

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
*MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR*  
*ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE*

---

UNIVERSITE EL HADJ LAKHDAR  
BATNA  
*FACULTE DES SCIENCES*  
DEPARTEMENT DE CHIMIE

---

## THESE

*Pour l'obtention du diplôme de*

**DOCTORAT D'ETAT**

*Spécialité : Chimie*

*Présenté par :*

**ABERKANE MOHAMED CHERIF**

*THEME*

# ETUDE PHYTOCHIMIQUE DE LA PLANTE PULICARIA LACINIATA

*Devant le Jury :*

<i>Mr BOUZAHER Yacine</i>	<i>Professeur, Université de Batna</i>	<i>Président</i>
<i>Mr DIBI Ammar</i>	<i>Professeur, Université de Batna</i>	<i>Rapporteur</i>
<i>Mr LEGSEIR Belkacem</i>	<i>Professeur, Université d'Annaba</i>	<i>Examineur</i>
<i>Mr EL HILOU M.Y. Rassoul</i>	<i>Professeur, Université de O.E.B</i>	<i>Examineur</i>
<i>Mr LAADJEL Segni</i>	<i>Maître de conférence U. Ouargla</i>	<i>Examineur</i>
<i>Mr BENKOUIDER Abdelhamid</i>	<i>Maître de conférence U. Batna</i>	<i>Examineur</i>

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

الحمد لله رب العالمين والصلاة والسلام على رسول الله

قال الله تعالى:

قُلْ هَلْ يَسْتَوِي الَّذِينَ يَعْلَمُونَ وَالَّذِينَ لَا يَعْلَمُونَ

## ***REMERCIEMENTS.***

Cette étude a été réalisée au laboratoire de chimie et chimie de l'environnement, Département de Chimie, Faculté des sciences –Université Hadj Lakhdar- Batna ; sous la direction du professeur DIBI Ammar ,qu'il veuille trouver ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

Je remercie les membres du jury d'avoir accepter de juger ce travail :

- Mr BOUZAHER Yassine Professeur (U. Batna).
- Mr LEGSEIR Belgacem Professeur (U. Annaba).
- Mr EL HILOU M.Y.Rasoul Professeur (U. O.E.B).
- Mr LAADJEL Segni Maître de conférence (U. Ouargla).
- Mr BENKOUIDER Abdelhamid Maître de conférence (U. Batna).

Je suis infiniment reconnaissant au Professeur BENKHALED Mohamed pour m'avoir offert la plante et encouragé à reprendre les travaux de recherche.

J'exprime mes remerciement aux

- Professeur LAABASI Mohamed pour toute sa collaboration.
- Docteur maître de conférence BENKOUIDER Abdelhamid pour m'avoir intégré dans son programme CMEP et permis d'accomplir une partie de ce travail

Mes remerciement tout particuliers à

- M<sup>elle</sup> HARKAT Hassina qui n'a ménagé aucun effort pour me faciliter la tache dans le laboratoire ULP de Strasbourg
- M<sup>R</sup> HABA Hamada.
- M<sup>elle</sup> BITAM Fatima.

Mes remerciement vont également au :

- Professeur P. Pale de l'ULP de Strasbourg pour son accueil dans son laboratoire.
- Professeur P. Mosset pour son aide non négligeable dans la réalisation de la spectrocopie de certains produits.

Je remercie vivement :

- M<sup>elle</sup> MOKHTARI Mouna pour toute se collaboration.
- M<sup>elle</sup> CHAABANI Sonia et toute l'équipe du labo.

Ma gratitude va à M<sup>R</sup> BOUAKKAR Laidoudi collègue et ami pour son aide.

Au Dr ZIREG Moussa vice recteur de la poste graduation ainsi que Mr MOUSS H'mida.

## **DEDICACE :**

Je dédie ce travail à mon épouse qu'elle trouve ici l'expression de mon affection pour son soutien et sa compréhension

- A ma mère
- A mes enfants Badri, Ahlem, Abir et khalil
- A mon frère et mes sœurs
- A toute ma famille
- A tous mes amis
- A tous ceux qui me sont chers

# **SOMMAIRE**

	<i>Page</i>
INTRODUCTION	6
I      GENERALITES	9
- Propriétés des plantes médicinales	10
- Principales substances curatives des plantes médicinales	12
- Quelques plantes médicinales et aromatiques	13
- Vertus thérapeutiques des plantes.	15
II     BOTANIQUE	18
- Classification.	19
- Caractéristiques générales	20
- Utilisations	21
- Principaux genres	22
- Caractéristiques botaniques des pulicaires.	23
III    TRAVAUX ANTERIEURS.	24
IV     ETUDE DES COMPOSES TERPENIQUES	33
- Description des monoterpènes	35
- Description des sesquiterpènes	39
- Description des triterpenes	40
- Biogenèse des terpenoides	42
- Biogenèse des sesquiterpènes	48
- Biogenèse des triterpenes et des stéroïdes	53
V      PROTOCOLE EXPERIMENTAL.	60
- Extraction	61
- Traitement de la phase chloroformique.	63
- Traitement de la phase ethero-petrolique	68
VI     RESULTATS ET DISCUSSIONS.	71
CONCLUSION	143
REFERENCES	146

# **INTRODUCTION**

Les plantes nous ont toujours fourni, jusqu'il y a très peu de temps encore, la quasi totalité de nos médicaments. Et si aujourd'hui le médicament de synthèse prend une place importante dans l'arsenal thérapeutique, il reste encore bien des substances actives à découvrir dans le monde végétal.

L'étude des substances naturelles à des fins thérapeutiques connaît de nos jours un intérêt sans précédent. Dans plusieurs institutions de recherche de part le monde, des laboratoires se spécialisent dans les études phytochimiques et pharmacologiques des substances d'origines végétales afin de doter le monde médical de nouvelles molécules biologiquement actives.

L'Algérie possède une richesse floristique considérable. Ce potentiel de plantes médicinales comporte des milliers d'espèces présentant divers intérêts et constituent un axe de recherche scientifique et plus particulièrement dans le domaine des substances naturelles.

Dans ce contexte et notamment dans le cadre du programme de recherche de notre laboratoire sur les plantes médicinales, nous nous sommes intéressés à l'étude de la plante *Pulicaria Laciniata*, utilisée en médecine traditionnelle dans la région des Aurès.

Le *Pulicaria Laciniata*, appartenant aux multiples espèces que forme le genre pulicaire, de l'ordre des astrales et de la famille des astéracées, est une plante endémique algéro-tunisienne. Elle est utilisée en médecine traditionnelle comme analgésique, antalgique, diurétique ainsi que dans plusieurs autres thérapies.

L'objectif de notre travail est la valorisation de la médecine traditionnelle dans la région des Aurès, par la mise en évidence des principes actifs et la détermination des composés chimiques que contient le *Pulicaria Laciniata*.

La thèse comporte six chapitres, une introduction et une conclusion.

- Le premier chapitre est consacré aux généralités sur les plantes médicinales.
- Le deuxième chapitre résume l'étude botanique de la plante et à sa famille.
- Le troisième chapitre traite l'étude bibliographique des travaux antérieurs réalisés sur le genre et la famille du *Pulicaria*.

- Le quatrième chapitre présente l'étude des composés terpéniques :
  - Biogenèse des terpènes.
  - Biogenèse des sesquiterpènes.
  - Biogenèse des tri terpènes.
  - Biogenèse des stéroles.
- Le cinquième chapitre relate le protocole expérimental.
- Le sixième chapitre est consacré à l'étude et à la discussion des résultats obtenus.



# I

# GENERALITES

## LES PLANTES MEDICINALES<sup>1-75</sup>

Dès son apparition, pour se soigner et remédier à ses maux, l'homme s'oriente rapidement vers le monde végétal, omniprésent autour de lui. Les premiers sorciers guérisseurs connaissaient déjà des plantes comme la Camomille, le Chanvre, le Pavot, etc., dont ils ont appris les effets sur la maladie par l'expérience et une observation attentive. Cet intérêt tout particulier porté à l'art de guérir se remarque également tout au long de l'histoire. Très tôt au cours de l'évolution, les hommes pour traiter les problèmes de santé, utilisèrent les ressources présentes dans leur environnement naturel. Les plantes tinrent une place très importante qui ne s'est jamais démentie<sup>76-77</sup>.

### *Propriétés médicinales des plantes*

Les plantes, dont les effets ne sont pas connus précisément, en-dehors du fait qu'ils ont été observés un grand nombre de fois, occupent une place importante dans les sociétés. Une plante médicinale est une plante dont un des organes, la feuille, l'écorce ou la racine possède des vertus curatives et même toxiques parfois, selon son dosage.

La phytothérapie (médecine parallèle ou traditionnelle) est le traitement par les plantes (par la consommation ou l'utilisation en voie externe, de produits préparés à partir de plantes traitées de manière très sommaire : mélangée à de l'eau par infusion, décoction ou macération sans passer par une étape de sélection des molécules ; ce n'est pas seulement le principe actif qui est consommé, mais tout ce que contient la plante). Le hasard et toute l'attention accordée à l'observation ont permis peu à peu de découvrir de nombreuses vertus aux plantes : adoucissantes, antiseptiques, dépuratives, cardiotoniques etc.

Depuis le 20<sup>ème</sup> siècle et jusqu'à nos jours, la phytothérapie remonte à la surface et devient aussi importante que la chimiothérapie. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que dans bon nombre de pays en voie de développement l'accès aux soins et aux médicaments modernes est devenu difficile, et d'autre part du besoin de la recherche, dans les autres pays, d'une meilleure médication par une thérapie plus douce sans les effets secondaires.

La phytothérapie a constitué une source de remède par excellence .La notion de principe actif des plantes permet à la chimie de dominer le 21ème siècle par les multiples travaux entrepris consistant à leur isolation .

Les principes actifs, plus efficaces, plus faciles à doser sont préférés à l'ensemble de la plante dont l'efficacité est plus difficile à obtenir.

Plus de 22000 plantes médicinales sont répertoriées par l'organisation mondiale de la santé (O.M.S) mais seules certaines sont couramment exploitées aujourd'hui. Elles possèdent toutes une activité pharmacologique reconnue et constituent un réservoir de matière première à la source de presque la moitié des spécialités pharmaceutiques classiques<sup>77</sup>. L'Afrique possède à elle seule près de 65% des espèces végétales angiospermes recensées sur l'ensemble de la planète. Beaucoup de flores font actuellement l'objet d'études systématiques, comme celles des régions tropicales d'Asie (Chine, Inde, etc), d'Amérique Centrale (Brésil, Equateur, etc.) et d'Australie.

Comparée aux précédentes, la flore de l'Afrique qui a vu naître le premier hominidé de l'univers terrestre, semble connaître un frémissement moindre. Pourtant, cette dernière constitue une formidable source d'étude de milliers d'espèces végétales dont nombreuses sont encore inexploitées.

La recherche de nouveaux principes actifs végétaux ou de nouvelles plantes est un phénomène constant au fil des siècles, car l'homme, dans sa quête de survie, s'est toujours tourné vers ce réservoir végétal naturel pour y puiser de multiples éléments nécessaires à sa survie.

Il n'est pas dit à juste titre que « La nature reste sans doute pour longtemps encore le plus perfectionné de tous les laboratoires du Monde ». A l'heure actuelle, notre monde est de plus en plus confronté aux grands maux et fléaux, aux pandémies comme les maladies virales, cancéreuses, dégénératives, métaboliques (Virus Sida – Virus Ebola – Carcinomes - Maladie de la «Vache folle» - Maladie de Parkinson – Maladie d'Alzheimer – Toxicomanies). Face à cette croisade pathologique, l'espoir phytochimiothérapique ne pourrait t-il pas venir justement de la flore Africaine ?

### ***Principales substances curatives des plantes médicinales***<sup>78</sup>

Les plantes synthétisent les substances organiques à partir des éléments du sol et de l'atmosphère qu'elles absorbent par les racines et par les feuilles : l'eau, l'acide carbonique et les matières minérales et inorganiques. Le processus de base est l'assimilation photosynthétique du gaz carbonique, appelé simplement photosynthèse. Les premiers produits de la photosynthèse sont des substances appelées métabolites primaires : les saccharides (sucres), puis les acides gras, les acides aminés. Ensuite sont produits les métabolites spécialisés (secondaires) dont certains possèdent des vertus thérapeutiques. Parmi les métabolites primaires, les saccharides entrent dans la préparation des comprimés, servent de base aux mucilages. Certains acides aminés ne sont pas produits par l'organisme humain auquel ils sont pourtant indispensables et doivent donc être ingérés. Les métabolites contenant de l'iode assurent le bon fonctionnement de la glande thyroïde. Les plus complexes, comme l'insuline, forment la base des hormones ainsi que des antibiotiques. Les plus importants sont les protéines.

Parmi les métabolites spécialisés, les principaux sont: les flavonoides, la rutine, qui renforcent les parois des capillaires sanguins, les composés terpéniques (dérivés du terpène, parmi lesquels le menthol, le camphre, etc.). À noter que les composés terpéniques forment la base des stéroïdes qu'on retrouve dans de nombreuses vitamines. Les principes amers permettant la digestion des matières grasses, les saponines (sapo = savon) sont utilisées comme expectorants et diurétiques.

Les alcaloïdes à effets thérapeutiques nombreux mais qui peuvent être aussi des poisons mortels. L'énumération peut être prolongée : d'autres métabolites spécialisés agissent contre les allergies, l'hypertension, les maladies infectieuses et forment même la base de produits anticonceptionnels.

## **Quelques plantes médicinales et aromatiques**

### ***-Plantes à huiles essentielles et résines***

Achillea odorata L. Composée - Achillée odorante, Méditerranée

Cannabis sativa L. Cannabidacée - Chanvre Europe, Asie

Agastache foeniculum (Purh) Kuntze Labiacée – Agastache, Amérique du nord

Ambrosia artemisiifolia L. Composée – Ambroisie, Amérique du nord

Ambrosia maritima L. Composée Ambroisie maritime, Méditerranée

Anacyclus pyrethrum D. C. Composée Pyrèthre d'Afrique Afrique, Orient

Artemisia annua L. Composée Armoise annuelle, Europe

Artemisia ludoviciana Nutt. Composée Armoise grise, Amérique

Calendula maroccana Ball. Asreracée Souci du Maroc, Afrique du nord

Mentha riquieni Benth. Labiacée - Menthe corse, Méditerranée (Corse, Sardaigne)

Mentha rotundifolia L. Labiacée - Menthe à feuilles rondes, Europe atlantique

Santolina chamaecyparissus L. Composée- Santoline, Garde-robe, Méditerranée

Thymus vulgaris L. Labiacée Thym, Méditerranée

### ***-Plantes à alcaloïdes***

Atropa belladonna L. Solanacée - Belladone Europe, Asie

Bryonia cretica ssp. dioica (Jacq.) Tutin Cucurbitacée - Bryone dioïque, Navet du Diable  
Europe, Asie

Catharanthus roseus (L.) G. Don. Apocynacée - Pervenche de Madagascar, Afrique  
(Madagascar)

Chelidonium majus L. Papaveracée - Chélidoine Europe, Asie

Colchicum autumnale L. Liliacée – Colchique, Europe

Ephedra distachya L. Ephedracée - Ephédra, Raisin de mer Méditerranée, atlantique

Mandragora autumnalis Bertol. Solanacée - Mandragore femelle Méditerranée, Asie

Mandragora officinarum L. Solanacée - Mandragore mâle Europe, Asie

Nigella damascena L; Ranunculacée - Nigelle de damas, méditerranée

Papaver orientale L. cv 'Bracteatum' Papaveracée - Pavot à bractée, Moyen Orient  
(Caucase)

Papaver somniferum L. Papaveracée - Pavot oeillette, Pavot à opium, Méditerranée, Asie

Peganum harmala L. Rutacée – Harmel, Méditerranée, Asie.

***-Plantes à terpènes***

Asclepias incarnata L. Asclepiadacée – Asclépiade, Amérique (Nord-est)

Campanula rapunculus L. Campanulacée - Campanule raiponce, Europe, Asie

Campanula trachelium L. Campanulacée - Campanule gantelée, gant de Notre-Dame,  
Europe

Chenopodium ambrosioides L. Chenopodiaceae - Thé du Mexique

Xanthium spinosum L. Asteracée – Lampourde, Amérique du sud

***-Plantes à flavonoïdes***

Achillea ptarmica L. Composée - Bouton d'argent, herbe à éternuer, Europe

Calendula arvensis L. Composée - Souci sauvage Méditerranée, Asie

Carlina acaulis L. Composée - Carline, Baromètre, Europe

Centaurea americana Nutt. Composée - Centaurée d'Amérique Amérique du nord

Helichrysum italicum (Roth) G.DON.fil. Composée - Immortelle à feuilles étroites,  
Méditerranée

***-Plantes à hétérosides coumariniques***

Artemisia abrotanum L. Composée Aurone mâle Inconnue puis cultivée

Galium odoratum (L.) Scop. Rubiacée Aspérule odorante, Thé suisse Europe, Asie

Galium aparine L. Rubiacée Gaillet gratteron, Europe

Hierochloa odorata (L.) Beauv. Poacée Herbe de la Vierge, Europe (Montagnes)

Liatris spicata Willd Composée Liatride Amérique du nord

Pastinaca sativa L. Apiacée Panais, Europe

Peucedanum ostruthium Koch. Apiacée Impéatoire, Europe (Montagnes)

***Plantes à hétérosides cardénoliques***

Adonis aestivalis L. Ranunculacée Adonide d'été, Œil de perdrix Europe, Asie

Adonis vernalis L. Ranunculacée Adonide de printemps, Europe

Chelone glabra L. Scrofulacée Chelone, Galane en épis, Amérique du nord

Convallaria majalis L. Liliacée Muguet de mai Europe, Asie, Amérique du nord

Coronilla varia L. Legumineuse Coronille variée, Europe, Asie

Digitalis grandiflora Mill. Scrofulacée Digitale ambiguë, Europe

Digitalis ferruginea L. Scrofulacée Digitale ferrugineuse, Europe

Evonymus europaeus L. Celastracée Fusain, Bonnet de prêtre, Europe

Gratiola officinalis L. Scrofulacée Gratiole, Herbe à la fièvre

***- Plantes à saponisides***

Abrus precatorius L. Légumineuse Liane réglisse, Jiquirity, Asie tropicale (Inde)

Acanthopanax sessiliflorus Seem. araliacée Acanthopanax sessile, Asie tropicale

Agrostemma githago L. Caryophyllacée Nielle des blés, Méditerranée puis cosmopolit

Anagallis arvensis L. Pprimulacée Mouron des champs, Europe

Aralia racemosa L. Araliacée Aralia à grappes, Amérique du nord

Betula pendula Roth. Betulacée Bouleau blanc d'Europe, Europe

Chenopodium album L. Chenopodiacée Chénopode blanc, Europe

***Les vertus thérapeutiques des plantes<sup>5</sup>***

Antisudorifique : diminue les sécrétions exagérées de sueurs

Apéritive : provoque l'appétit en agissant sur les organes digestifs et les glandes.

Aphrodisiaque : excite et stimule l'organisme en général, mais en agissant spécialement sur les organes génitaux.

Aromatiques : possèdent un parfum pénétrant et un goût prononcé dus aux huiles essentielles qu'elles contiennent. Elles tonifient, stimulent et excitent les fonctions digestives.

**Astringente** : a la propriété de resserrer les tissus, capillaires et les orifices, ainsi que de diminuer les sécrétions des glandes et des muqueuses. Utilisée entre autre dans les diarrhées, les hémorragies (hémostatique) et les angines.

**Balsamique** : stimule les voies digestives et respiratoires.

**Calmantes** : agit sur le système nerveux en diminuant l'activité trop prononcée, et également l'irritabilité.

**Analgésique ou sédative** : apaise ou supprime la douleur.

**Antiseptique**: aide l'organisme à lutter contre l'infection en contribuant à arrêter le développement des microbes.

**Antispasmodique** : cesse les spasmes, contractions involontaires des muscles et des organes, d'origine nerveuse

**Béchique** : calme la toux et les irritations des voies respiratoires.

**Céphalique** : guérit les maux de tête d'origine nerveuse.

**Somnifère ou narcotique ou hypnotique ou soporifique**: fait dormir et procure un sommeil réparateur.

**Carminative** : favorise l'expulsion des gaz de l'intestin.

**Cholagogue** : facilite l'évacuation des voies biliaires, action bénéfique pour le foie et le tube digestif.

**Cholérétique** : augmente la sécrétion biliaire.

**Cordiale** : agit sur le cœur et l'estomac, ce qui donne une sensation de réconfort.

**Dépurative** : purifie le sang et débarrasse l'organisme des principes toxiques nuisibles à la santé en les éliminant par la peau, les reins et l'intestin.

**Sudorifique ou diaphorétique** : favorise la transpiration cutanée et provoque la sécrétion de la sueur.

**Diurétique** : favorise l'émission des urines en agissant sur les voies urinaires.

**Laxative** : purge avec douceur, sans irriter ni fatiguer l'intestin. Plus énergique, la purgative (ou drastique) provoque de très fortes contractions de l'intestin et peuvent occasionner une inflammation.

**Digestive** : facilite la digestion en aidant le travail de l'estomac.

**Éméto-cathartique** : provoque à la fois les vomissements et les selles.

**Emménagogue** : provoque, facilite ou augmente l'écoulement des règles.



Fébrifuge : prévient les accès de fièvre et permet de combattre celle-ci.

Fondante ou résolutive : produit la résolution des engorgements et des inflammations, et assure le retour des tissus à leur état normal.

Galactogène : favorise la sécrétion du lait chez les nourrices (antilaiteuse)

Hépatique : facilite les fonctions du foie.

Pectorale : soulage les douleurs de poitrine (bronches, poumons, larynx, ...). Quand elle facilite l'évacuation du mucus qui encombre la trachée et les bronches, elle est appelée expectorante.

Rafrâchissante : calme la soif et diminue la température du corps et l'inflammation.

Révulsive ou rubéfiante ou vésicante : provoque des rougeurs avec une sensation de chaleur (utilisé pour décongestionner un organe interne).

Sternutatoire : provoque l'éternuement et la sécrétion des muqueuses.

Stimulante ou excitante : augmente l'activité et la vitalité en excitant le système nerveux et vasculaire et tout l'organise en général.

Stomachique : facilite le travail de l'estomac et le fortifie.

Tonique : possède une action fortifiante sur l'ensemble de l'organisme en accroissant l'activité des organes qui participent à la nutrition et reconstitue les tissus usés.

Vermifuge : expulse les vers de l'intestin.

Acaricide : s'attaque spécialement aux ascaris et aux oxyures.

Ténifuge : s'attaque au ténia (ou vers solitaire).

Vomitif ou émétique : permet de faire vomir et de vider l'estomac en cas d'indigestion ou d'empoisonnement.

Vulnéraire : en application externe, elle contribue à la guérison des plaies, mais elle peut aussi être administrée oralement pour réanimer les personnes ayant subi une chute ou une blessure

**II**

# **BOTANIQUE**

## **Les Asterales<sup>82,83</sup>**

L'ordre des Asterales est un ordre de plantes dicotylédones. En classification classique (1981) il ne comporte qu'une seule famille:

L'ordre des Asterales de la famille des Astéracées (famille du tournesol).

En classification phylogénétique APG II (2003), la circonscription est l'ordre des Asterales qui comprend :

La famille des Alseuosmiacées

La famille des Argophyllacées

La famille des Astéracées

La famille des Calyceracées

La famille des Campanulacées

La famille des Goodeniacées

La famille des Menyanthacées

La famille des Pentaphragmataacées

La famille des Phellinacées

La famille des Rouseacées

La famille des Stylidiacées

La famille des Astéracée (Composées)

Nom scientifique : Asteraceae Martynov (1820) ou Compositae Giseke (1792).



La famille des Astéracées ou Composées est une importante famille de plantes dicotylédones qui comprend près de 13 000 espèces réparties en 1500 genres. Ce sont essentiellement des plantes herbacées même s'il peut exister des arbres, des arbustes ou des lianes. On y retrouve un grand nombre d'espèces très communes dans les champs et les villes. Plusieurs plantes de cette famille sont cultivées pour leur valeur alimentaire (le tournesol, le topinambour, la laitue, la chicorée, la camomille, etc.) ou comme plantes ornementales (les dahlias, les asters, les rudbeckies, les gaillardes, etc.).

### ***Caractéristiques générales***

Les Composées sont caractérisées par la disposition des fleurs en capitule. Les capitules sont constitués du regroupement de fleurs sessiles sur un même réceptacle. Les fleurs sont de deux types : fleurs tubulées «tubuliflores» et fleurs ligulées «liguliflores». Le tout donnant à l'ensemble l'apparence d'une seule fleur. Le fruit est un akène généralement surmonté d'un Pappus apparaissant sous la forme d'écailles, de soies, d'arêtes ou d'une couronne. Le capitule est entouré à la base généralement par 1 à 6 séries de bractées dont l'ensemble forme l'involucre.



Ainsi, contrairement à la croyance populaire, ce qu'on appelle une « fleur » de tournesol, de chardon, ou de pissenlit... n'est en réalité pas « une » fleur mais un capitule de fleurs. La fleur des astéracées est très particulière: les étamines sont soudées par leurs anthères déhiscentes vers l'intérieur. Sous les stigmates sont situées des "brosses à pollen". La croissance rapide du style permet un brossage du pollen et sa récupération. Une fois que le stigmate a traversé le tube formé par les anthères, les stigmates se déploient et exposent leur face gluante au pollen. Il faut considérer qu'à ce moment-là, du nectar est sécrété.

Les fleurs des astéracées, appelées aussi fleurons, se présentent sous deux formes : des languettes, ou ligules, dans lesquelles les équivalents des pétales sont soudés, généralement par cinq, parfois par trois, reconnaissables seulement aux dents de la languette, et où un pétale prédomine, des tubes terminés par des lèvres imperceptibles ou s'ouvrant plus ou moins largement en cinq lobes.

Dans le premier cas il s'agit de fleurons ligulés, dans le second, de fleurons tubulés. Le capitule peut présenter trois aspects différents :

- fleurons tous ligulés (chicorée, pissenlit, laitue etc.);
- fleurons tous tubulés (chardon, cirse, centaurée etc.);
- fleurons périphériques ligulés entourant un disque de fleurons tubulés (marguerite, aster, séneçon etc.).

Les fruits sont des akènes, souvent couronnés d'une aigrette de soies appelée Pappus qui favorise la dispersion des graines par le vent.

Pour déterminer la plupart des plantes de cette famille, il est nécessaire de récolter des capitules défleuris, portant des fruits mûrs ou au moins déjà bien formés. L'observation des bractées de l'involucre est également très importante.

### ***Particularités***

Certaines Astéracées sont des plantes succulentes, principalement dans les genres Senecio et Othonna. D'autres sont connues pour le caractère allergène de leur pollen (genre Ambrosia).

### ***Utilisations***

Dans cette famille nombreuse, certains genres sont comestibles, on y trouve : Le Lactuca : les laitues, le Chicorium ( les chicorées dont l'endive et la scarole), le Cynara (l'artichaut) et l' Helianthus (le topinambour, le tournesol).

Plus de 200 genres sont cultivés comme plantes ornementales (aster, chrysanthème, etc.). Certains comme le genre Pyrethrum fournissent un insecticide, d'autres (genre Artemisia) sont utilisés comme plantes médicinales et dans la fabrication de liqueurs comme l'absinthe ou le génépi.

***Principaux genres***

Achillea, Acroptilon, Ambrosia, Anacyclus, Anaphalis, Andryala, Antennaria, Anthemis, Aposeris, Arctium, Arctotheca, Arctotis, Argyranthemum, Arnica, Arnoseris, Artemisia, Aster, Asteriscus, Atractylis, Baccharis, Balsamita, Bellis, Bellium, Berardia, Bidens, Bombycilaena, Brachycome, Bupthalmum, Cacalia, Calendula, Callistephus, Calotis, Carduncellus, Carduus, Carlina, Carpesium, Carthamus, Catananche, Cenia, Centaurea, Centipeda, Cheirolophus, Chiliadenus, Chondrilla, Chrysanthemoides, Chrysanthemum, Cicerbita, Cichorium, Cirsium, Cnicus, Coleostephus, Conyza, Coreopsis, Cosmos, Cotula, Crepis, Crupina, Cyclachaena, Cynara, Dahlia, Delairea, Dendrosenecio, Dimorphotheca, Dittrichia, Echinacea, Echinops, Eclipta, Encelia, Erigeron, Eriophyllum, Eupatorium, Euryops, Evax, Felicia, Filago, Flaveria, Gaillardia, Galactites, Galinsoga, Gamochaeta, Gazania, Gerbera, Geropogon, Glebionis, Gnaphalium, Grindelia, Guizotia, Hedypnois, Helenium, Helianthus, Helichrysum, Hemizonia, Heteranthemis, Hieracium, Homogyne, Hyoseris, Hypochaeris, Inula, Ismelia, Jasonia, Jurinea, Lactuca, Lapsana, Leontodon, Leontopodium, Leucanthemopsis, Leucanthemum, Leuzea, Liatris, Ligularia, Logfia, Lonas, Madia, Mantisalca, Matricaria, Mycelis, Nananthea, Notobasis, Olearia, Omalotheca, Onobroma, Onopordum, Orminis, Osteospermum, Otanthus, Pallenis, Petasites, Phagnalon, Picnomon, Picris, Plagiis, Podachaemium, Prenanthes, Pseudognaphalium, Ptilostemon, **Pulicaria**, Reichardia, Rhagadiolus, Rudbeckia, Sanvitalia, Santolina, Saussurea, Scolymus, Scorzonera, Senecio, Serratula, Sigesbeckia, Silphium, Silybum, Solidago, Soliva, Sonchus, Staehelina, Stevia, Tagetes, Tanacetum, Taraxacum, Telekia, Tephroseris, Tolpis, Tragopogon, Tussilago, Tyrimnus, Urospermum, Ursinia, Verbesina, Willemetia, Xanthium, Xeranthemum, Zinnia.

### ***Caractéristiques botaniques des pulicaires***<sup>80</sup>

Ce sont des plantes à capitules hétérogames, multifformes (nombreux en grappe ramifiée).

- Fleurs du rayon ligulées à ligules soit bien marquées et étalées, soit dressées et dépassant à peine l'involucre (parfois de 1-2mm seulement); parfois aussi nulles; femelles et sur un rang.

- Fleurs de disque tubuleuses et hermaphrodites. Involucre à bractées, sur un peu de rangs, généralement étroites, les extérieures courtes ou foliacées, les intérieures parfois scarieuses.

- Réceptacle plan, nu, à épine alvéolé.

- Akènes cylindriques ou comprimés, sans côtes ou à 4 côtes. Aigrette double (différence avec *Inula*); celle extérieure courte, cupuliforme, constituée par des paillettes connées à la base, ou soudée avec l'interne (ex genre *francoeuria*); celle intérieure composée de soies longues et sabres. Fleurs jaunes.

Le *Pulicaria Laciniata*<sup>81</sup> appelé aussi *francoeuria laciniata* est une plante vivace à feuilles laciniées, glabrescentes ou velues, courtes (2cm env.), à capitules plus gros (20-25mm), à ligules nettement radiantes, à tiges laineuses, blanchâtres, de 20 à 40cm; à capitules en corymbe terminal et à akènes à poils de l'aigrette plumeux sur toute leur longueur. Elle se répand dans les lieux temporairement inondés à la lisière septentrional du Sahara: Biskra, Laghouat et le Sud-tunisien. -« Negueud » « Djaada »



- Le *Pulicaria crispa* (*francoeuria*) plante vivace, zones d'épandage, rocailles « Arfedj » « tanetfirt »

- Le *Pulicaria dysenterica* répandu dans toute l'Algérie (fossés, marais, bords des eaux)

- «Rara ayoub »

- Le *Pulicaria odora* : lieux frais - dans le Tell

- Le *Pulicaria mauritanica* : Algérie, Maroc. Montagnes du sud oranais

- Le *Pulicaria filaginoides* : Plantes telliennes ou des hauts plateaux (lieux inondés)

- Le *Pulicaria sicula* : Plantes du Sahara septentrional, central ou méridional

- Le *Pulicaria arabica* : Plante des marais, lieux humides

(Afrique septentrionale, Arabie)

- Le *Pulicaria undulata* : plante commune dans tout le Sahara

# III

## TRAVAUX

## ANTERIEURS

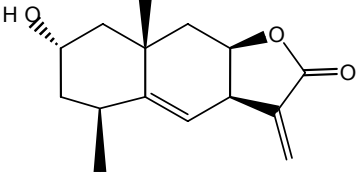
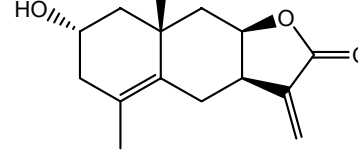
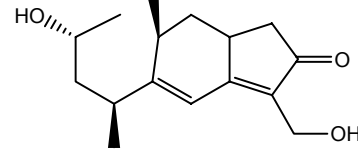
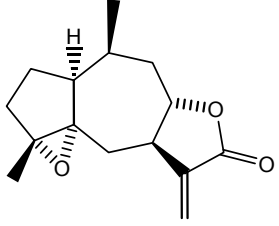
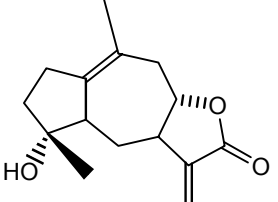
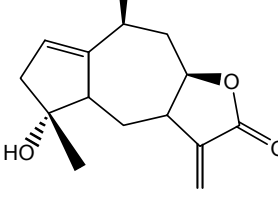
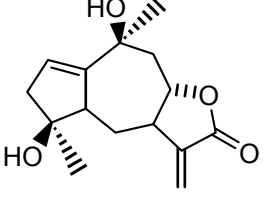


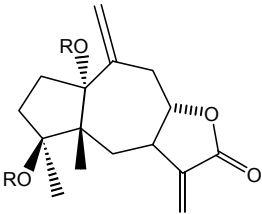
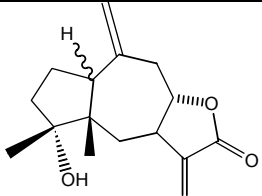
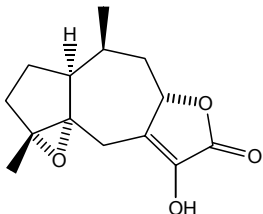
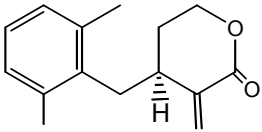
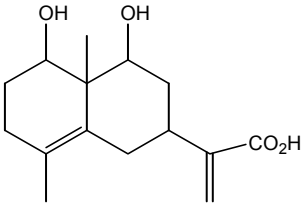
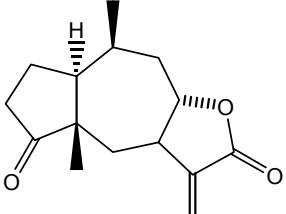
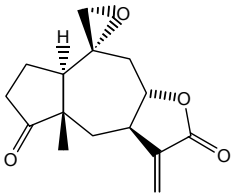
## *Les pulicaires*

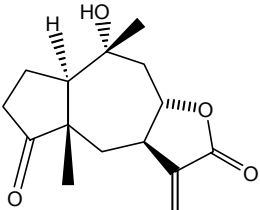
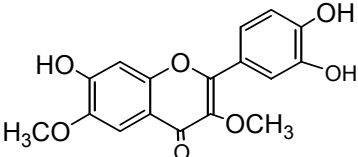
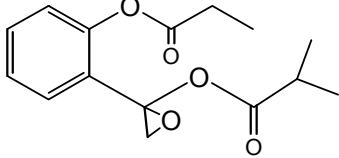
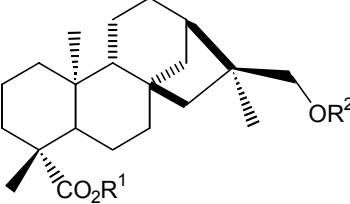
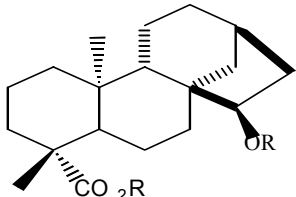
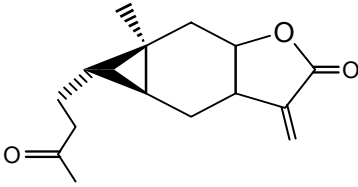
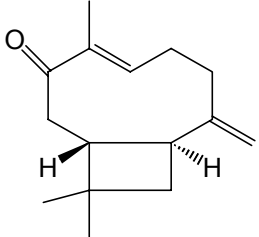
La recherche bibliographique effectuée a montré que sur les 80 espèces *Pulicaria* (Gaert)<sup>80</sup> réparties entre l'Europe, l'Afrique du nord et l'Asie seuls quelques spécimens ont fait l'objet d'études phytochimiques. Les premières hypothèses de structures ont été proposées<sup>83-99</sup> dans une série de travaux sur ces différentes espèces. Les produits isolés sont essentiellement des sesquiterpènes connus pour leurs diverses activités biologiques.

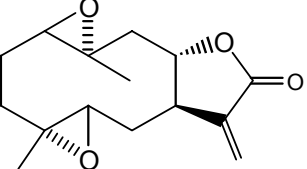
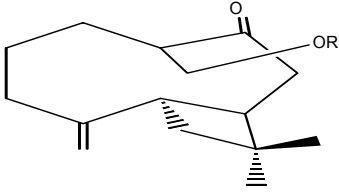
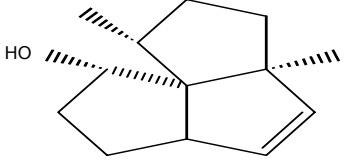
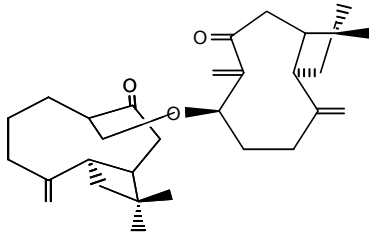
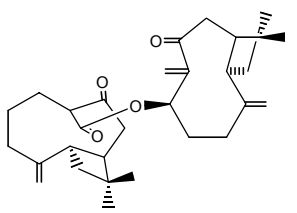
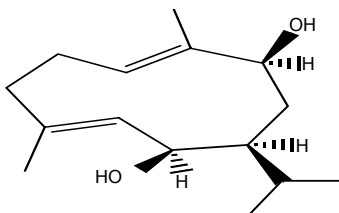
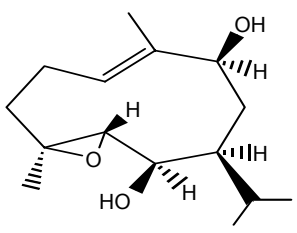
De toutes ces espèces *Pulicaria* (*undulata*, *crispa*, *odora*, *dysenterica*, *filaginoide*, *sicula*, *arabica*, *canariensis*, *salviifolia*, *wightiana*, *prostrata*, *vulgaris* et *gnapholode*) ont été isolés les structures de type eudesmanolide, guaianolide, nor-guaianolide, pseudoguaianolide, xanthanolide etc ...

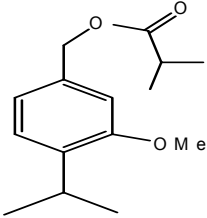
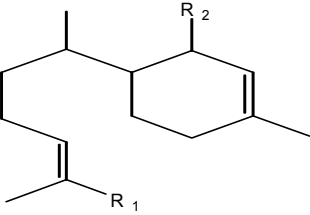
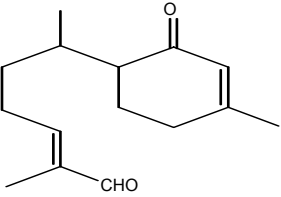
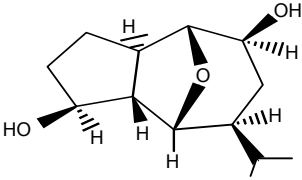
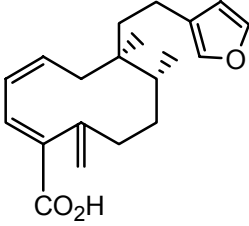
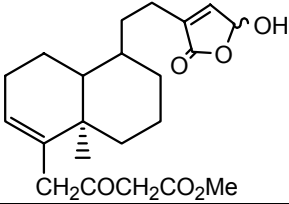
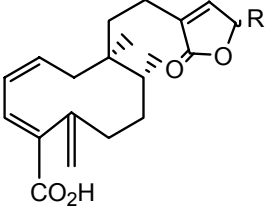
Les composés isolés dans ces différentes substances végétales sont répertoriés dans les tableaux ci-après :

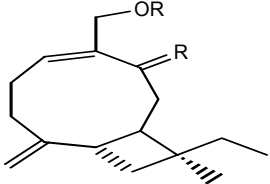
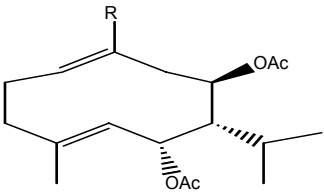
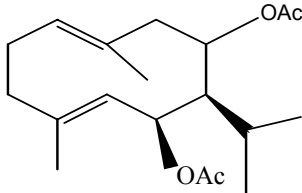
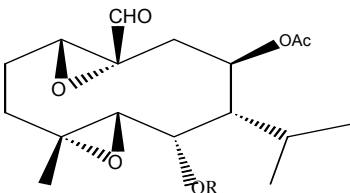
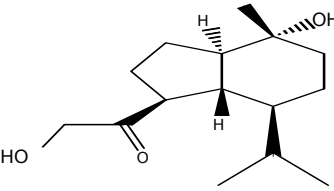
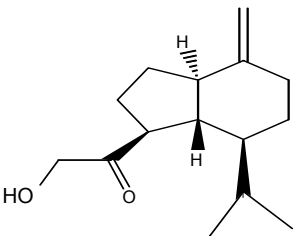
nom	structures	Source biologique	Propriétés Pharmacodynamiques
Eudesmanolide		Pulicaria undulata <sup>107</sup> Inula helenium <sup>108</sup>	Activité antibactérienne. <sup>89</sup>
Eudesmanolide		Pulicaria undulata	
Eudesmanolide		Pulicaria undulata	
Guaianolide		Pulicaria undulata Inula helenium <sup>108</sup>	Allergénique.
Guaianolide		Pulicaria crispa <sup>103-106</sup>	Activité cytotoxique. <sup>98</sup>
Guaianolide		Pulicaria crispa	
Guaianolide		Pulicaria crispa	

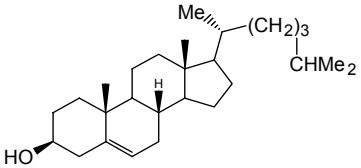
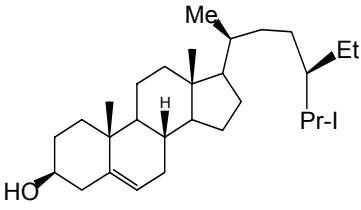
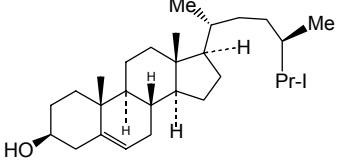
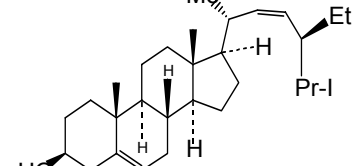
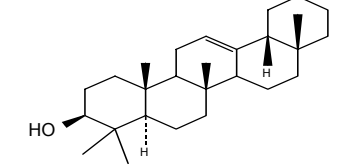
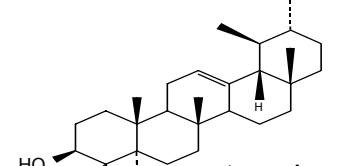
nom	structures	Source biologique	Propriétés Pharmacodynamiques
Guaianolide		Pulicaria crispa	
Guaianolide		Pulicaria crispa	
Nor-guaianolide		Pulicaria undulata	
Dérivé Eudesmanolide		Pulicaria crispa	Antioxydant (artériosclérose , cancer, cirrhose et diabète). <sup>83,86</sup>
Dérivé Eudesmanolide		Pulicaria crispa	
Pseudo Guaianolide		Pulicaria undulata Pulicaria crispa	Activité Antibactérienne et cytotoxique. <sup>101,107</sup>
Pseudo Guaianolide		Pulicaria crispa	

nom	structures	Source biologique	Propriétés Pharmacodynamiques
Pseudo Guaianolide		Pulicaria crispa <sup>103-106</sup>	
Flavonoïde		Pulicaria crispa <sup>83</sup> P. dysenterica Vulgaris <sup>86</sup> , sicula <sup>86</sup> paludosa <sup>86</sup> , odora <sup>84,7</sup>	Activité anticarcinogénique Désordre intestinal <sup>99</sup> Antibactérienne et antibiotique <sup>84</sup>
Dérivé thymol		Pulicaria scabra Arabica Dysenterica <sup>90-92</sup>	
Diterpène glyc		Pulicaria crispa	
Diterpène glyc		Pulicaria crispa	
Carabrone		Inula helenium	
Trans-caryophyllène		P. prostrata <sup>100</sup> P. wightiana <sup>101</sup>	Citotoxique <sup>96</sup> Antibactérienne <sup>101</sup>

nom	structures	Source biologique	Propriétés Pharmacodynamiques
Germacranolide		Inula helenium	
Dérivé Caryophyllène		Pulicaria dysenterica	
Sesquiterpène		Pulicaria Scabra <sup>97</sup>	
Caryophyllène dérive- éther		Pulicaria scabra	
Caryophyllène dérive- ester		Pulicaria scabra	
Germacrane		Pulicaria Glutinosa <sup>93-95</sup>	Antispasmodique <sup>99</sup>
Germacrane		Pulicaria glutinosa	Chemopreventive Cancer <sup>93</sup>

nom	structures	Source biologique	Propriétés Pharmacodynamiques
Sesquiterpène		P. dysenterica P. glutinosa <sup>90-92</sup>	Activité antibactérienne Antihistaminique <sup>90-92</sup> antispasmodique
Bisabolène sesquiterpène		Pulicaria Glutinosa <sup>93-95</sup>	
Bisabolène sesquiterpène		Pulicaria glutinosa	Antispasmodique <sup>99</sup>
Guaiane		Pulicaria glutinosa	
Diterpène acide strictique		Pulicaria glutinosa	
Diterpénoïde		P. salviifolia P. glutinosa	
Diterpénoïde		Pulicaria glutinosa	

nom	structures	Source biologique	Propriétés Pharmacodynamiques
Caryophyllane		<i>Pulicaria scabra</i> <sup>97</sup> <i>P. arabica</i> <sup>96</sup> <i>P. dysenterica</i> <i>P. prostrata</i> <sup>100</sup> <i>P. canariensis</i>	Dysenterie Répulsion des insectes
Pulicanadiene		<i>Pulicaria canariensis</i> <sup>98</sup>	Dysenterie Répulsion des insectes
Pulicanadiene		<i>Pulicaria canariensis</i>	
Pulicanaras		<i>Pulicaria canariensis</i>	
Pulioplopanone		<i>Pulicaria canariensis</i>	Dysenterie répulsif des insectes <sup>90</sup>
Pulioplopanone		<i>Pulicaria canariensis</i> <sup>98</sup>	Dysenterie

nom	structures	Source biologique	Propriétés Pharmacodynamiques
cholestérol		P. salviifolia <sup>88,89</sup> P. gnapholodes <sup>85</sup> P. uliginosa	
stigmasterol		P. salviifolia P. gnapholodes P. uliginosa <sup>102</sup>	
campesterol		P. salviifolia P. gnapholodes P. uliginosa	
stigmasterol		P. salviifolia P. gnapholodes P. uliginosa	
Triterpène		P. salviifolia P. gnapholodes P. uliginosa P. crispa	
Triterpène	 $\alpha$ - Amyrine	P. salviifolia P. gnapholodes P. uliginosa	



**IV**

**ETUDE**

**DES**

**COMPOSES**

**TERPENIQUES**

Les terpènes (= terpénoïdes) sont des constituants habituels des cellules végétales, impliqués ou non dans des fonctions métaboliques essentielles. L'étude de leur métabolisme connaît un regain d'intérêt par suite du développement des méthodes analytiques auxquelles est venu s'ajouter l'outil moléculaire<sup>109-113</sup>. Ce sont des produits naturels, formés de l'assemblage d'un nombre entier d'unités penta-carbonées ramifiées dérivées du 2-méthyl butadiène, appelées unités isopréniques<sup>114</sup>. La très grande majorité des terpènes est spécifique du règne végétal, mais cette spécificité n'est pas absolue. On rencontre des sesquiterpènes et des diterpènes de structures variées chez les animaux marins (Coelanthérés, Spongiaires) et il n'est pas certain que les phéromones monoterpéniques connues chez les insectes soient toutes élaborées à partir de monoterpéniques végétaux apportés à ces insectes par leur alimentation<sup>115</sup>. Les terpènes les plus volatils c'est à dire ceux dont le poids moléculaire n'est pas trop élevé, font généralement partie de l'embranchement des Spermaphytes<sup>115</sup>. Les terpènes se trouvent dans tous les organes végétaux : fleurs<sup>117-118</sup>, feuilles<sup>119,120</sup>, rhizomes<sup>121</sup>, écorces, et fruits<sup>120</sup> ou graines<sup>114</sup>.



*Pittosporum viridiflorum*<sup>120</sup>

Sabinène,  $\alpha$ -pinène,  $\beta$ -pinène  $\delta$ -cadinène



*Ravensara aromatica*

Sonnerat<sup>78</sup> linalol, méthyl chavicol  
, méthyl eugénol

La synthèse des terpènes est généralement associée à la présence de structures histologiques spécialisées, localisées en certains points des autres tissus, le plus souvent situées sur ou à proximité de la surface de la plante. Ces formations sont les suivantes :

- cellules à essence : Lauracées, Zingibéracées...
- poils sécréteurs stipités (Pélargonium) ou sessiles et à tête pluricellulaire (Labiées)
- poches sécrétrices schizogènes (Myrtacées) ou schizolysigènes (Rutacées, Burséracées)
- canaux sécréteurs : Térébinthacées, Ombellifères, Composées.



*Rosa sp.* Géraniol, citronnellol

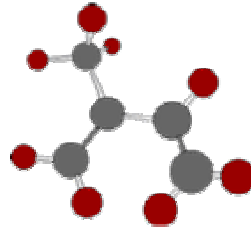
Les terpènes sont les constituants majeurs de l'huile essentielle. Cependant si l'on peut connaître les effets de monoterpènes ou de sesquiterpènes isolés, les résultats sont difficilement transposables à l'essence, mélange complexe et variable. Beaucoup de drogues doivent aux composés terpéniques des essences leurs propriétés aromatiques. Les terpènes non cycliques sont en grande partie responsables de l'odeur suave des plantes et des fleurs et dont quelques-unes sont employées en parfumerie. Ces substances possèdent aussi des propriétés pharmacodynamiques très variées, en relation avec les différentes fonctions liées au squelette terpénique.

En voici quelques exemples<sup>114</sup>

<b>Terpènes</b>	<b>Propriétés pharmacodynamiques</b>
pinènes	rubéfiant
azulène	anti-inflammatoire
géraniol linalol cinéol	antiseptique
ascaridol	vermifuge
thuyone	stupéfiant

La synthèse d'une grande variété de terpénoïdes, non cycliques et cycliques, dans les plantes, fait intervenir un nombre variable d'éléments isopréniques. Suivant le nombre entier d'unités pentacarbonées  $(C_5)_n$  ramifiées, dérivées du 2-méthylbutadiène, on peut faire la classification suivante :

- pour  $n = 2$  : les Monoterpènes ( $C_{10}$ )
- pour  $n = 3$  : les Sesquiterpènes ( $C_{15}$ )
- pour  $n = 4$  : les Diterpènes ( $C_{20}$ )
- pour  $n = 5$  : les Sesterpènes ( $C_{25}$ )
- pour  $n = 6$  : les Triterpènes ( $C_{30}$ )
- pour  $n = 8$  et le caoutchouc naturel : les polyterpènes



Dans les terpénoïdes, la tête d'un élément isoprène est ordinairement liée à la queue de l'élément suivant ; toutefois, on rencontre des exemples de terpénoïdes où se trouvent des liaisons tête à tête et queue à queue.

### ***Monoterpènes (Composés en $C_{10}$ )***

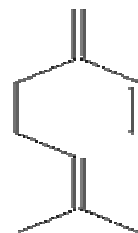
Ces terpènes proprement dits sont des hydrocarbures en  $C_{10}H_{16}$ . Ils peuvent être acycliques, monocycliques, bicycliques

Terpènes acycliques

- Hydrocarbures :

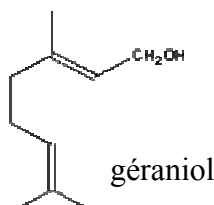
Ils ont tendance à se cycliser, d'où leur mode habituel de représentation. A ces terpènes se rattachent un certain nombre de produits naturels à fonctions chimiques spéciales, surtout alcool et aldéhyde.

myrcène



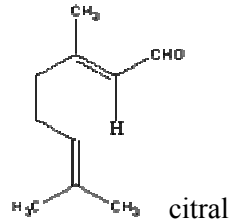
- Alcools :

Le géraniol se rencontre dans les essences de rose, de Citronnelle, de Géranium rosat.



- Aldéhydes :

Le citral, correspondant au géraniol, se trouve dans les essences de Citron, Lemon-grasse, Mélisse, Verveine odorante



*Quelques formules des monoterpènes acycliques*

<b>myrcène</b>	<b>géraniol</b>	<b>citral</b>
<b>cis-ocimène</b>	<b>nérol</b>	<b>citronnellol</b>
<b>trans-ocimène</b>	<b>linalol</b>	<b>citronnellal</b>

## Terpènes monocycliques

On distingue :

- Les dérivés des hydrocarbures en  $C_{10}H_{16}$  contenant deux doubles liaisons.

Ils sont tous liquides. Dans ce groupe, on rencontre :

Le d-limonène de l'essence de Citron et d'autres Rutacées

Le limonène inactif ou dipentène des aiguilles de Pin

Les phellandrènes de l'Angélique, du Fenouil amer, de certains Eucalyptus

Les terpinènes

La carvone, dérivé cétonique, un constituant des essences de Carvi, de Menthe douce.

- Les dérivés des hydrocarbures en  $C_{10}H_{18}$  contenant une double liaison.

Les terpinéols, très répandus à l'état libre et estérifiés dans les huiles essentielles (Néroli, Petit grain, Camphrier). La pulégone (cétone de la Menthe Pouillot). La pipéritone (de divers Eucalyptus)

- Les dérivés des hydrocarbures en  $C_{10}H_{20}$

Les menthanes, hydrocarbures saturés, n'existent pas à l'état naturel, mais on trouve les dérivés correspondants : le menthol (le menthol naturel est le l-menthol ), la menthone (cétone) dans les essences de Menthe.

- A ce groupe des terpènes monocycliques, on peut rattacher un oxyde :

Le cinéol ou eucalyptol, très abondant dans les essences d'Eucalyptus, de Cajeput, de Niaouli, et très répandu dans le règne végétal. C'est un éther oxyde interne résultant de la déshydrogénation d'un diol, la cis 1,8-terpinéol.

L'ascaridol est le seul peroxyde terpénoïde naturel connu. C'est le principe actif de l'essence de Chénopode vermifuge.

### Terpènes bicycliques<sup>114</sup>

Ils sont présents dans un grand nombre d'essences surtout chez les Conifères.

Les hydrocarbures ont une double liaison et un pont, le deuxième cycle ayant 2,3 ou 4 atomes de carbones communs avec le premier.

Les pinènes  $\alpha$  et  $\beta$  (celui-ci est encore appelé nopinène) sont les constituants principaux des essences de térébenthines.

Les fenchènes.

Le camphène.

Le bornéol, alcool secondaire, se trouve dans les essences d'Aspi, de Romarin, de Muscade, etc. La cétone correspondante est le camphre (le dérivé naturel retiré du bois de Camphrier est le camphre droit).

La fenchone (Fenouil).

Lathuyone (des essences d'Absinthe, de Tanaisie, de Thuya).

### *Sesquiterpènes (Composés en C<sub>15</sub>)*<sup>114</sup>

Ce sont des hydrocarbures de formule C<sub>15</sub>H<sub>24</sub> (n=3), soit une fois et demie (sesqui) la molécule des terpènes vrais (en C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>).

#### - Composés acycliques

On peut citer le farnésène et le farnésol (alcool correspondant du farnésène, essence de Tilleul, baumes du Pérou et de Tolu). Le nérolidol, isomère du farnésol (essence de Néroli, baume du Pérou)

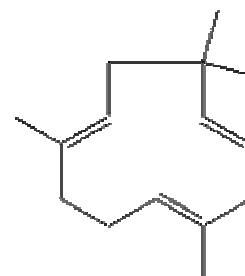
#### - Composés monocycliques

Le zingibérène (du Gingembre)

L'humulène (du Houblon)

#### - Composés bicycliques

Le cadinène (du goudron de Cade)



$\alpha$ -humulène

- Composés tricycliques

Les santalènes (du Santa)

Les santalols, alcools correspondants des santalènes

On peut rattacher aux sesquiterpènes, en raison de leur structure, des lactones comme la santonine, l'hélénine, substances non volatiles mais sublimables.

Un groupe particulier de sesquiterpènes est représenté par les azulènes, composés instables dont le nom vient de leur coloration bleue et qui sont importants en pharmacognosie en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires. Ces composés, non saturés, sont constitués par deux cycles penta- et heptacarbonés ; on trouve dans ce groupe le guaiazulène (du Gaïac), les vétivazulènes, le chamazulène (des essences de Camomille et de Matricaire).

***Triterpènes (Composés en C<sub>30</sub>)***

Ces composés en C<sub>30</sub> (n=6) sont très répandus, notamment dans les résines, à l'état libre, estérifiés ou sous forme hétérosidique.

- Composés aliphatiques

Le squalène, surtout rencontré dans le règne animal, se trouve également dans l'insaponifiable d'huiles végétales (Olive, Lin, Arachide). C'est un intermédiaire dans la biogenèse des triterpènes cycliques et des stéroïdes.

- Composés tétracycliques

L'euphol, l'euphorbol dans les résines d'*Euphorbia resinifera*

Le butyrospermol de beurre de Karité, dans l'insaponifiable de graisses

Les acides éburicoïque, polyporénique chez des champignons (Polypores)

Le lanostérol du suint de mouton, retrouvé sous le nom de cryptostérol dans la Levure de bière.



- Composés pentacycliques

Ils sont très fréquents chez les plantes. On les classe en trois groupes suivant les alcools en  $C_{30}H_{50}O$  dont ils dérivent

$\alpha$ - Amyrine

On trouve dans ce groupe :

l'acide ursolique, très répandu surtout chez les Ericacées (Busserole), les Labiées.

L'acide quinovique des écorces de Quinquina.

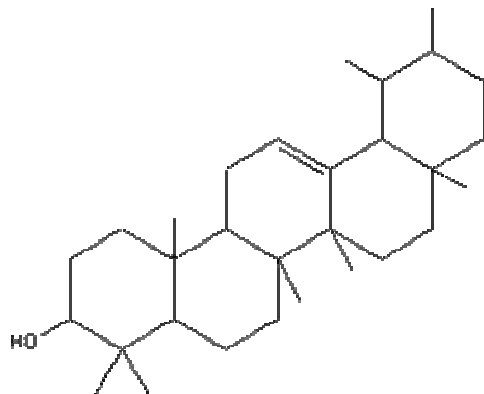
$\beta$ -Amyrine

C'est le constituant principal de la résine d'Elémi de Manille

L'acide oléanolique (Olivier, Aubépine)

L'acide glycyrrhétique (uni à l'acide glycuronique dans la glycyrhizine de la Réglisse) et de nombreuses génines d'hétérosides plutôt classées dans les saponosides : gypsogénine des Caryophyllacées, hédéragénine (du Lierre), aescigénine (du Marron d'Inde), primulagénine (des racines de Primevères), etc...

Le lupéol, extrait initialement des gousses de lapin, il se trouve dans la gutta, type de latex.



$\alpha$ -amyrine

### ***Biogenèse des terpénoïdes***<sup>115-116</sup>

Les études sur les différentes voies de biosynthèse des terpènes ont donné lieu à plusieurs revues bibliographiques<sup>123-128</sup>. Par contre, on possède peu d'informations sur la compartimentation cellulaire et les régulations des systèmes mis en jeu<sup>129-130</sup>. Les recherches sur l'origine biosynthétique des terpènes ont été menées selon diverses orientations.

Ruzicka<sup>131</sup> a proposé les voies de biosynthèse les plus probables en se basant sur la nature chimique des composés.

Arigoni *et al.*<sup>132</sup> de même que Pyun *et al.*<sup>133</sup> ont récemment cherché à caractériser les précurseurs de biosynthèse par analyse des teneurs en isotopes stables.

Bricout<sup>134</sup> avait déjà constaté que la biosynthèse des terpènes volatils s'accompagnait d'une exclusion partielle du deutérium. Celle-ci est particulièrement importante pour les monoterpènes, dont la formation fait intervenir l'acétyl coenzyme A *via* l'acide mévalonique. D'autres auteurs ont utilisé les données génétiques et envisagé des relations de biosynthèse entre les différents constituants<sup>135</sup>. Les expériences fondées sur des incorporations de précurseurs marqués et sur des études enzymatiques<sup>132-136</sup> ont permis de mieux comprendre les mécanismes chimiques de cette biosynthèse. Ainsi, au cours de ces dernières années diverses cyclases extraites de Lamiacées<sup>137-140</sup> ou de Conifères<sup>141</sup> ont été purifiées. La purification de ces enzymes a parfois débouché sur la production d'anticorps polyclonaux<sup>142-143</sup> pouvant être utilisés en immunocytolocalisation afin de mieux comprendre la localisation subcellulaire de ces enzymes. Il est frappant néanmoins de constater qu'aucun travail sur l'immunolocalisation de ces systèmes enzymatiques n'a été publié à ce jour. La seule information d'ordre morphologique dans ce domaine porte sur la localisation, par histochimie, d'une activité monoterpène synthétase dans les poils glandulaires de Menthe verte (*Mentha spicata* Huds.)<sup>144</sup>. Ceci suggère que la détection *in situ* de ces enzymes par des méthodes immunologiques pose des problèmes particuliers et qu'ils ne sont pas facilement décelables par les méthodes habituelles.

### ***Règle isoprénique***

Vers le milieu du XIX<sup>ème</sup> siècle, les travaux sur l'essence de térébenthine sont à l'origine du terme "terpènes" donné aux hydrocarbures de formule brute  $C_{10}H_{16}$ <sup>145</sup>. On les trouve fréquemment dans les huiles volatiles des plantes, nommées huiles essentielles car elles renferment la "*Quinta essentia*", la fragrance de la plante. Les terpènes constituent une famille de composés largement répandus dans le règne végétal. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'une unité isoprénique à 5 atomes de carbone ( $C_5H_8$ ) reconnue par Wallach dès 1887<sup>146</sup>. Cet isoprène est à la base du concept de la "règle isoprénique" énoncée en 1953 par Ruzicka<sup>131</sup> et complétée par Lynen *et al.*<sup>147</sup> et Bloch *et al.*<sup>148</sup>. Cette règle considère le diphosphate d'isopentényle, désigné sous le nom d'isoprène actif, comme le véritable précurseur de la molécule terpénique ; d'où le nom d'isoprénoïdes sous lequel on les désigne également. Ainsi, les monoterpènes sont constitués par 10 atomes de carbone ou deux unités isopréniques. Ils sont volatils, entraînés à la vapeur d'eau, d'odeur souvent agréable et représentent la majorité des constituants des huiles essentielles.

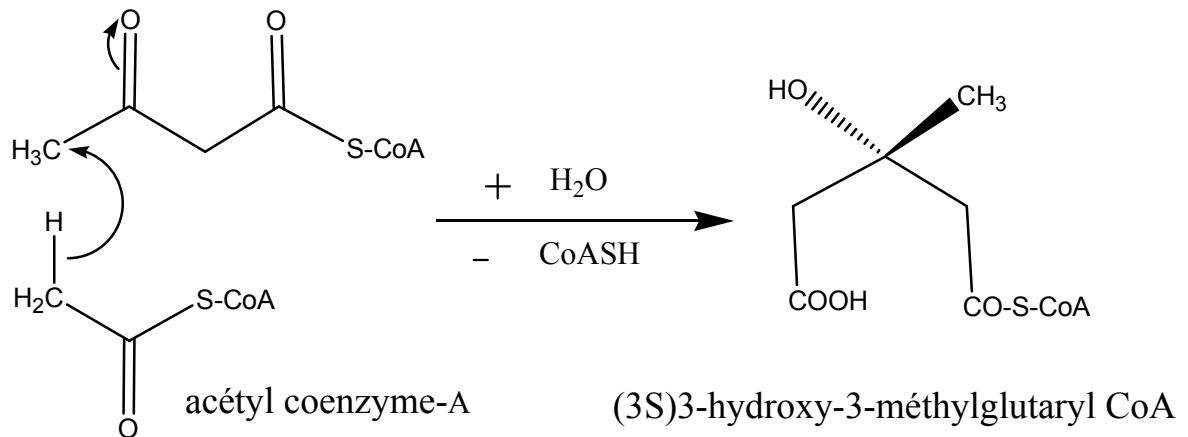
La diversité des structures terpéniques naturelles rend délicate sinon difficile toute tentative de généralisation. Il est cependant utile - voire indispensable - d'insister sur le fait que l'existence des terpènes est conditionnée par trois séquences réactionnelles fondamentales :

- formation de " l'isoprène actif " à partir de l'acétate via l'acide mévalonique
  - couplage " tête à queue " des unités en  $C_5$  justifiant l'existence des mono, ses qui, di, sester et poly terpènes.
  - couplage " queue à queue des unités en  $C_{15}$  ou  $C_{20}$  justifiant l'existence des triterpènes.
- Hormis ces trois séquences capitales le reste de la biosynthèse sera facilement interprété comme une suite de réactions très classiques pour l'organicien : formation d'ions carboniums par solvolysse de pyrophosphates allyliques, ouverture d'époxydes ou protonation d'une double liaison ; cyclisations électrophiles, réarrangements de type Wagner-Meerwein et autres, etc.

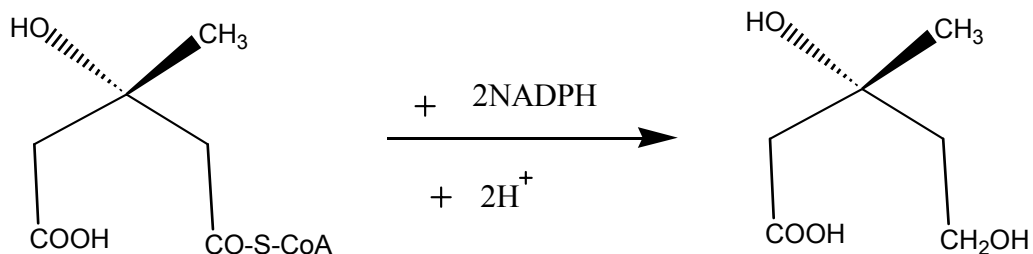
Les terpènes ne sont pas vraiment formés dans la nature à partir de l'isoprène, qui n'a jamais été détecté dans un organisme vivant. Le véritable précurseur universel de tous les terpènes est l'acide mévalonique.

La voie la plus couramment admise pour la synthèse de la molécule d'IPP consiste en la condensation de deux molécules d'acétyl-CoA pour former de l'acétoacétyl-CoA. Cette réaction est d'abord catalysée par une acétoacétyl CoA thiolase <sup>149</sup>. Puis l'HMG CoA synthétase catalyse la fixation d'une troisième molécule d'acétyl CoA qui donne le  $\beta$ -hydroxy- $\beta$ -méthylglutaryl coenzyme A (HMG CoA). L'HMG CoA est aussi un substrat pour 2 autres enzymes spécifiques, l'HMG CoA lyase (HMGL) et la 3-méthylglutaconyl CoA hydratase (MGH) <sup>150</sup>. Cette fixation d'un acétylCoA sur un groupement carbonyle est semblable à la réaction permettant l'entrée de l'acétyl CoA dans le cycle de Krebs par condensation sur l'acide oxaloacétique. La réduction de la fonction acide (engagée dans une liaison thioester) en alcool est catalysée par l'HMG CoA réductase et donne l'acide mévalonique dont seule la forme (3R-CH<sub>3</sub>) est active. Cette enzyme a été très étudiée ces dernières années et sa présence a été démontrée chez de nombreux végétaux supérieurs et inférieurs <sup>151-153</sup>. Elle apparaît sous de nombreuses formes isoenzymatiques dont le déterminisme génétique fait intervenir 2 gènes chez *Arabidopsis thaliana* L., *Brassicaceae* <sup>154</sup>. Un groupement diphosphate va ensuite être fixé sur la fonction alcool primaire de l'acide mévalonique. Le mévalonate 5-diphosphate ainsi formé va réagir avec une troisième molécule d'ATP ; cette réaction fournit un composé instable qui se décompose spontanément en perdant la fonction alcool tertiaire et le groupement carbonyle libre. Ainsi est élaboré un dérivé à 5 atomes de carbone, le diphosphate d'isopentényle (IPP), qui est la forme biologiquement active de la molécule isoprénique.

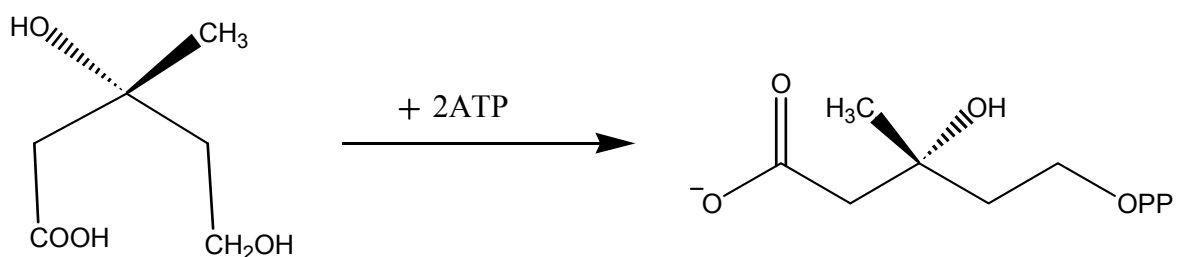
**1ère étape** : Condensation aldolique de l'acétyl Coenzyme A sur l'acétoacétyl Coenzyme A

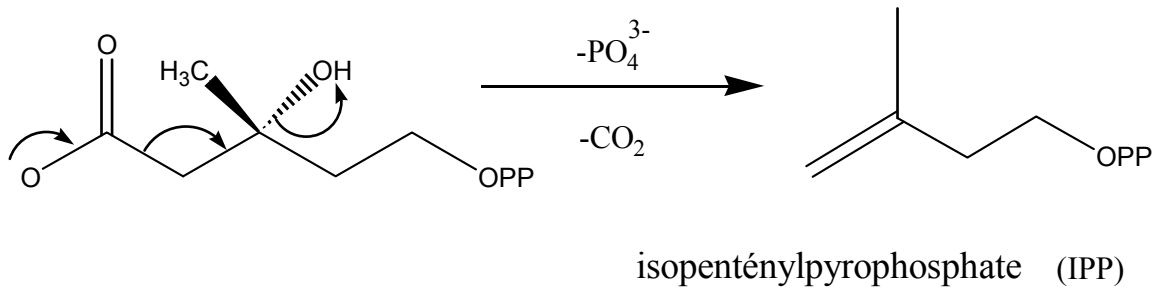


**2ème étape** réduction (irréversible) par le NADPH en acide 3R- mévalonique (MVA)

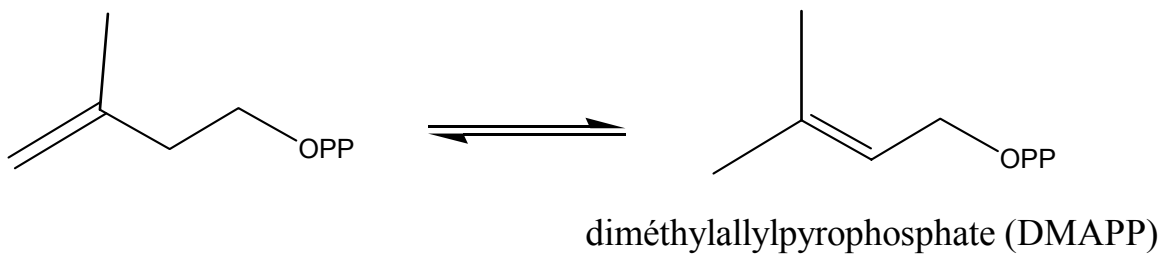


**3ème étape** conversion du MVA en isopenténylpyrophosphate (IPP) par phosphorylation suivie d'une décarboxylation assistée (élimination E2) par le départ du groupe phosphate

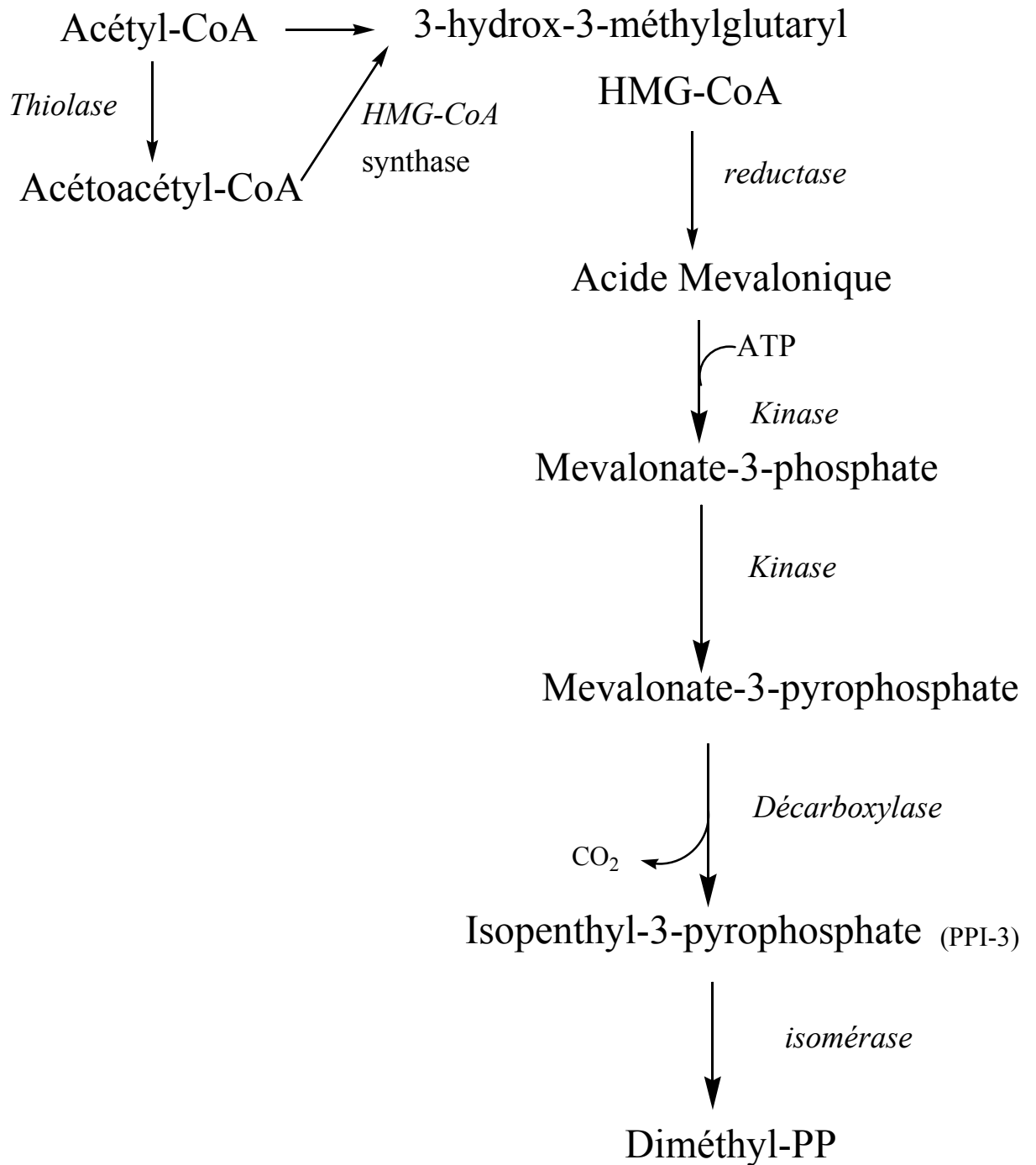




**4ème étape** isomérisation de l'IPP en pyrophosphate d'isopentén-3-yle  
ou le diméthylallylpyrophosphate (DMAPP)



*Résumé de la Biosynthèse de la mevalonate ou HMG-CoA réductase*

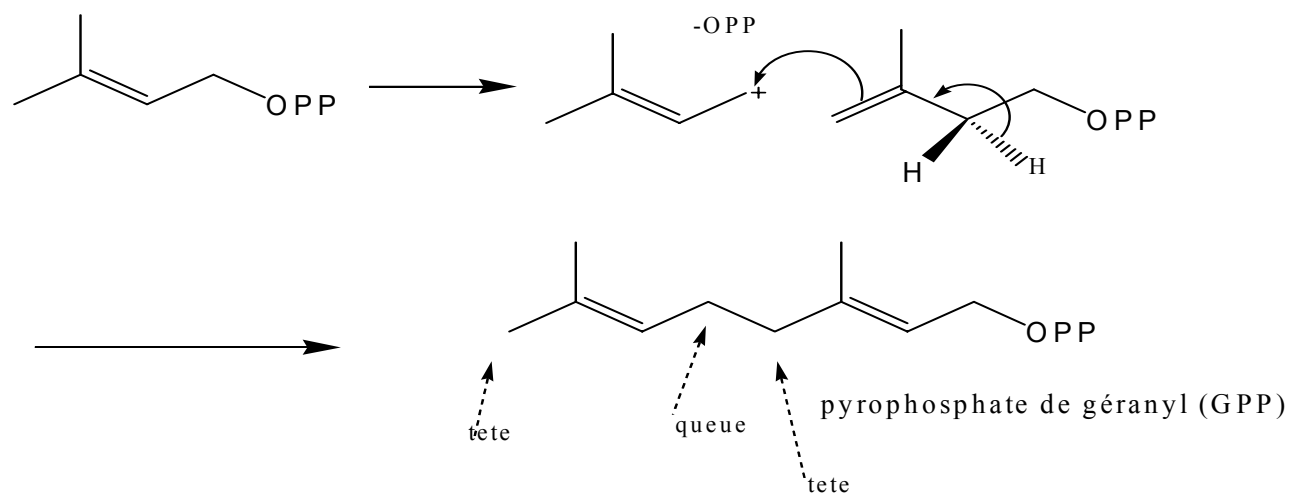


Contrairement à ce que laisse penser un schéma très répandu, il ne semble pas que cette condensation implique une suite du type **addition 1,2, élimination 1,2**. Il est plus vraisemblable qu'il y ait ionisation du pyrophosphate d'allyle synchronisée avec l'alkylation de l'IPP et le départ du proton. Ainsi se trouve explicitée la formation d'une unité en C10, le géranylpyrophosphate (GPP)<sup>113</sup>.

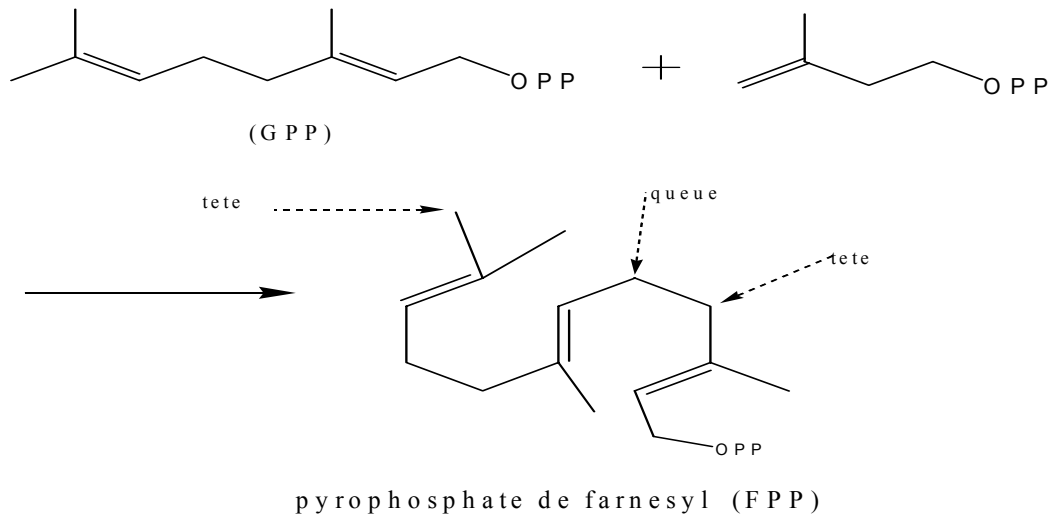
La même réaction de prénylation peut se poursuivre. L'alkylation du GPP par le DMAPP conduit au farnésyl pyrophosphate (FPP). Le FPP à son tour est alkylé par un DMAPP en géranyl-géranyl-pyrophosphate (GGPP) et ainsi de suite un très grand nombre de fois.

### *Biosynthèse des sesquiterpènes<sup>114</sup>*

L'addition du GPP au DMAPP donne le pyrophosphate de farnésyl (FPP) ; le précurseur des sesquiterpènes .Jusqu'en 1920 seules quelques structures sesquiterpeniques ont été caractérisées, mais l'application de la méthode de déshydrogénation de Vesterberg conduit vers une accélération dans leur détermination et plus de 200 types de squelettes sont connus. Les sesquiterpènes sont des constituants mineurs répandus dans les plantes à huiles essentielles aromatiques (gingembre , girofle ,citronel et le houblon).



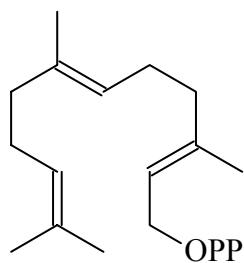




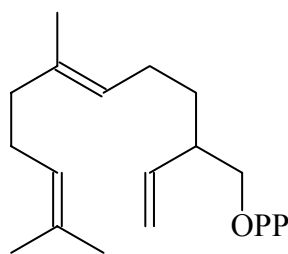
Selon le schéma de biogenèse de quelques monoterpènes<sup>113</sup> à partir du pyrophosphate de neryle proposé par Ruzicka<sup>112</sup>(1953), il s'agit d'un mécanisme ionique qui ne représente que des relations structurales. A partir de ce schéma réactionnel plusieurs types de composés sesquiterpeniques<sup>2</sup> dérivant du FPP farnesyl pyrophosphate ou du PPN nerolidyl pyrophosphate ont été proposés.

*Biogenèse des Sesquiterpènes acycliques :*

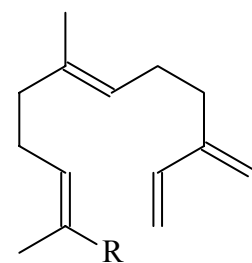
- Le farnesol dérivant du PPF est assez rare dans les plantes supérieures [I]
- Le trans.  $\beta$  farnesene repoussant des aphidiens présent dans les patates douces et le houblon [III] R = CH<sub>3</sub>
- Le  $\beta$  sinesal arôme de l'orange [III] R= CHO



I

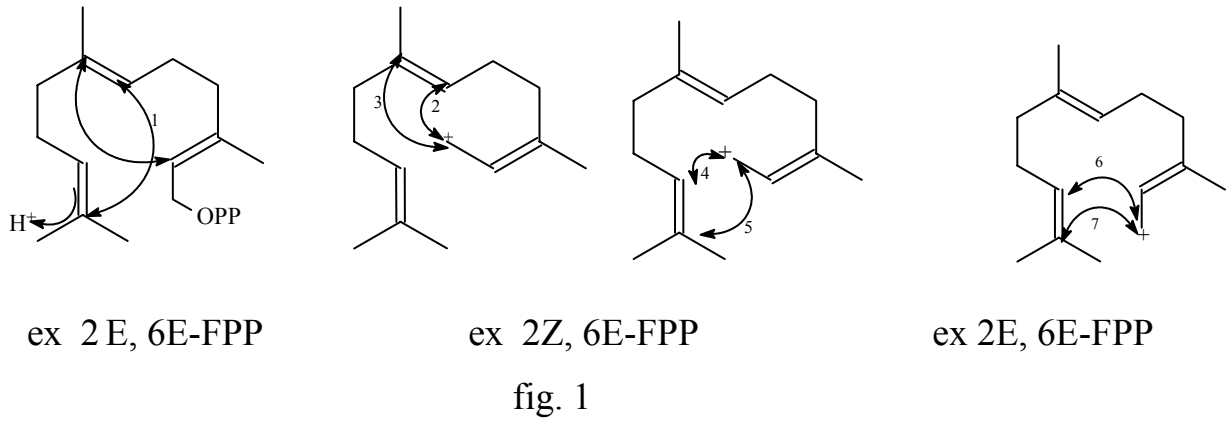


II

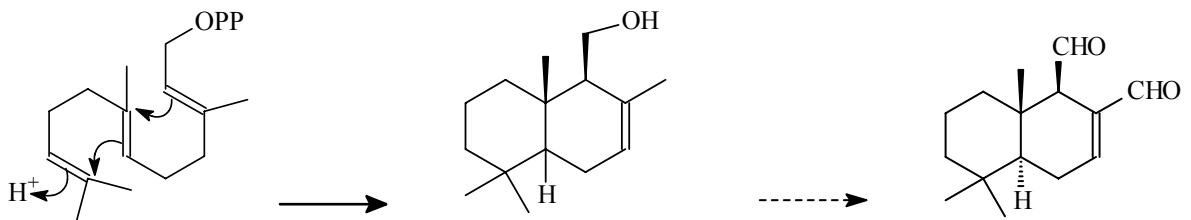


III

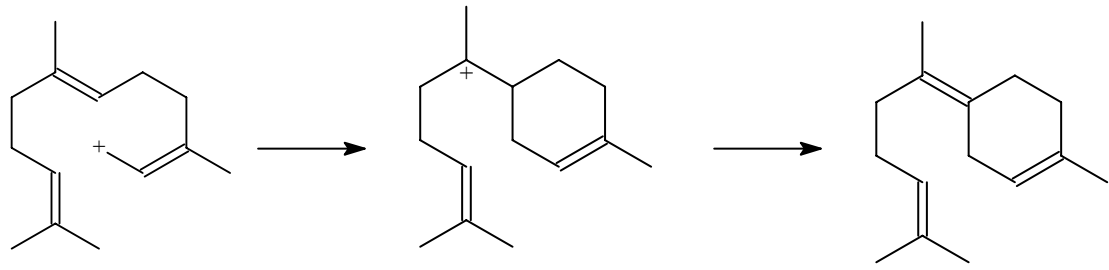
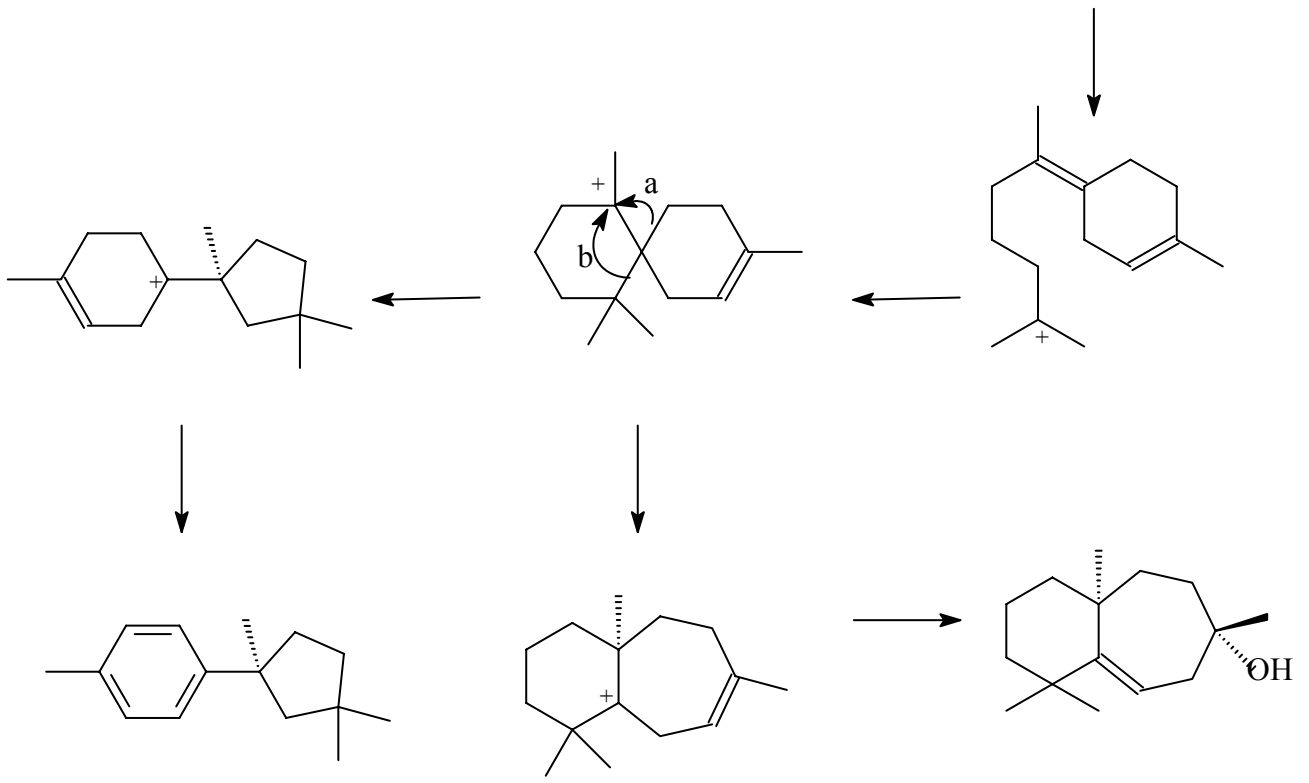
*Biogenèse des Sesquiterpènes cycliques :* Les sesquiterpènes peuvent être classés en plusieurs catégories, suivant le type de cyclisation.



les composés sesquiterpeniques qui dérivent du pyrophosphate de farnesyl, 2E, 6E – FPP(fig. 1) (sans passer par le carbocation intermédiaire).



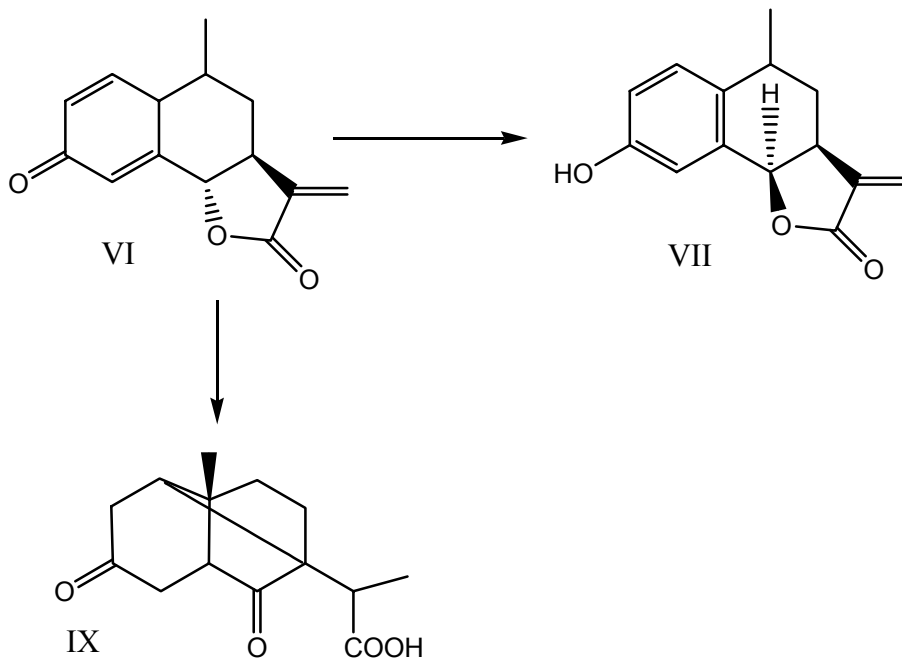
Les composés sesquiterpeniques qui dérivent du 2Z,6E-FPP (fig. 1) (la forme ionique) et suite à un certain nombre de réarrangements .

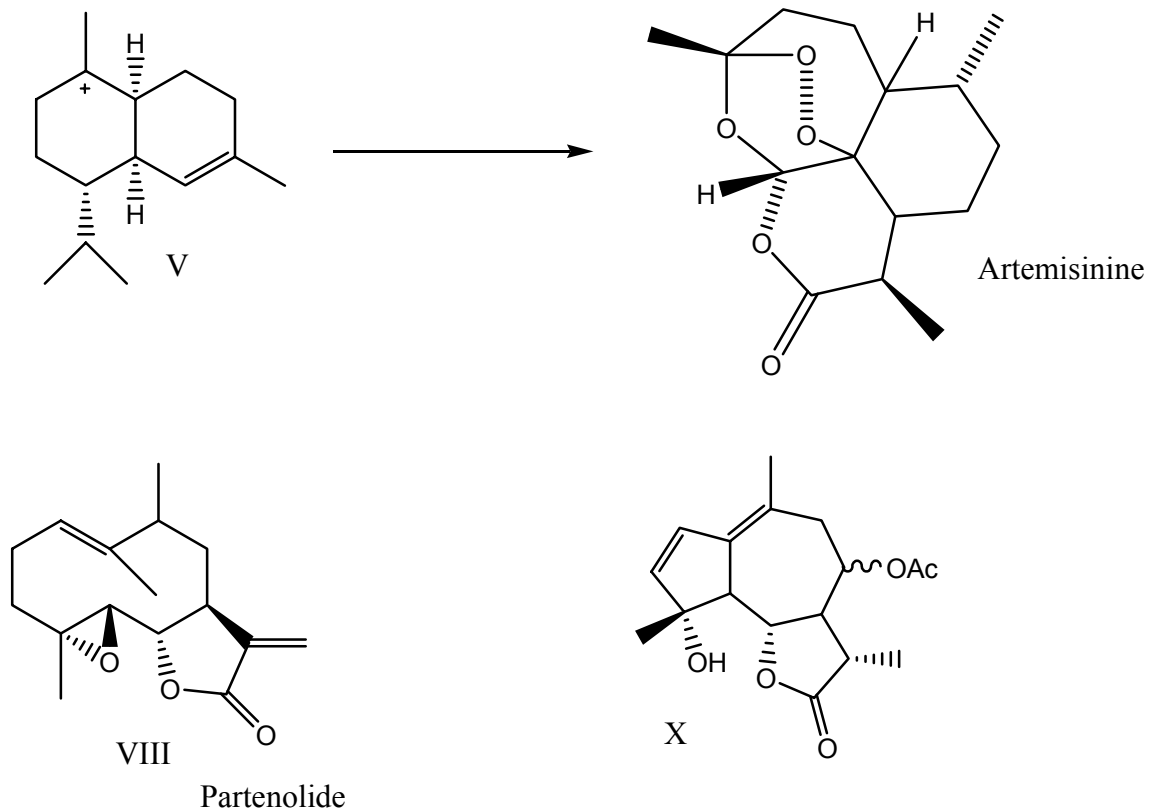
 $\gamma$  - bisabolene

Cuparene

widdrol

Les sesquiterpenoides montrent une riche variété de propriétés biologiques. Plus de 500 sesquiterpènes lactones ont été isolés dont plusieurs sont cytotoxiques et jouent un rôle répulsif envers les prédateurs (cervidés, sauterelles, etc...). Leurs propriétés pharmacologiques ont également assuré leur fréquente utilisation, dans les préparations grossières en médecine traditionnelle. Le plus fameux est l' $\alpha$ -santonine qui est largement utilisé en extrême orient comme vermifuge. L' $\alpha$ -santonine [VI] se réarrange en milieu acide pour donner le composé [VII] dans lequel fut observé le premier exemple du réarrangement diénone-phenol, suivi d'une épimerisation du centre benzylique pour donner la jonction cis plus stable du cycle de la  $\gamma$ -lactone. En présence de base, le cycle lactonique [VI] s'ouvre, suit une addition de Michael qui conduit au composé [IX]. L'artémisinine, la drogue chinoise Qinghaosa qui est le 1,2,4-trioxane obtenu du squelette de decaline [V] est une drogue efficace contre le malaria; les autres lactones (C15) importantes sont le parthenolide [VIII], un composé contre la migraine isolé dans la pyrexie et la matricine [X] isolée dans la camomille. La dernière lactone s'oxyde directement pendant l'extraction de la plante pour former un dérivé azulène bleu foncé.



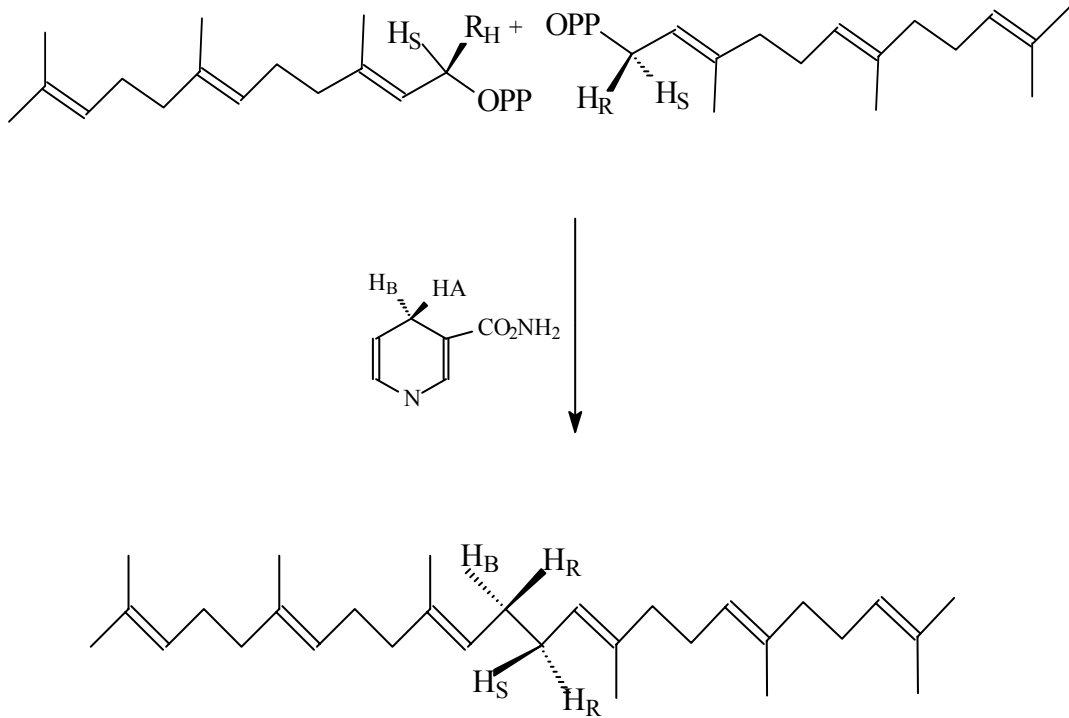


### ***Biosynthèse des Triterpènes<sup>45</sup> : le squalène***

Le squalène est un triterpène acyclique (C<sub>30</sub>) trouvé dans l'huile de foie de requin et qui est considéré comme le précurseur des triterpènes tétracycliques dont la famille la plus importante est celle des stéroïdes.

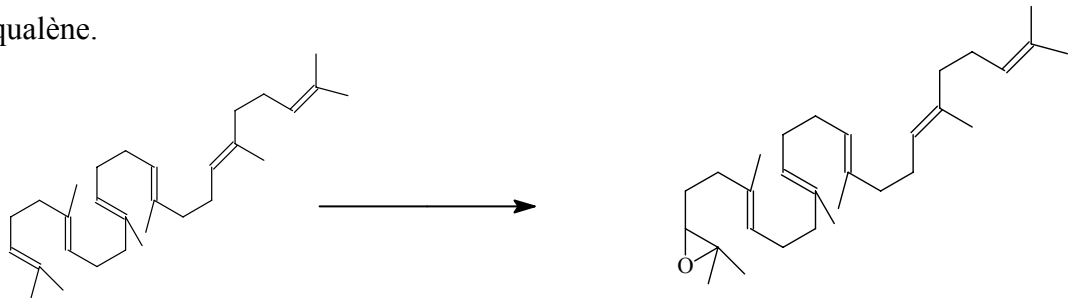
Il est considéré comme résultant de la duplication queue à queue de deux unités farnésyliques (C<sub>15</sub>). Cette duplication résulte de l'intervention d'enzymes spécifiques et plusieurs mécanismes ont été proposés. Il se pourrait qu'il n'y ait pas un seul mécanisme mais plusieurs, suivant les espèces.

Globalement, le résultat est une inversion de configuration des atomes d'hydrogène attachés à l'atome prochiral C-1 de l'un des résidus farnésyls et rétention de l'atome H<sub>R</sub> attaché au C-1 de l'autre résidu ; tandis que H<sub>S</sub> est remplacé par l'atome H<sub>B</sub> de NADPH, stéréospécifiquement

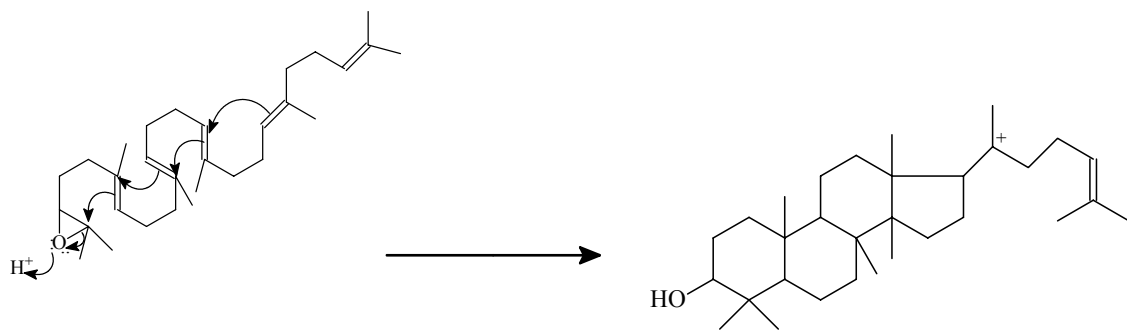


La cyclisation des triterpènes peut se produire de deux façons :

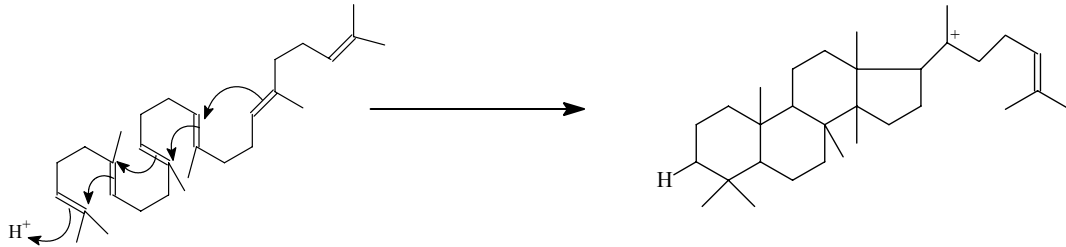
- Par une voie oxydative et dans ce cas l'intermédiaire réactionnel est l'époxy - 2, 3 squalène.



La protonation par voie enzymatique déclenche la cyclisation.



- Par une voie non oxydative c'est la cyclisation directe du squalène, initiée par un proton. C'est par cette voie que semble être biosynthétisés non seulement les stérols mais aussi les triterpènes tétra ou pentacycliques.



Le carbocation résultant est alors compensé par une espèce nucléophile présente dans le milieu.

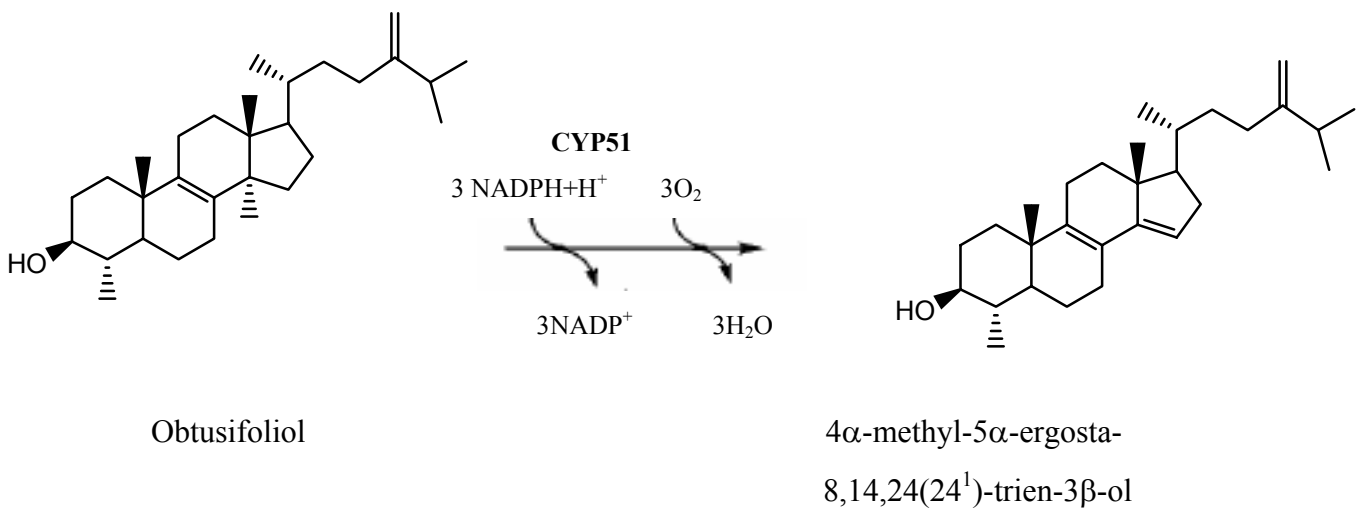
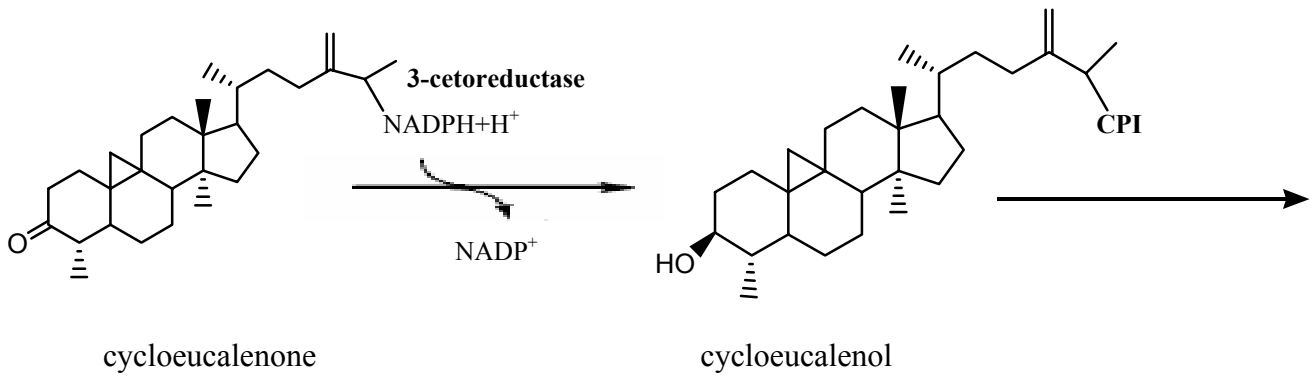
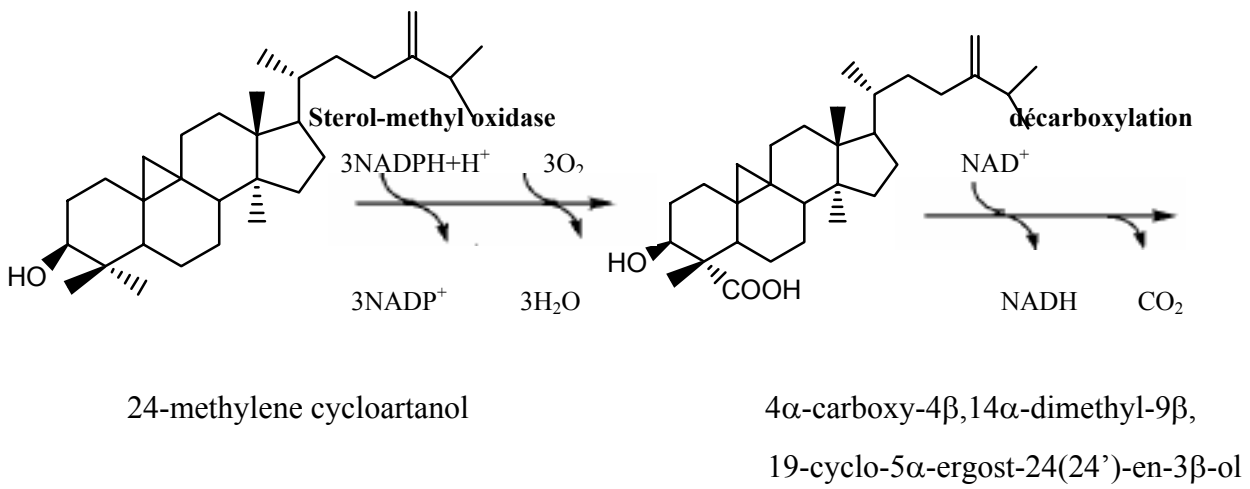
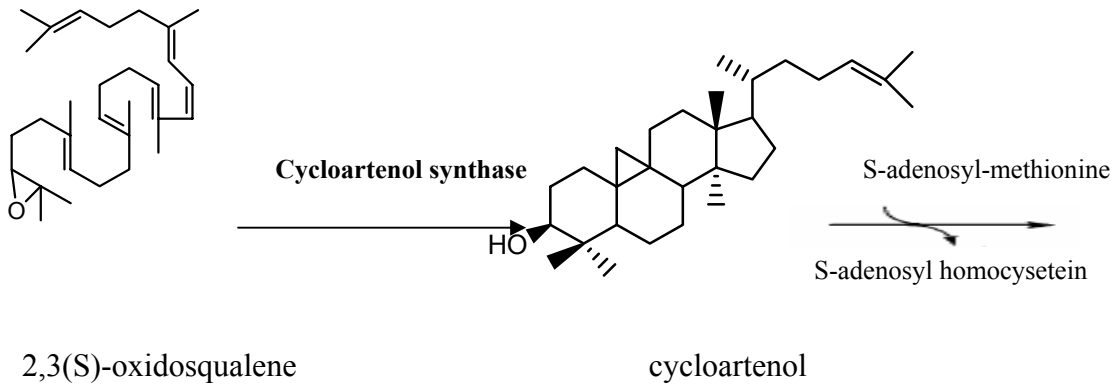
Quelque soit la voie de cyclisation empruntée on parvient donc à une espèce qui n'est pas encore un stérol. Suite à une série de migration concertée de protons et de groupes de méthyles les espèces précédentes peuvent évoluer vers des stérols. Les stéroïdes constituent un groupe de lipides dérivant de triterpénoïdes (lipides à 30 atomes de carbones), majoritairement le squalène. Ils se caractérisent par un noyau cyclopentanophénanthrénique hydrophobe partiellement ou totalement hydrogéné. Habituellement, les carbones C<sub>10</sub>, C<sub>13</sub> sont liés à un groupe méthyl -CH<sub>3</sub> et le carbone C<sub>17</sub> a un groupe alkyl. Par extension, les stéroïdes incluent aussi les lipides dont le noyau cyclopentanophénanthrénique a été modifié par scission d'une liaison et l'ajout ou la délétion d'un carbone<sup>155</sup>. Les stéroïdes incluent tous les lipides possédant un noyau cyclopentanophénanthrénique ou dérivant de celui-ci<sup>155</sup>. La définition ne catégorise pas les différents types de stéroïdes. Toutefois, l'IUPAC précise que les *stérols* sont des *stéroïdes* se caractérisant par la présence d'un groupe hydroxyle -OH sur le carbone C<sub>3</sub>. En revanche, pour plusieurs biochimistes, les stérols constituent une catégorie à part entière incluant les stéroïdes ainsi que cinq autres sous-classes<sup>156</sup>

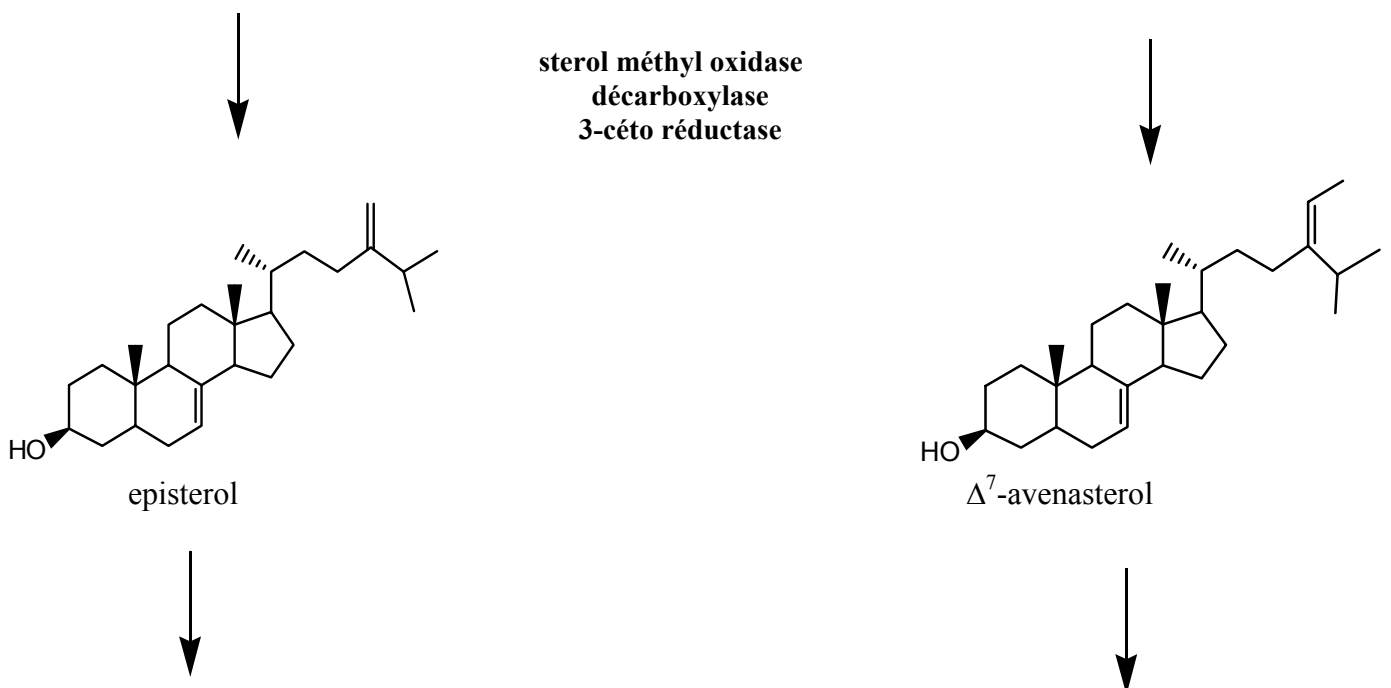
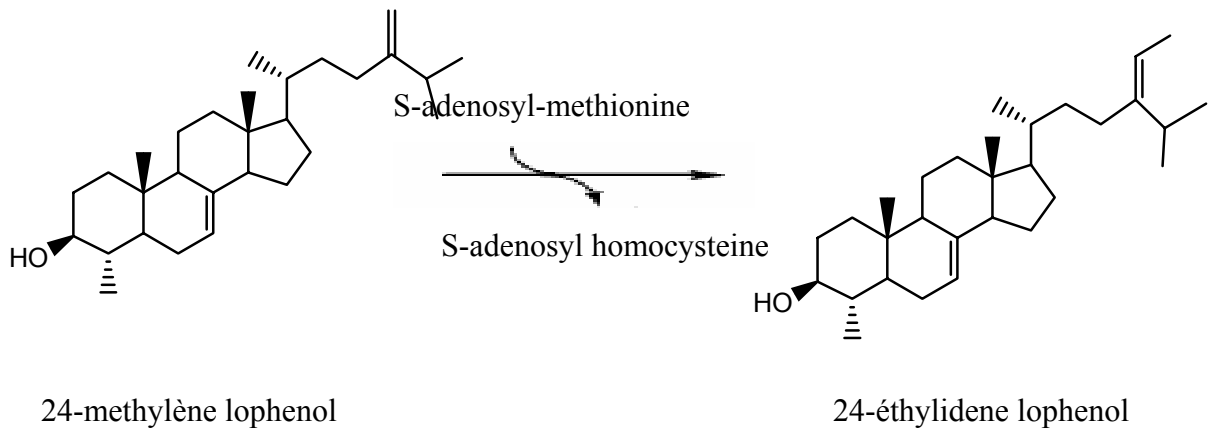
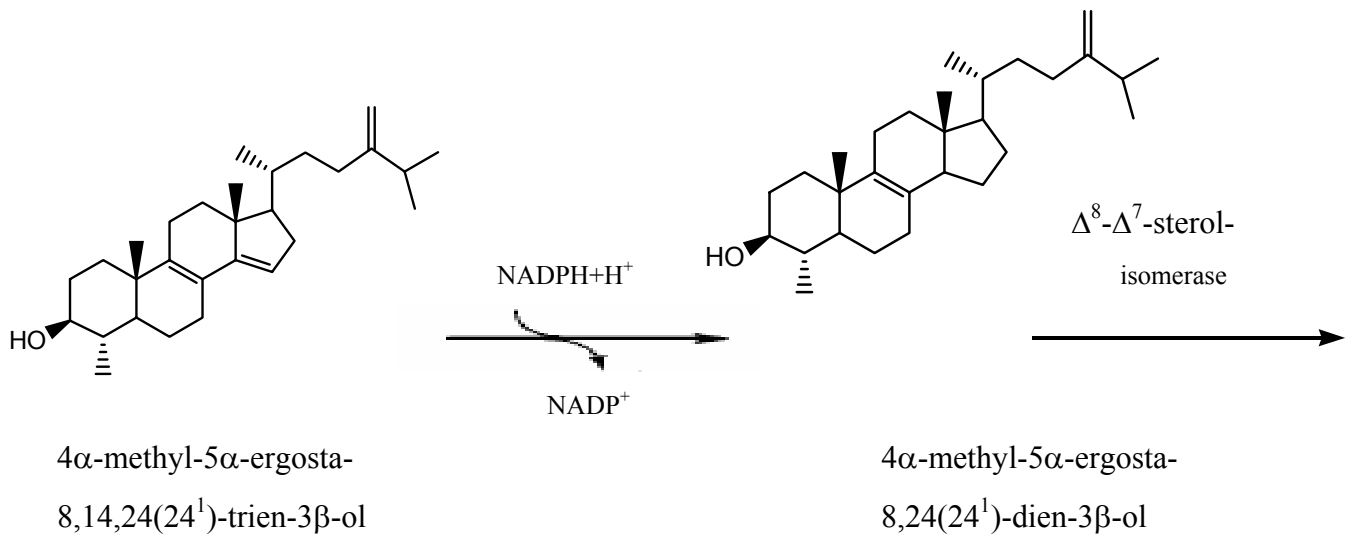
- les stérols et dérivés : cholestérol, phytostérol .
- les stéroïdes : oestrogènes, androgènes, gluco- et minéralocorticoïdes
- les secostéroïdes
- les acides biliaires
- les stéroïdes conjugués
- les hopanoïdes

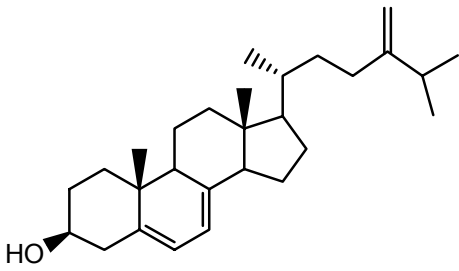
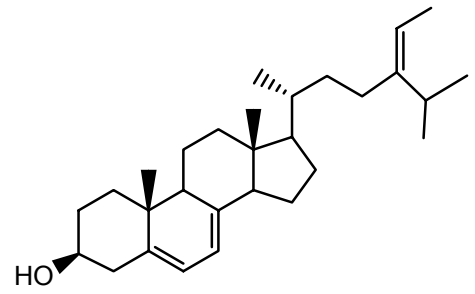
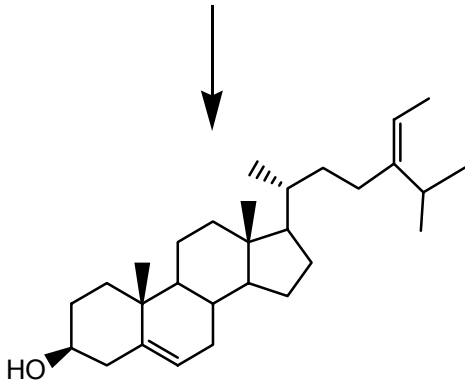
Dans ce cas, le terme de « stéroïde » fait donc uniquement référence aux hormones stéroïdiennes. C'est l'usage qui est également souvent retenu en médecine. Dans un contexte sportif, « stéroïde » est habituellement employé pour désigner les stéroïdes anabolisants. Un exemple bien connu de stérol est le *cholestérol*, mais il en existe plus d'une centaine de différents stéroïdes identifiés quasi-exclusivement chez les animaux, les végétaux et les champignons. La synthèse du cholestérol se fait principalement par la voie de l'hydroxyméthyl-coenzyme A réductase (HMG-CoA réductase). Cette voie permet la synthèse de squalène et de lanostérol desquels dérivent de nombreux autres stérols. Il est à noter que le squalène est un lipide isoprénoïde de la classe des prényls. Les voies de synthèse des stérols et des prényls sont donc en partie communes.

En fait, il semble que les voies métaboliques de synthèse des stérols ne soient présentes que chez les eucaryotes. Cependant, il a été montré récemment<sup>81</sup> que la protéobactérie *Methylococcus capsulatus* et le planctomycète *Gemmata obscuriglobus* possédaient des enzymes homologues à la squalène monooxygénase et à l'oxydosqualène cyclase, deux enzymes requises initialement pour la synthèse des stérols à partir du squalène. Par ailleurs, la présence de lanostérol<sup>157</sup> a été mise en évidence chez les bactéries *Methylococcus capsulatus*<sup>158</sup> et *Methylosphaera hansonii*<sup>84</sup>. Ceci pourrait s'expliquer par un transfert latéral de gène entre un ancêtre de ces bactéries et des cellules eucaryotes ou par un phénomène d'endosymbiose<sup>159</sup>. La biogenèse des stérols est assez complexe et nécessite plusieurs étapes du pyrophosphate d'isopentenyl, passant par les triterpènes pour aboutir aux stérols.

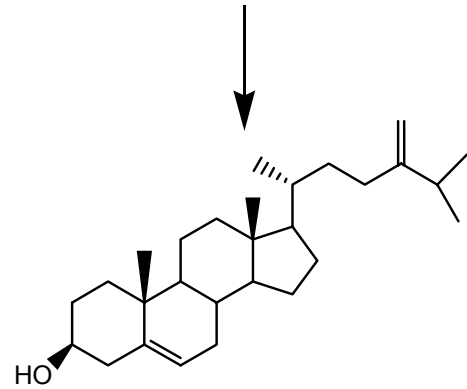




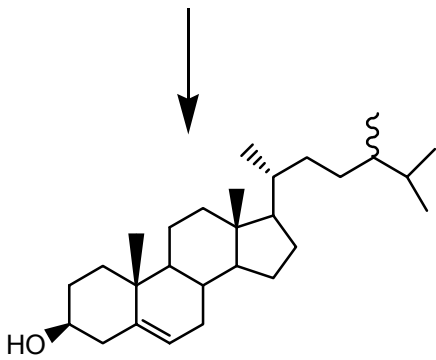
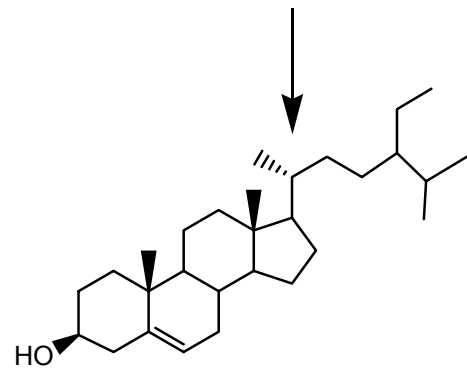


ergosta-5,7,24(24<sup>1</sup>)-trièn-3β-olstigmasta-5,7,Z-24(24<sup>1</sup>)-trièn-3β-ol

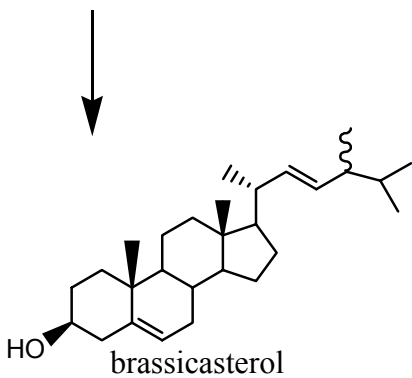
24-methylene cholesterol



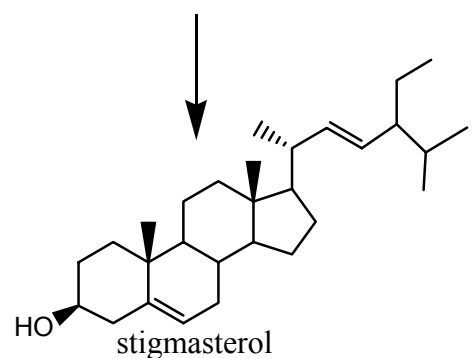
isofucosterol

Campesterol +  
22-dihydrobrassicasterol

sitosterol



brassicasterol



stigmasterol

V

PROCOLE

EXPERIMENTAL

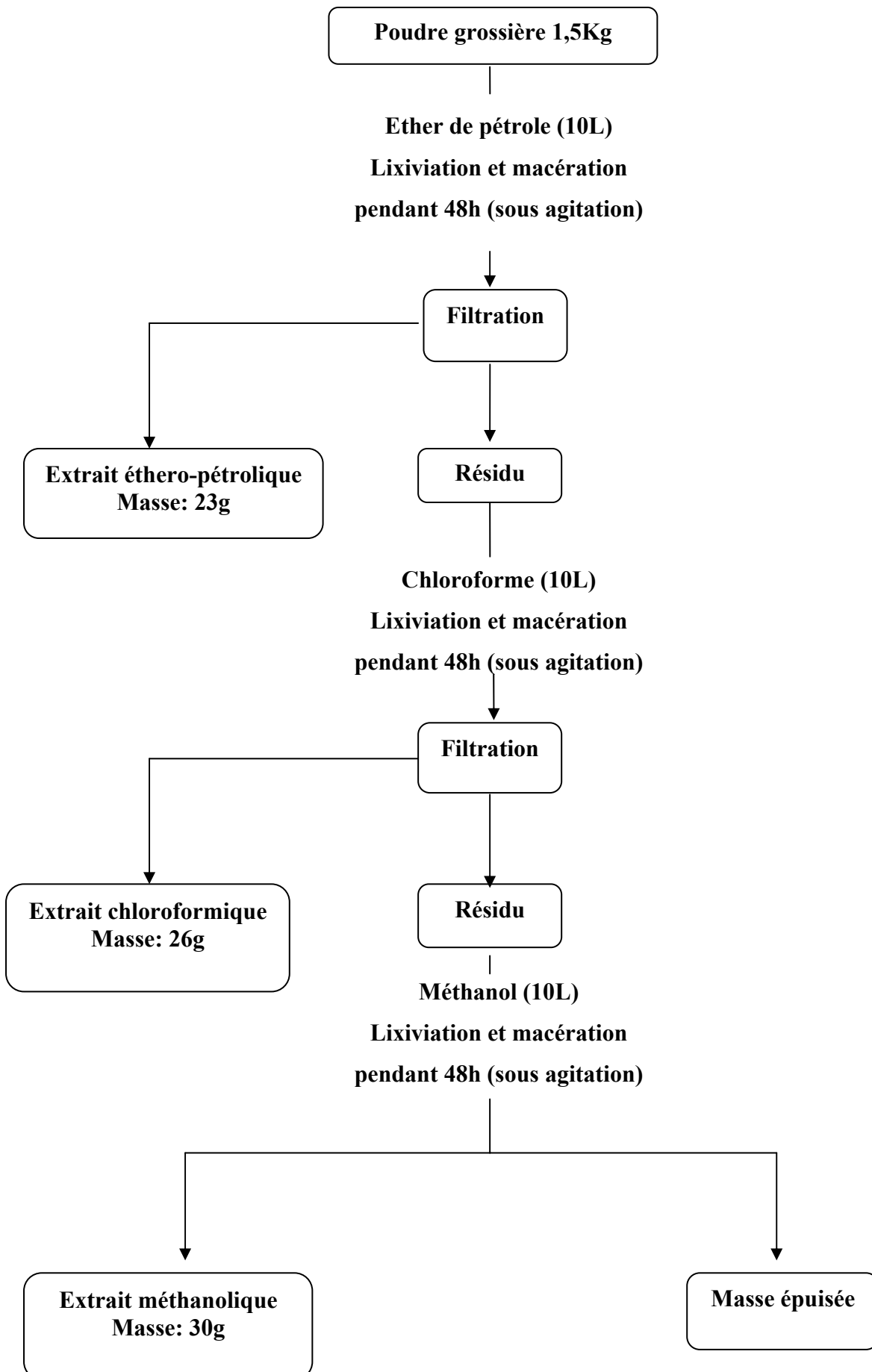
## **EXTRACTION**

La poudre des parties aériennes de la plante (1.5 Kg) est mise à macérer dans de l'éther de pétrole (10 litres) durant 48 H sous agitation . La solution résultante après filtration est concentrée pour obtenir un extrait ethero petrolique d'un poids de 23 gr.

Le résidu de cette première opération est récupéré et traité par du chloroforme dans les mêmes conditions que précédemment. Après filtration, la solution obtenue nous a fourni un extrait chloroformique d'un poids de 26 gr. Enfin, un troisième traitement par du méthanol nous a permis d'obtenir un extrait méthanolique d'un poids de 30 gr.

Le schéma ci-dessous résume l'ensemble des opérations d'extraction et de fractionnement.

Remarque : cette méthode d'extraction a été préférée à toute autre solution à cause d'un accès direct et rapide aux différentes fractions.

**SCHEMA DE L'EXTRACTION**

### TRAITEMENT DE LA PHASE CHLOROFORMIQUE.

Une partie de l'extrait chloroformique (10 g) a été soumise à une chromatographie sur colonne de gel de silice 60Å (70 – 230 mesh) éluée d'abord par l'éther de pétrole dont la polarité est augmentée progressivement par addition de portions d'acétate d'éthyle, puis par un mélange de chloroforme et de méthanol de différents gradients et enfin par du méthanol pur.

Des fractions de 75 ml sont examinées en chromatographie sur couche mince de gel de silice (CCM). Les plaques, observées à l'U.V (254 et 366 nm), sont ensuite révélées par la vanilline sulfurique à chaud.

Les fractions sont réunies en fonction de leur composition et les résultats de ce traitement sont résumés dans le tableau 1.

Toutes les fractions issues de cette colonne sont des mélanges plus ou moins complexes nécessitant d'autres traitements de purification.

**TABLEAU 1: TRAITEMENT DE LA PHASE CHLOROFORMIQUE**

Fractions	Masse (mg)	Eluant	Observations	
1 à 7	429,6	E.P/AcOEt 3%	<b>Phase homogène</b>	
8 à 12	1,7584(g)	E.P/AcOEt 5%		
13 à 23	250,5	"		
24 à 37	143,4	CHCl <sub>3</sub> 100%		
38 à 49	51	CHCl <sub>3</sub> /MeOH 3%		
50 à 72	986,4	CHCl <sub>3</sub> /MeOH 5%		
73 à 101	144,6	"		
102 à 152	274,9	"		
153 à 182	1,3(g)	"		<b>Produits majoritaires</b>
183 à 245	177,4	"		
246 à 363	1,7672(g)	CHCl <sub>3</sub> /MeOH 10%		
364 à 422	928,2	"		
423 à 505	848,4	CHCl <sub>3</sub> /MeOH 20%		

### **TRAITEMENT DES FRACTIONS 24 à 37 DU TABLEAU 1**

Les fractions 24 à 37 du tableau 1 sont réunies pour donner un poids de 143,4 mg.

La large fraction résultante a été soumise à une nouvelle chromatographie sur colonne de gel de silice, éluée avec un mélange d'éther de pétrole et d'acétate d'éthyle de gradients différents.

Des fractions de 50 ml sont étudiées en chromatographie sur couche mince. Elles sont rassemblées (tableau 2) en fonction de leur composition.

Cette opération nous a permis d'obtenir une phase homogène (fractions 45 à 56) qui, après un traitement par chromatographie sur couche épaisse de gel de silice 0.25 mm sur verre (SIL. G-25 UV<sub>254</sub>), a conduit à un produit pur A d'un poids de 3 mg.

**TABLEAU 2:**

<b>Fractions</b>	<b>Masse (mg)</b>	<b>Eluant</b>	<b>Observations</b>
1 à 44	19,5	E.P 100%	<b>Phase homogène</b>
45 à 56	75,6	"	
57 à 64	4,7	"	
65 à 80	3,5	"	
80 à 100	39,5	E.P/AcOEt 50%	



**TRAITEMENT DES FRACTIONS 153 à 182 DU TABLEAU 1**

De l'examen des lots obtenus précédemment (Tableau 1) , il apparaît que les fractions 153 à 182 sont de même composition et comportent toutes un même constituant majoritaire.

Elles ont été rassemblées et le mélange obtenu d'un poids de 1.3 g a été soumis à une flash colonne de chromatographie sur gel de silice (230 – 400 mesh ; 60 Å) éluée avec un mélange d'éther de pétrole et d'acétate d'éthyle de différents gradients (95-5, 90-10, 80-20, 75-25 et 60-40).

Les fractions sont examinées de la manière habituelle. L'étude de ce mélange a révélé la présence de deux phases homogènes 115 à 148 d'un poids de 240mg et 231 à 411 d'un poids de 413,2 mg (Tableau 3) .

**TABLEAU3: TRAITEMENT DES FRACTIONS 153 à 183 DU TABLEAU 1**

<b>Fractions</b>	<b>Masse (mg)</b>	<b>Eluant</b>	<b>Observations</b>	
1 à 40	75,8	E.P/AcOEt 5%	<b>Phase homogène</b> ”	
41 à 48	8,5	”		
49 à 60	15,3	”		
61 à 88	51,7	”		
89 à 114	33	”		
115 à 123	37,8	”		
124 à 144	182,1	”		
145 à 148	36,3	”		
149 à 155	17,9	”		
156 à 230	114,7	”		
231 à 411	413.2	”		<b>Phase homogène</b>
412 à 469	32,8	”		
470 à 490	14,3	”		
491 à 541	38,9	”		
542 à 710	306,2	”		
711 à 743	58	E.P/AcOEt 10%		
744 à 764	48,2	E.P/AcOEt 20%		
765 à 786	175,5	E.P/AcOEt 25%		
787 à 810	139,6	E.P/AcOEt(40%/50%)		
811 à 829	60,3			

### **TRAITEMENT DES FRACTIONS 115 à 155 DU TABLEAU 3**

Les fractions 115 à 155 du tableau 3 renferment trois produits majoritaires. Nous les avons rassemblées pour obtenir un mélange d'un poids de 240 mg qui a été traité par une nouvelle flash chromatographie sur colonne de gel de silice (230 -400 mesh ; 60 Å).

L'examen sur couche mince (CCM) a révélé la présence de deux phases homogènes dont le traitement par chromatographie sur couche épaisse (CCE) nous a fourni deux produits purs **B** et **C** de masses respectives de 2,5 mg et 2 mg et provenant des fractions 49 à 64 ; ainsi qu'un troisième produit pur **D** de masse 3 mg et isolé de la fraction 65 à 72.

**TABLEAU 4:**

<b>Fractions</b>	<b>Masse</b>	<b>Eluant</b>	<b>Observation</b>
1 à 24	26	E.P/AcOET 5%	
25 à 41	4	//	
42 à 48	10	//	
49 à 56	10	//	phase homogène
57 à 64	15	//	
65 à 72	20	//	phase homogène
73 à 80	15	//	
81 à 104	7	//	

### **TRAITEMENT DES FRACTIONS 231 à 411 DU TABLEAU 3**

Le mélange des fractions 231 à 411 du Tableau 3 d'une masse de 413,2 mg a été soumis à une nouvelle chromatographie sur gel de silice éluée par le mélange éther de pétrole-acétate d'éthyle de polarité croissante (95-5 ; 92-8 et 90-10).

De cette opération nous avons recueilli un produit homogène à l'analyse en CCM, contenu dans la fraction 64 à 96 et d'une masse de 80 mg.

Cependant la spectroscopie RMN a montré que ce produit est en fait un mélange. Alors d'autres opérations de purification ont été effectuées pour aboutir à un produit pur E d'une masse de 12 mg .

**TABLEAU 5:**

<b>Fractions</b>	<b>Masse (mg)</b>	<b>Eluant</b>	<b>Observations</b>
1 à 35	62	E.P/AcOEt 5%	phase homogène
36 à 63	70	E.P/AcOEt 8%	
64 à 96	80	E.P/AcOEt 10%	
97 à 110	67	"	
111 à 130	53	"	

Du traitement de la phase chloroformique nous avons, par une série de chromatographies sur colonne de gel de silice normale et flash ainsi que sur couche épaisse , isolé et purifié cinq (05) produits purs (Tableau 6) .

**TABLEAU 6 : RESULTATS DU TRAITEMENT DE LA PHASE CHLOROFORMIQUE**

Produits	Poids en mg
A	3.0
B	2.5
C	2.0
D	3.0
E	12

Il faut noter premièrement que le nombre de constituants présents dans l'extrait est beaucoup plus important, et deuxièmement que l'isolement des cinq produits (A à E) n'a pas été sans difficultés. Ces dernières sont, sans doute, dues à une grande fragilité des composés. Les autres composés, dont la présence est certaine, n'ont pas pu être étudiés à cause des très faibles quantités isolées.

**TRAITEMENT DE LA PHASE ETHERO-PETROLIQUE**

Une partie de l'extrait éthero-pétrolique (10 gr) a été soumise à une flash colonne chromatographique de gel de silice (230 -400 mesh ; 60 Å). L'élution a été effectuée avec de l'éther de pétrole pur puis avec un mélange d'éther de pétrole et d'acétate d'éthyle dont la polarité est progressivement variée dans des proportions allant de 98 – 2 à 50 – 50 puis avec un mélange chloroforme – méthanol de différents gradients et enfin avec du méthanol pur.

L'examen des fractions de 75 ml est effectué par CCM. Les plaques, visualisées à l' U.V (254 et 366 nm), sont révélées par la vanilline sulfurique à chaud. Les fractions sont réunies en fonction de leur composition. Le tableau 7 rassemble les résultats de cette colonne.

**TABLEAU 7 : TRAITEMENT DE LA PHASE ETHERO-PETROLIQUE**

Fractions	Masse (mg)	Eluant	Observations	
1 à 94	2,5(g)	E.P 100%	phase homogène	
95 à 110	9	"		
111 à 125	10	"		
126 à 133	6,9(g)	"		
134 à 136	720	"		
137 à 143	670	"		
144 à 152	350	"		
153 à 166	490	"		
167 à 194	1,27(g)	"		
195 à 212	650	"		
213 à 242	640	"		
243 à 269	530	"		
270 à 284	780	"		
285 à 331	1,19(g)	"		
332 à 342	200	"		
343 à 385	250	"		
386 à 445	21	"		
446 à 514	288	E.P/AcOEt 5%		phase homogène
515 à 529	172	"		
530 à 575	90	"		
576 à 619	177	E.P/AcOEt 10%		
620 à 664	190	"		
665 à 672	11	E.P/AcOEt 20%		
673 à 679	68	"		
680 à 784	1(g)	"		
785 à 814	28	"		
815 à 853	10	E.P/AcOEt 30%		
854 à 868	6	E.P/AcOEt 50%		
869 à 894	22	"		
895 à 923	70	E.P/AcOEt 75%		
924 à 936	198	CHCl <sub>3</sub> /MeOH 5%		
937 à 957	74	"		
958 à 978	35	"		
979 à 1006	124	CHCl <sub>3</sub> /MeOH 10%		
1007 à 1037	81	CHCl <sub>3</sub> /MeOH 15%		
1038 à 1065	85	CHCl <sub>3</sub> /MeOH 25%		
1066 à 1070	13	CHCl <sub>3</sub> /MeOH 40%		
1071 à 1085	43	"		
1086 à 1095	35	"		
1096 à 1112	38	MeOH 100%		

### **TRAITEMENT DES FRACTIONS 213 à 242 DU TABLEAU 7**

Les fractions 213 à 242 de poids 640 mg, phase homogène en CCM, ont été rassemblées et traitées par chromatographie sur couche épaisse. Cette opération nous a permis de récupérer deux produits purs **F** et **G** de masses respectives de 5mg et 2 mg.

### **TRAITEMENT DES FRACTIONS 386 à 445 DU TABLEAU 7**

Les fractions 386 à 445, soumises au même traitement chromatographique, ont conduit au produit pur **H** de masse 2mg.

Ce premier traitement de l'extrait éthero-pétrolique par la chromatographie sur colonne ainsi que par la chromatographie sur couche épaisse nous a fourni 40 fractions dont deux seulement sont homogènes et avec des masses convenables permettant leur analyse spectrale.

En conclusion, l'étude des deux extraits, chloroformique et éthero-pétrolique nous a permis d'isoler et de purifier, par les différentes méthodes, huit (08) composés.

Les constituants que nous avons obtenus ne sont qu'une infime partie des produits qui existent dans les extraits bruts de la plante comme le font apparaître les chromatographies analytiques sur couche mince de silice (CCM).

**VI**

**RESULTATS**

**ET**

**DISCUSSIONS**

**Les composés**  
**sesquiterpeniques**



## STRUCTURE DU COMPOSE A

Le composé A se présente sous l'aspect d'une laque que nous ne sommes pas parvenus à faire cristalliser. En spectrométrie de masse, le pic moléculaire est à 248.141 unités de masse correspondant à la formule brute :  $C_{15}H_{20}O_3$ . En I.R nous observons la présence d'une bande carbonyle vers  $1700\text{ cm}^{-1}$

En RMN du proton, le spectre du produit comporte les signaux caractéristiques suivants :

Un doublet de un proton à  $\delta = 6.22\text{ ppm}$  et un doublet de un proton à  $\delta = 5.49\text{ ppm}$  correspondant à des hydrogènes vinyliques.

Un doublet de doublet de doublet (ddd) de un proton à  $\delta = 4.10\text{ ppm}$ .

Un doublet de triplet de un proton (dt) à  $\delta = 3.00\text{ ppm}$

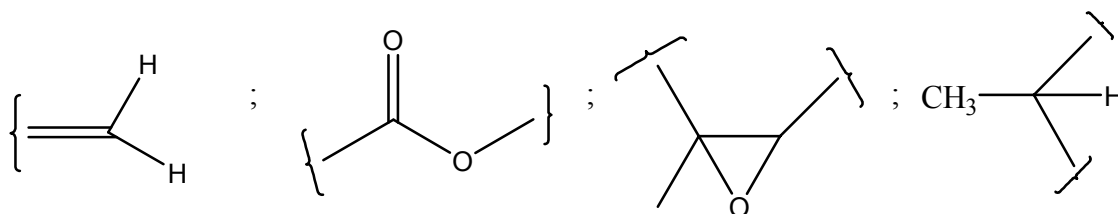
Un doublet de doublet de doublet de doublet (dddd) de un proton à  $\delta = 2.31\text{ ppm}$

Un doublet large de un proton à  $\delta = 2.58\text{ ppm}$

Un singulet de trois protons à  $\delta = 1.1\text{ ppm}$  et un doublet de trois protons à  $\delta = 0.9\text{ ppm}$  correspondant à des groupements méthyles.

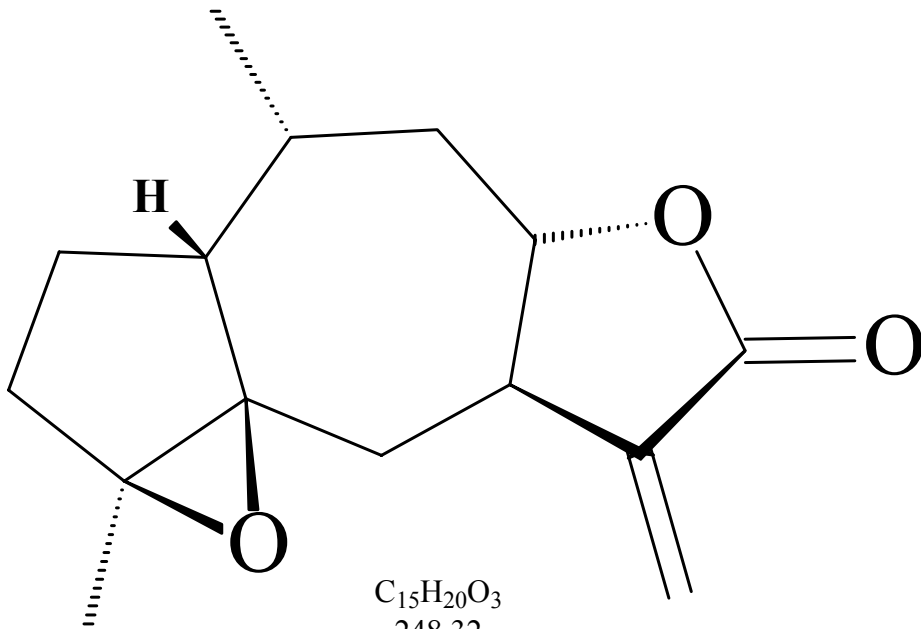
En RMN du carbone 13, nous observons la présence de 15 atomes de carbone, quand le spectre est enregistré en écho de spin nous dénombrons 6 CH et  $CH_3$  d'une part et 9 C et  $CH_2$  d'autre part ; ceci est confirmé par le spectre de corrélation proton – carbone (HSQC).

Les données de la RMN (proton et carbone) et les différentes expériences 2D nous conduisent aux éléments de structure partielle ci - après :



L'ensemble de ces éléments nous a conduit à la structure suivante.

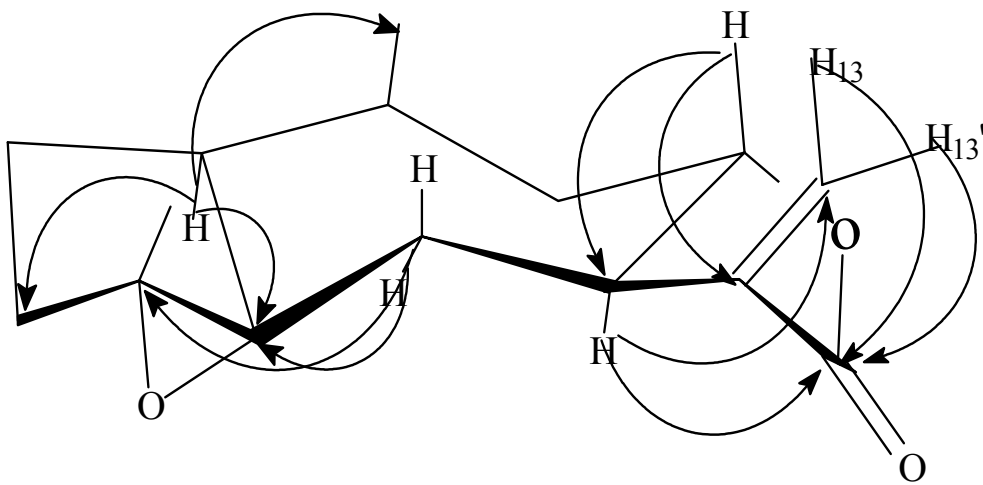
## SESQUITERPENE GUAIANOLIDE :

**4 $\alpha$ . 5  $\alpha$  époxy – 10 $\alpha$  -14 -H inuviscolide**
 $C_{15}H_{20}O_3$ 

248.32

248.141244

C 72.55% H 8.12% O 19.33%



*Déplacements chimiques  $^1\text{H}$  (composé A)*

$^1\text{H}$	$\delta\text{H}$	multiplicité
H-1	2.58	dl
H-2 $\alpha$	1.25	m
H-2 $\beta$	1.82	dd
H-3 $\alpha$	1.72	dd
H-3 $\beta$	1.92	
H-6 $\alpha$	2.1	dt
H-6 $\beta$	1.95	
H-7 $\alpha$	3.0	dt
H-8 $\alpha$	4.10	ddd
H-9 $\alpha$	2.31	dddd
H-9 $\beta$	1.84	
H-10 $\alpha$	2.15	dt
H-13a	6.22	d
H-13b	5.49	d
H-14	0.9	d
H-15	1.1	s

*Les constantes de couplages J (Hz)*

1,2 $\alpha$ = 8,71	2 $\alpha$ , 2 $\beta$ = 13	2 $\alpha$ , 3 $\beta$ = 8,74	3 $\alpha$ , 3 $\beta$ = 12,46
7 $\alpha$ , 8 $\beta$ = 9,84	8 $\beta$ , 9 $\alpha$ = 12	8 $\beta$ , 9 $\beta$ = 3,75	9 $\alpha$ , 9 $\beta$ = 12 ,87
7 $\alpha$ , 13' = 3,1	7 $\alpha$ , 13 = 3,41	10 $\alpha$ , 14 $\beta$ = 7,5	6 $\beta$ , 7 $\alpha$ = 10

### Déplacements chimiques $^{13}\text{C}$ (composé A)

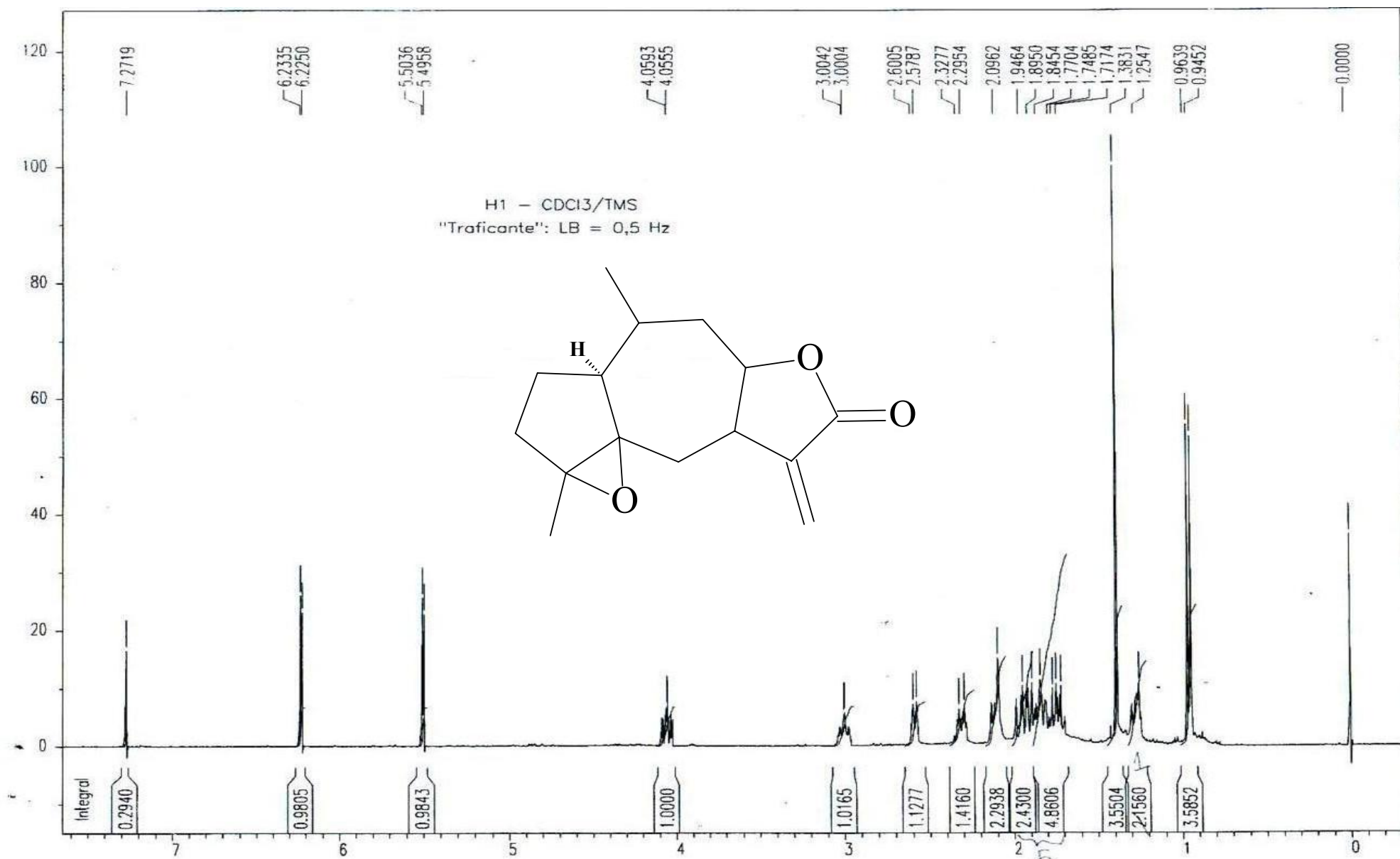
$^{13}\text{C}$	$\delta\text{C}$	Carbone
C-1	47.73	CH
C-2	28.93	CH <sub>2</sub>
C-3	32.74	CH <sub>2</sub>
C-4	69.96	C
C-5	69.76	C
C-6	30.61	CH <sub>2</sub>
C-7	44.42	CH
C-8	82.59	CH
C-9	40.43	CH <sub>2</sub>
C-10	34.61	CH
C-11	139.05	C
C-12	170.05	C
C-13	119.88	CH <sub>2</sub>
C-14	14.65	CH <sub>3</sub>
C-15	15.54	CH <sub>3</sub>

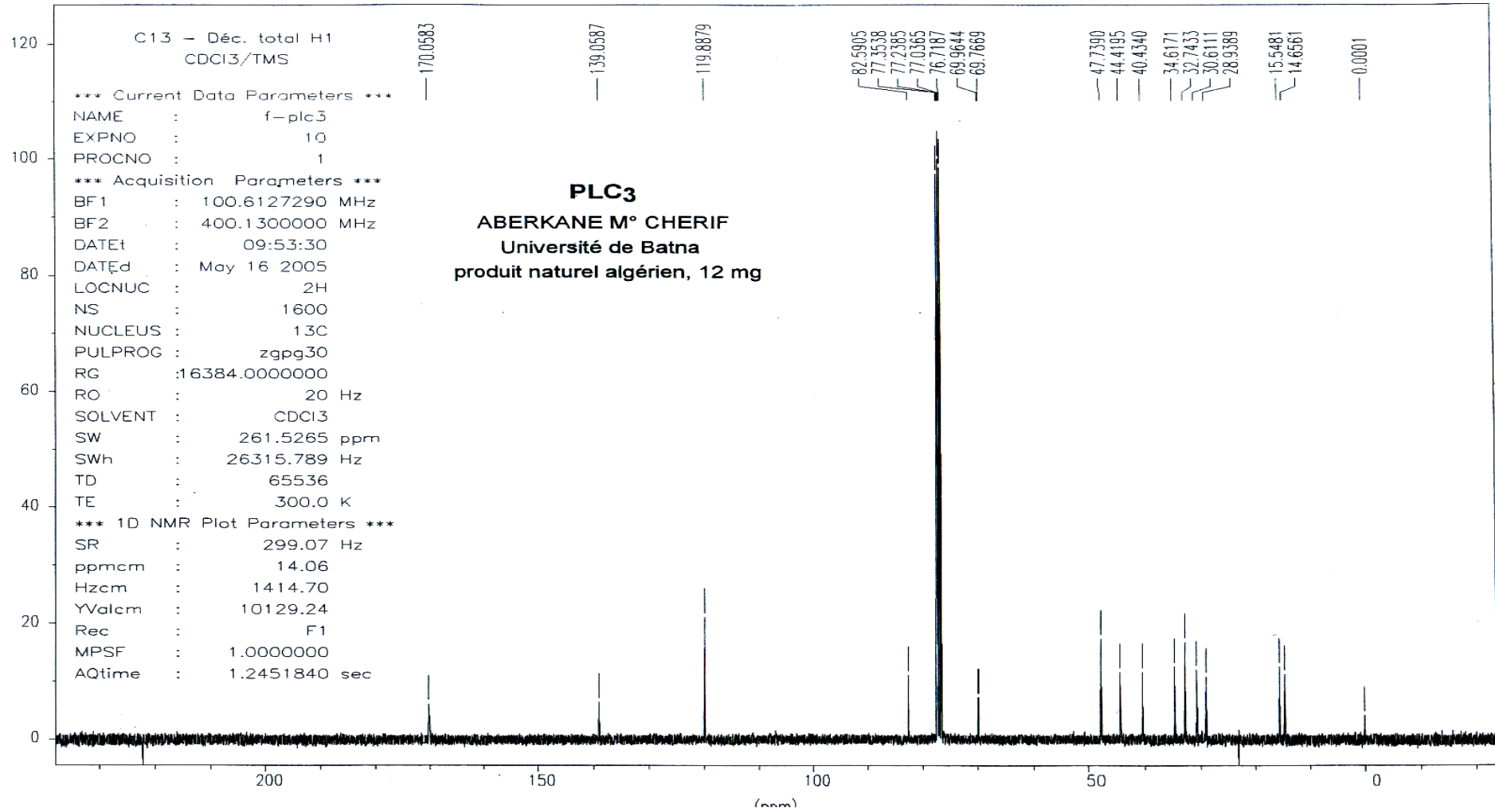
Cette hypothèse structurale est en accord avec les données spectrales du produit. En particulier nous relevons des corrélations proton – carbone à deux et trois liaisons (HMBC) entre :

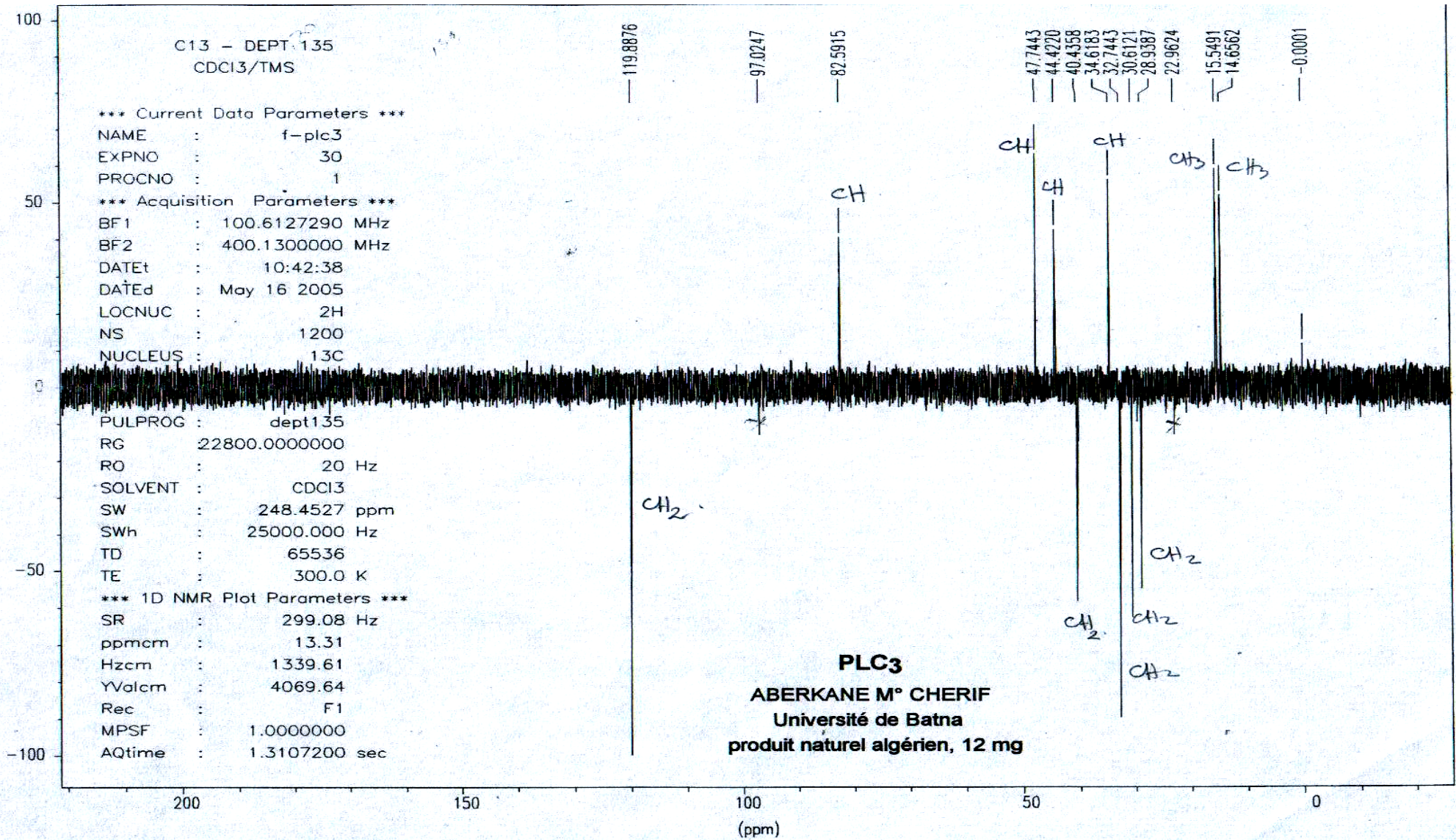
- le C7 et le proton H8
- le C12 , le C11, le C7 et les protons H13 , H13' de la liaison vinylique ainsi que le proton H7
- le C5 et le proton H1 et H2

la présence de l'époxyde est confirmé par les carbones quaternaires C4 et C5 à 69.96 et 69.76 ppm.

- le proton H8 et les carbones C6 et C12
- les protons H2 ,H3 et les carbones C4 , C5
- le proton H9 et les carbones C7, C10 , C14
- le proton H1 et le carbone C14

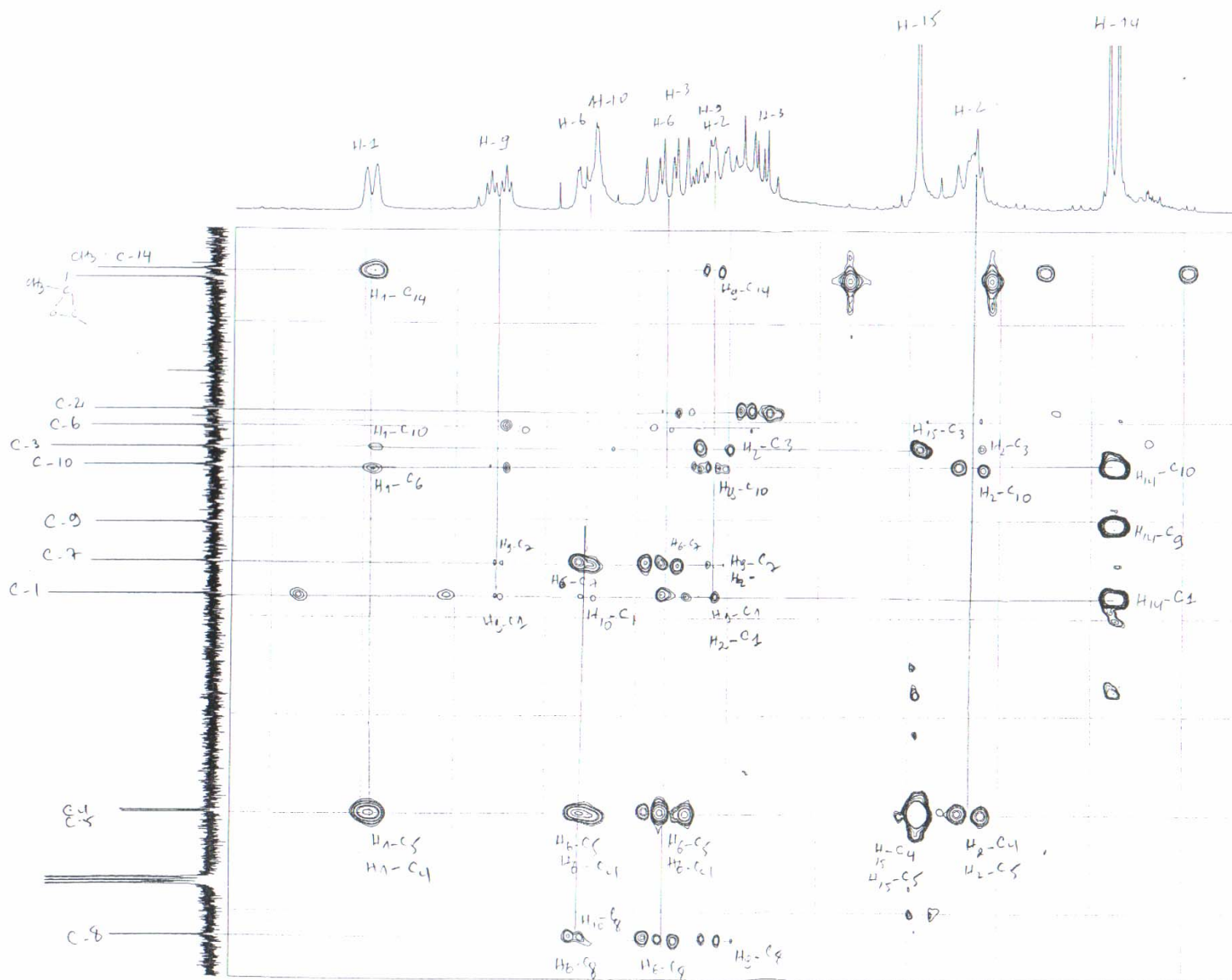






PLC 3

CDCl<sub>3</sub>/TMS



Current Data Parameters  
 NAME f-plc3  
 EXPNO 23  
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
 Date 20051015  
 Time 17.03  
 INSTRUM spect  
 PROBHD 5 mm QNP 1H  
 PULPROG inv41plrd  
 TD 2048  
 SOLVENT CDCl3  
 NS 32  
 DS 16  
 SWH 4854.369 Hz  
 FIDRES 2.370297 Hz  
 AQ 0.2109940 sec  
 RG 2860  
 DW 103.000 usec  
 DE 147.14 usec  
 TE 300.0 K  
 D1 1.50000000 sec  
 F1 8.00 usec  
 D2 0.00345000 sec  
 P3 6.70 usec  
 SFO2 100.6226290 MHz  
 DECNDC 13C  
 D6 0.07000000 sec  
 D0 0.00000300 sec  
 P2 16.00 usec  
 SFO1 400.1318000 MHz  
 NUCLEUS 1H  
 INO 0.00002484 sec

F1 - Acquisition parameters  
 NDO 2  
 TD 256  
 SFO1 100.6228 MHz  
 FIDRES 78.612442 Hz  
 SW 200.003 ppm

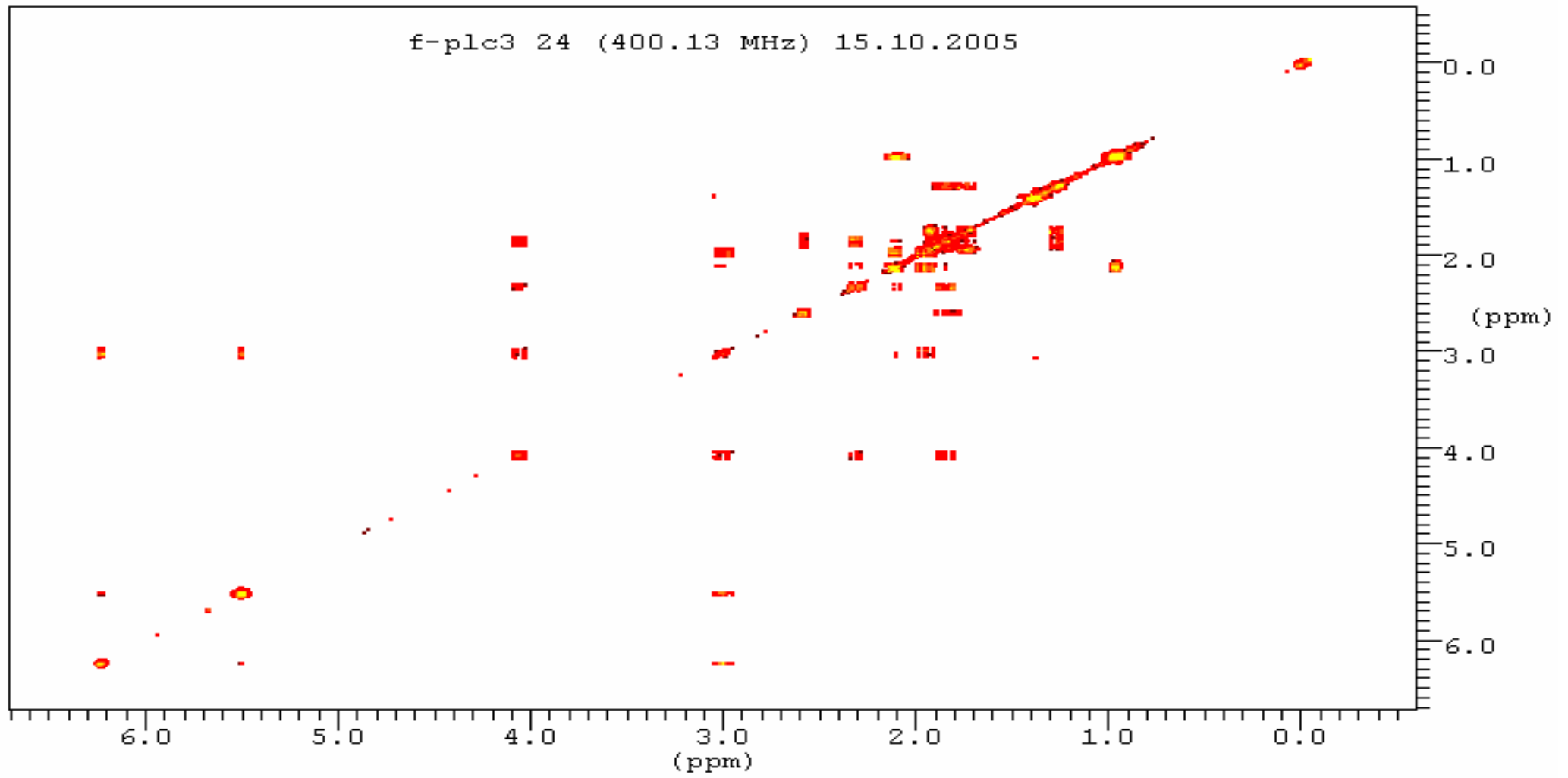
F2 - Processing parameters  
 SI 2048  
 SF 400.1300067 MHz  
 WNW QSINE  
 SSB 2  
 LB 0.00 Hz  
 GB 0  
 PC 1.40

F1 - Processing parameters  
 SI 1024  
 MC2 QF  
 SF 100.6127679 MHz  
 WNW QSINE  
 SSB 2  
 LB 0.00 Hz  
 GB 0

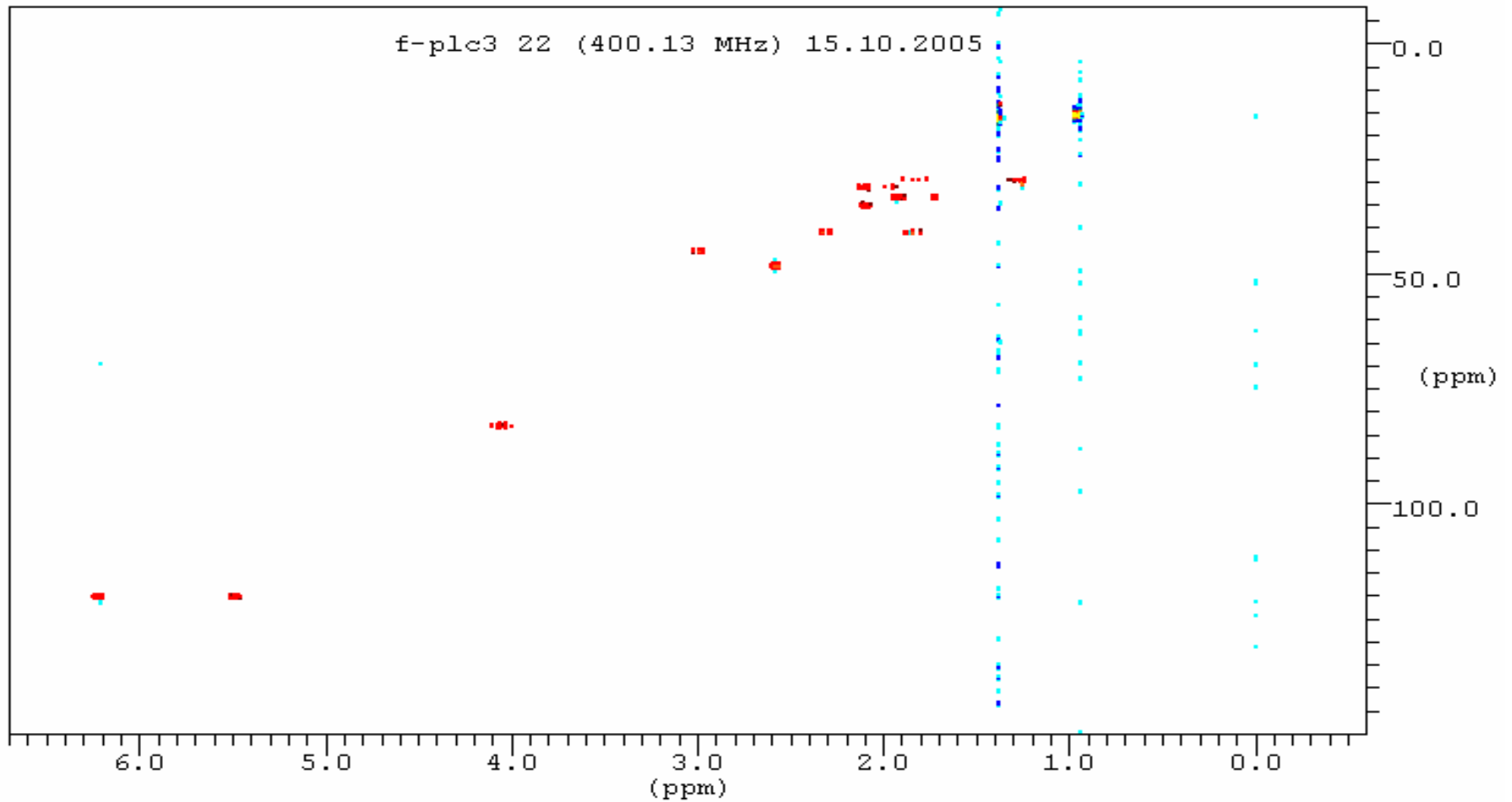
2D NMR plot parameters  
 CX2 27.00 cm  
 CX1 20.00 cm  
 F2P10 2.888 ppm  
 F2L0 1155.65 Hz  
 F2PH1 0.573 ppm  
 F2H1 269.16 Hz  
 F1P10 86.875 ppm  
 F1L0 9740.85 Hz  
 F1PH1 10.500 ppm  
 F1H1 1056.48 Hz  
 F1P1CM 0.08206 ppm/cm  
 F1H1CM 31.83301 Hz/cm  
 F1P2CM 3.81878 ppm/cm  
 F1H2CM 384.21815 Hz/cm



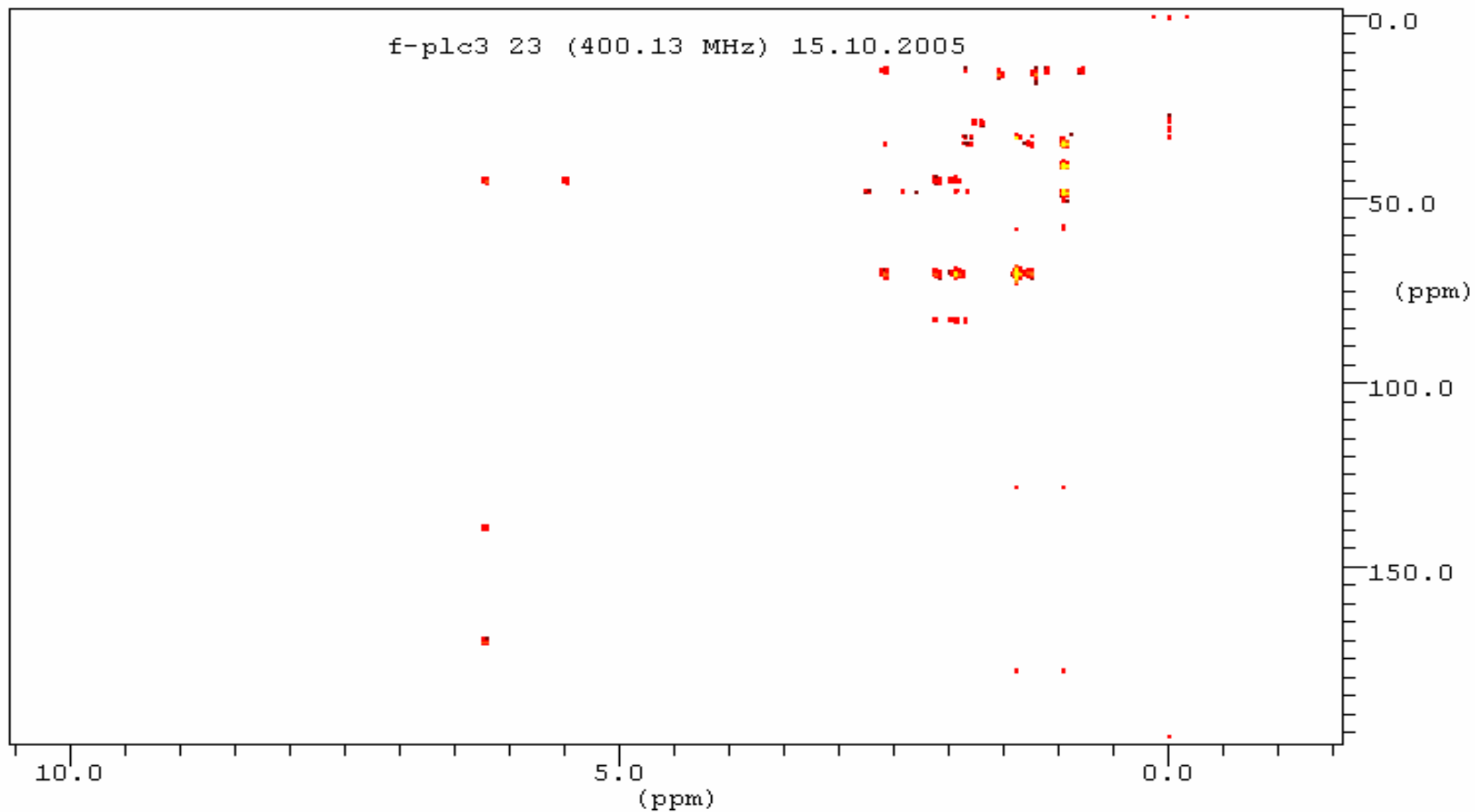
Cosy 90 (spectre réalisé le 15/10/2005 sur un spectromètre Bruker ARX 400)



Hetcor: corrélation  $H^1 - C^{13}$  (invbtp, spectre réalisé le 15/10/2005 sur un spectromètre Bruker ARX 400)



Hmbc: corrélation  $H^1 - C^{13}$  (inv4lplrnd, spectre réalisé le 15/10/2005 sur un spectromètre Bruker ARX 400)



## STRUCTURE DU COMPOSE B

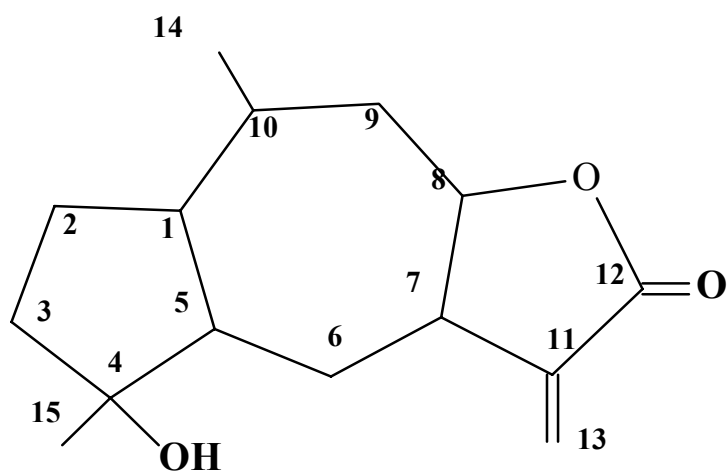
Le produit **B** présente en spectrométrie de masse un pic moléculaire à 248 u.m correspondant à la formule brute  $C_{15}H_{20}O_3$ ; on relève sur le spectre les fragments à 230 u.m ( $M - H_2O$ ). En IR nous notons la présence de trois bandes à 3681, 3615 et  $3640\text{ cm}^{-1}$  qui correspondent à des vibrations  $\nu_{OH}$  (libre et associées), nous avons également une bande à  $3080\text{ cm}^{-1}$  que nous attribuons à une vibration de valence de la liaison C – H vinylique.

La présence de groupement C=O dans la molécule est indiquée par la bande située à  $1700\text{ cm}^{-1}$ . En résonance magnétique nucléaire du proton, le spectre comporte un singulet de 3 protons à 0.95 ppm, un doublet de 3 protons à 0.80 ppm singulet. Nous avons attribué ces signaux à deux groupements méthyles. Nous avons enfin deux doublets qui s'intègrent pour un proton chacun à 6.4ppm et à 5.65 ppm.

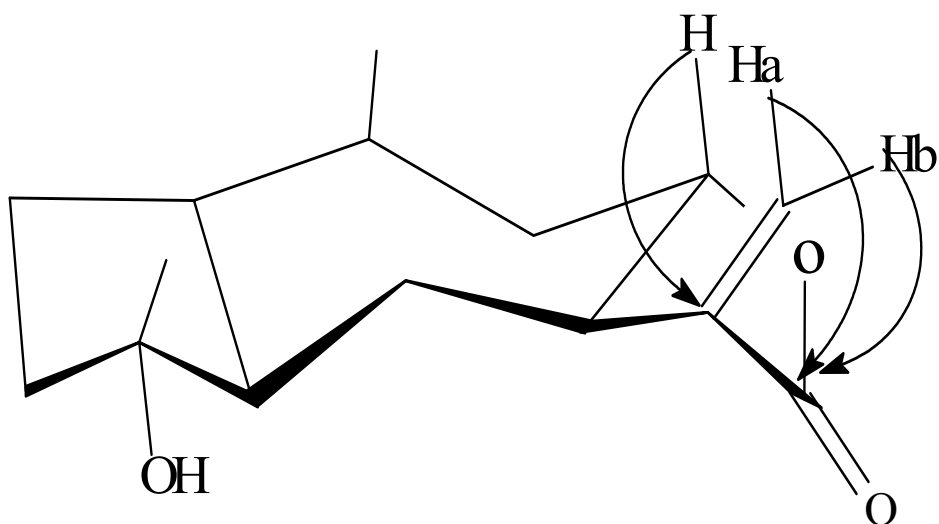
En RMN du  $^{13}C$ , nous avons 15 signaux qui se répartissent dans le spectre enregistré en écho de spin en CH et  $CH_3$  pour sept carbones et C et  $CH_2$  pour huit carbones.

En considérant le spectre carbone- proton nous pouvons préciser cette répartition. Le spectre comporte : 2  $CH_3$ , 5  $CH_2$ , 5 CH et 3 C.

On note la présence d'un C=O à 171 ppm, de deux carbones dont un quaternaire à 140 ppm et l'autre portant deux protons à 121.1 pm. L'analyse des données de la RMN de  $^1H$  et  $^{13}C$  nous oriente vers une structure du type sesquiterpene lactone. La structure proposée a été faite sur la base de ces différents éléments ainsi que sur les différentes similitudes avec le composé A. C'est un sesquiterpene lactone de type Guaianolide.



$C_{15}H_{20}O_3$   
 248.32  
 248.141244  
 C 72.55% H 8.12% O 19.33%



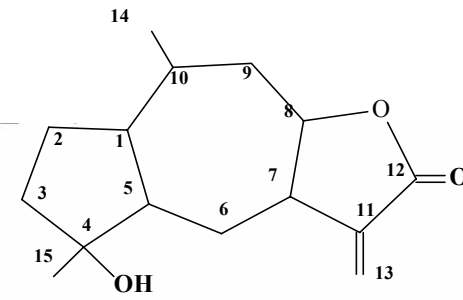
Les expériences 2D carbone – proton présentent les mêmes caractéristiques que dans le composé A.

*Déplacements chimiques  $^1\text{H}$  (composé B)*

$^1\text{H}$	$\delta\text{H}$	multiplicité
H-1	2.16	dl
H-2	1.95	m
H-3	1.2	dd
H-4	/	
H-5	2.9	ddd
H-6 $\alpha$	2.22	dd
H-6 $\beta$	1.85	dd
H-7	3.35	
H-8	4.9	ddd
H-9 $\alpha$	2.02	m
H-9 $\beta$	1.68	m
H-10	2.31	dd
H-11	/	
H-12	/	
H-13 $\alpha$	6.4	d
H-13 $\beta$	5.65	d
H-14	0.8	d
H-15	0.95	s

*Déplacements chimiques  $^{13}\text{C}$  (composé B)*

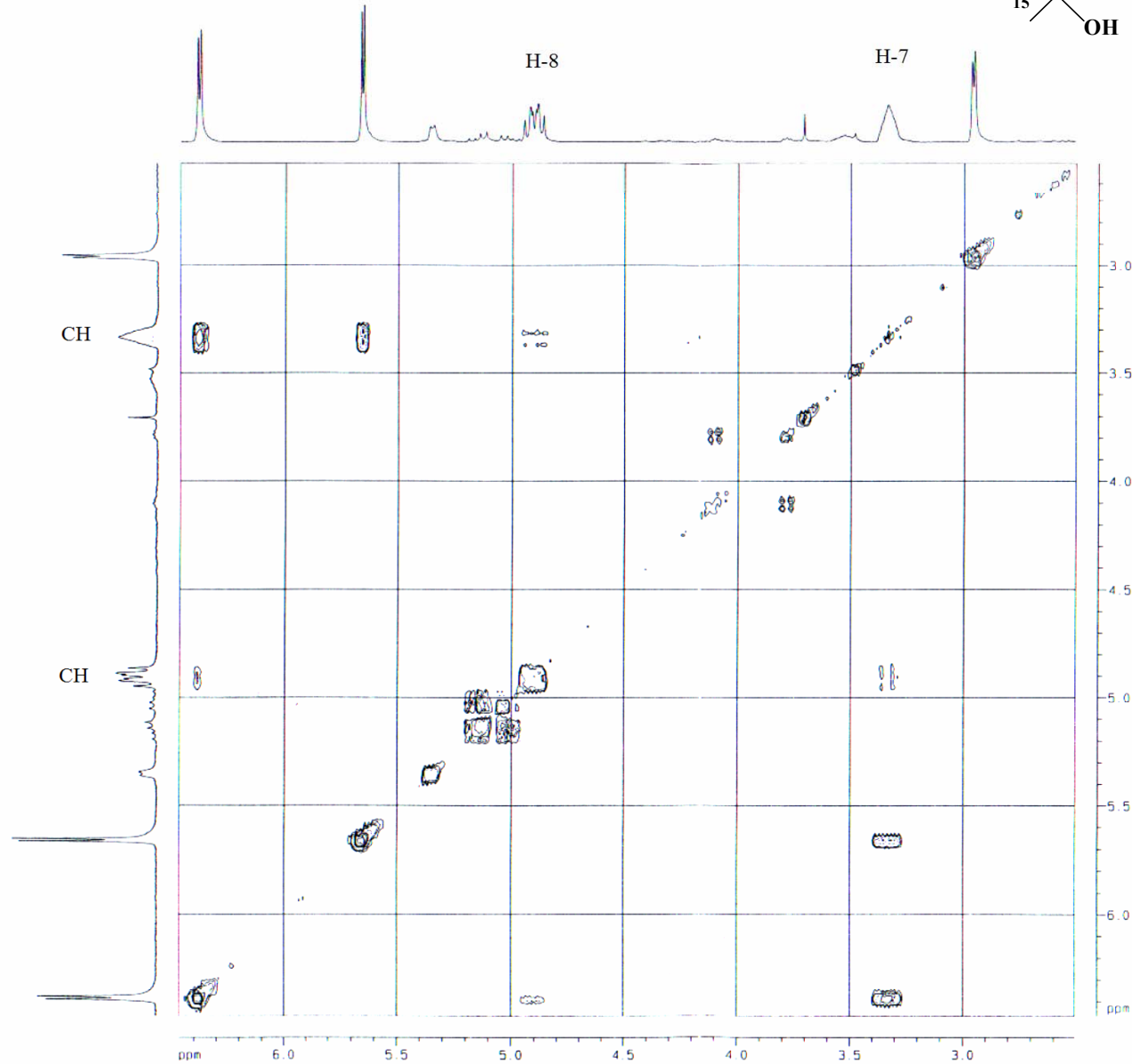
$^{13}\text{C}$	$\delta\text{C}$	Carbone
C-1	36.25	CH
C-2	22.126	CH <sub>2</sub>
C-3	23.97	CH <sub>2</sub>
C-4	80	C
C-5	59.60	CH
C-6	32.12	CH <sub>2</sub>
C-7	37.48	CH
C-8	77.28	CH
C-9	35.08	CH <sub>2</sub>
C-10	34	CH
C-11	140	C
C-12	171	C
C-13	121.1	CH <sub>2</sub>
C-14	15.341	CH <sub>3</sub>
C-15	16.977	CH <sub>3</sub>



PLR3

COSY 1H-1H

V. QUEMENER



Current Data Parameters  
 NAME plr3  
 EXPNO 2  
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20041102  
 Time 12 15  
 INSTRUM spect  
 PROBHD 5 mm TBI 13C.7  
 P1 2048  
 TO 2048  
 SOLVENT CDCl3  
 NS 16  
 DS 16  
 SWH 2705.628 Hz  
 FIDRES 1.321107 Hz  
 AQ 0.3785204 sec  
 RG 1149.4  
 QW 184.800 usec  
 DE 8.50 usec  
 TE 298.0 K  
 D0 0.0000300 sec  
 D1 2.0000000 sec  
 D13 0.0000400 sec  
 D16 0.0001000 sec  
 TNO 0.0003660 sec  
 MCREST 0.0000000 sec  
 MCWPR 2.0000000 sec

----- CHANNEL f1 -----  
 NUC1 1H  
 P0 6.30 usec  
 P1 6.30 usec  
 PL1 3.00 dB  
 SFO1 300.0813504 MHz

----- GRADIENT CHANNEL -----  
 GRAM1 SINE 100  
 GRAM2 SINE 100  
 GPX1 0.00 %  
 GPX2 0.00 %  
 GPY1 0.00 %  
 GPY2 0.00 %  
 GPT1 10.00 %  
 GPT2 10.00 %  
 P16 1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters  
 NDO 1  
 TD 256  
 SFO1 300.0814 MHz  
 FIDRES 10.568958 Hz  
 SW 9.016 ppm  
 FhMODE OF

F2 - Processing parameters  
 SI 1024  
 SF 300.080066 MHz  
 MDW QSINE  
 SSB 1  
 LB 0.00 Hz  
 GB 0  
 PC 1.00

F1 - Processing parameters  
 SI 512  
 MC2 OF  
 SF 300.080066 MHz  
 MDW QSINE  
 SSB 1  
 LB 0.00 Hz  
 GB 0

2D NMR plot parameters  
 CK2 20.00 cm  
 CK1 20.00 cm  
 F2PLO 6.468 ppm  
 F2LO 1940.95 Hz  
 F2PHI 2.506 ppm  
 F2HI 751.95 Hz  
 F1PLO 6.468 ppm  
 F1LO 1940.95 Hz  
 F1PHI 2.506 ppm  
 F1HI 751.95 Hz  
 F2PMCH 0.19811 ppm/cm  
 F2HZCH 59.44983 Hz/cm  
 F1PMCH 0.19811 ppm/cm  
 F1HZCH 59.44983 Hz/cm

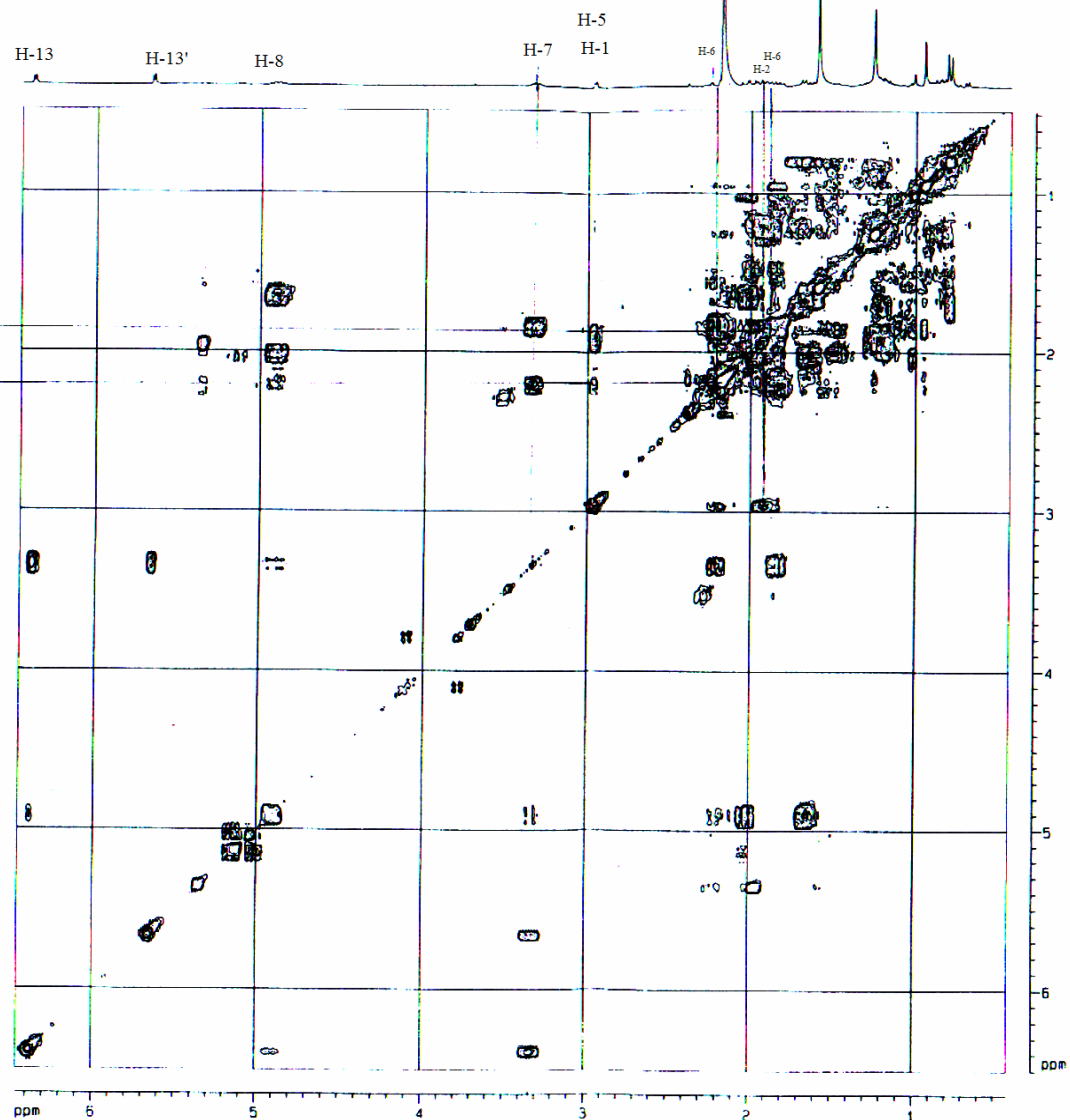


PLR3

COSY 1H-1H

V. GUCMENER

PLR3



Current Data Parameters  
 NAME plr3  
 EXPNO 2  
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20041102  
 Time 12 15  
 INSTRUM spect  
 PROBHD 5 mm TBI 13C 7  
 PULPROG cosygpar  
 TO 2049  
 SOLVENT CDCl3  
 NS 15  
 DS 16  
 SWH 2705.628 Hz  
 FIDRES 1.321107 Hz  
 AQ 0.3785204 sec  
 RG 1149.4  
 DM 184.800 usec  
 DE 6.50 usec  
 TE 298.0 K  
 d0 0.0000300 sec  
 D1 2.0000000 sec  
 D13 0.0000400 sec  
 D16 0.0001000 sec  
 INO 0.0003660 sec  
 MCREST 0.0000000 sec  
 MCHPK 2.0000000 sec

\*\*\*\*\* CHANNEL f1 \*\*\*\*\*  
 NUC1 1H  
 P0 6.30 usec  
 P1 6.30 usec  
 PL1 3.00 dB  
 SFO1 300.0813504 MHz

\*\*\*\*\* GRADIENT CHANNEL \*\*\*\*\*  
 GPM1 SINE 100  
 GPM2 SINE 100  
 GPX1 0.00 %  
 GPX2 0.00 %  
 GPY1 0.00 %  
 GPY2 0.00 %  
 GPZ1 10.00 %  
 GPZ2 10.00 %  
 P16 1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters  
 ND0 1  
 TD 256  
 SFO1 300.0814 MHz  
 FIDRES 10.568858 Hz  
 SW 9.016 ppm  
 FWH02 DF

F2 - Processing parameters  
 SI 1024  
 SF 300.080066 MHz  
 MDW 051NF  
 SSB 1  
 LB 0.00 Hz  
 GB 0  
 PC 1.00

F1 - Processing parameters  
 SI 512  
 MD2 DF  
 SF 300.080066 MHz  
 MDW 051NF  
 SSB 1  
 LB 0.00 Hz  
 GB 0

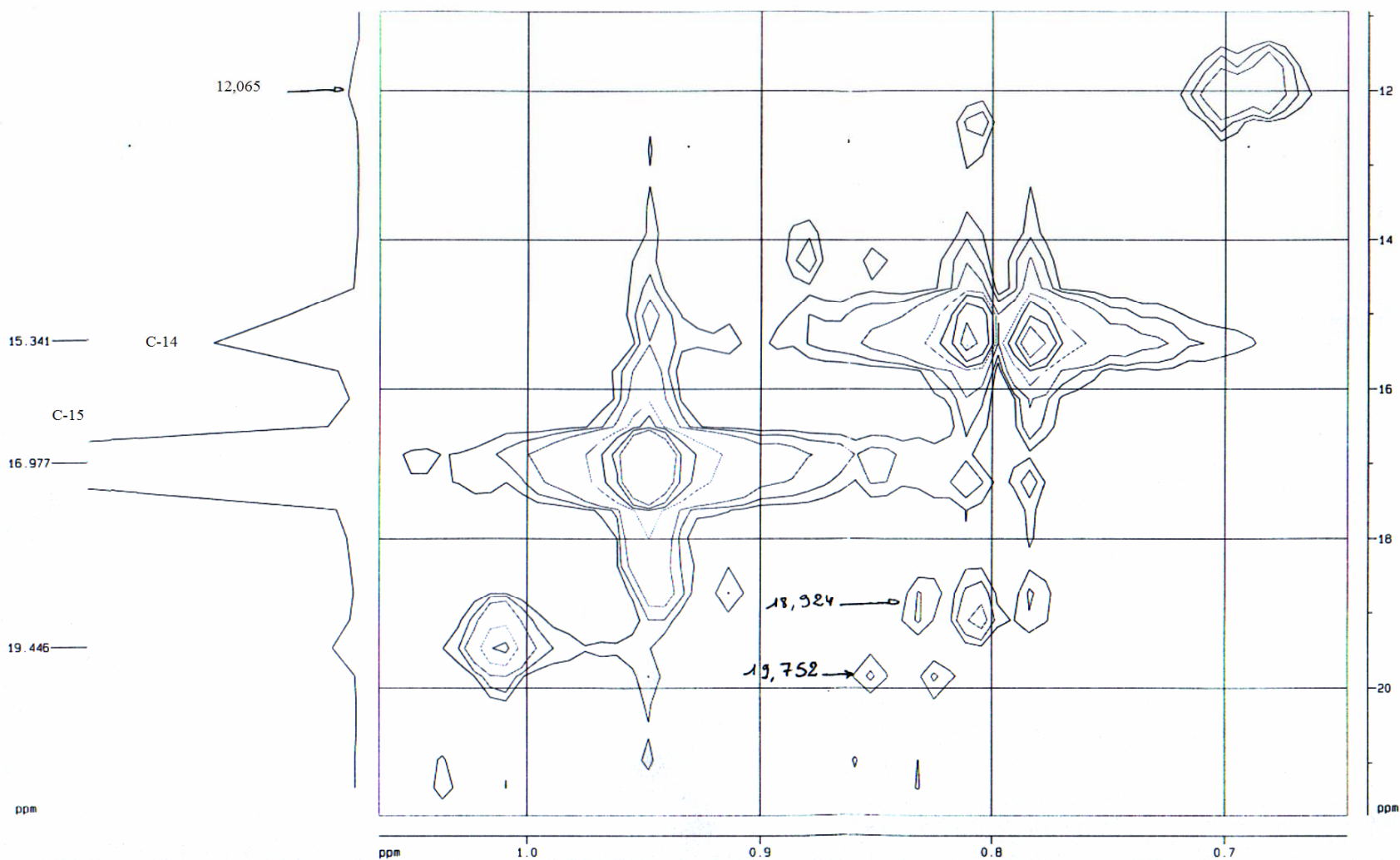
2D NMR plot parameters  
 CX2 20.00 cm  
 CX1 20.00 cm  
 F2PL0 6.459 ppm  
 F2PL1 1938.31 Hz  
 F2PH1 0.419 ppm  
 F2PH2 125.70 Hz  
 F1PL0 6.503 ppm  
 F1PL1 1951.52 Hz  
 F1PH1 0.481 ppm  
 F1PH2 144.24 Hz  
 F2PCH 0.30201 ppm/cm  
 F2NCH 90.62796 Hz/cm  
 F1PCH 0.30113 ppm/cm  
 F1NCH 90.36374 Hz/cm

PLR3

HMQC

V. QUEMENER

clb.



Current Data Parameters  
 NAME dir3  
 EXPNO 3  
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20041102  
 Time 18 35  
 INSTRUM spect  
 PROBHD 5 mm TSI 13C Z  
 PULPROG invAgar  
 TD 2048  
 SOLVENT CDCl3  
 NS 48  
 DS 16  
 SWH 2097.315 Hz  
 FIDRES 1.92480 Hz  
 AQ 0.490232 sec  
 RG 13004  
 DN 238.400 usec  
 DE 8.50 usec  
 TE 298.0 K  
 CMT2 140 000000  
 a0 0.0000300 sec  
 a1 1.7999995 sec  
 a2 0.002743 sec  
 a12 0.0002000 sec  
 a13 0.0000400 sec  
 a16 0.0001000 sec  
 a20 0.00254743 sec  
 TMO 0.0003487 sec  
 MCREST 0.0000000 sec  
 MCPRK 1.7999995 sec

\*\*\*\*\* CHANNEL f1 \*\*\*\*\*  
 NUC1 1H  
 P1 6.30 usec  
 P2 12.60 usec  
 PL1 3.00 dB  
 SFO1 300.0812003 MHz

\*\*\*\*\* CHANNEL f2 \*\*\*\*\*  
 CPDPRG2 gprp  
 NUC2 13C  
 P3 17.00 usec  
 PCPD2 80.00 usec  
 PL2 -6.00 dB  
 PL12 13.00 dB  
 SFO2 75.4627215 MHz

\*\*\*\*\* GRADIENT CHANNEL \*\*\*\*\*  
 GPM1 SINE 100  
 GPM2 SINE 100  
 GPM3 SINE 100  
 GPC1 0.00 1  
 GPC2 0.00 1  
 GPC3 0.00 1  
 GPC4 0.00 1  
 GPC5 0.00 1  
 GPC6 0.00 1  
 GPC7 50.00 1  
 GPC8 30.00 1  
 GPC9 40.10 1  
 P16 1000.00 usec

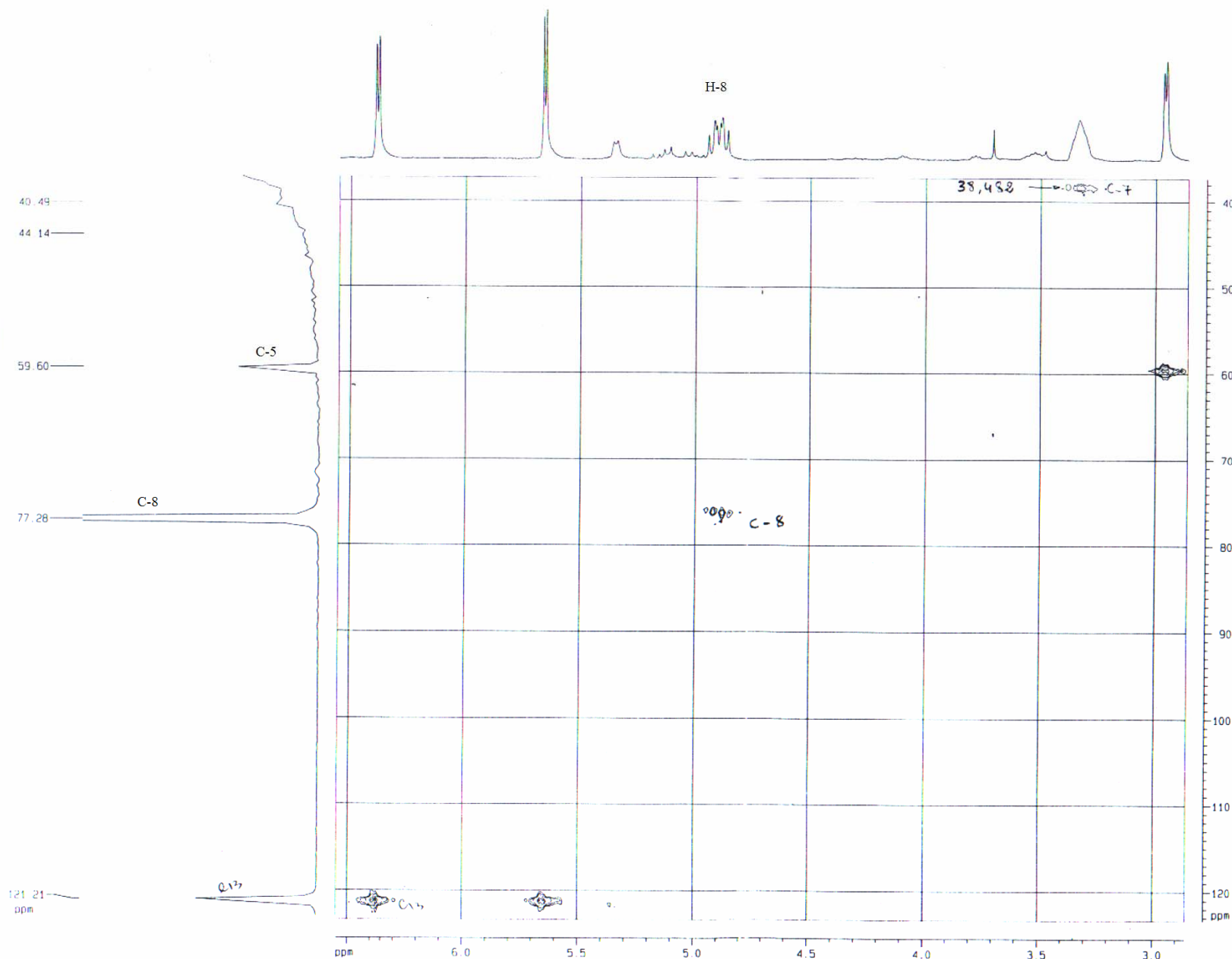
F1 - Acquisition parameters  
 MD 2  
 TD 448  
 SFO1 75.46272 MHz  
 FIDRES 32.002048 Hz  
 SW 189.987 ppm  
 FWHQE 0

F2 - Processing parameters  
 SI 1024  
 SF 300.080006 MHz  
 MDW 05SINE  
 SSB 2  
 LB 0.00 Hz  
 GB 0  
 PC 1.40

F1 - Processing parameters  
 SI 512  
 SF 75.4551760 MHz  
 MDW 05SINE  
 SSB 2  
 LB 0.00 Hz  
 GB 0

2D NMR plot parameters  
 CX2 23.00 cm  
 CX1 20.00 cm  
 FPR0 1.064 ppm  
 F2L0 319.21 Hz  
 F2PH 0.647 ppm  
 F2H1 194.27 Hz  
 F1PL0 21.657 ppm  
 F1L0 1637.14 Hz  
 F1PH 10.935 ppm  
 F1H1 825.09 Hz  
 F2PPMCH 0.01810 ppm/cm  
 F2HZCH 5.43208 Hz/cm  
 F1PPMCH 0.53810 ppm/cm  
 F1HZCH 40.60260 Hz/cm

PLA3 HMOC V. QUEMENER



```

Current Data Parameters
NAME      pla3
EXPNO    3
PROCNO   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_    20041102
Time     18.35
INSTRUM  spect
PROBHD   5 mm TSI 13C Z
PULPROG  zgpg30
TD        65536
SOLVENT  CDCl3
NS        48
DS        16
SWH       2097.315 Hz
FIDRES   1.024080 Hz
AQ        0.4897937 sec
RG        1300
WDW       238.400 usec
DE        6.50 usec
TE        298.0 K
CNS12    140.0000000
d0        0.0000000 sec
d1        1.799999995 sec
d2        0.00397143 sec
d12       0.0000000 sec
d13       0.0000000 sec
d16       0.00010000 sec
d20       0.00254743 sec
TM0       0.0000000 sec
NCREST   0.0000000 sec
NCSWAP   1.799999995 sec

***** CHANNEL f1 *****
NUC1      1H
P1        6.30 usec
P2        12.60 usec
PL        3.00 dB
SF01     300.0812003 MHz

***** CHANNEL f2 *****
CPDPRG2  zgpg30
NUC2      13C
P3        17.00 usec
P4        80.00 usec
PL2       -8.00 dB
PL12      13.20 dB
SF02     75.4627215 MHz

***** GRADIENT CHANNEL *****
GPMAM1    SINE 100
GPMAM2    SINE 100
GPMAM3    SINE 100
GPX1      0.00 %
GPX2      0.00 %
GPX3      0.00 %
GPF1      0.00 %
GPF2      0.00 %
GPF3      0.00 %
GPT1      50.00 %
GPT2      30.00 %
GPT3      40.10 %
P16       1000.00 usec

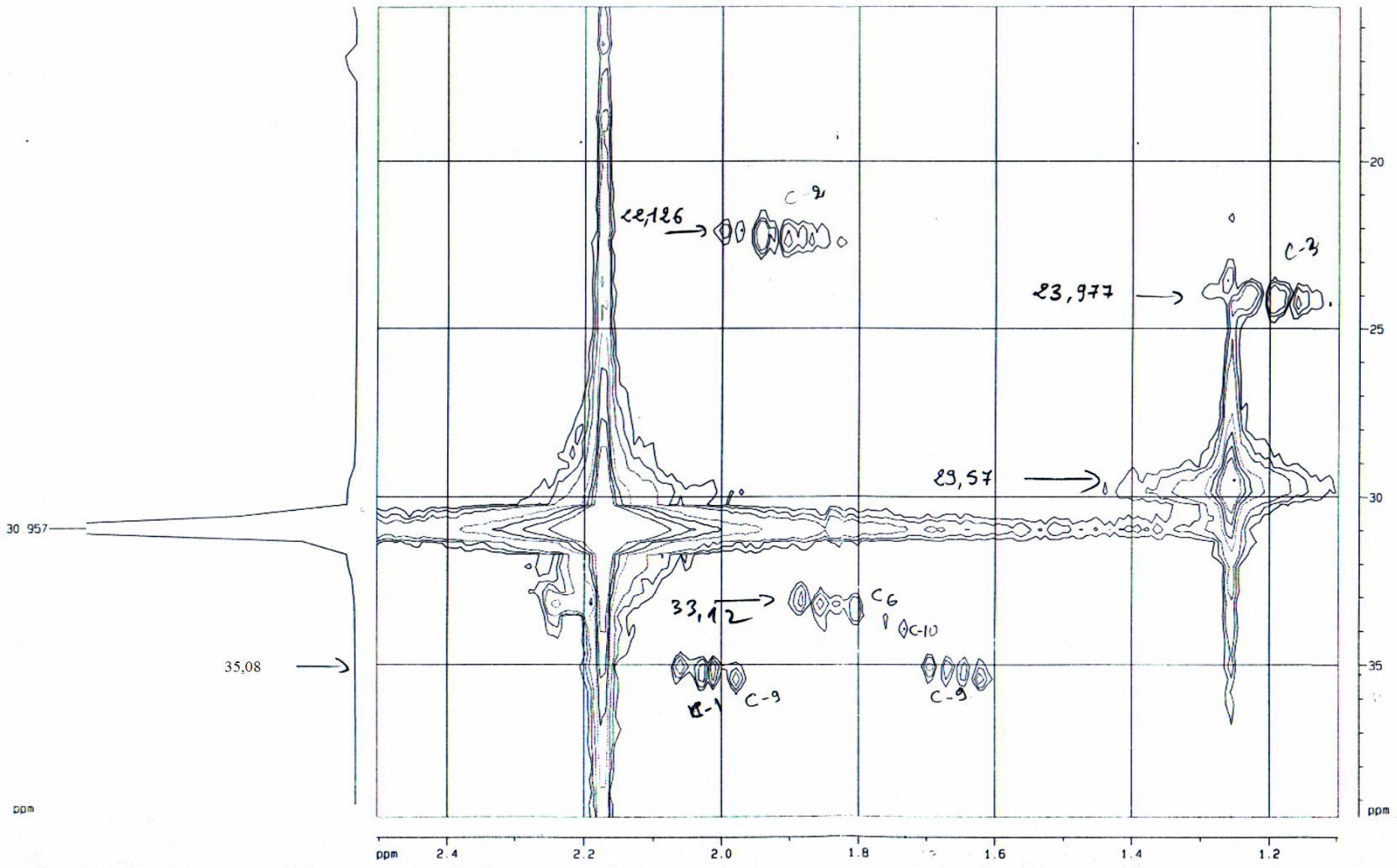
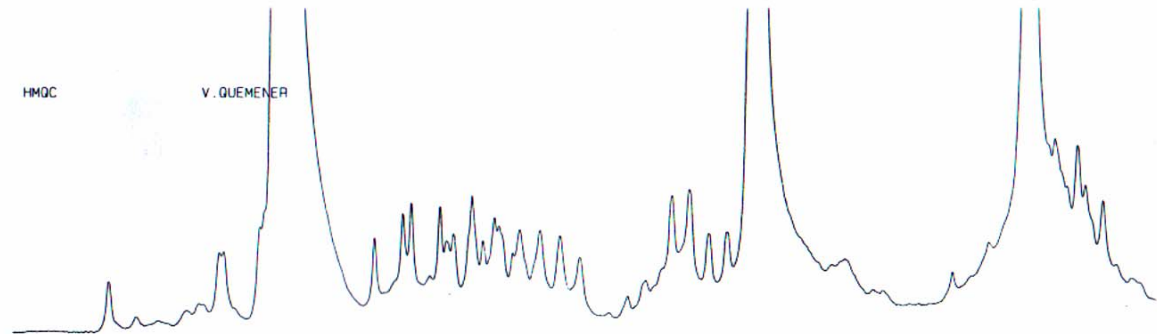
F1 - Acquisition parameters
ND0        2
TD         448
SF01     75.46272 MHz
FIDRES    32.002048 Hz
SW        189.987 ppm
FWDWDE    0

F2 - Processing parameters
SI         1024
SF        300.0800066 MHz
WDW        051ME
SSB        2
LB         0.00 Hz
GB         0
PC         1.40

F1 - Processing parameters
SI         512
MC2        0
SF        75.4551750 MHz
WDW        051ME
SSB        2
LB         0.00 Hz
GB         0

2D NMR plot parameters
CX2        23.00 cm
CX1        20.00 cm
F2PLO     6.551 ppm
F2LO      1965.93 Hz
F2PHI     2.859 ppm
F2PHI     857.87 Hz
F1PLO     123.380 ppm
F1LO      9309.63 Hz
F1PHI     37.283 ppm
F1PHI     2913.22 Hz
F2PPOACH  0.16054 ppm/cm
F2HZCM    48.17628 Hz/cm
F1PPOACH  4.30482 ppm/cm
F1HZCM    324.82880 Hz/cm
    
```

PLR3 HMQC V. QUEMENER



```

Current Data Parameters
NAME      plr3
EXPNO    3
PROCNO   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_    20041102
Time     18.35
INSTRUM  spect
PROBHD   5 mm 1H1 13C Z
PULPROG  invv4paf
TD        2048
SOLVENT  CDCl3
NS        48
DS        16
SWH      2097.315 Hz
FIDRES   1.024080 Hz
AQ        0.4802932 sec
RG        13004
DN        238.400 usec
DC        8.50 usec
TE        298.0 K
CNS12    140.000000
d0        0.0000300 sec
d1        1.79999995 sec
d2        0.0037143 sec
g12       0.00002000 sec
g13       0.00004000 sec
d15       0.00010000 sec
g20       0.00254743 sec
IN0       0.00003487 sec
MCHRES1  0.00000000 sec
MCHW1    1.79999995 sec

----- CHANNEL f1 -----
NUC1      13C
P1        6.30 usec
p2        12.60 usec
PL1       3.00 dB
SF01      300.0812003 MHz

----- CHANNEL f2 -----
CPDPRG2   gprp
NUC2      1H
P3        17.00 usec
PCPD2     80.00 usec
PL2       -6.00 dB
PL12      13.00 dB
SF02      75.4627215 MHz

----- GRADIENT CHANNEL -----
GPM1      SINE 100
GPM2      SINE 100
GPM3      SINE 100
GP11      0.00 %
GP12      0.00 %
GP13      0.00 %
GP21      50.00 %
GP22      30.00 %
GP23      40.10 %
P16       1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
NUC1      2
TD         448
SF01      75.46272 MHz
FIDRES    32.002048 Hz
SW        195.987 ppm
FANODE    GF

F2 - Processing parameters
SI        1024
SF        300.0800066 MHz
WDW       GSINE
SSB       2
LB        0.00 Hz
GB        0
PC        1.40

F1 - Processing parameters
SI        512
MC2       GF
SF        75.4551760 MHz
WDW       GSINE
SSB       2
LB        0.00 Hz
GB        0

2D NMR plot parameters
CX2       23.00 cm
CX1       20.00 cm
F2PL0     2.504 ppm
F2L0      751.37 Hz
F2PH1     1.098 ppm
F2H1      329.45 Hz
F2PL0     39.510 ppm
F2L0      2981.23 Hz
F2PH1     15.388 ppm
F2H1      1161.11 Hz
F2PPH0    0.06113 ppm/cx
F2HZ0     18.34439 Hz/cx
F2PPH0    1.20689 ppm/cx
F2HZ0     51.00583 Hz/cx
    
```

### STRUCTURE DU COMPOSE C

Le composé **C** se présente sous forme d'une poudre blanche amorphe. En spectrométrie de masse nous avons enregistré un pic  $[M + K]^+ = 287$  unité de masse correspondant à une masse de 248 uma pour une formule brute  $C_{15}H_{20}O_3$ . En I.R nous avons observés deux bandes à  $1700\text{ cm}^{-1}$  ( $\gamma$ - lactone) et  $1740\text{ cm}^{-1}$  (cétone cyclique). En RMN du proton, le spectre comporte les signaux caractéristiques d'un méthylène exocyclique, à savoir deux doublets de un proton chacun à 6.22 ppm et à 5.57 ppm. On relève également sur le même spectre la présence de

- Un singulet et un doublet s'intégrant chacun par trois protons et correspondant à deux groupements méthyles respectivement à 1.10 ppm et à 1.17 ppm.
- Un doublet de doublet de doublet de un proton à 4.31 ppm
- Un multiplet de un proton à 2.79 ppm

En RMN de carbone J modulé nous avons enregistré 15 signaux qui se répartissent en CH et CH<sub>3</sub> pour six carbones et C ET CH<sub>2</sub> pour les autres.

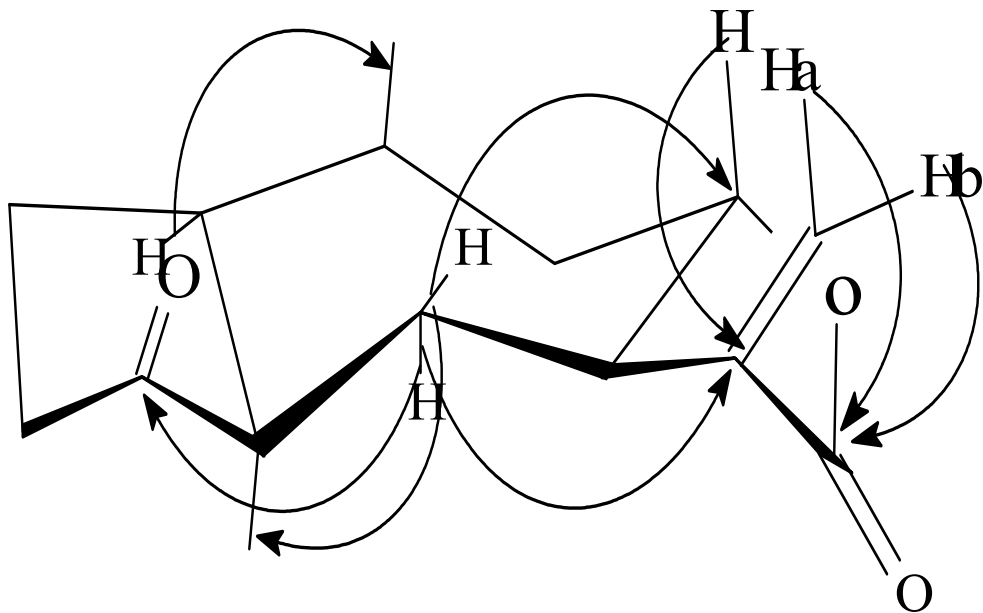
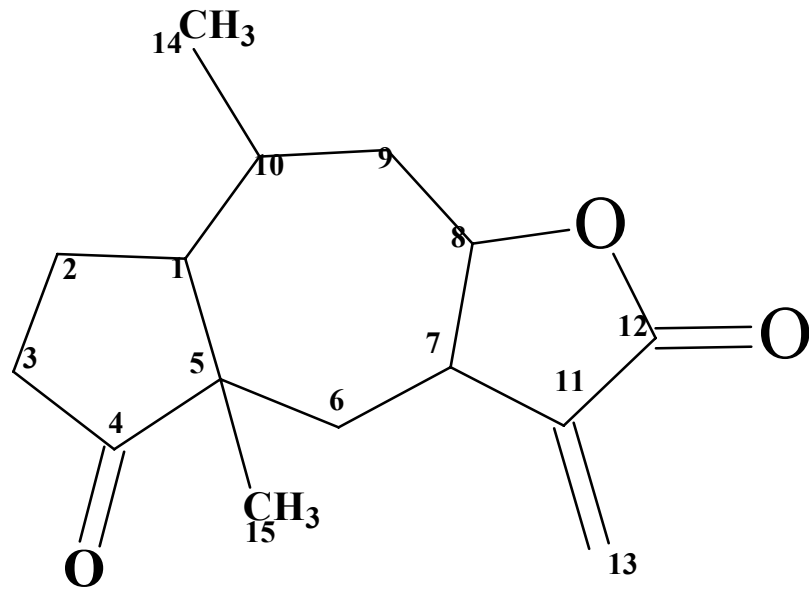
L'expérience de corrélation proton – carbone (HSQC) nous a permis d'attribuer tous les protons à leurs carbones correspondants

- les trois protons sous forme de singulet au carbone à 17.06 ppm
- les trois protons sous forme de doublet au carbone à 23.47 ppm.
- C=O de la  $\gamma$  - lactone à 170 ppm
- C=O de cétone cyclique à 220 ppm

Les données de l'expérience HMBC nous révèlent les corrélations à deux et trois liaisons proton -carbone suivantes :

- les proton H<sub>6</sub> et les carbones C<sub>11</sub>, C<sub>8</sub>, C<sub>4</sub> et C<sub>15</sub>.
- le proton H<sub>9</sub> et les carbones C<sub>14</sub>, C<sub>10</sub>, C<sub>8</sub>.
- les protons H<sub>13</sub> et H<sub>13'</sub> et les carbones C<sub>7</sub>, C<sub>12</sub>, C<sub>11</sub>.

L'analyse des données de la RMN du carbone et du proton ainsi que toutes les expériences HSQC, COSY et HMBC d'une part et les différentes similitudes observées avec les composés A et B d'autre part, nous proposons l'hypothèse de structure du composé **C** comme un sesquiterpene lactone de type pseudo- guaianolide suivant /



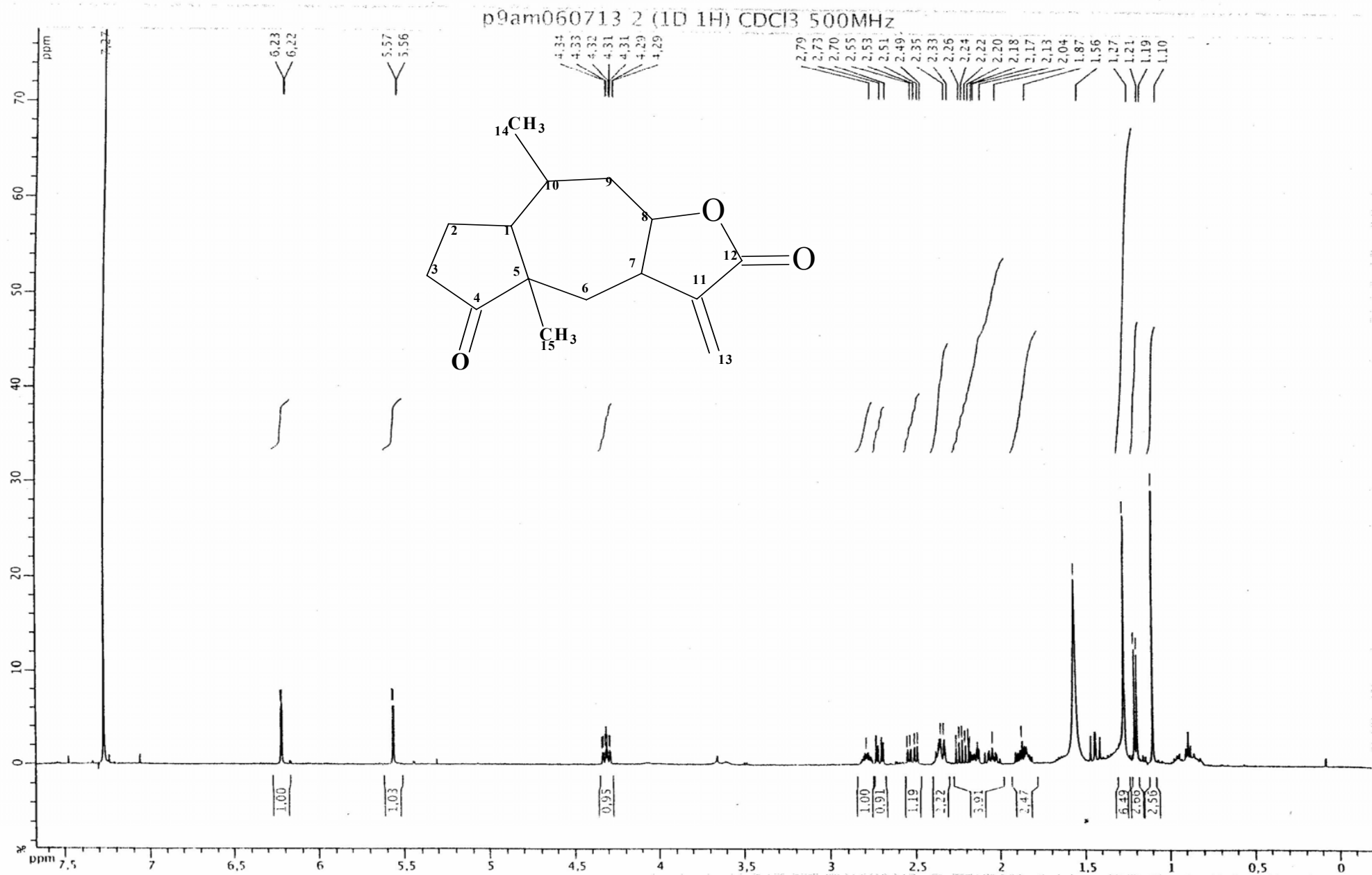
*Déplacements chimiques  $^1\text{H}$  (composé C)*

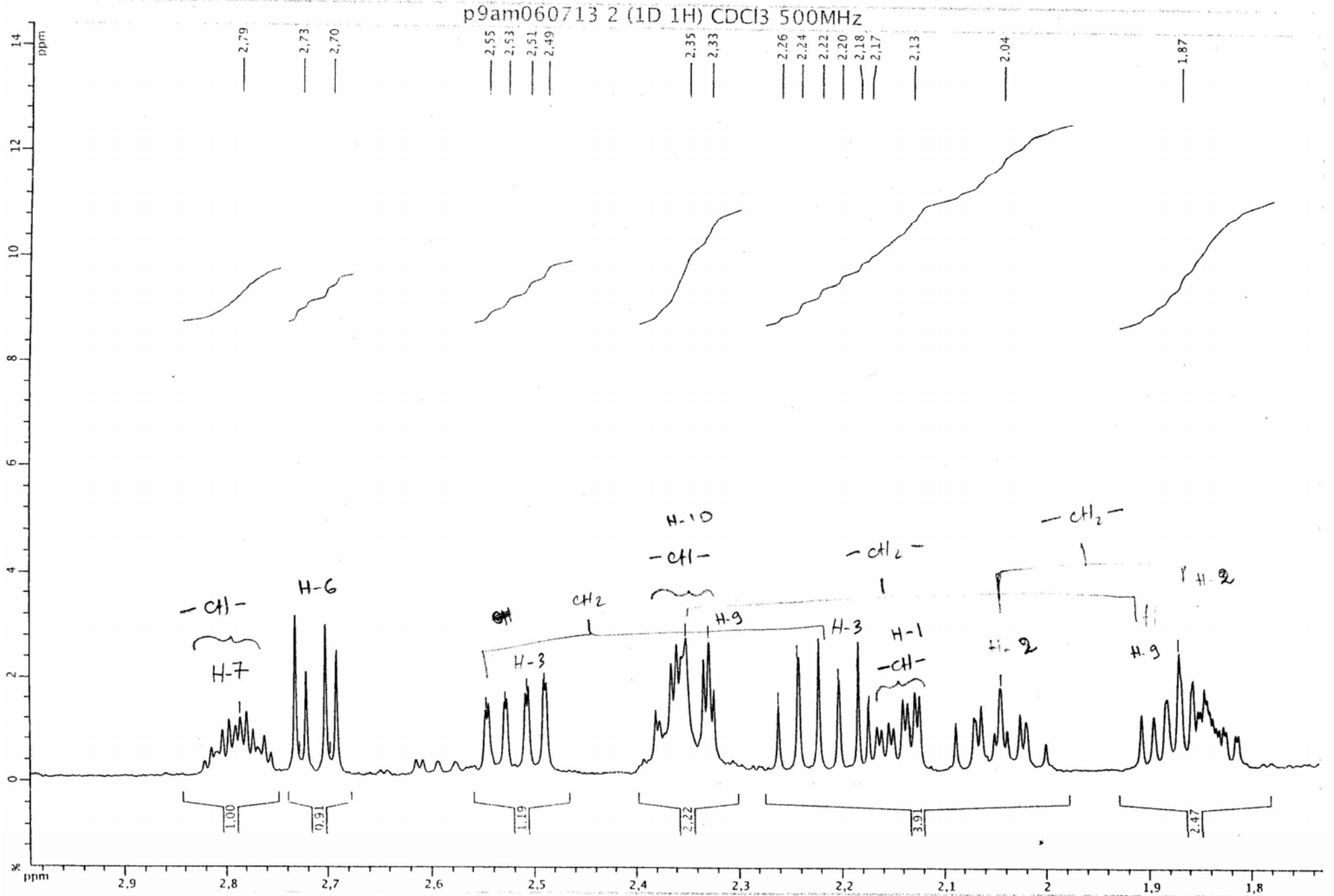
$^1\text{H}$	$\delta\text{H}$	Multiplicité
H-1	2.12	dl
H-2 $\alpha$	2.05	dddd
H-2 $\beta$	1.85	dddd
H-3 $\alpha$	2.5	ddd
H-3 $\beta$	2.2	ddd
H-6 $\alpha$	2.79	dd
H-6 $\beta$	1.45	dd
H-7	2.8	m
H-8	4.31	ddd
H-9 $\alpha$	2.36	m
H-9 $\beta$	1.89	m
H-10	2.36	m
H-13 $\alpha$	6.22	d
H-13 $\beta$	5.57	d
H-14	1.77	d
H-15	1.10	s

*Déplacements chimiques  $^{13}\text{C}$  (composé C)*

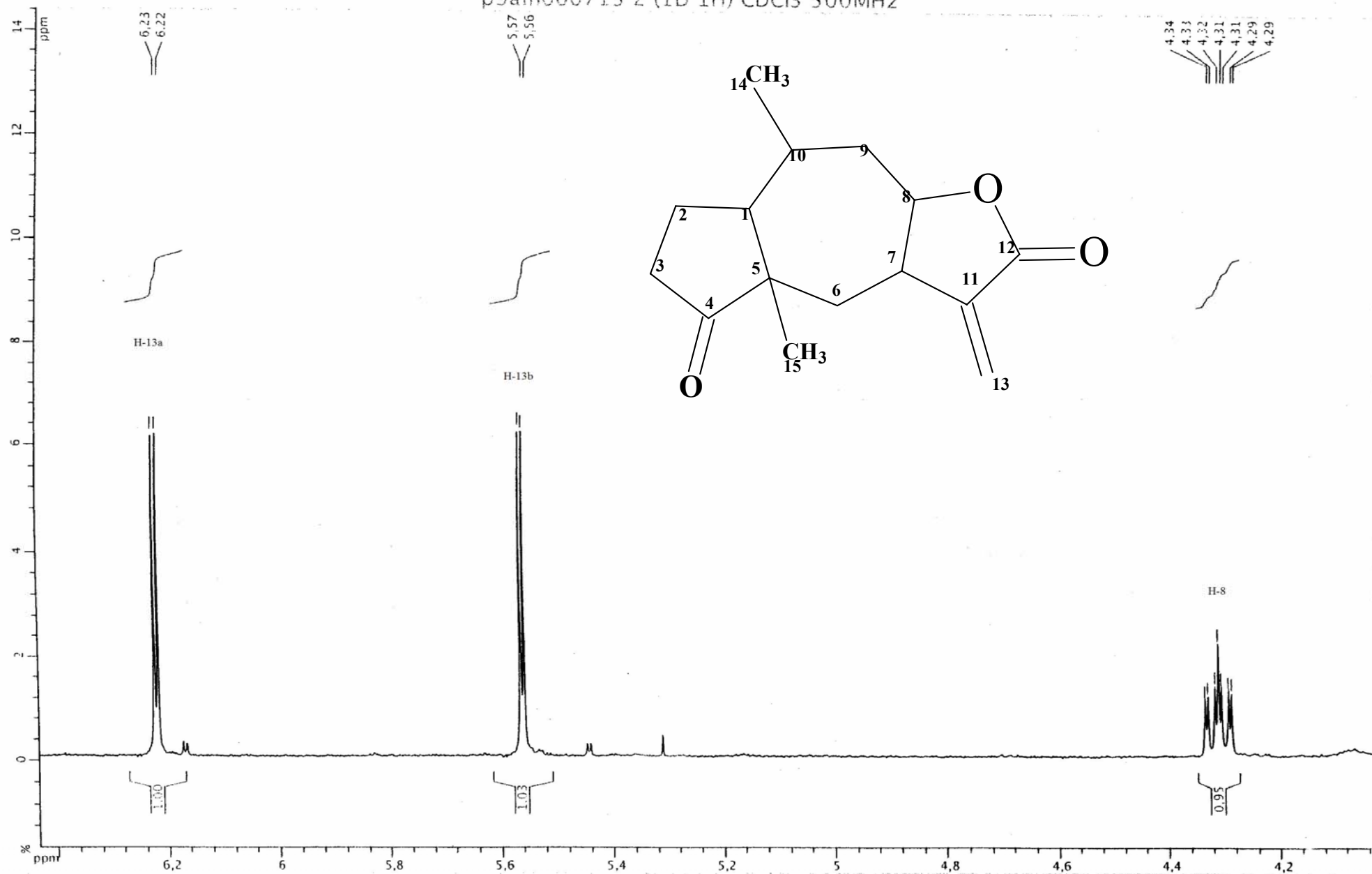
$^{13}\text{C}$	$\delta\text{C}$	Carbone
C-1	45.33	CH
C-2	24	CH <sub>2</sub>
C-3	35.08	CH <sub>2</sub>
C-4	220	C
C-5	50.91	CH
C-6	35.25	CH <sub>2</sub>
C-7	45.44	CH
C-8	80	CH
C-9	41	CH <sub>2</sub>
C-10	32.68	CH
C-11	140	C
C-12	170	C
C-13	120	CH <sub>2</sub>
C-14	17.06	CH <sub>3</sub>
C-15	23.47	CH <sub>3</sub>

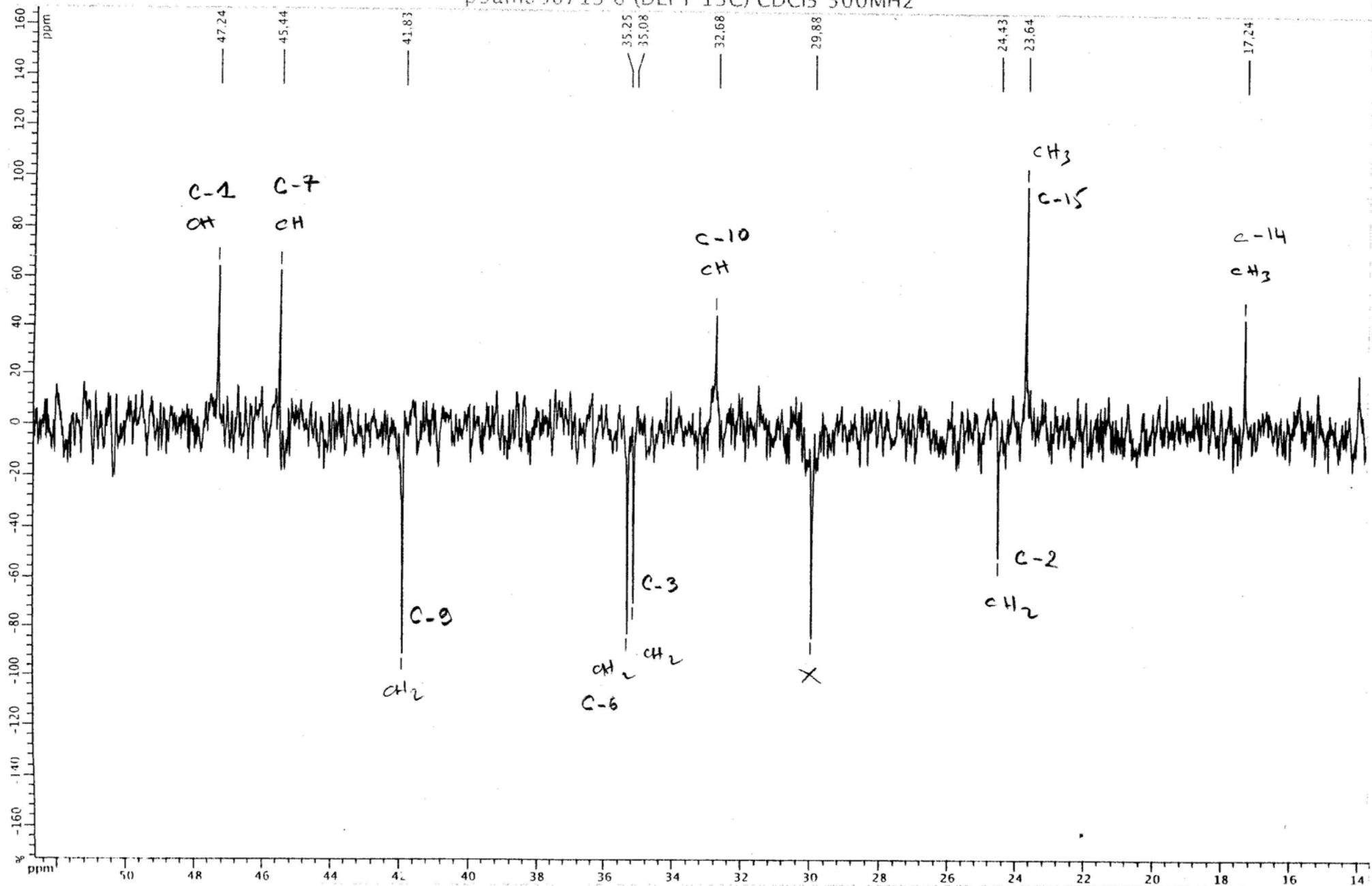


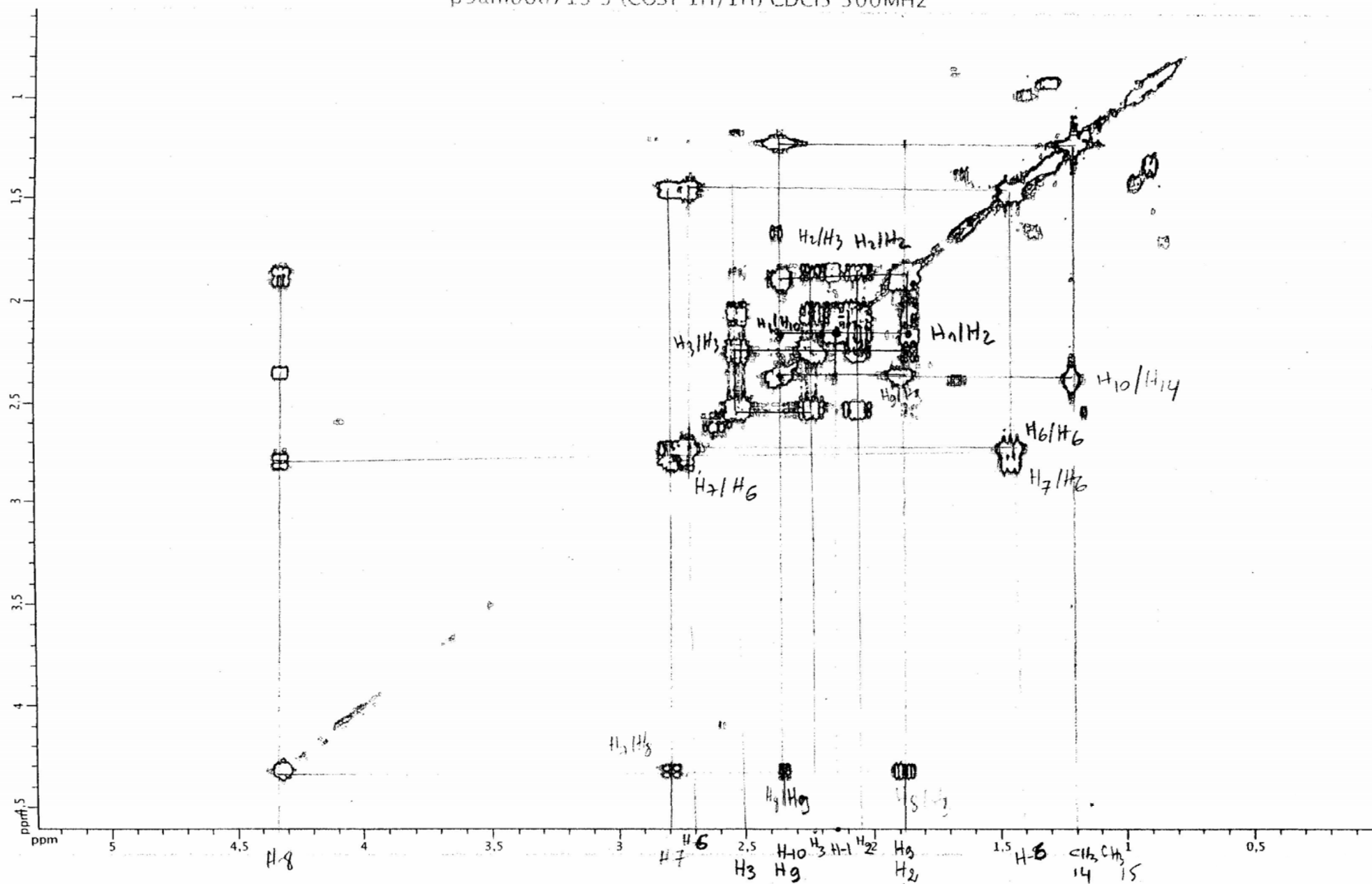




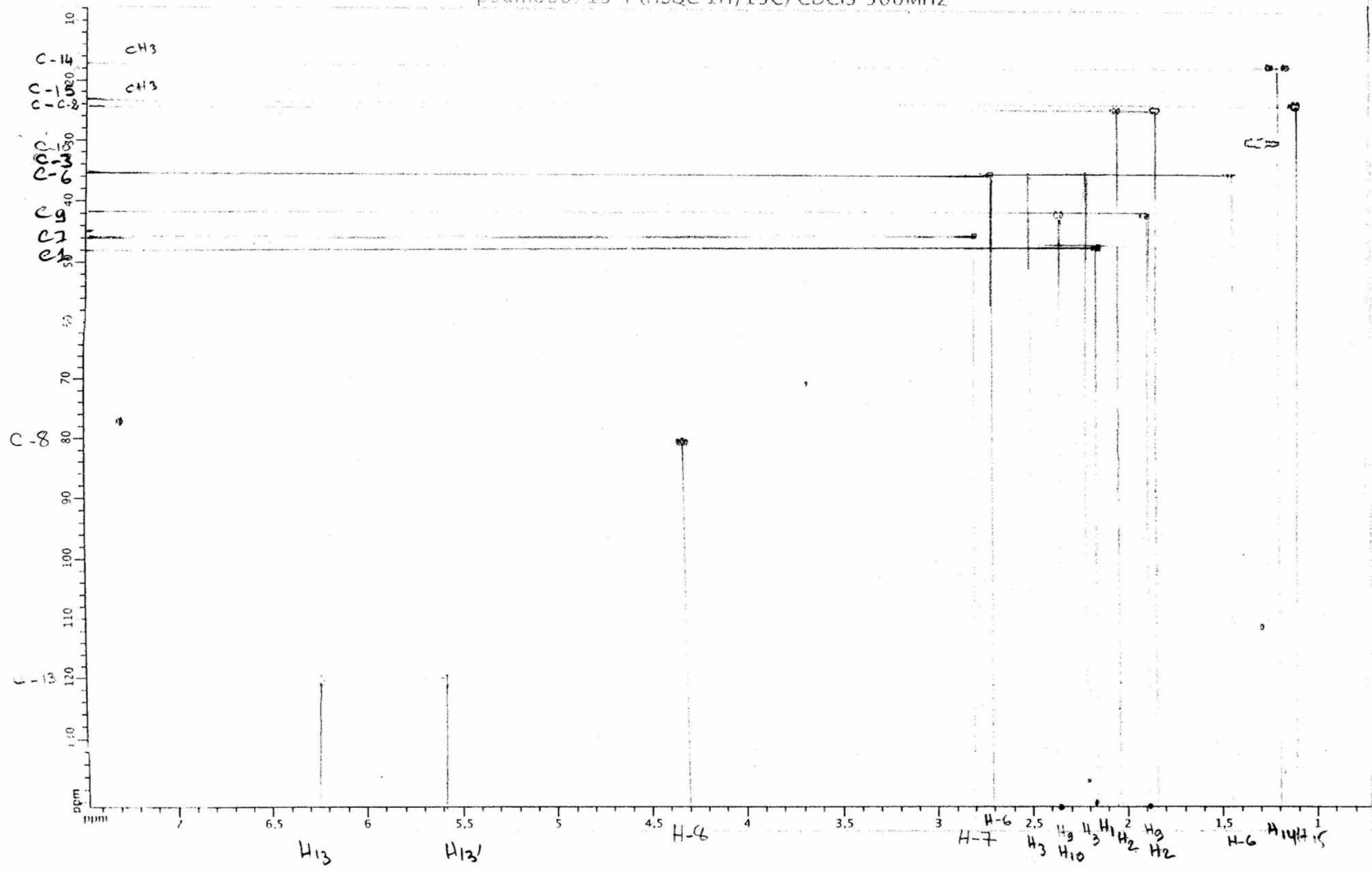
p9am060713 2 (1D 1H) CDC13 500MHz



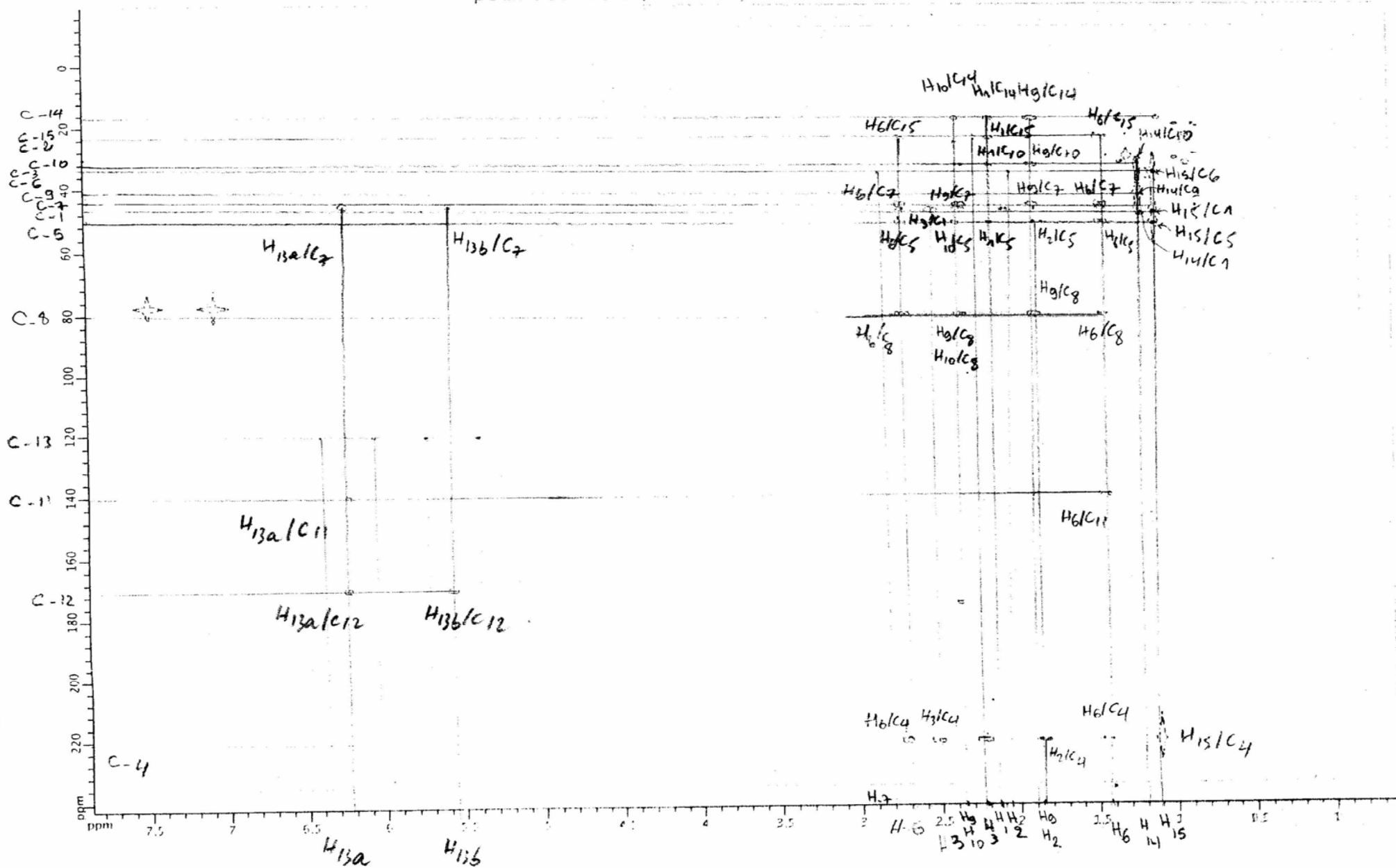
p9am060713 6 (DEPT 13C) CDCl<sub>3</sub> 500MHz

p9am060713 3 (COSY 1H/1H) CDCl<sub>3</sub> 500MHz

p9am060713 4 (HSQC 1H/13C) CDCl3 500MHz



p9am060713 5 (HMBC 1H/13C) CDCl3 500MHz



# Les composés stéroïdiques



### STRUCTURE DU COMPOSE D

Le composé D est une poudre blanche ; le spectre de masse obtenu par electrospray ionisation présente un pic à  $m/z = 485$  pour l'ion moléculaire  $[M+K+MeOH]^+$ , soit une masse égale à  $M=414$  correspondant à une formule brute  $C_{29}H_{50}O$

Le RMN<sup>1</sup>H montre des signaux sous forme de doublet et de singulet résonnant à champ fort entre 0.62 ppm et 0.95 ppm caractéristiques des protons méthyliques, et doublet à  $\delta_H = 5.28$ ppm caractéristique d'un proton oléfinique.

En résonance magnétique nucléaire, nous observons sur le spectre du proton

- Un triplet de triplet ( $J_{a,a} = 11.16$ Hz,  $J_{a,e} = 4.64$ Hz) résonnant à  $\delta_H = 3.45$ ppm correspondant au proton H-3.
- Un signal doublet large à 5.28ppm caractéristique d'un proton oléfinique H-6.
- Deux signaux singuliers résonnant à 0.62ppm, 0.95ppm correspondant respectivement aux protons des méthyles suivants : H-18, H-19.
- Un doublet à 0.86ppm ( $J=6.56$ Hz) caractéristique du groupement méthyle H-21.
- Un multiplet centré entre 0.72 ppm et 0.82 ppm attribué aux protons de méthyles suivants H-26, H-27 et H-29.

L'expérience de corrélation Cosy montre clairement les corrélations attendues entre :

- Le proton H-3 et deux protons résonnant à  $\delta_H = 2.23$ ppm et  $\delta_H = 2.16$ ppm correspondant respectivement aux protons H-4a, H-4e.
- Le proton H-3 et deux protons résonnant à  $\delta_H = 1.74$ ppm et  $\delta_H = 1.44$ ppm correspondant respectivement aux protons H-2a, H-2e.
- Le proton H-6 et deux protons résonnant à  $\delta_H = 1.90$ ppm et  $\delta_H = 1.45$ ppm correspondant respectivement aux protons H-7a, H-7e.

Comme il montre aussi des corrélations entre :

- Le proton H-1a et le proton H-1e résonnant à  $\delta_H = 1.01$ ppm.
- Le proton H-2a et le proton H-2e résonnant à  $\delta_H = 1.44$ ppm
- Le proton H-25 et les protons des groupements méthyles suivants : H-26, H-27 résonnant à 0.75ppm et 0.77ppm.
- Le proton H-28 et le H-29 résonnant à  $\delta_H = 0.78$ ppm.

Le spectre RMN<sup>13</sup>C en J modulé de ce composé montre la présence de 29 atomes de carbone constitués principalement du:

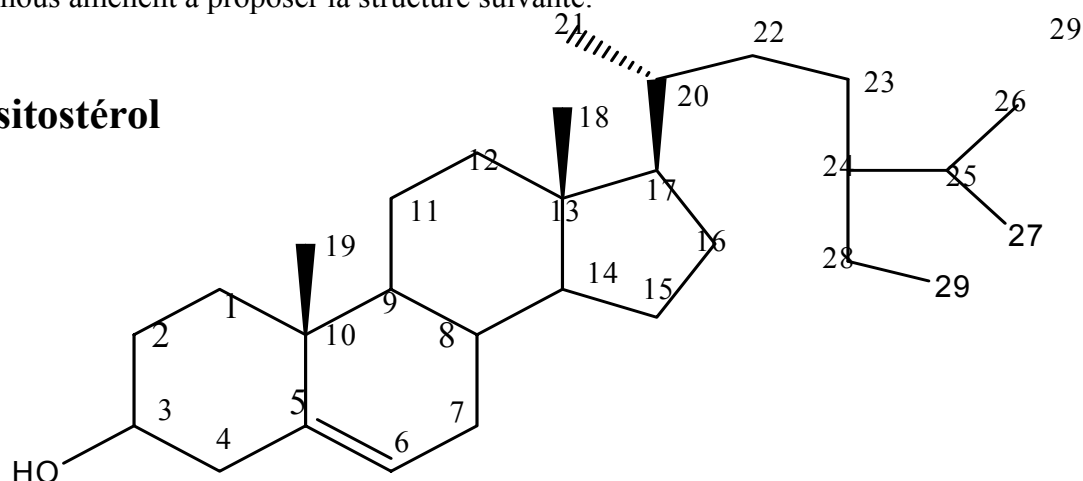
- Carbone C-3 porteur de la fonction OH apparaît à  $\delta_C = 71.8\text{ppm}$ .
- Carbone oléfinique C-6 apparaît au champ faible  $\delta_C = 121.72\text{ppm}$ .

Il montre également la présence de :

- Six signaux méthyliques caractéristiques des résonnant à 11.9 ppm, 12.0 ppm, 18.8 ppm, 19.0 ppm, 19.4 ppm, 19.8 ppm attribués aux méthyles suivants : C-18, C-29, C-21, C-26, C-19 et C-27.

Les données spectroscopiques qui viennent d'être exposées, comparées à celle de la littérature nous amènent à proposer la structure suivante.

### Le $\beta$ - sitostérol



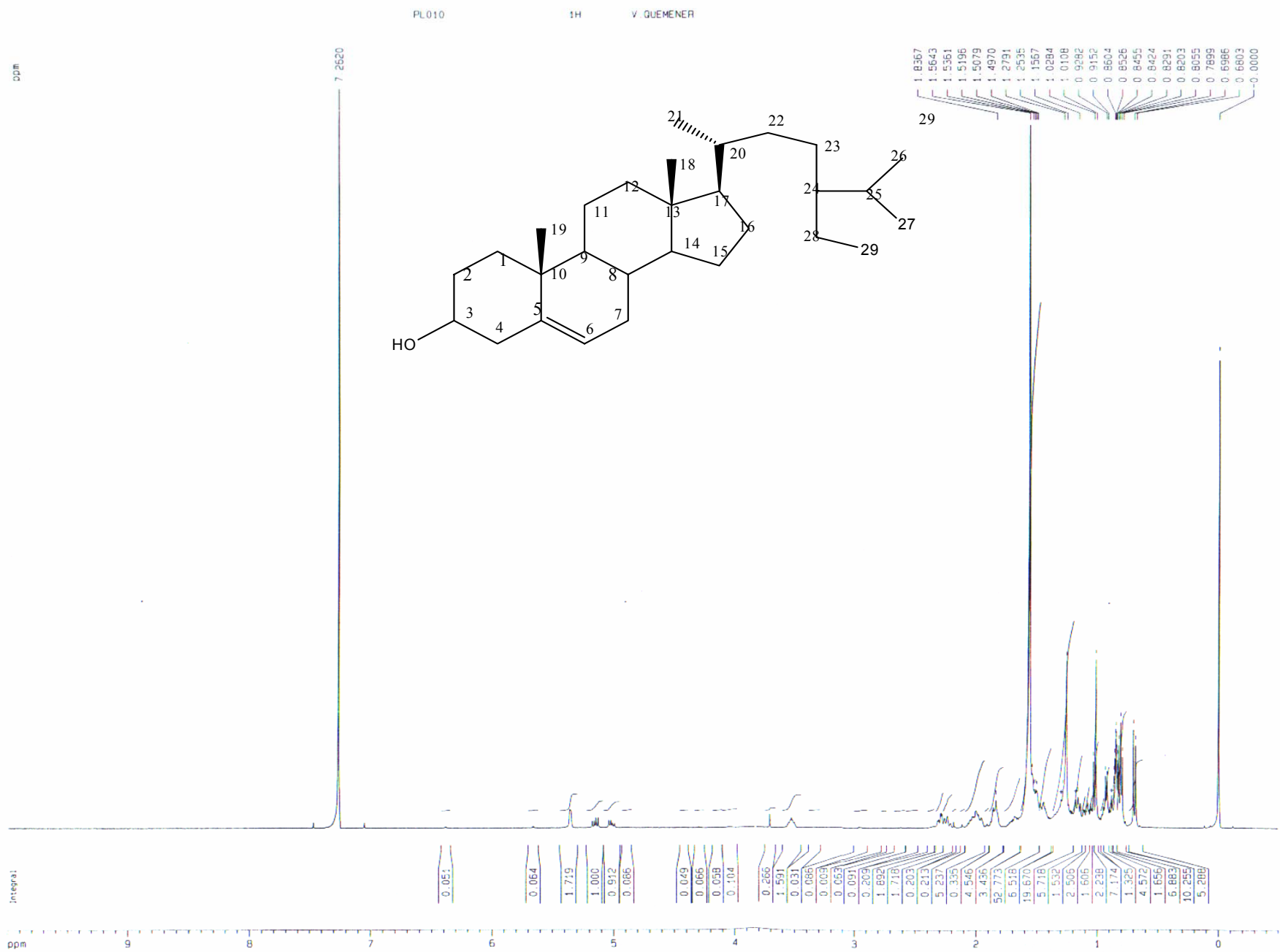
**24 –Ethyl, 5-cholestene, 3-ol**

\* L'expérience hétéronucléaire (HMBC) montre les couplages en  $^2J_{C-H}$  et en  $^3J_{C-H}$  entre

- Le proton H-6 et trois carbones C-7, C-8, C-4.
- Le proton H-7 et deux carbones C-9 et C-14.
- Le proton H-18 et deux carbones C-13 et C-17 .
- Le proton H-19 et deux carbones C-9 et C-10.
- Le proton H-21 et trois carbones C-17), C-20 et C-22 .
- Le proton H-25 et deux carbones C-23 et C-24.

*Déplacements chimiques  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  du composé D*

N°	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	carbone
1	1.77m 1.01m	37.3	1(CH <sub>2</sub> )
2	1.74m 1.44m	31.7	2(CH <sub>2</sub> )
3	3.45tt	71.8	3(CH)
4	2.23ddd 2.16dt	42.2	4(CH <sub>2</sub> )
5		140.78	5(C)
6	5.28dl	121.72	6(CH)
7	1.90m 1.45m	31.7	7(CH <sub>2</sub> )
8	1.39m	32.0	8(CH)
9	0.86m	50.2	9(CH)
10		36.5	10(C)
11	1.43m 1.37m	21.1	11(CH <sub>2</sub> )
12	1.95m 1.09m	39.8	12(CH <sub>2</sub> )
13		42.29	13(C)
14	1.04m	56.1	14(CH)
15	1.51m 1.01m	24.3	15(CH <sub>2</sub> )
16	1.76m 1.21m	28.2	16(CH <sub>2</sub> )
17	0.92m	56.2	17(CH)
18	0.62s	11.9	18(CH <sub>3</sub> )
19	0.95s	19.4	19(CH <sub>3</sub> )
20	1.29m	36.2	20(CH)
21	0.86d	18.8	21(CH <sub>3</sub> )
22	1.25m 0.96m	34	22(CH <sub>2</sub> )
23	1.10m	26.1	23(CH <sub>2</sub> )
24	0.86m	45.9	24(CH)
25	1.60m	29.2	25(CH)
26	0.75m	19.0	26(CH <sub>3</sub> )
27	0.77m	19.8	27(CH <sub>3</sub> )
28	1.19m	23.1	28(CH <sub>2</sub> )
29	0.78m	12.0	29(CH <sub>3</sub> )



Current Data Parameters

NAME p1010

EXPNO 1

PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters

Date\_ 20041119

Time 16.46

INSTRUM spect

PROBHD 5 mm 1H13

PULPROG zg

TD 65536

SOLVENT CDC13

NS 112

DS 2

SWH 7002.861 Hz

FIDRES 0.106954 Hz

AQ 4.6793203 sec

RG 362

DW 71.400 usec

DE 12.00 usec

TE 300.0 K

DI 3.00000000 sec

\*\*\*\*\* CHANNEL f1 \*\*\*\*\*

NUC1 1H

P1 5.00 usec

PL1 0.00 dB

SFO1 500.133000 MHz

F2 - Processing parameters

SF 32768

SF 500.1300128 MHz

WDW no

SSB 0

LB 0.00 Hz

GB 0

PC 0.20

1D NMR plot parameters

CX 35.00 cm

CY 28.00 cm

F1P 10.000 ppm

F1 5001.30 Hz

F2P -0.500 ppm

F2 -250.06 Hz

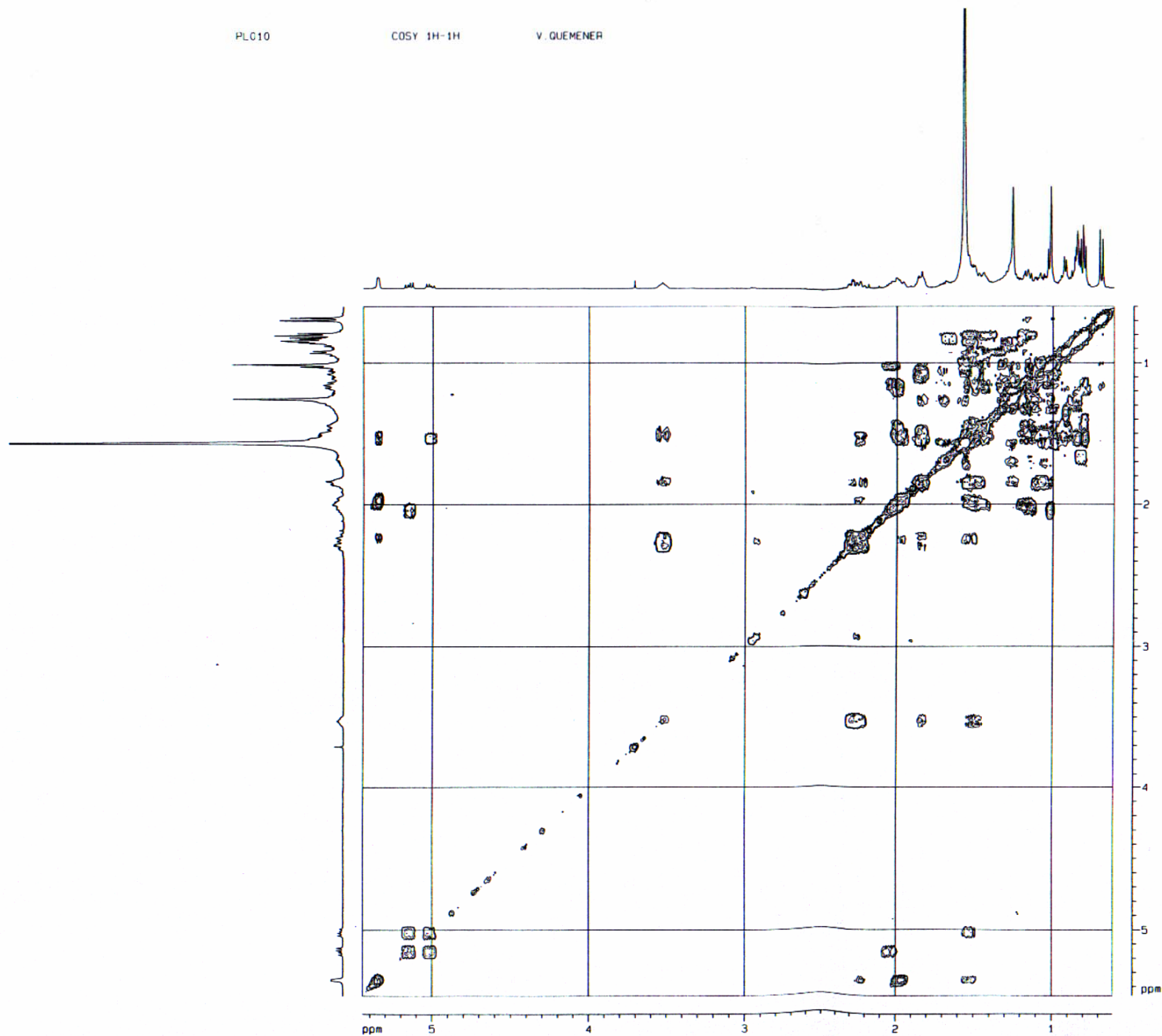
PPMCM 0.30000 ppm/cm

HZCM 150.03699 Hz/cm

PL010

COSY 1H-1H

V. QUEMENER



```

Current Data Parameters
NAME      pl010
EXPNO     2
PROCNO    1

F2 - Acquisition Parameters
Date_     20041115
Time      17.04
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm TBI 1H-13
PULPROG   cosygpr01
TD         2048
SOLVENT   CDCl3
NS         16
DS         16
SWH        4194.633 Hz
FIDRES     2.0481650 Hz
AQ         0.2441716 sec
RG         812.7
DM         119.200 usec
DC         6.00 usec
TE         300.0 K
d0         0.00000300 sec
d1         1.79999995 sec
d13        0.00000400 sec
d16        0.00010000 sec
IN0        0.00023840 sec
MCREST     0.00000000 sec
MCMF1      1.79999995 sec

----- CHANNEL f1 -----
NUC1       1H
P0         8.50 usec
P1         8.50 usec
PL1        0.00 dB
SFO1       500.1320005 MHz

----- GRADIENT CHANNEL -----
GPNAM1     SINE.100
GPNAM2     SINE.100
GPX1       0.00 %
GPX2       0.00 %
GPY1       0.00 %
GPY2       0.00 %
GPZ1       10.00 %
GPZ2       10.00 %
P16        1000.00 usec

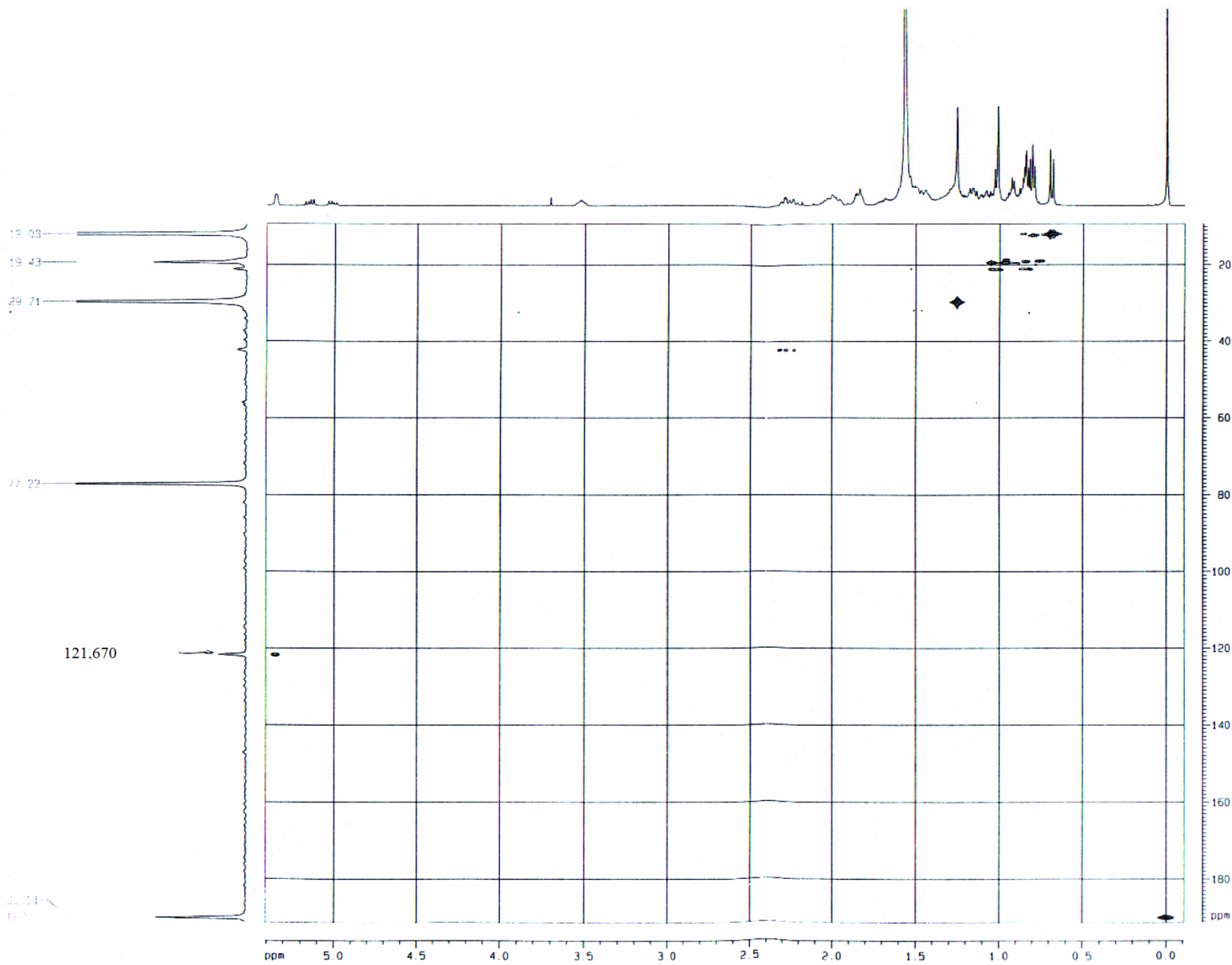
F1 - Acquisition parameters
NO         1
TD         256
SFO1       500.132 MHz
FIDRES     16.385277 Hz
SM         8.387 ppm
FMODE      OF

F2 - Processing parameters
SI         1024
SF         500.1300128 MHz
WDW        051NE
SSB        1
LB         0.05 Hz
GB         0
PC         1.00

F1 - Processing parameters
SI         512
NC2        OF
SF         500.1300128 MHz
WDW        051NE
SSB        1
LB         0.05 Hz
GB         0

2D NMR plot parameters
CX2        19.00 cm
CX1        19.00 cm
F2P10     5.449 ppm
F2L0      2725.05 Hz
F2PHI     0.608 ppm
F2H1      304.12 Hz
F1P10     5.465 ppm
F1L0      2733.24 Hz
F1PHI     0.600 ppm
F1H1      300.03 Hz
F1PPNCH   0.25477 ppm/cn
F1HZCH    127.41708 Hz/cn
F1PPNCH   0.25606 ppm/cn
F1HZCH    128.06387 Hz/cn
    
```

PL010 HMQC V. QUEMENER



```

Current Data Parameters
NAME          01010
EXPNO         3
PROCNO        1

F2 - Acquisition Parameters
Date_         20041119
Time          19 26
INSTRUM       spect
PROBHD        5 mm 1H1 13
PULPROG       zgpg30
TD            2048
SOLVENT       CDCl3
NS            48
DS            16
SWH           4006.410 Hz
FIDRES        1.956295 Hz
AQ           14586.5
RG            124.800 usec
DM            6.00 usec
TE            300.0 K
CNG12         130.000000
d0            0.0000200 sec
d1            1.7989999 sec
d2            0.00384615 sec
d12           0.00002000 sec
d13           0.00000400 sec
D16           0.00010000 sec
d20           0.00282215 sec
IND           0.00000000 sec
MCREST        0.00000000 sec
MCWK         1.79899995 sec

***** CHANNEL f1 *****
NUC1           1H
P1             8.50 usec
p2            17.00 usec
PL1            0.00 dB
SFO1          500.1319505 MHz

***** CHANNEL f2 *****
CPDPRG2       gpgp
NUC2           13C
P2            14.00 usec
PCPD2         80.00 usec
PL2           -2.00 dB
PL12          12.00 dB
SFO2         125.7703648 MHz

***** GRADIENT CHANNEL *****
GPMAN1        SINE 100
GPMAN2        SINE 100
GPMAN3        SINE 100
GPX1           0.00 %
GPX2           0.00 %
GPX3           0.00 %
GPY1           0.00 %
GPY2           0.00 %
GPY3           0.00 %
GPZ1           50.00 %
GPZ2           30.00 %
GPZ3           40.10 %
P16           1000.00 usec

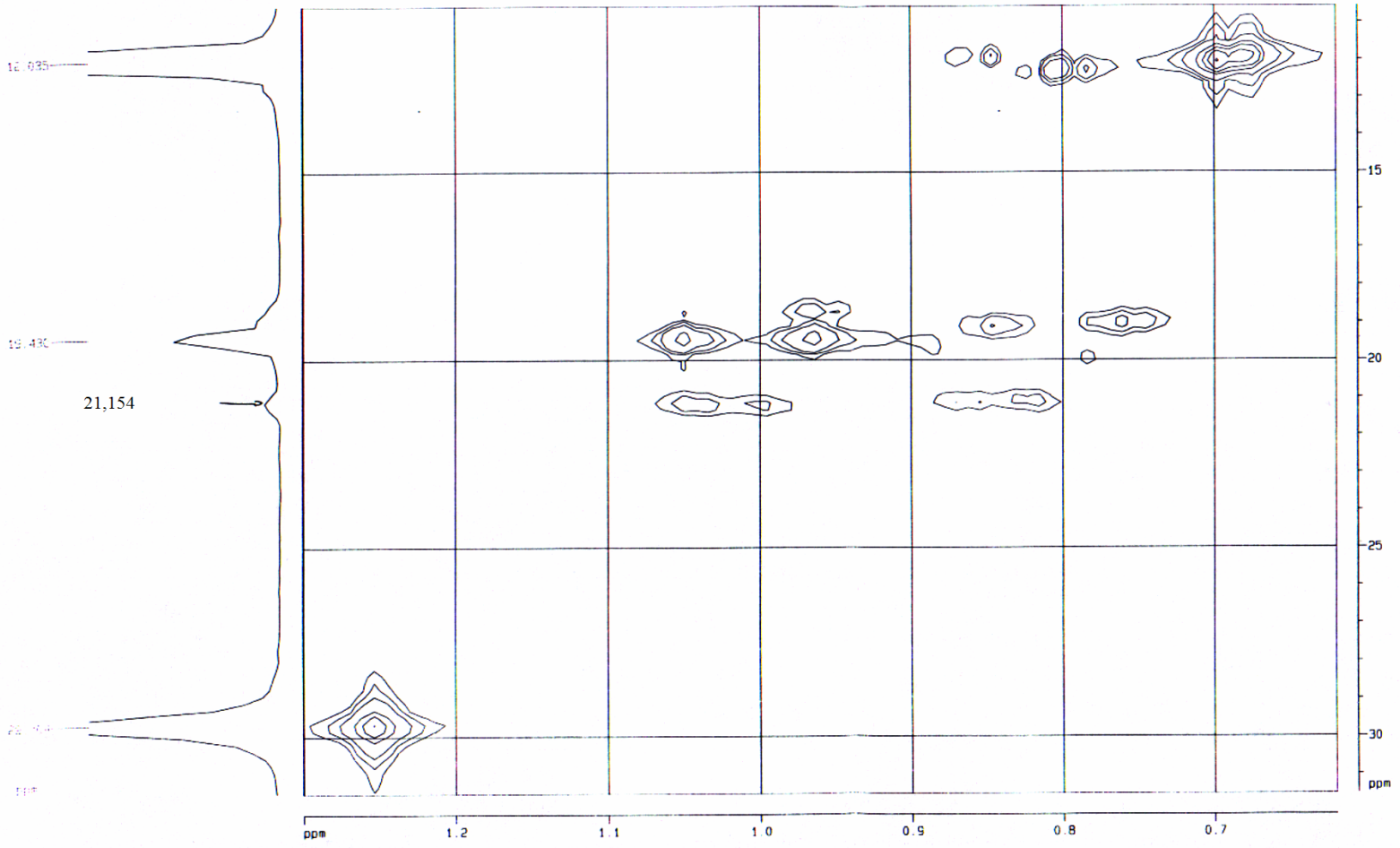
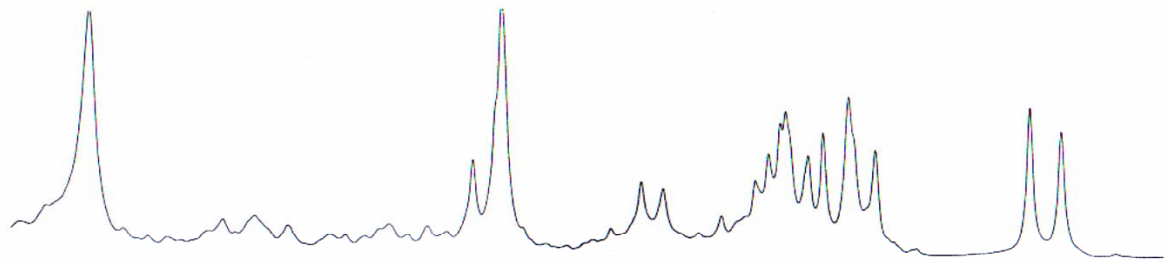
F1 - Acquisition parameters
NUC           13C
TD            65536
SFO1         125.7703648 MHz
FIDRES        46.669655 Hz
SW           189.888 ppm
FWDDE        OF

F2 - Processing parameters
SI            1024
SF           500.130128 MHz
WDW           EM
SSB           2
LB            0.00 Hz
GB            0
PC            1.40

F1 - Processing parameters
SI            1024
NUC2         13C
SF           125.7577890 MHz
WDW           EM
SSB           2
LB            0.00 Hz
GB            0

20 NMR slit parameters
CA2           24.00 cm
CA1           19.00 cm
F2PL0         5.408 ppm
F2L0          2704.95 Hz
F2PHI         -0.198 ppm
F2SHE         -53.77 Hz
F1PL0         191.292 ppm
F1L0         24056.51 Hz
F1PHI         9.264 ppm
F1SHE         1165.05 Hz
F2PHICH       0.22980 ppm/cm
F2LZCH       114.92699 Hz/cm
F1PHZCH       9.58642 ppm/cm
F1SZCH       1204.81796 Hz/cm
    
```

PL010 HMDC V. QUEMENER



```

Current Data Parameters
NAME      p1010
EXPNO    3
PROCNO   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_    2004119
Time     19 26
INSTRUM  spect
PROBHD   5 mm TBI 1H 13
PULPROG  inv4gpgf
TD        2048
SOLVENT  CDCl3
NS        48
DS        16
SWH       4006.410 Hz
FIDRES   1.95525 Hz
AQ        0.265484 sec
RG        14596.5
CW        124.800 usec
DE        6.00 usec
TE        300.0 K
CHS12    130 0000000
G0        0.0000000 sec
G1        1.7899995 sec
G2        0.00384615 sec
G12       0.0000000 sec
G13       0.00000400 sec
D16       0.00010000 sec
G20       0.00282125 sec
TMO       0.0000000 sec
MORNET1  0.0000000 sec
MCWPK    -1.7899995 sec

***** CHANNEL f1 *****
NUC1      1H
P1        8.50 usec
P2        17.00 usec
PL1       0.00 dB
SFO1     503.1319505 MHz

***** CHANNEL f2 *****
CPDPRG2  gpgp
NUC2      13C
P3        14.50 usec
PCPD2    80.00 usec
PL2      -2.03 dB
PL12     12.00 dB
SFO2    125.7703648 MHz

***** GRADIENT CHANNEL *****
GPMAN1   SINE 100
GPMAN2   SINE 100
GPMANS   SINE 100
GPK1     0.00 %
GPK2     0.00 %
GPK3     0.00 %
GPK4     0.00 %
GPK5     0.00 %
GPK6     0.00 %
GPK7     30.00 %
GPK8     40.10 %
P16      1000.00 usec

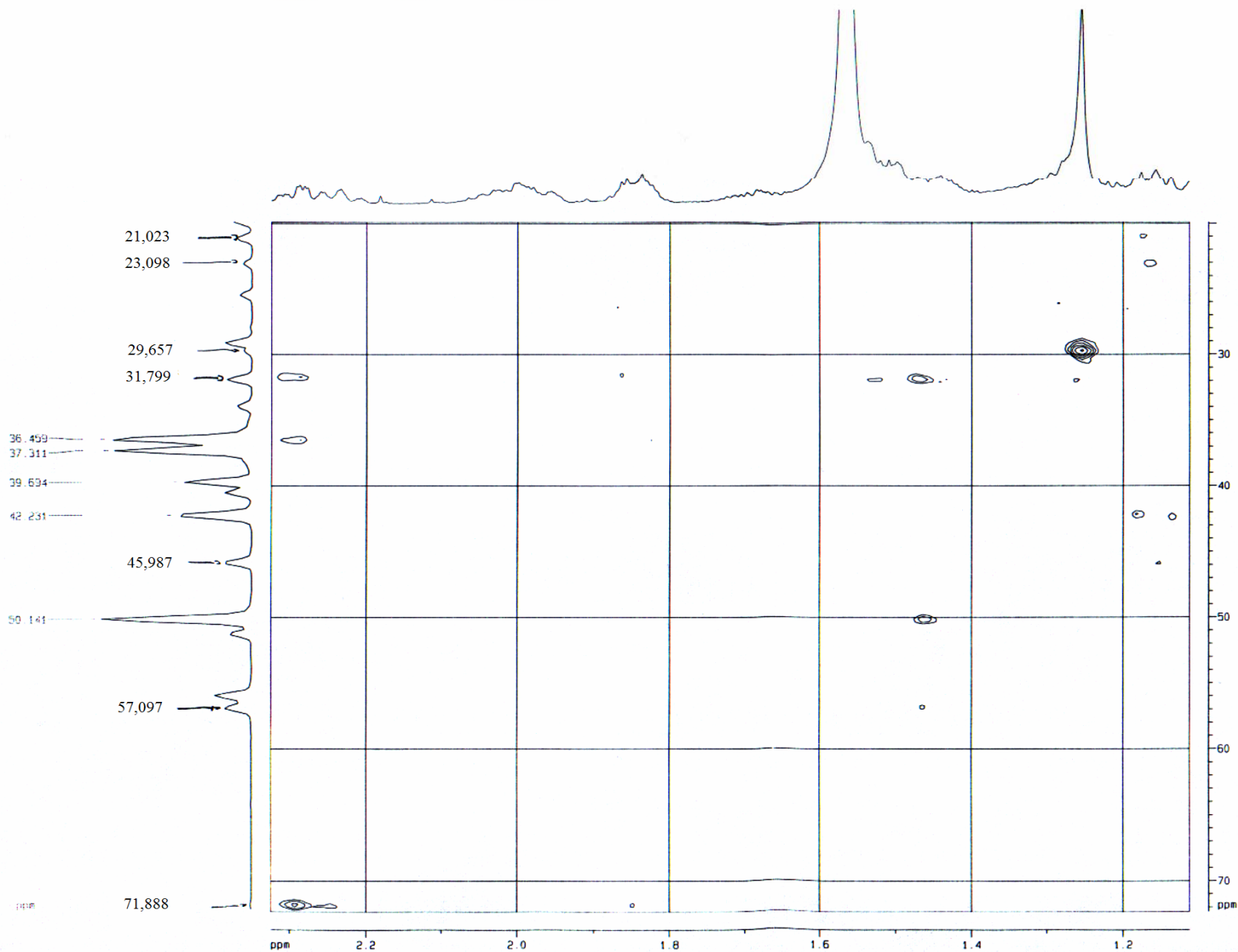
F1 - Acquisition parameters
MO        2
TD        65536
SFO1     125.7704 MHz
FIDRES   45.669055 Hz
SW        199.903 ppm
FWDI     0

F2 - Processing parameters
SI        65536
SF        500.130120 MHz
WDW       0.5116
SSB       0
LB        0.00 Hz
GB        0
GC        1.40

F1 - Processing parameters
SI        1024
MC        SF
SF        125.770400 MHz
WDW       0.5116
SSB       0
LB        0.00 Hz
GB        0

20 MHz pilot parameters
CK2       24.00 cm
CK1       19.03 cm
FAPL2    1.301 ppm
FAPL1    0.5048 Hz
FAPH1    0.627 ppm
FPH1     310.95 Hz
FAPL0    11.53 Hz
FPL0     3965.23 Hz
FAPL1    10.561 ppm
FPH1     1328.39 Hz
FAPL1CH  0.02836 ppm/cm
FPH1CH   14.18282 Hz/cm
FAPL1CH  1.19356 ppm/cm
FPH1CH   130.78880 Hz/cm
    
```

PL010 HMBC V. QUEMENER



```

Current Data Parameters
NAME      p1010
EXPNO     4
PROCNO    1

F2 - Acquisition Parameters
Date_     20041120
Time      9.40
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm TBI H-13
PULPROG   Inv4qd1rinda
TD         2048
SOLVENT   CDCl3
NS         32
DS         16
FIDRES    4096.519 Hz
AQ         0.2556404 sec
RG         25008
DM         124.800 usec
DE         6.00 usec
TE         300.0 K
CHS12     130.000000
AQ         0.00000300 sec
D1         1.79999995 sec
d2         0.00384615 sec
d6         0.00000000 sec
d13        0.00000400 sec
D16        0.00010000 sec
IND        0.00001939 sec
INCRST     0.00000000 sec
MCMR      1.79999995 sec

***** CHANNEL f1 *****
NUC1       1H
P1          8.50 usec
d2         17.00 usec
PL1         0.00 dB
SFO1       500.1319093 MHz

***** CHANNEL f2 *****
NUC2       13C
P3          14.50 usec
PL2         -2.00 dB
SFO2       125.7709936 MHz

***** GRADIENT CHANNEL *****
GPM1       SINE 100
GPM2       SINE 100
GPM3       SINE 100
GPX1        0.00 %
GPX2        0.00 %
GPX3        0.00 %
GPY1        0.00 %
GPY2        0.00 %
GPY3        0.00 %
GPT1        50.00 %
GPT2        30.00 %
GPT3        40.10 %
P16        1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
MD0         2
TD           512
SFO1       125.771 MHz
FIDRES     50.370728 Hz
SM         205.054 ppm
FwMODE     GF

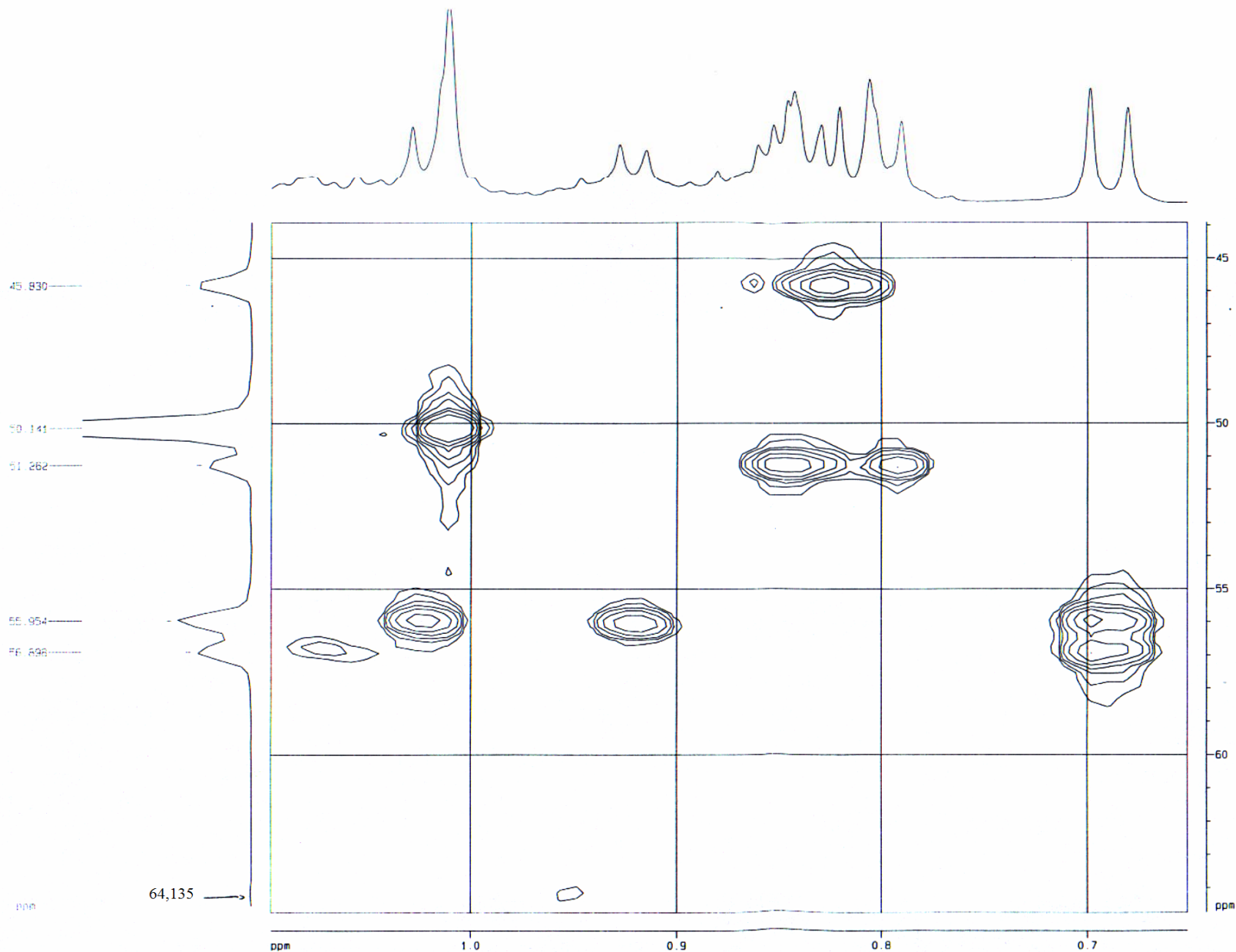
F2 - Processing parameters
SI          1024
SF         500.1300128 MHz
WDW         GSINE
SSB         2
LB          0.00 Hz
GB          0
PC          1.00

F1 - Processing parameters
SI          1024
MC2         GF
SF         125.7577890 MHz
WDW         GSINE
SSB         2
LB          0.00 Hz
GB          0

2D NMR plot parameters
CX2         24.00 cm
CX1         19.00 cm
F2PL0       2.325 ppm
F2BL0       1163.02 Hz
F2PHI       1.113 ppm
F2H1        556.58 Hz
F1PL0       72.356 ppm
F1BL0       9099.35 Hz
F1PHI       19.886 ppm
F1H1        2500.78 Hz
F2PHICH     0.95052 ppm/cm
F2HZCH     25.36820 Hz/cm
F1PHICH     2.76160 ppm/cm
F1HZCH     347.29291 Hz/cm
    
```



PL010 HMBC V. QUEMENER



```

Current Data Parameters
NAME      pl010
EXPNO    4
PROCNO   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_    20041120
Time     9.40
INSTRUM  spect
PROBHD   5 mm BBI 1H-13
PULPROG  zgpg30
TD        2048
SOLVENT  CDCl3
NS        32
DS        16
SM        4005.410 Hz
FIDRES   1.756255 Hz
AQ        0.255484 sec
RG        26008
DW        124.800 usec
DE        5.00 usec
TE        300.2 K
CNS12    130.000000
d0        0.0000300 sec
d1        1.7999995 sec
d2        0.0038415 sec
d6        0.0800000 sec
d13       0.0000400 sec
d16       0.0001000 sec
INDG     0.0001939 sec
MCREST   0.0000000 sec
MCWRK    1.7999995 sec

***** CHANNEL f1 *****
NUC1      1H
P1        8.50 usec
p2        17.00 usec
PL1       0.00 dB
SFO1     500.131905 MHz

***** CHANNEL f2 *****
NUC2      13C
P3        14.60 usec
PL2       -2.00 dB
SFO2     125.7709936 MHz

***** GRADIENT CHANNEL *****
GPMAX1    SINE 100
GPMAX2    SINE 100
GPMAX3    SINE 100
GPX1      0.00 %
GPX2      0.00 %
GPX3      0.00 %
GPy1      0.00 %
GPy2      0.00 %
GPy3      0.00 %
GPZ1      50.00 %
GPZ2      30.00 %
GPZ3      40.10 %
P16       1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
M00       2
TD        512
SFO1     125.771 MHz
FIDRES   50.370728 Hz
SM        205.054 ppm
FAMODE    GF

F2 - Processing parameters
SI        1024
SF        500.1300128 MHz
WDW       DSINE
SSB       2
LB        0.00 Hz
GB        0
PC        1.00

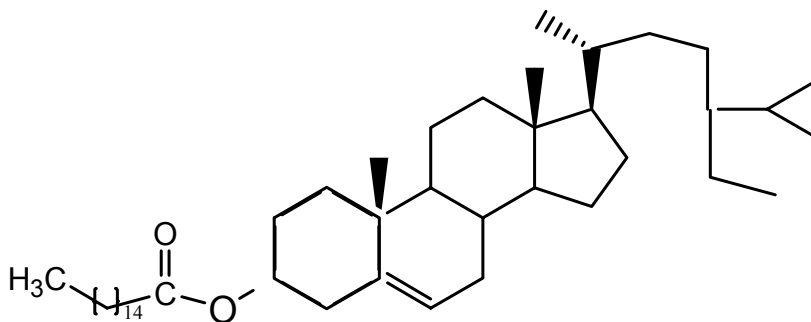
F1 - Processing parameters
SI        1024
M02       GF
SF        125.7577890 MHz
WDW       DSINE
SSB       2
LB        0.00 Hz
GB        0

2D NMR plot parameters
CX2       24.00 cm
CX1       19.00 cm
F2PLO    1.097 ppm
F2LO     548.76 Hz
F2PHI    0.651 ppm
F2PHI1   325.74 Hz
F1PLO    64.746 ppm
F1LO     8142.30 Hz
F1PHI    43.918 ppm
F1PHI1   5923.03 Hz
F2PPMCH  0.01858 ppm/cm
F2HZCM   9.29221 Hz/cm
F1PPMCH  1.09621 ppm/cm
F1HZCM   137.85674 Hz/cm
    
```

### STRUCTURE DU COMPOSE E .

Le composé E est aussi une poudre amorphe blanche ;le spectre de masse présente un pic moléculaire est à 675 uma. Correspondant à une formule brute  $C_{45}H_{80}O_2$ .

Une étude comparative entre les différentes données spectroscopiques RMN du proton et des corrélations COSY, HSQC, HMBC avec les résultats obtenus pour la structure D a montré de grandes similitudes , ce qui nous amènent à formuler la structure suivante.

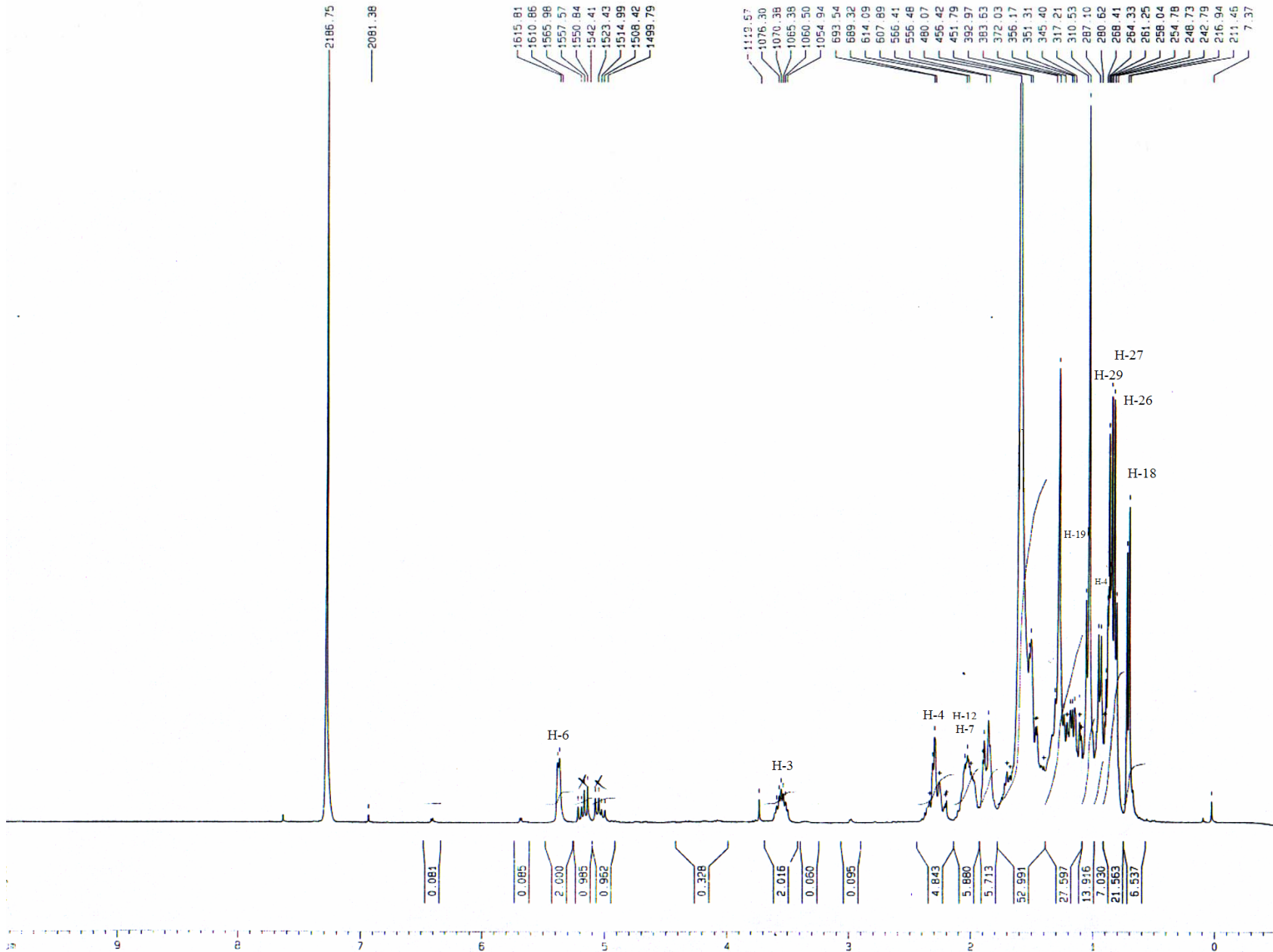


Le  $\beta$ -sitosterol ester correspondant à une masse de 414 uma pour la partie stéroïdique et 239 uma pour la partie acide gras saturé C16.

PL19

1H

S SINBANDHIT



Current Data Parameters  
 NAME pir9  
 EXPNO 1  
 PROCNO 1

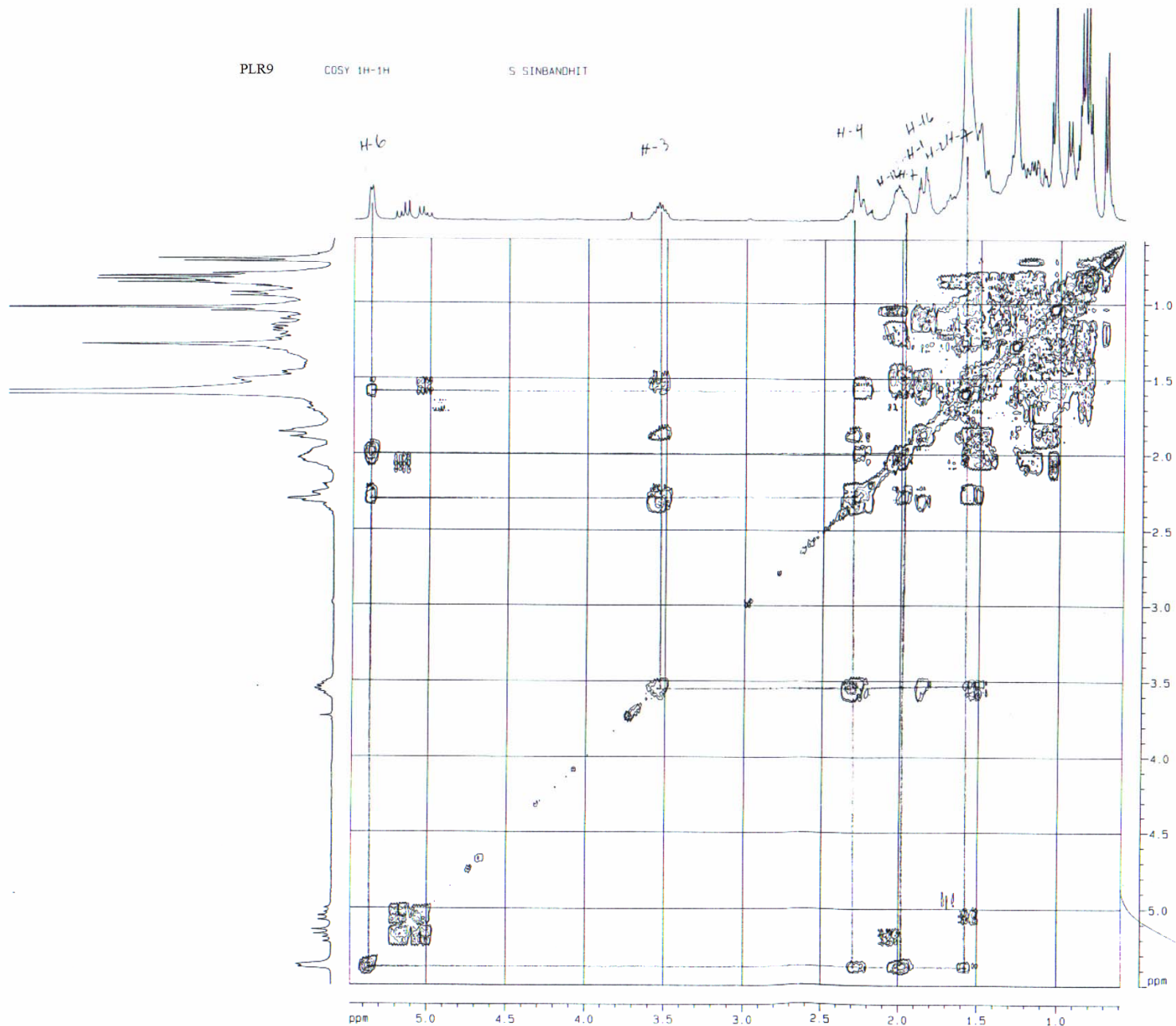
F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20041029  
 Time 18.42  
 INSTRUM spect  
 PROBHD 5 mm TBI 13C Z  
 PULPROG zg  
 ID 32768  
 SOLVENT CDCl3  
 NS 240  
 DS 2  
 SWH 4194.631 Hz  
 FIDRES 0.128010 Hz  
 AQ 3.9059956 sec  
 RG 362  
 DW 119.200 usec  
 DE 6.50 usec  
 TE 298.0 K  
 D1 3.50000000 sec

\*\*\*\*\* CHANNEL f1 \*\*\*\*\*  
 NUC1 1H  
 P1 4.20 usec  
 PL1 3.00 dB  
 SFO1 300.0819505 MHz

F2 - Processing parameters  
 SI 16384  
 SF 300.0800000 MHz  
 WDW EM  
 SSB 0  
 LB 0.10 Hz  
 GB 0  
 PC 0.50

1D NMR plot parameters  
 CX 35.00 cm  
 CY 42.00 cm  
 F1P 10.000 ppm  
 F1 3000.80 Hz  
 F2P -0.500 ppm  
 F2 -150.04 Hz  
 PPMCM 0.30000 ppm/cm  
 HZCM 90.02399 Hz/cm

PLR9 COSY 1H-1H S SINBANDHIT



```

Current Data Parameters
NAME          plr9
EXPNO         2
PROCNO        1

F2 - Acquisition Parameters
Date_         20041029
Time          18 43
INSTRUM       spect
PROBHD        5 mm TBI 13C Z
PULPROG       cosyppaf
TD            2048
SOLVENT       CDCl3
NS            16
DS            16
SWH           2705.628 Hz
FIDRES        1.321107 Hz
AQ            0.3785204 sec
RG            1024
DM            184.800 usec
DE            6.50 usec
TE            298.0 K
d0            0.0000300 sec
d1            2.0000000 sec
d13           0.0000400 sec
d16           0.0001000 sec
IND           0.0003660 sec
MCREST        0.0000000 sec
MCWK         2.0000000 sec

----- CHANNEL f1 -----
NUC1          1H
P0            6.30 usec
P1            6.30 usec
PL            3.00 dB
SFO1         300.0813504 MHz

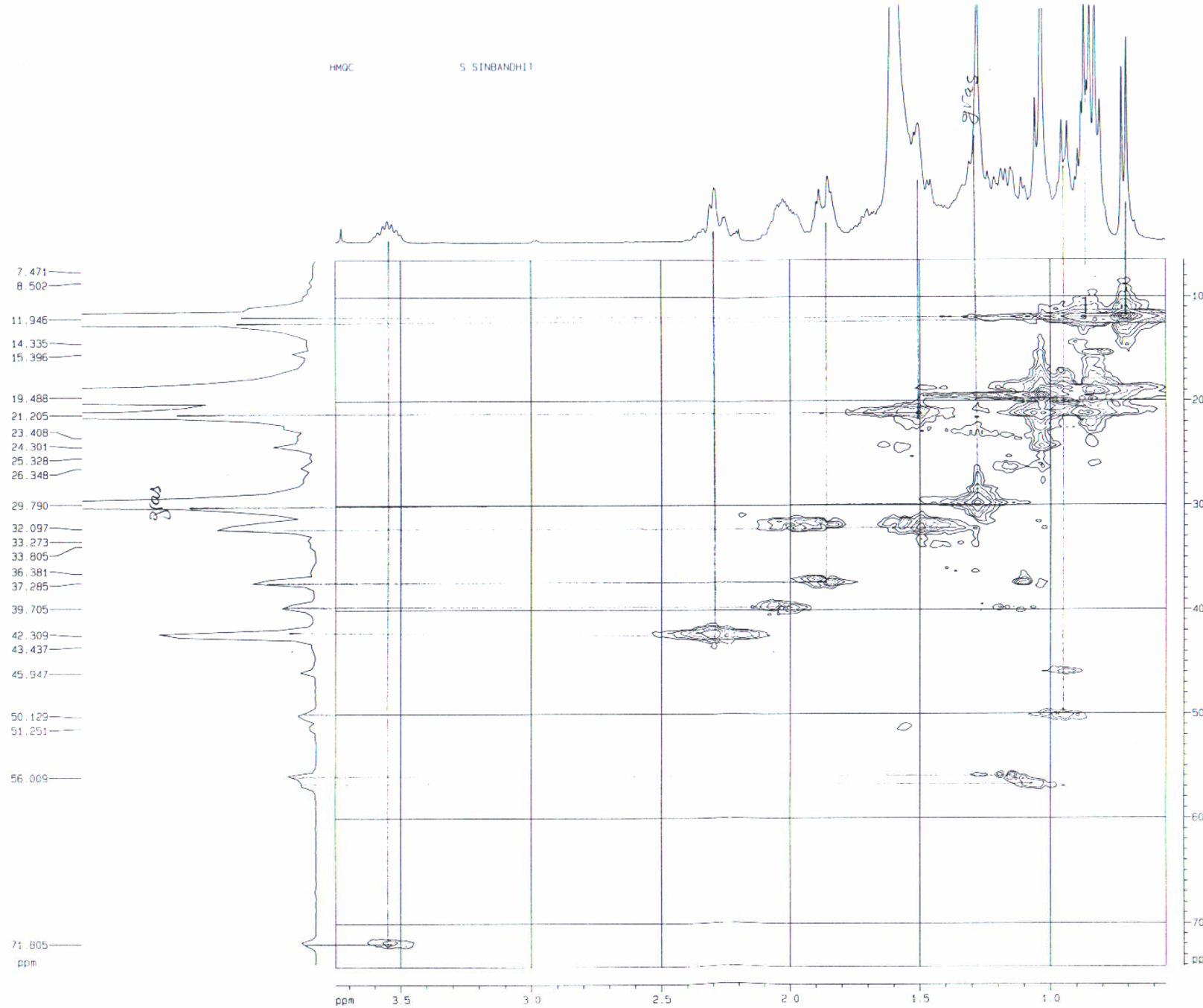
----- GRADIENT CHANNEL -----
GPM1M1       SINE 100
GPM1M2       SINE 100
GPX1         0.00 %
GPX2         0.00 %
GPY1         0.00 %
GPY2         0.00 %
GPZ1         10.00 %
GPZ2         10.00 %
P16          1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
NUC          1
TD            256
SFO1         300.0814 MHz
FIDRES        10.568658 Hz
SW            9.016 ppm
FAMODE        GF

F2 - Processing parameters
SI            1024
SF            300.0800000 MHz
WDW           GSINE
SSB           1
LB            0.00 Hz
GB            0
PC            1.00

F1 - Processing parameters
SI            512
MC2           GF
SF            300.0800000 MHz
WDW           GSINE
SSB           1
LB            0.00 Hz
GB            0

2D NMR plot parameters
CX2           20.00 cm
CX1           20.00 cm
F2PLO         5.485 ppm
F2LH          1646.29 Hz
F2PHI         0.591 ppm
F2H1          177.22 Hz
F1PLO         5.564 ppm
F1LH          1651.57 Hz
F1PHI         0.573 ppm
F1H1          171.93 Hz
F2PRMCH       0.24478 ppm/cm
F2HZCH        73.45357 Hz/cm
F1PRMCH       0.24654 ppm/cm
F1HZCH        73.98200 Hz/cm
    
```



```

Current Data Parameters
NAME      plr9
EXPNO    3
PROCNO   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_    20041029
Time     21.32
INSTRUM  spect
PROBHD   5 mm TBI 13C Z
PULPROG  invgpo1
TD        2048
SOLVENT  CDCl3
NS        64
DS        16
SWH       2087.315 Hz
FIDRES   1.24480 Hz
AQ        0.4862932 sec
RG        13004
Dw        238.400 usec
TE        6.50 usec
TE        298.0 K
CNG12    132.000000
d0        0.0000300 sec
d1        1.7999995 sec
a2        0.00378788 sec
a12       0.0000000 sec
c13       0.0000000 sec
D16       0.00010000 sec
a20       0.00276388 sec
IN0       0.00003785 sec
MCREST   0.0000000 sec
MCWAK    1.7999995 sec

***** CHANNEL f1 *****
NUC1      1H
P1        6.30 usec
p2        12.00 usec
PL1       3.00 dB
SF01     300.0812003 MHz

***** CHANNEL f2 *****
CPDPRG2  gpr0
NUC2      13C
P3        17.00 usec
PCPD2    80.00 usec
PL2      -6.00 dB
PL12     13.20 dB
SF02     75.4620424 MHz

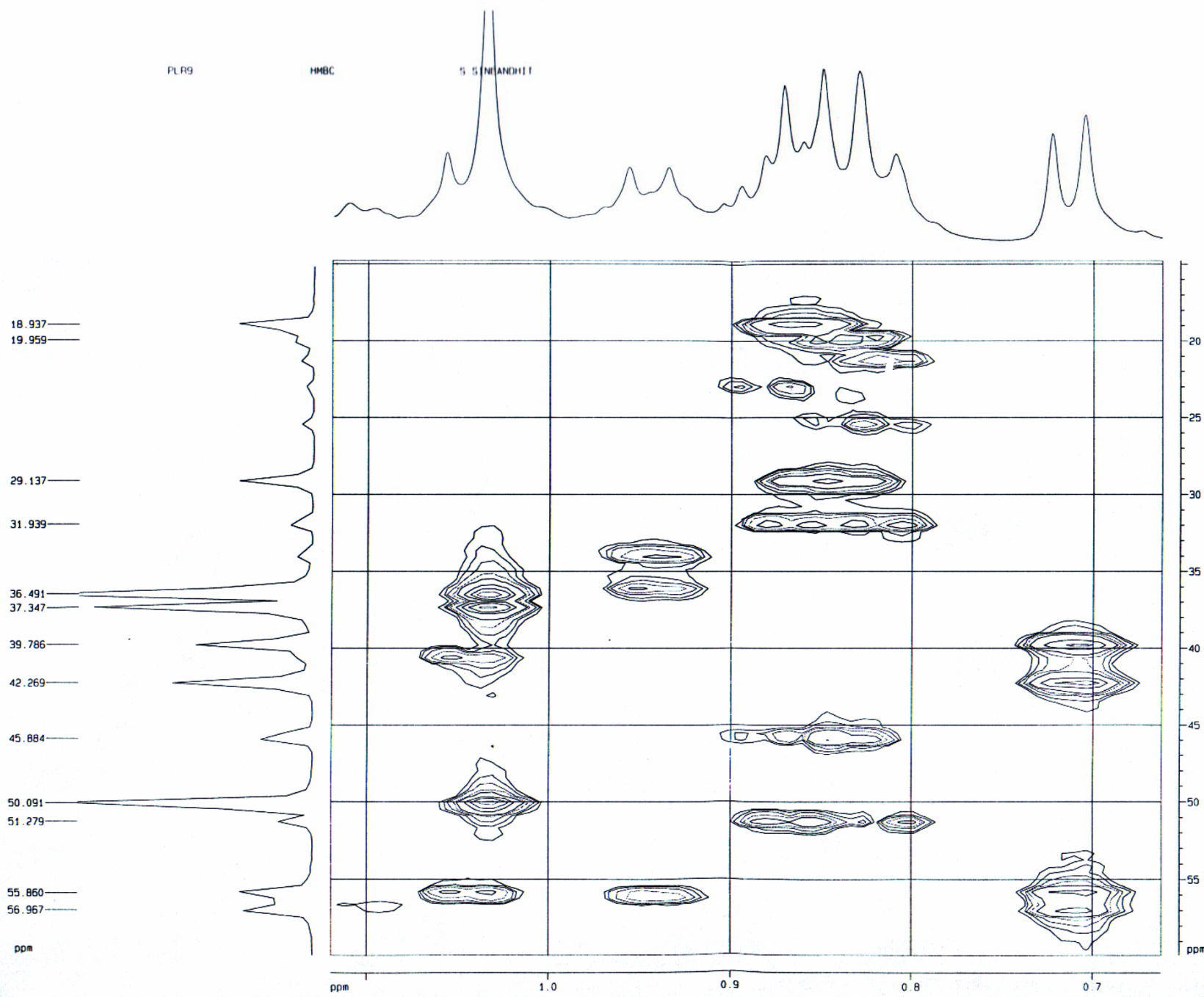
***** GRADIENT CHANNEL *****
GPMAX1   SINE 100
GPMAX2   SINE 100
GPMAX3   SINE 100
GPX1     0.00 %
GPX2     0.00 %
GPX3     0.00 %
GPY1     0.00 %
GPY2     0.00 %
GPY3     0.00 %
GPZ1     50.00 %
GPZ2     30.00 %
GPZ3     40.10 %
P16      1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
NUC1     2
TD        440
SF01     75.46204 MHz
FIDRES   29.64332 Hz
SWH       175.985 ppm
FNUC1    SF

F2 - Processing parameters
SI        1024
SF        300.0800000 MHz
WDW       EM
SSB       0
LB        6.00 Hz
GB        0
PC        1.40

F1 - Processing parameters
SI        512
MC2       SF
SF        75.455150 MHz
WDW       EM
SSB       0
LB        9.00 Hz
GB        0

2D NMR plot parameters
CX2       23.00 cm
CY1       20.00 cm
F2H.D     3.754 ppm
F2L.D     1126.59 Hz
F2PHI     0.503 ppm
F2HI      146.00 Hz
F2PL.D    74.156 ppm
F2L.D     5595.46 Hz
F2PHI     5.437 ppm
F2HI      485.70 Hz
F2PHIOM   0.13918 ppm/cm
F2HZCM    41.7646 Hz/cm
F2PHIOM   3.30596 ppm/cm
F2HZCM    255.48846 Hz/cm
    
```



Current Data Parameters

```

NAME      plr9
EXPNO     4
PROCNO    1

F2 - Acquisition Parameters
Date_     20041030
Time      16.01
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm TBI 13C Z
PULPROG   inv4gpllrnduf
ID         2040
SOLVENT   CDCl3
NS         64
DS         16
SWH        2097.315 Hz
FIDRES     1.024000 Hz
AQ         0.483252 sec
RG         20642.5
DN         238.400 usec
DE         8.50 usec
TE         298.0 K
CHST2     132.000000
d0         0.0000300 sec
d1         1.7999995 sec
d2         0.0037870 sec
d6         0.0800000 sec
d13       0.0000040 sec
d15       0.0001000 sec
INQ       0.0000315 sec
MCREST    0.0000000 sec
MCMARK    1.7999995 sec

***** CHANNEL f1 *****
NUC1       1H
P1         6.30 usec
P2         12.60 usec
PL1        3.00 dB
SFO1       300.0812083 MHz

***** CHANNEL f2 *****
NUC2       13C
P3         17.00 usec
PL2        -6.00 dB
SFO2       75.4536270 MHz

***** GRADIENT CHANNEL *****
GPMAX1    SINE 100
GPMAX2    SINE 100
GPMAX3    SINE 100
GPX1      0.00 G
GPX2      0.00 G
GPX3      0.00 G
GPy1      0.00 G
GPy2      0.00 G
GPy3      0.00 G
GPZ1      50.00 G
GPZ2      30.00 G
GPZ3      40.00 G
P16       1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
ND0        2
TD         512
SFO1       75.45363 MHz
FIDRES     30.952052 Hz
SW         210.007 ppm
FMODE      GF

F2 - Processing parameters
SI         1024
SF         300.080000 MHz
WDW        05SINE
SSB        2
LB         0.00 Hz
GB         0
PC         1.40

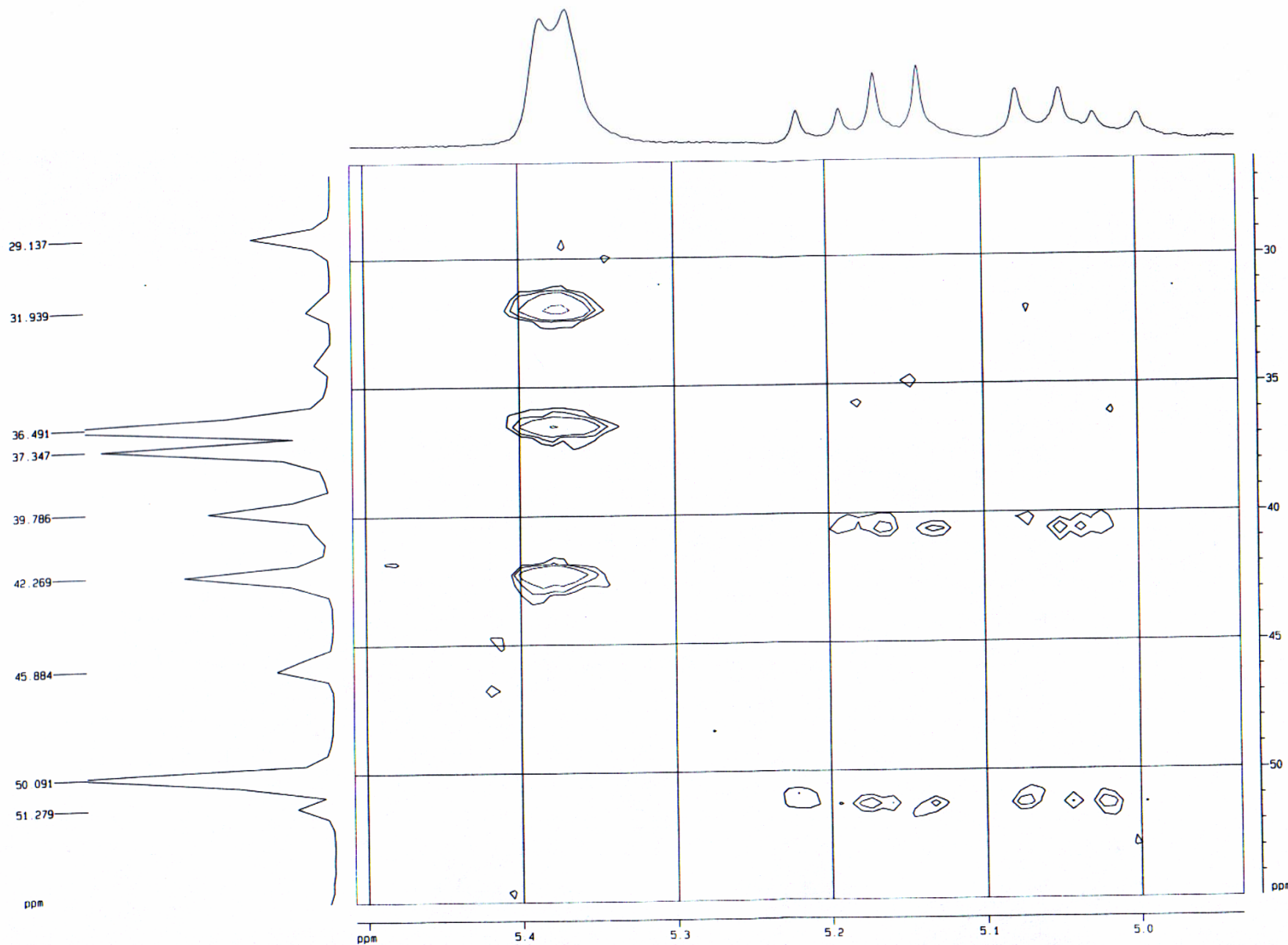
F1 - Processing parameters
SI         512
HCZ        GF
SF         75.4551760 MHz
WDW        05SINE
SSB        2
LB         0.00 Hz
GB         0

20 NMR plot parameters
CX2        23.00 cm
CX1         20.00 cm
F2PL0      1.120 ppm
F2L0       336.00 Hz
F2PH1      0.682 ppm
F2H1       159.77 Hz
F1PL0      59.903 ppm
F1L0       4519.92 Hz
F1PH1      14.779 ppm
F1H1       1115.16 Hz
F2PHCH     0.01988 ppm/cm
F2H2CH     5.9638 Hz/cm
F1PHCH     2.25518 ppm/cm
F1H2CH     170.24669 Hz/cm
    
```

PLR9

HMBC

S SINBANDHIT



```

Current Data Parameters
NAME          plr9
EXPNO         4
PROCNO        1

F2 - Acquisition Parameters
Date_         20041030
Time          15.01
INSTRUM       spect
PROBHD        5 mm TBI 13C Z
PULPROG       invgpt1rmodf
TD            2048
SOLVENT       CDCl3
NS            64
DS            16
SWH           2097.315 Hz
FIDRES        1.024080 Hz
AQ            0.4882932 sec
RG            20642.5
DN            238.400 usec
DE            6.50 usec
TE            298.0 K
CHST2         132.000000
AQ2           0.0000300 sec
D1            1.7999995 sec
d2            0.00378788 sec
D6            0.00000000 sec
d13           0.0000400 sec
D16           0.00010000 sec
IND           0.00003155 sec
MCREST        0.00000000 sec
MCMR          1.7999995 sec

***** CHANNEL f1 *****
NUC1          1H
P1            6.30 usec
p2            12.60 usec
PL1           3.00 dB
SFO1          300.0812003 MHz

***** CHANNEL f2 *****
NUC2          13C
P3            17.00 usec
PL2           -6.00 dB
SFO2          75.4636270 MHz

***** GRADIENT CHANNEL *****
GPMAN1        SINE 100
GPMAN2        SINE 100
GPMAN3        SINE 100
GP1           0.00 %
GP2           0.00 %
GP3           0.00 %
GPY1          0.00 %
GPY2          0.00 %
GPY3          0.00 %
GPZ1          50.00 %
GPZ2          30.00 %
GPZ3          40.10 %
P16           1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
NUC1          1
TD            512
SFO1          75.46363 MHz
FIDRES        30.952852 Hz
SR            210.007 ppm
FAMODE        OF

F2 - Processing parameters
SI            1024
SF            300.0800000 MHz
WDW           QSINE
SSB           0
LB            0.00 Hz
GB            0
PC            1.40

F1 - Processing parameters
SI            512
WC2          OF
SF            75.4551760 MHz
WDW           QSINE
SSB           2
LB            0.00 Hz
GB            0

2D NMR plot parameters
CX2           23.00 cm
CX1           20.00 cm
F2PL0         5.508 ppm
F2L0          1652.96 Hz
F2PHI         4.935 ppm
F2H1          1480.92 Hz
F1PL0         54.980 ppm
F1L0          4148.54 Hz
F1PHI         26.265 ppm
F1H1          1981.84 Hz
F2PHI0CH      0.02453 ppm/cm
F2H10CH       7.48024 Hz/cm
F1PHI0CH      1.43575 ppm/cm
F1H10CH       108.33498 Hz/cm
    
```

### STRUCTURE DU COMPOSE F

Le produit F obtenu par purification sur couche mince se présente sous forme d'une poudre blanche amorphe. Le spectre de masse montre un ion moléculaire à 412 unité de masse correspondant à une formule brute de  $C_{29}H_{48}O$ .

Le spectre RMN du proton enregistré dans  $CDCl_3$  montre les signaux suivants :

- deux singulets intégrant chacun pour trois protons à 0.85 ppm et 0.98 ppm
- trois doublets intégrant chacun pour trois protons respectivement à 0.77 ppm, 0.83 ppm et 0.91 ppm.
- un signal sous forme de triplet intégrant aussi pour trois protons à 0.74 ppm.
- un doublet large de un proton à 5.33 ppm.
- deux signaux de un doublet de doublet à 5.10 ppm et 5.00 ppm.
- un signal sous forme de multiplet à 3.51 ppm.

Le spectre RMN du carbone présente des signaux de 29 carbones avec en particulier celui à 140.72 ppm attribuable à un carbone quaternaire  $Sp^2$ , trois carbones à 121.72 ppm,

129.24 ppm et 138.32 ppm correspondant à des CH vinyliques, un signal à 71.81 ppm attribuable à un carbone porteur d'un groupement OH.

L'expérience Hetcor, corrélations H - C nous permet d'attribuer les protons à leurs carbones correspondants :

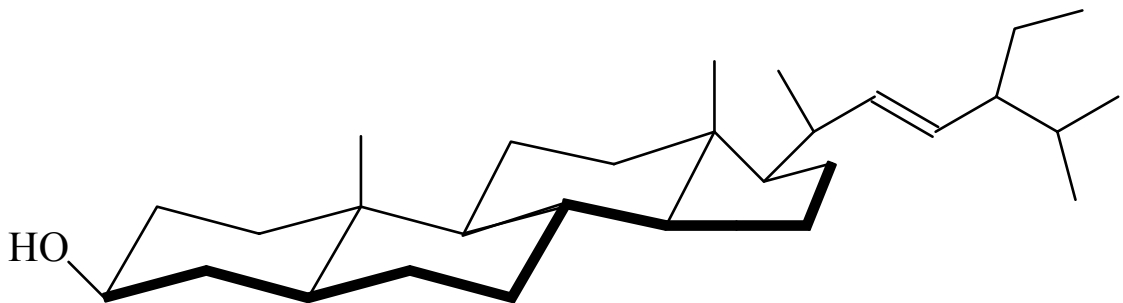
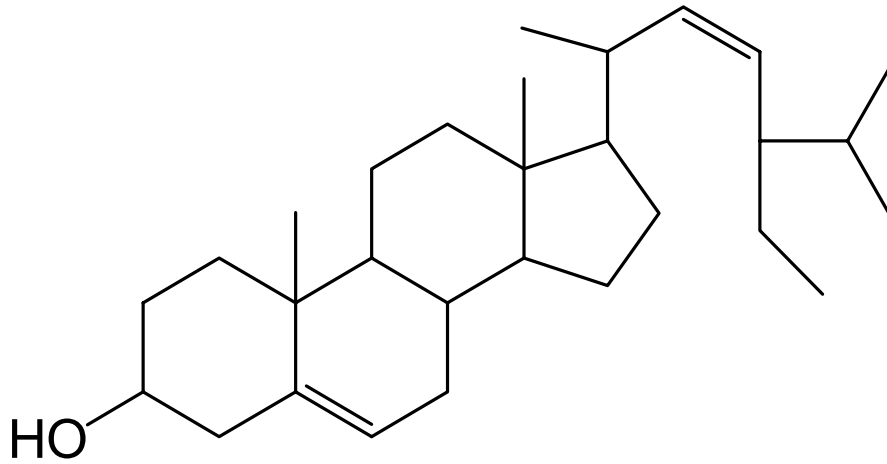
- le proton à 3.51 ppm au carbone  $C_3$  à 71.81 ppm
- le proton à 5.10 ppm au carbone  $C_{22}$  à 138.36 ppm
- le proton à 5.00 ppm au carbone  $C_{23}$  à 129.24 ppm
- le proton à 5.33 ppm au carbone  $C_6$  à 121.72 ppm
- les protons intégrant pour trois ( $CH_3$ ) à 0.74, 0.77, 0.83, 0.85, 0.91 et 0.98 ppm aux carbones suivants respectivement  $C_{29}$  (12.25ppm),  $C_{27}$  (18.97ppm),  $C_{26}$  (21.09 ppm),  $C_{18}$  (19.39 ppm),  $C_{21}$  (21.21ppm) et  $C_{19}$  (14.12ppm).

L'expérience HMBC met en évidence les corrélations longues distances à deux et à trois liaisons entre

- le proton  $H_{22}$  et les carbones suivants  $C_{24}$ ,  $C_{21}$ ,  $C_{23}$  et  $C_{20}$
- le proton  $H_6$  et les carbones  $C_8$  et  $C_4$
- le proton  $H_{22}$  et les carbones  $C_{22}$  et  $C_{20}$ .



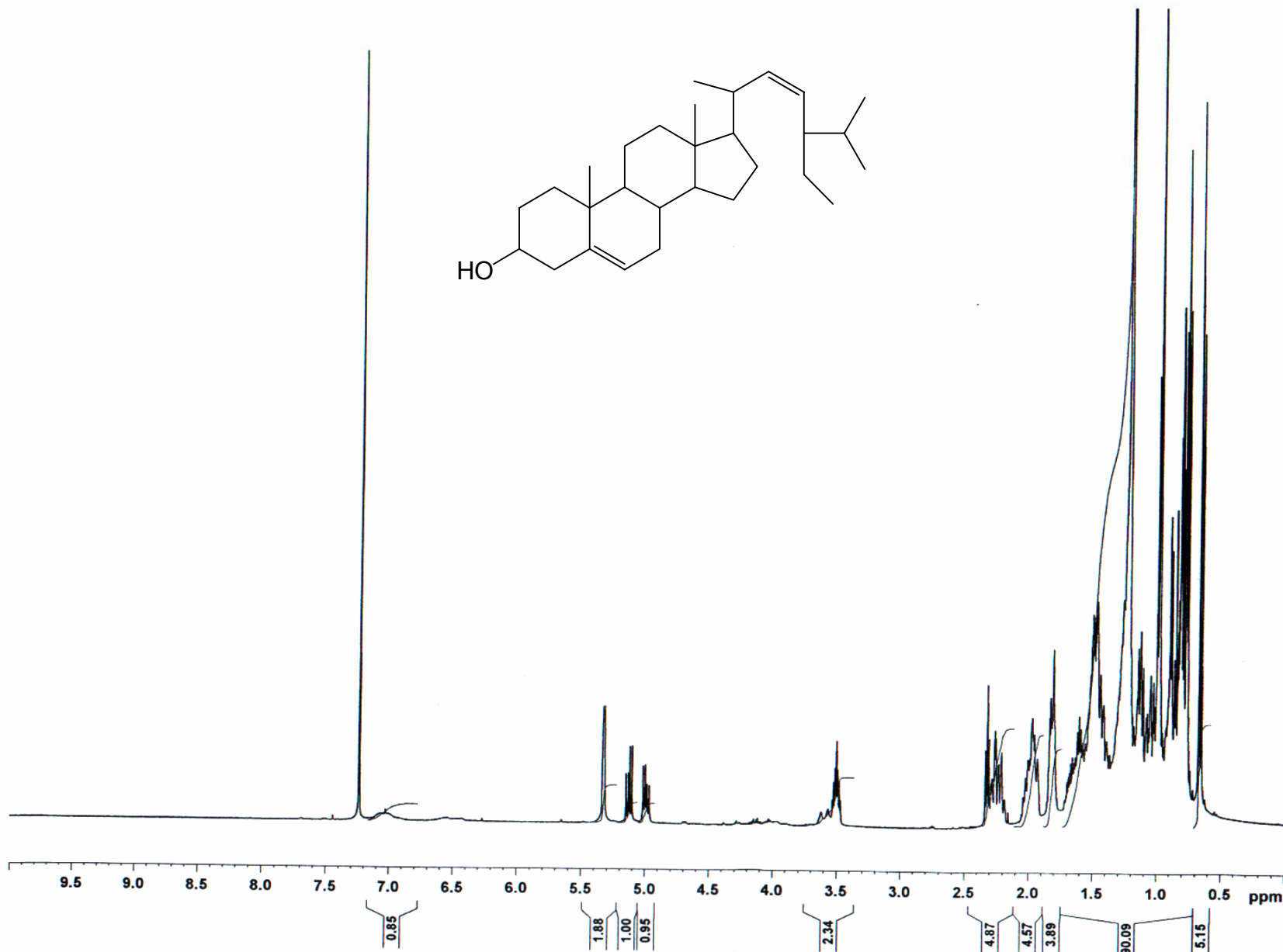
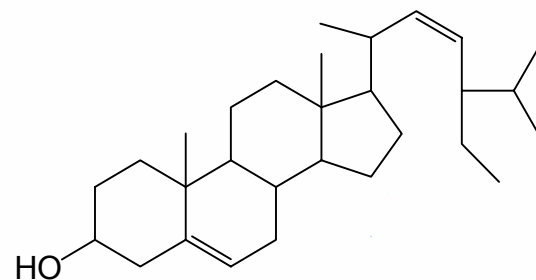
Les différentes méthodes d'analyses spectroscopiques RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$ , la masse la RMN 2D (cosy, Hetcor, HMBC) nous ont permis d'envisager la structure d'un composé stéroïdique doublement insaturé qui est d'ailleurs confirmé par les données de la littérature. Le Stigmastérol (Stigmastein ; 24-Ethylcholesta-5,22 dièn -  $3\beta$ -ol 1) <sup>85</sup>



**Déplacements Chimiques  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  du composé F**

N°	$\delta$ ppm $^{13}\text{C}$	$\delta$ ppm $^1\text{H}$		Carbone
1	37.23			CH <sub>2</sub>
2	31.64			CH <sub>2</sub>
3	71.81	3.51	m	CH
4	42.27			CH <sub>2</sub>
5	140.72			=C
6	121.72	5.33	dl	=CH
7	31.92			CH <sub>2</sub>
8	31.87			CH
9	50.13			CH
10	36.50			C
11	21.09			CH <sub>2</sub>
12	39.75			CH <sub>2</sub>
13	42.20			C
14	56.85			CH
15	24.35			CH <sub>2</sub>
16	28.92			CH <sub>2</sub>
17	55.92			CH
18	14.12	0.85	s	CH <sub>3</sub>
19	19.39	0.98	s	CH <sub>3</sub>
20	40.50			CH
21	21.21	0.91	d	CH <sub>3</sub>
22	138.32	5.10	dd	=CH
23	129.24	5.00	dd	=CH
24	51.23			CH
25	36.14			CH
26	21.09	0.83	d	CH <sub>3</sub>
27	18.97	0.77	d	CH <sub>3</sub>
28	25.41		m	CH <sub>2</sub>
29	12.32	0.74	t	CH <sub>3</sub>

PL-MD2 PROTON CDC13



Current Data Parameters  
 NAME PL-MD2  
 EXPNO 20  
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20060328  
 Time\_ 21.03  
 INSTRUM spect  
 PROBHD 5 mm CPDUL 13C  
 PULPROG zg30  
 TD 65536  
 SOLVENT CDC13  
 NS 16  
 DS 2  
 SWH 10330.578 Hz  
 FIDRES 0.157632 Hz  
 AQ 3.1719923 sec  
 RG 45.2  
 DW 48.400 usec  
 DE 26.00 usec  
 TE 302.2 K  
 D1 1.0000000 sec  
 TDO 1

----- CHANNEL f1 -----  
 NUC1 1H  
 P1 10.20 usec  
 PL1 -2.00 dB  
 SFO1 500.1330880 MHz

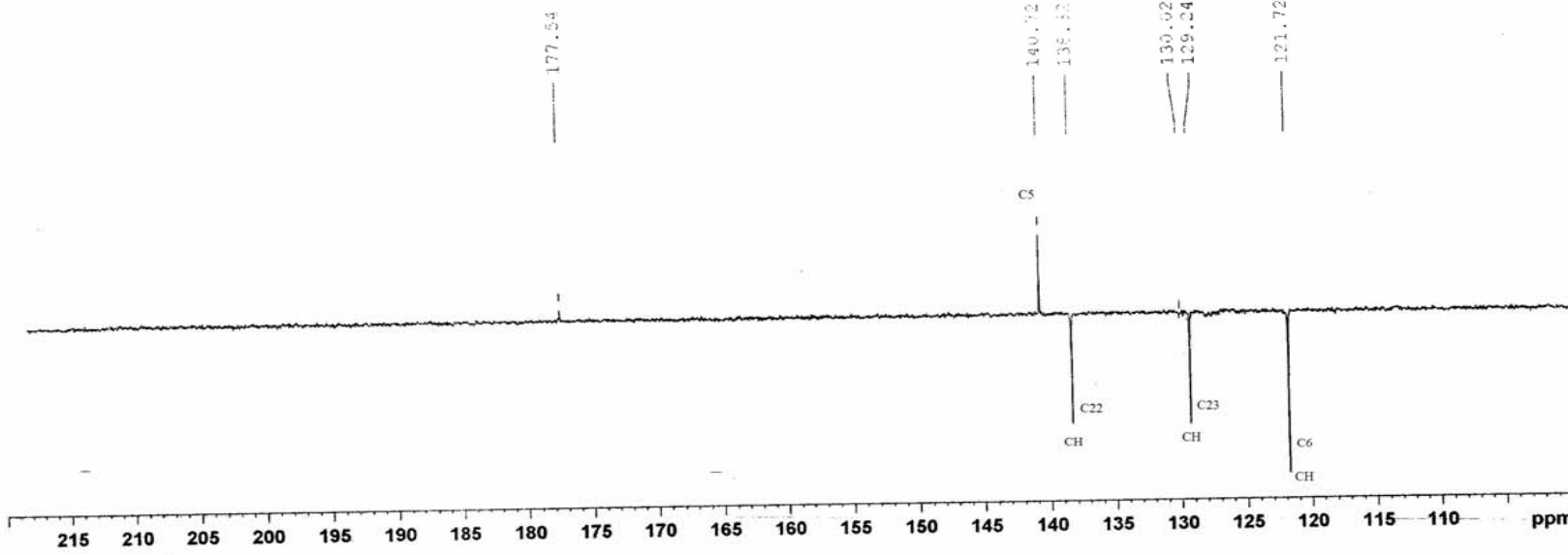
F2 - Processing parameters  
 SI 32768  
 SF 500.1300233 MHz  
 WDW no  
 SSB 0  
 LB 0.00 Hz  
 GB 0  
 PC 1.00

PL-MD2 JMOD CDCI3



Current Data Parameters  
 NAME FL-MD2  
 EXPNO 22  
 PROCNO 1

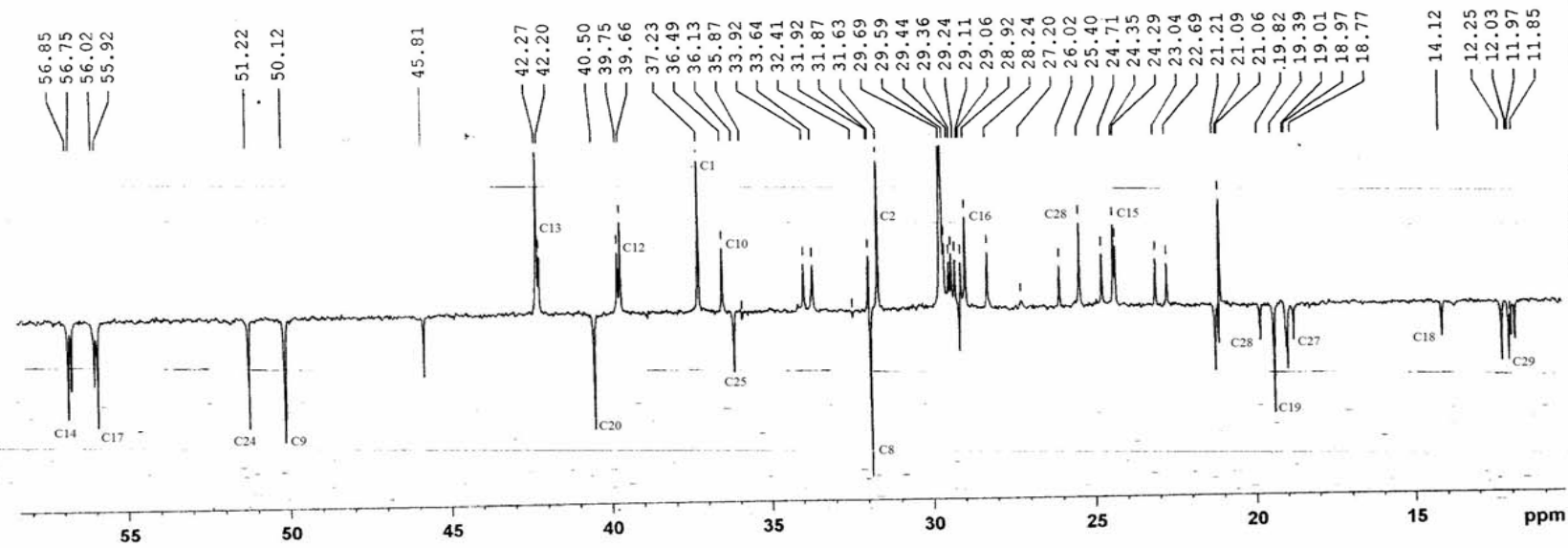
F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20060328  
 Time 21.50  
 INSTRUM spect  
 PROBHD 5 mm CPDUL 13C  
 PULPROG jmod  
 TD 65536  
 SOLVENT CDCl3  
 NS 512  
 DS 4  
 SWH 29761.904 Hz  
 FIDRES 0.454131 Hz  
 AQ 1.1010548 sec  
 RG 1820  
 DW 16.800 usec  
 DE 26.00 usec  
 TE 302.2 K  
 CNST2 140.0000000  
 CNST11 1.0000000  
 D1 3.00000000 sec  
 d20 0.00714286 sec  
 DELTA 0.00001655 sec  
 L31 1  
 TD0 1



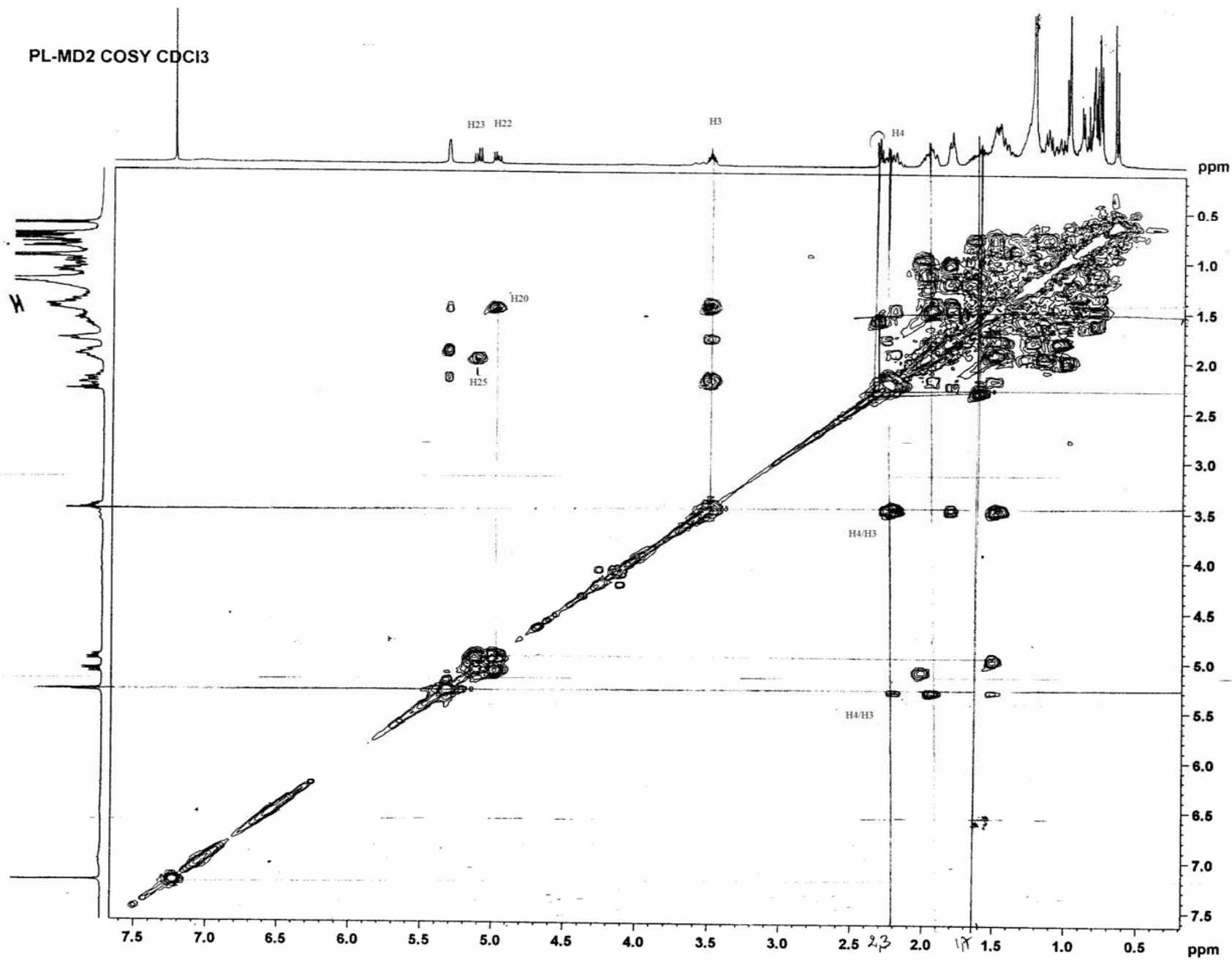
===== CHANNEL f1 =====  
 NUC1 13C  
 P1 13.00 usec  
 p2 26.00 usec  
 PL1 -4.00 dB  
 SFO1 125.7703640 MHz

===== CHANNEL f2 =====  
 CPDPRG2 bi\_waltz16\_32  
 NUC2 1H  
 PCPD2 80.00 usec  
 PL2 -2.00 dB  
 PL12 16.00 dB  
 SFO2 500.1320000 MHz

F2 - Processing parameters  
 SI 32768  
 SF 125.7577925 MHz  
 WDW EM  
 SSB 0  
 LB 3.00 Hz  
 GB 0  
 PC 1.40



PL-MD2 COSY CDC13



Current Data Parameters  
 NAME PL-MD2  
 EXPNO 21  
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20060328  
 Time 21.04  
 INSTRUM spect  
 PROBHD 5 mm CFDEL 13C  
 PULPROG cosygpcqf  
 TD 2048  
 SOLVENT CDCl3  
 NS 2  
 DS 16  
 SWH 9971.292 Hz  
 FIDRES 4.380514 Hz  
 AQ 0.1141919 sec  
 RG 22.6  
 DW 55.733 usec  
 DE 27.00 usec  
 TE 302.2 K  
 d0 0.00000300 sec  
 D1 0.87425292 sec  
 d13 0.00000400 sec  
 D16 0.00010000 sec  
 INO 0.00011110 sec

----- CHANNEL f1 -----  
 NUC1 1H  
 P0 10.20 usec  
 P1 10.20 usec  
 PL1 -2.00 dB  
 SFO1 500.1337500 MHz

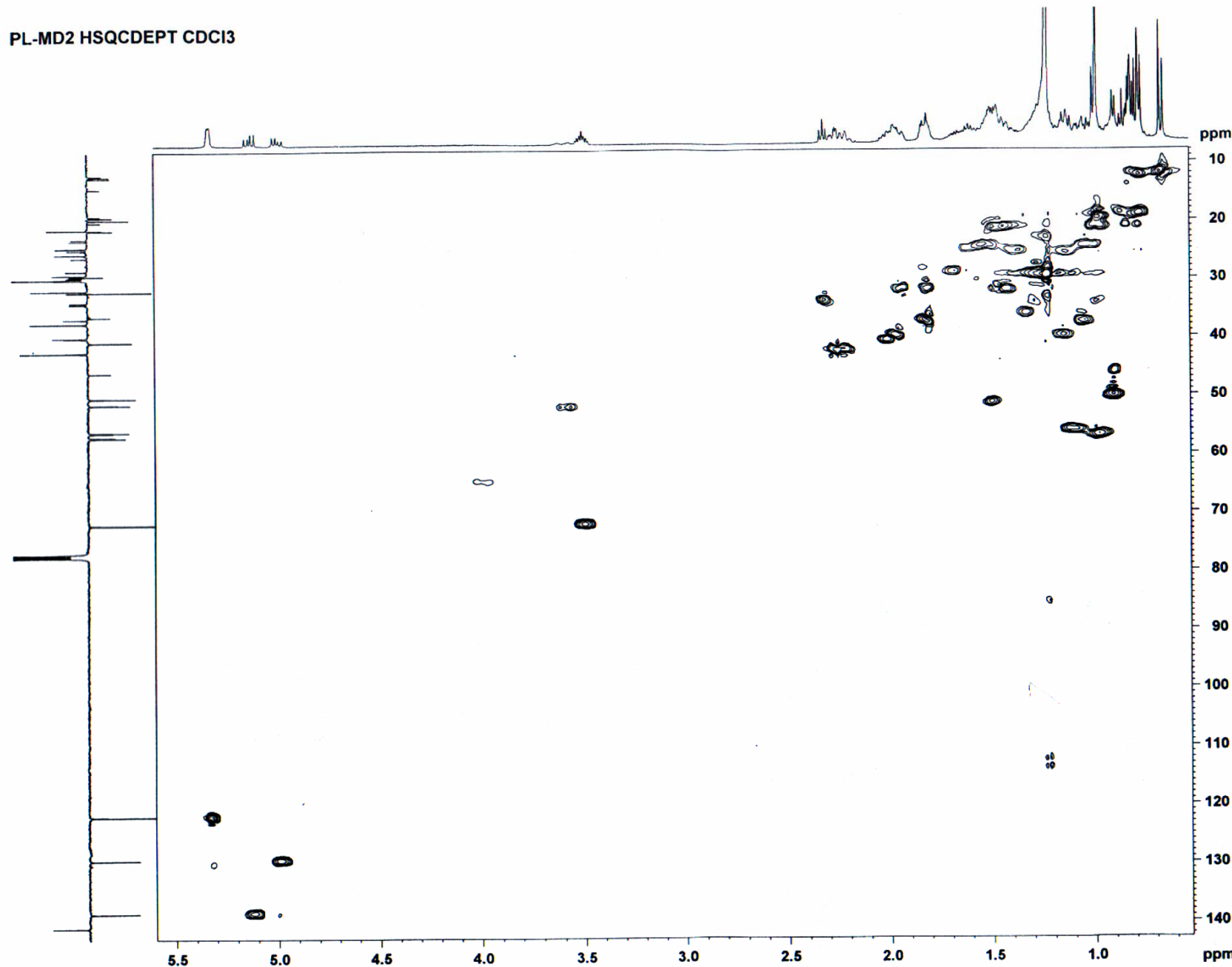
----- GRADIENT CHANNEL -----  
 GPNAM1 SINE.100  
 GPNAM2 SINE.100  
 GPZ1 10.00 %  
 GPZ2 10.00 %  
 P16 1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters  
 NDO 1  
 TD 256  
 SFO1 500.1338 MHz  
 FIDRES 35.159767 Hz  
 SW 17.997 ppm  
 FhMODE QF

F2 - Processing parameters  
 SI 1024  
 SF 500.1300233 MHz  
 WDW SINE  
 SSB 0  
 LB 0.00 Hz  
 GB 0  
 PC 1.40

F1 - Processing parameters  
 SI 1024  
 MC2 QF  
 SF 500.1300233 MHz  
 WDW SINE  
 SSB 0  
 LB 0.00 Hz  
 GB 0

PL-MD2 HSQCDEPT CDC13



```

Current Data Parameters
NAME      PL-MD2
EXPNO    23
PROCNO   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_    20060328
Time     21.52
INSTRUM  spect
PROBHD   5 mm CPDUL 13C
PULPROG  hsgpdedtgp
TD        2048
SOLVENT  CDC13
NS        8
DS        16
SWH       8971.292 Hz
FIDRES    4.380514 Hz
AQ        0.1141919 sec
RG        32
DW        55.733 usec
DE        27.00 usec
TE        302.2 K
CHST2     145.000000
d0        0.00000300 sec
D1        1.00000000 sec
j4        0.00172414 sec
d11       0.03000000 sec
d13       0.00004000 sec
D16       0.00010000 sec
D21       0.00345000 sec
DELTA     0.00232360 sec
DELTA1    0.00071614 sec
IN0       0.00001590 sec
STICNT    128
ZGOFINS

----- CHANNEL f1 -----
NUC1      1H
P1        10.20 usec
P2        20.40 usec
P28       0.00 usec
PL1       -2.00 dB
SFO1      500.1335009 MHz

----- CHANNEL f2 -----
CPDPRG2   garp
NUC2      13C
P3        13.00 usec
P4        26.00 usec
PCPD2     70.00 usec
PL2       -4.00 dB
PL12      10.62 dB
SFO2      125.7703648 MHz

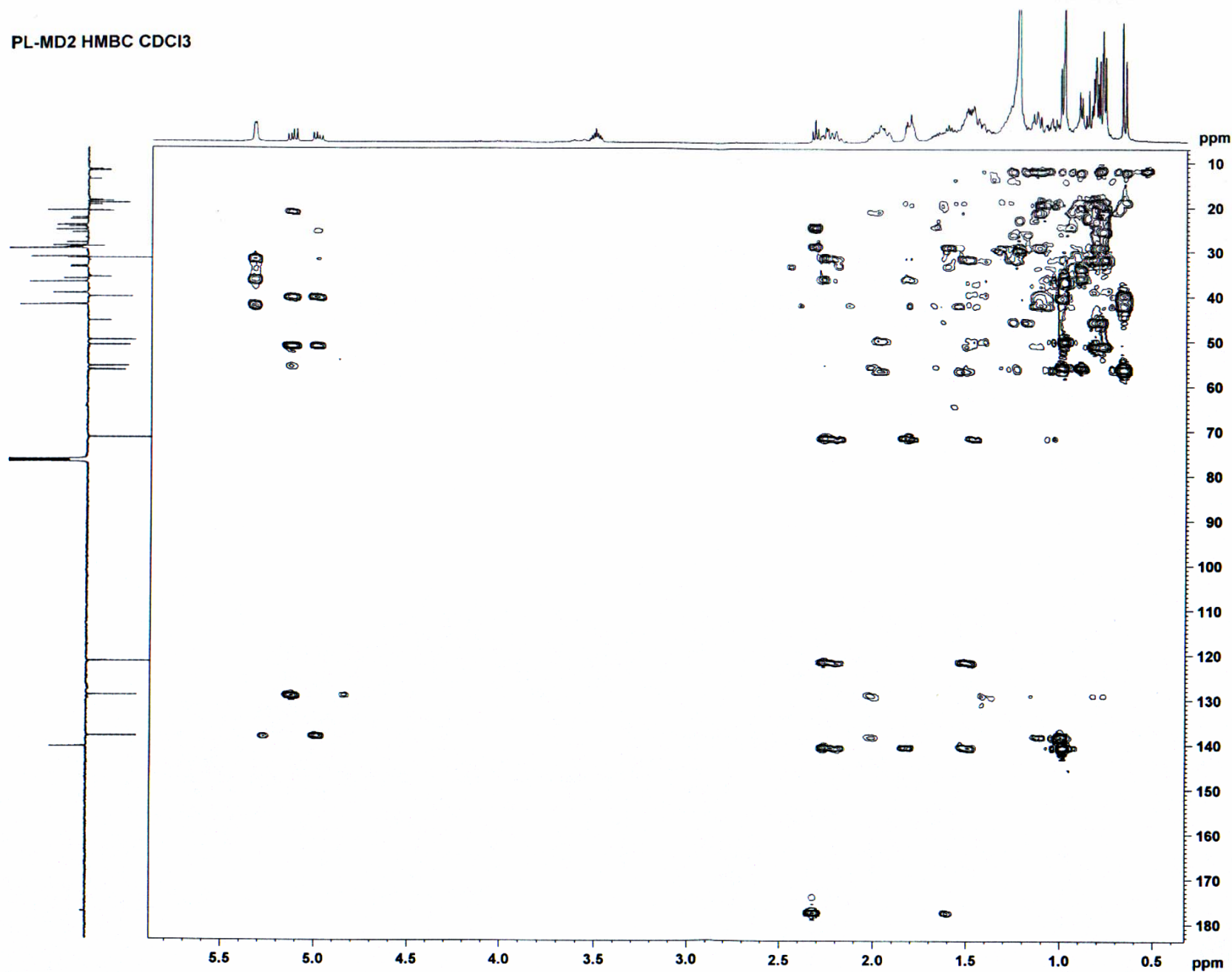
----- GRADIENT CHANNEL -----
GRNAM1    SINE.100
GRNAM2    SINE.100
GP21      90.00 %
GP22      20.10 %
P16       1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
ND0       2
TD        256
SFO1      125.7704 MHz
FIDRES    122.838051 Hz
SW        250.931 ppm
FAMODE    Echo-Antiecho

F2 - Processing parameters
SI        1324
SF        500.1300033 MHz
NDW       QSINE
SSB       2
LB        0.00 Hz
GB        0
PC        1.40

F1 - Processing parameters
SI        1324
MC2       echo-antiecho
SF        125.7577925 MHz
NDW       QSINE
SSB       2
LB        0.00 Hz
GB        0
    
```

PL-MD2 HMBC CDCI3



Current Data Parameters  
 NAME PL-MD2  
 EXPNO 24  
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20060328  
 Time 22.34  
 INSTRUM spect  
 PROBHD 5 mm CPDUL 13C  
 PULPROG hmbcgp1p3qf  
 TD 2048  
 SOLVENT CDCl3  
 NS 16  
 DS 16  
 SMH 8971.232 Hz  
 FIDRES 4.460514 Hz  
 AQ 0.1141319 sec  
 RG 25.4  
 CW 55.733 usec  
 DE 27.00 usec  
 TE 302.2 K  
 CNST2 145.0000000  
 CNST13 10.0000000  
 JC 0.0000000 sec  
 D1 1.5000000 sec  
 d2 0.00344828 sec  
 d3 0.05000000 sec  
 D16 0.00010000 sec  
 INO 0.00001590 sec

----- CHANNEL #1 -----

NUC1 1H  
 P1 10.20 usec  
 P2 20.40 usec  
 PL1 -2.00 dB  
 SFO1 500.1335009 MHz

----- CHANNEL #2 -----

NUC2 13C  
 P3 13.00 usec  
 PL2 -4.00 dB  
 SFO2 125.7703648 MHz

----- GRADIENT CHANNEL -----

GRNAM1 SINE.100  
 GRNAM2 SINE.100  
 GRNAM3 SINE.100  
 GP21 50.00 %  
 GP22 30.00 %  
 GP23 40.10 %  
 P16 1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters

MD0 2  
 TD 256  
 SFO1 125.7704 MHz  
 FIDRES 122.638051 Hz  
 SW 250.931 ppm  
 FWHM06 QF

F2 - Processing parameters

SI 2048  
 SF 500.130233 MHz  
 WCN SINE  
 SSB SINE  
 LB 0.00 Hz  
 GB 0  
 PC 1.40

F1 - Processing parameters

SI 1024  
 WCN QF  
 SF 125.7577225 MHz  
 WCN SINE  
 SSB 0  
 LB 0.00 Hz  
 GB 0

# **Les composés** **triterpeniques**



### STRUCTURE DU COMPOSE G

Le produit G est un aussi une poudre blanche amorphe. En spectrométrie de masse, le pic moléculaire est à 708.5 unités de masse correspondant à la formule brute  $C_{48}H_{84}O_3$ .

En RMN du proton enregistré dans le  $CDCl_3$ , le spectre du composé comporte les signaux caractéristiques suivant :

- sept signaux singulets résonant à champ fort entre 0.77 ppm et 1.67 ppm s'intégrant pour 3H chacun attribuables à des méthyles.
- deux signaux sous forme de doublets à 4.69 ppm et 4.58 ppm correspondant à des protons vinyliques.
- un doublet de doublet de un proton à 4.45 ppm attribuable au carbone porteur d'un oxygène appartenant à un ester
- un autre doublet de doublet de 1 proton à 3.59 ppm qui peut être à un carbone porteur d'une fonction alcool.

La RMN  $^{13}C$  montre outre les signaux des carbones méthyliques cités ci dessus

- deux signaux caractéristiques de carbones oléfiniques résonant à 109.84 ppm et 149.97 ppm
- un signal à 173.73 relatif à un carbonyle d'un ester.
- un signal à 80.52 ppm carbone lié à l'oxygène de l'ester
- un autre signal à 65,03 ppm correspondant à un carbone porteur d'une fonction alcool (C3').

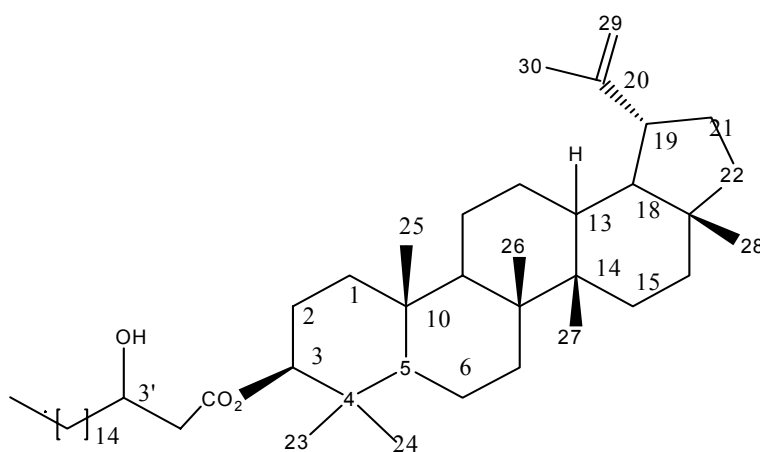
L'expérience cosy montre des corrélations entre les protons  $H_{29}$ ,  $H_{29'}$  et  $H_{14}$  d'une part et  $H_{30}$  d'autre part ; les protons  $H_{2\alpha}$ ,  $H_{2\beta}$  et  $H_3$ .

L'expérience de corrélation carbone – proton HSQC montre les couplages direct à une liaison qui nous permettent d'attribuer :

- les protons  $H_{29}$ ,  $H_{29'}$  au carbone C29 à  $\delta = 109.84$  ppm
- le proton  $H_3$  au carbone à  $\delta = 80.52$  ppm
- le proton  $H_{3'}$  au carbone à  $\delta = 65.03$  ppm.

L'expérience HMBC permet de confirmer les positions d'une très grande partie des carbones dans la structure  $H_{29}$ ,  $H_{29'}$  avec les carbones  $C_{30}$  et  $C_{19}$  ainsi que le  $H_3$  avec les carbones  $C_{23}$  et  $C_{24}$ .

Toutes ces informations provenant des différentes méthodes spectroscopiques Soutenues d'ailleurs par les données de la littérature<sup>86</sup> nous permettent de proposer la structure d'un composé triterpenique pentacyclique suivant

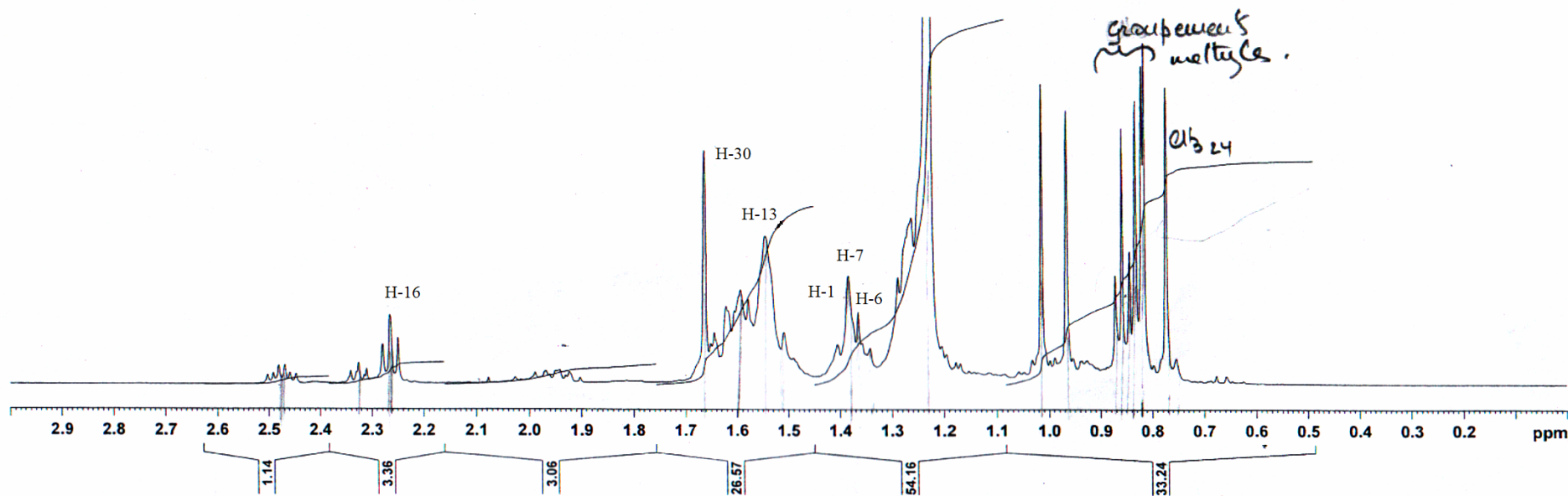
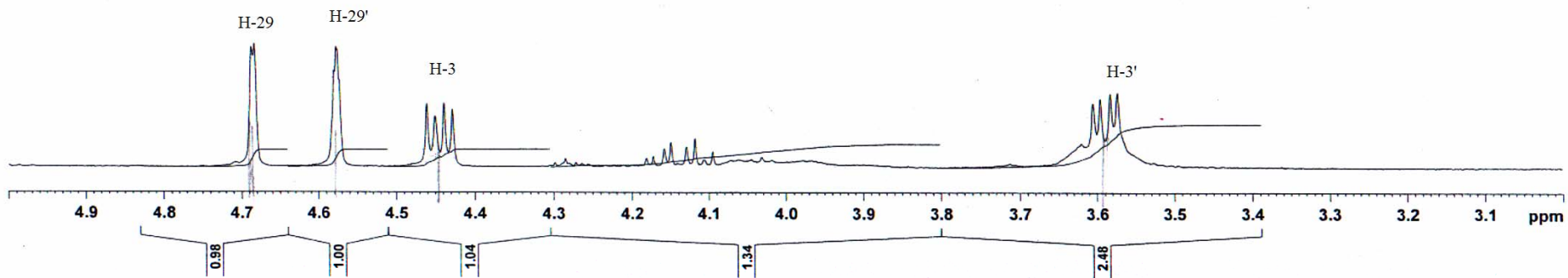
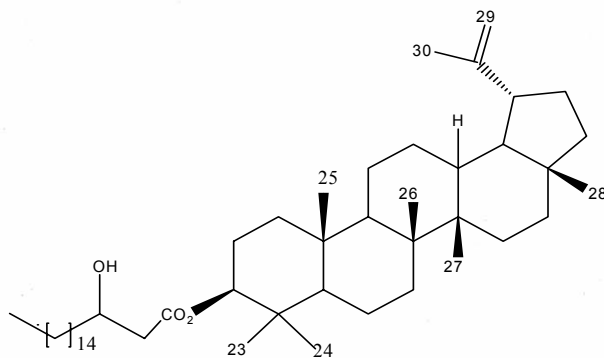


**3 $\beta$ -O-acyl-lupeol ester**

**Déplacements chimiques de  $^1\text{H}$  et de  $^{13}\text{C}$  du composé G**

N°	$\delta$ en ppm $^1\text{H}$	multiplicité	$\delta$ en ppm $^{13}\text{C}$	Carbone
1	1.38		37.69	$\text{CH}_2$
2				$\text{CH}_2$
3	4.45		80.52	CH
4			38.38	C
5	0.75		55.39	CH
6	1.36		18.17	$\text{CH}_2$
7	1.38		34.15	$\text{CH}_2$
8			40.93	C
9	1.23		49.89	CH
10			37.02	C
11	1.51		20.86	$\text{CH}_2$
12	1.60		25.16	$\text{CH}_2$
13	1.55		37.22	CH
14				C
15				$\text{CH}_2$
16	2.26		34.85	$\text{CH}_2$
17				C
18	1.34		47.67	CH
19	2.47		47.61	CH
20			149.97	=C
21	1.24		29.87	$\text{CH}_2$
22	1.51		37.83	$\text{CH}_2$
23	1.02	s	27.95	$\text{CH}_3$
24	0.77	s	15.97	$\text{CH}_3$
25	0.83	s	16.55	$\text{CH}_3$
26	0.82	s	16.17	$\text{CH}_3$
27	0.97	s	14.13	$\text{CH}_3$
28				$\text{CH}_3$
29	4.58	d	109.84	= $\text{CH}_2$
29'	4.69			
30	1.67		19.29	$\text{CH}_3$
1'			173.73	-C=O
3'	3.59	dd	65.03	CH

PL-MD3 PROTON CDCI3

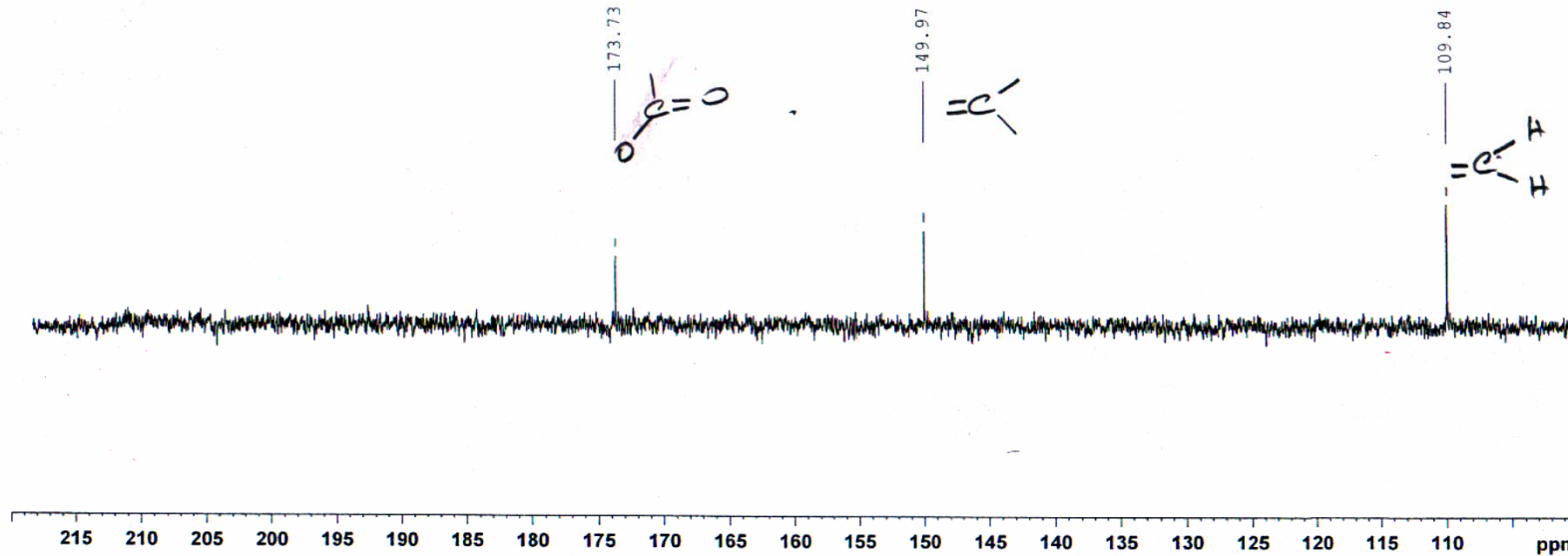


PL-MD3 JMOD CDCI3



Current Data Parameters  
 NAME FL-MD3  
 EXPNO 11  
 PROCNO 1

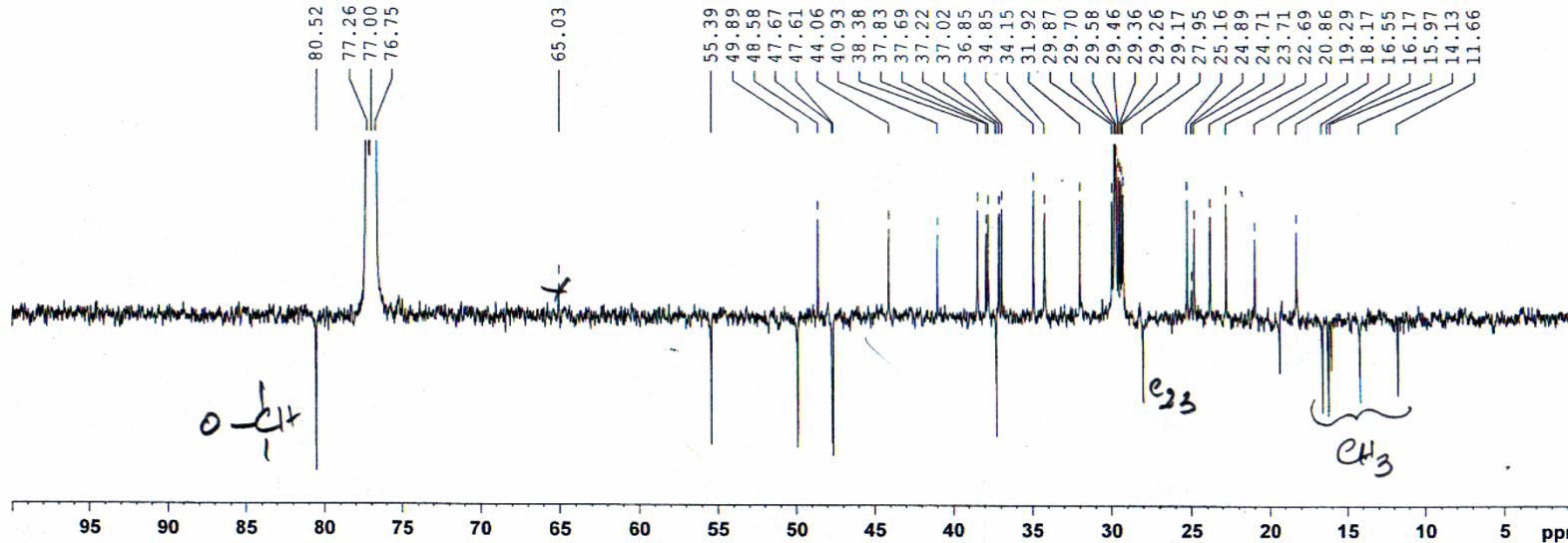
F2 - Acquisition Parameters  
 Date 20060327  
 Time 15:07  
 INSTRUM spect  
 PROBHD 5 mm CPDUL 13C  
 PULPROG jmod  
 TD 65536  
 SOLVENT CDCl3  
 NS 512  
 DS 4  
 SWH 29761.904 Hz  
 FIDRES 0.454131 Hz  
 AQ 1.1010548 sec  
 RG 2050  
 DW 16.800 usec  
 DE 26.00 usec  
 TE 302.2 K  
 CNST2 140.0000000  
 CNST11 1.0000000  
 D1 3.0000000 sec  
 d20 0.00714286 sec  
 DELTA 0.00001655 sec  
 L31 1  
 TD0 1



----- CHANNEL f1 -----  
 NUC1 13C  
 F1 13.00 usec  
 P2 26.00 usec  
 PL1 -4.00 dB  
 SFO1 125.7703640 MHz

----- CHANNEL f2 -----  
 CPDPRG2 bi\_waltz16\_32  
 NUC2 1H  
 PCPD2 80.00 usec  
 PL2 -2.00 dB  
 PL12 16.00 dB  
 SFO2 500.1320000 MHz

F2 - Processing parameters  
 SI 32768  
 SF 125.7577919 MHz  
 WDW EM  
 SSB 0  
 LB 3.00 Hz  
 GB 0  
 PC 1.40



PL-MD3 COSY CDC13



Current Data Parameters  
 NAME PL-MD3  
 EXFNO 21  
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20060329  
 Time 0.43  
 INSTRUM spect  
 PROBHD 5 mm QNP113  
 PULPROG cosypprog  
 TD 2048  
 SOLVENT CDC13  
 NS 2  
 DS 16  
 SWH 3991.230 Hz  
 FIDRES 1.330514 Hz  
 AQ 0.1111919 sec  
 RG 36  
 DW 55.733 usec  
 DE 27.00 usec  
 TE 300.2 K  
 D0 0.0000000 sec  
 d1 0.07425292 sec  
 d13 0.00000400 sec  
 d16 0.00010000 sec  
 INO 0.00011110 sec

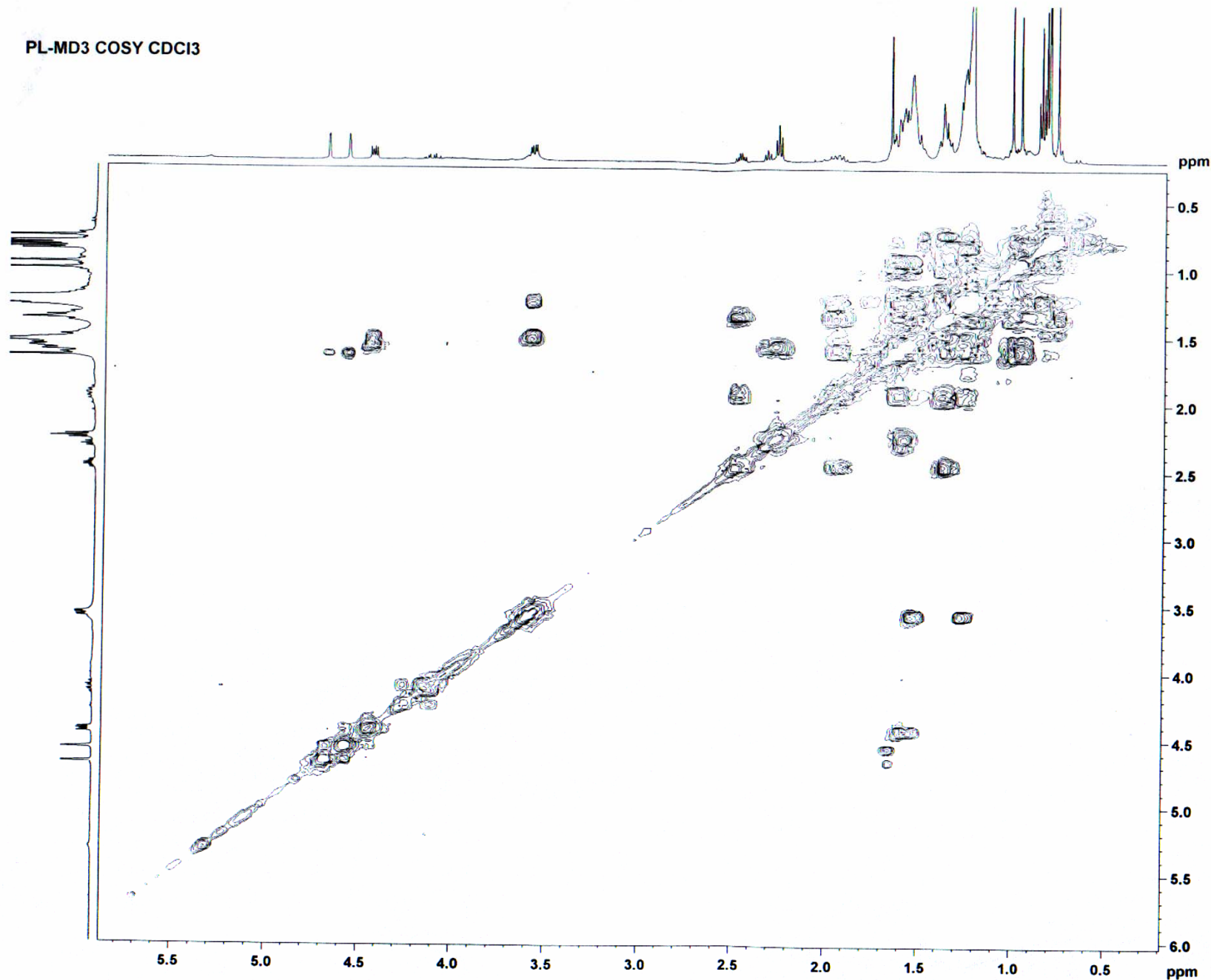
----- CHANNEL f1 -----  
 NUC1 1H  
 P0 10.00 usec  
 P1 10.00 usec  
 PL1 -2.00 dB  
 SFO1 500.1337500 MHz

----- GRADIENT CHANNEL -----  
 GNAME1 SINE.100  
 GNAME2 SINE.100  
 GPZ1 10.00 A  
 GPZ2 10.00 A  
 PL6 1000.00 usec

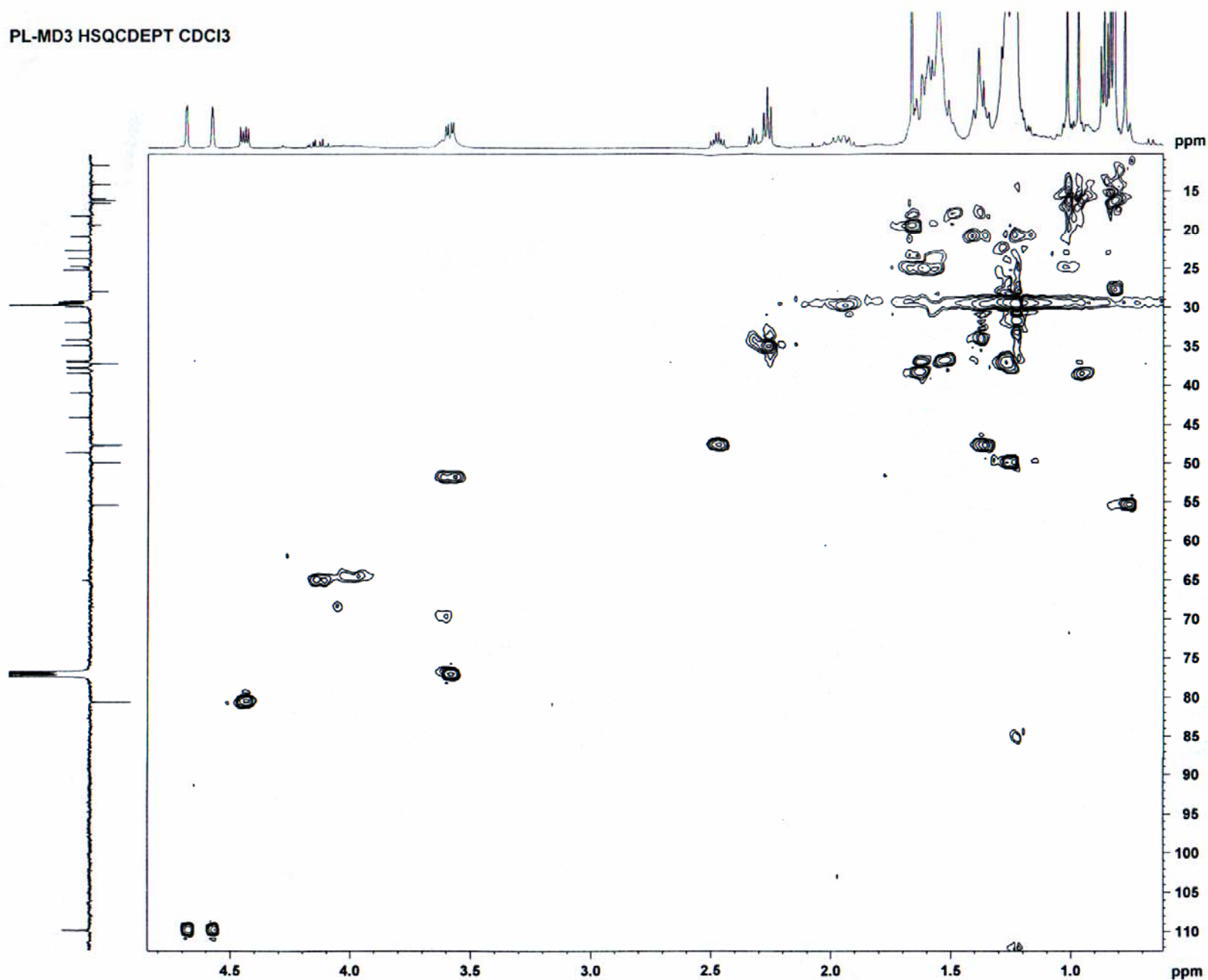
F1 - Acquisition parameters  
 NDO 1  
 TD 256  
 SFO1 500.1339 MHz  
 FIDRES 35.159767 Hz  
 SW 17.997 ppm  
 FMODE QF

F2 - Processing parameters  
 SI 1024  
 SF 500.1300232 MHz  
 WDW SINE  
 SSB 0  
 LB 0.00 Hz  
 GB 0  
 PC 1.40

F1 - Processing parameters  
 SI 1024  
 N22 QF  
 SF 500.1300232 MHz  
 WDW SINE  
 SSB 0  
 LB 0.00 Hz  
 GB 0



PL-MD3 HSQCDEPT CDCI3



```

Current Data Parameters
NAME      PL-MD3
EXPNO    33
PROCNO    1

F2 - Acquisition Parameters
Date_     20021229
Time      1.31
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm QNP1 13C
PULPROG   zgpg30tpp
TD        65536
SOLVENT   cdcl3
NS         2
DS         4
SWH        997.131 Hz
FIDRES    4.44114 Hz
AQ         0.11111111 sec
RG         512
AQ         0.11111111 sec
RG         512
AQ         0.11111111 sec
RG         512
DE         0.00345239 sec
TE         300.2 K
CNS1      145.0000000
d0         0.00000000 sec
d1         1.00000000 sec
d11        0.00174114 sec
d13        0.00000000 sec
d13        0.00000000 sec
d16        0.00000000 sec
d21        0.00345239 sec
DELTA     0.00231665 sec
DELTA1    0.00971614 sec
IN0       0.00001590 sec
STICHT    128
ZSOFTHS

----- CHANNEL f1 -----
NUC1      1H
P1        10.00 usec
P2        20.40 usec
P2R       0.00 usec
PL1       -1.00 dB
SFO1      500.135099 MHz

----- CHANNEL f2 -----
CPDPRG2   zgpg
NUC2      13C
P3        11.00 usec
P4        26.00 usec
PCPD2     70.00 usec
PL2       -4.00 dB
PL12      19.60 dB
SFO2      125.7701548 MHz

----- GRADIENT CHANNEL -----
GRANAL    SINC133
GRNAML    SINC133
GRZ1      20.00 A
GRZ2      20.10 A
PT6       1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
RG        512
TD        65536
SFO1      500.135099 MHz
FIDRES    4.44114 Hz
AQ         0.11111111 sec
RG         512
PULPROG   zgpg30tpp
ECHO       Echo-Anti-Echo

F2 - Processing parameters
SI         1024
SF         125.7701548 MHz
WDW        EM
SSB        0
LB         0.00 Hz
GB         0
PC         1.40

F3 - Processing parameters
SI         1024
SF         500.135099 MHz
WDW        EM
SSB        0
LB         0.00 Hz
GB         0
PC         1.40
    
```

### STRUCTURE DU COMPOSE H

Le produit H est un aussi une poudre blanche amorphe. En spectrométrie de masse, le pic moléculaire est à 466 unités de masse correspondant à la formule brute  $C_{32}H_{50}O_2$ .

En RMN du proton enregistré dans le  $CDCl_3$ , le spectre du composé comporte les signaux caractéristiques suivant :

- sept signaux singulet résonant à champ fort entre 0.78 ppm et 1.69 ppm s'intégrant pour 3H chacun attribuables à des méthyles.
- deux signaux sous forme de multiplet à 4.49 ppm et 4.52 ppm correspondant à des protons vinyliques.
- un doublet de doublet de un proton à 4.49 ppm attribuable au carbone porteur d'un oxygène appartenant à un ester

La RMN  $^{13}C$  montre outre les signaux des carbones méthyliques cités ci dessus

- deux signaux caractéristiques de carbones oléfiniques résonant à 109.34 ppm et 150.97 ppm
- un signal à 171.03 relatif à un carbonyle d'un ester.
- un signal à 80.98 ppm carbone lié à l'oxygène
- deux signaux à 118.86 ppm et 139.85 deux carbones vinyliques

L'expérience cosy montre des corrélations entre les protons  $H_{29}$ ,  $H_{29'}$  et  $H_{14}$  d'une part et  $H_{30}$  d'autre part ; les protons  $H_{2\alpha}$ ,  $H_{2\beta}$  et  $H_3$ .

L'expérience de corrélation carbone – proton HSQC montre les couplages direct à une liaison qui nous permettent d'attribuer :

- les protons  $H_{29}$ ,  $H_{29'}$  au carbone C29 à  $\delta = 109.34$  ppm
- le proton  $H_3$  au carbone à  $\delta = 80.98$  ppm



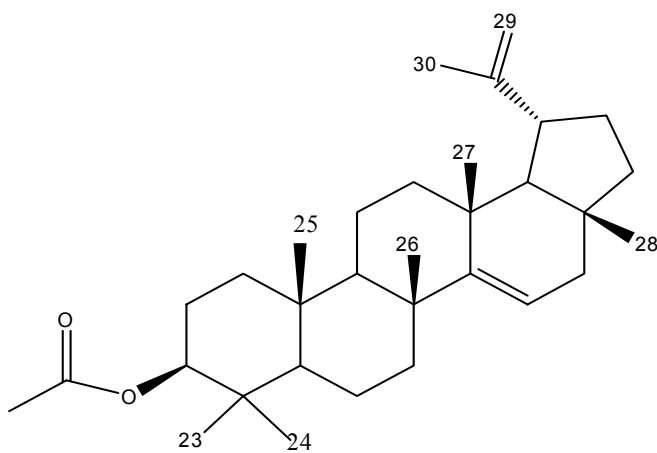
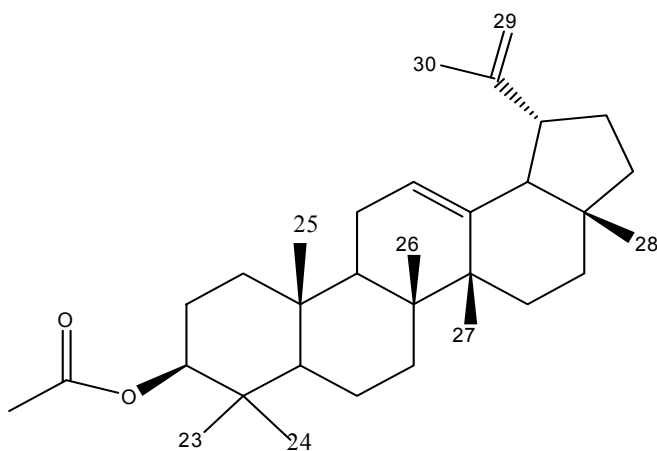
L'expérience HMBC permet de confirmer les positions d'une très grande partie des carbones dans la structure  $H_{29}$ ,  $H_{29'}$  avec les carbones  $C_{30}$  et  $C_{19}$  ainsi que le  $H_3$  avec les carbones  $C_{23}$  et  $C_{24}$ .

L'analyse des données spectroscopiques RMN du proton et du carbone nous oriente vers une structure triterpenique ; dans une telle hypothèse il faut rechercher un méthyle qui serait masqué.

La structure proposée l'a été sur la base de ces différents éléments mais aussi à partir des corrélations observées sur les spectres cosy, HSQC, HMBC.

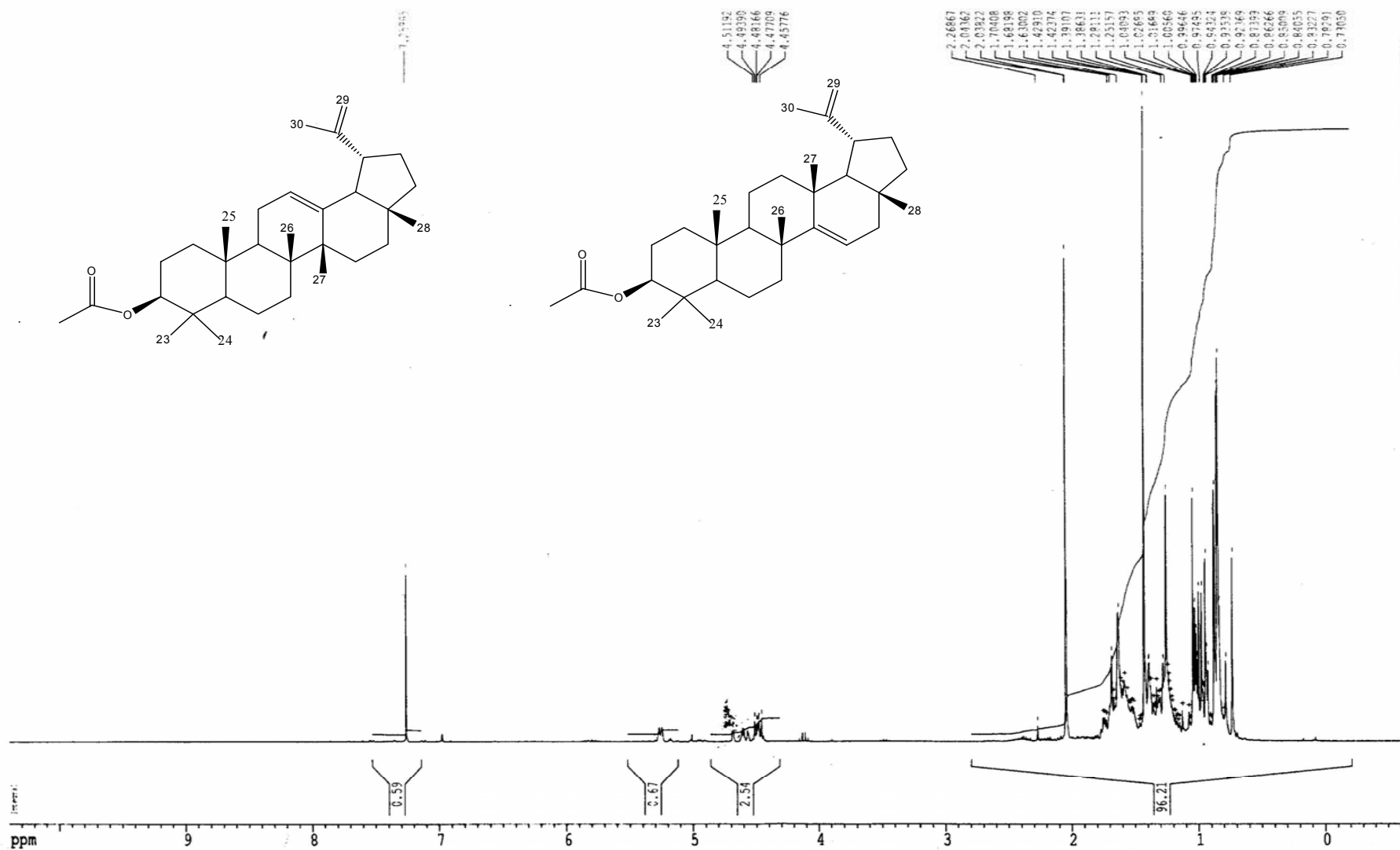
Ces dernières observations sont en faveur du système pentacyclique proposé.

Cette hypothèse structurale peut exister sous deux formes isomères, toutes deux non décrites dans la littérature et les éléments d'analyse dont nous disposons ne nous permettent pas de choisir de façon univoque entre les deux.



**Déplacements chimiques de  $^1\text{H}$  et de  $^{13}\text{C}$  du composé H**

N°	$\delta$ en ppm $^1\text{H}$	multiplicité	$\delta$ en ppm $^{13}\text{C}$	Carbone	Corrélation
1	0.91 1.68	t d	38.67	$\text{CH}_2$	H25
2	1.54 1.61	q d	27.35	$\text{CH}_2$	H1e
3	4.45	dd	80.98	CH	H23-H24
4			38.81	C	H23-H24
5	0.78	d	55.25	CH	H23-H24-H26
6	1.39 1.54	q d	18.28	$\text{CH}_2$	H5(d.J=12Hz)H7a-H7e
7	1.41	m	34.23	$\text{CH}_2$	H26
8			40.78	C	H26-H27
9	1.28	d	50.38	CH	H25-H26
10			37.11	C	H25
11	1.25 1.42	q d	20.89	$\text{CH}_2$	H9(d.J=12Hz)
12	1.03 1.68	q d	118.86	$\text{CH}_2$	H13(d.J $\approx$ 12Hz)
13			139.85	C	H27
14			42.95	C	H26-H27
15	1.01 1.71	d t	27.41	$\text{CH}_2$	H27
16	1.38 1.49	t d	35.54	$\text{CH}_2$	H28
17			42.95	C	H28
18	1.37	t	48.24	CH	H28-H29
19	2.39	m	47.94	CH	H29-H30
20			150.97	=C	H29(d.J $\approx$ 8Hz)-H30
21	1.33 1.93	m m	29.80	$\text{CH}_2$	
22	1.205 1.42	m m	39.96	$\text{CH}_2$	H28
23	0.985	s	27.95	$\text{CH}_3$	H24
24	0.77	s	15.35	$\text{CH}_3$	H23-H5
25	0.84	s	16.09	$\text{CH}_3$	H5
26	1.04	s	15.94	$\text{CH}_3$	-
27	0.97	s	14.51	$\text{CH}_3$	-
28	0.79	s	17.97	$\text{CH}_3$	H19(q.J=8Hz)
29	4.49 4.52	m m	109.34	= $\text{CH}_2$	H-30
30	1.69	s	12.28	$\text{CH}_3$	
3'			171.03	-C=O	
4'	2.05	s		$\text{CH}_3$	



PLMS1

Current: Data Parameters  
 NAME p9\_59\_20.10.05  
 EXPNO :  
 PROCNO :

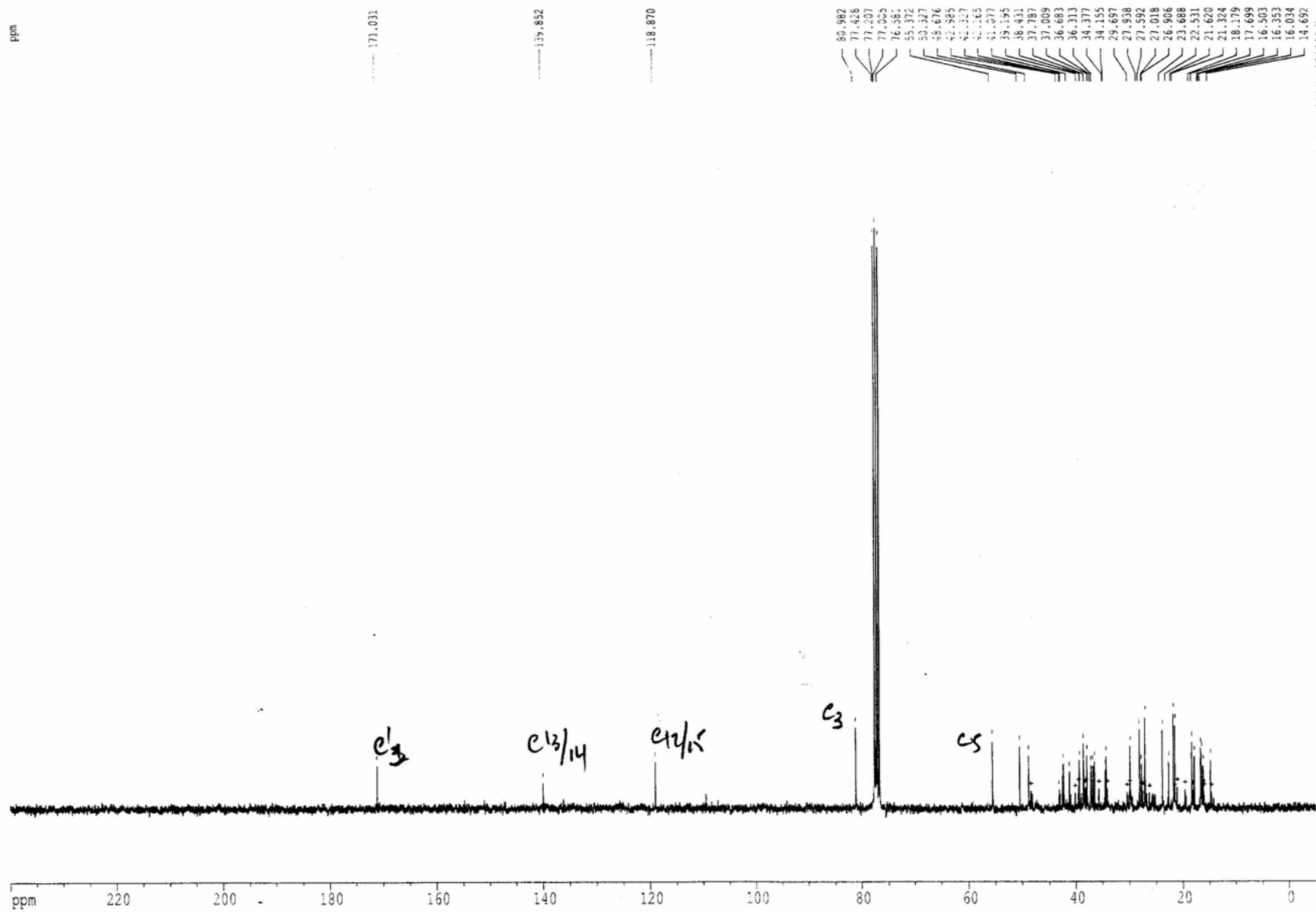
F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20051021  
 Time 6.18  
 INSTRUM spect  
 PROBED 5 mm Dual 13C/  
 PULPROG zg30  
 TD 32768  
 SOLVENT CDCl3  
 NS 128  
 DS 2  
 SWH 5995.204 Hz  
 FIDRES 0.182955 Hz  
 AQ 2.7329011 sec  
 RG 256  
 DW 83.400 usec  
 DE 10.00 usec  
 TE 296.5 K  
 DI 1.50000000 sec

===== CHANNEL f1 =====  
 NUC1 1H  
 P1 9.00 usec  
 PL1 2.00 dB  
 SFO1 300.1714643 MHz

F2 - Processing parameters  
 SI 32768  
 SF 300.1700176 MHz  
 WDW EM  
 SSB 0  
 LB 0.20 Hz  
 GB 0  
 PC 1.00

1D NMR plot parameters  
 CX 35.00 cm  
 CY 18.00 cm  
 FIP 10.400 ppm  
 FI 3121.77 Hz  
 FZP -0.600 ppm  
 FZ -180.15 Hz  
 PPMCM 0.31429 ppm/cm  
 HZCM 94.33915 Hz/cm

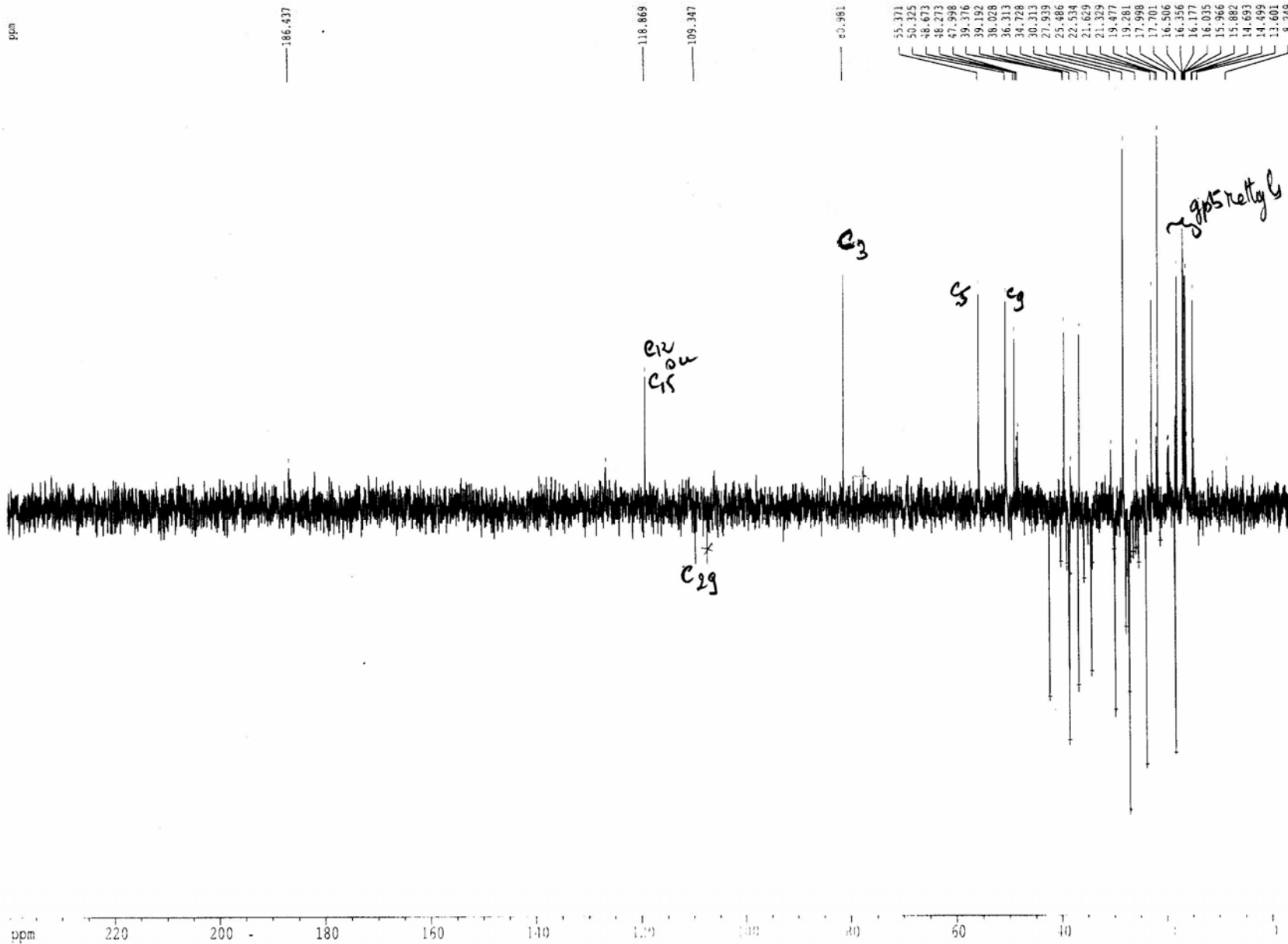
PLMS1



80.982  
77.428  
77.207  
77.025  
76.581  
55.372  
53.327  
48.676  
42.585  
42.327  
42.165  
41.077  
39.195  
38.431  
37.787  
37.009  
36.683  
36.313  
34.377  
34.155  
29.697  
27.918  
27.592  
27.018  
26.906  
23.688  
22.531  
21.620  
21.324  
18.179  
17.699  
16.503  
16.353  
16.034  
14.652

Current Data Parameters  
 NAME g1\_07\_11100305  
 ENMO  
 PROCNO  
 F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 11/11/07  
 Time 11:00  
 INSTRUM spect  
 PROCNO 107  
 PULPROG zgpg30  
 SOLVENT dms  
 NS 1024  
 DS 4  
 SWH 19999.999  
 FIDRES 0.19999999  
 AQ 1.00000000  
 RG 327.680  
 FM 100.626150  
 SFO1 100.626150 MHz  
 ===== CHANNEL f1 =====  
 NUCL1 13C  
 P1 12.00  
 PL1 0.00 dB  
 SFO1 101.254300 MHz  
 ===== CHANNEL f2 =====  
 NUCL2 13C  
 P2 12.00  
 PL2 0.00 dB  
 SFO2 101.254300 MHz  
 F1 - Processing parameters  
 SI 32768  
 SF 101.254300 MHz  
 WDW EM  
 SSB 0  
 GB 0.00 Hz  
 PC 1.00  
 F2 NMR data parameters  
 SI 32768  
 SF 101.254300 MHz  
 FID 101.254300 MHz  
 PC 1.00  
 SFO1 101.254300 MHz  
 SFO2 101.254300 MHz  
 PPM 100.000000 ppm/cd  
 PROCN 107  
 MOD 011.04487 Hz/cm

PLMS1



Current Data Parameters  
 NAME p9\_57\_21.10.05  
 EXPNO 1  
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20051021  
 Time 23.03  
 INSTRUM spect  
 PROBHD 5 mm Dual 13C/  
 PULPROG zgpg30  
 TD 32768  
 SOLVENT dms  
 NS 500  
 DS 4  
 SWH 20025.000 Hz  
 FIDRES 0.620078 Hz  
 AQ 1.1061423 sec  
 RG 319.04  
 CW 24.870 usec  
 DE 10.00 usec  
 TE 300.2 K  
 CONTC 10.0000000  
 C1 0.0000000 sec  
 C2 0.0000000 sec  
 C3 0.0000000 sec  
 C4 0.0000000 sec  
 C5 0.0000000 sec  
 DELTA 0.0000000 sec

===== CHANNEL f1 =====  
 NUCL1 13C  
 P1 1.00 usec  
 PL1 0.00 dB  
 PR1 0.00 MHz

===== CHANNEL f2 =====  
 NUC2 13C  
 P2 1.00 usec  
 PL2 0.00 dB  
 PR2 0.00 MHz

===== CHANNEL f3 =====  
 NUC3 13C  
 P3 1.00 usec  
 PL3 0.00 dB  
 PR3 0.00 MHz

===== CHANNEL f4 =====  
 NUC4 13C  
 P4 1.00 usec  
 PL4 0.00 dB  
 PR4 0.00 MHz

===== CHANNEL f5 =====  
 NUC5 13C  
 P5 1.00 usec  
 PL5 0.00 dB  
 PR5 0.00 MHz

===== CHANNEL f6 =====  
 NUC6 13C  
 P6 1.00 usec  
 PL6 0.00 dB  
 PR6 0.00 MHz

===== CHANNEL f7 =====  
 NUC7 13C  
 P7 1.00 usec  
 PL7 0.00 dB  
 PR7 0.00 MHz

===== CHANNEL f8 =====  
 NUC8 13C  
 P8 1.00 usec  
 PL8 0.00 dB  
 PR8 0.00 MHz

===== CHANNEL f9 =====  
 NUC9 13C  
 P9 1.00 usec  
 PL9 0.00 dB  
 PR9 0.00 MHz

===== CHANNEL f10 =====  
 NUC10 13C  
 P10 1.00 usec  
 PL10 0.00 dB  
 PR10 0.00 MHz

===== CHANNEL f11 =====  
 NUC11 13C  
 P11 1.00 usec  
 PL11 0.00 dB  
 PR11 0.00 MHz

===== CHANNEL f12 =====  
 NUC12 13C  
 P12 1.00 usec  
 PL12 0.00 dB  
 PR12 0.00 MHz

===== CHANNEL f13 =====  
 NUC13 13C  
 P13 1.00 usec  
 PL13 0.00 dB  
 PR13 0.00 MHz

===== CHANNEL f14 =====  
 NUC14 13C  
 P14 1.00 usec  
 PL14 0.00 dB  
 PR14 0.00 MHz

===== CHANNEL f15 =====  
 NUC15 13C  
 P15 1.00 usec  
 PL15 0.00 dB  
 PR15 0.00 MHz

===== CHANNEL f16 =====  
 NUC16 13C  
 P16 1.00 usec  
 PL16 0.00 dB  
 PR16 0.00 MHz

===== CHANNEL f17 =====  
 NUC17 13C  
 P17 1.00 usec  
 PL17 0.00 dB  
 PR17 0.00 MHz

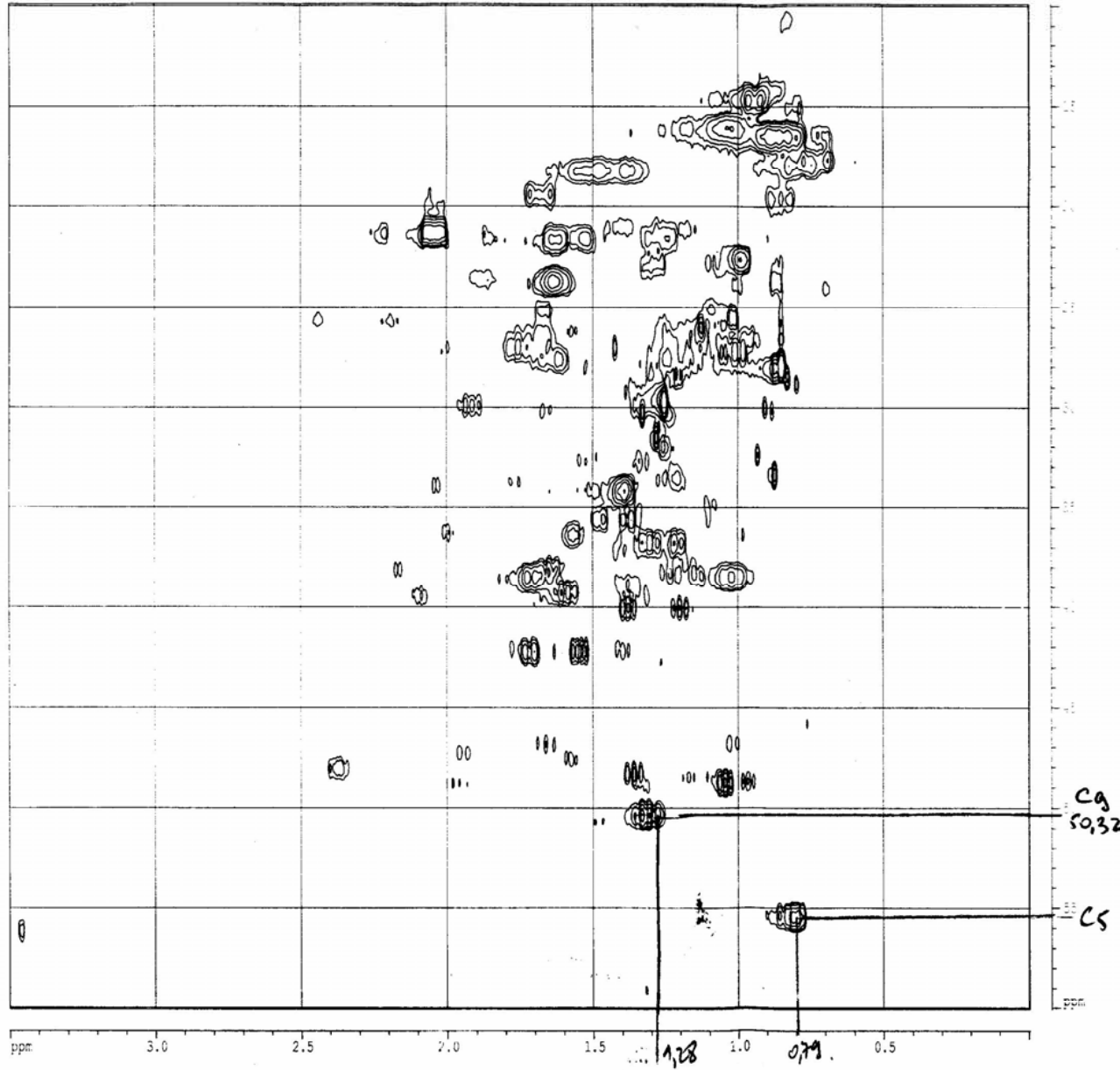
===== CHANNEL f18 =====  
 NUC18 13C  
 P18 1.00 usec  
 PL18 0.00 dB  
 PR18 0.00 MHz

===== CHANNEL f19 =====  
 NUC19 13C  
 P19 1.00 usec  
 PL19 0.00 dB  
 PR19 0.00 MHz

===== CHANNEL f20 =====  
 NUC20 13C  
 P20 1.00 usec  
 PL20 0.00 dB  
 PR20 0.00 MHz

ppm 220 200 180 160 140 120 100 80 60 40 20 0

P9 Ab3 in CDCl3 (298K) / HSQC



PLMS1

```

Current Data Parameters
NAME      phac051121
EXPNO    4
PROCNO    1

F2 - Acquisition Parameters
Date_     20051120
Time      16.34
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm BBI-4
PULPROG   haccqpr2
TD         2048
SOLVENT   CDCl3
NS         16
DS         4
SWH        3936.818 Hz
FIDRES     1.919461 Hz
AQ         0.2405554 sec
RG         14384
DM         177.200 usec
DE         10.00 usec
TE         300.2 K
CMT1      143.0000000
d1         0.0000000 sec
d2         0.0000000 sec
d3         0.0017414 sec
d4         0.0000000 sec
d5         0.0000200 sec
d6         0.0000416 sec
d7         0.0001000 sec
DELTA     0.0012801 sec
DELTA2    0.0007614 sec
IND       0.0000000 sec
MCREST    0.0000000 sec
MCMWEN    0.0000000 sec
STICNT    256

----- CHANNEL f1 -----
NUC1       13
P1         12.00 usec
PC1        24.00 usec
PL1        0.00 dB
SFO1      500.1364000 MHz

----- CHANNEL f2 -----
CPULPROG  gpr2
NUC2       13
P2         12.00 usec
PC2        24.00 usec
PL2        0.00 dB
SFO2      500.1364000 MHz

----- GRADIENT CHANNEL -----
GPRAMP     SINE.100
GPRAMP     SINE.100
GPRAMP     SINE.100
GPRAMP     SINE.100
GPRAMP     SINE.100
GPRAMP     SINE.100
GPRAMP     SINE.100
GPRAMP     SINE.100
GPRAMP     SINE.100
GPRAMP     SINE.100

F1 - Acquisition Parameters
TD         2048
SFO1      500.1364000 MHz
FIDRES     1.919461 Hz
AQ         0.2405554 sec
RG         14384
DM         177.200 usec
DE         10.00 usec
TE         300.2 K

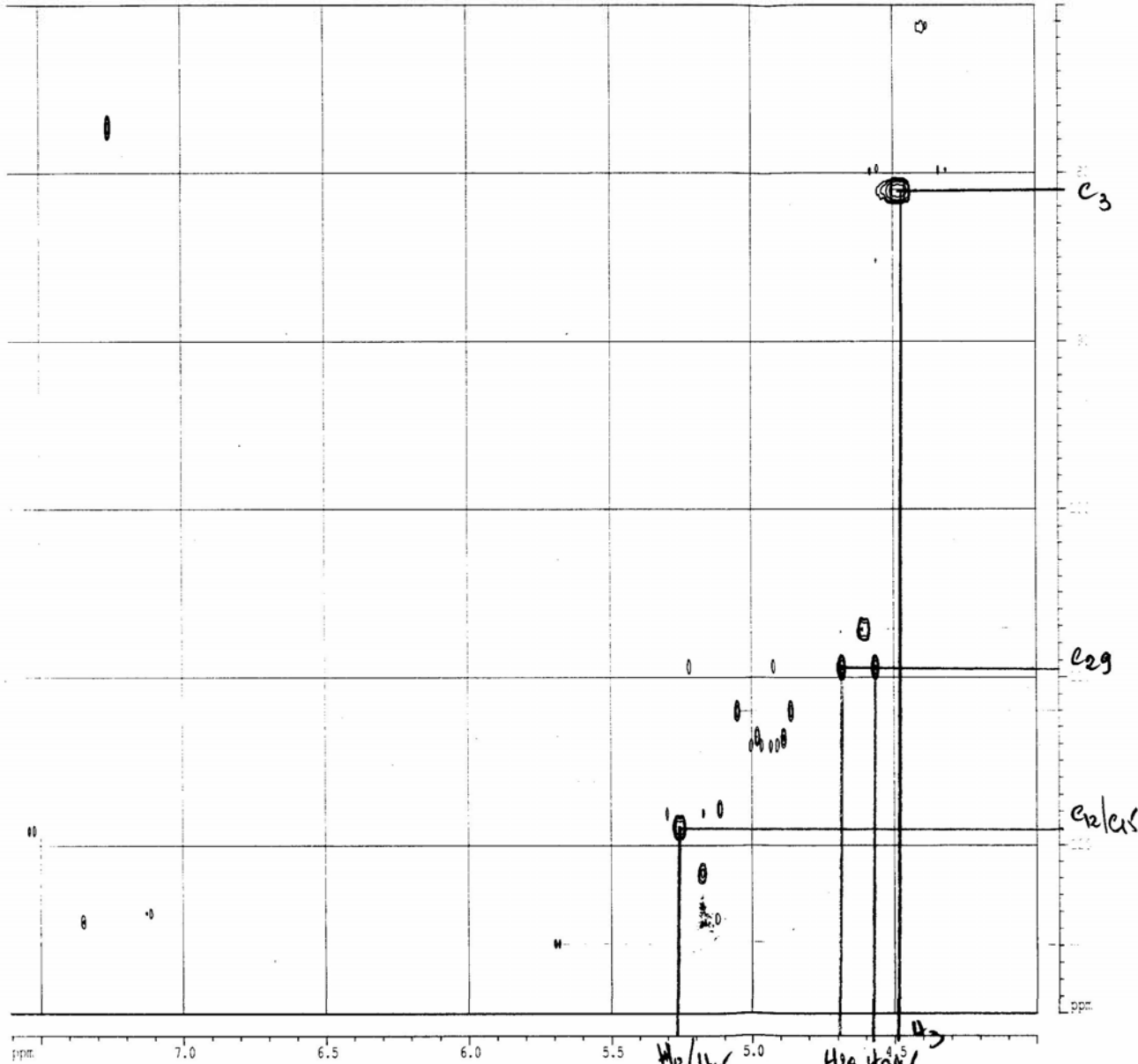
F2 - Processing parameters
SI         2048
SF         500.1364000 MHz
WDW        EM
SSB        0
LB         0.00 Hz
GB         0
PC         1.00

F1 - Processing parameters
SI         2048
SF         500.1364000 MHz
WDW        EM
SSB        0
LB         0.00 Hz
GB         0

2D NMR pint parameters
CXC        24.00 cm
CXI        24.00 cm
F2FLD      4.50 ppm
F2LO       175.164 Hz
F2PHI      0.000 ppm
F2PHI2     2.64 Hz
F2PLD      60.000 ppm
F2PLD2     7554.00 Hz
F1PHI      4.800 ppm
F1PHI2     1744.95 Hz
F2PPMCH    0.14615 ppm/cm
F2RDCM     73.09504 Hz/cm
F1PPMCH    2.09534 ppm/cm
F1RDCM     242.87948 Hz/cm
    
```



P9 Ab3 in CDC13 (298K) / HSQC



PLMS1

```

Current Data Parameters
NAME      p9ac051122
EXPNO    4
PROCNO    1

F2 - Acquisition Parameters
Date_     20051122
Time      18:54
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm BBI 1H-5
PULPROG   zgpg30
TD         2048
SOLVENT   CDC13
NS         16
DS         16
SWH        2930.818 Hz
FIDRES     1.919345 Hz
AQ         0.2405554 sec
RG         24384
DM         127.200 usec
DE         10.00 usec
TE         301.2 K
CSTRT      145.0000000
SC        0.00000300 sec
DC        2.00000000 sec
d1        0.00172414 sec
d11       0.03000000 sec
d12       0.00000000 sec
d13       0.00000000 sec
d14       0.00000000 sec
d15       0.00000000 sec
DELTA     0.0012800 sec
DELTA2    0.00071614 sec
ZG         0.00001300 sec
MCBRES    0.00000000 sec
MCMRG     0.00000000 sec
STICHT    256

----- CHANNEL f1 -----
NUC1       13
P1         12.00 usec
PL         24.00 usec
PC         0.00 dB
RF1        500.1378654 MHz

----- CHANNEL f2 -----
CPDPRG2    zgpg30
NUC2        1H
P2         12.00 usec
PL2        24.00 usec
PCPD2      70.00 usec
PCPD2     -2.00 dB
RF2        400.1464012 MHz
RF22       125.7700000 MHz

----- GRADIENT CHANNEL -----
GTHANK     SINE.100
GPMANG     SINE.100
GPA1       0.00 G
GPA2       0.00 G
GPA3       0.00 G
GPA4       0.00 G
GPA5       0.00 G
GPA6       0.00 G
GPA7       0.00 G
GPA8       0.00 G
GPA9       0.00 G
GPA10      0.00 G
GPA11      0.00 G
GPA12      0.00 G
GPA13      0.00 G
GPA14      0.00 G
GPA15      0.00 G
GPA16      0.00 G
GPA17      0.00 G
GPA18      0.00 G
GPA19      0.00 G
GPA20      0.00 G

F1 - Acquisition parameters
SI         2048
SF         500.1378654 MHz
WDW        EM
SSB        0
GB         0
PC         5.00

F2 - Processing parameters
SI         2048
SF         500.1300294 MHz
WDW        EM
SSB        0
GB         0
PC         5.00

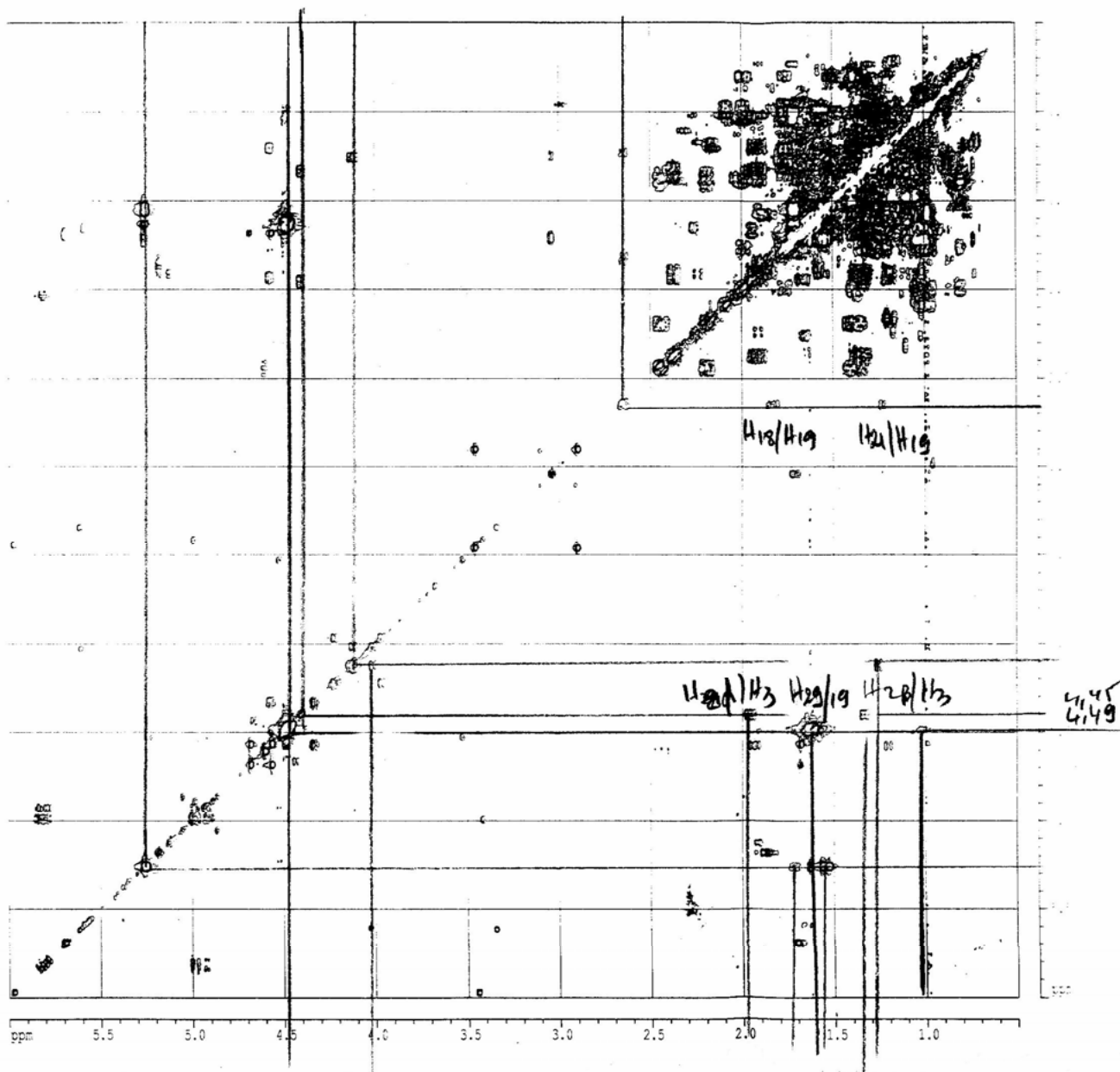
F1 - Processing parameters
SI         2048
SF         500.1300294 MHz
WDW        EM
SSB        0
GB         0
PC         5.00

2D NMR plot parameters
CX1        24.00 cm
CY1        24.00 cm
FZ1        7.609 ppm
FZ2        3805.34 Hz
FZ3        3.997 ppm
FZ4        1999.24 Hz
FZ5        130.059 ppm
FZ6        16355.97 Hz
FZ7        69.979 ppm
FZ8        8800.46 Hz
FZ9        0.15047 ppm/cm
FZ10       75.25430 Hz/cm
FZ11       2.50333 ppm/cm
FZ12       314.82293 Hz/cm
    
```



P1759

P9 Ab3 in CDC13 (298K) / cosy



```

Current Data Parameters
NAME      p9ac01122
EXPNO     3
PROCNO    1

F2 - Acquisition Parameters
Date_     20051122
Time      17.32
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm BB1 1H-BB
PULPROG   cosympgpg
TD         2048
SOLVENT   cdcl3
NS         4
DS         16
SWH        3930.816 Hz
FIDRES     1.919345 Hz
AQ         0.2605556 sec
RG         2048
RW         127.200 usec
DE         10.00 usec
TE         301.4 K
d1         0.00000000 sec
d2         0.00000000 sec
d31        0.03000000 sec
d32        0.00000000 sec
d33        0.00000000 sec
d34        0.00010000 sec
TM        0.00023440 sec
MRESST    0.00000000 sec
MORST     0.03000000 sec

***** CHANNEL f1 *****
NUC1       1H
P1         10.00 usec
PC         0.00 dB
SFO1       500.1316634 MHz

***** GRADIENT CHANNEL *****
GPNAM1     SINE.100
GPNAM2     SINE.100
GPNAM3     SINE.100
GPA1       0.00 %
GPA2       0.00 %
GPA3       0.00 %
GPA4       0.00 %
GPA5       0.00 %
GPA6       0.00 %
GPA7       16.00 %
GPA8       15.00 %
GPA9       40.00 %
GPA10      1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
NUC1       1H
P1         10.00 usec
PC         0.00 dB
SFO1       500.1316634 MHz
FIDRES     1.677378 Hz
SW         7.860 ppm
F2-MODE    OF

F1 - Processing parameters
SI         2048
SF         500.1300234 MHz
WDW        SINE
SSB        0
LB         0.00 Hz
GB         0
PC         0.00

F2 - Processing parameters
SI         2048
SF         500.1300234 MHz
WDW        SINE
SSB        0
LB         0.00 Hz
GB         0

2H NMR plot parameters
CX1        24.00 cm
CX2        24.00 cm
F2P1A      6.000 ppm
F2P1B      3000.78 Hz
F2P1C      0.497 ppm
F2P1D      248.80 Hz
F1P1A      6.000 ppm
F1P1B      3000.78 Hz
F1P1C      0.497 ppm
F1P1D      248.80 Hz
F2PPMCM    0.22927 ppm/cm
F2HZCM     114.66591 Hz/cm
F1PPMCM    0.22927 ppm/cm
F1HZCM     114.66591 Hz/cm
    
```

# CONCLUSION

Nous avons décrit précédemment huit produits : trois sesquiterpène lactones deux de type guaianolide et un pseudo- guaianolide , deux triterpènes lupéol ester et trois stéroïdes de type sitosterol et stigmastérol issus du *Pulicaria Laciniata*. Ces composés sont loin de représenter l'essentiel des produits chimiques que recèle la plante.

La séparation et purification des autres constituants s'est révélée extrêmement difficile d'une part. Ceci est du sans doute à la très faible différence des Rf des constituants, voire même des Rf identiques.

Bien souvent des produits mono-taches en CCM se sont révélés être des mélanges quand nous enregistrons les spectres. D'autre part la très faible quantité de produit isolé qui ne permet pas la réalisation des spectres en particulier la RMN. Il est probable également que nous ayons des isomérisations rapides. Enfin la très grande instabilité de ces produits n'en facilite pas moins la purification.

Parmi les structures que nous venons de décrire deux molécules n'ont pas été caractérisées dans la famille des pulicaires le Guaiane hydroxy et le lupeol.

Un autre composé, inédit, figure parmi les composés isolés: le lupeol insaturé ester.

Il est fondamental de noter la présence de phytostérols qui possèdent des propriétés pharmacodynamiques très importantes: les stérols proprement dit

- Les acides biliaires
- Les hormones sexuelles
- Les hormones corticosurrenales
- Les glycosides cardiotoniques
- Les sapogenines
- Quelques alcaloïdes

ainsi que la présence de sesquiterpènes lactones de type Guaianolide à propriétés anti – oxydante. Les sesquiterpènes lactones ont aussi des propriétés thérapeutiques importantes et parmi celles ci on retrouve :

- antibiotiques ,activité antifeedante et répulsive du *Lactarius rufus* <sup>160</sup>
- cytotoxique du *Pulicaria Crispa*
- antitumoral, antiphlogistique du *Ligularia Veitchiana* <sup>161</sup>
- antiplasmodiale de l'artémisinine <sup>162</sup>

Les activités biologiques des triterpénoïdes continuent à être intéressantes :

- propriétés aphrodisiaques
- antimycobactérienne
- antitumorogénique
- traitement de la maladie d'alzheimer
- hépatoprotective
- tonique et anti-syphilitique pour l'acyl-lupeol ester
- fongicide efficace.

Une première appréciation des résultats obtenus montre sans aucun doute une preuve des bienfaits de ce spécimen. Une recherche approfondie est nécessaire pour mettre en évidence les autres composés chimiques et leurs propriétés thérapeutiques

# REFERENCES

## Références Bibliographiques.

- 1- American Herbal Pharmacopoeia and Therapeutic Compendium. Analytical, quality control and therapeutic monographs. Santa Cruz, California: American Herbal Pharmacopoeia, 1997–2000
- 2- Bisset NG, ed. *Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals* (Wichtl M, ed., German edition). Stuttgart: Medpharm, 1994;
- 3- Blumenthal M *et al.*, eds. *The Complete German Commission E Monographs*. Austin, Texas: American Botanical Council, 1998.
- 4- Blumenthal M *et al.*, eds. *Herbal Medicine*. Expanded Commission E Monographs. Austin, Texas: American Botanical Council, 2000.
- 5- Boon H, Smith M. *The Botanical Pharmacy*. The Pharmacology of 47 Common Herbs. Kingston: Quarry Press, - Bradley PR, ed. *British Herbal Compendium*, vol 1. Bournemouth: British Herbal Medicine Association, 1992.
- 6- *British Herbal Pharmacopoeia*. Keighley: British Herbal Medicine Association, 1983.
- 7- *British Herbal Pharmacopoeia, 1990*, vol 1. Bournemouth: British Herbal Medicine Association, 1990. - *British Herbal Pharmacopoeia, 1996*. Exeter: British Herbal Medicine Association, 1996 - *British Pharmaceutical Codex 1934*. London: Pharmaceutical Press, 1934.
- 8- *British Pharmaceutical Codex 1949*. London: Pharmaceutical Press, 1949.
- 9- *British Pharmaceutical Codex 1973*. London: Pharmaceutical Press, 1973.
- 10- *British Pharmacopoeia 1993*. London: HMSO, 1993. - *British Pharmacopoeia 1999*. London: The Stationery Office, 1999
- 11- *British Pharmacopoeia 2001*. London: The Stationery Office, 2001.
- 12- Council of Europe. *Flavouring Substances and Natural Sources of Flavourings*, 3rd edn. Strasbourg: Maisonneuve, 1981.
- 13- Council of Europe. *Natural Sources of Flavourings*. Report No. 1. Strasbourg: Council of Europe, 2000.
- 14- Bruneton J, (1993) *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*, Technique et documentation, Lavoisier, Paris
- 15- Gars S.N., Charles R., Kumars S., (1999) A new cyclic monoterpene glucoside from the capitula of *Tagetes patula*, *Fitoterapia*, the journal for the study of medicinal plants, 70, N°5, pp. 472- 474

- 16- Lamaty R., Menot C., Molangui T., Valade I., Rasoanaivo P., Petit Jean A., (1993) Huiles essentielles de quelques plantes aromatiques malgaches. Fifth Napreka. Symposium on Natural Products. Septembre 19-23 Antananarivo Madagascar.
- 17- Ramanandraïe V., (1995) Contribution à l'étude des huiles essentielles de feuilles et de fruits de *Pittosporum viridiflorum* Pittosporaceae, Mémoire de DEA de Chimie Organique, Option "Produits Naturels", Faculté des sciences, Université d'Antananarivo Madagascar.
- 18- Ralaivao Z. B., (1995) Contribution à l'étude des huiles essentielles des feuilles et des écorces de *Ravensara aromatica* Sonnerat, Lauraceae, espèce endémique de Madagascar. Mémoire de CAPEN, Ecole Normale Supérieure, Université d'Antananarivo Madagascar.
- 19- Stahl E., Jork H., (1965) Dérivés des Terpènes, Huiles essentielles, Balsames et Résines. Thin - Layer Chromatography, pp. 186 - 205, 485 - 502
- 20- Salgarolo P., (1990) Pratique des manipulations de chimie à l'usage des biologistes, Salgarolo Diffusion, Paris.
- 21- Kisiel W., Barszcz B., (2000) Further sesquiterpenoids and phenolics from *Taraxacum officinale*. *Fitoterapia*, the journal for the study of medicinal plants, 71, N°3, pp. 269 - 273.
- 22- Govindachari T.R., Gopalakrishnan G., Suresh G., (1999) Triterpenoidal constituents of an aqueous extract from neem kernels, *Fitoterapia*, the journal for the study of medicinal plants 70, N°6, pp. 558 - 560
- 23- Sydow E. V., Antou K., Carlson G., (1970) Monocyclic, dicyclic, tricyclic terpenes, Archives of mass spectral data, Swedish Institute for Food Preservation Research Fack, S - 421, Göthenbürg
- 24- Cupp MJ, ed. *Toxicology and Clinical Pharmacology of Herbal Products*. Totawa, New Jersey: Humana Press, 200
- 25- De Smet PAGM *et al.*, eds. *Adverse Effects of Herbal Drugs*, vol 1. Berlin: Springer-Verlag, 1992.
- 26- De Smet PAGM *et al.*, eds. *Adverse Effects of Herbal Drugs*, vol 2. Berlin: Springer-Verlag, 1993.
- 27- De Smet PAGM *et al.*, eds. *Adverse Effects of Herbal Drugs*, vol 3. Berlin: Springer-Verlag, 1997
- Duke JA. *Handbook of Medicinal Herbs*. Boca Raton: CRC, 1985.
- 28- European Medicines Evaluation Agency. Herbal Medicinal Products Working Party

Draft Core Summary of Product Characteristics for Valerian and Ispaghula. (accessed 20 February 2002)

- 29-European Pharmacopoeia, 2nd edn. Strasbourg: Maisonneuve, 1980- European
- 30-Pharmacopoeia, 3rd edn. Strasbourg: Council of Europe, 1997European
- 31-Pharmacopoeia, 3rd edn, 1998 Supplement. Strasbourg: Council of Europe, 1998
- 32- European Pharmacopoeia, 3rd edn, 1999 Supplement. Strasbourg: Council of Europe, 1999.
- 33- European Pharmacopoeia, 4th edn, 2002. Strasbourg: Council of Europe, 2002. –
- 34-Evans WC. *Trease and Evans' Pharmacognosy*, 14th edn. London: WB Saunders Company, 1998
- 35-Farnsworth NR. Potential value of plants as sources of new antifertility agents I. *J Pharm Sci* 1975; 64: 535–598.
- 36-Fetrow CW, Avila JR. *Professional's Handbook of Complementary and Alternative Medicines*. Springhouse: Springhouse Corporation, 1999. - Foster S, Tyler VE. *Tyler's*
- 37-*Honest Herbal*, 4th edn. New York: The Haworth Herbal Press, 1999. Frohne D,
- 38-Pfänder HJ. *A Colour Atlas of Poisonous Plants*. London: Wolfe, 1984. Grieve M. *A*
- 39-*Modern Herbal*. Thetford, Norfolk: Lowe and Brydon, 1979. Gruenwald J *et al.*, eds. *PDR for Herbal Medicines*, 1st ednMontvale: Medical Economics Company, 1998.
- 40-Gruenwald J *et al.*, eds. *PDR for Herbal Medicines*, 2nd edn. Montvale: Medical Economics Company Inc, 2000.
- 41- The Medicines (Products other than Veterinary Drugs) (General Sales List), SI No.769: 1984, as amended SI No.1540: 1985; SI No.1129: 1990; and SI No.2410: 1994.
- 42- Guenther E. *The Essential Oils*, six volumes. New York: Van Nostrand, 1948–1952.
- 43 - Hamon NW, Blackburn JL. *Herbal Products – A Factual Appraisal for the Health Care Professional*. Winnipeg: Cantext, 1985.
- 44- Hoppe HA. *Taschenbuch der Drogenkunde*. Berlin: de Gruyter, 1981.
- 45- Leung AY. *Encyclopedia of Common Natural Ingredients Used in Food, Drugs and Cosmetics*. New York-Chichester: Wiley, 1980.
- 46 - Mabey R., ed. *The Complete New Herbal*. London: Elm Tree Books, 1988.
- 47 - Martindale. *The Complete Drug Reference*, 32nd edn. (Parfitt K, ed.). London: The Pharmaceutical Press, 1999.
- 48-Martindale: *The Extra Pharmacopoeia*, 28th edn. (Reynolds JEF, ed.). London: The Pharmaceutical Press, 1982.



- 49- Martindale: *The Extra Pharmacopoeia*, 29th edn. (Reynolds JEF, ed.). London: The Pharmaceutical Press, 1989.
- 50- Martindale, *The Extra Pharmacopoeia*: 30th edn. (Reynolds JEF, ed.). London: The Pharmaceutical Press, 1993.
- 51- Martindale. *The Extra Pharmacopoeia*, 31st edn. (Reynolds JEF, ed.). London: The Pharmaceutical Press, 1996.
- 52- The Merck Index. *An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals*, 11th edn. Rahway, NJ: Merck, 1989.
- 53- Mills SY. *The Dictionary of Modern Herbalism*. Wellingborough: Thorsons, 1985.
- 54- Mills S, Bone K. *Principles and Practice of Phytotherapy*. Edinburgh: Churchill Livingstone, 2000.
- 55- Mitchell J, Rook A. *Botanical Dermatology – Plants and Plant Products Injurious to the Skin*. Vancouver: Greengrass, 1979.
- 56 - Monographs on the Medicinal Uses of Plant Drugs, Fascicules 1 and 2 (1996), Fascicules 3, 4 and 5 (1997), Fascicule 6 (1999).
- 57- Exeter: European Scientific Cooperative on Phytotherapy. Morelli I *et al.* *Selected Medicinal Plants*. Rome: FAO, 1983.
- 58- Robbers JE, Tyler VE. *Tyler's Herbs of Choice*. New York: The Haworth Herbal Press, 1999-
- 59-Schulz V, Hänsel R, Tyler V. *Rational Phyto therapy. A Physicians' Guide to Herbal Medicine*. Berlin: Springer-Verlag, 1998
- 60-Schulz V, Hänsel R, Tyler V. *Rational Phyto therapy. A Physicians' Guide to Herbal Medicine*, 4th edn. Berlin: Springer-Verlag, 2000
- 61-Simon JE *et al.* *Herbs – An Indexed Bibliography, 1971–80*. Oxford: Elsevier, 1984.
- 62 - Tisserand R, Balacs T. *Essential Oil Safety*. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1995
- Trease GE, Evans WC. *Pharmacognosy*, 13th edn. London: Baillière Tindall, 1989.
- 63- Tyler VE. *The Honest Herbal*, 3rd edn. Philadelphia: Strickley, 1993.
- 64- *United States Pharmacopeia 24 and National Formulary 19 and Supplements* Rockville, Maryland, US: United States Pharmacopeial Convention, 2000.
- 65-Wagner H *et al.* *Plant Drug Analysis*. Berlin: Springer-Verlag, 1983.
- 66-World Health Organization. *WHO Monographs on Selected Medicinal Plants*, vol 1. Geneva: World Health Organization, 1999.
- 67-Wren RC. *Potter's New Cyclopedia of Botanical Drugs and Preparations* (revised, Williamson EW, Evans FJ). Saffron Walden: Daniel, 1988.

- 68- British Herbal Medicine Association. *A Guide to traditional Herbal Medicines*- Bournemouth: British Herbal Medicine Association Publishing, 2003.
- 69- Martindale. *The Complete Drug Reference*, 33rd edn. (Sweetman S, ed.). London: The Pharmaceutical Press, 2002
- 70-Evans WC. *Trease and Evans Pharmacognosy*, 15nd edn. Edinburgh: WB Saunders, 2002.
- 71- Williamson EM. *Potter's Herbal Cyclopaedia*. Saffron Walden: CW Daniel Co., 2003.
- 72- World Health Organization. *WHO Monographs on Selected Medicinal Plants*, vol 2. Geneva: World Health Organization, 2002.
- 73- British Pharmacopoeia 2002. London: The Stationary Office, 2002.
- 74- European Pharmacopoeia, 4nd edn, 2004 Supplement. Strasbourg: Council of Europe, 2004.
- 74 - United States Pharmacopoeia 26 and National Formulary 21 and Supplements. Rockville, Maryland, US: United States Pharmacopeial Convention,
- 75 - J.C. Dousset : Histoire des médicaments des origines à nos jours. Paris
- 76- P Delaveau : Histoire et renouveau des plantes médicinales. Paris – Albin Michel
- 77 - D. Kassel : des hommes et des plantes , histoire de la pharmacie ( decembre 2003)
- 78 - G. Debuigné : Larousse des plantes qui guérissent. Paris – Librairie Larous1974.
- 79 - P.Ozenda Flore et végétation du Sahara CNRS Paris (1991).
- 80 - P. Quezel et S. Santa Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales CNRS.
- 81 - Mark W. Skinner USDA . NRCS National Plant Data Center.
- 82 - M.C. Chalandre, Elements de Botanique (1999- 2000) UFR de Pharmacie et ingénierie de la santé –Angers.
- 84 - Ruchi G. Marwah, Majekodunmi O. Fatopen, Ramla Al Mahrooqi, Gouti B. Varma & al (2007) Antioxidant capacity of some edible and wound healing plants in Oman. Food Chemistry 101, 465-470 .
- 85 - Fadwa E.L. Hanbali ,M. Akssira, A. Ezoubeiri & al.(2005) Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Pulicaria odora* L. Journal of Ethnopharmacologie 99, 399 – 401.
- 86 - P. Weyerstahl, H.Marshall, H.C. Wahlburg & al.(1999) Constituents of the essential oil of *Pulicaria gnapholodes* (vent) Boiss. From Iran. Flavour Fragr. J., 14 ,121-130 .

- 87 – Christine A. Williams ,Jeffrey B. Harborne , Jenny R. Graham ,Renée J. Grayer , Geoffrey C. Kite , John Eagles (2003). Variations in lipophilic and vacuole flavonoides among European *Pulicaria* species. *Phytochemistry* 64, 275-283.
- 87 - K.A. Eshbakova and A. I. Saidkhodzhaev (2001) Triterpenoids and sterols from three species of *Pulicaria*. *Chemistry of natural compounds* vol. 37 ,N° 2.
- 88 - K.A. Eshbakova and A. I. Saidkhodzhaev (2002) Hauriwaic acid from *Pulicaria salviifolia* . *Chemistry of natural compounds*, vol. 38, N° 4.
- 89 – C.A. Williams, J.B. Harborne, J. Greenham, (2000) Geographical variation in the surface flavonoides of *Pulicaria dysenterica*.
- 90 - J.Alberto Marco, J.F. Sanz and R. Albiach, (1992) Caryophyllene derivatives from *Pulicaria dysenterica*. *Phytochemistry*, vol. 31, N° 7, pp. 2409-2413.
- 91 - Ferdinand Bohlmann and christa Zdero.(1981) Caryophyllene derivatives and a hydroxyisocomene from *Pulicaria dysenterica*. *Phytochemistry*, vol. 20, N° 11, pp. 2529-2534.
- 92 - Jaber S. Mossa, Mohammed A. Al-Yahia, Mohammed S. Hinawy & al (1990) Germacrane sesquiterpenes from *Pulicaria glutinosa*. *Phytochemistry*, vol. 29, N° 5 pp. 1595-1599.
- 93 - Jaber S. Mossa, Ilias Muhammad, Farouk S. El-Feraly, Charles D. hufford, & al (1992) Bisabolene and Guaiane sesquiterpenes from *Pulicaria Glutinosa*. *Phytochemistry*, vol. 31, N° 2 pp. 575- 578.
- 94 - Ilias Muhammad, Jaber S. Mossa, Farouk S. El-Feraly and Ahmed .F. Ramadan. (1992) Terpenoids from *Pulicaria glutinosa*. *Phytochemistry*, vol. 31, N° 12 pp. 4225 .
- 95 - S. Hafez, T. M. Sarg, M.M. El-Domiaty, A.A Ahmed, F.R . Melek and Bohlmann (1987) Caryophyllene derivatives from *Pulicaria arabica*. *Phytochemistry*, vol. 26, N° 12pp. 3356- 3358.
- 96 - Ferdinand Bohlmann, Maniruddin Ahmed and Jasmin Jakupovic .(1982) Caryophyllane derivatives from *Pulicaria Scabra*. *Phytochemistry*, vol. 21, N° 7pp. 1659 – 1661.
- 97 - J.Triana, M. Lopez, F.J. Perez, J. Gonzalez-Plata, J. Guintana, F. Estevez, F. Leon and J. Bermejo (2005) Sesquiterpenoids from *Pulicaria canariensis* and their Cytotoxic Activities. *J.Nat. Prod*, 68, 523-531.

- 98 - A. Ezoubeiri, C.A. Gadhi, N. Fdil, A. Benharref, M. Jana, M. Vanhaelen.(2005) Isolation and antimicrobial activity of two phenolic compounds from *Pulicaria odora* L. *Journal of Ethnopharmacology* 99, 287- 292.
- 99 - D.T. Sadyrbekov, G.A. Atazhanova, A.T. Kulyyasov, V.A. Raldugin, Yu.V. Gatilov, M.M. Shakirov, T.T. Edil'baeva, K.M. Turdybekov, and S.M. Adekenov.(2006) *Chemistry of Natural Compounds*. Vol. 42 .N° 1.
- 100 - Biswanath D., M. Ravinder R., R. Ramu, N. Ravindranath, H. Harish, K.V.S. Ramakrishna, Y. Koteswar Rao, K. Harakishore, U.S.N. Murthy.(2005) Clerodane diterpenoids from *Pulicaria wightiana*. *Phytochemistry* 66, 633-638.
- 101 - Eshbakova, K.A., Saidkhodzhaev, A.I. S. YU. Yunusov.(2001) triterpenoids and sterols from *Pulicaria uliginosa*. *KHIMIYA Priridnykh Soedinenii* 37(2), 196-197.
- 102 - H.Dendougui, S. Benayache, F. Benayache, J.D. Connoly.(2000). Sesquiterpene lactones from *Pulicaria Crispa*. *Fitoterapia* 71, 373-378.
- 103 - Ferdinand Bohlmann, Karl-Heinz Knoll und Nasr A. El-Emary.(1978) Neuartige sesquiterpenelactone aus *Pulicaria Crispa*. *Phytochemistry* ,Vol.18, pp1231- 1233.
- 104 - M. Abdel-Mogib, J. Jaupovic, A. M. Dawidar, M.A. Metwally and Abou-Elzahab (1990) Sesquiterpene lactones and kaurane glycosides from *francoeuria Crispa*. *Phytochemistry* ,Vol.29, pp 2581- 2584.
- 105- M.A. Al-Yahia, A.M.. El-Sayed, J.S. Mossa.(1988) Potentiel cancer Chemopreventive and cytotoxic agents from *Pulicaria Crispa*. *Journal of Natural Products* Vol.51, N° 3 ,pp 621- 624.
- 106 - A. Rustaiyan, Z. Habibi, L. Saberi and J. Jakupovic (1991) A Nor-Guaianolide and a Glaucolide-like Eudesmanolide from *Pulicaria Undulata*. *Phytochemistry* , Vol.30, 2405- 2406.
- 107 - Goldstein (J.L.), Brown (M.S.) - Regulation of the mevalonate pathway. - *Nature*, 1990, 343, 425-430.
- 108 - Jennings (S.M.), Tsay (Y.H.), Fisch (T.M.), Robinson (G.W.) - Molecular cloning and characterization of the yeast gene for squalene synthetase. - *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991, 88, 6038-6042.
- 109 - Choi (D.), Ward (B.L.), Bostock (R.M.) - Differential induction and suppression of Potato 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase genes in response to *Phytophthora infestans* and to its elicitor arachidonic acid. - *Plant Cell*, 1992, 4, 1333-1344.

- 110-Kuntz (M.), Römer (S.), Suire (C.), Hugueney (P.), Weil (J.H.), Schantz (R.), Camara (B.) - Identification of a cDNA for the plastidlocated Geranyl geranyl pyrophosphate synthase from *Capsicum annuum* : Correlative increase in enzyme activity and transcript level during fruit ripening. - *Plant J.*, 1992, 2, 25-34.
- 111-Colby (S.M.), Alonso (W.R.), Katahira (E.J.), McGarvey (D.J.), Croteau (R) - 4S-Limonene Synthase from the Oil Glands of Spearmint (*Mentha spicata*) - cDNA isolation, characterization, and bacterial expression of the catalytically active monoterpene cyclase *Chem.*, 1993, 268, 23016-23024.
- 112 - Vlatka V., Dragoslav J., Slobodan M. and Slobodan Macura.(1989) Sesquiterpene lactones from *Inula Helenium*. *Phytochemistry* ,Vol 28, 1763 - 1764.
- 113 - Paris R.R, Moyse H., (1965)Précis de matière médicale, Tome 1, Masson et Cie, Editeurs
- 114 - Bruneton J.,(1987) Eléments de phytochimie et de pharmacognosie, Technique & Documentation Lavoisier, Paris.
- 115 - références générales: J.B. Hendrikson, *Molecules of nature* , Benjamin New York, 1965 ;
- 116- P; Yates, *Structure Determination*, Benjamin, New York,1967  
W. Templenton, *introduction to the Chemistry of Terpenoids and steroids*, Butterworths, London, 1969.
- 117- D.G.H. Crout and T.A Geissman, *Organic Chemistry of Secondary Plant Metabolism*, Freeman Cooper, San Francisco, 1969  
- W.I. Taylor and A.R. Battersby, *Cyclopentanoid Terpene Derivatives*, Dekker, New York,1970.  
- I. Fleming, *Selected Organic Syntheses*. Wiley. London.1972.  
- A.A. Newman (ed), *Chemistry of terpenoids*, Academic Press, London, 1972.  
- K. Nakanishi, T. Goto, S. Iho , S. natori, and S. Nozoe, *Natural Product Chemistry*, Academic Press, New York, 3 Vols, 1974-74.  
- E.A. Bell and B.V. Charlwood (eds), *Secondary Plant Products*, Encyclopaedia of Plant Physiology, new series, vol. 8, Springer, Berlin, 1980  
- P. Manitto, *Biosynthesis of natural Products*, Ellis Horwood, Chichester, 1981.  
- J.W. Poter and S.L. Spurgeon (eds), *Biosynthesis of isoprenoid Compounds*, Academic Press, New York,2 vols, 1981-1984.

- J. Apsimon (ed), *Total Synthesis of Natural Products*, Wiley-interscience, New York, vols 1-7, 1973-88.
- K.B.G. Torrsell, *Natural Product Chemistry*, 2<sup>nd</sup> ed., Pergamon, Oxford, 1983.
- S. Dev and R. Misra (eds), *Diterpenoids*, CRC Press, Boca Raton, 4 vols, 1985
- T.W. Goodwin and E.I. Mercer, *Introduction to plant Biochemistry*, 2<sup>nd</sup> ed., Pergamon, Oxford, 1984
- W.D. Nes, G. Fuller, and L.S. Tsai (eds), *Isopentanoids in Plants*, Dekker, New York, 1984.
- W.F. German (ed.), *Chemistry of Monoterpenes*, Dekker, New York, 2 vols, 1985.- J. Mann, *Secondary Metabolism*, 2<sup>nd</sup> ed., Clarendon, Oxford, 1987.
- J.B. Harborne, *Introduction to ecological Biochemistry*, 3<sup>rd</sup> ed., Academic Press, London, 1989.
- B.V. Charlwood and D.V. Banthorpe (eds), *Methods in Plant Biochemistry, Terpenoids*, vol. 7, Academic Press, London, 1991.
- 118 - Isoprene rule : L. Ruzicka, Proc. Chem. So., 1959, 541 ;L. Ruzicka, Ann. Rev. Biochem., 1970, 42, 7.
- 119 - Monoterpenoids : W.W. Epstein and C.D. Poulter, Phytochemistry, 1973,12, 737  
B.V. Charlwood and D.V. Banthorpe, Prog. Phytochemistry, 1978,5, 65.R. Croteau, Chem. Rev., 1987, 87, 929.
- 120 -Sesquiterpenoids: J.B. Hendrikson, Tetrahedron, 1959, 7, 82.  
W. Parker, J.S. Roberts, and R. Ramage, quart. Rev. (London), 1967,21,331.  
G. Rucker, Angew. Chem. Intern. Edn English, 1973, 12 , 793  
D. Arigoni, Pure Appl. Chem., 1975, 41, 219.  
G.A. Cordell, Chem. Rev., 1976 , 76, 425.  
T.A. Geissman, Rec. Adv. Phytochemistry, 1973,6,65 (Lactones).  
F.T. Addicott (ed.), Abscissic Acid, Praeger, New York ,1983 (ABA).
- 46 - Triterpenoids: A. Eshenmoser, L. Ruzicka, O. Jeger. And D. Arigoni. Helv. Chem. Acta. 1955, 38 , 1980.  
J.D. Connoly, K.H. Overton, and J. Polonsky, Prog. Org. Chem., 1970, 2, 285.  
T.W. Goodwin, Rec. Adv. Phytochemistry, 1973, 6, 97.  
C. Grunwald, Ann. Rev. Plant Physiol., 1975, 26, 209.
- 47Steroids: G. Schropker, Ann. Rev. Biochem., 1981, 50, 585; 1982, 51, 555.  
H. Danielsson and J. Sjoval, Steroids and Bile Acids, Elseiver, Amsterdam, 1985  
E. Caspi, Tetrahedron, 1986, 42, 3.  
H.F. Deluca and H.K. Schones, Ann. Rev. Biochem., 1983, 52, 411 ( Vitamin D).

- 121 - Gershenzon (J.), Croteau (R.) - Regulation of monoterpene biosynthesis in higher plants. - *Rec. Adv. Phytochem.*, 1990, 24,99-160.
- 122 - Grayson (D.H.) - Monoterpenoids. - *Nat. Prod. Rep*, 1990, 7,327-347.
- 123 - Singh (N.), Luthra (T.), Sangwan (R.S.), Thakur (R.S.) – Metabolism of monoterpenoids in aromatic plants. - *Curr. Res. Med. Aromat. Plants*, 1990, 11, 174-19
- 124 - Banthorpe (D.V.) - Classification of Terpenoids and General Procedures for their Characterization. - in Charlwood (B.V.) & Banthorpe (D.V.) *Methods in Plant Biochemistry. Vol. 7 Terpenoids*, London San Diego, Academic Press, 191, pp. 1-41.
- 125 - Beale (M.H.) - Biosynthesis of C5-C20 Terpenoid Compounds. - *Nat. Prod. Rep.*, 1991, 8, 441-454.
- 126 - Goodwin (T.W.) - Biosynthesis of carotenoids : An overview. - *Methods Enzymol.*, 1993, 214, 330-340.
- 127 - Gray (J.C.) - Control of Isoprenoid Biosynthesis in Higher Plants. - *Adv. Bot. Res.*, 1987, 14, 25-91.
- 128- Kleinig (H.) - The role of plastids in isoprenoid biosynthesis. - *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 1989, 40, 39-59.
- 129 - Ruzicka (L.) - The isoprene rule and the biogenesis of terpenic compounds. - *Experientia*, 1953, 9, 357-396.
- 130- Arigoni (D.), Cane (D.E.), Shim (J.H.), Croteau (R.), Wagschal (K.) cyclization mechanisms and the use of natural abundance deuterium NMR
- 131-short cut or primrose path ? -*Phytochemistry*, 1993, 32, 623-631.
- 132- Pyun (H.J.), Coates (R.M.), Wagschal (K.C.), McGeady (P.), Croteau (R.) regioselectivity and Isotope Effects Associated with the methyl-methylene eliminations in the Enzyme-Catalyzed Biosynthesis of (*R*)- and (*S*)-Limonene. - *J. Org. Chem.*, 1993, 58, 3998-4009.
- 133 - Bricout (J.) *Recherches sur le fractionnement des isotopes stables de l'hydrogène et de l'oxygène dans quelques végétaux.* Thèse Doct. État Univ. Paris VI, 1978.
- 134 - Nishizawa (A.), Honda (G.), Tabata (M.) - Genetic control of the enzymatic formation of cyclic monoterpenoids in *Perilla frutescens*. -*Phytochemistry*, 1992, 31, 139-142.
- 135 - Gershenzon (J.), McCaskill (D.), Rajaonarivony (J.), Mihaliak (C.), Karp (F.), Croteau (R.) - Biosynthetic methods for plant natural products : new procedures for the study of glandular trichome constituents.
- 136 - *Rec. Adv. Phytochem.*, 1991, 25, 347-370.

- 137 - Dehal (S.S.), Croteau (R.) - Partial purification and characterization of two sesquiterpene cyclases from sage (*Salvia officinalis*) which catalyze the respective conversion of farnesyl pyrophosphate to humulene and caryophyllene. - *Arch. Biochem. Biophys.*, 1988, 261, 346-356.
- 138 - Croteau (R.), Purkett (P.T.) - Geranyl pyrophosphate synthase: Characterization of the enzyme and evidence that this chain-length-specific prenyltransferase is associated with monoterpene biosynthesis in sage (*Salvia officinalis*). - *Arch. Biochem. Biophys.*, 1989, 271, 524-535.
- 139 - Alonso (W.R.), Croteau (R.) - Purification and characterization of the monoterpene cyclase  $\alpha$ -terpinene synthase from *Thymus vulgaris*. - *Arch. Biochem. Biophys.*, 1991, 286, 511-517.
- 140 - Alonso (W.R.), Rajaonarivony (J.I.M.), Gershenzon (J.), Croteau (R.) - Purification of 4S-Limonene Synthase, a Monoterpene Cyclase from the Glandular Trichomes of Peppermint (*Mentha x piperita*) and Spearmint (*Mentha spicata*). - *J. Biol. Chem.*, 1992, 267, 7582-7587.
- 141 - Gijzen (M.), Lewinsohn (E.), Croteau (R.) - Characterization of the constitutive and wound-inducible monoterpene cyclases of Grand Fir (*Abies grandis*). - *Arch. Biochem. Biophys.*, 1991, 289, 267-273.
- 142 - Alonso (W.R.), Crock (J.E.), Croteau (R.) - Production and characterization of polyclonal antibodies in Rabbits to 4S-limonene synthase from spearmint (*Mentha spicata*). - *Arch. Biochem. Biophys.*, 1993, 301, 58-63.
- 143 - Funk (C.), Croteau (R.) - Induction and characterization of cytochrome P-450-dependent camphor hydroxylase in tissue cultures of common Sage (*Salvia officinalis*). - *Plant Physiol.*, 1993, 101, 1231-1237.
- 144 - Gershenzon (J.), Maffei (M.), Croteau (R.) - Biochemical and Histochemical Localization of Monoterpene Biosynthesis in the Glandular Trichomes of Spearmint (*Mentha spicata*). - *Plant Physiol.*, 1989, 89, 1351-1357.
- 145 - Gildemeister (E.) - Allgemeine Geschichte der ätherischen Öle - in Gildemeister (E.), *Die ätherischen Öle von E. Gildemeister und Fr. Hoffmann*, Leipzig, Schimmel & Co, 1910, 2e ed., pp. 15-98.
- 146 - Wallach (O.) - Zur Kenntnis der Terpene und ätherischen Oele. - *Justus Lieb. Ann. Chem.*, 1887, 238, 78-89.
- 147 - Lynen (F.), Eggerer (H.), Henning (U.), Kessel (I.) - Farnesylpyrophosphat und 3-Methyl-3-butenyl-1-pyrophosphat, die biologischen Vorstufen des Squalens. Zur Biosynthese der Terpene. III. - *Angew. Chem.*, 1958, 70, 738-742.



- 148 - Bloch (K.), Chaykin (S.), Phillips (A.H.), Waard (A.) – Mevalonic acid pyrophosphate and isopentenyle-pyrophosphate. - *J. Biol. Chem.*, 1959, 234, 2595-2604.
- 149 - Vollack (K.U.), Weber (T.), Zeiler (S.), Raudot (V.), Bach (T.J.) -Further studies on the Fe(II)/quinone-stimulated enzymatic conversion of acetyl-CoA into 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA in radish. - *2nd Symposium of the European Network on Plant Terpenoids*, Strasbourg, January 23-27, 1994.
- 150 - Van der Heijden (R.), Verpoorte (R.), Duine (J.A.) – Metabolic enzymes of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A in *Catharanthus roseus*. - *2nd Symposium of the European Network on Plant Terpenoids*, Strasbourg, January 23-27, 1994.
- 151 - Bach (T.J.) - Synthesis and metabolism of mevalonic acid in plants. - *Plant Physiol. Biochem.*, 1987, 25, 163-178.
- 152 - Ji (W.), Hatzios (K.K.), Cramer (C.L.) - Expression of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase activity in Maize tissues. - *Physiol. Plant.*, 1992, 84, 185-192.
- 153 - Moore (K.B.), Oishi (K.K.) - Characterization of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase activity during Maize seed development, germination, and seedling emergence. - *Plant Physiol.*, 1993, 101, 485-491.
- 154 - Boronat (A.), Balcells (L.), Campos (N.), Enjuto (M.), Lumbreras (V.), Marín (C.), Arró (M.), Becerra (B.), Ferrer (A.) – Molecular biology of *Arabidopsis thaliana* 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase. - *2nd Symposium of the European Network on Plant Terpenoids*, Strasbourg, January 23-27, 1994. 23-27, 1994.
- 155 - International Union of Pure and Applied Chemistry, Organic Division - Commission on Nomenclature of Organic Chemistry, and Commission on Physical Organic Chemistry (1994) Glossary of names of organic compounds and reactive intermediates based on structure (lire en ligne)
- 156 – Fahy E., Subramaniam S., Brown H.A., Glass C.K., Merrill A.H. Jr., Murphy R.C., Raetz C.R., Russell D.W., Seyama Y., Shaw W., Shimizu T., Spener F., van Meer G., VanNieuwenhze M.S., White S.H., Witztum J.L., Dennis E.A. (2005) A comprehensive classification system for lipids, *J Lipid Res.*, vol. 46(5):839-861
- 157 - (en) Pearson A., Brocks J.J., and Budin M. (2003) Phylogenetic and biochemical evidence for sterol biosynthesis in the bacterium *Gemmata obscuriglobus*, *Proc. Natl. Acad. Sci.* vol. 100(26):15352–15357.
- 158 - Bird C.W., Lynch J.M., Pirt F.J., and Reid W.W. (1971) Steroids and squalene in *Methylococcus capsulatus* grown on methane, *Nature*, vol. 230(5294):473-474.

- 159 - Schouten S., Bowman J.P., Rijkstra W.I., and Sinnighe Damste J.S. (2000) Sterols in a psychrophilic methanotroph *Methylosphaera hansonii*, *FEMS Microbiol Lett.*, vol. 186(2):193-195.
- 160– Xuefeng Huang, Lingyi Kong. *Steroids* 71 (2006) 171-176
- 161 - Mario G. de Carvalho et coll. *J. Braz. Chem. Soc.*, vol. 12, N° 4, 556-559, 2001
- Bina. S. Siddiki ,Muhammed Nadeem Kardar. *Phytochemistry* 58 (2001) 1195-1198.
  - Antonio G. Gonzalez et coll. *Tetrahedron* 57 (2001) 1283-1287.
- 162 – Jiau-Ching Ho, Chiu-Ming Chen, Lie-Cching Row. *Phytochemistry* 68 (2007) 631- 635
- I Ketut Adnyana, et coll. *J. Nat. Product.* 2001, 64, 360-363
  - Zelia Tostao et coll. *Fitoterapia* 76 (2005) 173-180.
  - Tatiana Rodriguez-Gamboa, Joao B.Fernandez Edson RODrigues Filho, M. Fatima das G. F. da Silva.*J. Braz. Chem. Soc.* Vol 12 N° 3 386-390, 2001
  - Thitima Rukachaisirikul, Puttan Siriwattanakit et coll *journal of ethnopharmacologie* 93(2004) 173-176
  - Jinhai Yi, Yingang Luo, Bogang Li, Guolin Zhang. *Steroids* 69 (2004) 809-815
  - J. Conrad, D. Dinchev, I. Klaiber, S. Mika, I. Kostova, W. Kraus. *Fitoterapia* 75 (2004) 117-122.
  - S.K. Srivastava, S.D. Srivastava, B.K. Chouksey. New antifungal constituents from *Terminalia alata*. *Fitoterapia* 72 (2001) 106-112.

## **ABREVIATIONS UTILISEES**

**AMP: Adénosine 5'-monophosphate**

**AMPC: Adénosine 3', 5'-monophosphate cyclique**

**ADP: Adénosine 5'-diphosphate**

**ATP: Adenosine tri-phosphate**

**CoA: coenzymeA**

**NAD: Nicotineamide Adenine dinucléotide**

**NADP<sup>+</sup>: Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate, forme oxydé; NADPH  
forme réduite**

**PPI : pyrophosphate d'isopentenyle**

**DMAPP : pyrophosphate de dimethylallyle**

**ADN : Acide déoxyribo-nucléique**

**CCM : Chromatographie sur couche mince**

**CCE : Chromatographie sur couche épaisse**

**EP : Ether de pétrole**

**AcoET : Acétate d'éthyle**

**MeOH : Méthanol**

**ppm : partie par million**

**$\delta$  : Déplacement chimique**

**nm : Nanomètre**

**RMN : Résonance magnétique nucléaire**

**UV : Ultrat violet**

**IR : Infra Rouge**

**Hz : Hertz**

**J : constante**

**$\lambda$  : Longueur d'onde**

**COSY: Correlation spectroscopy**

**HSQC: Heteronuclear Single Quantum Correlation**

**HMBC: Heteronuclear Multiple Bond Correlation**

**NOESY: Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy**

**HETCOR: Heteronuclear Chemical Shift Correlation**

**HMGCoA:  $\beta$ -hydroxy- $\beta$ -méthylgutaryl CoA**

**HMGL:  $\beta$ -hydroxy- $\beta$ -méthylgutaryl CoA lyase**

**MGH: 3-méthyl glutaconyl CoA hydratase**

**MVA: Acide 3R-mévalonique**

**GPP : géranyl pyrophosphate**

**FPP : Farnesyl pyrophosphate**

**GGPP : géranyl-géranyl-pyrophosphate**

**PPN : nerolidyl pyroprophosphate**

**Sil.G.254 : Gel de silice**

## **Summary:**

Many species of the flea-bane family were studied and several works were reported in the literature particularly on the *Pulicaria undulata*, the *Pulicaria crispa* and the *Pulicaria glutinosa*.

Medical plant, the *Pulicaria laciniata* of the astral order of the asteracees family is an Algerian and Tunisian endemic species (Biskra, Laghouat and south of Tunisia). It is also found in Aures region.

The study of the aerial parts of *Pulicaria laciniata* afforded eight products: two Guaianolides, one pseudo Guaianolide, two triterpene, three sterols;  $\beta$ - sitosterol,  $\beta$ - sitosterol ester and stigmasterol.

The separation and purification of the eight compounds were carried out by chromatographic methods and their structures were elucidated by spectroscopic techniques including 2D NMR experiments (Cosy, Hetcor, HMBC and Noesy).

## ملخص

أنواع متعددة من عائلة البليكار تمت دراستها و أعمال كثيرة نشرت خاصة عن البليكارية أندلطة, البلكارية كرسبة و أيضا البليكارية جليتينوزة. البليكارية لاسنياتا نبات طبي مميز من نضام الأسترال و عائلة الأستراسي . نوع خاص بالجزائر وتونس (بسكرة, الأغواط و الجنوب التونسي) و متواجد في ناحية الاوراس.

الدراسة الكيميائية النباتية للأجزاء الهوائية للبليكارية لاسنياتا أنتجت ثمانية مركبات نقية: اثنان جوايانوليد, واحد بسدو جوايانوليد, اثنان ثلاثي تربان و ثلاثة سترول ( $\beta$  ستوسترول ,  $\beta$  ستوسترول أسترو و ستقمسترول) فصل و تنقية هذه المركبات تمت بالطرق الكروماتوغرافية المختلفة العادية و تم التعرف على الصيغ الكيميائية بالتقنيات الطيفية المختلفة و التجاربتنائية الابعاد(كوزي, هاتكور, النيوزي....)

## **Résumé:**



Plusieurs espèces de la famille des pulicaires ont été étudiées et plusieurs travaux ont été reportés dans la littérature, particulièrement sur le *Pulicaria Undulata*, le *Pulicaria Crispa* ainsi que le *Pulicaria Glutinosa*.

Plante médicinale par excellence, le *Pulicaria Laciniata*, de l'ordre des astérales et de la famille des astéracées est une espèce propre à l'Algérie et la Tunisie (Biskra, Laghouat et le sud Tunisien). On le rencontre aussi dans la région des Aurès.

L'étude phytochimique des parties aériennes du *Pulicaria laciniata* nous a conduit à huit produits purs : deux guaianolides, un pseudo- guaianolide, deux triterpenes trois stérols ;, le  $\beta$ - sitostérol, le  $\beta$ - sitostérol ester et le stigmastérol.

La séparation et la purification des huit composés ont été effectuées par les méthodes chromatographiques habituelles (colonne, CCE....) et leurs structures déterminées par les différentes techniques spectroscopiques ainsi que les expériences 2D (Cosy, Hetcor, HMBC, Noesy).