

Elucidation de la structure du composé 90109-12x15

- Le composé 90109-12x15 se présente sous forme de poudre jaune.
- Fluorescence sous lampe Wood : Jaune.
- $R_f = 0.44$ dans le système (Acétate d'éthyle/ acide acétique/ acide formique/ H₂O : 80 ml/ 5ml/ 5ml/ 10ml).

•Analyses spectroscopiques

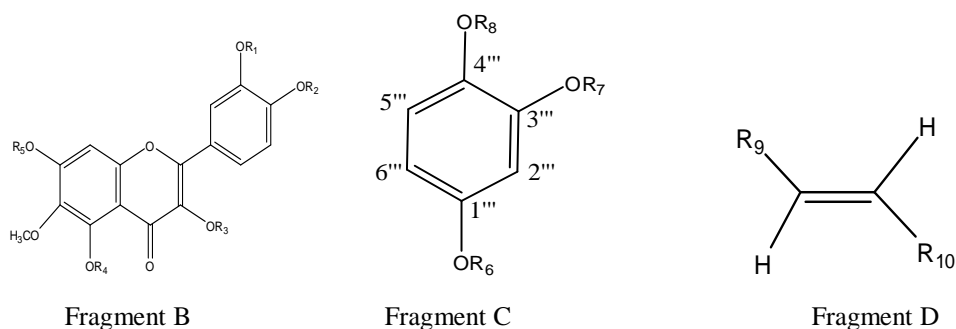
Dans le spectre RMN du proton enregistré dans le CD₃OD du composé 90109-12.15 (Spectres d.1 et d.2), on observe de nombreux pics entre $\delta_H = 6.0$ ppm et $\delta_H = 7.8$ ppm, ce qui laisse présager la présence de plusieurs noyaux aromatiques dans la molécule. A $\delta_H = 5.13$ ppm (d, $J = 7.4$ Hz), on remarque la présence d'un seul signal susceptible de correspondre à un proton anomérique d'un seul ose, ce qui est confirmé par la présence dans le spectre de RMN du ¹³C (Spectres d.3 et d.4) de 5 signaux ($\delta_C = 74.7$ ppm, $\delta_C = 77.8$ ppm, $\delta_C = 72.1$ ppm, $\delta_C = 75.5$ ppm, $\delta_C = 64.7$ ppm) caractéristiques des carbones d'un sucre (Fragment A).

Le spectre de RMN du proton étalé (Spectre d.2) présente des déplacements chimiques compatibles avec ceux observés pour une quercétine substituée (Fragment B). D'une part: on observe un système ABX à $\delta_H = 7.68$ ppm (d, $J = 2.1$ Hz, 1H) et $\delta_H = 6.81$ ppm (d, $J = 8.5$ Hz) et $\delta_H = 7.55$ ppm (dd, $J = 2.1$ Hz, $J = 8.5$ Hz, 1H) attribués respectivement aux protons H-2', H-5' et H-6' du noyau B, témoignant ainsi une substitution en 3' et 4'.

Un singulet à $\delta_H = 6.60$ ppm correspondant au proton H-8 du cycle A. La présence d'un méthoxyle est caractérisée par l'apparition d'un singulet à $\delta_H = 3.90$ ppm cela est confirmé par la RMN du ¹³C (Spectres d.3 et d.4) par l'apparition d'un carbone à $\delta_C = 61.7$ ppm. D'autre part on observe un singulet (2H) à $\delta_H = 6.51$ ppm correspondant aux protons (H-2'''- H-6''') d'un noyau aromatique paradisubstitué (fragment C).

On observe également deux doublets : à $\delta_H = 6.12$ ppm, H α (d, $J = 15.8$ Hz) et à $\delta_H = 7.37$ ppm, H β (d, $J = 15.8$ Hz) indiquant la présence de deux protons vicinaux d'une double liaison de configuration *trans*. Leurs déplacements chimiques déblindés pourraient être dûs à une conjugaison de la double liaison avec un carbonyle (Fragment D).

Fragment A : L'ose



A partir des structures partielles déterminées par une analyse du spectre RMN ^1H et du carbone ^{13}C , on peut déduire les attributions du carbone à partir des spectres Cosy (^1H - ^1H), (Spectre d.5), HSQC étalés (Spectres d.6 et d.7) et HMBC étalé (Spectre d.8).

Les spectres RMN ^1H d.1 et d.2, permettent d'attribuer les signaux à $\delta_{\text{H}} = 3.85$ ppm (*ddd*, $J = 2.4$ Hz, $J = 9.0$ Hz), $\delta_{\text{H}} = 4.32$ ppm (*dd*, $J = 7.3$ Hz et $J = 11.9$ Hz) et $\delta_{\text{H}} = 4.62$ ppm (*dd*, $J = 2.4$ Hz et $J = 11.9$ Hz) aux protons H-5'', H-6_a'' et H-6_b'' d'un sucre acétylé en 6. Deux multiplets qui apparaissent à $\delta_{\text{H}} = 3.58$ ppm et un signal à $\delta_{\text{H}} = 3.45$ ppm (*t*, $J = 9.0$ Hz) (Spectre d.7 HMQC étalé) ont été attribués respectivement aux protons H-2'', H-3'' et H-4'' d'un glucose conformément à ceux de la littérature [9].

L'expérience de corrélation hétéronucléaire à longue distance HMBC étalé (Spectre d.8) montre un signal du méthoxyle à $\delta_{\text{H}} = 3.9$ ppm est corrélé avec le signal C-6 à $\delta_{\text{C}} = 133.4$ ppm de l'aglycone, indiquant que le groupement méthoxyle est attaché à la position C-6.

L'HMBC permet aussi d'établir les liaisons entre les différents fragments A, B, C, D déterminés. En effet le spectre HMBC du composé 90109-12x15 montre d'une part une tache de corrélation correspondant au doublet à $\delta_{\text{H}} = 7.37$ ppm attribué à H- β et aux signaux à $\delta_{\text{C}} = 115.6$ ppm et à $\delta_{\text{C}} = 122.3$ ppm attribués aux carbones C-2''' et C-6''' et d'autre part une tache de corrélation correspondant au doublet à $\delta_{\text{H}} = 6.12$ ppm attribué à H- α et au signal à $\delta_{\text{C}} = 127.4$ ppm attribué au carbone quaternaire C-1''', cela permet de lier le fragment C au fragment D.

D'autre part, on observe un doublet dédoublé mal résolu à 6,52 ppm (*dd*, $J = 8,0$; $J = 1,4$ Hz, 1H) attribué à H-6''' qui s'interpénètrent avec un autre doublet apparaissant à 6,50 ppm (*d*, $J = 8,0$ Hz, 1H) attribué à H5''' caractéristiques d'un noyau caféique, le proton H2''' apparait sous forme de singulet large à 6,70 ppm.

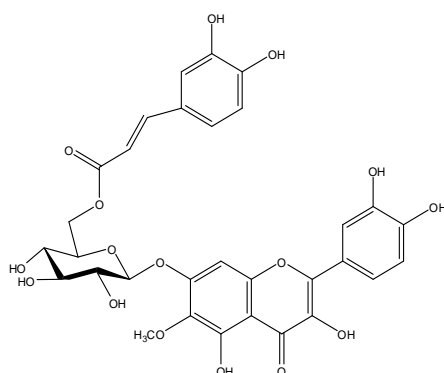
On peut aussi distinguer deux taches de corrélations correspondants aux protons α , β couplés au carbone quaternaire résonnant à un champ faible à $\delta_{\text{C}} = 169.1$ ppm, indiquant qu'il s'agit d'un carbone d'un carbonyle d'une fonction ester.

Le carbone en question est également corrélé aux protons résonnant à $\delta_{\text{H}}= 4.32$ ppm et $\delta_{\text{H}}= 4.62$ ppm correspondant aux protons H-6_a" et H-6_b" confirmant ainsi le carbone acétylé du glucose (Fragment A).

Finalement on peut déterminer la position de la jonction de ce fragment avec la quercétine à travers une tache de corrélation correspondant au proton anomérique couplé au carbone dont le signal apparaît à $\delta_{\text{C}}= 157.3$ ppm indiquant une glycosylation en position 7.

L'absence d'autres signaux dans le spectre RMN ¹H permet d'identifier les positions 3''' et 4''' à des hydroxyles.

La structure du composé 90109-12.15 est donc établie comme étant 7-*O*-[6-*O*-cafféoyl]-glucosyl]-6-méthoxyquercétine.



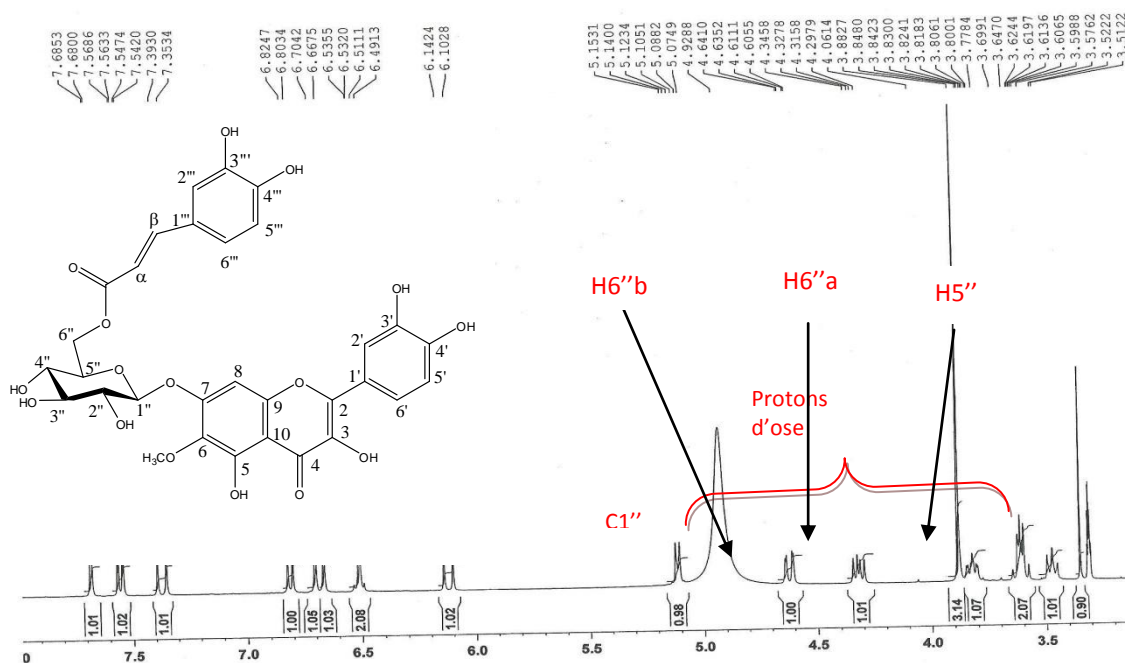
7-*O*-[6-*O*-cafféoyl]-glucosyl]-6-méthoxyquercétine.

Les déplacements chimiques observés en RMN du ¹H et du ¹³C sont présentés dans le tableau III.7.

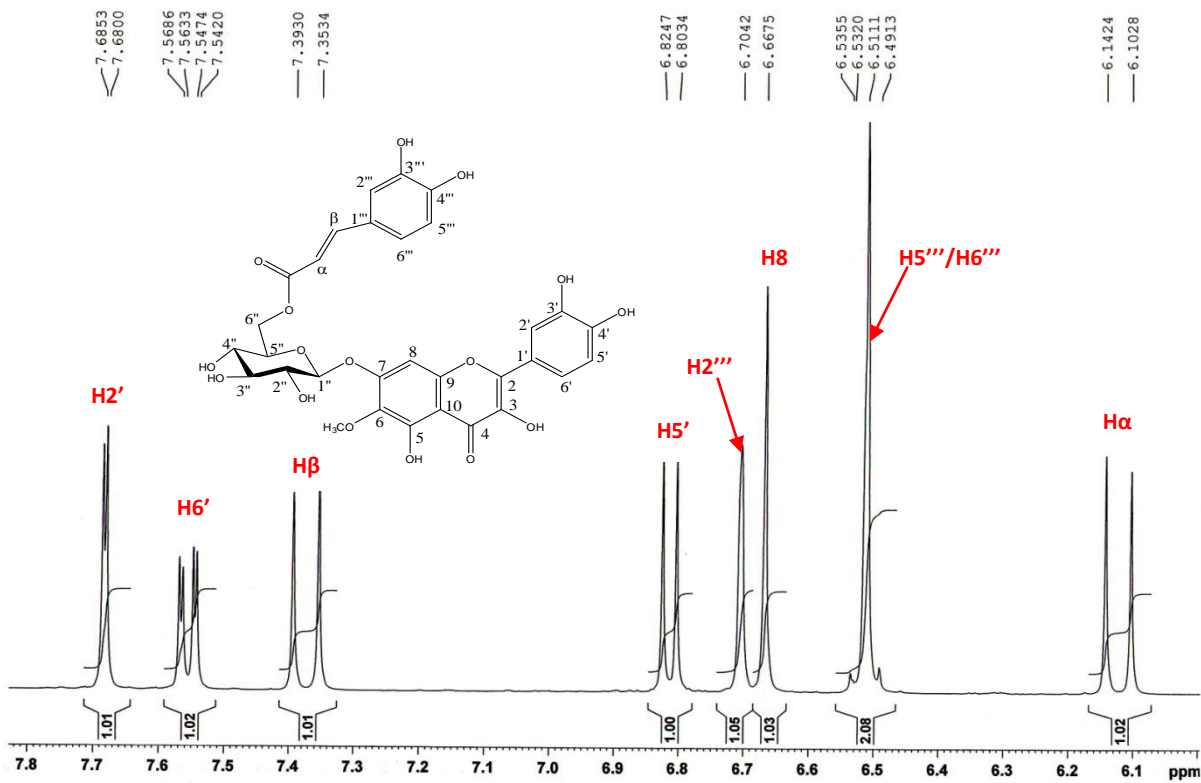
Tableau III.7 : RMN du ^1H et du ^{13}C (400 MHz, δ , J en Hz ; 100 MHz, δ) du composé 90109-12x15 dans le CD_3OD .

	Composé 90109-12x15	
	^1H	^{13}C
Génine	δ (ppm)	
2	-	148.9
3	-	137,3
4	-	177.3
5	-	152.9
6	-	133,4
7	-	157.3
8	6.66 (s)	95.2
9	-	153,1
10	-	106,7
1'	-	123.9
2'	7.68 <i>d</i> ($J= 2.1$ Hz, 1H)	116.3
3'	-	146.1
4'	-	148.8
5'	6.81 <i>d</i> ($J= 8.5$ Hz, 1H)	116.2
6'	7.55 <i>dd</i> ($J= 2.1$ Hz, $J= 8.5$ Hz, 1H)	122.0
OCH_3	3.9 s (3H)	61.7
Glucose		
1''	5.13 <i>d</i> ($J= 7.4$ Hz, 1H)	101.6
2''	3.58 <i>m</i>	74.7
3''	3.58 <i>m</i>	77.8
4''	3.45 <i>t</i> ($J= 9$ Hz, 1H)	72.1
5''	3.85 <i>td</i> ($J= 2.4$ Hz, $J= 9$ Hz, 1H)	75.5
6''	a : 4.32 <i>dd</i> ($J= 11.9$, $J= 7.3$ Hz, 1H) b : 4.62 <i>dd</i> ($J= 2.4$ Hz, $J= 11.9$ Hz, 1H)	64.7
Caffeoyl		
α	6.12 <i>d</i> ($J= 15.8$ Hz, 1H)	114.5
β	7.37 <i>d</i> ($J= 15.8$ Hz, 1H)	147.5
1'''	-	127.4
2'''	6.70 <i>s large</i> (1H)	115.6

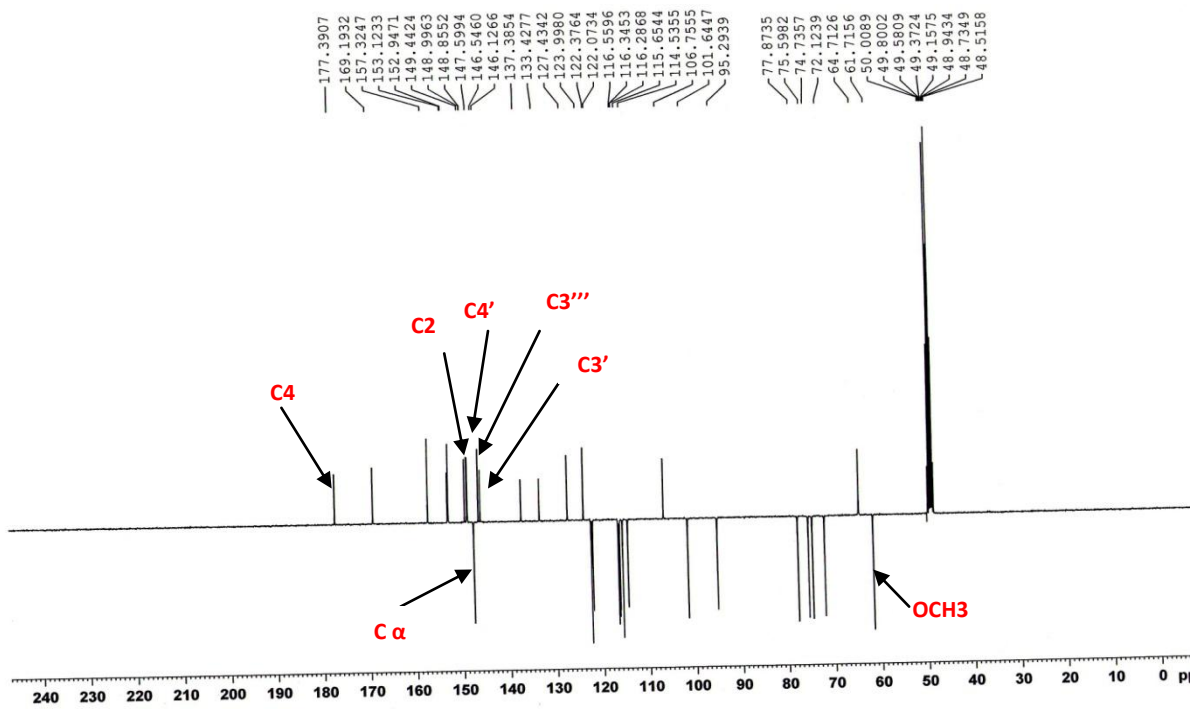
3'''	-	146.5
4'''	-	149.5
5'''	6,50 <i>d</i> ($J=8,0$ Hz, 1H)	116.5
6'''	6.52 <i>dd</i> ($J= 1,4, 8,0$ Hz) (1H)	122.3
CO	-	169.1



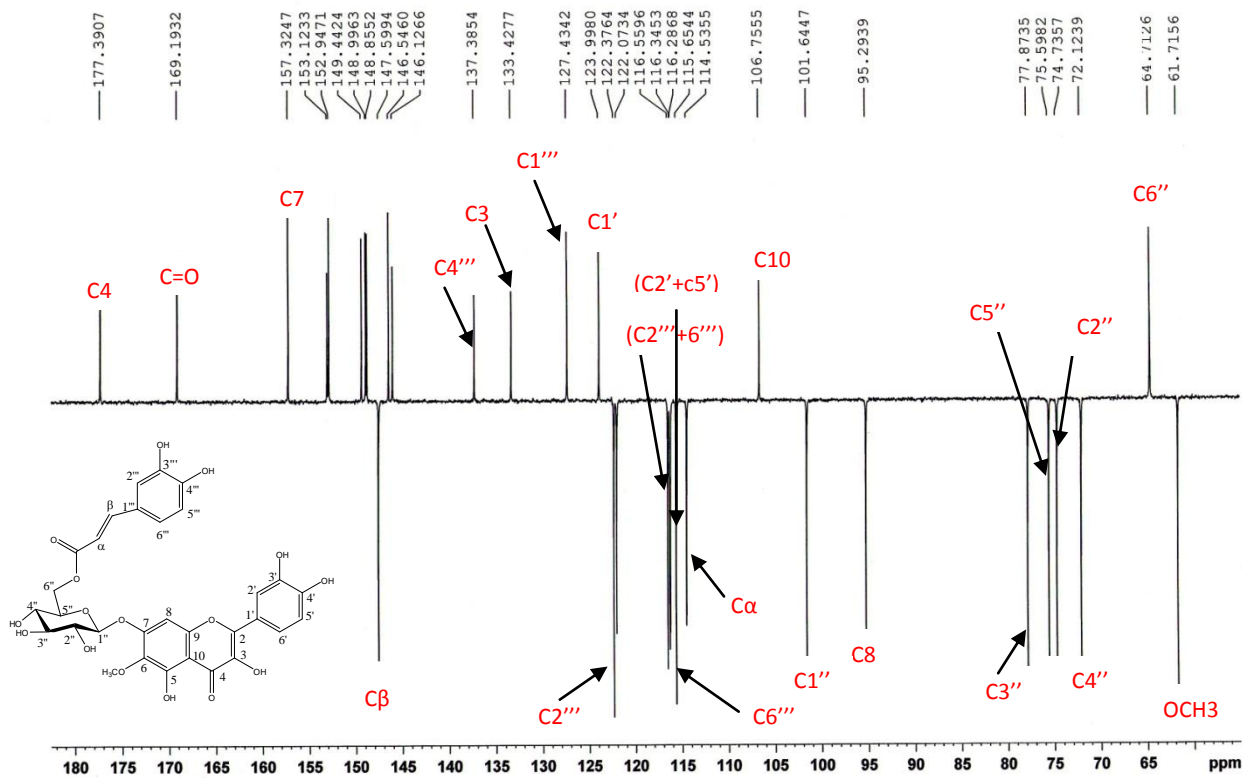
Spectre d.1 : Spectre RMN ^1H du composé 90109-12x15 (400 MHz, CD_3OD).



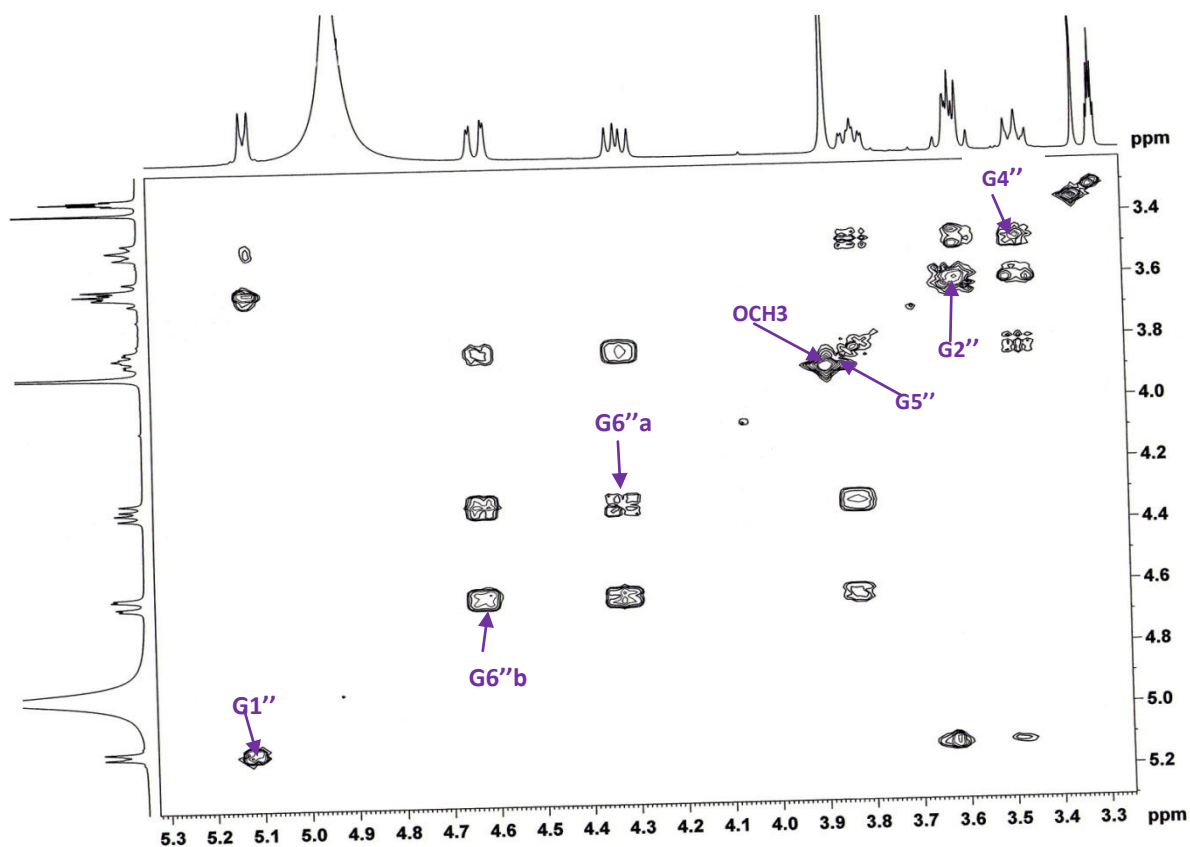
Spectre d.2 : Spectre RMN ^1H étalé (6.1 à 7.8 ppm) du composé 90109-12x15 (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_8\text{OD}$).



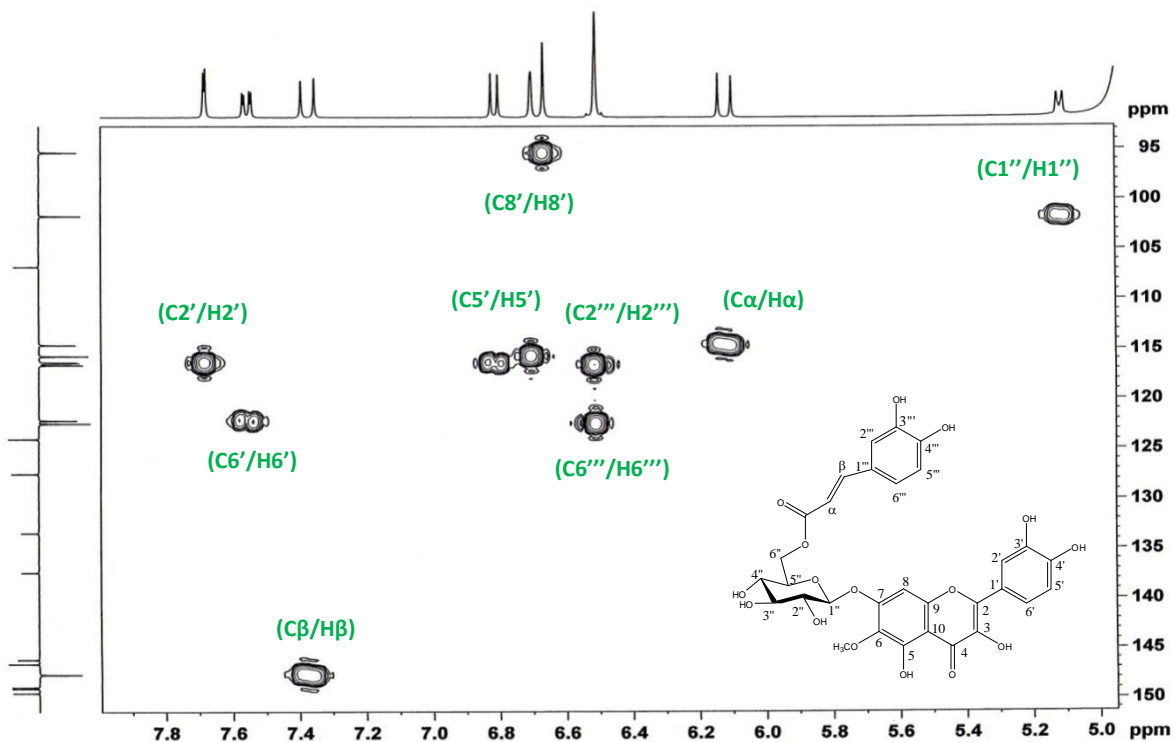
Spectre d.3 : Spectre RMN ^{13}C DEPT 135 du composé 90109-12x15 (100 MHz, CD_3OD).



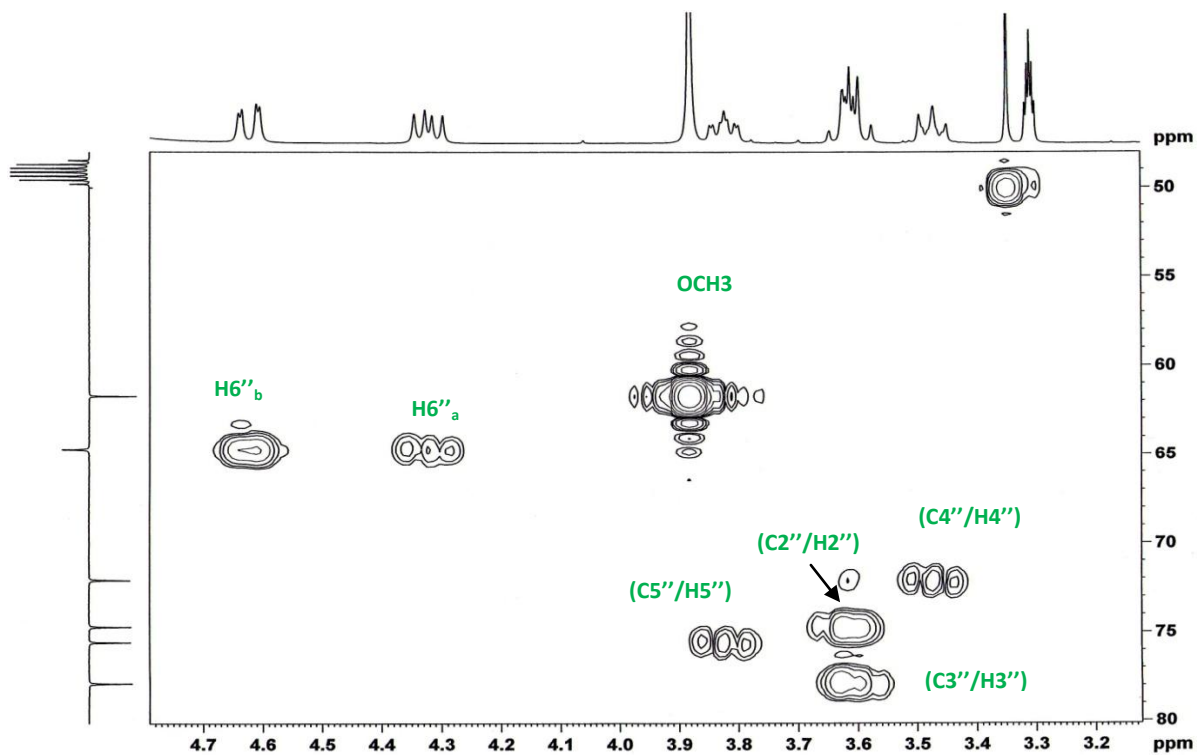
Spectre d.4 : Spectre RMN ^{13}C DEPT 135 étalé (65 à 180 ppm) du composé 90109-12x15 (100 MHz, CD_3OD).



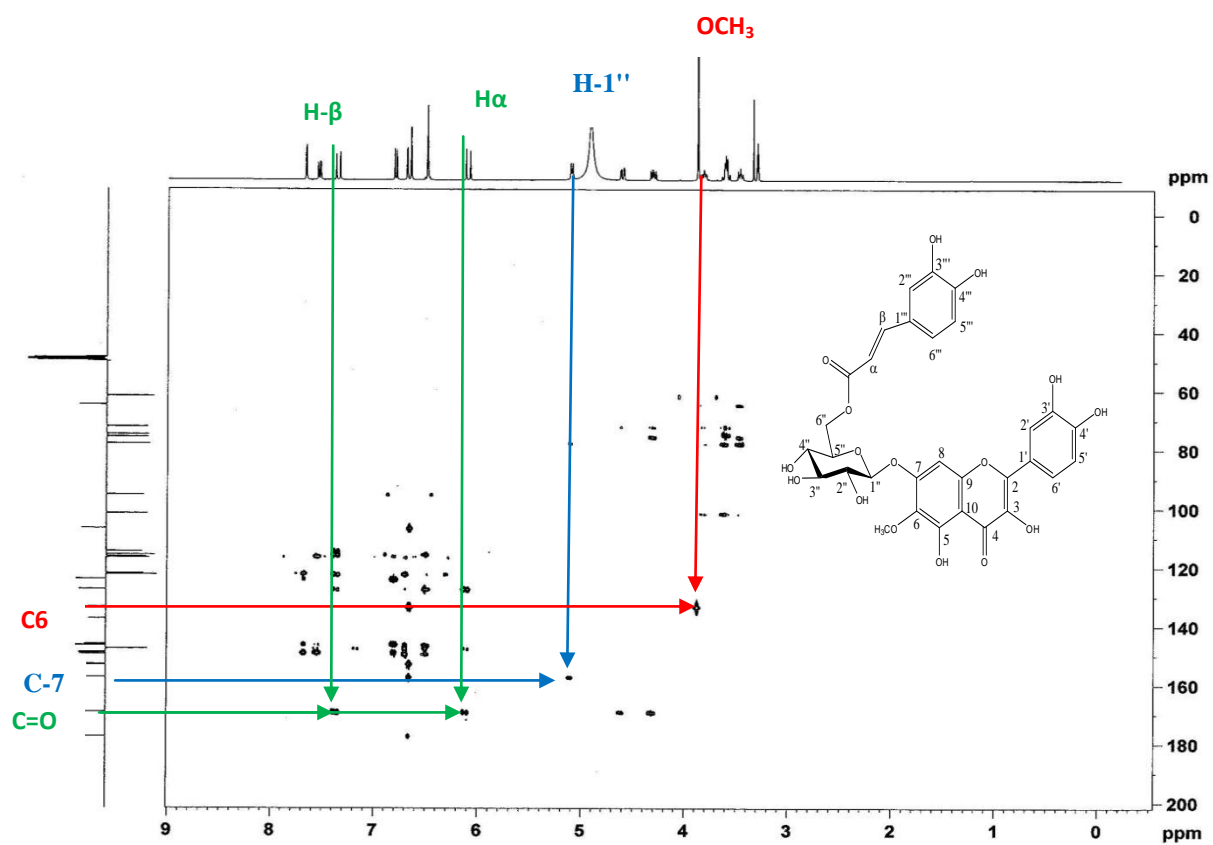
Spectre d.5 : Spectre Cosy étalé (3.4 à 5.2 ppm) du composé 90109-12x15 (400 MHz, CD_3OD).



Spectre d.6 : Spectre HMQC étalé (95 à 150 ppm) du composé 90109-12x15 (400 MHz, CD₃OD).



Spectre d.7 : Spectre HMQC étalé (50 à 80 ppm) du composé 90109-12x15 (400 MHz, CD₃OD).



Spectre d.8 : Spectre HMBC étalé (0 à 200 ppm) du composé 90109-12x15 (400 MHz, CD₃OD).

e. Elucidation de la structure du composé 130109-12à23

•Analyses physico-chimiques

- Le composé 130109-12à23 se présente sous forme de poudre jaune.
- Fluorescence sous lampe Wood : Jaune.
- $R_f = 0.44$ dans le système (Acétate d'éthyle/acide acétique/acide formique/ H₂O: 80 :5:5:10).

•Analyses spectroscopiques

Le spectre de RMN ¹H enregistré dans le CD₃OD du composé 130109-12à23 (Spectres e.1) permet d'observer une ressemblance avec le produit précédent (90109-12x15) identifié comme étant : 7-O-[6-O-caffeoyl-glucoside]-6-méthoxyquercétine.

On observe de nombreux pics entre $\delta_H = 6.0$ ppm et $\delta_H = 7.8$ ppm, ce qui laisse présager la présence de plusieurs noyaux aromatiques dans la molécule.

Le signal du carbone anomérique et les signaux des cinq carbones caractéristiques d'un sucre confirment la présence d'un glucose : ($\delta_C = 99.6$ ppm, $\delta_C = 74.8$ ppm, $\delta_C = 75.8$ ppm, $\delta_C = 72.1$ ppm, $\delta_C = 75.8$ ppm et $\delta_C = 65.2$ ppm) attribués respectivement aux carbones C-1", C-2", C-3", C-4", C-5" et C-6".

Le spectre de RMN du proton étalé (Spectre e.2) présente des déplacements chimiques compatibles avec ceux observés pour la quercétine. En effet, on observe un système ABX à :

- $\delta_H = 7.72$ ppm (*d*, $J = 2.1$ Hz, 1H) attribué à H-2'.
- $\delta_H = 6.83$ ppm (*d*, $J = 8.5$ Hz, 1H) attribué à H-5'.
- $\delta_H = 7.6$ ppm (*dd*, $J = 2.1$ Hz, $J = 8.5$ Hz, 1H) attribué à H-6'.
- Une substitution en 3' et 4'.

La présence d'un méthoxyle est caractérisée par l'apparition d'un singulet à $\delta_H = 3.89$ ppm, cela est confirmé par la RMN du ¹³C (Spectre e.2) par l'apparition d'un carbone à $\delta_C = 61.6$ ppm.

D'autre part et sur les mêmes spectres, on observe deux doublets à $\delta_H = 6.53$ ppm (*d*, $J = 8.2$ Hz, 1H) et à $\delta_H = 6.76$ ppm (*d*, $J = 1.7$ Hz, 1H) correspondant aux protons H-5''' et H-2''' et un doublet de doublet à $\delta_H = 6.57$ ppm correspondant à H6''' (*dd*, $J = 1.7$, $J = 8.2$ Hz, 1H) caractéristiques d'un noyau aromatique caféique.

Ces données additionnées supposent la présence d'un cycle aromatique substitué par deux groupements hydroxyles en C3''' et C4''' et comportant 3H attribués respectivement à 2''', 5''' et 6''').

On observe également deux doublets : à $\delta_H = 6.17$ ppm, H α (*d*, $J = 15.8$ Hz, 1H) et à $\delta_H = 7.42$ ppm, H β ($J = 15.8$ Hz, 1H) indiquant la présence de deux protons vicinaux d'une double

liaison de configuration *trans*. Par ailleurs, le spectre RMN ^{13}C (spectre e.2) montre entre autre la présence d'un groupement (C=O) d'ester conjugué à $\delta_{\text{C}} = 169,1$ ppm.

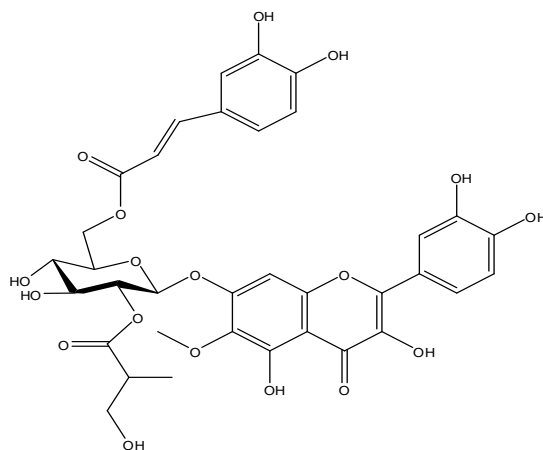
Le spectre de l'analyse HMBC (spectre e.11) montre des taches de corrélation entre les protons du groupement CH=CH et le carbone de l'ester permettant ainsi de les relier et confirmant la conjugaison du carbonyle de l'ester et de la double liaison formant ainsi un groupement caffeoyl. Sur ce même spectre on observe des taches de corrélation nettes entre le carbone du carbonyle ($\delta_{\text{C}} = 169,1$ ppm) et les protons H-6''a ($\delta_{\text{H}} = 4.38$ ppm) et H-6''b ($\delta_{\text{H}} = 4.65$ ppm) du glucopyranosyle menant ainsi à une jonction entre l'oxygène en C-6'' du glucose et le groupement caffeoyl.

Le spectre de l'expérience HMBC (spectre e.10) permet aussi de constater une corrélation entre le proton anomérique du glucose ($\delta_{\text{H}} = 5.36$ ppm) et le carbone à $\delta_{\text{C}} = 157.1$ ppm attribué à C-7. Ce qui impose la substitution de ce noyau par le groupement 6'' caffeoyl-*O*- β -D-glucopyranosyle.

Les spectres HMBC e.8-e.10 montrent la présence d'un groupement méthyle à ($\delta_{\text{H}} = 1.22$ ppm) corrélé avec un carbone tertiaire $\delta_{\text{C}} = 43.7$ ppm d'une fonction CH, avec un carbone à $\delta_{\text{C}} = 65.3$ ppm d'une fonction CH₂OH et avec un groupement carbonyle C=O à $\delta_{\text{C}} = 175.7$ ppm. Ce dernier montre aussi une jonction avec l'oxygène en C2'' du glucose ($\delta_{\text{H}} = 5.14$ ppm), ce qui confirme la présence d'un groupement propanoyl attaché en position 2'' du glucose.

L'ensemble de ces données mène à la structure suivante, isolée et rapportée pour la première fois d'une source végétale, on peut la nommer:

7-*O*-[6-*O*-caffeoyl-2-*O*-(3-hydroxy-2méthylpropanoyl)-glucoside]-6-méthoxyquercétine



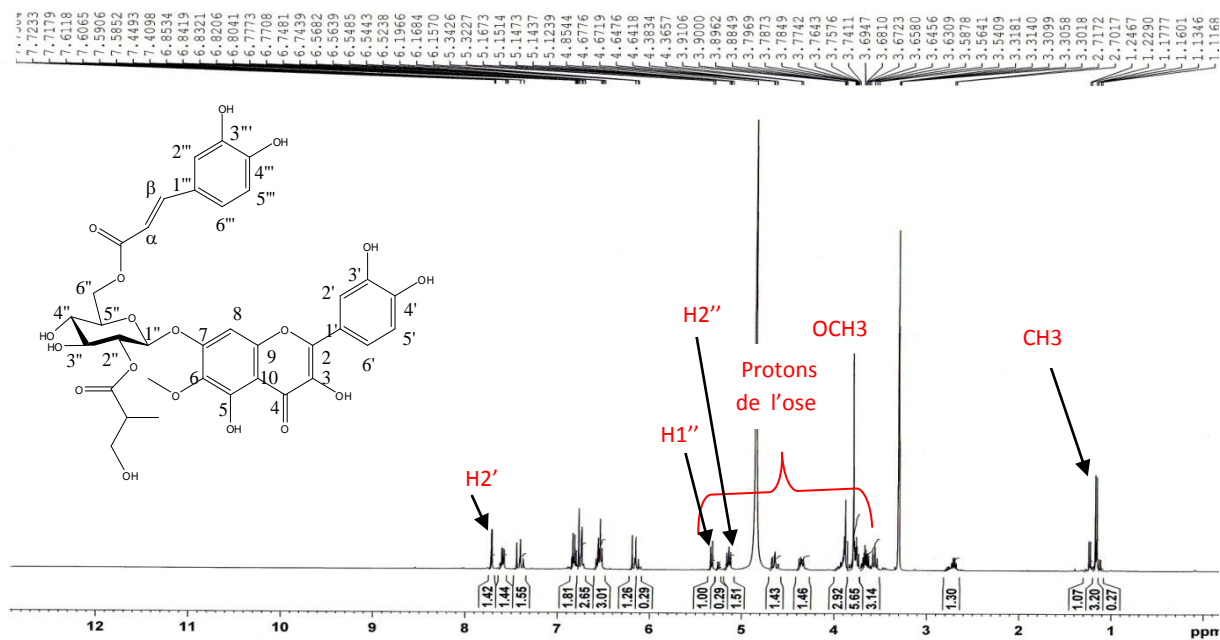
7-*O*-[6-*O*-caffeoyl-2-*O*-(3-hydroxy-2méthylpropanoyl)-glucoside]-6-méthoxyquercétine

Le tableau III.8 rassemble les données spectroscopiques relatives à cette molécule.

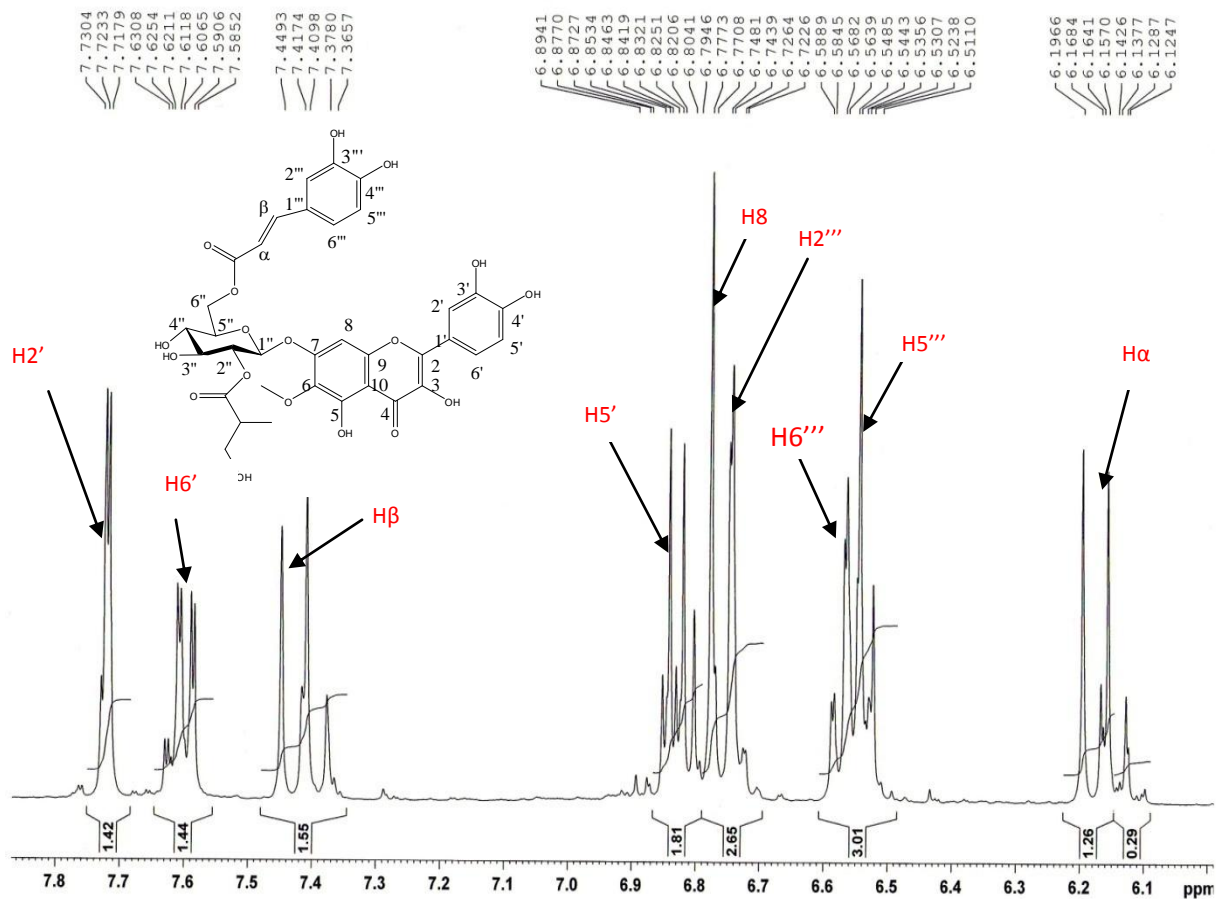
Tableau III.8 : RMN du ^1H et du ^{13}C (400 MHz, δ , J en Hz ; 100 MHz, δ) du composé 130109-12à23 dans le CD_3OD .

	Composé 130109-12à23	
	^1H	^{13}C
Génine	δ (ppm)	
2	-	149.1
3	-	137.5
4	-	177.5
5	-	153.3
6	-	133.7
7	-	157.1
8	6.77 s	95,4
9	-	152.9
10	-	107.0
1'	-	124,0
2'	7.72 d ($J= 2.1$ Hz, 1H)	116.3
3'	-	146.2
4'	-	149,1
5'	6.83 d ($J= 8.5$ Hz, 1H)	116.3
6'	7.6 dd ($J= 2.1$ Hz, $J= 8.5$ Hz, 1H)	122.0
O-CH ₃ - (C ₆)	3.89 s (3H)	61.6
Glucose		
1"	5.33 d ($J= 7.9$ Hz, 1H)	99.6
2"	5.14 t ($J=9.4$ Hz, 1H)	74.8
3"	3.78 t ($J=9.3$ Hz, 1H)	75.8
4"	3.56 t ($J=9.3$ Hz, 1H)	72.1
5"	3.89 m	75.8
6"	a : 4.35 dd ($J= 12.0$, $J=7.1$ Hz, 1H) b : 4.66 dd ($J= 2.3$ Hz, $J= 12.0$ Hz, 1H)	65.2
Caffeoyl		
α	6.17 d ($J= 15.8$ Hz, 1H)	114.5

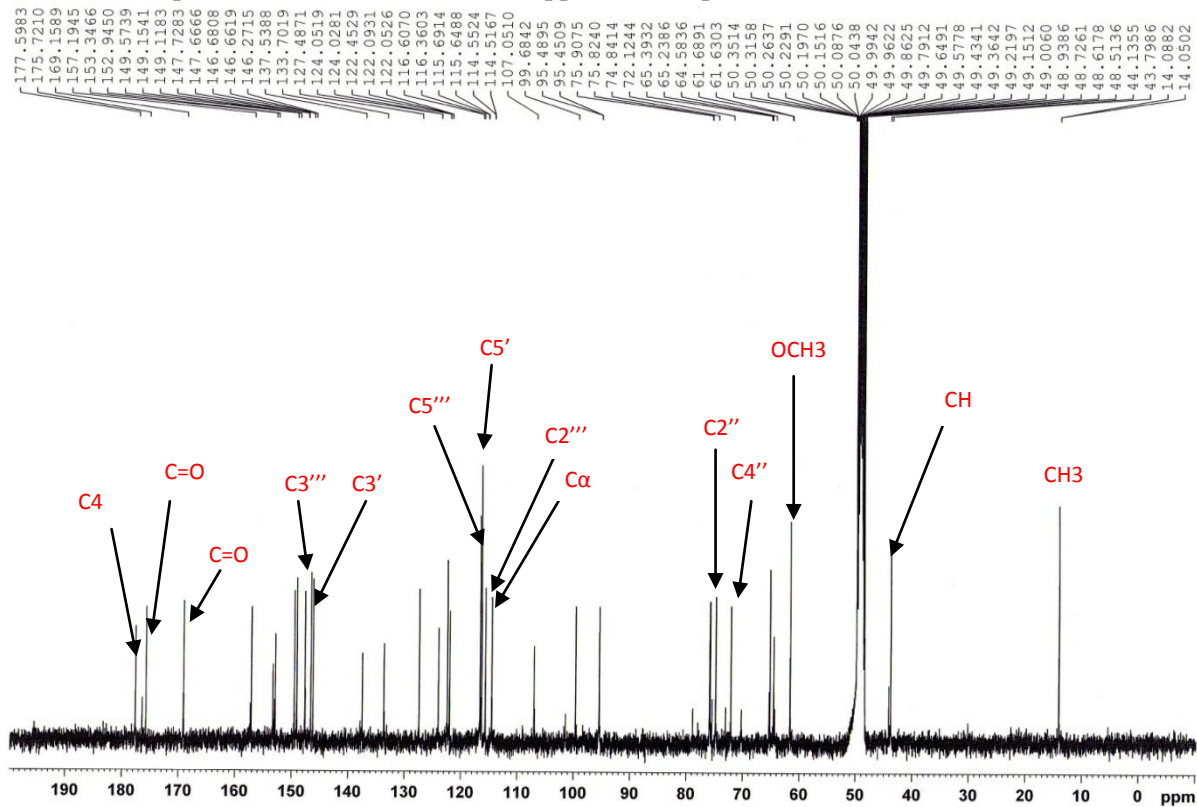
β	7.42 d ($J= 15.8$ Hz, 1H)	147.7
1'''	-	127,4
2'''	6.76 d ($J= 1.7$ Hz, 1H)	115.6
3'''	-	146.6
4'''	-	149.5
5'''	6.53 d ($J= 8.2$ Hz, 1H)	116.6
6'''	6.57 dd ($J= 1.7$ Hz, $J= 8.2$ Hz, 1H)	122.4
CO	-	169.1
Propanoyl		
CO (C ₂ '')	-	175.7
CH	Sextup, 2,71 ppm ($J= 6.20$ Hz, 1H)	43.7
CH ₃	1.16 d (3H) ($J= 7.0$ Hz, 3H)	14.0
CH ₂ OH	Ha= 3,78 dd ($J=6,6$ Hz ; $J=10,9$ Hz) Hb=3,65 dd ($J= 5,9$ Hz ; $J=10.8$ Hz)	65.3



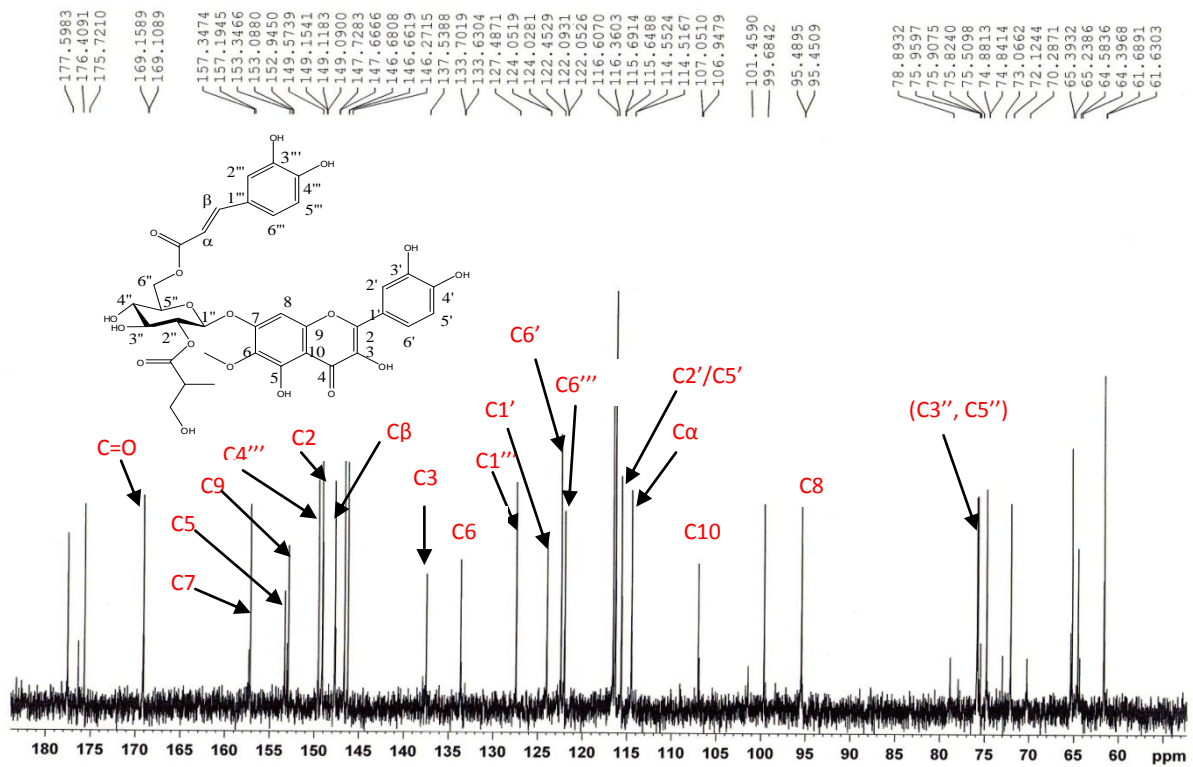
Spectre e.1: Spectre RMN ¹H du composé 130109-12a23 (400 MHz, CD₃OD)



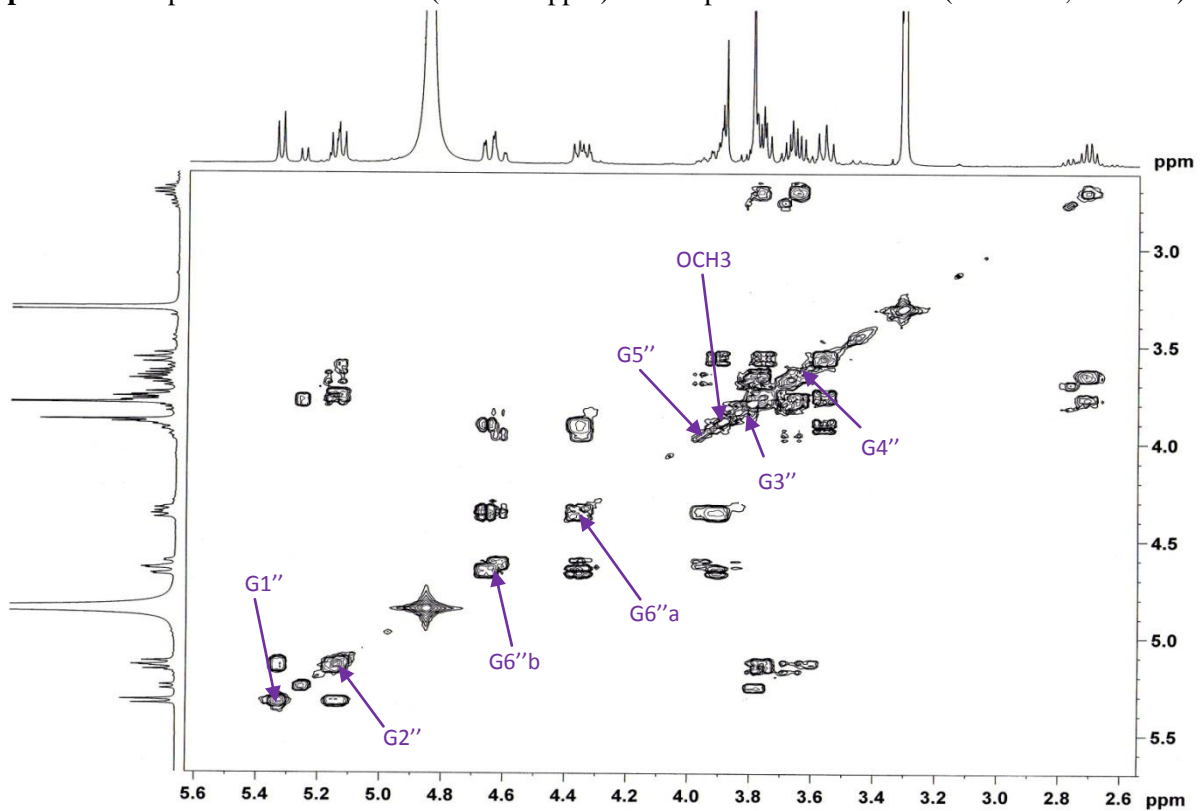
Spectre e.2 : Spectre RMN ^1H étalé (6.1 à 7.8 ppm) du composé 130109-12à23 (400 MHz, CD_3OD).



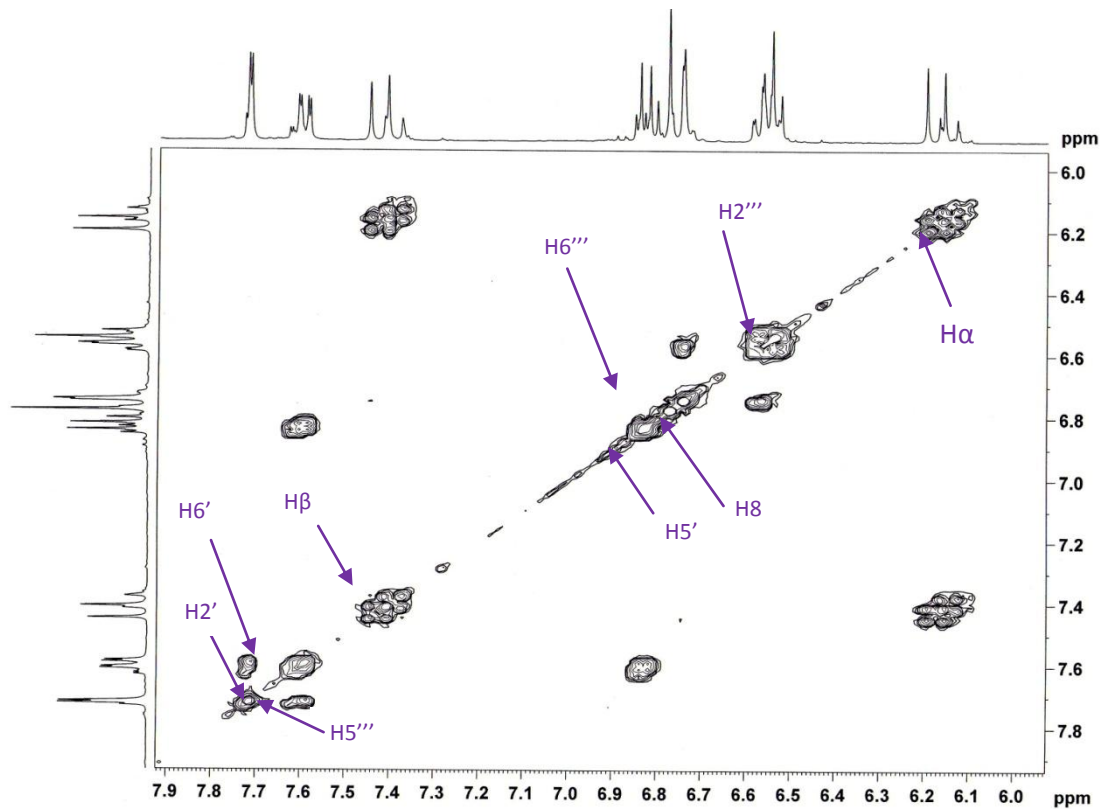
Spectre e.3 : Spectre RMN ^{13}C du composé 130109-12à23 (100 MHz, CD_3OD).



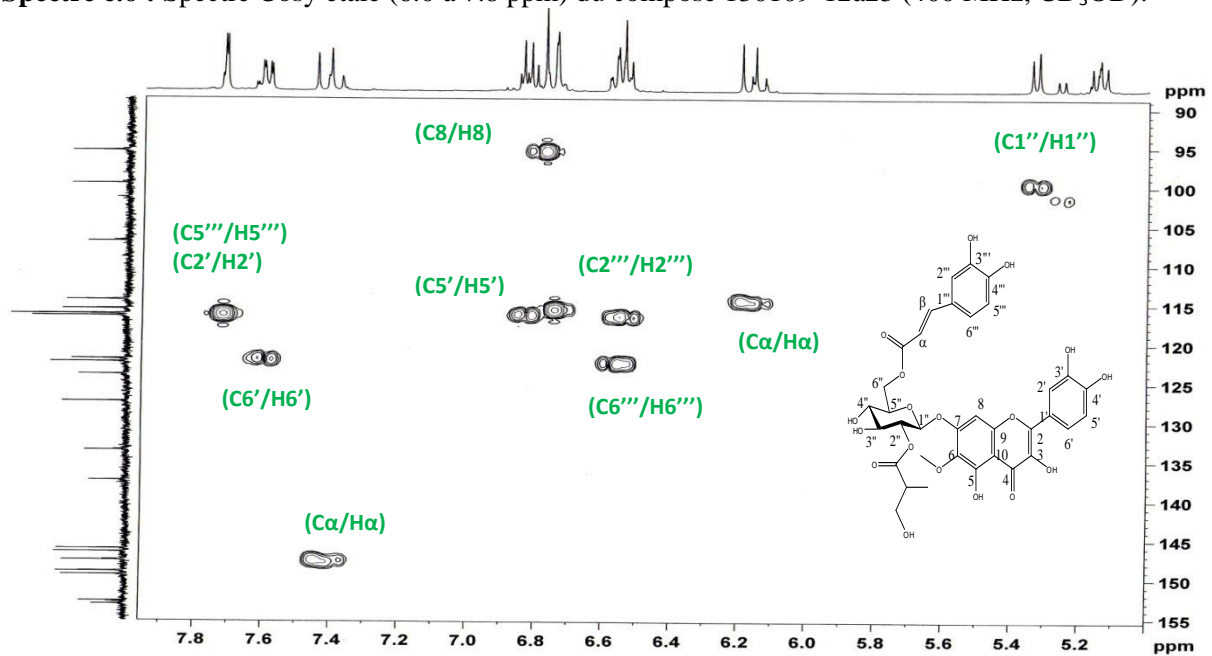
Spectre e.4 : Spectre RMN ^{13}C étalé (60 à 180 ppm) du composé 130109-12a23 (100 MHz, CD_3OD).



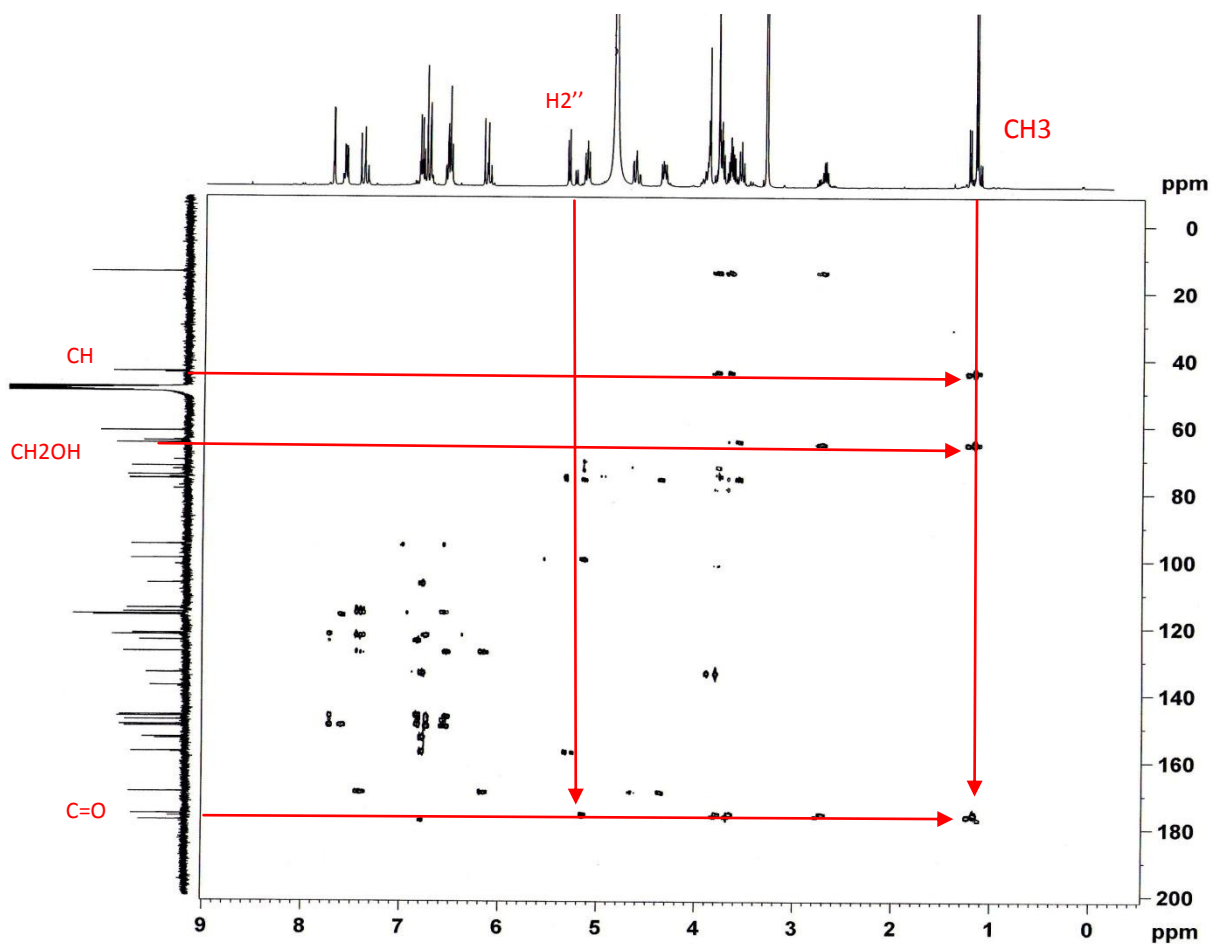
Spectre e.5 : Spectre Cosy étalé (3.0 à 5.5 ppm) du composé 130109-12a23 (400 MHz, CD_3OD).



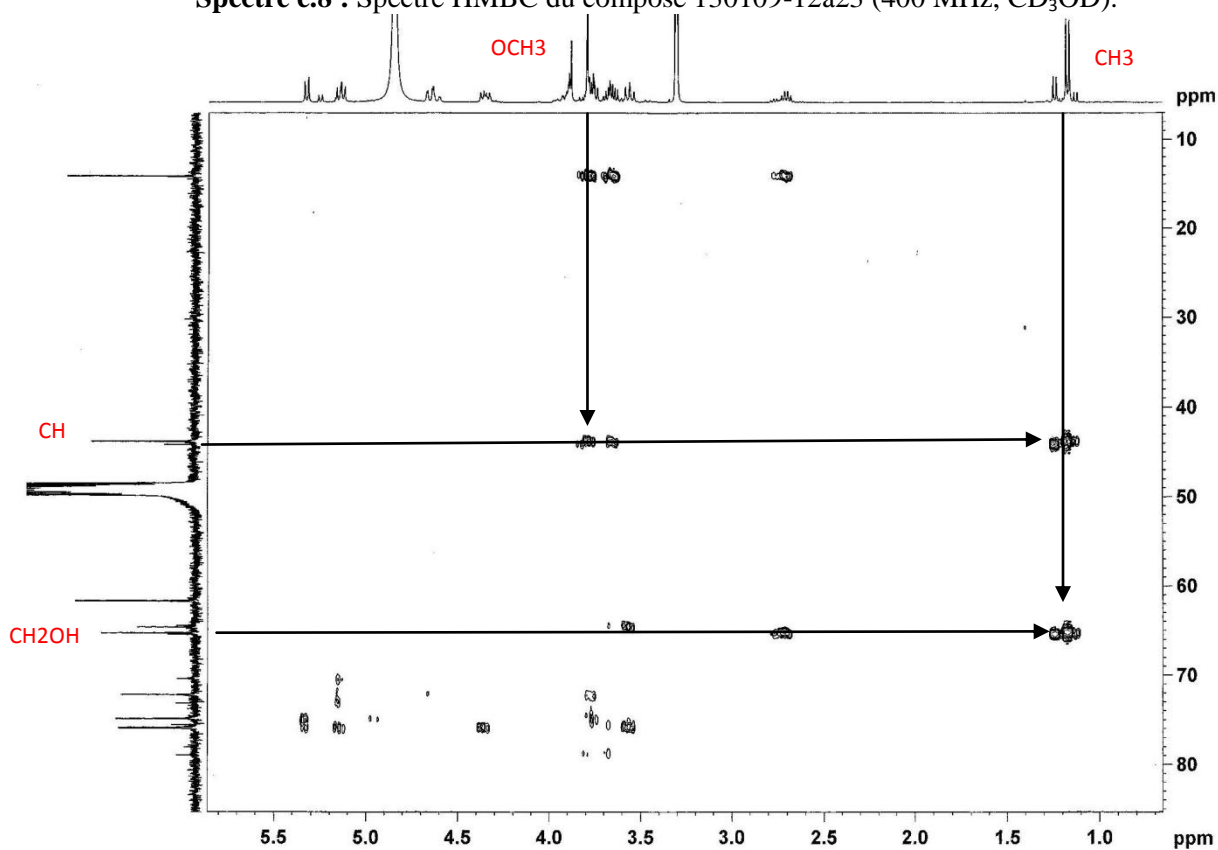
Spectre e.6 : Spectre Cosy étalé (6.0 à 7.8 ppm) du composé 130109-12a23 (400 MHz, CD₃OD).



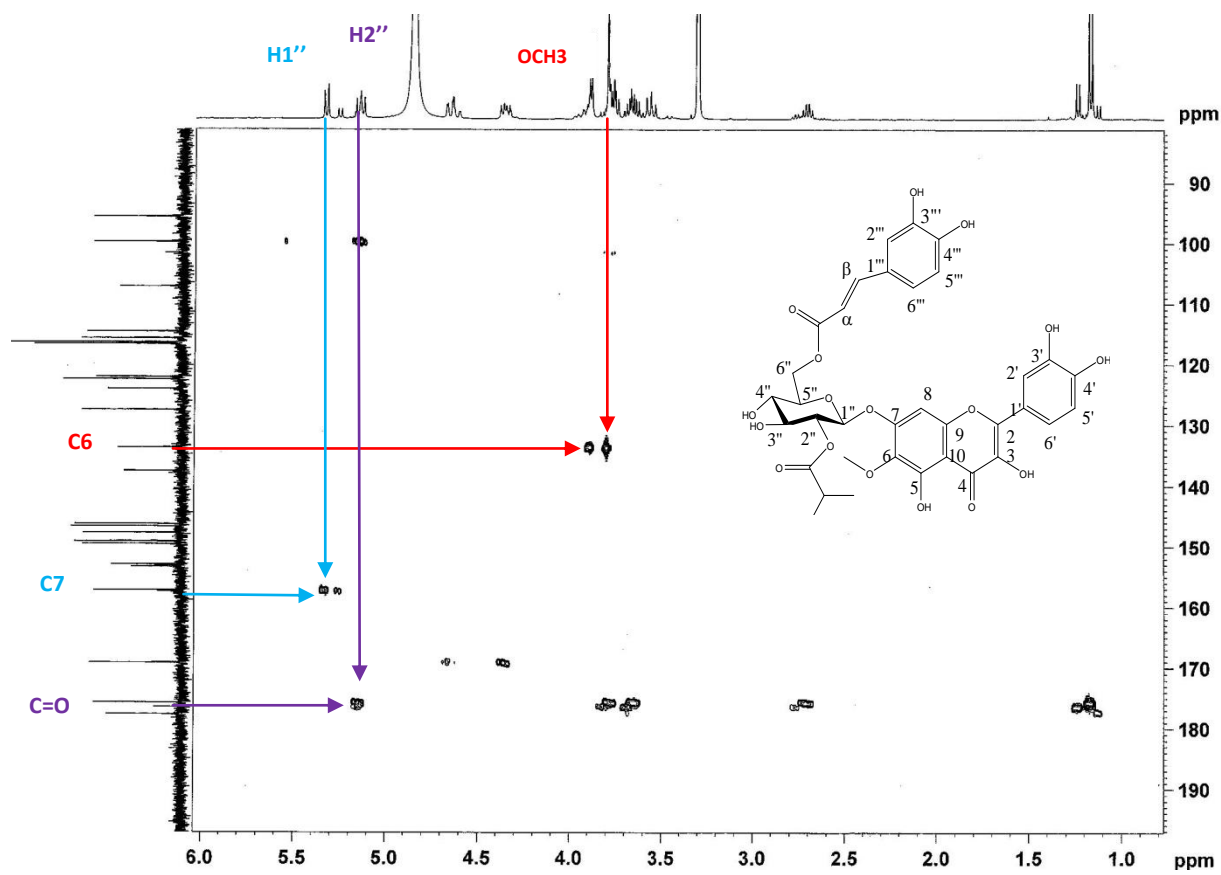
Spectre e.7 : Spectre HMQC étalé (90 à 155 ppm) du composé 130109-12a23 (400 MHz, CD₃OD).



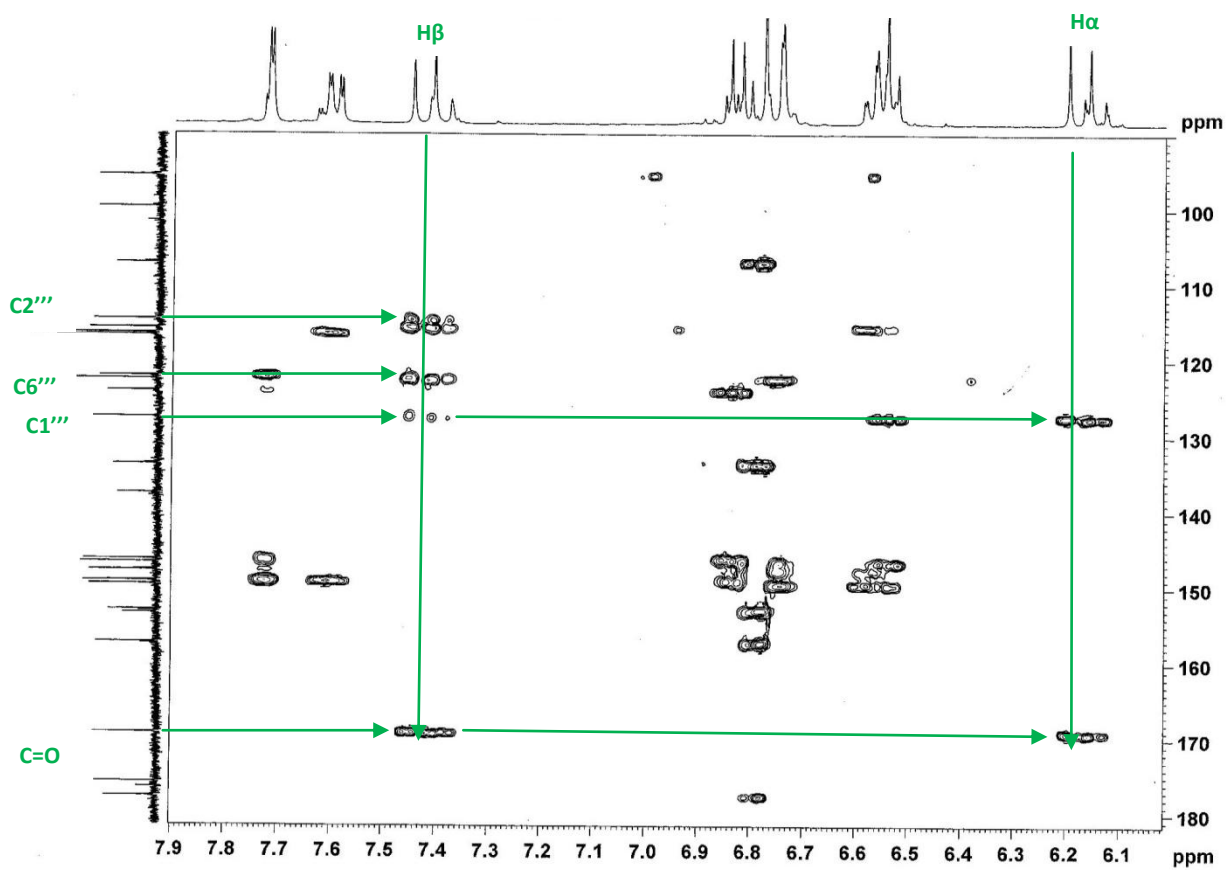
Specre e.8 : Spectre HMBC du composé 130109-12à23 (400 MHz, CD₃OD).



Specre e.9 : Spectre HMBC du composé 130109-12à23 (400 MHz, CD₃OD).



Spectre e.10: Spectre HMBC étalé (1-6 ppm) du composé 130109-12a23 (400 MHz, CD₃OD).



Spectre e.11 : Spectre HMBC étalé (6.1-7.8ppm) du composé 130109-12a23 (400).