

Flavonoïdes d'*Ajuga iva* (L.) Schreb (Labiée)Laila BENNAGHMOUCH^{1a}, Najat HAJJAJI¹ & Najib GMIRA²

(Reçu le 14/03/2001 ; Révisé le 17/07/2001 ; Accepté le 17/01/2002)

مساهمة في دراسة فلافونيدات الشَّدْكَرة (ل.) شَرِيب (الشفوية الشكل)

انطلاقاً من المستخلص الإثيري لأجزاء الشَّدْكَرة الهوائية، تم استخلاص ومعاينة سبعة أجليكونات فلافونية هي : كيرستين (1)، ليتيولين (2)، كريسزويريول (3)، 5', 5، ثاني هيدروكسي 4', 7 ثاني ميتوكسي فلافون (4)، 5, 7 - ثاني هيدروكسي 4', 5 - ثاني ميتوكسي فلافون (5)، أبجين (6)، نارنجين (7).

الكلمات المفتاحية : فلافونيدات - أجليكونات - الشَّدْكَرة (ل.) شَرِيب

Flavonoïdes d'*Ajuga iva* (L.) Schreb (Labiée)

À partir de l'extrait étheré des parties aériennes de l'ivette *Ajuga iva* (L.) Schreb (Labiée), sept aglycones flavoniques ont été isolés et identifiés: quercétine [1], lutéoline [2], chrysoériol [3], 5,5'-dihydroxy 4',7-diméthoxy flavone [4], 5,7-dihydroxy 4',5'-diméthoxy flavone [5], apigénine [6] et naringénine [7].

Mots clés: Flavonoïdes - Aglycones - *Ajuga iva* (L.) Schreb - Ivette - Maroc

Flavonoids of *Ajuga iva* (L.) Schreb (Labiatae)

From the ether extract of aerial part of *Ajuga iva* (L.) Schreb (Labiatae), seven flavonoids aglycones have been isolated and characterized: quercetin [1], luteolin [2], chrysoeriol [3], 5,5'-dihydroxy 4',7- dimethoxy flavone [4], 5,7-dihydroxy 4',5'-dimethoxy flavone [5], apigenin [6] and naringenin [7].

Keys words : Flavonoids - Aglycones - *Ajuga iva* (L.) Schreb - Morocco

¹ Laboratoire de Synthèse organique et réactivité chimique, Faculté des Sciences de Kénitra, Maroc

² Laboratoire de Botanique, Faculté des Sciences de Kénitra, Maroc

^a Auteure correspondante, e-mail : bennaghmouchlaila@yahoo.fr

INTRODUCTION

Dans le cadre d'un programme de recherche sur les plantes médicinales marocaines, on a étudié les flavonoïdes d'*Ajuga iva*. Appartenant à la famille des Labiées, l'ivette (nom vernaculaire = chandgoura) est une plante herbacée, rencontrée dans les clairières des forêts, les pâturages, les champs incultes, les rocaillies siliceuses des plaines et des montagnes (Jahandiez & Maire, 1934).

Au Maroc, *Ajuga iva* est utilisée en médecine traditionnelle pour traiter le diabète, l'hypertension, les gastralgies, la stérilité féminine, les hémorroïdes et pour calmer les douleurs (Bellakhdar, 1978).

Des études pharmacologiques ont montré des activités anti-ulcéreuses, hypoglycémiantes et anti-inflammatoires d'*Ajuga iva* (Ghédira, 1995).

D'un autre côté, des études chimiques ont montré que cette plante contient les composés suivants :

- Huit phyto-ecdystéroïdes (Ikan & Ravid, 1970 ; Nazmi Sabri *et al.*, 1981 ; Khafagy *et al.*, 1979 ; Wessner *et al.*, 1992)
- Quatre diterpènes de type clérodane (Camps *et al.*, 1982)
- Trois iridoïdes (Assaad *et al.*, 1989)
- Deux flavonoïdes (Ghédira *et al.*, 1991)

Ces composés sont groupés dans le tableau 1. Partant de ces acquis, on s'est proposés d'étudier les flavonoïdes (aglycones) de cette plante.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Matériel végétal

Le matériel végétal a été récolté à Masmouda (région d'Ouezzane, Maroc). La plante a été

identifiée, par des botanistes de l'Institut Scientifique de Rabat et de la Faculté des Sciences de Kénitra, comme étant *Ajuga iva*. Elle a été séchée à l'air libre et à l'ombre.

2. Extraction

La plante séchée a été broyée puis dégraissée avec de l'éther de pétrole. Après évaporation du solvant, le résidu est repris avec du méthanol. L'extrait méthanolique est concentré à sec, repris avec de l'eau chaude et épuisé avec de l'éther éthylique.

L'extrait éthéré a été chromatographié sur colonne de polyamide SC₆ en utilisant comme éluant : Toluène / Butanone / Méthanol débutant par 100% de Toluène et finissant par 100% de méthanol. Les fractions ont été contrôlées par chromatographie sur couche mince de polyamide DC₆ avec éluant : Toluène / Butanone / Méthanol (4/3/2 ; v/v). Les composés isolés ont été purifiés par chromatographie sur couche épaisse (plaques préparatives de polyamide DC₆) puis sur colonne de séphadex LH₂₀.

Les solvants utilisés sont des produits commerciaux du type Solvachim pour les extractions et type Merck pour les purifications.

Les spectres UV/Vis ont été enregistrés sur un appareil UV-160A UV-Visible Shimadzu.

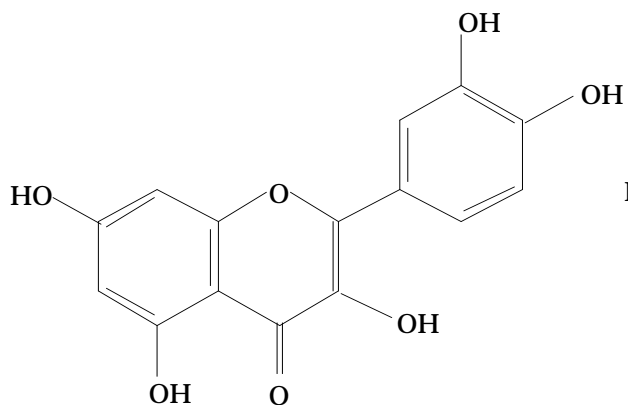
Les spectres de masse ont été réalisés au laboratoire IMRCP (Université Paul Sabatier Toulouse, France) et les spectres RMN ¹H au laboratoire de Pharmacognosie (UFR des Sciences Pharmaceutiques, Faculté de Pharmacie d'Angers, France) et au laboratoire des Sciences Pharmaceutiques (Université de Pharmacie de Salerno, Italie).

Tableau 1. Composés isolés à partir d'*Ajuga iva*

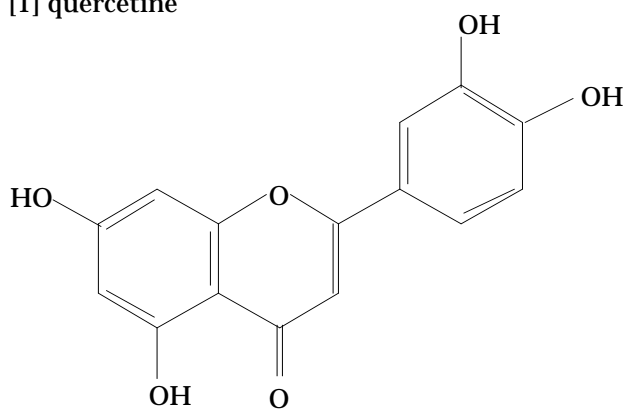
Phytoecdystéroïdes (Ikan & Ravid, 1970 ; Nazmi <i>et al.</i> , 1981 ; Khafagy <i>et al.</i> , 1979 ; Wessner <i>et al.</i> , 1992)	Diterpènes (Camps <i>et al.</i> , 1982)	Iridoïdes (Assaad <i>et al.</i> , 1989)	Flavonoïdes (Ghédira <i>et al.</i> , 1991)
1- 20-hydroxyecdysone	1- ivaine I	1- Harpagide	1- Naringine
2- cyastérone			
3- makistérone A	2- ivaine II	2- 6-désoxyharpagide	2- Apigénine 7-O
4- 23-hydroxycyastérone			
5- ajugastérone C	3-ivaine III	3-8-O-acétylharpagide	néohespéridoside
6- 22-oxocyastérone	4-ivaine IV		
7-24,25 déhydroprécycastérone			
8- 24,28 déhydromakistérone			

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

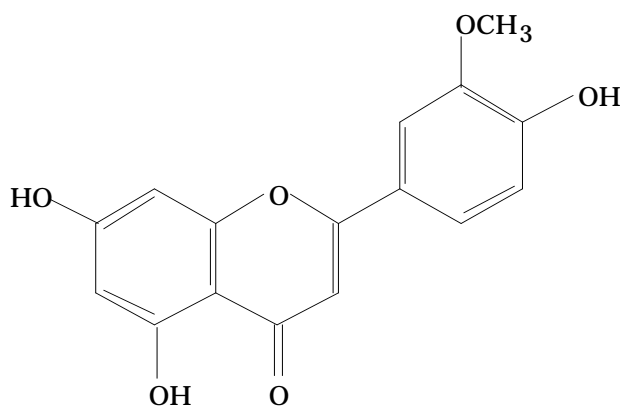
Les principaux composés de l'extrait étheré sont des flavonoïdes (vérifiés par chromatographie sur couche mince et révélés par les vapeurs d'ammoniac qui colorent en jaune ces produits). On a isolé sept aglycones : la quercétine [1], la lutéoline [2], la chrysoériol [3], la 5,5'-dihydroxy 4',7-diméthoxy flavone [4], la 5,7-dihydroxy 4',5'-diméthoxy flavone [5], l'apigénine [6] et la naringénine [7] (Tableau 2).



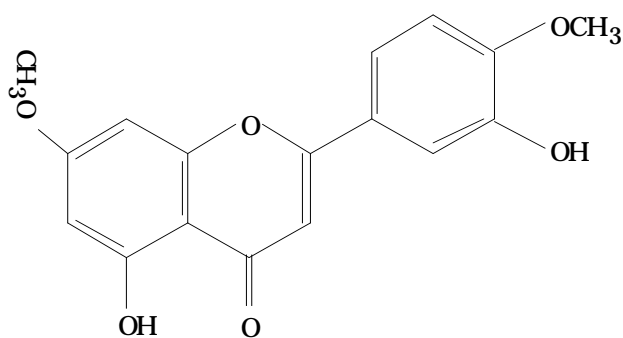
[1] quercétine



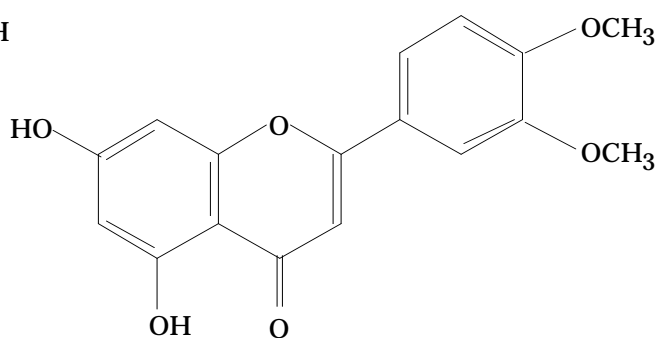
[2] lutéoline



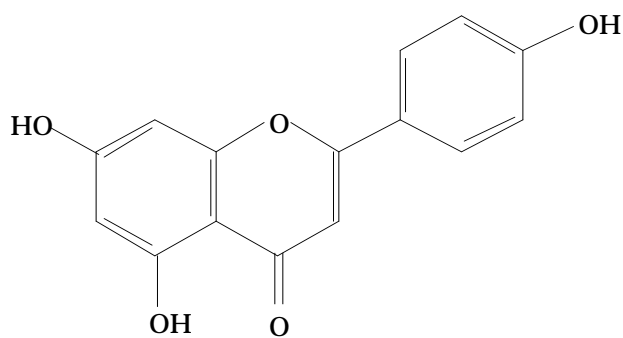
[3] chrysoériol



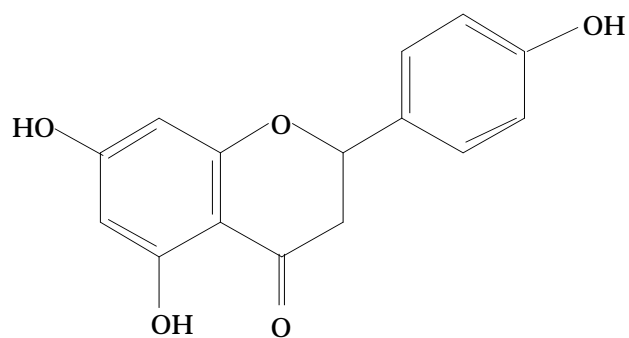
[4] 5,5'-dihydroxy 4',7- diméthoxy flavone



[5] 5,7-dihydroxy 4',5'-diméthoxy flavone



[6] apigénine



[7] naringénine

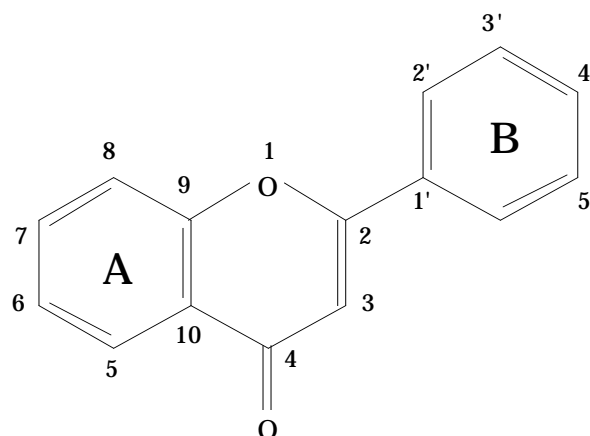
Tableau 2. Données chromatographiques

Composés	Couleur	Longueur d'onde (nm)	Rf (système 4/3/2)
1	Jaune	365	0,37
2	Violette	365	0,41
3	Violette	365	0,47
4	Violette	365	0,58
5	Violette	365	0,78
6	Violette	365	0,80
7	Violette	254	0,82

Ces flavonoïdes ont été identifiés en comparant leurs comportements chromatographiques et spectrophotométriques UV/Vis avec des témoins authentiques.

Les interprétations des spectres UV/Vis ont été faites sur la base des recherches de Voirin (1983) et de Mabry *et al.* (1970) (Tableaux 3 & 4). Les spectres de masse ont été interprétés selon les travaux de Audier (1966).

Soit la structure de base des flavonoïdes :



Le comportement spectrophotométrique UV/Vis du composé [1] oriente vers une structure de flavonol (BI = 372 nm > 350 nm). Celui des composés [2], [3], [4], [5] et [6] oriente vers une

Tableau 3. Séries spectrales UV/vis des composés en présence du méthanol neutre et des réactifs classiques

	1	2	3	4	5	6	7
MeOH	258,301e, 372	245,267, 291i,349	245e, 269 346	258, 271, 336	236i,247, 269,286i, 336	267, 336	288,327e
NaOH	249,320	266, 328i, 402	262, 275e 323, 403	289, 384	231,269, 276,372	274, 325i, 392	243,323
AlCl ₃	272,304e, 333,458	275, 300e 327i, 425	260, 274, 296e,352, 390	280, 302e 354, 392	258, 277, 298, 320, 350, 389	275, 300, 348, 384	310, 374
AlCl ₃ +HCl	265,301e, 359,428	265, 275, 292i, 355, 385	260, 274, 294e,351, 386	280, 303e 351,398	258, 278, 298, 331, 347,388	275, 300, 340, 380	309, 370
NaOAc	257e,274, 329,390	268, 325e 384	272, 320, 366	276, 338	273, 343	272, 301e 375	284i, 323
NaOAc +H ₃ BO ₃	261,303e, 388	260, 301e 370	269, 290e 346	273, 338	269, 337	266, 337	289, 331

i= inflexion ; e= épaulement

Tableau 4. Principaux substituants sur le squelette de base des flavonoïdes

Composés	NaOH	AlCl ₃ et AlCl ₃ +HCl	NaOAc	NaOAc+H ₃ BO ₃
1	OH en 4'	OH en 3',4',5	OH en 7	OH en 3',4'
2	OH en 4'	OH en 3',4',5	OH en 7	OH en 3',4'
3	OH en 4'	OH en 5	OH en 7	
4	OCH ₃ en 4'	OH en 5	OCH ₃ en 7	
5	OCH ₃ en 4'	OH en 5	OH en 7	
6	OH en 4'	OH en 5	OH en 7	
7	OH en 4'	OH en 5	OH en 7	

structure de flavone (BI < 350 nm) à noyau A de type phloroglucinol (OH en 5 : effet bathochrome sur BI d'environ 40 à 50 nm dans $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ et OH en 7 : effet bathochrome sur BI supérieur à 7 nm dans NaOAc) (Voirin, 1983 ; Mabry *et al.*, 1970). Quant au composé [4] le OH en 7 est substitué (absence d'effet bathochrome sur BII dans NaOAc) (Mabry *et al.*, 1970). Le composé [7] est une flavanone (une bande intense BII) (Mabry *et al.*, 1970).

Pour les composés [1] et [2], la 3',4' dihydroxylation est suggérée par l'effet bathochrome sur BI (+ 16 nm) pour le composé [1] et (+ 21 nm) pour le composé [2] dans NaOAc + H_3BO_3 . L'effet hypsochrome est noté en comparant les spectres dans AlCl_3 et ceux dans $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$.

Le spectre RMN du composé [1] (Tableau 5) confirme son identité ; celle-ci correspond à la quercétine, flavonol isolé dans *Acroterma uniflorum* (Wollenweber & Dietz, 1981), dans *Daphne laureola* L. (Touati & Fkih-Tetouani, 1991), dans *Combretum leprosum* (Facundo *et al.*, 1993) et dans *Argania spinosa* (El Kabouss *et al.*, 2001).

Le spectre de masse du composé [2] (Tableau 6) enregistré en ionisation chimique, qui donne un pic $\text{MH}^+ = 287$ ($\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$), et le spectre RMN (Tableau 5) confirment que cette structure correspond à la

lutéoline, flavone isolée dans *Coleus amboinicus* et *Salvia officinalis* (Wollenweber & Dietz, 1981), dans *Thymus herba barona* (Corticchiatto *et al.*, 1995), dans *Mentha x piperita* et *Mentha spicata* (Voirin *et al.*, 1999) et dans *Hebe stricta* (Kellam *et al.*, 1993).

Le comportement chromatographique UV/Vis des composés [3] et [6] montre un effet bathochrome sur BI avec une augmentation de l'intensité de BI dans NaOH indiquant un OH en 4' (Mabry *et al.*, 1970). Pour les composés [4] et [5], cette intensité diminue d'où la substitution de OH par OCH_3 en 4' pour ces deux composés (Voirin, 1983 ; Mabry *et al.*, 1970).

Le spectre de masse du composé [3] (Tableau 6) enregistré en impact électronique montrant un pic $\text{M}^+ = 300$ ($\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_6$) et d'autres fragments confirment une structure de chrysoétiol, flavone isolée dans *Coleus amboinicus* (Wollenweber & Dietz, 1981).

Le spectre RMN du composé [6] confirme que cette structure est identique à l'apigénine, flavone isolée dans *Coleus amboinicus* et *Salvia glutinosa* (Wollenweber & Dietz, 1981), dans *Thymus herba barona* (Corticchiatto *et al.*, 1995), dans *Mentha citrata*, *Mentha aquatica*, *Mentha spicata* et *Mentha x piperita* (Voirin *et al.*, 1999) et dans *Bracteantha viscosa* (Wollenweber *et al.*, 1993).

Tableau 5. Données des spectres RMN ^1H des composés [1] (enregistré à 270 MHz dans $\text{CD}_3\text{OD} + \text{CDCl}_3$), [2] (enregistré à 600 MHz dans CD_3OD) et [6] (enregistré à 270 MHz dans CD_3OD).

Protons	Composés.....		
	[1]	[2]	[6]
2'	(d) 7,6 ppm J= 1,9 Hz	(d) 7,37 ppm J= 2 Hz	(dd) 7,84 ppm J= 2 Hz J= 8 Hz
3'			(dd) 6,92 ppm J= 2 Hz J= 8 Hz
5'	(dd) 6,7 ppm J= 8,4 Hz J= 1 Hz	(d) 6,90 ppm J= 7,9 Hz	(dd) 6,92 ppm J= 2 Hz J= 8 Hz
6'	(dd) 7,5 ppm J=8,4 Hz J= 1,9 Hz	(dd) 7,39 ppm J= 2 Hz J= 7,9 Hz	(dd) 7,84 ppm J= 2 Hz J= 8 Hz
3		(s) 6,55 ppm	(s) 6,55 ppm
6	(d) 6,1 ppm J= 1,9 Hz	(d) 6,20 ppm J= 2 Hz	(d) 6,16 ppm J= 2 Hz
8	(d) 6,2 ppm J= 1,9 Hz	(d) 6,46 ppm J= 2 Hz	(d) 6,40 ppm J= 2 Hz

Tableau 6. Données des spectres de masse des composés [2] (enregistré en ionisation chimique), [3] (enregistré en impact électronique) et [5] (enregistré en impact électronique).

Composés	Pics
[2]	$\text{MH}^+ = 287$ (100%)
[3]	$\text{M}^+ = 300$ (7,27%), $\text{M}^+ - 21$ (1,32%), $\text{M}^+ - 133$ (3,52%), $\text{M}^+ - 151$ (11,65%)
[5]	$\text{M}^+ = 314$ (20,00%), $\text{M}^+ - 30$ (32,72%), $\text{M}^+ - 73$ (10,30%), $\text{M}^+ - 164$ (9,70%)

Le spectre de masse du composé [5] (Tableau 6) enregistré en impact électronique montrant un pic $M^+ = 314$ ($C_{17}H_{14}O_6$) ainsi que d'autres fragments indiquent une structure identique à 5,7-dihydroxy 4',5'-diméthoxyflavone (Mabry *et al.*, 1970).

On n'a pas pu obtenir les spectres de masse et de RMN des composés [4] et [7], car leur quantité est assez faible pour réaliser de telles analyses. On s'est limités à l'interprétation des spectres UV/Vis et de la comparaison avec des témoins authentiques.

Le composé [4] est un 5,5'-dihydroxy 4',7-diméthoxyflavone (Mabry *et al.*, 1970). Le composé [7] est identique à la naringénine, flavanone isolée dans *Thymus herba barona* (Corticchiatto *et al.*, 1995) et dans *Cassinia quinquefaria* (Wollenweber *et al.*, 1993).

CONCLUSION

Ce travail a été consacré à l'extraction des flavonoïdes à partir des parties aériennes d'*Ajuga iva*. Par combinaison des méthodes de chromatographie, de spectrophotométrie UV/Vis et de spectrométrie de masse ou RMN 1H , on a isolé et identifié sept aglycones flavoniques : un flavonol (quercétine), cinq flavones (lutéoline, chrysoérol, 5,5'-dihydroxy 4',7-diméthoxy flavone, 5,7-dihydroxy 4',5'-diméthoxy flavone, apigénine) et une flavanone (naringénine).

RÉFÉRENCES CITÉES

- Assaad A. & Lahloub M.F. (1989) Iridoid glycosides of *Ajuga iva*. *Pl. Med.* 55 : 211
- Audier H. (1966) Étude des composés flavoniques par spectrométrie de masse. *Bull. Soc. Chim. Fr.* 9 : 2892-2899
- Bellakhdar J. (1978) Médecine traditionnelle et toxicologie ouest saharienne. Ed. Nord africaines, Rabat, 253 p.
- Camps L., Coll J. & Cortel A. (1982) New clerodane diterpenoids from *Ajuga iva* (Labiatae). *Chem. Lett.* 1053-1056
- Corticchiatto M., Bernardini A., Costa J., Bayet C., Saunois A. & Voirin B. (1995) Free flavonoid aglycones from *Thymus herba barona* and its monoterpene chemotypes. *Phytochemistry* 40 (1): 115-120
- El Kabouss A., Charrouf Z., Oumzil H., Faid M., Lamnaouer D., Miyata Y. & Miyahara K. (2001) Caractérisation des flavonoïdes des feuilles d'Arganier (*Argania spinosa* L. Skeels, Sapotaceae) et étude de leur activité antimicrobienne. *Actes Inst. Agron. Vet. (Maroc)* 21(3) : 157-162
- Facundo V.A., Adrade C.H.S., Sylvera E.R., Braz-Filho R. & Hufford C.D. (1993) Triterpenes and flavonoids from *Combretum leprosum*. *Phytochemistry* 32 (2) : 411- 415
- Ghédira K., Chemli R., Richard B., Zeches M., Le Men-Olivier L. (1991) Contribution à l'étude de la pharmacopée traditionnelle de Tunisie : étude des parties aériennes d'*Ajuga iva*. *Pl. Méd. et Phyt.* 25 (2-3) : 100-111
- Ghédira K. (1993) Études des parties aériennes d'*Ajuga iva* (L.) Schreb. Thèse de Doctorat d'État ès Sciences pharmaceutiques, Monastir, Tunisie
- Ikan R. & Ravid U. (1970) The isolation and identification of ecdysterone from *Ajuga iva*. *Pl. Med.* 20 : 33-35
- Jahandiez E. & Maire R. (1934) Catalogue des plantes médicinales du Maroc, Tome III, 611 p.
- Kellam S.J., Mitchell K.A. & Blunt J.R.L. (1993) Luteolin and 6-hydroxyluteolin glycosides from *Hebe stricta*. *Phytochemistry* 33 (4): 867-869
- Khafagy S.M., Nazmi Sabri N., El Sabakhy N., Blessington B. & Assaad A. (1979) A C-28 ecdysone-like substance from *Ajuga iva*. *Pl. Med.* 35:184-187.
- Mabry T.J., Markham K.R. & Thomas M.B. (1970) The systematic identification of flavonoids, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, pp. 41-61 et pp. 104-114
- Nazmi Sabri N., Assaad A. & Khafagy S.M. (1981) Isolation of four ecdysone from *Ajuga iva*, roots and a rapid semiquantitative method for ecdysone determination. *Pl. Med.* 42 : 293-295
- Touati D. & Fkih-Tetouani S. (1991) Les flavonoïdes de *Daphne laureola* L. *Pl. Méd. et Phyt.* XXVI (1) : 43-48
- Voirin B. (1983) UV spectral differentiation of 5-hydroxy and 5-hydroxy-3-méthoxyflavones with mono-4',di-3',4' or tri-3',4',5'-substituted B rings. *Phytochemistry* 10 : 2107-2145
- Voirin B., Bayet C., Faure O. & Jullien F. (1999) Free flavonoid aglycones as markers of parentage in *Mentha aquatica*, *M. Citrata*, *M. Spicata* and *M. x piperita*. *Phytochemistry* 50 : 1189-1193
- Wessner M., Champion B., Girault J.P. Khaouadji M., Saidi B. & Lafont R. (1992) Ecdysteroids from *Ajuga iva*. *Phytochemistry* 31(11) : 3785-3788
- Wollenweber E. & Dietz V.H. (1981) Occurrence and distribution of free flavonoid aglycones in plants. *Phytochemistry* 20 (5) : 869-932
- Wollenweber E., Mann K., Arriaga-Giner F.J., Rotman J.N. & West J.G. (1993) Exudate flavonoids from two Australian Asteraceae, *Bracteantha viscosa* and *Cassinia quinquefaria*. *Phytochemistry* 33 (4) : 871-873