



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Larbi Tébessi

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences de la Matière

Réf : .../..

**Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de
Master**

Domaine : Sciences de la Matière

Filière : Chimie

Spécialité : Chimie des produits naturels

Thème Théorique

Identification par spectre RMN des composés isolés
de la plante Galactites Elegans

Présente par :

Soutenu le : 24/06/2021

Besseriani Youssra

Sedairia Linda

Devant le jury

Boumadjout Meriem MCB. Université Larbi Tébessi Tébessa

Président

Tebboub Omar MAA. Université Larbi Tébessi Tébessa

Promoteur

Houam Chahrazed MAA. Université Larbi Tébessi Tébessa

Examinateur

Année universitaire : 2020/2021



Déclaration sur l'honneur de non-plagiat

(à joindre obligatoirement au mémoire, remplie et signée)



Je soussigné(e),

Nom, Prénom : Beserriani Youssra / Sedairia Linda

Régulièrement inscrit(e) en Master au département : Science de la Matière

N° de carte d'étudiant : 16.163.4.0.201531 / 16.163.4.0.20.13.6

Année universitaire : 2020/2021

Domaine : Science de la Matière

Filière : Chimie

Spécialité : chimie des produits naturels

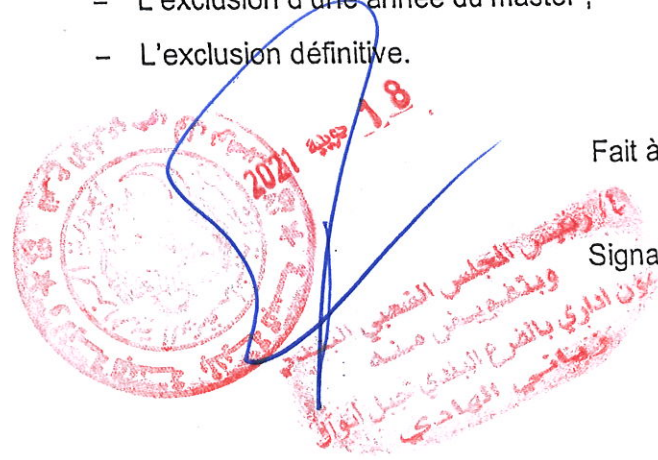
Intitulé du mémoire : Identification par Spectre RMN des Composés
isolés de la plante Galactia Elegans

Atteste que mon mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont été indiquées dans leur totalité. Je certifie également que je n'ai ni recopié ni utilisé des idées ou des formulations tirées d'un ouvrage, article ou mémoire, en version imprimée ou électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets.

Sanctions en cas de plagiat prouvé :

L'étudiant sera convoqué devant le conseil de discipline, les sanctions prévues selon la gravité du plagiat sont :

- L'annulation du mémoire avec possibilité de le refaire sur un sujet différent ;
- L'exclusion d'une année du master ;
- L'exclusion définitive.



Fait à Tébessa, le : 18/07/2021

Signature de l'étudiant(e) : [Signature]

Remerciements

Avant toute, nous remercions Dieu, le tout puissant, de nous avoir donné la force et la patience pour achever ce travail

*Nous adressons nos sincères remerciements à notre encadreur Monsieur **Tebboub. O** Maitre de conférences au département de science de la matière, faculté des sciences exacte et science de la nature et de la vie, Université Larbi Tebessi (Tébessa) nous le remercions pour sa disponibilité et son aide tout le long de ce modeste travail, qu'il trouve ici toutes nos gratitude.*

Nous remercions les membres de jury d'avoir bien voulu accepter de juger ce travail.

Nous remercions également toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

A mes chers parents Nouredine et Hayette

A mes chers frères Abdel Fateh et Sofien

A mes belles sœurs

A mes amies et surtout les plus proches

A tous ceux que j'aime

Merci pour tous...

Youssra

Dédicace

Je dédie mon travail à

*Les plus chères dans ma vie mes parents pour leur amour inestimable,
leur confiance, leur soutien, leurs sacrifices et toutes les valeurs qu'ils
ont su m'inculquer.*

*Mes frères **Walid, Badr-Eddine** pour leur soutien et leur présence
j'espère que la vie lui réserve le meilleur.*

*Mes cousines **Naziha, Nadia, Zahra, Siham** et **Dalila** surtout **Naziha**
pour leur soutien moralement et matériellement.*

*Toutes mes amies surtout **IKram, Iman, Amina, Nour**...et tous mes
collègues de la promotion de **M2 Chimie des produits naturels 2021**.*

*Et un grand merci pour vous mon binôme et ma sœur **Besseriani***

Yousra

S.linda

Résumé

L'objectif de notre travail consiste à l'identification structurale des composés isolés de la plante *Galactites elegans* de la famille Asteraceae.

Les différentes méthodes chromatographiques de séparation utilisées par notre encadreur Tebboub Omar et les autres chercheurs sur des extraits obtenus par différentes solvants d'extractions : CHCl_3 et le n-BuOH confirment leur richesse en composés phénoliques, ce qui a permis l'isolement de 26 fractions. La détermination structurale des composés a été réalisée par la combinaison des différentes méthodes spectroscopiques (RMN-1D, 2D).

Mots clés : Asteracea, *Galactites elegans*, RMN.

Abstract

Our research includes is to structurally identify compounds isolated from *Galactites elegans* belonging to the Compound family.

Several chromatographic methods were used by our supervisor Tebboub Omar and other researchers enabled the extracts obtained from different extraction solvents : CHCl_3 and n-BuOH confirming their richness in phenolic compounds, which allowed the isolation of 26 fractions. The determination of the structural formulas of the compounds was done by combining different spectroscopic methods (NMR-1D, 2D).

Key words : Asteracea, *Galactites elegans*, NMR.

ملخص

الهدف من عملنا هذا هو التحديد الهيكلي للمركبات المعزولة من نبات *Galactites elegans* التي تنتمي إلى العائلة المركبة.

مكننا من ذلك طرق الفصل الكروماتوجرافي المختلفة التي استخدمها مشرفنا تبوب عمر والباحثون الآخرون على المستخلصات التي تم الحصول عليها من مذيبات الاستخلاص المختلفة: CHCl_3 و n-BuOH يؤكدان ثراءهما بالمركبات الفينولية والتي سمحت بعزل 26 جزءا. إن تحديد الصيغ البنوية للمركبات قد تم من خلال الجمع بين الطرق الطيفية المختلفة (NMR-1D, 2D).

الكلمات المفتاحية: العائلة المركبة, *Galactites elegans*, NMR.

Liste des Abréviations

CLHP : Chromatographie liquide à haute performance

V/V : Volume sur volume

FeCl₃ : Chlorure de fer

CC : Chromatographie liquide sur colonne

CCM : Chromatographie sur couche mince

CPG : Chromatographie en phase gazeuse

CP : Chromatographie sur papier

RMN : Résonance magnétique nucléaire

RMN ¹H : Résonance magnétique nucléaire du proton

RMN ¹³C : Résonance magnétique nucléaire du carbone 13

EI : Impact électronique

CI : Ionisation chimique

FAB : Ionisation par bombardement d'atomes rapides

LC/MS : Chromatographie liquide à haut performance couplée à la spectrométrie de masse

ATP : Adénosine Tri phosphate

RMN 1D : Résonance magnétique nucléaire monodimensionnelles

RMN 2D : Résonance magnétique nucléaire bidimensionnelles

H₂O : Eau

MeOH : méthanol

CHCl₃ : chloroforme

AcOET : acétate d'éthyle

n-BuOH : n-butanol

Na₂SO₄ : Sulfate de sodium

UV : Ultra-violet

OH : Hydroxyle

BAW : Butanol/Acid acetic/water

DCI : Ionisation chimique directe

NaOH : Hydroxyde de sodium

NaOMe : Méthanolate de sodium

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium

H₃BO₃ : Acide borique

HCl : Acide chlorhydrique

MeOD : Méthanol deutéré

PPM : Partie par million

HZ : Hertz

HSQC : Heteronuclear Single Quantum Correlation

HMBC : Heteronuclear Multiple-Bound Correlation

COSY : Correlated Spectroscopy

TOCSY : Total Correlation Spectroscopy

NOESY : Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy (NOESY)

Listes des figures

| | |
|---|-----------|
| Figure-1- : Structure des composés phénoliques simples..... | 07 |
| Figure-2- : Exemple de quelques acides phénoliques en C6-C1..... | 08 |
| Figure-3- : Exemple de quelques acides phénoliques en C6-C3..... | 08 |
| Figure-4- : Structure des flavonoïdes (aglycone) et position des principes substituants..... | 12 |
| Figure-5- : Squelette de base des flavonoïdes | 12 |
| Figure-6- : La biosynthèse des flavonoïdes..... | 15 |
| Figure-7- : Squelette de base de flavanone | 16 |
| Figure-8- : Squelette de base de flavone et flavonol | 16 |
| Figure-9- : Squelette de base de flavanone et dihydroflavanonol..... | 17 |
| Figure-10- : Squelette de base de flavan-3-ol et flavan-3,4-diol..... | 17 |
| Figure-11- : Squelette de base de chalcone | 18 |
| Figure-12- : Squelette de base d'aurone | 18 |
| Figure-13- : Squelette de base d'Isoflavone | 18 |
| Figure-14- : Le squelette de base de la structure flavonique..... | 19 |
| Figure-15- : Conjugaison du groupement carbonyle avec les cycles A et B | 27 |
| Figure-16- : Le complexe formé par les flavonoïdes et le mélange (NaOAc+H3BO3)..... | 28 |
| Figure-17- : Formation des complexes après addition d'AlCl3 et en présence de HCl..... | 29 |
| Figure-18- : Les corrélations observées à l'aide de différentes expériences bidimensionnelles..... | 36 |

| | |
|--|-----------|
| Figure-19- : Carte de répartition géographique des Asteraceae selon l'AP-Web site | 40 |
| Figure-20- : Les graines sont dispersées par le vent dans carlina..... | 42 |
| Figure-21- : Photo de Galactites elegans. A et B : plante entière, C : Bouton floral, D : Capitule épanoui..... | 44 |
| Figure-22- : Organigramme d'extraction de la partie aérienne de Galactites elegans..... | 52 |
| Figure-23- : La structure de composé A1 | 55 |
| Figure-24- : Spectre NMR ¹ H (600 MHz, MeOD) du composé A1 | 56 |
| Figure-25- : Spectre COSY ¹ H- ¹ H (600 MHz, MeOD) du composé A1..... | 57 |
| Figure-26- : Les différentes corrélations COSY du composé A1..... | 57 |
| Figure-27- : Spectre HSQC (600 MHz, 150 MHz MeOD) du composé A1..... | 58 |
| Figure-28- : Les différentes corrélations HSQC du composé..... | 59 |
| Figure-29- : Spectre HMBC (600 MHz, CD ₃ OD, δ ppm) du composé A1..... | 61 |
| Figure-30- : La structure de l'acide chlorogénique | 61 |
| Figure-31- : la structure de composé A2..... | 62 |
| Figure-32- : Spectre RMN ¹ H (500 MHz, MeOD) du composé A2..... | 63 |
| Figure-33- : Spectre RMN ¹ H (500 MHz, MeOD) du composé A2 (Proton aromatique)..... | 64 |
| Figure-34- : Spectre RMN ¹ H (500 MHz, MeOD) du composé A2 (Proton de sucres)..... | 64 |
| Figure-35- : Spectre COSY H-H du composé A2..... | 65 |
| Figure-36- : Spectre HSQC du composé A2..... | 66 |
| Figure-37- : Les différentes corrélations HSQC du composé A2..... | 76 |
| Figure-38- : Spectre HSQC la partie osidique du composé A2..... | 67 |

| | |
|--|-----------|
| Figure-39- : Spectre HMBC du composé A2..... | 68 |
| Figure-40- : les différentes corrélations HMBC du composé A2..... | 79 |
| Figure-41- : la structure de la rutine..... | 69 |
| Figure-42- : La structure de composé A3..... | 70 |
| Figure-43- : Spectre NMR ¹ H (600 MHz, MeOD) du composé A3..... | 71 |
| Figure-44- : Spectre HSQC (600 MHz, 150 MHz, MeOD) du composé A3..... | 72 |
| Figure-45- : Les différentes corrélations HSQC du composé A3..... | 72 |
| Figure-46- : Spectre HMBC (600 MHz, CD ₃ OD, δ ppm) du composé A3..... | 73 |
| Figure-47- : Les différentes corrélations HMBC du composé A3..... | 73 |
| Figure-48- : La structure de Sinapaldehyd..... | 74 |
| Figure-49- : La structure de composé A4..... | 74 |
| Figure-50- : Spectre NMR ¹ H (600 MHz, MeOD) du composé A4..... | 75 |
| Figure-51- : Structure d'un cinnamyle alcool..... | 76 |
| Figure-52- : Spectre RMN ¹³ C (150 MHz, MeOD) du composé A4..... | 76 |
| Figure-53- : Spectre HSQC (600 MHz, 150 MHz MeOD) du composé A4..... | 77 |
| Figure-54- : les différentes corrélations HSQC du composé A4..... | 77 |
| Figure-55- : Spectre HMBC (600 MHz, 150 MHz MeOD) du composé A4..... | 78 |
| Figure-56- : les différentes corrélations HMBC du composé A4..... | 79 |
| Figure-57- : la structure de la syringine..... | 79 |

Liste des tableaux

| | |
|---|-----------|
| Tableau-1- : Les différentes classes des composés phénoliques..... | 05 |
| Tableau-2- : Sources alimentaires des flavonoïdes..... | 13 |
| Tableau-3- : La relation structure-fluorescence (sous la lumière de Wood)..... | 24 |
| Tableau-4- : La relation structure-fluorescence (sous la lumière U.V)..... | 25 |
| Tableau-5- : Relation entre le maximum d'absorption en U.V et le type de flavonoïde..... | 27 |
| Tableau-6- : Les déplacements après addition des réactifs..... | 30 |
| Tableau-6- : Les déplacements après addition des réactifs | 31 |
| Tableau-7- : Déplacements chimiques des protons du cycle (A)..... | 32 |
| Tableau-8- : Déplacements chimiques des protons du cycle (B)..... | 32 |
| Tableau-8- : Déplacements chimiques des protons du cycle (B)..... | 33 |
| Tableau-9- : Les valeurs du déplacement chimique de quelques sucres dans le DMSO : anomérique..... | 33 |
| Tableau-10- : Déplacement chimique e quelques carbones..... | 34 |
| Tableau-11- : Les différentes parties florales d'une Asteraceae..... | 42 |
| Tableau-12. Taxonomie de Galactites élégant..... | 44 |
| Tableau-13- : Quelques composés isolés de Galactites elegans..... | 45 |
| Tableau-13- : Quelques composés isolés de Galactites elegans..... | 46 |
| Tableau-13- : Quelques composés isolés de Galactites elegans..... | 47 |
| Tableau-13- : Quelques composés isolés de Galactites elegans..... | 48 |
| Tableau-13- : Quelques composés isolés de Galactites elegans..... | 49 |
| Tableau-13- : Quelques composés isolés de Galactites elegans..... | 50 |
| Tableau-14- : Résultat de séparation de la fraction 8..... | 53 |
| Tableau-15- : Résultat de séparation de la fraction 12..... | 54 |
| Tableau-16- : Résultat de séparation de la fraction 14..... | 54 |

| | |
|--|-----------|
| Tableau-17- : Données de la spectrométrie RMN ^1H (DMSO) ; 600 MHz RMN ^{13}C (MeOD ; 150 MHz) de A1 | 62 |
| Tableau-18- : Déplacements chimiques RMN ^1H (500 MHz) et ^{13}C (125 MHz) du composé A2 dans MeOD..... | 69 |
| Tableau-18- : suite..... | 70 |
| Tableau-19- : Données de la spectrométrie RMN ^1H (DMSO) ; 600 MHz RMN ^{13}C (MeOD ; 150 MHz) de A3 | 74 |
| Tableau-20- : Données de la spectrométrie RMN ^1H (DMSO ; 600 MHz) RMN ^{13}C (MeOD ; 150 MHz) de A4 | 79 |
| Tableau-20- : suite | 80 |

SOMMAIRE

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale 01

Partie I : Etude bibliographique

Chapitre I : Les composés phénoliques

I. Les composés phénoliques 03

I.1. Généralités 03

I.2. Définition 03

I.3. Biosynthèse des composés phénoliques 04

I.4. Classification 04

I.4.1. Les phénols simples 07

I.4.2. Les acides phénoliques 07

a. Les dérivés des acides hydroxybenzoïques (C6-C1) 07

b. Les dérivés des acides hydroxycinnamiques (C6-C3) 08

I.4.3. Les tanins 08

I.4.4. Les flavonoïdes 09

I.5. Extraction, caractérisations et dosages des composés phénoliques 09

I.5.1 Extraction 09

I.5.2. Dosage des polyphénols totaux 10

I.5.3. Caractérisations des polyphénols 10

I.7. Propriétés biologiques des composés phénoliques 10

II. Les flavonoïdes 11

II.1 Généralité 11

| | |
|--|----|
| II.2 Définition..... | 12 |
| II.3. Distribution des flavonoïdes..... | 12 |
| II.4. Biosynthèse..... | 13 |
| II.5. Structure chimique et classification..... | 16 |
| II.5.1. Flavone et flavonol..... | 16 |
| II.5.2 Flavanones et dihydroflavanols..... | 17 |
| II.5.3. flavan-3-ols, flavan-3,4-diols et anthocyanidols..... | 17 |
| II.5.4. Chalcones et Aurones..... | 17 |
| II.5.5. Isoflavones et neoflavones..... | 18 |
| II.6. Les substitutions des flavonoïdes..... | 19 |
| II.6.1. La O- substitution..... | 19 |
| II.6.1.1. L'hydroxylation..... | 19 |
| II.6.1.2. La methoxylation..... | 20 |
| II.6.1.3. La O-glycosylation..... | 20 |
| II.6.2. La C-Substitution..... | 21 |
| II.6.2.1. La C-méthylation..... | 21 |
| II.6.2.2. La C-glycosylation..... | 21 |
| II.7. Extraction et dosages des flavonoïdes..... | 22 |
| a) Principe..... | 22 |
| b) Matériels et méthodologie..... | 22 |
| c) Résultats..... | 23 |
| II.8. L'étude chimique des flavonoïdes..... | 23 |
| II.8.1. Séparation et purification..... | 23 |
| II.9. L'étude structurale des composés flavoniques..... | 24 |
| II.9.1. Propriétés chromatographiques..... | 24 |
| a) Fluorescence sous lumière de Wood..... | 24 |
| b) Fluorescence sous la lumière UV..... | 24 |
| c) Spectrométrie de masse..... | 25 |
| II.9.2. Spectroscopie UV-Visible..... | 25 |
| II.9.2.1. Spectre d'absorption en présence de Méthanol..... | 26 |
| II.9.2.2. Spectre d'absorption en présence de NaOH ou NaOMe..... | 28 |
| II.9.2.3. Spectre d'absorption en présence de NaOAc..... | 28 |
| II.9.2.4. Spectre d'absorption en présence de H3BO3 + NaOAc..... | 28 |

| | |
|--|----|
| II.9.2.5. Spectre d'absorption en présence d'AlCl ₃ ; AlCl ₃ +HCl..... | 28 |
| II.9.3. La spectroscopie de la résonance magnétique nucléaire (RMN)..... | 31 |
| II.9.3.1. La résonance magnétique nucléaire du proton (RMN ¹ H)..... | 31 |
| a. Les protons du cycle (C)..... | 33 |
| b. Les protons des substituant méthoxyles..... | 33 |
| c. Les protons des sucres..... | 33 |
| II.9.3.2. La résonance magnétique nucléaire du carbone RMN ¹³ C..... | 34 |
| II.10. Les spectres d'RMN monodimensionnels..... | 35 |
| II.11. Les spectres bidimensionnels..... | 35 |
| II.11.1. Heteronuclear Single Quantum Correlation (HSQC)..... | 35 |
| II.11.2. Heteronuclear Multiple-Bound Correlation (HMBC)..... | 35 |
| II.11.3. Correlated Spectroscopy (COSY)..... | 35 |
| II.11.4. Total Correlation Spectroscopy (TOCSY)..... | 36 |
| II.11.5. Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy (NOESY)..... | 36 |
| II.12. Intérêt biologique des flavonoïdes..... | 36 |
| II.12.1. Le rôle biologique et physiologique..... | 37 |
| II.12.2. Le rôle thérapeutique..... | 37 |
| a) Effets antiallergiques..... | 37 |
| b) Effets anticancéreux..... | 38 |
| c) Effets anti-inflammatoires..... | 38 |
| d) Effets antiulcéreux..... | 38 |
| e) D'autres effets biologiques..... | 38 |

Chapitre 2 : Galactites elegans

| | |
|---|----|
| I. famille des Asteraceae..... | 40 |
| I.1. Généralité..... | 40 |
| I.2. Distribution..... | 40 |
| I.3. Caractère botanique de la famille..... | 41 |
| I.3.1. Appareil végétatif..... | 41 |
| a. Les racines et les tiges..... | 41 |
| b. Les feuilles..... | 41 |
| I.3.2.Appareil producte..... | 41 |

| | |
|--|----|
| a. Les fleurs..... | 41 |
| b. Les fruits..... | 41 |
| c. Les graines..... | 41 |
| d. L'inflorescence..... | 41 |
| I.4. Classification des Asteraceae..... | 42 |
| II. Galactites élégant..... | 43 |
| II.1. Genre Galactites..... | 43 |
| II.2. Description botanique..... | 43 |
| II.3. Nomenclature et Classification..... | 44 |
| II.4. Ecologie et habitat..... | 44 |
| II.5. Travaux antérieurs et principaux métabolites secondaires isolés du genre Galactites..... | 45 |

Partie II : Etude expérimentale

Chapitre 3 : Analyse structurale des composés isolés

Partie1

| | |
|--|----|
| I. L'analyse structurale des composés phénoliques des parties aériennes de la plante Galactites elegans..... | 51 |
| I.1. Extraction et isolement..... | 52 |
| I.2. Séparation et purification..... | 53 |
| I.2.1. séparation par CLHP..... | 53 |
| I.2.2. Traitement de l'extrait butanolique..... | 53 |
| I.2.2.1. Etude de la fraction F8..... | 53 |
| I.2.2.2. Etude de la fraction F12..... | 54 |
| I.2.2.3. Etude la fraction F14..... | 54 |

Partie2

| | |
|--|----|
| I. Détermination structural des composés isolés de Galactites elegans..... | 55 |
|--|----|

| | |
|-------------------------|----|
| I.1.Le composé A1..... | 55 |
| I.2. Le composé A2..... | 62 |
| I.3. Le composé A3..... | 70 |
| I.4. Le composé A4..... | 74 |

Conclusion générale

Références bibliographiques

Introduction Générale

Introduction générale

Personne n'ignore aujourd'hui la richesse et la diversité des plantes médicinales utilisées par 80 % des habitants de notre planète qui ne se soignent que par les médecines traditionnelles de leur pays, car ils n'ont pas accès à la médecine moderne [1].

Pour se soigner, l'homme a longtemps eu recours à des remèdes traditionnels à base de plantes (tisanes, poudres, décoctions), administrés par frictions, inhalations, cataplasmes, massages ou encore par voie orale. L'industrie pharmaceutique moderne elle-même s'appuie encore largement sur la diversité des métabolites secondaires végétaux pour trouver de nouvelles molécules aux propriétés biologiques inédites. Le nombre d'espèces de plantes à fleurs connues est évalué à plus de 400 000 ont été étudiées sur les plans phytochimiques et pharmacologique [2].

En Algérie, pays avec plus de 3000 espèces dont 15% endémiques [3], auxquelles la population a recours à la médecine traditionnelle, on commence à entreprendre des systématiques portant sur des plantes médicinales issues de sa flore.

Parmi les milliers de plantes médicinales recensées à ce jour, ceux de la famille des astéracées (composées) l'une des plus grandes familles des angiospermes, avec environ 1100 genres et 25000 espèces sont présentes dans pratiquement toutes les régions du globe [1].

Notre travail sera divisé en quatre chapitres :

- Dans Le premier chapitre , nous présenterons une étude bibliographique impliquant la définition des composés phénoliques , leur biosynthèse et classification, Extraction, caractérisations et dosages des composés phénoliques, propriété biologique , flavonoïdes , définition, distribution, leur biosynthèse , structure chimique et classification, extraction et dosages des flavonoïdes, et l'étude chimique et structural des composés flavoniques, RMN 1D et 2D, Intérêt biologique des flavonoïdes.
- Le second chapitre de ce travail renferme une étude bibliographique des connaissances botaniques et phytochimiques de la famille Asteraceae et le genre étudié *Galactites elegans*.
- Le Troisième chapitre contient le travail expérimentale réalisé Par notre encadreur Tebboub Omar et les autres chercheurs.

Introduction Générale

- L'élucidation structurale des quelque composés isolés détaillés dans cette chapitre.
- A la fin, une conclusion générale.

Partie I :

Synthèse

bibliographique

Chapitre I :

Les composés phénoliques

I. Les composés phénoliques

I.1. Généralités

D'après les recherches scientifiques, il existe dans le monde végétal plusieurs milliers de molécules présentant une structure polyphénolique et plusieurs centaines sont plantes comestibles. Les polyphénols sont le résultat du métabolisme secondaire des plantes à travers deux voies métaboliques fondamentales.

- la voie du shikimate
- la voie de l'acétate

Ces métabolites secondaires des plantes sont principalement impliqués dans la défense des plantes contre le rayonnement ultraviolet et contre les agressions par des agents pathogènes [4].

Les polyphénols prennent une importance croissante, notamment grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé [5]. En effet, leur rôle d'antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer [6], des maladies inflammatoires [7], cardiovasculaires [8] et neurodégénératives [9]. Ils sont également utilisés comme additifs pour les industries agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique [10].

I.2. Définition

Le terme « polyphénol » a été introduit en 1980 [11], en remplacement de l'ancien terme de « tanin végétal ». L'expression « composés phénoliques » est aussi employée avec la même valeur.

Ils ont tous en commun la présence d'un ou plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles [12]. La désignation « polyphénols » est consacrée par l'usage et, alors qu'elle ne devrait concerner que les molécules portant plusieurs fonctions hydroxyle phénolique, elle est habituellement utilisée pour l'ensemble de ces composés.

Le terme « biophénol » fut inventé par Romeo et Uccello en 1996 [13] pour désigner les phénols bioactifs dans les olives en remplacement du terme « polyphénol » plus commun mais plus vague d'un point de vue chimique. Utilisé au départ uniquement dans la chimie des olives, le terme a gagné en popularité et est actuellement utilisé par les chercheurs faisant référence aux phénols végétaux en général. Il s'ajoute à cette définition le fait qu'ils possèdent un pouvoir antioxydant élevé.

I.3. Biosynthèse des composés phénoliques

Les polyphénols sont synthétisés par de deux voies biosynthétiques :

- Celle de l'acide shikimique, qui conduit après transamination et désamination, aux acides cinnamiques et à leurs nombreux dérivés tels que les acides benzoïques ou les phénols simples [14].
- Celle issue de l'acétate, qui conduit à des poly β -coesters (polyacétates) de longueur variable menant par cyclisation à des composés polycycliques tels que les dihydroxy-1,8 anthraquinones ou les naphtoquinones [15-16]. De plus la diversité structurale des composés polyphénoliques due à cette double origine biosynthétique, est encore accrue par la possibilité d'une participation simultanée des deux voies dans l'élaboration de composés d'origine mixte, les flavonoïdes [17].

I.4. Classification

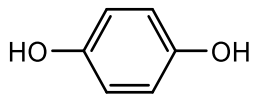
Les polyphénols naturels regroupent donc un vaste ensemble de substances chimiques comprenant au moins un noyau aromatique, portant un ou plusieurs groupes hydroxyle, en plus d'autres constituants [18]. Il y a quatre principales familles de composés phénoliques : les acides phénoliques (catéchol, acide gallique, acide protochatéchine), les flavones, l'acide chlorogénique et les quinones [19]. Ils peuvent aller de molécules simples, comme les acides phénoliques, à des composés hautement polymérisés, de plus de trente mille daltons, comme les tanins (acide tannique).

Les polyphénols sont communément subdivisés en phénols simples, acides phénoliques et coumarines, en naphtoquinones, en Stilbénoides (deux cycles en C_6 liés par deux atomes de carbone), en flavonoïdes, isoflavonoïdes et anthocyanes, et en formes polymérisées : Lignanes, lignines, tanins condensés. Ces squelettes carbonés de base sont issus du métabolisme secondaire des plantes, élaborés par la voie du shikimate [20].

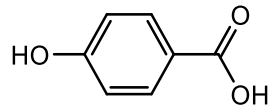
En se basant sur la structure carbonée de base, on peut dégager les principales classes de composés phénoliques dans le **Tableau -1-** suivantes :

Tableau -1- : Les différentes classes des composés phénoliques

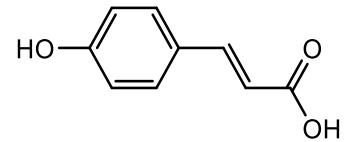
| Squelette carboné | Classe | Exemple |
|-------------------|---------------------------|----------------------------|
| C_6 | Phénols simples | hydroquinone |
| C_6-C_1 | Acides hydroxybenzoïques | acide parahydroxybenzoïque |
| C_6-C_3 | Acides hydroxycinnamiques | acide paracoumarique |
| | Coumarines | ombelliférone |
| C_6-C_4 | Naphtoquinones | juglon |
| $C_6-C_2-C_6$ | Stilbénoides | trans-resvératrol |
| $C_6-C_3-C_6$ | Flavonoïdes | kaempférol |
| | Isoflavonoïdes | daidzéine |
| | Anthocyanes | Dalphinol |
| $(C_6-C_3)_2$ | Lignanes | Northrachelogenin |
| $(C_6-C_3)_n$ | Lignines | |
| $(C_6-C_3-C_6)_n$ | Tanins condensés | procyanidine |



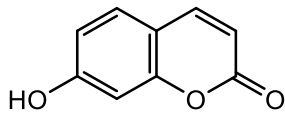
Hydroquinone



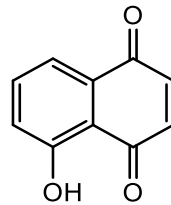
Acide parahydroxybenzoïque



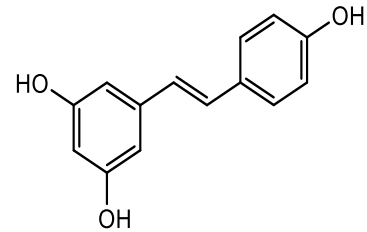
Acide paracoumarique



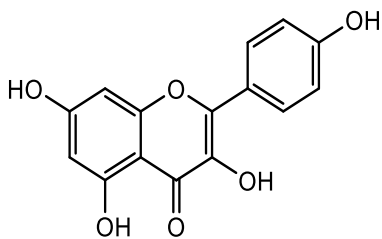
Umbelliférone



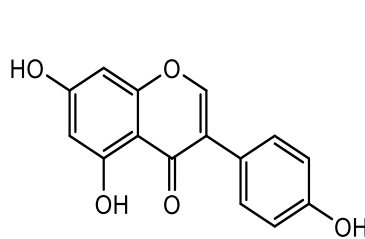
Juglon



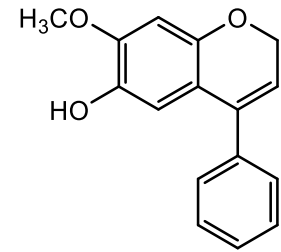
Trans-resvératrol



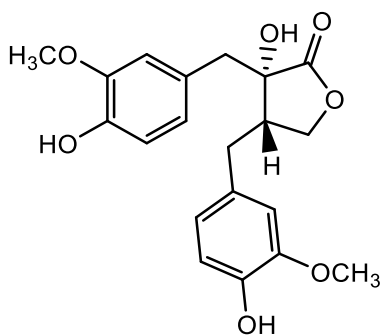
Kaempférol



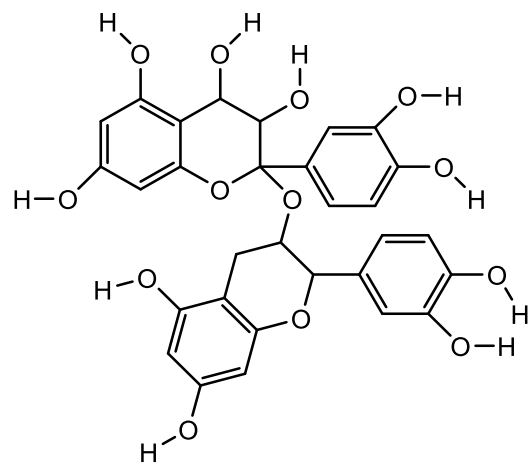
Daidzéine



Dalphinol



Northrachelogenin



Procyanidine

I.4.1. Les phénols simples

Les composés phénoliques simples comprennent un noyau aromatique avec un ou plusieurs substituants hydroxylés (**fig1**).

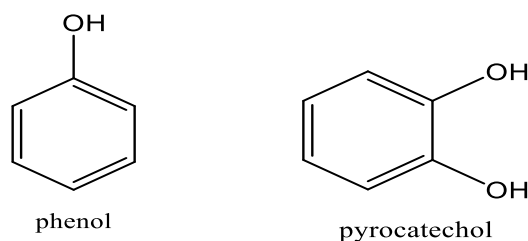


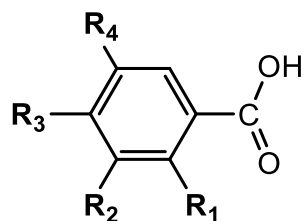
Figure -1- : Structures des composés phénoliques simples

I.4.2. Les acides phénoliques

Ces acides sont contenus dans un certain nombre de plantes agricoles et médicinales [21]. Comme exemple d'acide phénolique, on cite : l'acide chlorogénique, l'acide caféique, l'acide protochatélique, l'acide vanillique, l'acide férulique, l'acide sinapique et l'acide gallique. Ils sont considérés comme substances phytochimiques avec des effets prebiotique, antioxydant, de chélation et anti-inflammatoire. Leur toxicité est faible et considéré non toxique. Pharmacologiquement, le mieux caractérisé est l'acide caféique [21]. Cet acide ainsi que l'acide férulique empêchent la formation du cancer des poumons chez les souris alors que l'acide gallique inhibe la formation du cancer œsophagien chez les rats [22]. On distingue deux sous classes des acides phénoliques :

a. Les dérivés des acides hydroxybenzoïques (C6-C1)

La concentration de l'acide hydroxy benzoïque est généralement très faible chez les végétaux comestibles. Ces dérivés sont assez rares dans l'alimentation humaine par contre ceux d'acides hydroxycinnamiques tels que les acides p-coumarique, férulique et sinnapique sont très présents [23].

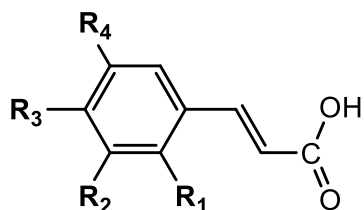


| Acide benzoïque | R1 | R2 | R3 | R4 |
|-------------------------|----|------------------|----|------------------|
| Acide salicylique | OH | H | H | H |
| Acide gallique | OH | OH | H | H |
| Acide protochatéchtique | H | OH | OH | H |
| Acide séringique | H | OCH ₃ | OH | OCH ₃ |

Figure -2- : Exemple de quelques acides phénoliques en C6-C1

b. les dérivés des acides hydroxycinnamiques (C6-C3)

Les acides hydroxycinnamiques représentent une classe très importante dont la structure de base (C6-C3) dérive de celle de l'acide cinnamique (**fig.3**). Le degré d'hydroxylation du cycle benzénique et son éventuelle modification par des réactions secondaires (par méthylation chez les acides férulique ou sinapiques) sont un des éléments importants de la réactivité chimique de ces molécules [22].



| Acide cinnamique | R1 | R2 | R3 | R4 |
|--------------------|----|----|----|----|
| Acide p-coumarique | H | H | OH | H |
| Acide o-coumarique | OH | H | H | H |
| Acide m-coumarique | H | OH | H | H |
| Acide caféique | H | OH | OH | H |

Figure -3- : Exemple de quelques acides phénoliques en C6-C3

I.4.2. Les tanins

Les tanins sont des polyphénols polaires d'origines végétales, existent dans presque chaque partie de la plante : écorce, bois, feuilles, fruits et racines, leurs poids moléculaires s'étendent de 500 à 3000 [24]. Il est difficile de les séparer dans un extrait végétal, parce que de nombreux isomères avec une base moléculaire très semblable coexistent [25]. En plus, des propriétés classiques des phénols, les tanins précipitent les alcaloïdes, la gélatine et les protéines. Ils existent deux classes de tanins [26] :

- Les tanins condensés formés de polymères flavoniques.
- Les tanins hydrolysables se sont des polyesters des acides phénoliques et de glucides.

I.4.3. Les flavonoïdes

Les squelettes des flavonoïdes sont composés de deux cycles phényles (A et B) et d'un hétérocyclique oxygéné (C), qui donne une structure générale avec un squelette à 15 carbones (squelette C6-C3-C6) [4]. Le squelette flavonoïde de base est composé de divers substituants qui peuvent présenter au moins trois groupes hydroxyles phénoliques (OH), qui sont généralement combinés avec des sucres pour former des glycosides, avec du glucose comme sucre prédominant, ou d'autres sucres tels que galactose, Rhamnose et xylose. Ils sont divisés et classés en fonction du degré d'oxydation de l'anneau C, dont les sous-classes principales sont les flavonols, les flavones, les Isoflavones, les flavan-3-ols, les Flavanones et les anthocyanidines [4-27]

I.5. Extraction, caractérisations et dosages des composés phénoliques

Les méthodes de séparation, de dosage, et d'identification des composés phénoliques ont fait des progrès spectaculaires au cours des trente dernières années, grâce en particulier à l'utilisation quasi systématique de la chromatographie liquide à haute performance (CLHP) et des détecteurs à barrette de diode permettent l'analyse des spectres d'absorption en ultraviolet et le couplage de la CLHP avec les techniques physico chimiques modernes (spectrométrie de masse, résonance magnétique nucléaire...) [28].

I.5.1 Extraction

La présence d'un ou plusieurs cycles benzéniques hydroxylés chez tous les composés phénoliques et responsables de certaines propriétés communes utilisées pour extraire à partir de matériel végétale. Les caractérisés et les doser, la plupart des phénols simples présent dans la vacuole peuvent aisément être extraits avec des mélanges Méthanol/Eau (80/20 .V/V) Il est recommandé de travailler à une température ambiante. Après élimination de l'alcool par évaporation sous vide, il est ensuite nécessaire d'éliminer les pigments chlorophylliens et caroténoïdes (extraction à l'éther de pétrole). Puis en extrayant les composés phénoliques avec un solvant de polarité intermédiaire comme l'acétate d'éthyle. La plupart des phénols se retrouvent dans ce solvant, qu'il est éliminé sous vide à fin de transférer finalement dans le méthanol la fraction phénolique correctement purifiée, qui sera ensuite utilisée pour les analyses qualitatives et quantitatives [28].

I.5.2. Dosage des polyphénols totaux

L'estimation de la teneur en phénols totaux peut être obtenue par différentes méthodes. En particulier par l'utilisation d'un mélange de phosphomolybdate et de phosphotungstate commercialisée sous la dénomination de réactif de Folin-Ciocalteu [29]. Le caractère réducteur des composés phénoliques et leur complexation possible avec les métaux lourds conduisent à la formation de complexes colorés bleus que l'on peut doser par colorimétrie vers 720 nm. Cette méthode est très sensible mais peu spécifique car beaucoup d'autres composés réducteurs peuvent interférer, comme l'acide ascorbique. Il est donc recommandé de ne l'utiliser, que sur des extraits purifiés et de réaliser des témoins négatifs. On peut avoir alors une bonne approximation de la teneur de l'extrait en phénols que l'on exprime par rapport à un composé de référence (par exemple en équivalents d'acide gallique ou d'acide chlorogénique). La valeur obtenue n'est pas très satisfaisante car elle est très globale et ne donne aucune indication sur les différents composés présents dans l'échantillon, car chacun d'entre eux peut réagir de manière différente dans la réaction colorée [28].

I.5.3. Caractérisations des polyphénols

La caractérisation des composés phénoliques se fait par les réactifs généraux des phénols (FeCl_3 , vanilline sulfurique...) Par l'utilisation des techniques chromatographique suivant (CCM- CPG-CLHP).

I.6. Propriétés biologiques des composés phénoliques

Les recherches récentes sur les composés phénoliques sont très poussées en raison de leurs divers propriétés physiologiques comme les activités antiallergique, antiarthérogénique, anti-inflammatoire, hépatoprotective, antimicrobienne, antivirale, antibactérienne, anticarcinogénique, anti-thrombotique, cardioprotective et vasodilatatoire [30, 31]. Ces actions sont attribuées à leur effet antioxydant qui est due à leurs propriétés redox en jouant un rôle important dans la destruction oxydative par la neutralisation des radicaux libres, piégeage de l'oxygène, ou décomposition des peroxydes [32]. Les effets bénéfiques des polyphénols intéressent particulièrement deux domaines : la phytothérapie et l'hygiène alimentaire [33]. D'après les études multiples attestant de l'impact positif de la consommation de polyphénols sur la santé et la prévention des maladies, les industriels commercialisent maintenant des aliments enrichis en polyphénols ou des suppléments alimentaires. De plus, leur activité antioxydant assure une meilleure conservation des denrées alimentaires en empêchant la

peroxydation lipidique. Dans l'industrie cosmétique, les composés phénoliques trouvent leur application pratique en luttant contre la production des radicaux libres néfastes dans la santé et la beauté de la peau. En phytothérapie, même si certaines indications sont communes à plusieurs classes (les propriétés vasculoprotectrices, sont par exemple aussi bien attribuées aux flavonoïdes qu'aux anthocyanes, tanins et autres coumarines), chaque classe chimique semble être utilisée pour des bénéfices spécifiques [34].

II. Les flavonoïdes

II.1 Généralité

Les flavonoïdes constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels qui sont quasiment universels chez les plantes vasculaires [35]. Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux [36]. Les flavonoïdes sont rencontrés en phytothérapie dans les fruits et les légumes. Des boissons telles que le vin rouge, le thé, le café et la bière en contiennent également des quantités importantes (**fig.4**).

Les flavonoïdes sont retrouvés également dans plusieurs plantes médicinales. Des remèdes à base de plantes renfermant des flavonoïdes ont été (et sont) utilisés en médecine traditionnelle de par le monde [37]. Les travaux relatifs aux flavonoïdes se sont multipliés depuis la découverte du « French paradox », correspondant à un bas taux de mortalité cardiovasculaire observé chez des populations méditerranéennes associant une consommation de vin rouge à une prise importante de graisses saturées [38].

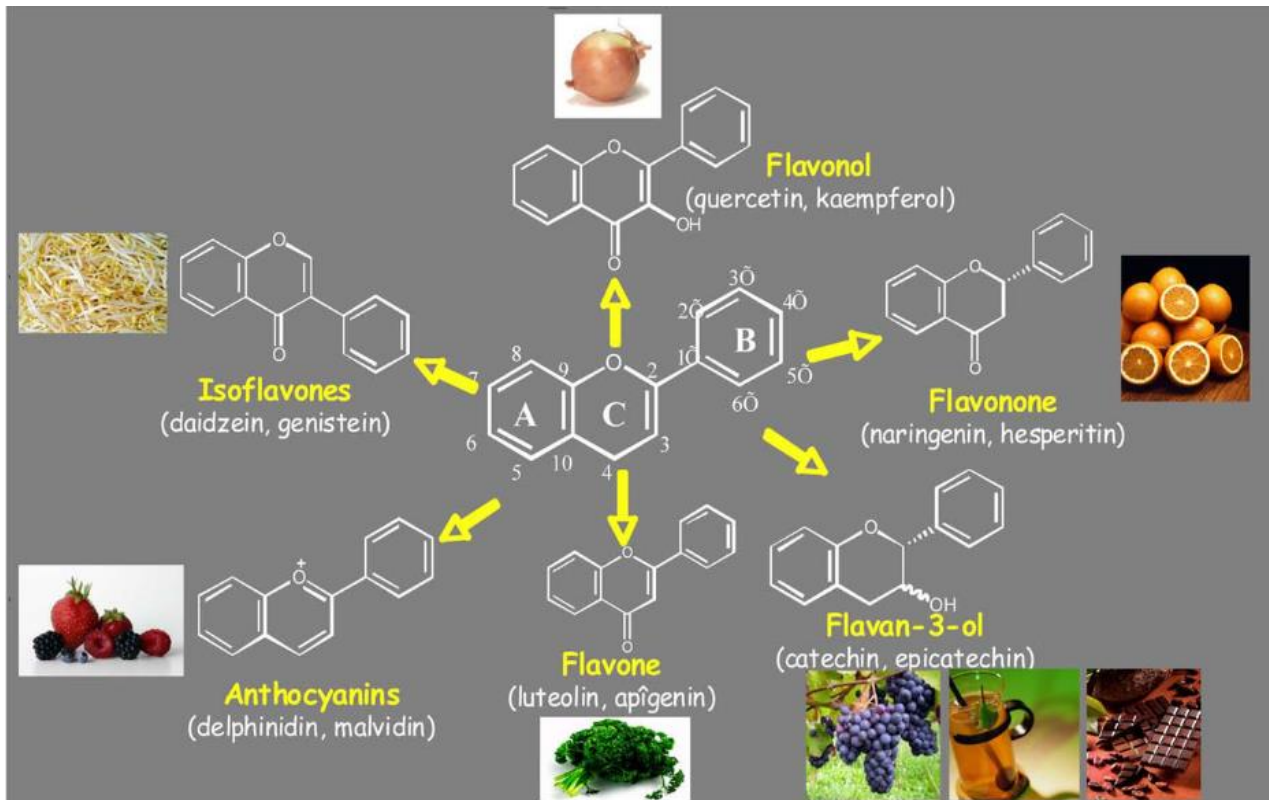


Figure-4- : Structure des flavonoïdes (aglycones) et position des principaux substituants

II.2 Définition

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires des plantes partageant tous une même structure de base formée par deux cycles aromatiques reliés par trois carbones : C6-C3-C6, chaîne souvent fermée en un hétérocycle oxygéné hexa- ou pentagonal (**fig.5**). Les flavonoïdes sont responsables de la couleur variée des fleurs et des fruits et représentent une source importante d'antioxydants dans notre alimentation. Les structures suivantes peuvent être considérées comme structures de base des flavonoïdes [16].

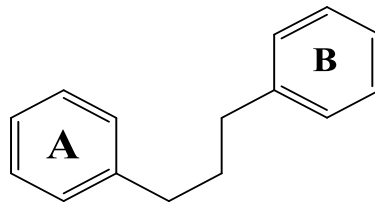


Figure-5- : Squelette de base des flavonoïdes.

II.3. Distribution des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racines, tiges, feuilles, fruits, graines, bois et pollens [39]. Ils peuvent aussi être rencontrés dans certains boissons et chez certains fourrages (ex : trèfle) [40].

Certaines classes de flavonoïdes sont présentes exclusivement chez certains végétaux, on trouvera par exemple, les Flavanones dans les agrumes, les Isoflavones dans le soja, les anthocyanes et les flavonols ont une large distribution dans les fruits et les légumes tandis que les Chalcones se retrouvent plus fréquemment dans les pétales des fleurs, sont considérés comme des pigments naturels au même titre que les chlorophylles et les caroténoïdes [41].

On trouve aussi la Chrysin et la quercétine dans les propolis ; sécrétion des bourgeons de nombreux arbres (le bouleau, le sapin, le saule...) récoltés par les abeilles, ces insectes les fabriquent en modifiant la propolis par leurs enzymes salivaires. Les abeilles mettent en œuvre les propriétés antifongiques et antibactériennes des polyphénols pour aseptiser leurs ruches [41]. Le **Tableau-2-** regroupe la distribution nutritionnelle de certains flavonoïdes.

Tableau-2- : Sources alimentaires des flavonoïdes

| Type de flavonoïde | Exemples | Aliments |
|-----------------------|-------------------|---|
| Flavanones | Naringénine | fruits du genre citrus |
| Flavones | Chrysin | peau des fruits |
| | Apigénine | persil, thym, romarin, céleri |
| | Lutéoline | persil, céleri |
| Flavonols | Kaempférol | radis, brocoli, thé noir |
| | Quercétine | oignon, pomme, olive, vin rouge, tomate |
| | Myricétine | canneberge, vin rouge |
| Flavan-3-ols | Epicatechine | thé vert, thé noir |
| | Catéchine | thé vert, thé noir |
| | Epigallocatechine | vin rouge |
| Anthocyanidols | Cyanidol | cassis, myrtilles |
| | Malvidol | raisins, fraises, cassis |
| | Apigénidol | framboises, fraises |

II.4. Biosynthèse

La biosynthèse (**fig.6**) se fait à partir d'un précurseur commun, la 4,2',4',6' – tétrahydroxychalcone. Cette Chalcone de couleur jaune est métabolisée sous l'action d'enzyme, la chalcone isomérase, en Flavanone (1) : naringénine. C'est sur cette dernière qu'agit ensuite la flavone synthase ou la (2S)-flavanone-3- hydroxylase pour donner la formation de la flavone (2) : apigénine ou le dihydroflavonol (3) : (2R, 3R)-dihydrokaempférol, respectivement. Les

deux enzymes fonctionnent différemment, la première introduit la double liaison entre les carbones C-2 et C-3, tandis que la deuxième catalyse l'hydroxylation du carbone C-3. Le dihydroflavonol, en présence de la flavonol synthase ou la dihydroflavonol-4-réductase, se métabolise en flavonol (4) : kaempférol ou en flavan-3,4-diol (5) : leucoanthocyanidol, respectivement. Ce dernier semble être le précurseur des flavan-3-ols (6) et anthocyanidols (7) (Figure 2). Cependant, les étapes ultimes de leur formation ne sont pas encore élucidées. Le pélargonidol (7), sous l'action de la 3-O-glycosyltransférase, se transforme en anthocyanoside (8) : pélargonidol-3-glucoside (**fig.6**). Les composés de chaque sous-classe se distinguent par le nombre, la position et la nature des substituants (groupements hydroxyles, méthoxyles et autres) sur les deux cycles aromatiques A et B et la chaîne en C3 intermédiaire. A l'état naturel, on trouve très souvent les flavonoïdes sous forme de glycosides. Une ou plusieurs de leurs fonctions hydroxyles sont alors glycosylées. La partie du flavonoïde autre que le sucre est appelée aglycone [16].

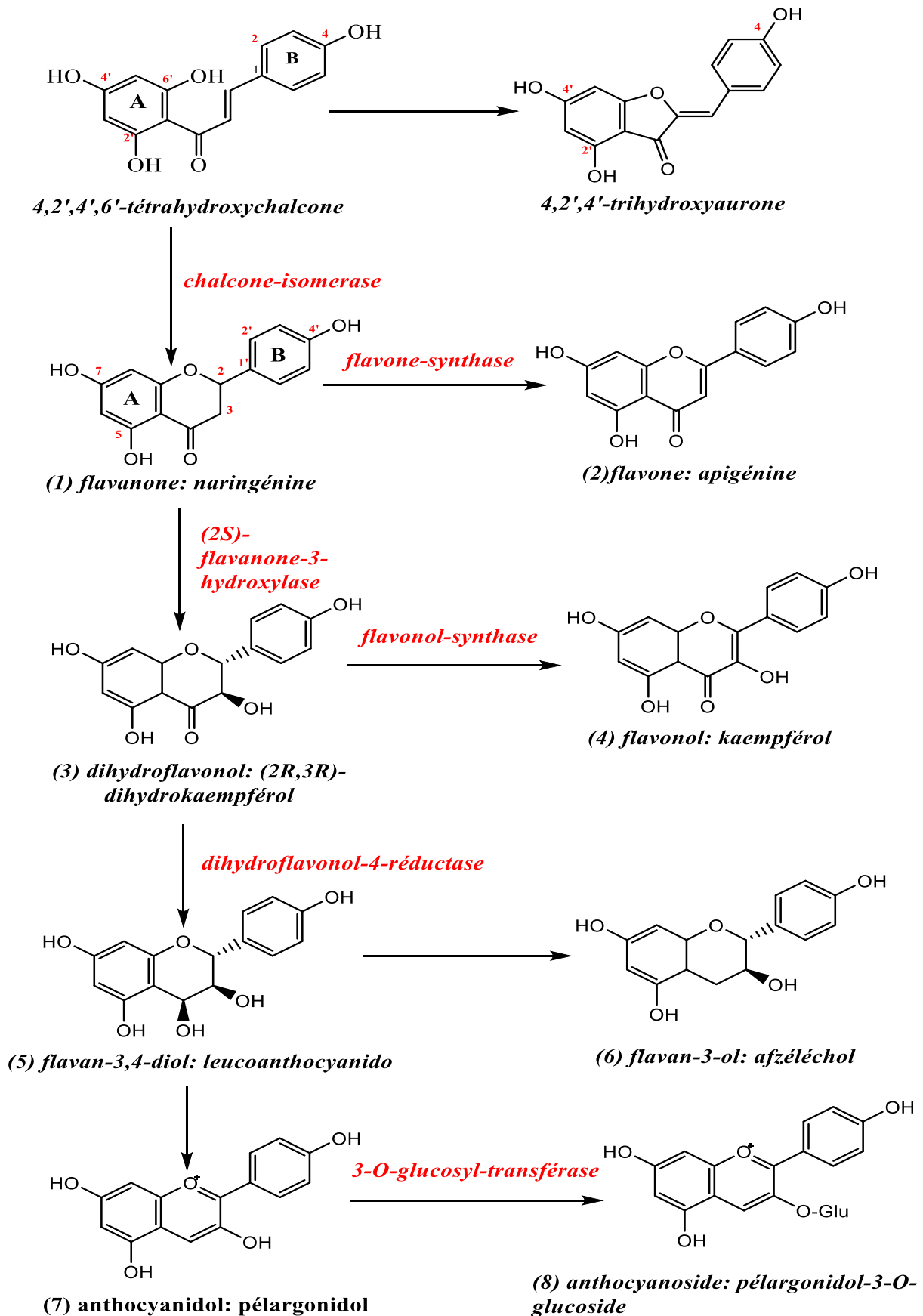


Figure-6- : La biosynthèse des flavonoïdes [16]

II.5. Structure chimique et classification

Tous les flavonoïdes dérivent de l'enchaînement benzo- γ -pyrone et peuvent être classés selon la nature des différents substituants présents sur les cycles de la molécule et du degré de saturation du squelette benzo- γ -pyrone [37].

Les flavonoïdes au sens strict sont des composés dont la substitution par un noyau benzénique se fait en position 2. Les composés présentant une substitution en position 3 sont désignés par le terme iso flavonoïdes [16,35]. Selon la nature de l'hétérocycle (γ -pyrone ou son dihydro-dérivé), on distingue :

II.5.1. Flavone et flavonol

Les flavones et flavonols (quelques exemples se trouvent dans les tableaux ci-dessus) sont les composés flavonoïdiques les plus répandus ; en 2004, on dénombrait plus de 1100 génines de structure connue (530 flavones et 600 flavonols), et environ 1400 hétérosides de flavonols et 700 hétérosides de flavones [42]. Les flavonols diffèrent des flavones par la présence d'un groupement hydroxyle en C3. Chez les flavonols, la position 3 de l'hétérocycle est toujours glycosylées, ainsi que fréquemment la position 7 du cycle A mais jamais la position 5 [23]. La teneur des flavonols est plus élevée dans la peau des fruits puisque la lumière en stimule la biosynthèse.

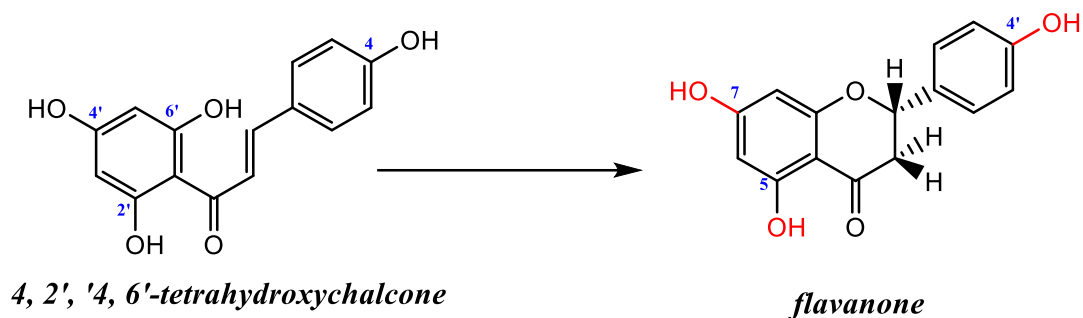


Figure-7- : Squelette de base de Flavanone

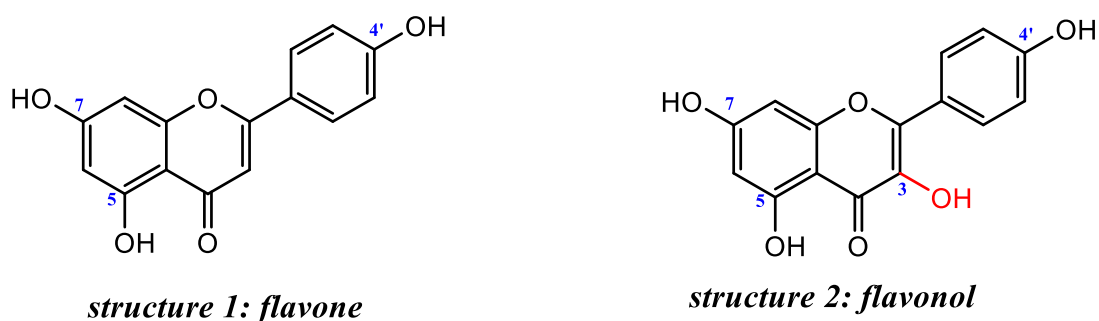


Figure-8- : Squelettes de bases de flavone et flavonol

II.5.2 Flavanones et dihydroflavanols

Les Flavanones et dihydroflavanols sont caractérisés par l'absence de la double liaison entre le C2 et C3. Les dihydroflavanols se différencient des Flavanones par la présence d'un groupement hydroxyle en position 3 [42,43]. Les Flavanones se retrouvent surtout dans les agrumes et les tomates. La menthe constitue également une source abondante [44,45].

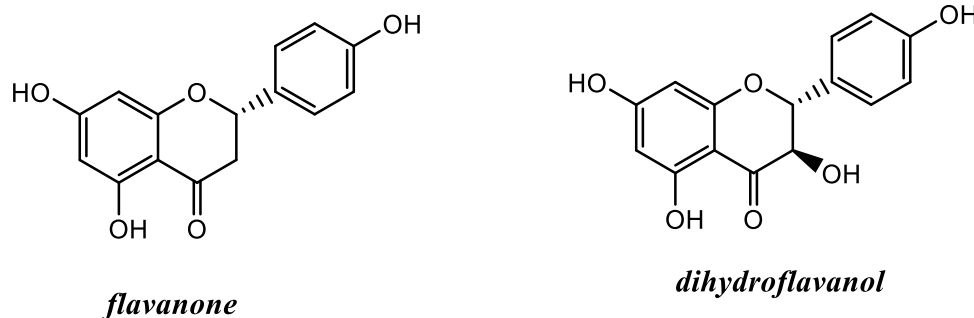


Figure-9- : Squelettes de bases de Flavanone et dihydroflavanol

II.5.3. Flavan-3-ols, flavan-3,4-diols et anthocyanidols

A la différence des flavonoïdes décrits au-dessus, ces trois groupes de molécules sont toujours hydroxylés en position 3 et se caractérisent par l'absence du groupe carbonyle en C-4. Cette position peut être libre (cas des flavan-3-ols et anthocyanidols) ou hydroxylée (cas des flavan-3,4-diols). Les flavan-3-ols et les flavan-3,4-diols sont à l'origine des polymères flavoniques appelés proanthocyanidols ou tanins condensés [46].

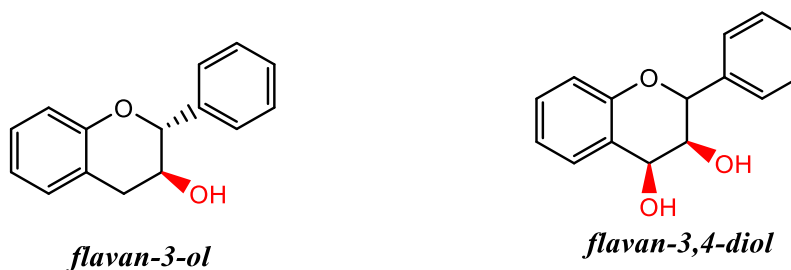


Figure-10- : Squelettes de bases de flavan-3-ol et flavan-3,4-diol

Les anthocyanines sont responsables de différentes couleurs : orange, rouge, bleu et violet dans les plantes. Ils sont le résultat d'addition des sucres et/ou des acides organiques aux anthocyanidines aglycones. Les hydrates de carbone qui sont principalement attachés aux aglycones sont le glucose et le Rhamnose, suivis par le galactose, la xylose et l'arabinose et parfois le gentiobiose, le rutinose et le sofrorose [47,27].

II.5.4. Chalcones et Aurones

Les Chalcones diffèrent des autres types de flavonoïdes par l'ouverture du noyau pyranique central, elles sont constituées par deux unités aromatiques reliées par une chaîne tricarbonée, cétonique, α , β -insaturée. Le noyau B est assez fréquemment non substitué, alors

que les substitutions sur le cycle A sont le plus souvent identiques à celles des autres flavonoïdes [48].

Ce sont des pigments jaunes des fleurs, caractérisés par le fait que par traitement avec un alcali comme des vapeurs d'ammoniaque, la partie jaune des pétales floraux devient rouge ou rouge orangé. Le nombre de ces substances connus est encore limité [46].

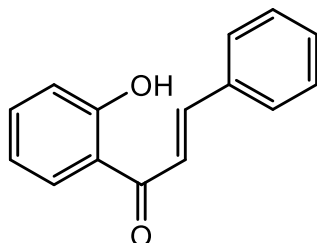


Figure-11- : Squelette de base de Chalcone

Les aurones sont caractérisées par une structure de 2-benzylidène coumaranone [46].

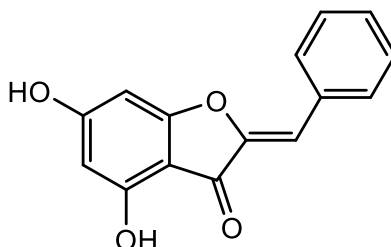


Figure-12- : Squelette de base d'Aurone

Pour ces deux types de molécules, la numérotation des positions est différente des autres flavonoïdes [46].

II.5.5. Isoflavones et neoflavones

Les Isoflavones sont des isomères des flavones. Le noyau benzénique latéral est fixé en position 3 et non pas en position 2. Ces composés se trouvent essentiellement dans les légumineuses [49, 50].

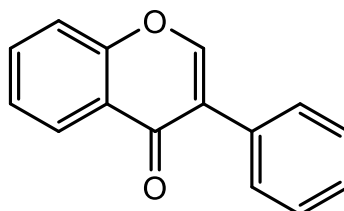
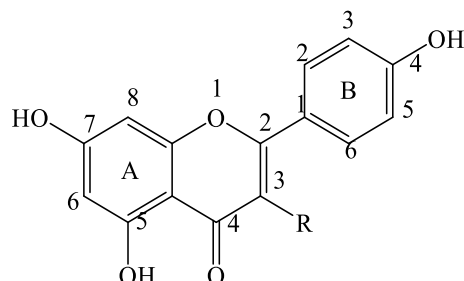


Figure-13- : Squelette de base d'Isoflavone

Les neoflavones sont caractérisées par la substitution entre le groupement carboxyle et le noyau B dans le squelette des flavones [51]. Les neoflavones sont des flavonoïdes rares, cette rareté est due leur faible présence dans la nature contrairement au flavones et flavonols [52].

II.6. Les substitutions des flavonoïdes

Il existe différents processus de substitution du squelette flavonique qui sont à l'origine de l'extraordinaire diversité des structures flavoniques. Le squelette de base de la structure flavonique est le suivant :



R=H Flavone (apigénine)

R=OH Flavonol (kaempférol)

Figure-14- : Le squelette de base de la structure flavonique

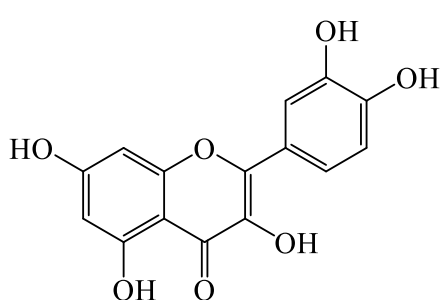
Les composés ci-dessus sont présents dans la majorité des astéracées, notamment l'espèce *Galactites elegans* [53,54].

II.6.1. L'O- substitution

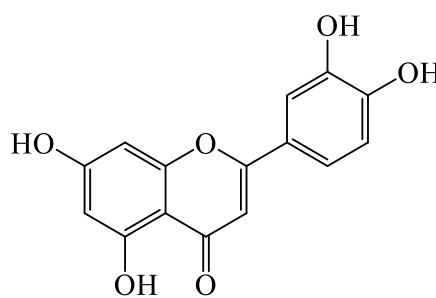
II.6.1.1. L'hydroxylation

Les hydroxyles 5 et 7 viennent s'introduire avant la formation du noyau A. Pour ce fait, ils sont considérés comme des hydroxyles originels. Il est même pour l'hydroxyle en 4' apporté par le précurseur (P- Coumaroyl) du noyau B. Quant aux extra hydroxyles, ils concernent toutes les autres positions d'où 6, 8 sur A et 3', 5' sur B.

Exemple :



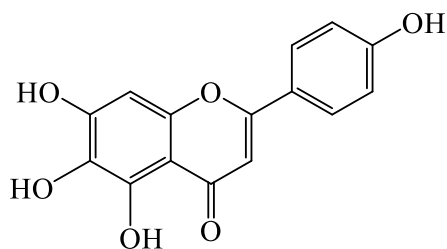
Quercétine



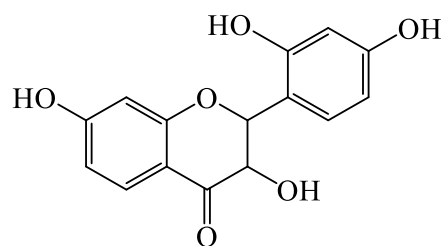
Lutéoline

Ces deux produits ont été rencontrés dans de nombreuses espèces du genre [53-55].

Remarque : exceptionnellement des OH peuvent exister en position 2' pour les Flavonone [54, 56].



Scutellareine
Extraite de *C. Apiin*, *C. Scabiosa*,
C. Deperssa.

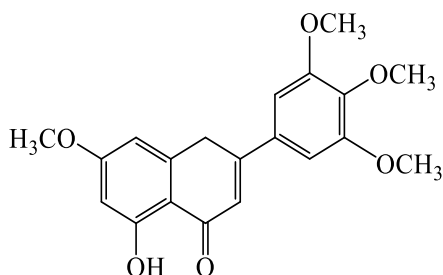


Morine
Extraite de *C. Calcitrapa*

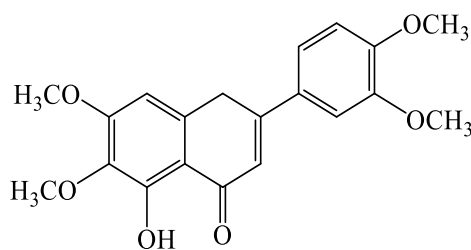
II.6.1.2. La methoxylation

C'est la méthylation des groupements OH aussi bien originels que les extra hydroxyles.

Exemple :



Corymbosine extraite de
C. Incana [56]



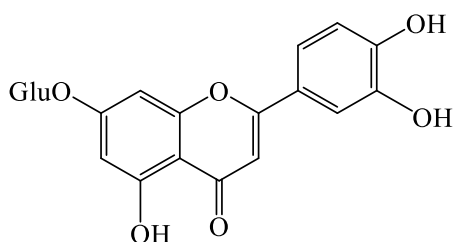
3',4',7-triméthylethernepetin
Extraite de *C. Brugurana* [57]

I.6.1.3. L'O-glycosylation

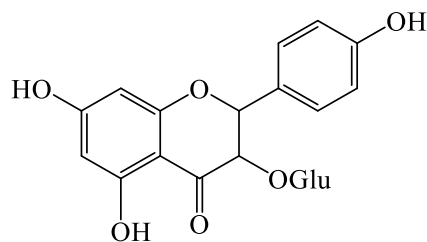
La glycosylation constitue un processus destiné à décharger les aglycones Phénoliques de leur potentiel réactif vis-à-vis des autres constituants cellulaires et à Faciliter leur stockage en solution dans le compartiment vacuolaire [58].

L'O-glycosylation Se fait préférentiellement avec l'hydroxyle en 7 chez les flavones et les Flavanones et en 3 chez les flavonols. La liaison s'effectue entre un OH phénolique et un OH alcoolique d'un sucre tel : le Glucose, le Rhamnose, la xylose, L'arabinose, le mannose, le fructose etc.... Un deuxième sucre peut se rattacher à la structure flavonique soit avec un autre OH Phénolique, soit avec le OH alcoolique du sucre déjà fixé.

Exemple :



Lutéoline 7-O-glucoside
Extraite de *C. Militensis* [59]



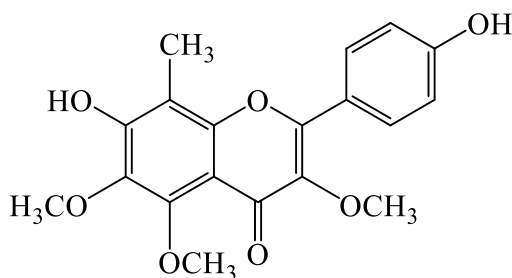
Kaempférol 3-O-glucoside
Extraite de *C. Calcitrapa* [60]

II.6.2. La C-Substitution

II.6.2.1. La C-méthylation

La C -méthylation est une des substitutions complexes des flavonoïdes. La liaison se fait entre le carbone d'un méthyle et un ou plusieurs carbones de cycle benzéniques A ou B.

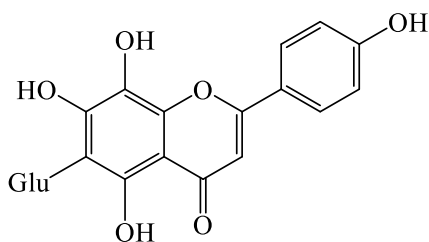
Exemple :



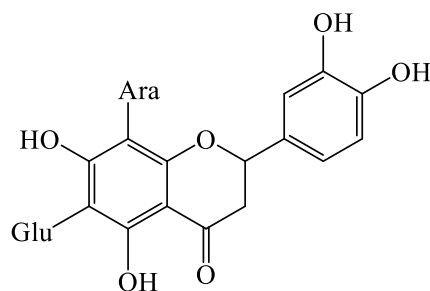
Centaflavone B
Extraite de *C. Senegalensis*
[61]

II.6.2.2. La C-glycosylation

La liaison entre l'aglycone flavonique et la fraction glucidique est du type carbone-carbone très résistante aux acides contrairement à la O-glycosylation. Les sucre dans la liste restreinte : glucose, galactose, Rhamnose, xylose et arabinose se rattache à l'aglycone en position 6 et 8 qui est généralement une flavone.



Vicenine2
Extraite de *C. Melitensis* [59]



Schaftosid
Extraite de *C. Metensis* [62]

II.7. Extraction et dosages des flavonoïdes

a) Principe

L'extraction par solvant consiste à séparer les constituants d'un mélange à l'aide d'un solvant qui ne se mélange pas avec l'eau. Le solvant se charge des molécules à extraire grâce à sa forte affinité avec elles. On sépare ensuite le solvant avec l'eau dans une ampoule à décanter. Pour récupérer les molécules, on élimine le solvant à l'évaporateur rotatif [63].

b) Matériels et méthodologie

➤ Matériel

- Poudre végétale
- Evaporateur rotatif
- Dispositif de filtration sous vide
- Ampoule à décanter
- Solvants : eau, éthanol, éther de pétrole, chloroforme, acétate d'éthyle, n-butanol.

➤ Méthode

• Macération-Filtration

- A 100 g de poudre végétale ajouter un volume du mélange Ethanol/Eau (80:20).
- Laisser macérer pendant trois jours avec renouvellement du solvant chaque 24 heures (350 ml x 3).
- Filtrer une fois sur tissu propre et 3 fois sur coton hydrophile.
- Filtrer ensuite sous vide et récupérer la solution hydro-alcoolique.

• Evaporation

- Evaporer la solution hydro-alcoolique à l'évaporateur rotatif à une température comprise entre 35 à 45°C.
- Reprendre l'extrait sec avec 200 ml d'eau distillée bouillante.
- Laisser au repos pendant 24,-Filtrer sous vide et récupérer la solution aqueuse.

• Extraction par les solvants [64,16].

- Mettre 100 ml de la solution aqueuse dans une ampoule à décanter de 1 L.
- Ajouter 100 ml d'éther de pétrole.
- Agiter vigoureusement pendant 2 mn et laisser au repos pendant 15 mn pour obtenir 2 phases.
- Récupérer la phase aqueuse inférieure.
- Remettre cette phase aqueuse dans une ampoule à décanter propre.
- Ajouter 100 ml de chloroforme,-Agiter vigoureusement pendant 2 mn et laisser au repos pendant 15 mn pour obtenir 2 phases.

- Eliminer la phase inférieure (chloroforme) et récupérer la phase supérieure (phase aqueuse).
- Remettre cette phase aqueuse dans une ampoule à décanter propre.
- Ajouter 100 ml d'acétate d'éthyle.
- Agiter vigoureusement pendant 2 mn et laisser au pendant 15 mn pour obtenir 2 phases.
- Eliminer la phase inférieure (acétate d'éthyle) et récupérer la phase supérieure (phase aqueuse).
- Remettre cette phase aqueuse dans une ampoule à décanter propre.
- Ajouter 100 ml de n-butanol.
- Agiter vigoureusement pendant 2 mn et laisser au pendant 15 mn pour obtenir 2 phases.
- Eliminer la phase inférieure (n-butanol) et récupérer la phase supérieure (phase aqueuse).
- Sécher la phase aqueuse à l'étuve.

c) Résultats

On obtient par ce procédé l'extrait sec de flavonoïdes totaux. Cet extrait pourra être utilisé pour les tests phytochimiques et biologiques.

II.8. L'étude chimique des flavonoïdes

II.8.1. Séparation et purification

La séparation des composés phénoliques et fondés essentiellement sur les différentes techniques chromatographiques telles que :

- La chromatographie liquide sur colonne (**CC**) : elle est basée sur l'utilisation d'une phase stationnaire comme le gel de silice, la cellulose ou le polyamide éluée par des systèmes de solvant en mode graduant ou en mode isocratique. C'est la plus utilisée pour la séparation des quantités des mélanges importants et complexes [31].
- La chromatographie préparatif sur papier (**CP**) : basée sur l'utilisation d'une surface plane de cellulose considérée comme support. Les systèmes de solvants le plus utilisés dans cette technique sont :
 - L'acide acétique 15 et 30% constitue comme solvant aqueux.
 - Le n-butanol/Acide acétique/eau (BAW) 4/1/5 constitue le système organique [31].
- La chromatographie préparative sur couche mince (**CCM**), très simple et très rapide, elle est utilisés aussi bien pour la séparation que pour la purification en utilisant les diverses phases stationnaires et les systèmes de solvants appropriés.

La purification des composés phénoliques se fait généralement sur une colonne de Sephadex LH20 en utilisant le méthanol comme solvant.

II.9. L'étude structurale des composés flavoniques

L'identification des structures flavoniques est basée sur plusieurs techniques chromatographiques et spectroscopiques telles que [65] :

- La fluorescence sous lumière de Wood
- La spectrophotométrie UV-Visible
- La spectrométrie de masse
- La résonance magnétique nucléaire (RMN ; ^1H , ^{13}C).

II.9.1. Propriétés chromatographiques

a) Fluorescence sous lumière de Wood

L'absorption des substances flavoniques sous lumière de Wood donne des renseignements préliminaires sur la structure chimique. Le **Tableau-3-** montre la relation fluorescence- structure [66].

Tableau-3- : La relation structure-fluorescence (lumière Wood)

| La fluorescence | Les structures possibles |
|----------------------|---|
| Violet noire | Flavones avec 5, 6,7 ou 5, 7,8 tri hydroxy flavone Flavonol avec 3-OR Chalcones |
| Bleu | Flavone ou flavonol sans OH en position 5 Flavanone avec OH en position 3 ou flavonol Flavonol avec 3-OH et sans 5-OH |
| Jaune ou jaune terne | Flavonol avec 3-OH, et avec ou sans 5-OH |
| Orange fluorescente | Isoflavones |
| Jaune-vert | Aurones |
| Bleu-vert | Flavanone sans 5-OH |

b) Fluorescence sous la lumière UV

C'est la méthode la plus utilisée pour l'identification des structures flavoniques. Elle est basée sur l'enregistrement d'un spectre dans un milieu alcoolique (méthanolique) qui sera caractérisé par deux bandes d'absorptions principales [67].

La fluorescence d'un flavonoïde en UV (365 nm) est l'étape primaire et fondamentale de son analyse structurale. Chaque classe des flavonoïdes est caractérisée par une couleur qui oriente vers sa structure. Le **Tableau-4-** résume cette relation structure-fluorescence

Tableau-4- : Relation structure-fluorescence (lumière UV)

| Fluorescence | Type de flavonoïde |
|--------------------------|---|
| Noire | 5, 6,7 trihydroxyflavonol 5, 7,8 trihydroxyflavonol |
| Violet | Flavones Flavonols substitués en position 3 (3-OR) |
| Bleu | Flavones sans 5-OH libre Flavones sans 5-OH libre avec 3-OH substitués |
| Jaune fluorescent | Flavonols avec 3-OH libre |

c) Spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse est une technique très puissante qui permet la détermination structural des composés organiques par leur rapports masse/ charge.

Plusieurs technique ont été appliquée aux flavonoïdes, telle que l'impact électronique (**EI**), l'ionisation chimique (**CI**), l'ionisation par bombardement d'atomes rapides (**FAB**) et l'ionisation chimique directe (**DCI**) [68 ,69].

Actuellement, la spectrométrie de masse trouve divers application grâce au couplage avec les techniques chromatographiques. Ces techniques de couplage permettent des analyses très rapides et très rigoureuses. Parmi ces derniers en cite la **LC/MS** une technique d'analyses de choix pour caractériser rapidement sans séparation chimique les éléments d'un mélange de composés naturels pour savoir s'ils sont connus ou non [70,71].

II.9.2. Spectroscopie UV-Visible

La spectrophotométrie UV-Visible est basée sur le principe suivant : en milieu alcoolique, chaque famille de flavonoïdes a un spectre d'absorption caractéristique, susceptible d'être modifié par l'addition des réactifs tels que : NaOH, NaOAc, AlCl₃, H₃BO₃ et HCl. Ces derniers donnent des informations sur la structure du composé à travers leur réaction avec les groupements hydroxyles, cela se traduit sur le spectre UV par des déplacements bathocromiques ou hypsochromiques des bandes d'absorption. La nature du réactif et l'effet

qu'il produit sur le spectre d'absorption apportent des indications sur la structure des flavonoïdes. L'enregistrement des spectres en présence de réactif sont effectuées selon les étapes suivantes :

- **Première étape :** On enregistre le spectre d'absorption dans le méthanol neutre puis immédiatement après l'ajout d'une goutte de NaOH (0,5 N), ensuite on enregistre après 5 minutes.
- **Deuxième étape :** On enregistre une première fois le spectre d'absorption dans le méthanol, puis à cette solution on additionne d'AlCl₃ (1%) et on enregistre le spectre d'absorption. Après cette opération on rajoute quelques gouttes d'acide chlorhydrique (6N) puis on enregistre le spectre de cette nouvelle solution.
- **Troisième étape :** On enregistre dans la solution méthanolique puis on ajoute NaOAc et on enregistre le spectre, après cette opération on rajoute à cette solution quelques gouttes de solution saturée d'acide borique puis on enregistre le spectre d'absorption.

II.9.2.1. Spectre d'absorption en présence de Méthanol

Dans le méthanol les composés flavoniques (flavones et flavonols) présentent un spectre constitué de deux bandes.

- **Bande I.** Ayant un maximum d'absorption entre 300 et 400 nm, elle est attribuée à l'absorption du système cinnamoyle qui résulte de la conjugaison du groupement carbonyle avec la double liaison (C2-C3) et le noyau (B). Elle donne donc des renseignements sur la variation structurale du cycle B et l'hétérocycle C.
- **Bande II.** Ayant un maximum d'absorption entre 240 et 280 nm, elle est attribuée à l'absorption du système benzoyle qui dérive de la conjugaison du groupement carbonyle avec le noyau A et donne des informations sur les variations structurales du cycle A [67], [65].

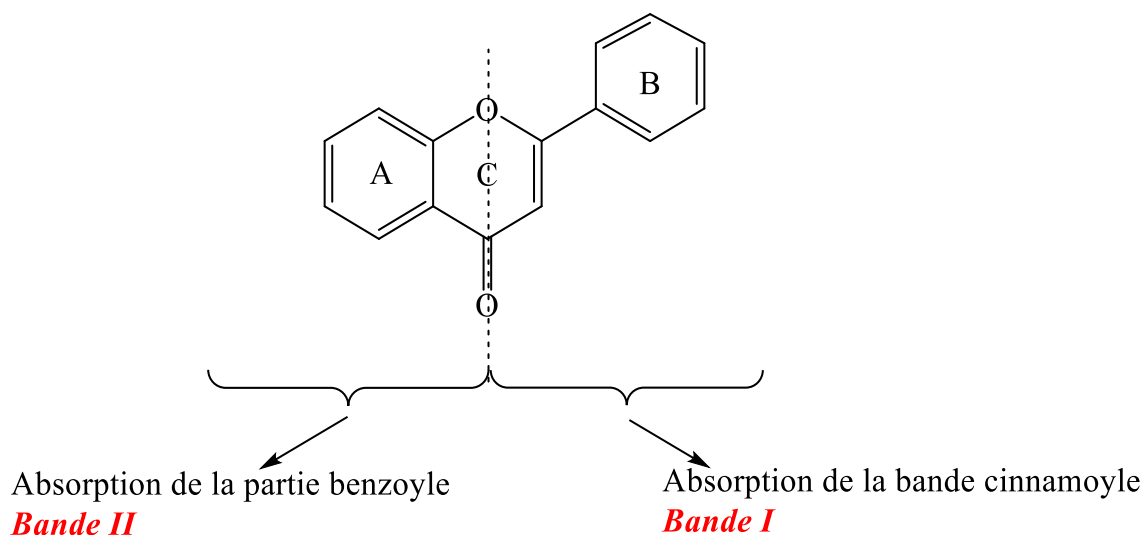


Figure-15- : Conjugaison du groupement carbonyle avec les cycles A et B.

Le maximum d'absorption des deux bandes I et II du spectre pris dans le milieu méthanolique dépend du nombre et de la position des groupements hydroxyles ou méthoxyles sur le squelette flavonique [72]. L'augmentation du nombre des groupements hydroxyles fait déplacer le maximum d'absorption vers des longueurs d'onde plus élevés, par contre la substitution des groupements méthoxyles ou glycosyles fait déplacer ce maximum vers des longueurs d'onde plus faibles. Le **Tableau-5-** donne la relation entre le maximum d'absorption en UV et le type des flavonoïdes.

Tableau-5- : Relation entre le maximum d'absorption
En UV et le type de flavonoïdes

| Type de composé Flavonique | Bande I | Bande II |
|-------------------------------|---------|----------|
| Flavone | 320-350 | 250-270 |
| Flavonol | 352-385 | 250-280 |
| Flavanone | 300-330 | 245-275 |
| Isoflavones | 300-330 | 245-275 |
| Chalcone | 340-390 | 230-270 |
| Aurone | 380-430 | 230-270 |
| Anthocyanidine | 465-560 | 270-280 |

II.9.2.2. Spectre d'absorption en présence de NaOH ou NaOMe

Une base forte ionise tous les hydroxyles phénoliques du squelette flavonique. Il en résulte un effet bathochrome sur les deux bandes I et II. Cet effet est plus important sur la bande I. Les flavonoïdes très hydroxylés sont instables en présence de ce réactif particulièrement pour les flavonoïdes ayant un hydroxyle libre en 4' [66]. Ce déplacement bathochrome suivi d'une variation de l'intensité lumineuse de la bande I renseigne sur le nombre et la position des hydroxyles libres. L'apparition d'une nouvelle bande entre 320 et 335 nm par rapport au spectre MeOH indique l'existence d'un OH libre en 7. Cependant, l'effet de NaOH sur les flavones et les flavonols est de détecter les groupements hydroxyles dans les positions 3 et ou 4'.

II.9.2.3. Spectre d'absorption en présence de NaOAc :

NaOAc, base faible ionise les hydroxyles phénoliques les plus Acides de la molécule, soient les groupes 7-OH, 4'-OH et 3-OH et elle Ionise spécialement le groupement hydroxyle en position 7. Ceci se traduit par le déplacement sur la bande II [73].

II.9.2.4. Spectre d'absorption en présence de H₃BO₃ + NaOAc :

L'acide borique (H₃BO₃) forme en présence de NaOAc un Complexe avec les hydroxyles phénolique dans la position ortho du cycle B (3',4') [66].

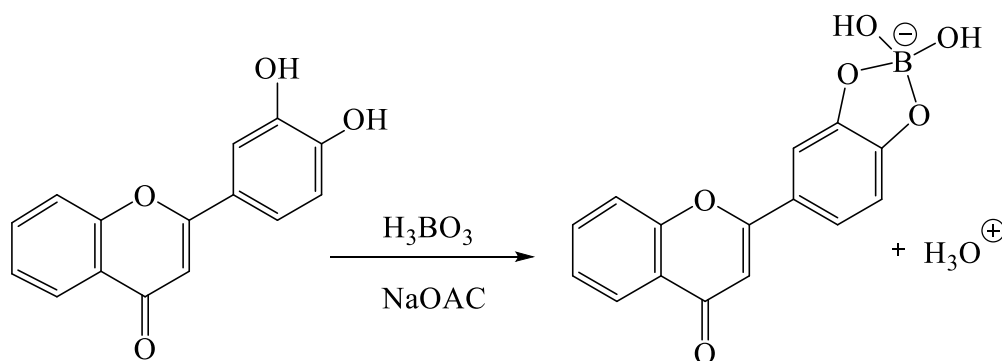


Figure-16- : Le complexe formé par le flavonoïde

Et le mélange (NaOAc+ H₃BO₃)

II.9.2.5. Spectre d'absorption en présence d'AlCl₃ et AlCl₃+HCl :

AlCl₃ forme avec le carbonyle C₄ et l'hydroxyle des positions C₃ ou C₅ des complexes qui se traduisent par un déplacement bathochrome de la bande I. Ces complexes sont stables en présence de HCl, par contre ils forment des complexes instables avec les groupes ortho dihydroxyles des noyaux aromatiques A et B et se décomposent en présence de HCl. La **figure-17-** montre l'explication précédente [74], [75].

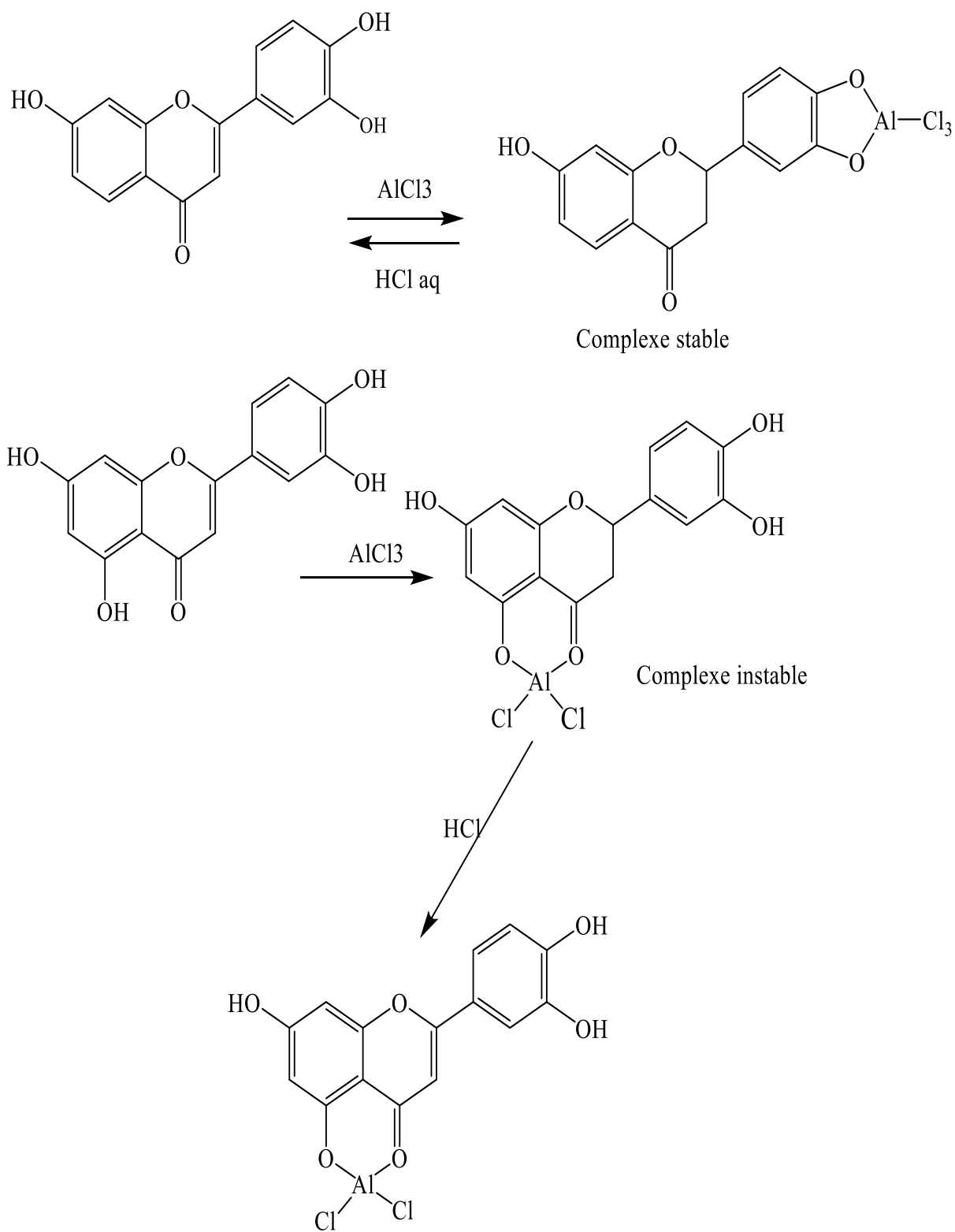


Figure-17- : formation des complexes après addition d' AlCl_3 et en présence
De HCL

Tableau-6- : Les déplacements après addition des réactifs

| Réactifs | Déplacement nm | | Interprétation |
|------------------------------|--|----------|---|
| | Bande I | Bande II | |
| MeOH | 310-350 | 250-280 | Flavone |
| | 330-360 | 250-280 | Flavonol (3-OR) |
| | 350-385 | 250-280 | Flavonol (3-OH) |
| NaOMe (NaOH) | +40 à 60 avec stabilité d'intensité | | 4'-OH |
| | +50 à 60 avec diminution d'intensité | | 3-OH et 4'OR |
| | Faible déplacement avec diminution d'intensité | | 4'-OR |
| | Apparition d'une 3 ^{ème} bande entre BI et BII | | 7-OH |
| | Absence de bande entre 320-335 | | 7-OR |
| | Transformation de bande I en une Inflexion | | 5-OH (seul hydroxyle libre) |
| AlCl₃/MeOH | +20 à 45 | | 5-OH |
| | +60 | | 3-OH |
| HCl/AlCl₃ | -30 à -40 | | Ortho di O H sur le noyau B |
| | -20 à -25 | | Ortho di OH sur le noyau A (en plus ortho di OH sur le noyau B |

Tableau-6- : Suite

| | +35 à 55 | 5-OH |
|--|---|---------------------------------------|
| AlCl₃+HCl/MeOH | +17 à 20 | 5-OH (avec 6-oxygénation) |
| | +50 à 60 | 3-OH ou 3-OH et 5-OH |
| NaOAc/MeOH | +5 à 20 | 7-OH |
| | Déplacement très faible | 7-OR |
| | Diminution d'intensité avec le temps | 6,7 ; 7,8 ou 3',4'di OH |
| | Le spectre se décompose avec le temps | 5, 6,7 ; 5, 7,8 ou 3, 3',4'-tri OH |
| NaOAc+H₃BO₃ | +12 à 36 | 3',4' di OH |
| | +5 à 10 | 6,7 ou 7,8 di OH |

II.9.3. La spectroscopie de la résonance magnétique nucléaire (RMN)

L'analyse par RMN est devenue aujourd'hui une méthode de routine pour les études de la détermination structurale des composés naturels. De nombreux noyaux atomiques peuvent être détectés par la technique de RMN, les noyaux les plus utilisés sont le proton (¹H), le carbone (¹³C) en plus le phosphore (P 31), l'azote (N16), le sodium (Na23), le potassium (K39) et le fluor (F19) (Fan 1996) [76].

II.9.3.1. La résonance nucléaire magnétique de proton (RMN ¹H)

Concernant l'analyse des flavonoïdes la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire de proton (RMN ¹H) permettent de connaître la position et le nombre de divers protons portés par les flavonoïdes, le nombre des substituants méthoxyles porté par le squelette flavonique et aussi le nombre et la nature des sucres liés à l'aglycone. La RMN-¹H comparée à la RMN-¹³C est plus sensible. Le proton est présent à 99.9 % dans la nature, tandis que l'abondance naturelle du ¹³C est seulement de 1.1 %. Tous les métabolites organiques qui contiennent des ¹H sont susceptibles de donner des signaux.

Le spectre RMN-¹H des composés flavoniques donne des informations sur l'environnement des différents protons flavoniques qui résonnent généralement entre 6 et 8 ppm et il permet de connaître [76] :

- La position et le nombre des protons portés par le flavonoïde.
- Le nombre de substituant méthoxyles portés par le squelette flavonique.

➤ Le nombre et la nature des sucres liés à l'aglycone

Le montre le déplacement chimique des différents protons du cycle A et B du squelette flavonique.

Tableau-7- : Déplacement chimique des protons du cycle (A)

| Type de flavonoïde | H-5 δ , ppm (J ; Hz) | H-6 δ , ppm (J ; Hz) | H-8 δ , ppm (J ; Hz) |
|--------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| 5,7-OH | - | 6.0-6.2 (d ; 2.5) | 6.3-6.5 (d ; 2.5) |
| 5-OH ; 7-OR (R=Glu) | - | 5.9-6.1 (d ; 2.5) | 6.1-6.4 (d ; 2.5) |
| 5, 6, 7-OR (R=H, Glu) | - | - | 6.3 (S) |
| 5, 7, 8-OR (R=H, Glu) | - | 6.3(S) | - |
| 7-OR (R=H, Glu) | 8.0 (d ; 9) | 6.7-7.1 (dd ; 9 ; 2.5) | 6.7-7 (d ; 2.5) |

Tableau-8- : Déplacement chimique des protons du cycle (B)

| Type de flavonoïde | (H-5'/ H-3') δ , ppm (J ; Hz) | (H-2'/ H-6') δ , ppm (J ; Hz) |
|--------------------|---|---|
| Flavone (4'-OR) | 6.5-7.1 (d ; 8.5) | 7.7-7.9 (d ; 8.5) |
| Flavonol (4'-OR) | 6.5-7.1 (d ; 8.5) | 7.9-8.1 (d ; 8.5) |

Tableau-8- : Suite

| Type de flavonoïde | H-2' δ, ppm (J ; Hz) | H-6' δ, ppm (J ; Hz) |
|---|-------------------------|-----------------------------|
| Flavone (3',4'-OH ; 3'- OMe ; 4'-OH ; 3'-OH ; 4'-OMe) | 7.2-7.3 (d ; 2.5) | 7.3-7.5 (dd ; 8.5 ; 2.5) |
| Flavonol (3',4'-OH ; 2'- OH ; 4'-OMe) | 7.5-7.7 (d ; 2.5) | 7.6-7.9 (dd ; 8.5 ; 2.5) |
| Flavonol (3',4'-OH ; 3'- OH ; 4'-OMe) | 7.5-7.7 (d ; 2.5) | 7.6-7.9 (dd ; 8.5 ; 2.5) |

a. Les protons du cycle (C) :

Le proton H3 d'une structure flavone résonne entre 6 et 7 ppm sous forme d'un singulet [77], pouvant être confondu avec les protons H-6 et H-8

b. Les protons des substituant méthoxyles :

Un ou plusieurs méthoxyles donnent des singuliers entre 3.5 et 4.5 ppm.

c. Les protons des sucres

Le déplacement chimique du proton anomérique H^{1''} des sucres est lié à la position et la nature de la liaison entre le sucre et l'aglycone qui peut exister en Deux genres : O-glycosyl ou C-glycosyl.

Tableau-9- : Les valeurs du déplacement chimique de quelques
Sucres dans le DMSO : anomériques de quelques glycosides

| H-1'' (δ, ppm) | Nature de sucre |
|----------------|----------------------|
| 5.25-5.56 | 3-O-β-D-Glucoside |
| 5.60 | 3-O-β-D-Galactoside |
| 5.48 | 3-O-β-D-Glucuronide |
| 5.37 | 3-O-β-D-Xyloside |
| 5.31 | 3-O-α-L-Rhamnoside |
| 5.00 | 4'-O-β-D-Galactoside |
| 4.64-4.88 | 8-C-β-D-Glucoside |
| 4.85-5.26 | 6-C-β-D-Rhamnoside |

La valeur de la constante de couplage entre les protons H-1" et H-2" des glycosides monosaccharides sert à identifier la nature de la liaison α ou β entre le sucre et l'aglycone. Par exemple pour le sucre glucose qui forme une liaison β , le H-1" donne un doublet avec une constante de couplage $J=7$ Hz due à un couplage diaxial avec le H-2".

Dans le cas du sucre Rhamnose qui forme une la liaison α , la valeur de la constante de couplage $J=2$ Hz due à un couplage eq-eq entre H-1"et H-2".

Toutefois on peut l'identifier à travers le doublet du groupe Méthylrhamnose qui se positionne entre 0,8-1,2 ppm avec une constante de couplage $J=6$ Hz [65].

II.9.3.2. La résonance magnétique nucléaire de carbone 13 (RMN-¹³C)

Elle donne des informations utiles et parfois nécessaires pour mieux identifier de la molécule [65], [78] telle que :

- Le nombre total des atomes de carbone du composé flavonique ainsi que leur environnement.
- La connaissance du type des liaisons –C ou –O des sucres.

Le tableau suivant donne les plus importants déplacements de quelques atomes de carbone.

Tableau-10- : Déplacements chimiques de quelques carbones

| Déplacement chimique (ppm) | Nature du carbone |
|----------------------------|--|
| 7-22 | Aromatique C-CH3 |
| 59-63 | Aromatique O-CH3 orthodisubstitué |
| 58-59 | 3-Méthoxyflavone (3-OCH3) |
| 56-78 | Sucre CH2-OH, CH-OH, C-glycoside |
| 90-110 | 5,7-Dihydroxyflavonoïde (C6-C8) |
| 90-135 | Flavone (C-3) |
| 135-144 | Flavonol (C-3) 3-Méthoxyflavone(C-3) |
| 136-158 | Flavonol(C-2) 3-Méthoxyflavone(C-2) |
| 155-168 | Flavone(C-2) |
| 172-186 | Flavone(C-4) Flavonol(C-4) 3-Méthoxyflavone(C-4) |

La résonance magnétique nucléaire (RMN) est la méthode la plus efficace pour élucider la structure d'un flavonoïde. En effet, le principe de la RMN repose sur le magnétisme nucléaire. L'énergie d'interaction des moments magnétiques nucléaires d'une substance avec un champ magnétique extérieur β_0 est en fait constituée d'un certain nombre de niveaux discrets E_i caractéristiques. Il est possible, au moyen d'un émetteur à haute fréquence, d'induire des transitions entre ces niveaux d'énergie.

L'absorption d'énergie qui en résulte est enregistrée, sous forme de « raie spectrale » ou signal de résonance (ou spectre de RMN). Seuls les noyaux atomiques possédant un moment magnétique nucléaire donnent lieu au phénomène de résonance magnétique, comme par exemple le proton ^1H , ^{11}B , ^{13}C , ^{15}N , ^{16}O [79].

II.10. Les spectres d'RMN monodimensionnels

Le spectre de RMN du proton d'une molécule est généralement constitué de plusieurs signaux de résonance. Les diverses fréquences de résonance correspondent aux différents types de proton de la molécule, c'est-à-dire à des protons situés dans des environnements différents [79].

II.11. Les spectres bidimensionnels

Les spectres RMN (proton et carbone) des composés naturels (composé complexe) donnent des signaux qui se chevauchent, et compliquent donc l'interprétation des spectres. Cependant, le couplage interatomique qui est visible par l'analyse des spectres bidimensionnels permet d'élucider aisément la structure chimique du composé.

II.11.1. Heteronuclear Single Quantum Correlation (HSQC)

L'interprétation des spectres HSQC met en évidence les couplages hétéronucléaires (H-C) directs $^1\text{JH-C}$ (**fig.18**). A l'aide du spectre HSQC, la majorité des carbones protonés sont alors déterminés [80].

II.11.2. Heteronuclear Multiple-Bound Correlation (HMBC)

Cette expérience permet d'établir les couplages hétéronucléaires à longue distance avec les constantes de couplage $^2\text{JH-C}$ ou $^3\text{JH-C}$ (**fig.18**). L'interprétation des spectres HMBC optimise l'élucidation structurale de l'aglycone et est essentielle pour déterminer les séquences osidiques, ainsi que la liaison osidique sur l'aglycone et des acides organiques [80].

II.11.3. Correlated Spectroscopy (COSY)

L'expérience COSY met en évidence les protons avec les couplages géminaux $^2\text{JH-H}$ et les couplages vicinaux $^3\text{JH-H}$ (**fig.18**). Cette expérience est utilisée pour déterminer l'ordre des protons dans un squelette de sucres [80], [81].

II.11.4. Total Correlation Spectroscopy (TOCSY)

A partir de cette expérience, les corrélations de tous les protons d'un même système de spin, comme pour l'expérience COSY mais sur des constantes de couplages plus importants (**fig.18**), sont mis en évidence. Elle donc importante pour l'analyse de la structure des sucres [80], [81].

II.11.5. Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy (NOESY)

L'expérience deux dimensions NOESY fournit des informations spatiales (**fig.18**) pour tous les protons dans une seule expérience et s'est avéré être l'une des plus précieuses des expériences de RMN dans élucidation de la structure [81], [82]. Elle est alors importante dans l'élucidation structurale des composés, notamment, dans la stéréochimie des carbones asymétriques de l'aglycone, le séquençage des sucres et l'emplacement de la liaison sucres-génine.

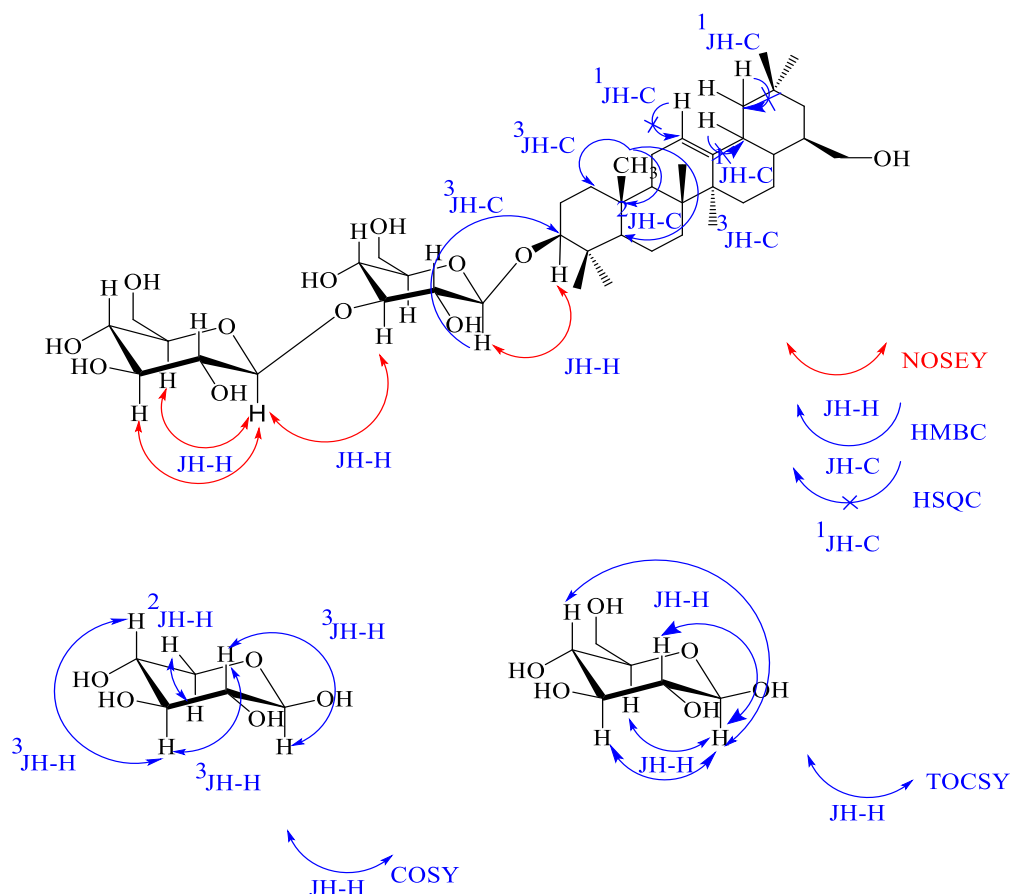


Figure-18- : les corrélations observées à l'aide de différentes expériences bidimensionnelles

II.12. Intérêt biologique des flavonoïdes

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en dermatopharmacie. Parmi ces composés on retrouve dans une grande mesure les flavonoïdes ; ils se sont surtout illustrés en thérapeutique

comme anticancérogènes, anti-inflammatoires, antitumoraux et antioxydants [83]. On peut classer l'intérêt des flavonoïdes en deux rôles

II.12.1. Le rôle biologique et physiologique

Des travaux plus anciens ont montré que les flavonoïdes seraient associés à de nombreux processus physiologiques : croissance cellulaire, différenciation, organogène, dormance des bourgeons, floraison et tubérisation. Ils déterminent également la saveur des fruits : les flavones sont responsables de l'amertume des citrus et peuvent donner naissance par transformation chimique à des dihydrochalcones à saveur sucrée, les tanins sont à l'origine de la sensation d'astringence des fruits non murs [83].

Les flavonoïdes jouent un rôle important dans la croissance et le développement des plantes, ils protègent les plantes contre l'attaque des micro-organismes et les parasites [84] et ceci par leur couleur et odeur qui servent comme communicateurs avec l'environnement [85], ils exercent un effet attracteur sur les oiseaux, les insectes et les animaux qui contribuent à la dispersion des grains des plantes et assurent la reproduction des plantes [83], tandis qu'ils peuvent repousser certains insectes par leur goût désagréable. Les flavonoïdes offrent à la plante une protection contre les rayons ultraviolets

Les flavonoïdes sont considérés comme de bons chélateurs des ions métalliques, par exemple : le fer (Fe^{+2}) et le cuivre (Cu^{+2}) qui sont essentiels pour certaines fonctions physiologiques comme constituants des hémoprotéines, soit des cofacteurs des différentes enzymes du système de défense antioxydant par exemple le Fer pour la catalase, le Cuivre et le Zinc pour le superoxyde dismutase

II.12.2. Le rôle thérapeutique

De plus en plus, les flavonoïdes deviennent le principal sujet médical de recherche, ils ont été rapportés pour posséder plus d'utilité dans les activités antivirales, anti-tumorales, anti-inflammatoires, antiallergiques et anti-cancéreuses.

a) Effets antiallergiques

Les flavonoïdes sont aussi connus pour leurs effets antiallergiques, ces effets sont attribués à l'influence des flavonoïdes sur la production d'histamine, en fait les flavonoïdes inhibent les enzymes qui augmentent l'apparition de l'histamine dans les cellules mastocytes et

des basophiles, par exemple l'ATPase Ca^{+2} dépendante dégrade l'ATP produisant ainsi de l'énergie afin de faciliter l'absorption du calcium par les membranes cellulaires ce qui favorise la libération de l'histamine stockée dans les vésicules.

b) Effets anticancéreux

Beaucoup de chercheurs ont conduit dans leurs études sur l'activité de l'antitumeur potentielle des flavonoïdes pour exemple : l'activité antitumeur de la catéchine, flavonol présent dans le thé vert et d'autre plante comme *l'areca catechu*, *lacrataegus oxyacantha*, *lacinnamomum cassia*, *la polygonum multiflorum*, et *larheum palmatum*. Quelques flavonoïdes (quercétine, Epigallocatechine) et l'extrait du thé vert inhibent l'augmentation de la tumeur en stoppant quelques phases du cycle cellulaire et en bloquant le récepteur ou revalisant la place de l'hormone réceptrice [86-87].

c) Effets anti-inflammatoires

Les recherches faites par Landolfi et al ont montré que beaucoup de flavonoïde étudiés étaient capables de modifier le métabolisme d'acide arachidonique dans les plaquettes pour donner la prostaglandine et le leucotriènes induisant des phénomènes inflammatoires. Ce groupe a aussi montré que quelques flavonoïdes tels que la Myricétine et la quercétine bloquent la cyclooxygénase et la lipooxygénase avec une forte concentration de ces deux flavonoïdes, en outre d'autres flavonoïdes tels que l'apigénine et la Chrysin agissent principalement sur l'activité de la cyclooxygénase [88].

d) Effets antiulcéreux

Dans des expériences réalisées sur les rats, il a été démontré que la quercétine et la nargénine jouent un rôle important dans la réduction de l'ulcère et la protection des cellules gastriques.

Il a été suggéré que la quercétine exerce son activité via un mécanisme complexe impliquant la production du mucus, le piégeage des radicaux libres et également l'inhibition de la production de leucotène

D'autres effets biologiques

Les flavonoïdes peuvent aussi empêcher le diabète ou du moins le réduire en inhibant l'enzyme aldose réductase [89]. Les chercheurs « **Ong** » et « **Khoo** » ont reporté que la Myricétine et d'autres flavonoïdes réduisent le risque des maladies cardiovasculaires [90], plusieurs flavonoïdes exercent des effets de l'anti-aggrégatory à travers l'inhibition de la phosphodiesterase [88]. Des propriétés antivirales et antimicrobiennes ont aussi été démontrées [91,92].

Chapitre II :

Galactites elegans

I. Famille des Asteraceae

I.1. Généralité

La famille des astéracées autrefois appelées les composées, c'est la plus vaste famille des phanérogames, environ 22.000 espèces réparties en 1.500 genres [93].

C'est une famille cosmopolite qu'on trouve partout sauf dans l'antarctique. Surtout dans les régions tempérées, mais aussi dans les régions semi arides, tropicales ou semi tropicales : région méditerranéenne, Mexique, province du Cap, bois et prairies d'Amérique de sud et d'Australie. Nombreuses espèces dans les régions arctiques, tempérées et montagnardes du globe. Rare dans les forêts tropicales humides [93].

Plus de 200 genres sont utilisés comme plante ornementales (aster, chrysanthème,...etc.). Certaines comme le genre *pyrethrum* est utilisé comme un insecticide. Le genre *artemisia* est utilisé pour la fabrication de liqueurs comme *l'absinthe* ou *le génépi*, et le genre *ambrocia* est connu pour le caractère allergène et leur pollen [94]. Les astéracées sont une famille économiquement importante, fournissant des produits tels que les huiles de cuisson, la laitue, les graines de tournesol, les artichauts, les édulcorants, les succédanés de café et les tisanes. Les plantes d'Asteraceae sont médicalement importantes dans les régions qui n'ont pas accès à la médecine occidentale. Ils sont également couramment présentés dans les revues médicales et phytochimiques car les composés sesquiterpéniques lactones qu'ils contiennent sont une cause importante de dermatite de contact allergique [95].

I.2. Distribution

Les Asteraceae ont une distribution mondiale, étant trouvée partout sauf en Antarctique. Ils sont surtout nombreux dans les régions de l'est, les Andes, l'Afrique méditerranéenne, l'Asie centrale et le sous ouest de la Chine).

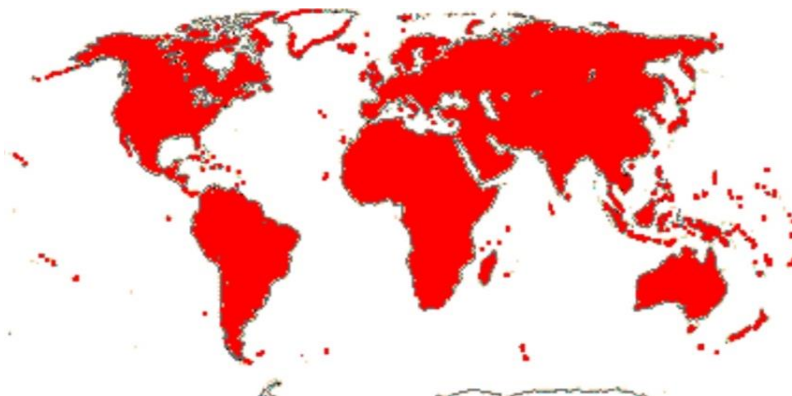


Figure-19- : Carte de répartition géographique des Asteraceae selon l'AP-Web site [96]

I.4. Caractère botanique de la famille

Cette famille présente des caractères morphologiques divers : herbes annuelles ou vivaces, plus rarement des arbustes, arbres ou plantes grimpantes et quelques fois, plantes charnues [97]. Généralement se sont des plantes herbacées à feuilles isolées [98]. L'aspect de l'appareil végétatif est trop variable pour caractériser les Asteraceae sur ce seul critère. En revanche, cette famille est très homogène au niveau de ses inflorescences très caractéristiques : le capitule. Le fruit est un akène généralement surmonté d'un Pappus provenant du calice.

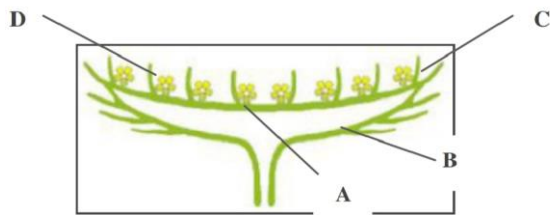
I.4.1. Appareil végétatif

- a) **Les racines et les tiges :** Les racines des Asteraceae sont d'habitude pivotantes et quelquefois fibreuses. Les tiges sont généralement droites, mais tombent quelque fois au fait de s'élever. Quelques espèces ont des tiges souterraines dans la forme de caudices ou de rhizomes, ceux-ci peuvent être charnus ou boisés selon les espèces.
- b) **Les feuilles :** Les feuilles et les tiges contiennent très souvent des canaux sécrétoires avec la résine ou le latex. Les feuilles sont souvent alternes, et parfois en face, ou verticillées. Elles peuvent être simples, mais sont souvent profondément lobées ou incisées. Les marges peuvent être entières ou dentées.

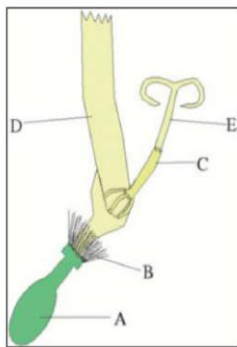
I.4.2. Appareil producteur

- a) **Les fleurs :** Les fleurs sont regroupées en capitules, c'est-à-dire serrées les unes à côté des autres, sans pédoncule, sur l'extrémité élargie d'un rameau ou d'une tige (le réceptacle floral) et entourées d'une structure formée par des bractées florales appelée involucre. Les fleurs, appelées aussi fleurons, sont caractérisées par leurs anthères soudées. Les ovules ont une position basale dans l'ovaire. Les pétales sont soudés et forment un tube court suivi d'une languette allongée dans le cas de fleurs ligulées, ou un long tube entourant les anthères et le style dans le cas des fleurs tubulées (l'extrémité des pétales pouvant alors être libre).
- b) **Les fruits :** Le fruit des Asteraceae est un akène généralement surmonté d'un Pappus (une aigrette de soies correspondant au calice persistant).
- c) **Les graines :** Elles sont ex albuminées (**fig.21**).
- d) **L'inflorescence :** L'inflorescence des Asteraceae est le capitule. Un capitule comprend un réceptacle plan ou plus moins bombé sur lequel sont insérés de l'extérieur vers l'intérieur, en ordre spirale. Le capitule peut être formé uniquement de fleurs tubulées (artichaut), uniquement de fleurs ligulées (pissenlit) ou de fleurons périphériques ligulés

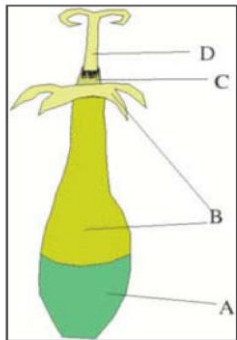
entourant un disque de fleurons tubulés (marguerite). Le **Tableau-11-** montre les différentes parties florales d'une Asteraceae.



1. capitule : A = réceptacle, B = bractée ou écaille de l'involucre, C = fleurs ligulées ou Tubulées, D = écailles



2. Fleur ligulée : A = ovaire, B = Pappus, C = tube formé par les anthères soudées, D = Ligule, E = style avec les stigmates réceptifs



3. Fleur tubulée : A = ovaire, B = tube de la corolle, C = tube formé par les anthères soudées, D = style avec les stigmates réceptifs.

Tableau-11- : Les différentes parties florales d'une Asteraceae.



Figure-21- : Les graines sont dispersées par le vent dans Carlina

I.5. Classification des Asteraceae

En distingue quatre sous-familles [99] :

- a. les liguliflores ou chicoracées.
- b. Les labiactiflores.
- c. Les radiées ou corymbifère.
- d. Les tubuliflores ou carduacées.

II. Galactites élégant

II.1. Genre Galactites

Les Galactites sont un genre de plantes à fleurs appartenant aux Asteraceae Compositae (communément appelées la famille des asters, des marguerites, des composites ou des tournesols) qui est une très grande et très répandue famille de plantes à fleurs (Angiospermae). De nombreux membres appartenant à cette famille sont herbacés, mais un nombre important sont également des arbustes, des vignes ou des arbres [100].

II.2. Description botanique :

Galactites tomentosa (Moench, 1794) est très épineuse et d'une hauteur, très variable qui va de 20 à 80 cm, sa tige est très ramifiée en haut, tomenteuse. Les feuilles sont longues, étroites, profondément dentées, presque ailées, épineuses, cotonneuses en dessous et vertes en dessus, mais chargées de taches laiteuses [101]. Les capitules des fleurs de *Galactites tomentosa* sont assez grands (3 cm de diamètre environ), avec un involucre formé de nombreuses bractées érigées, terminées par de longues épines, souvent entourées d'un voile arachnéen. Toutes les fleurs sont tubulées. Les extérieures sont grandes et rayonnantes, de couleur pourprée ou violacée (il existe aussi des spécimens à fleurs presque blanches), stériles, profondément découpées en cinq lanières rigides alors que les intérieures sont plus petites. Les fruits sont des akènes bruns et glabres, à peu près cylindriques, Portant des aigrettes à soies plumeuses.





Figure-22- : Photo de *Galactites elegans*. A et B : plante entière, C : Bouton floral, D : Capitule épanoui

II.3. Nomenclature et Classification :

Appelé aussi le Chardon laiteux, *Galactites* cotonneux ou encore *Galactites* est une espèce de plante herbacée d'origine méditerranéenne de la famille des Asteraceae. Le nom scientifique du genre évoque en grec le lait, allusion à la couleur laiteuse des tiges et surtout aux nervures blanchâtres des feuilles des *Galactites*. L'espèce la plus connue est *Galactites tomentosa* Moench découverte pour la première fois en 1794 par le botaniste allemand Conard Moench. La plante se classe dans le **Tableau-12-** comme suit [103] :

Tableau-12- : Taxonomie de *Galactites* élégant

Règne végétale

| | |
|-----------------|--|
| Règne | Plantae |
| Division | Magnoliophyt |
| Classe | Magnoliopsid |
| Ordre | Asterales |
| Famille | Asteraceae |
| Genre | <i>Galactites</i> |
| Espèce | <i>Galactites tomentosa</i> Moench, 1794 |

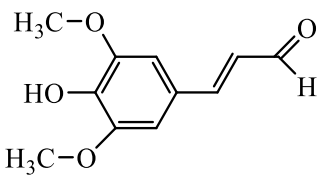
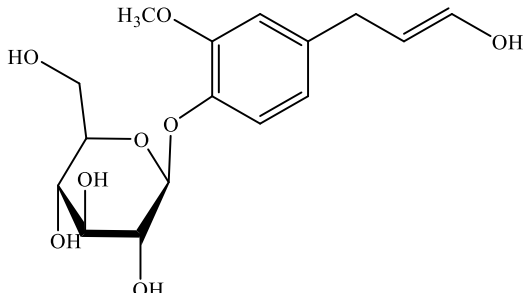
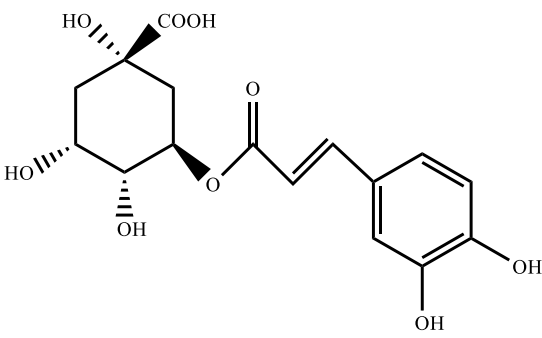
II.5. Ecologie et habitat

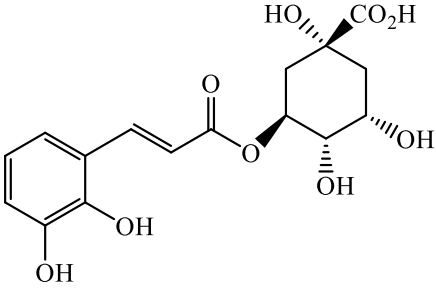
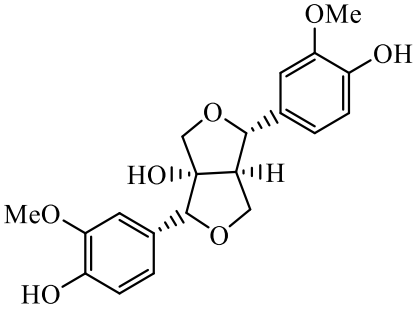
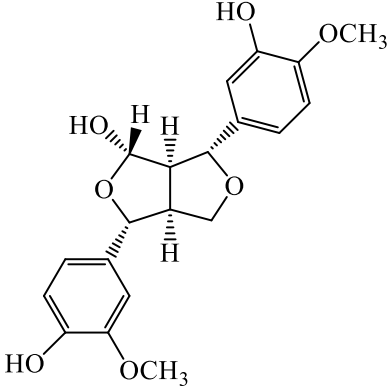
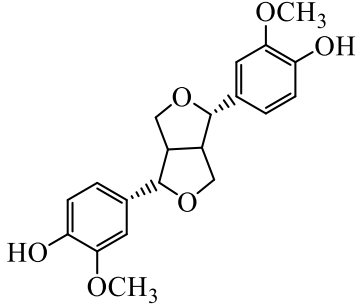
Cette plante est présente beaucoup plus dans l'ouest du bassin méditerranéen ; elle est moins fréquente le long des côtes atlantiques. Elle préfère les terrains sablonneux et secs, avec une légère appréciation des sols acides. La floraison a lieu au mois d'avril à août [104].

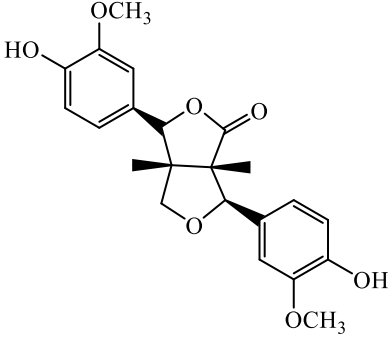
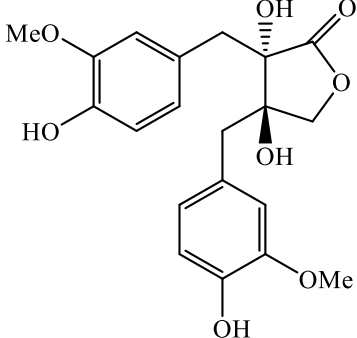
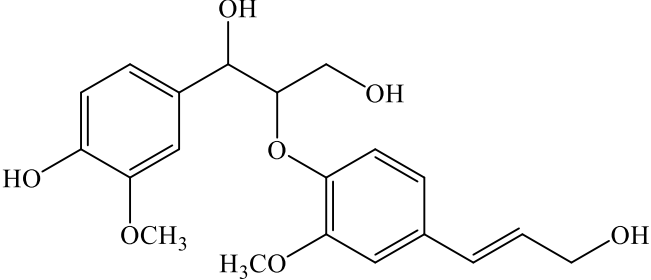
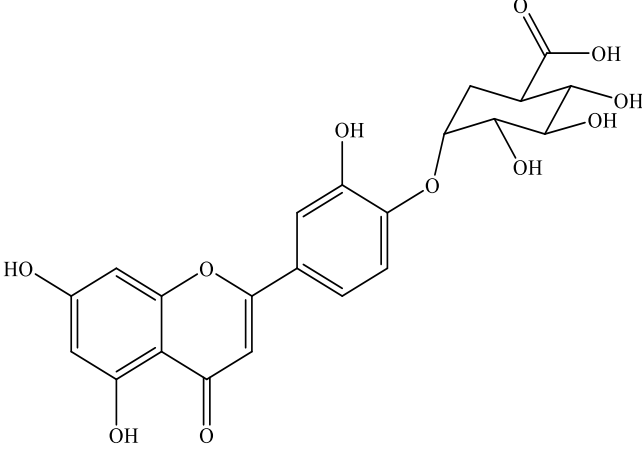
II.6. Travaux antérieurs et principaux métabolites secondaires isolés du genre *Galactites*

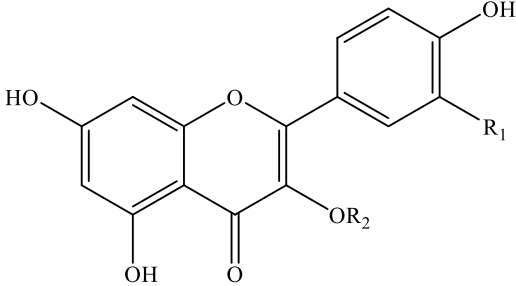
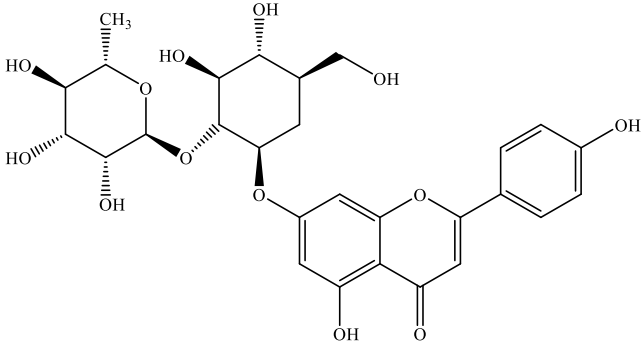
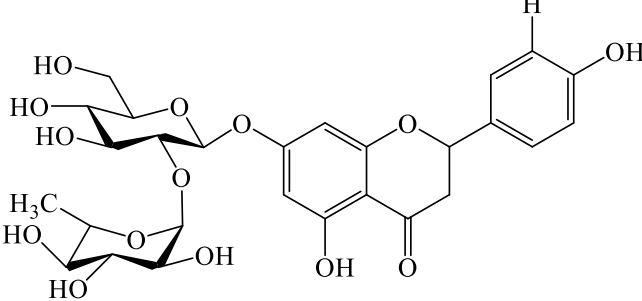
Le genre *Galactites*, a fait l'objet de nombreuse étude phytochimiques, ces travaux ont permis l'isolement des composés phénolique [105],[106], des lactones sesquiterpéniques [107], des composés Polyacétyléniques [108], et des flavonoïdes[105]. Le **Tableau-13**-montre quelques composés isolés de *galactites elegans*.

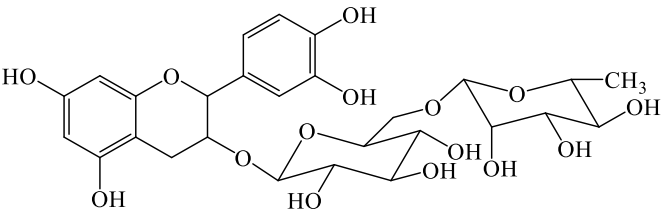
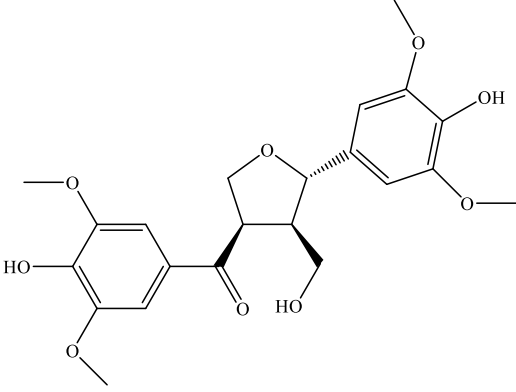
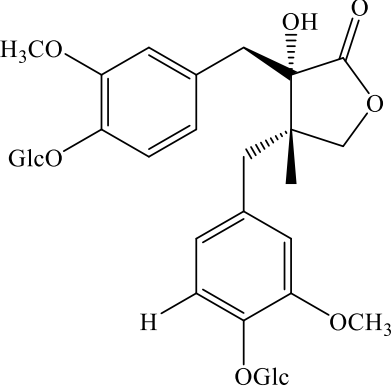
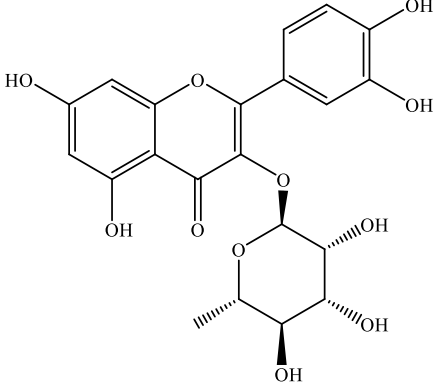
Tableau-13- : Structure des composés isolés de genre *Galactites elegans*

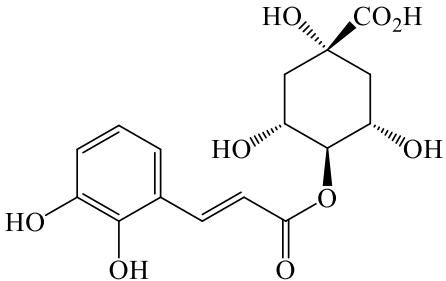
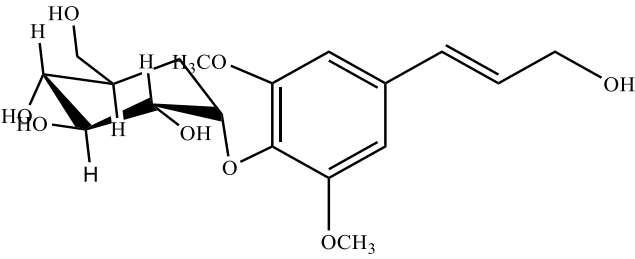
| Nom de composés | Structure | Réf |
|----------------------------|--|-------|
| Aldéhyde sinapique |  | [109] |
| Abiétine |  | [110] |
| acide chlorogénique |  | [111] |

| | | |
|---|--|-------|
| Acide néochlorogénique |  | [112] |
| 8 α-hydroxypinorésinol |  | [113] |
| 9 α-hydroxypinorésinol |  | [114] |
| Pinorésinol |  | [115] |

| | | |
|--|--|--------------|
| <p>4-Kétopinorésinol</p> |  | <p>[116]</p> |
| <p>Nortrachelogénine</p> |  | <p>[117]</p> |
| <p>Érythro - guaiacylglycerol- β - O alcool -4'- dihydroconiferyl</p> |  | <p>[118]</p> |
| <p>La lutéoline 4' - O - glucuronide</p> |  | <p>[119]</p> |

| | | |
|---|--|-------|
| <p>Kaempférol - 3- O - α -L- rhamnopyranosyl - (1 \rightarrow 6) - β -D- glucopyranoside</p> |  <p>R1=H R2=α-Rhm (1 \rightarrow4)-α-Rhm (1\rightarrow 6)-β-D-Glu</p> | [120] |
| <p>apigénine- 7- O - α -L- rhamnopyranosyl - (1 \rightarrow 6) - β -D- glucopyranoside</p> |  | [121] |
| <p>la naringénine - 7- O - neohesperidoside</p> |  | [122] |

| | | |
|--|--|-------|
| <p>Quercétine -3- O - α-L-rhamnopyranosyl- (1 \rightarrow 6) - βLe -D-glucopyranoside</p> |  | [123] |
| <p>Ciwujiatone</p> |  | [124] |
| <p>Nortrachéologénine-4,4'-di- O - β-D-glucopyranoside</p> |  | [125] |
| <p>Quercitrin</p> |  | [126] |

| | | |
|--|--|--------------|
| 3,5 acide -dicaf- féoylquinique |  | [127] |
| Syringine |  | [128] |

Partie II :

Synthèse

Expérimentale

Chapitre III :

Analyse structurale

Partie1

I. L'analyse structurale des composés phénoliques des parties aériennes de la plante

Galactites elegans

Les parties aériennes du *Galactites elegans* contient un nombre considérable de composé bénéfique à savoir les composés phénoliques et les flavonoïdes qui agissent en temps d'antioxydants.

Parmi les travaux de recherche de constituants polyphénoliques des plantes algériennes, Tebboub Omar et *al* [105] ont étudiés les parties aériennes du *Galactites elegans* et rapportant l'isolément et l'élucidation structurale de 18 composés.

Leur étude se fait sur les extraits des parties aériennes de *Galactites elegans* collectées fin Mars 2013 (stade de floraison) à Hamma Bouziane, Constantine, Algérie. Des parties aériennes fraîches ont été séchées à l'abri du soleil jusqu'au poids constant à température ambiante.

I.1. Extraction et isolement

L'extraction de la plante *Galactites elegans* est faite en utilisant des différents solvants, selon l'organigramme présenté ci-dessus (**Figure-22-**)

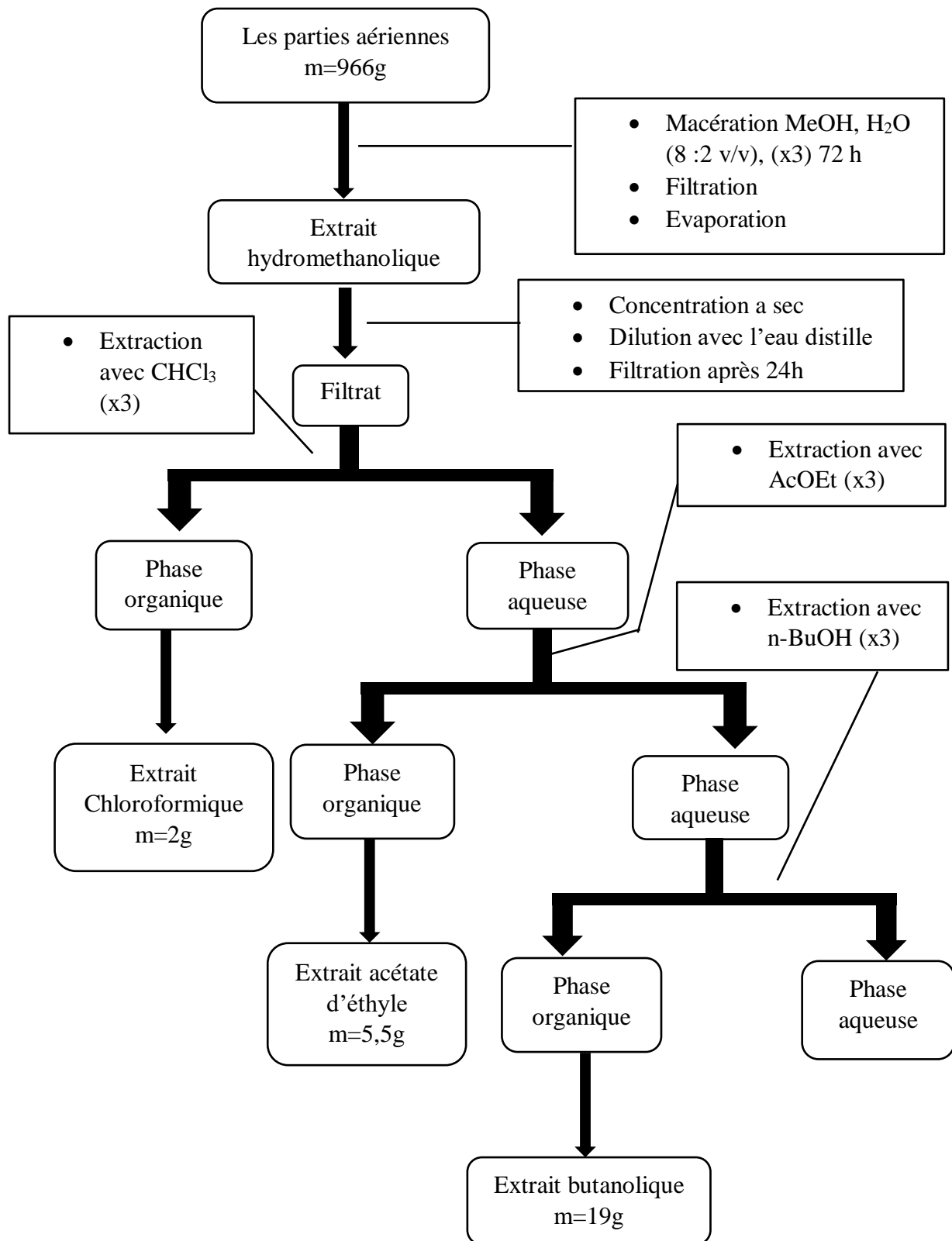


Figure-22- : Organigramme d'extraction de la partie aérienne de *Galactites elegans*

I.2. Séparation et purification

I.2.1. Séparation par CLHP

Les conditions de chromatographie liquide à haute performance CLHP [105] appliqué dans cette expérience est montré dans les points suivants :

- Colonne et injecteur shimadzu C18 μ phenomenex (30cm*7,8mm, 10 μ m eau, 2,0ml/min (phase inverse)
- Détecteur shimadzu RID-10A
- Pompe shimadzu LC-8A
- Débit 2ml/min

I.2.2. Traitement de l'extrait butanolique

Une partie de l'extrait de n-BuOH (2,79mg) a été fractionnée par chromatographie sur colonne à l'aide d'une colonne de Sephadex LH-20. Le système d'élution utilisée c'est le méthanol à 100% avec un fractionnement tous les 10 ml (1,1 ml/min). Ces fractions sont suivies et effectué par chromatographie sur couche mince de gel de silice (type 60, F-254 mesh, Merck) sur un support Aluminium. Les plaques sont éluée par deux systèmes d'élution :

1. Le premier plaque élué dans le système 1 qui continent trois solvants : CHCl₃, MeOH, H₂O (80 :18 :2 v/v/v)
2. La deuxième plaque élué dans le système 2 qui contient trois solvants : n-BuOH, AcOH, H₂O (60:15:25 v/v/v).

A la fin de l'élution, les plaques sont visualisées sous la lumière UV (254 et 365) et regroupés pour obtenir 26 fractions.

➤ Etude de la fraction F8

La fraction 8 a subit a une séparation par CLHP RP18 avec le MeOH, H₂O (37 :63, v/v) comme phase mobile d'un débit de 2,0 ml/min, six sous fractions sont obtenus. Le **tableau-14-** représente les deux composés identifiés [105] :

Tableau-14- : Résultat de séparation de la fraction 8

| Sous fraction | Temps de rétention tr (min) | La masse (mg) |
|---------------|--------------------------------|---------------|
| A1 | 8 | 8,1mg |
| A2 | 52 | 3,0mg |

➤ **Etude de la fraction F12**

La fraction 12 a subi une séparation par CLHP RP18 avec le MeOH, H₂O (35 :65, v/v) comme phase mobile d'un débit de 2,0 ml/min, On obtient six sous fractions [105]. Le meilleur sous fractions obtenues est donné dans le **tableau-15-**.

Tableau-15- : Résultat de séparation de la fraction 12

| Sous fraction | Temps de rétention tr (min) | La masse (mg) |
|---------------|--------------------------------|-------------------|
| A3 | 16 | 0,7mg produit pur |

➤ **Etude la fraction F14 :**

La fraction 14 a subi une séparation par CLHP préparative en utilisant le MeOH/H₂O : (2:3, v/v) comme phase mobile avec 6 injections le temps de l'injection est 150 min. On obtient 12 sous fractions [105]. Le meilleur sous fractions obtenues est donné dans le **tableau-16-**.

Tableau-16- : Résultat de séparation de la fraction 14

| Sous fraction | Temps de rétention tr (min) | La masse (mg) |
|---------------|--------------------------------|--|
| A4 | 34 | 5,7mg produit pur composé ²³ |

Partie II

I. Détermination structural des composés isolés de *Galactites elegans*

I.1. Le composé A1

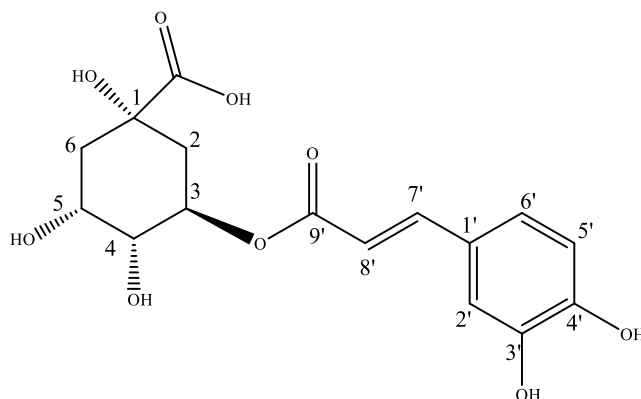


Figure-23- : La structure de composé **A1**

La formule moléculaire et poids moléculaire étaient $C_{16}H_{18}O_9$ et 354.31, respectivement.

Le spectre RMN 1H de ce composé enregistrés à 600 MHz dans MeOD (**Fig24**), indique la présence de :

- Des signaux attribuables à un noyau aromatiques trisubstitué résonant à $\delta H = 7.08$ (1H, s, H-2'), 6,93 (1H, d, 8,3, H-6'), 6, 80 (1H, d, 8,3, H-5').
- Deux signaux attribuables à une double liaison avec une géométrie *trans* résonant à $\delta H = 7,61$ (1H, d, $J=16,0$ Hz, H-7'), 6,30 (1H, d, $J=16,0$ Hz, H-8').
- Un singulier large à $\delta H = 5.40$ (1H, sl, H-5).
- Un singulet large a $\delta H = 4.20$ d'intégration 1H attribuable à H-3 (1H, sl, H-3).
- Un doublet à $\delta H 3.76$ ppm (1H, d, $J=8.1$ Hz, H-4).
- Des signaux à 1.98–2.26 (4H, m, H-2 et H-6).

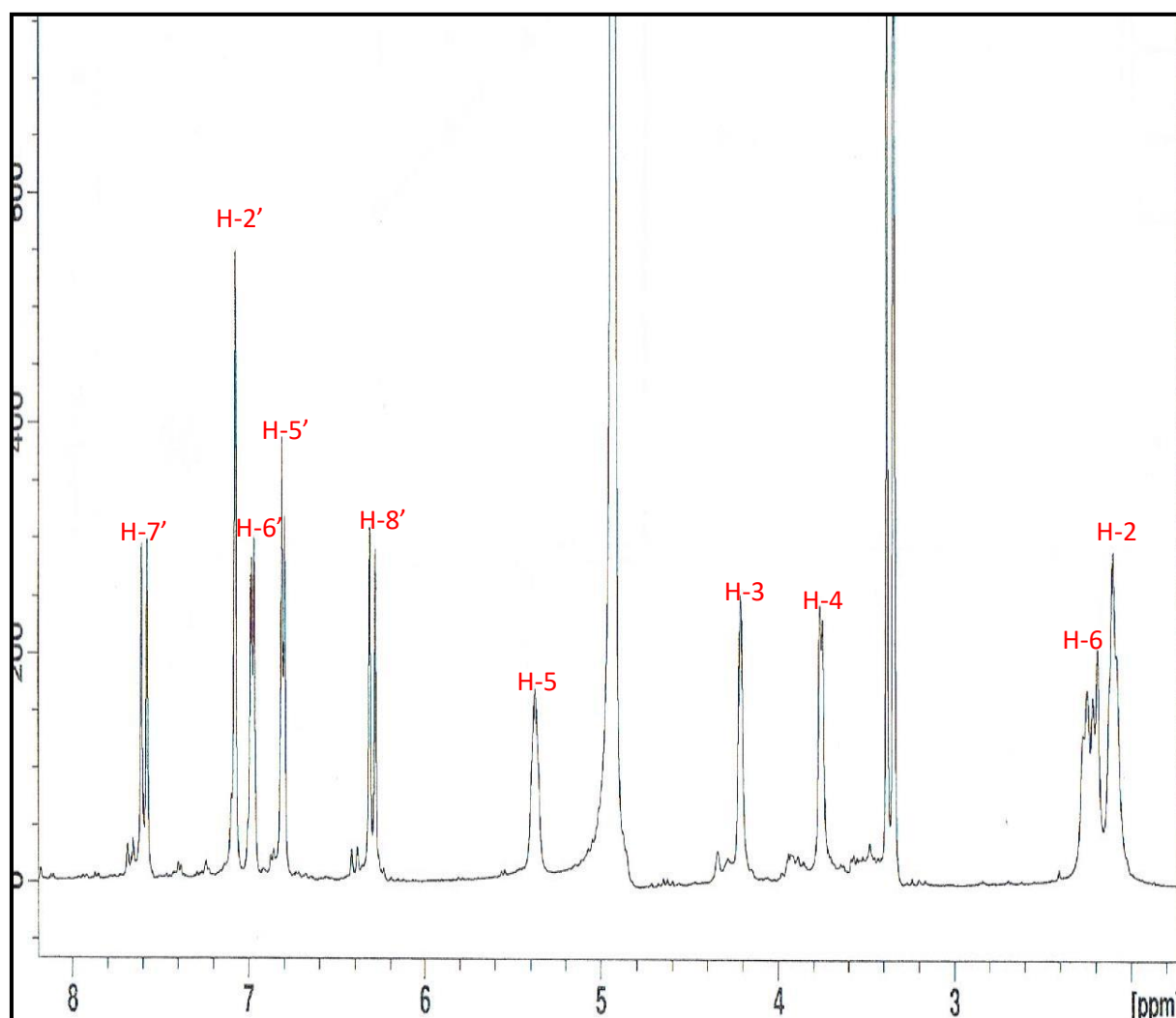


Figure-24- : Spectre RMN ^1H (600 MHz, MeOD) du composé **A1**

L'examen des spectres COSY ^1H - ^1H (**Fig25**) permet l'attribution des protons :

- Une tache de corrélation entre le proton H-7' $\delta\text{H}= 7,61$ ppm et un autre proton a $\delta\text{H}=6,30$ qui ne peut être que le proton H-8'.
- Une tache de corrélation entre le proton H-6' $\delta\text{H}= 6,93$ ppm et un autre proton a $\delta\text{H}=6,80$ qu'il est le proton H-5'.
- Une tache de corrélation entre le proton H-5 $\delta\text{H}= 5,40$ ppm et un autre proton à $\delta\text{H}= 3,76$ ppm qui ne peut être que le proton H-4.
- Une tache de corrélation entre le proton H-4 $\delta\text{H}= 3,76$ ppm et un autre proton à $\delta\text{H}= 4,20$ ppm qui ne peut être que le proton H-3.

- Une tache de corrélation entre le proton H-5 et un autre proton à $\delta_H = 2,26$ ppm qui ne peut être que le proton H-6.

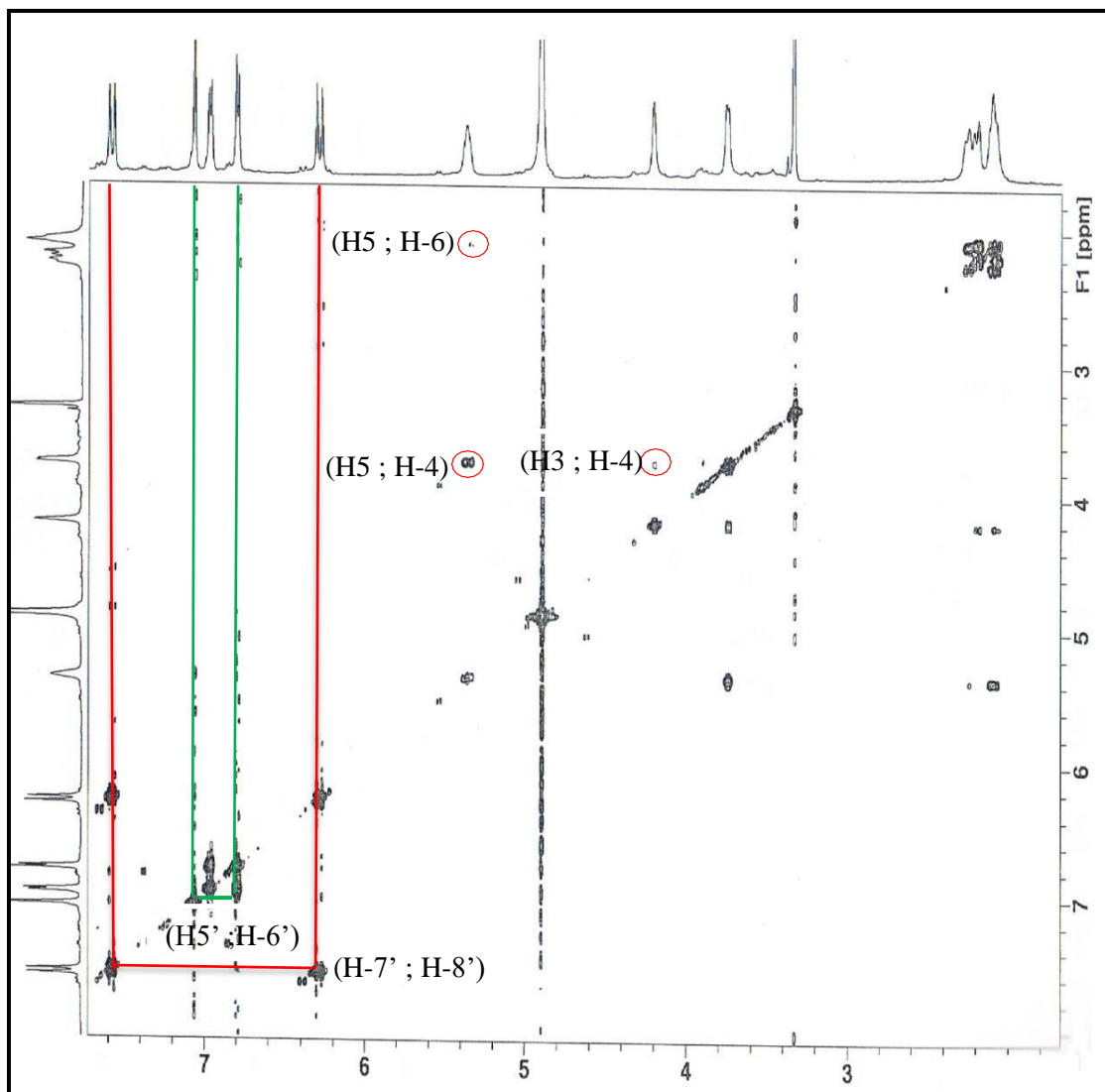


Figure-25- : Spectre COSY¹H-¹H (600 MHz, MeOD) du composé A1

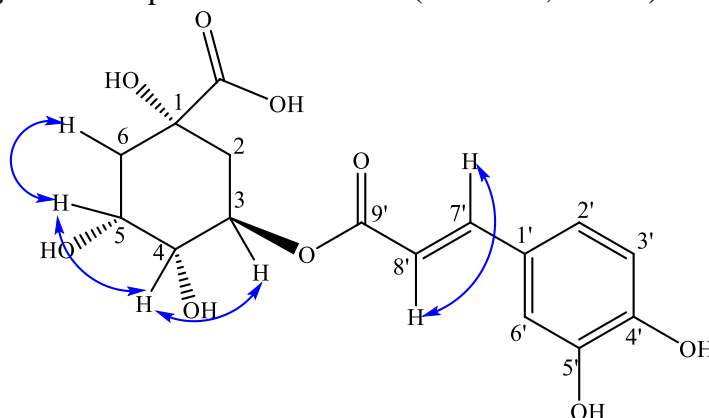


Figure-26- : Les différentes corrélations COSY du composé A1

L'examen des spectres HSQC (**Fig27**) permet l'attribution des carbones qui portent des protons :

- Une tache de corrélation entre H-7' et l'atome de carbones à C-7' $\delta_c = 145,1$ ppm.
- Une tache de corrélation entre H-2' et l'atome de carbones à C-2' $\delta_c = 113,8$ ppm.
- Une tache de corrélation entre H-6' et l'atome de carbones à C-6' $\delta_c = 120,1$ ppm.
- Une tache de corrélation entre H-5' et l'atome de carbones à C-5' $\delta_c = 115,0$ ppm.
- Une tache de corrélation entre H-8' et l'atome de carbones à C-8' $\delta_c = 112,6$ ppm.
- Une tache de corrélation entre H-5 et l'atome de carbones à C-5 $\delta_c = 69,9$ ppm.
- Une tache de corrélation entre H-3 et l'atome de carbones à C-3 $\delta_c = 69,6$ ppm.
- Une tache de corrélation entre H-4 et l'atome de carbones à C-4 $\delta_c = 72,8$ ppm.
- Une tache de corrélation entre H-6 et l'atome de carbones à C-6 $\delta_c = 36,4$ ppm.
- Une tache de corrélation entre H-2 et l'atome de carbones à C-2 $\delta_c = 36,4$ ppm.

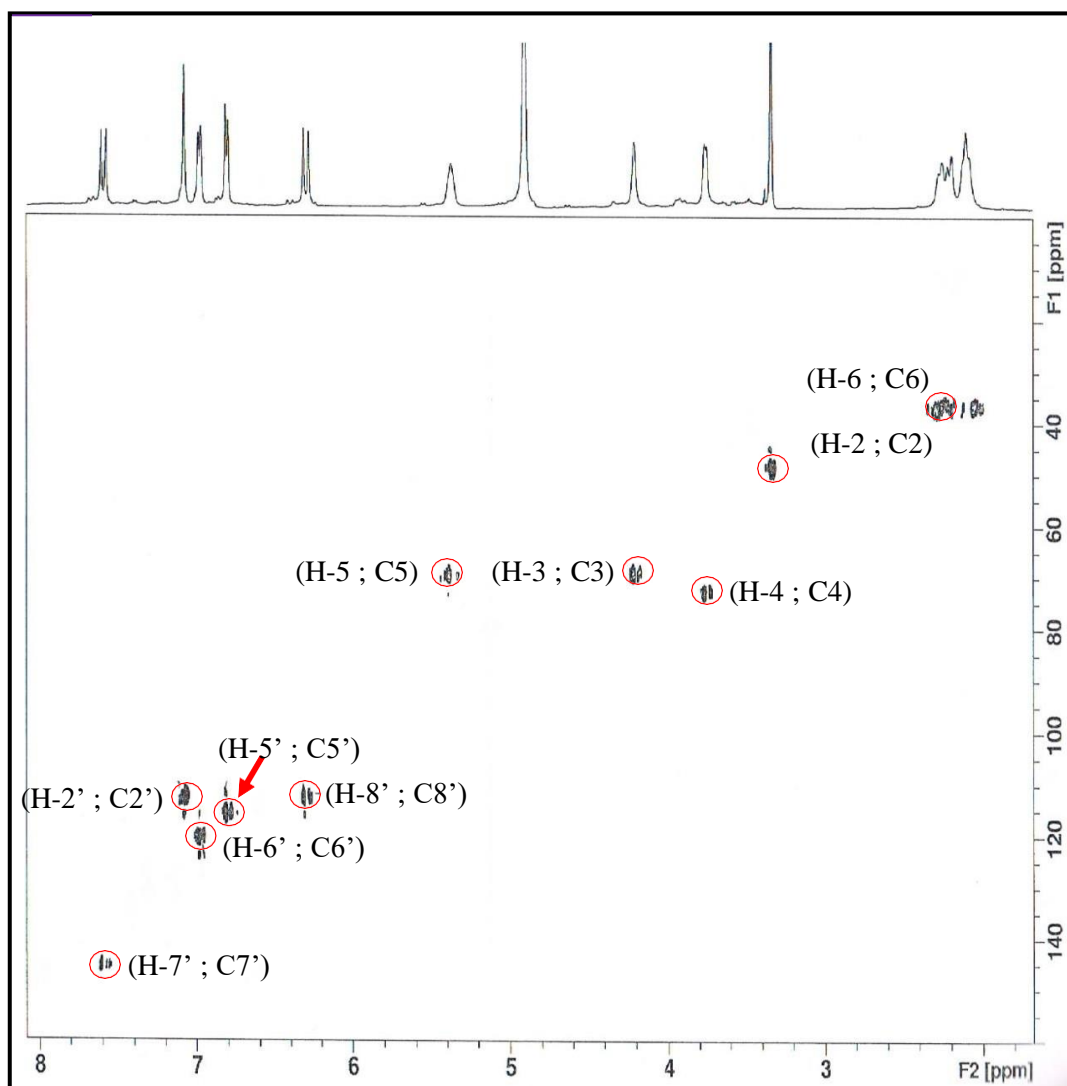


Figure-27- : Spectre HSQC (600 MHz, 150 MHz MeOD) du composé **A1**

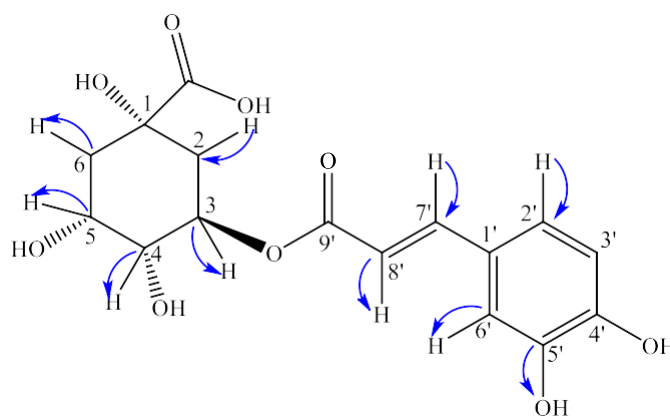


Figure-28- : Les différentes corrélations HSQC du composé **A1**

L'étude du spectre relatif à l'expérience HMBC (**Fig29**) met en évidence les corrélations proton-carbone à longue distance, permettant de tirer les indications suivantes :

Le proton H-7' montre trois taches de corrélation :

- La première avec l'atome de carbone à $\delta = 168,7$ ppm attribuable à C-9'.
- La deuxième avec l'atome de carbone à $\delta = 127,8$ ppm attribuable à C-1'.
- La troisième avec l'atome de carbone à $\delta = 112,6$ ppm qui ne peut être attribué qu'à C-8'.

Le proton H-2' montre trois taches de corrélation :

- La première confirme le carbone à $\delta = 145,1$ ppm attribuable à C-7'.
- La deuxième confirme le C-1' à $\delta = 146,8$ ppm.
- La troisième avec un atome de carbone à $\delta = 127,8$ ppm qui ne peut être attribué qu'au C-3'.

Le proton H-6' montre trois taches de corrélation :

- La première l'atome de carbone à $\delta = 145,1$ ppm attribuable à C-7'.
- La deuxième confirme le C-1' à $\delta = 127,8$ ppm.
- La troisième avec un atome de carbone à $\delta = 116,54$ ppm qui ne peut être attribué qu'au C-5'.

Le proton H-5' montre deux taches de corrélation :

- La première avec l'atome de carbone à $\delta = 113,8$ ppm attribuable à C-2'.
- La deuxième avec l'atome de carbone à $\delta = 127,8$ ppm attribuable à C-1'.

Le proton H-8' montre deux taches de corrélation :

- La première avec l'atome de carbone à $\delta = 145,1$ ppm attribuable à C-7'.
- La deuxième avec l'atome de carbone à $\delta = 168,7$ ppm attribuable à C-9'.

Le proton H-5 montre quatre taches de corrélation :

- La première l'atome de carbone à $\delta = 168,7$ ppm attribuable à C-9'.
- La deuxième confirme le C-4 à $\delta = 72,8$ ppm.
- La troisième avec un atome de carbone à $\delta = 69,6$ ppm qui ne peut être attribué qu'au C-3.
- La quatrième avec l'atome de carbone à $\delta = 36,4$ ppm attribuable à C-6 et C-2.

Le proton H-3 montre trois taches de corrélation :

- La première l'atome de carbone à $\delta = 72,8$ ppm attribuable à C-4.
- La deuxième confirme le C-5 à $\delta = 69,9$ ppm.
- La troisième avec un atome de carbone à $\delta = 36,4$ ppm qui ne peut être attribué qu'au C-6 et C-2.

Le proton H-4 montre trois taches de corrélation :

- La première l'atome de carbone à $\delta = 69,9$ ppm attribuable à C-5.
- La deuxième confirme le C-3 à $\delta = 69,6$ ppm.
- La troisième avec un atome de carbone à $\delta = 36,4$ ppm qui ne peut être attribué qu'au C-6 et C-2.

Le proton H-6 montre cinq taches de corrélation :

- La première l'atome de carbone à $\delta = 177,3$ ppm attribuable à C-7.
- La deuxième confirme le C-1 à $\delta = 76,3$ ppm.
- La troisième confirme le C-4 à $\delta = 72,8$ ppm.
- La quatrième confirme le C-5 à $\delta = 69,9$ ppm.
- La cinquième avec un atome de carbone à $\delta = 36,4$ ppm qui ne peut être attribué qu'au C-2.

Le proton H-2 montre deux taches de corrélation :

- La première l'atome de carbone à $\delta = 177,3$ ppm attribuable à C-7.
- La deuxième confirme le C-1 à $\delta = 76,3$ ppm.
- La quatrième confirme le C-3 à $\delta = 69,6$ ppm.

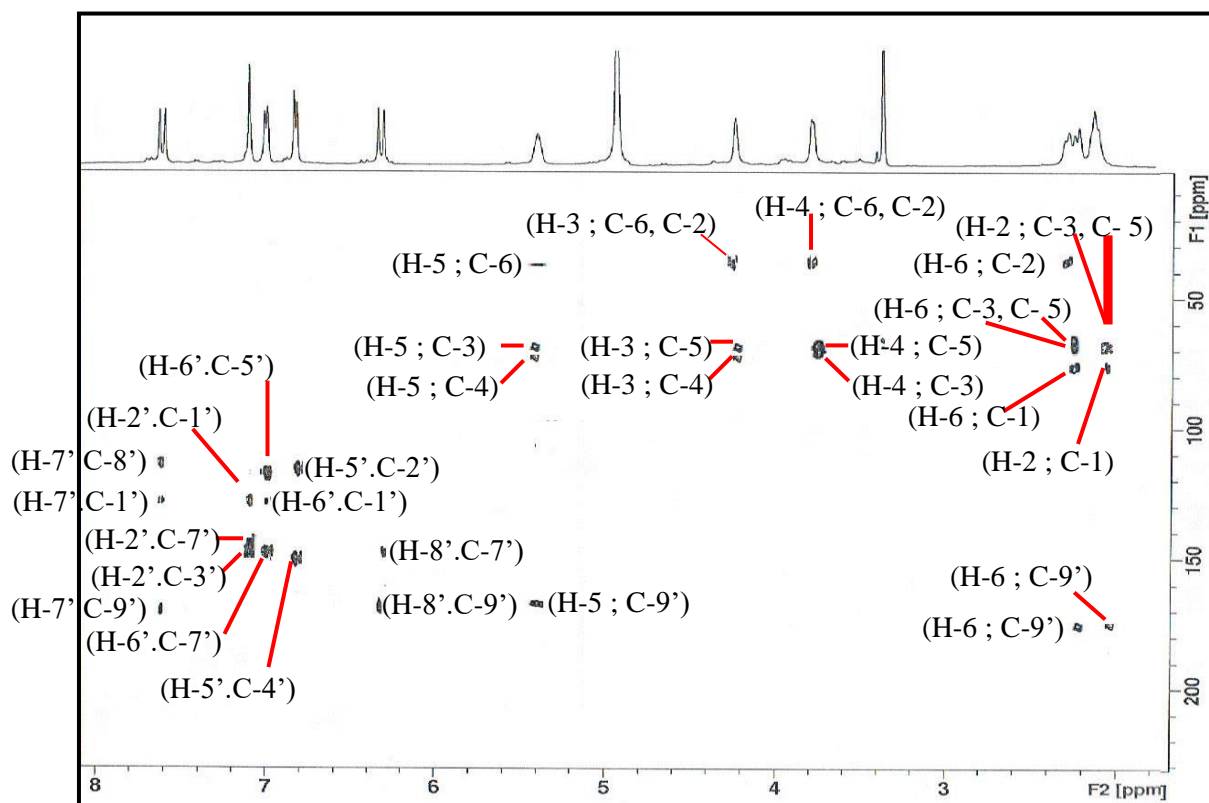


Figure-29- : Spectre HMBC (600 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé **A1**

A partir de toutes ces données en comparant celles de la littérature [129], la structure du composé **A1** a donc pu être établie comme étant : **acide chlorogénique**

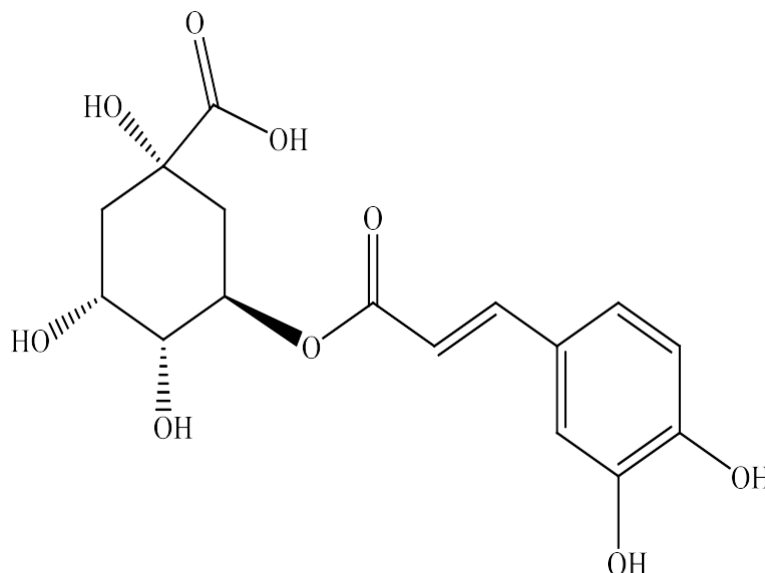
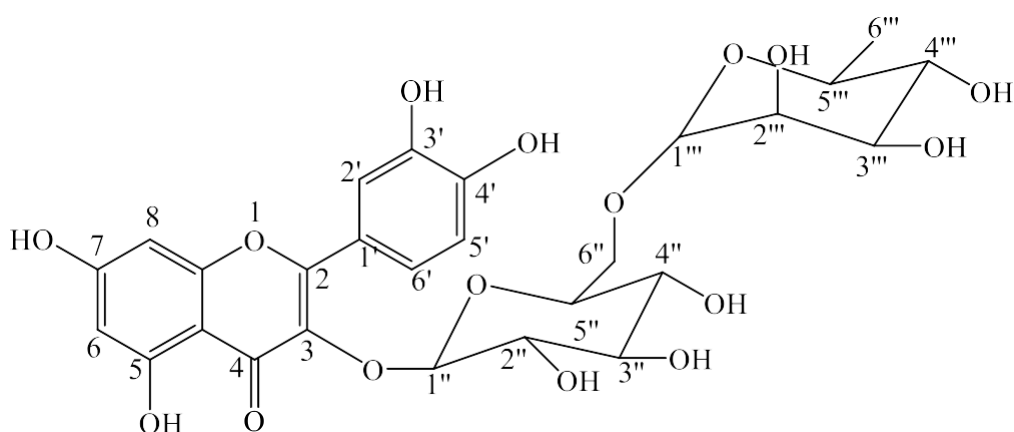


Figure-30- : la structure de l'**acide chlorogénique**

L'ensemble des spectres a permis de faire l'attribution de tous les noyaux, ainsi toutes les données sont rassemblées dans le **tableau -17-**

Tableau-17- : Données de la spectrométrie RMN ^1H (DMSO) ; 600 MHzRMN ^{13}C (MeOD ; 150 MHz de A1

| <i>Position</i> | <i>C δ (ppm)</i> | <i>δH (ppm), (m, J (Hz))</i> |
|-----------------|------------------------------------|---|
| 1 | 76.3 | - |
| 2 | 36,4 | 1.98–2.26 (2H, m) |
| 3 | 69,6 | 4.20 (1H, sl) |
| 4 | 72,8 | (1H, d, $J=8.1$ Hz) |
| 5 | 69,9 | 5.40 (1H, sl) |
| 6 | 36,4 | 2.26 (2H, m) |
| 7 | 177.3 | - |
| 1' | 127.8 | - |
| 2' | 113,8 | 7.08 (1H, s) |
| 3' | 146.8 | - |
| 4' | 149.5 | - |
| 5' | 115,0 | 6, 80 (1H, d, 8,3 Hz) |
| 6' | 120,1 | 6,93 (1H, d, 8,3 Hz) |
| 7' | 145,1 | 7,61 (1H, d, $J=16,0$ Hz) |
| 8' | 112,6 | 6,30 (1H, d, $J=16,0$ Hz) |
| 9' | 168.7 | - |

I.2. Le composé A2**Figure-31-** : La structure de composé A2

Le composé **A2** se présente sous forme d'une poudre jaune, Le spectre de RMN ^1H est sont étalements montrent (Fig. 32, 33, 34) du composé **A2** montrent les cinq protons aromatiques caractéristiques de la quercétine.

- Deux signaux de deux protons aromatiques à $\delta\text{H} = 6,25$ (1H, *d*, $J = 2,1$ Hz) et 6,40 (1H, *d*, $J = 2,1$ Hz), attribués respectivement aux protons H-6 et H-8 du cycle A d'un flavonoïde substitué en C-5 et C-7. Ceci est confirmé par expérience COSY ^1H - ^1H (Fig35).
- trois signaux déblindés résonant à $\delta\text{H} = 7,74$ (1H, *d*, $J = 2,1$ Hz), 7,65 (1H, *d*, $J = 8,5 ; 2,1$ Hz) et 6,97 (1H, *d*, $J = 8,5$ Hz), attribuables respectivement aux protons H-2', H-6' et H-5' du cycle B bisubstitué en positions 3' et 4' comme le montre également l'expérience COSY ^1H - ^1H (Fig35).

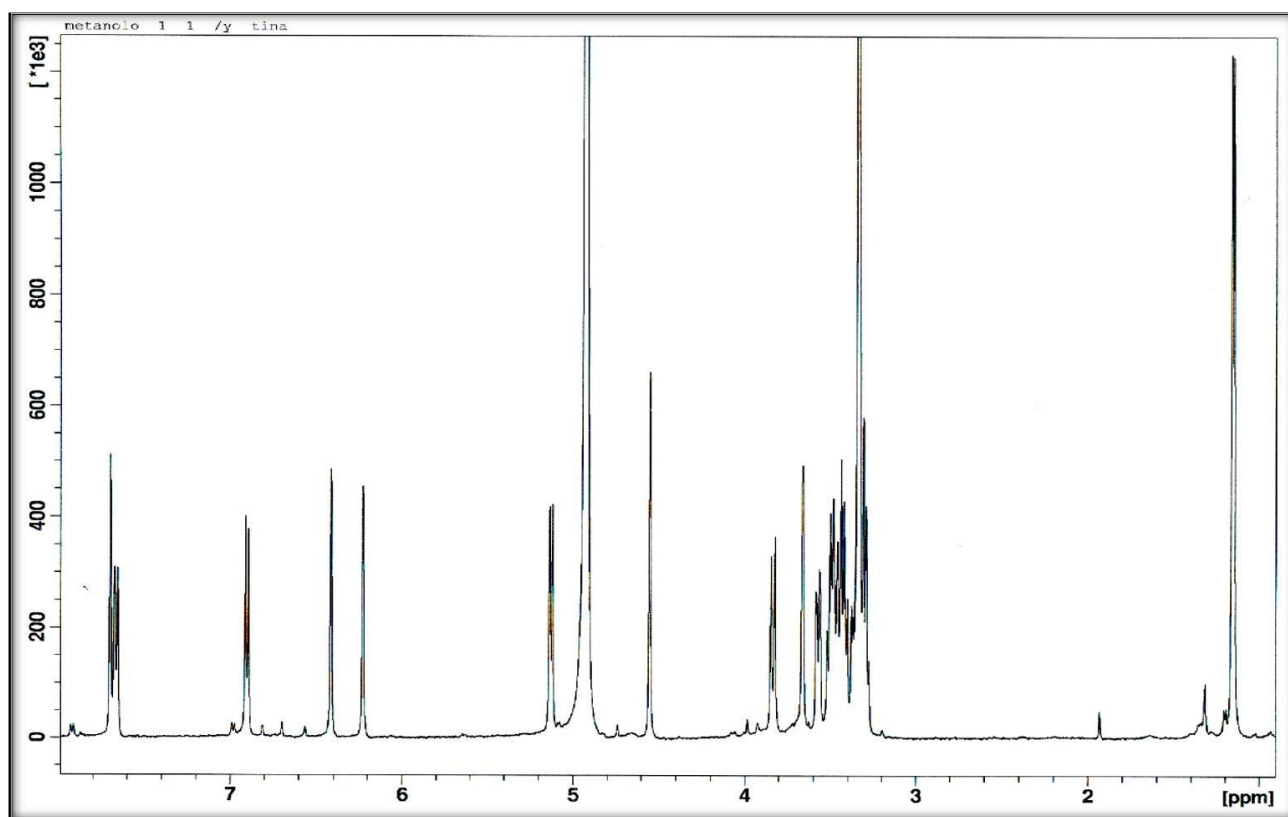


Figure-32- : Spectre RMN ^1H (500 MHz, MeOD) du composé **A2**

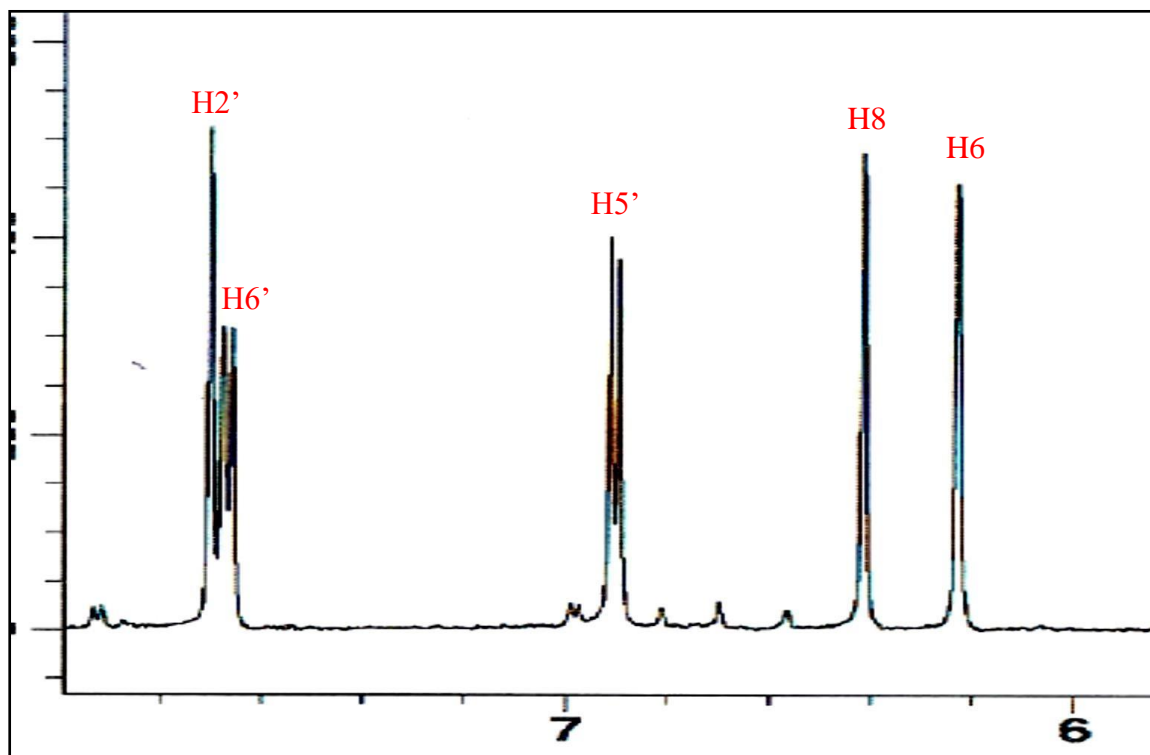


Figure-33- : Spectre RMN ^1H (500 MHz, MeOD) du composé A2
(Proton aromatique).

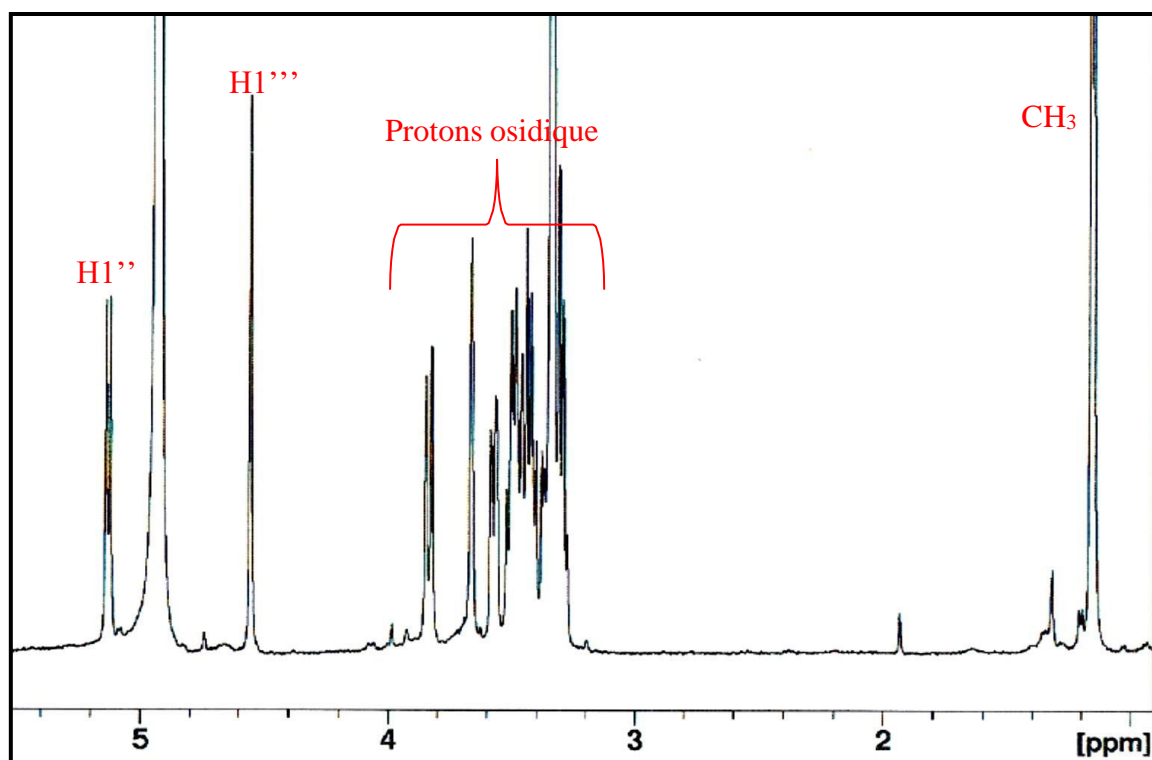


Figure-34- : Spectre RMN ^1H (500 MHz, MeOD) du composé A2
(Proton de sucres).

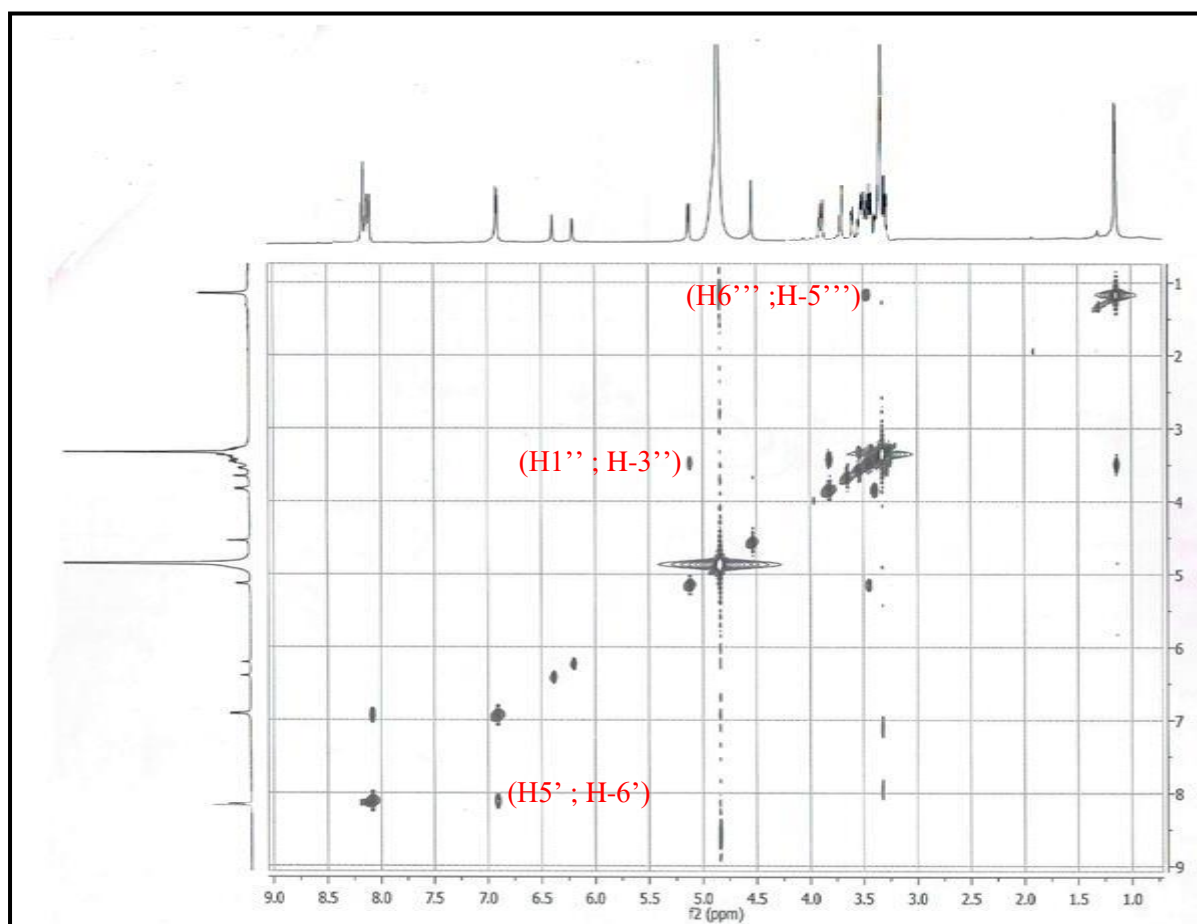


Figure-35- : Spectre COSY H-H du composé **A2**

En dehors des signaux correspondants à la génine, l'analyse du spectre de RMN ^1H permet de repérer deux protons anomériques résonnant à $\delta\text{H} = 5,08$ (d , $J = 7,7$ Hz) et $\delta\text{H} = 4,60$ ppm (d , $J = 1,4$ Hz). Ces données suggèrent la présence de deux unités osidiques.

L'analyse des spectres COSY ^1H - ^1H (spectre 8) et HSQC (**Fig36**) permet d'identifier les deux sucres comme étant :

- un β -D-glucopyranose à partir de l'anomère à $\delta\text{H} = 5,08$ ppm, caractérisées par les protons H-2'', H-3'', H-4'' et H-5'' trans-diaxiaux.
- un α -L-rhamnopyranose à partir de l'anomère à 4,60 ppm, caractérisées par son méthyl doublet à $\delta\text{H} = 1,28$ ppm (d , $J = 6,2$ Hz, H- 6''').
- A partir des protons cités précédemment, l'expérience hétéronucléaire HSQC permet d'identifier les carbones porteurs des protons (spectre 9). Ces derniers sont repérés à δc 100,86 (C-6), 95,97(C-8), 116,66 (C-2'), 123,53 (C-6'), 113,49 (C-5'), 104,81(C-1'') et 100,80(C-1''').

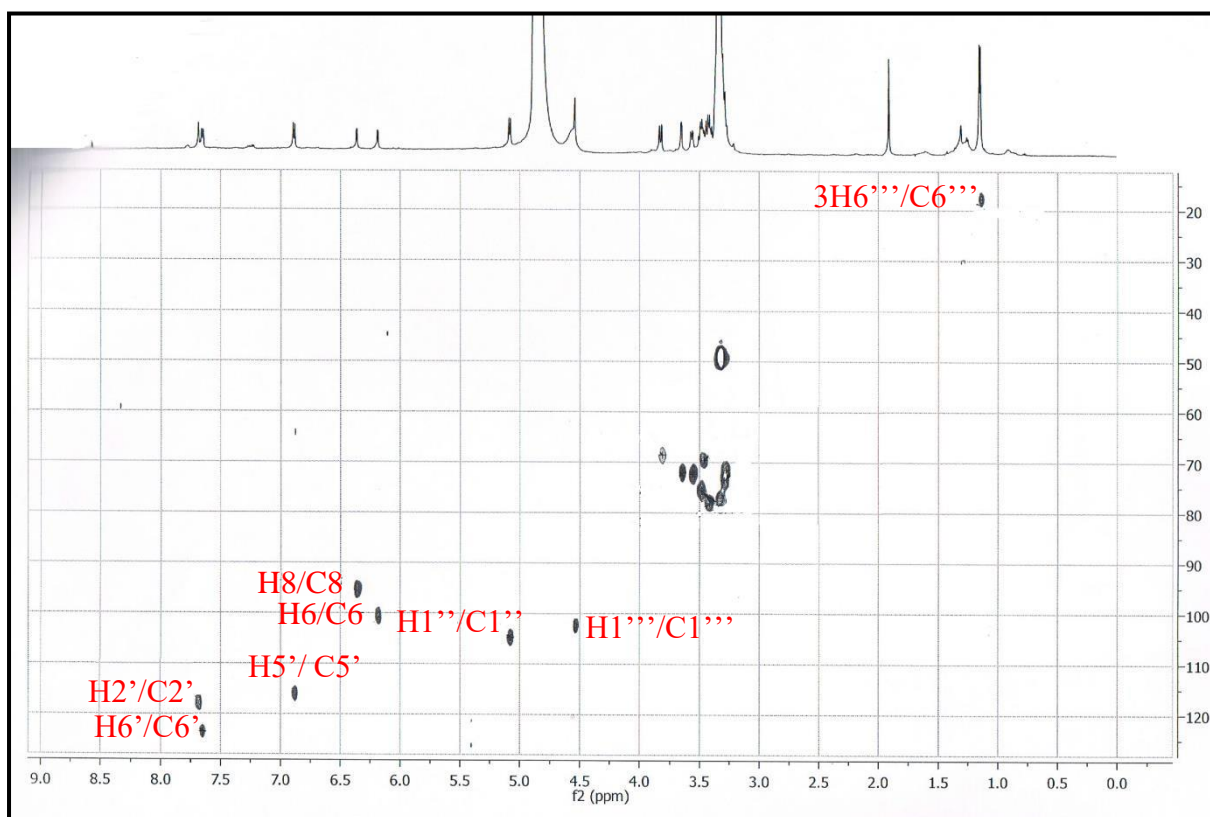


Figure-36- : Spectre HSQC du composé A2

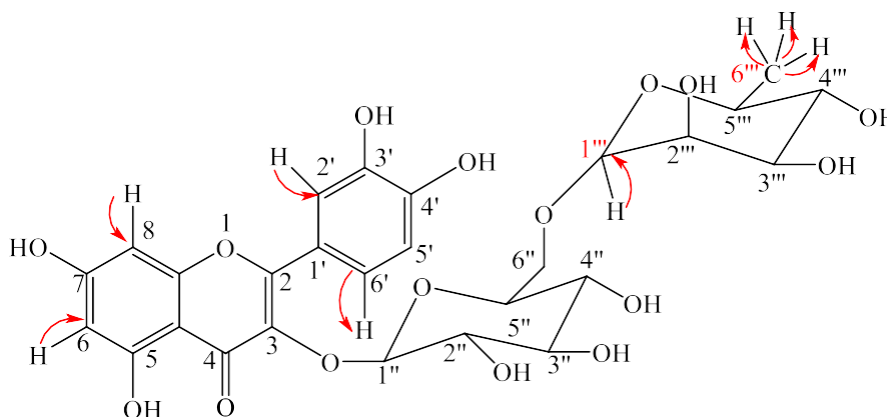


Figure-37- : Les différentes corrélations HSQC du composé A2

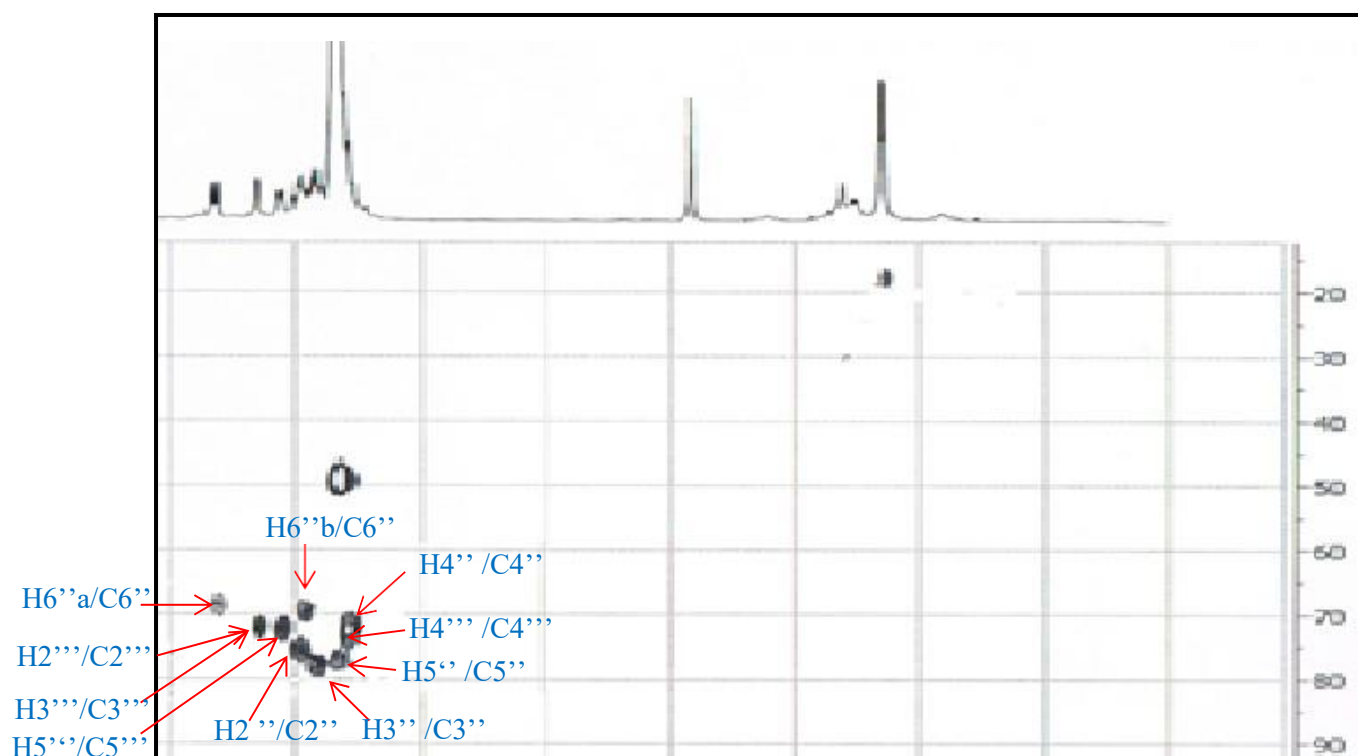


Figure-38- : Spectre HSQC la partie osidique du composé **A2**

Le spectre HMBC (**Fig39**) montre des corrélations H-C entre le proton H-6'' du glucose (Glc), et le carbone C-1''' du rhamnose (Rha) et inversement entre le carbone C-6'' du glucose (dont le déplacement chimique déblindé à $\delta_c = 68,5$ ppm indique qu'il porte un substituant OR) et le proton H-1''' du rhamnose (Rha) mettant en évidence la liaison : α -rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β - glucopyranosyl (rutinose). Le rutinose est fixé sur la génine quercétine en position 3 comme atteste la corrélation HMBC entre le carbone C-3 et le proton anomérique H-1'' du glucose.

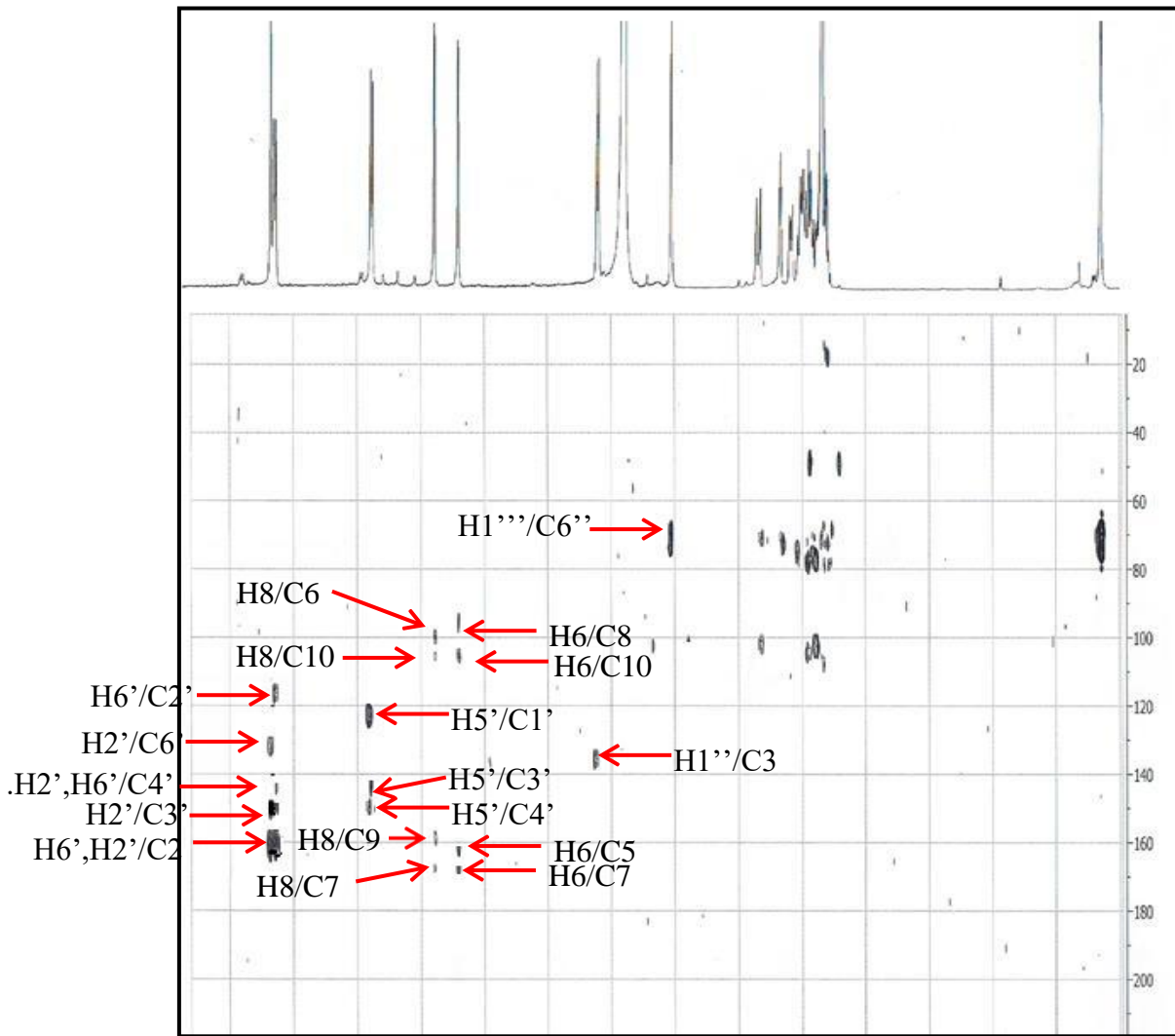


Figure-39- : Spectre HMBC du composé A2

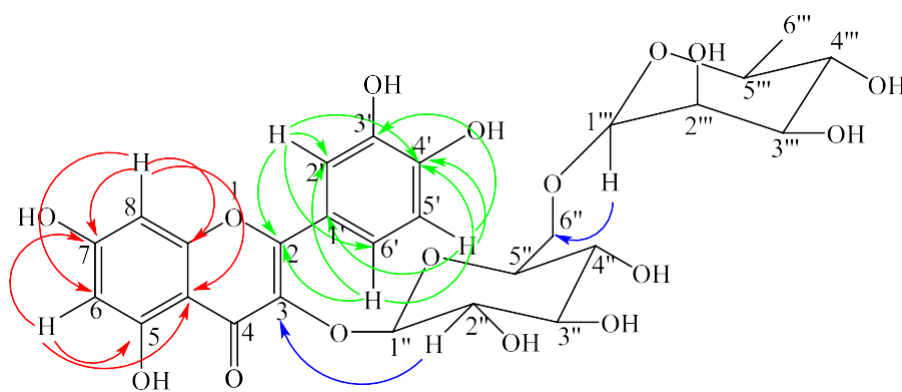


Figure-40- : les différentes corrélations HMBC du composé A2

Toute cette analyse spectrale permet d'assigner sans ambiguïté pour ce flavonoïde [130], structure suivante : quercétine 3-O-(6- α -L-rhamnopyranosyl)- β -D-glucopyranoside.

Ce composé est connu sous le nom de **rutine (quercétine-3-O-rutinoside)**.

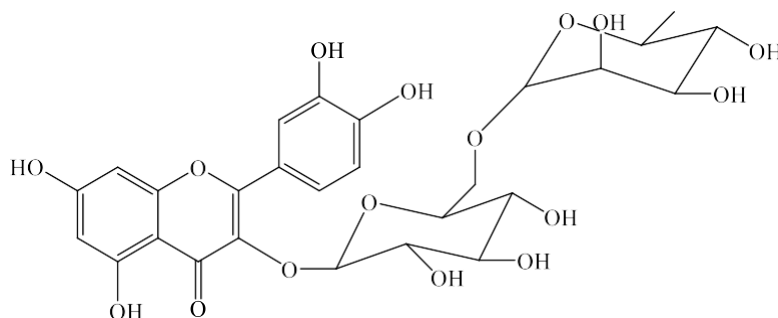


Figure-41- : la structure de la **rutine**

Les déplacements chimiques des protons et carbones de ce composé sont rassemblés dans le **tableau-18-** suivante :

Tableau-18- : Déplacements chimiques RMN ^1H (500 MHz) et ^{13}C (125 MHz) du composé **A2** dans MeOD

| <i>Position</i> | <i>δ_c (ppm)</i> | <i>δH (ppm), (m, J (Hz))</i> |
|-----------------|------------------------------------|---|
| 2 | 159,7 | - |
| 3 | 136,8 | - |
| 4 | 179,6 | - |
| 5 | 162,3 | - |
| 6 | 100,8 | 6,25 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2,1 Hz) |
| 7 | 165,3 | - |
| 8 | 95,9 | 6,40 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2,1 Hz) |
| 9 | 158,7 | - |
| 10 | 106,8 | - |
| 1' | 122,9 | - |
| 2' | 116,6 | 7,74 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2,1 Hz) |
| 3' | 145,7 | - |
| 4' | 150,0 | - |
| 5' | 113,49 | 6,97 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8,5 Hz) |
| 6' | 123,5 | 7,65 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 8,5 ; 2,1 Hz) |
| 1'' | 104,8 | 5,08 (<i>d</i> , <i>J</i> = 7,7 Hz) |
| 2'' | 75,9 | 3,49 |
| 3'' | 78,0 | 3,4 |
| 4'' | 71,5 | 3,29 |

| | | |
|-------|--------|--------------------------------------|
| 5'' | 77,4 | 3,30 |
| 6''-a | 68,5 | 3,81 |
| 6''-b | | 3,46 |
| 1''' | 100,80 | 4,60 (<i>d</i> , <i>J</i> = 1,4 Hz) |
| 2''' | 71,0 | 3,70 |
| 3''' | 71,0 | 3,70 |
| 4''' | 73,6 | 3,28 |
| 5''' | 69,9 | 3,60 |
| 6''' | 16,3 | 1,28 |

I.3. Le composé A3

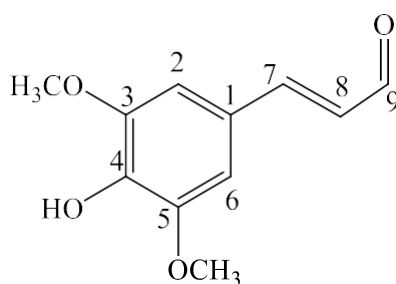


Figure-42- : La structure de composé A3

Le spectre RMN ^1H de ce composé enregistré à 600 MHz dans MeOD (**Fig43**)

Indique la présence de :

- Un signal d'intégration 2H attribuables à un noyau aromatique tétrasubstitué résonne à $\delta\text{H} = 7.02\text{ppm}$ (2H, s) attribuable aux protons H-2 et H-6.
- Deux signaux attribuables à une doubles liaison avec une géométrie *trans* résonant à $\delta\text{H} = 7,62\text{ppm}$ (1H, *d*, *J*=16,0 Hz, H-7), 6,75 (1H, *dd*, *J*=16,0 ; 8 Hz, H-8).
- Un doublet à $\delta\text{H} = 9.60$ (1H, *d*, *J*=8.0 Hz) attribuable à H-9 d'une fonction aldéhyde.
- Un singulier à $\delta\text{H} = 3.91\text{ppm}$ d'intégration 6H attribuable à deux méthoxyles.

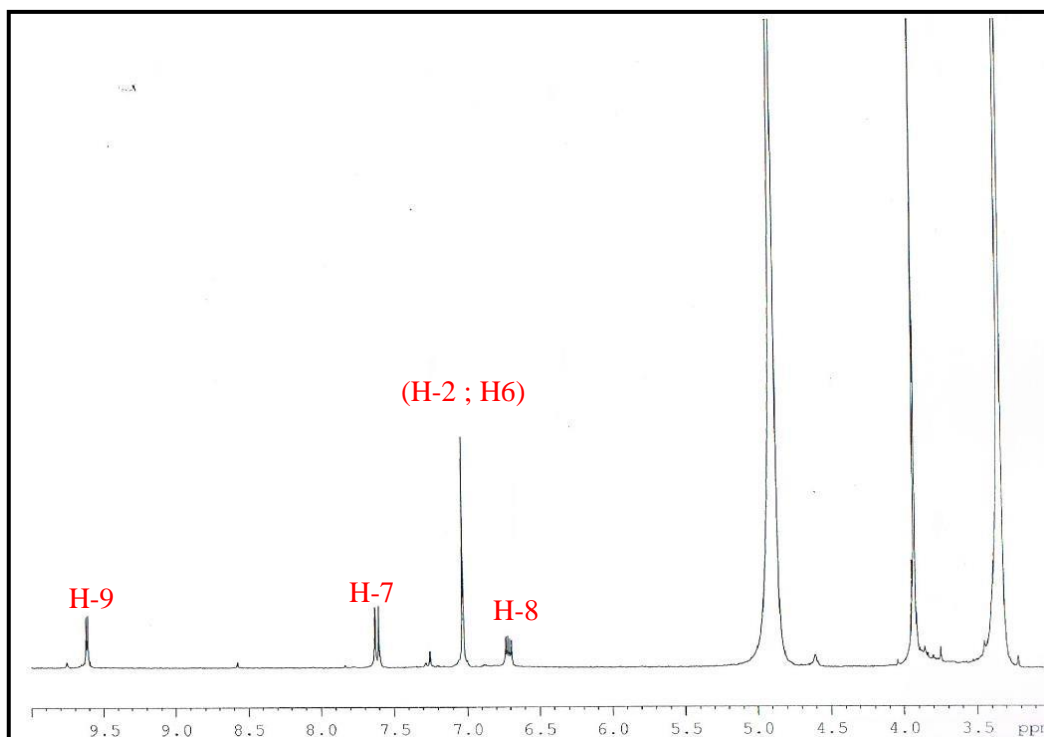


Figure-43- : Spectre NMR ^1H (600 MHz, MeOD) du composé **A3**

L'examen des spectres HSQC (**Fig44**) permet l'attribution des carbones qui portent des protons :

- Une tache de corrélation entre H-9 et l'atome de carbones à C-9 $\delta_c = 195,5$ ppm.
- Une tache de corrélation entre H-8 et l'atome de carbones à C-8 $\delta_c = 155,7$ ppm.
- Une tache de corrélation entre H-7 et l'atome de carbones à C-7 $\delta_c = 155,7$ ppm.
- Une tache de corrélation entre (H-2 ; H-6) et l'atome de carbones (C-2 ; C-6) à $\delta_c = 126,7$ ppm.
- Une tache de corrélation entre les protons des deux méthoxyles et l'atome de carbone à $\delta_c = 56,5$ ppm.

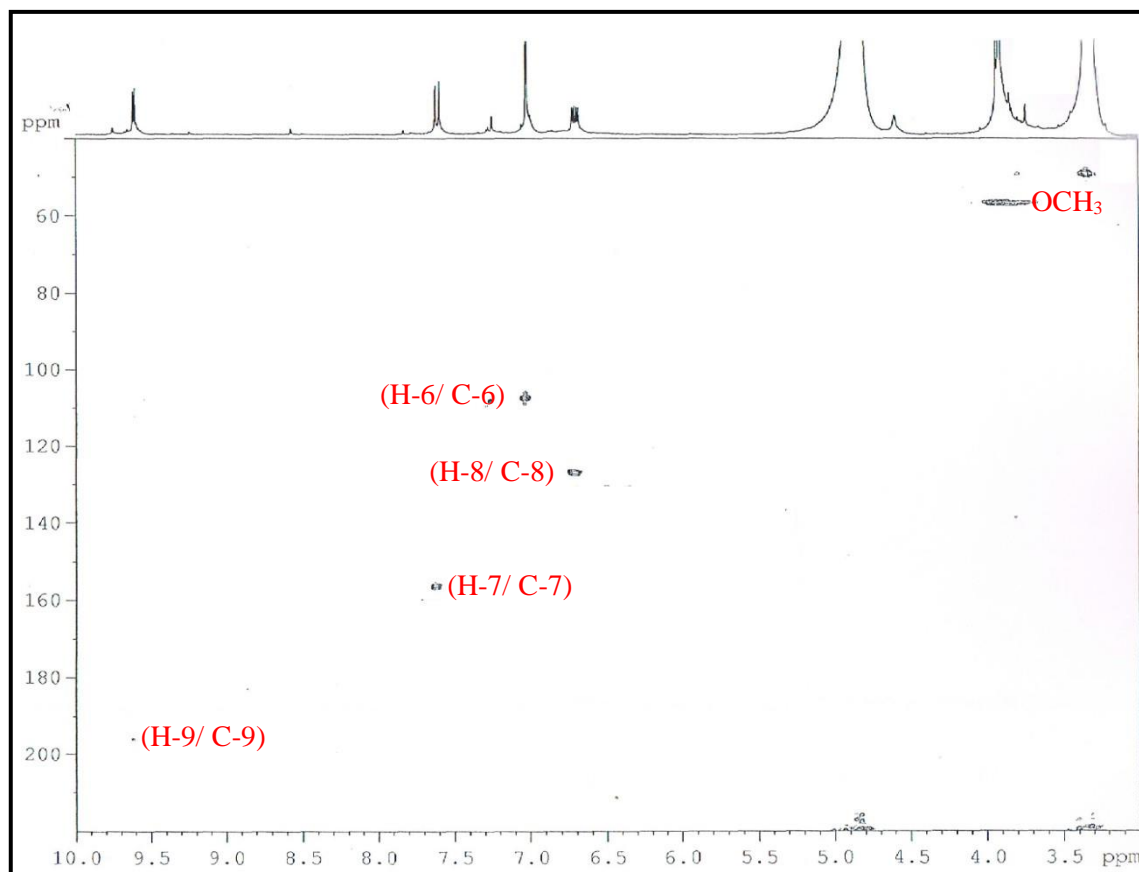


Figure-44- : Spectre HSQC (600 MHz, 150 MHz, MeOD) du composé **A3**

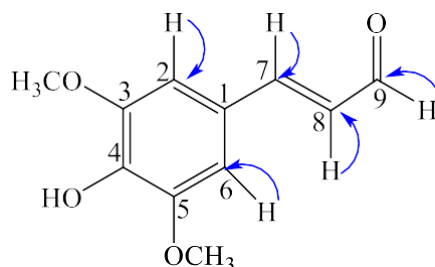


Figure-45- : Les différentes corrélations HSQC du composé **A3**

L'étude du spectre relatif à l'expérience HMBC (**Fig46**) met en évidence les corrélations proton-carbone à longue distance, permettant de tirer les indications suivantes :

Le proton H-9 montre une tache de corrélation à $\delta_c=126,7$ ppm attribuable à C-7.

Le proton H-7 montre deux taches de corrélation :

- La première avec l'atome de carbone à $\delta_c= 195,5$ ppm attribuable à C-9.
- La deuxième avec l'atome de carbone à $\delta_c= 107,3$ ppm attribuable à C-2 et C-6.

Les protons H-2 et H-6 montrent quatre taches de corrélation :

- La première confirme le carbone à $\delta_c=154,0$ ppm attribuable à C-8.
- La deuxième confirme le C-3 et C-5 à $\delta_c= 147,9$ ppm.
- La troisième confirme le C-4 à $\delta_c= 139,6$ ppm.

- La quatrième avec un atome de carbone à $\delta_c = 106,8 \text{ ppm}$ qui ne peut être attribué qu'au C-6 et C-2.

Les protons de OCH_3 montrent une tache de corrélation à $\delta_c = 147,9 \text{ ppm}$ attribuable à C-3 et C-5.

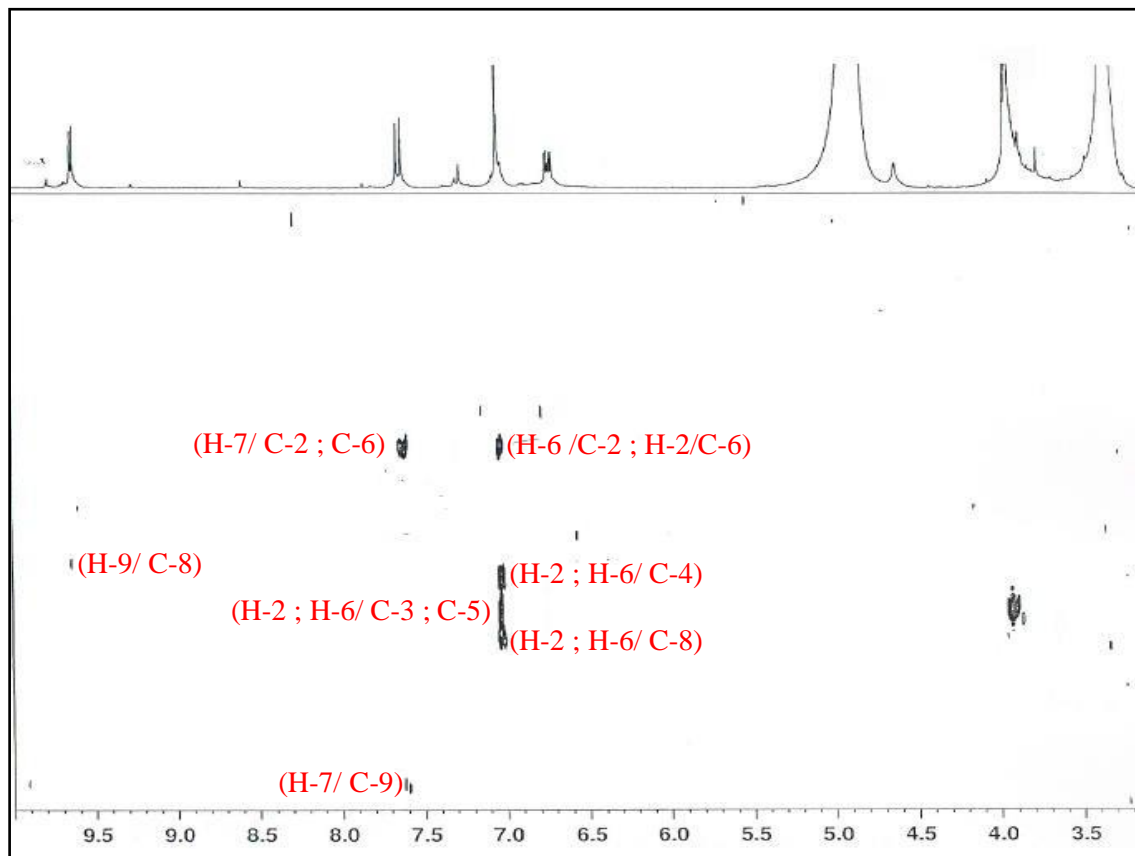


Figure-46- : Spectre HMBC (600 MHz, CD_3OD , δ ppm) du composé **A3**

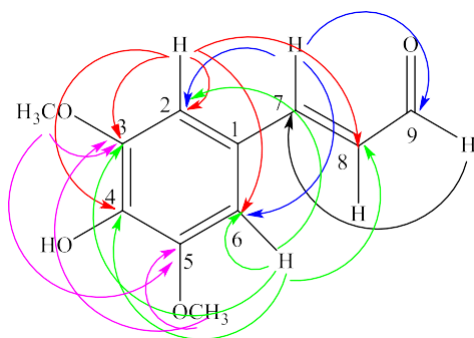


Figure-47- : Les différentes corrélations HMBC du composé **A3**

A partir de toutes ces données en comparaison avec les données de la littérature [131], la structure du composé **A3** a donc pu être établie comme étant : **Sinapaldehyde**

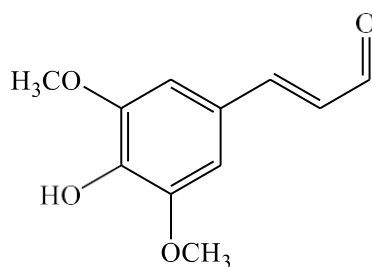


Figure-48- : La structure de Sinapaldehyde

L'ensemble des spectres a permis de faire l'attribution de tous les noyaux, ainsi toutes les données sont rassemblées dans le **tableau-19-** suivante :

Tableau-19- : Données de la spectrométrie RMN ^1H (DMSO) ; 600 MHz

RMN ^{13}C (MeOD ; 150 MHz de **A3**)

| <i>Position</i> | <i>C δ (ppm)</i> | <i>δH (ppm), (m, J (Hz))</i> |
|------------------------|------------------------------------|---|
| 1 | 133,0 | - |
| 2 | 107,3 | 6,71s |
| 3 | 147,3 | - |
| 4 | 150,0 | - |
| 5 | 147,3 | - |
| 6 | 127,3 | 7,01s |
| 7 | 126,6 | 6,75(d, J=16Hz) |
| 8 | 155,7 | 6,62 (dd, J=16,0; 8,0 Hz) |
| 9 | 195,5 | 4,00(d, J=8,0Hz) |
| <i>OCH₃</i> | 56,5 | 3,91 |

I.4. Le composé A4

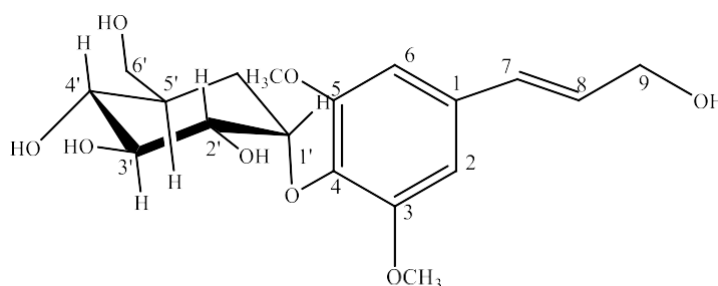


Figure-49- : La structure de composé A4

Le spectre RMN ^1H de ce composé enregistré à 500 MHz dans MeOD (**Fig50**), indique la présence de :

- Un signal d'intégration 2H attribuables à un noyau aromatique tétrasubstitué résonne à $\delta\text{H}= 6.76$ (2H, s,) attribuable aux protons H-2 et H-6.
- Deux signaux attribuables à une doubles liaison avec une géométrie *trans* résonant à $\delta\text{H}= 6,32$ (1H, *d*, $J=16,0$ Hz, H-7), 6,55ppm (1H, *dd*, $J=16,0$; 8 Hz, H-8).
- Un signal d'intégration 2H sous forme d'un doublet repéré à $\delta\text{H}= 4,24$ ppm ($J = 8\text{Hz}$) correspondant aux protons oxyméthylènes ($\text{CH}_2\text{-O}$), et un singulier à $\delta\text{H}= 3.91$ ppm d'intégration 6H attribuable à deux méthoxyles.

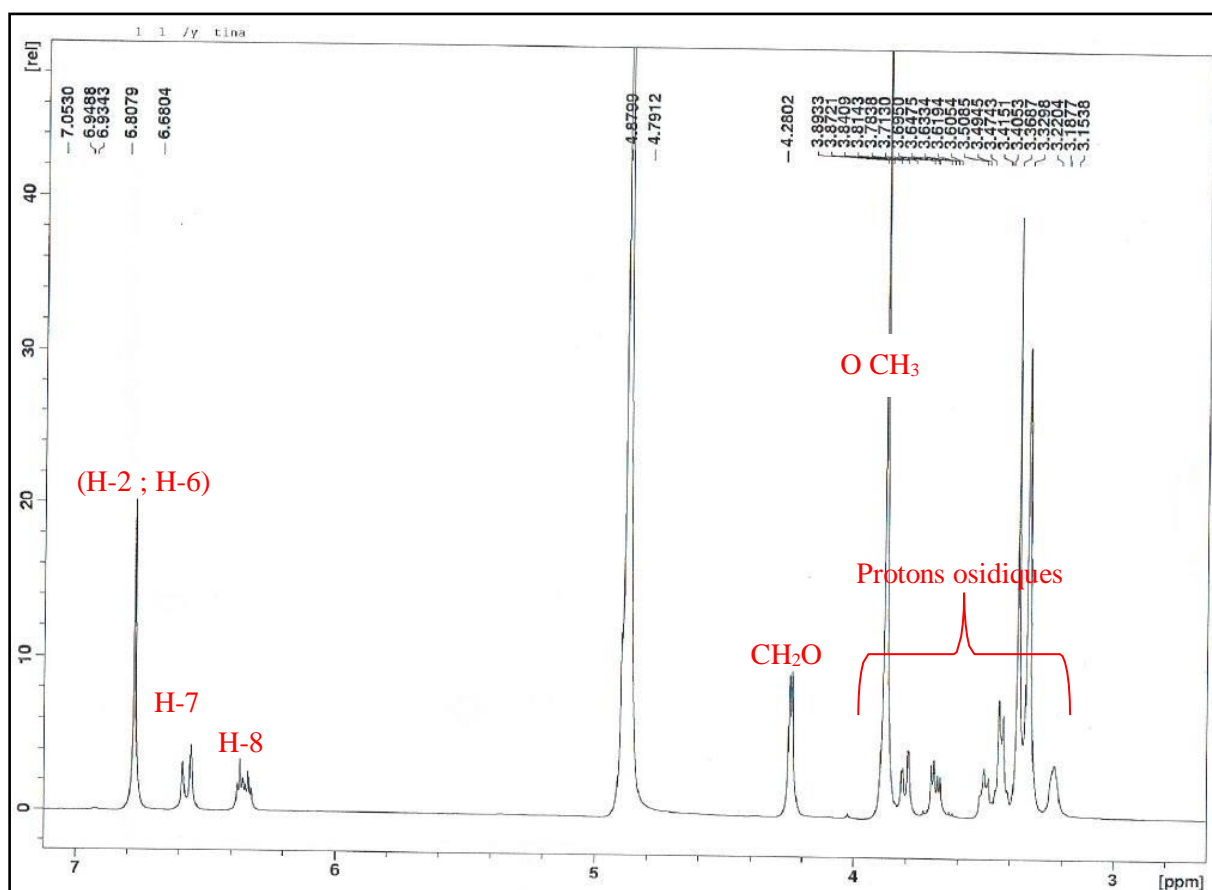


Figure-50- : Spectre NMR ^1H (600 MHz, MeOD) du composé **A4**

La présence de deux protons éthyléniques (H-7 et H-8), deux protons oxyméthylènes ($\text{CH}_2\text{-O}$) et deux protons aromatiques (H-2 et H-6), révèle que cette molécule contient un squelette de type cinnamyle alcool substitué :

- Une tache de corrélation entre H-8 et l'atome de carbone C-8 à $\delta_c = 128,4$ ppm.
- Une tache de corrélation entre H-9 et l'atome de carbone C-9 à $\delta_c = 62,0$ ppm.
- Une tache de corrélation entre H-1' et l'atome de carbone C-1' à $\delta_c = 104,0$ ppm.

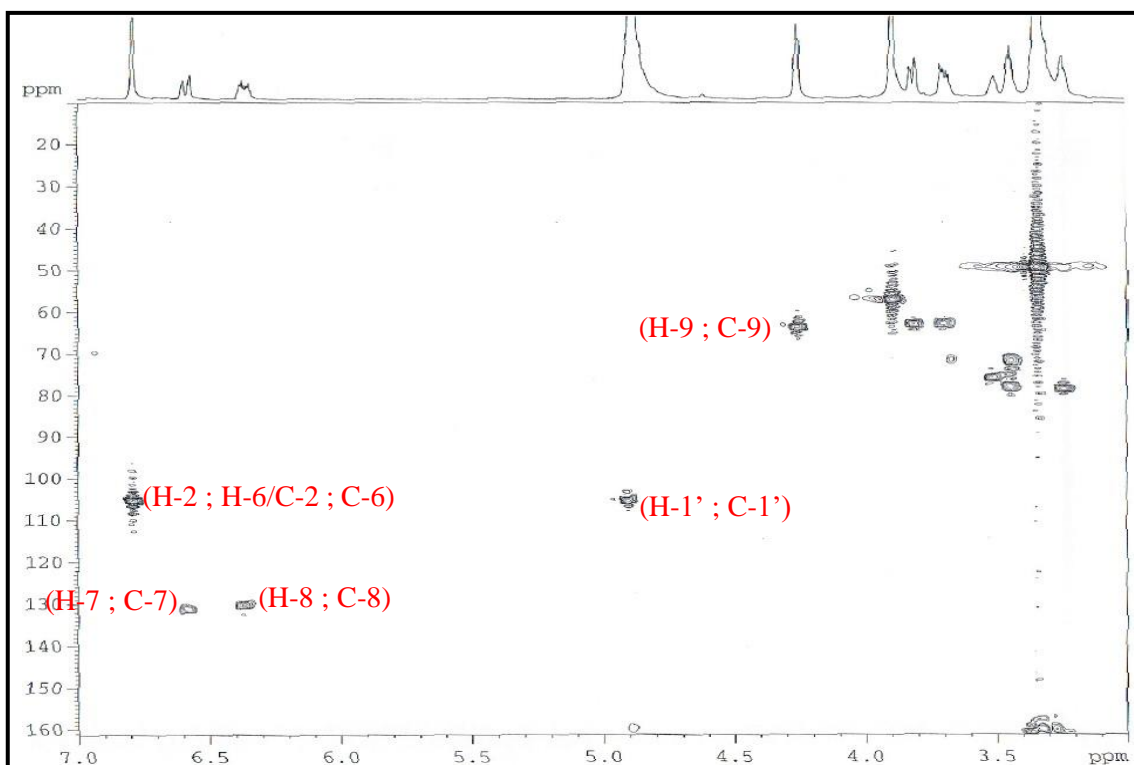


Figure-53- : Spectre HSQC (600 MHz, 150 MHz MeOD) du composé **A4**

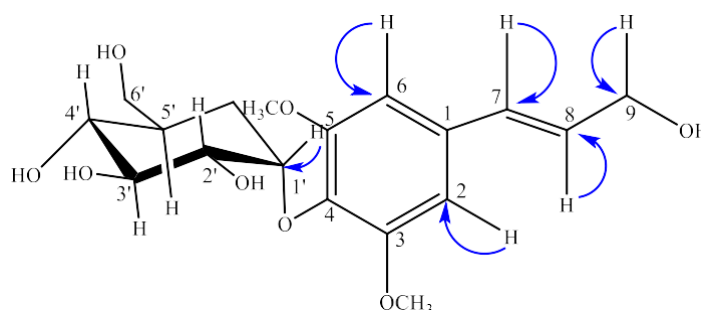


Figure-54- : les différentes corrélations HSQC du composé **A4**

L'étude du spectre relatif à l'expérience HMBC (**Fig55**) met en évidence les corrélations proton-carbone à longue distance, permettant de tirer les indications suivantes :

Les protons H-2 et H-6 montrent quatre taches de corrélation :

- La première avec l'atome de carbone à $\delta_c = 150,2$ ppm attribuable à C-3 et C-5.
- La deuxième avec l'atome de carbone à $\delta_c = 135,0$ ppm attribuable à C-4.
- La troisième avec l'atome de carbone à $\delta_c = 128,0$ ppm attribuable à C-7.

- La quatrième avec l'atome de carbone à $\delta_c = 104,8$ ppm qui ne peut être attribué qu'à C-2 et C-6.

Le proton H-7 montre trois taches de corrélation :

- La première confirme le carbone à $\delta_c = 131,1$ ppm attribuable à C-1.
- La deuxième confirme le C-2 et C-6 à $\delta_c = 104,8$ ppm.
- La troisième avec un atome de carbone à $\delta_c = 62,5$ ppm qui ne peut être attribué qu'au C-9.

Le proton H-8 montre deux taches de corrélation :

- La première l'atome de carbone à $\delta_c = 131,8$ ppm attribuable à C-1.
- La deuxième confirme le C-9 à $\delta_c = 62,5$ ppm.

Le proton H-9 montre une tache de corrélation avec le carbone à $\delta_c = 129,0$ ppm attribuable au C-8.

Les protons des deux méthoxyles montre une tache de corrélation avec le carbone à $\delta_c = 153,9$ ppm attribuable au C-3 et C-5.

Le proton anomérique H-1' montre une tache de corrélation avec le carbone à $\delta_c = 135,3$ ppm attribuable au C-4.

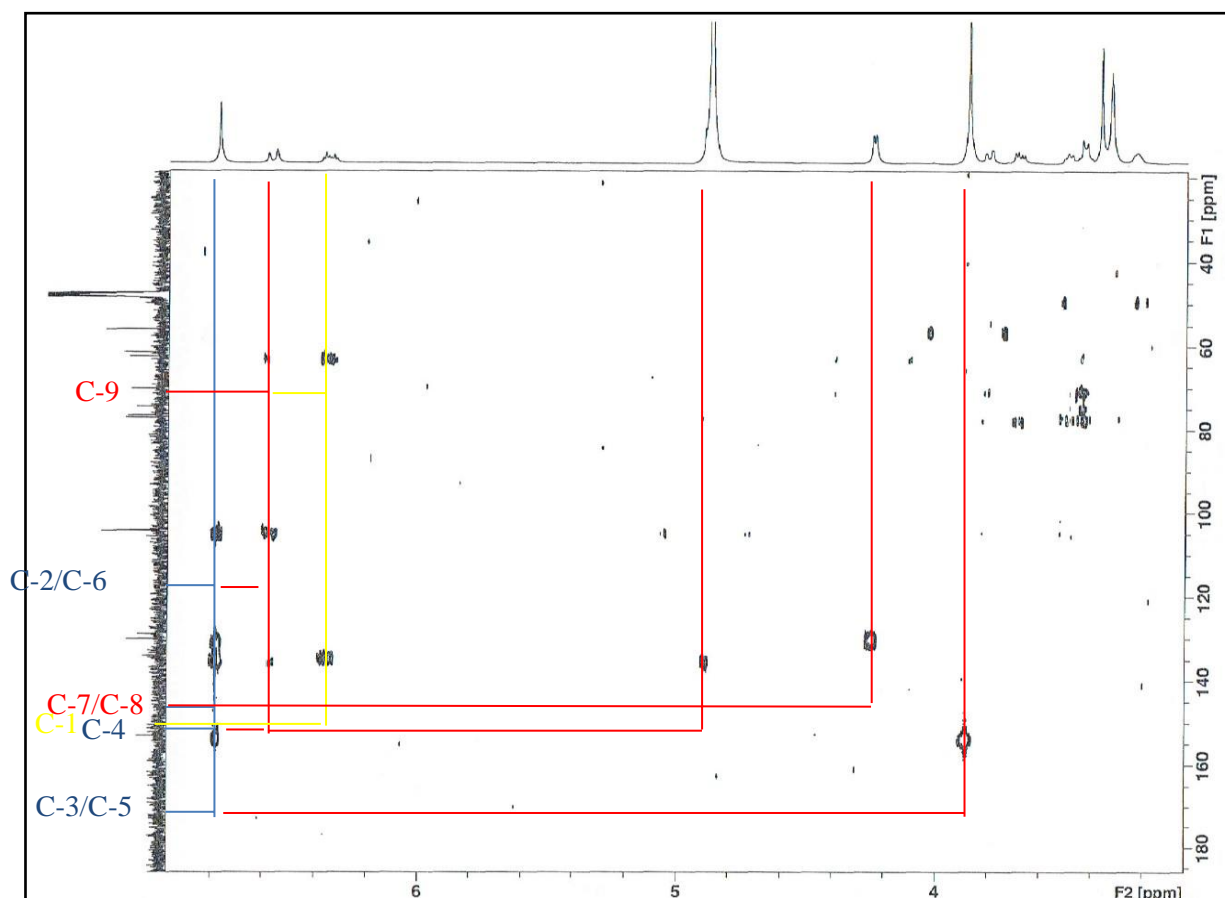


Figure-55- : Spectre HMBC (600 MHz, 150 MHz MeOD) du composé A4

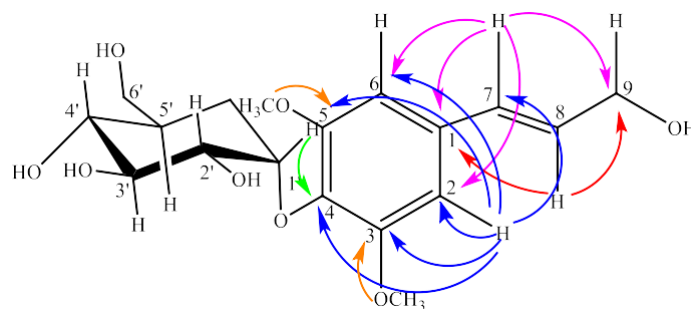


Figure-56- : les différentes corrélations HMBC du composé **A4**

L'unité osidique présente dans ce composé est clairement identifiée comme β -D-glucose, l'analyse [132] de ces spectres (RMN ^1H , HSQC et HMBC) de composés **A4** a permis d'attribuer les signaux de de sucre (**tableau-20-**).

A partir de toutes ces données, la structure du composé **A4** a donc pu être établie comme étant [133] : **la syringine**

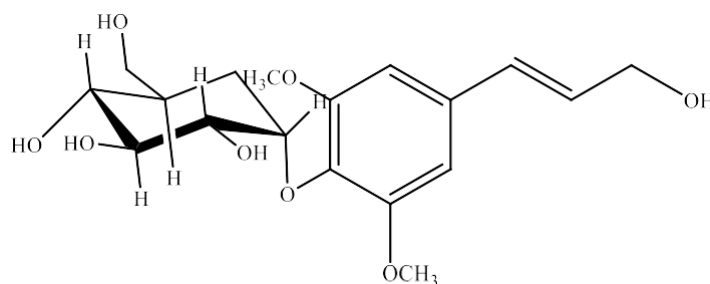


Figure-57- : la structure de la syringine

L'ensemble des spectres a permis de faire l'attribution de tous les noyaux, ainsi toutes les données sont rassemblées dans le **tableau-20-** suivante :

Tableau-20- : Données de la spectrométrie RMN ^1H (DMSO; 600 MHz)

RMN ^{13}C (MeOD ; 150 MHz) de **A4**

| <i>Position</i> | <i>C δ (ppm)</i> | <i>δH (ppm), (m, J (Hz))</i> |
|-----------------|------------------------------------|---|
| 1 | 131,8 | - |
| 2 | 104,8 | 6,76 (s) |
| 3 | 154,0 | - |
| 4 | 135,3 | - |
| 5 | 154,0 | - |
| 6 | 104,8 | 6,76 (s) |
| 7 | 129,0 | 6,32 (1H, d, J=16,0 Hz) |

| | | |
|-----|-------|--|
| 8 | 128,5 | 6,55 (1H, <i>dd</i> , $J=16,0$; 8 Hz) |
| 9 | 62,5 | 4,24 (2H, <i>d</i> , $J = 8$ Hz) |
| 1' | 103,8 | 4,87 (1H, <i>d</i> , $J=7,8$ Hz) |
| 2' | 74,1 | 3,48 (<i>dd</i> , $J=9,4$; 8,1 Hz) |
| 3' | 76,0 | 3,22 (<i>m</i>) |
| 4' | 69,0 | 3,44 (<i>m</i>) |
| 5' | 76,0 | 3,41 (<i>d</i> , $J=8,0$ Hz) |
| 6'a | 61,0 | 3,78 (<i>dd</i> , $J=11,5$; 2,0 Hz) |
| 6'b | | 3,67(<i>dd</i> , $J=11,5$; 5,0 Hz) |
| OMe | 55 ,0 | 3,91(6H, <i>s</i>) |

Conclusion Générale

Conclusion générale

Les plantes ont toujours, fait partie de la vie quotidienne de l'homme, puisqu'il s'en sert pour se nourrir, se soigner, satisfaire certains de ces besoins.

L'étude phytochimique réalisée sur les trois extraits chloroformique, acétate d'éthyle et n-Butanol de la plante *Galactites elegans* par Tebboub Omar et les autres chercheurs confirme la richesse de cette plante en composés phénoliques. L'isolement des composés et leur purification, basée sur l'utilisation d'une combinaison de méthodes chromatographiques et rapportant l'isolément de 18 composés.

Le présent travail a été consacré à l'identification structurale des quelque composés isolés de la plante *Galactites elegans*.

Nous avons déterminées quatre composés :

- Acide chlorogénique
- La Rutine
- Sinapaldehyde
- La syringine

Les structures des produits isolés ont été déterminées par spectre RMN et ses séquences, bidimensionnelle, COSY, HSQC, HMBC.

Références

Bibliographiques

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Kühnau, J. (1976). *Wld. Rev.Nutr. Diet.* **24**: 117-191.
- [2] Hostettmann.K, Poterat.O & Wolfender.J-L. The potential of higher plants as a source of drugs. *Chimia* (1998b) 52, 10-17
- [3] Gaussen.H, Leroy. H. F. *Précis de botanique, végétaux supérieurs*, 2ème Ed. (1982) 426
- [4] Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Remesy, C., Jimenez, L., (2004). Polyphenols : food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr* 79, 727-747
- [5] Stanley et al., « Antioxidants and the Free Radical Theory of Degenerative Disease », *Alternative Medicine and Rehabilitation*, 2003
- [6] Chen et al., « Green tea and tea polyphenols in cancer prevention », *Front Biosci*, vol. 9, n° 2618, 2004
- [7] M. Laughton et al., « Inhibition of mammalian 5-lipoxygenase and cyclo-oxygenase by flavonoids and phenolic dietary additives. Relationship to antioxidant activity and to iron ionreducing ability », *Biochem. Pharmacol.*, vol. 42, 1991, p. 1673-1681
- [8] Frankel et al., « Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phenolic substances in red wine », *Lancet*, vol. 341, n^{os} 454-457, 1993.
- [9] J.M. Orgogozo et al., « Wine consumption and dementia in the elderly : A prospective community study in the Bordeaux area », *Rev. Neurol. (Paris)*, vol. 153, 1997, p. 185-192
- [10] « 3rd international Conference on Polyphenols Applications », 2006, The International Society for Antioxidants in Nutrition and Health (ISANH).
- [11] « Polyphenols [Substance Name] ; use the precise structure header, most commonly in the Flavonoids group ; this term only refers vaguely to phenolic (aromatic) hydroxyls. Date introduced : August 18, 1980 »
- [12] P. Sarni-Manchado, V. Cheynier, *Les polyphénols en agroalimentaire*, Lavoisier, Editions Tec & Doc, 2006, 398 p.
- [13] C.W. Bamforth, « Beer haze », *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, vol. 57, 1999, p. 81–90.
- [14] Ribereau-Gayon, P. (1968). *Les composés phénoliques des végétaux*. Edition Dunod

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [15] Naczki, M., Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054 : 95–111
- [16] Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales*. 3ème édition. Tec&Doc. Paris.
- [17] Martin, S., Andriantsitohaina, R. (2002). Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angiologie*, 51 : 304–315.
- [18] C.W. Bamforth, « Beer haze », *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, vol. 57, 1999, p. 81–90.
- [19] Amy King et Gloria Young, « Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals », *J. Am. Diet. Assoc.*, vol. 99, n°2, 1999, p. 213-218
- [20] P. M. Dewick, « The Biosynthesis of Shikimate Metabolites », *Natural Product Reports*, vol. 12, 1995, p. 579-607.
- [21] Psotová J., Lasovsky J. et Vicar J., 2003. Metal-Chelating Properties, Electrochemical Behavior, Scavenging And Cytoprotective Activities Of Six Natural Phenolics. *Biomedical Papers*, Vol. 147, n. 2, p.p. 147–153.
- [22] Hale A. L., 2003. Screening Potato Genotypes for Antioxidant Activity, Identification of the Responsible Compounds, and Differentiating Russet Norkotah Strains Using Aflp and Microsatellite Marker Analysis. Ed. Office of Graduate Studies of Texas A&M University. 260 P.
- [23] Macheix JJ., Fleuriet A., Chretien JA. (2006). Composés phénoliques dans la plante structure, biosynthèse, répartition et rôles In «les polyphénols en agroalimentaire». Édition Lavoisier : 1-27
- [24] Cowan M.M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology and infectious diseases*. Clin. Microbiol. Rev., 12, 564-582.
- [25] Berthod A., Billardello B., Geoffroy S. (1999). Polyphenols in countercurrent chromatography. An example of large scale separation and analysis. *Analyst*, 127, 750-757.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [26] Y.YOUCFI. (2017).Etude QSAR de l'activité antioxydant d'une série de composés phénoliques. Thèse de Master. Université ABOU-BEKR BELKAID. TLEMCEM. Faculté des sciences. Département de chimie.p15
- [27] Del Rio, D., Rodriguez-Mateos, A., Spencer, J.P., Tognolini, M., Borges, G., Crozier, A., 2013. Dietary (poly)Phenolics in human health : structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. *Antioxidants & redox signaling* 18, 1818-1892. [28] Macheix, J.J., Fereuriet, A. & Jayallemanno, C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux. Presses polytechniques et universitaires. Romandes.
- [29] Harborne B. (1989) *Methods in plant biochemistry, I : plant Phenolics*. Academic Press, London, UK
- [30] E. Middleton, C. Kandaswami, T. C. Theoharides, The effects of plant flavonoids on mammalian cells : implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol Rev*, 52, 673-839, 2000.
- [31] R. Ksouri, W. Megdiche, A. Debez, H. Falleh, C. Grignon, C. Abdelly. Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima* Plant, *Physiol Bioch*, 45, 244-249, 2007.
- [32] R. J. Nijveldt, E. Nood, D. E. Hoorn, P. G. Boelens, K. Norren, P. Leeuwen, Flavonoids : A review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am. J. Clin Nutr*, 74, 418-425, 2001.
- [33] L. P. Leong, G. Shui, An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chem*, 76, 69-75, 2002
- [34] T. Hennebelle, S. Sahpaz, F. Bailleul, Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 1, 3-6, 2004.
- [35] Erlund I (2004) Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, andnaringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability and epide-miology. *Nutr Res* 24: 851-74
- [36] Havsteen BH (2002) The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol Therap* 96 : 67-202

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [37] Di Carlo G, Mascolo N, Izzo AA, et al. (1999) Flavonoids : old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sci* 65 (4) : 337-53
- [38] Nijveldt RJ, van Nood E, van Hoorn DEC, et al. (2001) Flavonoids : a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nut* 74 (4) : 418-25
- [39] M.E.Verhoeyen, A.Bovy, G.Collins, S.Muir, S.Robinson, C.H.R. De Vos, S.Colliver, Increasing antioxidant levels in tomatoes through modification of the flavonoid biosynthesis pathway. *Journal of experimental botany*. 53 (377) : 209 -210, (2002).
- [40] I. Urquiaga, F. Leighton, Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. *Biological Research*. 33(2) : 55-64, (2000).
- [41] M. Lahouel, Interaction flavonoïdes-mitochondrie et rôle de la propolis dans la prévention de l'apoptose induite par certains médicaments anticancéreux. Thèse de doctorat de l'université Mentouri de Constantine, (2005).
- [42] Bruneton J. (2009).Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes médicinales. 4ème édition Lavoisier : 87-91
- [43] Chosson, E. ; Chabond, A. ; Chulia, A. J.Raynaud, J. (1998).Dihydroflavonol glycosides
- [44] Benbrook C.M. (2005).Accroître la teneur en antioxydant des aliments grâce à l'agriculture et à la transformation alimentaire biologique. *The Organic Center* : 1-87
- [45] Ignat I., Volf I., Popa I.V. (2011).A critical review of methods for characterization of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food chemistry*126 : 1821-1835.
- [46] Abdelkgafour M.2003. RADIOLYSE GAMMA DES FLAVONOIDES. ETUDE DE LEUR REACTIVITE AVEC LES RADICAUX ISSUS DES ALCOOLS : FORMATION DE DEPSIDES. Thèse de doctorat d'état, université de Limoges, Ecole Doctorale Sciences Biologie Santé Faculté de Pharmacie p [26-27].
- [47] Crozier, A., Del Rio, D., Clifford, M.N., 2010. Bioavailability of dietary flavonoids and phenolic compounds. *Mol Aspects Med* 31, 446-467

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [48] P.Courbat. Quelque généralités sur les composés flavonoïdes, *Angiologica*, vol 9, 1972, P [135-161], (3-29).
- [49] J.B.Harborne. (Eds), *phytochemical dictionary of the leguminosae*, vol.1, Chapman and Hall, London. pp XX-XXII, (1994).
- [50] H.A Stafford. Role of Flavonoids in symbiotic and defense functions in legume roots, *Bot.rev.* 63: 27-39, (1997).
- [51] W.B.Eyton, W.D.Ollis, I.O.Sutherland, O.R.Gottlieb, M, Taviramagalhaes. *Proc. Tetrahedron.* 21: 2683, (1965).
- [52] H.Elhazimi, *Natural product.* 149-190, (1995).
- [53] Bandyukova, V.A, Khalmatov, Kh.Kh, and Alimov, Kh.I., *Khim.Prir.Soedin*, 1969:5(4), 324-325.
- [54] Akkel, S., Benayache, F., Benayache, S and Jay, M, *Biochemical Systématique and Ecology*, 1997, 361-362.
- [55] Fathallah, H.M., Kassem, F.F., El-Shaer, N.S., *Alexandria J.Pharm.Sci*, 1994:8(3), 219-222.
- [58] Jean – François Gonnet, *Thèse Lyon*, 1989.
- [59] Kamanzi, K., Raymond, J. and Voirin, B., *Plant Med et Phytother*, 1983 :17(1), 47-51.
- [60] Bencheriet, R., *Thèse de magister, Université de Constantine*, 1989.
- [61] Aqil, M., Khan, I.Z. and Goni A.Diamari, *Chem.Soc.Ethiop*, 1998: 12(2) ,177-180.
- [62] Kamanzi, K., Raymond, J. and Voirin, B., *Pharmazie*, 1982: 38(7), 494-495.
- [63] Gueyraud Rolland Kipré, Offoumou M’Baï Rostand, Kigbafori Dieudonné Silué and Allico Joseph Djaman. *TECHNIQUE D’EXTRACTION DES FLAVONOÏDES PAR SOLVANTS*. *Am. J. innov. res. appl. sci.* 2019 ; 9(1) :141-142.
- [64] Asada Y., Oshikawa T., Welli. *Antimicrobial flavonoids from Glycyrrhiza glabra hairy root cultures*. *Planta medica*, 1998 ; 64 (8) : 746-747.
- [65] Markham, K.R., *The technique of flavonoids identification*, eds academic press, London, New York (1982).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [66] Mabry, T.J., Thomas, M.B., The systematic identification of flavonoids, eds Springer-Verlag, Berlin (1970).
- [67] Jurd, L. and Horowitz, R. (1962), Spectral properties of flavonoid compounds, Pergamon Press, Oxford, 107-155.
- [68] Stobiecki M., 2000. *Phytochemistry*. **54**, 237-256.
- [69] Ma, L., Li, Q. M., Van den Heuvel, H., Claeys, M., 1997. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. **11**, 1357-1364
- [70] Ablajan, K., Abliz, Z., Shang, X.-Y., He, J.-M., Zhang, R.-P. and Shi, J.-G., 2006. Structural characterization of flavonol 3,7-di-O-glycosides and determination of the glycosylation position by using negative ion electrospray ionization tandem mass spectrometry. **41**, 352-360.
- [71] Wolfender, J. L., Waridel, P., Ndjoko, K., Hobby, K. R., Major, H. J., Hostettmann, K., 2000. IT-MS for the dereplication of flavonoids and related compounds in crude plant extract.
- Analysis 28.
- [72] Markham, K.R. and Mabry, T.J. (1968), *Phytochemistry*, **7**, PP. 1197.
- [73] K.R. Markham, T.J. Mabry. Ultraviolet visible and proton magnetic resonance spectroscopy of flavonoids, in the flavonoids, **1975**, P. 45-77.
- [74] Horhammer, L. and Hansel, R. (1952), *Arch. Pharm*, 285-438.
- [75] Jurd, L. and Geissman, T.A. (1956), *J. Org. Chem*, **21**, 1395
- [76] Markham, K.R. and Geiger, H. (1993), *The Flavonoids advances in research since 1986*. Edited by J.B. HARBORNE, Chapman & Hall, London.
- [77] Mabry, T. J., 1969. The ultra-violet and nuclear magnetic resonance analysis of flavonoids perspectives in phytochemistry. Ed. Harborne, J. B., 1-45.
- [78] Markham, K.R. (1976), C^{13} NMR of flavonoids-II, *Flavonoids other than flavone and flavonol aglycones*. *Tetrahedron*, **32**, PP. 2607-2612
- [79] GANTHER, H. (1994). *La spectroscopie de RMN : Principes de bases, concepts et Applications de la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire du carbone 13 en Chimie*. Elsevier Masson (Eds.).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [80] MASSIOT, G. et LAVAUD, C. (1995). Structural élucidation of saponins, Atta-Ur-Rahman (Eds.), Structure and chemistry (Part 3) : Studies in natural products Chemistry, Elsevier : Amsterdam, pp 187–224.
- [81] G-NTHER, H. (1996). La spectroscopie de RMN : Principes de bases, concepts et Applications de la spectroscopie de résonance magnétiques nucléaires du carbone 13 en Chimie. Elsevier Masson (Eds.).
- [82] JEENER, J., MEIER, B. H., BACHMANN, P., ERNST, R. R. (1979). Investigation of Exchange processes by two-dimensional NMR spectroscopy. *The Journal of Chemical Physics*, 71:4546–4553.
- [83] N. Heimeur, L.M.Idrissi Hassani Rev.Biol.Biotech Vol3, No1, March 2004. pp. 37-42
- [84] R.A. Dixon, M.J. Harrison, Activation, Structure, and organization of Genes involved in microbial
- [85] Middleton & teramura, 1993, Harborne et *al.*, 1976, Brouillard & Cheminat, 1988, Harborne, 1986, (1988a, 1988b)
- [86] A.Komori, J. Yatsunami, S. Okabe, S. ABE, K.Hara, M. Suganuma, S.JKim and H.Fujiki, *Jpn, J.Clin.Oncol*, 23. 186-90 (1993).
- [87] G. Scambia, F.O.Ranelletti, P.Benedetti, A.Panici, G.Bonanno, R.DE.Vincenzo, M.Piantelli and S.Mancuso, *Anticancer Drugs*, 1 45-48 (1990)
- [88] R.Landolfi, R.L.Mower and M.Steiner, *Biochem. Pharmacol.*, 32 1525-1530 (1983)
- [89] P.S. Chaudhry, J.Cabrera, H.R.Juliani and S.D. Varima, *Biochem. Pharmacol.*, 32 19951998 (1983).
- [90] M.G.Hertog., E.J.Feskens, P.C.Hollman, MB.Katan and D.Kromhont. *Lancet*, 342 10071011 (1993).
- [91] S.C. CHU, Y.S. Hsieh and J.Y.Lin, *J.Nat.Prod.*, 55 179-183 (1992).
- [92] A.A. El Gamma land R.M.Mansour, *Zentralbl. Mikrobiol.*, 141 561-565 (1986).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [93] Asterales-J et E. [consulté le 23/12/2014]. Disponible à partir de : [http:// j-e. febvre pagesperso-orange.Fr/Systematique/asteridea/asterales.pdf](http://j-e.febvre.pagesperso-orange.fr/Systematique/asteridea/asterales.pdf)
- [94] La famille des Asteracees. [Consulte le 23/12/2014] .[www.clubmgen toulouse.org/toulouse/activites/botanique/Fich_botanique/asteracee.pdf](http://www.clubmgen.toulouse.org/toulouse/activites/botanique/Fich_botanique/asteracee.pdf)
- [95] M. Heinrich, M. Robles, J. E. West, B. R. Ortiz De Montellano, and E. Rodriguez, “Ethnopharmacology of Mexican asteraceae (compositae),” *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, vol. 38, pp. 539–565, 1998.
- [96] Stevens, P. F. (2008). Angiosperm Phylogeny Website. Version 9.
- [97] Bonnier., G. (1934). Flore complète de France, Suisse et Belgique. Édition 10. p 118.
- [98] Crete., P. (1965). Précis de botanique. Masson, Paris. Édition 2. p 429.
- [99] Bonnier., 1934.Flore complete de France, Suisse et Belgique. Edition 10. P-118. [100] T. Barkley, L. Brouillet, and J. Strother, *Flora of North America, Asteraceae, part 1*, Oxford University Press, New York, Ny, USA, 2006.
- [101] De Monet, B. J., De Lamark, P., & De Candolle, A. (1805). *Flore Française. 3eme édition*. (Delmarck & Decadolle, Eds.). Paris.
- [102] site web : <http://ephytia.iniria.fr>
- [103] Benkahoul. M. 2013.Evaluation, extraction et caractérisation de l'activité coagulante des protéases de deux chardons endémiques Galactites tomentosa et oropordum acanthium. Université des frères mentouri constantine. Faculté des sciences de la nature et de la vie. P [17_18].
- [104] Benkahoul. M. 2013.Evaluation, extraction et caractérisation de l'activité coagulante des protéases de deux chardons endémiques Galactites tomentosa et oropordum acanthium. Université des frères mentouri constantine. Faculté des sciences de la nature et de la vie. P17.
- [105] Tebboub. O et al. Antioxdant potentiol of herbal preparation and components from Galactites elegans (All.) Nyman ex Soldano. Evidence_based complementary and alternative medicine. Vol. 2018.7 Pages.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [106] Ludlum, C.T., G.W. Felton and S.S. Duffey (1991), Plant defenses : Chlorogenic acid and polyphenol oxidase enhance toxicity of *Bacillus thuringiensis* subsp. *Kurstaki* to *Heliotis zea*. *J. Chem. Ecol.* 17, 217-233.
- [107] Hausen. B.M. and G. Oestmann (1988). Untersuchungen über die Häufigkeit berufsbedingter allergischer Hauterkrankungen auf einem Blumengroßmarkt. *Dermatosen Beruf Umwelt* 36,17-124.
- [108] Paulsen, E. (1992), Compositae dermatitis : a survey. *Contact Dermatitis* 26. 76-86.
- [109] M. V. Potapovich, V. P. Kurchenko, D. I. Metelitz, and O. I. Shadyro, "Antioxidant activity of oxygen-containing aromatic compounds," *Applied Biochemistry and Microbiology*, vol. 47, no. 4, pp. 346–355, 2011.
- [110] D.-F. Gao, Y.-J. Zhang, C.-R. Yang, K.-K. Chen, and H.-J. Jiang, "Phenolic antioxidants from green tea produced from *Camellia taliensis*," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 56, no. 16, pp. 7517–7521, 2008.
- [111] Q. Liu, Y.-T. Zhang, C.-R. Yang, and M. Xu, "Phenolic antioxidants from green tea produced from *Camellia crassicolumna* var. *multiplex*," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 57, no. 2, pp. 586–590, 2009.
- [112] R. Aversano, F. Contaldi, M. G. Adelfi et al., "Comparative metabolite and genome analysis of tuber-bearing potato species," *Phytochemistry*, vol. 137, pp. 42–51, 2017.
- [113] R. Wangteeraprasert, V. Lipipun, M. Gunaratnam, S. Neidle, S. Gibbons, and K. Likhitwitayawuid, "Bioactive compounds from *Carissa spinarum*," *Phytotherapy Research*, vol. 26, no. 10, pp. 1496–1499, 2012.
- [114] B. Steffan, W. W'atjen, G. Michels et al., "Polyphenols from plants used in traditional Indonesian medicine (Jamu) : Uptake and antioxidative effects in rat H4IIE hepatoma cells," *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, vol. 57, no. 2, pp. 233–240, 2005.
- [115] Y. Zhou, W. Wang, L. Tang et al., "Lignan and flavonoid glycosides from *Urtica laetevirens* Maxim.," *Journal of Natural Medicines*, vol. 63, no. 1, pp. 100-101, 2009.
- [116] H.-H. Chen, Y.-T. Chen, Y.-W. Huang, H.-J. Tsai, and C.-C. Kuo, "4-Ketopinoresinol, a novel naturally occurring ARE activator, induces the Nrf2/HO-1 axis and protects against oxidative stress-induced cell injury via activation of PI3K/AKT signaling," *Free Radical Biology & Medicine*, vol. 52, no. 6, pp. 1054–1066, 2012.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [117] P. C. Eklund, O. K. Långvik, J. P. Wärnå, T. O. Salmi, S. M. Willför, and R. E. Sjöholm, "Chemical studies on antioxidant mechanisms and free radical scavenging properties of lignans," *Organic & Biomolecular Chemistry*, vol. 3, no. 18, pp. 3336–3347, 2005.
- [118] L. Li and N. P. Seeram, "Maple syrup phytochemicals include lignans, coumarins, a stilbene, and other previously unreported antioxidant phenolic compounds," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 58, no. 22, pp. 11673–11679, 2010.
- [119] H. M. Sayed, M. H. Mohamed, S. F. Farag, G. A. Mohamed, O. R. M. Omobuwajo, and P. Proksch, "Fructose-amino acid conjugate and other constituents from *Cyperus rotundus* L.," *Natural Product Research (Formerly Natural Product Letters)*, vol. 22, no. 17, pp. 1487–1497, 2008.
- [120] J.-T. Han, M.-H. Bang, O.-K. Chun, D.-O. Kim, C.-Y. Lee, N.-I. Baek, "Flavonol glycosides from the aerial parts of *Aceriphyllum rossii* and their antioxidant activities," *Archives of Pharmacal Research*, vol. 27, no. 4, pp. 390–395, 2004.
- [121] L. Tao, J. Huang, Y. Zhao, and C. Li, "Chemical constituents in *Buddleja albiflora*," *Zhongguo Zhongyao Zazhi*, vol. 34, no. 23, pp. 3043–3046, 2009.
- [122] A. Brito, J. E. Ramirez, C. Areche, B. Sepúlveda, and M. J. Simirgiotis, "HPLC-UV-MS profiles of phenolic compounds and antioxidant activity of fruits from three citrus species consumed in Northern Chile," *Molecules*, vol. 19, no. 11, pp. 17400–17421, 2014.
- [123] J.-T. Han, M.-H. Bang, O.-K. Chun, D.-O. Kim, C.-Y. Lee, N.-I. Baek, "Flavonol glycosides from the aerial parts of *Aceriphyllum rossii* and their antioxidant activities," *Archives of Pharmacal Research*, vol. 27, no. 4, pp. 390–395, 2004.
- [124] Y. Deng, Y.-W. Chin, H. Chai, W. J. Keller, and A. D. Kinghorn, "Anthraquinones with quinone reductase-inducing activity and benzophenones from *Morinda citrifolia* (Noni) roots," *Journal of Natural Products*, vol. 70, no. 12, pp. 2049–2052, 2007.
- [125] X.-T. Liu, Z.-X. Wang, Y. Yang et al., "Active components with inhibitory activities on IFN- γ /STAT1 and IL-6/STAT3 signaling pathways from *Caulis Trachelospermi*," *Molecules*, vol. 19, no. 8, pp. 11560–11571, 2014.
- [126] X. Dai, Y. Ding, Z. Zhang, X. Cai, and Y. Li, "Quercetin and quercitrin protect against cytokine-induced injuries in RINm5F β -cells via the mitochondrial pathway and NF- κ B

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- signaling,” *International Journal of Molecular Medicine*, vol. 31, no. 1, pp. 265–271, 2013.
- [127] Catalano, S., M. Pacchiani, E. Tascini and I. Morelli(1983), Constituents of *Galactites tomentosa*. *Fitoterapia* 54, 33-34.
- [128] M. Siddiq, S. Roidoung, D. S. Sogi, K. D. Dolan., *Food Chem.* 136 (2), 803-806. 2013.
- [129] Q. Liu, Y.-T. Zhang, C.-R. Yang, and M. Xu, “Phenolic antioxidants from green tea produced from *camellia crassicolumna* var. *multiplex*,” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 57, no. 2, pp. 586–590, 2009.
- [130] J.-T. Han, M.-H. Bang, O.-K. Chun, D.-O. Kim, C.-Y. Lee, and N.-I. Baek, “Flavonol glycosides from the aerial parts of *Aceriphyllum rossii* and their antioxidant activities,” *Archives of Pharmacal Research*, vol. 27, no. 4, pp. 390–395, 2004.
- [131] M. V. Potapovich, V. P. Kurchenko, D. I. Metelitz, and O. I. Shadyro, “Antioxidant activity of oxygen-containing aromatic compounds,” *Applied Biochemistry and Microbiology*, vol. 47, no. 4, pp. 346–355, 2011.
- [132] T.J. Mabry, K.R. Markham and M.B. Thomas ; (1970), the systematic identification of flavonoïds. Springer-Verlag New York, Heidelberg.254p.
- [133] D.-F. Gao, Y.-J. Zhang, C.-R. Yang, K.-K. Chen, and H.-J. Jiang, “Phenolic antioxidants from green tea produced from *Camellia taliensis*,” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 56, no. 16, pp. 7517–7521, 2008.