

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE EL-HADJ LAKHDAR
BATNA

FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE CHIMIE

Thèse

Pour l'obtention du diplôme de

DOCTORAT D'ETAT

En Chimie

Présenté par:

Melle BENKIKI Naïma

THEME

**Etude phytochimique des plantes médicinales
algériennes: *Ruta montana*, *Matricaria pubescens* et
*Hypericum perforatum***

Devant le Jury d'examen :

A. DIBI	Prof. U. de Batna	Président
Z. KABOUCHE	Prof. U. Constantine	Rapporteur
M. BENKHALED	Prof. U. de Batna	Examineur
Y. BOUZAHER	Prof. U. de Batna	Examineur
F. DJAZI	Prof. U. de Skikda	Examineur
R. DJAZI	M.C. U. de Skikda	Examineur

2005/2006

REMERCIEMENTS

Je voudrais remercier Madame le Professeur Zahia Kabbouche qui m'a accueillie dans son groupe de recherche, m'a confié ce sujet de recherche et m'a prodigué de nombreux conseils et encouragements.

Je suis infiniment reconnaissante à Monsieur Le Professeur Mohammed Benkhaled, Professeur à l'université de Batna, pour l'inlassable soutien qu'il m'a toujours accordé, pour la facilité de travail qu'il m'a procurée et pour les précieux conseils qu'il m'a prodigués tout au long de mon travail. Recevez ici l'expression de ma profonde reconnaissance pour vos qualités scientifiques.

Je remercie chaleureusement Monsieur Le professeur Dibi Ammar, Professeur à l'université de Batna, pour son sens admirable des rapports humains, pour la réalisation de cette thèse au sein de son laboratoire et pour le grand honneur qu'il me fait en présidant le jury de thèse.

Je remercie les membres du jury qui ont accepté de juger ce travail :

- *Monsieur le professeur Y. Bouzaher, Professeur à l'université de Batna*
- *Monsieur le professeur F. Djazi, Professeur à l'université de Skikda*
- *Madame le professeur R. Djazi, Professeur à l'université de Skikda*

Je tiens à remercier bien vivement les Professeur Michel Koch et François Tillequin, Professeur de pharmacognosie à la faculté de Pharmacie de l'université René Descartes de Paris V, pour m'avoir accueillie dans leurs laboratoire.

*Je remercie sincèrement Madame le Professeur **Elisabeth Seguin** Professeur de pharmacognosie à la faculté de médecine et Pharmacie de l'université Rouen, qui m'a constamment guidée au cours de mon travail au laboratoire de pharmacognosie Paris V, aidée par ces connaissances, ses précieux conseils. Recevez ici l'expression de ma profonde gratitude.*

*Je tiens à remercier sincèrement Le Docteur **Georges MASSIOT**, Directeur du centre de recherche sur les substances Naturelles, pour son aide inestimable. Je remercie également le Docteur **Catherine LAVAUD**, Professeur à l'UFR de pharmacie de l'université de Reims Champagne–Ardenne, pour la réalisation des spectres RMN.*

Je remercie également les personnes du laboratoire de pharmacognosie, faculté de Pharmacie de l'université René Descartes de Paris V, pour leur gentillesse, leur humour.

Je remercie ma famille pour leurs encouragements qui m'ont permis de surmonter les épreuves.

*Je tiens à adresser un hommage à la mémoire de ma mère et mon frère **Abdelhafid** qui m'ont encouragée à me battre pour trouver mon espace.*

*Je n'aurai garde d'oublier Monsieur **Ahmed El-Tawel**, enseignant chercheur à l'université de Constantine, pour sa joie de vivre, les nombreuses discussions scientifiques qui m'ont enrichies et pour ces pertinence conseils.*

Je tiens à remercier Monsieur Yahya Abdelwahabe, Professeur à l'université de OUM El-Boughi, pour la précision de ces conseils, Recevez ici l'expression de mon profond respect.

Enfin, je remercie ma sœur Fouzia, qui m'a soutenue, encouragée mais également supportée, en particulier durant la rédaction du manuscrit.

ABREVIATIONS UTILISEES

AMP : Adénosine 5' - monophosphate

AMPC : Adénosine 5' - monophosphate cyclique

ADP : Adénosine 5' - diphosphate

ATP : Adénosine tri-phosphate

CoA : Coenzyme

NAD : Adénine dinucléotide

NADP⁺ : Nicotinamide adénin dinucléotide phosphate, forme oxydé ; NADPH forme réduite

Pi : Phosphate inorganique

Ppi : Pyrophosphate d'isopentenyle

DMAPP: Pyrophosphate de dimethylallyle

ADN : Acide désoxyribo-nucléique

Ac.: Acide

CCM: Chromatographie sur couche mince

°C: Degré celsius

Ep. : Ether de pétrole

AcOEt : Acétate d'éthyle

MeOH : Methanol

Cy .: Cyclohexane

Tol. : Toluene

Hex. : Hexane

H₂O : Eau

HCl : Acide chlorhydrique

NaOH : Soude

F : Fraction

Sf : Sous-fraction

ppm : Partie par million

δ: Déplacement chimique

nm : Nanomètre

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

UV : Ultrat-Violet

IR : Infra-Rouge

Hz : Hertz

J : Constante de couplage

λ : Longueur d'onde

DMSO: Diméthylsulfoxyde

COSY : Correlation Spectroscopy

HSQC : Heteronuclear Single Quantum Correlation

HMBC: Heteronuclear Multiple Bond Correlation

NOESY: Nuclear Overhauser Exchange spectroscopy

HETCOR: Heteronuclear Chemical Shift Correlation

COLOC: 2D-Long range CH Correlation

S: Singulet

d: Doublet

dd: Doublet de doublet

t: Triplet

m: Multiplet

CI₅₀ : Concentration inhibitrice de la croissance de 50% des cellules

Ip: Intraperitoniale

IMAO: Inhibitrice de la monoamine oxydase

Introduction Générale

La pharmacopée, prise dans son sens le plus large, est l'art de préparer des médicaments. Elle prend ses origines dans une mosaïque de traditions ancestrales. L'exploitation des pharmacopées empiriques reste une source importante de nouvelles substances actives et de nouveaux médicaments.

L'utilisation des plantes médicinales comme source de remède pour se soigner ou prévenir des maladies est originaire des millénaires jusqu'à la récente civilisation chinoise, Indienne et du proche-orient. Elle est devenue certainement un art [1].

Au fil des siècles, la thérapeutique par les plantes s'est dissociée des pratiques magiques pour devenir empirique puis scientifique. Cela était évident en début du 19ème siècle qui marque la découverte des alcaloïdes (la morphine, la strychnine, quinine...)[1, 2]. Dans les pays industrialisés, les recherches dans le domaine des plantes médicinales sont variables durant les dernière décennies. Néanmoins, les substances actives isolées constituent environ 25% des préparations médicamenteuses [1].

La pharmacopée africaine est qualifiée de traditionnelle parce que, à la différence des pharmacopées occidentales officialisées en formulaires ou codex, elle n'est pas écrite et s'est perpétuée jusqu'à présent de génération en génération, chez les guérisseurs, les féticheurs, uniquement par la transmission orale des connaissances et la pratique de l'art médical. En effet, la pharmacopée Africaine, toujours presque exclusivement à base de drogues végétales, prend sa source non seulement dans la diversité des groupes humains, des langues, des coutumes et des techniques, mais aussi dans la diversité du climat, du sol et de la flore [3].

Les plantes médicinales sont essentiellement utilisées sous deux formes :

- Comme un mélange complexe contenant un large spectre de constituants (infusion, des huiles essentielles et des extraits des teintures)
- Pure, chimiquement définie comme des principes actifs

Les composés purs sont généralement utilisés quand les principes actifs des plantes produisent une forte et spécifique activité ou bien avaient un faible indice thérapeutique [1].

Depuis quelques années, des changements fondamentaux ont marqué l'étude des produits naturels biologiquement actifs et la façon par laquelle les recherches devront être conduites [4]. En effet, la sélection de l'espèce étudiée est un facteur crucial dans le succès

ultime de la découverte des agents biologiquement actifs présents dans les plantes [5]. Ces derniers sont destinés pour guérir des maladies dues aux tumeurs, aux virus et au dysfonctionnement du système nerveux central.

En Algérie, pays avec 3000 espèces dont 15 % endémiques [6] où la population a recours à la médecine traditionnelle, on commence à entreprendre des études systématiques portant sur des plantes médicinales de sa flore.

Les objectifs fixés sont l'inventaire ainsi que l'évaluation chimique et pharmacologique des plantes médicinales Algériennes, dans le double but de valoriser et de rationaliser leurs usages traditionnels et d'isoler des composés d'intérêt thérapeutique potentiel.

Notre travail s'insère dans les programmes de recherche développés par le laboratoire d'obtention de substances thérapeutiques (LOST). Il se veut une contribution à l'étude phytochimique et biologique de plantes médicinales appartenant à notre flore.

La première partie du présent travail porte sur l'étude phytochimique d'une Rutaceae, *Ruta montana*. Cette plante récoltée de l'Est Algérien, a été choisie en fonction de considérations chimiotoxonomique et biologique.

La seconde partie, a pour objet l'étude phytochimique d'une plante du Sahara et appartenant à la famille des Compositae, *Matricaria pubescens*. Cette famille, largement distribuées dans le règne végétal, est une source de métabolites secondaires particulièrement variés, tels que les flavonoides, les sesquiterpènes lactones qui constituent des têtes de série intéressantes pour le développement de molécules à potentialités pharmacologiques [7, 8].

La troisième partie consiste à l'étude des métabolites secondaires d'une plante endémique connue pour son effet anti-dépresseur. Il s'agit de *l'hypericum perforatum*, plante endémique récoltée de l'Est Algérien.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Hamburger H., Hostettmann K., **1991**, *Phytochemistry*, 30 (12), 3874.
- [2] Rubin M., **1988**, *Que sais-je ? Phytothérapie*, 1ère Ed. Presse universitaire de France.
- [3] Hertz H., **1943**, *La forêt du Gabon*, Ed. Larose, Paris.
- [4] Cordell G. A., **1995**, *Phytochemistry*, 40(6), 1585.
- [5] Cordell G. A., **1990**, *Pharmacia*, 30, 169.
- [6] Gaussen H., Leroy H. F., **1982**, *Précis de botanique, végétaux supérieurs*, 2ème Ed., 426.
- [7] Park E. J., Kin J., **1998**, *Planta Med.*, 64, 752.
- [8] Besanger-Beauqueme L., Pinkas M., Torck M., **1986**, *Les plantes dans la thérapeutique moderne*, 2ème Ed. Maloine, Paris.

Partie I

ETUDE PHYTOCHIMIQUE DE L'ESPECE

Ruta montana, Clus.

Chapitre I :

Aperçu Bibliographique

I. Aperçu bibliographique

I. 1. Introduction

La famille des Rutaceae a été décrite initialement en 1782 par Durande [1], puis par A.L. Jussieu en 1789 [2]. D'après Cronquist [3], les Rutaceae appartiennent à la division des Magnoliphytae, à la classe des Magnoliopsidae, à la sous-classe des Rosidae et à l'ordre des Sapindales (Dumort 1829).

D'autres auteurs, tels que Dahlgren, Takhtajan, Thorne et Reveal placent les Rutaceae dans l'ordre des Rurales (Perleb 1826) [4].

La famille des Rutaceae comprend près de 1500 espèces regroupées en environ 150 genres. Cette famille est plus ou moins cosmopolite, avec une forte concentration dans la zone intertropicale et dans les régions tempérées de l'hémisphère Sud (Australie, Afrique du Sud) [5].

Les Rutaceae sont caractérisées par des poches sécrétrices d'un type qui n'est rencontré dans aucune autre famille dites schizolysigènes [6]. Ces poches, d'origine épidermique, sont toujours superficielles et libèrent leur contenu, une huile essentielle, à la moindre pression. Beaucoup d'espèces des rutaceae sont utilisées en pharmacie et dans l'industrie agro-alimentaire, telles que diverses espèces du genre *Citrus* [7]. Leurs flavonoïdes sont principalement utilisés pour améliorer l'insuffisance veino-lymphatique, et leurs huiles essentielles sont utilisées en parfumerie [7].

Les Rutaceae sont riches en alcaloïdes [8-9], triterpènes [10], coumarines [11] lignanes et huiles essentielles plus particulièrement trouvés dans les espèces *R. angustifolia* [12] *R. chalepensis* [13] et *R. graveolens* [14].

I. 2. Le genre Ruta

a). Introduction

Le genre *Ruta* appartient à la famille des Rutaceae. Ce genre a été découvert par C. Von Linné. Le *Ruta* est aussi connu par son nom français rue ou grec « Ρύτη » dont la signification fait allusion à ses vertus emménagogues [15]. Les synonymes recensés sont rue fétide, rue puante, péganion, herbe de grâce [16].

L'intérêt suscité par l'étude chimique du *Ruta* revêt plusieurs aspects:

- Un aspect chimique, en raison de la présence, dans ce groupe, de nombreux alcaloïdes [17].
- Un aspect pharmacologique : depuis la découverte, dans l'espèce *R. graveolens*, pour la première fois, du rutoside ou quercétine 3- rhamnoglucoside. Selon Weiss, la richesse de la plante en ce principe (1 %) peut la faire utiliser au même titre que le marron d'Inde dans l'insuffisance veineuse [18].
- Un aspect thérapeutique : en raison de l'utilisation des différentes espèces en médecine traditionnelle (Afrique, Asie et Amérique du Sud) [19].

Le genre *Ruta* L. est représenté en Algérie par 4 espèces : *R. montana* (Clus) L, *R. chalepensis* L. ; *R. angustifolia* (pers) P. cout et *R. latifolia* (Salib) lindb. Les espèces diffèrent entre elles par l'allure des feuilles, de la grappe fructifère, des bractées et des sépales [20-21].

La Rue c'est largement répandue dans le monde entier à cause de ses propriétés ornementales et médicinales, elle est souvent cultivée dans les jardins pour ses qualités décoratives en variété de couleur bleue ou panachée et parfois naturalisée [22,23]. Elle a été introduite en Grande Bretagne, en Espagne, un peu moins en Italie et en Yougoslavie. L'Espagne est le grand producteur d'huiles essentielles de la Rue. Elle a été introduite en médecine chinoise, il y a près de deux siècles et est devenue très connue par la population [20,23,24].

La Rue pousse spontanément dans les rochers, les lieux arides, vieux murs, collines sèches et elle est abondante dans les terrains calcaires des régions méditerranéennes [21].

En Algérie, elle est rencontrée dans les zones montagneuses de l'intérieur sur l'Atlas Saharien et les pelouses arides [16].

b). Appellations

La Rue a revêtu plusieurs appellations depuis qu'elle est connue : Rue puante, péganion, herbe de grâce, plante de bonheur, Rue de la Bible [25].

Dans la médecine traditionnelle grecque et latine, la Rue est tirée du nom Ruomaique qui signifie préserver ou du nom Réuo pour dire libre de maladie [26].

C'est une ancienne herbe médicinale qui a été longtemps utilisée comme contre-poison et comme talisman contre la sorcellerie chez les Grecs. Les Romains l'utilisaient surtout pour améliorer la vision [27]. Ainsi, avec les branches de Rue, on aspergeait l'église d'eau bénite avant les messes. La Rue était une composante du vinaigre des quatre voleurs qui détruisaient les victimes pendant l'épidémie de peste en Angleterre, en 1665 [27].

c). Utilisation du *Ruta* en médecine traditionnelle

Différentes variétés de *Ruta*, en Afrique et dans d'autres continents, entrent dans la composition de plusieurs préparations médicamenteuses utilisées en médecine traditionnelle. En règle générale, les différentes parties de la plante sont utilisées fréquemment comme abortif, emménagogue, antirhumatismal, antispasmodique, antiparasitaire et antalgique.

Le tableau [1] présente les multiples usages traditionnels de plusieurs *Ruta* de part le monde.

Tableau [1] : Quelques usages traditionnels du *Ruta*

Espèce	Pays	Partie utilisée	Voie	Usages	Réf.
<i>R. angustifolia</i>	Tunisie	Feuilles	Orale	Gastrites, hypertension, Aménorrhée, diarrhées, vermifuge.	[28]
		Feuilles	Externe	Fièvre	
		Feuilles	Orale	Aérophagie du nourrisson Toux	
		Feuilles	Cataplasme	Céphalées Rhinites	
		Feuilles	Gouttes	Otite, otalgie	
		Feuilles, racines	Externe	Rhumatisme	
<i>R. chalcépis</i>	Palestine	Plante entière	Externe gouttes	Rhumatisme, Otite	[27]
		Feuilles	Orale	Abortif, Tonique (estomac) Otite,	
		Graines	Orale	Cure – dents Contre-poison	
	Amérique Centrale (Guatemala Mexique)	Entière		La rougeole, fièvre, maux de tête, cœur	[29]
	Egypte	Plante entière	Orale	Coliques intestinales Amenorrhée, rhumatisme	[30]
Maroc	Plante entière Fleurie	externe	Vitiligo, rhumatisme	[31]	

			gouttes	Bourdonnement d'oreilles, otites, épilepsie	
			Inhalation	Fièvre	
			Orale, Injection	Abortive, toxique	
			Orale	Affection du foie, de l'appareil respiratoire goutte, oedèmes, l'oligurie, paralysies, règles douloureuses	
			Tampons	L'épistaxie	
			Cataplasme	Migraine	
			Orale	Coliques, contre les vers intestinaux et les morsures de serpent	
	Arabie Saoudite	Parties aériennes		Laxative, anti-inflammatoire, antispasmodique, abortive, épilepsie, emménagogue, colique, maux de tête, rhumatisme, leucoderma, aphrodisiaque	[32, 33, 34, 35]
<i>R. montana</i>	Espagne	Plante entière	Orale	Fièvre emménagogue abortive, antispasmodique contre les vers intestinaux	[36]
	Algérie	Parties aériennes		Emménagogue Antispasmodique Rubéfiant, poudre écharrotique	[37]
<i>R. graveolens</i>	France	Feuilles, plante entière	Inhalation	Digestive, sédative, abortive, emménagogue, anti-rhumatismale, antivirale Antihelminthique	[22, 19]
	Grande Bretagne, Europe du sud	Plante entière	Orale	Emménagogue, Antispasmodique	[27]
	Chine, Canada	Feuilles		Phlébites, varices, épilepsie, problèmes nerveux, maladies de l'utérus	[22]

	Suisse	Fleurs et feuilles		Stupéfiant antiseptique emménagogue abortive	[19]
		Plante entière	Orale	Antispasmodique, protection des vaisseaux sanguins (capillaires) , digestion, stimulation des muscles, emménagogue	[39]
	Turquie, Chine	racines	Externe	Rubéfiant de la peau	[40, 41]
			Orale	Fertilité	
	Maroc	Graines plante fleurie, racines	Orale Gouttes Orale	Douleurs gastro-intestinales, conjonctivite, abortive	[31]
	Inde	Plante entière	Orale	Antiseptique, stimulant (utérus et système nerveux), contre-poison, emménagogue, abortive, hystérie	[33]
			Externe	Rhumatisme, douleurs coliques, atonique, aménorrhée, ménorragie	
<i>R. sylvestris</i>	France		Externe	Désordres veineux	[42]

L'exploitation sélective du contenu des *Ruta* utilisées dans ces différentes pharmacopées demeure ainsi une des voies prometteuses de découverte de médicaments nouveaux.

I. 3. Travaux chimiques antérieurs sur le genre *Ruta L.*

De nombreux travaux ont été réalisés sur le genre *Ruta L.*, aboutissant à l'identification de la structure d'un nombre considérable de métabolites secondaires, appartenant à des séries chimiques extrêmement variées.

En effet, pratiquement tous les types de composés caractéristiques de la famille des Rutaceae ont pu être mis en évidence dans le genre *Ruta L.* à l'exception notable des substances amères de type tétranotriterpénoïde.

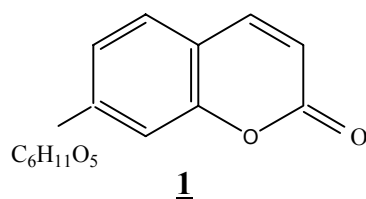
La diversité des voies du métabolisme secondaire des Rutaceae se reflète donc dans la chimie des espèces du genre *Ruta L.* à partir desquelles ont été isolés notamment des alcaloïdes, des amides, des coumarines, des lignanes, des flavonoïdes et des triterpénoïdes. Quelques exemples représentatifs de chacun de ces groupes sont illustrés ci-dessous.

I. 3. 1. Les coumarines

a). Etymologie

L'expression coumarine a été introduite en 1820 par VOGEL pour désigner tout hétérocycle ayant un oxygène 1. Les coumarines tirent leur nom de « coumaroun » nom vernaculaire de la fève Tonka (*Dipteryx odorata* Wild, Fabaceae).

Il est intéressant de mentionner que la coumarine n'est pas la première substance isolée. En effet, en 1812 Vauquelin a pu isoler un dérivé glycosylé à partir de la plante *Daphnia gnidium* appartenant à la famille des Thymeliaceae et il l'avait nommée Daphnine [43].



Le squelette de base des coumarines est constitué de deux cycles accolés de types (C₆ – C₃) avec neuf atomes de carbones [44]. Ils sont considérés comme étant des 2H-1-benzopyran -2- ones, donc, des lactones des acides O-hydroxy-2-cinnamiques.

b). Répartition

A l'exception des algues, ces composés sont les constituants caractéristiques du règne végétal chlorophyllien [45]. Ils peuvent également se trouver dans le règne animal : les glandes à sécrétion odoriférante du castor (3,4 – benzocoumarines) et certains microorganismes [44].

Les coumarines sont largement répandues chez les plantes supérieures, particulièrement dans certaines familles : Fabaceae, Asteraceae, Umbelliferae et Rutaceae. C'est dans ces deux dernières que sont rencontrées les molécules les plus complexes [46].

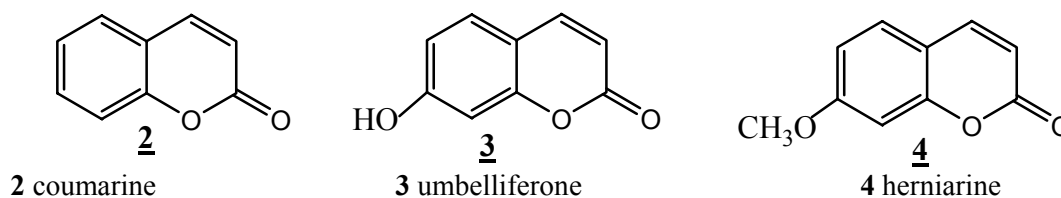
Pratiquement, les coumarines se localisent dans toutes les parties de la plante et notamment dans les fruits et les huiles essentielles des graines, elles sont fréquemment à l'origine des hétérosides.

Les coumarines libres sont solubles dans les alcools et dans les solvants organiques ou les solvants chlorés alors que les formes hétérosidique sont plus ou moins solubles dans l'eau [44].

c). Biogénese des coumarines

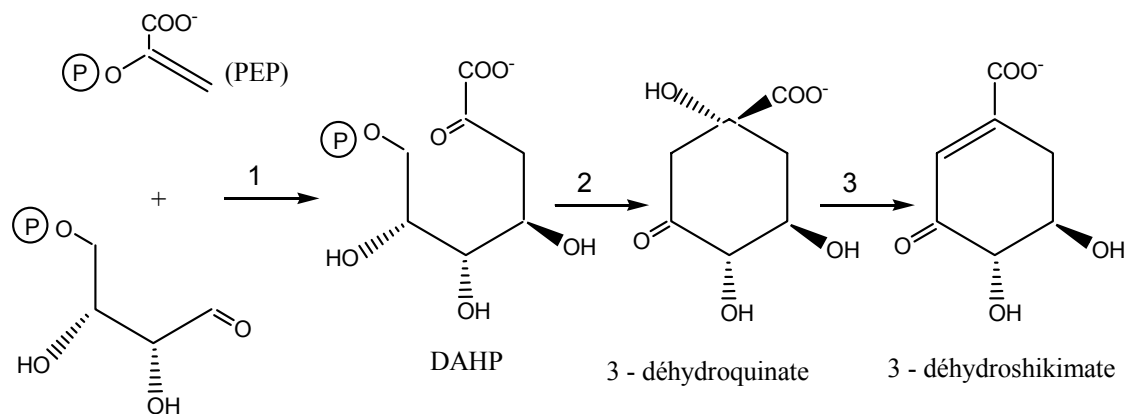
Les coumarines appartiennent à la classe des composés phénoliques, elles constituent, avec les flavonoïdes, les chromones et les isocoumarines, un très vaste ensemble de substances. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'un noyau benzopyrane [17].

Les structures simples des coumarines dérivées de l'acide cinnamique *via* l'acide aminé phénylalanine comme la coumarine **2**, l'umbelliférone **3** et l'herniarine **4** sont trouvées dans plusieurs plantes [47, 48]. L'hydroxylation en *ortho* de l'acide *trans*- cinnamique est la voie directe qui conduit aux coumarines simples. Cela est confirmé par l'oxygénation des coumarines en C-7, largement répandues dans les Rutaceae.



D'autres coumarines qui ont subi un changement dans leur structure de base, par addition des unités de C₅ originaires de l'acide mévalonique, se rencontrent dans peu de familles. En effet, la participation du précurseur mévalonate est également possible pour donner des dérivés mixtes de l'acide shikimique et mévalonique qui sont les furano et pyranocoumarines [47,49,50].

La première réaction est la condensation du phosphoénol pyruvate (PEP) avec l'érythrose -4- phosphate pour former un composé en C₇ : le 3-désoxy -D- arabino-heptulosonate -7- phosphate (DAHP) [49]. La cyclisation du DAHP en 3- déhydroquinone met en jeu une condensation aldolique intramoléculaire intervenant après l'élimination du phosphate (schéma 1) [51].



érythrose 4 - phosphate

Schéma 1

La déshydratation enzymatique du 3-déhydroquinone se produit ensuite pour former le 3-déhydroshikimate (schéma 2).

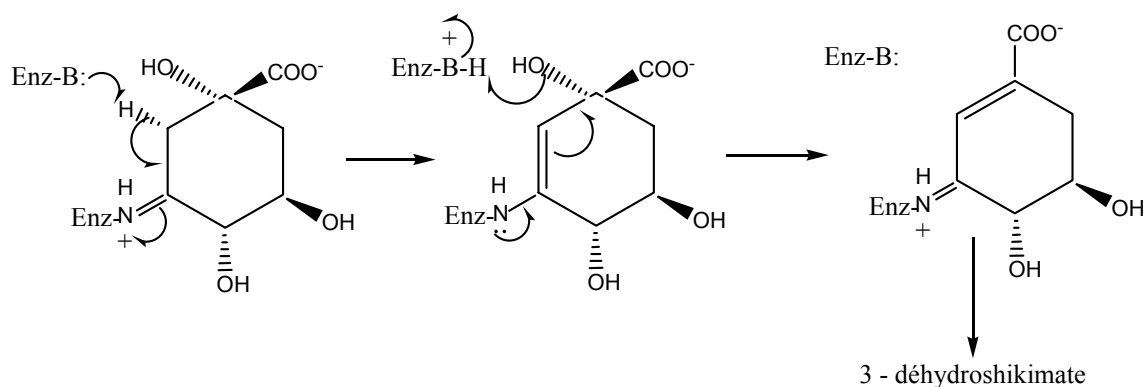


Schéma 2

L'enzyme 3-déhydroquinase permet l'élimination de la molécule d'eau en formant temporairement une base de shift entre un résidu et le carbonyle du 3-déhydroquinone [44, 50].

Une réduction du carbonyle du 3-déhydroshikimate se déroule pour donner le shikimate. Cette réduction se fait par l'intermédiaire de NADPH et l'enzyme catalyseur shikimate oxydoréductase. Le shikimate résultant est ensuite phosphorylé par l'ATP, lui cédant un groupe phosphate pour former le shikimate 3-phosphate. Ce dernier, en présence d'une enzyme condensante, fixe une nouvelle molécule de PEP pour donner un ester d'énol, le 5-énolpyruvyl-shikimate 3-phosphate (EPSP). Ce dernier conduit au chorismate, *via* une *trans* 1,4-élimination (schéma 3).

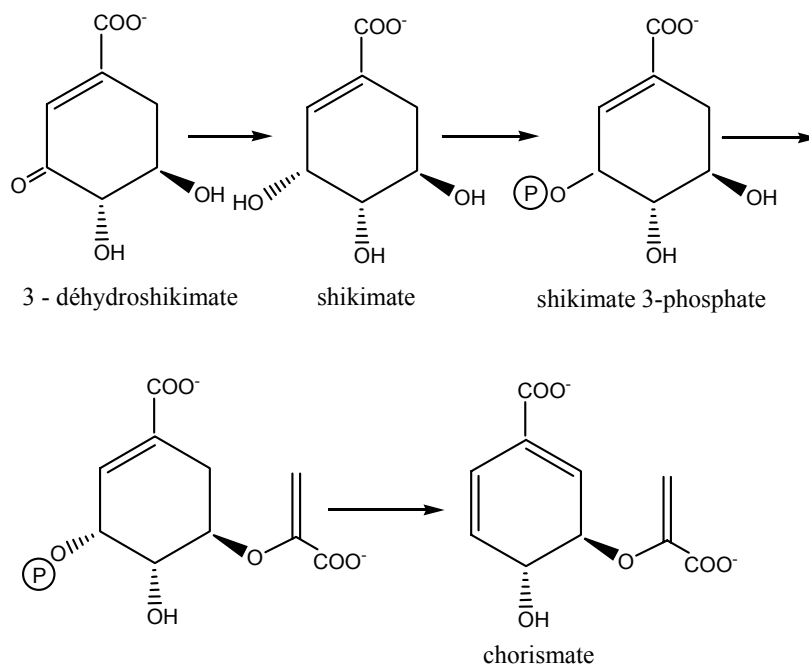


Schéma 3

Le réarrangement précyclique du chorismate donne le préphénate. Ce réarrangement est catalysé par une enzyme (chorismate mutase) capable de transférer la chaîne latérale dérivée du PEP pour qu'elle soit directement liée sur le carbocycle. En conséquence, le squelette des phénylpropane est engendré (schéma 4).

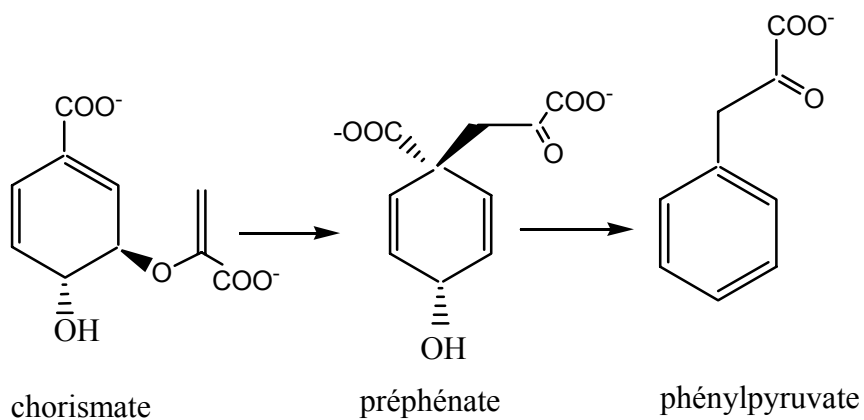


Schéma 4

La transamination de l'acide phénylpyruvique conduit à la formation de la phénylalanine. (schéma 5) [44,49,52].

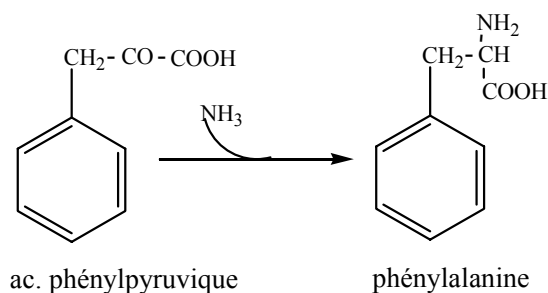


Schéma 5

Par contre, la tyrosine se forme à partir du précurseur l'acide préphénique sur lequel se fait l'oxydation qui permettra la formation de l'hydroxyle phénolique (schéma 6).

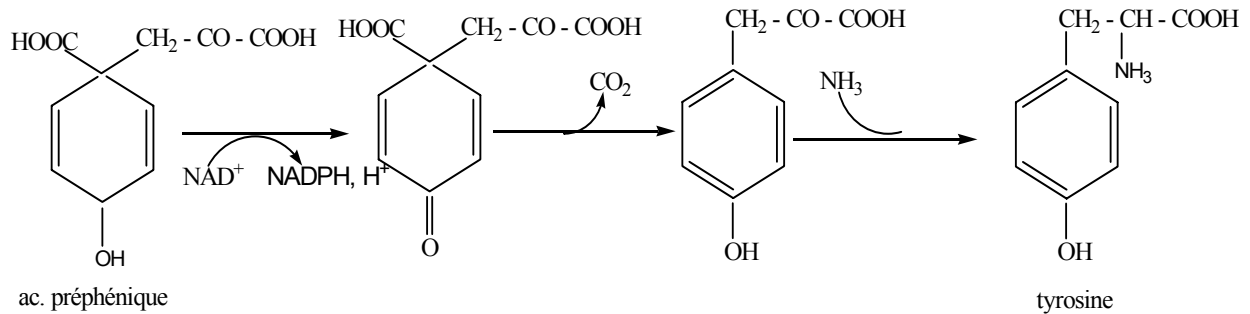


Schéma 6

Une désamination de la phénylalanine et de la tyrosine conduit respectivement à l'acide *trans*cinnamique et l'acide hydroxy-cinnamique (ou acide coumarique) (schéma 7).

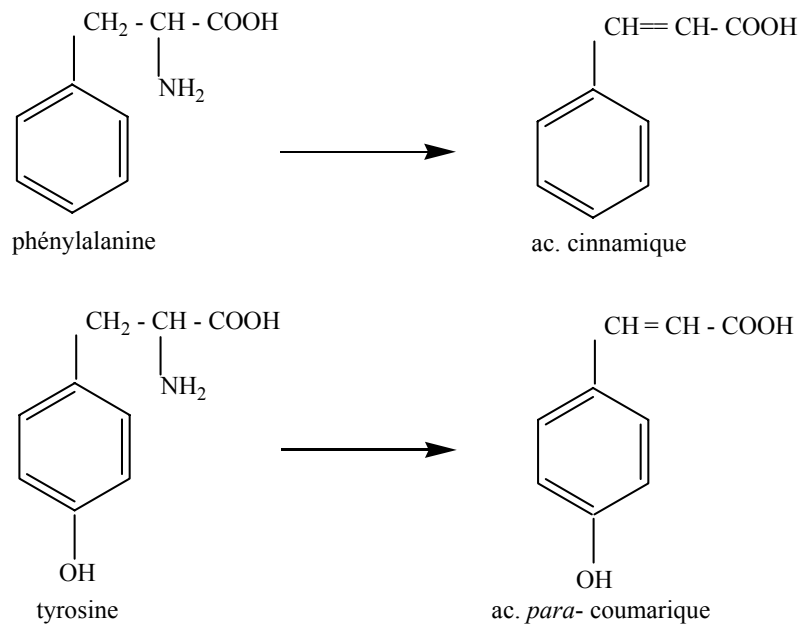
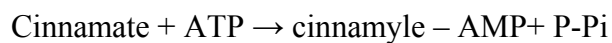


Schéma 7

L'activation du carboxyle a lieu par l'intermédiaire de l'ATP et du coenzyme A. (Schéma 8).



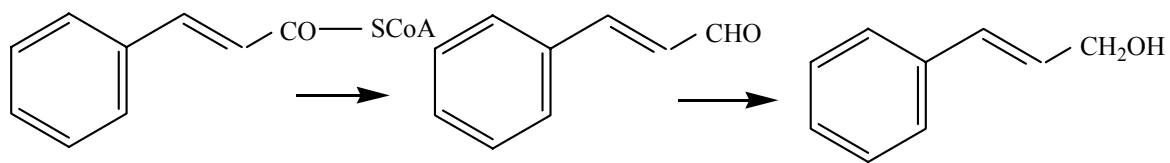


Schéma 8

Quant à l'isomérisation de la chaîne latérale, elle nécessite l'intervention de l'ATP (Schéma 9)

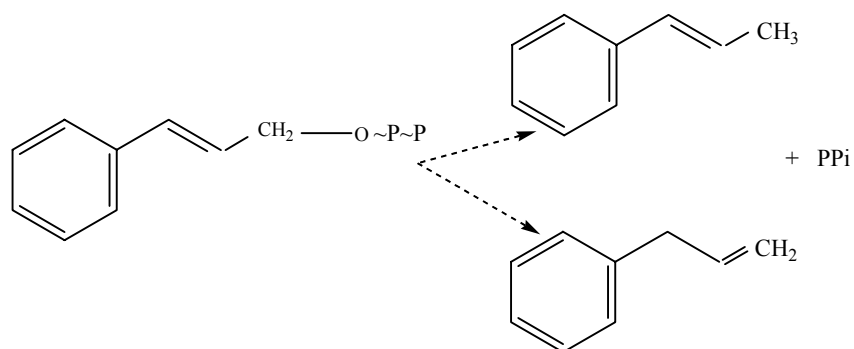


Schéma 9

La création de groupement hydroxyle sur le noyau benzénique se ferait en présence d' O_2 et de $NADPH-H^+$. Ainsi, l'hydroxylation en *para* de l'acide cinnamique est réalisée par l'acide cinnamique 4- hydroxylase (CAH) (schéma 10).

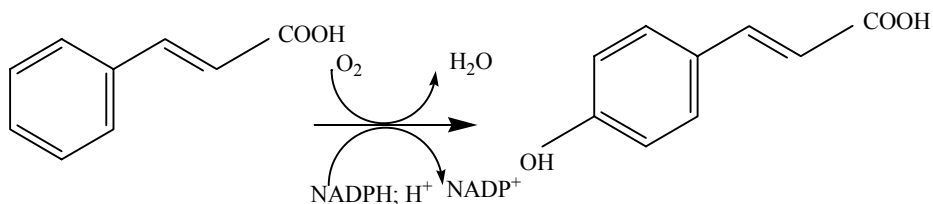


Schéma 10

La cyclisation de l'acide *ortho*-hydroxycinnamique (ou acide *ortho*-coumarinique) conduit à la formation de la coumarine. L'hydroxycoumarine se produit par fixation préalable d'un deuxième hydroxyle sur le noyau benzénique (schéma 11) [52,53].

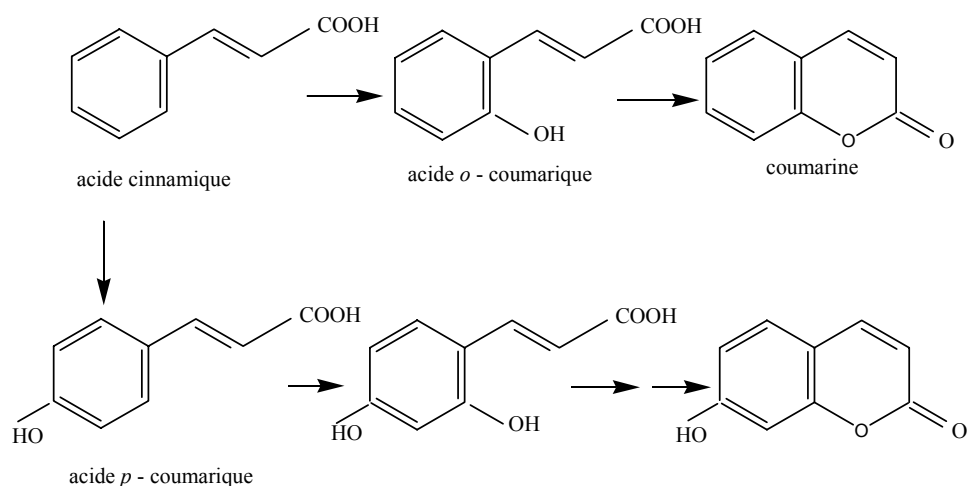
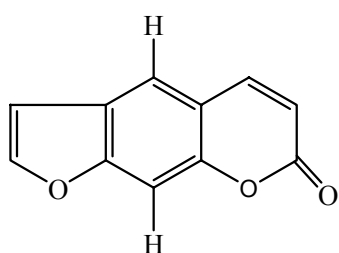


Schéma 11

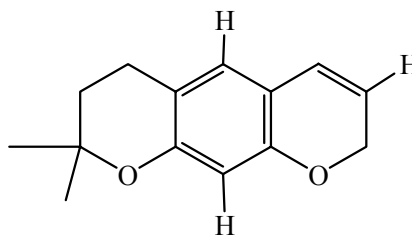
d). Formation des furano- et des pyranocoumarines

L'utilisation systématique de traceurs a permis de montrer que la prénylation par le DMAPP du noyau benzenique de la 7-hydroxycoumarine, en position 6 ou 8, est à l'origine du cycle supplémentaire qui caractérise ces molécules [44].

En effet, la prénylation en 6 conduit aux furano- et pyranocoumarines linéaires. Le psoralène **5** isolé du *R. angustifolia* [12] et la xanthylétine **6** isolée du *R. chalepensis* [54] constituent d'excellents exemples de ces groupes.

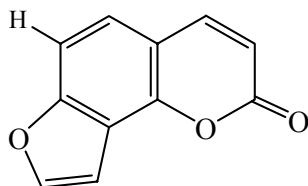


5 psoralène

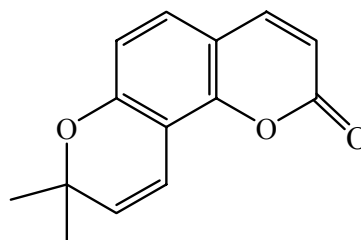


6 xanthylétine

Par ailleurs, la prénylation peut intervenir en 8 conduisant à la formation des homologues angulaires du type angélicine **7** et seséline **8**, cette dernière a été isolée du *R. oreojasme* [55].



7 angélicine

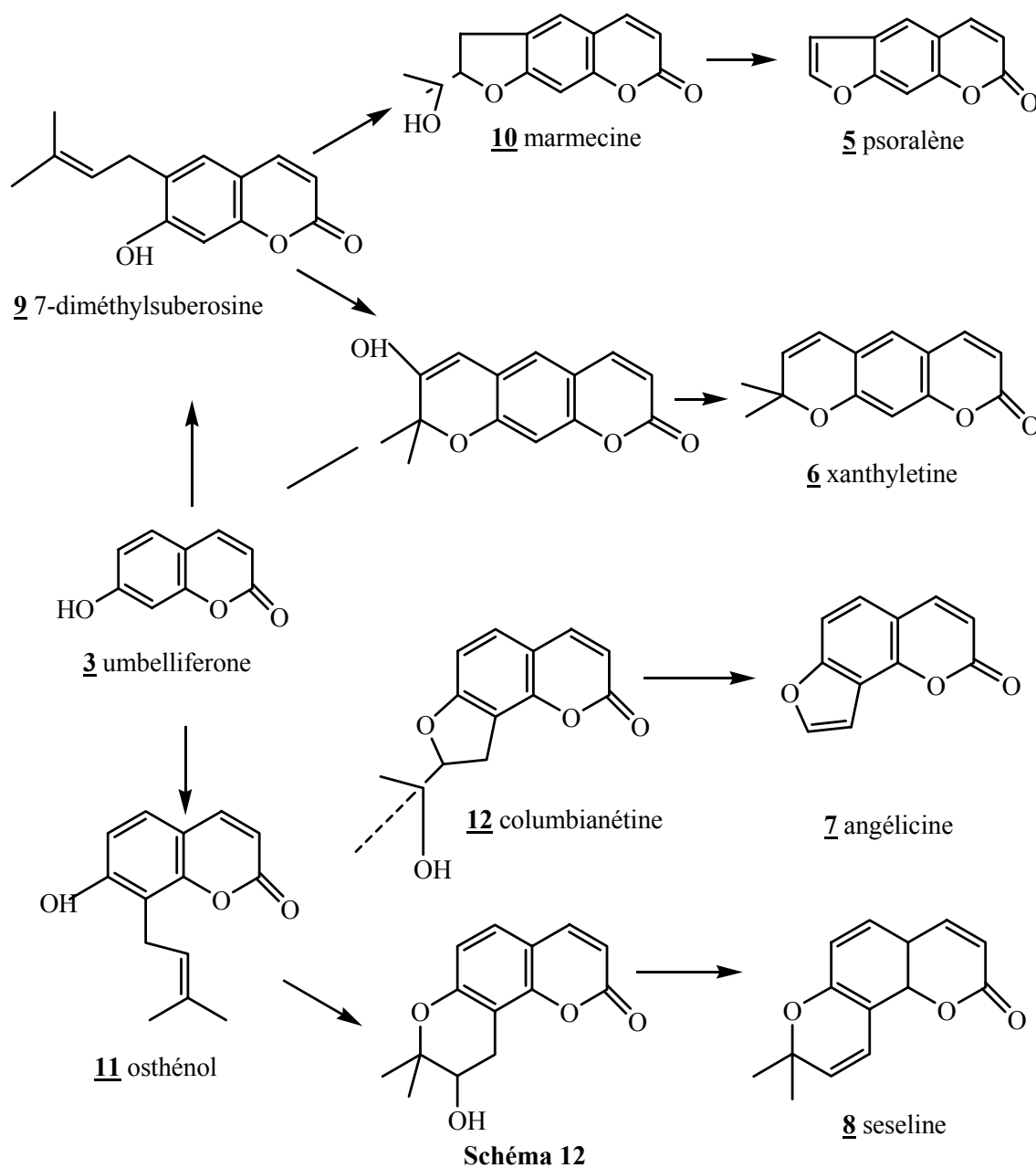


8 seséline

Sur le plan biogénétique, la cyclisation de la 6- ou 8-isoprénylcoumarine est à l'origine d'une attaque nucléophile de l'hydroxyle en 7 sur l'époxide. Ce dernier est formé par

oxydation de la double liaison du chaînon isopentenyle [47] . Le résultat de cette réaction est fonction de l'orientation de l'attaque nucléophile :

- Formation d'une hydroxyisopropyldihydropyranocoumarine ou
- Formation d'une hydroxyisopropyldihydropyranocoumarine dans le cas d'une attaque sur le carbone tertiaire (schéma12) [44,47,56].



L'étude bibliographique du genre *Ruta* a montré que ce dernier est très riche en coumarines. Le tableau [2] représente les produits isolés de quelques espèces de ce genre.

Tableau [2] : Dérivés coumarines isolés de quelques espèces du genre *Ruta L.*

Espèce	Origine	Dérivés coumarines	Structure	Réf
<i>R. angustifolia</i>	Espagne	Bergaptène	<u>13</u>	[57]
		Isopimpinelline	<u>14</u>	
		Xanthotoxine	<u>15</u>	
		Chalepensine	<u>16</u>	
		Isoscopolétine	<u>26</u>	
		Rutamarine	<u>31</u>	
	Espagne	Angustifoline	<u>32</u>	[12]
		Scoparone	<u>33</u>	
		6, 7, 8-triméthoxycoumarine	<u>34</u>	
	Espagne	Psoralène	<u>5</u>	[58]
Bergaptène		<u>13</u>		
Xanthotoxine		<u>15</u>		
Benahorine		<u>17</u>		
Isoimpératorine		<u>18</u>		
Héraclenol		<u>19</u>		
Angustifoline		<u>32</u>		
7-dimethylrutacultine		<u>27</u>		
Escaparone		<u>33</u>		
6, 7, 8-triméthoxycoumarine		<u>34</u>		
<i>R. bracteosa</i>	Espagne	Bergaptène	<u>13</u>	[59]
		Psoralène	<u>5</u>	
		Xanthotoxine	<u>15</u>	
<i>R. chalepensis</i>	USA	Chalepensine	<u>16</u>	[60]
		Chalepine	<u>44</u>	
		Acétate de chalepine	<u>45</u>	
	Italie	Xanthotoxine	<u>15</u>	[61]
		Chalepensine	<u>16</u>	

	Espagne	Bergaptène	<u>13</u>	[54]
		Byakangélicine	<u>20</u>	
		Chalépinsine	<u>16</u>	
		Isoscolopétine	<u>26</u>	
		Isopimpinelline	<u>14</u>	
		Psoralène	<u>5</u>	
		Rutamarine	<u>31</u>	
		Xanthylétine	<u>6</u>	
		Xanthotoxine	<u>15</u>	
	Arabie Saoudite	Coumarine	<u>2</u>	[62]
		Chalépinsine	<u>16</u>	
	Arabie Saoudite	Chalépinsine	<u>16</u>	[63]
		Chalépine	<u>44</u>	
	Arabie Saoudite	Isoimperatorine	<u>18</u>	[64]
Allemagne	Isorutarine	<u>46</u>	[65]	
	Rutarensine	<u>47</u>		
Turquie	Chalépine	<u>44</u>	[66]	
	Chalépinsine	<u>16</u>		
Turquie	Chalépinsine	<u>16</u>	[67]	
	Chalépine	<u>44</u>		
	Rutamarine	<u>31</u>		
	Bergaptène	<u>13</u>		
	Isopimpinelline	<u>14</u>		
	Xanthotoxine	<u>15</u>		
Turquie	Coumarine	<u>2</u>	[68]	
	Xanthotoxine	<u>15</u>		
	Bergaptène	<u>13</u>		
	Rutolide	<u>53</u>		
Portugal	Xanthotoxine	<u>15</u>	[69]	
	Bergaptène	<u>13</u>		
Arabie Saoudite	Chalépinsine	<u>16</u>	[70]	
	Umbelliférone	<u>3</u>		
<i>R. graveolens</i>	Hongrie	Daphnotérine méthyl éther	<u>54</u>	[71]
	Allemagne	Xanthylétine	<u>6</u>	[72]
Byakangélicine		<u>20</u>		

Allemagne	Daphnoretine	<u>55</u>	[73]
	Dophnoretine Méthyl ether	<u>54</u>	
Allemagne	Gravelliférone	<u>56</u>	[74]
Allemagne	Chalepensine	<u>16</u>	[75]
	Gravelliferone Méthyl ether	<u>57</u>	
	3-(1,1-dimethyl allyl) Herniarine	<u>59</u>	
Allemagne	Psoralène	<u>5</u>	[76]
Allemagne	Psoralène	<u>5</u>	[77]
	Bergaptène	<u>13</u>	
	Rutaretine	<u>48</u>	
	Herniarine	<u>4</u>	
	Scopoletine	<u>35</u>	
	Umbélliferone	<u>3</u>	
Hongrie	Bergaptène	<u>13</u>	[78]
	Psoralène	<u>5</u>	
	Isopimpinelline	<u>14</u>	
	Xanthotoxine	<u>15</u>	
	Isoimpérorine	<u>18</u>	
Allemagne	Rutamarine	<u>31</u>	[79]
Hongrie	Bergaptène	<u>13</u>	[80]
	Xanthotoxine	<u>15</u>	
	Isoimpérorine	<u>18</u>	
	Psoralène	<u>5</u>	
Allemagne	Rutaretine	<u>48</u>	[81]
Allemagne	Isoimperatorine	<u>18</u>	[82]
Hongrie	Psoralène	<u>5</u>	[83]
Hongrie	Daphnorine	<u>62</u>	[84]
	Rutarine	<u>49</u>	
	Scopoletine	<u>35</u>	
	Marmésine	<u>10</u>	
	Rutaretine	<u>48</u>	
Ex. URSS	Umbelliférone	<u>3</u>	[85]
	Xanthotoxine	<u>15</u>	
	Psoralène	<u>5</u>	
	Bergaptène	<u>13</u>	
	Isoimpérorine	<u>18</u>	
	Rutamarine	<u>31</u>	

	Hongrie	Umbelliférone	<u>3</u>	[86]
		Scopéléatine	<u>35</u>	
		Rutaretine	<u>48</u>	
		Marmesine	<u>10</u>	
		Bayakangélicine	<u>20</u>	
		Rutarine	<u>49</u>	
		Isorutarine	<u>46</u>	
	Espagne	Bergaptène	<u>13</u>	[87]
		Rutamarine	<u>31</u>	
		Isoimpérorine	<u>18</u>	
Psoralène		<u>5</u>		
Pangeline		<u>21</u>		
	Hongrie	Rutamarine	<u>31</u>	[88]
		Psoralène	<u>5</u>	
		Isoimpérorine	<u>18</u>	
		Xanthotoxine	<u>15</u>	
		Bergaptène	<u>13</u>	
	Canada	Psoralène	<u>5</u>	[89]
		Xanthotoxine	<u>15</u>	
		Bergaptène	<u>13</u>	
		Isopimpinelline	<u>14</u>	
	Canada	Psoralène	<u>5</u>	[90]
		Xanthotoxine	<u>15</u>	
		Bergaptène	<u>13</u>	
		Diméthylallyl-herniarine	<u>60</u>	
		Rutamarine	<u>31</u>	
		Isopimpinelline	<u>14</u>	
		3-(1'-1'-diméthylallyl) herniarine	<u>59</u>	
		Chalepensine	<u>16</u>	
	Diméthoxychalepensine	<u>63</u>		
	Ex.URSS	7-8-Diméthoxy-3-(α,α - diméthylallyl) coumarine,	<u>61</u>	[91]
Psoralène		<u>5</u>		
Bergaptène		<u>13</u>		
Xanthotoxine		<u>15</u>		
Hongrie	Suberenone	<u>28</u>	[92]	
Allemagne	3-(1,1-Diméthylallyl)scopoletine	<u>50</u>	[93]	

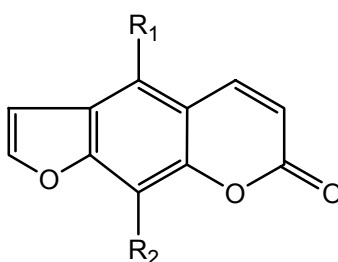
	Ex.URSS	Bergaptène	<u>13</u>	[94]	
		Xanthotoxine	<u>15</u>		
		Rutamarine	<u>31</u>		
		Isoimperatorine	<u>18</u>		
		Psoralène	<u>5</u>		
	Canada	Umbelleferone Scopoletine Psoralène Xanthotoxine Isopimpinelline Rutamarine Rutacultine 6,7-dimethoxy-3-1,1- demethylallyl coumarine)		<u>3</u>	[95]
				<u>35</u>	
				<u>5</u>	
				<u>15</u>	
				<u>14</u>	
				<u>31</u>	
				<u>58</u>	
				<u>51</u>	
		Isopimpinelline		<u>14</u>	[96]
			Sphondine	<u>64</u>	
Xanthotoxine	<u>15</u>				
Psoralène	<u>10</u>				
Bergaptène	<u>13</u>				
Pimpinelline	<u>65</u>				
Coumarine	<u>2</u>				
Isobergaptène	<u>66</u>				
Hongrie	Isorutarine	<u>46</u>	[97]		
Allemagne	Bergaptène	<u>13</u>	[98]		
	Isopimpinelline	<u>14</u>			
Malaisie	Bergaptène	<u>13</u>	[99]		
	Psoralène	<u>5</u>			
Allemagne	Naphthoherniarine	<u>67</u>	[100]		
Canada	Psoralène	<u>5</u>	[101]		
	Xanthotoxine	<u>15</u>			
	Isopimpinelline	<u>14</u>			
	Bergaptène	<u>13</u>			
Pologne	Psoralène	<u>5</u>	[102]		
	Bergaptène	<u>13</u>			
	Xanthotoxine	<u>15</u>			
	Isopimpinelline	<u>14</u>			

		3-(1,1-Diméthylallyl scopoletine 7-O-B-D-glucopyranoside	<u>52</u>	[103]
<i>R. montana</i>	Espagne	Chalépensine	<u>16</u>	[104]
		Chalépine	<u>44</u>	
	Australie	Rutolide	<u>53</u>	[105]
	Espagne	Bergaptène	<u>13</u>	[106]
		Psoralène	<u>5</u>	
	Espagne	Rutamarine	<u>31</u>	[107]
		Chalépensine	<u>16</u>	
Rutolide		<u>53</u>		
Bergaptène		<u>13</u>		
Xanthotoxine		<u>15</u>		
Chalépine		<u>44</u>		
Umbelliférone		<u>3</u>		
Daphnoretin Méthyl ether	<u>54</u>			
Daphnoretine	<u>55</u>			
Ex. URSS	Chalépensine	<u>16</u>	[108]	
	Xanthotoxine	<u>15</u>		
	Bergaptène	<u>13</u>		
	Daphnoretine Méthyle éther	<u>54</u>		
	Scopoletine	<u>35</u>		
<i>R. microcarpa</i>	Allemagne	Bergaptène	<u>13</u>	[109]
		Byakangelicine	<u>20</u>	
		Impératorine	<u>22</u>	
	Espagne	Byakangelicine	<u>20</u>	[11]
		Xanthyletine	<u>6</u>	
	Luvangetine	<u>68</u>		
	Bergaptène	<u>13</u>		
<i>R. oroejasme</i>	Espagne	Aesculétine	<u>36</u>	[53]
		Citroptène	<u>37</u>	
		Sesiline	<u>8</u>	
	Espagne	Coumarine	<u>2</u>	[110]
		Herniarine	<u>4</u>	
		Psoralène	<u>5</u>	
		Bergaptène	<u>13</u>	
	Xanthotoxine	<u>15</u>		
	Isopimpinelline	<u>14</u>		

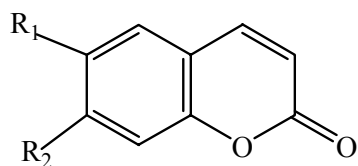
	Espagne	Isopimpinelline	<u>14</u>	[11]
		Coumarine	<u>2</u>	
		Herniarine	<u>4</u>	
		Bergaptène	<u>13</u>	
		Psoralène	<u>5</u>	
		Umbellifèrone	<u>3</u>	
		Byakangelicine	<u>20</u>	
	Xanthotoxine	<u>15</u>		
	Espagne	Psoralène	<u>5</u>	[111]
		Bergaptène	<u>13</u>	
		Xanthotoxine	<u>15</u>	
		Isopimpinelline	<u>14</u>	
Imperatorine		<u>22</u>		
Xanthyletine		<u>6</u>		
Luvangetine		<u>68</u>		
Graveollifèrone Me ether		<u>57</u>		
Sabandinine		<u>38</u>		
6,7,8-trimethoxy coumarine.		<u>34</u>		
Herniarine	<u>4</u>			
Espagne	Easculétine	<u>36</u>	[112]	
	Citroptene	<u>37</u>		
	Seseline	<u>8</u>		
Espagne	Oreojasmine	<u>69</u>	[113]	
	Fatagarine	<u>70</u>		
<i>R. pinnata</i>	Les îles canaries	Luvangetine	<u>68</u>	[114]
		Byakangelecine	<u>20</u>	
		Marmesine	<u>10</u>	
		Umbellifèrone	<u>3</u>	
		Aesculétine	<u>36</u>	
		Scopolétine	<u>35</u>	
	Espagne	Xanthotoxine	<u>15</u>	[115]
		Thamnosine	<u>71</u>	
		Pennarine	<u>39</u>	
		Fuopeninnarine	<u>23</u>	

	Espagne	Coumarine	<u>2</u>	[53]
		Herniarine	<u>4</u>	
		Umbellifèrone	<u>3</u>	
		Psoralène	<u>5</u>	
		Bergaptène	<u>13</u>	
		Xanthotoxine	<u>15</u>	
		Byakanglecine	<u>20</u>	
	Espagne	Isooxypeucedanine	<u>24</u>	[116]
		Pangéline	<u>21</u>	
		Oxypeucedanine	<u>26</u>	
		Héraclenol	<u>19</u>	
		Byakangelicine	<u>20</u>	
Ulopterol		<u>40</u>		
Sabindinol		<u>41</u>		
Espagne	Coumarine	<u>2</u>	[11]	
	Sabandinine	<u>38</u>		
	Sabandinone	<u>42</u>		
	Herniarine	<u>4</u>		
	Bergaptène	<u>13</u>		
	Saphondine	<u>64</u>		
	Furopinnarine	<u>23</u>		
	Isoimpiratorine	<u>18</u>		
	Isopimpinelline	<u>14</u>		
	Isobergaptène	<u>66</u>		
	Oxypeudonine	<u>26</u>		
	Xanthotoxine	<u>15</u>		
	Séséline	<u>8</u>		
Espagne	Psoralène	<u>5</u>	[117]	
	Bergaptène	<u>13</u>		
	Isopimpinelline	<u>14</u>		
	Sabandine	<u>43</u>		

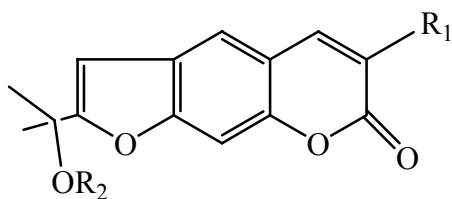
	Las palmas	Xanthyletine	<u>6</u>	[118]
	Les îles Canaries	Luvangetine	<u>68</u>	
		Isopimpenelline	<u>4</u>	
		Sabandine	<u>43</u>	
		Thamnosine	<u>71</u>	
		Furopennarine	<u>23</u>	
		Pinnarine	<u>39</u>	
		Espagne	Tamarine	
	6-(3'-ethoxy-2-hydroxy-3'-methylbutyl)-7-méthoxycoumarine.	<u>30</u>		



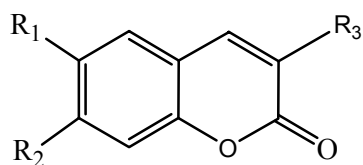
- 13** $R_1 = \text{OCH}_3$ $R_2 = \text{H}$
- 14** $R_1 = \text{OCH}_3$ $R_2 = \text{OCH}_3$
- 15** $R_1 = \text{H}$ $R_2 = \text{OCH}_3$
- 16** $R_1 = \text{H}$ $R_2 = \text{H}$
- 17** $R_1 = \text{OCH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$ $R_2 = \text{OCH}_3$
- 18** $R_1 = \text{OCH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$ $R_2 = \text{H}$
- 19** $R_1 = \text{H}$ $R_2 = \text{OCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{OH}$
- 20** $R_1 = \text{OCH}_3$ $R_2 = \text{OCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{OH}$
- 21** $R_1 = \text{OCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{OCH}_3)=\text{CH}_2$ $R_2 = \text{H}$
- 22** $R_1 = \text{H}$ $R_2 = \text{OCH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$
- 23** $R_1 = \text{OCH}_3$ $R_2 = \text{OCH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$
- 24** $R_1 = \text{CH}_2\text{COCH}(\text{CH}_3)_2$ $R_2 = \text{H}$
- 25** $R_1 = \text{OCHCHOC}(\text{CH}_3)_2$ $R_2 = \text{H}$



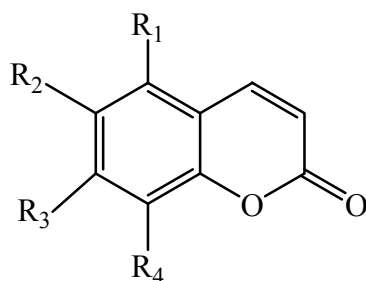
- 26** $R_1 = \text{OH}$ $R_2 = \text{OCH}_3$
- 27** $R_1 = \text{OCH}_3$ $R_2 = \text{C}(\text{CH}_3)\text{CH}=\text{CH}_2$
- 28** $R_1 = \text{CH}=\text{CHCOCH}_3$ $R_2 = \text{OCH}_3$
- 29** $R_1 = \text{OCH}_3$ $R_2 = \text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2$
- 30** $R_1 = \text{OH}$ $R_2 = \text{C}(\text{OCH}_3)\text{OET}$



- 31** $R_1 = \text{C}(\text{OCH}_3)_2\text{CHCH}_2$ $R_2 = \text{COCH}_3$

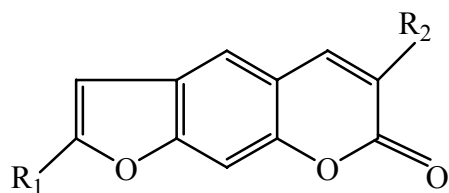


- 32** $R_1 = \text{H}$ $R_2 = \text{OH}$
 $R_3 = \text{C}(\text{OCH}_3)\text{CH}=\text{CH}_2$
- 33** $R_1 = \text{OCH}_3$ $R_2 = \text{OCH}_3$
 $R_3 = \text{H}$

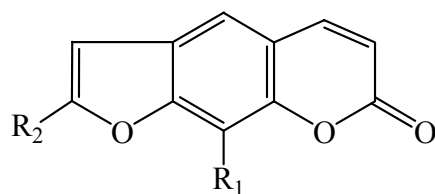


- 34** $R_1 = \text{H}$ $R_2 = \text{OCH}_3$
 $R_3 = \text{OCH}_3$ $R_4 = \text{OCH}_3$

- 35** $R_1 = H$ $R_2 = OCH_3$
 $R_3 = OH$ $R_4 = H$
- 36** $R_1 = H$ $R_2 = H$
 $R_3 = OH$ $R_4 = H$
- 37** $R_1 = OCH_3$ $R_2 = H$
 $R_3 = OCH_3$
- 38** $R_1 = OCH_3$ $R_2 = OCH_2O$
 $R_3 = H$ $R_4 = OCH_3$
- 39** $R_1 = OCH_3$ $R_2 = H$
 $R_3 = OCH_3$ $R_4 = OCH_2CH=CH(CH_3)_2$
- 40** $R_1 = CH_2CH(OH)C(OH)(CH_3)_2$ $R_2 = H$
 $R_3 = OCH_3$ $R_4 = H$
- 41** $R_1 = OCH_2CH(OH)C(OH)(CH_3)_2$ $R_2 = H$
 $R_3 = OCH_2O$ $R_4 = H$
- 42** $R_1 = OCH_2COCH(CH_3)_2$ $R_2 = H$
 $R_3 = OCH_2O$ $R_4 = H$
- 43** $R_1 = OCH_3$ $R_2 = OCH_2$
 $R_3 = H$ $R_4 = OCH_3$



- 44** $R_1 = C(CH_3)_2CHCH_2$ $R_2 = C(CH_3)_2OH$
- 45** $R_1 = C(OAC)(CH_3)_2$ $R_2 = C(CH_3)_2CH=CH_2$



- 46** $R_1 = OCH_3$ $R_2 = C(OH)(CH_3)_2$
- 47** $R_1 = OCH_3$
 $R_2 = Glc-O-H_2CH_2COCH_3OHCH_2CO_2CH_2$
- 48** $R_1 = OH$ $R_2 = C(OH)(CH_3)_2$

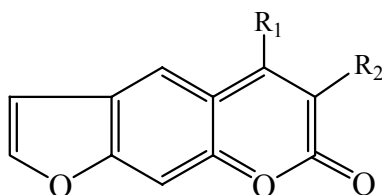
49 $R_1 = \text{OGL}$ $R_2 = \text{C(OH)(CH}_3)_2$

50 $R_1 = \text{OH}$ $R_2 = \text{OCH}_3$

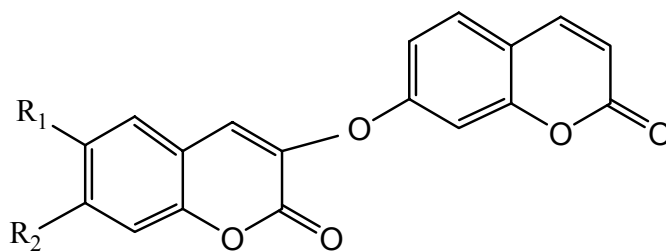
$R_3 = \text{C(OCH}_3)_2\text{CH=CH}_2$

51 $R_1 = \text{OCH}_3$ $R_2 = \text{OCH}_3$

52 $R_1 = \text{OCH}_3$ $R_2 = \text{B-D-glycopyranosyl}$

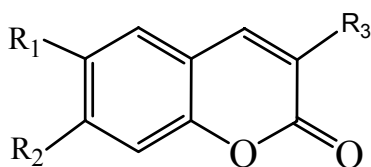


53 $R_1 = \text{H}$ $R_2 = \text{CHC(CH}_3)_2\text{CH}_2$



54 $R_1 = \text{OCH}_3$ $R_2 = \text{OCH}_3$

55 $R_1 = \text{OCH}_3$ $R_2 = \text{OH}$



56 $R_1 = \text{CH}_2\text{CH=C(CH}_3)_2$ $R_2 = \text{OH}$

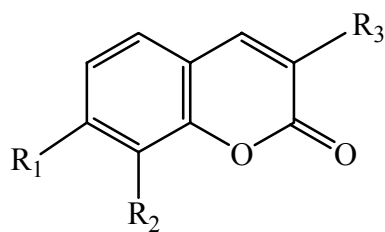
$R_3 = \text{C(CH}_3)_2\text{CH=CH}_2$

57 $R_1 = \text{CH}_2\text{CH=C(CH}_3)_2$ $R_2 = \text{OCH}_3$

$R_3 = \text{C(CH}_3)_2\text{CH=CH}_2$

58 $R_1 = \text{OCH}_3$ $R_2 = \text{OCH}_3$

$R_3 = \text{C(OCH}_3)_2\text{CH=CH}_2$



59 $R_1 = \text{OCH}_3$ $R_3 = \text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}=\text{CH}_2$

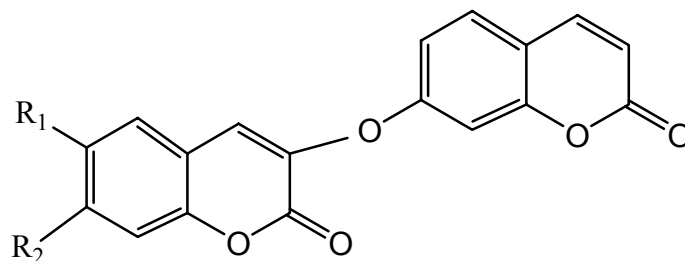
$R_2 = \text{H}$

60 $R_1 = \text{OCH}_3$ $R_2 = \text{H}$

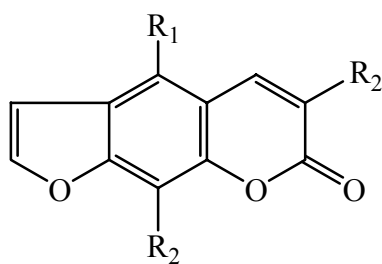
$R_3 = \text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}=\text{CH}$

61 $R_1 = \text{OCH}_3$ $R_2 = \text{OCH}_3$

$R_3 = \text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}=\text{CH}_2$

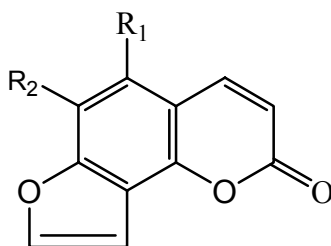


62 $R_1 = \text{OCH}_3$ $R_2 = \text{OGl}$



63 $R_1 = \text{OCH}_3$ $R_2 = \text{OCH}_3$

$R_3 = \text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}=\text{CH}_2$

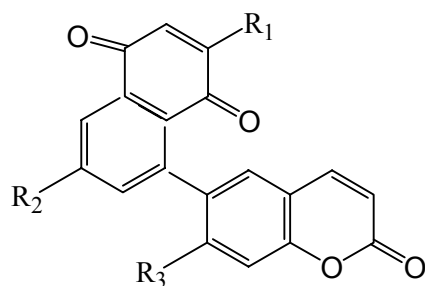


64 $R_1 = \text{OCH}_3$ $R_2 = \text{H}$

65 $R_1 = \text{OCH}_3$ $R_2 = \text{OCH}_3$

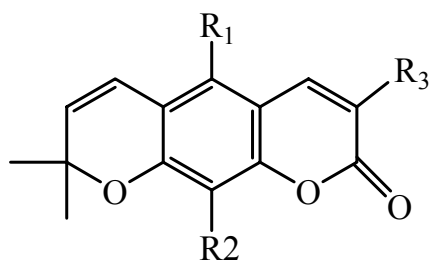
66 $R_1 = H$

$R_2 = OCH_3$



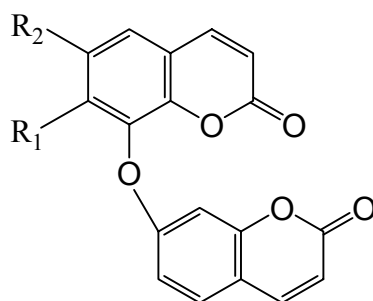
67 $R_1 = OCH_3$
 $R_3 = COCH_3$

$R_2 = OCH_3$



68 $R_1 = H$

$R_2 = OCH_3$

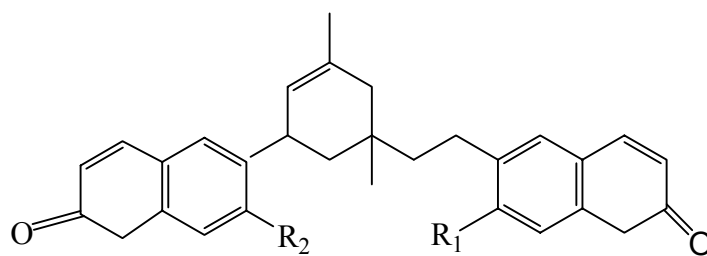


69 $R_1 = OCH_3$

$R_2 = OCH_3$

70 $R_1 = H$

$R_2 = OCH_3$



71 $R_1 = OCH_3$

$R_2 = OCH_3$

e). Activités biologiques des coumarines :

Les coumarines sont connues pour leurs effets toxiques sur les animaux [120]. En effet, Gray et son équipe [45] ont montré que l'ingestion ou le contact avec les plantes contenant certaines des quantités de coumarines peuvent avoir des effets nocifs sur l'organisme non adapté à leur détoxification.

Une étude scientifique rigoureuse menée par Grawron et son équipe [121] sur le potentiel carcinogène des coumarines a montré la cytotoxicité des coumarines *vis-à-vis* des cellules cancéreuses Héla – 3 à la dose de 5 µg/ml. L'influence des coumarines était élevée en déterminant le contenu protéinique dans les souches de culture à des concentrations variantes entre 5 et 50 µg/ml. La quantité de protéines cellulaires et la croissance de ces cellules ont diminué remarquablement.

En 1957, O'Neal et son équipe [122] testèrent l'effet des coumarines sur la promotion des tumeurs cutanées chez les rats blancs induites par les irradiations ultraviolettes. Plus tard, des travaux ont montré l'efficacité des coumarines pour bloquer le cancer induit chimiquement par la 4- nitroquinoline -1- oxyde ou par les radiations [123]. Cependant, il est prouvé que la coumarine, rutamarine **31**, possède le même effet que l'agent anti-tumoral, le mercapto- purine. Les expériences ont montré, à raison de 25 µl/ml, que la rutamarine **31** stoppe complètement la synthèse de l'ADN [6].

L'administration de l'umbelliférone **3** et de la coumarine **2** sur des malades atteints de cancer ou de brucellose à raison de 100 mg/j a provoqué l'augmentation des cellules lymphocytes Helper T dans la circulation sanguine périphérique [124]. En conséquence, les coumarines se révèlent être des composés thérapeutiquement promoteurs dans l'amélioration du système immunitaire [123].

Il est parfaitement établi que les coumarines sont des composés à fort pouvoir anti-fertile. En effet, l'injection intraperitonéale des coumarines à raison de 3 à 4 µg/kg chez les rats et les hamsters a donné des résultats intéressants [125,126] :

- Formation de kystes et tamponnement des follicules dans les ovaires.
- Dans les reins : c'est la coalition segmentaire et l'apparition des ganglions.

C'est surtout le cas des furocoumarines.

Certaines coumarines pourraient exercer un effet protecteur *vis-à-vis* de quelques pathologies. Cela se manifeste par la résistance des plantes contre les infections virales ou fongiques en synthétisant des fongicides naturels à l'intérieur des tissus (phytoalexines) [127].

Une activité antifongique significative a également été reportée pour certaines coumarines. Dans leurs études *in vitro*, Degree et son équipe [128] ont montré que les coumarines paralysent la croissance de *Saccharomyces servisiae*. A de fortes concentrations à raison de 100-1000 ppm, elles retardent ou bloquent la germination des spores d'*Aspergillus niger* et de *Penicillium glaucum* [129].

Par exemple, la scopolétine **35** se rencontre en traces dans certaines plantes saines (Tabac, pomme de terre), appartenant à la famille des Solanaceae. En effet, la concentration augmente remarquablement autour des blessures résultant d'une infection virale [130-131].

Pour l'activité antibactérienne, il y a lieu de noter que les coumarines sont efficaces contre les bactéries G⁺ à des concentrations élevées à raison de 300 à 500 ppm. Les extraits des feuilles d'*ascerplatanoïdes* et *Aesculus luppocastanum* inhibent remarquablement la

croissance des bactéries responsables de la décomposition du cellulose *Polyanigum cellulosum* [44].

La phototoxicité d'un certain nombre d'espèces végétales indigènes ou exotiques est connue depuis longtemps. Cette phototoxicité survient toujours après un contact avec la plante suivie d'une exposition à la lumière solaire [44]. En 1980, Schemmer et son équipe [132] ont examiné l'activité photo-toxique des furocoumarines *vis-à-vis* des microorganismes (*Chlamydomonas reinherdu* à 5 µg/ml et 0,1 mM/l et sous l'effet des radiations ultraviolettes (60 min, 2 - 2,7 w/m²), les résultats étaient très importants. Ces réactions phototoxiques endommagent les macromolécules biologiques. Il a été démontré que ces composés peuvent donner lieu à des cycloadditions en 3,4 et/ou en 4,5 avec les bases pyrimidiques de l'ADN. Ces cycloadditions peuvent être mono-ou bifonctionnelles et, dans ce dernier cas, former des liaisons croisées entre les paires de bases des acides nucléiques, et ainsi induire des lésions du génome (schéma 13) [133, 134].

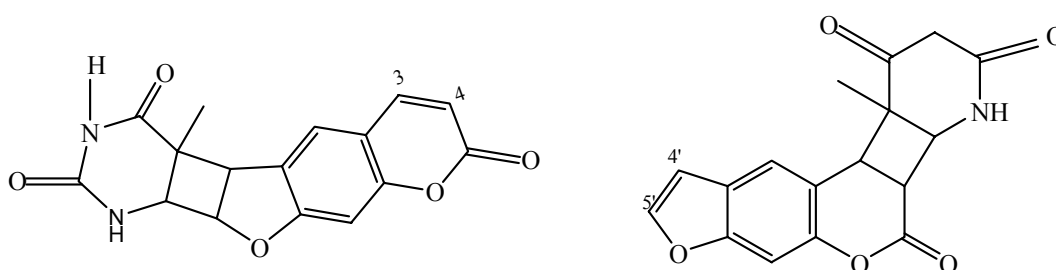


Schéma 13 : Cycloaddition monofonctionnelle sur la thymine

f). Les Intérêts pharmaceutiques

L'intérêt croissant à l'étude des végétaux et des matières premières d'origine végétale connaît un regain d'intérêt sans précédent. En effet, on peut estimer qu'actuellement près de 50 % des spécialités pharmaceutiques sont d'origine naturelle. A côté de l'usage thérapeutique, les végétaux sont aussi la source de nouvelles applications.

Les coumarines sont essentiellement des toxiques veineux et des protecteurs de fragilité des capillaires sanguins dans certaines maladies vasculaires et circulatoires (action vitaminique P) [135]. Elles sont utilisées comme: antibactériens [136], anticoagulants [137], anticancéreux [138], spasmolytiques [139], stimulants du phénomène respiratoire et hépatotoxicité [45], photomutagénique et phototoxique [133].

D'une manière générale, les préparations actuellement disponibles sur le marché ont des indications ou propositions d'emplois suivants :

- Traitement de symptômes en rapport avec l'insuffisance veino-lymphatique : jambes lourdes, paresthésie, crampes, douleurs et autres signes fonctionnels, œdèmes ou liés à la crise hémorroïdaire.
- Traitement des troubles de la fragilité capillaire et leurs expressions hémorragiques.
- Traitement de la brucellose en médecine vétérinaire.
- Traitement symptomatique de troubles digestifs, ballonnements épigastriques, lenteur à la digestion, éructation, flatulence et comme traitement adjuvant de la composante douloureuse des colites spasmodiques.

- Anticoagulants coumariniques, actuellement élaborés sur le modèle du dicoumarol.
- Agents protecteurs contre les pathologies des plantes.
- Agents protecteurs contre les radiations ultraviolettes. Les produits naturels tels que l'huile essentielle de bergamote sont autorisés comme des photodynamisants dans les produits solaires, cependant, ils augmentent le nombre de mélanocytes et accroissent la production de mélanine.

Les produits séparés des espèces du genre *Ruta* ou d'autres genres de Rutaceae ont plusieurs intérêts pharmacologiques que le tableau 3 résume clairement et succinctement.

Tableau [3] : Relation entre structure chimique et activité pharmacologique de quelques coumarines isolées de Rutaceae.

Coumarines	Effet pharmacologique	Réf.
Chalepensine	Antifertilisant	[126 , 125]
Bergaptol	Antifertilisant	[126]
Chalépine	Antifertilisant	[126]
Xanthotoxine	Antifertilisant, Spasmodique, contre la propagation des virus en utilisant l'ADN, Antibiotique, Ralentit la division cellulaire (mitotique), phototoxique, Antibactérien, PUVA thérapie, Inhibe la prolifération des lymphocytes	[126, 78, 136, 140,141,142,143, 144]
Rutamarine	Cytotoxique, Antispasmodique	[145,146]
Bergaptène	Spasmolytique Antibiotique Photomutagénique Phototoxique Anti-fertilisant Photo toxique	[78,147,136,148 ,125, 141]
Isoimpératorine	Spasmolytique Contre la propagation des virus en utilisant l'ADN	[3,4,78,82]

	Spasmolytique, Contre la propagation des virus en utilisant l'ADN, Provoque la contraction de l'utérus isolé, Erythème de la peau, Hyperpigmentation, Vérrucateuse, Photophyodermatites, Photomutagénie, Phototoxique, Contre les infections de la peau, vitiligo, psoriasis, Blocage de l'oxydation du glucose, Antifongique	[78,83,147,149,148,44,141,150]
Rutarine	Antibiotique	[136]
Chalipine	Antifertilisant	[126]
Impératorine	Photomutagénie, Phototoxique, Photophosphorilisation dans la mitochondrie, Inhibe la prolifération de lymphocytes	[148,151,144]
Bergaptène	Fongicide, Phototoxique, Photo dermatite, Diminue le cancer de peau	[152,153, 154,155]
Scopoletine	Antibactérien	[145]
Umbelliférol	Antibactérien, Blocage de la respiration et la phosphorilisation dans la mitochondrie, Mutagène	[142,156]
Coumarine	Mutagène	[152]
Herniarine	Antibactérien, Antifongique	[157, 142]
Osthol	Anticancéreux, Antifongique (agent protecteur)	[137]
4-Méthylasculetine	Anticancéreux	[137]
Xanthoxol	Anticancéreux	[137]
Séséline	Antifongique	[158]

Xanthyletine	Antifongique	[158,159]
Luvangetine	Antifongique	[158,159]
Ostruthine	Antimicrobien (G ⁺)	[160]
7-Méthoxycoumarine	Antimicrobien (G ⁻) Antifongique (agent protecteur)	[161, 157]

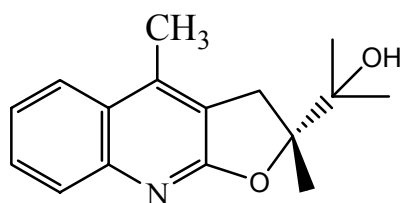
I. 3. 2. Les alcaloïdes

C'est le nom générique de substances azotées d'origine végétale, de structure souvent complexe et de poids moléculaire élevé. Ce sont des bases primaires, secondaires et tertiaires ou des hydrates d'ammonium quaternaires renfermant des noyaux hétérocycliques [50].

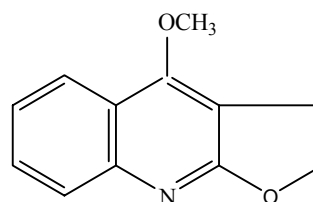
Les alcaloïdes constituent, à côté des coumarines, un second groupe de métabolites secondaires largement répandus dans la famille des Rutaceae et plus particulièrement dans le genre *Ruta L.* [13].

Parmi les métabolites de l'acide anthranilique, les quinolones et surtout les furo (2, 3-*b*) quinoléines sont abondantes dans les espèces du genre *Ruta L.* [14].

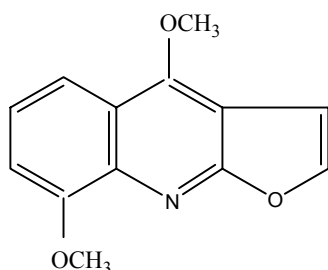
Les furo-(2,3-*b*)-quinoléines, dont la biogenèse met en jeu la substitution électrophile d'une quinolone par une unité isoprène activée suivie d'une cyclisation, sont très largement représentées chez les *Ruta L.* [17]. *Platydesmenium* **72**, présente dans les différentes parties de *R. graveolens* [161], reflète cette origine biogénétique. A partir de tels composés, une oxydation en position benzylique suivie d'une élimination acido-catalysée d'eau et d'acétone, permet l'aromatisation du noyau furane. Les furo-(2, 3-*b*)-quinoléines totalement aromatiques, telle que la dictamine **73**, la γ -fagarine **74** et la skimmianine **75**, constituent une série d'alcaloïdes ubiquistes dans la famille des Rutaceae [162].



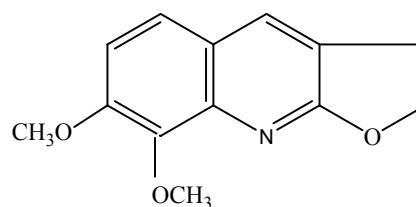
72 platydesmenium



73 dictamine

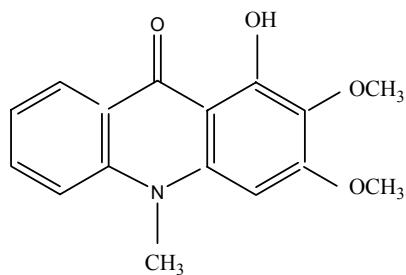


74 γ - fagarine

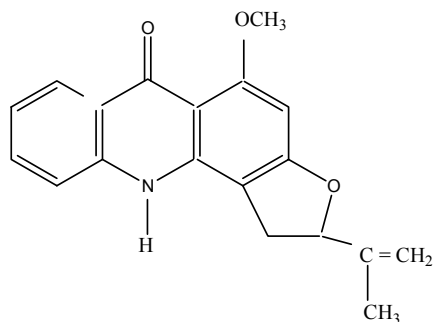


75 skimmianine

Les acridones, dont la biosynthèse met en jeu une unité anthranilique et trois unités acétates sont rencontrés uniquement dans la famille des Rutaceae. Nous pouvons citer, à titre d'exemple, l'arborinine **76** et la rutacridone **77** [163].



76 arborinine



77 rutacridone

L'étude bibliographique du genre *Ruta L.* a montré que ce dernier est très riche en alcaloïdes. Le tableau [4], ci-après, représente les produits isolés de quelques espèces du genre *Ruta L.* Les composés connus ont été identifiés par comparaison de leur constantes physiques et de leur données spectrales avec celles préalablement publiées [164].

Ulubelen a particulièrement étudié l'espèce *Ruta montana* ; cette étude a permis d'isoler un alcaloïde nouveau. Il s'agit de la montanine **78** [165]. Une étude chimique plus récente effectuée sur l'extrait chloroformique de la plante entière a révélé également la présence de quatre nouveaux alcaloïdes. Ces composés sont : 2-(nonan-8-one)-(1H)-4-quinolone **79** 2-(nonan-8-one)-4-méthoxyquinoline **80**, 2-(nonan-8-one)-N-méthyl-4-quinolone **81** et 2-(décane-9-one)-N-méthyl-4-quinolone **82** [170].

Tableau[4]: Alcaloïdes isolés de quelques espèces du genre *Ruta L.*

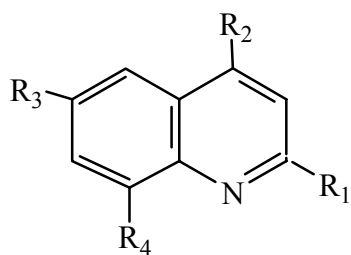
Espèce	Origine	Alcaloïde	Structure	Réf.
<i>R. angustifolia</i>	Espagne	Kokusaginine	<u>83</u>	[56]
		Skimmianine	<u>75</u>	
Arborinine		<u>76</u>		
	Espagne	Gravéoline	<u>86</u>	[12]
<i>R. bracteosa</i>	Espagne	Gravéoline	<u>86</u>	[59]
<i>R. chalepensis</i>	Espagne	Kokusaginine	<u>83</u>	[59]
		Skimmianine	<u>75</u>	
	Espagne	Kokusaginine	<u>83</u>	[167]
		Skimmianine	<u>75</u>	
		Arborinine	<u>76</u>	
		Dictamnine	<u>73</u>	
		Graveolinine	<u>87</u>	
	Rutacridone	<u>77</u>		
	Arabie Saoudite	Taifine	<u>88</u>	[168]
	Allemagne	Kokusaginine	<u>83</u>	[169]
		Skimmianine	<u>75</u>	
Graveoline		<u>86</u>		
Chaloridone		<u>91</u>		
Turquie	Kokusaginine	<u>83</u>	[66]	
	Skimmianine	<u>75</u>		
	Graveoline	<u>86</u>		
	Chaloridone	<u>87</u>		
Arabie Saoudite	Gravéolinine	<u>87</u>	[70]	
	Rutacridone	<u>77</u>		
	Gravéoline	<u>86</u>		
	Isogravacridone chlorine	<u>92</u>		
	Maculosidine	<u>84</u>		
Allemagne	Isotaifine	<u>89</u>	[71]	
	8- méthoxytaifine	<u>90</u>		

	Turquie	Kokusaginine Skimmianine Arborinine γ -fagarine Graveoline 3-hydroxygraveoline	<u>83</u> <u>75</u> <u>76</u> <u>74</u> <u>86</u> <u>98</u>	[170]
	Turquie	Gravéolinine 1-hydroxy-N- méthyl acridone	<u>87</u> <u>99</u>	[68]
	Arabie Saoudite	2-[6'-(2H-benzo[d] 1'',3'', dioxolen - 12'-5''- yl)hexyl.]-hydroquinolen -4- one -2-[6'-(2H-benzo[d] 1'',3'', dioxolen -5''- yl)hexyl-4-methoxy quinolone Dictamnine Rutacridone Isogravacridone chlorine Maculosidine Gravéoline Gravéolinine	<u>104</u> <u>105</u> <u>73</u> <u>77</u> <u>92</u> <u>84</u> <u>86</u> <u>87</u>	[70]
<i>R. graveolens</i>	Hongrie	Ribaliniume Rutaliniume N- platydesmine	<u>106</u> <u>107</u> <u>108</u>	[71]
		Ribaliniume	<u>106</u>	[171]
	Hongrie	Ribaliniume	<u>106</u>	[172]
	Allemagne	Skimmianine Dictamnine γ -fagarine Gravéolinine	<u>75</u> <u>73</u> <u>74</u> <u>87</u>	[173]
		Hongrie	Kokusaginine Skimmianine γ - fagarine	<u>83</u> <u>75</u> <u>74</u>

	Allemagne	Graveoline	<u>86</u>	[172]
		Graveolinine	<u>87</u>	
	Allemagne	2-[4-(3,4-metylenedioxyphenyl)butyl]-4-(1H)-quinolinone	<u>109</u>	[173]
	Allemagne	Rutacridone	<u>77</u>	[174]
	Hongrie	Kokusaginine	<u>83</u>	[175]
		Skimmianine	<u>75</u>	
		γ -fagarine	<u>74</u>	
		Arborinine	<u>76</u>	
	Hongrie	Arborinine	<u>76</u>	[78]
		γ -fagarine	<u>74</u>	
4-hydroxy-2,3-methoxy-N-methylacridone		<u>100</u> <u>110</u>		
N-méthylplatydesminium				
Hongrie	Rutaliniume	<u>107</u>	[164]	
	N-méthylpladesmine	<u>111</u>		
Ex-URSS	Skimmianine	<u>75</u>	[176]	
	Kokusaginine	<u>83</u>		
	γ -fagarine	<u>74</u>		
	Dictamnine	<u>73</u>		
Allemagne	Rutacridone	<u>77</u>	[177,178]	
	1-Hydroxy-N-methylacridone	<u>99</u>		
Allemagne	1-Hydroxy-N-methyle acridone	<u>99</u>	[179,180]	
	Canada	Kokusaginine	<u>83</u>	[95]
		Skimmianine	<u>75</u>	
		6-methoxydictamine	<u>85</u>	
		Edulinine	<u>112</u>	
	Bulgarie	Kokusaginine	<u>83</u>	[181]
		Graveoline	<u>86</u>	
	Ex. URSS	γ -fagarine	<u>74</u>	[182]
Rutacridone		<u>77</u>		
Allemagne	Rutacridone	<u>77</u>	[183]	

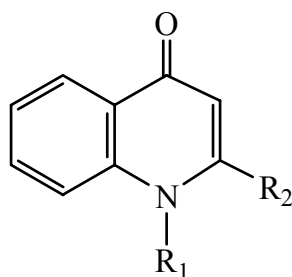
	Allemagne	1- hydroxy-3- methoxy-N- methyl acridone	<u>101</u>	[184]
		Isogravacridone chlorine	<u>92</u>	
	Hongrie	Gravacridonediol	<u>93</u>	[185]
		Gravacridonediol Glycoside	<u>94</u>	
	Allemagne	Gravacridonediol	<u>93</u>	[186]
		Gravacridonetriol	<u>95</u>	
	Ex. URSS	1-Hydroxy-3-methoxy- N- méthyl acridone	<u>101</u>	[187]
		Rutacridone	<u>77</u>	
		1-Hydroxy-N- méthylacridone	<u>99</u>	
	Hongrie	Rutacridone epoxide	<u>96</u>	[188]
		Gravacridonole	<u>97</u>	
	Allemagne	Hydroxyrutacridone epoxide	<u>113</u>	[189]
		1-Hydroxy-N-methyl- acridone	<u>99</u>	[98]
		Rutacridone	<u>77</u>	
		Rutacridone epoxide	<u>96</u>	
		Gravacridone chlorine	<u>114</u>	
		Hallacridone	<u>115</u>	
		Dictamnine	<u>73</u>	
		γ -fagarine	<u>74</u>	
		Skimmianine	<u>75</u>	
		Rutacridone epoxide	<u>96</u>	
Hallacridone	<u>115</u>			
	Allemagne	Rutagravine	<u>116</u>	[190]
		hydroxyrutacridone epoxide	<u>113</u>	
		Gravacridonol	<u>97</u>	

	Allemagne	Gravacridonediol acetate	<u>117</u>	[191]
		Gravacridonetriol	<u>95</u>	
		Gravacridonediol	<u>93</u>	
		Rutacridone	<u>77</u>	
		Rutacridone époxide	<u>97</u>	
		1-Hydroxy-N-méthylacridin-9 (1OH) – one	<u>102</u>	
	Allemagne	Isogracridone chlorine	<u>92</u>	[192]
	France	Ribaliniume	<u>106</u>	[193]
		Rutaliniume	<u>107</u>	
		Platydesminiume	<u>72</u>	
		Rutacridone époxide	<u>97</u>	
		Rutacridone	<u>77</u>	
		Hallacridone	<u>113</u>	
		1-Hydroxy-N- methyl – 9(10H)- acridone	<u>103</u>	
	1- Hydroxy –3-methoxy- N-methyl9(0H) acridinone			
	Pologne	Kokusaginine	<u>83</u>	[194]
		Skimmianine	<u>75</u>	
	Espagne	Arborinine	<u>76</u>	[195]
<i>R. montana</i>	Turquie	3-Hydroxyqui-2- noline	<u>118</u>	[196]
		Montanine	<u>78</u>	[165]
	Maroc	1-methyl-4- methoxy-2- quinolone	<u>119</u>	[166]
		Evolitune	<u>120</u>	
2-(nonan-8- one)-(1H)-4- quinolone		<u>79</u>		
2-(nonan-8- one) –4- methoxy- quinoline		<u>80</u>		
	2- (nonan-8- one) –N- methyl-4- quinolone	<u>81</u>		
	2-(decan-9- one) -N- methyl-4- quinolone	<u>82</u>		



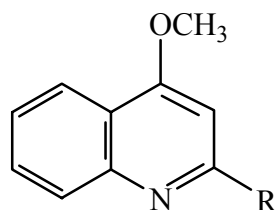
78 $R_1 = R_2 = OCH_3$

$R_3 = R_4 = H$

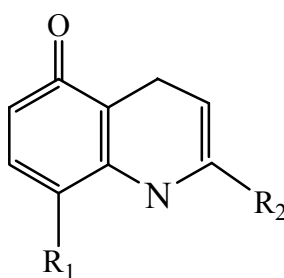


79 $R_1 = H$

$R_2 = (CH_2)_7COCH_3$



80 $R = (CH_2)_7COCH_3$

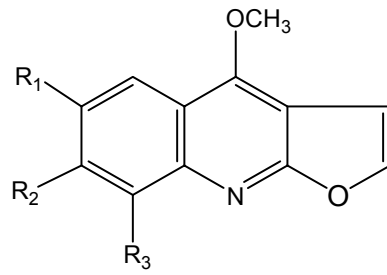


81 $R_1 = CH_3$

$R_2 = (CH_2)_7COCH_3$

82 $R_1 = CH_3$

$R_2 = (CH_2)_8COCH_3$



83 $R_1=R_2=OCH_3$

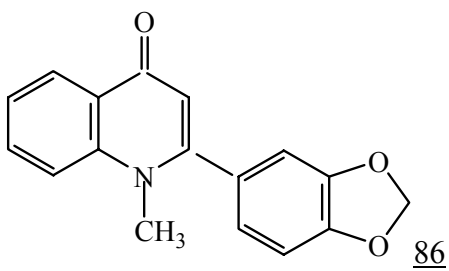
$R_3=H$

84 $R_1=R_3=OCH_3$

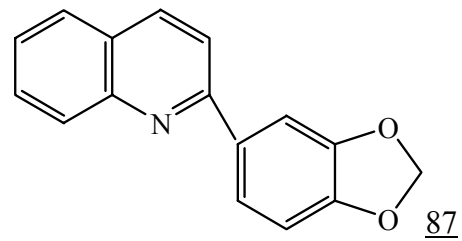
$R_2=H$

85 $R_1=OCH_3$

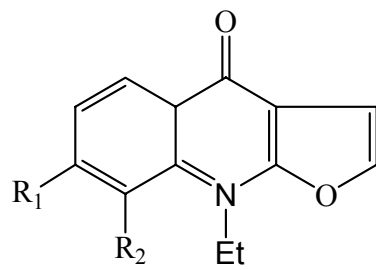
$R_2=R_3=H$



86



87



88 $R_1=OCH_3$

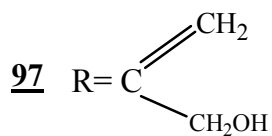
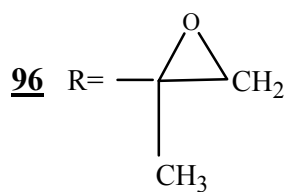
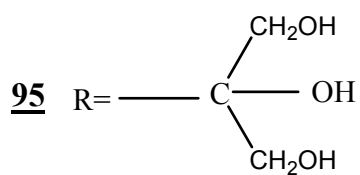
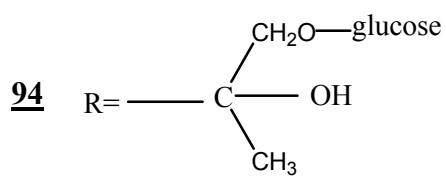
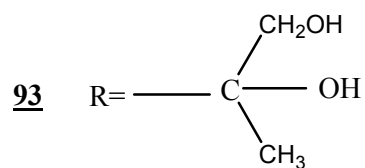
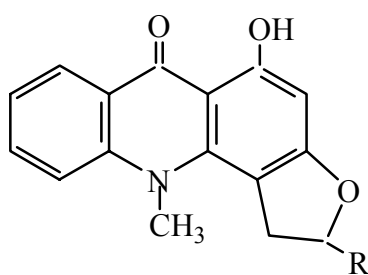
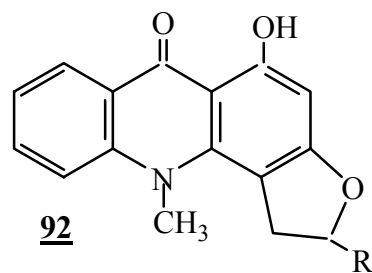
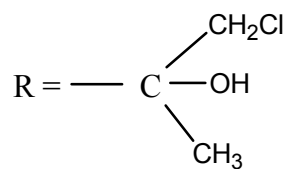
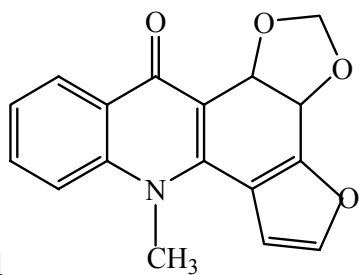
$R_2=H$

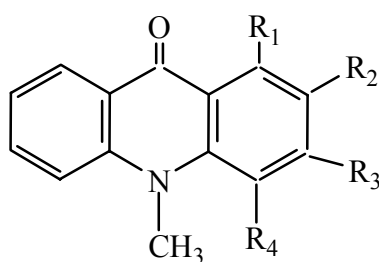
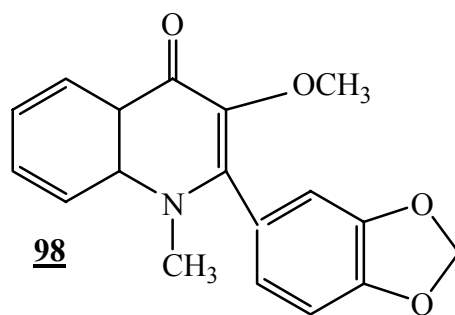
89 $R_1=H$

$R_2=OCH_3$

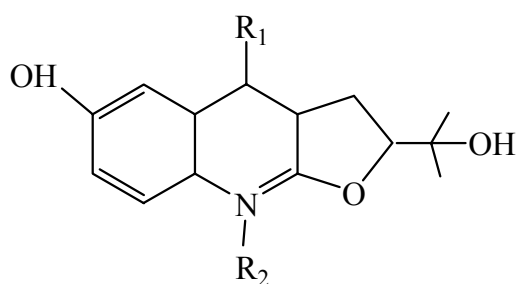
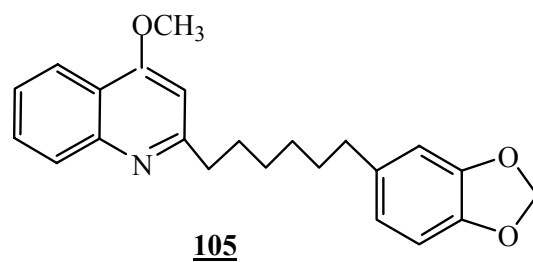
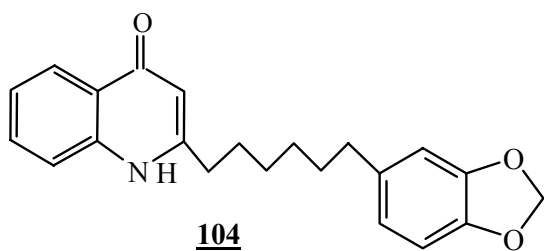
90 $R_1=OCH_3$

$R_2=OCH_3$



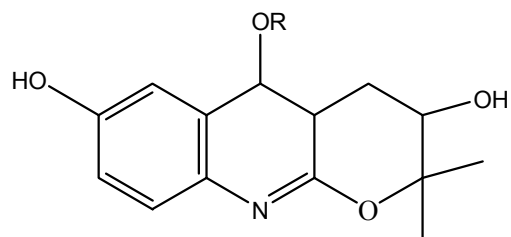


- | | | |
|------------|---|--|
| <u>99</u> | R₁ = OH | R₂ = R₃ = R₄ = H |
| <u>100</u> | R₁ = H
R₄ = OH | R₂ = R₃ = OCH₃ |
| <u>101</u> | R₁ = OH | R₃ = OCH₃ |
| <u>102</u> | R₁ = OH | R₂ = R₃ = R₄ = H |
| <u>103</u> | R₁ = OH
R₃ = OCH₃ | R₂ = R₄ = H
R₄ = H |

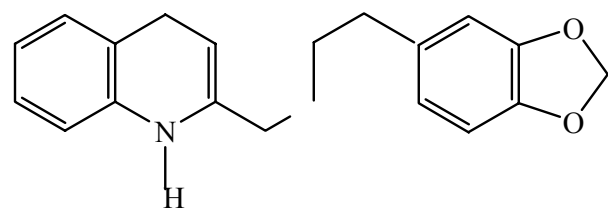
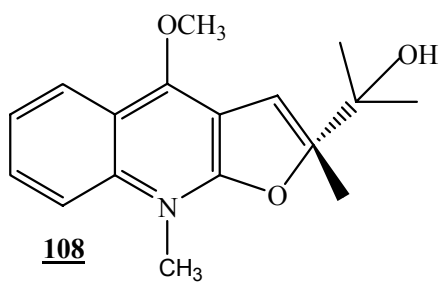


106 $R_1 = H$

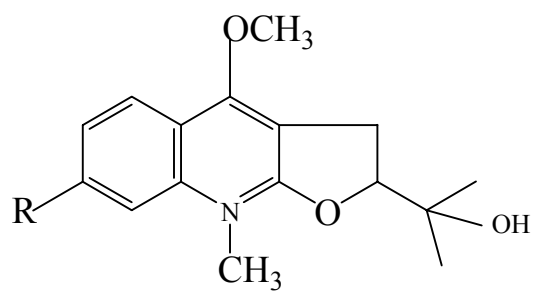
$R_2 = OCH_3$



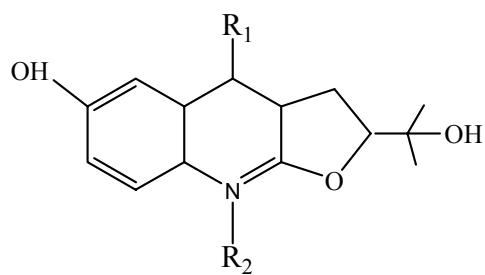
107 $R = CH_3$



109

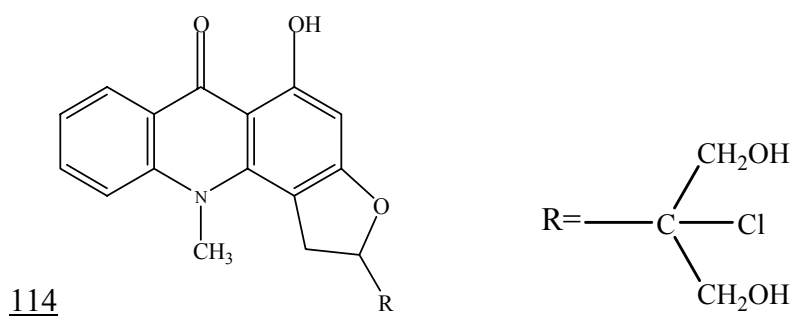
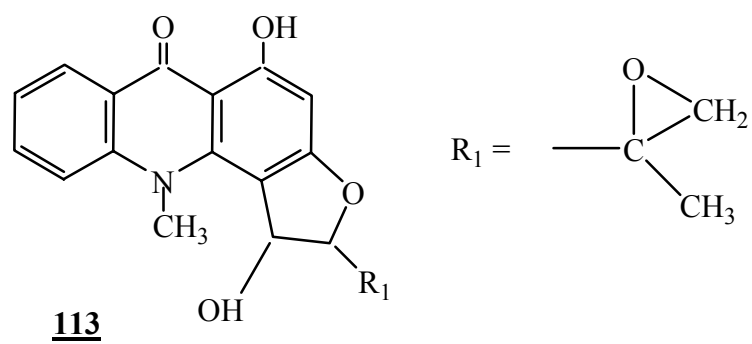
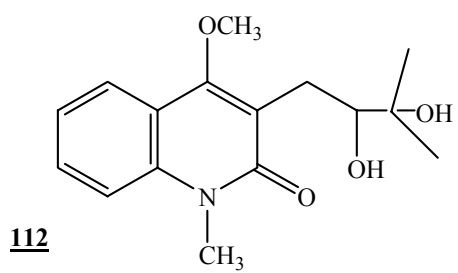


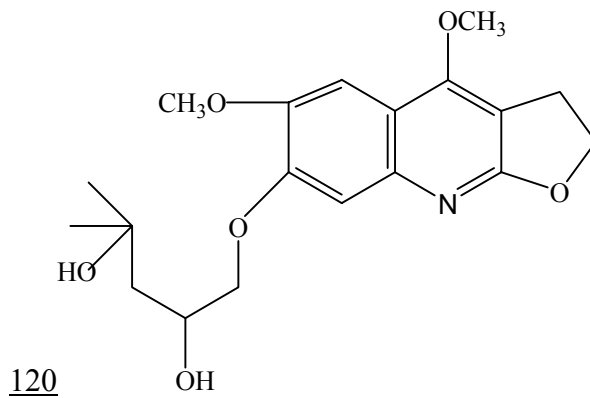
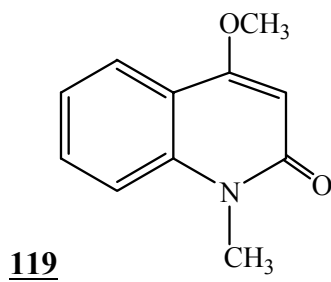
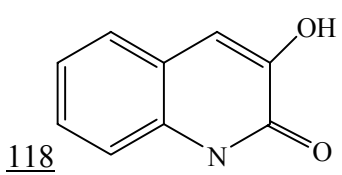
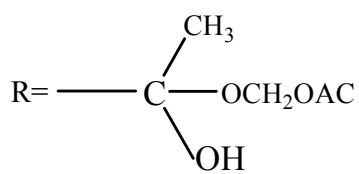
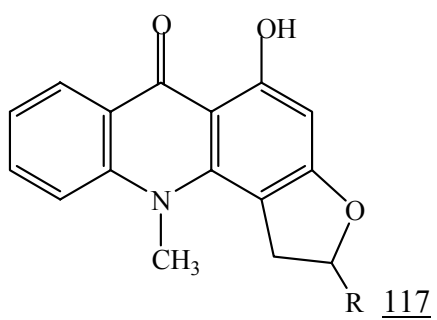
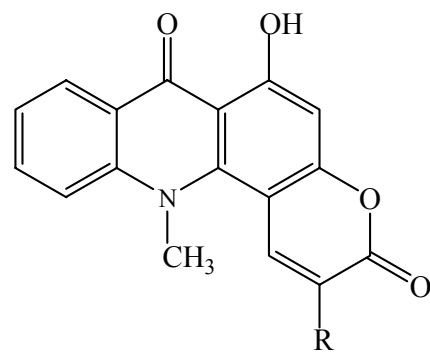
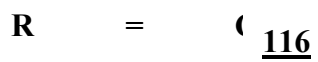
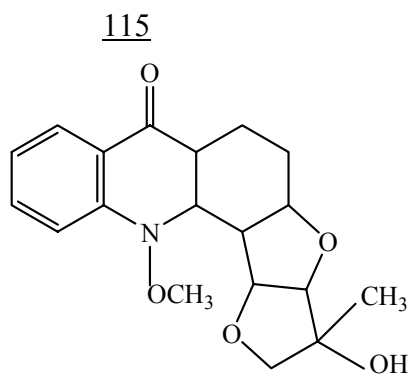
110 $R=H$



111 $R_1 = OCH_3$

$R_2 = CH_3$





Intérêts pharmacologiques des alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances particulièrement intéressantes pour leurs activités pharmacologiques dans les domaines les plus variés : SNC, SNA (sympathique et parasympathique), cardio-vasculaire, anesthésie, tumeurs, maladies parasitaires,...etc [44,197,198].

Ils agissent au niveau du système nerveux central qu'ils soient dépresseurs (exp : morphine, scopolamine ;...) ou stimulants (strychnine, caféine) [199] ou au niveau du système nerveux autonome sympathomimétique (éphédrine) ou sympatholytique (yohimibine) certains alcaloïdes de l'ergot de seigle, parasymptomimétiques (ésérine, pilocarpine...) anticholinergiques (atropine, hyoscyamine,...), ganglioplégiques (spartéine ; nicotine).

D'autres ont des propriétés anesthésiques locales (cocaine), antiflorillantes (quinidine), antitumorales (vinblastine, ellipticine,...), antipaludiques (quinine), amoebicides (émétine) [17,200].

Les Rutaceae sont riches en alcaloïdes [11] telles que dans les espèces *R. angustifolia* [12], *R. chalepensis* [9] et *R. graveolens* [176]. Ces composés possèdent des activités pharmacologiques très importantes. En effet, les diverses fractions de l'extrait de *R. graveolens*, de même que les composés isolés, ont fait l'objet de tests biologiques relatifs à l'activité spasmolytique. Ces tests ont montré que la dictamnine **73**, la γ -fagarine **74**, la skimmianine **75** et la kokusagénine **83** sont actives sur les rats et les porcs de Guinée [7]. En plus, la rutacridone époxyde **109** et l'hydroxyrutacridone époxyde **111** possèdent une activité antimicrobienne intéressante comparée avec celle de l'éthacridone lactate utilisée en médecine [136].

Les alcaloïdes isolés des espèces du genre *Ruta* présentent des intérêts pharmacologiques que le tableau [5] résume clairement.

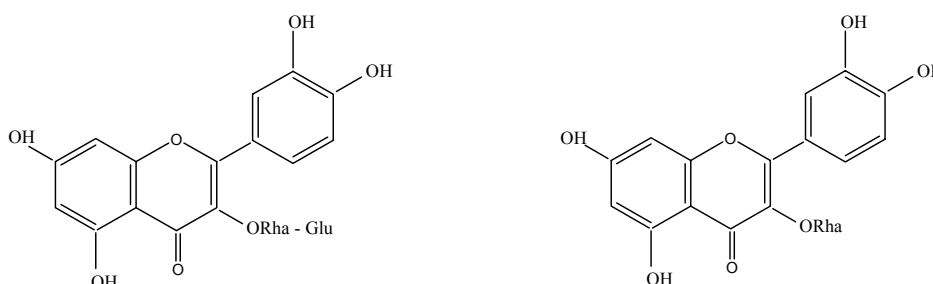
Tableau[5] : Relation entre structure chimique et activité pharmacologique de quelques alcaloïdes.

Alcaloïde	Activité	Réf.
Dictamine	Spasmolytique Antibactérienne Mutagénique Photomutagenecité Photo toxicité	[202,136,148]
γ -fagarine	Spasmolytique Mutagénique Provoque les échanges entre les chromatides homologue Photomutagenecité Phototoxicité	[201,76,175,80,136,202,203,148]
Skimmianine	Spasmolytique Propagation des virus de DNS Mutagénique	[201,76,175]

	Photomutagenecité Phototoxicité	
Kokusaginine	Spasmolytique Mutagénique	[201,76,175]
Arborinine	Spasmolytique Propagation des virus de DNS Inhibition de l'acétyl-β- méthyle choline : responsable de la contraction des grandes artères	[76,80,200,146]
1-Hydroxy-2,3- diméthyl-N- méthylacridone	Spasmolytique	[175]
4-Hydroxy-2,3- diméthoxy-10- méthylacridone	Spasmolytique Propagation des virus de DNS	[80]
Rutacridone epoxide	Antibactérienne Mutagénique	[136,193,204]
Hydroxyrutacridone epoxide	Antibactérienne	[136]
Arborinine	Antispasmodique Inhibition de l'acétyl - β - méthyle choline	[205]
Pteleine	Mutagénique	[203]
Rutacridone	Mutagénique	[191,205]
Isogravacridone chlorine	Mutagénique	[191,192]
Rutamarine	Antispasmodique	[146]

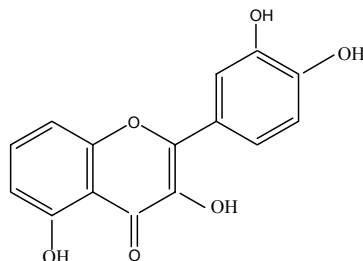
I. 3. 3. Les flavonoides

On trouve chez les *Ruta L.*, des flavonoides glycosylés appartenant en particulier aux groupes des flavones comme la Rutine 121, et la quercétrine 122, toutes deux largement répandues chez les Rutaceae. Leur mode de substitution oxygénée rappelle leur biogénese, issue d'une unité cinnamique, à l'origine des atomes de carbone des cycles B et C et de trois unités acétiques à l'origine du cycle A, pratiquement toujours porteur d'atomes d'oxygène en position 5 et 7.



121 rutine**122** quercétrine

Les flavonoïdes non glycosylés portent souvent des substituants oxygénés supplémentaires sur le cycle A, comme en témoigne le quercétol **123** isolé du *Ruta graveolens* [206]. Le tableau [6] ci- après, résume les flavonoïdes isolés du genre *Ruta* L.

**123** quercétol**Tableau [6] Flavonoïdes isolés de quelques espèces du genre *Ruta* L.**

Espèce	Origine	Flavonoïde	Structure	Réf.
<i>R. chalpensis</i>	Turquie	Rutine	121	[207]
<i>R. graveolen</i>	Pologne	quercétrine	123	[208]
	Pologne	Rutine	121	[209]
<i>R. montana</i>	Turquie	Rutine	121	[210, 211]

Intérêts pharmacologiques des flavonoïdes

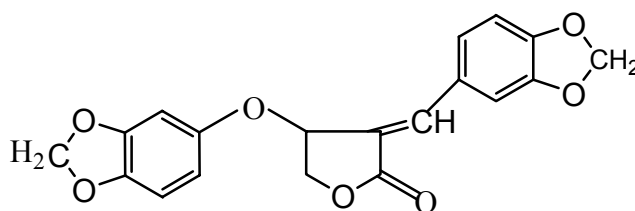
Les flavonoïdes sont essentiellement des médicaments de l'insuffisance veineuse, leur action se situe au niveau des petites veines ou des capillaires action vitaminique p. Ce sont des toniques veineux et des protecteurs capillaires [212]. L'administration de 25 –100mg/kg d'acacétine réduit la fragilité des capillaires [213]. Quant au flavones, ils possèdent une action de dilatation de coronaires [214].

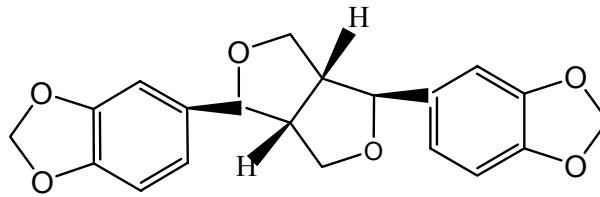
Ainsi, il a été prouvé que les anthocyanines ont une activité anticancéreuse, réduisant la fatigue oculaire, contrôlent le diabète, améliorent la circulation sanguine [215] etc...

Ils sont également des composés toxiques tel la rétenone, flavonoïde complexe extrait de légumineuses tropicales qui ont des poisons classiques, très puissants et très sélectifs de la respiration mitochondriale [44].

I. 3. 4. Les lignanes

Les lignanes sont issus du couplage oxydatif intramolécule de deux unités phénylpropanoïques issus du métabolisme cinnamique. La savinine **124** et la saventinine **125**, deux composés isolés du *R. graveolens* [207], illustrent cette catégorie de métabolites.

**124** savinine



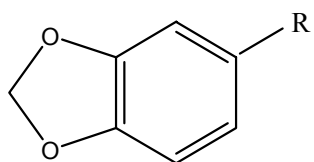
125 saventinine

Les lignanes possèdent des propriétés biologiques intéressantes [215] telles que :

- Inhibition d'enzymes, en particulier de la phosphodiesterase de l'AMPC (Adenosine Monophosphate cyclique) et des enzymes de la chaîne respiratoire.
- Activité antihypertensive du bis-D-glucoside de (+)-pinorésinol.
- Activité antimitotique, hépatoprotectrice et antivirale.

I. 3. 5. Autres dérivés trouvés dans le genre *Ruta*

- Des dérivés des esters (acide propanique, acide isobutyrique, acide méthylbutyrique, acide isovalérique).
- Des acides gras (palmitique, oléique, linoléique).
- Des lipides.
- Des limonoïdes [102, 216].
- Les substances suivantes ont été également isolées de certaines *Ruta* : des dérivés de l'acide schikimique : moskachan A, B, C, D ; **126**, **127**, **128**, **129** et Déhydromoskachan C **130** chalepimoscachan **131**.
- Saponines [217].



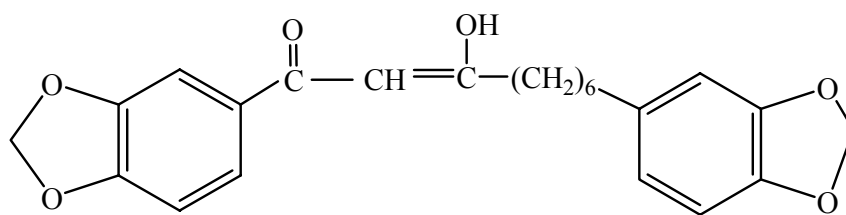
126 R=CO-Me

127 R=CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-CO-Me

128 R=CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-CHOH

129 R=CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-CO-Me

130 R=(CH₂)₄CH=CH₂



131

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Durande, **1782**, *Notions Elémentaires de Botanique*, 284.
- [2] De Jussieu A.L., **1789**, *Genera Plantarum*, 296.
- [3] Cronquist A., **1988**, *The Evolution , Classification of Flowering Plants, 2nd Ed.*, The New York Botanical Garden, New York, 555.
- [4] Reveal J.L., *Plant Taxonomy*, Department Of Plant Biologic, University of Maryl., [http://www.inform Umd.edu/Ed Res/colleges/ LFS/life sciences/plant biology/pb 250](http://www.inform.Umd.edu/Ed Res/colleges/ LFS/life sciences/plant biology/pb 250).
- [5] Heywood V.H., 1996, *Les plantes à Fleurs*, Ed. Nathan, Paris
- [6] **Ozenda P., 2000, *Les Végétaux : Organisation et diversité biologique*, Ed. Dunod 425.**
- [7] Goskowicy M.O., Friedlander M.O. Eichenfield L.F., **1994**, Endemic « lime » disease : phytodermatitis in San Diaego Country, V. 93, 830.
- [8] Ulubelen A., **1985**, *Phytochemistry*. 24(2), 372.
- [9] Ulubelen, A., Güner, H., Çetindag, M., **1988**, *Planta.Med.*, 27(2), 650
- [10] Gray A.I, **1983**, in: *Chemisty, Chemical Taxonomy of The Rutales*, 146, Academic Press.
- [11] Gonzalez G.A., Rodriguez F.L., **1971**, *Herba. Hung.*, 10(2-3), 95
- [12] Juan B., Del Castillo F. R., Migel. S., **1984**, *Phytochemistry*, (23), 2095.
- [13] Mohr N., Budzi k.H., El-Tawil B.A.H., **1982**, *Phytochemistry*, 7(9), 1838
- [14] Petit-Play G., Rideau M., Chenieux J.C., **1982**, *Etude de Quelques Rutacées à Alcaloïdes-Ruta Graveolens* : Revue Botanique, Chimique et Pharmacologique (Etude particulière des alcaloïdes quaternaires quinoleïques). Plantes médicinale et phytothérapie. Tome XVI (1), 72.
- [15] François C.D. et Niestlé S.A., **2000**, *Dictionnaire Etymologique de Botanique*, Ed. Lausanne (Switzerland), Paris.
- [16] Clevely A., Richmond K., **1997**, *Plantes Et Herbes Aromatiques, Connaître Et Préparer*, Larousse Paris.
- [17] Weterman P.G., Grundon M.F., **1983**, *Chemistry, Chemical Taxonomy Of The Rutales*, Academic Press London–New York.
- [18] Guy D., **1967**, *Organisation Et Classification Des Plantes Vasculaires*, Société d'édition d'enseignement supérieur, Paris 5.

- [19] Rodolphe E.S., Savolainen V.V., Figeat M., **2000**, *Botanique Systématique Des Plantes à Fleurs*, Presses polytechniques et universitaires, Ed Romandes.
- [20] Bossard R. et Cuisance P., **1981**, *Arbres Et Arbustes D'ornement Des Régions Tempérées Et Méditerranéennes*, Paris, France.
- [21] Quezel P. et Santa S., **1963**, *Nouvelle Flore De l'Algérie Et Des Régions Désertiques Méridionales*, vol. 1-2 Ed.CNRS, Paris, France.
- [22] Bezanger B.L., Pinkas M., Torck M., **1986**, *Les Plantes Dans La Thérapeutique Moderne*, 2^{ème} Ed.
- [23] Bezanger B.L., Pinkas M., Torck M., **1976**, *Les Plantes Dans La Thérapeutique Moderne*, Maloine, Paris.
- [24] Rubin M., **1988**, *Que Sais-Je? Phytothérapie*, 1^{ère} Ed., Presses universitaires de France
- [25] Cousin P., **1999**, *La Grande Encyclopédie De La Nature*, Ed., Bordas, Paris / Montréal 216.
- [26] Ernes S., **1995**, *Arbres, Arbustes Et Arbrisseaux en Algérie*, Offices des publications universitaires-Alger-Ed., 686.
- [27] Pages infinit. Net/belber/annehtm/Ruta.htm-6k
- [28] Boukej M.K.,**1986**, *Médecine Traditionnelle Et Pharmacopée, Les Plantes Dans La Médecine Traditionnelle Tunisienne*, agence de coopération culturelle et technique, Paris, France.
- [29] Lauk L., Mangaro k., Raspisardo A., Bagusa S., Maiolino L., Musumeci R., Costenzo R., Serra A., **2004**., *J. Ethnoph.Eco.* 29, 6.
- [30] Mansour S.S., Tarik M.Y., Rafatullah M.A.S., Ginawi O.T., Ageel A.M.,**1990**, *J.Ethnoph.* 28, 305.
- [31] Charnot, **1945**, *La toxicologie Au Maroc, mémoire de la Science Naturelle du Maroc* Robat. N° :XLVII 826.
- [32] Ghazanfar S.A, **1994**, *Handbook of Arabian Medicinal Plants*, CRC, Press : Boca, Raton, France 190.
- [33] Kirtikar K.R., Basu B.D., **1984**, *Indian Medicinal Plants*, Ed. loit Bassu Mohan, Alla hadad, India, 690, 1173.
- [34] Ageel A.M, Al-Yahya M.A, Tariq M., Al-Said M.S. Khatibi. A., Angray A., **1987 a**, *The Experimental Evaluation Of Saudi Folk Medicine*, Report 6-8.
- [35] Mossa J.S., Al-Yahya M.A, Al-Meshal I.A, **1987**, *Medicinal Plants In Saudi Arabia*, Ed. libraires Riyadh 95.

- [36] FrontQuer P., **1962**, *Plantes Médicales El Discorides Renovado*, Ed Hebon S.A Barcelona, 426.
- [37] Forment M., Roques H., **1941**, *Répertoire des plantes médicinales et aromatiques d'Algérie*, Ed. OFALAC, 59.
- [38] Debelmas A. M., Delaveau P., **1983**, *Guide des plantes dangereuses*, Ed. Maloine S. A., Paris, France.
- [39] Aldo P. **1982-1988**, *Fleurs Et Plantes Médicinales*, Ed. Delachaux et Niestlé, Neuchâtel, Suisse.
- [40] Schulz H., **1956**, *Vorlesunger Uber Wukung Und anwendung Des Deutchem Argnerpflezen*, vol 4 Kailf, Haug, Ulm Donau.
- [41] Leclerc H, **1966**, *Précis Phytothérapie*, 5th Ed., Masson, Cie, Paris, France.
- [42] Ortiz A., Georges F. **1988**, *Fr.demande*.
- [43] Devon T.K., Scott A.I. **1975**, *Handbook Of Naturally Occuring Compounds*, Vol. I, Academic press, New York.
- [44] Bruneton J., **1999**, *Pharmacognosie, Photochimie Des Plantes Médicinales*, 3^{ème} Ed., Technique et Documentation Lavoisier, Paris 230.
- [45] Gray A.I., Wataman P.G., **1978**, *Phytochemistry*, 17, 845.
- [46] Murray R.D.H. **1975**, *Aromatic, Heteroaromatic Chemistry, Chemical Society Specialist Periodical*, Report, (3), 436.
- [47] Murray R.D.H. **1963**. *In Naturally Occuring Plants Coumarins*, Butterworth, London, 203.
- [48] Dean F.M., **1963**, *Naturally Occuring Oxygen Ring Compounds*, Butterworths, London,167.
- [49] Bernfled P., **1963**, *Biogenesis Of Natural Compounds*, Ed. Pergamon Press, Oxford, London, New York, Paris, 568.
- [50] Richter G., **1993**, *Métabolisme des Végétaux, Physiologie et Biochimie* 5^{ème} Ed. Lausanne 339.
- [51] Stewart A.B. **1979**, *Planta.Med.*, 36(4), 299.
- [52] Heller R. **1969**, *Biologie Végétale Tome II: Nutrition et Métabolisme*, Ed. Masson, Paris.
- [53] Guignard J.L. **1979**, *Abrégé de Biochimie Végétale*, Ed. Masson, Paris, New York, Barcelone, Milan.

- [54] Gonzalez A.G., Diazchico E., Lopez D.H., Luis F.R., Rodriguez L.F., **1977**, *An.Quim.*, 73(3), 430.
- [55] Esteves R.R., Gonzalez G.A., **1966**, *An. R.. Soc. ESP. Fis. Quim. Ser.*, 62(9-10), 98.1
- [56] Trevor R. **1991**, *The Organic Constituents of the Higher Plants*, 6th Ed. Cordus Press North Amherst.
- [57] Gonzalez A.G., Lopez D.H., Diaz C.E., Rodriguez L.F., **1982**, *An .Quim. Ser. C.*, 78(2), 268.
- [58] Borges D.J., Rodriguez L.F., Secundino L.F., **1987**, *An. Quim. Ser. C.* 83(1), 15.
- [59] Gonzalez A.G., Estevez R.R., Diaz C.E.,**1974**, *An. Quim.* 70(3), 281.
- [60] Brooker R.M, Eble J.N., Starkovsky N.A., **1967**, *Lloydia* 30(1), 73.
- [61] Gonzalez G.A., Lopez D.H., Melian R.M., Rodriguez L.F., **1974**, *An. Quim.*, 70(1), 60.
- [62] El-Berh F.K., El-Tawil B.A.H., Baghlaf A.O., **1981**, *J. Chim. Chem.*, 28(4), 237.
- [63] Ezmirly S.T., Wilson S.R. **1980**, *J. Chem. Sac. Pak.* 2(22), 55.
- [64] El-Tawil B.A.H., Bahlaf A.O., Barbood S.O. **1980**, *Pharmazie*, 35(8), 503.
- [65] Fischer H., Roemer A., Ulbrich B., Arens H., **1988**, *Planta Med.* 54(5), 398.
- [66] Ulubelen A., Terem B., **1988**, *Phytochemistry*, 27(2), 650.
- [67] Ulubelen A., Terem B., Tuzlaei E., Cheng K.F, Kong Y.C., **1986**, *Phytochemistry*, 25(11), 2692.
- [68] Ulubelen A., Tan N., **1990**, *Phytochemistry*, 29(12), 3991.
- [69] Amaral M.T., Proenca C.A., **1989**, *Revista Portuguesa de Farmacia.* 39(3), 21.
- [70] El-Sayed K., Al-Said M.S., El-Feraly F.S., Ross S.A. **2000**, *J. Nat. Prod.*, 63(7), 995.
- [71] Szendrei K., Reisch J., Minker E., Novak I., **1969**, *Herba Hung.*, 8(1-2), 133.
- [72] Reisch J., Szendrei K., Minker E., Novak I., **1969**, *Planta Med.*, 17(2), 116.
- [73] Reisch J., Novak I., Szendrei K., Minker E., **1968**, *Planta Med.*, 16(4), 372.
- [74] Reisch J., Szendrei K., Minker E., Novak I., **1968**, *Experientia.*, 24(10), 992.
- [75] Reisch J., Szendrei K., Minker E., Novak I., **1968**, *Tetrahedron lett.*, 41, 4395.
- [76] Novak I., Buzas G., Minker E., Koltai M., Szendrei K., **1966**, *Sci. Pharm. Proc.*, 25, 1331.

- [77] Reinhard E., Corduan G., Volk O.H., **1968**, *Planta Med.*, 16(1), 8.
- [78] Novak I., Szendrei K., Brizas G., Minker E., Koltai M., **1967**, *Acta Pharm. Hung.*, 37(5), 131.
- [79] Reisch J., Novak I., Szendrei K., Minker E., **1967**, *Acta. Pharm. Suec.*, 4(2), 179.
- [80] Novak I., Buzas G., Minker E., Kolttai M., Szendrei K., **1967**, *Acta. Pharm. Hung.*, 37(3), 131.
- [81] Scheider G., Mueller H., Pfaender P., **1967**, *Arch. Pharm. Ber.*, 300(1), 73.
- [82] Reisch J., Novak I., Szendrei K., Minker E., **1966**, *Pharmazie*, 21(10), 628.
- [83] Novak I., Buzas G., Minker E., Kolttai M., Szendrei K., **1966**, *Planta Med.*, 14(2), 151.
- [84] Varga E., Szendrei K., Merhom Y., Novak I., Reish J., **1974**, *Herba. Hung.*, 13(1-2), 39.
- [85] Andon T.M., Denisova G.A., **1974**, *Rastit. Resur.*, 10(4), 528.
- [86] Varga E., Szendrei K., Novak I., Reish J., **1974**, *Acta. Pharm. Hung.*, 44 suppl. 36.
- [87] Gonzalez G.A., Lopez D.H., Melian R.M., Rodriguez L.F., **1974**, *An. Quim.* 70(1), 60.
- [88] Andon T.M., Belova N.V., Denisova G.A., **1972**, *Herba. Hung.*, 11(2), 21.
- [89] Brown S.A., Steck W., **1973**, *Phytochemistry*, 12(6), 315.
- [90] Kuzovkina I. N., Kuznetsova G.A., Smirnov A.M., **1971**, *Herba. Hung.*, 10(2-3), 39.
- [91] Reisch J., Szendrei K., Novak I., Minker E., **1972**, *Magy. Kem. Foly.*, 78(1), 6.
- [92] VonBrocke W., Reinhard E., Nicholson G., Koenig W.A., **1971**, *Z. Naturforsch B*, 26(12), 1252.
- [93] Novak I., Reisch J., Szendrei K., Minker E., Buzas G., Kolttai M., **1970**, *Zh., Biol. Khim.*, 343.
- [94] Steck W., Bailiy B.K., Shyluk J.P., Gamborg O.L., **1971**, *Phytochemistry*, 10(1), 191.
- [95] Hoesen J.P., Zum Vording J.G., Kho K.F.F., **1971**, *Planta Med.*, 19(3), 285.
- [96] Varga E., Szendrei K., Novak I., Sohar P., Howath G.Y., **1976**, *Fitoterapia*, 47(3), 107.
- [97] Baumert A., Groeger D., Schmidht J., Kuzovkina I.N., Mrugge C., **1988**, *Fitoterapia*, 59(2), 83.
- [98] Yaacob K.B., Abdullah C., Joulain D., **1989**, *J. Essential Oil Research*, 1(5), 203.
- [99] Roza Z., Mester I., Reisch J., Szeindrei K., **1985**, *Planta Med.*, (6), 515.

- [100] Zobel A.M., Brown S.A., **1993**, *Can. J. Bot.*, 71(7), 966.
- [101] Ekiert H., Chaloniowska M., Gomolka E., **2001**, *Biot. Lett.*, 23(7), 543.
- [102] Srivastova S.D., Srivastova S.K., Halive K., **1998**, *Fitoterapia*, 1, 80.
- [103] Sepulveda A., Viguera L.J., Sanchez P.J. **1973**, *An. Quim.*, 69(3), 365.
- [104] Kuffner F., Nikiferov A., Schulz G., **1973**, *Montash. Chem.*, 104(4), 911.
- [105] Sepulveda A.J., Viguera L.J., Sanchez P.J., **1974**, *An. Quim.*, 70(12), 1022.
- [106] Borges D.J., Rodriguez L.F., Rodriguez U.J.C., Secundino L.M., **1985**, *Latinoam. Quim.*, 16(1), 15.
- [107] Abyshev A.Z., Gindin V.A., Kerimov Y.B., Ismailov E.S., Agaev E.M., Isaev N.Y. **1992**, *Khim. Priro. Soed.*, (3,4), 438.
- [108] Agullo M.E, Buton F.J.L., Gonzalez G.A., Rodriguez L.F., **1969**, *An. Quim.*, 65(9-10), 809.
- [109] Gonzalez G.A., Rodriguez L.F., **1966**, *An. Soc. Esp. Fis. Quim. Ser. B.*, 62(6), 775.
- [110] Gonzalez G.A., Estevez R.R., Jaraiz I., **1972**, *An. Quim.*, 68(4), 415.
- [111] Esteves R.R., Gonzalez G.A., **1972**, *Farm. Nirevo.*, 37(430), 930.
- [112] Gonzalez G.A., Estevez R.R., Baez A.J., **1975**, *An. Quim.*, 71(9-10), 842.
- [113] Estevez R.R., Gonzalez G.A., **1968**, *An. Quim.*, 64(6), 641.
- [114] Estevez R.R., Gonzalez G.A., **1969**, *An. Quim.*, 65(1), 91.
- [115] Gonzalez G.A., Estevez R.R., Baez A.J., Ruano P.T., **1973**, *An. Quim.*, 69(11), 1141.
- [116] Estevez R.R., Gonzalez G.A., **1972**, *Farm. Nueva*, 37, 729.
- [117] Estevez R.R., Gonzalez G.A., **1970**, *Phytochemistry.*, 9(4), 833.
- [118] Gonzalez G.A., Estevez R.R., Rivero E.M. **1977**, *Phytochemistry*, 16(12), 2033.
- [119] Soine T.O., **1964**, *J. Pharm. Sci.*, 53, 231.
- [120] Feuer G., **1974**, *Prog. Med. Chem.*, 10, 85.
- [121] Grawron A., Glow M., **1987**, *Planta Med.*, 526.
- [122] O'Neal M.A., Guffin A.C., **1957**, *Cancer. Res.*, 17, 94.

- [123] Ohta T., Watanabe K., Moriya M., Shirasu Y., Kada T., **1983**, *Mutat. Res.*, 117, 135.
- [124] Thornes R.D., Lynch G., Shechan M.V., **1983**, *In .Med. J.*, 76, 53.
- [125] Kong Y.C., Lau C.P., Wat K.H., Ng K.H., But D.P.H., Cheng K.F., Waterman P.G., **1989**, *Planta Med.*, 55(2), 176.
- [126] Ulubelen A., Ertugrul L., Brman H., Yigit R., Erseven G., Olge V., **1994**, *Phytoth. Res.*, 8(4), 233.
- [127] Birch A.J., **1966**, *Chem. Ind. J.*, 27, 1173.
- [128] Degree J.A, Vansumere C.F., **1966**, *Arch. Int. Physiol. Biochem.*, 74(3), 512.
- [129] Knyl J.S., **1963**, *Lond.2000.*, 800.
- [130] Best R.J., Arestral J., **1944**, *Exptl Biol. Med. Sci.*, 22, 251.
- [131] Mors W.B. Reibero O., **1957**, *J. Org. Chem.*, 22, 978.
- [132] Schemmer O.R., Beck R., Dietz T., **1980**, *Planta Med.*, 40, 68.
- [133] Dall'acqua F., Marciani S., Vedaldi D., Rodighiero G. **1974**, *Z.Naturforsch.*, 9C, 635.
- [134] Rodighiero G., Dall'acqua .F. **1986**, *Drugs.Exptl.Chem.Res.*, 11 (6/6), 507.
- [135] Gheysen U., Bellec A., **1990**, *Acta. Pharm.*, (275), 68.
- [136] Wolters B., Erlert U., **1981**, *Planta Med.*, 43(2), 166.
- [137] Gauron A., Glowniak A., **1987**, *Planta Med.*, 526.
- [138] Hagmar B., **1969**, *Pathol. Europ.*, 4, 283.
- [139] Badhwar R.L., Chopra I.C., Nayar S.L., **1946**, *Ind. J. Agr. Sci.*, 16, 342.
- [140] Zobel A.M., Lynch J.M., Murphy K.E., **1997**, *Herba Polonica*, 43(4), 334.
- [141] Ojala T., Vuorela P., Kiviranta J., Vuorela H., Hiltunen, **1999**, *Planta Med.*, 65(8), 715.
- [142] Lindelöf B., Sigurgeirsson B., Tegner E., Larkö O., Erson T., **1991**, *Puva , Cancer : A Large-Scale Epidemiology Study*, *Lancet*, 338, 91.
- [143] Zogg G.C., Nyeredy S., Sticher O., **1989**, *Dtsh. Apoth. Ztz.*, 129, 717.
- [144] Abel G., Schemmer O., **1981**, *Planta Med.*, 42, 333.
- [145] Gonzalez A.G., Darias V., Alonso G., Boada J.N., **1977**, 31(4), 351.
- [146] Minker E., Csilla B., Zsuzanna R., Reisch J., **1979**, *Planta Med.*, 37, 156.

- [147] Heskell N.S., Amon R.B., Storrs F.J., **1983**, *Contact Dermatitis*, 9(4), 278.
- [148] Schemmer O., Kuchne I., **1990**, *Muta.Res.*, 243(1), 57.
- [149] Zobel A.M., Stewart A., **1990**, *J.Chem. Eco.*, 16(3), 693.
- [150] Ali R. , Agarwala S.C., **1974**, *Enzyme*, 18, 312.
- [151] Kaiser E., Kramar R., Farkouh A., **1966**, *Enzymologia*, 30, 65.
- [152] Olva A., Lohoz E., Contillo R., Aleotta G, **1999**, *J. Chem. Ecol.*, 25(3), 519.
- [153] Ortiz F.J., Sanchez B., Sanchez M., **1985**, *Contact Dermatitis*, 33, 284.
- [154] Ramachandra P.M., Jayanthi B.N., Murthy V.V.S., **1975**, *Ind. J. Bio.*, 12, 160.
- [155] Ohta T., Watanabe K., Moriya M., Shirasu Y., Kada T. **1983**, *Mutat. Res.* 1117, 135.
- [156] Jurd L., King A.D., Mihara K., **1971**, *Phytochemistry*, 10, 2965.
- [157] Chakroborty D.P., Dasgupta A., Bose P.K., **1957**, *Ann. Biochem. Exp. Med.*, 17(2), 59.
- [158] Tüna O., Susanna R., Pasi H., Pia V., **2000**, *J.Ethnopharmacology* 37 (1-2), 305.
- [159] Dosak V., Hodak K., **1966**, *Experientia*, 22, 38.
- [160] Kuznitsova G. A., Milova N.M., Nazarenko M.V., **1966**, *Rast. Resursy.*, 2(2), 216.
- [161] Reisch J., Szendrei K., Minker E., Novak I., **1969**, *Pharmazie*, 24(11) 699.
- [162] Mester I., **1983**, *Structural Diversity, Distribution of Alkaloids in the Rutales in: Chemistry, Chemical taxonomy of the Rutales*, London Academic Press, 31-96.
- [163] Palmer K.H., **1956**, *Recherches sur Quelques Rutaceae à Alcaloïdes*, Thèse Doct. Faculté de Pharmacie de Paris, Paris.
- [164] Gonzalez A.G., Diaz C.E., Lopez D.H., Luis J.R., Rodriguez L.F., **1977**, *An.Quim.*, 73(3), 430.
- [165] Ulubelen A., **1990**, *J. Nat. Prod.*, 53(1), 207.
- [166] Touati D., Ulublen A., **2000**, *Phytochemistry*, 53(2), 277.
- [167] Gagan J. M. F., **1973**, *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 9 New York, John Wiley, 141.
- [168] El-Tawil B.A.H., El.Berh F.K.A., Budzikiewics H., **1981**, *Z.Naturforsh.*, 36(9), 1169.
- [169] Nahrstedt A., Wray V., Engel B., Reinhard E., **1985**, *Planta Med.*, 6, 515.

- [170] Ulubelen A., Terem B., Tuzlaci E., Cheng K.F., Kong B.C., **1986**, *Phytochemistry*, 25(11), 2692.
- [171] Reish J., Szendrei K., Minker E., Novak I., **1969 (Nov)**, *Pharmazie*, 24 (11), 701.
- [172] Szendrei K., Minker E., Koltai M., Reisch J., **1968**, *Pharmazie*, 23(9), 519.
- [173] Neischulz O., **1966**, *Oldrich.Sci.Pharm.Proc.*, 25th, 559.
- [174] Schneider G., Immel D., Walfgang G., **1967**, *Arch. Pahrm. Ber .Dtsch. Pharm.Ges.*, 300(11). 953.
- [175] Reish J., Szendrei K., Minker E., Novak I., **1967**, *Acta. Pharm. Suic.*, 4(4), 265.
- [176] Reish J., Novak I., Szendrei K., **1967**, *Naturwssenschaften*, 54(19), 517.
- [177] Novak I., Buzas G., Minker E., Koltai M., Szendrei K., **1967**, *Planta Med*, 15(2), 132.
- [178] Kuzovkina I.V., Szendrei K.K.A., **1973**, *SSSR. Ser. Biol.*, (2), 277.
- [179] Scharlemann W., **1972**, *Z. Naturforsh.*, 27(7), 806.
- [180] Reish J., Szendrei K., Rozsa R.S., Novak I., Minker E., **1972**, *Phytochemistry* 11(7), 2359.
- [181] Reish J., Szendrei K., Novak I., Minker E., **1972**, *Phytochemistry*, 11(6), 2121.
- [182] Reish J., Szendrei K., ovak I., Minker E., Rozsa SC., **1971**, *Experientia*, 27(9), 1005.
- [183] Gululov A.Z., Bozlikova H.Z., Suguryan T.O., **1970**, *Fiz.Khim.Biol*, 8(1), 128.
- [184] Kuzovkina I.N., Chernysheva T.P., Al'leiman I.E., **1979**, *Fiziol. Rast.*, 26(3), 492.
- [185] Reish J., Rozsa Z., Mester I., **1978**, *Z. Naturforsch*, 33B(8), 957.
- [186] Reish J., Rozsa Z., Szendrei K., Novak I., Minker E., **1977**, *Phytochemistry*, 16(1), 151.
- [187] Rozsa Z., Kuzovkina T.N., Reisch J., Szendrei k., **1976**, *Fitoterapia*, 47(4), 147.
- [188] Reish J., Rozsa Z., Szendrei K., Novak I., Minker E., **1976**, *Phytochemistry*, 15(1), 240.
- [189] Kuzovkina I.N., Kislov L.D., Rozsa Z., **1984**, *Khim. Prir. Soedin*, 248.
- [190] Rozsa R.S., Reisch J., Minker E., **1981**, *Fitoterapia*, 52(2), 93.
- [191] Eilert U., Wolters B., Nahrstedt A., Wray V., **1982**, *Z. Naturforsch*, 37(1-2), 132.
- [192] Nahrstedt A., Wray V., Engel B. , Reinhard E., **1985**, *Planta Med.*,6, 517.

- [193] Paulini H., Waibel R., Kieker J., Schemmer O., **1991**, *Planta Med.*, 57(1), 82.
- [194] Paulini H., Popp R., Schemmer O., Ratka O., **1991**, *Planta Med.*, 57(1), 59.
- [195] Montagu M., Petit-Paly G., Levillain P., Baumert A., Chenieret J.C., **1989**, *Pharmazie*, 44(5), 342.
- [196] Ekiert H., Kisiel W., **1997**, *Acta. Soci. Bot. Pol.*, 66(3-4), 329.
- [197] Pena D.A.A., Kratz U., Reuton C.F., **2000**, *Bol. Soci. Quim. Per.*, 66(3), 133.
- [198] Ulubelen A., Doganea S., **1991**, *Fitoterapia*, 62(3), 279.
- [199] Bruneton J., **1993**, *Pharmacochimie et Phytochimie de Plantes Médicinales*, 2^{ème} Ed., Technique et Documentation Lavoisier, Paris 372.
- [200] Bruneton J., **1987**, *Eléments de Phytochimie et de Pharmacognosie*, Technique et Documentation Lavoisier, Paris 373.
- [201] Phillipson J.D., Roberts M.F., Zenk M.H., **1985**, *The Chemistry, Biology of Isoquinoline Alkaloids*, Springer Verlag, Berlin.
- [202] Pelletier S.W., **1983**, *Alkaloids, Chemical , Biological Perspectives*, Ed. John Wiley, New York.
- [203] Nieschulz O., **1996**, *Sci.Pharm.Proc.*, 559.
- [204] Minker E., Bartha C., Koltai M., Rozsa S., Szendrei K., *Acta. Pharm. Hung.* **1980**, 50(1), 7.
- [205] Paulini H., Eilert U., Schemmer O., **1987**, *Mutagenesis.*, 2(4), 271.
- [206] Schemmer O., Leismester U., **1989**, *Mutagenesis*, 467.
- [207] Paulini H., Schemmer O., **1989**, *Mutagenesis*, 4 (1), 45.
- [208] Kowalewski Z., Pasich B., **1967**, *Ann.Pharm.*, 635.
- [209] Tanker M., Turhan, **1967**, *Ecz.Fak.Mecm.*, 3(3), 204.
- [210] Toker G., Turkoz S., Erdemoglu N., **1998**, *J. Nat. Prod.*, 20(4), 240.
- [211] Dobsons S., **2000**, *Gyogyszereszlet*, 44(4), 244.
- [212] Paris M., Haisbielle H., **1981**, *Abrégé de Matière Médicinale (Pharmacognosie)*, Tome I, Ed. Masson, Paris.
- [213] Harbone J.B., Bascter H., **1999**, *The HandBook Of Natural Flavonoids*, Vol. 2, Wileg, Chicheter

[214] Qabor M., **1988**, *Plants Flavonoids In Biology , Medicine*, Vol. II, Alan R. Liss. Inc, New York.

[215] Ayres D.C., Loike J.D., **1990**, *Lignans Chemical, Biological, Chemical Properties*, University Press, Cambridge.

[216] Mac Rae W.D., Hudson J.B, Towers G.H.N., **1989**, *Planta Med.*, 55, 531.

[217] Santosh S., Savitri D.S, **1994**, *Fitoterapia*, 4, 301.

Chapitre II :

Description des

Travaux

II. Description des travaux

II. 1. Place dans la systématique

R. montana L. appartient à:

- Dicotylédone
- De l'ordre des Rutales
- Du sous-ordre Rutineae
- Famille des Rutaceae
- Sous-famille des Rutoidées
- Genre *Ruta*.

II. 2. Description botanique de l'espèce *Ruta montana*

Il s'agit d'un sous-arbrisseau vivace de 30 à 60 cm de hauteur à tige rameuse dans sa partie supérieure, semi-ligneux. Les feuilles, glauques finement découpées en segments linéaires, lancéolées ou souvent très allongées, enroulées en dessous par leur bord, leurs faces supérieures sont couvertes de pustules sécrétant une essence extrêmement malodorante. Les fleurs, petites de 4 à 5 mm, de couleur jaune, sont groupées par 5 à 6 en cyme composée ordinairement de 4 divisions, pétales concaves, denticulés sur les marges, calice persistant. Elles comportent 4 à 5 carpelles libres, multiovulés, à style soudé. A maturité, le fruit est une capsule globuleuse, s'ouvrant en deux valves et laissant apparaître une graine globuleuse, noire et brillante [1]. La plante est originaire de l'Europe méridionale et occidentale et de l'Afrique du sud [2].



Ruta Montana

II. 3. Matériel végétal :

Les parties aériennes de *R. montana* L., récolté à MILA (nord-est d'Algérie) en mai 1995, ont été séchées à l'ombre. Un échantillon (référence ZKBN LOST Rm 95) a été conservé dans l'herbier du laboratoire d'obtention de substances thérapeutiques (LOST), Université Mentouri, Constantine.

Des essais préliminaires ont mis en évidence la présence d'alcaloïdes, ce qui nous a encouragées à effectuer une extraction spécifique de ces derniers.

II. 4. Extraction :

Les parties aériennes de *Ruta montana* L., séchées et pulvérisées, sont lixiviées dans l'éther de pétrole pendant 48 heures. Après filtration et évaporation du solvant sous pression, la phase organique I est testée pour la présence des alcaloïdes.

Les marcs épuisés par l'éther de pétrole sont ensuite lixiviés dans le méthanol (80%) pendant 6 jours. Les solutions extractives sont acidifiées à l'aide d'acide chlorhydrique à 2 % puis filtrées. Le filtrat est épuisé par le chloroforme. La phase acide est alcalinisée par NaOH jusqu'à pH = 9 puis de nouveau épuisée par le chloroforme.

La phase chloroformique est ensuite lavée à l'eau, séchée sur sulfate de magnésium et ensuite évaporée à sec. Le résidu obtenu est de 34 g (schéma 1).

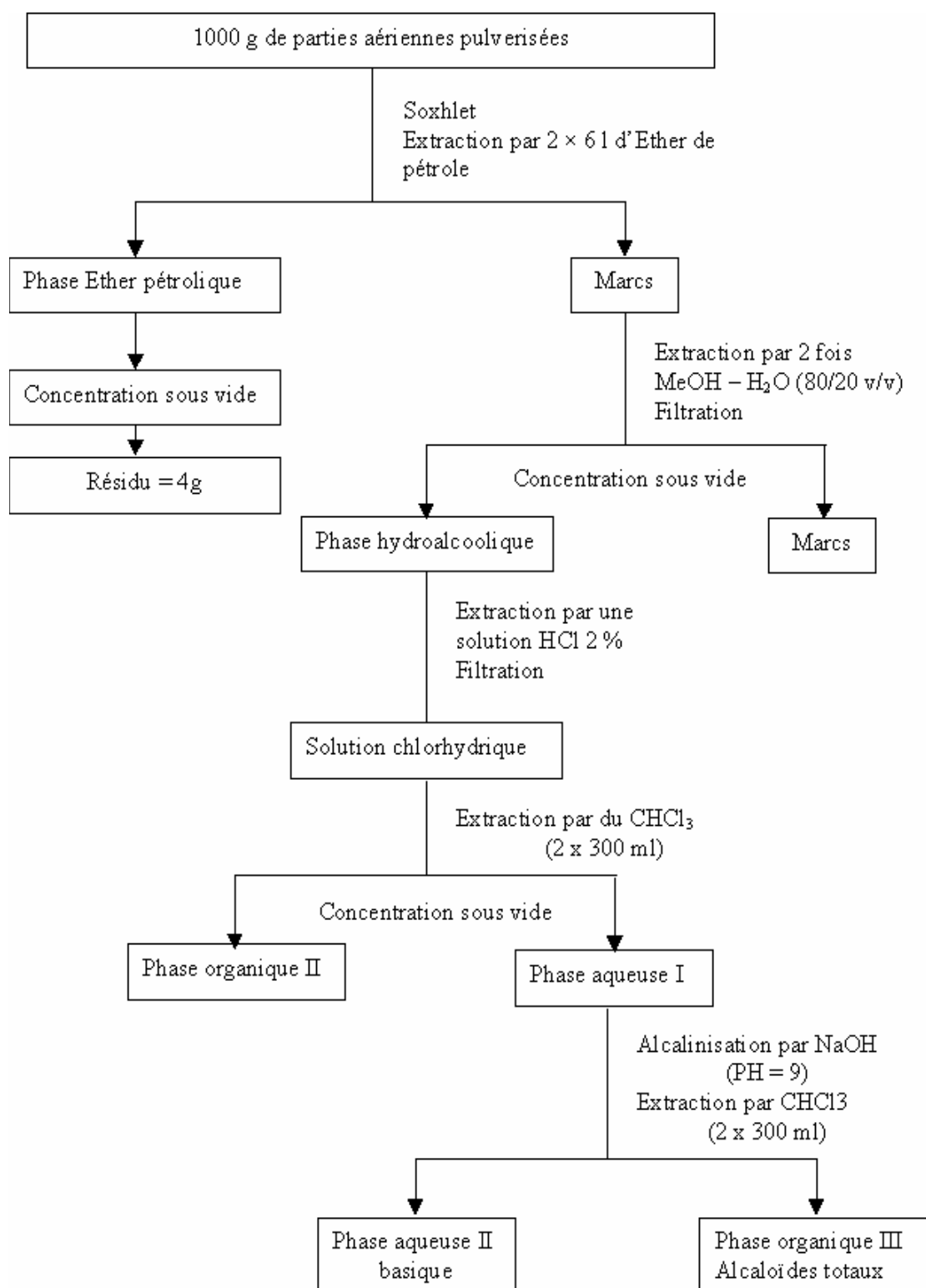


Schéma 1: Schéma d'extraction

II. 5. Séparation et purification :

Le but de cette étape est de réaliser la séparation d'une grande quantité de molécules alcaloïdiques natives (individuelles).

L'examen en chromatographie sur couche mince (CCM) de l'extrait chloroformique montre des tâches fluorescentes. La révélation des plaques CCM par le réactif Dragendorff, donne une coloration jaune orangé, orange, jaune. A première vue, on peut les attribuer à la présence d'alcaloïdes.

Environ, 34g de l'extrait chloroformique sont déposés sur une colonne de gel de silice (type 60, 240-300 mesh, Merck) préparé dans l'éther de pétrole. L'élution est réalisée par un gradient d'éther de pétrole-acétate d'éthyle, commençant par l'éther de pétrole pur. Ensuite, on augmente la polarité par l'addition progressive de l'acétate d'éthyle pur, par un mélange acétate d'éthyle-méthanol, et enfin par du méthanol pur.

Des fractions de 50 millilitres ont été collectées et analysées par chromatographie sur couche mince. Les plaques ont été examinées à la lumière UV (365nm) et révélées à l'aide du réactif Dragendorff puis chauffées.

Les fractions sont réunies suivant leurs tâches en CCM Tableau [1].

Tableau [1] : Séparation chromatographique de l'extrait chloroformique du *Ruta montana*

Solvant d'élution	Fractions recueillies	Masse (mg)
Ep-AcOEt-70/30	2 à 25 F ₁	3340
Ep-AcOEt-50/50	26 à 31 F ₂	600
Ep-AcOEt-50/50	32 à 37 F ₃	2260
Ep-AcOEt-50/50	38 à 57 F ₄	210
Ep-AcOEt-80/20	58 à 74 F ₅	330
Ep-AcOEt-80/20	75 à 82 F ₆	300
Ep-AcOEt-80/20	83 à 90 F ₇	430
Ep-AcOEt-80/20	91 à 112 F ₈	860
Ep-AcOEt-10/00	113 à 121 F ₉	360
AcOEt 100%	122 à 139 F ₁₀	340
AcOEt-MeOH-99/1	140 à 155 F ₁₁	360
AcOEt-MeOH-99/5	156 à 170 F ₁₂	1740
AcOEt-MeOH-90/10	171 à 185 F ₁₃	220
MeOH 100%	186 à 201 F ₁₄	770
MeOH 100%	202 à 216 F ₁₅	5130

ETUDE DE LA FRACTION 1

Chromatographie sur colonne

Dépôt : 3340mg

Colonne : diamètre 3.5 cm

Phase stationnaire: silice flash 35-70 µm

Phase mobile: Ether de pétrole-acétate d'éthyle

Les résultats de ce suivi sont présentés dans le tableau [2].

Tableau [2] : Séparation chromatographique de la fraction 1

Solvant d'élution	Fractions recueillies	Masses (mg)
Ep-AcOEt-90/10	1 à 2 (sf ₁)	66
Ep-AcOEt-90/10	3 à 6 (sf ₂)	2659,1
Ep-AcOEt-80/20	7 (sf ₃)	90,6
Ep-AcOEt-100%	8 à 12 (sf ₄)	38,6
AcOEt-100%	13 à 14 (sf ₅)	29,4
MeOH-100%	15 à 16 (sf ₆)	98,4

Rassemblement des sous fractions 2 et 3 pour une nouvelle purification.

ETUDE DES SOUS-FRACTIONS 2 ET 3

Chromatographie sur colonne

Dépôt : 2749,7 mg

Colonne: diamètre 18 mm

Phase stationnaire: silice flash 35-70µm

Phase mobile: Ether de pétrole – acétate d'éthyle

Le tableau [3] englobe les résultats obtenus.

Tableau [3] : Séparation chromatographique des sous-fractions 2 et 3

Solvant d'élution	Fractions recueillies	Masse (mg)
Ep-AcOEt – 99/1	1 à 4 (sf ₁)	940,2
Ep-AcOEt – 98/1	5 à 7 (sf ₂)	1392,3
Ep-AcOEt – 95/5	8 à 19 (sf ₃)	20,0
Ep-AcOEt – 94/6	20 à 24 (sf ₄)	21,0
Ep-AcOEt – 94/6	25 à 33 (sf ₅)	48,00
Ep-AcOEt – 92/8	34 à 40 (sf ₆)	23,30
Ep-AcOEt – 85/15	41 à 48 (sf ₇)	21,6

Ep-AcOEt – 75/25	49 à 61 (sf₈)	890,00
Ep-AcOEt – 75/25	62 à 65 (sf₉)	55,20
Ep-AcOEt – 75/25	66 à 69 (sf₁₀)	47,00
Ep-AcOEt – 75/25	70 à 71 (sf₁₁)	7,20
Ep-AcOEt – 75/25	72 à 73 (sf₁₂)	8,80
Ep-AcOEt – 75/25	74 à 81 (sf₁₃)	13,2
Ep-AcOEt – 75/25	82 à 85 (sf₁₄)	13,0
Ep-AcOEt – 75/25	86 à 92 (sf₁₅)	4,2
Ep-AcOEt – 70/30	93 à 104 (sf₁₆)	850

Cette fraction a permis d'isoler 13 mg du produit BM4 (sf₁₄).

ETUDE DE LA FRACTION 2

Chromatographie sur colonne

Dépôt : 600mg

Colonne : diamètre 30mm

Phase stationnaire: silice flash 35-70um

Phase mobile: Ether de pétrole-Acétate d'éthyle

A l'issue de ce fractionnement, les résultats obtenus se présentent comme suit (Tableau [4]).

Tableau [4] : Séparation chromatographique de la fraction 2

Solvant d'élution	Fractions recueillies	Masse (mg)
Ep-AcOEt-90/10	1 à 9 (sf₁)	190
Ep-AcOEt-70/30	10 à 11 (sf₂)	110
Ep-AcOEt-70/30	12 (sf₃)	160
Ep-AcOEt-70/30	13 (sf₄)	140
Ep-AcOEt-70/30	14 (sf₅)	360
Ep-AcOEt-50/50	15 à 19 (sf₆)	620
Ep-AcOEt-30/70	20 à 22 (sf₇)	120
Ep-AcOEt-30/70	23 à fin (sf₈)	320

Chromatographie sur couche mince

Support: plaques de silice gel F₂₅₄ (Merck)

Solvant: Ether de pétrole- acétate d'éthyle: 30/70 pour la fraction recueillie 7 (120mg).

La chromatographie a permis d'isoler 30 mg (BM₄) qui cristallise dans l'éther de pétrole sous forme d'aiguilles jaunes pâles.

ETUDE DE LA FRACTION 5

Chromatographie sur colonne

Dépôt : 330mg

Colonne : diamètre 15mm

Phase stationnaire: silice flash 35-70um

Phase mobile: Ether de pétrole-Acétate d'éthyle

Le fractionnement a été réalisé comme suit (Tableau [5]).

Tableau [5] : Séparation chromatographique de la fraction 5

Solvant d'élution	Fractions recueillies	Masse (mg)
Ep-AcOEt-90/10	1 à 20 (sf₁)	230
Ep-AcOEt-80/20	21 à 34 (sf₂)	350
Ep-AcOEt-80/20	35 à 37 (sf₃)	910
Ep-AcOEt-70/30	38 à 41 (sf₄)	340
Ep-AcOEt-70/30	42 à 44 (sf₅)	280
Ep-AcOEt-70/30	45 à 47 (sf₆)	560
Ep-AcOEt-50/50	48 à 50 (sf₇)	290
Ep-AcOEt- 100%	51 à 55 (sf₈)	220
AcOEt-MeOH 50/20	56 à 59 (sf₉)	180

Chromatographie sur couche mince

Support: plaques de silice gel F₂₅₄ (Merck)

Solvant: Ether de pétrole- acétate d'éthyle: 30/70 pour la fraction recueillie 7 (290 mg).

La chromatographie a permis d'isoler: 30 mg de produit (BM₄) qui cristallise dans l'éther de pétrole sous forme d'aiguilles jaune pâles.

ETUDE DE LA FRACTION 7

Chromatographie sur colonne

Dépôt: 166,7 mg

Colonne: diamètre 10 mm

Phase stationnaire: silice flash 35-70 μm

Phase mobile: chloroforme-hexane

Le tableau [6] englobe les résultats obtenus.

Tableau [6] : Séparation chromatographique de la fraction 6

Solvant d'éluion	Fractions recueillies	Masse (mg)
CHCl₃-Hex-50/50	1 à 23 (sf₁)	9,01
CHCl₃-Hex-50/50	24 (sf₂)	11,08
CHCl₃-Hex-50/50	25 (sf₃)	10,05
CHCl₃-Hex-50/50	26 (sf₄)	9,01
CHCl₃-Hex-50/50	27 à 31 (sf₅)	8,01
CHCl₃-Hex-50/50	32 à 35 (sf₆)	3,03
CHCl₃-Hex-50/50	36 à 37 (sf₇)	12,05
CHCl₃-Hex-50/50	40 à 52 (sf₈)	13,08
CHCl₃-Hex-80/20	53 à 73 (sf₉)	8,09
CHCl₃-Hex-80/20	74 à 90 (sf₁₀)	7,03
CHCl₃-Hex-80/20	91 à 118 (sf₁₁)	5,03
CHCl₃-Hex-80/20	119 (sf₁₂)	2,09
CHCl₃-Hex-80/20	120 à 129 (sf₁₃)	10
CHCl₃-Hex-85/15	130 à 145 (sf₁₄)	5
CHCl₃-Hex-85/15	146 à 156 (sf₁₅)	13
CHCl₃-Hex 100%	157 à 176 (sf₁₆)	3
CHCl₃-MeOH 99/1	177 à 180 (sf₁₇)	12
CHCl₃-MeOH 95/5	181 à 216 (sf₁₈)	18

Le rassemblement des fractions similaires donne les produits (sf_{II})et (sf_{III}).

ETUDE DE LA FRACTION 12

Chromatographie sur colonne

Dépôt: 1740 mg

Colonne: diamètre 100 mm

Phase stationnaire: silice flash 35-70 μm

Phase mobile: Ether de pétrole-Acétate d'éthyle et finalement le méthanol.

Les résultats de ce suivit sont présentés dans le tableau [7].

Tableau [7] : Séparation chromatographique de la fraction 7

Solvant d'éluion	Fractions recueillies	Masse (mg)
Ep-AcOEt-70/30	1 à 13 (sf₁)	270
Ep-AcOEt-50/50	14 à 44 (sf₂)	40
Ep-AcOEt-30/70	45 (sf₃)	20
Ep-AcOEt-30/70	46 à 50 (sf₄)	180
Ep-AcOEt-20/80	51 à 55 (sf₅)	50
AcOEt- 100%	56 à 73 (sf₆)	200
AcOEt-MeOH 99/1	74 à 75 (sf₇)	200
		180

Cette fraction a permis d'isoler 20 mg de BM4 et F1(sf₁₀).

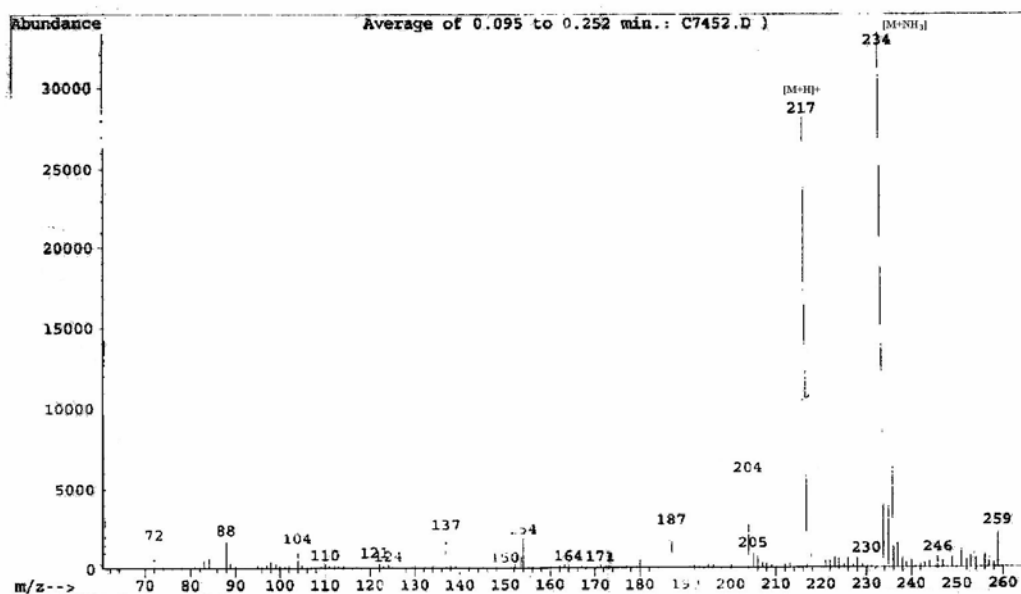
II. 6. Identification structurale des produits isolés

L'identification des composés isolés du *R. montana* est basée sur :

- La fluorescence.
- Le calcul des R_f à partir d'une CCM.
- L'interprétation des séries spectrales
- (UV, IR, RMN, ¹H et ¹³C).
- Co-chromatographie en présence de témoins.

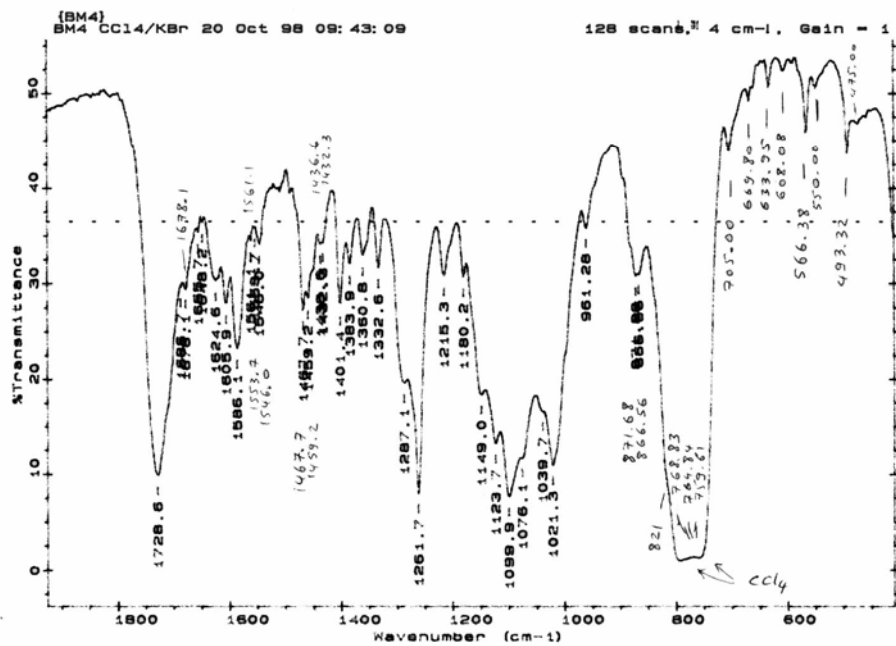
Produit (BM4).

Le spectre de masse en ionisation chimique (DiC/NH₃) (spectre n°1) montre un ion pseudomoléculaire à m/z= 217 [M+H]⁺ correspondant à une masse moléculaire de 216 compatible avec la formule brute C₁₂H₈O₄. La présence d'un ion de fragment à m/z = 202 [M-15], correspondant à la perte d'un méthyle, confirme ainsi la présence d'un groupement méthoxyle. La présence des ions de fragments à m/z = 187 confirme la perte d'une molécule de CO.



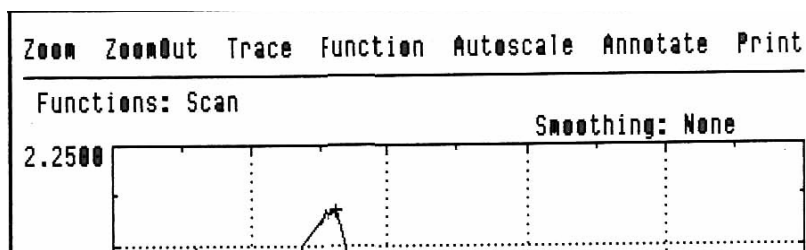
Spectre n°1: SM du produit BM4

Le spectre IR (spectre n°2) présente des bandes d'absorption à 1728 cm⁻¹ (C=O aromatique), 866 cm⁻¹ (cycle furane), 1605 cm⁻¹ (C=C furane), 1180 cm⁻¹ (OCH₃).



Spectre n°2: IR du produit BM4

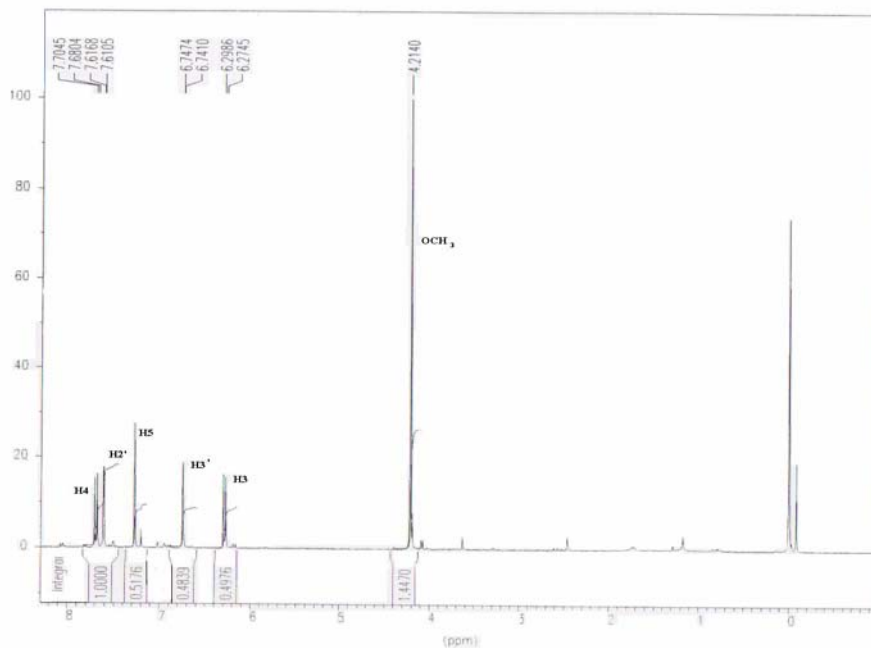
Le spectre UV (spectre n°3) montre des maxima à 208, 247, 262 et 283 nm suggérant une structure de série furocoumarinique porteuse de substituants oxygène en position 8 [3].



Spectre n°3: UV du produit BM₄

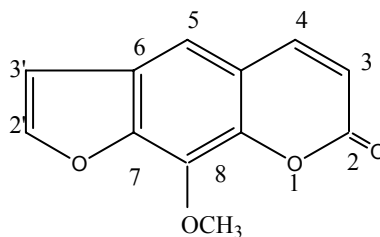
Le spectre de RMN du proton (spectre n°4) enregistré dans CDCl₃ montre les signaux caractéristiques suivants à:

- 4,25 ppm, sous forme de singulet de trois protons correspondant à un groupement méthoxyle.
- 6,30 ppm, sous forme de doublet ($J = 9,6$ Hz), correspondant au deuxième proton H-3 couplant avec H-4.
- 6,75 ppm, sous forme de doublet ($J = 2,0$ Hz), correspondant au deuxième proton H-3' du noyau furane couplant avec le proton H-2'.
- **7,29 ppm, sous forme d'un singulet attribuable au proton H-5 du noyau aromatique**
- 7,62 ppm, sous forme de doublet ($J = 2,0$ Hz), correspondant au proton H-2' du noyau furane.
- 7,70 ppm, sous forme de doublet ($J = 9,6$ Hz), correspondant au proton H-4 couplant avec le proton H-3.

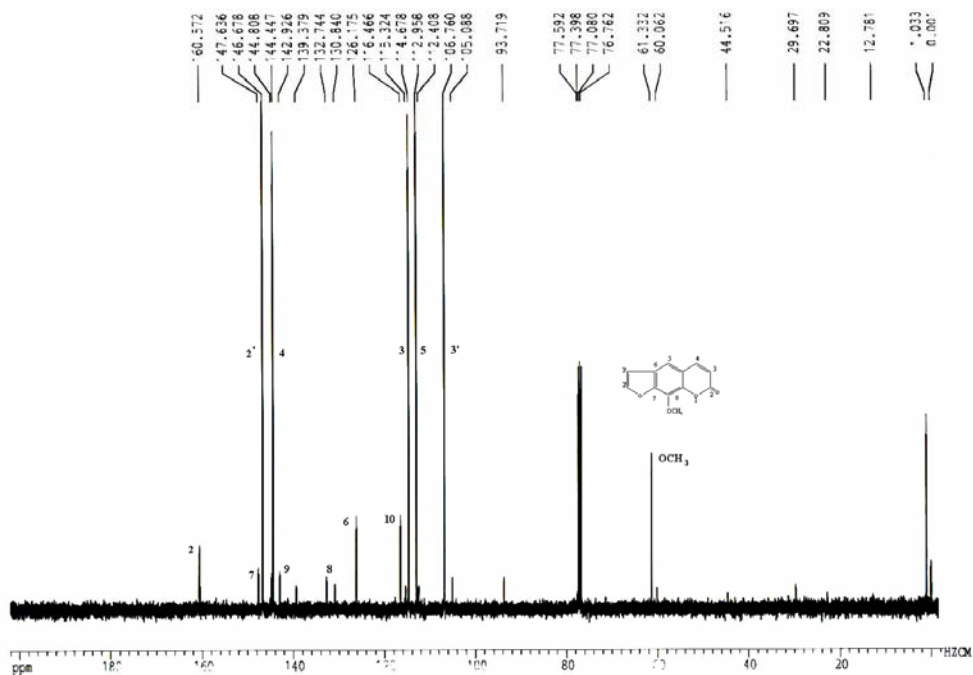


Spectre n°4: RMN H du produit BM₄

Ces résultats permettent de proposer la structure suivante pour le produit **BM₄** :



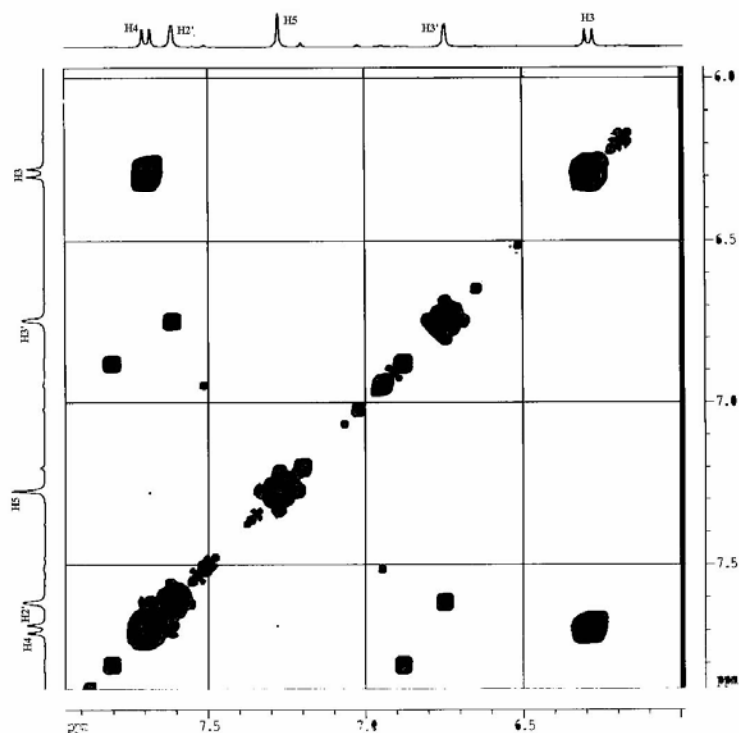
Le spectre de RMN ¹³C (spectre n°5) présente des signaux de 12 atomes de carbone, avec en particulier un signal à 61,3 ppm attribuable au groupement méthoxyle. Les signaux correspondant aux carbones C-2', C-3' du cycle furane sont observés respectivement à 146,6 ppm et 106,7 ppm.



Spectre n°5: RMN ^{13}C du produit BM_4

L'expérience de corrélation homonucléaire COSY $\text{H}^1\text{-H}^1$ (spectre n°6) montre les couplages entre les protons suivants :

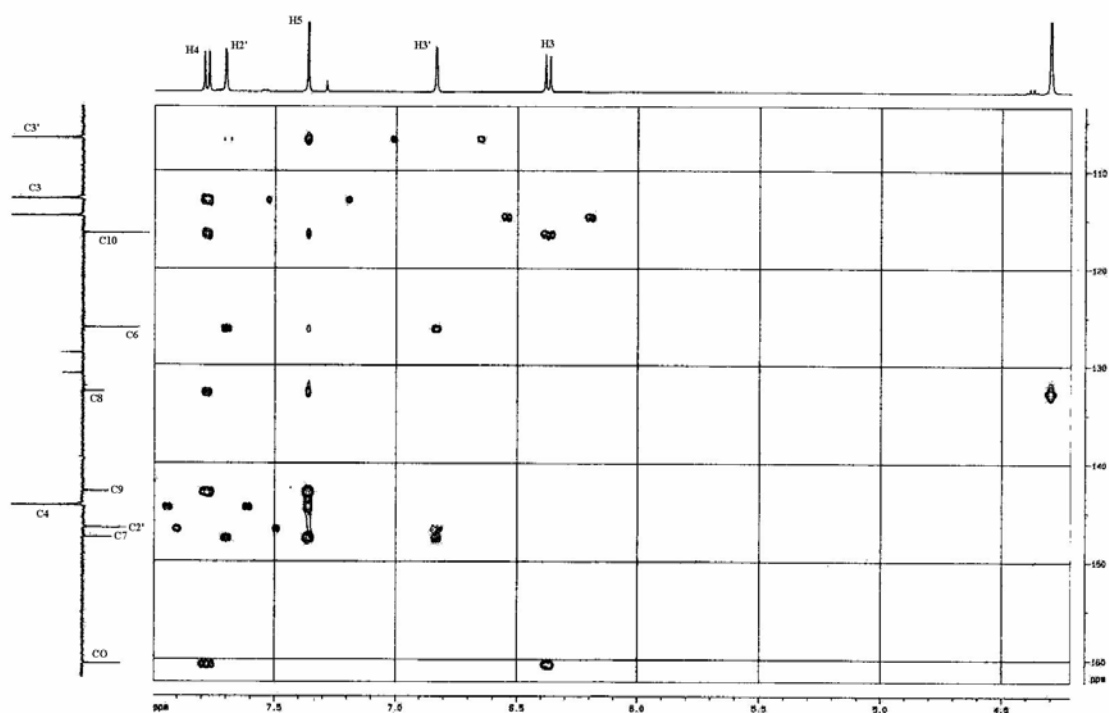
- Le proton H-3 résonant à 6,31 ppm et H-4 résonant à 7,70 ppm
- Le proton H-2' résonant à 7,62 ppm et H-3' résonant à 6,75 ppm



Spectre n°6: COSY H-H du produit BM₄

L'expérience HMBC (spectre n°7), met en évidence les couplages C–H longue distance en $^2J_{C-H}$ et $^3J_{C-H}$ entre :

- Le proton H-2' et deux carbones résonant à 126,0 ppm et 147,6 ppm. Ces déplacements chimiques sont attribués respectivement aux carbones en C-6 et C-7.
- Le proton H-4 et quatre carbones résonant à 112,9 ppm, 116,4 ppm, 132,7 ppm et 142,9 ppm. Ces déplacements chimiques sont attribués respectivement à C-5, C-10, C-8, C-9.
- Le proton H-5 et six carbones résonants à 144,8 ppm, 116,4 ppm, 126,0 ppm, 132,7 ppm, 147,6 ppm et 142,9 ppm. Ces déplacements chimiques sont attribués respectivement à C-4, C-10, C-6 et C-8, C-7 et C-9.
- Le proton H-3' et deux carbones résonant à 126,0 ppm, 147,6 ppm. Ces déplacements chimiques sont attribués à C-6, C-7.
- Le proton H-3 et un carbone à 116,4 ppm attribué à C-10.



Spectre n°7: HMBC C-H du produit BM₄

Cette technique a fait apparaître, en zone aromatique, le système AB ($J = 9,7$ Hz) des deux protons H-3 et H-4 d'une coumarine à 6,29 et 7,69 ppm, ainsi qu'un autre système AB ($J = 2,5$ Hz), de deux protons H-2' et H-3' d'un noyau furane, à 7,62 ppm et 6,75 ppm.

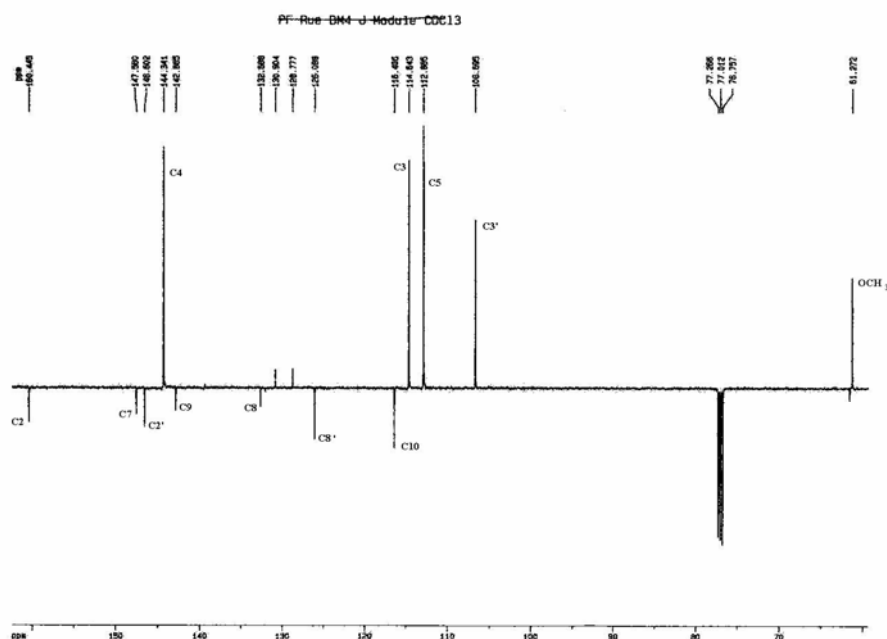
Le spectre RMN ¹³C en J-modulé (DEPT) (spectre n°8) montre :

Deux signaux des carbones C-2' et C-3' résonant respectivement à 146,6 ppm et 106,6 ppm caractéristiques du noyau furane.

Deux signaux des carbones C-3 et C-4 résonant respectivement à 115,3 ppm et 144,8 ppm caractéristiques d'une double liaison oléfinique conjuguée.

Un signal du carbone C-2 résonant à 160,5 ppm attribué au carbonyle.

Les autres signaux sont par ailleurs tout à fait caractéristiques du noyau aromatique.



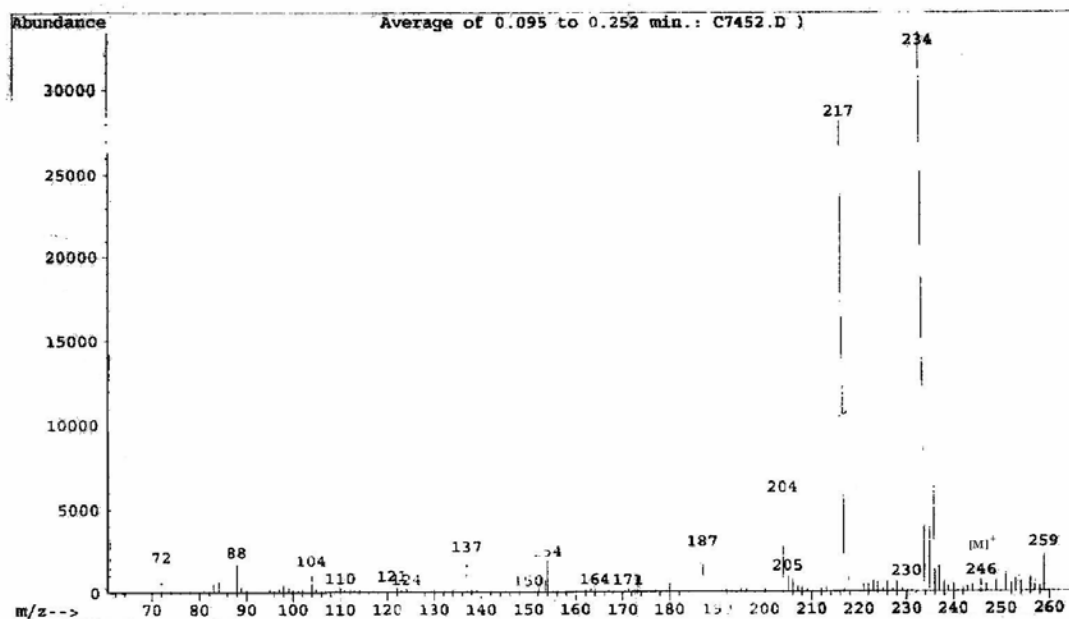
Spectre n°8: RMN ^{13}C (J-modulé) du produit BM_4

La comparaison de l'ensemble de ces données avec les caractéristiques physiques et spectrales antérieurement publiées [4] et la comparaison avec un échantillon identique conduisent à identifier ce composé à la xanthotoxine.

Cette coumarine avait déjà été isolée de différentes espèces de *Ruta* L. telle que *R. montana* [5], *R. graveolens* [6], *R. chalepensis* [7], *R. oroejasme* [8] et *R. pinata* [9].

Produit F1sf10 :

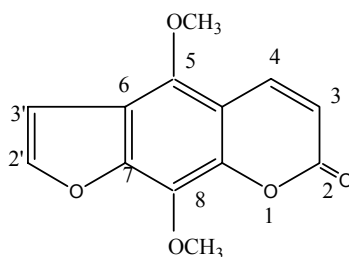
Le spectre de masse (spectre n°9) en ionisation chimique (DiC/NH₃) montre un ion pseudomoléculaire à m/z 246 [M]⁺ compatible avec la formule brute C₁₃H₁₀O₅.



Spectre n°9 : SM du produit F1sf10

Ce produit a été identifié à l'isopimpinelline par comparaison chromatographique avec un échantillon authentique (temoin).

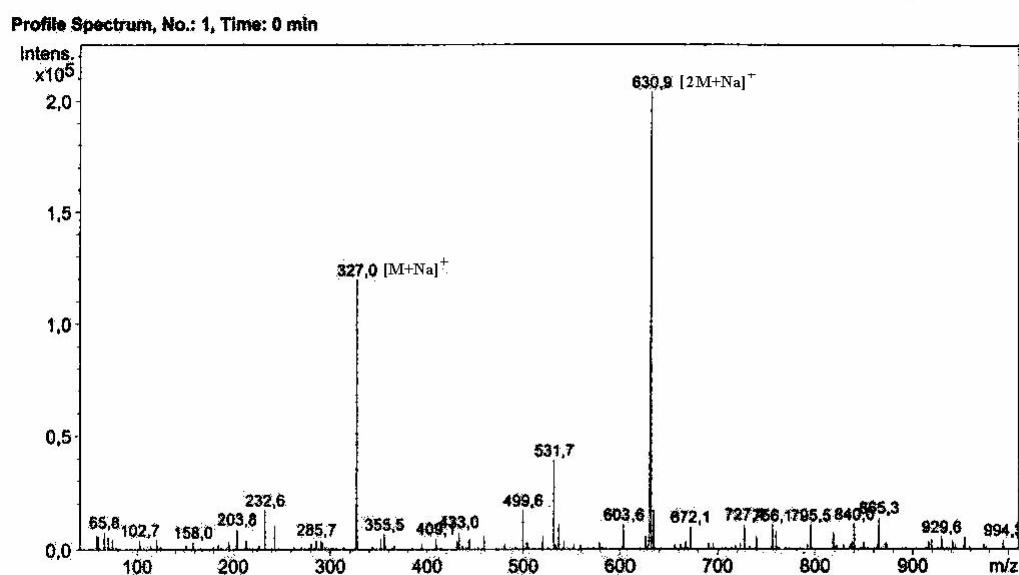
Ces résultats permettent de proposer la structure suivante pour le produit **F1sf10**.



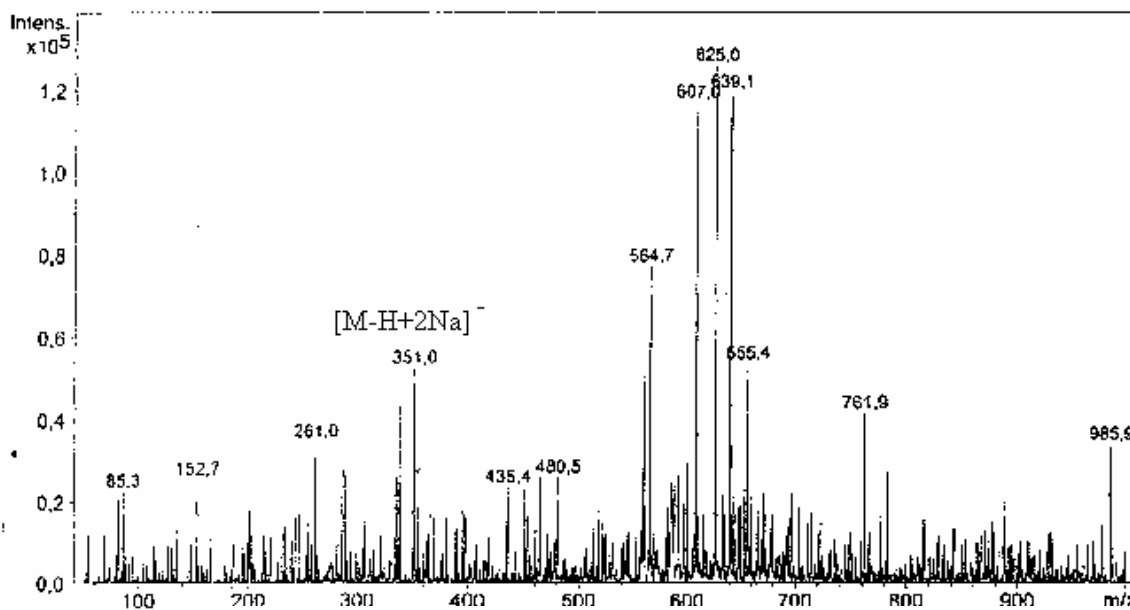
Cette furocoumarine a été isolée précédemment d'un certain nombre d'espèces du genre *Ruta L.* tel que *R. angustifolia* [3], *R. chalepensis* [10], *R. graveolens* [6].

Produit F₇sf_{III} :

Le spectre de masse ESI (spectres n° 10, 11), présente un ion pseudo moléculaire à $m/z = 327$ $[M+Na]^+$ en mode positif et en mode négatif $[M-H]^-$, correspondant à la formule brute $C_{16}H_{16}O_6$. La présence des fragments à 232, 203, 117 et 158 confirme la perte d'une molécule de CO qui présente l'une des caractéristiques majeures des furocoumarines.

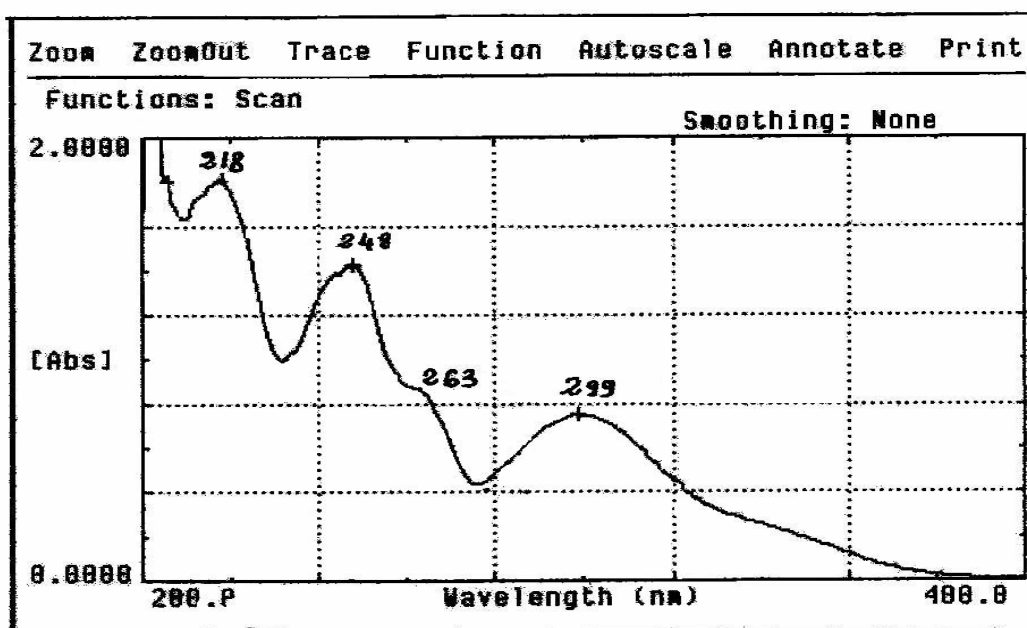


Spectre n°10 : SM du produit F₇sf_{III}



Spectre n°11 : SM du produit F7sfIII

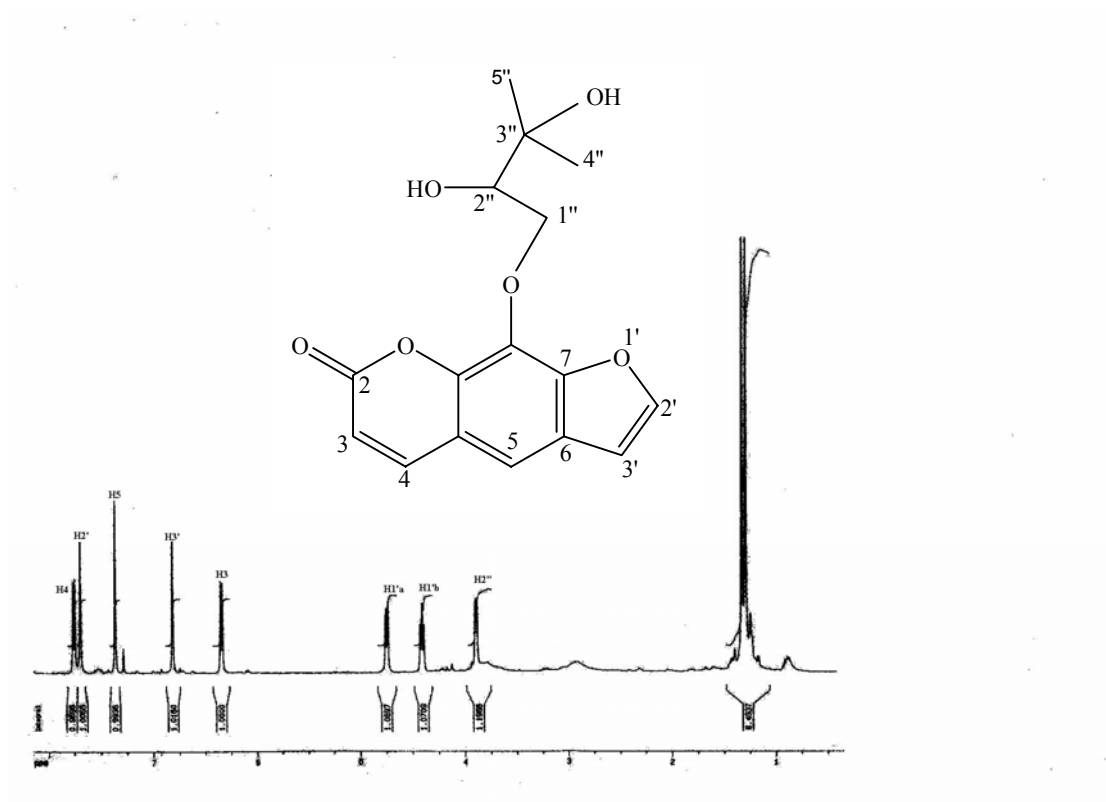
Le spectre UV (spectre n° 12) permet d'observer les bandes à 218, 248, 263 et 299 nm (double liaison du cycle pyrone) suggérant une structure de série furocoumarinique.



Spectre n°12 : UV du produit F7sfIII

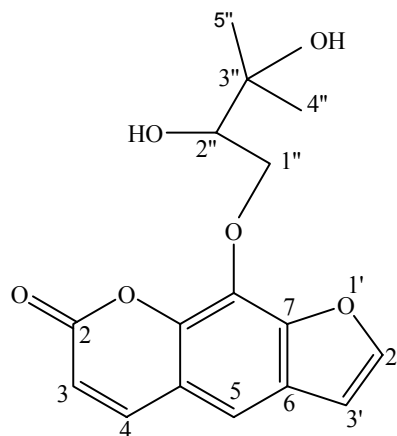
Le spectre de RMN du proton (spectre n° 13), enregistré dans CDCl_3 , montre les signaux caractéristiques suivants à :

- 1,30 ppm et 1,34 ppm, sous forme de deux singulets correspondant aux protons des méthyle H-4" et H-5", respectivement.
- 3,89 ppm, sous forme d'un doublet de doublet ($J = 7,8 \text{ Hz}$, $J = 2,1 \text{ Hz}$) correspondant au proton H-2".
- 4,41 ppm, sous forme d'un doublet de doublet ($J = 10,0 \text{ Hz}$, $J = 7,0 \text{ Hz}$) correspondant au proton H-1"b.
- 4,75 ppm, sous forme d'un doublet de doublet ($J = 10,0 \text{ Hz}$, $J = 2,1 \text{ Hz}$) correspondant au proton H-1"a.
- 6,34 ppm, sous forme d'un doublet ($J = 9,5 \text{ Hz}$), correspondant au proton H-3.
- 6,82 ppm, sous forme d'un doublet ($J = 1,7 \text{ Hz}$) correspondant au deuxième proton du noyau furane H-3' couplant avec le proton H-2'.
- 7,36 ppm, sous forme d'un singulet attribuable au proton H-5 du noyau aromatique.
- 7,69 ppm, sous forme d'un doublet ($J = 1,7 \text{ Hz}$) correspondant au proton H-2' du noyau furane.
- 7,75 ppm, sous forme d'un doublet ($J = 9,5 \text{ Hz}$), correspondant au proton H-4 couplant avec le proton H-3.

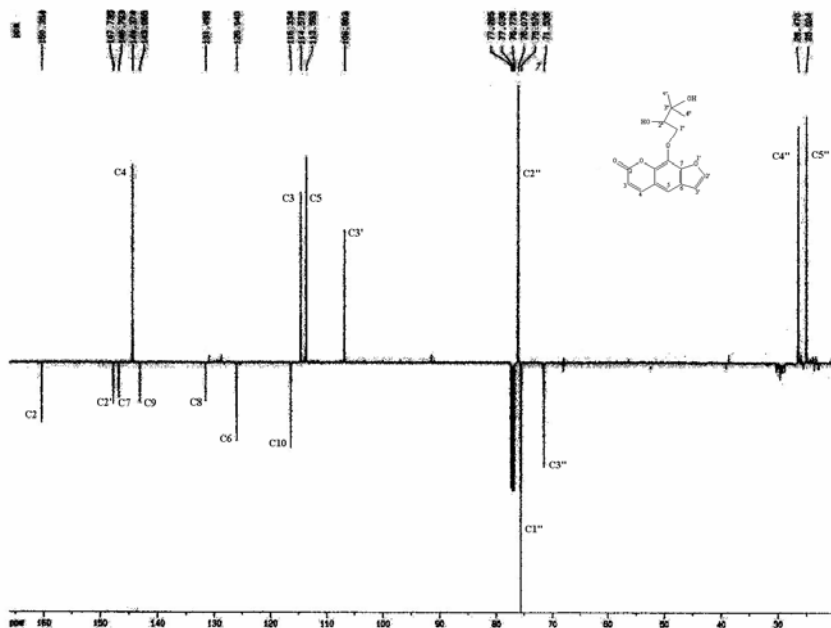


Spectre n°13 : RMN du produit F7sf1II

Ces résultats permettent de proposer la structure suivante pour le produit **F7sf1II**



Le spectre de RMN ¹³C (J-modulé) (spectre n° 14) présente des signaux de 16 atomes de carbones, avec en particulier les signaux des groupes CH₂ et CHOH apparaissant à 75,5 et 76,0 ppm.

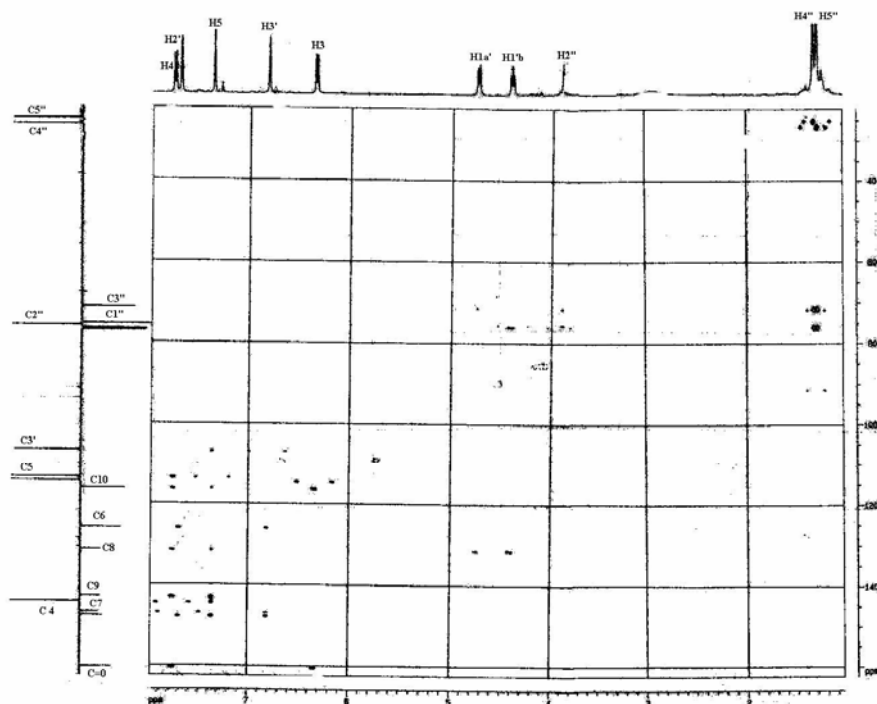


Spectre n°14 : RMN ^{13}C (J-modulé) du produit F7sf1III

L'expérience HMBC (spectre n° 15) met en évidence les couplages C-H longue distance en $^2J_{\text{C-H}}$ et $^3J_{\text{C-H}}$ entre :

- Le proton H-5" et un carbone résonant à 25,0 ppm attribuable au carbone C-4".
- Le proton H-4" et trois carbones résonant à 75,5 ppm, 76,0 ppm et 26,5 ppm. Ces déplacements chimiques sont attribués respectivement à C-1", C-2" et C-5".
- Le proton H-2" et deux carbones résonant à 75,5 ppm et 71,6 ppm attribuable aux carbones C-1" et C-3", respectivement.
- Le proton H-1"b et deux carbones résonant à 130,8 ppm et 75,5 ppm. Ces déplacements chimiques sont attribués à C-8 et C-1" respectivement.
- Le proton H-3 et deux carbones résonant à 160,5 ppm et 116,4 ppm. Ces déplacements chimiques sont attribués à C-2 et C-10 respectivement.
- Le proton H-5 et quatre carbones résonant à 116,4 ppm, 144,4 ppm, 142,9 ppm, 105,1 ppm. Ces déplacements chimiques sont attribués à C-10, C-4, C-9, C-3', respectivement.

- Le proton H-2' et deux carbones résonant à 126,1 ppm et 146,6 ppm. Ces déplacements chimiques sont attribués à C-6 et C-2' respectivement.
- Le proton H-4 et cinq carbones résonant à 160,5 ppm, 116,4 ppm, 142,9 ppm, 112,4 ppm et 130,8 ppm. Ces déplacements chimiques sont attribués à C-2, C-10, C-9, C-5, et C-8, respectivement.

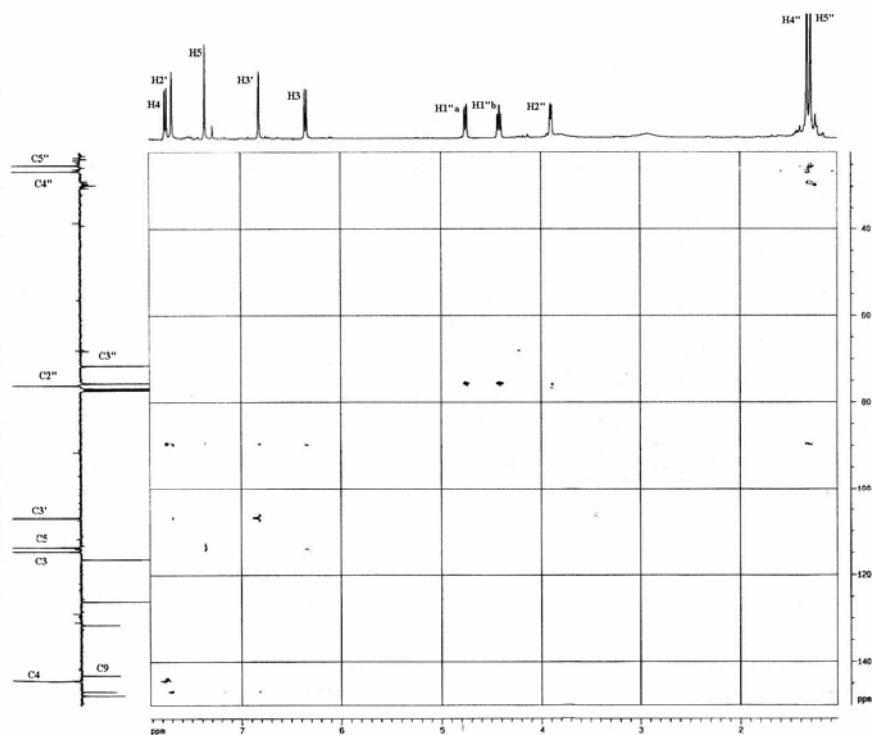


Spectre n°15 : RMN HMBC du produit F7sfIII

L'expérience de corrélation hétéronucléaire carbone-proton (C-H) ou HSQC (spectre n°16) montre les couplages directs $^1J_{C-H}$ entre:

- Le proton H-5'' et le carbone C-5'' résonant à 26,5 ppm
- Le proton H-4'' et le carbone C-4'' résonant à 25,0 ppm
- Le proton H-2'' et le carbone C-2'' résonant à 76,0 ppm
- Le proton H-1''b et le carbone C-1'' résonant à 75,5 ppm
- Le proton H-1''a et le carbone C-1'' résonant à 75,5 ppm
- Le proton H-3 et le carbone C-3 résonant à 114,6 ppm
- Le proton H-3' et le carbone C-3' résonant à 105,1 ppm
- Le proton H-2' et le carbone C-2' résonant à 146,6 ppm
- Le proton H-5 et le carbone C-5 résonant à 112,4 ppm

- Le proton H-4 et le carbone C-4 résonant à 144,4 ppm



Spectre n°16 : RMN HMBC du produit F7sf1II

Le spectre RMN du carbone ^{13}C (J-modulé) (spectre n°14) permet d'observer le signal caractéristique du carbonyle résonant à 160,5 ppm et des signaux apparaissant à 75,5 ppm (C-1''), 7,60 ppm (C-2''), 71,6 ppm (C-3''), 25,0 ppm (C-4''), et 26,5 ppm (C-5'') correspondant aux carbones de la chaîne latérale substituée en position 8.

Aux champs plus ou moins forts, apparaissent un ensemble de signaux correspondant à une chaîne latérale prényle caractérisée par :

- Un système ABX, constitué de trois doublets de doublets d'un proton chacun, centrés sur 4,75 ppm ($J = 7,7 \text{ Hz}$, $J = 2,1 \text{ Hz}$), 4,41 ppm ($J = 10,0 \text{ Hz}$, $J = 7,7 \text{ Hz}$), 3,89 ppm ($J = 7,7 \text{ Hz}$, $J = 2,1 \text{ Hz}$).
- Deux singulets intégrant pour 3 protons à 130 ppm et 134 ppm, correspondant à deux groupements OCH_3 .

Les 16 signaux du spectre de RMN du carbone ont été eux aussi attribués à l'aide d'expérience de RMN multi-impulsionnelles (J-modulé), HSQC ^{13}C - ^1H et HMBC ^{13}C - ^1H . Cette dernière technique a permis de déterminer la position du substituant prényle porté par C-8 grâce aux corrélations observées entre :

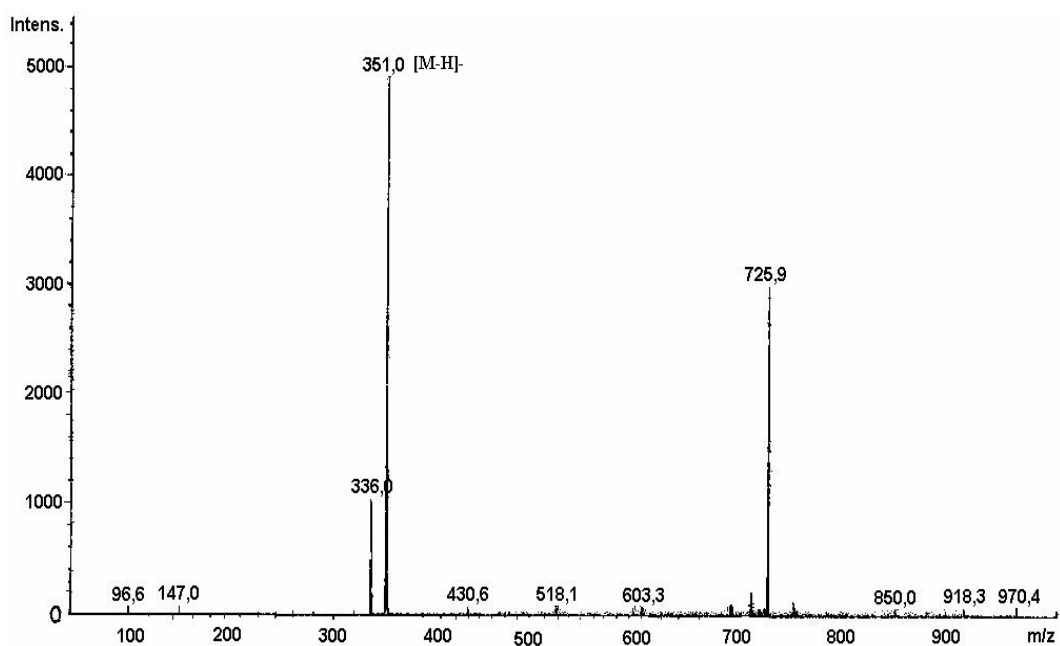
- H-1" a à 4,75 ppm et C-2" à 76,0 ppm, C-3" à 71,6 ppm et C-8 à 130,8 ppm.
- H-1" b à 4,41 ppm et C-2" à 76,0 ppm, C-3" à 71,6 ppm et C-8 à 130,8 ppm.
- H-2" à 3,89 ppm et C-1" à 75,5 ppm, C-3" à 71,6 ppm.
- CH₃-4" à 1,30 ppm et C-1" à 75,5 ppm, C-3" à 71,6 ppm et C-5" à 26,5 ppm.
- CH₃-5" à 1,34 ppm et C-4" à 25,0 ppm.

L'ensemble de ces données conduit à attribuer au produit **F7sf_{III}** la structure de 8-(2,3-dihydroxy-3-methylbutoxy)psoralène ou héraclénol. Cette identification est confirmée par la comparaison avec les caractéristiques physiques et spectrales antérieurement publiées pour ce composé [11]. A l'état naturel, la 8-(2,3-dihydroxy-3-methylbutoxy) psoralène ou héraclénol est décrite ici pour la première fois, à notre connaissance, dans le genre *Ruta L.*

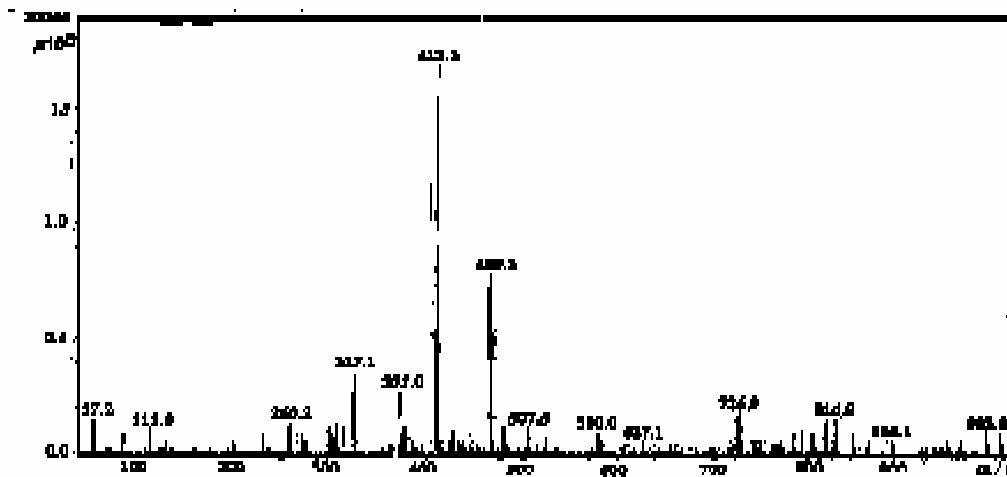
Produit F7sf_{II} :

Le spectre de masse (spectres n°17, 18) à haute résolution obtenu en ionisation par électroflash ou ESI (Electrospray Spray Ionisation) présente un pic à $m/z = 351$ pour l'ion moléculaire $[M-H]^-$ en mode négatif et $m/z = 375$ pour l'ion $[M + Na]^+$ en mode positif soit une masse égale à $M = 352$ correspondant à une formule brute C₁₉H₁₂O₇. La confirmation de

la présence d'un groupement méthoxyle est apportée par un fragment à $m/z=336$. La présence des ions de fragments à $m/z = 115, 147$ confirme la perte d'une molécule de carbonyle CO.

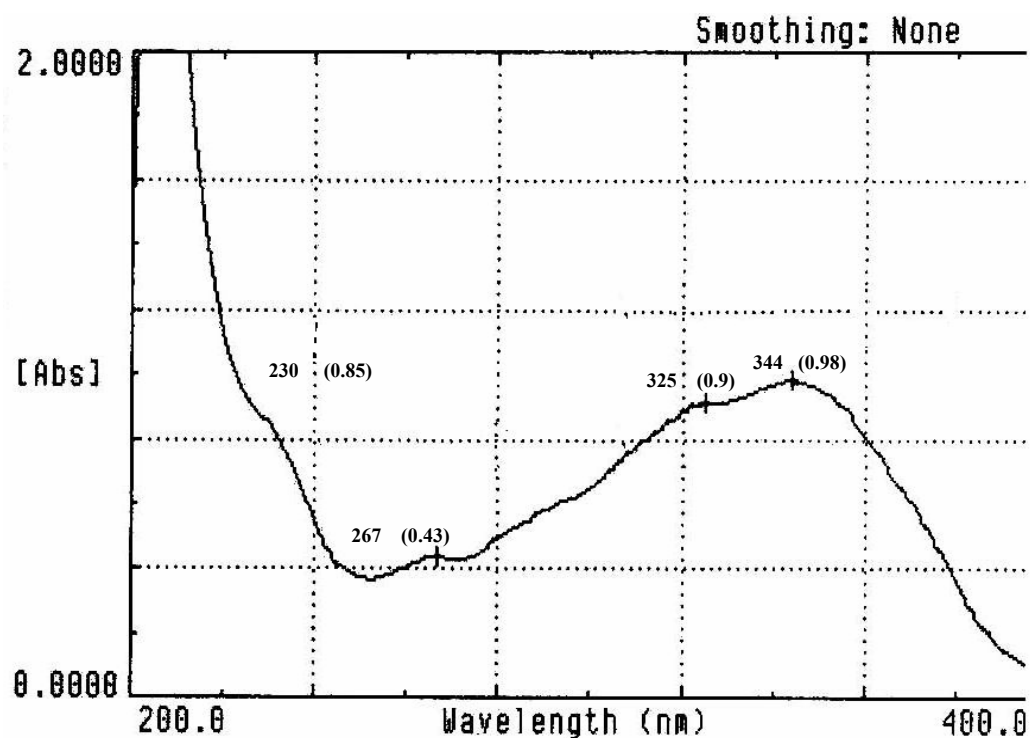


Spectre n°17: SM du produit F7sfII



Spectre n°18: SM du produit F7sfII

Le spectre UV (spectre n°19) permet d'observer des bandes à 230, 267, 325 et 344 nm typiques d'un dérivé 7-alkoxycoumarine [12].

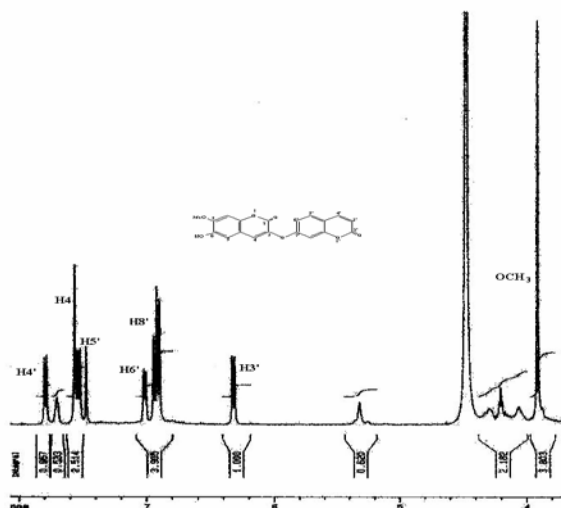


Spectre n°19: UV du produit F7sfII

Le spectre de RMN du proton (spectre n°20), enregistré en solution dans CDCl_3 , montre les signaux caractéristiques suivants à :

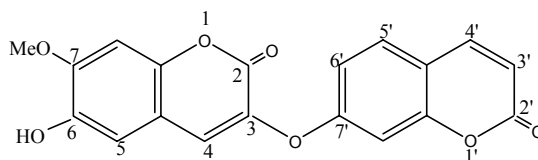
- 3,90 ppm, sous forme d'un singulet de trois protons correspondant à un groupe méthoxyle.
- 6,31 ppm, sous forme d'un doublet ($J= 9,5$ Hz) correspondant au proton H-3'.
- 6,86 ppm, sous forme d'un singulet correspondant au proton H-5 du noyau aromatique.
- 6,90 ppm, sous forme d'un singulet, correspondant au proton H-8 du noyau aromatique.
- 6,93 ppm, sous forme d'un doublet ($J= 2,0$ Hz) correspondant au proton H-8' du noyau aromatique, couplant avec le proton H-6'.
- 6,99 ppm, sous forme d'un doublet de doublet ($J= 8,5$ Hz, $J= 2,0$ Hz) correspondant à H-6' couplant avec le proton H-5'.
- 7,48 ppm sous forme d'un doublet ($J= 8,5$ Hz) correspondant au proton H-5' du noyau aromatique.
- 7,49 ppm, sous forme d'un singulet correspondant au proton H-4.

- 7,74 ppm, sous forme d'un doublet ($J= 9,5$ Hz) correspondant au proton H-4' couplant avec le proton H-3'.



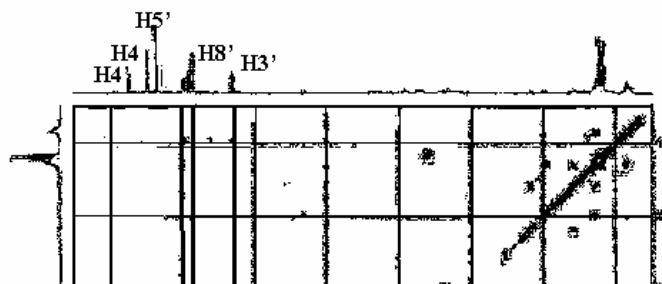
Spectre n°20: RMN H¹ du produit F7sfII

Ces résultats permettent de proposer la structure suivante pour le produit **F7sfII**



L'expérience de corrélation proton-proton ou COSY (spectre n°21) montre deux systèmes de corrélation.

- Le proton H-3' résonant à 6,31 ppm et H-4' résonant à 7,74 ppm.
- Le proton H-6' résonant à 6,99 ppm et H-5' résonant à 7,48 ppm.



Spectre n°21: COSY H-H du produit F7sfII

Le spectre RMN du proton se distingue nettement de ceux des trois composés précédents par sa zone aromatique qui présente trois singulets d'un proton chacun entre 6,90, 6,96 et 7,49 attribuables aux protons H-4, H-5 et H-8 respectivement, ce qui caractérise les bis-coumarines [13].

Les 19 signaux du spectre de RMN du carbone ont été eux aussi attribués à l'aide d'expériences de RMN multi-impulsionnelles : J-modulé.

Le spectre RMN du carbone (J-modulé) (spectre n°22) présente un ensemble de signaux en particulier à 56,1 ppm et à 145,5 ppm caractéristiques d'un groupement méthoxyle et hydroxyle respectivement.

Les signaux apparaissant à 161,3 ppm (C-2) et 159,7 ppm (C-2') correspondent aux deux carbonyles [13].

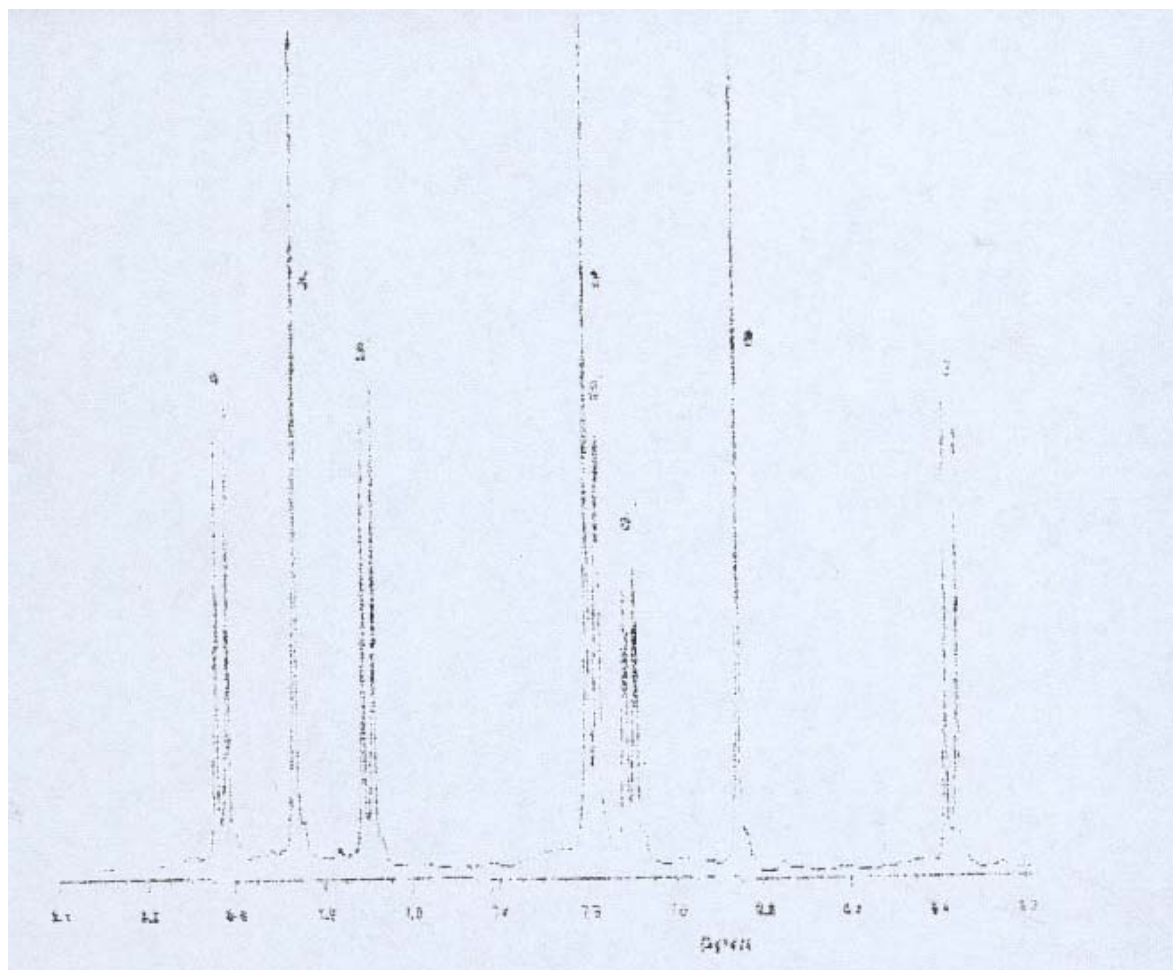
Aux champs les plus faibles, parmi les carbones porteurs de protons, apparaît un signal à 143,6 ppm attribuable au carbone C-4' [14].

Le spectre montre aussi des signaux à 136,6 ppm (C-3) et 130,3 ppm (C-4) attribuable aux carbones d'une double liaison oléfinique conjuguée.



Spectre n°22:RMN ¹³C (J-modulé) du produit F7sfII

Ce nouveau produit naturel, pour lequel nous proposons le nom rutamontanine (6-hydroxy-7-méthoxy-3,7' dicoumaryl éther) est inédit. La recherche bibliographique a montré que l'homologue de ce dérivé qui est la daphnorétine, dont le groupement méthoxylé est en position 6, isolée de *Daphne cannabina* [15] présente un spectre du proton (spectre n°23) différent ce qui conforte notre structure présentant le méthoxyle en position 7.



Spectre n° 23 : RMN ^1H du produit daphnorétine

II. 7. Caractéristiques physiques et spectrales des produits isolés.

Produit BM4 : 8-méthoxy psoralène (Xanthotoxine).

Formule brute: C₁₂H₈O₄

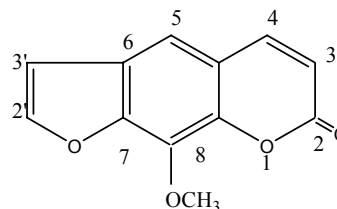
F : 249°C (CH₂Cl₂/Et₂O).

Spectre U.V. : λ_{max} nm /log ε (MeOH) : 208, 247, 262, 283

Spectre I.R. : (KBr) ν max cm⁻¹ : 3290, 1728, 1605, 1498.

Spectre de masse : DIC/NH₃ : m/z : 216 [M⁺].

Spectre de R.M.N du ¹H : (400MHz, CDCl₃).



Déplacement chimique δ(ppm)	Intégration	Multiplicité	Constante de couplage J(Hz)	Attribution
4.21	3H	s	-	H (OMe)
6.30	1H	d	9.6	H-3
6.75	1H	d	2	H-3'
7.29	1H	s	-	H-5
7.62	1H	d	2.0	H-2'
7.70	1H	d	9.6	H-4

Spectre de R.M.N. du ¹³C (300MHz CDCl₃) :

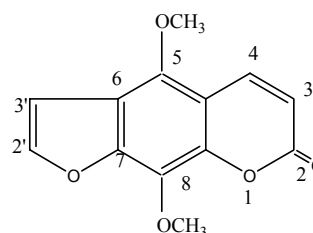
C	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C2'	C3'	OCH ₃
δ(ppm)	160.5	115.3	144.8	112.9	126.0	147.6	132.7	142.9	116.4	146.6	106.7	61.3

Produit F1sf10 : 5-8 diméthoxy psoralène ou isopimpinelline

Formule brute: C₁₃H₁₀O₅

F : 151°C-152° (CH₂Cl₂/Et₂O).

Spectre de masse : DIC/NH₃ : m/z : 246. 1245 5 [M⁺].



F7sfIII: 8-(2,3-dihydroxy-3-méthylbutoxy) psoralène (héraclénol).

Formule brute: C₁₆H₁₆O₆

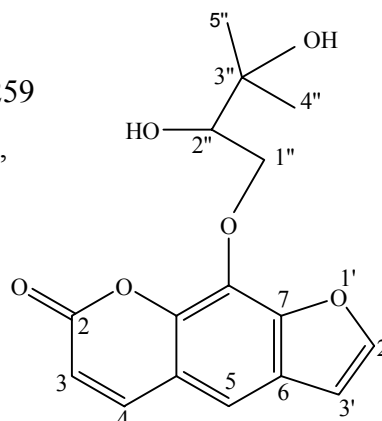
F: 118°C (CH₂Cl₂/Et₂O).

Spectre U.V.: λ_{max} nm /log ε (MeOH) : 218, 248, 263, 259

Spectre I.R. (KBr) ν max cm⁻¹ : 3544, 1723, 1608, 1495, 1390, 1374, 875.

Spectre de masse: m/z : 304. 1002 [M⁺].

Spectre de R.M.N. du ¹H: (400MHz, CDCl₃).



Déplacement chimique δ(ppm)	Intégration	Multiplicité	Constante de couplage J(Hz)	Attribution
1.30	1H	s	-	H-4''
1.34	1H	s	-	H-5''
3.89	2H	dd	7.7, 2.1	H-2''
4.41	2H	dd	10.0, 7.7	H-1''b
4.75	2H	dd	10.0, 2.1	H-1''a
6.34	1H	d	9.5	H-3
6.82	1H	d	1.7	H-3'
7.36	1H	s	-	H-5
7.69	1H	d	1.7	H-2'
7.75	1H	d	9.5	H-4

Spectre de R.M.N. du ¹³C: (400MHz, CDCl₃).

C	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C2'	C3'
δ(ppm)	160.5	114.6	144.4	112.4	126.1	147.6	130.8	142.9	116.4	146.6	105.08

C	C-1''	C-2''	C-3''	C-4''	C-5''
δ(ppm)	75.5	76.0	71.7	25.0	26.6

F7sfII: 6-hydroxy-7-méthoxy-3,7-dicoumarinyl éther

Formule brute: C₁₉H₁₂O₇

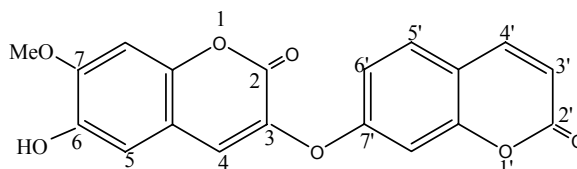
F: 129°C-131°C (CH₂Cl₂/Et₂O).

Spectre U.V.: λ_{max} nm /log ε (MeOH) : 230, 267, 325, 344.

Spectre I.R.: (KBr) ν max cm⁻¹ : 3530, 1728, 1612, 1476, 1376, 1382, 1130, 855.

Spectre de masse: m/z: 352. 0590 [M⁺].

Spectre de R.M.N. ¹H: (500MHz, CDCl₃).



Déplacement chimique δ (ppm)	Intégration	Multiplicité	Constantes de couplage J (Hz)	Attribution
3.90	3H	s	-	OMe
6.31	1H	d	9.5	H-3'
6.86	1H	s	-	H-5
6.90	1H	s	-	H-8
6.93	1H	d	2.0	H-8'
6.99	1H	dd	8.5, 2.0	H-6'
7.48	1H	d	8.5	H-5'
7.49	1H	s	-	H-4
7.74	1H	d	9.5	H-4'

Spectre de R.M.N. du ^{13}C : (400MHz, CDCl_3).

C	C2	C2'	C3	C3'	C4	C4a	C4'	C4'a	C5	C5'
δ (ppm)	161.3	159.7	136.3	114.1	130.3	110.1	143.6	114.7	104.4	129.3

C	C6	C8'	C7	C7'	C8	C8'	C8a	C8'a	OCH ₃
δ (ppm)	145.5	113.8	150.7	158.0	107.7	103.2	147.7	155.1	56.1

II. 8. Conclusion

Le choix principal de notre travail s'est fixé sur une espèce du genre *Ruta* pour l'étude des composés du métabolisme secondaire, notamment les alcaloïdes, elle est très répandue dans l'Est de notre pays et elle est considérée comme une plante médicinale ; il s'agit du *R. montana* L.

Quatre coumarines ont été isolées des parties aériennes de l'espèce *R. montana*. L'une d'elles est un composé naturel nouveau dont la structure a été déterminée à l'aide de techniques de RMN multi-impulsionnelle. Il s'agit de la 6-hydroxy-7-methoxy-3,7'-dicoumarinyl éther.

D'un point de vue chimiotaxonomique, l'isolement de la coumarine xanthotoxine **15** n'a rien de surprenant, c'est une coumarine particulièrement répandue dans le genre *Ruta* L. La présence de l'héraclénol **19** et l'isopimpinilline **14** est plus intéressante, car il convient de signaler que l'héraclénol **19** n'avait jamais été jusqu'ici isolé de ce genre. L'isopimpinilline **14**, isolé antérieurement de *R. angustifolia* est rencontrée pour la première fois chez l'espèce *R. montana*.

Les structures ont été établies par l'étude de leurs différents spectres et par haute technique de résolution.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Creté P. **1965**, *Systématique Des Angiospermes*, Masson Cie Editeurs, Paris VI^e France.
- [2] Bezanger B.L., Pinkas M., Torck M., **1986**, *Les plantes dans la Thérapeutique Moderne*.
- [3] Gonzalez A.G., Lopez D.H., Diaz C.E., , Rodriguez L.F., **1982**, *An .Quim. Ser. C.*, 78(2), 268.
- [4] Gonzalez A.G., Estevez R.R., Diaz C.E., **1974**, *An. Quim.* 70(3), 281.
- [5] Abyshev A.Z., Gindin V.A., Kerimov Y.B., Ismailov E.S., Agaev E.M., Isaev N.Y. **1992**, *Khim. Priro. Soed.*, (3,4), 438.
- [6] Novak I., Szendrei K., Brizas G., Minker E., Koltai M., **1967**, *Acta Pharm. Hung.*, 37(5), 131.
- [7] Gonzalez G.A., Lopez D.H., Melian R.M. , Rodriguez L.F., **1974**, *An. Quim.*, 70(1), 60.
- [8] Gonzalez G.A., Estevez R.R., Jaraiz I., **1972**, *An. Quim.*, 68(4), 415.
- [9] Gonzalez G.A., Estevez R.R., Baez A.J., Ruano P.T., **1973**, *An. Quim.*, 69(11), 1141.
- [10] Reisch J., Szendrei K., Minker E., Novak I., **1969**, *Plantam med.*, 17(2), 116.
- [11] Borges D.J., Rodriguez L.F., Secundino L.F., **1987**, *An. Quim. Ser. C.* 83(1), 15.
- [12] Chacrabarti B. D., Banerji J., **1986**, *Phytochemistry*, 25(2), 557.
- [13] Scheela T. Rastogi R. P., **1977**, *Phytochemistry*, 16, 1991.
- [14] Priya L. M., Gobinda C. S., Biswa N. D., Chatterje J. A, **1974**, *Phytochemistry*, 13, 1929.
- [15] Cordell G. A., **1974**, *J.Nat. Prod* ,47(1),88.

Partie II
ETUDE PHYTOCHIMIQUE
DE L'ESPECE

*Matricaria
pubescens L.*

I. Aperçu bibliographique

I. 1. Introduction

La famille des Compositae est l'une des plus distribuées dans le règne végétal. Cette famille comprend plus de 13 tribus, 1000 genres et 23000 espèces [1,2]. En Algérie, il en existe 109 genres et 408 espèces [3] et en France, 111 genres et 638 espèces [2]. Cette vaste famille est économiquement importante, elle fournit des plantes alimentaires : Laitues (*Lactuca*), Endives, Chicorée (*Cichorium*), Artichauts (*Cynara*), Salsifis (*Tragopogon*). Le tournesol (*Heliantus annuus*) est cultivé pour son huile riche en acides gras.

Plusieurs espèces sont utilisées en pharmacie : Le Semen-contra (*Artemisia cina Berg*), l'Arnica (*Arnica montana L.*), la Chamomille (*Matricaria chamomilla L.* et *Anthemis nobilis L.*), le pied de chat (*Antenaria dioca gartn*) [1]. Une des propriétés typiques de la famille des Compositae est sa richesse en composés naturels divers. On y trouve des terpenoïdes, des flavonoïdes et des alcaloïdes [4]. C'est une famille très riche en lactones sesquiterpéniques qui représentent des principes amers typiques de cette famille [4].

I. 2. Description botanique

Les Compositae, surtout représentées dans les régions tempérées et froides du globe [5], sont principalement des herbes, vivaces ou non, mais aussi des arbustes ou sous-arbrisseaux, parfois des herbes, rarement des plantes aquatiques ou des plantes grimpantes ou encore des épiphytes. Les feuilles sont le plus souvent alternes, mais aussi opposées ou radiales, simples exstipulées [6].

Selon Gaussen, les Compositae sont réparties en fonction de la forme de leurs fleurs en deux types : l'un ayant des fleurs à corolles ligulées et l'autre à corolles tubulées [2]. Le genre *Matricaria* appartient à ce dernier type. Ce genre renferme des espèces à réceptacle conique. Elles se distinguent par l'absence de

poils sur leurs parties végétatives et par le manque de paillettes sur le réceptacle de leurs capitules [7].

I. 3. Usages traditionnels

La médecine traditionnelle a attribué de nombreuses propriétés thérapeutiques à la Matricaire (Chamomille allemande) qui ont été souvent discutées. Parmi les principales propriétés, il y avait l'usage en tant qu'antispasmodiques, fébrifuges, antispastiques des organes de la digestion, emménagogues, antinévralgiques, anti-allergiques et bactéricides. En usage externe, la Matricaire est un anti-inflammatoire, un cicatrisant de la peau et des muqueuses. Elle est prescrite contre les inflammations de la bouche, des oreilles, des yeux et contre diverses affections cutanées. L'huile essentielle est également utilisée comme agent antirhumatismal [5,8].

La matricaire est couramment employée dans les préparations capillaires destinées à éclaircir la nuance des cheveux dont elle stimulerait aussi la croissance. C'est la plante la plus utilisée en cosmétologie où elle se montrerait émoulliente, adoucissante, protectrice [9].

Le tableau [1] présente les multiples usages traditionnels de quelques Matricaires de part le monde.

Tableau[1] : Quelques usages traditionnels de certaines Matricaire dans le monde

Espèce	Origine géographique	Partie utilisée	Voie	Usage	Réf.
<i>M. aurea</i>	Israël	Plante entière	Orale	Traitement de l'hypoglycémie	[10]
<i>M. chamomilla</i>	Russie	Fleurs	Externe	Contre le vieillissement prématuré de la peau	[11]
	Allemagne	Fleurs	Orale	Spasmolytique	[12]
	Hongrie			Antimicrobien	[13]
	Allemagne			Antiviral	[14]
	Hongrie			Antifongique	[15]
	Bulgarie	Plante entière	Orale	Intensifier le tonus de l'utérus	[16]

	Italie	Plante entière	Orale	Sédative	[17]
	République tchèque	Plante entière	Orale externe	Antispasmodique Anti-inflammatoire Antiseptique	[18]
	Japon			Antimutagénique	[19]
	Espagne	Pollen		Conjonctivite Produits cosmétiques Dermatologique	[20]
	Iraq		Injection	Anti-inflammatoire	[21]
	Yougoslavie	Plante entière	Orale	Ulcère	[22]
	Japon	Plante entière	Externe	Eclaircissement de la peau	[23]
	Iran			Antioxydant	[24]
	Japon			Inhibe la production des mélanocytes	[25]
	Italie			Sédative, spasmolytique	[26]
	Pologne	Plante entière	Inhalation	Anti-allergique	[27]
	France	Plante entière		Antiviral Anti-herpétique	[28]
	Japon	Plante entière		Antimutagène	[29]
	Espagne	Plante entière	Externe	Stimule la croissance des cheveux	[30]
	Espagne	Pollen	Externe	Conjonctivite	[31]
	Japon	Plante entière		Hydratant Traitement de l'eczéma	[32]
	Japon	Plante entière		Traitement des dermatites atopiques Traitement de l'exoroderma sénile	[33]
	Japon	Plante entière		Antioxydant	[34]

		Fleurs	Orale Externe	Tonique amer, eureptique Antispasmodique Anti-inflammatoire	
<i>M. indica</i>	Chine	Plante entière	Orale	Anti-cancer	[35]
	Chine	Plante entière	Externe	Traitement des cheveux hypertendus	[36]
	Chine	Plante entière		Pneumonie des bébés	[37]
<i>M. inodora</i>	France	Plante entière		Antiviral Anti-herpétique	[28]
<i>M. nigellifolia</i>	Angleterre	Plante entière		Désordre nerveux	[38]
<i>M. matricaroides</i>	Japon			Anti-inflammatoire	[39]
<i>M. pubescens</i>	Maroc Algérie	Plante entière	Orale	Affections gastro-intestinales Calculs biliaires Tumeurs internes Otites Rhumatismes Sciatiques Névralgies Parfumer et conserver le beurre fondu	[40]
<i>M. recutita</i>	Argentine	Fleurs	Orale	Spasmolytique Sédative	[41]
	EX.URSS	Plante entière		Antioxydant	[42]
	Italie			Antimycotique	[43]
	Brésil			Agents Antisolaires	[44]
	Italie	Plante entière		Anti--inflammatoire (respiratoire, gastroentérique) Alimentation des enfants	[45]

	Egypte	Plante entière		Anti-ulcère	[46]
	Lituanie	Plante entière		Antioxydant	[47]
	Italie			Anti-inflammatoire Anti-ulcère Cicatrisant de la peau	[48]
	Allemagne	Plante entière		Anti-inflammatoire Antiseptique Spasmolytique	[49]
	Suisse	Fleurs	Orale	Antispasmodique Digestif Diurétique	[8]
Externe			Anti-inflammatoire		
Orale			Contre le syndrome de l'intestin irritable Le manque d'appétit et l'indigestion L'insomnie, anxiété ou stress Contre l'endormissement des bébés Contre l'hypertension		
Externe			Pommade contre les piqûres d'insectes, les plaies, le prurit de l'eczéma, les irritations anales ou vulvaires		
Inhalation			Contre le catarrhe nasal, les rhumes des foies, l'asthme et la bronchite		

I. 4. Travaux antérieurs sur le genre *Matricaria*

Un grand nombre du genre de *Matricaria* ont fait, à ce jour, l'objet d'études chimiques et de très nombreux métabolites secondaires ont été isolés [50].

A l'exception des alcaloïdes, les recherches phytochimiques ont permis de mettre en évidence, dans le genre *Matricaria*, tous les composés caractéristiques des Compositae.

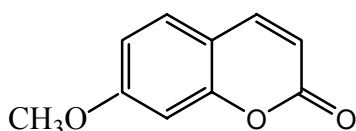
Ces dernières, lors des études chimiosystématiques, ont montré une grande variété de métabolites secondaires et des procédés biosynthétiques différents. On a ainsi pu mettre en évidence, au cours des études chimiques sur les Compositae, différents types de composés chimiques [50] :

- Coumarines
- Flavonoïdes
- Terpènes
- Hétérosides
- Sesquiterpènes lactones

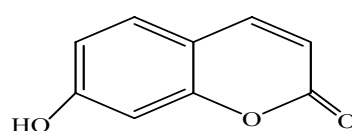
II. 4. 1. Les coumarines

Ce sont des 2-H-1-benzopyran-2-ones, considérés comme étant les lactones des acides O-hydroxy-2-cinnamiques.

Les composés coumariniques rencontrés chez le genre *Matricaria* [51] sont le plus souvent des composés simples comme c'est le cas de l'Herniarine 1 et l'umbelliférone 2.



1 Herniarine



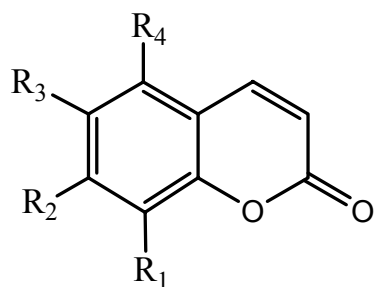
2 umbelliférone

Ahmed *et al*, ont particulièrement étudié l'espèce *M. chamomilla*. Cette étude réalisée sur l'extrait chloroformique des fleurs a permis d'isoler les deux coumarines Herniarine 1 et l'umbelliférone 2 [52]. Le tableau [2] illustre les composés séparés du genre *Matricaria*.

Tableau [2] : Dérivés coumariniques isolées de quelques espèces du genre *Matricaria* L.

<i>Espèce</i>	Origine géographique	Coumarine	Structure	Réf
M. chamomilla	Allemagne	Umbelliférone Scoparone	<u>2</u> <u>3</u>	[53]
	Allemagne	Umbelliférone	<u>2</u>	[14]
	Italie	Herniarine	<u>1</u>	[54]

	Allemagne	Herniarine Umbelliférone	<u>1</u> <u>2</u>	[55]
	Italie	Umbelliférone Herniarine	<u>2</u> <u>1</u>	[56]
	France	Herniarine	<u>1</u>	[57]
		Umbelliférone Methyl. ether Umbelliférone Scopolatine	<u>4</u> <u>1</u> <u>5</u>	[58]
	Turquie	Herniarine Umbelliférone	<u>1</u> <u>2</u>	[59]
	Italie	Herniarine	<u>1</u>	[60]
	Bulgarie	Coumarine	<u>6</u>	[61]
		Umbelliférone	<u>2</u>	
<i>M. discordea</i>	Ex-URSS	Umbelliférone Herniarine	<u>2</u> <u>1</u>	[62]
<i>M. matricarioïdes</i>	Ex-URSS	Herniarine	<u>1</u>	[63]
	Canada	Umbelliférone	<u>2</u>	[64]
	Ex-URSS	Herniarine	<u>1</u>	[65]
<i>M. pubescens</i>	Autriche	Herniarine	<u>1</u>	[66]
<i>M. recutita</i>	Allemagne	Herniarine	<u>1</u>	[67]
	Canada	Umbelliférone	<u>2</u>	[68]
		Herniarine	<u>1</u>	
	Russie	Coumarine	<u>6</u>	[69]
		Isoscolétine	<u>7</u>	
		Scopolétine	<u>5</u>	
		Herniarine	<u>1</u>	
		Umbelliférone Esculétine	<u>2</u> <u>8</u>	
	Hongarie	Herniarine	<u>1</u>	[70]
	Slovaquie	Herniarine	<u>1</u>	[71]
	Italie	Umbelliférone	<u>2</u>	[72]
Herniarine		<u>1</u>		
Canada	Umbelliférone	<u>2</u>	[73]	
	Herniarine	<u>1</u>		
Ex-URSS	Herniarine	<u>1</u>	[74]	
<i>M. romanae</i>	Roumanie	Umbelliférone	<u>2</u>	[75]
		Herniarine	<u>1</u>	



Coumarine	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
3	OCH ₃	OCH ₃	H	H
4	OCH ₃	OH	H	H
5	H	H	H	H
6	H	OCH ₃	OH	H
7	H	OH	OCH ₃	H
8	H	OH	OH	H

Intérêts pharmacologiques des coumarines

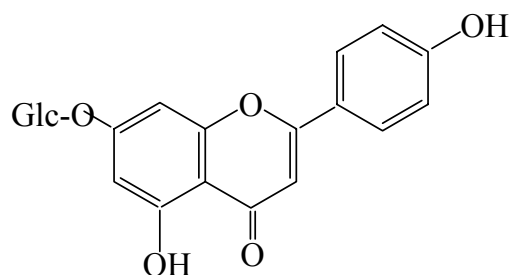
Les coumarines ont des actions photobiologiques [76], bactériostatiques et antifongiques [77]. Certaines furanocoumarines sont photosensibilisantes, elles ont des effets carcinogènes qui tendent à diminuer l'emploi de ces substances dans les traitements des maladies de la peau telles que le psoriasis [78]. Le tableau [3] rassemble l'activité des coumarines issues du genre *Matricaria*.

Tableau [3] : Relation entre structure et effet pharmacologique des coumarines isolées du genre *Matricaria*

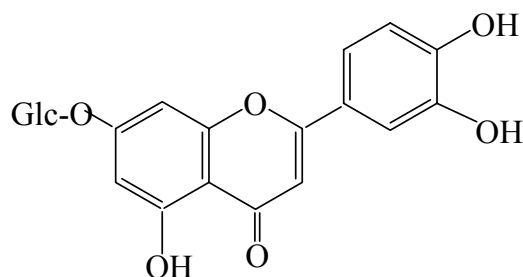
Coumarine	Activité	Réf
Herniarine	Anti-solaire Antifongique Stimule les réponses allergiques	[70,80,79]
Umbelliférone	Antimicrobienne Photoactive	[68,14]
Coumarine	Antimicrobienne Photo active	[68]

I.4. 2. Les flavonoïdes

Les composés flavoniques sont des substances naturelles très répandues dans la famille des Compositae [81] où beaucoup de travaux ont été réalisés [82] chez le genre *Matricaria*. On trouve essentiellement des flavonoïdes glycosylés comme l'apigénine 7-glucoside **9** et la lutéoline 7-glucoside **10**

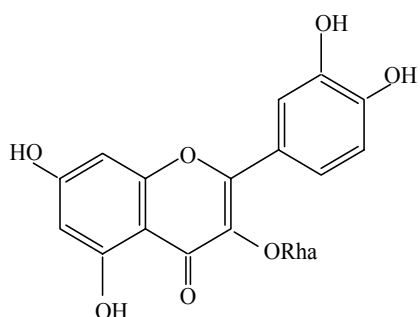


9 apigénine 7-glucoside

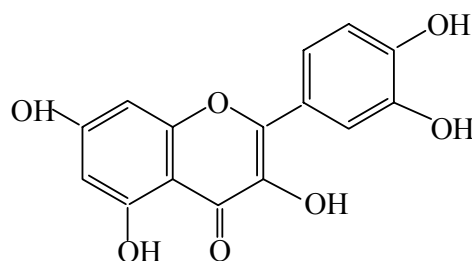


10 lutéoline 7-glucoside

L'étude chimique des espèces *M. recutita* et *M. chamomilla* a permis également de mettre en évidence des flavonoïdes aglycones. L'analyse spectroscopique a permis d'assigner les structures de ces composés. Il s'agit de la rutine **11** et de la quercétine **12** [55,83].



11 rutine



12 quercétine

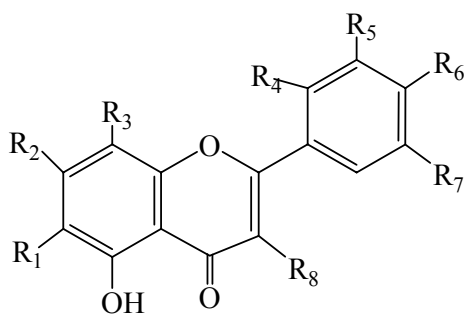
Les flavonoïdes isolés du genre *Matricaria* sont regroupés dans le tableau [4].

Tableau [4] : Flavonoïdes isolés du genre *Matricaria*

Espèce	Origine géographique	Flavonoïde	Structure	Réf
<i>M. chamomilla</i>	Allemagne	Apigénine7- glucoside patulitine quercémétrine luteoline7-glucoside	9 13 14 10	[53]
	Allemagne	4,5'-dihydroxy-3',3,6,7-tétraméthoxyflavone	15	[84]
	Italie	Apigénine7-glucoside Apigenine-7-acetylglucoside	9 16	[85]
	Bulgarie	Apigénine Apigénine7-glucoside Apigenine-7-acetylglucoside	17 18 16	[63]

	Allemagne	Apigénine Luteoline Patulitine Quercétine Apigénine 7- glucoside 2'',6 '' diacétate	<u>17</u> <u>18</u> <u>13</u> <u>11</u> <u>19</u>	[55]
	Italie	Apigénine 7- glucoside 2'',6''- diacétate	<u>19</u>	[86]
	Italie	Apigénine Apigénine-7-glucoside Apigénine-7-acetylglucoside	<u>17</u> <u>9</u> <u>16</u>	[87]
	France	Apigénine	<u>17</u>	[57]
	Italie	Apigénine-7-glucoside Apigénine-7-acetyl glucoside	<u>9</u> <u>16</u>	[88]
	République Tchèque	Apigénine	<u>17</u>	[89]
	Yougoslavie	Apigénine Apigénine-7-glucoside	<u>17</u> <u>9</u>	[90]
	Turquie	Apigénine Luteoline Apigénine-7-glucoside Kaempferol-3- glucoside Lutéoline-7- glucoside	<u>17</u> <u>19</u> <u>9</u> <u>20</u> <u>10</u>	[91]
	Italie	Apigénine-7-glucoside Apigénine	<u>9</u> <u>17</u>	[92]
	Yougoslavie	Apigénine-7-acetylglucoside Apigénine 7- glucoside 2'',6''- diacétate	<u>16</u> <u>19</u>	[93]
	Allemagne	Apigénine Lutéoline Apigénine-7-glucoside	<u>17</u> <u>18</u> <u>9</u>	[94]
	Roumanie	Rutine Apigénine Apigénine-7 glucoside	<u>11</u> <u>17</u> <u>9</u>	[95]
<i>M. discordea</i>	Ex. URSS	Lutéoline 7-glucoside Lutéoline	<u>10</u> <u>18</u>	[61]
<i>M. flos</i>	Allemagne	Jacéidine Chrysosephenol D Eupatolitine Spinacétine Auxillarine Eupatiline	<u>21</u> <u>22</u> <u>23</u> <u>24</u> <u>25</u> <u>26</u>	[96]
<i>M. inodora</i>	France	Lutéoline-7-glucoside	<u>10</u>	[97]
<i>M. matricaroïde</i>	Hongrie	Quercémétrine	<u>14</u>	[98]
<i>M. ricutita</i>	Bulgarie	Quercétagétine Apigénine 7-glucoside Lutéoline 7-glucoside Hypéroside Rutine Apigénine	<u>27</u> <u>9</u> <u>10</u> <u>28</u> <u>11</u> <u>17</u>	[99]

	Allemagne	Apigénine 8-B-O-(4''O-acétyl) glucoside	<u>29</u>	[100]
	Allemagne	Apigénine 7-glucoside	<u>9</u>	[99]
	Slovaquie	Apigénine	<u>17</u>	[71]
	Allemagne	Apigénine Apigénine 7- glucoside	<u>17</u> <u>9</u>	[101]



Flavonoïde	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈
<u>13</u>	OCH ₃	OH	H	H	OH	OH	H	OH
<u>14</u>	H	GLc	H	H		OH	OH	OH
<u>15</u>	OCH ₃	H	H	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃
<u>16</u>	H	2'',6''acetate) GLc	H	H	H	OH	H	H
<u>17</u>	H	OH	H	H	H	OH	H	H
<u>18</u>	H	OH	H	H	OH	OH	H	H
<u>19</u>	H	O-(diacétyl)- Glc	H	H	H	OH	H	H
<u>20</u>	H	OH	H	H	H	OH	H	OGlc
<u>21</u>	OCH ₃	OH	H	H	OCH ₃	H	H	OCH ₃
<u>22</u>	OCH ₃	OCH ₃	H	H	OH	OH	H	OCH ₃

<u>23</u>	OCH ₃	OCH ₃	OH	OH	OH	H	H	H
<u>24</u>	OH	OCH ₃	OH	OCH ₃	H	H	H	H
<u>25</u>	OCH ₃	OH	H	H	OH	OH	H	OCH ₃
<u>26</u>	OCH ₃	OH	OH	H	H	H	OH	H
<u>27</u>	OH	OH	H	H	OH	OH	H	OCH ₃
<u>28</u>	OH	H	H	H	OH	OH	H	O-GLc
<u>29</u>	OH	H	H	H	H	OH	H	(4''-acetyl) GLc

Intérêts pharmacologiques des Flavonoïdes isolés du genre *Matricaria*

Les flavonoïdes, connus anciennement comme toniques veineux et protecteurs capillaires [102] (action vitaminique p utilisée comme réductrice des hémorragies), sont dotés de propriétés biologiques remarquables qui sont : anti-hypertensive [103], anti-allergique, anti-inflammatoire [104, 105], anti-hépatotoxique et antivirale [106] etc... Comme beaucoup de Compositeae, le genre *Matricaria* renferme des flavonoïdes qui présentent des activités physiologiques résumées dans le tableau [5].

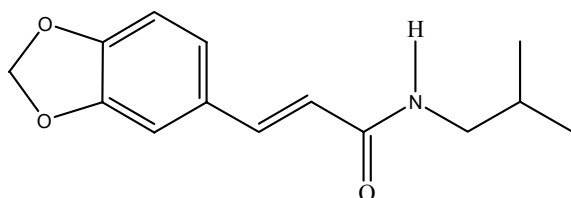
Tableau [5] : Relation entre structure et effet pharmacologique des flavonoïdes isolés du genre *Matricaria*.

Produit	Activité	Réf
Apigénine	Spasmolytique	[107]
	Anti-inflammatoire	
	Inhibe l'infiltration des granulocytes	[12]
	Inhibe la locomotion	[108]
	Anxiolytique	[26]
Luteoline 7-glycoside	Sédative	
	Spasmolytique	[107]
	Traitement de la pigmentation de la peau	
Lutéoline	Antiviral	[108]
	Spasmolytique	[12]
	Inhibe l'infiltration des granulocytes	[109]
	Anti- inflammatoire	[110]
Patulétine	Traitement de la pigmentation de la peau	[111]
	Spasmolytique	[12]
Quercétine	Spasmolytique	[12]
	Anti-inflammatoire	[109]
Apigénine 7-(6-O-acétyl) glucoside	Anti-inflammatoire	[12]
Apigénine 7- glucoside	Spasmolytique	[12]
	Anti-inflammatoire	[109]

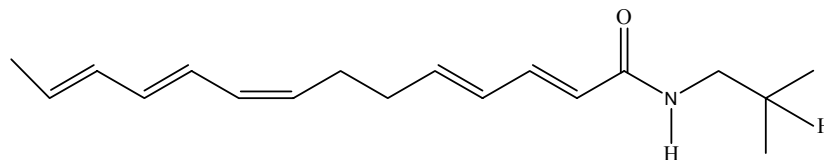
Apigénine diglycoside	Spasmolytique	[12]
Rutine diglycoside	Spasmolytique	[12]
Rutine	Anti-inflammatoire	[12]
Chryisine	Anxiolytique Inhibe la locomotion	[110]

I.4.3. Les amides

Les parties aériennes et les racines de nombreuses espèces *Argyranthemum* [112] et l'espèce *Matricaria pubescens* [66] présentent un goût piquant et poivré dû à des métabolites secondaires comportant un radical isobutylamide. Ces amides peuvent être aromatiques **32** ou aliphatiques **33** [113].



32 Fagaramide



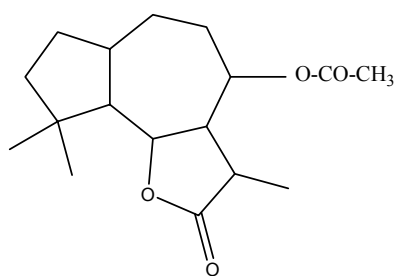
33 γ -Sanshool

Les isobutylamides oléfiniques possèdent des activités biologiques diverses, ils peuvent être anti-insecticides, anti-mollusques, anti-tussifs, stimulants, anti-inflammatoires, antiseptiques, analgésiques et anti-tumoraux [114, 115].

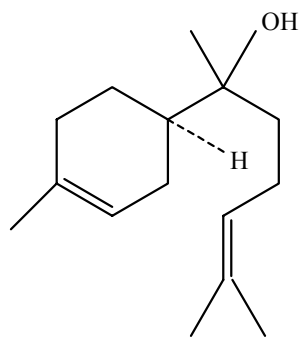
I. 4.4. Les autres Constituants

Les substances suivantes ont également été isolées de plusieurs *Matricaria* :

- Chez *M. aurea*, la matricine **34** et le bisabol **35** ont été extraits des parties aériennes [116].
- Des composés divers : des amides, polysaccharides, hydrocarbures, triglycérides et des acides gras [66, 117, 118].



34 matricine



35 bisabolol

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Guignard J.L., **1994**, Abrégé Botanique, 9^{ème} Ed. 204.
- [2] Gaussen H., Leroy H. F., **1982**, Précis de Botanique (végétaux supérieurs), 2^{ème} Ed. 426.
- [3] Quezel F., Santa S., **1962-1963**, Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Vol. 1-2. Ed. CNRS, Paris France.
- [4] Harborne J.B., Swain T., **1969**, Perspectives In Phytochemistry, Academic Press, London, New York.
- [5] Paris R. R., Moyse H., **1971**, Précis de matière Médicale, Tome III. Paris, 397.
- [6] Paulian P., **1967**, Guide pour l'Etude de quelques plantes Tropicales, Ed. Gauthier – Villards, Paris.
- [7] Guignard J.L., **1972-1998**, Abrégés de Botanique, Ed. Masson, Paris Milan Barcelone.
- [8] Poletti A., **1982**, Fleurs et Plantes Médicinales, Ed. Delachaux Nestlé'S.A., Neuchâtel Suisse, 116.
- [9] Bezanger-Beauquesne L., Penkas M., Torck M., Trotin F., **1990**, Plantes Médicinales des Régions Tempérées, 2^{ème} Ed. Maloine, Paris 364.
- [10] Ali Shataych M. S., Yaniv Z., Mahayana J., **2000**, *J. Ethnopharmacology*, 73, 213.
- [11] Kabonova E. V., Aleshena Z.P., Boyarskaya M.M., **1967**, *Soap Cosmetic factory Coden* : URXXAF SU 191060 19670114.
- [12] Achterrath T. U., Kunde R., Flaskamp E., Isaac O., Thiemer K., **1980**, *Planta med.* , 39 (1) 50.
- [13] Kuruez I., Horrok L., **1979**, *Kert. Egye. Koz.*, 42 (2), 299.
- [14] Szalontai M., Verzar P.G., Florian E., **1977**, *Parfu. Kosm.*, 58(5), 127.
- [15] Szalontai M., Verzar P. G., Florian E., **1976**, *Acta phar. Hung.*, 46 (5-6), 247.
- [16] Shipochlico T., **1981**, *Veter. Medi. Nauki*, 18(4), 98.

- [17] Della I. R., Tubaro A., Redaelli C., **1981**, *Rivista Dineurologia*, 51(5), 310.
- [18] Snuparek V., Varga I., Fumm R., Gattnar O., Oravec V., Minezinger S., **1988**, *CZEh*, 4pp.
- [19] Ohtsuka A., Nunoshiba T., Nakayama K., Naminshi R., Saighsa S., Sotani T., Nishioka H., *Sci.Eng.*, **1986**, 26(4), 266.
- [20] Subiza J.L., Alonso M., Minojosa M., Gareia R., Jerz M., Subiza E., **1990**, *Ann.allerg.*, 65(2), 132.
- [21] AL-Hindawi M. K., AL-Deen I.,H., Nabi M.H., Ismail M., A., **1989**, *J. Ethnopharmacology*, 26(2), 168.
- [22] Savin K., **1985.**, *Arch. Farm.*, 35(6), 292.
- [23] Msuda M., Suzuki J., Shibuya J., **1997**, *Jpn. Kokai Tokkyo koho*, 6pp.
- [24] Asgary S., Naderi G. A., Bashardoost N., Etminan Z.Z.; **2002**, *Fasl. Grya. Daru.*, 1(1) 79.
- [25] Hachiya A., Kobayashi A, Ohuchi A., **2000**, *Free Radical Research*, 28(9), 71.
- [26] Avallone R., Zanolli P., Puia G., Kleinschnitz M., Schreiers P., Baraldi M., **2000**, *Bio. Pharm.*, 59(11), 1394.
- [27] Orkiszewska A., Lobarzewski R., Jerdrzejewska M., **1985**, *Wars. Zakl. Ziela*. "Herbapol", 3 pp.
- [28] Suganda A.G., Amoros M., Girre L., Fauconnier B., **1983**, *J. Nat. Prod.*, 46(5), 632.
- [29] Ohtsuka A., Nunoshiba T., Nakayama K., Naminchi R., Saigusa S., Soltani T., Nishioka H., **1986**, *Sci. Eng. Rev.*, 26(4), 266.
- [30] Tanigaki N. H., Kobayashi T., **1992**, *Jpn. Kok. Tokk. Koh.*, 5pp.
- [31] Subiza L., Subiza J.L., Alonso M., Hinojosa M., Garcia R., Jerez M., Subiza I., **1990**, *Ann. Alleg.*, 65(2), 132.
- [32] Okabe J., Takei M., **1995**, *Jpn. Kok. Tokk. Koh.*, 4pp.

- [33] Inor T., Nunokawa S., **1993**, *Jpn. Kok. Tokk. Koh.*, 5 pp.
- [34] Matsingou T.C., Kapsokefalou M., Salifoglou A., **2001**, *Free. Rad. Res.*, 35(5), 605.
- [35] Liu W., **1999**, *Fam. Zhu. Shen.*, 5 pp.
- [36] Sun W. B., Li B., Chang Q., Feng Z., li w., Wang W., **1997**, *Fam. Zhu. Shen. Gong. Shuo. Shu.*, 10 pp.
- [37] Liang G., Lian G., Zhu L., **2001**, *Fam. Zhua. Shen. Gony. Shuo.*, 7 pp.
- [38] Newsholme S.I., kellerman T.S., Welman W.G., **1984**, *Onderstepoort Veter. Res.*, 51(2), 127.
- [39] Akihisa T., Tasukama K., Oinuma H., Kasahara T., Tamanouchi S., Takido M. kumaki K., Tamuna T., **1996**, *Phytochemistry*, 43(6), 1260.
- [40] Bellakhdar J., **1997**, *Medecine Arabe Ancienne et Savoir Populaire, La Pharmacopée Marocaine et Traditionnelle*, Ibis Press, France.
- [41] Viola H., Wasowski C., Levied S. M., Wolfman C., Silveria R., Dayas F., Medina J. H., Paladini A.C., **1995**, *Planta med.*, 61(3), 216.
- [42] Patsyuk V.I., **1989**, *Farm. Zhur. (kiev) (C)*, 76.
- [43] Trovato A., Monforte M.T., Forestieri A.M., Pizzimenti F., **2000**, *Chim.Farm.*, 139(5), 227.
- [44] Ramos M.F.S., Santos E.P., Bizarre C.H.B., Mattos H.A., Padilha M.R.S., **1996**, *Int. J. Cos. Sci.*, 18(3), 101.
- [45] Mulinacei N., Romani A., Penelli P., Vincieri F.F., Prucher D., **2000**, *Chromatographia*, 51(5/6), 307.
- [46] Khayyal M.T., El-Ghazaly M. A., Kenawy S. A., Seif-el –Nasr M., Mahran L., G., Kafafi Y.A.H., Okpanyc S. H., **2001**, *Arz.For.*, 51(7), 553.
- [47] Milauskas G., Venskutonis P.R., Van B.T.A., **2004**, *Food Chem.*, 85(2), 237.
- [48] Baradi M., **2003**, *PCTINT*, 14 pp.

- [49] Barene H., Daberte I., Zvigzdina L., **2003**, *Iri. Med.* (Kaunas), 39 supp 2, 131.
- [50] Guignard J. L., Cossen L., Henry M., **1985**, *Abrégé de Phytochimie*, Ed. Masson, Paris.
- [51] Tosi B., Romagnoli C., Menziani A. E., Bruni A., **1995**, *I. J. Pharm.*, 33(2), 144.
- [52] Ahmed A., Misra L. N., **1997**, *I. J. Pharm*, 35(2), 121.
- [53] Poethke W., Bulin P., **1969**, *Phaim Zentralh* , 108(11), 747
- [54] De pasquale A., Silvestri R., **1975**, *Atti- Conr. Naz. Olu Essenz. Suiderir .Agrum*, 6-7,136.
- [55] Kunde R., Isaac O., **1979**, *Planta med.*, 37(2), 130.
- [56] Redaelli C., Formentini L., Santaniello E., **1981**, *Planta med.*, 43(4), 413.
- [57] Faure- Bwancon M., Roter J., **1983**, *Parfums Cosmet Aromes*, 54, 66.
- [58] Power Frederick B., Browning H. J., **1914**, *J.Chem. Soc. Abst.*, 105, 2291.
- [59] Merichi A.H., **1990**, *Int. J. Cru. Dr.Res.*, 28(12), 147.
- [60] Redaelli C., Formentini L., Santaniello E., **1981**, *J. Chromato.*, 209 (1), 112.
- [61] Prosvski M.A., Oleshko G.I., **1985**, *Khim. Prir. Soedin.*, (5), 712.
- [62] Akak E., Roal A., Pehk T., Macrog U., **1988**, *Khim. Prir. Soedin.*, (6), 806.
- [63] Redaelli C., Formentini L., Santaniello E., **1979**, *Herba Hung.*, 18(3), 324.
- [64] Jain T., Karchasy J.J., **1971**, *Phytochemisty*,10(11), 2826.
- [65] Kiselwa E. Y.A., Kibalchich P. N., **1970**, *Farmatsiya*, 19(3), 71.
- [66] Greger H., Hofer O., **1984**, *Phytochemisty*, 23(5), 1174.
- [67] Stahl E., **1969**, *Arzneim-Forsch*, 19(11), 1895.

- [68] Ceska O., Chaudhary S. K., Warrington P.J., Ashwood S., **1992**, *Fitoterapia*, 63(5), 394.
- [69] Kotov A. G., Khvorist P.P., Komissarenko N.F., **1991**, *Khim . Prir. Soedin.* (6), 835.
- [70] Hethelyi B.E., Korany K., Smandi B., Domokas P. J., **2002**, *Olaj, Szappan, Kozmetika*, 51(6), 47.
- [71] Repeak M., Eliasova A., Ruscancinova A., **1998**, *Pharmazi*, 53(4), 279.
- [72] Tosi R., Ramognoli C., Menziani A., Emilia B. A., **1995**, *Int. J. Pharm.* 33(2),147.
- [73] Ciska O., Chaudhary S.K., Warrington P.J., Ashwood S.M.J.,**1992**, *Fitoterapia*, 63(5), 394.
- [74] Arak E., Raal A., Tommeorg J., **1986**, *Farmatsiya* , 35(4), 22.
- [75] Negoescu E., Botea M., Mutihac L., Faraianu C., Culea M., Palibroda N.,**1984**, *Rev. Chim.*, 33(2), 166.
- [76] Rufini L., Sampaolo G., **1977**, *Cosmétol. Aerosol*, 59(32), 64.
- [77] Ficher F. C., Van Doorne H., Lim M. I., Svendsen A. B., **1976**, *Phytochemistry*, 30, 1078.
- [78] Gray A. I., Waterman P. G., **1978**, *Phytochemistry*, 17, 845.
- [79] Hegui E., Sarsunova K., **1986**, *Faim.obz.*, 55(1), 36.
- [80] Mares D., Pomagnoli C., Bruni A., **1993**, *Pau., Plan. Méd. Phyt.*, 26(2), 100.
- [81] Harborne J. B., **1977**, *Biol. Chem. Comp.*, 1, 359.
- [82] Bruneton J., **1993**, *Pharmacognosie, Phytochimie des Plantes médicinales, Techniques et Documentation*, Lavoisier, Paris 268.
- [83] Peneva P., Ivancheva S., Terzieva L., **1989**, *Rastenievudni Nauki*, 26(6), 25.
- [84] Haensel R., Rimpler H., Walther K., **1966**, *Naturwissenschaften*, 53(1), 19.

- [85] Redaelli C., Formentini L., Santaniello E., **1980**, *Phytochemistry*, 19(5), 986.
- [86] Redaelli C., Formentini L., Santamillo E., **1982**, *Phytochemistry*, 21(7), 1830.
- [87] Redaelli C., Formentini L., Santamillo E., **1981**, *Planta med.*, 42(3), 292.
- [88] Prilta M. E., Ceva P., **1987**, *J. Chromatogr.*, 404 (1), 281.
- [89] Kolinek J., Kolinkova B., ProkraB., **1986**, *Czech* 3pp.
- [90] Pekie B., Lepojevic Z., Slasica B., **1989**, *Farmacyn*, 39(5), 168.
- [91] Merichi A.H., Korkmaz Y., **1992**, *Acta Pharm.Tur.*, 34 (3), 73.
- [92] Menzvani E., Tosi B., Bonova A., Reschiglion P., **1990**, *J. Chromatography*, 511, 401.
- [93] Pekic B., Zekovic Z., Lepojevic Z., **1994.**, *Zbor. Mati. Syrs. Prir. Nau.* 86, 41.
- [94] Merfort I., Heilmann J., Hagedom L. U., Lippold B.C., **1994**, *Pharmazie*, 49 (7), 511.
- [95] RadulescuV., Cluliment S., Badicu N., Popescu L., **2003**, *Revi.Chim.*, 54 (8), 700.
- [96] Exner J., ReichlingJ., Cole T.C.H, Becker H., **1981**, *Planta med.*, 41 (2), 200.
- [97] Suganda A.G., Amoros M., Fauconnier, B., Girre L., **1984**, *Plant. Med. Phytother.*,18 (4), 225.
- [98] Mathe I., Tvinac E., **1962**, *Acta pharm. Hung.*, 32, 48.
- [99] Peneva P., Ivancheva S., Terzieva L., **1989**, *Rast. Nauki.*, 26(6), 33.
- [100] Tsciersch K., Hoelzl J., **1992**, *PZ Wissenschaft*, 5(5), 214.
- [101] Quirin K.W., **1997**, *Gew. Zpfl.*, 103, 114.

- [102] Paris M., Harschielle H., **1981**, Abrégé de Matière Médicinale (Pharmacognosie) Tome I, Ed. Masson, Paris.
- [103] Elbl G., Wagner H., **1991**, *Planta med.*, 57, 137.
- [104] Matsuda H., Yano M., Linuma M., Oyama M., Mizuno M., **1991**, *Yakugata Zasshi*, 111, 193.
- [105] Wagner H., Geyer B., Kiso Y., Hikino H., Rao G. S., **1986**, *Planta med.*, 370.
- [106] Vlietink A. J., Vanden Berche D. A., **1991**, *J. Ethnopharmacology*, 32, 141.
- [107] Hoerhammer L., **1962**, *Congr.Sci.Farm. Conf. Comun.*, 21st., pix 588.
- [108] Zanolli P., Avallone R., Baraldi M., **2000**, *Fitoterapia*, 71(suppl 1), 123.
- [109] Della L., R., Ubaro A., Di P., Zilli C., Del Negro P., **1986**, *Progr.Clin.Biol.Res.*, (213), 484.
- [110] Viola H., Marder M., Wolfman C., Wasowski C., Medina J .H., Paladini A.C., **1998**, *Ann. Asoc.Qui. Age.*, 86 (3-6), 236.
- [111] Cariel R., Jean D., **1986**, *Fr. Demande*, 19 PP.
- [112] Doskotch R.W., Beal J.L., **1970**, *Lloydia* 33, 393.
- [113] Greger H. , **1984**, *Planta med.* 375.
- [114] John T., Graham K., Towers G.H.N., **1982**, *Phytochemistry*, 21, 2737.
- [115] Bohlmann F., Granger M., Krüger M., **1983**, *Tetrahedron*, 23, 123.
- [116] Das M., Ram G., Singh A. Mallavarapu G. R., Ramesh S., Ram M., Kumai S. **2002**, *J. Flavour and Fragrance*, 17(1), 12.
- [117] Kocurik S., Granits L., **1979**, *Farm. Obz.*, 48(3), 111.
- [118] Stransky K., Streibl M., Ubik K., Kohoutova J., **1981**, *Anstrichum*, 83(9), 347.

II. Description des travaux

II. 1. Place dans la systématique

Embranchement :	Angiospermes
Classe :	Dicotylédones
Sous-classe :	Gamopétales
Ordre :	Astérales
Famille :	Compositae
Genre :	<i>Matricaria</i>
Espèce :	<i>pubescens</i>

II. 2. Description botanique de l'espèce *Matricaria pubescens*

L'espèce *Matricaria pubescens* se rencontre particulièrement dans tout le Sahara septentrional et central. C'est une espèce endémique très connue en Afrique du Nord [1]. C'est une plante à tiges couchées puis redressées, nombreuses et sous forme de touffes. Les feuilles découpées velues et d'un vert sombre; involucre d'un jaune paille à bractées portant une marge membraneuse large. Fleurs toutes en tubes, à chaîne surmontée d'une écaille membraneuse plus longue, rejetée sur un coté et ayant l'aspect d'une ligulé [1,2].



Matricaria pubescens

II. 3. Matériel végétal :

Le matériel végétal étudié a été récolté au mois d'avril 1996, en période de floraison dans la région de Biskra (Sahara Septentrional).

Un échantillon d'herbier (Référence LOSTMp 04/96) a été déposé au laboratoire d'obtention de substances thérapeutiques (LOST), faculté des sciences université Mentouri, Constantine.

II. 4. Extraction :

700g des parties aériennes et racines de la plante séchée sont mises à macérer dans un mélange méthanol-eau (70 /30)v/v pendant 3×24 heures. L'extrait hydroalcoolique est filtré puis évaporé à sec sous pression réduite à une température inférieure à 50°C jusqu'à l'obtention d'un résidu sirupeux sec. Ce dernier est repris par de l'eau distillée. Une décantation à la chambre froide pendant une nuit permet le dépôt des composés hautement lipophiles (la chlorophylle, les cires, les résines, les boues terpéniques, le sable etc... La solution ainsi dégraissée subit une filtration ou plusieurs sur verre fritté n°3 permettant de faciliter la chromatographie. La phase aqueuse obtenue est épuisée successivement par le chloroforme (extrait-A), l'acétate d'éthyle (extrait-B), et le n-butanol (extrait-C) (schéma1).

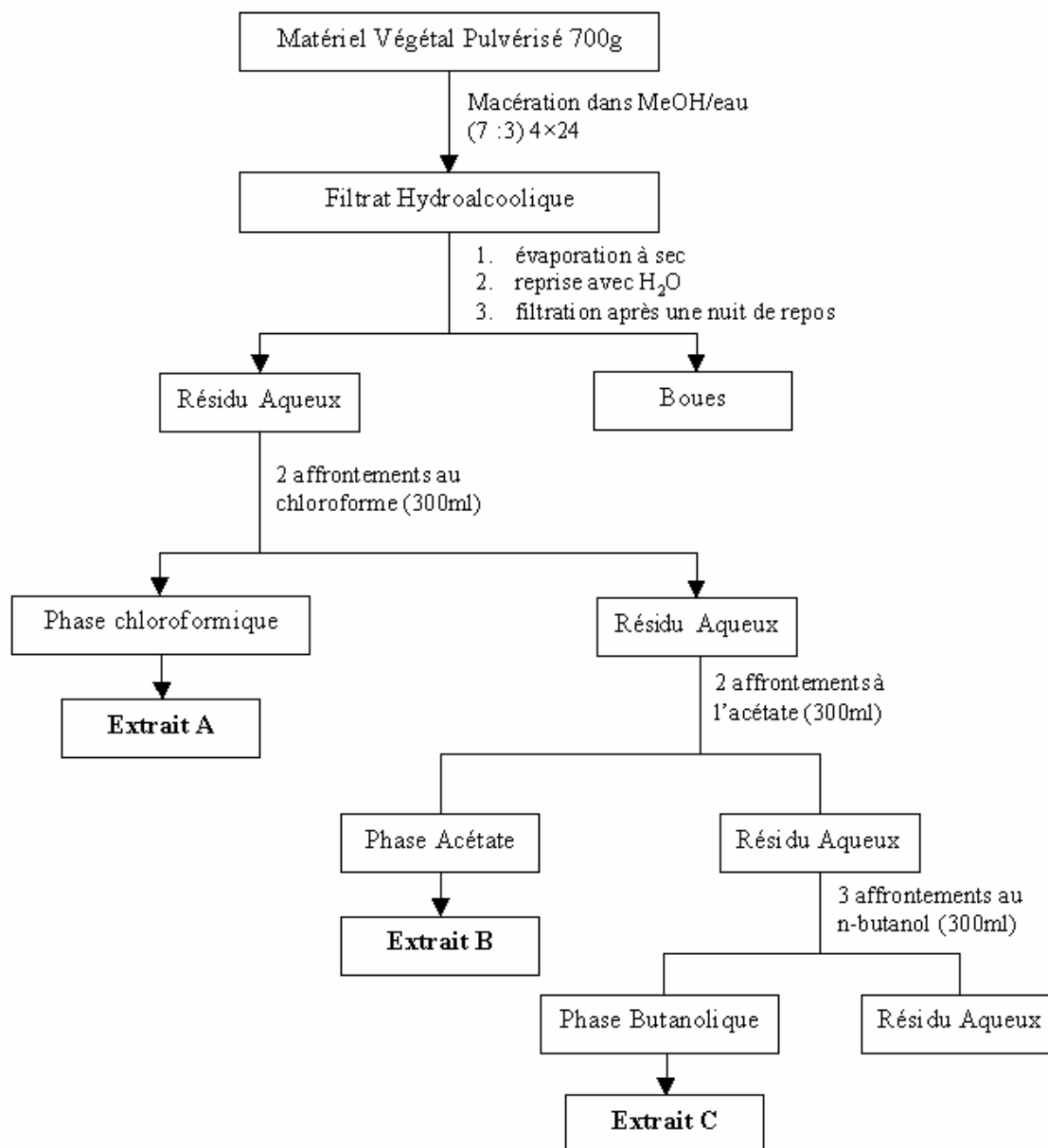


Schéma 1 : Schéma d'extraction

II. 5. Séparation et purification

Etude du résidu chloroformique

Le but de cette étape est de réaliser une première séparation des composés avant la confection de la colonne, l'adsorbant est mis en suspension dans le solvant de base (éther de pétrole) sous agitation magnétique afin d'homogénéiser la bouillie formée avant de l'introduire dans la colonne.

Une quantité de 5g de l'extrait brut est solubilisée dans un minimum d'éther de pétrole puis introduite dans une colonne de gel de silice flash (35-70 μ m) en phase et pression normales. L'élution est réalisée au moyen de l'éther de pétrole dont on augmente la polarité par l'addition progressive de l'acétate d'éthyle, puis on élue avec un mélange d'acétate d'éthyle-méthanol et enfin par du méthanol pur. 17 fractions ont été obtenues selon le tableau [1].

Tableau [1] : Séparation chromatographique de l'extrait chloroformique du *M. pubescens*

Solvant d'élution	<i>Fractions recueillies</i>	Masse (mg)
Ep 100 %	1-3	290
Ep 100 %	4-8	170
Ep 100 %	9-18	290
Ep 100 %	19-29	40
Ep 100 %	30-37	40
Ep-AcOEt-99,9/0,1	38-41	220
Ep-AcOEt-99,9/0,1	42-66	30
Ep-AcOEt-98/2	67-80	140
Ep-AcOEt 20/80	91-114	374,4
AcOEt- 100 %	115-139	1150
AcOEt-MeOH- 95/5	140-147	100
AcOEt-MeOH-80/20	148-155	160
AcOEt-MeOH-80/20	156-157	250
AcOEt-MeOH-80/20	158-172	140
AcOEt-MeOH-70/30	173-197	360
AcOEt-MeOH-10/90	198-218	840
MeOH-100 %	218-225	430

Etude de la fraction a (Fa) :

La fraction a (0,46g), provenant du rassemblement des fractions F2 et F3, est chromatographiée sur colonne de gel de Silice (35-70 μ m). 11 fractions ont été obtenues selon le tableau [2]

Tableau [2] : Séparation chromatographique de la fraction Fa

Solvants d'élution	Fractions recueillies	Masse (mg)
Cy-AcOEt- 90/10	1-25 (a ₁)	158,0
Cy-AcOEt- 90/1	26-30 (a ₂)	15,0
Cy-AcOEt- 90/10	31-35 (a ₃)	30,0
Cy-AcOEt- 90/10	36-40 (a ₄)	89,3
Cy-AcOEt- 80/20	40-43 (a ₅)	19,5
Cy-AcOEt- 80/20	44-45 (a ₆)→ BND	24,1
Cy-AcOEt- 75/25	46-70 (a ₇)	20,0
Cy-AcOEt- 75/25	71-113 (a ₈)	25,8
Cy-AcOEt- 75/25	114-120 (a ₉)	20,4
Cy-AcOEt- 75/25	121-140 (a ₁₀)	20,7
Cy-AcOEt- 75/25	141-Fin (a ₁₁)	16,6

Cette fraction a permis d'isoler 24,1 mg du produit **BND** (sfa₆).

Etude de la fraction a₁:

La fraction a₁ (158 mg) est chromatographiée sur colonne de gel de silice (35-70 μ m) éluée avec le cyclohexane puis avec un gradient croissant d'acétate d'éthyle. Trois fractions ont été obtenues selon le tableau [3] :

Tableau [3] : Séparation chromatographique de la fraction a₁

Solvants d'élution	Fractions recueillies	Masse (mg)
Cy-AcOEt- 80/20	1-25 (a ₁₋₁)	19,5
Cy-AcOEt- 80/20	6-10 (a ₁₋₂)	53,9
AcOEt- 100 %	11-20 (a ₁₋₃)	53,00

Etude de la fraction a₄ :

La fraction a₄ (89,2 mg) est chromatographiée sur colonne de gel de silice (20-45 μ m) éluée avec le cyclohexane puis un gradient croissant d'acétate d'éthyle. Des fractions ont été recueillies selon le tableau [4]

Tableau [4] : Séparation chromatographique de la fraction a₄

Solvants d'élution	Fractions recueillies	Masse (mg)
Cy-AcOEt- 90/10	1-12	-
Cy-AcOEt- 85/15	12-18 (a _{4-1'})	8,1
Cy-AcOEt- 85/15	19 (a _{4-1''})	9,3
Cy-AcOEt- 85/15	20-62 (a ₄₁)	27,5
Cy-AcOEt- 85/15	63-116 (a ₄₂)	8,1
Cy-AcOEt- 84/16	117-125(a ₄₃)	14,3
Cy-AcOEt- 82/18	126-153(a ₄₄)	9,5

Etude de la fraction a₄₁ :

La fraction a₄₁ (27,5 mg) est chromatographiée sur colonne de gel de Silice 20-45 µm, éluee au cyclohexane puis, avec un gradient d'acétate d'éthyle, conduisant à deux fractions selon le tableau [5]

Tableau [5] : Séparation chromatographique de la fraction a₄₁

Solvants d'élution	Fractions recueillies	Masse (mg)
Cy-AcOEt- 90/10	1-14	Première fraction
Cy-AcOEt- 87/13	14-17 (a ₄₋₁ - I)	13
Cy-AcOEt- 87/13	18-Fin (a ₄₋₁ - II)	10

Les fractions a_{41-I}, a_{41-II}, a₄₂, a_{41'} ont été rassemblées pour donner la nouvelle fraction FN (40,4 mg).

Etude de la fraction FN :

La fraction FN (40,4 mg) est chromatographiée sur colonne de gel de silice (20-45µm) éluee avec le cyclohexane puis avec un gradient de polarité croissante d'acétate d'éthyle de 6 à 8 % conduisant: aux produits N₁ (20,1 mg) et N₂ (19,8 mg). Tableau [6]

Tableau [6] : Séparation chromatographique de la fraction FN

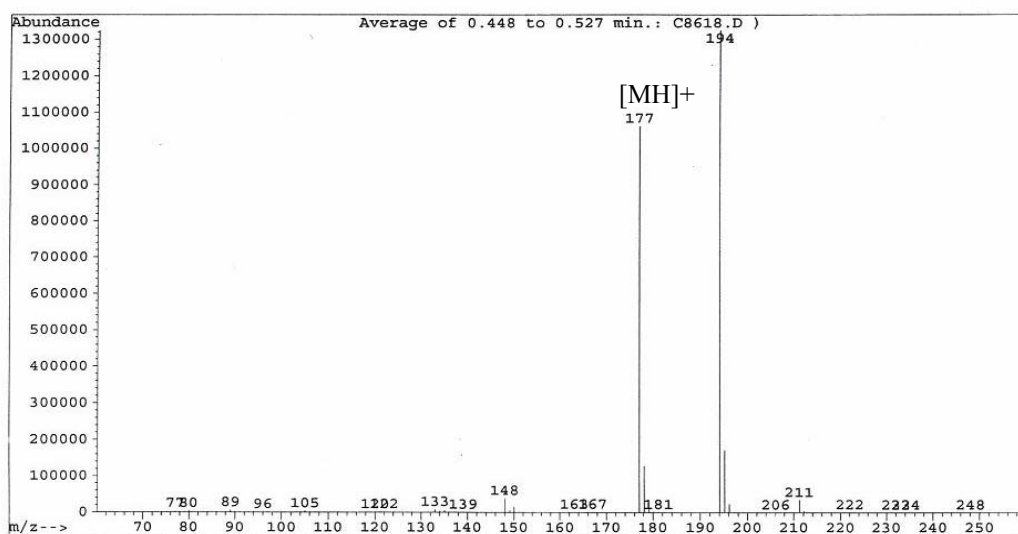
Solvants d'élution	Fractions recueillies	Masse (mg)
Cy	1-21	-
Cy-AcOEt- 94/6	22-31 (N ₁)	20,1
Cy-AcOEt- 92/8	32-Fin (N ₂)	19,8

Cette fraction a permis d'isoler 20,1 mg et 19,8 mg du produit N₁ et N₂ respectivement.

II. 6. Identification Structurale des produits N₁, N₂ et BND

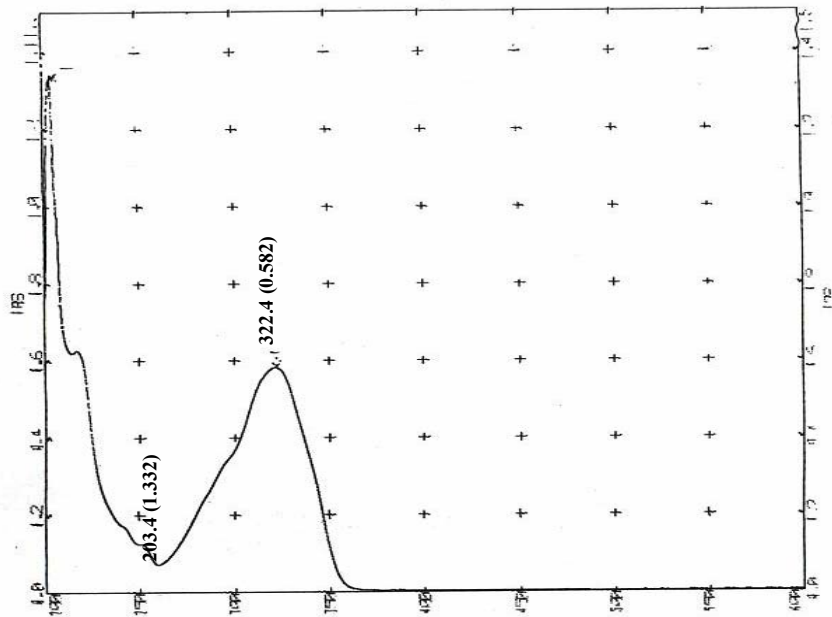
Produit N1 :

Le spectre de masse en ionisation chimique (DiC/NH₃) (spectre n° 1), montre un ion pseudomoléculaire [MH]⁺=177, correspondant à la formule brute C₁₀H₈O₃.

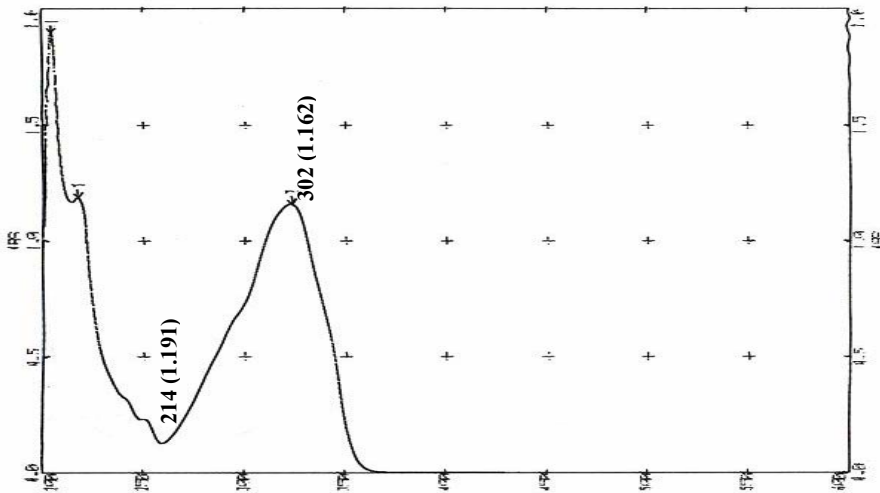


Spectre n° 1 : SM du produit N1

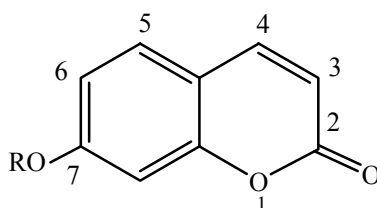
Le spectre UV (spectre n° 2, 3), présente des valeurs de λ_{\max} de 203,4 (1,332), 204 (1,903), 214 (1,191), 322 (1,162) nm, caractéristiques d'une coumarine oxygénée en position 7 [3].



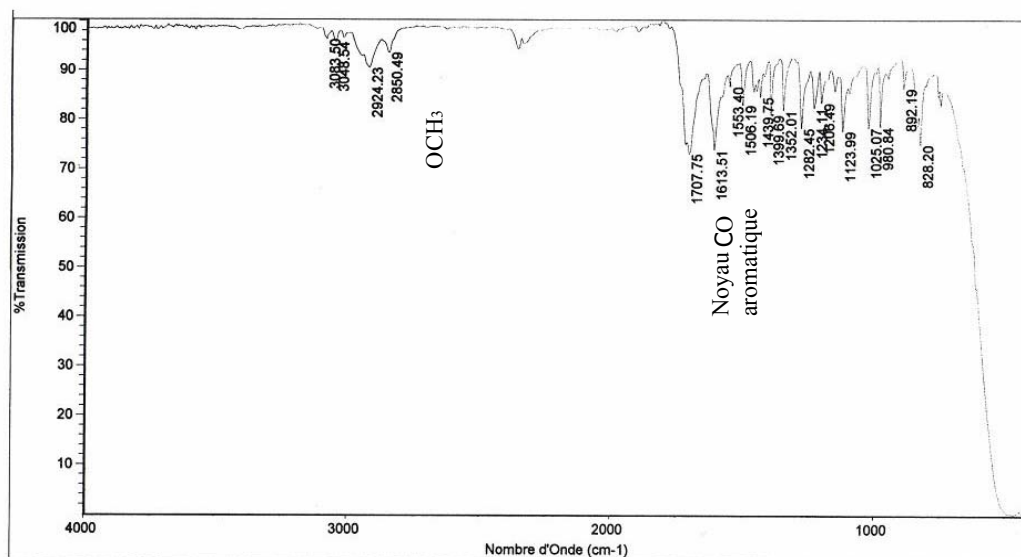
Spectre n° 2: UV du produit N1



Spectre n° 3: UV du produit N1



Le spectre IR (spectre n° 4) permet d'observer les bandes d'absorption du carbonyle à 1707 cm^{-1} , du groupement méthyle à 2840 cm^{-1} et du noyau aromatique à 1613 cm^{-1} .

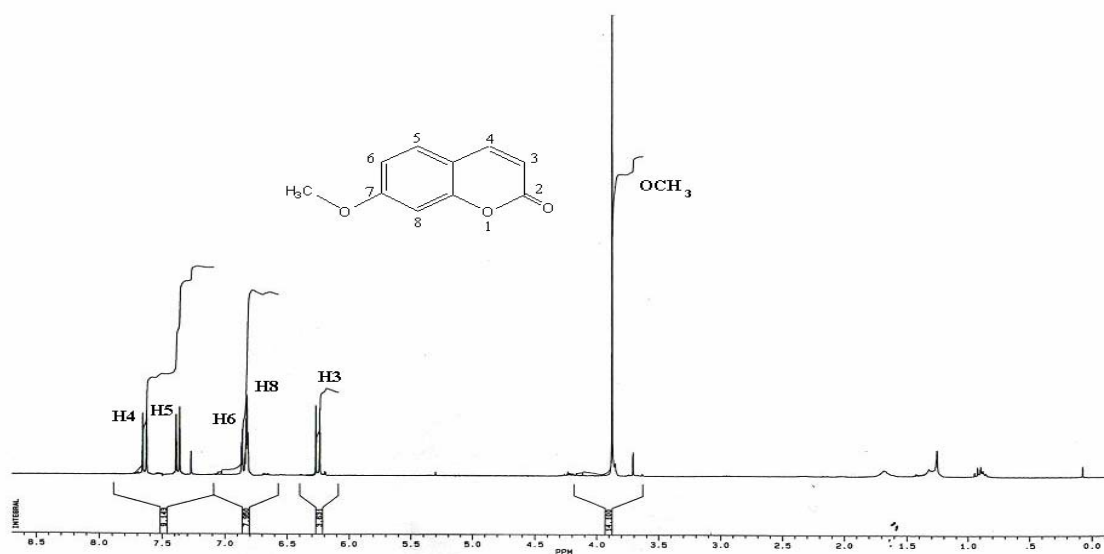


Spectre n° 4: IR du produit N1

Le spectre de RMN du proton (spectre n° 5) enregistré en solution dans CDCl_3 , montre les signaux caractéristiques suivants à :

- 3,85 ppm, sous forme de singulet de trois protons, correspondant à un groupement méthoxyle aromatique.
- 6,25 ppm, sous forme de doublet ($J= 10.0\text{Hz}$), correspondant au proton H-3.

- 6,75 ppm, sous forme de doublet de doublet ($J = 8.0 \text{ Hz}$, $J = 2.0 \text{ Hz}$), correspondant au proton H-6 couplant avec H-8.
- 6,85 ppm, sous forme de doublet ($J = 2.0 \text{ Hz}$), correspondant au proton H-8, couplant avec le proton H-6 et H-5.
- 7,35 ppm, sous forme de doublet ($J = 8.0 \text{ Hz}$), correspondant au proton H-5.
- 7,65 ppm, sous forme de doublet ($J = 10.0 \text{ Hz}$), correspondant au proton H-4, couplant avec le proton H-3.



Spectre n° 5: RMN ^1H du produit N1

Ceci permet de proposer la structure suivante :

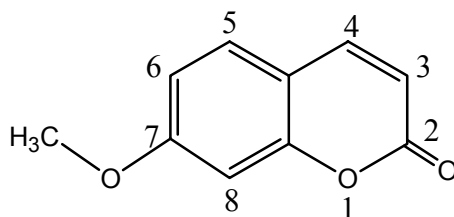
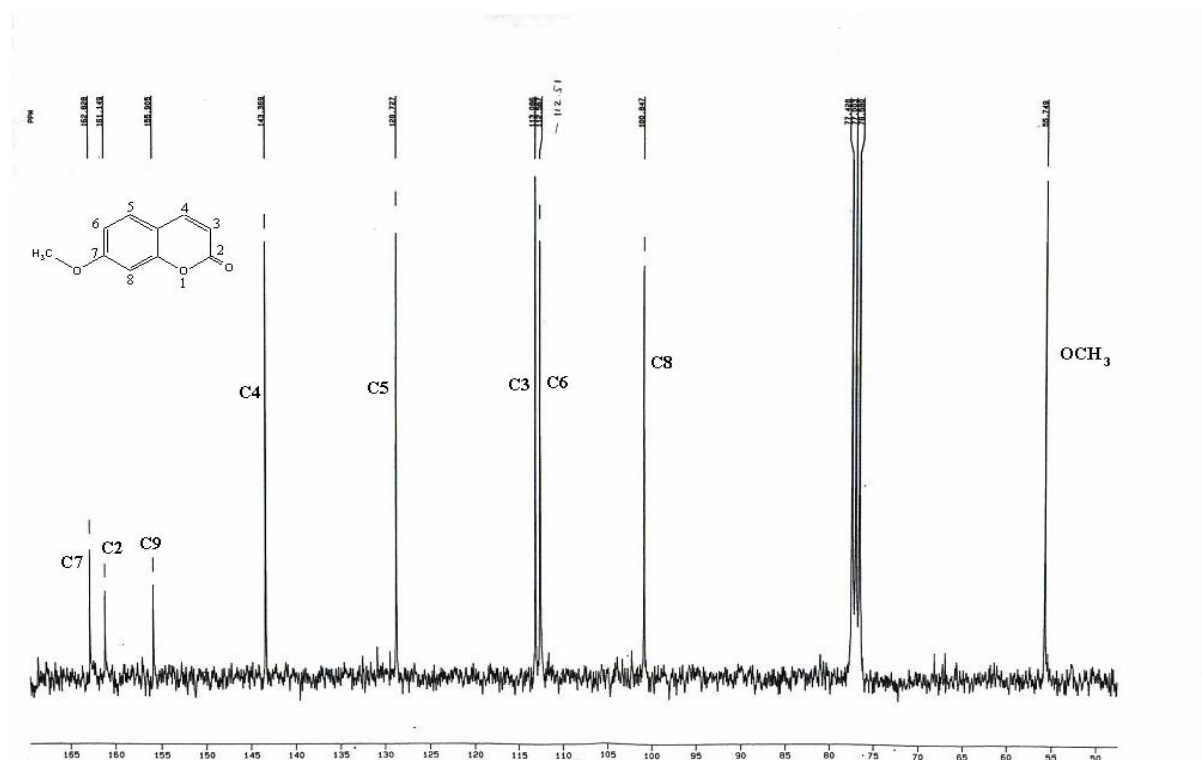


Tableau [7] : Données R.M.N ^1H (300MHz, CDCl_3)

$\delta(\text{ppm})$	Multiplicité	Intégration	$J(\text{Hz})$	Attribution
3.85	s	3H	-	OCH_3
6.25	d	1H	8.0	H-3
6.75	dd	2H	2.0; 8.0	H-6

6.85	d	1H	2.0	H-8
7.35	d	1H	10.0	H-5
7.65	d	1H	10.0	H-4

Cette structure est confirmée par le spectre de RMN¹³C (spectre n° 6) qui présente des signaux de 10 atomes de carbone dont le signal à 55,75 ppm, propre au groupement méthoxyle et les signaux à 128,7 ppm, 112,6 ppm, 162,8 ppm, 100,9 ppm, 155,9 ppm, 112,5 ppm correspondant à la résonance des carbones C-5, C-6, C-7, C-8, C-9, C-10 respectivement (tableau [8]).



Spectre n° 6: RMN ¹³C du produit N1

Tableau [8]: Données R.M.N ¹³C (300MHz, CDCl₃)

$\delta(\text{ppm})$	Carbone
161.1	C2
113.1	C3
143.4	C4
128.7	C5
112.6	C6
162.8	C7
100.9	C8
155.9	C9
112.5	C10
55.7	OCH ₃

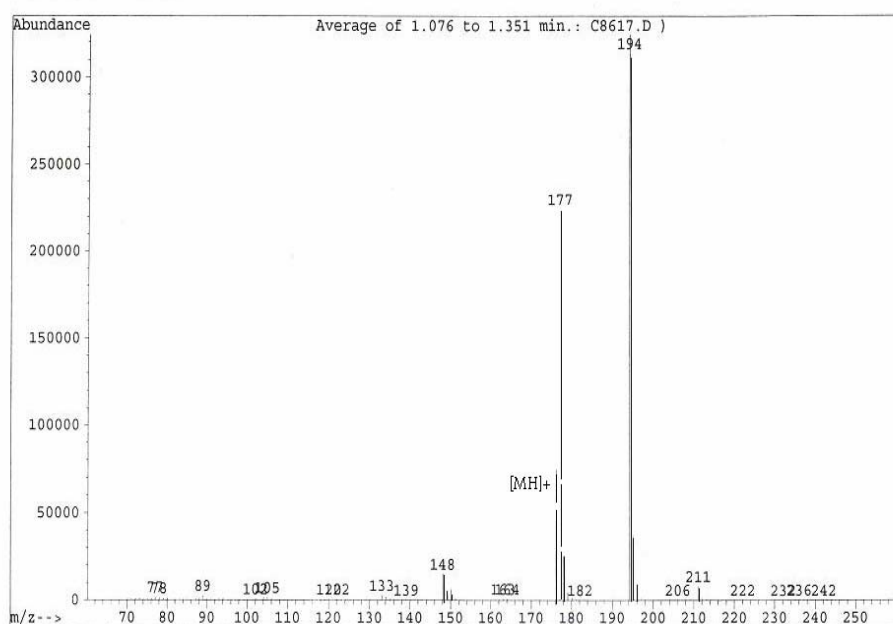
Ces données suggèrent une structure de l'herniarine en accord avec les données de la littérature [4].

Cette structure est confirmée par comparaison avec les caractéristiques physiques et spectrales de l'herniarine dont le point de fusion coïncide avec celui que nous avons mesuré : 115° (éther diéthylique) [4].

Cette coumarine a été antérieurement isolée de deux espèces du genre *Matricaria* L., *M. chamomille* L.[5, 6, 7] et *M. pubescens* [4].

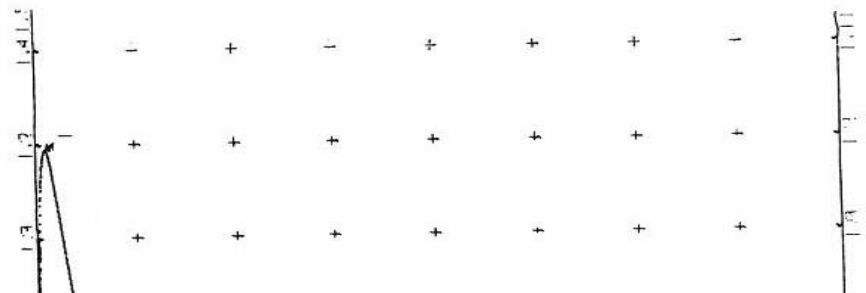
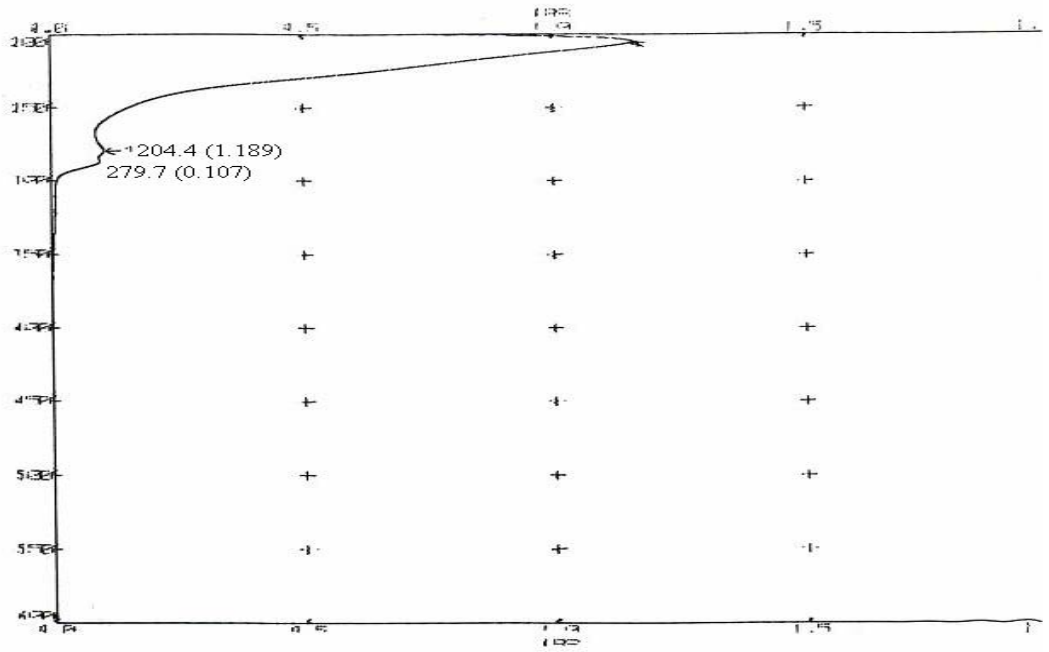
Produit N₂ :

Le spectre de masse en ionisation chimique (Dic/NH₃) (spectre n° 7), montre un ion pseudomoléculaire [MH]⁺ = 179, correspondant à la formule brute C₁₀H₁₀O₃.

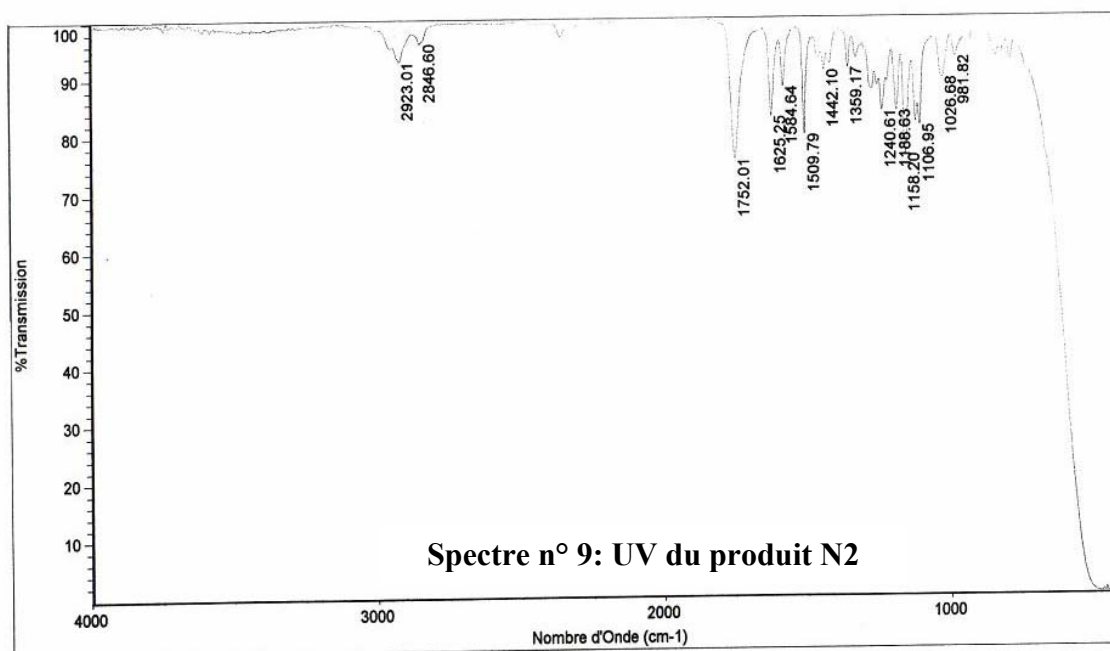


Spectre n° 7: SM du produit N2

Le spectre UV (spectres n° 8, 9) présente des maxima à 204,4 (1,189) et 279,7 (0,107) nm, propre à un squelette coumarine.

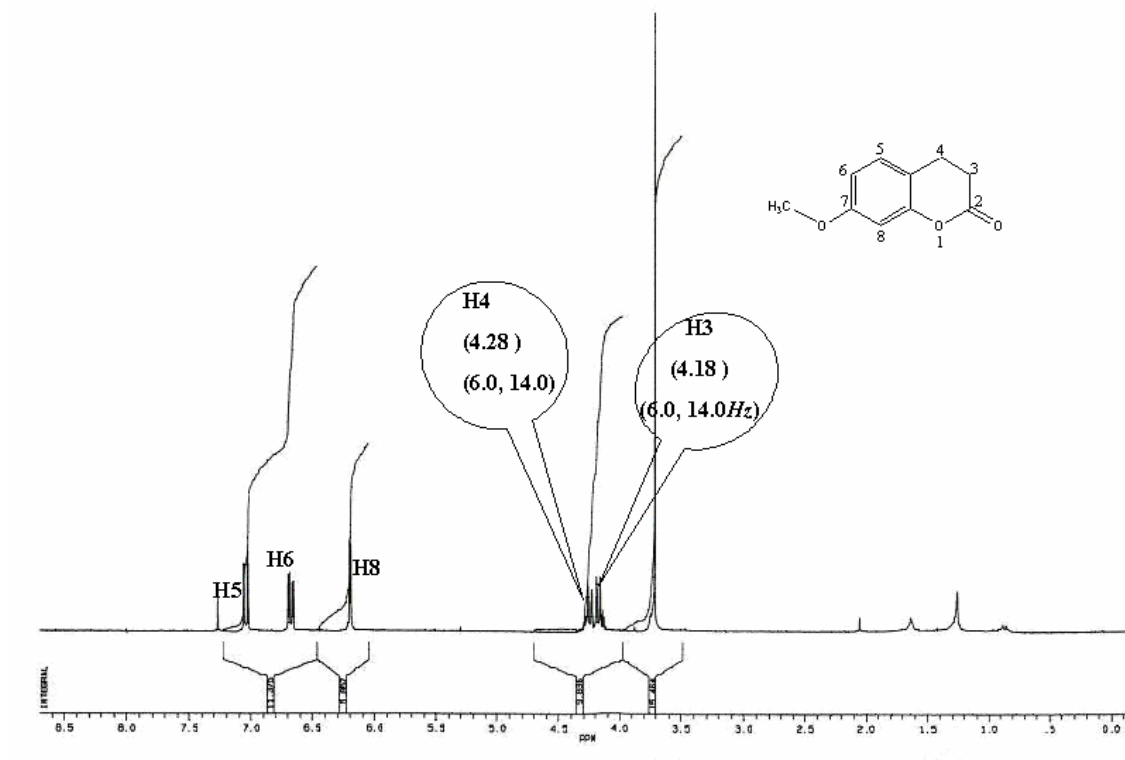


Le spectre IR (spectre n° 10) présente les bandes d'absorption du carbonyle à 1752 cm^{-1} , du groupement méthoxyle à 2850 cm^{-1} et 1652 cm^{-1} du noyau aromatique.



Spectre n° 10: IR du produit N2

Le spectre RMN du proton (spectre n° 11) enregistré dans CDCl_3 ressemble à celui de l'herniarine mais il se distingue par la disparition des protons aromatiques du cycle lactone et leur remplacement par 2CH_2 qui apparaissent à 4,18 et 4,28 ppm. Le tableau [9] résume les valeurs et les attributions effectuées.

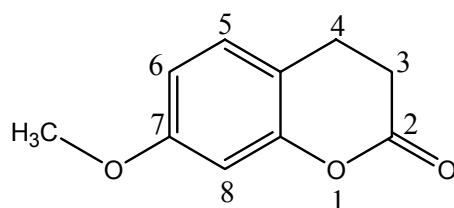


Spectre n° 11: RMN ¹H du produit N2

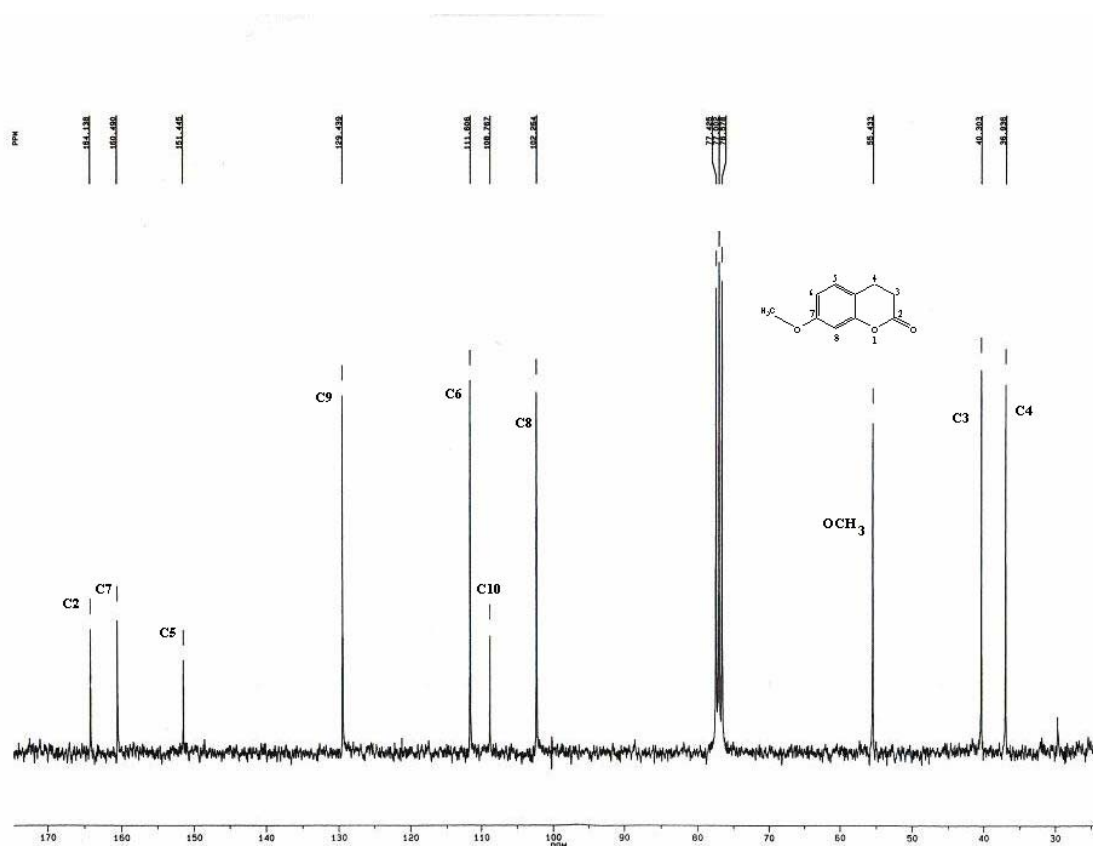
Tableau [9] : Données R.M.N ¹H (300MHz, CDCl₃)

δ(ppm)	Multiplicité	Intégration	J(Hz)	Attribution
3.75	s	3H	-	OCH ₃
4.18	dd	2H	6.0 ; 14.0	H-3
4.28	dd	2H	6.0 ; 14.0	H-4
6.02	d	1H	2.0	H-8
6.66	dd	2H	2.0 ; 8.0	H-6
7.06	d	1H	8.0	H-5

Ces données permettent de suggérer la structure de la 3,4-dihydroherniarine



Cette structure est confirmée par le spectre du RMN¹³C (spectre n° 12) qui présente des signaux de 10 atomes de carbone caractéristiques de la 3,4-dihydroherniarine (tableau [10]).



Spectre n° 12: RMN ¹³C du produit N2

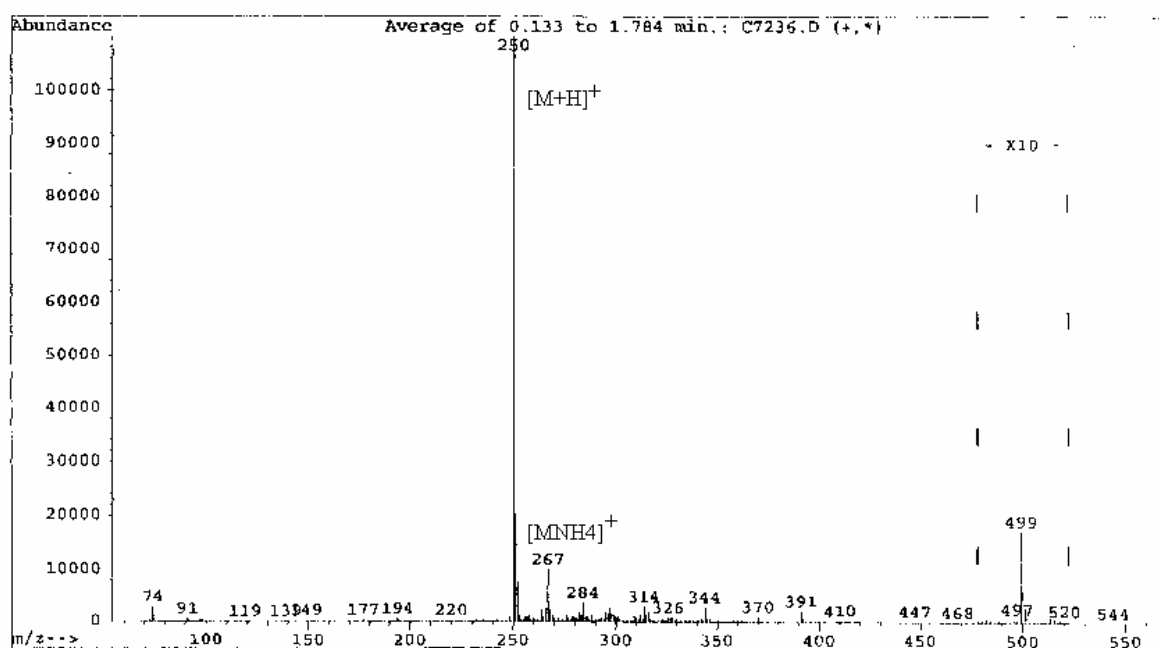
Tableau [10] : Données R.M.N ¹³C (300MHz, CDCl₃)

δ(ppm)	Carbones
146.1	C2
36.9	C3
40.3	C4
151.4	C5
111.6	C6
160.5	C7
120.2	C8
129.4	C9
108.8	C10
55.4	OCH ₃

La déhydro-3,4-herniarine est décrite ici pour la première fois pour l'espèce *Matricaria pubescens*.

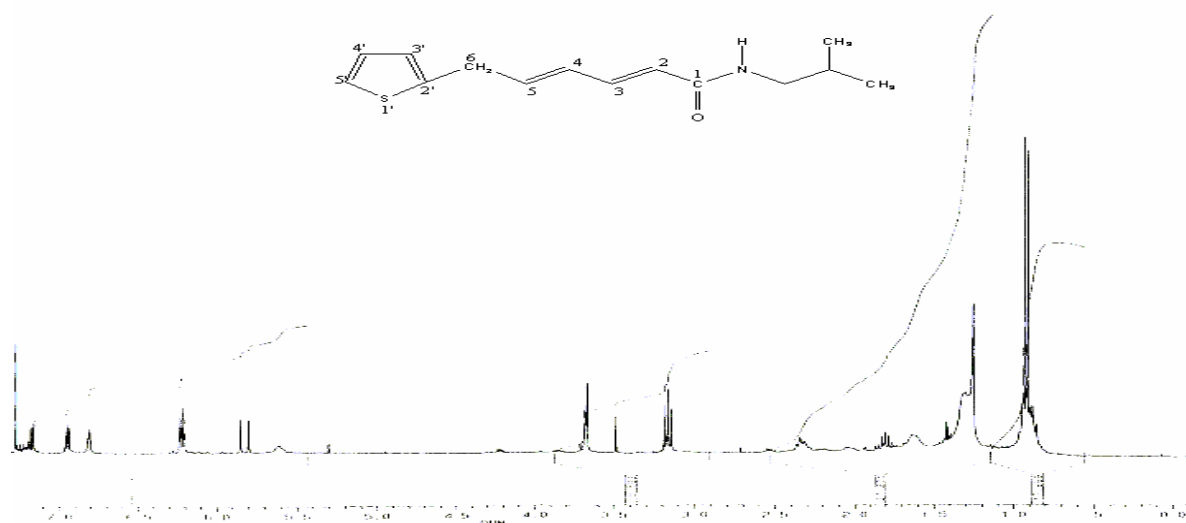
Produit BND :

Le spectre de masse en ionisation chimique (Dic/NH₃) (spectre n°13), montre un ion pseudomoléculaire [MH]⁺ =250, correspondant à la formule brute C₁₄H₁₉NOS. La présence des ions de fragments à m/z = 177, 149 est le résultats d'une perte du fragment NHCH₂Me₂ suivit de la perte d'une molécule de CO, cela étant un critère typique pour les isobutylamides [10,12].



Spectre n° 13: MS du produit BND

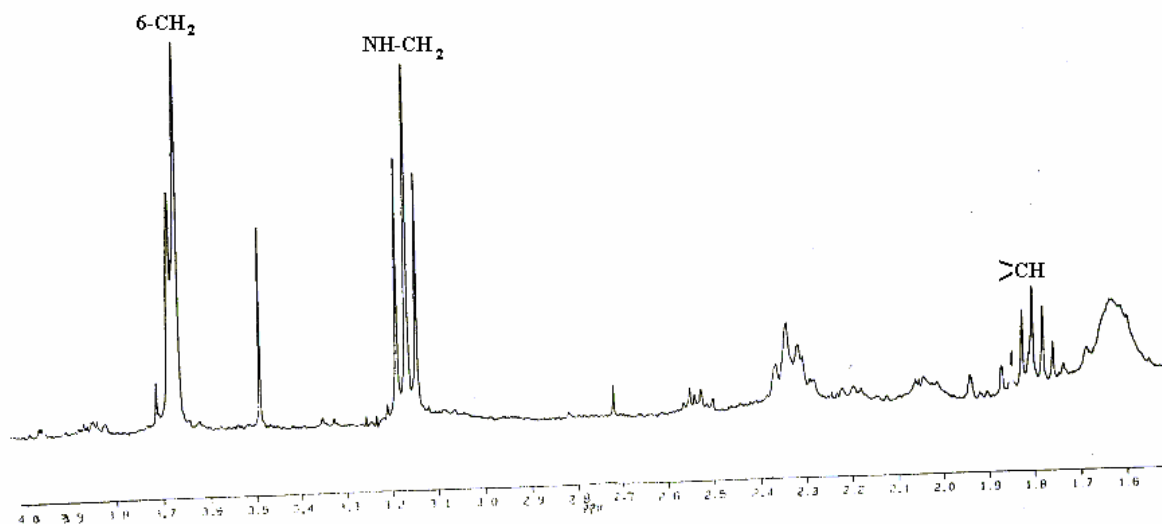
Le spectre de RMN du proton (spectre n°14,15,16,17) enregistré en solution dans CDCl₃, montre les signaux caractéristiques suivants à :



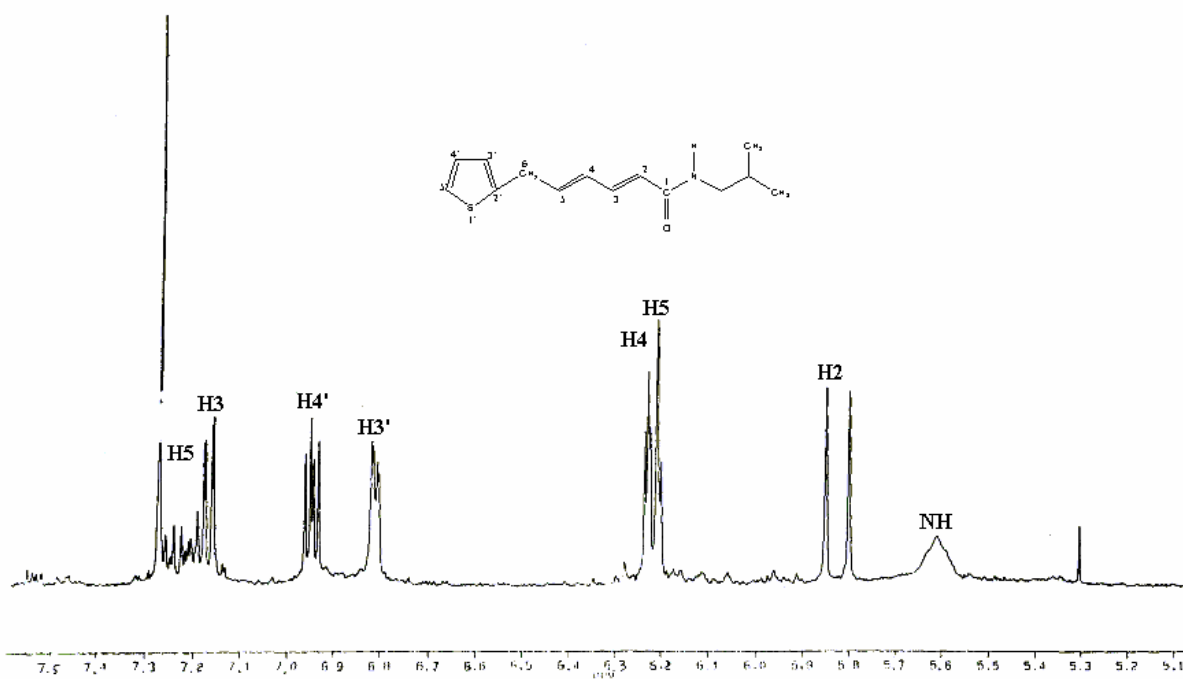
Spectre n°14: RMN ¹H du produit BND

- 0,93 ppm, sous forme de doublet ($J = 6.5\text{Hz}$), correspondant aux deux 1,81 ppm, sous forme d'un multiplet, correspondant au proton du groupement methine $\text{CH}_2\text{-CH-Me}_2$.
- 3,18 ppm, sous forme de doublet de doublet ($J = 6.5\text{Hz}$, $J = 7.0\text{ Hz}$), correspondant au groupement méthylène lié à l'azote $\text{-NH-CH}_2\text{-CH}$.
- 3,69 ppm, sous forme d'un pseudo doublet ($J = 4.5\text{ Hz}$), correspondant au proton du groupement méthylène lié au cycle thiophène 2 (6- CH_2).
- 5,61 ppm, sous forme d'un large triplet ($J = 18.0\text{Hz}$), correspondant au groupement -NH- .
- 5,82 ppm, sous forme de doublet ($J = 15.0\text{ Hz}$), correspondant au proton H-2.
- 6,22 ppm, sous forme de multiplet, correspondant aux protons oléfiniques H-4 et H-5 .
- 6,81 ppm, sous forme de doublet ($J = 3.5\text{ Hz}$), correspondant au proton thienyle H-3.
- 6,95 ppm, sous forme de doublet de doublet ($J = 5.0\text{ Hz}$, $J = 3.5\text{ Hz}$), correspondant au proton thiényle H-4'.

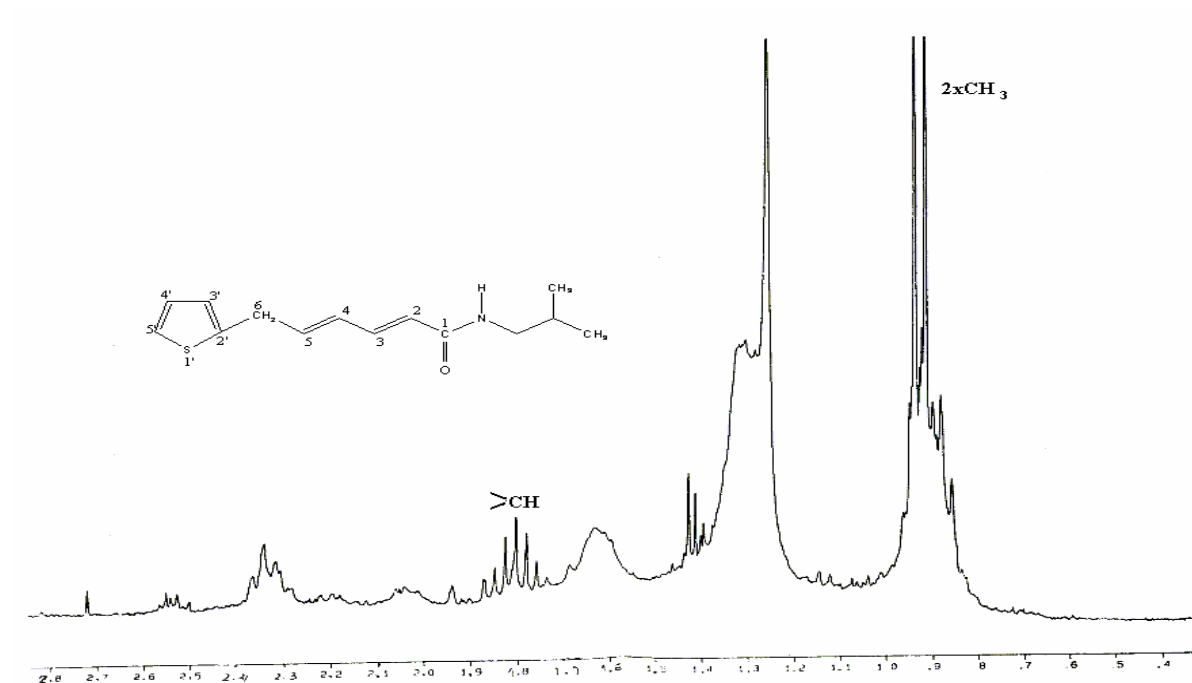
- 7,17 ppm, sous forme de doublet de doublet ($J = 5.0 \text{ Hz}$), correspondant au proton thienyle H-5'.
- 7,25 ppm, sous forme de doublet de doublet ($J = 15.0 \text{ Hz}$, $J = 8.0 \text{ Hz}$), correspondant au proton H-3.



Spectre n°15: RMN ^1H étalé du produit BND

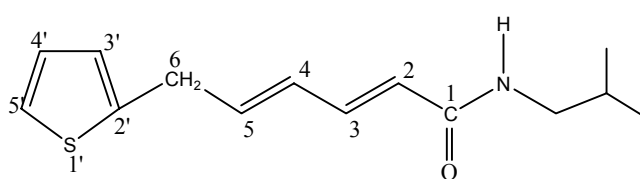


Spectre n°16: RMN ¹H étalé du produit BND



Spectre n° 17: RMN ¹H étalé du produit BND

Ceci permet de proposer la structure suivante :



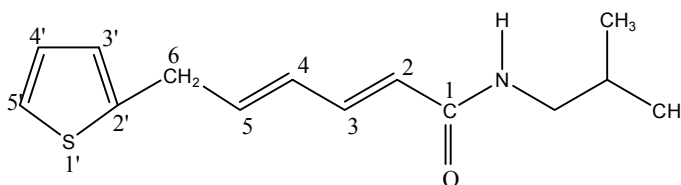
Le tableau [11] résume les valeurs et les attributions effectuées.

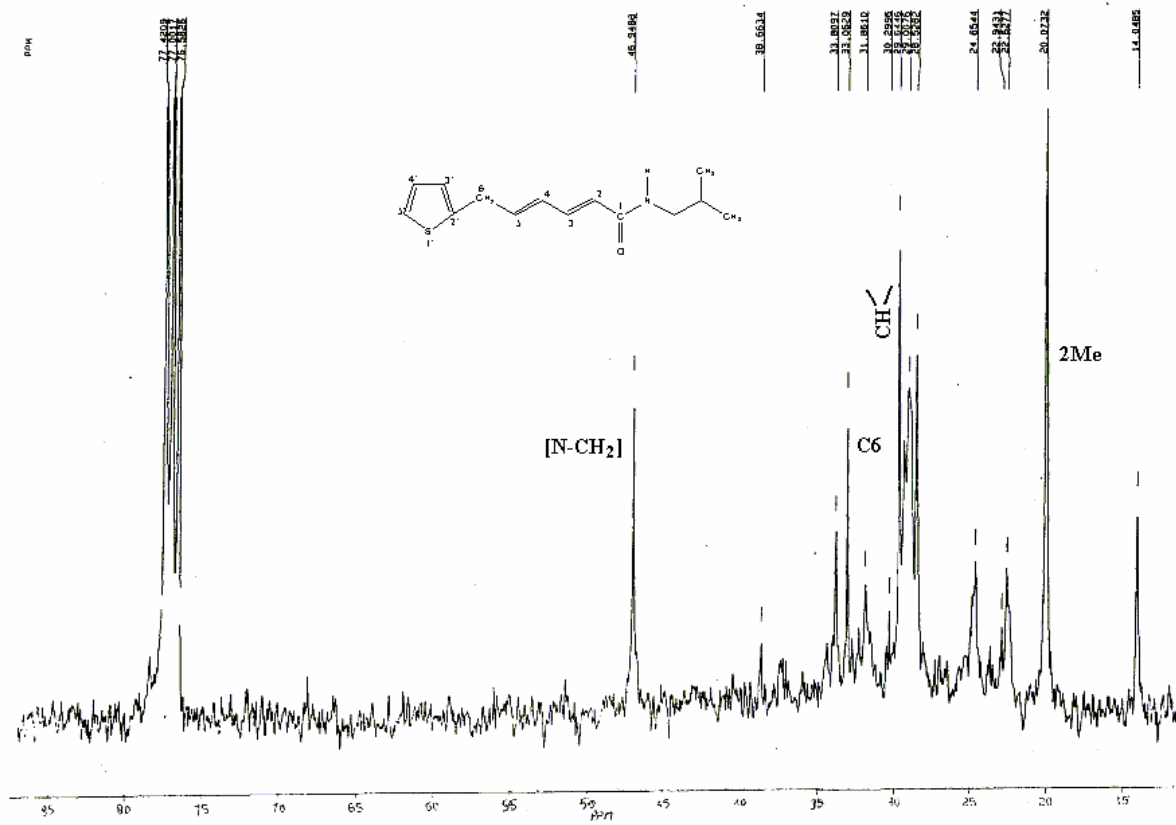
Tableau [10] : Données R.M.N ¹H (300MHz, CDCl₃)

δ(ppm)	Multiplicité	Intégration	J(Hz)	Attribution
0.93	d	6H	6.5	2CH ₃
1.81	nonat	1H	7.0	-CHMe ₂
3.18	dd	2H	6.5 ; 7.0	NH-CH ₂ CH
3.69	d	2H	4.5	6-CH ₂
5.61	t(large)	1H	-	-NH-
5.82	d	1H	15.0	H-2
6.22	m	2H	-	H-4 ; H-5
6.81	d	1H	3.5	H-4' (Thiényle)
6.95	dd	1H	5.0; 3.5	H-3' (Thiényle)
7.17	d	1H	5.0	H-5' (Thiényle)
7.25	dd	1H	15.0; 8.0	H-3

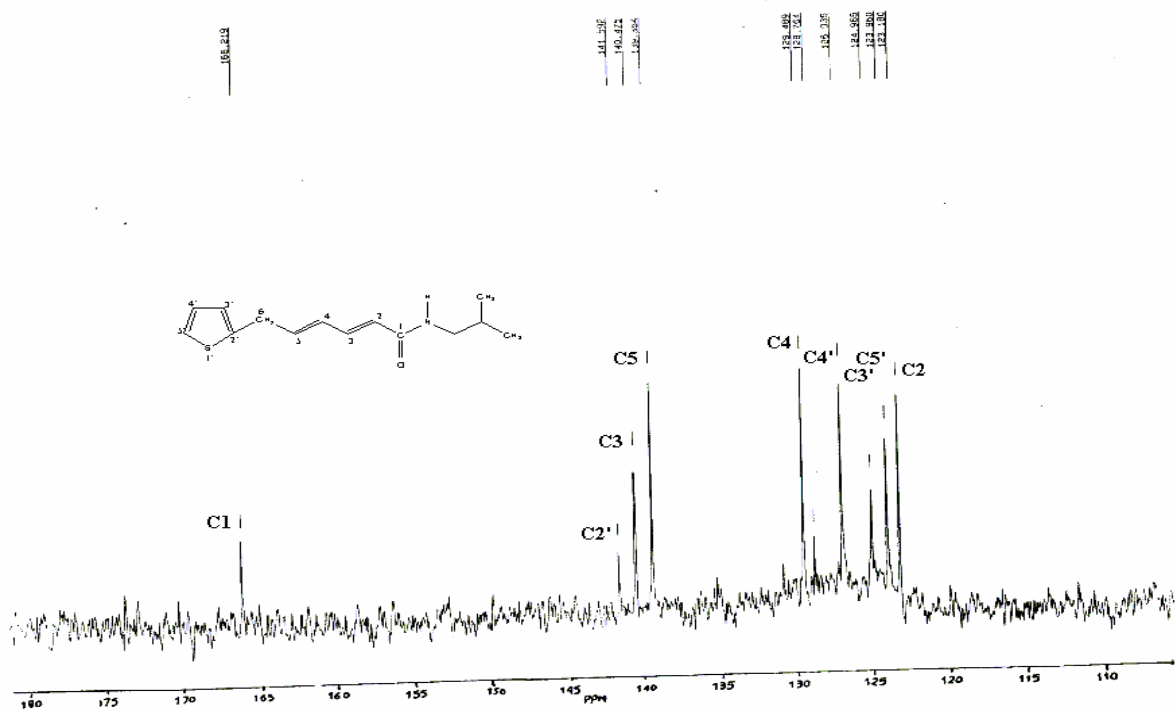
Ces données permettent de suggérer la structure de la.

Cette structure est confirmée par le spectre de RMN¹³C (spectre n° 18,19) qui présente des signaux de 14 atomes de carbone caractéristiques de la (2E,4E)-6-(2-thienyl)-2,4-hexadien-isobutylamide en accord avec les données de la littérature [4]. Tableau [12].





Spectre n° 18: RMN ¹³C du produit BND



Spectre n° 19: RMN ¹³C du produit BND

Tableau [12] : Données RMN ¹³C (500MHz, CDCl₃)

δ(ppm)	Carbones
166.2	C1
141.6	C2 (thienyl)
140.2	C3
139.1	C5
129.6	C4
127.0	C4 (thienyl)
125.0	C3 (thienyl)
124.0	C5 (thienyl)
123.5	C2
147.0	N-CH ₂
33.1	C6
29.64	isobutyl
20.1	2xMe

Cet (2E,4E)-6-(2-thienyl)-2,4-hexadien-isobutylamide a été antérieurement isolée du genre *Argyranthemum (Chrysanthemum)*L., *A. frutescens* [8], *A. gracile* [9], *A. broussonetii*, *A. pinnatifidum* [10] et *Matricaria pubescens* [11].

II. 7. Conclusion

Le but principal de notre travail est d'étudier le métabolisme secondaire de l'espèce *Matricaria pubescens*. L'attention que nous avons donnée à cette plante est justifiée par le fait qu'elle est peu étudiée malgré son appartenance à la famille des Compositae.

Cette étude a mené à l'obtention de deux coumarines et d'un thienylisobutylamide contenues dans l'extrait chloroforme, l'herniarine **1**, la dihydroherniarine et (2E,4E)-6-(2-thienyl)-2,4-hexadien-isobutylamide. La dihydroherniarine est isolée pour la première fois de cette espèce.

Les structures ont été déterminées grâce aux méthodes spectroscopiques (UV, IR, RMN, Masse).

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Ozenda P., **1991**, *Flore du Sahara*, Ed. CNRS, Paris France.
- [2] Quezel F., Santa S., **1962-1963**, *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*, Vol. 1-2. Ed. CNRS, Paris France.
- [3] Edwards K. D., Stoker J. R., **1967**, *Phytochemistry*, 6, 661.
- [4] Greger, H., Hofer O.; **1984**, *Phytochemistry*, 23(5), 1174
- [5] De pasquale A., Silvestri R., **1975**, Atti- Congr. Naz. Olu Essenz. *Suiderir. Agrum*, 6-7, 136.
- [6] Kunde R., Isaac O., **1979**, *Planta med.*, 37(2), 130.
- [7] Redaelli C., Formentini L., Santaniello E., **1981**, *Planta med.*, 43(4), 413.
- [8] Winterfeldt E., **1963**, *Chem. Ber.*, 96, 3349.
- [9] Bohlmann F., Zdero C., **1967**, *Chem. Ber.*, 100, 104.
- [10] Doskotch R.W., Beal J.L, **1970**, *Lloydia*, 33, 393.
- [11] Greger H., Hofer O., **1984**, *Phytochemistry*, 23(5), 1174.
- [12] Greger H., Grenz M. et Bohlemann F., **1981**, *Phytochemistry*, 20(1), 2581.

Partie III

ETUDE PHYTOCHIMIQUE DE L'ESPECE

Hypericum perforatum L.

II. Description des travaux

II. 1. Place dans la systématique

Sous embranchement : Angiosperme

Classe : Dicotylédones

Sous classe : Dialypétales

Ordre : Guttiférales

Famille : Cluceaceae

Genre : *Hypericum*

Espèce : *perfoliatum*

II. 2. Description botanique de l'espèce *Hypericum perfoliatum*

Selon Quezel et al, *l'H. perfoliatum* est une espèce originaire du Tell Algéro-constantinois [1]. Il s'agit d'un arbuste de 20 à 40 cm de hauteur, à tiges dotées de deux lignes saillantes. Les feuilles amplexicaules en général soudées 2 à 2 la base. Les folioles ovales, lancéolées, obtuses en cœur de base, glauques en dessous, ponctuées transparentes. Les fleurs jaunes, assez grandes en corymbe un peu serrées, sépales lancéolées, ciliées-franges, fortement ponctuées de noir, pétales 2-3 fois plus longues que le calice, ponctuées de noir. Capsule ovale, munie de 1-3 bandelettes et de nombreuses vésicules noirâtres [2, 3].

II. 3. Matériel végétal

La plante a été récoltée au mois de juin de l'année 2001, dans la région de JIJEL (Est Algérien).

Un échantillon (référence ZKNBH_p 06/01) est conservé dans l'herbier du laboratoire d'obtention de substances thérapeutiques (LOST) au département de chimie, Constantine. L'étude phytochimique a été faite sur les parties aériennes de la plante, dont le poids après séchage à l'air libre à l'abri des rayons solaire était de 2000 g.

II. 4. Extraction

Après séchage dans un endroit sec et aéré, à l'abri des rayons solaires, les parties aériennes broyées sont pesées (m=2kg) et mises à macérer dans un mélange (MeOH/H₂O) de proportion 70 :30 pendant 24 heures. Cette opération est répétée trois fois avec renouvellement de solvant.

Après filtration, concentration à une température n'excédant pas 35°C, cet extrait contenant toujours du méthanol est additionné d'eau distillée à raison de 400 ml pour 1Kg de matière sèche. Après quelques heures d'agitation, le mélange est filtré.

Le filtrat obtenu subit, dans un premier temps, des affrontements liquide-liquide avec l'éther de pétrole (trois extractions) qui entraîne les cires, les graisses, ainsi que les composés lipophiliques. 9,4 grammes d'extrait éthero-pétrolique sont ainsi obtenus.

Le second affrontement se fait avec CHCl_3 qui entraîne les terpenoïdes. La phase organique est concentrée en donnant 9,5 grammes d'extrait chloroformique. La troisième extraction utilise l'acétate d'éthyle (trois extractions) qui entraîne les flavonoïdes aglycones et les monohétérosides. 17 grammes d'extrait d'acétate d'éthyle sont obtenus.

Enfin la dernière extraction se fait avec le n-butanol (3 extractions) qui extrait les composés phénoliques di-O-glycosylés ainsi que les tri-O- et C- glycosides. L'évaporation sous pression réduite donne 34 grammes de l'extrait n-butanol.

Ce protocole d'extraction est résumé dans le schéma 1.

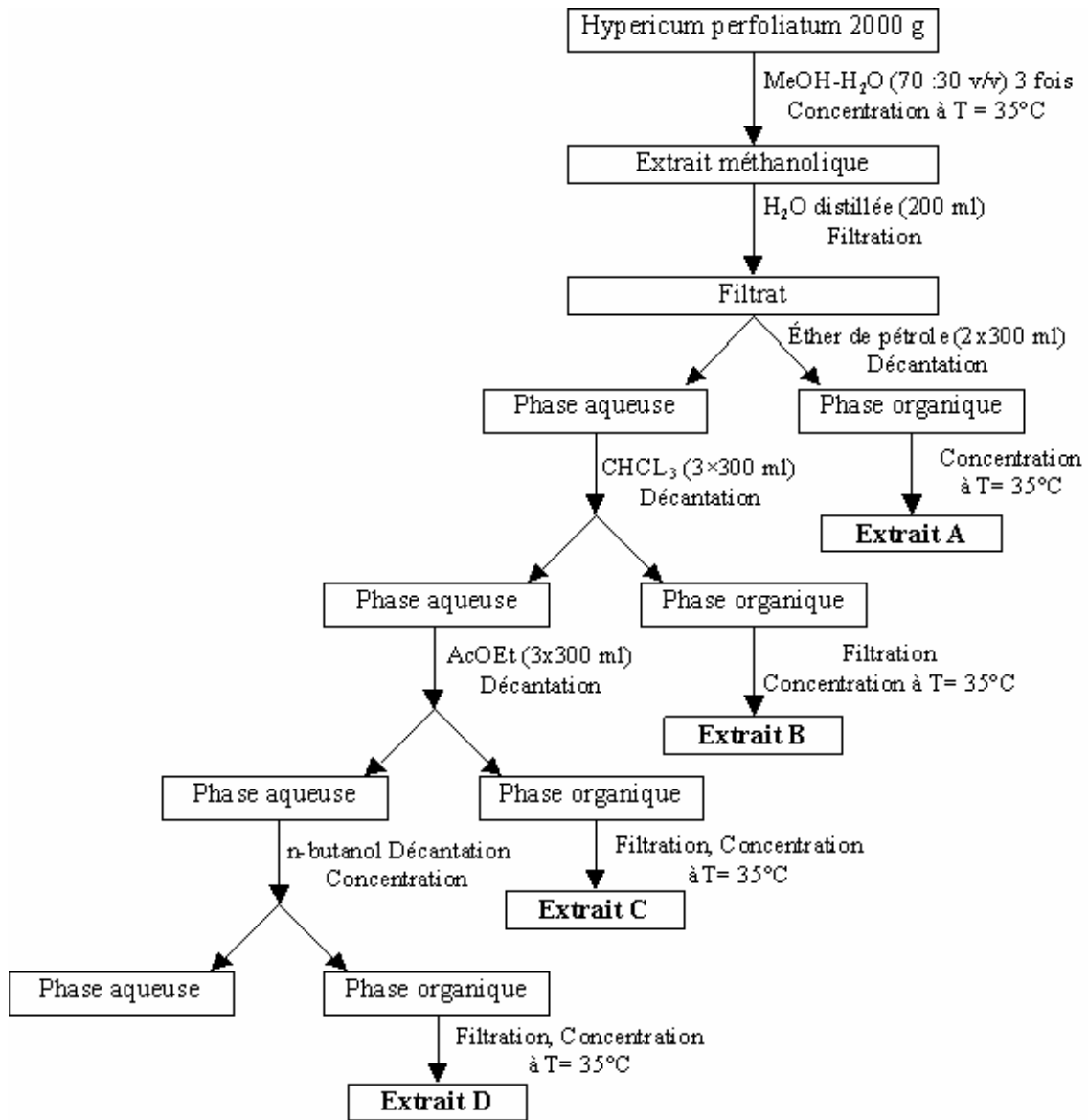


Schéma général de l'extraction

II. 5. Contrôle chromatographique des extraits :

II. 5. 1. Extrait éthero-pétrolique :

Les chromatographies sur couche mince (CCM) effectuées sur l'extrait éthero-pétrolique dans les systèmes d'élution cyclohexane/acétate d'éthyle 99/1, 70/30, 80/20 montrent, après examen par la lumière UV et vaporisation par la vanilline sulfurique suivie par un chauffage à 100°C pendant 3 minutes, une tâche de couleur violette foncée suivie de plusieurs tâches collées et une traînée de couleur rose clair et un dépôt orange.

II. 5. 2. Extrait Chloroformique

L'analyse par CCM de l'extrait chloroformique dans les systèmes de solvants cyclohexane/dichlorométhane 90/10, 80/20, 70/30, 60/40, 50/50 montrent une tâche bleue visible en UV. Après révélation à la vanilline sulfurique et chauffage à 100°C pendant 3 minutes, on observe une coloration orange claire. D'autres tâches collées et une traînée marron clair ont été également distinguées.

II. 5. 3. Extrait acétate d'éthyle :

L'analyse par CCM en utilisant comme systèmes de séparation le dichlorométhane/méthanol 95/5, 90/10, 80/20, 70/30 permet d'observer plusieurs tâches collées donnant des couleurs jaune clair, orange, rose clair, marron clair, marron foncé, avec une tâche violette foncée et une traînée marron foncé, après révélation à la vanilline sulfurique et chauffage à 100° C, pendant 3 minutes.

II. 5. 4. Extrait n-butanol :

L'extrait n-butanol examiné par CCM avec les systèmes de solvants : cyclohexane/acétate d'éthyle, 50/50, 30/70, 10/90 présente des ressemblances avec l'extrait acétate d'éthyle, mais avec plus de tâches collées et deux traînées chevauchées et en plus d'un dépôt.

II. 6. Séparation et purification

La technique de séparation utilisée est la chromatographie sur colonne de gel de silice.

9,4 grammes de l'extrait étheropétrolique sont introduits dans une colonne de gel de silice (300g). L'élution a été initialement réalisée par le cyclohexane dont on augmente progressivement la polarité par addition d'acétate d'éthyle puis, finalement par le méthanol. Des fractions de 10 ml sont prélevées, ainsi, plus de 264 fractions sont obtenues.

Le tableau [1] rassemble les résultats de cette colonne.

Tableau [1] : Séparation par chromatographie sur colonne de gel de silice de l'extrait éthero-pétrolique.

Solvants d'élution	Fractions recueillies	Masse (mg)
Cycl -AcOEt 98/2	1-22 (F ₁)	2126,9
Cycl - AcOEt 98/2	23-39 (F ₂)	800
Cycl -AcOEt 75/25	40-65 (F ₃)	300
Cycl -AcOEt 75/25	66-99 (F ₄)	700
Cycl -AcOEt 75/25	100-109 (F ₅)	600
Cycl -AcOEt 75/25	110-158 (F ₆)	644,5
Cycl - AcOEt 70/30	159-180 (F ₇)	185,7
Cycl- AcOE 60/40, 50/50, 40/60	181-139 (F ₈)	1348,2
Cycl -AcOEt 30/70, 20/80, 100%	240-263 (F ₉)	485,1
MeOH 100%	264 – 269 (F ₁₀)	1580,00

Étude de la fraction 1

Chromatographie sur colonne

Dépôt = 2126,9 mg

Colonne = diamètre 3,5 cm

Phase stationnaire = silice flash 35-70 µm (65 g)

Phase mobile = cyclohexane-acétate d'éthyle.

Les résultats de ce suivi sont présentés dans le tableau [2].

Tableau [2] : Séparation par chromatographie sur colonne de gel de silice de l'extrait éthero-pétrolique (fraction 1)

Solvants d'élution	Fractions recueillies	Masse (mg)
Cycl 100 %	1 - 2 (F ₁)	-
Cycl -AcOEt 99,9 / 0,1	3 - 12 (F ₂)	616,2
Cycl -AcOEt 99,9 / 0,1	13 - 24 (F ₃)	168,9
Cycl -AcOEt 99,9 / 0,1	25 - 32 (F ₄)	414,07
Cycl -AcOEt 99,9/0,2	33-54 (F ₅)	247,4
Cycl- AcOEt 99,2/0,8	55(F ₆)	102,1
Cycl-AcOEt 99/1	55-97 (F ₇)	96,2
Cycl-AcOEt 99/1	98-210 (F ₈)	47,2
Cycl-AcOEt 50/50	211-213 (F ₉)	83,73
Cycl- AcOEt 50/50	214-230 (F ₁₀)	351,1

Étude de la fraction A (F2+F3) :

Chromatographie sur colonne :

Dépôt : 785,1 mg

Colonne : diamètre 2,2 cm

Phase stationnaire : gel de silice 20-45 μm

Phase mobile : Toluène

Le tableau [3] englobe les résultats de suivi de la colonne.

Tableau [3] : Séparation par chromatographie sur colonne de gel silice de l'extrait éthero-pétrolique fraction A :

Solvants d'éluion	Fractions recueillies	Masse (mg)
Tol 100%	13 - 14 (A₁)	154,9
Tol 100%	15 - 17 (A ₂)	188,1
Tol 100%	18 - 19 (A ₃)	96,8
Tol 100%	20 - 26 (A ₄)	122,3
Tol 100%	27 - 30 (A ₅)	32,9
Tol 100%	31 - 42 (A ₆)	42,0
Tol 100%	43 - 81 (A ₇)	48
Tol 100%	82 - 100 (A ₈)	100,1

Cette fraction a permis d'isoler 154,9 du produit A₁.

Étude de la fraction B(A₂+A₃+A₄) :

Chromatographie sur colonne :

Dépôt : 407,2 mg

Colonne : diamètre 1,8 cm

Phase stationnaire : gel de silice 20—45 μm

Phase mobile : cyclohexane-acétate d'éthyle

Le tableau [4] rassemble les résultats obtenus.

Tableau [4] ; Séparation par chromatographie sur colonne de gel de silice de l'extrait éthero-pétrolique fraction B

Solvants d'éluion	Fractions recueillies	Masse (mg)
Cycl - AcOEt 99,9 / 0,1	12 - 55 (B₁)	30,15
Cycl - AcOEt 99,9 / 0,2	56 - 71 (B ₂)	40,60
Cycl - AcOEt 99,9 / 0,3	72 - 98 (B ₃)	32,72
Cycl - AcOEt 99,9 / 0,4.	99 - 127 (B ₄)	94,25

Cycl - AcOEt 99,9 / 0,5	128 -167 (B ₅)	84,01
Cycl - AcOEt 99,9 / 0,6	168 - 181 (B ₆)	125,47

Cette purification a permis de donner le produit B₁.

Étude de l'extrait chloroformique

9,5 gramme de l'extrait chloroformique ont été mis à chromatographier sur une colonne de gel de silice en phase et pression normales. L'élution est réalisée au moyen de l'hexane-chloroforme dont on augmente la polarité par l'addition progressive du chloroforme, puis par un mélange chloroforme-méthanol et enfin par du méthanol pur.

Des fractions de 50 millilitres ont été collectées, et analysées. Ainsi, 130 fractions sont obtenues. Les résultats de cette colonne sont présentés dans le tableau [5].

Tableau [5] : Séparation par chromatographie sur colonne de gel de silice de l'extrait chloroformique

Solvants d'élution	Fractions recueillies	Masse (mg)
Hex -CHCl ₃ 100%, 99,1, 98/2	1 - 15 (F ₁)	140
Hex - CHCl ₃ 95/5	16 - 19 (F ₂)	30
Hex - CHCl ₃ 94/6	20 - 25 (F ₃)	80
Hex - CHCl ₃ 90/10, 80/20, 70, 30 60/40	26 - 41 (F ₄)	10
Hex - CHCl ₃ 55/45, 70/30, 100%	42 - 51 (F ₅)	20
CHCl ₃ - MeOH 99,9/0,1	52 - 64 (F ₆)	20
CHCl ₃ - MeOH 99,9/0,1	65 - 70 (F ₇)	490
CHCl ₃ - MeOH 99,3/0,7	71 - 76 (F ₈)	1930
CHCl ₃ - MeOH 99,7/0,3	77 - 84 (F ₉)	2310
CHCl ₃ - MeOH 99,6/0,4	85 - 89 (F ₁₀)	140
CHCl ₃ - MeOH 99,3/0,7	90 - 99 (F ₁₁)	10
CHCl ₃ - MeOH 50/50	100 - 102 (F ₁₂)	76
MeOH - 100%	103 - 130 (F ₁₃)	2640

Étude de la fraction L : F6+F7+8+F9+F11

Chromatographie sur colonne :

Dépôt : 2, 11 g.

Colonne : diamètre 3,5 cm.

Phase stationnaire : gel de silice 20-45 µm (65 g).

Phase mobile : cyclohexan – dichlorométhane.

Le Tableau [6] englobe les résultats de suivi.

Tableau [6] : Séparation par chromatographie sur colonne de gel de silice de la fraction L

Solvants d'élution	Fractions recueillies	Masse (mg)
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 99/1	1 - 4 (F ₁)	10
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 98/2	5 - 8 (F ₂)	131
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 95/5	9 - 13 (F ₃)	10
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 90/10	14 - 19 (F ₄)	100.8
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 80/20	20 - 23 (F ₅)	90.1
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 70/30	24 - 27 (F ₆)	40.05
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 65/35	28 - 35 (F ₇)	102.8
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 60/40	36 - 39 (F ₈)	200.4
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 60/40	40 - 41 (F ₉) → L ₁	7,1
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 60/40	42 - 47 (F ₁₀)	11
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 60/40	48 - 61 (F ₁₁)	14.02
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 55/45	62 - 66 (F ₁₂)	80.09
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 50/50	67 - 70 (F ₁₃)	90.10
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 60/40	71 - 82 (F ₁₄)	131.14
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 80/20	83 - 87 (F ₁₅)	171.45
CH ₂ Cl ₂ - 100%	88 - 100 (F ₁₆)	117.99

Cette purification a permis de donner le produit L₁

Étude de l'extrait acétate d'éthyle

L'extrait acétate d'éthyle (17 g) est chromatographie sous pression normale sur colonne de silice (500 g). l'élution se fait initialement au moyen du dichlorométhane pur, puis par augmentation de la polarité progressivement par le méthanol, et finalement le méthanol pur. Des fractions de 20 ml sont collectées à l'issue de ce fractionnement, les résultats obtenus se présentent comme suit (tableau [7]).

Tableau [7] : Séparation par chromatographie sur colonne de gel de silice de l'extrait acétate d'éthyle

Solvants d'élution	Fractions recueillies	Masse (mg)
CH ₂ Cl ₂ - 100%	1 - 13 (F ₁)	107,7
CH ₂ Cl ₂ - 100%	14 - 15 (F ₂)	98
CH ₂ Cl ₂ - 100%	16 (F ₃)	99,07
CH ₂ Cl ₂ - 100%	17 - 18 (F ₄)	75,1
CH ₂ Cl ₂ - 100%	19 (F ₅)	10

CH ₂ Cl ₂ - 100%	20 – 21 (F ₆)	172,8
CH ₂ Cl ₂ - 100%	22 – 29 (F ₇)	34,1
CH ₂ Cl ₂ - 100%	30 – 33 (F ₈)	37,0
CH ₂ Cl ₂ - MeOH 95/0,5	34 – 79 (F ₉)	321,9
CH ₂ Cl ₂ - MeOH 95/1	80 – 91 (F ₁₀)	192,9
CH ₂ Cl ₂ - MeOH 98,5/1,5	92 – 95 (F ₁₁)	1486,9
CH ₂ Cl ₂ - MeOH 98/2	96 – 102 (F ₁₂)	364,7
CH ₂ Cl ₂ - MeOH 90/10	102 – 104 (F ₁₃)	275,7
CH ₂ Cl ₂ - MeOH 90/10	105 – 108 (F ₁₄)	241,4
CH ₂ Cl ₂ - MeOH 80/20	109 – 111 (F ₁₅)	195,5
CH ₂ Cl ₂ - MeOH 80/20	112 – 115 (F ₁₆)	727,9
CH ₂ Cl ₂ - MeOH 80/20	116 – 120 (F ₁₇)	1355,9
CH ₂ Cl ₂ - MeOH 80/20	121 – 122 (F ₁₈)	862,0
CH ₂ Cl ₂ - MeOH 80/20	122 – 125 (F ₁₉)	2540,3
CH ₂ Cl ₂ - MeOH 60/40	126 – 135 (F ₂₀)	5450,2
CH ₂ Cl ₂ - MeOH 40/60	136 – 140 (F ₂₁)	30,24
MeOH 100%	141 – 150 (F ₂₂)	205,19

Étude de la fraction b : F6 + F7 +F8

Chromatographie sur colonne :

Dépôt : 215,8 mg.

Colonne : diamètre 1,5 cm.

Phase stationnaire : gel de silice 20 – 45 µm (5,6 g).

Phase mobile : cyclohexane – dichlorométhane.

Les résultats obtenus sont notés dans le tableau [8].

Tableau [8] : Séparation par chromatographie sur colonne de gel de silice du fraction b :

Solvants d'élution	Fractions recueillies	Masse (mg)
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 50/50	1 - 5 (F ₁)	16
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 50/50	6 - 13 (F ₂)	24,3
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 50/50	14 - 15 (F ₃)	48,3
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 50/50	16 - 24 (F ₄)	75,03
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 50/50	24 - 44 (F ₅)	35,07

Étude de la fraction A (F4+F5)

Chromatographie sur colonne :

Dépôt : 110,1 mg.

Colonne : diamètre 1,3 cm.

Phases stationnaire : gel de silice 20 – 45 μm (3,6 g).

Phases mobile : cyclohexane – dichlorométhane.

Les résultats obtenus sont reportés dans le tableau [9].

Tableau [9] : Séparation par chromatographie sur colonne de gel de silice de l'extrait acétate d'éthyle fraction A

Solvants d'élution	Fractions recueillies	Masse (mg)
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 60/40	64 - 74 (A₁)	21,00
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 55/45	75 - 77 (A ₂)	5,1
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 55/45	78 - 81 (A ₃)	17,2
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 55/45	82 - 89 (A ₄)	7,1
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 55/45	90 - 99 (A ₅)	20,6
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 50/50	100 - 108 (A ₆)	2,9
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 50/50	109 - 110 (A ₇)	1
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 50/50	111 - 125 (A ₈)	10,7
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 50/50	126 - 135 (A ₉)	30,4

Cette purification a permis de donner le produit A₁.

Étude de la fraction 15

Chromatographie sur colonne :

Dépôt : 195,5.

Colonne : diamètre 1.5 cm

Phase stationnaire : gel silice 20-45 μm (5,6 g).

Phase mobile : cyclohexane – acétate d'éthyle.

Le tableau [10] rassemble les résultats de cette colonne.

Tableau [10] : Séparation par chromatographie sur colonne de gel de silice de l'extrait acétate d'éthyle Fraction 15.

Solvants d'éluion	Fractions recueillies	Masse (mg)
Cycl - AcOEt 95/5	1 - 5	-
Cycl - AcOEt 90/10	6 - 8	-
Cycl - AcOEt 80/20	9 - 13	-
Cycl - AcOEt 70/30	14 - 16 (I)	10
Cycl - AcOEt 70/30	17 - 23 (II)	-
Cycl - AcOEt 70/30	24 - 35 (F ₁)	20
Cycl - AcOEt 70/30	36 - 52 (F ₂)	61,3
Cycl - AcOEt 70/30	53 - 67 (F ₃)	16,4
AcOEt 100 %	67 - 82 (F ₄)	9
MeOH 100%	83 - 92 (F ₅)	60

Étude de la fraction 15 (2):

Chromatographie sur colonne :

Dépôt : 61,2 mg.

Colonne : diamètre 1 cm 2,3.

Phase stationnaire : gel de silice 20-45 µm.

Phase mobile : dichlorométhane – acétate d'éthyle

L'ensemble des travaux de cette étape est reporté dans le tableau [11].

Tableau [11] : Séparation par chromatographie sur colonne de gel de silice de l'extrait acétate d'éthyle fraction 15 (2)

Solvants d'éluion	Fractions recueillies	Masse (mg)
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 100%, 51-100%	Première fractions 1 – 48	10
CH ₂ Cl ₂ - AcOEt 95/5, 90//10,100%	49 - 52 (F ₁)	0,1
AcOEt 100%	53 - 56 (F ₂)	8,31
AcOEt 100%	57 - 64 (F₃)	8
AcOEt - MeOH 90 / 10	65 - 98 (F ₄)	11
AcOEt - MeOH 80 / 20	99 - 103 (F ₅)	9
AcOEt - MeOH 70 / 30	104 - 120 (F ₆)	10

Cette purification a permis de donner le produit F15₍₂₋₃₎.

Etude de l'extrait n-butanol

34 g de l'extrait brut sont solubilisés complètement dans le méthanol puis on a procédé à un dépôt à sec (enrobage). L'élution est faite par un gradient du type cyclohexane-acétate d'éthyle, commençant par de cyclohexane, puis par du chloroforme pur, ensuite par un gradient de méthanol dans l'acétate d'éthyle, et enfin par du méthanol pur. Des fractions de 50 ml sont collectées.

A l'issue de ce fractionnement, les résultats obtenus se présentent comme suit (tableau [12]).

Tableau [12] : Séparation par chromatographie sur colonne de gel de silice de l'extrait n-butanol

Solvants d'élution	Fractions recueillies	Masse (mg)
Cycl 100%	1 - 24 (F ₁)	370
Cycl - AcOEt 90/10	26 - 29 (F ₂)	170
Cycl - AcOEt 70/30	30 - 33 (F ₃)	90
Cycl - AcOEt 50/50	34 - 37 (F ₄)	140
Cycl - AcOEt 30/70	38 - 41 (F ₅)	190
Cycl - AcOEt 30/70	42 - 65 (F ₆)	499
Cycl - AcOEt 80/10 , 100%	66- 76 (F ₇)	1490
Cycl - AcOEt 80/10 , 80/20, 70/30	77 - 84 (F ₈)	1240
AcOEt - MeOH 50/50	85 - 91(F ₉)	14100
MeOH 100%	92 - 200 (F ₁₀)	15930

Étude de la fraction 6 :

Chromatographie sur colonne :

Dépôt : 499 mg.

Colonne : diamètre 1,8 cm.

Phase stationnaire : gel de silice 20-45 (13,4 g).

Phase mobile : cyclohexane – dichlorométhane – méthanol.

Le tableau [13] rassemble les résultats de cette colonne.

Tableau [13] : Séparation par chromatographie sur colonne de gel de silice de l'extrait n-butanol fraction 6

Solvants d'élution	Fractions recueillies	Masse (mg)
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 90/ 10	1 - 5 (F ₁)	8
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 80/ 10	6 - 18 (F ₂)	1

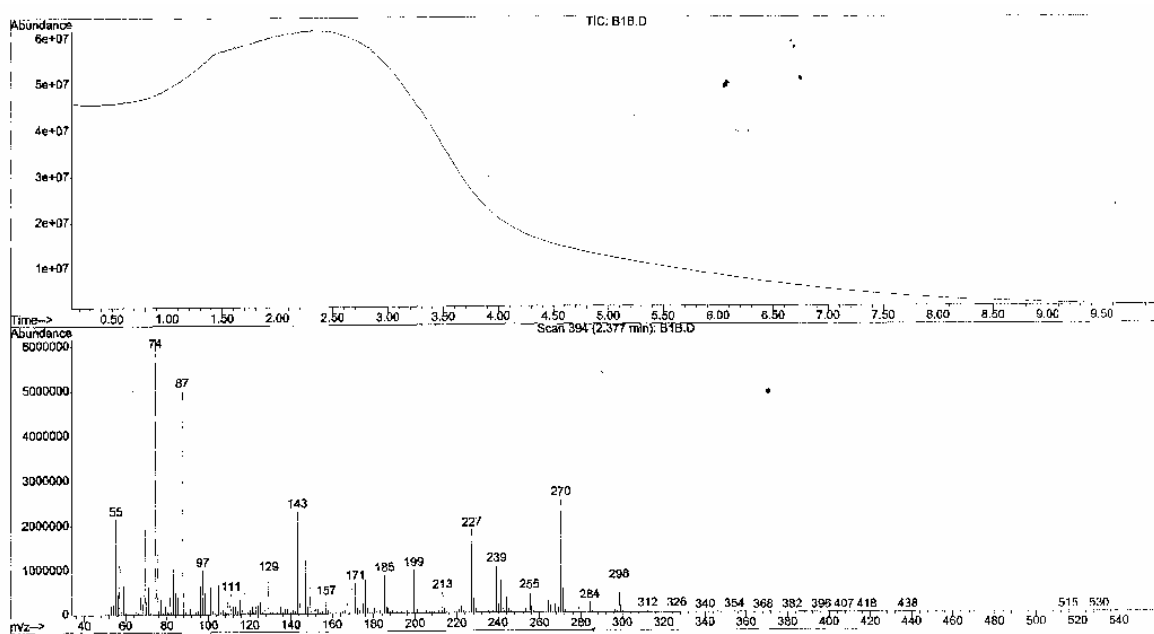
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 70/30	19 - 23 (F ₃)	2
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 60/40	24 - 30 (F ₄)	22,00
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 60/40	31 - 33 (F ₅)	11,00
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 60/40	34 - 35 (F ₆)	10,00
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 60/40	36 - 38 (F ₇)	16,00
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 60/40	38 - 44 (F ₈)	10,00
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 60/40	45 - 52 (F ₉)	3,00
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 60/40	53 - 54 (F ₁₀)	10,00
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 60/40	55 - 67 (F ₁₁)	30,00
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 55/45	68 - 71 (F ₁₂)	10,00
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 55/45	72 - 78 (F ₁₃)	30,00
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 50/50	79 - 84 (F ₁₄)	10,00
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 50/50	85 - 97 (F ₁₅)	10
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 50/50	98 - 103 (F ₁₆)	6,20
Cycl - CH ₂ Cl ₂ 30/70	104 - 118 (F ₁₇)	8,80
CH ₂ Cl ₂ 100%	119 - 162 (F ₁₈)	6,9
CH ₂ Cl ₂ - MeOH 99/1	163 - 170 (F ₁₉)	3,00
CH ₂ Cl ₂ - MeOH 99/1	171 - 175 (F ₂₀)	11,8
CH ₂ Cl ₂ - MeOH 99/1	176 - 179 (F ₂₁)	12,00
CH ₂ Cl ₂ - MeOH 99/1	180 - 183 (F ₂₂)	30
CH ₂ Cl ₂ -MeOH 99/1	184 - 205 (F ₂₃)	66,6
CH ₂ Cl ₂ - MeOH 96/4	206 - 252 (F ₂₄)	55,5
CH ₂ Cl ₂ - MeOH 96/4	253 - 260 (F ₂₅)	8,00
CH ₂ Cl ₂ - MeOH 96/4	261 - 372 (F ₂₆)	40
CH ₂ Cl ₂ -MeOH 96/4	373 - 398 (F ₂₇)	47

Cette purification a permis de donner le produit F 6(18) et F 6(22).

II. 7. Identification structurale des produits B₁, A₁ et 6 (22)

Composé B₁

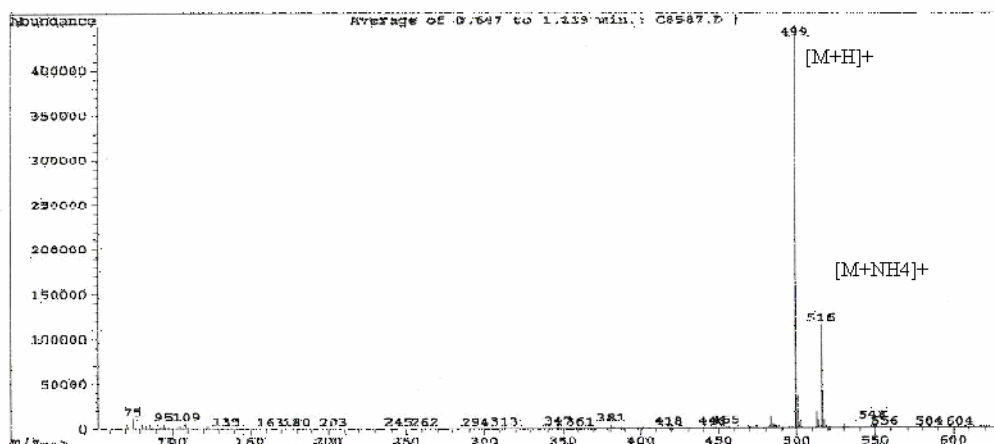
Ce composé a été identifié à un acide gras à longue chaîne avec une masse moléculaire égale à 270.



Spectre n°1: SM du produit B1

Composé A₁

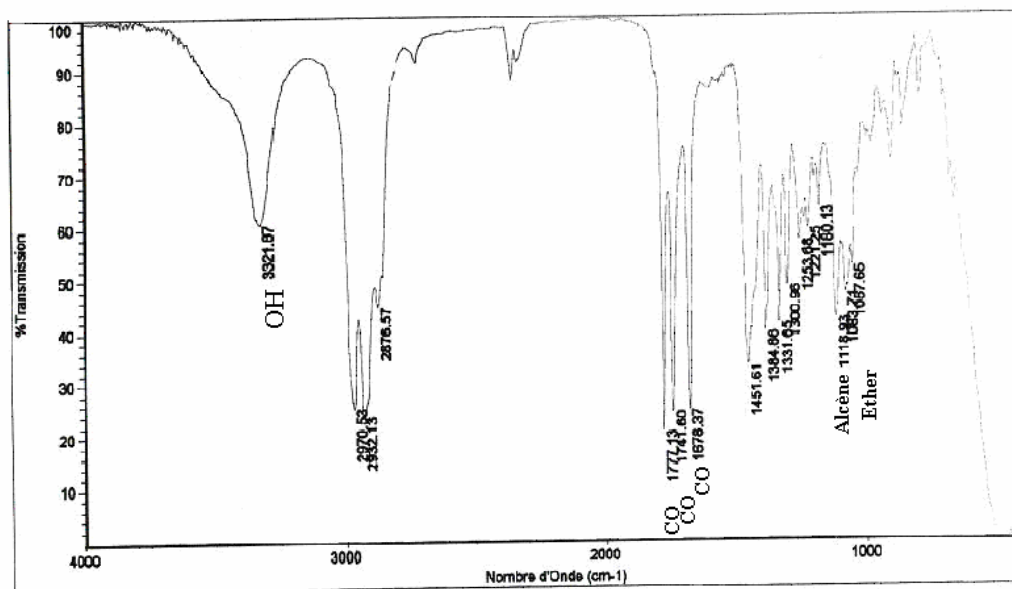
Le spectre de masse (spectre n°2) montre un ion pseudomoléculaire $[M+NH_4]^+$ et $[MH]^+$ à $m/z = 516$ et $m/z = 499$ respectivement, correspondant à une masse moléculaire de 498, compatible avec la formule brute $C_{31}H_{46}O_5$.



Spectre n°2 : SM du Produit A1

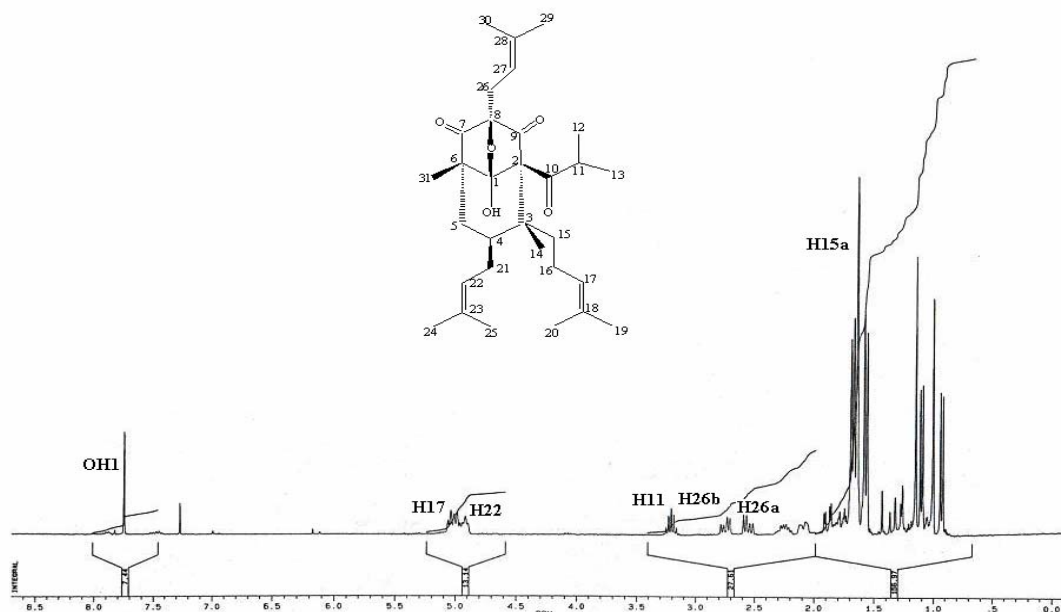
Le spectre UV, présente des maxima à 282 et 376 nm.

Le spectre IR (spectre n°3) présente les bandes d'absorption de groupement hydroxyle à 3322 cm^{-1} , carbonyle à 1777, 1742 et 1678, groupement alcène à 1084 et groupement éther à 1085 cm^{-1} .

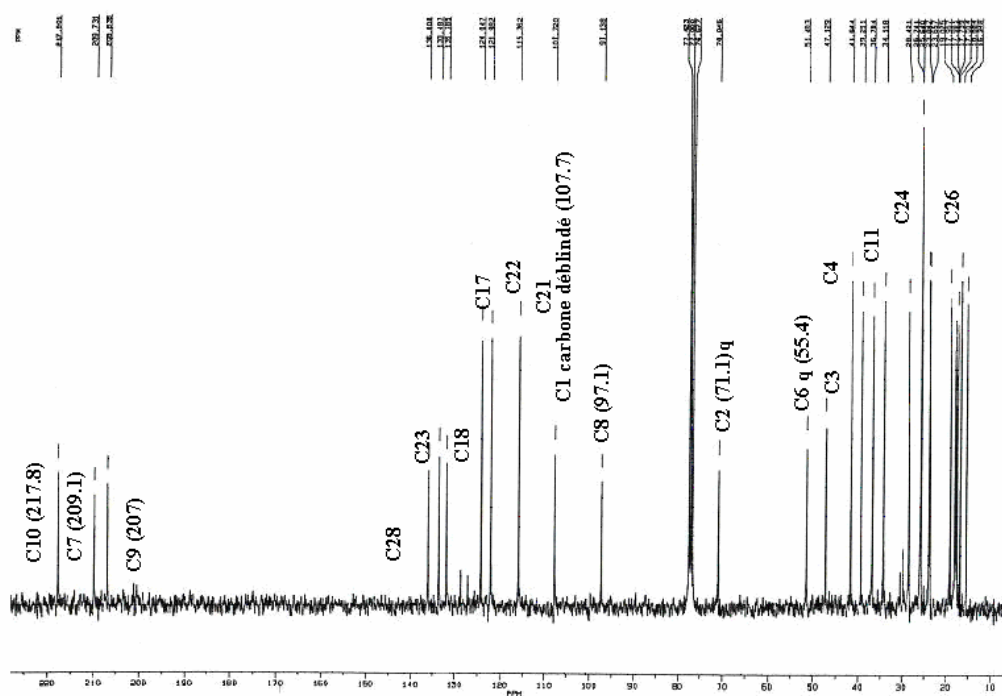


Spectre n°3 :IR du Produit A1

La présence d'un cycle hémiacetal est un caractère clé dans la structure de l'hyperfoliatine. Cela est confirmé par les résultats du spectre RMN ^1H (spectre n°4) et RMN ^{13}C (spectre n°5) comme suivant :



Spectre n°4 :RMN ^1H du Produit A1



Spectre n°5 :RMN ^{13}C du Produit A1

Au champ faible apparaît un signal d'un proton échangeable résonant à 7,77 ppm et un signal d'un carbone aliphatique déblindé à 107,7 ppm respectivement. A côté de cette observation et les résonances typiques du spectre RMN ^{13}C attribué aux deux carbonyles résonants à 206.8 ppm, 209.7 ppm et trois carbones quaternaires résonants 51,4, 70,9 et 97,1 ppm laisse suggérer un dérivé d'un phloroglucinol substitué en *penta* dans lequel les atomes d'oxygène sont introduites dans deux groupes cétone et un carbonyle acétal [4]. Le reste des signaux de spectre RMN ^{13}C sont attribués à un méthyle quaternaire, deux prenyles, un homoprényle et un isopropylketone de la chaîne latérale.

La localisation de ces substituants dans le squelette de base était possible à l'aide de techniques multi-impulsionnelles COSY, HETCOR et COLOC (spectre n°6, 7,8, 9, 10, 11). Cette dernière technique a permis de déterminer les connectivités suivantes :

- Les protons H-5ax et H-5eq résonant à 1,39 et 1,88 ppm et C-7 et C-1.
- Le groupement CH_3 -31 résonant à 1,77 ppm et C-1, C-5 et C-7.
- Le groupement CH_3 -14 résonant à 1.02 ppm et C-2, C-4 et C-15.
- Le groupement OH-1 résonant à 7,77 ppm et C-2 et C-6.

La forme cage de l'hyperfoliatine et la présence du pont d'oxygène donne la configuration relative aux carbones suivant : C-1, C-8, C-2 et C-6 respectivement. La grande constante de couplage trans-diaxial ($J = 13\text{Hz}$) entre H5-ax et H-4 confirme la position équatoriale du substituant prenyl à C-4.

L'expérience NOSY a montré un grand croisement de pics entre H5-ax et CH_3 -31 d'un côté et CH_3 -14 d'un autre côté, ce qui permet de confirmer la configuration chaise du cycle hexane et déduire le reste des stérocentres à C-3 et C-4. La configuration des centres de chiralité ne peut être déterminée du fait de la quantité insuffisante isolée. Nous pouvons récapituler les résonances des pics comme suit :

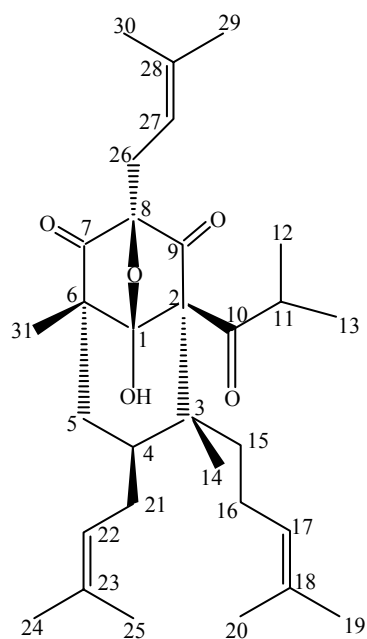
Le spectre de RMN du proton enregistré dans CDCl_3 (spectre n°4), montre les signaux caractéristiques suivants à :

- 0,93 ppm, sous forme d'un doublet ($J=7.0\text{ Hz}$), correspondant à un groupement méthyle - 13 (CH_3 -13).
- 1,02 ppm, sous forme d'un singulet de trois protons correspondant au groupe méthyle - 14 (CH_3 - 14).
- 1,07 ppm, sous forme d'un multiplet d'un proton correspondant au groupe méthyle 4 (CH - 4).

- 1,09 ppm, sous forme d'un doublet de 3 protons ($J=7.0$ Hz) correspondant à 3 groupes de méthyle (3 CH₃ – 12).
- 1,17 ppm, sous forme d'un singulet de trois protons correspondant au groupement méthyle 31 (CH₃ – 31).
- 1,34 ppm, sous forme d'un doublet de doublet ($J=14.0$ Hz, $J=13.0$ Hz) correspondant au proton H -5 ax.
- 1,54 ppm, sous forme d'un singulet de trois protons correspondant au groupe méthyle 25 (CH₃ – 25).
- 1,57 ppm, sous forme d'un singulet de trois protons correspondant au groupe méthyle 20 (CH₃ – 20).
- 1,60 ppm, sous forme d'un multiplet d'un proton correspondant au groupe (CH-15a).
- 1,64 ppm, sous forme d'un singulet de six protons correspondant au groupe de méthyle 29 et 30 respectivement (CH₃-29 et CH₃-30).
- 1,67 ppm, sous forme d'un singulet de trois protons correspondant au groupe de méthyle 19 (CH₃-19).
- 1,68 ppm, sous forme d'un multiplet d'un proton correspondant au groupe acétyle 21a (CH – 21a).
- 1,69 ppm, sous forme d'un singulet de trois protons correspondant au groupe de méthyle 24 (CH₃ – 24).
- 1,75 ppm, sous forme d'un multiplet d'un proton correspondant au groupe de 15b (CH- 15b).
- 1,82 ppm, sous forme d'un multiplet d'un proton correspondant au groupe acétyle 16a (CH-16a).
- 1,88 ppm, sous forme d'un doublet de doublet d'un proton correspondant au proton 5eq (H-5eq) ($J=14.0$ et $J=4$ Hz).
- 2,80 ppm, sous forme d'un doublet de doublet de doublet d'un proton ($J=15.0$ Hz, $J=5.0$ Hz ; $J=2.0$ Hz) correspondant au proton 21b (H-21b).
- 2,24 ppm, sous forme d'un multiplet d'un proton correspondant au groupement 16b (CH-16b).
- 2,56 ppm, sous forme d'un doublet de doublet ($J=15.0$ Hz, $J=7.0$ Hz) correspondant au proton 26 a (H-26a).

- 2,73 ppm, sous forme d'un doublet dé doublet ($J=15.0\text{Hz}$, $J=6.0\text{Hz}$) correspondant au proton 26b (H-26b).
- 3,20 ppm, sous forme d'un septuplet d'un proton ($J=7.0\text{Hz}$) correspondant au proton 11 (H-11).
- 4,92 ppm, sous forme d'un multiplet d'un proton correspondant au groupement acétyle 22 (CH-22).
- 4,98 ppm, sous forme d'un multiplet d'un proton correspondant au groupement 17 (CH-17).
- 5,03 ppm, sous forme d'un multiplet d'un proton correspondant au groupement acétyle 27 (CH-27).
- 7,77 ppm, sous forme d'un singulet d'un proton correspondant au groupement hydroxyle (OH-1).

Ces résultats permettent de proposer la structure pour le produit A₁



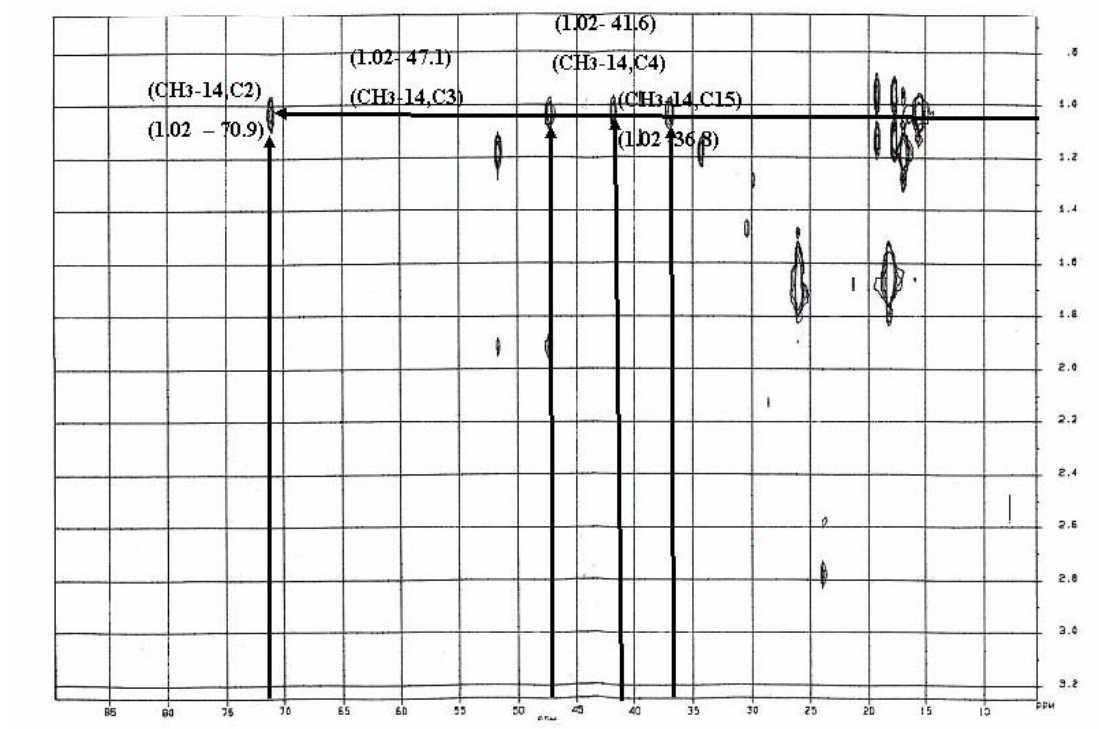
Le spectre du RMN¹³C (spectren°5), présente des signaux de 31 atomes de carbones, avec en particulier à 107,7 ppm attribuable au carbone déblindé d'un cycle hémiacétale. Le cycle B est constitué par deux carbones quaternaire aliphatique à 71,9 ppm et 55,2 ppm attribuable à C-2 et C-6 respectivement.

- à 209,1 ppm et 207,6 ppm deux carbonyles attribuables à C-7 et C-9 respectivement.
- à 108,8 ppm : Un carbonyle acétal attribuable au carbone C-1.
- à 97,1 ppm : Un carbone non protoné mais oxygéné attribuable à C-8.

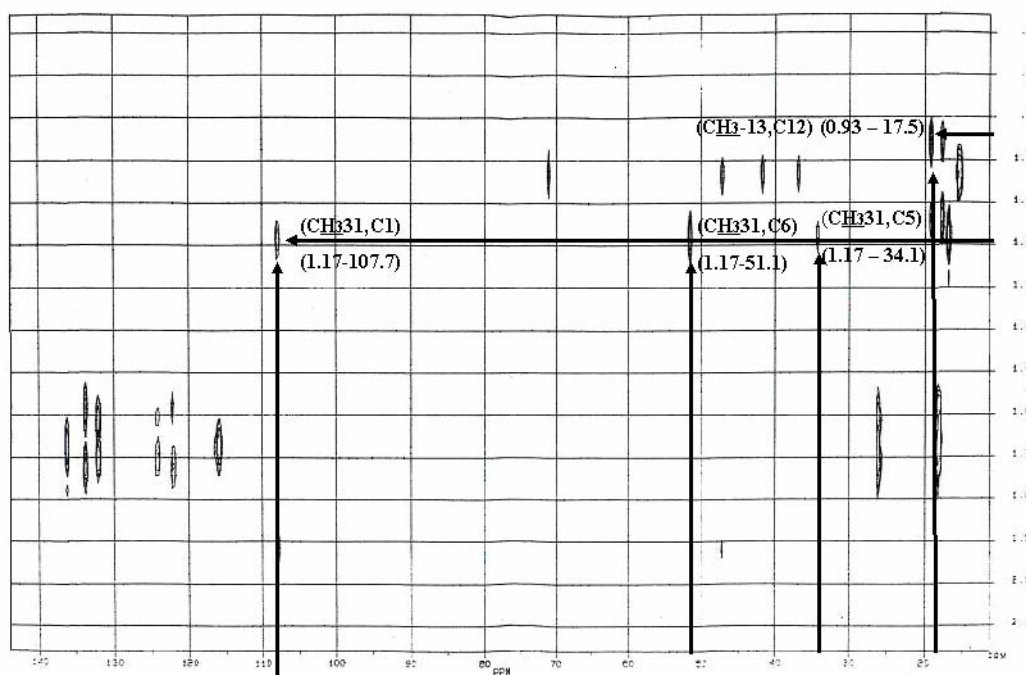
Le spectre de COLOC (spectre n°6, 7, 8, 9, 10, 11) du ^1H montre les signaux caractéristiques suivants :

- Le proton H-5ax et un carbone résonant à 209,7 ppm. Le déplacement chimique est attribué au C-7.
- Le proton H-5eq et un carbone résonant à 107,7 ppm. Ce déplacement chimique est attribué au C-1.
- Les protons du groupement 3 CH_3 -12 et trois carbones résonants à 217,8 ppm, 39,2 ppm et 19,1 ppm. Ces déplacements chimiques sont attribués au C-10, C-11, C-13 respectivement.
- Les protons du groupement CH_3 -13 et trois carbones résonants à 217,8 ppm, 39,2 ppm et 17,5 ppm. Ces déplacements chimiques sont attribués au C-10, C-11 et C-12 respectivement.
- Les protons du groupement CH_3 -14 et quatre carbones résonants à 70,9 ppm, 47,1 ppm, 41,6 ppm et 36,8 ppm. Ces déplacements chimiques sont attribués au C-2, C-3, C-4 et C-15 respectivement.
- Les protons du groupement CH_3 -19 et deux carbones résonants à 124,0 ppm et 131,8 ppm. Ces déplacements chimiques sont attribués au C-17 et C-18 respectivement.
- Les protons du groupement CH_3 – 20 et deux carbones résonants à 124,0 ppm et 131,8 ppm. Ces déplacements chimiques sont attribués au C-17 et C-18 respectivement.
- Les protons du groupement CH_3 -24 et deux carbones résonants à 122,0 ppm et 133,4 ppm. Ces déplacements chimiques sont attribués au C-22 et C-23 respectivement.
- Les protons du groupement CH_3 -25 et deux carbones résonants à 122,0 ppm et 133,4 ppm. Ces déplacements chimiques sont attribués au C-22 et C-23 respectivement.
- Les protons du groupement CH et deux carbones résonants à 25,6 ppm et 17,7 ppm. Ces déplacements chimiques sont attribués au C-29 et C-30 respectivement.
- Les protons du groupement CH_3 -29 et deux carbones résonants à 117,5 ppm et 136,1 ppm. Ces déplacements chimiques sont attribués au C-27 et C-28 respectivement.
- Les protons du groupement CH_3 -30 et deux carbones résonants à 115,8 ppm et 136,1 ppm. Ces déplacements chimiques sont attribués au C-27 et C-28 respectivement.
- Les protons du groupement CH_3 -31 et quatre carbones résonants à 34,1 ppm et 51,4 ppm, 107,7 ppm et 209,7 ppm. Ces déplacements chimiques sont attribués au C-5, C-6, C-1 et C-7 respectivement.

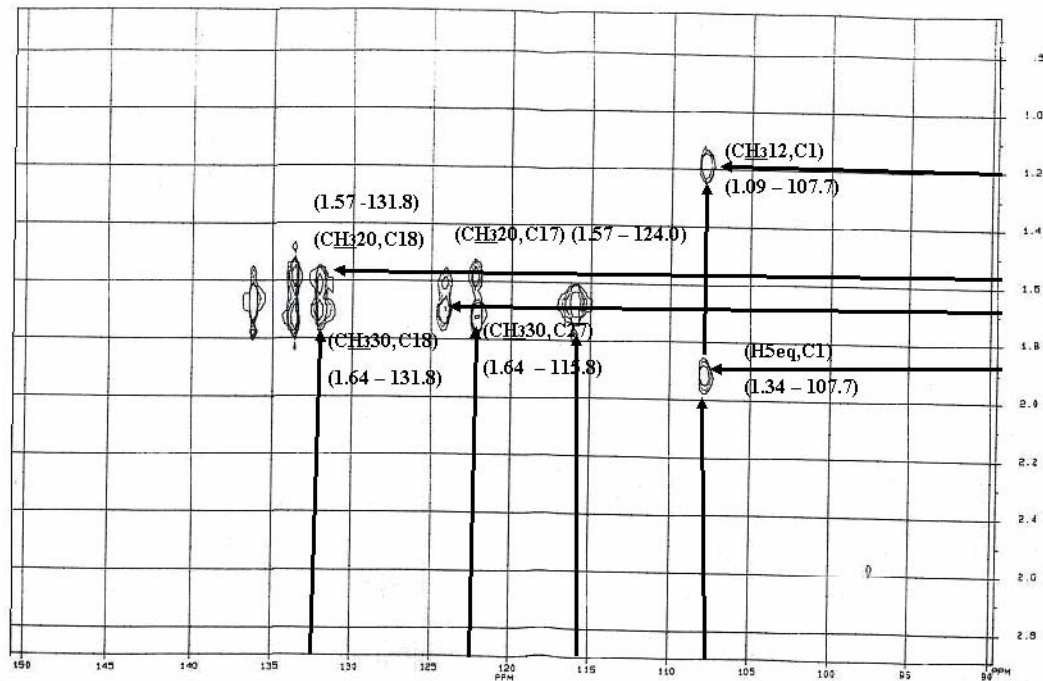
- Le proton du groupement OH et trois carbones résonants à 51,4 ppm, 70,9 ppm et 107,7 ppm. Ces déplacements chimiques sont attribués au C-6, C-2 et C-1 respectivement.



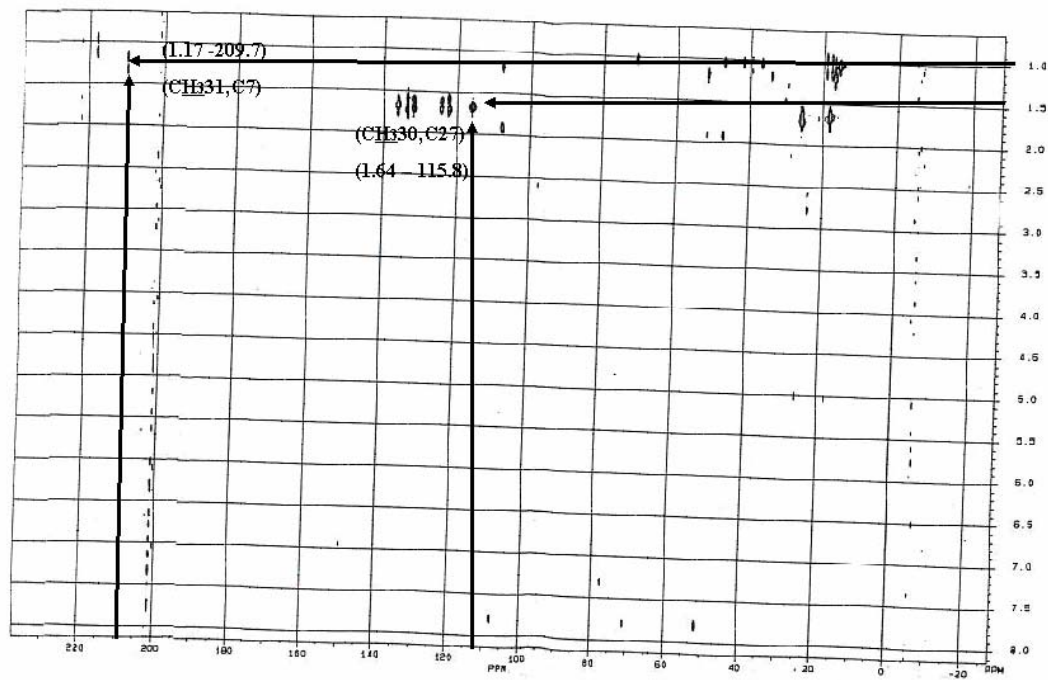
Spectre n°6 : COLOC du Produit A1



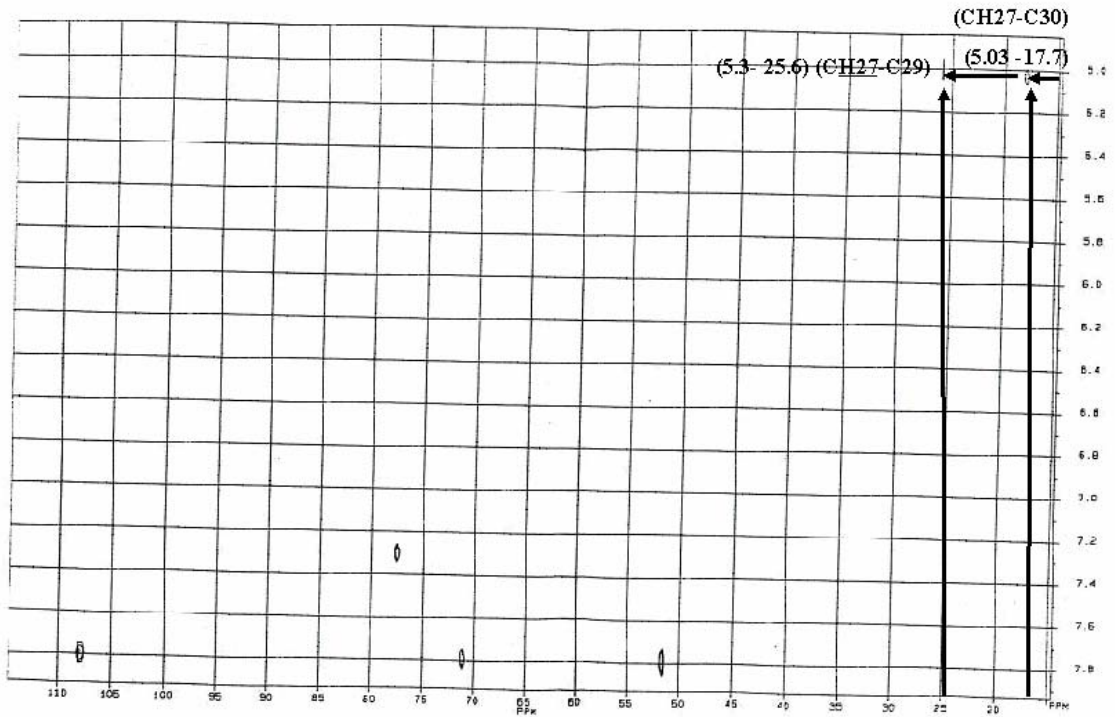
Spectre n°7 : COLOC du Produit A1



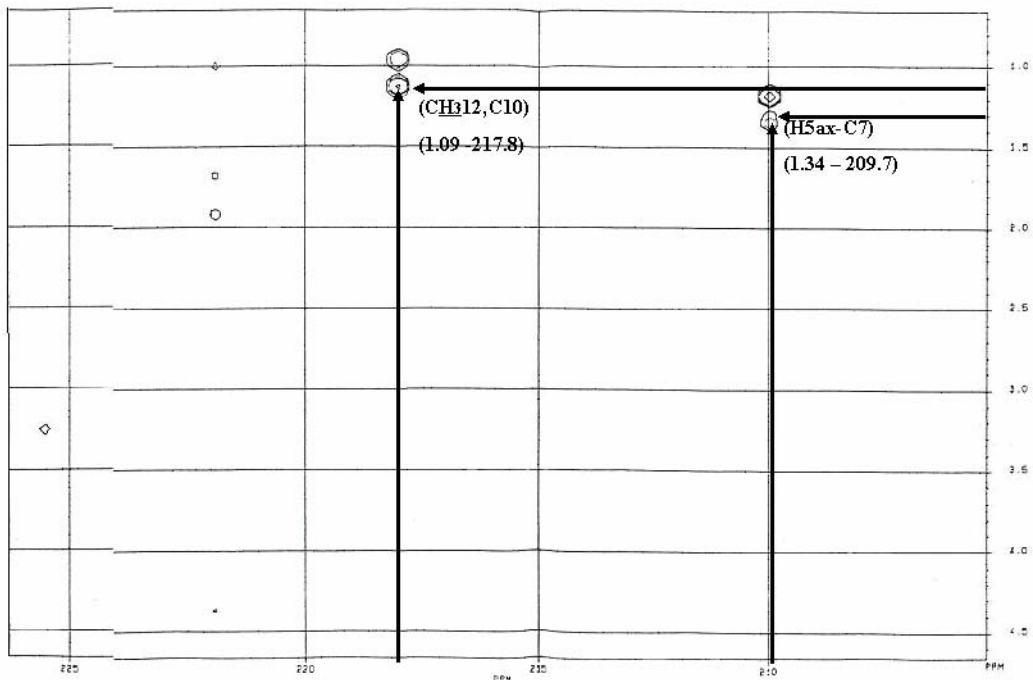
Spectre n°8 : COLOC du Produit A1



Spectre n°9 : COLOC du Produit A1



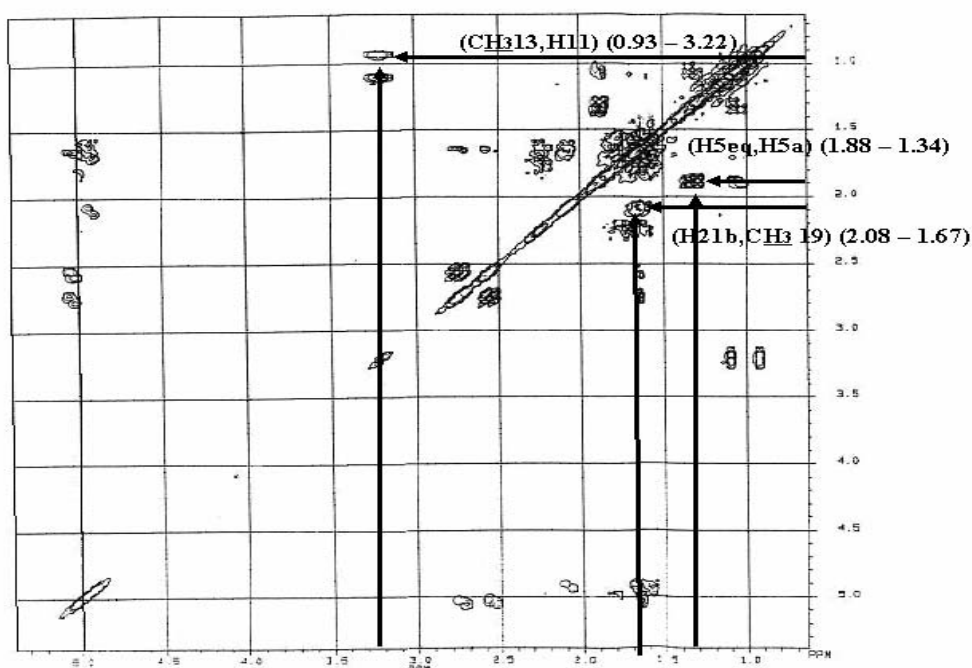
Spectre n°10 : COLOC du Produit A1



Spectre n°11 : COLOC du Produit A1

L'expérience de corrélation homonucléaire COSY ^1H - ^1H (spectre n°12), montre les couplages entre les protons suivants :

- Le proton H-5 eq, résonant à 1,88 ppm et H-5ax, résonant à 1,34 ppm
- les protons CH₃-13, résonants à 0,93 ppm et H-11 résonant à 3,20 ppm
- les protons CH₃-14, résonants à 1,02 ppm et H-11 résonant à 3,20 ppm
- les protons H-21b, résonant à 2,10 ppm et CH₃-19 résonant à 1,67 ppm

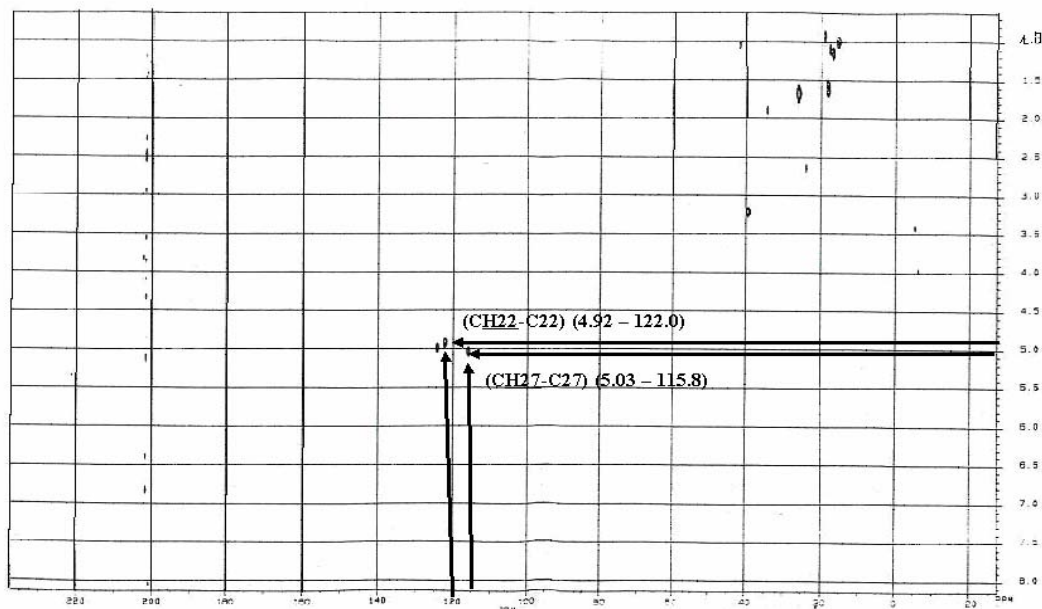


Spectre n°12 : COSY H-H du Produit A1

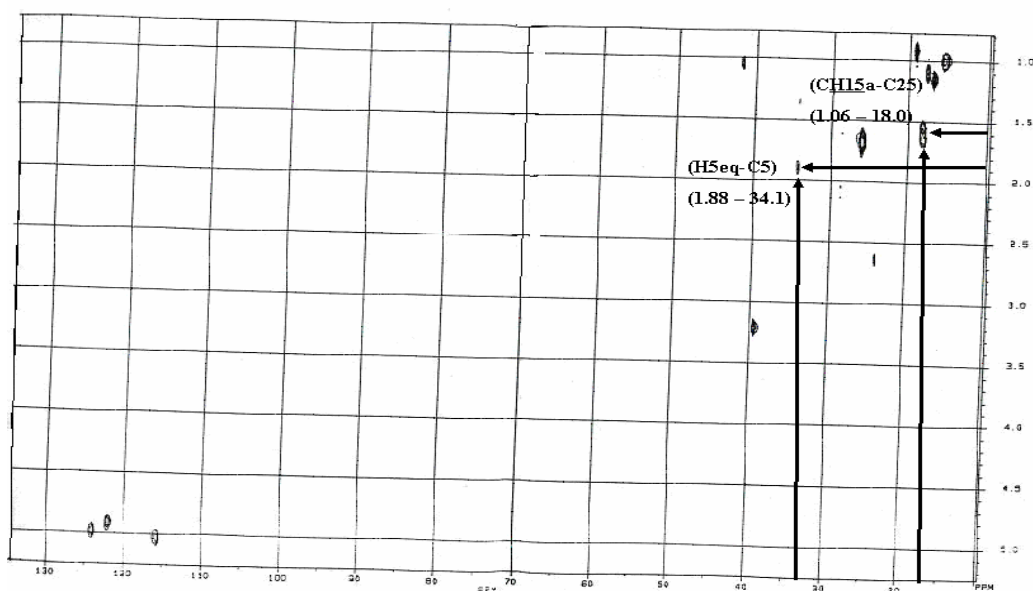
Le spectre HETCOR (spectres n°13, 14)

- Le proton H-11 et un carbone à 39,2 ppm, ce déplacement chimique est attribué au C-11.
- Le proton H-22 et un carbone à 122,0 ppm, ce déplacement chimique est attribué au C-22.

- Le proton H-27 et un carbone à 115,8 ppm, ce déplacement chimique est attribué au C-27.
- Le proton du groupement CH-17 et un carbone à 124,0 ppm, ce déplacement chimique est attribué au C-17.

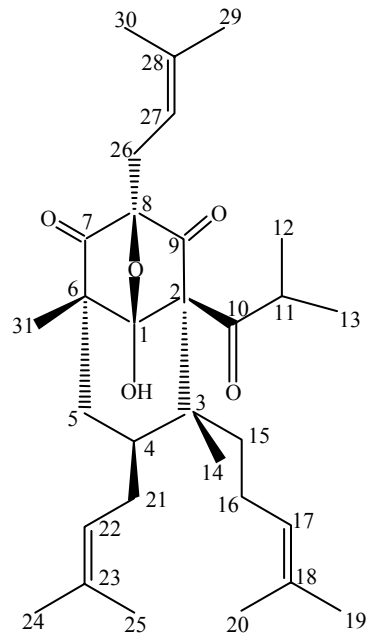


Spectre n°13 : HETCOR du Produit A1



Spectre n°14 : HETCOR du Produit A1

L'ensemble de ces données a conduit à attribuer à ce nouveau produit naturel la structure pour laquelle nous proposons le nom d' **Hyperfoliatine**.

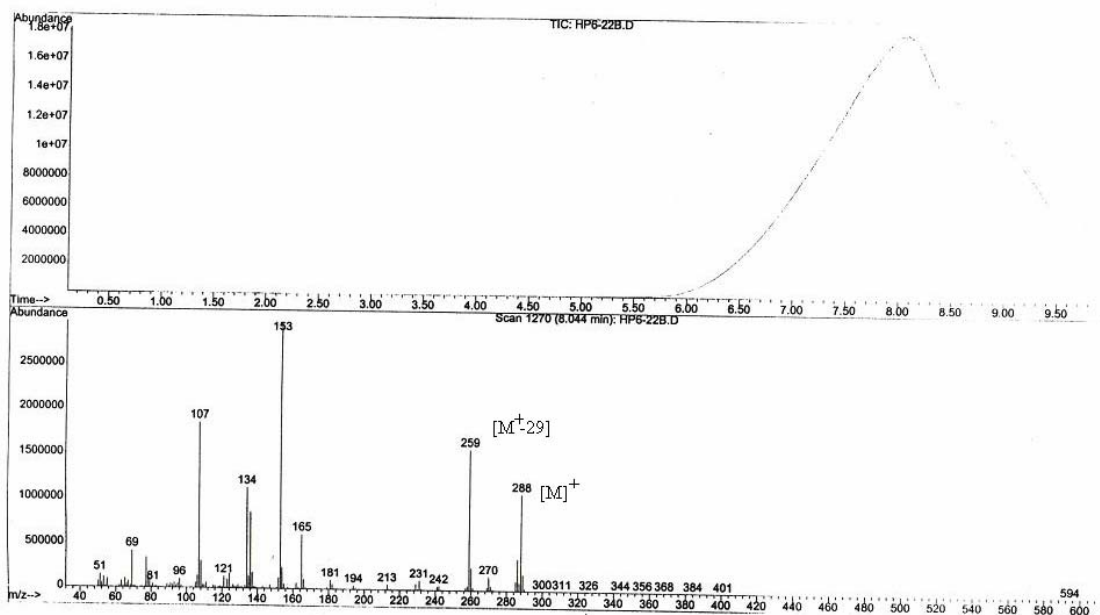


Hyperfoliatine

Il est à noter que la biogenèse de l'hyperfoliatine peut être probablement résulter de phlorisobutyrophenone polyketide, dérivé de la valine et 3 acétates qui subit des alkylation consécutive par un S-adenosylmethionine et quatre unités prenyle. Ce biosynthèse ressemble à ceux déjà décrit pour le métabolisme secondaire rencontré dans d'autres hypericum tels que l'hyperforine isolé de *l'H. perforatum* [5] et *l'H. uliginosum* [6]. L'hyperfoliatine a été isolé de l'espèce *l'H. scabrum* [7].

Produit 6(22)

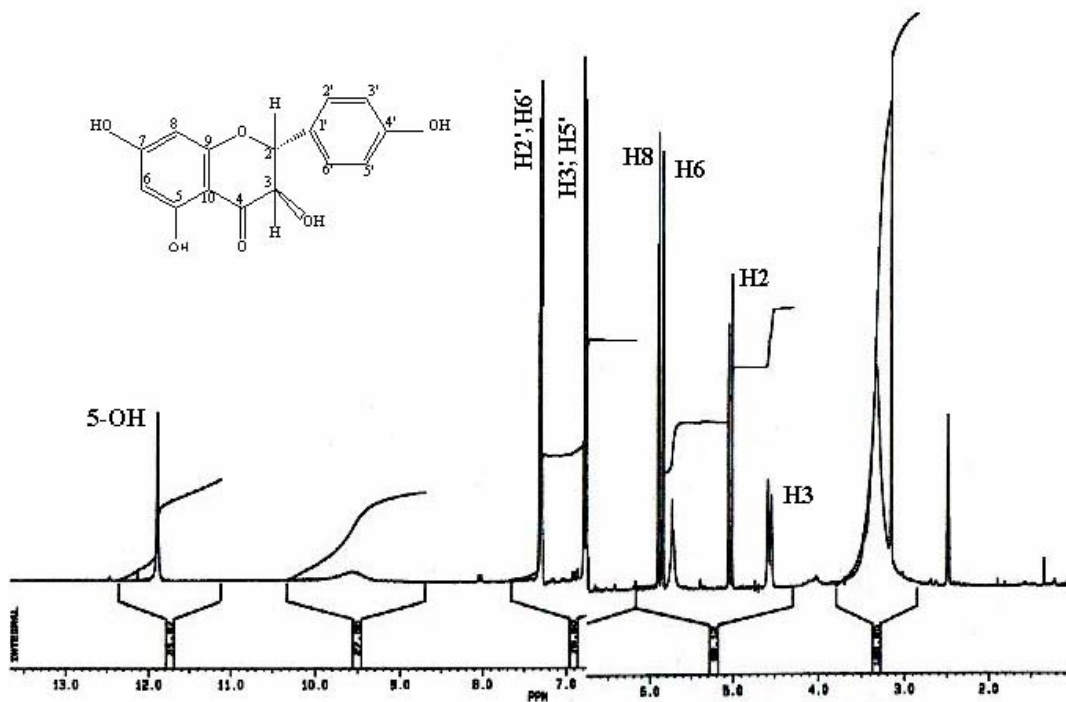
Le spectre de masse en ionisation chimique (spectre n° 15) fournit les pics M^+ et $M^+ - 29$ qui permettent de déduire la masse moléculaire $m/z = 288 [M^+]$, ainsi que les pics $(A_1 + H^+)$ et B_2^+ correspondant au noyau A dihydroxylé et le noyau B mono-hydroxylé.



Spectre n°15: SM du produit 6(22)

Le spectre RMN- 1H (spectre n° 16) enregistré dans DMSO- d_6 , montre les signaux caractéristiques suivants à:

- 4,52 ppm, sous forme de doublet ($J=11.0\text{Hz}$) correspondant au proton H-3.
- 5,02 ppm, sous forme de doublet ($J=11.0\text{Hz}$) correspondant au proton H-2.
- 5,87 ppm, sous forme de doublet ($J=2.0\text{Hz}$) correspondant au proton H-6.
- 5,90 ppm, sous forme de doublet ($J=2.0\text{Hz}$) correspondant au proton H-8.
- 6,79 ppm, sous forme de doublet ($J=8.5\text{Hz}$) correspondant au proton H-3', H-5'.
- 7,30 ppm, sous forme de doublet ($J=8.5\text{Hz}$) correspondant au proton H-2', H-6'.
- 11,89 ppm, sous forme de singulet correspondant au groupement OH.



Spectre n°16: SM du produit 6(22)

Ces résultats permettent de proposer la structure suivante pour le produit 6(22)

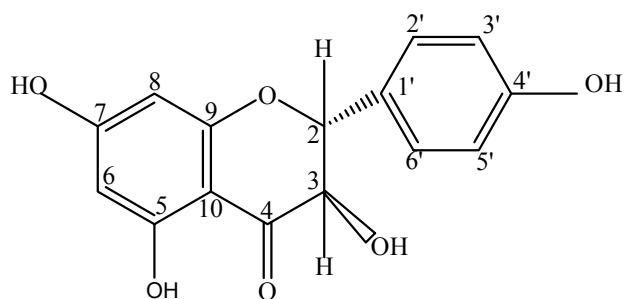
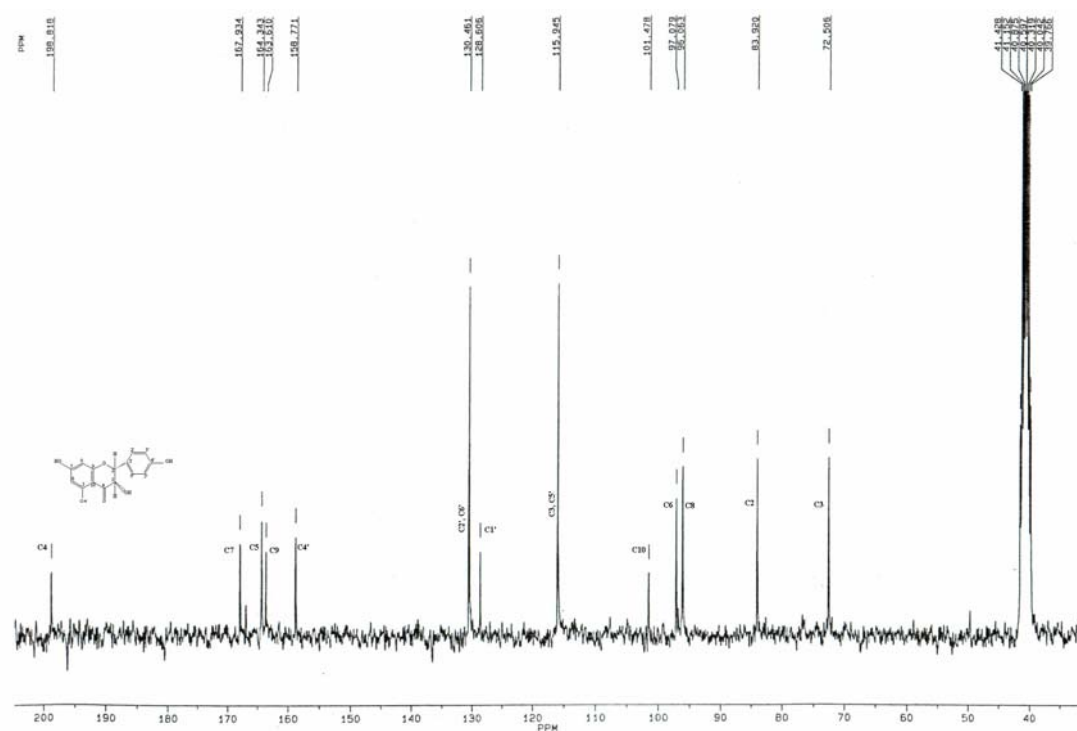


Tableau [14] : Données R.M.N ¹H (300Hz, DMSO-D6)

δ(ppm)	Intégration	Multiplicité	Constante de couplage J(Hz)	Attribution
4.52	1H	d	11.0	H-3
5.02	1H	d	11.0	H-2
5.87	1H	d	2.0	H-6
5.90	1H	d	2.0	H-8
6.79	2H	d	8.5	H-3', H-5'
7.30	2H	d	8.5	H-2', H-6'
11.89	1H	s	-	OH

Les données de la RMN du carbone 13 confirme cette structure [7]. Le tableau [15] donne les déplacements chimiques des 15 carbones.



Spectre n°17:RMN ¹³C du produit 6(22)

Tableau [15] : Données R.M.N¹³C (100Hz, DMSO)

δ(ppm)	Carbone
198.81	C-4
167.93	C-7
164.34	C-5
163.61	C-9
158.77	C-4'
130.46	C-2', C-6'
128.60	C-1'
115.94	C-3'-C-5'
101.47	C-10
97.07	C-6
96.0	C-8
83.92	C-2
72.50	C-3

II . 8 Activité pharmacologique de l'hyperfoliatine

L'hyperfoliatine a été testée sur des rats afin de déterminer son action sur le système neveux central et en particulier les différents symptômes comportementaux tels que l'activité locomotrice. Ainsi, le test de la nage forcée a été réalisé pour mettre, si possible, en évidence, son effet antidépresseur .

Les résultats ont montré que l'administration de l'hyperfoliatine (Fig 1-2) altère l'activité psychomotrice. Néanmoins, il raccourcit le temps d'immobilité lors du test de la nage (Fig 3-4), ce qui suggère un possible effet antidépresseur avec une action au niveau du système nerveux central .

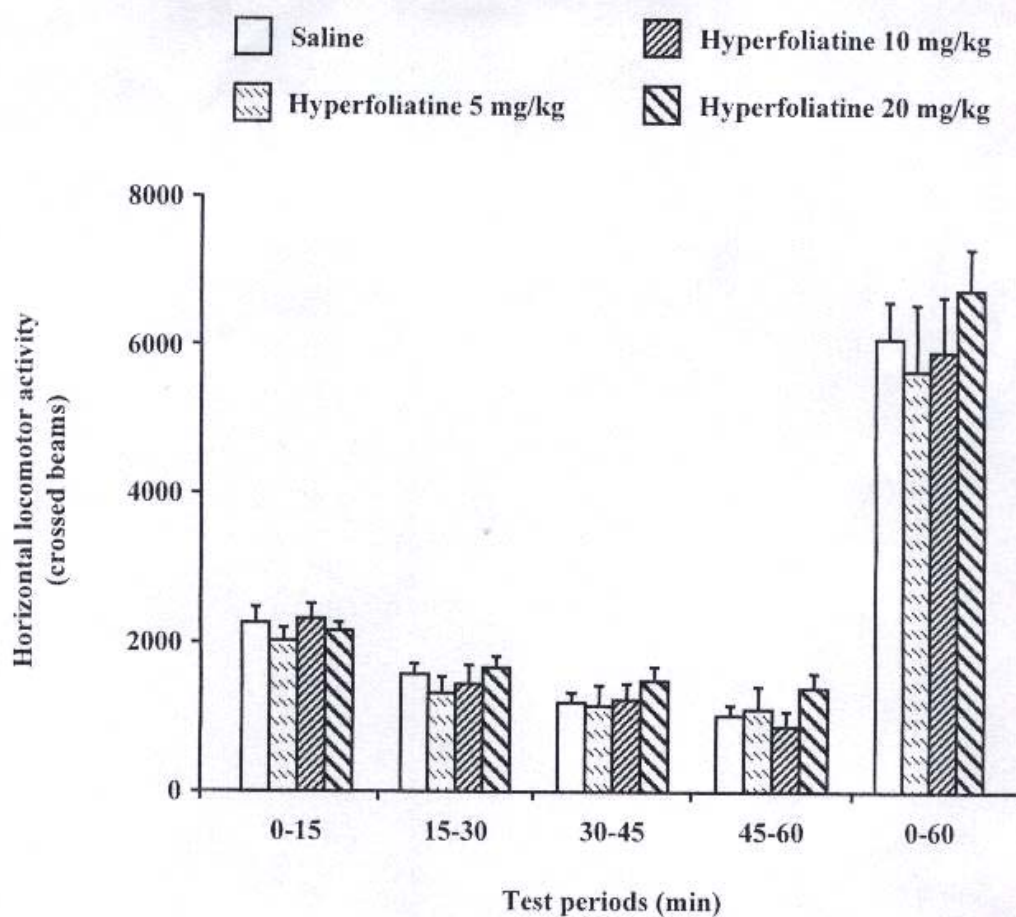


Fig 1

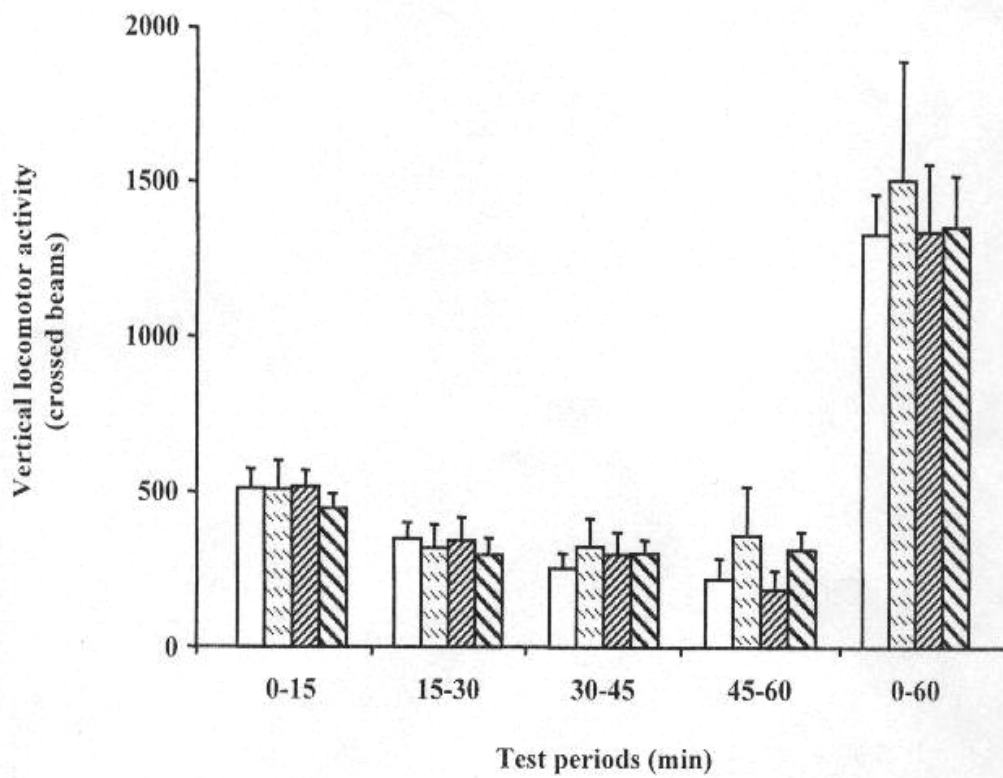


Fig 2

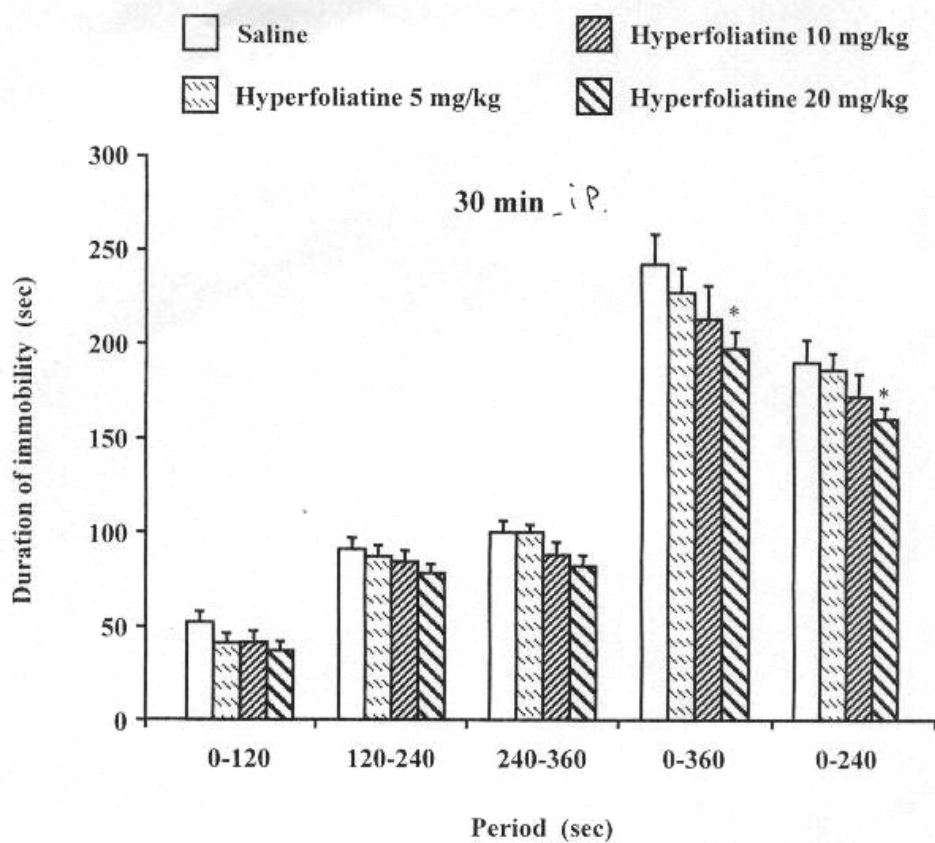


Fig 3

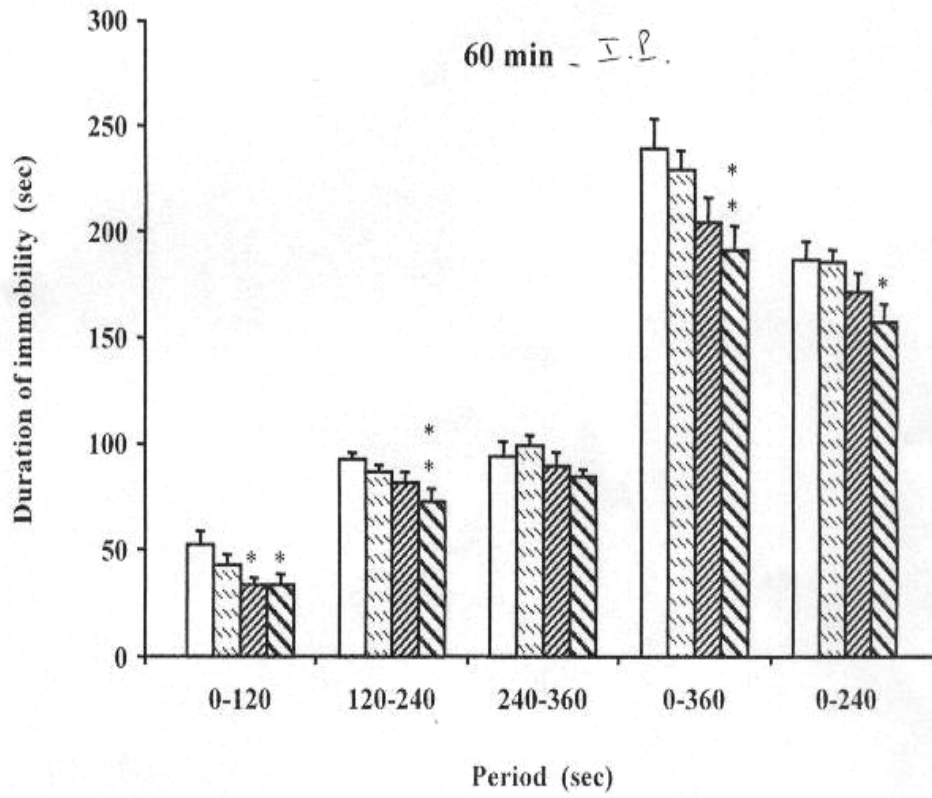


Fig 4

II. 9. Caractéristiques physiques et spectrales des produits isolés.

A₁ Hyperfoliatine

Formule brute : C₃₁H₄₆O₅

Spectre I.R. : (KBr) Vmax cm⁻¹ : 3322, 2971 2932 2877 1777 1742 1678 1452 1385, 1332,, 1301, 1119, 1084, 1058 cm⁻¹.

Spectre U.V.: λnm (long ε) (EtOH): 282(3.20), 376 (1.60)

Spectre de masse : DIC / NH₃ : m/z : 499

Spectre de R.M.N. du ¹H : (300MH₃, CDCl₃)

δ(ppm)	Nombre de protons	Multiplicité	Constante de couplage	Attribution
0.93	1H	d	J=7.0Hz	CH ₃ -13
1.02	3H	s	-	CH ₃ -14
1.07	1H	m	-	CH-4
1.09	3H	d	J=7.0Hz	3CH ₃ -12
1.17	3H	s	-	CH ₃ -31
1.34	1H	dd	J=14.0Hz, J=13.0Hz	H-5ax
1.54	3H	s	-	CH ₃ -25
1.57	3H	s	-	CH ₃ -20
1.60	1H	m	-	CH-15a
1.64	6H	s	-	CH ₃ -29 CH ₃ -30
1.67	3H	s	-	CH ₃ -19
1.68	1H	m	-	CH-21a
1.69	3H	s	-	CH ₃ -24
1.75	1H	m	-	CH-15b
1.82	1H	m	-	CH-16a
1.88	1H	dd	J=14.0Hz J=4.0Hz	H-5eq
2.08	1H	ddd	J=15.0Hz J=5.0Hz J=2.0H	H-21b
2,24	1H	m		CH-16b
2,56	1H	dd	J=15.0Hz	H-26a

			$J=7.0\text{Hz}$	
2,73	1H	dd	$J=15.0\text{Hz}$ $J=6.0\text{Hz}$	H-26b
3,20	1H	Sept	$J=7.0\text{Hz}$	H-11
4,92	1H	m	-	CH-22
4,98	1H	m	-	CH-17
5,03	1H	S	-	CH-27
7,77	1H	s	-	DeO OH-1

Spectre de R.M.N. du ^{13}C : (75MHz, CDCl_3).

C	C-14	C-31	C-12	C-30	C-20	C-25	C-13
$\delta(\text{ppm})$	15,3	16,7	17,5	17,7	17,9	18,0	19,1

C	C-16	C-26	C-29	C-19	C24	C-21	C-5
$\delta(\text{ppm})$	23,6	23,8	25,6	25,7	25,7	28,4	34,1

C	C-15	C-11	C-4	C-3	C-6	C-2	C-8	C-1
$\delta(\text{ppm})$	36,8	39,2	41,6	47,1	51,4	70,9	97,1	107,7

C	C-27	C-22	C-17	C-18	C-23	C-28	C-9
$\delta(\text{ppm})$	115,8	122,0	124,0	131,8	133,4	136,0	206,8

C	C-7	C-10
$\delta(\text{ppm})$	209,7	217,8

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Quezel P., Santa S., **1963**, *Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*, Tome II, Ed. CNRS, Paris 683.
- [2] L'abbé H. C., Flahault CH., **1904**, *Flore descriptive et illustrée de la France, de la corse et des contrées limitrophes*, Ed. LSN, Paris, 257.
- [3] Tutin T. G., Heywood V. H. Burges N. A., Moore D. M., Valentine D. H., Walters S. M., Webb D A., **1968**, *Flora Europia. Volume 2: Rosaceae to umbelleferae*, Ed. Cambridge Ltd, 266.
- [4] Verotta L., Appendino G., Jacupovic J., Bombardelli E., **2000**, *J. Nat. Prod.*, 63, 415.
- [5] Brondz I., Greibrokk T., Groth P. A., Aasen A. J., **1982**, *Tetrahedron Lett.*, 23, 1300.
- [6] Parker W. L., Johnson F., **1968**, *I. J. Amer. Chem. Soc.*, 90, 4723.
- [7] Luz Cardona M., Seoan E., **(1982)**, *Phytochemistry*, 21(11), 2760.
- [8] Tanaka N., et al., **(2004)**, *J. Nat. Prod.*, 67, 1875.

Conclusion Générale

À l'issue de la présente recherche qui représente une contribution à l'étude phytochimique de certaines plantes médicinales de la flore Algérienne, *Ruta montana*, *Matricaria pubescens* et *Hypericum perforliatum*, nous sommes arrivés à des résultats qui nous ont permis l'identification des composés de types coumarines, flavonoïdes et phloroglucinol.

Cette identification tend à répondre à deux objectifs : d'une part, atteindre des structures nouvelles pour ces représentants de la flore Algérienne et d'autre part, mettre en évidence l'activité biologique des principes actifs isolés.

En faisant appel aux différentes méthodes modernes d'analyse spectroscopiques, particulièrement les techniques de RMN 2D (COSY, HMBC, HSQC, HETCOR, COLOC), nous avons pu identifier : Quatre coumarines isolés de *R. montana* :

- Xanthotoxine
- Isopimpinilline (isolée pour la première fois de l'espèce)
- Héraclenol (rapporté pour la première fois du genre)
- Rutamontine (inédit)

Deux coumarines et un isobutylamide chez *M. pubescens*

- Herniarine
- Dihydroherniarine (isolée pour la première fois de l'espèce)
- (2E, 4E)-6-(2-thienyl)-2,4-hexadien-isobutylamide

Un flavonol et un phloroglucinol isolés de *H. perforliatum*

- Dihydrokaempferol
- Hyperperfoliatine (inédit)

En ce qui concerne l'activité pharmacologique, nous avons récemment démontré que l'hyperperfoliatine isolée de *Hypericum perforliatum* altère l'activité psychomotrice et possède un pouvoir antidépresseur par le biais du test de la nage forcée pratiquée chez les rats.

ABSTRACT

This study is a part of the large program of the research about original Algerian species reputed for their richness with secondary metabolites with intense biological activities.

Our extraction works on the aerial parts of *Ruta montana* originated from North Eastern Algeria, followed by the chromatographic separations (CC, TLC) permitted us to identify four coumarins:

- *Xanthotoxin*
- *Isopimpinillin* (isolated for the first time from the specie)
- *Heraclenol* (reported for the first time from the genus)
- *Rutamontanin* (6-hydroxy-7-methoxy-3,7'-dicoumarinyl-ether): is new

The analogue treatments of the aerial parts of the specie *Matricaria pubescens* led to the separation and the identification of two coumarins and an isobutylamide:

- *Herniarin*
- *Dihydroherniarin* (reported for the first time)
- *(2E,4E)-6-(2-thienyl)-2,4-hexadien-isobutylamide*

In another hand, we have isolated and identified one dehydroflavonol and a polyisoprenylated phloroglucinol from *Hypericum perforatum*.

- *Dehydrokaemperole*
- *Hyperfoliatin*

Recently, we have shown that hyperfoliatin, extracted from *H. perforatum*, was remarkably active against the rats forced swimming test and anti-immobility effect. These results indicate that hyperfoliatin is an antidepressant constituent of *H. perforatum*.

Keywords: *Ruta Montana*, *Matricaria pubescens*, *Hypericum perforatum*
Coumarins, Flavonoids, Polyisoprenylated phloroglucinol, antidepressant.

Résumé

Ce travail fait partie de notre programme de recherche qui porte sur l'étude phytochimique des plantes médicinales Algériennes, qui sont réputées pour leur richesse en métabolites secondaires à activités biologiques potentielles.

Les travaux d'extraction des parties aériennes de l'espèce *Ruta montana*, originaire de l'Est Algérien, suivis de séparations chromatographiques (CC, CCM), ont permis d'isoler et d'identifier quatre coumarines :

- *Xanthotoxine*
- *Isopimpinelline* (rapportée pour la première fois dans l'espèce)
- *Héraclénol* (isolé pour la première fois du genre)
- *Rutamontine (6-hydroxy-7-méthox-3',7-dicoumarinylether)*: inédit

De la même manière, le traitement des parties aériennes de l'espèce *Matricaria pubescens* a révélé la présence de deux coumarines et d'un isobutylamide :

- *Herniarine*
- *Dihydroherniarine* (isolé pour la première fois de l'espèce)
- *(2E,4E)-6-(2-thienyl)-2,4-hexadien-isobutylamide*

Par ailleurs, nous avons isolé un déhydroflavonol et un isoprenyl phloroglucinol de l'espèce endémique *Hypericum perforatum* :

- *Dihydrokaempferol*
- *Hyperfoliatine* (inédit)

Nous avons récemment montré que l'hyperfoliatine isolée de l'*Hypericum perforatum* altère l'activité psychomotrice et possède un pouvoir antidépresseur par le biais du test de la nage forcée pratiquée chez les rats.

Mots clés :

- *Ruta montana*, *Matricaria pubescens*, *Hypericum perforatum*, coumarines, flavonoïdes, isoprenyl phloroglucinol, anti-dépresseur