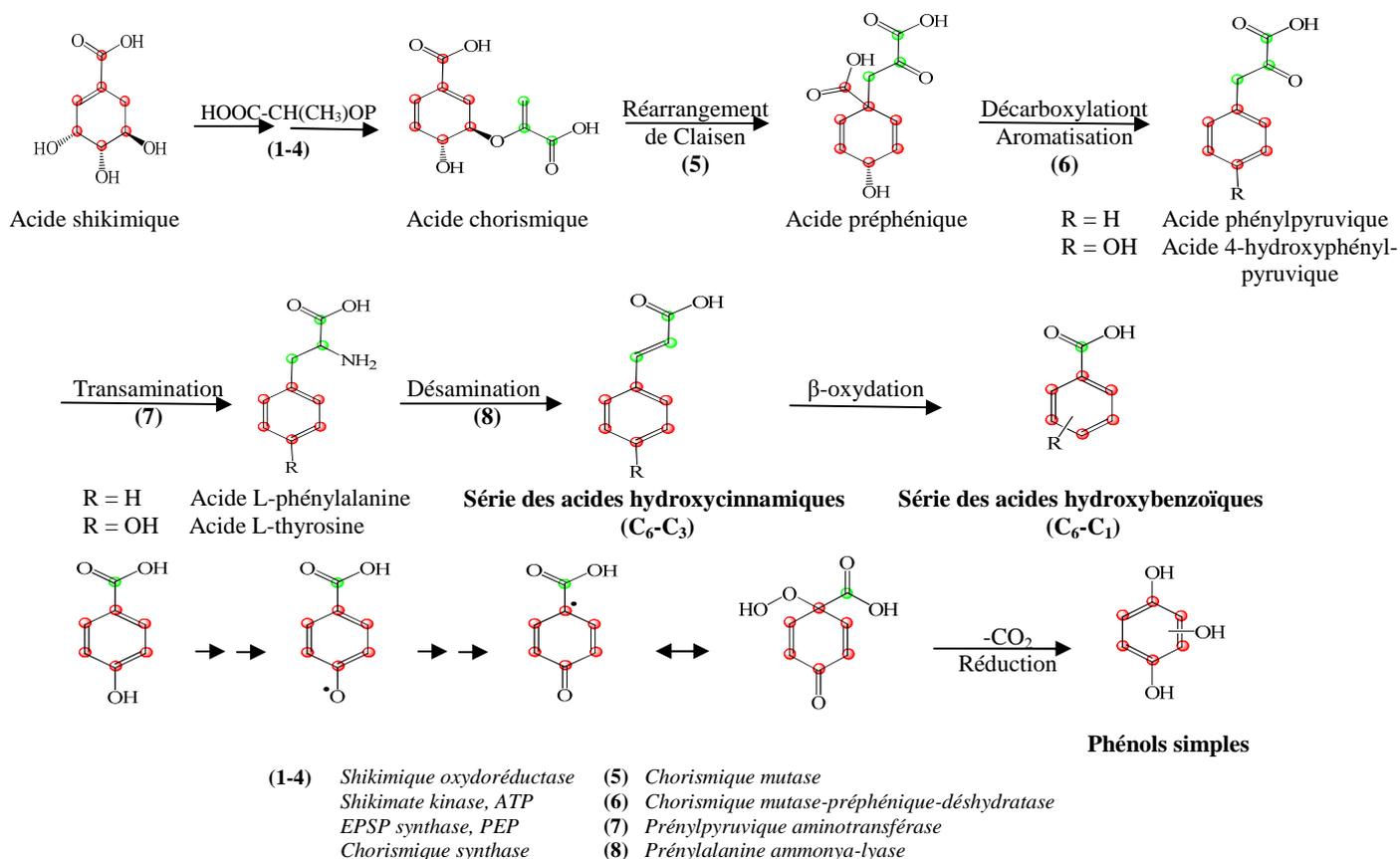


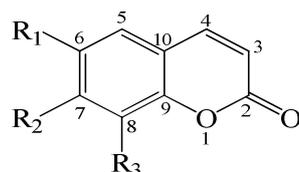
Figure I. 3. 2. Biogénèse des acides phénols et des phénols simples

I. 3. 3. Coumarines

Les coumarines sont des 2*H*-1-benzopyran-2-ones que l'on peut considérer initialement comme étant les lactones des acides 2-hydroxy-*Z*-cinnamiques [154]. Plus d'un millier de coumarines ont été décrites et les plus simples d'entre elles sont largement distribuées dans le règne végétal. Certaines familles d'Angiospermes élaborent des structures très variées comme les familles Asteraceae et surtout Apiaceae chez lesquelles on rencontre les molécules les plus complexes [157].

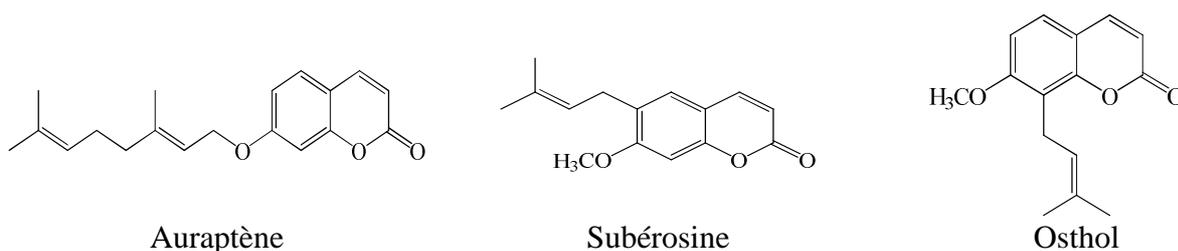
◆ Structures chimiques et classification

Les structures des coumarines sont très diverses dont les substituants du cycle benzénique peuvent être des hydroxyles (plus fréquent en C-7), méthoxyles, alkyles, alcoxyyles, glucosyles... etc [158].

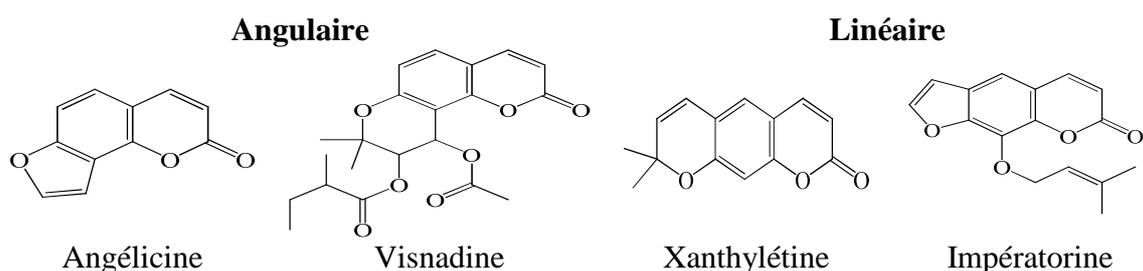


	R ₁	R ₂	R ₃	Ref.
Ombelliférone	H	OH	H	
Esculétol	OH	OH	H	
Scopolétol	OCH ₃	OH	H	
Herniarine	H	OCH ₃	H	[158]
Fraxétol	OCH ₃	OH	OH	
Esculine	O-Glu	OH	H	
Cichorine	OH	O-Glu	H	
Fraxoside	OCH ₃	O-Glu	OH	

Ainsi, un élément structural commun dans beaucoup de coumarines est la le groupement prényle (*O*-prénylation) habituellement lié en C-6 ou encore en C-8 de l'ombelliférone ou de l'herniarine. Plus exceptionnellement, il peut y avoir fixation d'un reste pentacarboné sur le carbone en position C-3 [159].



Cette prénylation est également à l'origine des coumarines polycycliques, furano- et pyrano-coumarines [141].



◆ Biogénèse des coumarines

Les coumarines sont issues du métabolisme de la phénylalanine *via* un acide cinnamique, l'acide 4-coumarique. La spécificité du processus est l'hydroxylation en C-2 (*ortho* du chaînon tricarboné) ; suivie d'une isomérisation photocatalysée de la double liaison (*E*→*Z*) et d'une réaction spontanée de lactonisation (figure I. 3. 3). La formation des di- et trihydroxycoumarines et de leurs éthers implique préférentiellement l'hydroxylation de

l'ombelliférone et non la lactonisation des acides cinnamiques correspondants (caféique, sinapique) [146].

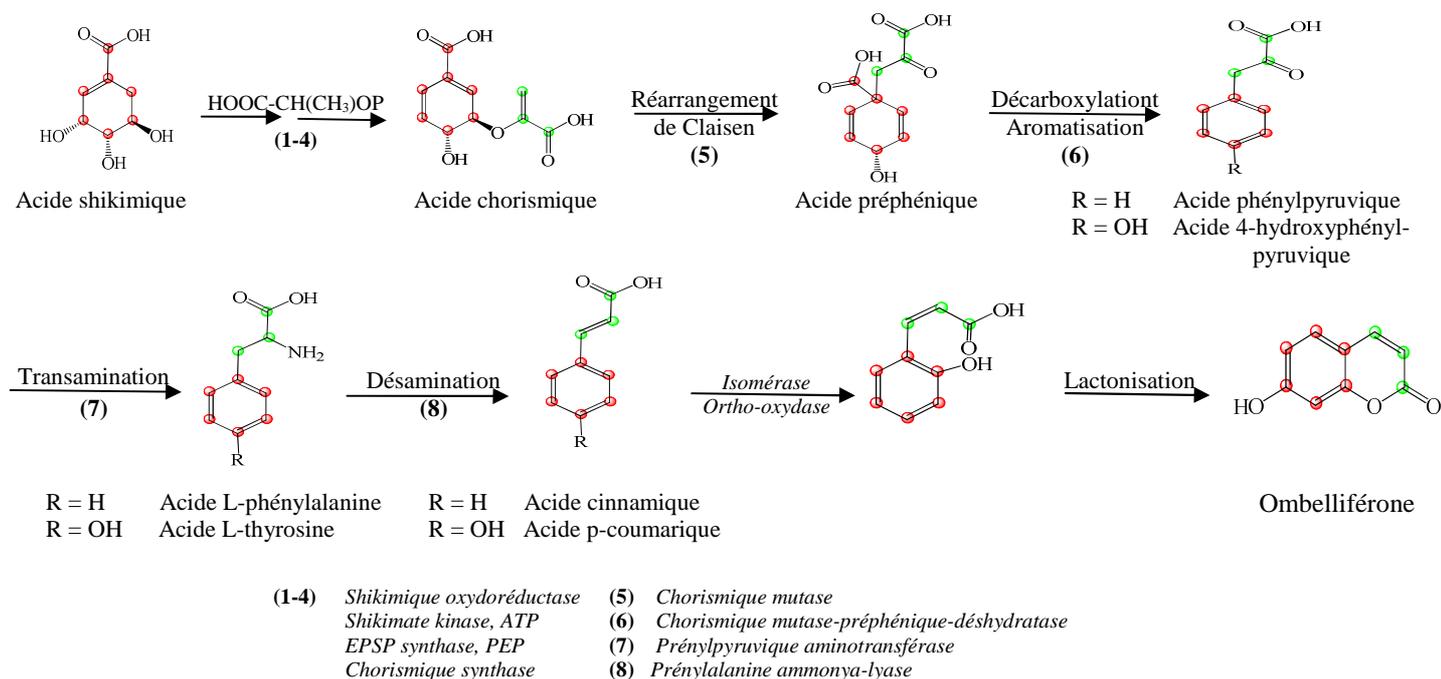


Figure I. 3. 3. Biogénèse des coumarines

I. 3. 4. Lignanes

Lignane est le terme générique d'un vaste groupe de produits naturels dont le squelette résulte de l'établissement d'une liaison entre les carbone β des chaînes latérales (liaison 8-8') de deux unités dérivant de 1-phénylpropane (figure I. 4) [160].

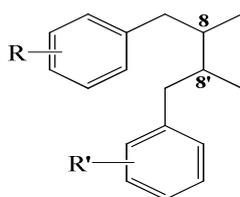


Figure I. 4. Structure générale des lignanes

Il existe également d'autres types de condensations de ces unités phénylpropaniques à l'instar des liaisons 8-3', 8-1', 3-3', 8-4'.....etc, dont les structures qui en découlent sont nommées néolignanes. Lorsque les unités liées par un atome d'oxygène d'éther, et non par une liaison C-C, le composé est appelé oxynéolignane [141].

◆ Structures chimiques et classification

Cette diversité de couplage mène à une large variété de squelettes où l'on distingue habituellement six groupes structuraux fondamentaux. Les plus simples sont des dibenzylbutanes (liaison 8-8'), qui par cyclisation peuvent engendrer trois types de lignanes

monofuraniques, et des butyrolactones. Une cyclisation qui implique un ou deux carbones aromatiques mène aux dérivés suivants : arylnaphtalènes et dibenzocyclooctanes. Une double cyclisation 7-O-7' et 9-O-9' conduit aux lignanes furanofuraniques (figure I. 3. 4. 1) [161].

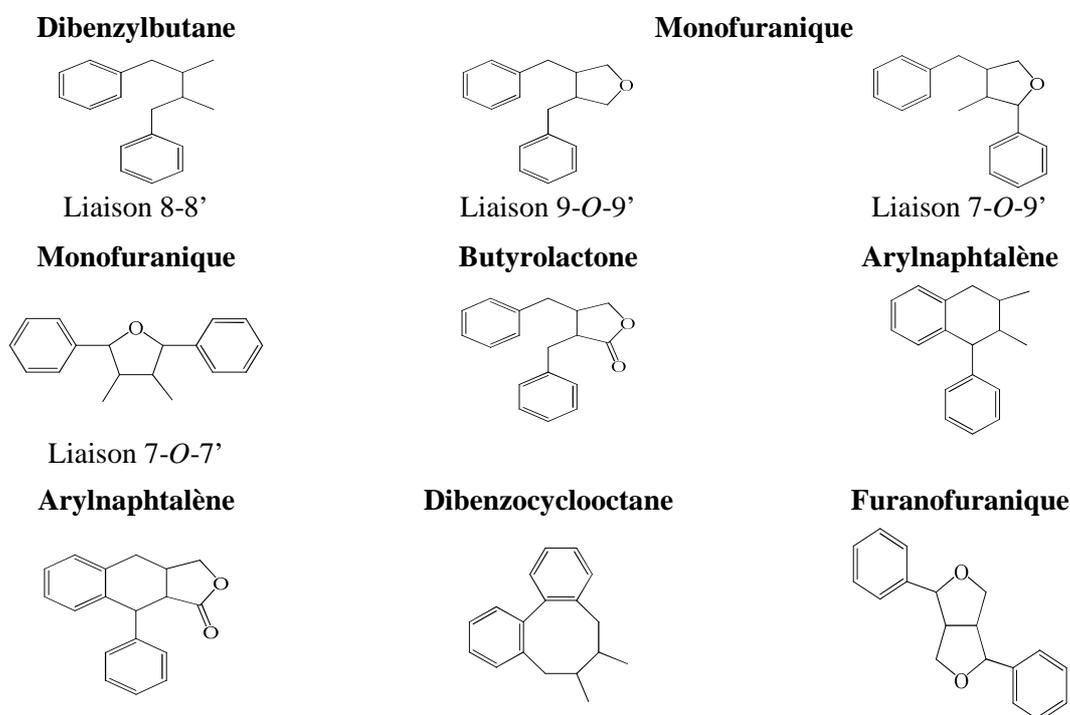
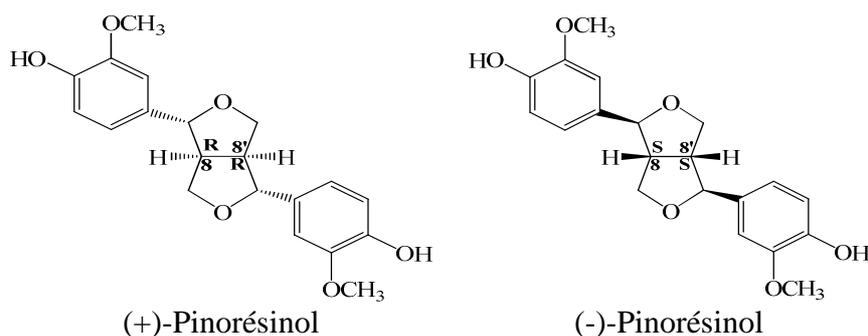


Figure I. 3. 4. 1. Principaux types de lignanes

Mais cette diversité ne se limite pas au type de couplage uniquement car il peut y avoir beaucoup de conformations stéréochimiques d'un seul squelette conduisant à plusieurs stéréoisomères [162].



◆ Biogénèse des lignanes

Les diverses structures des lignanes sont élaborées par dimérisation oxydante de deux unités d'alcools coumariques appelées unité monolignols. Cette dimérisation implique une radicalisation oxydative des monolignols suivie d'un couplage radicalaire combinatoire entre les carbones C-8 des chaînes latérales propényles formant les liaisons les plus fréquentes 8-8', 8-1' et 8-3' (figure I. 3. 4. 2) [162].

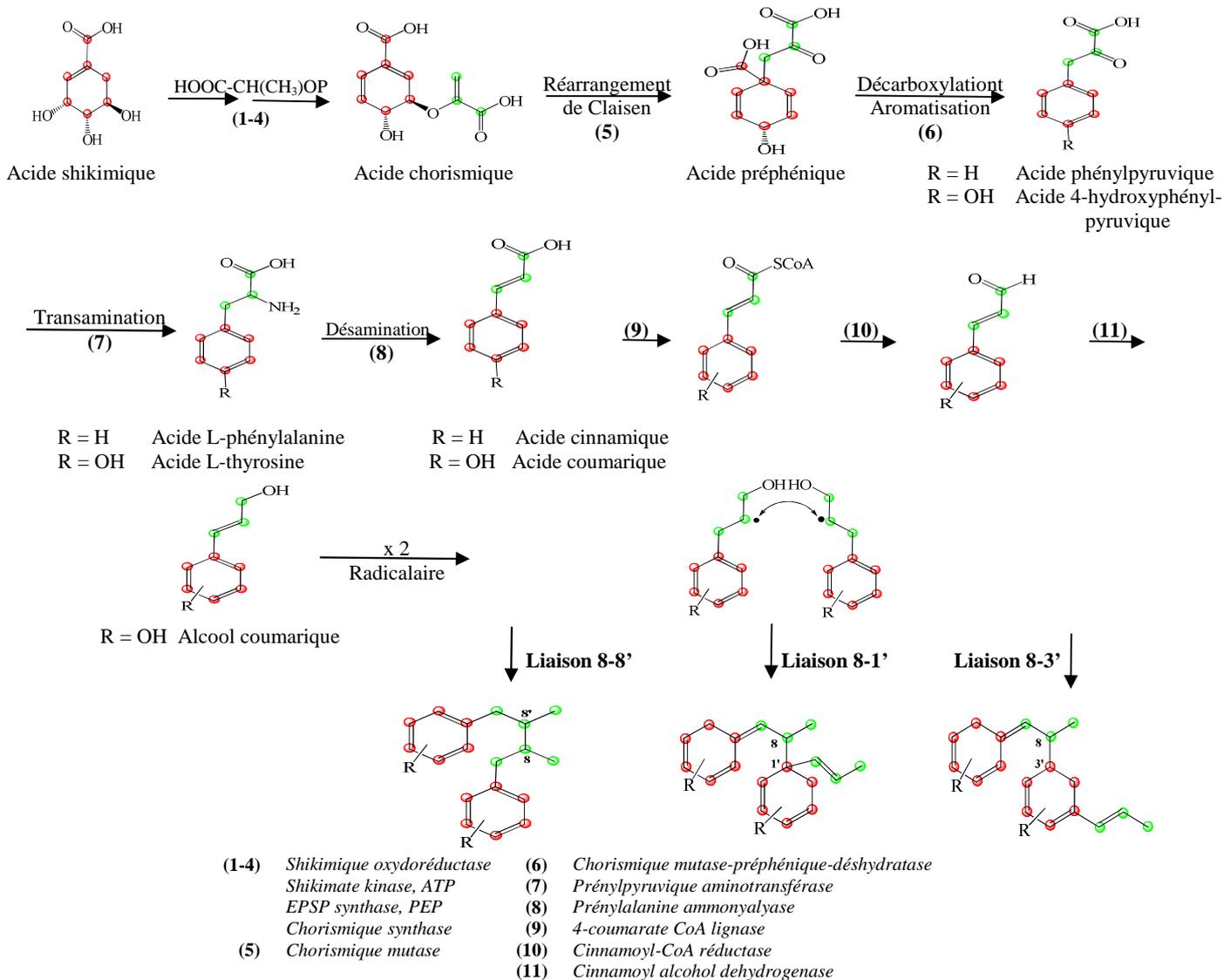


Figure I. 3. 4. 2. Biogénèse des lignanes

I. 3. 5. Stilbènes

Il est d'usage de regrouper sous ce nom les composés phénoliques qui possèdent deux noyaux benzéniques séparés par un pont éthane ou éthène où il peut y avoir deux formes *cis* et *trans* (figure I. 3. 5. 1). Cette dernière étant la forme la plus stable et bioactive est retrouvée en général plus abondamment dans les différentes espèces végétales productrices de stilbènes [157].

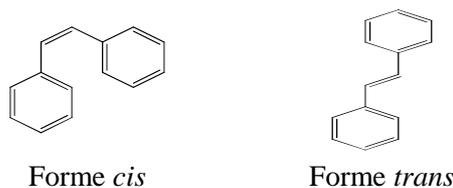
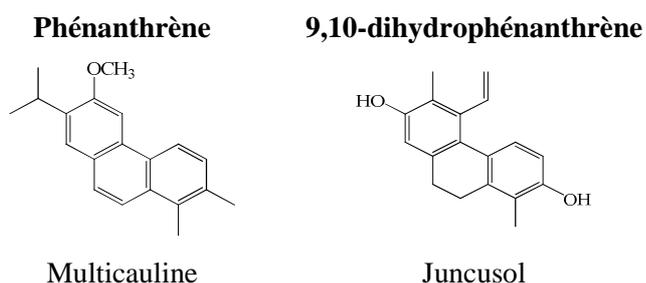


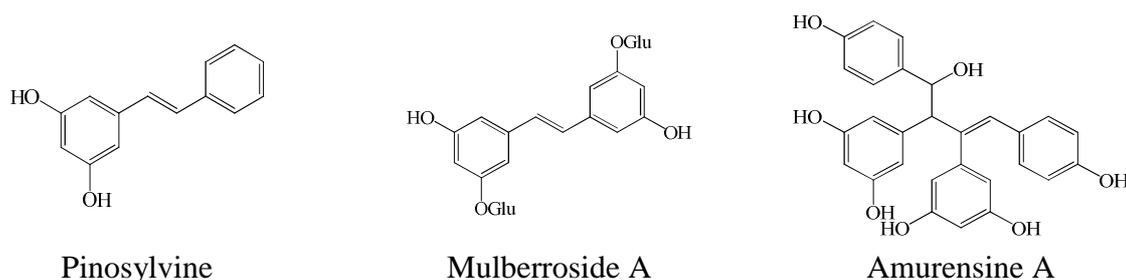
Figure I. 3. 5. 1. Structures générales des stilbènes

Ce nom regroupe aussi les produits qui leur sont biosynthétiquement rattachés tels que les phénanthrènes et les 9,10-dihydrophénanthrènes [157].



◆ Structures chimiques et classification

Les stilbènes possèdent de nombreux dérivés présents dans une large variété de plantes. Ces dérivés peuvent être libres (méthylés, hydroxylés, prénylés ...etc), hétérosidiques (dont la glycosylation est une des transformations la plus observée) et parfois polymériques. Ainsi, ils ont la capacité de subir une isomérisation de leurs doubles liaisons *cis*→*trans* ou *trans*→*cis* [157].



◆ Biogénèse des stilbènes

C'est une classe de composés polyphénoliques issue d'une voie biogénétique mixte (cinnamates et triacétates). Après cyclisation par aldolisation, le dernier carboxyle du triacétate se trouvant en β d'un hydroxyle phénolique disparaît systématiquement (figure I. 3. 5. 2) [164].

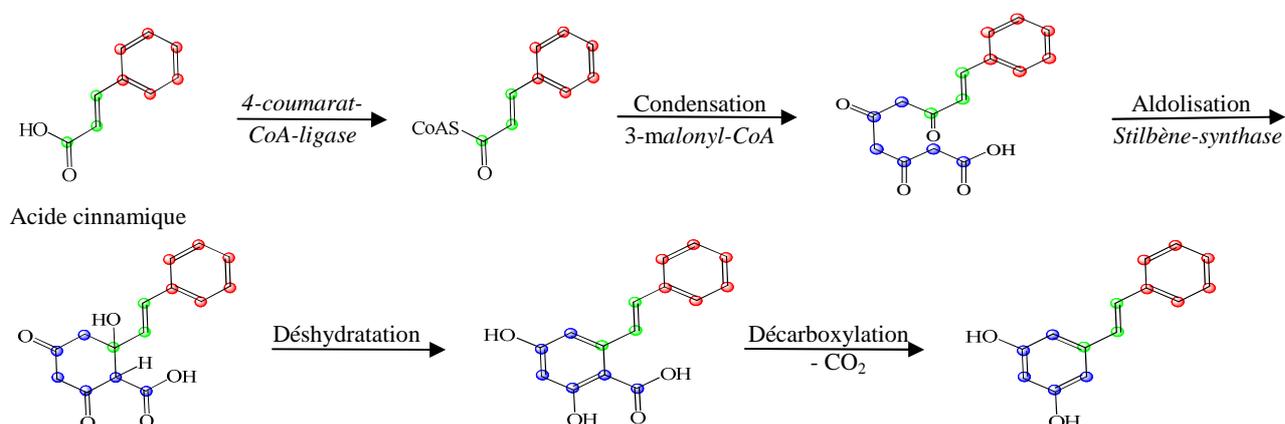


Figure I. 3. 5. 2. Biogénèse des stilbènes

I. 3. 6. Flavonoïdes

Les flavonoïdes forment le groupe le plus répandu de métabolites secondaires des plantes dont l'on aurait à l'heure actuelle recensé près de 9000 représentants différents et leur nombre ne cesse d'accroître. Ils se caractérisent par un enchaînement Ar-C3-Ar d'une structure générale en 15 carbones possédant deux cycles benzéniques nommés cycle A et cycle B ; cependant le cycle central C est formé par le chaînon propyle C3. Cet enchaînement est de type 1,3-diarylpropane pour les flavonoïdes, 1,2-diarylpropane pour les isoflavonoïdes ou encore 1,1-diarylpropane pour les néoflavonoïdes [165].

◆ Structures chimiques et classification

Les flavonoïdes se divisent en plusieurs sous-classes qui se distinguent par une diversité structurale selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central lequel peut être ouvert et recyclisé en un motif furanique (dihydrofuranone). Les plus importants sont donnés ci-après (figure I. 3. 6. 1) [166] :

- 2-phénylbenzopyryliums : comme les anthocyanes
- 2-phénylchromones : flavones, flavonols et leurs dimères ou flavanones et dihydroflavonols (dérivés 2,3-dihydrogénés).
- 2-phénylchromanes : flavanes, flavan-3-ols et flavane-3,4-diols.
- Chalcones et dihydrochalcones (le cycle pyranique est ouvert).
- 2-benzylidène-coumaranones (aurones).

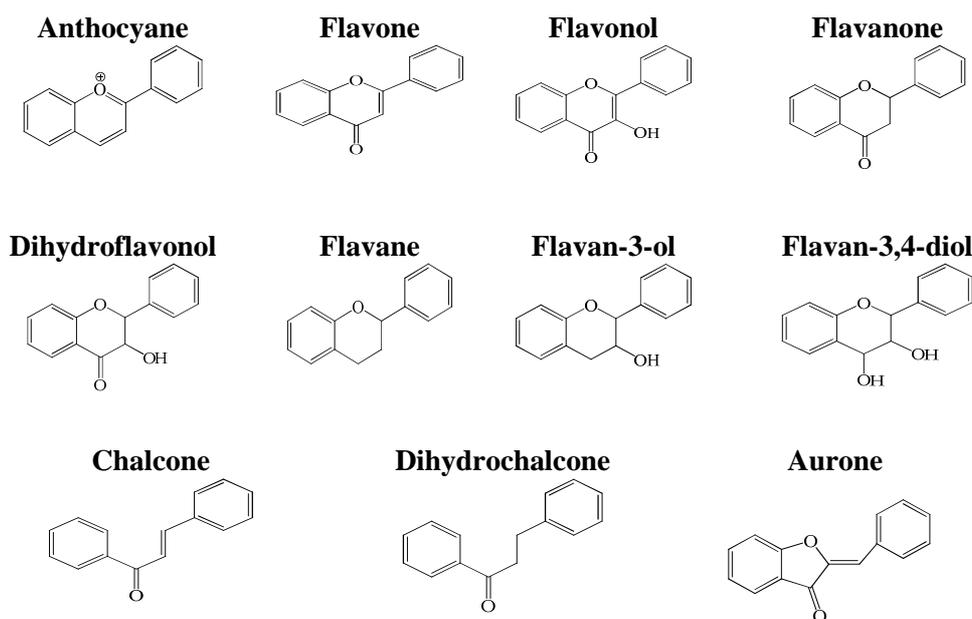


Figure I. 3. 6. 1. Principaux types de flavonoïdes

◆ Biogénèse des flavonoïdes

L'origine des flavonoïdes est inscrite en filigrane dans leur structure où elle apparaît bien dans celle des chalcones (figure I. 3. 6. 2) : condensation d'un triacétate, l'origine du cycle A (unité benzoyle), et d'un acide cinnamique, l'origine du cycle B (unité cinnamoyle). La cyclisation de ces deux unités engendre le cycle pyranique central C [150, 164].

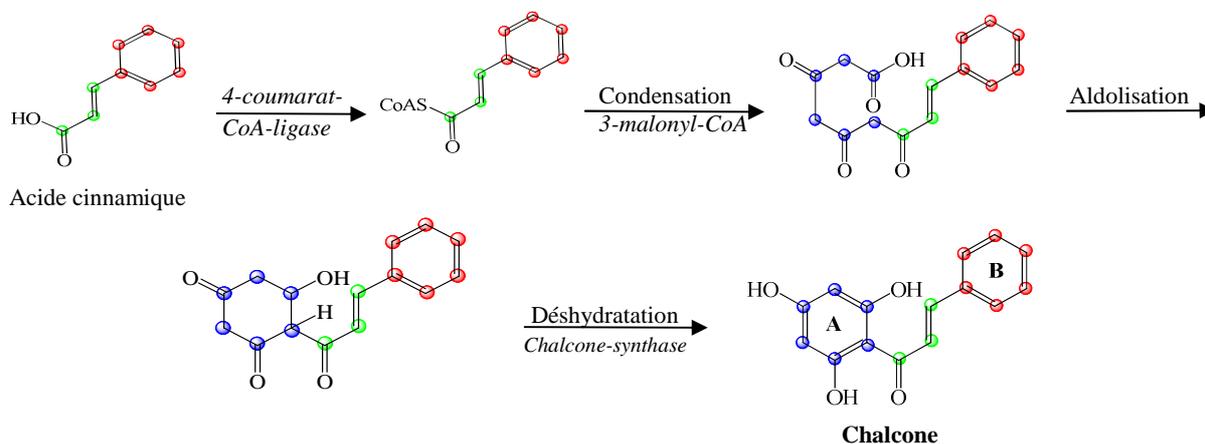


Figure I. 3. 6. 2. Biogénèse de la chalcone

Ainsi, les différentes classes des flavonoïdes sont issues de la chalcone qui subit ultérieurement des réactions catalysées par plusieurs types d'enzymes (figure I. 3. 6. 3) [167].

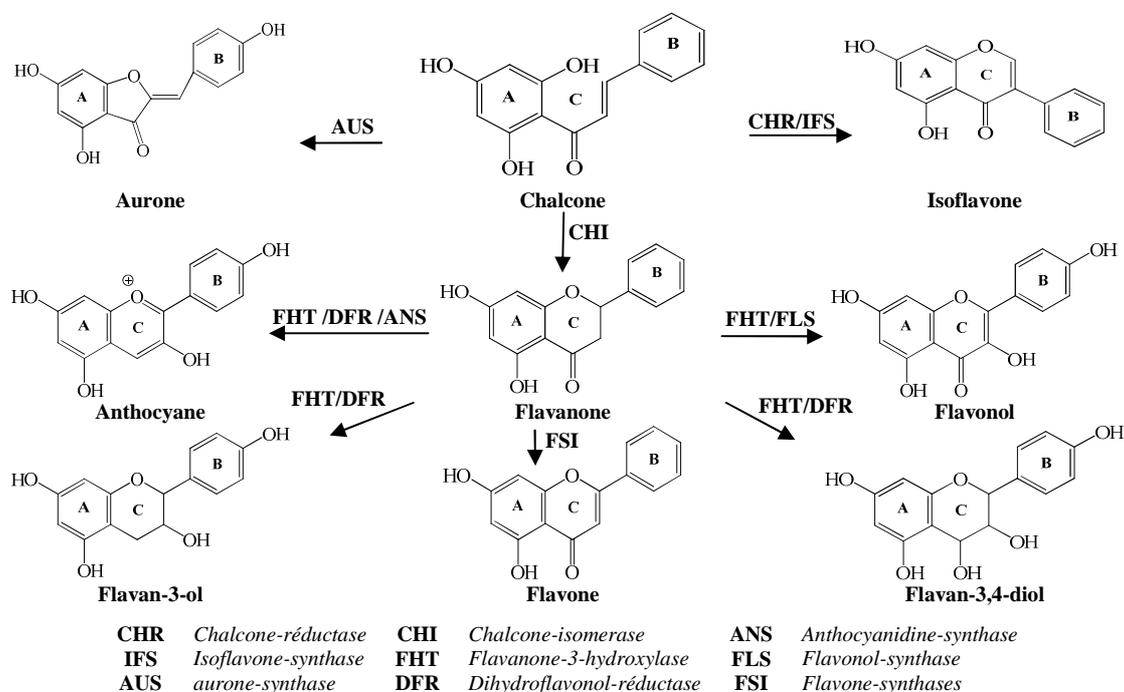


Figure I. 3. 6. 3. Schéma récapitulatif de biogénèse des différentes classes de flavonoïdes

I. 4. Distribution des polyphénols

Les polyphénols sont présents partout dans les tiges, les fleurs, les feuilles et les racines de tous les végétaux où certaines familles renferment un type de composés particuliers [141]. Les principales sources alimentaires sont les fruits et légumes, les boissons (vin rouge, thé, café, jus de fruits), les céréales, les graines oléagineuses et les légumes secs [153].

Mais leur distribution n'est pas homogène au sein du règne végétal à l'instar des coumarines et stilbènes. Ces derniers sont présents d'une façon très limitée dans quelques dizaines d'espèces végétales où il existe en tout 12 familles botaniques connues pour leur capacité de synthétiser les stilbènes. Les coumarines se rencontrent au sein de 4 familles à savoir : Fabaceae, Asteraceae, Apiaceae et Rutaceae [157, 168].

Par contre la distribution des lignanes, phénols simples et surtout acides phénols est large et plusieurs centaines de ces composés ont été isolés dans diverses familles botaniques. Toutefois, les lignanes sont remarquables par leur présence notable dans les bois chez les Gymnospermae, alors que les acides phénols sont très abondants dans les aliments notamment les fruits et les épices [162, 169].

En ce qui concerne les flavonoïdes, ces composés constituent un groupe de phytoconstituants d'une extrême diversité structurale. Ils sont les métabolites secondaires les plus abondants parmi tous les composés polyphénols et possèdent une large répartition dans le monde végétal avec une diversité structurale maximale chez les Angiospermes [165].

I. 5. Intérêts des polyphénols

De cette large diversité structurale des composés polyphénols découle une grande variabilité des propriétés pharmacologiques, physiologiques, écologiques...etc, objet de l'intérêt croissant que leur porte la recherche scientifique [170].

◆ Acides phénols et phénols simples

Le rôle physiologique et /ou écologique de ces molécules est mal connu et leur intérêt thérapeutique est limité aux propriétés antiseptiques urinaires des dérivés de l'arbutine et propriétés anti-inflammatoires des dérivés salicylés [155]. Concernant les esters hétérosidiques phénylpropanoïques, ils montrent des potentialités pharmacologiques intéressantes comme les activités antibactériennes et antifongiques en particulier à l'égard des organismes phytopathogènes. Ainsi, certains d'entre eux sont des inhibiteurs enzymatiques potentiels [141, 171].

Les acides phénols présents en quantité notable dans les fruits et légumes sont des piègeurs de radicaux libres (anti-oxydants) jouant un rôle reconnu dans le maintien d'un bon état de santé. Ces composés pourraient participer à la prévention de pathologies en partie liées à un excès de radicaux libres et au stress oxydatif [172].

◆ Coumarines

L'intérêt pharmacologique des plantes à coumarines est limité par rapport aux autres classes de polyphénols dont les propriétés les plus communes sont les activités anti-oxydantes, anti-inflammatoires, antibactériennes et anti-adhérences [173, 174]. Certains composés sont présentés comme veinotoniques, vasculoprotecteurs et utilisés comme médicaments symptomatologiques de l'insuffisance veinolymphatique. Ainsi quelques composés furanocoumarines sont des photosensibilisants et utilisés dans le traitement du psoriasis. Les pyranocoumarines sont commercialisées pour leurs propriétés vasodilatatrices coronariennes et présentées comme ayant des actions favorables sur les troubles de la sénescence cérébrale [141].

Enfin, on note qu'un petit nombre de plantes utilisées par la phytothérapie renferment des coumarines à l'instar de *Melilotus officinalis* (L.) Lam. (Fabaceae), *Hieracium pilosella* L. (Asteraceae), *Angelica archangelica* L. (Apiaceae) et *Galium odoratum* (L.) Scop. (Rubaceae), mais que la relation structure-activité n'a pas toujours été établie entre la présence de coumarines dans ces plantes et l'activité que la tradition populaire leur attribue [141].

◆ Lignanes

Chez les plantes, les lignanes jouent sans doute un rôle important pour leur défense dont des propriétés antibactériennes, antifongiques et antinutritives ont été décrites pour de nombreuses molécules de ce groupe [160]. Concernant l'intérêt thérapeutique de ces composés, un grand nombre d'entre eux possèdent des propriétés cytostatiques ou antitumorales établies *in vitro* ou *in vivo*, ainsi offrent des potentialités intéressantes dans divers domaines : inhibition d'enzymes et activités anti-agrégant plaquettaire, antagoniste calcique, antihypertensive, antivirale, antifongique, antiprotozoaireetc [160, 175, 176].

◆ Stilbènes

Les stilbènes, qui sont parfois des phytoalexines peuvent dans certains cas être des régulateurs de croissance. Ils possèdent des propriétés antifongiques, antipaludiques,

anti-parkinson, antihistaminiques, antidiabétiques, antibactériennes....etc. Ils montrent aussi un pouvoir remarquable anticarcinogène des picéides [141, 177]. Ainsi, sont considérés comme des agents importants de défenses passives. Leurs différents effets sont rapportés dans la littérature où les plus intéressants sont l'effet dissuasif sur les herbivores et l'effet insecticide [178]. Par ailleurs, certains composés sont utilisés dans l'industrie cosmétique pour leurs qualités anti-oxydantes, anti-âge et antitaches [179].

◆ Flavonoïdes

La fonction principale des flavonoïdes est la pigmentation des plantes. Ces composés peuvent produire une vaste gamme de couleurs et sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire, inhiber une large gamme d'enzymes et protéger la muqueuse gastrique contre divers agents ulcérogènes. Ainsi, ils sont réputés pour leurs propriétés anti-inflammatoires, antivirales, antibiotiques, antinéoplasiques, anti-hépatotoxiques, antibactériennes..... etc, mais une importance particulière a été accordée aux propriétés anti-oxydantes sans négliger leurs propriétés pro-oxydantes [180, 181].



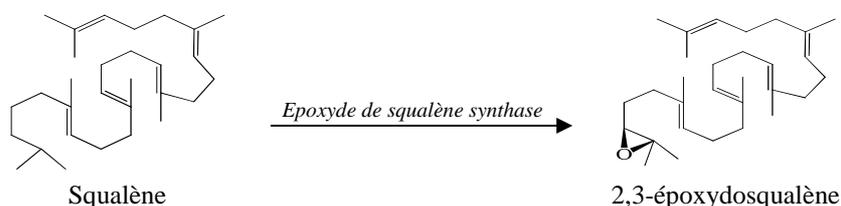
Partie **II**

II. 1. Généralités sur les triterpènes

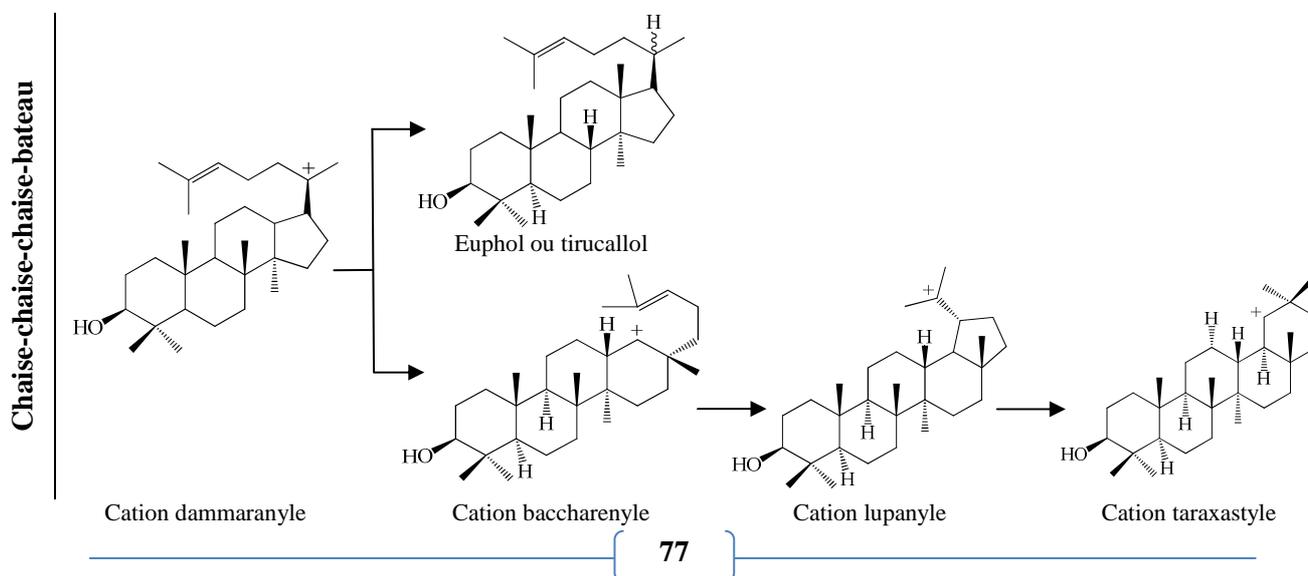
Les triterpènes, englobant les triterpènes tétra- et pentacycliques et les stéroïdes, sont une classe spécifique de métabolites secondaires abondamment retrouvée dans les règnes végétal et animal. Structuralement, les triterpènes sont des composés de 30 atomes de carbone ayant diverses structures cycliques issues de la cyclisation du 3S-2,3-époxydo-2,3-dihydrosqualène ou plus rarement du squalène lui-même. Habituellement, hydroxylé en C-3 du fait de l'ouverture de l'époxyde pendant la cyclisation à l'exception des composés de types hopane et gammacérane. La grande diversité structurale des triterpènes peut être expliquée par leurs origines biosynthétiques variées [182-184].

II. 2. Biogénèse des triterpènes

Les triterpènes sont biosynthétisés à partir de l'ion éthanoate qui est transformé en équivalent biologiquement actif de l'isoprène connu sous le nom de 3-méthylbut-2-énylpyrophosphate et de 3-méthylbut-3-énylpyrophosphate. Ceux-ci sont des modules isoprénoïdes de base (C5), leur polymérisation, suivie par une dimérisation produit le squalène (C30) représentant le précurseur biochimique des dérivés triterpéniques [185].



Le processus biologique de cyclisation de l'époxyde du squalène implique, pour la formation des intermédiaires carbocationiques (cation dammaranyle et cation protostanyle), des polycyclisations biochimiques stéréospécifiques (chaise-chaise-chaise-bateau et chaise-bateau-chaise-bateau) selon une addition électrophile intramoléculaire où les doubles liaisons C=C sont orientées d'une façon particulière (figure II. 2) [141, 186].



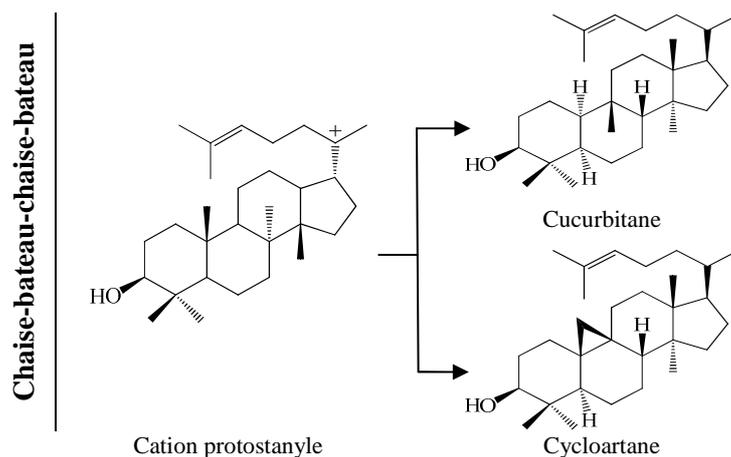
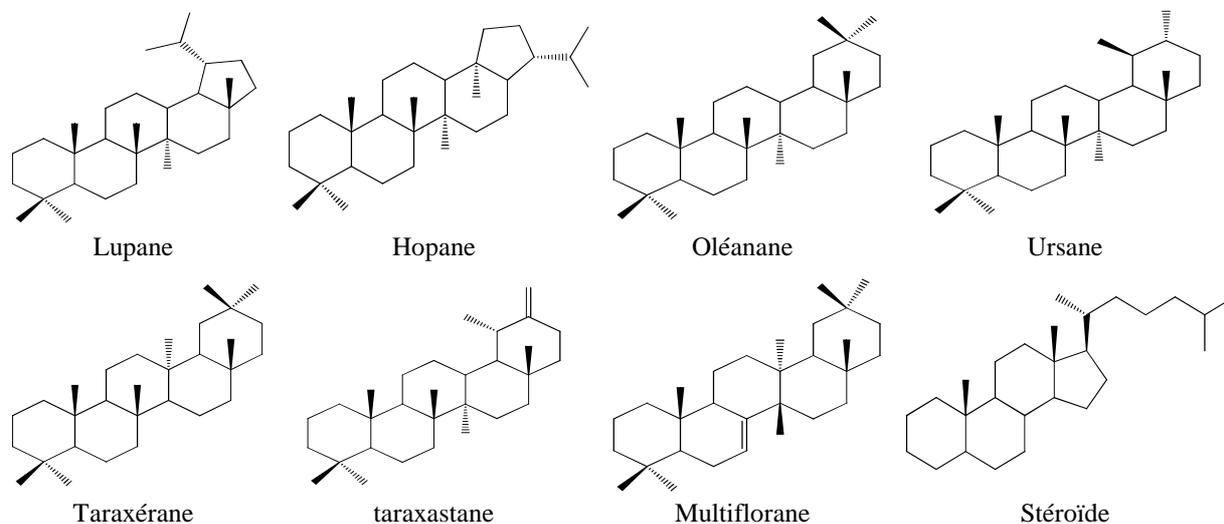


Figure II. 2. Schéma récapitulatif de biogénèse des différents triterpènes

La diversité des structures des triterpènes peut ainsi être déduite à partir de nombreux mécanismes réactionnels intervenant lors de leur biogénèse à l'instar des réarrangements, différents modes de cyclisation, déméthylation, rupture du cyclopropane, déplacement des doubles liaisons, oxydation, décarboxylation....etc. Ceci permet de distinguer les différents squelettes de base comme le lupane et hopane à partir du cation lupanyle, les squelettes de types oléane, ursane, taraxéane, taraxastane et multiflorane à partir du cation taraxastyle. Les stéroïdes résultent des modifications apportées sur le squelette cycloartane [186, 187].



II. 3. Structures chimiques et classification

Les différences majeures des triterpènes sont d'ordre configurationnel et liées à la conformation adoptée par l'époxysqualène avant la cyclisation. Le cation issu de cette cyclisation peut ensuite subir une série de déplacements 1,2 de protons et de méthyles rationalisant l'existence des différents squelettes tétra- et pentacycliques caractérisant ce

groupe (figure II. 3). La plupart de ces structures sont des alcools, aldéhydes, cétones, acides carboxyliques ou esters [188, 189] .

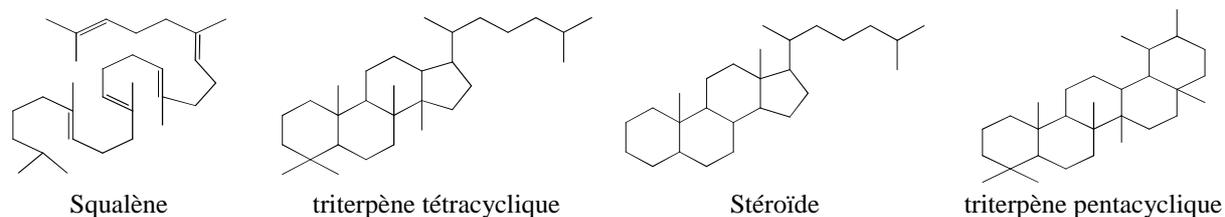


Figure II. 3. Principales classes des triterpènes

Les modifications secondaires des triterpènes sont assez limitées : hydroxylations supplémentaires, insaturations, fonctionnalisation des méthyles angulaires et lactonisations sont les plus indiquées. Une exception est remarquée dans plusieurs familles de Rutales telles que Rutaceae, Meliaceae, Simaroubaceae et Cneoraceae chez lesquelles le squelette tétracyclique initial peut être profondément remanié : oxydation, ouverture-recyclisation, élimination de la chaîne ...etc [141].

II. 4. Principaux groupes des triterpènes

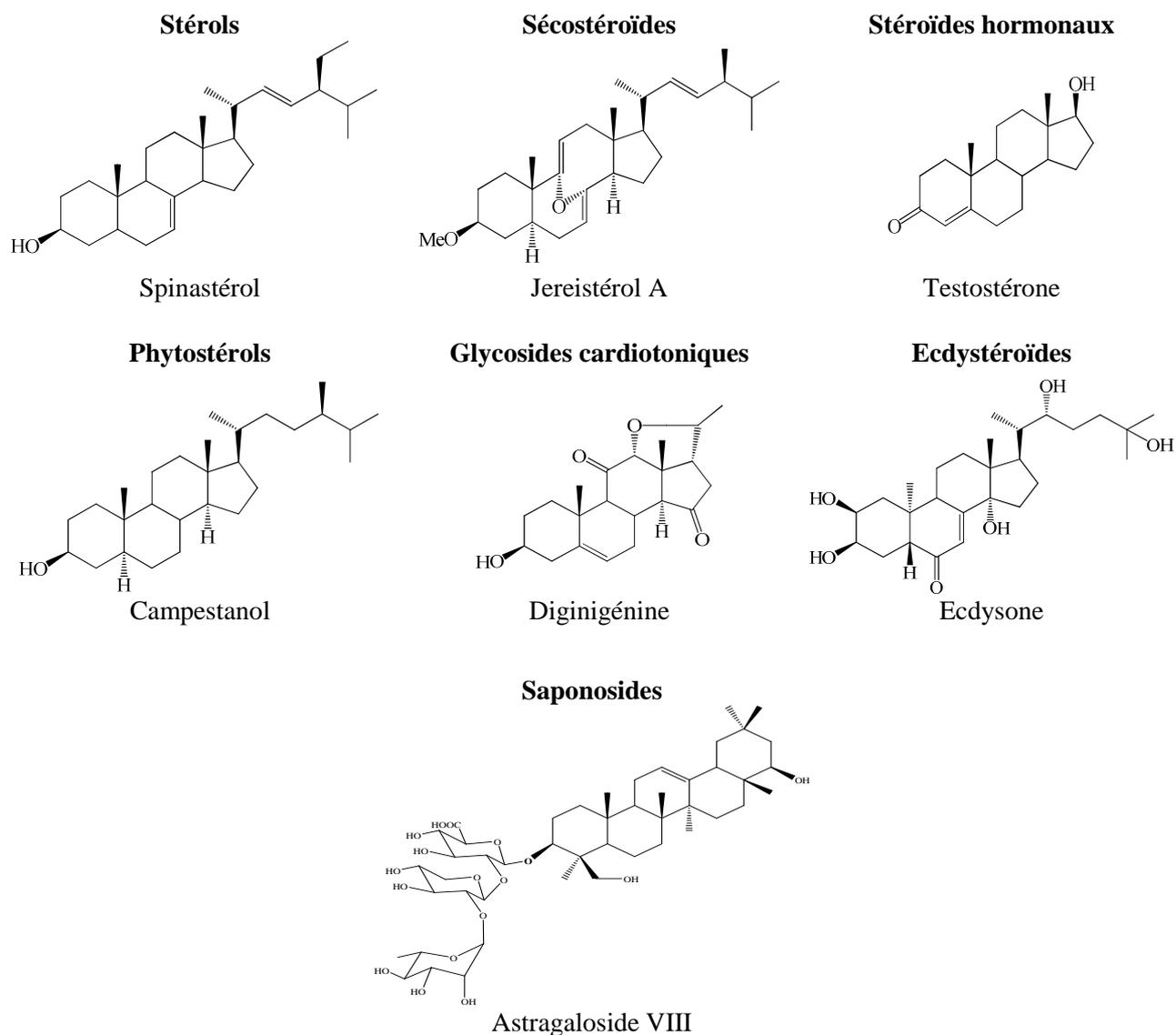
II. 4. 1. Squalène

Le squalène est bien représenté dans les huiles végétales et animales et constitue un composant important des lipides cutanés. Il est sans doute le triterpène le plus connu d'une part, car il est le seul triterpène à avoir une structure linéaire, mais également parce qu'il est le précurseur de tous les autres dérivés triterpéniques [183].

II. 4. 2. Triterpènes tétracycliques

Comme l'indique leur nom les structures de ce groupe sont constituées principalement d'un squelette de base de quatre cycles plus ou moins modifiés métaboliquement dont les stéroïdes constituent certainement les dérivés les plus importants et les plus répandus. Tous les stéroïdes végétaux sont issus de la déméthylation progressive du cycloartane et de l'ouverture de son cycle 9 β -19-cyclopropanique, par contre les stéroïdes animaux sont issus des modifications apportées sur le lanostérol [183]. Chez les animaux, la chaîne latérale reste intacte ou est tronquée ; elle peut même être éliminée. Concernant les végétaux, elle peut être fonctionnalisée, cyclisée ou posséder un ou deux carbones supplémentaires sous la forme d'un groupe méthyle, méthylène, éthyle ou éthylène fixé en position 24....etc [141].

La diversité structurale est également fortement marquée chez les stéroïdes qui sont des composés présentant des différences au niveau de leurs propriétés. Aussi, ils peuvent être classés en plusieurs groupes, avec des subdivisions pour certaines structures : les stérols, les sécostéroïdes, les stéroïdes hormonaux, les phytostérols, les saponosides, les ecdystéroïdes, les glycosides cardiotoniques...etc [141, 183].



II. 4. 2. Triterpènes pentacycliques

Les triterpènes pentacycliques sont des molécules composées de trois motifs terpéniques (soit six motifs isopréniques) agencés soit en cinq cycles à six carbones, soit en quatre cycles à six carbones et un cycle à cinq carbones. Beaucoup plus fréquemment, les composés tétracycliques de type dammarane ne sont que des intermédiaires qui évoluent vers des squelettes pentacycliques oléananes, ursanes, lupanes, hopanes, gammacéranes ...etc [190]. Ces composés constituant une autre classe très diversifiée, ubiquiste dans les végétaux

supérieurs dont la variabilité structurale est relativement limitée dans les organismes terrestres, mais qui est bien plus accentuée chez les organismes marins [191].

II. 5. Distribution et localisation des triterpènes

Les triterpènes peuvent être trouvés dans tous les organismes vivants : animaux, champignons, algues et végétaux supérieurs.

Les stéroïdes sont des molécules essentielles à tous les organismes. Ils ont toujours été fabriqués par les micro-organismes autotrophes puis par les plantes et enfin par les organismes hétérotrophes. Concernant la présence des composés stéroïdiques dans les tissus végétaux, celle-ci est connue beaucoup plus par une accumulation des stérols dans les plantes supérieures dont les plus abondants sont le stigmasterol et le sitostérol [192]. Pour les mammifères, certains types de stéroïdes sont insérés dans les membranes auxquelles ils confèrent une certaine plasticité. Dans ce cas, ces molécules sont considérées comme éléments constitutifs des membranes de l'organisme. D'autres stéroïdes sont impliqués dans le fonctionnement de l'organisme, soit directement au niveau cellulaire dans les systèmes autocrines, soit à distance dans les systèmes endocriniens [193].

Les triterpènes pentacycliques sont représentatifs des végétaux supérieurs, leurs fossiles moléculaires trouvées dans les milieux sédimentaires dénotent un apport terrestre significatif. Les composés appartenant aux séries de l'ursane, de l'oléane et du lupane peuvent presque être considérés comme ubiquistes chez les plantes supérieures [194]. Ces types de triterpènes sont également présents dans les huiles et extraits de germes de céréales, résines, écorces, cires épicuticulaires, cires de fruits, fleurs, tubercules....etc [195].

II. 6. Intérêts des triterpènes

De par leur surreprésentation dans le règne végétal et leur qualité de métabolite secondaire, les triterpènes ont attiré l'attention du monde scientifique en s'intéressant particulièrement à leurs diverses propriétés pharmacologiques.

◆ Squalène

De nombreuses expériences ont permis de démontrer que le squalène est un anti-oxydant efficace dans les phases lipidiques ; cette propriété est peut-être en relation avec son activité antitumorale. Ainsi, il est utilisé dans l'industrie cosmétique et rentre dans la composition de certains adjuvants que l'on rajoute aux vaccins pour renforcer la réponse immunitaire [183].

◆ Triterpènes tétracycliques

La grande majorité des composés tétracycliques semblent agir comme toxines ou comme agents de dissuasion vis-à-vis des insectes herbivores [192], mais le domaine d'intérêt des stéroïdes est bien plus large et plus surprenant non seulement par les activités biologiques qu'ils possèdent (anticholestérolémique, antitumorale, antidiabétique, anti-inflammatoire.....etc), mais aussi par leurs fonctions effectives dans les tissus végétal et animal. Leur présence dans les tissus végétaux est connue par leur implication dans les processus biologiques des plantes tels que la croissance, le développement, la division cellulaire et la résistance aux dommages causés par des stress environnementaux [185]. Ainsi, les stéroïdes synthétisés par le corps humain aussi bien que par de nombreux animaux jouent un rôle essentiel dans de nombreuses fonctions du corps comme vitamine, en tant qu'élément du système immunitaire et comme hormones sexuelles et agents indispensables du processus de reproduction [196-198].

◆ Triterpènes pentacycliques

Contrairement aux triterpènes tétracycliques, les fonctions des triterpènes pentacycliques dans les plantes restent mal connues et nécessitent beaucoup d'investigation sur les plans phytochimique et biologique afin d'élucider leur rôle dans les différentes parties des plantes. Cependant, ils interviendraient dans le contrôle de la croissance des végétaux et de la morphogénèse ainsi que dans la cicatrisation et dans la transportation des sucres depuis les feuilles jusqu'aux racines [195].

Ces composés sont fréquemment utilisés dans des compositions pharmaceutiques pour leurs nombreuses propriétés thérapeutiques dont l'on peut citer, entre autres : anti-inflammatoires, hépatoprotectrices, diurétiques, analgésiques, antimicrobiennes, inhibitrices d'activités enzymatiques, antitumorales, antinéoplasmiques...etc [199-201].



Chapitre III



Partie I

I. 1. Etude phytochimique de l'espèce *Helianthemum sessiliflorum* Pers.

I. 1. 1. Extraction

Les parties aériennes de la plante *H. sessiliflorum*, séchées puis broyées finement (1 Kg), sont macérées dans 10 L d'une solution 30% hydro-éthanolique pendant 48 h (2 fois). Après filtration et concentration, 600 ml de l'extrait aqueux ont fait l'objet d'une extraction liquide-liquide utilisant successivement les solvants suivants : cyclohexane puis acétate d'éthyle et à la fin le *n*-butanol, ce qui mène à l'obtention de 4,41 g d'extrait cyclohexanique, 3,22 g d'extrait acétate d'éthyle et 18,89 g d'extrait *n*-butanolique. Le protocole d'extraction est présenté dans la figure suivante (figure I. 1. 1. 1).

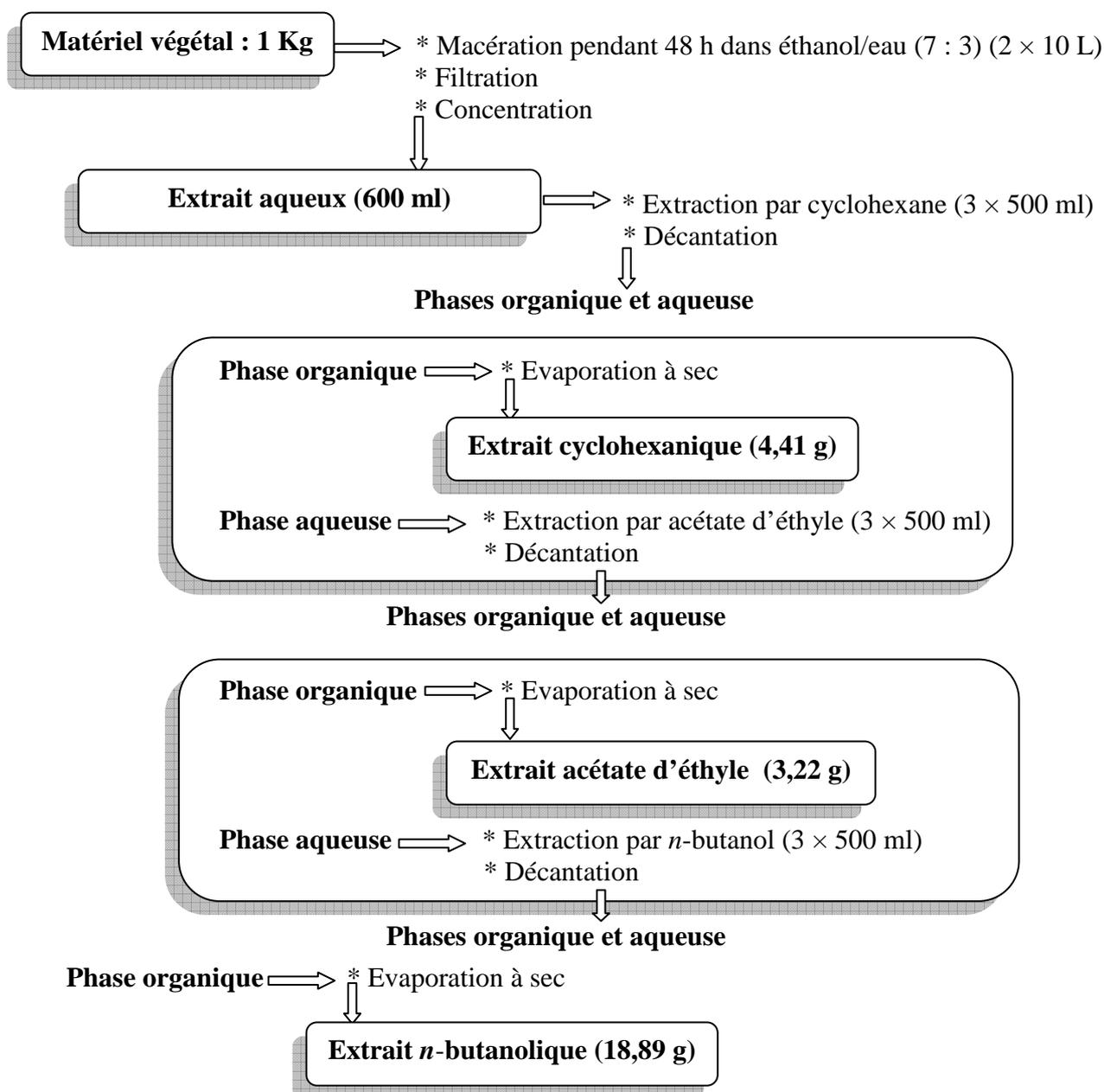


Figure I. 1. 1. 1. Schéma d'extraction de l'espèce *Helianthemum sessiliflorum* Pers.

I. 1. 2. Séparation et purification

Les extraits acétate d'éthyle et *n*-butanolique sont jugés intéressants au vu de leur profil CCM. Cette constatation nous a conduit à les choisir pour une investigation chimique approfondie. Les séparations et purifications des composés contenus dans ces extraits ont nécessité l'utilisation de différentes techniques chromatographiques (VLC, CC, CCM, CCE et HPLC) et l'usage de plusieurs phases stationnaires (gel de silice phase normale, RP-18, polyamide et Sephadex), ainsi qu'une vaste gamme de solvants.

◆ Extrait acétate d'éthyle

Un premier fractionnement de l'extrait acétate d'éthyle (3 g) a été effectué en utilisant la technique de chromatographie liquide sous vide (VLC) aux conditions : gel de silice phase normale comme phase stationnaire et les mélanges cyclohexane/AcOEt (100-0)→(0-100) puis AcOEt/MeOH (100-0)→(0-100) comme phases mobiles en permettant l'obtention de 4 fractions majoritaires (F₁ – F₄).

Ce fractionnement, suivi de plusieurs étapes de séparations et purifications chromatographiques (figure I. 1. 2. 1), conduit à l'isolement de 20 composés naturels purs dont un nouveau (HS1).

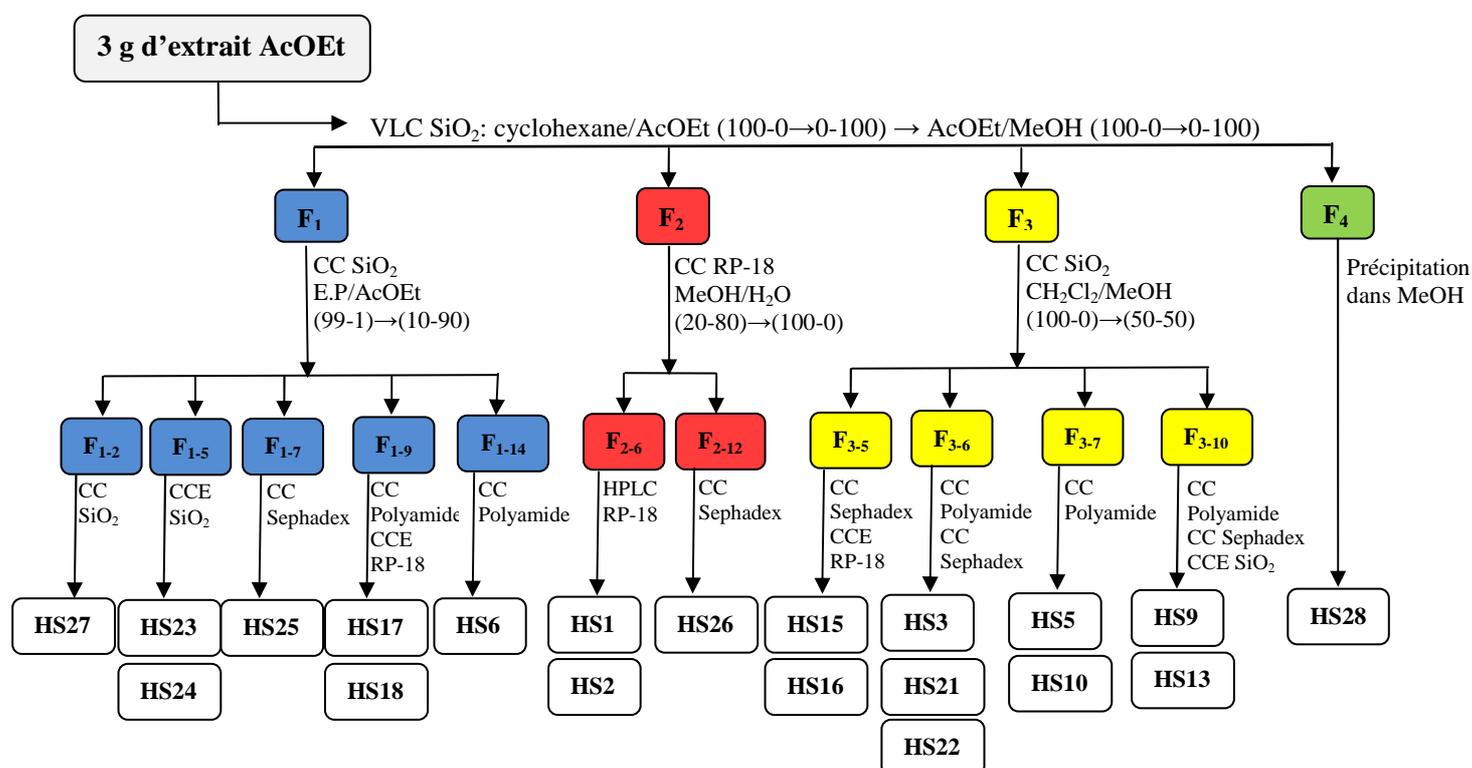


Figure I. 1. 2. 1. Séparation et purification de l'extrait AcOEt

◆ Extrait *n*-butanolique

La technique de chromatographie sur colonne ouverte est utilisée pour un fractionnement initial de 10 g de cet extrait en utilisant pour ce cas le polyamide comme phase stationnaire. L'élution a été menée par le mélange H₂O/MeOH (100-0)→(0-100). Ceci conduit à la formation de 10 fractions majoritaires (F₁ – F₁₀).

12 composés purs ont été isolés à partir des différentes fractions issues de cet extrait par l'emploi de divers procédés de séparation et purification (figure I. 1. 2. 2).

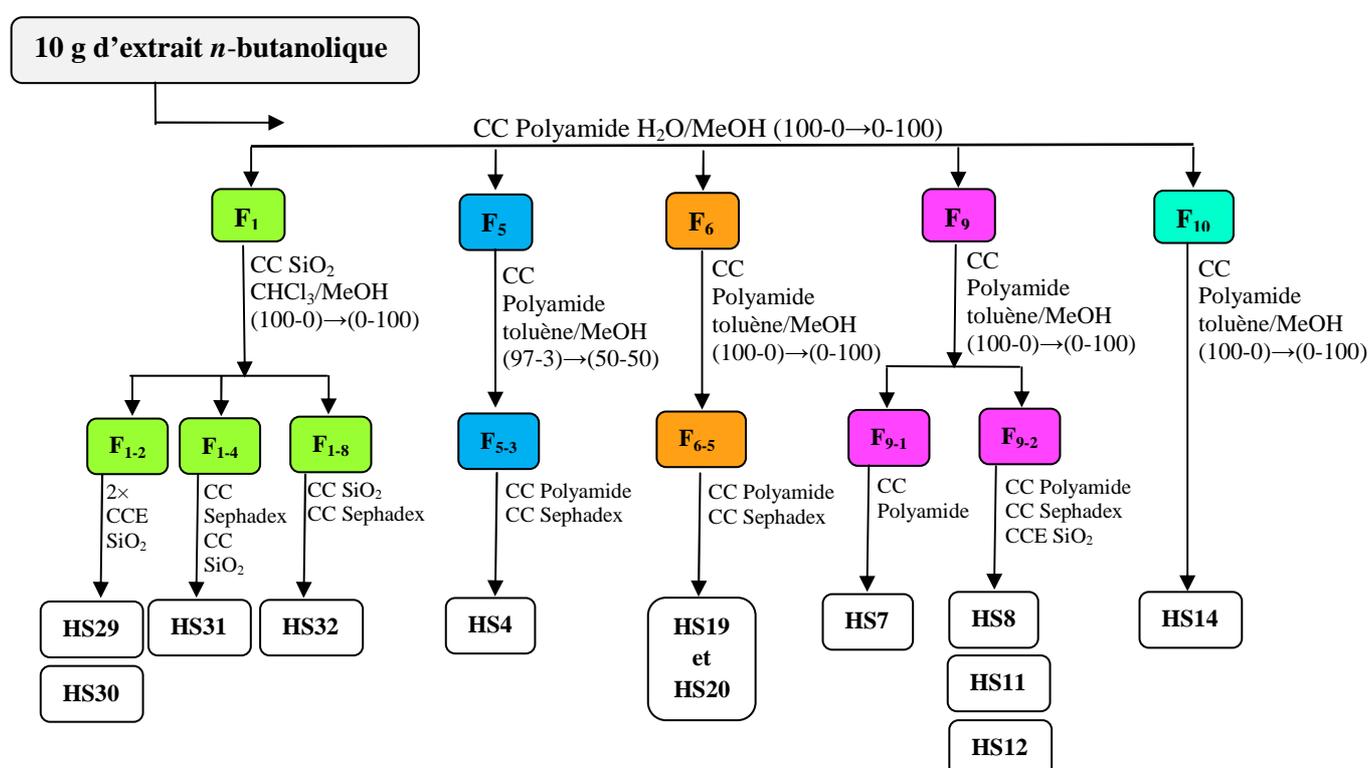
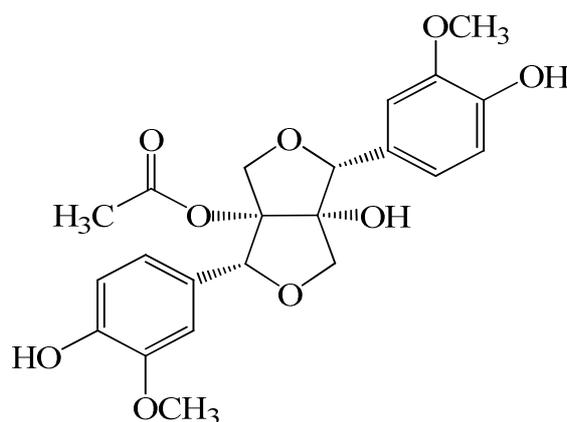


Figure I. 1. 2. 2. Séparation et purification de l'extrait *n*-butanolique

I. 1. 3. Identification structurale des composés isolés

L'identification structurale des composés isolés (1-32) a été réalisée en employant diverses méthodes d'analyse spectroscopiques : RMN ¹H, RMN ¹³C, DEPT, HSQC, COSY, TOCSY, HMBC, NOESY, ROESY, UV-VIS, IR, spectrométrie de masse ESI-MS et HR-ESI-MS et mesure du pouvoir rotatoire, ainsi que par comparaison avec les données de la littérature.

I. 1. 3. 1. Identification structurale du composé HS1

**1-O-acétyl prinsépiol**

Ce composé est obtenu sous forme d'une huile incolore, visible sur CCM à la lumière UV (254 et 366 nm). Il se colore en mauve après révélation à l'acide sulfurique et chauffage à 100 °C. Il s'agit d'un nouveau lignane dérivé du prinsépiol nommé : **1-O-acétyl prinsépiol**.

La mesure d'absorption UV-visible (figure I. 1. 3. 1. 1) du composé **HS1** a été réalisée en utilisant le MeOH comme solvant aux longueurs d'onde comprises entre 200 et 600 nm. Ce spectre montre un profil typique de composés phénoliques avec deux maxima d'absorption à 232 et 278 nm [202].

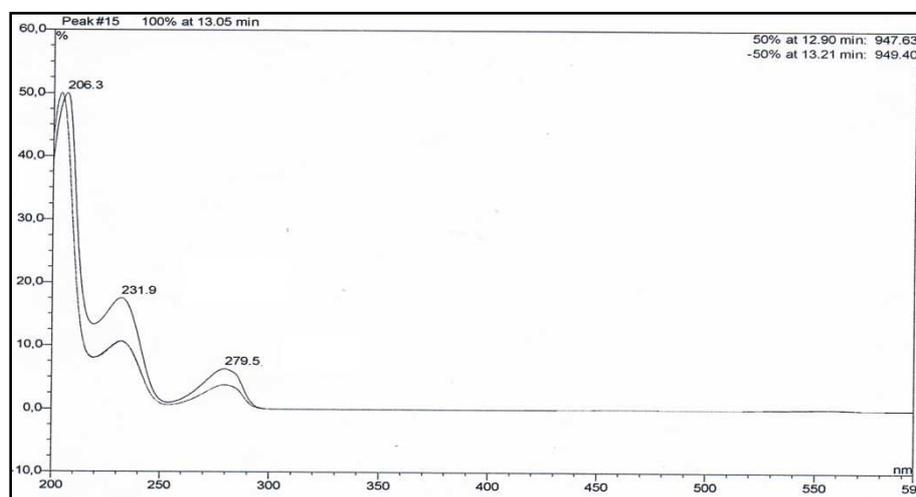


Figure I. 1. 3. 1. 1. Spectre UV-Vis du composé HS1

Le spectre IR (figure I. 1. 3. 1. 2) de ce composé révèle bien la présence de bandes de vibrations très caractéristiques de groupements aromatiques, à savoir les bandes d'élongation C=C du cycle à 1605, 1580 et 1515 cm^{-1} , ainsi que la bande d'élongation C-H aromatique à 3053 cm^{-1} . Les bandes de déformation ont été observées à 698 cm^{-1} (C=C hors du plan) et à 782 et 763 cm^{-1} (C-H hors du plan).

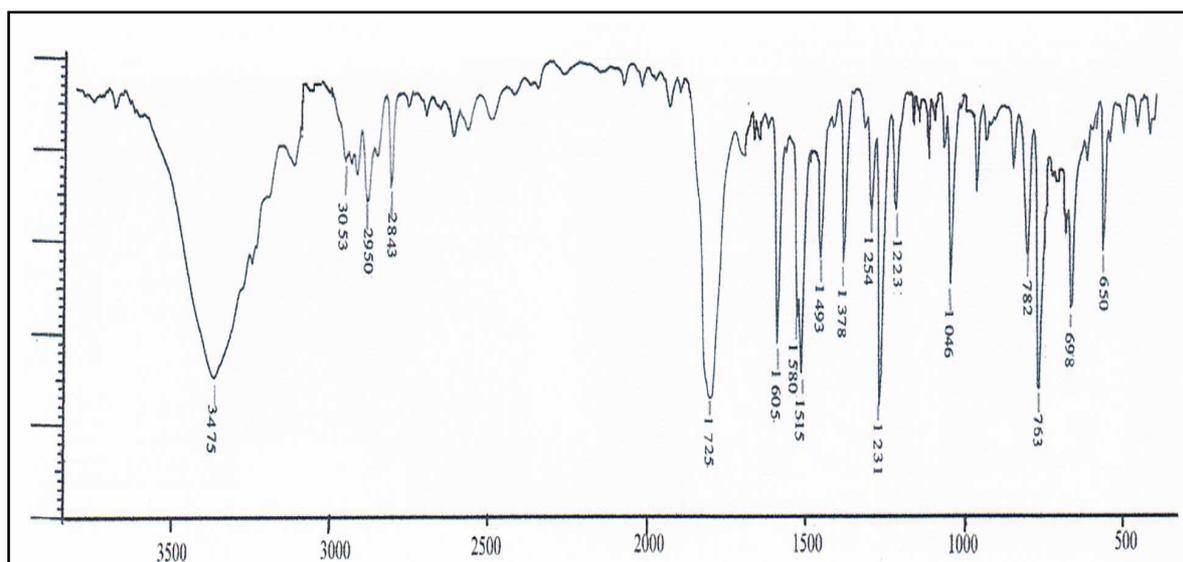


Figure I. 1. 3. 1. 2. Spectre IR du composé HS1

Ce spectre montre aussi d'autres bandes d'absorption correspondant aux vibrations d'élongation de groupes hydroxyles à savoir une large bande de liaisons hydrogènes intermoléculaires O-H à 3475 cm^{-1} et une bande fine à 1231 cm^{-1} correspondant à la liaison C-OH. La vibration de déformation O-H hors du plan apparaît à 650 cm^{-1} .

L'analyse de toutes ces bandes suggère la présence de groupes aromatiques et hydroxyles. En plus, le spectre IR indique l'existence de groupes alkyles par l'observation des bandes d'élongation des liaisons C-H à 2950 et 2843 cm^{-1} et des liaisons C-O-C asymétriques à 1254 cm^{-1} et symétriques à 1046 cm^{-1} .

Toutefois, le spectre IR du composé **HS1** présente une absorption à 1725 cm^{-1} qui peut être attribuée à une bande d'élongation d'une fonction carbonyle d'un groupement ester. Ceci est confirmé aussi par l'apparition d'une bande d'élongation de la liaison CO-O de l'acétate à 1223 cm^{-1} , ainsi que des bandes des liaisons C-H asymétriques et symétriques du groupement méthyle à 1493 et 1378 cm^{-1} respectivement [203].

Le spectre de masse obtenu par ionisation électrospray ESI-MS du composé **HS1** (figure I. 1. 3. 1. 3) conduit à la production d'ions chargés $[M+Na]^+$, $[M+K]^+$ et $[2M+Na]^+$, qui se traduisent sur ce spectre par trois pics d'ions pseudomoléculaires à $m/z = 455,2$, $471,2$ et $887,4$ respectivement permettant d'attribuer à ce composé une masse moléculaire $M = 432$ uma correspondant à une formule brute en $C_{22}H_{24}O_9$.

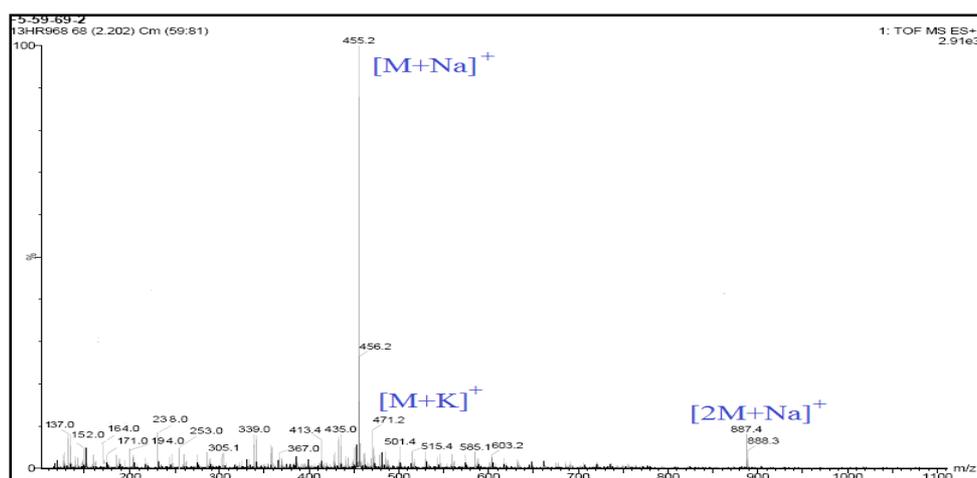


Figure I. 1. 3. 1. 3. Spectre de masse ESI-MS du composé HS1

Ces données sont renforcées par la masse calculée (cal. $C_{22}H_{24}O_9$ Na, $m/z = 455,1318$) obtenu à partir du spectre de masse effectué en haute résolution HR-ESI-MS (figure II. I. 8) qui indique un pic à $m/z = 455,1322$. La formule brute $C_{22}H_{24}O_9$ permet de compter 11 insaturations suggérant la présence au moins d'un groupement aromatique, ce qui est en accord avec les données fournies par les spectres IR et UV-Vis, plaidant en faveur d'une structure phénolique pour ce composé.

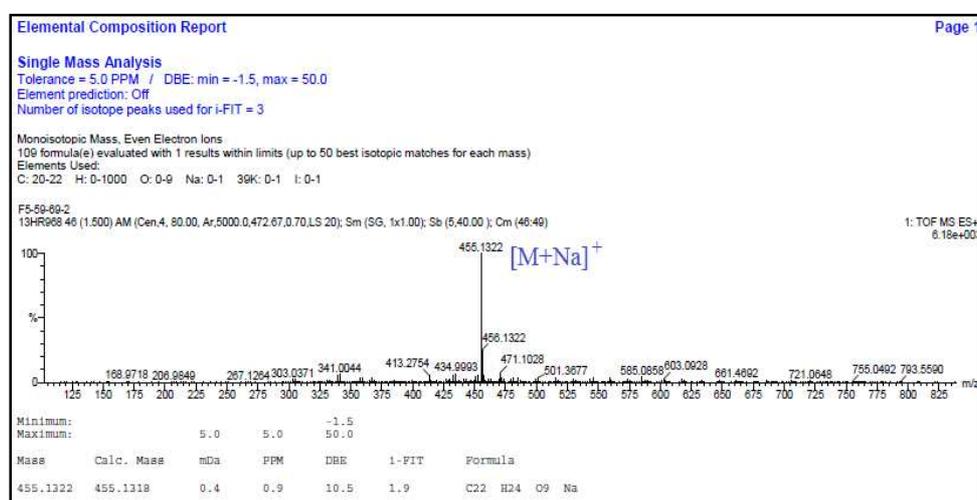


Figure I. 1. 3. 1. 4. Spectre de masse HR-ESI-MS du composé HS1

Les spectres RMN ^{13}C et 1H (figures I. 1. 3. 1. 5 et 6) du composé HS1 enregistrés à 600 MHz dans $CDCl_3$ montrent une série de signaux d'absorption représentant une vaste gamme de carbones et protons engagés dans différents environnements chimiques (aromatiques et aliphatiques).

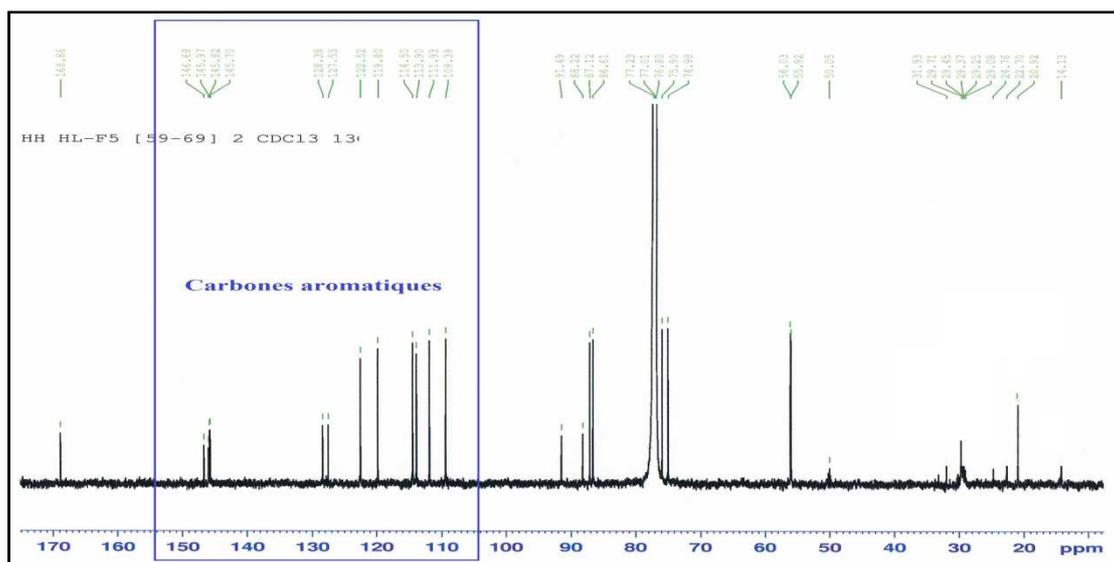


Figure I. 1. 3. 1. 5. Spectre RMN ^{13}C du composé HS1

Partant de la zone des protons aromatiques, allant de 6,85 jusqu'à 7,02 ppm, le spectre RMN ^1H (figure I. 1. 3. 1. 6) montre la présence de plusieurs signaux d'intégration 6H, avec des différentes constantes de couplage indiquant la présence de plus d'un groupement aromatique.

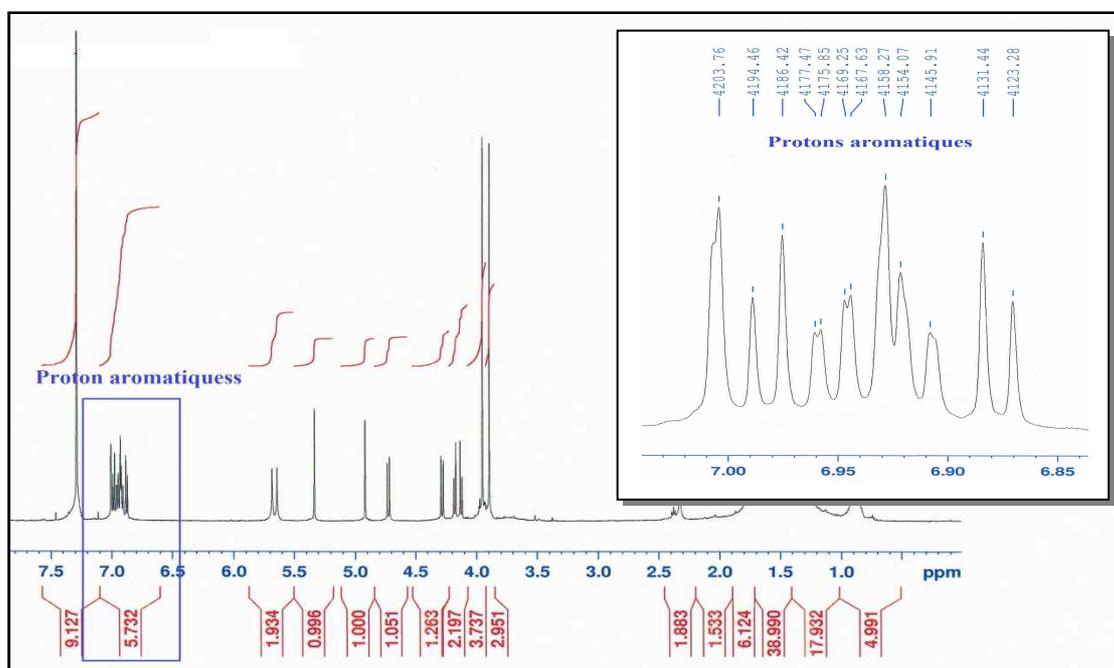


Figure I. 1. 3. 1. 6. Spectre RMN ^1H du composé HS1

L'analyse des spectres HSQC et RMN ^{13}C (figure I. 1. 3. 1. 7) révèle la présence de 12 carbones aromatiques divisés en 6 groupements CH résonant à (δ_{H} 7,00/ δ_{C} 111,9), (δ_{H} 6,98/ δ_{C} 114,5), (δ_{H} 6,95/ δ_{C} 122,5), (δ_{H} 6,93/ δ_{C} 109,3), (δ_{H} 6,91/ δ_{C} 119,8) et (δ_{H} 6,87/ δ_{C} 113,9), et 6 carbones quaternaires localisés à δ_{C} 146,6, 145,9, 145,8, 145,7, 128,3 et 127,5.

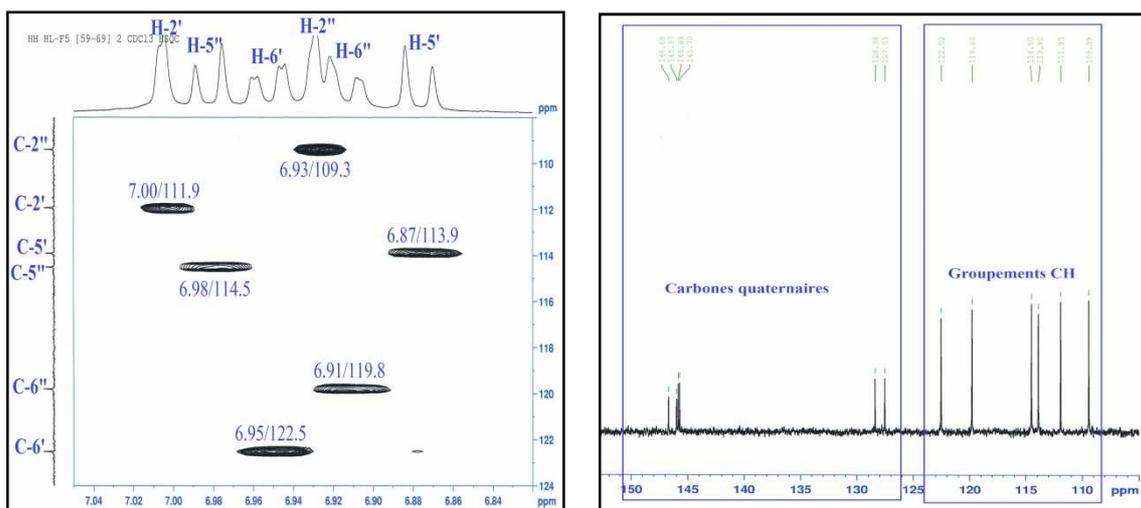


Figure I. 1. 3. 1. 7. Spectres HSQC et RMN ^{13}C de la partie aromatique du composé HS1

Cette répartition des carbones sp^2 permet d'obtenir le nombre de groupements aromatiques constituant la structure de **HS1** qui est composée de deux cycles notés A et B avec une présence de trois protons dans chaque cycle.

La multiplicité observée pour chaque proton aromatique sur le spectre RMN ^1H (figure I. 1. 3. 1. 8) et la mesure des constantes de couplage ont permis d'obtenir les protons des deux noyaux aromatiques. En effet, le doublet à 7,00 ppm avec $J = 1,6$ Hz correspond au proton H-2'. Ce dernier est couplé avec H-6' (6,95 ppm) qui est situé en position *méta* suite à sa multiplicité *dd* ($J = 8,2 - 1,6$ Hz). Cette dernière indique un autre couplage de H-6' avec un proton en position *ortho* qui est le H-5' (δ_{H} 6,87, *d*, $J = 8,2$ Hz). De la même manière, l'attribution des protons du deuxième cycle aromatique cycle B a été faite comme suit : H-2'' à 6,39 ppm (*d*, $J = 1,5$ Hz), H-6'' à 6,91 ppm (*d*, $J = 8,1 - 1,5$ Hz) et H-5'' à 6,98 ppm (*d*, $J = 8,1$ Hz).

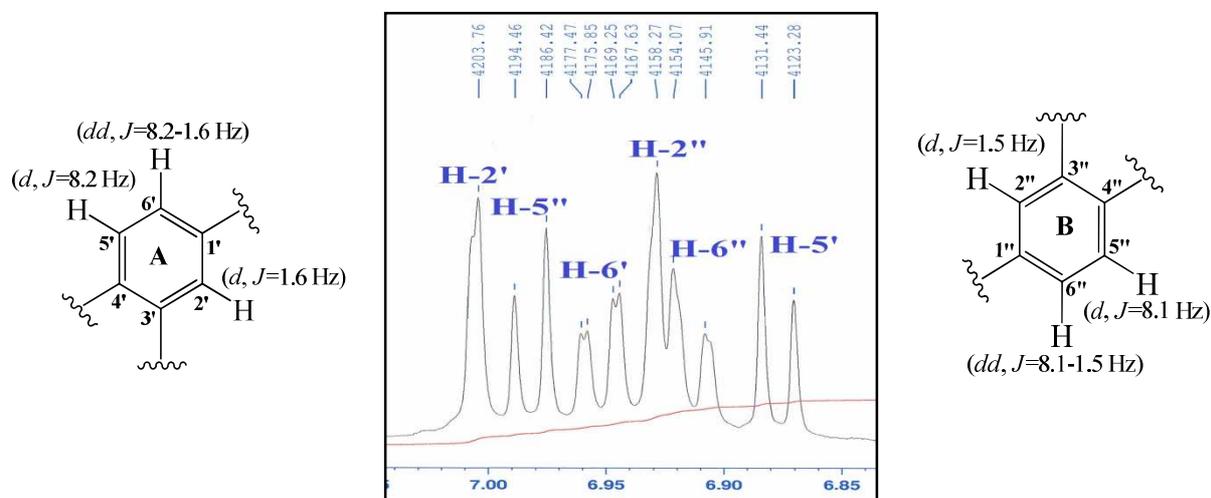


Figure I. 1. 3. 1. 8. Spectre RMN ^1H des protons aromatiques du composé HS1

La valeur du rapport $\Delta\nu/J$, calculée à partir du spectre RMN ^1H pour les deux protons résonant à δ_{H} 6,95 (H-6') et 6,87 (H-5') attribués au cycle A, ainsi que les protons à δ_{H} 6,91 (H-6'') et 6,98 (H-5'') du cycle B, est inférieure à 8. Ceci indique un couplage fort entre ces protons et suggère la présence d'un système AB. Les derniers protons (H-2' et H-2'') pour chaque cycle, sont considérés comme faiblement couplés avec un rapport supérieur à 8 d'un système AX. A partir de ce résonnement et utilisant la notation de Pople [204], les systèmes de spins résultant sont désignés par ABX.

Le spectre COSY H-H (figure I. 1. 3. 1. 9) confirme la position de ces protons par les corrélations qu'il révèle entre les protons couplés H-5'/H-6' et H-5''/H-6'' pour les deux cycles A et B.

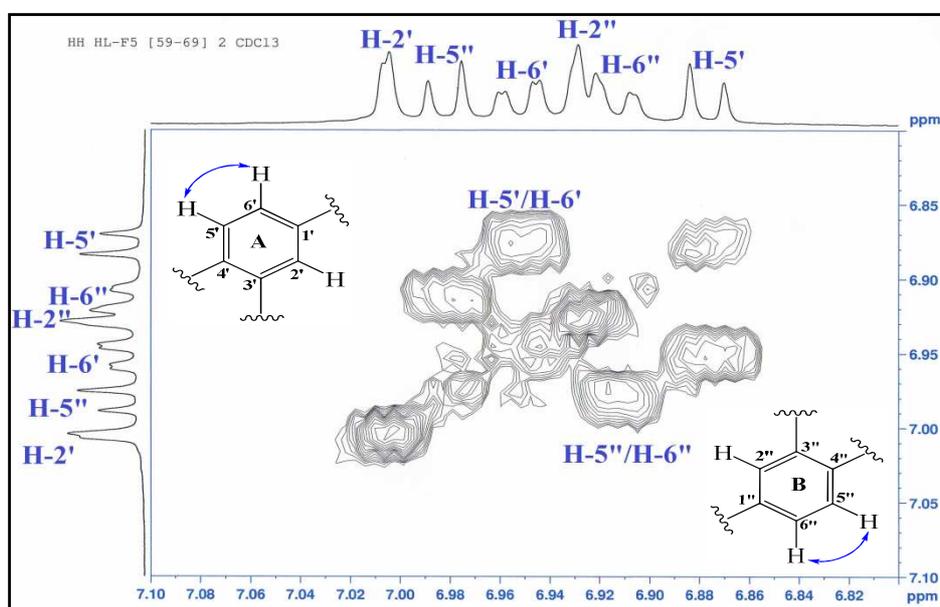


Figure I. 1. 3. 1. 9. Spectre COSY H-H des protons aromatiques du composé HS1

Partant de ces protons, l'expérience HSQC permet d'assigner leurs déplacements chimiques comme suit : H-2'/C-2' à (δ_{H} 7,00/ δ_{C} 111,9), H-5'/C-5' à (δ_{H} 6,87/ δ_{C} 113,9), H-6'/C-6' à (δ_{H} 6,95/ δ_{C} 122,5), H-2''/C-2'' à (δ_{H} 6,93/ δ_{C} 109,3), H-5''/C-5'' à (δ_{H} 6,98/ δ_{C} 114,5) et H-6''/C-6'' à (δ_{H} 6,91/ δ_{C} 119,8).

A partir de ces données, l'analyse du spectre HMBC conduit à attribuer les carbones quaternaires des cycles A et B à travers les corrélations en 3J qu'ils présentent (figures I. 1. 3. 1. 10 et 11) entre :

❖ Pour le cycle A :

- Le proton H-2' et les carbones C-4' (δ_{C} 145,7) et C-6' déjà identifié.
- Le proton H-5' et les carbones C-1' (δ_{C} 128,3) et C-3' (δ_{C} 145,9).
- Le proton H-6' et les carbones C-2' et C-4'.

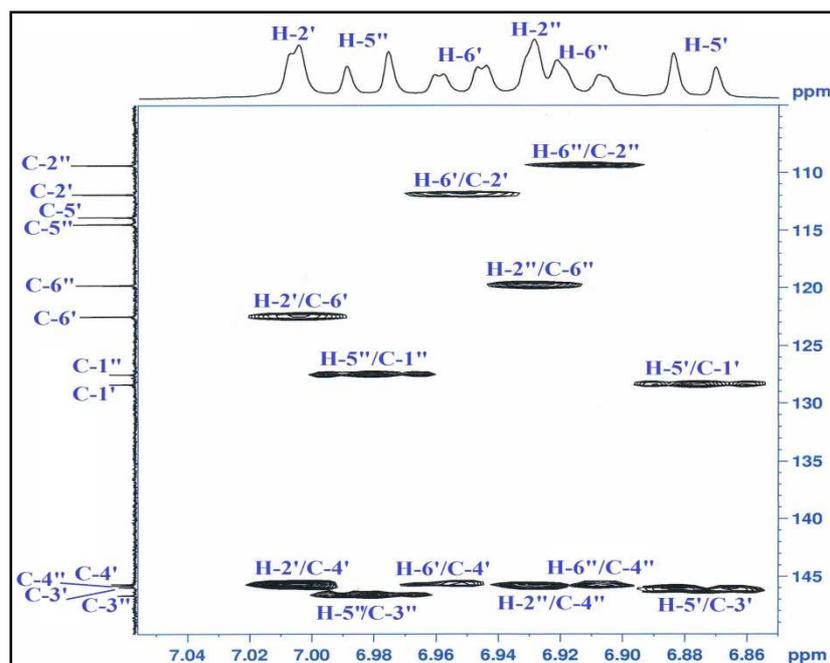


Figure I. 1. 3. 1. 10. Spectre HMBC des cycles A et B du composé HS1

❖ Pour le cycle B :

- Le proton H-2'' et les carbones C-4'' (δ_C 145,8) et C-6'' connu.
- Le proton H-5'' et les carbones C-1'' (δ_C 127,5) et C-3'' (δ_C 146,6).
- Le proton H-6'' et les carbones C-2'' et C-4''.

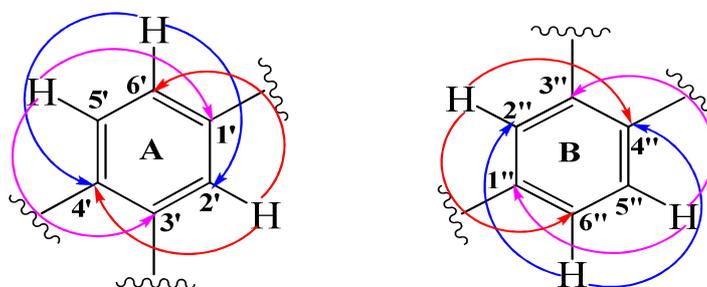


Figure I. 1. 3. 1. 11. Corrélations HMBC des protons aromatiques au niveau des cycles A et B du composé HS1

Cette analyse nous a permis d'identifier les deux groupements aromatiques du composé HS1 comme étant le 1,3,4-trisubstitué phényle. L'identification de leurs substituants a débuté par l'interprétation du spectre RMN ^{13}C (figure I. 1. 3. 1. 12), qui montre un déblindage des carbones C-3' (δ_C 145,9), C-4' (δ_C 145,7), C-3'' (δ_C 146,6) et C-4'' (δ_C 145,8) en comparaison avec les valeurs des autres carbones de ces deux cycles. Ce qui indique la présence de substituants électronégatifs.

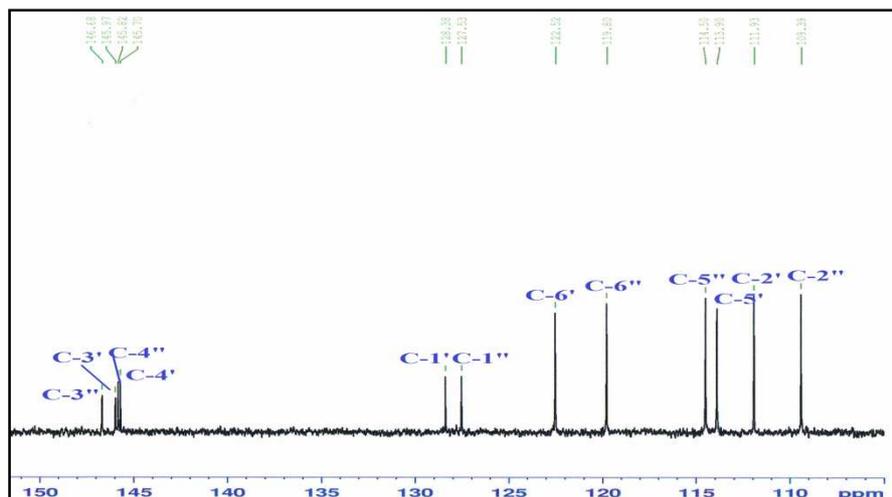


Figure I. 1. 3. 1. 12. Spectre RMN ^{13}C des cycles aromatiques du composé HS1

D'autre part, le spectre RMN ^1H (figure I. 1. 3. 1. 13) montrant deux singulets larges résonant à 5,68 et 5,64 ppm et ne présentant aucune corrélation sur le spectre HSQC, sont attribués à des protons hydroxyliques [205].

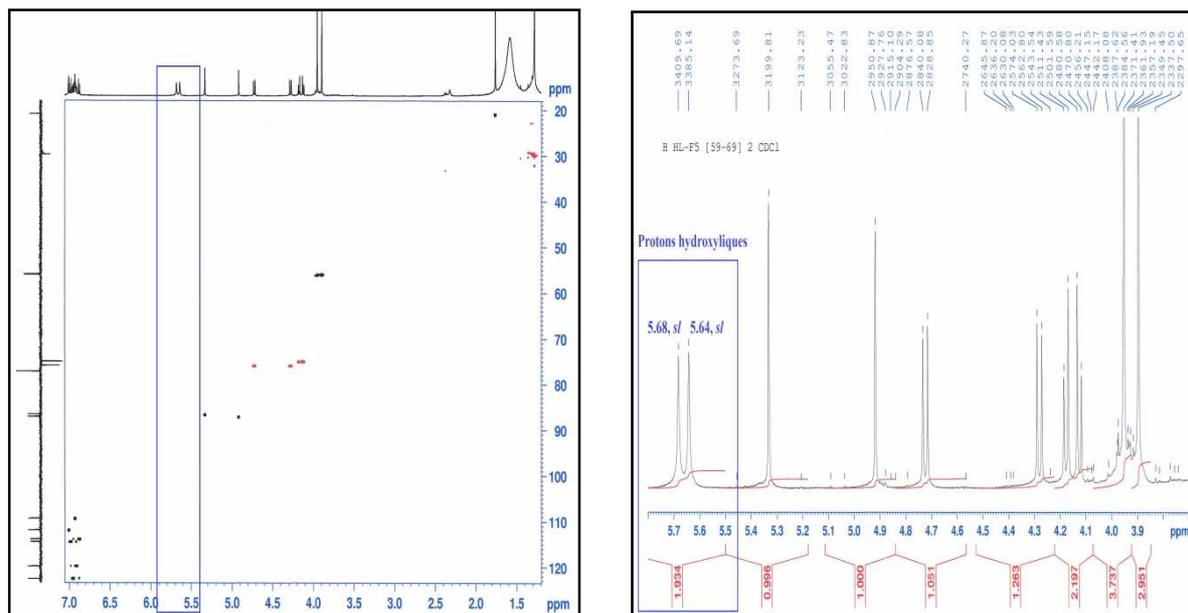


Figure I. 1. 3. 1. 13. Spectres HSQC et RMN ^1H montrant les hydroxyliques du composé HS1

Le proton hydroxyle qui résonne à 5,64 ppm montre des couplages sur le spectre HMBC (figure I. 1. 3. 1. 14) avec les carbones du cycle A : C-3', C-5' et le carbone quaternaire C-4'. Ces corrélations indiquent l'attachement de ce groupe hydroxylique à ce dernier carbone (C-4'). La position en C-4'' de l'hydroxyle du cycle B est aussi clairement démontrée par les couplages en HMBC du deuxième proton hydroxylique résonant à 5,68 ppm avec les carbones C-4'', C-5'' et C-3''.

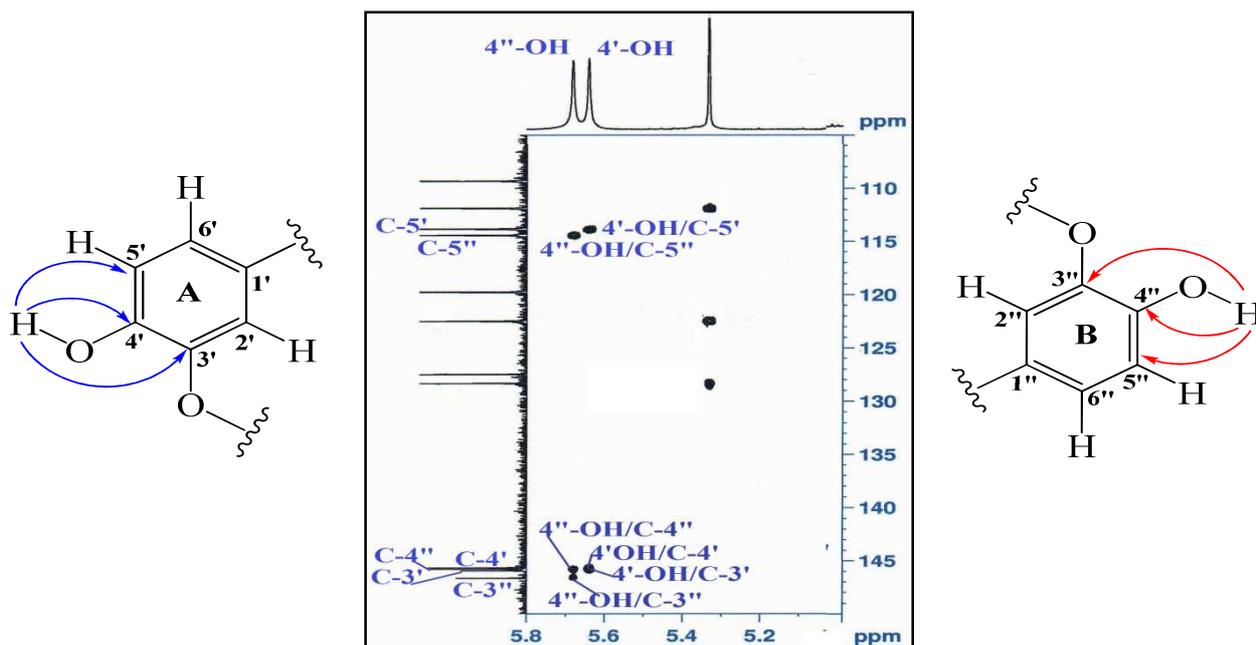


Figure I. 1. 3. 1. 14. Spectre HMBC des protons hydroxyliques du composé HS1

Par ailleurs, les deux singulets, d'intégration 3H chacun, sortant à 3,89 et 3,94 ppm sur le spectre RMN ^1H et formant des taches de corrélation sur le spectre HSQC (figure I. 1. 3. 1. 15) avec les carbones résonant à 55,9 et 56,0 ppm respectivement, sont attribués aux protons méthoxyliques.

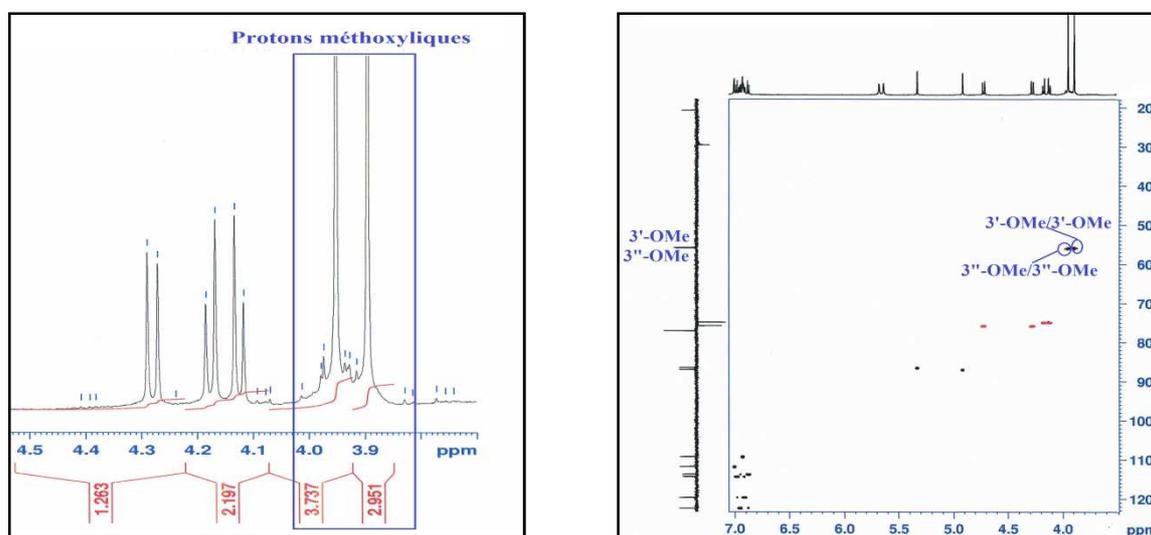


Figure I. 1. 3. 1. 15. Spectres RMN ^1H et HSQC exhibant des protons méthoxyliques du composé HS1

Ces attributions sont supportées par les corrélations observées sur le spectre HMBC (figure I. 1. 3. 1. 16) avec les carbones quaternaires déblindés : C-3' (δ_{C} 145,9) pour les protons résonant à δ_{H} 3,89 et C-3'' (δ_{C} 146,6) pour les protons détectés à 3,94 ppm.

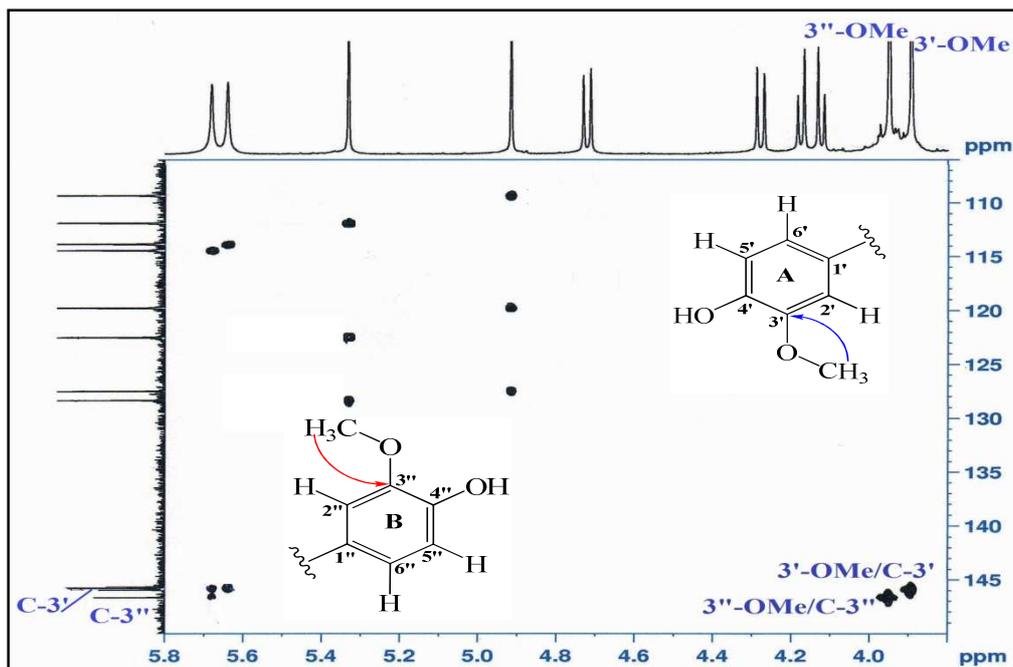


Figure I. 1. 3. 1. 16. Spectre HMBC des protons méthoxyliques du composé HS1

La position de ces deux groupements méthoxyles est confirmée une seconde fois par l'analyse du spectre NOESY (figure I. 1. 3. 1. 17), qui montre des couplages dipolaires entre les protons du méthoxyle 3'-OCH₃ et le proton H-2' du cycle A et entre les protons du deuxième méthoxyle 3''-OCH₃ et le proton H-2'' du cycle B.

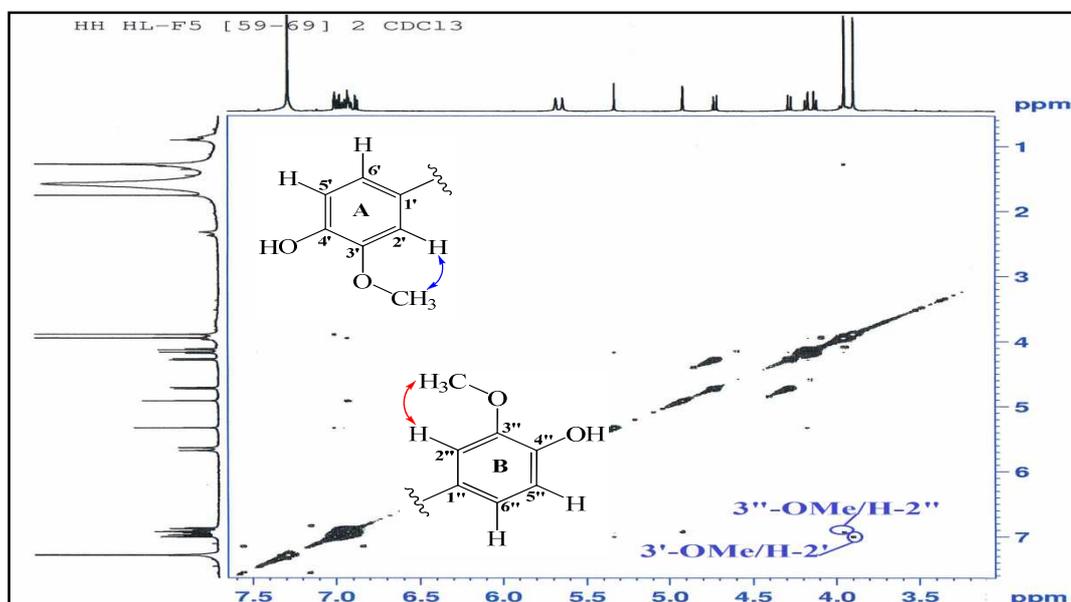


Figure I. 1. 3. 1. 17. Spectre NOESY des protons méthoxyliques du composé HS1

A l'issue de ces résultats spectraux, les deux groupements aromatiques A et B (figure I. 1. 3. 1. 18) du composé **HS1** sont identifiés au 4-hydroxy-3-méthoxyphényle.

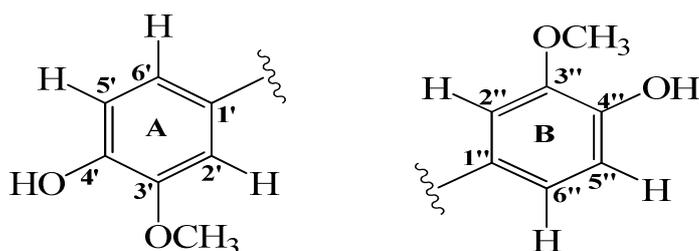


Figure I. 1. 3. 1. 18. Fragment 4-hydroxy-3-méthoxyphényle des cycles A et B du composé HS1

En plus des éléments structuraux identifiés précédemment, le spectre RMN ^1H (figure I. 1. 3. 1. 19) révèle la présence de six signaux s'intégrant 1H chacun, quatre sous forme de doublet sortant à δ_{H} 4,72, 4,28, 4,17 et 4,12, et deux sous forme de singulet localisés à 5,33 et 4,92 ppm.

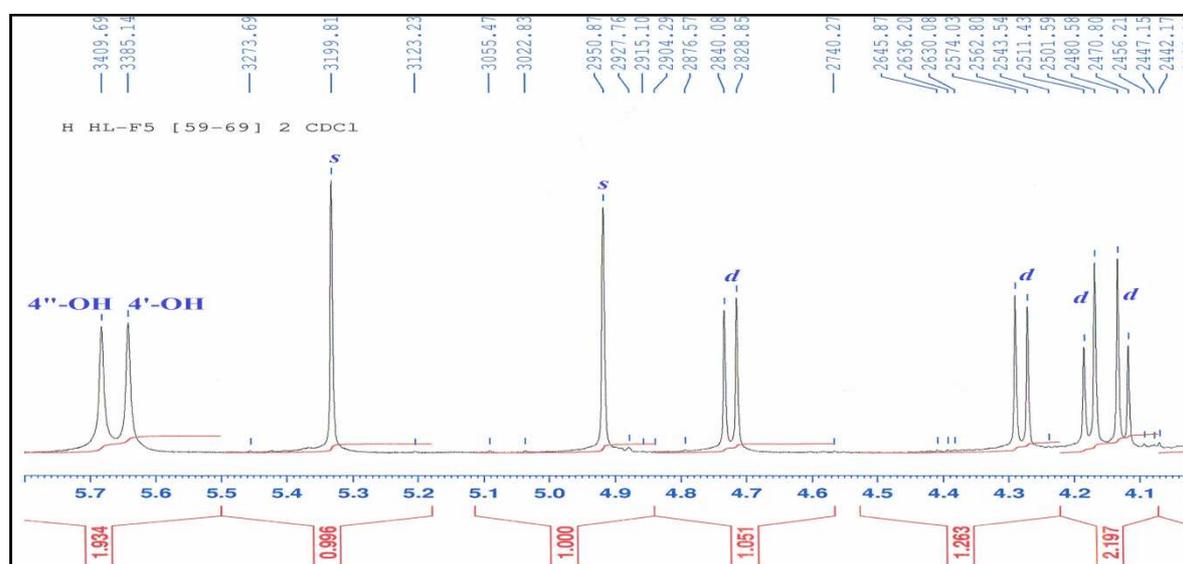


Figure I. 1. 3. 1. 19. Spectre RMN ^1H (4,1 à 5,7 ppm) du composé HS1

Ces valeurs de déplacements chimiques indiquent que ces protons sont engagés dans des environnements chimiques différents, ce qui se traduit par des absorptions relativement éloignées pour chaque proton sur le spectre RMN ^1H .

L'attachement de ces protons à leurs carbones sur le spectre HSQC (figure I. 1. 3. 1. 20) permet la formation de deux groupements méthines (δ_{H} 5,33/ δ_{C} 86,6) et (δ_{H} 4,92/ δ_{C} 87,1) et deux méthylènes (δ_{H} 4,17 et 4,12, δ_{C} 74,9) et (δ_{H} 4,72 et 4,28, δ_{C} 75,9). Les déplacements chimiques de ces carbones et protons impliquent que ces groupements sont porteurs d'oxygène.

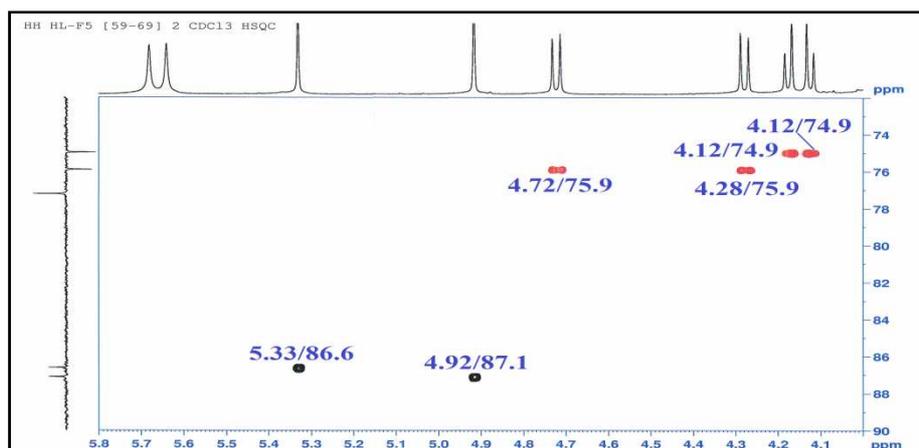


Figure I. 1. 3. 1. 20. Spectre HSQC (4,1 à 5,8 ppm) du composé HS1

Le spectre HMBC montre des corrélations H/C en 3J (figures I. 1. 3. 1. 21 et 22) conduisant à la formation d'un squelette de type furofurane à travers les couplages des protons oxyméthines :

- H-2 (δ_H 5,33, *s*) et les carbones C-4 (δ_C 74,9), C-5 et C-8 (δ_C 75,9).
- H-6 (δ_H 4,92, *s*) et les carbones C-1, C-4 et C-8.

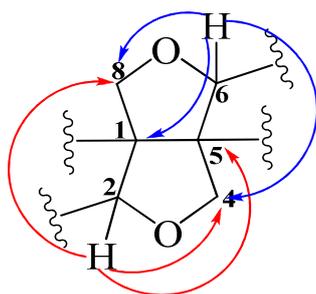


Figure I. 1. 3. 1. 21. Corrélations HMBC des protons oxyméthines du composé HS1

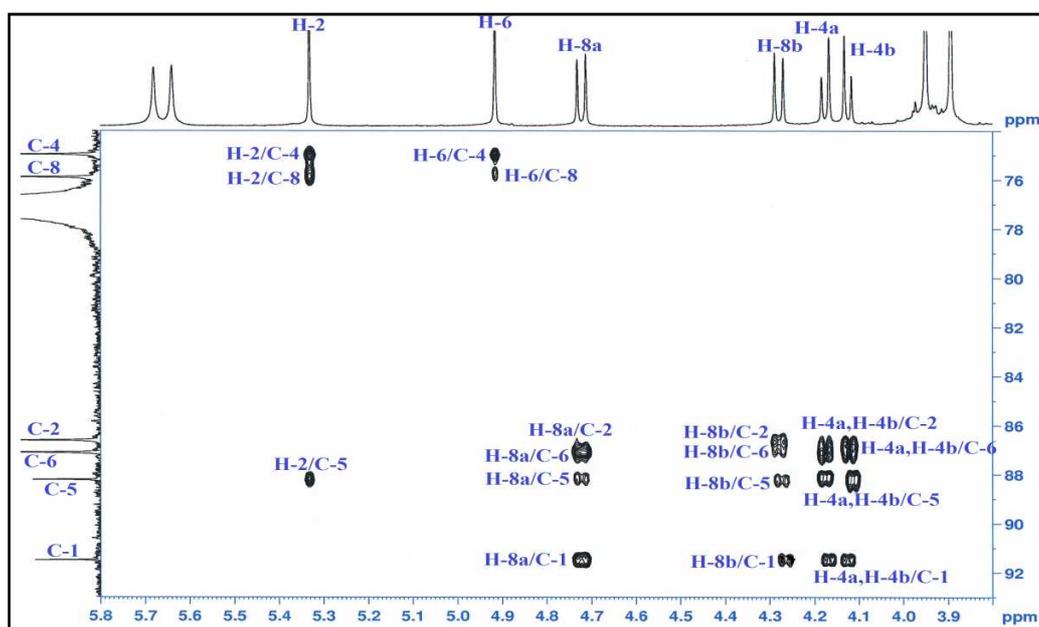


Figure I. 1. 3. 1. 22. Spectre HMBC (3,9 à 5,8 ppm) du composé HS1

La présence de ce squelette est confirmée par les corrélations en 2J et 3J (figure I. 1. 3. 1. 22 et 23) détectées entre les protons oxyméthylènes [H-4a (δ_H 4,17) et H-4b (δ_H 4,12)] et [H-8a (δ_H 4,72) et H-8b (δ_H 4,28)] et les carbones C-1 (δ_C 91,4), C-2 (δ_C 86,6), C-5 (δ_C 88,2) et C-6 (δ_C 87,1) [206].

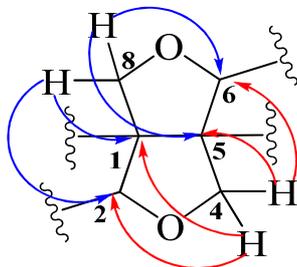


Figure I. 1. 3. 1. 23. Corrélations HMBC des protons oxyméthylènes du composé HS1

Par ailleurs, le spectre COSY H-H (figure I. 1. 3. 1. 24) montre les corrélations attendues entre les protons géminés de groupement oxyméthylènes H-4a (δ_H 4,17, d , $J = 9,8$ Hz) et H-4b (δ_H 4,12, d , $J = 9,7$ Hz), ainsi qu'entre les protons H-8a (δ_H 4,72, d , $J = 11,2$ Hz) et H-8b (δ_H 4,28, d , $J = 11,2$ Hz).

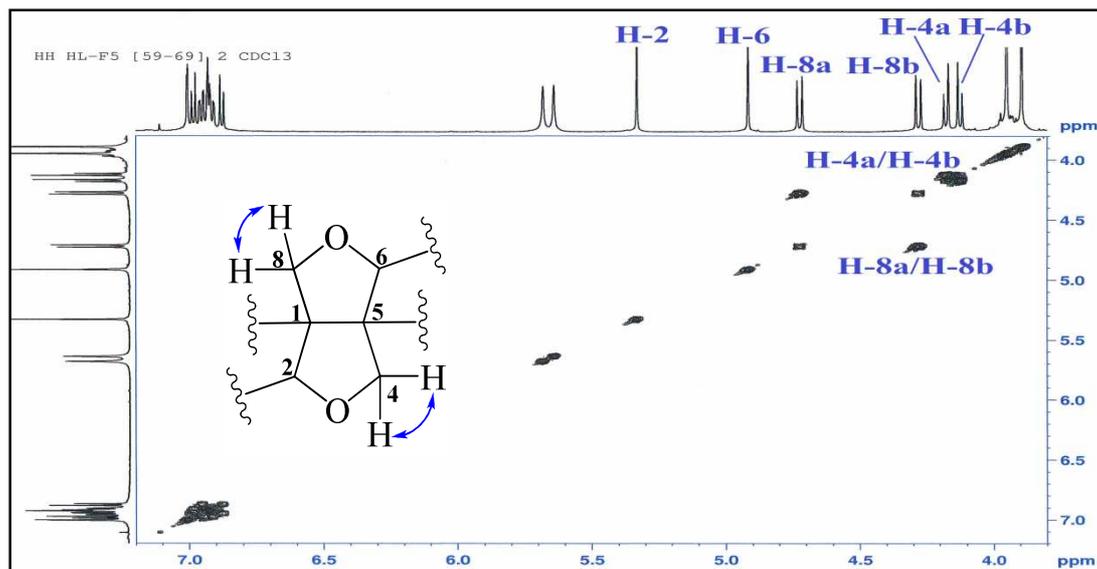


Figure I. 1. 3. 1. 24. Spectre COSY H-H des protons oxyméthylènes du composé HS1

A partir de toutes ces constatations, la partie centrale de la structure de ce composé est identifiée sans aucun doute comme étant un dérivé du squelette furofuranique (figure I. 1. 3. 1. 25).

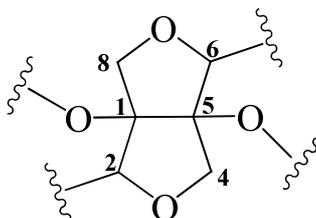


Figure I. 1. 3. 1. 25. Squelette furofuranique du composé HS1

A cette étape de l'élucidation structurale du composé **HS1**, il ne nous reste qu'à identifier les substituants attachés à ce squelette furanofuranique.

Le spectre HMBC (figure I. 1. 3. 1. 26) montre bien la connectivité entre le cycle A (en position 1') et le carbone C-2 par la corrélation observée entre le proton oxyméthine H-2 et les carbones aromatiques C-1', C-2' et C-6'. De même pour le cycle B, il est visualisé également des couplages entre le deuxième proton oxyméthine H-6 et le carbone quaternaire C-1'' et les carbones méthines C-2'' et C-6''.

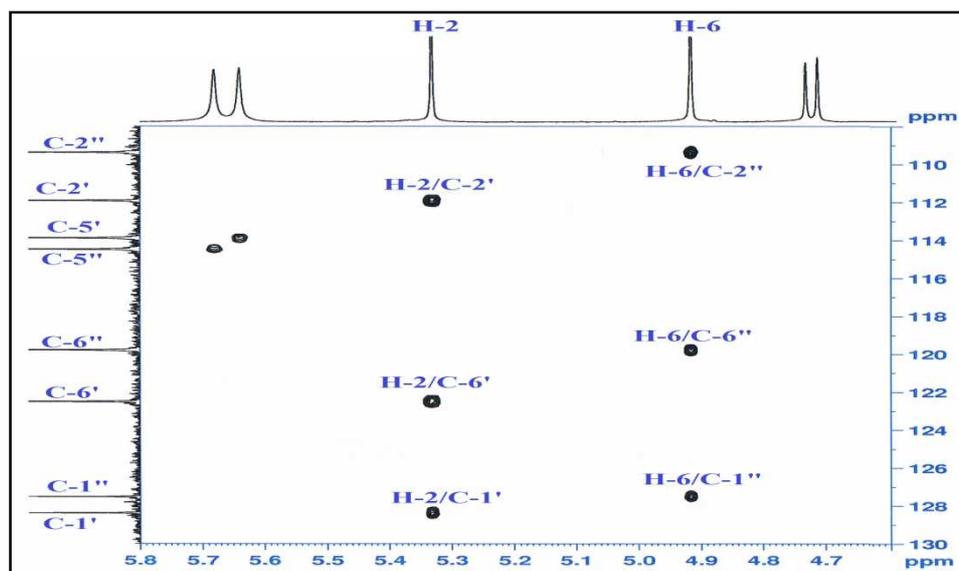


Figure I. 1. 3. 1. 26. Spectre HMBC montrant les points de jonction des cycles A et B au squelette furanofuranique du composé **HS1**

Ces connectivités (figure I. 1. 3. 1. 27) mettent en évidence l'appartenance du composé **HS1** à la classe des lignanes et plus précisément celle de type prinsépiol [207].

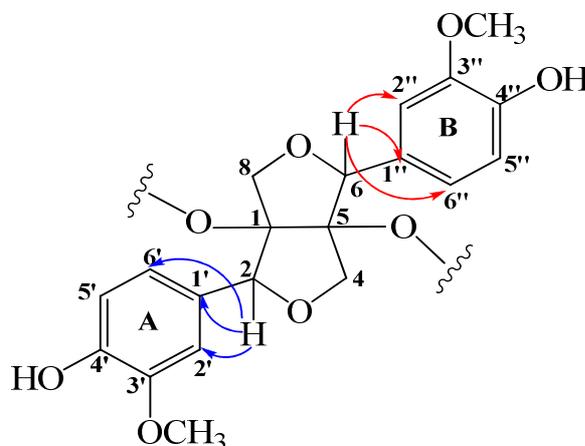


Figure I. 1. 3. 1. 27. Corrélations HMBC montrant les points de jonction des cycles A et B du composé **HS1**

Il reste maintenant à déterminer la nature des substituants liés aux carbones chiraux C-1 et C-5. A cet effet, l'analyse du spectre RMN ^1H montre la présence d'un signal singulet d'intégration 3H, résonant à 1,54 ppm correspondant aux protons d'un groupement méthyle. Leur carbone est repéré à 20,9 ppm selon l'expérience HSQC. Les protons de ce groupement présentent sur le spectre HMBC (figure I. 1. 3. 1. 28) une corrélation avec un carbone résonant à 168,8 ppm, attribué à un carbonyle d'un groupement acétate considéré comme le premier substituant [202]. Ce groupement a été déjà signalé par analyse IR.

En tenant compte de la masse moléculaire de ce composé égale à 432 uma et les unités structurales déjà identifiées, le deuxième substituant est déterminé comme étant un groupement hydroxyle.

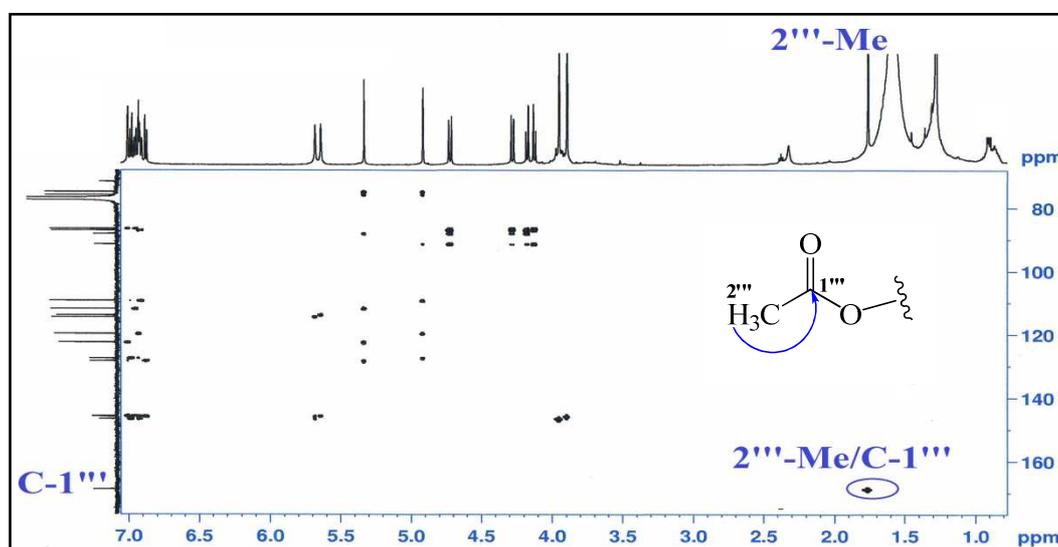


Figure I. 1. 3. 1. 28. Spectre HMBC du composé HS1

Une simple comparaison des déplacements chimiques des carbones C-1 (91,4 ppm) et C-5 (88,2 ppm) du squelette furofurannique avec ceux cités dans la littérature pour ce type de lignane [202, 208] suggère l'attachement du groupement acétate en position C-1. En conséquence le groupement hydroxyle est lié au carbone C-5 (figure I. 1. 3. 1. 29).

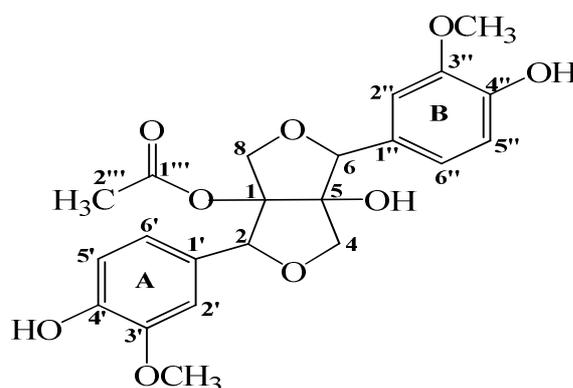


Figure I. 1. 3. 1. 29. Attachement des substituants en C-1 et C-5

Ces attributions sont supportées également par la différence des valeurs de déplacements chimiques (figure I. 1. 3. 1. 30) des carbones des cycles aromatiques C-1' (128,3 ppm) et C-1'' (127,5 ppm) blindé de (0,8 ppm) par rapport au carbone C-1' ; ceci est dû à l'effet γ blindant du groupement hydroxyle lié au carbone C-5 (figure I. 1. 3. 1. 31) [202].

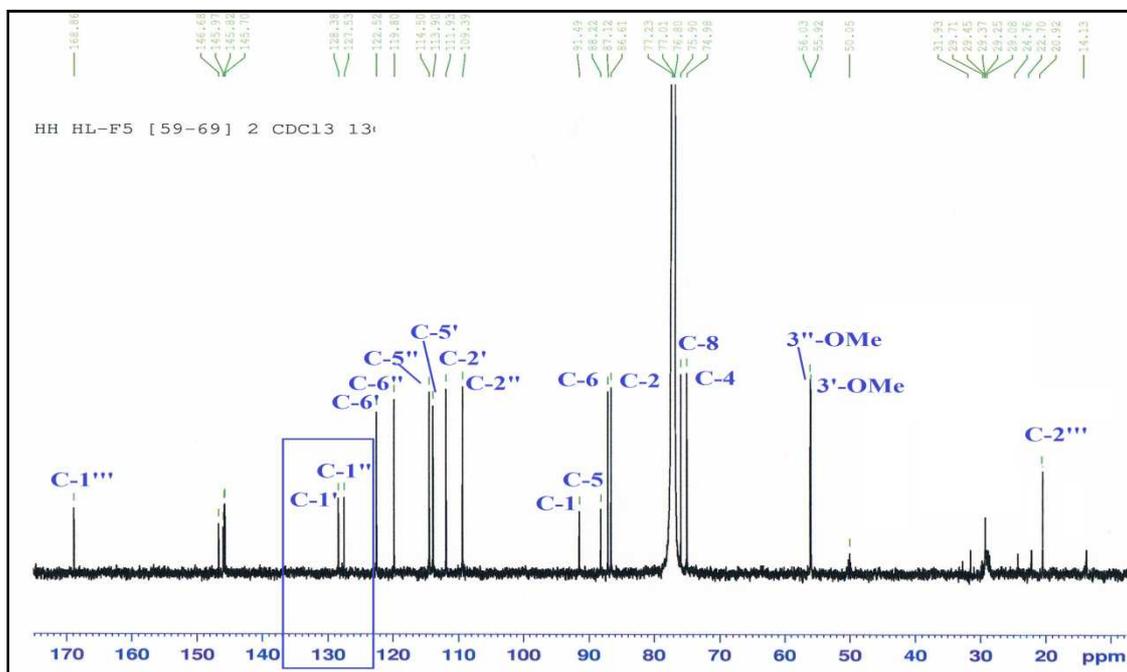


Figure I. 1. 3. 1. 30. Spectre RMN ^{13}C du composé HS1

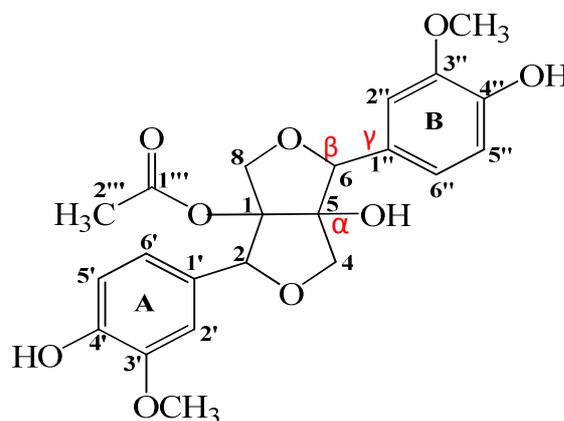


Figure I. 1. 3. 1. 31. Structure plane du composé HS1

Ces données complètent les attributions déjà faites des carbones et protons du composé **HS1**. Il s'agit d'un dérivé nouveau acétylé du prinsépiol.

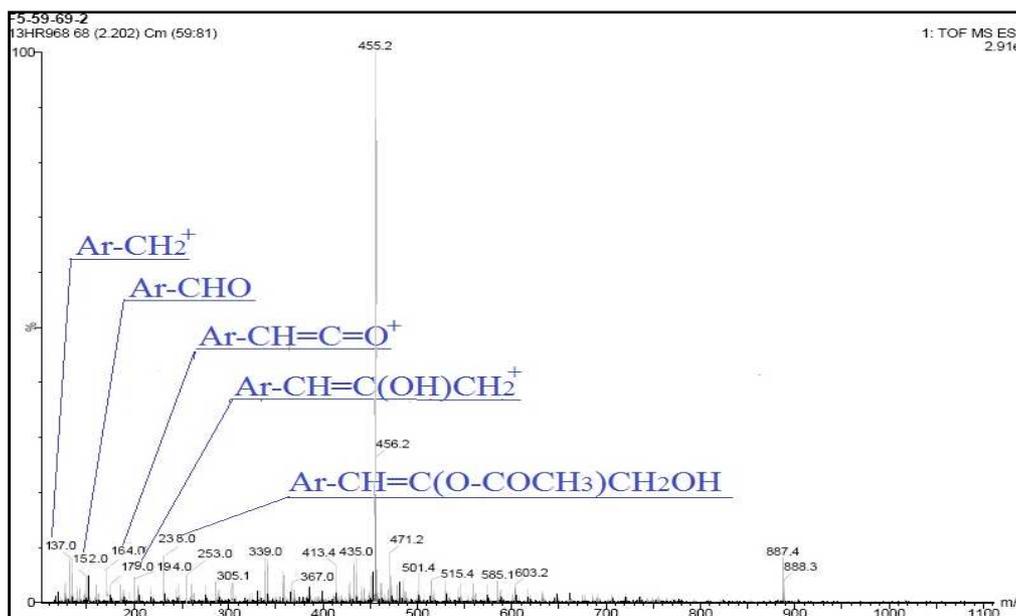


Figure I. 1. 3. 1. 32. Spectre de masse ESI-MS du composé HS1

La structure plane proposée pour ce composé est confirmée par l'analyse des fragments obtenus à partir du spectre ESI-MS (figure I. 1. 3. 1. 32) où il montre deux pics à m/z égal à 137 et 152 dus aux fragments Ar-CH_2^+ et Ar-CHO^+ respectivement (figure I. 1. 3. 1. 33).

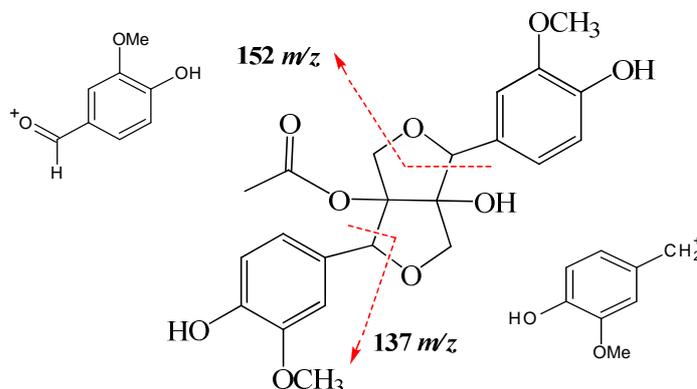


Figure I. 1. 3. 1. 33. Fragments obtenus à partir du spectre ESI-MS du composé HS1

Deux autres types d'ions fragments observés dans la plupart des lignanes décrits dans la littérature [208, 209] résultent du clivage des liaisons du groupement furofurane pour donner des pics à $m/z = 179$ et 164 correspondant aux fragmentations Ar-CH=C(OH)CH_2^+ et Ar-CH=C=O^+ respectivement comme présenté sur la figure I. 1. 3. 1. 34.

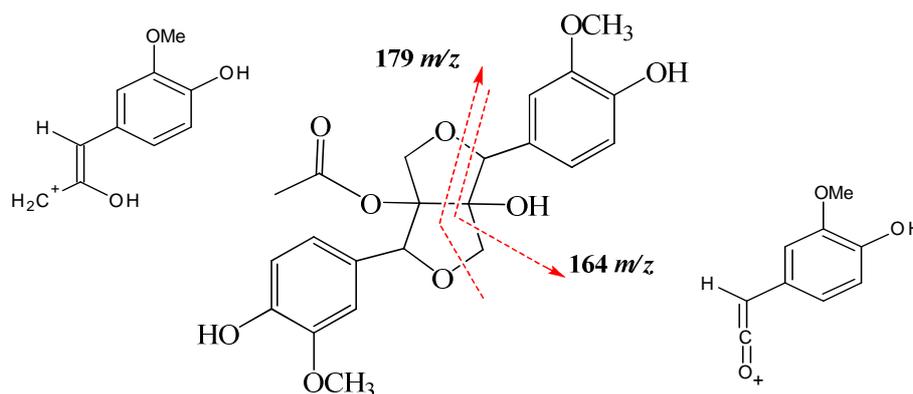


Figure I. 1. 3. 1. 34. Fragments obtenus à partir du spectre ESI-MS du composé HS1

Le groupement le plus important dans ce composé, qui induit la nouveauté dans cette structure, apparaît à $m/z = 238$ ($\text{Ar-CH=C(O-COCH}_3\text{)CH}_2\text{OH}^+$) (figure I. 1. 3. 1. 35).

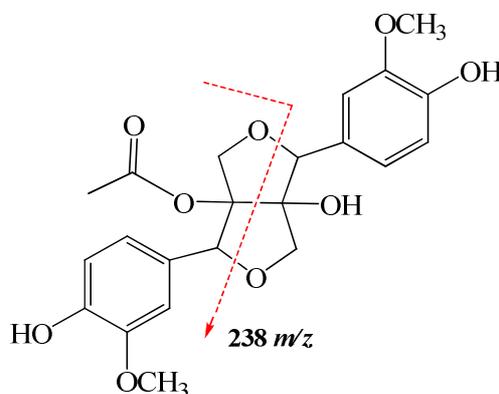


Figure I. 1. 3. 1. 35. Fragment obtenu à partir du spectre ESI-MS du composé HS1

Les études stéréochimiques effectuées sur ce type de lignanes indiquent que la jonction entre les deux cycles oxolanes du furofurane est toujours d'une configuration *cis* avec une conformation enveloppe pour chaque cycle [202, 207]. Cette stéréochimie donne lieu à un squelette furofurannique d'une conformation chaise/bateau (figure I. 1. 3. 1. 36) dont les deux atomes d'oxygène sont posés l'un contre l'autre avec une configuration *endo/exo* [210]. En conséquence, les deux substituants aux points de jonction des cycles oxolanes (C-1 et C-5) sont toujours sur la même face [211-213].

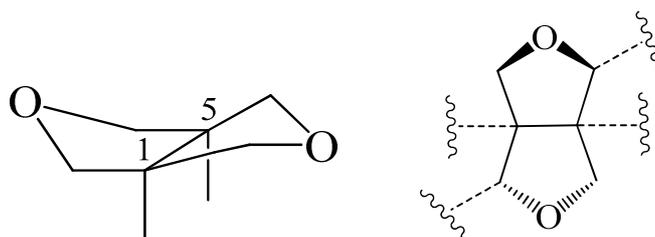


Figure I. 1. 3. 1. 36. Jonction des cycles oxolanes du squelette furofurannique du composé HS1

A partir de ces données et la mesure du pouvoir rotatoire de ce composé ($[\alpha]_D = -20.5$, $c = 0.275$, AcOEt) comparée au prinsépiol ($[\alpha]_D = -18.4$) [208] permettent d'assigner l'appartenance de ces deux composés à la même série stéréochimique où les deux substituants en positions C-1 et C-5 sont α -orientés.

L'utilisation des principes d'anisotropie diamagnétique permet de préciser dans quelle face s'orientent les autres substituants du squelette furofuranique. En effet, le blindage des protons méthyliques H-2''' (1,54 ppm) du groupement acétate (α -orienté) dû à l'effet de courant du cycle aromatique A indique une orientation α -pseudo-équatoriale du noyau aromatique A. Par conséquent, le proton oxyméthine H-2 (5,33 ppm) est β -orienté (figure I. 1. 3. 1. 37) [208].

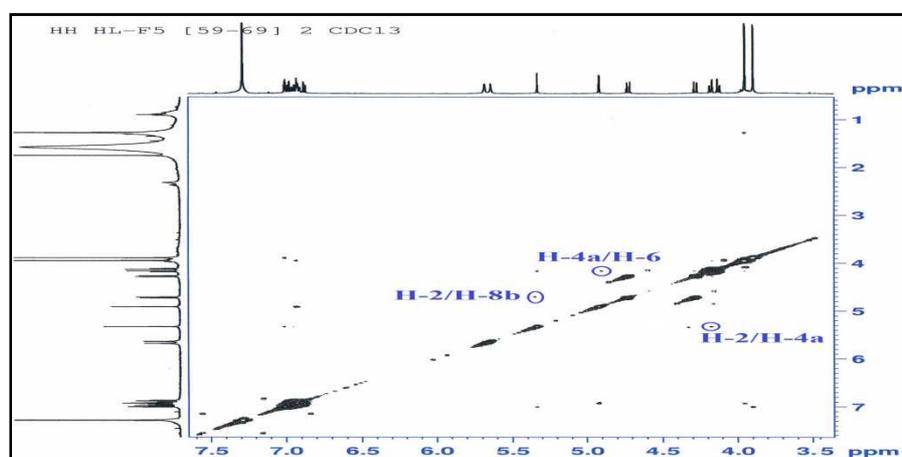


Figure I. 1. 3. 1. 37. Spectre NOESY composé HS1

D'autre part, le spectre NOESY (figure I. 1. 3. 1. 37) montre clairement les effets NOE entre le proton H-2 β et les protons méthyléniques H-4a (4,17 ppm) et H-8b (4,28 ppm), comme il permet de visualiser aussi une corrélation entre le proton H-4a et le proton oxyméthine H-6 (4,92 ppm) indiquant une orientation β pour tous ces protons (figure I. 1. 3. 1. 38).

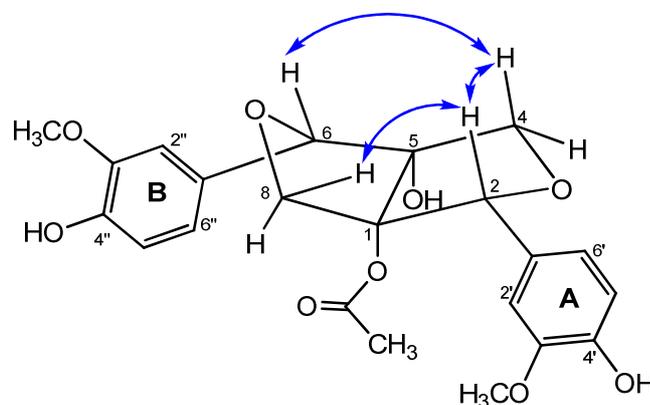


Figure I. 1. 3. 1. 38. Corrélations NOESY des protons oxyméthylènes et oxyméthines du composé HS1

Ces arguments se trouvent renforcés par le déblindage observé pour les protons H-2 β (5,33 ppm) et H-6 β (4,92 ppm) par comparaison avec les déplacements chimiques cités dans la littérature pour les mêmes protons des dérivés du prinsépiol ayant des groupements aryles β -axial orientés [213, 214]. Ce déblindage est expliqué par un raisonnement similaire utilisant les effets du courant des cycles aromatiques A et B dont les protons H-2 β et H-6 β sont situés dans les lignes de forces magnétiques induites déblindantes du cycle A (pour H-2 β) et du cycle B (pour H-6 β) [208].

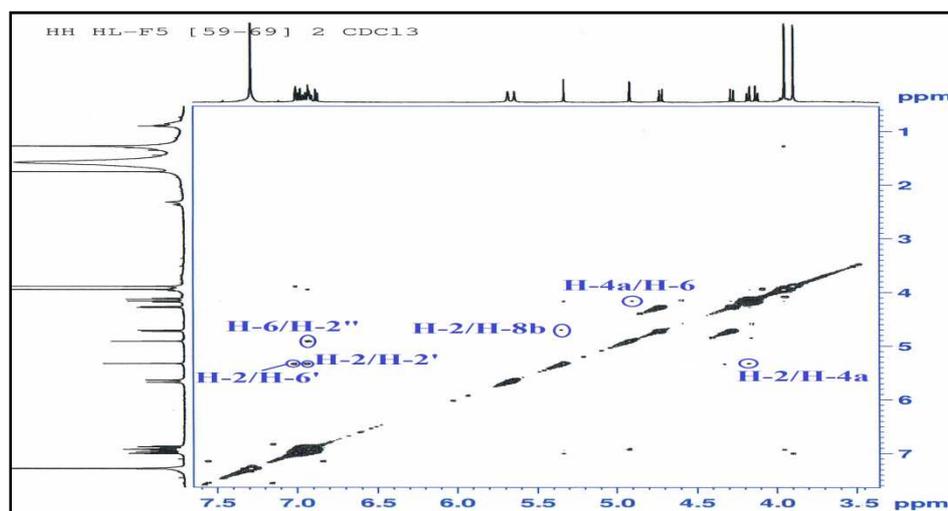


Figure I. 1. 3. 1. 39. Spectre NOESY (3,5 à 7,5 ppm) du composé HS1

En conséquence, la configuration des quatres carbones chiraux de ce composé est établie comme étant 1*S*, 2*R*, 5*S* et 6*R*.

D'autres effets NOSEY (figure I. 1. 3. 1. 39) sont observés entre le proton oxyméthine H-2 β et les protons aromatique H-2' et H-6', de même qu'entre le proton H-6 et le proton H-2'' du cycle B (figure I. 1. 3. 1. 40).

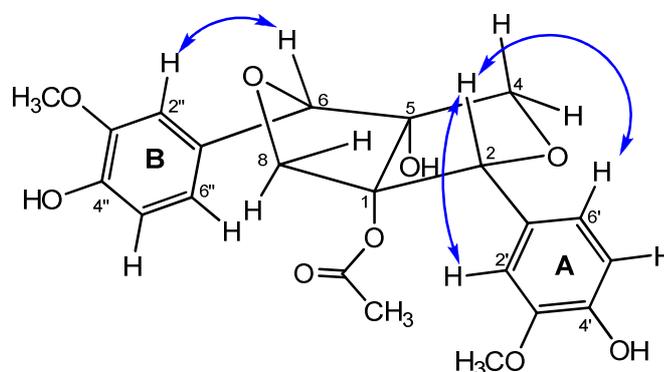


Figure I. 1. 3. 1. 40. Corrélations NOESY des protons oxyméthylènes et aromatiques du composé HS1

Le déblindage remarqué du proton H-8 α (4,72 ppm) par rapport aux autres protons méthyléniques H-8 β (2,28 ppm), H-4 β (4,17 ppm) et H-4 α (4,12 ppm) est dû à l'orientation

α -axial du groupement acétate où le proton H-8 α se trouve dans la zone conique déblindante du carbonyle du groupement acétate.

L'ensemble des données spectrales accumulées, en plus de la valeur du pouvoir rotatoire ($[\alpha]_D = -20.5$, $c = 0.275$, AcOEt) permettent d'assigner pour le composé **HS1** la nouvelle structure : 1*S*-acétoxy-5*S*-hydroxy-2*R*,6*R*-di(4-hydroxy-3-méthoxyphényl)-3,7-dioxabicyclo[3.3.0]octane nommé **1-O-acétyl prinsépiol** (figure I. 1. 3. 1. 41).

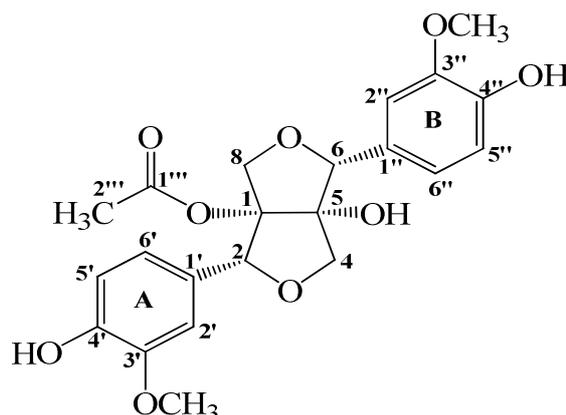


Figure I. 1. 3. 1. 41. Structure du composé **HS1** (1-O-acétyl prinsépiol)

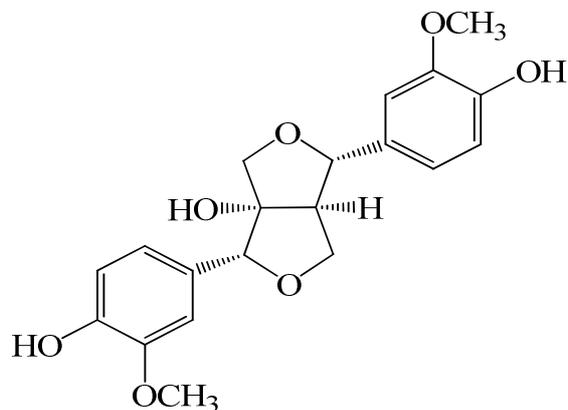
Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé **HS1** sont rassemblés dans le tableau I. 1. 3. 1.

Tableau I. 1. 3. 1. Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé **HS1** enregistrés dans CDCl_3

HS1		
Position	δ_{H}, m, J	δ_{C}
1	-	91,4
2	5,33 (1H, <i>s</i> , H-2 β)	86,6
4a	4,17 (1H, <i>d</i> , $J = 9,8$, H-4 α)	74,9
4b	4,12 (1H, <i>d</i> , $J = 9,7$, H-4 β)	
5	-	88,2
6	4,92 (1H, <i>s</i> , H-6 β)	87,1
8a	4,72 (1H, <i>d</i> , $J = 11,2$, H-8 α)	75,9
8b	4,28 (1H, <i>d</i> , $J = 11,2$, H-8 β)	
1'	-	128,3
1''	-	127,5
2'	7,00 (1H, <i>d</i> , $J = 1,6$)	111,9
2''	6,93 (1H, <i>d</i> , $J = 1,5$)	109,3
3'	-	145,9
3''	-	146,6
4'	-	145,7
4''	-	145,8
5'	6,87 (1H, <i>d</i> , $J = 8,2$)	113,9
5''	6,98 (1H, <i>d</i> , $J = 8,1$)	114,5
6'	6,95 (1H, <i>dd</i> , $J = 8,2-1,6$)	122,5
6''	6,91 (1H, <i>dd</i> , $J = 8,1-1,5$)	119,8
3'-OMe	3,89 (3H, <i>s</i>)	55,9
3''-OMe	3,94 (3H, <i>s</i>)	56,0

Position	δ_{H}, m, J	δ_{C}
4'-OH	5,64 (1H, <i>sl</i>)	-
4''-OH	5,68 (1H, <i>sl</i>)	-
1'''	-	168,8
2'''	1,54 (3H, <i>s</i>)	20,9

I. 1. 3. 2. Identification structurale du composé HS2



1 α -hydroxypinorésinol

Le composé **HS2** purifié aussi sous forme d'une huile incolore, est visible sous la lumière UV à 254 et 366 nm. Il donne une tache mauve sur CCM après révélation à l'acide sulfurique et chauffage à 100 °C.

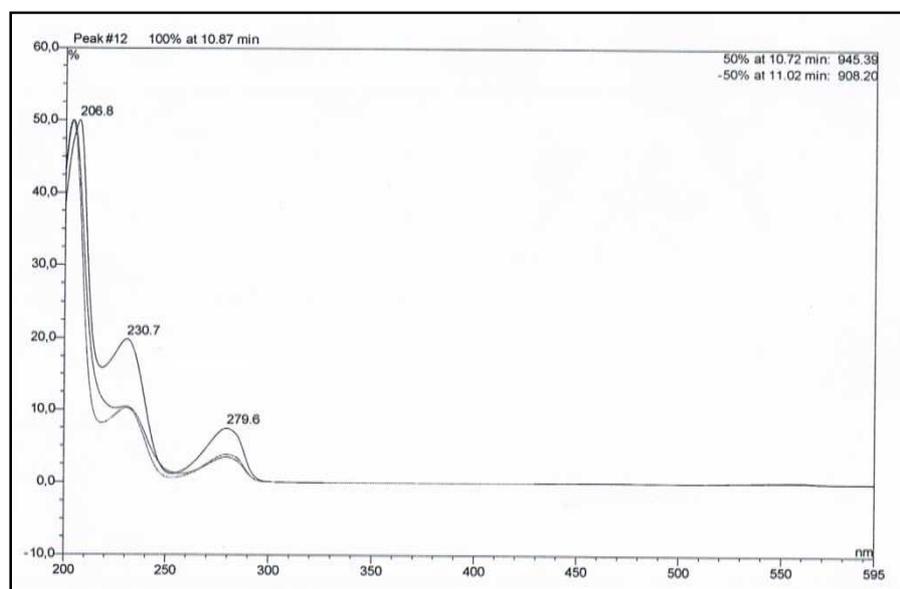


Figure I. 1. 3. 2. 1. Spectre UV du composé HS2

Le spectre UV-Visible (figure I. 1. 3. 2. 1) de ce composé révèle la présence de deux maxima d'absorption à 232 et 278 nm, similaires à celles observées pour le composé **HS1** décrit précédemment provenant des transitions électroniques des groupes phénoliques [215].

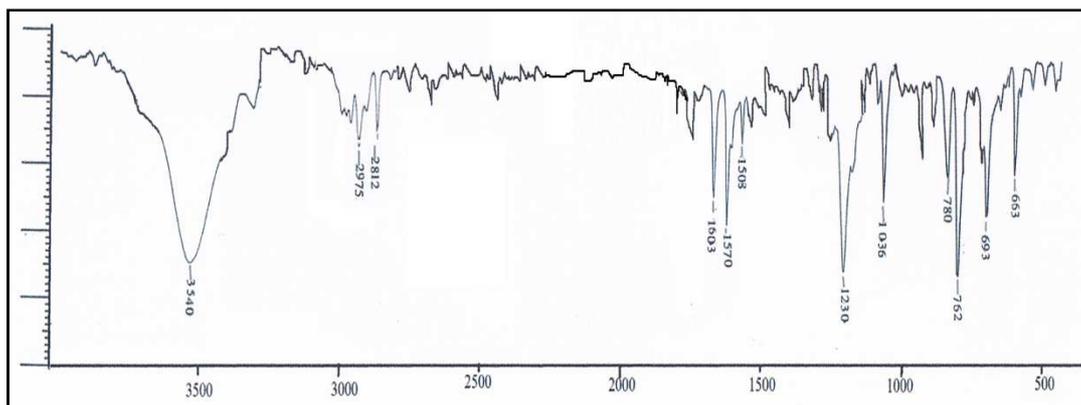


Figure I. 1. 3. 2. 2. Spectre IR du composé HS2

Cette similitude est remarquée aussi sur le spectre IR (figure I. 1. 3. 2. 2) qui montre des bandes à 1603, 1570 et 1508 cm^{-1} suggérant la présence de groupements phénoliques, comme il exhibe une large bande à 3540 cm^{-1} attribuée aux groupements hydroxyles. Ainsi, des bandes d'absorption ont été observées à 2975 et 2812 cm^{-1} caractéristiques des vibrations d'élongation C-H de méthines, méthylènes et méthyles. La localisation des bandes à 1230 et 1036 cm^{-1} est en faveur de vibrations C-O-Me asymétriques et symétriques respectivement [216].

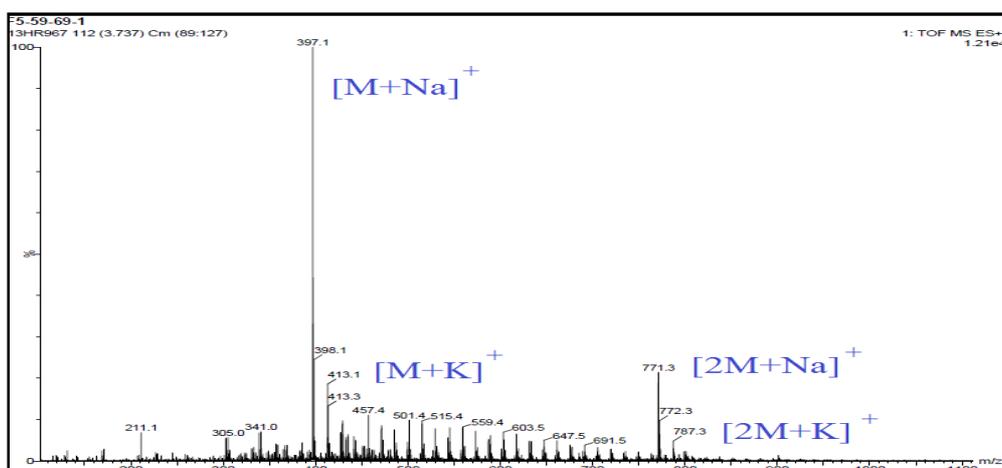


Figure I. 1. 3. 2. 3. Spectre de masse ESI-MS du composé HS2

D'une part, le spectre de masse ESI-MS (figure I. 1. 3. 2. 3) révèle la présence des pics d'ions pseudomoléculaires $[\text{M}+\text{Na}]^+$ à $m/z = 397,1$; $[\text{M}+\text{K}]^+$ à $m/z = 413,1$; $[2\text{M}+\text{Na}]^+$ à $m/z = 771,3$ et $[2\text{M}+\text{K}]^+$ à $m/z = 787,3$ indiquant une masse moléculaire égale à 374 u correspondant à une formule brute en $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_7$.

D'autre part, le spectre de masse HR-ESI-MS (figure I. 1. 3. 2. 4) montre aussi un pic d'ion pseudomoléculaire à $m/z = 397,1257$ pour une masse moléculaire calculée valant 397,1263, en accord avec une formule brute en $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_7\text{Na}$.

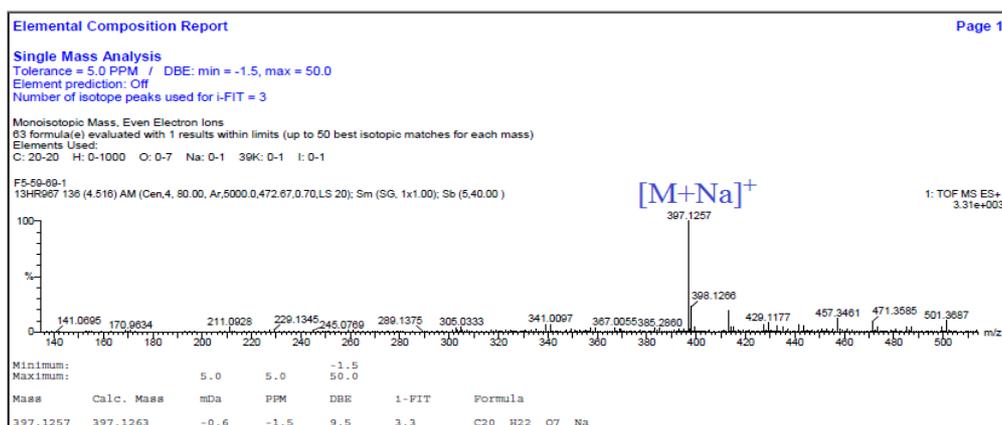


Figure I. 1. 3. 2. 4. Spectre de masse HR-ESI-MS du composé HS2

La ressemblance des composés **HS1** et **HS2** est clairement déduite des spectres RMN ^1H et ^{13}C . En effet, le spectre RMN ^1H (figure I. 1. 3. 2. 5), qui est divisé en deux zones : aromatique et aliphatique, indique la présence de six protons aromatiques résonant à δ_{H} 7,03 *sl*, 7,01 (*d*, $J = 1,4$ Hz), 6,98 (*d*, $J = 8,1$ Hz), 6,93 *sl* et 6,90 (*dd*, $J = 8,1-1,4$ Hz) et sept protons aliphatiques localisés à δ_{H} 4,89 (*d*, $J = 4,8$ Hz), 4,87 *sl*, 4,56 (*t*, $J = 8,9$ Hz), 4,08 (*d*, $J = 9,3$ Hz), 3,94 (*d*, $J = 9,2$ Hz), 3,87 (*dd*, $J = 9,1-6,3$ Hz) et 3,15 (*ddd*, $J = 8,9-6,3-4,8$ Hz).

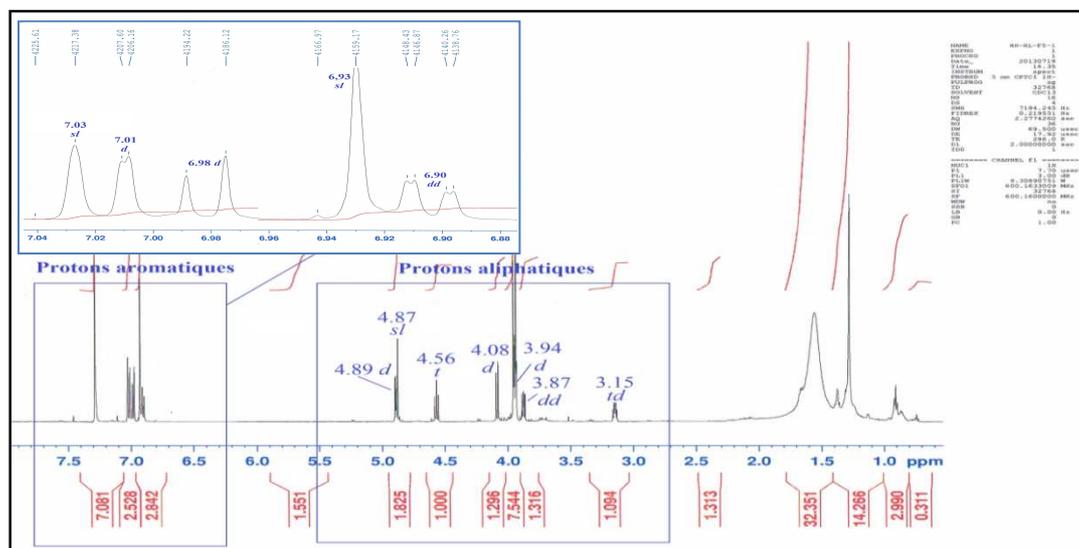


Figure I. 1. 3. 2. 5. Spectre RMN ^1H du composé HS2

De même, les spectres RMN ^{13}C et DEPT (figure I. 1. 3. 2. 6) montrent la présence de 12 carbones aromatiques se répartissant en six groupements CH résonant à δ_{C} 119,7, 119,6, 114,7, 114,2, 109,3 et 109,0 et six carbones quaternaires détectés à δ_{C} 146,9, 146,7, 146,0, 145,4, 132,3 et 127,0. Ainsi, ils exhibent six carbones aliphatiques incluant deux méthylènes résonant à 74,7 et 71,7 ppm, trois méthines localisés à 87,8, 85,8 et 60,1 ppm et un carbone quaternaire reperé à 91,6 ppm.

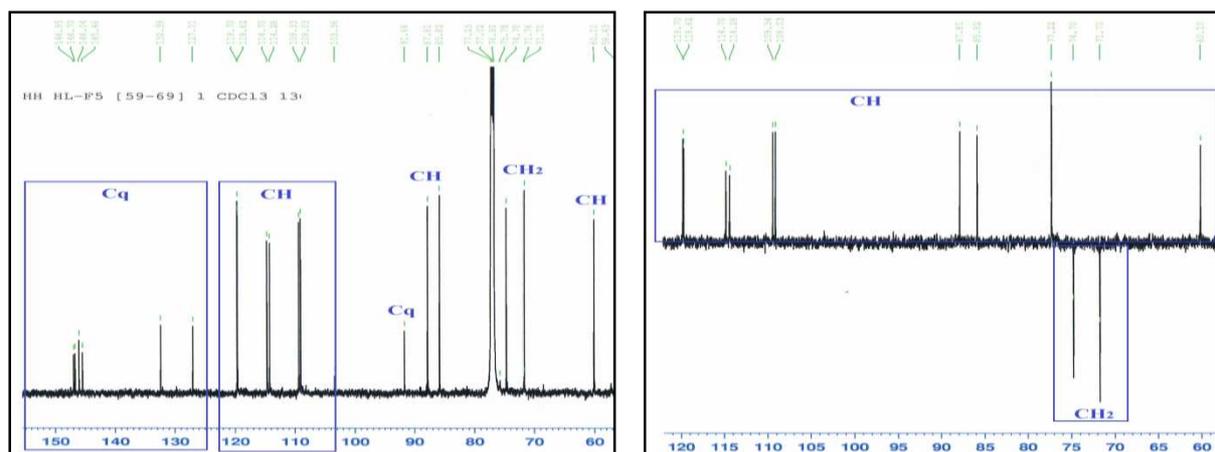


Figure I. 1. 3. 2. 6. Spectres RMN ^{13}C et DEPT du composé HS2

Pour les groupements aromatiques constituant la structure du composé HS2, le spectre HSQC (figure I. 1. 3. 2. 7) permet d'assigner à chaque carbone du groupement CH le proton associé par les couplages observés entre :

- Le proton à 6,90 ppm et le carbone à 119,7 ppm.
- Le proton à 6,93 ppm et le carbone à 119,6 ppm.
- Le proton à 6,98 ppm et le carbone à 114,7 ppm.
- Le deuxième proton à 6,93 ppm et le carbone à 114,2 ppm.
- Le proton à 7,01 ppm et le carbone à 109,3 ppm.
- Le proton à 7,03 ppm et le carbone à 109,0 ppm.

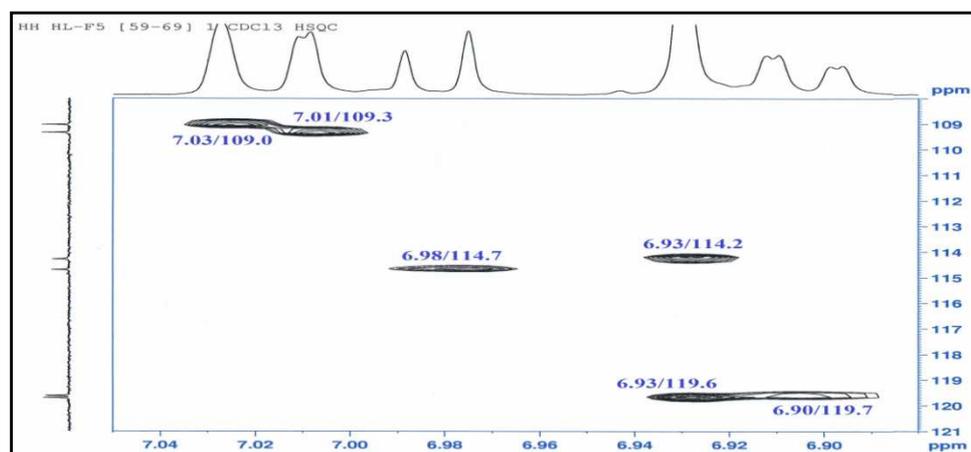


Figure I. 1. 3. 2. 7. Spectre HSQC des groupements aromatiques du composé HS2

Alors que, le spectre HMBC (figure I. 1. 3. 2. 8) met clairement en évidence les corrélations en 3J des protons aromatiques qui permettent d'identifier et de caractériser tous les protons et carbones des cycles A et B. Les corrélations du cycle A sont entre :

- Le proton H-2' (δ_{H} 7,01) et les carbones C-4' (δ_{C} 146,9) et C-6' (δ_{C} 119,7).
- Le proton H-5' (δ_{H} 6,98) et les carbones C-1' (δ_{C} 127,0) et C-3' (δ_{C} 146,0).
- Le proton H-6' (δ_{H} 6,90) et les carbones C-4' et C-2' (δ_{C} 109,3).

Ainsi, les couplages du cycle B se présentent entre:

- Le proton H-2'' (δ_H 7,03) et les carbones C-4'' (δ_C 146,7) et C-6'' (δ_C 119,6).
- Le proton H-5'' (δ_H 6,93) et les carbones C-1'' (δ_C 132,3) et C-3'' (δ_C 145,4).
- Le proton H-6'' (δ_H 6,93) et les carbones C-4'' et C-2'' (δ_C 109,0).

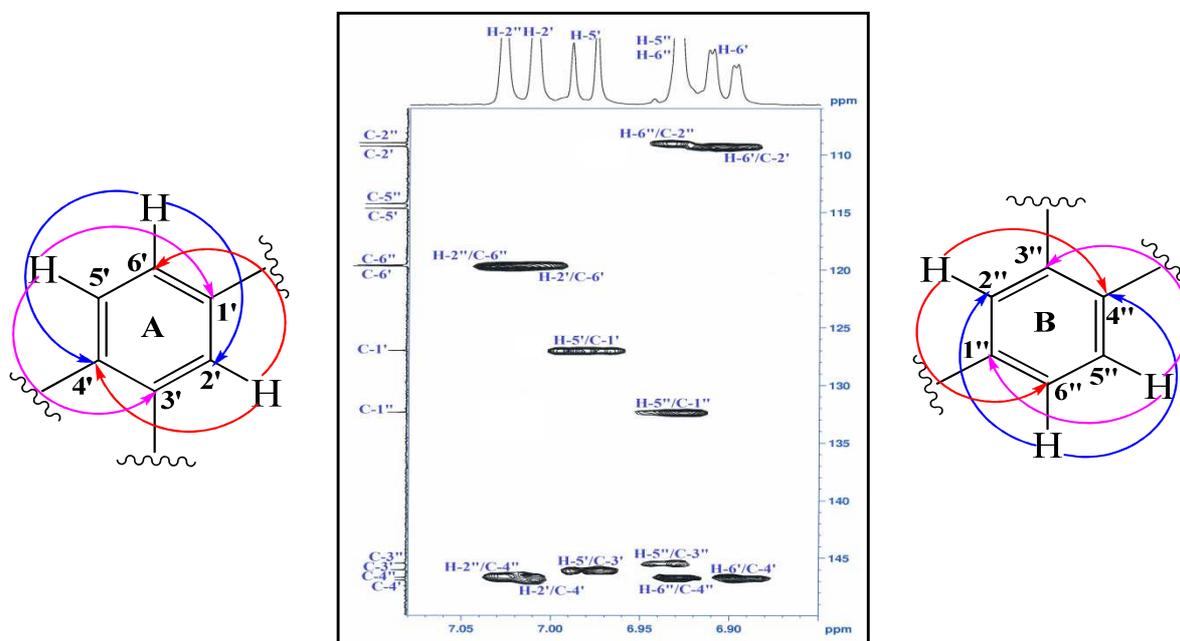


Figure I. 1. 3. 2. 8. Spectre HMBC des protons aromatiques du composé HS2

Pour les substituants en positions C-3' et C-3'' de ces deux cycles aromatiques, ils sont identifiés comme étant des groupements méthoxyles du fait de couplages sur le spectre HMBC (figure I. 1. 3. 2. 9) des signaux singulets, d'intégration 3H chacun, des protons méthoxyliques sortant à (δ_H 3,95/ δ_C 56,0) et (δ_H 3,93/ δ_C 55,9) avec les carbones C-3' (δ_C 146,0) et C-3'' (δ_C 145,4) respectivement.

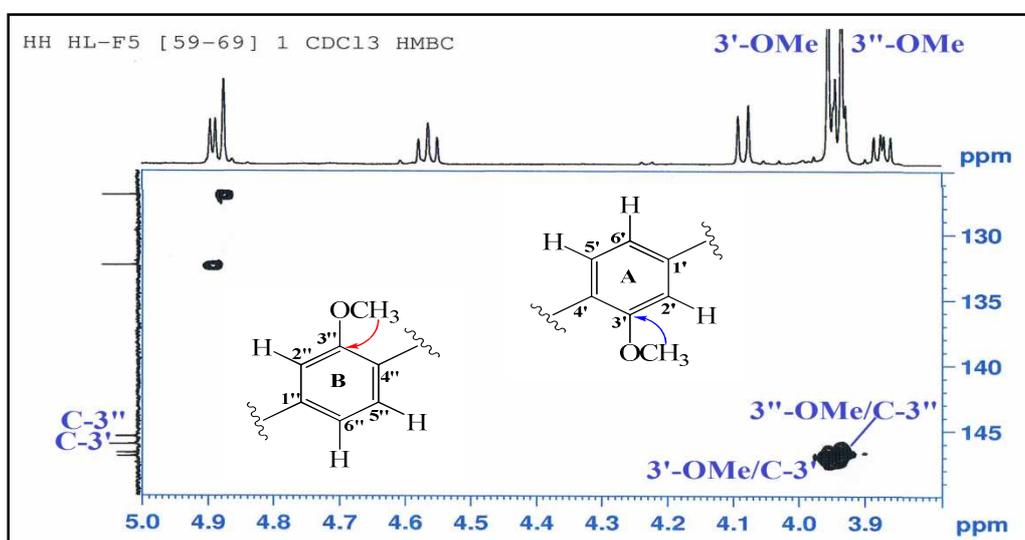


Figure I. 1. 3. 2. 9. Spectre HMBC des groupements méthoxyles du composé HS2

Ainsi, les substituants en positions C-4' (δ_C 146,9) et C-4'' (δ_C 146,7) sont identifiés aux groupements hydroxyles en raison des valeurs déblindées de leurs déplacements chimiques et de l'absence des corrélations de ces deux carbones (C-4' et C-4'') sur le spectre HMBC avec d'autres protons.

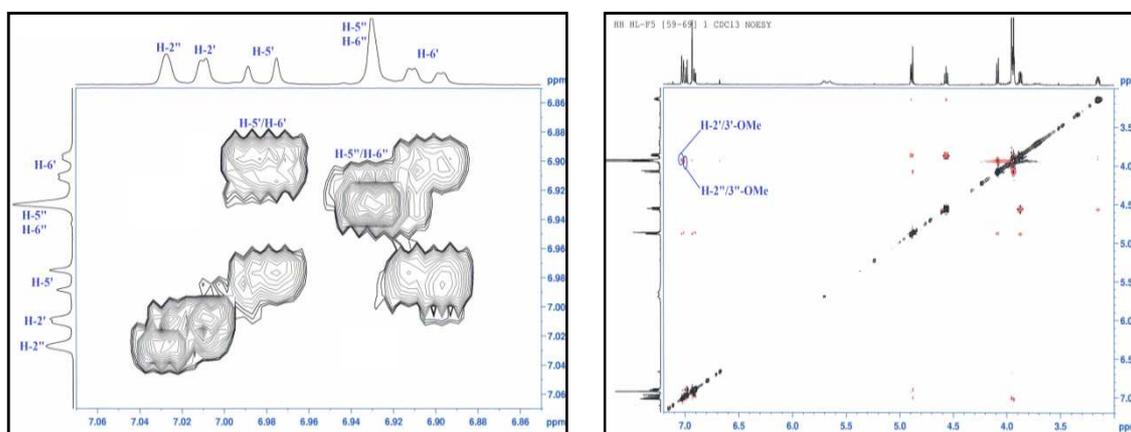


Figure I. 1. 3. 2. 10. Spectres COSY et NOESY des groupements aromatiques du composé HS2

Les spectres COSY et NOESY (figure I. 1. 3. 2. 10) confirment toutes ces attributions par les couplages qu'ils présentent entre les protons aromatiques H-5'/H-6' et H-5''/H-6'', ainsi que les effets nOe entre les protons méthoxyliques 3'-OMe et 3''-OMe et les protons H-2' et H-2'' respectivement (figure I. 1. 3. 2. 11).

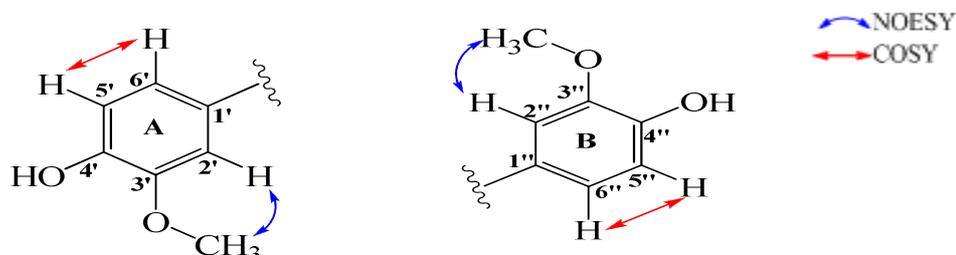


Figure I. 1. 3. 2. 11. Corrélations COSY et NOESY des groupements aromatiques du composé HS2

A l'issue de cette analyse et comme pour le composé **HS1**, les deux cycles aromatiques de ce composé sont identifiés au 4-hydroxy-3-méthoxyphényle.

Les corrélations observées sur le spectre HMBC des protons aliphatiques et l'analyse des valeurs de déplacement chimique des carbones associés à ces protons sur le spectre HSQC (figure I. 1. 3. 2. 12) permettent également d'élaborer un fragment structural furofuranique comme il a été observé pour le composé **HS1**.

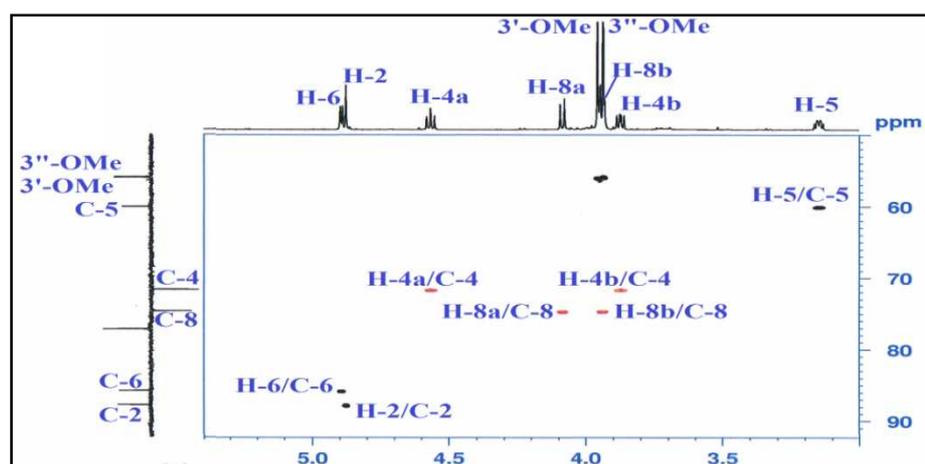


Figure I. 1. 3. 2. 12. Spectre HSQC montrant les protons aliphatiques du composé HS2

La différence entre **HS1** et **HS2** réside dans l'apparition sur le spectre RMN ^1H (figure I. 1. 3. 2. 13) du composé **HS2** d'un signal à 3,15 ppm sous forme d'un doublet de doublets ($J = 8,9-6,3-4,8$ Hz).

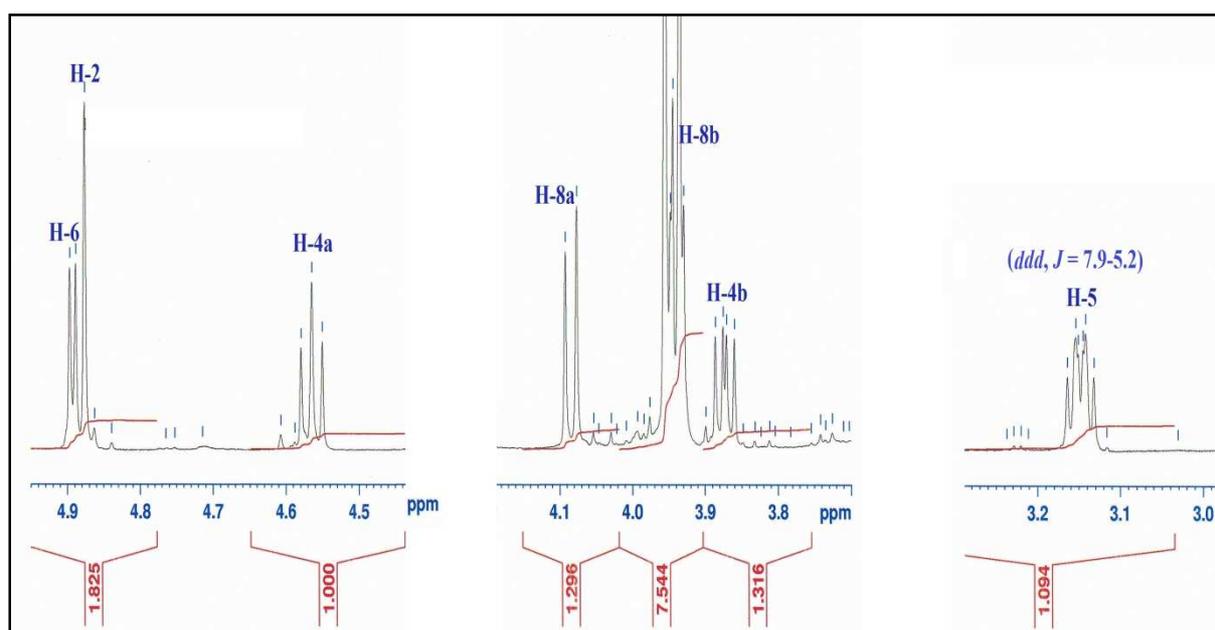


Figure I. 1. 3. 2. 13. Spectre RMN ^1H des protons aliphatiques du composé HS2

Ce proton, couplant en COSY (figure I. 1. 3. 2. 14) avec deux protons oxyméthylènes H-4a et H-4b résonant à δ_{H} 4,56 (*t*, $J = 8,9$ Hz) et 3,87 (*dd*, $J = 8,9-6,3$ Hz) respectivement et un proton oxyméthine H-6 repéré à δ_{H} 4,89 (*d*, $J = 4,8$ Hz), est attribué au proton H-5. Son carbone résonne à 60,1 ppm selon l'expérience HSQC. Ce proton corrèle en 3J sur le spectre HMBC avec les carbones C-2 (δ_{C} 87,8), C-8 (δ_{C} 74,7) et le carbone aromatique C-1'' (δ_{C} 132,3) (figure I. 1. 3. 2. 14).

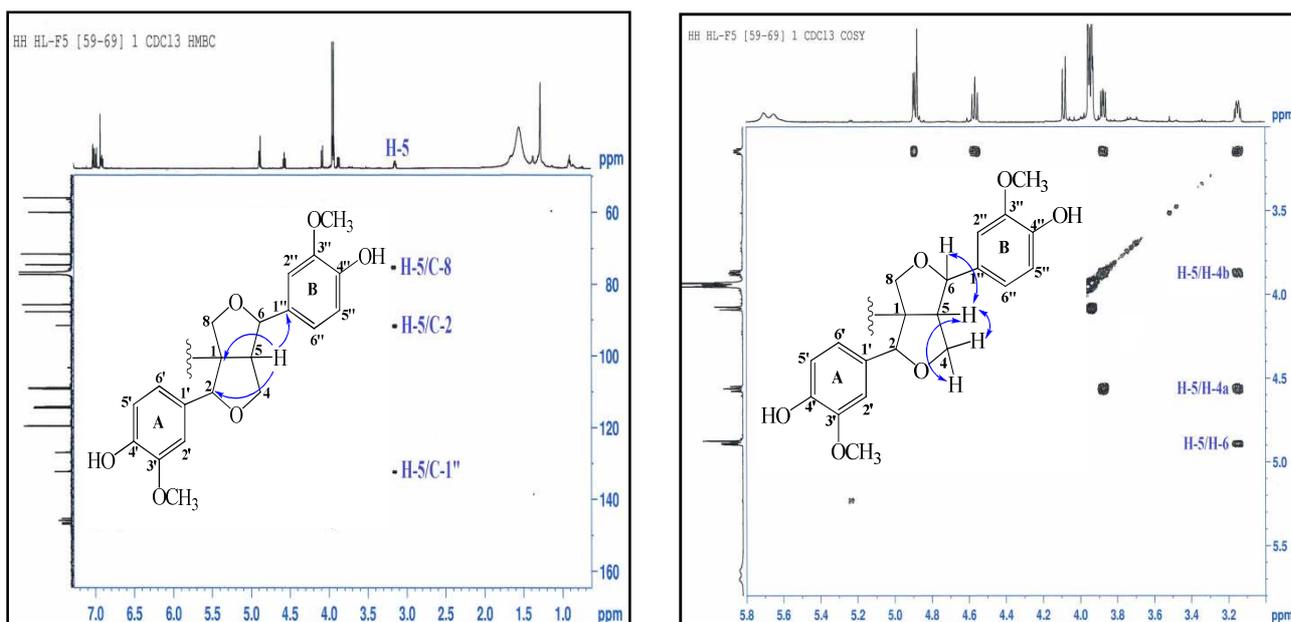


Figure I. 1. 3. 2. 14. Spectres HMBC et COSY H-H du proton H-5 du composé HS2

Le spectre HMBC (figure I. 1. 3. 2. 15) montre également les couplages entre les protons oxyméthines :

- H-2 (δ_H 4,87) et les carbones C-4 (δ_C 71,7), C-5 (δ_C 60,1) et C-8 (δ_C 74,7).
- H-6 (δ_H 4,89) et les carbones C-1 (δ_C 91,6), C-4 et C-8.

Ainsi entre les protons oxyméthylènes H-4a (δ_H 4,56), H-4b (δ_H 3,87), H-8a (δ_H 4,08) et H-8b (δ_H 3,94) et les carbones C-1, C-2 (δ_C 87,8), C-5 et C-6 (δ_C 85,8).

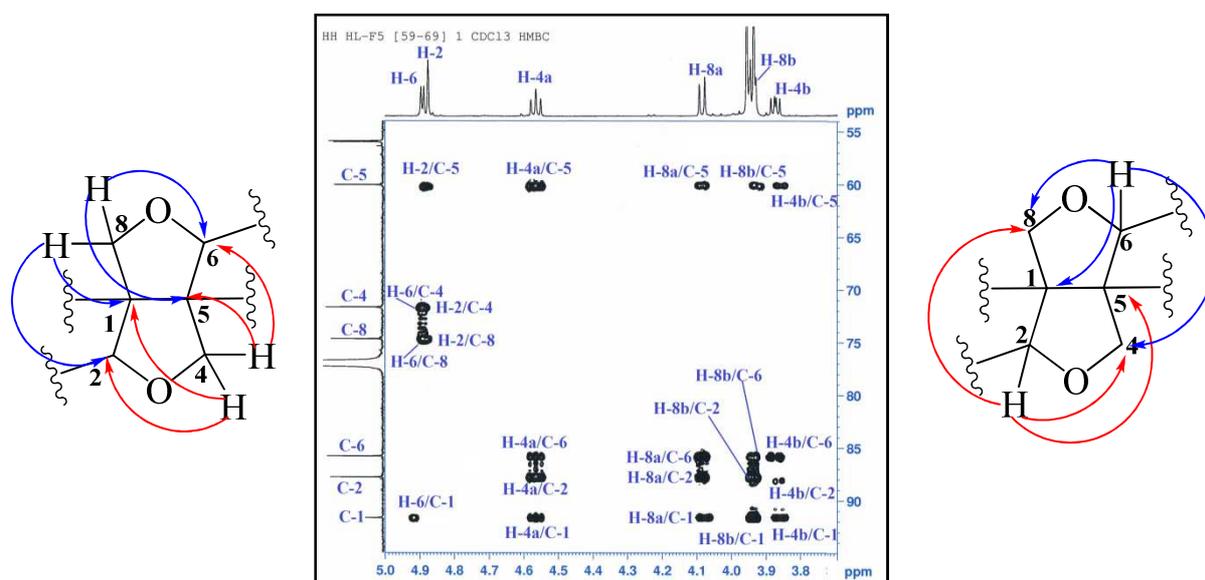


Figure I. 1. 3. 2. 15. Spectre HMBC des protons oxyméthines et oxyméthylènes du composé HS2

Les points de branchements des groupements aromatiques A et B avec ce squelette furofurannique sont clairement démontrés, de la même manière que pour le composé

précédent, par les corrélations observées sur le spectre HMBC (figure I. 1. 3. 2. 16) entre le proton oxyméthine H-2 et les carbones du cycle A : C-1', C-2' et C-6', ainsi qu'entre le deuxième proton oxyméthine H-6 et les carbones du cycle B : C-1'', C-2'' et C-6''.

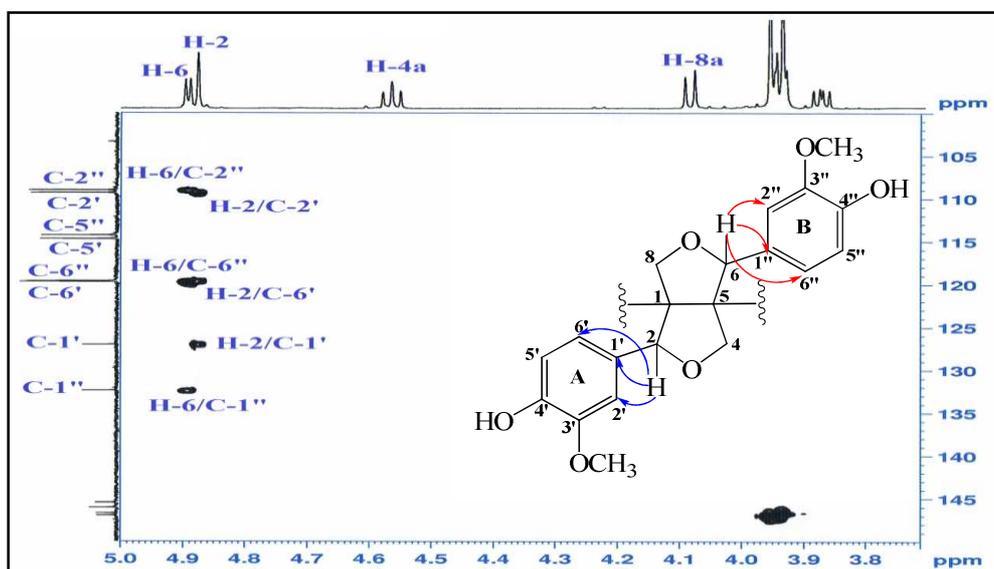


Figure I. 1. 3. 2. 16. Spectre HMBC montrant les points de branchement des cycles A et B du composé HS2

La présence du groupement méthine CH-5 indique l'appartenance du composé **HS2** au groupe des lignanes de dérivé pinorésinol [217].

La caractérisation du dernier substituant de ce squelette furofurannique a été établie sur la base des valeurs des déplacements chimiques des carbones C-1 et C-1' dont le déblindage du carbone C-1 (δ_C 91,6) par rapport au carbone C-5 (δ_C 60,1) indique la présence d'un hydroxyle attaché au carbone C-1. Ceci est confirmé par la valeur blindée du déplacement chimique du carbone C-1' (δ_C 127,0), en comparaison avec celui du carbone C-1'' (δ_C 132,3) du cycle B, qui est due à l'effet γ blindant du groupement hydroxyle lié au carbone C-1 (figure I. 1. 3. 2. 17) [218].

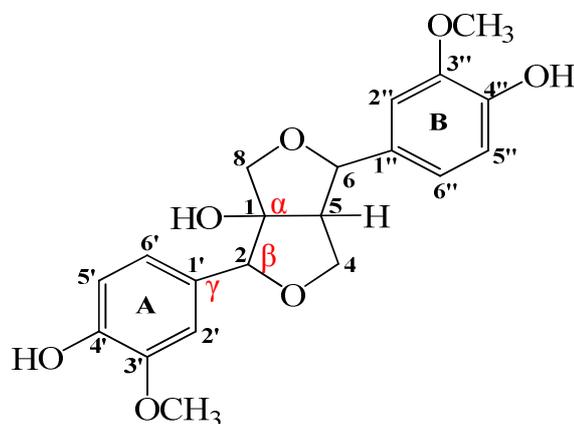


Figure I. 1. 3. 2. 17. Structure plane du composé HS2

Comme il a été démontré précédemment pour le composé **HS1** et tenant compte de la valeur positive du pouvoir rotatoire de **HS2** ($[\alpha]_D = +20,5$), le cycle furofuranique adopte une conformation chaise/bateau dont les deux substituants en C-1 et C-5 sont situés dans la face α (figure I. 1. 3. 2. 18) [219].

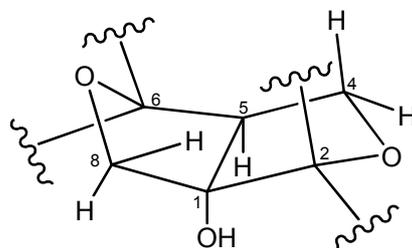


Figure I. 1. 3. 2. 18. Conformation chaise/bateau du composé HS2

Ces données permettent de considérer le proton H-5 α comme point de référence. L'effet nOe observé entre H-5 α et le proton H-4 α (α -orienté) indique une orientation β du proton H-4 β . Ce dernier corrèle de son côté avec les protons H-2 et H-6 (β -orientés) conduisant à attribuer aux cycles aromatiques A et B une orientation α -pseudoéquatoriale (figure I. 1. 3. 2. 19).

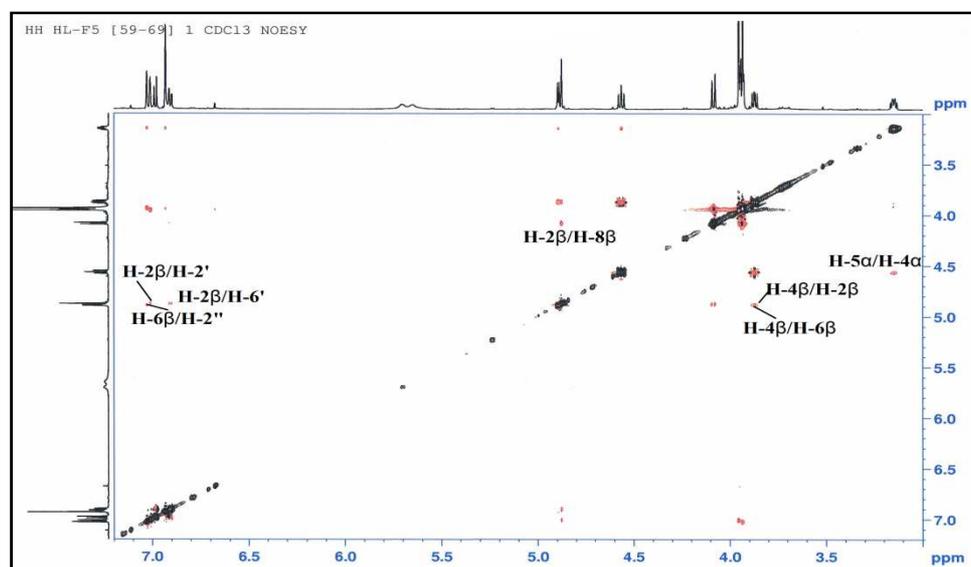


Figure I. 1. 3. 2. 19. Spectre NOESY du composé HS2

Le spectre NOESY révèle aussi des corrélations entre le proton H-2 β et les protons aromatiques H-2' et H-6', et le proton oxyméthine H-8 α (β -orienté). Ainsi, un effet nOe est visualisé entre le proton H-6 β et le proton H-2'' du cycle B (figure I. 1. 3. 2. 20). Il en résulte que la configuration au niveau des carbones chiraux C-1, C-2, C-5 et C-6 s'établit comme suit : 1*S*, 2*R*, 5*R* et 6*R*.

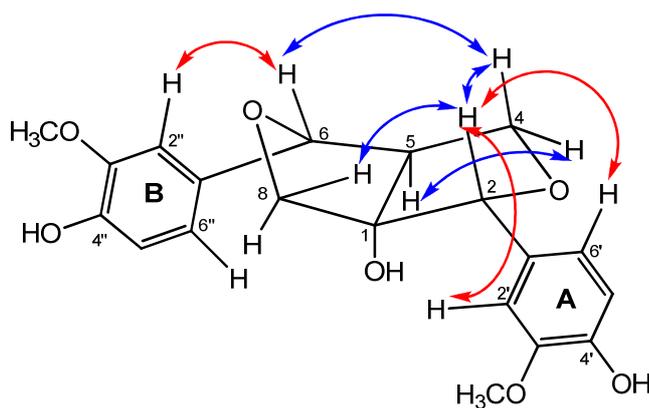


Figure I. 1. 3. 2. 20. Corrélations NOESY du composé HS2

A l'issue de ces résultats spectraux, la valeur du pouvoir rotatoire ($[\alpha]_D = +20,5$, $c = 0,64$, MeOH) et la comparaison avec les données de la littérature [220], le composé **HS2** est identifié au **1 α -hydroxy pinorésinol** (figure I. 1. 3. 2. 21).

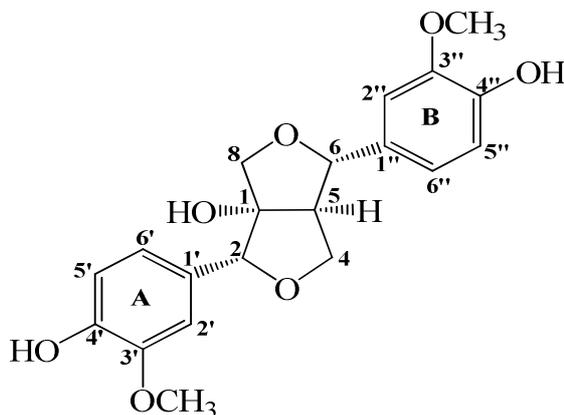


Figure I. 1. 3. 2. 21. Structure du composé HS2 (1 α -hydroxy pinorésinol)

Ce lignane a été isolé pour la première fois non seulement du genre *Helianthemum* mais aussi de la famille Cistaceae. Il est connu pour son activité anticomplémentaire [221]. Par ailleurs, il a été identifié dans les espèces *Saussurea pulchella* (Asteraceae) [215], *Gymnosporia variabilis* (Celastraceae) [216] et *Eucommia ulmoides* (Eucommiaceae) [221].

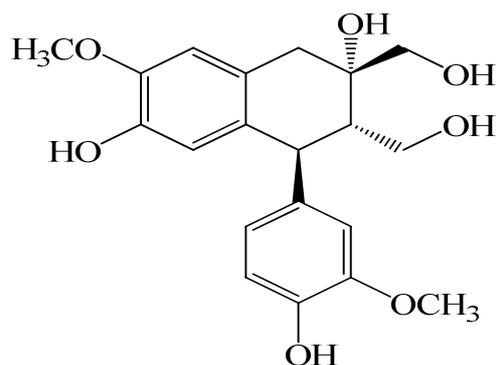
Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé **HS2** sont réunis dans le tableau I. 1. 3. 2.

Tableau I. 1. 3. 2. Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé HS2 enregistrés dans CDCl_3

HS2		
Position	δ_{H}, m, J	δ_{C}
1	-	91,6
2	4,87 (1H, <i>sl</i> , H-2 β)	87,8
4a	4,56 (1H, <i>t</i> , $J = 8,9$, H-4 α)	71,7
4b	3,87 (1H, <i>dd</i> , $J = 8,9-6,3$, H-4 β)	

Position	δ_{H}, m, J	δ_{C}
5	3,15 (1H, <i>ddd</i> , $J = 8,9-6,3-4,8$, H-5 α)	60,1
6	4,89 (1H, <i>d</i> , $J = 4,8$, H-6 β)	85,8
8a	4,08 (1H, <i>d</i> , $J = 9,3$, H-8 β)	74,7
8b	3,94 (1H, <i>d</i> , $J = 9,2$, H-8 α)	
1'	-	127,0
1''	-	132,3
2'	7,01 (1H, <i>d</i> , $J = 1,4$)	109,3
2''	7,03 (1H, <i>sl</i>)	109,0
3'	-	146,0
3''	-	145,4
4'	-	146,9
4''	-	146,7
5'	6,98 (1H, <i>d</i> , $J = 8,1$)	114,7
5''	6,93 (1H, <i>sl</i>)	114,2
6'	6,90 (1H, <i>dd</i> , $J = 8,1-1,4$)	119,7
6''	6,93 (1H, <i>sl</i>)	119,6
3'-OMe	3,95 (3H, <i>s</i>)	56,0
3''-OMe	3,93 (3H, <i>s</i>)	55,9

I. 1. 3. 3. Identification structurale du composé HS3



(+)-Cycloolivil

Ce composé se présente sous forme d'une laque incolore soluble dans le méthanol. Il donne une tache visible sur CCM à 254 et 366 nm et se colore en mauve après révélation par l'acide sulfurique et chauffage à 100 °C.

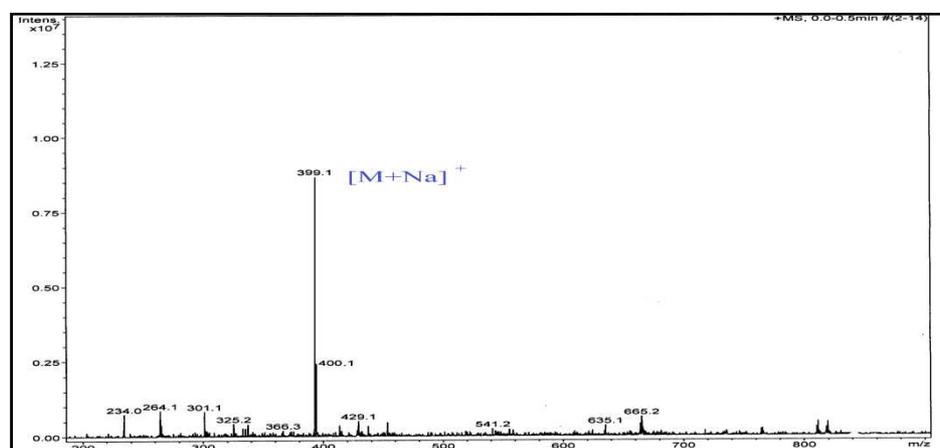


Figure I. 1. 3. 3. 1. Spectre de masse ESI-MS du composé HS3

Le spectre de masse ESI-MS (figure I. 1. 3. 3. 1) de ce composé montre un pic d'ion pseudomoléculaire $[M+Na]^+$ à $m/z = 399,1$ correspondant à une masse moléculaire égale à 376 uma et une formule brute en $C_{20}H_{24}O_7$.

Les spectres RMN 1H et ^{13}C (figures I. 1. 3. 3. 2 et I. 1. 3. 3. 3) montrent une certaine ressemblance avec le composé **HS2** par la présence de deux types de protons et carbones, aromatiques et aliphatiques, suggérant l'appartenance de ce composé à la classe des lignanes.

En effet, le spectre RMN 1H révèle l'existence de cinq signaux, d'intégration 1H chacun et de multiplicités différentes, s'étalant de 6,20 jusqu'à 6,78 ppm; il permet de distinguer deux singulets larges sortant à 6,20 et 6,65 ppm, deux signaux sous forme de doublets repérés à 6,72 et 6,78 ppm et un doublet de doublets localisé à 6,69 ppm.

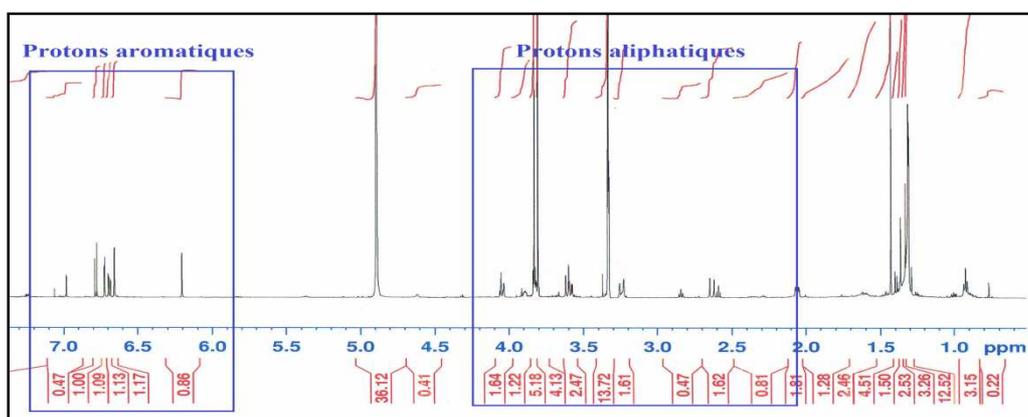


Figure I. 1. 3. 3. 2. Spectre RMN 1H du composé HS3

L'exploration des constantes de couplage de ces signaux avec les données fournies par l'étude des spectres RMN ^{13}C et DEPT (figure I. 1. 3. 3. 3) permettent de constituer deux noyaux aromatiques, présentant sept carbones quaternaires repérés à δ_C 147,7, 146,0, 144,6, 143,8, 137,0 et 132,1, 125,0 et cinq groupements CH résonant à 122,1, 115,9, 114,5, 112,4 et 111,5 ppm.

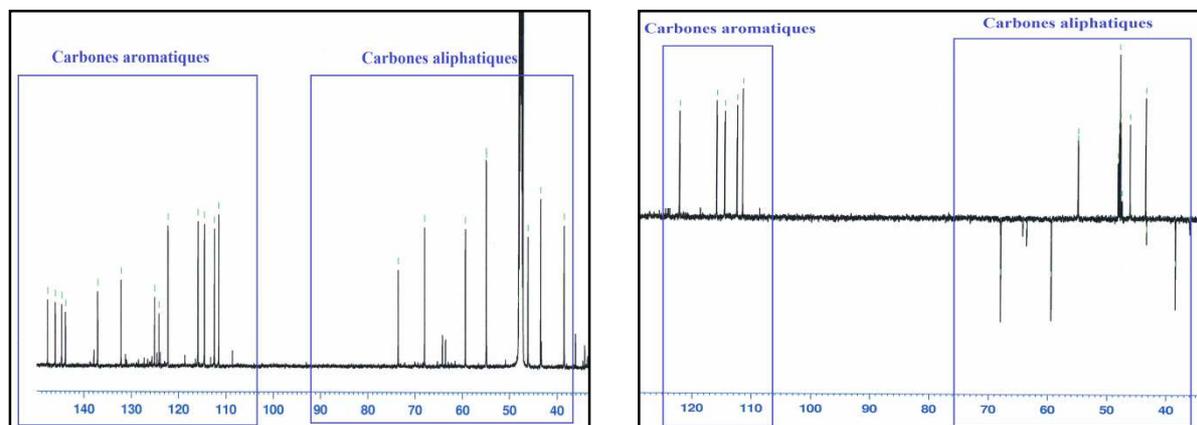


Figure I. 1. 3. 3. 3. Spectres RMN ^{13}C et DEPT du composé HS3

Ces groupements méthines sont associés par l'analyse du spectre HSQC (figure I. 1. 3. 3. 4) aux protons ($\delta_{\text{H}} 6,99/\delta_{\text{C}} 122,1$), ($\delta_{\text{H}} 6,20/\delta_{\text{C}} 115,9$), ($\delta_{\text{H}} 6,78/\delta_{\text{C}} 114,5$), ($\delta_{\text{H}} 6,72/\delta_{\text{C}} 112,4$) et ($\delta_{\text{H}} 6,65/\delta_{\text{C}} 111,5$).

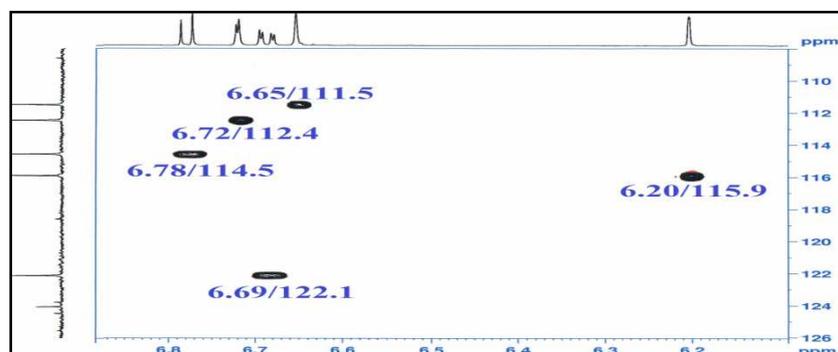


Figure I. 1. 3. 3. 4. Spectre HSQC des protons aromatiques du composé HS3

Ces protons sont distribués en trois protons pour le premier cycle nommé A et en deux pour le deuxième noyau (B), vu leurs valeurs des constantes de couplage qui indiquent des systèmes de spins ABX pour le cycle A et AX pour le cycle B.

La première série de signaux (ABX) regroupe le proton H-2 à $\delta_{\text{H}} 6,72$ sous forme d'un signal doublet, sa constante de couplage égale à 1,9 Hz indiquant un couplage *ortho* avec le proton H-6 ($\delta_{\text{H}} 6,99$) selon le spectre COSY H-H (figure I. 1. 3. 3. 5).

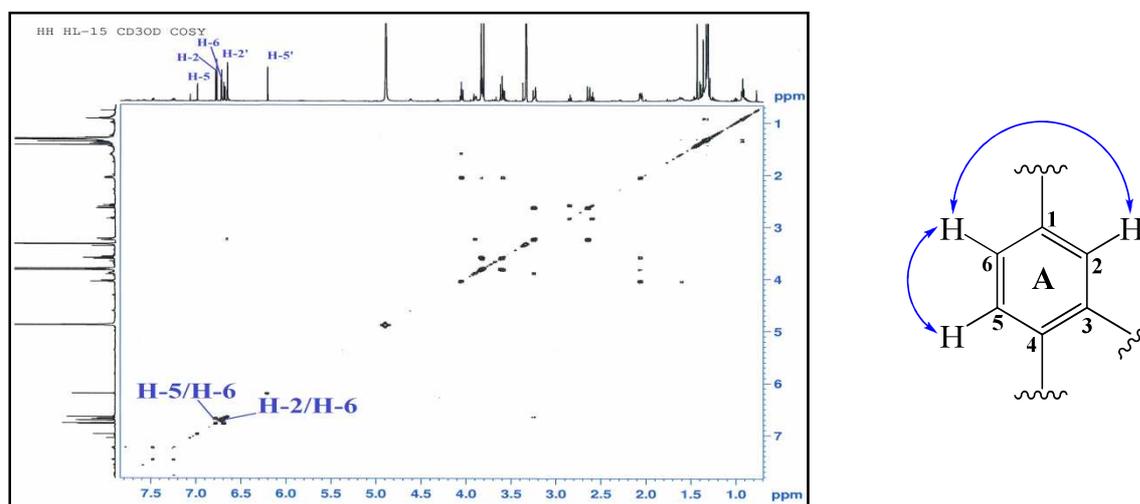


Figure I. 1. 3. 3. 5. Spectre COSY H-H des protons du cycle A du composé HS3

Ainsi, le proton repéré à 6,78 ppm attribuable à H-5 avec $J = 8,0$ Hz montre un couplage *métra* (H-5/H-6). En conséquence, le signal doublet de doublets sortant à 6,99 ppm attribué au proton H-6 révèle deux constantes de couplage $J = 8,0$ et 1,9 Hz (figure I. 1. 3. 3. 6).

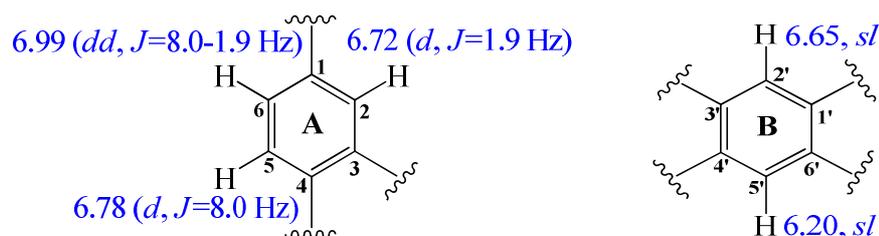


Figure I. 1. 3. 3. 6. Cycles aromatiques du composé HS3

Comme mentionné précédemment, la deuxième série des signaux AX regroupe deux protons qui se présentent sur le spectre RMN ^1H (figure I. 1. 3. 3. 7) sous la forme de singlets larges visualisés à 6,65 et 6,20 ppm. L'absence de couplage sur le spectre COSY H-H (figure I. 1. 3. 3. 5) indique une position *para* pour ces protons qui sont attribués aux protons H-2' et H-5' du cycle B respectivement (figure I. 1. 3. 3. 6).

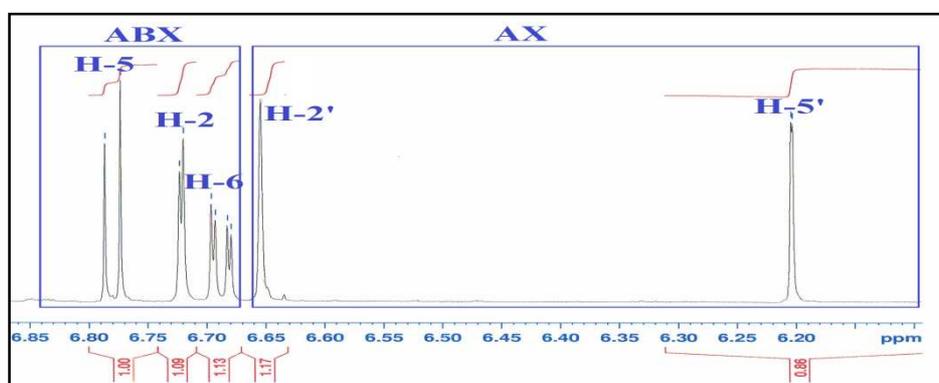


Figure I. 1. 3. 3. 7. Spectre RMN ^1H des protons aromatiques du composé HS3

L'analyse du spectre HSQC permet d'assigner les déplacements chimiques des carbones C-2 (δ_{C} 112,4), C-5 (δ_{C} 114,5) et C-6 (δ_{C} 122,1) pour le cycle A et C-2' (δ_{C} 111,5) et C-5' (δ_{C} 115,9) pour le noyau B.

Les informations tirées du spectre HMBC (figure I. 1. 3. 3. 8) sont plus significatives car elles permettent de distinguer tous les carbones de chaque cycle aromatique à travers les corrélations H/C en 2J et 3J qu'il présente.

Pour le noyau aromatique A, ce spectre montre des grandes taches de corrélation en 3J entre (figure I. 1. 3. 3. 9) :

- Le proton H-2 et le carbone oxygéné C-4 (δ_{C} 144,6) et le méthine 6-CH (δ_{C} 122,1).
- Le proton H-5 et le carbone quaternaire C-1 (δ_{C} 137,0) et le carbone oxygéné C-3 (δ_{C} 147,7).
- Le proton H-6 et les carbones C-2 (δ_{C} 112,4) et C-4.

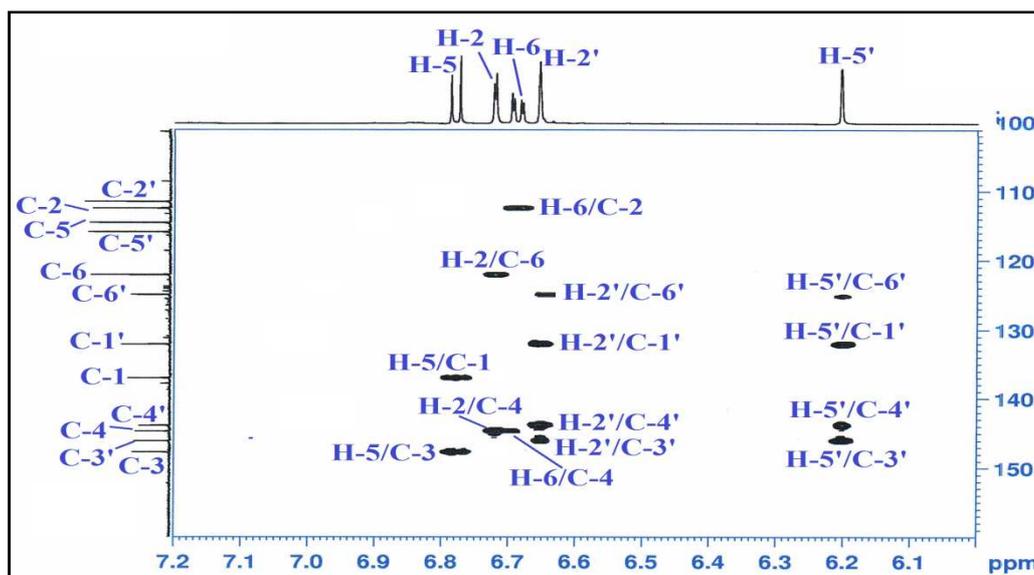


Figure I. 1. 3. 3. 8. Spectre HMBC des cycles aromatiques du composé HS3

Ainsi, il montre des couplages en 2J et 3J entre les protons H-2' et H-5' et les carbones quaternaires C-1' (δ_C 132,1), C-3' (δ_C 146,0), C-4' (δ_C 143,8) et C-6' (δ_C 125,0) (figure I. 1. 3. 3. 8).

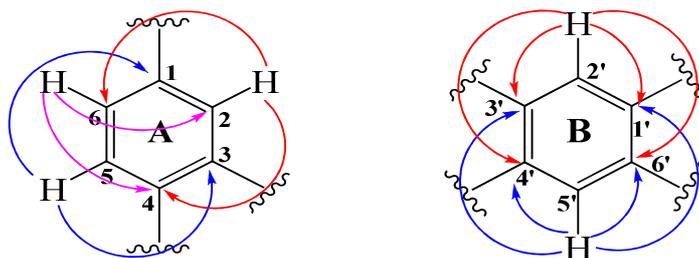


Figure I. 1. 3. 3. 9. Corrélations HMBC des cycles aromatiques du composé HS3

L'exploitation de toutes ces données montre clairement la présence de deux groupements aromatiques de type 1,3,4-trisubstitué phényle (cycle A) et 1,3,4,6-tétrastitué phényle (cycle B). Ceci renforce la suggestion de l'existence d'un squelette de nature lignanique pour ce composé.

Dans le but de déterminer les substituants de ces noyaux aromatiques, l'analyse du spectre RMN 1H de ce composé révèle la présence de deux singulets d'intégration 3H chacun sortant à 3,80 et 3,83 ppm, liés sur le spectre HSQC (figure I. 1. 3. 3. 10) à un signal de carbone résonant à 54,9 ppm. L'intensité de ce dernier indique l'existence de deux atomes de carbone attribués sans aucun doute aux groupements méthoxyliques.

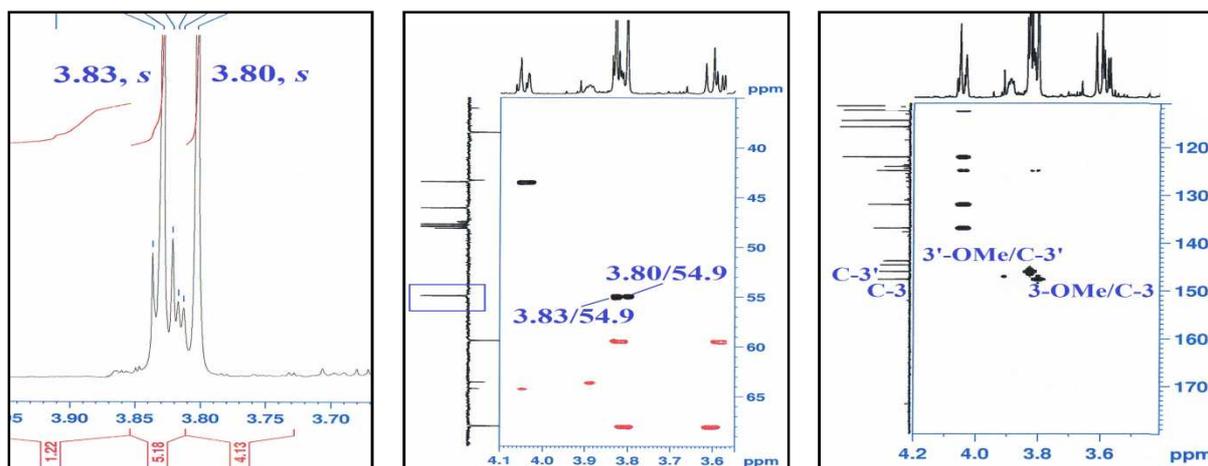


Figure I. 1. 3. 3. 10. Spectres RMN ^1H , HSQC et HMBC des groupements méthoxyliques des cycles aromatiques A et B du composé HS3

Le branchement de ces groupements aux cycles A et B est mis en évidence par les corrélations visualisées sur le spectre HMBC (figure I. 1. 3. 3. 10) entre les protons résonant à 3,80 ppm du groupement méthoxylique et le carbone C-3 (δ_{C} 147,7) du cycle A, de même qu'entre les protons du deuxième groupement méthoxyle à 3,83 ppm et le carbone C-3' (δ_{C} 146,0) du cycle B (figure I. 1. 3. 3. 11).

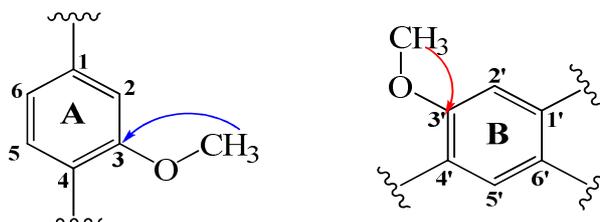


Figure I. 1. 3. 3. 11. Corrélations HMBC des groupements méthoxyliques des cycles aromatiques A et B du composé HS3

Le spectre ROESY (figure I. 1. 3. 3. 12) confirme les positions de ces groupements méthoxyliques par les couplages qu'il présente entre les protons 3-OCH₃/H-2 du cycle A et les protons 3'-OCH₃/H-2' du cycle B.

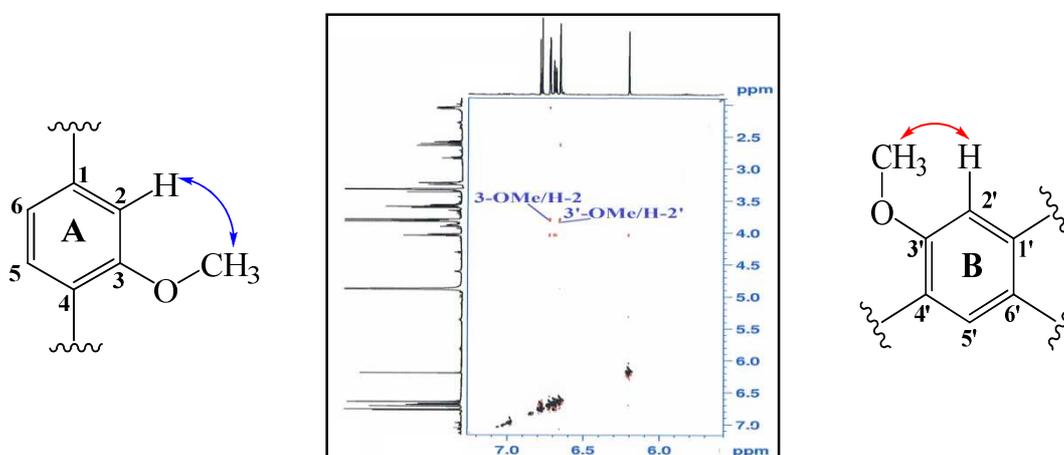


Figure I. 1. 3. 3. 12. Spectre ROESY montrant les effets des protons méthoxyliques du composé HS3

De la même manière que les composés précédents **HS1** et **HS2**, les substituants attachés aux carbones C-4 (δ_C 144,6) et C-4' (δ_C 143,8) sont identifiés comme étant des groupements hydroxyles (figure I. 1. 3. 3. 13), suite au déblindage de leurs déplacements chimiques et de l'absence des corrélations sur le spectre HMBC avec d'autres protons à l'exception de celles citées précédemment.

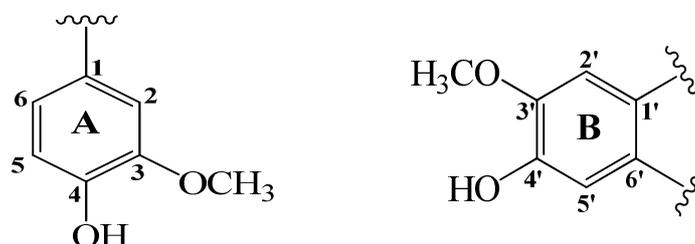


Figure I. 1. 3. 3. 13. Cycles aromatiques A et B du composé HS3

Le substituant lié au carbone C-1 du cycle A est déterminé par les corrélations en 3J observées sur le spectre HMBC (figure I. 1. 3. 3. 14) entre les protons aromatiques H-2 et H-6 et un carbone aliphatique résonant à δ_C 43,4 attribué au carbone C-7, qui montre sur le spectre HSQC une tache de corrélation avec le proton repéré à δ_H 4,04 (H-7). Cette connectivité se trouve confirmée par la corrélation remarquée sur le spectre HMBC (figure I. 1. 3. 3. 14) du proton H-7 avec le carbone C-1 (δ_C 137,0) du cycle A.

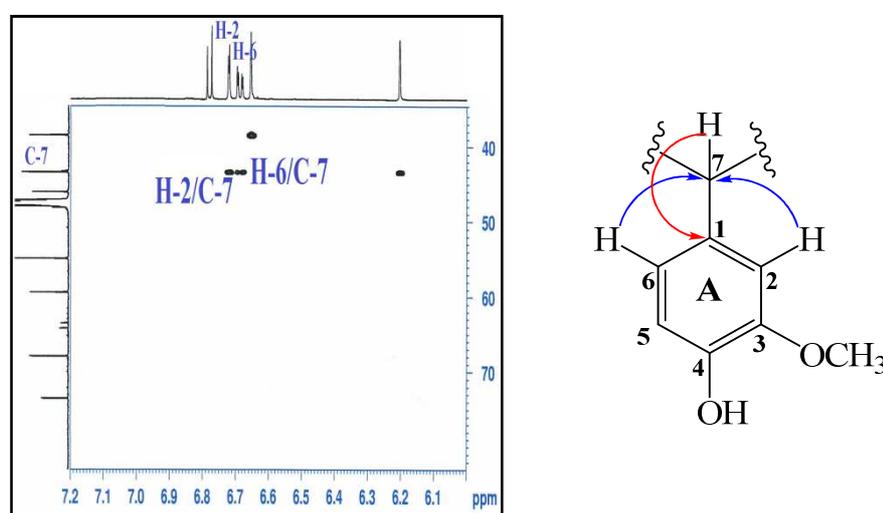


Figure I. 1. 3. 3. 14. Spectre HMBC entre 6,1 et 7,2 ppm du composé HS3

Le proton H-7 présente sur le spectre HMBC (figure I. 1. 3. 3. 15) d'autres corrélations avec les carbones quaternaires aromatiques C-1' (δ_C 132,1), C-5' (δ_C 115,9) et C-6' (δ_C 125,0) conduisant à suggérer son attachement au carbone quaternaire C-6' du cycle B.

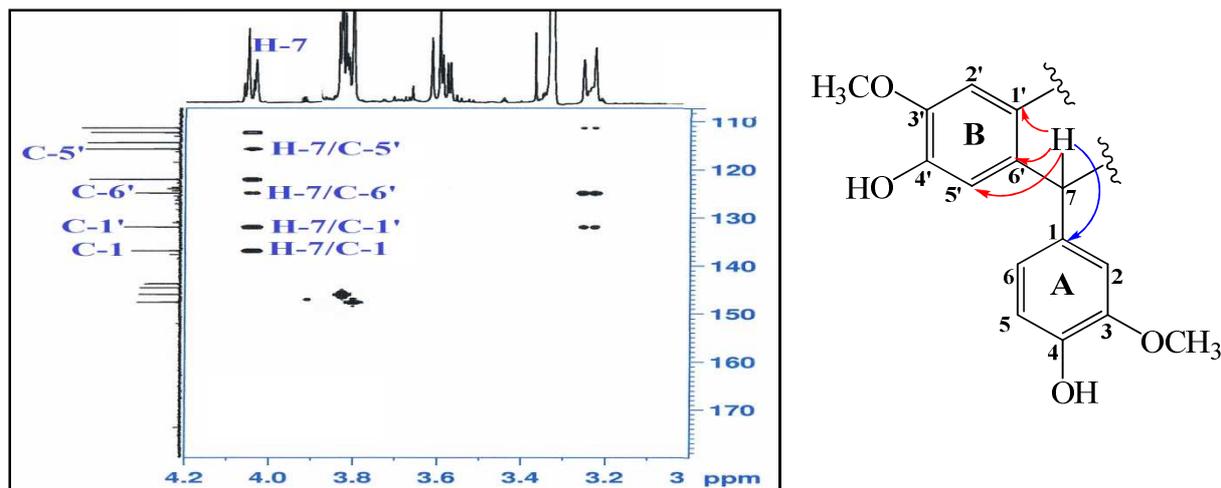


Figure I. 1. 3. 3. 15. Corrélations HMBC du CH aliphatique du composé HS3

Ces connectivités sont supportées une fois de plus par les taches de corrélations observées sur le spectre ROESY (figure I. 1. 3. 3. 16) entre le proton H-7 et les protons aromatiques H-2 et H-6 du cycle A et le H-5' du cycle B. L'absence d'un effet rOe entre les protons H-7 et H-2' confirme bien la connexion entre les cycles A et B au niveau des carbones C-1 et C-6' par l'intermédiaire d'un groupement méthine 7-CH.

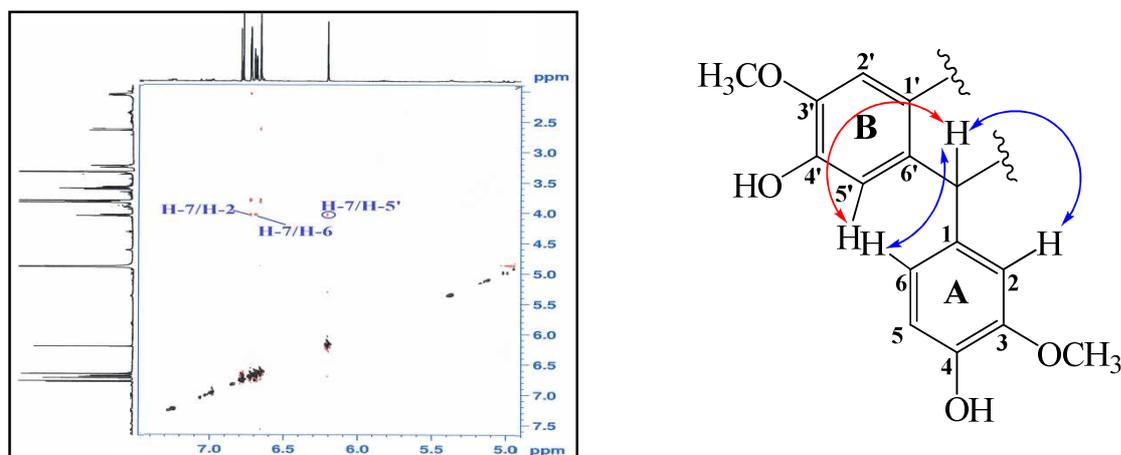


Figure I. 1. 3. 3. 16. Spectre ROESY des protons aromatiques du composé HS3

De la même manière, le substituant lié au carbone C-1' du cycle B est identifié par l'analyse du spectre HMBC à travers la corrélation du proton aromatique H-2' (δ_{H} 6,65) avec un groupement CH_2 résonant à δ_{C} 38,5 attribué à 7'- CH_2 . Ses protons localisés à δ_{H} 3,24 (H-7'a) et 2,63 (H-7'b) par l'expérience HSQC corrélient sur le spectre HMBC (figure I. 1. 3. 3. 17) avec les carbones C-1' (δ_{C} 132,1), C-6' (δ_{C} 125,0) et C-2' (δ_{C} 111,5), confirmant la connectivité du groupement méthylène 7'- CH_2 au carbone C-1' du cycle B.

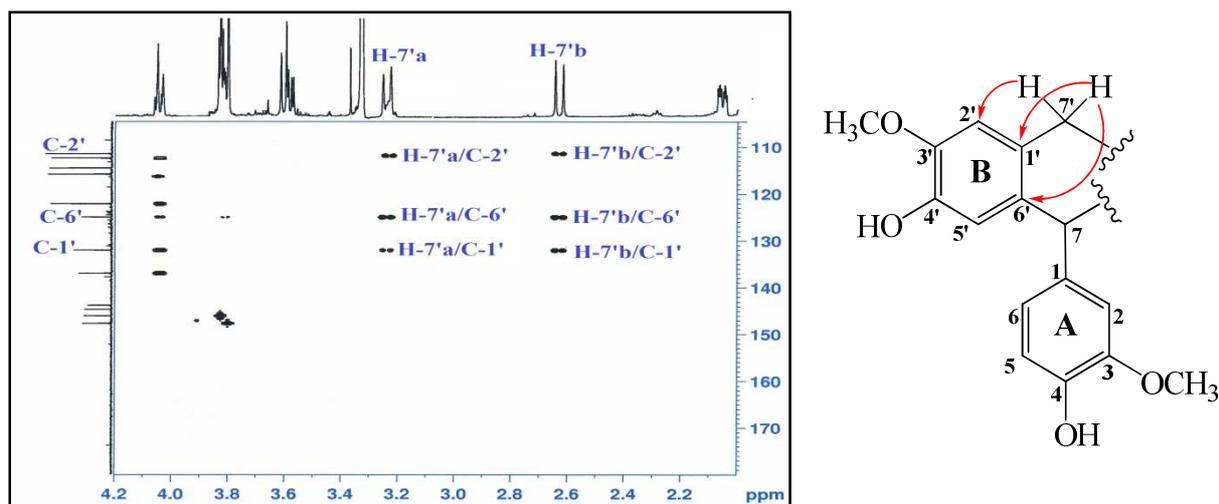


Figure I. 1. 3. 3. 17. Corrélations HMBC du CH₂ aliphatique du composé HS3

L'identification de tous les substituants des groupements aromatiques A et B du composé **HS3** montre bien que ce dernier présente une allure de lignanes de type aryltétraline [222].

L'expérience RMN ¹H (figure I. 1. 3. 3. 18) de ce composé révèle aussi la présence, dans la zone des protons aliphatiques, de cinq signaux d'intégration 1H chacun sortant à δ_H 2,60, 3,59, 3,61, 3,81 et 3,83.

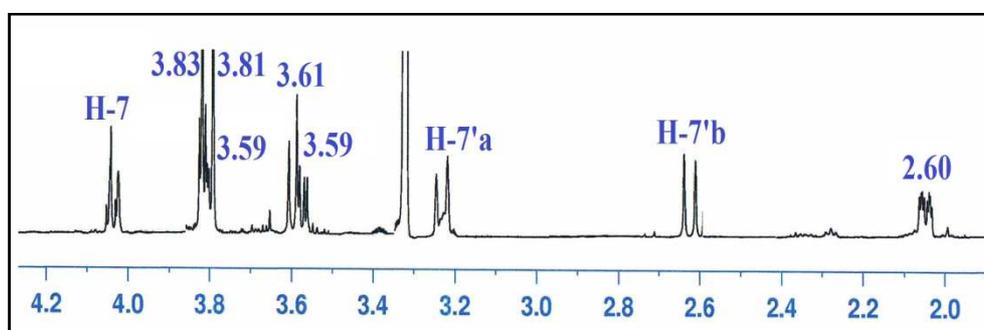


Figure I. 1. 3. 3. 18. Spectre RMN ¹H des protons aliphatiques du composé HS3

Afin de connaître la nature de ces protons, l'analyse du spectre HSQC *J*-modulé (figure I. 1. 3. 3. 19) permet de les distinguer en deux groupements oxyméthylènes repérés à (δ_H 3,83-3,59/ δ_C 59,4) et (δ_H 3,81-3,61/ δ_C 67,9) et un groupement méthine à (δ_H 2,60/ δ_C 46,1), ce qui est en accord avec le squelette aryltétralinique proposé pour ce composé [222].

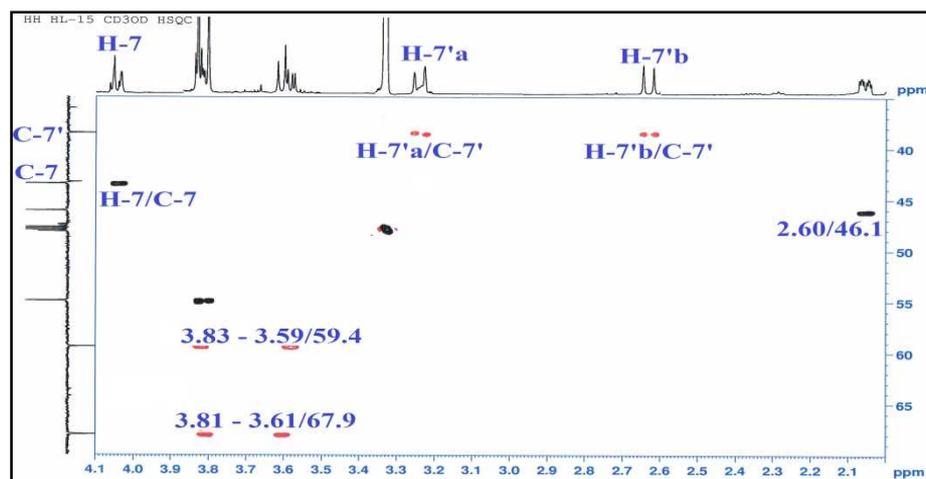


Figure I. 1. 3. 3. 19. Spectre HSQC *J*-modulé des protons aliphatiques du composé HS3

A partir du proton H-7 identifié précédemment, l'analyse du spectre COSY H-H (figure I. 1. 3. 3. 20) montre un système de spins à quatre protons constituant l'enchaînement $-^7\text{CH}-^8\text{CH}-^9\text{CH}_2-$ et indiquant les couplages H-7 (δ_{H} 4,04, *d*, $J = 10,9$ Hz)/H-8 (δ_{H} 2,60, *ddd*, $J = 10,9-4,6-2,5$ Hz)/H-9a (δ_{H} 3,83, *dd*, $J = 9,8-2,4$ Hz) et H-9b (δ_{H} 3,59, *dd*, $J = 10,2-4,4$ Hz) et H-9a/H-9b. Les déplacements chimiques des carbones C-8 et C-9 sont déterminés à δ_{C} 46,1 et 59,4 respectivement par expérience HSQC.

Les deux protons géminés non équivalents H-7'a (δ_{H} 3,24, *d*, $J = 16,6$ Hz) et H-7'b (δ_{H} 2,63, *d*, $J = 16,6$ Hz) ne présentant, avec d'autres protons, aucun couplage sur le spectre COSY H-H (figure I. 1. 3. 3. 20) indiquent l'attachement du groupement méthylène 7'-CH₂ à un carbone quaternaire.

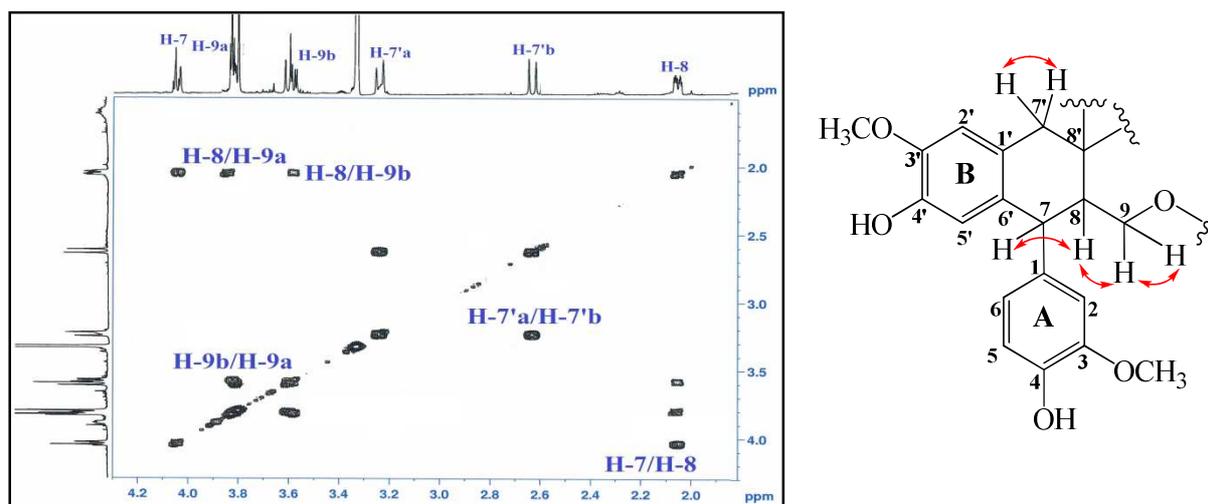


Figure I. 1. 3. 3. 20. Spectre COSY H-H des protons aliphatiques du composé HS3

Ainsi, les protons (H₂-7') couplent sur le spectre HMBC (figure I. 1. 3. 3. 21) en 3J avec le carbone méthine 8-CH et en 2J avec un carbone quaternaire résonant à δ_{C} 73,5 attribuable au carbone C-8' dont la valeur de déplacement chimique indique qu'il est porteur d'un

groupement OH libre. Ces corrélations conduisent à la fermeture du cycle à six chaînons. De même, le proton H-7 montre à son tour des corrélations en HMBC avec les carbones C-8, C-9 et C-8' (figure I. 1. 3. 3. 21).

Les protons H₂-7' présentent aussi une tache de corrélation sur le spectre HMBC (figure I. 1. 3. 3. 21) avec un carbone résonant à δ_C 67,9 ne pouvant être que le carbone du deuxième groupement oxyméthylène 9'-CH₂O.

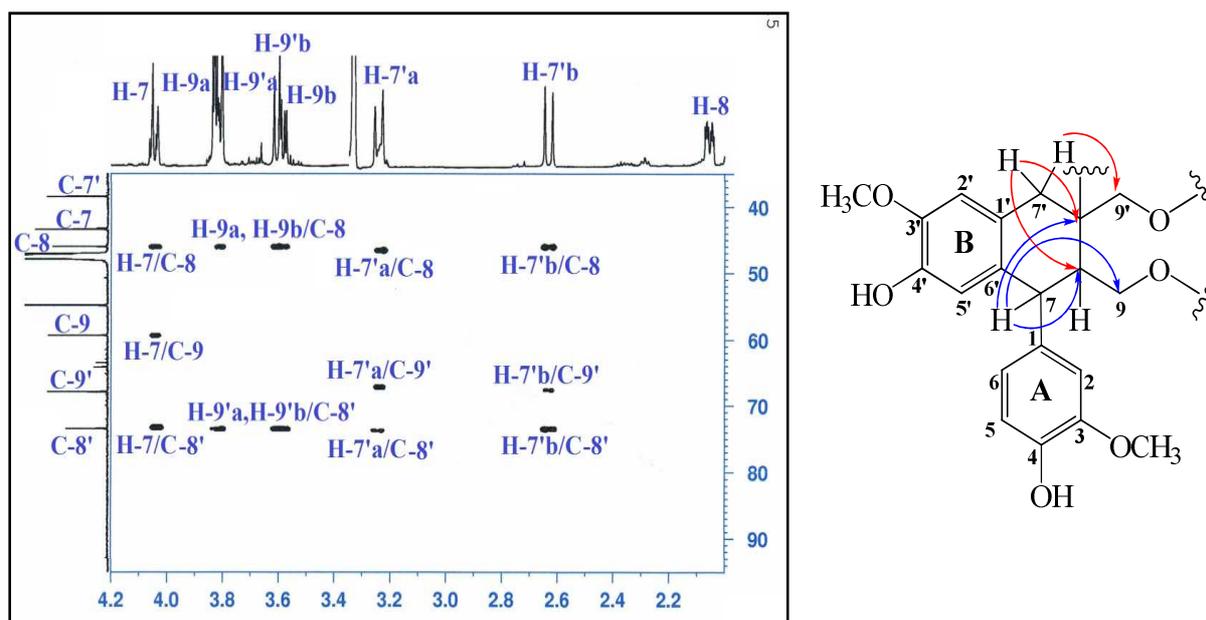


Figure I. 1. 3. 3. 21. Spectre HMBC des protons aliphatiques du composé HS3

En tenant compte du spectre de masse indiquant une formule brute en C₂₀H₂₄O₄, les deux groupements oxyméthylènes (9-CH₂O et 9'-CH₂O) sont porteurs de groupements hydroxyles libres (figure I. 1. 3. 3. 22).

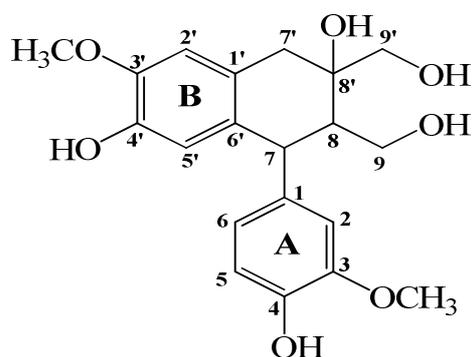


Figure I. 1. 3. 3. 22. Structure plane du composé HS3

L'étude stéréochimique de ce composé est débutée par l'analyse de la constante de couplage des protons vicinaux H-7 et H-8 dont la valeur de $J = 10,9$ Hz correspond selon la courbe de Karplus à un angle dièdre proche de 180° (figure I. 1. 3. 3. 23) indiquant un couplage *trans*.

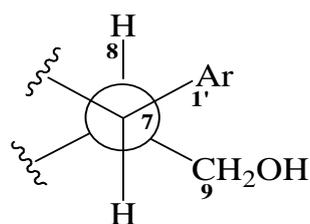


Figure I. 1. 3. 3. 23. Représentation de Newman des carbone C-7 et C-8 du composé HS3

Ce couplage *trans* impliquant une orientation axiale pour les deux protons H-7 et H-8 permettrait de positionner les substituants en carbones C-7 et C-8 comme suit :

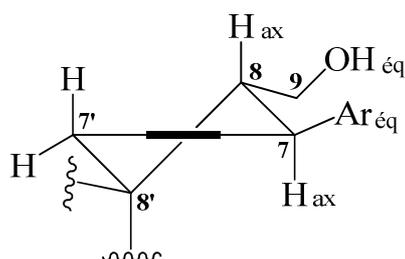


Figure I. 1. 3. 3. 24. Position des substituants en carbones C-7 et C-8 du composé HS3

Ces données imposent une orientation relative β pour le proton H-8, ainsi que pour le groupement aromatique Ar, d'où une orientation α pour le proton H-7 et le groupement 9-CH₂OH.

Concernant les substituants du carbone chiral C-8', le spectre ROESY (figure I. 1. 3. 3. 25) révèle des interactions dipolaires entre le proton H-8 β est les protons hydroxyméthylènes H-9'a et H-9'b traduisant une orientation β pour le groupement 9'-CH₂OH, ce qui indique que le groupement hydroxyle 8'-OH est α -orienté (figure I. 1. 3. 3. 26).

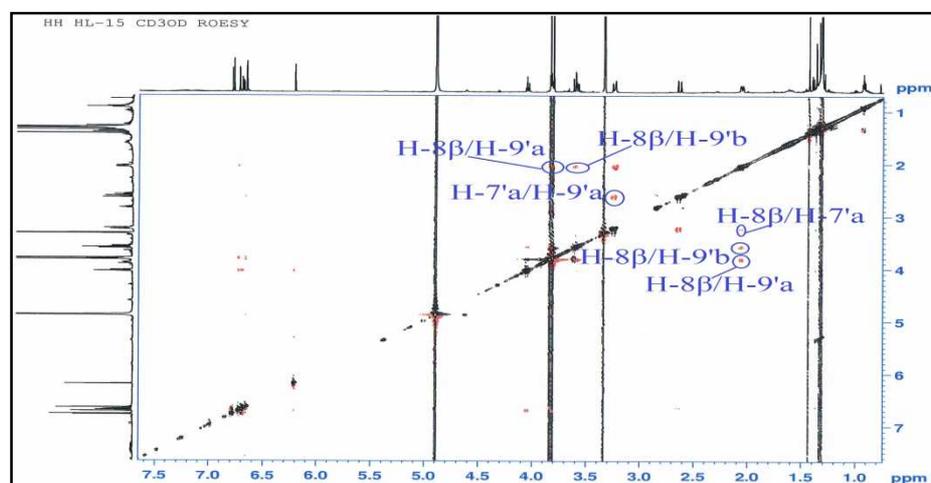


Figure I. 1. 3. 3. 25. Spectre ROESY du composé HS3

Les taches visualisées sur ce spectre (figure I. 1. 3. 3. 25) montrent aussi une interaction entre les protons H-8 β /H-7'a et H-7'a/H-9'a permettant d'attribuer une orientation β -axiale pour le proton H-7'a (δ_H 3,24) et une orientation α -équatoriale pour le proton H-7'b (δ_H 2,63) (figure III. I. 92).

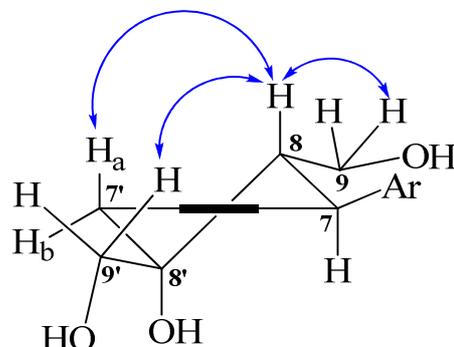


Figure I. 1. 3. 3. 26. Corrélations ROESY du composé HS3

A cette étape d'analyse, il reste à déterminer le conformère le plus stable de ce cycle qui peut adopter en général deux conformations (figure I. 1. 3. 3. 27). La forme E indique que le substituant le plus volumineux est en position équatoriale et la forme A est due à une orientation axiale de ce groupement qui est, dans notre cas, le noyau aromatique A.

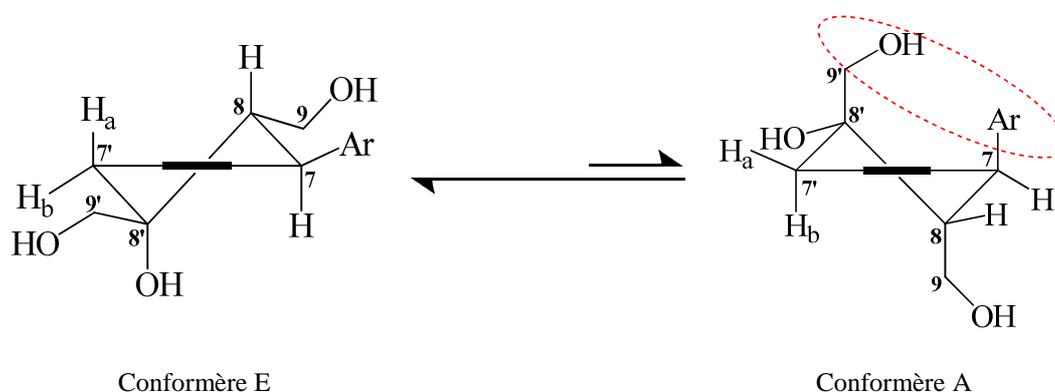


Figure I. 1. 3. 3. 27. Conversion des conformères E et A du composé HS3

Le groupement aromatique (Ar), dans le cas du conformère A, interagit avec le groupement 9'-CH₂OH β -axial. Cette interaction 1,3-diaxiale est défavorable. Cet encombrement stérique et en plus de la valeur de la constante de couplage $J_{H-7/H-8} = 10,9$ Hz traduisant pour ces protons des positions axiales font déplacer l'équilibre en faveur de la conformation E (figure I. 1. 3. 3. 27) qui représente le conformère le plus stable.

La configuration absolue de ce composé a été vérifiée en mesurant le pouvoir rotatoire dans le MeOH; sa valeur est de ($[\alpha]_D = +41,5$, $c = 0,2$) (littérature $[\alpha]_D = +43,2$, $c = 0,1$), ce qui indique une configuration (7*S*, 8*S*, 8'*R*) [223] (figure I. 1. 3. 3. 28).

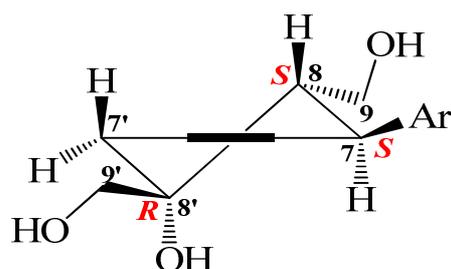


Figure I. 1. 3. 3. 28. Configurations absolues du composé HS3

Les données spectrales du composé **HS3** se sont avérées identiques à celles d'un lignane connu sous le nom de (+)-Cycloolivil (figure I. 1. 3. 3. 29) [224].

Ce composé qui possède une grande activité anti-oxydante [225] est isolé pour la première fois de la famille Cistaceae. Il a été trouvé dans deux espèces du genre *Stereospermum* de la famille Bignoniaceae à savoir : *S. spersonatum* [225] et *S. kunthianum* [226].

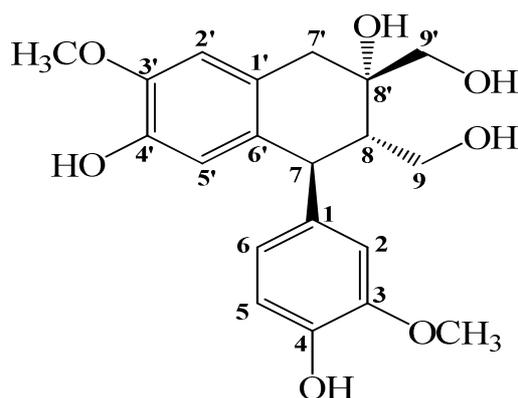


Figure I. 1. 3. 3. 29. Structure du composé HS3 ((+)-Cycloolivil)

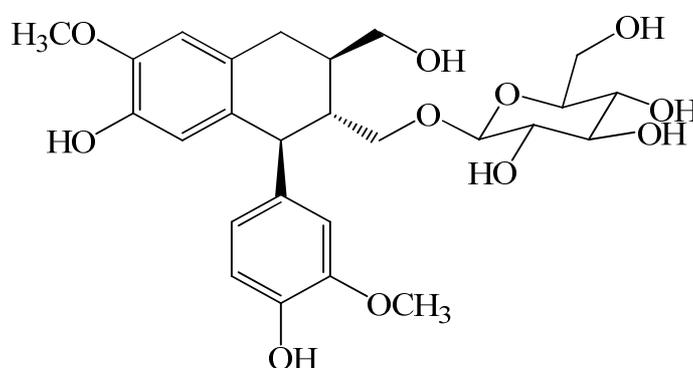
Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé **HS3** sont regroupés dans le tableau I. 1. 3. 3.

Tableau I. 1. 3. 3. Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé HS3 enregistrés dans CD_3OD

HS3		
Position	δ_{H} (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)
1	-	137,0
2	6,72 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 1,9)	112,4
3	-	147,7
4	-	144,6
5	6,78 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8,0)	114,5
6	6,99 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 8,0-1,9)	122,1
7	4,04 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 10,9, H-7 α)	43,4
8	2,60 (1H, <i>ddd</i> , <i>J</i> = 10,9-4,6-2,5, H-8 β)	46,1
9a	3,83 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 9,8-2,4, H-9 α)	59,4
9b	3,59 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 10,2-4,4, H-9 α)	

Position	δ_H (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz)	δ_C (ppm)
1'	-	132,1
2'	6,65 (1H, <i>sl</i>)	111,5
3'	-	146,0
4'	-	143,8
5'	6,20 (1H, <i>sl</i>)	115,9
6'	-	125,0
7'a	3,24 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 16,6, H-7' β)	38,5
7'b	2,63 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 16,6, H-7' α)	
8'	-	73,5
9'a	3,81 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 11,2, H-9' β)	67,9
9'b	3,61 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 11,2, H-9' α)	
3-OMe	3,80 (3H, <i>s</i>)	54,9
3'-OMe	3,83 (3H, <i>s</i>)	54,9

I. 1. 3. 4. Identification structurale du composé HS4



Isolaricirésinol 9'-O- β -D-glucopyranoside

Le composé **HS4** est isolé sous forme d'une poudre blanche soluble dans le méthanol, présentant une tache visible sur CCM à 254 et 366 nm. Il se révèle en mauve à une solution acide et chauffage à 100 °C.

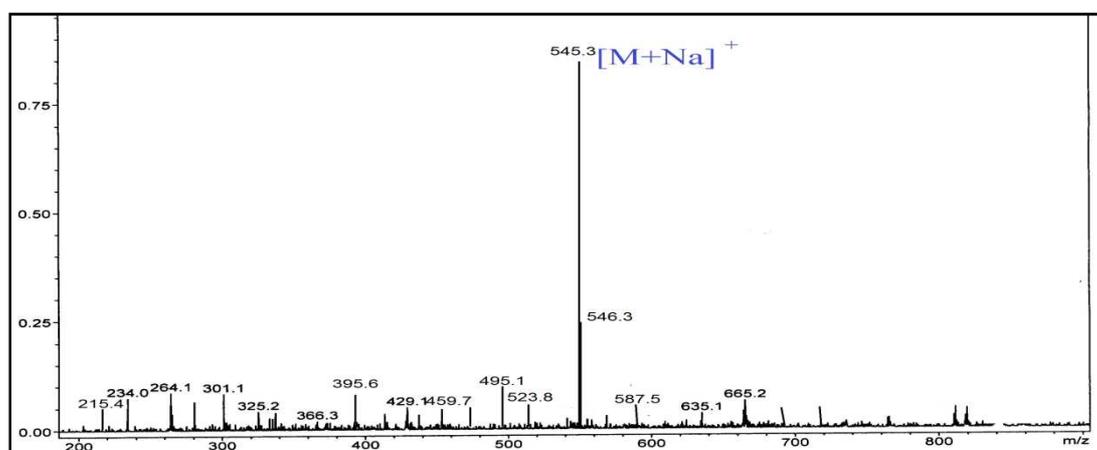


Figure I. 1. 3. 4. 1. Spectre de masse ESI-MS du composé HS4

Le spectre de masse ESI-MS (figure I. 1. 3. 4. 1) de ce composé révèle l'existence d'un pic d'ion pseudomoléculaire à $m/z = 545,3 [M+Na]^+$ indiquant une masse moléculaire égale à 522 uma correspondant à une formule brute en $C_{26}H_{34}O_{11}$.

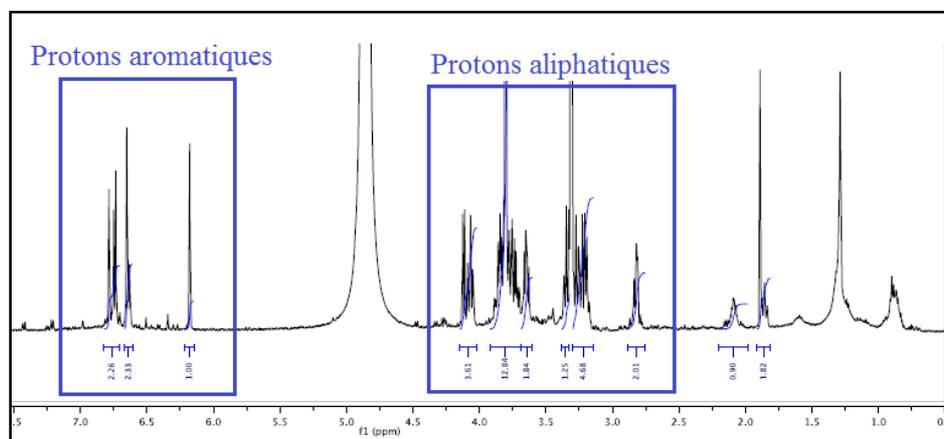


Figure I. 1. 3. 4. 2. Spectre RMN ¹H du composé HS4

Les spectres RMN ¹H des composés **HS3** et **HS4** apparaissent similaires notamment au niveau de la zone aromatique avec l'existence de quelques différences dans la zone aliphatique (figure I. 1. 3. 4. 2).

Cette similitude permet de suggérer pour ce composé un squelette non seulement lignanique mais aussi de type aryltétralène [223] dont le spectre RMN ¹H (figure I. 1. 3. 4. 3) montre cinq signaux aromatiques attribués, de la même manière que le composé **HS3**, aux protons des noyaux aromatiques A et B comme suit :

- Le signal doublet ($J = 1,9$ Hz) résonant à δ_H 6,79 au proton H-2.
- Le deuxième doublet ($J = 8,0$ Hz) sortant à δ_H 6,74 au proton H-5.
- Le proton H-6 est attribué au signal doublet de doublets visualisé à δ_H 6,64 avec $J = 8,0-1,9$ Hz.

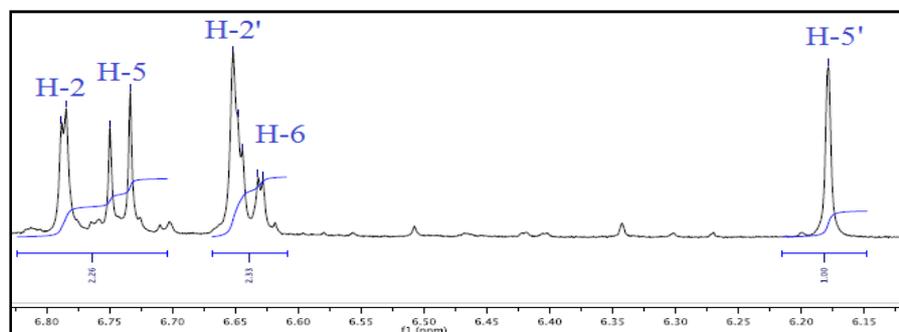


Figure I. 1. 3. 4. 3. Spectre RMN ¹H des protons aromatiques du composé HS4

Concernant les protons H-2' et H-5' du cycle B qui forment un système AX, ces derniers sont clairement accordés aux singulets larges sortant à δ_H 6,65 et 6,18 respectivement.

Les carbones de ces protons sont localisés sur le spectre HSQC (figure I. 1. 3. 4. 4) à δ_C 114,0 (C-2), 115,8 (C-5), 122,9 (C-6), 112,1 (C-2') et 117,1 (C-5').

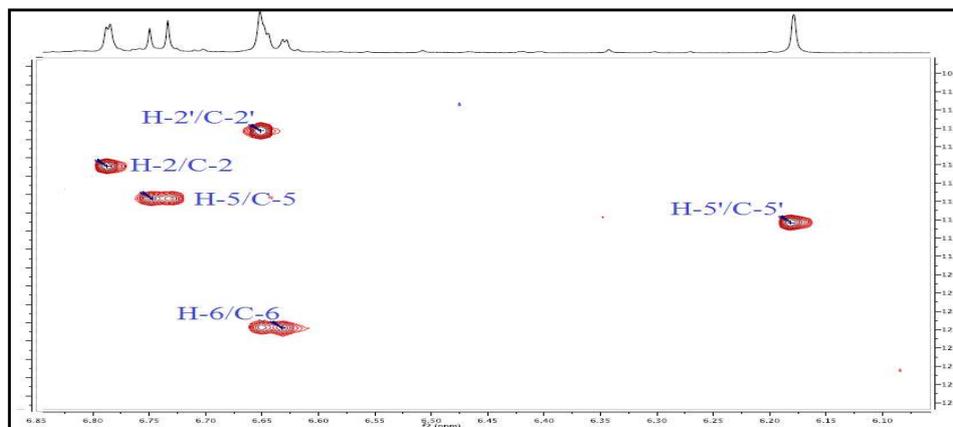


Figure I. 1. 3. 4. 4. Spectre HSQC des protons aromatiques du composé HS4

Les autres carbones quaternaires de ces deux cycles (A et B) sont identifiés suite aux corrélations en 2J et 3J observées sur le spectre HMBC (figure I. 1. 3. 4. 5) entre :

- Le proton H-2 et les carbones C-4 (δ_C 145,6) et C-6 (δ_C 122,9).
- Le proton H-5 et les carbones C-1 (δ_C 138,4) et C-3 (δ_C 148,6).
- Le proton H-6 et les carbones C-2 (δ_C 114,0) et C-4.
- les protons H-2' et H-5' du cycle B et les carbones quaternaires C-1' (δ_C 134,1), C-3' (δ_C 146,9), C-4' (δ_C 144,8) et C-6' (δ_C 128,8).

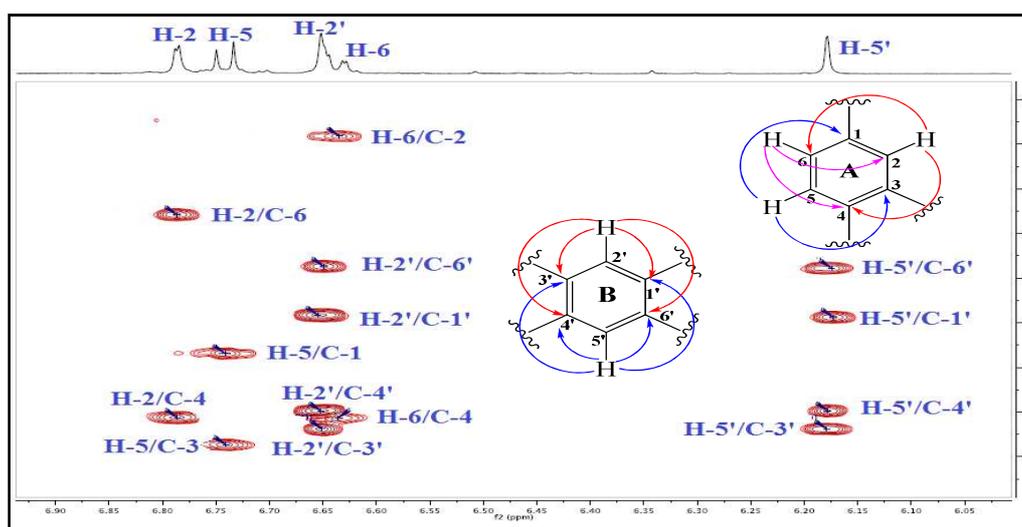


Figure I. 1. 3. 4. 5. Spectre HMBC des protons aromatiques du composé HS4

Une simple comparaison entre les valeurs de déplacement chimique des carbones C-3 (δ_C 148,6) et C-4 (δ_C 145,6) du cycle A et C-3' (δ_C 146,9) et C-4' (δ_C 144,8) du cycle B avec celles des mêmes carbones du composé **HS3** indique l'existence des groupements méthoxyliques et hydroxyliques comme pour le composé précédent (figure I. 1. 3. 4. 6), où les

signaux des méthoxyles sont repérés à δ_H 3,80 et 3,81 sous forme de singulets sur le spectre RMN 1H . Leurs carbones sont localisés à δ_C 56,2 et 56,0 grâce à l'analyse du spectre HSQC.

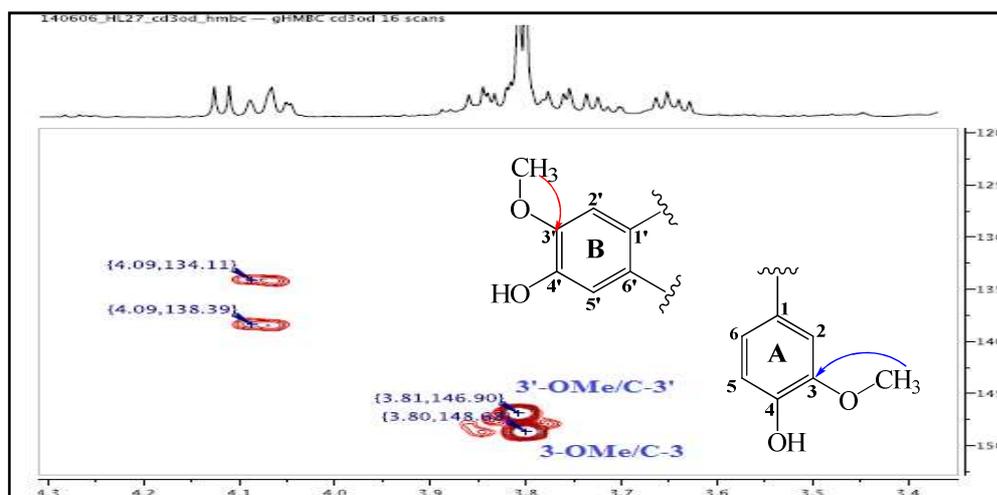


Figure I. 1. 3. 4. 6. Spectre HMBC des substituants des cycles A et B du composé HS4

La suggestion de l'appartenance de la structure de ce composé aux lignanes à squelette aryltétralène est prouvée, d'une part, par l'existence de deux groupements aromatiques de type 1,3,4-trisubstitué et 1,3,4,6-tetrasubstitué (figure I. 1. 3. 4. 7), et d'autre part, par la présence d'un nombre important de signaux aliphatiques montrant une analogie avec ceux du composé HS3.

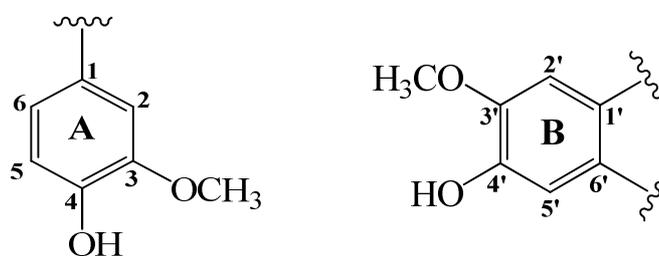


Figure I. 1. 3. 4. 7. Cycles aromatiques A et B du composé HS4

L'utilisation de la même procédure appliquée au composé HS3, pour l'élucidation structurale de la zone aliphatique permet de reconnaître entre autres :

- Le signal du proton H-7 (δ_H 4,08) à travers ses corrélations visualisées sur le spectre HMBC (figure I. 1. 3. 4. 8) avec les carbones aromatiques C-1, C-2 et C-6 du cycle A et les carbones C-1', C-5' et C-6' du cycle B.
- Les protons H₂-7' (δ_H 2,81-2,79) grâce aux corrélations observées sur le spectre HMBC (figure I. 1. 3. 4. 8) avec les carbones aromatiques C-1', C-2' et C-6' du cycle B.

Les carbones associés à ces protons (H-7 et H₂-7') sont également localisés par analyse du spectre HSQC à δ_C 47,6 (C-7) et 33,6 (C-7').

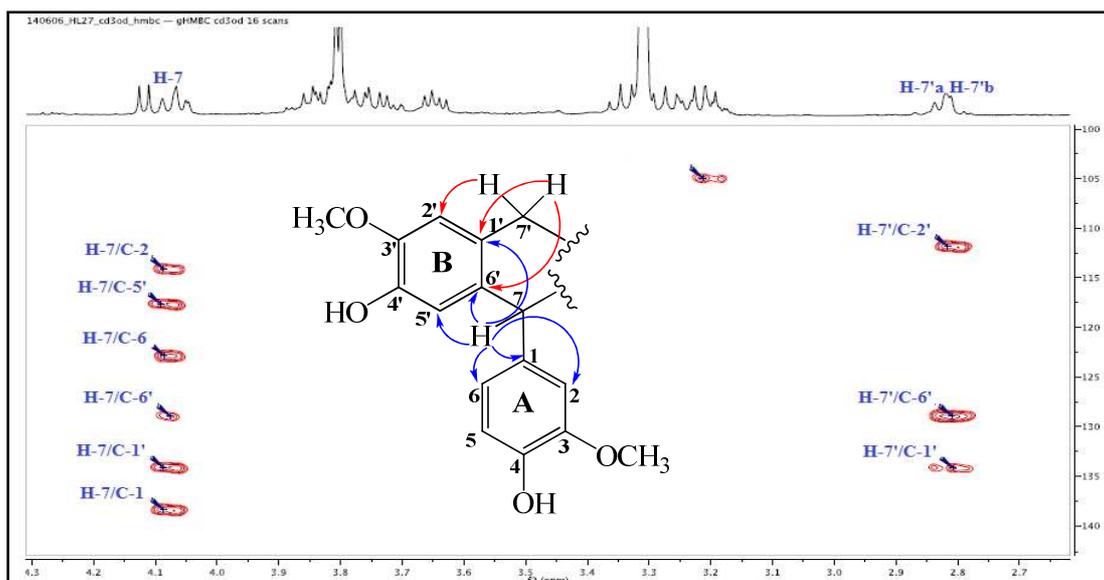


Figure I. 1. 3. 4. 8. Spectre HMBC des protons H-7 et H-7' du composé HS4

L'analyse du spectre COSY H-H (figure I. 1. 3. 4. 9) révèle l'existence d'un fragment structural $-\text{CH}-\text{CH}(\text{CH}_2\text{R})-\text{CH}(\text{CH}_2\text{R}')-\text{CH}_2-$ à travers les corrélations observées entre les protons H-7 (δ_{H} 4,08, *d*, $J = 11,2$ Hz)/H-8 (δ_{H} 1,86, *tdd*, $J = 10,9-4,6-2,5$ Hz), H-8/H-9a (δ_{H} 4,05, *dd*, $J = 10,9-3,2$ Hz), H-8/H-9b (δ_{H} 3,24, *dd*, $J = 10,7-3,5$ Hz), H-8/H-8' (δ_{H} 2,08, *m*, $W_{1/2} = 15,8$ Hz), H-8'/H-7'a (δ_{H} 2,81, *dd*, $J = 14,8-5,2$ Hz), H-8'/H-7'b (δ_{H} 2,79, *dd*, $J = 14,8-12,1$ Hz), H-8'/H-9'a (δ_{H} 3,77, *dd*, $J = 11,0-3,1$ Hz) et H-8'/H-9'b (δ_{H} 3,72, *dd*, $J = 11,0-5,9$ Hz).

Ces couplages permettent de former le cycle C à six chaînons comme dans le cas du composé HS3.

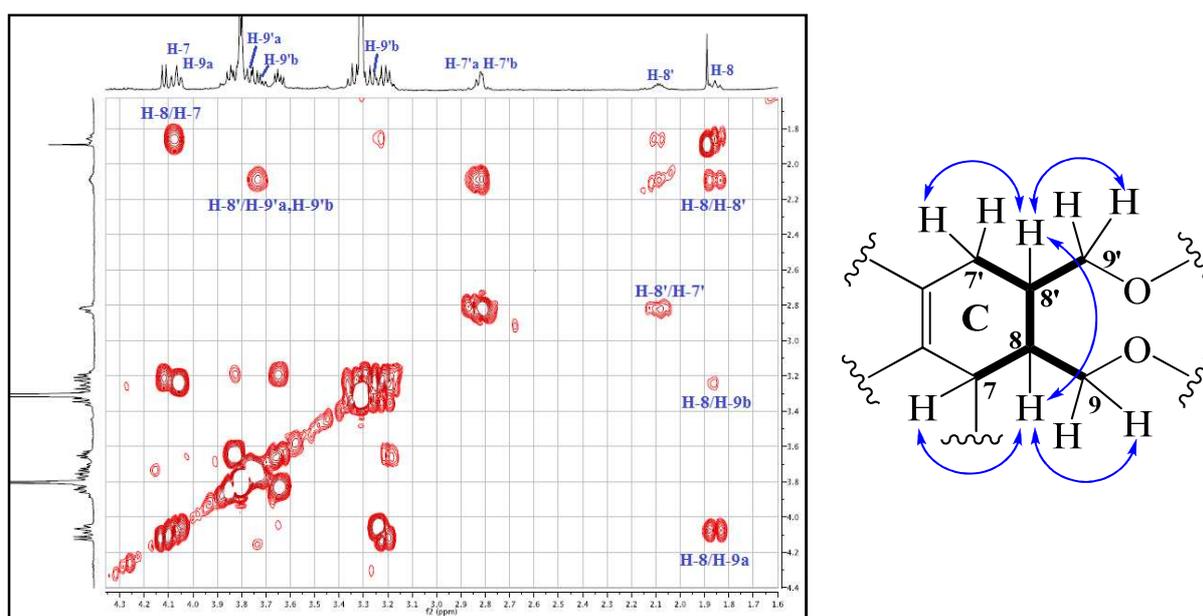


Figure I. 1. 3. 4. 9. Spectre COSY H-H des protons aliphatiques du composé HS4

Leurs carbones sont détectés à δ_C 45,6 (C-8), 39,2 (C-8'), 69,2 (C-9) et 64,9 (C-9') par expérience HSQC.

L'analyse du spectre HMBC (figure I. 1. 3. 4. 10) montre les corrélations entre le proton H-7 et les carbones méthines C-8 et C-8' et un carbone oxyméthylène C-9 (δ_C 69,2). Les protons H₂-7' présentent des corrélations HMBC avec les carbones C-8 et C-8' et un autre carbone oxyméthylène C-9' (δ_C 64,9).

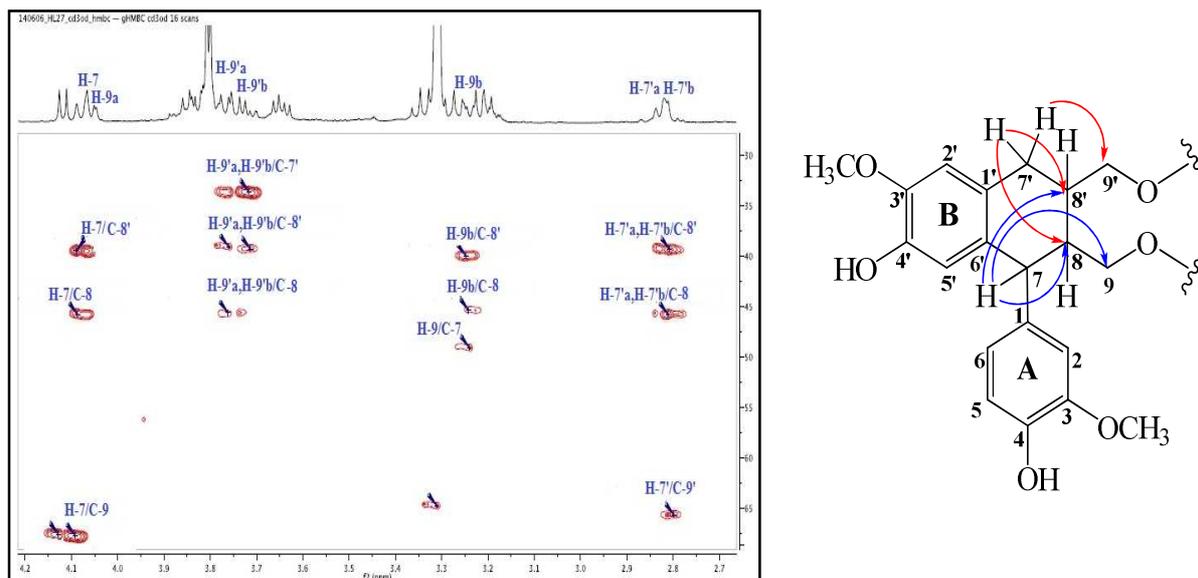


Figure I. 1. 3. 4. 10. Corrélations HMBC des protons H-7 et H₂-7' du composé HS4

En plus de ces corrélations, le spectre HMBC révèle des couplages entre les protons H₂-9 et les carbones C-7, C-8 et C-8', ainsi qu'entre H₂-9' et les carbones C-7', C-8' et C-8.

Pour compléter l'élucidation structurale de ce composé, l'analyse du spectre HMBC indique l'absence d'autres corrélations pour les protons méthyléniques H-9'a et H-9'b permettant de lier au carbone C-9' un substituant hydroxyle, en tenant compte de sa valeur de déplacement chimique (δ_C 64,9) et en comparaison avec le composé précédent (figure I. 1. 3. 4. 11).

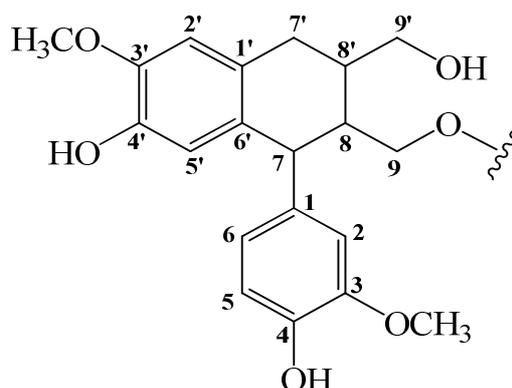


Figure I. 1. 3. 4. 11. Substituents des carbones C-9 et C-9' du composé HS4

Par ailleurs, ce spectre révèle la présence de corrélations des protons H-9a et H-9b avec un carbone résonant à δ_C 104,9 (C-1'') dont le proton H-1'' est repéré à 4,12 ppm selon l'expérience HSQC (figure I. 1. 3. 4. 12).

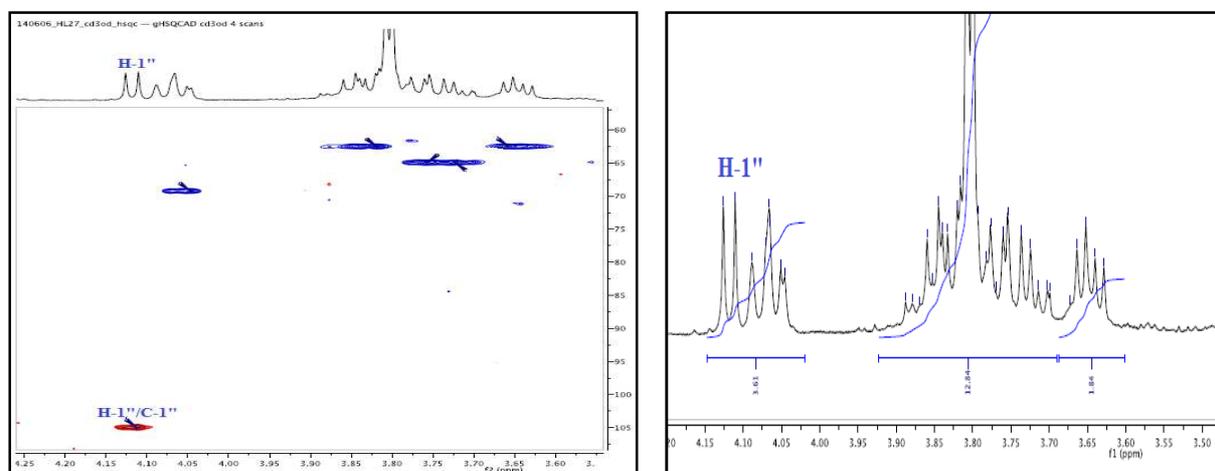


Figure I. 1. 3. 4. 12. Spectre HSQC et RMN ^1H du proton anomérique du composé HS4

A partir de ce proton (H-1'', δ_H 4,12, *d*, $J = 7,8$ Hz), l'expérience COSY H-H (figure I. 1. 3. 4. 13) permet de détecter un système de spins à sept protons correspondant à un hexose. En effet, ce spectre met en évidence les couplages suivants :

- Le proton anomérique H-1'' et le proton résonant à δ_H 3,21 (*t*, $J = 7,8$ Hz) attribué au proton H-2''.
- Le proton H-2'' et le proton H-3'' localisé à δ_H 3,35 (*t*, $J = 8,1$ Hz).
- Le proton H-3'' et le proton H-4'' (δ_H 3,35, *t*, $J = 8,5$ Hz).
- Le proton H-4'' et le proton H-5'' (δ_H 3,20, *m*).
- Ce dernier proton et les protons H-6''a (δ_H 3,82, *dd*, $J = 11,7-2,8$ Hz) et H-6''b (δ_H 3,66, *dd*, $J = 11,8-5,7$ Hz).

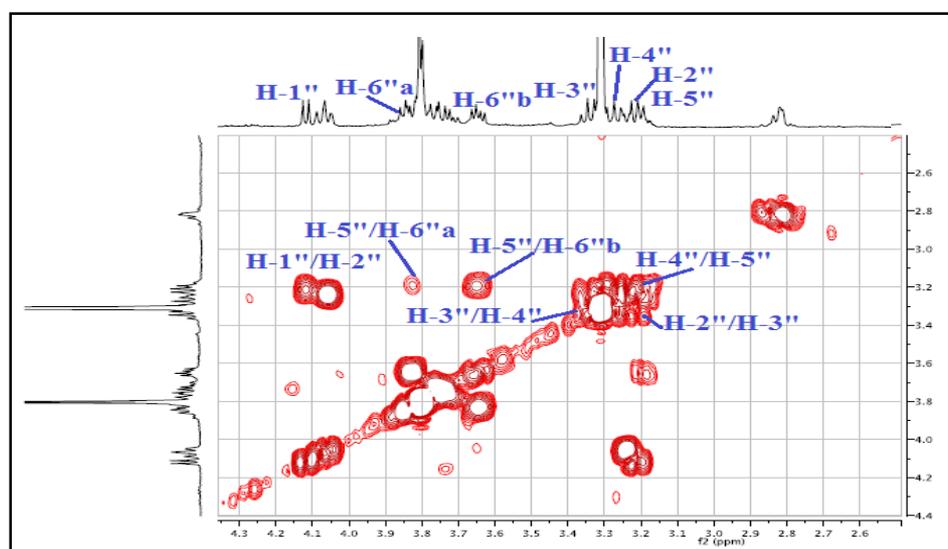


Figure I. 1. 3. 4. 13. Spectre COSY H-H des protons osidiques du composé HS4

Les grandes valeurs des constantes de couplage des protons H-2'', H-3'' et H-4'', en plus du doublet de proton anomérique H-1'' ($J = 7,8$ Hz), indiquent une orientation *trans*-diaxiale pour tous les protons de cet hexose. Cette stéréospécificité atteste de la présence d'un β -D-glucose.

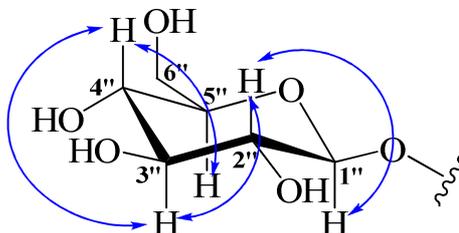


Figure I. 1. 3. 4. 14. Corrélations COSY H-H des protons osidiques du composé HS4

Les carbones de cet hexose sont assignés à δ_c 104,9 (C-1''), 74,9 (C-2''), 77,8 (C-3''), 71,4 (C-4''), 77,6 (C-5'') et 62,5 (C-6'') (figure I. 1. 3. 4. 15) par expérience HSQC.

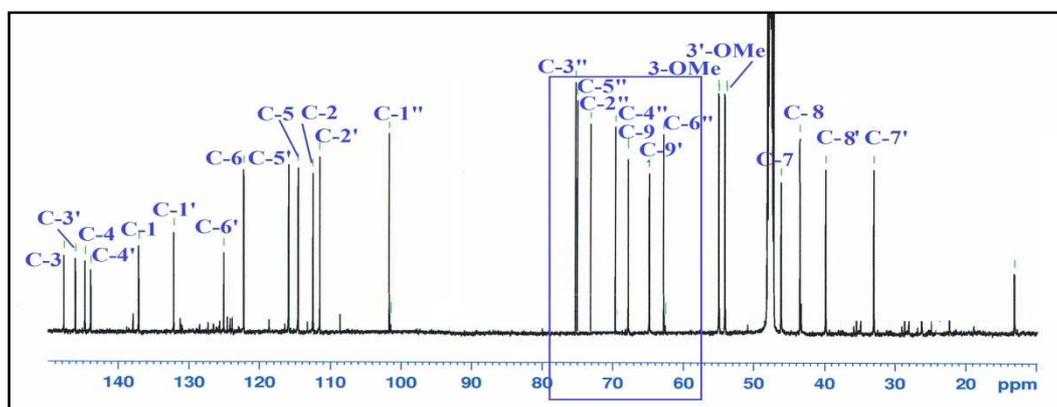


Figure I. 1. 3. 4. 15. Spectre RMN ^{13}C des carbones osidiques du composé HS4

Le branchement de ce glucose en position 9 est confirmé une autre fois par la corrélation, remarquée sur le spectre HMBC (figure I. 1. 3. 4. 16), du proton anomérique H-1'' avec le carbone C-9.

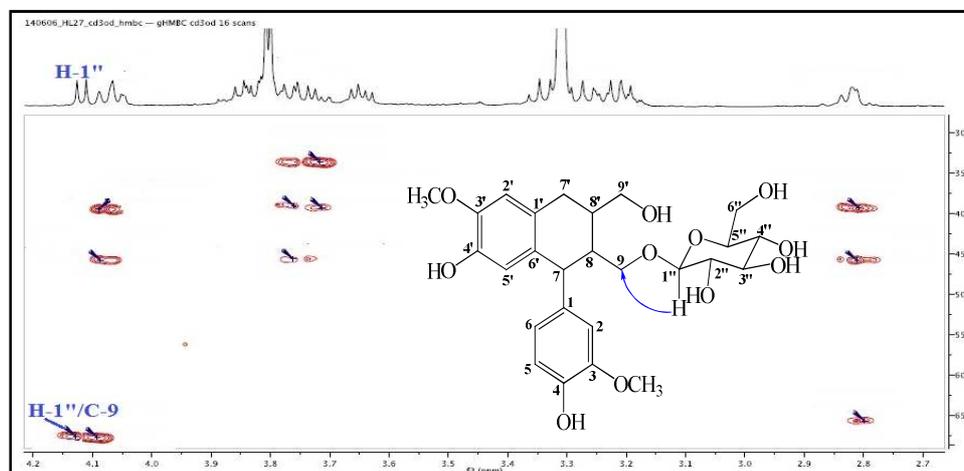


Figure I. 1. 3. 4. 16. Corrélation HMBC du proton anomérique du composé HS4

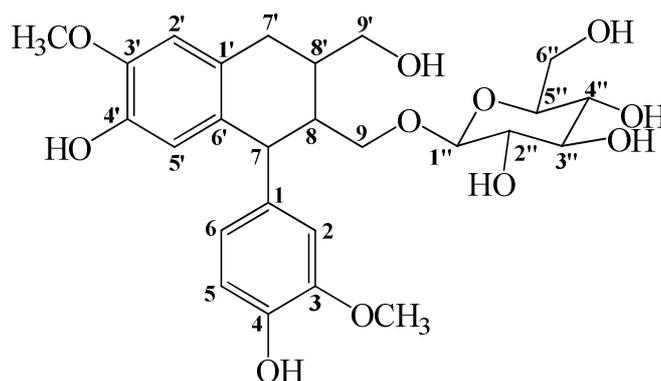


Figure I. 1. 3. 4. 17. Structure plane du composé HS4

La configuration absolue des carbones C-7, C-8 et C-8' (figure I. 1. 3. 4. 17) de ce composé est établie, de la même manière que pour le composé précédent **HS3**, par analyse des valeurs des constantes de couplage des protons correspondants et les données obtenues à partir du spectre NOESY. Ce dernier (figure I. 1. 3. 4. 18) montre des corrélations du proton méthine H-7 avec les protons H-8', H-9a et H-9b indiquant une même orientation pour ce groupe de protons. Ainsi, les protons H-8, H-7'b, H-9'a et H-9'b adoptent une orientation co-faciale vu les corrélations visualisées sur le spectre NOESY entre le proton H-8 et les protons H-7'b, H-9'a et H-9'b.

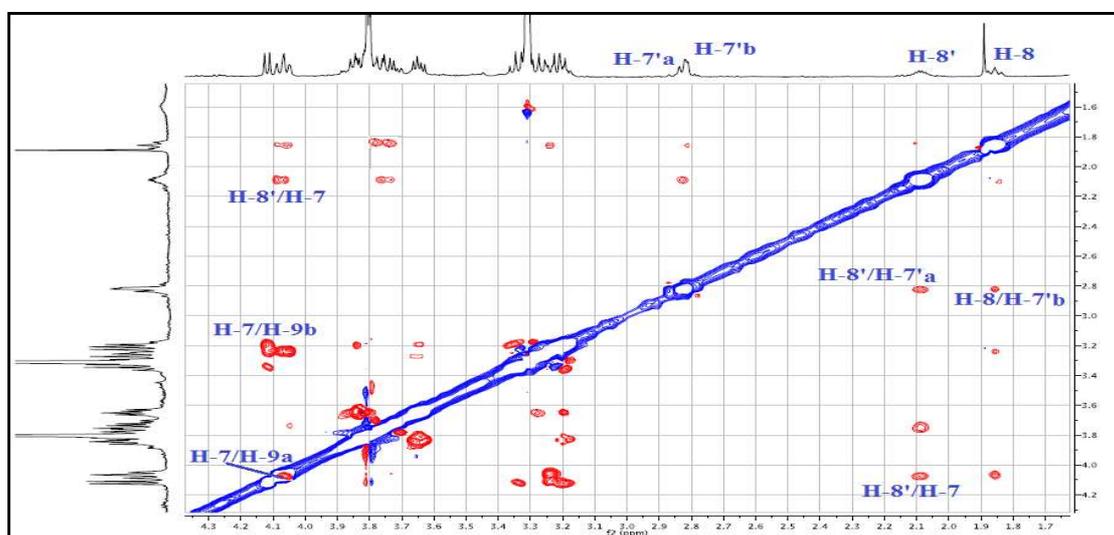


Figure I. 1. 3. 4. 18. Spectre NOESY du composé HS4

Les valeurs des constantes de couplage de ces protons permettrait d'attribuer la face d'orientation de ces deux groupes de protons en tenant compte de la conformation E du cycle C de cette structure comme il a été démontré pour le composé **HS3**.

La valeur J du proton H-7 ($J_{H-7/H-8} = 11,2$ Hz), qui montre une position *trans*-diaxiale pour les deux protons H-7 et H-8, impliquerait une orientation β pour ce dernier et donc une orientation α pour le proton H-7. En conséquence, le proton H-8' et le groupement

9-CH₂Oglu s'orientent dans la face α et le proton H-7'b et le groupement 9'-CH₂OH occupent la face β indiquant une configuration absolue (7*S*, 8*R*, 8'*R*) (figure I. 1. 3. 4. 19).

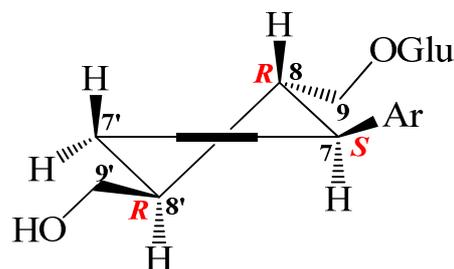


Figure I. 1. 3. 4. 19. Configuration absolue des carbones chiraux du composé HS4

Ces résultats sont en parfait accord avec les valeurs des constantes de couplage des autres protons du cycle C et confirment l'orientation (β -axiale) des protons H-8 (*tdd*, $J = 10,9-4,6-2,5$ Hz) et H-7'b (*d*, $J = 14,8-12,1$ Hz). L'orientation α -axiale du proton H-8' se trouve renforcée par la largeur spectrale de son signal à mi-hauteur $W_{1/2} = 15,8$ Hz qui est supérieure à 15 Hz [227].

L'ensemble des données spectrales accumulées, en plus de la valeur du pouvoir rotatoire ($[\alpha]_D = +15,7$, $c = 0,4$, MeOH), confirment que le présent composé est totalement identique à l'**Isolaricirésinol 9'-O- β -D-glucoopyranoside** (figure I. 1. 3. 4. 20) [228].

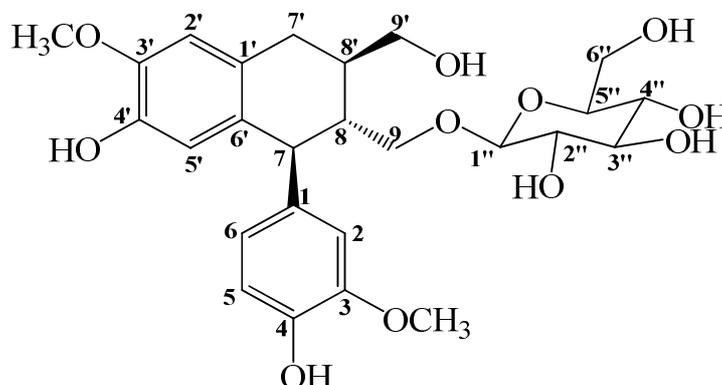


Figure I. 1. 3. 4. 20. Structure du composé HS4 (Isolaricirésinol 9'-O- β -D-glucoopyranoside)

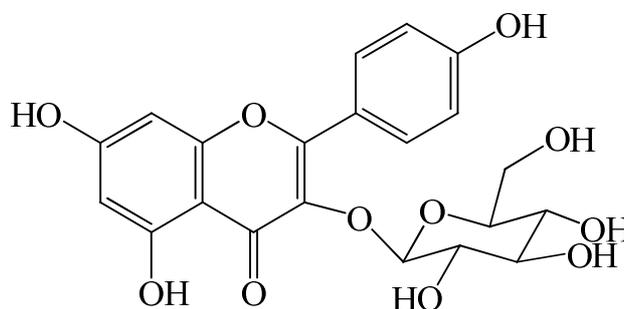
Ce composé n'ayant pas été identifié précédemment dans la famille Cistaceae a été isolé antérieurement des espèces *Annona squamosa* (Annonaceae) [229] et *Pinus sylvestris* (Pinaceae) [230].

Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé **HS4** sont réunis dans le tableau **I. 1. 3. 4.**

Tableau I. 1. 3. 4. Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé HS4 enregistrés dans CD_3OD

HS4		
Position	δ_{H} (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)
1	-	138,4
2	6,79 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 1,9)	114,0
3	-	148,6
4	-	145,6
5	6,74 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8,0)	115,8
6	6,64 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 8,0-1,9)	122,9
7	4,08 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 11,2, H-7 α)	47,6
8	1,86 (1H, <i>tdd</i> , <i>J</i> = 10,9-4,6-2,5, H-8 β)	45,6
9a	4,05 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 10,9-3,2, H-9 α)	69,2
9b	3,24 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 10,7-3,5, H-9 α)	
1'	-	134,1
2'	6,65 (1H, <i>sl</i>)	112,1
3'	-	146,9
4'	-	144,8
5'	6,18 (1H, <i>sl</i>)	117,1
6'	-	128,8
7'a	2,81 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 14,8-5,2, H-7' α)	33,6
7'b	2,79 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 14,8-12,1, H-7' β)	
8'	2,08 (1H, <i>m</i> , $W_{1/2}$ = 15,8)	39,2
9'a	3,77 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 11,0-3,1, H-9' β)	64,9
9'b	3,72 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 11,0-5,9, H-9' β)	
3-OMe	3,80 (3H, <i>s</i>)	56,2
3'-OMe	3,81 (3H, <i>s</i>)	56,0
1''	4,12 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 7,8)	104,9
2''	3,21 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 7,8)	74,9
3''	3,35 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 8,1)	77,8
4''	3,27 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 8,5)	71,4
5''	3,20 (1H, <i>m</i>)	77,6
6''a	3,82 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 11,7 -2,8)	62,5
6''b	3,66 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 11,8 -5,7)	

I. 1. 3. 5. Identification structurale du composé HS5



Astragaline

Le composé **HS5** se présente sous forme d'une poudre verte. Il donne une tache fluorescente à la lumière UV à 366 nm et se révèle en jaune après révélation par une solution acide et chauffage à 100 °C. Ceci traduit une nature flavonoïdique de ce composé.

Le spectre de masse ESI-MS (figure I. 1. 3. 5. 1) du composé **HS5** montre des pics d'ions pseudomoléculaires à $m/z = 471,5 [M+Na]^+$, $487,5 [M+K]^+$ et $919,5 [2M+Na]^+$, soit une masse moléculaire égale à 448 uma correspondant à une formule brute en $C_{21}H_{20}O_{11}$ et un nombre d'isaturations de 12 degrés.

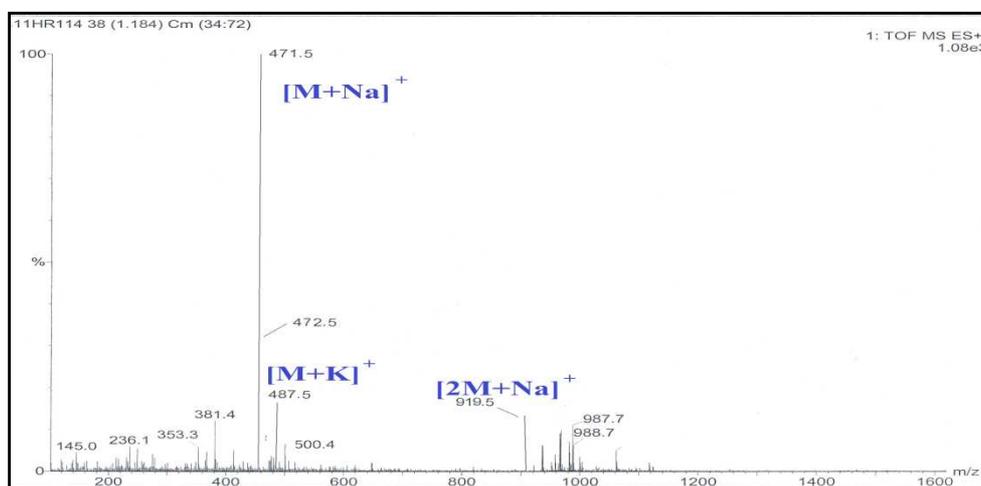


Figure I. 1. 3. 5. 1. Spectre de masse ESI-MS en mode positif du composé **HS5**

Le spectre RMN 1H (figure I. 1. 3. 5. 2) du composé **HS5** confirme sa nature flavonoïdique par les signaux déblindés qu'il exhibe dans la zone s'étallant de 6,00 jusqu'à 8,00 ppm.

La nature de ce composé est mise en évidence une fois de plus par l'analyse du spectre RMN ^{13}C (figure I. 1. 3. 5. 2) qui révèle l'existence d'un nombre important de signaux entre 90 et 180 ppm attribués aux carbones aromatiques de ce flavonoïde.

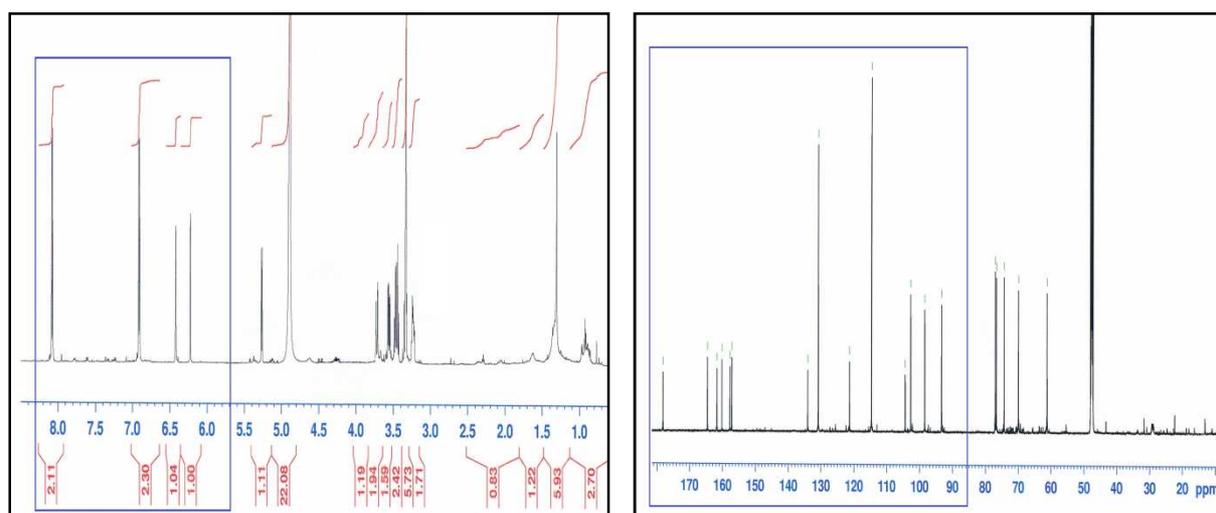


Figure I. 1. 3. 5. 2. Spectres RMN 1H et ^{13}C du composé **HS5**

La distinction entre les protons du composé **HS5** se fait principalement par l'analyse des multiplicités et constantes de couplage où le doublet sortant à 6,22 ppm d'une valeur de J

égale à 1,8 Hz corrèle sur le spectre COSY H-H (figure I. 1. 3. 5. 3) avec un proton en position *mé*ta, résonant à δ_{H} 6,42 (*d*, $J = 1,8$ Hz).

Les déplacements chimiques des carbones de ces protons (δ_{C} 98,4/ δ_{H} 6,22) et (δ_{C} 93,3/ δ_{H} 6,42), déterminés par le spectre HSQC (figure I. 1. 3. 5. 3), permettent de les attribuer aux carbones 6 et 8 du cycle A respectivement.

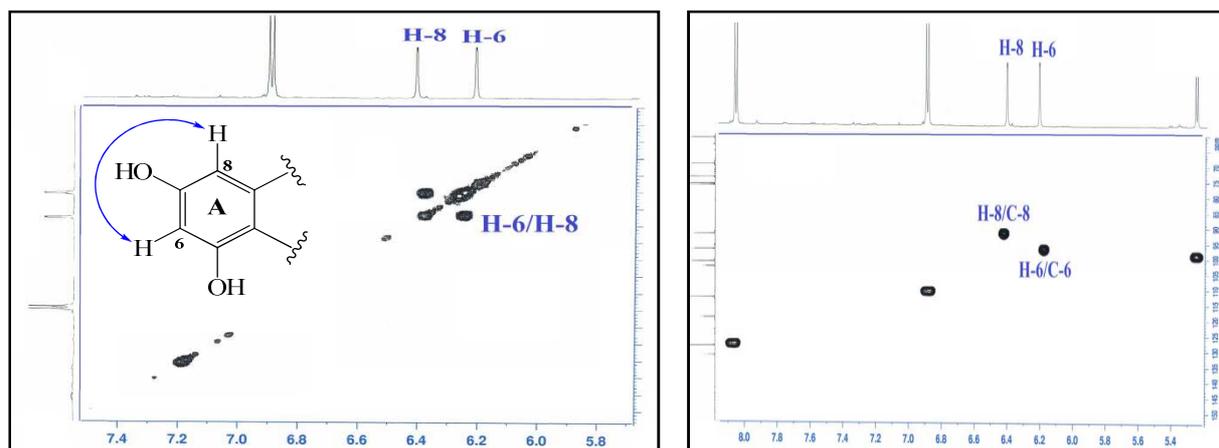


Figure I. 1. 3. 5. 3. Spectres COSY H-H et HSQC du cycle A du composé HS5

A partir de ces protons le spectre HMBC (figure I. 1. 3. 5. 4) permet de localiser les autres carbones du cycle A par les corrélations qu'il présente comme suit :

- Le proton H-6 et les carbones oxygénés C-5 (δ_{C} 161,6) et C-7 (δ_{C} 164,5), le carbone méthine C-8 (δ_{C} 93,3) et le carbone quaternaire C-10 (δ_{C} 104,3).
- Le proton H-8 et le carbone méthine C-6 (δ_{C} 98,4), les carbones oxygénés C-7 et C-9 (δ_{C} 157,7) et le carbone quaternaire et C-10.

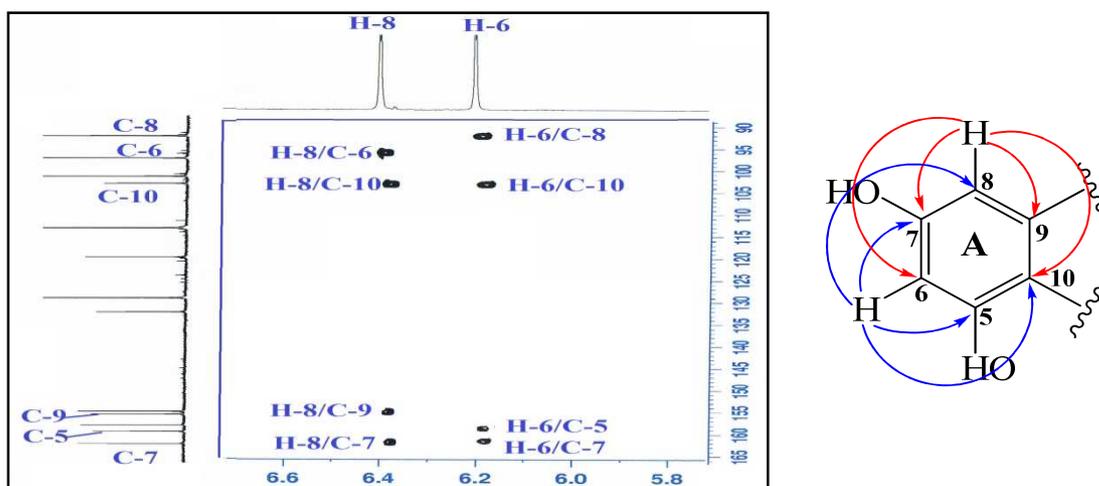


Figure I. 1. 3. 5. 4. Spectre HMBC du cycle A du composé HS5

Les signaux restant dans cette zone sortant à 6,90 et 8,08 ppm sous forme de deux doublets avec une constante de couplage $J = 8,8$ Hz et s'intégrant pour 2H chacun mettent en

évidence l'existence de protons aromatiques magnétiquement équivalents deux à deux ne pouvant être que les protons du cycle B.

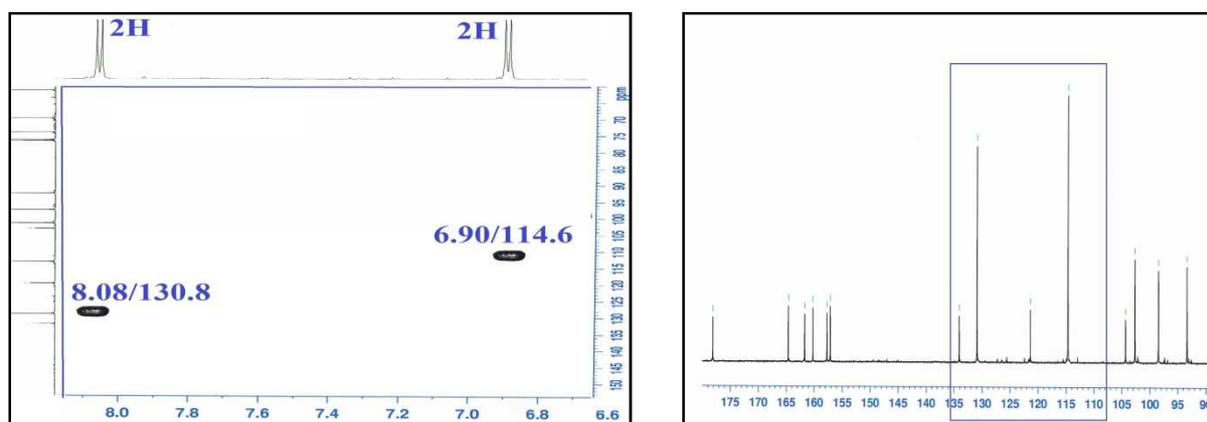


Figure I. 1. 3. 5. 5. Spectres HSQC et RMN ^{13}C du cycle B du composé HS5

Ces protons sont accordés sur le spectre HSQC (figure I. 1. 3. 5. 5) aux signaux (δ_{C} 130,8/ δ_{H} 8,08) et (δ_{C} 114,6/ δ_{H} 6,90) dont l'intensité remarquable de leurs pics sur le spectre RMN ^{13}C (figure I. 1. 3. 5. 5) confirme la présence d'un noyau aromatique (cycle B) symétrique.

Les protons moins déblindés résonant à δ_{H} 6,90 sont attribués aux protons H-3' et H-5' en raison de l'effet de l'hydroxyle en position 4'. Ces protons présentent des corrélations en 3J sur le spectre HMBC (figure I. 1. 3. 5. 6) avec un carbone quaternaire résonant à δ_{C} 121,3 ne pouvant être que le carbone C-1'. En conséquence, les protons à δ_{H} 8,08 sont identifiés comme étant H-2' et H-6'. Ces derniers corréleront en 3J sur ce spectre avec deux carbones oxygénés C-2 et C-4'.

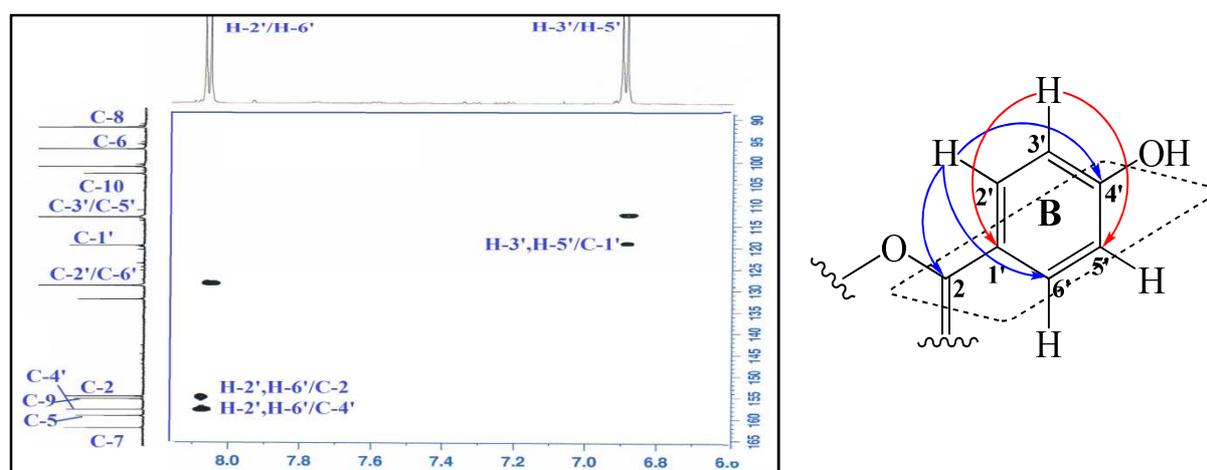


Figure I. 1. 3. 5. 6. Spectre HMBC du cycle B du composé HS5

Toute cette analyse et en plus des couplages observés sur le spectre COSY H-H (figure I. 1. 3. 5. 7) confirment l'existence d'un cycle B *para* substitué.

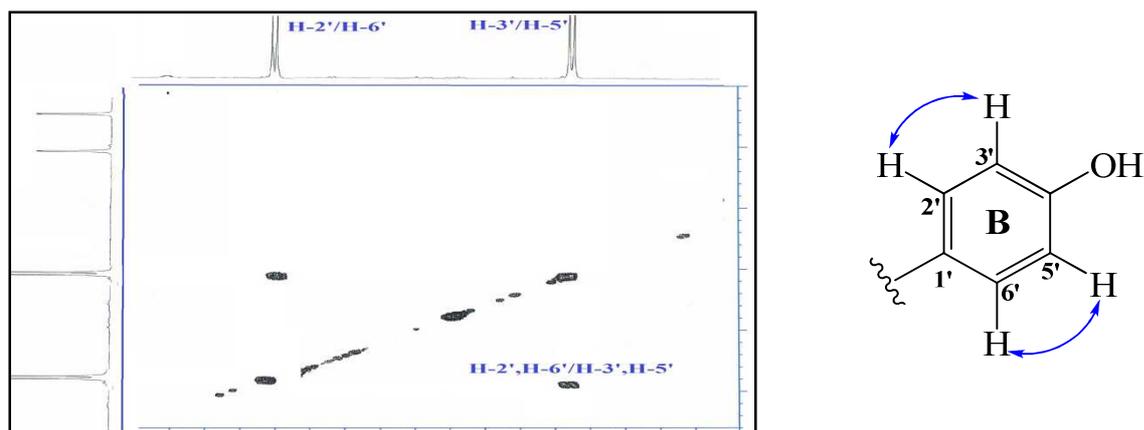


Figure I. 1. 3. 5. 7. Spectre COSY H-H du cycle B du composé HS5

Afin de déterminer la partie aglycone de ce flavonoïde, les carbones quaternaires localisés à 134,0 et 178,1 ppm sur le spectre RMN ^{13}C (figure I. 1. 3. 5. 8) et ne présentant aucune corrélation sur le spectre HMBC relatif à la partie aglycone sont attribués aux carbones C-3 et C-4 respectivement.

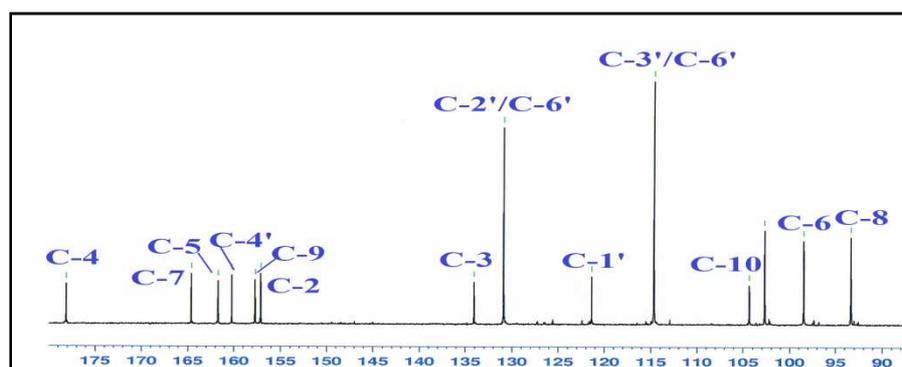


Figure I. 1. 3. 5. 8. Spectre RMN ^{13}C de l'aglycone du composé HS5

La valeur du déplacement chimique du carbone C-3 (δ_{C} 134,0) indique l'appartenance de cet aglycone à la classe des flavonols et plus précisément aux dérivés du Kaempférol (figure I. 1. 3. 5. 9) [231].

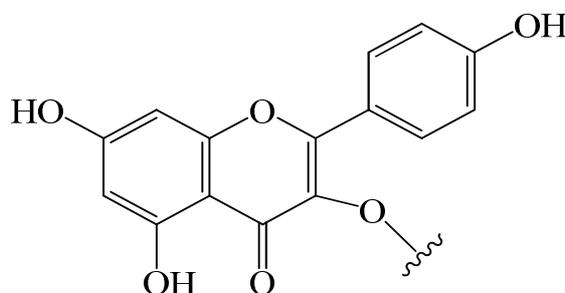


Figure I. 1. 3. 5. 9. Aglycone du composé HS5

Cette aglycone est substituée en position C-3 par une unité osidique vu le déplacement chimique déblindé du carbone C-2 (δ_{C} 157,1) [232], car dans le cas de la présence d'un OH

libre en position C-3, le carbone C-2 resonnerait vers 148 ppm. L'observation d'un signal sortant à δ_H 5,62 (*d*, $J = 7,3$ Hz) lié à un carbone résonant à δ_C 102,6 sur le spectre HSQC, caractéristique d'un CH anomérique et les signaux visualisés entre 3,20 et 3,75 ppm sur le spectre RMN 1H (figure I. 1. 3. 5. 10) confirment la nature osidique de ce flavonoïde.

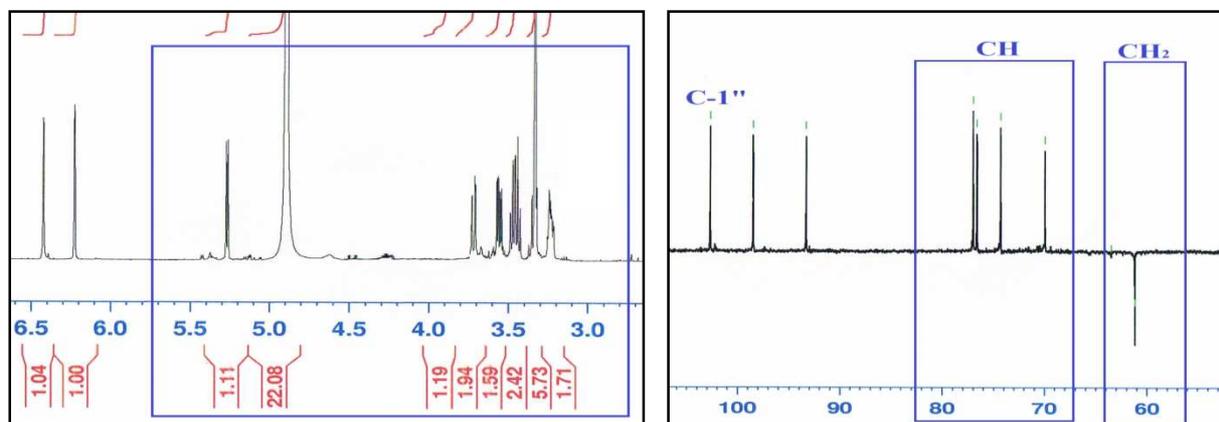


Figure I. 1. 3. 5. 10. Spectres RMN 1H et DEPT de la zone osidique du composé HS5

Le spectre DEPT (figure I. 1. 3. 5. 10) révélant entre 60 et 80 ppm la présence de quatre groupements oxyméthines et un groupement oxyméthylène atteste de la présence d'un hexose. Les protons accordés à ces carbones sont déterminés par l'analyse du spectre HSQC comme suit : (δ_H 3,34/ δ_C 69,9), (δ_H 3,44/ δ_C 74,3), (δ_H 3,23/ δ_C 76,6), (δ_H 3,47/ δ_C 77,0) et (δ_H 3,55 et 3,71/ δ_C 61,2).

La mise en ordre de ces groupements est réalisée sur la base des données obtenues de l'expérience COSY H-H (figure I. 1. 3. 5. 12). A partir du proton anomérique H-1'' identifié précédemment, ce spectre permet de localiser les autres protons par les couplages entre H-1''/H-2'' (δ_H 3,44, *t*, $J = 7,3$ Hz), H-2''/H-3'' (δ_H 3,47, *t*, $J = 7,0$ Hz), H-3''/H-4'' (δ_H 3,34, *m*), H-4''/H-5'' (δ_H 3,23, *ddd*, $J = 7,9-5,5-2,3$ Hz) et H-5''/H-6''a (δ_H 3,71, *dd*, $J = 11,8-2,0$ Hz) et H-6''b (δ_H 3,55, *dd*, $J = 11,8-5,5$ Hz) (figure I. 1. 3. 5. 11).

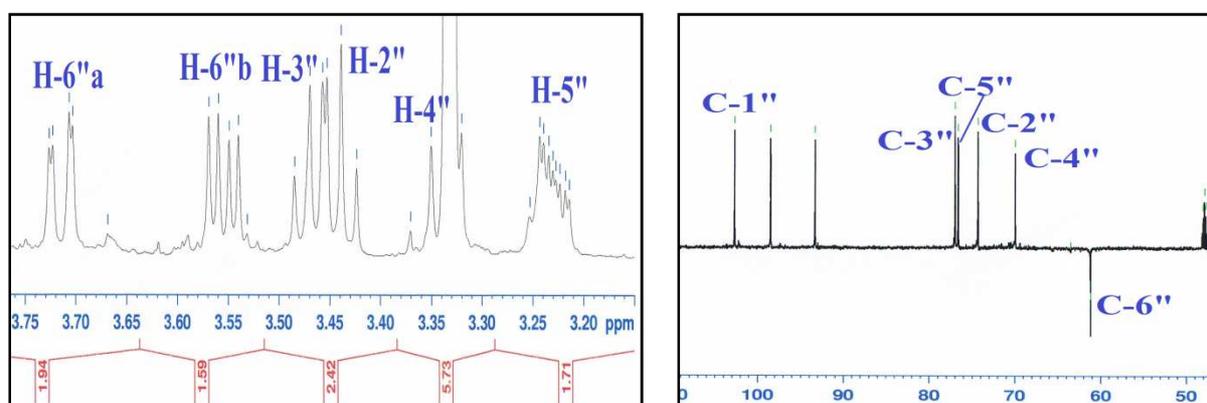


Figure I. 1. 3. 5. 11. Spectres RMN 1H et DEPT de la zone osidique du composé HS5

Compte tenu des valeurs des constantes de couplage de ces protons, cet hexose est identifié comme étant un D-glucose de configuration β ($J_{H-1''/H-2''} = 7,3$ Hz).

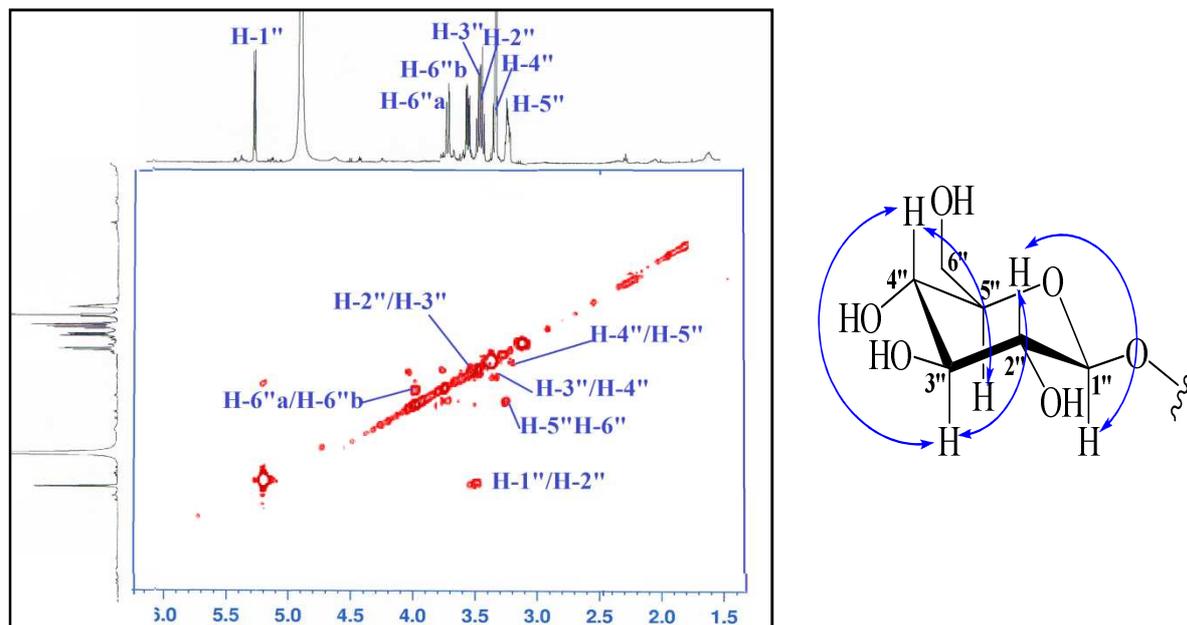


Figure I. 1. 3. 5. 12. Spectre COSY H-H des protons osidiques du composé HS5

Cette *O*-glucosylation de l'aglycone du composé **HS5** au niveau du carbone C-3 est confirmée par la tache de corrélation H/C du proton anomère H-1'' (δ_H 5,62) avec le carbone C-3 comme le montre le spectre HMBC (figure I. 1. 3. 5. 13).

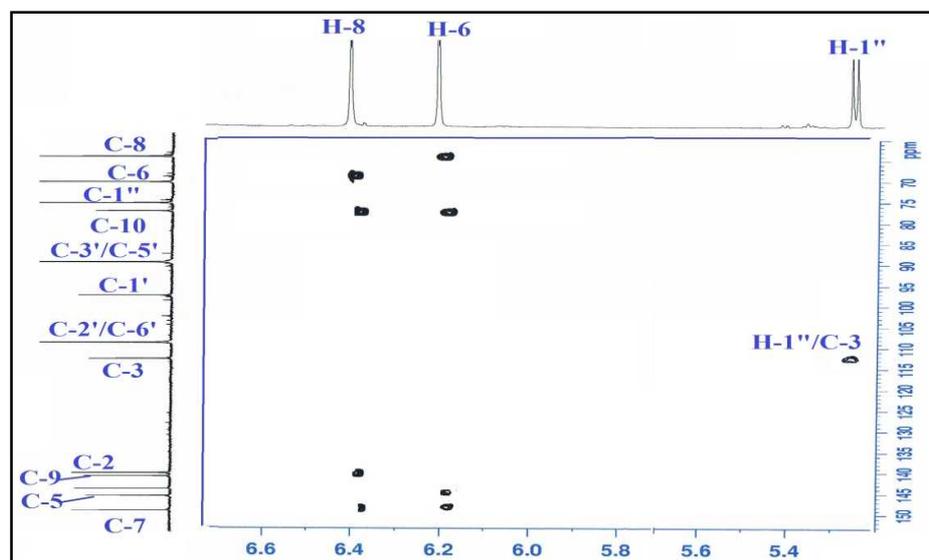


Figure I. 1. 3. 5. 13. Spectre HMBC montrant l'attachement du glucose à l'aglycone

A l'issu de ces résultats, la mesure de la valeur du pouvoir rotatoire ($[\alpha]_D = +17,1$, $c = 0,8$, MeOH) et la comparaison avec les données de la littérature [233], le composé **HS5** est identifié au **Kaempférol-3-*O*- β -D-glucopyranoside** communément appelé **Astragaline** (figure I. 1. 3. 5. 14).

L'astragaline est l'un des composés isolés à partir de l'espèce *Helianthemum glomeratum* [106]. Il a été antérieurement isolé de quelques espèces du genre *Cistus* de la famille Cistaceae telles que *C. ladanifer* [8] et *C. incanus* [234] et de l'espèce *T. lignosa* du genre *Tuberaria* [101].

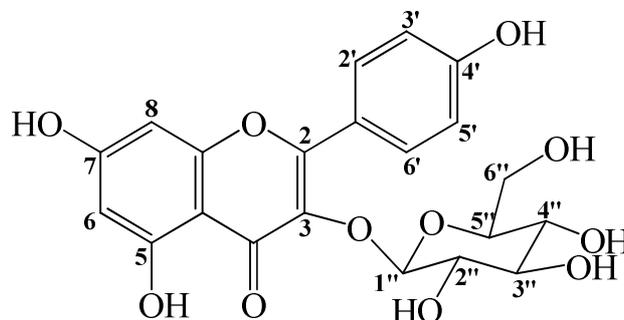


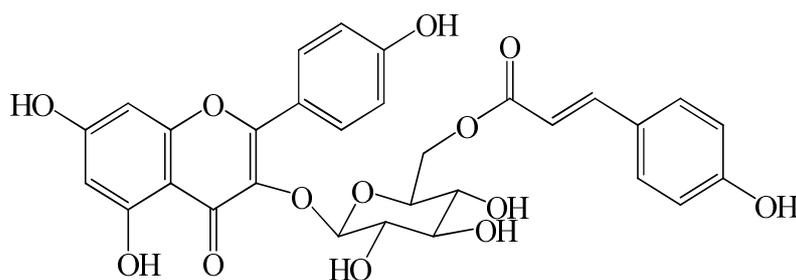
Figure I. 1. 3. 5. 14. Structure du composé HS5 (Astragaline)

Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé HS5 sont rassemblés dans le tableau I. 1. 3. 5.

Tableau I. 1. 3. 5. Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé HS5 enregistrés dans CD_3OD

HS5		
Position	δ_{H} (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)
1	-	-
2	-	157,1
3	-	134,0
4	-	178,1
5	-	161,6
6	6,22 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 1,8)	98,4
7	-	164,5
8	6,42 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 1,8)	93,3
9	-	157,7
10	-	104,3
1'	-	121,3
2'	8,08 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8,8)	130,8
3'	6,90 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8,8)	114,6
4'	-	160,1
5'	6,90 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8,8)	114,6
6'	8,08 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8,8)	130,8
1''	5,26 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 7,3)	102,6
2''	3,44 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 7,3)	74,3
3''	3,47 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 7,0)	77,0
4''	3,34 (1H, <i>m</i>)	69,9
5''	3,23 (1H, <i>ddd</i> , <i>J</i> = 7,9 -5,5-2,3)	76,6
6''a	3,71 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 11,8 -2,0)	61,2
6''b	3,55 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 11,8 -5,5)	

I. 1. 3. 6. Identification structurale du composé HS6



Tiliroside

Ce composé purifié sous forme d'une poudre jaune est visible à la lumière UV à 254 et 366 nm. Il montre sur CCM une tache jaune après révélation par une solution acide et chauffage à 100 °C.

Le spectre de masse ESI-MS de ce composé (figure I. 1. 3. 6. 1) enregistré en mode négatif donne un pic d'ion pseudomoléculaire à $m/z = 593,046$ $[M-H]^-$ correspondant à une masse moléculaire de 594 uma et une formule brute en $C_{30}H_{26}O_{13}$.

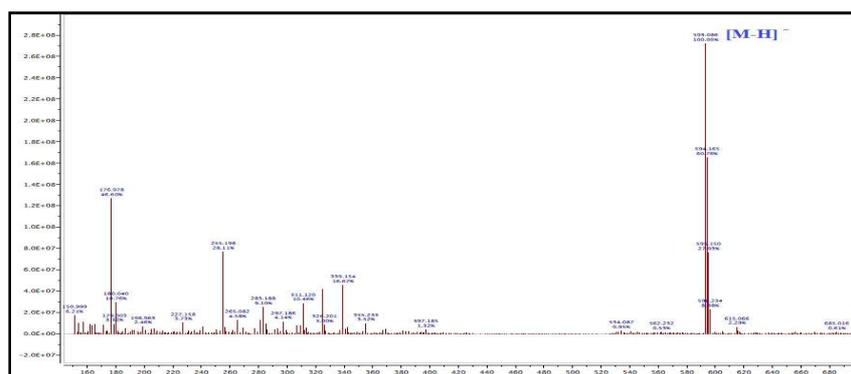
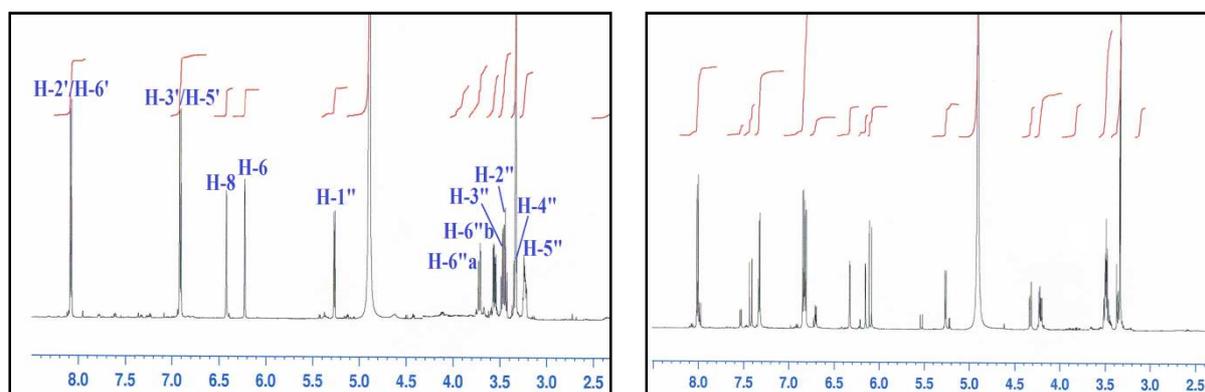


Figure I. 1. 3. 6. 1. Spectre de masse ESI-MS du composé HS6

Le spectre RMN 1H (figure I. 1. 3. 6. 2) de ce composé montre une grande similitude avec celui du composé HS5. En effet, ils se différencient seulement par l'apparition de quatre signaux supplémentaires sortant dans la zone des protons aromatiques.

Figure I. 1. 3. 6. 2. Spectres RMN 1H des composés HS5 et HS6

Le spectre RMN ^1H (figure I. 1. 3. 6. 3) du composé **HS6** montre facilement les deux signaux du cycle A sortant à δ_{H} 6,15 (d , $J = 1,6$ Hz) attribuable au proton H-6 et à δ_{H} 6,32 (d , $J = 1,6$ Hz) accordé au proton H-8 et les protons du cycle B résonant à δ_{H} 8,10 (d , $J = 8,8$ Hz/H-2'/H-6') et δ_{H} 6,83 (d , $J = 8,8$ Hz/H-3'/H-5').

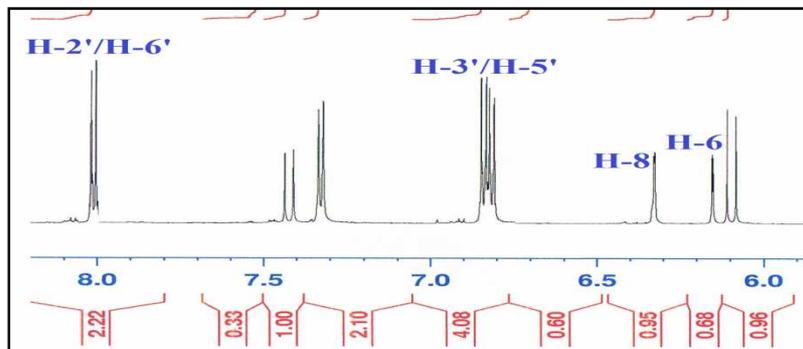


Figure I. 1. 3. 6. 3. Spectre RMN ^1H de l'aglycone du composé **HS6**

Les carbones de ces protons sont localisés par l'analyse du spectre HSQC à δ_{C} 98,6 (C-6), 93,4 (C-8), 130,8 (C-2'/C-6') et 115,3 (C-3'/C-5').

Les couplages observés sur le spectre COSY H-H (figure I. 1. 3. 6. 4) de ce composé confirment une fois de plus la présence d'un aglycone de type Kaempférol par les corrélations visualisées entre les protons du système AX du cycle A (H-6/H-8) et entre les protons du système A_2B_2 du cycle B (H-2', H-6'/H-3', H-5').

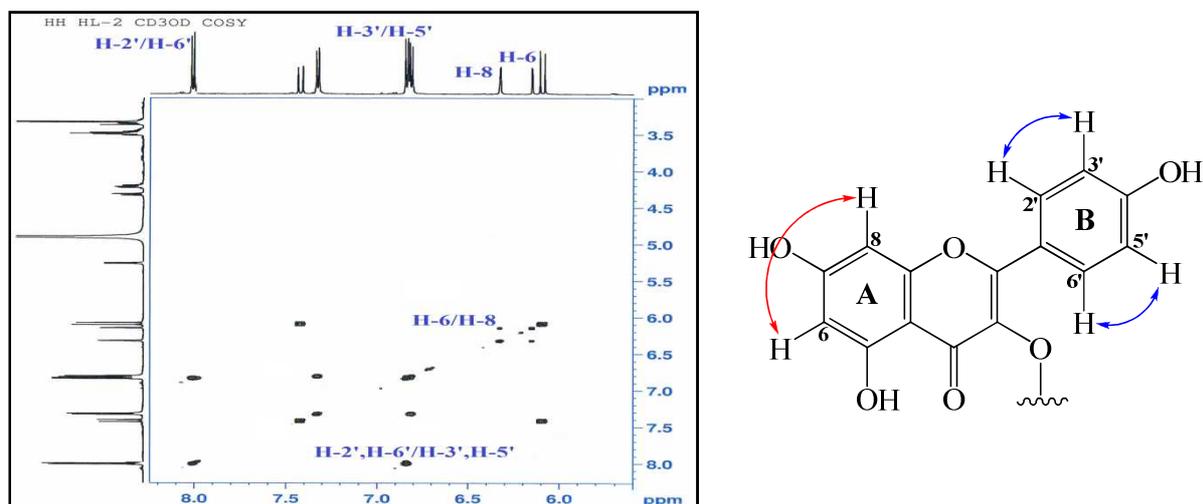


Figure I. 1. 3. 6. 4. Spectre COSY H-H de l'aglycone du composé **HS6**

Le spectre HMBC (figure I. 1. 3. 6. 5) permet d'identifier les autres carbones de cet aglycone à partir des corrélations en 2J et 3J des protons H-6 et H-8 pour le cycle A et H-2'/H-6' et H-3'/H-5' pour le cycle B. Ceci conduit à la localisation des carbones oxygénés à δ_{C} 161,5, 164,6, 157,9, 157,0 et 160,1 attribués aux carbones C-5, C-7, C-9, C-2 et C-4' respectivement.

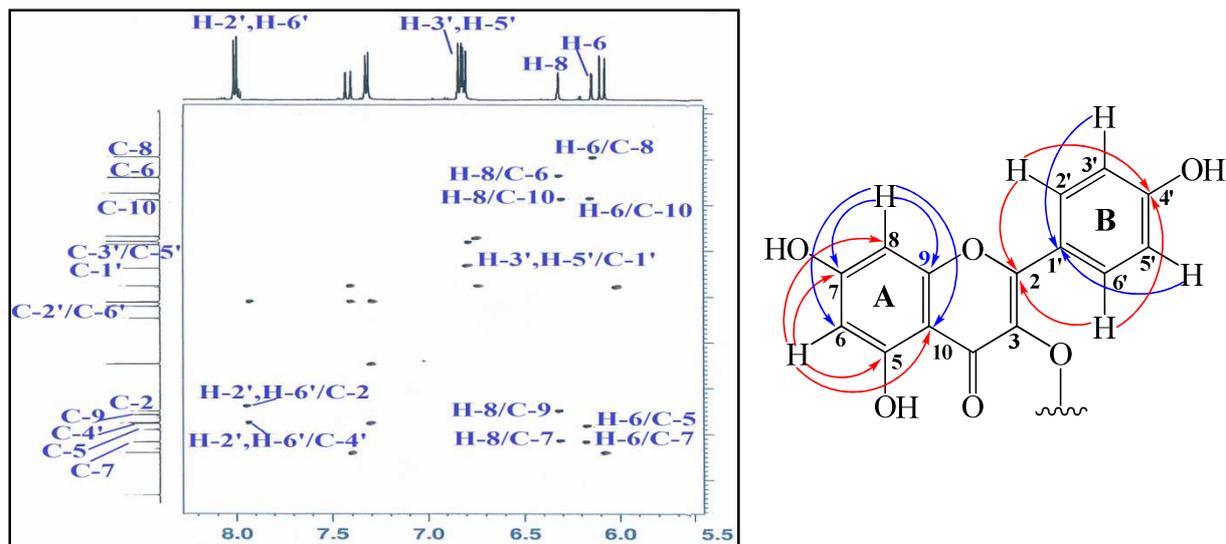


Figure I. 1. 3. 6. 5. Spectre HMBC de l'aglycone du composé HS6

De même, il permet d'identifier les carbones quaternaires C-1' (δ_C 121,3) et C-10 (δ_C 104,1). Les carbones C-3 et C-4 sont repérés à 133,7 et 177,9 ppm respectivement comme le montre le spectre RMN ^{13}C (figure I. 1. 3. 6. 6).

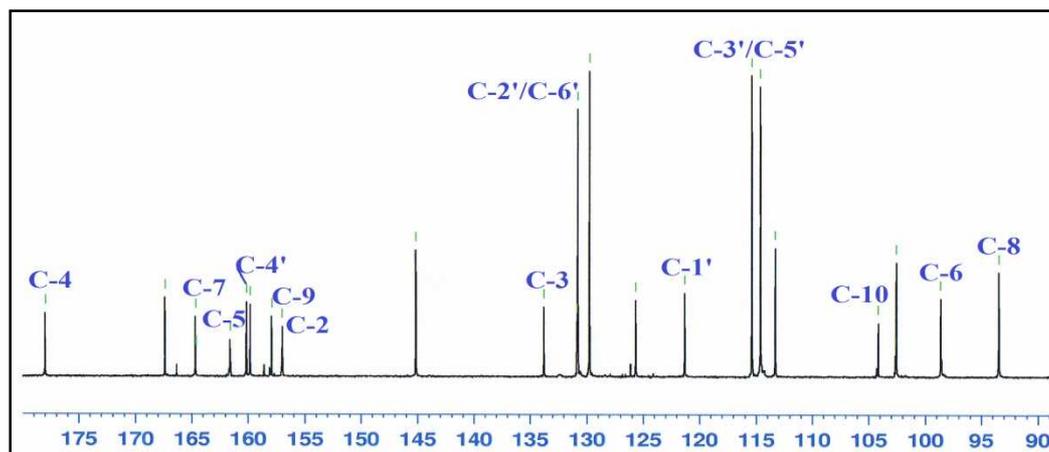


Figure I. 1. 3. 6. 6. Spectre RMN ^{13}C de l'aglycone du composé HS6

La présence d'une unité osidique est clairement observée sur le spectre RMN 1H qui montre un ensemble de signaux identifiés par les taches de corrélations visualisées sur le spectre COSY H-H (figure I. 1. 3. 6. 7). En effet, la localisation du proton anomérique H-1" à (δ_H 5,26, *d*, $J = 7,4$ Hz) permet de construire l'enchaînement H-2" (δ_H 3,50, *t*, $J = 7,4$ Hz)/H-3" (δ_H 3,51, *m*)/H-4" (δ_H 3,35, *t*, $J = 6,7$ Hz)/H-5" (δ_H 3,51, *m*)/H-6" a (δ_H 4,33, *dd*, $J = 11,7-2,1$ Hz) et H-6" b (δ_H 4,21, *dd*, $J = 11,7-6,6$ Hz).

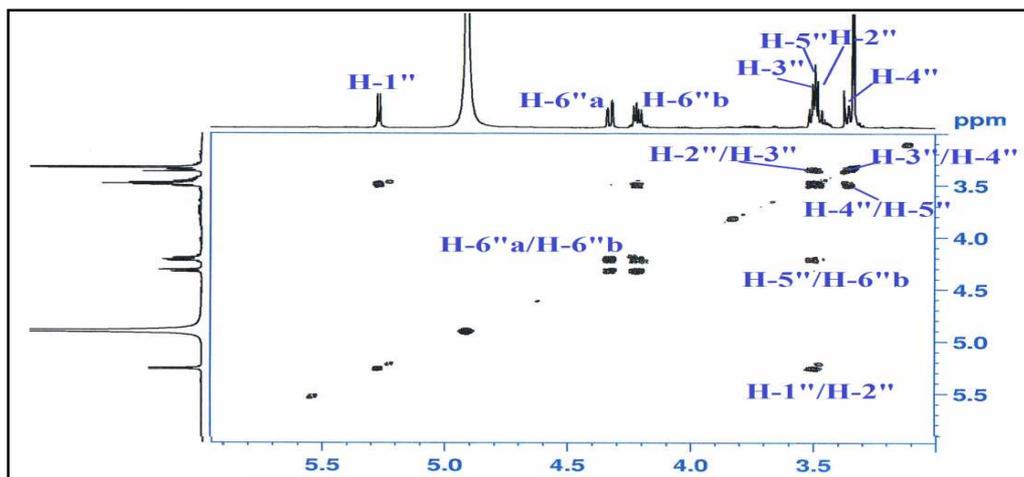


Figure I. 1. 3. 6. 7. Spectre COSY H-H des protons osidiques du composé HS6

Les carbones oxygénés de ces protons sont localisés par l'expérience HSQC à C-1'' (δ_C 102,5), C-2'' (δ_C 74,3), C-3'' (δ_C 76,5), C-4'' (δ_C 70,2), C-5'' (δ_C 74,2) et C-6'' (δ_C 62,8).

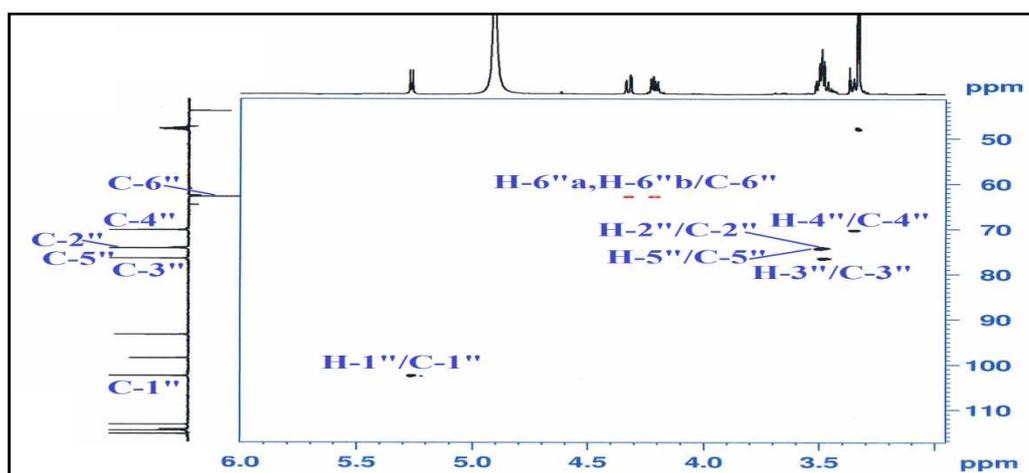


Figure I. 1. 3. 6. 8. Spectre HSQC des protons osidiques du composé HS6

Comme pour le composé précédent, cet hexose est identifié au β -glucose en raison des grandes valeurs des constantes de couplage de ses protons.

Le déblindage remarqué des protons exocycliques H₂-6'' (δ_H 4,33 et 4,21) de ce composé en comparaison avec ceux du composé précédent **HS5** indique une substitution à ce niveau (figure I. 1. 3. 6. 9).

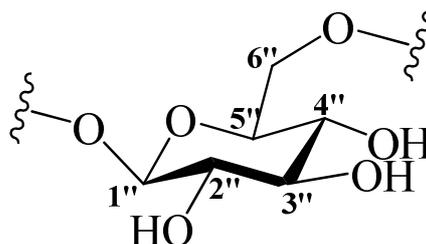


Figure I. 1. 3. 6. 9. β -glucose du composé HS6

Toutes ces données spectrales sont similaires à celles du composé **HS5** et permettent de suggérer l'attachement de ce glucose au carbone C-3 de l'aglycone Kaempférol. La valeur du déplacement chimique du carbone C-2 (δ_C 157,0) et la corrélation entre le proton H-1'' et le carbone C-3 de l'aglycone observée sur le spectre HMBC (figure I. 1. 3. 6. 10) en apporte la confirmation.

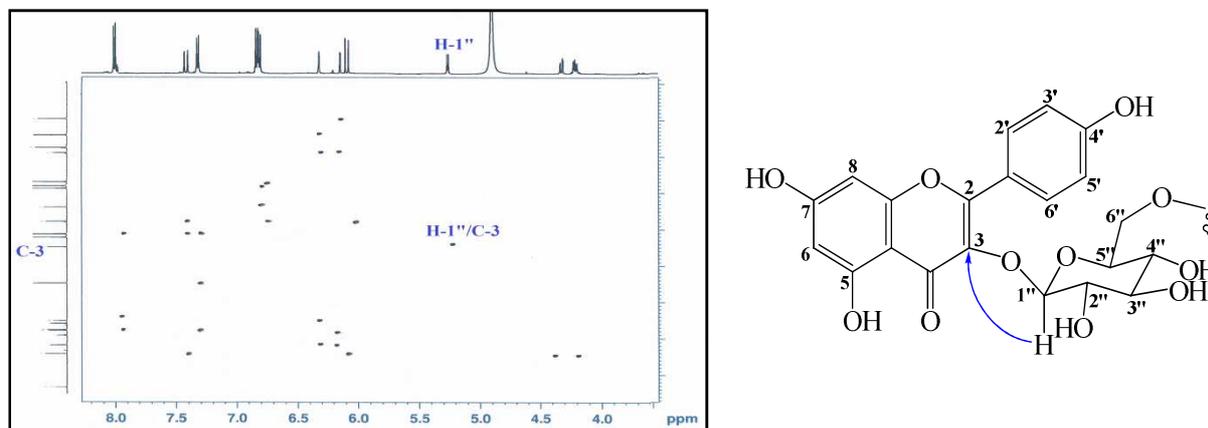


Figure I. 1. 3. 6. 10. Spectre HMBC du composé HS6

Le spectre HMBC (figure I. 1. 3. 6. 11) montre aussi des corrélations entre les protons H₂-6'' du deuxième site de substitution de ce glucose et un carbone quaternaire résonant à δ_C 167,3. Ce dernier, qui est attribué à un carbonyle (C-9''), exhibe d'autres corrélations sur ce spectre avec deux signaux de protons oléfiniques sortant à δ_H 7,42 (*d*, $J = 15,9$ Hz, H-7'') et 6,09 (*d*, $J = 15,9$ Hz, H-8''). Ces protons sont accordés sur le spectre HSQC aux carbones résonant à δ_C 113,3 (C-7'') et 145,1 (C-8''). La grande constante de couplage entre les protons oléfiniques H-7'' et H-8'' traduit une géométrie *trans* de la double liaison C₈=C₇.

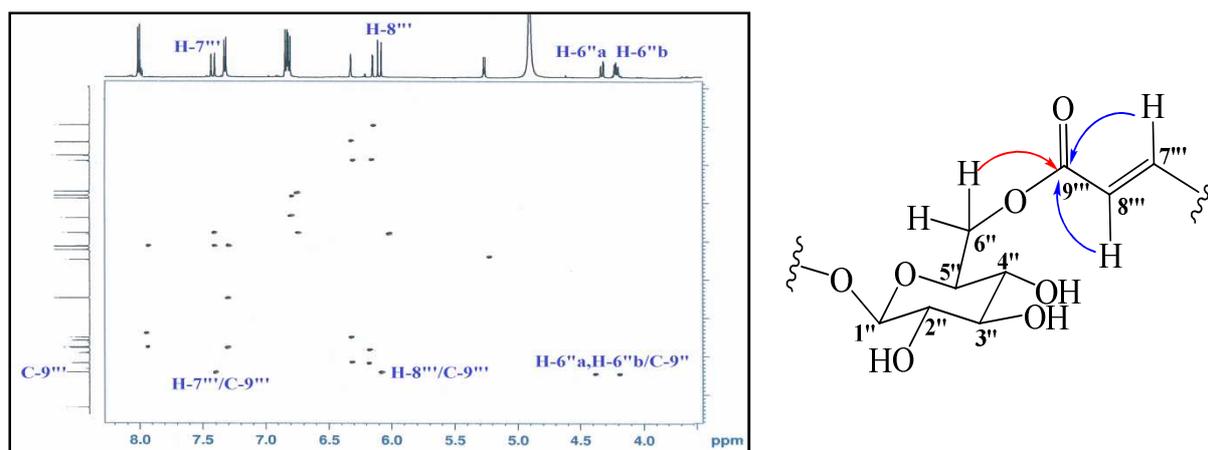


Figure I. 1. 3. 6. 11. Spectre HMBC de la partie acyle du composé HS6

En plus de ces constatations, la présence de deux signaux de protons aromatiques équivalents à δ_H 6,81 (*d*, $J = 8,5$ Hz) et δ_H 7,32 (*d*, $J = 8,5$ Hz) d'intégration 2H chacun, accordés sur le spectre HSQC (figure I. 1. 3. 6. 12) aux carbones résonant à δ_C 114,6 et 129,7,

suggère l'appartenance de cette partie acyle à la classe des acides hydroxycinnamiques. L'analyse du spectre HMBC permet d'identifier l'existence d'un noyau aromatique 1,4-disubstitué (cycle D), par l'observation des corrélations des protons H-2'''/H-6''' (δ_H 7,32) avec le carbone oxygéné C-4''' (δ_C 159,7) et le carbone méthine C-7''' (δ_C 145,1), ainsi qu'entre les protons H-3'''/H-5''' (δ_H 7,32) et le carbone quaternaire C-1''' (δ_C 125,6).

Ce spectre montre aussi des corrélations entre le proton oléfinique H-7''' (δ_H 7,42) et les carbones C-1''', C-2''' et C-6''' (δ_C 129,7) ainsi qu'entre le deuxième proton oléfinique H-8''' (δ_H 6,09) et le carbone C-1''', mettant en évidence la présence d'un groupement *p*-coumaroyle.

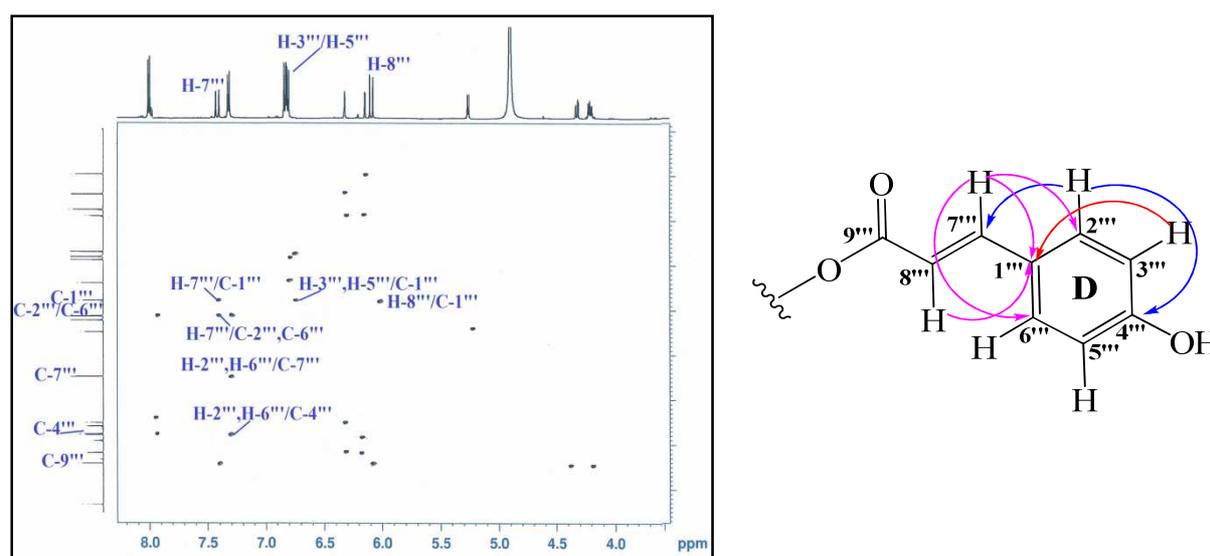


Figure I. 1. 3. 6. 12. Spectre HMBC du groupement *p*-coumaroyle du composé HS6

Tous ces résultats comparés avec ceux de la littérature [235], en plus de la valeur du pouvoir rotatoire ($[\alpha]_D = -60$, $c = 0,2$, MeOH) permettent d'identifier la structure du composé HS6 au **Kaempférol-3-*O*-[6''-*O*-(*E*)-*p*-coumaroyl]- β -D-glucopyranoside** connu sous le nom **Tiliroside** (figure I. 1. 3. 6. 13).

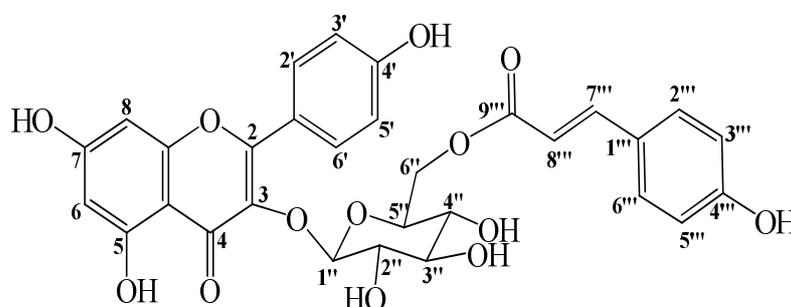


Figure I. 1. 3. 6. 13. Structure du composé HS6 (Tiliroside)

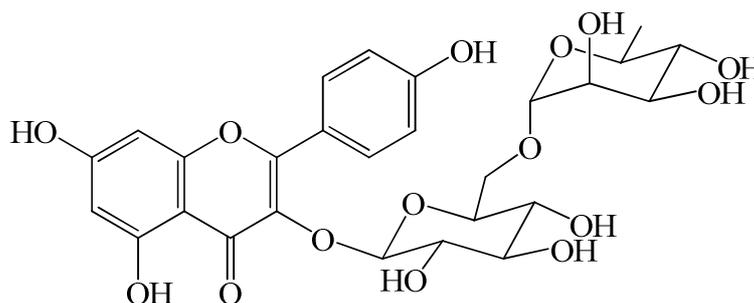
Ce composé considéré comme étant le métabolite secondaire le plus abondant dans l'extrait AcOEt de l'espèce *Helianthemum sessiliflorum*, a été antérieurement isolé de la plante *Helianthemum glomeratum* [104]. Le tiliroside est connu principalement pour ses nombreuses propriétés biologiques telles que anti-oxydante, anti-inflammatoire, anticancérogène, hépatoprotective ... etc [236, 237].

Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé **HS6** sont réunis dans le tableau I. 1. 3. 6.

Tableau I. 1. 3. 6. Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé HS6 enregistrés dans CD_3OD

HS6		
Position	δ_{H} (ppm), <i>m, J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)
1	-	-
2	-	157,0
3	-	133,7
4	-	177,9
5	-	161,5
6	6,15 (1H, <i>d, J</i> = 1,6)	98,6
7	-	164,6
8	6,32 (1H, <i>d, J</i> = 1,6)	93,4
9	-	157,9
10	-	104,1
1'	-	121,3
2'	8,10 (1H, <i>d, J</i> = 8,8)	130,8
3'	6,83 (1H, <i>d, J</i> = 8,8)	115,3
4'	-	160,1
5'	6,83 (1H, <i>d, J</i> = 8,8)	115,3
6'	8,10 (1H, <i>d, J</i> = 8,8)	130,8
1''	5,26 (1H, <i>d, J</i> = 7,4)	102,5
2''	3,50 (1H, <i>t, J</i> = 7,4)	74,3
3''	3,51 (1H, <i>m</i>)	76,5
4''	3,35 (1H, <i>t, J</i> = 6,7)	70,2
5''	3,50 (1H, <i>m</i>)	74,2
6''a	4,33 (1H, <i>dd, J</i> = 11,7 -2,1)	62,8
6''b	4,21 (1H, <i>dd, J</i> = 11,7 -6,6)	
1'''	-	125,6
2'''	7,32 (1H, <i>d, J</i> = 8,5)	129,7
3'''	6,81 (1H, <i>d, J</i> = 8,5)	114,6
4'''	-	159,7
5'''	6,81 (1H, <i>d, J</i> = 8,5)	114,6
6'''	7,32 (1H, <i>d, J</i> = 8,5)	129,7
7'''	7,42 (1H, <i>d, J</i> = 15,9)	145,1
8'''	6,09 (1H, <i>d, J</i> = 15,9)	113,3
9'''	-	167,3

I. 1. 3. 7. Identification structurale du composé HS7



Nicotiflorine

Le composé **HS7** a été isolé également sous forme d'une poudre jaune. Il est visible à la lumière UV à 254 et 366 nm. Sa CCM se colore en jaune après pulvérisation d'une solution acide et chauffage à 100 °C.

Le spectre de masse ESI-MS (figure I. 1. 3. 7. 1) du composé **HS7** obtenu en mode positif présente des pics d'ions pseudomoléculaires à $m/z = 617,5 [M+Na]^+$ et $633,5 [M+K]^+$, soit une masse moléculaire de 594 uma correspondant à la formule brute $C_{27}H_{30}O_{15}$.

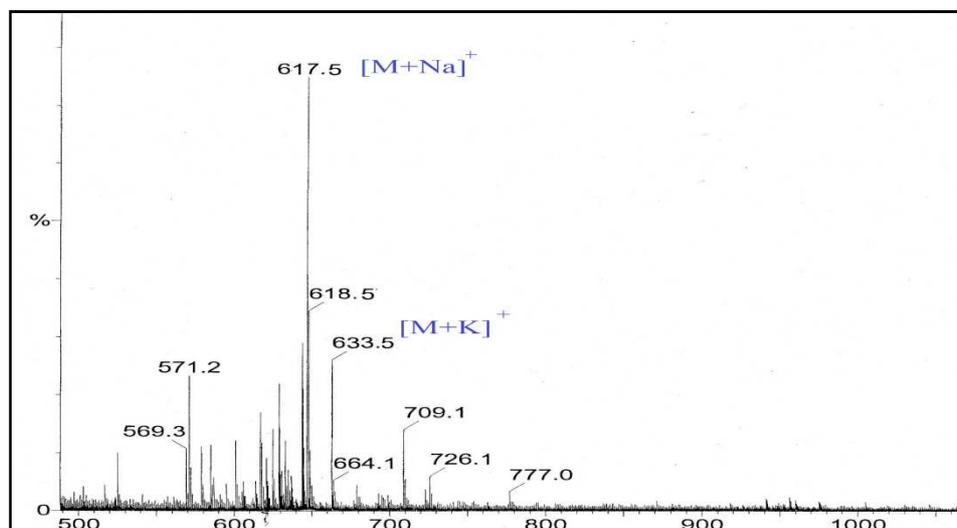


Figure I. 1. 3. 7. 1. Spectre de masse ESI-MS du composé HS7

Les données RMN 1H et ^{13}C (figure I. 1. 3. 7. 2) de ce composé sont voisines à celles des composés précédents **HS5** et **HS6**, notamment au niveau des protons et carbones de la partie aglycone correspondant au Kaempférol.

En effet, le spectre RMN 1H du composé **HS7** permet de localiser les protons de cet aglycone à δ_H 6,18 ($d, J = 1,6$ Hz, H-6), 6,35 ($d, J = 1,6$ Hz, H-8), 8,10 ($d, J = 8,8$ Hz, H-2'/H-6') et 6,86 ($d, J = 8,8$ Hz, H-3'/H-5'). Ainsi, les carbones de ce Kaempférol sont repérés à δ_C 157,2 (C-2), 133,9 (C-3), 178,0 (C-4), 161,7 (C-5), 98,8 (C-6), 164,8 (C-7), 93,6

(C-8), 158,0 (C-9), 104,3 (C-10), 121,5 (C-1'), 131,0 (C-2'/C-6'), 115,5 (C-3'/C-5') et 160,3 (C-4') comme le montre le spectre RMN ^{13}C .

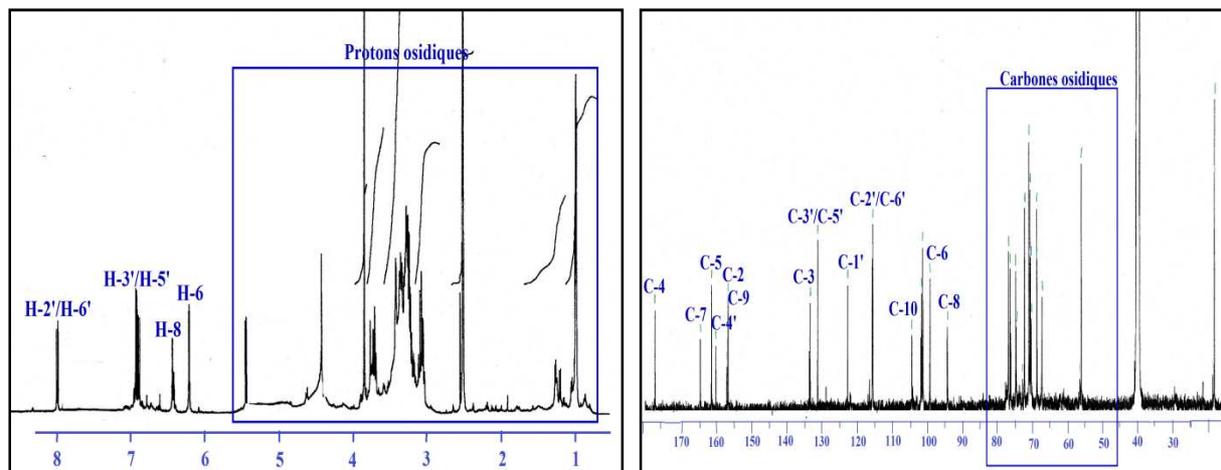


Figure I. 1. 3. 7. 2. Spectres RMN ^1H et ^{13}C du composé HS7

La densité remarquée des signaux sortant dans la zone des protons et carbones osidiques témoigne de la présence de plus d'une unité osidique. Ceci est supporté par les deux signaux des protons anomériques résonant à δ_{H} 5,26 (d , $J = 7,4$ Hz, H-1'') et 4,59 (d , $J = 1,3$ Hz, H-1''') (figure I. 1. 3. 7. 3), liés aux carbones C-1'' (δ_{C} 101,1) et C-1''' (δ_{C} 100,5), par l'analyse du spectre HSQC. Ces données attestent de la présence de deux osides.

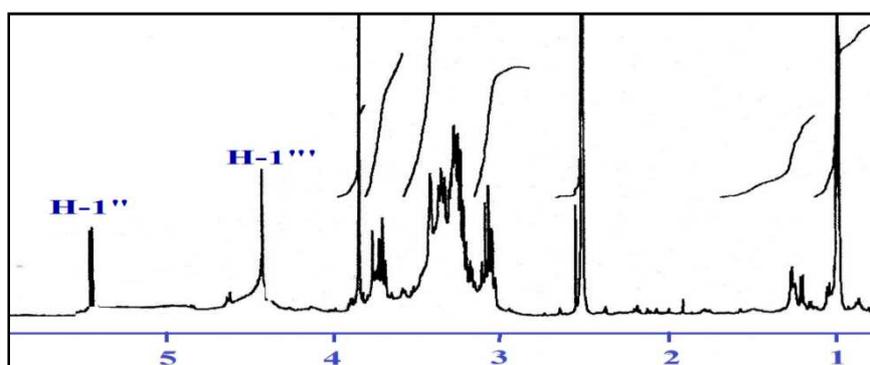


Figure I. 1. 3. 7. 3. Spectre RMN ^1H des protons anomériques du composé HS7

Partant du proton anomérique H-1'', le spectre COSY H-H (figure I. 1. 3. 7. 4) permet de localiser les protons de la première unité osidique par les couplages suivants : H-1'' (δ_{H} 5,26, d , $J = 7,4$ Hz)/H-2'' (δ_{H} 3,50, dd , $J = 8,5-7,4$ Hz)/H-3'' (δ_{H} 3,44, t , $J = 8,5$ Hz)/H-4'' (δ_{H} 3,25, t , $J = 8,5$ Hz)/H-5'' (δ_{H} 3,41, m)/H-6''a (δ_{H} 3,83, dd , $J = 11,4-5,1$ Hz) et H-6''b (δ_{H} 3,43, dd , $J = 11,4-4,9$ Hz). Les valeurs des constantes de couplage entre ces protons conduisent à identifier cet hexose comme étant un β -D-glucose.

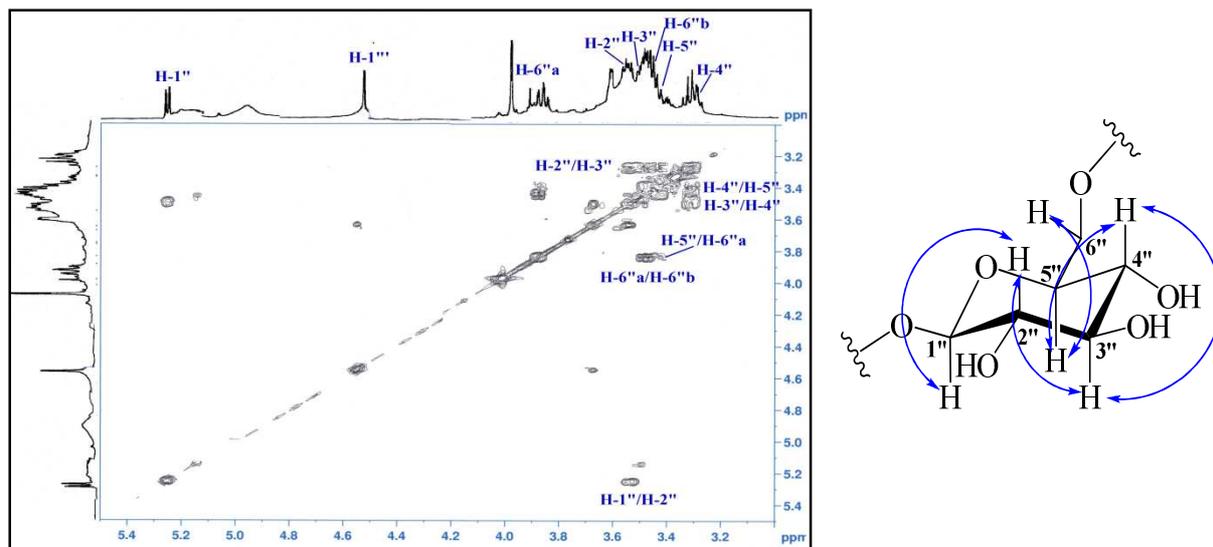


Figure I. 1. 3. 7. 4. Spectre COSY H-H de β -glucose du composé HS7

Ce spectre (figure I. 1. 3. 7. 5) montre aussi un couplage entre le deuxième proton anomérique H-1''' (δ_H 4,59, *d*, $J = 1,3$ Hz) et le proton H-2''' (δ_H 3,60, *m*). Ce dernier corrèle de son côté avec le proton H-3''' (δ_H 3,52, *dd*, $J = 9,5-1,6$ Hz) indiquant une orientation équatoriale du proton H-2'''. La grande constante de couplage de H-3''' est due à sa corrélation avec le proton H-4''' (δ_H 3,30, *t*, $J = 9,5$ Hz) qui couple par cette même constante de couplage avec le proton H-5''' (δ_H 3,43, *m*), ce qui permet d'attribuer à ces trois protons une orientation axiale. Toutes ces données, en plus du couplage du proton H-5''' avec des protons d'un groupement méthyle H₃-6''' (δ_H 0,99, *d*, $J = 6,2$ Hz) indiquent la présence d'un rhamnose où la valeur de la constante de couplage $J_{H-1'''/H-2'''} = 1,3$ Hz lui donne une configuration α .

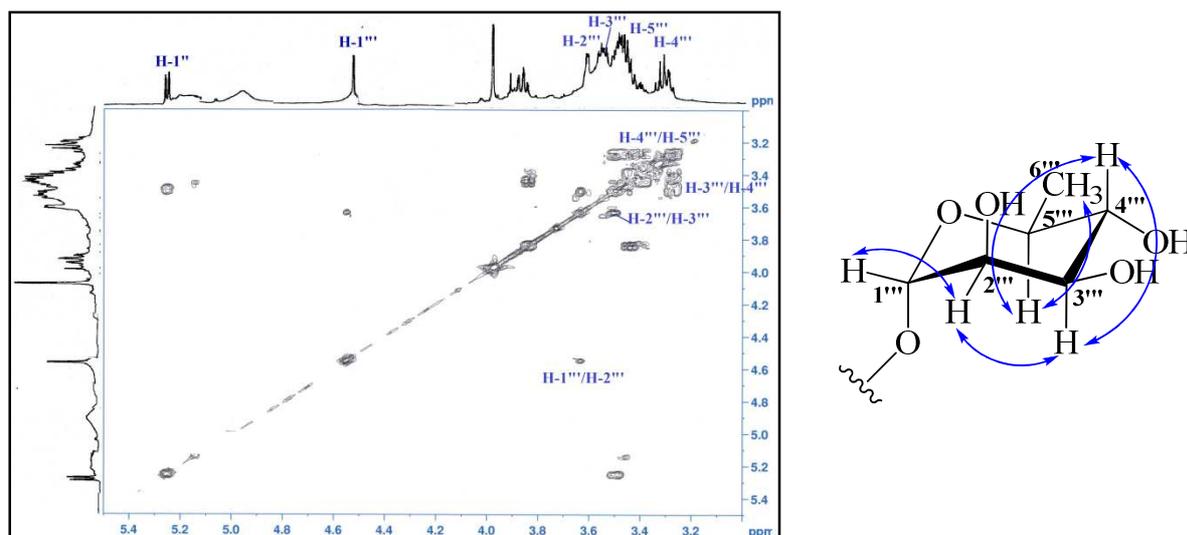


Figure I. 1. 3. 7. 5. Spectre COSY H-H de α -rhamnose du composé HS7

Les données obtenues de l'analyse du spectre HSQC de ce composé permettent de localiser les carbones de l'unité β -D-glucose à δ_C 74,1 (C-2''), 75,7 (C-3''), 70,4 (C-4''), 76,2 (C-5'') et 67,1 (C-6''). Les carbones de l'unité α -rhamnose sont repérés à δ_C 70,0 (C-2'''), 70,1 (C-3'''), 71,6 (C-4'''), 68,1 (C-5''') et 18,2 (C-6''').

Le β -D-glucose qui montre deux sites de substitution (figure I. 1. 3. 7. 6), le premier en position C-1'' (δ_C 101,1) et le deuxième localisé en position 6'' suite au déblindage de son carbone C-6'' (δ_C 67,1), indique une position intermédiaire pour le β -D-glucose entre l'aglycone Kaempférol et l'autre oside α -L-rhamnose dont l'analyse des déplacements chimiques de ses carbones confirme la présence d'un seul site de substitution au niveau du carbone anomérique C-1''' (δ_C 100,5).

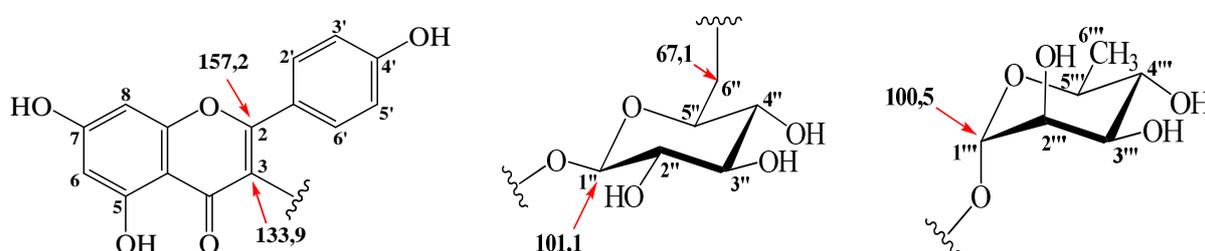


Figure I. 1. 3. 7. 6. Sites de substitutions des constituants du composé HS7

Partant du proton anomérique H-1''' du α -rhamnose, le spectre HMBC permet de d'établir le point de branchement avec le β -D-glucose par la tache de corrélation entre H-1''' et le carbone C-6'' réalisant une liaison interglucosidique (1 \rightarrow 6) (figure I. 1. 3. 7. 7).

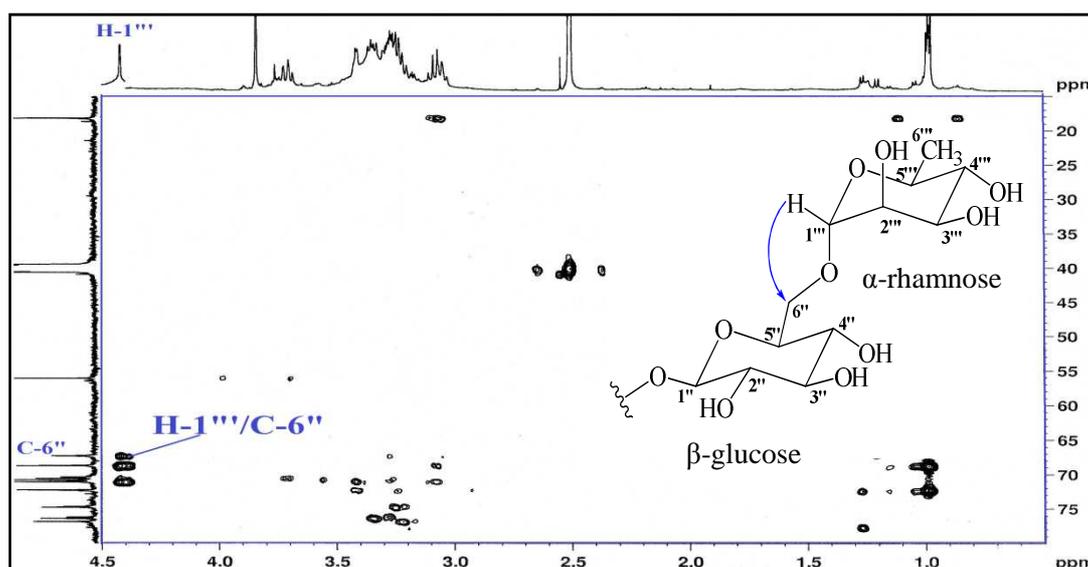


Figure I. 1. 3. 7. 7. Spectre HMBC montrant le point de jonction des osides du composé HS7

Le disaccharide résultant de cet enchaînement, nommé rutinose, est lié à l'aglycone Kaempférol en position C-3 en raison de la corrélation HMBC détectée entre le proton H-1'' du glucose et le carbone C-3 (figure I. 1. 3. 7. 8).

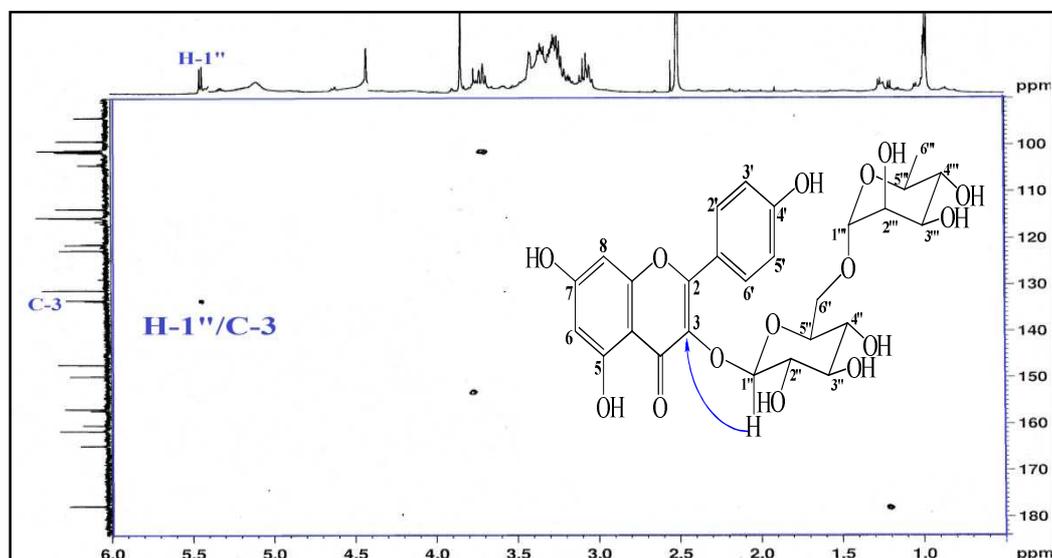


Figure I. 1. 3. 7. 8. Spectre HMBC montrant l'attachement du rutinose à l'aglycone

L'ensemble de ces données spectroscopiques, la valeur du pouvoir rotatoire ($[\alpha]_D = -54,1$, $c = 1$, MeOH) et la comparaison avec la littérature [238], permettent d'attribuer pour ce composé la structure **Kaempférol-3-O-rutinoside** appelée également **Nicotiflorine** (figure I. 1. 3. 7. 9).

Ce composé qui est détecté pour la première fois dans ce genre a été antérieurement isolé de l'espèce *Cistus ladanifer* (Cistaceae) [8].

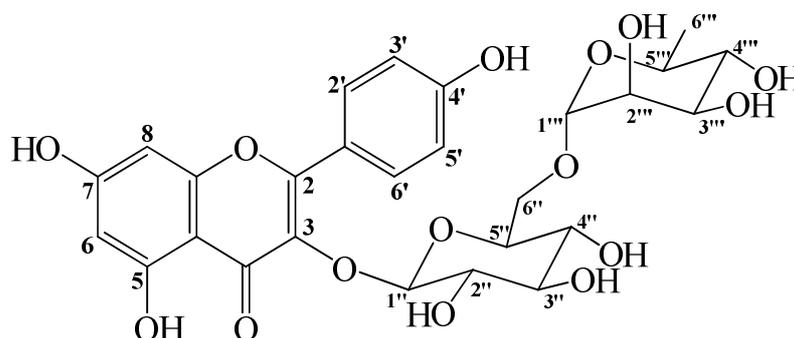


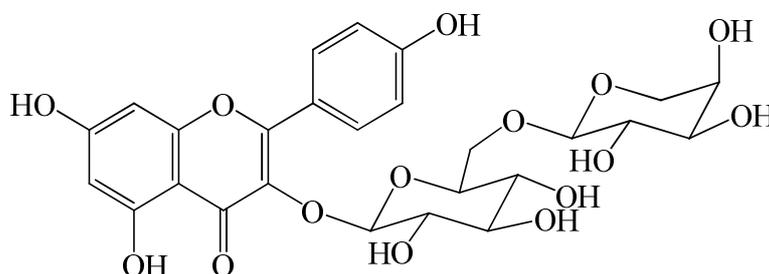
Figure I. 1. 3. 7. 9. Structure du composé HS7 (Nicotiflorine)

Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé **HS7** sont regroupés dans le tableau I. 1. 3. 7.

Tableau I. 1. 3. 7. Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé HS7 enregistrés dans CD_3OD

HS7		
Position	δ_{H} (ppm), <i>m, J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)
1	-	-
2	-	157,2
3	-	133,9
4	-	178,0
5	-	161,7
6	6,18 (1H, <i>d, J</i> = 1,6)	98,8
7	-	164,8
8	6,35 (1H, <i>d, J</i> = 1,6)	93,6
9	-	158,0
10	-	104,3
1'	-	121,5
2'	8,10 (1H, <i>d, J</i> = 8,8)	131,0
3'	6,86 (1H, <i>d, J</i> = 8,8)	115,5
4'	-	160,3
5'	6,86 (1H, <i>d, J</i> = 8,8)	115,5
6'	8,10 (1H, <i>d, J</i> = 8,8)	131,0
1''	5,26 (1H, <i>d, J</i> = 7,4)	101,1
2''	3,50 (1H, <i>dd, J</i> = 8,5-7,4)	74,1
3''	3,44 (1H, <i>t, J</i> = 8,5)	75,7
4''	3,25 (1H, <i>t, J</i> = 8,5)	70,4
5''	3,41 (1H, <i>m</i>)	76,2
6''a	3,83 (1H, <i>dd, J</i> = 11,4 -5,1)	67,1
6''b	3,43 (1H, <i>dd, J</i> = 11,4 -4,9)	
1'''	4,59 (1H, <i>d, J</i> = 1,3)	100,5
2'''	3,60 (1H, <i>m</i>)	70,0
3'''	3,52 (1H, <i>dd, J</i> = 9,5-1,6)	70,1
4'''	3,30 (1H, <i>t, J</i> = 9,5)	71,6
5'''	3,43 (1H, <i>m</i>)	68,1
6'''	0,99 (1H, <i>d, J</i> = 6,2)	18,2

I. 1. 3. 8. Identification structurale du composé HS8



Kaempférol 3-*O*-vicianoside

ce composé a été aussi isolé sous forme d'une poudre jaune qui présente une tache visible à l'umière UV ($\lambda = 254$ et 366 nm). Il se colore en jaune après révélation par une solution acide et chauffage à 100 °C.

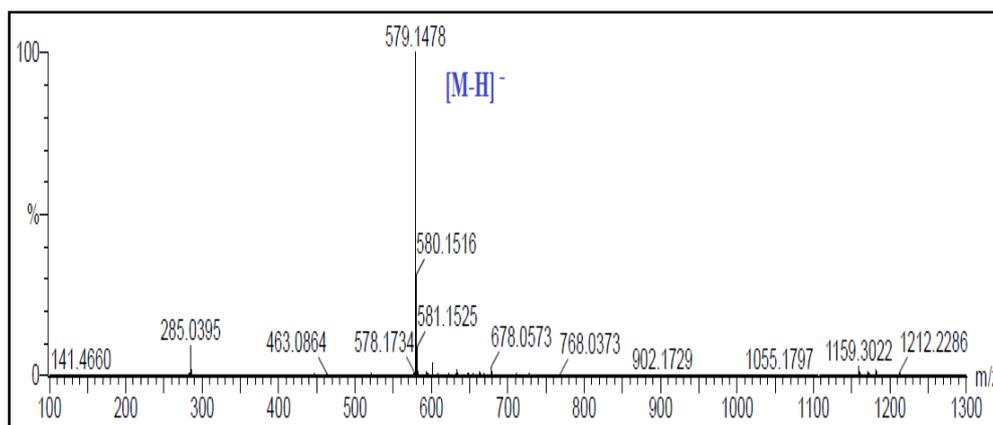


Figure I. 1. 3. 8. 1. Spectre de masse ESI-MS du composé HS8

Le spectre de masse ESI-MS (Figure I. 1. 3. 8. 1) enregistré en mode négatif de ce composé montre un pic d'ion pseudomoléculaire à $m/z = 579,1$ $[M-H]^-$, soit une masse moléculaire égale à 580 uma correspondant à une formule brute en $C_{26}H_{28}O_{15}$.

L'identification structurale de ce composé est établie par comparaison de ses spectres RMN 1H et ^{13}C avec les données spectrales des dérivés du Kaempférol élucidés précédemment **HS5**, **HS6** et **HS7**, conduisant à conclure l'existence d'un flavonol glycosylé avec un aglycone de type Kaempférol et deux unités osidiques dont l'une a l'allure d'un β -D-glucose.

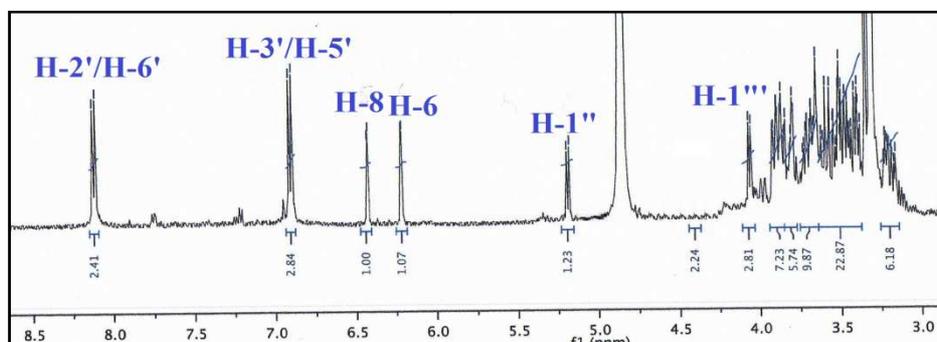


Figure I. 1. 3. 8. 2. Spectre RMN 1H du composé HS8

Les résultats obtenus par analyse du spectre RMN 1H (Figure I. 1. 3. 8. 2) de ce composé confirme bien ces constatations par la présence des protons des cycles A et B du Kaempférol à δ_H 6,22 (d , $J = 2,1$ Hz, H-6), 6,43 (d , $J = 2,1$ Hz, H-8), 8,12 (d , $J = 8,8$ Hz, H-2'/H-6') et 6,91 (d , $J = 8,8$ Hz, H-3'/H-5').

L'existence d'un hexose de type β -D-glucose est prouvée par analyse des spectres COSY et TOCSY de ce composé, où à partir du proton anomérique H-1'' (δ_H 5,19, d , $J = 7,7$ Hz), l'expérience TOCSY (Figure I. 1. 3. 8. 3) permet de repérer un système de spins à sept protons.

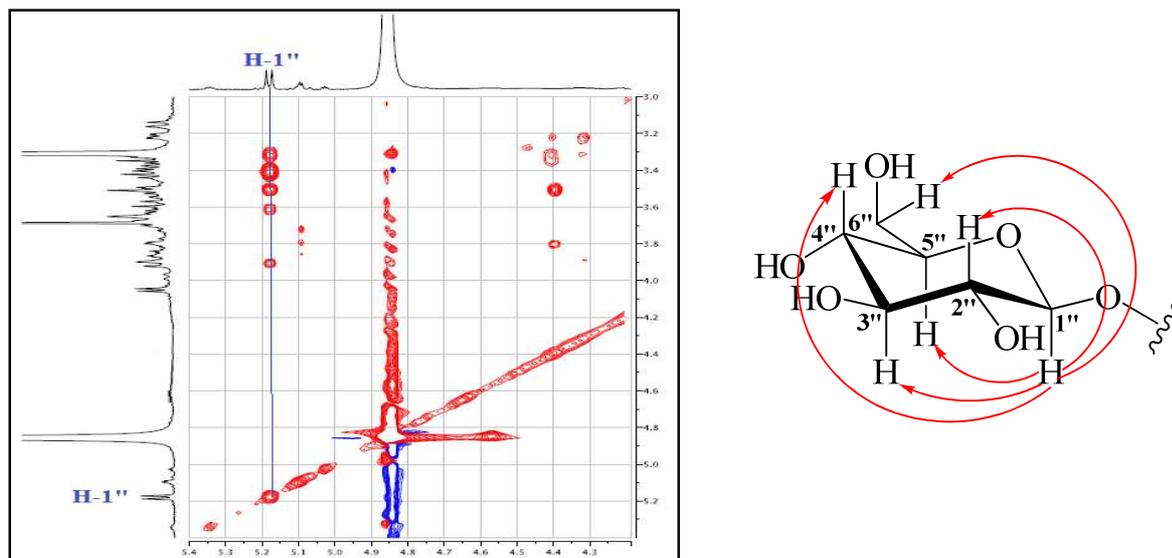


Figure I. 1. 3. 8. 3. Spectre TOCSY de l'unité osidique β -D-glucose du composé HS8

L'attribution de ces protons est réalisée à travers les couplages scalaires observés sur le spectre COSY (Figure I. 1. 3. 8. 4) entre les protons résonant à δ_{H} 5,19 (*d*, $J = 7,7$ Hz, H-1'')/3,52 (*t*, $J = 7,7$ Hz, H-2'')/3,43 (*t*, $J = 7,7$ Hz, H-3'')/3,33 (*t*, $J = 7,8$ Hz, H-4'')/3,42 (*m*, H-5'')/3,92 (*dd*, $J = 12,1-2,3$ Hz, H-6''a) et 3,63 (*dd*, $J = 12,1-5,4$ Hz, H-6''b).

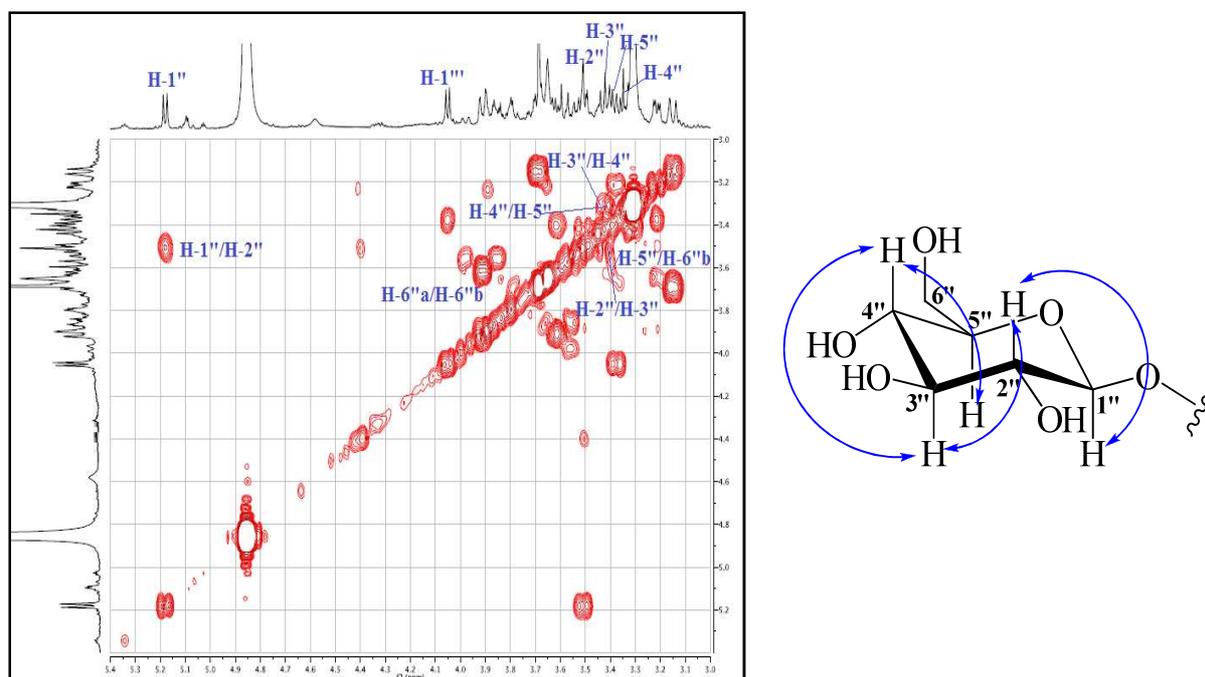


Figure I. 1. 3. 8. 4. Spectre COSY de l'unité osidique β -D-glucose du composé HS8

Les taches de corrélations visualisées sur le spectre HSQC permet de localiser les carbones de l'aglycone (Kaempférol) ainsi que de l'oside (β -D-glucose).

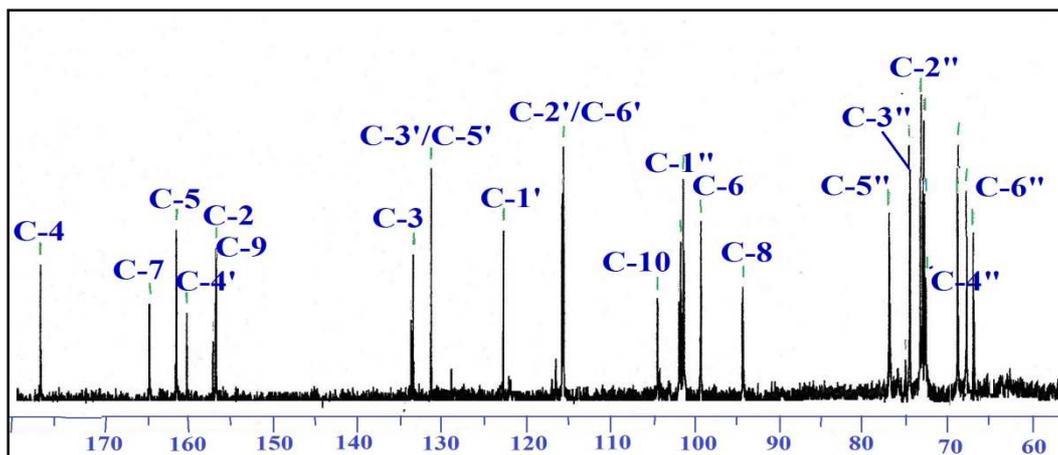


Figure I. 1. 3. 8. 5. Spectre RMN ^{13}C du composé HS8

Le nombre de signaux non attribués sur le spectre RMN ^{13}C (Figure I. 1. 3. 8. 5) conduit à classer la deuxième unité osidique de ce composé dans la série des pentoses. Ceci, est supporté par les données obtenues à partir du spectre TOCSY (Figure I. 1. 3. 8. 6), qui montre un enchainement de six protons, partant du proton anomérique H-1''' (δ_{H} 4,06, *d*, $J = 6,9$ Hz). Cet enchainement correspond au fragment structural $-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2\text{O}$ déduit suite aux couplages visualisés sur le spectre COSY (Figure I. 1. 3. 8. 6) entre les protons H-1'''/H-2''' (δ_{H} 3,40, *dd*, $J = 8,2-6,9$ Hz)/H-3''' (δ_{H} 3,22, *dd*, $J = 8,2-3,3$ Hz)/H-4''' (δ_{H} 3,63, *m*)/H-5'''a (δ_{H} 3,65, *m*) et H-5'''b (δ_{H} 3,25, *dd*, $J = 12,0-3,2$). Ces protons sont accordés sur le spectre HSQC aux carbones C-1''' (103,5), C-2''' (72,3), C-3''' (74,5), C-4''' (69,7) et C-5''' (67,3).

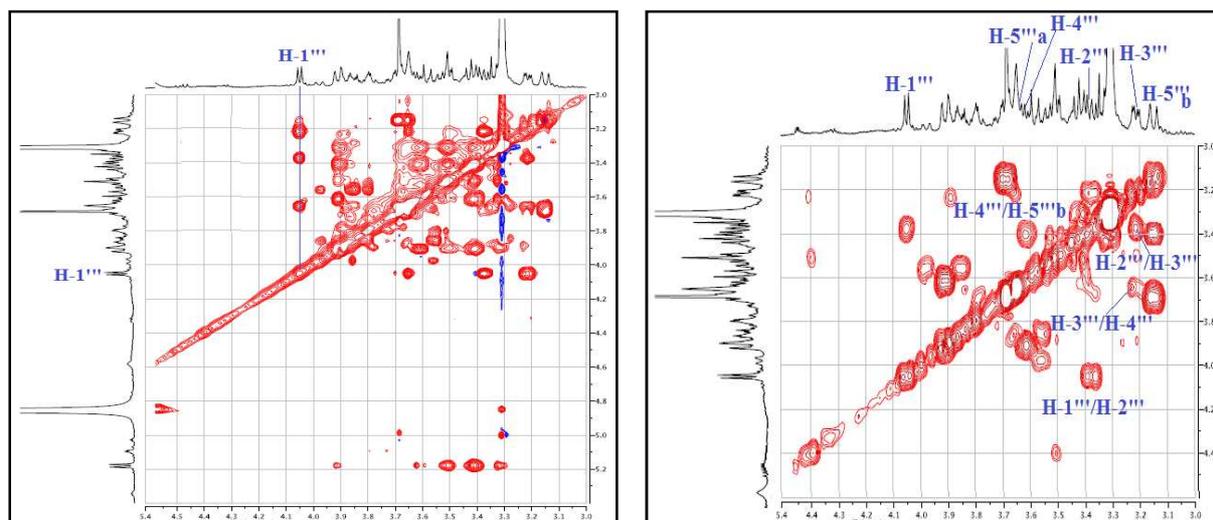


Figure I. 1. 3. 8. 6. Spectres TOCSY et COSY de la deuxième unité osidique du composé HS8

Les valeurs des constantes de couplage $J_{\text{H-1}'''/\text{H-2}'''} = 6,9$ Hz, $J_{\text{H-2}'''/\text{H-3}'''} = 8,2$ Hz et $J_{\text{H-3}'''/\text{H-4}'''} = 3,3$ Hz permettent d'attribuer aux protonx H-1''', H-2''' et H-3''' une orientation

axiale, et pour le proton H-4''' une orientation équatoriale. Ces constatations conduisent à identifier ce pentose comme étant un arabinose (Figure I. 1. 3. 8. 7). Par ailleurs, la constante de couplage entre les protons H-1''' et H-2''' ($J = 6,9$ Hz) qui est supérieure à 2,3 Hz [239] témoigne d'une configuration α de cet arabinose.

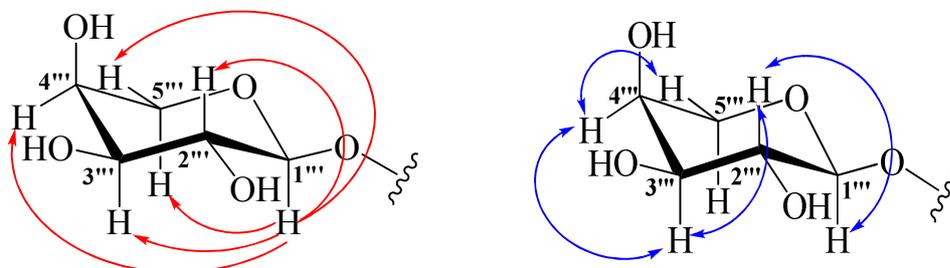


Figure I. 1. 3. 8. 7. Correlations TOCSY et COSY de l'unité α -L-arabinose du composé HS8

Les points de connectivité de ces deux osides ainsi qu'avec l'aglycone sont déterminés par l'analyse du spectre HMBC (Figure I. 1. 3. 8. 8) qui montre le couplage entre le proton anomérique H-1'' du β -D-glucose et le carbone C-3 du Kaempférol. Il révèle aussi un couplage entre le proton anomérique H-1''' de l'unité terminale α -L-arabinose et le carbone exocyclique C-6'' de l'unité intermédiaire β -D-glucose.

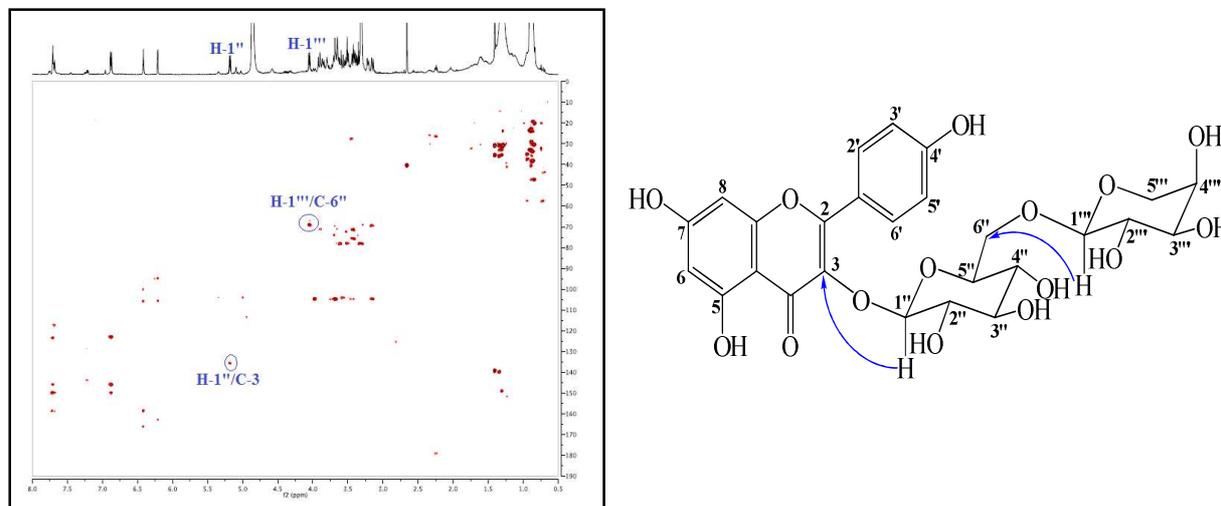


Figure I. 1. 3. 8. 8. Correlations HMBC montrant les points de connectivité au niveau du composé HS8

Les résultats spectraux du composé **HS8** et la mesure du pouvoir rotatoire ($[\alpha]_D = -11,5$, $c = 0,1$, MeOH) sont en parfait accord avec ceux reportés dans la littérature [240] pour le flavonol **Kaempférol-3-O- $[\alpha$ -L-arabinopyranosyl-(1''' \rightarrow 6'')-O- β -D-glucopyranoside]** connu sous le nom **Kaempférol 3-O-vicianoside** (Figure I. 1. 3. 8. 9).

Ce composé est isolé pour la première fois de la famille Cistaceae. Il a été obtenu antérieurement des espèces *Potentilla recta* (Rosaceae) [241] et *Asplenium nidus* (Aspleniaceae) [242].

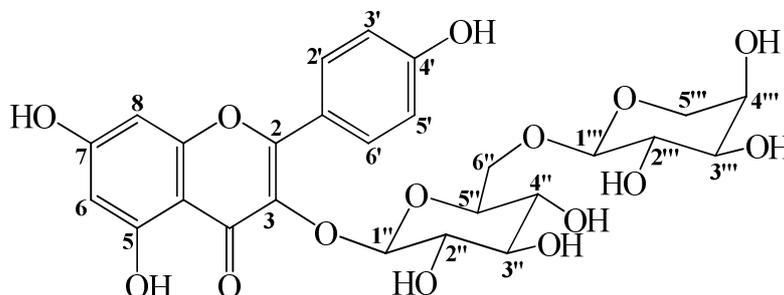


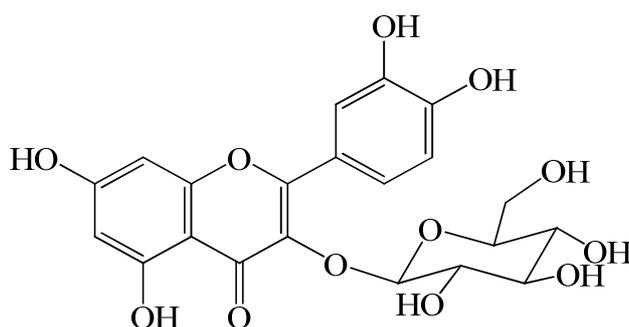
Figure I. 1. 3. 8. 9. Structure du composé HS8 (Kaempférol 3-*O*-vicianoside)

Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé **HS8** sont présentés dans le tableau I. 1. 3. 8.

Tableau I. 1. 3. 8. Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé HS8 enregistrés dans CD_3OD

HS8		
Position	δ_{H} (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)
1	-	-
2	-	157,1
3	-	133,8
4	-	178,0
5	-	161,5
6	6,22 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2,1)	98,5
7	-	164,3
8	6,43 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2,1)	93,2
9	-	157,5
10	-	104,2
1'	-	121,4
2'	8,12 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8,8)	130,9
3'	6,91 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8,8)	114,3
4'	-	160,3
5'	6,91 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8,8)	114,3
6'	8,12 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8,8)	130,9
1''	5,19 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 7,7)	103,2
2''	3,52 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 7,7)	75,0
3''	3,43 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 7,8)	77,3
4''	3,33 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 7,8)	70,9
5''	3,42 (1H, <i>m</i>)	77,7
6''a	3,92 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 12,1 -2,3)	67,8
6''b	3,63 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 12,1 -5,4)	
1'''	4,06 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,9)	103,5
2'''	3,40 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 8,2 -6,9)	72,3
3'''	3,22 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 8,2-3,3)	74,5
4'''	3,63 (1H, <i>m</i>)	69,7
5'''a	3,65 (1H, <i>m</i>)	67,3
5'''b	3,25 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 12,0 -3,2)	

I. 1. 3. 9. Identification structurale du composé HS9



Isoquercétrine

Ce composé est obtenu sous forme d'une poudre jaune. Il est visible à la lumière UV (254 et 366 nm) et se colore en jaune par pulvérisation de sa CCM par une solution acide et chauffage à 100 °C.

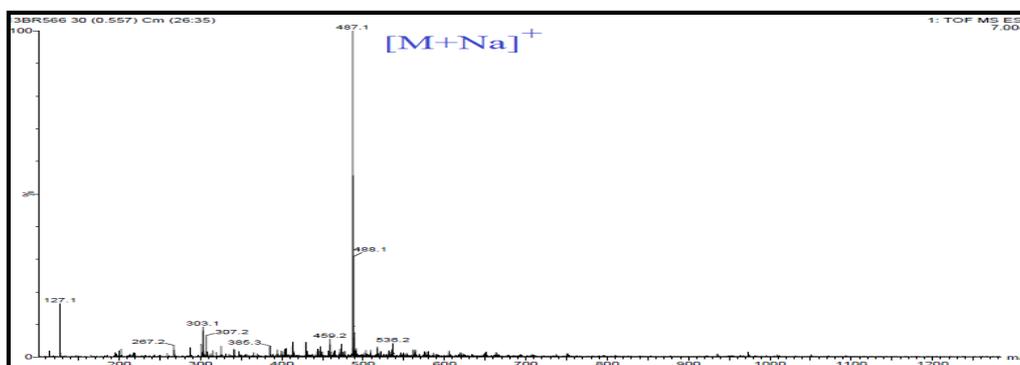
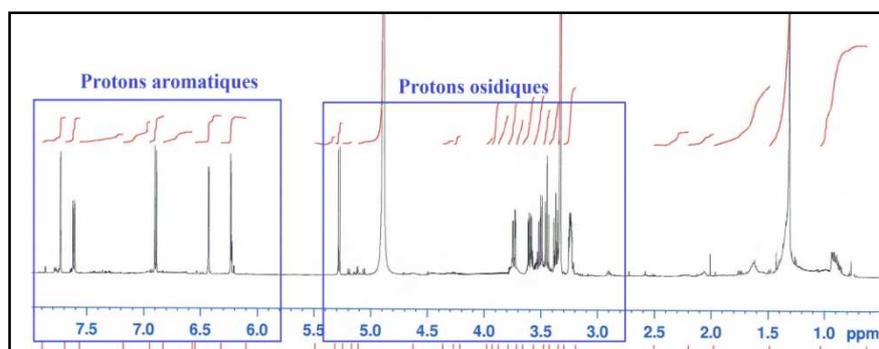


Figure I. 1. 3. 9. 1. Spectre de masse ESI-MS du composé HS9

Le pic de l'ion pseudomoléculaire $m/z = 487,1$ $[M+Na]^+$ observé sur le spectre de masse ESI-MS enregistré en mode positif (figure I. 1. 3. 9. 1) témoigne d'une masse moléculaire de 464 uma pour ce composé correspondant à une formule brute en $C_{21}H_{20}O_{12}$.

Figure I. 1. 3. 9. 2. Spectre RMN 1H du composé HS9

Les données RMN du proton et carbone de ce composé suggèrent son appartenance à la classe des flavonoïdes où il est observé sur le spectre RMN 1H (figure I. 1. 3. 9. 2) quatre signaux doublets et un autre sous forme de doublet de doublets, d'intégration 1H chacun, dans

la zone des protons aromatiques. Aussi, un nombre important de signaux dans la zone des protons osidiques est détecté.

L'assignement des protons aromatiques à leurs carbones sur le spectre HSQC conduit à la distinction entre les protons des cycles A et B. En effet, les deux doublets résonant à δ_H 6,23/ δ_C 98,4 et δ_H 6,42/ δ_C 93,2, qui possèdent une constante de couplage $J = 2,1$ Hz traduisant un couplage *ortho*, sont attribués aux protons du cycle A.

Les positions de ces deux protons sont établies par l'analyse du spectre HMBC (figure I. 1. 3. 9. 3) qui montre des corrélations entre le proton H-6 (δ_H 6,23, *d*, $J = 2,1$ Hz) et les carbones C-5 (δ_C 161,6), C-7 (δ_C 164,6), C-8 (δ_C 93,2) et C-10 (δ_C 108,1) ; et le proton H-8 (δ_H 6,42, *d*, $J = 2,1$ Hz) et les carbones C-6 (δ_C 98,4), C-7, C-9 (δ_C 157,0) et C-10.

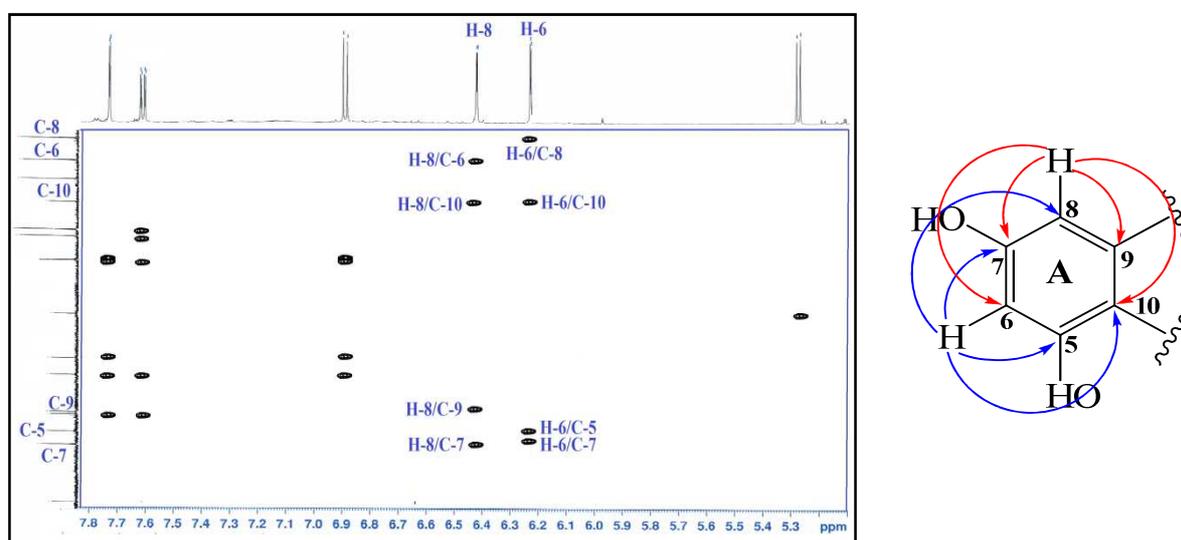


Figure I. 1. 3. 9. 3. Spectre HMBC du cycle A du composé HS9

Les signaux restant (figure I. 1. 3. 9. 4) indiquent la présence d'un cycle B de type 1,3,4-trisubstitué suite aux multiplicités et valeurs des constantes de couplage dont le signal sortant à (δ_H 7,73, *d*, $J = 2,1$ Hz) est attribué au proton H-2'. Le signal résonant à δ_H 6,97 (*dd*, $J = 8,4-2,1$ Hz) correspond au proton H-6' et en conséquence le proton H-5' résonne à δ_H 6,90 (*d*, $J = 8,4$ Hz).

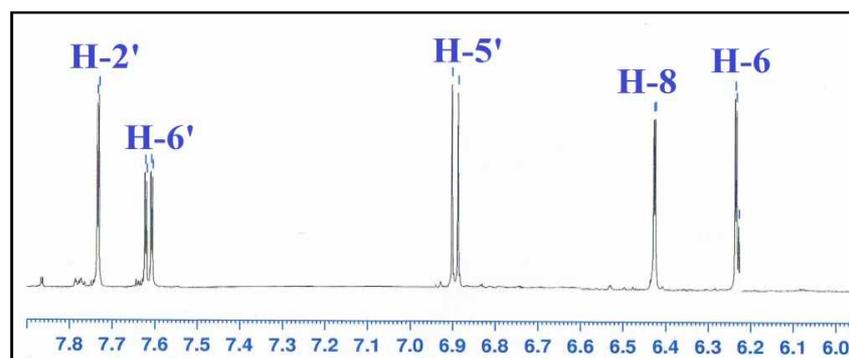


Figure I. 1. 3. 9. 4. Spectre RMN 1H des protons aromatiques du composé HS9

Les corrélations observées pour les protons de ce système de spins de type ABX sur le spectre HMBC (figure I. 1. 3. 9. 5) permettent de reconnaître tous les carbones du cycle B par les taches visualisées entre :

- Les protons *para* H-2' et H-5' et les carbones C-1' (δ_C 121,6) et C-6' (δ_C 121,7), et les carbones oxygénés C-3' (δ_C 144,5) et C-4' (δ_C 148,4).
- Le proton H-6' et les carbones C-1' et C-2' (δ_C 116,1), C-4' et C-5' (δ_C 114,5).

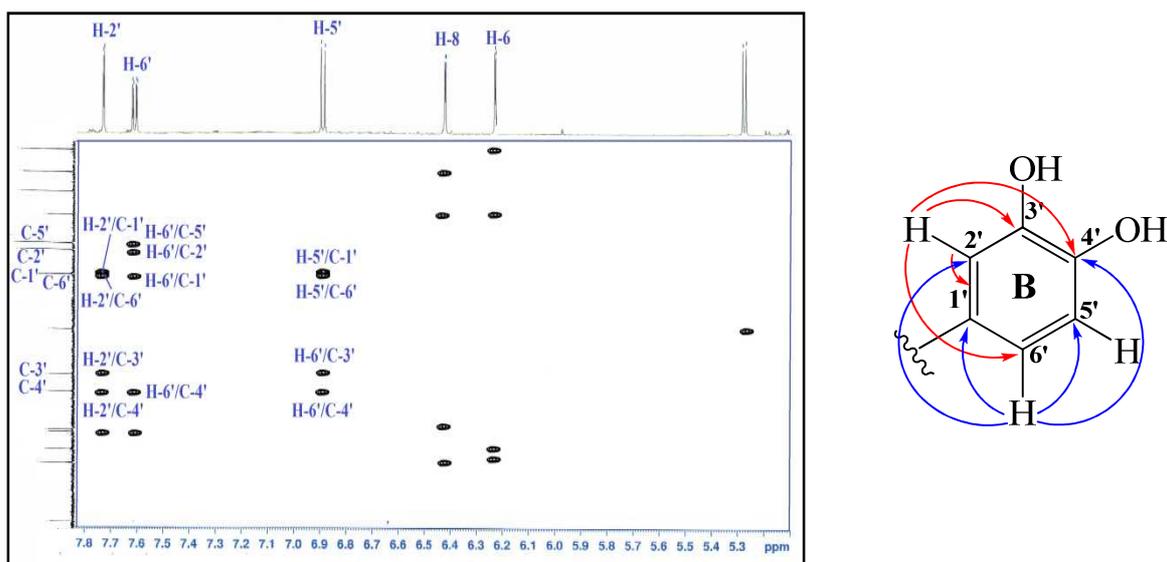


Figure I. 1. 3. 9. 5. Spectre HMBC du cycle B du composé HS9

Les carbones du cycle C sont localisés à :

- δ_C 157,6 pour le carbone C-2 suite à sa corrélation en 3J sur le spectre HMBC (figure I. 1. 3. 9. 6) avec les protons du cycle B (H-2' et H-6').
- δ_C 134,2 pour le carbone oxygéné C-3 et δ_C 178,1 pour le carbone C-4 du fait de l'absence de corrélations de ces carbones sur le même spectre au niveau de la partie aglycone.

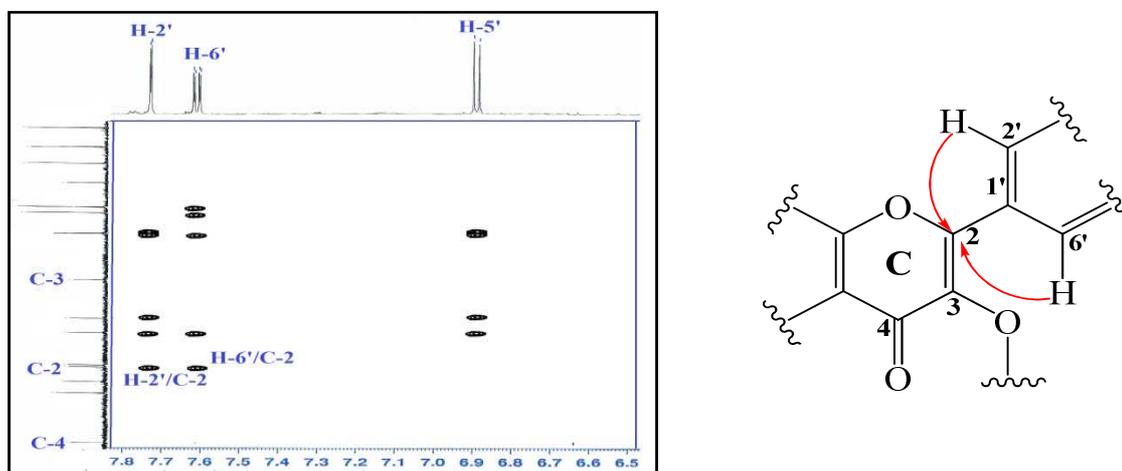


Figure I. 1. 3. 9. 6. Spectre HMBC montrant les corrélations au niveau du cycle C du composé HS9

A ce stade d'analyse, l'aglycone du composé **HS9** est identifié à la Quercétine (figure I. 1. 3. 9. 7).

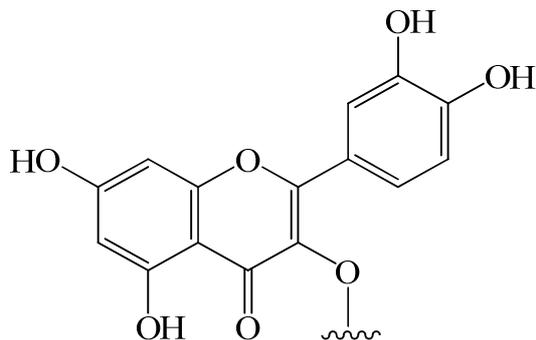


Figure I. 1. 3. 9. 7. Aglycone du composé HS9 (Quercétine)

L'unité osidique présente dans ce composé est clairement identifiée au β -D-glucose en raison, d'une part, de la constante de couplage du proton anomérique qui est localisé à δ_H 5,28 (*d*, $J = 7,6$ Hz, H-1'') et d'autre part, des grandes valeurs des constantes de couplage ($J > 7$ Hz) des protons constituant ce sucre. Ces valeurs indiquent des orientations axiales pour tous les protons. Ces derniers sont identifiés suite aux couplages qu'ils présentent sur le spectre COSY (figure I. 1. 3. 9. 8) entre H-1'' (δ_H 5,28, *d*, $J = 7,6$ Hz)/H-2'' (δ_H 3,45, *t*, $J = 7,6$ Hz)/H-3'' (δ_H 3,51, *dd*, $J = 9-7,6$ Hz)/H-4'' (δ_H 3,37, *t*, $J = 9$ Hz)/H-5'' (δ_H 3,25, *ddd*, $J = 9-5, 2-2,3$ Hz)/ H-6''a (δ_H 3,73, *dd*, $J = 11,8-2,3$ Hz) et H-6''b (δ_H 3,60, *dd*, $J = 11,8-5,2$ Hz).

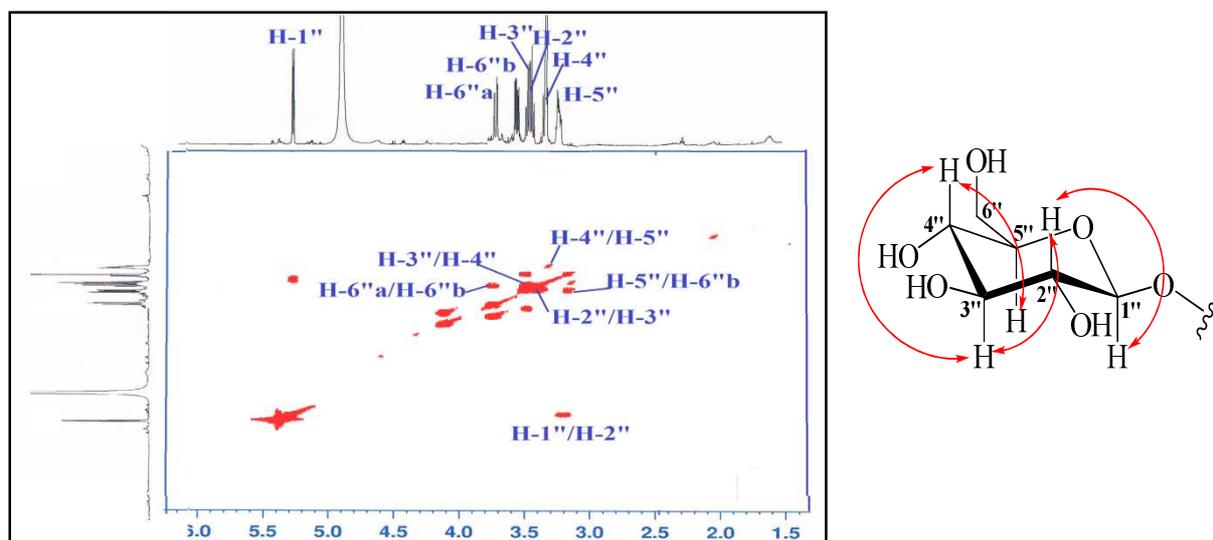


Figure I. 1. 3. 9. 8. Spectre COSY du glucose du composé HS9

Les carbones du β -D-glucose sont établis par l'analyse du spectre HSQC à C-1'' (δ_C 102,8), C-2'' (δ_C 74,3), C-3'' (δ_C 77,0), C-4'' (δ_C 69,8), C-5'' (δ_C 76,7) et C-6'' (δ_C 61,1) comme le montre le spectre RMN ^{13}C (figure I. 1. 3. 9. 9).

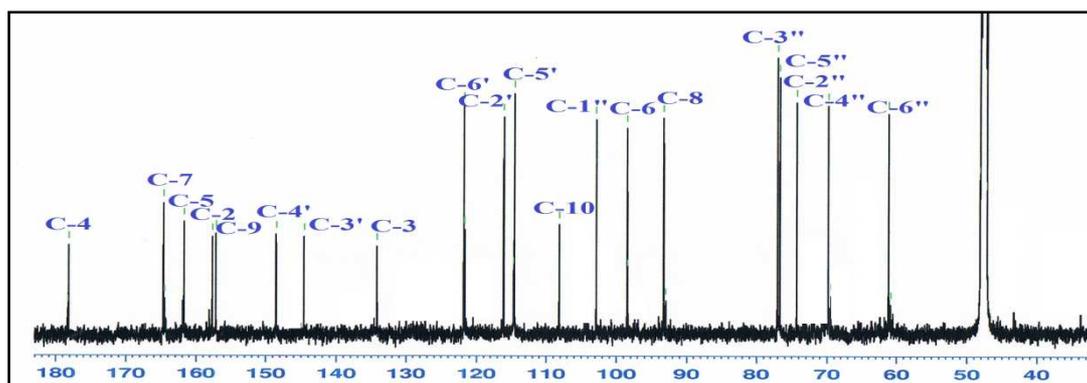


Figure I. 1. 3. 9. 9. Spectre RMN ^{13}C du composé HS9

Le point de branchement de l'unité osidique avec l'aglycone Quercétine est localisé au carbone C-3 suite à la valeur du déplacement chimique du carbone C-2 (δ_{C} 157,6) qui est déblindé de $\Delta + 9$ ppm comparativement au même carbone dans le cas où le carbone C-3 est porteur d'un OH libre [232].

Cette jonction se trouve une autre fois confirmée par la tache de corrélation observée sur le spectre HMBC (figure I. 1. 3. 9. 10) entre le proton anomérique H-1'' et le carbone C-3 de l'aglycone.

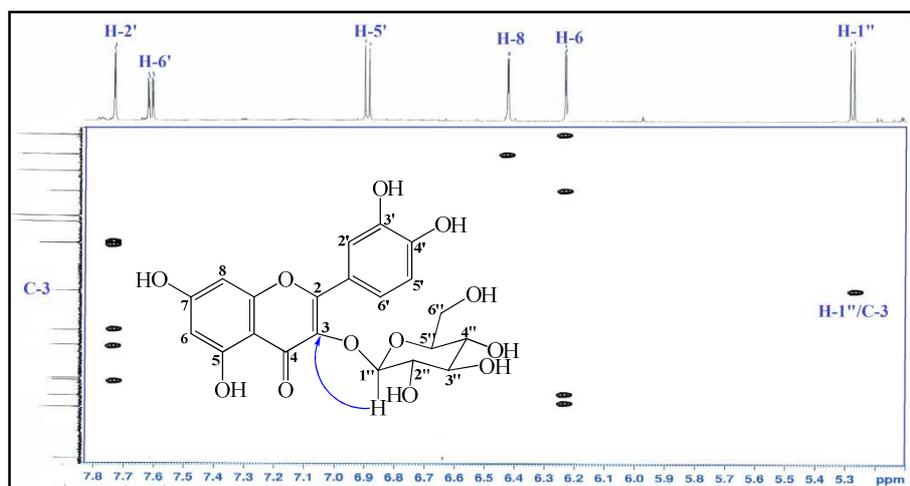


Figure I. 1. 3. 9. 10. Spectre HMBC montrant le point de branchement au niveau du composé HS9

Toutes ces données spectrales, la valeur du pouvoir rotatoire ($[\alpha]_{\text{D}} = -19,7$, $c = 0,5$, MeOH) et la comparaison avec celles de la littérature [243] nous permettent de proposer pour le composé **HS9** la structure **Quercétine-3-O- β -D-glucopyranoside**, connue sous le nom **Isoquercétrine** (figure I. 1. 3. 9. 11).

Ce composé a été antérieurement isolé de l'espèce *Helianthemum glomeratum* [106], ainsi qu'à partir des espèces suivantes *Cistus ladanifer* [8], *Cistus incanus* [234] et *Tuberaria lignosa* [101] de la famille Cistaceae.

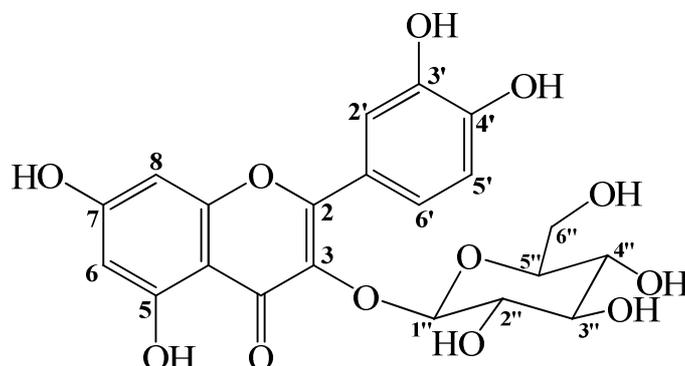


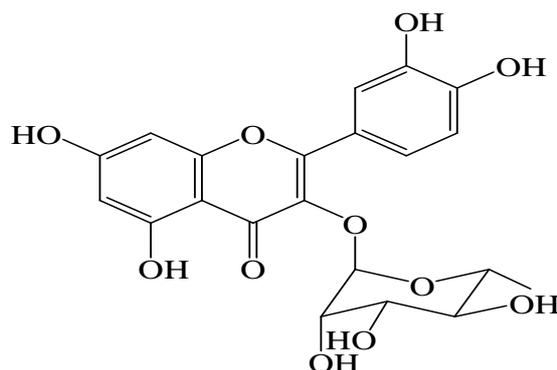
Figure I. 1. 3. 9. 11. Structure du composé HS9 (Isoquercétrine)

Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé **HS9** sont rassemblés dans le tableau I. 1. 3. 9.

Tableau I. 1. 3. 9. Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé HS9 enregistrés dans CD_3OD

HS9		
Position	δ_{H} (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)
1	-	-
2	-	157,6
3	-	134,2
4	-	178,1
5	-	161,6
6	6,23 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2,1)	98,4
7	-	164,6
8	6,42 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2,1)	93,2
9	-	157,0
10	-	108,1
1'	-	121,6
2'	7,73 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2,1)	116,1
3'	-	144,5
4'	-	148,4
5'	6,90 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8,4)	114,5
6'	6,97 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 8,4-2,1)	121,7
1''	5,28 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 7,6)	102,8
2''	3,45 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 7,6)	74,3
3''	3,51 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 9,0-7,6)	77,0
4''	3,37 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 9,0)	69,8
5''	3,41 (1H, <i>ddd</i> , <i>J</i> = 9,0-5,2-2,3)	76,7
6''a	3,73 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 11,8 -2,3)	61,1
6''b	3,60 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 11,8-5,2)	-

I. 1. 3. 10. Identification structurale du composé HS10



Quercétine

Le composé **HS10** purifié sous forme d'une poudre jaune est visible à la lumière UV à 254 et 366 nm. Il se révèle en jaune sur CCM par une solution acide et chauffage à 100 °C.

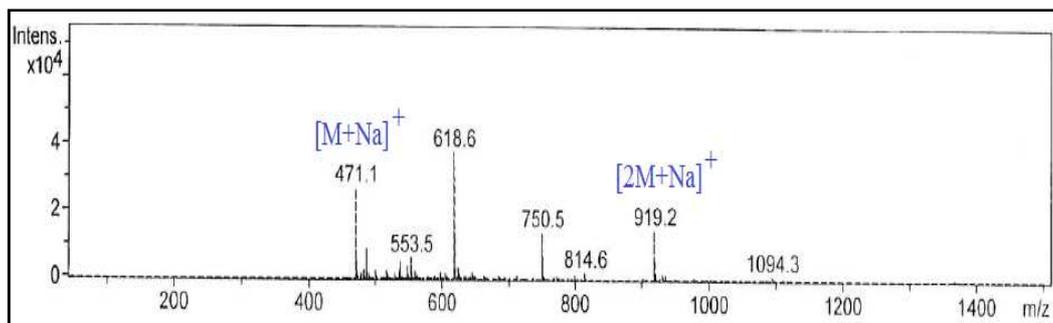


Figure I. 1. 3. 10. 1. Spectre de masse ESI-MS (mode positif) du composé HS10

Les spectres de masse ESI-MS de ce composé enregistrés en modes positif (figure I. 1. 3. 10. 1) et négatif (figure I. 1. 3. 10. 2) indiquent la présence des pics d'ions pseudomoléculaires à $m/z = 471,1$ $[M+Na]^+$, $919,2$ $[2M+Na]^+$, $447,0$ $[M-H]^-$ et $895,0$ $[2M-H]^-$. Ceci correspond à une masse moléculaire égale à 448 uma et une formule brute s'établissant en $C_{21}H_{20}O_{11}$.

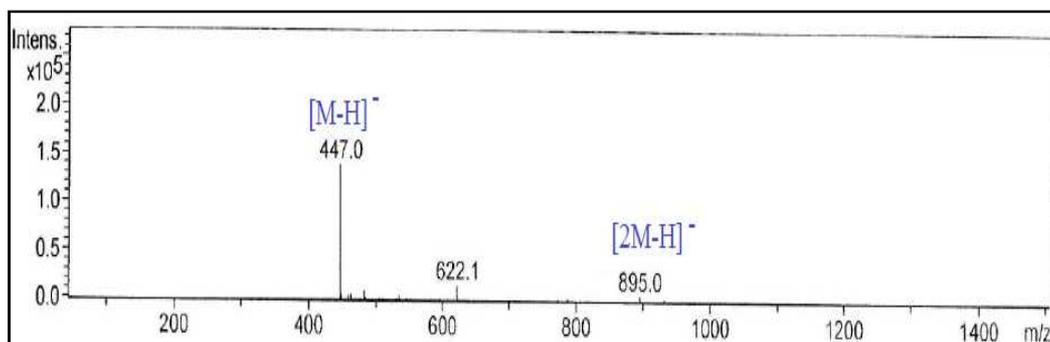


Figure I. 1. 3. 10. 2. Spectre de masse ESI-MS (mode négatif) du composé HS10

L'élucidation structurale de ce composé à été réalisée par comparaison entre ses spectres RMN ^1H et ^{13}C et ceux de **HS9** déjà identifié.

Cette comparaison montre une grande similitude structurale au niveau de l'aglycone, néanmoins quelques différences mineures au niveau de l'unité osidique ont été constatées.

La similitude observée pour l'aglycone de ce composé conduit à lui attribuer également un squelette de type Quercétine où le spectre RMN ^1H (figure I. 1. 3. 10. 3) révèle clairement la présence des protons du cycle A [H-6 (δ_{H} 6,21, *d*, $J = 2,0$ Hz) et H-8 (δ_{H} 6,38, *d*, $J = 2,0$ Hz)] et les protons du cycle B [H-2' (δ_{H} 6,32, *d*, $J = 2,1$ Hz), H-5' (δ_{H} 6,91, *d*, $J = 8,2$ Hz) et H-6' (δ_{H} 6,31, *dd*, $J = 8,2-2,1$ Hz)].

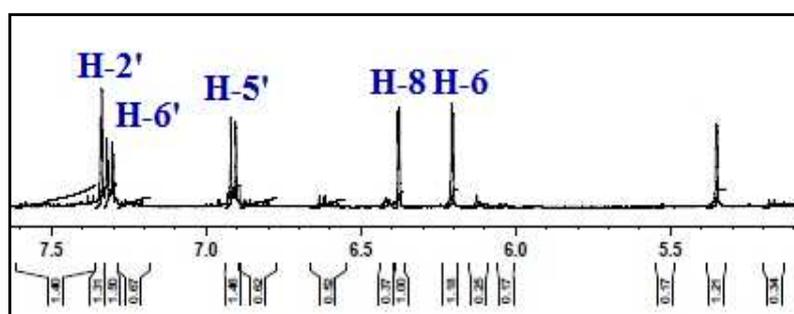


Figure I. 1. 3. 10. 3. Spectre RMN ^1H du composé HS10

L'analyse combinée des spectres RMN ^{13}C *J*-modulé (figure I. 1. 3. 10. 4), HMBC et HSQC de ce composé permet d'identifier les carbones de la partie aglycone comme suit : C-2 (δ_{C} 159,4), C-3 (δ_{C} 136,3), C-4 (δ_{C} 179,9), C-5 (δ_{C} 163,3), C-6 (δ_{C} 99,9), C-7 (δ_{C} 166,0), C-8 (δ_{C} 95,0), C-9 (δ_{C} 158,6), C-10 (δ_{C} 106,0), C-1' (δ_{C} 123,0), C-2' (δ_{C} 117,0), C-3' (δ_{C} 146,5), C-4' (δ_{C} 149,9), C-5' (δ_{C} 116,5) et C-6' (δ_{C} 122,9).

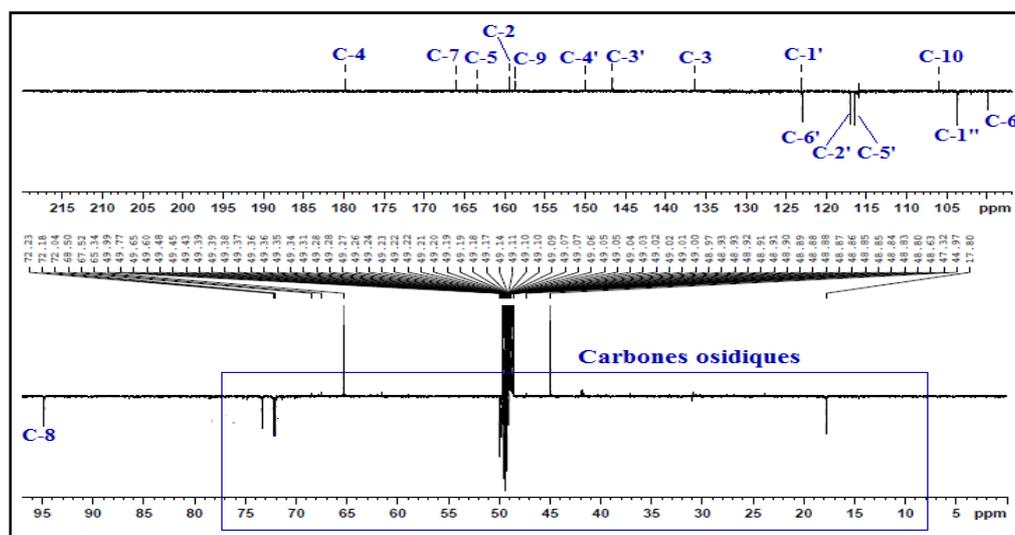


Figure I. 1. 3. 10. 4. Spectre RMN ^{13}C *J*-modulé du composé HS10

Les différences remarquées au niveau de l'unité osidique de ce composé par rapport au composé **HS9** résident dans l'apparition sur les spectres RMN ^1H et ^{13}C de **HS10** des signaux résonant à (δ_{H} 0,93/ δ_{C} 17,8) attribués à un groupement méthylique et la disparition des signaux du groupement oxyméthylène 6"-CH₂ localisés à (δ_{H} 3,73-3,60/ δ_{C} 61,1) dans le cas du composé **HS9** (figure I. 1. 3. 10. 4 et 5).

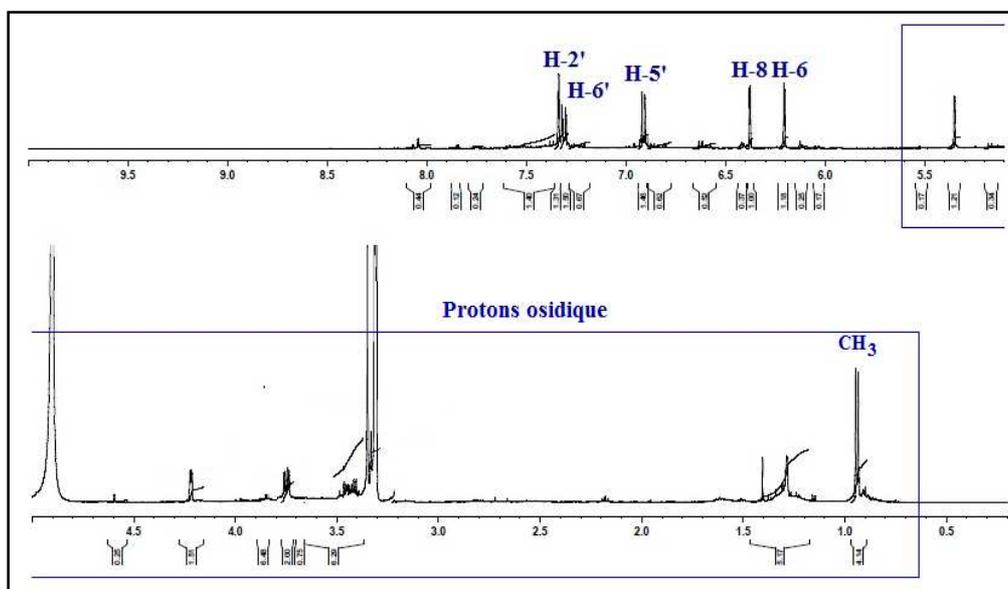


Figure I. 1. 3. 10. 5. Spectre RMN ^{13}C DEPT du composé HS10

En plus, les spectres RMN ^1H et ^{13}C J -modulé (figure I. 1. 3. 10. 4 et 5) montrent dans la zone osidique la présence de cinq groupements oxyméthines indiquant l'existence d'un 6-déoxyhexose.

Le proton anomérique de ce 6-déoxyhexose qui résonne à H-1" (δ_{H} 5,35) sous forme de doublet avec $J = 1,5$ Hz montre sur le spectre COSY (figure I. 1. 3. 10. 5) une tache de corrélation avec le proton adjacent H-2" résonant à (δ_{H} 3,21, dd , $J = 3,3-1,5$ Hz). Le suivi de cet enchainement sur ce spectre permet de repérer un système de spins global à huit protons, selon le fragment structural -CH(O-)-CH(OH)-CH(OH)-CH(OH)-CH(O-)-CH₃, par les couplages scalaires entre les protons H-1"/H-2"/H-3" (δ_{H} 3,75, dd , $J = 9,4-3,3$ Hz)/H-4" (δ_{H} 3,32, m)/H-5" (δ_{H} 3,40, m)/H₃-6" (δ_{H} 0,93, d , $J = 6,1$ Hz).

Ces données, en plus de l'analyse des constantes de couplage de ces protons, indiquent un arrangement équatorial pour les protons H-1" et H-2" et une orientation axiale pour les protons H-3" et H-4", ce qui conduit à l'identification de cette unité osidique à α -L-rhamnose.

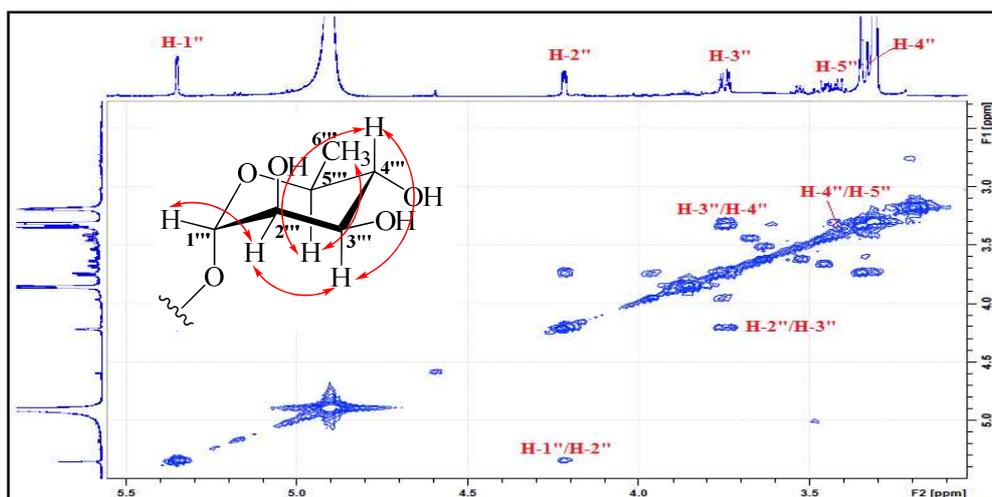


Figure I. 1. 3. 10. 6. Spectre COSY H-H du composé HS10

Les carbones de ce sucre sont repérés grâce à l'analyse du spectre HSQC à δ_C 103,6 (C-1''), 68,5 (C-2''), 72,1 (C-3''), 72,2 (C-4''), 72,0 (C-5'') et 17,8 (C-6'').

Comme tous les flavonoïdes glycosylés identifiés précédemment, le déplacement chimique du carbone C-2 (δ_C 159,4) et la tache de corrélation visualisée sur le spectre HMBC (figure I. 1. 3. 10. 7) entre le proton anomérique H-1'' et le carbone C-3 de l'aglycone confirment l'attachement de l'unité osidique α -L-rhamnose à la Quercétine.

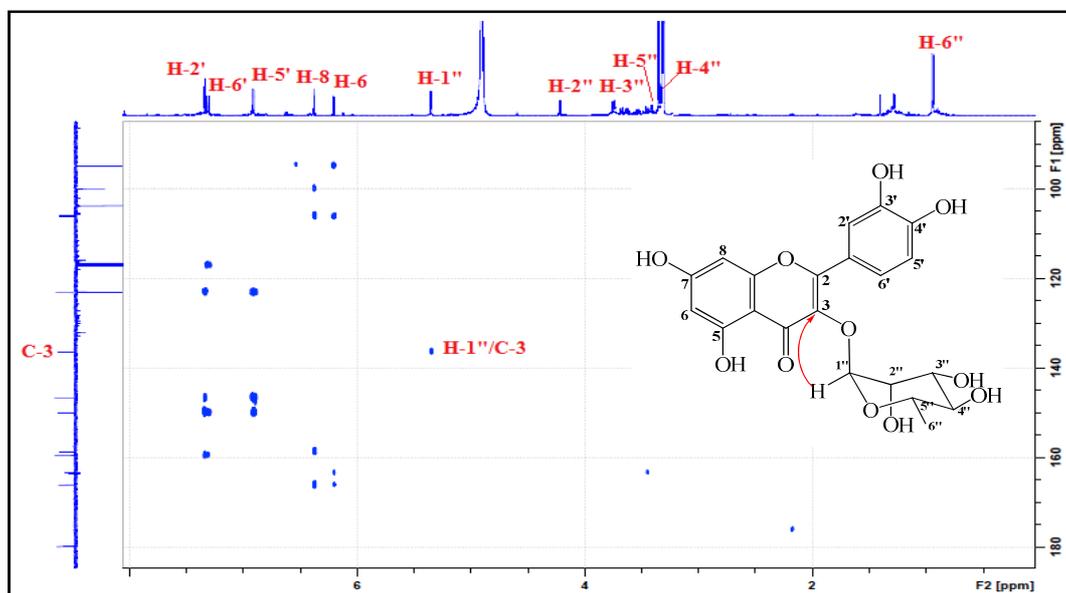


Figure I. 1. 3. 10. 7. Spectre HMBC montrant le point de branchement au niveau du composé HS10

Ces données spectrales comparées à celles de la littérature [244] et en plus de la mesure de la valeur du pouvoir rotatoire ($[\alpha]_D = -157,3$, $c = 0,6$, MeOH) permettent d'attribuer pour le composé HS10 la structure suivante : **Quercétine-3-O- α -L-rhamnopyranoside**

(figure I. 1. 3. 10. 8) appelé également **Quercétrine**. Il a été antérieurement isolé des espèces *Helianthemum glomeratum* [106], *Cistus incanus* [234] et *Cistus laurifolius* de la famille Cistaceae [245].

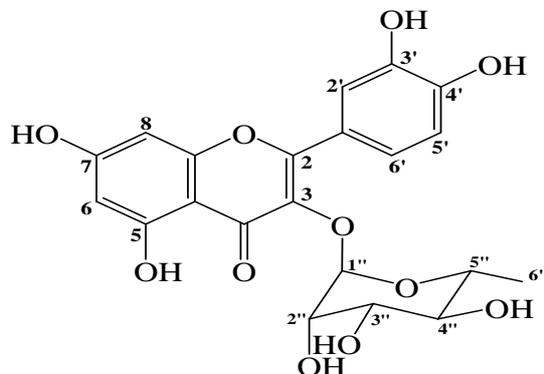


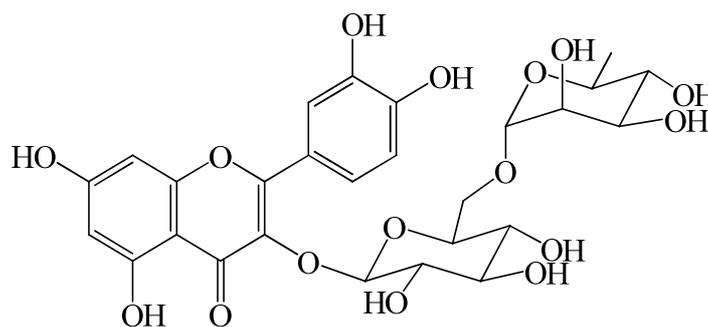
Figure I. 1. 3. 10. 8. Structure du composé HS10 (Quercétrine)

Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé **HS10** sont réunis dans le tableau I. 1. 3. 10.

Tableau I. 1. 3. 10. Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé HS10 enregistrés dans CD_3OD

HS10		
Position	δ_{H} (ppm), m , J (Hz)	δ_{C} (ppm)
1	-	-
2	-	159,4
3	-	136,3
4	-	179,9
5	-	163,3
6	6,21 (1H, d , $J = 2,0$)	99,9
7	-	166,0
8	6,38 (1H, d , $J = 2,0$)	95,0
9	-	158,6
10	-	106,0
1'	-	123,0
2'	6,32 (1H, d , $J = 2,1$)	117,0
3'	-	146,5
4'	-	149,9
5'	6,91 (1H, d , $J = 8,2$)	116,5
6'	6,31 (1H, dd , $J = 8,2-2,1$)	122,9
1''	5,35 (1H, d , $J = 1,5$)	103,6
2''	3,21 (1H, dd , $J = 3,3-1,6$)	68,5
3''	3,75 (1H, dd , $J = 9,4-3,3$)	72,1
4''	3,32 (1H, m)	72,2
5''	3,40 (1H, m)	72,0
6''	0,93 (1H, d , $J = 6,1$)	17,8

I. 1. 3. 11. Identification structurale du composé HS11



Rutine

Ce composé est isolé également sous forme d'une poudre jaune et montre une tache visible sur CCM aux longueurs d'onde (254 et 366 nm). Il se colore en jaune après révélation par une solution acide et chauffage à 100 °C.

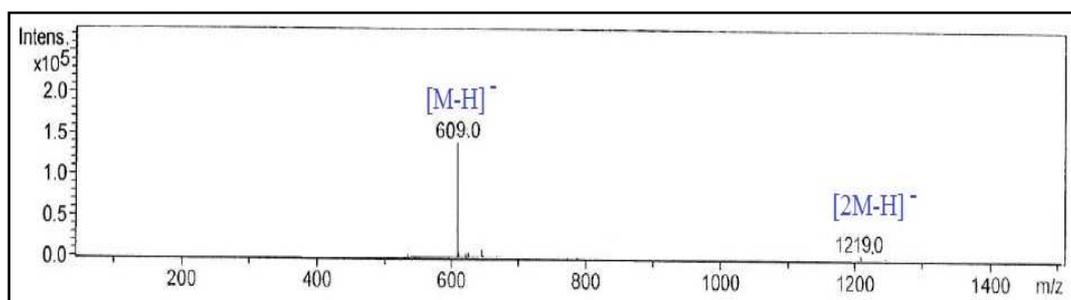
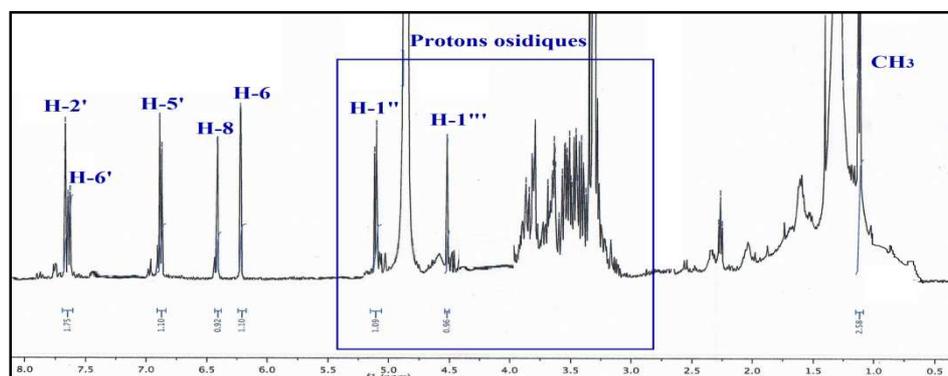


Figure I. 1. 3. 11. 1. Spectre de masse ESI-MS (mode négatif) du composé HS11

Le spectre de masse ESI-MS de ce composé enregistré en mode négatif (figure I. 1. 3. 10. 1) révèle deux pics d'ions pseudomoléculaires à $m/z = 609,0$ $[M-H]^-$ et $1219,0$ $[2M-H]^-$ indiquant une masse moléculaire de 610 uma correspondant à une formule brute en $C_{21}H_{20}O_{11}$.

Figure I. 1. 3. 11. 2. Spectre RMN 1H du composé HS11

La présence d'un aglycone de type Quercétine pour ce composé est clairement déduite à partir des spectres RMN 1H et ^{13}C (figures I. 1. 3. 10. 2 et 3). En effet, le spectre RMN 1H montre la présence des protons caractéristiques d'un squelette Quercétine à savoir

H-6 (δ_H 6,22, *d*, $J = 2,1$ Hz), H-8 (δ_H 6,41, *d*, $J = 2,1$ Hz), H-2' (δ_H 7,67, *d*, $J = 2,1$ Hz), H-5' (δ_H 6,88, *d*, $J = 8,4$ Hz) et H-6' (δ_H 7,64, *dd*, $J = 8,4-2,1$ Hz).

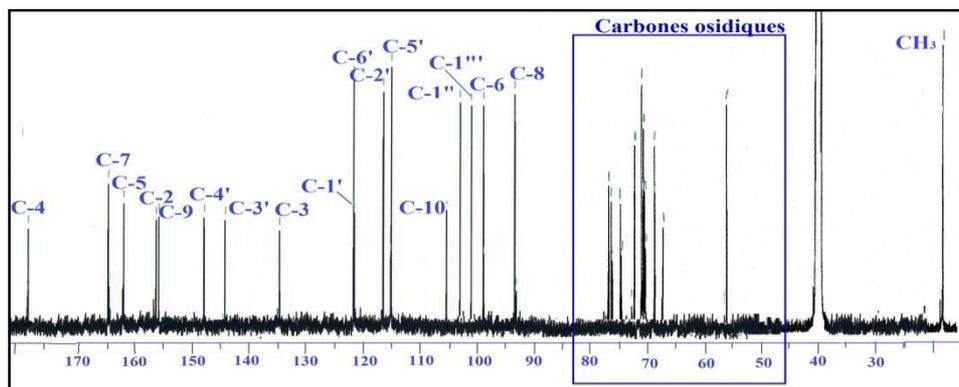


Figure I. 1. 3. 11. 3. Spectre RMN ^{13}C du composé HS11

La zone osidique des spectres RMN ^1H et ^{13}C (figures I. 1. 3. 10. 2 et 3) de ce composé regroupe les signaux observés pour les deux composés précédents **HS9** et **HS10** par l'exhibition de dix groupements oxyméthines, un groupement oxyméthylène et un groupement méthylique, suggérant ainsi la présence de deux unités osidiques ayant les protons et carbones anomères suivants [H-1" (δ_H 5,11, *d*, $J = 7,7$ Hz)/(δ_C 104,4)] et [H-1'" (δ_H 4,42, *d*, $J = 1,6$ Hz)/(δ_C 102,1)], comme dans le cas du composé **HS7**.

L'existence d'un hexose de type glucose est démontrée par les corrélations observées sur le spectre COSY H-H (figure I. 1. 3. 10. 4) entre le proton anomérique H-1" (δ_H 5,11, *d*, $J = 7,7$ Hz) et le proton H-2" (δ_H 3,45, *dd*, $J = 8,4-7,7$ Hz), ainsi qu'entre les protons H-2"/H-3" (δ_H 3,32, *m*)/H-4" (δ_H 3,27, *t*, $J = 8,4$ Hz)/H-5" (δ_H 3,41, *m*)/H-6"a (δ_H 3,82, *dd*, $J = 11,5-5,2$ Hz) et H-6"b (δ_H 3,64, *dd*, $J = 11,4-5,1$ Hz) faisant partie tous d'un même système de spins. Les grandes valeurs des constantes de couplage de ces protons confirment nos suggestions quant à la présence d'un glucose. Le couplage des protons H-1" et H-2" avec $J = 7,7$ Hz attribue pour ce glucose une configuration β . Il s'agit donc d'un β -D-glucose.

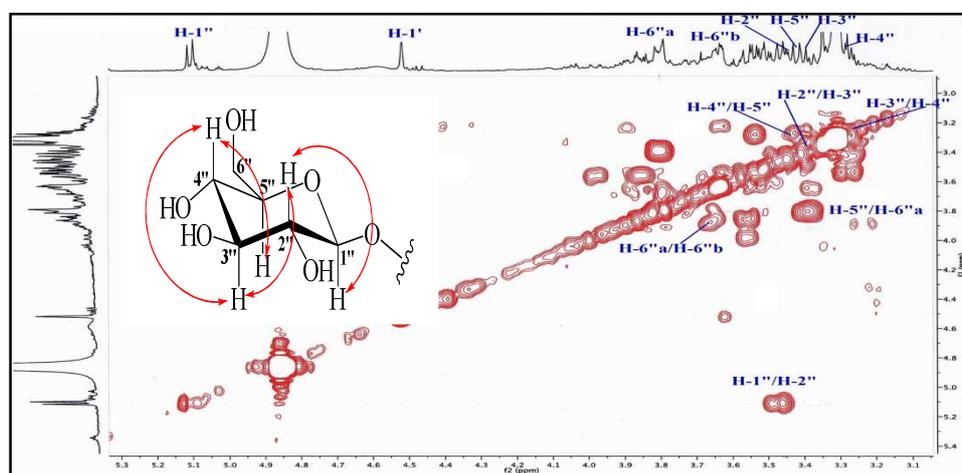


Figure I. 1. 3. 11. 4. Spectre COSY H-H du glucose du composé HS11

Ainsi, la présence d'un rhamnose est mise en évidence suite à l'analyse des corrélations observées sur le spectre COSY H-H (figure I. 1. 3. 10. 5) des protons osidiques restant en partant du deuxième proton anomérique H-1''' (δ_H 4,42, *d*, $J = 1,6$ Hz). Ces corrélations permettent de repérer l'enchaînement H-1'''/H-2''' (δ_H 3,63, *dd*, $J = 3,2-1,6$ Hz)/H-3''' (δ_H 3,53, *dd*, $J = 9,0-3,2$ Hz)/H-4''' (δ_H 3,28, *t*, $J = 9,0$ Hz)/H-5''' (δ_H 3,45, *m*)/H-6''' (δ_H 1,12, *d*, $J = 6,2$ Hz). Les valeurs de constantes de couplage indiquent une orientation équatoriale pour les protons H-1''' et H-2''' et un arrangement axial pour les protons H-3''', H-4''' et H-5''' confirmant alors l'existence de l'unité osidique α -L-rhamnose.

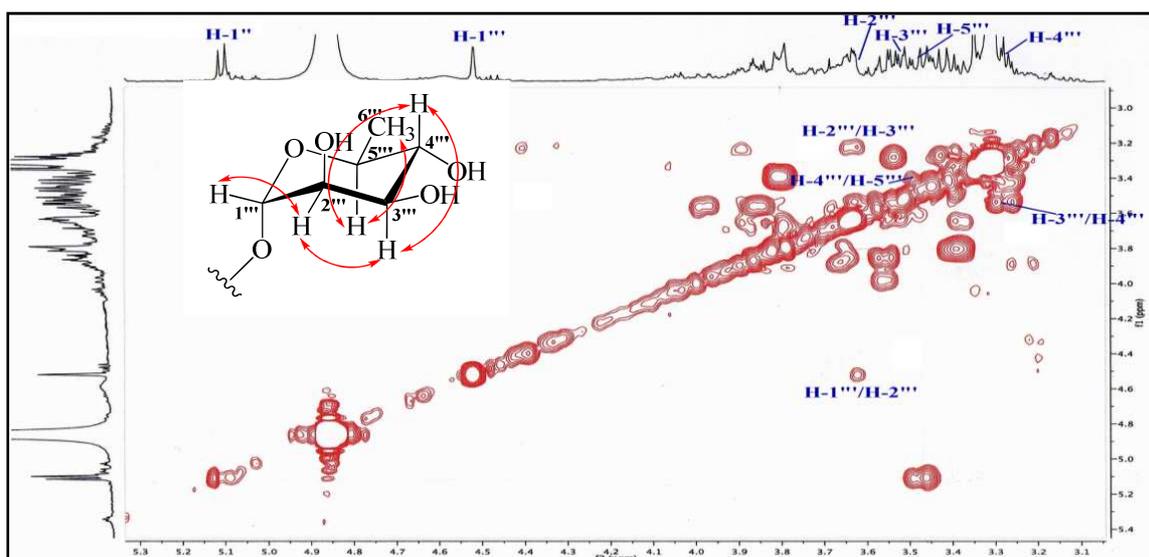


Figure I. 1. 3. 11. 5. Spectre COSY H-H du rhamnose du composé HS11

L'enchaînement osidique est déterminé comme étant un rutinoside impliquant une jonction (1 \rightarrow 6) glucose-rhamnose (figure I. 1. 3. 10. 6), en raison d'une part, du déblindage du carbone C-6'' (δ_C 68,2) du glucose par rapport à un glucose terminal C-6'' (δ_C 61,1) et d'autre part, de la valeur du déplacement chimique du carbone anomérique C-1''' (δ_C 102,1) du rhamnose.

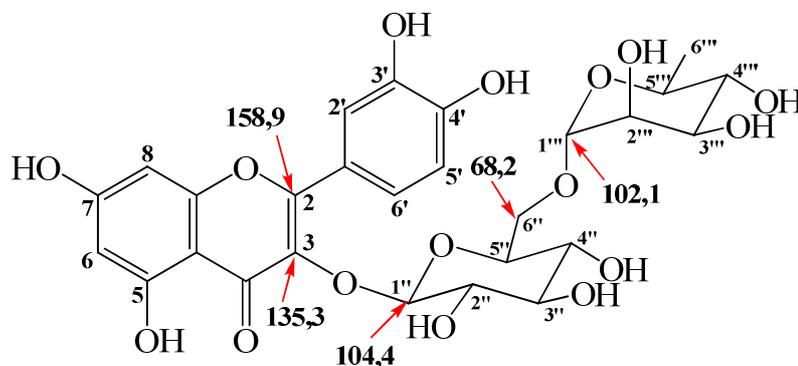


Figure I. 1. 3. 11. 6. Points de branchement au niveau du composé HS11

La liaison interglycosidique est confirmée par la tache de corrélation observée sur le spectre HMBC (figure I. 1. 3. 10. 7) entre le proton anomérique H-1''' et le carbones C-6'' constituant l'unité rutinoside. La corrélation du proton anomérique H-1'' avec le carbone C-3 de l'aglycone révèle le point de fixation de l'unité rutinoside à l'aglycone Quercétine (figure I. 1. 3. 10. 8).

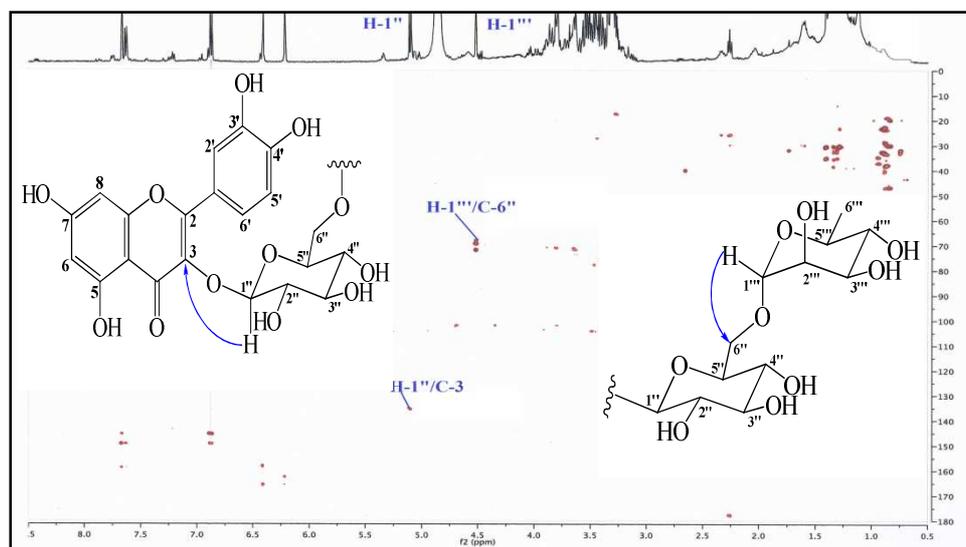


Figure I. 1. 3. 11. 7. Spectre HMBC du composé HS11

L'ensemble de ces données spectroscopiques, la valeur du pouvoir rotatoire ($[\alpha]_D = +13,8$, $c = 0,2$, MeOH) et la comparaison avec celles de la littérature [246] permettent d'attribuer pour le composé **HS11** la structure suivante : **Quercétine-3-O-rutinoside (Rutine)** (figure I. 1. 3. 10. 8). Ce composé a été antérieurement isolé des espèces du genre *Cistus* telles que *C. ladanifer* [8] et *C. incanus* [234], ainsi qu'à partir d'une espèce du genre *Tuberaria* (*T. lignosa*) [101]. Cependant, il est identifié pour la première fois dans le genre *Helianthemum*.

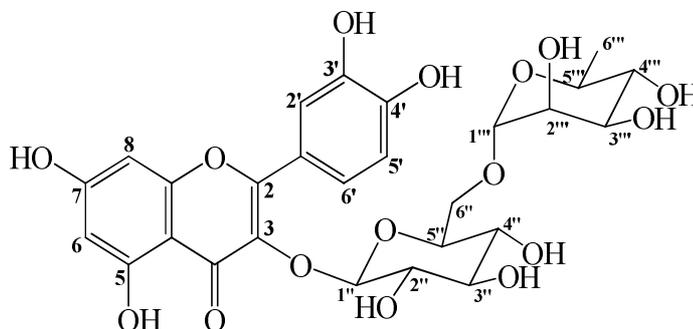


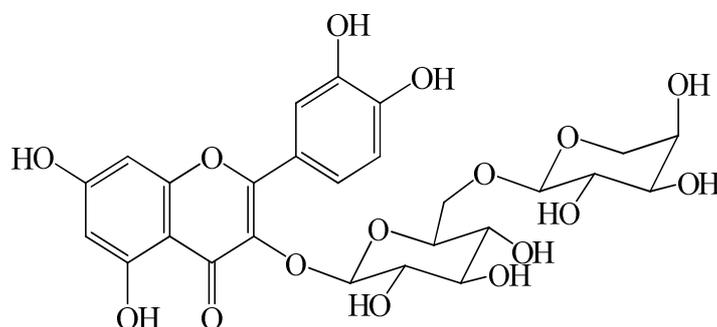
Figure I. 1. 3. 11. 8. Structure du composé HS11 (Rutine)

Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé **HS11** sont regroupés dans le tableau I. 1. 3. 11.

Tableau I. 1. 3. 11. Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé HS11 enregistrés dans CD_3OD

HS11		
Position	δ_{H} (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)
1	-	-
2	-	158,9
3	-	135,3
4	-	178,2
5	-	162,5
6	6,22 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2,1)	99,6
7	-	165,6
8	6,41 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2,1)	94,5
9	-	158,1
10	-	105,2
1'	-	122,7
2'	7,67 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2,1)	117,3
3'	-	145,5
4'	-	149,4
5'	6,88 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8,4)	115,7
6'	7,60 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8,4-2,1)	123,2
1''	5,11 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 7,7)	104,4
2''	3,45 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 8,4-7,7)	75,3
3''	3,44 (1H, <i>m</i>)	76,9
4''	3,27 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 8,4)	71,1
5''	3,41 (1H, <i>m</i>)	77,8
6''a	3,82 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 11,5 -5,2)	68,2
6''b	3,64 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 11,4 -5,1)	
1'''	4,52 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 1,6)	102,1
2'''	3,63 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 3,2-1,6)	71,8
3'''	3,53 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 9,0-3,2)	71,9
4'''	3,28 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 9,0)	73,6
5'''	3,45 (1H, <i>m</i>)	69,3
6'''	1,12 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,2)	17,5

I. 1. 3. 12. Identification structurale du composé HS12



Néoisorutine

Le composé **HS12** est isolé sous forme d'une poudre jaune soluble dans le méthanol. Il montre une tache visible à la lumière UV (254 et 366 nm) se colorant en jaune après révélation par une solution acide et chauffage à 100 °C.

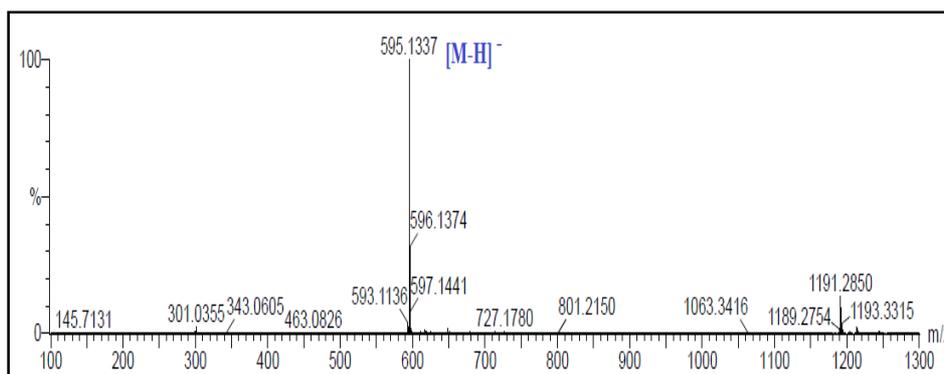


Figure I. 1. 3. 12. 1. Spectre de masse ESI-MS du composé HS12 (mode négatif)

Le spectre de masse ESI-MS enregistré en mode négatif (figure I. 1. 3. 12. 1) pour ce composé révèle l'existence d'un pic d'ion pseudomoléculaire à $m/z = 595,1$ $[M-H]^-$ correspondant à une masse moléculaire de 596 uma et une formule brute en $C_{26}H_{27}O_{16}$.

Les spectres RMN 1H et ^{13}C de ce composé montrent la présence de deux types de signaux aromatiques et aliphatiques. La comparaison des spectres de **HS12** avec ceux des composés identifiés précédemment témoigne d'une grande similitude structurale avec les composés **HS9**, **HS10** et **HS11** au niveau de la zone aromatique et avec le composé **HS8** au niveau de la zone osidique suggérant la présence pour ce composé d'un aglycone de type Quercétine et deux unités osidiques de natures pentose et hexose.

L'analyse des signaux visualisés sur le spectre RMN 1H (figure I. 1. 3. 12. 2) indique la présence de la Quercétine par l'observation des protons du cycle A à δ_H 6,21 (d , $J = 2,1$ Hz, H-6) et 6,42 (d , $J = 2,1$ Hz, H-8), ainsi que les protons du cycle B à δ_H 7,71 (d , $J = 2,1$ Hz, H-2'), 6,88 (d , $J = 8,3$ Hz, H-5') et 7,69 (dd , $J = 8,3-2,1$ Hz, H-6').

L'attribution des pics observés sur le spectre RMN ^{13}C (figure I. 1. 3. 12. 2) dans la zone aromatique sont aussi en accord avec l'existence d'un aglycone de type Quercétine.

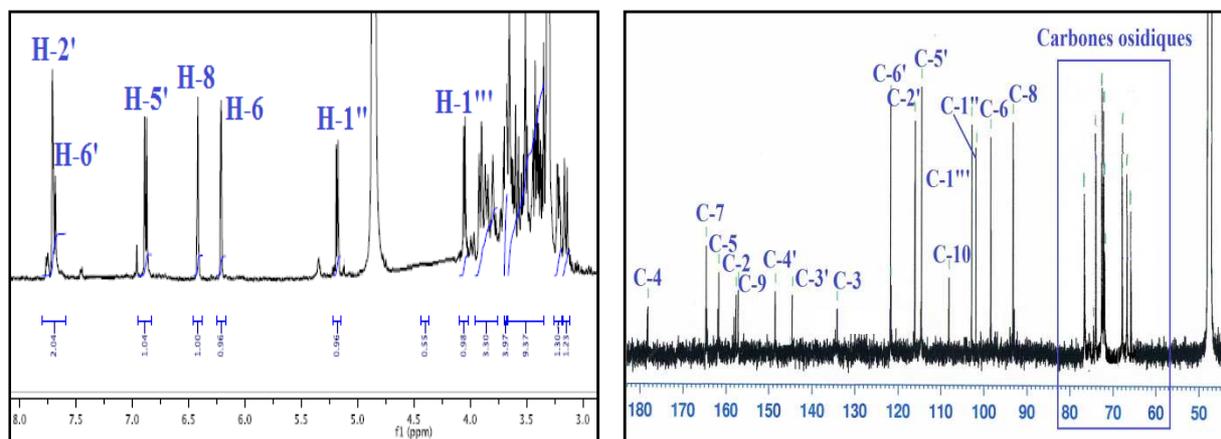


Figure I. 1. 3. 12. 2. Spectres RMN 1H et ^{13}C du composé HS12

L'identification des unités pentose et hexose de ce composé est basée essentiellement sur l'analyse des spectres TOCSY et COSY (figures I. 1. 3. 12. 3 et 4), ainsi que par comparaison avec les données RMN du composé **HS8** et de la littérature [241].

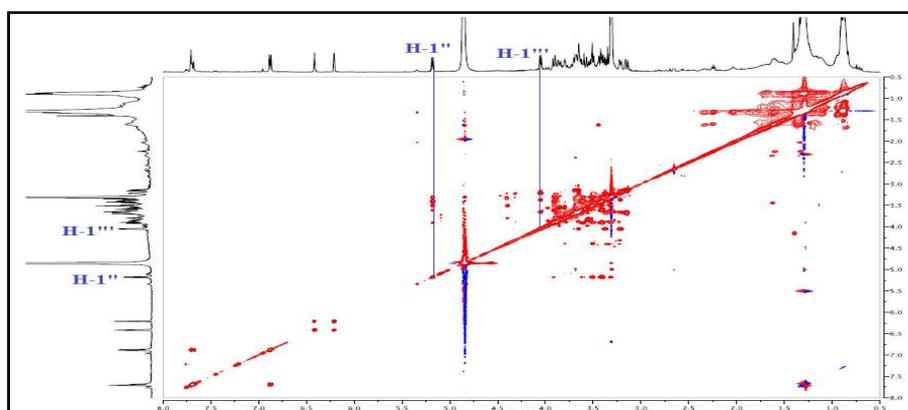


Figure I. 1. 3. 12. 3. Spectre TOCSY du composé HS12

Les protons de l'unité hexose, localisés suite aux taches observées sur le spectre TOCSY (figure I. 1. 3. 12. 3) à partir du proton anomérique H-1'' (δ_H 5,18, *d*, $J = 7,8$ Hz), montrent sur le spectre COSY (figure I. 1. 3. 12. 4) les couplages scalaires H-1''/H-2'' (δ_H 3,50, *d*, $J = 7,8$ Hz)/H-3'' (δ_H 3,41, *t*, $J = 7,8$ Hz)/H-4'' (δ_H 3,31, *t*, $J = 7,7$ Hz)/H-5'' (δ_H 3,42, *nd*)/H-6''a (δ_H 3,91, *dd*, $J = 11,9-2,0$ Hz) et H-6''b (δ_H 3,61, *dd*, $J = 11,9-5,1$ Hz). Par conséquent, cet hexose est identifié au β -D-glucose.

La même procédure est employée pour l'identification de l'unité pentose dont les corrélations observées sur le spectre TOCSY (figure I. 1. 3. 12. 3) à partir du deuxième proton anomérique H-1''' (δ_H 4,05, *d*, $J = 6,8$ Hz) mènent à localiser les protons de cet oside. Le spectre COSY (figure I. 1. 3. 12. 4) montre bien les couplages entre ces protons conduisant à identifier l'enchaînement H-1'''/H-2''' (δ_H 3,38, *dd*, $J = 9,3-7,0$ Hz)/H-3''' (δ_H 3,32, *dd*, $J = 9,0-5,0$ Hz)/H-4''' (δ_H 3,65, *m*)/H-5'''a (δ_H 3,67, *m*) et H-5'''b (δ_H 3,30, *dd*, $J = 12,3-1,3$ Hz).

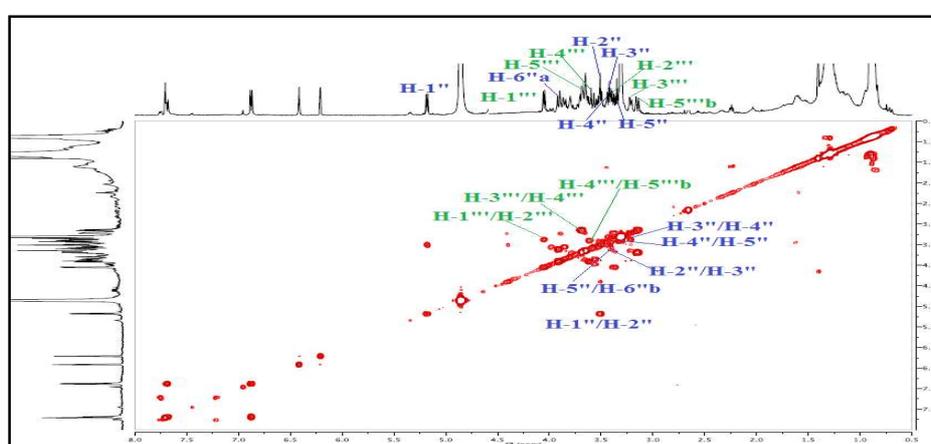


Figure I. 1. 3. 12. 4. Spectre COSY du composé HS12

A partir de ces données, l'unité pentose de ce composé est caractérisée comme étant un α -L-arabinose en raison, d'une part des valeurs des constantes de couplage des protons (H-1''', H-2''' et H-3''') axialement orientés, et du proton H-4''' ayant une orientation équatoriale, et d'autre part de la valeur $J_{H-1'''/H-2'''} = 6,8 \text{ Hz} > 2,3 \text{ Hz}$ suggérant une configuration α de cet arabinose [239].

L'analyse du spectre HSQC permet d'assigner les protons identifiés précédemment à leurs carbones respectifs (tableau I. 1. 3. 12).

L'enchaînement de ces unités osidiques est élaboré par la corrélation visualisée sur le spectre HMBC (figure I. 1. 3. 12. 5) entre le proton anomérique H-1''' de l'arabinose et le carbone C-6'' du glucose. Alors que, l'attachement de cette chaîne di-osidique à l'aglycone est effectuée suite au couplage en $^3J_{H/C}$ du proton anomérique H-1'' du glucose avec le carbone C-3 de la Quercétine.

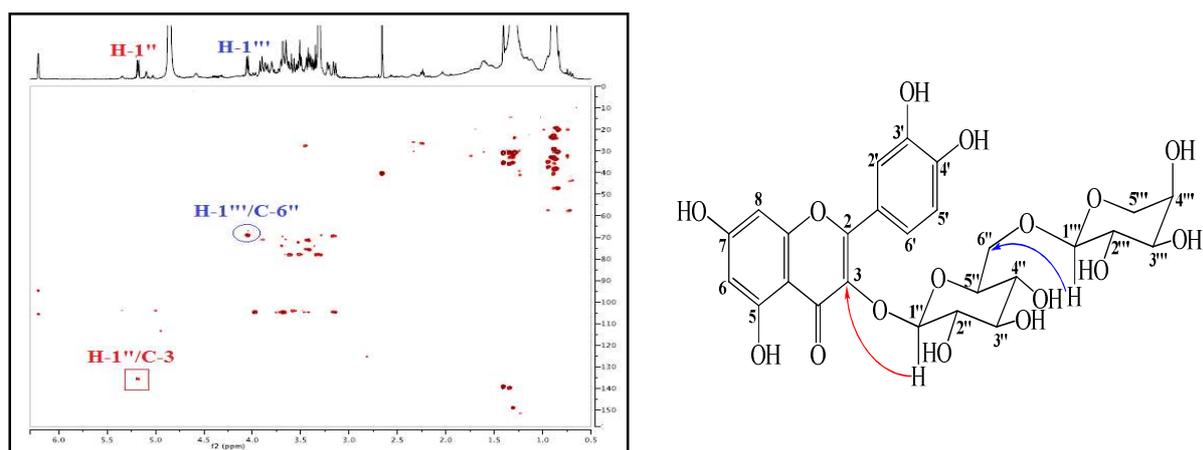


Figure I. 1. 3. 12. 5. Spectre HMBC du composé HS12

L'ensemble de ces données spectroscopiques, la mesure du pouvoir rotatoire ($[\alpha]_D = +12,2$, $c = 0,1$, MeOH) et la comparaison avec celles de la littérature [247] conduisent à identifier le composé HS12 comme étant **Quercétine-3-O-[α -L-arabinopyranosyl-(1''' \rightarrow 6'')- β -D-glucoyranoside]** appelé également **Néoisorutine** (figure I. 1. 3. 12. 6).

Ce flavonoïde glycosylé a été isolé antérieurement à partir des espèces *Physochlaina physaloides* (Solanaceae) [248] et *Phaseolus vulgaris* (Fabaceae) [249], mais il est identifié pour la première fois dans la famille Cistaceae.

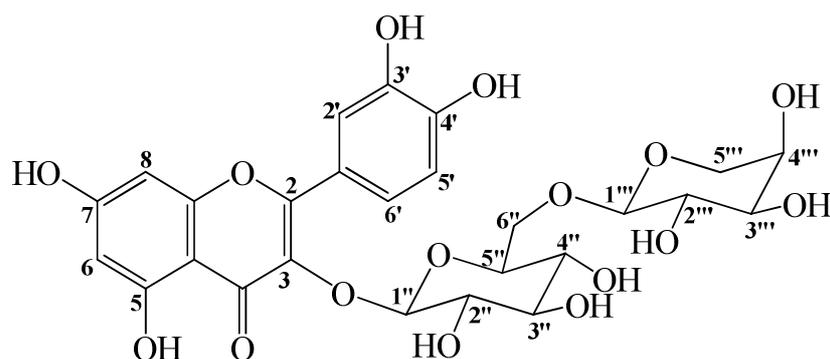


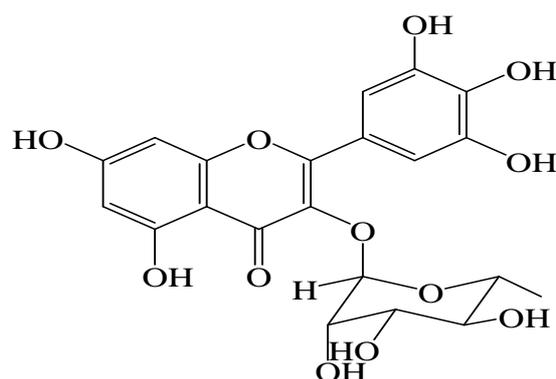
Figure I. 1. 3. 12. 6. Structure du composé HS12 (Néoisorutine)

Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé **HS12** sont réunis dans le tableau I. 1. 3. 12.

Tableau I. 1. 3. 12. Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé HS12 enregistrés dans CD_3OD

HS12		
Position	δ_{H} (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)
1	-	-
2	-	158,5
3	-	135,6
4	-	178,2
5	-	162,8
6	6,21 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2,1)	99,9
7	-	166,0
8	6,42 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2,1)	94,8
9	-	158,3
10	-	105,6
1'	-	123,4
2'	7,71 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2,1)	117,4
3'	-	145,8
4'	-	149,8
5'	6,88 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8,3)	116,1
6'	7,69 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 8,3-2,1)	123,5
1''	5,18 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 7,8)	104,1
2''	3,50 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 7,8)	75,1
3''	3,41 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 7,8)	78,1
4''	3,31 (1H, <i>nd</i>)	71,4
5''	3,41 (1H, <i>m</i>)	78,1
6''a	3,91 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 11,9 -2,0)	69,1
6''b	3,61 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 11,9 -5,1)	
1'''	4,05 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,8)	104,7
2'''	3,38 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 9,3 -7,0)	72,4
3'''	3,22 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 9,0-3,5)	74,0
4'''	3,65 (1H, <i>m</i>)	69,5
5'''a	3,67 (1H, <i>m</i>)	66,6
5'''b	3,30 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 12,3 -1,3)	

I. 1. 3. 13. Identification structurale du composé HS13



Myricitrine

Le composé **HS13** est purifié sous forme d'une poudre jaune soluble dans le méthanol. Il montre une tache visible sur CCM à 254 et 366 nm se révélant en jaune par une solution acide puis chauffage à 100 °C.

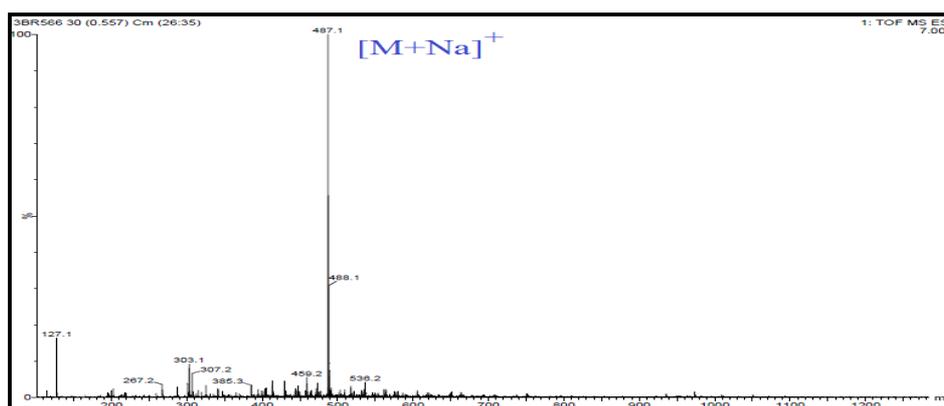
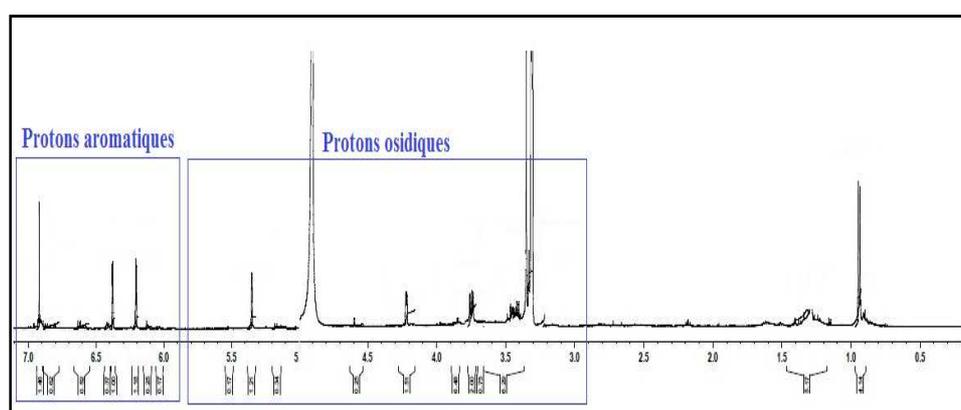


Figure I. 1. 3. 13. 1. Spectre de masse ESI-MS du composé HS13 (mode positif)

Le spectre de masse ESI-MS enregistré en mode positif de ce composé (figure I. 1. 3. 13. 1) montre un pic d'ion pseudomoléculaire à $m/z = 487,1$ $[M+Na]^+$ correspondant à une masse moléculaire égale à 464 uma et une formule brute en $C_{21}H_{20}O_{12}$.

Figure I. 1. 3. 13. 2. Spectre RMN 1H du composé HS13

La présence d'un squelette flavonoïdique est clairement remarquée sur le spectre RMN ^1H (figure I. 1. 3. 13. 2) de ce composé par les signaux qui apparaissent dans la zone allant de 6,00 à 7,00 ppm. Parmi ces signaux, deux doublets résonnent à δ_{H} 6,22 et 6,39 d'intégration 1H chacun et possédant une constante de couplage $J = 2,1$ Hz. Cette valeur de J indique une position *ortho* pour ces protons. Leurs attachements avec les carbones à (δ_{H} 6,22/ δ_{C} 97,3) et (δ_{H} 6,39/ δ_{C} 93,0) sur le spectre HSQC permet de les attribuer respectivement aux protons H-6 et H-8 du cycle A.

Les carbones quaternaires de ce cycle sont localisés par l'analyse du spectre HMBC (figure I. 1. 3. 13. 3) en suivant la même procédure appliquée aux composés flavonoïdiques décrits précédemment (**HS5**→**HS12**) (figure I. 1. 3. 13. 3).

Par ailleurs, il est remarqué sur le spectre RMN ^1H (figure I. 1. 3. 13. 2) un signal singulet sortant à δ_{H} 6,97 d'intégration 2H conduisant à suggérer la présence d'une opération de symétrie au niveau du cycle B menant à deux protons équivalents. Cette suggestion est confirmée par le pic du carbone accordé au signal de ces protons sur le spectre HSQC, qui montre une intensité notable due à l'existence de deux carbones superposables à δ_{C} 104,3 .

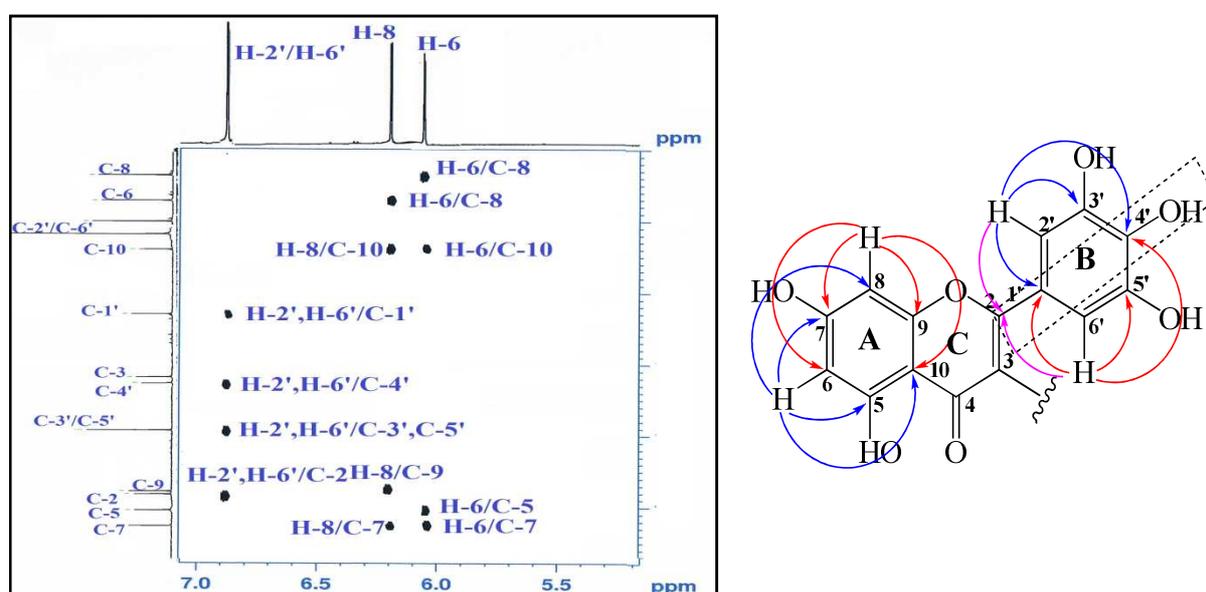


Figure I. 1. 3. 13. 3. Spectre HMBC de la partie aglycone du composé HS13

Ces signaux sont attribués aux protons H-2'/H-6' compte tenu de leurs corrélations visualisées sur le spectre HMBC (figure I. 1. 3. 13. 3) avec le pic à δ_{C} 157,6 qui est clairement attribué au carbone C-2 du cycle C. Ils corrént aussi sur ce spectre avec quatre autres carbones quaternaires facilement identifiables où le pic à δ_{C} 145,4 est assigné aux carbones C-3'/C-5' en raison de son intensité. Le carbone quaternaire C-1' est localisé à δ_{C} 120,4, alors

que le pic à δ_C 134,9 correspond au carbone C-4. Le blindage de ce dernier est expliqué par sa position *ortho* dioxycénée.

Les pics restant dans la zone déblindée du spectre RMN ^{13}C (figure I. 1. 3. 13. 4) ne peuvent être attribués qu'aux carbones C-3 (δ_C 134,2) et C-4 (δ_C 178,2) du cycle C.

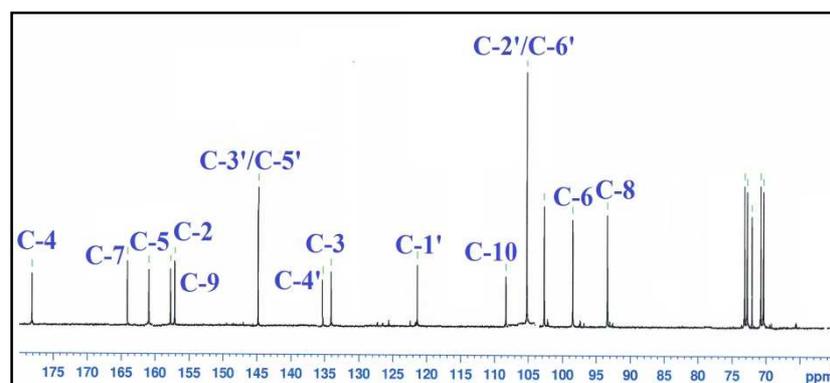


Figure I. 1. 3. 13. 4. Spectre RMN ^{13}C du composé HS13

Les données obtenues suite à cette analyse spectrale indiquent l'existence d'un aglycone de type Myricétine.

L'unité osidique attachée à cet aglycone est identifiée par l'analyse du spectre COSY H-H (figure I. 1. 3. 13. 5) en partant du signal du proton anomérique H-1'' qui est localisé à δ_H 5,34 (*d*, $J = 1,2$ Hz). Ce proton corrèle avec le proton H-2'' qui résonne à δ_H 3,90 sous forme de doublet de doublets avec $J = 3,3-1,2$ Hz indiquant une orientation équatoriale de ces deux protons. Le proton H-2'' corrèle de son côté avec le proton H-3'' (δ_H 3,79, *dd*, $J = 9,5-3,3$ Hz) qui couple par une constante de couplage égale à 9,5 Hz avec le proton H-4'' (δ_H 3,43, *t*, $J = 9,5$ Hz) permettant de leur attribuer une orientation *trans* diaxiale. Ce spectre montre aussi (figure I. 1. 3. 13. 5) le reste de l'enchaînement de cette unité osidique par les couplages entre H-4''/H-5'' (δ_H 3,41, *m*)/H₃-6'' (δ_H 0,94, *d*, $J = 6,3$ Hz).

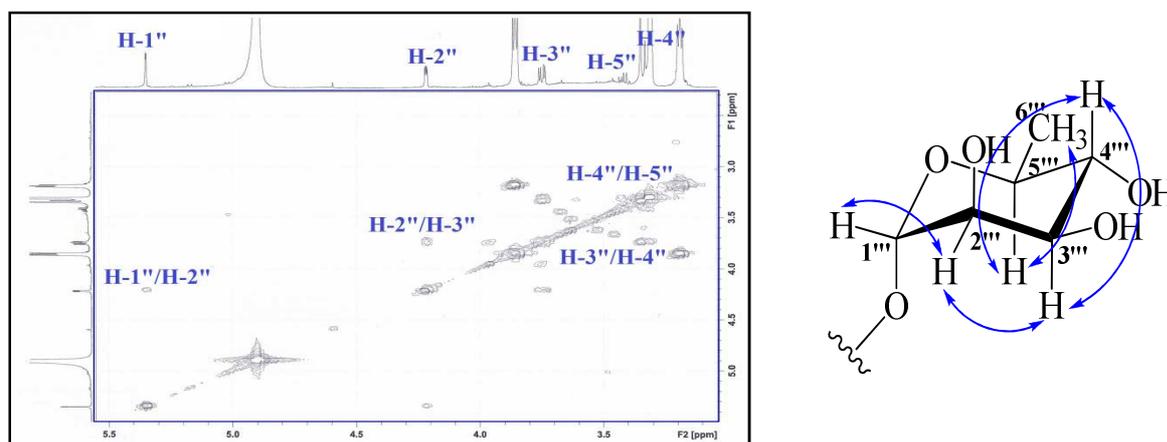


Figure I. 1. 3. 13. 5. Spectre COSY H-H de la partie osidique du composé HS13

Ces attributions indiquent, sans aucun doute, la présence d'un α -L-rhamnose. Les carbones de ce sucre sont localisés par l'expérience HSQC (tableau I. 1. 3. 13). Le carbone anomérique résonne à δ_C 102,2 traduisant un attachement de type *O*-glycosylation.

Le point de l'*O*-glycosylation avec l'aglycone Myricétine est clairement localisé en position C-3 du cycle C au vu de la corrélation observée sur le spectre HMBC (figure I. 1. 3. 13. 6) entre ce carbone et le proton anomérique H-1''.

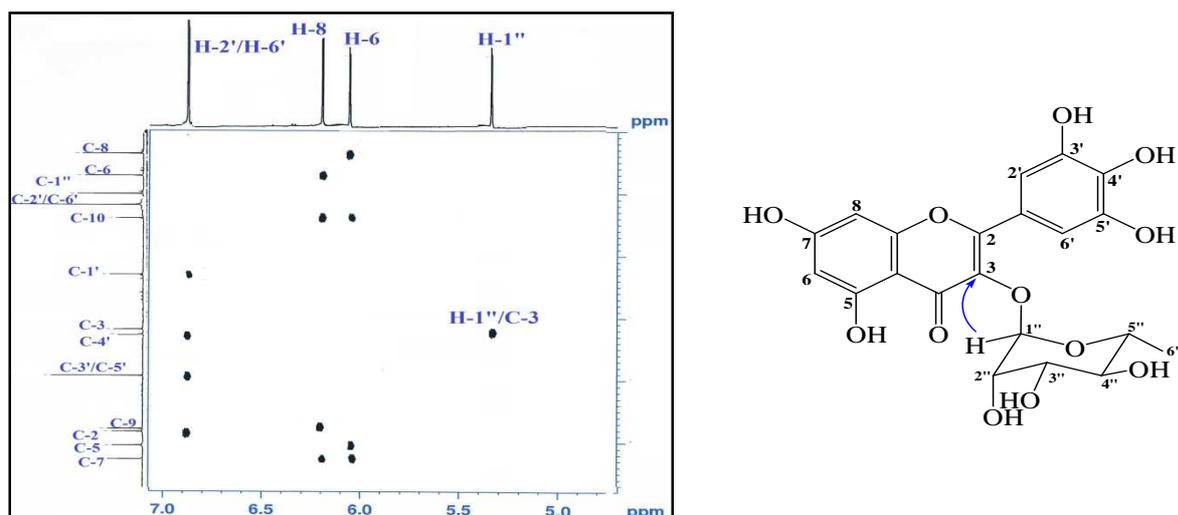


Figure I. 1. 3. 13. 6. Spectre HMBC montrant le point de branchement du sucre à l'aglycone

Toutes ces constantes spectrales, la valeur du pouvoir rotatoire ($[\alpha]_D = -138,6$, $c = 0,5$, MeOH) et la comparaison avec les données de la littérature [250] permettent de proposer pour ce composé la structure **Myricétine-3-*O*- α -L-rhamnopyranoside** appelée également **Myricitrine** (figure I. 1. 3. 13. 7). Ce composé est signalé pour la première fois dans le genre *Helianthemum*. Il a été isolé antérieurement d'une espèce du genre *Cistus* (*C. incanus*) de la famille Cistaceae [234].

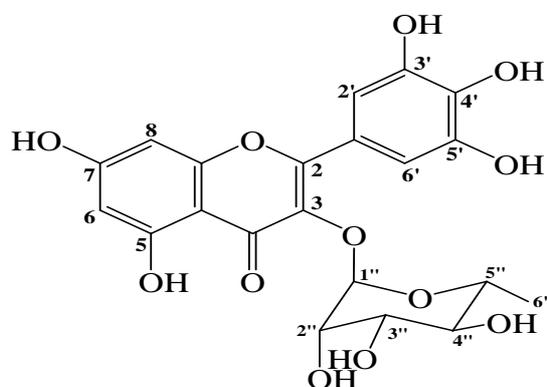


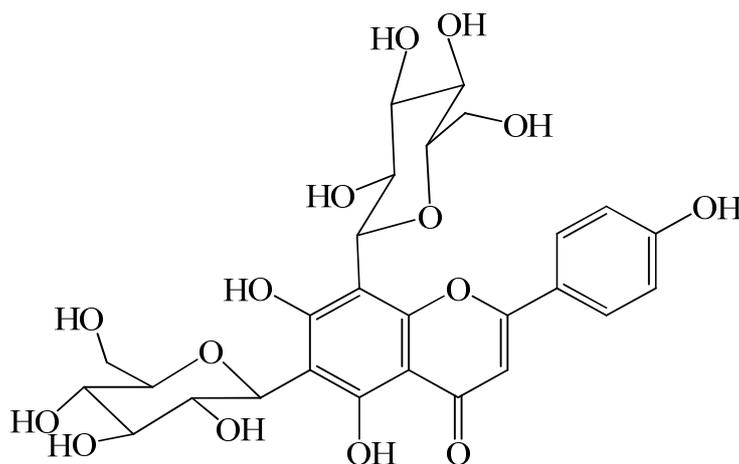
Figure I. 1. 3. 13. 7. Structure du composé HS13 (Myricitrine)

Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé **HS13** sont rassemblés dans le tableau I. 1. 3. 13.

Tableau I. 1. 3. 13. Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé HS13 enregistrés dans CD_3OD

HS13		
Position	δ_{H} (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)
1	-	-
2	-	157,6
3	-	134,2
4	-	178,2
5	-	161,8
6	6,22 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2,1)	97,3
7	-	164,4
8	6,39 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2,1)	93,0
9	-	157,0
10	-	108,1
1'	-	120,4
2'	6,97 (1H, <i>s</i>)	104,3
3'	-	145,4
4'	-	134,9
5'	-	145,4
6'	6,97 (1H, <i>s</i>)	104,3
1"	5,34 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 1,2)	102,2
2"	3,23 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 3,3-1,2)	71,9
3"	3,79 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 9,5-3,3)	70,6
4"	3,43 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 9,5)	70,7
5"	3,41 (1H, <i>m</i>)	70,4
6"	0,94 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,3)	16,2

I. 1. 3. 14. Identification structurale du composé HS14



Vicénine 2

Le composé **HS14** a été isolé sous forme d'une poudre jaune. Il révèle une tache fluorescente à la lumière UV à 366 nm et se colore en jaune après révélation par une solution

acide et chauffage à 100 °C, indiquant la présence d'un squelette d'une nature flavonoïdique pour ce composé.

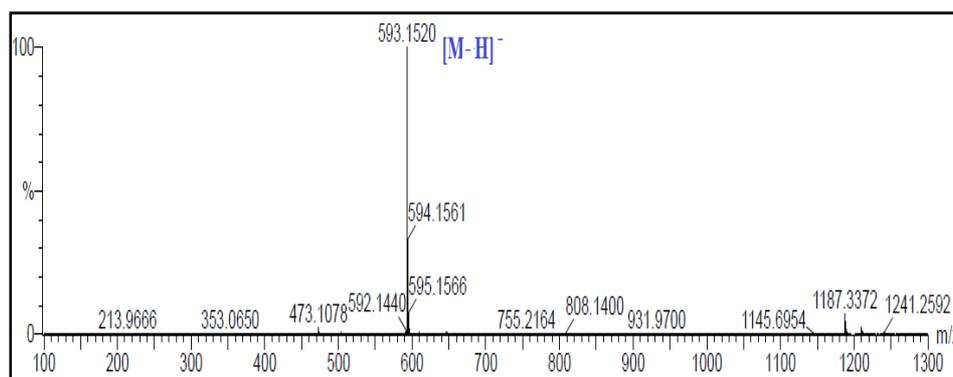


Figure I. 1. 3. 14. 1. Spectre de masse ESI-MS du composé HS14 (mode négatif)

Le spectre de masse ESI-MS (figure I. 1. 3. 14. 1) du composé **HS14** indique la présence d'un pic d'ion pseudomoléculaire à $m/z = 593,1$ $[M-H]^-$, soit une masse moléculaire égale à 594 uma correspondant à la formule brute $C_{27}H_{30}O_{15}$.

Le nombre de signaux observés sur les spectres RMN 1H et ^{13}C de ce composé ainsi que leurs déplacements chimiques sont en accord avec la présence d'un hétéroside flavonoïdique. En effet, le spectre RMN 1H (figure I. 1. 3. 14. 2) montre trois signaux dans la zone des protons aromatiques (6.50 à 8.00 ppm) et un nombre important de signaux sortant dans la zone des protons osidiques (3.00 à 5.50 ppm) indiquant la substitution de ce flavonoïde par plus d'une unité osidique.

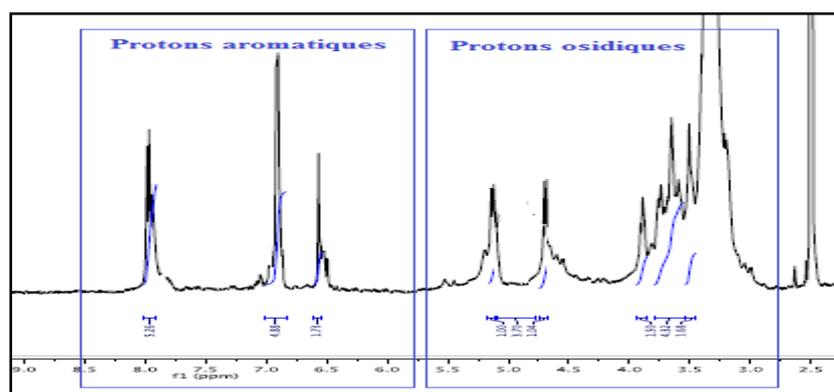


Figure I. 1. 3. 14. 2. Spectre RMN 1H du composé HS14

Ce spectre (figure I. 1. 3. 14. 2) exhibe deux signaux résonant à δ_H 7,97 et 6,91 d'intégration 2H chacun, accordés sur le spectre HSQC à deux pics, sortant à δ_C 128,1 et 115,4 respectivement, d'intensité remarquable indiquant la présence d'un cycle aromatique B symétrique. Ces signaux qui forment un système A_2B_2 , sont attribués aux protons H-3'/H-5' (δ_H 6,91, d , $J = 8,3$ Hz) corrélant sur le spectre HMBC (figure I. 1. 3. 14. 3) avec deux

carbones détectés à δ_C 121,4 (C-1') et 160,4 (C-4'). Les protons plus déblindés H-2'/H-6' (δ_H 7,97, *d*, $J = 8,5$ Hz) présentent des corrélations sur le spectre HMBC (figure I. 1. 3. 14. 3) avec deux carbones oxygénés résonant à δ_C 160,4 (C-4') et 161,6 assigné au carbone C-2.

Ce spectre (figure I. 1. 3. 14. 3) montre aussi les corrélations des protons H-3'/H-5' avec les carbones C-2'/C-6' et H-2'/H-6' avec les carbones C-3'/C-5'.

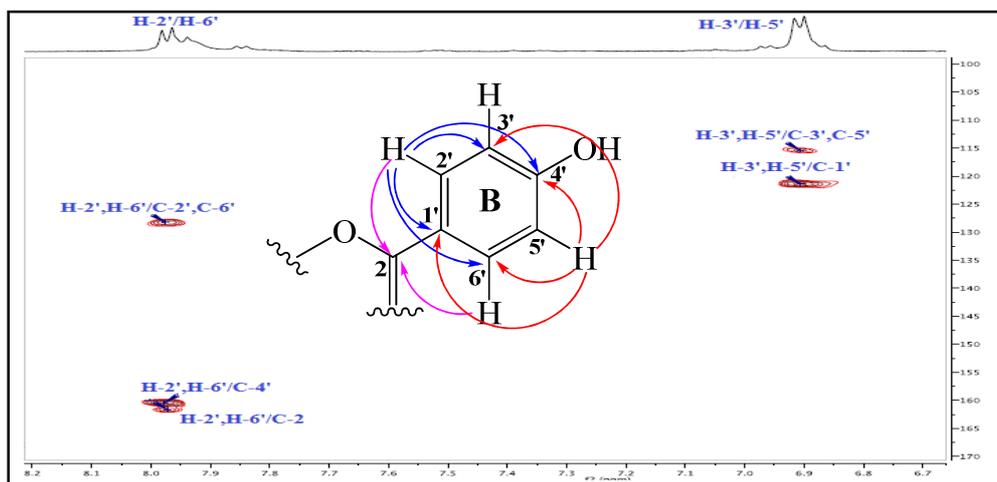


Figure I. 1. 3. 14. 3. Spectre HMBC des protons du cycle B du composé HS14

Le proton restant dans la zone aromatique résonne à δ_H 6,57 sous forme de singulet attribué au proton H-3 du cycle C suite à ses corrélations HMBC (figure I. 1. 3. 14. 4) avec le carbone C-2 (δ_C 161,6) déjà identifié et un carbone quaternaire résonant à δ_C 181,3 qui est clairement le carbone du carbonyle C-4. Comme, il montre aussi des corrélations avec deux carbones quaternaires résonant à δ_C 121,4 (C-1') et 103,7. Ce dernier ne peut être que le carbone C-10 se trouvant au pied du carbonyle C-4.

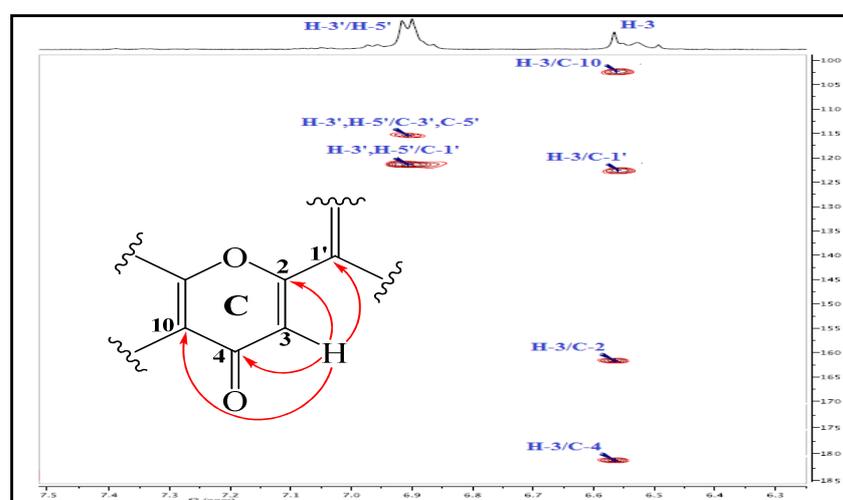


Figure I. 1. 3. 14. 4. Spectre HMBC montrant les corrélations au niveau du cycle C du composé HS14

Les carbones quaternaires du cycle A de la partie aglycone de ce composé sont attribués sur le spectre RMN ^{13}C (figure I. 1. 3. 14. 5) par comparaison avec les composés similaires décrits dans la littérature [251].

A ce stade d'analyse, la partie aglycone du composé **HS14** est identifiée comme étant Apigénine 6,8-disubstitué en raison de l'absence des signaux des protons H-6 et H-8 sur le spectre RMN ^1H , ainsi que la disparition des pics caractéristiques des groupements 6-CH et 8-CH sur le spectre RMN ^{13}C dans leur zone habituelle allant de 90 jusqu'à 100 ppm [252].

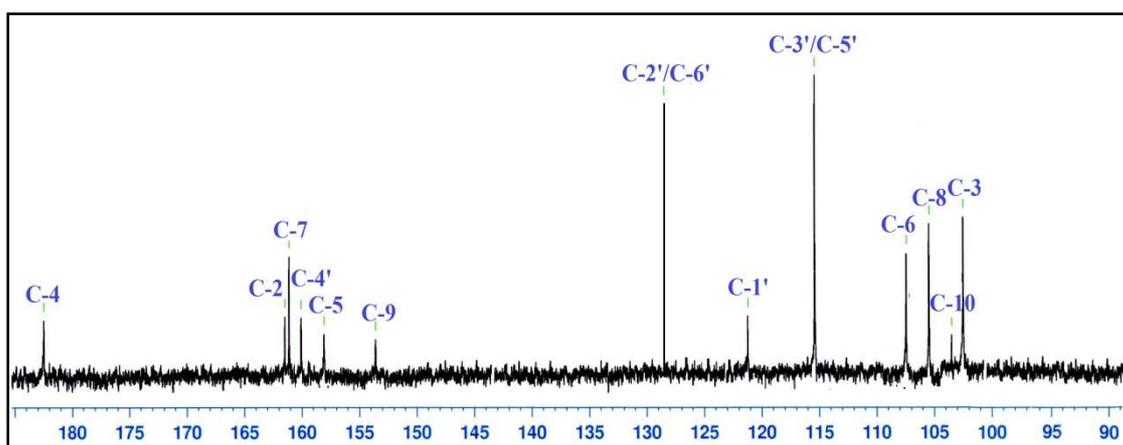


Figure I. 1. 3. 14. 5. Spectre RMN ^{13}C de la partie aglycone du composé **HS14**

Toutefois, le spectre RMN ^1H (figure I. 1. 3. 14. 6) montre aussi deux signaux de protons anomériques résonant à δ_{H} 5,12 (*d*, $J = 9,7$ Hz, H-1'') et 4,69 (*d*, $J = 9,9$ Hz, H-1''') accordés sur le spectre HSQC aux carbones repérés à δ_{C} 75,4 (C-1'') et 73,1 (C-1'''). Le blindage remarqué de ces carbones anomériques, en comparaison avec les composés précédents comme **HS12** et **HS13**, indique des liaisons C-glycosylées avec l'aglycone Apigénine.

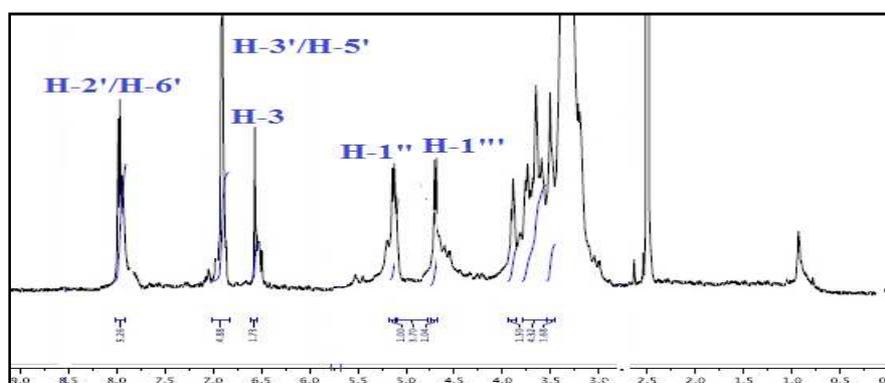


Figure I. 1. 3. 14. 6. Spectre RMN ^1H du composé **HS14**

L'identification de chaque unité osidique est basée sur l'analyse du spectre COSY H-H (figure I. 1. 3. 14. 7) qui révèle la présence d'un système de spins à sept protons par les

couplages H-1"/H-2" (δ_H 3,38, *nd*)/H-3" (δ_H 3,32, *t*, $J = 9,7$ Hz)/H-4" (δ_H 3,35, *nd*)/H-5" (δ_H 3,20, *m*)/H-6"a (δ_H 3,75, *dd*, $J = 11,7-2,4$ Hz) et H-6"b (δ_H 3,50, *dd*, $J = 11,7-5,3$ Hz).

Un enchainement similaire a été observé sur ce spectre (figure I. 1. 3. 14. 7) partant du deuxième proton anomérique H-1"". En effet, le spectre COSY H-H montre les couplages entre les protons H-1"/H-2" (δ_H 3,89, *t*, $J = 9,9$ Hz)/H-3" (δ_H 3,26, *nd*)/H-4" (δ_H 3,41, *t*, $J = 8,2$ Hz)/H-5" (δ_H 3,29, *nd*)/H-6" (δ_H 3,65, *m*).

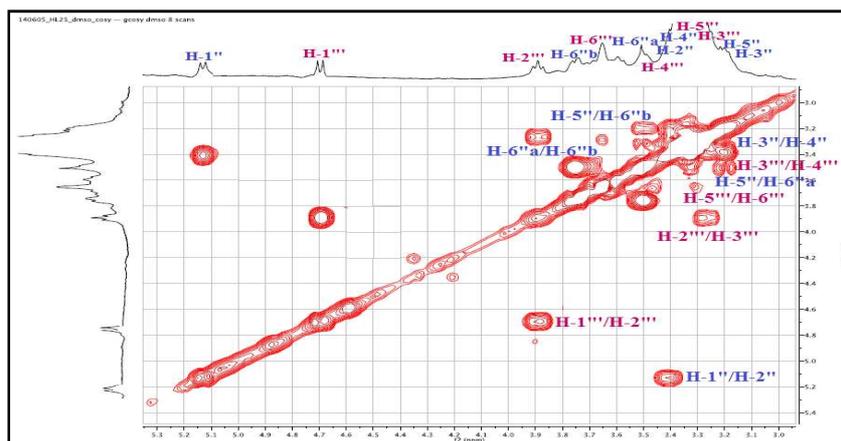


Figure I. 1. 3. 14. 7. Spectre COSY H-H de la partie osidique du composé HS14

Les grandes valeurs des constantes de couplage des protons de ces deux unités osidiques permettent d'identifier ces hexoses comme étant deux glucoses où les valeurs $J_{H-1''/H-2''} = 9,7$ Hz et $J_{H-1'''/H-2'''} = 9,9$ Hz précisent leur configuration β -D-glucose (G'' et G'''). Les carbones de ces deux β -D-glucopyranosides sont détectés à travers l'analyse du spectre HSQC (tableau I. 1. 3. 14).

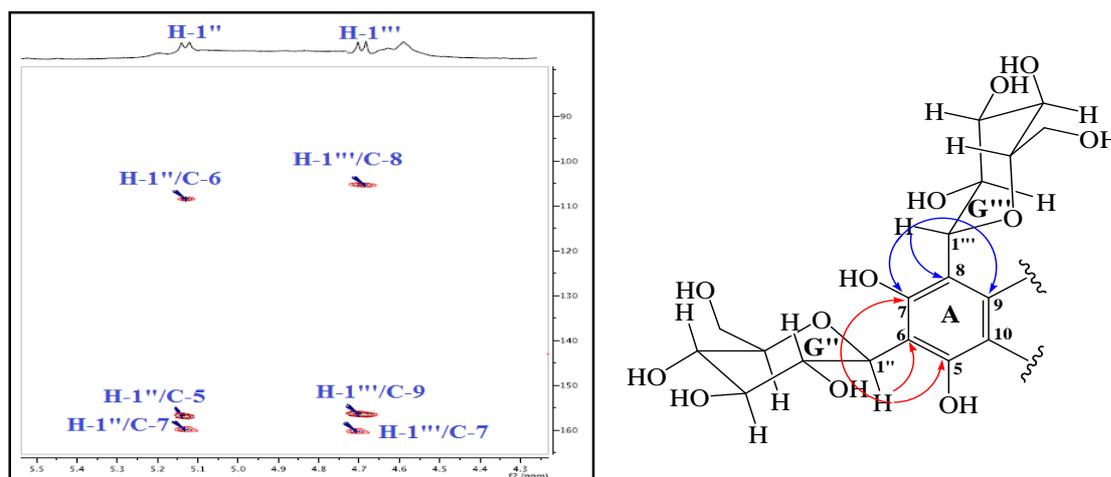


Figure I. 1. 3. 14. 8. Spectre HMBC des protons anomériques du composé HS14

Afin de localiser les points de branchement de ces deux glucoses avec l'aglycone Apigénine, le spectre HMBC (figure I. 1. 3. 14. 8) en apporte la solution par les corrélations qu'il met en évidence en 2J et 3J entre :

- Le proton anomérique H-1'' du glucose (G'') et le carbone quaternaire C-6 (δ_C 107,3), les carbones oxygénés C-5 (δ_C 158,2) et C-7 (δ_C 161,0) indiquant l'attachement du glucose G'' au carbone C-6.
- Le proton anomérique H-1''' et le carbone quaternaire C-8 (δ_C 105,3) ainsi que les carbones oxygénés C-7 (δ_C 161,0) et C-9 (δ_C 154,2) conduisant à accorder le glucose G''' au carbone C-8 du cycle A.

Ces attachements se trouvent renforcés par les interactions dipolaires observées sur le spectre NOESY (figure I. 1. 3. 14. 9) entre le proton H-2''' du glucose G''' et le proton aromatique H-2' du cycle B, ainsi qu'entre les protons H-4'''/H-3'.

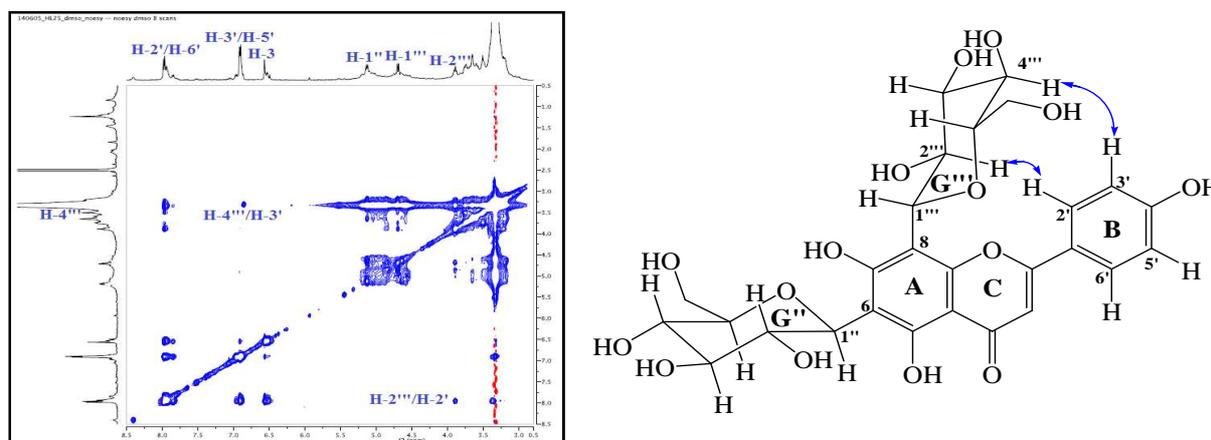


Figure I. 1. 3. 14. 9. Spectre NOESY du composé HS14

L'ensemble de ces données spectrales et celles de la littérature [253], en plus de la valeur du pouvoir rotatoire ($[\alpha]_D = +71$, $c = 0,3$, H_2O), permettent d'assigner pour le composé **HS14** la structure **Apigénine-6,8-di-C- β -D-glucopyranoside** connue sous le nom **Vicénine 2** (figure I. 1. 3. 14. 10). Ce C-diglucosylé flavonoïde a été isolé antérieurement des espèces *Urtica circularis* (Urticaceae) [254], *Lychnophora salicifolia* (Asteraceae) [255] et *Glycyrrhiza echinata* (Fabaceae) [256]. Sa présence dans la famille Cistaceae est signalée pour la première fois.

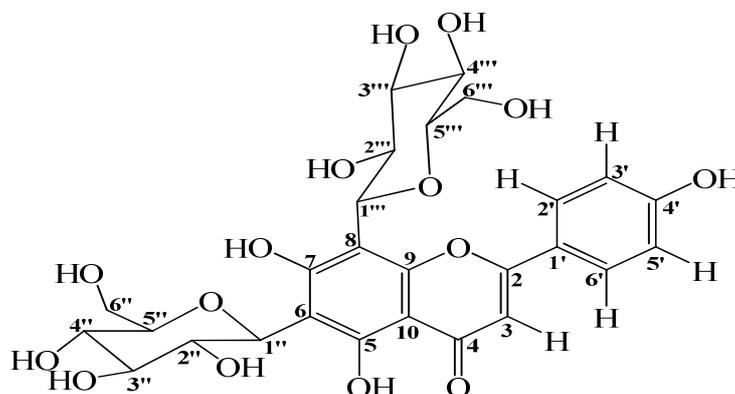


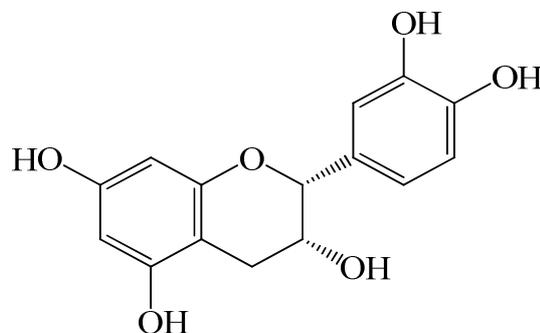
Figure I. 1. 3. 14. 10. Structure du composé HS14 (Vicénine 2)

Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé **HS14** sont réunis dans le tableau I. 1. 3. 14.

Tableau I. 1. 3. 14. Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé HS14 enregistrés dans CD_3OD

HS14		
Position	δ_{H} (ppm), <i>m, J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)
1	-	-
2	-	161,6
3	6,57 (1H, <i>s</i>)	103,2
4	-	181,3
5	-	158,2
6	-	107,3
7	-	161,0
8	-	105,3
9	-	154,2
10	-	103,7
1'	-	121,4
2'	7,97 (1H, <i>d, J</i> = 8,5)	128,1
3'	6,91 (1H, <i>d, J</i> = 8,3)	115,4
4'	-	160,4
5'	6,91 (1H, <i>d, J</i> = 8,3)	115,4
6'	7,97 (1H, <i>d, J</i> = 8,5)	128,1
1''	5,12 (1H, <i>d, J</i> = 9,7)	75,4
2''	3,32 (1H, <i>nd</i>)	70,2
3''	3,44 (1H, <i>t, J</i> = 9,7)	78,5
4''	3,35 (1H, <i>nd</i>)	68,3
5''	3,20 (1H, <i>m</i>)	81,4
6''a	3,75 (1H, <i>dd, J</i> = 11,7 -2,4)	61,1
6''b	3,50 (1H, <i>dd, J</i> = 11,7 -5,3)	
1'''	4,69 (1H, <i>d, J</i> = 9,9)	73,1
2'''	3,89 (1H, <i>t, J</i> = 9,9)	70,4
3'''	3,26 (1H, <i>nd</i>)	78,7
4'''	3,41 (1H, <i>t, J</i> = 8,2)	74,6
5'''	3,29 (1H, <i>nd</i>)	80,7
6'''	3,65 (2H, <i>m</i>)	59,3

I. 1. 3. 15. Identification structurale du composé HS15



(-)-Epicatechine

Ce composé est isolé sous forme d'une poudre blanche soluble dans le méthanol. Il montre une tache visible à 254 nm sur CCM et se colorant en marron après révélation par une solution acide et chauffage à 100 °C.

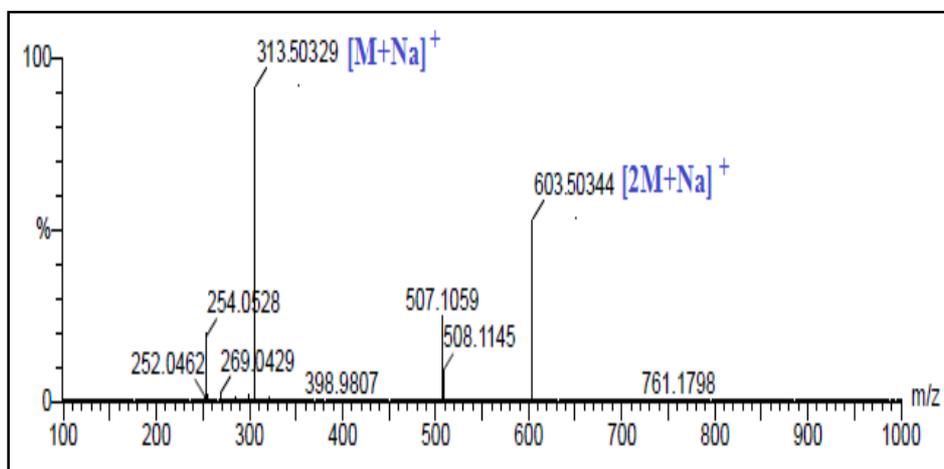


Figure I. 1. 3. 15. 1. Spectre de masse ESI-MS du composé HS15 (mode positif)

Le spectre de masse ESI-MS enregistré en mode positif pour ce composé (figure I. 1. 3. 15. 1) montre des pics d'ions pseudomoléculaires à $m/z = 313,5 [M+Na]^+$ et $603,5 [2M+Na]^+$, soit une masse moléculaire de 290 uma correspondant à une formule brute en $C_{15}H_{14}O_6$.

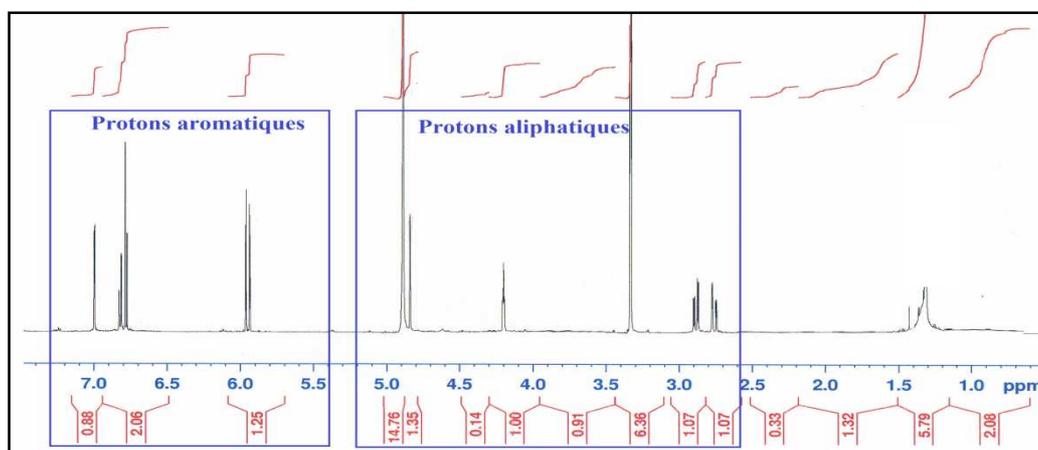


Figure I. 1. 3. 15. 2. Spectre RMN 1H du composé HS15

Le spectre RMN 1H (figure I. 1. 3. 15. 2) de ce composé révèle la présence de deux types de protons aromatiques et aliphatiques. Les spectres RMN ^{13}C et DEPT (figure I. 1. 3. 15. 3) indiquent l'existence de 15 atomes de carbone se répartissant en sept groupements CH, sept carbones quaternaires et un groupement CH_2 suggérant ainsi la présence d'un squelette flavanol.

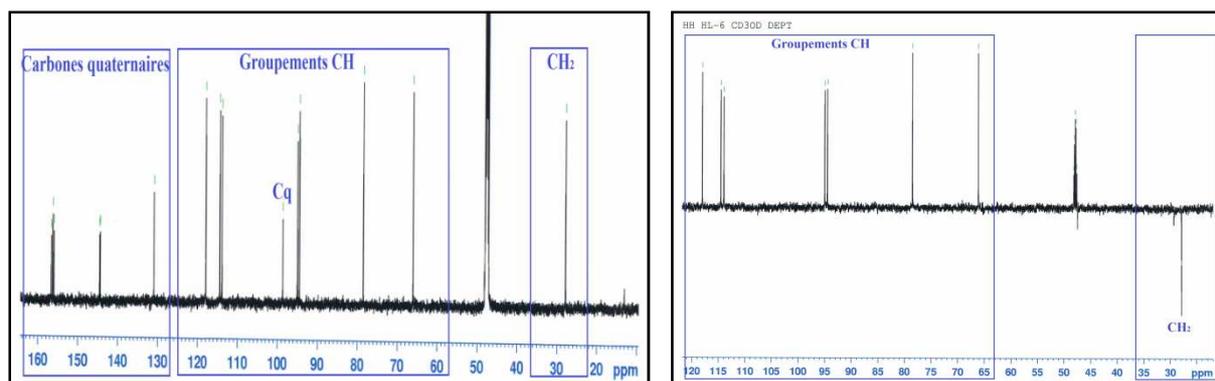


Figure I. 1. 3. 15. 3. Spectres RMN ^{13}C et DEPT du composé HS15

Les signaux observés sur le spectre RMN ^1H (figure I. 1. 3. 15. 4) dans la zone s'étalant de 5,7 à 7,0 ppm, d'intégration 1H chacun sont attribués aux protons H-6 (δ_{H} 5,93, *d*, $J = 2,3$ Hz) et H-8 (δ_{H} 5,96, *d*, $J = 2,3$ Hz) du cycle A, ainsi qu'aux protons H-2' (δ_{H} 7,00), H-5' (δ_{H} 6,78) et H-6' (δ_{H} 6,82) du cycle B. Le spectre COSY H-H (figure I. 1. 3. 15. 5) permet de visualiser les couplages entre les protons H-6 et H-8 qui résonnent sous forme de doublet avec une constante de couplage $J = 2,3$ Hz indiquant une position *ortho* pour ces protons.

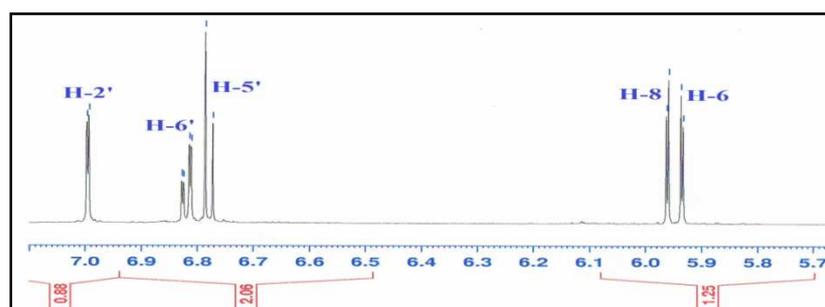


Figure I. 1. 3. 15. 4. Spectre RMN ^1H des protons aromatiques du composé HS15

De même pour le cycle B, les couplages COSY (figure I. 1. 3. 15. 5) enregistrés entre le proton H-6' (*dd*, $J = 8,3-1,9$ Hz) et les protons H-2' (*d*, $J = 1,9$ Hz) et H-5' (*d*, $J = 8,3$ Hz) révèlent la présence d'un cycle aromatique de type 1,3,4-trisubstitué.

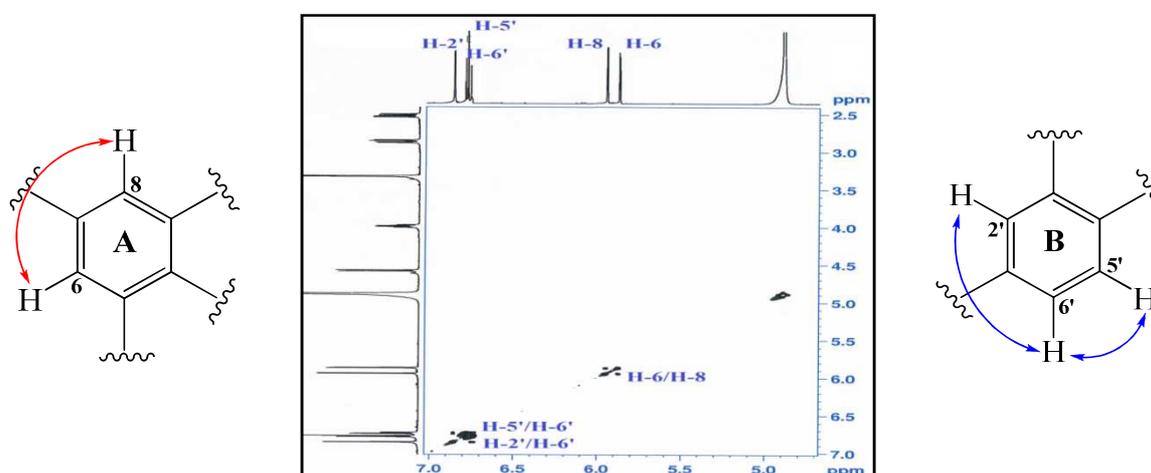


Figure I. 1. 3. 15. 5. Spectre COSY H-H des protons aromatiques du composé HS15

Ces protons sont accordés aux carbones résonant à δ_C 94,9 (C-6), 94,4 (C-8), 113,8 (C-2'), 114,4 (C-5') et 117,9 (C-6') par l'analyse du spectre HSQC.

L'expérience HMBC (figures I. 1. 3. 15. 6 et 7) de ce composé permet d'assigner tous les carbones de ces deux cycles aromatiques A et B par les corrélations visualisées entre :

- Le proton H-6 et les carbones C-5 (δ_C 156,6), C-7 (δ_C 156,2), C-8 (δ_C 94,4) et C-10 (δ_C 98,6). Le déplacement chimique relativement blindé de ce dernier suggère l'absence du carbonyle en C-4.
- Le proton H-8 et les carbones C-6 (δ_C 94,9), C-7, C-9 (δ_C 155,9) et C-10.
- Les protons H-2' et H-5' et les carbones C-1' (δ_C 130,8), C-3' (δ_C 144,9), C-4' (δ_C 144,3) et C-6' (δ_C 117,9).
- Le proton H-6' et les carbones C-1', C-2' (δ_C 113,8), C-5' (δ_C 114,4) et C-4'.

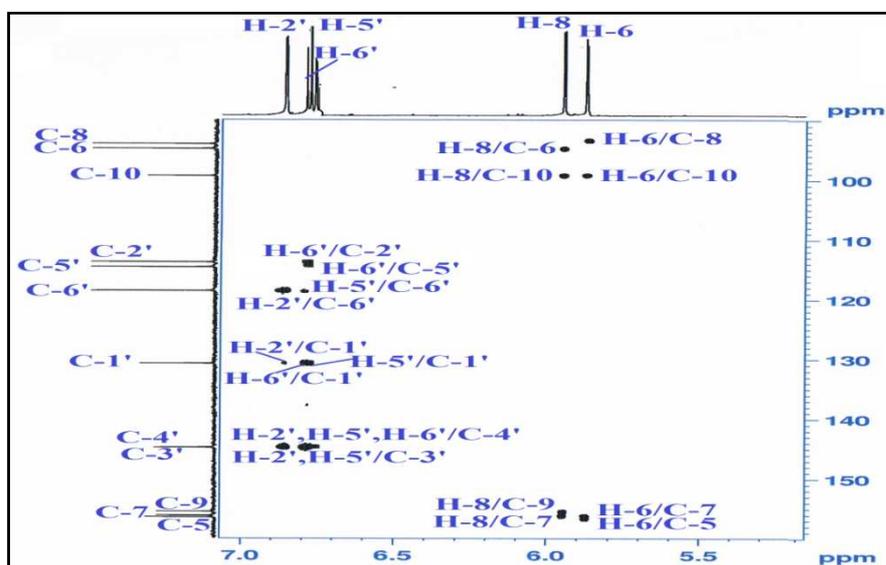


Figure I. 1. 3. 15. 6. Spectre HMBC des protons aromatiques du composé HS15

Les valeurs de déplacement chimique des carbones C-5 (δ_C 156,6) et C-7 (δ_C 156,2) du cycle A et C-3' (δ_C 144,9) et C-4' (δ_C 144,3) du cycle B indiquent leurs substitutions par des groupements hydroxyles libres (figures I. 1. 3. 15. 6 et 7).

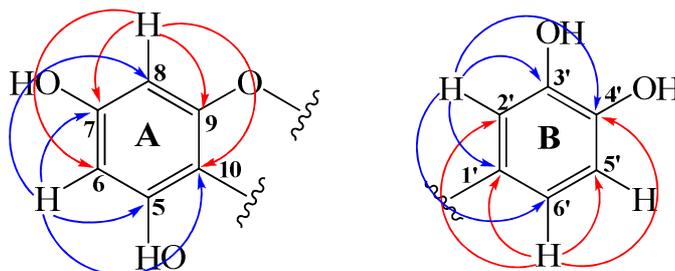


Figure I. 1. 3. 15. 7. Corrélations HMBC des protons aromatiques du composé HS15

Pour la zone aliphatique, le spectre RMN ^1H (figure I. 1. 3. 15. 8) de ce composé montre quatre signaux constituant un système de spins de type $-\text{CHO}-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-$ déterminé par les couplages visualisés sur le spectre COSY H-H (figure I. 1. 3. 15. 8) entre les protons H-2 (δ_{H} 4,94, *d*, $J = 1,4$ Hz)/H-3 (δ_{H} 4,20, *ddd*, $J = 4,6-3,0-1,4$ Hz)/H-4a (δ_{H} 2,88, *dd*, $J = 16,6-4,6$ Hz) et H-4b (δ_{H} 2,76, *dd*, $J = 16,7-3,0$ Hz).

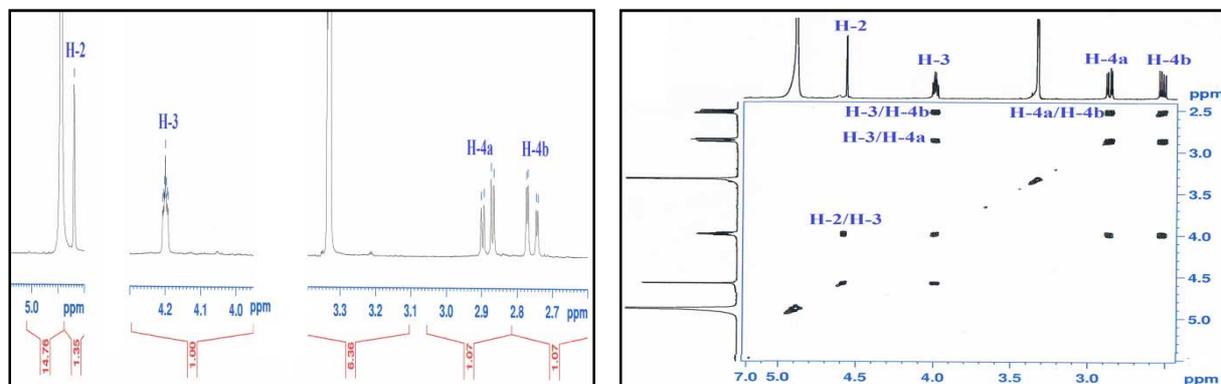


Figure I. 1. 3. 15. 8. Spectres RMN ^1H et COSY H-H des protons aliphatiques du composé HS15

Le spectre HMBC (figure I. 1. 3. 15. 9) relatif à la partie des protons aliphatiques de ce composé montre que cette chaîne $-\text{CHO}-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-$ constitue une partie du cycle pyrane C localisé par les corrélations observées entre :

- Le proton H-2 et le carbone C-9 du cycle A, les carbones C-1', C-2' et C-6' du cycle B et les carbones aliphatiques C-3 (δ_{C} 66,0) et C-4 (δ_{C} 27,8).
- Le proton H-3 et le carbone quaternaire du cycle A (C-10), le carbone C-1' du cycle B et les carbones C-2 (δ_{C} 78,4) et C-4 du cycle pyrane C.
- Les protons H₂₋₄ et les carbones C-5, C-9 et C-10 du cycle A et les carbones C-2 et C-3 du cycle C.

Toutes ces caractéristiques spectrales attestent de la nature flavanol de ce composé. Il s'agit donc de l'épicatéchine.

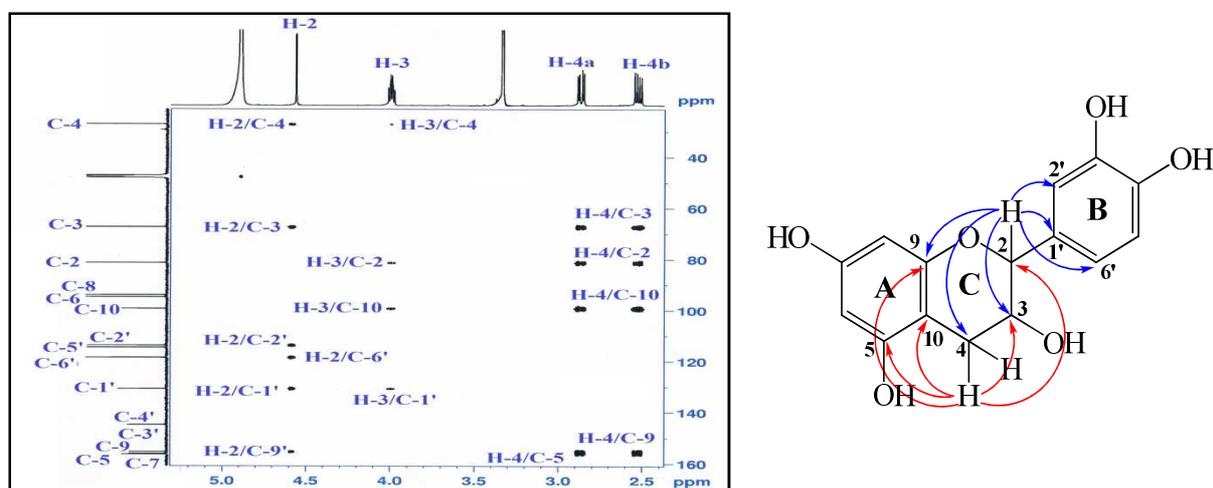


Figure I. 1. 3. 15. 9. Spectre HMBC des protons aliphatiques du composé HS15

A ce stade d'analyse, il reste à déterminer la stéréochimie de ce flavanol au niveau des carbones asymétriques C-2 et C-3. Il est à signaler que l'hétérocycle C des flavanols peut adopter deux conformations : le conformère E où le cycle catéchol B attaché au carbone chiral C-2 est en position équatoriale et le conformère A quand le cycle B est en position axiale (figure I. 1. 3. 15. 10). L'orientation des substituants du carbone chiral C-3 est déterminée par la valeur de la constante de couplage J entre les protons H-2 et H-3 égale à 1,4 Hz indiquant un couplage *cis* conduisant à identifier ce flavanol comme étant un épicatechine qui peut adopter deux formes stéro-isomériques (2*R*, 3*R*) ou (2*S*, 3*S*) (figure I. 1. 3. 15. 10).

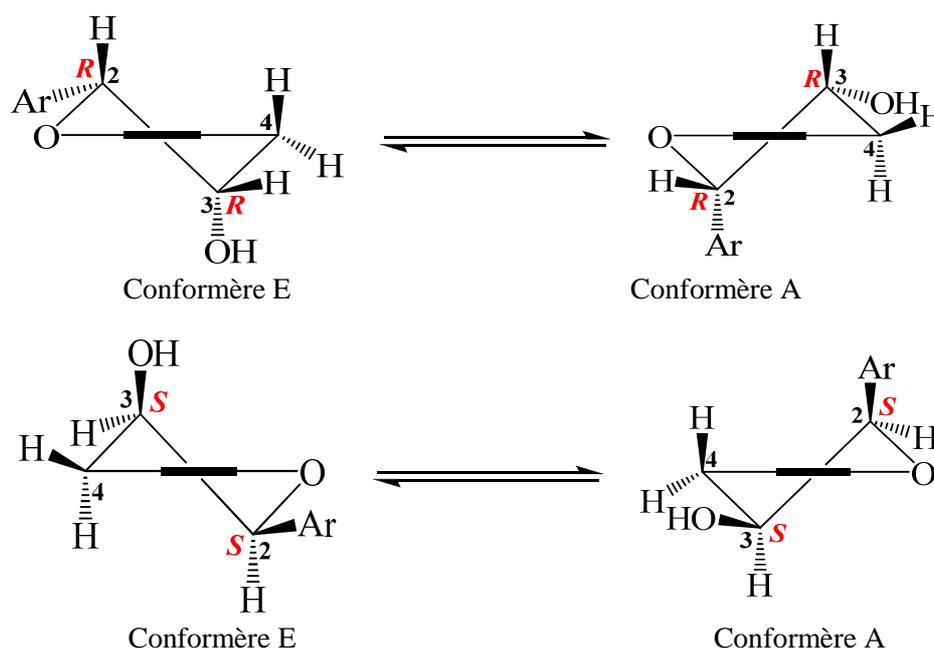


Figure I. 1. 3. 15. 10. Conformères du cycle pyrane C du composé HS15

La configuration absolue des carbones chiraux C-2 et C-3 de ce composé a été déterminée en mesurant le pouvoir rotatoire dans le MeOH ; sa valeur qui est négative ($[\alpha]_D = -68,1, c = 0,1$) indique une configuration (2*R*, 3*R*) (figure I. 1. 3. 15. 10) [257].

L'ensemble des données spectrales accumulées et la comparaison avec celles trouvées dans la littérature [258] confirme bien que le présent composé est totalement identique au (-)-**Epicatechine** (figure I. 1. 3. 15. 11). Ce composé est très répandu dans la famille Cistaceae en général et le genre *Cistus* en particulier où il a été isolé à partir de plusieurs espèces de ce genre telles que *C. ladanifer* [10], *C. salvifolius* [78] et *C. incanus* [234]. Par ailleurs, il est identifié pour la première fois dans le genre *Helianthemum*.

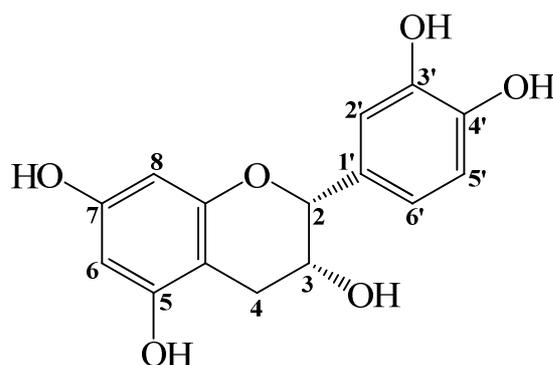


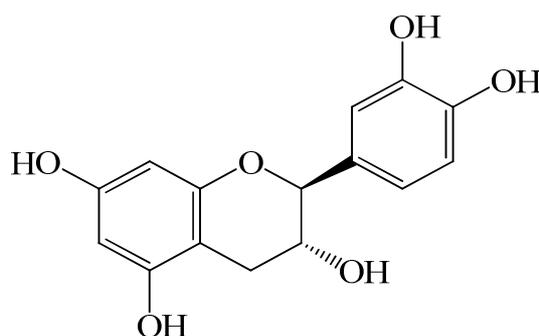
Figure I. 1. 3. 15. Structure du composé HS15 ((-)-Epicatéchine)

Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé **HS15** sont regroupés dans le tableau I. 1. 3. 15.

Tableau I. 1. 3. 15. Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé HS15 enregistrés dans CD_3OD

HS15		
Position	δ_{H} (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)
1	-	-
2	4,94 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 1,4)	78,4
3	4,20 (1H, <i>ddd</i> , <i>J</i> = 4,6-3,0-1,4)	66,0
4a	2,88 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 16,6-4,6)	27,8
4b	2,76 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 16,7-3,0)	
5	-	156,6
6	5,93 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2,3)	94,9
7	-	156,2
8	5,96 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2,3)	94,4
9	-	155,9
10	-	98,6
1'	-	130,8
2'	7,00 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 1,9)	113,8
3'	-	144,9
4'	-	144,3
5'	6,78 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8,3)	114,4
6'	6,82 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8,3-1,9)	117,9

I. 1. 3. 16. Identification structurale du composé HS16



(-)-Catéchine

Ce composé est isolé aussi sous forme d'une poudre blanche soluble dans le méthanol. Il est visible sur CCM à la lumière UV (254 nm) et se révèle en marron après pulvérisation par une solution acide et chauffage à 100 °C.

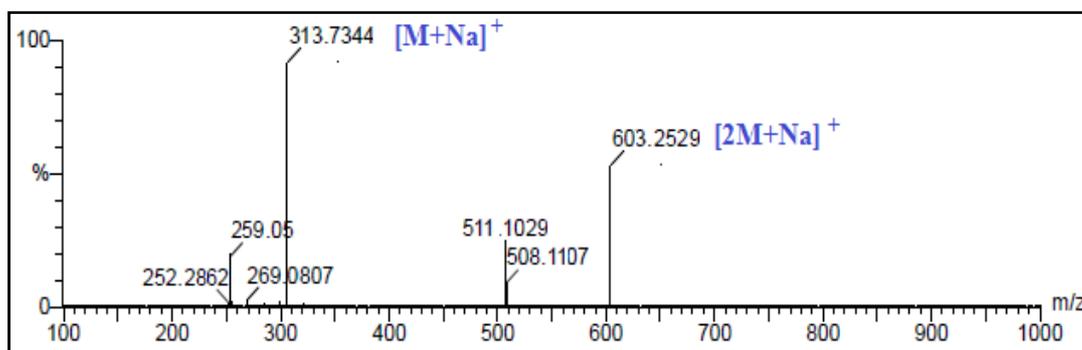


Figure I. 1. 3. 16. 1. Spectre de masse ESI-MS du composé HS16

Le spectre de masse ESI-MS de ce composé enregistré en mode positif (figure I. 1. 3. 16. 1) est totalement identique à celui du composé **HS15** où il indique l'existence de deux pics d'ions pseudomoléculaires à $m/z = 313,7 [M+Na]^+$ et $603,2 [2M+Na]^+$ donnant une masse moléculaire de 290 uma correspondant à une formule brute en $C_{15}H_{14}O_6$. Il s'agit donc de deux isomères.

Les données obtenues à partir de l'analyse combinée des spectres RMN 1H , et ^{13}C , COSY H-H, HSQC et HMBC de ce composé sont presque identiques à celles du composé **HS15** par la présence de (figure I. 1. 3. 16. 2) :

- Cinq protons aromatiques : H-6 (δ_H 5,89, *d*, $J = 2,3$ Hz) et H-8 (δ_H 5,95, *d*, $J = 2,3$ Hz) du cycle A et H-2' (δ_H 6,87, *d*, $J = 1,9$ Hz), H-5' (δ_H 6,80, *d*, $J = 8,1$ Hz) et H-6' (δ_H 6,75, *dd*, $J = 8,0-1,9$ Hz) du cycle B.
- Quatre protons aliphatiques : H-2 (δ_H 4,59, *d*, $J = 7,5$ Hz), H-3 (δ_H 4,00, *ddd*, $J = 8,2-7,4-5,5$ Hz), H-4a (δ_H 2,89, *dd*, $J = 16,0-5,4$ Hz) et H-4b (δ_H 2,52, *dd*, $J = 16,0-8,2$ Hz) du cycle C.

Toutes ces données sont en faveur d'une structure flavanol.

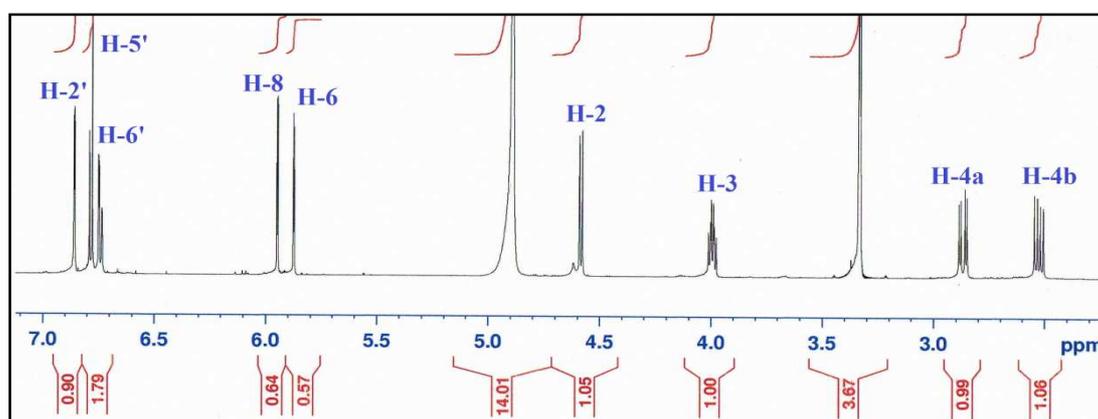


Figure I. 1. 3. 16. 2. Spectre RMN 1H du composé HS16

Il en est de même pour les 15 atomes de carbone visualisés sur le spectre RMN ^{13}C (figure I. 1. 3. 16. 3) :

- Sept carbones quaternaires : C-5 (δ_{C} 156,4), C-7 (δ_{C} 156,1), C-9 (δ_{C} 155,5), C-10 (δ_{C} 99,3), C-1' (δ_{C} 130,8), C-3' (δ_{C} 144,8) et C-4' (δ_{C} 144,8).
- Sept groupements CH : C-2 (δ_{C} 81,4), C-3 (δ_{C} 67,4), C-6 (δ_{C} 94,8), C-8 (δ_{C} 94,0), C-2' (δ_{C} 113,8), C-5' (δ_{C} 114,6) et C-6' (δ_{C} 118,6).
- Un groupement CH_2 : C-4 (δ_{C} 27,1).

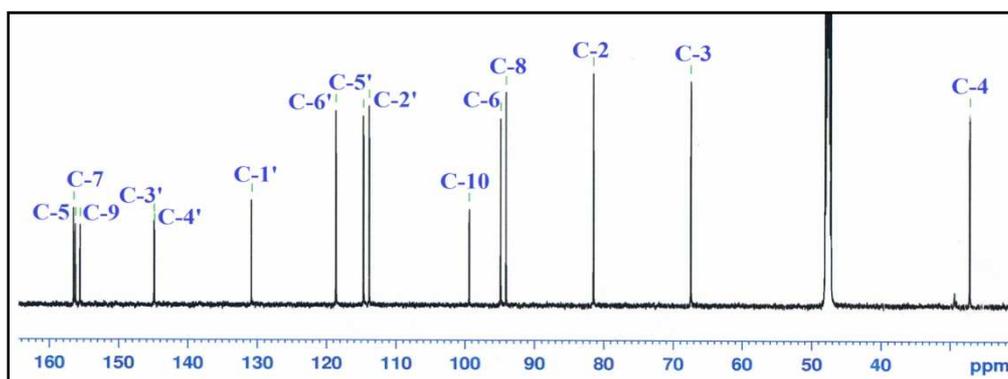


Figure I. 1. 3. 16. 3. Spectre RMN ^{13}C du composé HS16

La différence majeure remarquée pour le composé **HS16** par rapport au composé **HS15** a trait à la grande valeur de la constante de couplage $J_{\text{H-2/H-3}} = 7,5$ Hz qui traduit une configuration *trans* des protons H-2 et H-3. Ces orientations permettent de positionner les autres substituants sur les conformères E et A de l'hétérocycle C comme le montre la figure I. 1. 3. 16. 4, conduisant à identifier la structure de ce composé au flavanol de type catéchine.

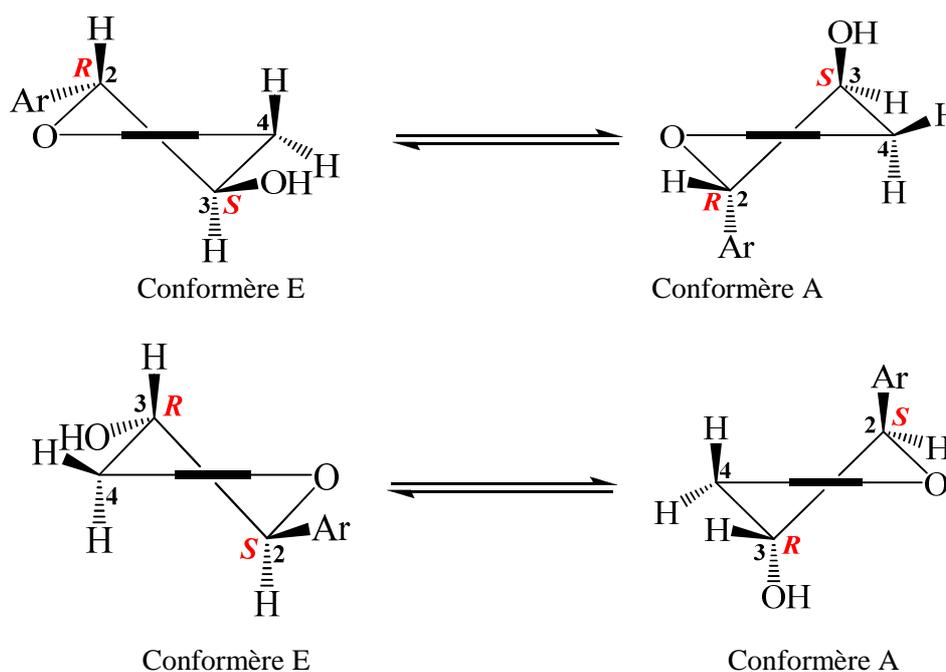


Figure I. 1. 3. 16. 4. Conformères du cycle pyrane C du composé HS16

De la même façon que dans le cas du composé **HS15**, la distinction entre les deux formes stéréo-isomériques (2*R*, 3*S*) et (2*S*, 3*R*) de la catéchine est établie par la mesure du pouvoir rotatoire qui est égale à ($[\alpha]_D = -7,9$, $c = 0,4$, MeOH) traduisant une configuration absolue (2*S*, 3*R*) du composé **HS16** [259].

Sur la base de cette analyse et par comparaison avec les données de la littérature [260], le composé **HS16** est identifié comme étant une (-)-Catéchine (figure I. 1. 3. 16. 5).

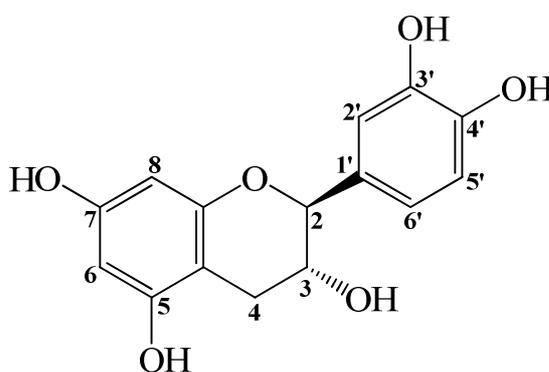


Figure I. 1. 3. 16. 5. Structure du composé **HS16** ((-)-Catéchine)

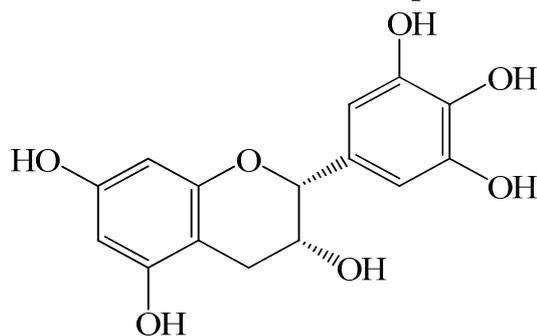
La catéchine identifiée pour la première fois dans le genre *Helianthemum* a été antérieurement isolée à partir des espèces du genre *Cistus* de la famille Cistaceae (*C. ladanifer* [10], *C. salvifolius* [78] et *C. incanus*) [81].

Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé **HS16** sont réunis dans le tableau I. 1. 3. 16.

Tableau I. 1. 3. 16. Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé **HS16** enregistrés dans CD_3OD

HS16		
Position	δ_{H} (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)
1	-	-
2	4,59 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 7,5)	81,4
3	4,00 (1H, <i>ddd</i> , <i>J</i> = 8,2-7,5-5,4)	67,4
4a	2,89 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 16,0-5,4)	27,1
4b	2,52 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 16,0-8,2)	
5	-	156,4
6	5,89 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2,3)	94,8
7	-	156,1
8	5,95 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2,3)	94,0
9	-	155,5
10	-	99,3
1'	-	130,8
2'	6,87 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 1,9)	113,8
3'	-	144,8
4'	-	144,8
5'	6,80 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8,1)	114,6
6'	6,75 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8,0-1,9)	118,6

I. 1. 3. 17. Identification structurale du composé HS17



(-)-Epigallocatechine

Comme les deux composés précédents **HS15** et **HS16**, ce composé est isolé sous forme d'une poudre blanche soluble dans le méthanol. Il montre une tache visible sur CCM à 254 nm se colorant en marron après révélation par une solution acide et chauffage à 100 °C.

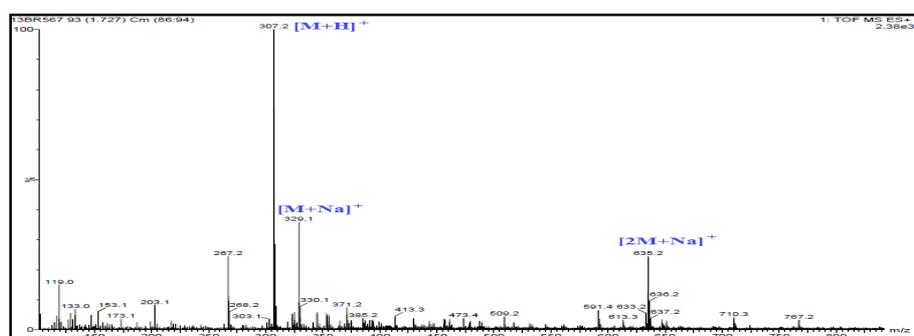
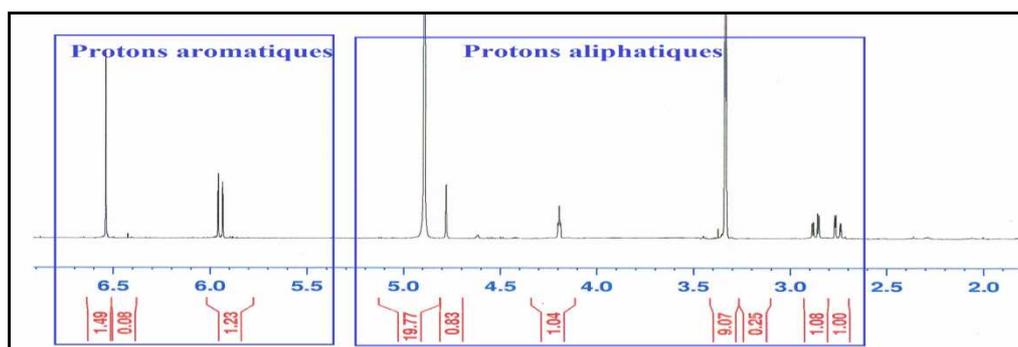


Figure I. 1. 3. 17. 1. Spectre de masse ESI-MS du composé HS17

Le spectre de masse ESI-MS enregistré en mode positif pour le composé **HS17** (figure I. 1. 3. 17. 1) montre trois pics d'ions pseudomoléculaires à $m/z = 307,2 [M+H]^+$, $329,1 [M+Na]^+$ et $635,2 [2M+Na]^+$ suggérant une masse moléculaire de 306 uma correspondant à une formule brute en $C_{15}H_{14}O_7$.

L'analyse du spectre RMN 1H (figure I. 1. 3. 17. 2) de ce composé révèle la présence de trois signaux dans la zone des protons aromatiques et quatre signaux sortant dans la zone des protons aliphatiques, presque indentiques à ceux des composés précédents **HS15** et **HS16** conduisant à suggérer la présence d'un squelette flavanol.

Figure I. 1. 3. 17. 2. Spectre RMN 1H du composé HS17

Les spectres RMN ^{13}C (figure I. 1. 3. 17. 3) et DEPT confirment cette supposition par le nombre et la nature des carbones qu'ils présentent à savoir : huit carbones quaternaires, six groupements CH et un groupement CH_2 .

La comparaison des spectres RMN ^1H et ^{13}C du composé **HS17** (figures I. 1. 3. 17. 3 et 5) avec ceux des composés précédents **HS15** et **HS16** permet de localiser facilement les protons et les carbones du cycle aromatique A, ainsi que ceux de l'hétérocycle C.

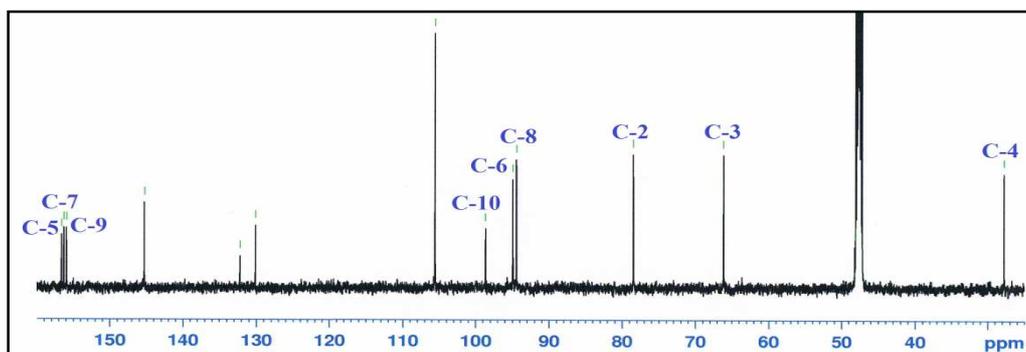


Figure I. 1. 3. 17. 3. Spectre RMN ^{13}C montrant les carbones des cycles A et C du composé **HS17**

Les protons des deux cycles A et C (figure I. 1. 3. 17. 4 et 5) sont identifiés à H-6 (δ_{H} 5,93, *d*, $J = 2,2$ Hz), H-8 (δ_{H} 5,95, *d*, $J = 2,2$ Hz), H-2 (δ_{H} 4,77, *d*, $J = 1,5$ Hz), H-3 (δ_{H} 4,19, *ddd*, $J = 4,5-3,1-1,5$ Hz), H-4a (δ_{H} 3,87, *dd*, $J = 16,5-4,5$ Hz) et H-4b (δ_{H} 3,75, *dd*, $J = 16,5-3,1$ Hz).

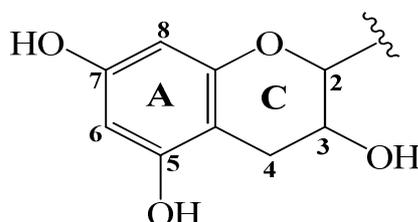


Figure I. 1. 3. 17. 4. Cycles A et C du composé **HS17**

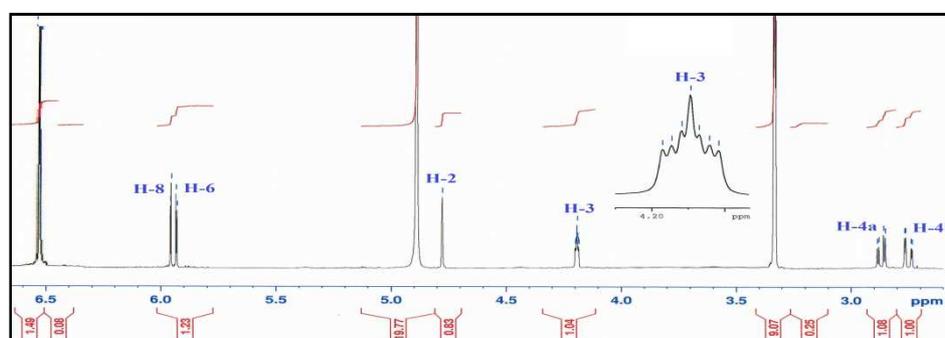


Figure I. 1. 3. 17. 5. Spectre RMN ^1H des protons des cycles A et C du composé **HS17**

Pour le cycle B, le spectre RMN ^1H montre un signal sortant à δ_{H} 6,54 sous forme de singulet et d'intégration 2H. Ce signal est accordé sur le spectre HSQC à un pic intense

résonant à δ_C 105,5 qui indique la présence de deux carbones superposables. Ces données révèlent l'existence d'une opération de symétrie au niveau du cycle B de ce flavanol.

Ces signaux (δ_H 6,54/ δ_C 105,5) sont attribués aux protons H-2' et H-6' en raison des corrélations observées en 3J entre ces protons et le carbone C-2 de l'hétérocycle C.

De même, les corrélations observées sur le spectre HMBC (figure I. 1. 3. 17. 6) des protons H-2' et H-6' permettent de localiser les autres carbones du cycle B à δ_C 130,1 (C-1'), 145,2 (C-3'/C-5') et 132,1 (C-4'). Les carbones C-3'/C-5' et C-4' sont porteurs de OH.

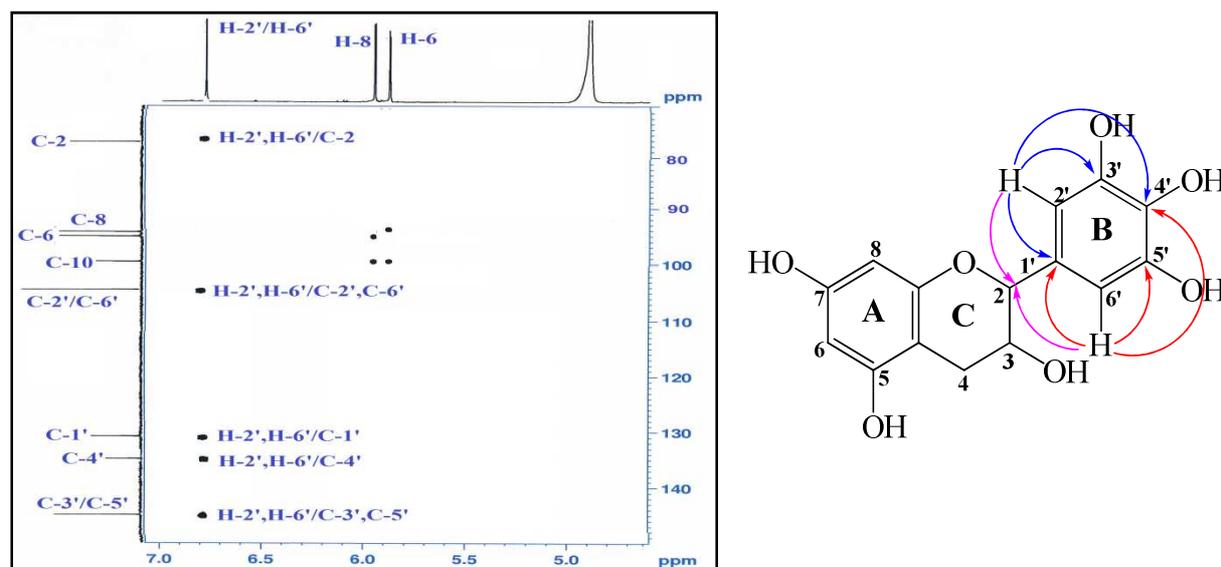


Figure I. 1. 3. 17. 6. Spectre HMBC des protons du cycle B du composé HS17

Ces attributions conduisent à conférer pour ce composé une structure de type épigallocatechine au vu de la constante de couplage $J_{H-2/H-3} = 1,5$ Hz. La petite valeur de cette constante de couplage indique une orientation *cis* pour les protons H-2 et H-3 comme le montre la figure I. 1. 3. 17. 7. La valeur négative du pouvoir rotatoire de ce composé ($[\alpha]_D = -71,3$, $c = 0,9$, MeOH) indique une configuration absolue (2*R*, 3*R*) des carbones chiraux C-2 et C-3 [261].

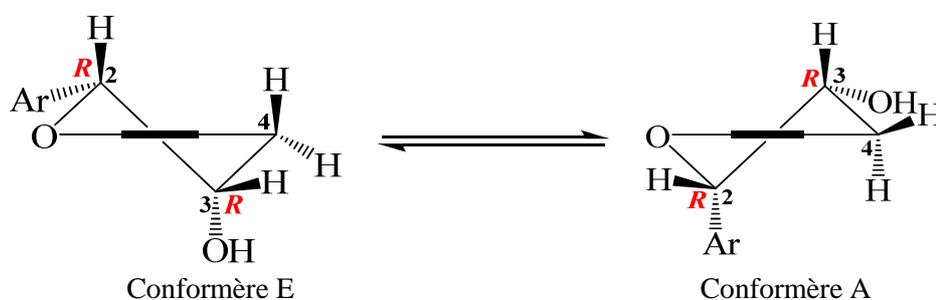


Figure I. 1. 3. 17. 7. Conformères du cycle pyrane C du composé HS17

L'ensemble de ces données spectroscopiques et la comparaison avec celles de la littérature [250] permettent d'attribuer pour le composé **HS17** la structure : (-)-**Epigallocatechine** (figure I. 1. 3. 17. 8). Ce composé a été antérieurement isolé à partir de

l'espèce *Helianthemum glomeratum*. Il présente diverses activités biologiques à savoir antiprotozoole, anti-amobique et anti-giardiale [105]. Par ailleurs, il a été détecté dans plusieurs espèces du genre *Cistus* à savoir *C. ladanifer* [10], *C. salvifolius* [78] et *C. incanus* [234].

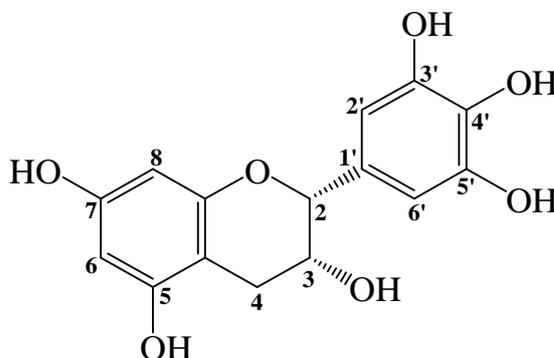


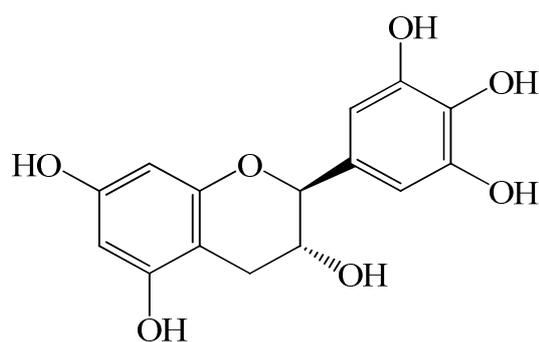
Figure I. 1. 3. 17. 8. Structure du composé HS17 ((-)-Epigallocatéchine)

Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé **HS17** sont rassemblés dans le tableau I. 1. 3. 17.

Tableau I. 1. 3. 17. Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé HS17 enregistrés dans CD_3OD

HS17		
Position	δ_{H} (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)
1	-	-
2	4,77 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 1,5)	78,4
3	4,19 (1H, <i>ddd</i> , <i>J</i> = 4,5-3,1-1,5)	66,1
4a	3,87 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 16,5-4,5)	27,7
4b	3,75 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 16,5-3,1)	
5	-	156,5
6	5,93 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2,2)	94,9
7	-	156,2
8	5,95 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2,2)	94,4
9	-	155,9
10	-	98,6
1'	-	130,1
2'	6,54 (1H, <i>s</i>)	105,5
3'	-	145,2
4'	-	132,1
5'	-	145,2
6'	6,54 (1H, <i>s</i>)	105,5

I. 1. 3. 18. Identification structurale du composé HS18



(-)-Gallocatechine

Le composé **HS18** a été obtenu sous forme d'une poudre blanche soluble dans le méthanol. Il est visible sur CCM à la lumière UV à 254 nm et donne une couleur marron après révélation par une solution acide et chauffage à 100 °C.

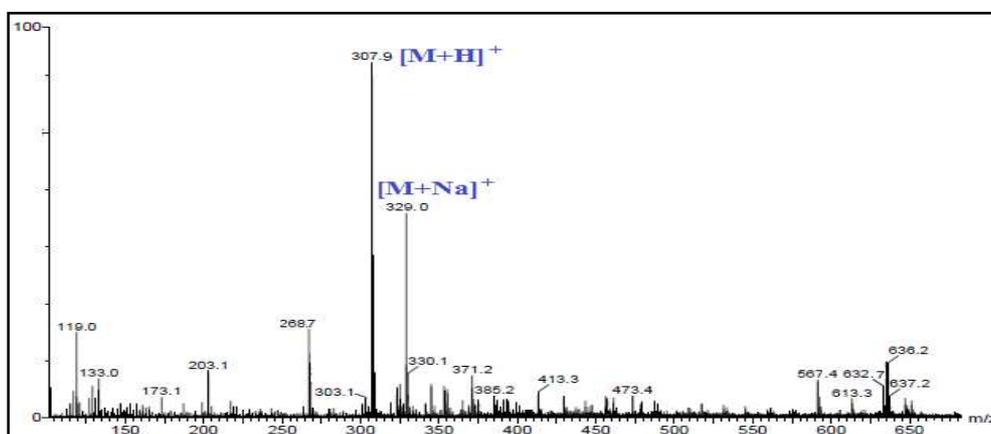
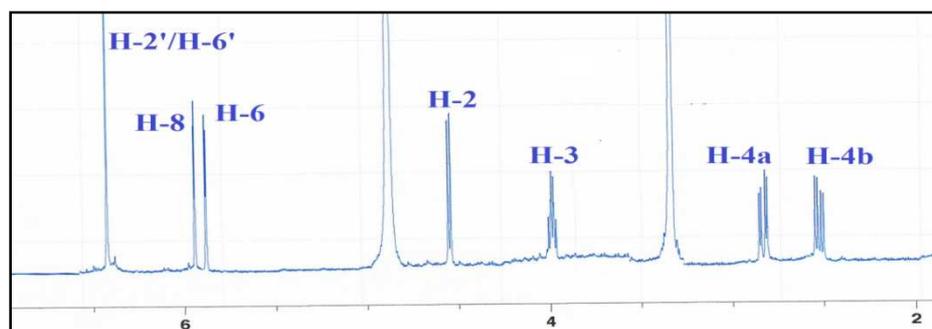


Figure I. 1. 3. 18. 1. Spectre de masse ESI-MS du composé HS18

Le spectre de masse ESI-MS du composé **HS18** (figure I. 1. 3. 18. 1) est identique à celui du composé précédent **HS17** par la présence de deux pics d'ions pseudomoléculaires à $m/z = 307,9 [M+H]^+$ et $329,0 [M+Na]^+$, soit une masse moléculaire de 306 uma correspondant à une formule brute en $C_{15}H_{14}O_7$. Il s'agit donc de deux isomères.

L'élucidation structurale du composé **HS18** a été réalisée par comparaison de ses spectres RMN 1H et ^{13}C avec ceux des composés **HS16** et **HS17** déjà identifiés.

Figure I. 1. 3. 18. 2. Spectre RMN 1H du composé HS18

Son spectre RMN ^1H (figure I. 1. 3. 18. 2) révèle les protons aromatiques des cycles A et B : H-6 (δ_{H} 5,87, *d*, $J = 2,2$ Hz), H-8 (δ_{H} 5,94, *d*, $J = 2,2$ Hz) et H-2'/H-6' (δ_{H} 6,47, *s*). Il montre aussi les protons du cycle C à δ_{H} 4,53 (*d*, $J = 7,3$ Hz, H-2), 4,00 (*ddd*, $J = 8,0-7,3-5,3$ Hz, H-3), 2,72 (*dd*, $J = 16,0-5,3$ Hz, H-4a) et 2,50 (*dd*, $J = 16,0-8,0$ Hz, H-4b),

Ces données en plus de la grande valeur de la constante de couplage $J_{\text{H-2/H-3}} = 7,3$ Hz supportent la présence d'un squelette gallocatéchine. Les carbones de ce composé sont assignés sur le spectre RMN ^{13}C comme le montre la figure I. 1. 3. 18. 3.

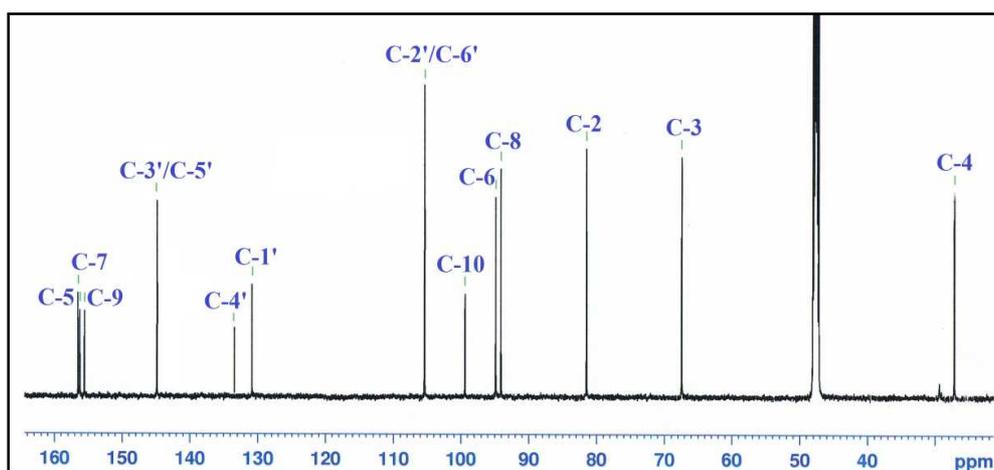


Figure I. 1. 3. 18. 3. Spectre RMN ^{13}C du composé HS18

Afin de préciser la stéréo-isomérisation de ce composé, une mesure du pouvoir rotatoire a été réalisée dans le MeOH avec une concentration de $c = 0,1$ résultant une valeur de $[\alpha]_{\text{D}} = -15,1$, ce qui indique une configuration absolue (2*S*, 3*R*) [262] (figure I. 1. 3. 18. 4).

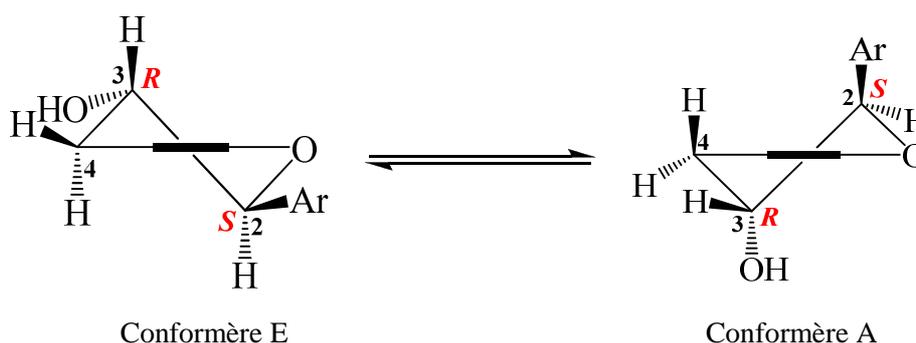


Figure I. 1. 3. 18. 4. Conformères du cycle pyrane C du composé HS18

Toutes ces données spectroscopiques, ainsi que la comparaison avec celles de la littérature [263] nous permettent de proposer sans équivoque pour le composé **HS18**, la structure : (-)-Gallicatéchine (figure I. 1. 3. 18. 5).

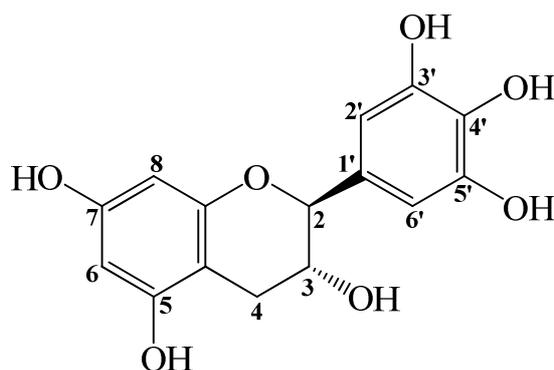


Figure I. 1. 3. 18. 5. Structure du composé HS18 ((-)-Gallocatechine)

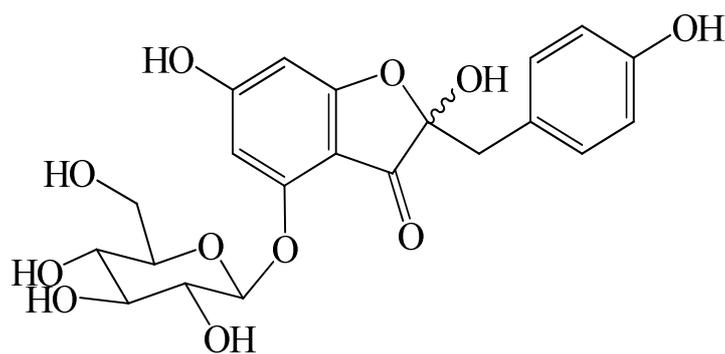
Ce composé montre une abondance dans le genre *Cistus* où il a été isolé antérieurement d'un nombre important de ses espèces comme *C. ladanifer* [10], *C. salvifolius* [78], *C. incanus* [81, 234]...etc. A notre connaissance, cette étude constitue le premier rapport évoquant l'isolement de (-)-Gallocatechine à partir des espèces *Helianthemum*.

Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé **HS18** sont rassemblés dans le tableau I. 1. 3. 18.

Tableau I. 1. 3. 18. Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé HS18 enregistrés dans CD_3OD

HS18		
Position	δ_{H} (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)
1	-	-
2	4,53 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 7,3)	81,2
3	4,00 (1H, <i>ddd</i> , <i>J</i> = 8,0-7,3-5,3)	67,0
4a	2,72 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 16,0-5,3)	27,5
4b	2,50 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 16,0-8,0)	
5	-	156,3
6	5,87 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2,2)	94,4
7	-	156,2
8	5,94 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2,2)	93,9
9	-	155,3
10	-	99,2
1'	-	130,2
2'	6,47 (1H, <i>s</i>)	105,4
3'	-	145,0
4'	-	132,0
5'	-	145,0
6'	6,47 (1H, <i>s</i>)	105,4

I. 1. 3. 19. Identification structurale des composés HS19 et HS20



Hovetrichoside C

Ce composé est constitué de deux diastéréoisomères. Il est isolé sous forme d'une poudre amorphe, présentant une tache visible sur CCM aux longueurs d'onde 254 et 366 nm. Ce mélange se révèle en orange par une solution acide et chauffage à 100 °C.

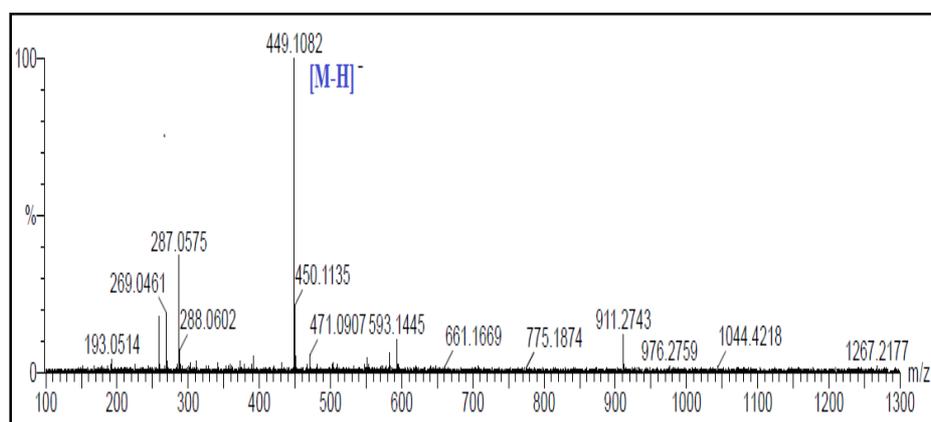
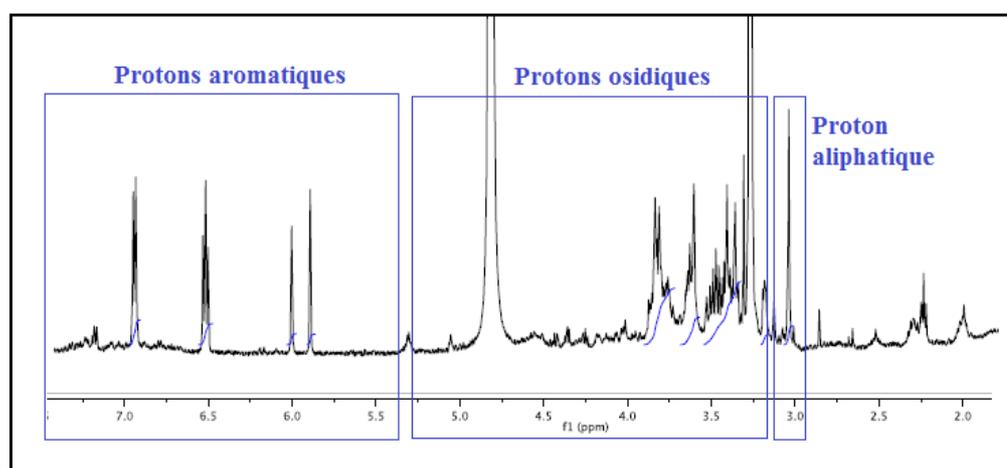


Figure I. 1. 3. 19. 1. Spectre de masse ESI-MS des composés HS19 et HS20

Le spectre de masse ESI-MS (figure I. 1. 3. 19. 1) de ce mélange enregistré en mode négatif montre un pic d'ion pseudomoléculaire à $m/z = 449,1$ $[M-H]^-$ correspondant à une masse moléculaire de 450 uma et une formule brute en $C_{21}H_{22}O_{11}$.

Figure I. 1. 3. 19. 2. Spectre RMN 1H des composés HS19 et HS20

Le spectre RMN ^1H (figure I. 1. 3. 19. 2) de ce composé indique la présence d'un nombre important de signaux dans les zones aromatiques et osidiques dont les valeurs d'intégrations indiquent un nombre de protons plus grand que celui déduit de la formule brute, confirmant la présence d'un mélange de deux composés.

L'interprétation du spectre RMN ^1H (figure I. 1. 3. 19. 3) a débuté par les signaux au nombre de huit sortant dans la zone allant de 5,8 à 7,2 ppm. Les quatre premiers résonnent à δ_{H} 5,93, 5,94, 6,04 et 6,05 sous forme de doublet avec une valeur de constante de couplage $J = 2,1$ Hz. Cette valeur indique la présence de protons *mé*ta-couplés, ce qui conduit à distribuer ces protons sur les deux cycles des composés **HS19** et **HS20** (cycle A).

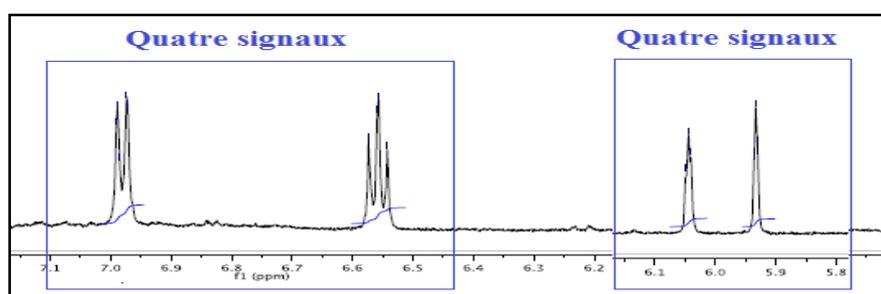


Figure I. 1. 3. 19. 3. Spectre RMN ^1H des protons aromatiques des composés HS19 et HS20

Le spectre HSQC exhibe les corrélations des protons résonant à δ_{H} 6,04 et 6,05 avec un pic intense sortant à δ_{C} 97,4. Les protons détectés à δ_{H} 5,93 et 5,94 sont accordés aux carbones localisés à δ_{C} 93,2 et 93,1 respectivement. La comparaison avec les données de la littérature [264-266] et les valeurs de déplacement chimique de ces groupements CH aromatiques indiquent une substitution *ortho* di-oxygéné de ces deux cycles conduisant à attribuer ces signaux à :

- H-5 (δ_{H} 6,04, *d*, $J = 2,1$ Hz/ δ_{C} 97,4) et H-7 (δ_{H} 5,93, *d*, $J = 2,1$ Hz/ δ_{C} 93,2) du cycle A pour le composé **HS19**.
- H-5 (δ_{H} 6,05, *d*, $J = 2,1$ Hz/ δ_{C} 97,4) et H-7 (δ_{H} 5,94, *d*, $J = 2,1$ Hz/ δ_{C} 93,1) du cycle A pour le composé **HS20**.

Les autres carbones quaternaires de ces deux cycles 1,3,4,5-tétrastitué sont localisés à travers les corrélations observées sur le spectre HMBC (figure I. 1. 3. 19. 4) :

Pour le cycle A du composé **HS19** entre :

- Le proton H-5 (δ_{H} 6,04) et les carbones oxygénés C-4 (δ_{C} 158,4) et C-6 (δ_{C} 171,4) et les carbones quaternaires C-7 (δ_{C} 93,2) et C-3a (δ_{C} 103,5).
- Le proton H-7 (δ_{H} 5,93) et les carbones oxygénés C-6 et C-7a (δ_{C} 174,5) et les carbones quaternaires C-5 et C-3a.

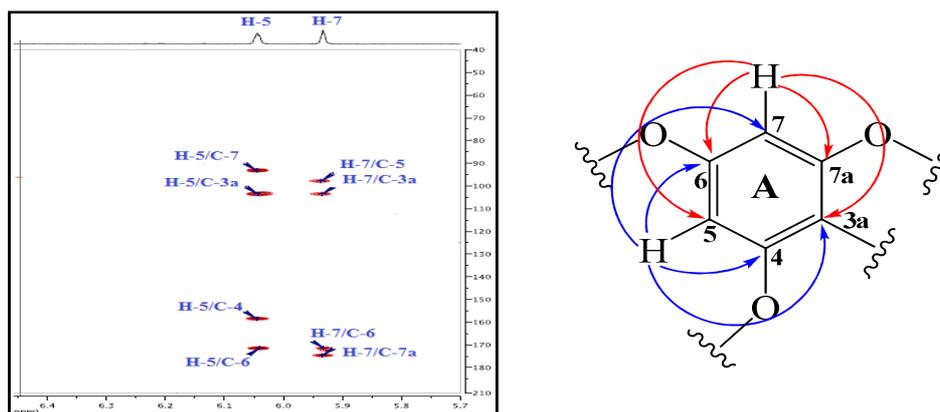


Figure I. 1. 3. 19. 4. Spectre HMBC des protons aromatiques du cycle A des composés HS19 et HS20

Pour le cycle A du composé HS20 entre :

- Le proton H-5 (δ_H 6,05) et les carbones oxygénés C-4 (δ_C 158,4) et C-6 (δ_C 171,4) et les carbones quaternaires C-7 (δ_C 93,1) et C-3a (δ_C 103,4).
- Le proton H-7 (δ_H 5,94) et les carbones oxygénés C-6 et C-7a (δ_C 174,5) et les carbones quaternaires C-5 et C-3a.

L'équivalence des déplacements chimiques des carbones des deux cycles A des composés HS19 et HS20 est significative de la ressemblance de leurs entourages chimiques.

Les autres signaux aromatiques visualisés sur le spectre RMN 1H de ces composés sortent à δ_H 6,55, 6,57, 6,97 et 6,98 avec une constante de couplage $J = 8,5$ Hz et d'intégration 2H chacun, accordés sur le spectre HSQC aux carbones (δ_C 132,5/ δ_H 6,98), (δ_C 132,4/ δ_H 6,97), (δ_C 115,8/ δ_H 6,55) et (δ_C 115,8/ δ_H 6,57). Ces données indiquent la présence de deux cycles B de type 1,4-disubstitué.

La distinction entre les CH de chaque composé est réalisée par comparaison avec les données de la littérature [264-266] et par l'analyse du spectre HMBC qui permettent de repérer les CH du composé HS19 à H-2'/H-6' (δ_H 6,98, d , $J = 8,5$ Hz/ δ_C 132,5) et H-3'/H-5' (δ_H 6,55, d , $J = 8,5$ Hz/ δ_C 115,8) (figure I. 1. 3. 19. 5).

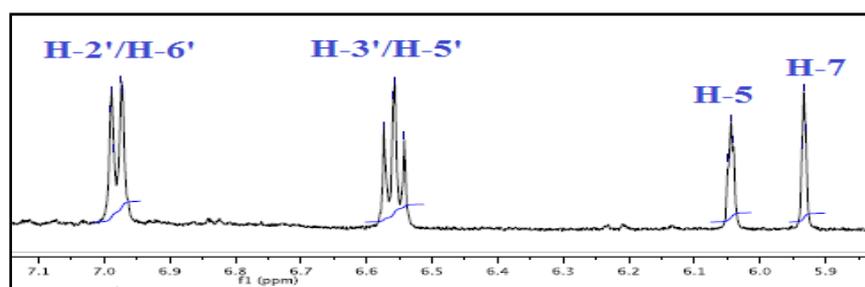


Figure I. 1. 3. 19. 5. Spectre RMN 1H des protons aromatiques des composés HS19 et HS20

Il en est de même pour les CH du composé **HS20** attribués à H-2'/H-6' (δ_H 6,97, *d*, $J = 8,5$ Hz/ δ_C 132,4) et H-3'/H-5' (δ_H 6,57, *d*, $J = 8,5$ Hz/ δ_C 115,8) (figure I. 1. 3. 19. 5). En raison de leurs corrélations visualisées sur le spectre HMBC (figure I. 1. 3. 19. 6), les carbones quaternaires des cycles B des deux composés ont été assignés comme suit :

- H-2'/H-6' (δ_H 6,98) et le carbone oxygéné C-4' (δ_C 157,2) et les protons H-3'/H-5' (δ_H 6,55) et le carbone quaternaire C-1' (δ_C 125,5) (**HS19**).
- H-2'/H-6' (δ_H 6,97) et le carbone oxygéné C-4' (δ_C 157,4) et les protons H-3'/H-5' (δ_H 6,57) et le carbone quaternaire C-1' (δ_C 125,4) (**HS20**).

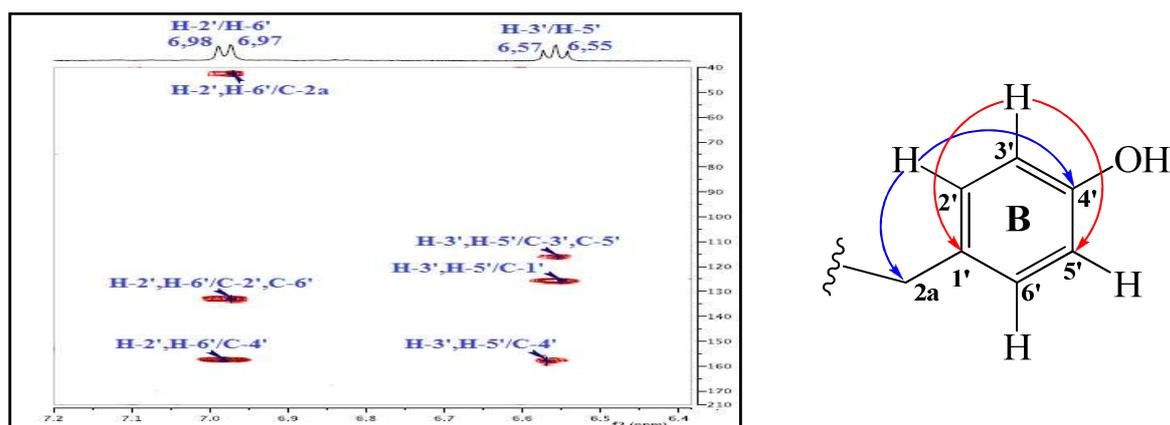


Figure I. 1. 3. 19. 6. Spectre HMBC des protons aromatiques du cycle B des composés **HS19** et **HS20**

Il est aussi observé sur ce spectre un autre couplage des protons aromatiques du cycle B du composé **HS19** H-2'/H-6' (δ_H 6,98) avec un groupement 2a-CH₂ à δ_C 42,0 qui est accordé sur le spectre HSQC au signal singulet large résonant à δ_H 3,08. De même pour les protons du composé **HS20** H-2'/H-6' (δ_H 6,98) qui corrélient avec un groupement 2a-CH₂ à (δ_C 41,9/ δ_H 3,09).

Le spectre NOESY (figure I. 1. 3. 19. 7) montre les corrélations dipolaires entre les protons H-2'/H-6' et H₂-2a de chaque composé.

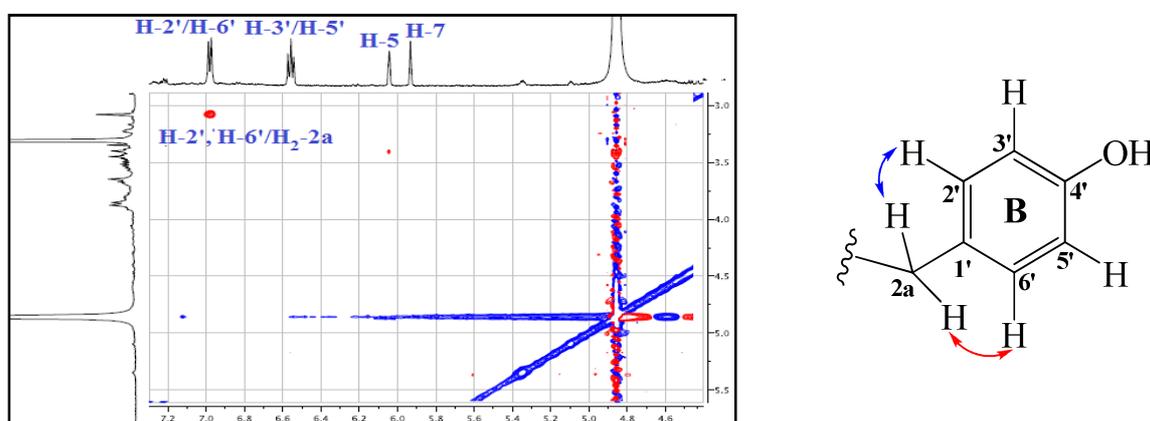


Figure I. 1. 3. 19. 7. Spectre NOESY des protons aromatiques du cycle B des composés **HS19** et **HS20**

Les protons des groupements 2a-CH₂ [δ_H 3,08 (**HS19**) et δ_H 3,09 (**HS20**)] couplent de leur côté sur le spectre HMBC avec deux carbones oxygénés résonant à δ_C 107,5 et δ_C 107,6 respectivement. Ces carbones quaternaires déblindés sont attribués aux carbones C-2 des cycles oxolanes C de chaque composé. Les pics restant dans la zone déblindée à δ_C 197,3 et δ_C 196,4 sont clairement assignés aux carbones C-3 des cycles C (figure I. 1. 3. 19. 8). Tous ces éléments structuraux donnent naissance à deux squelettes de type Auronol [264].

A ce stade d'analyse, la structure de l'aglycone de chaque composé **HS19** et **HS20** est identifiée comme étant Maesopsine [265]. La présence de ce mélange est due à la nature de l'aglycone Maesopsine (figure I. 1. 3. 19. 8) qui se trouve sous forme de paire énantiomérique résultant de la nature réversible de la forme hémiacétal du carbone chiral C-2 [266].

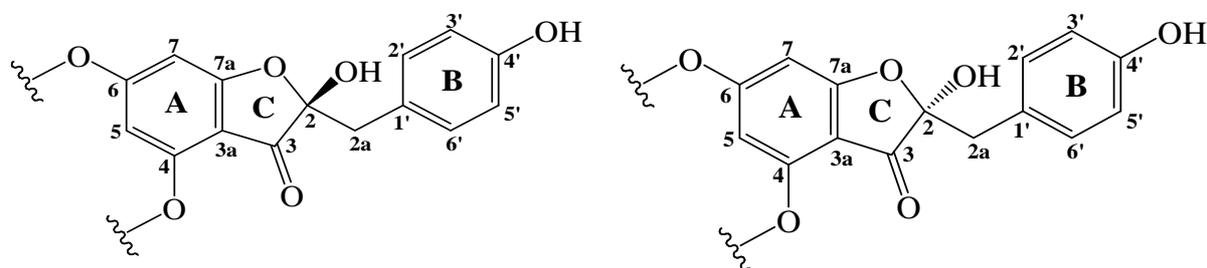


Figure I. 1. 3. 19. 8. Structures de l'aglycone des composés **HS19** et **HS20**

Le spectre HSQC de ce mélange montre la présence d'une tache de corrélation entre un pic intense résonnant à δ_C 101,7 et un signal de proton à δ_H 4,85 où sa multiplicité n'est pas déterminée vu qu'il est superposable avec le signal du solvant. Ceci suggère la présence de deux protons anomériques H-1'' (δ_H 4,85/ δ_C 101,7).

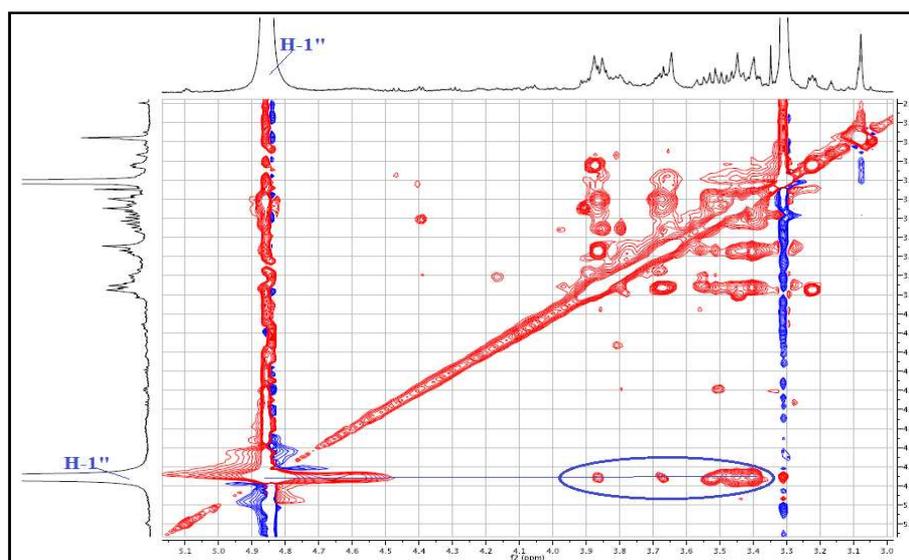


Figure I. 1. 3. 19. 9. Spectre TOCSY des composés **HS19** et **HS20**

Partant de ces protons, le spectre TOCSY (figure I. 1. 3. 19. 9) permet de localiser les autres protons osidiques appartenant à un système de spins à sept protons identifiés par les corrélations observées sur le spectre COSY (figure I. 1. 3. 19. 10) à savoir H-1" (δ_H 4,85, *nd*)/H-2" (δ_H 3,51, *t*, $J = 7,1$ Hz)/H-3" (δ_H 3,45, *t*, $J = 7,1$ Hz)/H-4" (δ_H 3,40, *m*)/H-5" (δ_H 3,38, *nd*)/H-6"a (δ_H 3,87, *dd*, $J = 12,0-2,2$ Hz) et H-6"b (δ_H 3,67, *dd*, $J = 12,0-5,4$ Hz).

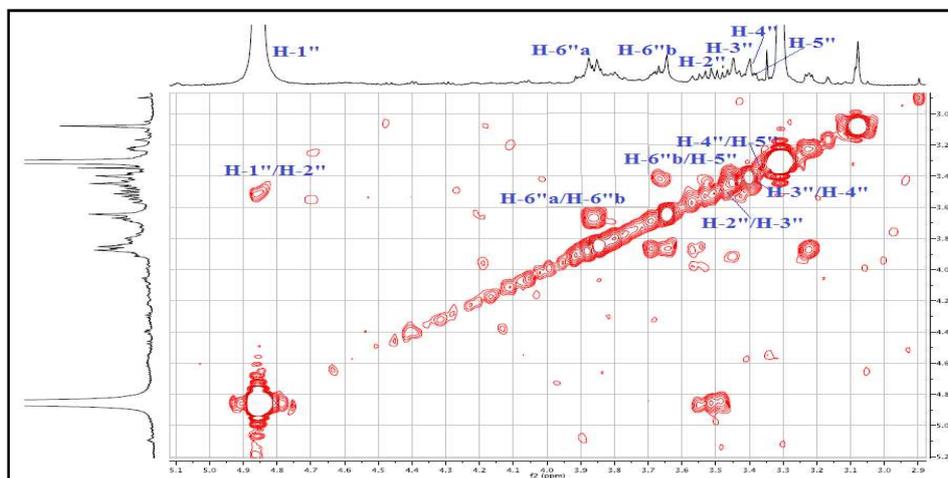


Figure I. 1. 3. 19. 10. Spectre COSY des composés HS19 et HS20

Les valeurs des constantes de couplage des protons H-2" et H-3" ($J > 7$ Hz) indiquent une orientation axiale de tous les protons de cet hexose, ce qui permet de l'identifier à β -D-glucose (figure I. 1. 3. 19. 11).

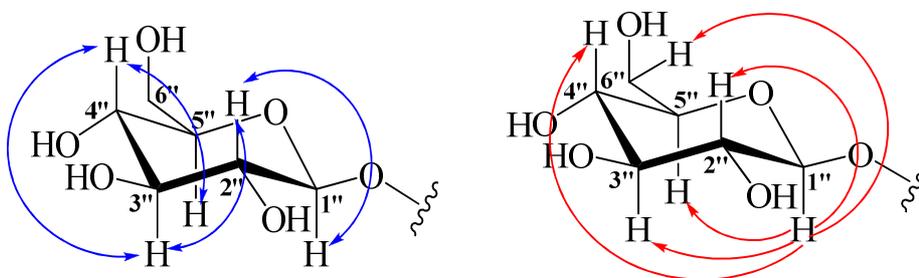


Figure I. 1. 3. 19. 11. Corrélations COSY et TOCSY du β -D-glucose des composés HS19 et HS20

Les protons osidiques sont accordés sur le spectre HSQC aux carbones C-2" (δ_C 74,0), C-3" (δ_C 77,4), C-4" (δ_C 71,2), C-5" (δ_C 78,4) et C-6" (δ_C 62,4).

Le point de branchement de ces glucoses avec les aglycones Maesopsines des composés HS19 et HS20 est localisé en position C-4 de chaque composé en raison de la présence d'une tache de corrélation sur le spectre HMBC (figure I. 1. 3. 19. 12) entre le carbone C-4 et le proton anomérique H-1".

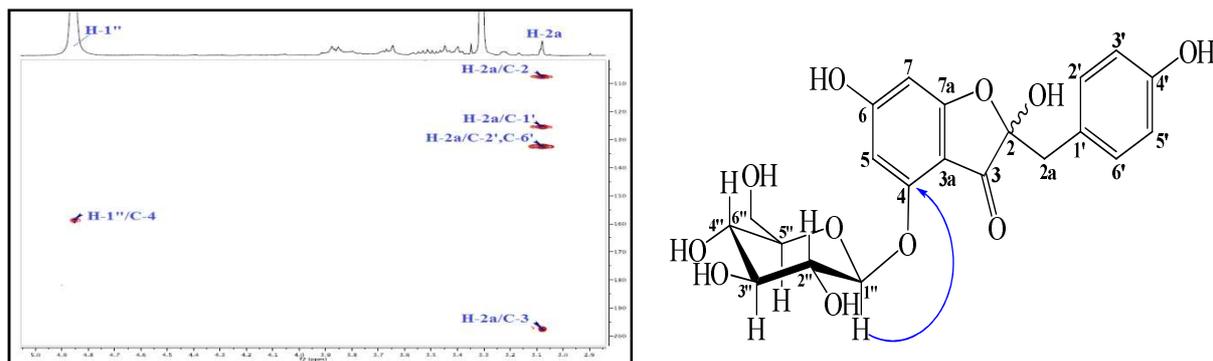


Figure I. 1. 3. 19. 12. Spectre HMBC montrant le point de branchement du glucose des composés HS19 et HS20

Le spectre NOESY (figure I. 1. 3. 19. 13) confirme une fois de plus la position de ces glucoses par la corrélation dipolaire qu'il présente entre le proton H-5 et le proton osidique H-2'' pour chaque composé.

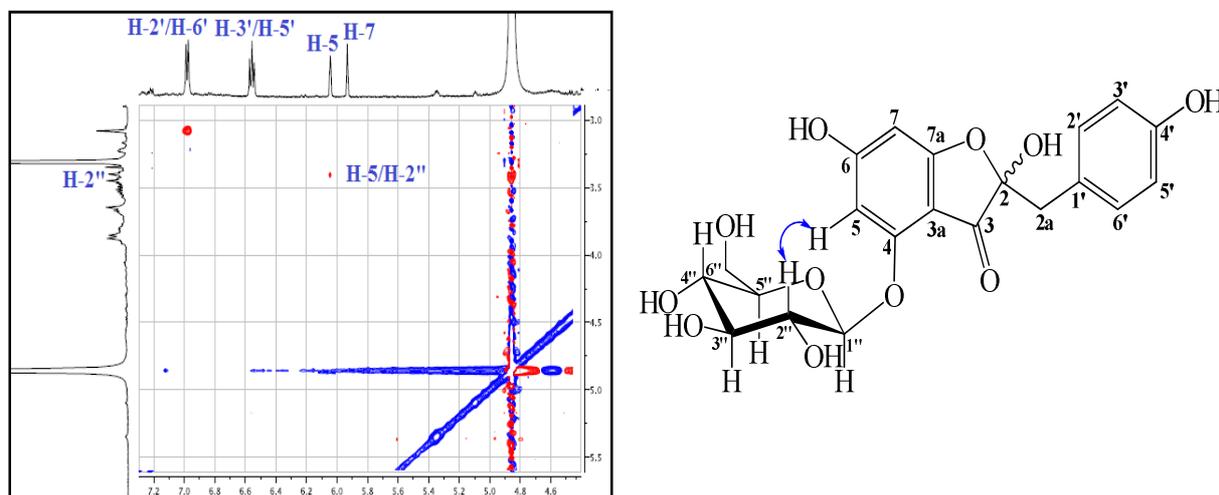


Figure I. 1. 3. 19. 13. Spectre NOESY des composés HS19 et HS20

Ce type de connectivité 4-*O*-glucoside est rare dans la nature car le Maesopsine glucosylé possède généralement une glucosylation de type 6-*O*-glucoside [264].

En raison de la présence de ces unités osidiques, les composés **HS19** et **HS20** sont identifiés comme étant une paire diastéréoisomérique (1:1), confirmée par la valeur du pouvoir rotatoire ($[\alpha]_D = -54,3$, $c = 1,8$, MeOH) en comparaison avec les données de la littérature [264].

La comparaison de ces données spectroscopiques avec celles trouvées dans la littérature permet d'identifier les composés **HS19** et **HS20** comme étant un 2-épimère de **Maesopsine-4-*O*- β -glucopyranoside** connu sous le nom **Hovetrichoside C** [267]. Ce composé qui est connu pour son activité antiplatelet [268] est isolé pour la première fois de la famille Cistaceae. Il a

été trouvé antérieurement dans les espèces *Chaenomeles sinensis* (Rosaceae) [268], *Medicago truncata* (Fabaceae) [269] et *Hypericum perforatum* (Hypericaceae) [270].

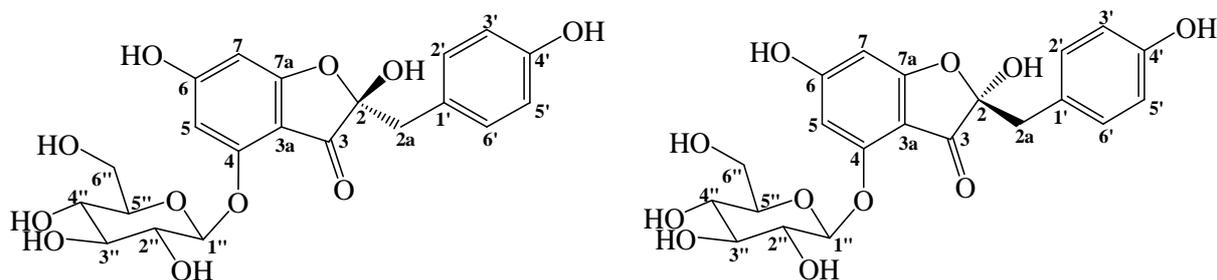


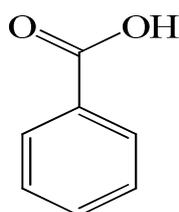
Figure I. 1. 3. 19. 14. Structures des composés HS19 et HS20 (Hovetrichoside C)

Les déplacements chimiques des protons et carbones des composés HS19 et HS20 sont réunis dans le tableau I. 1. 3. 19.

Tableau I. 1. 3. 19. Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) des composés HS19 et HS20 enregistrés dans CD_3OD

Position	HS19		HS20	
	δ_{H} (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)
1	-	-	-	-
2	-	107,5	-	107,6
3	-	197,3	-	197,4
3a	-	103,5	-	103,4
4	-	158,4	-	158,4
5	6,04 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2,1)	97,4	6,05 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2,1)	97,4
6	-	171,4	-	171,4
7	5,93 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2,1)	93,2	5,94 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2,1)	93,1
7a	-	174,5	-	174,5
2a	3,08 (2H, <i>sl</i>)	42,0	3,09 (2H, <i>sl</i>)	41,9
1'	-	125,5	-	125,4
2'	6,98 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8,5)	132,5	6,97 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8,5)	132,4
3'	6,55 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8,5)	115,8	6,57 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8,5)	115,8
4'	-	157,2	-	157,4
5'	6,55 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8,5)	115,8	6,55 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8,5)	115,8
6'	6,98 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8,5)	132,5	6,98 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8,5)	132,4
1''	4,85 (1H, <i>nd</i>)	101,7	4,85 (1H, <i>nd</i>)	101,7
2''	3,51 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 7,1)	74,0	3,51 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 7,1)	74,0
3''	3,45 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 7,1)	77,4	3,45 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 7,1)	77,4
4''	3,40 (1H, <i>m</i>)	71,2	3,40 (1H, <i>m</i>)	71,2
5''	3,40 (1H, <i>m</i>)	78,4	3,40 (1H, <i>m</i>)	78,4
6''a	3,87 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 12,0 -2,2)	62,4	3,87 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 12,0 -2,2)	62,4
6''b	3,67 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 12,0 -5,4)		3,67 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 12,0 -5,4)	

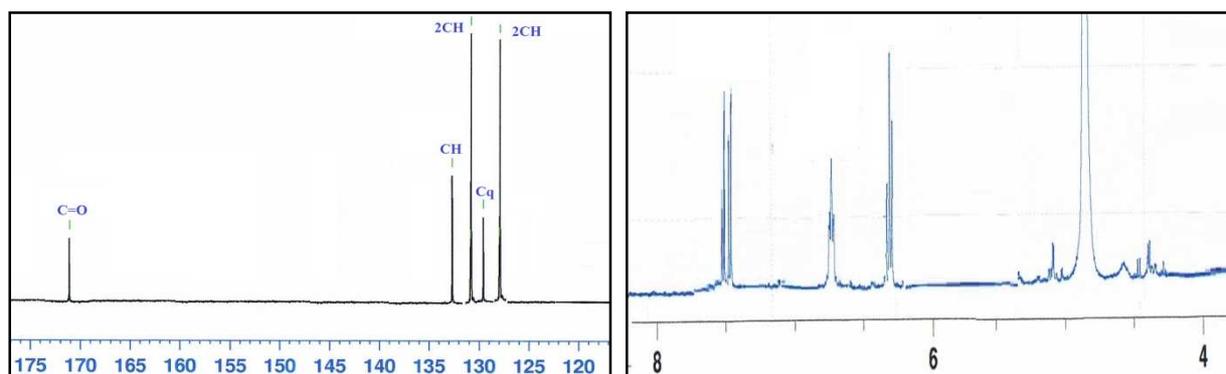
I. 1. 3. 20. Identification structurale du composé HS21



Acide benzoïque

Ce composé qui a été isolé sous forme d'une poudre blanche est visible sur CCM à $\lambda = 254$ et 366 nm. Il ne donne aucune coloration après pulvérisation par une solution acide, mais il se colore en jaune pâle en révélation par les vapeurs d'iode.

Le spectre RMN ^1H (figure I. 1. 3. 20. 1) de ce composé indique sa simplicité par le nombre des signaux qu'il présente dans la zone aromatique. Ceci est clairement confirmé par l'observation du spectre RMN ^{13}C (figure I. 1. 3. 20. 1). Ce dernier exhibe l'existence de cinq groupements CH et deux carbones quaternaires où l'un d'entre eux est attribué à un carbone d'une fonction acide en raison de son déplacement chimique déblindé à $\delta_{\text{C}} 173,0$.

Figure I. 1. 3. 20. 1. Spectres RMN ^1H et ^{13}C du composé HS21

Ces données en plus de la multiplicité remarquée pour les signaux des protons, permettent de conclure la présence d'un acide benzoïque. L'attribution des protons de ce cycle mono-substitué est facilement réalisée ; il est connu que les protons situés en position *para* et *ortho* d'une fonction acide d'un cycle aromatique sont les plus déblindés et apparaissent à champ plus bas, ce qui indique que le signal le moins déblindé sortant à $\delta_{\text{H}} 6,43$ (*t*, $J = 8,0$ Hz) est attribué aux protons H-3 et H-5.

Parmi les signaux restant (figure I. 1. 3. 20. 2) le doublet de doublet ayant le plus grand déplacement chimique est attribué aux protons *ortho* H-2/H-6 ($\delta_{\text{H}} 7,50$, *dd*, $J = 8,2-1,3$ Hz) en raison du fait qu'ils sont les plus proches de la fonction acide et donc statistiquement les plus

enclins à avoir une charge partielle positive par rapport à la position *para* qui est attribuée au signal ($\delta_{\text{H}} 6,71$, *tl*, $J = 8,1$ Hz H-4).

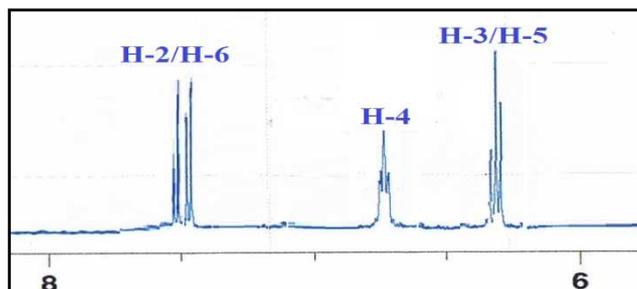


Figure I. 1. 3. 20. 2. Spectre RMN ^1H du composé HS21

Pour les carbones, les pics sortant à 128,5 et 130,4 ppm montrent une grande intensité par rapport aux autres pics (figure I. 1. 3. 20. 3) indiquant la présence de deux carbones pour chaque signal. Le pic à $\delta_{\text{C}} 130,4$ est attribué aux carbones *ortho* C-2/C-6 en raison des mêmes conditions citées précédemment. Par conséquent, le signal à $\delta_{\text{C}} 128,5$ correspond aux carbones C-3/C-5, et le groupement CH restant à $\delta_{\text{C}} 133,8$ est accordé au carbone C-4. Le carbone quaternaire C-1 est localisé à $\delta_{\text{C}} 129,5$.

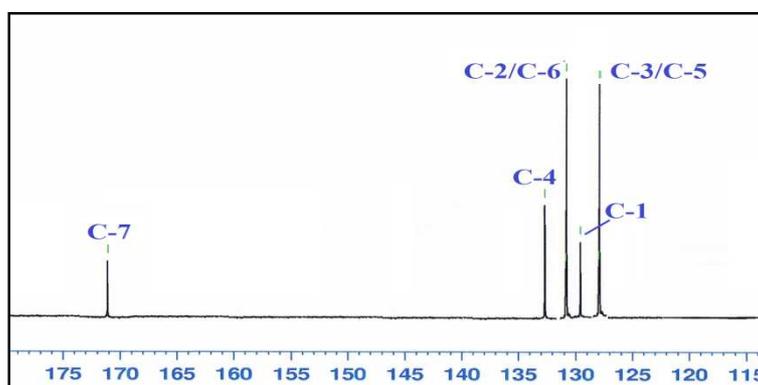


Figure I. 1. 3. 20. 3. Spectre RMN ^{13}C du composé HS21

La comparaison de ces attributions avec celles de la littérature [271] confirme l'identification du composé **HS21** à l'**Acide benzoïque** (figure I. 1. 3. 20. 4). Il a été isolé antérieurement de l'espèce *Helianthemum ordosicum* [272].

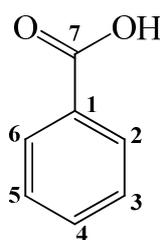


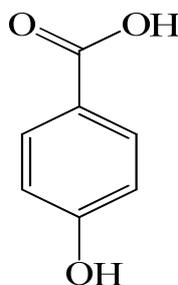
Figure I. 1. 3. 20. 4. Structure du composé HS21 (Acide benzoïque)

Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé **HS21** sont regroupés dans le tableau I. 1. 3. 20.

Tableau I. 1. 3. 20. Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé HS21 enregistrés dans CD_3OD

HS21		
Position	δ_{H} (ppm), <i>m, J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)
1	-	129,5
2	7,50 (1H, <i>dd</i> , $J = 8,2-1,3$)	130,4
3	6,43 (1H, <i>t</i> , $J = 8,0$)	128,5
4	6,71 (1H, <i>tl</i> , $J = 8,1$)	133,8
5	6,43 (1H, <i>t</i> , $J = 8,0$)	128,5
6	7,50 (1H, <i>dd</i> , $J = 8,2-1,3$)	130,4
7	-	173,0

I. 1. 3. 21. Identification structurale du composé HS22



Acide *p*-hydroxybenzoïque

Le composé **HS22** a été aussi purifié sous forme d'une poudre blanche qui donne une tache visible sur CCM se révélant en jaune pâle par les vapeurs d'iode.

Le spectre de masse ESI-MS de ce composé montre un pic d'ion pseudomoléculaire à $m/z = 161,5$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ correspondant à une masse moléculaire de 138 uma et une formule brute en $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3$.

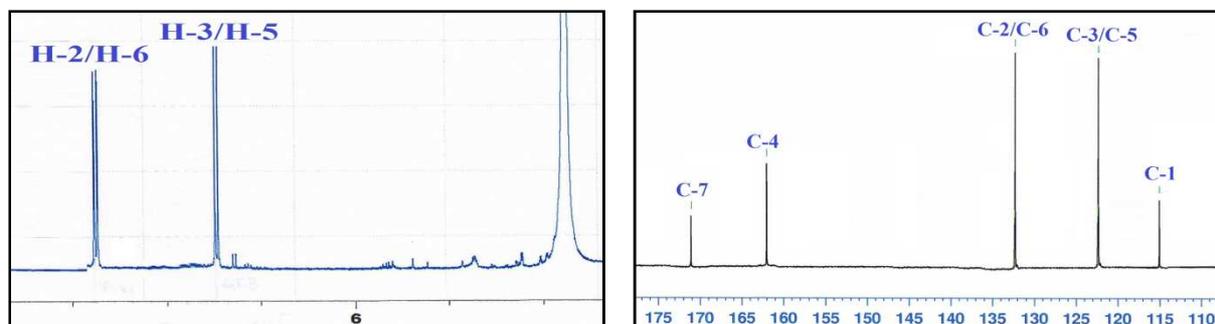


Figure I. 1. 3. 21. 1. Spectres RMN ^1H et ^{13}C du composé HS21

La comparaison des spectres RMN ^1H et ^{13}C (figure I. 1. 3. 21. 1) de ce composé avec ceux du composé précédent **HS20** indique la présence d'un cycle aromatique 1,4-disubstitué dont les protons *ortho* sont identifiés à H-2/H-6 (δ_{H} 7,40, *d*, $J = 8,7$ Hz), ainsi que les protons *mé*ta à H-3/H-5 (δ_{H} 6,53, *d*, $J = 8,7$ Hz). Les carbones de ces protons sont visualisés à δ_{C} 132,0 (C-2/C-6) et δ_{C} 122,0 (C-3/C-5). Les carbones quaternaires de ce composé sont localisés à δ_{C} 115,0 (C-1), δ_{C} 162,4 (C-4) et δ_{C} 178,2 (C-7).

Les valeurs de déplacements chimiques de ces carbones et protons, comparés avec les données de la littérature [273], permettent d'identifier le composé **HS22** à l'Acide *p*-hydroxybenzoïque (figure I. 1. 3. 21. 2).

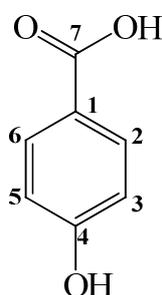


Figure I. 1. 3. 21. 2. Structure du composé **HS22** (Acide *p*-hydroxybenzoïque)

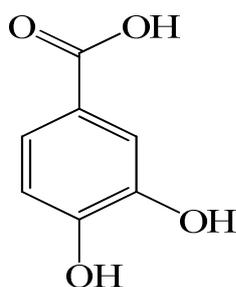
Ce composé est identifié pour la première fois dans le genre *Helianthemum*, mais il a été isolé antérieurement de l'espèce *Cistus ladanifer* de la famille Cistaceae [274].

Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé **HS22** sont réunis dans le tableau I. 1. 3. 21.

Tableau I. 1. 3. 21. Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé **HS22** enregistrés dans CD_3OD

HS22		
Position	δ_{H} (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)
1	-	115,0
2	7,40 (1H, <i>d</i> , $J = 8,7$)	132,0
3	6,53 (1H, <i>d</i> , $J = 8,7$)	122,0
4	-	162,4
5	6,53 (1H, <i>d</i> , $J = 8,7$)	122,0
6	7,40 (1H, <i>d</i> , $J = 8,7$)	132,0
7	-	178,2

I. 1. 3. 22. Identification structurale du composé HS23



Acide protocatechuique

Ce composé, qui est isolé sous forme de cristaux marron foncés, montre une tache visible sur CCM à 254 et 366 nm et se révèle également en jaune pâle par les vapeurs d'iode.

Le spectre de masse ESI-MS (figure I. 1. 3. 22. 1) enregistré en mode négatif de ce composé indique la présence d'un pic d'ion pseudomoléculaire à $m/z = 153,0$ $[M-H]^-$ correspondant à une masse moléculaire de 154 uma et une formule brute en $C_7H_6O_4$.

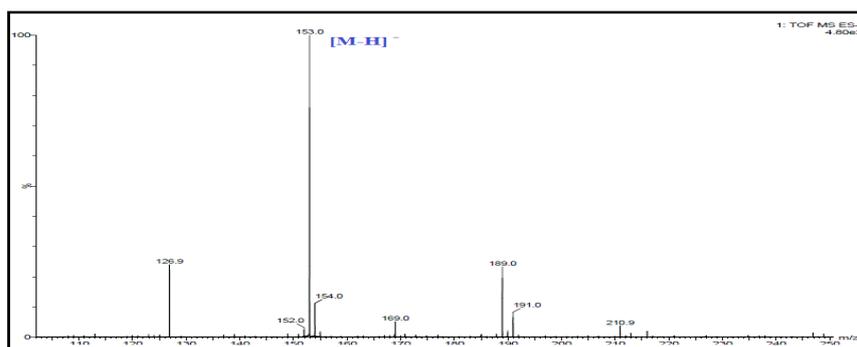
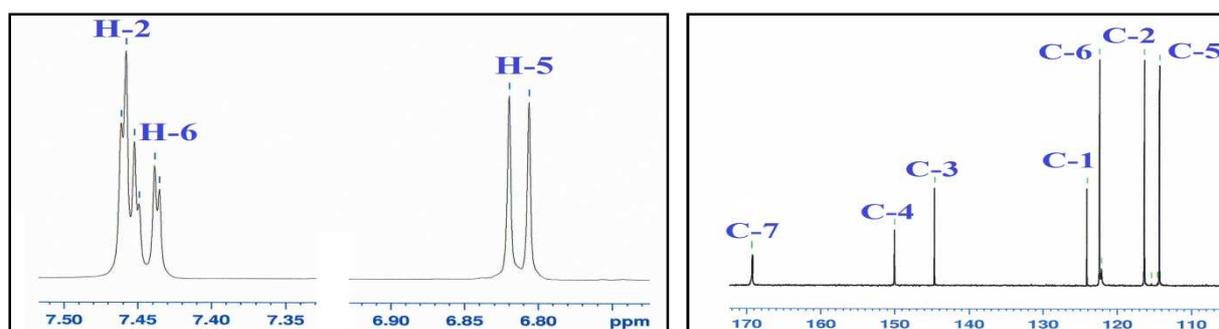


Figure I. 1. 3. 22 1. Spectre de masse ESI-MS du composé HS23

Ce qui est remarquable sur le spectre RMN 1H (figure I. 1. 3. 22. 2) de ce composé, est l'absence de la symétrie au niveau du noyau aromatique rencontrée pour les deux autres dérivés d'acides benzéniques HS21 et HS22. D'ailleurs, il révèle la présence d'un système de spins de type ABX où les protons sont localisés à δ_H 7,46 (*d*, $J = 1,8$ Hz, H-2), 6,81 (*d*, $J = 8,1$ Hz, H-5) et 7,44 (*dd*, $J = 8,2-1,9$ Hz, H-6).

Figure I. 1. 3. 22. 2. Spectres RMN 1H et ^{13}C du composé HS23

Les déplacements chimiques des carbones de ce noyau 1,3,4-trisubstitué (figure I. 1. 3. 22. 2) sont déterminés par comparaison avec les données de la littérature [273]. Ceci conduit à identifier le composé **HS23** comme étant l'**Acide protocatechuique** (figure I. 1. 3. 22. 3). Ce composé qui a été isolé antérieurement de l'espèce *Cistus incanus* [83], est identifié pour la première fois dans le genre *Helianthemum*.

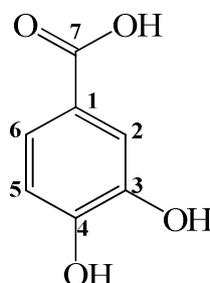


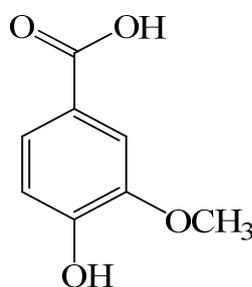
Figure I. 1. 3. 22. 3. Structure du composé **HS23** (Acide protocatechuique)

Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé **HS23** sont présentés dans le tableau I. 1. 3. 22.

Tableau I. 1. 3. 22. Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé **HS23** enregistrés dans CD_3OD

HS23		
Position	δ_{H} (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)
1	-	124,3
2	7,46 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 1,8)	116,3
3	-	144,6
4	-	149,9
5	6,81 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8,1)	114,3
6	7,44 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 8,2-1,9)	122,4
7	-	169,2

I. 1. 3. 23. Identification structurale du composé **HS24**



Acide vanillique

Le composé **HS24** a été purifié sous forme d'une poudre blanche visible à la lumière UV (254 et 366 nm). Il donne une coloration jaune pâle en contact avec les vapeurs d'iode.

La différence entre le spectre RMN ^1H (figure I. 1. 3. 23. 1) de ce composé et le composé précédent **HS23** est la présence d'un signal singulet d'intégration 3H sortant à

δ_H 3,80 correspondant à un groupement méthoxyle. En plus, l'apparition d'un nouveau signal blindé sur le spectre RMN ^{13}C résonant à δ_C 56,7 confirme la présence du groupement méthoxyle. Les autres protons de ce composé sont localisés à δ_H 7,57 (*d*, $J = 1,9$ Hz, H-2), 6,75 (*d*, $J = 8,5$ Hz, H-5) et 7,50 (*dd*, $J = 8,6-1,8$ Hz, H-6). L'assignement des carbones du composé **HS24** est effectué par l'analyse des spectres HSQC et ^{13}C dont les groupements CH apparaissent à δ_C 115,6 (C-2), 114,1 (C-5) et 122,0 (C-6) et les carbones quaternaires à δ_C 123,9 (C-1), 153,1 (C-3), 149,6 (C-4) et 170,0 (C-7) (figure I. 1. 3. 23. 1).

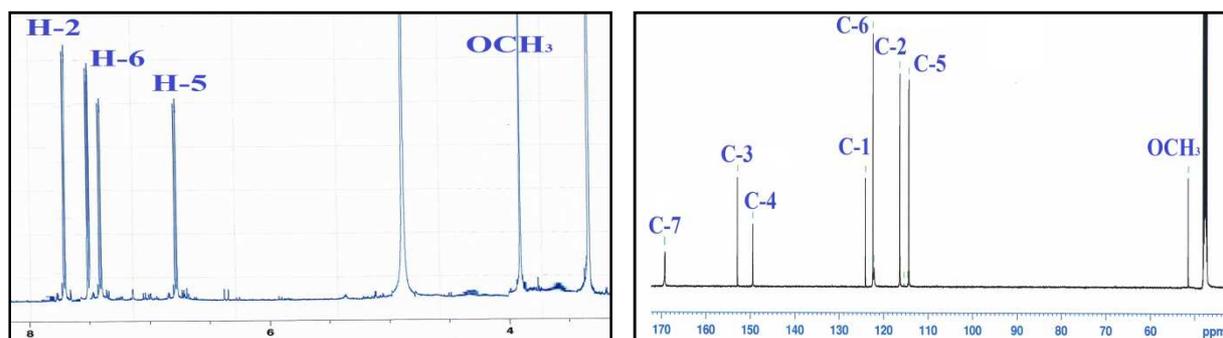


Figure I. 1. 3. 23. 1. Spectres RMN 1H et ^{13}C du composé HS24

La localisation du carbone porteur du groupement méthoxyle est réalisée à partir des corrélations observées sur le spectre HMBC qui montre un couplage entre le proton H-5 et les protons du groupement OCH_3 et le carbone C-3 indiquant la substitution en position C-3 par le groupement méthoxyle. Le proton H-6 corrèle en HMBC avec le carbonyle acide C-7 à δ_C 170,0 et un carbone aromatique oxygéné résonant à δ_C 149,6 indiquant la présence d'un hydroxyle libre en position C-4. Ceci conduit à identifier ce composé comme étant l'**Acide vanillique** (figure I. 1. 3. 23. 2). Cette identification est confirmée par la comparaison avec les données de la littérature [273]. Ce composé a été détecté dans les parties aériennes de l'espèce *Cistus ladanifer* [10]. A notre connaissance, il est isolé pour la première fois dans le genre *Helianthemum*.

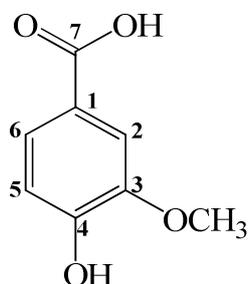


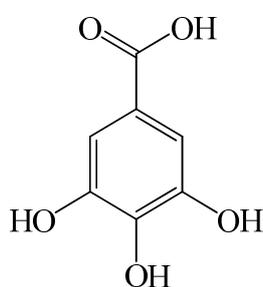
Figure I. 1. 3. 23. 2. Structure du composé HS24 (Acide vanillique)

Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé **HS24** sont réunis dans le tableau I. 1. 3. 23.

Tableau I. 1. 3. 23. Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé HS24 enregistrés dans CD_3OD

HS24		
Position	δ_{H} (ppm), <i>m, J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)
1	-	123,9
2	7,57 (1H, <i>d, J</i> = 1,9)	115,6
3	-	153,1
4	-	149,6
5	6,75 (1H, <i>d, J</i> = 8,5)	114,1
6	7,50 (1H, <i>dd, J</i> = 8,6-1,8)	122,0
7	-	170,0
3-OCH ₃	3,80 (3H, <i>s</i>)	56,7

I. 1. 3. 24. Identification structurale du composé HS25



Acide gallique

Le composé **HS25** a été obtenu lui aussi sous forme d'une poudre blanche. Il montre une tache visible sur CCM à 254 et 366 nm et se colore en jaune pâle après exposition de sa CCM aux vapeurs d'iode.

Il est observé sur le spectre RMN ^1H de ce composé la présence d'un seul signal singulet à δ_{H} 7,00. Son carbone est détecté à 107 ppm par expérience HSQC.

Le spectre RMN ^{13}C (figure I. 1. 3. 24. 1) permet de compter cinq signaux correspondant à C-2/C-6 (δ_{C} 109,0), C-3/C-5 (δ_{C} 145,7), le carbone oxygéné C-4 à δ_{C} 138,3, le carbone quaternaire C-1 à δ_{C} 121,1 et le carbone de la fonction acide à C-7 (δ_{C} 168,0). Ces attributions ont été confirmées par comparaison avec les données de la littérature [250].

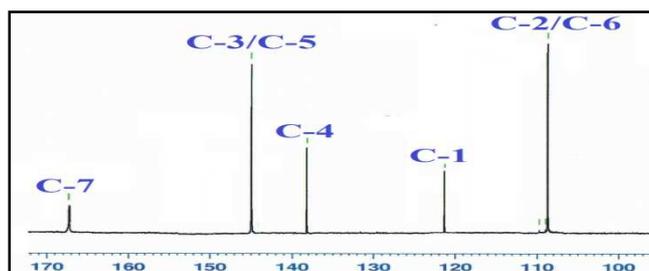


Figure I. 1. 3. 24. 1. Spectre RMN ^{13}C du composé HS25

Ces données montrent clairement la présence d'un acide benzenique trihydroxylé connu sous le nom **Acide gallique** (figure I. 1. 3. 24. 2). Ce composé qui est un dérivé de l'acide benzoïque est le plus répandu dans le genre *Helianthemum*. Il a été isolé antérieurement des espèces *H. alypoides*, *H. cinereum* subsp. *rotundifolium*, *H. hirtum*, *H. asperum* et *H. marifolium* subsp. *marifolium* [107]. Comme, il a été trouvé dans quelques espèces du genre *Cistus* : *C. ladanifer* [10], *C. incanus* [234] et *C. villosus* [275].

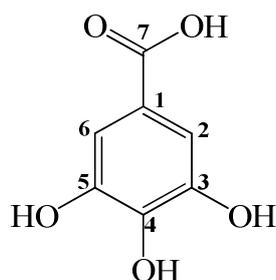


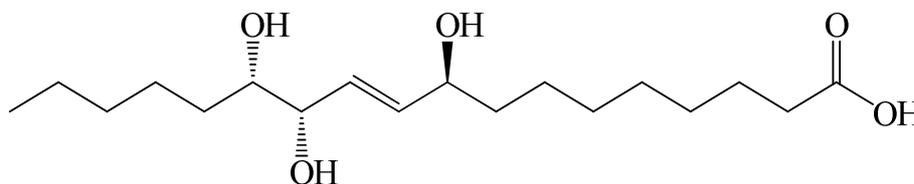
Figure I. 1. 3. 24. 2. Structure du composé HS25 (Acide gallique)

Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé **HS25** sont regroupés dans le tableau I. 1. 3. 24.

Tableau I. 1. 3. 24. Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé HS25 enregistrés dans CD_3OD

HS25		
Position	δ_{H} (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)
1	-	121,1
2	7,00 (1H, <i>s</i>)	109,0
3	-	145,7
4	-	138,3
5	-	145,7
6	7,00 (1H, <i>s</i>)	109,0
7	-	168,0

I. 1. 3. 25. Identification structurale du composé HS26



Acide (-)-pinéllique

Ce composé a été isolé sous forme d'une poudre blanche. Il est invisible à la lumière UV aux longueurs d'onde 254 et 366 nm et se colore en mauve claire après révélation par une solution acide et chauffage à 100 °C.

Le spectre de masse ESI-MS du composé **HS26** (figure I. 1. 3. 25. 1) enregistré en mode positif montre la présence d'un pic d'ion pseudomoléculaire à $m/z = 353,3$ $[M+Na]^+$, soit une masse moléculaire égale à 330 uma et une formule brute en $C_{18}H_{34}O_5$, correspondant à un nombre d'insaturations égal à 2. Ce nombre d'insaturations exclue la nature aromatique pour ce composé.

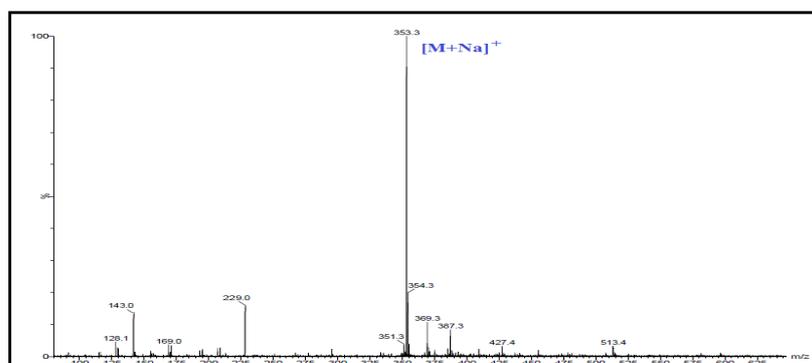


Figure I. 1. 3. 25. 1. Spectre de masse ESI-MS du composé HS26

Le spectre RMN 1H (figure I. 1. 3. 25. 2) de ce composé indique l'absence des signaux des protons aromatiques rencontrés dans tous les composés élucidés précédemment et révèle seulement deux signaux sous forme de doublet de doublets à 5,75 ($dd, J = 15,6-6,0$ Hz, 1H) et 5,69 ($dd, J = 15,6-5,8$ Hz, 1H) correspondant à deux protons éthyléniques.

De même, il est observé sur ce spectre trois protons oxyméthines résonnant à δ_H 3,43, 3,93 et 4,06, un méthylène à δ_H 2,30, un nombre important de signaux sortant dans la zone s'étallant de 1,30 à 1,70 ppm et un signal triplet d'intégration 3H à δ_H 0,94 indiquant l'existence d'un groupement méthylique terminal.

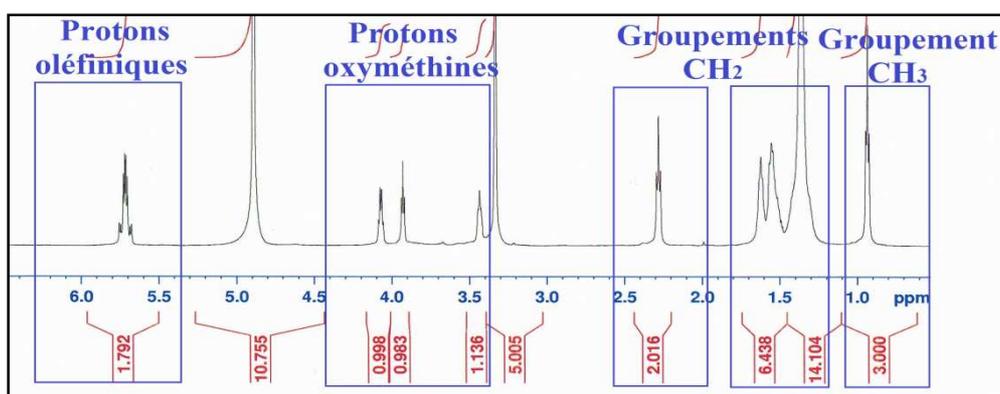


Figure I. 1. 3. 25. 2. Spectre RMN 1H du composé HS26

Les spectres RMN ^{13}C et DEPT (figure I. 1. 3. 25. 3) confirment la présence de :

- Deux groupements oléfiniques CH par les pics sortant à δ_C 129,6 et 135,1.
- Trois groupements oxyméthines CHO qui sont repérés à δ_C 71,6, 74,3 et 75,1.
- 11 pics des groupements CH_2 sortant dans la zone allant de 20 à 40 ppm.

- Un groupement méthylique qui résonne à δ_C 13,0.

Toutefois, le spectre RMN ^{13}C permet de visualiser un pic à δ_C 177,0 caractéristique d'un carbone d'une fonction acide. L'attachement de ces carbones avec leurs protons associés est réalisé par l'analyse du spectre HSQC.

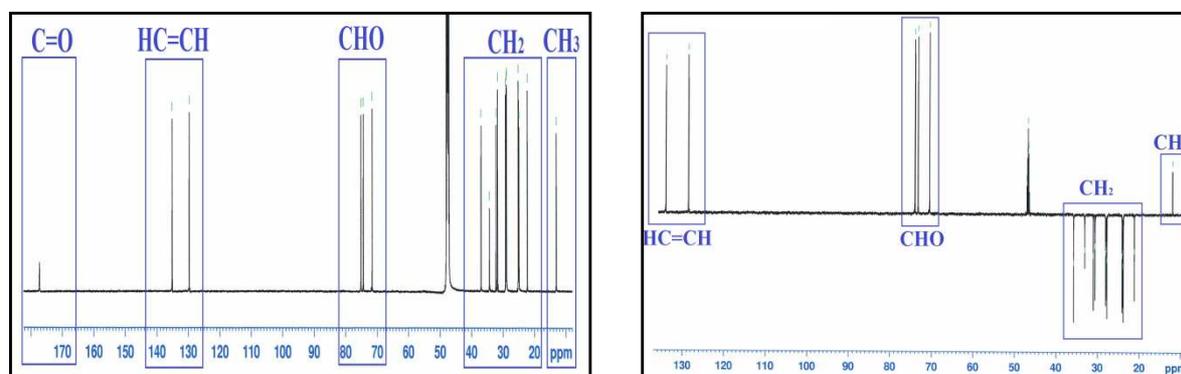


Figure I. 1. 3. 25. 3. Spectres RMN ^{13}C et DEPT du composé HS26

Ces données permettent de suggérer l'appartenance du composé **HS26** à la classe des acides gras mono-insaturés.

L'identification de l'enchaînement des carbones de cet acide gras mono-insaturé est débutée à partir des protons oléfiniques résonant à δ_H 5,75 (*dd*, $J = 15,6-6,0$ Hz) et 5,69 (*dd*, $J = 15,6-5,8$ Hz) dont le spectre COSY H-H (figure I. 1. 3. 25. 7) montre les couplages de ces protons entre eux avec une constante de couplage $J = 15,6$ Hz indiquant une configuration *trans*. Comme, il montre aussi un couplage entre le proton oléfinique à δ_H 5,75 et un proton oxyméthine localisé à δ_H 4,06 (*dd*, $J = 12,0-6,0$ Hz). De même pour le deuxième proton éthylénique résonant à δ_H 5,69, il couple avec un autre proton oxyméthine à δ_H 3,93 (*t*, $J = 5,8$ Hz). Ce dernier couple à son tour sur le spectre COSY H-H avec un troisième proton oxyméthine résonant à δ_H 3,43 (*t*, $J = 5,8$ Hz). Ce qui permet de construire le fragment structural suivant (figure I. 1. 3. 25. 4) :

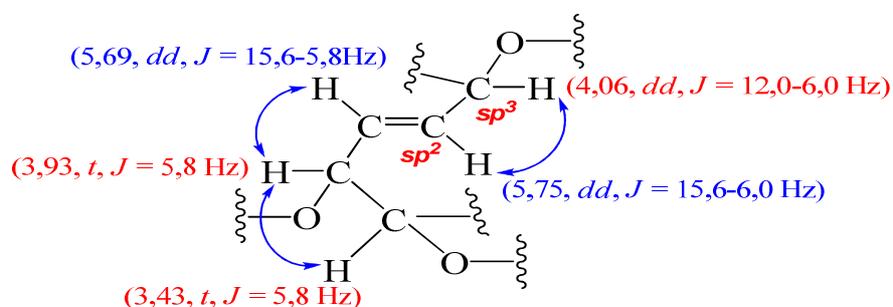


Figure I. 1. 3. 25. 4. Corrélations COSY H-H des protons oléfiniques du composé HS26

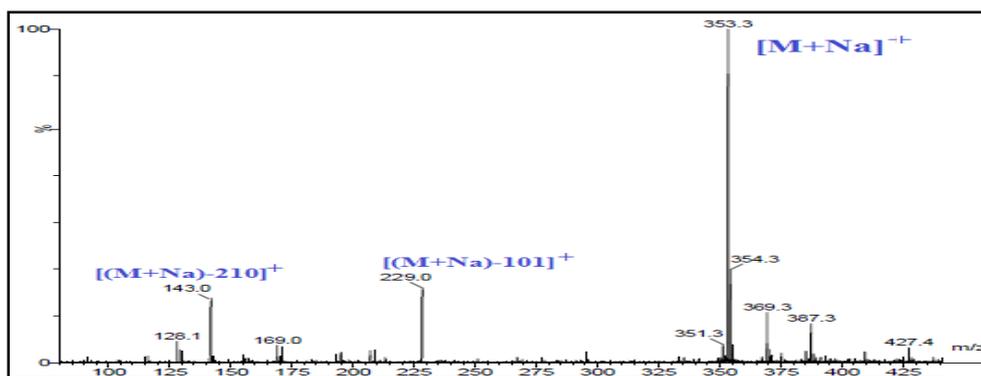


Figure I. 1. 3. 25. 5. Spectre MS/MS du composé HS26

Le spectre de masse MS/MS (figure I. 1. 3. 25. 5) indique la présence de deux pics de fragmentation à $m/z = 143$ $[(M+Na)-210]^+$ et 229 $[(M+Na)-101]^+$ correspondant aux groupements $(CH_2)_7COOH$ et $(C_{11}H_{20}O_2)COOH$ respectivement (figure I. 1. 3. 25. 6).

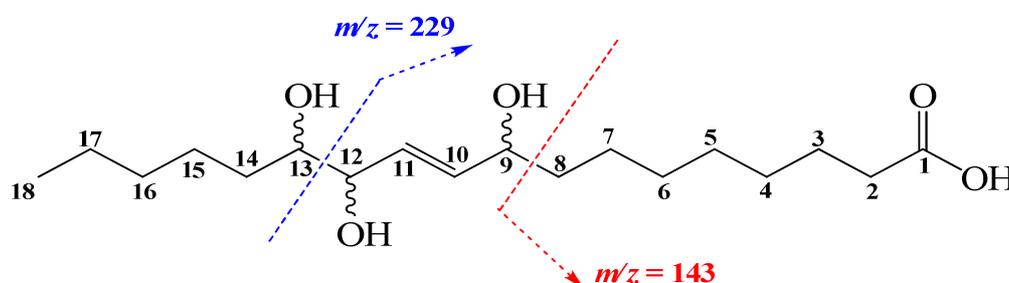


Figure I. 1. 3. 25. 6. Fragmentation du composé HS26

Il en résulte que la double liaison est localisée en position $^{10}C=^{11}C$. Ceci permet d'identifier les protons oléfiniques résonant à δ_H 5,75 et 5,69 comme étant H-10 et H-11 respectivement. Le proton H-11 couple en COSY H-H (figure I. 1. 3. 25. 7) avec H-12 (δ_H 3,93) corrélant à son tour avec H-13 (δ_H 3,43). Ce dernier couple également avec les protons H₂-14 (δ_H 1,56, *m*, H-14a/ δ_H 1,33, *m*, H-14b).

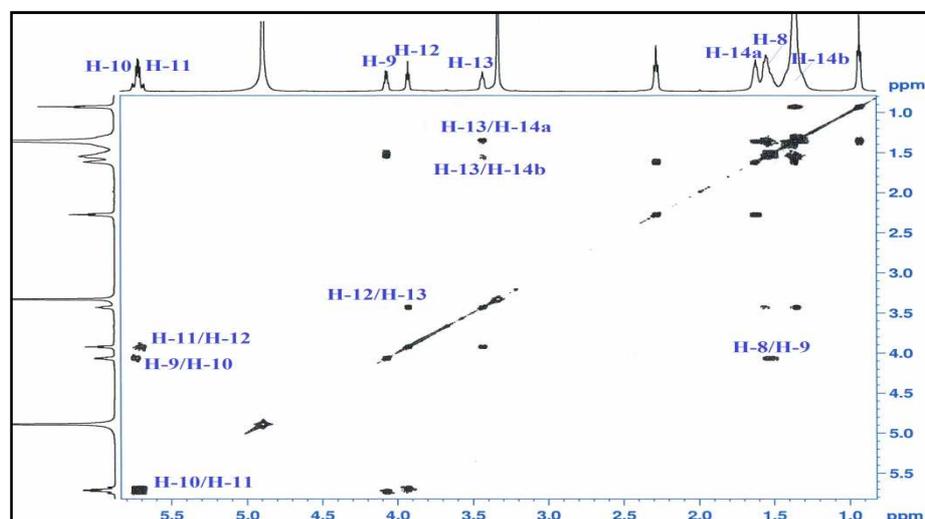


Figure I. 1. 3. 25. 7. Spectre COSY H-H du composé HS26

Le spectre COSY H-H (figure I. 1. 3. 25. 7) permet d'observer aussi le couplage entre le proton oxyméthine résonant à δ_H 4,06, attribuable au proton H-9, et les protons localisés à (δ_H 1,55, *m*) identifiés clairement comme étant 8-CH₂. Ces couplages permettent d'identifier les protons du fragment structural : $^{-14}\text{CH}_2\text{-}^{13}\text{CHOH-}^{12}\text{CHOH-}^{11}\text{CH=}^{10}\text{CH-}^9\text{CHOH-}^8\text{CH}_2\text{-}$ (figure I. 1. 3. 25. 8).

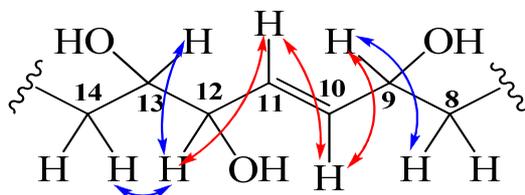


Figure I. 1. 3. 25. 8. Corrélations COSY H-H du fragment interne du composé HS26

Cet enchainement est confirmé une fois de plus par les corrélations H/C en 2J et 3J observées sur le spectre HMBC (figure I. 1. 3. 25. 9) entre :

- Le proton oléfinique H-10 et les carbones C-11 (δ_C 129,6), C-12 (δ_C 75,1), C-9 (δ_C 71,6) et C-8 (δ_C 36,9).
- Le proton oléfinique H-11 et les carbones C-9, C-10 (δ_C 135,1), C-12 et C-13 (δ_C 74,3).
- Le proton oxyméthine H-9 et les carbones C-8, C-10, C-11 et un carbone à (δ_C 25,2/ δ_H 1,54) qui ne peut être que le carbone du groupement 7-CH₂.
- Les protons H₂-8 et les carbones C-10, C-9, C-7 et un carbone à δ_C 29,1 attribué au groupement 6-CH₂ (δ_H 1,33).
- Les protons H₂-7 (δ_H 1,54, *m*) et les carbones C-9, C-8, C-6 et le carbone à δ_C 29,0 qui est clairement celui du groupement 5-CH₂ (δ_H 1,33).
- Le proton H-12 et les carbones C-10, C-11, C-13 et C-14 (δ_C 32,1).
- Le proton H-13 et les carbones C-11, C-12, C-14 et un carbone à (δ_C 25,0/ δ_H 1,33) qui est attribué au groupement 15-CH₂.

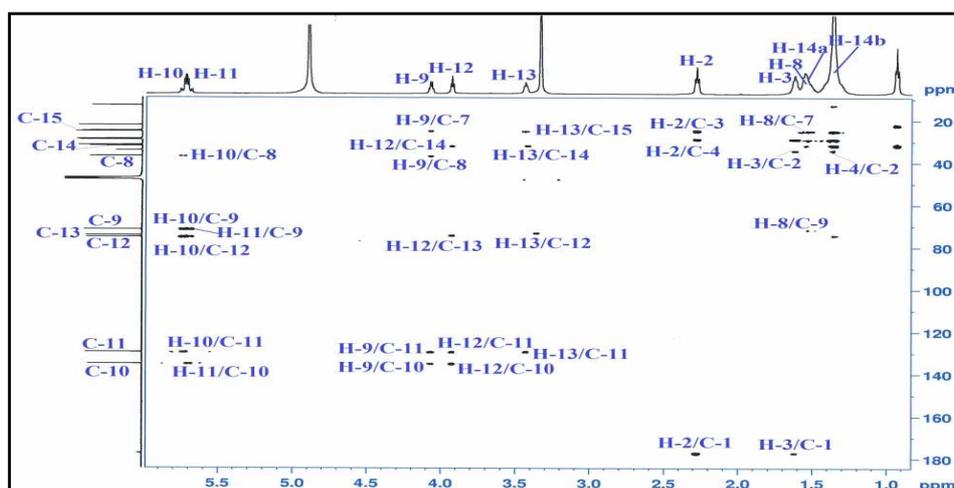


Figure I. 1. 3. 25. 9. Spectre HMBC du composé HS26

A cette étape d'élucidation structurale du composé **HS26**, les données obtenues à travers ces analyses permettent de localiser les protons et carbones de la partie suivante de la chaîne de cet acide gras :

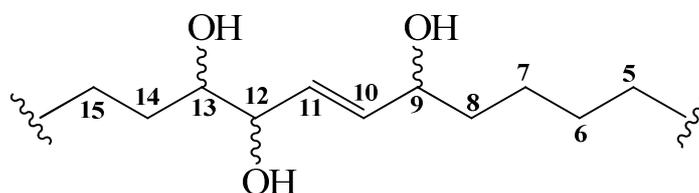


Figure I. 1. 3. 25. 10. Fragment structural du composé HS26

Le spectre HMBC (figure I. 1. 3. 25. 11) de ce composé montre aussi des corrélations entre les protons d'un groupement CH_2 et le carbone C-1 ($\delta_{\text{C}} 177,0$) de la fonction acide. Ces protons qui sont attribués à H_2 -2 ($\delta_{\text{H}} 2,30$, *t*, $J = 7,3$ Hz) corréleront lui aussi avec d'autres carbones résonant à $\delta_{\text{C}} 24,9$ et $28,8$ attribués aux carbones C-3 et C-4 respectivement en raison de la corrélation des protons H_2 -3 ($\delta_{\text{H}} 1,62$, *m*) avec le carbone C-1 et le carbone C-5 identifiés précédemment. Ces résultats permettent d'identifier la première extrémité de cette chaîne comme le montre la figure I. 1. 3. 25. 11, ce qui est en accord avec les données du spectre de masse MS/MS.

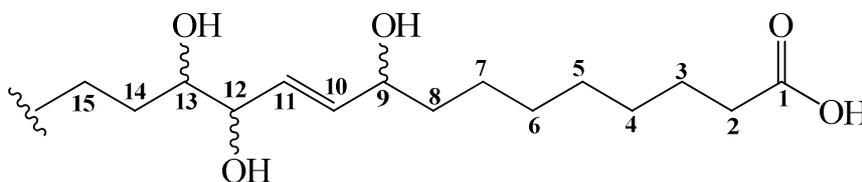


Figure I. 1. 3. 25. 11. Partie de la chaîne du composé HS26

Les corrélations HMBC et COSY H-H (figure I. 1. 3. 25. 12) observées pour l'autre bout de la chaîne de ce composé, qui est le groupement méthylique 18- CH_3 ($\delta_{\text{C}} 0,94/\delta_{\text{H}} 13,0$), conduisent à compléter la localisation des protons et carbones de cette chaîne par le couplage observé sur le spectre COSY H-H entre les protons H_3 -18 et les protons H_2 -17 ($\delta_{\text{H}} 1,35$).

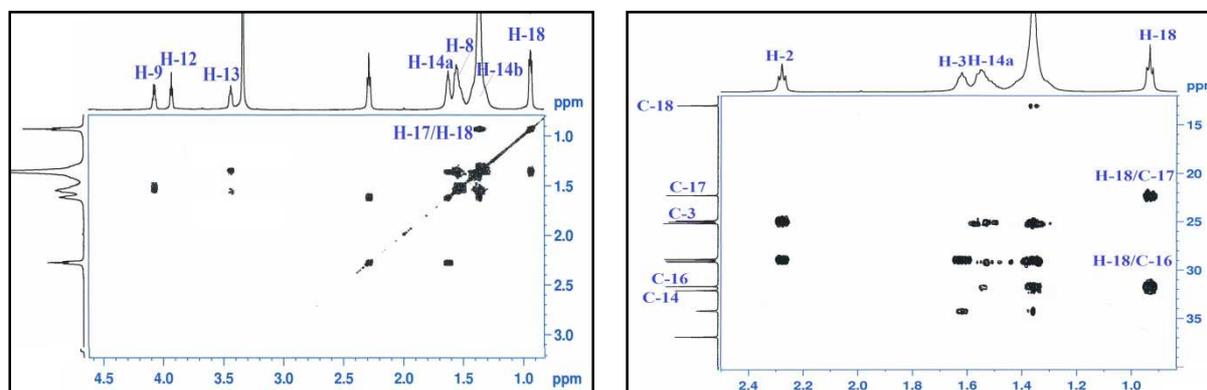


Figure I. 1. 3. 25. 12. Spectres COSY H-H et HMBC des protons méthyliques du composé HS26

Il en est de même pour les corrélations visualisées sur le spectre HMBC de ces protons méthyliques H₃-18 et les carbones C-17 (δ_C 22,3) et C-16 (δ_C 31,7/ δ_H 1,33) donnant naissance à une chaîne constituée de 18 atomes de carbone (figure I. 1. 3. 25. 13) comme l'indique le spectre de masse.

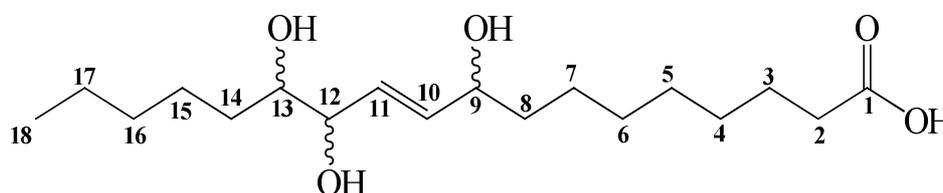


Figure I. 1. 3. 25. 13. Chaîne carbonée du composé HS26

A ce stade d'analyse, les déplacements chimiques de tous les protons et carbones sont assignés (figure I. 1. 3. 25. 14) et il reste à déterminer les configurations des carbones chiraux en positions C-9, C-12 et C-13.

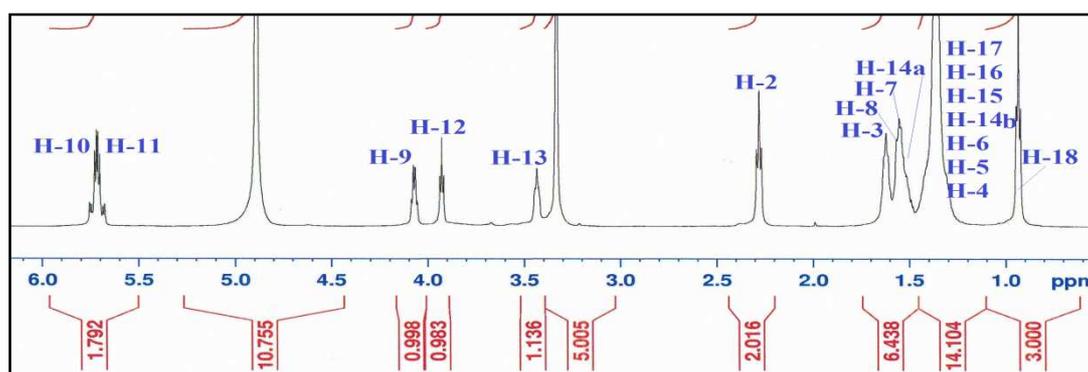


Figure I. 1. 3. 25. 14. Spectres RMN ¹H du composé HS26

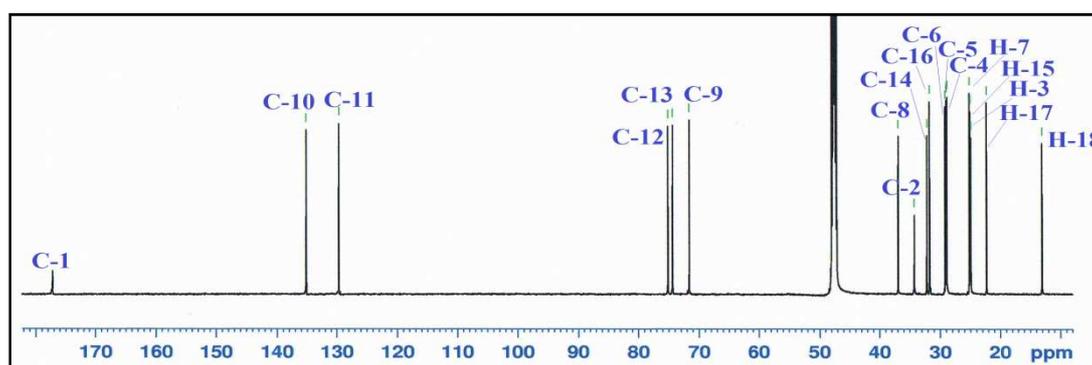


Figure I. 1. 3. 25. 15. Spectres RMN ¹³C du composé HS26

Ceci est réalisé par la mesure du pouvoir rotatoire qui est égale à ($[\alpha]_D = -9,5$, $c = 0,32$, MeOH) indiquant une configuration absolue (9*S*, 12*S*, 13*S*) en comparaison avec la littérature ($[\alpha]_D = -10,0$, $c = 0,36$, MeOH) [276].

Sur la base de ces analyses et par comparaison avec les données de la littérature, le composé **HS26** est identifié à l'Acide (9*S*,12*S*,13*S*)-(E)-9,12,13-trihydroxy-10-octadécanoïque connu sous le nom de l'Acide (-)-pinéllique (figure I. 1. 3. 25. 16) [277].

Des études pharmacologiques effectuées sur ce composé, qui est détecté pour la première fois dans la famille Cistaceae, montrent sa puissance comme un adjuvant oral pour les vaccins nasaux de la grippe HA [278]. Il a été isolé antérieurement des espèces *Pinella ternata* (Araceae) [278] et *Chaenomeles sinensis* (Rosaceae) [279].

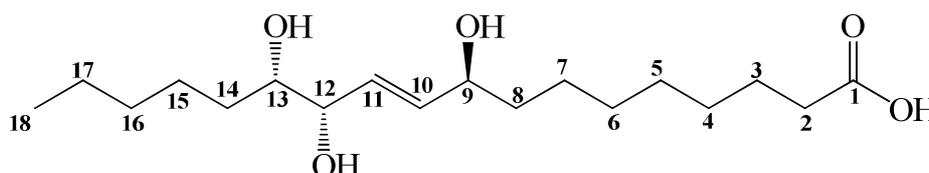


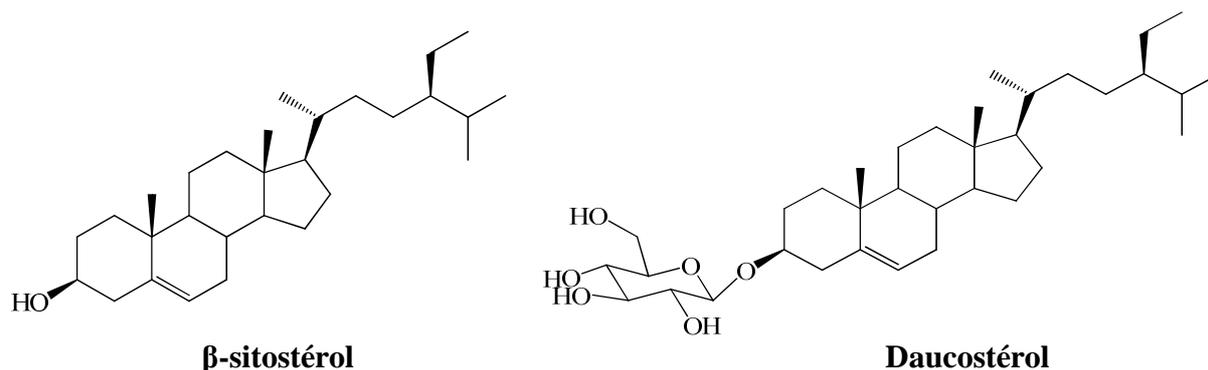
Figure I. 1. 3. 25. 16. Structure du composé HS26 (Acide (-)-pinéllique)

Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé **HS26** sont rassemblés dans le tableau I. 1. 3. 25.

Tableau I. 1. 3. 25. Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé HS26 enregistrés dans CD_3OD

HS26		
Position	δ_{H} (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)
1	-	177,0
2	2,30 (2H, <i>t</i> , <i>J</i> = 7,7)	34,2
3	1,62 (2H, <i>m</i>)	24,9
4	1,33 (2H, <i>m</i>)	28,8
5	1,33 (2H, <i>m</i>)	29,0
6	1,33 (2H, <i>m</i>)	29,1
7	1,54 (2H, <i>m</i>)	25,2
8	1,55 (2H, <i>m</i>)	36,9
9	4,06 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 12,0-6,0)	71,6
10	5,75 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 15,5-6,0)	135,1
11	5,69 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 15,6-5,8)	129,6
12	3,93 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 5,8)	75,1
13	3,43 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 5,8)	74,3
14a	1,56 (1H, <i>m</i>)	32,1
14b	1,33 (1H, <i>m</i>)	
15	1,33 (2H, <i>m</i>)	25,0
16	1,33 (2H, <i>m</i>)	31,7
17	1,35 (2H, <i>m</i>)	22,3
18	0,94 (3H, <i>t</i> , <i>J</i> = 7,0)	13,0

I. 1. 3. 26. Identification structurale des composés HS27 et HS28



Le composé **HS27** est isolé sous forme d'une poudre blanche, alors que le composé **HS28** est purifié sous forme de cristaux blancs. Ces deux composés présentent sur CCM des taches invisibles à la lumière UV et se colorent en mauve après révélation par une solution acide et chauffage à 100 °C. La comparaison de leur CCM avec des échantillons témoins suggère qu'il s'agit de deux phytostérols nommés β -sitostérol (**HS27**) et Daucostérol (**HS28**).

La comparaison des données obtenues à travers l'analyse des spectres RMN ^1H et ^{13}C de ces deux composés avec celles de la littérature confirme l'identification du composé **HS27** au β -sitostérol [280] et du composé **HS28** au Daucostérol [281] (Figure I. 1. 3. 26. 1).

Les composés **HS27** et **HS28**, qui sont des phytostérols les plus répandus dans le règne végétal, ont été identifiés antérieurement dans les espèces *Cistus symphitifolius* [76] et *Cistus laurifolius* [244] respectivement.

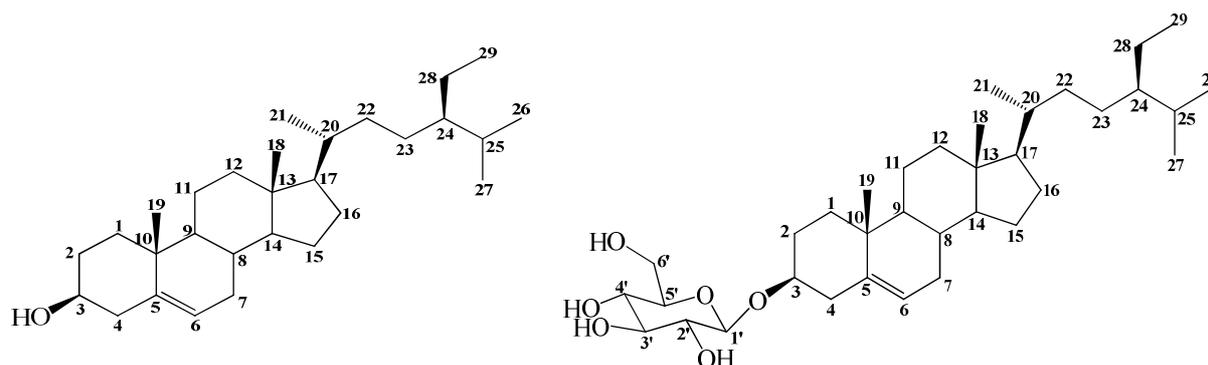


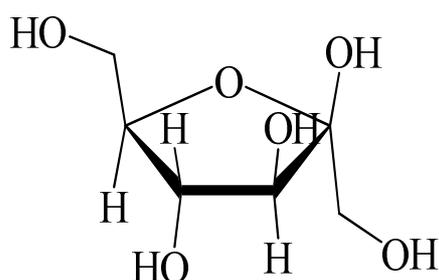
Figure I. 1. 3. 26. 1. Structures des composés HS27 (β -sitostérol) et HS28 (Daucostérol)

Les déplacements chimiques des protons et carbones des composés **HS27** et **HS28** sont donnés dans le tableau I. 1. 3. 26.

Tableau I. 1. 3. 26. Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) des composés HS27 et HS28 enregistrés dans CDCl_3 et $\text{CD}_3\text{OD}-\text{CDCl}_3$ respectivement

Position	HS27		HS28	
	δ_{H} (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)
1a	1,87 (1H, <i>m</i>)	38,2	1,81 (1H, <i>m</i>)	38,5
1b	1,06 (1H, <i>m</i>)		1,04 (1H, <i>m</i>)	
2a	1,90 (1H, <i>m</i>)	30,9	1,86 (1H, <i>m</i>)	30,0
2b	1,63 (1H, <i>m</i>)		1,31 (1H, <i>m</i>)	
3	3,60 (1H, <i>m</i>)	71,7	3,48 (1H, <i>m</i>)	80,3
4a	2,40 (1H, <i>m</i>)	40,1	2,32 (1H, <i>m</i>)	39,3
4b	2,25 (1H, <i>m</i>)		2,24 (1H, <i>m</i>)	
5	-	141,2	-	141,8
6	5,35 (1H, <i>dl</i> , <i>J</i> = 5,0)	122,3	5,25 (1H, <i>dl</i> , <i>J</i> = 5,0)	123,3
7a	1,98 (1H, <i>m</i>)	32,5	1,91 (1H, <i>m</i>)	33,1
7b	1,43 (1H, <i>m</i>)		1,51 (1H, <i>m</i>)	
8	0,90 (1H, <i>m</i>)	32,8	1,40 (1H, <i>m</i>)	33,1
9	0,91 (1H, <i>m</i>)	51,2	0,90 (1H, <i>m</i>)	51,4
10	-	37,4	-	37,9
11a	1,49 (1H, <i>m</i>)	21,4	1,48 (1H, <i>m</i>)	22,2
11b	1,50 (1H, <i>m</i>)		1,43 (1H, <i>m</i>)	
12a	2,00 (1H, <i>m</i>)	40,6	2,05 (1H, <i>m</i>)	41,0
12b	1,15 (1H, <i>m</i>)		1,12 (1H, <i>m</i>)	
13	-	43,2	-	43,5
14	0,90 (1H, <i>m</i>)	57,4	0,96 (1H, <i>m</i>)	58,0
15a	1,63 (1H, <i>m</i>)	25,7	1,54 (1H, <i>m</i>)	25,5
15b	1,06 (1H, <i>m</i>)		1,05 (1H, <i>m</i>)	
16	2,03 (2H, <i>m</i>)	26,8	1,80 (2H, <i>m</i>)	29,4
17	1,09 (1H, <i>m</i>)	56,4	1,10 (1H, <i>m</i>)	57,3
18	0,67 (3H, <i>s</i>)	12,6	0,56 (3H, <i>s</i>)	13,0
19	1,00 (3H, <i>s</i>)	19,9	0,90 (3H, <i>s</i>)	20,4
20	1,37 (1H, <i>m</i>)	37,3	1,31 (1H, <i>m</i>)	37,3
21	0,91 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,0)	19,3	0,80 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,0)	19,9
22a	1,33 (1H, <i>m</i>)	34,6	1,30 (1H, <i>m</i>)	35,1
22b	1,02 (1H, <i>m</i>)		0,99 (1H, <i>m</i>)	
23	1,15 (2H, <i>m</i>)	25,7	1,07 (2H, <i>m</i>)	27,3
24	0,90 (1H, <i>m</i>)	46,7	0,93 (1H, <i>m</i>)	47,1
25	1,66 (1H, <i>m</i>)	29,4	1,62 (1H, <i>m</i>)	30,3
26	0,79 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,7)	19,3	0,70 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,7)	20,1
27	0,83 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,7)	20,4	0,71 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,7)	20,9
28a	1,24 (1H, <i>m</i>)	23,5	1,23 (1H, <i>m</i>)	24,2
28b	1,20 (1H, <i>m</i>)		1,18 (1H, <i>m</i>)	
29	0,85 (3H, <i>t</i> , <i>J</i> = 7,5)	12,8	0,75 (3H, <i>t</i> , <i>J</i> = 7,5)	13,1
1'	-	-	4,30 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 7,8)	101,5
2'	-	-	3,14 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 7,8)	73,9
3'	-	-	3,33 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 7,9)	76,5
4'	-	-	3,30 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 7,7)	70,3
5'	-	-	3,18 (1H, <i>m</i>)	76,1
6'a	-	-	3,76 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 11,9-2,9)	62,0
6'b	-	-	3,70 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 11,9-4,9)	

I. 1. 3. 27. Identification structurale du composé HS29

 **β -D-fructofuranose**

Ce composé est isolé sous forme de cristaux blancs solubles dans le méthanol. Il est invisible à la lumière UV et se révèle en noire par une solution acide et chauffage à 100 °C suggérant la présence d'un sucre.

Ces suggestions se trouvent renforcées par le spectre RMN ^1H (Figure I. 1. 3. 27. 1) qui exhibe la présence de sept signaux, d'intégration 1H chacun, résonnant dans la zone caractéristique des protons osidiques (3,50 à 4,50 ppm). Aussi, le spectre RMN ^{13}C (Figure I. 1. 3. 27. 1) montrant un carbone quaternaire résonnant à δ_{C} 107,8, trois groupements CH sortant à δ_{C} 83,2, 81,1 et 77,5 et deux groupements CH_2 à δ_{C} 61,4 et 59,1, met en évidence la présence d'un hexose.

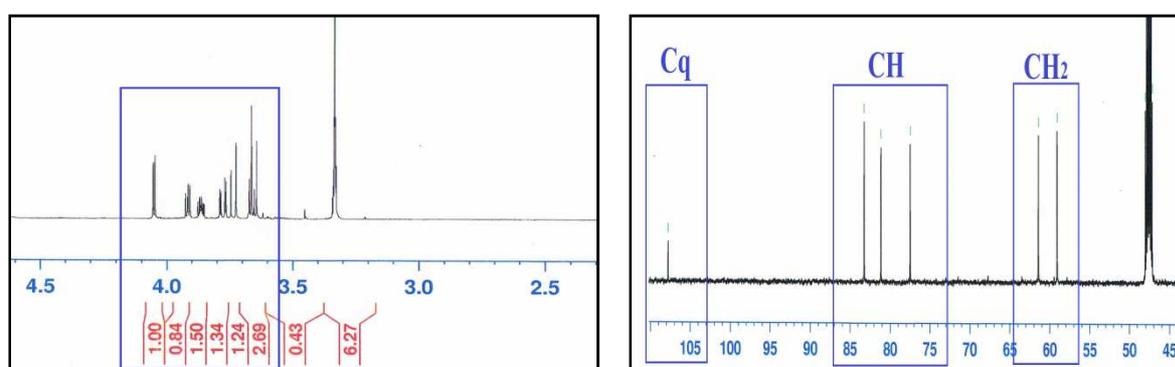


Figure I. 1. 3. 27. 1. Spectres RMN ^1H et ^{13}C du composé HS29

L'identification des protons de cet hexose est basée sur l'analyse du spectre COSY H-H (Figure I. 1. 3. 27. 2). En effet, il montre le couplage des deux protons accordés sur le spectre HSQC au carbone sortant à δ_{C} 59,1. Ces protons géminés qui apparaissent sous forme de doublet avec $J = 11,9$ Hz sont attribués à un groupement hydroxyméthylène. Ce dernier est lié à un carbone quaternaire laissant présager l'appartenance de ce composé osidique à la série des cétohexoses. Ceci permet d'attribuer ces protons à H-1a (δ_{H} 3,73, d , $J = 11,9$ Hz) et H-1b (δ_{H} 3,65, d , $J = 11,9$ Hz) tandis que le carbone quaternaire (δ_{C} 107,8) correspond à l'anomère C-2.

Ce spectre montre aussi un système de spins à cinq protons constituant le fragment $-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}(\text{OH})-\text{CHO}(\text{CH}_2\text{OH})-$ par les couplages observés entre les protons H-3 ($\delta_{\text{H}} 4,05$, *d*, $J = 4,2$ Hz) et H-4 ($\delta_{\text{H}} 3,92$, *dd*, $J = 6,4-4,2$ Hz) dont la valeur de $J_{\text{H-3/H-4}}$ conduit à attribuer une orientation *trans* pour ces deux protons.

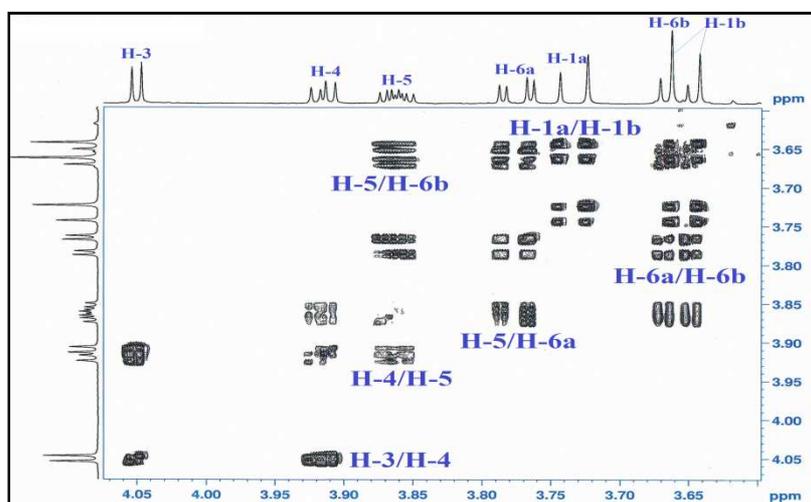


Figure I. 1. 3. 27. 2. Spectre COSY H-H du composé HS29

Le proton H-4 révèle aussi une autre corrélation sur le spectre COSY avec un proton résonant à $\delta_{\text{H}} 3,86$ (*ddd*, $J = 6,4-5,0-3,0$ Hz) qui ne peut être que le proton H-5 où la constante de couplage $J_{\text{H-4/H-5}} = 6,4$ Hz indique aussi une orientation *trans* pour les protons H-4 et H-5.

Le proton H-5 couple également sur le spectre COSY H-H (Figure I. 1. 3. 27. 2) avec deux protons géminés H-6a ($\delta_{\text{H}} 3,77$, *dd*, $J = 11,8-3,0$ Hz) et H-6b ($\delta_{\text{H}} 3,66$, *dd*, $J = 11,9-5,1$ Hz) (Figure I. 1. 3. 27. 4) ; les valeurs de déplacement chimique de ces protons indiquent aussi leur position exocyclique [282]. Toutes ces données traduisent bien évidemment la présence d'un cétohexose de type D-fructofuranose (Figure I. 1. 3. 27. 3).

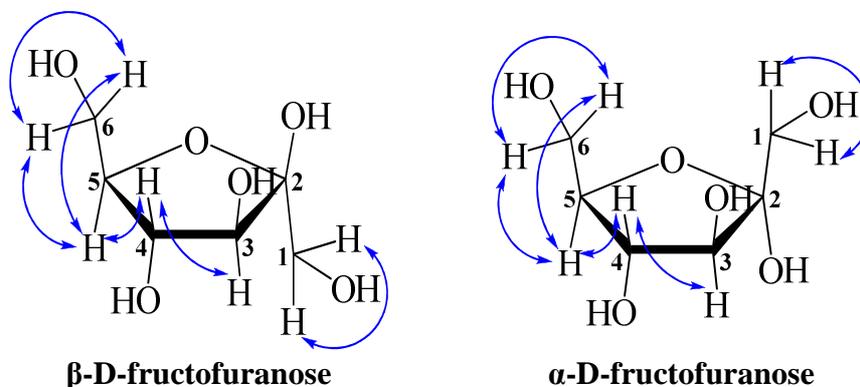


Figure I. 1. 3. 27. 3. Corrélations COSY H-H des deux structures proposées pour le composé HS29

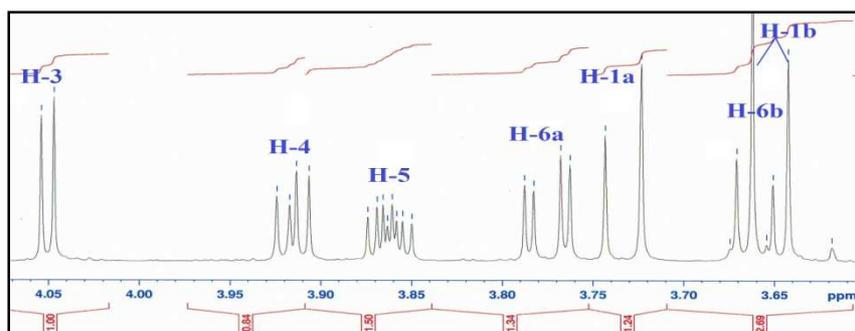


Figure I. 1. 3. 27. 4. Spectre RMN ^1H du composé HS29

La présence du cycle furane est confirmée par l'analyse du spectre HMBC (Figure I. 1. 3. 27. 5) qui montre une corrélation en 3J entre le proton H-5 et l'anomère C-2 (δ_{C} 107,8). Cette corrélation est absente dans les osides de type fructopyranose. Aussi, il indique l'absence du couplage des protons H₂-6 et le carbone C-2 présent pour le cycle pyranique. Le spectre HSQC permet d'accorder les protons de ce cétohexose à leurs carbones respectifs.

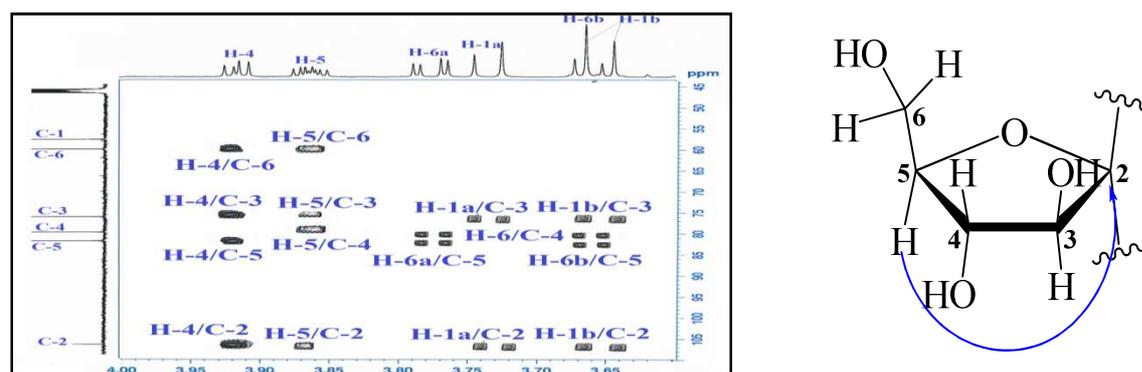


Figure I. 1. 3. 27. 5. Spectre HMBC du composé HS29

A ce stade d'analyse, il reste à déterminer l'orientation du groupement hydroxyle lié au carbone anomère C-2 pour distinguer entre les deux formes α -D- ou β -D-fructofuranoses. A cet effet, la comparaison sur CCM avec un échantillon témoin et la mesure du pouvoir rotatoire ($[\alpha]_{\text{D}} = -94$, $c = 0,1$, MeOH), indiquent la présence de l'anomère β du D-fructofuranose.

Toutes les données spectrales du composé **HS29** se sont avérées identiques à celles citées dans la littérature [283] pour le cétohexose β -D-fructofuranose (Figure I. 1. 3. 27. 6).

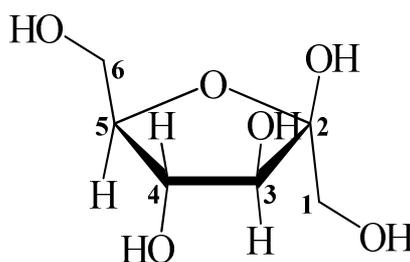


Figure I. 1. 3. 27. 6. Structure du composé HS29 (β -D-fructofuranose)

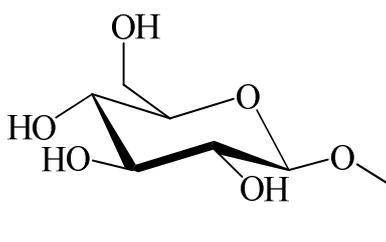
Ce cétohexose a été isolé antérieurement des espèces *Cistus ladanifer* [63] et *Tuberaria lignose* [101] de la famille Cistaceae.

Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé **HS29** sont présentés dans le tableau I. 1. 3. 27.

Tableau I. 1. 3. 27. Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé HS29 enregistrés dans CD_3OD

HS29		
Position	δ_{H} (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)
1a	3,73 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 11,9)	59,1
1b	3,65 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 11,9)	
2	-	107,8
3	4,05 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 4,2)	77,5
4	3,92 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 6,4-4,2)	81,1
5	3,86 (1H, <i>ddd</i> , <i>J</i> = 6,4-5,0-3,0)	83,2
6a	3,77 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 11,8-3,0)	61,4
6b	3,66 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 11,9-5,1)	

I. 1. 3. 28. Identification structurale du composé HS30



1-O-éthyl- β -D-glucopyranoside

Ce composé est isolé aussi sous forme de cristaux blancs solubles dans le méthanol. Il se colore en noire par une solution acide et chauffage à 100 °C.

Les spectres RMN ^1H et ^{13}C (Figure I. 1. 3. 28. 1) de ce composé montrent clairement qu'il s'agit d'un hexose dont la nature et les multiplicités de ces signaux permettent de le positionner dans la série des aldoses, alors que les constantes de couplage de ses protons mettent en évidence la présence d'un β -D-glucose (tableau I. 1. 3. 28).

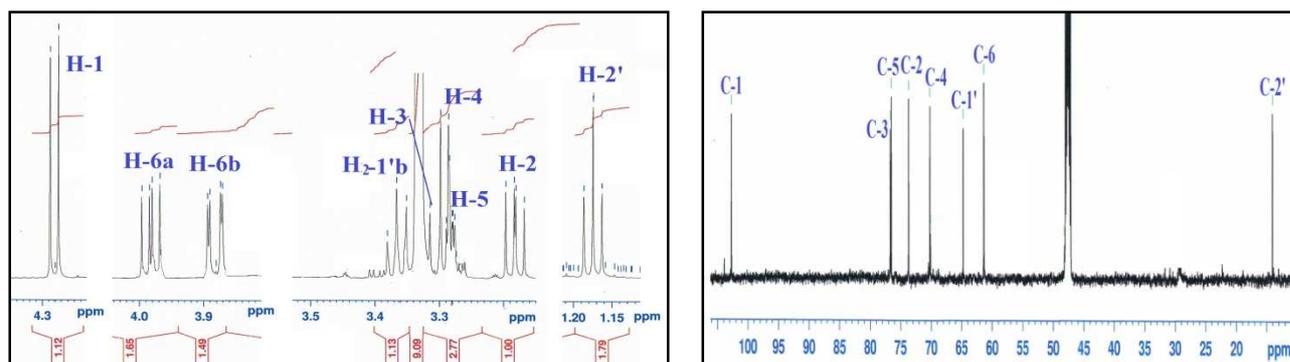


Figure I. 1. 3. 28. 1. Spectres RMN ^1H et ^{13}C du composé HS30

Cet hexose est rencontré dans la plupart des composés élucidés précédemment où il est toujours présent sous forme d'un conformère chaise de type 4C_1 en raison de sa stabilité comparativement avec le conformère 1C_4 ayant des encombrements stériques importants de type 1,3-diaxial défavorables [284] (Figure I. 1. 3. 28. 2).

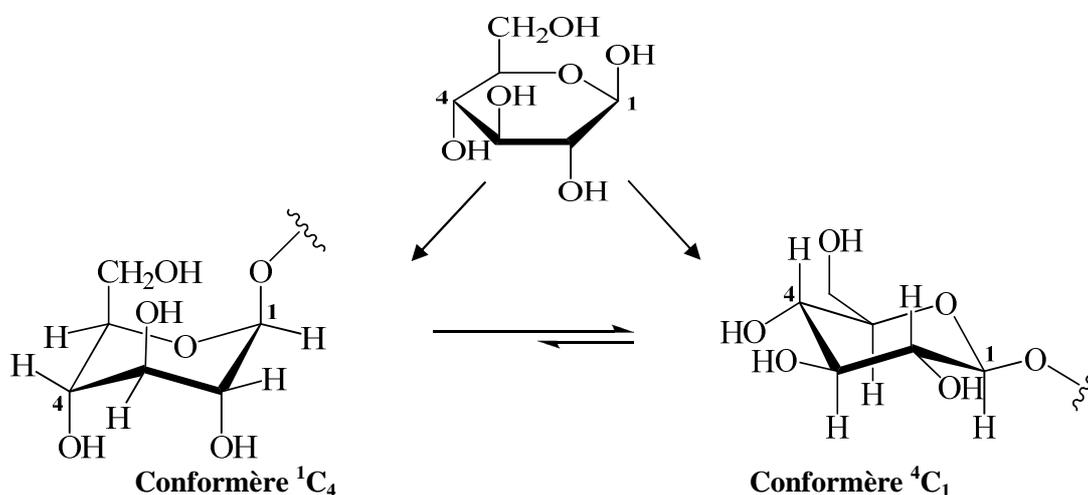


Figure I. 1. 3. 28. 2. Conformères du composé HS30

Ces deux spectres montrent aussi la présence d'un groupement OCH_2CH_3 par l'apparition des signaux de CH_2O à $(\delta_{\text{H}} 3,36, q, J = 7,0)/(\delta_{\text{C}} 64,7)$ et du groupement CH_3 à $(\delta_{\text{H}} 1,17, t, J = 7,0)/(\delta_{\text{C}} 14,0)$.

La comparaison de ces données spectrales avec celles trouvées dans la littérature [285] permet de placer le groupement OCH_2CH_3 au carbone anomérique C-1 du glucose conduisant à identifier le composé HS30 au **1-O-éthyl- β -D-glucopyranoside** (Figure I. 1. 3. 28. 3).

Ce composé a été isolé antérieurement des espèces *Phlomis oppositiflora* (Lamiaceae) [286] et *Ustilago maydis* (Ustilaginaceae) [287].

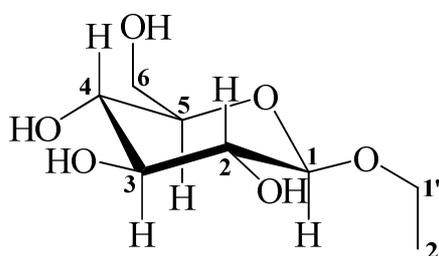


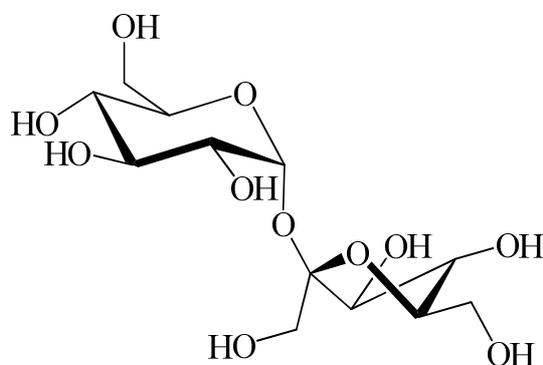
Figure I. 1. 3. 28. 3. Structure du composé HS30 (1-O-éthyl- β -D-glucopyranoside)

Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé HS30 sont réunis dans le tableau I. 1. 3. 28.

Tableau I. 1. 3. 28. Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé HS30 enregistrés dans CD_3OD

HS30		
Position	δ_{H} (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)
1	4,50 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 7,8)	102,7
2	3,18 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 9,1-7,8)	76,5
3	3,30 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 9,1)	73,6
4	3,28 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 9,1)	70,4
5	3,27 (1H, <i>m</i>)	75,8
6a	3,98 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 11,7-5,0)	61,3
6b	3,88 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 11,8-2,1)	
1'	3,36 (2H, <i>q</i> , <i>J</i> = 7,0)	64,7
2'	1,17 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 7,0)	14,0

I. 1. 3. 29. Identification structurale du composé HS31



β -D-fructofuranosyl-(2 \rightarrow 1)- α -D-glucopyranoside

Ce composé est isolé sous forme d'une poudre blanche soluble dans le méthanol. Il est invisible à la lumière UV et se révèle en marron foncé par pulvérisation d'une solution acide et chauffage à 100 °C.

L'analyse des spectres RMN ^1H et ^{13}C (Figure I. 1. 3. 29. 1) de ce composé indique la présence d'un oligosaccharide et plus précisément un disaccharide. La comparaison de ces spectres avec ceux des composés précédents **HS29** et **HS30** montre clairement la présence d'une unité glucose et une autre fructofuranose.

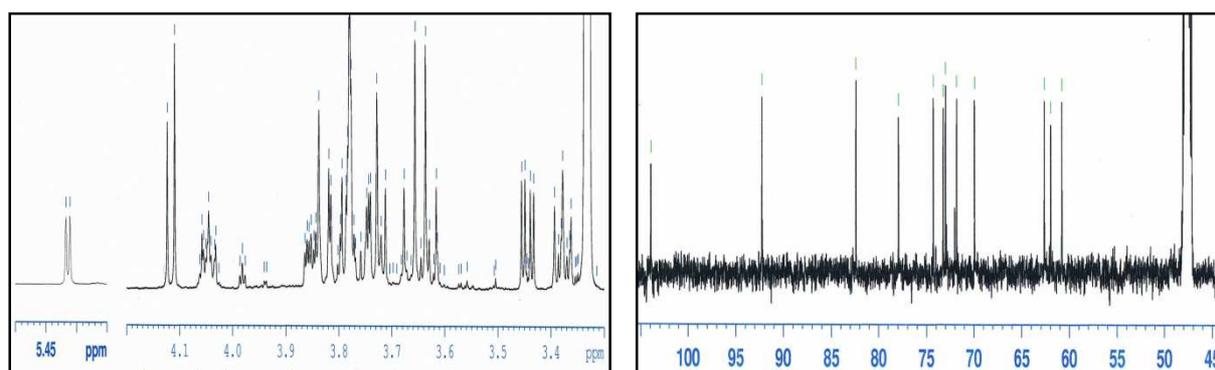


Figure I. 1. 3. 29. 1. Spectres RMN ^1H et ^{13}C du composé HS31

Le spectre COSY H-H (Figure I. 1. 3. 29. 2) de ce composé permet d'attribuer les protons de chaque unité osidique. En effet, il révèle les couplages impliquant l'enchaînement H-1 (δ_{H} 5,42, *d*, $J = 3,7$ Hz)/H-2 (δ_{H} 3,44, *dd*, $J = 9,7-3,7$ Hz)/H-3 (δ_{H} 3,73, *t*, $J = 9,7$ Hz)/H-4 (δ_{H} 3,38, *t*, $J = 9,7$ Hz)/H-5 (δ_{H} 3,78, *m*)/H-6a (δ_{H} 3,81, *dd*, $J = 11,6-5,2$ Hz)/H-6b (δ_{H} 3,74, *dd*, $J = 11,6-2,2$ Hz) de la première unité osidique. Les grandes valeurs des constantes de couplage $J_{\text{H-2/H-3}}$, $J_{\text{H-3/H-4}}$ et $J_{\text{H-4/H-5}}$ confirment qu'il s'agit bien d'un glucose. La valeur de $J_{\text{H-1/H-2}} = 3,7$ Hz permet de l'identifier comme étant un α -D-glucose.

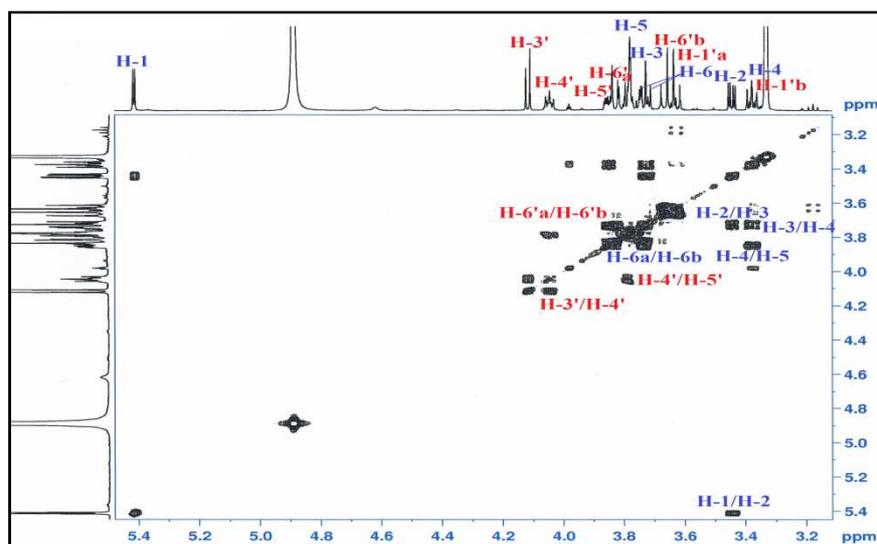


Figure I. 1. 3. 29. 2. Spectre COSY H-H du composé HS31

Les protons de l'unité fructofuranose de ce composé sont clairement localisés par les couplages observés sur le spectre COSY entre les protons H-3' (δ_{H} 4,11, *d*, $J = 4,8$ Hz)/H-4' (δ_{H} 4,05, *dd*, $J = 6,9-4,8$ Hz)/H-5' (δ_{H} 3,83, *ddd*, $J = 6,9-5,4-3,3$ Hz)/H-2' (δ_{H} 3,79, *m*), ainsi qu'entre les protons géminés H-1'a (δ_{H} 3,67, *d*, $J = 11,7$ Hz) et H-1'b (δ_{H} 3,62, *d*, $J = 11,7$ Hz). La comparaison de ces données avec celles de la littérature [288] indique la présence de l'anomère β de cet oside.

Le blindage observé des carbones anomériques C-1 (δ_{C} 92,2) et C-2' (δ_{C} 103,9) des deux unités osidiques par rapport aux mêmes sucres libres suggère la présence d'une jonction de type (2 \rightarrow 1) entre le carbone C-1 du glucose et le carbone C-2' du fructofuranose [289].

A l'issue de ces résultats spectraux, la mesure du pouvoir rotatoire ($[\alpha]_{\text{D}} = + 67,1$, $c = 0,2$, MeOH) et la comparaison avec les données de la littérature [289], le composé **HS31** est identifié au β -D-fructofuranosyl-(2 \rightarrow 1)- α -D-glucopyranoside (Figure I. 1. 3. 29. 3). Ce disaccharide a été détecté dans les espèces *Cistus ladanifer* [63] et *Tuberaria lignosa* [101].

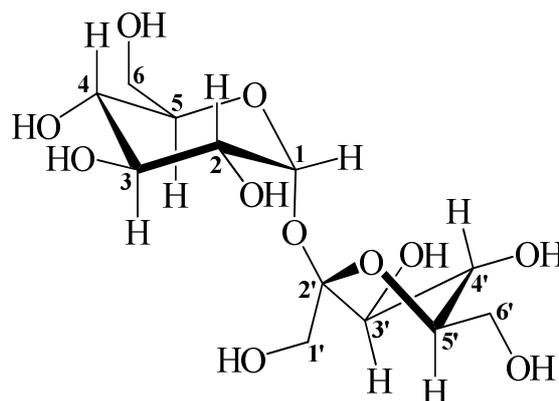


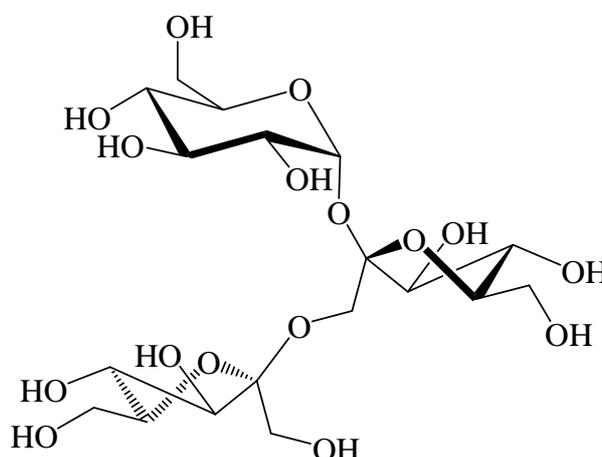
Figure I. 1. 3. 29. 3. Structure du composé HS31 (β -D-fructofuranosyl-(2' \rightarrow 1)- α -D-glucopyranoside)

Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé HS31 sont regroupés dans le tableau I. 1. 3. 29.

Tableau I. 1. 3. 29. Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé HS31 enregistrés dans CD_3OD

HS31		
Position	δ_{H} (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)
1	5,42 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 3,7)	92,2
2	3,44 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 9,7-3,7)	71,8
3	3,73 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 9,7)	73,2
4	3,38 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 9,7)	69,9
5	3,78 (1H, <i>m</i>)	72,9
6a	3,81 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 11,6-5,2)	60,7
6b	3,74 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 11,6-2,2)	
1'a	3,67 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 11,7)	62,6
1'b	3,62 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 11,7)	
2'	-	103,9
3'	4,11 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 4,8)	77,9
4'	4,05 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 6,9-4,8)	74,2
5'	3,83 (1H, <i>ddd</i> , <i>J</i> = 6,9-5,4-3,3)	82,3
6'	3,79 (2H, <i>m</i>)	61,9

I. 1. 3. 30. Identification structurale du composé HS32



β -D-fructofuranosyl-(2'' \rightarrow 1')- β -D-fructofuranosyl-(2' \rightarrow 1)- α -D-glucopyranoside

De même pour ce composé, la comparaison de ces spectres RMN ^1H et ^{13}C avec ceux des composés osidiques élucidés précédemment révèle l'existence d'un trisaccharide constitué d'une unité glucose et de deux unités fructofuranoses.

Le spectre COSY H-H de cet oligosaccharide permet de localiser les protons de ces unités partant de H-1 à H₂-6 pour l'unité glucose dont la valeur de $J_{\text{H-1/H-2}} = 3,8$ Hz atteste de la présence de l'anomère α -D-glucose, comme il a été signalé pour le composé **HS31**.

Pour les deux autres unités β -D-fructofuranoses, leurs protons sont localisés par les couplages COSY entre H-3' ($\delta_{\text{H}} 4,05$, *d*, $J = 5,0$ Hz)/H-4' ($\delta_{\text{H}} 3,77$, *m*)/H-5' ($\delta_{\text{H}} 3,72$, *m*)/H₂-6' ($\delta_{\text{H}} 3,78$, *nd*), ainsi qu'entre H-3'' ($\delta_{\text{H}} 4,05$, *d*, $J = 5,0$ Hz)/H-4'' ($\delta_{\text{H}} 3,75$, *t*, $J = 6,0$ - $4,1$ Hz)/H-5'' ($\delta_{\text{H}} 3,72$, *m*)/H₂-6'' ($\delta_{\text{H}} 3,80$, *m*).

Les jonctions de ces trois unités osidiques sont réalisées par comparaison des données obtenues du spectre RMN ^{13}C avec celles de la littérature [280] indiquant la présence des connectivités entre le carbone C-1 ($\delta_{\text{C}} 97,7$) du glucose et le carbone C-2' ($\delta_{\text{C}} 101,7$) de la première unité fructofuranose, ainsi qu'entre le carbone C-1' ($\delta_{\text{C}} 63,7$) de cette dernière et le carbone C-2'' ($\delta_{\text{C}} 104,1$) du fructofuranose terminal.

L'ensemble de ces données, la mesure du pouvoir rotatoire ($[\alpha]_{\text{D}} = + 27,5$, $c = 2$, MeOH), ainsi que la comparaison avec les résultats de la littérature [283] permettent d'identifier le composé **HS32** au β -D-fructofuranosyl-(2'' \rightarrow 1')- β -D-fructofuranosyl-(2' \rightarrow 1)- α -D-glucopyranoside (Figure I. 1. 3. 30. 1).

Ce composé est isolé antérieurement des espèces *Asparagus cochinchinensis* (Asparagaceae) [291] et *Jerusalem artichoke* (Asteraceae) [292].

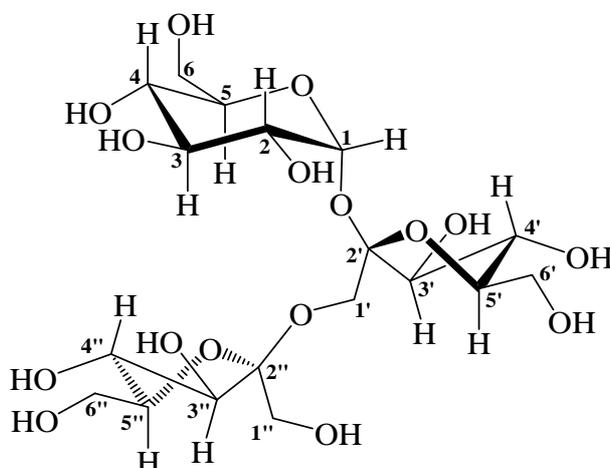


Figure I. 1. 3. 30. 1. Structure du composé HS32 (β -D-fructofuranosyl-(2'' \rightarrow 1')- β -D-fructofuranosyl-(2' \rightarrow 1)- α -D-glucopyranoside)

Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé **HS32** sont rassemblés dans le tableau I. 1. 3. 30.

Tableau I. 1. 3. 30. Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé HS32 enregistrés dans CD_3OD

HS32		
Position	δ_{H} (ppm), <i>m, J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)
1	5,94 (1H, <i>d, J</i> = 3,8)	97,7
2	3,33 (1H, <i>dd, J</i> = 9,9-3,8)	72,0
3	3,54 (1H, <i>nd</i>)	72,3
4	3,32 (1H, <i>t, J</i> = 9,9)	71,1
5	3,71 (1H, <i>m</i>)	72,9
6a	3,79 (1H, <i>dd, J</i> = 11,4-5,0)	62,8
6b	3,69 (1H, <i>dd, J</i> = 11,4-3,4)	62,8
1'	3,61 (2H, <i>nd</i>)	63,7
2'	-	101,7
3'	4,05 (1H, <i>d, J</i> = 5,0)	75,3
4'	3,77 (1H, <i>m</i>)	72,8
5'	3,72 (1H, <i>m</i>)	81,7
6'	3,78 (2H, <i>nd</i>)	63,7
1''	3,61 (2H, <i>m</i>)	63,0
2''	-	104,1
3''	4,05 (1H, <i>d, J</i> = 5,0)	76,0
4''	3,75 (1H, <i>t, J</i> = 6,0-4,1)	73,9
5''	3,72 (1H, <i>m</i>)	83,5
6''	3,80 (2H, <i>m</i>)	64,5

I. 2. Conclusion

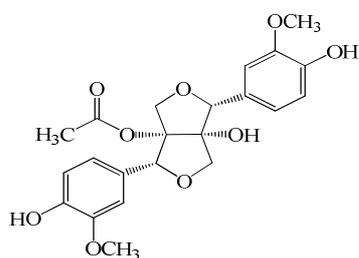
Ce travail présente une étude phytochimique réalisée sur les parties aériennes de la plante *Helianthemum sessiliflorum* Pers. Cette espèce saharienne, qui appartient à la famille Cistaceae et possède plusieurs intérêts tels que écologique, pharmacopée et pastoral, n'a jamais été étudiée du point de vue chimique. Cette plante est utilisée en médecine traditionnelle pour le traitement des lésions cutanées.

Au cours de cette étude **32** composés ont été isolés et identifiés ; ils se répartissent en :

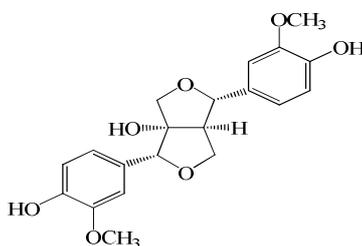
- Quatre lignanes dont un est un nouveau dérivé du prinsepiol.
- 16 flavonoïdes :
 - Quatre dérivés *O*-glycosylés du kaempférol.
 - Quatre dérivés *O*-glycosylés de la quercétine.
 - Un dérivé *O*-glycosylé de la myricétine.
 - Un dérivé *C*-glucosylé de l'apigénine.
 - Quatre dérivés de la catéchine.
 - Deux aures

- Cinq dérivés d'acides benzoïques.
- Un acide gras insaturé.
- Deux phytostérols.
- Quatre osides libres.

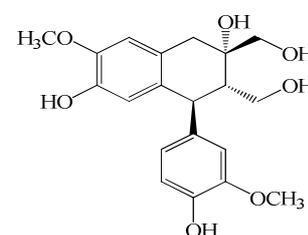
L'investigation phytochimique de l'extrait semi-polaire AcOEt des parties aériennes de cette espèce a permis d'obtenir un lignane qui possède une structure nouvelle : 1-*O*-acétyl prinsépiol (**HS1**) et 19 autres composés connus (**HS2-HS20**). Les structures de ces composés se présentent comme suit :



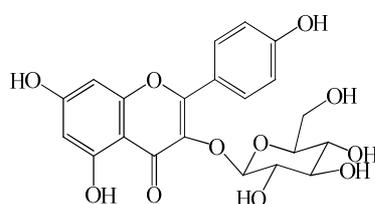
(HS1) 1-*O*-acétyl prinsépiol
Nouveau



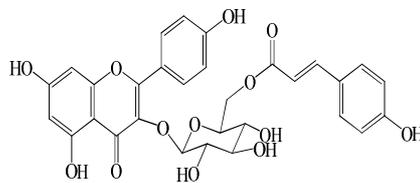
(HS2) 1α-hydroxypinorésinol



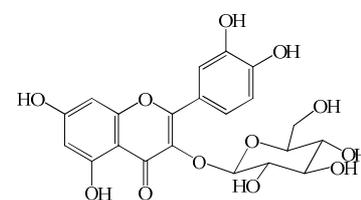
(HS3) (+)-Cyclooolivil



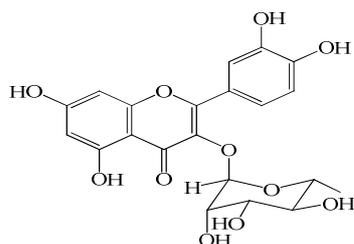
(HS5) Astragaline



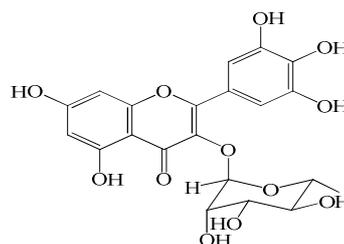
(HS6) Tiliroside



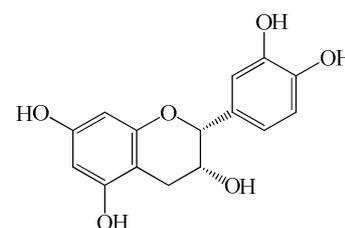
(HS9) Isoquercétrine



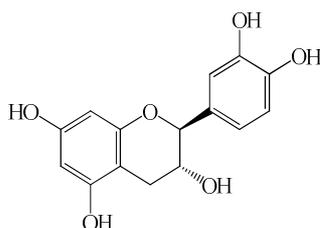
(HS10) Quercétrine



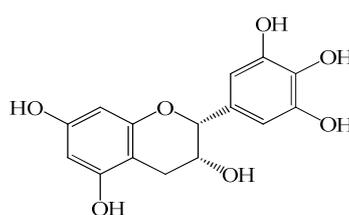
(HS13) Myricitrine



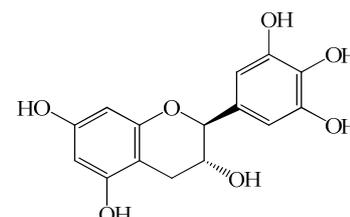
(HS15) (-)-Epicatechine



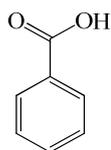
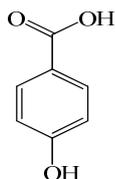
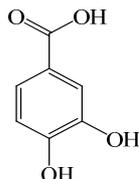
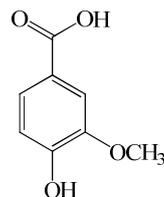
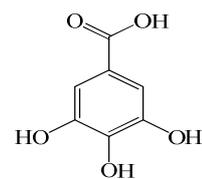
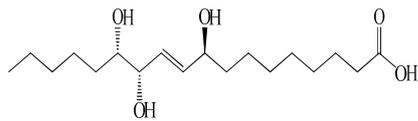
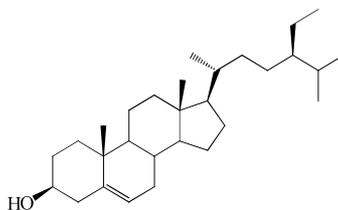
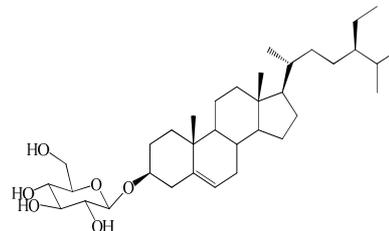
(HS16) (-)-Catéchine



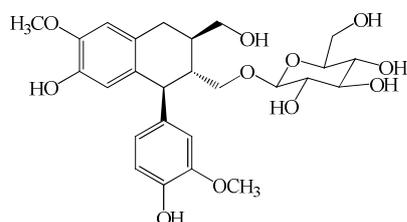
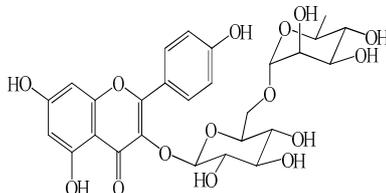
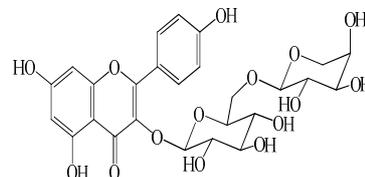
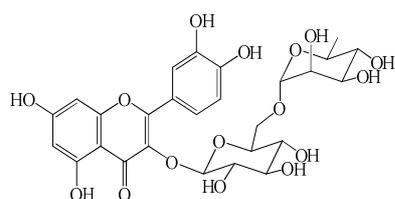
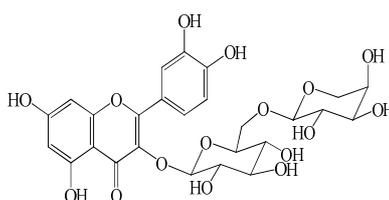
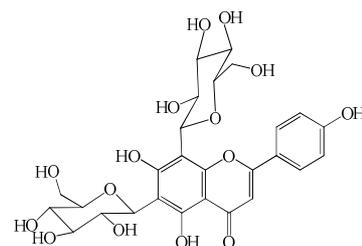
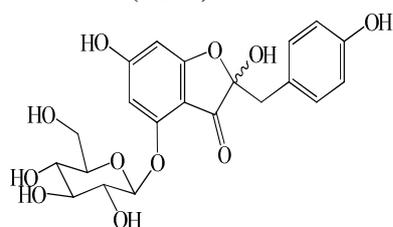
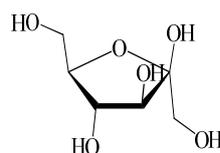
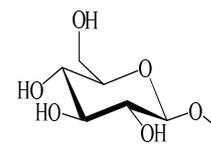
(HS17) (-)-Epigallocatechine

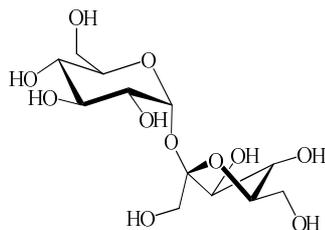


(HS18) (-)-Gallocatechine

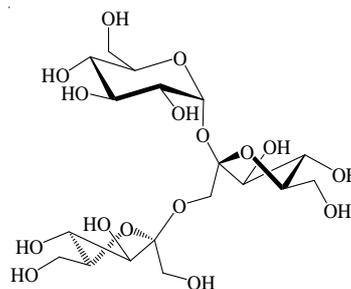
**(HS21)** Acide benzoïque**(HS22)** Acide *p*-hydroxybenzoïque**(HS23)** Acide protocatechuique**(HS24)** Acide vanillique**(HS25)** Acide gallique**(HS26)** Acide (-)-pinéllique**(HS27)** β -sitostérol**(HS28)** Daucostérol

L'étude réalisée sur l'extrait polaire *n*-butanolique a fourni **12** métabolites secondaires. Ils renferment dans leurs structures au moins une unité osidique. Leurs structures sont données comme suit :

**(HS4)** Isolaricirésinol 9'-*O*- β -D-glucopyranoside**(HS7)** Nicotiflorine**(HS8)** Kaempférol 3-*O*-vicianoside**(HS11)** Rutine**(HS12)** Néoisorutine**(HS14)** Vicénine 2**(HS19)** et **(HS20)** Hovetrichoside C**(HS29)** β -D-fructofuranose**(HS30)** 1-*O*-éthyl- β -D-glucopyranoside



(HS31) β -D-fructofuranosyl-(2'→1)- α -D-glucopyranoside



(HS32) β -D-fructofuranosyl-(2''→1')- β -D-fructofuranosyl-(2'→1)- α -D-glucopyranoside.

La méthodologie de fractionnement et purification a été essentiellement basée sur la combinaison des différentes méthodes chromatographiques : VLC (SiO_2), CC (SiO_2 , RP-18, polyamide et Sephadex), CCE (SiO_2 et RP-18) et HPLC (RP-18). L'élucidation des structures de ces composés **1-32** a été réalisée au moyen des méthodes d'analyse spectroscopiques particulièrement la RMN 1D (^1H et ^{13}C) et 2D (COSY, HSQC, HMBC, TOCSY, NOESY et ROESY), la spectrométrie de masse (ESI-MS), l'UV-VIS, l'IR, la mesure du pouvoir rotatoire $[\alpha]_D$ et par comparaison avec la littérature.

Cette investigation qui a nettement contribué à la connaissance de la composition chimique de la plante *Helianthemum sessiliflorum* montre que les composés phénoliques, notamment les flavonoïdes, demeurent les constituants dominants du genre *Helianthemum* dont cinq sont identifiés pour la première fois dans la famille Cistaceae à savoir :

- Kaempférol 3-*O*-vicianoside (**HS8**).
- Néoisorutine (**HS12**).
- Vicénine 2 (**HS14**).
- Hovetrichoside C (**HS19** et **HS20**).

Par ailleurs, il est à noter qu'aucun diterpène n'a été trouvé dans cette espèce lors de ce travail, contrairement à d'autres investigations phytochimiques réalisées antérieurement sur certaines espèces de cette famille, plus précisément celles des genres les plus étudiés : *Cistus* et *Halimium* renfermant plusieurs composés diterpéniques.

Toutefois, il s'avère que cette espèce possède une caractéristique remarquable concernant l'isolement des lignanes où il a été détecté la présence de quatre composés lignaniques pour la première fois aussi bien dans le genre *Helianthemum* que la famille Cistaceae. Il serait donc intéressant d'entreprendre d'autres études phytochimiques sur plusieurs espèces de ce genre afin de déterminer leur composition chimique et

particulièrement les lignanes, évaluer le rôle de cette classe de métabolites secondaires, et établir leur signification chimiotaxonomique pour ce genre.

Il est à signaler que la majorité des composés isolés ont prouvé leur efficacité dans plusieurs tests biologiques comme anti-oxydants, antibactériens, analgésiques et anti-inflammatoires. Ceci participerait dans une certaine mesure à l'élucidation du lien entre la composition chimique de la plante *H. sessiliflorum* et son utilisation en médecine traditionnelle.



Partie **II**

II. 1. Etude phytochimique de l'espèce *Euphorbia pterococca* Brot.

II. 1. 1. Extraction

L'extraction solide-liquide de cette espèce est réalisée par macération de 1 Kg de la plante entière finement broyée dans l'acétone puis le méthanol pendant 48 h pour chaque solvant. On obtient ainsi 91,5 g d'extrait acétonique et 3 g d'extrait méthanolique. Les résultats des tests chromatographiques sur couche mince, dans des systèmes d'élution compatibles avec la nature de chaque extrait, nous ont conduit à explorer chimiquement l'extrait acétonique.

Les différentes étapes d'extraction de l'espèce *Euphorbia pterococca* Brot. sont représentées dans la figure II. 1. 1. 1.

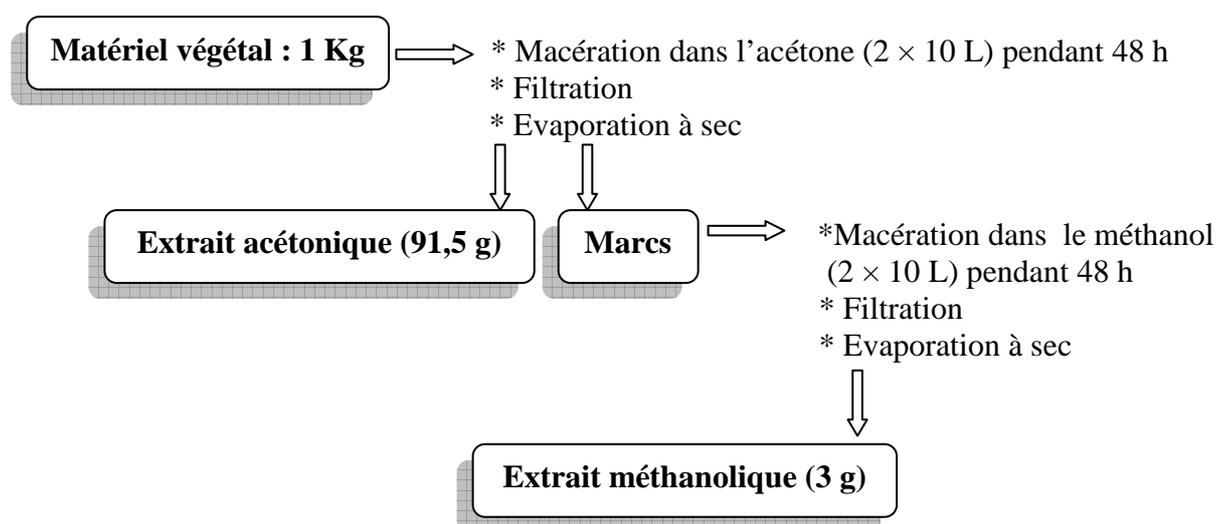


Figure II. 1. 1. 1. Schéma d'extraction de l'espèce *Euphorbia pterococca* Brot.

II. 1. 2. Séparation et purification

L'extrait acétonique a fait l'objet d'examen phytochimique approfondi en tenant compte de la complexité de sa composition chimique, de sa masse et de l'intérêt porté à son contenu chimique. La séparation et purification des composés de cette espèce font, elles aussi, appel à de nombreuses techniques chromatographiques utilisant différentes phases mobiles et stationnaires.

◆ Extrait acétonique

La chromatographie liquide sous vide sur gel de silice en phase normale (VLC) a été la méthode de choix pour fractionner 10 g de cet extrait élué par le système de solvants

hexane/AcOEt (100-0)→(0-100) suivi du mélange AcOEt/MeOH (100-0)→(0-100). Le rassemblement final des fractions obtenues sur la base d'analyse par CCM, a permis d'obtenir 6 fractions majoritaires. La séparation et purification s'appuyant, principalement, sur les techniques chromatographiques citées précédemment, se sont soldées par l'isolement de 15 métabolites secondaires purs (figure II. 1. 2. 1). Parmi ces derniers, quatre sont considérés comme de composés nouveaux **EP1**, **EP2**, **EP6** et **EP9**.

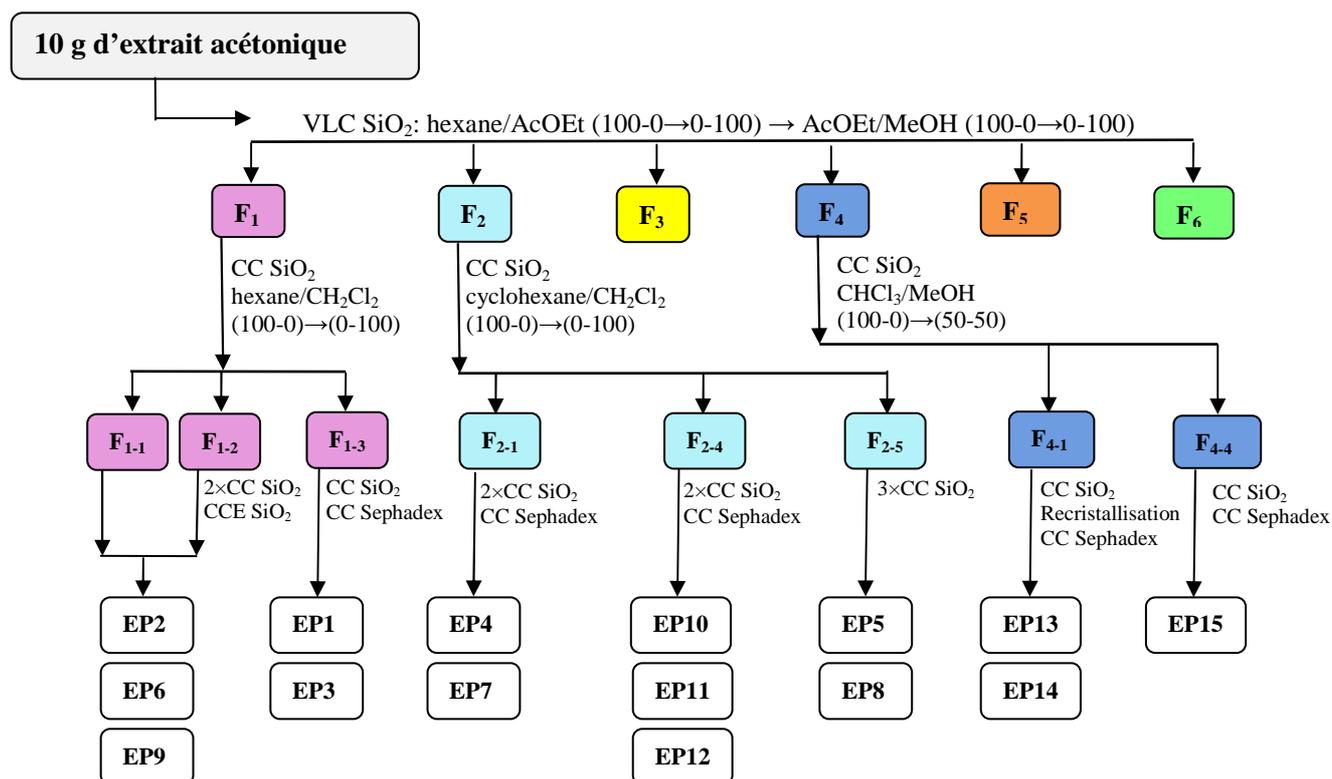
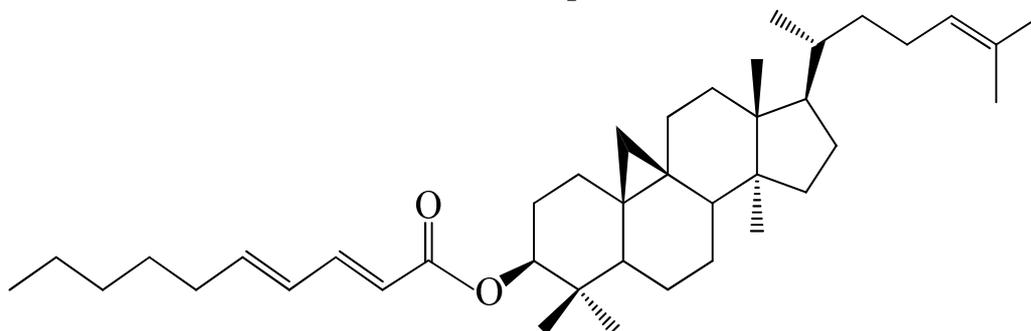


Figure II. 1. 2. 1. Séparation et purification de l'extrait acétonique

II. 1. 3. Identification structurale des composés isolés

II. 1. 3. 1. Identification structurale du composé EP1



Cycloartényl-2'(E),4'(E)-décadiénoate

Ce composé est purifié sous forme d'une huile jaune soluble dans le chloroforme. Il montre sur CCM une tache visible à la lumière UV à 254 nm se colorant en marron après révélation par une solution acide et chauffage à 100 °C.

Le spectre de masse ESI-MS (figure II. 1. 3. 1. 1) de ce composé révèle un pic d'ion pseudomoléculaire $[M+Na]^+$ à $m/z = 599,4$ correspondant à une masse moléculaire égale à 576 uma et une formule brute en $C_{40}H_{64}O_2$ traduisant la présence de 8 insaturations.

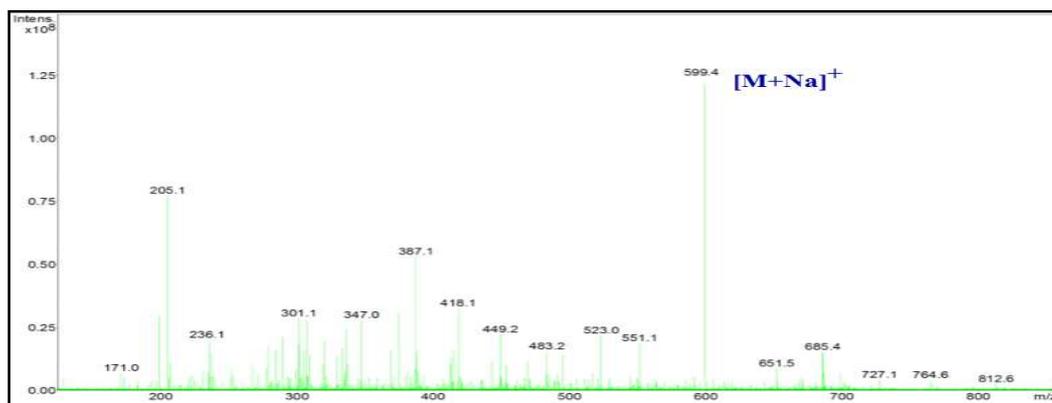


Figure II. 1. 3. 1. 1. Spectre ESI-MS du composé EP1

Cette formule brute est confirmée par le résultat obtenu à partir du spectre de masse réalisé en haute résolution HR-ESI-MS (figure II. 1. 3. 1. 2) indiquant un pic d'ion pseudomoléculaire à $m/z = 599,3674$, (cal. $C_{40}H_{64}O_2 Na$, $m/z = 599,3685$).

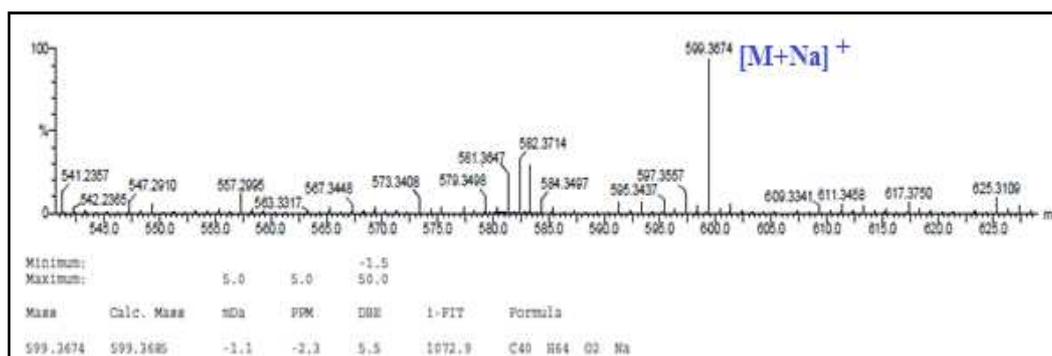


Figure II. 1. 3. 1. 2. Spectre HR-ESI-MS du composé EP1

L'analyse du spectre UV (figure II. 1. 3. 1. 3) de ce composé révèle la présence de deux bandes d'absorption sortant à 206 et 265 nm témoignant de l'existence d'un système de doubles liaisons conjuguées.

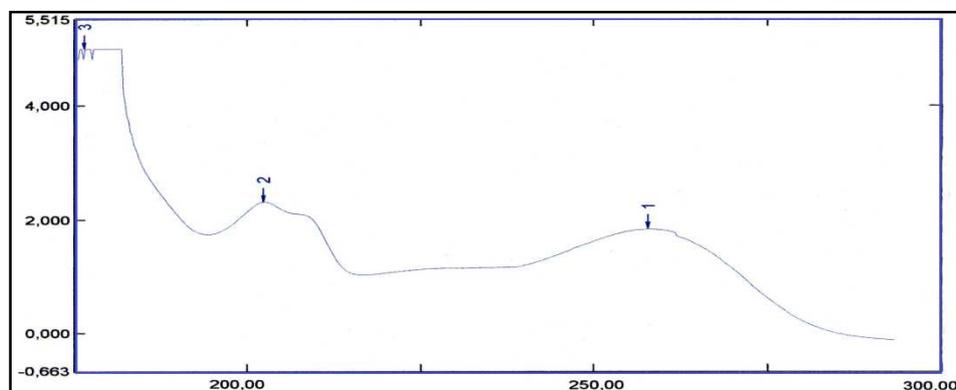


Figure II. 1. 3. 1. 3. Spectre UV du composé EP1

L'observation du spectre RMN ^1H (figure II. 1. 3. 1. 4) de **EP1** permet de le positionner dans la classe des triterpènes par la présence d'un nombre appréciable de signaux singulets d'intégration 3H chacun dans la zone du champ fort de ce spectre. En plus, l'existence d'un massif de signaux s'étallant de 0,2 jusqu'à 2,5 ppm conforte cette attribution primaire.



Figure II. 1. 3. 1. 4. Spectre RMN ^1H du composé EP1

Les données fournies par l'analyse des spectres RMN ^{13}C (figure II. 1. 3. 1. 5) et DEPT de **EP1** sont en accord avec la classe proposée pour ce composé. En effet, ces spectres montrent six carbones quaternaires dont un sp^2 , six groupements CH incluant un sp^2 , onze CH_2 et sept groupements méthyliques.

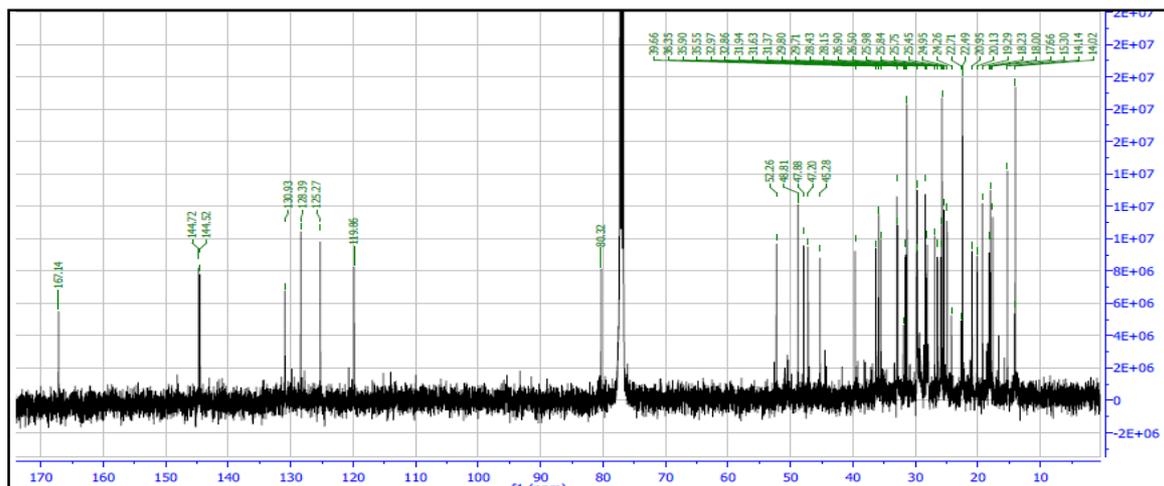


Figure II. 1. 3. 1. 5. Spectre RMN ^{13}C du composé EP1

L'identification de ce squelette triterpénique est débutée par la localisation du groupement oxyméthine 3-CHO à δ_{H} 4,67 (*dd*, $J = 11,3-4,5$ Hz, H-3 α)/ δ_{C} 80,3 caractéristique des composés de cette catégorie. Le déblindage de ce groupement indique la substitution de l'hydroxyle en position C-3 par un substituant attracteur. A partir du proton H-3, le spectre COSY H-H (figure II. 1. 3. 1. 6) permet de localiser les groupements 2-CH₂ et 1-CH₂ par les couplages scalaires remarquables entre : H-3/H₂-2 (δ_{H} 1,80 et 1,65, *m*)/H₂-1 (δ_{H} 1,64 et 1,27, *m*). Les carbones de ces groupements sont repérés à δ_{C} 28,4 (C-2) et 31,6 (C-1) par l'expérience HSQC (figure II. 1. 3. 1. 7).

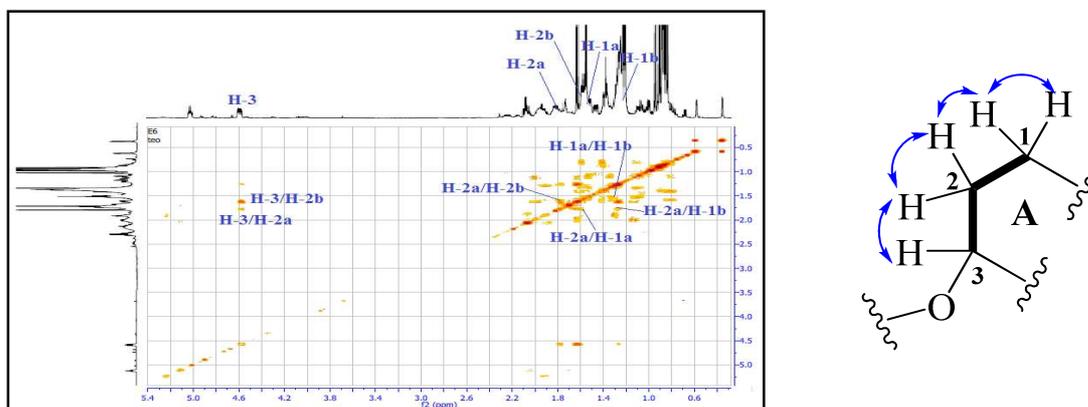


Figure II. 1. 3. 1. 6. Spectre COSY H-H montrant les couplages H-3/H₂-2/H₂-1

Ce même proton (H-3) montre sur le spectre HMBC (figure II. 1. 3. 1. 8) des corrélations H/C avec un carbone quaternaire à δ_{C} 39,6 et un signal sortant à δ_{C} 47,2 d'un groupement CH, attribués respectivement aux carbones C-4 et C-5, ainsi qu'avec deux signaux de groupements méthyliques résonant à δ_{C} 25,4 et 15,3 assignés conventionnellement aux méthyles angulaires 28-CH₃ et 29-CH₃ [293]. Les protons de ces

deux groupements sont localisés par l'expérience HSQC à δ_H 0,88 (*s*, H₃-28) et δ_H 0,90 (*s*, H₃-29) (figure II. 1. 3. 1. 7).

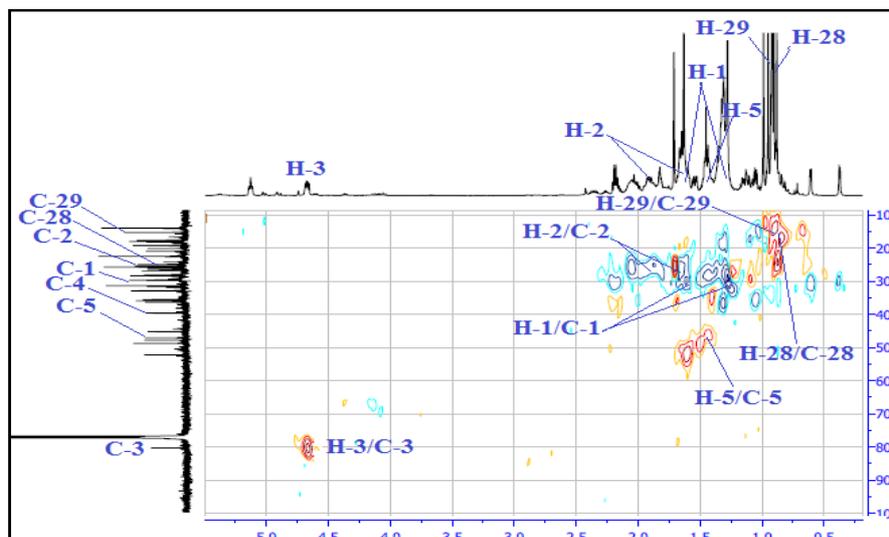


Figure II. 1. 3. 1. 7. Spectre HSQC du cycle A du composé EP1

Ces protons confirment les attributions réalisées précédemment par les corrélations qu'ils présentent à leur tour sur le spectre HMBC (figure II. 1. 3. 1. 8) avec les carbones C-3 (δ_C 80,3), C-4 (δ_C 39,6) et C-5 (δ_C 47,2).

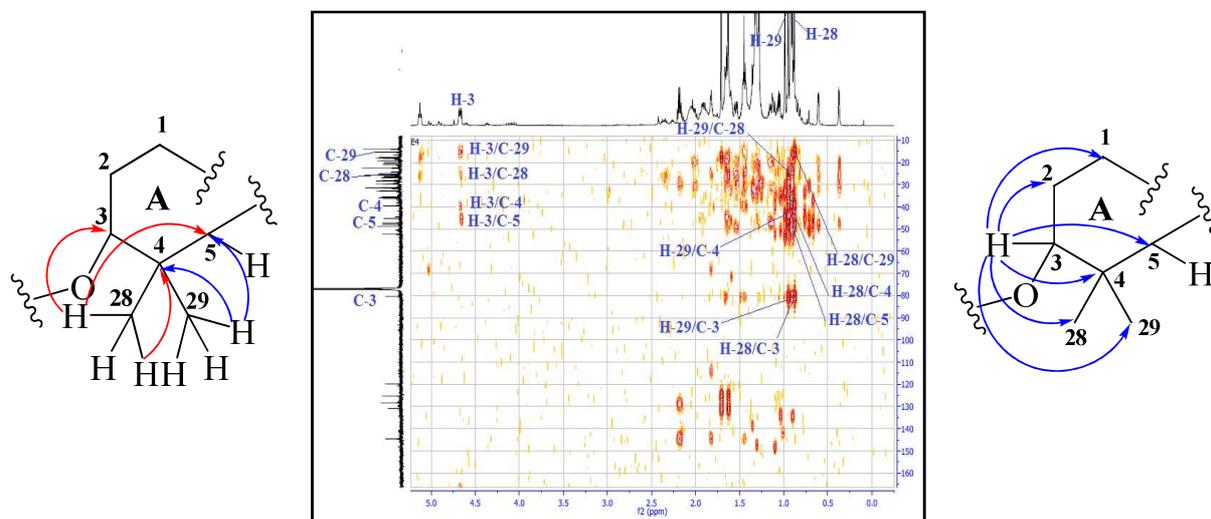


Figure II. 1. 3. 1. 8. Spectre HMBC du cycle A du composé EP1

La fermeture du cycle A de ce triterpène est effectuée par la corrélation visualisée sur le spectre HMBC (figure II. 1. 3. 1. 9) du proton H-5 (δ_H 1,40, *m*), localisé par l'expérience HSQC, avec le carbone C-1 (δ_C 31,6) et un carbone quaternaire résonant à δ_C 25,8. Ces corrélations, ainsi que celles des protons H₂-1 (δ_H 1,64 et 1,27) et H₂-2 (δ_H 1,80 et 1,65) avec le même signal (δ_C 25,8), permettent de l'attribuer au carbone quaternaire C-10.

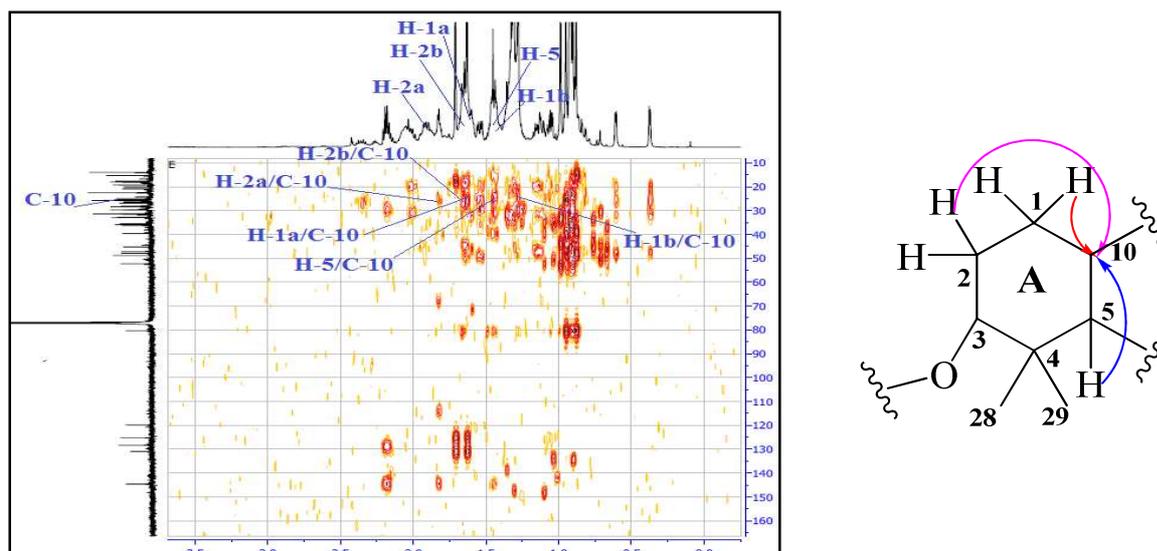


Figure II. 1. 3. 1. 9. Spectre HMBC du cycle A du composé EP1

L'analyse des corrélations visualisées sur le spectre COSY H-H (figure II. 1. 3. 1. 10), à partir du proton H-5 déjà identifié, conduit à repérer un système de spins à six protons H-5/H₂-6 (δ_{H} 0,83, *dd*, $J = 12,6-2,3$ Hz/ δ_{H} 1,60, *m*)/H₂-7 (δ_{H} 1,10 et 1,28, *m*)/H-8 (δ_{H} 1,54, *dd*, $J = 12,2-4,8$ Hz) constituant l'enchaînement carboné $^{-5}\text{CH}-^6\text{CH}_2-^7\text{CH}_2-^8\text{CH}-$. Leurs carbones sont localisés à δ_{C} 20,1 (C-6), 26,5 (C-7) et 47,8 (C-8) par l'expérience HSQC.

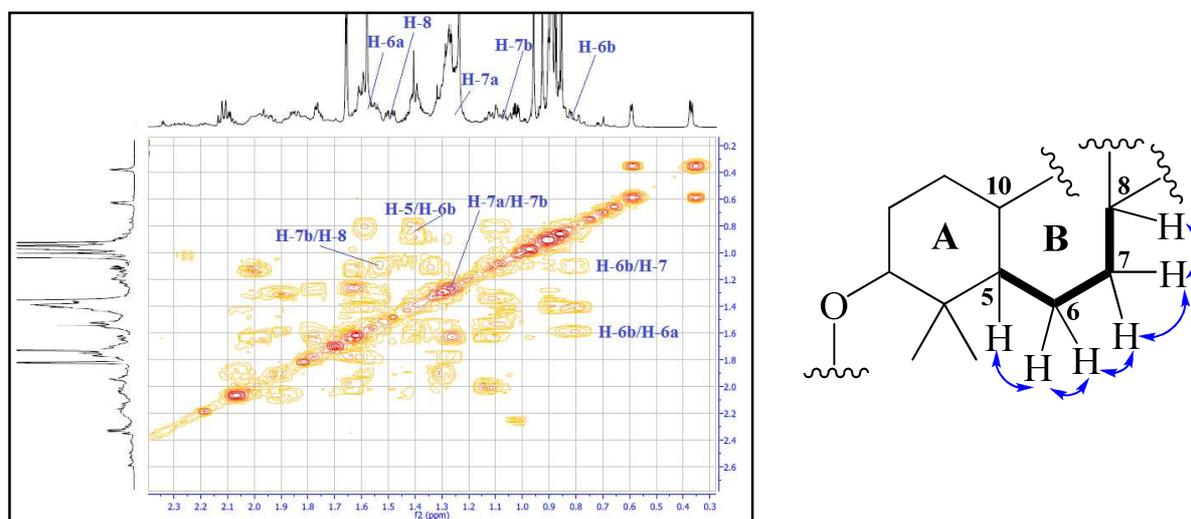


Figure II. 1. 3. 1. 10. Spectre COSY H-H du cycle B du composé EP1

Le dernier carbone du cycle B est localisé par les corrélations enregistrées sur le spectre HMBC (figure II. 1. 3. 1. 11) entre les protons H-5, H-8 et le signal sortant à δ_{C} 20,9, attribué au carbone quaternaire C-9. Ces deux protons (H-5 et H-8) montrent aussi des couplages de l'ordre 3J , sur le même spectre (figure II. 1. 3. 1. 11), avec un carbone du groupement CH_2 résonnant à δ_{C} 29,7.

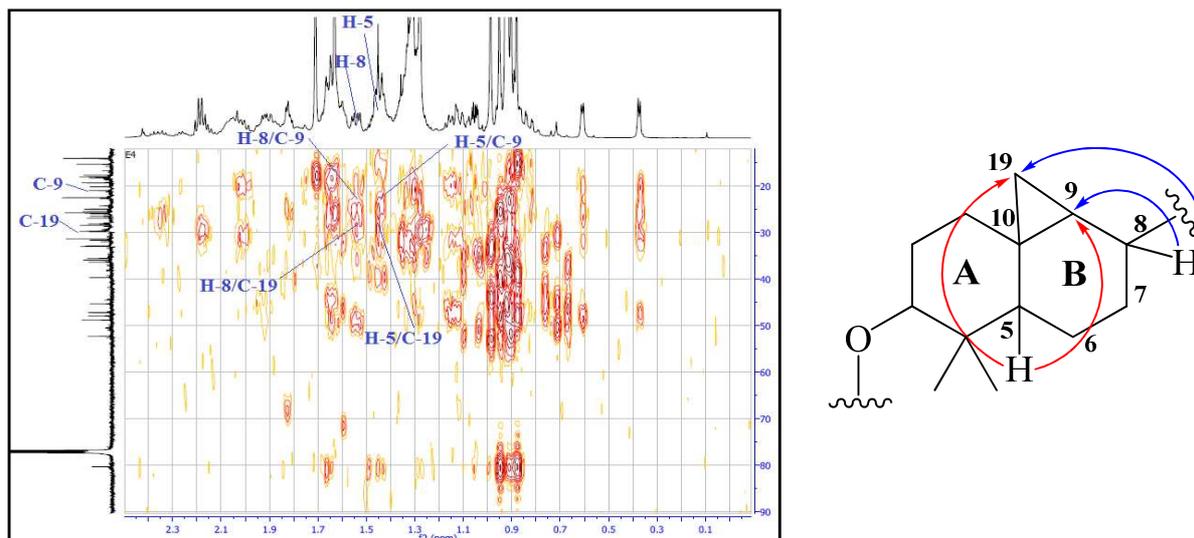


Figure II. 1. 3. 1. 11. Spectre HMBC du cycle B du composé EP1

Ce carbone corrèle sur le spectre HSQC avec deux protons localisés à δ_H 0,61 (*d*, $J = 4,1$ Hz) et 0,37 (*d*, $J = 4,1$ Hz) typiques de deux protons non équivalents d'un noyau cyclopropane tétrasubstitué 19-CH₂ trouvé dans plusieurs triterpènes isolés du genre *Euphorbia* [294] (figure II. 1. 3. 1. 12).

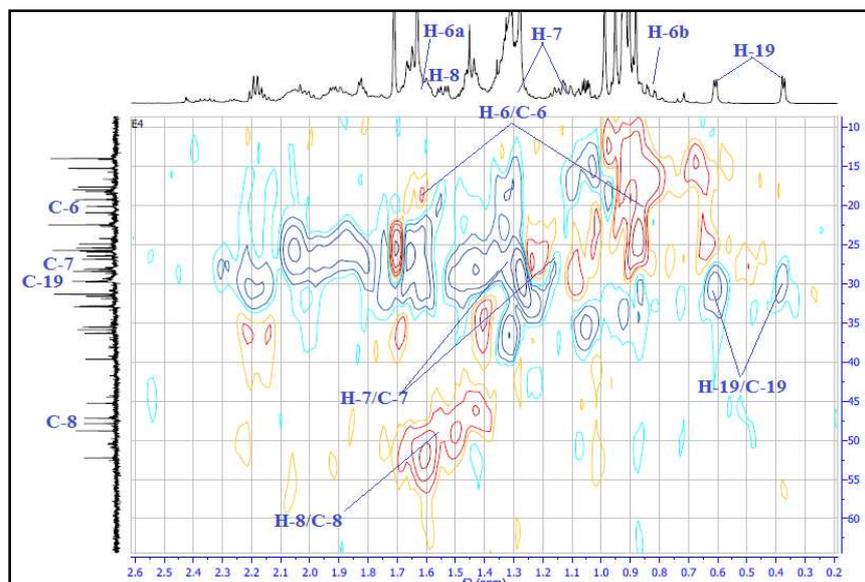


Figure II. 1. 3. 1. 12. Spectre HSQC du composé EP1

Les protons H₂-19 du noyau cyclopropane, orientés *endo* (δ_H 0,61) et *exo* (δ_H 0,37) [295], montrent sur le spectre HMBC (figure II. 1. 3. 1. 13) des corrélations avec un signal sortant à δ_C 25,9 attribuable au groupement 11-CH₂ du cycle C. Aussi, les protons H₂-19 (*endo* et *exo*) présentent les corrélations attendues avec les carbones C-1, C-5, C-8, C-9 et C-10 déjà identifiés.

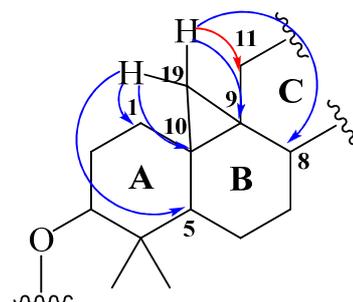
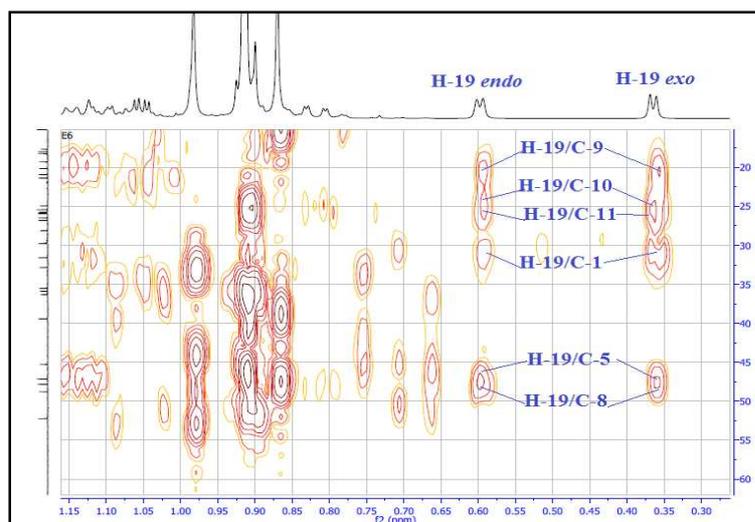


Figure II. 1. 3. 1. 13. Spectre HMBC du cyclopropane du composé EP1

Le spectre HSQC permet de localiser les protons H₂-11 à (δ_{H} 1,18 et 2,03, *m*). Ces derniers corrént sur le spectre COSY H-H (figure II. 1. 3. 1. 14) avec les protons d'un groupement CH₂ résonant à δ_{H} 1,60 et 1,13 correspondant aux protons H₂-12.

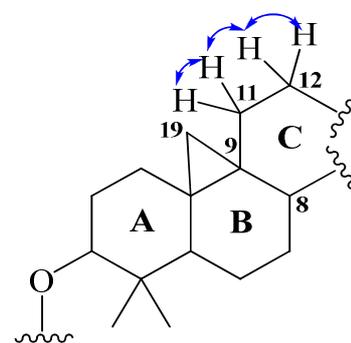
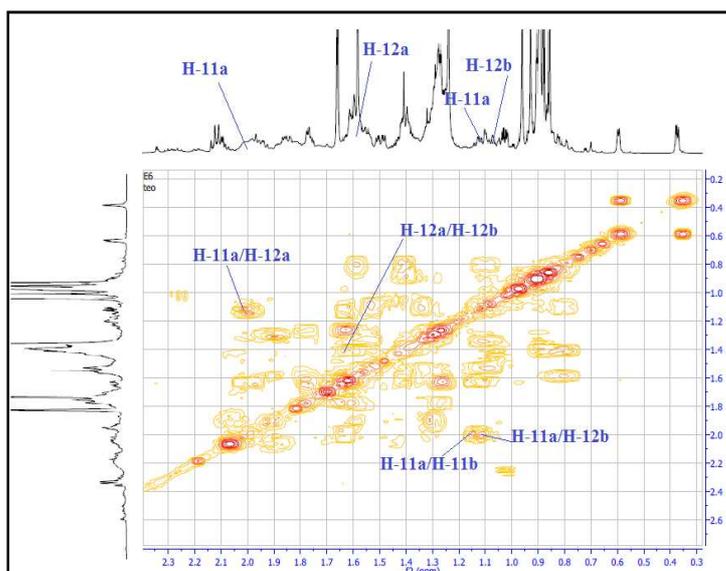


Figure II. 1. 3. 1. 14. Spectre COSY H-H du cycle C du composé EP1

Les corrélations H/C des protons H₂-12 et H-8 visualisées sur le spectre HMBC (figure II. 1. 3. 1. 15) conduisent à finaliser la construction du cycle C du composé EP1. En effet, ces protons couplent avec deux carbones quaternaires localisés à δ_{C} 45,2 et 48,8 attribués respectivement aux carbones C-13 et C-14. Ces attributions sont confirmées par les corrélations HMBC entre H₂-11/C-13 et H₂-7/C-14.

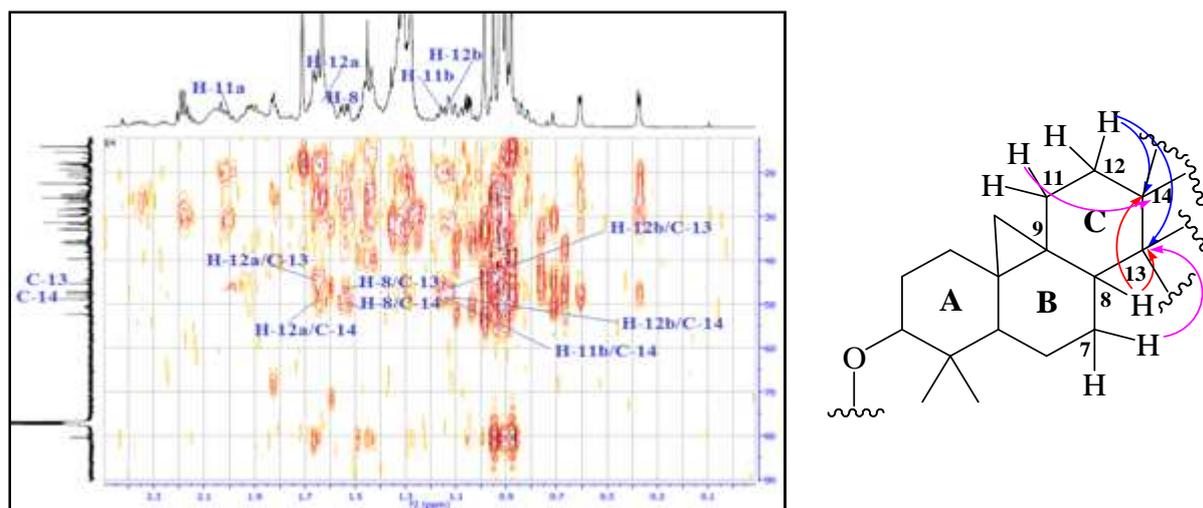


Figure II. 1. 3. 1. 15. Spectre HMBC du cycle C du composé EP1

Les protons H₂-12 et H-8 corrélient séparément en ³J aussi avec deux groupements CH₃ résonant à δ_C 17,6 et 19,2 (figure II. 1. 3. 1. 16) qui ne peuvent être que les groupements 18-CH₃ et 30-CH₃ respectivement. Leurs protons sont localisés par l'expérience HSQC à δ_H 0,99 (H₃-18) et 0,89 (H₃-30).

L'analyse des taches de corrélation observées sur le spectre HMBC (figure II. 1. 3. 1. 16) confirme ces assignements par les couplages visualisés entre :

- Les protons H₃-30 et les carbones C-14, C-13 et C-8, ainsi qu'avec un carbone résonant à δ_C 35,5 attribué clairement au groupement méthylène 15-CH₂.
- Les protons H₃-18 et les carbones C-13, C-14, C-12 et un carbone méthine résonant à δ_C 52,2 ne pouvant être que le groupement 17-CH.

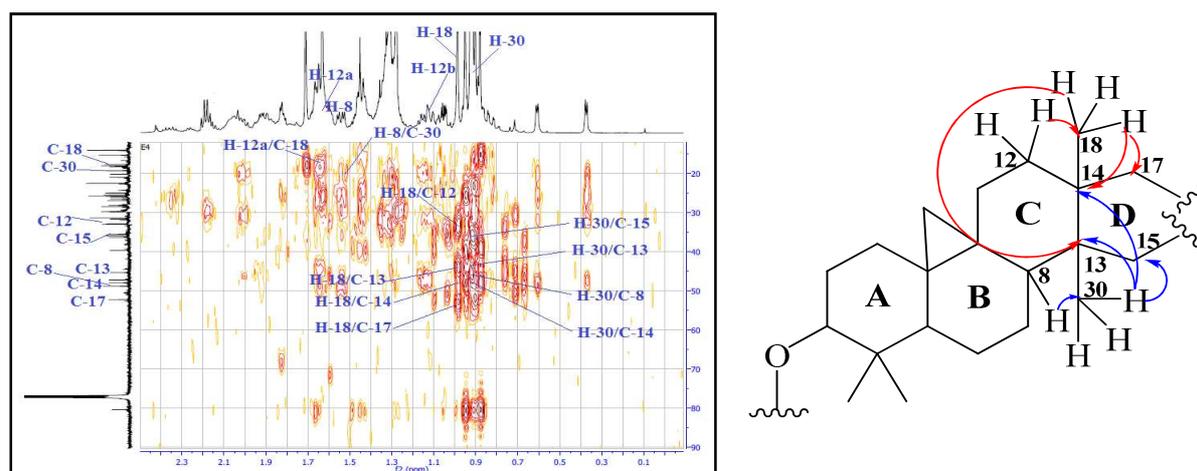


Figure II. 1. 3. 1. 16. Spectre HMBC au niveau du cycle C du composé EP1

Les protons de ces deux groupements 15-CH₂ et 17-CH sont identifiés par l'analyse du spectre HSQC aux H₂-15 (δ_H 1,30 et 1,14, *m*) et H-17 (δ_H 1,62, *m*).

La construction du cycle D de ce triterpène tétracyclique est facilement finalisée par les corrélations remarquées sur le spectre COSY H-H (figure II. 1. 3. 1. 17) montrant un système de spins partiel de type $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-$ correspondant à l'enchaînement $\text{H}_2-15/\text{H}_2-16$ (δ_{H} 1,90 et 1,30, *m*)/ $\text{H}-17$ (δ_{H} 1,62, *m*).

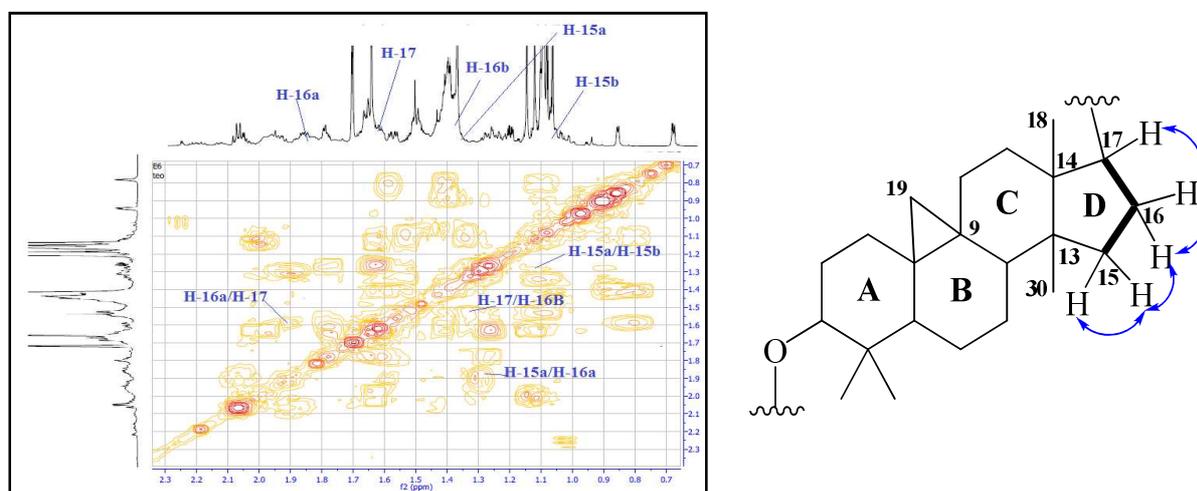


Figure II. 1. 3. 1. 17. Spectre COSY H-H du cycle D du composé EP1

Tous ces résultats indiquent la présence d'un squelette de type 9,19-cyclotriterpénoïde [296] pour le composé EP1.

Le spectre COSY H-H (figure II. 1. 3. 1. 18) permet d'identifier le reste du squelette triterpénique de ce composé par les taches de corrélation qu'il présente entre les protons $\text{H}-17/\text{H}-20$ (δ_{H} 1,47, *m*)/ H_2-22 (δ_{H} 1,49 et 1,10, *m*)/ H_2-23 (δ_{H} 2,00, *m*)/ $\text{H}-24$ (δ_{H} 5,13, *t*, $J = 7,2$ Hz). Comme, il montre aussi le couplage du proton $\text{H}-20$ avec les protons méthyliques qui résonnent à δ_{H} 0,95 (*d*, $J = 4,8$ Hz) attribués au groupement $21-\text{CH}_3$.

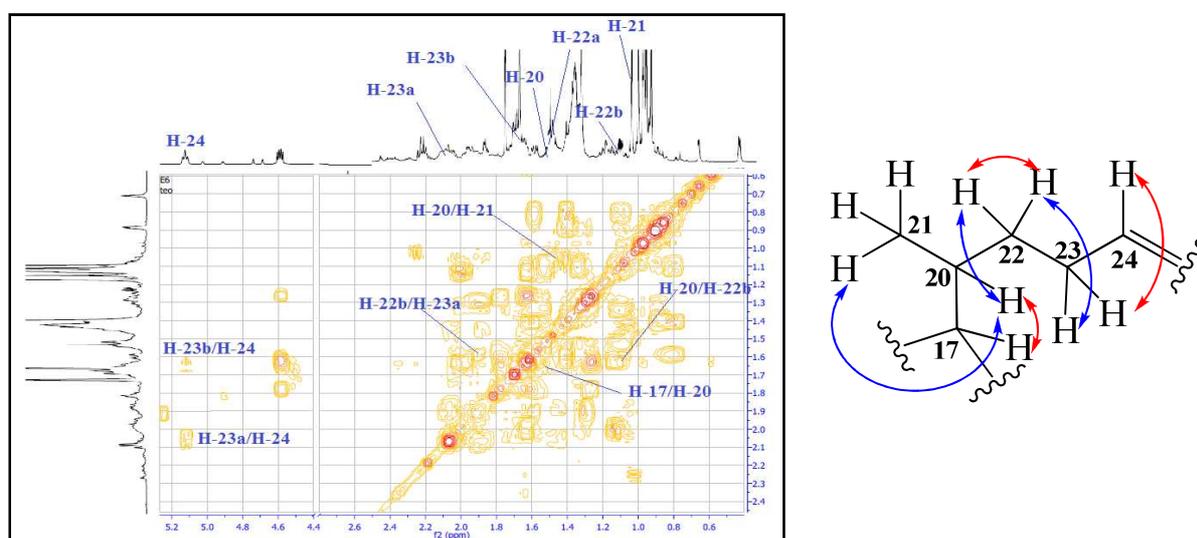


Figure II. 1. 3. 1. 18. Spectre COSY H-H de la chaîne latérale du composé EP1

Les carbones de tous ces protons sont localisés par l'expérience HSQC (figure II. 1. 3. 1. 19) à δ_C 35,9 (C-20), 18,2 (C-21), 36,3 (C-22), 24,9 (C-23) et 125,2 (C-24).

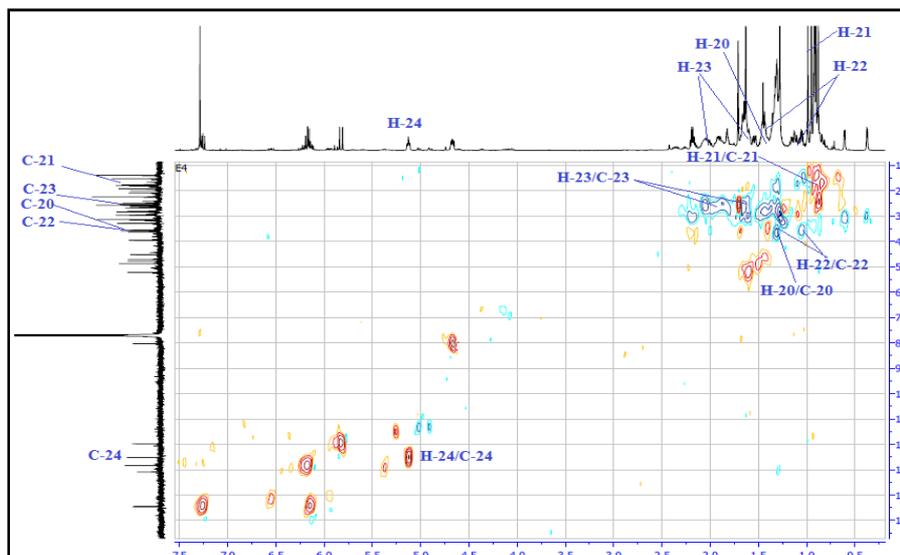


Figure II. 1. 3. 1. 19. Spectre HSQC de la chaîne latérale du composé EP1

L'extrémité de la chaîne latérale liée au carbone C-17 est identifiée par les corrélations H/C observées sur le spectre HMBC (figure II. 1. 3. 1. 20) entre les signaux singulets sortant à δ_H 1,71 et 1,63, attribués clairement aux groupements méthyliques 26-CH₃ et 27-CH₃ respectivement, et les carbones oléfiniques de la double liaison C-24 et C-25 (δ_C 130,9).

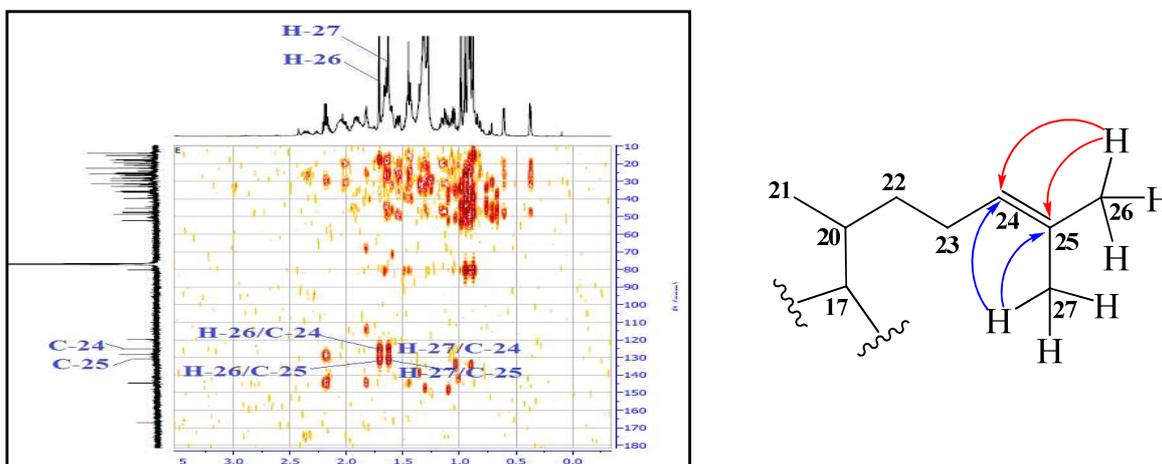


Figure II. 1. 3. 1. 20. Spectre HMBC de la chaîne latérale du composé EP1

L'orientation de ces deux groupements méthyliques, localisés à δ_C 25,7 (C-26) et 18,0 (C-27) par l'analyse du spectre HSQC, est confirmée par l'analyse du spectre NOESY (figure II. 1. 3. 1. 21). Ce dernier montre, en effet, un couplage entre le proton oléfinique H-24 et les protons méthyliques H₃-26 indiquant une orientation *trans* du groupement déblindé 26-CH₃ (δ_H 1,71/ δ_C 25,7).

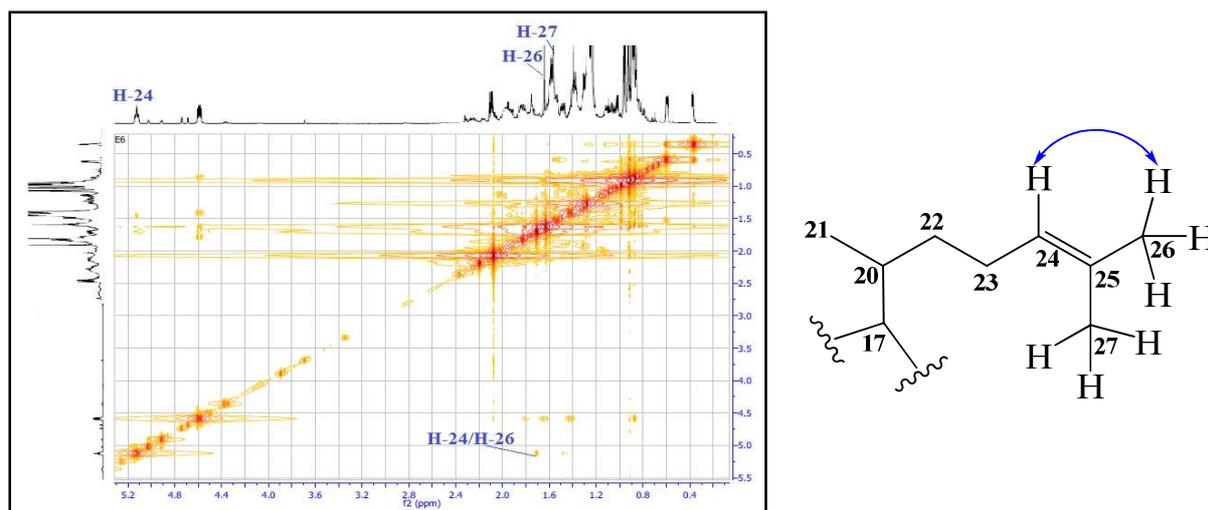


Figure II. 1. 3. 1. 21. Spectre NOESY de la chaîne latérale du composé EP1

Toutes ces élucidations structurales mettent en évidence la présence d'un squelette triterpénique tétracyclique de type cycloarténol (figure II. 1. 3. 1. 21) [297].

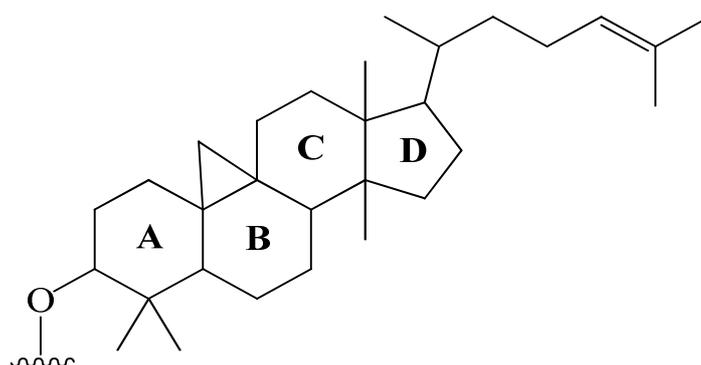


Figure II. 1. 3. 1. 22. Squelette cycloarténol du composé EP1

Les données fournies par le spectre de masse ESI de ce composé révèlent la présence de dix carbones supplémentaires par rapport à ceux correspondant à la génine. Ces carbones sont identifiés sur le spectre RMN ^{13}C comme suit :

- Un carbone quaternaire résonant à δ_{C} 167,1 attribué au carbonyl C-1' par la tache de corrélation visualisée sur le spectre HMBC avec le proton H-3 de la génine.
- Quatre groupements CH résonant à δ_{C} 119,8, 130,9, 144,5 et 144,7. Le déblindage de ces groupements leur attribue une nature oléfinique.
- Quatre groupements CH_2 à δ_{C} 22,4, 28,1, 31,3 et 32,9. Les valeurs de leur déplacement chimique suggèrent leur nature aliphatique.
- Un groupement CH_3 résonant à δ_{C} 14,0.

Ces constatations indiquent la présence d'une chaîne d'acide gras insaturée estérifiant le composé **EP1** en position C-3. Il s'agit donc d'un dérivé du cycloarténol acylé en C-3.

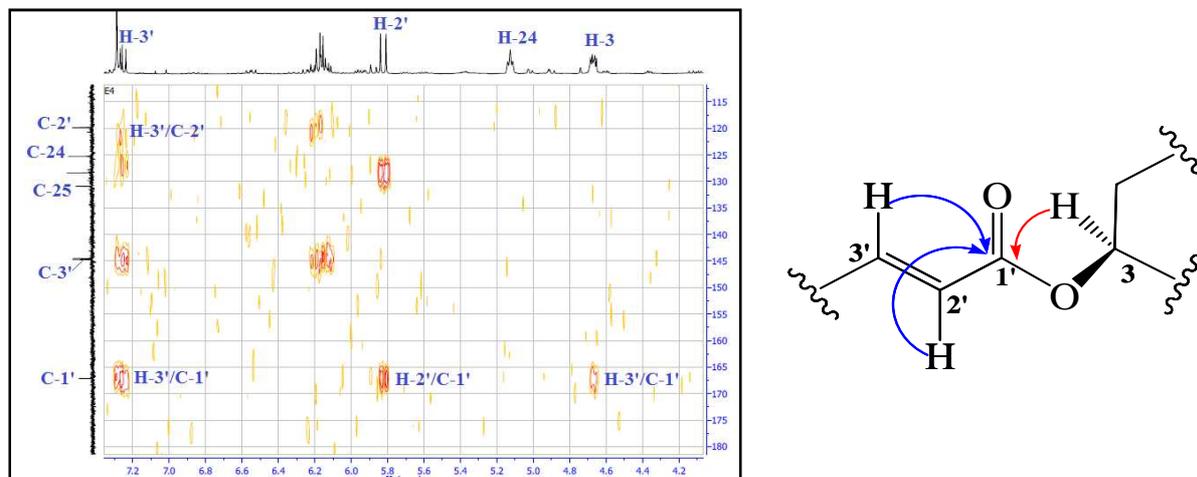


Figure II. 1. 3. 1. 23. Spectre HMBC de l'acide gras du composé **EP1**

Le spectre HMBC (figure II. 1. 3. 1. 23) de ce composé montre les corrélations de deux protons oléfiniques résonant à δ_H 5,82 (*d*, $J = 15,4$ Hz) et 7,26 (*dd*, $J = 15,3-9,5$ Hz) avec le carbone C-1' déjà identifié. Ces protons, qui sont liés sur le spectre HSQC aux carbones détectés à δ_C 119,8 et 144,7 respectivement, sont identifiés comme étant H-2' (δ_H 5,82) et H-3' (δ_H 7,26) et font partie d'un système de spins détecté sur le spectre COSY H-H (figure II. 1. 3. 1. 24) représentant l'enchainement H-2'/H-3'/H-4' (δ_H 5,82, *dd*, $J = 15,1-9,4$ Hz)/H-5' (δ_H 6,16, *dt*, $J = 15,1-9,2$ Hz).

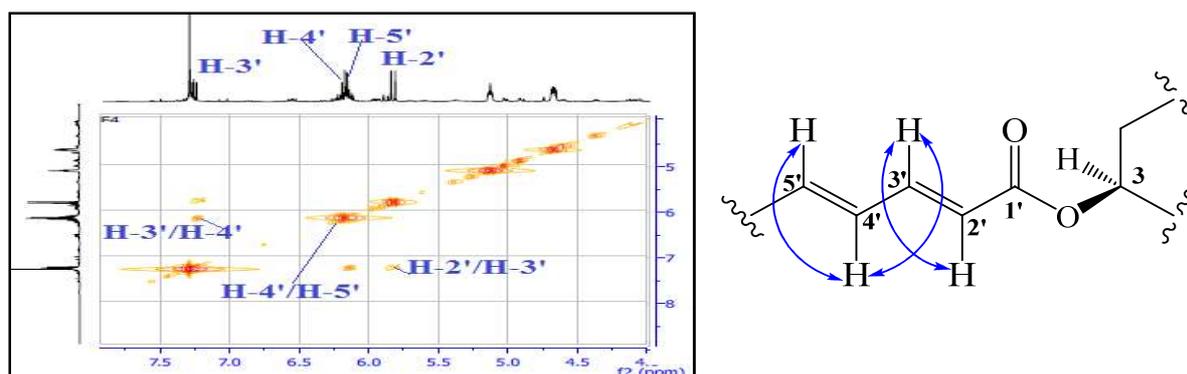


Figure II. 1. 3. 1. 24. Spectre COSY H-H des protons oléfiniques de l'acide gras du composé **EP1**

Le couplage COSY de ces protons oléfiniques indiquant la présence de deux doubles liaisons conjuguées est en accord avec les données du spectre UV (figure II. 1. 3. 1. 3). Les valeurs des constantes de couplage entre les protons H-2'/H-3' ($J = 15,4$ Hz) et H-4'/H-5' ($J = 15,2$ Hz) conduisent à attribuer pour ces doubles liaisons une stéréochimie de type *E*.

Les corrélations H/C longue distance (HMBC) des protons oléfiniques H-4' et H-5' permettent de continuer la construction de la chaîne de cet acide gras (figure II. 1. 3. 1. 25). En effet, le spectre HMBC révèle les couplages des protons H-4' et H-5' avec un carbone résonant à δ_C 32,9 attribuable au groupement 6'-CH₂. Le déplacement chimique de ce carbone supérieur à 30 ppm confirme la stéréochimie 2'E et 4'E [298]. Le proton H-5' corrèle sur le spectre HMBC avec un carbone résonant à δ_C 28,1 attribué au groupement 7'-CH₂. Leurs protons sont repérés par l'expérience HSQC à δ_H 2,18 (*q*, $J = 7,2$ Hz, H₂-6') et 1,50 (*m*, H₂-7').

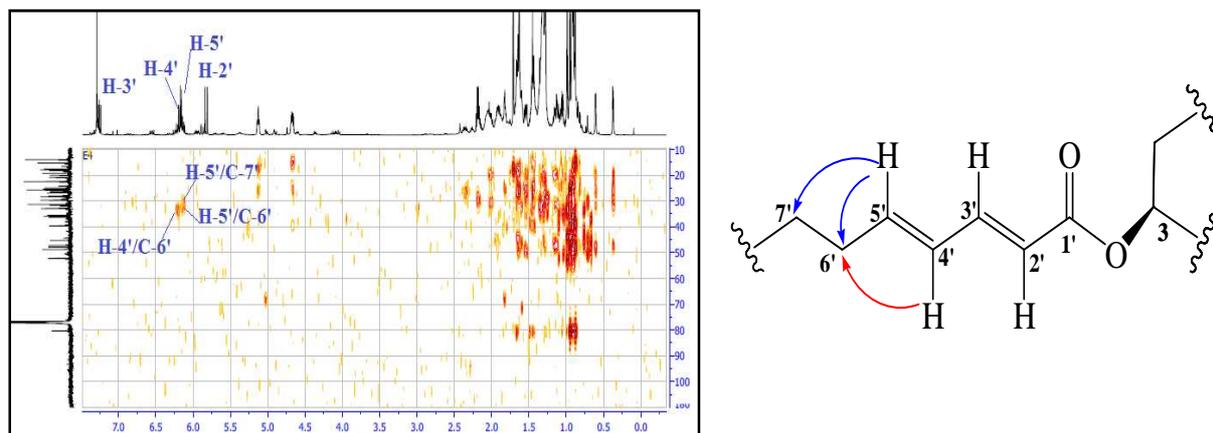


Figure II. 1. 3. 1. 25. Spectre HMBC de l'acide gras du composé EP1

Les deux carbones des groupements CH₂ restant sont identifiés comme étant 8'-CH₂ (δ_C 31,3) et 9'-CH₂ (δ_C 22,4) vu la présence d'une corrélation entre les protons H₂-6' et le carbone C-8' sur le spectre HMBC (figures II. 1. 3. 1. 26 et 27). Les protons de ces deux groupements CH₂ sont localisés par l'expérience HSQC à δ_H 1,37 (*m*, H₂-8') et δ_H 1,39 (*m*, H₂-9').

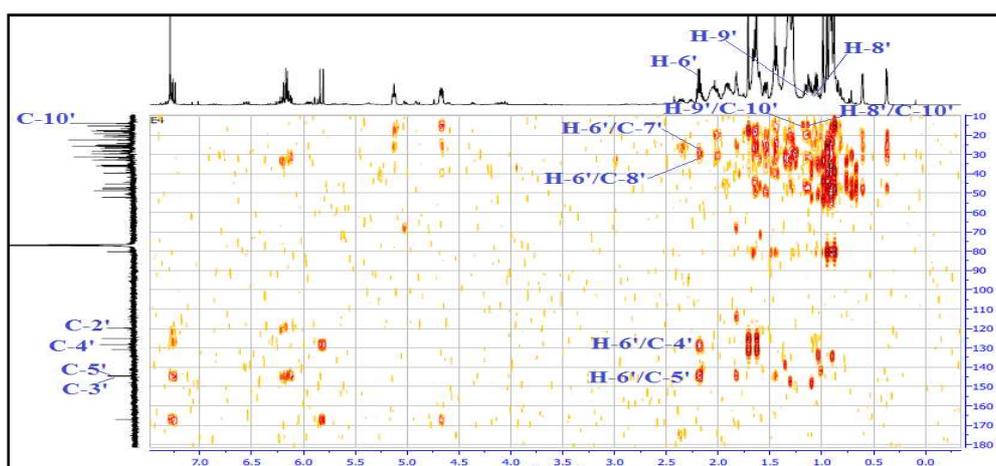


Figure II. 1. 3. 1. 26. Spectre HMBC de l'acide gras du composé EP1

En tenant compte des résultats obtenus à partir des spectres de masse et RMN ¹³C, l'extrémité de la chaîne d'acide gras est clairement identifiée au groupement CH₃. Ses protons sont localisés à δ_H 0,92 (*t*, $J = 6,4$ Hz, H₃-10') par l'expérience HSQC. La position de ce

groupement est confirmée par les corrélations des protons H₂-8' et H₂-9' avec le carbone C-10' (δ_C 14,7) sur le spectre HMBC (figure II. 1. 3. 1. 26 et 27).

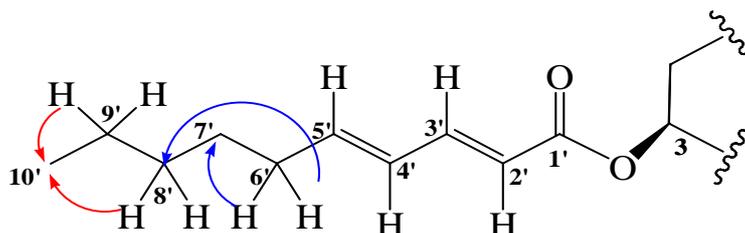


Figure II. 1. 3. 1. 27. Identification de l'extrémité de l'acide gras du composé EP1

A cette étape de la détermination structurale, le substituant acyle accordé au carbone C-3 de la génine cycloarténol du composé **EP1**, est caractérisé comme étant l'acide gras insaturé 2'(E),4'(E)-décadiénoyle [299] (figure II. 1. 3. 1. 27).

La stéréochimie de ce composé est établie par combinaison d'analyse du spectre NOESY (figure II. 1. 3. 1. 28) et des valeurs de constantes de couplage des différents protons de ce squelette cycloarténol. Ce dernier résulte d'un mode de cyclisation de type chaise-bateau-chaise-bateau-chaine latérale [300].

L'analyse des effets nOe du composé **EP1** est basée essentiellement sur l'orientation du proton H-3 dont les valeurs des constantes de couplage ($J_{H-3ax/H-2ax} = 11,3$ Hz et $J_{H-3ax/H-2eq} = 4,5$ Hz) lui offrent une orientation α .

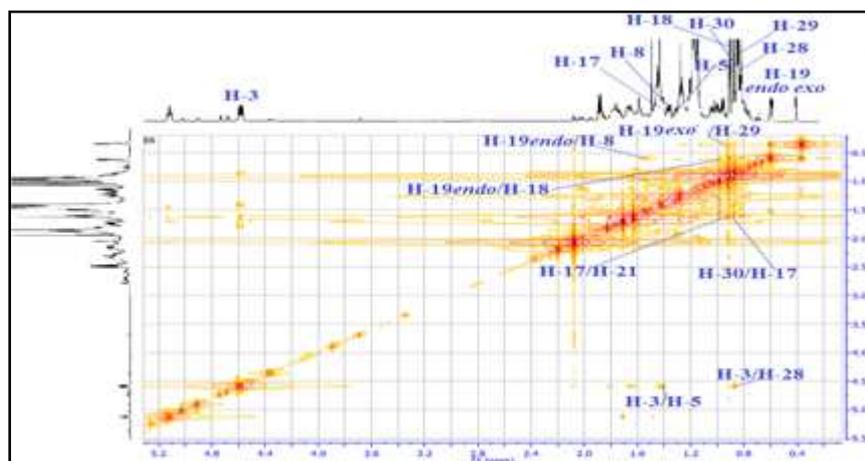


Figure II. 1. 3. 1. 28. Spectre NOESY du composé EP1

Ce proton corrèle sur le spectre NOESY avec les protons méthyliques H₃-28 ainsi qu'avec le proton H-5 traduisant leur orientation α . En conséquence, le groupement méthylique 29-CH₃ est β -orienté (figures II. 1. 3. 1. 28 et 29). Les protons de ce dernier montrent des corrélations avec le proton H-19 *exo* du noyau cyclopropane β -orienté comme l'indique les données de la littérature [301].

En outre, le proton H-19 *endo* corrèle avec les protons H₃-18 et H-8. Les valeurs de la constante de couplage du proton H-8β ($J_{H-8ax/H-7ax} = 12,2$ Hz et $J_{H-8ax/H-7eq} = 4,8$ Hz) confirment bien cette orientation.

Le dernier méthyle angulaire 30-CH₃ de ce triterpène est α-orienté en tenant compte des effets NOESY de ses protons avec le proton H-5α. Ces protons (H₃-30) corrèlent aussi avec le proton H-17 indiquant son orientation α (figures II. 1. 3. 1. 28 et 29).

Le déplacement chimique des protons H₃-21 et sa constante de couplage (δ_H 0,95, *d*, $J = 6,7$ Hz) et les effets NOESY entre H-17α/H₃-21 et H₃-21/H-12β indiquent une configuration 20*R* au niveau du carbone chiral C-20 [302]. En conséquence, la configuration absolue des autres carbones asymétriques s'établit comme suit : 3*S*, 5*R*, 8*R*, 9*S*, 10*R*, 13*S*, 14*R* et 17*S*.

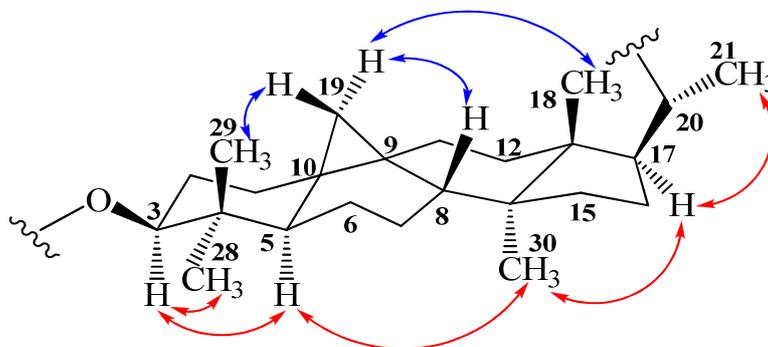


Figure II. 1. 3. 1. 29. Corrélations NOESY du composé EP1

Tous ces résultats spectraux accumulés, en plus de la valeur du pouvoir rotatoire mesuré dans le chloroforme ($[\alpha]_D = +46,1$, $c = 1,9$), permettent d'identifier la structure du composé EP1 au Cycloartényl-2'(*E*),4'(*E*)-décadiénoate (figure II. 1. 3. 1. 30) où les recherches bibliographiques effectuées sur ce composé montrent qu'il s'agit d'un nouveau dérivé ester du Cycloarténol.

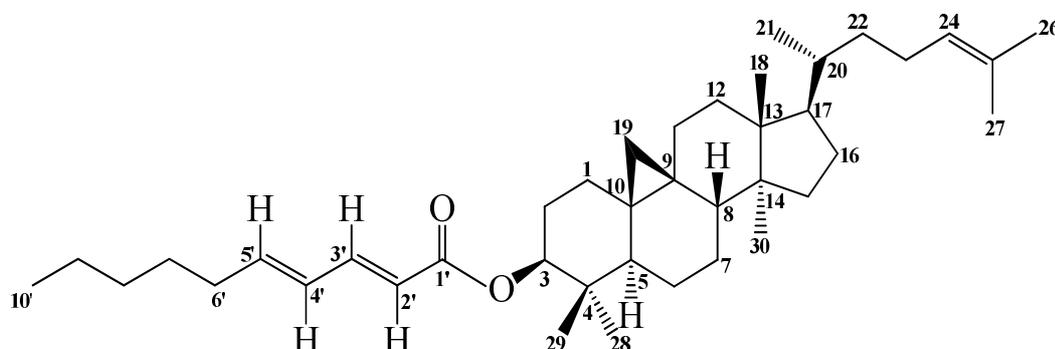


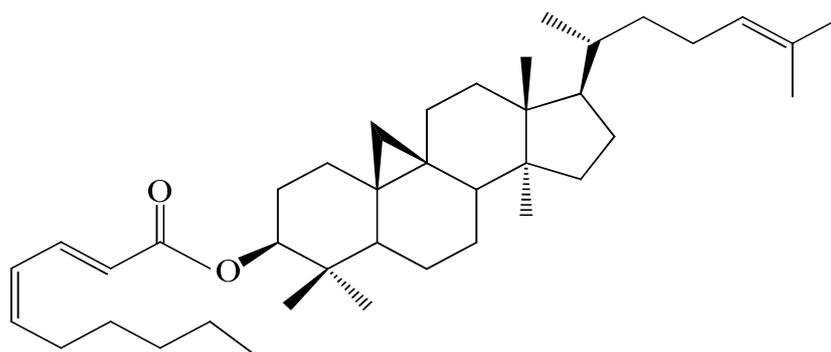
Figure II. 1. 3. 1. 30. Structure du composé EP1 (Cycloartényl-2'(*E*),4'(*E*)-décadiénoate)

Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé EP1 sont rassemblés dans le tableau II. 1. 3. 1.

Tableau II. 1. 3. 1. Déplacements chimiques en RMN ^1H (500 MHz) et RMN ^{13}C (125 MHz) du composé EP1 enregistrés dans CDCl_3

EP1		
Position	δ_{H} (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)
1a	1,64 (1H, <i>m</i>)	31,6
1b	1,27 (1H, <i>m</i>)	
2a	1,80 (1H, <i>m</i>)	28,4
2b	1,65 (1H, <i>m</i>)	
3	4,67 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 11,3-4,5)	80,3
4	-	39,6
5	1,40 (1H, <i>m</i>)	47,2
6a	1,60 (1H, <i>m</i>)	20,1
6b	0,83 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 12,6-11,1-2,3)	
7a	1,28 (1H, <i>m</i>)	26,5
7b	1,10 (1H, <i>m</i>)	
8	1,54 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 12,2-4,8)	47,8
9	-	20,9
10	-	25,8
11a	2,03 (1H, <i>m</i>)	25,9
11b	1,18 (1H, <i>m</i>)	
12a	1,60 (1H, <i>m</i>)	32,8
12b	1,13 (1H, <i>m</i>)	
13	-	45,2
14	-	48,8
15a	1,30 (1H, <i>m</i>)	35,5
15b	1,14 (1H, <i>m</i>)	
16a	1,90 (1H, <i>m</i>)	26,9
16b	1,30 (1H, <i>m</i>)	
17	1,62 (1H, <i>m</i>)	52,2
18	0,99 (3H, <i>s</i>)	17,6
19 <i>endo</i>	0,61 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 4,1)	29,7
19 <i>exo</i>	0,37 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 4,1)	
20	1,47 (1H, <i>m</i>)	35,9
21	0,95 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,7)	18,2
22a	1,49 (1H, <i>m</i>)	36,3
22b	1,10 (1H, <i>m</i>)	
23	2,00 (2H, <i>m</i>)	24,9
24	5,13 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 7,1)	125,2
25	-	130,9
26	1,71 (3H, <i>s</i>)	25,7
27	1,63 (3H, <i>s</i>)	18,0
28	0,88 (3H, <i>s</i>)	25,4
29	0,90 (3H, <i>s</i>)	15,3
30	0,89 (3H, <i>s</i>)	19,2
1'	-	167,1
2'	5,82 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 15,4)	119,8
3'	7,26 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 15,3-9,5)	144,7
4'	6,19 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 15,2-9,4)	130,9
5'	6,16 (1H, <i>dt</i> , <i>J</i> = 15,1-6,9)	144,5
6'	2,18 (2H, <i>q</i> , <i>J</i> = 7,0)	32,9
7'	1,50 (2H, <i>m</i>)	28,1
8'	1,37 (2H, <i>m</i>)	31,3
9'	1,39 (2H, <i>m</i>)	22,4
10'	0,92 (3H, <i>t</i> , <i>J</i> = 6,4)	14,0

II. 1. 3. 2. Identification structurale du composé EP2



Cycloartényl-2'(E),4'(Z)-décadiénoate

Le composé **EP2** est purifié également sous forme d'une huile incolore soluble dans le chloroforme. Il montre une tache visible à la lumière UV à 254 nm se colorant en marron après révélation par une solution acide et chauffage à 100 °C.

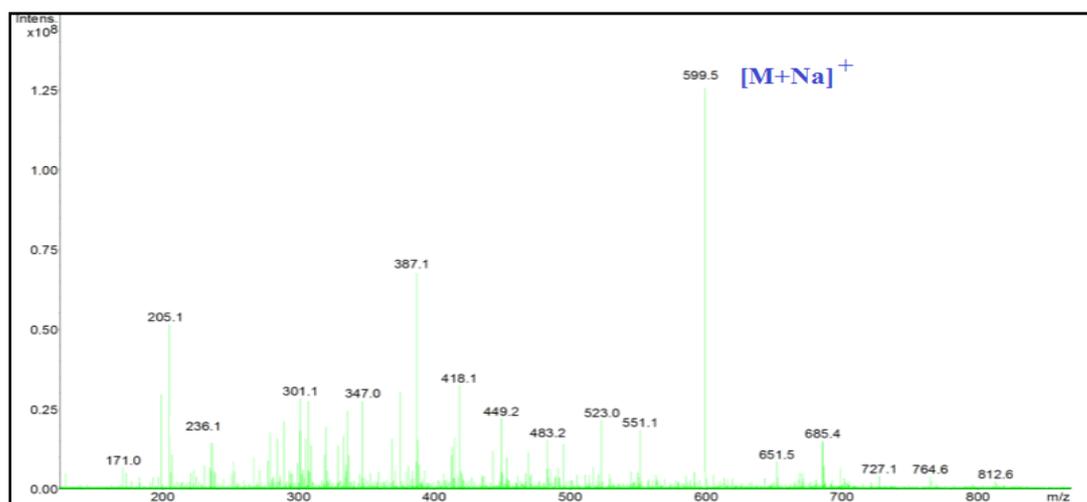


Figure II. 1. 3. 2. 1. Spectre ESI-MS du composé EP2

Le spectre de masse ESI-MS (figure II. 1. 3. 2. 1) du composé **EP2** est totalement identique à celui du composé **EP1**. En effet, il exhibe un pic d'ion pseudomoléculaire à $m/z = 599,5 [M+Na]^+$, soit une masse moléculaire égale à 576 uma correspondant à une formule brute en $C_{40}H_{64}O_2$. Il s'agit donc de deux isomères.

La ressemblance entre les composés **EP1** et **EP2** ne découle pas seulement de la formule brute mais elle passe à l'entourage chimique des différents carbones et protons. Ceci est déduit par la comparaison entre les spectres RMN 1H et ^{13}C de ces deux composés, témoignant de la présence d'un triterpène de type Cycloarténol substitué, comme pour le composé **EP1**, par une chaîne d'acide gras insaturé.

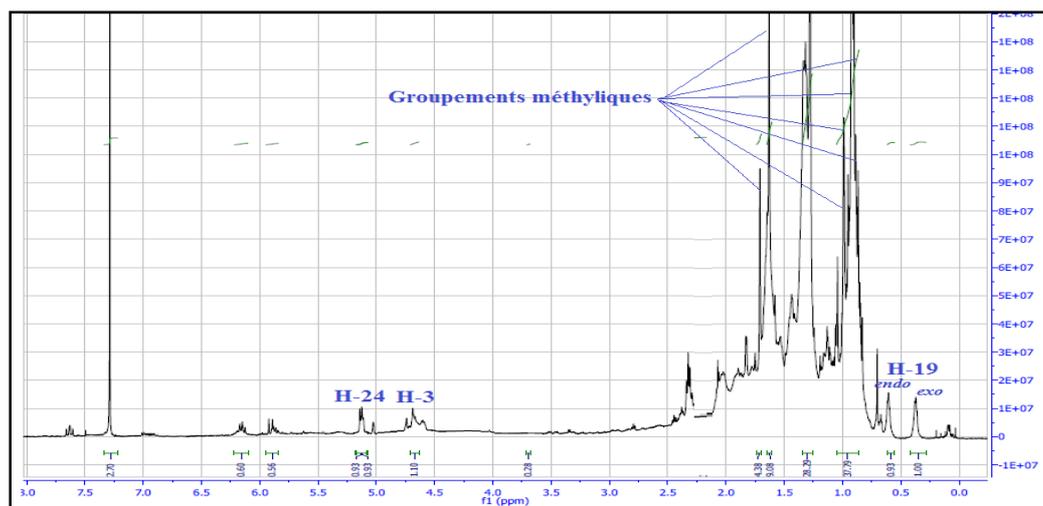


Figure II. 1. 3. 2. 3. Spectre RMN ^1H du composé EP2

Pour la génine de ce composé, le spectre RMN ^1H (figure II. 1. 3. 2. 3) montre bien tous les protons caractéristiques de ce squelette Cycloarténol, allant du champ fort au champ faible, à savoir :

- Les protons géminés non équivalents H-19 *endo* ($\delta_{\text{H}} 0,61$, *d*, $J = 4,2$ Hz) et H-19 *exo* ($\delta_{\text{H}} 0,36$, *d*, $J = 4,2$ Hz) du noyau cyclopropane tétrasubstitué.
- Les protons méthyliques angulaires H₃-28 ($\delta_{\text{H}} 0,87$, *s*), H₃-29 ($\delta_{\text{H}} 0,90$, *s*), H₃-18 ($\delta_{\text{H}} 0,99$, *s*) et H₃-30 ($\delta_{\text{H}} 0,89$, *s*), ainsi que les protons des méthyles de la chaîne latérale H₃-21 ($\delta_{\text{H}} 0,92$, *d*, $J = 6,3$ Hz), H₃-26 ($\delta_{\text{H}} 0,71$, *s*) et H₃-27 ($\delta_{\text{H}} 0,63$, *s*).
- Le proton oxyméthine H-3 ($\delta_{\text{H}} 4,68$, *dd*, $J = 11,2-4,1$ Hz).
- Le proton oléfinique H-24 ($\delta_{\text{H}} 5,13$, *t*, $J = 7,0$ Hz).

La comparaison du spectre RMN ^{13}C de ce composé avec celui du composé **EP1** permet de repérer tous les carbones de cette génine comme le montre les figures II. 1. 3. 2. 4 et II. 1. 3. 2. 6.

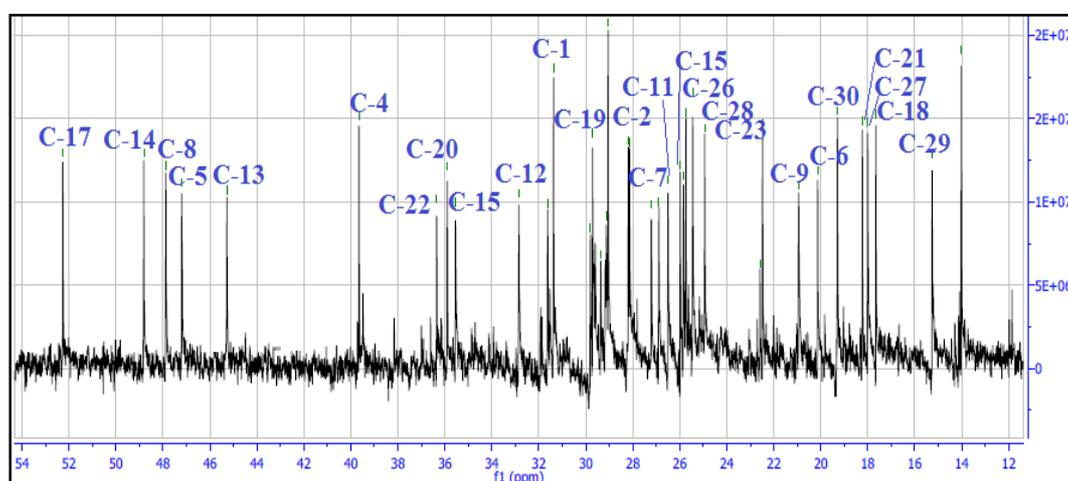


Figure II. 1. 3. 2. 4. Spectre RMN ^{13}C du composé EP2

Cette comparaison conduit à l'identification des protons des groupements 3-CHO et 19-CH₂ à δ_C 80,4 et 29,7 respectivement. Pour les méthyles angulaires, ils sont localisés à δ_C 25,4 (C-28), 15,2 (C-29), 17,6 (C-18) et 19,2 (C-30). Concernant la chaîne latérale liée au carbone C-17, les carbones des groupements méthyliques sont repérés à δ_C 18,2 (C-21), 27,7 (C-26) et 18,0 (C-27), ainsi que les carbones de la double liaison sont visualisés à δ_C 125,2 (C-24) et 130,9 (C-25) (figure II. 1. 3. 2. 6).

L'analyse des spectres HSQC, COSY H-H, HMBC et NOESY de ce composé confirme bien les attributions déjà réalisées, comme elle permet de repérer les protons et carbones des autres groupements CH et CH₂ de la génine.

La méthodologie utilisée pour montrer la présence d'une génine de type Cycloarténol [297] (figure II. 1. 3. 2. 5) pour ce composé est basée essentiellement sur la comparaison entre les spectres RMN ¹H et ¹³C des composés **EP1** et **EP2**, et elle est prouvée par l'élucidation des spectres RMN 1D et 2D.

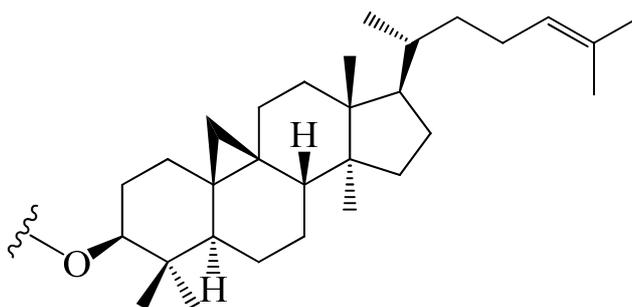


Figure II. 1. 3. 2. 5. Génine Cycloarténol du composé EP2

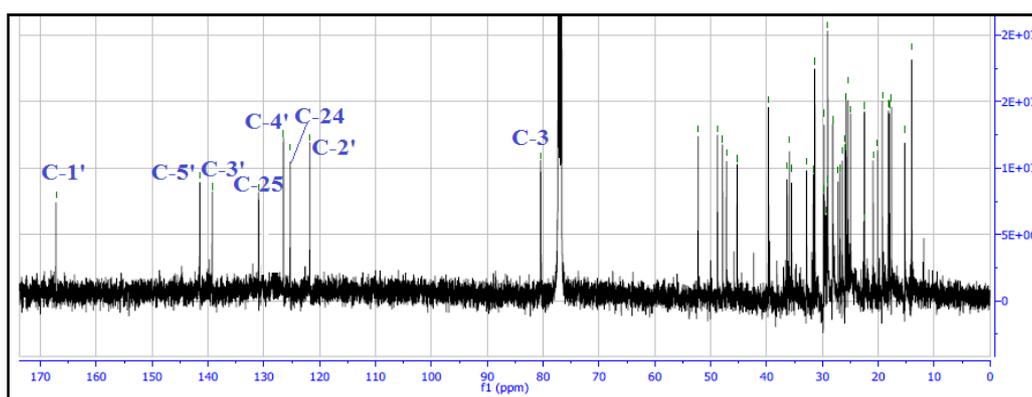


Figure II. 1. 3. 2. 6. Spectre RMN ¹³C montrant les carbones déblindés du composé EP2

La même procédure est appliquée pour mettre en évidence l'existence d'une chaîne d'acide gras insaturé dans la structure de ce composé. En effet, la comparaison des spectres RMN ¹³C des composés **EP1** et **EP2** (figure II. 1. 3. 2. 6) montre la présence de :

- Un carbone quaternaire C-1' résonnant à δ_C 167,2.
- Quatre groupements CH localisés à δ_C 121,7, 139,2, 126,4 et 141,4.
- Quatre groupements CH₂ repérés à δ_C 29,0, 28,1, 31,6 et 22,4.
- Un groupement méthylique à δ_C 14,0.

L'analyse des spectres RMN ¹H, COSY et HSQC de ce composé permet de localiser les protons oléfiniques H-2', H-3', H-4' et H-5' à δ_H 5,82, 7,63, 6,19 et 6,16 respectivement. Leurs carbones sont détectés à δ_C 121,7 (C-2'), 139,2 (C-3'), 126,4 (C-4') et 141,4 (C-5') selon le spectre HSQC (figure II. 1. 3. 2. 7).

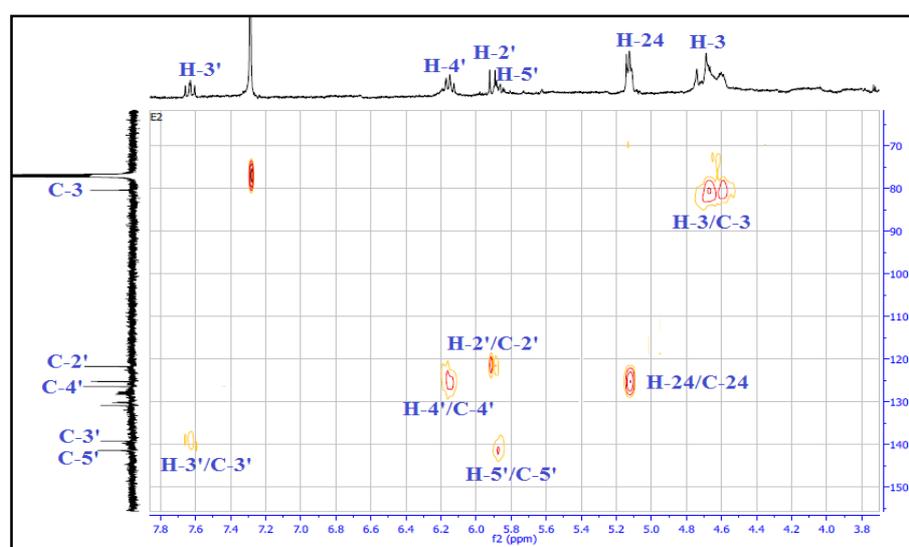


Figure II. 1. 3. 2. 7. Spectre HSQC des carbones déblindés du composé EP2

L'analyse des spectres COSY, HSQC et HMBC conduit à identifier les autres protons et carbones de la chaîne d'acide gras insaturé à savoir : CH₂-6' (δ_H 2,32, *q*, $J = 7,1$ Hz)/(δ_C 27,2), CH₂-7' (δ_H 1,30, *m*)/(δ_C 31,6), CH₂-8' (δ_H 1,41, *m*)/(δ_C 28,1), CH₂-9' (δ_H 1,38, *m*)/(δ_C 22,4) et CH₃-10' (δ_H 0,91, *t*, $J = 6,4$ Hz)/(δ_C 14,0).

Le signal du proton H-2' qui sort sous forme de doublet avec $J_{H-2'/H-3'} = 15,4$ Hz atteste d'une géométrie *E* pour la double liaison ²CH=³CH. Ceci est confirmé davantage par le signal du proton voisin H-3' qui apparaît sous forme de doublet de doublets avec $J_{H-3'/H-2'} = 15,3$ Hz et $J_{H-3'/H-4'} = 12,6$ Hz. Pour la deuxième double liaison ⁴CH=⁵CH, le spectre RMN ¹H (figure II. 1. 3. 2. 8) montre une multiplicité sous forme de triplet pour le proton H-4' avec une constante de couplage $J_{H-4'/H-3'} = J_{H-4'/H-5'} = 12,6$ Hz. Cette valeur témoigne d'une géométrie *Z* pour cette double liaison.

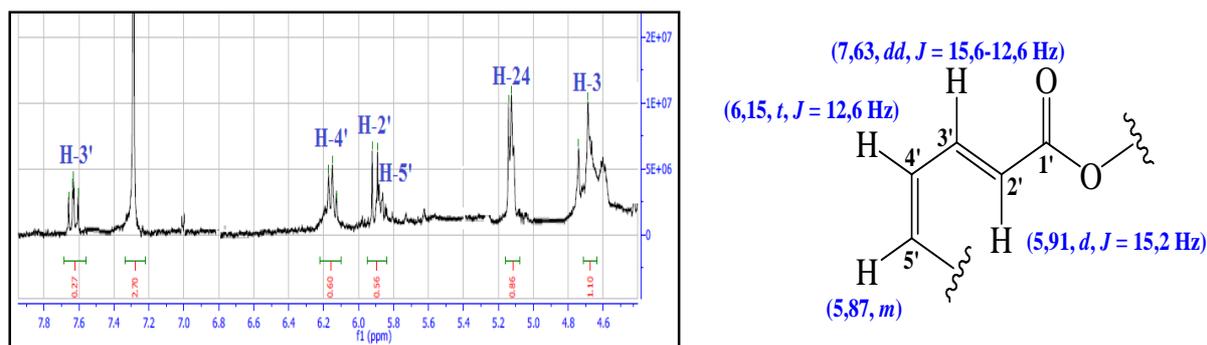


Figure II. 1. 3. 2. 8. Spectre RMN ^1H des protons déblindés du composé EP2

La stéréochimie $2'E$ et $4'Z$ des doubles liaisons de la chaîne d'acide gras se trouve supportée par la valeur du déplacement chimique du groupement $6'\text{-CH}_2$ (δ_{C} 27,2) qui est inférieure à 30 ppm, comme l'indique les données de la littérature [298]. Il est à noter que le carbone C-6' se trouverait dans la zone blindante du cône d'anisotropie de la double liaison $2'\text{CH}=\text{3}'\text{CH}$ (figure II. 1. 3. 2. 9).

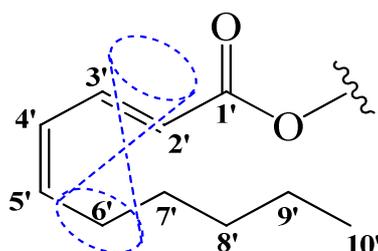


Figure II. 1. 3. 2. 9. Blindage du carbone C-6' du composé EP2

Le spectre NOESY (figure II. 1. 3. 2. 10) de ce composé confirme une fois de plus la stéréochimie déjà établie pour ces deux doubles liaisons par la présence, d'une part, d'un effet nOe entre les protons H-3'/H-4' et d'autre part, l'absence de couplage entre les protons H-2'/H-4' remarqué pour le composé précédent EP1.

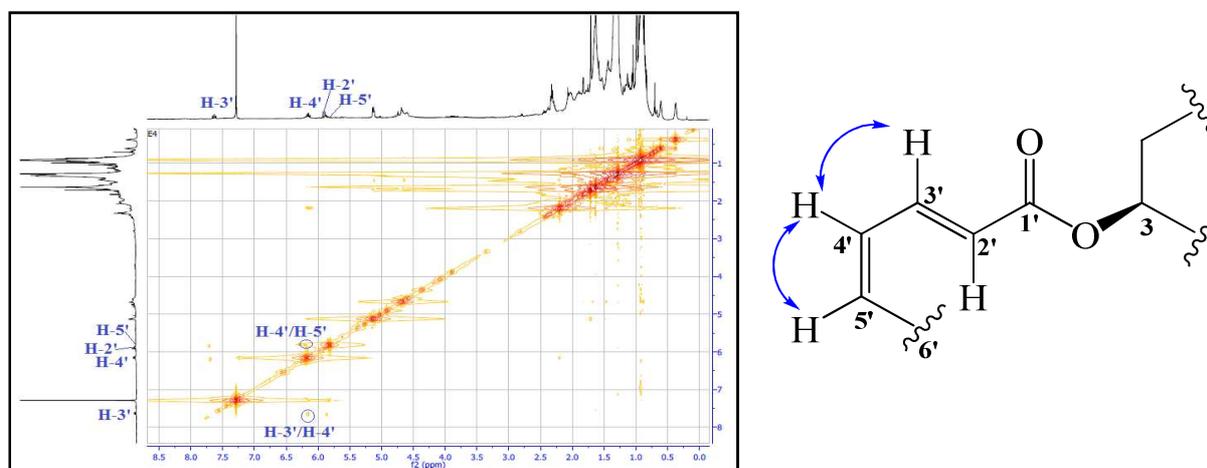


Figure II. 1. 3. 2. 10. Spectre NOESY du composé EP2

Toutes ces élucidations permettent d'identifier l'acide gras insaturé de ce composé au 2'(E),4'(Z)-décadiénoyle [303] (figure II. 1. 3. 2. 11) lié, comme pour le composé **EP1** selon le spectre HMBC, au carbone C-3.

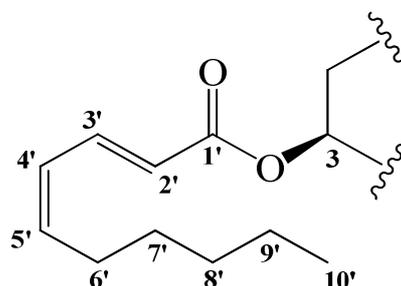


Figure II. 1. 3. 2. 11. Substitution par l'acide gras 2'(E),4'(Z)-décadiénoyle de la génine cycloarténol

A l'issue de tous ces résultats spectraux et de la valeur du pouvoir rotatoire ($[\alpha]_D = +44,8$, $c = 2$, CHCl_3), le composé **EP2** est identifié comme étant une nouvelle structure dérivé de Cycloarténol nommé **Cycloartényl-2'(E),4'(Z)-décadiénoate** (figure II. 1. 3. 2. 12).

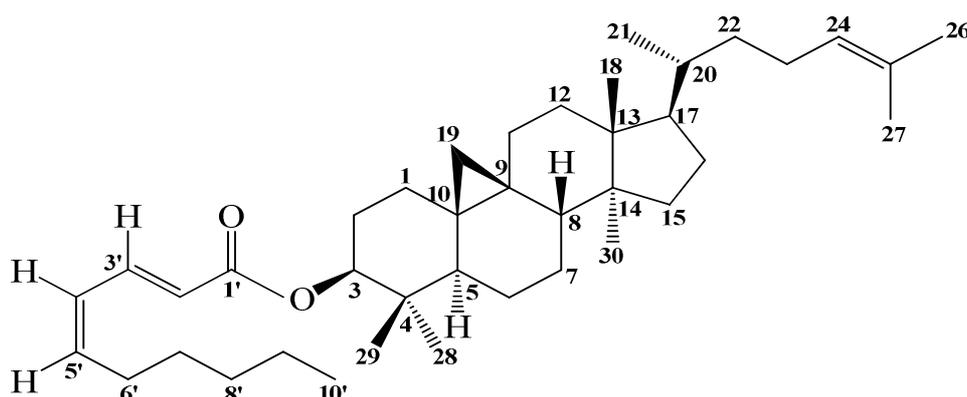


Figure II. 1. 3. 2. 12. Structure du composé EP2 (Cycloartényl-2'(E),4'(Z)-décadiénoate)

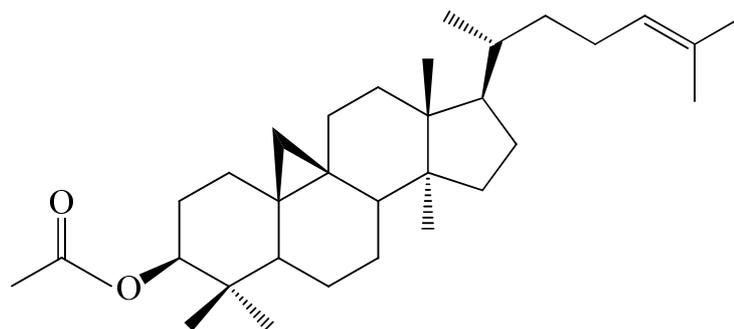
Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé **EP2** sont réunis dans le tableau II. 1. 3. 2.

Tableau II. 1. 3. 2. Déplacements chimiques en RMN ^1H (500 MHz) et RMN ^{13}C (125 MHz) du composé EP2 enregistrés dans CDCl_3

EP2		
Position	δ_{H} (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)
1a	1,62 (1H, <i>m</i>)	31,3
1b	1,29 (1H, <i>m</i>)	
2a	1,79 (1H, <i>m</i>)	28,1
2b	1,63 (1H, <i>m</i>)	
3	4,68 (1H, <i>dd</i> , $J = 11,2-4,1$)	80,4
4	-	39,6
5	1,41 (1H, <i>m</i>)	47,1
6a	1,62 (1H, <i>m</i>)	20,1
6b	0,80 (1H, <i>m</i>)	

Position	δ_H (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz)	δ_C (ppm)
7a	1,26 (1H, <i>m</i>)	26,5
7b	1,12 (1H, <i>m</i>)	
8	1,52 (1H, <i>m</i>)	47,8
9	-	20,9
10	-	25,8
11a	2,00 (1H, <i>m</i>)	25,9
11b	1,19 (1H, <i>m</i>)	
12a	1,61 (1H, <i>m</i>)	32,8
12b	1,10 (1H, <i>m</i>)	
13	-	45,2
14	-	48,8
15a	1,32 (1H, <i>m</i>)	35,5
15b	1,15 (1H, <i>m</i>)	
16a	1,89 (1H, <i>m</i>)	26,8
16b	1,31 (1H, <i>m</i>)	
17	1,61 (1H, <i>m</i>)	52,2
18	0,99 (3H, <i>s</i>)	17,6
19 <i>endo</i>	0,61 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 4,2)	29,7
19 <i>exo</i>	0,36 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 4,2)	
20	1,46 (1H, <i>m</i>)	35,8
21	0,92 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,3)	18,2
22a	1,50 (1H, <i>m</i>)	36,3
22b	1,12 (1H, <i>m</i>)	
23	2,02 (2H, <i>m</i>)	24,9
24	5,13 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 7,0)	125,2
25	-	130,9
26	1,71 (3H, <i>s</i>)	25,7
27	1,63 (3H, <i>s</i>)	18,0
28	0,87 (3H, <i>s</i>)	25,4
29	0,90 (3H, <i>s</i>)	15,2
30	0,89 (3H, <i>s</i>)	19,2
1'	-	167,2
2'	5,91 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 15,2)	121,7
3'	7,63 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 15,2-12,6)	139,2
4'	6,15 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 12,6)	126,4
5'	5,87 (1H, <i>m</i>)	141,4
6'	2,32 (2H, <i>q</i> , <i>J</i> = 7,1)	27,2
7'	1,30 (2H, <i>m</i>)	31,6
8'	1,41 (2H, <i>m</i>)	28,1
9'	1,38 (2H, <i>m</i>)	22,4
10'	0,91 (3H, <i>t</i> , <i>J</i> = 6,4)	14,0

II. 1. 3. 3. Identification structurale du composé EP3



Cycloartényl acétate

Ce composé est isolé sous forme d'une huile jaune soluble dans le chloroforme. Il est invisible à lumière UV à 254 et 366 nm et se colorant en marron après révélation par une solution acide et chauffage à 100 °C.

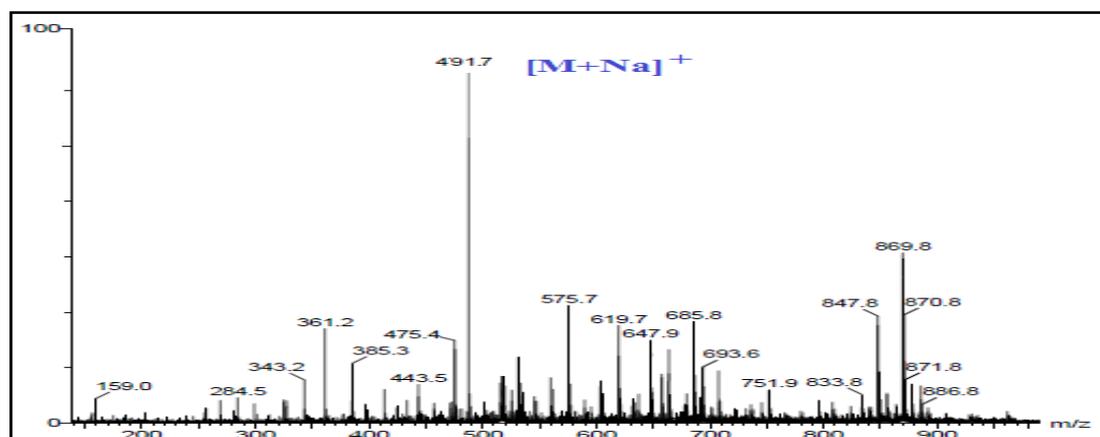


Figure II. 1. 3. 3. 1. Spectre ESI-MS du composé EP3

Le spectre de masse ESI-MS enregistré en mode positif (figure II. 1. 3. 3. 1) du composé **EP3** exhibe un pic d'ion pseudomoléculaire à $m/z = 491,7$ $[M+Na]^+$, soit une masse moléculaire égale à 468 uma correspondant à une formule brute en $C_{32}H_{52}O_2$.

Les spectres RMN 1H (figure II. 1. 3. 3. 2) et ^{13}C (figure II. 1. 3. 3. 5) de ce composé montrent une grande ressemblance avec ceux des composés précédents **EP1** et **EP2** notamment au niveau des zones blindées. Ces conformités conduisent à proposer pour le composé **EP3** un squelette triterpénique aussi de type cycloarténol par la présence de :

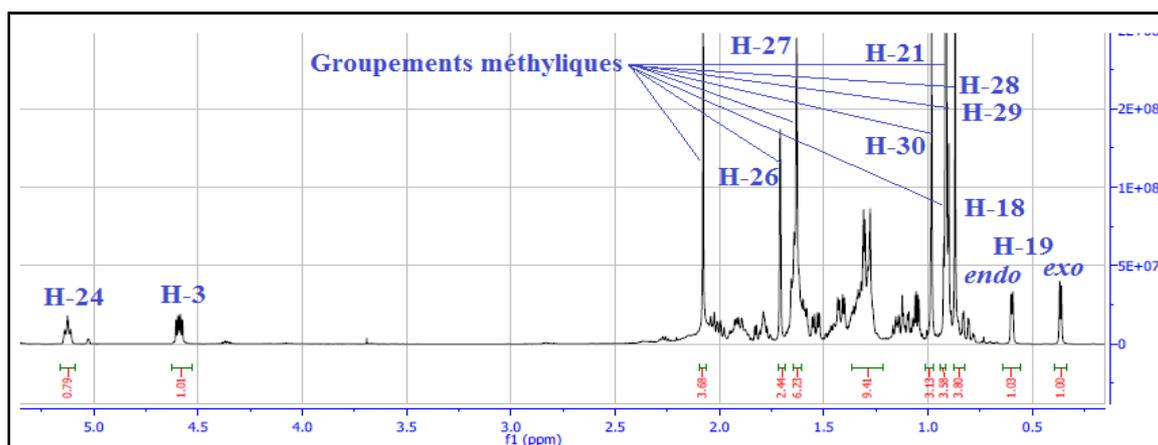


Figure II. 1. 3. 3. 2. Spectre RMN 1H du composé EP3

- Sept signaux d'intégration 3H chacun dont six sortant sous forme de singulets et un signal avec une multiplicité doublet, accordés sur le spectre HSQC aux pics de carbones de type CH_3 . Ces signaux sont attribués aux groupements méthyliques 28- CH_3 (δ_H 0,87, s)/(δ_C 25,4), 29- CH_3 (δ_H 0,91, s)/(δ_C 15,1), 18- CH_3

(δ_H 0,98, *s*)/(δ_C 17,6), 30-CH₃ (δ_H 0,90, *s*)/(δ_C 19,2), 21-CH₃ (δ_H 0,91, *d*, $J = 6,8$ Hz)/(δ_C 18,2), 26-CH₃ (δ_H 1,71, *s*)/(δ_C 25,8) et 27-CH₃ (δ_H 1,63, *s*)/(δ_C 17,9).

- Deux signaux apparaissent à δ_H 0,60 et 0,36 d'une multiplicité doublet ($J = 4,1$ Hz) typiques des deux protons non équivalents (H-19 *endo* et H-19 *exo*) du noyau cyclopropane d'un squelette 9,19-cyclotriterpénoïde. Ces protons sont accordés sur le spectre HSQC au carbone localisé à δ_C 29,7.
- Un signal doublet de doublets sortant à δ_H 4,59 (figure II. 1. 3. 3. 3) avec une constante de couplage $J = 10,6-5,1$ Hz, lié sur le spectre HSQC au carbone à δ_C 80,7 conduisant à l'attribuer au groupement oxyméthine 3-CHO. Les valeurs des déplacements chimiques de proton et carbone indiquent aussi la présence d'un substituant acyle lié au carbone C-3 (figure II. 1. 3. 3. 5).

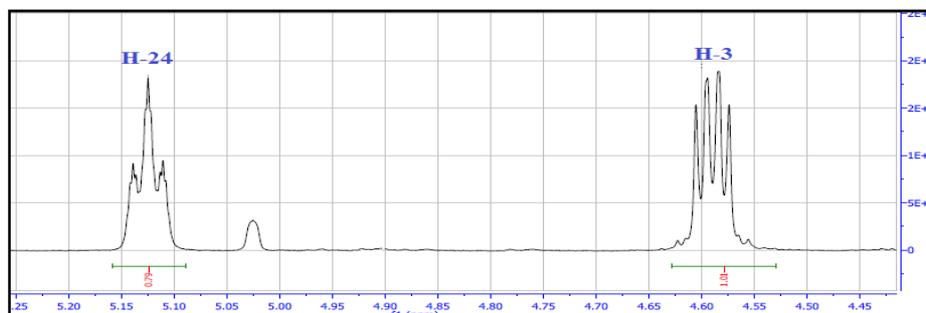


Figure II. 1. 3. 3. 3. Spectre RMN ¹H des protons déblindés du composé EP3

- Un proton (figure II. 1. 3. 3. 3) résonant à δ_H 5,12 (*t*, $J = 7,1$ Hz) lié au carbone repéré à δ_C 125,2 est assigné au groupement oléfinique 24-CH. L'autre carbone de la double liaison est détecté à δ_C 130,9 (C-25) (figure II. 1. 3. 3. 5).

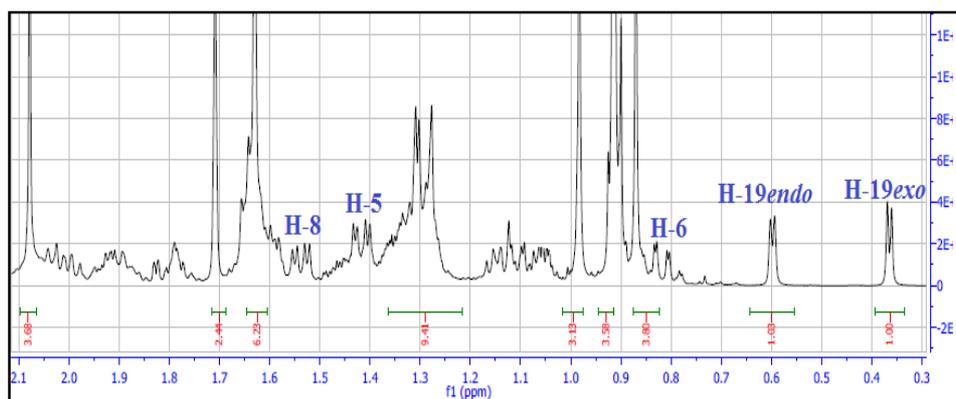


Figure II. 1. 3. 3. 4. Spectre RMN ¹H du composé EP3 (partie blindée)

Les autres groupements CH et CH₂ (figure II. 1. 3. 3. 4) ainsi que les carbones du composé EP3 (figure II. 1. 3. 3. 5) sont identifiés par l'analyse conjointe des spectres COSY H-H, HSQC, HMBC et NOESY conduisant à assurer une fois de plus la présence d'un squelette cycloarténol pour ce composé (figure II. 1. 3. 3. 6).

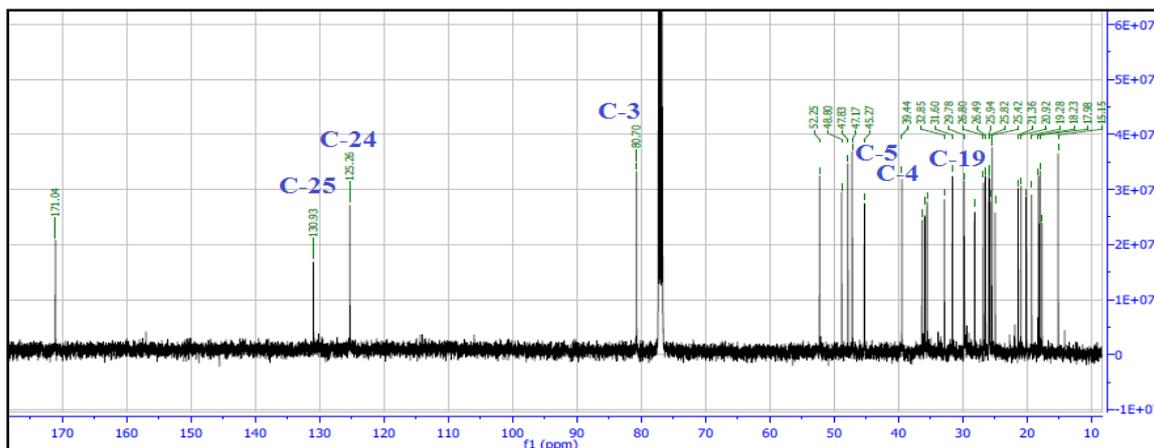


Figure II. 1. 3. 3. 5. Spectre RMN ^{13}C du composé EP3

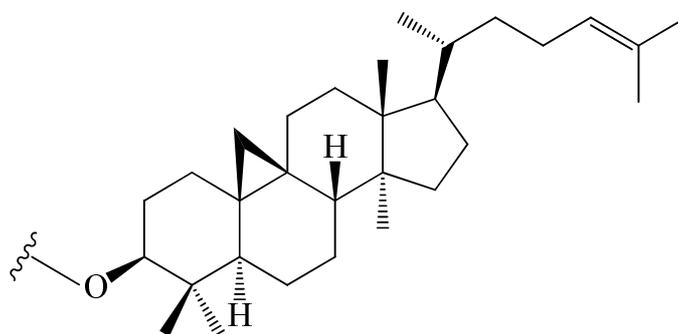


Figure II. 1. 3. 3. 6. Génine Cycloarténol du composé EP3

L'identification du substituant attaché en position C-3 du Cycloarténol est réalisée par l'analyse du spectre HMBC (figure II. 1. 3. 3. 7) qui montre une tache de corrélation entre le proton oxyméthine H-3 et un carbone quaternaire résonant à δ_{C} 171,0 attribué sans aucun doute à un carbonyle ester (C-1'). En plus, le spectre HMBC révèle une corrélation en 2J entre les protons méthyliques résonant à δ_{H} 2,08 (H₃-2', s) et le carbone C-1'. Ces protons sont liés au carbone C-2' (δ_{C} 21,3) par l'expérience HSQC, Ceci conduit à identifier ce substituant comme étant un groupement acétate.

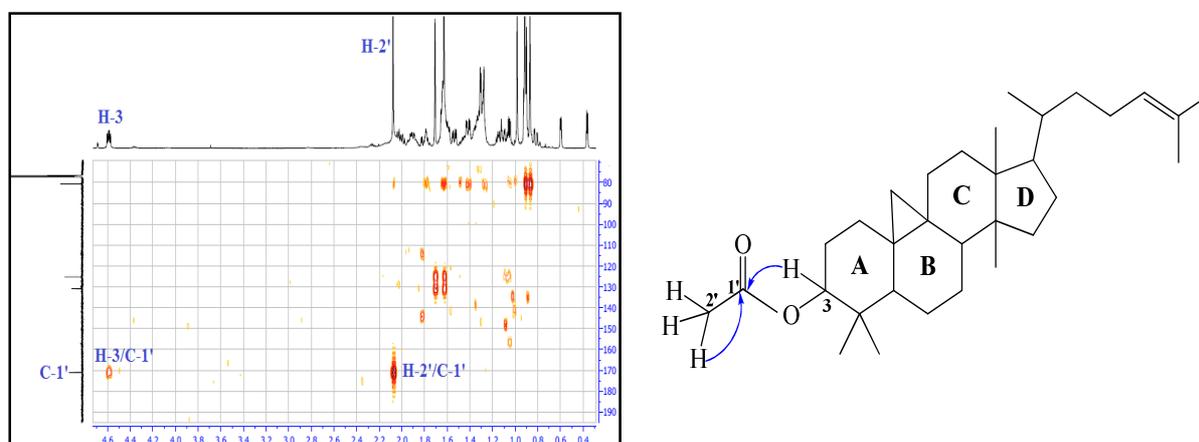


Figure II. 1. 3. 3. 7. Spectre HMBC montrant l'attachement du groupement acétate à la génine du composé EP3

L'ensemble de ces données spectrales, en plus de la valeur du pouvoir rotatoire mesuré dans le chloroforme ($[\alpha]_D = + 55$, $c = 1,8$) et la comparaison avec les résultats trouvés dans la littérature permettent d'identifier le composé **EP3** au **Cycloartényl acétate** (figure II. 1. 3. 3. 8) [304].

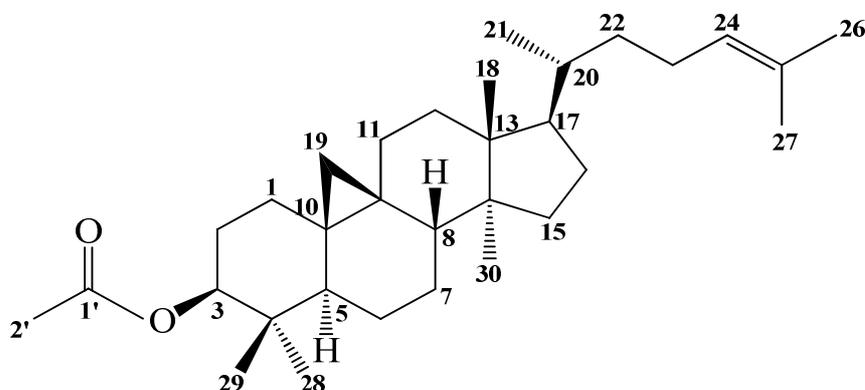


Figure II. 1. 3. 1. 8. Structure du composé EP3 (Cycloartényl acétate)

Ce composé connu pour ses propriétés antimicrobiennes [304] a été isolé antérieurement de l'espèce *Euphorbia broteri* [302].

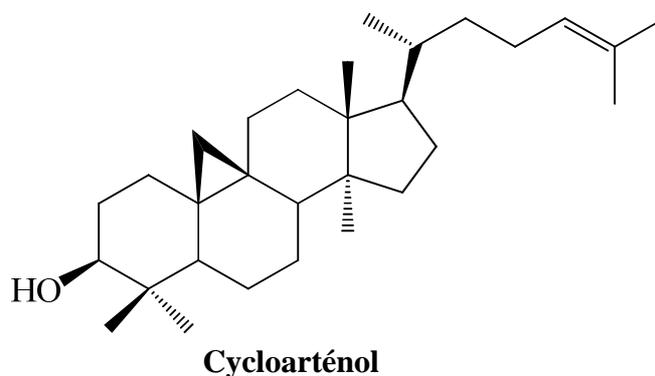
Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé **EP3** sont regroupés dans le tableau II. 1. 3. 3.

Tableau II. 1. 3. 3. Déplacements chimiques en RMN ^1H (500 MHz) et RMN ^{13}C (125 MHz) du composé EP3 enregistrés dans CDCl_3

EP3		
Position	δ_{H} (ppm), m , J (Hz)	δ_{C} (ppm)
1a	1,62 (1H, m)	31,6
1b	1,26 (1H, m)	
2a	1,79 (1H, m)	28,1
2b	1,66 (1H, m)	
3	4,59 (1H, dd , $J = 10,6-5,1$)	80,7
4	-	39,4
5	1,42 (1H, dd , $J = 12,4-4,1$)	47,1
6a	1,59 (1H, m)	20,1
6b	0,82 (1H, tdd , $J = 12,6-11,1-2,5$)	
7a	1,26 (1H, m)	26,4
7b	1,09 (1H, m)	
8	1,54 (1H, dd , $J = 12,2-4,8$)	47,8
9	-	20,9
10	-	25,7
11a	2,00 (1H, m)	25,9
11b	1,15 (1H, m)	
12a	1,63 (1H, m)	32,8
12b	1,11 (1H, m)	
13	-	45,2
14	-	48,8

Position	δ_H (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz)	δ_C (ppm)
15a	1,27 (1H, <i>m</i>)	35,5
15b	1,16 (1H, <i>m</i>)	
16a	1,89 (1H, <i>m</i>)	26,8
16b	1,35 (1H, <i>m</i>)	
17	1,60 (1H, <i>m</i>)	52,2
18	0,98 (3H, <i>s</i>)	17,6
19 <i>endo</i>	0,60 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 4,1)	29,7
19 <i>exo</i>	0,36 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 4,1)	
20	1,45 (1H, <i>m</i>)	35,8
21	0,91 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,8)	18,2
22a	1,47 (1H, <i>m</i>)	36,3
22b	1,09 (1H, <i>m</i>)	
23	1,90 (2H, <i>m</i>)	24,9
24	5,12 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 7,1)	125,2
25	-	130,9
26	1,71 (3H, <i>s</i>)	25,8
27	1,63 (3H, <i>s</i>)	17,9
28	0,87 (3H, <i>s</i>)	25,4
29	0,91 (3H, <i>s</i>)	15,1
30	0,90 (3H, <i>s</i>)	19,2
1'	-	171,0
2'	2,08 (3H, <i>s</i>)	21,3

II. 1. 3. 4. Identification structurale du composé EP4



Ce composé est purifié sous forme d'une huile incolore soluble dans le chloroforme. Il est invisible à la lumière UV à 254 et 366 nm et donne une couleur marron après révélation par une solution acide et chauffage à 100 °C.

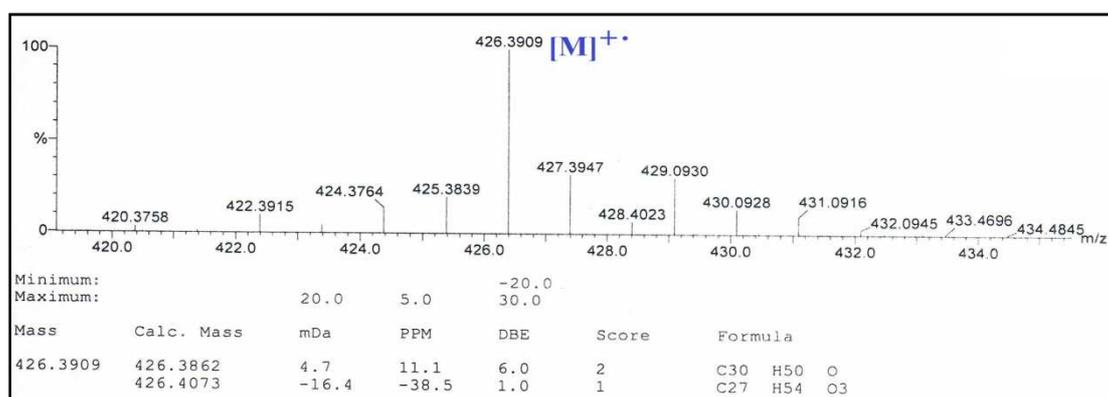


Figure II. 1. 3. 4. 1. Spectre HR-EI-MS du composé EP4

Le spectre de masse du composé **EP4** obtenu en haute résolution HR-EI-MS (figure II. 1. 3. 4. 1) montre un pic d'ion moléculaire à $m/z = 426,3909 [M]^+$, d'une masse calculée égale à 426,3862 correspondant à une formule brute en $C_{30}H_{50}O$.

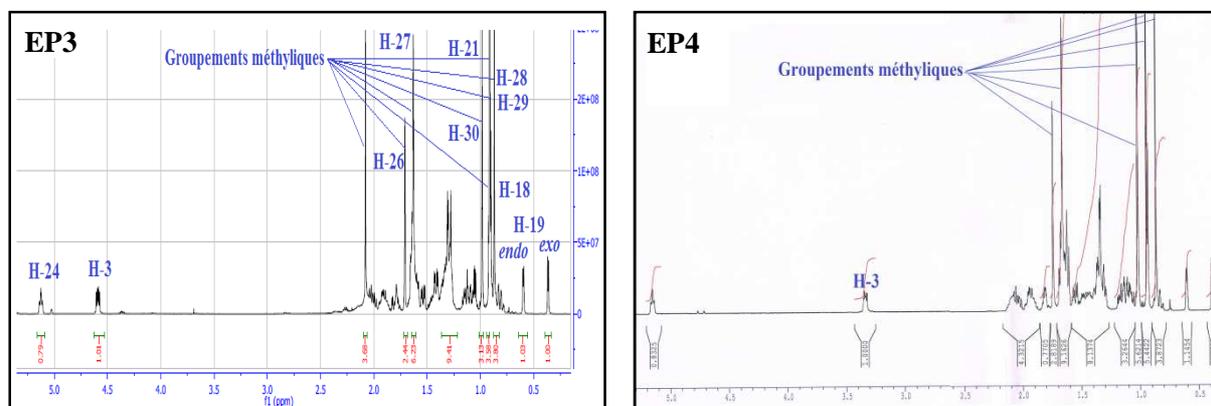


Figure II. 1. 3. 4. 2. Spectres RMN 1H des composés EP3 et EP4

Le spectre RMN 1H (figure II. 1. 3. 4. 2) de ce composé **EP4** se différencie de celui du composé précédent **EP3** par la disparition du signal des protons méthyliques 2'-CH₃ de l'acétate, ainsi que par le blindage remarqué du proton oxyméthine H-3 résonant pour ce composé à δ_H 3,31 (*dd*, $J = 11,1-4,3$ Hz). Ceci indique la présence d'un groupement hydroxyle libre en C-3.

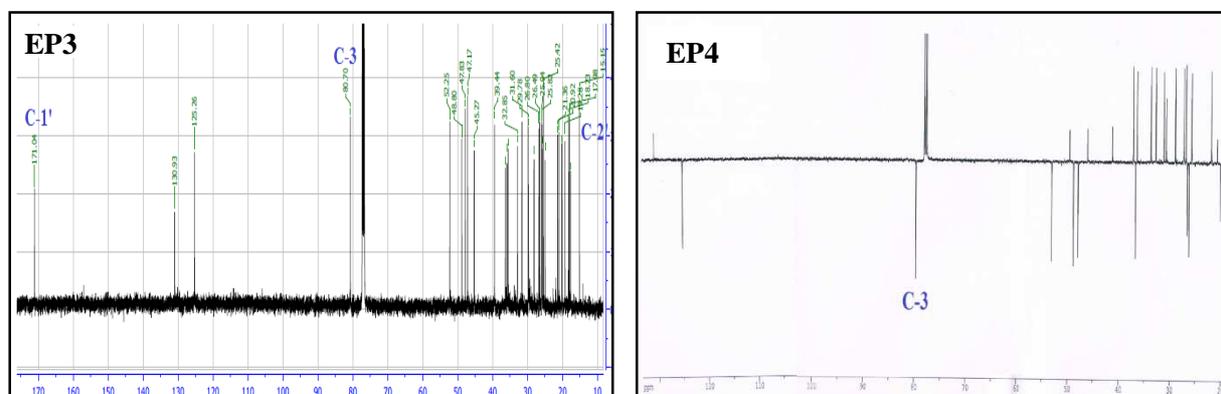


Figure II. 1. 3. 4. 3. Spectres RMN ^{13}C et J -modulé des composés EP3 et EP4

Cette constatation est confirmée par le spectre de RMN ^{13}C (J -modulé) (figure II. 1. 3. 4. 3) qui révèle le signal du carbone C-3 à δ_C 78,8 détecté pour les composés précédents aux environ de 80 ppm. Comme, il indique aussi la disparition des signaux des carbones du groupement acétate rencontrés dans le cas du composé **EP3** à δ_C 171,0 (C-1') et 21,3 (C-2').

L'analyse des spectres RMN 1H et ^{13}C (figures II. 1. 3. 4. 4 et 5), HMBC, COSY H-H, HSQC et NOESY de ce composé, ainsi que la comparaison avec ceux des composés élucidés précédemment conduisent à l'assignement de tous les protons et carbones de ce squelette cycloterpénique. Ses groupements caractéristiques sont localisés à :

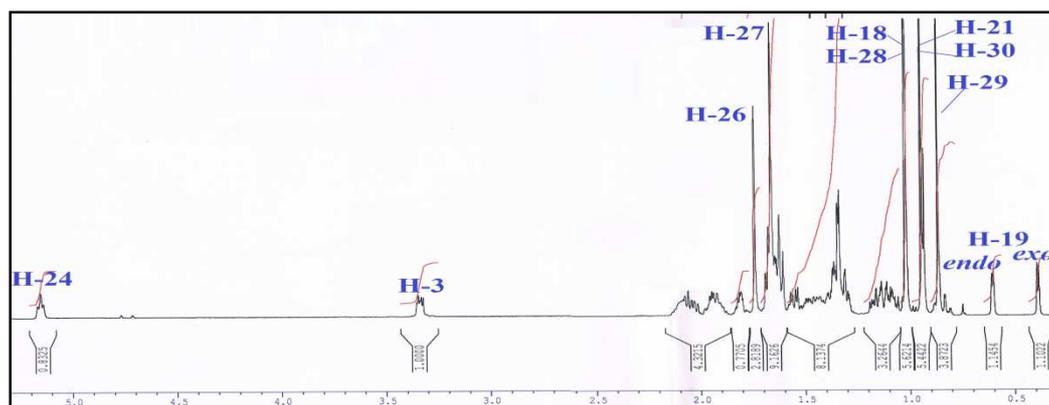


Figure II. 1. 3. 4. 4. Spectre RMN ^1H du composé EP4

- δ_{H} 0,61 (*d*, $J = 4,1$ Hz) et 0,38 (*d*, $J = 4,1$ Hz)/ δ_{C} 29,7 pour le groupement 19- CH_2 du noyau cyclopropane.
- δ_{H} 1,01 (*s*)/ δ_{C} 25,4 pour le méthyle 28- CH_3 , δ_{H} 0,87 (*s*)/ δ_{C} 13,8 (29- CH_3) et δ_{H} 1,02 (*s*)/ δ_{C} 18,0 (18- CH_3). Le dernier méthyle angulaire 30- CH_3 est localisé à δ_{H} 0,93 (*s*)/ δ_{C} 19,2. Concernant les méthyles de la chaîne latérale, ils sont visualisés à δ_{H} 0,92 (*d*, $J = 6,5$ Hz)/ δ_{C} 18,3 (21- CH_3), δ_{H} 1,73 (*s*)/ δ_{C} 25,7 (26- CH_3) et δ_{H} 1,65 (*s*)/ δ_{C} 17,5 (27- CH_3) (figure II. 1. 3. 4. 4).
- Le groupement CH oléfinique et le carbone quaternaire de la double liaison de la chaîne latérale sont localisés à δ_{H} 5,15 (*t*, $J = 7,2$ Hz)/ δ_{C} 125,2 (24-CH) et δ_{C} 130,9 (C-25) (figure II. 1. 3. 4. 5).

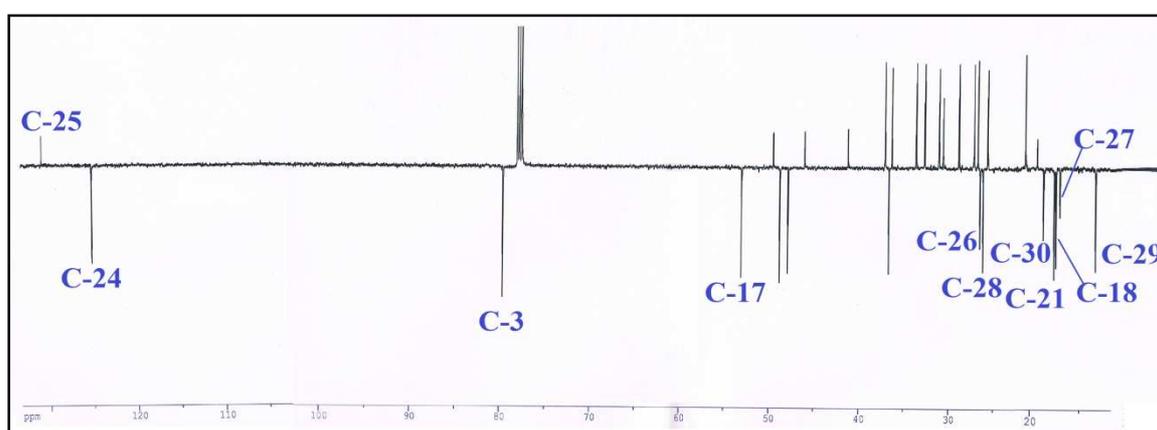


Figure II. 1. 3. 4. 5. Spectre RMN ^{13}C *J*-modulé du composé EP4

Le groupement 3-CH est porteur d'un hydroxyle libre du fait de l'absence des corrélations du proton H-3 avec d'autres carbones hors du cycle A de la génine triterpénique (H-3/C-1, H-3/C-2, H-3/C-4, H-3/C-5, H-3/C-28 et H-3/C-29) sur le spectre HMBC (figure II. 1. 3. 4. 6).

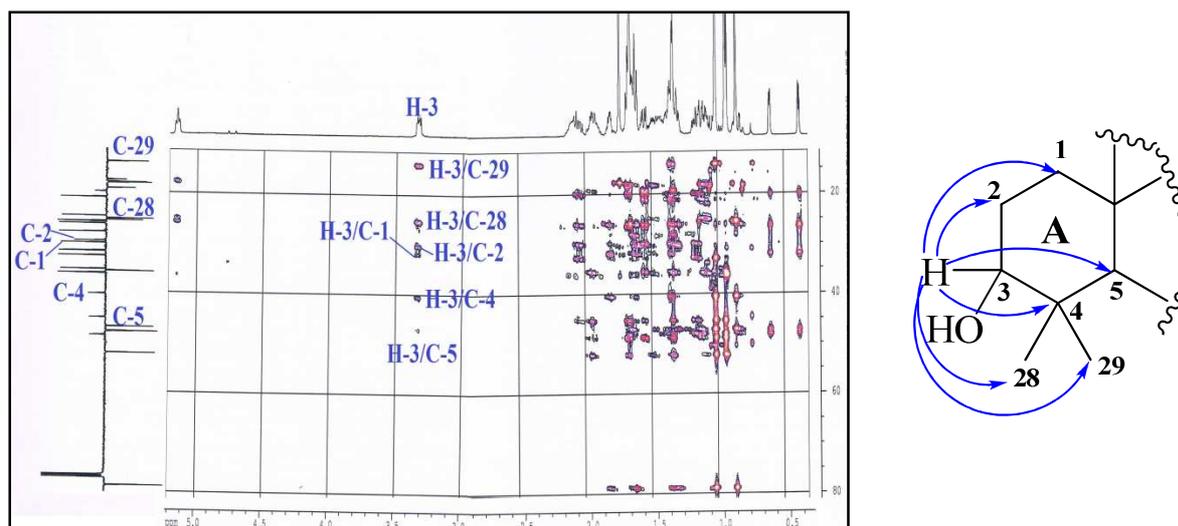


Figure II. 1. 3. 4. 6. Spectre HMBC du composé EP4

L'analyse des corrélations observées sur le spectre NOESY (figure II. 1. 3. 4. 7) indique une fois de plus que la structure du composé **EP4** est identique aux génines des composés identifiés précédemment. En effet, ce spectre suggère l'orientation des groupements : 29-CH₃, 19-CH₂, 18-CH₃ et H-8 sur la face β , tandis que les groupements H-3, H-5, 28-CH₃, 30-CH₃, H-17 et 21-CH₃ sont α -orientés.

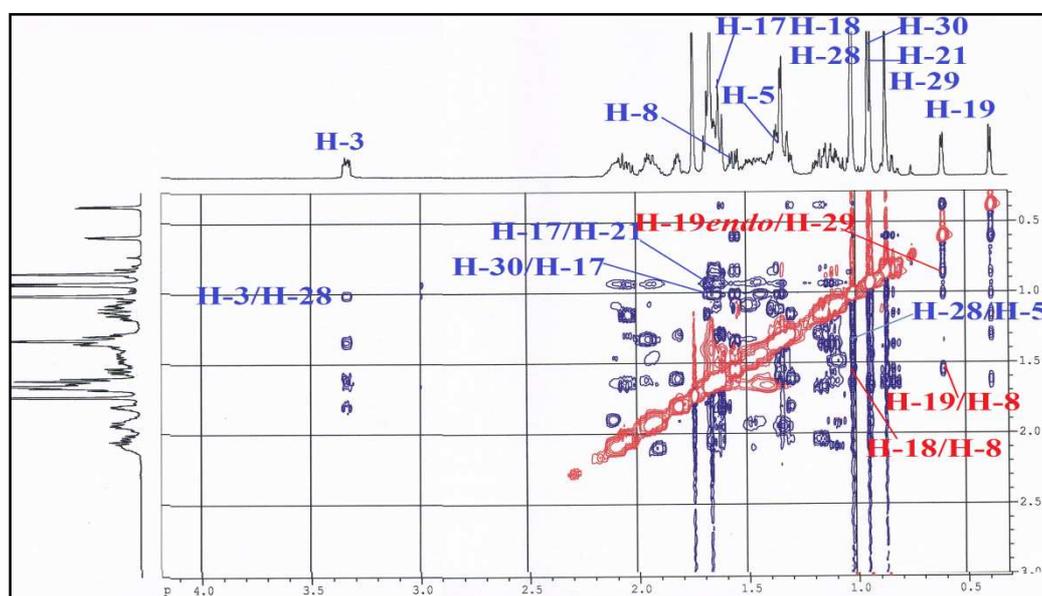


Figure II. 1. 3. 4. 7. Spectre NOESY du composé EP4

L'ensemble de ces données spectroscopiques, la comparaison avec celles de la littérature [302] et la valeur du pouvoir rotatoire mesuré dans le chloroforme ($[\alpha]_D = + 47$, $c = 0,5$) permettent d'attribuer pour le composé **EP4** la structure : **Cycloarténol** (figure II. 1. 3. 4. 8). Ce composé possède une activité anti-oxydante [305]. Il a été identifié dans plusieurs espèces du genre *Euphorbia* telles que *E. guyoniana* [23], *E. bupleuroides* [27], *E. hirta* [138], *E. heteradena* [294], *E. peplus* [297] et *E. broterie* [302].

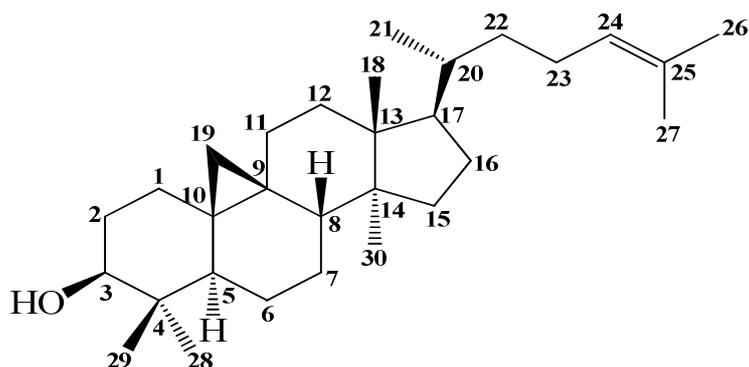


Figure II. 1. 3. 4. Structure du composé EP4 (Cycloarténol)

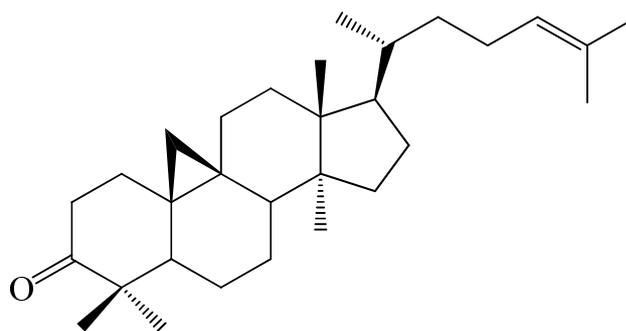
Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé EP4 sont réunis dans le tableau II. 1. 3. 4.

Tableau II. 1. 3. 4. Déplacements chimiques en RMN ^1H (500 MHz) et RMN ^{13}C (125 MHz) du composé EP4 enregistrés dans CDCl_3

EP4		
Position	δ_{H} (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)
1a	1,62 (1H, <i>m</i>)	31,9
1b	1,31 (1H, <i>m</i>)	
2a	1,82 (1H, <i>m</i>)	30,3
2b	1,63 (1H, <i>m</i>)	
3	3,31 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 11,1-4,3)	78,8
4	-	40,4
5	1,35 (1H, <i>m</i>)	47,0
6a	1,64 (1H, <i>m</i>)	21,1
6b	0,84 (1H, <i>td</i> , <i>J</i> = 12,6-2,3)	
7a	1,34 (1H, <i>m</i>)	26,0
7b	1,12 (1H, <i>m</i>)	
8	1,55 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 12,3-4,7)	47,9
9	-	19,9
10	-	26,0
11a	2,03 (1H, <i>m</i>)	26,4
11b	1,17 (1H, <i>m</i>)	
12	1,68 (2H, <i>m</i>)	32,8
13	-	45,2
14	-	48,7
15	1,34 (2H, <i>m</i>)	35,5
16a	1,95 (1H, <i>m</i>)	28,1
16b	1,34 (1H, <i>m</i>)	
17	1,64 (1H, <i>m</i>)	52,2
18	1,02 (3H, <i>s</i>)	18,0
19 <i>endo</i>	0,61 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 4,1)	29,7
19 <i>exo</i>	0,38 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 4,1)	
20	1,45 (1H, <i>m</i>)	35,8
21	0,92 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,5)	18,3
22a	1,48 (1H, <i>m</i>)	36,3
22b	1,08 (1H, <i>m</i>)	
23a	2,09 (1H, <i>m</i>)	24,9
23b	1,92 (1H, <i>m</i>)	
24	5,15 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 7,2)	125,2

Position	δ_H (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz)	δ_C (ppm)
25	-	130,9
26	1,73 (3H, <i>s</i>)	25,7
27	1,65 (3H, <i>s</i>)	17,5
28	1,01 (3H, <i>s</i>)	25,4
29	0,87 (3H, <i>s</i>)	13,8
30	0,93 (3H, <i>s</i>)	19,2

II. 1. 3. 5. Identification structurale du composé EP5



Cycloarténone

Le composé **EP5**, qui est isolé sous forme d'une huile incolore soluble dans le chloroforme, n'absorbe pas en UV à $\lambda = 254$ et 366 nm. Il se colore en marron après révélation de sa CCM par une solution acide et chauffage à 100 °C.

Le spectre de masse ESI-MS obtenu en mode positif (figure II. 1. 3. 5. 1) du composé **EP5** révèle un pic d'ion pseudomoléculaire à $m/z = 447,1$ $[M+Na]^+$ correspondant à une masse moléculaire de 424 uma et une formule brute en $C_{30}H_{48}O$.

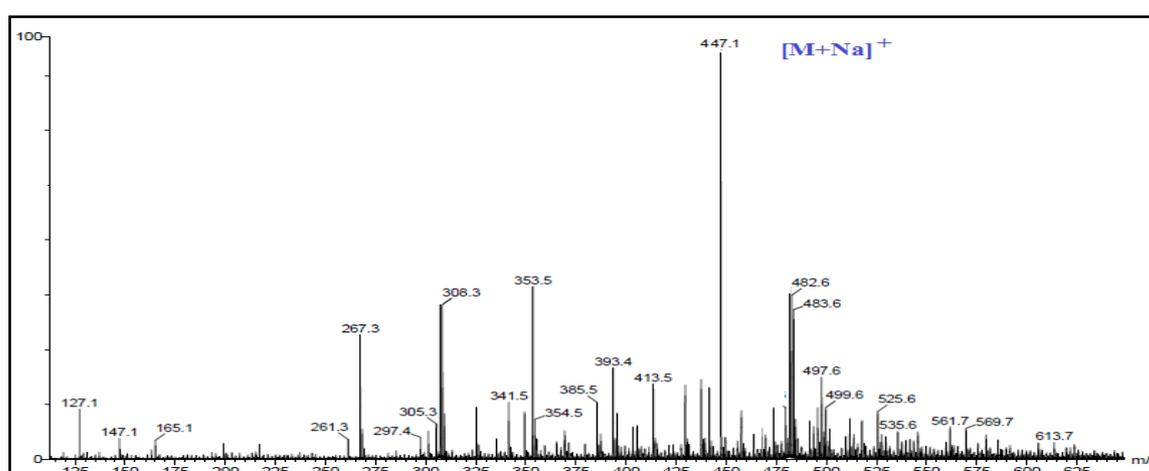


Figure II. 1. 3. 5. 1. Spectre de masse ESI-MS du composé EP5

Comme pour les composés précédents, le spectre RMN 1H (figure II. 1. 3. 5. 2) de **EP5** indique la présence d'un squelette triterpénique par l'apparition des sept groupements méthyliques dans la zone allant de $0,80$ à $1,80$ ppm. La présence des protons caractéristiques

du noyau cyclopropane tétrasubstitué à δ_H 0,76 (H-19 *endo*) et 0,60 (H-19 *exo*) conduit à attribuer pour ce composé un squelette 9,19-cyclotriterpénoïde. Ce spectre donne aussi plus d'informations sur la nature de ce composé par l'observation du signal de proton oléfinique résonnant à δ_H 5,12 attribué au groupement 24-CH de la chaîne latérale comme pour les trois composés élucidés précédemment.

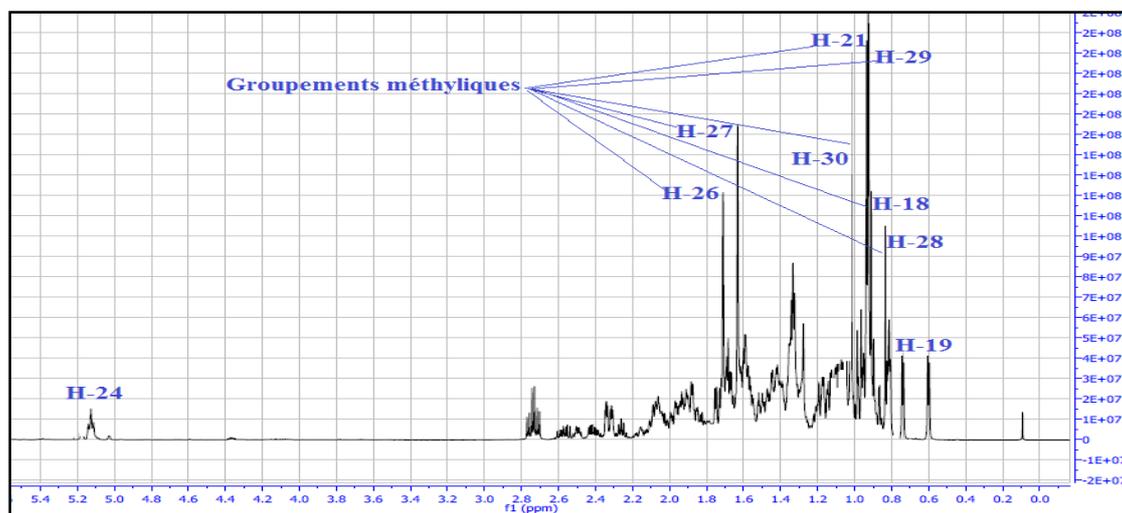


Figure II. 1. 3. 5. 2. Spectre RMN ^1H du composé EP5

La différence remarquée pour ce composé réside dans l'absence du signal de proton oxyméthine H-3. Ceci est constaté aussi sur le spectre RMN ^{13}C (figure II. 1. 3. 5. 3) indiquant la disparition du pic (C-3) sortant habituellement aux alentours de 80 ppm pour les composés déjà identifiés **EP1**, **EP2** et **EP3**.

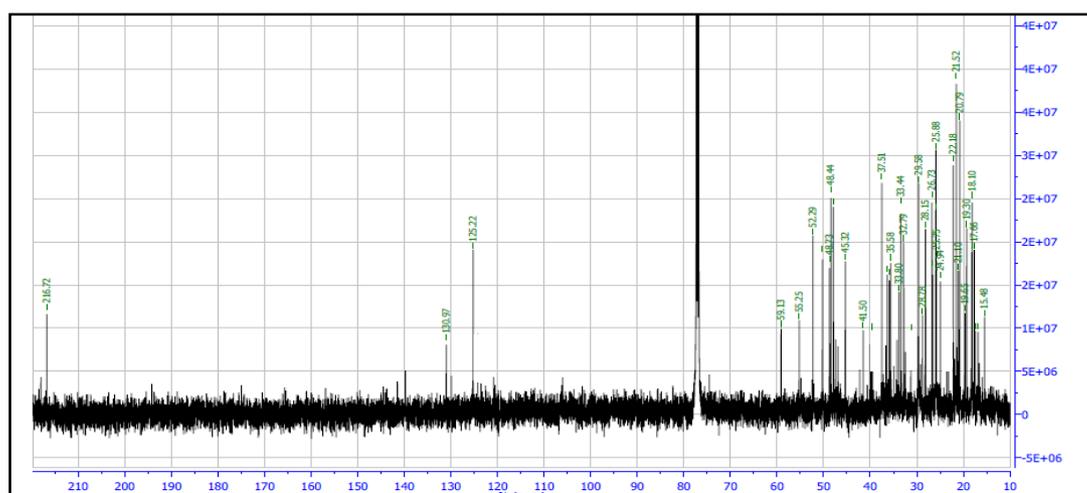


Figure II. 1. 3. 5. 3. Spectre RMN ^{13}C du composé EP5

Cette différence conduit à débiter l'élucidation structurale de ce composé à partir des protons du groupement 19-CH₂ dont les corrélations H/C observées sur le spectre HMBC (figures II. 1. 3. 5. 4 et 5) de ces protons permettent de repérer :

- Deux carbones quaternaires à δ_C 20,7 et 25,8 (C-9 et/ou C- 10).
- Deux groupements CH à δ_C 48,4 et 47,9 (C-5 et/ou C-8).
- Deux groupements CH₂ à δ_C 33,4 et 26,5 (C-1 et/ou C-11).

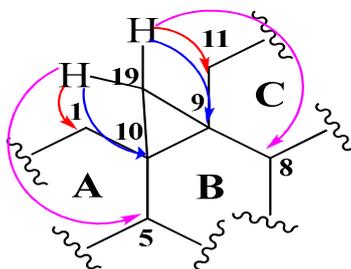


Figure II. 1. 3. 5. 4. Corrélations HMBC des protons du cyclopropane du composé EP5

La distinction entre ces groupements est réalisée par l'analyse du spectre HMBC (figure II. 1. 3. 5. 5) qui montre des couplages entre le proton résonant à δ_H 1,75, accordé sur le spectre HSQC au carbone à δ_C 48,4, et deux groupements CH₃ (δ_C 26,7 et 15,4) attribués aisément aux méthyles angulaires 28-CH₃ et 29-CH₃ indiquant l'appartenance de ce proton (δ_H 1,75) au groupement 5-CH.

En conséquence, l'autre groupement CH (δ_C 47,9) est assigné au carbone C-8 du cycle B de ce squelette triterpénique, son proton est localisé par l'expérience HSQC à δ_H 1,59. A partir de ces attributions, les groupements CH₂ sont identifiés à δ_C 33,4 (C-1) et 26,5 (C-11) par les corrélations en 3J visualisées sur le spectre HMBC (figure II. 1. 3. 5. 5) entre H-5/C-1 et H-8/C-11. Les protons de ces deux groupements CH₂ sont localisés par l'expérience HSQC à δ_H 1,97 (*ddd*, $J = 12,4-4,0-2,6$ Hz, H-1a), 1,57 (*td*, $J = 12,4-4,2$ Hz, H-1b) et 2,02-1,30 (*m*, H₂-11).

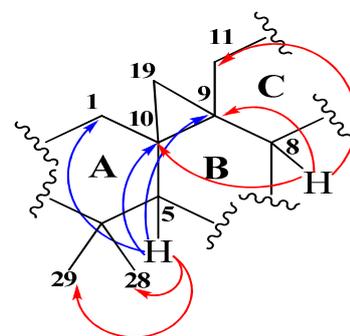
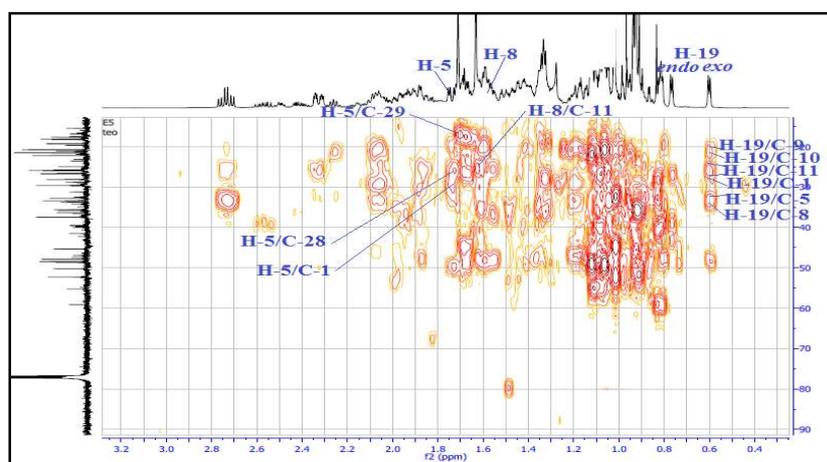


Figure II. 1. 3. 5. 5. Spectre HMBC du composé EP5

Les corrélations des protons H₂-1 sur le spectre COSY H-H (figure II. 1. 3. 5. 6) permettent de repérer les protons du groupement H₂-2 à δ_H 2,74 (*td*, $J = 13,8-4,5$ Hz, H-2a) et

2,3 (*ddd*, $J = 13,1-4,-2,6$ Hz, H-2b). Les couplages H/C longue distance de ces protons conduisent à la distinction entre les carbones quaternaires du noyau cyclopropane dont le carbone C-10 est localisé à δ_C 25,9 par sa corrélation en 3J avec H₂-2 indiquant alors l'attribution du carbone C-9 au pic sortant à δ_C 20,7.

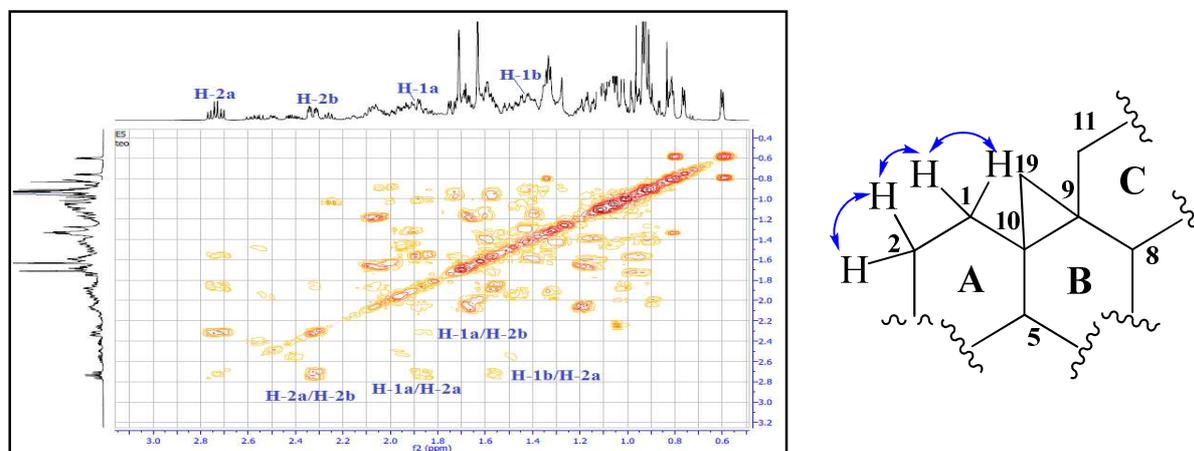


Figure II. 1. 3. 5. 6. Spectre COSY H-H du composé EP5

Les protons H₂-2 montrant un déblindage remarquable par rapport aux mêmes protons des composés caractérisés précédemment, couplent sur le spectre HMBC (figure II. 1. 3. 5. 7) avec un carbone quaternaire fortement déblindé résonnant à δ_C 216,5 correspondant à un carbonyle cétone. Ce carbone révèle aussi, sur ce spectre, des taches de corrélation avec les protons H₂-1 et H-5, ainsi qu'avec les protons méthyliques H₃-28 et H₃-29 conduisant à positionner ce carbonyle en C-3. Le carbonyle exerce des effets de déblindage sur le groupement 2-CH₂ (δ_H 2,74-2,31/ δ_C 37,5) et le carbone quaternaire C-4 (δ_C 50,2) localisé par les corrélations H/C en HMBC (figure II. 1. 3. 5. 7) avec les protons H-5, H₃-28 et H₃-29.

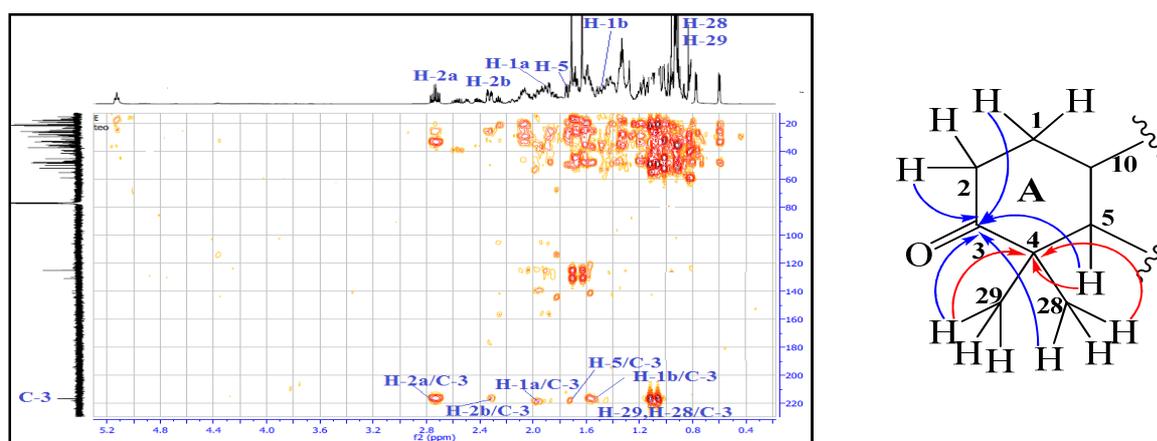


Figure II. 1. 3. 5. 7. Spectre HMBC du composé EP5

Toutefois, l'utilisation de la même procédure d'identification des composés EP1→EP3 par l'exploitation des spectres HSQC, HMBC, COSY H-H et NOESY permet de caractériser

tous les carbones et protons des autres cycles B, C et D ainsi que de la chaîne latérale du squelette triterpénique de ce composé (figure II. 1. 3. 5. 8).

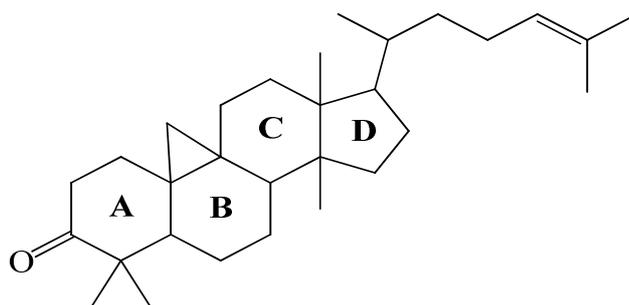


Figure II. 1. 3. 5. 8. Squelette triterpénique du composé EP5

De même pour la stéréochimie de ce composé, les orientations sur la face β et/ou α sont établies en tenant compte des corrélations NOESY (figure II. 1. 3. 5. 9) des protons H-19 *endo* et H-19 *exo* β -orientés selon les données de la littérature [301].

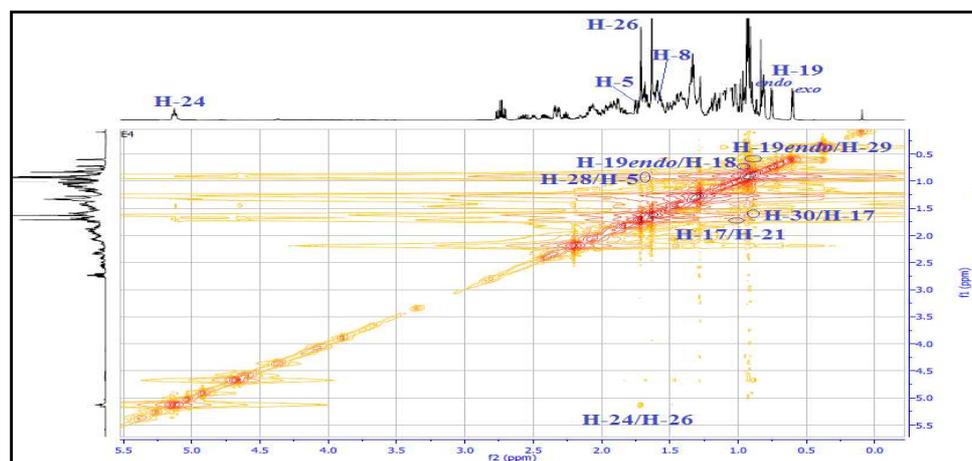


Figure II. 1. 3. 5. 9. Spectre NOESY du composé EP5

En effet, les effets nOe observés (figure II. 1. 3. 5. 9) entre H-19 *endo*/H-8, H-19 *exo*/H₃-29 et H-19 *endo*/H₃-18 permettent de les orienter sur la face β . les corrélations NOESY entre H₃-28/H-5, H-5/H₃-30 et H₃-30/H-17 conduisent à attribuer pour ces protons une configuration α (figure II. 1. 3. 5. 10).

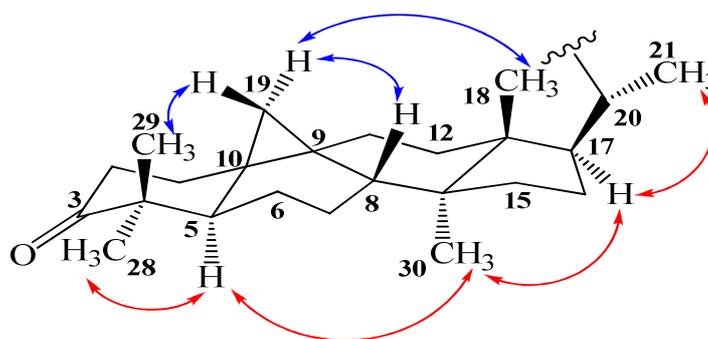


Figure II. 1. 3. 5. 10. Corrélations NOESY du composé EP5

L'ensemble de ces données spectroscopiques, la valeur du pouvoir rotatoire ($[\alpha]_D = + 23,9$, $c = 4,1$, CHCl_3) et la comparaison avec celles citées dans la littérature [306] permettent l'attribution à **EP5** la structure : **Cycloarténone** (figure II. 1. 3. 5. 11). Ce composé a été isolé antérieurement de certaines espèces *Euphorbia* telles que *E. tithynaloides* [307], *E. peplus* [308] et *E. balsamifera* [309]. Des études réalisées sur ce composé montrent qu'il possède une forte activité antimicrobienne [310].

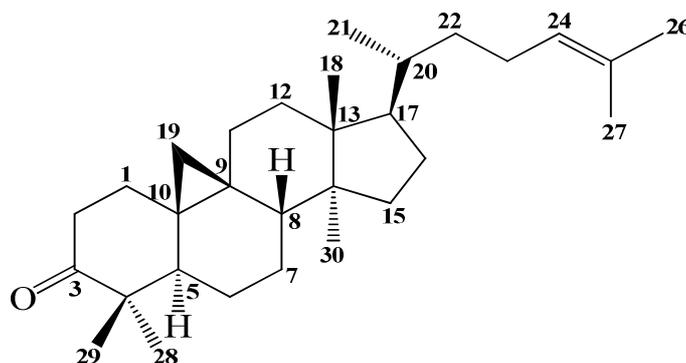


Figure II. 1. 3. 5. 11. Structure du composé EP5 (Cycloarténone)

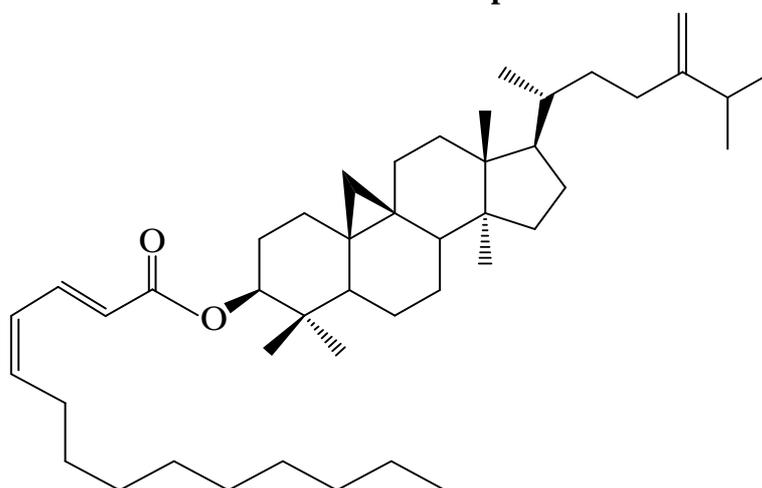
Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé **EP5** sont rassemblés dans le tableau II. 1. 3. 5.

Tableau II. 1. 3. 5. Déplacements chimiques en RMN ^1H (500 MHz) et RMN ^{13}C (125 MHz) du composé EP5 enregistrés dans CDCl_3

EP5		
Position	δ_{H} (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)
1a	1,97 (1H, <i>ddd</i> , $J = 12,4-4,0-2,6$)	33,4
1b	1,57 (1H, <i>td</i> , $J = 12,4-5,2$)	
2a	2,74 (1H, <i>td</i> , $J = 13,8-5,3$)	37,5
2b	2,31 (1H, <i>ddd</i> , $J = 13,1-5,2-2,6$)	
3	-	216,5
4	-	50,2
5	1,75 (1H, <i>dd</i> , $J = 10,5-4,7$)	48,4
6a	1,50 (1H, <i>m</i>)	21,5
6b	0,90 (1H, <i>m</i>)	
7a	1,85 (1H, <i>m</i>)	25,8
7b	1,25 (1H, <i>m</i>)	
8	1,59 (1H, <i>m</i>)	47,9
9	-	20,7
10	-	25,9
11a	2,02 (1H, <i>m</i>)	26,5
11b	1,30 (1H, <i>m</i>)	
12a	1,60 (1H, <i>m</i>)	32,7
12b	1,10 (1H, <i>m</i>)	
13	-	45,3
14	-	48,7
15a	1,35 (1H, <i>m</i>)	35,5
15b	1,05 (1H, <i>m</i>)	
16a	1,87 (1H, <i>m</i>)	28,1
16b	1,28 (1H, <i>m</i>)	
17	1,59 (1H, <i>m</i>)	52,2

Position	δ_H (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz)	δ_C (ppm)
18	1,00 (3H, <i>s</i>)	18,1
19 <i>endo</i>	0,76 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 4,3)	29,5
19 <i>exo</i>	0,60 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 4,3)	
20	1,34 (1H, <i>m</i>)	35,8
21	0,89 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,5)	18,2
22a	1,43 (1H, <i>m</i>)	36,3
22b	1,06 (1H, <i>m</i>)	
23	1,91 (2H, <i>m</i>)	24,9
24	5,12 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 7,2)	125,2
25	-	130,8
26	1,70 (3H, <i>s</i>)	25,7
27	1,63 (3H, <i>s</i>)	17,6
28	1,06 (3H, <i>s</i>)	26,7
29	1,12 (3H, <i>s</i>)	15,4
30	1,00 (3H, <i>s</i>)	19,3

II. 1. 3. 6. Identification structurale du composé EP6



24-méthylencycloartanyl-2'(E),4'(Z)-tétradécadiénoate

Ce composé purifié sous forme d'une huile incolore montre sur CCM une tache visible à la lumière UV à 254 nm se révélant en marron par une solution acide et chauffage à 100 °C.

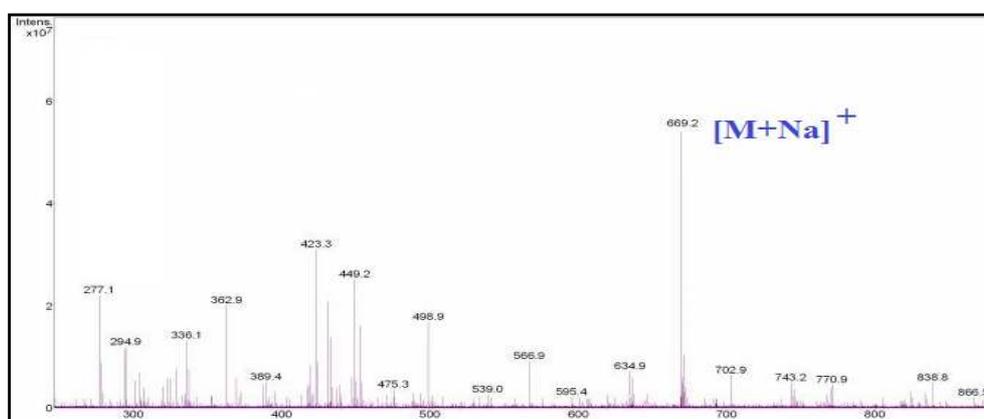


Figure II. 1. 3. 6. 1. Spectre de masse ESI-MS du composé EP6

Le spectre de masse ESI-MS (figure II. 1. 3. 6. 1) de ce composé obtenu en mode positif indique un pic d'ion pseudomoléculaire à $m/z = 669,2 [M+Na]^+$ correspondant à une masse moléculaire égale à 646 uma et une formule brute en $C_{45}H_{74}O_2$.

Ce qui est claire à partir de l'analyse du spectre RMN du proton (figure II. 1. 3. 6. 1) est l'appartenance de ce composé à la classe des triterpènes et plus précisément à celle des cycloartanes par la présence des signaux de deux protons non équivalents du cyclopropane H-19 *endo* (δ_H 0.60, *d*, $J = 4,7$ Hz) et H-19 *exo* (δ_H 0.37, *d*, $J = 4,3$ Hz), de sept groupements méthyliques H₃-18 (δ_H 1,04, *s*), H₃-26 (δ_H 1,10, *d*, $J = 6,7$ Hz), H₃-27 (δ_H 1,09, *d*, $J = 6,6$ Hz), H₃-28 (δ_H 0,91, *s*), H₃-29 (δ_H 0,94, *s*) et H₃-30 (δ_H 0,93, *s*) et du proton oxyméthine H-3 (δ_H 4,61, *dd*, $J = 10,5-4,3$ Hz). Le déblidage de ce proton implique une acylation à ce niveau.

Parmi les différences remarquées sur le spectre RMN 1H (figure II. 1. 3. 6. 2) de ce composé par rapport aux composés triterpéniques élucidés précédemment, on relève l'apparition de deux signaux d'intégration 1H chacun résonant à δ_H 4,68 et 4,74 sous forme de singulet large et la disparition du signal triplet du proton oléfinique H-24 de la chaîne latérale. Ceci conduit à suggérer la présence d'une double liaison $\Delta^{24(31)}$.

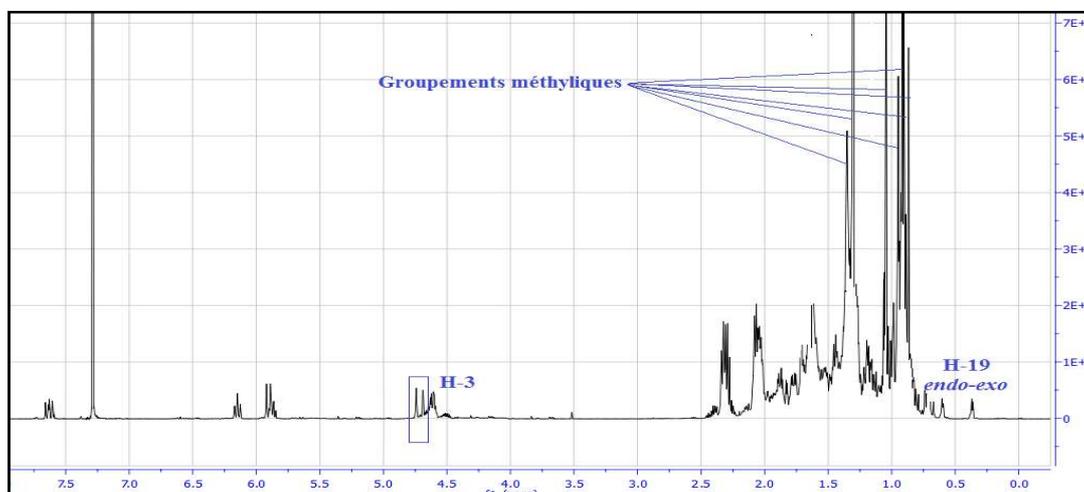


Figure II. 1. 3. 6. 2. Spectre RMN 1H du composé EP6

Cette suggestion est renforcée par la multiplicité des protons méthyliques H-26 et H-27 sous forme de doublet qui résulte d'un couplage scalaire avec un proton adjacent ne pouvant être que le proton H-25. Ces élucidations sont confirmées par le spectre COSY H-H (figure II. 1. 3. 6. 3) qui montre le couplage des protons méthyliques H₃-26 (δ_H 1,10) et H₃-27 (δ_H 1,09) avec un proton repéré à δ_H 2,30 résonant sous forme de septuplet ($J = 6,6$ Hz) attribué sans ambiguïté au proton H-25.

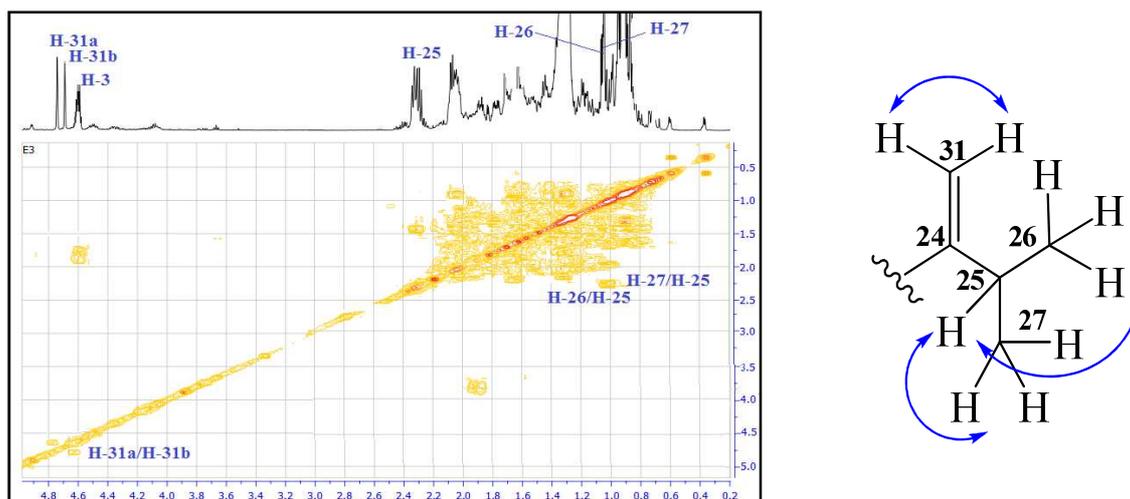


Figure II. 1. 3. 6. 3. Spectre COSY H-H du composé EP6

Ce spectre montre aussi le couplage des protons oléfiniques H₂-31 entre eux seulement indiquant l'absence d'autres protons dans leur voisinage immédiat, ce qui est en accord avec la position exocyclique proposée pour la double liaison (²⁴C=³¹CH₂).

Les protons H-31a (δ_H 4,74, *sl*) et H-31b (δ_H 4,68, *sl*) montrent sur le spectre HMBC (figure II. 1. 3. 6. 4) les corrélations attendues avec le carbone éthylénique quaternaire C-24 (δ_C 156,3), le carbone méthine CH-25 (δ_C 33,9) ainsi que le carbone du groupement méthylène 23-CH₂ (δ_C 30,4).

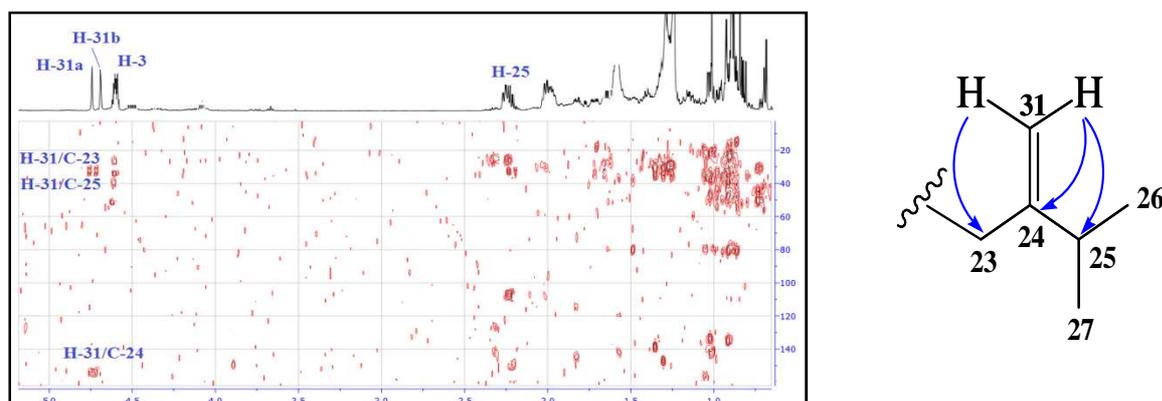


Figure II. 1. 3. 6. 4. Spectre HMBC du composé EP6

L'utilisation de la même procédure d'analyse, en combinant les spectres HSQC, HMBC, COSY H-H et NOESY, appliquée dans le cas des composés (EP1→EP5) caractérisés précédemment conduit à l'identification de la génine de EP6 au 24-méthylène-cycloartanol [311] (figure II. 1. 3. 6. 5).

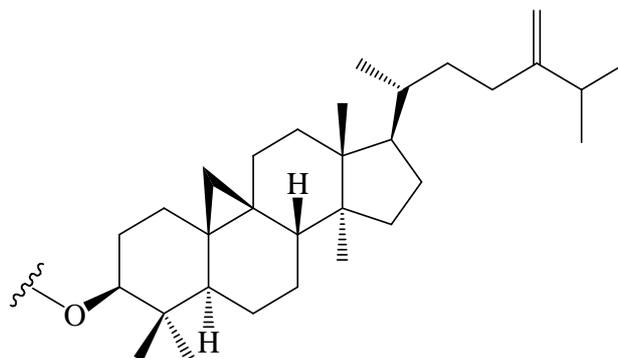


Figure II. 1. 3. 6. 5. Génine du composé EP6

Concernant le reste des signaux non encore attribués sur les spectres RMN du proton et carbone du composé **EP6**, la comparaison avec ceux du composé **EP2** indique la présence d'un acide gras insaturé d'une géométrie 2'*E*, 4'*Z* dont ses groupements CH sont repérés sur les spectres RMN ^1H et ^{13}C (figure II. 1. 3. 6. 6) à δ_{H} 5,90 (*d*, $J = 15,1$ Hz)/(δ_{C} 121,1) H-2', 7,62 (*dd*, $J = 15,1-12,4$ Hz)/(δ_{C} 139,0) H-3', 6,15 (*t*, $J = 12,4$ Hz)/(δ_{C} 126,5) H-4', et 5,85 (*m*)/(δ_{C} 141,3) H-5'.

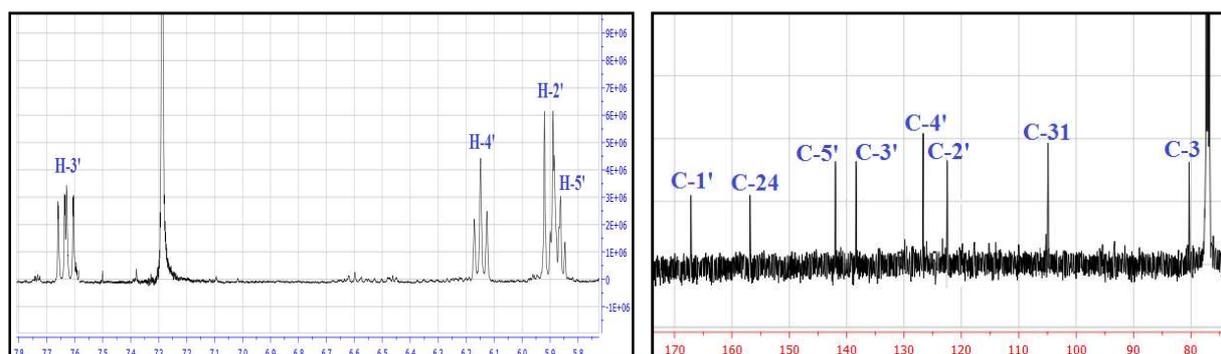


Figure II. 1. 3. 6. 6. Spectres RMN ^1H et ^{13}C des groupements oléfiniques de l'acide gras du composé EP6

La multiplicité ainsi que le déplacement chimique de ces protons confirment la géométrie 2'*E*, 4'*Z* des doubles liaisons (figure II. 1. 3. 6. 7). Comme pour le composé **EP2**, cette géométrie est supportée une fois de plus par la valeur de déplacement chimique du carbone C-6' (δ_{C} 27,6) qui est inférieure à 30 ppm comme l'indique les données de la littérature [298].

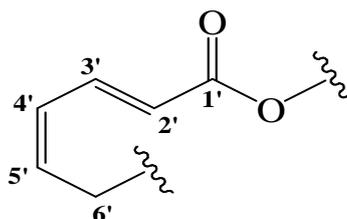


Figure II. 1. 3. 6. 7. Partie insaturée de l'acide gras du composé EP6

Le nombre de carbones restant du fragment de l'acide gras insaturé est déterminé à 8 par analyse du spectre RMN ^{13}C et en tenant compte de la masse moléculaire obtenue pour ce composé $M = 646$ uma.

Les protons et carbones de cette chaîne sont identifiés par l'analyse conjointe des spectres HMBC, HSQC et COSY H-H permettant de caractériser cette acide gras insaturé comme étant le 2'(E),4'(Z)-tétradécadiénoyle (figure II. 1. 3. 6. 8) [312].

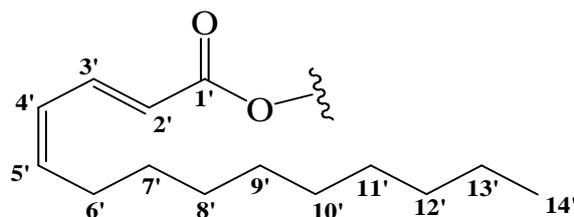


Figure II. 1. 3. 6. 8. Acide gras insaturé du composé EP6

L'attachement de ce substituant à la génine 24-méthylèncycloartanol est réalisé facilement par l'analyse du spectre HMBC (figure II. 1. 3. 6. 9) qui montre une tache de corrélation en 3J entre le proton H-3 et le carbonyle de l'acide gras C-1' résonant à 168 ppm.

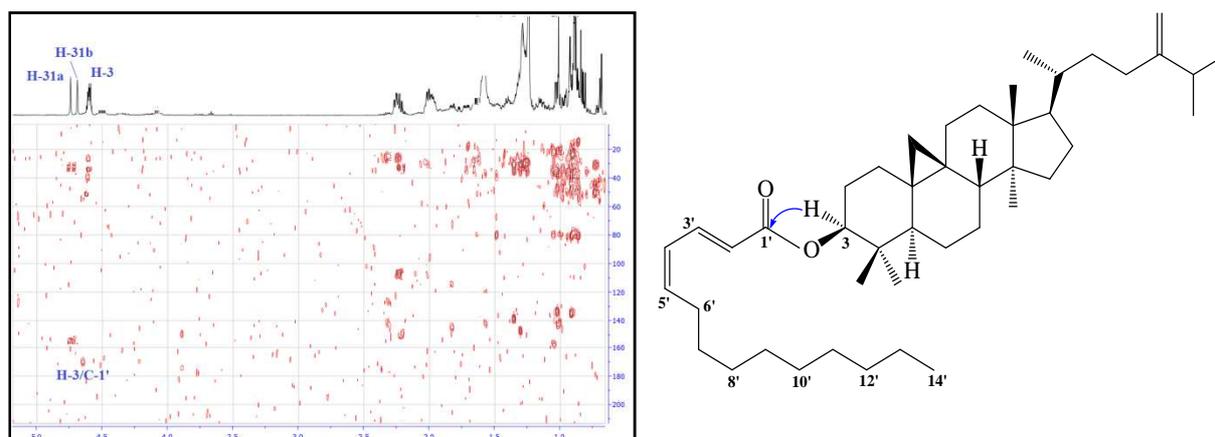


Figure II. 1. 3. 6. 9. Spectre HMBC montrant le point d'attachement du substituant à la génine du composé EP6

A l'instar des résultats obtenus suite à toutes ces élucidations spectrales ainsi que de la mesure du pouvoir rotatoire ($[\alpha]_{\text{D}} = +41,1$, $c = 1$, CHCl_3), la structure de **EP6** est identifiée comme étant un nouveau dérivé ester du 24-méthylèncycloartanol nommé **24-méthylèncycloartényl-2'(E),4'(Z)-tétradécadiénoate** (figure II. 1. 3. 6. 10).

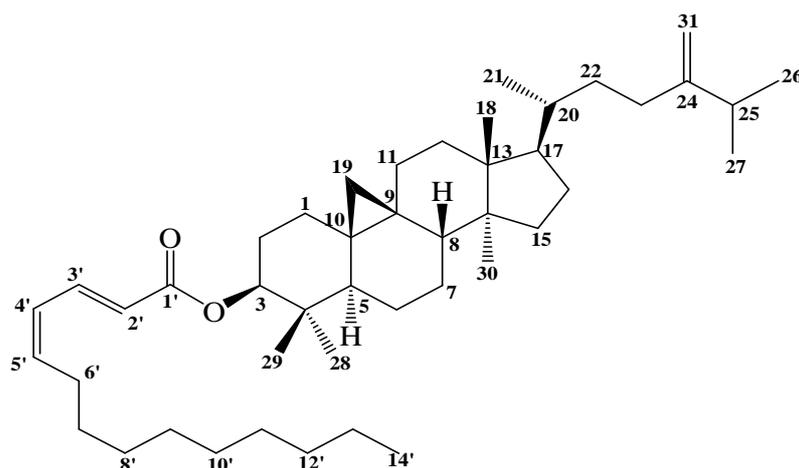


Figure II. 1. 3. 6. 10. Structure du composé EP6 (24-méthylcycloartanyl-2'(*E*),4'(*Z*)-tétradécadiénoate)

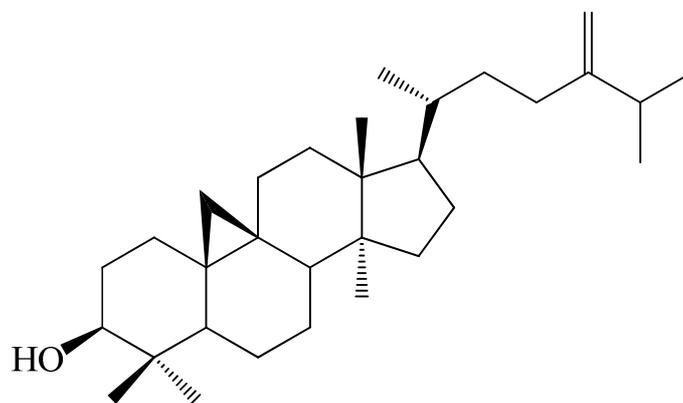
Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé EP6 sont rassemblés dans le tableau II. 1. 3. 6.

Tableau II. 1. 3. 6. Déplacements chimiques en RMN ^1H (500 MHz) et RMN ^{13}C (125 MHz) du composé EP6 enregistrés dans CDCl_3

EP6		
Position	δ_{H} (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)
1a	1,40 (1H, <i>m</i>)	31,4
1b	1,10 (1H, <i>m</i>)	
2a	1,83 (1H, <i>m</i>)	26,5
2b	1,28 (1H, <i>m</i>)	
3	4,61 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 10,5-4,3)	80,5
4	-	39,7
5	1,48 (1H, <i>m</i>)	47,3
6a	1,62 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 12,6-11,1-2,3)	20,8
6b	0,87 (1H, <i>m</i>)	
7a	1,34 (1H, <i>m</i>)	25,7
7b	1,17 (1H, <i>m</i>)	
8	1,58 (1H, <i>m</i>)	47,9
9	-	20,3
10	-	25,9
11a	2,04 (1H, <i>m</i>)	26,7
11b	1,19 (1H, <i>m</i>)	
12	1,69 (1H, <i>m</i>)	32,5
13	-	45,3
14	-	48,9
15	1,38 (1H, <i>m</i>)	35,4
16a	1,99 (1H, <i>m</i>)	28,2
16b	1,34 (1H, <i>m</i>)	
17	1,67 (1H, <i>m</i>)	52,2
18	1,04 (3H, <i>s</i>)	17,8
19 <i>endo</i>	0,60 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 4,7)	29,5
19 <i>exo</i>	0,37 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 4,3)	
20	1,45 (1H, <i>m</i>)	36,2
21	0,96 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,7)	18,7
22a	1,65 (1H, <i>m</i>)	34,9
22b	1,20 (1H, <i>m</i>)	

Position	δ_H (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz)	δ_C (ppm)
23a	2,15 (1H, <i>m</i>)	30,4
23b	1,93 (1H, <i>m</i>)	
24	-	156,3
25	2,30 (1H, <i>sept</i> , <i>J</i> = 6,6)	33,9
26	1,10 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,7)	21,9
27	1,09 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,6)	21,7
28	0,91 (3H, <i>s</i>)	25,2
29	0,94 (3H, <i>s</i>)	15,0
30	0,93 (3H, <i>s</i>)	19,4
31a	4,74 (1H, <i>sl</i>)	105,8
31b	4,68 (1H, <i>sl</i>)	
1'	-	168,0
2'	5,90 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 15,1)	121,5
3'	7,62 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 15,1-12,4)	139,0
4'	6,15 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 12,4)	126,5
5'	5,85 (1H, <i>m</i>)	141,3
6'	2,34 (2H, <i>m</i>)	27,6
7'	1,30 (2H, <i>m</i>)	28,3
8'	1,30 (2H, <i>m</i>)	28,3
9'	1,30 (2H, <i>m</i>)	28,0
10'	1,30 (2H, <i>m</i>)	28,2
11'	1,30 (2H, <i>m</i>)	28,2
12'	1,30 (2H, <i>m</i>)	28,1
13'	1,39 (2H, <i>m</i>)	23,5
14'	0,87 (3H, <i>t</i> , <i>J</i> = 6,6)	14,1

II. 1. 3. 7. Identification structurale du composé EP7



24-méthylèncycloartanol

Ce composé est isolé sous forme d'une poudre blanche soluble dans le chloroforme. Il est invisible sous la lumière UV à 254 et 366 nm et se colore en marron par une solution acide et chauffage à 100 °C.

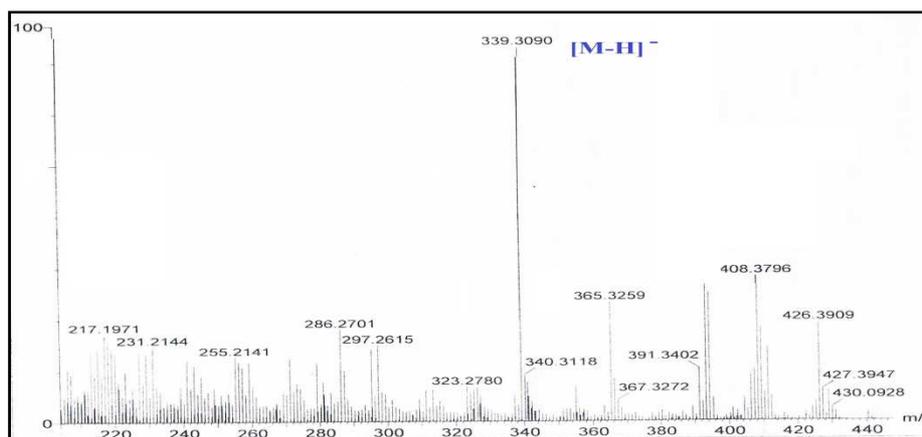


Figure II. 1. 3. 7. 1. Spectre de masse ESI-MS du composé EP7

Le spectre de masse ESI-MS (figure II. 1. 3. 7. 1) du composé **EP7** enregistré en mode négatif indique la présence d'un pic d'ion pseudomoléculaire à $m/z = 339,3$ $[M-H]^-$ correspondant à un squelette carboné d'une formule brute en $C_{31}H_{52}O$ avec masse moléculaire de 440 uma.

Le spectre RMN 1H (figure II. 1. 3. 7. 2) de ce composé montre une grande similitude avec celui du composé **EP6** par l'observation de sept signaux d'intégration 3H chacun dans la zone blindée se répartissant en quatre sous forme de singulets et trois sous forme doublets, attribués clairement aux groupements méthyliques.

Comme, il révèle aussi (figure II. 1. 3. 7. 2) deux signaux résonant à δ_H 0,61 et 0,39 sous forme de doublets d'une constante de couplage égale à 4,1 Hz identifiés sans aucun doute comme étant les signaux des protons H-19 *endo* et H-19 *exo* du noyau cyclopropane. Ceci confirme la présence d'un squelette cyclotritepénique pour le composé **EP7**.

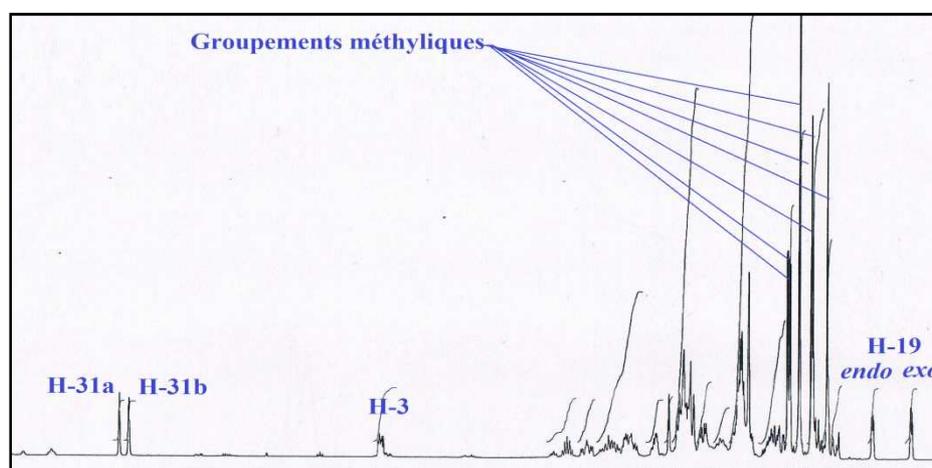


Figure II. 1. 3. 7. 2. Spectre RMN 1H du composé EP7

Ce cyclotriterpène comporte un groupement méthylène exocyclique [311] du fait de l'apparition sur le spectre RMN ^1H de deux signaux déblindés, sous forme de singulets larges et d'intégration 1H chacun, résonant à δ_{H} 4,77 et 4,72 attribués comme pour le composé précédent, aux protons éthyléniques H-31a et H-31b de la chaîne latérale du composé **EP7** (figure II. 1. 3. 7. 2).

La différence entre **EP6** et **EP7** réside dans la disparition des protons de l'acide gras lié au carbone C-3 du composé **EP6**. Cette absence atteste de la présence d'un hydroxyle libre à la position C-3, ce qui est confirmé par le déplacement chimique du proton H-3 (figure II. 1. 3. 7. 2) à δ_{H} 3,32 (*d*, $J = 11,1-4,2$ Hz) blindé de $\Delta-1,29$ par rapport au même proton du composé **EP6** (δ_{H} 4,61).

Le déplacement chimique du carbone C-3 à δ_{C} 78,8 (figure II. 1. 3. 7. 3) en apporte la confirmation de la déacétylation du composé **EP7**.

L'analyse des spectres RMN ^1H et ^{13}C , HSQC, COSY H-H, HMBC et NOESY du composé **EP7** permettent d'identifier tous ses protons et carbones où les groupements caractéristiques de ce squelette sont localisés à (figure II. 1. 3. 7. 3 et 4) :

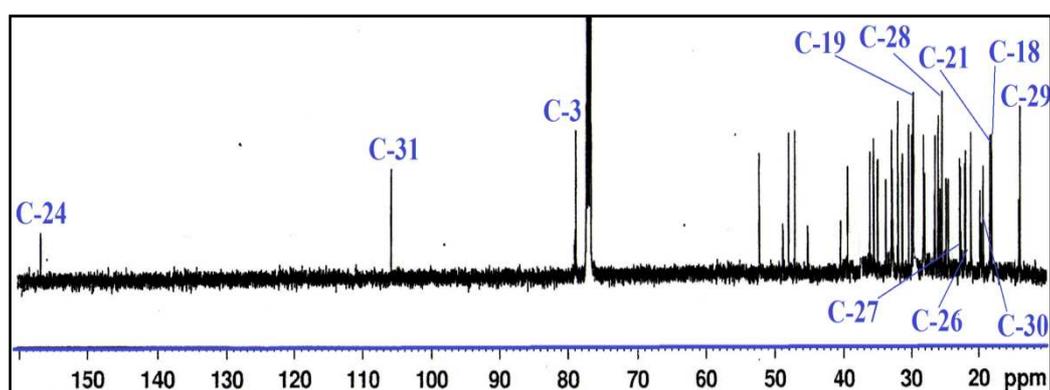


Figure II. 1. 3. 7. 3. Spectre RMN ^{13}C du composé **EP7**

- δ_{H} 1,02 (*s*)/ δ_{C} 25,4 (28- CH_3), 0,87 (*s*)/ δ_{C} 13,9 (29- CH_3), 1,01 (*s*)/ δ_{C} 18,0 (18- CH_3), 0,96 (*s*)/ δ_{C} 19,3 (30- CH_3), 0,94 (*d*, $J = 6,3$ Hz)/ δ_{C} 18,3 (21- CH_3), 1,09 (*d*, $J = 6,8$ Hz)/ δ_{C} 21,8 (26- CH_3) et 1,08 (*d*, $J = 6,8$ Hz)/ δ_{C} 21,9 (27- CH_3) pour les groupements méthyliques.
- δ_{H} 2,27 (*sept*, $J = 6,8$ Hz) pour le proton H-25 de la chaîne latérale.
- δ_{C} 29,9, 156,8 et 105,9 pour les carbones C-19, C-24 et C-31 respectivement.

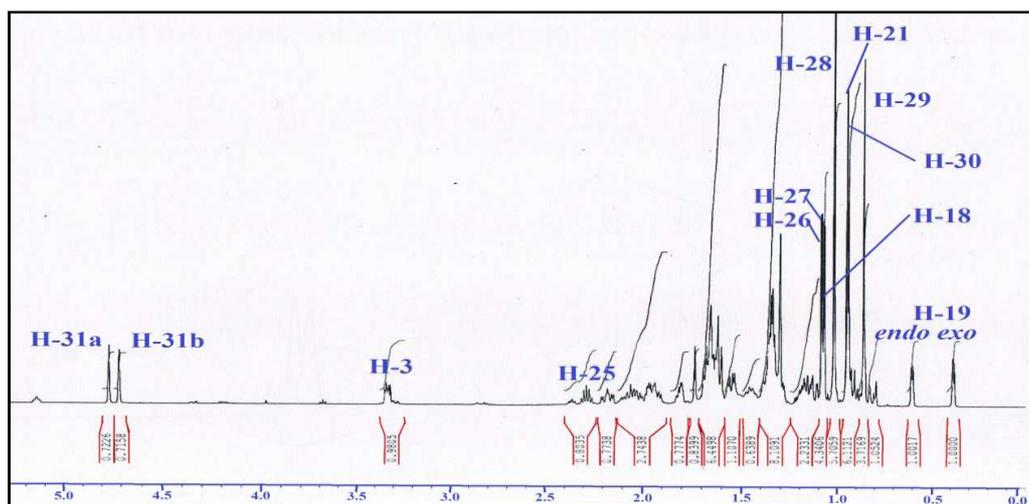


Figure II. 1. 3. 7. 4. Spectre RMN ^1H du composé EP7

La stéréochimie de ce composé est déterminée par l'utilisation de la même procédure appliquée aux triterpènes élucidés précédemment. Les effets nOe visualisés sur le spectre NOESY (figure II. 1. 3. 7. 5) à partir du proton H-3 α -orienté, déterminée par analyse de ses constantes de couplage $J_{\text{H-3ax/H-2ax}} = 11,1$ Hz et $J_{\text{H-3ax/H-2eq}} = 4,2$ Hz, permettent de positionner les protons H₃-28, H-5, H₃-30 et H-17 sur la face α . Les corrélations observées sur la face β sont H₃-29/H-19/H-8/H₃-18.

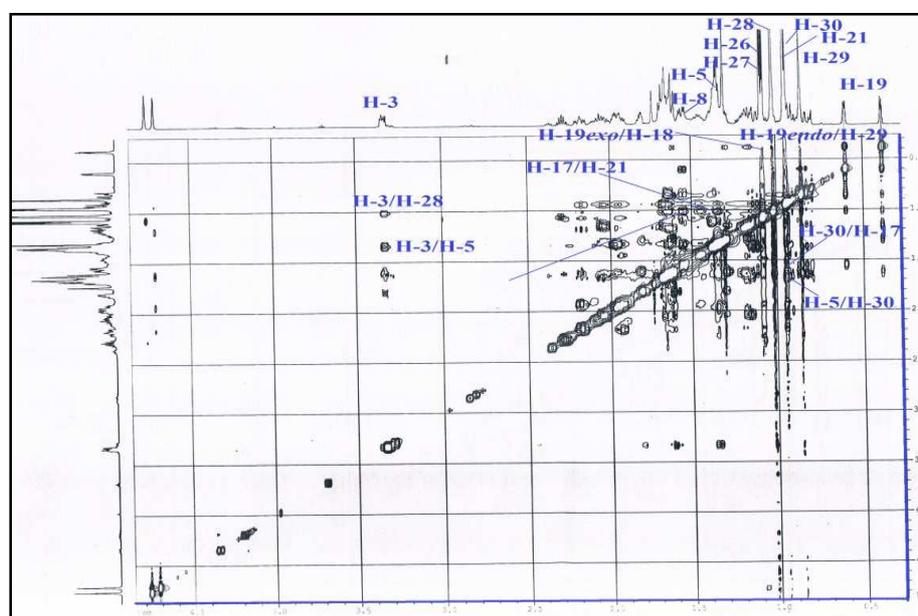


Figure II. 1. 3. 7. 5. NOESY du composé EP7

Toutes ces données spectrales, la valeur du pouvoir rotatoire ($[\alpha]_{\text{D}} = +41$, $c = 1$, CHCl_3), en plus de la comparaison avec les résultats de la littérature [313], permettent de proposer pour ce composé la structure **24-méthylèncycloartanol** (figure II. 1. 3. 7. 6). Ce composé a été isolé antérieurement d'un nombre important d'espèces du genre *Euphorbia* comme

E. guyoniana [23], *E. retusa* [25], *E. bupleuroides* [27], *E. heteradena* [294], *E. peplus* [297] et *E. broterie* [302].

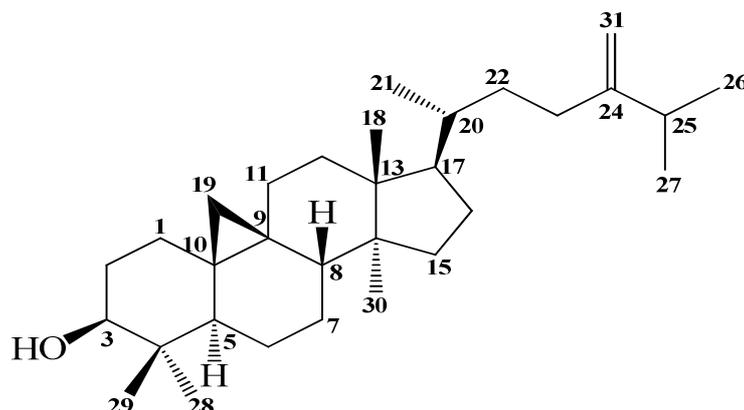


Figure II. 1. 3. 7. 6. Structure du composé EP7 (24-méthylèncycloartanol)

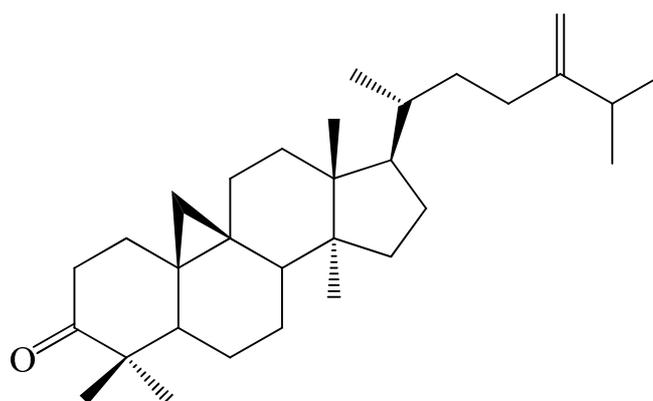
Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé EP7 sont réunis dans le tableau II. 1. 3. 7.

Tableau II. 1. 3. 7. Déplacements chimiques en RMN ^1H (500 MHz) et RMN ^{13}C (125 MHz) du composé EP7 enregistrés dans CDCl_3

EP7		
Position	δ_{H} (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)
1a	1,61 (1H, <i>m</i>)	31,8
1b	1,30 (1H, <i>m</i>)	
2a	1,81 (1H, <i>m</i>)	30,2
2b	1,61 (1H, <i>m</i>)	
3	3,32 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 11,1-4,2)	78,8
4	-	40,3
5	1,36 (1H, <i>m</i>)	47,1
6a	1,63 (1H, <i>m</i>)	21,1
6b	0,83 (1H, <i>td</i> , <i>J</i> = 12,6-2,3)	
7a	1,37 (1H, <i>m</i>)	26,0
7b	1,11 (1H, <i>m</i>)	
8	1,55 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 12,3-4,6)	47,9
9	-	19,8
10	-	26,1
11a	2,04 (1H, <i>m</i>)	26,3
11b	1,17 (1H, <i>m</i>)	
12	1,68 (2H, <i>m</i>)	32,7
13	-	45,3
14	-	48,7
15	1,34 (2H, <i>m</i>)	35,5
16a	1,95 (1H, <i>m</i>)	28,2
16b	1,35 (1H, <i>m</i>)	
17	1,65 (1H, <i>m</i>)	52,1
18	1,02 (3H, <i>s</i>)	18,0
19 <i>endo</i>	0,61 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 4,1)	29,7
19 <i>exo</i>	0,38 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 4,1)	
20	1,44 (1H, <i>m</i>)	35,7
21	0,94 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,2)	18,3
22a	1,64 (1H, <i>m</i>)	36,4
22b	1,18 (1H, <i>m</i>)	

Position	δ_H (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz)	δ_C (ppm)
23a	2,15 (1H, <i>m</i>)	24,9
23b	1,96 (1H, <i>m</i>)	
24	-	156,7
25	2,27 (1H, <i>sept</i> , <i>J</i> = 6,8)	33,7
26	1,09 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,8)	21,8
27	1,08 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,8)	21,9
28	1,02 (3H, <i>s</i>)	25,4
29	0,87 (3H, <i>s</i>)	13,9
30	0,96 (3H, <i>s</i>)	19,3
31a	4,77 (1H, <i>sl</i>)	105,9
31b	4,72 (1H, <i>sl</i>)	

II. 1. 3. 8. Identification structurale du composé EP8



24-méthylèncycloartanone

Le composé **EP8** purifié également sous forme d'une poudre blanche est invisible sur CCM aux longueurs d'onde 254 et 366 nm. Il se colore en marron après révélation par une solution acide et chauffage à 100 °C.

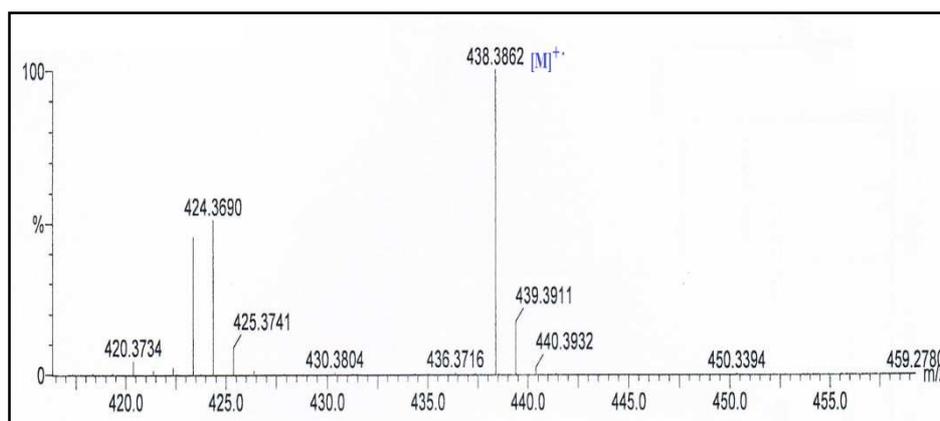


Figure II. 1. 3. 8. 1. Spectre de masse HR-EI-MS du composé EP8

Les données obtenues à partir du spectre de masse haute résolution HR-EI-MS (figure II. 1. 3. 8. 1) de ce composé laissent présagées une formule brute en $C_{31}H_{50}O$ d'une masse moléculaire de 438 uma. En effet, ce spectre montre un pic d'ion moléculaire à $m/z = 438,3862 [M]^+$ (calc. 438,3850).

L'observation des spectres RMN ^1H et ^{13}C J -modulé de ce composé permet de le positionner dans la classe des dérivés du 24-méthylènegcycloartane [311] par la présence des groupements caractéristiques des composés **EP6** et **EP7** déjà élucidés.

Ces groupements caractéristiques sont repérés pour les cycles A, B, C et D à (figure II. 1. 3. 8. 2 et 3) :

- δ_{H} 1,09 (H₃-28), 1,16 (H₃-29), 1,05 (H₃-18) et 0,97 (H₃-30) sous forme de singulets. Le spectre HSQC permet de localiser leurs carbones à δ_{C} 22,2 (C-28), 20,7 (C-29), 18,1 (C-18) et 19,4 (C-30).
- Le groupement 19-CH₂ du noyau cyclopropane est détecté à δ_{H} 0,83 (*d*, $J = 4,2$ Hz, H-19 *endo*) et 0,62 (*d*, $J = 4,2$ Hz, H-19 *exo*)/ δ_{C} 29,5.

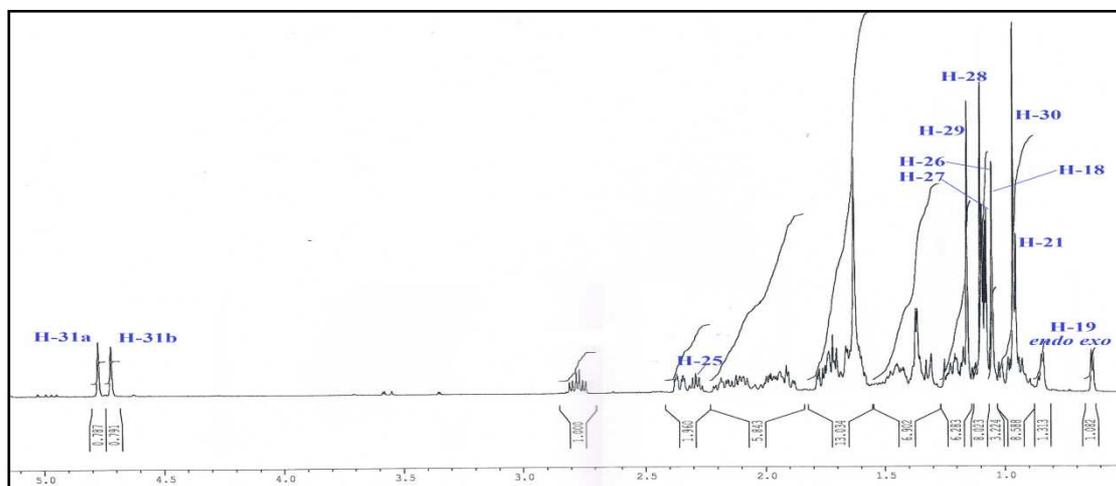


Figure II. 1. 3. 8. 2. Spectre RMN ^1H du composé EP8

Concernant la chaîne latérale, ses groupements caractéristiques se présentent comme suit (figure II. 1. 3. 8. 2 et 3) :

- δ_{H} 4,77 (*sl*, H-31a) et 4,72 (*sl*, H-31b)/ δ_{C} 105,9 pour le groupement 31-CH₂ de la double liaison exocyclique $^{24}\text{C}=\text{C}^{31}\text{CH}_2$ dont le carbone quaternaire C-24 est repéré à δ_{C} 156,7.
- Le proton H-25 résonne sous forme de septuplet à δ_{H} 2,30 avec une constante de couplage $J = 6,8$ Hz. Son carbone est localisé par l'expérience HSQC à δ_{C} 33,7.
- Pour les groupements méthyliques de cette chaîne latérale, le spectre RMN ^1H montre leurs signaux à δ_{H} 0,96 (*d*, $J = 6,0$ Hz, H₃-21), 1,09 (*d*, $J = 6,9$ Hz, H₃-26) et 1,08 (*d*, $J = 6,9$ Hz, H₃-27). L'analyse du spectre HSQC conduit à localiser leurs carbones à δ_{C} 18,3 (C-21), 21,9 (C-26) et 21,8 (C-27).

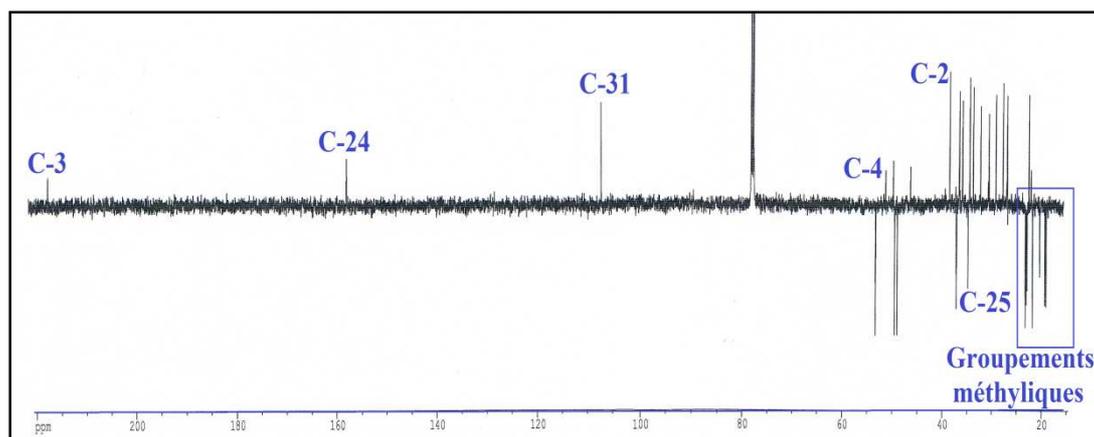


Figure II. 1. 3. 8. 3. Spectre RMN ^{13}C J -modulé du composé EP8

L'absence du signal du proton H-3 sur le spectre RMN ^1H et l'apparition d'un pic de carbone fortement déblindé à δ_{C} 216,8 sur le spectre RMN ^{13}C (figure II. 1. 3. 8. 3), attribué au carbone C-3 par la même procédure utilisée pour le composé EP5 (Cycloarténone), attestent de la présence d'un carbonyle cétone en C-3 au niveau du cycle A du composé EP8.

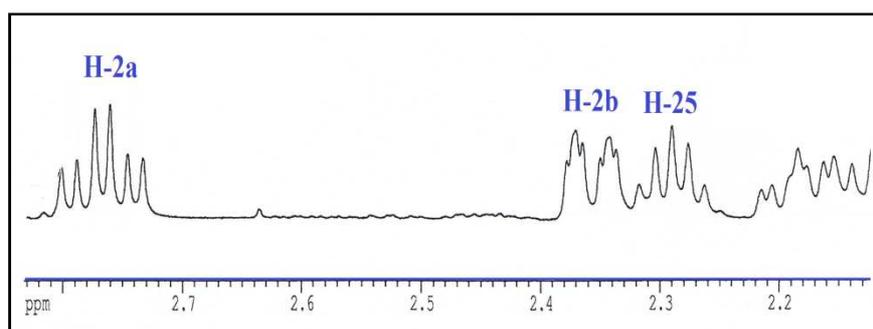


Figure II. 1. 3. 8. 4. Spectre RMN ^1H des protons H₂-2 du composé EP8

Comme pour le composé EP5, ces attributions sont confirmées une fois de plus par le déblindage observé pour les protons du groupement 2-CH₂ (δ_{H} 2,76, *td*, $J = 13,8-6,3$ Hz, H-2a) et (δ_{H} 2,37, *dt*, $J = 13,9-3,3$ Hz, H-2b)/ δ_{C} 37,5 (figure II. 1. 3. 8. 4), ainsi que pour le carbone quaternaire C-4 qui apparaît à δ_{C} 50,2. Ces résonances vers les champs faibles sont dues à leurs positions en α du groupement cétone en C-3 (figures II. 1. 3. 8. 3 et 4).

La stéréochimie de ce composé est déterminée par l'exploitation des corrélations visualisées sur le spectre NOESY à partir des protons H₂-19 (β -orientés) qui permettent d'attribuer une configuration β pour les protons H₃-29, H-8 et H₃-18. L'orientation α est assignée aux protons H₃-28, H-5, H₃-30 et H-17 (figure II. 1. 3. 8. 5). Ces orientations sont supportées par la valeur du pouvoir rotatoire ($[\alpha]_{\text{D}} = +16,4$, $c = 0,4$, CHCl₃) [314].

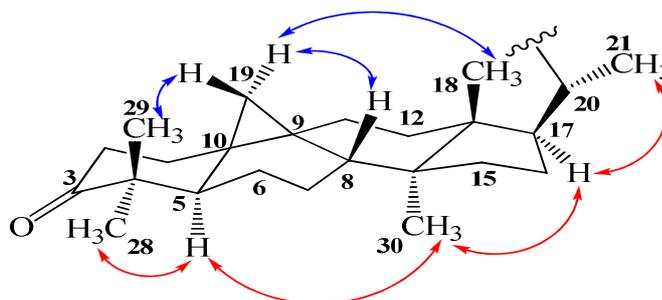


Figure II. 1. 3. 8. 5. Corrélations NOESY du composé EP8

Toutes les données spectrales du composé **EP8** se sont avérées identiques à celles d'un cyclotriterpène connu sous le nom de **24-méthylèncycloartanone** (figure II. 1. 3. 8. 6) [315]. Ce composé qui montre une bonne activité anti-oxydante [305], a été isolé antérieurement à partir de quelques espèces du genre *Euphorbia* telles que *E. retusa* [25] et *E. ebracteolata* [316].

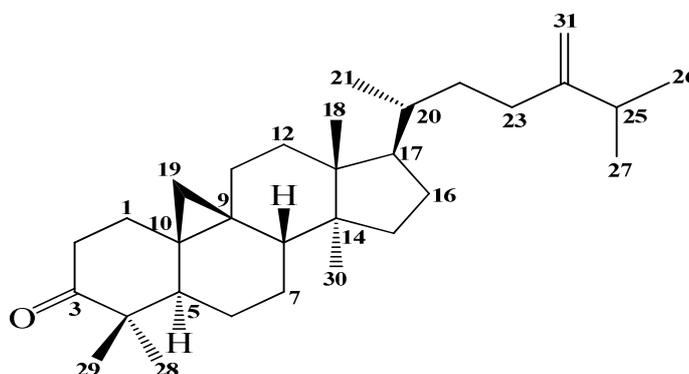


Figure II. 1. 3. 8. 6. Structure du composé EP8 (24-méthylèncycloartanone)

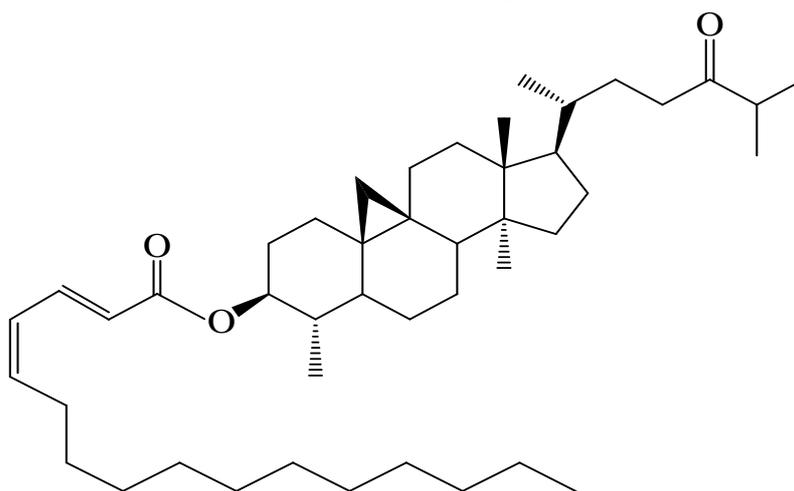
Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé **EP8** sont regroupés dans le tableau II. 1. 3. 8.

Tableau II. 1. 3. 8. Déplacements chimiques en RMN ^1H (500 MHz) et RMN ^{13}C (125 MHz) du composé EP8 enregistrés dans CDCl_3

EP8		
Position	δ_{H} (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)
1a	1,90 (1H, <i>td</i> , <i>J</i> = 13,5-4,3)	33,5
1b	1,60 (1H, <i>m</i>)	
2a	1,76 (1H, <i>td</i> , <i>J</i> = 13,8-6,3)	37,5
2b	1,37 (1H, <i>dt</i> , <i>J</i> = 13,9-3,3)	
3	-	216,8
4	-	50,2
5	1,77 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 12,3-4,4)	48,4
6a	1,63 (1H, <i>m</i>)	21,5
6b	1,02 (1H, <i>m</i>)	
7a	1,45 (1H, <i>m</i>)	25,8
7b	1,18 (1H, <i>m</i>)	
8	1,65 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 8,1-3,2)	47,9
9	-	21,1

Position	δ_H (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz)	δ_C (ppm)
10	-	25,9
11a	2,10 (1H, <i>m</i>)	26,7
11b	1,24 (1H, <i>dt</i> , <i>J</i> = 14,0-8,5)	
12	1,73 (2H, <i>m</i>)	32,7
13	-	45,3
14	-	48,7
15	1,35 (2H, <i>m</i>)	35,5
16a	1,97 (1H, <i>m</i>)	28,1
16b	1,35 (1H, <i>m</i>)	
17	1,67 (1H, <i>m</i>)	52,2
18	1,05 (3H, <i>s</i>)	18,1
19 <i>endo</i>	0,83 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 4,2)	29,5
19 <i>exo</i>	0,62 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 4,2)	
20	1,47 (1H, <i>m</i>)	36,1
21	0,96 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,2)	18,3
22a	1,63 (1H, <i>m</i>)	34,9
22b	1,20 (1H, <i>m</i>)	
23a	2,19 (1H, <i>ddd</i> , <i>J</i> = 15,0-10,9-4,1)	31,3
23b	1,95 (1H, <i>m</i>)	
24	-	156,7
25	2,30 (1H, <i>sept</i> , <i>J</i> = 6,8)	33,7
26	1,09 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,9)	21,9
27	1,08 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,9)	21,8
28	1,09 (3H, <i>s</i>)	22,2
29	1,16 (3H, <i>s</i>)	20,7
30	0,97 (3H, <i>s</i>)	19,4
31a	4,77 (1H, <i>sl</i>)	105,9
31b	4,72 (1H, <i>sl</i>)	

II. 1. 3. 9. Identification structurale du composé EP9



24-oxo-29-norcycloartanyl-2'(E),4'(Z)-hexadécadiénoate

Ce composé qui est purifié sous forme d'une huile incolore montre sur CCM une tâche visible à 254 nm donnant une couleur marron après révélation par une solution acide et chauffage à 100 °C.

La formule brute de ce composé est déterminée en $C_{45}H_{74}O_3$ par l'analyse du spectre de masse ESI-MS (figure II. 1. 3. 9. 1) obtenu en mode positif. En effet, ce spectre montre la présence d'un pic d'ion pseudomoléculaire à $m/z = 685,4$ $[M+Na]^+$ correspondant à une masse moléculaire égale à 662 uma.

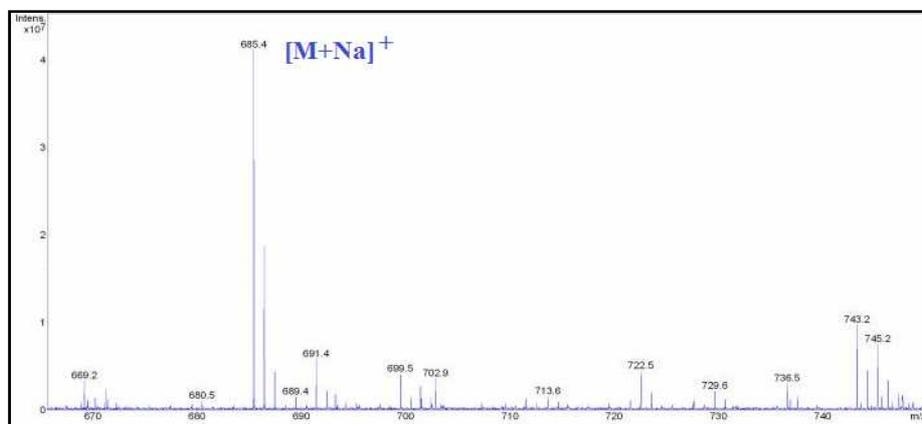


Figure II. 1. 3. 9. 1. Spectre de masse ESI-MS du composé EP9

L'appartenance de ce composé à la classe des triterpènes de type cycloartane est déduite par l'analyse du spectre RMN du proton (figure II. 1. 3. 9. 2). En effet, il montre six signaux s'intégrant 3H chacun dans la zone allant de 0,58 jusqu'à 1,10 ppm correspondant aux groupements méthyliques, deux signaux fortement blindés résonant à δ_H 0,56 (d , $J = 4,0$ Hz) et 0,33 (d , $J = 4,1$ Hz) des deux protons non équivalents (H-19 *endo* et H-19 *exo*) du noyau cyclopropane et le signal du proton oxyméthine caractéristique de cette catégorie de composés H-3 (δ_H 4,50, td , $J = 11,2-5,2$ Hz). Son déblindage atteste d'une acylation au niveau du carbone C-3.

Ces groupements sont accordés sur le spectre HSQC aux carbones C-18 (δ_C 15,9), C-21 (δ_C 18,3), C-26 (δ_C 22,1), C-27 (δ_C 22,0), C-28 (δ_C 15,3), C-30 (δ_C 24,3), C-19 (δ_C 27,5) et C-3 (δ_C 80,4). Le déplacement chimique du carbone du groupement oxyméthine 3-CHO confirme sa substitution par un groupement électro-attracteur (acyle).

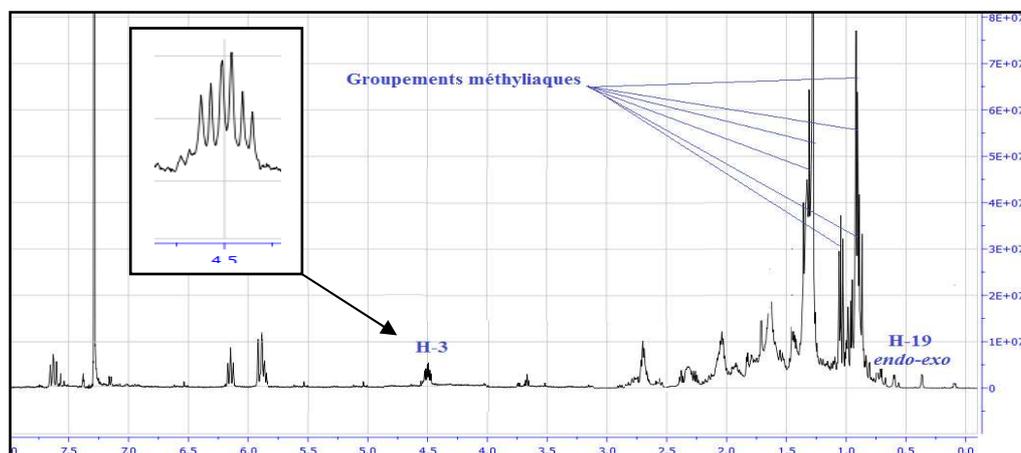


Figure II. 1. 3. 9. 2. Spectre RMN 1H du composé EP9

La multiplicité observée pour le proton de ce groupement H-3 (*td*) ainsi que les valeurs de constantes de couplage ($J = 11,2-5,2$ Hz) indiquent l'existence dans son voisinage de deux protons en position axiale et un autre en position équatoriale. Ceci est confirmé par analyse du spectre COSY H-H (figure II. 1. 3. 9. 3) qui montre des taches de corrélation de ce proton avec trois protons détectés à δ_H 1,35, 1,09 et 1,19 attribués aux protons H-2a, H-2b et H-4 respectivement en tenant compte des corrélations COSY des protons H₂-2 avec deux protons géminés résonant à δ_H 1,45 et 1,13 attribuables sans équivoque aux protons H₂-1. La corrélation du proton H-4 avec un proton repéré à 1,02 ppm sur le spectre COSY H-H permet de le caractériser au proton H-5. Les protons méthyliques 28-CH₃ résonant à δ_H 0,98 (*d*, $J = 6,5$ Hz) présentent à leur tour une tache de corrélation COSY avec le proton H-4 (figure II. 1. 3. 9. 3). On note bien l'absence du deuxième méthyle angulaire lié au carbone C-4 observé pour tous les triterpènes déjà identifiés **EP1-EP8**.

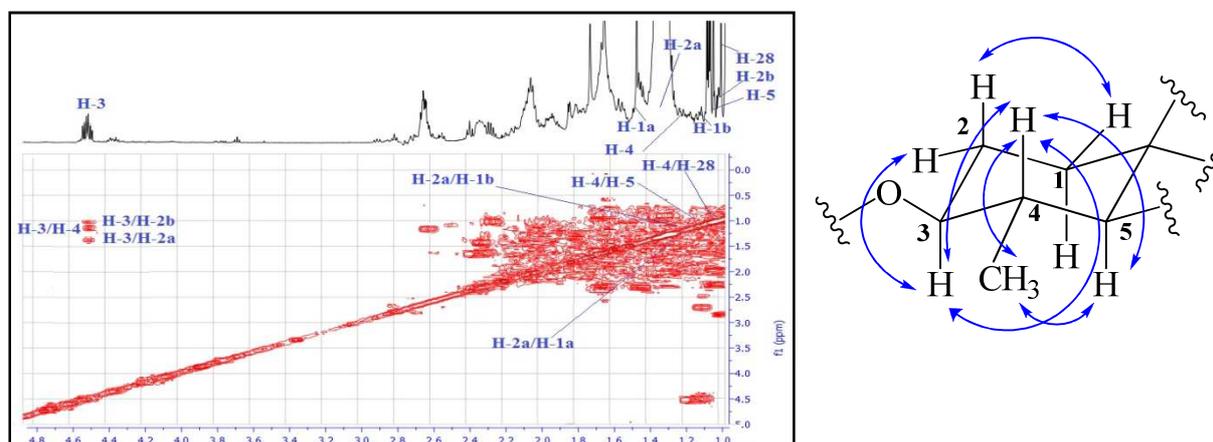


Figure II. 1. 3. 9. 3. Spectre COSY H-H du composé EP9

L'analyse conjointe des spectres RMN ¹H et ¹³C, HMBC, HSQC et COSY H-H de ce composé a permis de localiser tous les protons et carbones des cycles A, B, C et D constituant la partie cyclique triterpénique comme suit :

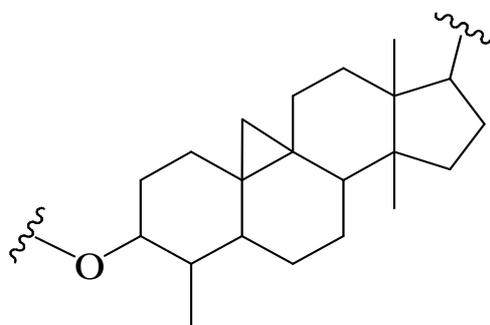


Figure II. 1. 3. 9. 4. Partie cyclique du composé EP9

En ce qui concerne la chaîne latérale de ce composé, ses protons et carbones sont assignés en utilisant les mêmes procédures d'analyse structurale appliquées pour les composés

EP6, **EP7** et **EP8**. La différence observée pour ce composé réside particulièrement dans la disparition des signaux du groupement 31-CH₂ et le déblindage du carbone quaternaire C-24 résonnant à δ_C 215,3. Cette valeur de déplacement chimique indique la présence d'un carbonyle cétonique à cette position. Ceci conduit à identifier la génine du composé **EP9** comme étant 3-hydroxy-29-norcycloart-24-one (figure II. 1. 3. 9. 5) [317].

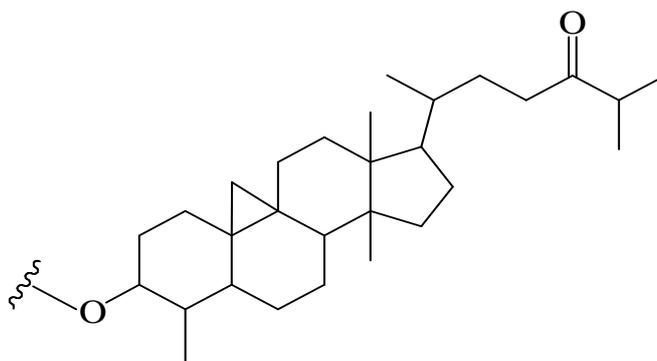


Figure II. 1. 3. 9. 5. Génine du composé EP9

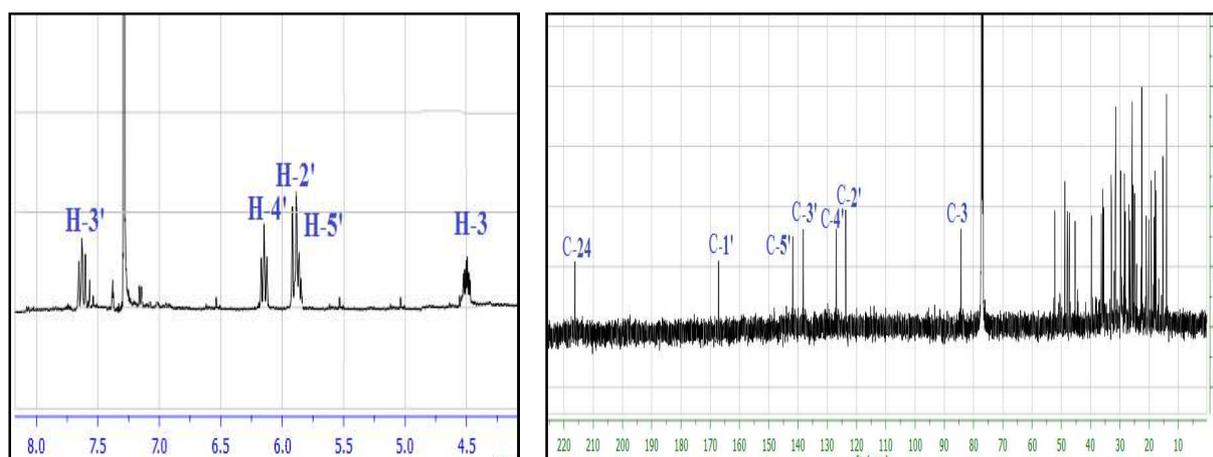


Figure II. 1. 3. 9. 6. Spectres RMN ¹H et ¹³C du composé EP9

Une simple comparaison des spectres RMN du proton et carbone (figure II. 1. 3. 9. 6) du composé **EP9** avec ceux des composés **EP2** et **EP6** permet de caractériser le substituant lié à la génine comme étant un acide gras insaturé présentant une géométrie 2'*E*, 4'*Z*. Le nombre de carbones de la chaîne de cet acide gras est déterminé de la même manière que pour les deux autres acides gras déjà identifiés, par l'analyse des spectres RMN ¹³C et de masse ESI-MS indiquant une formule brute en C₄₅H₇₄O₂.

L'analyse conjointe des spectres HSQC, HMBC et COSY H-H conduit à localiser tous les protons et carbones de ce substituant. Ces résultats sont totalement identiques à ceux de l'acide gras insaturé 2'(*E*),4'(*Z*)-hexadécadiénoyle (figure II. 1. 3. 9. 7) [318].

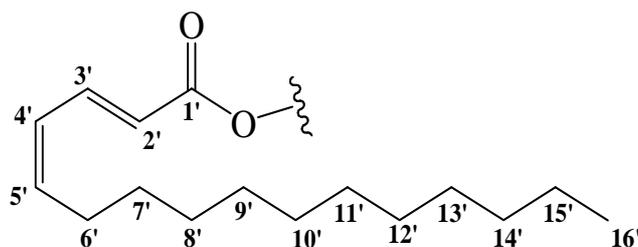


Figure II. 1. 3. 9. 7. Acide gras insaturé du composé EP9

A cette étape d'analyse structurale du composé **EP9**, il reste à déterminer la configuration des carbones chiraux en utilisant, comme pour tous les triterpènes élucidés précédemment, les valeurs des constantes de couplage, ainsi que les corrélations visualisées sur le spectre NOESY. Cette analyse mène aisément à orienter les substituants des carbones asymétriques comme suit :

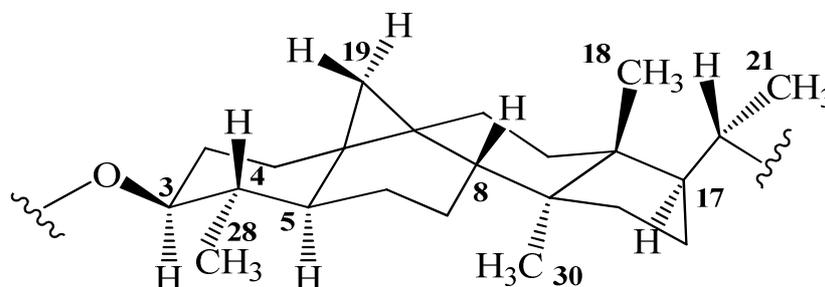


Figure II. 1. 3. 9. 8. Orientations des substituants des carbones chiraux du composé EP9

Tous ces résultats spectraux accumulés et en plus de la valeur du pouvoir rotatoire mesuré dans le chloroforme ($[\alpha]_D = +43,2$, $c = 0,2$) permettent d'identifier la structure de ce composé au **24-oxo-29-norcycloartanyl-2'(E),4'(Z)-hexadécadiénoate** (figure II. 1. 3. 9. 9). Les recherches bibliographiques réalisées concernant cette structure indiquent que le composé **EP9** est un nouveau dérivé du 24-oxo-29-norcycloart-24-one.

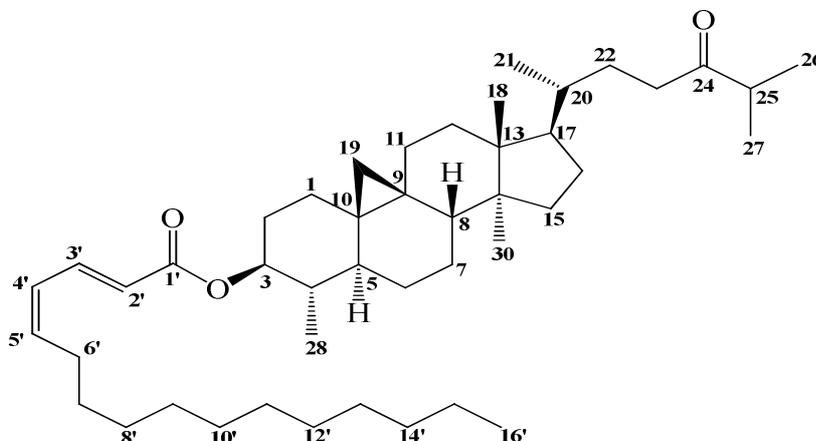


Figure II. 1. 3. 9. 9. Structure du composé EP9 (24-oxo-29-norcycloartanyl-2'(E),4'(Z)-hexadécadiénoate)

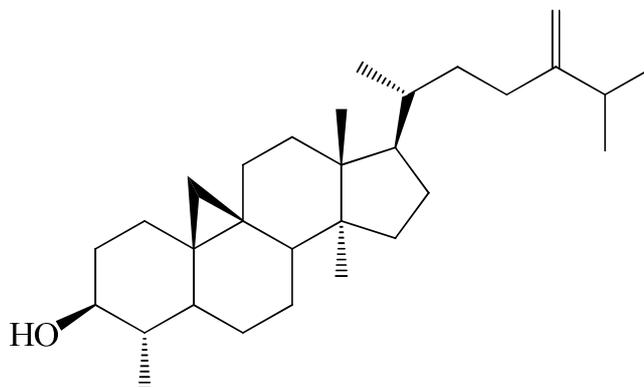
Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé **EP9** sont réunis dans le tableau II. 1. 3. 9.

Tableau II. 1. 3. 9. Déplacements chimiques en RMN ^1H (500 MHz) et RMN ^{13}C (125 MHz) du composé EP9 enregistrés dans CDCl_3

EP9		
Position	δ_{H} (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)
1a	1,45 (1H, <i>m</i>)	34,5
1b	1,13 (1H, <i>m</i>)	
2a	1,35 (1H, <i>m</i>)	32,3
2b	1,09 (1H, <i>m</i>)	
3	4,50 (1H, <i>td</i> , <i>J</i> = 11,2-5,2)	80,4
4	1,19 (1H, <i>m</i>)	45,5
5	1,02 (1H, <i>m</i>)	42,9
6a	1,53 (1H, <i>m</i>)	24,2
6b	0,39 (1H, <i>m</i>)	
7a	1,80 (1H, <i>m</i>)	28,5
7b	1,15 (1H, <i>m</i>)	
8	1,45 (1H, <i>m</i>)	46,7
9	-	23,5
10	-	30,0
11	1,87 (2H, <i>m</i>)	25,7
12	1,13 (2H, <i>m</i>)	35,1
13	-	45,0
14	-	49,0
15	1,49 (2H, <i>m</i>)	33,0
16a	1,83 (1H, <i>m</i>)	27,1
16b	1,07 (1H, <i>m</i>)	
17	1,43 (1H, <i>m</i>)	53,4
18	0,58 (3H, <i>s</i>)	15,9
19 <i>endo</i>	0,56 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 4,0)	27,5
19 <i>exo</i>	0,33 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 4,1)	
20	1,28 (1H, <i>m</i>)	35,9
21	0,80 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,5)	18,3
22a	1,44 (1H, <i>m</i>)	34,8
22b	1,03 (1H, <i>m</i>)	
23	2,30 (2H, <i>m</i>)	37,2
24	-	215,3
25	2,62 (1H, <i>sept</i> , <i>J</i> = 6,8)	41,3
26	1,10 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,8)	22,1
27	1,11 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,7)	22,0
28	0,98 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,5)	15,3
30	0,75 (3H, <i>s</i>)	24,3
1'	-	169,0
2'	5,90 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 15,2)	122,0
3'	7,55 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 15,2-12,3)	139,1
4'	6,35 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 12,3)	126,3
5'	5,85 (1H, <i>m</i>)	141,6
6'	2,30 (2H, <i>m</i>)	27,8
7'	1,33 (2H, <i>m</i>)	31,3
8'	1,33 (2H, <i>m</i>)	28,1
9'	1,33 (2H, <i>m</i>)	28,1
10'	1,33 (2H, <i>m</i>)	28,1
11'	1,33 (2H, <i>m</i>)	28,5
12'	1,33 (2H, <i>m</i>)	28,3

Position	δ_H (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz)	δ_C (ppm)
13'	1,33 (2H, <i>m</i>)	28,1
14'	1,40 (2H, <i>m</i>)	28,1
15'	1,40 (2H, <i>m</i>)	22,8
16'	0,94 (3H, <i>t</i> , <i>J</i> = 6,5)	14,0

II. 1. 3. 10. Identification structurale du composé EP10



Cycloeucaéolol

Le composé **EP10** isolé sous forme d'une poudre blanche est invisible à lumière UV (254 et 366 nm). Il se colore en marron après révélation par une solution acide et chauffage à 100 °C.

Le spectre de masse ESI-MS de ce composé (figure II. 1. 3. 10. 1) enregistré en mode positif montre un pic d'ion pseudomoléculaire à $m/z = 449,5$ $[M+Na]^+$, soit une masse moléculaire $M = 426$ uma correspondant à une formule brute en $C_{30}H_{50}O$.

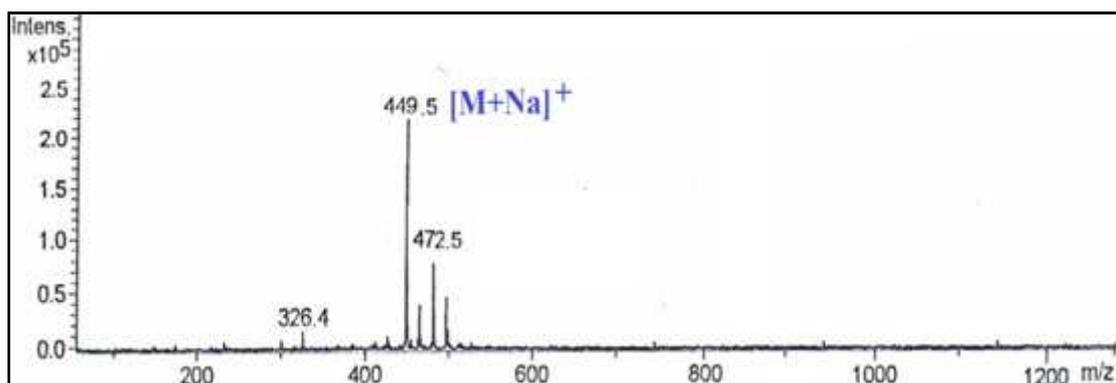


Figure II. 1. 3. 10. 1. Spectre de masse ESI-MS du composé EP10

Les spectres RMN 1H et ^{13}C de ce composé montrent une grande ressemblance avec ceux du composé précédent **EP9** notamment au niveau de la génine. En effet, le spectre RMN 1H révèle six signaux d'intégration 3H chacun, dans la zone du champ fort, se répartissant en quatre sous forme de doublets et deux sous forme de singulets, témoignant de

la substitution du cycle A en position C-4 par un seul groupement CH_3 comme pour le composé **EP9**.

Cette constatation est en parfait accord avec les résultats obtenus par le spectre RMN ^{13}C J -modulé (figure II. 1. 3. 10. 2) qui exhibe six groupements méthyliques, 12 groupements CH_2 , sept méthines et cinq carbones quaternaires.

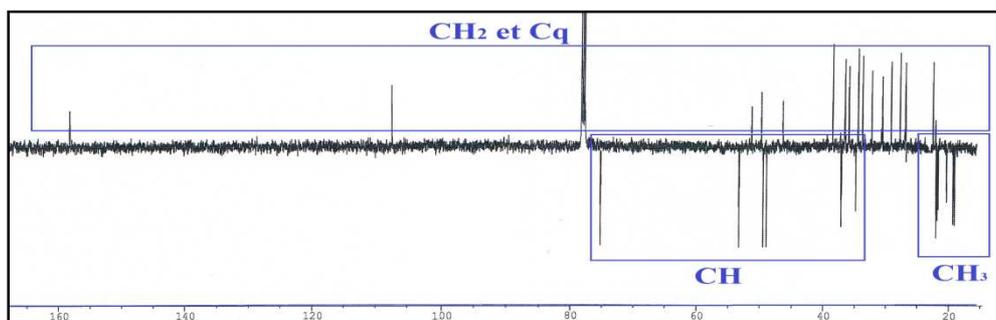


Figure II. 1. 3. 10. 2. Spectre RMN ^{13}C J -modulé du composé **EP10**

Le spectre RMN ^1H (figure II. 1. 3. 10. 3) indique aussi la présence de deux signaux doublets fortement blindés typiques de deux protons non équivalents d'un noyau cyclopropane résonant à δ_{H} 0,60 (d , $J = 4,1$ Hz, H-19 *endo*) et 0,31 (d , $J = 4,1$ Hz, H-19 *exo*), ainsi que deux d'autres signaux déblindés sous forme de singulets larges attribués aux protons éthyléniques H-31a (δ_{H} 4,56) et H-31b (δ_{H} 4,52) de la double liaison exocyclique $^{24}\text{C}=\text{CH}_2$. Le proton H-25 de la chaîne latérale est repéré à δ_{H} 2,07 sous forme de septuplet d'une constante de couplage $J = 6,8$ Hz.

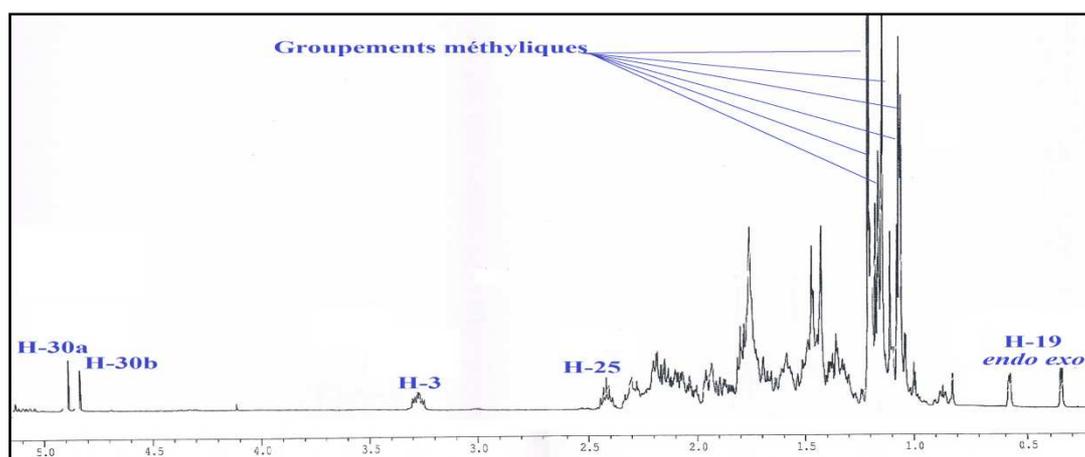


Figure II. 1. 3. 10. 3. Spectre RMN ^1H du composé **EP10**

Le spectre HSQC du composé **EP10** permet de localiser les carbones de ces groupements caractéristiques à δ_{C} 27,4 (C-19), 33,7 (C-25) et 105,8 (C-31).

Le proton oxyméthine de ce squelette cycloterpénique qui apparaît à δ_H 3,05 sous forme de triplet de doublets ($J = 11,6-5,2$ Hz) est accordé sur le spectre HSQC au pic sortant à δ_C 76,5 (C-3) (figure II. 1. 3. 10. 4) témoignant d'une part de sa substitution par un hydroxyle libre et, d'autre part confirmant la présence d'un seul méthyle en position C-4.

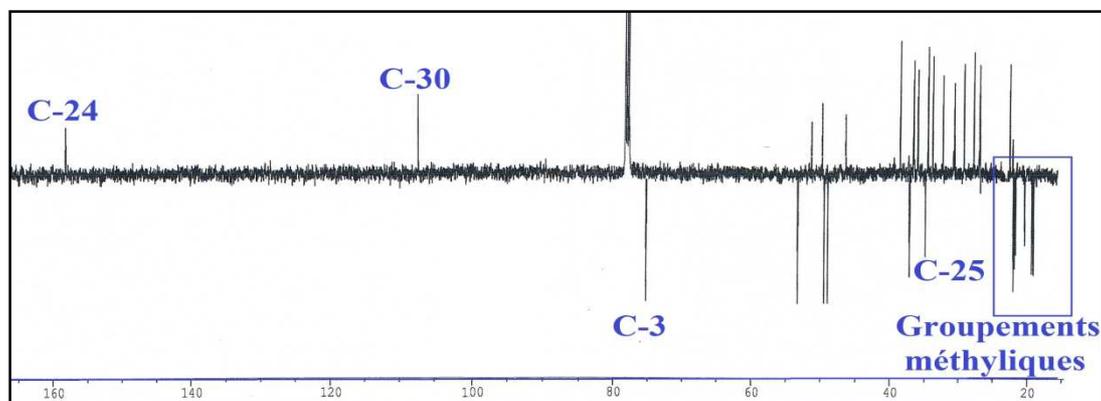


Figure II. 1. 3. 10. 4. Spectre RMN ^{13}C J-modulé du composé EP10

Comme pour le composé décrit précédemment **EP9**, l'analyse conjointe des spectres COSY H-H, HSQC, HMBC et NOESY permet de réaliser toutes les attributions des protons et carbones du composé **EP10**. La comparaison de ces attributions avec les données de la littérature [319] et la valeur du pouvoir rotatoire mesuré dans le chloroforme ($[\alpha]_D = +44,8$, $c = 0,5$) indiquent la présence d'une structure connue sous le nom **Cycloeucaéno** (figure II. 1. 3. 10. 5).

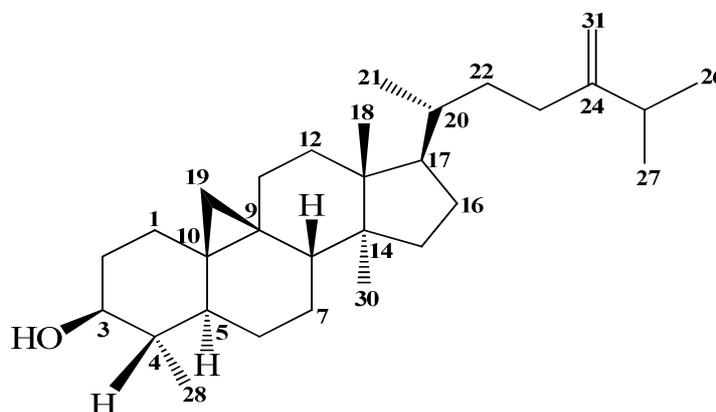


Figure II. 1. 3. 10. 5. Structure du composé EP10 (Cycloeucaéno)

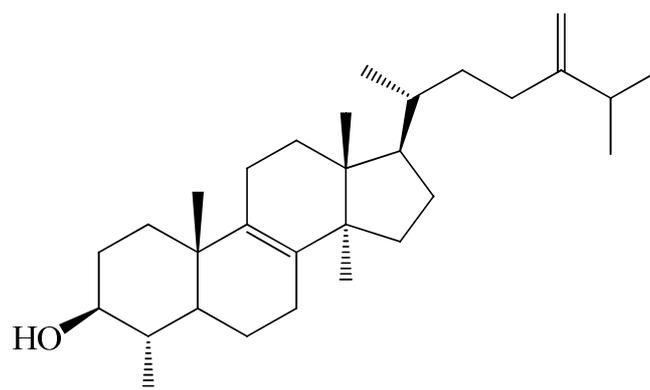
Ce composé qui est connu par son activité spasmolytique [320], est présent dans la composition chimique d'un nombre considérables d'espèces du genre *Euphorbia* dont *E. guyoniana* [23], *E. retusa* [25], *E. bupleuroides* [27], *E. heteradena* [234] et *E. broterie* [302].

Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé **EP10** sont donnés dans le tableau II. 1. 3. 10.

Tableau II. 1. 3. 10. Déplacements chimiques en RMN ^1H (500 MHz) et RMN ^{13}C (125 MHz) du composé EP10 enregistrés dans CDCl_3

EP10		
Position	δ_{H} (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)
1a	1,40 (1H, <i>m</i>)	30,8
1b	1,11 (1H, <i>m</i>)	
2a	1,85 (1H, <i>m</i>)	34,8
2b	1,27 (1H, <i>m</i>)	
3	3,05 (1H, <i>td</i> , <i>J</i> = 11,6-5,2)	76,5
4	1,03 (1H, <i>m</i>)	44,6
5	1,05 (1H, <i>m</i>)	43,3
6a	1,50 (1H, <i>m</i>)	24,4
6b	0,40 (1H, <i>m</i>)	
7a	1,76 (1H, <i>m</i>)	28,1
7b	1,15 (1H, <i>m</i>)	
8	1,44 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 8,1-3,2)	46,8
9	-	23,4
10	-	29,5
11	1,86 (2H, <i>m</i>)	25,5
12	1,16 (2H, <i>m</i>)	35,3
13	-	45,3
14	-	48,9
15	1,47 (2H, <i>m</i>)	32,9
16a	1,85 (1H, <i>m</i>)	26,9
16b	1,04 (1H, <i>m</i>)	
17	1,46 (1H, <i>m</i>)	52,2
18	0,82 (3H, <i>s</i>)	17,8
19 <i>endo</i>	0,60 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 4,1)	27,4
19 <i>exo</i>	0,31 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 4,1)	
20	1,27 (1H, <i>m</i>)	36,1
21	0,75 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,6)	18,7
22a	1,42 (1H, <i>m</i>)	35,0
22b	1,01 (1H, <i>m</i>)	
23a	1,98 (1H, <i>m</i>)	31,3
23b	1,71 (1H, <i>m</i>)	
24	-	156,9
25	2,07 (1H, <i>sept</i> , <i>J</i> = 6,8)	33,7
26	0,88 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,8)	21,7
27	0,86 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,8)	22,0
28	0,84 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,5)	14,4
30	0,72 (3H, <i>s</i>)	19,1
31a	4,56 (1H, <i>sl</i>)	105,8
31b	4,52 (1H, <i>sl</i>)	

II. 1. 3. 11. Identification structurale du composé EP11



Obtusifoliol

Il présente les mêmes caractères que le composé précédent **EP10**. En effet, il est isolé sous forme d'une poudre blanche soluble dans le chloroforme et donne une tache invisible à la lumière UV (254 et 366) qui se révèle en marron par une solution acide et chauffage à 100 °C.

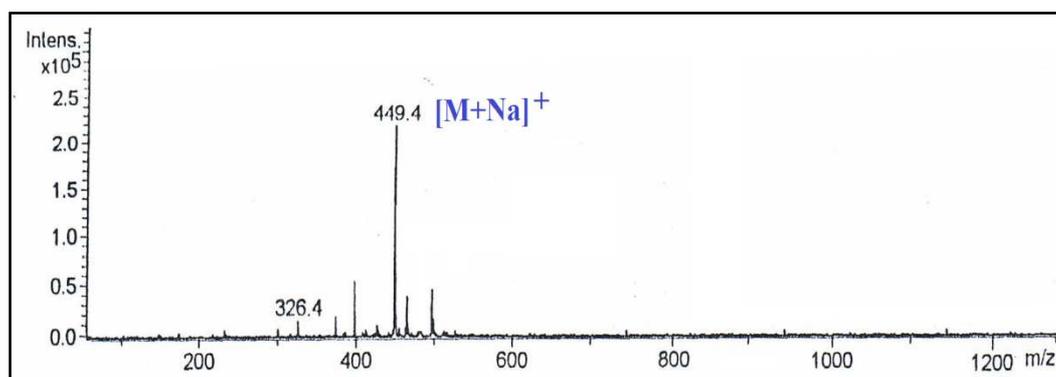
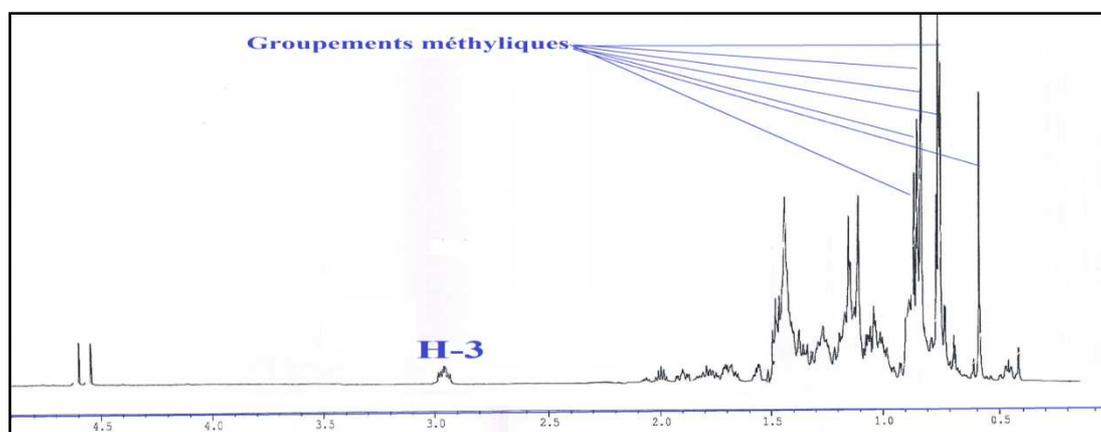


Figure II. 1. 3. 11. 1. Spectre de masse ESI-MS du composé EP11

Le spectre de masse ESI-MS (figure II. 1. 3. 11. 1) de ce composé obtenu en mode positif indique la présence d'un pic d'ion pseudomoléculaire à $m/z = 449,4$ $[M+Na]^+$ traduisant comme pour le composé **EP10** une masse moléculaire de 426 uma et une formule brute en C₃₀H₅₀O. Les deux composés **EP10** et **EP11** sont des isomères.

Figure II. 1. 3. 11. 2. Spectre RMN ¹H du composé EP11

Le spectre RMN ^1H (figure II. 1. 3. 11. 2) de ce composé montre clairement l'absence du noyau cyclopropane rencontré dans les structure de tous les composés décrits précédemment par la disparition des deux signaux blindés des protons $\text{H}_2\text{-19}$ observés habituellement sous forme de doublets entre 0,2 et 0,7 ppm.

L'élucidation structurale de ce composé est débutée, comme pour le composé **EP9**, par les couplages scalaires observés sur le spectre COSY H-H (figure II. 1. 3. 11. 3) du proton oxyméthine H-3 localisé à δ_{H} 2,97. Ce proton fait partie du système de spins $-\text{}^1\text{CH}_2-\text{}^2\text{CH}_2-\text{}^3\text{CH}-\text{}^4\text{CH}-\text{}^5\text{CH}-\text{}^6\text{CH}_2-\text{}^7\text{CH}_2-$. Ces couplages permettent de déterminer les déplacements chimiques des protons de l'enchaînement : $\text{H}_2\text{-1}$ (δ_{H} 1,40-1,14, *m*)/ $\text{H}_2\text{-2}$ (δ_{H} 1,39-1,05, *m*)/H-3 (δ_{H} 2,97, *td*, $J = 11,4\text{-}5,4$ Hz)/H-4 (δ_{H} 1,14, *m*)/H-5 (δ_{H} 0,81, *m*)/ $\text{H}_2\text{-6}$ (δ_{H} 1,61-1,09, *m*)/ $\text{H}_2\text{-7}$ (δ_{H} 1,77-1,10, *m*).

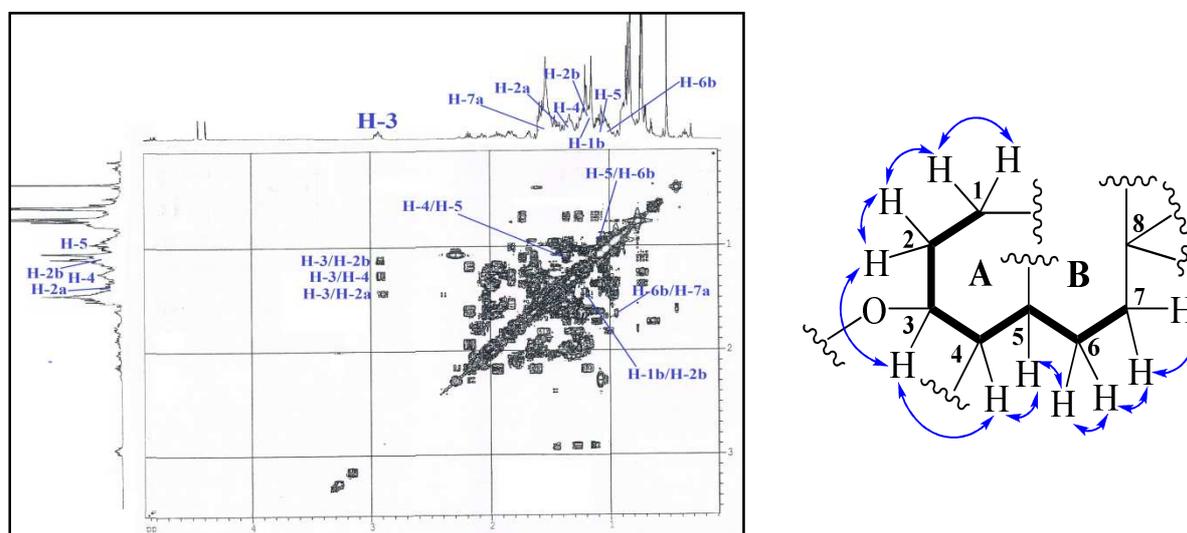


Figure II. 1. 3. 11. 3. Spectre COSY H-H du composé EP11

A partir de ces corrélations, il est à conclure l'absence de l'un des deux groupements méthyliques en position C-4, ainsi que la présence d'un carbone quaternaire à la position C-8 du fait de l'absence de couplage des protons $\text{H}_2\text{-7}$ avec d'autres protons.

Les carbones de ces groupements sont localisés par l'expérience HSQC (figure II. 1. 3. 11. 4) à δ_{C} 35,5 (C-1), 31,0 (C-2), 76,5 (C-3), 39,2 (C-4), 47,0 (C-5), 20,7 (C-6) et 28,2 (C-7). La valeur du déplacement chimique du carbone C-3 indique clairement sa substitution par un hydroxyle libre comme dans le cas de son isomère **EP10**.

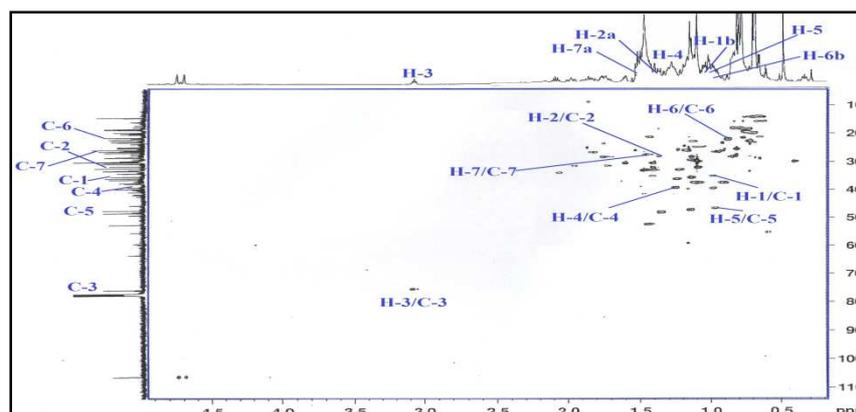


Figure II. 1. 3. 11. 4. Spectre HSQC du composé EP11

Le méthyle attaché au carbone C-4 est localisé à δ_H 0,84 (*d*, $J = 6,3$ Hz) suite aux corrélations qu'il présente sur le spectre HMBC avec les carbones C-3, C-4 et C-5 (figure II. 1. 3. 11. 5).

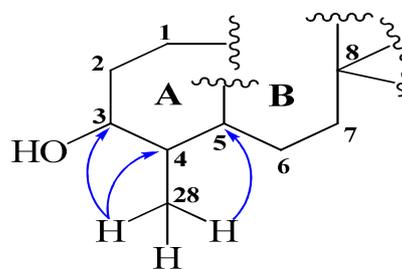


Figure II. 1. 3. 11. 5. Corrélations HMBC du groupement 28-CH₃ du composé EP11

Le carbone C-1 corrèle en HMBC (figure II. 1. 3. 11. 6) avec les protons d'un groupement méthyle résonant à (δ_H 0,83/ δ_C 18,7) attribué au méthyle 19-CH₃. Les protons de ce dernier présente des taches de corrélation longue distance avec le carbone méthine CH-5 (δ_C 47,0) et deux autres carbones quaternaires C-9 et C-10 repérés à δ_C 134,4 et 36,5 respectivement. Ceci conduit à la fermeture des cycles A et B de ce composé.

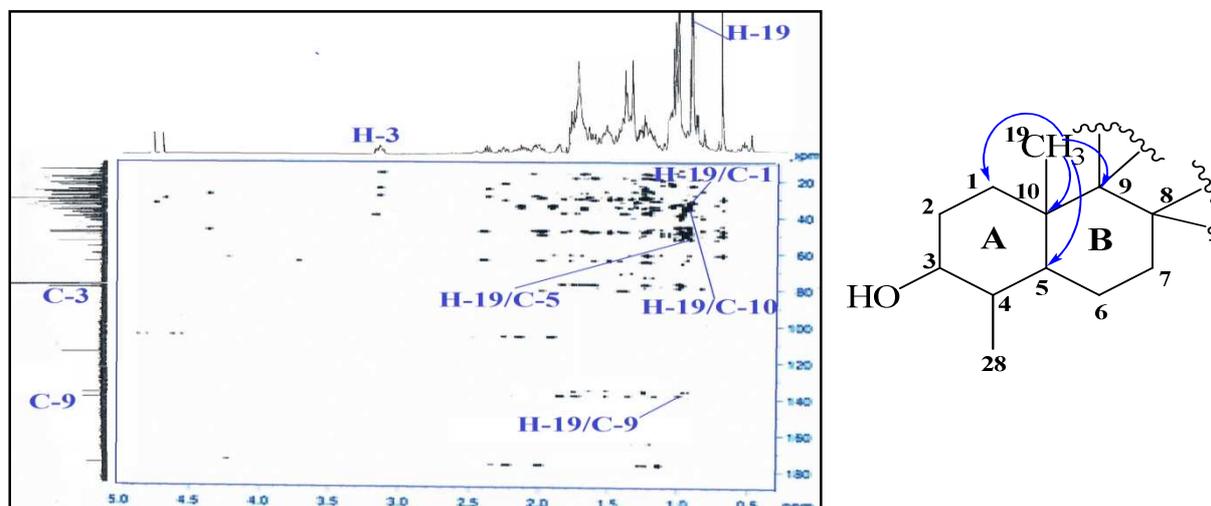


Figure II. 1. 3. 11. 6. Spectre HMBC montrant la fermeture des cycles A et B du composé EP11

Le déplacement chimique du carbone C-9 lui offre une nature oléfinique témoignant de l'existence d'une double liaison endocyclique. La position de cette double liaison est localisée entre les carbones $^8\text{C}=\text{C}^9$ par les corrélations visualisées sur le spectre HMBC (figure II. 1. 3. 11. 7) d'une part, entre les protons méthylènes H₂-7 et les carbones quaternaires C-8 (δ_{C} 133,6), C-9 (δ_{C} 134,4) et C-14 (δ_{C} 48,9), et d'autre part, entre les protons méthyliques résonant à (δ_{H} 0,73, *s*), qui ne peuvent être que les protons du groupement 30-CH₃, et les carbones C-8, C-14. Les protons H₃-30 couplent aussi avec les carbones détectés à δ_{C} 44,6 et 30,8 attribuables clairement aux carbones C-13 (C_q) et C-15 (CH₂).

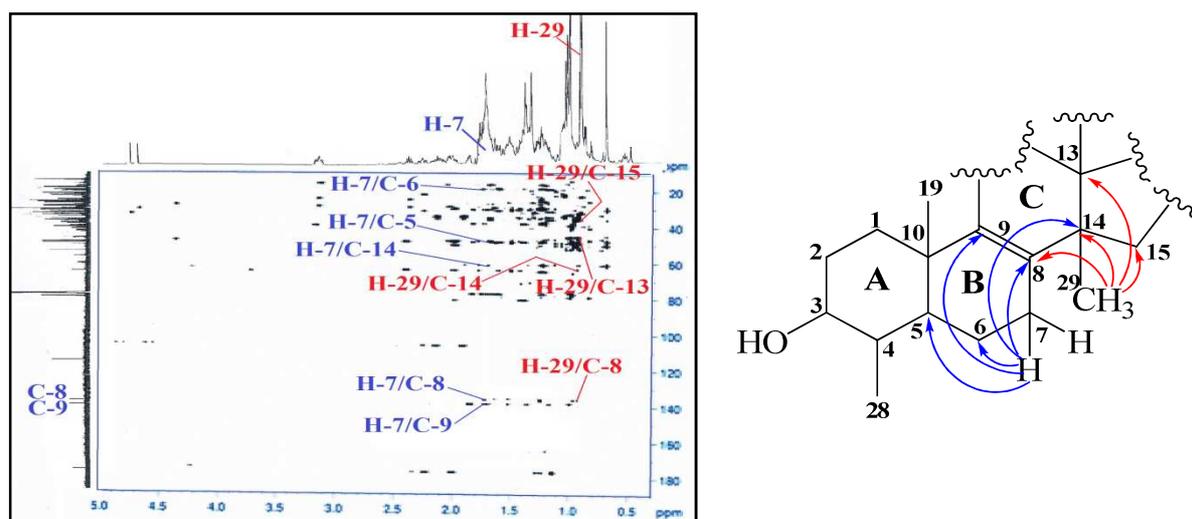


Figure II. 1. 3. 11. 7. Spectre HMBC indiquant la position de la double liaison du composé EP11

La partie restante du squelette de ce composé est identifiée de la même manière que pour les composés décrits précédemment par l'analyse conjointe des spectres HSQC, HMBC, COSY H-H et NOESY. Ceci conduit à localiser tous les protons et carbones non attribués du composé **EP11** à savoir les autres groupements méthyliques à (δ_{H} 0,56, *s*)/ δ_{C} 15,7 (18-CH₃), (δ_{H} 0,78, *d*, $J = 6,5$ Hz)/ δ_{C} 18,2 (21-CH₃), (δ_{H} 0,88, *d*, $J = 6,7$ Hz)/ δ_{C} 21,9 (26-CH₃) et (δ_{H} 0,86, *d*, $J = 6,7$ Hz)/ δ_{C} 18,2 (21-CH₃). Les groupements caractéristiques de la chaîne latérale sont localisés à (δ_{H} 4,55-4,52, *sl*)/ δ_{C} 105,9 (24-CH₂), δ_{C} 156,9 (C-24) et (δ_{H} 2,08, *sept*, $J = 6,7$ Hz)/ δ_{C} 33,8 (25-CH).

De même pour ce composé, la configuration des différents substituants est établie par l'analyse des corrélations observées sur le spectre NOESY. En effet, ces corrélations permettent d'orienter, à partir du proton H-3 (α -orienté), les protons H₃-28, H-5, H₃-30, H-17 et H₃-21 sur la face α et les protons H-4, H₃-19 et H₃-18 sur la face β (figure II. 1. 3. 11. 8). La valeur du pouvoir rotatoire mesuré dans le chloroforme égale à $[\alpha]_{\text{D}} = + 71,2$ ($c = 0,80$) apporte la confirmation de ces orientations comme l'indique les données de la littérature ($[\alpha]_{\text{D}} = + 73$, $c = 1$, CHCl₃) [302].

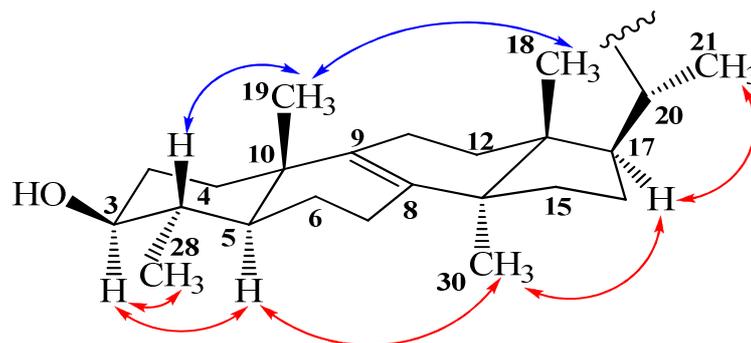


Figure II. 1. 3. 11. 8. Corrélations NOESY du composé EP11

Les résultats spectraux du composé **EP11** sont en parfait accord avec ceux cités dans la littérature [302] pour le triterpène **Obtusifoliol** (figure II. 1. 3. 11. 9).

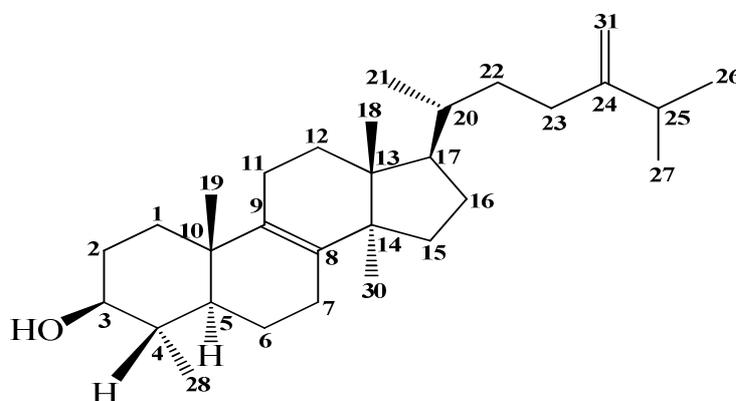


Figure II. 1. 3. 11. 9. Structure du composé EP11 (**Obtusifoliol**)

Ce composé est très répandu dans le genre *Euphorbia* et a été identifié dans plusieurs espèces à savoir *E. guyoniana* [23], *E. retusa* [25], *E. bupleuroides* [27], *E. broterie* [302], *E. peplus* [308], *E. obtusifolia* [321] et *E. chamaesyce* [322].

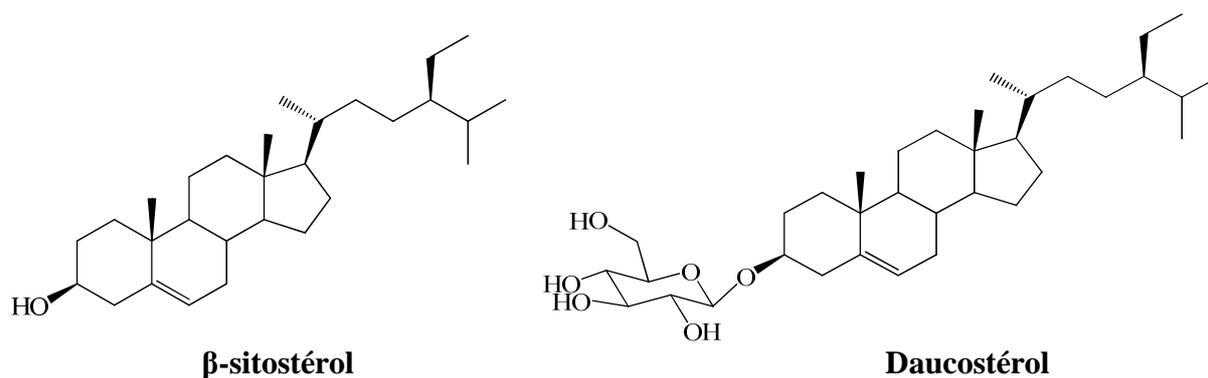
Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé **EP11** sont rassemblés dans le tableau II. 1. 3. 11.

Tableau II. 1. 3. 11. Déplacements chimiques en RMN ^1H (500 MHz) et RMN ^{13}C (125 MHz) du composé EP11 enregistrés dans CDCl_3

EP11		
Position	δ_{H} (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)
1a	1,40 (1H, <i>m</i>)	35,3
1b	1,14 (1H, <i>m</i>)	
2a	1,39 (1H, <i>m</i>)	31,0
2b	1,05 (1H, <i>m</i>)	
3	2,97 (1H, <i>td</i> , <i>J</i> = 11,4-5,4)	76,5
4	1,17 (1H, <i>m</i>)	39,2
5	0,81 (1H, <i>m</i>)	47,0
6a	1,61 (1H, <i>m</i>)	20,7
6b	1,09 (1H, <i>m</i>)	

Position	δ_H (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz)	δ_C (ppm)
7a	1,77 (1H, <i>m</i>)	28,2
7b	1,10 (1H, <i>m</i>)	
8	-	133,6
9	-	134,4
10	-	36,5
11a	1,91 (1H, <i>m</i>)	21,7
11b	1,84 (1H, <i>m</i>)	
12	1,51 (2H, <i>m</i>)	24,7
13	-	44,6
14	-	48,9
15	1,52 (2H, <i>m</i>)	30,8
16a	1,98 (1H, <i>m</i>)	31,1
16b	1,41 (1H, <i>m</i>)	
17	1,36 (1H, <i>m</i>)	50,4
18	0,56 (3H, <i>s</i>)	15,7
19	0,83 (3H, <i>s</i>)	18,7
20	1,25 (1H, <i>m</i>)	36,1
21	0,78 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,5)	18,2
22a	1,42 (1H, <i>m</i>)	34,8
22b	0,98 (1H, <i>m</i>)	
23a	1,98 (1H, <i>m</i>)	31,3
23b	1,68 (1H, <i>m</i>)	
24	-	156,9
25	2,08 (1H, <i>sept</i> , <i>J</i> = 6,7)	33,8
26	0,88 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,7)	21,9
27	0,86 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,7)	22,0
28	0,84 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,3)	15,0
29	0,73 (3H, <i>s</i>)	24,4
30a	4,55 (1H, <i>sl</i>)	105,9
30b	4,52 (1H, <i>sl</i>)	

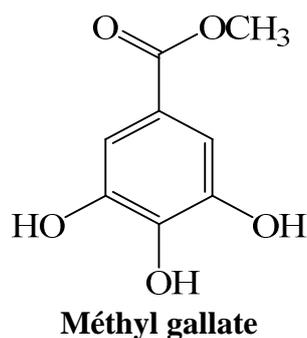
II. 1. 3. 12. Identification structurale des composés EP12 et EP13



Les CCM de ces composés, qui sont isolés sous forme d'une poudre blanche pour **EP12** et cristaux blancs pour **EP13**, montrent une ressemblance totale avec celles des composés **HS27** (β -sitostérol) et **HS28** (Daucostérol) isolés de la première plante (*H. sessiliflorum*).

Cette similitude est remarquée aussi au niveau des spectres RMN ^1H et ^{13}C de ces composés confirmant qu'on est en présence des phytostérols **β -sitostérol (EP12)** et **Daucostérol (EP13)** qui ont été isolés antérieurement d'un nombre important d'espèces du genre *Euphorbia* comme *E. guyoniana* [23], *E. bupleuroides* [27], *E. broterie* [302], *E. peplus* [308], *E. kansui* [323], *E. quinquecostata* [324]...etc.

II. 1. 3. 13. Identification structurale du composé EP14



Ce composé qui est isolé sous forme de cristaux marron montre une tache visible à lumière UV à 254 nm et se révèle en bleu par pulvérisation d'une solution acide et chauffage à 100 °C.

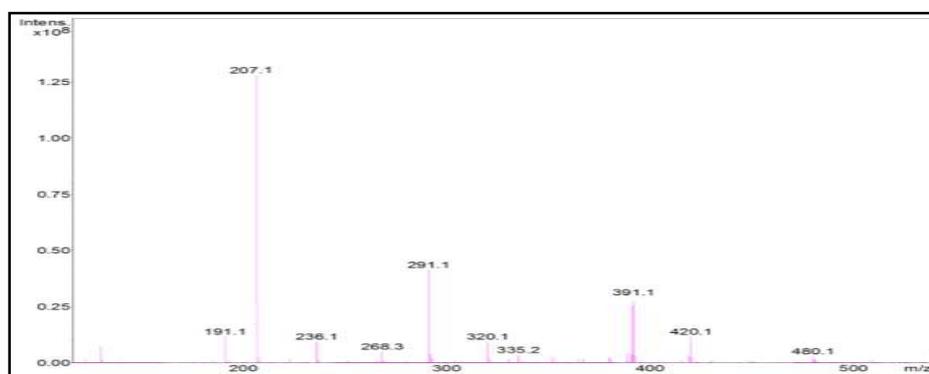


Figure II. 1. 3. 13. 1. Spectre de masse ESI-MS du composé EP14

Le spectre de masse ESI-MS (Figure II. 1. 3. 13. 1) du composé **EP14** présente un pic d'ion pseudomoléculaire à $m/z = 207,1$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$, soit une masse moléculaire égale à 184 uma correspondant à une formule brute en $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_5$.

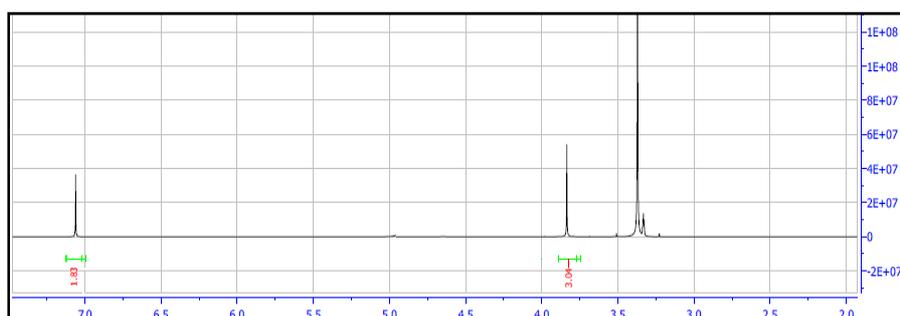


Figure II. 1. 3. 13. 2. Spectre RMN ^1H du composé EP14

Le nombre et la nature des protons et carbones observés sur les spectres RMN ^1H et ^{13}C de ce composé traduisent clairement sa nature phénolique. En effet, le spectre RMN ^1H (Figure II. 1. 3. 13. 2) révèle l'existence de deux signaux singulets résonant à δ_{H} 3,83 et 7,06 d'intégration 3H pour le signal blindé et 2H pour le signal déblindé.

Ces données témoignent de la présence d'un groupement méthoxyle et deux protons aromatiques symétriques. Par ailleurs, le spectre RMN ^{13}C (Figure II. 1. 3. 13. 3) donne plus d'informations sur la structure de ce composé en montrant les signaux correspondant à un groupement CH_3O à δ_{C} 50,8, deux groupements CH à δ_{C} 108,6 et cinq carbones quaternaires, parmi eux : trois oxygénés à δ_{C} 138,3 et 145,1 et un carbonyle à δ_{C} 167,6.

Ces résultats montrent une grande ressemblance avec les données spectrales du composé **HS25** isolé de la plante *H. sessiliflorum* indiquant l'appartenance du composé **EP14** à la classe des dérivés de l'acide gallique.

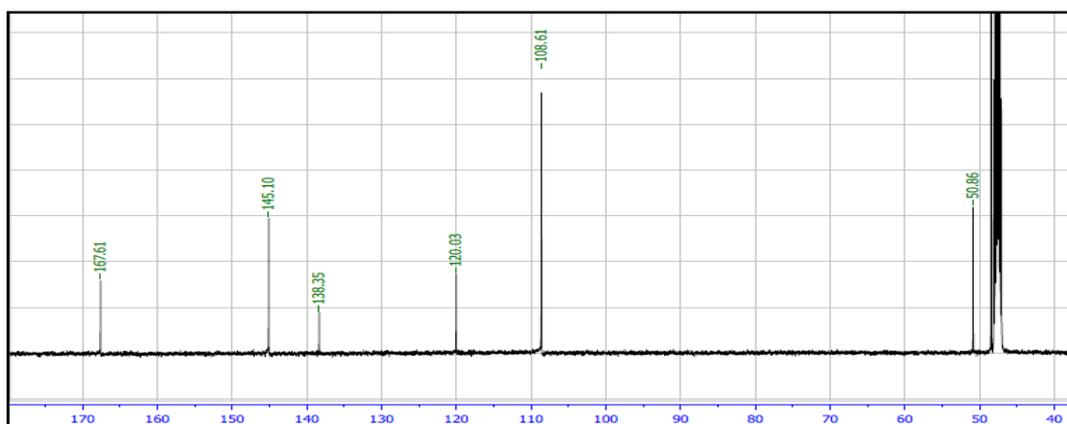


Figure II. 1. 3. 13. 3. Spectre RMN ^{13}C du composé EP14

Pour bien préciser de quel dérivé il s'agit, le spectre HMBC (Figure II. 1. 3. 13. 4) permet de localiser la position du groupement méthoxyle (δ_{H} 3,83/ δ_{C} 50,8) par les corrélations H/C de ses protons avec le carbone C-7 porteur de la fonction carbonyle ester.

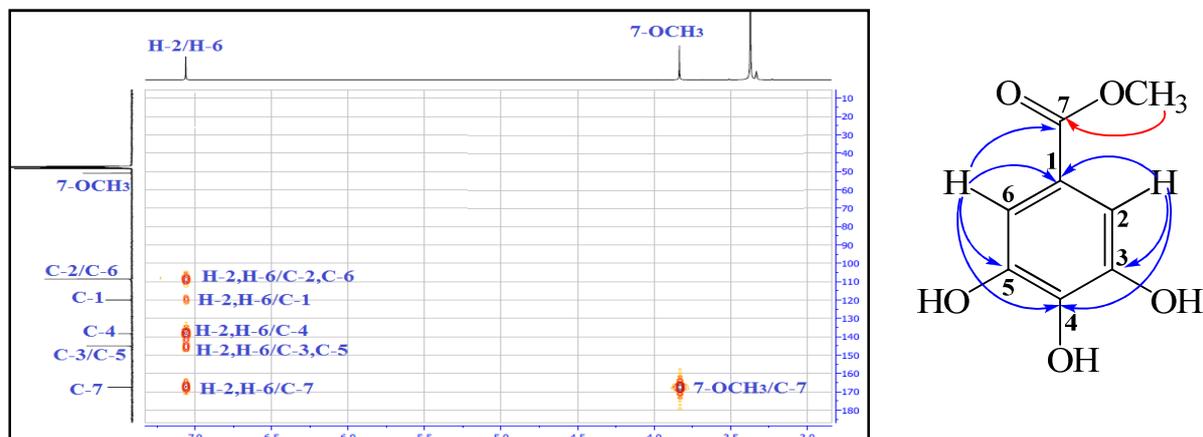


Figure II. 1. 3. 13. 4. Spectre HMBC du composé EP14

Les autres corrélations observées sur ce spectre (Figure II. 1. 3. 13. 4) suggèrent l'existence d'un dérivé méthylé de l'acide gallique par les couplages des protons H-2/H-6 ($\delta_{\text{H}} 7,06, s$)/($\delta_{\text{C}} 108,5$) avec les carbones C-1 ($\delta_{\text{C}} 120,0$), C-3/C-5 ($\delta_{\text{C}} 145,1$), C-4 ($\delta_{\text{C}} 138,3$) et C-7 ($\delta_{\text{C}} 167,2$). L'absence d'autres corrélations avec les carbones C-3, C-4 et C-5 confirme la présence des groupements hydroxyles libres dans ces positions.

Toutes ces données spectrales et la comparaison avec celles de la littérature [325] permettent d'identifier le composé **EP14** à un dérivé méthylé de l'acide gallique connu sous le nom **Méthyl gallate** (Figure II. 1. 3. 13. 5). Ce composé phénolique a été isolé antérieurement de plusieurs espèces du genre *Euphorbia* telles que *E. stracheyi* [126], *E. helioscopia* [326], *E. teheranica* [327], *E. supina* [328], *E. fischeriana* [329], *E. pekinensis* [330] etc.

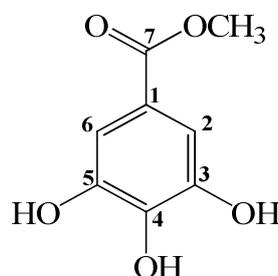


Figure II. 1. 3. 13. 5. Structure du composé EP14 (Méthyl gallate)

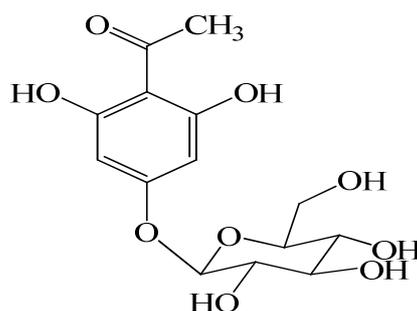
Le méthyl gallate est connu essentiellement par ses activités anti-oxydante [331] et antivirale [332], comme il possède aussi d'autres activités intéressantes telles que anti-HIV [333] et antitumorale [334].

Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé **EP14** sont réunis dans le tableau II. 1. 3. 12.

Tableau II. 1. 3. 12. Déplacements chimiques en RMN ^1H (500 MHz) et RMN ^{13}C (125 MHz) du composé EP14 enregistrés dans CD_3OD

EP14		
Position	δ_{H} (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)
1	-	120,0
2	7,06 (1H, <i>s</i>)	108,5
3	-	145,1
4	-	138,3
5	-	145,1
6	7,06 (1H, <i>s</i>)	108,5
7	-	167,2
7-OMe	3,83 (3H, <i>s</i>)	50,8

II. 1. 3. 14. Identification structurale du composé EP15



Phloroacétophénone 4-O-β-D-glucopyranoside

Le composé **EP15** obtenu sous forme d'une poudre marron soluble dans le méthanol est visible à la lumière UV à 254 nm. Il se révèle en marron après pulvérisation de sa CCM par une solution acide et chauffage à 100 °C.

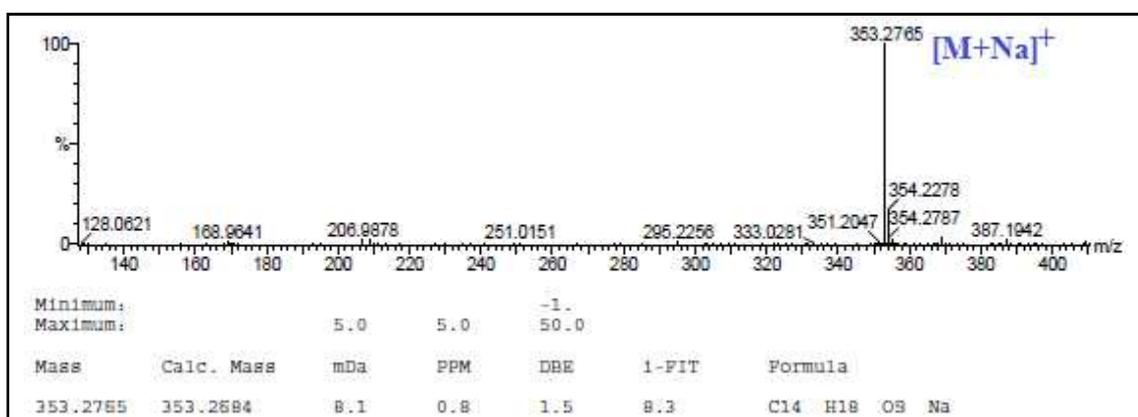
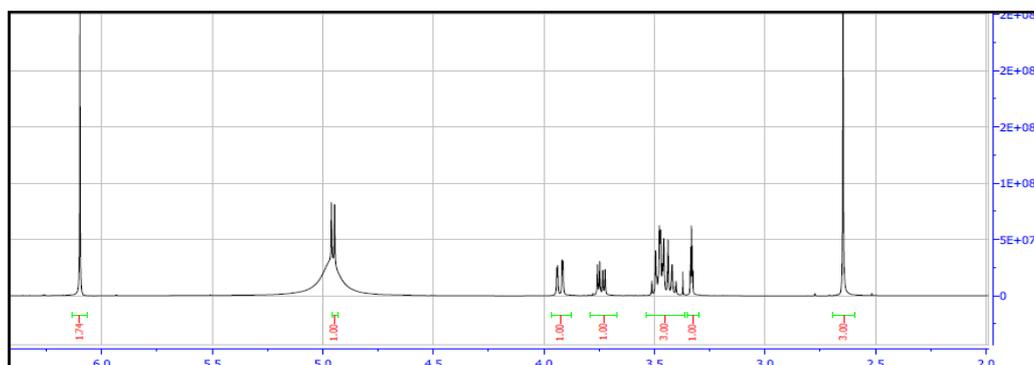


Figure II. 1. 3. 14. 1. Spectre HR-ESI-MS du composé EP15

Le spectre de masse effectué en haute résolution HR-ESI-MS (Figure II. 1. 3. 14. 1) du composé **EP15** permet d'obtenir une formule brute en $C_{14}H_{18}O_9$ par l'observation de l'ion pseudomoléculaire à $m/z = 353,2765 [M+Na]^+$ (cal. 353,2684 ; $C_{14}H_{18}O_9Na$). Ceci correspond à une masse moléculaire de 330 uma.

Figure II. 1. 3. 14. 2. Spectre RMN 1H du composé EP15

Les résonances qui apparaissent sur le spectre RMN ^1H (Figure II. 1. 3. 14. 2) de ce composé offrent à sa structure moléculaire un caractère phénolique, avec la présence d'une unité osidique.

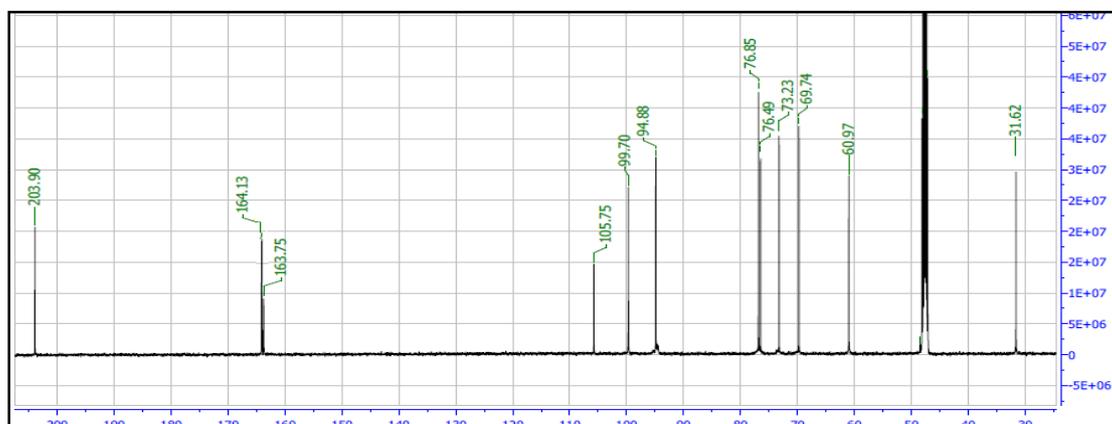


Figure II. 1. 3. 14. 3. Spectre RMN ^{13}C du composé EP15

La nature phénolique du composé **EP15** est confirmée par les données tirées des spectres RMN ^{13}C et HSQC (Figures II. 1. 3. 14. 3 et 4) qui mettent en évidence l'existence de cinq carbones quaternaires se répartissant en un fortement déblindé attribué à un carbonyle cétonique résonant à δ_{C} 203,9, trois oxygénés sortant à δ_{C} 163,7 et 164,1 et le dernier carbone quaternaire de ce composé localisé à δ_{C} 105,7, ainsi que deux groupements CH (sp^2) résonant à δ_{C} 94,8.

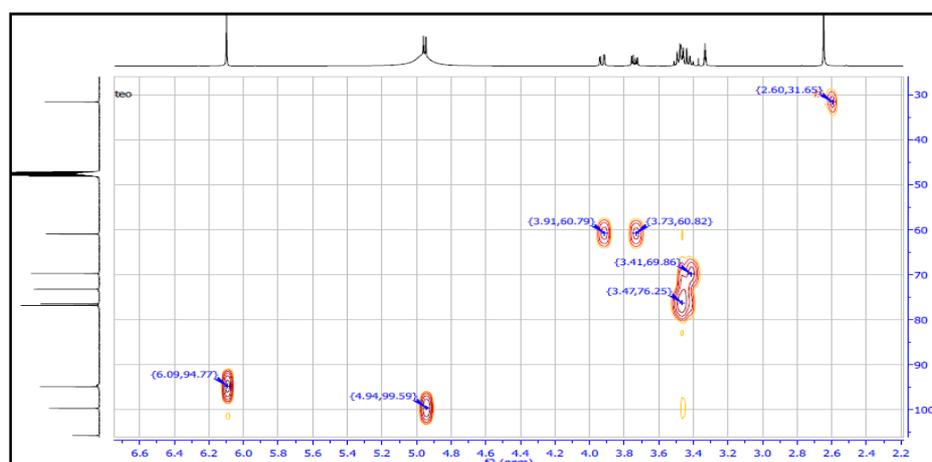


Figure II. 1. 3. 14. 4. Spectre HSQC du composé EP15

La présence des carbones avec le même déplacement chimique conduit à suggérer la présence d'une opération de symétrie pour cette structure. Ceci est remarqué aussi sur le spectre RMN ^1H (Figure II. 1. 3. 14. 2) où le signal singulet sortant à δ_{H} 6,10 indique l'existence de deux protons dans un environnement chimique identique.

La construction de ce squelette est réalisée à partir des informations obtenues précédemment et confirmée par les corrélations H/C observées sur le spectre HMBC. La valeur du déplacement chimique des carbones des groupements CH (δ_C 94,8) implique une position *ortho* di-oxygéné pour ces groupements et laisse présager pour le noyau aromatique du composé **EP15** la structure suivante (Figure II. 1. 3. 14. 5) :

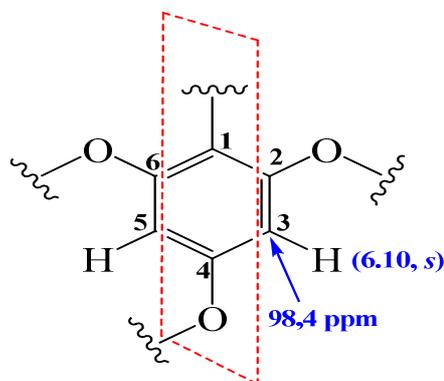


Figure II. 1. 3. 14. 5. Position des protons aromatiques du composé EP15

Cette proposition se trouve en parfait accord avec les données du spectre HMBC (Figure II. 1. 3. 14. 6) qui montre les corrélations des protons H-3/H-5 (δ_H 6,10, *s*) avec les carbones oxygénés C-2/C-6 (δ_C 164,1) et C-4 (δ_C 163,7), ainsi qu'avec les carbones résonant à δ_C 105,7 attribué au carbone C-1.

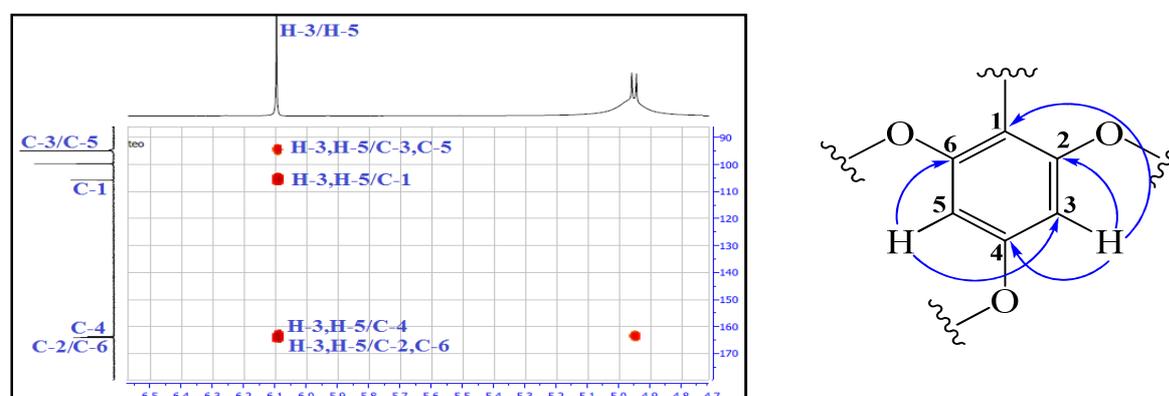


Figure II. 1. 3. 14. 6. Spectre HMBC de la partie aromatique du composé EP15

L'autre extrémité du spectre RMN ^1H révèle la présence d'un signal singulet d'intégration 3H sortant à 2,63 ppm accordé sur le spectre HSQC à un carbone résonant à 31,6 ppm attribué à un groupement méthyle.

Le déblindage remarqué de ce groupement méthylique indique son attachement à un groupement électro-attracteur. Ceci est démontré par les corrélations visualisées sur le spectre HMBC (Figure II. 1. 3. 14. 7) entre les protons méthyliques et le carbonyle résonant à δ_C 203,9 attribué au carbone C-7. Les protons de ce groupement 8-CH₃ corrélient aussi avec le carbone aromatique quaternaire C-1 déjà identifié.

Ces attributions permettent de positionner le composé **EP15** dans la classe des dérivés d'acétophénone et plus précisément celles du phloroacétophénone [335].

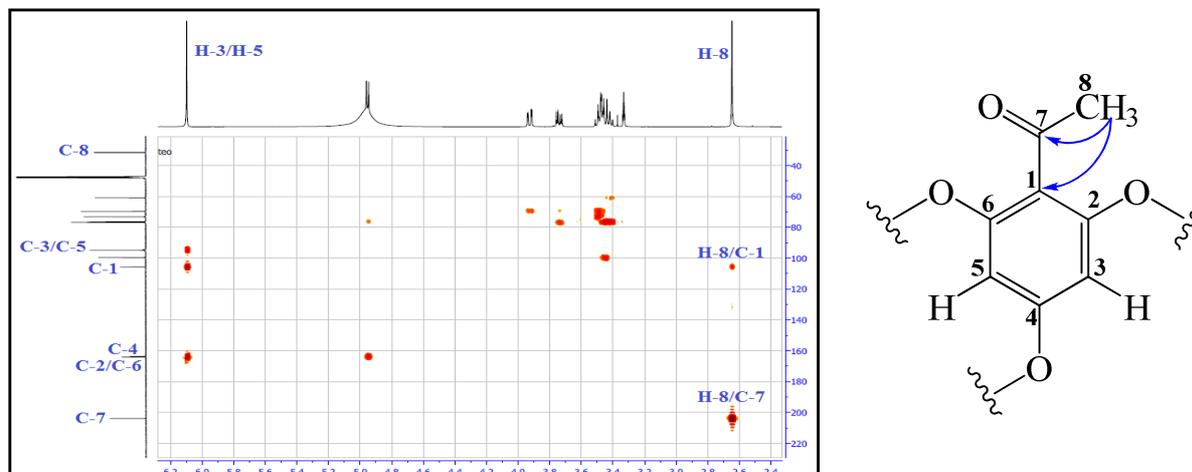


Figure II. 1. 3. 14. 7. Spectre HMBC des protons méthyliques du composé EP15

Le nombre de signaux restant sur le spectre RMN ^1H dans la zone allant de 3,2 à 5,0 ppm ainsi que sur les spectres RMN ^{13}C et HSQC à partir de 60 jusqu'à 100 ppm indiquent la présence d'un hexose dont l'anomère est localisé à $\delta_{\text{H}} 4,95$ (d , $J = 7,4$ Hz, H-1')/($\delta_{\text{C}} 99,7$).

Comme pour tous les composés glycosylés élucidés précédemment, l'exploitation du spectre COSY H-H conduit à l'identification des protons de cet hexose constituant l'enchaînement H-1'/H-2' ($\delta_{\text{H}} 3,45$, t , $J = 7,4$ Hz)/H-3' ($\delta_{\text{H}} 3,48$, m)/H-4' ($\delta_{\text{H}} 3,42$, t , $J = 7,3$ Hz)/H-5' ($\delta_{\text{H}} 3,47$, m)/H-6'a ($\delta_{\text{H}} 3,93$, dd , $J = 12,1-2,1$ Hz) et H-6'b ($\delta_{\text{H}} 3,74$, dd , $J = 12,1-5,3$ Hz) (Figure II. 1. 3. 14. 8).

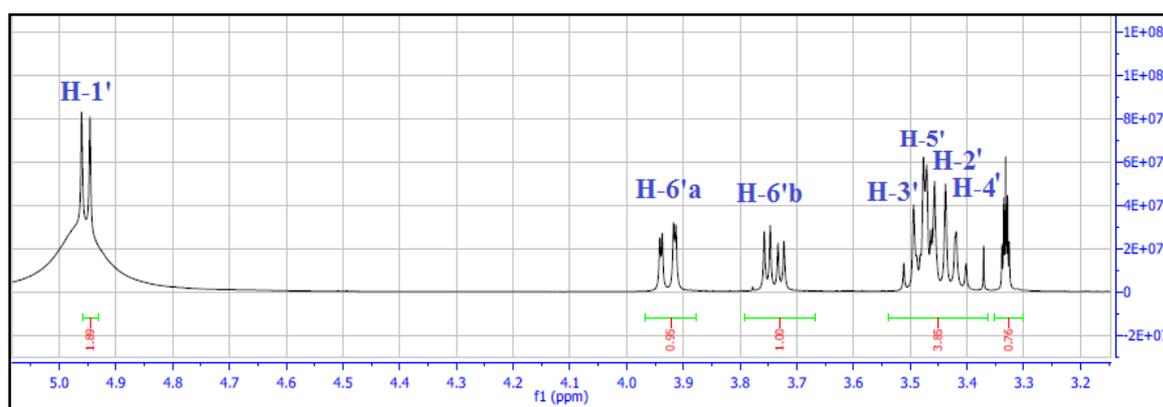


Figure II. 1. 3. 14. 8. Spectre RMN ^1H des protons osidiques du composé EP15

A partir de ces résultats et de la valeur de $J_{\text{H-1'/H-2'}} = 7,4$ Hz, l'hexose de ce composé est identifié au β -D-glucose. Ses carbones sont repérés (Figure II. 1. 3. 14. 9) par l'analyse du spectre HSQC (tableau II. 1. 3. 13).

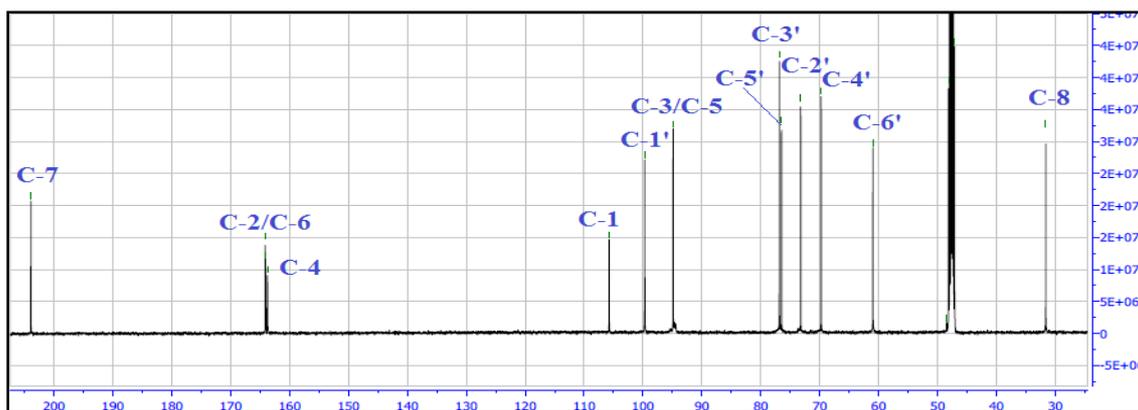


Figure II. 1. 3. 14. 9. Spectre RMN ^{13}C du composé EP15

La symétrie attribuée précédemment pour le squelette acétophénone de ce composé permet de lier le glucose au carbone oxygéné C-4. Ce point de branchement est confirmé par la corrélation observée sur le spectre HMBC (Figure II. 1. 3. 14. 10) entre H-1'/C-4. Alors que l'absence d'autres corrélations avec les carbones oxygénés C-2 et C-6 indique leur substitution par des groupements hydroxyles libres.

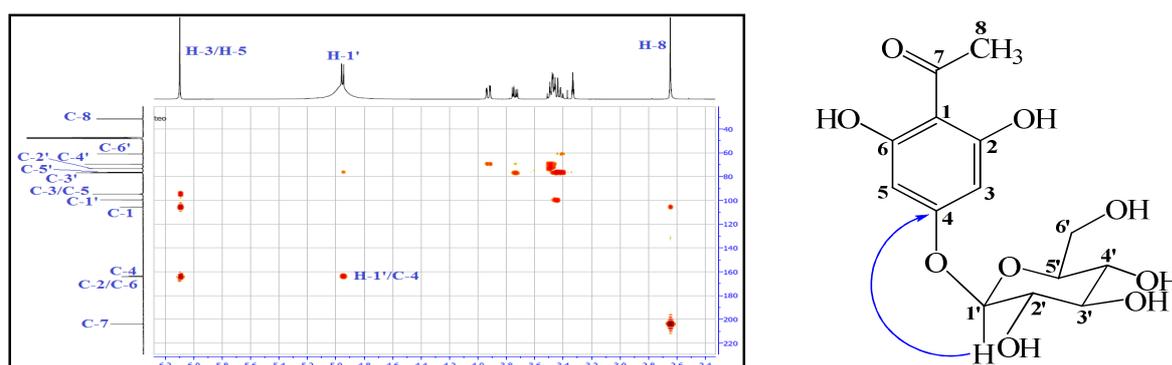


Figure II. 1. 3. 14. 10. Spectre HMBC montrant l'attachement du glucose du composé EP15

Toutes ces données spectrales du composé **EP15**, la valeur du pouvoir rotatoire ($[\alpha]_{\text{D}} = +23$, $c = 1,2$, MeOH) et la comparaison avec celles de la littérature [336] indiquent que **EP15** est identique à celles du **Phloroacétophénone 4-O- β -D-glucopyranoside** (Figure II. 1. 3. 14. 11). Ce phénol glucosylé montrant une activité antihépatotoxique [337] a été isolé antérieurement de l'espèce *E. aucherii* [338].

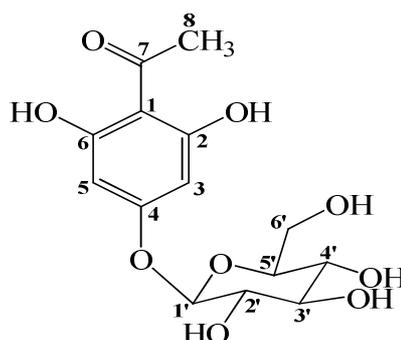


Figure II. 1. 3. 14. 11. Structure du composé EP15 (Phloroacétophénone 4-O- β -D-glucopyranoside).

Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé **EP15** sont mentionnés dans le tableau II 1. 3. 13.

Tableau II. 1. 3. 13. Déplacements chimiques en RMN ^1H (500 MHz) et RMN ^{13}C (125 MHz) du composé EP15 enregistrés dans CD_3OD

EP15		
Position	δ_{H} (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)
1	-	105,7
2	-	164,1
3	6,10 (1H, <i>s</i>)	94,8
4	-	163,7
5	6,10 (1H, <i>s</i>)	94,8
6	-	164,1
7	-	203,9
8	2,63 (3H, <i>s</i>)	31,6
1'	4,95 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 7,4)	99,7
2'	3,45 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 7,4)	73,2
3'	3,48 (1H, <i>m</i>)	76,8
4'	3,42 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 7,3)	69,7
5'	3,47 (1H, <i>m</i>)	76,7
6'a	3,93 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 12,1 -2,1)	60,9
6'b	3,74 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 12,1 -5,3)	

II. 2. Conclusion

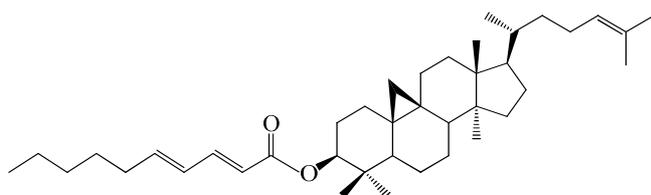
Afin d'accéder à la composition chimique de l'espèce Algérienne *Euphorbia pterococca* Brot. qui appartient à la famille Euphorbiaceae, une étude phytochimique a été menée sur l'extrait acétonique de la plante entière. En effet, cette dernière est connue pour son utilisation en médecine traditionnelle au niveau de la région des Aurès pour traiter les verrues et extirper les épines.

Au cours de cette investigation, **15** métabolites secondaires dont quatre possèdent de structures nouvelles, ont été isolés et caractérisés par la mise à contribution de différentes techniques chromatographiques (VLC, CC et CCE) et spectroscopiques (RMN ^1H et ^{13}C ,

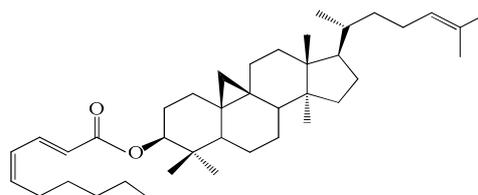
COSY H-H, HSQC, HMBC, NOESY, HR-ESI-MS, ESI-MS, HR-EI-MS, UV et $[\alpha]_D$, ainsi que la comparaison avec les données de la littérature.

Les composés issus de cette étude sont identifiés comme étant :

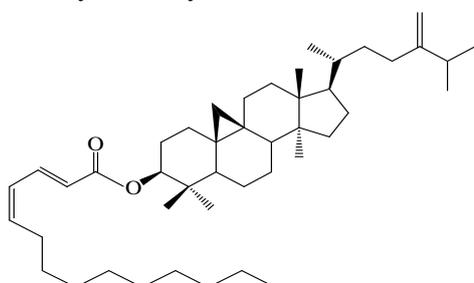
- Quatre nouvelles structures triterpéniques : cycloartényl-2'(E),4'(E)-décadiénoate, cycloartényl-2'(E),4'(Z)-décadiénoate, 24-méthylèncycloartanyl-2'(E),4'(Z)-tétradécadiénoate et 24-oxo-29-norcycloartanyl-2'(E),4'(Z)-hexadécadiénoate.



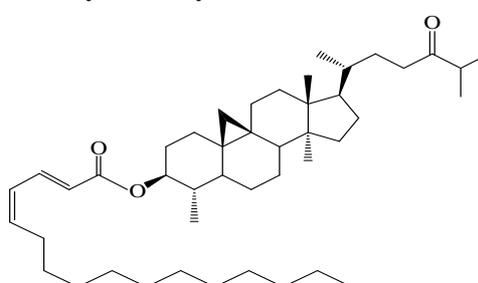
(EP1) Cycloartényl-2'(E),4'(E)-décadiénoate



(EP2) Cycloartényl-2'(E),4'(Z)-décadiénoate

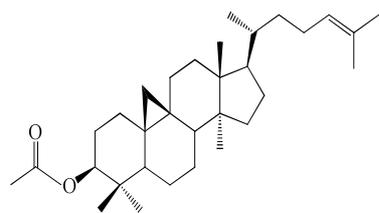


(EP6) 24-méthylèncycloartanyl-2'(E),4'(Z)-tétradécadiénoate

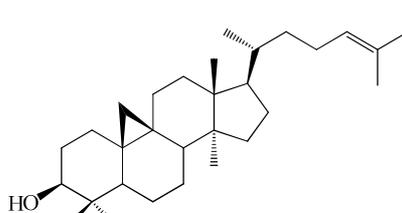


(EP9) 24-oxo-29-norcycloartanyl-2'(E),4'(Z)-hexadécadiénoate

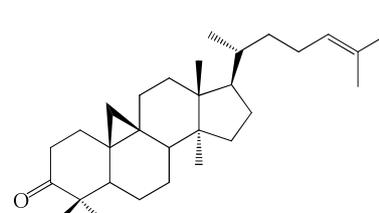
- Sept structures triterpéniques tétracycliques.



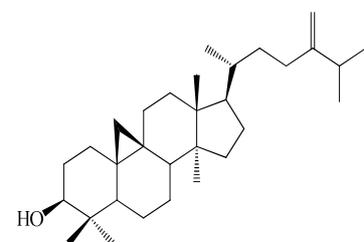
(EP3)
Cycloartényl acétate



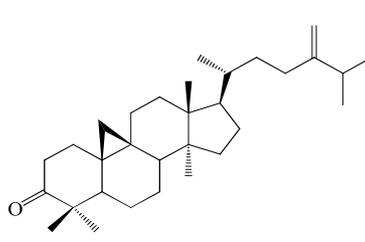
(EP4)
Cycloarténol



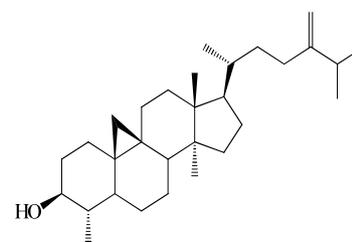
(EP5)
Cycloarténone



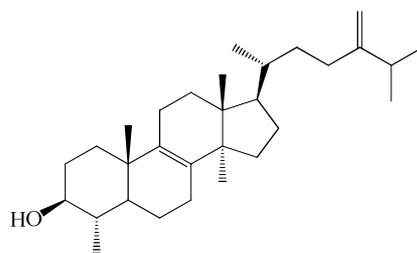
(EP7)
24-méthylèncycloartanol



(EP8)
24-méthylèncycloartanone

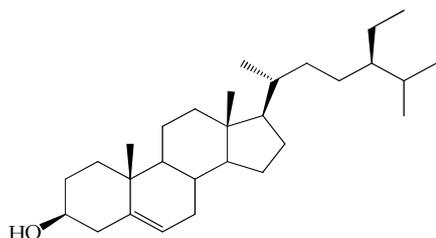
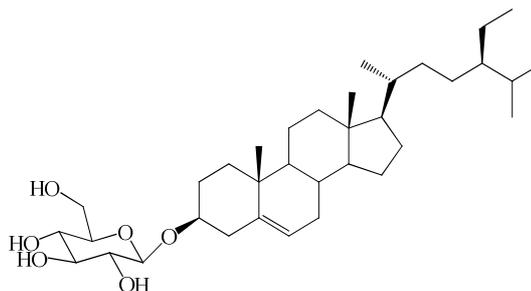


(EP10)
Cycloeucalénol



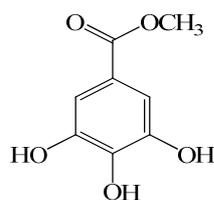
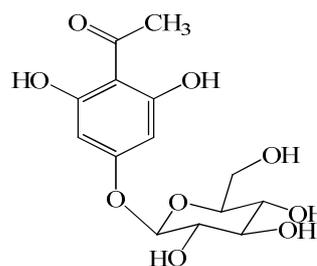
(EP11) Obtusifoliol

➤ Deux stérols.

(EP12) β -sitostérol

(EP13) Daucostérol

➤ Deux composés phénoliques.

(EP14)
Méthyl gallate(EP15)
Phloroacétophénone 4-O- β -D-glucopyranoside

Les résultats présentés dans ce travail complètent ceux déjà réalisés dans notre laboratoire sur certaines espèces du genre *Euphorbia* telles que *E. guyoniana*, *E. retusa* et *E. bupleuroides*. Cette étude a montré une fois de plus que les triterpènes tétracycliques de type cycloartane sont la classe de métabolites secondaires la plus répandue dans le genre *Euphorbia*. Ces composés sont considérés comme des marqueurs chimiotaxonomiques pour ce genre.



Conclusion générale

Conclusion générale

La flore Algérienne fait partie des flores les plus riches au monde et renferme un nombre important d'espèces végétales utilisées en médecine traditionnelle. Ces dernières appartiennent à plusieurs familles botaniques dont une faible partie de leurs plantes a été caractérisée d'un point de vue phytochimique.

Dans ce contexte, deux plantes médicinales *Helianthemum sessiliflorum* Pers. et *Euphorbia pterococca* Brot. appartenant aux familles Cistaceae et Euphorbiaceae respectivement ont fait l'objet, dans le cadre de ce travail de thèse, d'investigation phytochimique dans le but de rechercher des principes actifs nouveaux susceptibles de posséder des activités biologiques intéressantes. Ceci a nettement contribué à la connaissance et l'enrichissement des données bibliographiques sur la composition phytochimique de ces deux espèces en particulier et de valoriser la flore algérienne, en général.

Pour cela, différents procédés ayant trait à la chimie des produits naturels à savoir la macération, l'extraction, le fractionnement et la purification, ont été largement utilisés pour cerner le contenu moléculaire, de la manière la plus exhaustive possible, des différents extraits de ces deux espèces *H. sessiliflorum* et *E. pterococca*.

Au terme de ce travail de recherche, **45** métabolites secondaires ont été isolés à partir des espèces *H. sessiliflorum* et *E. pterococca*. L'identification structurale de ces composés a permis de mettre en évidence **5** nouveaux métabolites secondaires se répartissant en :

- Un lignane isolé de l'extrait AcOEt des parties aériennes de l'espèce *H. sessiliflorum* nommé :
 - 1-*O*-acétyl prinsépiol (**HS1**).
- Quatre triterpènes tétracycliques obtenus à partir de l'extrait acétonique de la plante entière *E. pterococca* nommés :
 - Cycloartényl-2'(E),4'(E)-décadiénoate (**EP1**).
 - Cycloartényl-2'(E),4'(Z)-décadiénoate (**EP2**).
 - 24-méthylèncycloartanyl-2'(E),4'(Z)-tétradécadiénoate (**EP6**).
 - 24-oxo-29-norcycloartanyl-2'(E),4'(Z)-hexadécadiénoate (**EP9**).

Avec **40** autres composés connus possédant en majorité des activités biologiques intéressantes. Ces métabolites secondaires se répartissent en deux grandes classes chimiques à savoir les composés phénoliques et triterpéniques.

- Composés phénoliques :
 - Trois lignanes.
 - Seize flavonoïdes.
 - Six dérivés d'acide benzoïque.
 - Un dérivé d'acétophénone.
- Composés triterpéniques :
 - Sept triterpènes tétracycliques.
 - Deux phytostérols.
- Autres composés :
 - Un acide gras.
 - Quatre osides libres.

Cette variété structurale de la composition chimique des plantes étudiées *H. sessiliflorum* et *E. pterococca* témoigne de leur richesse en métabolites secondaires issus de diverses voies de biogénèses. Cette panoplie de produits naturels a pu être mise en exergue suite à l'investigation de différents extraits des deux espèces à savoir :

- ◆ L'extrait AcOEt des parties aériennes de la plante *H. sessiliflorum* a fourni **19** composés : 1 α -hydroxypinorésinol (**HS2**), (+)-cyclooolivil (**HS3**), astragaline (**HS5**), tiliroside (**HS6**), isoquercétrine (**HS9**), quercétrine (**HS10**), myricitrine (**HS13**), (-)-epicatéchine (**HS15**), (-)-catéchine (**HS16**), (-)-gallocatéchine (**HS17**), (-)-epigallocatéchine (**HS18**), acide benzoïque (**HS21**), acide *p*-hydroxybenzoïque (**HS22**), acide protocatechuique (**HS23**), acide vanillique (**HS24**), acide gallique (**HS25**), acide (-)-pinéllique (**HS26**), β -sitostérol (**HS27**) et daucostérol (**HS28**).
- ◆ L'extrait *n*-BuOH des parties aériennes de la plante *H. sessiliflorum* a donné **12** composés : isolaricirésinol 9'-*O*- β -D-glucopyranoside (**HS4**), nicotiflorine (**HS7**), kaempférol 3-*O*-vicianoside (**HS8**), rutine (**HS11**), néoisorutine (**HS12**), vicénine 2 (**HS14**), hovetrichoside C (**HS19**) et (**HS20**), β -D-fructofuranose (**HS29**), 1-*O*-éthyl- β -D-glucopyranoside (**HS30**), β -D-fructofuranosyl-(2' \rightarrow 1)- α -D-

glucopyranoside (**HS31**) et β -D-fructofuranosyl-(2" \rightarrow 1')- β -D-fructofuranosyl-(2' \rightarrow 1)- α -D-glucopyranoside (**HS32**).

- ◆ L'extrait acétonique de la plante entière *E. pterococca* a permis d'obtenir 11 métabolites secondaires nommés cycloartényl acétate (**EP3**), cycloarténol (**EP4**), cycloarténone (**EP5**), 24-méthylèncycloartanol (**EP7**), 24-méthylèncycloartanone (**EP8**), cycloeucalénol (**EP10**), obtusifoliol (**EP11**), β -sitostérol (**EP12**), daucostérol (**EP13**), méthyl gallate (**EP14**) et phloroacétophénone 4-*O*- β -D-glucopyranoside (**EP15**).

En effet, plusieurs méthodes chromatographiques, allant de CCM, CCE à VLC, CC et jusqu'à HPLC utilisant différents supports SiO₂, RP-18, polyamide et Sephadex LH-20, et diverses phases mobiles ont été mises à contribution pour réaliser l'isolement de ces différentes classes de produits naturels.

L'identification des structures des composés a nécessité l'utilisation d'une variété de techniques spectroscopiques telles que RMN 1D et 2D (RMN ¹H et ¹³C, HSQC, HMBC, COSY, TOCSY, NOESY et ROESY), spectrométrie de masse (ESI-MS, HR-ESI-MS, HR-EI-MS), spectrophotométrie Ultraviolet-Visible, spectroscopie Infra-rouge et mesure du pouvoir rotatoire [α]_D.

Tous ces résultats ont permis non seulement une meilleure connaissance des constituants phytochimiques des deux espèces étudiées *H. sessiliflorum* et *E. pterococca*, mais aussi montrent leurs intérêts comme sources potentielles de produits naturels biologiquement actifs.

La présence de ce nombre important de composés phénoliques dans l'espèce *Helianthemum sessiliflorum*, notamment les flavonoïdes, est très probablement responsable de la meilleure activité antibactérienne des extraits polaires de cette plante. Ceci pourrait justifier l'emploi traditionnel *H. sessiliflorum* dans le traitement de certaines affections dermatologiques d'origine bactérienne.

La composition chimique de l'espèce *Euphorbia pterococca* renfermant particulièrement les cycloartanes est en parfait accord avec les études phytochimiques antérieures effectuées sur les plantes du genre *Euphorbia*. Cette classe de métabolites secondaires est un marqueur chimiotaxonomique de ce genre.



Chapitre IV



Partie I

I. 1. Matériel végétal

L'identification botanique des plantes étudiées a été réalisée par le professeur Bachir Oujehih, Département d'agronomie, Institut des Sciences Vétérinaires et Agronomiques, Université de Batna. Pour chaque récolte, le matériel végétal est séché à l'ombre, à l'abri de l'humidité et à la température ambiante.

I. 1. 1. Récolte de la plante *Helianthemum sessiliflorum* Pers.

La plante *Helianthemum sessiliflorum* Pers. a été récoltée au mois de mai 2011 dans la région de Biskra. Après séchage, les parties aériennes de cette espèce broyées ont donné 1 Kg de poudre fine.

I. 1. 2. Récolte de la plante *Euphorbia pterococca* Brot.

La récolte de la plante *Euphorbia pterococca* Brot. a été effectuée dans la région de Ichemoul (alentours de Arris-Batna) au cours du mois de juillet 2013. Les différents organes de la plante (parties aériennes et racines) ont été broyés pour donner 1 Kg de poudre fine.

I. 2. Méthodes analytiques et préparatives

I. 2. 1. Chromatographie sur (CCM) et/ou (CCE)

Pour les analyses sur couche mince (CCM) ou les purifications sur couche épaisse (CCE), nous utilisons dans notre laboratoire des plaques de gel de silice soit en phase normale [Kieselgel 60 F₂₅₄, Merck[®] 250 µm (20 × 20 cm)], soit en phase inverse [RP-18 F_{254S}, Merck[®] 200 µm (20 × 20 cm)] prêtes à l'emploi à support en aluminium pour les CCM et en verre pour les CCE.

Les plaques (CCM ou CCE) sont observées sous une lampe UV à 254 et 366 nm. Les révélateurs utilisés lors des expériences sont les vapeurs d'iode et/ou une solution acide (50% eau, 25% acide acétique et 25% acide sulfurique).

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

Les phases stationnaires utilisées dans cette étude pour la CC sont le gel de silice en phase normale (Kieselgel Merck[®] 70-230 mesh), gel de silice greffée (Lichroprep RP-18 Merck[®] 40-63 µm), polyamide SC6 et Sephadex LH-20.

Le choix de la phase stationnaire, les dimensions de la colonne, les conditions d'élution, le débit, la pression et le volume des sous-fractions recueillies ont été établis sur la base d'analyse par CCM et la masse de l'échantillon à étudier.

I. 2. 3. Chromatographie liquide sous vide (VLC)

Pour cette technique de fractionnement, on a utilisé des entonnoirs Büchner avec verre fritté N°4 dont les diamètres sont choisis selon la masse et la nature de la phase stationnaire utilisées. Selon la nature des extraits à étudier, les fractionnements sous vide ont été effectués sur plusieurs types de phase stationnaire à savoir gel de silice en phase normale (Kieselgel Merck® 70-230 mesh), gel de silice greffée (Lichroprep RP-18 Merck® 40-63 µm) et polyamide SC6.

I. 2. 4. Chromatographie liquide haute performance (HPLC)

La purification par chromatographie liquide haute performance (CLHP) est effectuée à l'aide d'un appareillage du laboratoire de pharmacognosie, Institut de Chimie Moléculaire de Reims ICMR (France) constituée d'une chaîne chromatographique Dionex, pilotée par le logiciel Chromeleon version 6.01. La chaîne est équipée d'une pompe P580 A quaternaire avec dégazeur intégré, d'un passeur d'échantillon ASI 100, d'un détecteur UV-visible à barrette de diodes UVD 170S/340S et d'une colonne thermostatée par un four STH 585. La colonne Interchrom employée est UP 5 ODB.25M 250 × 10 mm.

I. 3. Méthodes d'identification structurale

I. 3. 1. Pouvoir rotatoire

Les pouvoirs rotatoires ($[\alpha]_D$) ont été mesurés sur un polarimètre Perkin-Elmer 241 équipée d'une lampe à sodium. Les échantillons solubilisés dans des solvants convenables sont introduits dans une cellule de 1 ml de volume et 10 cm de long sont traversés par un faisceau lumineux polarisé à la longueur d'onde de la raie D du sodium $\lambda = 589$ nm à une température de 20 °C.

I. 3. 2. Spectrophotométrie Ultraviolet-Visible

Les spectres UV-Vis réalisés dans cette étude sont enregistrés sur un spectrophotomètre UV KONTRON logiciel UVS900Lite. Les échantillons sont solubilisés dans le méthanol.

I. 3. 3. Spectrométrie Infra-rouge

Les spectres infrarouges ont été enregistrés à l'aide d'un spectrophotomètre Shimadzu IR-470, utilisant des pastilles de KBr ou de film de solution.

I. 3. 4. Spectrométrie de masse (ESI-MS)

Les spectres de masse (ESI-MS et HR-ESI-MS) réalisés sur les composés isolés sont obtenus à l'aide d'une source d'ionisation douce ESI sur des spectromètres thermofinnigan MSQ et Micromasse Q-TOF respectivement de l'université de Reims (France), sur des spectromètres Waters Micromass-LCT-Q-TOF, de l'école des sciences pharmaceutiques, université de Genève (Suisse) et sur des spectromètres FT-ICR-MS de l'institut de chimie analytique de l'université de Leipzig (Allemagne). Les spectres de masse obtenus par impact électronique (EI-MS et HR-EI-MS) ont été enregistrés sur un appareil Maldimicro MX, Micromass Walter du laboratoire de pharmacognosie, institut de chimie moléculaire de l'université de Reims ICMR (France).

I. 3. 5. Spectrométrie de résonance magnétique nucléaire (RMN)

L'élucidation structurale des composés isolés au cours de notre travail s'appuie largement sur les données RMN obtenues à l'aide de trois appareils. Un BRUKER avance DRX-600 du laboratoire de pharmacognosie, Institut de Chimie Moléculaire de Reims ICMR (France), les microprogrammes BRUKER, le logiciel de traitement appliqué est (XWIN-NMR 2,6). Le deuxième RMN et un BRUKER avance DRX-500 du laboratoire de recherche COMET-NANO RESEARCH du Département de Chimie Inorganique et Analytique de l'Université Rey Juan Carlos Madrid (Espagne). Le troisième appareil RMN est Varian/Agilent Inova 500 MHz de l'école des sciences pharmaceutiques, université de Genève (Suisse).



Partie **II**

II. 1. Etude phytochimique de l'espèce *Helianthemum sessiliflorum* Pers.

II. 1. 1. Obtention des extraits

Les parties aériennes de la plante *Helianthemum sessiliflorum* Pers. séchées puis broyées ont donné une quantité de 1 Kg de poudre fine. Cette dernière a été mise en contact avec un mélange éthanol-eau (70-30), à raison de 5 L pour 500 g de poudre, à température ambiante. Après 24 h, l'extrait est recueilli et le résidu est à nouveau macéré jusqu'à épuisement pour une nouvelle période de 24 h.

Après filtration et concentration, 600 ml d'extrait hydro-éthanolique ont été soumis à une extraction liquide-liquide utilisant des solvants à polarité croissante (cyclohexane, acétate d'éthyle et *n*-butanol). Les extraits obtenus ont été évaporés à sec, ce qui a conduit à la récupération de 4,41 g d'extrait cyclohexanique, 3,22 g d'extrait acétate d'éthyle et 18,89 g d'extrait *n*-butanolique.

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

L'extrait acétate d'éthyle a été l'un des premiers étudiés. 3 g de cet extrait ont été fractionnés par une chromatographie liquide sous vide (VLC) sur gel de silice en phase normale en utilisant un gradient d'éluion cyclohexane-acétate d'éthyle allant de (100-0) à (0-100) puis acétate d'éthyle-méthanol (100-0) à (0-100) (tableau II. 1. 2. 1). Cette étape de fractionnement nous a permis de recueillir 4 fractions majoritaires **F**₁ à **F**₄ (figure II. 1. 2. 1).

Tableau II. 1. 2. 1. Progression de la VLC de l'extrait AcOEt

Eluant	Fractions regroupées	Masse
Cyclohexane pur	F ₁	500 mg
Cyclohexane - AcOEt (97-3)		
Cyclohexane - AcOEt (95-5)		
Cyclohexane - AcOEt (90-10)		
Cyclohexane - AcOEt (80-20)		
Cyclohexane - AcOEt (70-30)		
Cyclohexane - AcOEt (60-40)		
Cyclohexane - AcOEt (50-50)		
Cyclohexane - AcOEt (40-60)		
Cyclohexane - AcOEt (30-70)		
Cyclohexane - AcOEt (20-80)		
Cyclohexane - AcOEt (10-90)		
Acétate d'éthyle 100%	F ₂	450 mg
AcOEt-MeOH (99-1)		
AcOEt-MeOH (97-3)		
AcOEt-MeOH (95-5)	F ₃	250 mg
AcOEt-MeOH (90-10)		
AcOEt-MeOH (80-20)		
AcOEt-MeOH (60-40)		
AcOEt-MeOH (40-60)	F ₄	198 mg
AcOEt-MeOH (20-80)		
Méthanol 100%		

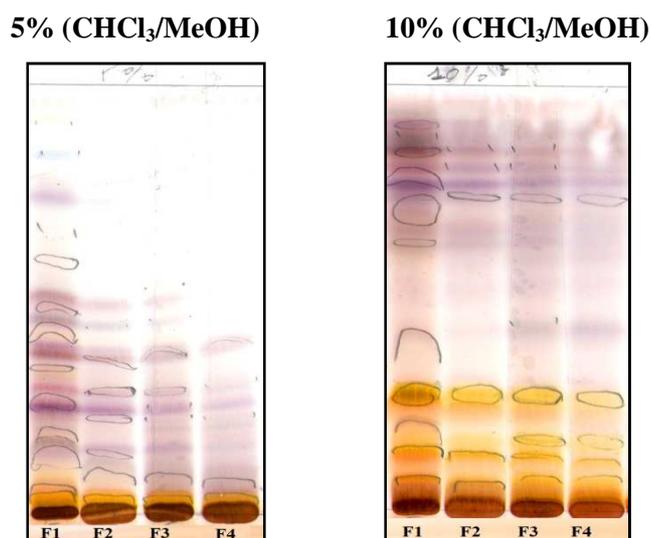


Figure II. 1. 2. 1. CCM en phase normale des fractions de la VLC de l'extrait AcOEt

◆ Fraction F₁

Le fractionnement de F₁ (500 mg) est réalisé par une chromatographie sur colonne de gel de silice en phase normale utilisant comme phase mobile le mélange de solvants éther de pétrole/acétate d'éthyle (tableau II. 1. 2. 2), ce qui a abouti à l'isolement de 15 sous fractions qui vont de F₁₋₁ à F₁₋₁₅.

F₁₋₂, F₁₋₅, F₁₋₇, F₁₋₉ et F₁₋₁₄ sont les sous fractions qui font l'objet d'investigations chimiques approfondies (figure II. 1. 2. 2).

Tableau II. 1. 2. 2. Progression de la colonne de la fraction F₁

Eluant	Fractions regroupées	Masse
E.P - AcOEt (99-1)	F ₁₋₁	9,11 mg
E.P - AcOEt (97-3)	F ₁₋₂	30 mg
	F ₁₋₃	12,4 mg
E.P - AcOEt (95-5)	F ₁₋₄	7 mg
E.P - AcOEt (90-10)	F ₁₋₅	100 mg
E.P - AcOEt (80-20)	F ₁₋₆	11,54 mg
	F ₁₋₇	55 mg
E.P - AcOEt (70-30)	F ₁₋₈	19,1 mg
	F ₁₋₉	80 mg
E.P - AcOEt (60-40)	F ₁₋₁₀	8,10 mg
E.P - AcOEt (50-50)	F ₁₋₁₁	10 mg
E.P - AcOEt (30-70)	F ₁₋₁₂	17,04 mg
	F ₁₋₁₃	12,5 mg
E.P - AcOEt (20-80)	F ₁₋₁₄	120 mg
	F ₁₋₁₅	10,3 mg

20% (CHCl₃/MeOH)
Révélateur: Solution acide

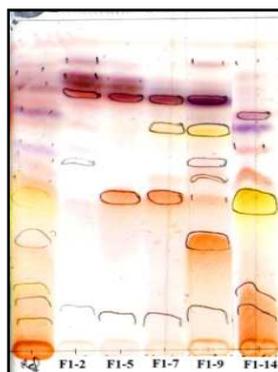


Figure II. 1. 2. 2. CCM en phase normale des sous fractions étudiée de la fraction F₁

La sous fraction F₁₋₂ (30 mg) est soumise à une CC de gel de silice en phase normale éluée par E.P/AcOEt (90-10, 85-15, 80-20, 70-30, 60-40, 20-80 et 5-95) conduisant à l'isolement du composé **HS27** (18 mg) (figure II. 1. 2. 3).

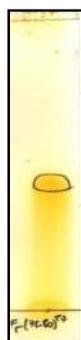
5% (CHCl₃/MeOH)
Révélateur: Solution acide



Figure II. 1. 2. 3. CCM en phase normale du composé HS27

Pour la sous fraction F₁₋₅ (100 mg), elle a fait l'objet d'une CCE de SiO₂ en phase normale dans le système d'élué CHCl₃/MeOH (90-10) donnant deux composés **HS23** (15 mg) et **HS24** (19 mg) (figure II. 1. 2. 4).

20% (CHCl₃/MeOH)
Révélateur: Iode



HS23

5% (CHCl₃/MeOH)
Révélateur: Iode



HS24

Figure II. 1. 2. 4. CCM en phase normale des composés HS23 et HS24

La sous fraction **F₁₋₇** d'une masse de 55 mg a permis d'obtenir le composé **HS25** (19,5 mg) (figure II. 1. 2. 5) par une chromatographie sur colonne de Sephadex LH-20 éluee par un mélange isocratique MeOH/H₂O (90-10).

(7-3-0,2) (CHCl₃/MeOH/H₂O)
Révélateur: Iode

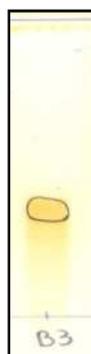


Figure II. 1. 2. 5. CCM en phase normale du composé HS25

Les composés **HS17** (18 mg) et **HS18** (10 mg) (figure II. 1. 2. 6) sont issus, après une purification successive, de la sous fraction **F₁₋₉** (80 mg) par une CC de polyamide éluee par un mélange à différents gradients de toluène/méthanol (100-0, 99-1, 97-3, 95-5, 90-10 et 85-15), suivie d'une CCE de gel de silice en phase inverse RP-18 dans le système de solvants MeOH/H₂O (30-70).

SiO₂: 20% (CHCl₃/MeOH)
Révélateur: Solution acide



HS17 HS18

RP-18: (3-7) (MeOH/H₂O)
Révélateur: Solution acide



HS17 HS18

Figure II. 1. 2. 6. CCM en phases normale et inverse des composés HS17 et HS18

La sous fraction **F₁₋₁₄** (120 mg) a été soumise à une chromatographie sur colonne de polyamide. L'élution menée par le mélange toluène/méthanol (100-0, 99-1, 97-3, 95-5, 90-10, 85-15 et 80-20) a abouti à l'isolement du composé **HS6** (20 mg) (figure II. 1. 2. 7).

20% (CHCl₃/MeOH)
Révélateur: Solution acide

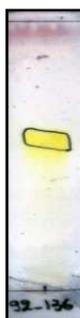


Figure II. 1. 2. 7. CCM en phase normale du composé HS6

◆ Fraction F₂

La fraction F₂ d'une masse de 450 mg est séparée par une chromatographie sur colonne de gel de silice en phase inverse RP-18. L'élution a été réalisée par un système eau/méthanol à divers gradients (20-80) → (100-0) (tableau II. 1. 2. 3). Ce fractionnement a donné 20 sous fractions, mais avec de très faibles masses, excepté les sous fractions F₂₋₆ et F₂₋₁₂ dont les masses sont relativement plus importantes (figure II. 1. 2. 8).

Tableau II. 1. 2. 3. Progression de la colonne de la fraction F₂

Eluant	Fractions regroupées	Masse	Eluant	Fractions regroupées	Masse
H ₂ O - MeOH (20-80)	F ₂₋₁	8,22 mg	H ₂ O - MeOH (60-40)	F ₂₋₁₁	9,6 mg
	F ₂₋₂	19,1 mg		F ₂₋₁₂	25 mg
H ₂ O - MeOH (25-75)	F ₂₋₃	15,34 mg	H ₂ O - MeOH (70-30)	F ₂₋₁₃	12, 22 mg
	F ₂₋₄	18,12 mg		F ₂₋₁₄	11, 10 mg
H ₂ O - MeOH (30-70)	F ₂₋₅	17,63 mg	H ₂ O - MeOH (80-20)	F ₂₋₁₅	10 mg
	F ₂₋₆	30 mg		F ₂₋₁₆	9,9 mg
H ₂ O - MeOH (40-60)	F ₂₋₇	10,66 mg	H ₂ O - MeOH (100-0)	F ₂₋₁₇	13,9 mg
	F ₂₋₈	11,41 mg		F ₂₋₁₈	11 mg
H ₂ O - MeOH (50-50)	F ₂₋₉	11 mg		F ₂₋₁₉	10,73 mg
	F ₂₋₁₀	17, 19 mg		F ₂₋₂₀	9,83 mg

10% (CHCl₃/MeOH)
Révélateur: Solution acide

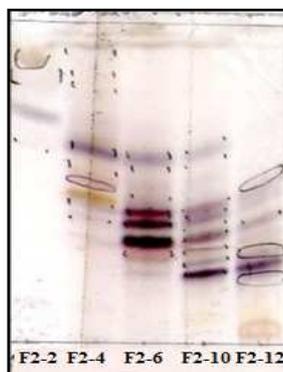


Figure II. 1. 2. 8. CCM en phase normale des sous fractions de F₂

La première sous fraction étudiée, **F₂₋₆** (30 mg) a subi une purification par CLHP semi-préparative sur colonne RP-18 utilisant pour l'éluion un système isocratique MeCN/H₂O (20-80). Cette purification a conduit à l'isolement des composés **HS1** (9 mg) et **HS2** (4 mg) (figure II. 1. 2. 9).

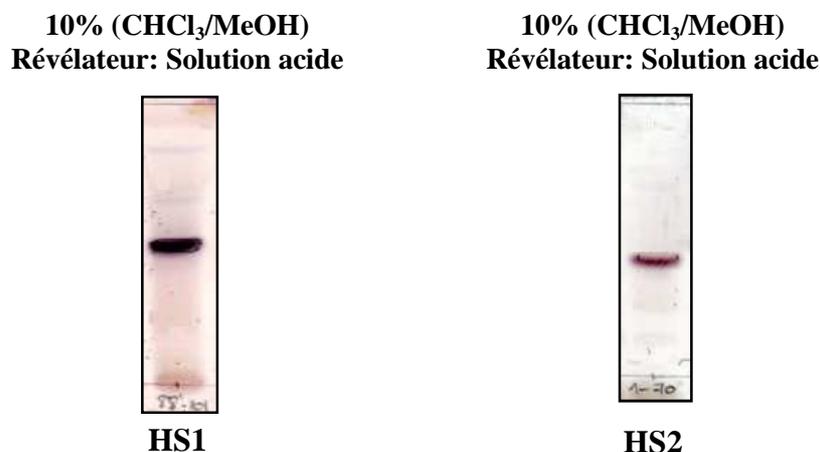


Figure II. 1. 2. 9. CCM en phase normale des composés HS1 et HS2

Cependant, la deuxième sous fraction **F₂₋₁₂** (25 mg) a fait l'objet d'une purification sur colonne de Sephadex LH-20 où l'éluion est réalisée par le chloroforme. Ainsi, 16 mg du composé **HS26** ont été obtenus (figure II. 1. 2. 10).

15% (CHCl₃/MeOH)
Révélateur: Solution acide



Figure II. 1. 2. 10. CCM en phase normale du composé HS26

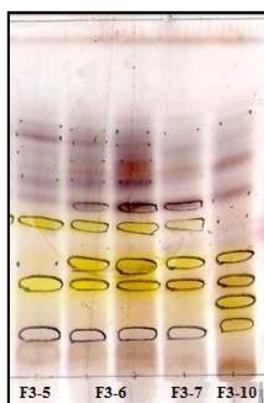
◆ Fraction F₃

Le fractionnement de **F₃** (250 mg) par chromatographie sur colonne de gel de silice en phase normale au moyen du mélange CH₂Cl₂/MeOH à différents gradients (100-0) → (50-50) (tableau II. 1. 2. 4) a permis de récupérer 10 sous fractions **F₃₋₁** à **F₃₋₁₀** (figure II. 1. 2. 11).

Tableau II. 1. 2. 4. Progression de la colonne de la fraction F₃

Eluant	Fractions regroupées	Masse
CH ₂ Cl ₂ -MeOH (100-0)	F ₃₋₁	12,5 mg
CH ₂ Cl ₂ -MeOH (97-3)	F ₃₋₂	11 mg
CH ₂ Cl ₂ -MeOH (95-5)	F ₃₋₃	9,65 mg
CH ₂ Cl ₂ -MeOH (90-10)	F ₃₋₄	13,73 mg
CH ₂ Cl ₂ -MeOH (85-15)	F ₃₋₅	60 mg
CH ₂ Cl ₂ -MeOH (80-20)	F ₃₋₆	80 mg
CH ₂ Cl ₂ -MeOH (70-30)	F ₃₋₇	50 mg
CH ₂ Cl ₂ -MeOH (60-40)	F ₃₋₈	21,89 mg
CH ₂ Cl ₂ -MeOH (50-50)	F ₃₋₉	14,93 mg
	F ₃₋₁₀	45 mg

20% (CHCl₃/MeOH)
Révélateur: Solution acide

Figure II. 1. 2. 11. CCM en phase normale des sous fractions étudiée de la fraction F₃

Une filtration de la sous fraction F₃₋₅ (60 mg) sur colonne de Sephadex LH-20 éluee par CHCl₃/MeOH (80-20) suivie d'une CCE (RP-18) utilisant comme éluant MeOH/H₂O (4-6) a abouti à l'isolement des composé **HS15** (10,5 mg) et **HS16** (11,8 mg) (figure II. 1. 2. 12).

(4-6) (MeOH/H₂O)
Révélateur: Solution acide



HS15 HS16

Figure II. 1. 2. 12. CCM en phase inverse des composés HS15 et HS16

La sous fraction **F_{3.6}** (80 mg) est soumise à une chromatographie sur colonne de polyamide élue par le système de solvants toluène/MeOH (95-5, 93-7, 90-10 et 85-15), puis une filtration sur colonne de Sephadex LH-20 élue par CHCl₃/MeOH (95-5, 93-7, 90-10, 85-15, 80-20, 75-25 et 70-30). 15 mg du composé **HS3**, 9 mg du composé **HS21** et 10 mg du composé **HS22** ont été obtenus (figure II. 1. 2. 13).

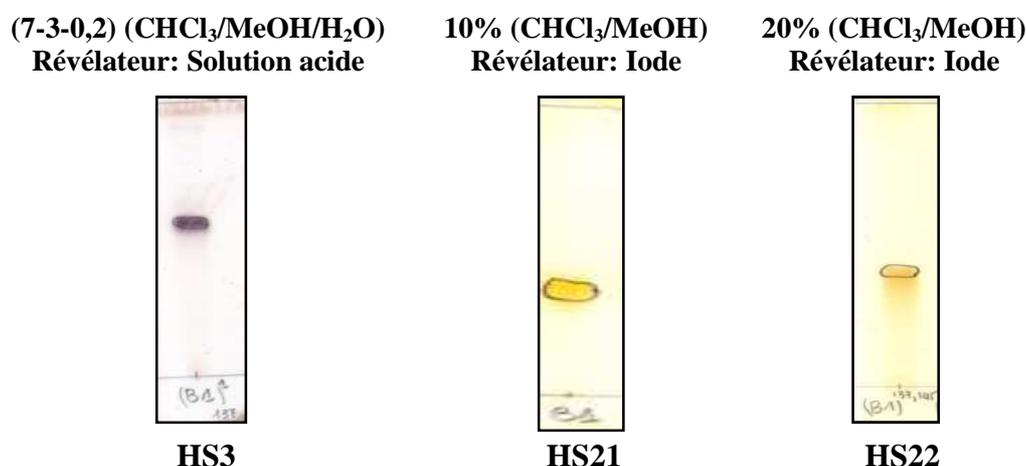


Figure II. 1. 2. 13. CCM en phase normale des composés HS3, HS21 et HS22

La sous fraction **F_{3.7}** d'une masse de 50 mg a subi une chromatographie sur colonne de polyamide élue par toluène/MeOH (95-5, 93-7, 90-10, 85-15, 80-20, 75-25, 70-30, 65-35 et 60-40) pour donner les composés **HS5** (10 mg) et **HS10** (8 mg) à l'état pur (figure II. 1. 2. 14).

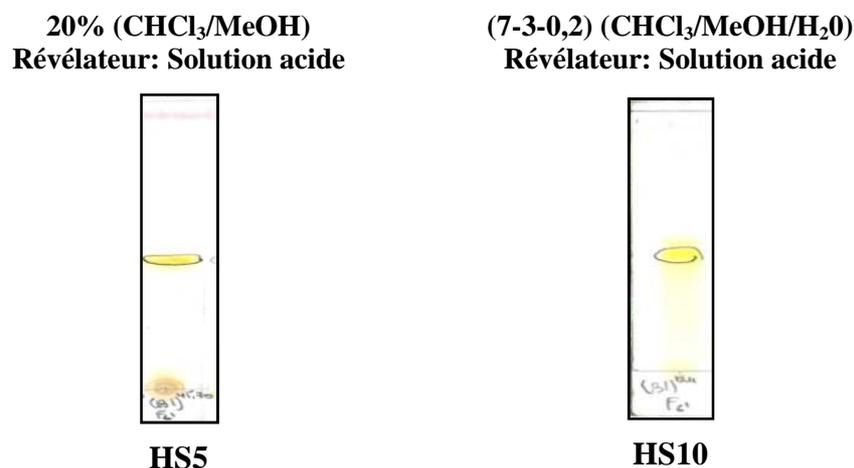
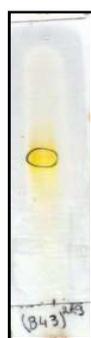


Figure II. 1. 2. 14. CCM en phase normale des composés HS5 et HS10

La purification des composés **HS9** (12 mg) et **HS13** (18 mg) (figure II. 1. 2. 15) a été réalisée par une CC de polyamide sur la sous fraction **F_{3.10}** (45 mg) élue par toluène/MeOH (95-5, 93-7, 90-10, 85-15 et 80-20), puis une chromatographie sur colonne de Sephadex LH-20 dans CHCl₃/MeOH (100-0, 97-3, 95-5, 93-7, 90-10 et 85-15) suivie d'une CCE en gel de silice en phase normale élue dans le système CHCl₃/MeOH/H₂O (7-3-0,2).

(7-3-0,2) (CHCl₃/MeOH/H₂O)
Révélateur: Solution acide



HS9

(7-3-0,2) (CHCl₃/MeOH/H₂O)
Révélateur: Solution acide



HS13

Figure II. 1. 2. 15. CCM en phase normale des composés HS9 et HS13

◆ Fraction F₄

Cette fraction d'une masse de 198 mg présente un produit majoritaire **HS28** (figure II. 1. 2. 16) dont 30 mg de ce composé ont été isolés par une recristallisation dans le MeOH.

10% (CHCl₃/MeOH)
Révélateur: Solution acide



Figure II. 1. 2. 16. CCM en phase normale du composé HS28

II. 1. 3. Fractionnement et purification de l'extrait *n*-butanolique

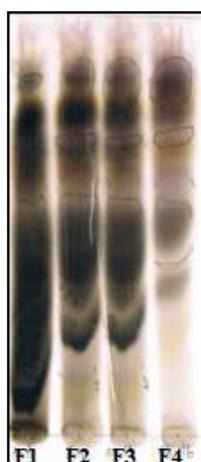
L'extrait *n*-butanolique d'une masse de 10 g est traité par une chromatographie sur colonne de polyamide élue par le système de solvants H₂O/MeOH (tableau II. 1. 2. 5). Après fractionnement et rassemblement, 11 fractions majoritaires ont été obtenues (figure II. 1. 2. 17).

Tableau II. 1. 2. 5. Progression de la CC de l'extrait *n*-BuOH

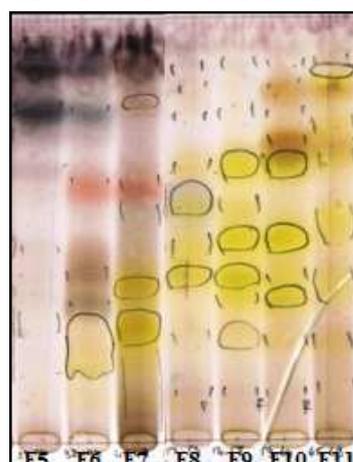
Eluant de la colonne	Fractions regroupées	Masse	Eluant de la colonne	Fractions regroupées	Masse
H ₂ O 100%	F ₁	2 g	H ₂ O – MeOH (50-50)	F ₇	300 mg
	F ₂	1,5 g		F ₈	450 mg
	F ₃	1,98 g	H ₂ O – MeOH (20-80)	F ₉	272 mg
H ₂ O – MeOH (80-20)	F ₄	500 mg	MeOH 100%	F ₁₀	550 mg
	F ₅	100 mg		F ₁₁	950 mg
H ₂ O – MeOH (50-50)	F ₆	600 mg			

(6-4-0,5) (CHCl₃/MeOH/H₂O)

Révélateur: Solution acide

(7-3-0,5) (CHCl₃/MeOH/H₂O)

Révélateur: Solution acide

Figure II. 1. 2. 17. CCM en phase normale des fractions regroupées de l'extrait *n*-BuOH◆ Fraction F₁

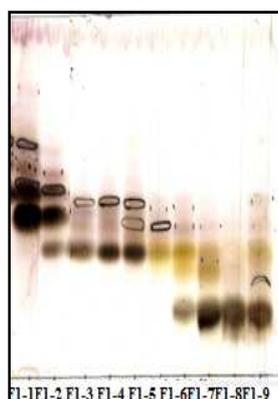
Le fractionnement de F₁ d'une masse de 2 g est réalisée par une chromatographie sur colonne de gel de silice en phase normale utilisant le mélange CHCl₃/MeOH comme phase mobile avec différents gradients (100-0) → (0-100) (tableau II. 1. 2. 6). Les fractions collectées sont rassemblées selon leur profil en CCM pour donner 10 sous fractions F₁₋₁ à F₁₋₁₀ (figure II. 1. 2. 18).

Tableau II. 1. 2. 6. Progression de la colonne de la fraction F₁

Eluant	Fractions regroupées	Masse	Eluant	Fractions regroupées	Masse
CHCl ₃ -MeOH (100-0)	F ₁₋₁	40 mg	CHCl ₃ -MeOH (70-30)	F ₁₋₇	85,64 mg
CHCl ₃ -MeOH (99-1)	F ₁₋₂	500 mg	CHCl ₃ -MeOH (60-40)	F ₁₋₈	900 mg
CHCl ₃ -MeOH (97-3)	F ₁₋₃	200,5 mg	CHCl ₃ -MeOH (50-50)		
CHCl ₃ -MeOH (95-5)	F ₁₋₄	90 mg	CHCl ₃ -MeOH (40-60)	F ₁₋₉	53,7 mg
CHCl ₃ -MeOH (90-10)	F ₁₋₅	30,64 mg	CHCl ₃ -MeOH (30-70)	F ₁₋₁₀	83 mg
CHCl ₃ -MeOH (85-15)			CHCl ₃ -MeOH (20-80)		
CHCl ₃ -MeOH (80-20)	F ₁₋₆	200,53 mg	CHCl ₃ -MeOH (0-100)		

(8-2-0,2) (CHCl₃/MeOH/H₂O)

Révélateur: Solution acide

Figure II. 1. 2. 18. CCM en phase normale des sous fractions de F₁

La sous fraction **F₁₋₂** (500 mg) a fait l'objet d'une chromatographie sur colonne de SiO₂ éluée par le mélange CH₂Cl₂/EtOH (100-0, 99-1, 97-3, 95-5, 90-10, 85-15, 80-20, 70-30, 60-40 et 50-50) suivie d'une autre CC de gel de silice en phase normale, dans le même système de solvants mais cette fois par les polarités suivantes : (97-3, 95-5, 93-7, 90-10, 87-13, 85-15 et 83-17). Ceci a permis d'isoler les composés **HS29** (10 mg) et **HS30** (8,5 mg) (figure II. 1. 2. 19).

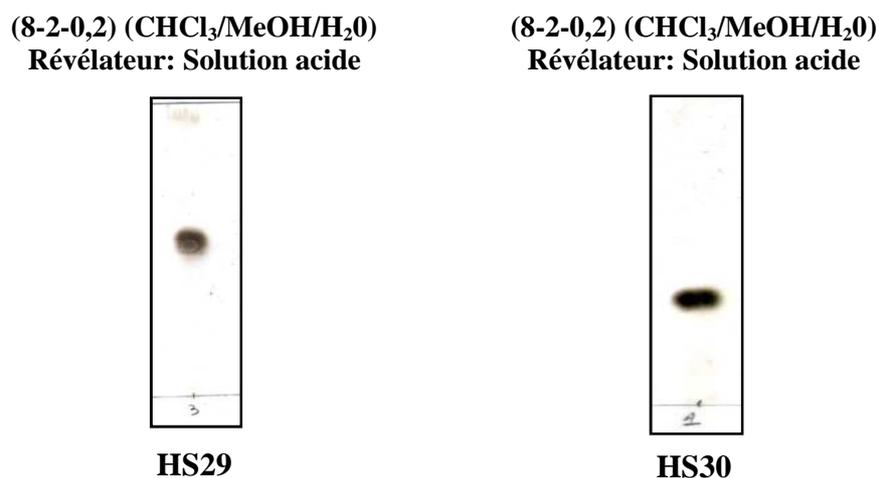


Figure II. 1. 2. 19. CCM en phase normale des composés **HS29** et **HS30**

La sous fraction **F_{1,4}** (300 mg) a subi une filtration sur colonne de Sephadex LH-20 éluée par le méthanol, puis une chromatographie sur colonne de gel de silice en phase normale par le mélange CH₂Cl₂/EtOH allant de (100-0) jusqu'à (0-100), conduisant ainsi à l'isolement du composé **HS31** (15 mg) (figure II. 1. 2. 20).

(6-4-0,5) (CHCl₃/MeOH/H₂O)
Révélateur: Solution acide



Figure II. 1. 2. 20. CCM en phase normale du composé **HS31**

Le composé **HS32** (19 mg) (figure II. 1. 2. 21) est issu d'une chromatographie sur colonne de SiO₂ de la sous fraction **F_{1,8}** (900 mg) éluée par CH₂Cl₂/EtOH (100-0, 99-1, 97-3, 95-5, 90-10, 85-15, 80-20, 70-30, 60-40, 50-50, 40-60, 30-70, 20-80 et 0-100), suivie d'une filtration sur colonne de Sephadex LH-20 en utilisant le méthanol comme éluant.

(6-4-0,5) (CHCl₃/MeOH/H₂O)
 Révélateur: Solution acide



Figure II. 1. 2. 21. CCM en phase normale du composé HS32

◆ Fraction F₅

Cette fraction d'une masse de 100 mg a fait l'objet d'une chromatographie sur colonne de polyamide (toluène/MeOH) avec différents gradients (97-3) → (50-50) (tableau II. 1. 2. 7) pour donner 5 sous fractions (figure II. 1. 2. 22).

Tableau II. 1. 2. 7. Progression de la colonne de la fraction F₅

Eluant	Fractions regroupées	Masse
Toluène-MeOH (97-3)	F ₅₋₁	5 mg
Toluène-MeOH (95-5)		
Toluène-MeOH (90-10)	F ₅₋₂	3,2 mg
Toluène-MeOH (85-15)	F ₅₋₃	50 mg
Toluène-MeOH (80-20)		
Toluène-MeOH (75-25)	F ₅₋₄	10 mg
Toluène-MeOH (70-30)		
Toluène-MeOH (60-40)	F ₅₋₅	4,56 mg
Toluène-MeOH (50-50)		

(7-3-0,2) (CHCl₃/MeOH/H₂O)
 Révélateur: la solution acide

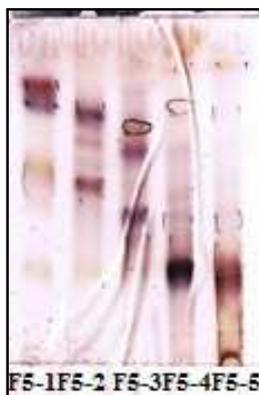


Figure II. 1. 2. 22. CCM en phase normale des sous fractions de F₅

La sous fraction F₅₋₃ (50 mg) a subi une CC de polyamide avec le même système d'élution (toluène/MeOH) (97-3) → (50-50), suivie d'une filtration sur colonne de Sephadex

LH-20 avec le mélange de solvants $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (70-30) conduisant à l'isolement du composé **HS4** (8 mg) (figure II. 1. 2. 23).

(8-2-0,2) ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$)
Révéléateur: Solution acide



Figure II. 1. 2. 23. CCM en phase normale du composé **HS4**

◆ Fraction F_6

Le fractionnement de F_6 (600 mg) a été réalisé par une chromatographie sur colonne de polyamide éluee par un mélange de solvants toluène/MeOH (100-0) \rightarrow (0-100) (tableau II. 1. 2. 8), pour donner 7 sous fractions F_{6-1} à F_{6-7} (figure II. 1. 2. 24).

Tableau II. 1. 2. 8. Progression de la colonne de la fraction F_6

Eluant	Fractions regroupées	Masse
Toluène-MeOH (100-0)	F_{6-1}	10,22 mg
Toluène -MeOH (99-1)		
Toluène -MeOH (97-3)	F_{6-2}	12,64 mg
Toluène -MeOH (95-5)		
Toluène -MeOH (90-10)	F_{6-3}	21 mg
Toluène -MeOH (85-15)		
Toluène -MeOH (80-20)	F_{6-4}	17,49 mg
Toluène -MeOH (70-30)		
Toluène -MeOH (60-40)	F_{6-5}	50 mg
Toluène -MeOH (50-50)		
Toluène -MeOH (40-60)	F_{6-6}	22,23 mg
Toluène -MeOH (30-70)		
Toluène -MeOH (20-80)	F_{6-7}	80 mg
Toluène -MeOH (0-100)		

(8-2-0,2) ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$)
Révéléateur: Solution acide

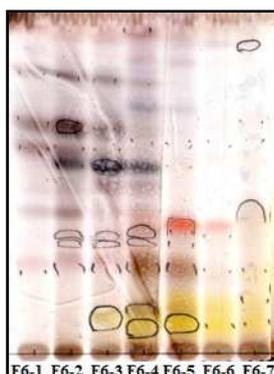


Figure II. 1. 2. 24. CCM en phase normale des sous fractions de F_6

Les composés **HS19** et **HS20** (8 mg) (figure II. 1. 2. 25) sont issus d'un fractionnement de la sous fraction **F₆₋₅** (50 mg) sur une colonne de polyamide (toluène/MeOH) (100-0) → (50-50), puis une filtration sur colonne de Sephadex LH-20 éluée par le méthanol, suivie d'une purification sur CCE en phase inverse utilisant le système de solvants MeOH/H₂O (4-6).

(4-6) (MeOH/H₂O)
Révéléateur: Solution acide



Figure II. 1. 2. 25. CCM en phase inverse des composés HS19 et HS20

◆ Fraction F₉

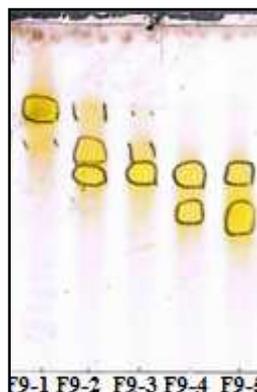
La fraction **F₉** (272 mg) a fait l'objet d'un fractionnement par une chromatographie sur colonne de polyamide dans le système de solvants (toluène/MeOH) (tableau II. 1. 2. 9), ce qui a permis de collecter 5 sous fractions **F₉₋₁** à **F₉₋₅** (figure II. 1. 2. 26).

Tableau II. 1. 2. 9. Progression de la colonne de la fraction F₉

Eluant	Fractions regroupées	Masse
Toluène-MeOH (100-0)	F ₉₋₁	30 mg
Toluène -MeOH (99-1)		
Toluène -MeOH (97-3)	F ₉₋₂	55 mg
Toluène -MeOH (95-5)		
Toluène -MeOH (90-10)	F ₉₋₃	10 mg
Toluène -MeOH (85-15)		
Toluène -MeOH (80-20)		
Toluène -MeOH (70-30)	F ₉₋₄	15,5 mg
Toluène -MeOH (60-40)		
Toluène -MeOH (50-50)		
Toluène -MeOH (40-60)	F ₉₋₅	20 mg
Toluène -MeOH (30-70)		
Toluène -MeOH (20-80)		
Toluène -MeOH (0-100)		

(7-3-0,5) (CHCl₃/MeOH/H₂O)

Révélateur: Solution acide

Figure II. 1. 2. 26. CCM en phase normale des sous fractions de F₉

La sous fraction F_{9,1} (30 mg) a donné le composé **HS7** (10 mg) (figure II. 1. 2. 27) après une chromatographie sur colonne de polyamide élue par toluène/MeOH (100-0, 99-1, 97-3, 95-5, 90-10, 85-15, 80-20, 70-30, 60-40, 50-50 et 40-60).

(7-3-0,5) (CHCl₃/MeOH/H₂O)

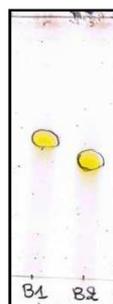
Révélateur: Solution acide

Figure II. 1. 2. 27. CCM en phase normale du composé **HS7**

Ausi, la sous fraction F_{9,2} (55 mg) a permis d'obtenir les composés **HS8** (13 mg) et **HS11** (9 mg) (figure II. 1. 2. 28) après avoir subi une CC de polyamide élue par le mélange toluène/MeOH (100-0, 99-1, 97-3, 95-5, 90-10, 85-15, 80-20, 70-30, 60-40, 50-50, 40-60, 30-70, 20-80 et 0-100), puis une filtration sur colonne de Sephadex LH-20 utilisant le méthanol comme éluant.

(7-3-0,5) (CHCl₃/MeOH/H₂O)

Révélateur: Solution acide

**HS8 HS11**Figure II. 1. 2. 28. CCM en phase normale des composés **HS8** et **HS11**

Le composé **HS12** (5 mg) (figure II. 1. 2. 29) est purifié à partir de la sous fraction **F_{9,5}** (20 mg) suite à une chromatographie sur couche épaisse de gel de silice en phase normale dans le système d'éluant $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (7-3-0,5).

(7-3-0,5) ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$)
Révélateur: Solution acide



Figure II. 1. 2. 29. CCM en phase normale du composé **HS12**

◆ Fraction **F₁₀**

Les fractionnements successifs appliqués sur la fraction **F₁₀** d'une masse de 550 mg par des chromatographies sur colonnes de polyamide utilisant le mélange toluène/MeOH comme éluant allant de (100-0) jusqu'à (0-100), ont permis d'isoler le composé **HS14** (12 mg) à l'état pur (figure II. 1. 2. 30).

(6-4-0,5) ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$)
Révélateur: Solution acide



Figure II. 1. 2. 30. CCM en phase normale du composé **HS14**

II. 1. 3. Composés isolés de l'espèce *Helianthemum sessiliflorum* Pers.

Les structures des composés isolés ont été établies sans ambiguïté par les méthodes spectroscopiques modernes citées précédemment et la comparaison avec les données de la littérature.

II. 1. 3. 1. Composé HS1

- **Nom** : 1-*O*-acétyl prinsépiol
- **Formule brute** : C₂₂H₂₄O₉
- **Aspect** : Huile incolore
- **[α]_D** = - 20,5, c = 0,275, AcOEt
- **MS** : ESI-MS mode positif
 - $m/z = 455,2$ [M+Na]⁺
 - $m/z = 471,2$ [2M+K]⁺
 - $m/z = 887,4$ [2M+Na]⁺
- **RMN ¹H** : 600 MHz, CDCl₃
- **RMN ¹³C** : 150 MHz, CDCl₃

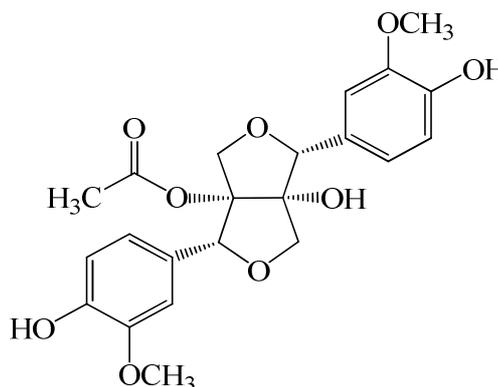


Tableau des données : I. 1. 3. 1, pages 108-109

II. 1. 3. 2. Composé HS2

- **Nom** : 1α-hydroxypinorésinol
- **Formule brute** : C₂₀H₂₂O₇
- **Aspect** : Huile incolore
- **[α]_D** = + 20,5, c = 0,64, MeOH
- **MS** : ESI-MS mode positif
 - $m/z = 397,1$ [M+Na]⁺
 - $m/z = 771,3$ [2M+Na]⁺
 - $m/z = 787,3$ [2M+K]⁺
- **RMN ¹H** : 600 MHz, CDCl₃
- **RMN ¹³C** : 150 MHz, CDCl₃

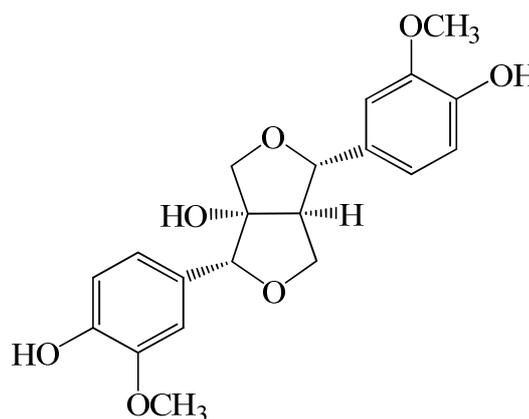


Tableau des données : I. 1. 3. 2, pages 119-120

II. 1. 3. 3. Composé HS3

- **Nom** : (+)-Cyclooolivil
- **Formule brute** : C₂₀H₂₄O₇
- **Aspect** : Laque incolore
- **[α]_D** = + 41,5, c = 0,2, MeOH
- **MS** : ESI-MS mode positif
 - $m/z = 399,1$ [M+Na]⁺
- **RMN ¹H** : 600 MHz, CD₃OD
- **RMN ¹³C** : 150 MHz, CD₃OD

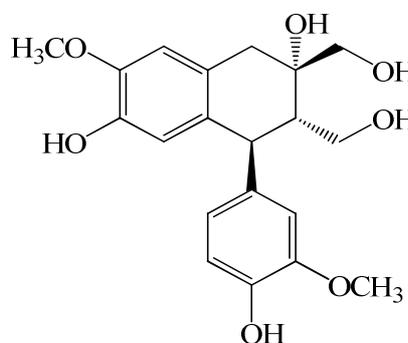


Tableau des données : I. 1. 3. 3, pages 133-134

II. 1. 3. 4. Composé HS4

▪ **Nom** : Isolaricirésinol 9'-O-β-D-glucopyranoside

▪ **Formule brute** : C₂₆H₃₄O₁₁

▪ **Aspect** : Poudre blanche

▪ **[α]_D** = + 41,5, c = 0,2, MeOH

▪ **MS** : ESI-MS mode positif

$$m/z = 545,3 [M+Na]^+$$

▪ **RMN ¹H** : 600 MHz, CD₃OD

▪ **RMN ¹³C** : 150 MHz, CD₃OD

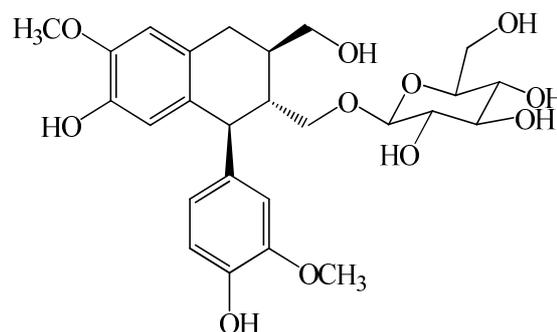


Tableau des données : I. 1. 3. 4, page 144

II. 1. 3. 5. Composé HS5

▪ **Nom** : Astragaline

▪ **Formule brute** : C₂₁H₂₀O₁₁

▪ **Aspect** : Poudre verte

▪ **[α]_D** = + 17,1, c = 0,8, MeOH

▪ **MS** : ESI-MS mode positif

$$m/z = 471,5 [M+Na]^+$$

$$m/z = 487,5 [M+K]^+$$

$$m/z = 919,5 [2M+Na]^+$$

▪ **RMN ¹H** : 600 MHz, CD₃OD

▪ **RMN ¹³C** : 150 MHz, CD₃OD

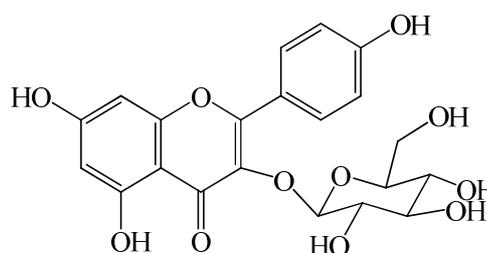


Tableau des données : I. 1. 3. 5, page 151

II. 1. 3. 6. Composé HS6

▪ **Nom** : Tilioside

▪ **Formule brute** : C₃₀H₂₆O₁₃

▪ **Aspect** : Poudre jaune

▪ **[α]_D** = - 60, c = 0,2, MeOH

▪ **MS** : ESI-MS mode négatif

$$m/z = 593,0 [M-H]^-$$

▪ **RMN ¹H** : 600 MHz, CD₃OD

▪ **RMN ¹³C** : 150 MHz, CD₃OD

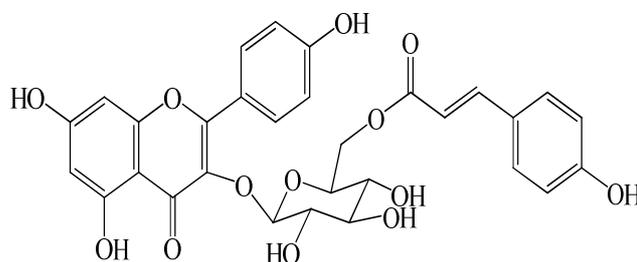


Tableau des données : I. 1. 3. 6, page 158

II. 1. 3. 7. Composé HS7

- **Nom** : Nicotiflorine
- **Formule brute** : $C_{27}H_{30}O_{15}$
- **Aspect** : Poudre jaune
- $[\alpha]_D = -54,1$, $c = 1$, MeOH
- **MS** : ESI-MS mode positif
 - $m/z = 617,5$ $[M+Na]^+$
 - $m/z = 633,5$ $[M+K]^+$
- **RMN 1H** : 600 MHz, CD_3OD
- **RMN ^{13}C** : 150 MHz, CD_3OD

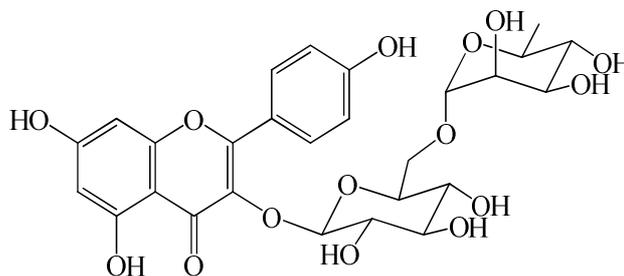


Tableau des données : I. 1. 3. 7, page 164

II. 1. 3. 8. Composé HS8

- **Nom** : Kaempférol 3-*O*-vicianoside
- **Formule brute** : $C_{26}H_{28}O_{15}$
- **Aspect** : Poudre jaune
- $[\alpha]_D = -11,5$, $c = 0,1$, MeOH
- **MS** : ESI-MS mode négatif
 - $m/z = 579,1$ $[M-H]^-$
- **RMN 1H** : 600 MHz, CD_3OD
- **RMN ^{13}C** : 150 MHz, CD_3OD

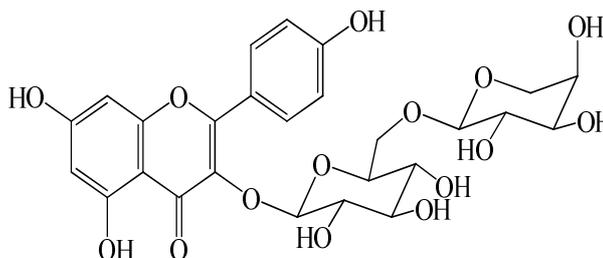


Tableau des données : I. 1. 3. 8, page 169

II. 1. 3. 9. Composé HS9

- **Nom** : Isoquercétrine
- **Formule brute** : $C_{21}H_{20}O_{12}$
- **Aspect** : Poudre jaune
- $[\alpha]_D = -19,7$, $c = 0,5$, MeOH
- **MS** : ESI-MS mode positif
 - $m/z = 487,1$ $[M+Na]^+$
- **RMN 1H** : 600 MHz, CD_3OD
- **RMN ^{13}C** : 150 MHz, CD_3OD

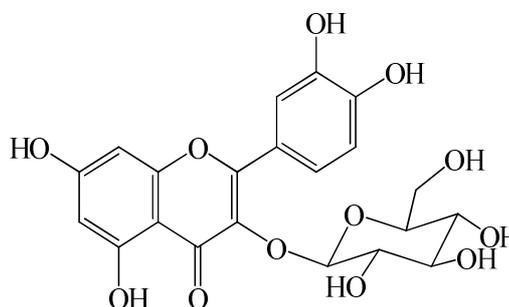


Tableau des données : I. 1. 3. 9, page 175

II. 1. 3. 10. Composé HS10

- **Nom** : Quercétrine
- **Formule brute** : $C_{21}H_{20}O_{11}$
- **Aspect** : Poudre jaune
- $[\alpha]_D = -157,3$, $c = 0,6$, MeOH
- **MS** : ESI-MS mode positif
 - $m/z = 471,1$ $[M+Na]^+$
 - $m/z = 919,2$ $[2M+Na]^+$
- ESI-MS mode négatif
 - $m/z = 447,0$ $[M-H]^-$
 - $m/z = 895,0$ $[2M-H]^-$
- **RMN 1H** : 600 MHz, CD_3OD
- **RMN ^{13}C** : 150 MHz, CD_3OD

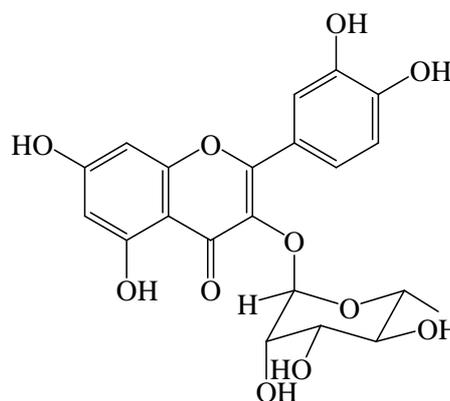


Tableau des données : I. 1. 3. 10, page 180

II. 1. 3. 11. Composé HS11

- **Nom** : Rutine
- **Formule brute** : $C_{21}H_{20}O_{11}$
- **Aspect** : Poudre jaune
- $[\alpha]_D = +13,8$, $c = 0,2$, MeOH
- **MS** : ESI-MS mode négatif
 - $m/z = 609,0$ $[M-H]^-$
 - $m/z = 1219,0$ $[2M-H]^-$
- **RMN 1H** : 600 MHz, CD_3OD
- **RMN ^{13}C** : 150 MHz, CD_3OD

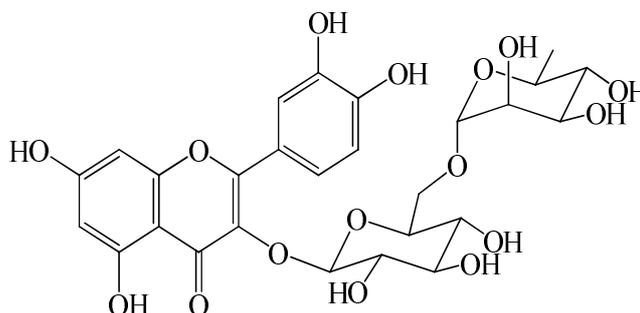


Tableau des données : I. 1. 3. 11, page 185

II. 1. 3. 12. Composé HS12

- **Nom** : Néoisorutine
- **Formule brute** : $C_{26}H_{27}O_{16}$
- **Aspect** : Poudre jaune
- $[\alpha]_D = +12,2$, $c = 0,1$, MeOH
- **MS** : ESI-MS mode négatif
 - $m/z = 595,1$ $[M-H]^-$
- **RMN 1H** : 600 MHz, CD_3OD
- **RMN ^{13}C** : 150 MHz, CD_3OD

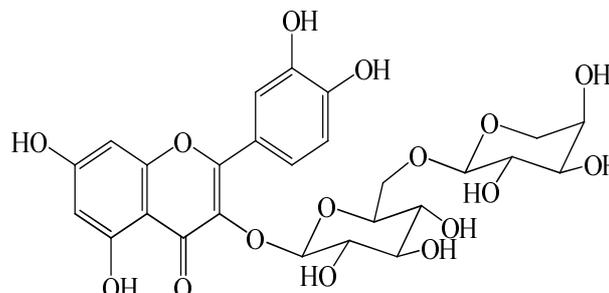


Tableau des données : I. 1. 3. 12, page 189

II. 1. 3. 13. Composé HS13

- **Nom** : Myricitrine
- **Formule brute** : $C_{21}H_{20}O_{12}$
- **Aspect** : Poudre jaune
- $[\alpha]_D = -138,6$, $c = 0,5$, MeOH
- **MS** : ESI-MS mode positif
 $m/z = 487,1 [M+Na]^+$
- **RMN 1H** : 600 MHz, CD_3OD
- **RMN ^{13}C** : 150 MHz, CD_3OD

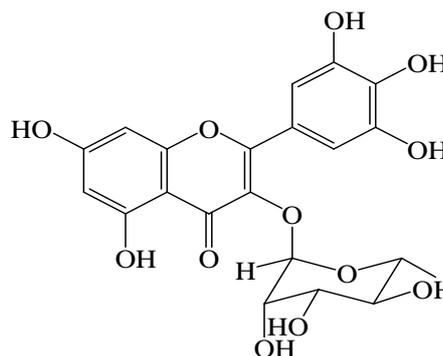


Tableau des données : I. 1. 3. 13, page 194

II. 1. 3. 14. Composé HS14

- **Nom** : Vicénine 2
- **Formule brute** : $C_{27}H_{30}O_{15}$
- **Aspect** : Poudre jaune
- $[\alpha]_D = +71$, $c = 0,3$, MeOH
- **MS** : ESI-MS mode négatif
 $m/z = 593,1 [M-H]^-$
- **RMN 1H** : 600 MHz, CD_3OD
- **RMN ^{13}C** : 150 MHz, CD_3OD

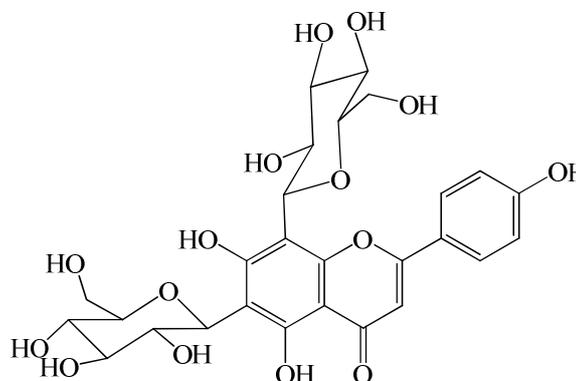


Tableau des données : I. 1. 3. 14, page 200

II. 1. 3. 15. Composé HS15

- **Nom** : (-)-Epicatéchine
- **Formule brute** : $C_{15}H_{14}O_6$
- **Aspect** : Poudre blanche
- $[\alpha]_D = -68,1$, $c = 0,1$, MeOH
- **MS** : ESI-MS mode positif
 $m/z = 313,5 [M+Na]^+$
 $m/z = 603,5 [2M+Na]^+$
- **RMN 1H** : 600 MHz, CD_3OD
- **RMN ^{13}C** : 150 MHz, CD_3OD

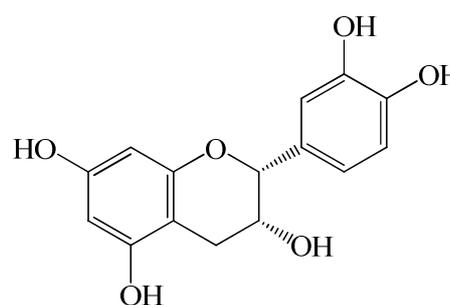


Tableau des données : I. 1. 3. 15, page 206

II. 1. 3. 16. Composé HS16

- **Nom :** (-)-Catéchine
- **Formule brute :** C₁₅H₁₄O₆
- **Aspect :** Poudre blanche
- **[α]_D** = - 7,9, c = 0,4, MeOH
- **MS :** ESI-MS mode positif
 $m/z = 313,5 [M+Na]^+$
 $m/z = 603,5 [2M+Na]^+$
- **RMN ¹H :** 600 MHz, CD₃OD
- **RMN ¹³C :** 150 MHz, CD₃OD

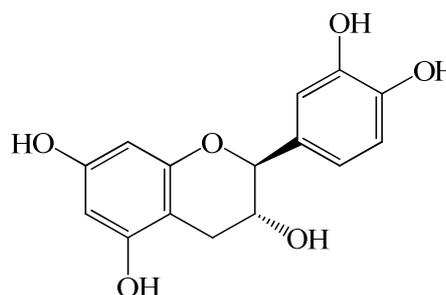


Tableau des données : I. 1. 3. 16, page 209

II. 1. 3. 17. Composé HS17

- **Nom :** (-)-Epigallocatechine
- **Formule brute :** C₁₅H₁₄O₇
- **Aspect :** Poudre blanche
- **[α]_D** = - 71,3, c = 0,9, MeOH
- **MS :** ESI-MS mode positif
 $m/z = 307,2 [M+H]^+$
 $m/z = 329,1 [M+Na]^+$
 $m/z = 635,2 [2M+Na]^+$
- **RMN ¹H :** 600 MHz, CD₃OD
- **RMN ¹³C :** 150 MHz, CD₃OD

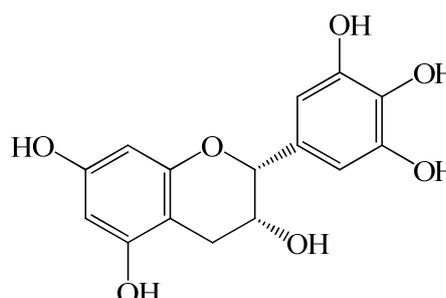


Tableau des données : I. 1. 3. 17, page 213

II. 1. 3. 18. Composé HS18

- **Nom :** (-)-Gallocatechine
- **Formule brute :** C₁₅H₁₄O₇
- **Aspect :** Poudre blanche
- **[α]_D** = - 15,1, c = 0,1, MeOH
- **MS :** ESI-MS mode positif
 $m/z = 307,2 [M+H]^+$
 $m/z = 635,2 [2M+Na]^+$
- **RMN ¹H :** 600 MHz, CD₃OD
- **RMN ¹³C :** 150 MHz, CD₃OD

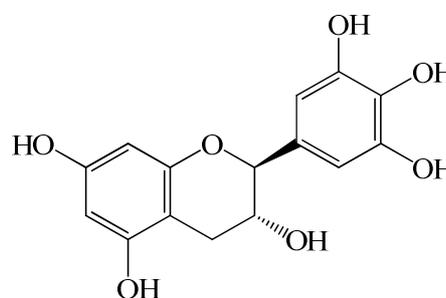


Tableau des données : I. 1. 3. 18, page 216

II. 1. 3. 19. Composés HS19 et HS20

- **Nom** : Hovetrichoside C
- **Formule brute** : $C_{21}H_{22}O_{11}$
- **Aspect** : Poudre amorphe
- $[\alpha]_D = -54,3$, $c = 1,8$, MeOH
- **MS** : ESI-MS mode négatif
 $m/z = 449,1 [M-H]^-$
- **RMN 1H** : 600 MHz, CD_3OD
- **RMN ^{13}C** : 150 MHz, CD_3OD

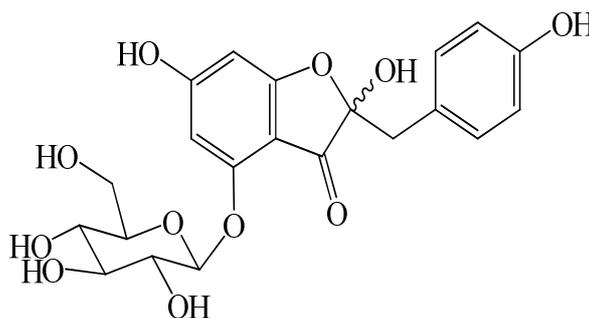


Tableau des données : I. 1. 3. 19, page 224

II. 1. 3. 20. Composé HS21

- **Nom** : Acide benzoïque
- **Formule brute** : $C_7H_6O_2$
- **Aspect** : Poudre blanche
- **RMN 1H** : 600 MHz, CD_3OD
- **RMN ^{13}C** : 150 MHz, CD_3OD

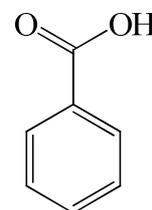


Tableau des données : I. 1. 3. 20, page 227

II. 1. 3. 21. Composé HS22

- **Nom** : Acide *p*-hydroxybenzoïque
- **Formule brute** : $C_7H_6O_3$
- **Aspect** : Poudre blanche
- **RMN 1H** : 600 MHz, CD_3OD
- **RMN ^{13}C** : 150 MHz, CD_3OD

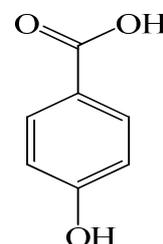


Tableau des données : I. 1. 3. 21, page 228

II. 1. 3. 22. Composé HS23

- **Nom** : Acide protocatechuique
- **Formule brute** : $C_7H_6O_4$
- **Aspect** : Cristaux marron foncés
- **RMN 1H** : 600 MHz, CD_3OD
- **RMN ^{13}C** : 150 MHz, CD_3OD

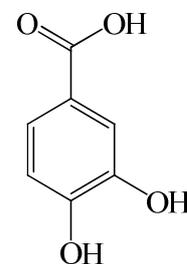


Tableau des données : I. 1. 3. 22, page 230

II. 1. 3. 23. Composé HS24

- **Nom** : Acide vanillique
- **Formule brute** : C₈H₈O₄
- **Aspect** : Poudre blanche
- **RMN ¹H** : 600 MHz, CD₃OD
- **RMN ¹³C** : 150 MHz, CD₃OD

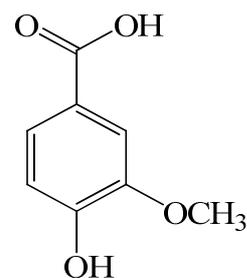


Tableau des données : I. 1. 3. 23, page 232

II. 1. 3. 24. Composé HS25

- **Nom** : Acide gallique
- **Formule brute** : C₇H₆O₅
- **Aspect** : Poudre blanche
- **RMN ¹H** : 600 MHz, CD₃OD
- **RMN ¹³C** : 150 MHz, CD₃OD

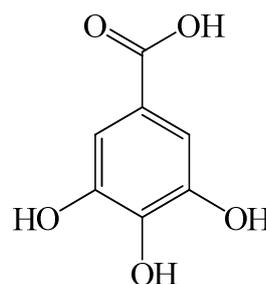


Tableau des données : I. 1. 3. 24, page 233

II. 1. 3. 25. Composé HS26

- **Nom** : Acide (-)-pinéllique
- **Formule brute** : C₁₈H₃₄O₅
- **Aspect** : Poudre blanche
- **[α]_D** = -10,0, c = 0,36, MeOH
- **MS** : ESI-MS mode positif
 $m/z = 353,3 [M+Na]^+$
- **RMN ¹H** : 600 MHz, CD₃OD
- **RMN ¹³C** : 150 MHz, CD₃OD

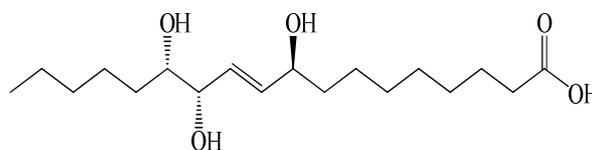


Tableau des données : I. 1. 3. 25, page 240

II. 1. 3. 26. Composé HS27

- **Nom** : β-sitostérol
- **Formule brute** : C₂₉H₅₀O
- **Aspect** : Poudre blanche
- **RMN ¹H** : 600 MHz, CD₃Cl₃
- **RMN ¹³C** : 150 MHz, CD₃Cl₃

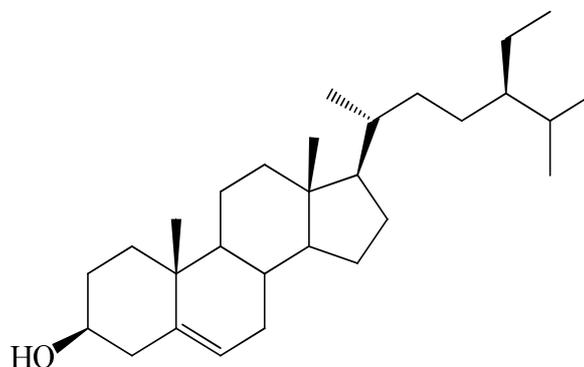


Tableau des données : I. 1. 3. 26, page 242

II. 1. 3. 27. Composé HS28

- **Nom** : Daucostérol
- **Formule brute** : $C_{35}H_{60}O_6$
- **Aspect** : Cristaux blancs
- **RMN 1H** : 600 MHz, CD_3Cl_3
- **RMN ^{13}C** : 150 MHz, CD_3Cl_3

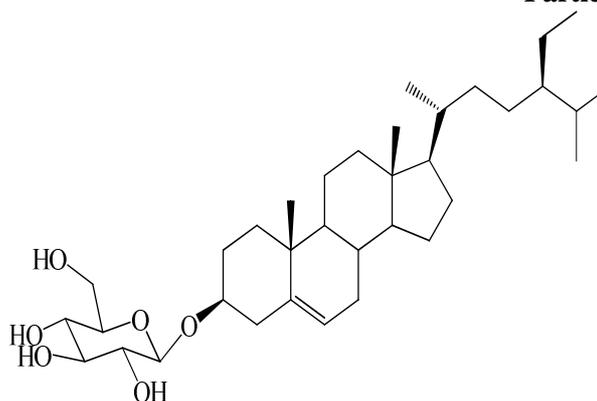


Tableau des données : I. 1. 3. 26, page 242

II. 1. 3. 28. Composé HS29

- **Nom** : β -D-fructofuranose
- **Formule brute** : $C_6H_{12}O_6$
- **Aspect** : Cristaux blancs
- $[\alpha]_D = -94$, $c = 0,1$, MeOH
- **RMN 1H** : 600 MHz, CD_3OD
- **RMN ^{13}C** : 150 MHz, CD_3OD

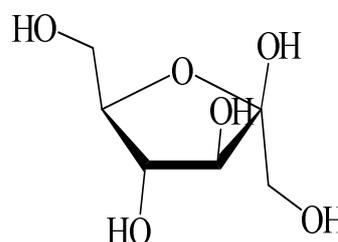


Tableau des données : I. 1. 3. 27, page 246

II. 1. 3. 29. Composé HS30

- **Nom** : 1-O-éthyl- β -D-glucopyranoside
- **Formule brute** : $C_8H_{12}O_6$
- **Aspect** : Cristaux blancs
- $[\alpha]_D = +18,7$, $c = 0,8$, MeOH
- **RMN 1H** : 600 MHz, CD_3OD
- **RMN ^{13}C** : 150 MHz, CD_3OD

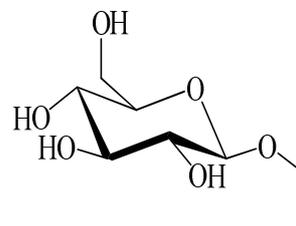


Tableau des données : I. 1. 3. 28, page 248

II. 1. 3. 30. Composé HS31

- **Nom** : β -D-fructofuranosyl-(2' \rightarrow 1)- α -D-glucopyranoside
- **Formule brute** : $C_{12}H_{22}O_{11}$
- **Aspect** : Poudre blanche
- $[\alpha]_D = +67,1$, $c = 0,2$, MeOH
- **RMN 1H** : 600 MHz, CD_3OD
- **RMN ^{13}C** : 150 MHz, CD_3OD

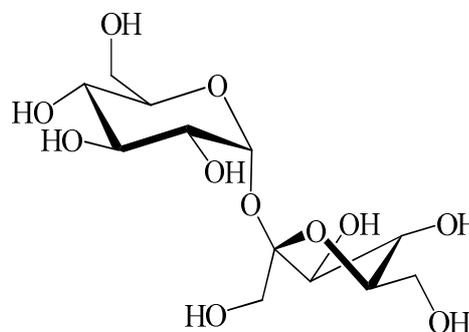


Tableau des données : I. 1. 3. 29, page 250

II. 1. 3. 31. Composé HS32

- **Nom :** β -D-fructofuranosyl-
(2" \rightarrow 1')- β -D-fructofuranosyl-
(2' \rightarrow 1)- α -D-glucopyranoside
- **Formule brute :** C₁₈H₃₂O₁₆
- **Aspect :** Poudre blanche
- **$[\alpha]_D$ = + 27,5, c = 2, MeOH**
- **RMN ¹H :** 600 MHz, CD₃OD
- **RMN ¹³C :** 150 MHz, CD₃OD

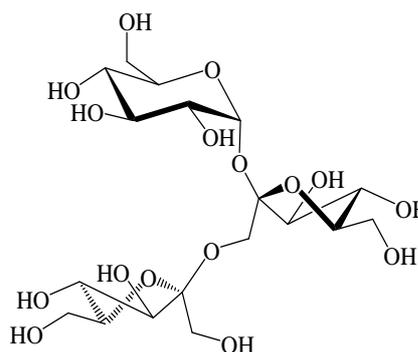


Tableau des données : I. 1. 3. 30, page 252

II. 2. Etude phytochimique de l'espèce *Euphorbia pterococca* Brot.**II. 2. 1. Obtention des extraits**

Toutes les parties de la plante *Euphorbia pterococca* Brot. (tiges, feuilles, graines et racines) préalablement séchées et réduites en poudre (1 Kg) sont soumises à une extraction solide-liquide par deux solvants de polarité différente : acétone et méthanol.

Une masse de 1 Kg de poudre de cette espèce est mise en agitation dans 10 L d'acétone. Après 48 h d'agitation à température ambiante avec renouvellement du solvant chaque 12 h, le mélange filtré est évaporé à sec pour donner 91,5 g d'extrait acétonique. Le résidu est soumis à une deuxième macération dans le méthanol dans les mêmes conditions, permettant ainsi l'obtention de 3 g d'extrait méthanolique.

II. 2. 2. Fractionnement et purification de l'extrait acétonique

Une masse de 10 g de l'extrait acétonique est soumise à une chromatographie sous vide (VLC) sur gel de silice en phase normale. L'élution se fait initialement au moyen de l'hexane; la polarité est augmentée par l'addition graduelle de l'acétate d'éthyle puis du méthanol (tableau II. 2. 2. 1). Le suivi de ce fractionnement par CCM a fourni 6 fractions majoritaires F₁-F₆ (figure II. 2. 2. 1).

Tableau II. 2. 2. 1. Progression de la VLC de l'extrait acétonique

Eluant	Fractions regroupées	Masse	Eluant	Fractions regroupées	Masse
Hexane	F ₁	989 mg	AcOEt-MeOH (99-1)	F ₄	878,5 mg
Hexane - AcOEt (99-1)			AcOEt-MeOH (97-3)		
Hexane - AcOEt (97-3)			AcOEt-MeOH (95-5)		
Hexane - AcOEt (95-5)			AcOEt-MeOH (90-10)		
Hexane - AcOEt (90-10)			AcOEt-MeOH (80-20)		
Hexane - AcOEt (80-20)	F ₂	1,365 g	AcOEt-MeOH (70-30)	F ₅	2,543 g
Hexane - AcOEt (70-30)			AcOEt-MeOH (60-40)		
Hexane - AcOEt (60-40)			AcOEt-MeOH (50-50)		
Hexane - AcOEt (50-50)			AcOEt-MeOH (40-60)		
Hexane - AcOEt (40-60)			AcOEt-MeOH (30-70)		
Hexane - AcOEt (30-70)	F ₃	987,8 mg	AcOEt-MeOH (20-80)	F ₆	3,054 g
Hexane - AcOEt (20-80)			AcOEt-MeOH (10-90)		
Hexane - AcOEt (10-90)			MeOH		
AcOEt					

10% (cyclohexane/AcOEt) 30% (cyclohexane/AcOEt) (8-2-0.2) (CHCl₃/MeOH/H₂O)

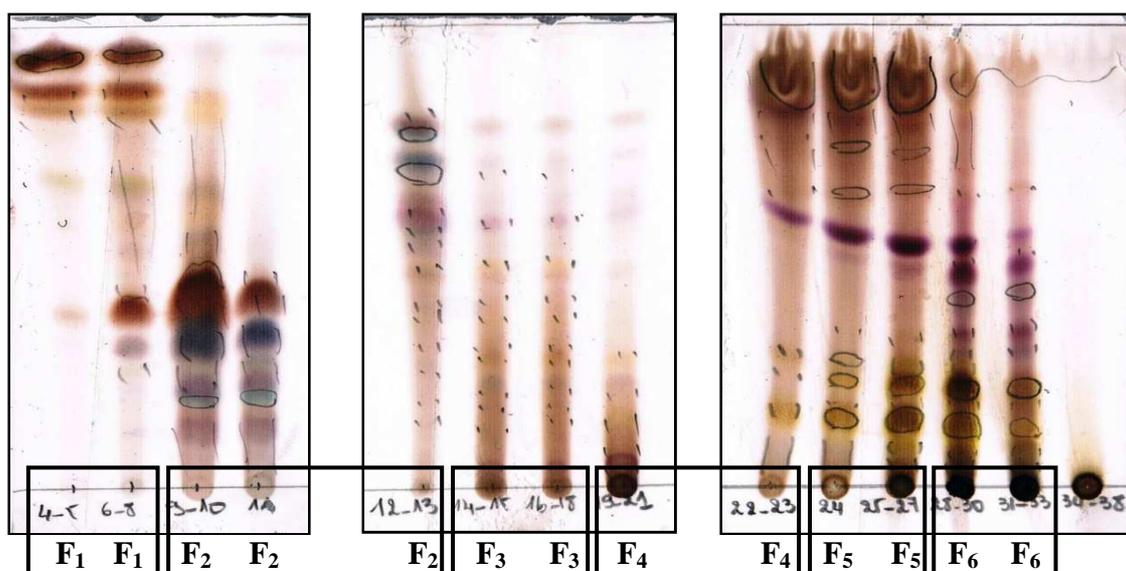


Figure II. 2. 2. 1. CCM en phase normale des fractions de la VLC de l'extrait acétonique

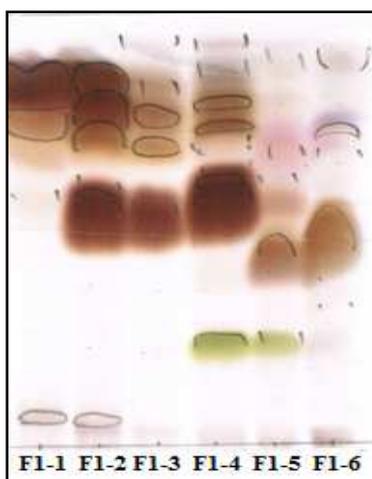
◆ Fraction F₁

La fraction F₁ (989 mg) a subi un fractionnement par chromatographie sur colonne de gel de silice en phase normale éluee par le mélange de solvants hexane/CH₂Cl₂ (100-0) → (0-100) (tableau II. 2. 2. 2) pour aboutir à 6 sous fractions F₁₋₁ à F₁₋₆ (figure II. 2. 2. 2).

Tableau II. 2. 2. 2. Progression de la colonne de la fraction F₁

Eluant	Fractions regroupées	Masse	Eluant	Fractions regroupées	Masse
Toluène-MeOH (100-0)	F ₁₋₁	172,4 mg	Toluène -MeOH (70-30)	F ₁₋₄	200 mg
Toluène -MeOH (99-1)			Toluène -MeOH (60-40)		
Toluène -MeOH (97-3)	F ₁₋₂	182 mg	Toluène -MeOH (50-50)	F ₁₋₅	85,5 mg
Toluène -MeOH (95-5)			Toluène -MeOH (40-60)		
Toluène -MeOH (90-10)	F ₁₋₃	218 mg	Toluène -MeOH (30-70)	F ₁₋₆	100 mg
Toluène -MeOH (85-15)			Toluène -MeOH (20-80)		
Toluène -MeOH (80-20)			Toluène -MeOH (0-100)		

30% (cyclohexane/toluène)
Révélateur: Solution acide

Figure II. 2. 2. 2. CCM en phase normale des sous fractions de F₁

Les sous fractions F₁₋₁ et F₁₋₂, montrant un profil presque similaire sur CCM, sont regroupées pour donner une masse de 354,4 mg. Cette dernière est traitée par une chromatographie sur colonne de gel de silice éluee par le système de solvants cyclohexane/toluène (100-0, 99-1, 97-3, 95-5, 90-10, 85-15, 80-20, 70-30 et 65-35) fournissant le composé EP2 (15 mg) (figure II. 2. 2. 3) à l'état pur avec plusieurs d'autres sous fractions.

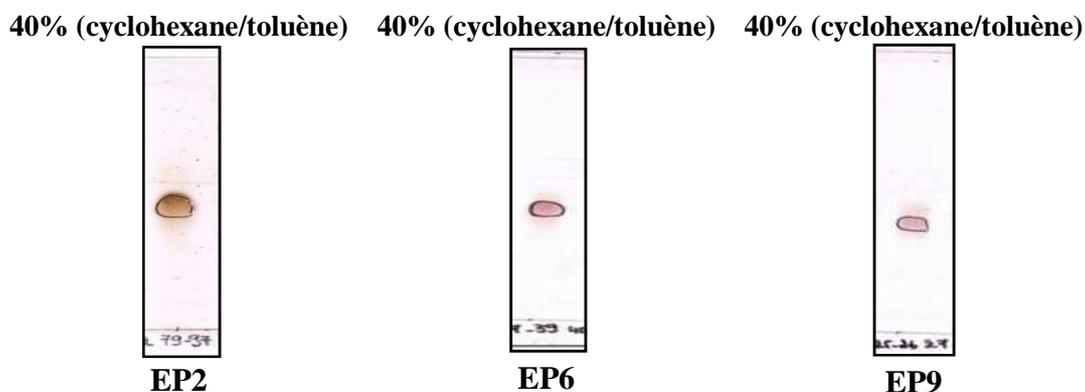


Figure II. 2. 2. 3. CCM en phase normale des composés EP2, EP6 et EP9

Cette étape de purification est suivie d'une autre CC de SiO₂ dans le même système de solvants puis une chromatographie sur couche épaisse de gel de silice en phase normale dans 40% cyclohexane/toluène pour donner les composés **EP6** (9 mg) et **EP9** (7,4 mg) (figure II. 2. 2. 3).

Pour la sous fraction **F_{1,3}** (218 mg), elle a fait l'objet d'une chromatographie sur colonne de SiO₂ par le mélange de solvants cyclohexane/toluène (100-0, 99-1, 97-3, 95-5, 90-10, 85-15, 80-20, 70-30 et 60-40), suivie d'une filtration sur une colonne de Sephadex LH-20 éluée par CH₂Cl₂. Ceci a conduit à l'isolement des composés **EP1** (12 mg) et **EP3** (8 mg) (figure II. 2. 2. 4).

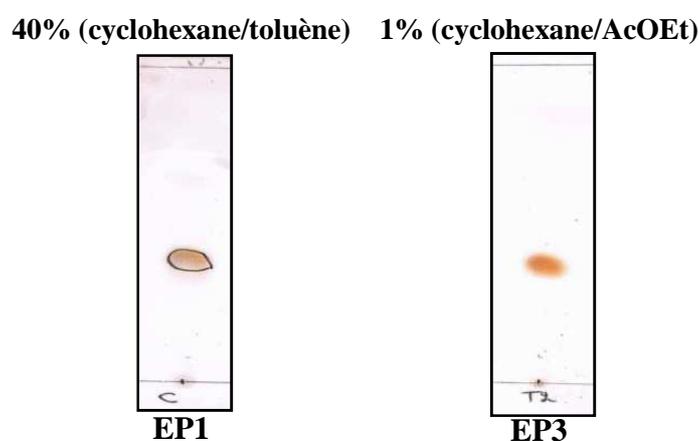


Figure II. 2. 2. 4. CCM en phase normale des composés EP1 et EP3

◆ Fraction F₂

Cette fraction d'une masse de 1,365 g est séparée par chromatographie sur colonne de gel de silice en phase normale utilisant un système d'éluion cyclohexane/AcOEt (Tableau II. 2. 2. 3) pour fournir 6 sous fractions de F₂₋₁ jusqu'à F₂₋₆ (figure II. 2. 2. 5).

Tableau II. 2. 2. 3. Progression de la colonne de la fraction F₂

Eluant	Fractions regroupées	Masse	Eluant	Fractions regroupées	Masse
Cyclohexane-AcOEt (100-0)	F ₂₋₁	400,5 mg	Cyclohexane-AcOEt (70-30)	F ₂₋₄	60,8 mg
Cyclohexane-AcOEt (99-1)			Cyclohexane-AcOEt (60-40)		
Cyclohexane-AcOEt (97-3)	F ₂₋₂	380,3 mg	Cyclohexane-AcOEt (50-50)		
Cyclohexane-AcOEt (95-5)			Cyclohexane-AcOEt (40-60)		
Cyclohexane-AcOEt (90-10)			Cyclohexane-AcOEt (30-70)	F ₂₋₅	372,6 mg
Cyclohexane-AcOEt (85-15)	F ₂₋₃	95,4 mg	Cyclohexane-AcOEt (20-80)	F ₂₋₆	8 mg
Cyclohexane-AcOEt (80-20)			Cyclohexane-AcOEt (0-100)		

15% (cyclohexane/AcOEt)

Révélateur: Solution acide

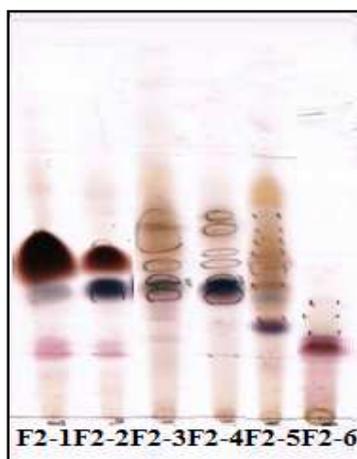


Figure II. 2. 2. 5. CCM en phase normale des sous fractions de F₂

La sous fraction F_{2,1} (400,5 mg) a fait l'objet de deux chromatographies successives sur colonne de gel de silice éluée par le système de solvants hexane/CH₂Cl₂ (100-0, 99-1, 97-3, 95-5, 90-10, 85-15, 80-20, 70-30, 60-40, 50-50, 40-60, 30-70, 20-80 et 0-100) puis une filtration sur colonne de Sephadex (CH₂Cl₂) pour aboutir aux composés **EP4** (20 mg) et **EP7** (45 mg) (figure II. 2. 2. 6).

15% (cyclohexane/AcOEt)



EP4

15% (cyclohexane/AcOEt)



EP7

Figure II. 2. 2. 6. CCM en phase normale des composés EP4 et EP7

La sous fraction F_{2,4} (380,3 mg) est soumise, elle aussi, à deux CC successives de gel de silice en phase normale utilisant le mélange cyclohexane/AcOEt comme éluant à différents gradients (100-0, 99-1, 97-3, 95-5, 90-10, 85-15, 80-20, 70-30 et 60-40), ce qui a permis d'isoler 10 mg du composé **EP12** et plusieurs fractions. Ces fractions ont fait l'objet de plusieurs filtrations sur colonne de Sephadex dans le CH₂Cl₂ conduisant aux composés **EP10** (21 mg) et **EP11** (19 mg) (figure II. 2. 2. 7).

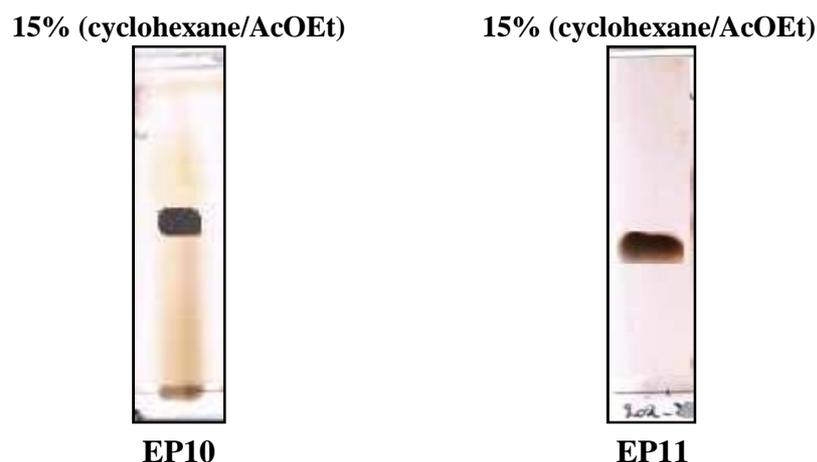


Figure II. 2. 2. 7. CCM en phase normale des composés EP10 et EP11

L'avant dernière sous fraction $F_{2.5}$ d'une masse de 372,6 mg a été l'objet de plusieurs purifications sur CC SiO₂ éluées par le système cyclohexane/AcOEt (100-0, 99-1, 97-3, 95-5, 90-10, 85-15, 80-20, 70-30, 60-40, 30-70, 20-80 et 0-100) donnant les composés **EP5** (10 mg) et **EP8** (15 mg) (figure II. 2. 2. 8).

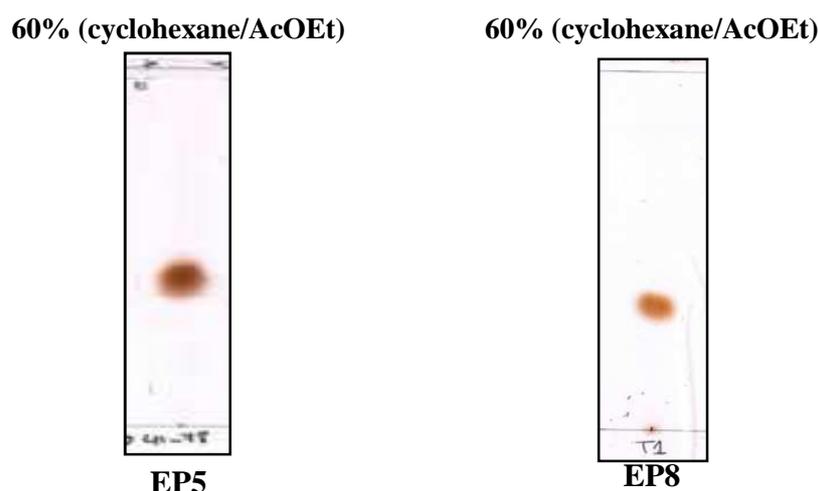


Figure II. 2. 2. 8. CCM en phase normale des composés EP5 et EP8

◆ Fraction F₄

Quatre sous fractions ($F_{4.1} \rightarrow F_{4.4}$) (figure II. 2. 2. 9) ont été obtenues après un fractionnement de **F₄** (878,5 mg) par une chromatographie sur colonne de gel de silice en phase normale élue par le système de solvants CH₂Cl₂/MeOH à différents gradients (100-0) \rightarrow (50-50) (Tableau II. 2. 2. 4).

Tableau II. 2. 2. 4. Progression de la colonne de la fraction F₄

Eluant	Fractions regroupées	Masse	Eluant	Fractions regroupées	Masse
CH ₂ Cl ₂ -MeOH (100-0)	F _{4.1}	231,3 mg	CH ₂ Cl ₂ -MeOH (80-20)	F _{4.3}	124,2 mg
CH ₂ Cl ₂ -MeOH (99-1)			CH ₂ Cl ₂ -MeOH (70-30)		
CH ₂ Cl ₂ -MeOH (95-5)	F _{4.2}	56,3 mg	CH ₂ Cl ₂ -MeOH (60-40)		
CH ₂ Cl ₂ -MeOH (90-10)			CH ₂ Cl ₂ -MeOH (50-50)	F _{4.4}	100,5 mg

15% (CHCl₃/MeOH)
Révélateur: Solution acide

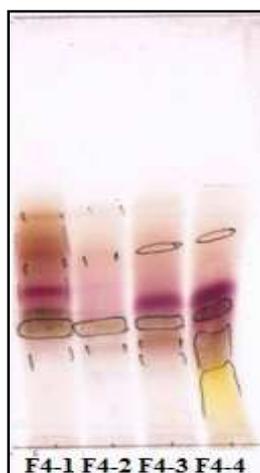


Figure II. 2. 2. 9. CCM en phase normale des sous fractions de F₄

La première sous fraction F₄₋₁ d'une masse de 231,3 mg a subi une purification sur CC gel de silice en phase normale éluée par le mélange CHCl₃/MeOH (100-0) → (0-100). La recristallisation dans le méthanol de l'une des sous fractions récoltées conduit à l'isolement du composé **EP13** (16 mg). Aussi, la filtration d'une autre sous fraction sur CC Sephadex éluée par CHCl₃ a permis d'isoler 10 mg du composé **EP14** (figure II. 2. 2. 10).

Alors que, la purification de la dernière sous fraction F₄₋₄ (100,5 mg) a été réalisée par une CC de gel de silice en phase normale éluée par CHCl₃/MeOH à différents gradients (100-0) → (0-100), suivie d'une filtration sur colonne de Sephadex (CHCl₃) pour donner 9,3 mg du composé **EP15** (figure II. 2. 2. 10).

20% (CHCl₃/MeOH)



EP14

(8-2-0,2) (CHCl₃/MeOH/H₂O)



EP15

Figure II. 2. 2. 10. CCM en phase normale des composés EP14 et EP15

II. 2. 3. Composés isolés de l'espèce *Euphorbia pterococca* Brot.

II. 2. 3. 1. Composé EP1

- **Nom** : Cycloartényl-2'(E),4'(E)-décadiénoate
- **Formule brute** : C₄₀H₆₄O₂
- **Aspect** : Huile jaune
- $[\alpha]_D = +46,1$, c = 1,9, CHCl₃
- **MS** : ESI-MS mode positif
 $m/z = 599,3$ [M+Na]⁺
- **RMN ¹H** : 500 MHz, CDCl₃
- **RMN ¹³C** : 125 MHz, CDCl₃

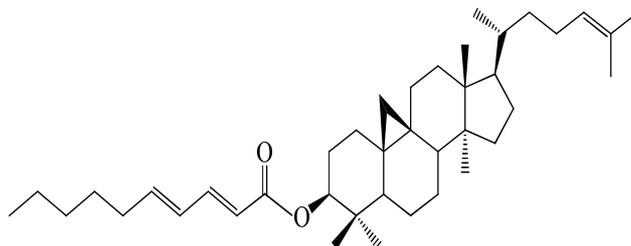


Tableau des données : II. 1. 3. 1, page 275

II. 2. 3. 2. Composé EP2

- **Nom** : Cycloartényl-2'(E),4'(Z)-décadiénoate
- **Formule brute** : C₄₀H₆₄O₂
- **Aspect** : Huile incolore
- $[\alpha]_D = +44,8$, c = 2, CHCl₃
- **MS** : ESI-MS mode positif
 $m/z = 599,3$ [M+Na]⁺
- **RMN ¹H** : 500 MHz, CDCl₃
- **RMN ¹³C** : 125 MHz, CDCl₃

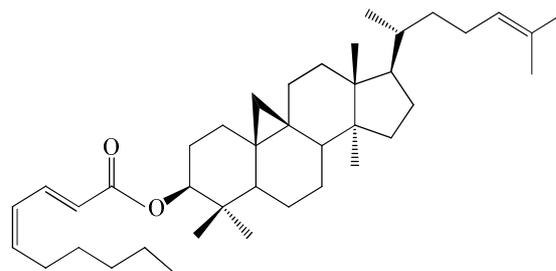


Tableau des données : II. 1. 3. 2, pages 281-282

II. 2. 3. 3. Composé EP3

- **Nom** : Cycloartényl acétate
- **Formule brute** : C₃₂H₅₂O₂
- **Aspect** : Huile jaune
- $[\alpha]_D = +55$, c = 1,8, CHCl₃
- **MS** : ESI-MS mode positif
 $m/z = 491,7$ [M+Na]⁺
- **RMN ¹H** : 500 MHz, CDCl₃
- **RMN ¹³C** : 125 MHz, CDCl₃

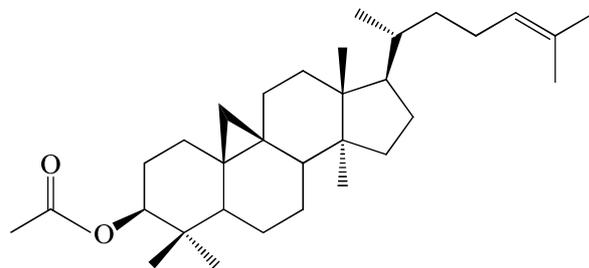


Tableau des données : II. 1. 3. 3, pages 286-287

II. 2. 3. 4. Composé EP4

- **Nom** : Cycloarténol
- **Formule brute** : C₃₀H₅₀O
- **Aspect** : Huile incolore
- **[α]_D** = + 47, c = 0,5, CHCl₃
- **MS** : EI-MS

$$m/z = 426,4 [M]^+$$

- **RMN ¹H** : 500 MHz, CDCl₃
- **RMN ¹³C** : 125 MHz, CDCl₃

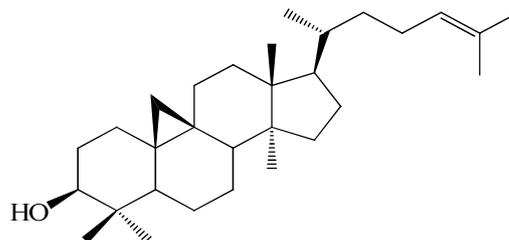


Tableau des données : II. 1. 3. 4, pages 291-292

II. 2. 3. 5. Composé EP5

- **Nom** : Cycloarténone
- **Formule brute** : C₃₀H₄₈O
- **Aspect** : Huile incolore
- **[α]_D** = +23,9, c = 4,1, CHCl₃
- **MS** : ESI-MS mode positif

$$m/z = 447,1 [M+Na]^+$$

- **RMN ¹H** : 500 MHz, CDCl₃
- **RMN ¹³C** : 125 MHz, CDCl₃

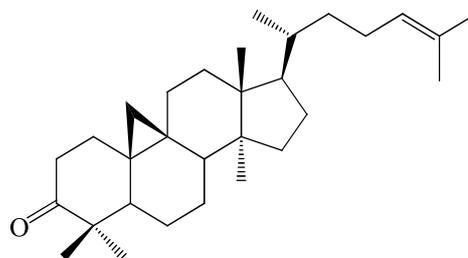


Tableau des données : II. 1. 3. 5, pages 297-298

II. 2. 3. 6. Composé EP6

- **Nom** : 24-méthylèncycloartanyl-2'(E),4'(Z)-tetradécadiénoate
- **Formule brute** : C₄₅H₇₄O₂
- **Aspect** : Huile incolore
- **[α]_D** = +41,1, c = 1, CHCl₃
- **MS** : ESI-MS mode positif

$$m/z = 669,2 [M+Na]^+$$

- **RMN ¹H** : 500 MHz, CDCl₃
- **RMN ¹³C** : 125 MHz, CDCl₃

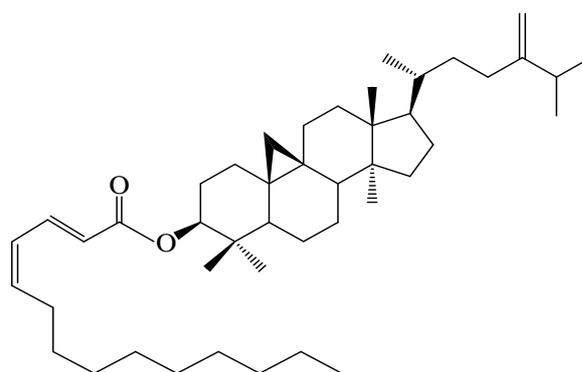


Tableau des données : II. 1. 3. 6, pages 303-304

II. 2. 3. 7. Composé EP7

- **Nom** : 24-méthylèncycloartanol
- **Formule brute** : C₃₁H₅₂O
- **Aspect** : Poudre blanche
- **[α]_D** = + 41, c = 1, CHCl₃
- **MS** : ESI-MS mode négatif
 $m/z = 339,3 [M-H]^-$
- **RMN ¹H** : 500 MHz, CDCl₃
- **RMN ¹³C** : 125 MHz, CDCl₃

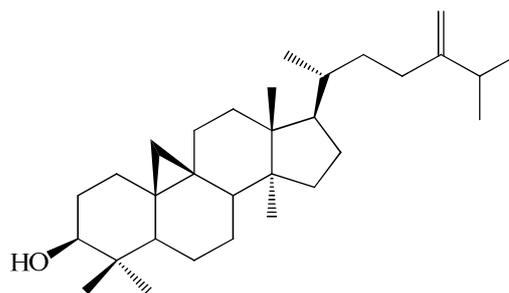


Tableau des données : II. 1. 3. 7, pages 308-309

II. 2. 3. 8. Composé EP8

- **Nom** : 24-méthylèncycloartanone
- **Formule brute** : C₃₁H₅₀O
- **Aspect** : Poudre blanche
- **[α]_D** = + 16,4, c = 0,4, CHCl₃
- **MS** : EI-MS
 $m/z = 438,4 [M]^+$
- **RMN ¹H** : 500 MHz, CDCl₃
- **RMN ¹³C** : 125 MHz, CDCl₃

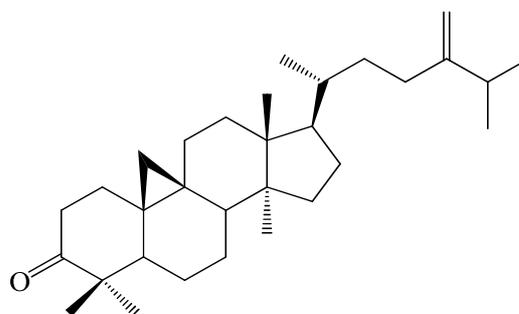


Tableau des données : II. 1. 3. 8, pages 312-313

II. 2. 3. 9. Composé EP9

- **Nom** : 24-oxo-29-norcycloartanyl-
2'(E),4'(Z)-hexadécadiénoate
- **Formule brute** : C₄₅H₇₄O₃
- **Aspect** : Huile incolore
- **[α]_D** = +43,2, c = 0,2, CHCl₃
- **MS** : ESI-MS mode positif
 $m/z = 685,4 [M+Na]^+$
- **RMN ¹H** : 500 MHz, CDCl₃
- **RMN ¹³C** : 125 MHz, CDCl₃

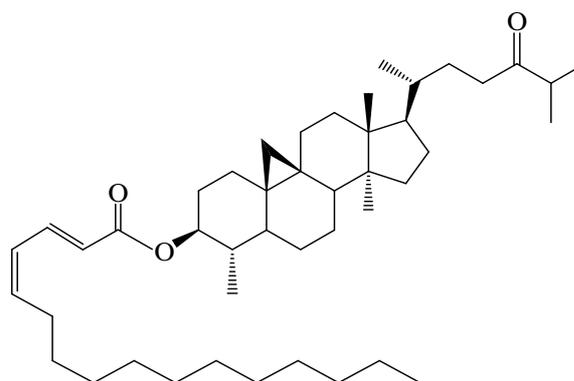


Tableau des données : II. 1. 3. 9, pages 318-319

II. 2. 3. 10. Composé EP10

- **Nom** : Cycloeucalénol
- **Formule brute** : C₃₀H₅₀O
- **Aspect** : Poudre blanche
- **[α]_D** = + 44,8, c = 0,5, CHCl₃
- **MS** : ESI-MS mode positif
 $m/z = 449,5 [M+Na]^+$
 $m/z = 472,5 [M+2Na]^+$
- **RMN ¹H** : 500 MHz, CDCl₃
- **RMN ¹³C** : 125 MHz, CDCl₃

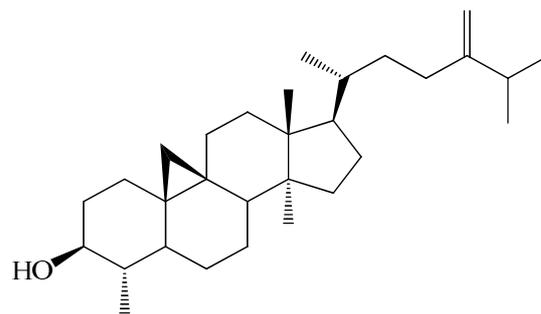


Tableau des données : II. 1. 3. 10, page 322

II. 2. 3. 11. Composé EP11

- **Nom** : Obtusifoliol
- **Formule brute** : C₃₀H₅₀O
- **Aspect** : Poudre blanche
- **[α]_D** = + 73, c = 1, CHCl₃
- **MS** : ESI-MS mode positif
 $m/z = 449,4 [M+Na]^+$
- **RMN ¹H** : 500 MHz, CDCl₃
- **RMN ¹³C** : 125 MHz, CDCl₃

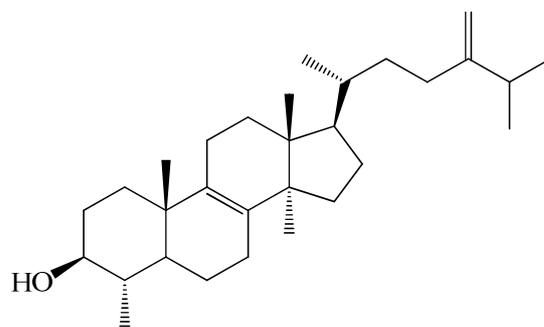


Tableau des données : II. 1. 3. 11, pages 327-328

II. 2. 3. 12. Composé EP12

- **Nom** : β-sitostérol
- **Formule brute** : C₂₉H₅₀O
- **Aspect** : Poudre blanche
- **RMN ¹H** : 600 MHz, CDCl₃
- **RMN ¹³C** : 150 MHz, CDCl₃

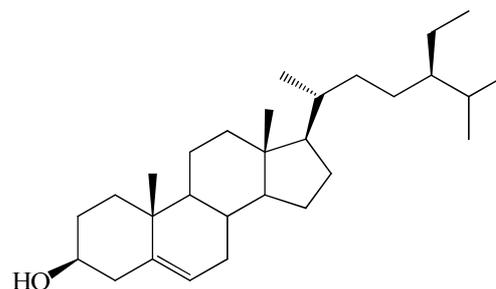


Tableau des données : I. 1. 3. 26, page 242

II. 2. 3. 13. Composé EP13

- **Nom** : Daucostérol
- **Formule brute** : $C_{35}H_{60}O_6$
- **Aspect** : Cristaux blancs
- $[\alpha]_D = + 47$, $c = 0,5$, $CHCl_3$
- **RMN 1H** : 600 MHz, $CDCl_3$
- **RMN ^{13}C** : 150 MHz, $CDCl_3$

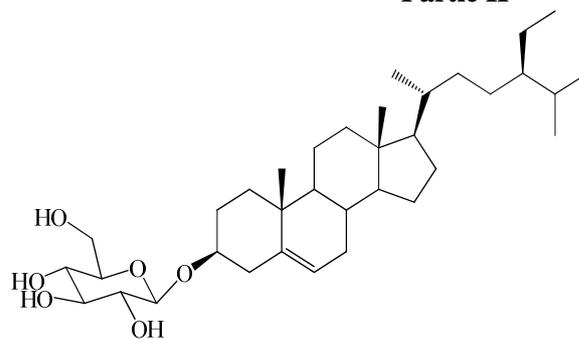


Tableau des données : I. 1. 3. 26, page 242

II. 2. 3. 14. Composé EP14

- **Nom** : Méthyl gallate
- **Formule brute** : $C_8H_8O_5$
- **Aspect** : Cristaux marron
- **MS** : ESI-MS mode positif
 $m/z = 207,5 [M+Na]^+$
- **RMN 1H** : 500 MHz, MeOH
- **RMN ^{13}C** : 125 MHz, MeOH

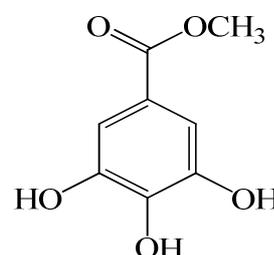


Tableau des données : II. 1. 3. 12, page 331

II. 2. 3. 15. Composé EP15

- **Nom** : Phloroacétophénone 4-O- β -D-glucopyranoside
- **Formule brute** : $C_{14}H_{18}O_9$
- **Aspect** : Poudre marron
- $[\alpha]_D = + 23$, $c = 1,2$, MeOH
- **MS** : ESI-MS mode positif
 $m/z = 353,2 [M+Na]^+$
- **RMN 1H** : 500 MHz, MeOH
- **RMN ^{13}C** : 125 MHz, MeOH

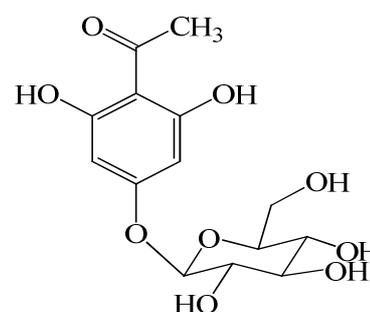
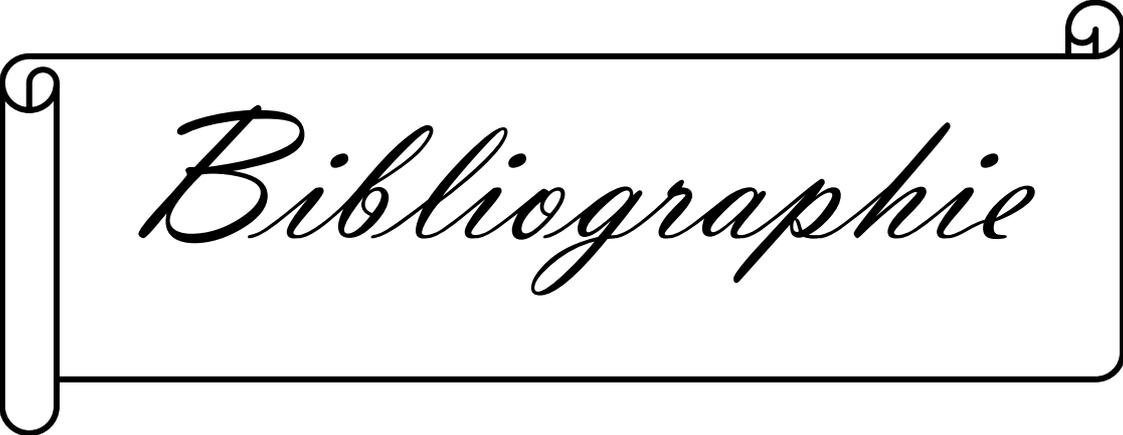


Tableau des données : II. 1. 3. 13, page 337



Bibliographie

Bibliographie

- [1] J. A. Duke, E. S. Ayensu (1985). Medicinal plants of China. Vol. 2, INC, Algonac, USA.
- [2] J. T. Baker, R. P. Borris, B. Carte, G. A. Cordell, D. D. Soejarto, G. M. Cragg, M. P. Gupta, M. W. Iwu, D. R. Madulid, V. E. Tyler (1995). Natural products drugs discovery and development new perspectives on international collaboration. *Journal of Natural Products*, 58: 1325-1357.
- [3] M. F. Mohmoodally (2013). Traditional medicines in Africa: an appraisal of ten potent African medicinal plants. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 6: 1-14.
- [4] N. Verlet (1990). New markets for herbs in France and Europe. *The Herb Spice and Medicinal Plant Digest*, 8: 1-5.
- [5] M. F. Balandrin, A. D. Kinghorn, N. R. Farnsworth (1993). Human medicinal agents from plants (Plant-derived natural products in drug discovery and development). *American Chemical Society, San Francisco, CA, USA*
- [6] R. Verpoorte (1998). Exploration of nature's chemodiversity: the role of secondary metabolites as lead for drug development. *Drug Development Today*, 3: 232-238.
- [7] J. Bellakhdar (2008). Hommes et plantes au Maghreb: Eléments pour une méthode ethnobotanique. *Edition Metz, Plurimondes, France*.
- [8] 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.
- [9] P. Proksch, P. G. Gulz (1984). Methylated flavonoids from *Cistus ladanifer* and *Cistus palhinhae* and their taxonomic implications. *Phytochemistry*, 23: 470-471.
- [10] 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.
- [11] E. Kalpoutzakis, N. Aligiannis, A. L. Skaltsounis, S. Mitakou (2003). *Cis*-clerodane type diterpenes from *Cistus monspeliensis*. *Journal of Natural Products*, 66: 316-319.
- [12] D. Angelopoulou, C. Demetzos, D. Perdetzoglou (2002). Diurnal and seasonal variation of the essential oil labdanes and clerodanes from *Cistus monspeliensis* L. leaves. *Biochemical Systematic and Ecology*, 30: 189-203.
- [13] C. Robles, S. Garzino (2000). Intraspecific variability in the essential oil composition

- of *Cistus monspeliensis* leaves. *Phytochemistry*, 53: 71-75.
- [14] J. Llusia, J. Penuelas (1998). Changes in terpene content and emission in potted Mediterranean woody plants under severe drought. *Canadian Journal of Botany*, 76: 1366-1373.
- [15] J. Penuelas, J. Llusia (2001). Seasonal patterns of non-terpenoid C6-C10 VOC emission from seven Mediterranean woody species. *Chemosphere*, 45: 237-244.
- [16] C. Robles, S. Garzino (1998). Essential oil composition of *Cistus albidus* leaves. *Phytochemistry*, 48: 1341-1345.
- [17] D. Angelopoulou, C. Demetzos, D. Perdetzoglou (2001). An interpopulation study of the essential oils of *Cistus parviflorus* L. growing in Crete (Greece). *Biochemical Systematic and Ecology*, 29: 405-415.
- [18] E. B. Catalan, S. F. Arroyo, D. Saura, E. Guillén, A. Fernandez, A. S. 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.
- [19] M. Benjemia, M. E. Kchouk, F. Senator, G. Autore, S. Marzocco, V. Defeo, M. Bruno (2013). Antiproliferative activity of hexane extract from Tunisian *Cistus libanotis*, *Cistus monspeliensis* and *Cistus villosus*. *Chemistry Central Journal*, 7: 47-53.
- [20] L. M. Bedoya, P. Bermejo, M. J. Abad (2009). Anti-infectious activity in the Cistaceae family in the Iberian Peninsula. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 9: 519-525.
- [21] E. Kupeli, E. Yesilada (2007). Flavonoids with anti-inflammatory and antinociceptive activity from *Cistus laurifolius* L. leaves through bioassay-guides procedures. *Journal of Ethnopharmacology*, 112: 524-530.
- [22] P. Ozenda (1991). Flore et végétation du Sahara. *Edition CNRS, Paris, France*.
- [23] H. Haba, C. Lavaud, H. Harkat, A. A. Magid, L. Marcourt, M. Benkhaled (2007). Diterpenoids and triterpenoids from *Euphorbia guyoniana*. *Phytochemistry*, 68: 1255-1260.
- [24] H. Haba, C. Lavaud, L. Marcourt, C. Long, H. Harkat, M. Benkhaled (2009). *Ent*-abietane diterpenoids from *Euphorbia guyoniana* Boiss. & Reut. *Biochemical Systematics and Ecology*, 37: 504-508.
- [25] H. Haba, C. Lavaud, A. A. Magid, M. Benkhaled (2009). Diterpenoids and triterpenoids from *Euphorbia retusa*. *Journal of Natural Products*, 72: 1258-1264.
- [26] H. Haba, L. Marcourt, M. Benkhaled, C. Long (2013). Minor *Ent*-abietane

- diterpenoids from *Euphorbia guyoniana*. *Natural Product communications*, 8: 1519-1522.
- [27] S. Aichour, H. Haba, M. Benkhaled, D. Harakat, C. Lavaud (2014). Terpenoids and other constituents from *Euphorbia bupleuroides*. *Phytochemistry Letters*, 10: 198-203.
- [28] B. Oliver (1960). Medicinal plants in Nigeria. *Nigerian College of Arts, Science and Technology, Lagos, Nigeria*.
- [29] K. K. Ajibesin, B. A. Ekpo, D. N. Bala, E. E. Essien, S. A. Adesanya (2008). Ethnobotanical survey of Akwa Ibom State of Nigeria. *Journal of Ethnopharmacology*, 115: 387-408.
- [30] U. A. Essiett, K. K. Ajibesin (2010). Antimicrobial activities of some Euphorbiaceae plants used in the traditional medicine of Akwa Ibom. *Ethnobotanical Leaflets*, 14: 654-664.
- [31] 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.
- [32] N. B. Ermeli, S. G. Alsabri, S. M. Bensaber, B. S. Mohamed, A. A. Zetrini, K. M. Aburas, S. R. Fitouri, M. I. Jaeda, I. A. Mrema, A. Hermann, A. M. Gbaj (2012). Screening of analgesic and anti-inflammatory activities for two Libyan medicinal plants: *Helianthemum lippii* and *Launaea residifolia*. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 4: 4201-4205.
- [33] A. D. Kinghorn (2013). Toxic plants. *Columbia University Press, USA*.
- [34] D. J. Mabberly (1997). The plant-book: A portable dictionary of the vascular plants. *Second edition, Cambridge University press, England*.
- [35] W. S. Judd, C. S. Campbell, E. A. Kellagg, P. Stevens (2002). Botanique systématique: Une perspective phylogénétique. *Edition 1, Boeck Université, Paris, France*.
- [36] C. Raynaud (1985). Contribution à l'étude de certaines espèces du genre *Helianthemum* SECT. *Helianthemum*. Note préliminaire. *Anales Jardin Botanique de Madrid*, 41: 303-311.
- [37] G. Hom (1817). Nouveau dictionnaire d'histoire naturelle, appliquée aux arts, à l'agriculture, à l'économie rurale et domestique, à la médecine. *Edition 14, l'imprimerie d'Abel Lanoe, Paris, France*.
- [38] M. E. Spach (1846). Histoire naturelle des végétaux phanérogames. *Librairie encyclopédique de Roret, Vol. 12, Paris, France*.

- [39] M. Botineau (2010). Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. *Edition TEC et DOC, Lavoisier, France.*
- [40] E. Le Floch (1983). Contribution à une étude ethnobotanique de la flore tunisienne. *Imprimerie officielle de la république tunisienne, Tunis, Tunisie.*
- [41] J. A. Battandier, M. Trabut (1888). Flore de l'Algérie dicotylédones. *Librairie F. Savy, Paris, France.*
- [42] G. E. Wickens (1998). Ecophysiology of economic plants in arid and semi-arid lands. *Springer Science and Business Media, Berlin, Germany.*
- [43] S. A. Ghazanfar, M. Fischer (1998). Vegetation of the Arabian Peninsula. *Kluwer academic publishers, USA*
- [44] M. A. Zahran, A. J. Willis (2009). The vegetation of Egypt. *Springer Science and Business Media, Berlin, Germany.*
- [45] I. Yeruham, U. Orgad, Y. Avidar, S. Perl, M. Liberboim, H. Adler, A. Shlosberg (2002). A urinary retention syndrome in beef cows probably caused by ingestion of *Cistus salvifolius*. *Revue de Médecine vétérinaire*, 153: 627-632.
- [46] C. Kazi-Tani (2014). Les plantes dangereuses pour le bétail : Une première synthèse pour la flore d'Algérie. *Fourrages*, 217: 105-114.
- [47] J. Bellakhder (1997). La pharmacopée Marocaine traditionnelle. *Press IBIS, France.*
- [48] A. A. Alzetrini, S. A. Mohamed, S. J. Alsabri, A. A. Elkilany, F. M. Sherif, A. M. Gbaj (2009). *Helianthemum virgatum* has analgesic-like effect in Mice. *Libyan Journal of Medical research*, 6: 14-15.
- [49] M. Gonnet (1968). Propriétés phytoinhibitrices de quelques substances extraites de la colonie d'abeilles (*Apis mellifica* L.). *Anne Abeille*, 11: 41-47.
- [50] D. Rivera, C. Obon, C. Inocencio, M. Heinrich, A. Verde, J. Fajardo, R. Llorach (2005). The ethnobotanical study of local Mediterranean food plants as medicinal resources in southern Spain. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 56: 97-114.
- [51] M. Meckes, F. Calzada, A. T. Contreras, R. C. Rivera (1999). Antiprotozal properties of *Helianthemum glomeratum*. *Phytotherapy research*, 13: 102-105.
- [52] M. Meckes, J. Torres, F. Calzada, J. Rivera, M. Camorlinga, H. Lemus, G. Rodriguez (1997). Antibacterial properties of *Helianthemum glomeratum*, a plant used in Maya traditional medicine to treat diarrhoea. *Phytotherapy research*, 11: 128-131.
- [53] E. Barbosa, F. Calzada, R. Campos (2006). Antigiardial activity of methanolic extracts from *Helianthemum glomeratum* Lag. and *Rubus coriifolius* Foche in suckling mice CD-1. *Journal of Ethnopharmacology*, 108: 395-397.

- [54] P. Quezel, S. Santa (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. *Edition CNRS, Vol. 2, Paris, France.*
- [55] A. Hamza, L. Hamraoui, M. Hanana, F. Hamza, G. Maher, M. Neffati (2012). *In vitro* micropropagation of *Helianthemum lippii* var. *sessiliflorum* (Cistaceae): A valuable pastoral plant. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 11: 652-655.
- [56] T. Turgeman, J. Ben Asher, N. R. Bejerano, V. K. Zur, Y. Kapulnik, Y. Sitrit (2011). Mycorrhizal association between the desert truffle *Terfezia boudieri* and *Helianthemum sessiliflorum* alters plant physiology and fitness to arid conditions. *Mycorrhiza*, 21: 623-630.
- [57] C. Drénou (2006). Les racines : Face cache des arbres. *Edition institut pour le développement forestier CNPPF, Paris, France.*
- [58] A. Navarro-Rodenas, M. C. Lazano-Carrillo, M. Pérez-Gilabert, A. Morte (2011). Effect of water stress *in vitro* mycelium cultures of two Mycorrhizal desert truffles. *Mycorrhiza*, 21: 247-253.
- [59] D. Papaefthimiou, A. Papanikolaou, V. Falara, S. Givanoudi, S. Kostas, A. K. Kanellis (2014). Genus *Cistus*: a model for exploring labdane-type diterpenes' biosynthesis and a natural source of high value products with biological, aromatic, and pharmacological properties. *Frontiers in Chemistry*, 2: 1-19.
- [60] T. Vogt, P. Proksch, P. G. Gulz, E. Wollenweber (1987). Rare 6- and 8-*O*-methylated epicuticular flavonols from two *Cistus* species. *Phytochemistry*, 26: 1027-1030.
- [61] J. Rose (1992). The aromatherapy book: Applications and inhalations. *North Atlantic Book, Berkeley, California, USA*
- [62] T. J. De Pascual, I. S. Bellido, P. Basabe, I. S. Marcos, L. F. Ruano, J. G. Urones (1982). Labdane diterpenoide from *Cistus ladaniferus*. *Phytochemistry*, 21: 899-901.
- [63] 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.
- [64] T. Vogt, P. G. Gulz (1994). Accumulation of flavonoids during leaf development in *Cistus laurifolius*. *Phytochemistry*, 36: 591-597.
- [65] T. Vogt, P. G. Gulz, V. Wray (1988). Epicuticular 5-*O*-methyl flavonols from *Cistus laurifolius*. *Phytochemistry*, 27: 3712-3713.
- [66] 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: 457-461.
- [67] T. J. De Pascual, J. G. Urones, I. S. Marcos, F. Bermejo, P. Basabe (1983). A rearranged labdane: Salmantic acid from *Cistus laurifolius*. *Phytochemistry*, 22: 2783-2785.
- [68] T. J. De Pascual, J. G. Urones, I. S. Marcos, P. B. Barcala, N. M. Garrido (1986). Diterpenoid and other components of *Cistus laurifolius*. *Phytochemistry*, 25: 1185-1187.
- [69] A. Kolocouris, T. Mavromoustakos, C. Demetzos, A. Teris, S. G. Grdadolnik (2001). Structure elucidation and conformational properties of a novel bioactive clerodane diterpene using a combination of high field NMR spectroscopy, computational analysis and X-ray diffraction. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 11: 837-840.
- [70] C. Demetzos, S. Mitaku, A. L. Skaltsounis, M. Couladis, C. Harvala, F. Libot (1994). Diterpene esters of malonic acid from the resin Ladano of *Cistus creticus*. *Phytochemistry*, 35: 979-981.
- [71] T. Anastassaki, C. Demetzos, D. Perdetzoglou, M. Gazouli, A. Loukis, C. Harvala (1999). Analysis of labdane type diterpenes from *Cistus creticus* (subsp. *creticus* and subsp. *eriocephalus*) by GC and GC-MS. *Planta Medica*, 65: 735-739.
- [72] C. Demetzos, T. Anastassaki, D. Perdetzoglou (2002). A chemometric interpopulation of the essential oils of *Cistus creticus* L. growing in Crete (Greece). *Zeitschrift Fur Naturforschung*, 57: 89-94.
- [73] T. J. De Pascual, J. G. Urones, I. S. Marcos, L. Nunez, P. Basabe (1983). Diterpenoids and flavonoids from *Cistus palinhae*. *Phytochemistry*, 22: 2805-2808.
- [74] 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*, 38: 443-445.
- [75] M. T. Calabuig, M. Cortes, C. G. Francisco, R. Hernandez, E. Suarez (1981). Labdane diterpenes from *Cistus symphytifolius*. *Phytochemistry*, 20: 2255-2258.
- [76] T. J. De Pascual, J. G. Urones, P. Basabe, J. A. Pinto del Rey (1978). Components de *Cistus albidus* L.. *Anales de Quimica*, 74: 345-350.
- [77] C. Demetzos, D. Angelopoulou, D. Perdetzoglou (2002). A comparative study of the essential oil of *Cistus salvifolius* in several populations of Crete (Greece). *Biochemical Systematics and Ecology*, 30: 651-665.
- [78] A. Danne, F. Petereit, A. Nahrstedt (1994). Flavan-3-ols, prodelphinidins and further

- polyphenols from *Cistus salvifolius*. *Phytochemistry*, 37: 533-538.
- [79] F. Qa'Dan, A. Nahrstedt, M. Schmidt (2011). Isolation of two new bioactive proanthocyanidins from *Cistus salvifolius* herb extract. *Pharmazie*, 66: 454-457.
- [80] C. Kuhn, N. E. Arapogianni, M. Halabalaki, J. Hempel, N. Hunger, J. Wober, A. L. Skaltsounis, G. Vollmer (2011). Constituents from *Cistus salvifolius* (Cistaceae) activate peroxisome proliferator-activated receptor- γ but not $-\delta$ and stimulate glucose uptake by adipocytes. *Planta Medica*, 77: 346-353.
- [81] F. Petereit, H. Kolodziej, A. Nahrstedt (1991). Flavan-3-ols and proanthocyanidins from *Cistus incanus*. *Phytochemistry*, 30: 981-985.
- [82] N. A. Santagati, L. Salerno, G. Attaguile, F. Savoca, G. Ronsisvalle (2008). Simultaneous determination of Catechins, Rutin and Gallic acid in *Cistus* species extracts by HPLC with diode array detection. *Journal of Chromatographic Science*, 46: 150-156.
- [83] A. Danne, F. Petereit, A. Nahrstedt (1993). Proanthocyanidins from *Cistus incanus*. *Phytochemistry*, 34: 1129-1133.
- [84] J. G. Urones, I. S. Marcos, P. B. Barcala, N. M. Garrido (1988). Diterpenoids of *Halimium viscosum*. *Phytochemistry*, 27: 501-504.
- [85] J. G. Urones, T. J. De Pascual, I. S. Marcos, D. D. Martin, N. M. Garrido, R. A. Guerra (1987). Diterpenoids of *Halimium viscosum*. *Phytochemistry*, 26: 1077-1079.
- [86] J. G. Urones, I. S. Marcos, P. Basabe, C. A. Alonso, D. Diez, N. M. Garrido, L. M. Oliva, J. S. Rodilla, A. M. Z. Slawin, D. J. Williams (1990). Valparene: Atricyclic diterpene hydrocarbon with a new carbon skeleton. *Tetrahedron Letters*, 31: 4501-4504.
- [87] J. G. Urones, I. S. Marcos, P. Basabe, C. Alonso, I. M. Oliva, N. M. Garrido, D. D. Martin, A. M. Lithgow (1993). Diterpene with a valparane skeleton. *Phytochemistry*, 34: 747-750.
- [88] J. G. Urones, I. S. Marcos, N. M. Garrido (1990). Tormesane derivatives of *Halimium viscosum*. *Phytochemistry*, 29: 3243-3246.
- [89] T. J. De Pascual, J. G. Urones, P. Basabe, H. Carrillo, M. A. G. Munoz, I. S. Marcos (1985). Diterpenoids of *Halimium viscosum*. *Phytochemistry*, 24: 791-794.
- [90] J. G. Urones, I. S. Marcos, M. J. S. Cuadrado, P. Basabe, A. M. Lithgow (1990). *Nor-ent-* halimanes from *Halimium viscosum*. *Phytochemistry*, 29: 3597-3600.
- [91] J. G. Urones, I. S. Marcos, P. Basabe, M. J. Sexmero, H. Carrillo, M. J. Melchor (1994). Minor diterpenoids from *Halimium viscosum*. *Phytochemistry*, 37: 1359-1361.

- [92] J. M. L. Rodilla, D. I. M. De Mendonça, J. G. Urones, R. F. Moro, D. J. Williams (1998). Tricyclic diterpenes from *Halimium viscosum*. *Phytochemistry*, 47: 1545-1549.
- [93] J. M. L. Rodilla, D. I. M. De Mendonca, J. G. Urones, R. F. Moro (1998). Hydroxylated diterpenoids from *Halimium viscosum*. *Phytochemistry*, 49: 817-822.
- [94] D. I. M. D. De Mendonça, J. M. L. Rodilla, A. M. Lithgow, I. S. Marcos (1997). Hydrohalimic acids from *Halimium viscosum*. *Phytochemistry*, 44: 1301-1307.
- [95] J. G. Urones, I. S. Marcos, N. M. Garrido, T. J. De Pascuala, A. S. F. Martin (1988). A diterpene alcohol from *Halimium viscosum*. *Phytochemistry*, 28: 183-187.
- [96] J. G. Urones, I. S. Marcos, D. D. Martin, F. M. B. Palma, J. M. Rodilla (1987). Labdane diterpenoids from *Halimium viscosum* and *H. verticillatum*. *Phytochemistry*, 26: 3037-3040.
- [97] J. G. Urones, I. S. Marcos, R. F. Moro, J. M. L. Rodilla, A. G. Mendonça (1993). Δ^8 Labdanes from *Halimium verticillatum*. *Phytochemistry*, 32: 401-405.
- [98] C. Demetzos, D. Perdetzoglou, K. Tan (2001). Chemical analysis and antimicrobial activity of *Halimium voldii*. *Zitschrift Fur Naturforschung C*, 56: 979-982.
- [99] L. Zaiter, M. Bouheroum, L. Hammoud, D. Sarri, S. Benayache, F. Leon, I. Brouard, J. Bermejo, F. Benayache (2012). Phytochemical study of *Halimium halimifolium*. *Chemistry of Natural Compounds*, 47: 1023-1024.
- [100] L. M. Bedoya, M. J. Adad, S. S. Palomino, J. Alcami, P. Bermejo (2010). Ellagitannins from *Tuberaria lignosa* as entry inhibitors of HIV. *Phytomedicine*, 17: 69-74.
- [101] 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.
- [102] H. Laraoui, C. Long, H. Haba, M. Benkhaled (2013). New methylated flavonol glucosides from *Fumana montana* Pomel. *Natural Product Research*, 27: 1770-1775.
- [103] G. Berti, O. Livi, D. Segnini, I. Cavera (1967). Determination of constitution and synthesis of a new flavone from *Cistus monspeliensis* L. *Tetrahedron*, 23: 2295-2300.
- [104] F. Clazada, R. Lupéz, M. Meckes, R. C. Rivera (1995). Flavonoids of the aerial parts of *Helianthemum glomeratum*. *International Journal of Pharmacognosy*, 33: 351-352.
- [105] M. Meckes, F. Calzada, A. T. Contreras, R. C. Rivera (1999). Antiprotozoal properties of *Helianthemum glomeratum*. *Phytotherapy research*, 13: 102-105.

- [106] F. Calzada, A. D. Alanis (2007). Additional antiprotozoal flavonol glycosides of the aerial parts of *Helianthemum glomeratum*. *Phytotherapy research*, 21: 78-80.
- [107] A. R. Moraga, J. Argandona, B. Mota, J. Pérez, A. Verde, J. Fajardo, J. G. Navarro, R. C. Lopez, O. Ahrazem, L. G. Gomez (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.
- [108] F. G. Barroso, T. F. Martmhz, T. Paz, A. Para, F. J. Alarcon (2001). Tannin content of grazing plants of southern Spanish arid lands. *Journal of Arid Environements*, 49: 301-314.
- [109] M. G. Simpson (2011). Plant systematics. *Elsevier Academic Press, USA*.
- [110] J. Andrien (1894). Flore de la région de Constantine. *Reprint : Forgotten books, London, England*.
- [111] E. Le Floc'h, L. Boulos, E. Véla (2010). Catalogue synonymique commenté de la flore de Tunisie. *Imprimerie officielle de la république tunisienne, Tunis, Tunisie*.
- [112] M. M. P. Barker-webb, S. Berthelot (1839). Histoire naturelle des îles Canaries. *Edition 2, Vol. 1, Déthune Editeur, Paris, France*.
- [113] N. Tarri, L. Zidane, H. Elyakoubi, M. Fadli, A. Rochdi, A. Douira (2011). Contribution à l'étude de la biodiversité de la région de Ben Sliman (ouest Marocain) : Catalogue floristique des plantes vasculaires. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 12: 1632-1652.
- [114] C. Riccucci, G. Boncompagni, C. Angilolini (2005). Appunti sulla flora del'OASI WWF 'BOSCO ROCCONI' (Grosseto, Italia central). *Atti Mus. Stor. nat. Maremma*, 21: 33-38.
- [115] A. H. M. M. Rahman, M. Akter (2013). Taxonomy and medicinal uses of Euphorbiaceae (Spurge) family of Rajshahi, Bangladesh. *Research in plant Sciences*, 1: 74-80.
- [116] I. Karimi, J. Yousfi, A. Ghashhghai (2010). Ocular toxicity caused by *Euphorbia* sap: A case report. *Iranian Journal of pharmacology & Therapeutics*, 9: 37-39.
- [117] G. Z. Shlamovitz, M. Gupta, J. A. Diaz (2009). A case acute keratoconjunctivitis of exposure to latex of *Euphorbia tirucalli* (Pencil cactu). *Journal of Emergency Medicine*, 36: 239-241.
- [119] J. Lu, G. Li, J. Huang, C. Zhang, L. Zhang, K. Zhang, P. Li, R. Lin, J. Wang (2014). Lathyrane-type diterpenoids from the seeds of *Euphorbia lathyris*. *Phytochemistry*,

- 104: 79-88.
- [120] H. Chen, H. Wang, B. Yang, D. Q. Jin, S. Yang, M. Wang, J. Xu, Y. Ohizumi, Y. Guo (2014). Diterpenes inhibiting NO production from *Euphorbia helioscopia*. *Fitoterapia*, 95: 133-138.
- [121] F. Cateni, J. Zilic, T. Altieri, M. Zacchigna, G. Procida, R. Gaggeri, D. Rossi, S. Collina (2014). Lipid metabolites with free-radical scavenging activity from *Euphorbia helioscopia* L. *Chemistry and Physics of Lipids*, 181: 90-98.
- [122] D. Lu, Y. Liu, H. A. Aisa (2014). Jatrophone diterpenoid esters from *Euphorbia sororia* serving as multidrug resistance reversal agents. *Fitoterapia*, 92: 244-251.
- [123] C. Liu, Z. X. Liao, S. J. Liu, Y. B. Qu, H. S. Wang (2014). Two new diterpene derivatives from *Euphorbia lunulata* Beg. and their anti-proliferative activities. *Fitoterapia*, 96: 33-38.
- [124] R. Chen, C. X. You, Y. Wang, W. J. Zhang, K. Yang, Z. F. Geng, Z. L. Liu, Z. W. Deng, Y. Y. Wang, S. S. Du (2014). Chemical constituents from the roots of *Euphorbia nematocypha* Hand.-Mazz.. *Biochemical Systematics and Ecology*, 57: 1-5.
- [125] Y. D. Song, H. Q. Xia, Y. Y. Ping, L. K. Chun, L. X. Li (2014). Chemical constituents of *Euphorbia tibetica* and their biological activities. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 12: 38-42.
- [126] D. S. Yang, W. B. Peng, Z. L. Li, X. Wang, J. G. Wei, Q. X. He, Y. P. Yang, K. C. Liu, X. L. Li (2014). Chemical constituents from *Euphorbia stracheyi* and their biological activities. *Fitoterapia*, 97: 221-218.
- [127] B. T. T. Luyen, B. H. Tai, N. P. Thao, K. J. Eun, J. Y. Cha, M. J. Xin, Y. M. Lee, Y. H. Kim (2014). Anti-inflammatory components of *Euphorbia humifusa* Willd. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 24: 1895-1900.
- [128] Y. Tian, L. M. Sun, B. Li, X. Q. Liu, J. X. Dong (2011). New anti-HBV caryophyllane-type sesquiterpenoids from *Euphorbia humifusa* Willd. *Fitoterapia*, 82: 251-254.
- [129] W. Kang, J. Wang, N. Cao (2012). Inhibitory activity of *Euphorbia humifusa* for α -glucosidase *in vitro* and *in vivo*. *Chemistry of Natural Compounds*, 48: 886-888.
- [130] G. Polya (2002). Biochemical targets of plant bioactive compounds: A pharmacological reference guide to sites of action and biological effects. *CRC press, USA*.
- [131] M. Jadrantin, M. Pesic, I. S. Aljancic, S. M. Milosavljevic, N. M. Todorovic, A. P. Renic, J. Bankovic, N. Tanic, I. Markovic, V. E. Vajs, V. V. Tesevic (2013).

- Jatrophane diterpenoids from the latex of *Euphorbia dendroides* and their anti-P-glycoprotein activity in human multi-drug resistant cancer cell lines. *Phytochemistry*, 86: 208-217.
- [132] H. B. Wang, W. Chen, Y. Y. Zhang, X. Y. Wang, L. P. Liu, L. J. Tong, Y. Chen (2013). Four new diterpenoids from the roots of *Euphorbia fischeriana*. *Fitoterapia*, 91: 211-216.
- [133] W. W. Tao, J. A. Duan, Y. P. Tang, N. Y. Yang, J. P. Li, Y. F. Qian (2013). Casbane diterpenoids from the roots of *Euphorbia pekinensis*. *Phytochemistry*, 94: 249-253.
- [134] Y. Tian, W. Xu, C. Zhu, S. Lin, Y. Guo, J. Shi (2013). Diterpenoids with diverse skeletons from the roots of *Euphorbia micractina*. *Journal of Natural Products*, 76: 1039-1046.
- [135] J. G. Shi, Z. J. Jia, L. Yang (1992). Diterpenoids from *Euphorbia micractina*. *Phytochemistry*, 32: 208-210.
- [136] J. G. Shi, Z. J. Jia (1995). Diterpenoids from *Euphorbia micractina*. *Phytochemistry*, 38: 1445-1447.
- [137] A. Vasas, J. Hohmann, P. Forgo, P. Szabo (2004). New tri- and tetracyclic diterpenes from *Euphorbia villosa*. *Tetrahedron*, 60: 5025-5030.
- [138] C. Y. Ragasa, K. B. Cornelio (2013). Triterpenes from *Euphorbia hirta* and their cytotoxicity. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 11: 528-533.
- [139] B. B. Zhang, X. L. Han, Q. Joang, Z. X. Liao, H. S. Wang (2013). Cytotoxic cholestane-type and ergostane-type steroids from the aerial parts of *Euphorbia altotibetic*. *Steroids*, 78: 38-43.
- [140] C. J. Wang, Y. Q. Jiang, D. H. Liu, X. H. Yan, S. C. Ma (2013). Characterization of phloroglucinol derivatives and diterpenes in *Euphorbia ebracteolata* Hayata by utilizing ultra-performance liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 3: 292-297.
- [141] J. Bruneton (2009). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4^{ème} édition, Lavoisier, Paris, France.
- [142] B. Mompon, B. Lemaire, P. Mengal, M. Surbled (1998). Extraction des polyphénols : du laboratoire à la production industrielle. Edition INRA, Paris, France.
- [143] T. Hennebelle, S. Sahpaz, F. Bailleul (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisation et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 1: 3-6.
- [144] J. B. Harbone (1993). Introduction to ecological biochemistry. 4^{ème} édition, Academic Press, London, England.

- [145] G. Scapagnini, D. A. Butterfield, C. Colombrita, R. Sultana, A. Pascale, V. Calabrese (2004). Ethyl ferulate, a lipophilic polyphenol, induces HO-1 and protects rat neurons against oxidative stress. *Antioxidants & Redox Signaling*, 6: 811-818.
- [146] G. P. Ellis (2009). The chemistry of heterocyclic compounds, chromenes, chromanones, and chromones. *John Wiley & Sons, USA*.
- [147] J. C. Roberts (1996). The chemistry of paper. *Royal Society of Chemistry, England*.
- [148] M. Javillier (1969). Traité de biochimie générale. *Volume 3, partie 2, Masson, France*.
- [149] K. Paech (1963). Modern methods of plant analysis. *Volume 6, Springer-Verlag, Germany*.
- [150] R. W. Hemingway, P. E. Laks, S. J. Branham (1992). Plant polyphenols: Synthesis, properties, significance. *Springer Science & Business Media, Germany*.
- [151] T. A. Geissamn (1972). Biosynthesis. *Royal Society of Chemistry, England*.
- [152] A. Kar (2003). Pharmacognosy and pharmacobiotechnology. *New Age International, USA*.
- [153] R. Ross (2014). Polyphenols in plants: Isolation, purification and extract preparation. *Academic Press, USA*.
- [154] J. J. Macheix, A. Fleuriet (1990). Fruit phenolics. *CRC Press, England*.
- [155] M. W. Hajnos, J. Sherma (2010). High performance liquid chromatography in phytochemical analysis. *CRC Press, England*.
- [156] T. Higuchi (1985). Biosynthesis and biodegradation of wood components. *Elsevier, USA*.
- [157] D. Hoffmann (2003). Medical herbalism: The science and practice of herbal medicine. *FINMH, AHG Inner Traditions/Bear & Co, USA*.
- [158] B. G. Lake (1999). Coumarin metabolism, toxicity and carcinogenicity: Relevance for human risk assessment. *Food and Chemical Toxicology*, 37: 423-453.
- [159] M. Wink (2011). Annual plant reviews, biochemistry of plant secondary metabolism. *John Wiley & Sons, USA*.
- [160] D. C. Ayres, J. D. Loike (1990). Lignans: Chemical, biological and clinical properties. *Cambridge University Press, England*.
- [161] A. U. Rahman (2002). Bioactive natural products. *Part G, Elsevier, USA*.
- [162] G. N. Lewis, S. Sarkanen (1998). Lignin and lignan biosynthesis. *Volume 679, American Chemical Society, USA*.
- [163] E. S. Denmark, J. Siegel (2006). Topics in stereochemistry. *Volume 25, John Wiley & Sons, USA*.

- [164] A. Altman, P. M. Hasegawa (2011). Plant biotechnology and agriculture: Prospects for the 21st century. *Academic Press, USA*.
- [165] B. A. Bohm (1999). Introduction to flavonoids. *CRC Press, England*.
- [166] Z. Luthar (1992). Polyphenol classification and tannin content of buckwheat seed (*Fagopyrum esculentum* Moench). *Fagopyrum*, 12: 36-42.
- [167] A. U. Rahman (2005). Studies in natural products chemistry: Bioactive natural products. *Part K, Elsevier, USA*.
- [168] V. C. Brink (1960). The content, distribution and some metabolic aspects of coumarin in sweet clover (*Melilotus alda* Des.). *University of Wisconsin Madison, USA*.
- [169] H. Baxter, J. B. Harborne, G. P. Moss (1998). Phytochemical dictionary: A hand book of bioactive compounds from plants. *Second edition, CRC Press, England*.
- [170] V. Neveu, J. P. Jiménez, F. Vos, V. Crespy, L. D. Chaffaut, L. Mennen, C. Knox, R. Eisner, J. Cruz, D. Wishart, A. Scalbert (2010). Phenol-explorer: An online comprehensive database on polyphenol contents in foods. *Database*, 2010: 1-9.
- [171] K. Bayoub, T. Baibai, D. Mountassif, A. Retmane, A. Soukri (2010). Antibacterial activities of the crude ethanol extracts of medicinal plants against *Listeria monocytogenes* and some other pathogenic strains. *African Journal of Biotechnology*, 9: 4251-4258.
- [172] G. E. Pantelidis, M. Vasilakakis, G. A. Manganaris, G. Diamantidis (2007). Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and cornelian cherries. *Food Chemistry*, 102: 777-783.
- [173] A. Witacenis, L. N. Seito, A. C. Da-Silveira, L. D. De-Almeida, A. C. Luchini, P. R. Orsi, S. H. Cestari, L. C. Di-Stasi (2013). Antioxidant and intestinal anti-inflammatory effects of plant-derived coumarin derivatives. *Phytomedicine*, 21: 240-246.
- [174] J. K. Trykowska, E. Hejchman, H. Kruszewska, I. Wolska, D. Maciejewska (2011). Synthesis and pharmacological activity of *O*-aminoalkyl derivatives of 7-hydroxycoumarin. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 46: 2252-2263.
- [175] J. Gertsch, R. T. Tobler, R. Brun, O. Sticher, J. Heilmann (2003). Antifungal, antiporotozal, cytotoxic and piscicidal properties of justicidin B and a new aryl-naphthalide lignan from *Phyllanthus piscatorum*. *Pharmacology*, 69: 420-424.
- [176] M. S. Donaldson (2004). Nutrition and cancer: A review of the evidence for an anti-cancer diet. *Nutrition Journal*, 3: 1-21.
- [177] S. Krisa, P. W. Tegu, A. Decendit, G. Deffieux, F. Huguet, B. Fauconneau, J. M.

- Mérillon (1997). Production, purification et activité biologique des picidés (stilbènes) extraits de cultures cellulaires de *Vitis vinifera* L. *Bulletin-Société de Pharmacie de Bordeaux*, 136: 7-18.
- [178] J. A. Stuart, E. L. Robb (2013). Bioactive polyphenols from wine grapes. *Springer Science & Business Media, Germany*.
- [179] N. Keskin, B. Kunter (2009). The effects of callus age, UV irradiation and incubation time on *trans*-resveratrol production in grapevine callus culture. *Trim Bilimleri Dergisi*, 15: 9-13.
- [180] A. Doucouré, J. Garcia, D. Koné, A. K. Aliou, J. N. Keita (2010). Isolement de la 3-O-méthylquercétine des fleurs de *Vernonia galamensis* (Cass.) Less. *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, 30: 93-102.
- [181] E. Grotewold (2007). The science of flavonoids. *Springer Science & Business Media*.
- [182] P. Boiteau (1964). Les triterpénoïdes en physiologie végétale et animale. *Gauthier Villars, France*.
- [183] L. Claude (2010). Les lipides dans le monde vivant. *Lavoisier, France*.
- [184] A. U. Rahman (2000). Bioactive natural products (part C). *Volume 22, Elsevier, USA*.
- [185] A. W. Johnson (2002). Invitation à la chimie organique. *De Boeck Supérieur, France*.
- [186] P. Vogel (1998). Chimie organique : Méthodes et modèles. *De Boeck Supérieur, France*.
- [187] J. B. Harborne (1998). phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis. *Springer Science & Business Media, Germany*.
- [188] S. D. Killops, V. J. Killops (1993). An introduction to organic geochemistry. *Gill, R. C. O., Longmann Scientific & Technical, England*.
- [189] K. Hostettmann, M. Hostettmann, A. Marston (1991). Saponins, methods in plants. *Biochemistry*, 7: 435-471.
- [190] E. Breitmaier (2006). Triterpenes: Flavors, fragrances, pharmaca, pheromones. *John Wiley & Sons, USA*.
- [191] D. S. Bhakuni, S. D. Rawat (2006). Bioactive marine natural products. *Springer, Germany*.
- [192] W. G. Hopkins (2003). Physiologie végétale. *De Boeck Supérieur, France*.
- [193] M. Robert (2010). Les stéroïdes naturels de A à Z. *Lavoisier, Paris, France*.
- [194] J. M. Trendl, F. Lohmann, J. P. Kintzinger, P. Albrecht, A. Chiaroni, C. Riche, M. Cesario, J. Guilhem, C. Pascard (1989). Identification of des-A-triterpenoid hydrocarbons occurring in surface sediments. *Tetrahedron*, 45: 4457-4470.

- [195] P. Boiteau, G. Villars (1964). Les triterpénoïdes en physiologie végétale et animale. *Centre National de la Recherche Scientifique, France*.
- [196] G. M. Woldemichael, M. Wink (2001). Identification and biological activities of triterpenoid saponins from *Chenopodium quinoa*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 2327-2332.
- [197] A. Estrada, B. Li, B. Laarveld (1998). Adjuvant action of *Chenopodium quinoa* saponins on the induction of antibody responses to intragastric and intranasal administered antigens in mice. *Comparative Immunology, Microbiology & Infections Diseases*, 21: 225-236.
- [198] M. A. Lacaille-Dubois, H. Wangner (1996). A review of the biological and pharmacological activities of saponins. *Phytomedicine*, 2: 363-386.
- [199] M. C. Aguirre, C. Delporte, N. Backhouse, S. Erazo, M. E. Letelier, B. K. Cassels, X. Silva, S. Alegria, R. Negrete (2006). Topical anti-inflammatory activity of 2 α -hydroxy pentacyclic triterpene acids from the leaves of *Ugni molinae*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 14: 5673-5677.
- [200] M. L. Sharma, A. Kaul, A. Khajuria, S. Singh, G. B. Singh (1998). Immunomodulatory activity of Boswellic acids (pentacyclic triterpene acids) from *Boswellia serrata*. *Phytotherapy Research*, 10: 107-112.
- [201] M. U. Laszczyk (2009). Pentacyclic triterpenes of the lupane, oleanane and ursane groups as tools in cancer therapy. *Planta Medica*, 75: 1549-1560.
- [202] H. Tsukamoto, S. Hisada, S. Nishibe (1984). Lignans from bark of *Olea* plants. I. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 32: 2730-2735.
- [203] W. Monthong, S. Pitchuanom, N. Nuntasen, W. Pompimon (2011). (+)-Syringaresinol lignan from new species *Magnolia thailandica*. *American Journal of Applied Sciences*, 8: 1268-1271.
- [204] R. M. Silverstein, F. X. Webster, D. J. Kiemle (2005). Spectrometric identification of organic compounds. 7th Edition, John Wiley & Sons, USA.
- [205] Y. H. Luo, Z. Q. Zhou, S. C. Ma, H. Z. Fu (2014). Three new antioxidant furofuran lignans from *Callicarpa nudiflora*. *Phytochemistry Letters*, 7: 194-197.
- [206] R. Waibel, G. Benirschke, M. Benirschke, H. Achenbach (2003). Sesquieneolignans and other constituents from the seeds of *Joannesia princeps*. *Phytochemistry*, 62: 805-811.
- [207] P. Cuadra, V. Fajardo (2002). A new lignan from the Patagonian *Valeriana carnosa* Sm. *Boletín de la Sociedad Chilena de Química*, 47: 361-367.

- [208] S. B. Kilidhar, M. R. Parthasarathy, P. Sharma (1982). Prinsepiol, a lignan from stems of *Prinsepia utilis*. *Phytochemistry*, 21: 796-797.
- [209] S. Yamamoto, R. E. Cox, B. R. T. Simoneit (2010). Gas chromatography/mass spectrometry of the lignans in resin of *Callitris preissii*. *Journal of the Mass Spectrometry Society of Japan*, 58: 195-209.
- [210] G. Lutz, O. Hofer, G. Brader, C. Kratky (1997). Conformational analysis of tetrahydrofurofuran lignans: Sesamol. *Heterocycles*, 45: 287-298.
- [211] O. Hofer, G. Wurz (1992). Lanthanide induced shifts of aromatic 1,2,3-trimethoxy compounds: conformational analysis of tetrahydrofurofuran-lignans in solution. *Monatshefte für Chemie*, 123: 105-120.
- [212] D. C. Ayres, J. D. Loike (1990). Lignans: chemical, biological and clinical properties. *Cambridge university press, England*.
- [213] A. C. Casabuono, A. B. Pomilio (1994). Lignans and a stilbene from *Festuca argentina*. *Phytochemistry*, 35: 479-483.
- [214] T. Guo, H. Xie, Y. X. Deng, S. L. Pan (2012). A new lignan and other constituents from *Zanthoxylum armatum* DC. *Natural Product Research*, 26: 859-864.
- [215] M. C. Yang, K. H. Lee, K. H. Kim, S. U. Choi, K. R. Lee (2007). Lignan and terpene constituents from the aerial parts of *Saussurea pulchella*. *Archives of Pharmacal Research*, 30: 1067-1074.
- [216] Z. Xiuyun, L. Bogang, Z. Min, Y. Xiaohong, Z. Guolin (2006). Chemical constituents from *Gymnosporia varialilis* Loes. *Chinese Journal of applied & Environmental Biology*, 12: 163-169.
- [217] A. L. Piccinelli, S. Arana, A. Caceres, R. E. D. V. Bianca, R. Sorrentino, L. Rastrelli (2004). New lignans from the roots of *Valeriana prionophylla* with antioxidative and vasorelaxant activities. *Journal of Natural Products*, 67: 1135-1140.
- [218] H. Tsukamoto, S. Hisada, S. Nishibe (1985). Lignans from bark of the *Olea* plants. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 33: 1232-1241.
- [219] O. Hofer, U. G. Wagner, H. Greger (1988). X-Ray structural analysis of tetrahydrofurofuran lignans. *Monatshefte für Chemie*, 119: 1143-1153.
- [220] R. W. Owen, W. Mier, A. Giacosa, W. E. Hull, B. Spiegelhalder, H. Bartsch (2000). Identification of lignans as major components in the phenolic fraction of olive oil. *Clinical Chemistry*, 46: 976-988.
- [221] C. Heitner, D. Dimmel, J. Schmdit (2011). Lignin and lignans: advance in chemistry. *CRC press, USA*.

- [222] H. Wei, C. He, Y. Peng, S. Zhang, X. Chen, P. Xiao (2012). Two new aryltetralin lignans from the roots of *Dolomiaea souliei*. *Molecules*, 17: 5544-5549.
- [223] Z. Yue, H. Qin, Y. Li, Y. Sun, Z. Wang, T. Yang, L. Liu, M. Wang, F. Feng, Q. Mei (2013). Chemical constituents of the roots of *Jasminum giraldii*. *Molecules*, 18: 4766-4775.
- [224] F. Ade, T. Yamauchi, A. S. C. Wan (1988). Lignans related to olivil from genus *Cerbera* (Cercera.). *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 36: 795-799.
- [225] J. M. Rao, A. K. T. Wari, U. S. Kumar, J. S. Yadav, K. V. Raghavan (2003). (+)-cycloolivil as antioxidant obtained from natural source namely *Stereospermum personatum*. *Concil of Scientific and industrial Research*, 9: 917-920.
- [226] R. Ghogomu-tih, B. Bodo, B. Nyasse, B. L. Sondengam (1985). Isolation and identification of (-)-olivil and (+)-cycloolivil from *Stereospermum kunthianum*. *Planta medica*, 51: 464-465.
- [227] M. H. Yean, J. S. Kim, J. H. Lee, S. S. Kang (2010). Lignans from *Lonicerae caulis*. *Natural Product Sciences*, 16: 15-19.
- [228] Q. Wen, X. Lin, Y. Liu, X. Xu, T. Liang, N. Zheng, K. Kintoko, R. Huang (2012). Phenolic and lignan glycosides from the butanol extract of *Averrhoa carambola* L. Root. *Molecules*, 17: 12330-12340.
- [229] Y. L. Yang, F. R. Chang, Y. C. Wu (2005). Squadinorlignoside: a novel 7,9'-dinorlignan from the stems of *Annona squamosa*. *Helvetica Chimica Acta*, 88: 2731-2737.
- [230] T. Popoff, O. Theander (1977). The constituents of conifer needles IV*. phenolic glycosides from *Pinus sylvestris*. *Acta Chemica Scandinavica B*, 31: 329-337.
- [231] T. Horie, Y. Ohtsuru, K. Shibata, K. Yamashita, M. Tsukayama, Y. Kawamura (1998). ¹³C NMR spectral assignment of A-ring of polyoxygenated flavones. *Pytochemistry*, 47: 865-874.
- [232] 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.
- [233] L. Ö. Demirezer, F. Gürbüz, Z. Güvenalp, K. Ströch, A. Zeeck (2006). Iridoids, flavonoids and monoterpene glycosides from *Galium verum* subsp. *verum*. *Turkish Journal of Chemistry*, 30: 525-534.
- [234] 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.
- [235] R. A. Gomes, R. R. A. Ramirez, J. K. Da. S. maciel, M. D. F. Agra, M. D. F. V. De souza, V. S. Falcão-Silva, J. P. Siqueira-Junior (2011). Phenolic compounds from *Sidastrum micranthum* (A. St.-Hil.) fryxell and evaluation of acacetin and 7,4'-di-O-methylisoscuteallarein as motulator of bacterial drug. *Quimica Nova*, 34: 1385-1388.
- [236] S. Tsukamoto, M. Aburatani, H. Onuki, H. Hirorta, E. Ishiharajima, T. Ohta (2004). Isolation of cytochrome P450 inhibitors from strawberry fruit, *Fragaria ananassa*. *Journal of Natural Products*, 67: 1839-1841.
- [237] H. Matsuda, K. Ninomiya, H. Shimoda, M. Yoshikawa (2002). Hepatoprotective principles from the flowers of *Tilia argentea* (linden): Structure requirements of tiliroside and mechanisms of action. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 10: 707-712.
- [238] J. T. Han, M. H. Bang, O. K. Chun, D. O. Kim, C. Y. Lee, N. I. Baek (2004). Flavonol glycosides from the aerial parts of *Aceriphyllum rossii* and their antioxidant activities. *Archives of Pharmacal Research*, 27: 390-395.
- [239] C. Xie, N. C. Veitch, P. J. Houghton, M. S. J. Simmonds (2004). Flavonoid glycosides and isoquinolinone alkaloids from *Corydalis bungeana*. *Phytochemistry*, 65: 3041-3047.
- [240] D. Sohretoglu, H. Kirmizibekmez (2011). Polyphenols from *Potentilla recta*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 39: 132-134.
- [241] H. L. Koh, T. K. Chua, H. C. Tan (2009). A guide to medicinal plants: An illustrated scientific and medicinal approach. *World Scientific Publishing, London, England*.
- [242] O. A. Eldahshan (2011). Isolation and structure elucidation of phenolic compounds of carob leaves grown in Egypt. *Current Research Journal Biological Sciences*, 3: 52-55.
- [243] C. J. Shen, C. K. Chen, S. S. Lee (2009). Polar constituents from *Sageretia thea* Leaf characterized by HPLC-SPE-NMR assisted approaches. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 56: 1002-1009.
- [244] S. K. Sadhu, O. Emi, F. Haruhiro, I. Masami, Y. Erdem (2006). Prostaglandin inhibitory and antioxidant components of *Cistus laurifolius* a Turkish medicinal plant. *Journal of Ethnopharmacology*, 108: 371-378.
- [245] Z. Güvenalp, N. Kiliç, C. Kazaz, Y. Kaya, L. Ö. Demirezer (2006). Chemical constituents of *Galium tortumense*. *Turkish Journal of Chemistry*, 30: 515-523.
- [246] H. Ishii, I. Kitagawa, K. Matsushita, K. Shirakawa, K. Tori, T. Tozyo, M. Yoshikawa, Y. Yoshimura (1981). The configuration and conformation of the arabinose moiety in

- platycodins, saponins isolated from *Platycodon grandiflorum*, and mi-saponins from *Madhuca longifolia* based on carbon-13 and hydrogen-1 NMR spectroscopic evidence: The total structures of saponins. *Tetrahedron Letters*, 22: 1529-1532.
- [247] L. Krenn, A. Miron, E. Pemp, U. Petr, B. Kopp (2003). Flavonoids from *Achillea nobilis* L. *Z. Naturforsch*, 58: 11-16.
- [248] S. Khandsuren, U. V. Petrenko, V. I. Litvinenko (1971). Neoisorutin from *Physochlaina physaloides*. *Chemistry of natural compounds*, 7: 646-656.
- [249] I. M. A. Reidah, D. A. Roman, J. L. Sanchez, A. S. Carretero (2013). Phytochemical characterisation of green beans (*Phaseolus vulgaris* L.) by using high-performance liquid chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry. *Phytochemical Analysis*, 24: 105-116.
- [250] 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.
- [251] Y. Lin, L. Kong (1993). Studies on the chemical constituents of *Desmodium styracifolium* (Osbeck) Merr. *Asian Journal of Traditional Medicines*, 28: 197-201.
- [252] M. S. Kamel (2003). Flavone C-glycosides from *Lupinus hartwegii*. *Phytochemistry*, 63: 449-452.
- [253] C. Xie, N. C. Veitch, P. J. Houghton, M. S. J. Simmonds (2003). Flavone C-glycosides from *Viola yedoensis* Makino. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 51: 1204-1207.
- [254] C. Marrassini, R. Davicino, C. Acevedo, C. Anesini, S. Gorzalczany, G. Ferraro (2011). Vicenin-2, a potential anti inflammatory constituent of *Urtica circularis*. *Journal of Natural Products*, 74: 1503-1507.
- [255] D. B. Silva, I. C. C. Turatti, D. R. Gouveia, M. Ernst, S. P. Teixeira, N. P. Lopes (2014). Mass spectrometry of flavonoid vicenin-2 based sunlight barriers in *Lychnophora* species. *Scientific Reports*, 4: 1-8.
- [256] S. Yahara, I. Nishioka (1984). Flavonoid glycosides from Licorice. *Phytochemistry*, 23: 2108-2109.
- [257] M. Boukhart, M. Girardin, M. Metche (1994). Procyanidols oligomères des sarments de vigne, cépage Carignan. *Vitis*, 33: 5-10.
- [258] J. L. Donovan, D. L. Luthria, P. Stremple, A. L. Waterhouse (1999). Analysis of (+)-catechin, (-)-epicatechin and their 3'- and 4'-O-methylated analogs a comparison of sensitive methods. *Journal of Chromatography B*, 726: 277-283.

- [259] H. Kim, Y. Choi, J. I. Kim, K. Jeong, S. Jung (2009). Molecular modeling studies on the chiral separation of (\pm)-catechins by mono-succinyl- β -cyclodextrin. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 30: 1373-1375.
- [260] Q. S. Hua, W. D. Grang, M. Y. Bao, L. X. Dong (2003). A novel flavane from *Carapa guianensis*. *Acta Botanica Sinica*, 45: 1129-1133.
- [261] J. Hubert, J. M. Nuzillard, S. Purson, M. Hamzaoui, N. Borie, R. Reynand, J. H. Renault (2014). Identification of natural metabolites in mixture: A pattern recognition strategy based on ^{13}C NMR. *Analytical Chemistry*, 86: 2955-2962.
- [262] O. Munoz, A. Gonzalez, A. Ravelo, A. Estevez (1999). Triterpenoid and phenolic compounds from tow Chilean Celasteraceae. *Z. Naturforsch*, 54: 144-145.
- [263] 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.
- [264] K. Yoshikawa, K. Eiko, N. Mimura, Y. Kondo, S. Arihara (1998). Hovetrichosides C-G, five new glycosides of two auronols, two neolignans and a phenylpropanoid from the bark of *Hovenia trichocarea*. *Journal of Natural Products*, 61: 786-790.
- [265] S. Awale, F. Li, H. Onozuka, H. Esumi, Y. Tezuka, S. Kadota (2008). Constituents of Brazilian red propolis and their preferential cytotoxic activity against human pancreatic PANC-1 cancer cell line in nutrient-deprived condition. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 16: 181-189.
- [266] S. B. Wu, Y. Wen, X. W. Li, Y. Zhao, Z. Zhao, J. F. Hu (2009). Chemical constituents from the fruits os *Sonneratia caseolaris* and *Sonneratia ovata* (Sonneratiaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 37: 1-5.
- [267] K. R. Joshi, H. P. Devkota, S. Yahara (2012). Chemical analysis of heartwood of bijayasal (*Pterocarpus marsupium* Roxb.). *Nepal Journal of Science and Technology*, 13: 219-224.
- [268] M. H. Lee, Y. K. Son, Y. N. Han (2002). Tissue factor inhibitory flavonoids from the fruits of *Chaenomeles sinensis*. *Archives of Pharmacal Reesearch*, 25: 842-850.
- [269] A. Stochmal, J. Kowalska, B. Janda, A. Perrone, S. Piacente, W. Oleszek (2009). Centisc acid conjugates of *Midicago truncala* roots. *Phytochemistry*, 70: 1272-1276.
- [270] W. Li, Y. Ding, T. H. Quang, N. T. T. Ngan, Y. N. Sun, X. T. Yan, S. Y. Yang, C. W. Choi, E. J. Lee, K. Y. Paek, Y. H. Kim (2013). NF- κ B inhibition and PPAR activation by phenolic compounds from *Hypericum perforatum* L. Adventitious root. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 34: 1407-1413.
- [271] G. Tadesse, P. Reneela, A. Dekebo (2012). Isolation and characterization of natural

- products from *Helinus mystachnus* (Rhamnaceae). *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 4: 1756-1762.
- [272] W. Q. Hu, H. Hubisihalatu, W. Jiesi, R. Jun, N. Narenchaoketu, D. N. Yintai (2014). Chemical constituents of *Helianthemum ordosicum*. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 18: 2607-2611.
- [273] T.S. Martin, H. Kikuzaki, M. Hisamoto, N. Nakatani (2000). Constituents of Amomum tsao-ko and their radical scavenging and antioxidant activities. *Journal of the American Oil Chemist's Society*, 77: 667-673.
- [274] N. Chaves, J. C. Escudero (1997). Allelopathic effect of *Cistus ladanifer* on seed germination. *Functional Ecology*, 11: 432-440.
- [275] J. A. Klocke, B. V. Wagenen, M. F. Balandrin (1986). The ellagitannin geraniin and its hydrolysis products isolated as insect growth inhibitors from semi-arid land plants. *Phytochemistry*, 25: 85-91.
- [276] M. H. Oueslati, H. B. Jannet, Z. Mighri, J. Chriaa, P. M. Abreu (2006). Phytochemical constituents from *Salsola tetrandra*. *Journal of natural Products*, 69: 1366-1369.
- [277] T. Shirahata, T. Sunazuka, K. Yoshida, D. Yamamoto, Y. Harigaya, I. Kuwajima, T. Nagai, H. Kiyohara, H. Yamada, S. Omura (2006). Total synthesis, elucidation of absolute stereochemistry, and adjuvant activity of trihydroxy fatty acids. *Tetrahedron*, 62: 9483-9496.
- [278] T. Nagai, H. Kiyohara, K. Munakata, T. Shirahata, T. Sunazuka, Y. Hariqaya, H. Yamada (2002). Pinellie acid from tuber of *Pinellia ternata* breitenbach as an effective oral adjuvant for nasal influenza vaccine. *International Immunopharmacology*, 2: 1183-1193.
- [279] C. S. Kim, O. W. Kwon, S. Y. Kim, S. U. Choi, K. H. Kim, K. R. Lee (2014). Five new oxylipins from *Chaenomeles sinensis*. *Lipids*, 49: 1151-1159.
- [280] W. David, A. Robert, C. Norton, B. Mabry (1992). Carbon-13 NMR studies on sitosterol biosynthesized from [¹³C] Mevalonates. *Phytochemistry*, 31: 805-811.
- [281] L. Voutquenne, C. Lavaud, G. Massiot, T. Sevenet, H. A. Hadi (1999). Cytotoxic polyisoprenes and glycosides of long-chain fatty alcohols from *Dimocarpus fumatus*. *Phytochemistry*, 50: 63-69.
- [282] T. Barclay, M. G. Markovic, M. R. Johnston, P. Cooper, N. Petrovsky (2012). Observation of the keto tautomer of D-fructose in D₂O using ¹H NMR spectroscopy. *Carbohydrate Research*, 347: 136-141.
- [283] S. K. Hyun, H. A. Jung, B. S. Min, J. H. Jung, J. S. Choi (2010). Isolation of

- phenolics, nucleosides, saccharides and alkaloid from the root of *Aralia cordata*. *Natural Product Sciences*, 16: 20-25.
- [284] H. Abe, M. Terauchi, A. Matsuda, S. Shuto (2003). A study on the conformation anomeric effect stereoselectivity relationship in anomeric radical reactions using conformationally restricted glucose derivatives as substrates. *Journal of Organic Chemistry*, 68: 7439-7447.
- [285] Y. S. Liang, Y. H. Choi, H. K. Kim, H. J. M. Linthorst, R. Verpoorte (2006). Metabolomic analysis of methyl jasmonate treated *Brassica rapa* leaves by 2-dimensional NMR spectroscopy. *Phytochemistry*, 67: 2503-2511.
- [286] I. Calis, E. Bedir, H. Kirmizibekmez, T. Ersöz, A. A. Dönmez, I. A. Khan (2005). Secondary metabolites from *Phlomis oppositiflora*. *Natural Product Research*, 9: 4993-501.
- [287] S. Q. Wang, X. N. Wang, Y. Y. Li, X. X. Di, H. X. Lou (2014). Identification of purine derived compounds ustilagomaydisin A-C from the plant pathogen *Ustilago maydis* and their modulating effects on multidrug-resistant (MDR) tumors. *Phytochemistry Letters*, 10: 193-197.
- [288] H. Neubauer, J. Meiler, W. Peti, C. Griesinger (2001). NMR structure determination of saccharose and raffinose by means of homo- and heteronuclear dipolar couplings. *Helvetica Chimica Acta*, 84: 243-258.
- [289] L. Nagy, T. Gajda, J. Kurti, K. Schrantz, K. Burger (1996). Spectroscopic studies of iron (III) complexes of D-saccharose and D-glucose in the solide state and in solution. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 209: 225-234.
- [290] T. M. Calub, A. L. Waterhouse (1990). Proton and carbon chemical-shift assignments for 1-kestose from two-dimensional NMR spectral measurements. *Carbohydrate Research*, 199: 11-17.
- [291] T. Masashi, S. Noriko (1974). Constituents of the radix of *Asparagus cochinchinensis* I. Isolation and characterization of oligosaccharides. *Chemical & pharmaceutical*, 22: 2306-2310.
- [292] A. Heyraud, M. Rinaudo, F. R. Taravel (1984). Isolation and characterization of oligosaccharides containing D-fructose from juices of the *Jerusalem artichoke*. kinetic constants for acid hydrolysis. *Carbohydrate Research*, 128: 311-320.
- [293] S. B. Mahato, A. P. Kundu (1994). ¹³C NMR spectra of pentacyclic triterpenoids: A compilation and some salient features. *Phytochemistry*, 37: 1517-1575.
- [294] S. Öksüz, A. Ulubelen, A. Barla, W. Voelter (2002). Terpenoids and aromatic

- compounds from *Euphorbia heteradena*. *Turkish Journal of Chemistry*, 26: 457-463.
- [295] M. D. Greca, A. Fiorentino, P. Monaco, I. Previtera (1994). Cycloartane triterpenes from *Juncus effusus*. *Phytochemistry*, 35: 1017-1022.
- [296] V. Anjaneyulu, K. H. Prasad, K. Ravi, J. D. Connolly (1985). Triterpenoids from *Mangifera indica*. *Phytochemistry*, 24: 2359-2367.
- [297] J. L. Giner, J. D. Berkowitz, T. Andersson (2000). Nonpolar components of the latex of *Euphorbia peplus*. *Journal of Natural Products*, 63: 267-269.
- [298] Y. Tanaka (1991). Rubber and related polyprenols (Methods in plant biochemistry). Vol. 7, Academic Press Limited, London, England.
- [299] L. Y. Wang, N. L. Wang, X. S. Yao, S. Miyata, S. Kitanaka (2002). Diterpenes from the roots of *Euphorbia kansui* and their *in vitro* effects on the cell division of *Xenopus*. *Journal of Natural Products*, 65: 1246-1251.
- [300] R. Xu, G. C. Fazio, S. P. T. Matsuda (2004). On the origins of triterpenoid skeletal diversity. *Phytochemistry*, 65: 261-291.
- [301] Q. G. Ma, W. Z. Liu, X. Y. Wu, T. X. Zhou, G. W. Qin (1997). Diterpenoids from *Euphorbia fischeriana*. *Phytochemistry*, 44: 663-666.
- [302] J. De. P. Teresa, J. G. Urones, I. S. Marcos, P. Basabe, M. J. S. Cuadrado, R. F. Moro (1987). Triterpenes from *Euphorbia broteri*. *Phytochemistry*, 26: 1767-1776.
- [303] J. X. Shi, Z. X. Li, T. Nitoda, M. Izumi, H. Kanzaki, N. Baba, K. Kawazu, S. Nakajima (2007). Three antinematodal diterpenes from *Euphorbia kansui*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 71: 1086-1089.
- [304] M. N. Omar, A. Muzammil, N. T. Khan, M. Zahid, T. Kamal (2013). Isolation and identification of bioactive compounds from twigs of *Artocarpus altilis*. *Merit Research Journals*, 1: 147-155.
- [305] K. Sebei, I. Sbissi, A. Zouhir, W. Herchi, F. Sakouhi, S. Boukhchina (2014). Phylogenetic identification, photochemical analysis and antioxidant activity of *Chamaecrista absus* var. *absus* seeds. *Journal of Plant Biology Research*, 3: 1-11.
- [306] C. Y. Ragasa, K. Jorvina, J. A. Rideout (2004). Antimicrobial compounds from *Artocarpus heterophyllus*. *Philippine Journal of Science*, 133: 97-101.
- [307] R. Ramasubramaniraja (2011). Inflammation and medicinal herbs. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 9: 1-7.
- [308] A. M. Rizk, F. M. Hammouda, M. M. S. El-Nasr, A. A. Abou-Youcef (1980). Phytochemical investigation of *Euphorbia peplus*. *Fitoterapia*, 51: 223-227.
- [309] A. G. Gonzalez, B. M. Fraga, P. Gonzalez, A. G. Ravelo (1976). Triterpenes from

- latex of *Euphorbia balsamifera*. *Phytochemistry*, 15: 727-428.
- [310] N. Goyol, S. K. Sharma (2014). Bioactive phytoconstituents and plant extracts from genus *Heliotropium*. *International Journal of Green Pharmacy*, 8: 217-225.
- [311] L. J. G. Henrique, R. F. Nidia (2002). Cycloartane triterpenoids from *Guarea macrophylla*. *Phytochemistry*, 60: 329-332.
- [312] Y. P. Shi, Z. J. Jia, B. Ma, S. Saleh, J. Lahham (1996). Ingenane diterpenes from *Euphorbia petiolata*. *Planta Medica*, 62: 260-262.
- [313] U. Kolak, G. Topçu, S. Birteksöz, G. Ötük, A. Ulubelen (2005). Terpenoids and steroids from the roots of *Salvia blepharochlaena*. *Turkish Journal of Chemistry*, 29: 177-186.
- [314] H. P. Xiong, Z. J. Wu, F. T. Chen, W. S. Chen (2009). 24-methylcycloartanone. *Acta Crystallographica Section E*, 66: 260-261.
- [315] H. Ohtsu, R. Tanaka, T. Michida, T. Shingu, S. Matsunaga (1998). Tetracyclic triterpenes and other constituents from the leaves and bark of *Larix kaempferi*. *Phytochemistry*, 49: 1761-1768.
- [316] X. Zh, Q. Gw, X. Rs (2000). An isopimarane diterpene from *Euphorbia ebracteolata* Hayata. *Journal of Asian Natural Products Research*, 2: 257-261.
- [317] C. M. Ma, N. Nakamura, B. S. Min, M. Hattori (2001). Triterpens and lignans from *Artemisia caruifolia* and their cytotoxic effects on Meth-A and LLC tumor cell lines. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 49: 183-187.
- [318] D. Hernanz, C. Fabrias, F. Camps (1997). Inhibition of sex pheromone production in female lepidopteran moths by 2-halofatty acids. *Journal of lipid research*, 38: 1988-1994.
- [319] J. S. G. Cox, F. E. King, J. J. King (1956). Chemistry of extractives from hardwoods. XXVI. Cycloeucalenol, a triterpene from *Eucalyptus microcorys*. *Journal of the Chemical Society*, 282: 1384-1392.
- [320] M. Rai, D. Acharya, J. L. Rios (2011). *Ethnomedicinal plants: Revitalizing of traditional knowledge of herbs*. CRC Press, USA.
- [321] A. G. Gonzalez, J. L. Breton, M. J. Dergado, B. M. Fraga (1972). Steroids from *Euphorbia obtusifolia*. *Annales de Quimica*, 68: 203-206.
- [322] R. Tanaka, K. Kasubuchi, S. Kita, S. Matsunaga (1999). Obtusifoliol and related steroids from the whole herb of *Euphorbia chamaesyce*. *Phytochemistry*, 51: 457-463.
- [323] G. Li, J. H. Kim, G. Shen, J. Lee, H. K. Lee, S. R. Oh (2011). Anticomplement activity of compounds isolated from the roots of *Euphorbia kansui*. *Journal of the*

- Korean Society from Applied Biological Chemistry*, 54: 159-162.
- [324] Z. H. Mbwanbo, S. K. Lee, E. N. Mshiu, J. M. Pezzuto, A. D. Kinghorn (1996). Constituents from the stem wood of *Euphorbia quinquecostata* with phorbol dibutyrate receptor-binding inhibitory activity. *Journal of Natural Products*, 59: 1051-1055.
- [325] M. T. Ekaprasada, H. Nurdin, S. Ibrahim, D. Dachriyanus (2009). Antioxidant activity of methyl gallate isolated from the leaves of *Toona sureni*. *Indonesian Journal of Chemistry*, 9: 457-460.
- [326] F. W. Sheng, G. Li, Z. Xiao-Ki, W. Yan-Zhi (2009). Polyphenols of *Euphorbia helioscopia*. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 7: 37-39.
- [327] U. V. Ahmed, A. R. Jassbi (1999). New diterpenoids from *Euphorbia teheranica*. *Journal of Natural Products*, 62: 1016-1018.
- [328] A. N. Ren-Bo, J. W. Kwon, T. O. Kwon, W. T. Chung, H. S. Lee, Y. C. Kim (2007). Chemical constituents from the whole plants of *Euphorbia supina* Rafin. *Korian Journal of Pharmacognosy*, 38: 291-295.
- [329] J. L. Wang, W. Q. Wang, T. Li, H. Wang, M. Zhao, S. J. Zhang (2010). Study on the chemical constituents from fresh roots of *Euphorbia fischeriana*. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 33: 1406-1409.
- [330] E. I. Hwang, B. T. Ahn, H. B. Lee, Y. K. Kim, K. S. Lee, S. H. Bok, Y. T. Kim, S. U. Kim (2001). Inhibitory activity for chitin synthase II from *Saccharomyces cerevisiae* by tannins and related compounds. *Planta Medica*, 67: 501-504.
- [331] M. Asnaashari, R. Farhoosh, A. Sharif (2014). Antioxidant activity of gallic acid and methyl gallate in triacyl glycerols of Kilka fish oil and its oil-in-water emulsion. *Food Chemistry*, 159: 439-442.
- [332] C. J. M. Kane, J. H. Menna, C. C. Sung, Y. C. Yeh (1988). Methyl gallate, methyl-3,4,5-trihydroxy-benzoate, is a potent and highly specific inhibitor of herpes simplex virus *in vitro*, antiviral activity of methyl gallate and its derivatives. *Bioscience Reports*, 8: 1-8.
- [333] C. R. Wang, R. Zhou, T. B. Ng, J. M. Wang, W. T. Qiao, F. Liu (2014). First report on isolation of methyl gallate with antioxidant, anti-HIV1 and HIV-1 enzyme inhibitory activities from a mushroom (*Pholiota adiposa*). *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 37: 626-637.
- [334] S. H. Lee, J. K. Kim, D. W. Kim, H. S. Hwang, W. S. Eum, J. Park, K. H. Han, J. S. Oh, S. Y. Choi (2013). Antitumor activity of methyl gallate by inhibition of focal

- adhesion formation and Akt phosphorylation in glioma cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*, 1830: 4017-4029.
- [335] E. Collins, P. V. Shannon (1973). Dimethylallylation products of phloracetophenone a convenient one-stage synthesis of deoxyhumulones. *Journal of the Chemical Society Perkin Transactions 1*, 1: 419-424.
- [336] E. Chosson, A. Chaboud, A. J. Chulia, J. Raynaud (1997). A phloracetophenone glucoside from *Rhododendron ferrugineum*. *Phytochemistry*, 47: 87-88.
- [337] S. A. Khan, B. Ahmed, T. Alam (2006). Antihepatotoxic activity of some new chalcones containing 1,4-dioxane ring system. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 19: 290-294.
- [338] R. Murillo, J. Jakupovic (1998). Glycosides from *Euphorbia aucherii*. *Ingeniera y Ciencia Quimica*, 18: 57-60.



Résumés

Résumé

Le travail présenté dans ce manuscrit s'inscrit dans la continuité des recherches phytochimiques effectuées par notre groupe de phytochimie affilié au laboratoire de chimie et chimie de l'environnement (LCCE) depuis une quinzaine d'années sur des plantes médicinales et aromatiques poussant dans les régions des Aurès et du nord de Sahara.

Cette recherche vise, d'une part à valoriser les ressources biologiques liées à la biodiversité végétale de la flore algérienne et les connaissances empiriques associées à cette flore en matière d'utilisation en médecine traditionnelle, et d'autre part, ce travail se fixe comme objectif la découverte de composés bioactifs nouveaux susceptibles de posséder des activités biologiques intéressantes.

Le choix des plantes sélectionnées, dans le cadre de ce travail de thèse à savoir *Helianthemum sessiliflorum* Pers. et *Euphorbia pterococca* Brot., repose principalement sur l'appartenance de ces deux espèces aux familles Cistaceae et Euphorbiaceae respectivement, connues pour leur richesse en divers métabolites secondaires d'un grand intérêt biologique, ainsi que pour la bonne réputation de l'utilisation de ces plantes dans la médecine traditionnelle locale. Ces deux espèces n'ont pas fait l'objet d'investigation phytochimique antérieure.

A cet effet, les extraits organiques des espèces *H. sessiliflorum* (parties aériennes) et *E. pterococca* (plante entière) ont été étudiés chimiquement en utilisant les méthodes chromatographiques (VLC, CC, CCE et HPLC) pour conduire à l'isolement de **45** substances naturelles à l'état pur. Celles-ci ont fait l'objet de diverses analyses spectroscopiques RMN 1D et 2D (^1H , ^{13}C , J -modulé, DEPT, COSY, HSQC, HMBC, TOCSY, NOESY et ROESY), masse HR-ESI-MS et HR-EI-MS, UV-Vis, IR et la mesure du pouvoir rotatoire $[\alpha]_D$. Ceci a permis la caractérisation de **5** nouvelles structures avec **40** autres déjà connues et appartenant principalement à deux grands groupes de composés chimiques polyphénoliques et triterpéniques dont la plupart sont réputés pour leurs vertus thérapeutiques et activités biologiques intéressantes.

Le premier composé nouveau, appartenant à la classe des lignanes, a été isolé à partir de l'extrait AcOEt de l'espèce *H. sessiliflorum* avec **20** autres composés connus se répartissant en deux lignanes, neuf flavonoïdes, cinq dérivés d'acide benzoïque, un acide gras et deux phytostérols. Les travaux réalisés sur l'extrait *n*-BuOH de cette espèce ont permis d'obtenir **12** composés : un lignane glucosylé, six flavonoïdes et quatre osides libres.

Les quatre autres composés nouveaux ont été identifiés à partir de l'extrait acétonique de l'espèce *E. pterococca* et possèdent des structures triterpéniques tétracycliques acylées. Cet extrait a également fourni **11** composés connus incluant sept structures triterpéniques tétracycliques et deux phytostérols, ainsi que deux composés phénoliques.

Les métabolites secondaires isolés de la plante *H. sessiliflorum* révèlent que les composés phénoliques, notamment les flavonoïdes, demeurent les constituants dominants du genre *Helianthemum*. Les triterpènes tétracycliques identifiés dans l'espèce *E. pterococca* sont de type cycloartane. Ces composés rapportés les plus répandus dans les espèces du genre *Euphorbia* sont considérés comme des marqueurs chimiotaxonomiques pour ce genre.

Mots clés : Cistaceae, Euphorbiaceae, *Helianthemum sessiliflorum*, *Euphorbia pterococca*, Lignanes, Flavonoïdes, Polyphénols, Triterpènes tétracycliques, RMN 1D et 2D.

Abstract

The work presented in this manuscript is a part of our ongoing program of the phytochemical researches conducted on medicinal and aromatic plants growing in the regions of Aures and north of Sahara of Algeria by our phytochemistry group affiliated to the laboratory of chemistry and environmental chemistry (LCCE) since about fifteen years.

This research aims, on one hand, at valuing the biological resources connected to the vegetable biodiversity of the Algerian flora and the empirical knowledge associated with the use in traditional medicine of plants, and on the other hand, this work has as goal the discovery of new bioactive compounds which could possess interesting biological activities.

The choice of selected plants *Helianthemum sessiliflorum* Pers. and *Euphorbia pterococca* Brot., was based mainly on the fact that these two species belong to families Cistaceae and Euphorbiaceae respectively, known for their richness on various secondary metabolites, with interesting biological activities, as well as, their good reputation in local traditional medicine. These two species have been not the subject of any previous chemical investigation.

The organic extracts of the species *H. sessiliflorum* (aerial parts) and *E. pterococca* (whole plant) were chemically studied by using chromatographic methods (VLC, CC, TLC and HPLC) to lead to the isolation of **45** natural substances. The isolated compounds were submitted to diverse spectroscopic analyses including 1D and 2D NMR (^1H , ^{13}C , *J*-modulated, DEPT, COSY, HSQC, HMBC, TOCSY, NOESY and ROESY), mass spectrometry HR-ESI-MS and HR-EI-MS, UV-Vis, IR and measurement of the optical rotation $[\alpha]_D$. This study allowed the characterization of **5** new structures along with **40** known compounds belonging mainly to two big groups of chemical compounds polyphenols and triterpenes, from which several products are famous for their therapeutic virtues and their interesting biological activities.

The first new compound, belonging to the class of lignans, was isolated from the EtOAc extract of the species *H. sessiliflorum* with **20** other known compounds consisting of two lignans, nine flavonoids, five benzoic acid derivatives, one fatty acid and two phytosterols. The work realized on the *n*-BuOH extract of this species permitted to obtain **12** compounds including one lignan glucoside, six flavonoids and four free sugars.

Four other new compounds were identified from the acetone extract of species *E. pterococca* and possessed acylated tetracyclic triterpene structures. This extract provided also **11** known compounds consisting of seven tetracyclic triterpenes and two phytosterols as well as two phenolic compounds.

The isolated secondary metabolites from the plant *H. sessiliflorum* indicating that phenolic compounds, in particular flavonoids, remain the dominant constituents of the genus *Helianthemum*. Tetracyclic triterpenes identified in the species *E. pterococca* are of type cycloartane. These compounds which are widespread among the species of the genus *Euphorbia* are considered as chemotaxonomic markers for this genus.

Keywords: Cistaceae, Euphorbiaceae, *Helianthemum sessiliflorum*, *Euphorbia pterococca*, Lignans, Flavonoids, Polyphenols, Tetracyclic triterpenes, 1D and 2D NMR.

ملخص

يُدرج العمل المقدم في هذه الأطروحة في إطار استمرارية الأبحاث الفيتوكيميائية المنجزة من قبل مجموعة الفيتوكيمياء التابعة إلى مخبر الكيمياء و كيمياء البيئة (LCCE) منذ حوالي خمسة عشر سنة حول النباتات الطبية و العطرية التي تنمو في مناطق الأوراس و شمال الصحراء.

يهدف هذا البحث من جهة إلى تثمين المصادر البيولوجية المتعلقة بالتنوع للغطاء النباتي الجزائري و المعرفة المكتسبة حول هذا الغطاء عبر العصور في ميدان الاستعمال في الطب الشعبي و من جهة أخرى يصبو هذا العمل إلى اكتشاف مركبات طبيعية جديدة ذات نشاط بيولوجي فعال .

اختيار النباتات المحددة للبحث في هذه المذكرة و المسماة : *Helianthemum sessiliflorum* Pers. و *Euphorbia pterococca* Brot. يعتمد أساسا على انتماء هذه الأصناف من النباتات إلى العائلات Cistaceae و Euphorbiaceae المعروفة بوفرتها على مختلف مركبات الايض الثانوي ذات خصائص بيولوجية مهمة وكذا على سمعتها الجيدة في استعمال نباتاتها في الطب التقليدي المحلي. هذين الصنفين من النباتات لم يكونوا موضوع أي بحث فيتوكيميائي من قبل.

في هذا السياق , تمت دراسة المستخلصات العضوية للصنفين *H. sessiliflorum* و *E. pterococca* من الناحية الكيميائية وذلك باستعمال الطرق الكروماتوغرافية (HPLC و CCE, CC, VLC) لعزل 45 مركب طبيعي في حالة نقية. تم خضع هذه المركبات للتحليل المطيافية : مطيافية الرنين النووي المغناطيسي ذات بعد واحد و ذات بعدين , مطيافية الكتلة ESI-MS و EI-MS , مطيافية الأشعة تحت الحمراء و مطيافية الأشعة فوق البنفسجية و المرئية و حساب زاوية التدوير النوعي. سمحت هذه التحاليل من تحديد 5 بنيات كيميائية جديدة مع 40 مركب طبيعي معروف والتي تنتمي أساسا إلى مجموعتين كبيرتين من نواتج الايض الثانوي : الفينولية و التريتربينية أين الأغلبية منها معروفة بخصائصها العلاجية و نشاطاتها البيولوجية المتميزة .

تم عزل المركب الجديد الأول المنتمي إلى قسم لينيان من المستخلص AcOEt للصنف *H. sessiliflorum* مع 20 مركب معروف آخر ينقسمون إلى اثنين لينيان, تسعة فلافونويدات, خمسة مشتقات حمض بنزويكي, حمض دسم و اثنان فيتوستيرول. سمحت الأعمال المنجزة على المستخلص *n*-BuOH لهذه النبتة من التحصل على 12 مركب طبيعي : واحد لينيان جليكوزيلي, ستة فلافونويدات و أربع مركبات سكرية حرة.

تم التحصل على اربعة مركبات جديدة اخرى من المستخلص الاسيتوني لنبتة *E. pterococca* و تحمل هيكل تريتربينية اسيلية رباعية الحلقة. مكننا أيضا هذا المستخلص من الحصول على 11 مركب طبيعي معروف ينقسم إلى سبعة تريتربينات رباعية الحلقة , اثنان فيتوستيرول و اثنان من المركبات الفينولية.

تبين من المركبات المعزولة من النبتة *H. sessiliflorum* بان المركبات الفينولية خاصة الفلافونويدات هي السائدة في الصنف *Helianthemum*. التريتربينات رباعية الحلقة المعزولة من النبتة *E. pterococca* هي من النوع سيكلوارطان. هذه المركبات معروفة على أنها السائدة في نباتات النوع *Euphorbia* و تعتبر من المركبات المحددة للتصنيف الكيميائي لهذا النوع من النباتات.

الكلمات المفتاحية : Cistaceae , Euphorbiaceae , *Helianthemum sessiliflorum* , *Euphorbia pterococca* , لينيان, فلافونويد, متعدد الفينول, تريتربان رباعي الحلقة, مطيافية الرنين النووي المغناطيسي.

Lignans and Other Constituents from *Helianthemum sessiliflorum* Pers.

**Imane Benabdelaziz¹, Hamada Haba^{*1}, Catherine Lavaud²,
Dominique Harakat², Mohammed Benkhaled¹**

¹ *Laboratoire de Chimie et Chimie de l'Environnement (L.C.C.E), Département de Chimie, Faculté des Sciences, Université de Batna, Batna 05000, Algérie*

² *Laboratoire de pharmacognosie, Institut de Chimie Moléculaire de Reims, CNRS UMR 6229, BP 1039, 51097 Reims Cedex 2, France*

(Received July 07, 2014; Revised September 23, 2014; Accepted October 26, 2014)

Abstract: One new lignan named 1-*O*-acetyl prinsepiol (**1**), in addition to nineteen known compounds including two lignans; 1 α -hydroxypinoresinol (**2**) and (+)-cyclooolivil (**3**), one fatty acid; (-)-pinellic acid (**4**), five phenolic acids; benzoic acid (**5**), *p*-hydroxybenzoic acid (**6**), protocatechuic acid (**7**), vanillic acid (**8**) and gallic acid (**9**), nine flavonoids; (-)-epicatechin (**10**), (-)-catechin (**11**), (-)-epigallocatechin (**12**), (-)-gallocatechin (**13**), astragalin (**14**), tiliroside (**15**), quercetrin (**16**), isoquercetrin (**17**) and myricitrin (**18**), and two phytosterols; β -sitosterol (**19**) and daucosterol (**20**) were isolated from the aerial parts of AcOEt extract of medicinal plant *Helianthemum sessiliflorum* Pers. of the family Cistaceae. The structures of all the isolated compounds **1-20** were determined by spectral methods including 1D (¹H and ¹³C NMR) and 2D NMR (COSY, HSQC, HMBC and NOESY), HR-ESI-MS, values of optical rotation and chemical correlations with known compounds that have been described in the literature.

Keywords: *Helianthemum sessiliflorum*; Cistaceae; lignans; phenolics; NMR. © 2015 ACG Publication. All rights reserved

1. Introduction

Helianthemum is a genus of plants including around 110 species of evergreen and semi-evergreen shrubs and belongs to the Cistaceae family also known as rock rose, sun rose and rush rose. This genus can be found in America, Europe and Northern Africa. However, the Mediterranean region is considered its center of diversity [1]. *Helianthemum sessiliflorum* Pers. is a perennial plant usually grows in arid and semi-arid areas in the Mediterranean region [2,3]. A previous biological study revealed that *H. sessiliflorum* had interesting biological activities as analgesic and anti-inflammatory [4]. *H. sessiliflorum* held a place of importance from ancient times as many species of this genus due to their widely reported uses as folk medicinal plants [5] where the aerial parts of this plant have been frequently used for the treatment of cutaneous lesion [6]. *H. sessiliflorum* is known to possess an important ecological interest. It is related to hypogeous species commonly named desert truffles and establishes mycorrhizal symbiosis with them [7,8]. This plant and its associated fungi play a major role in the maintenance of Mediterranean shrublands and verophytic grasslands, in terms of preventing

*Corresponding author : E-Mail : haba.hamada@yahoo.fr; Phone : +213-33 86 89 80 Fax : +213- 33 86 89 80

erosion and desertification [9,10]. The phytochemical investigation of the AcOEt extract of the aerial parts of *H. sessiliflorum* resulted in the identification of one new lignan; 1-*O*-acetyl prinsepiol (**1**), together with nineteen known compounds (**2-20**).

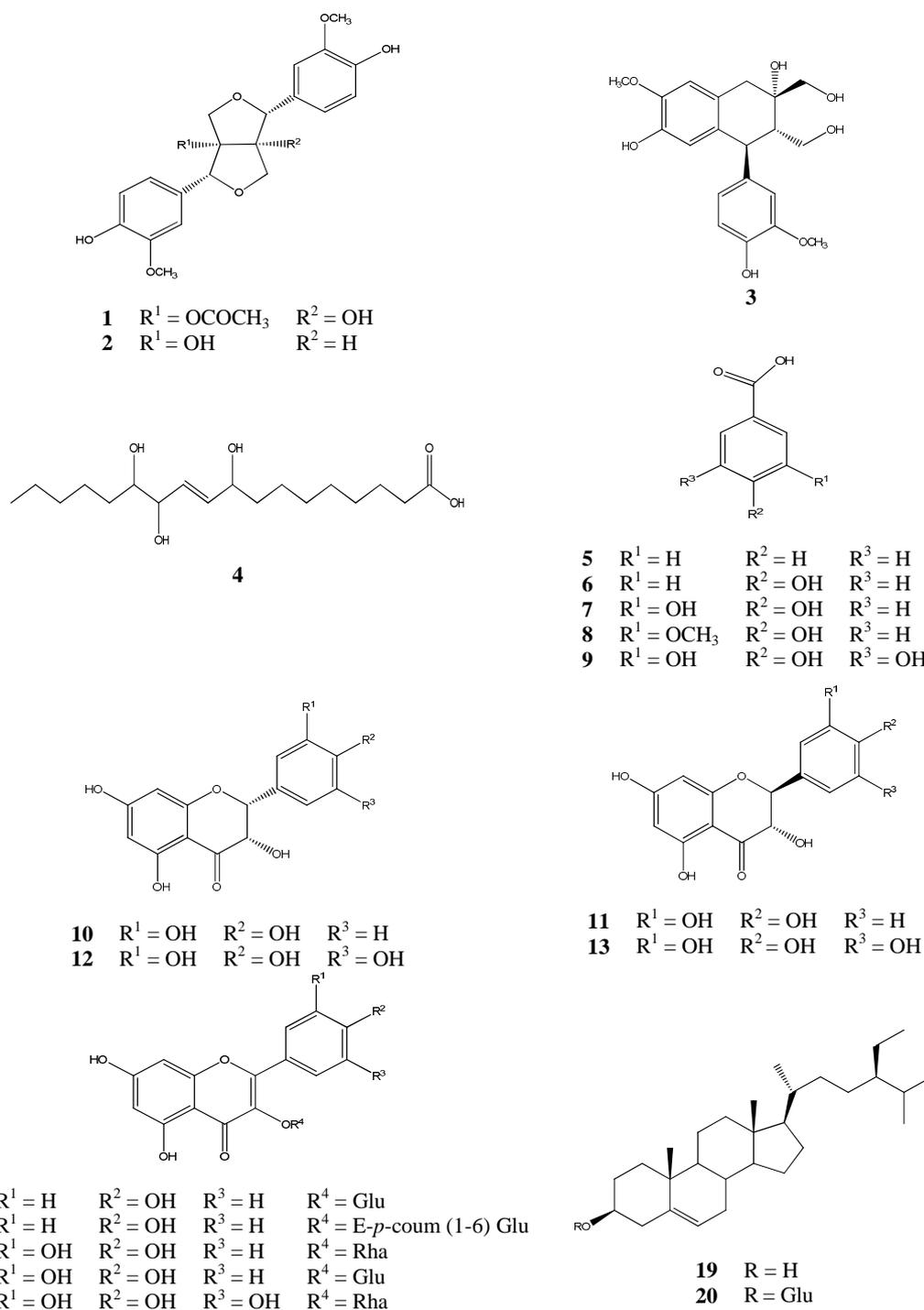


Figure 1. Structures of compounds **1-20** isolated from *Helianthemum sessiliflorum* Pers.

2. Materials and Methods

2.1. General procedures

Column chromatography (CC) was carried out using silica gel (SiO_2 ; 320 – 400 mesh; Merck), RP-18 reversed phase SiO_2 (40 – 63 μm , Merck), Polyamide (SC-6) and Sephadex LH-20 (25 – 100

μM). TLC and prep. TLC: Pre-coated silica gel (Kieselgel 60 F₂₅₄, Merck) and RP-18 reversed-phase SiO₂ (Kieselgel 60 F_{254S}, Merck) plates, detection at 254 and 366 nm and by spraying with sulfuric acid reagent (50%), followed by heating. HPLC was carried out on a *Dionex* (Luna 5 μC 18 (2) 100 A column (250 mm \times 10 mm \times 5 μm); UVD detector). Optical rotations were measured on a Perkin-Elmer 241 polarimeter. UV Spectra were recorded on a Beckman DU-600 spectrophotometer; λ_{max} in nm. IR spectra were obtained on a Shimadzu IR-470 spectrometer; KBr pellets; $\bar{\nu}$ in cm^{-1} . NMR experiments were performed on a Bruker-Avance-600 Spectrometer; δ in ppm rel. to Me₄Si as internal standard, J in Hz. MS spectra were measured by a Bruker Esquire MSQ-Trap (ESI) and Bruker Micromass Q-TOF (HR-ESI) spectrometers; in m/z .

2.2. Plant material

Aerial parts of *H. sessiliflorum* Pers. were collected during the flowering period (May 2011) in southern Algeria (Biskra). A voucher specimen accession number (664/LCCE) is identified by Prof. Bachir Oudjehih of Agronomic Institute of Batna University.

2.3. Extraction and isolation

Dried aerial parts (1Kg) of the plant material were macerated with 70% EtOH (3 \times 10 L) at room temperature. The EtOH extract was concentrated then diluted with H₂O and partitioned successively with cyclohexane (3 \times 150 mL), AcOEt (3 \times 150 mL) and *n*-butanol (3 \times 150 mL). The AcOEt extract (3.2 g) was fractionated on VLC (SiO₂) with the solvent system cyclohexane/AcOEt (100:0 to 0:100) then AcOEt/MeOH (100:0 to 0:100) to give four Fractions (1-4). Fraction 2 (450 mg) was subjected to reversed phase Silica gel column chromatography employing MeOH/H₂O (20:80 to 100:0) yielded twenty fractions (Fr. 2-1 to Fr. 2-20). Fr. 2-6 (30 mg) was submitted to semi-prep. HPLC using MeCN/H₂O (20:80) to provide **1** (3.5 mg) and **2** (4 mg). Further purification of Fr. 2-12 by CC (Sephadex LH-20, CHCl₃) gave **4** (16 mg). Fraction 1 (500 mg) was fractionated by CC (SiO₂, PE/AcOEt, 100:0 to 10:90) to get fifteen fractions (Fr. 1-1 to Fr. 1-15). Fr. 1-5 (100 mg) was subjected to prep. TLC (SiO₂) using CHCl₃/MeOH (9:1) to lead **7** (15 mg) and **8** (19 mg). Fr. 1-7 (55 mg) was separated by CC (Sephadex LH-20, CHCl₃) to give **9** (19.5 mg). Fr. 1-9 (90 mg) was subjected to Polyamide SC-6 CC eluting with toluene/MeOH (100:0 to 85:15), followed by prep. TLC (RP-18) using MeOH/H₂O (3:7) to obtain compounds **12** (18 mg) and **13** (10 mg). Purification of Fr. 1-14 (79 mg) over Polyamide SC-6 CC with the solvent system toluene/MeOH (100:0 to 80:20) allowed the isolation of **15** (20 mg). Fr. 1-2 (30 mg) was applied to CC (SiO₂, PE/AcOEt, 90:10 to 5:95) to yield **19** (18 mg). Fraction 3 (250 mg) of VLC was submitted to CC (SiO₂) with solvent system CH₂Cl₂/MeOH (100:0 to 50:50) and afforded ten fractions (Fr. 3-1 to Fr. 3-10). Fr. 3-5 (60 mg) gave, after purification on Sephadex LH-20 CC eluting with CHCl₃/MeOH (8:2) then on prep. TLC (RP-18) developed with MeOH/H₂O (1:3), two compounds **10** (10.5 mg) and **11** (11.8 mg). Fr. 3-6 (80 mg) was further subjected to Polyamide SC-6 CC using toluene/MeOH as eluent (95:5 to 85:15), then Sephadex LH-20 CC eluting with CHCl₃/MeOH (95:5 to 70:30) to provide compounds **3** (15 mg), **5** (9 mg) and **6** (10 mg). Fr. 3-7 (50 mg) was chromatographed over Polyamide SC-6 CC. Elution was performed by toluene/MeOH (95:5 to 60:40) to provide **14** (10 mg) and **16** (8 mg). Fr. 3-10 (45 mg) gave **17** (12 mg) and **18** (11 mg) after separation on Polyamide SC-6 CC eluting with toluene/MeOH (95:5 to 80:20), then on Sephadex LH-20 using CHCl₃/MeOH (100:0 to 85:15) and followed by prep. TLC (SiO₂) with CHCl₃/MeOH/H₂O (35:15:1). Fraction 4 of VLC (198 mg) was precipitated in MeOH to give 30 mg of compound **20**.

3. Results and Discussion

The 70% EtOH extract of the aerial parts of *H. sessiliflorum* was partitioned into fractions soluble in cyclohexane, AcOEt and *n*-butanol. Repeated column chromatography over silica gel (SiO₂), reversed-phase (RP-18), Polyamide SC-6 and Sephadex LH-20, and semi-prep. HPLC (RP-18) of the AcOEt extract afforded twenty compounds (Figure 1), the new furofuran lignan; 1-*O*-acetyl prinsepiol (**1**), along with nineteen known ones named 1 α -hydroxypinoresinol (**2**) [11], (+)-cyclooolivil (**3**) [12], (-)-pinellic acid (**4**) [13], benzoic acid (**5**) [14], *p*-hydroxybenzoic acid (**6**), protocatechuic acid (**7**),

vanillic acid (**8**) [15], gallic acid (**9**) [16], (-)-epicatechin (**10**) [17], (-)-catechin (**11**) [18], (-)-epigallocatechin (**12**) [16], (-)-gallocatechin (**13**) [19], astragalol (**14**) [20], tiliroside (**15**) [21], quercetrin (**16**), isoquercetrin (**17**) [22], myricitrin (**18**) [16], β -sitosterol (**19**) [23] and daucosterol (**20**) [24].

Compound **1** was obtained as colorless oil with the negative optical rotation $[\alpha]_D^{22} = -20.5$ ($c = 0.275$, AcOEt). Its ESI-MS⁺ showed pseudomolecular ion peaks at m/z 455 $[M + Na]^+$ and 887 $[2M + Na]^+$. The formula as C₂₂H₂₄O₉ with 11 degrees of unsaturation was confirmed by HR-ESI-MS (m/z 455.1322 $[M + Na]^+$; calc. 455.1318). IR spectrum displayed absorption bands at 3475 cm⁻¹ (hydroxyl), 1725 cm⁻¹ (carbonyl) and 1605, 1580, 1515 cm⁻¹ (aromatic ring). In the UV spectrum maxima of absorption were observed at 232 and 278 nm suggesting the presence of aromatic system. ¹H NMR and COSY spectra of **1** (Table 1) showed in the aromatic part signals of protons resonating at δ_H 7.00 (H-2'), 6.93 (H-2''), 6.87 (H-5'), 6.98 (H-5''), 6.95 (H-6') and 6.91 (H-6'') due to the presence of two 1,3,4-trisubstituted aromatic rings A and B respectively. The ¹H NMR spectrum displayed also two large singlet signals at δ_H 5.64 and 5.68 that showed no correlations in the HSQC spectrum ascribable to two hydroxyl groups. Moreover, two singlet signals at δ_H 3.89 (3H) and 3.94 (3H) were observed in the ¹H NMR spectrum attributed to two methoxyl groups which were located at C-3' and C-3'' positions according to HMBC cross-peaks from the methoxyl protons 3'-OMe/3''-OMe, H-2'/H-2'', H-5'/H-5'' and 4'-OH (δ_H 5.64)/4''-OH (δ_H 5.68) to the quaternary aromatic carbons C-3' (δ_C 145.9)/C-3'' (δ_C 146.6) respectively. So, both the aromatic moieties A and B were identified as 4-hydroxy-3-methoxyphenyl. The ¹H and ¹³C NMR and HSQC spectra (Table 1) exhibited the characteristics of a pinosresinol-type lignan [25-28], with particularly the presence of two methylene groups bearing an oxygen function at δ_H 4.17 (H-4a); 4.12 (H-4b) and δ_C 74.9 (C-4), and 4.72 (H-8a); 4.28 (H-8b) and δ_C 75.9 (C-8), and two oxymethine protons at δ_H 5.33 (H-2) and δ_C 86.6 (C-2), and 4.92 (H-6), δ_C 87.1 (C-6) of furofuran lignan. The only difference between **1** and 1 α -hydroxy-pinosresinol **2** isolated also in this study (Table 1), was the lack in **1** of signals of methine group observed in the case of **2** at δ_H 3.15 (H-5) and δ_C 60.1 (C-5), and the appearance of resonances due to one acetoxyl group at δ_H 1.54 (CH₃-2''') and δ_C 20.9 (C-2''') and δ_C 168.8 (C-1'''), and one downfield oxygenated quaternary carbon resonating at 88.2 ppm of furofuran ring. The HMBC experiment (Figure 2) showed ²J and ³J correlations from protons H₂-4 and H₂-8 to carbons C-1 (δ_C 91.4), C-2 (δ_C 86.6), C-5 (δ_C 88.2) and C-6 (δ_C 87.1). The two oxymethine protons H-2 and H-6 correlated in the HMBC spectrum with oxymethylene carbons C-4 (δ_C 74.9) and C-8 (δ_C 75.9). These assignments confirmed the presence of furofuran ring substituted in C-1 and C-5 positions as observed in prinsepiol [25]. The ²J cross-peak noted during the HMBC experiment between H-2 and the aromatic quaternary carbon C-1' (δ_C 128.3) showed the link between C-2 and the first 1,3,4-trisubstituted aromatic ring A while the correlation depicted from H-6 to C-1'' (δ_C 127.5) providing evidence that C-6 was attached to ring B (Figure 2). These spectral data were in close agreement with those reported for prinsepiol except for the chemical shift observed for C-1 (δ_C 91.4) indicative of an acetoxyl group linked to C-1 [26,29]. The location of this group at C-1 was also confirmed on the basis of the comparison of chemical shift of the aromatic quaternary carbon C-1'' of ring B (δ_C 127.5) upfield (-0.8 ppm) to the corresponding signal of C-1' of ring A (δ_C 128.3). This upfield shift is due to the γ substituent effect of the hydroxyl group at the C-5 (δ_C 88.2) [29].

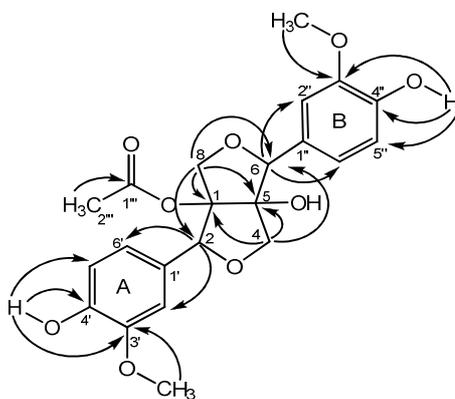
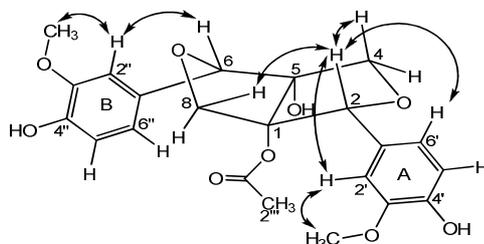


Figure 2. Pertinent HMBC (H → C) correlations of compound **1**

Table 1. ^1H NMR and ^{13}C NMR data of **1** and **2** in CDCl_3 (δ in ppm, J in Hz, recorded at 600 MHz and 150 MHz, respectively).

Position	1		2	
	δ_{H}, m, J	δ_{C}	δ_{H}, m, J	δ_{C}
1	-	91.4	-	91.6
2	5.33 (1H, <i>s</i> , H-2 β)	86.6	4.87 (1H, <i>br. s</i> , H-2 β)	87.8
4a	4.17 (1H, <i>d</i> , $J = 9.8$, H-4 α)	74.9	4.56 (1H, <i>t</i> , $J = 8.7$, H-4 α)	71.7
4b	4.12 (1H, <i>d</i> , $J = 9.7$, H-4 β)		3.87 (1H, <i>dd</i> , $J = 9.1, 6.3$, H-4 β)	
5	-	88.2	3.15 (1H, <i>td</i> , $J = 7.9, 5.2$, H-5 α)	60.1
6	4.92 (1H, <i>s</i> , H-6 β)	87.1	4.89 (1H, <i>d</i> , $J = 4.8$, H-6 β)	85.8
8a	4.72 (1H, <i>d</i> , $J = 11.2$, H-8 β)	75.9	4.08 (1H, <i>d</i> , $J = 9.3$, H-8 β)	74.7
8b	4.28 (1H, <i>d</i> , $J = 11.2$, H-8 α)		3.94 (1H, <i>d</i> , $J = 9.2$, H-8 α)	
1'	-	128.3	-	127.0
1''	-	127.5	-	132.3
2'	7.00 (1H, <i>d</i> , $J = 1.6$)	111.9	7.01 (1H, <i>d</i> , $J = 1.4$)	109.3
2''	6.93 (1H, <i>d</i> , $J = 1.5$)	109.3	7.03 (1H, <i>br. s</i>)	109.0
3'	-	145.9	-	146.0
3''	-	146.6	-	145.4
4'	-	145.7	-	146.9
4''	-	145.8	-	146.7
5'	6.87 (1H, <i>d</i> , $J = 8.2$)	113.9	6.98 (1H, <i>d</i> , $J = 8.1$)	114.7
5''	6.98 (1H, <i>d</i> , $J = 8.1$)	114.5	6.93 (1H, <i>br. s</i>)	114.2
6'	6.95 (1H, <i>dd</i> , $J = 8.2, 1.6$)	122.5	6.90 (1H, <i>dd</i> , $J = 8.1, 1.4$)	119.7
6''	6.91 (1H, <i>dd</i> , $J = 8.1, 1.5$)	119.8	6.93 (1H, <i>br. s</i>)	119.6
3'-OMe	3.89 (3H, <i>s</i>)	55.9	3.95 (3H, <i>s</i>)	56.0
3''-OMe	3.94 (3H, <i>s</i>)	56.0	3.93 (3H, <i>s</i>)	55.9
4'-OH	5.64 (1H, <i>br. s</i>)	-		
4''-OH	5.68 (1H, <i>br. s</i>)	-		
1'''	-	168.8		
2'''	1.54 (3H, <i>s</i>)	20.9		

From the above data, **1** was an acetylated derivative of prinsepiol ($[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -18.41$) [26] and the same stereochemistry was expected for the both compounds. It was established previously that the junction between the two five-membered rings of pinoresinol-type lignans was always *cis* and both fusion rings adopt an envelope conformation, with the two oxygen atoms pointing away (Figure 3) [30-33]. This stereochemistry was confirmed by NOE correlations depicted in the NOESY spectrum between protons H-4b/H-2 and H-4b/H-6, as well as between H-8a/H-2 indicating that all these protons were on the same face of the molecule and deduced to be (β)-oriented. Thus, the aromatic rings A and B had an (α)-equatorial orientation (Figure 3). This (α)-arrangement was further confirmed by the upfield chemical shift of the acetyl protons at δ_{H} 1.54 (CH_3 -2''') due particularly to the shielding cone of the aryl group (ring A) [26], and by the downfield chemical shifts of oxymethine protons H-2 β and H-6 β at δ_{H} 5.33 and 4.92 respectively in comparison with the same protons for related structures having aryl moieties (β)-axial oriented [33-35]. The NOESY cross-peak observed between H-4b/H-2 β and the absence of correlation from H-6 β to H-8a supported a chair/boot conformation for furofuran ring (Figure 3) [25,30]. Thus, **1** was found to be a new compound identified as 1-acetoxy-5-hydroxy-2,6-di(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3,7-dioxabicyclo[3.3.0]octane named 1-*O*-acetyl prinsepiol.

**Figure 3.** Key NOESY ($\text{H} \leftrightarrow \text{H}$) correlations of compound **1**

4. Conclusions

In this study we describe the isolation and identification of one new lignan; 1-*O*-acetyl prinsepiol (**1**), with nineteen known compounds (**2-20**), from Algerian medicinal plant *Helianthemum*

sessiliflorum. The phytochemistry of this species is dominated by both flavonoids and phenolic compounds. These results are in good agreement with other reports on the chemical composition of Cistaceae family, to which the genus *Helianthemum* belongs [36-38]. To the best of our knowledge, this is the first report on the occurrence of lignan compounds in plants of Cistaceae family. The major isolated compounds have been previously found to be effective in many biological tests [39-42] and showed a relationship between the chemical constituents of *H. sessiliflorum* and its reported biological activities [4].

Acknowledgments

This work was supported by the DGRSDT of the Algerian Minister of Higher Education and Scientific Research (PNR Project 8/u05/853) and University of Reims Champagne-Ardenne (France).

Supporting Information

Supporting Information accompanies this paper on <http://www.acgpubs.org/RNP>

References

- [1] D.J. Mabberly (1997). The plant book. Cambridge university press, Cambridge.
- [2] J.A. Battandier (1888). Flore de l'Algérie Dicotylédones. Librairie F. Savy, Paris.
- [3] P. Ozanda (1991). Flore et végétation du Sahara. 3^{ème} édition, CNRS, Paris, France.
- [4] N.B. Ermeli, S.G. Alsabri, S.M. Bensaber, B.S. Mohamed, A.A. Zetrini, K.M. Aburas, S.R. Fitouri, M.I. Jaeda, I.A. Mrema, A. Hermann and A.M. Gbaj (2012). Screening of analgesic and anti-inflammatory activities for two Libyan medicinal plants: *Helianthemum lippii* and *Launaea residifolia*, *J. Chem. Pharm. Res.* **4**, 4201-4205.
- [5] A. Rubio-Moraga, J. Argandoña, B. Mota, J. Pérez, A. Verde, J. Fajardo, J. Gómez-Navarro, R. Castillo-López, O. Ahrazem and 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, *J. Ethnopharmacol.* **148**, 287-296.
- [6] O. Ustun, B. Ozcelik, Y. Akyon, U. Abbasoglu and E. Yesilada (2006). Flavonoids with anti-*Helicobacter pylori* activity from *Cistus laurifolius* leaves, *J. Ethnopharmacol.* **108**, 457-461.
- [7] T. Turgeman, J. Ben Asher, N.R. Bejerano, V.K. Zur, Y. Kapulnik and Y. Sitrit (2011). Mycorrhizal association between the desert truffle *Terfezia boudieri* and *Helianthemum sessiliflorum* alters plant physiology and fitness to arid conditions, *Mycorrhiza.* **21**, 623-630.
- [8] A. Slama, M. Gorai, Z. Fortas, A. Boudabous and M. Neffati (2012). Growth root colonization and nutrient status of *Helianthemum sessiliflorum* Desf. inoculated with a desert truffle *Terfezia boudieri* Chatin., *Saudi J. Biol. Sci.* **19**, 25-29.
- [9] A. Zambonelli and G.M. Bonito (2012). Edible ectomycorrhizal mushrooms: current knowledge and future prospects. Springer Heidelberg, New York.
- [10] Y.P.S. Bajaj (1997). High-Tech and micropropagation VI. Springer-verlage Berlin Heidelberg, New York.
- [11] M.C. Yang, K.H. Lee, K.H. Kim, S.U. Choi and K.R. Lee (2007). Lignan and terpene constituents from the aerial parts of *Saussurea pulchella*, *Arch. Pharm. Res.* **30**, 1067-1074.
- [12] Z. Yue, H. Qin, Y. Li, Y. Sun, Z. Wang, T. Yang, L. Liu, M. Wang, F. Feng and Q. Mei (2013). Chemical constituents of the root of *Jasminum giraldii*, *Molecules.* **18**, 4766-4775.
- [13] T. Shirahata, T. Sunazuka, K. Yoshida, D. Yamamoto, Y. Harigaya, I. Kuwajima, T. Nagai, H. Kiyohara, H. Yamada and S. Ōmura (2006). Total synthesis, elucidation of absolute stereochemistry, and adjuvant activity of trihydroxy fatty acids, *Tetrahedron.* **62**, 9483-9496.
- [14] G. Tadesse, P. Reneela and A. Dekebo (2012). Isolation and characterization of natural products from *Helinus mystachnus* (Rhamnaceae), *J. Chem. Pharm. Res.* **4**, 1756-1762.
- [15] T.S. Martin, H. Kikuzaki, M. Hisamoto and N. Nakatani (2000). Constituents of Amomum tsao-ko and their radical scavenging and antioxidant activities, *JAOCS.* **77**, 667-673.
- [16] X.Y. Guo, N.L. Wang, L. Bo, Y.H. Li, Q. Xu and X.S. Yao (2007). Chemical constituents from *Pithecellobium clypearia* and their effects on T lymphocytes proliferation, *JPCS.* **16**, 208-213.
- [17] J.L. Donovan, D.L. Luthria, P. Stremple and A.L. Waterhouse (1999). Analysis of (+)-catechin, (-)-epicatechin and their 3'- and 4'-O-methylated analogs. A comparison of sensitive methods, *J. Chromatogr. B.* **726**, 277-283.
- [18] Q.S. Hua, W.D. Grang, M.Y. Bao and L.X. Dong (2003). A novel flavane from *Carapa guianensis*, *Acta Bot. Sin.* **45**, 1129-1133.

- [19] Y.G. Chen, L.N. Hai, Y. Liu and X.R. Liao (2009). DNA cleavage agents from *Schisandra propinqua* var. *sinensis*, *Afr. J. Biotechnol.* **8**, 4650-4652.
- [20] L.Ö. Demirezer, F. Gürbüz, Z. Güvenalp, K. Ströch and A. Zeeck (2006). Iridoids, flavonoids and monoterpene glycosides from *Galium verum* subsp. *verum*, *Turk. J. Chem.* **30**, 525-534.
- [21] R.A. Gomes, R.R.A. Ramirez, J.K.D.S. maciel, M.D.F. Agra, M.D.F.V. De souza, V.S. Falcão-Silva and J.P. Siqueira-Junior (2011). Phenolic compounds from *Sidastrum micranthum* (A. St.-Hil.) fryxell and evaluation of acacetin and 7,4'-di-*O*-methylisoscuteellarein as motulator of bacterial drug, *Quim. Nova.* **34**, 1385-1388.
- [22] O.A. Eldahshan (2011). Isolation and structure elucidation of phenolic compounds of carob leaves grown in Egypt, *Curr. Res. J. Biol. Sci.* **3**, 52-55.
- [23] W. David, A. Robert, C. Norton and B. Mabry (1992). Carbon-13 NMR studies on sitosterol biosynthesized from [¹³C] Mevalonates, *Phytochemistry.* **31**, 805-811.
- [24] L. Voutquenne, C. Lavaud, G. Massiot, T. Sevent and H.A. Hadi (1999). Cytotoxic polyisoprenes and glycosides of long-chain fatty alcohols from *Dimocarpus fumatus*, *Phytochemistry.* **50**, 63-69.
- [25] P. Cuadra and V. Fajardo (2002). A new lignan from the Patagonian *Valeriana carnososa* Sm., *Bol. Soc. Chil. Quím.* **47**, 361-367.
- [26] S.B. Kilidhar, M.R. Parthasarathy and P. Sharma (1982). Prinsepiol, a lignan from stems of *Prinsepia utilis*, *Phytochemistry.* **21**, 796-797.
- [27] Z. Xiuyun, L. Bogang, Z. Min, Y. Xiaohong and Z. Guolin (2006). Chemical constituents from *Gymnosporia varialilis* Loes., *Chin. J. Appl. Environ. Biol.* **12**, 163-169.
- [28] A.L. Piccinelli, S. Arana, A. Caceres, R.D. Divilla-Bianca, R. Sorrentino and L. Rastrelli (2004). New lignans from the roots of *Valeriana prionophylla* with antioxidative and vasorelaxant activities, *J. Nat. Prod.* **67**, 1135-1140.
- [29] H. Tsukamoto, S. Hisada and S. Nishibe (1984). Lignans from bark of *Olea* plants. I, *Chem. Pharm. Bull.* **32**, 2730-2735.
- [30] G. Lutz, O. Hofer, G. Brader and C. Kratky (1997). Conformational analysis of tetrahydrofurofuran lignans: Sesamolin, *Heterocycles.* **45**, 287-298.
- [31] O. Hofer and G. Wurz (1992). Lanthanide induced shifts of aromatic 1,2,3-trimethoxy compounds: conformational analysis of tetrahydrofurofuran-lignans in solution, *Monatsh. Chemie.* **123**, 105-120.
- [32] D.C. Ayres and J.D. Loike (1990). Lignans: chemical, biological and clinical properties. Cambridge university press, Cambridge.
- [33] A.C. Casabuono and A.B. Pomilio (1994). Lignans and a stilbene from *Festuca argentina*, *Phytochemistry.* **35**, 479-483.
- [34] T. Guo, H. Xie, Y.X. Deng and S.L. Pan (2012). A new lignan and other constituents from *Zanthoxylum armatum* DC., *Nat. Prod. Res.* **26**, 859-864.
- [35] Y.H. Luo, Z.Q. Zhou, S.C. Ma and H.Z. Fu (2014). Three new antioxidant furofuran lignans from *Callicarpa nudiflora*, *Phytochem. Lett.* **7**, 194-197.
- [36] T. Vogt, P. Proksch and P.G. Gülz (1987). Epicuticular flavonoid aglycones in the genus *Cistus*, Cistaceae, *J. Physiol.* **131**, 25-36.
- [37] F.A. Tomás-Barberán, F. Tomás-Lorente, F. Ferreres and C. Garcia-Viguera (1989). Flavonoids as biochemical markers of the plant origin of bee pollen, *J. Sci. Food Agr.* **47**, 337-340.
- [38] A. Danne, F. Petereit and A. Nahrstedt (1994). Flavan-3-ols, prodelphinidins and further polyphenols from *Cistus salvifolius*, *Phytochemistry.* **37**, 533-538.
- [39] F. Calzada and A.D. Alanís (2007). Additional antiprotozoal flavonol glycosides of the aerial parts of *Helianthemum glomeratum*, *Phytother. Res.* **21**, 78-80.
- [40] A. Daniela, E. Pichichero, L. Canuti, R. Cicconi, D. Karou, G. D'arcangelo and A. Canini (2007). Identification of phenolic compounds from medicinal and melliferous plants and their cytotoxic activity in cancer cells, *Caryologia.* **60**, 90-95.
- [41] E. Karimi, E. Oskoueian, R. Hendra, A. Oskoueian and H.Z.E. Jaafar (2012). Phenolic compounds characterization and biological activities of *Citrus aurantium* Bloom, *Molecules.* **17**, 1203-1218.
- [42] K. Dimas, C. Demetzos, D. Angelopoulou, A. Kolokouris and T. Mavromoustakos (2000). Biological activity of myricetin and its derivatives against human leukemic cell lines *in vitro*, *Pharmacol. Res.* **42**, 475-478.