

REPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ MENTOURI – CONSTANTINE
FACULTÉ DES SCIENCES EXACTES
DÉPARTEMENT DE CHIMIE

N° d'ordre.....
Série.....

MEMOIRE
PRESENTE POUR OBTENIR LE DIPLOME DE MAGISTER
EN CHIMIE ORGANIQUE

OPTION
Phytochimie

**Etude phytochimique des plantes médicinales
Algériennes, cas de l'espèce *Inula crithmoides L.***

PAR
Melle BELLOUM Zahia

Sous la direction du professeur :
M. BENAYACHE Samir

Devant le jury:

Présidente	F. Benayache	Prof	Univ. Mentouri	Constantine
Rapporteur	S. Benayache	Prof	Univ. Mentouri	Constantine
Examineur	A. Belattar	Prof	Univ. Mentouri	Constantine
Examineur	A. Teniou	Prof	Univ. Mentouri	Constantine
Examinatrice	R. Mekkiou	M. C.	Univ. Mentouri	Constantine

Soutenue: 2007



*Je Remercie Dieu
Le Tout Puissant Pour
Tout.....*





*Merci à ma famille pour son soutien et son écoute et en particulier mes
parents SMAIL et KHADOUDDJA.*

*Je remercie également mes collègues : Ameer, Rachid, Chaouki, Tiba,
Kaouttare, Souada; Hanene, Manel, Souheila, Zahra, Wasima,
Souheila, pour leur présence.*

*Je remercie également mes amis : K.Karima, H.Karima, Farida, Siham,
Habiba, Ismahane, Moustafa et Abd elhamid et Mabrouk,
...pour leur amitié.*

*Mes remerciements s'adressent également à l'ensemble des personnes qui
m'ont aidé par leur travail par leur matériel informatique et par leur
patience et soutien moral.*



Dédicaces

Je dédie ce travail :

A mon très cher père SMAIL, je lui dédie avec fierté ce mémoire qui reflète le fruit de l'éducation et de l'attention qu'il m'a tant réservé, je suis très reconnaissante et j'aurai tant aimé partager la joie de ma réussite avec lui.

A l'âme de mon cher grand père SMAIL « Souleymane » aujourd'hui je me recueille sur sa tombe et lui dit avec fierté aussi : « Repose en paix et que dieu te garde dans son vaste paradis ».

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

A toute ma petite famille surtout :

***A HBB.*

***A mes frères : Achour et sa petite famille surtout à son petit Tamir Taki Edine ; à Djamel, Yassine, Mokhtar, et Chouaib pour leur soutien et leur amour.*

***A mes sœurs : Ibtissam, Souad pour leur soutien moral et pour leur amour et soins.*

A ma grande familles chaqu'un avec son nom.

Sans oublier mon cher grand père Brahim et sa famille pour leurs aides morales, leurs conseils précieux, et leurs encouragements ; Je ne peux témoigner ma reconnaissance.

Merci à tous

Table des matières

Table des figures et tableaux.....	8
Abréviations utilisées	14
Notes Techniques	16
Avant-propos.....	18
Introduction Générale.....	20
INTRODUCTION : « Histoire des plantes médicinales »	21
Introduction.....	22
Les plantes et l'homme : une longue histoire	22
L'utilisation des plantes.....	23
Conclusion :.....	26
<i>Chapitre 1 : rappels bibliographique</i>	27
I-les métabolites secondaires :.....	28
I-1 Les différentes classes de métabolites secondaires.....	28
I-2 Leurs différents rôles défensifs	30
I-3 Où trouve-t-on les métabolites secondaires dans les plantes?.....	30
II-Les Flavonoïdes :.....	32
II-1. Généralité.....	32
II-2 Structure chimique et classification.....	33
II-3 Synthèse totale.....	37
II-4 Découverte des flavonoïdes.....	39
II-5 Biosynthèse.....	39
II-6 Les flavonoïdes comme antioxydants.....	45
II-7 Activité biologique.....	51

II-8 Méthodes d'étude structurale des flavonoïdes.....	51
III-Les Terpènes :.....	68
III-1 Généralité.....	68
III-2 Règle isoprénique	69
III-3 La biosynthèse des isoprénoïdes.....	70
III-4 Classification des terpénoïdes	77
III-4-1 Monoterpènes.....	77
III-4-2 Sesquiterpènes.....	78
III-4-3 Diterpènes.....	79
III-4-4 Les triterpènes.....	80
III-4-4-1 Classification.....	82
III-4-4-2 Nomenclature.....	83
III-4-4-3 Biosynthèse des triterpènes.....	84
III-4-4-4 Triterpènes pentacycliques.....	85
III-4-5 Les Stéroïdes et Stérols.....	89
III-4-6 Réactions caractéristiques des triterpènes et stérols.....	94
III-4-7 La Stéréostructure des triterpénoïdes.....	95
III-4-8 Les Tétraterpènes.....	98
III-4-9 Les Polyterpènes.....	98
<i>Chapitre 2 :</i>	99
<i>1. La famille des Astéraceae.</i>	99
1.1. Présentation.....	99

1.2 Intérêt pharmacologique, nutritionnel et commercial.....	102
2. Le genre <i>Inula</i>	103
2.1 Présentation.....	103
2-2 Caractère chimique du genre <i>Inula</i>	104
2.3 Travaux antérieur et quelques principaux métabolites isolés du genre.....	107
2.4 Propriétés pharmacologiques des <i>Inula</i>	115
Chapitre 3. L'espèce <i>Inula crithmoides L.</i>	118
3.1 Introduction.....	118
3.2 Classification systématique et aspect botanique.....	119
3.3 Caractéristiques botaniques de <i>Inula crithmoides L.</i> :.....	120
3.4 Répartition géographique.....	122
3.5 Toxicité.....	122
3.6 Usages Médicinal.....	122
3.7 Travaux antérieurs sur <i>Inula crithmoides L. subsp. crithmoides</i>	123
Chapitre 4: étude chimique de l'espèce <i>Inula crithmoides L.</i>	128
I. Protocoles expérimentale :	129
I.1. Récolte et Séchage du matériel végétal.....	129
I.2. La macération.....	129
I.3. Séparation chromatographiques.....	131
A- séparation et purification des composantes de l'extrait chloroforme.....	132
B- séparation et purification des composantes de l'extrait Acétate d'éthyle.....	140
II. Résultats et Discussions :	143
Introduction.....	144
1. Elucidation structurale du mélange F ₁₀₋₂	145
2. Elucidation structurale du stigmastérol F ₁₁₋₁	171

3. Elucidation structurale du composé $A \equiv F_{8-3-1} \equiv F_{X-4}$	186
4. Elucidation structurale du composé F_6	194
Conclusion.....	196
Conclusion générale.....	197
Références Bibliographiques.	199

Abréviations utilisées

Les références bibliographiques sont désignées par un chiffre arabe placé en exposant et sont regroupées à la fin.

Les abréviations et notation utilisées dans ce document sont explicitées ci-dessous:

Ac ₂ O	anhydride Acétique
AcOH	acide acétique
ED ₅₀	Dose Efficace pour inhiber 50%de l'activité
IC ₅₀	Concentration Inhibitrice
MeOH	Méthanol
EtOH	Ethanol
H ₂ O	Eau
H ₂ SO ₄	acide sulfurique
AlCl ₃	chlorure d'aluminium
NaOH	hydroxyle de sodium
NaOAc	acétate de sodium
Py	pyridine
H ₃ BO ₃	acide borique
HCl	acide chlorhydrique
EtOAc	acétate d'éthyle
CH ₂ Cl ₂	dichlorométhane
CHCl ₃	chloroforme (trichlorométhane)
CDCl ₃	chloroforme deutéré
CD ₃ OD	méthanol deutéré
CCM	Chromatographie sur Couche Mince
HF	Hartree-Fock
R _f	facteur de Retardement
IR	InfraRouge
UV	UltraViolet
CG/MS	Chromatographie Gazeuse couplée à un Spectromètre de Masse
SMIE	Spectrométrie de Masse en mode Impact Electronique

RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
¹³C	carbone 13
¹H	proton
HMBC	Heteronuclear Multiple Bonding Connectivity
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Correlation
COSY	CORrélation SpectroscopY
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfert
δ (ppm)	Déplacement chimique en partie par million
J(Hz)	constante de couplage exprimé en hertz
s	Singulet
d	doublet
dd	doublet dé doublet
t	triplet
q	quadruplet
m	multiplet

Les unités couramment utilisées sont citées ci-dessous :

°C	température en degrés Celsius
eV	électron Volt
g	gramme
Hz	Hertz
MHz	MegaHertz
mg	milligramme
min	minute
ml	millilitre

Notes Techniques

Spectrométrie de Résonance Magnétique Nucléaire :

Les spectres ont été enregistrés sur des appareils à transformée de Fourier :

- Brüker avance DP 250 (250 MHz pour le H¹, 62.9 MHz pour le C¹³) du département de Chimie de l'université Mentouri-Constantine.
- Brüker ARX 400 (400 MHz pour le proton et 100 MHz pour le carbone-13) de l'Université de Strasbourg.

Les positions des pics (déplacement chimique) sont données en échelle δ et exprimées en partie par millions (ppm), le TMS est utilisé comme référence interne ($\delta=0$) dans la plupart des cas. Les spectres sont enregistrés dans le chloroforme deutéré CDCl₃. Les constantes de couplage (J) sont exprimées en Hertz (Hz).

Les notations suivantes sont utilisées : *s* : singulet, *d* : doublet, *t* : triplet, *q* : quadruplet, *m* : multiplet, *dd* : doublet dé doublet....

Spectrométrie Infra-Rouge:

Spectromètre Shimadzu F IR-8201 PC. Les composés solides sont greffés sur des pastilles en KBr et les liquides dissous dans le Nujol .Les fréquences d'absorption sont donnés en cm⁻¹.

Chromatographie :

Les chromatographies sur colonne ont été effectuées sur du gel de silice Merck 60 (230-400 Mesh).

Les chromatographies préparatives ont été effectuées sur plaques en verre avec du gel de silice 60 F₂₅₄.

Les chromatographies analytiques (CCM) ont été effectuées sur plaques (épaisseur : 0.2 mm) en aluminium recouvertes de gel Merck 60 F₂₅₄ et révélées par une lampe UV réglée sur 254 nm.

Avant propos

Ce travail a été effectué durant la période Octobre 2004 à Avril 2006, au sein du **Laboratoire de Valorisation des Ressources Naturelles et Synthèse de Substances Biologiquement Actives (VAREN)** du département de Chimie de la faculté des Sciences Exactes de l'Université Mentouri-Constantine.

Au moment de choisir ce sujet de magister, ce n'est pas le sujet pourtant "chaud" sur les différentes espèces étudiées qui m'a attiré vers le groupe " **PHYTOCHIMIE**", mais les compétences de son directeur M. SAMIR BENAYACHE. Je tiens à le remercier pour m'avoir offert l'opportunité de travailler au sein de son groupe de recherche, sur un projet scientifique intéressant et très stimulant. Merci pour la confiance qu'il m'a accordée pour mener à bien ce projet.

Ce choix a été pour ma part tout à fait satisfaisant, puisque les résultats présentés dans ce manuscrit ne sont que la partie visible de tous les apports que j'ai pu retirer de ces deux années de thèse passées sous la responsabilité du Professeur BENAYACHE Samir. Je tiens donc à lui exprimer toute ma reconnaissance pour sa grande disponibilité, ses conseils ainsi que ses compétences.

Mes remerciements s'adressent également à Madame BENAYACHE Fadila, professeur de l'université de Constantine, pour m'avoir fait l'honneur de présider et de juger ce travail. Il m'est particulièrement agréable de la remercier.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à Messieurs les professeurs BELATTAR Abdelhamid, TENIOU Abdelrahmen de l'université de Constantine pour avoir bien voulu accepter de juger ce travail.

Mes remerciements s'adressent également à Melle. MEKKIOU Ratiba de l'université de Constantine pour avoir accepté de juger ce travail.

Je tiens à remercier l'ensemble des personnes qui ont permis par leur travail et leur présence la création d'une ambiance favorable à la recherche et à la vie scientifique : M.M.Bouhroum; M.Y.Mechhoud; M.H.Dendougui; M.R.Sghiri; Melle.O.Benaissa; Melle.S.Bicha et à Melle .H.Zaatar.....

Mes remerciements s'adressent également à messieurs HAICHOUR Ali responsable de la spectrométrie de résonance magnétique nucléaire ; BENHAMOUD Abdelhamid chargé de la spectroscopie infra-rouge et BAGHRICHE Walid pour la spectroscopie Ultrat Violet pour leur disponibilité et leur sollicitude.

Introduction générale

Nous avons tous été témoins des évolutions importantes qui ont fait changer la façon d'aborder la recherche dans le monde du vivant. Il y a eu des révolutions technologiques dans quasiment toutes les disciplines des sciences de la vie. Les nouveaux outils disponibles s'affinent pour parer aux besoins non résolus, pour comprendre les processus biologiques complexes, pour concevoir de nouveaux concepts prometteurs, pour découvrir et produire de nouveaux principes actifs.

L'apparition de maladies nouvelles et la résistance développée par certains agents pathogènes représentent des catalyseurs très efficaces pour la recherche scientifique. Le développement de nouvelles méthodologies de synthèse et la préparation de molécules à usage thérapeutique constituent un objectif majeur et une préoccupation permanente pour de nombreux chercheurs.

Notre laboratoire a, depuis plusieurs années, développé un axe de recherche consacré principalement à la Phytochimie et à l'évaluation biologique des espèces du genre *Inula* et ce travail consiste en l'extraction, l'isolement et l'identification des métabolites secondaires notamment les flavonoides et les terpénoides.

Notre travail s'articule autour de quatre chapitres :

- Le premier propose une mise au point bibliographique sur les métabolites secondaires des plantes et leurs principaux groupes : flavonoides ; terpénoides, et les stérols.
- Et le deuxième traite de l'étude bibliographique de la famille des Astéraceae et du genre *Inula*.
- Dans le troisième Chapitre nous nous consacrerons dans un premier temps à l'étude botanique de l'espèce *Inula crithmoides* L. et en deuxième lieu à l'étude bibliographique de cette espèce.
- Le quatrième concerne la partie expérimentale qui porte sur l'étude chimique de l'espèce *Inula crithmoides* L. de point de vue extraction, séparation et purification de ses métabolites secondaires. Et enfin, à l'analyse structurale des composés obtenus.

*Introduction:
"histoire des
plantes médicinales"*

Introduction

Depuis fort longtemps, les plantes médicinales furent le principal recours du médecin pour la fabrication de remèdes pharmaceutiques.

Avec le développement de la chimie, et plus particulièrement les procédés de synthèse organique, la chimie des plantes a dans un premier temps marqué le pas, mais ces dernières années les produits naturels ont connu un regain d'intérêt.

Leurs réservoirs en matières premières furent et sont toujours exploités pour isoler des matières premières irremplaçables.

Au cours de l'évolution humaine, la médecine populaire et l'herboristerie ne cessèrent jamais de faire appel à des méthodes simples et s'employèrent à maintenir vivante une tradition thérapeutique connue depuis les premiers temps.

Et on peut à présent constater que l'industrie pharmaceutique, les médecins et les équipes de chercheurs se tournent à nouveau vers les ressources naturelles et les plantes médicinales ^[1].

Les plantes et l'homme : une longue histoire :

Connue depuis la nuit des temps, l'efficacité des vertus des plantes a fait son chemin. Soucieux d'un retour à la nature, l'homme en redécouvre aujourd'hui les bienfaits.

Le premier texte jamais écrit sur la médecine par les plantes est en argile. Il regroupe une série de tablettes gravées en caractères cunéiformes et ses auteurs, les Sumériens, le rédigèrent il y a quelques 3000 ans avant Jésus-Christ.

Ainsi commence l'histoire officielle de la phytothérapie, depuis plus de 6000 ans on sait également que les hommes utilisent les plantes pour se soigner et que la phytothérapie est l'une des plus anciennes médecines du monde.

En effet, dès son origine, l'homme a cherché à calmer ses maux et à réduire ses souffrances. Pour cela, il a utilisé les produits immédiatement à sa portée. Le règne végétal fut son premier champ d'expériences. Peu à peu, il a appris à discerner les propriétés des plantes, leurs vertus, leur toxicité. Toutes les civilisations antiques :

mésopotamienne, égyptienne, chinoise, indienne, précolombienne avaient une panoplie de remèdes végétaux impressionnante [2; 4].

L'Utilisation des plantes :

L'utilisation des plantes n'était pas sans danger pour l'homme car non seulement il n'avait pas la notion des dosages efficaces pour traiter telle ou telle affection, mais il ne distinguait pas encore les plantes toxiques des plantes thérapeutiques. L'utilisation des plantes était souvent liée à des croyances religieuses ou à la magie et de ce fait on leur attribuait des pouvoirs surnaturels [4].

L'évolution de la connaissance des plantes médicinales par l'expérimentation, et probablement par l'observation des animaux dans leur sélection des plantes pour se nourrir, s'est concrétisée chez les herboristes et guérisseurs de l'antiquité par l'établissement de listes d'espèces et de formules de remèdes à base de plantes. Ces listes regroupaient déjà une centaine de plantes médicinales [4].

Ainsi, toutes les civilisations antiques : chinoise, mésopotamienne, grecque, égyptienne, indienne, perse, sud-américaine et européenne avaient appris à discerner les plantes à effet thérapeutique des autres plantes et surtout des plantes toxiques [4].

L'usage thérapeutique des plantes remonte aux temps les plus reculés de l'histoire de l'homme. En effet, l'histoire officielle de la phytothérapie prend ses "racines" il y a plusieurs millénaires. En voici les grandes étapes :

- **3 000 ans avant Jésus - Christ:** Le premier recueil connu de formules végétales (suspensions, décoctions et onguents) gravées en caractères cunéiformes sur des tablettes d'argile, découvert à Nippur en 1948, date de l'époque Sumérienne vieille de 5000 ans. Il recense jusqu'à 250 espèces de plantes, ce qui démontre l'importance que tenait déjà la phytothérapie à cette époque lointaine [4].
- **2 700 ans avant Jésus - Christ. :** Presque à la même époque, mais à plusieurs milliers de kilomètres de là en Chine, à l'époque légendaire des premiers grands empereurs, naissait le *Pen-Tsao*, fameux manuscrit dans lequel sont

- citées également de très nombreuses plantes, manuscrit qui fut actualisé par *Lee-Chee-Chen* au 16^{ème} siècle [3; 4].
- **2 400 ans avant Jésus - Christ**: Découvert à Louksor, le fameux *papyrus Ebers* des civilisations pharaoniques cite plusieurs centaines de plantes médicinales (près de 877 remèdes) [1]. Même la gouvernante de l'Égypte, Cléopâtre utilisait les essences et avait employé celle de jasmin et de roses connues pour leur propriétés aphrodisiaques pour séduire Antoine [3; 4]. Certains hiéroglyphes démontraient que les Égyptiens faisaient brûler de l'encens au lever du soleil en signe d'offrande au dieu du soleil et l'on offrait de la myrrhe au dieu de la lune. Des huiles et essences étaient couramment utilisées, en particulier dans les pratiques de momification.
 - **400 ans avant Jésus - Christ**: Hippocrate, le très célèbre médecin grec considéré comme le père de la médecine occidentale actuelle - consacre toute sa vie à l'utilisation thérapeutique des plantes et à tenter d'en expliciter leurs vertus. Il laisse une somme considérable de données (publiée en 280 avant J.-C.) dans le *Corpus Hippocratum* qui traite d'environ 250 "simples" [1; 3; 4].
 - **Au cours du 1^{er} siècle de notre ère** : Dioscoride, autre médecin grec et successeur spirituel d'Hippocrate, écrit son fameux *De Materia Medica* qui étudie, lui, environ 600 "simples", et qui restera l'ouvrage de référence en matière de plantes pendant de très nombreux siècles [3; 4].
 - **Au cours du 2^{ème} siècle** : C'est au tour de *Galien*, encore un médecin grec, de codifier l'emploi de toute ces plantes, et de mettre au point un nombre considérable de formulations magistrales à peine complétées et modifiées jusqu'à la fin du 18^{ème} siècle [3; 4].
 - **Du 3^{ème} au 18^{ème} siècle** : Peu de plantes vont venir s'ajouter aux 600 "simples" répertoriés par Dioscoride au cours de cette longue période, si ce ne sont quelques rares plantes originaires de contrées lointaines et encore inconnues en Occident, ou encore de certaines jalousement tenues secrètes par la médecine populaire, comme par exemple la digitale dont le secret

d'utilisation est arraché difficilement au 18^{ème} siècle à une guérisseuse qui le tenait certainement elle-même d'une transmission familiale à travers plusieurs générations de guérisseurs [4].

-**La civilisation arabe** : A l'apogée de l'empire arabe (dont les frontières allaient de l'Inde à l'Espagne), tous les documents écrits furent réunis à Bagdad dans la plus grande bibliothèque de l'époque (entre le 7^e et 9^e siècle)[3]. C'est au 9^e siècle seulement, qu'une équipe de traducteurs révisa les documents grecs pour en produire des versions plus précises en arabe. Les Arabes avaient aussi leurs spécialistes en médecine et en pharmacie : **Abu Bakr Muhammand Ibn Zakaria ar Rasi** ou **Rhazès** (865-925), persan d'origine, fut l'un des grand médecins de son temps et aussi le précurseur de la psychothérapie. Il fut suivi par **Abou Ali Ibn Abdillah Ibn Sina**, connu en Occident sous le nom **d'Avicenne** (980-1037) qui écrivit à Téhéran une œuvre qui s'intitule **Canon de la médecine**. Il reprit et compila les doctrines d'Hippocrate et de Galien. Ce livre servira de base à l'enseignement de la médecine dans les universités de Louvain et de Montpellier jusqu'aux environs de 1650 [3].

Mais le plus grand d'entre eux fut sans aucun doute Ibn al Baytar (1197-1248). Né à Malaga, il émigra en Orient où il rédigea le très complet **Somme des Simples** : ce livre contenait une liste de 1400 préparations et plantes médicinales dont un millier étaient connues des auteurs grecs.

Ce sont les Arabes qui donnèrent à la pharmacie son caractère scientifique. Les traditions pharmaceutiques arabes passèrent en Europe et influencèrent profondément les grandes universités de l'époque du 9^e siècle.

- **Du 19^{ème} siècle à la moitié du 20^{ème} siècle** : S'installe une période de désaffection pour la médecine par les plantes. A cela une raison : le développement de la synthèse organique et de l'industrie chimique [4; 7].

Une brève vue d'ensemble sur l'utilisation historique des plantes médicinales en Algérie :

Chaque culture a une histoire concernant l'utilisation des plantes médicinales pour traiter leurs maux. En Algérie l'utilisation des plantes médicinales est vieille d'un millier d'années. Les premières écritures sur les plantes médicinales en Algérie et dans le Maghreb remontent au 9^e siècle où *Ishâ-Ben-Amran* (docteur du prince de Kairouan, de la Tunisie) a laissé de divers traités sur la médecine, les drogues simples, *EL Bekry*, auteur *d'Abou Abdallah* d'un livre sur les usines importantes d'Andalusia et d'une description de l'Afrique du Nord et de *l'Abdallah-Ben-Lounès* un docteur très habile né à Oran, qui a décrit l'utilisation de beaucoup de plantes médicinales [15].

Même pendant le colonialisme Français de 1830 à 1962.les botanistes ont réussi a cataloguer un grand nombre d'espèces comme médicinales et un livre sur les plantes médicinales et aromatiques d'Algérie était publié en 1942 par *Fourment* et *Roques* ils ont mentionné 200 espèces décrites et étudiées pour la plupart d'elles dans le Nord d'Algérie et seulement 6 espèces du Sahara [13].

Le travail le plus récent publié sur les plantes médicinales est les livres écrits par *Beloued* (1998) et *Baba Aïssa* (1999).

Parmi les plantes médicinales d'importance, les plantes de la famille des *composées* qui constituent la plus vaste subdivision du règne végétal [13].

Conclusion :

Les plantes médicinales et leur utilisation diverses peuvent jouer un rôle important dans l'économie surtout dans les pays en voie de développement qui peuvent à un certain degré remplacer quelques importations des pays développés, d'où la nécessité d'une meilleure prise en charge de ce patrimoine national (étude, culture, protection...) et de ce fait les travaux sur la chimie de ces plantes développés aux niveaux des universités et des institutions doivent être encouragés pour mettre en évidence la spécificité de ces plantes.

En conclusion nous pouvons dire que le monde végétal dans lequel nous vivons est très riche et très diversifié et la plupart des propriétés de beaucoup de plantes qui nous entourent restent inconnues.

CHAPITRE UN

Rappels Bibliographiques

I -Les métabolites secondaires

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en dermopharmacie. Parmi ces composés on retrouve dans une grande mesure les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapeutique. La Pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche trouve chez les plantes des molécules actives nouvelles, ou des matières premières pour la semi synthèse [16].

On a longtemps employé des remèdes traditionnels à base de plantes sans savoir à quoi étaient dues leurs actions bénéfiques. L'isolement de principes actifs datant du 19^{ème} siècle, en améliorant la connaissance des structures, a fait progressivement se séparer et parfois s'opposer une phytothérapie traditionnelle souvent empirique avec une thérapeutique officielle incluant les principes chimiques et végétaux dont la pharmacologie était mieux connue. Cette thérapeutique officielle accepte parfois avec une certaine méfiance l'emploi de végétaux ou d'extraits complexes de végétaux dont l'action est confirmée par l'usage sans être attribuée de façon certaine à une molécule type [16].

Les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches basées sur les cultures in vivo et in vitro de tissus végétaux Ceci est notamment le cas des polyphénols végétaux qui sont largement utilisés en thérapeutique comme vasculoprotecteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et antiradicaux, en particulier les flavonoïdes et les proanthocyanidines [16].

I-1 Les différentes classes de métabolites secondaires :

On peut classer les métabolites secondaires en différents groupes [17]:

1. les composés phénoliques: avec un groupe hydroxyle sur un cycle aromatique. Ils interviennent dans les interactions plante-plante (allélopathie, inhibition de la germination et de la croissance). On a, par exemple, la lignine, les flavonoïdes, les phénylpropanoïdes et les anthocyanes et les tanins.
2. les composés azotés: Ils comprennent les alcaloïdes et les glycosides (qui larguent de l'acide cyanhydrique quand les plantes sont abîmées). Ils sont

synthétisés à partir d'acides aminés. On a, par exemple, la nicotine, l'atropine, la codéine et la lupinine.

§ les terpènes

§ les poly-isoprènes

Le Tableau 1 présente les principales classes de métabolites secondaires impliqués dans la résistance des plantes aux insectes. Les métabolites azotés, les polyphénols et les terpénoïdes sont présentés ici de façon plus détaillée bien que non exhaustive.

nd : non déterminé

Classe	Origine, biosynthèse	N°. de structures	Distribution et activité
Alcanes, aldéhydes, cires	Acétate-malonate	nd	Feuilles : cires cuticulaires
Lignines, tannins	Acide shikimique	nd	Paroi cellulaire Précipitent les protéines
Terpènoïdes		1300	Huiles essentielles (conifères), forte odeur, repoussants
Monoterpènes			Répandus, amers, toxiques
Sesquiterpènes	Acétate-mevalonate	6500	
Diterpènes		2900	Latex et résine, parfois toxiques
Triterpènes		3600	Répandus, amers, toxiques, colorés
Stéroïdes	Acétate-mevalonate et autres	70	+ de 100 familles végétales antihormones
Phytoecdysones			
Polyphénols	Shikimate	1000	Universeles (feuilles)
Simple		800	70 familles dicotylédones, toxiques, repoussantes
Coumarines			
Flavonoïdes	Shikimate-malonate	4000	Universeles, colorés, toxiques
Quinones	Shikimate-mévalonate	800	Répandus, colorés
Alcaloïdes	Hétérogène	10000	Angiospermes, toxiques, amers
Acides aminés non protéiques	Acides amines	1000	Graines de légumineuses, répandus, toxiques
Cyanogènes	Acides amines	60	2500 espèces de 130 familles toxiques
Glucosinolates	Acides amines	100	Crucifères, amers, acres
Amines		100	Angiospermes, repoussants, hallucinogènes

Tableau 1 : Principales classes de métabolites impliqués dans la défense des végétaux face aux insectes et autres ravageurs (Hartley, 2001 ; Panda and Khush, 1995).

I-2 Leurs différents rôles défensifs :

Leurs rôles sont multiples ^[17]:

- Ils ont une action anti-herbivore (menthe par exemple)
- ils inhibent les attaques des bactéries et des champignons
- ils interviennent dans la structure des plantes (lignines et tannins)
- ils peuvent être antinutritifs.

Beaucoup de métabolites secondaires sont toxiques, ils sont alors stockés dans des vésicules spécifiques ou dans la vacuole.

I-3 Où trouve-t-on les métabolites secondaires dans les plantes?

On trouve des métabolites secondaires dans de nombreux tissus végétaux, selon leur rôle défensif. Ces emplacements sont très variables selon les plantes ^[17]. Voici quelques exemples de localisation :

Tissus	Molécules	Plantes
Trichomes	monoterpènes	Lamiacées
Trichomes	sesquiterpènes	Solanacées
Trichomes	flavonoïdes	Solanacées
Cires	triterpènes	Asclépiadacées
Cires	phénols	Rosacées
Epiderme	alcaloïdes	Genista
Parois cellulaires	tannins	Beaucoup d'arbres
Cellules mortes	tannins	Plantes ligneuses
Vacuoles	glycosides cyanogéniques	Beaucoup de plantes
Vacuoles	alcaloïdes	Beaucoup de plantes
Glandes à huile	furanocoumarines	Citrus
Glandes à huile	sesquiterpènes	Gossypium
Latex	di- et triterpènes	Euphorbiacées
Latex	sesquiterpènes	Asteracées
Latex	alcaloïdes	Euphorbiacées
Canaux résinifères	diterpènes	Gymnospermes
Semence	amino-acides non protéiques	Légumes
Paroi des semences	furanocoumarines	Pastinaca
Ecorce	quinine	Cinchona

Les polyphénols sont probablement les composés naturels les plus répandus dans la nature et de ce fait sont des éléments faisant partie de l'alimentation animale [16].

Les polyphénols possèdent plusieurs groupement phénoliques, avec ou non d'autres fonctions (OH alcoolique, carboxyle,...). Dans cette catégorie, on trouve de nombreuses substances : les noyaux simples en C₆-C₁ et C₆-C₃, les noyaux dérivant de l'extension du phénylpropane, en C₆-C₃-C₆, comme les chalcones, les flavones, les flavonols ou les dérivés du flavane ou du flavane-3-ol (catéchines et proanthocyanidines). Toutes ces substances ont une voie de biosynthèse commune et sont appelées flavonoïdes, au sens large du terme [16].

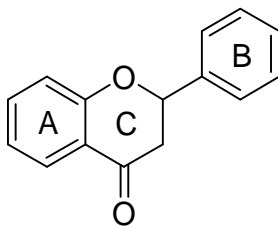
Les composés phénoliques des végétaux constituent un groupe d'une extrême diversité dont les flavonoïdes font partie. Plusieurs milliers de molécules ont été identifiées à ce jour. Ainsi, nous en absorbons chaque fois que nous consommons un aliment d'origine végétale.

Les flavonoïdes font partie de la grande classe des composés phénoliques, métabolites secondaires abondants dans le règne végétal ; et comprennent notamment les flavones et les flavonols. Ils se caractérisent des autres produits dérivés de la voie des phénylpropanoïdes par une structure en C₁₅ (C₆-C₃-C₆), provenant de la condensation de trois unités malonyl et d'une unité coumaroyl [16]. Dans ce qui suit nous présentons quelques notions sur cette classe de métabolites secondaires :

II-FLAVONOÏDES :

II-1 – Généralités :

1.1. Les flavonoïdes sont des composés phénoliques, caractérisés par une structure commune en C₆-C₃-C₆ dans laquelle deux cycles benzéniques sont reliés par un élément en C₃, différente selon la nature des flavonoïdes [18].



1.2. Les flavonoïdes sont largement distribués dans le règne végétal où ils existent, le plus souvent sous la forme soluble d'hétérosides. Quasiment absents chez les Algues, ils apparaissent chez les Bryophytes. Chez les Fougères et les Gymnospermes, ils sont présents mais leur variété structurale est faible. Ils sont par contre très largement représentés chez les Angiospermes où leur variété structurale est maximale [19].

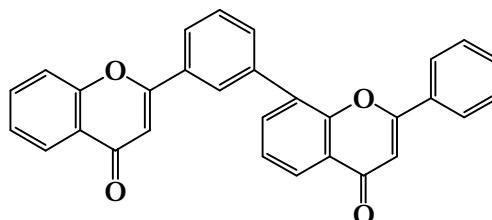
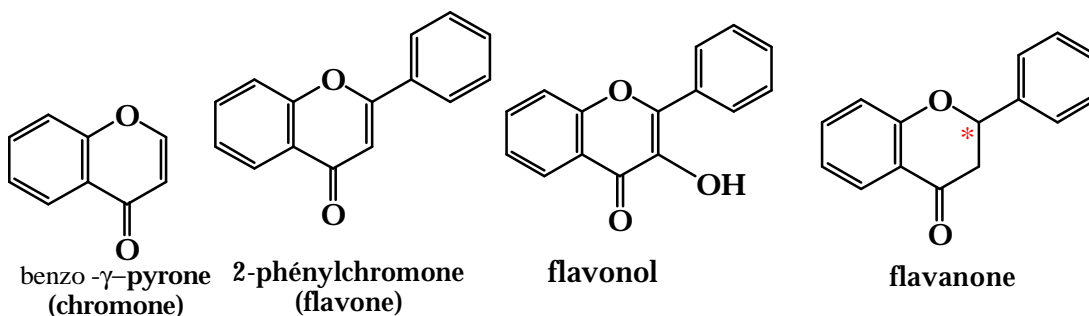
1.3. Vraisemblablement synthétisés au niveau des plastides cytoplasmiques, les flavonoïdes s'accumulent dans le suc vacuolaire. Présents dans le mésophylle et l'épiderme des feuilles, dans la cuticule épidermique des fruits, ils peuvent aussi exister dans d'autres organes. En général, ils sont surtout abondants dans les organes jeunes [19].

1.4. Comme beaucoup d'autres métabolites secondaires, la fonction physiologique des flavonoïdes est loin d'être connue. La fonction écologique de ces pigments est plus évidente: responsable de la coloration de nombreuses fleurs et de certains fruits - mais aussi "guide à nectar", motifs visibles par les seuls insectes en UV- ils attirent et guident les pollinisateurs favorisant ainsi la reproduction de l'espèce. Chez les Orchidaceae, le marquage flavonoïdique disparaît après la pollinisation, incitant ainsi l'insecte à ne visiter que des fleurs non pollinisées [20].

II-2- Structure chimique et classification :

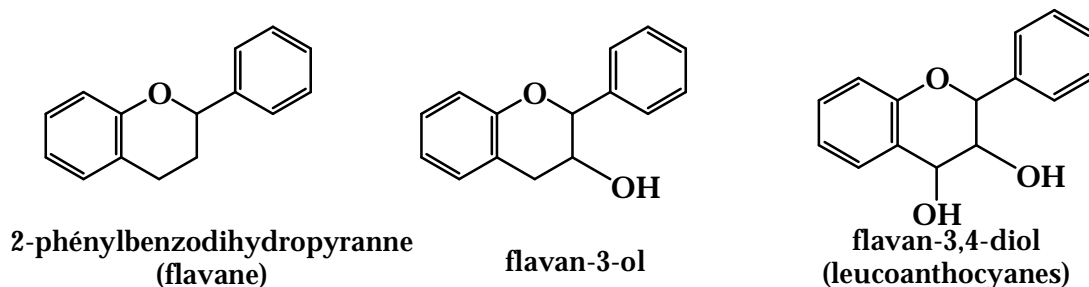
L'élément commun des flavonoïdes est d'être rattachés à un noyau de base ^[21]: le 2-phénylchromone. Le terme flavonoïde pris dans son sens le plus large s'applique à des structures très diverses. Selon la nature de son hétérocycle oxygéné, on peut distinguer les dérivés suivants:

- Dérivés du 2-phénylchromone: flavones, flavonols, flavanones et formes dimères

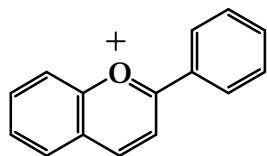


Biflavonoïde

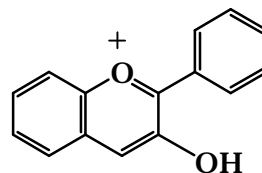
- Dérivés du 2-phénylchromane ou flavane: flavan-3-ol (les catéchols) et les flavan-3,4-diols (leucoanthocyanes)



- Dérivés du flavylum: anthocyanes

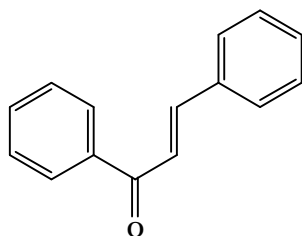


2-phénylbenzopyrylium
(flavylium)

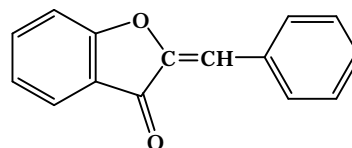


anthocyanes

- Les chalcones sont des dérivés flavonoïdiques où les noyaux aromatiques sont reliés par une chaîne tricarbonée ouverte.
- Les aurones sont des homologues des flavones à hétérocycle pentagonal.



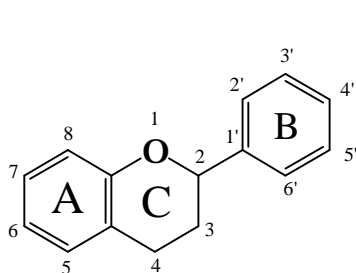
chalcones



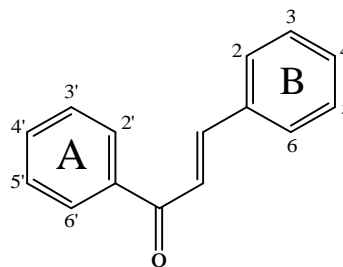
Aurones

L'ensemble de ces substances est caractérisé par une structure commune en $C_6-C_3-C_6$, dans laquelle deux cycles benzéniques appelés noyau A et noyau B sont reliés par un élément en C_3 appelé noyau C, différent selon la nature des flavonoïdes.

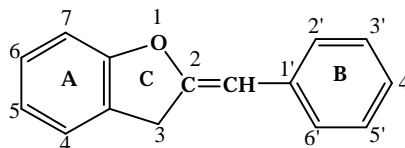
II-2-2 Numérotation



C:hétérocycle hexagonal



C:cycle ouvert



C:hétérocycle pentagonal

II-2-3 Etat naturel:

Les flavonoïdes existent le plus souvent sous forme d'hétérosides constitués par un ou plusieurs oses et une substance non glucidique appelée génine ou aglycone [22].

Les flavonoïdes sont des HETEROSIDES, c'est-à-dire des dérivés de GENINES sur lesquelles un ou plusieurs OSES sont greffés. La liaison GENINE-OSE existe grâce à la réunion, soit d'un hydroxyle phénolique, soit d'un hydroxyle de l'hétérocycle oxygéné, soit d'un -CH avec l'hydroxyle hémiacétalique du ou des ose(s) [23].

Les flavonoïdes sont largement rencontrés dans le règne végétal. Ils sont cependant rares chez les végétaux inférieurs. Par contre, on les trouve en abondance dans les familles suivantes :

- POLYGONACEES
- RUTACEES
- LEGUMINEUSES
- APIACEES (= OMBELLIFERES)
- ASTERACEES (= COMPOSEES)

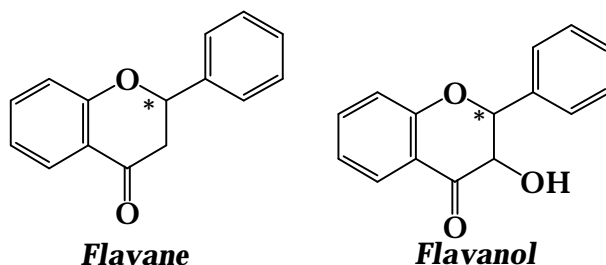
De plus, leur localisation au sein de la plante est caractéristique. En effet, les flavonoïdes se répartissent volontiers dans les organes aériens jeunes (jeunes feuilles, boutons floraux) où ils sont localisés dans les tissus superficiels (assise palissadique). Ils se répartissent aussi volontiers dans les racines [24].

II-2-4 Les aglycones

Dans toutes les séries mentionnées précédemment, les noyaux aromatiques sont substitués selon un schéma caractéristique imposé par la biosynthèse. Les substituants peuvent être : OH, OCH₃, O- Oside, O- prényl, C- CH₃, C- prényl [21]. Le noyau A est habituellement substitué en 5 et 7, et il est rarement monosubstitué.

Le noyau B, dans la majorité des cas est substitué par une fonction oxygénée en *para* (en 4') ou par 2 fonctions oxygénées en *méta* et *para* (3', 4'). Une 3ème substitution n'est pas rare (3', 4', 5'), mais l'absence de substitution est exceptionnelle [21].

Du point de vue stéréochimie, le carbone 2 d'une flavanone possède la configuration *S* et lorsque le carbone 3 est substitué la configuration est habituellement *trans*. (2*R*, 3*R*).



II-2-5 Les glycosides

La partie osidique peut être très simple, réduite à une ose courante (glucose, rhamnose, xylose....) ou oligosidique [21].

Les oligosaccharides résultent de l'association de molécules d'oses de même nature ou d'oses différents. Ainsi on peut avoir [21]:

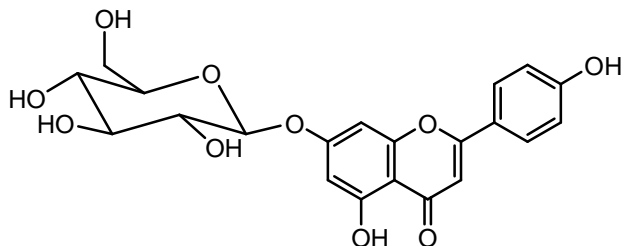
- des disaccharides: *ex1*: rutinose : α - L - rhamnosyl (1---> 6) β - D - glucose. *ex2*: sophorose : β - D - glucosyl (1--->2) β -D - glucose
- ou des trisaccharides *ex*: gentiotriose

Il n'est pas exceptionnel que la chaîne osidique soit acylée par un acide (*ex*: acide *para*-coumarique ou acide malonique). Selon les modes de liaisons entre l'aglycone et l'ose on distingue les O-glycosides des C-glycosides [21].

• O- glycosides

La liaison entre l'ose et l'aglycone est du type C - O - C (aglycone - O - ose). Ce sont de loin les plus fréquents. La liaison entre l'aglycone et la partie osidique se fait préférentiellement par l'intermédiaire de l'hydroxyle en 7 chez les flavones et flavanones, par celui en 3 chez les flavonols, ce qui n'exclut pas d'autres possibilités. C'est chez les flavonols que la diversité structurale des glycosides est la plus grande [21].

On connaît plus d'une centaine de glycosides ayant comme aglycone la quercétine et autant pour le kaempférol.

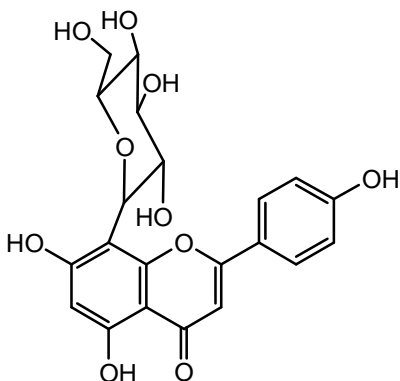


Les O-glycosides sont des composés facilement hydrolysables en oses et aglycones soit en milieu acide soit par voie enzymatique.

- C-glycosides

Ces composés ne sont pas rares. La liaison s'établit entre le carbone anomérique de l'ose et le carbone 8 ou 6 de l'aglycone lequel est le plus souvent une flavone. On connaît des di-C-glycosylflavonoïdes ainsi que des O-acyl-C-glycosyl-flavonoïdes [21].

Exemple de C-glycoside: la vitexine.



II-3 – Synthèse totale :

Il existe au moins 4 voies pour former le squelette C₆-C₃-C₆, mais seulement 2 ont sont employés [18].

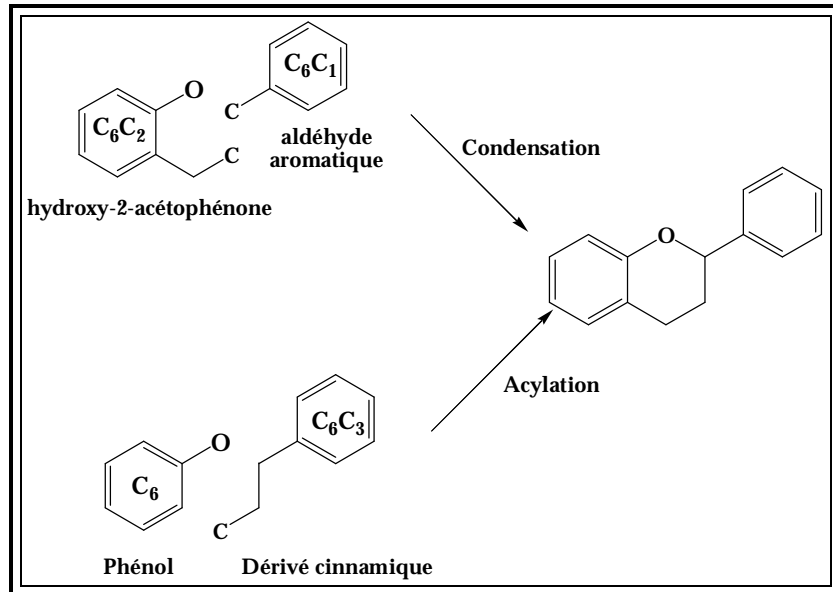
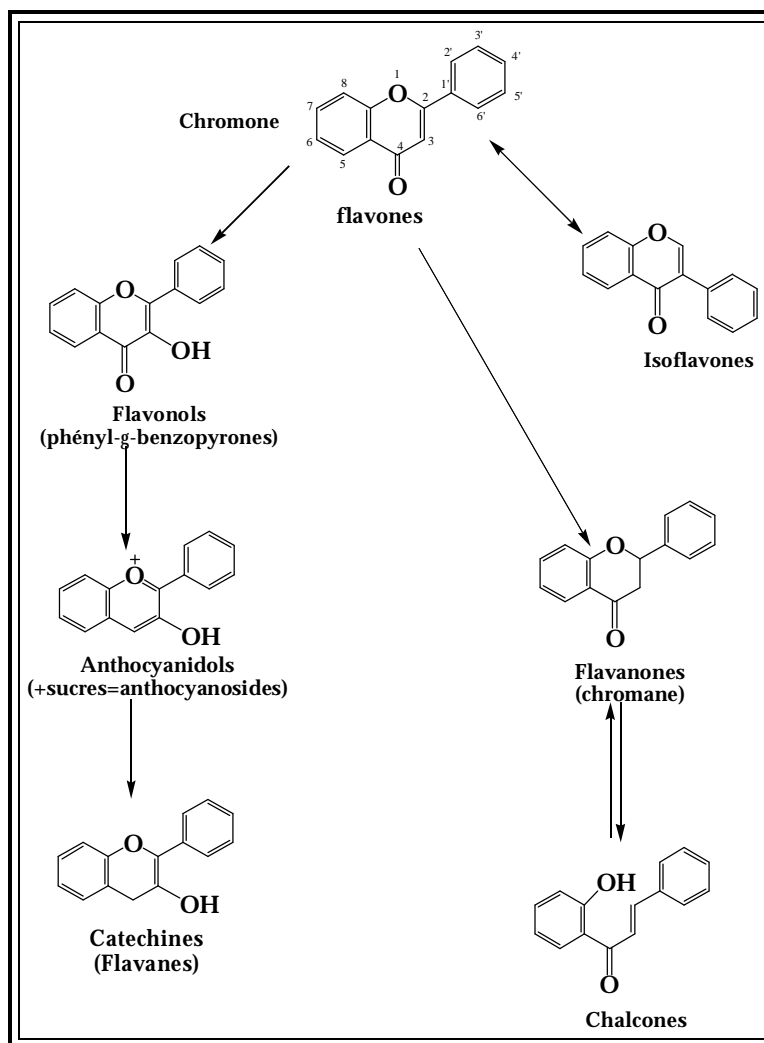


Schéma interactif [18]



II-4- Découverte des flavonoïdes:

L'intérêt nutritionnel pour les flavonoïdes date de la découverte de la vitamine C, à la suite des travaux de *Szent Gyorgyi en 1938*. Le scorbut expérimental cède à l'ingestion de jus d'agrumes mais résiste à la seule administration d'acide ascorbique. Plus pratiquement, les symptômes hémorragiques du scorbut liés à la fragilité des vaisseaux sont guéris par des extraits de Paprika et du jus de citron alors que l'acide ascorbique seul est inefficace. Les analyses chimiques ont montré que la fraction active était de nature flavonique. Cette action des flavonoïdes sur la perméabilité vasculaire a été appelée propriété vitaminique P (P étant la première lettre du mot perméabilité). Cette notion de vitamine P n'existe plus à l'heure actuelle puisqu'elle ne correspond pas à la définition classique des vitamines ; par contre, les flavonoïdes sont considérés comme des micronutriments importants puisqu'ils peuvent jouer des rôles antioxydants ou posséder des propriétés biologiques diverses que nous présenterons dans ce mémoire. [25]

II-5 - Biosynthèse

De nos jours, plus de 4000 flavonoïdes ont été identifiés. Ils ont une origine biosynthétique commune et par conséquent, possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbone, constitué de deux unités aromatiques, deux cycles en C₆ (A et B), reliés par une chaîne en C₃ [26].

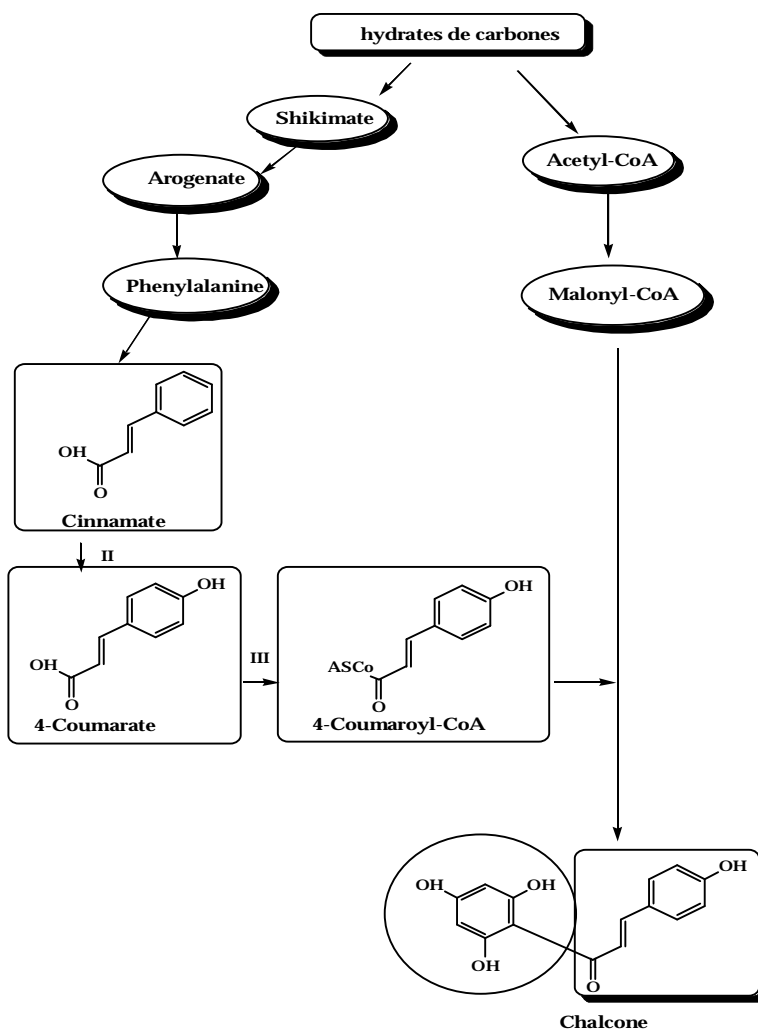
Leur biosynthèse (*Figure 4*) se fait à partir d'un précurseur commun, la 4,2',4',6' - tétrahydroxychalcone. Cette chalcone de couleur jaune est métabolisée sous l'action d'enzyme, la chalcone isomérase, en flavanone (1) : naringénine. C'est sur cette dernière qu'agit ensuite la flavone synthase ou la (2S)-flavanone-3-hydroxylase pour donner la formation de la flavone (2) : apigénine ou le dihydroflavonol (3) : (2R, 3R)-dihydrokaempférol, respectivement. Les deux enzymes fonctionnent différemment, la première introduit la double liaison entre les carbones C-2 et C-3, tandis que la deuxième catalyse l'hydroxylation du carbone C-3. Le dihydroflavonol, en présence de la flavonol synthase ou la dihydroflavonol-4-réductase, se métabolise en flavonol (4) : kaempférol ou en flavan-3,4-diol (5) : leucoanthocyanidol, respectivement. Ce dernier semble être le précurseur des flavan-3-ols (6) et anthocyanidols (7) (*Figure*

4). Cependant, les étapes ultimes de leur formation ne sont pas encore élucidées. Le pélargonidol (7), sous l'action de la 3-O-glycosyltransférase, se transforme en anthocyanoside (8): pélargonidol-3-glucoside (*Figure4*) [26].

Les composés de chaque sous-classe se distinguent par le nombre, la position et la nature des substituants (groupements hydroxyles, méthoxyles et autres) sur les deux cycles aromatiques A et B et la chaîne en C₃ intermédiaire [26].

A l'état naturel, on trouve très souvent les flavonoïdes sous forme de glycosides. Une ou plusieurs de leurs fonctions hydroxyles sont alors glycosylés. La partie du flavonoïde autre que le sucre est appelée aglycone [26].

Voies biosynthétiques conduisant aux chalcones.



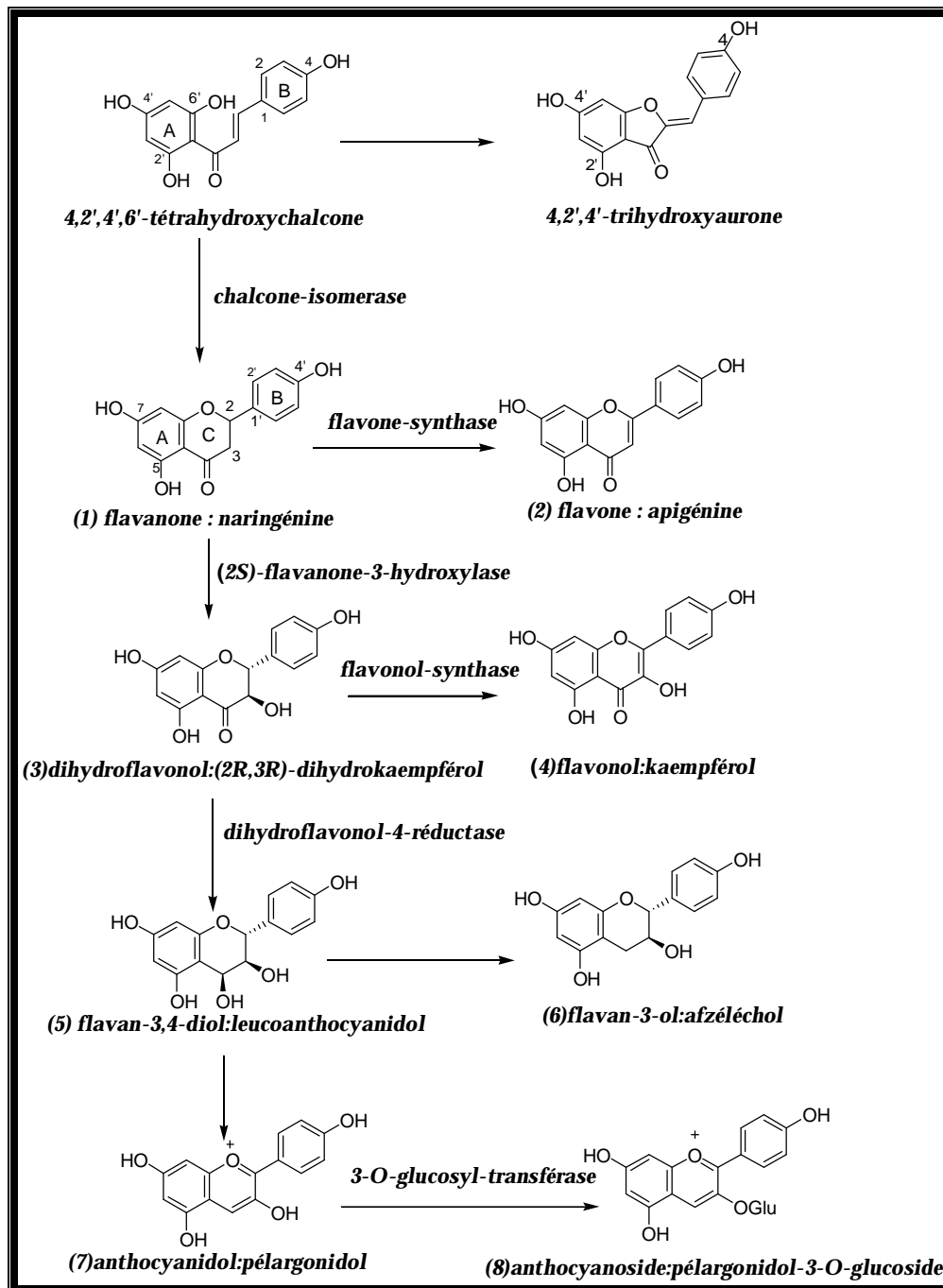


Figure 4 : La biosynthèse des flavonoïdes (Bruneton, 1999).

✿ Flavones et Flavonols :

Comme nous avons mentionné ci-dessus, tous les types des flavonoïdes dérivent de la 4,2',4',6'-tétrahydroxychalcone et par conséquent, possèdent tous au moins trois hydroxyles phénoliques en C-5, C-7 et C-4' (Figure 4), cela étant, l'un d'entre eux peut être absent.

Dans plus de 90% des cas, le cycle A des flavones et flavonols (structures (2) et (4) sur la *Figure 4*) est substitué par deux hydroxyles phénoliques en C-5 et en C-7. Ces hydroxyles peuvent être libres ou étherifiés. D'autres substitutions sont possibles avec des fréquences variables: hydroxyles libres ou étherifiés en C-7 et/ou en C-8, méthylation en C-7 ou en C-8, implication du C-6 et/ou C-8 dans une liaison carbone-carbone avec un sucre.

D'autre part, dans plus de 80% des cas, le cycle B est substitué en C-4' ou disubstitué en C-3' et C-4', ou moins fréquemment 3',4',5'-trisubstitué; ces substituants peuvent être des groupes hydroxyles (OH) ou des méthoxyles (OCH₃). Les autres positions (C-2' et C-6') ne sont qu'exceptionnellement substituées [26].

De plus, les flavonols se distinguent des flavones par la présence d'un groupement OH en position C-3 (*Figure 4*).

✿ **Flavanones et Dihydroflavonols :**

Les flavanones et les dihydroflavonols sont caractérisés par l'absence de la double liaison C2-C3 et par la présence de centres d'asymétrie (*Figure 4*) (structures (1) et (3)). Les variations structurales sont de même nature que celles décrites pour les flavones et les flavonols. Les dihydroflavonols se distinguent des flavanones par l'hydroxylation de la position C-3. Cette classe de flavonoïdes semble un peu moins fréquente que son homologue insaturé rassemblant les flavones et flavonols [26].

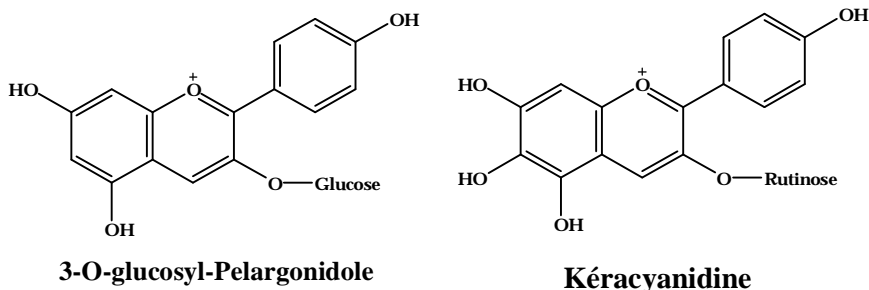
✿ **Flavan- 3-ols, Flavan-3,4-diols et Anthocyanidols :**

A la différence des flavonoïdes décrits ci-dessus, ces trois groupes de molécules sont toujours hydroxylés en position 3 et se caractérisent par l'absence du groupe carbonyle en C-4. Cette position peut être libre (cas des flavan-3-ols et anthocyanidols) ou hydroxylée (cas des flavan-3,4-diols) [26].

Les flavan-3-ols et les flavan-3,4-diols sont à l'origine des polymères flavaniques appelés proanthocyanidols ou tanins condensés.

Les anthocyanidols les plus fréquents sont le pélargonidol et le cyanidol.

Les anthocyanosides sont caractérisés par l'engagement de l'hydroxyle en position 3 dans une liaison hétérosidique. On trouve parmi ces composés, le 3-O-glucosyl pélargonidole et le 3-O-rutinosyl-cyanidole ou kéracyanine [26].



✿ **Chalcones et Aurones :**

Les chalcones sont différents des autres types de flavonoïdes cités ci-dessus. De par l'ouverture du noyau pyranique central, elles sont constituées par deux unités aromatiques reliées par une chaîne tricarbonée, cétonique,-insaturée (Figure 4). Le noyau B est assez fréquemment non substitué, alors que les substitutions sur le cycle A sont le plus souvent identiques à celles des autres flavonoïdes [26].

Les aurones sont caractérisées par une structure de 2-benzylidène coumaranone. Pour ces deux types de molécules, la numérotation des positions est différente des autres flavonoïdes décrits précédemment (Figure 4).

Les flavonoïdes sont largement abondants dans les légumes feuilles (salade, choux, épinards, etc.), ainsi que dans les téguments externes des fruits [28].

Récemment, de nombreux travaux ont montré que certains fruits et légumes sont très riches en flavonols, flavones et flavanones (Justen, 1998). Le Tableau 1 regroupe la distribution nutritionnelle de certains flavonoïdes [28 ; 29].

Tableau 1: Sources alimentaires des flavonoïdes

Flavonoïdes	Aliments
Flavanones	
naringénine	fruits du genre <i>citrus</i>
Flavones	
Chryisine	peau des fruits
Apigénine	persil, thym, romarin, céleri
Lutéoline	persil, céleri
Flavonols	
kaempférol	radis, brocoli, thé noir
Quercétine	oignon, pomme, olive, tomate
myricétine	canneberge,....
Flavan-3-ols	
épicatéchine	thé vert, thé noir
Catéchine	thé vert, thé noir
Anthocyanidols	
Cyanidol	cassis, myrtilles
Malvidol	raisins, fraises, cassis
apigénidol	framboises, fraises

Les flavones apigénine et Lutéoline sont très spécifiquement détectées dans les herbes aromatiques comme le persil, le thym, le romarin et le céleri. Pour ce dernier, les concentrations de ces deux flavones sont largement supérieures à celles présentes dans les tiges. Cependant, leurs analogues hydrogénés (flavanones), l' hespéridine et la naringénine sont exclusivement présents dans les agrumes (*Justen, 1998*). Dans les tomates, il y a autant de naringénine que de quercétine. Cette dernière se retrouve de façon majoritaire dans la quasi-totalité des végétaux. Le kaempférol, autre flavonol, y est également largement détecté. Les isoflavones sont largement distribuées dans des légumes comme le soja, les haricots verts et les petits pois [26].

Autres flavonoïdes souvent étudiés, les anthocyanes confèrent aux fruits et légumes leurs teintes rouges ou bleutées. Ils se trouvent surtout dans les myrtilles, cassis, airelles, groseilles, mais également, à un degré moindre, dans tous les autres fruits rouges comme les raisins, les fraises et les framboises. On peut aussi les trouver dans certains légumes comme le chou rouge et les radis [26.27].

Le monde animal est lui aussi concerné par les flavonoïdes. On trouve par exemple de la Chrysin, de la quercétine, et de la galangine dans la propolis des abeilles. Ces insectes les synthétisent à partir des sécrétions de bourgeons de nombreux arbres comme le bouleau, l'aulne, le sapin, et les modifient grâce à leurs enzymes salivaires^[26,29].

Une des propriétés majeures des flavonoïdes est de contribuer à la couleur des plantes et notamment à celle des fleurs. Or, c'est par la couleur de ses fleurs que la plante exerce un effet attracteur sur les insectes et les oiseaux pollinisateurs, assurant par ce biais une étape fondamentale de sa reproduction. On peut également noter que les flavonoïdes, en repoussant certains insectes par leur goût désagréable, peuvent jouer un rôle dans la protection des plantes ^[26].

Les flavonoïdes montrent d'autres propriétés intéressantes dans le contrôle de la croissance et du développement des plantes en interagissant d'une manière complexe avec les diverses hormones végétales de croissance. Certains d'entre eux jouent également un rôle de phytoalexines, c'est-à-dire de métabolites que la plante synthétise en grande quantité pour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries ^[26].

II-6- LES FLAVONOÏDES COMME ANTIOXYDANTS :

D'après Halliwell (*Halliwell, 1994*), les mécanismes de l'action d'un antioxydant peuvent comprendre le piégeage direct des ROS « *Reactive Oxygen Species* » :

- (i) L'inhibition des enzymes et la chélation des traces métalliques responsables de la production de ROS.
- (ii) La protection des systèmes de défense antioxydants.

Inhibition Enzymatique :

La xanthine oxydase (XO) catalyse l'oxydation de l'hypoxanthine et de la xanthine en acide urique suivant la réaction précédemment décrite. Par conséquent, la xanthine oxydase est considérée comme une source biologique importante du radical superoxyde. Hansaki et ses collaborateurs, dans une étude sur la maladie de la goutte, ont montré que les flavonoïdes peuvent agir sur l'activité de la xanthine

oxydase et par conséquent, peuvent faire régresser la maladie de la goutte en réduisant à la fois les concentrations d'acide urique et celles du radical superoxyde dans les tissus humains^[26].

Ces résultats ont été confirmés par Cos et ses collaborateurs qui ont mesuré l'activité d'une trentaine de flavonoïdes sur la production d'acide urique ^[26]. Ils ont ainsi déterminé la relation entre la structure chimique des flavonoïdes et leur activité inhibitrice de la xanthine oxydase (*Figure 5*). Les différents points qui ressortent de cette étude sont les suivants :

- ü La taxifoline, la (+)-catéchine et la (-)-épicatéchine ne peuvent inhiber la xanthine oxydase qu'à des concentrations supérieures à 100 M.
- ü La flavone, la 4'-hydroxyflavone et la naringénine sont incapables d'inhiber la production de l'acide urique.
- ü Les flavanones, les dihydroflavonols et les flavan-3-ols n'ont donc aucune influence sur l'activité de la xanthine oxydase.
- ü Seuls les flavonols et les flavones ont la capacité à inactiver l'enzyme (*Figure 5*). Ceci montre l'importance de la double liaison C2-C3 dans l'inhibition de la xanthine oxydase. En effet, les flavanones, les dihydroflavonols et les flavan-3-ols diffèrent des flavones et des flavonols par l'absence de la double liaison entre C-2 et C-3. Cette double liaison et la conjugaison qu'elle induit, entraîne la coplanarité du cycle B avec les cycles A et C.

Il est donc possible qu'une structure plane soit importante pour l'inhibition de la xanthine oxydase. En comparant les activités des flavones et de leurs analogues flavonols, on observe que l'absence du groupe hydroxyle en C-3 augmente légèrement l'activité (*Figure5*) ^[26].

Toutes les flavones ont montré des activités presque similaires quelque soit les substituants du cycle B, indiquant que le cycle B n'a que peu d'influence sur l'inhibition de l'enzyme pour les flavones (*Figure 5*) ^[26].

Les flavonoïdes glycosylés ont des activités inférieures à celles des composés non glycosylés. Par exemple, la rutine est presque dix fois moins active que la quercétine (Figure 5) [26].

D'autres études ont montré que les flavonoïdes sont aussi des bons inhibiteurs d'autres enzymes responsables de la production des radicaux libres comme la cyclooxygénase et la lipooxygénase (Landolfi, 1984) [26].

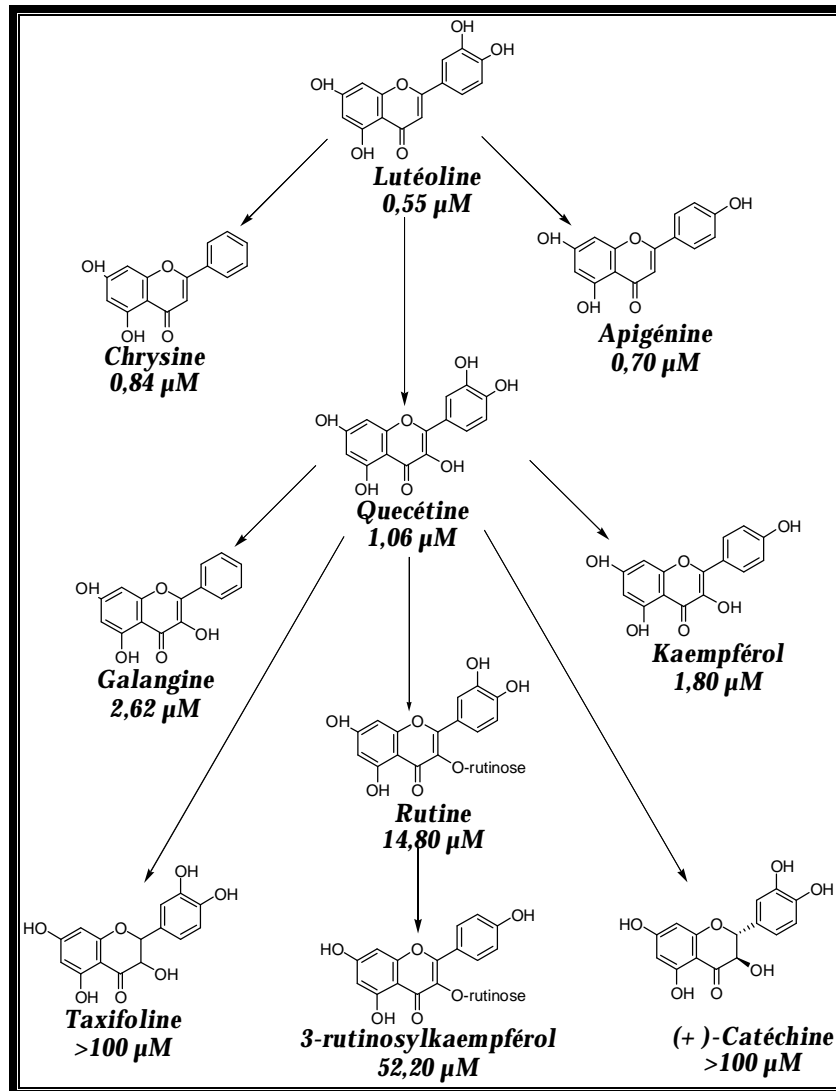
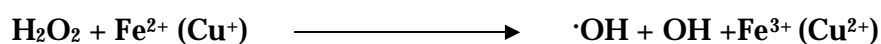


Figure 5: Relation structure activité des flavonoïdes sur l'inhibition de la xanthine oxydase (les valeurs sont les IC₅₀) (d'après Cos, 1998). [26].

✿ Chélation des ions Métalliques :

Les ions du fer (Fe^{2+}) et du cuivre (Cu^+) sont essentiels pour certaines fonctions physiologiques. Ils peuvent être, soit des constituants des hémoprotéines, soit des cofacteurs des différentes enzymes du système de défense antioxydant (par exemple, Fe pour la catalase, et Cu et Zn pour le superoxyde dismutase). Mais ils sont aussi responsables de la production du radical hydroxyle par la réduction du peroxyde d'hydrogène selon la réaction suivante [26]:



Les flavonoïdes sont considérés comme de bons chélateurs de ces ions métalliques [26].

On peut résumer les sites essentiels pour la chélation des ions métalliques (*Figure 6*):

- (i) un noyau catéchol sur le cycle B, (ii) les groupes 3-hydroxyle et 4-oxo du cycle C, et (iii) les groupes 4-oxo et 5-hydroxyle entre les cycles A et C.

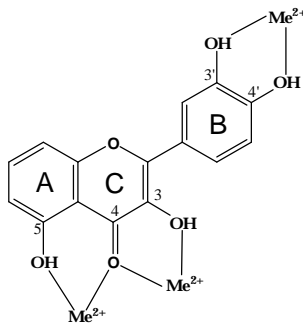
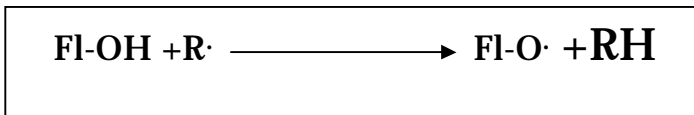


Figure 6 : Flavonoïdes et leurs sites proposés pour la chélation des ions métalliques (Me^{2+}).

✿ Piégeage des Radicaux Libres :

L'interaction des flavonoïdes avec de nombreux radicaux a été employée dans plusieurs études afin de déterminer les éléments majeurs de l'activité antioxydante [26].

A cause de leurs faibles potentiels redox, les flavonoïdes (FL-OH) sont thermodynamiquement capables de réduire les radicaux libres oxydants comme le superoxyde, le peroxyde, l'alkoxyde et l'hydroxyle par transfert d'hydrogène :



Où R. représente l'anion superoxyde, le peroxyde, l'alkoxyde et l'hydroxyle.

Le radical flavonoxy (FL-O.) peut réagir avec un autre radical pour former une structure quinone stable (Figure 7).

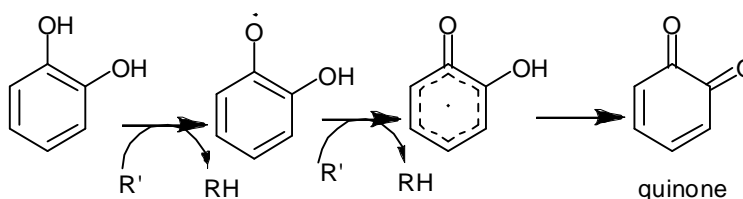


Figure 7 : Piégeage des ROS (R.) Par les flavonoïdes

En outre, le radical flavonoxy peut interagir avec l'oxygène pour donner une quinone et un anion superoxyde. Cette réaction est responsable d'un effet prooxydant indésirable des Flavonoïdes. Nous constatons que la capacité des flavonoïdes d'agir comme antioxydants dépend non seulement du potentiel redox du couple FL-O. / FL-OH mais aussi de la réactivité du radical flavonoxy [26].

De nombreuses études ont établi des relations entre les structures chimiques des flavonoïdes et leur capacité à piéger les radicaux libres [26].

Les résultats obtenus ont montré que l'activité des flavonoïdes à piéger les radicaux dépend essentiellement de leur structure.

La capacité des flavonoïdes à piéger les radicaux libres, est due aux trois critères suivants [26 ; 30]:

1/-La structure ortho-dihydroxy sur le cycle B (groupement catéchol) qui confère la stabilité au radical flavonoxy et participe à la délocalisation des électrons.

2/-La double liaison C2-C3 en conjugaison avec la fonction 4-oxo.

3/-La présence du groupe 3-OH en combinaison avec la double liaison C2-C3.

A titre d'exemple, la quercétine satisfait à tous ces critères et par conséquent, elle est le composé le plus actif de la famille des flavonoïdes (Figure 8).

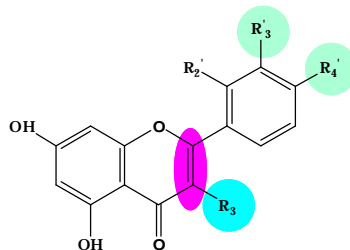


Figure 8 : Eléments essentiels pour l'activité antioxydante des flavonoïdes.

II-7 -ACTIVITES BIOLOGIQUES DES FLAVONOÏDES

De nos jours, les propriétés des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités : anti-virales, anti-tumorales, anti-inflammatoires, anti-allergiques, anti-cancéreuses, anti-ulcèreux, anti-carcinogènes, anti-bactériennes et anti-microbiennes,.... [26, 27,28].

Méthodes d'étude structurale des flavonoïdes :

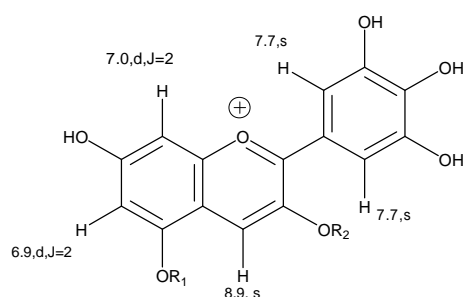
Spectrométrie de Résonance Magnétique Nucléaire :

Le spectre de RMN-1H des flavonoïdes permet de reconnaître l'importante caractéristique structurale. Un résumé des types de protons le plus communément trouvés sont présentés dans le tableau 01^[30] :

(ppm)	Types de protons
0.0	Tetramethylsilane
0.0-0.5	Trimethylsilile
1.0-1.2	Méthyle du rhamnose (doublet large)
1.7	Méthyles du groupe isopentényle
1.9-2.0	Méthyles d'acétates aliphatiques (des sucres)
2.2-2.4	Méthyles de acétates aromatiques
2.7-3.0	H-3 de flavanones (multiplet)
3.0-4.8	Protons des sucres

3.5	Méthylène du group isopentenyle
3.7-4.1	Méthoxyles aromatiques
4.2-6.0	Proton 1 des sucres, proton 2 du flavanonoles et flavanones (<i>dd</i>)
5.9-6.0	Méthylène dioxy
6.0-6.8	Protons 3, 6 et 8 de flavones
6.8-8.0	Protons aromatiques du noyau B
7.5-8.0	Proton 2 de isoflavones
12.0-14.0	Proton de l'hydroxyle en 5

Les anthocyanines peuvent être reconnues dans leurs spectres RMN-1H par le signal dans les 8.9 (s, H- 4) et signaux caractéristiques d'autres protons aromatiques comme dans ceux glycosides de ce qui est delphinidine [29]:



$R_1, R_2 = \text{carbohydrates}$

Les flavanones sont reconnues par les signaux *dd* dans 5.4 (H-2, $J=13$ et 2-3 Hz), 3.1 (H-3 *trans*, $J=13$ et 2-3 Hz) et 2.8 (H-3 *cis*, $J=17$ et 2-3 Hz). Les isoflavanones peuvent être reconnues par RMN-1H par les signaux : 4.1 (H-a, *dd*, $J=5$ et 8 Hz), 4.5 (H-2b, *dd*, $J=5$ et 12 Hz) et 4.6 (H- 3, *dd*, $J=8$ et 12 Hz) [29].

Dans un spectre de RMN-13C on peut reconnaître les suivants types de carbones :

(ppm)	Types de carbones
18	C-6 de rhamnose
30	C-4 de flavan-3-oles
42-46	C-3 de flavanones,
56-61	Methoxyles

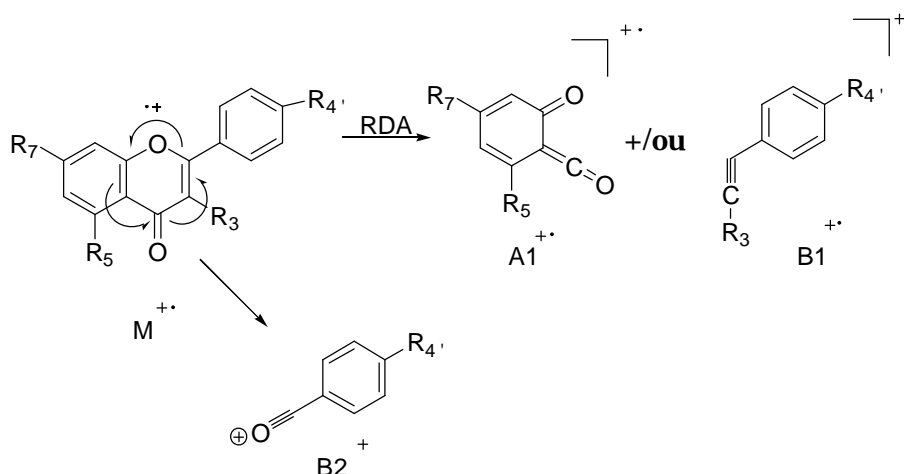
60-80	C-OH de carbohydrates
70-75	C-3 de flavanols
80	C-2 de flavanones
85	C-2 de flavanones
100-115	C-3 de flavones, C-1 de carbohydrates, C-10 des flavones 5-hydroxylés
115-128	C-H aromatiques
130-140	aromatiques sulfatés
145	C-3 de flavonols, C-5 de flavones 5-hydroxylés, C-3 y C-4 de anthocyanines
150-165	C aromatiques hydroxylés et méthoxylés, C-1a de flavones, C-2 de anthocyanines, C-2 de flavones, C-4' oxygéné, C-9 de flavones
175-178	carbonyle C-4 sin OH en C-5 en flavones, C-4 de flavonols
182	Carbonyle C-4 con OH en C-5 de flavones
190-196	carbonyl C-4 de flavanones
197-200	carbonyl C-4 de flavanones

Il est possible aussi de différencier un C-glycoside flavonoïde d'un flavonoïde O-glycosylé. Dans les O-glycosides, le C-1 résonne autour de 100 ppm pour les carbohydrates les plus communs, tandis que dans les C-glycosides résonne autour de 75 ppm.

D'autre part, dans les C-glycosides le carbone de l'aglycone lié au carbohydrates résonne autour de 10 ppm un domaine plus faible que sa valeur normale (sans substitution).

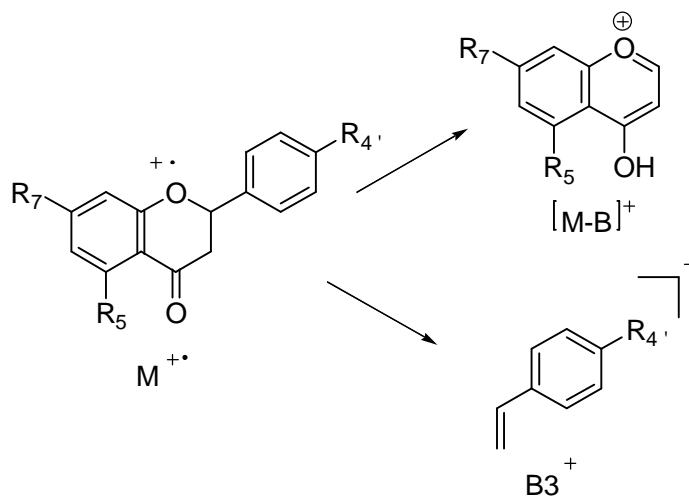
Spectrométrie de Masse :

Les aglycones flavonoïdes présentent des fragments caractéristiques dans leur spectre de masses IE. *Par exemple*, les flavones et flavonols présentent généralement les fragments M^+ , $[M-H]^+$, et $[M-CO]^+$ un ou plusieurs des fragments $A1^+$, $[A1+H]^+$, $B1^+$ et $B2^+$ ceux qui commencent par des ruptures Retro-Diels-Alder ^[29] :

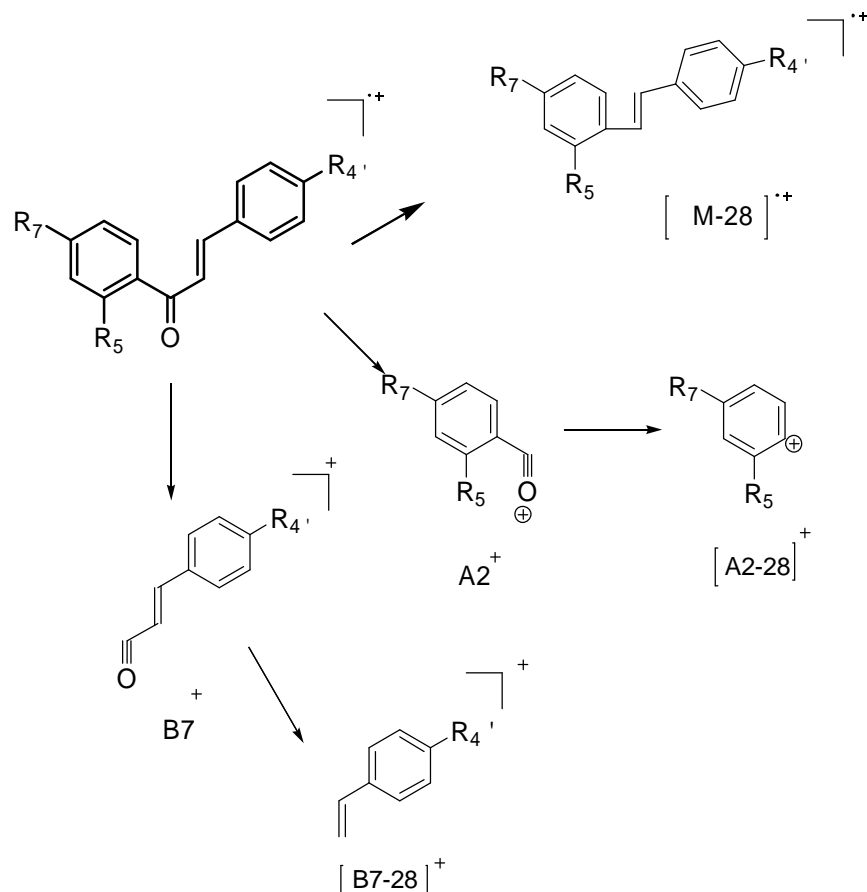


Les flavones et isoflavones montrent généralement les fragments $A1^{+\bullet}$, $[A1+H]^+$, $B1^{+\bullet}$ et $B2^{+\bullet}$ les flavonoles montrent $[A1+H]^+$ et $B2^{+\bullet}$; en outre le fragment $[M-CHO]^{+\bullet}$ les 3-méthoxyflavones montrent les fragments $A1^{+\bullet}$, $[A1+H]^+$ et $B1^{+\bullet}$, on observe également le fragment $[M-CO-Me]^{+\bullet}$.

Les flavanones montrent les fragments $A1^{+\bullet}$, $[A1+H]^+$, $[B1+2H]^+$ et les fragments $[M\text{-cycle B}]^+$ et $B3^{+\bullet}$:



Les chalcones tendent à produire des fragments causés par rupture à chaque côté du carbonyle :



Les 2'-hydroxychalcones peuvent isomériser en flavanones et produire les fragments caractéristiques de celles-ci.

En général les aglycones flavonoïdes avec un ou plusieurs groupes méthoxyles présentent le fragment $[M-15]^+$, lequel est spécialement intense dans les flavonoïdes 6 et 8-méthoxylés^[29].

Dans les 2'-hydroxyflavonoïdes on aperçoit aussi parfois le fragment $[M-OH]^+$, tandis que les 2'-méthoxyflavonoïdes présentent le fragment $[M-OMe]^+$. Le fragment $[M-H_2O]^+$ est commun dans flavonoles, flavan-3, 4-dioles et C-glycosides. Les fragments $[M-55]^+$ ou $[M-56]^+$ indiquent la présence d'un isopentényle substituable. Il est important de noter que les auteurs comme *Goudard* et *Chou* ont reporté qu'il est possible de différencier 5-hydroxy -, 6,7-diméthoxy -, 7,8-diméthoxy -, 5, 6,7-triméthoxy ou 5,7, 8-triméthoxyflavones grâce aux pics et les intensités relatives des ions M et M-15^[29].

La fluorescence sous lumière de Wood des flavonoïdes :

L'absorption des substances flavonoïques sous lumière de Wood à la longueur d'onde de 365 nm donne des renseignements préliminaires sur la structure chimique. La relation entre la fluorescence et la structure chimique ^[30] est montrée dans le tableau suivant ^[31]:

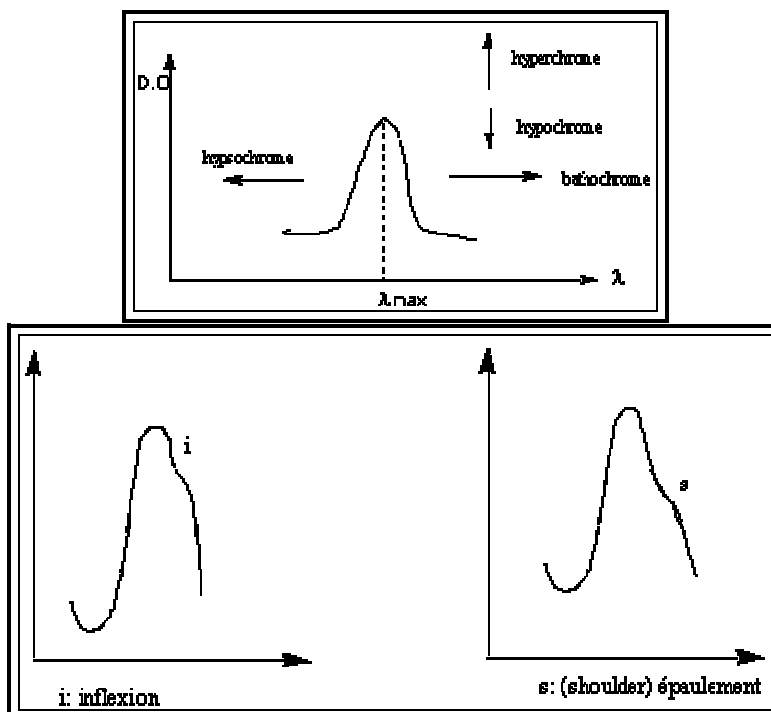
La fluorescence	Les structures possibles
Violette noire	-flavones avec 5, 6, 7, ou 5, 7, 8, trihydroxy flavone -flavonol avec 3-OR -Chalcones
Bleue	-flavone ou flavonol sans OH en 5 -flavone avec OH en 3 ou flavonol -flavonol avec 3-OH et sans 5-OH
Jaune ou jaune terne	-flavonol avec 3-OH, et avec ou sans 5-OH
Orange fluorescente	-isoflavones
Jaune verte	-aurones
Bleue vert	-flavanone sans 5-OH

Tableau : Relation entre la fluorescence sous lumière de Wood et les structures flavoniques
[31].

Spectrophotométrie UV-visible (pour les aglycones flavoniques) [31] :

Le spectre de chaque composé est enregistré dans le méthanol, ensuite en présence de réactifs ionisants (NaOH, NaOAc) ou chélatants comme AlCl₃, H₃BO₃ dans NaOAc [31].

Rappels

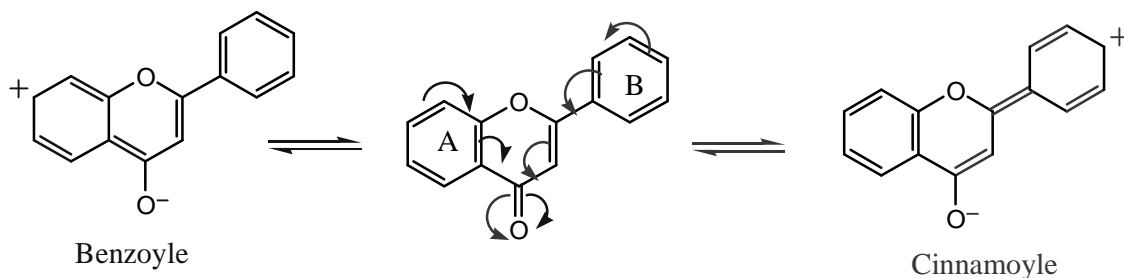


1- Spectres dans le méthanol :

- Flavonoïdes possédant un carbonyle dans leur hétérocycle

Le spectre présente deux bandes d'absorption principale:

- bande I: située entre 300 et 400 nm, attribuée au chromophore cinnamoylé résultant de la conjugaison du noyau B avec le carbonyle
- bande II: située entre 240 et 285 nm, attribuée au chromophore benzoylé résultant de la conjugaison du noyau A avec le carbonyle



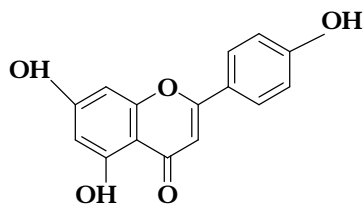
Trois cas peuvent se présenter [31]:

a) les deux chromophores cinnamoyle et benzoyle sont d'égale importance. Le spectre comporte des bandes I et II toutes deux intenses [31]. Il peut s'agir d'une flavone ou d'un flavonol. La position de la bande I permet de distinguer entre les deux:

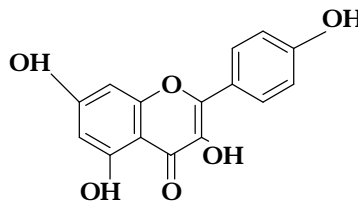
- Dans le cas d'une flavone: la bande I se situe entre 304 et 350 nm.
- Pour un flavonol: la bande I est déplacée vers les grandes longueurs d'onde: 360 à 385 nm. La substitution de l'hydroxyle en 3 d'un flavonol provoque un effet hypsochrome sur la bande I qui ramène celle-ci entre 345 et 365 nm.

La bande II permet dans une certaine mesure de connaître le nombre d'hydroxyles du noyau B: une monosubstitution en 4' se traduit par un pic unique entre 265 et 270 nm. Une orthodisubstitution se traduit par deux pics ou par un pic suivi d'une inflexion située respectivement vers 255nm et 268 nm et une trisubstitution par un pic et un épaulement de position variable entre 250 et 270 nm [31].

Exemple: Apigénine: 267nm - 336 nm; Kaempférol: 268nm- 365nm



Apigénine:267-336nm



Kaempférol:268-365nm

b) L'absorption de type cinnamoyle prédomine: La bande I est intense et déplacée vers les grandes longueurs d'onde. La bande II est mineure. Il peut s'agir d'une chalcone ou d'une aurone. La bande I des chalcones se situe le plus souvent entre 340

et 390nm. Un hydroxyle en 2' et/ou en 4 déplace très nettement la bande I vers les grandes longueurs d'ondes:

Ex: 2-OH-chalcone : absorption maximale: bande I à 344nm

2, 2', 4--tri-OH chalcone présente le maximum d'absorption pour la bande I à 391nm

Dans le cas des aurones, la bande I est située entre 370 et 430 nm. Un hydroxyle libre en 4' provoque un déplacement bathochrome important de la bande I.

c) L'absorption de type benzoyle prédomine: Le spectre comporte une bande II intense entre 285 et 295 nm et une bande I à peine marquée vers 330nm. Il s'agit de flavonoïdes à noyaux A et B non conjugués: flavanones ; flavanonols. Contrairement aux flavones, l'introduction d'un hydroxyle en 3 ou sur le noyau B ne modifie guère le spectre d'une flavanone dû à l'absence de conjugaison des noyaux A et B. Une flavanone et le flavanonol correspondant présenteront des spectres UV-visible presque identiques ^[31].

- Flavonoïdes ne possédant pas de carbonyle dans leur hétérocycle.

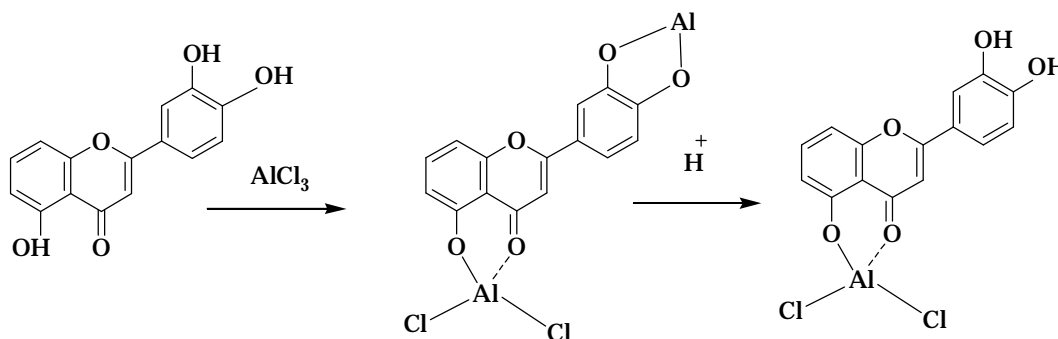
La conjugaison ou non des deux cycles A et B influe également sur l'allure du spectre UV-visible de la molécule. Deux cas peuvent se présenter ^[31].

a) Une bande I intense très déplacée vers les grandes longueurs d'onde (465 à 550 nm) accompagnée d'une bande II de faible intensité située entre 270 et 280 nm; le produit est coloré en rouge: Il s'agit d'anthocyanidine. Les noyaux A et B sont conjugués. L'hétérocycle central possède un oxygène de type oxonium (cation flavylum). Ces composés étant instables à pH neutre ou alcalin, il est recommandé d'enregistrer le spectre dans du méthanol acidifié par de l'acide chlorhydrique (MeOH à 0,1% de HCl) ^[31].

b) Une bande d'absorption peu intense vers 280nm; les deux noyaux phénoliques A et B ne sont pas conjugués: Il s'agit de flavanne-3ol (catéchol) ou flavanne-3,4-diols appelés proanthocyanes ou leucoanthocyanes ^[31].

2. Spectres en présence de $AlCl_3$ puis de $AlCl_3 + HCl$:

Le chlorure d'aluminium $AlCl_3$ peut former des complexes avec deux hydroxyles libres en ortho (complexes labiles en milieu acide) ou des complexes avec le carbonyle en 4 et un hydroxyle en 5 ou en 3 (complexes stables en milieu acide) [31].



L'action chélatante de $AlCl_3$ se traduit par un effet bathochrome par rapport au spectre méthanolique [31].

On compare dans un 1er temps les spectres enregistrés en présence de $AlCl_3$ puis en présence de $AlCl_3 + HCl$: un déplacement hypsochrome de la bande I provoqué par l'addition d'acide est significatif d'un système orthohydroxylé dans la molécule.

Dans un 2ème temps, on compare le spectre relevé en présence de $AlCl_3 + HCl$ à celui dans la solution méthanolique: un déplacement bathochrome de la bande I est caractéristique de la présence d'un hydroxyle libre au voisinage du carbonyle en 4 (C_3 ou C_5) [31].

- *Flavones et Flavonols*

1) Noyau B dihydroxylé: En présence de $AlCl_3$, on observe un pic unique de la bande I entre 440 et 460 nm pour un flavonol et entre 420 et 430 nm pour une flavone. L'addition de HCl provoque un déplacement hypsochrome de la bande I de 20 à 40 nm accompagné par l'apparition d'un pic ou d'une inflexion secondaire vers 350-360 nm [31].

2) Noyau B monohydroxylé: Les deux spectres avec $AlCl_3$ et avec $AlCl_3 + HCl$ sont superposables

3) hydroxyle libre en 5 (flavone et flavonol substitué en 3): En présence de $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ on observe un déplacement bathochrome de la bande I entre 35 et 55 nm

- *Chalcones et aures*

1) Présence d'un système orthohydroxylé: Le déplacement de la bande I en présence de AlCl_3 par rapport au spectre $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ est de 40 à 70 nm pour un système orthodihydroxylé sur le noyau B. Il est légèrement inférieur dans le cas de deux hydroxyles libres en ortho sur le noyau A .

2) OH libre en 2' dans une aurone: déplacement bathochrome de la bande I en présence de $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ par rapport au spectre dans le méthanol compris entre 48 et 70nm.

3) OH libre en 4 dans une aurone: déplacement bathochrome de la bande I en présence de $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ de 60 à 70 nm.

- *Flavanonol et Flavanone*

1) Systèmes orthodihydroxylés: La non conjugaison des noyaux A et B explique le fait qu'un système orthodihydroxylé libre sur le noyau B n'est pas détectable. Par contre, un système orthodihydroxylé sur le noyau A se traduit par un déplacement bathochrome de la bande II en présence de AlCl_3 par rapport au spectre $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ d'environ 10 nm^[31].

2) Hydroxyle libre en 5: Le déplacement bathochrome de la bande II en présence de $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ par rapport au spectre méthanolique est de 20 à 26 nm.

- *Anthocyanidines*

Un déplacement bathochrome de la bande I en présence de $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ compris entre 20 et 35 nm caractérise un système orthohydroxylé dans la molécule, généralement sur le noyau B ^[31].

3. Spectres en présence de NaOH :

La soude, base forte ionise tous les hydroxyles phénoliques du squelette flavonique. Il en résulte un effet bathochrome sur les deux bandes I et II (plus important sur la bande I) Les flavonoïdes hydroxylés sont instables en présence de ce réactif ^[31].

- *Flavones -Flavonols*: un effet bathochrome de 40 à 65 nm sur la bande I avec un effet hyperchrome traduit la présence d'un hydroxyle libre en 4'.
- *Chalcones* : un effet bathochrome de 60 à 100 nm sur la bande I avec un effet hyperchrome caractérise un hydroxyle libre en 4. Un hydroxyle libre en 2', en 4' provoque un déplacement bathochrome aussi important mais sans augmentation d'intensité de la bande I
- *Aurones*: un déplacement bathochrome de la bande I très important (80 à 95 nm) traduit la présence d'un hydroxyle libre en 6.
- *Flavanones - Flavanonols*: dans le cas de flavanones et flavanonols hydroxylés sur le noyau A, on note un déplacement de la bande II de 34 à 40 nm accompagné d'un effet hyperchrome. Cet effet est augmenté dans le cas d'un dérivé sans hydroxyle en 5

4. Spectres dans l'acétate de sodium NaOAc :

L'acétate de sodium, base faible ionise les hydroxyles phénoliques les plus acides de la molécule 3, 7 et 4'.

- Un déplacement bathochrome de la bande II des flavones, flavonols de plus de 6nm traduit la présence d'un hydroxyle libre en 7.
- Un hydroxyle libre en 7, chez les flavanones et les flavanonols se traduit par un déplacement bathochrome de la bande II de 35 nm dans les dérivés 5,7 dihydroxylés.
- Pour les chalcones, un hydroxyle libre en 4 se traduit par un déplacement bathochrome de la bande I avec apparition d'un épaulement entre 440 et 450nm
- Pour les aurones, un déplacement bathochrome de la bande de 75 à 90nm traduit un OH libre en 4'. Ce déplacement est réduit s'il existe simultanément un hydroxyle libre en 6.

5. Spectres en présence de NaOAc + H₃BO₃ :

L'acide borique H₃BO₃, en présence d'acétate de sodium permet de mettre en évidence deux OH phénoliques en position *ortho* sur le noyau B. Ceci se traduit par un déplacement bathochrome de la bande I [30,31].

- Dans le cas des flavones, flavonols, ceci est de +12 à 30 nm.
- Dans le cas des aurones et chalcones ce déplacement bathochrome atteint la valeur de +28 à +36 nm.

Du fait du non conjugaison des noyaux A et B chez les flavanones, flavanonols, un système orthodihydroxy sur le noyau B n'est pas détectable.

Importance de la spectroscopie dans l'UV pour l'analyse des composés phénoliques :

La spectroscopie dans l'ultraviolet constitue une technique majeure de détection, de contrôle de pureté et d'information des composés phénoliques. En particulier, les flavonoïdes sont caractérisés par deux bandes d'absorption (bande I, entre 330 et 550 nm; bande II, entre 240 et 285 nm). La position précise et les intensités relatives des maxima fournissent des renseignements précieux sur la nature du flavonoïde et son patron d'oxygénation (Tab.1). Outre la caractérisation du spectre d'absorption du produit, généralement dans du MeOH, des informations additionnelles importantes peuvent être obtenues par l'utilisation de réactifs de déplacement [32].

Ceux-ci complexent de manière variable les composés phénoliques en solution et provoquent des déplacements caractéristiques des maxima. Ceux-ci peuvent être interprétés et fournir de nombreux renseignements sur la substitution des différentes positions sur les noyaux du flavonoïde. Les tableaux 2 ; 3 et 4 résument les informations structurales qui peuvent être obtenues en utilisant les différents réactifs de déplacement, dans le cas des flavonols et des flavones [32].

Tableau 1 : Gammes des longueurs d'onde d'absorption UV pour les différentes classes de flavonoïdes :

Bande II (nm)	Bande I (nm)	Type de flavonoïde
250-280	310-350	Flavone.
250-280	330-360	Flavonol (substitution 3-OH).
250-280	350-385	Flavonol (3-OH libre).
245-275	310-330 épaulement	Isoflavone.
245-275	c.320 pic	Isoflavone (5-déoxy-6,7-dioxygéné).
275-295	300-330 épaulement	flavanone et dihydroxyflavonol.
230-270(faible intensité)	340-390	Chalcone.
230-270(faible intensité)	380-430	Aurone.
270-280	465-560	Anthocyanidine et anthocyanine.

Tableau 2: Information structurale provenant des déplacements induits par MeONa

Déplacement observé au niveau de la bande I	Interprétation
Intensité se réduisant continuellement (décomposition)	3,4'-OH, tri-OH sur noyau A.
Intensité se réduisant continuellement (décomposition)	3-OH adjacents sur noyau B.
+45 à 65nm, pas de diminution d'intensité	4'-OH.
Stable, +45 à 65 nm, diminution d'intensité	3-OH, pas de 4'-OH libre.
Bande additionnelle par rapport au spectre MeOH, entre 320 et 350 nm	7-OH

Tableau3 : Information Structurale provenant des déplacements induits par AcONa/H₃BO₃ :

Réactif	Déplacement observé	Interprétation
AcONa	Bande II +5 à 20 nm (réduite si oxygénation en 6-ou 8-)	7-OH.
AcONa	Intensité décroissante avec le temps	Groupes sensibles aux bases, par ex. :5, 6,7-ou 5, 7, 8, ou 3,4'-OH.
AcONa/H ₃ BO ₃	Bande I +12 à 36 nm (par rapport au spectre MeOH)	Ortho-diOH sur noyau B.
AcONa/H ₃ BO ₃	Déplacement moindre.	Ortho-diOH sur noyau A (6,7 ou7, 8).

Tableau 4 : Information structurale provenant des déplacements induits par $AlCl_3$ et $AlCl_3/HCl$:

Réactif	Déplacement observé au niveau de la bande I	Interprétation
$AlCl_3/HCl$	+35 à 55 nm	5-OH.
$AlCl_3/HCl$	+17 à 20 nm	5-OH avec oxygénation en 6(mais pas 6-C-glyc).
$AlCl_3/HCl$	Pas de changement	5-OH occupé, ou 5-OH avec 6-prényl.
$AlCl_3/HCl$	+50 à 60nm	3-OH possible (avec ou sans 5-OH)
$AlCl_3$	Déplacement $AlCl_3/HCl$ +30 à 40 nm	Ortho-diOH sur noyau B.
$AlCl_3$	Déplacement $AlCl_3/HCl$ +20 à 25 nm	Ortho-diOH sur noyau A (s'additionne au déplacement du à Ortho-diOH de B

Mesure du spectre UV et des déplacements des maxima d'absorption :

Protocole : Préparation de la solution du produit purifié et des réactifs de déplacement ^[32]:

Une petite quantité du produit est diluée dans du MeOH jusqu'à l'obtention d'une solution claire. Les réactifs de déplacement sont préparés comme suit [Mabry, 1970 ; Markham, 1982]:

- § méthoxyde de sodium (MeONa): un morceau de sodium (Na) fraîchement coupée (environ 5 g) est délicatement ajouté à du MeOH (200 ml).
- § chlorure d'aluminium ($AlCl_3$): 5 g d' $AlCl_3$, anhydre frais est délicatement dissous dans du MeOH (100 ml).
- § acide chlorhydrique conc. (HCl): 50 ml d'HCl est dilué dans 100 ml d' H_2O .
- § acétate de sodium (NaOAc): anhydre en poudre.
- § acide borique (H_3BO_3): anhydre en poudre.

(NB: tous les produits utilisés sont de qualité analytique).

Lecture des spectres:

Le spectre du flavonoïde pur dilué est mesuré (spectre MeOH).

- Ø Quelques gouttes de MeONa sont ajoutées dans la cuvette contenant le flavonoïde dilué et après homogénéisation, le spectre "MeONa" est enregistré. Le spectre MeONa" est relu après 5 minutes afin de vérifier toute décomposition du flavonoïde.
- Ø Dans une autre cellule contenant le flavonoïde dilué, 5 gouttes de AlCl₃, sont additionnées, l'échantillon mélangé et le spectre "AlCl₃; enregistré. 3 à 5 gouttes de HCl sont ensuite ajoutées et le spectre "AlCl₃/HCl" mesuré.
- Ø Quelques grains de AcONa sont ajoutés au flavonoïde dilué. Après dissolution, le spectre "AcONa" est mesuré. Enfin, le spectre "AcONa+H₃BO₃," est enregistré après addition de quelques grains de H₃BO₃ et homogénéisation.

Chaque flavonoïde a ainsi été caractérisé par six spectres UV, donnant d'importantes informations sur la structure de la molécule. Les spectres ont été enregistrés sur Un spectrophotomètre Beckman UV-visible, entre 240 et 460 nm [32].

Interprétation des spectres:

Les spectres UV enregistrés dans le MeOH ont permis de déterminer à quelle classe de flavonoïde appartenait chacun des composés purifiés. Les déplacements des maxima provoqués par les différents réactifs ont été interprétés en se basant sur les informations disponibles (Tab. 1 -4) [32].

Réactif	Déplacement (nm)		Interprétation
	Bande I	Bande II	
MeOH	304-350 352-385 328-357	250-280 250-280 250-280	Flavone Flavonol OR en 3
NaOMe (NaOH)	+45 à +65 1. stabilité d'intensité / MeOH 2. diminution d'intensité		OH en 4'
	L'intensité diminue avec le temps (décomposition)		3',4' OH ou ortho di -OH sur A ou ortho di OH sur B
	Nouvelle bande/MeOH entre 320 à 335		OH en 7
NaOAC		+5 à +20 Déplacement diminue en présence d'un substituant en 6 ou 8	OH en 7
		Pas de déplacement ou très faible	OR en 7
		Spectre qui se décompose avec le temps	5, 6, 7-tri OH ou 5, 7, 8-tri OH
NaOAC+ H ₃ BO ₃	+12 à +36		Ortho di OH sur B
AlCl ₃	Une seule bande entre 420- 430		Ortho di OH sur B avec 5- OH
MeOH/ (AlCl ₃ +HCl)	+17 à +20		5-OH avec une oxygénation en 6
	+35 à +55		5-OH et 3-OMe
	+50 à +60	OH en 3 avec ou sans OH en 5	
AlCl ₃ / (AlCl ₃ +HCl)	-20 à -40 avec sommet où épaulement entre (350-360)		Ortho di OH sur B
	-20 à -25		Ortho di OH sur A et Ortho di OH sur B ou tri- OH sur B.

Tableau 5 : les déplacements observés dans la présence des réactifs

/ : Par rapport

+ : déplacement bathochrome

- : déplacement hypsochrome

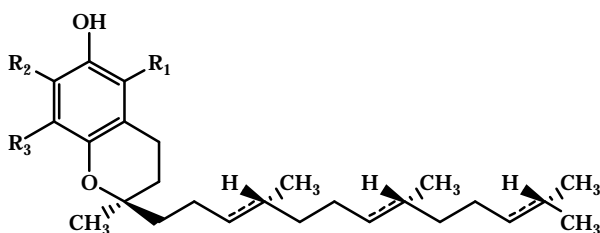
III-TERPENES

III-1-Généralités :

Les terpènes (ou les isoprénoïdes, ou les terpénoïdes), représentent le groupe le plus ancien de petits produits moléculaires synthétisés par des usines et sont probablement le groupe le plus répandu des produits naturels. Ce sont des constituants habituels des cellules végétales, impliqués ou non dans des fonctions métaboliques essentielles [33].

Les terpènes sont présents chez tous les êtres vivants et possèdent des structures, des propriétés physiques et chimiques, et des activités biologiques très diverses. Plusieurs d'entre eux sont exploités à l'échelle industrielle (industrie des cosmétiques et des parfums, industrie du caoutchouc, industrie agroalimentaire pour les arômes et les colorants alimentaires, etc....) [34].

Parmi eux, certains sont des substances odorantes, comme par exemple le menthol et thymol, provenant d'huiles essentielles extraites respectivement de feuilles de menthe et de fleurs de thym. Le myrcène est un constituant du houblon et le sclaréol est notamment utilisé en parfumerie pour la synthèse de l'ambre gris [35]. D'autres isoprénoïdes possèdent des rôles physiologiques très importants. Les ubiquinones et les ménaquinones permettent le transport d'électrons lors des processus respiratoires. La vitamine E, connue pour son action anti-oxydante, stabilise *in vitro* les acides gras insaturés et les protège en empêchant leur peroxydation par piégeage des radicaux libres [35].

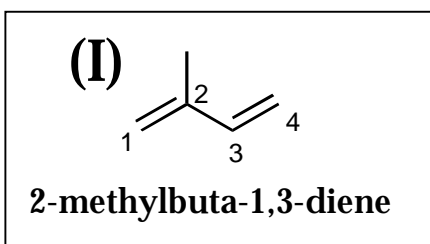


Structure chimique de la Vitamine E

Les doubles liaisons indiquées en - - - - ne sont pas présentes dans les tocophérols.

	R1	R2	R3
alpha-tocophérol alpha-tocotriénol	CH ₃	CH ₃	CH ₃
béta-tocophérol béta-tocotriénol	CH ₃	H	CH ₃
gamma-tocophérol gamma-tocotriénol	H	CH ₃	CH ₃
delta-tocophérol delta-tocotriénol	H	H	CH ₃

La famille des stérols, métabolites essentiels, comprend le cholestérol qui a pour principale fonction de réguler la stabilité, la fluidité et la perméabilité des membranes cellulaires. Chez les bactéries, les hopanoïdes, comme l'amniobactériohopanetriol, jouent un rôle analogue à celui des stérols chez les Eucaryotes. Les caroténoïdes comme le β - carotène sont des pigments, qui absorbent la lumière et qui, de ce fait, sont considérés comme protecteurs vis-à-vis de la photo-oxydation [35].

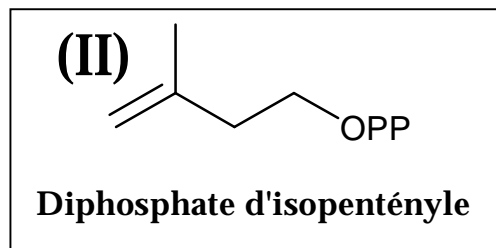


Ils peuvent être définis comme groupe de molécules dont la structure est basée sur un divers mais défini nombre des unités d'isoprène (I) (méthylbuta -1,3-diène, appelé hemiterpène, avec 5 atomes de carbone)[35].

III-2-Règle isoprénique :

Vers le milieu du 19^{ème} siècle, les travaux sur l'essence de térébenthine sont à l'origine du terme "terpène" donné aux hydrocarbures de formule brute $C_{10}H_{16}$. On les trouve fréquemment dans les huiles volatiles des plantes, nommées huiles essentielles car elles renferment la "*Quinta essentia*", la fragrance de la plante [35].

Les terpènes constituent une famille de composés largement répandus dans le règne végétal. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'une unité isoprénique à 5 atomes de carbone (C_5H_8) reconnue par Wallach dès 1887. Cet isoprène (I) est à la base du concept de la "règle isoprénique" énoncée en 1953 par Ruzicka et complétée par Lynen *et al.* et Bloch *et al.* . Cette règle considère le diphosphate d'isopentényle (II), désigné sous le nom d'isoprène actif, comme le véritable précurseur de la molécule terpénique ; d'où le nom d'isoprénoïdes sous lequel on les désigne également [35].



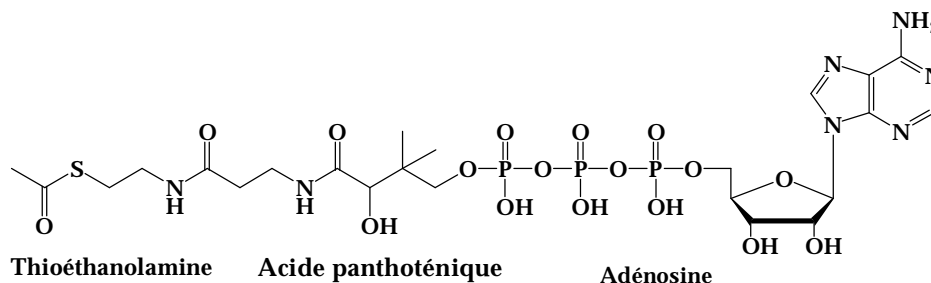
III-3-La biosynthèse des isoprénoïdes :

Les études sur les différentes voies de biosynthèse des terpènes ont donné lieu à plusieurs revues bibliographiques. Par contre, on possède peu d'informations sur la compartimentation cellulaire et les régulations des systèmes mis en jeu [35].

Les recherches sur l'origine biosynthétique des terpènes ont été menées selon diverses orientations [35].

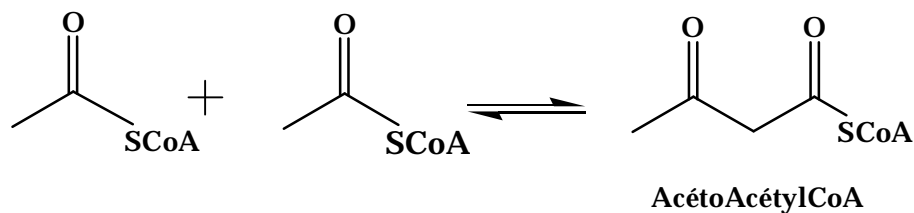
L'existence des motifs isopréniques a été envisagée pour la première fois par Wallach en 1887 qui fut le premier à proposer que des condensations successives d'unités isoprène de manière « tête-à-queue » donnent des composés chimiques à n fois cinq atomes de carbone $(C_5)_n$. Plus tard, cet aspect a été développé par Ruzicka, qui proposa un concept appelé "règle isoprénique biogénétique", la règle de Ruzicka. Ainsi tous les squelettes isopréniques peuvent être déduits en utilisant quelques règles en accord avec les réactions classiques de chimie organique, comme par exemple, la formation d'isoprénoïdes acycliques par condensation d'unités isopréniques en C_5 , la formation de carbocation induisant la cyclisation de 1,5-polyènes et des réarrangements de type Wagner-Meerwein [35].

La biosynthèse végétale des terpènes prend son origine au niveau de l'acétyl coenzyme A ($CH_3COSCoA$), catabolisme des sucres [36].

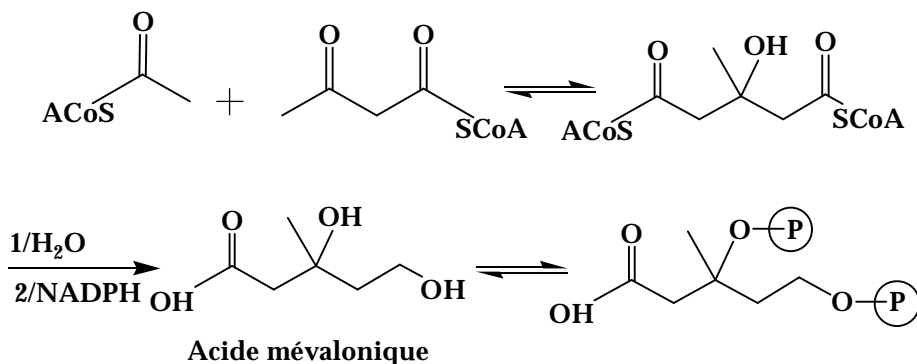


La voie mévalonique est la plus connue. Il existe, en particulier chez les bactéries et les plantes une voie dite « non mévalonique ». Pour la voie principale :

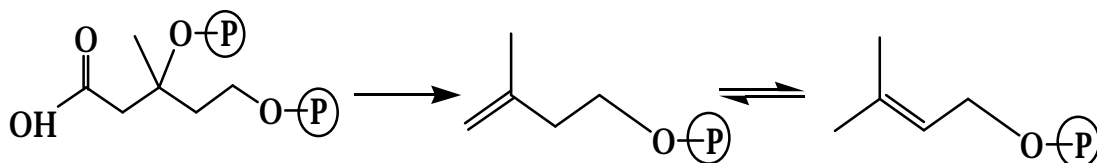
La 1^{ère} étape est une condensation de type Claisen entre 2 molécules d'acétylCoA pour conduire à l'acétoacétylCoA [36].



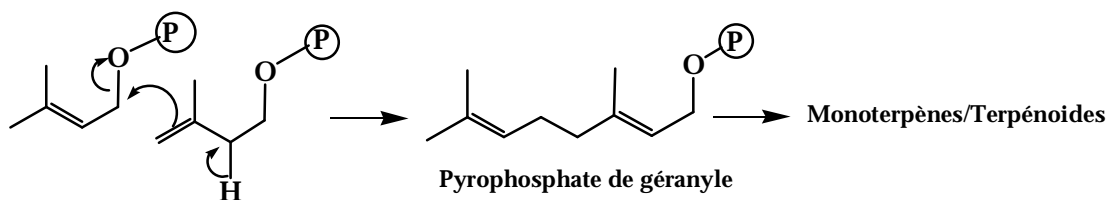
La 2^{ème} étape est une réaction d'aldolisation entre une 3^{ème} molécule d'acétylCoA et l'acétoacétylCoA. Après hydrolyse et réduction par NADPH (Nicotine Adénine Dinucléotide Phosphate), il se forme l'acide mévalonique [36].



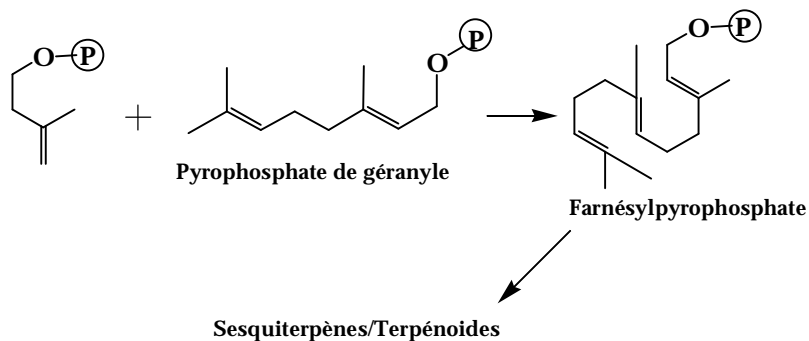
Après pyrophosphorylation par l'ATP (Adénosine Triphosphate), la déshydratation et la décarboxylation par une élimination concertée permettent d'atteindre les 2 intermédiaire en C₅, bio-précurseur des terpènes : le pyrophosphate d'isopentényle en équilibre, par simple transfert de proton, avec le pyrophosphate de diméthylallyle :



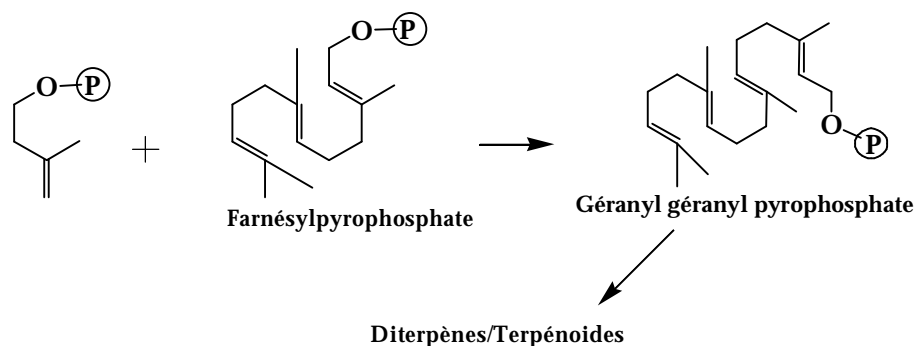
Les 2 intermédiaires en C₅ réagissent alors l'un sur l'autre pour conduire au pyrophosphate de géranyle point de départ de tous les monoterpènes et des autres précurseurs de terpénoides [36].



La condensation, suivant le même principe, entre un pyrophosphate d'isopentényle et le pyrophosphate de géranyle conduit au pyrophosphate de farnésyle, point de départ de tous les dérivés sesquiterpéniques [36].



Par condensation d'un pyrophosphate de farnésyle avec un pyrophosphate d'isopentényle on obtient un géranyl-géranylpyrophosphate point de départ de tous les diterpènes [36].



Par contre la formation des tri- et tétra-terpènes s'obtient par dimérisation réductive, à l'aide de NADPH, de 2 unités pyrophosphate de farnésyle ou géranyl-géranylpyrophosphate [36].

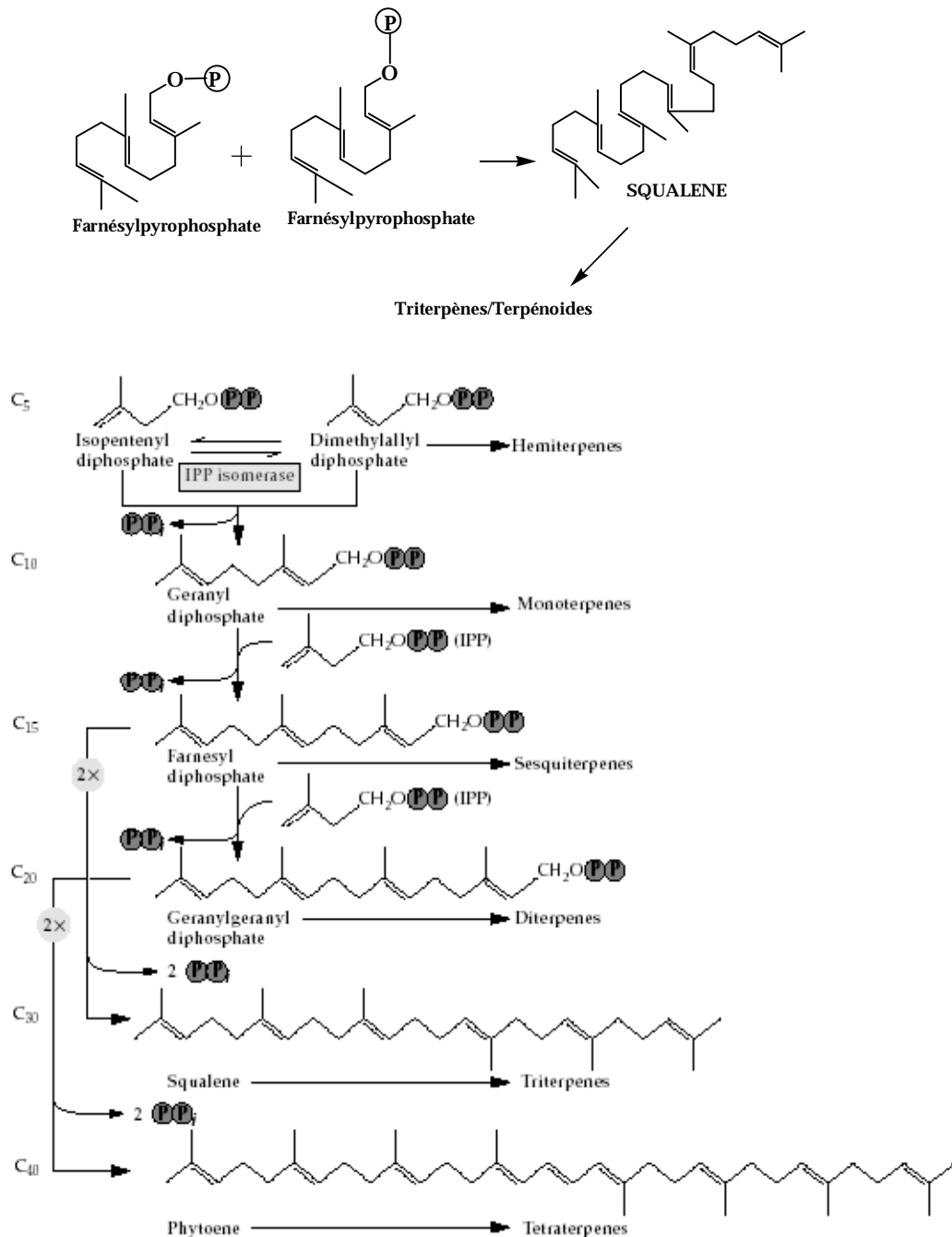


Figure 11. Biosynthèse des isoprénoides à partir du diphosphate d'isopentényle (IPP)^[37]

La formation des diphosphates d'isopentényle (IPP) et de diméthylallyle (DMAPP) a été considérablement étudiée, spécialement dans les tissus de foie. Cela a permis la découverte, dans les années 50, de *la voie du mévalonate* ou voie du MVA, longtemps considérée comme l'unique voie de biosynthèse des isoprénoides dans tous les organismes vivants. Cependant, durant ces dernières décennies, une voie alternative

indépendante au mévalonate a été découverte chez plusieurs eubactéries, chez les algues et dans les chloroplastes de plantes supérieures, c'est la voie du 2-C-méthyl-D-érythritol 4-phosphate ou *la voie du MEP*^[35].

3-1-La voie du mévalonate

Différentes études ultérieures ont permis d'établir un schéma biogénétique unique pour la formation du diphosphate d'isopentényle mettant en jeu le mévalonate (Figure 12) ^[35].

Le produit de départ est l'acétate activé sous forme d'acétyl-CoA (Figure 12). Une condensation de type Claisen de deux unités d'acétyl-CoA mène à l'acétoacétyl-CoA. La condensation d'une troisième molécule d'acétyl-CoA conduit à la formation de l'hydroxyméthylglutaryl-CoA, qui est réduit en mévalonate par l'HMGCoA réductase. Cette enzyme joue un rôle clé au niveau de la régulation de la biosynthèse des isoprénoïdes chez les animaux. L'alcool primaire du mévalonate est ensuite phosphorylé par la mévalonate kinase, pour mener au phosphate de mévalonate, qui est converti en diphosphate de mévalonate par la phosphomévalonate kinase. Ce dernier est transformé en IPP par la diphosphomévalonate décarboxylase. Cette enzyme, utilisant de l'ATP, catalyse la phosphorylation de l'alcool tertiaire qui est converti en bon groupe partant, favorisant ainsi la décarboxylation concomitante de l'acide β -hydroxy phosphorylé. Cette chaîne de réactions partant de l'acétyl-CoA et conduisant à l'IPP est appelée *voie du mévalonate*^[35].



Figure 12. Principales étapes de la biosynthèse du diphosphate d'isopentényle à partir de l'acétyl CoA [37]

- | | |
|-------------------------------------|---|
| <i>1 : acétoacétyl CoA thiolase</i> | <i>4 : mévalonate kinase</i> |
| <i>2 : HMG CoA synthétase</i> | <i>5 : mévalonate 5-phosphate kinase</i> |
| <i>3 : HMG CoA réductase</i> | <i>6 : mévalonate 5-diphosphate Décarboxylase</i> |

3-2-La voie du MEP

Pendant des décennies, la voie du mévalonate a été unanimement acceptée comme étant la seule voie de biosynthèse menant à l'IPP chez tous les organismes vivants. Cependant des résultats expérimentaux contradictoires ont été observés dans la biosynthèse des isoprénoïdes chez certaines bactéries et chez certaines plantes. En effet, des expériences d'incorporation d'acétate ou de mévalonate marqué au ^{13}C chez certaines bactéries n'ont pas toujours donné les résultats attendus. La localisation du marquage était en contradiction avec celle attendue avec la voie du mévalonate. Suite à de nombreuses expériences d'incorporation de précurseurs marqués, une nouvelle voie de biosynthèse indépendante du mévalonate a été découverte dans les eubactéries, les algues et les plantes supérieures [35].

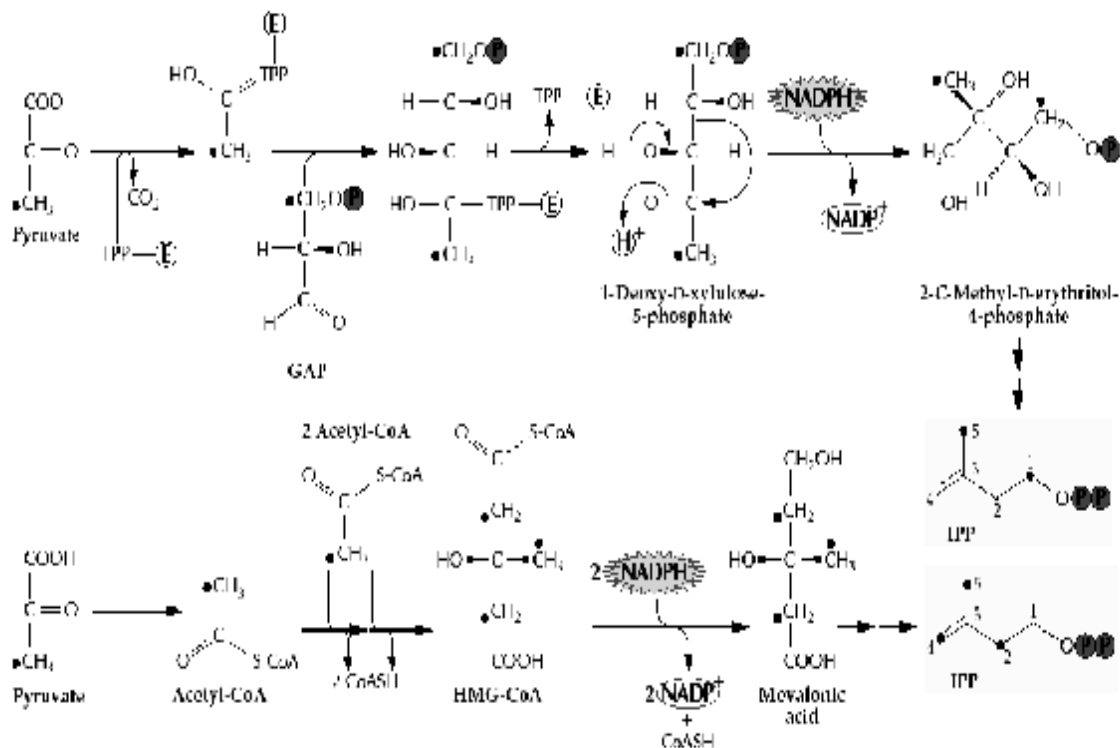
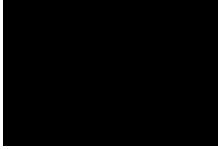


Figure 13. Biosynthèse du diphosphate d'isopentényle et de diméthylallyle selon la voie du 2-C-méthyl-D-érythritol 4-phosphate.

III-4- Classification des terpénoïdes:

Les divers squelettes terpéniques sont classés par le nombre de chaînons isopréniques qui les composent :

La formule brute générale des terpènes est du type : $(C_5H_x)_n$, dans laquelle x est variable en fonction du nombre d'insaturation présent dans le composé considéré. Une classification des terpènes a été établie selon le nombre d'unité isopréniques n :

	n nomenclature
	2 Monoterpènes (C10)
	3 Sesquiterpènes (C15)
	4 Diterpènes (C20)
	6 Triterpènes (C30)
	8 Tétraterpènes (C40)
	≈ 1000 Polyterpènes

III-4-1-Monoterpènes:

Les constituants odorants des essences végétales appartiennent très souvent à cette catégorie de terpènes. Ils constituent la majeure partie des huiles essentielles qui sont présentes en quantité appréciable chez environ 2000 espèces de 60 familles végétales. Ils sont rares chez les Légumineuses. Parfois simplement formées dans le cytosol, ces huiles se rassemblent en gouttelettes ou s'accumulent dans les vacuoles des cellules épidermiques ou du mésophylle de nombreux pétales, ou encore dans des cellules oléifères. Quand la température est élevée, ces essences traversent la paroi cellulaire et la cuticule sous forme de vapeur (parfum de fleurs). Mais souvent, des cellules glandulaires les éliminent activement dans des compartiments intercellulaires ou les rejettent vers l'extérieur du végétal. Les Monoterpènes sont des hydrocarbures en C_{10} . Ils peuvent être linéaires, monocycliques (*thymol*, *menthol*) ou bicycliques (*camphre*) [39; 48; 49; 50].

A ces terpènes se rattachent un certain nombre de produits naturels à fonctions chimiques spéciales, surtout alcool et aldéhyde.

Les Monoterpènes sont formés à partir du pyrophosphate de géranyle et résultent d'un enchaînement régulier ou irrégulier.

Nous citerons ici quelques représentants de chaque groupe. Souvent les noms proviennent des huiles végétales ou des plantes à partir desquelles le terpénoïde est extrait :

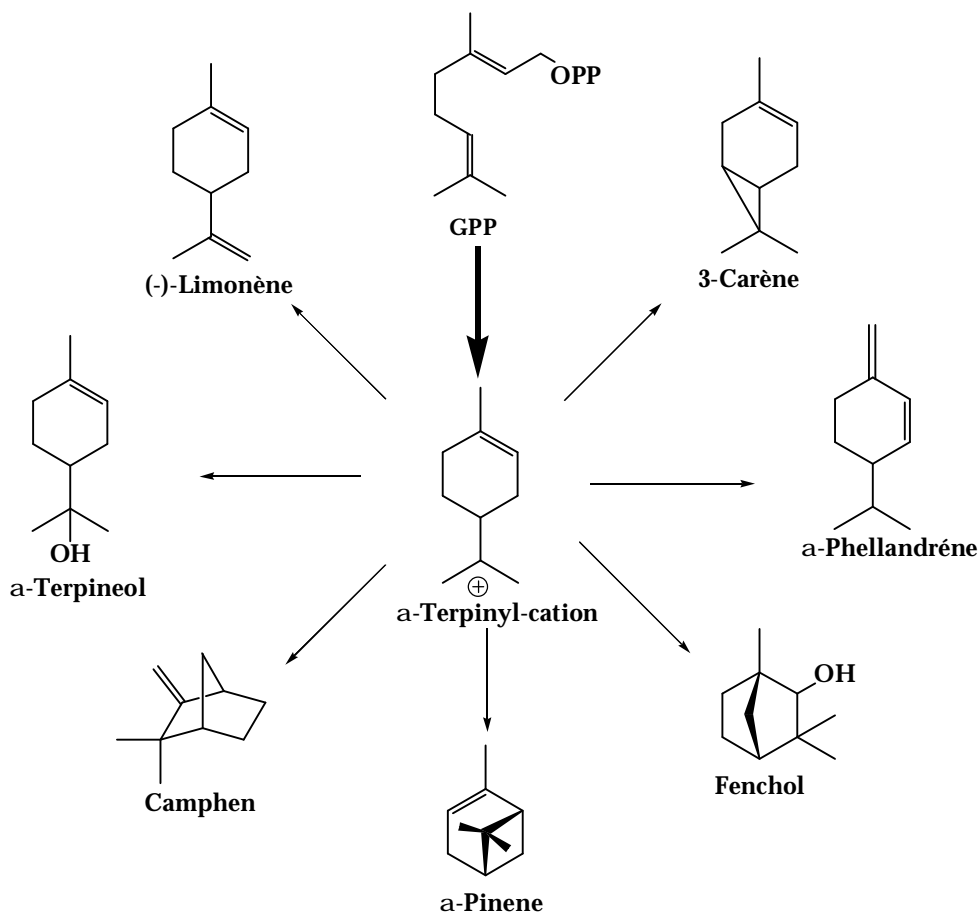


Figure 14: Exemples des monoterpènes

III-4-2- Les Sesquiterpènes :

Ce sont des hydrocarbures de formule C_{15} ; ils sont acycliques, monocycliques ou bicycliques. (Voir figure 15). Par rapport aux monoterpènes, les sesquiterpènes offrent un plus grand nombre de possibilités de cyclisation, cependant, à l'intérieur de chaque groupe, il y a plusieurs différents composés connus [39 ; 48 ; 50].

La grande majorité de sesquiterpènes sont présents dans les huiles essentielles. On peut également rencontrer dans les plantes, des lactones sesquiterpéniques variées qui se rattachent toutes au produit de cyclisation cyclocadiénylique, du 2 E, 6 E-farnésyl-pyrophosphate [47].

On connaît plus de 100 squelettes différents de structures sesquiterpéniques, ces diversités trouvent leur origine dans les potentialités réactionnelles de leur précurseur commun, le pyrophosphate de farnésyle (FPP) [47].

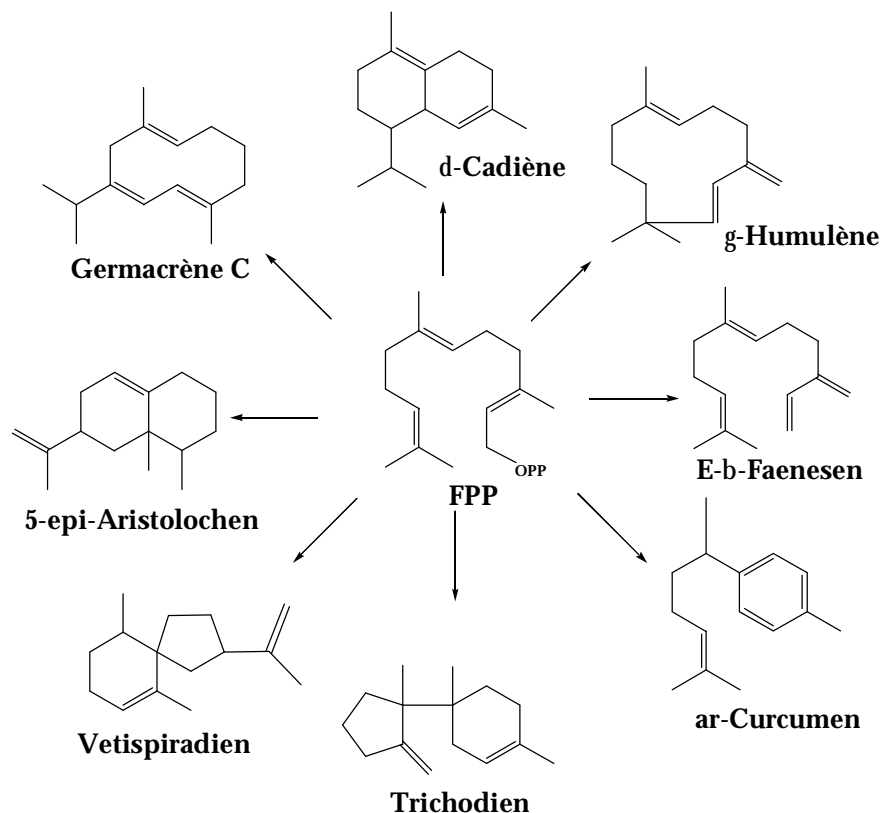
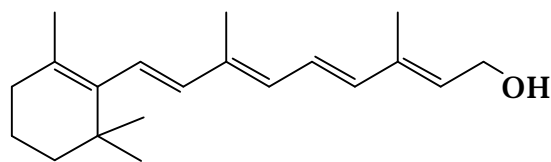
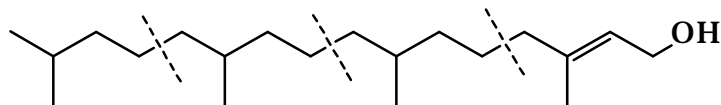


Figure 15: Exemples des Sesquiterpènes

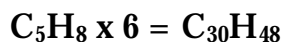
III-4-3-Les Diterpènes :

Les diterpènes comprennent un groupe de composés chimiquement hétérogènes, tous avec un squelette carboné en C_{20} basé sur quatre unités d'isoprène. Ils sont moins volatils. La plupart sont limités dans la distribution. Probablement, la seule distribution universelle de diterpènes est le composé parent acyclique le phytol, qui est présent dans la molécule de chlorophylle. Ces classes de diterpénoïdes sont : les diterpènes résiniques, les diterpènes toxiques, et les gibberellines [39 ; 48].

Vitamine APhytolIII-4-4-Les triterpénoïdes :

Les triterpénoïdes forment un groupe de produits naturels contenant dans leur squelette une trentaine d'atomes de carbone, et dérivant du squalène par une variété de cyclisations et d'autres modifications [40].

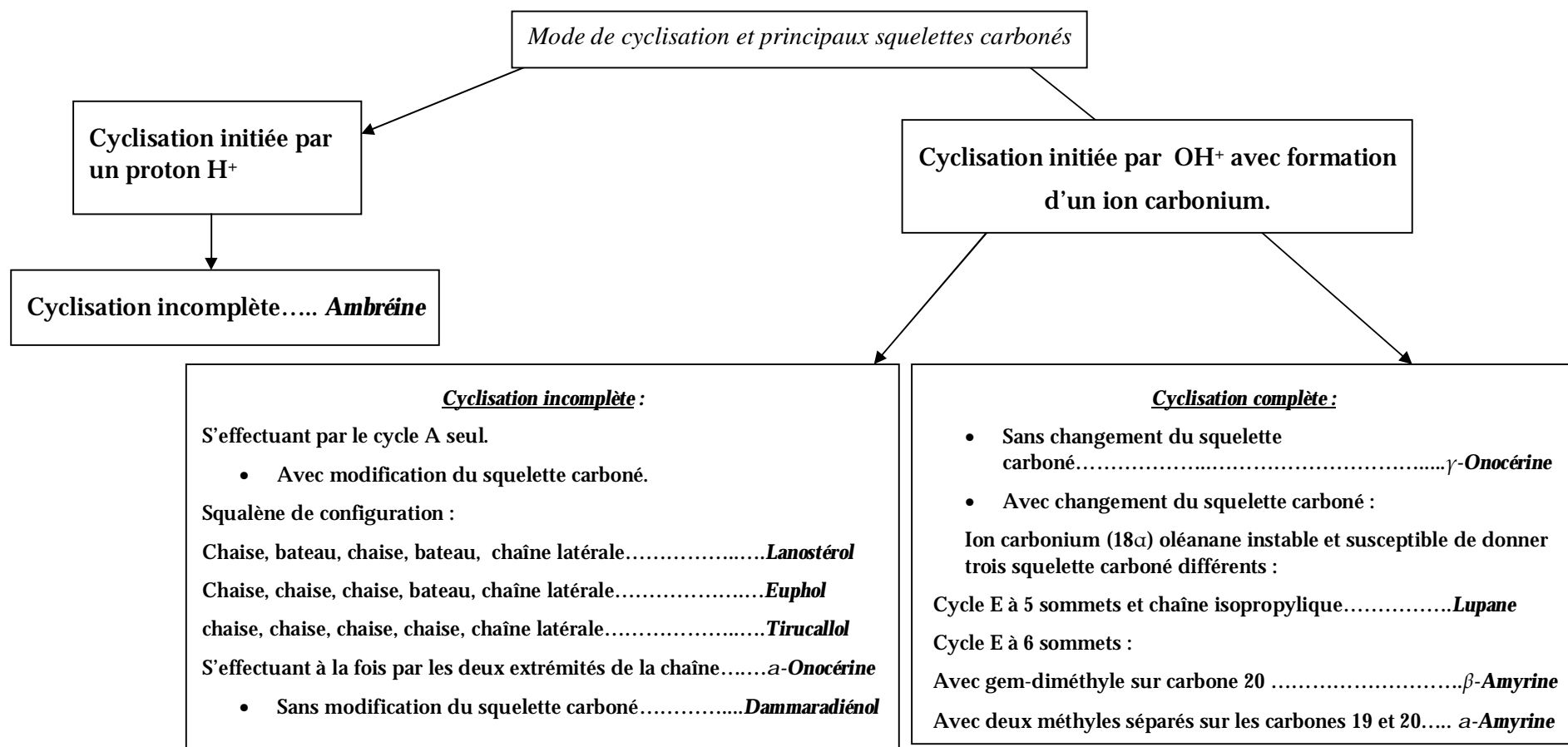
L'étude du squelette carboné des triterpènes a été l'application systématique de la règle isoprénique ; cette règle consiste à poser en principe que le squelette carboné d'un triterpène résulte de la condensation de six molécules d'isoprène, la formule de base donc être [40] :



L'application de la règle isoprénique a donné naissance à un premier essai de classification des triterpénoïdes [40 ; 48].

Ce sont des composés issus de la cyclisation du 2S-2,3 époxy-2,3-dihydro-squalène ou, plus rarement du squalène [40 ; 48].

Le squalène joue un rôle très important dans la synthèse des triterpènes cycliques. L'ensemble des données concernant les modes de cyclisation du squalène sont les suivants :



La figure (16) résume quelques exemples de cyclisation d'oxydosqualène dans les plantes supérieures [40].

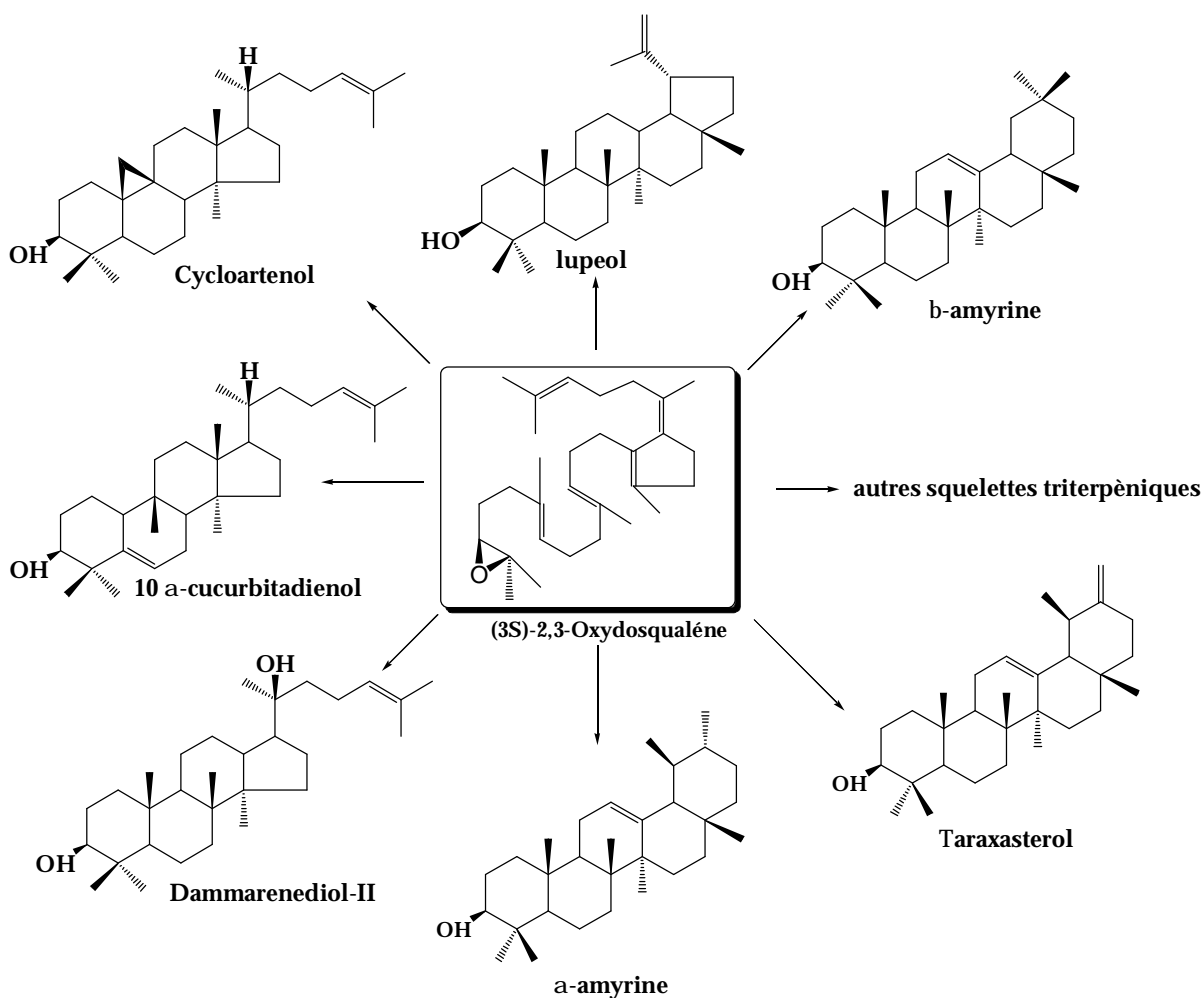


Figure 16 : Cyclisation d'oxydosqualène dans les plantes supérieures. [41]

III-4-4-1 Classification :

La classification des triterpénoïdes est basée sur la structure du squelette carboné de l'hydrocarbure saturé dont ils sont dérivés [40]. On distingue les squelettes de base en :

- Ø Tricyclique (cycle A, B, A') : **onocérane**,
- Ø Tétracyclique (cycle A, B, C, D) : **ambrane**
- Ø Pentacyclique :
 - a) **symétrique** (cycle A, B, C, B', A')
 - À cycle C ouvert : **lanostane**.
 - À cycle C fermé : **gammacérane** ;

b) **asymétrique** (cycle A, B, C, D, E) :

Cycle E à 5 sommets : **lupane**,

Cycle E à 6 sommets :

-Groupes méthyles 29 et 30 fixés sur le carbone 20 : **oléane**,

-Groupes méthyles 29 et 30 fixés respectivement sur les carbones 19 et 20 : **ursane**.

III-4-4-2 Nomenclature :

Les noms des triterpénoïdes dérivent du nom de l'hydrocarbure qui constitue leur squelette [40] :

- ◆ Ambra.....pour le squelette ambrane,
- ◆ Lanostapour le squelette lanostane,
- ◆ Onocéra.....pour le squelette onocérane,
- ◆ Gammacéra.....pour le squelette gammacérane,
- ◆ Lupa.....pour le squelette lupane,
- ◆ Ursa.....pour le squelette Ursane,
- ◆ Oléana.....pour le squelette oléane.

La figure (17) représente quelques squelettes carbonés des triterpénoïdes :

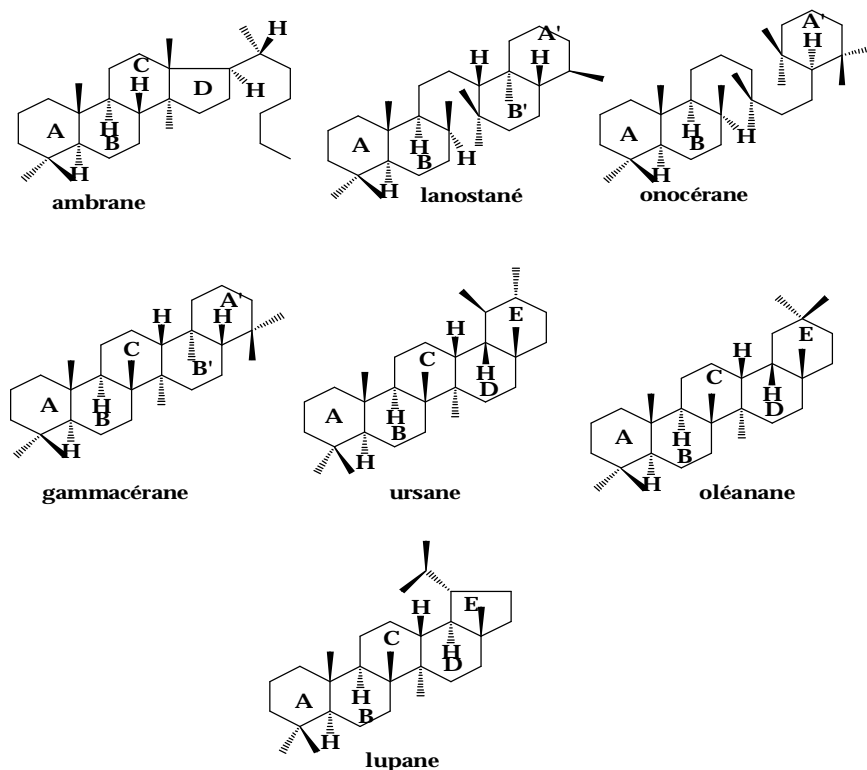


Figure 17 : quelques squelettes carbonés des triterpénoïdes

III-4-4-3 Biosynthèse des triterpènes :

Les triterpènes de végétaux sont produits à partir du squalène, lui-même formé par la condensation de deux unités farnésyl-pyrophosphate via la condensation d'unités isopréniques par la voie mévalonique (MVA). Dans la plupart des cas, le squalène est ensuite converti en 2,3-squalène époxyde par une squalène époxydase, puis est cyclisé grâce à une oxydosqualènecyclase [42].

La grande diversité des structures des triterpènes résulte d'un contrôle enzymatique sur les modes de cyclisation (chaise, bateau...) et les diverses migrations postérieures affectant les groupements méthyles voir figure(18) suivante :

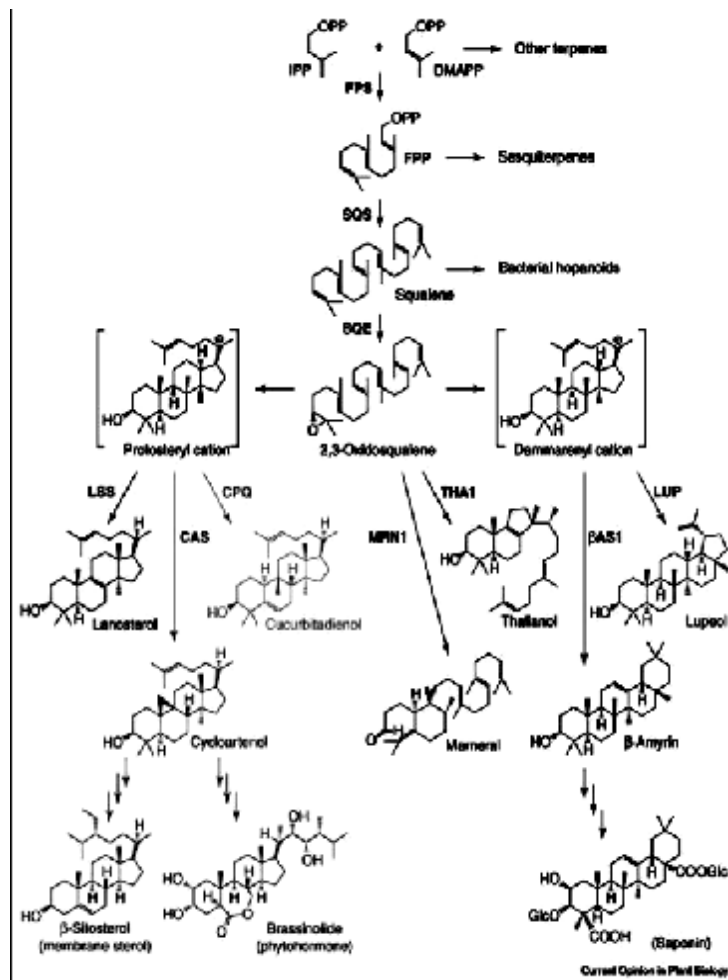


Figure (18) : Un plan simplifié de biosynthèse du triterpénoïde de la plante

III-4-4-4- Les triterpènes pentacyclique :

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 (figure 19)^[43].

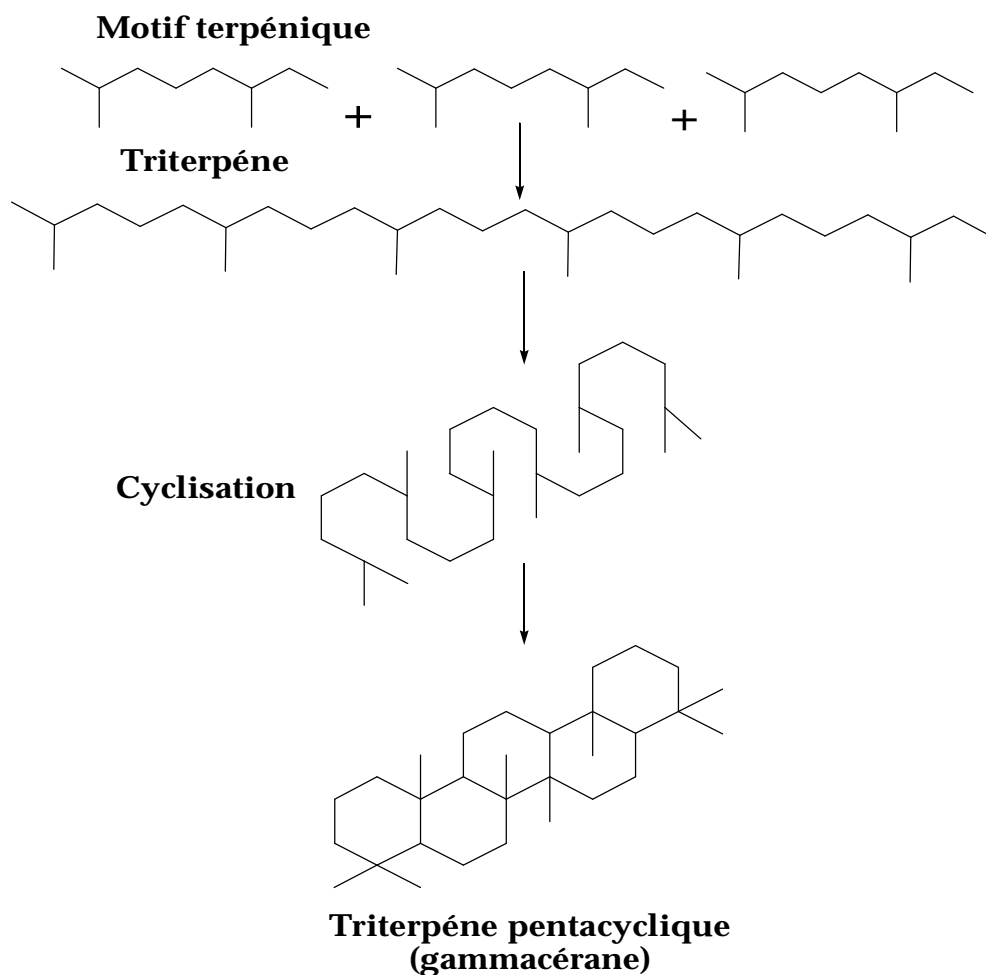


Figure 19: Description structurale des triterpanes pentacycliques

Plus de 50000 composés ^[43] ont ainsi été recensés dans la famille des triterpènes pentacycliques. Cette variété est le résultat :

- de l'agencement des cycles;
- de la position de groupements méthyles de substitution;
- de la présence et de la localisation d'insaturations;

- de possibles isoméries (configuration chaise/bateau, R ou S, α ou β ...);
- de la présence de groupements fonctionnels (alcools, cétones, acides carboxyliques), voire d'autres entités moléculaires associées (sucres et phénols, par exemple);
- de modifications postérieures survenues durant la diagenèse.

Ainsi, il existe plus de 512 isomères possibles de l'isoarborinol du seul fait des 5 cycles et 9 carbones asymétriques que comporte le squelette de ce composé [43]. Ces possibilités de structures induisent la nécessité d'une nomenclature adaptée.

Règles et structures de base des triterpènes pentacycliques :

La nomenclature se fonde sur la structure de quelques constituants hydrocarbonés, ou triterpènes, de base (figure 20). Tous les autres squelettes triterpéniques sont sensés dériver de ces composés fondamentaux par des modifications dont les modalités sont exposées plus loin. Les clés de cette nomenclature ont été formulées par *Allard* et *Ourisson*, en 1957 [43].

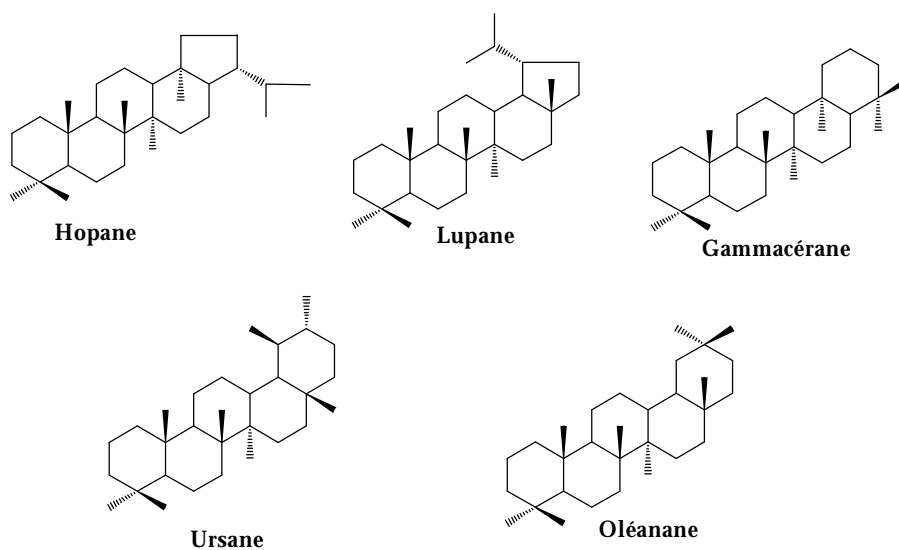


Figure 20: Quelques structures de base de triterpanes pentacycliques

Règles de numérotation des triterpènes pentacycliques :

La numérotation des triterpènes pentacycliques commence par le cycle A et "remonte" vers le cycle E. Dans le cas des composés comportant un cycle E à cinq carbones supportant une chaîne alkyle, la numérotation continue sur le premier carbone de ce radical alkyle. La numérotation des groupements méthyles se fait ensuite depuis le cycle A vers le cycle E, puis se poursuit sur le reste de la chaîne alkyle (figure 21). Pour les carbones gem-diméthylés, le numéro le plus bas est attribué au groupement en position α [43].

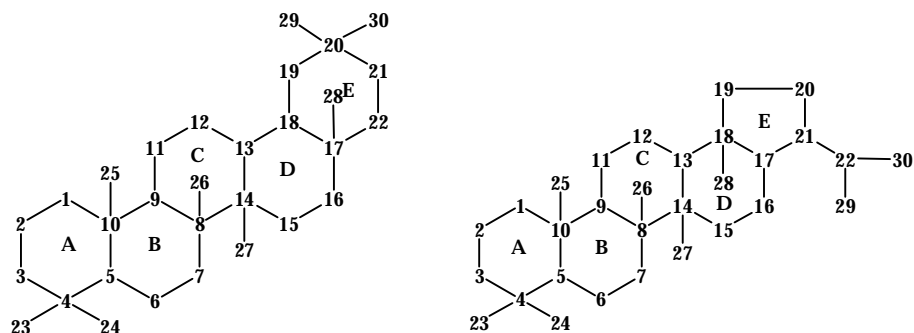


Figure 21 : Numérotation des carbones et dénomination des cycles des triterpènes pentacycliques. Exemples de l'oléanane et du hopane.

Origine biologique des triterpènes pentacycliques :

Les triterpènes pentacycliques sont produits par arrangement d'époxyde du squalène dans un arrangement chaise-chaise-chaise-bateau suivi de condensation. Ces composés sont aussi extrêmement communs et sont trouvés dans la plupart des plantes [43; 44].

Les représentants communs de ce groupe sont l' α -Amyrine, la β -amyrine, le friedelin, l'acide oléanolique et le taraxéran [43; 44 ; 51]. **Exemple :** biosynthèse de l' α et de la β -amyrine (figure 22).

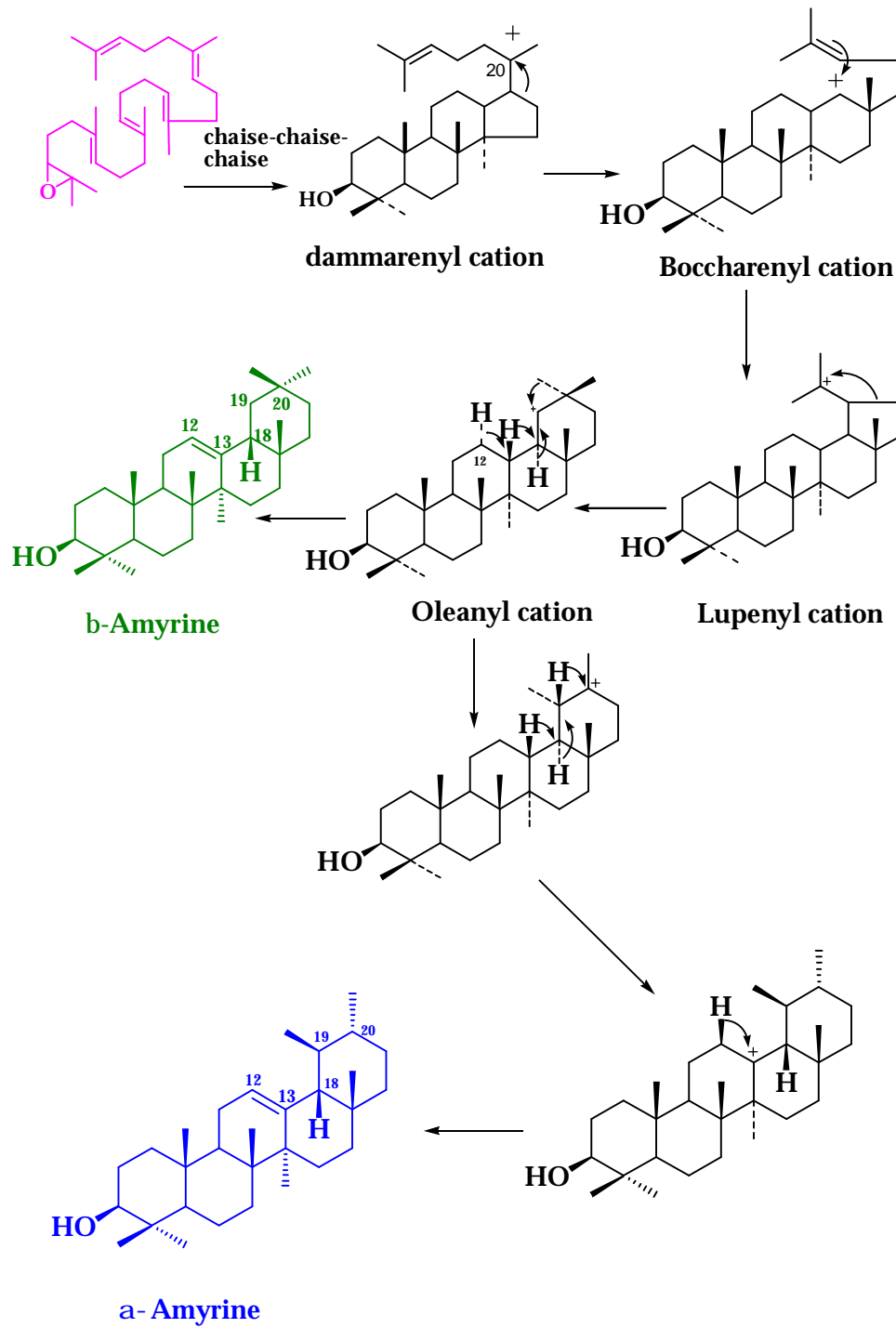


Figure22 : Chaînes biosynthétiques conduisant aux α - et β -amyrine à partir de l'époxysqualène. Tiré de Mahato et Sen, 1997^[43].

Le tableau suivant résume les modes de cyclisation conduisant à diverses structures [43]:

Chaise-bateau-chaise-chaise-bateau	arborane
Chaise-chaise-chaîne linéaire-chaise-chaise	ambréane
Chaise-chaise-chaise-chaise-chaise	hopane, gammacérane, serratane
Chaise-chaise-chaise-bateau	oléanane, ursane, taraxérane, bauérane, multiflorane, glutane, friédélane
Chaise-chaise-chaîne linéaire-chaise-chaise	onocérane
Chaise-chaise-chaise-chaise-bateau	néomotane, fernane, adianane, filicane

Modes de cyclisation de quelques structures de triterpènes pentacycliques. Tiré de Henderson et al. 1969.

III-4-5-Les stéroïdes et stérols :

Les stéroïdes ne sont pas des terpènes mais des composés de biodégradation de triterpènes. Ils constituent une classe de composés abondamment présent dans la nature (règne animal et végétal) [47]. Le squelette de base des stéroïdes comprend 17 atomes de carbone inclus dans un système tétracyclique, (cycles ABCD -figure 23-). Le squalène est le précurseur de tous les triterpènes (carotènes, stéroïdes et autres). Ce dernier est un composé achiral, formé par dimérisation réductive du pyrophosphate de farnésyle, il subit une époxydation enzymatique pour conduire à un seul énantiomère de l'époxyde correspondant présentant un seul centre chiral [47].

III-4-5-1 Les Stérols

III-4-5-1-a Définition :

Les stérols sont des constituants essentiels des membranes cellulaires. On les trouve aussi bien chez les animaux que dans les végétaux. Tous les stérols ont en commun le même noyau et ils ne diffèrent que par la chaîne latérale. Le cholestérol est exclusivement d'origine animale [46].

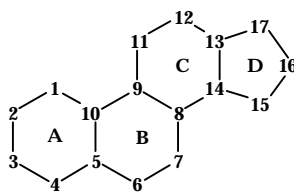
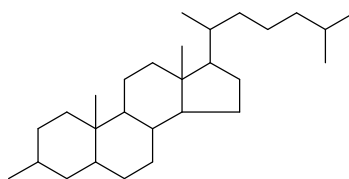


Figure23 : Noyau Stérol

Les stérols possèdent un groupement hydroxyle sur l'atome de carbone 3. (Généralement) une double liaison entre les atomes de carbone 5 et 6 ainsi qu'une chaîne latérale attachée au sommet 17 du noyau perhydrocyclopentano phénanthrène^[48].



Choléstanol

Figure24 : structure de choléstanol

Le choléstanol se trouve mêlé au cholestérol en très faible quantité dans les tissus animaux. Le caprostanol epimère du choléstanol, se rencontre dans les matières fécales. Le choléstanol et coprostérol sont des stérols saturés, que nous pouvons représenter par un noyau de projection plane et conventionnelle ou par des structures conformationnelles ^[48].

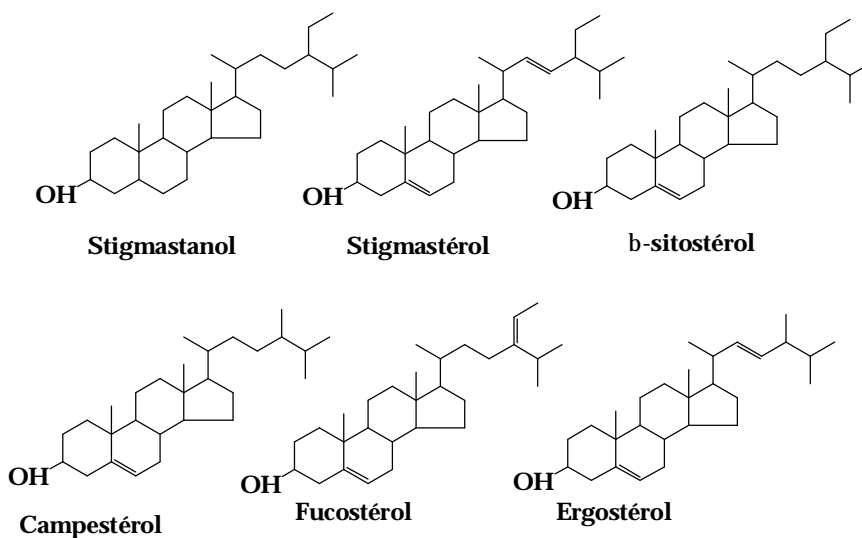


Figure 25 : quelques exemple de stérols

Bien que le cholestérol ne se trouve pas dans les plantes, on y rencontre plusieurs stérols apparentés, connus sous le nom de phytostérols. Le plus important est l'ergostérol, qui, par l'action des radiations de la lumière ultra violette donne le calciférol ou la vitamine D₂. Cette substance possède des propriétés antirachitiques analogues à celle de vitamine D [48].

III-4-5-2- Stéréochimie:

Les différences stéréochimiques les plus observées dans la structure des stérols ont trait à l'orientation de l'hydroxyle lié au sommet 3 et à la configuration des cycles condensés A et B. L'hydroxyle sur le carbone 3 est *cis* par rapport au groupements méthyles angulaires dans les stérols naturels. On désigne cette configuration par la lettre Grecque β et l'orientation inverse ou *Trans*, par la lettre Grecque α . Dans les stérols naturels, l'orientation de la chaîne extra nucléaire et le plus souvent β et la configuration habituelle des cycles condensés B/C et D/C est *trans*. La forme *cis* peut être préparée synthétiquement [48].

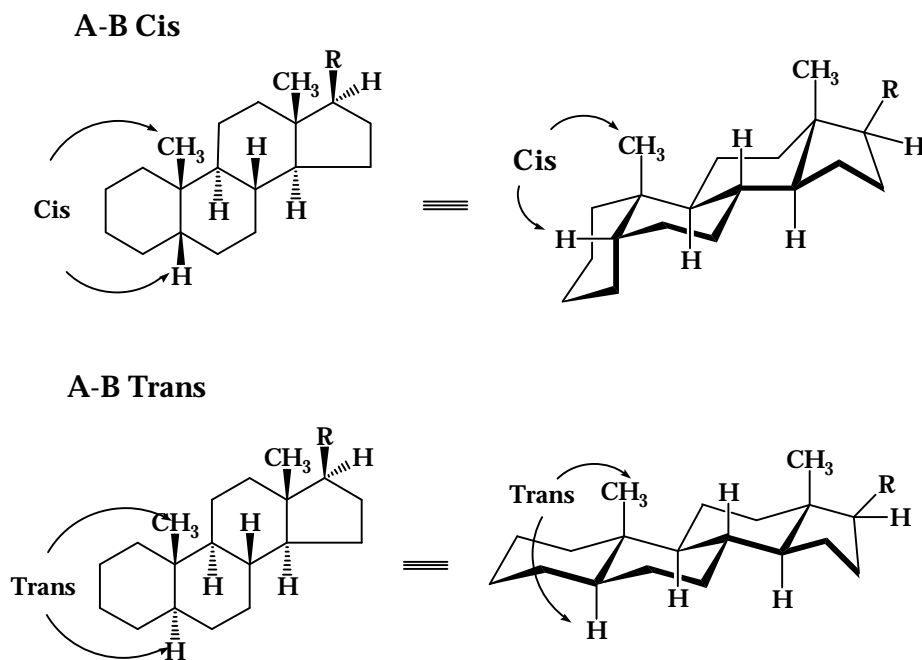


Figure 26. : Stéréochimie de noyau stérol

III-4-5-3- La Biosynthèse des Stéroïdes :

Une séquence remarquable de couplage d'alcènes, au niveau intramoléculaire, est observée dans la nature lors d'un tronçon de la voie biosynthétique conduisant, au noyau stéroïde. Dans ce processus, une molécule appelée squalène est oxydée grâce à une enzyme en oxyde de squalène qui contient un cycle oxacyclopropane. L'ouverture enzymatique, catalysée par un acide, du cycle de l'oxacyclopropane est suivie de quatre étapes où se forment des liaisons Carbone-Carbone en cascades, selon un précurseur biologique du cholestérol. Ces réactions sont hautement Régiosélectives et stéréospécifiques et constituent un procédé commode de synthèse des stéroïdes ^[48]. La transformation du squalène en cycloartinol précurseur des autres stérols végétaux ou phytostérols se fait en plusieurs étapes.

L'oxydation (en présence de NADPH et O₂) conduisant au squalène 2,3 -oxyde, lequel sous l'action d'une squalène cyclase se transforme en cycloartinol, puis se produisent des hydrogénations partielles, la création d'une fonction alcool et la perte de trois groupements méthyle ^[48].

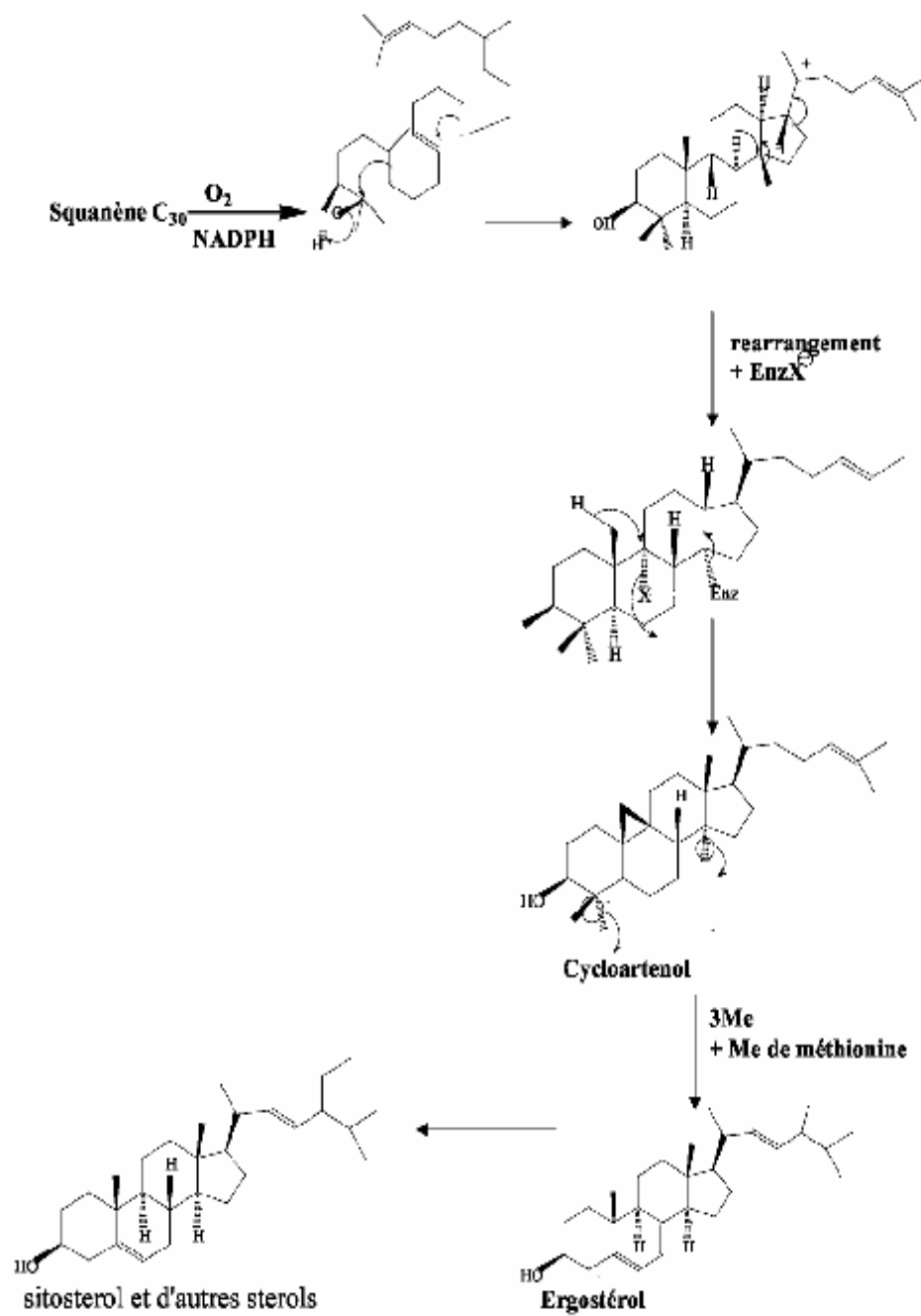


Figure 27: Biosynthèse des stérols

III-4-5-4- Intérêt thérapeutique des Stérols :

On peut résumer les fonctions biologiques des stéroïdes par les points suivants [48].

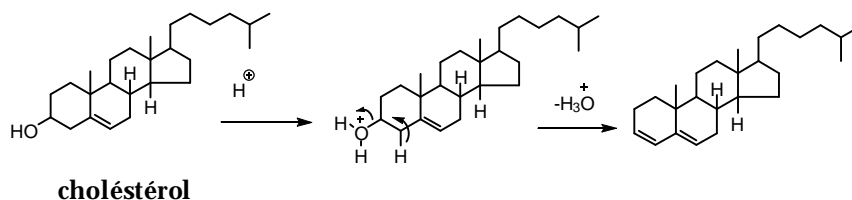
- ü Dans les plantes, algues, champignons, ainsi que chez les animaux, le cholestérol est la source de tous les métabolites de type stéroïdes.
- ü les stérols ont un rôle vital dans la maintenance de l'intégrité structurale de la plupart des structures membranaires des organismes.
- ü Ils assistent aussi dans la régulation de la perméabilité de ces membranes aux différents ions.
- ü Tous les eucaryotes synthétisent les stérols, ou en ont besoin pour leur diététique.

III-4-6 Réactions caractéristiques des triterpènes et stéroïdes :**✚ Réactions de coloration:**

Les réactions de colorations présentent un caractère plus ou moins spécifique chez les stéroïdes et les triterpénoides. Les réactifs employés donnent des indications positives, avec les composés triterpéniques et avec les composés stéroïdiques.

Ces réactions permettraient, d'après les auteurs, de distinguer entre triterpénoides et stéroïdes. Nous citerons ci-dessous quelques unes comme titre d'exemple de ces réactions :

1-Test de Salkowski : dans ce test on met en évidence les stérols insaturés par une réaction qui provoque l'apparition d'une coloration rouge: l'addition d'acide sulfurique concentrée entraîne l'élimination d'une molécule d'eau et conduit à la formation d'insaturation supplémentaire [40 ; 46.] Exemple :



2-Test de Liebermann-Burchard : le groupement OH en 3 est protégé par addition d'anhydride acétique. Cette réaction est suivie soit d'une isomérisation soit d'une transposition moléculaire, ce qui provoque le changement de coloration. [40 ; 46]

- une coloration bleu-vert indique la présence de stéroïdes
- une coloration rouge-violet à rose dénote la présence de triterpènes.

3-Test de Badjet-Kedde : L'addition d'acide picrique entraîne l'ouverture du cycle lactonique insaturé puis formation de complexe entre l'hydrocarbure et l'acide picrique [40 ; 46].

- L'apparition d'une coloration orange est due aux stéroïdes lactoniques.

Protocole expérimental

- test de Salkowski: incliner le tube à 45°, ajouter 1 à 2ml de H₂SO₄. Le changement de coloration est noté immédiatement. Agiter le mélange légèrement et noter le changement graduel de coloration : une coloration rouge indique la présence de **stérols insaturés** [46].
- test de Liebermann-Burchard : additionner un mélange de chloroforme et d'anhydride acétique (1/1) vol. puis agiter légèrement. Ajouter une goutte de H₂SO₄ concentré. Le changement de coloration est observé pendant une heure: une coloration bleu-vert indique la présence de **stéroïdes** tandis que rouge-violet à rose dénote la présence de **triterpènes**. (Les composés triterpéniques des groupes oléane et ursane tels que α- et β-amyrine, acide oléanolique, primulagénine A, etc..., prennent une coloration rose ; ceux du groupe du lupéol se colorant en jaune-orange.) [46 ; 47]. la réaction est encore visible à une concentration du 8-10 µg/cm³.
- test de Badjet-Kedde: additionner quelques grains d'acide picrique. L'apparition d'une coloration orange est due aux stéroïdes lactoniques [46].

III-4-7 La Stéréostructure des triterpénoïdes :

Rappel des principes de configuration :

Nous nous bornerons, dans cette partie à rappeler quelques lignes générales de la stéréostructure des triterpénoïdes, pour arriver à cela nous donnerons comme exemple quelques rappels sur la stéréostructure de l'oléanane et l'ursane:

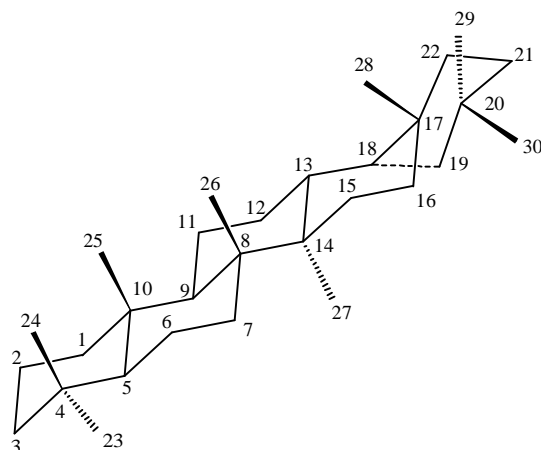
L'oléanane est formé de cinq cycles dont la configuration est 5×chaise et la fusion des cycles A/B, B/C et C/D est *trans*, mais celle des cycles D/E est *cis* ; les cycles A, B et C étant en succession *trans- anti- trans* [40]. Il existe huit centres d'asymétrie, respectivement situés en 5 et 10, 8 et 9, 13 et 14, 17 et 18 [40].

Les groupements méthyle occupent les positions suivantes : 23 α (e), 24 β (a), 25 β (a), 26 β (a), 27 α (a), 28 β (a) par rapport au cycle D, mais, β (e) par rapport au cycle E, 29 α (e) et 30 β (a). le méthyle 28, comme le voit, occupe une situation exceptionnelle : il est susceptible, lorsqu'il est substitué par un carboxyle de contacter des doubles liaisons lactones aussi bien avec les hydroxyles en position favorable du cycle D, qu'avec ceux du cycle E. il est relativement peu empêché stériquement. Il participe à la fois à la stabilité des groupements équatoriaux et à la réactivité des groupements axiaux [40].

Les position des hydrogènes (ou de leur substituant) sur les divers atomes de carbone sont précisés dans le tableau suivant (a: position axiale, e: position équatoriale) :

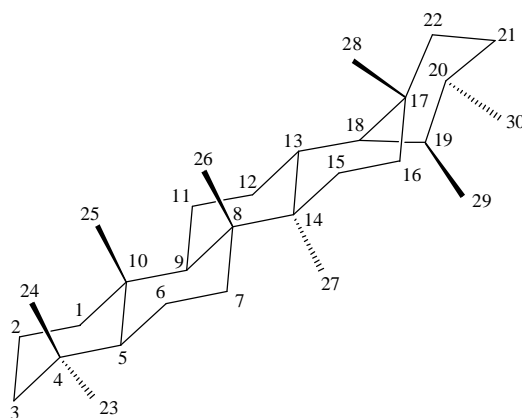
<i>Positions carbonés</i>	α	β	<i>Positions carbonés</i>	α	β
1	a	e	12	a	e
2	e	a	13	–	a
3	a	e	14	a	–
4	e	a	15	e	a
5	a	–	16	a	e
6	e	a	17	–	Semi-axial
7	a	e	18	–	Semi-axial
8	–	a	19	a	a
9	a	–	20	e	a
10	–	a	21	a	e
11	e	a	22	e	a

Structure d'Oléanane



La conversion de l'oléanane en ursane réalisée par **Corey** et **Cantall** a montré l'identité fondamentale de la structure des cycles A, B, C, D de ces deux groupes de corps et de leurs modes de fusion. Seule la structure du cycle E diffère. Cette structure a été établie par **Corey** et **Ursprung**, qui ont notamment montré que la configuration du carbone 18 était comparable à celle qu'on trouve dans la série de l'oléanane, c'est-à-dire β (semi-axial). La fusion des cycles D et E est donc également *cis*. Mais au lieu de présenter deux groupe méthyles fixés sur le carbone 20, dont l'un est en position axiale et l'autre en position équatoriale, le cycle E de l'ursane présente deux méthyles en position équatoriale, l'un fixé au carbone 20 et $\alpha(e)$, l'autre fixé sur le carbone 19 et $\beta(e)$ ^[40].

Structure d'Ursane



III-4-8 Tétraterpènes :

Ce sont des composés biologiquement importants présents dans les règnes animal et végétal. La charpente en C-40 se forme par l'assemblage en configuration cis de deux géranylgeranyles diphosphate avec une formation d'une nouvelle double liaison centrale (figure 28). Des déshydrogénations successives augmentent le nombre général des doubles liaisons et donc le système de conjugaison ce qui entraîne une intensification de la couleur des composés produits [49].

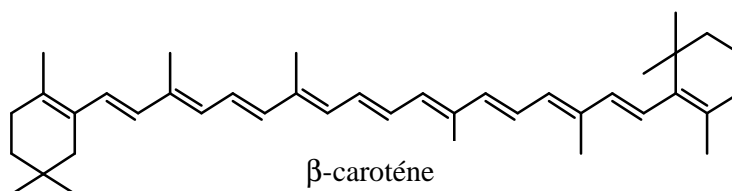


Figure 28: Exemple de tètaterpènes

III-4-9 Polyterpènes :

Ils sont formés de 500 à plus de 5000 unités isoprènes en chaînes non ramifiées aux doubles liaisons de configuration cis. Ils sont présents dans environ 2000 espèces végétales et le caoutchouc est l'exemple le plus connu [49].

Références bibliographiques :

- 1) MEFTAH Tewfik/ A.N.N ; 2003; Programme UICN – Cosmétologie au naturel : cosmétologie au naturel ; Alger.
- 2) MEKKIOU .R; phytochimie ; (2005) ; Université Constantine; Recherche et détermination structurale des métabolites secondaires du genre *Genista* (*fabaceae*):*G.Saharae, G.Ferax* ; 1-2
- 3) J.G.FOUCHE ; A.MARQIET ; A.HAMBUCKERS ; exposition temporaire du 19-09-200 au 30-06-2000 ; les plantes médicinales : de la plante au médicament ; Sart-Tilman, B77.B-4000 Liège.
- 4) <http://www.plantenonviolence.org>
- 5) COLETTE KELLER-DIDIER ; ALS (séance du 25 avril 2004); les plantes médicinales.
- 6) VALENTIN DAUCOURT ; (2001) ; Une histoire de la Médecine (Mise en page html par SYLVAIN CAZALET):
<http://www.homeoint.org/articles/daucourt/index.htm>
- 7) Dr. Yves DONADIEU ; 2001-2006 : Les thérapeutiques naturelles/produits végétaux /plantes médicinales: www.01sante.com.
- 8) V. DAUCOURT ; S.CAZALET ; 2001; Une histoire de la Médecine.
- 9) S. HAMMADA ; M. DAKKI ; M.IBN TATTOU, A. OUYAHYA & M. FENNANE ; 2004; Flore zones humides du Maroc; Acta Botanica Malacitana 29: 43-66 Málaga.
- 10) A.E. AAFI ; A.A. EL KADMIRI; A. E.BENABID ET M. ROCHDI, 2005 ; Diversité floristique Mamora (Maroc) 127 Acta Botanica Malacitana 30: 127-138 Málaga.
- 11) GUIDO G. LANFRANCO; A Maltese Historical Plant; Melita Historica: Journal of the Malta Historical Society. 3(1960)1(53-70) [p.53] Cynomorum Coccineum Linn., section one.

- 12) JEAN-LOUIS BRAZIER, Ph.D. ; août 2003 ; Est-ce possible? Des produits naturels pour traiter l'arthrite.
- 13) HAMDI-PACHA Y., BENYACHE F. BENAYACHE, S., BENAZZOUZ, M., SMATI, F. ET BENCHOUALA, C. 1993. Le moléculaire et l'effet de Caractérisation anti-bactérien des algériennes de plantes de quelques : *Viscosa* L. d'*Inula* et *pullata de Centaurea* L. Journal Algérien de Médecine 3 (3) : 183-186.
- 14) De la plante au médicament : Une passerelle entre tradition et science : <http://www.mpl.ird.fr/suds-en-ligne/fr/plantes/pharmace/avance01.htm>
 - a. BRUNETON : Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales, *Editions Lavoisier, Paris 1993.*
 - b. SEVENET : Plantes, Molécules et Médicaments, Editions Nathan – CNRS, Paris 1994.
- 15) MME. SALIMA BENHOUBOU, Institut agronomique national, Alger (Algérie) ; 2005 ; usage spécial : plantes médicinales en Afrique du nord.
- 16) défenses constitutives, site Internet :
<Http://quasimodo.versailles.inra.fr/inapg/reactdef/const/index.htm>.
- 17) SANDRINE LOUIS ; 2004 ; Thèse de doctorat ; Lyon ; Diversité structurale et d'activité biologique des Albumines entomotoxiques de type 1b des graines de Légumineuses.
- 18) <http://mourad.multimania.com/flavonoïdes.html>
- 19) MILANE HADI ;(2004) ; Thèse de Doctorat ; La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques ; Univ. Louis Pasteur ; Pharmacochimie.
- 20) <http://membres.lycos.fr/jjww/savoir1.htm>
- 21) J. BRUNETON ; (1996) ; « Plante toxique, végétaux dangereux pour l'homme et les animaux ». Londres Editions Tec. et. Doc; New-York, Paris .

- 22) B. BUCHANAN, W. GRUISSEM, AND R. JONES ;(2000); Natural Products (Secondary Metabolites) Chapter 24; Biochemistry & Molecular Biology of Plants; American Society of Plant Physiologists; *p*: 1302-1311.
- 23) H.DENDOUGUI ;(1989) ; Thèse de magister, Université de Constantine.
- 24) LAURENT HOFFMANN ; (2003); Thèse de doctorat ; Etude du métabolisme des phénylpropanoïdes; analyse de l'interaction de la caféoyl-coenzyme A 3-O-méthyltransférase (CCoAOMT) avec son substrat et caractérisation fonctionnelle d'une nouvelle acyltransférase, l'HydroxyCinnamoyl-CoA : shikimate/quinate hydroxycinnamoyl Transférase (HCT); univ. Louis pasteur-strasbourg.
- 25) HAVSTEEN, B. H. (2002). "The biochemistry and medical significance of the flavonoids." *Pharmacology & Therapeutics* 96: 67– 202.
- 26) ABDELGHAFOUR MARFAK ; (2003) ; Biophysique ; Thèse de Doctorat ; Radiolyse Gamma des Flavonoïdes. Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des Alcools : Formation de Depsides. Univ.Limoges ; Ecole Doctorale Sciences Biologie Santé, Faculté de Pharmacie.
- 27) T. BAHORUN ;(1997); Substances naturelles actives: La flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle ; Univ. Maurice
- 28) NATHALIE RIVARD-GERVAIS ;(2001) ;Aliments fonctionnels et produits nutraceutiques – Iles fibres, les vitamines et les autres éléments nutritifs ; Le Médecin du Québec, 36(4).
- 29) Méthodes d'étude structurale des flavonoïdes :(spectrométrie de masse et RMN) : docencia.udea.edu.co/~farmacogfit/Flavonoïdes/D_main.html - 3k.
- 30) MEKKIOU .R; phytochimie ;(2005), Université Constantine; Recherche et détermination structurale des métabolites secondaires du genre *Genista* (*fabaceae*):*G.Saharae*, *G.Ferax*; *p*: 40-41; 45-51
- 31) Méthodes d'étude structurale des flavonoïdes : spectroscopie ultraviolet des flavonoïdes : <http://www.refer.mg/cours/yr/pages/m32.html> .

- 32) ANNE FAWE ; Thèse de (Ph.D.) ;(1997); Etude du mode d'action du silicium dans l'accroissement de résistance du concombre au blanc poudreux: intervention de composés à activité antifongique et identification; Dép. Phytologie ; Univ. LAVAL Québec: 47-51.
- 33) A.LAMARTI, A.BADOC, G.DEFFIEUX, J.-P.CARDE; (1994); biogenèse des monoterpènes : la chaîne isoprenique ; *bull. soc. Pharm. bordeaux*, 133, 79 – 99.
- 34) S.MINKUE M'ENY; (2000); étude chimique des substances extractibles d'Okoumé ; thèse M.Sc ; Univ. Laval.
- 35) ODILE MEYER ;(2004) ; « Biosynthèse des isoprénoïdes : synthèses d'analogues du 1-désoxy-D-xylulose 5-phosphate, inhibiteurs potentiels de la voie du méthylérythritol phosphate »; Thèse de Doctorat ; Univ .Louis Pasteur ; pp:17-22.
- 36) A. LAMARTI, A.BADOC, G.DEFFIEUX, J.-P.CARDE; (1994); biogenèse des monoterpènes: terpènes et terpénoïdes, biosynthèse des terpénoïdes; *bull. soc. Pharm. Bordeaux*, 133.
- 37) RODNEY CROTEAU ; TONI M. KUTCHAN ; NORMAN G. LEWIS ; (2000); *Biochemistry & Molecular Biology of Natural Products(Secondary Metabolites)*;Eds. American Society of Plant Physiologists.
- 38) A.LAMARTI, A.BADOC, G.DEFFIEUX, J.-P.CARDE; (1994); biogenèse des monoterpènes : monoterpènes synthétases ; *bull. soc. Pharm. bordeaux*, 133, 100-118.
- 39) N. DOHOU ; K. YAMNI, S. TAHROUCH ; L .M. IDRISSE HASSANI ; A. BADOC ; N. GMIRA; 2003, screening phytochimique d'une endémique ibéro marocaine, *thymelaea lythroïdes* ; *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 142,61-78.
- 40) P.BOITEAU; B.PASICH; A.RAKOTO RATSIMAMANGA; (1964); Paris les triterpénoïdes en physiologie végétale et animale.
- 41) YUTAKA EBIZUKA; YUJI KATSUBE; TAKEHIKO TSUTSUMI; TETSUO KUSHIRO; AND MASAOKI SHIBUYA; (2003); *Pure Appl. Chem.*, 75(2-3),

- 369–374**, Functional genomics approach to the study of triterpene biosynthesis; Sciences Pharmaceutique, Un Tokyo, Japan.
- 42) DEREETH R PHILLIPS, JEANNE M RASBERY, BONNIE BARTEL AND SEIICHI PT MATSUDA; (2006); Biosynthetic diversity in plant triterpène cyclization *Current Opinion in Plant Biology*; 305–314.
- 43) JEREMY JACOB ; (2003); Thèse de Doctorat ; Univ.ORLEANS ; Enregistrement des variations paléo environnementales depuis 20000 ans dans le Nord Est du Brésil (Lac Caço)par les triterpènes et autres marqueurs organiques.
- 44) JIŘÍ PATOČKA; (2003); *Journal of Applied Biomedicine*; 1: 7 – 12; ISSN 1214-0287 biologically active pentacyclic triterpenes and their current medicine signification Univ. South Bohemia; Czech.
- 45) R. B. HERBERT; (1989), the biosynthesis of secondary metabolites 2nd Ed. 62-63.
- 46) <http://www.refer.mg/cours/yr/pages/m13.html>
- 47) J .BRUNETON ; (1993), « Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales ». 2^{eme} édition ; université de Paris- sud, France, 389-617.
- 48) N. SOURI.; Etude Phytochimique de l'extrait chloroformique de *Pseuderucaria Teretifolia* ; thèse de magister en Chimie Organique ; Univ.Batna ; site Internet : www.univ-batna.dz/theses/fac-sc/souri/these.pdf
- 49) J. BRUNETON, (1996), « Plante toxique, végétaux dangereux pour l'homme et les animaux ». Londres Editions Tec et Doc, New-York, Paris, *p*: 529, 155.
- 50) J. BRUNETON, (1999); Pharmacognosie, phytochimie plantes médicinales, 3^{ème} Edition ; **267-268**.
- 51) TETSUO KUSHIRO, MASAACKI SHIBUYA AND YUTAKA EBIZUKA; (1998): "Béta-Amyrin synthase, cloning of oxidosqualene cyclase that catalyzes the formation of the most popular triterpènes among higher plants." *Eur. J. Biochem.* **256**, 238-244.

- 52) QUEZEL, P. SANTA, S. (1963), Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome 1 et 2 ; C. N .R .S, Paris.
- 53) FRERE MARIE-VICTORIN (1885-1944) ; Flore Laurentienne, 547.
- 54) BICHA S., (2003), Thèse de magister, Université de Constantine, étude de l'effet de la pollution du sol par les métaux lourds sur l'accumulation des métabolites secondaires de l'exsudat chloroforme de *Inula viscosa* (compositae).
- 55) C.H.LIU., A.K.MISHRA., R.X.TAN., (2005), Nanjing University, China; Repellent, insecticidal and phytotoxic activities of isoalantolactone from *Inula racemosa*.
- 56) SO .RA .KIM ; MI .JUNG PARK; MI. KYEONG LEE; SANG HYUN SUNG; E.J.PARK ; JINWOONG KIM; S.Y.KIM; TAE H. OH; GEORGE J.MARKELONIS; AND YOUNG CHOONG KIM; (2002), Flavonoides of *Inula britannica* protect cultured cortical cells from necrotic cell death induced by glutamate; free radical biology & medicine ,32(7), 596-604.
- 57) A.A.AHMED; ABOU EL-HAMD H.MOHAMED; OLGA TZAKOU; ALEXANDRA PETROPOULOU; M.E.HASSAN; M.A.EL-MAGHRABY; KLAUS-PETER ZELLER; (2003) ; Terpenes from *Inula verbascifolia* ;phytochemistry 62 , 1191-1194.
- 58) M.MAOZ; I.NEEMAN. (2000); Effect of *Inula viscosa* extract on chitin synthesis in dermatophytes and *Candida albicans*; Journal of Ethnopharmacology 71, 479-482.
- 59) TENJI KONISHI; al ;(2002); Antirolifrativ Sesquiterpene lactones from the Roots of *Inula helenium*. Biol.pharm.Bull,25 (10) ,1370-1372
- 60) W. KAHLEK, (1930), Archi. Pharm, 34, 318.
- 61) KOWALEVSKI.Z, W.KEDZIA, H.KONIAR, (1976), Arch .Immune. Ther. exp., 24,121

- 62) L.F.BELOVA., A.L.BAGIRSTRAYA, T.E.TRUMPE, C.Y, SOKOLOV AND K.S.RYABALKO, (1981); Farkol Toksikol (Moskow); 44,463.
- 63) J.G.FAUCHE; A.MARQUET; A.HAMBUCKERS; Exposition temporaire du 19.09.2000 au 30.06.2000; Les plantes médicinales : de la plante au médicament ; Sart-Tilman, B77.B-400Liège.
- 64) G.TOPÇU, S.OKSÜZ AND GÖREN, (1992); phytochemistry, 31(1), 195-197.
- 65) NENG-JIANG YU , YI-MIN ZHAO , YOU-ZHI ZHANG , YUN-FENG LI , Journal of Asian Natural Products Research; Japonicins A and B from the flowers of *Inula japonica* Laboratory of Phytochemistry, Beijing Institute of Pharmacology and Toxicology, 100850, Beijing, China.
- 66) NAISHENG BAI, ZHU ZHOU, NANQUN ZHU, LI ZHANG, ZHENG QUAN, KAN HE, QUN YI ZHENG AND CHI-TANG HO; (2005); Journal of Food Lipids; Antioxidative Flavonoïds from the Flower of *Inula Britannica*, 12 (2), 141, China.
- 67) S .OKSÖZ; (1976); Ψ Taraxasterol acetate from *Inula viscosa*. Planta med, 29(4), 343-345.
- 68) F.BOHLMAN; H.CZERSON; S.SCHÖNEWEISS; (1977); New constituents of *Inula viscosa* Ait.chem.Ber.110, 1330-1334.
- 69) PH.DAVIS, (1982); Flora of Turkey and East Aegean Island (Edinburgh, univ.press, Edinburgh); 5, 54.
- 70) S.BENAYACHE; F.BENAYACHE; H.DENDOUGUI; H.JAY; (1991); plant.Med.phytoter, 25(4), 170-176.
- 71) ANDERSSON, C.M., HALLBERG, A., HÖGBERG, T. (1996). Advances in the development of pharmaceutical antioxidants. *Advances in Drug Research* 28, 65-180.
- 72) HARBORNE, J.B., WILLIAMS, C. A. (2000). Advances in Flavonoid Research since 1992. *Phytochemistry*, 55, 481–504.

- 73) F. CHAAIB KOURI;(2004); Thèse de doctorat ; Institut de Pharmacognosie et Phytochimie; Investigation phytochimique d'une brosse à dents africaine *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Lam.) Zepernick et Timler (Syn. *Fagara zanthoxyloides* L.) (Rutaceae) ; LAUSANNE ; p: 18,26.
- 74) <http://fr.wikipedia.org/wiki/asteraceae>.
- 75) The families of flowering plants: descriptions, illustrations, identification, and information retrieval :(<http://delta-intkey.com/angio/http://delta-intkey.com/>)
- 76) Index synonymique de la flore de France (<http://www.dijon.inra.fr/flore-France/as.htm>).
- 77) Asreraceae : (<http://delta-intkey.com/angio/www/composit.htm>) dans L.Watson and M.J.Dallwitz.
- 78) Stephen Mifsud / www.MaltaWildPlants.com / Malta. (2002-2006) .Et sur le site: http://www.maltawildplants.com/ASTR/Inula_crithmoides.html.
- 79) http://www.tela-botanica.org/nn35776/Inula_crithmoides.html.
- 80) HARISPE-GRANDPERRIN, MARCELLE; HARISPE, JEAN-VINCENT, (1944); Proximate principles of *Inula crithmoides*. III. Preliminary examination of the essential oil of the flower heads. Univ. Paris, Bulletin du Société de Chimie Biologique, 26, 92-202.
- 81) HARISPE-GRANDPERRIN, MARCELLE; HARISPE, JEAN-VINCENT, (1943), Proximate principles of *Inula crithmoides* L., family Compositae. II. Extraction and physical constants of the essential oil from the aerial parts : Bulletin du Société de Chimie Biologique, 25, 418-21.
- 82) HARISPE-GRANDPERRIN, MARCELLE; HARISPE, JEAN-VINCENT. , (1943), Proximate principles of *Inula crithmoides* L., family Compositae. I. Biochemical study of glucide constituents Bulletin de la Societe de Chimie Biologique ,25 ,416-18.
- 83) TSOUKATOU MARIA; ROUSSIS VASSILIOS; (1999), Chemical composition

- and intra Mediterranean variation of the *Inula crithmoides* L. oil. Division of Pharmacognosy, University of Athens, Athens, Greece. *Journal of Essential Oil Research*, 11(2), 199-202.
- 84) MAHMOUD, ZEINAB F; SALAM ,N .A .ABDEL; SARG, TAHA M. ; BOHLMANN , FERDINAND ; (1981), (Naturally occurring terpene derivatives. Part 309. A carotane derivative and a eudesmanolide from *Inula crithmoides*. Fac. Pharm., Alexandria Univ., Alexandria, Egypt. *Phytochemistry* (Elsevier), 20(4), 735-8.
- 85) METWALLY MOHAMED ABBAS; A.M.DAWIDAR; (1985), A thymol derivative from *Inula crithmoides*. Inst. Org. Chem., Tech. Univ. Berlin, Berlin, Fed. Rep. Ger. *Phytochemistry* (Elsevier), 24(6), 1377-8.
- 86) ANNA STOJAKOWSKA ; BOGDAN KEDZIA B; WANDA KISIEL (2005); Antimicrobial activity of 10-isobutyryloxy-8,9-epoxythymol isobutyrate ; Department of Phytochemistry , Institute of Pharmacology , Polish Academy of Sciences; *Fitoterapia*,76,687-690 (www.elsevier.com/locate/fitote).
- 87) MARCO, J. ALBERTO; SANZ-CERVERA, JUAN F.; MANGLANO, ENRIQUE; (1993), Chlorinated thymol derivatives from *Inula crithmoides*. Dep. Quim. Org., Univ. Valencia, Burjassot, Spain. *Phytochemistry*, 33(4), 875-8.
- 88) EL-LAKANY, A. M.; ABOUL-ELA, M. A.; HAMMODA, H. M.; ABDUL-GHANI, M. ;(1996); Three new butyl glycosides from *Inula crithmoides* L. growing in Egypt;M.Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, University of Alexandria, Alexandria, Egypt. *Pharmazie* ,58(12), 940-942.
- 89) SELIM, M. A.; EL-HEFNAWY, H. M; IBRAHIM, T.A.; SLEEM, A. A. (2003); Flavonoids and antihepatotoxic activity of *Inula crithmoides* L. growing in Egypt; Department of Pharmacognosy, Cairo University, Cairo, Egypt. *Egyptian Journal of Biomedical Sciences*, 12, 83-95.
- 90) CAROLE MATHE, G. C., PAUL ARCHIER, CATHY VIEILLES CAZES (2004). "Characterization of archaeological frankincense by gas chromatography-mass spectrometry." *Journal of Chromatography A*, 1023, 277-285.

- 91) LAWRENCE ONYANGO AROT MANGURO, S. O. O., PETER LEMMEN, (2006), Oleanane-type triterpenes of *Embelia schimperi* leaves, *Phytochemistry*, doi: 10.1016 / j.phytochem .2006.07.025.
- 92) JÉRÉMY JACOB, J.-R. D., MOHAMMED BOUSSAFIR, ANA LUIZA SPADANO ALBUQUERQUE, ABDELFETTAH SIFEDDINE, BRUNO TURCQ, (2005), "Pentacyclic triterpene methyl ethers in recent lacustrine sediments (Lagoa do Caco, Brazil)." *Organic Geochemistry*, 36, 449–461.
- 93) H. H. REES, G. B. A. T. W. G, (1968),"The Biosynthesis of béta-Amyrin Mecanism of Squalene Cyclization." *Biochem. ,* 106, 659-665.
- 94) KADRIYA S. EL DEEB, R. A. A.-H., JABER S. MOSSA and ABDEL-MONEM ATEYA, (2003),"Phytochemical and Pharmacological Studies of *Maytenus Forsskaoliana*." *Saudi Pharmaceutical Journal*, 11(4), 184-191.
- 95) LAWRENCE ONYANGO AROT MANGURO, S. O. O., PETER LEMMEN (2006). "Oleanane-type triterpenes of *Embelia schimperi* leaves." *Phytochemistry*: 1-10.
- 96) SANAN SUBHADHIRASAKUL, B. J. A. A. M. (2003). "Chemical constituents and antioxidative activity of the extracts from *Dyera costulata* leaves." *Songklanakarín J. Sci. Technol.*, 25(3), 351-357.
- 97) TETSUO KUSHIRO, MASAOKI SHIBUYA and YUTAKA EBIZUKA, (1998), "Béta-Amyrin synthase cloning of oxidosqualene cyclase that catalyzes the formation of the most popular triterpene among higher plants." *Eur. J. Biochem.*, 256, 238-244.
- 98) YOSHITAKA TORIUMI, RIE KAKUDA, MASAFUMI KIKUCHI, YASUNORI YAOITA, and MASAO KIKUCHI, (2003), "New Triterpenoids from *Gentiana lutea*." *Chem. Pharm. Bull.*, 51(1), 89—91.
- 99) AFONSO DUARTE LEÃO DE SOUZA, ARNALDO F. IMBIRIBA DA ROCHA , MARIA LÚCIA BELÉM PINHEIRO, CARLOS HUMBERTO DE S.ANDRADE, ANA LÚCIA DE A. QUEIROZ GALOTTA E MARIA DO

- PERPÉTUO SOCORRO S. DOS SANTOS. (2001.). "Constituintes Químicos De *Gustavia Augusta L. (Lecythidaceae)*." *Quim. Nova*, 24(4), 439-442.
- 100) DILEK ERCIL, M. K. S., ESTHER DEL OLMO, ARTURO SAN FELICIANO (2004). "Chemical Constituents of *Linaria aucheri*." *Turk. J. Chem* 28: 133 -139.
- 101) LAGNIKA, L. (2005). Etude Phytochimique et Activité Antipaludique de Substances Naturelles issues de Plantes Béninoises. Strasbourg, Université Louis Pasteur de Strasbourg/Université d'Abomey-calavi, Bénin, *p*: 179-185.
- 102) PETER FORGO, KATALIN E. KOVER, (2004). "Gradient enhanced selective experiments in the ¹H NMR chemical shift assignment of the skeleton and side-chain resonances of stigmaterol, a phytosterol derivative." *Steroids* 69, 43–50.
- 103) WANCHAI DE-EKNAMKUL, B. P. (2003). "Biosynthesis of béta-sitosterol and stigmaterol in *Croton sublyratus* proceeds via a mixed origin of isoprene units." *Phytochemistry* 62, 389–398. www.elsevier.com/locate/phytochem
- 104) J.B.HARBORNE; Since 1986; The Flavonoids Advancs in Reserch.
- 105) H. HIBASAMI; A. MITANI; H. KATSUZAKI; K. IMAI,K. YOSHIOKA and T. KOMIYA, (2005); Isolation of five types of flavonol from seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides*) and induction of apoptosis by some of the flavonols in human promyelotic leukemia HL-60 cells ; *International Journal Of Molecular Medicine* 15: 805-809.
- 106) SHOUXIN LIU, H. L., WEIYING YAN, LI ZHANG, NAISHENG BAIC AND CHI-TANG HO, (2004), "Studies on 1-O-acetylbritannilactone and its derivative, (2 - O - butyloxime - 3 - phenyl)- propionyl -1 - O - acetylbritannilactone ester." *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 14: 1101–1104.
- 107) S.OKSÜZ, G. TOPCU, (1987), "triterpenes fatty acid esters and flavonoids from *Inula britannica*." *phytochemistry* 26(11): 3082-3084.

- 108) MANUEL GRANDE, PASCUAL TORRES, FRANCISCO PIERA and Inés S .BELLIDO (1992). "Triterpenoids from *Dittrichia viscosa*." phytochemistry 31(5): 1826-1828.

Résumé

Dans le but de rechercher de nouveaux composés naturels à intérêt thérapeutique, les extraits Chloroformique et Acétate d'éthyle de *Inula crithmoides* L. (Asteraceae), ont été soumis à une investigation phytochimique.

Cette étude a été menée selon deux approches :

- Ø La première concerne le genre *Inula* dont plusieurs espèces sont utilisées en médecine populaire.
- Ø La deuxième concerne la recherche et la détermination de molécules nouvelles a activité potentielle.

Cette investigation phytochimique a abouti à l'isolement de 06 composés, dont la structure a été établie au moyen de méthodes spectroscopiques (UV, MS, IR, ¹H- et ¹³C-NMR). Des méthodes chimiques (comme par exemple l'acétylation) ont été requises pour la confirmation des structures.

L'extrait chloroformique a fourni quatre composés triterpéniques :

- Ø L' α et la β -Amyrine,
- Ø Le stigmastérol et le β -sitostérol.
- Ø Une autre technique qui est la CPG/MS nous a permis d'identifier un alcool linéaire de formule brute $C_{19}H_{40}O$: 1-Nonadécanol

L'extrait acétate d'éthyle a fourni une aglycone de type flavonol :

- Ø La Quercétine (3, 5, 7, 3', 4'-pentahydroxyflavone.).

Notons que ces composés sont décrits pour la première fois dans cette espèce; alors que les deux composés: α -amyrine et β -amyrine sont signalés pour la première fois dans le genre *Inula*.

Mots clés : La famille des Asteraceae, le genre *Inula*, *Inula crithmoides* L., triterpènes pentacyclique, flavonoides ; α - et β -Amyrine ; β -sitostérol ; stigmastérol ; 3,5,7,3',4'-pentahydroxyflavone.

Abstract

With the aim of discovering new natural therapeutics compounds, the chloroforme and Ethyl Acetate extracts of the Algrien specie *Inula crithmoides L.* (Asteraceae), were submitted to Phytochemical assays.

This survey has been led according to two approaches:

- Ø The first concerns the *Inula* kind of which several species are used in popular medicine.
- Ø The second concerns research and determination of molecules with potential activity.

On the basis of these results, a phytochemical investigation of the chloroform and Ethyl Acetate extracts of *I. crithmoides L.* was undertaken. Their fractionation led to the isolation of 06 compounds, whose structures were elucidated by spectroscopic techniques (UV, MS, IR, ¹H- and ¹³CNMR). Chemical methods (acetylation) were performed to confirm the structures.

The chloroforme extract yielded two pentacylic triterpenes described together, with others known compounds:

- Ø The α and β -amyrin.
- Ø The *stigmasterol* and β -sitosterol.
- Ø Another technique that is the CPG/MS permitted us to identify a linear alcohol of formula C₁₉H₄₀O: *Nonadecanol-1*.

Say so much that the excerpt acetate of ethyl provided an aglycon of type flavonol:

- Ø The *Quercetrin* (3, 5, 7,3', 4'-pentahydroxyflavone)

These compounds are isolated for the first time for this species; whereas the two composed: α -amyrin and β -amyrin signalled for the first time in the genus *Inula*.

Key words: The family *Asteraceae*s, the genus *Inula*, *Inula crithmoides L.*, triterpenes pentacyclic , flavonol, α - and β -Amyrin, β -sitosterol, *stigmasterol*, 3, 5, 7,3', 4'-pentahydroxyflavone.

الملخص

يندرج هذا العمل ضمن مجموعة الأبحاث التي يقوم بها مخبرنا و التي تهتم بفصل و تحديد نواتج الأيض الثانوي خاصة تلك المعروفة بفاعليتها البيولوجية مثل الفلافونويدات و السييكويتربينات و كذا التربينات الثلاثية.

فالدراستات التي قام بها مخبرنا على الجنس *Inula* تمثلت في تحديد مجموعة من الفلافونويدات عند النبتة *Inula viscosa* من العائلة المركبة.

انصب اهتمامنا في هذا العمل على الدراسة الفيتو كيميائية للنبتة الجزائرية *Inula crithmoides L.* و التي تخضع و لأول مرة في بلادنا للبحث الكيميائي.

حيث تمكنا باستعمال كروماتوغرافيا العمود للخلاصات الكلوروفورمية و الأيثيل الاسيتاتية لهذه النبتة من فصل ستة مركبات هي:

- النوناديكانول-1-، الالفأ-أميرين و البيتا-أميرين كخليط ثنائي، خليط ثنائي آخر من البييتاسيتوستيرول و الستيجماستيرول من المستخلص الكلوروفورمي، و أخيرا الكرسيتين من مستخلص الأيثيل اسيتات.

هذه المركبات تم فصلها لأول مرة من النوع *I. crithmoides*

اما بالنسبة لكل من الالفأ- أميرين و البيتا- أميرين فقد تم فصلهما لأول مرة من الجنس *Inula*. وقد تم التعرف على هذه المركبات باستخدام الطرق الفيزيائية (مطيافية الأشعة فوق البنفسجية UV، مطيافية الأشعة تحت الحمراء IR، مطيافية الرنين النووي المغناطيسي أحادية البعد 1H RMN، ^{13}C RMN، DEPT-135 و ثنائية البعد COSY H-H، HMBC، HSQC مطيافية الكتلة (IE) SM و كذا تقنية CGMS.

مفاتيح اللفظ:

العائلة المركبة، الجنس *Inula crithmoides L.*، الفلافونويدات، التربينات الثلاثية ، الالفأ-أميرين و البيتا-أميرين، البييتاسيتوستيرول و الستيجماستيرول، الكرسيتين.

TABLE DES FIGURES ET TABLEAUX

Liste des Figures

Chapitre I :

Les flavonoïdes

Figure 1 : Structure générale des flavonoïdes	32
Figure 2 : Exemples de Flavone, Flavonol et Flavanone.....	33
Figure 3 : Exemples de flavanne	33
Figure 4 : Exemple de flavylum.....	34
Figure 5 : Exemple de chalcones et de aurones	34
Figure 6 : Numérotation des différent type de flavonoïdes	34
Figure 7 : Exemples de stéréochimie des Flavonols et Flavanones.....	36
Figure 8 : Exemples d' Hétéroside flavonoïdique: glucopyranoside apigénine et vitexine	37
Figure 9 : Schéma interactif des principeux type de flavonoïdes.....	38
Figure 10: Schéma de la Synthèse totale du squelette flavonoïdes.....	38
Figure 11: Voies biosynthétiques conduisant aux chalcones.....	40
Figure 12: Biosynthèse des Flavonoïdes.	41
Figure 13: Relation structure activité des flavonoïdes sur l'inhibition de la xanthine oxydase.	47
Figure 14: Flavonoïdes et leurs sites proposés pour la chélation des ions métalliques	48
Figure 15: Eléments essentiels pour l'activité antioxydante des flavonoïdes.	50
Figure 16: Exemples des fragments caractéristiques des flavones et flavonoles	53
Figure 17: Exemples des fragments caractéristiques des flavanones	53
Figure 18: Exemples des fragments caractéristiques des chalcones	54
Figure 19: Exemples de longueurs d'onde de spectre UV-visible.....	57
Figure 20: chromophore benzoyle et chromophore cinnamoyle résultant de la conjugaison du noyau A et du noyau B avec le carbonyle.....	57
Figure 21: Exemple de L'action chélatante de AlCl ₃	59

Les terpénoïdes

Figure 22: Unité isoprène	68
Figure 23: le diphosphate d'isopentényle	68
Figure 24: Structure l'acétyl coenzyme A (CH ₃ COSCoA)	69
Figure 25: 1ère étape est une condensation de type Claisen.....	70
Figure 26: La 2ème étape est une réaction d'aldolisation entre une 3ème molécule d'acétylCoA et l'acétoacétylCoA	70
Figure 27: le pyrophosphate d'isopentényle en équilibre	70
Figure 28: pyrophosphate de géranyle point de départ de tous les Monoterpènes	71
Figure 29: pyrophosphate de farnésyle, point de départ de tous les dérivés sesquiterpéniques	71
Figure 30: géranyl-géranylpyrophosphate point de départ de tous les diterpènes	71
Figure 31: géranyl-géranylpyrophosphate point de départ de tous des tri- et tétra-terpènes	72
Figure 32: Biosynthèse des isoprénoïdes à partir du diphosphate d'isopentényle (IPP)	72
Figure 33: Biosynthèse du diphosphate d'isopentényle selon la voie du mévalonate.	74
Figure 34: Biosynthèse du diphosphate d'isopentényle et de diméthylallyle selon la voie du 2-C-méthyl-D-érythritol 4-phosphate.	75
Figure 35: Classification des terpénoïdes	76
Figure 36: Exemples de Monoterpènes	77
Figure 37: Exemples de sesquiterpènes.....	78
Figure 38: Exemples de diterpènes	79

Figure 39: Cyclization d'oxidosqualène dans les plus hautes plantes.	81
Figure 40: quelques squelettes carbonés des triterpénoïdes	82
Figure 41: Un plan simplifié de biosynthèse du triterpénoïde de la plante	83
Figure 42: Description structurale des triterpanes pentacycliques	84
Figure 43: Quelques structures de base de triterpanes pentacycliques	85
Figure 44: Numérotation des carbones et dénomination des cycles des triterpanes pentacycliques. Exemples de l'oléanane et du hopane.	86
Figure 45: Chaînes biosynthétiques conduisant aux α - et β -amyrine à partir de l'époxysqualène	87
Figure 46: Structure du Noyau Stérol.	89
Figure 47: structure de cholestanol.....	89
Figure 48: quelques exemple de stéroïdes et sterols	89
Figure 49: stéréochimie de noyau stérol	90
Figure 50: Biosynthèse des stérols	92
Figure 51: structure de l'oléanane.....	96
Figure 52: structure de l'ursane.....	96
Figure 53: Exemple de tétraterpènes.....	97

Chapitre II :

Figure 1 : Les fleurs des astéracées	100
Figure 2 : Les fruits des astéracées.....	101
Figure 3 : distribution des composées dans le monde.....	102
Figure 4 : quelque structures identifiés dans l'espèce <i>Inula viscosa</i>	107-109
Figure 5 : quelque structures identifiés dans l'espèce <i>Inula japonica</i>	109
Figure 6 : quelque structures identifiés dans l'espèce <i>Inula britannica</i>	109-110
Figure 7 : quelque structures identifiés dans l'espèce <i>Inula verbascifolia</i>	111
Figure 8 : quelque structures identifiés dans le genre <i>Inula</i>	111-113
Figure 9 : quelque structures identifiés dans l'espèce <i>Inula helenium</i>	113
Figure 10: structure de l'alantolactone et l'isoalantolactone	114

Chapitre III :

Figure 1 : Systématique de l'espèce <i>Inula crithmoides</i> L.....	119
Figure 2 : L'espèce <i>Inula crithmoides</i> L.....	121
Figure 3 : Les fleurs de l'espèce <i>Inula crithmoides</i> L.....	120
Figure 4 : quelque structures identifiés dans l'espèce <i>Inula crithmoides</i> L.	123-127

Chapitre IV :

1-Etude chimique de *Inula crithmoides* L. :

Figure 1 : organigramme montrant les différentes étapes de la procédure d'extraction	130
Figure 2 : Profil chromatographique des extraits chloroforme et Acétate d'éthyle	132
Figure 3 : recristallisation de la fraction F10	135
Figure 4 : Organigramme Récapitulatifs des composés isolés de l'extrait Chloroforme(feuilles)	138

Figure 5 : Organigramme Récapitulatifs des composés isolés de l'extrait Acétate d'éthyle (feuilles)	141
---	-----

2-Résultats et discussions :

Figure 1 : Spectre IR du composé F10-2	145
Figure 2 : Spectres de masse de composé F10-2.	147
Figure 3: mécanismes de la Fragmentation pour $\Delta I2$ avec squelette de l'oleanane / ursane.	148
Figure 4: Corrélations considérables de l'HMBC et ROESY pour les composés α , β -amyrine	157
Figure 5 : structure de l'oléanane.....	157
Figure 6 : structure de l' ursane.....	157
Figure 7 : Spectre RMN 1H du composé F10-2.....	150-153
Figure 8: Spectres RMN de corrélation homonucléaire 1H-1H COSY du composé F10-2	
Figure 9: Spectre RMN de corrélation hétéronucléaire 1H-13C à longue distance HMBC du composé F10-2.....	
Figure 10: Spectre RMN de corrélation hétéronucléaire à courte distance HSQC du composé F10-2.....	
Figure 11: Spectre IR de F11-1	171
Figure 12: Spectre RMN 1H du composé F11-1	178
Figure 13: Spectre RMN 1H de F11-1 (étalement de 4.06-5.50 ppm)	179
Figure 14: Spectre RMN 1H de F11-1 (étalement 3.3-3.86 ppm).....	180
Figure 15: Spectres RMN 13C du composé F11-1.....	181
Figure 16: Spectre RMN 13C du composé F11-1 (étalement de 10-60 ppm).....	182
Figure 17: Comparaison du Spectre RMN 13C du composé F11-1 (étalement de 10-60 ppm) avec celui de la référence * (W. De-Eknankul, B. Potduang).....	183
Figure 18 : Spectre J mode du composé F11-1	184
Figure 19 : structure de stigmastérol	185
Figure 20 : structure de β -sitostérol.....	185
Figure 21 : Spectres de masse EI du composé F11-1	174
Figure 22 : mécanismes de la Fragmentation pour $\Delta 5$ avec le squelette β - Sitostérol.....	173
Figure 23 : la structure partielle du composé A.	187
Figure 24 : Structure du composé A.....	189
Figure 25 : Série spectrale UV du composé A.	190
Figure 26 : Spectre RMN 1H du composé A.....	191
Figure 27 : Agrandissement du spectre RMN 1H du composé A.	192
Figure 28 : Spectre RMN 13C du composé A	183
Figure 29: Spectre RMN 13C de F10-2.....	159-165
Figure 30: Spectres RMN DEPT-135 du composé F10-2.....	166-170
Figure 31: Acetylation du composé F10-2.....	170
Figure 32: Spectre CG MS de F6	194
Figure 33: Spectre CG MS de F6 +résultat de la base de donnée	195
Figure 34: Structure du composé F6	195

Liste des Tableaux

Chapitre I :

Les flavonoïdes

Tableau 1:Principes classes de métabolites impliqués dans la défense des végétaux face aux insectes et autres ravageurs	29
Tableau 2: Où trouve-t-on les métabolites secondaires dans les plantes?.....	30
Tableau 3 : Sources alimentaires des flavonoïdes	44
Tableau 4 : types de protons les plus communément trouvés chez les flavonoïdes	50
Tableau 5 : types de carbones les plus communément trouvés chez les flavonoïdes.....	51
Tableau 6 : La fluorescence sous lumière de Wood des flavonoïdes	55
Tableau 7: Gammes des longueurs d'onde d'absorption UV pour les différentes classes de flavonoïdes	63
Tableau 8 : Information structurale provenant des déplacements induits par MeONa.....	63
Tableau 9: Information structurale provenant des déplacements induits par AcONa/H3BO3	63
Tableau 10: Information structurale provenant des déplacements induits par AlCl3 et AlCl3/HCl	64
Tableau 11: Les déplacements des maxima provoqués par les différents réactifs et leurs interprétations	66

Les terpénoïdes

Tableau 1: Mode de cyclisation et principaux squelettes carbonés.....	80
Tableau 2: Modes de cyclisation de quelques structures de triterpènes pentacycliques	88
Tableau 3: Les position des hydrogènes sur les divers atomes de carbone	95

Chapitre II :

Tableau 1: Systématique de la famille des Asteraceae	99
Tableau 2: Flavonoïdes identifiés dans l' espèce <i>Inula viscosa</i>	108
Tableau 3: Structures Chimique des flavonoïdes isolées de <i>I. britannica</i>	110
Tableau 4: Quelques triterpénoïdes identifiés dans le genre <i>Inula</i>	111
Tableau 5: Les résultats des essais cytotoxiques (ED50 en µg/ml)	115

Chapitre III :

Tableau 1: Systématique de l' espèce <i>Inula crithmoides L.</i>	118
Tableau 2: Les résultats de l' etude bibliographique de <i>I.crithmoides</i>	127

Chapitre IV :

1-Etude chimique de *Inula crithmoides L.*:

Tableau 1 : Rendements d'extraction des feuilles.....	131
Tableau 2 : Rendements d'extraction des fleurs	131
Tableau 3 : fractionnement de l'extrait chloroforme	133
Tableau 4 : Regroupements des fractions de l'extrait Trichlorométhanique	134
Tableau 5 : fractionnement de la sous-fraction (33-40).....	136
Tableau 6 : Récapitulatifs des composés isolés de l'extrait chloroforme de <i>I crithmoides L.</i>	138
Tableau 7 : fractionnement de l'extrait Acétate d'éthyle	139
Tableau 8 : Récapitulatifs des composés isolés de l'extrait Acétate d'éthyle de <i>Inula crithmoides L.</i>	140

2-Résultats et discussions:

Tableau 1 : les principaux fragmentation de masse de composé F10-2	146
Tableau 2 : Les déplacements chimiques et les attributions des signaux de la β -Amyrine et de la α -Amyrine	149,158
Tableau 3 : Les résultats RMN 1H proton (1H) du composé F11-1	175
Tableau 4 : Les résultats RMN- ^{13}C proton (1H) du composé F11-1	177
Tableau 5 : Données du Spectre de masse du composé F11-1	173
Tableau 6 : comportement chromatographique du composé A	186
Tableau 7 : Données de la série spectrale UV du composé A	187
Tableau 8 : Données de la spectrométrie RMN 1H (CD $3OD$;250 MHz).....	188
Tableau 9 : Les données RMN relatives au spectre du composé A.....	189