

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

**UNIVERSITE CONSTANTINE 1
FACULTE DES SCIENCES EXACTES
DEPARTEMENT DE CHIMIE**

N° d'ordre :
Série :

THESE

**Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat troisième cycle
(LMD)**

Spécialité: Chimie pharmaceutique

Par

Ouissem GHERBOUDJ

**Étude phytochimique et activité antioxydante de *Matricaria pubescens*
(Desf.) Sch. Bip. et *Chrysanthemum deserticum* Batt. & Trab.
(ASTERACEAE)**

Soutenue publiquement le 16/01/2014 devant le jury:

Pr. Ahmed KABOUCHE (U. Constantine 1)	Président
Pr. Zahia KABOUCHE (U. Constantine 1)	Rapporteur
Pr. Salah AKKAL (U. Constantine 1)	Examineur
Pr. Amar ZELLAGUI (U. Larbi ben M'hidi - Oum El-Bouaghi)	Examineur
Pr. Nour-eddine GHERRAF (U. Larbi ben M'hidi- Oum El- Bouaghi)	Examineur

Dédicaces

A la mémoire de mon cher père

A ma chère mère

A mes sœurs et mon cher frère DJALLEL

A mes neveux et mes nièces

A mon fiancé BILLEL

A tous mes amis et collègues

OUISSEM

Remerciements

*Je tiens à exprimer mes sincères et vifs remerciements à Madame la Professeure **Zahia KABOUCHE** ma directrice de thèse pour m'avoir accueillie dans le laboratoire d'Obtention de Substances Thérapeutiques, et surtout pour la confiance qu'elle m'a accordée dans la réalisation de ce travail, sa disponibilité, ses conseils éclairés et son concours constant dans cette thèse.*

*J'ai eu la chance et aussi le plaisir d'effectuer une partie de ce travail de recherche dans le Laboratoire de Pharmacognosie, groupe Isolement et Structure, Faculté de Pharmacie de l'Université de Reims, sous la direction du Professeur **Laurence VOUTQUENNE-NAZABADIOKO**. Je tiens à lui exprimer mes sincères remerciements pour m'avoir accueillie au sein du laboratoire de pharmacognosie, pour m'avoir fait confiance et m'avoir permis de réaliser ce travail dans de meilleures conditions tout en me laissant une grande liberté, pour son soutien, sa gentillesse et sa grande générosité.*

*Mes vifs remerciements vont également à Monsieur le Professeur **Ahmed KABOUCHE** de l'Université de Constantine 1, pour son aide, ses conseils et pour l'honneur qu'il me fait en acceptant de présider le jury de soutenance.*

*J'aimerais également remercier Monsieur le Professeur **Salah AKKAL** de l'Université de Constantine 1 pour avoir accepté de juger ce travail.*

*Je suis très honorée de la présence en tant qu'examineur de Monsieur **Amar ZELLAGUI**, Professeur à l'université d'Oum El Bouaghi, je le remercie sincèrement.*

*J'adresse également mes remerciements à Monsieur **Nour-eddine GHERRAF**, professeur à l'Université d'Oum El Bouaghi pour avoir accepté de juger ce travail.*

*Je remercie en particulier Mademoiselle **Naima BOUTAGHANE** docteur de l'université Constantine 1 pour son encouragement, son soutien moral, son aide précieuse lors de la rédaction de ce manuscrit et son amitié.*

*Mes remerciements les plus forts reviennent également à ma famille, spécialement à ma sœur **SOUSOU** qui m'a encouragée et soutenue pendant toutes ces années d'études.*

L'ensemble de mes collègues du laboratoire trouvera ici l'expression de toute ma sympathie, pour avoir su me soutenir et m'encourager au cours de ce travail.

Enfin je remercie tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

Liste des abréviations

Solvants et réactifs :

ABTS	2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)
AcOEt	acétate d'éthyle
CD ₃ OD	méthanol deutéré
CDCl ₃	chloroforme deutéré
DMSO-d ₆	diméthylsulfoxyde deutéré
DPPH	1,1-DiPhényl-2-Picryl-Hydrazyl
MEC	Méthyle Ethyle Cétone

Techniques chromatographiques :

CCM	Chromatographie sur Couche Mince
CC	Chromatographie sur Colonne ouverte de silice
CPP	Chromatographie sur Plaque Préparative
C ₁₈	Silice greffée
SiO ₂	silice normale
VLC	chromatographie liquide sous vide
Rf	rapport frontal

Détermination structurale :

Ara	Arabinose
Glc	Glucose
Gal	Galactose
Rha	Rhamnose
ax	Axial
COSY	COrelated SpectroscopY
<i>d</i>	Doublet
<i>dd</i>	doublet de doublet
<i>dl</i>	doublet large
<i>dt</i>	doublet de triplet
<i>dq</i>	doublet de quadruplet
<i>dm</i>	doublet multiplet
HMBC	Heteronuclear Multiple Bonding Connectivity
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Connectivity
J (Hz)	constante de couplage exprimée en Hertz
<i>m</i>	multiplet
ppm	parties par million
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
RMN ¹³ C	Résonance Magnétique Nucléaire du carbone
RMN ¹ H	Résonance Magnétique Nucléaire du proton
rOe	rotation Overhauser effect
ROESY	ROtating Overhauser Effect SpectroscopY

<i>s</i>	singulet
<i>sl</i>	singulet large
<i>t</i>	triplet
<i>td</i>	triplet de doublet
<i>tt</i>	triplet de triplet
<i>tq</i>	triplet de quadruplet
δ_C	Déplacement chimique du carbone en ppm
δ_H	Déplacement chimique du carbone en ppm
ESI	ElectroSpray Ionization (ionisation par électrospray)
HR	haute résolution
<i>m/z</i>	masse/charge d'un ion
SM	Spectrométrie de Masse
UV	Ultra-Violet
λ_{\max}	longueur d'onde maximale

Activité antioxydante :

IC₅₀ Concentration Inhibitrice à 50%

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les flavonoïdes isolés du genre <i>Matricaria</i>	17
Tableau 2 : les coumarines isolées du genre <i>Matricaria</i>	21
Tableau 3 : Les propriétés thérapeutiques d'espèces du genre <i>Matricaria</i>	26
Tableau 4 : Les flavonoïdes isolés du genre <i>Chrysanthemum</i>	30
Tableau 5 : Les coumarines isolées du genre <i>Chrysanthemum</i>	36
Tableau 6 : Les sesquiterpènes et sesquiterpènes lactones isolés du genre <i>Chrysanthemum</i> ...	37
Tableau 7 : Les polyacétylènes isolés du genre <i>Chrysanthemum</i>	41
Tableau 8 : Les différents types des triterpènes isolés du genre <i>Chrysanthemum</i>	43
Tableau 9 : Les stérols isolés du genre <i>Chrysanthemum</i>	46
Tableau 10 : Les propriétés thérapeutiques d'espèces du genre <i>Chrysanthemum</i>	49
Tableau 11 : Rendement des extraits de <i>Matricaria pubescens</i>	59
Tableau 12 : Fractionnement de la phase butanolique sur colonne de gel de polyamide.....	62
Tableau 13 : Sous-fractionnement de la fraction F ₆ sur colonne de gel de silice.....	63
Tableau 14 : Sous-fractionnement de la fraction F ₈ sur colonne de gel de silice.....	63
Tableau 15 : Rendement des extraits <i>Chrysanthemum deserticum</i>	67
Tableau 16 : Fractionnement de la fraction chloroformique sur colonne de gel de silice normale.....	70
Tableau 17 : Sous-fractionnement de la fraction F ₅ sur colonne de gel de silice normale.....	72
Tableau 18 : Sous-fractionnement de la fraction F ₇ sur colonne de silice greffée C18.....	72
Tableau 19 : Sous-fractionnement de la fraction F ₁₁ sur colonne de gel de silice normale....	73
Tableau 20 : Sous-fractionnement de la fraction F ₁₅ sur colonne de gel de silice normale....	74
Tableau 21 : Sous-fractionnement de la fraction F ₂₀ sur colonne de gel de silice normale....	75
Tableau 22 : VLC sur C18 de l'extrait butanolique des parties aériennes de l'espèce <i>C. deserticum</i>	77
Tableau 23 : Flash chromatographie de la fraction F ₃ sur colonne de gel de silice normale.....	78
Tableau 24 : Sous-fractionnement de la sous fraction F ₁₀ sur colonne de gel de silice greffée C18.....	79
Tableau 25 : Sous-fractionnement de la sous fraction F ₁₁ sur colonne de gel de silice grefféeC18.....	80
Tableau 26 : Flash chromatographie de la fraction F ₆ sur colonne de gel de silice greffée C18.....	81
Tableau 27 : Abréviation, concentration, solvant à dissoudre pour chaque échantillon.....	86
Tableau 28 : Données spectrales UV du composé P ₁	90
Tableau 29 : Déplacements chimiques en RMN 1H (500 MHz) et RMN 13C (125 MHz) du composé P ₁ dans CD ₃ OD.....	94

Tableau 30 : Données spectrales UV du composé P₂	95
Tableau 31 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (500 MHz) et RMN ¹³ C (125 MHz) du composé P₂ dans CD ₃ OD.....	100
Tableau 32 : Données spectrales UV du composé P₃	102
Tableau 33 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (500 MHz) et RMN ¹³ C (125 MHz) du composé P₃ dans CD ₃ OD.....	106
Tableau 34 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (500 MHz) et RMN ¹³ C (125 MHz) du composé P₄ dans CD ₃ OD.....	111
Tableau 35 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (500 MHz) et RMN ¹³ C (125 MHz) du composé P₅ dans CD ₃ OD.....	118
Tableau 36 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (500 MHz) et RMN ¹³ C (125 MHz) du composé P₆ dans CD ₃ OD.....	121
Tableau 37 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C (150 MHz) du composé P₇ dans DMSO.....	126
Tableau 38 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C (150 MHz) du composé C₁ dans CDCl ₃	133
Tableau 39 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C (150 MHz) du composé C₂ dans CDCl ₃	138
Tableau 40 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C (150 MHz) du composé C₃ dans CDCl ₃	147
Tableau 41 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (500 MHz) et RMN ¹³ C (125 MHz) du composé C₄ dans CDCl ₃	153
Tableau 42 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (500 MHz) et RMN ¹³ C (125 MHz) du composé C₅ dans CDCl ₃	156
Tableau 43 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (500 MHz) et RMN ¹³ C (125 MHz) du composé C₆ dans CDCl ₃	160
Tableau 44 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (500 MHz) et RMN ¹³ C (125 MHz) du composé C₇ dans CDCl ₃	163
Tableau 45 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C (150 MHz) du composé C₈ dans CDCl ₃	169
Tableau 46 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (500 MHz) et RMN ¹³ C (125 MHz) du composé C₉ dans CDCl ₃	174
Tableau 47 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (500 MHz) et RMN ¹³ C (1125 MHz) du composé C₁₀ dans CDCl ₃	179
Tableau 48 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (500 MHz) et RMN ¹³ C (125 MHz) du composé C₂₀ dans CD ₃ OD.....	184
Tableau 49 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C (150 MHz) du composé C₂₁ dans CD ₃ OD.....	189

Tableau 50 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (500 MHz) et RMN ^{13}C (125 MHz) du composé C_{22} dans CD_3OD	194
Tableau 51 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (500 MHz) et RMN ^{13}C (125 MHz) du composé C_{23} dans CD_3OD	198
Tableau 52 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (500 MHz) et RMN ^{13}C (125 MHz) du composé C_{24} dans CD_3OD	201
Tableau 53 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (500 MHz) et RMN ^{13}C (125 MHz) du composé C_{25} dans CD_3OD	206
Tableau 54 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé C_{26} dans CD_3OD	208
Tableau 55: Pouvoir d'inhibition IC_{50} des échantillons étudiés.....	210
Tableau 56: Pouvoir d'inhibition IC_{50} des échantillons étudiés.....	214

Liste de figures

Figure 1 : Carte de répartition géographique des Asteraceae selon l'AP-Website.....	3
Figure 2 : Classification sous familiale phylogénétique des Compositeae selon Panero et Funk.....	4
Figure 3 : Quelques espèces des différentes sous-familles des Asteraceae.....	5
Figure 4 : Schémas de différentes parties florales d'une Asteraceae.....	7
Figure 5 : Les graines sont dispersées par le vent dans <i>Carlina</i>	7
Figure 6 : Structures des sesquiterpènes lactones isolés de <i>Odontospermum graveolens</i> ...	8
Figure 7 : Structures des sesquiterpènes lactones isolés de <i>Nauplius graveolens</i>	8
Figure 8 : Structures des diterpènes et sesquiterpène isolés de <i>Leontopodium franchetii</i>	9
Figure 9 : Structures des triterpènes saponosides isolés de <i>Silphium radula</i>	10
Figure 10 : Structures des flavonoïdes isolés de <i>Centaurea pseudoscobiosa</i>	11
Figure 11 : Structures des flavonoïdes et des phénols isolés de <i>Centaurea africana</i>	11
Figure 12 : Les tournesols sont un membre communément cultivé d'Asteraceae.....	12
Figure 13 : <i>Matricaria inodor</i>	15
Figure 14 : Squelette de base des flavonoïdes.....	16
Figure 15 : Structures des flavonoïdes aglycone et glucosylés isolés du genre <i>Matricaria</i> ..	17
Figure 16 : Structures des flavonoïdes isolés du genre <i>Matricaria</i>	19
Figure 17 : Squelette des coumarines.....	20
Figure 18 : Structure de l'Herniarine et l'Umbelliférone.....	20
Figure 19 : Structures de coumarines isolées du genre <i>Matricaria</i>	22
Figure 20 : Structures des sesquiterpènes lactoniques isolés de l'espèce <i>M. chamomilla</i> ..	23
Figure 21 : Structures des sesquiterpènes isolés de l'espèce <i>M. aurea</i>	24
Figure 22 : Structure générale des amides.....	24
Figure 23 : Structures chimiques de quelques amides isolés du genre <i>Matricaria</i>	24
Figure 24 : Autres constituants isolés du genre <i>Matricaria</i>	25
Figure 25 : La peinture historique de Chrysanthèmes de la Nouvelle Encyclopédie internationale 1902.....	28
Figure 26 : Les différentes formes des fleurs du genre <i>Chrysanthemum</i>	29
Figure 27 : Structures des flavonoïdes (87-106)isolés du genre <i>Chrysanthemum</i>	34
Figure 28 : Structures des flavonoïdes (106-125) isolés du genre <i>Chrysanthemum</i>	35
Figure 29 : Structures des flavonoïdes (126-131) isolés du genre <i>Chrysanthemum</i>	36
Figure 30 : Structures des coumarines isolées d'espèces du genre <i>chrysanthemum</i>	37
Figure 31 : Structures des sesquiterpènes isolées d'espèces du genre <i>chrysanthemum</i>	40
Figure 32 : Polyacétylènes isolés d'espèces du genre <i>Chrysanthemum</i>	42

Figure 33: Structures des triterpènes isolés du genre <i>Chrysanthemum</i>	45
Figure 34 : Noyau de base des stérols.....	46
Figure 35 : Structures des stérols isolés du genre <i>Chrysanthemum</i>	47
Figure 36 : Divers composés isolés de genre <i>Chrysanthemum</i>	48
Figure 37 : Espèce <i>Matricaria pubescens</i> (Desf.) Sch. Bip.....	52
Figure 38 : Composés isolés de <i>Matricaria pubescens</i> (Desf.) Sch. Bip. récoltée en avril 1983 au Maroc.....	52
Figure 39 : Espèce <i>Chrysanthemum deserticum</i> Batt. & Trab.....	53
Figure 40 : Structures des composés à action vitaminique E.....	55
Figure 41 : Structure du β -carotène.....	56
Figure 42 : Structure de l'acide ascorbique.....	56
Figure 43 : Structures de quelques flavonoïdes.....	57
Figure 44 : Structures des acides phénoliques dérivés de l'acide benzoïque.....	57
Figure 45 : Structures des acides phénoliques dérivés de l'acide cinnamique.....	58
Figure 46 : Structures chimiques des antioxydants synthétiques.....	58
Figure 47: Extraction de <i>Matricaria pubescens</i>	60
Figure 48: La plaque bidimensionnelle de l'extrait butanolique de <i>Matricaria pubescens</i> ...	61
Figure 49: Schéma de séparation de l'extrait butanolique de <i>Matricaria pubescens</i>	65
Figure 50 Schéma de séparation de l'extrait butanolique de <i>Matricaria pubescens</i> récoltée en 2008.....	66
Figure 51: Extraction de <i>Chrysanthemum deserticum</i>	68
Figure 52 : Profils CCM sur gel de silice normale de la phase chloroformique.....	71
Figure 53 : Schéma de séparation de l'extrait chloroformique de <i>Chrysanthemum deserticum</i>	76
Figure 54 : Profils CCM sur gel de silice normale (1) et sur silice greffée C18 (2) de l'extrait n-BuOH.....	77
Figure 55 : Flash chromatographie.....	78
Figure 56 : Profils CCM sur gel de silice normale (1) et sur silice greffée C18 (2) de la fraction F_3	79
Figure 57 : Profils CCM sur gel de silice normale (1) et sur silice greffée C18 (2) de la sous fraction f_{10}	80
Figure 58 : Profils CCM sur gel de silice normale (1) et sur silice greffée C18 (2) de la sous fraction f_{11}	81
Figure 59 : Profils CCM sur gel de silice normale (1) et sur silice greffée C18 (2) de la fraction F_6	82
Figure 60 : Schéma de séparation de l'extrait butanolique de <i>Chrysanthemum deserticum</i>	83
Figure 61: Structure du radical 1,1-DiPhényl-2-Picryl-Hydrazyl et de sa forme réduite.....	85
Figure 62 : Schéma expliquant la façon de remplir la plaque à 96 puits.....	87
Figure 63 : Structure du 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) : forme	88

réduite ABTS, forme radical cation ABTS + [·]	
Figure 64 : Série spectrale UV du composé P₁	91
Figure 65 : Structure de la lutéoline.....	91
Figure 66 : Spectre de masse HR-SMIE du composé P₁	92
Figure 67 : Spectre RMN ¹ H du composé P₁ (CD ₃ OD, 500 MHz).....	92
Figure 68 : Spectre RMN ¹³ C du composé P₁ (CD ₃ OD, 125 MHz).....	93
Figure 69 : Spectre COSY du composé P₁	93
Figure 70 : Série spectrale UV du composé P₂	96
Figure 71 : Structure partielle du composé P₂	96
Figure 72 : Spectre de masse HR-SMIE du composé P₂	97
Figure 73 : Spectre RMN ¹ H du composé P₂ (CD ₃ OD, 500 MHz).....	98
Figure 74 : Spectre COSY du composé P₂	98
Figure 75 : Spectre HSQC Jmod du composé P₂	99
Figure 76 : Importantes corrélations HMBC (H-C) du composé P₂	99
Figure 77 : Spectre HMBC du composé P₂	100
Figure 78 : Série spectrale UV du composé P₃	102
Figure 79 : Structure partielle du composé P₃	103
Figure 80 : Spectre de masse HR-SMIE du composé P₃	103
Figure 81 : Spectre RMN ¹³ C du composé P₃ (CD ₃ OD, 125 MHz).....	103
Figure 82 : Spectre RMN ¹ H du composé P₃ (CD ₃ OD, 500 MHz).....	104
Figure 83 : Spectre COSY du composé P₃	105
Figure 84 : Spectre HMBC du composé P₃	105
Figure 85 : Spectre de masse HR-MS -ESI du composé P₄	107
Figure 86 : Spectre RMN ¹ H du composé P₄ (CD ₃ OD, 500 MHz).....	107
Figure 87 : Spectre RMN ¹ H étalé du composé P₄ (CD ₃ OD, 500 MHz).....	108
Figure 88 : Spectre COSY de la partie osidique du composé P₄	108
Figure 89 : Spectre HSQC Jmod du composé P₄	109
Figure 90 : Spectre HMBC du composé P₄	110
Figure 91 : Spectre RMN ¹³ C du composé P₄	110
Figure 92 : Spectre de masse HR-MS -ESI du composé P₅	112
Figure 93 : Spectre RMN ¹ H du composé P₅ (CD ₃ OD, 500 MHz).....	112
Figure 94 : Spectre COSY du composé P₅	113
Figure 95 : Spectre HSQC Jmod de la partie osidique du composé P₅	113
Figure 96 : Spectre HSQC Jmod de la partie génine du composé P₅	114
Figure 97 : Spectre HMBC de la partie aromatique du composé P₅	114

Figure 98 : Spectre HMBC de la partie osidique du composé P₅	115
Figure 99 : Importantes corrélations HMBC (H-C) du composé P₅	116
Figure 100 : Spectre HMBC du composé P₅	116
Figure 101 : Spectre NOESY du composé P₅	117
Figure 102 : Spectre RMN ¹³ C du composé P₅ (CD ₃ OD, 125 MHz).....	117
Figure 103 : Spectre de masse HR-MS-ESI du composé P₆	119
Figure 104 : Spectre RMN ¹ H du composé P₆ (CD ₃ OD, 500 MHz).....	119
Figure 105 : Spectre RMN ¹ H étalé du composé P₆ (CD ₃ OD, 500 MHz).....	120
Figure 106 : Spectre RMN ¹³ C du composé P₆ (CD ₃ OD, 125 MHz).....	120
Figure 107 : Spectre HMBC du composé P₆	121
Figure 108 : Spectre RMN ¹ H du composé P₇ (DMSO, 600 MHz).....	122
Figure 109 : Spectre RMN ¹ H étalé du composé P₇ (DMSO, 600 MHz).....	123
Figure 110 : Spectre ¹³ C du composé P₇ (DMSO, 150 MHz).....	123
Figure 111 : Spectre COSY du composé P₇	124
Figure 112 : Spectre HSQC de partie osidique du composé du P₇	124
Figure 113 : Spectre HSQC de la partie génine du composé P₇	125
Figure 114 : Spectre HMBC du composé P₇	125
Figure 115 : Spectre HMBC du composé P₇	126
Figure 116 : Spectres RMN ¹³ C et DEPT du composé C₁ (CDCl ₃ , 150 MHz).....	128
Figure 117 : Spectre RMN ¹ H du composé C₁ (CDCl ₃ , 600 MHz).....	129
Figure 118 : Spectre COSY du composé C₁	131
Figure 119 : Spectre HMBC du composé C₁	132
Figure 120 : Spectre HMBC du composé C₁	133
Figure 121 : Spectres RMN ¹³ C et DEPT du composé C₂ (CDCl ₃ , 150 MHz).....	134
Figure 122 : Spectre RMN ¹ H du composé C₂ (CDCl ₃ , 600 MHz).....	135
Figure 123 : Spectre HMBC du composé C₂	136
Figure 124 : Spectre COSY du composé C₂	137
Figure 125 : Spectres RMN ¹³ C et DEPT du composé C₃ (CDCl ₃ , 150 MHz).....	139
Figure 126 : Spectre RMN ¹ H du composé C₃ (CDCl ₃ , 600 MHz).....	139
Figure 127 : Spectre HSQC <i>J</i> -modulé du composé C₃	140
Figure 128 : Spectre de masse ESI-MS du composé C₃	141
Figure 129 : Spectre COSY du composé C₃	143
Figure 130 : Spectre HMBC du composé C₃	145
Figure 131 : Spectre HMBC du composé C₃	146
Figure 132 : Importants effets nOe observés pour le composé C₃	147

Figure 133: Spectre NOESY du composé C₃	147
Figure 134 : Spectre de masse HR-MS -ESI du composé C₄	148
Figure 135: Spectre RMN ¹³ C du composé C₄ (CDCl ₃ , 150 MHz).....	149
Figure 136: Spectre RMN ¹ H du composé C₄ (CDCl ₃ , 500 MHz).....	150
Figure 137: Spectre HSQC <i>J</i> -mod du composé C₄	150
Figure 138: Corrélation HMBC des protons éthyléniques géminés.....	150
Figure 139 : Spectre HMBC du composé C₄	151
Figure 140: Importantes corrélations HMBC ² <i>J</i> _{H-C} et ³ <i>J</i> _{H-C} observées pour le composé C₄	152
Figure 141: Spectre ROESY du composé C₄	152
Figure 142: Spectre de masse HR-MS-ESI du composé C₅	154
Figure 143: Spectre RMN ¹³ C <i>J</i> -modulé du composé C₅ (CDCl ₃ , 125 MHz).....	154
Figure 144: Spectre RMN ¹ H du composé C₅ (CDCl ₃ , 500 MHz).....	155
Figure 145: Spectre HMBC du composé C₅	156
Figure 146: Spectre de masse HR-MS-ESI du composé C₆	157
Figure 147: Spectre RMN ¹ H du composé C₆ (CDCl ₃ , 500 MHz).....	158
Figure 148: Spectre RMN ¹³ C du composé C₆ (CDCl ₃ , 125 MHz).....	158
Figure 149: Spectre HMBC du composé C₆	159
Figure 150: Spectre HMBC du composé C₆	159
Figure 151: Spectre de masse HR-MS-ESI du composé C₇	161
Figure 152: Spectre RMN ¹ H du composé C₇ (CDCl ₃ , 500 MHz).....	161
Figure 153: Spectre HSQC du composé C₇	162
Figure 154: Spectre COSY du composé C₇	162
Figure 155: Spectre HMBC du composé C₇	163
Figure 156: Spectre de masse HR-MS-ESI du composé C₈	164
Figure 157: Spectre RMN ¹ H du composé C₈ (CDCl ₃ , 600MHz).....	165
Figure 158: Spectre RMN ¹³ C du composé C₈ (CDCl ₃ , 150 MHz).....	165
Figure 159: Spectre COSY du composé C₈	166
Figure 160: Spectre HMBC du composé C₈	166
Figure 161: Spectre HMBC du composé C₈	167
Figure 162 : Spectre HMBC du composé C₈	167
Figure 163: Spectre ROESY du composé C₈	168
Figure 164 : Spectre RMN ¹ H du composé C₉ (CDCl ₃ , 500 MHz).....	170
Figure 165: Spectre RMN ¹³ C du composé C₉ (CDCl ₃ , 125MHz).....	170
Figure 166 : Spectre COSY du composé C₉	171
Figure 167: Spectre HMBC du composé C₉	172

Figure 168 : Spectre HMBC du composé C₉	172
Figure 169 : Spectre HMBC du composé C₉	173
Figure 170 : Importantes corrélations HMBC $^2J_{H-C}$ et $^3J_{H-C}$ observées pour le composé C₉ ...	173
Figure 171 : Spectre NOESY du composé C₉	174
Figure 172 : Spectre RMN 1H du composé C₁₀ (CDCl ₃ , 500 MHz).....	175
Figure 173 : Spectre HMBC du composé C₁₀	176
Figure 174 : Spectre COSY du composé C₁₀	177
Figure 175 : Spectre HMBC du composé C₁₀	178
Figure 176 : Spectre de masse HR-MS-ESI du composé C₂₀	180
Figure 177 : Spectre RMN 1H du composé C₂₀ (CD ₃ OD, 500 MHz).....	181
Figure 178 : Spectre COSY partie osidique du composé C₂₀	181
Figure 179 : Spectre HMBC du composé C₂₀	182
Figure 180 : Spectre NOESY du composé C₂₀	182
Figure 181 : Importantes corrélations HMBC observées pour le composé C₂₀	183
Figure 182 : Spectre RMN ^{13}C du composé C₂₀ (CD ₃ OD, 125 MHz).....	183
Figure 183 : Spectre de masse HR-ESI-MS du composé C₂₁	185
Figure 184 : Spectre RMN 1H du composé C₂₁ (CD ₃ OD, 600MHz).....	186
Figure 185 : Spectre COSY du composé C₂₁	186
Figure 186 : Spectre HSQC du composé C₂₁	187
Figure 187 : Spectre RMN ^{13}C du composé C₂₁ (CD ₃ OD, 150MHz).....	187
Figure 188 : Importantes corrélations HMBC observées pour le composé C₂₁	188
Figure 189 : Spectre HMBC du composé C₂₁	188
Figure 190 : Spectre NOESY du composé C₂₁	189
Figure 191 : Spectre de masse HR-MS-ESI du composé C₂₂	190
Figure 192 : Spectre RMN 1H du composé C₂₂ (CD ₃ OD, 500MHz).....	190
Figure 193 : Spectre COSY du composé C₂₂	191
Figure 194 : Spectre HSQC du composé C₂₂	192
Figure 195 : Importantes corrélations HMBC observées pour le composé C₂₂	192
Figure 196 : Spectre HMBC du composé C₂₂	193
Figure 197 : Spectre RMN ^{13}C du composé C₂₂ (CD ₃ OD, 125MHz).....	193
Figure 198 : Spectre de masse HR-MS-ESI du composé C₂₃	195
Figure 199 : Spectre RMN 1H étalé du composé C₂₃ (CD ₃ OD, 500MHz).....	196
Figure 200 : Spectre HMBC du composé C₂₃	196
Figure 201 : Spectre NOESY du composé C₂₃	197
Figure 202 : Spectre RMN ^{13}C du composé C₂₃ (CD ₃ OD, 125MHz).....	197

Figure 203: Spectre RMN ¹ H étalé du composé C ₂₄ (CD ₃ OD, 500MHz).....	199
Figure 204 : Spectre HSQC du composé C ₂₄	199
Figure 205: Importantes corrélations HMBC observées pour le composé C ₂₄	200
Figure 206: Spectre HMBC du composé C ₂₄	200
Figure 207 : Spectre RMN ¹³ C du composé C ₂₄ (CD ₃ OD, 125MHz).....	201
Figure 208 : Spectre de masse HR-MS-ESI du composé C ₂₅	202
Figure 209: Spectre RMN ¹ H du composé C ₂₅ (CD ₃ OD, 500MHz).....	203
Figure 210: Corrélations HMBC observées pour le composé C ₂₅	203
Figure 211: Spectre HMBC du composé C ₂₅	204
Figure 212 : Spectre RMN ¹³ C du composé C ₂₅ (CD ₃ OD, 125MHz).....	204
Figure 213 : Importantes corrélations HMBC observées pour le composé C ₂₅	205
Figure 214 : Spectre HMBC du composé C ₂₅	205
Figure 215: Spectre RMN ¹ H du composé C ₂₆ (CD ₃ OD, 600MHz).....	207
Figure 216 : Spectre HMBC du composé C ₂₆	207
Figure 217 : Courbes représentant l'activité antioxydante des extraits et des produits de <i>M. pubescens</i> par le test du DPPH.....	209
Figure 218: Courbes représentant l'activité antioxydante des extraits de <i>C. deserticum</i> par le test du DPPH.....	210
Figure 219: les valeurs des IC ₅₀ exprimés en µg / ml des échantillons étudiés classés en ordre croissant (DPPH).....	211
Figure 220: Courbes représentant l'activité antioxydante des extraits et des flavonoides de <i>M. pubescens</i> par le test de l'ABTS.....	213
Figure 221: Courbes représentant l'activité antioxydante des extraits de <i>C. deserticum</i> par le test de l'ABTS.....	213
Figure 222 : les valeurs des IC ₅₀ exprimés en µg / ml des échantillons étudiés classés en ordre croissant (ABTS).....	214
Figure 223 : Corrélation linéaire entre ABTS et DPPH.....	215

Table des Matières

Introduction générale	1
------------------------------------	----------

CHAPITRE I : Aperçu bibliographique

1. Généralités sur les ASTERACEAE	3
1.1. Introduction	3
1.2. Distribution.....	3
1.3. Taxonomie	3
1.4. Description botanique.....	5
1.5. Les métabolites secondaires	7
1.6. Utilisations économique et thérapeutique	11
2. Aperçu bibliographique sur le genre <i>Matricaria</i>	15
2.1. Généralités sur les matricaires	15
2.2. Répartition géographique	15
2.3. Description botanique	15
2.4. Métabolites secondaires	16
2.4.a. Les flavonoïdes	16
2.4.b. Les coumarines	20
2.4.c. Les sesquiterpènes	23
2.4.d. Les amides	24
2.4.e. Autres constituants isolés du genre <i>Matricaria</i>	25
2.5. Utilisations des matricaires.....	25
2.6. Activités biologiques reconnues du genre <i>Matricaria</i>	26
3. Aperçu bibliographique sur le genre <i>Chrysanthemum</i>	28
3.1. Généralités sur les chrysanthèmes	28
3.2. Description botanique	29
3.3. Répartition géographique	30
3.4. Métabolites secondaires	30
3.4.a. Les flavonoïdes	30
3.4.b. Les coumarines	36
3.4.c. Les sesquiterpènes	37

3.4.d. Les polyacétylènes	40
3.4.e. Les triterpènes.....	43
1.3.4.f. Les stérols	46
3.4.g. Divers composés	47
3.5. Utilisations des chrysanthèmes.....	48
3.6. Activités biologiques reconnues du genre <i>Chrysanthemum</i>	49
4. Aspect botanique	51
4.1. <i>Matricaria pubescens</i> (Desf.) Sch. Bip.....	51
4.1.1 Rappels botaniques.....	51
4.1.2 Place dans la systématique.....	51
4.1.3 Utilisations traditionnelles.....	51
4.1.4. Travaux antérieurs sur l'espèce <i>Matricaria pubescens</i> (Desf.) Sch. Bip.....	52
4.2. <i>Chrysanthemum deserticum</i> Batt. & Trab.....	53
4.2.1. Rappels botaniques.....	53
4.2.2 Place dans la systématique.....	53
4.2.3. Travaux antérieurs sur l'espèce <i>Chrysanthemum deserticum</i> Batt. & Trab.....	53
5. Activité antioxydante	54
5.1. Stress oxydatif.....	54
5.2. Les radicaux libres.....	54
5.3. Les antioxydants.....	54
5.3.1. Définition.....	54
5.3.2. Division des antioxydants	55
5.3.2.a. Les antioxydants naturels.....	55
5.3.2.b. Les antioxydants de synthèse.....	58
5.4. Efficacité des antioxydants	58

CHAPITRE II : Matériel et méthodes

1. <i>Matricaria pubescens</i> (Desf.) Sch. Bip.....	59
1.1. Matériel végétal	59
1.2. Extraction	59
1.3. Séparation et purification de l'extrait n-butanol.....	61
- Étude de la fraction F ₅	62
- Étude de la fraction F ₆	63
- Étude de la fraction F ₈	63

- Étude de la fraction F ₉	64
1.4. Séparations antérieures	66
2. <i>Chrysanthemum deserticum</i> Batt. et Trab.	67
2.1. Matériel végétal	67
2.2. Chimie extractive	67
2.3. Séparation et purification	69
2.3.a. A partir de la phase chloroformique	69
- Étude de la fraction F ₅	71
- Étude de la fraction F ₇	72
- Étude de la fraction F ₁₁	73
- Étude de la fraction F ₁₅	73
- Étude de la fraction F ₂₀	74
2.3.b. A partir de la phase butanolique	77
- Étude de la fraction F ₃	78
- Étude de la fraction F ₆	81
3. Activité antioxydante.....	84
3.1. Évaluation du potentiel anti-radicalaire.....	84
3.1.1. Test du 1,1-DiPhényl-2-Picryl-Hydrazyl (DPPH).....	85
3.1.1.a. Principe du test	85
3.1.1.b. Mise en œuvre pratique	86
3.1.2. Test de radical cation, l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS').....	88
3.1.2.a. Principe du test	88
3.1.2.b. Mise on œuvre pratique.....	88

CHAPITRE III : Résultats et discussion

1. Détermination structurale des composés isolés de <i>Matricaria pubescens</i> (phase butanolique)	90
1.1. Détermination structurale du composé P ₁	90
1.2. Détermination structurale du composé P ₂	94
1.3. Détermination structurale du composé P ₃	101
1.4. Détermination structurale du composé P ₄	106
1.4. Détermination structurale du composé P ₅	111

1.6. Détermination structurale du composé P ₆	118
1.7. Détermination structurale du composé P ₇	122
1.8. Produits isolés de la première récolte de 2008.....	127
2. Détermination structurale des composés isolés de <i>Chrysanthemum deserticum</i>	128
2.1. Composés de l'extrait chloroformique.	128
2.1.a. Détermination structurale du composé C ₁	128
2.1.b. Détermination structurale du composé C ₂	134
2.1.c. Détermination structurale du composé C ₃	138
2.1.d. Détermination structurale du composé C ₄	148
2.1.e. Détermination structurale du composé C ₅	153
2.1.f. Détermination structurale du composé C ₆	157
2.1.g. Détermination structurale du composé C ₇	160
2.1.h. Détermination structurale du composé C ₈	164
2.1.i. Détermination structurale du composé C ₉	169
2.1.j. Détermination structurale du composé C ₁₀	175
2.2. Composés de l'extrait butanolique.	180
2.2.a. Détermination structurale du composé C ₂₀	180
2.2.b. Détermination structurale du composé C ₂₁	184
2.2.c. Détermination structurale du composé C ₂₂	190
2.2.d. Détermination structurale du composé C ₂₃	194
2.2.e. Détermination structurale du composé C ₂₄	198
2.2.f. Détermination structurale du composé C ₂₅	202
2.2.g. Détermination structurale du composé C ₂₆	206
3. Activité antioxydante	209
3.1. Activité antioxydante déterminée par la méthode du DPPH.....	209
3.2. Activité antioxydante déterminée par la méthode de l'ABTS ⁺	212
3.3. Corrélation entre l'activité antioxydante déterminée par le radical libre DPPH et celle déterminée par le radical cation ABTS.....	215
3.4. Conclusion	216
Conclusion générale	217
Références bibliographiques	219

INTRODUCTION

GENERALE

Introduction générale

Depuis l'aube des temps, l'homme a utilisé les plantes qu'il a sa disposition à des fins médicinales pour se soigner.

A travers les siècles, l'art de guérir par les plantes devient plus célèbre, car il exploite des savoirs et des connaissances transmis oralement ou par écrit de génération en génération à certaines catégories d'individus initiés que sont les tradipraticiens de santé et les herboristes.

Aujourd'hui, en dépit des progrès significatifs dans le domaine de la médecine, notre époque est caractérisée par la recherche d'une vie plus saine, plus naturelle dans le monde entier, particulièrement dans les pays en voie de développement, en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne pour les soins de santé primaire.

Pour cela, il y a eu un intérêt croissant pour l'étude des plantes médicinales et leurs utilisations traditionnelles dans différentes régions du monde.

La flore algérienne est estimée à plus de 3000 espèces de plantes dont 15% sont endémiques et appartiennent à plusieurs familles botaniques [1,2]. Ce potentiel floristique, d'intérêt biomédical a poussé les chercheurs Algériens à explorer ces ressources sur le plan phytochimique ainsi que sur le plan pharmacologique.

Le présent travail consiste à effectuer l'extraction, l'isolement et l'identification des métabolites secondaires ainsi que l'activité biologique de deux plantes médicinales algériennes appartenant à la famille des Asteraceae :

➤ La première du genre *Matricaria*, *Matricaria pubescens* (Desf.) Sch. Bip une espèce endémique d'Afrique du Nord (Sahara Septentrional), connus pour son utilisation traditionnelle médicinale ainsi que culinaire [3].

➤ La deuxième du genre *Chrysanthemum*, *Chrysanthemum deserticum* Batt. & Trab., une espèce endémique au Sahara Septentrional [3].

Le présent manuscrit est réparti en deux parties :

➤ Partie phytochimique divisée en trois chapitres, dont :

Le premier chapitre est consacré à une recherche bibliographique, comportant une présentation botanique et phytochimique de la famille des Asteraceae, du genre *Matricaria* et du genre *Chrysanthemum*, les différentes classes de métabolites secondaires les plus connus, ainsi que les utilisations thérapeutiques de cette famille et de ces deux genres.

Le deuxième chapitre comprend la description de nos travaux d'extraction, d'isolement et de purification des métabolites secondaires des deux espèces étudiées, *Matricaria pubescens* (Desf.) Sch. Bip., *Chrysanthemum deserticolum* Batt. & Trab.

La discussion des résultats décrits dans le deuxième chapitre est détaillée dans le troisième chapitre.

➤ Partie biologique divisée également en trois chapitres :

Le premier chapitre est consacré à une synthèse bibliographique sur les radicaux libres et les antioxydants.

Le deuxième chapitre comprend nos travaux expérimentaux pour l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits et des composés isolés des deux espèces étudiées par les méthodes du DPPH et de l'ABTS.

Le dernier chapitre décrit la discussion des résultats obtenus.

CHAPITRE I
APERÇU
BIBLIOGRAPHIQUE

1. Généralités sur les Asteraceae

1.1. Introduction

L'ordre Astéral : est un ordre de dicotylédone qui inclut environ 11 familles, dont la plus grande est la famille des Asteraceae avec près de 23000 espèces, le Campanulaceae avec environ 2000 espèces, les familles restantes comptent ensemble pour moins de 500 espèces.

Asteraceae, aster (qui est un terme grec, signifiant «l'étoile» en référence à la forme des fleurs), la marguerite, ou la famille du tournesol, est la plus grande famille d'usines vasculaires, avec près de 1500 genre et plus de 23000 espèces décrites dont 750 endémiques [1,4]. Le plus grand genre est *Senecio* (1500 espèces), *Vernonia* (1000 espèces), *Cousinia* (600 espèces) et *Centaurea* (600 espèces). D'après Quezel et Santa, en Algérie il en existe 109 genres et 408 espèces [3].

1.2. Distribution

Les Asteraceae ont une distribution mondiale, étant trouvée partout sauf en Antarctique. Ils sont surtout nombreux dans les régions tropicales et subtropicales (l'Amérique notamment centrale, le Brésil de l'est, les Andes, l'Afrique méditerranéenne, l'Asie centrale et le sud-ouest de la Chine) (figure 1).

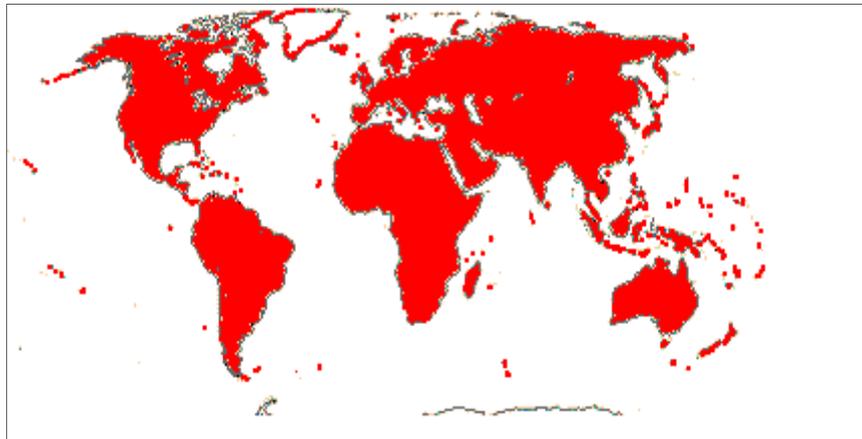


Figure 1 : Carte de répartition géographique des Asteraceae selon l'AP-Website [5].

1.3. Taxonomie

La famille des Asteraceae a été d'abord décrite en 1792 par le botaniste allemand Paul Dietrich Giseke (1745-1796). Traditionnellement, deux sous-familles ont été reconnues : *Asteroideae* (ou *Tubuliflorae*) et *Cichorioideae* (ou *Liguliflorae*) qui est maintenant divisée

en 11 sous-familles. L'arbre phylogénétique présenté ci-dessous a été proposé par Panero et Funk (2002) [6].

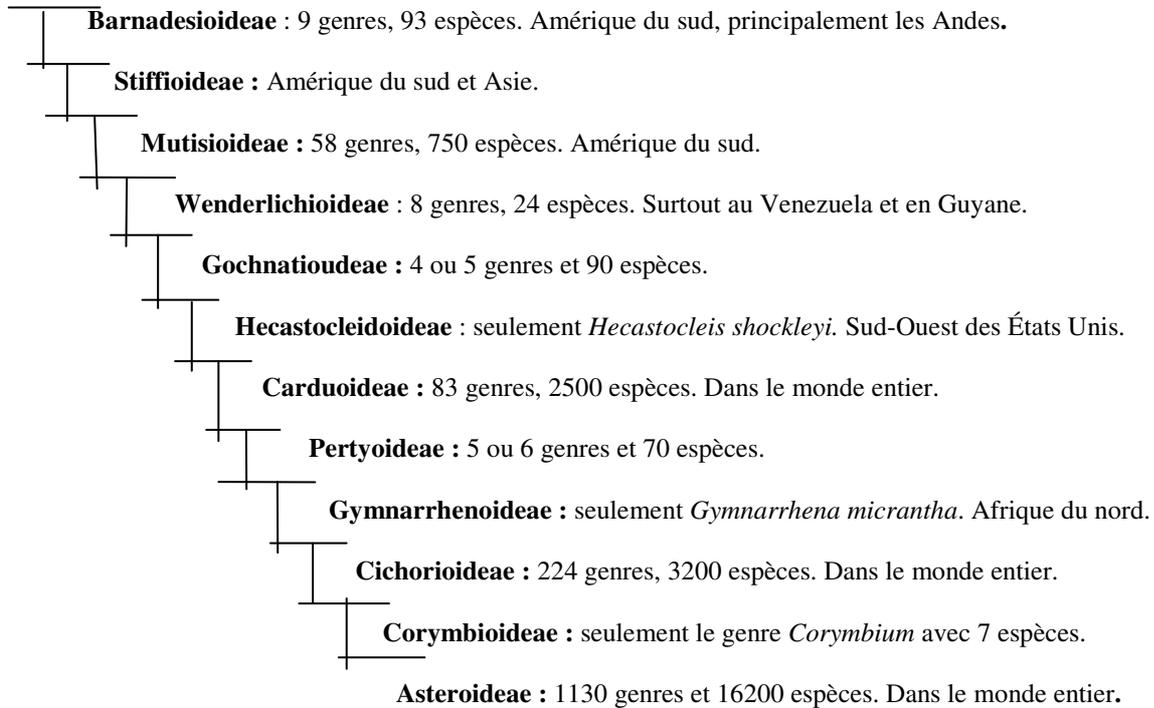
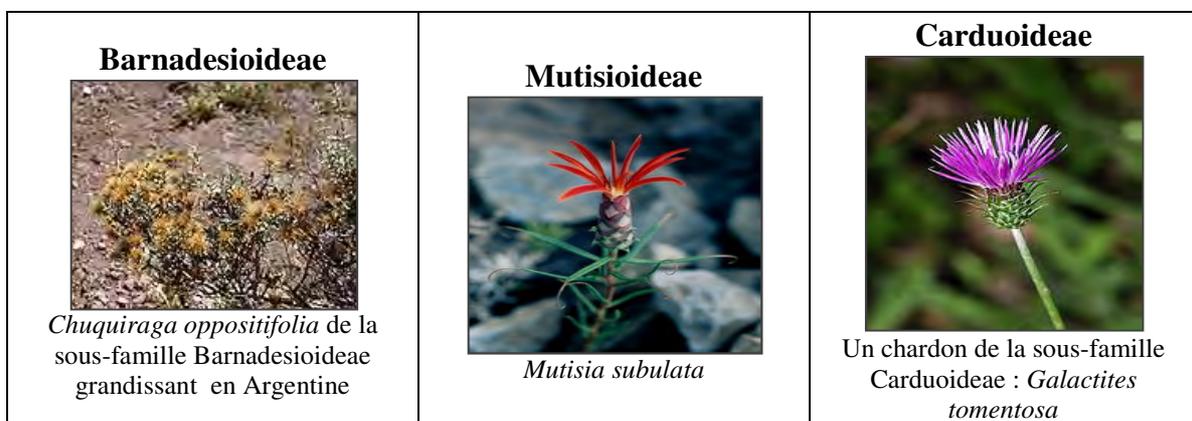


Figure 2 : Classification sous familiale phylogénétique des Compositeae selon Panero et Funk [6].

Il est remarquable que les quatre sous-familles Asterioideae, Cichorioideae, Carduoideae et mutisioideae comprennent 99% de la diversité spécifique de la famille entière (environ 70 %, 14 %, 11 % et 3 %, respectivement).

La figure 3 présente les différentes sous familles des Asteraceae.



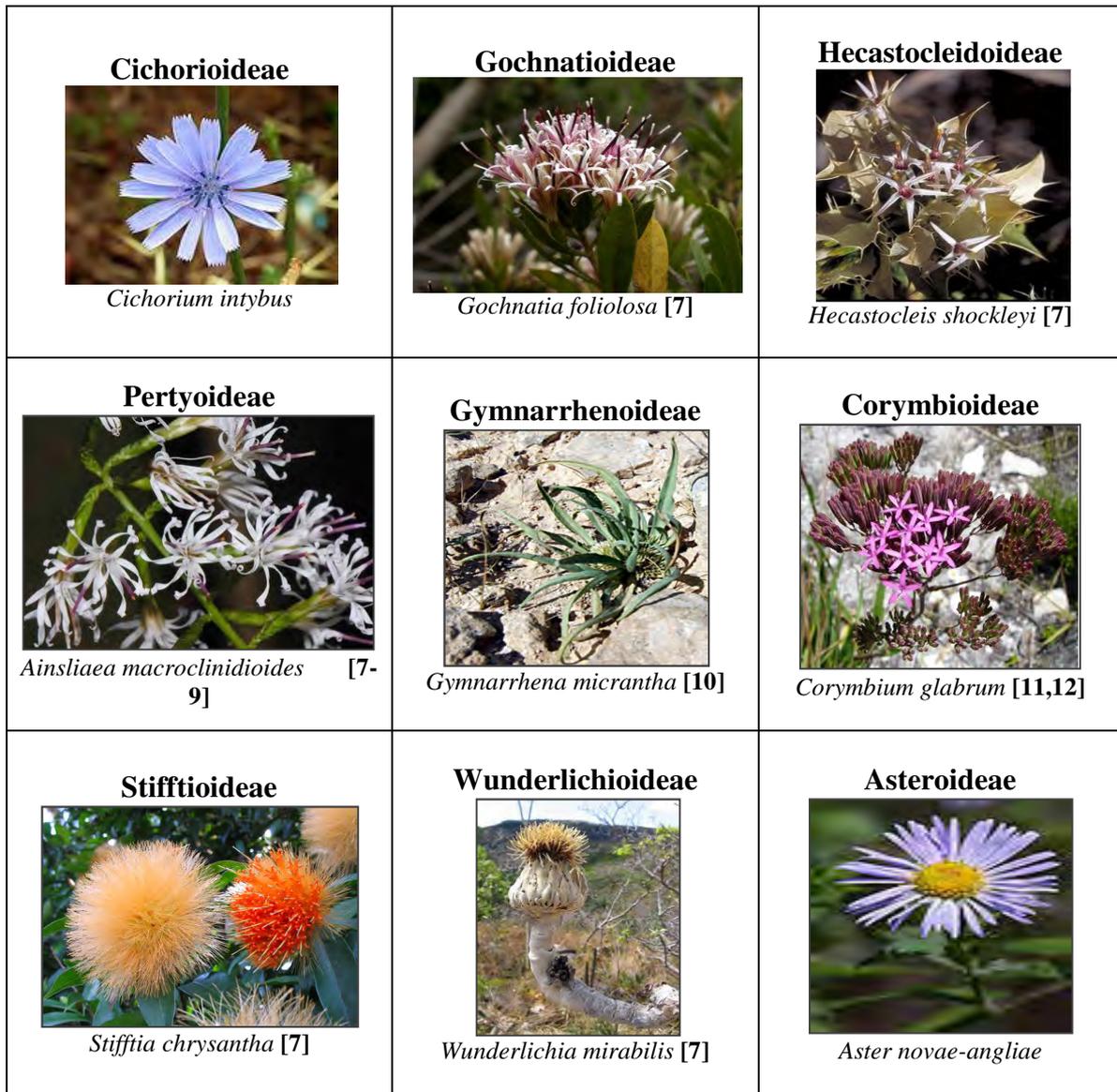


Figure 3 : Quelques espèces des différentes sous-familles des Asteraceae.

1.4. Description botanique

Cette famille présente des caractères morphologiques divers : herbes annuelles ou vivaces, plus rarement des arbustes, arbres ou plantes grimpantes et quelques fois, plantes charnues [13]. Généralement se sont des plantes herbacées à feuilles isolées [14]. L'aspect de l'appareil végétatif est trop variable pour caractériser les Asteraceae sur ce seul critère. En revanche, cette famille est très homogène au niveau de ses inflorescences très caractéristiques : le capitule. Le fruit est un akène généralement surmonté d'un pappus provenant du calice.

a) **Les racines et les tiges :** Les racines des Asteraceae sont d'habitude pivotantes et quelquefois fibreuses. Les tiges sont généralement droites, mais tombent quelque fois au fait

de s'élever. Quelques espèces ont des tiges souterraines dans la forme de caudices ou de rhizomes, ceux-ci peuvent être charnus ou boisés selon les espèces.

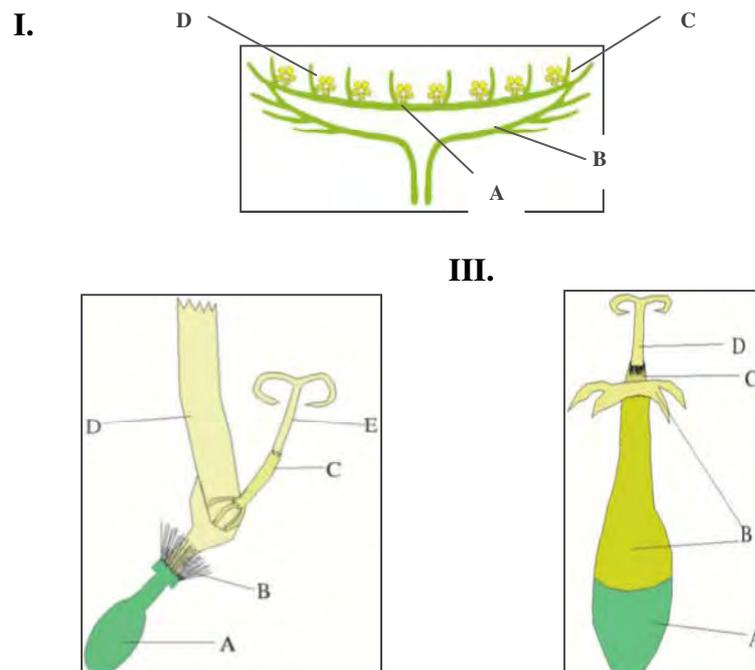
b) Les feuilles: Les feuilles et les tiges contiennent très souvent des canaux sécrétoires avec la résine ou le latex . Les feuilles sont souvent alternes, et parfois en face, ou verticillées. elles peuvent être simples, mais sont souvent profondément lobées ou incisées. Les marges peuvent être entières ou dentées.

c) Les fleurs: Les fleurs sont regroupées en capitules, c'est-à-dire serrées les unes à côté des autres, sans pédoncule, sur l'extrémité élargie d'un rameau ou d'une tige (le réceptacle floral) et entourées d'une structure formée par des bractées florales appelée involucre. Les fleurs, appelées aussi fleurons, sont caractérisées par leurs anthères soudées. Les ovules ont une position basale dans l'ovaire. Les pétales sont soudés et forment un tube court suivi d'une languette allongée dans le cas de fleurs ligulées, ou un long tube entourant les anthères et le style dans le cas des fleurs tubulées (l'extrémité des pétales pouvant alors être libre)(figure 4).

d) L'inflorescence: L'inflorescence des Asteraceae est le capitule. Un capitule comprend un réceptacle plan ou plus moins bombé sur lequel sont insérés de l'extérieur vers l'intérieur, en ordre spirale. Le capitule peut être formé uniquement de fleurs tubulées (artichaut), uniquement de fleurs ligulées (pissenlit) ou de fleurons périphériques ligulés entourant un disque de fleurons tubulés (marguerite).

e) Les fruits : Le fruit des Asteraceae est un akène généralement surmonté d'un pappus (une aigrette de soies correspondant au calice persistant).

f) Les graines : Elles sont exalbuminées (figure 5).



I. Capitule : A = réceptacle, B = bractée ou écaille de l'involucre, C = fleurs ligulées ou tubulées, D = écailles ;

II. Fleur ligulée : A = ovaire, B = pappus, C = tube formé par les anthères soudées, D = ligule, E = style avec les stigmates réceptifs ;

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

Figure 4 : Schémas de différentes parties florales d'une Asteraceae.



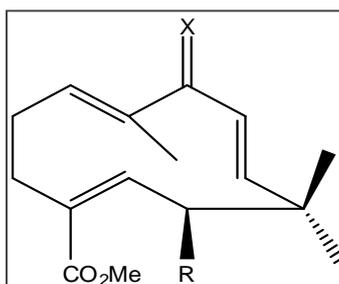
Figure 5 : Les graines sont dispersées par le vent dans *Carlina*

1.5. Les métabolites secondaires

Une large variété de produits naturels caractérise les espèces de la famille Asteraceae, les plus rencontrés sont les sesquiterpènes et les sesquiterpènes lactones, les diterpènes et les triterpènes, les flavonoïdes, les acides phénoliques etc....

Voici quelques exemples de molécules des principales classes de métabolites secondaires dans la famille Asteraceae :

➤ L'étude chimique de l'espèce *Odontospermum graveolens* [15] a abouti à l'isolement et la caractérisation de onze sesquiterpènes lactones à squelette humulène : methyl-9-oxo-1(10)E,7E- α -humulene-15-oate (**1**), methyl-9-oxo-1(10)E,7Z- α -humulene-15-oate (**2**), methyl-9-oxo-1(10)Z,7Z- α -humulene-15-oate (**3**), methyl-9-oxo-1(10)Z,7E- α -humulene-15-oate (**4**), methyl-6-acetoxy-9-oxo-1(10)E,7E- α -humulene-15-oate (**5**), methyl-6-acetoxy-9-oxo-1(10)E,7Z- α -humulene-15-oate (**6**), methyl-6-acetoxy-9-oxo-1(10)Z,7E- α -humulene-15-oate (**7**), methyl-6-acetoxy-9-oxo-1(10)Z,7Z- α -humulene-15-oate (**8**), 4E-methyl-6-acetoxy-9-oxo-1(10)Z,7Z- α -humulene-15-oate (**9**), 4E-methyl-6-acetoxy-9-oxo-1(10)E,7Z- α -humulene-15-oate (**10**), methyl-9-hydroxy-1(10)E,7Z- α -humulene-15-oate (**11**).



	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>	<u>6</u>	<u>7</u>	<u>8</u>	<u>9</u>	<u>10</u>	<u>11</u>
R	H	H	H	H	OAc	OAc	OAc	OAc	OAc	OAc	H
X	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	OH, H
$\Delta^{1(10)}$	E	E	Z	Z	E	E	Z	Z	Z	E	E
Δ^7	E	Z	Z	E	E	Z	E	Z	Z	Z	Z
									4E	4E	

Figure 6 : Structures des sesquiterpènes lactones isolés de *Odontospermum graveolens* [15].

➤ Une étude chimique réalisée sur l'extrait chloroformique de *Nauplius graveolensa* [16] a permis l'identification de six sesquiterpènes lactones dont quatre asteriscunolides à squelette humulène. Il s'agit de : 14,15-diméthyl-8-oxo-tétracycliqu[6.3.2.1]dodéca-12,1-olide (**12**), 6,7,9,10-tétradihydroasteriscanolide (**13**), 8-oxo-humula-6Z,9Z-diène-12,1-olide (**14**), 8-oxohumula-6E,9Z-diène-12,1-olide (**15**), 8-oxo-humula-6Z,9E-diène-12,1-olide (**16**), 8-oxohumula-6E,9E-diène-12,1-olide (**17**) .

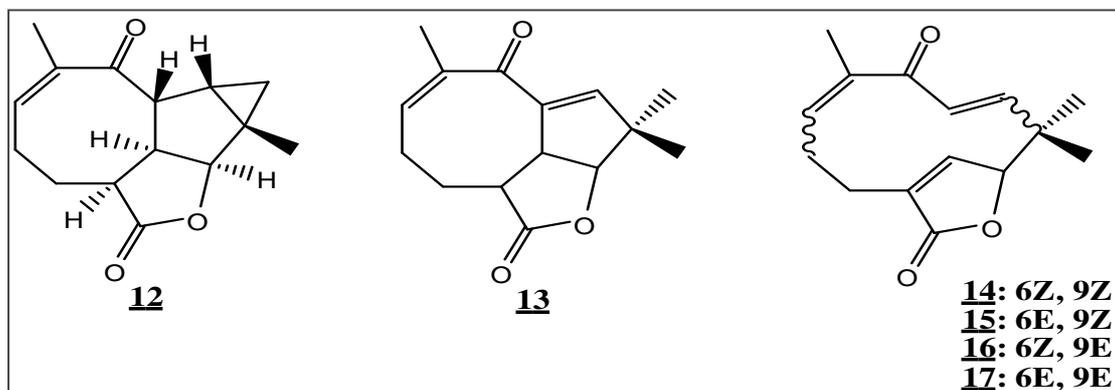


Figure 7 : Structures des sesquiterpènes lactones isolés de *Nauplius graveolensa* [16].

➤ Une étude phytochimique sur les parties aériennes de l'espèce *Leontopodium franchetii* [17] a permis d'isoler et d'identifier 5 diterpènes : acide ent-kaur-16-en-19-oïque (**18**), méthyl-15 α -angeloyloxy-ent-kaur-16-en-19-oate (**19**), méthyl-ent-kaur-16-en-19-oate (**20**), 19-acetoxy-ent-kaur-16-ene (**21**), méthyl-15 β -angeloyloxy-16,17-epoxy-ent-kauran-19-oate (**22**) et un sesquiterpène : 8-acetoxymodhephene (**23**).

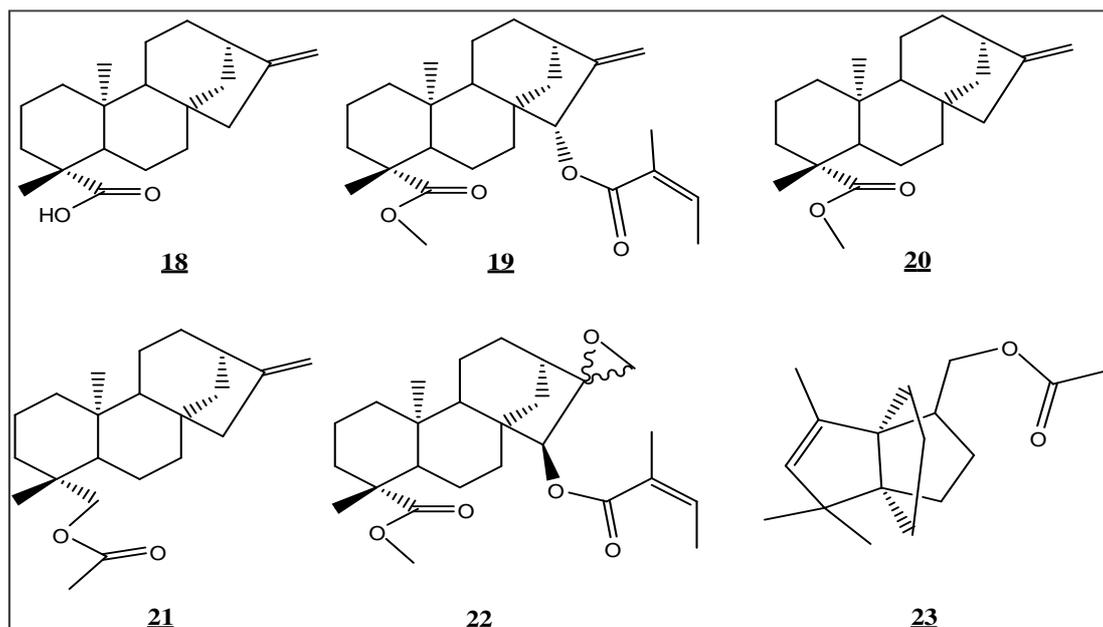
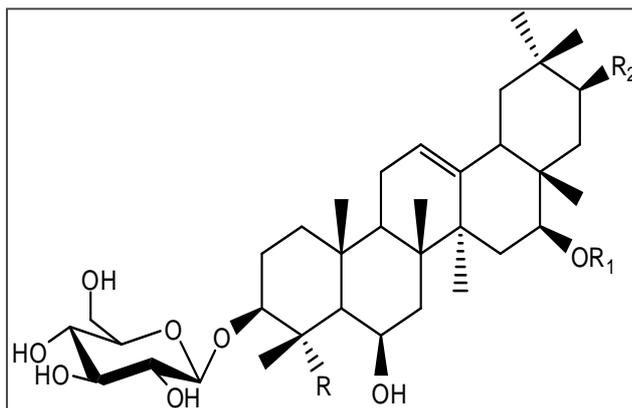
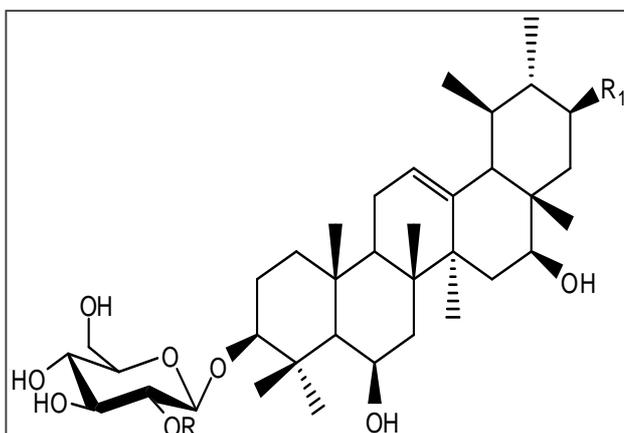


Figure 8 : Structures des diterpènes et sesquiterpène isolés de *Leontopodium franchetii* [17].

➤ L'investigation chimique réalisée sur les parties aériennes de l'espèce *Silphium radula* [18] a abouti à l'isolement de 9 triterpènes saponosides : 3 β ,6 β ,16 β -trihydroxyolean-12-en-23-al-3-*O*- β -glucopyranosyl-16-*O*- β -glucopyranoside (**24**), urs-12-ene-3 β ,6 β ,16 β -triol-3-*O*- β -galactopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -glucopyranoside (**25**), acide 3 β ,6 β ,16 β -trihydroxyolean-12-en-23-oïque-3-*O*- β -glucopyranosyl-16-*O*- β -glucopyranoside (**26**), urs-12-ene-3 β ,6 β ,16 β ,21 β -tetraol-3-*O*- β -glucopyranoside (**27**), olean-12-ene-3 β ,6 β ,16 β ,21 β -tetraol-3-*O*- β -glucopyranoside (**28**), olean-12-ene-3 β ,6 β ,16 β ,21 β ,23-pentaol-3-*O*- β -glucopyranosyl-16-*O*- β -glucopyranoside (**29**), olean-12-ene-3 β ,6 β ,16 β -triol-3-*O*- β -glucopyranosyl-16-*O*- α -arabinopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -glucopyranoside (**30**), olean-12-ene-3 β ,6 β ,16 β ,23-tetraol-3-*O*- β -glucopyranosyl-16-*O*- α -arabinopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -glucopyranoside (**31**), 3 β ,6 β ,16 β ,21 β -tetrahydroxyolean-12-en-23-al-3-*O*- β -glucopyranoside (**32**).



	<u>24</u>	<u>26</u>	<u>28</u>	<u>29</u>	<u>30</u>	<u>31</u>	<u>32</u>
R	CHO	COOH	CH₃	CH₂OH	CH₃	CH₂OH	CHO
R₁	Glc	Glc	H	Glc	Glc(1→2)-Ara	Glc(1→2)-Ara	H
R₂	H	H	OH	OH	H	H	OH



	R	R₁
<u>25</u>	Gal	H
<u>27</u>	H	OH

Figure 9 : Structures des triterpènes saponosides isolés de *Silphium radula* [18].

➤ Une étude chimique réalisée sur l'espèce *Centaurea pseudoscobiosa* [19], a révélé la présence de trois flavonoïdes glycosides : Pinocembrine 7-*O*- α -arabinopyranosyl-(1→2)- β -glucopyranoside (**33**), Chrysin 7-*O*- β -galactopyranuronoside (**34**), Baicaleine 6-méthylether-7-*O*- β -galactopyranuronoside (**35**).

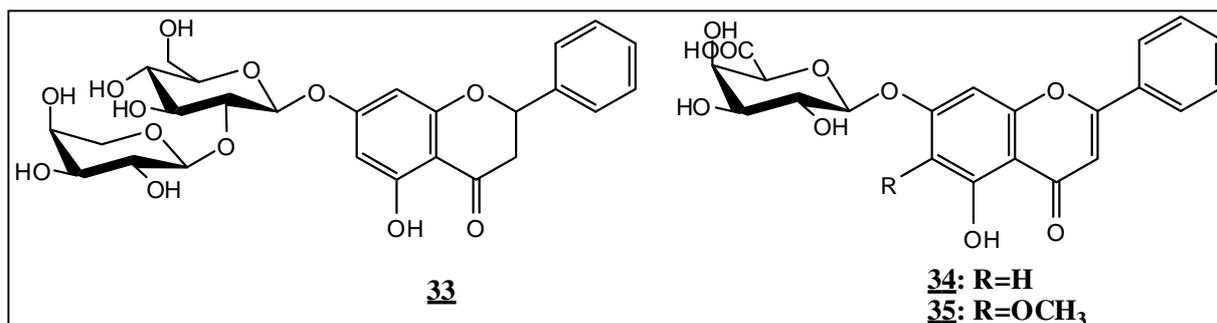


Figure 10 : Structures des flavonoïdes isolés de *Centaurea pseudoscobiosa* [19].

➤ Une étude phytochimique a été effectuée sur les extraits dichlorométhane et acétate d'éthyle de *Centaurea tougourensis* [20] et a mené à l'isolement et la détermination structural de : 5,7,4'-trihydroxy-6,3'- diméthoxyflavone (jaceosidine) (**36**), 5,7-dihydroxy-6,3',4'-triméthoxyflavone (eupatiline) (**37**), 5-hydroxy-6,7,3',4'-tetraméthoxyflavone (3'-O-méthyleupatorine) (**38**), 5,7,3',4'-tetrahydroxy-6-méthoxyflavone (nepetine) (**39**) et 5,7,4'-trihydroxyflavone (apigénine) (**40**).

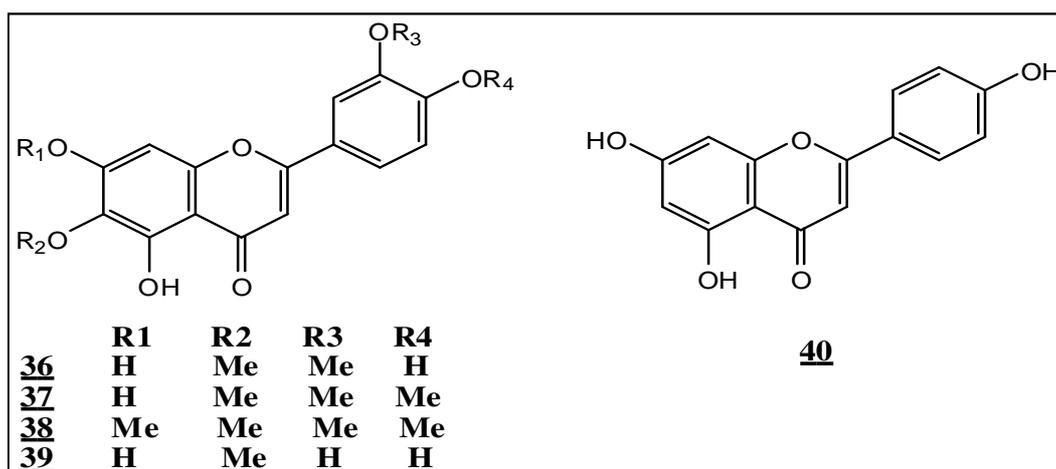


Figure 11 : Structures des flavonoïdes et des phénols isolés de *Centaurea tougourensis* [20].

1.6. Utilisations économiques et thérapeutiques

Certaines Asteraceae sont des plantes alimentaires :

➤ les feuilles jeunes de la chicorée (*Cichorium intybus*) sont utilisées en salades, les feuilles cuites en légume et les racines torréfiées de chicorée à café pour fabriquer un succédané de café plus digeste, en particulier mélangé au lait. Il y a 50 ans, dans les campagnes françaises, le "café" était souvent de la chicorée ou un mélange chicorée- café. De plus, la racine de chicorée est traditionnellement utilisée pour participer à la perte de poids, en

complément de mesures diététiques, et pour favoriser l'élimination rénale de l'eau. En effet, une étude a permis de mettre en évidence l'efficacité de l'inuline sur la réduction des taux de lipides dans le sang [21]. La chicorée permettrait une meilleure absorption du calcium et du magnésium, notamment chez les adolescents et les femmes ménopausées [22].

➤ Les feuilles d'estragon (*Artemisia dracunculus*) sont utilisées fraîches comme un condiment pour salades, séchées ou en poudre pour aromatiser des plats (lasagne, crudités, sauces, poissons...) ainsi que les conserves au vinaigre (cornichons, variantes). Les feuilles sont aussi utilisées pour l'élaboration d'une liqueur d'estragon [23].

➤ On consomme les feuilles de la laitue (*Lactuca sativa*) fraîches, soit crues en salade, soit cuites, en potage, braisées, ou mélangées à d'autres légumes en jardinière. Dans le cas de la laitue asperge, d'origine chinoise, les tiges se consomment également comme des asperges [24].

➤ D'après les nutritionnistes, l'huile de tournesol (*Helianthus annuus*) (figure 12) a d'excellentes qualités diététiques, par exemple pour combattre le diabète [25]. C'est également une bonne source de vitamine E. L'huile de tournesol entre dans la composition des margarines. Elle sert aussi à la fabrication de savons et de cierges. On l'utilise souvent pour mettre comme huile dans les pâtes, ou d'autres aliments [26].

➤ Les tubercules ou l'artichaut de Jérusalem (*Helianthus tuberosus*) se consomment cuits de diverses manières : en salade, chauds en accompagnement, frits, en purée, sautés au beurre, etc. On peut aussi les consommer crus, râpés ou coupés en lamelles, comme des crudités dans de la vinaigrette [23].



Figure 12 : Les tournesols sont un membre communément cultivé d'Asteraceae

Les utilisations médicinales des Asteraceae sont multiples, et plusieurs espèces sont utilisées traditionnellement et en pharmacie :

➤ l'achillée (*Achillea millefolium*) est utilisée en tant qu'antispasmodique, emménagogue, cicatrisant, tonique, peptique [27], elle est aussi utilisée

comme cosmétique et dans de nombreuses liqueurs, elle est contre-indiquée pendant la grossesse.

➤ En herboristerie traditionnelle, la bardane (*Arctium minus*) (surtout l'huile extraite de sa racine) freine la chute des cheveux et prévient donc la calvitie, c'est pourquoi on la retrouve dans un grand nombre de formules de lotions capillaires [28]. Sa racine est employée pour traiter les affections cutanées liées à un excès de séborrhée, telles que l'acné, ainsi que les furoncles et les abcès [29]. Les feuilles sont utilisées en traitement d'appoint, en usage externe, pour soigner les prurits, crevasses, gerçures, et les piqûres d'insecte [29]. L'activité détoxifiante, dépurative et hépatoprotectrice de la grande bardane (*Arctium lappa*) est reconnue dans diverses pharmacopées traditionnelles [30,31].

➤ Arnica (*Arnica montana*) est utilisée en médecine pour soigner les troubles cardiaques et respiratoires, elle permet aussi de réduire la douleur relative à une piqûre d'insecte. Possédant des propriétés immunologiques, *Arnica montana* constitue aussi un remède pour certains états infectieux avec adynamie et les affections dues à la fragilité du derme [32].

➤ La décoction de bleuet (*Centaurea cyanus*) était prescrite en cas d'irritation des yeux et des paupières et pour lutter contre la conjonctivite, et plus généralement pour les inflammations de la peau et des muqueuses et en cosmétologie [33].

➤ le carthame (*Carthamus tinctorius*) est un anti-inflammatoire et permet de stabiliser la tension artérielle. La plante est aussi très efficace pour venir à bout des maladies cardiovasculaires. Le carthame dispose aussi d'une propriété qui permet d'éliminer les mauvais cholestérols de l'organisme humain [34].

➤ Traditionnellement, la racine de l'eupatoire chanvrine (*Eupatorium cannabinum*) est reconnue comme douée de propriétés cholagogues et laxatives. La plante (feuilles, fleurs et racines) est recommandée pour pallier des troubles du foie ou des reins. Cependant, l'eupatoire contient des alcaloïdes pyrrolizidiniques, et présente donc une toxicité à forte dose ou en usage prolongé [35].

➤ Au Moyen Âge, la piloselle (*Hieracium pilosella*) servait à prédire la guérison ou la mort des malades. La sainte abbesse Hildegarde fut la première à la mentionner au XII^e siècle. Depuis, son usage médicinal pour fortifier la vue et guérir les blessures s'est conservé dans les campagnes. La pharmacologie moderne lui reconnaît les propriétés suivantes : anti-infectieuse, astringente, cholagogue, apéritive, dépurative, vulnéraire, détersive et diurétique, anti-inflammatoire, antimicrobienne, antioxydante [36].

➤ l'extrait de racine du pétasitès hybride (*Petasites hybridus*) a une certaine efficacité dans le traitement de fond des migraines [37].

➤ la verge d'or (*Solidago virgaurea*) est utilisée traditionnellement pour traiter les maladies urologiques, lithiase rénale et de la prostate [38]. Elle possède de propriétés antimicrobienne, analgésique, antinéoplasique, antioxydante et antispasmodique. Elle est recommandée comme un diurétique, analgésique et anti-inflammatoire pour le traitement des brûlures et les maladies rhumatismales [39].

➤ La tanaïsie (*Tanacetum vulgare*) est largement utilisée dans la médecine traditionnelle, elle a été utilisée comme un vermifuge, emménagogue [40] et un anti-inflammatoire [41]. Elle a montré des propriétés antioxydantes remarquables, principalement en raison de sa teneur en composés phénoliques [42]. Ses feuilles, préparées en infusion, étaient réputées avoir des propriétés toniques, antispasmodiques et fébrifuges. elle contient une huile essentielle dont un constituant, la thuyone, est très toxique à dose élevée.

➤ le pas-d'âne (*Tussilago farfara*) est un antitussif, ses parties aériennes sont réputées pour lutter contre la toux, les bronchites, les trachéites et les rhumes [43]. Mais ce sont surtout les fleurs qui sont employées en infusion ou en sirop [44,45]. On utilise également les fleurs en teinture mère pour soigner les maladies pectorales, bronchites et crises d'asthmes allergiques. La teinture mère de feuilles, quant à elle, est utilisée en usage externe pour soigner les abcès et kystes et, en usage interne, les diarrhées [46].

Cette famille fournit un très grand nombre de plantes ornementales, pour leurs fleurs, telles que : *Chrysanthemum*, *Gerbera*, *Calendula*, *Dendranthema*, *Argyranthemum*, *Dahlia*, *Tagetes*, *Zinnia* et beaucoup d'autres.

Les genres *Tanacetum* [47] et *Chrysanthemum* [48] contiennent des espèces possédant des propriétés insecticides.

2. Aperçu bibliographique sur le genre *Matricaria*

2.1. Généralités sur les matricaires

Le genre *Matricaria* appartient à la famille des Asteraceae (ou Compositae). *Matricaria* vient de *matrix* : «femelle, matrice».

Les plantes ayant pour nom de genre *Chamomilla* sont aujourd'hui au sein du genre *Matricaria*. Par contre, les plantes nommées « Camomille » en français n'ont pas à voir avec ce genre. Seule *Matricaria recutita* (également connue sous le nom de *Matricaria chamomilla*) peut être nommée « Camomille sauvage » en raison de sa ressemblance avec les plantes cultivées et des usages similaires.

Le terme *Chamomilla* vient du grec *chamai* : « à terre », et *melon* : « pomme », les fleurs rappelant l'odeur de pomme [49].

2.2. Répartition géographique

Le genre *Matricaria* comporte une trentaine d'espèces principalement des régions tempérées d'Europe, d'Amérique, d'Asie et d'Afrique, dont quelques espèces naturalisées en Australie [50].

2.3. Description botanique

Les matricaires sont des plantes annuelles de 50 centimètres à 1,5 m de hauteur, à tige dressée, rameuse. Les feuilles, alternes, sessiles, épaisses, charnues, sont très divisées, en lanières. Les fleurs, jaunes au centre, blanches à la circonférence, très odorantes, sont groupées en capitules solitaires au sommet des rameaux. Le fruit est très petit, blanc jaunâtre, légèrement arqué [3] (figure 13).



Figure 13 : *Matricaria inodor*

2.4. Métabolites secondaires :

Les métabolites secondaires sont des molécules qui ne participent pas directement au développement des plantes mais plutôt interviennent dans les relations avec les stress biotiques, abiotiques ou améliorent l'efficacité de reproduction. Ils sont différents dans les différentes espèces telles que les acides phénoliques, les flavonoïdes, les terpenoïdes et les alcaloïdes.

Le genre *Matricaria* est caractérisé par une diversité structurale en métabolites secondaires riche en composés de types : coumarines, flavonoïdes, terpènes, hétérosides, sesquiterpènes lactonique [51].

2.4.a. Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires des plantes partageant tous une même structure de base formée par deux cycles aromatiques reliés par trois carbones : C₆-C₃-C₆, chaîne souvent fermée en un hétérocycle oxygéné (figure 14) [52].

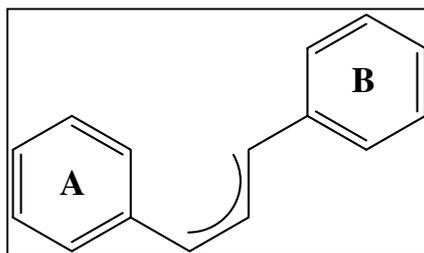


Figure 14 : Squelette de base des flavonoïdes.

Les flavonoïdes sont responsables de la couleur variée des fleurs et des fruits [53] et représentent une source importante d'antioxydants dans notre alimentation [54,55]. De nos jours, les propriétés des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités anti-tumorale [56], anti carcinogène [57], anti-inflammatoire [58], antivirale [59], antiallergique [60], anti hépatotoxique [61].

Ces substances naturelles sont très répandues dans la famille des Asteraceae où beaucoup de travaux ont été réalisés chez le genre *Matricaria* [62,63]. On trouve essentiellement des flavonoïdes glycosylés comme l'apigénine 7-O-glucoside (41) et la lutéoline 7-O-glucoside (42).

L'étude chimique de l'espèce *M. recutita* a permis également de mettre en évidence des flavonoïdes aglycones comme la quercétine (43) [64].

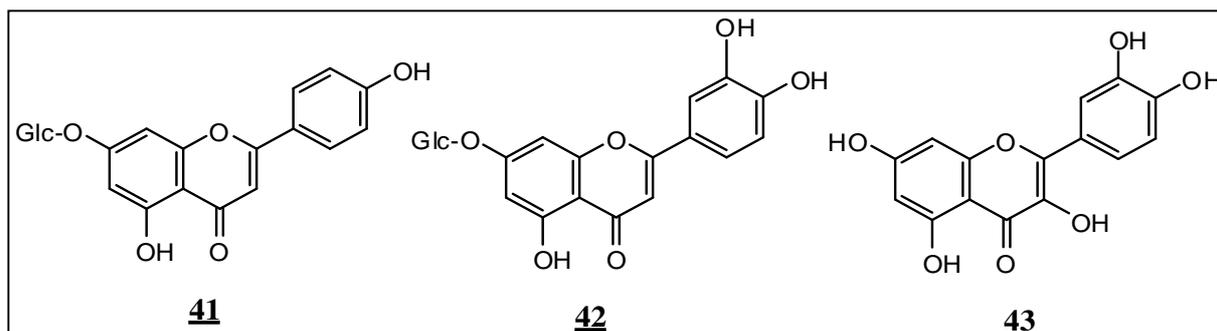


Figure 15 : Structures des flavonoïdes aglycone et glucosylés isolés du genre *Matricaria*.

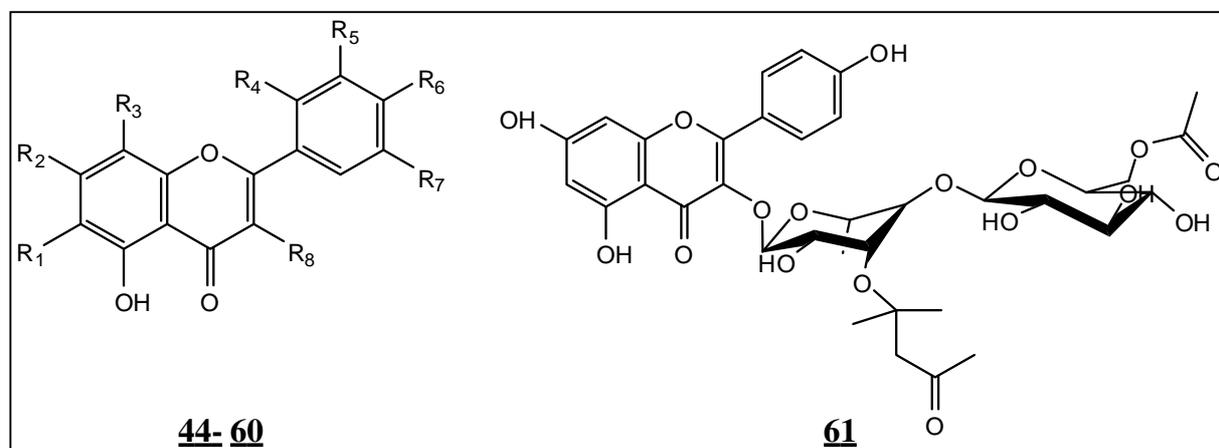
Les flavonoïdes isolés du genre *Matricaria* sont regroupés dans le tableau 1 :

Tableau 1 : Les flavonoïdes isolés du genre *Matricaria*

Flavonoïde	Structure	Espèce	Référence
Apigénine-7- <i>O</i> -glucoside	<u>41</u>	<i>M. chamomilla</i>	[65]
			[66]
			[67]
			[68]
			[69]
			[70]
			[71]
			[72]
			[73]
			[74]
Lutéoline-7- <i>O</i> -glucoside	<u>42</u>	<i>M. chamomilla</i>	[65]
			[70]
			[75]
			[77]
		<i>M. inodora</i>	[79]
		<i>M. discordea</i>	[80]
Quercétine	<u>43</u>	<i>M. chamomilla</i>	[64]
Rutine	<u>44</u>	<i>M. recutita</i>	[77]

Patulitine	<u>45</u>	<i>M. chamomilla</i>	[65] [64]
Quercémétrine	<u>46</u>	<i>M. chamomilla</i>	[65]
		<i>M. matricaroïde</i>	[81]
4',5'-dihydroxy-3',3,6,7-Tétraméthoxyflavone	<u>47</u>	<i>M. chamomilla</i>	[82]
Apigénine-7-acetylglucoside	<u>48</u>	<i>M. chamomilla</i>	[66]
			[83]
			[67]
			[68]
			[84]
Apigénine	<u>40</u>	<i>M. chamomilla</i>	[83]
			[64]
			[67]
			[85]
			[86]
			[69]
			[70]
			[71]
			[72]
			[73]
			[76]
[77]			
[87]			
[78]			
Lutéoline	<u>49</u>	<i>M. chamomilla</i>	[83]
			[64]
			[72]
<i>M. discordea</i>	[80]		
Quercétine-3-O-glucoside	<u>50</u>	<i>M. chamomilla</i>	[88]
Apigénine-7-O- glucoside 2'',6''-diacétate	<u>51</u>	<i>M. chamomilla</i>	[64]
			[89]
			[70]
			[84]
Kaempférol-3-O-glucoside	<u>52</u>	<i>M. chamomilla</i>	[70]

Jacéidine	<u>53</u>	<i>M. chamomilla</i>	[90]
Chrysosephenol D	<u>54</u>	<i>M. chamomilla</i>	[90]
Eupatolitine	<u>55</u>	<i>M. chamomilla</i>	[90]
Spinacétine	<u>56</u>	<i>M. chamomilla</i>	[90]
Auxillarine	<u>57</u>	<i>M. chamomilla</i>	[90]
Eupatiline	<u>37</u>	<i>M. chamomilla</i>	[90]
Quercétagétine	<u>58</u>	<i>M. recutita</i>	[77]
Hypéroside	<u>59</u>	<i>M. recutita</i>	[77]
Apigénine 8-β-O-(4''-O-acétyl) glucoside	<u>60</u>	<i>M. recutita</i>	[91]
Palmatoside A	<u>61</u>	<i>M. chamomilla</i>	[76]



Flavonoïde	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈
<u>44</u>	H	OH	H	H	H	OH	OH	O-Rutinoside
<u>45</u>	OCH ₃	OH	H	H	OH	OH	H	OH
<u>46</u>	H	O-Glc	H	H	H	OH	OH	OH
<u>47</u>	OCH ₃	OCH ₃	H	H	OCH ₃	OH	OH	OCH ₃
<u>48</u>	H	2'',6''acetate)-Glc	H	H	H	OH	H	H
<u>49</u>	H	OH	H	H	OH	OH	H	H
<u>50</u>	H	OH	H	H	OH	OH	H	O-Glc
<u>51</u>	H	O-(diacétyl)-Glc	H	H	H	OH	H	H
<u>52</u>	H	OH	H	H	H	OH	H	O-Glc
<u>53</u>	OCH ₃	OH	H	H	OCH ₃	H	H	OCH ₃
<u>54</u>	OCH ₃	OCH ₃	H	H	OH	OH	H	OCH ₃
<u>55</u>	OCH ₃	OCH ₃	OH	OH	OH	H	H	H
<u>56</u>	OH	OCH ₃	OH	OCH ₃	H	H	H	H
<u>57</u>	OCH ₃	OH	H	H	OH	OH	H	OCH ₃
<u>58</u>	OH	OH	H	H	OH	OH	H	OCH ₃
<u>59</u>	H	OH	H	H	OH	OH	H	O-Gal
<u>60</u>	H	OH	(4''-acetyl) Glc	H	H	OH	H	H

Figure 16 : Structures des flavonoïdes isolés du genre *Matricaria*.

2.4.b. Les coumarines :

La coumarine est une substance naturelle organique aromatique connue dans la nomenclature internationale comme 2H-1-benzopyrane-2-one qui peut être considérée en première approximation, comme une lactone de l'acide 2-hydroxy-Z-cinnamique. Son odeur de foin fraîchement coupé a attiré l'attention des parfumeurs sur elle dès le XIX^e siècle.

Le même terme de coumarine désigne aussi la classe des composés phénoliques dérivés de cette dernière molécule, la 2H-1-benzopyrane-2-one. Ces composés possèdent des hydroxyles phénoliques qui peuvent être méthylés ou être engagés dans des liaisons hétérosides. Plus d'un millier de coumarines naturelles ont été décrites. Elles sont très largement distribuées dans le règne végétal. Elles ont des propriétés phototoxique, antibiotique, spasmolytique, antifongique et anticancéreuse [92].

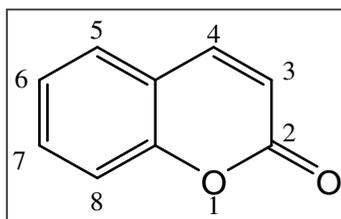


Figure 17 : Squelette des coumarines

Les composés coumariniques rencontrés chez le genre *Matricaria* [93] sont le plus souvent des composés simples comme c'est le cas de l'Herniarine (**62**) et l'Umbelliférone (**63**).

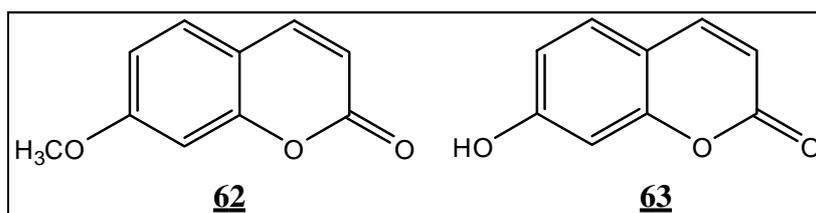


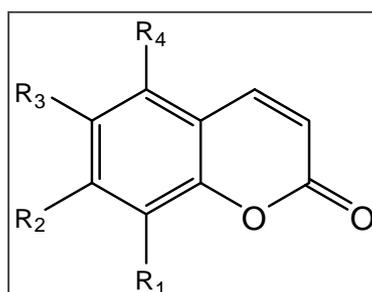
Figure 18 : Structure de l'Herniarine et l'Umbelliférone.

Le tableau 2 illustre les composés isolés du genre *Matricaria*.

Tableau 2 : les coumarines isolées du genre *Matricaria*

Coumarine	Structure	Espèce	Référence
Umbelliférone	<u>63</u>	<i>M. chamomilla</i>	[64]
			[94]
			[63]
			[95]
			[96]
			[97]
			[75]
		<i>M. discordea</i>	[99]
		<i>M. matricaroide</i>	[100]
		<i>M. romanae</i>	[104]
Herniarine	<u>62</u>	<i>M. chamomilla</i>	[63]
			[97]
			[105]
			[95]
			[106]
			[85]
			[98]
			[109]
			[101]
			[75]
			[110]
			[87]
			[103]
[101]			
[111]			
		<i>M. discordea</i>	[79]
		<i>M. matricaroide</i>	[84]
			[107]
		<i>M. pubescens</i>	[108]

		<i>M. romanae</i>	[104]
Scoparone	<u>64</u>	<i>M. chamomilla</i>	[64]
Scopolatine	<u>65</u>	<i>M. chamomilla</i>	[96]
Umbelliférone methyl ether	<u>66</u>	<i>M. chamomilla</i>	[96]
Coumarine	<u>67</u>	<i>M. chamomilla</i>	[99]
		<i>M. recutita</i>	[101]
Esculéatine	<u>68</u>	<i>M. recutita</i>	[101]
Fraxidine	<u>69</u>	<i>M. chamomilla</i>	[75]
Scopolétine	<u>70</u>	<i>M. chamomilla</i>	[75]
		<i>M. recutita</i>	[102]
Daphnetine	<u>71</u>	<i>M. chamomilla</i>	[98]
Daphnine	<u>72</u>	<i>M. chamomilla</i>	[98]
Skimmine	<u>73</u>	<i>M. chamomilla</i>	[98]



Coumarine	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
<u>64</u>	OCH ₃	OCH ₃	H	H
<u>65</u>	H	H	H	H
<u>66</u>	OCH ₃	OH	H	H
<u>67</u>	H	H	H	H
<u>68</u>	H	OH	OH	H
<u>69</u>	OH	OH	OCH ₃	H
<u>70</u>	H	OH	OCH ₃	H
<u>71</u>	OH	OH	H	H
<u>72</u>	OH	O-Glc	H	H
<u>73</u>	H	O-Glc	H	H

Figure 19 : Structures de coumarines isolées du genre *Matricaria*.

2.4.c. Les sesquiterpènes :

Les sesquiterpènes sont une classe de terpènes formée de 3 unités isopréniques et de formule moléculaire $C_{15}H_{24}$.

Comme les monoterpènes, une molécule de sesquiterpène peut être acyclique ou contenir 1 à 2 cycles, de très nombreuses combinaisons sont possibles. Les sesquiterpènes sont présents dans les essences végétales aromatiques ou huiles essentielles. Dans les plantes, ils ont le rôle d'agent de défense. Les sesquiterpènes constituent un groupe de substances naturelles très importantes dans la famille des Astéracées ayant une large variété d'activités biologiques. Ils possèdent des propriétés : neurotoxique [112], anti-inflammatoire [113], anti-leucémique [114], antifongique [115], anti-tumorale [116].

L'étude bibliographique du genre *Matricaria* a montré que ce dernier est très riche en sesquiterpènes et sesquiterpènes lactones, en citant quelques exemples :

✓ L'étude phytochimiques des parties aériennes de *M. chamomilla* a permis d'isoler 3 sesquiterpènes lactoniques : matricolone (74), dihydroridentine (75), 2 α -hydroxyarborescine (76) [117].

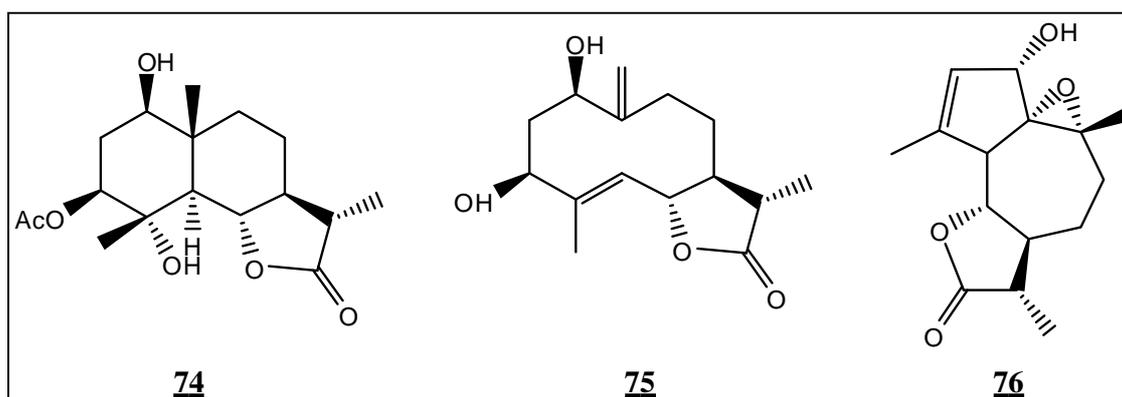


Figure 20 : Structures des sesquiterpènes lactoniques isolés de l'espèce *M. chamomilla*.

✓ Chez *M. aurea*, des sesquiterpènes ont été extraits des parties aériennes : le bisabol (77) [118], 1,2,3,6,7 pentahydroxy-bisabol-10(11)-ene (78) ,1,2,3,6,7-pentahydroxy-1-acetoxy-bisabol-10(11)-ene (79), 1,2,3,6,7-pentahydroxy-2-acetoxy-bisabol-10(11)-ene (80) et 1,2,3,6,7-pentahydroxy-3-acetoxy-bisabol-10(11)-ene (81) [119].

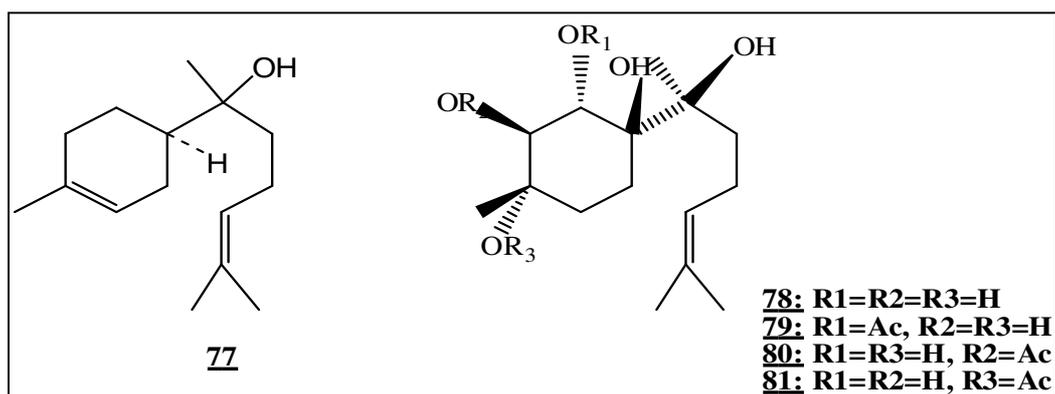


Figure 21 : Structures des sesquiterpènes isolés de l'espèce *M. aurea*.

2.4.d. Les amides :

Un amide est un composé organique dérivé d'un acide carboxylique, possédant un atome d'azote lié à son groupement carbonyle (figure 22). Les amides sont un groupe important dans la biochimie, parce qu'ils sont responsables de la liaison peptidique entre les différents acides aminés qui forment les protéines.

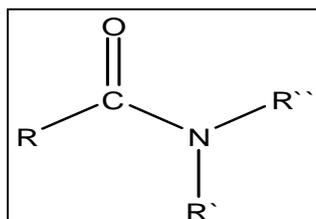


Figure 22 : Structure générale des amides.

Les parties aériennes et les racines de nombreuses espèces *Argyranthemum* [120] et l'espèce *Matricaria pubescens* [108] présentent un goût piquant et poivré dû à des métabolites secondaires comportant un radical isobutylamide. Ces amides peuvent être aromatiques : Fagaramide (**82**) ou aliphatiques : γ -Sanshool (**83**) [121].

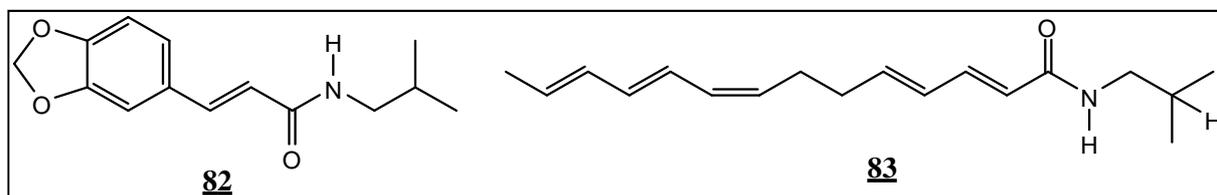


Figure 23 : Structures chimiques de quelques amides isolés du genre *Matricaria*

Les isobutylamides oléfiniques possèdent des activités biologiques diverses, ils peuvent être anti-insecticides, anti-mollusques, anti-tussifs, stimulants, anti-inflammatoires, antiseptiques, analgésiques et anti-tumoraux [122, 123].

2.4.e. Autres constituants isolés du genre *Matricaria*:

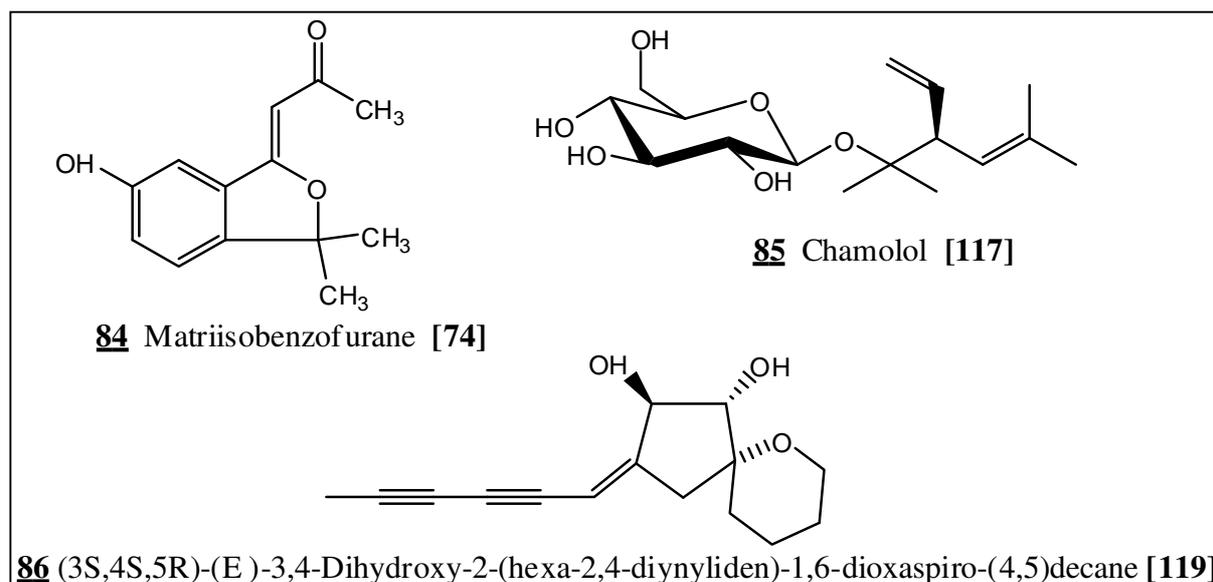


Figure 24 : Autres constituants isolés du genre *Matricaria*.

2.5. Utilisations des matricaires

La matricaire est utilisée médicalement pour traiter l'estomac douloureux, le syndrome d'intestin irritable et comme une aide douce de sommeil. Elle est aussi utilisée comme un laxatif léger, anti-inflammatoire et bactéricide. Elle peut être prise comme une tisane, deux petites cuillères de fleur séchée par tasse de thé, qui devrait être faite tremper pendant dix à quinze minutes couverte pour éviter l'évaporation des huiles volatiles, certains recommandent de prendre une tasse chaque matin sans nourriture durant deux à trois mois [124]. Elle est aussi utilisée comme un bain de bouche. Elle a des propriétés acaricides contre certains tanninets, tels que *Psoroptes cuniculi*.

Les recherches préclinique sur les animaux indiquent que la matricaire a démontré des propriétés anti-inflammatoire, antimicrobienne, antioxydante modérées [125], antispasmodique, anxiolytique, antimutagène et a une activité d'anti-plaquette significative en plus d'un effet baissant le cholestérol [126] et un cicatrisant des plaies [127].

La matricaire est utilisée dans les produits cosmétiques, essentiellement pour faire un rinçage pour les cheveux blonds et comme une émulsion d'écran solaire [128].

Les propriétés anticancéreuses ont été évaluées sur les extraits aqueux et méthanolique de *M. chamomilla* contre diverses lignées cellulaires cancéreuses humaines. Cette étude représente la première démonstration rapportée des effets anticancéreux de *M. chamomilla* [129].

Une étude sur l'éscolétine (un composant majeur présent dans la plante *M. chamomilla*) a été établie en vue d'examiner son effet sur les enzymes clés du métabolisme des hydrates de carbone avec les rats diabétique sous l'effet de la streptozotocine (STZ). Les tests ont concerné : *glucose 6-phosphatase*, *fructose 1,6-bisphosphatase*, *gluconokinase*, *glucose 6-phosphate dehydrogenase*. Les résultats de l'étude de l'éscolétine ont révélé un effet anti-hyperglycémique contre la streptozotocine provoquant le diabète chez les rats avec une concentration de 40mg/kg [130].

L'huile essentielle de *M. pubescens* a manifesté un effet analgésique meilleur que celui de l'acide acétyle salicylique avec des pourcentages d'inhibitions de 77,05%, 71,15% respectivement à la même dose (200 mg/kg) [131].

2.6. Activités biologiques reconnues du genre *Matricaria*

Le tableau 3 représente les propriétés thérapeutiques d'espèces du genre *Matricaria*

Tableau 3: Les propriétés thérapeutiques d'espèces du genre *Matricaria*

Espèce	Usage	Référence
<i>M. chamomilla</i> (<i>M. recutita</i>)	- Soins de la peau.	[132]
	- Spasmolytique	[133,134]
	- Antimicrobien	[135]
	- Antiviral	[136]
	-Antifongique	[137]
	-Sédatif	[138,134]
	-Antispasmodique	[139]
	-Anti inflammatoire	[139,140]
	-Antimutagénique	[141]
	-Antioxydant	[142,143,144]
	-Anti allergique	[145]
	- Stimule la croissance des cheveux	[146]
	- Antimycotique	[147]
	- Agents Antisolaires	[148]
	- Anti--inflammatoire respiratoire, gastroentérique	[149]
	-Alimentation des enfants.	[149]
- Anti-inflammatoire, Antipuritique, Cicatrisant de la peau	[150, 151]	
- Anti-inflammatoire, Antibactérien, Spasmolytique.	[152]	
- Contre le syndrome de l'intestin irritable	[153]	
-Le manque d'appétit et l'indigestion	[153]	

	-L'insomnie, anxiété ou stress -Contre l'endormissement des bébés -Contre l'hypertension	[153] [153] [153]
<i>M. pubescens</i>	-Anti-inflammatoire -Antibactérien	[131] [154]
<i>M. inodora</i>	-Antiviral, anti herpétique	[155]

3. Aperçu bibliographique sur le genre *Chrysanthemum*

3.1. Généralités sur les chrysanthèmes

Les chrysanthèmes, souvent appelés les mamans ou chrysanthus, sont un genre d'environ 300 espèces dans la famille des Asteraceae [156].

Les chrysanthèmes ont été d'abord cultivés en Chine comme herbe de fleuraison dès le 15ème siècle -avant Jésus Christ- [157]. Une ville chinoise antique a été appelée Ju-Xian, voulant dire la " ville de *Chrysanthemum* ".

Le chrysanthème est un des "Quatre Messieurs" de la Chine (les autres étant la fleur de prune, l'orchidée et le bambou). La fleur est dit avoir été préférée par Tao Qian, un poète chinois et fait le thème dans des centaines de poèmes de la Chine [158]. C'est aussi une des 4 fleurs saisonnières symboliques. Un Festival de Chrysanthème est célébré chaque année dans Tongxiang, près de Hangzhou, la Chine [159].

La fleur a été introduite dans le Japon probablement au 8ème siècle. L'Empereur a adopté la fleur comme son joint officiel. Il y a un "Festival de Bonheur" au Japon qui célèbre la fleur.

La fleur a été apportée en Europe au 17ème siècle. Linnaeus l'a appelé du mot grec chrysous, "d'or" (la couleur des fleurs originales) et -antheon, en voulant dire la fleur d'or. [160]

L'association du chrysanthème avec la mort n'est pas universelle. Dans quelques pays Européen (par ex, la France, l'Italie, l'Espagne, la Pologne, la Croatie), les chrysanthèmes blancs sont symboliques de la mort et sont seulement utilisés pour les enterrements ou sur les tombes.

En Asie orientale, les chrysanthèmes blancs sont associés avec le chagrin et la mort. Aux États-Unis, la fleur est d'habitude considérée comme positive et joyeuse. En Australie, les chrysanthèmes sont offerts aux mamans pour la fête des mères.



Figure 25: La peinture historique de Chrysanthèmes de la Nouvelle Encyclopédie internationale 1902.

3.2. Description botanique

Les chrysanthèmes sont des plantes annuelles ou vivaces de 20 à 120 cm de haut, à tiges dressées. Les feuilles sont entières, dentées ou découpées. Les capitules sont grands, longuement pédonculés, comprenant des fleurs tubulées entourées de fleurs ligulées, ou toutes les fleurs sont ligulées. Les fleurs de chrysanthème sont divisées en 13 différentes formes de fleur [157] (figure 26), Ces formes sont définies à propos dans lequel le rayon et les fleurettes de disques sont arrangés. Les fleurs sont composées de beaucoup de fleurs individuelles (les fleurettes), chacune capable de produire une graine. Les fleurettes de disques sont dans le centre de la tête de fleur et les fleurettes de rayon sont sur le périmètre. Les fleurettes de rayon sont considérées des fleurs imparfaites, puisqu'elles possèdent seulement les organes productifs femelles, alors que les fleurettes de disques sont considérées des fleurs parfaites puisqu'elles possèdent des organes tant reproducteurs mâles que femelles. Les fruits sont des akènes de 2-3 mm munis de 5-10 côtes [3].

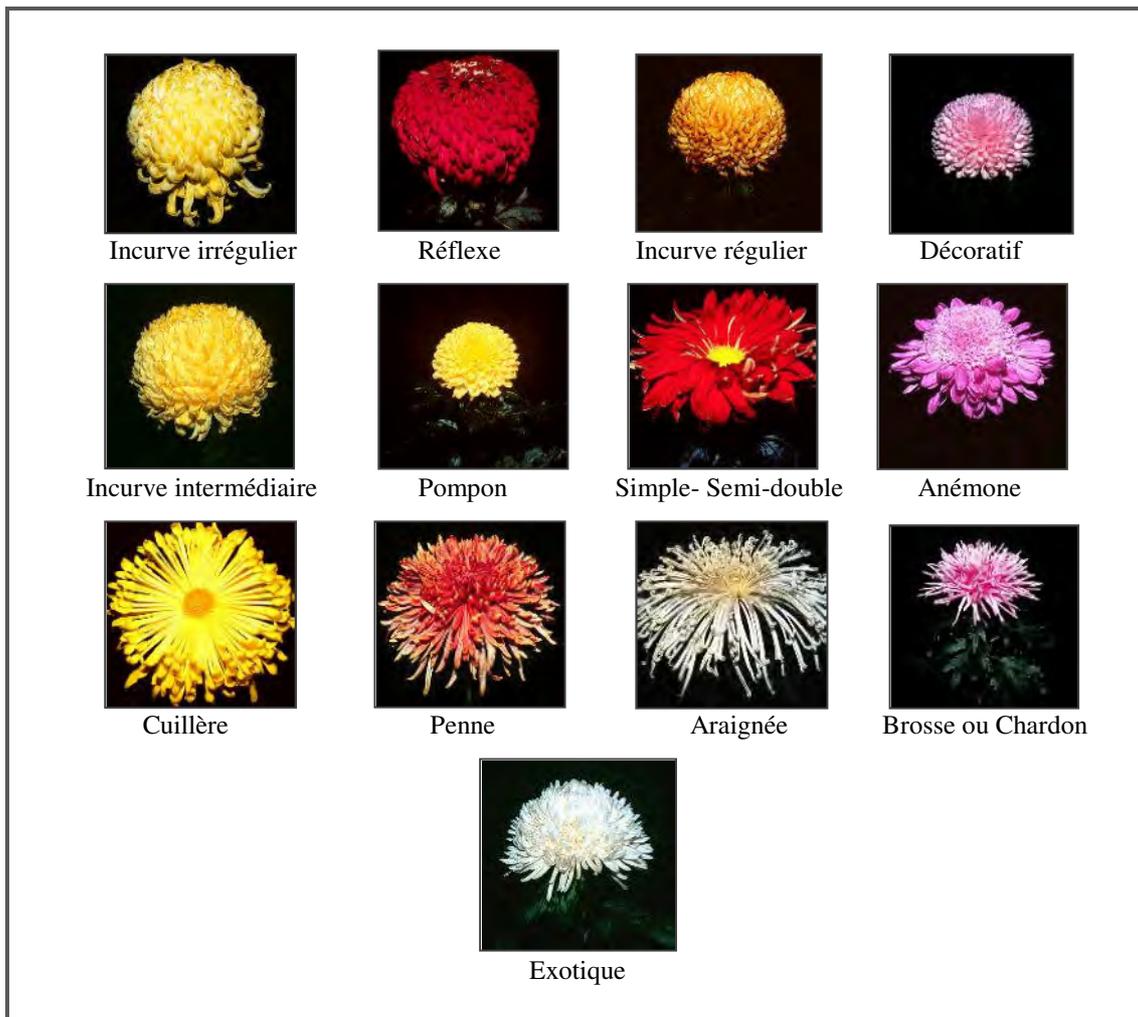


Figure 26 : Les différentes formes des fleurs du genre *Chrysanthemum*.

3.3. Répartition géographique

Le *Chrysanthemum* est largement répandu dans le monde entier à cause de ses propriétés ornementales et cosmopolites, il est souvent cultivé dans les jardins pour ses qualités décoratives en variétés de couleurs. L'origine géographique du genre *Chrysanthemum* est imputée à l'Europe et l'Asie mais celui-ci est également largement distribué en Afrique [156]. Quezel et Santa (1963) considèrent que 15 espèces appartenant à ce genre sont distribuées en Algérie [3] : *C. clausonis* (Pomel) Batt., *C. coronarium* L., *C. deserticum* (Murb.) Batt. et Trab., *C. fontanesii* (Boiss. et Reut.) Q. et S., *C. fuscatum* Desf., *C. grandiflorum* (L.) Batt., *C. gyanum*, *C. macrocarpum* Coss. Et Kral., *C. macrotum* (D. R.) Ball., *C. maesii*, *C. multicaulis*, *C. myconis* L., *C. segetum* L., *C. trifurcatum* (Desf.) Batt. et Trab., *C. viscido-hirtum*.

3.4. Métabolites secondaires

Le genre *Chrysanthemum* est caractérisé par une diversité structurale en métabolites secondaires riche en composés de types : flavonoïdes [161], coumarines [162], acides phénoliques [163], dérivés sesquiterpéniques [164] et triterpènes [165].

3.4.a. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés phénoliques très connus dans ce genre et jouent un rôle important dans le système de défense comme antioxydants.

Les différents flavonoïdes qui ont été isolés du genre *Chrysanthemum* sont rassemblés dans le tableau 4 :

Tableau 4 : Les flavonoïdes isolés du genre *Chrysanthemum*

Flavonoïde	Structure	Espèce	Référence
Apigénine	40	<i>C. boreale</i>	[166]
		<i>C. cinerariaefolium</i>	[167]
		<i>C. coronarium</i>	[168,169]
		<i>C. morifolium</i>	[170-172,174]
		<i>C. vulgare</i> (L) Brenh	[173]
Apigénin-7- <i>O</i> -glucoside	41	<i>C. balsamita</i>	[175]
		<i>C. morifolium</i>	[171,172,174,176-179]
		<i>C. vulgare</i> (L) Bernh	[173]
		<i>C. coronarium</i>	[169]

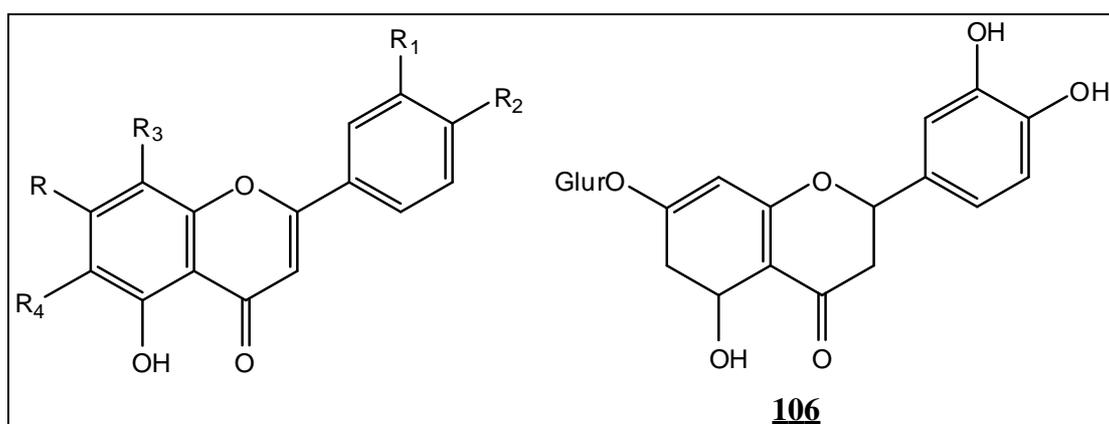
Apigenin-7- <i>O</i> -galactoside	<u>87</u>	<i>C. morifolium</i>	[180]
Apigenin-4'-glucuronide	<u>88</u>	<i>C. cinerariaefolium</i>	[181]
Apigenin-7- <i>O</i> -glucuronide	<u>89</u>	<i>C. cinerariaefolium</i>	[167,182]
		<i>C. coronarium</i>	[183]
		<i>C. leucanthemum</i>	[183]
		<i>C. morifolium</i>	[184]
Apigenin-7- <i>O</i> - (4'caffeoyl)glucuronide	<u>90</u>	<i>C. morifolium</i>	[184]
2''-glucosyl-8- <i>C</i> -glucosyl-4'- <i>O</i> - methylapigenin	<u>91</u>	<i>C. viscidhirtum</i>	[185]
Apigenin-7- <i>O</i> -galacturonic methyl ester	<u>92</u>	<i>C. cinerariaefolium</i>	[181]
Apigenin-7- <i>O</i> -glucuronique	<u>93</u>	<i>C. cinerariaefolium</i>	[181]
Acacetine	<u>94</u>	<i>C. boreale</i>	[166]
		<i>C. morifolium</i>	[170,172,186]
		<i>C. zawadskii</i>	[187]
Acacetin-7- <i>O</i> -glucoside	<u>95</u>	<i>C. morifolium</i>	[172, 176,177,179]
Acacetin-7- <i>O</i> -galactoside	<u>96</u>	<i>C. indicum</i>	[188,189]
		<i>C. morifolium</i>	[180,189]
Acacetin-7- <i>O</i> -rutinoside	<u>97</u>	<i>C. morifolium</i>	[180]
		<i>C. articum</i>	[190]
		<i>C. boreale</i>	[166]
		<i>C. zawadskii</i>	[187]
Diosmetine	<u>98</u>	<i>C. morifolium</i>	[171,172,174]
Diosmetin-7- <i>O</i> -glucoside	<u>99</u>	<i>C. morifolium</i>	[171,172,174,176]
Diosmetin-7- <i>O</i> -glucuronide	<u>100</u>	<i>C. morifolium</i>	[172]
Luteoline	<u>49</u>	<i>C. boreale</i>	[166]
		<i>C. cinerariaefolium</i>	[167,181,182]
		<i>C. caronorium</i>	[168,169,173]
		<i>C. morifolium</i>	[170,171,174,180,191]
		<i>C. segetum</i>	[168]
		<i>C. vulgare</i> L. Bernh	[173]
Luteolin-7- <i>O</i> -glucoside	<u>42</u>	<i>C. balsamita</i>	[175]
		<i>C. coronarium</i>	[169,183]

		<i>C. boreale</i>	[192]
		<i>C. indicum. L</i>	[192]
		<i>C. lavendulaefolium</i>	[192]
		<i>C. morifolium</i>	176,178,179,180,191]
		<i>C. segetum. L</i>	[183]
Luteolin-7- <i>O</i> -glucuronide	<u>101</u>	<i>C. coronarium. L</i>	[183]
		<i>C. morifolium</i>	[182]
Luteolin-7- <i>O</i> -rutinoside	<u>102</u>	<i>C. coronarium</i>	[183]
6-methoxy-luteoline	<u>103</u>	<i>C. zawadskii</i> var latilobum	[193]
Chrysine	<u>104</u>	<i>C. morifolium</i>	[189,194]
Chrysoeriol	<u>105</u>	<i>C. coronarium</i>	[183]
Eriodictyol-7- <i>O</i> -glucuronide	<u>106</u>	<i>C. morifolium</i>	[195]
		<i>C. zawadskii</i>	[193]
Kaempferol	<u>107</u>	<i>C. leucanthemum</i>	[196]
		<i>C. nankingense</i>	[197]
		<i>C. segetum</i>	[168]
		<i>C. coronarium</i>	[169]
Kaempferol-3- <i>O</i> -glucoside	<u>52</u>	<i>C. coronarium</i>	[169]
Quercetine	<u>43</u>	<i>C. nankingense</i>	[197]
		<i>C. leucanthemum</i>	[196]
		<i>C. cinerariaefolium</i>	[182]
		<i>C. morifolium</i>	[170,180]
		<i>C. coronarium</i>	[169]
3-methoxy quercetine	<u>108</u>	<i>C. segetum</i>	[168]
3`-methoxy quercetine	<u>109</u>	<i>C. segetum</i>	[168]
Quercetin-7- <i>O</i> -glucoside	<u>110</u>	<i>C. boreale</i>	[192]
		<i>C. myconis</i>	[198]
		<i>C. coronarium</i>	[199,183]
		<i>C. indicum. L</i>	[192]
		<i>C. lavendulaefolium</i>	[192]
Quercetin-3- <i>O</i> -glucoside	<u>50</u>	<i>C. coronarium</i>	[169]

Quercetagine	<u>58</u>	<i>C. coronarium</i>	[200]
		<i>C. coronarium. L</i>	[201]
		<i>C. segetum. L</i>	[201]
		<i>C. sensus stricto</i>	[183]
6-methoxy quercetagine	<u>111</u>	<i>C. coronarium. L</i>	[201]
3`-methoxy quercetagine	<u>112</u>	<i>C. coronarium</i>	[183,201]
3,6-dimethoxy quercetagine	<u>113</u>	<i>C. cinerariaefolium</i>	[182]
6,3`-dimethoxy quercetagine	<u>114</u>	<i>C. coronarium. L</i>	[201]
Quercetagin-7- <i>O</i> -glucoside	<u>115</u>	<i>C. coronarium. L</i>	[183]
		<i>C. nivellei</i> Maire	
		<i>C. segetum. L</i>	
		<i>C. viscidohirtum</i> schott thellung	
		<i>C. myconis</i>	[198]
3`-methoxy quercetagin-7- <i>O</i> -glucoside	<u>116</u>	<i>C. coronarium</i>	[183,202]
Gossypetine	<u>117</u>	<i>C. segetum. L</i>	[180]
Gossyptin-7- <i>O</i> -glucoside	<u>118</u>	<i>C. segetum</i>	[199]
Patuletine	<u>45</u>	<i>C. leucanthemum</i>	[201]
		<i>C. sensus stricto</i>	[183]
Patuletin-7- <i>O</i> -glucoside	<u>119</u>	<i>C. carinatum</i> schousbeo	[183]
		<i>C. nivellei</i> Maire	
		<i>C. viscidohirtum</i> (schott) thellung	
Baicaline	<u>120</u>	<i>C. morifolium</i>	[180]
Fisetine	<u>121</u>	<i>C. morifolium</i>	[180]
(+)-catechine	<u>122</u>	<i>C. morifolium</i>	[180]
Isorhamnetine	<u>123</u>	<i>C. leucanthemum</i>	[196]
		<i>C. nankingens</i>	[197]
Jaceidine	<u>53</u>	<i>C. cinerariaefolium</i>	[167]
Galangine	<u>124</u>	<i>C. morifolium</i>	[180]
Hesperidine	<u>125</u>	<i>C. morifolium</i>	[180]

Spinacetine	<u>56</u>	<i>C. segetum</i>	[199]
Flavanone	<u>126</u>	<i>C. morifolium</i>	[180]
7, 8-dihydroxyflavanone	<u>127</u>	<i>C. morifolium</i>	[180]
4',5-dihydroxy-3',5'-dimethoxy flavone-7-O-glucoside	<u>128</u>	<i>C. morifolium</i>	[203]
Naringenin-5-O-glucoside	<u>129</u>	<i>C. coronarium</i>	[169]
Morine	<u>130</u>	<i>C. morifolium</i>	[180]
Myricetine	<u>131</u>	<i>C. morifolium</i>	[180]

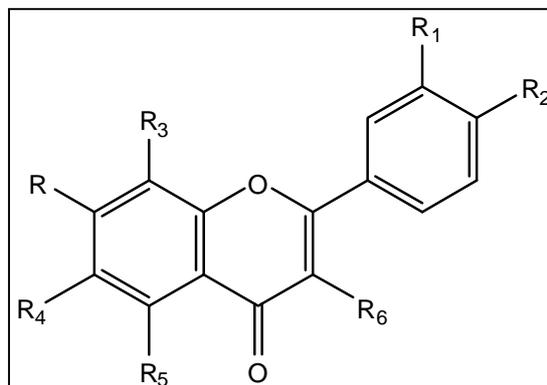
Les structures des flavonoïdes de **87-106** sont présentées dans la figure 27 :



Structure	R	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
<u>87</u>	O-Glac	H	OH	H	H
<u>88</u>	OH	H	O-Glur	H	H
<u>89</u>	O-Glur	H	OH	H	H
<u>90</u>	4'-Caffeoyl-Glur	H	OH	H	H
<u>91</u>	OH	H	OMe	(2''glucosyl)-C-Glc	H
<u>92</u>	O-Me-Galacturonosyl	H	OH	H	H
<u>93</u>	O-Glucuronosyl	H	OH	H	H
<u>94</u>	OH	H	OMe	H	H
<u>95</u>	O-Glc	H	OMe	H	H
<u>96</u>	O-Gala	H	OMe	H	H
<u>97</u>	Rha ¹⁻⁶ -Glc	H	OMe	H	H
<u>98</u>	H	OH	OMe	H	H
<u>99</u>	O-Glc	OH	OMe	H	H
<u>100</u>	O-Glur	OH	OMe	H	H
<u>101</u>	O-Glur	OH	OH	H	H
<u>102</u>	O- Rha ¹⁻⁶ -Glc	OH	OH	H	H
<u>103</u>	OH	OH	OH	H	OMe
<u>104</u>	OH	H	H	H	H
<u>105</u>	OH	OMe	OH	H	H

Figure 27 : Structures des flavonoïdes (**87-106**) isolés du genre *Chrysanthemum*.

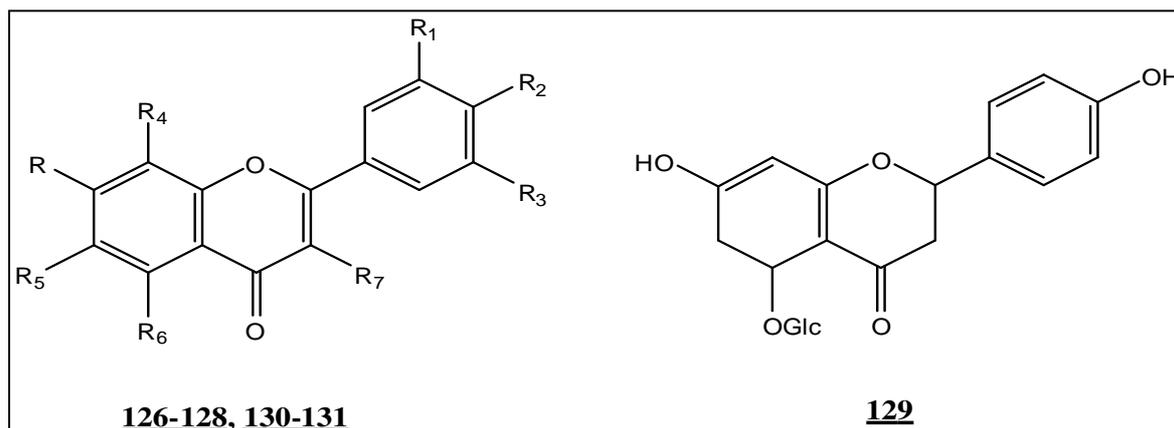
Les structures de flavonoïdes de **107-125** sont présentées dans la figure 28



Structure	R	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆
107	OH	H	OH	H	H	OH	OH
108	OH	OH	OH	H	H	OH	O-Me
109	OH	OMe	OH	H	H	OH	OH
110	O-Glc	OH	OH	H	H	OH	OH
111	OH	OH	OH	H	OMe	OH	OH
112	OH	OMe	OH	H	OH	OH	OH
113	OH	OH	OH	H	OMe	OH	OMe
114	OH	OMe	OH	H	OMe	OH	OH
115	O-Glc	OH	OH	H	OH	OH	OH
116	O-Glc	OMe	OH	H	OH	OH	OH
117	OH	OH	OH	OH	H	OH	OH
118	O-Glc	OH	OH	OH	H	OH	OH
119	O-Glc	OH	OH	H	OMe	OH	OH
120	O-Glucoronyl	H	H	H	OH	OH	H
121	H	OH	H	H	OH	H	OH
122	OH	OH	OH	H	H	OH	OH
123	OH	OMe	OH	H	H	OH	OH
124	OH	H	H	H	H	OH	OH
125	Rha ¹⁻⁶ -Glc	OH	OMe	H	H	OH	H

Figure 28 : Structures des flavonoïdes (**107-125**) isolés du genre *Chrysanthemum*.

Les structures de flavonoïdes de **126-131** sont présentées dans la figure 29



Structure	R	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇
<u>126</u>	H	H	H	H	H	H	H	H
<u>127</u>	OH	H	H	H	OH	H	H	H
<u>128</u>	O-Glc	OMe	OH	OMe	H	H	OH	H
<u>130</u>	H	OH	H	OH	OH	OH	H	OH
<u>131</u>	OH	OH	OH	OH	H	H	OH	OH

Figure 29 : Structures des flavonoïdes (**126-131**) isolés du genre *Chrysanthemum*.

3.4.b. Les coumarines

Les structures coumariniques les plus courantes dans le genre *Chrysanthemum* sont les dérivées de la coumarine. Le tableau 5 représente les dérivés coumariniques isolés du genre *Chrysanthemum*.

Tableau 5 : Les coumarines isolées du genre *Chrysanthemum*

Coumarine	Structure	Espèce	Référence
Herniarine	<u>62</u>	<i>C. coronarium</i>	[204]
		<i>C. segetum</i>	[163]
		<i>C. boreale</i>	[205]
Umbelliferone	<u>63</u>	<i>C. parthenium</i>	[204]
		<i>C. segetum</i>	[162]
		<i>C. boreale</i>	[205]
Esculetine	<u>68</u>	<i>C. coronarium</i>	[204]
		<i>C. segetum</i>	[162]
Scopoletine	<u>70</u>	<i>C. coronarium</i>	[204]
		<i>C. boreale</i>	[205]
4-hydroxycoumarine	<u>132</u>	<i>C. segetum</i>	[162]
Coumarine	<u>67</u>	<i>C. segetum</i>	[162]
Dihydroxycoumarine	<u>133</u>	<i>C. segetum</i>	[162]
Acide coumarinique	<u>134</u>	<i>C. segetum</i>	[162]
marmesine	<u>135</u>	<i>C. parthenium</i>	[204]

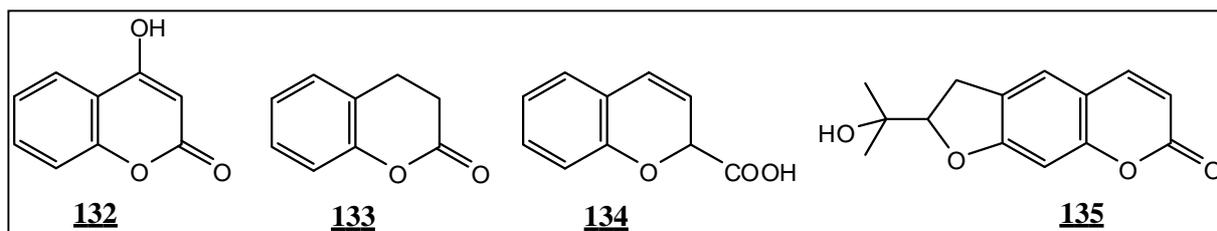


Figure 30: Structures des coumarines isolées d'espèces du genre *chrysanthemum*.

3.4.c. Les sesquiterpènes

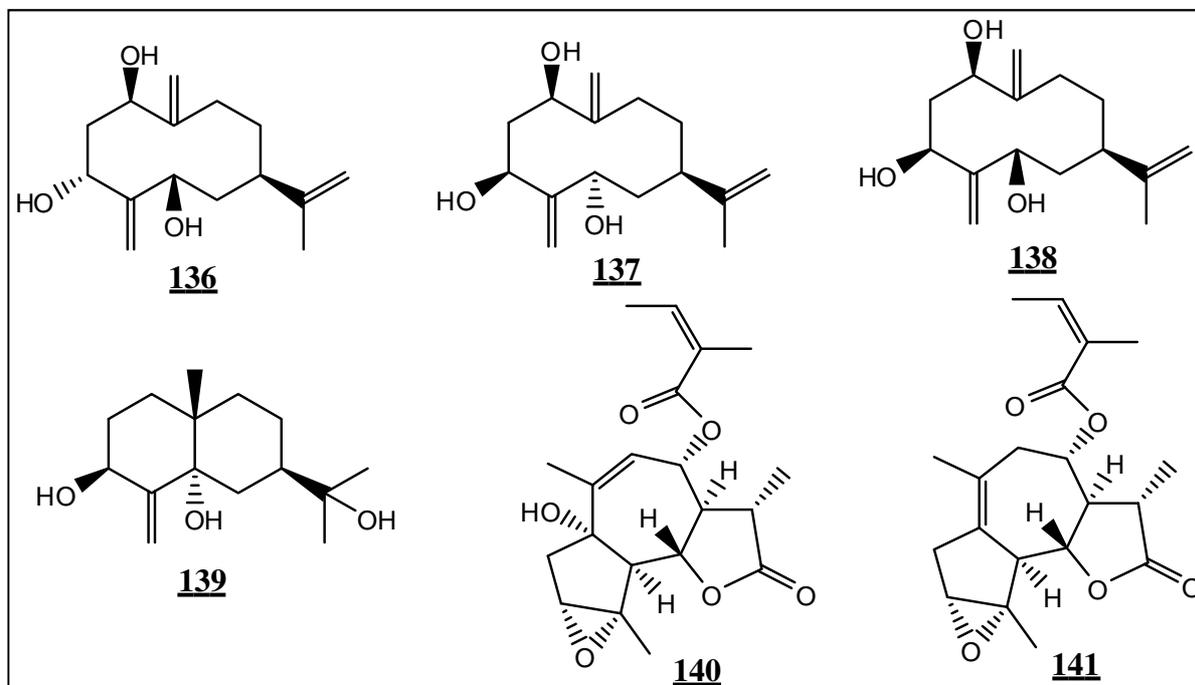
L'étude bibliographique du genre *Chrysanthemum* a montré que ce dernier est très riche en sesquiterpènes et sesquiterpènes lactones qui sont représentés dans le tableau 6.

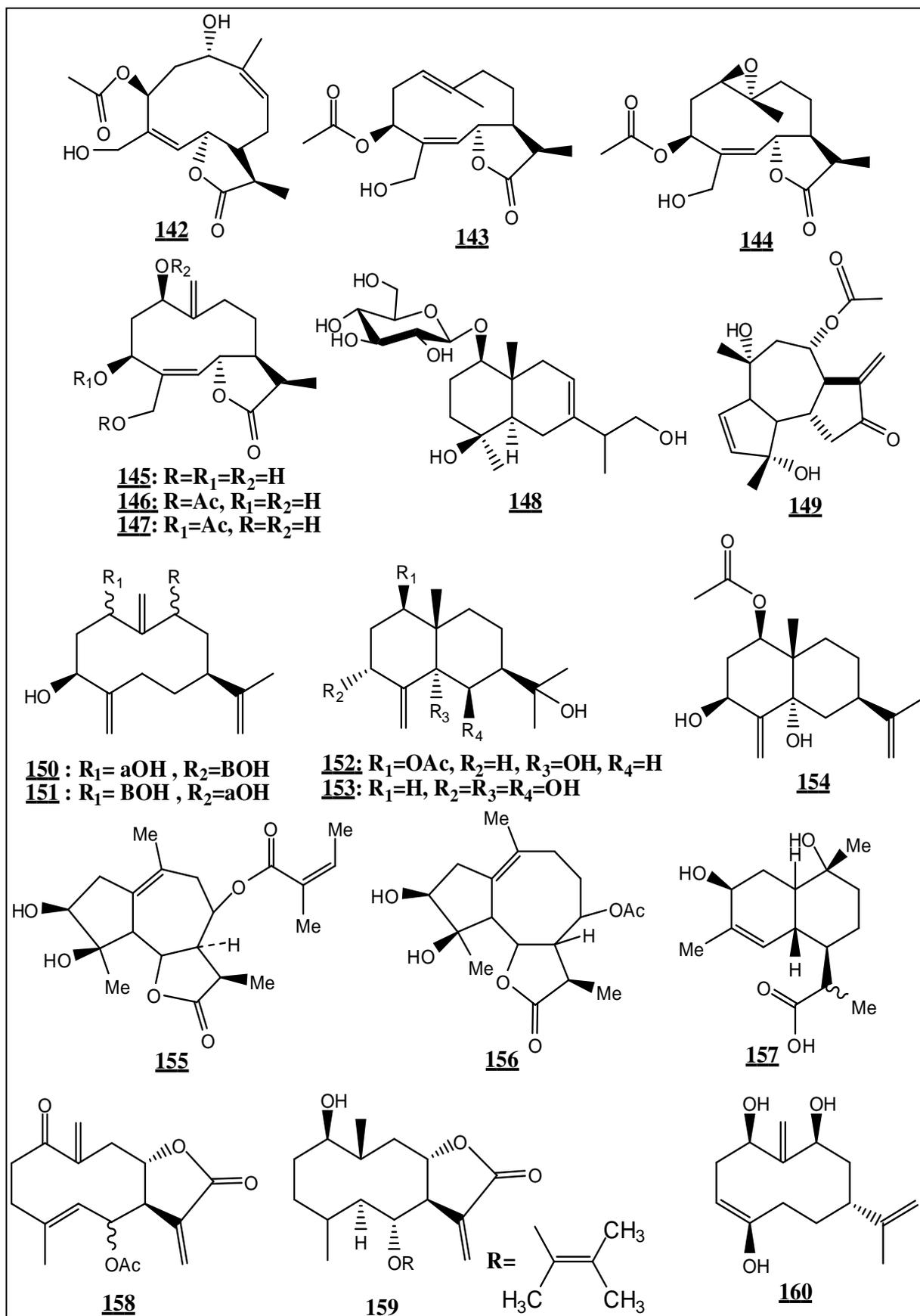
Tableau 6: Les sesquiterpènes et sesquiterpènes lactones isolés du genre *Chrysanthemum*

Sesquiterpènes/sesquiterpène lactone	Structure	Espèce	Référence
1 β ,3 α ,5 β -trihydroxyl-7-isopropenyl germacren-4(15), 10(14)-diene (1)	<u>136</u>	<i>C. indicum</i>	[164]
1 β ,3 β ,5 α -trihydroxyl-7-isopropenyl germacren-4(15), 10(14)-diene (1)	<u>137</u>	<i>C. indicum</i>	[164]
1 β ,3 β ,5 β -trihydroxyl-7-isopropenyl germacren-4(15), 10(14)-diene (1)	<u>138</u>	<i>C. indicum</i>	[164]
Chrysanthemdiol-A	<u>139</u>	<i>C. indicum</i> L.	[206]
Chrysanthguaianolactone-A	<u>140</u>	<i>C. indicum</i> L.	[206]
Chrysanthguaianolactone-B	<u>141</u>	<i>C. indicum</i> L.	[206]
Zawadskinolide-A	<u>142</u>	<i>C. zawadskii</i>	[207]
Zawadskinolide-B	<u>143</u>	<i>C. zawadskii</i>	[207]
Zawadskinolide-C	<u>144</u>	<i>C. zawadskii</i>	[207]
Zawadskinolide-D	<u>145</u>	<i>C. zawadskii</i>	[207]
Zawadskinolide-E	<u>146</u>	<i>C. zawadskii</i>	[207]
Zawadskinolide-F	<u>147</u>	<i>C. zawadskii</i>	[207]
Chrysantiloboside	<u>148</u>	<i>C. zawadskii</i>	[207]
8-Acetoxy-4,10-dihydroxy-2,11(13)-guaiadene-12,6-olide	<u>149</u>	<i>C. boreale</i>	[208]
Chrysanthemumin-C	<u>150</u>	<i>C. indicum</i>	[209]
Chrysanthemumin-D	<u>151</u>	<i>C. indicum</i>	[209]
Chrysanthemumol-I	<u>152</u>	<i>C. indicum</i>	[209]
Chrysanthemumol-J	<u>153</u>	<i>C. indicum</i>	[209]
Chrysanthemumol-K	<u>154</u>	<i>C. indicum</i>	[209]
Indicumolide-A	<u>155</u>	<i>C. indicum</i> L.	[210]
Indicumolide-B	<u>156</u>	<i>C. indicum</i> L.	[210]
Indicumolide-C	<u>157</u>	<i>C. indicum</i> L.	[210]
Chrysanolide	<u>158</u>	<i>C. cinerariaefolium</i>	[211]
Chrysanine	<u>159</u>	<i>C. cinerariaefolium</i>	[211]
Chrysanthediol-A	<u>160</u>	<i>C. morifolium</i>	[212]
Chrysanthediacetate-B	<u>161</u>	<i>C. morifolium</i>	[212]
Chrysanthediacetate-C	<u>162</u>	<i>C. morifolium</i>	[212]

Angeloylcumambrine	<u>163</u>	<i>C. oranatum</i> <i>C. indicum</i>	[213] [214]
Cumambrine-A	<u>164</u>	<i>C. oranatum</i> <i>C. coronarium</i>	[213] [215]
Cumambrine-B	<u>165</u>	<i>C. oranatum</i>	[213]
Dihydrocumambrine-A	<u>166</u>	<i>C. coronarium</i>	[215]
Angeloylajadine	<u>167</u>	<i>C. indicum</i>	[214]
Arteglasine-A	<u>168</u>	<i>C. indicum</i>	[214]
Clovanediol	<u>169</u>	<i>C. indicum</i>	[216]
Kikkanol-A	<u>170</u>	<i>C. indicum</i>	[216]
Kikkanol-B	<u>171</u>	<i>C. indicum</i>	[216]
Kikkanol-C	<u>172</u>	<i>C. indicum</i>	[216]
Kikkanol-D	<u>173</u>	<i>C. indicum</i>	[216]
Kikkanol-D monoacetate	<u>174</u>	<i>C. indicum</i>	[216]
Kikkanol-E	<u>175</u>	<i>C. indicum</i>	[216]
Kikkanol-F	<u>176</u>	<i>C. indicum</i>	[216]
Kikkanol-F monoacetate	<u>177</u>	<i>C. indicum</i>	[216]
1 β -3 β -dihydroxygermacra-4Z,10(14)-dien-6 β ,7 α ,11 α H-12,6-olide	<u>178</u>	<i>C. lavendulifolium</i>	[217]
1 β -hydroperoxy-3 β -hydroxygermacra-4Z,10(14)-dien-6 β ,7 α ,11 α H-12,6-olide	<u>179</u>	<i>C. lavendulifolium</i>	[217]

Les structures des sesquiterpènes cités dans le tableau 6 sont présentées dans la figure 31





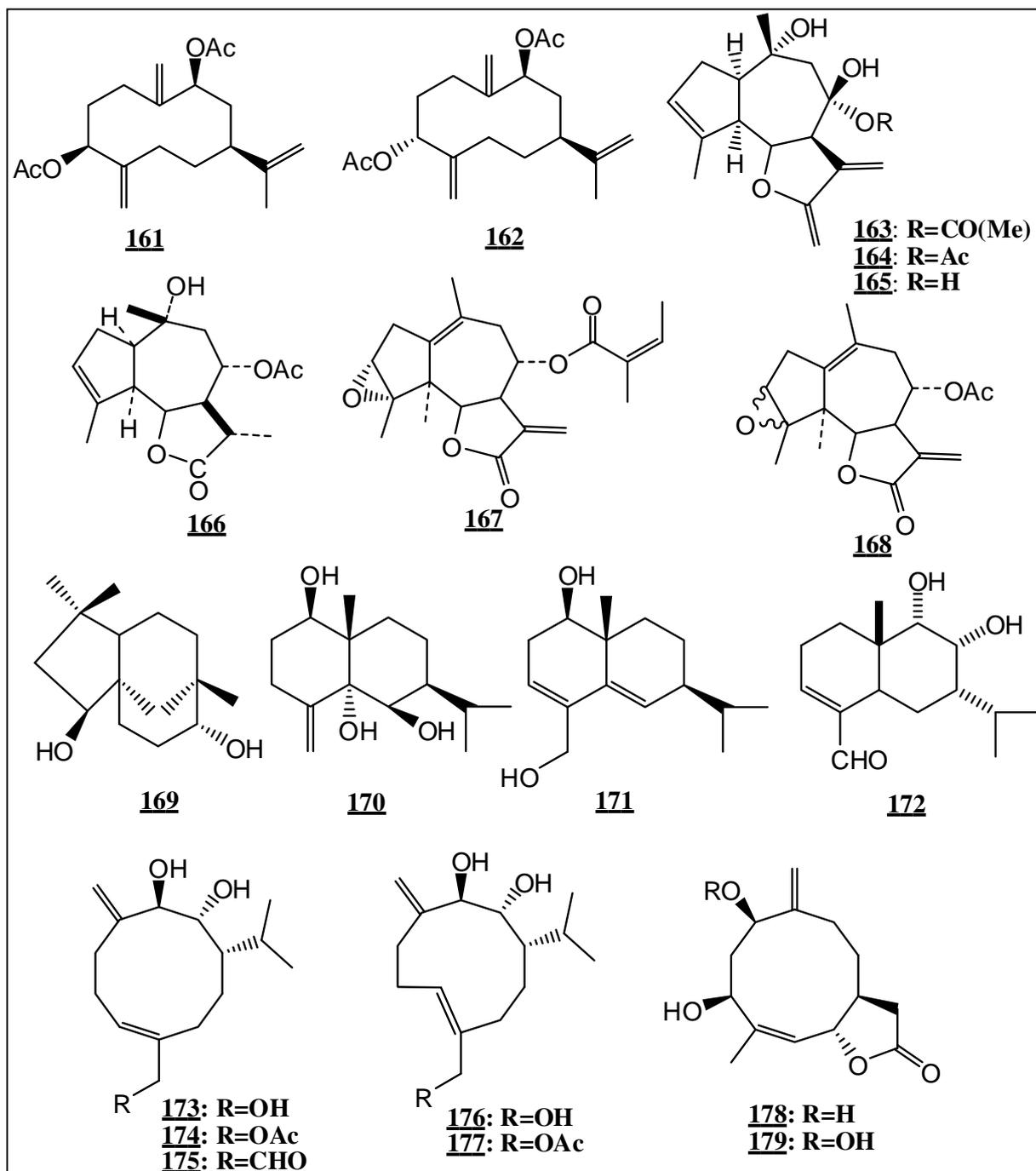


Figure 31: Structures de sesquiterpènes isolées d'espèces du genre *chrysanthemum*

3.4.d. Les polyacétylènes

Les polyacétylènes, une classe unique de produits naturels, constituent un large groupe de composés qui sont connus pour leurs possession de diverses propriétés biologiques telles que : anti-inflammatoire, antifongique, antimicrobienne, insecticide, antivirale, anti tumorale et activité inhibitrice d'enzymes [218-221].

Plus de 1400 différents polyacétylènes ont été isolés sous forme de métabolites végétaux provenant de nombreuses espèces des familles : Araliaceae, Asteraceae, Apiaceae, Campanulaceae et de façon sporadique dans d'autres familles de plantes [222].

Echinaceae et *Dendranthema*, deux genres bien connus de la famille des Asteraceae, sont déjà connus pour contenir divers composés de polyacétylènes [222-224].

Le tableau 7 représente les polyacétylènes isolés du genre *Chrysanthemum*.

Tableau 7 : Les polyacétylènes isolés du genre *Chrysanthemum*

Polyacétylène	Structure	Espèce	Référence
(+)-(3S*,4S*,5R*,8S*)-(E)-8-Acetoxy-4-hydroxy-3-isovaleroyloxy-2-(hexa-2,4-diynyliden)-1,6-dioxaspiro[4,5]decane.	<u>180</u>	<i>C. lavendulifolium</i> <i>C. indicum</i>	[217] [225]
(+)-(3S*,4S*,5R*)-E)-4-hydroxy-3-isovaleroyloxy-2-(hexa-2,4-diynyliden)-1,6-dioxaspiro[4,5]decane.	<u>181</u>	<i>C. lavendulifolium</i> <i>C. indicum</i>	[217] [225]
(-)-(3S*,4S*,5R*)-E)-3,4-diacetoxy-2-(hexa-2,4-diynyliden)-1,6-dioxaspiro[4,5]decane.	<u>182</u>	<i>C. lavendulifolium</i> <i>C. indicum</i>	[217] [225]
1,7 Z-hexadecadien-10,12,14-triène	<u>183</u>	<i>C. leucanthemum pallens</i>	[226]
1,6E,8E-hexadecatrien-10,12,14-triène	<u>184</u>	<i>C. leucanthemum pallens</i>	[226]
3E,5E-tridecadien-7,9,11-triényl acetate	<u>185</u>	<i>C. leucanthemum pallens</i>	[226]
1,8E-Hexadecadien-10,12,14-triène-7-ol	<u>186</u>	<i>C. leucanthemum pallens</i>	[226]
1,6-Dioxaspiro[4.4]non-3-ène, 2-(2,4-hexadiynylidène)-, (E)-	<u>187</u>	<i>C. coronarium</i> L.	[227]
1,6-Dioxaspiro[4.4]nona-2,8-diène, 7-(2,4-hexadiynylidène)-, (E)-	<u>188</u>	<i>C. coronarium</i> L.	[227]
1,6-Dioxaspiro[4.4]nona-2,8-diène-4-ol, 7-(2,4-hexadiynylidène)-, acetate, [4R-[4a,5b(E)]]-	<u>189</u>	<i>C. coronarium</i> L.	[227]
1,6-Dioxaspiro[4.4]nona-2,8-diène-4-ol, 7-(2,4-hexadiynylidène)-, acetate, [4R-[4 α ,5 β (Z)]]-	<u>190</u>	<i>C. coronarium</i> L.	[227]
2-[(1E,4E)-5-Methylsulfinyl-2-pentyn-4-ényliden]-1,6-dioxaspiro[4,4]non-3-ène	<u>191</u>	<i>C. coronarium</i> L.	[227]
2-[(1Z,4E)-5-Methylsulfinyl-2-pentyn-4-ényliden]-1,6-dioxaspiro[4,4]non-3-ène	<u>192</u>	<i>C. coronarium</i> L.	[227]
Chrysindin A	<u>193</u>	<i>C. indicum</i>	[225]
Chrysindin B	<u>194</u>	<i>C. indicum</i>	[225]
Chrysindin C	<u>195</u>	<i>C. indicum</i>	[225]

Chrysinidin D	196	<i>C. indicum</i>	[225]
Z-1,6-dioxaspiro[4.4]non-3-ene	197	<i>C. indicum</i> <i>C. zawadskii</i>	[225] [228]
E-1,6-dioxaspiro[4.4]non-3-ene	198	<i>C. indicum</i> <i>C. zawadskii</i>	[225] [228]
cis-spiroketalenoether polyyne	199	<i>C. indicum</i>	[225]
Dendrazawayne A (E)	200	<i>C. zawadskii</i>	[228]
Dendrazawayne B (Z)	201	<i>C. zawadskii</i>	[228]

Les structures des polyacétylènes qui sont isolés des espèces du genre *Chrysanthemum* cités dans le tableau 7 sont présentées dans la figure 32 :

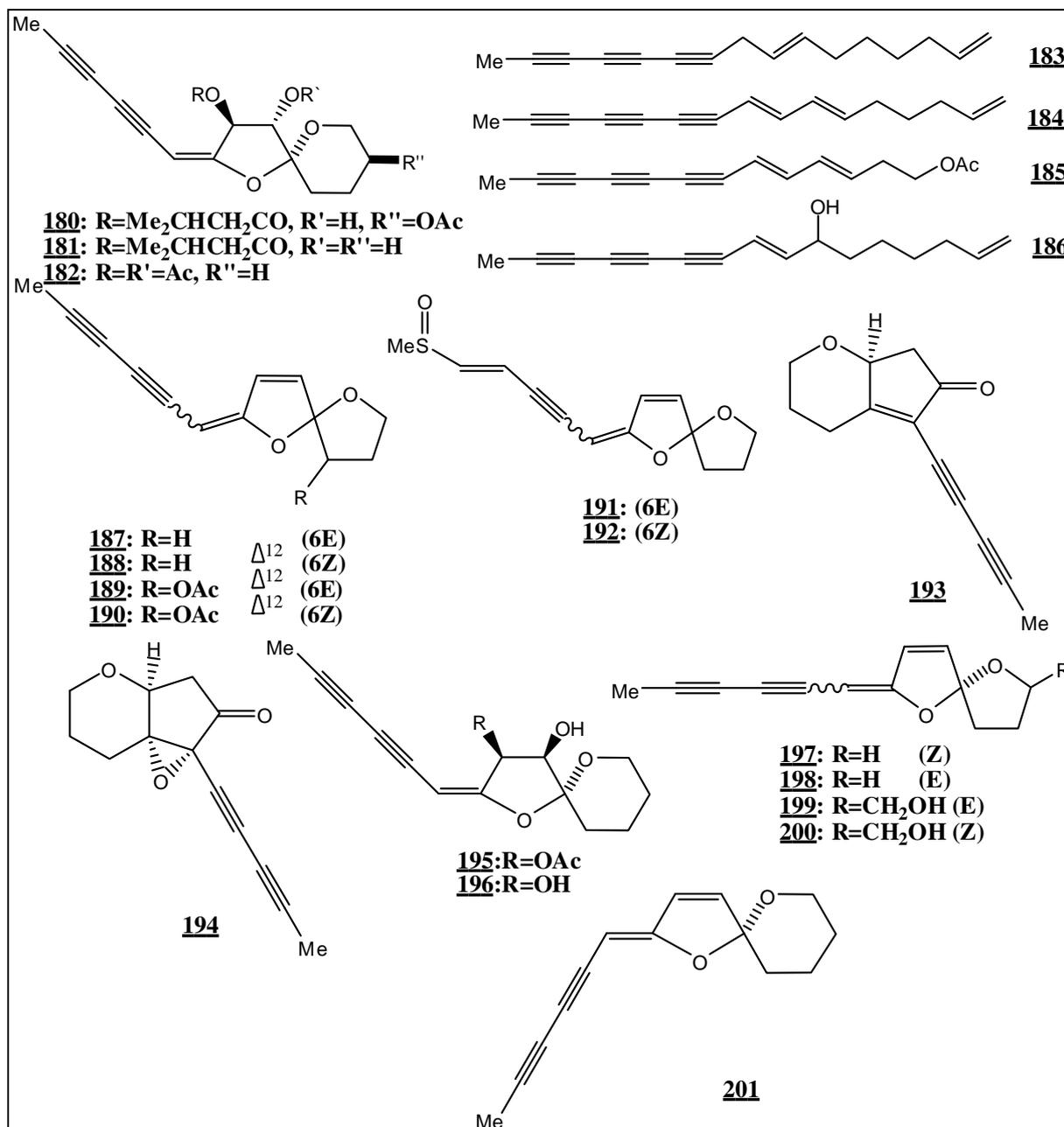


Figure 32 : Polyacétylènes isolés d'espèces du genre *Chrysanthemum*.

3.4.5.e. Les triterpènes

Les triterpènes sont des substances d'origine organique en C₃₀ (30 atomes de carbone) de la famille des terpènes. Très répandus dans la nature, on les trouve notamment dans les résines, à l'état libre, sous forme estérifiée ou hétérosidique. Ils résultent de la condensation de six molécules d'isoprène. La formule de base d'un triterpène est : C₅H₈ x 6 = C₃₀H₄₈.

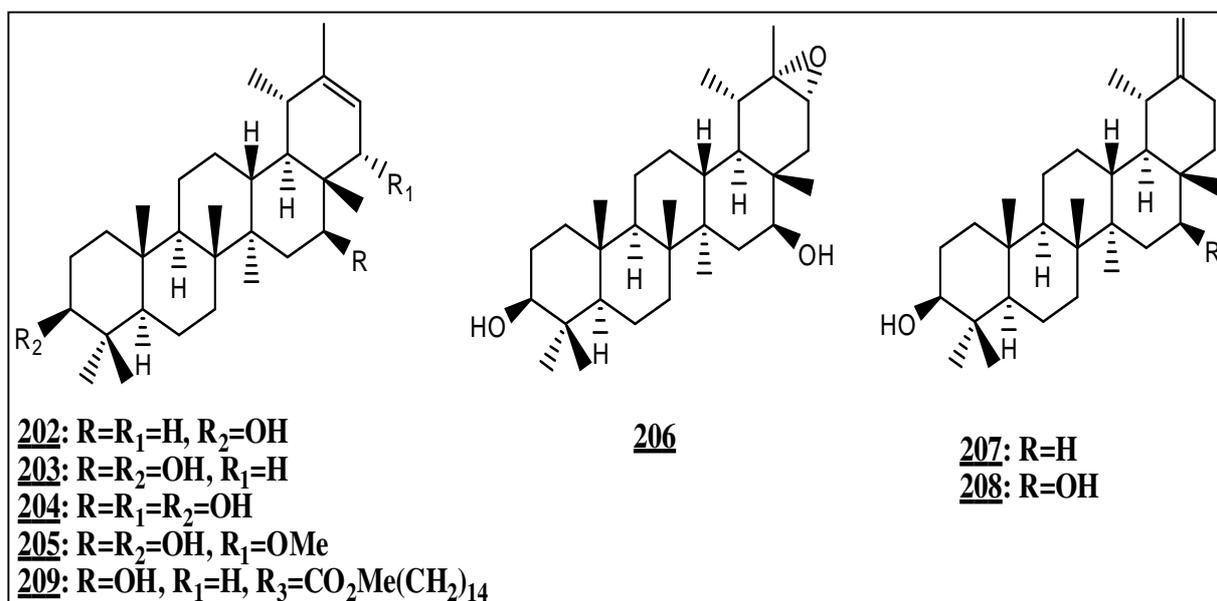
Les espèces du genre *Chrysanthemum* renferment des triterpénoïdes en particulier à squelette pentacyclique de type taraxastane, oleanane, ursane, lupane, taraxane, cycloartane, tirucallane et dammarane. Le tableau 8 comprend des triterpènes isolés du genre *Chrysanthemum*.

Tableau 8: Les différents types des triterpènes isolés du genre *Chrysanthemum*

Types triterpène	Nom du triterpène	Structure	Espèce	Référence
Taraxastane	Ψ-taraxasterol	<u>202</u>	<i>C. morifolium</i> Ramat <i>C. indicum</i>	[165] [229]
	Faradiol	<u>203</u>	<i>C. morifolium</i> Ramat	[165]
	Heliantriol C	<u>204</u>	<i>C. morifolium</i> Ramat	[165]
	22α-Methoxyfaradiol	<u>205</u>	<i>C. morifolium</i> Ramat	[165]
	Faradiol α-epoxide	<u>206</u>	<i>C. morifolium</i> Ramat	[165]
	Taraxasterol	<u>207</u>	<i>C. morifolium</i> Ramat <i>C. macrocarpum</i>	[165] [230]
	Arnidiol	<u>208</u>	<i>C. morifolium</i> Ramat	[165]
	16 β-hydroxypseudotraxasterol 3-O-palmitate	<u>209</u>	<i>C. morifolium</i> Ramat	[231]
Oleanane	β-Amyrine	<u>210</u>	<i>C. morifolium</i> Ramat <i>C. indicum</i>	[165] [229]
	Maniladiol	<u>211</u>	<i>C. morifolium</i> Ramat	[165]
	Erythrodiol	<u>212</u>	<i>C. morifolium</i> Ramat	[165]
	Longispinogenine	<u>213</u>	<i>C. morifolium</i> Ramat	[165]
	Coflodiol	<u>214</u>	<i>C. morifolium</i> Ramat	[165]
	3,21-dipalmitoyloxy-16β,21α-dihydroxy-β-amyrine	<u>215</u>	<i>C. macrocarpum</i>	[230]
	Heliantriol A	<u>216</u>	<i>C. morifolium</i> Ramat	[232]
Ursane	α-Amyrine	<u>217</u>	<i>C. morifolium</i> Ramat <i>C. indicum</i>	[165] [229]
	Brein	<u>218</u>	<i>C. morifolium</i> Ramat	[165]
	Uvaol	<u>219</u>	<i>C. morifolium</i> Ramat	[165]
Lupane	Lupeol	<u>220</u>	<i>C. morifolium</i> Ramat <i>C. indicum</i>	[165] [229]
	3-Epilupeol	<u>221</u>	<i>C. morifolium</i> Ramat	[165]
	Calenduladiol	<u>222</u>	<i>C. morifolium</i> Ramat	[165]

	Calenduladiol-3- <i>O</i> -myristate	<u>223</u>	<i>C. macrocarpum</i>	[230]
	Heliantriol B	<u>224</u>	<i>C. morifolium</i> Ramat	[165]
Taraxerane	Taraxerol	<u>225</u>	<i>C. morifolium</i> Ramat	[165]
	Cycloartenol	<u>226</u>	<i>C. morifolium</i> Ramat	[165]
	24-Methylenecycloartanol	<u>227</u>	<i>C. morifolium</i> Ramat	[165]
	(24R)-Cycloartane-3 β ,24,25-triol	<u>228</u>	<i>C. morifolium</i> Ramat	[165]
	(24S)-Cycloartane-3 β ,24,25-triol	<u>229</u>	<i>C. morifolium</i> Ramat	[165]
Cycloartane	(24S)-25-methoxycycloartane-3 β ,24,28-triol	<u>230</u>	<i>C. morifolium</i> Ramat	[233]
	(24S)-25-Methoxycycloartane-3 β ,24-diol	<u>231</u>	<i>C. morifolium</i> Ramat	[165]
	Helianol	<u>232</u>	<i>C. morifolium</i> Ramat	[165]
Tirucallane	4,5 α -Epoxyheliano	<u>233</u>	<i>C. morifolium</i> Ramat	[165]
	Δ^7 -Tirucallol	<u>234</u>	<i>C. morifolium</i> Ramat	[165]
Dammarane	Dammaradienol	<u>235</u>	<i>C. morifolium</i> Ramat	[165]

Les structures des triterpènes qui sont isolés des espèces du genre *Chrysanthemum* cités dans le tableau 8, sont présentées dans la figure 33



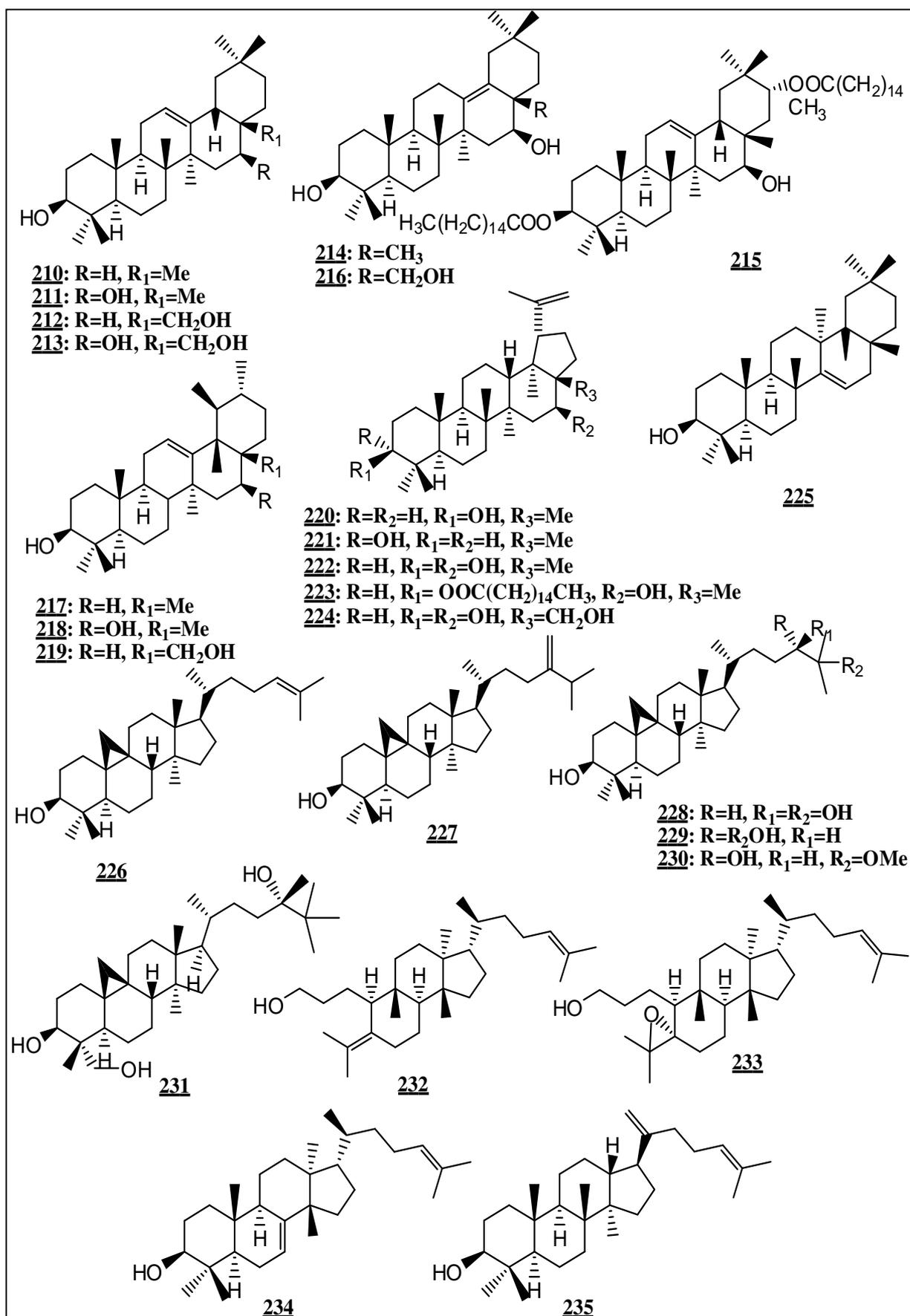


Figure 33: Structures des triterpènes isolés du genre *Chrysanthemum*.

3.4.f. Les stérols

Un stérol est un lipide possédant un noyau de stérane dont le carbone 3 est porteur d'un groupe hydroxyle (figure 34). Les stérols sont considérés comme une sous-classe des stéroïdes. Ce sont des molécules présentes chez la plupart des végétaux.

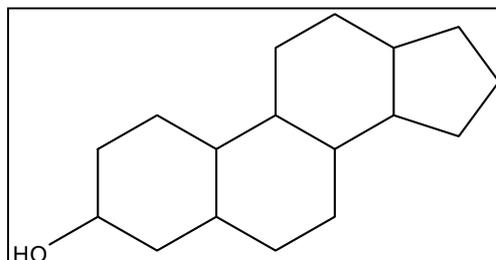


Figure 34 : Noyau de base des stérols.

Le tableau 9 présente les stérols qui sont isolés du genre *Chrysanthemum*.

Tableau 9: Les stérols isolés du genre *Chrysanthemum*

Stérol	Structure	Espèce	Référence
β-sitostérol	<u>236</u>	<i>C. macrocarpum</i>	[230]
		<i>C. indicum</i>	[234]
		<i>C. boreale</i>	[235]
		<i>C. parthenium</i>	[204,236]
		<i>C. coronarium</i>	[204]
		<i>C. nankingense</i>	[237]
Stigmastérol	<u>237</u>	<i>C. macrocarpum</i>	[230]
		<i>C. parthenium</i>	[204,236]
		<i>C. coronarium</i>	[204]
Daucostérol	<u>238</u>	<i>C. indicum</i>	[234]
		<i>C. nankingense</i> ,	[237]
		<i>C. morifolium</i>	[238]
Cholestérol	<u>239</u>	<i>C. coronarium</i>	[204]
		<i>C. parthenium</i>	[204]
Campestérol	<u>240</u>	<i>C. parthenium</i>	[204,236]
		<i>C. coronarium</i>	[204,239]
Stigmastanol	<u>241</u>	<i>C. parthenium</i>	[236]
Fucostérol	<u>242</u>		
Ergostérol	<u>243</u>		
5α,8α-peroxyergostérol	<u>244</u>	<i>C. coronarium</i> L.	[240]

Les structures des stérols cités dans le tableau 9, sont présentées dans la figure 35

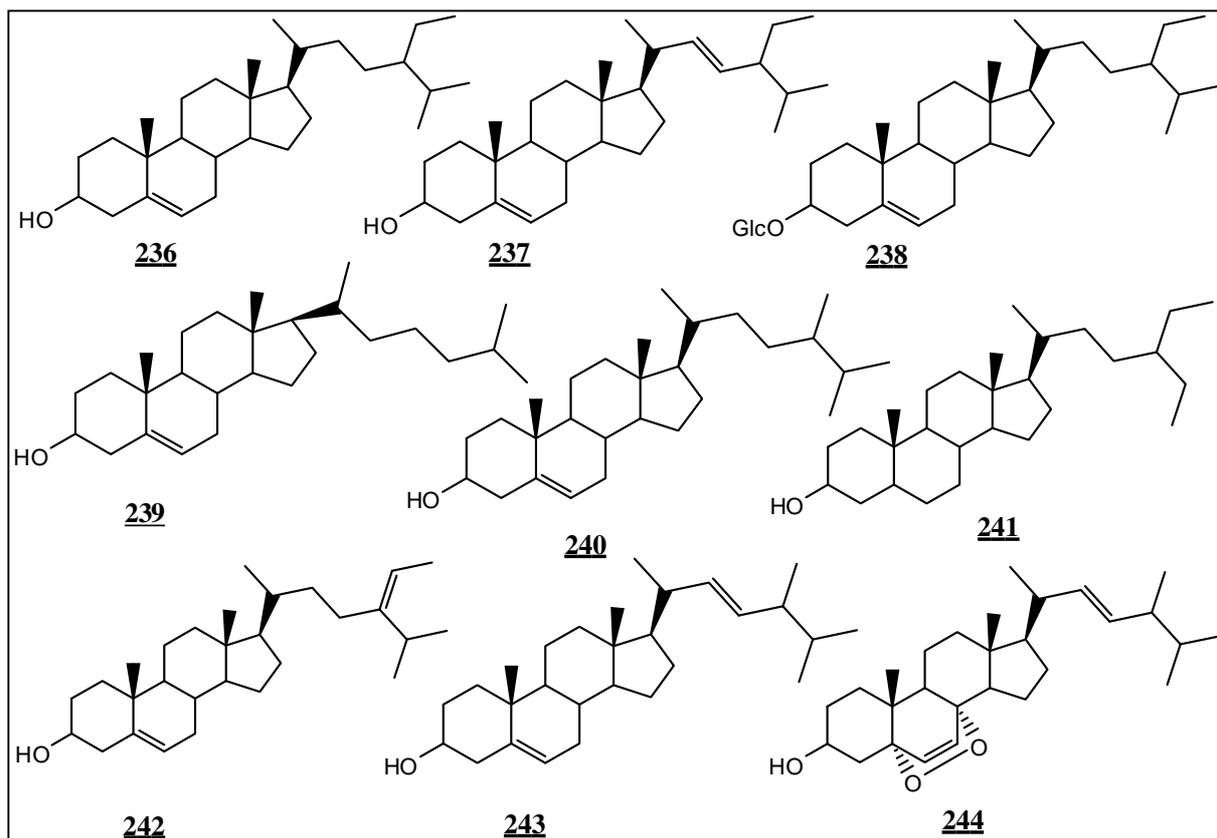
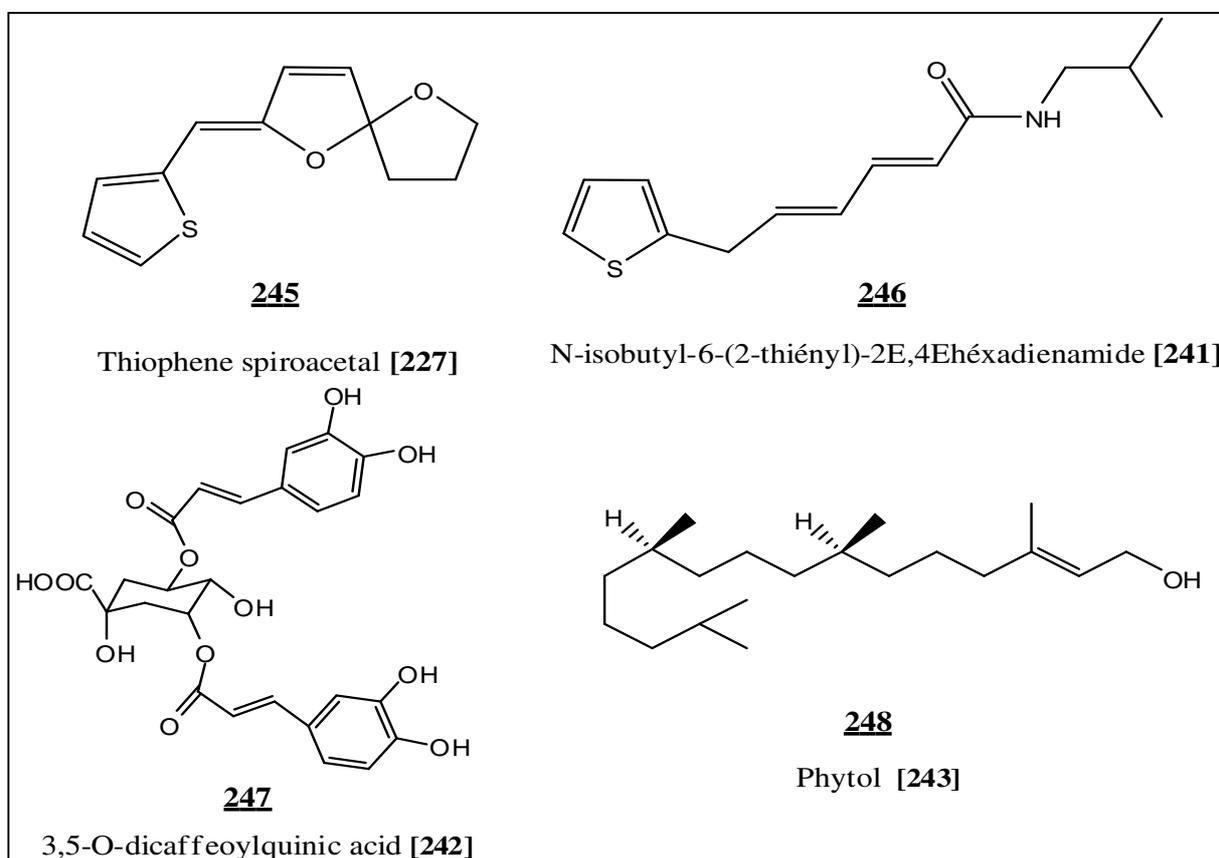


Figure 35 : Structures des stérols isolés du genre *Chrysanthemum*.

3.4.g. Divers composés



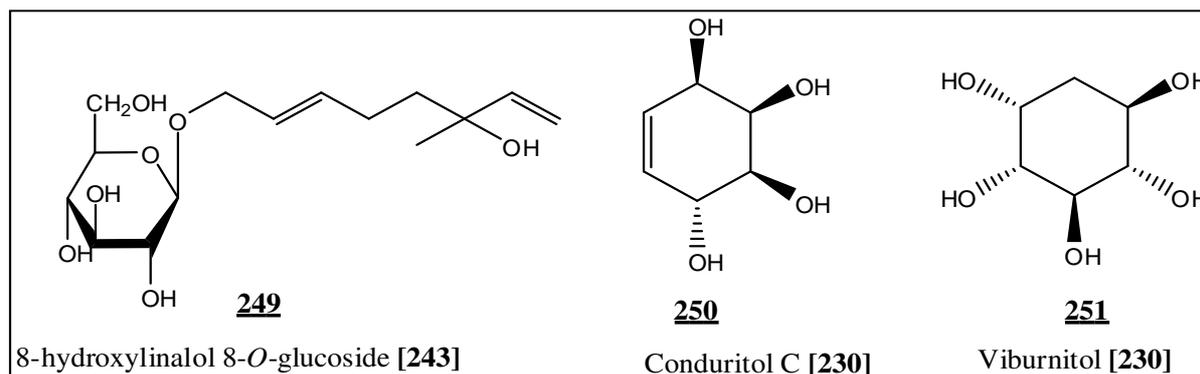


Figure 36 : Divers composés isolés de genre *Chrysanthemum*.

3.5. Utilisations des chrysanthèmes

3.5.a. Utilisation culinaire

Les pétales du chrysanthème sont comestibles. Ils sont utilisés au Japon, en Chine et au Viêt-Nam pour préparer des salades. Leur goût rappelle celui du cresson. Ils sont aussi utilisés pour la préparation de soupe de viande afin d'améliorer l'arôme.

On fait bouillir des fleurs de chrysanthème jaunes ou blanches pour faire une boisson douce dans quelques parties de l'Asie. La boisson résultante est connue simplement comme "le thé de chrysanthème".

3.5.b. Utilisation ornementale

Les chrysanthèmes modernes sont beaucoup plus ostentatoires que leurs parents sauvages. Les fleurs se produisent dans les formes différentes et peuvent être semblables à la marguerite, décoratives, les pompons ou les boutons. Ce genre contient beaucoup d'hybrides et des milliers de cultivars développés pour les buts horticoles. En plus du jaune traditionnel, d'autres couleurs sont disponibles, tel que blanc, pourpre et rouge.

3.5.c. Utilisation de l'environnement

Il a été montré (par the NASA Clean Air Study) que les chrysanthèmes réduisent la pollution de l'air en salle [244].

3.5.d. Utilisation comme insecticide

Pyrethrum (*Chrysanthemum cinerariaefolium*) est économiquement important comme une source naturelle d'insecticide [245]. Les Pyréthrinés attaquent le système nerveux central de tous les insectes en bloquant leurs fonctions nerveuses. On considère qu'ils sont parmi les insecticides les plus sûrs pour l'utilisation dans le domaine alimentaire [246].

3.5.e. Utilisations médicinales

Les espèces du genre *Chrysanthemum* sont connues pour avoir une activité médicinale et certaines d'elles sont utilisées en médecine traditionnelle.

Les parties aériennes de *Chrysanthemum indicum* sont utilisées en Médecine traditionnelle chinoise pour traiter plusieurs maladies infectieuses telles que les pneumonies, les colites, la stomatite, le cancer, la fièvre, et également pour traiter les vertiges, la coqueluche et les symptômes de l'hypertension [247].

Les fleurs sont aussi utilisées comme thé pour traiter certaines maladies oculaires [248].

Chrysanthemum morifolium Ramat est également utilisée en médecine Chinoise comme complément alimentaire ou tisane. Elle est considérée comme un aliment de santé par de nombreux consommateurs [249,250]. En plus de son utilisation pour traiter le rhume, maux de tête et les étourdissements [251,252].

Les parties aériennes de *C. coronarium* ont été utilisés pour la protection ou remède de plusieurs maladies dans la médecine orientale [253].

En Corée, *C. zawadskii* est utilisée en médecine traditionnelle pour traiter la pneumonie, la bronchite, toux, rhume, pharyngite, troubles liés à la vessie, troubles gastro-intestinaux et de l'hypertension [254,255]. Par contre, *C. boreale* a été utilisé pour traiter les vertiges, et ses fleurs ont été utilisées comme antipyrétique [256]. Il a été également noté des effets anti-inflammatoires sur les maladies telles que la dermatite atopique [257].

L'espèce *C. trifurcatum* est utilisée dans la médecine populaire tunisienne pour traiter la constipation. Elle est aussi réputée pour soulager des douleurs spécifiquement féminines [258]. Dans la médecine traditionnelle marocaine *C. trifurcatum* est utilisée dans le traitement des troubles hépatiques et biliaires [259].

3.6. Activités biologiques reconnues du genre *Chrysanthemum*

Le tableau 10 représente les propriétés thérapeutiques d'espèces du genre *Chrysanthemum*.

Tableau 10: Les propriétés thérapeutiques d'espèces du genre *Chrysanthemum*

Espèce	Propriété thérapeutique	Référence
<i>C. indicum</i>	Anti-inflammatoire	[260,261]
	Immune-modulatrice	[261]
	Cardiovasculaire	[262]
	Antimicrobienne	[263]
	Anti-oxydante	[264]
	Antivirale	[264]

<i>C. morifolium</i>	Antibactérienne	[255,265]
	Antifongique	[255,265]
	Anti-inflammatoire	[255,265]
	Anti-Parkinson	[255,265]
	Troubles nerveux	[255,265]
	Antivirale	[266]
	Anti-ulcère	[267]
	Anti-oxydante	[268]
	Anti-tuberculose	[164]
	<i>C. coronarium</i>	Antibactérienne
Antiparasitaire		[270]
Antifongique		[271]
Anticancéreuse		[272]
Antivirale		[169]
<i>C. zawadskii</i>	Antifongique	[228]
	Anticancéreuse	[273]
	Antibactérienne	[274]
	Anti-inflammatoire	[275]
<i>C. boreale</i>	Antibactérienne	[276]
	Anticancéreuse	[208]
<i>C. myconis</i>	Antibactérienne	[198]
<i>C. cinerariaefolium</i>	Insecticide	[156]

4. Aspect botanique

4.1. *Matricaria pubescens* (Desf.) Sch. Bip.

4.1.1 Rappels botaniques

Matricaria pubescens est appelée localement ``Guertoufa``, elle se rencontre particulièrement dans tout le Sahara septentrional et Central. C'est une plante endémique très connue en Afrique du Nord [3].

Elle est décrite dans la flore du Sahara comme plante annuelle en touffe vert sombre à tiges couchées puis redressées. Les feuilles d'un vert sombre sont très découpées et velues, bractées de l'involucre amplement scarieuses lacérées tout autour, pédoncule non épaissi au sommet. Les fleurs jaunes toutes en tubes s'épanouissent sur des tiges grêles. Akènes jaunâtres, munis d'une collerette déjetée sur le côté et aussi longue qu'eux, triangulaires et à faces courbes (face antérieure, convexe, deux faces latérales concave), lisse [3]. Toute la plante a une odeur très agréable (figure 37).

4.1.2. Place dans la systématique

Son classement dans la systématique est comme suit :

Règne	Plantae
Embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Gamopétales
Ordre	Astérales
Famille	Asteraceae
Genre	<i>Matricaria</i>
Espèce	<i>M. pubescens</i> (Desf.) Sch. Bip.

4.1.3. Utilisations traditionnelles

Elle a des propriétés antiseptiques, utilisée dans les traitements des affections intestinales, calculs biliaires et les maladies gynécologiques. Elle est également utilisée dans les préparations des repas : on filtre le beurre de chèvre fondu et chaud en le faisant passer à travers les tiges et les feuilles pilées, le beurre ainsi préparé est très parfumé et se conserve mieux. Elle peut être ajoutée au thé, ou mélangé sec et pilé au tabac et pour aromatiser les soupes (chorba) [259].



Figure 37 : Espèce *Matricaria pubescens* (Desf.) Sch. Bip.

4.1.4. Travaux antérieurs sur l'espèce *Matricaria pubescens* (Desf.) Sch. Bip.

La recherche bibliographique que nous avons menée sur l'espèce *M. pubescens* a montré qu'à partir des parties aériennes et des racines de cette plante récoltée en avril 1983 près de Tafraoute (sud Maroc), 3 composés ont été isolés et identifiés (figure 38) [108]:

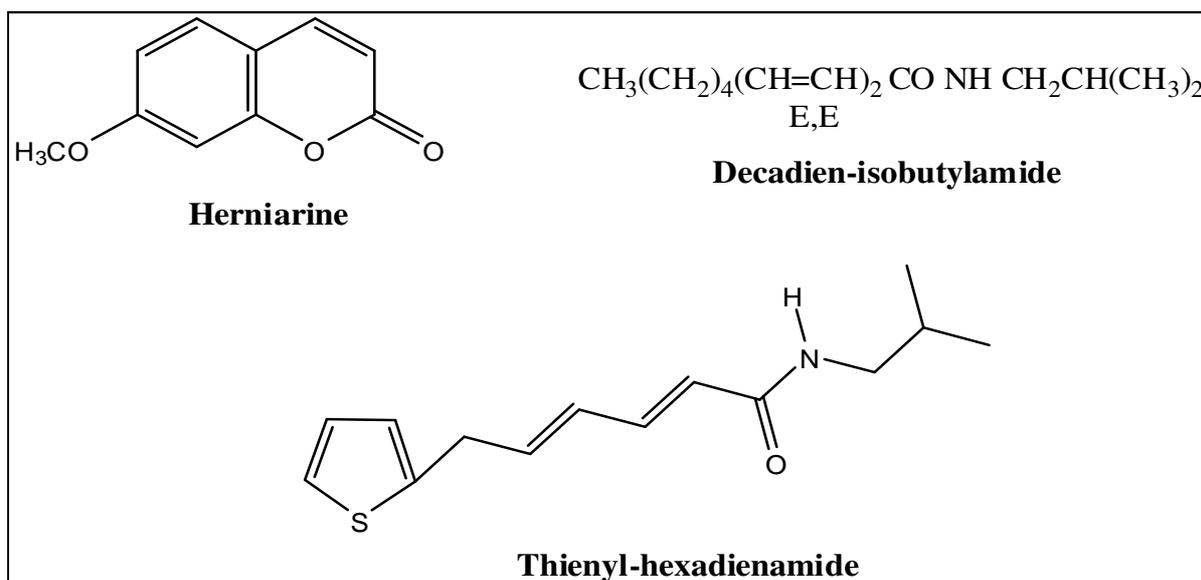


Figure 38: Composés isolés de *Matricaria pubescens* (Desf.) Sch. Bip. récoltée en avril 1983 au Maroc [108].

4.2. *Chrysanthemum deserticum* Batt. & Trab.

4.2.1. Rappels botaniques

L'espèce *Chrysanthemum deserticum* Batt. & Trab. (Asteraceae) a des bractées de l'involucre ovoïdes, obtuses, les internes surmontées d'un large appendice scarieux. Akènes du rayon avec 2-4 côtes sur la face interne et surmontés d'une aigrette auriculiforme, les aigrettes du disque subcylindriques sont charnues, coroniformes, dentées et très courtes. C'est une espèce très rare, elle se trouve dans le sous-secteur oriental du Sahara Septentrional ainsi que le sous-secteur des Hauts-Plateaux constantinois, on peut la trouver sous le nom *Pyrethrum deserticum* Murb [3].

4.2.2. Place dans la systématique

Son classement dans la systématique est comme suit :

Règne	Plantae
Embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Astérales
Famille	Asteraceae
Genre	<i>Chrysanthemum</i>
Espèce	<i>C. deserticum</i> Batt. & Trab.

4.2.3. Travaux antérieurs sur l'espèce *Chrysanthemum deserticum* Batt. & Trab.

La recherche bibliographique que nous avons menée sur l'espèce *C. deserticum* a montré que cette plante n'a fait l'objet d'aucune étude phytochimique ou pharmacologique auparavant.



Figure 39 : Espèce *Chrysanthemum deserticum* Batt. & Trab.

5. Activité antioxydante

5.1. Stress oxydatif

Le concept selon lequel l'oxygène, molécule indispensable pour la vie, peut entraîner des dommages cellulaires importants par formation de dérivés oxygénés activés tel que les radicaux libres, est encore mal perçu dans le milieu médical. Pourtant, de très nombreuses études épidémiologiques et cliniques ont suggéré le rôle de ces espèces réactives de l'oxygène (ROS) dans le développement de nombreux processus pathologiques comme l'athérosclérose et la cancérogenèse. Pour se protéger des effets toxiques de l'oxygène, l'organisme a développé des systèmes de défense antioxydants composés d'enzymes (la glutathion peroxydase), de vitamines (A, C, E), d'oligo-éléments (le sélénium), de protéines (la ferritine). Ces systèmes antioxydants ont la capacité de réguler parfaitement la production des ROS [277].

5.2. Les radicaux libres

Un radical libre est une entité chimique (atome, molécule, fragment de molécule) capable d'exister sous forme indépendante, contenant au moins un électron libre sur sa couche externe (ou contenant deux électrons de même spin dans une case quantique), ce qui augmente considérablement sa réactivité par nécessité de se combiner avec un autre électron pour atteindre la stabilité selon un phénomène d'oxydation [278, 279]. Sa durée de vie est très courte (quelques millisecondes voir quelque nanosecondes) et il est symbolisé par un point qui indique où l'électron libre se situe (Exemple : $\cdot\text{OH}$) [279- 281].

On peut distinguer les radicaux primaires, qui ont un rôle physiologique particulier et les radicaux secondaires, issus de la réaction des radicaux primaires avec des entités biochimiques cellulaires (lipides, protéines, glucides...) [282, 283].

5.3. Les antioxydants

5.3.1. Définition

Un antioxydant est une molécule qui diminue ou empêche l'oxydation d'autres substances chimique. Il est défini par HALLIWELL (1999) comme « toute substance qui, en faible concentration par rapport au substrat susceptible d'être oxydé, prévient ou ralentit l'oxydation de ce substrat ». [284].

Les antioxydants sont des molécules capables d'interagir sans danger avec les radicaux libres et de mettre fin à la réaction en chaîne avant que les molécules vitales ne soient endommagées. Chaque molécule antioxydante ne peut réagir qu'avec un seul radical libre [285].

5.3.2. Division des antioxydants

La présence d'antioxydants dans les aliments permet d'éviter le rancissement dû à l'oxydation causée par l'oxygène, la lumière, la chaleur ou le contact de certains métaux [286].

5.3.2.a. Les antioxydants naturels :

➤ Vitamine E

La vitamine E est un antioxydant majeur liposoluble. C'est un composé amphiphile, il joue un rôle important dans l'organisme par son action antioxydante au niveau cellulaire. Il existe dans la nature plusieurs dérivés de la vitamine E à activités différentes (α -, β -, γ -, δ -tocophérol, tocotriénols... (Figure 40)).

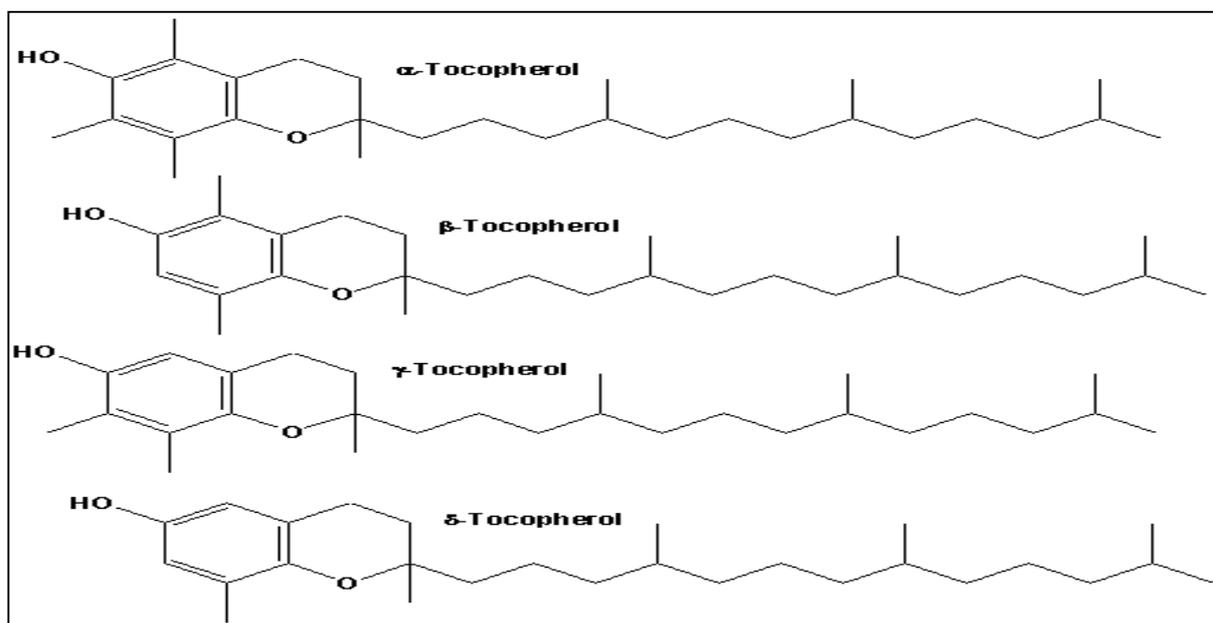


Figure 40: Structures des composés à action vitaminique E.

➤ Vitamine A

La vitamine A est une vitamine liposoluble, elle existe sous deux formes : le rétinol et ses dérivés d'origine animale et les caroténoïdes d'origine végétale [287]. Le bêta-carotène est

le principal précurseur de la vitamine A (figure 41). Les autres caroténoïdes peuvent être de puissants antioxydants, mais ils sont moins connus et abondants [288].

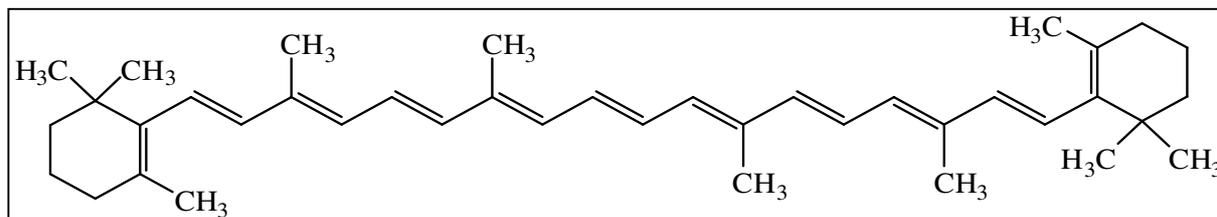


Figure 41: Structure du β -carotène

➤ Vitamine C

La vitamine C ou acide L-ascorbique est un antioxydant hydrosoluble très puissant. Elle joue un rôle de prévention de l'oxydation dans le plasma et les fluides extracellulaires, dont elle est considérée comme le plus important antioxydant [289] (figure 42). Son action est directe et indirecte, elle agit directement sur les ROS (superoxydes, hydroxyle, singulet oxygène, radicaux lipidiques) et indirectement par son action de régénération de la vitamine E et du GSH.

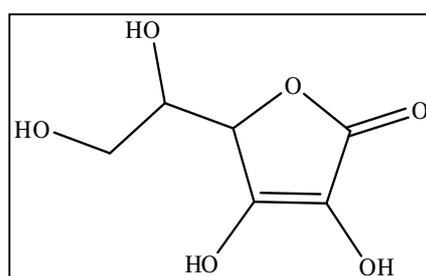


Figure 42: Structure de l'acide ascorbique

➤ Les flavonoïdes :

Présent dans la plupart des plantes, les flavonoïdes sont des pigments polyphénoliques qui sont responsables dans la plupart des colorations des fleurs et des fruits [53]. Ils possèdent de nombreuses vertus thérapeutiques. Ils sont particulièrement actifs dans le maintien d'une bonne circulation. Certains ont aussi des propriétés anti-inflammatoires [58] et antivirales [59], d'autres ont des effets protecteurs sur le foie [61].

Les relations structure activités antioxydantes des flavonoïdes et des composés phénoliques ont montré que l'activité antioxydante était déterminée par la position et le degré d'hydroxylation [290].

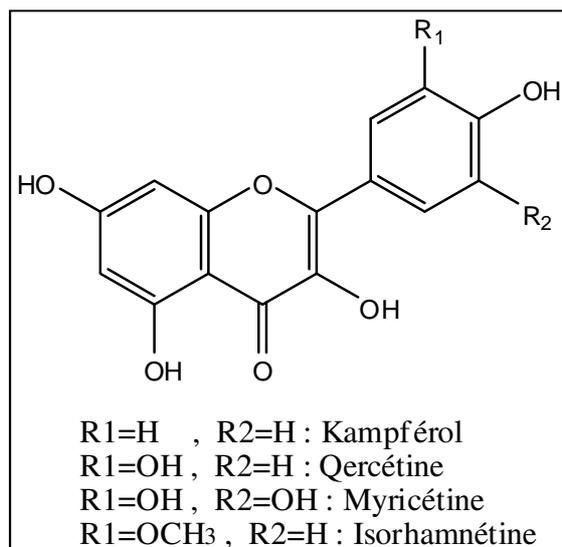
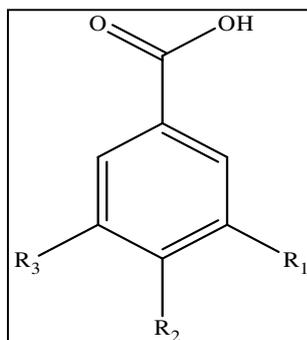


Figure 43: Structures de quelques flavonoïdes.

➤ **Les acides phénoliques :**

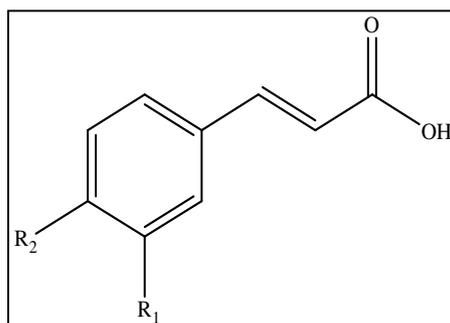
Le terme d'acide-phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique [52].

Les deux groupes essentiels des acides phénoliques sont les acides hydrox benzoïques et les acides hydrox cinnamique. Ces derniers sont des dérivés des molécules non phénoliques qui sont respectivement l'acide benzoïque et l'acide cinnamique [291].



Nom	R_1	R_2	R_3
Acide benzoïque	H	H	H
Acide 4-hydroxybenzoïque	H	OH	H
Acide 4-methoxybenzoïque	H	OCH ₃	H
Acide protocatéchique	OH	OH	H
Acide gallique	OH	OH	OH
Acide vanillique	OCH ₃	OH	H

Figure 44: Structures des acides phénoliques dérivés de l'acide benzoïque



Nom	R ₁	R ₂
Acide cinnamique	H	H
Acide <i>p</i> -coumarique	H	OH
Acide caféique	H	OCH ₃
Acide férulique	OH	OH
Acide isoférulique	OH	OH

Figure 45: Structures des acides phénoliques dérivés de l'acide cinnamique.

5.3.2.b. Les antioxydants de synthèse :

Le **BHT** (ButylHydroxyToluène) et le **BHA** (ButylHydroxyAnisole) (figure 46) sont les plus efficaces rencontrés dans la famille des gallates (esters de l'acide gallique) par rapport à leur faible coût pour retarder l'oxydation lipidique. Cependant, il a été montré que ces antioxydants de synthèse pouvaient être toxiques [292].

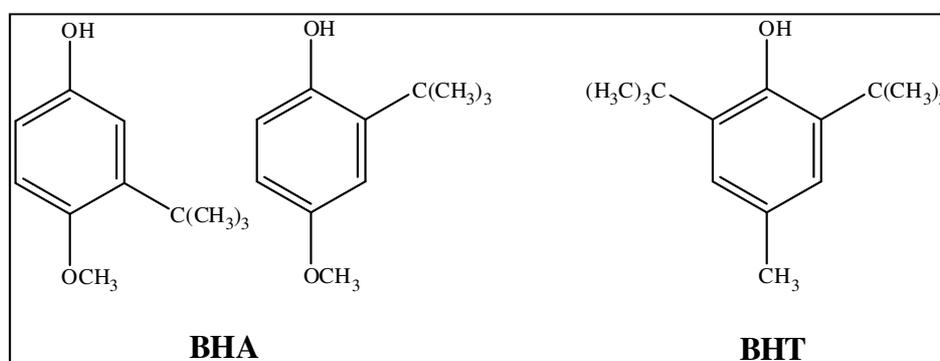


Figure 46: Structures chimiques des antioxydants synthétiques

5.4. Efficacité des antioxydants :

Les antioxydants les plus efficaces sont ceux qui ont les énergies de liaison les plus faibles au niveau du groupe donneur d'hydrogéné. L'efficacité des antioxydants phénoliques est due en particulier à la stabilisation des radicaux phénoxyliques par la délocalisation des électrons autour du cycle aromatique. L'efficacité d'un composé phénolique dépend également du nombre de fonction OH a hydrogéné labile [293].

CHAPITRE II
MATERIEL
ET METHODES

1. *Matricaria pubescens* (Desf.) Sch. Bip.

1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal étudié a été récolté en Mars 2010 à Ghardaia par Mr. Kamel Kabouche, et identifié par le professeur Gérard De Belair (Université Annaba). Un échantillon a été déposé au laboratoire d'obtention de substances thérapeutiques (LOST) (LOSTMp 03/10). Après séchage dans un endroit sec et à l'abri des rayons solaires, les parties aériennes ont été pulvérisées et pesées (1750g).

1.2. Extraction

1750g des parties aériennes de la plante pulvérisée sont mises à macérer à température ambiante dans un mélange hydroalcoolique (Éthanol/Eau, 70/30, V/V), en répétant cette opération 3fois avec renouvellement du solvant (24 à 48 heures/3fois). L'extrait récupéré est concentré sous pression réduite à une température n'excédant pas 40°C, puis dilué avec de l'eau distillée à raison de 400 ml pour 1Kg de matière sèche. Une décantation pendant une nuit permet le dépôt des composés hautement lipophiles (la chlorophylle, les cires, les résines, les boues terpéniques, le sable etc...). La solution ainsi dégraissée subit une filtration pour obtenir une solution aqueuse claire. Cette dernière a subi des extractions de type liquide-liquide en utilisant des solvants de polarité croissante en commençant par l'éther de pétrole, le dichlorométhane, puis l'acétate d'éthyle et en dernier le n-butanol (figure 38).

Les phases organiques récupérées sont concentrées sous pression réduite à sec et pesées. Les rendements d'extraction sont donnés dans le tableau 11 :

Tableau 11 : Rendement des extraits de *Matricaria pubescens*.

	Extrait	Masse (g)	Rendement (%)
1750g	Éther de pétrole	1,4	0,08
	Dichlorométhane	5,75	0,33
	Acétate d'éthyle	2,5	0,14
	n-butanol	45,7	2,61

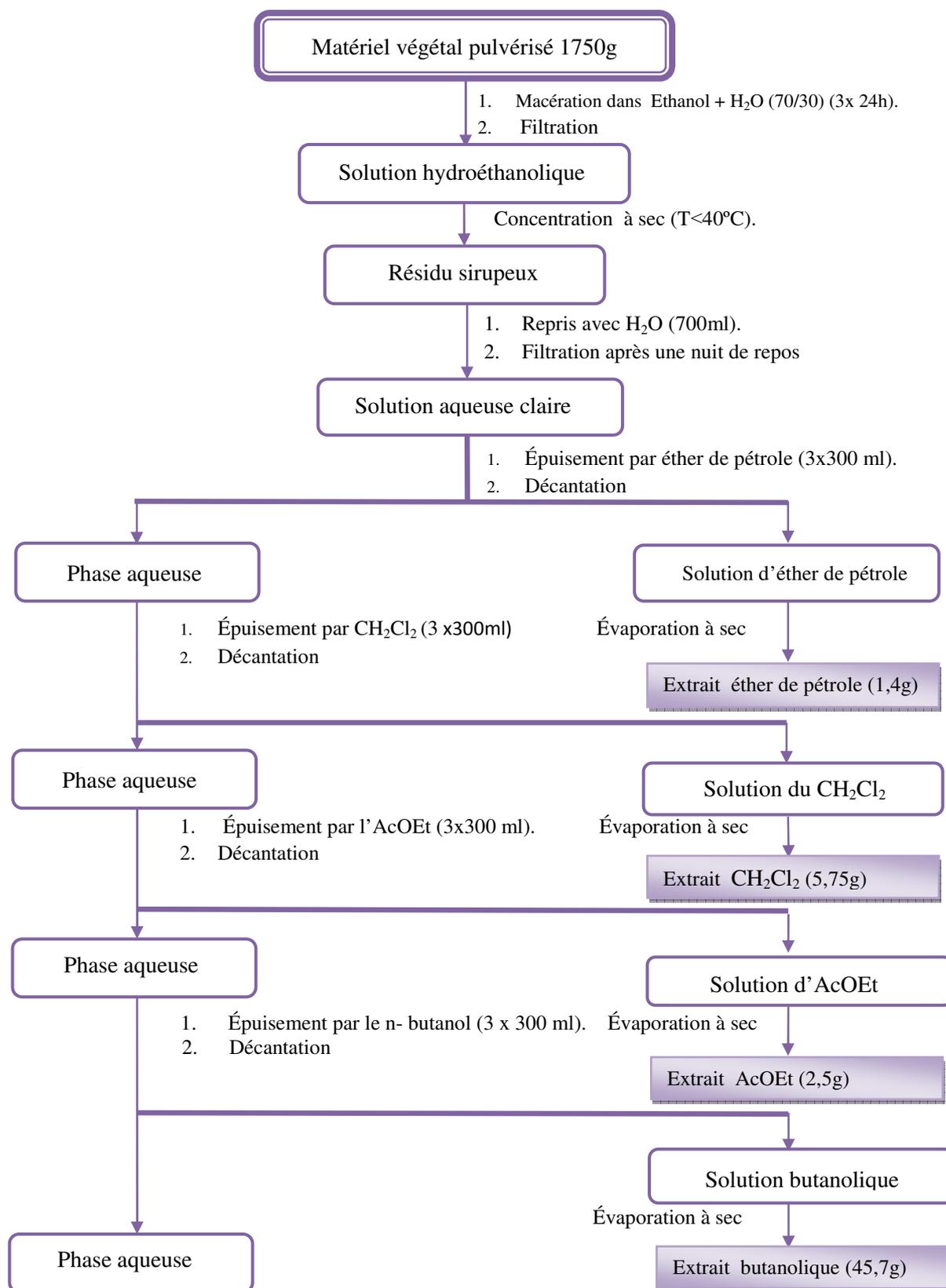


Figure 47: Extraction de *Matricaria pubescens*

Chaque extrait subit une chromatographie sur couche mince afin d'avoir une idée sur les produits à isoler et donc pouvoir choisir l'extrait à étudier.

Notre choix s'est porté sur celui de l'extrait butanolique riche en flavonoïdes, qui a subi une chromatographie bidimensionnelle sur plaque de polyamide dans les systèmes S1 et S2, pour avoir les empreintes flavoniques et avoir une idée sur les bons systèmes de séparation de cet extrait (figure 48).

- La 1^{ère} dimension S1 : Toluène-MeOH-MEC (4:3:3)

- La 2^{ème} dimension S2 : H₂O-MeOH-MEC-acétylacétone (13:3:3:1).

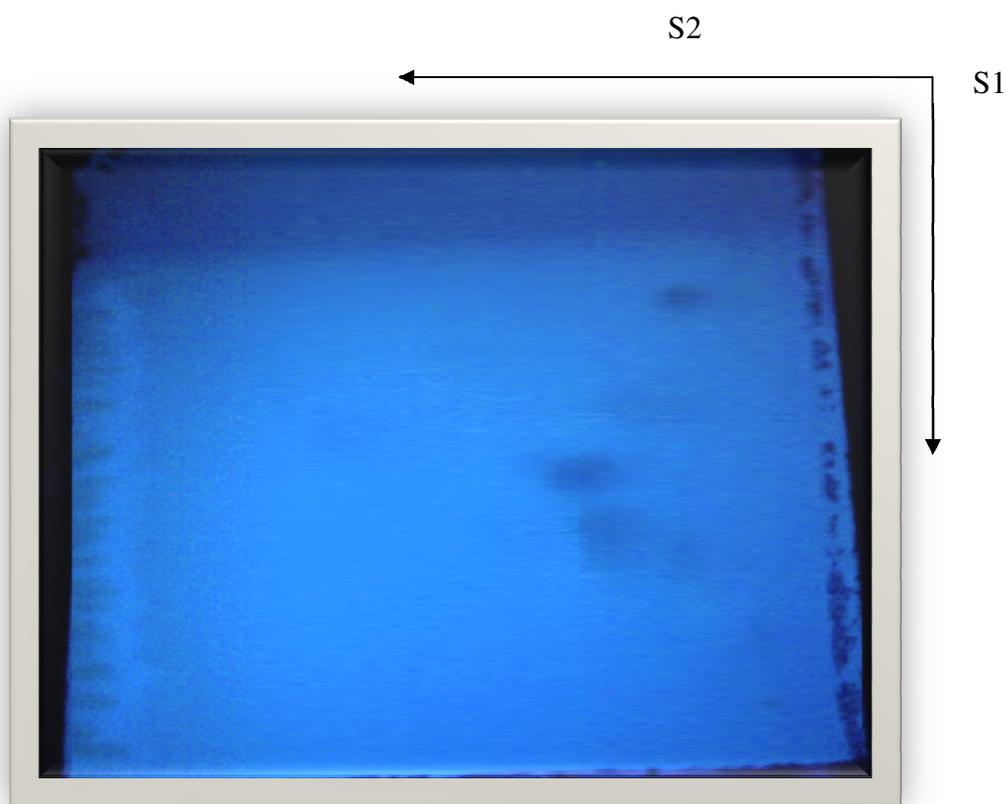


Figure 48: La plaque bidimensionnelle de l'extrait butanolique de *Matricaria pubescens*

La plaque de polyamide bidimensionnelle de l'extrait butanolique montre un bon nombre de composés flavonique, leurs couleurs sous la lampe UV indiquent que ce sont des flavones ou des flavonols substitués en position 3, alors que leur migration dans le système aqueux suggère qu'il y a des hétérosides greffés sur le squelette flavonique.

1.3. Séparation et purification de l'extrait n-butanol

20g de l'extrait butanolique sont dissous dans le méthanol puis mélangés à quelques grammes de gel de polyamide, l'ensemble est séché sous vide, puis pulvérisé jusqu'à l'obtention d'une poudre homogène. La poudre obtenue est déposée sur une colonne de gel de polyamide SC₆

préparée dans le toluène dont la masse de la phase stationnaire est de 30 fois le poids de l'extrait déposé. L'élution est réalisée par un gradient de polarité du système toluène-méthanol en commençant par le toluène pur et en terminant par le méthanol pur. Des fractions de 200 ml sont regroupées suivant la similitude de leur profil chromatographique en couche mince sur des plaques de gel de silice (60 F₂₅₄ sur feuilles d'aluminium), puis révélées à l'acide sulfurique et chauffées à plus de 100°C pendant quelques minutes. Les systèmes utilisés en CCM sont :

- (CH₂Cl₂/MeOH) : (9,5/0,5), (8/2).
- (AcOEt/MeOH/H₂O) : (10/1/0,5), (8/2/1).

Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau 12.

Tableau 12 : Fractionnement de la phase butanolique sur colonne de gel de polyamide.

N° : de lot	Fraction	Système d'élution		Observations
		Toluène	MeOH	
1 → 5	F ₁	100	0	Traces
6 → 30	F ₂	98	2	Mélange complexe
31 → 42		96	4	Mélange complexe
43 → 56	F ₃	92	8	Mélange complexe
57 → 93	F ₄	88	12	Mélange de faible quantité
94 → 126	F ₅	85	15	Mélange + précipité p ₅
127 → 148	F ₆	80	20	Mélange séparable
149 → 166	F ₇	80	20	Mélange+ précipité p ₆
167 → 201	F ₈	80	20	Mélange séparable
202 → 233	F ₉	75	25	Mélange+précipité p ₃
234 → 272	F ₁₀	70	30	Mélange séparable
273 → 333	F ₁₁	60	40	Mélange complexe
334 → 350	F ₁₂	50	50	Mélange complexe
351 → 365	F ₁₃	0	100	Traînée

Parmi les 13 fractions obtenues, on a procédé à la séparation des fractions F₅, F₆, F₈ et F₉, cela est basé sur leur richesse en produits ainsi que sur leurs poids relativement importants.

➤ Étude de la fraction F₅

La fraction F₅ contient un précipité jaune P₅ (16mg) qui a été lavé par le MeOH.

➤ Étude de la fraction F₆

La fraction F₆ a été chromatographiée sur une colonne de gel de silice en phase normale de granulométrie (63-200 μ m), éluée avec le système isocratique AcOEt:MeOH:H₂O (10:1:0,5).

5 Sous-fractions ont été regroupées selon leurs profils en CCM, en phase normale, réalisés dans le même système de la colonne (tableau 13).

Tableau 13 : Sous-fractionnement de la fraction F₆ sur colonne de gel de silice

N° : de lot	Sous fraction	Observations
1 → 7	f ₁	1 seul produit
8 → 15	f ₂	Mélange de 2 produits
16 → 42	f ₃	Mélange
43 → 48	f ₄	Précipité
49 → 53	f ₅	Trainée

- ✓ La sous fraction f₁ contient le composé P₁ (51mg) à l'état pur.
- ✓ La sous fraction f₂ est purifié sur des plaques analytiques de gel de silice (60F₂₅₄) éluée avec le système de solvant AcOEt:MeOH:H₂O (10:1:0,5) et a permis d'obtenir le composé P₂ (5,2mg) à l'état pur.
- ✓ La sous fraction f₄ contient un précipité jaune, c'est le composé P₇ (4mg), à l'état pur (après lavage).

➤ Étude de la fraction F₈

Cette fraction est chromatographiée sur une colonne de gel de silice (63-200mesh) éluée avec le système isocratique AcOEt:MeOH:H₂O (10 :1 :0,5). Le suivi des sous fractions obtenues est réalisé par chromatographie sur couche mince CCM en phase normale, visualisée sous lumière UV en utilisant le même système. Par conséquent, 4 sous fractions ont été regroupées (tableau 14)

Tableau 14 : Sous-fractionnement de la fraction F₈ sur colonne de gel de silice.

Lot de sous fractions	Sous fractions	Observations
1 → 15	f ₁	Composé non pur
16 → 25	f ₂	Mélange de 2 composés
26 → 30	f ₃	Mélange
31 → 35	f ₄	Précipité

✓ La chromatographie sur couche mince a montré que la sous fraction f_1 contient le même composé P_2 isolé de la fraction F_6 .

✓ La sous fraction f_2 a été purifiée sur plaques préparatives de gel de silice, en utilisant le système AcOEt:MeOH:H₂O (8:1:0,5) pour donner 2 produits purs P_2 (3mg) qui a été déjà isolé de la fraction F_6 et le composé P_4 (4,7mg).

✓ La sous fraction f_4 contient le composé P_6 (25mg) sous forme de précipité qui a été lavé.

➤ **Étude de la fraction F_9**

La fraction F_9 contient un précipité jaune, on a pu l'obtenir à l'état pur après plusieurs lavages par MeOH, c'est le composé P_3 (34mg).

La coloration jaune de ces 7 composés ($P_1 \rightarrow P_7$) sur plaque CCM après révélation par l'acide sulfurique puis chauffage à plus de 100 °C, pendant quelques minutes, indique que ce sont probablement des flavonoïdes.

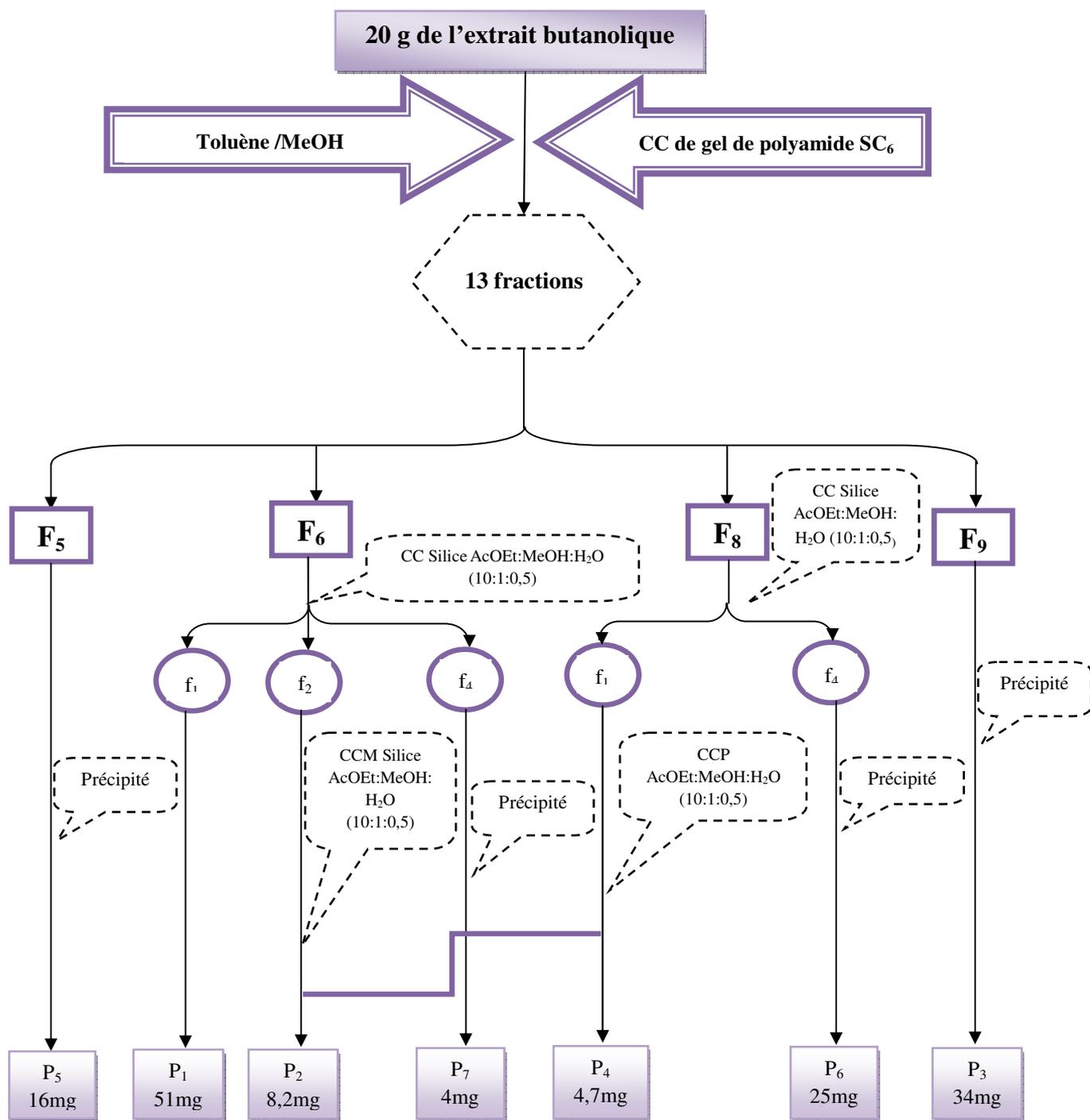


Figure 49: Schéma de séparation de l'extrait butanolique de *Matricaria pubescens*

1.4. Séparations antérieures

Parallèlement à nos travaux phytochimiques sur la plante récoltée en Mars 2010 à Ghardaia, nous avons finalisé des travaux de séparation sur des extraits de cette même plante récoltée au même endroit mais en avril 2008 et qui était entamée dans le cadre d'un doctorat effectué au laboratoire [294]. L'organigramme suivant regroupe les différentes phases des travaux :

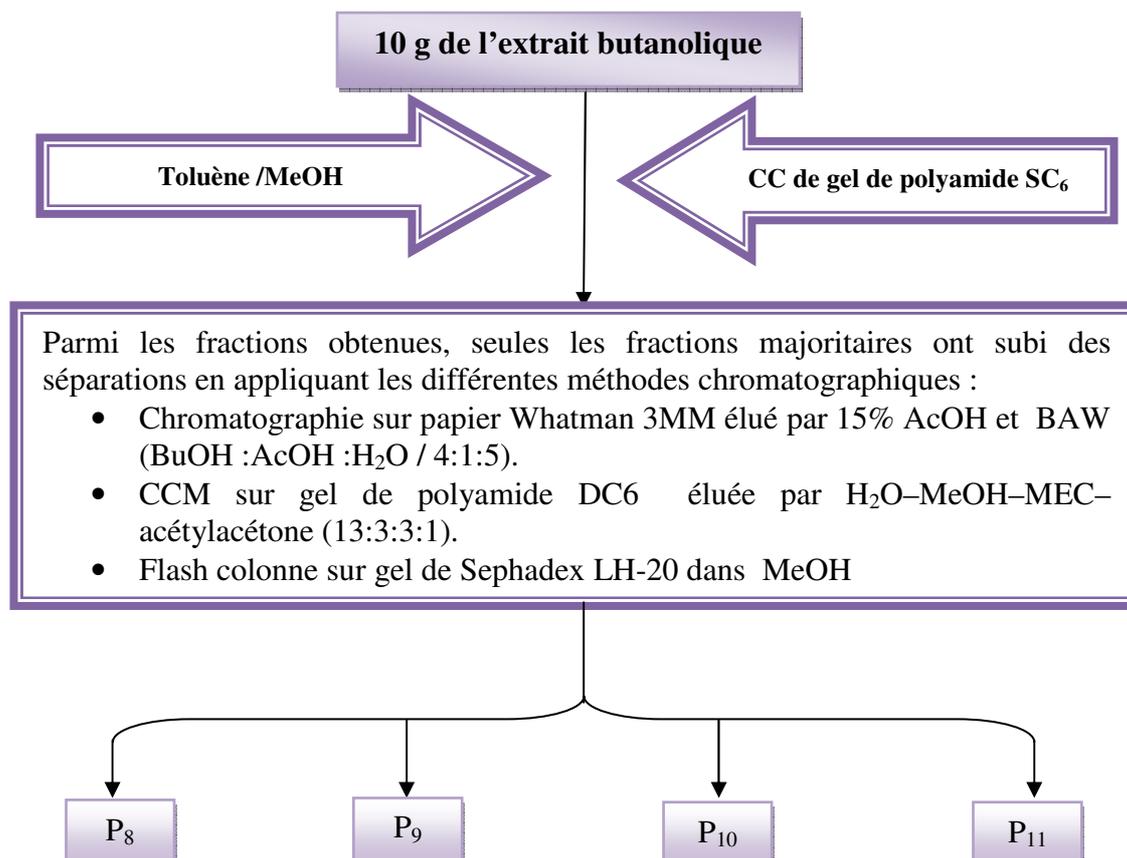


Figure 50: Schéma de séparation de l'extrait butanolique de *Matricaria pubescens* récoltée en 2008

2. *Chrysanthemum deserticum* Batt. & Trab.

2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal étudié a été récolté en Mars 2008 à Ghardaia par Mr. Kamel Kabouche, et identifié par le professeur Gérard De Belair (Université Annaba). Après séchage dans un endroit sec et à l'abri des rayons solaires, les parties aériennes ont été pulvérisées et pesées (1450g).

2.2. Chimie extractive

1450 g des parties aériennes de l'espèce *Chrysanthemum deserticum* sont coupés en petits morceaux et extraits par le soxhlet trois fois dans le chloroforme, les fractions chloroformiques obtenues sont réunies et évaporés à sec sous pression réduite à une température n'excédant pas 35°C pour obtenir 22 g d'extrait chloroformique.

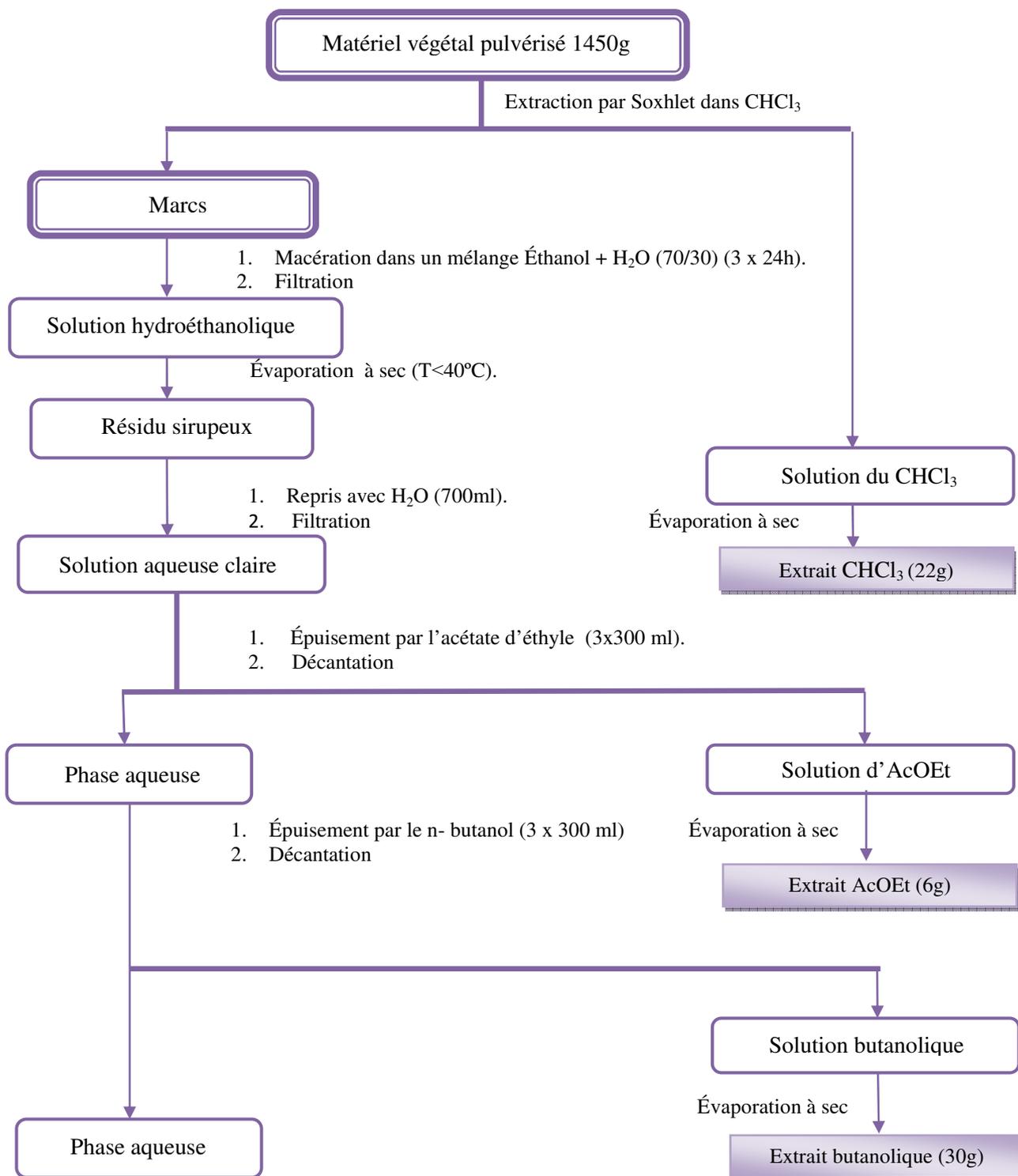
Les marcs ainsi obtenus ont subi une macération dans un mélange hydroalcoolique (EtOH/Eau : 70/30 : V/V) pendant 48h, en répétant cette opération 3 fois. Le macérât obtenu est filtré puis concentré à sec sous pression réduite et à une température modérée (environ 45°C). L'extrait brut obtenu est repris avec de l'eau distillée pour obtenir une solution aqueuse, cette dernière subit une extraction de type liquide-liquide en utilisant l'acétate d'éthyle puis le n-butanol.

Les phases organiques obtenues sont concentrées sous pression réduite à sec et pesées. Les rendements d'extraction sont donnés dans le tableau 15:

Tableau 15 : Rendement des extraits *Chrysanthemum deserticum*.

Matière végétale	Extrait	La masse (g)	Le rendement (%)
1450g	CHCl ₃	22	1.52
	AcOEt	6	0.41
	n-butOH	30	2.07

L'extraction de *C. deserticum* est résumée dans l'organigramme suivant (figure 51)

**Figure 51** : Extraction de *Chrysanthemum deserticum*

Chaque extrait subit une chromatographie sur couche mince afin d'avoir une idée sur l'éluant ou le système d'élution qui donnerait les meilleurs résultats.

Une grande similitude est observée entre le profil CCM de l'extrait acétate d'éthyle et celui de l'extrait n-BuOH.

2.3. Séparation et purification

2.3.a. A partir de la phase chloroformique

Avant d'entamer la séparation chromatographique sur colonne de cet extrait, nous avons procédé à des tests chromatographiques sur couche mince de gel de silice, la meilleure séparation obtenue était avec l'éluant n-hexane/toluène puis toluène/AcOEt.

Une masse de 20g de la phase chloroformique est déposée sur une colonne chromatographique de gel de silice 60 (63-200 μ m) préparée dans le n-hexane, avec un gradient d'élution n-hexane/toluène (1 :0 à 0 :1) puis toluène/AcOEt (1 :0 à 0 :1). Des fractions de 100 ml ont été recueillies et regroupées en fonction de leurs profil en CCM visualisée sous lampe UV (254 et 365nm) puis révélées à l'acide sulfurique en chauffant les plaques à plus de 100°C pendant quelques minutes, pour obtenir 29 fractions (tableau 16).

Tableau 16 : Fractionnement de la fraction chloroformique sur colonne de gel de silice normale

Système d'éluion		Les lots	Les fractions	La masse (mg)
n-hexane %	Toluène %			
100	0	1→9	F ₁	1000
80	20	10→39	F ₂	900
60	40	40→44	F ₃	90
60	40	45→68	F ₄	150
40	60	69→83	F ₅	500
40	60	84→96	F ₆	55
40	60	97→109	F ₇	110
20	80	110→128		
20	80	129→143	F ₈	30
20	80	144→158	F ₉	80
0	100	159→169		
0	100	170→189	F ₁₀	130
0	100	190→247	F ₁₁	450
0	100	248→285	F ₁₂	90
Toluène %	AcOEt %			
100	0	286→304	F ₁₃	55
98	2	305→320		
98	2	321→333	F ₁₄	1000
98	2	334→342	F ₁₅	420
98	2	343→348	F ₁₆	180
98	2	349→361	F ₁₇	270
98	2	362→374	F ₁₈	220
98	2	375→395	F ₁₉	300
95	5	396→417	F ₂₀	470
95	5	418→442	F ₂₁	450
95	5	443→469	F ₂₂	640
90	10	470→484		
90	10	485→498	F ₂₃	350
80	20	499→505		
80	20	506→519	F ₂₄	300
80	20	520→537	F ₂₅	500
80	20	538→554	F ₂₆	350
70	30	555→575	F ₂₇	1000
50	50	576→608	F ₂₈	600
100%	MeOH	609→650	F ₂₉	8400

Il faut noter que la partie précédente a été réalisée dans le laboratoire d'obtention de substances thérapeutiques- université Constantine 1.

Le sous-fractionnement de ces fractions a été réalisé dans le laboratoire de pharmacognosie-groupe isolement et structure, université de Reims (France).

Parmi les 29 fractions obtenues, seules les fractions F₅, F₇, F₁₁, F₁₅ et F₂₀ ont été traitées (figure 52).

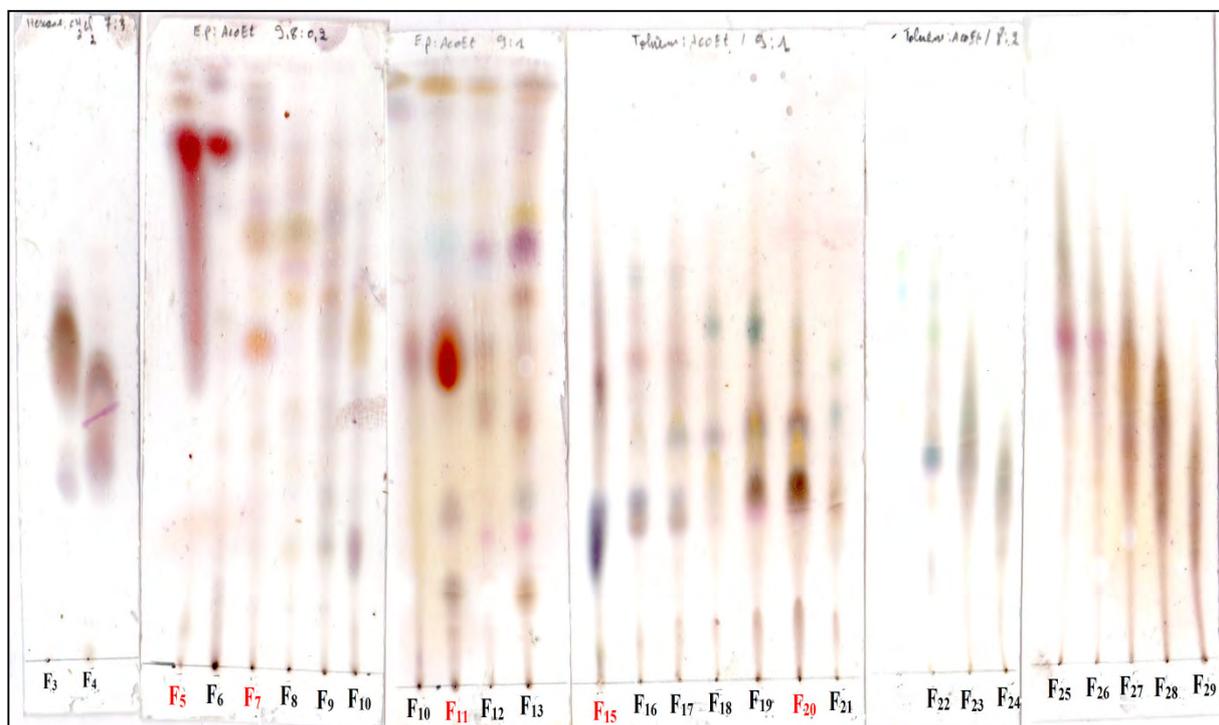


Figure 52 : Profils CCM sur gel de silice normale de la phase chloroformique

Les fractions F₅, F₁₁, F₁₅ et F₂₀ ont été chromatographiées sur des colonnes de gel de silice en phase normale dont la granulométrie du gel est de 40-60µm, alors que la fraction F₇ a été chromatographiée sur une colonne de gel de silice greffée (40-63µm). La taille et le diamètre des colonnes utilisées ainsi que la longueur de la phase stationnaire sont choisies en fonction de la quantité de chaque fraction à traiter. Le suivi de ces colonnes est effectué sur des plaques CCM visualisées sous UV (254 et 365nm) puis révélées par l'acide sulfurique dilué à 50% dans l'eau.

Des plaques préparatives en verre recouvertes de silice Kiesegel 60 F₂₅₄ Merck, 250µm (20 x 20) ont été utilisées pour le traitement des sous fractions obtenues.

➤ Étude de la fraction F₅

La fraction F₅ (200 mg) a été chromatographiée sur une colonne de gel de silice en phase normale avec un gradient de système n-hexane/CH₂Cl₂ (1 : 0 à 8 : 2). Des fractions de 8ml ont été recueillies et regroupées selon leur profil en CCM pour donner 9 sous fractions (tableau 17).

Tableau 17 : Sous-fractionnement de la fraction F₅ sur colonne de gel de silice normale

Système		D'élution	Les lots	Les fractions	La masse (mg)
n-hexane %	CH ₂ Cl ₂ %				
100	0		1→6	f ₁	-
90	10		7→8	f ₂	1,2
			9→11	f ₃	15,7
			12→15	f ₄	28,2
			16→22	f ₅	38
			23→31	f ₆	11,3
80	20		32→35	f ₇	21,8
			36→37	f ₈	4
0	100		38→40	f ₉	76

Les sous fractions f₃ et f₇ contiennent les composés C₁ (15,7mg) et C₅ (21,8mg).

➤ Étude de la fraction F₇

200 mg de cette fraction ont été mises sur une colonne de gel de silice greffée C₁₈ en utilisant le gradient de système de H₂O/MeOH (3 :7 à 1 :9). Des fractions de 8ml ont été recueillies et regroupées selon leur profil en CCM en phase normale et phase inverse pour obtenir 14 sous fractions (tableau 18).

Tableau 18 : Sous-fractionnement de la fraction F₇ sur colonne de silice greffée C₁₈

Système		d'élution	Les lots	Les fractions	La masse (mg)
MeOH %	H ₂ O %				
70	30		1→3	f ₁	13,8
			3→15	f ₂	22,5
75	25		16→18	f ₃	1
			18→19	f ₄	2
			21→24	f ₅	7,1
			25→27	f ₆	23
			28→37	f ₇	11,7
80	20		38→45	f ₈	18,3
90	10		46→48	f ₉	13,1
			49→52	f ₁₀	22,7
			53→55	f ₁₁	10,2
			56→60	f ₁₂	15,1
			61	f ₁₃	5,3
			62→64	f ₁₄	26,3

Deux composés ont été obtenus C₂ (5,3mg) et C₃ (2mg) et respectivement à partir des sous fractions f₄ et f₁₃.

➤ Étude de la fraction F₁₁

300 mg de la fraction F₁₁ ont été déposés sur une colonne de gel de silice en phase normale avec un gradient de système n-hexane/AcOEt (1:0 à 9:1). Des fractions de 8 ml ont été recueillies et réunies selon leur profil en CCM pour donner 14 sous fractions (tableau 19).

Tableau 19 : Sous-fractionnement de la fraction F₁₁ sur colonne de gel de silice normale

Système d'élution		Les lots	Les fractions	La masse (mg)
n-hexane %	AcOEt %			
100	0	1→8	f ₁	5,3
98	2	9→13	f ₂	25,1
		14→36	f ₃	14,5
97	3	37→57	f ₄	18,1
		58→60	f ₅	24,3
		61	f ₆	14,5
96	4	62→68	f ₇	34,7
94	6	69→71	f ₈	26,1
		72→85	f ₉	21,2
		86→110	f ₁₀	15,7
		111→116	f ₁₁	3,2
92	8	117→121	f ₁₂	9,6
		122→157	f ₁₃	26,4
90	10	158→201	f ₁₄	56,2

✓ La sous fraction f₄ a été purifiée sur des plaques préparatives de gel silice en phase normale dans le système n-hexane/AcOEt (95 :5) pour fournir le composé C₁₁ (3mg) à l'état pur.

✓ La sous fraction f₆ contient le composé pur C₄ (14,5mg).

✓ La sous fraction f₉ a été chromatographiée sur des plaques préparatives de gel de silice en phase normale dans le système n-hexane/AcOEt (9 :1) pour obtenir le composé pur C₆ (3,6mg).

✓ La sous fraction f₁₁ contient le composé C₉ (3,2mg) à l'état pur.

✓ La sous fraction f₁₃ a subi une purification sur des plaques préparatives de gel de silice en phase normale éluées avec le système n-hexane/AcOEt (9 :1) pour obtenir le composé C₁₂ (4,5mg) à l'état pur.

➤ Étude de la fraction F₁₅

350 mg de cette fraction ont été mis dans une colonne de gel de silice en phase normale préparée dans le n-hexane, avec un gradient de polarité croissante du système n-

hexane/AcOEt. 13 sous fractions ont été recueillies et regroupées selon leur profil en CCM (tableau 20).

Tableau 20 : Sous-fractionnement de la fraction F₁₅ sur colonne de gel de silice normale.

Système d'élution		Les lots	Les fractions	La masse (mg)
n-hexane %	AcoEt %			
100	0	1→12	f ₁	4
99	1	13→23		
98	2	24→59	f ₂	89
97	3	60→66	f ₃	20,6
		67→86	f ₄	33
96	4	87→111	f ₅	67
94	6	112→143	f ₆	18,3
92	8	144→174	f ₇	6,6
90	10	175→196	f ₈	10,4
88	12	197→211	f ₉	15
85	15	212→233	f ₁₀	22,2
80	20	234→247		
75	25	248→260		
70	30	261→278	f ₁₁	6,2
		279→281	f ₁₂	16,6
50	50	282→285	f ₁₃	38,7

- ✓ La sous fraction f₂ contient un acide gras propre qui n'est pas encore analysé C₁₃.
- ✓ La sous fraction f₅ a été traitée sur des plaques préparatives de gel de silice en phase normale élué dans le mélange n-hexane/AcOEt (9 :1) pour donner le composé C₁₄ (8mg) (mélange de deux stérols).
- ✓ La sous fraction f₇ a été chromatographiée sur des plaques préparatives de gel de silice en utilisant comme éluant n-hexane/AcOEt (8,5 :1,5) pour obtenir le composé C₁₅ (2,8mg).
- ✓ La sous fraction f₁₂ a été aussi purifiée sur des plaques préparatives de gel de silice en phase normale, élué avec le système n-hexane/AcOEt (7 :3) pour donner le composé pur C₈ (3,6mg).

➤ Étude de la fraction F₂₀

400 mg de cette fraction ont été soumis à une chromatographie sur colonne de gel de silice (63-200µm) éluée avec un gradient de système Toluène/AcOEt (1:0 à 8:2). Des fractions de 10 ml ont été recueillies et réunies selon leur profil en CCM en phase normale. Les résultats relatifs à cette séparation sont rassemblés dans le tableau 21.

Tableau 21 : Sous-fractionnement de la fraction F₂₀ sur colonne de gel de silice normale

Système d'élution		Les lots	Les fractions	La masse (mg)
Toluène %	AcOEt %			
100	0	1→9	f ₁	46,3
		10→47	f ₂	35,2
98	2	48→54	f ₃	14
		55→59	f ₄	13,2
		60→67	f ₅	14,3
		68→72	f ₆	60,8
		73→75	f ₇	20,1
95	5	76→84	f ₈	106,7
90	10	85→91	f ₉	80,2
80	20	92→96		

✓ La sous fraction f₁ a été traitée sur des plaques préparatives de gel de silice en phase normale éluee avec le système n-hexane/AcOEt (8,5:1,5) conduisant au produit C₁₆ (4,2mg).

✓ La sous fraction f₆ a subi une chromatographie sur des plaques préparatives de gel de silice en phase normale éluee avec le système toluène/AcOEt (8:2), conduisant à l'obtention de 5 composés: C₇ (3,5mg), C₁₀ (2,3mg), C₁₇ (6,5mg), C₁₈ (2,1mg) et C₁₉ (3,1mg).

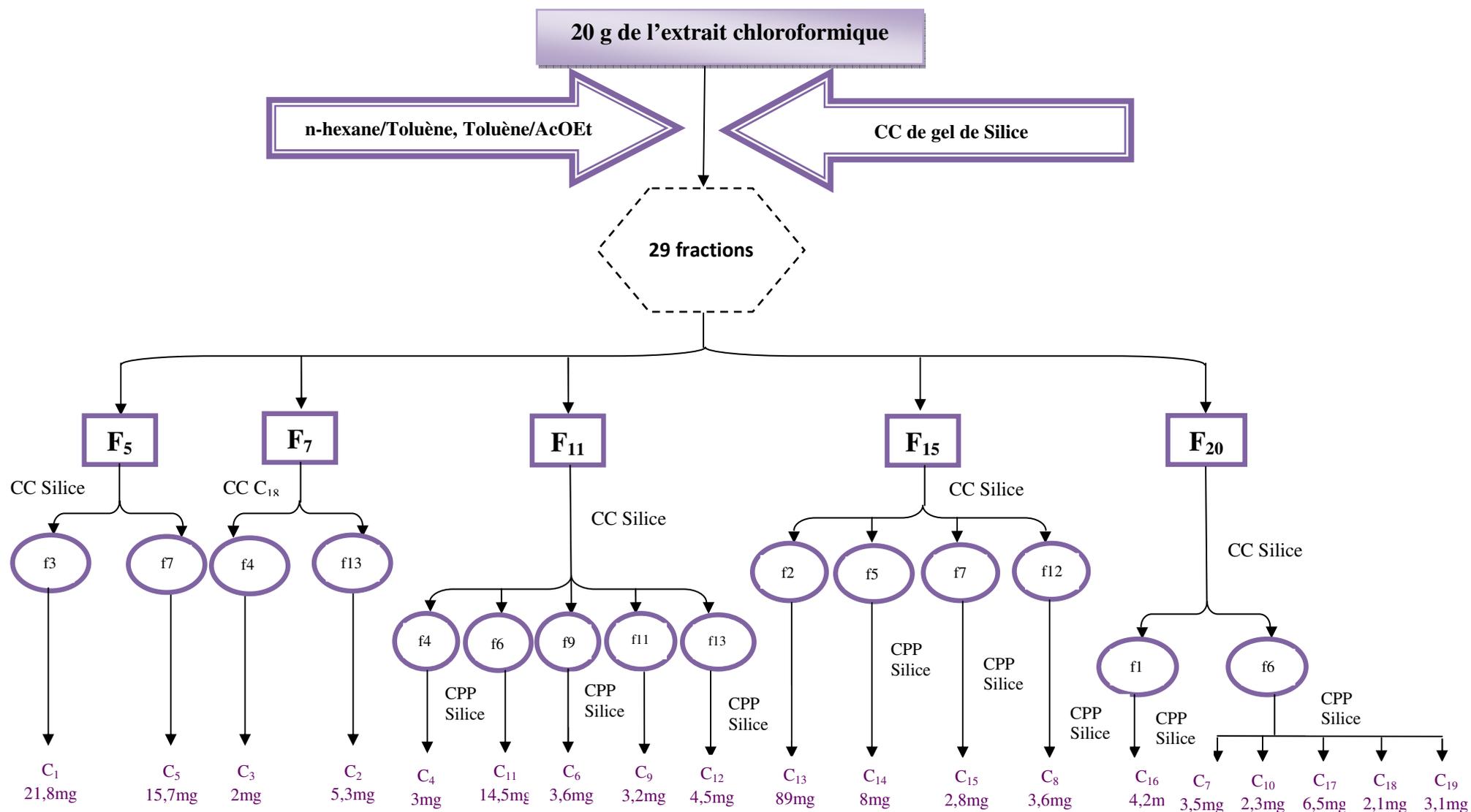


Figure 53: Schéma de séparation de l'extrait chloroformique de *Chrysanthemum deserticum*.

2.3.b. A partir de la phase butanolique

Une masse de 5g de l'extrait butanolique des parties aériennes de l'espèce *Chrysanthemum deserticum* est soumise à un fractionnement par une chromatographie liquide sous vide (VLC) en phase inverse C₁₈ avec l'éluant H₂O/MeOH (80:20, 60:40, 20:80, 0:100). Des fractions de 250 ml (x3) sont réunies en fonction de leur profil en CCM en phase normale en utilisant le système CHCl₃/MeOH : H₂O (7 :3 :0,5) et en phase inverse C₁₈ dans le mélange H₂O/MeOH, examinées à la lumière UV et révélées à l'acide sulfurique à 50% puis chauffées à 100 °C. Cette étape s'est soldée par l'obtention de 9 fractions (tableau 22).

Tableau 22 : VLC sur C₁₈ de l'extrait butanolique des parties aériennes de l'espèce *C. deserticum*

Système d'éluant		Les lots	Les fractions	La masse (mg)
H ₂ O %	MeOH %			
80	20	1	F ₁	2080
		2	F ₂	450
		3		
60	40	1	F ₃	650
		2	F ₄	
		3	F ₅	
40	60	1	F ₅	440
		2	F ₆	390
		3	F ₇	96
20	80	1	F ₈	146
		2		
		3		
0	100	1	f ₉	30
		2		
		3		

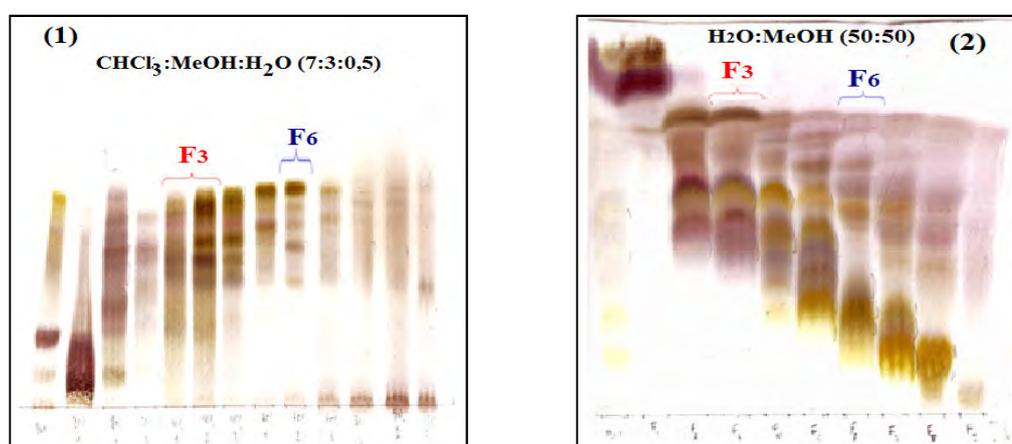


Figure 54: Profils CCM sur gel de silice normale (1) et sur silice greffée C18 (2) de l'extrait n-BuOH

Parmi les fractions obtenues seules les fractions F₃ et F₆ ont subi des séparations en utilisant le système de flash chromatographie qui permet de réaliser des séparations et purifications de façon automatisée, ce qui apporte à l'utilisateur un gain de temps, une économie de solvant et une meilleure reproductibilité.



Figure 55: Flash chromatographie

➤ Étude de la fraction F₃

Une cartouche de 12 g de gel de silice en phase normale a été utilisée pour le sous-fractionnement de 600 mg de la fraction F₃ par flash chromatographie en utilisant comme système de séparation CHCl₃:MeOH:H₂O (70:30:5). Des fractions de 25 ml par minute ont été récoltées et regroupées selon leur profil en CCM en phase normale et en phase inverse C₁₈, fournissant 13 sous fractions (tableau 23) (figure 56).

Tableau 23: Flash chromatographie de la fraction F₃ sur colonne de gel de silice normale.

Système d'élution	Les lots	Les fractions	La masse (mg)
CHCl ₃ :MeOH :H ₂ O (70 :30 :5)	1→21	f ₁	15,2
	22	f ₂	4
	23→28	f ₃	5
	29→32	f ₄	22,7
	33	f ₅	16
	34	f ₆	18,2
	35→36	f ₇	40
	37→40	f ₈	55,5
	41→45	f ₉	8,6
	46→49	f ₁₀	122,4
	50→54	f ₁₁	133,2
	55→58	f ₁₂	106
	59→63	f ₁₃	34

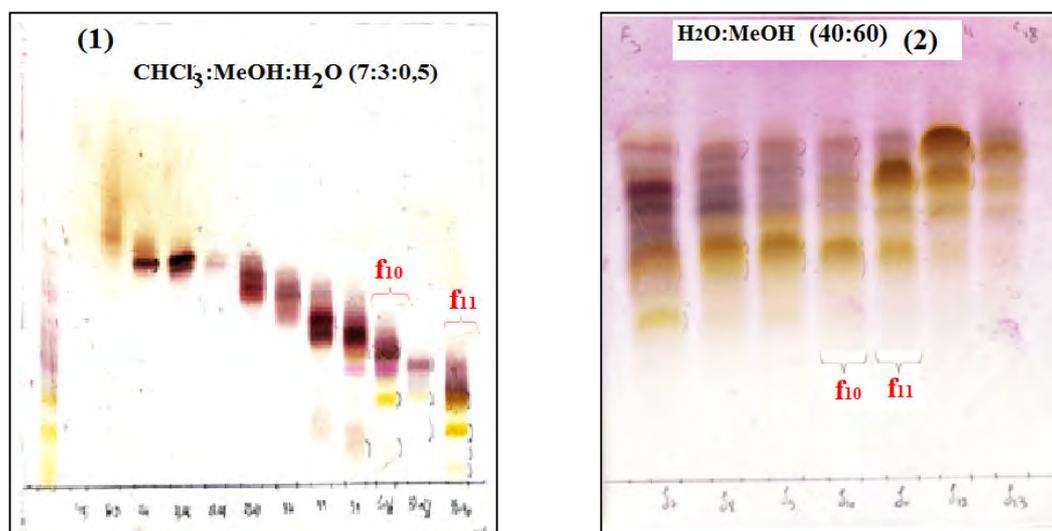


Figure 56: Profils CCM sur gel de silice normale (1) et sur silice greffée C₁₈ (2) de la fraction **F₃**.

✓ La sous fraction f₁₀ (122mg) a été chromatographiée sur une colonne de gel de silice greffée avec un gradient d'élution H₂O:MeOH (80:20 à 60:40). Des petites fractions de 5ml ont été recueillies puis rassemblées sur la base des données analytiques des CCM en silice normale et greffée pour donner 11 sous fractions présentées dans le tableau 24 et la figure 57.

Tableau 24: Sous-fractionnement de la sous fraction F₁₀ sur colonne de gel de silice greffée C₁₈.

Système d'élution		Les lots	Les fractions	La masse (mg)
H ₂ O %	MeOH %			
80	20	1→14	f ₁	14,5
		15→24	f ₂	9
75	25	25→26	f ₃	4
		27→28		
70	30	29→31	f ₄	7
		32→36	f ₅	33
		37→40	f ₆	3,8
		41→42	f ₇	3,7
		43→52	f ₈	16,6
		53→54	f ₉	4,3
		55→57	f ₁₀	4,1
60	40	58→75	f ₁₁	28,7

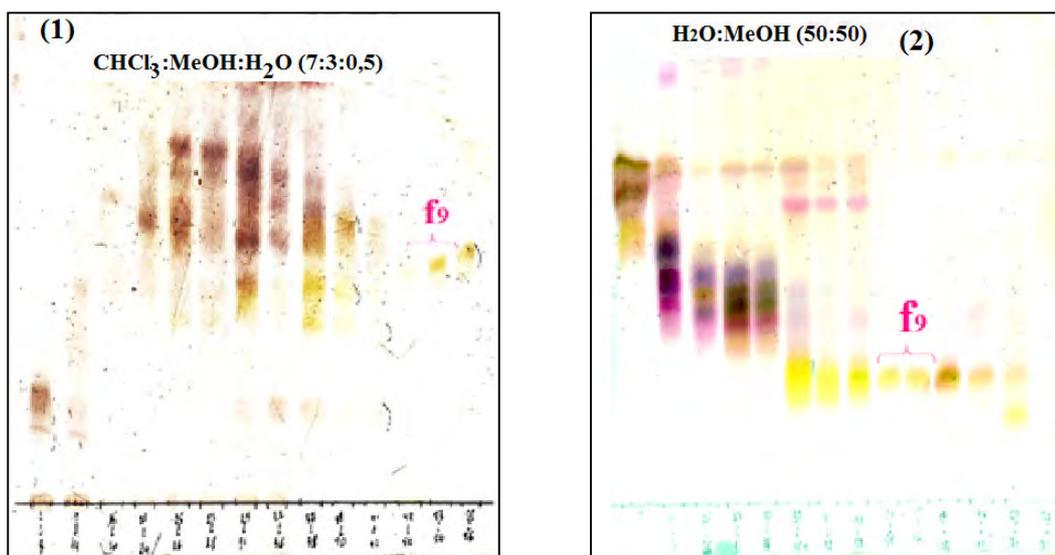


Figure 57: Profils CCM sur gel de silice normale (1) et sur silice greffée C₁₈ (2) de la sous fraction f₁₀.

Après cette séparation, on a obtenu le composé C₂₀ (4,3mg) pur dans la fraction f₉ de cette colonne.

✓ 133mg de la sous fraction f₁₁ ont été soumis sur une colonne de gel de silice en phase inverse C₁₈ éluée avec le système H₂O:MeOH (95:5 à 75:25). Des fractions de 25 ml ont été récoltées et regroupées en fonction de leur profil CCM en phase normale et en phase inverse pour donner 10 sous fractions présentées dans le tableau 25.

Tableau 25: Sous-fractionnement de la sous fraction F₁₁ sur colonne de gel de silice greffée C₁₈.

Système d'éluion		Les lots	Les fractions	La masse (mg)
H ₂ O %	MeOH %			
95	5	1→2	f ₁	3
		3→5	f ₂	2,8
		6→13	f ₃	2,7
90	10	14→22	f ₄	6,7
		23→28	f ₅	7,4
85	15	29→39		
80	20	40→48		
		49→51	f ₆	1,9
		52→53	f ₇	3
		54→71	f ₈	34,7
		72→79	f ₉	9,8
75	25	80→103	f ₁₀	47,5

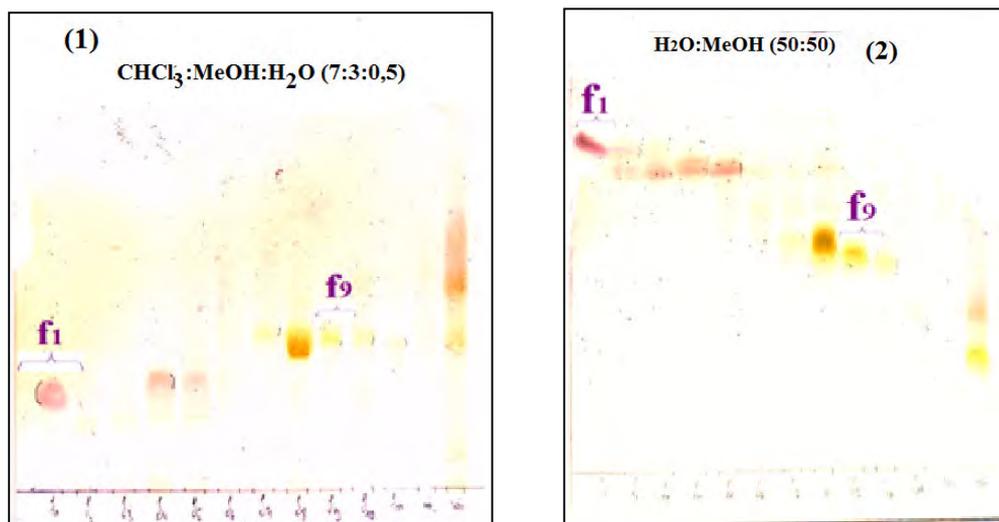


Figure 58: Profils CCM sur gel de silice normale (1) et sur silice greffée C₁₈ (2) de la sous fraction f₁₁.

Les sous fractions f₁ et f₉ contiennent successivement les composés C₂₁ (3mg) et C₂₂ (9,8mg) à l'état pur.

➤ Étude de la fraction F₆

Une cartouche de 12 g de gel de silice greffée C₁₈ a été choisie pour le fractionnement de 380 mg de la fraction F₆ par flash chromatographie éluée avec le système MeOH:H₂O (80:20 à 20:80). Des fractions de 25 ml par minute ont été récoltées et regroupées selon leur profil en CCM en phase normale et en phase inverse C₁₈, conduisant à 8 sous fractions (tableau 26) (figure 59).

Tableau 26: Flash chromatographie de la fraction F₆ sur colonne de gel de silice greffée C₁₈.

Système d'éluion		Les lots	Les fractions	La masse (mg)
H ₂ O %	MeOH %			
80	20	1→13	f ₁	8,2
75	25	14→35	f ₂	22,8
70	30	36→40	f ₃	39,2
		41→44	f ₄	25,7
		45→46	f ₅	36,5
65	35	47→50	f ₆	48,6
		51→54	f ₇	42,4
60	40	55→59		
40	60	60→70	f ₈	118,9

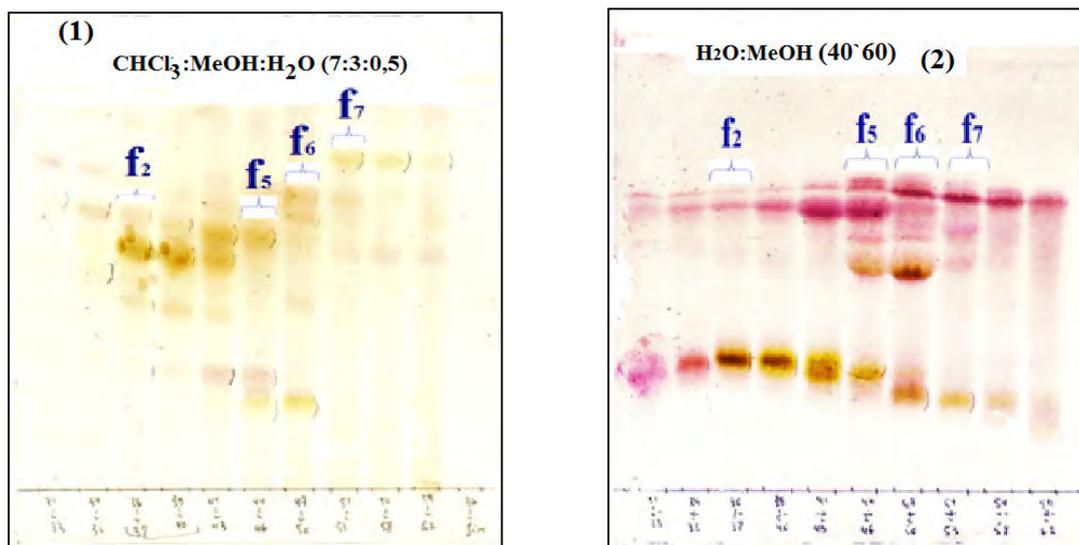


Figure 59: Profils CCM sur gel de silice normale (1) et sur silice greffée C₁₈ (2) de la fraction **F₆**.

Les sous fractions f₂, f₅, f₆, et f₇ ont été purifiées sur des plaques préparatives de gel de silice en phase normale (60 F₂₅₄ Merck, 250 μm (20x20 cm) éluées avec le système CHCl₃:MeOH:H₂O (70:30:5) conduisant à l'obtention des composés C₂₃ (4,2mg), C₂₄ (7,3mg), C₂₅ (12,7mg) et C₂₆ (4mg) successivement à l'état pur.

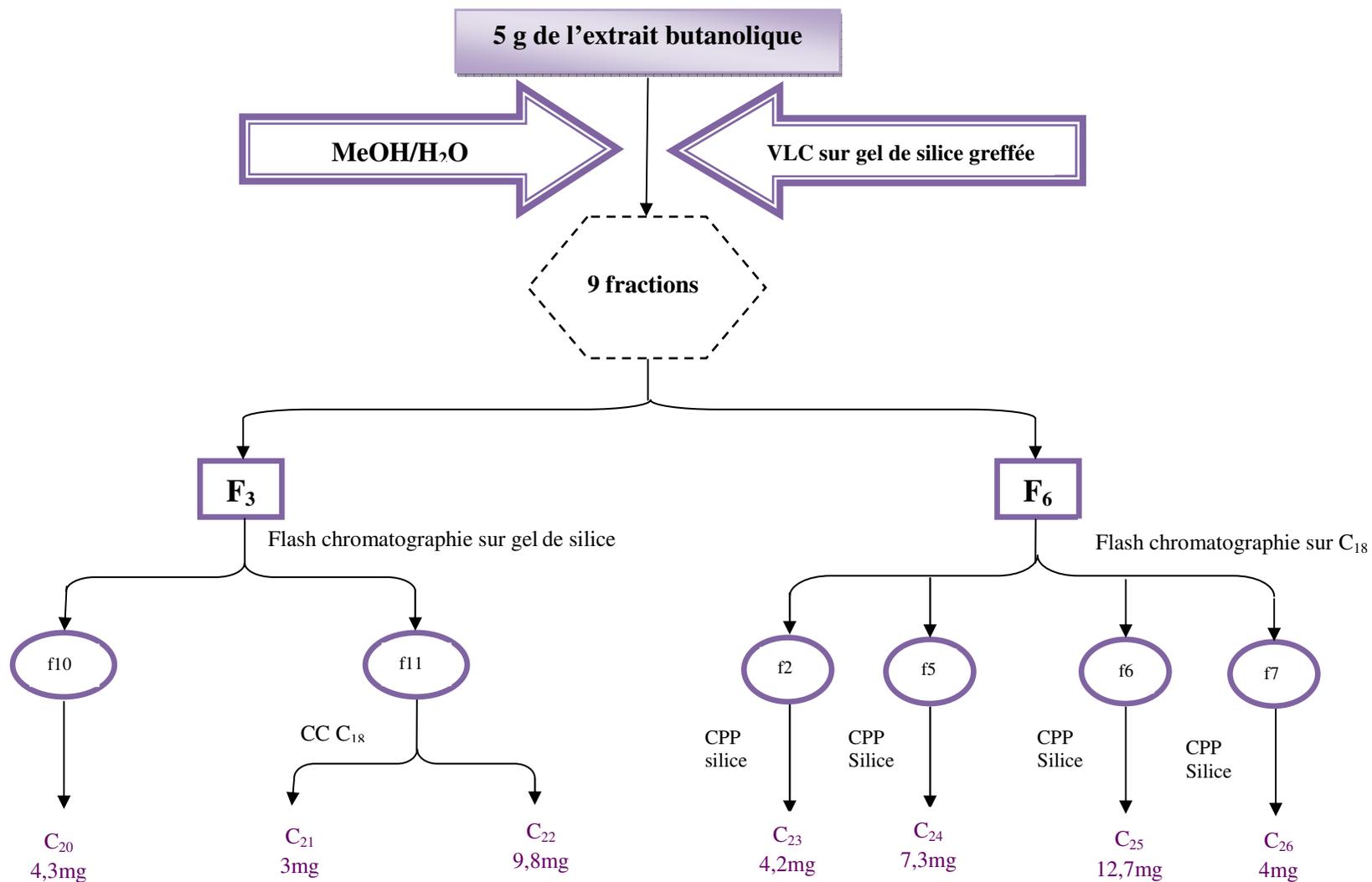


Figure 60 : Schéma de séparation de l'extrait butanolique de *Chrysanthemum deserticum*.

3. Activité antioxydante

3.1. Évaluation du potentiel anti-radicalaire

L'approche appliquée pour l'évaluation de l'activité antioxydante est celle de la détermination de la réduction relative du radical (DPPH[•] ou ABTS^{•+}) à un temps de référence ou la détermination de la quantité d'antioxydant nécessaire pour réduire 50 % de DPPH[•]/ ABTS^{•+}.

L'activité est définie par l'indice de la réduction de l'activité anti-radicalaire en pourcentage %RSA (Radical Scavenger Activity), ou l'absorbance du mélange réactionnel qui contient le radical libre et l'échantillon de l'antioxydant est reliée avec l'absorbance du mélange sans aucun antioxydant (solution témoin ou contrôle) à un temps t :

$$[\%RSA = (Abs_{\text{contrôle}} - Abs_t) / Abs_{\text{contrôle}} \times 100\%].$$

Comme il n'existe pas de mesure absolue de la capacité antioxydante d'un composé, les résultats sont souvent portés par rapport à un antioxydant de référence, comme l'acide ascorbique (vitamine C), α -tocophérol (vitamine E) et les antioxydants synthétiques BHT (butyl-hydroxy-toluène) [295].

L'indice relatif %RSA montre seulement la capacité de l'échantillon, à une concentration fixée, de réduire ou non les radicaux et dans beaucoup de cas, l'augmentation de la concentration de l'antioxydant amène l'augmentation de ces indices relatifs [296].

Pour s'affranchir de l'influence de la concentration, dans la majorité des études, la réactivité est estimée par la concentration effective IC₅₀ (ou l'inverse 1/IC₅₀) de l'antioxydant, qui correspond à une réduction de 50% de l'activité (de l'absorbance) du DPPH[•]/ABTS^{•+} dans le milieu réactionnel. La capacité antioxydante d'un composé est d'autant plus élevée que son IC₅₀ est petit. L'indice IC₅₀ montre les concentrations de l'antioxydant qui sont nécessaires pour faire décroître la concentration initiale du DPPH[•] avec 50% (exprimée en mol Antioxydant/mol DPPH[•]/ABTS^{•+} ou mg Antioxydant/g DPPH[•]/ABTS^{•+}), mais ne prennent pas en considération l'influence de la concentration sur le temps de la réaction [296].

Les IC₅₀ sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés, en pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées.

Durant cette étude, nous avons testé l'activité antioxydante des extraits acétate d'éthyle et butanolique des deux plantes : *Matricaria pubescens* et *Chrysanthemum deserticum* ainsi

que deux flavonoïdes isolés de l'extrait butanolique de *Matricaria pubescens* (P₃ et P₅). Pour cela, nous avons choisi deux méthodes celles du DPPH et de l'ABTS.

3.1.1. Test du 1,1-DiPhényl-2-Picryl-Hydrazyl (DPPH)

3.1.1.a. Principe du test

Le radical libre stable 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle (α,α -diphényl- β -picrylhydrazyle) fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques [297, 298].

La stabilité de ce radical résulte de la délocalisation importante de l'électron célibataire sur la totalité de la molécule empêchant ainsi la dimérisation de se produire comme c'est souvent le cas pour les autres radicaux (figure 61). D'autre part, cette délocalisation est à l'origine de la coloration violette en solution éthanolique ou méthanolique caractérisée par une bande d'absorption dans le visible à 516 nm.

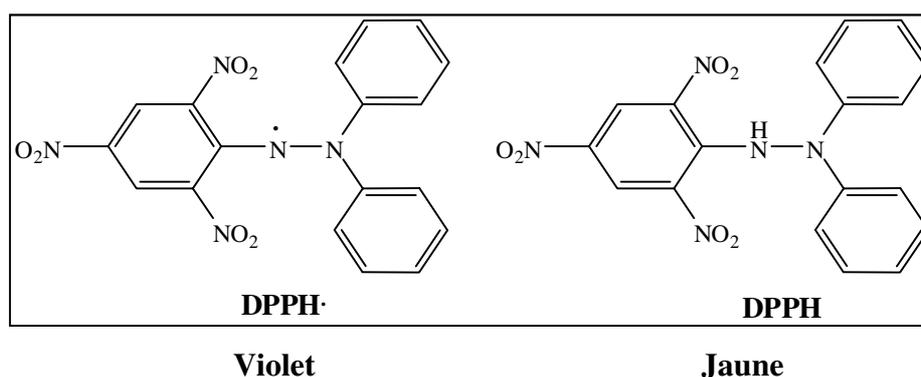
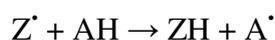


Figure 61: Structure du radical 1,1-DiPhényl-2-Picryl-Hydrazyl et de sa forme réduite.

Le principe du test est le suivant : l'addition du radical DPPH \cdot à une solution éthanolique (ou méthanolique) contenant un composé potentiellement antioxydant et pouvant céder un atome d'hydrogène entraîne une diminution de la coloration violette caractéristique de l'apparition de la forme réduite du DPPH.

Simultanément il se forme un autre radical, lui même pouvant engendrer des réactions secondaires, notamment des dimérisations. Au terme de la réaction, il persiste une légère coloration jaune due au groupement picryle résiduel.

Si nous représentons le radical DPPH \cdot par Z \cdot et la molécule donneuse d'hydrogène par AH, la réaction peut s'écrire de la façon suivante :



Où ZH est la forme réduite et A[•] le radical produit.

Certaines molécules peuvent donner deux atomes d'hydrogènes, c'est le cas de l'acide ascorbique (vitamine C). Deux molécules de DPPH[•] sont donc réduites par une molécule d'acide ascorbique.

3.1.1.b. Mise en œuvre pratique :

➤ Préparation de l'échantillon :

Les concentrations préparées sont utilisées pour les deux méthodes (DPPH et ABTS).

Avant d'entamer le travail, un essai est effectué d'abord pour savoir si l'échantillon répond au test ainsi que les concentrations adéquates de la solution mère de l'échantillon pour avoir de bons résultats.

La concentration des solutions mères de chaque échantillon est exprimée en ppm.

La ppm est définie comme suit :

$$\text{ppm} = \text{partie par million} = 1 \text{ mg/l} = 10^6 \text{ mg}/\mu\text{l}.$$

Le volume nécessaire à ajouter pour préparer une concentration de 4000 ppm à partir d'une masse de l'échantillon $m=1 \text{ mg}$ est calculé comme suit :

$$\text{On a : } 1 \text{ ppm} = 10^6 \text{ mg}/\mu\text{l}, \quad \text{donc : } 4000 \text{ ppm} = 1 \times 10^6 \text{ mg}/V \mu\text{l}$$

$$V = 1 \times 10^6 / 4000 = 2000 \mu\text{l}$$

Le tableau 27 montre la concentration de la solution mère de chaque échantillon ainsi que leur abréviation et le solvant qui le dissous.

Tableau 27 : Abréviation, concentration, solvant à dissoudre pour chaque échantillon.

Plantes	L'extrait	Abréviation	Solvant	Concentration en ppm
<i>M. pubescens</i>	Acétate d'éthyle	MPA	EtOH	500
	n-butanol	MPB	EtOH	500
	P ₃	MPP ₃	DMSO	500
	P ₅	MPP ₅	DMSO	500
<i>C. deserticum</i>	Acétate d'éthyle	CDA	EtOH	500
	n-butanol	CDB	EtOH	500

Expérience effectuée sur 7 concentrations différentes de l'échantillon en ordre décroissant, dilués dans l'EtOH ou le DMSO :

C'est-à-dire à partir de la solution mère (E1) on effectue une dilution au 1/2 (soit E2 au 1/2 puis de E2, on effectue une dilution au 1/2 (soit E3 au 1/4)

puis de E3, on effectue une solution au 1/2 (soit E4 au 1/8)

puis de E4, on dilue au 1/2 (soit E5 au 1/16)

puis de E5 on dilue au 1/2 (soit E6 au 1/32)

puis de E6 on dilue au 1/2 (soit E7 au 1/64)

De la même manière on prépare les différentes concentrations de l'antioxydant standard (α -tocophérol).

➤ **Protocole :**

Cette activité est déterminée selon la méthode de Blois (1958) [297] avec une légère modification [299].

Un volume de 40 μ l de différentes concentrations de chaque échantillon ainsi que l'antioxydant standard α -tocophérol, est déposé en triplicata sur une microplaque à 96 puits, en ajoutant sur chaque puits un volume de 160 μ l d'une solution méthanolique de DPPH (0,4mM). Le contrôle négatif est préparé en parallèle, en mélangeant 40 μ l du méthanol avec 160 μ l d'une solution méthanolique de DPPH, à la même concentration utilisée (figure 62).

Après incubation à température ambiante à l'obscurité pendant 30 min, la microplaque est insérée dans le spectrophotomètre (SpectraMax 340PC³⁸⁴ : lecteur de microplaques à 96 puits/ logiciel PRO v5.2 software) pour mesurer l'absorption à 517nm.

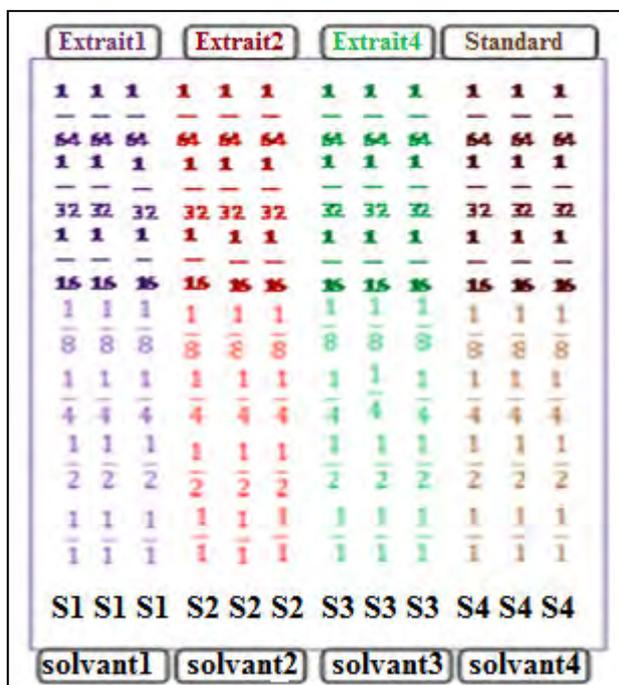


Figure 62: Schéma expliquant la façon de remplir la plaque à 96 puits.

La réduction du DPPH s'accompagne par le passage de la couleur violette à la couleur jaune de la solution. Il y a alors activité antiradicalaire.

3.1.2. Test de radical cation, l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS')

3.1.2.a. Principe du test :

L'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) est également un radical libre et stable. Il est très utilisé pour évaluer le pouvoir antioxydant des fluides biologiques, des mélanges complexes ou bien des composés purs. Ce radical est capable de réagir avec des antioxydants classiques de type phénols et thiols mais aussi avec tout composé donneur d'hydrogène ou d'électron [300, 301]. Ce radical cation est facilement formé par oxydation en présence de persulfate de potassium pour donner une solution colorée en vert-bleu. Le radical formé est stable avec des coefficients d'extinction molaire élevés à 416, 650 et 734 nm. La concentration de ce radical peut être déterminée en mesurant l'absorbance à ces longueurs d'onde. L'addition d'un antioxydant à une solution de ce radical cation entraîne la réduction de ce radical et une diminution de l'absorbance à 734 nm. Cette diminution dépend de l'activité antioxydante des composés testés mais souvent aussi du temps et de la concentration [303].

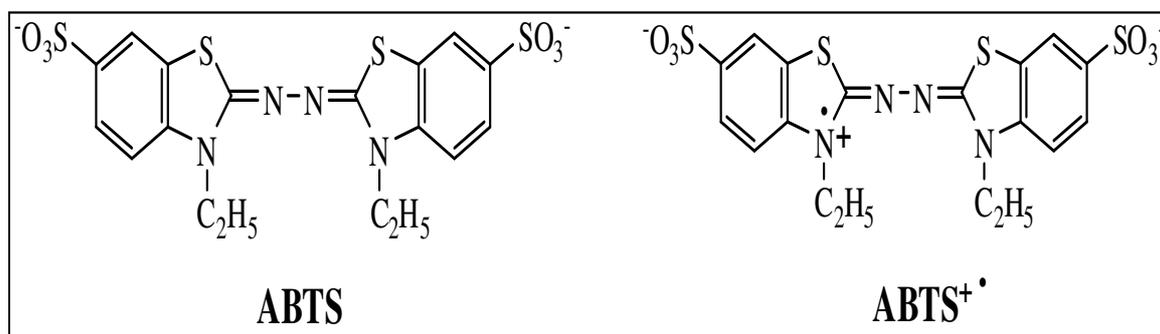


Figure 63: Structure du 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) : forme réduite ABTS, forme radical cation ABTS +•.

3.1.2.b. Mise on œuvre pratique :

Cette activité est déterminée selon la méthode de Re et al. (1999) [302] avec une légère modification [299].

Le radical cation ABTS est généré en mélangeant 7 mM d'une solution aqueuse d'ABTS avec 2,45 mM de persulfate de potassium, le tout est conservé à l'abri de la lumière et à la température ambiante durant 16 h avant utilisation. La solution obtenue est diluée avec l'éthanol pour obtenir une absorbance de $0,7 \pm 0,025$ à 734nm. 160µl de cette solution fraîchement préparée sont ajoutés à 40µl de différentes concentrations de chaque échantillon

ainsi que l'antioxydant standard α -tocophérol déposés déjà en triplicata sur une microplaque à 96 puits. Le contrôle négatif est préparé en parallèle suivant le même protocole en remplaçant l'échantillon par le solvant qui le dissous (figure 62).

Après 10 minutes d'incubation, l'absorbance est mesurée à 734 nm en utilisant le lecteur de microplaque à 96 puits.

CHAPITRE III
RESULTATS ET
DISCUSSION

1. Détermination structurale des composés isolés de *Matricaria pubescens*

1.1. Le composé P₁

La fluorescence noire violette sous lumière de Wood est caractéristique d'une flavone ou d'un flavonol substitué en 3.

Le comportement chromatographique indiqué par les valeurs du R_f :

- R_f = 0.24 (Toluène/MEC/MeOH 4:3:3)
- R_f = 0.11 (H₂O/MeOH/MEC/Acétylacétone 13:3:3:1).

Le spectre UV (figure 64), enregistré dans le Méthanol, donne deux bandes d'absorption, une bande I à 347 nm et l'autre bande II à 254 nm indiquant un squelette de type flavone pour le composé P₁.

Un effet bathochrome, observé après l'ajout de NaOH ($\Delta\lambda = 55$ nm) avec une augmentation d'intensité, indique la présence d'un OH libre en position 4'. L'apparition d'une nouvelle bande dans le même spectre à 329 nm suggère la présence d'un OH libre en position 7.

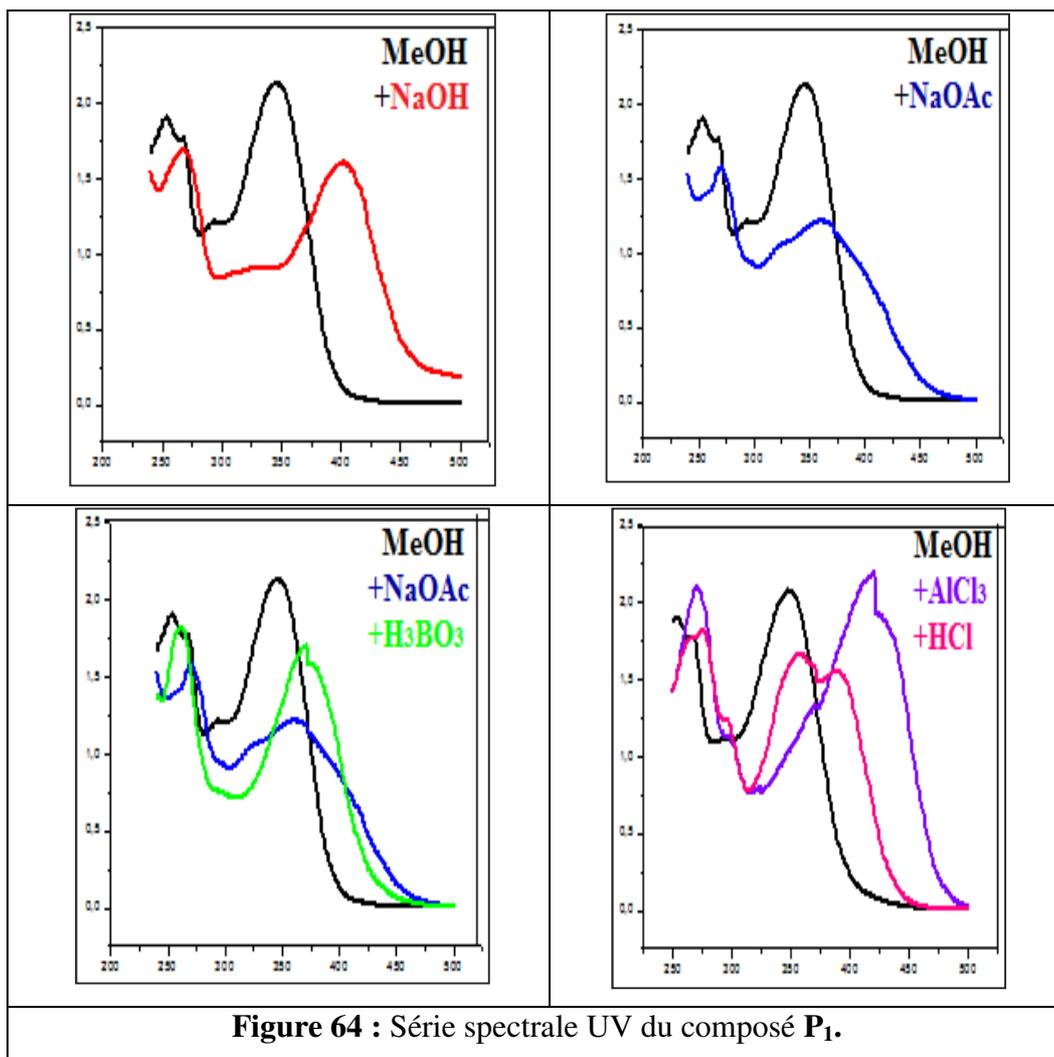
L'addition de NaOAc à la solution méthanolique induit un effet bathochrome de la bande II de 16 nm confirmant ainsi la présence d'un OH libre en position 7.

L'addition de H₃BO₃ à la solution MeOH+NaOAc provoque un effet bathochromique de la bande I ($\Delta\lambda = 23$ nm), indiquant la présence d'un système 3',4'-ortho di-OH sur le cycle B, cela est confirmé par le déplacement hypsochrome de la bande I ($\Delta\lambda = -33$ nm) induit après l'ajout de HCl à la solution MeOH+AlCl₃.

L'effet bathochrome de la bande I ($\Delta\lambda = 73$ nm) observé sur le spectre enregistré dans MeOH+AlCl₃ par rapport au spectre enregistré dans MeOH indique la présence d'un groupement OH libre en position 5 (tableau 28).

Tableau 28 : Données spectrales UV du composé P₁.

Solvants- réactifs	λ_{\max} Bande I (nm)	λ_{\max} Bande II (nm)	Autres bandes
MeOH	347	254	
+NaOH	402	267	329
+NaOAc	362	270	
+NaOAc+H ₃ BO ₃	370	262	
+ AlCl ₃	420	271	
+ AlCl ₃ +HCl	387	274	
Le spectre est stable Après 5min			



Ces données spectrales UV sont en accord avec celles rapportées dans la littérature pour la lutéoline (figure 65) [303].

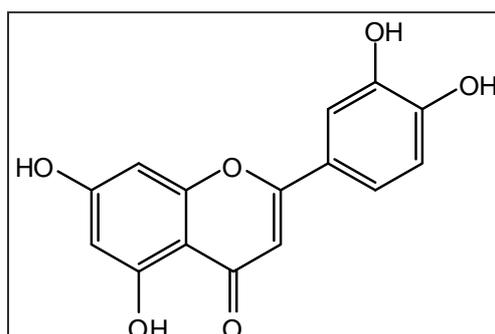


Figure 65 : Structure de la lutéoline.

Le spectre de masse haute résolution HR-ESI-MS du composé P1 (figure 66) permet d'observer le pic moléculaire $[M]^+$ à $m/z = 286,041$, correspondant à une formule brute en $C_{15}H_{10}O_6$.

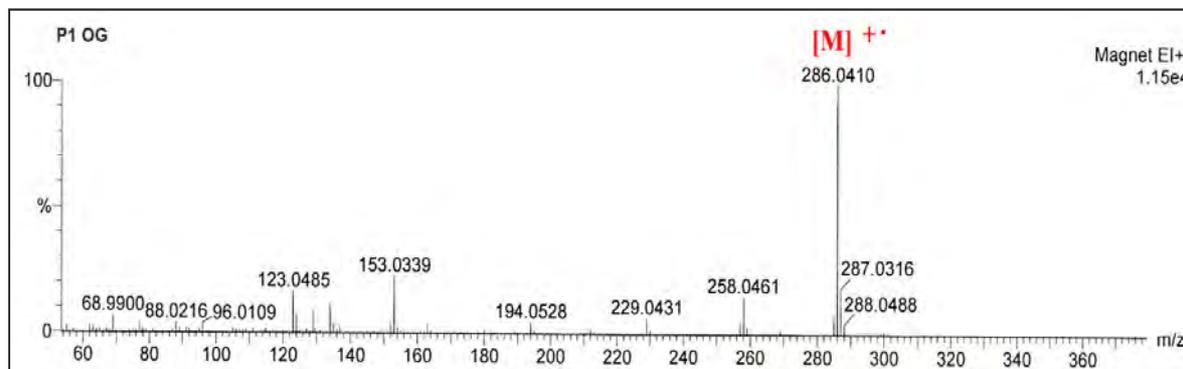


Figure 66 : Spectre de masse HR-SMIE du composé **P₁**.

L'examen du spectre RMN 1H enregistré dans MeOH (figure 67) confirme le squelette de la lutéoline [304,305] caractérisé par :

- Un singulet d'intégration 1H à $\delta_H = 6,57$ ppm attribuable à H-3.
- Deux doublets d'intégration 1H chacun à $\delta_H = 6,23$ ppm et $\delta_H = 6,47$ ppm avec une constante de couplage ($J = 2,0$ Hz) attribuable à H-6 et H-8 respectivement, confirmant ainsi l'hydroxylation des positions 5 et 7 du noyau A.
- Un signal à $\delta_H = 7,42$ ppm d'intégration 2H attribuable à H-2' et H-6', ce signal correspond en fait à deux signaux superposés l'un deux sous forme d'un doublet dédoublé ($J=7,1$ Hz, $J=2,0$ Hz) caractérisant H-6' et l'autre sous forme d'un doublet ($J = 2,0$ Hz) caractérisant H-2', ce signal confirme l'hydroxylation des positions 3' et 4' du cycle B. par ailleurs, le signal sous forme de doublet qui apparait à $\delta_H = 6,94$ ppm ($J = 8,9$ Hz) est attribuable à H-5'.

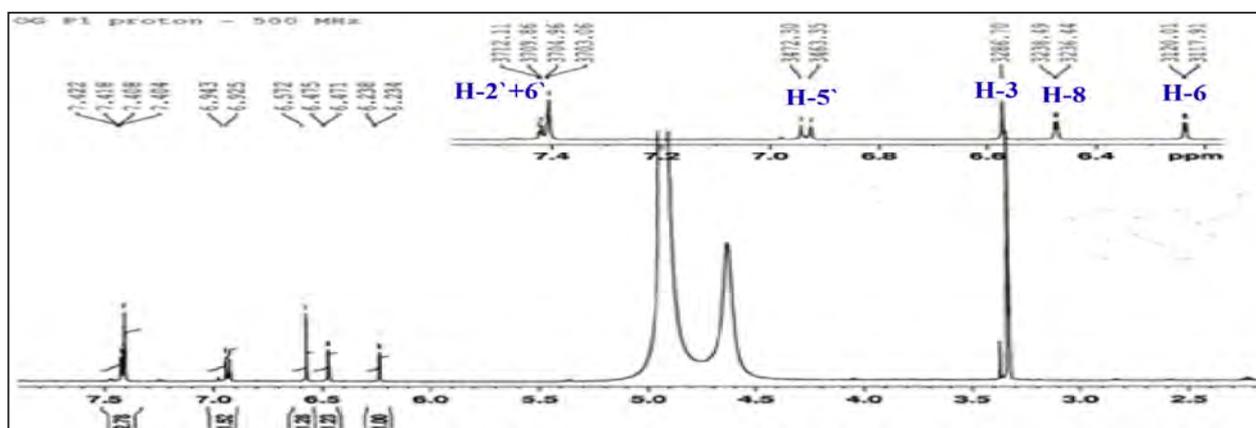


Figure 67 : Spectre RMN 1H du composé **P₁** (CD_3OD , 500 MHz).

La figure 68 représente le spectre RMN ^{13}C du composé P_1 :

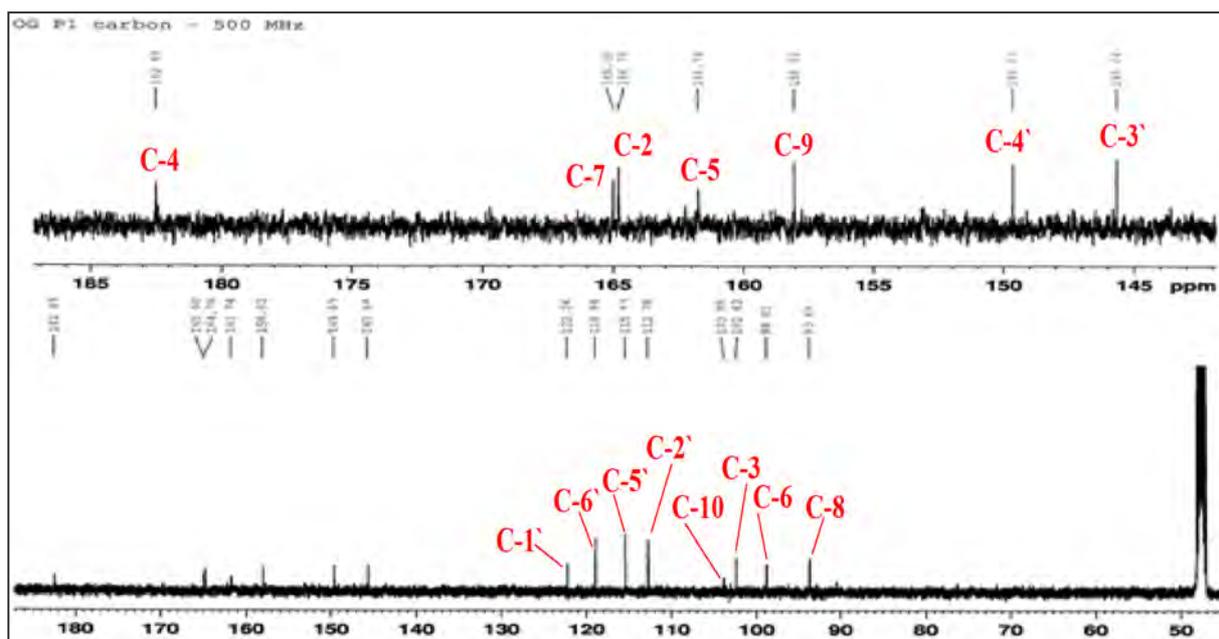


Figure 68: Spectre RMN ^{13}C du composé P_1 (CD_3OD , 125 MHz).

Le spectre COSY du composé P_1 montre les corrélations entre H-6 et H-8, ainsi que celles entre H-6' et -H-2', H-5' (figure 69).

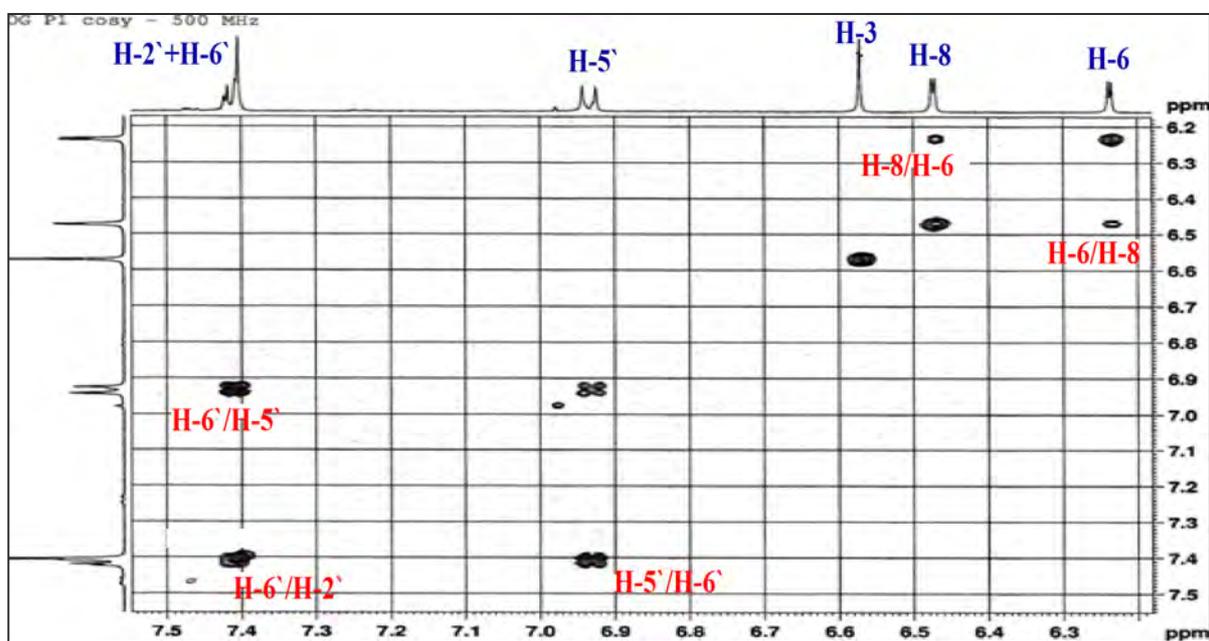


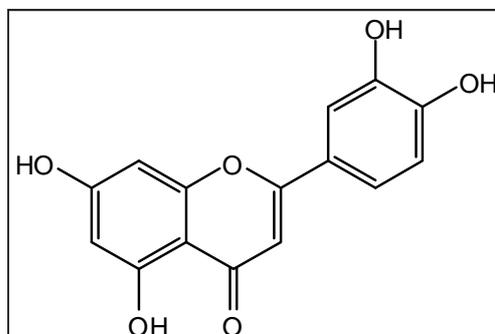
Figure 69: Spectre COSY du composé P_1 .

Les déplacements chimiques des signaux observés en RMN du ^1H et du ^{13}C sont présentés dans le tableau 29.

Tableau 29: Déplacements chimiques en RMN ^1H (500 MHz) et RMN ^{13}C (125 MHz) du composé **P₁** dans CD₃OD.

N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)	N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)
2	164,8	/	10	103,9	/
3	102,4	6,57, s	1`	122,3	/
4	182,5	/	2`	112,8	7,42, d (2,0)
5	161,7	/	3`	145,6	/
6	98,8	6,23, d (2,0)	4`	149,6	/
7	165,0	/	5`	115,4	6,94, d (8,9)
8	93,7	6,47, d (2,0)	6`	118,9	7,42, dd (7,1; 2,0)
9	158,0	/			

Ces données confirment la structure précédente menant ainsi à la lutéoline. Ce composé est très connu, il a été isolé de l'espèce *Hieracium pilosella* [306].

5, 7, 3', 4'-tétrahydroxyflavone (lutéoline) (**P₁**)

1.2. Le composé P₂

Le comportement chromatographique du composé P₂ indiqué par les valeurs du R_f :

- R_f= 0.28 (Toluène/MEC/MeOH 4:3:3)
- R_f= 0.44 (H₂O/MeOH/MEC/Acétylacétone 13:3:3:1).

La coloration violette noire sous la lampe UV du composé P₂ qui est sous forme de poudre jaune indique un squelette d'une flavone ou flavonol 3-OR, ce dernier est confirmé par le spectre UV (figure 70) enregistré dans MeOH qui montre deux bandes d'absorption, l'une à 352 nm et l'autre à 254 nm.

L'addition de NaOH induit un effet bathochrome ($\Delta\lambda = + 56$ nm) avec l'augmentation de son intensité lumineuse indiquant la présence d'un OH libre en position 4', l'apparition d'une nouvelle bande à 331 nm dans le même spectre indique la présence d'un OH libre en position 7.

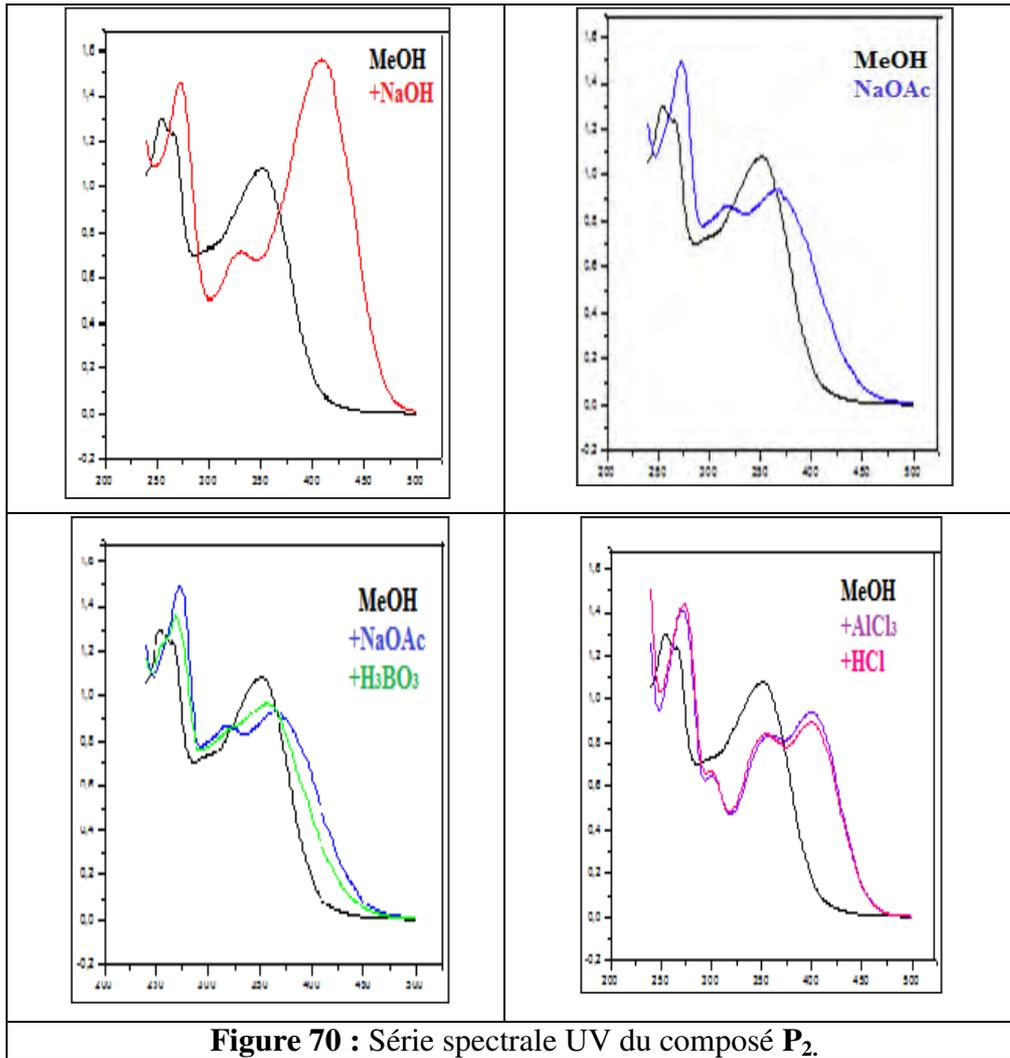
L'addition de NaOAc provoque un déplacement bathochromique de la bande II de 19 nm par rapport au spectre enregistré dans MeOH confirmant ainsi la présence d'un OH libre en position 7.

L'effet bathochrome de la bande I ($\Delta\lambda = + 48$ nm) observé après addition de HCl à la solution méthanolique contenant AlCl_3 par rapport à la solution métanolique, indique la présence d'un groupement OH libre en position 5.

L'absence du déplacement hypsochrome de la bande I en comparant le spectre enregistré dans AlCl_3+HCl par rapport au spectre enregistré dans AlCl_3 laisse prévoir l'absence de système ortho di-OH sur le cycle B, cela est confirmé par l'absence du déplacement bathochromique de la bande I après l'ajout de $\text{NaOAc}+\text{H}_3\text{BO}_3$ (tableau 30).

Tableau 30: Données spectrales UV du composé P_2 .

Solvants- réactifs	λ_{max} Bande I (nm)	λ_{max} Bande II (nm)	Autres bandes
MeOH	352	254	
+NaOH	408	273	331
+NaOAc	368	273	
+NaOAc+ H_3BO_3	358	270	
+ AlCl_3	400	272	
+ AlCl_3+HCl	400	274	
Le spectre est stable Après 5min			



Ces données permettent de proposer au composé P₂ une structure partielle caractérisée par un groupement substitué en position 3 et en position 3' (OR' ≠ OH) (figure 71)

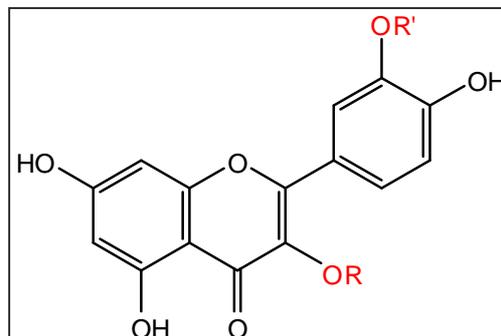


Figure 71: Structure partielle du composé P₂

L'analyse par spectrométrie de masse réalisée à haute résolution en mode électrospray positif du composé P₂ (figure 72), montre la présence d'un ion pseudomoléculaire [M+Na]⁺ à $m/z=501$, ce qui indique une masse moléculaire de 478. Suggérant aussi la formule brute C₂₂H₂₂O₁₂.

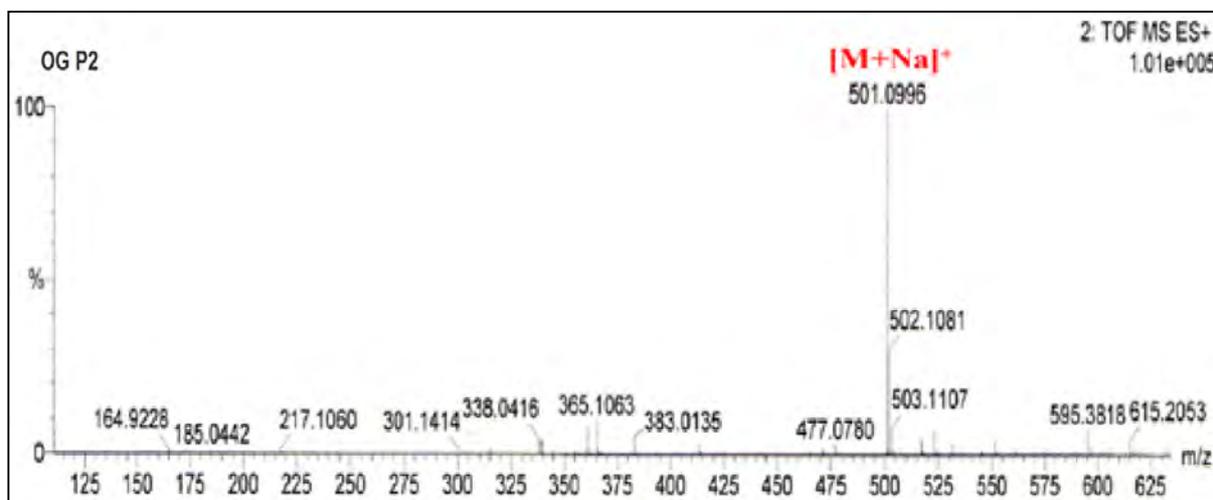


Figure 72: Spectre de masse HR-SMIE du composé P₂.

Le spectre RMN ¹H de ce composé (figure 73) montre la présence de deux noyaux aromatiques différents. Les protons aromatiques du cycle A d'un flavonoïde résonnent habituellement entre 6 et 6,50 ppm. Dans cette zone, nous avons observé deux signaux de protons aromatiques couplant entre eux en montrant deux doublets respectivement à 6,22 ppm (H-6) et 6,41 ppm (H-8) avec une constante de couplage ($J = 2,0$ Hz), cette dernière est typique d'un couplage en méta sur un cycle aromatique. Ces signaux sont caractéristiques d'un cycle A d'un flavonoïde substitué en C-5 et C-7.

Concernant le cycle B, ses protons résonnent généralement entre 6,7 et 7,9 ppm. Sur le présent spectre nous observons des signaux d'un système ABX à $\delta_H = 6,93$ ppm, 7,64 ppm et 7,95 ppm caractéristiques respectivement des protons H-5' (d, $J = 8,5$ Hz), H-6' (dd, $J = 8,5$ Hz, 2,0 Hz) et H-2' (d, $J = 2,0$ Hz).

Un singulet intégrant pour 3H à $\delta_H = 3,96$ ppm caractéristique d'un groupement méthoxyle.

La présence d'une partie osidique est clairement notée, confirmée notamment avec le proton anomérique à $\delta_H = 5,39$ ppm ($J = 7,4$ Hz), plusieurs autres signaux sont observés entre 3 et 4ppm correspondant sans doute aux protons de la partie osidique.

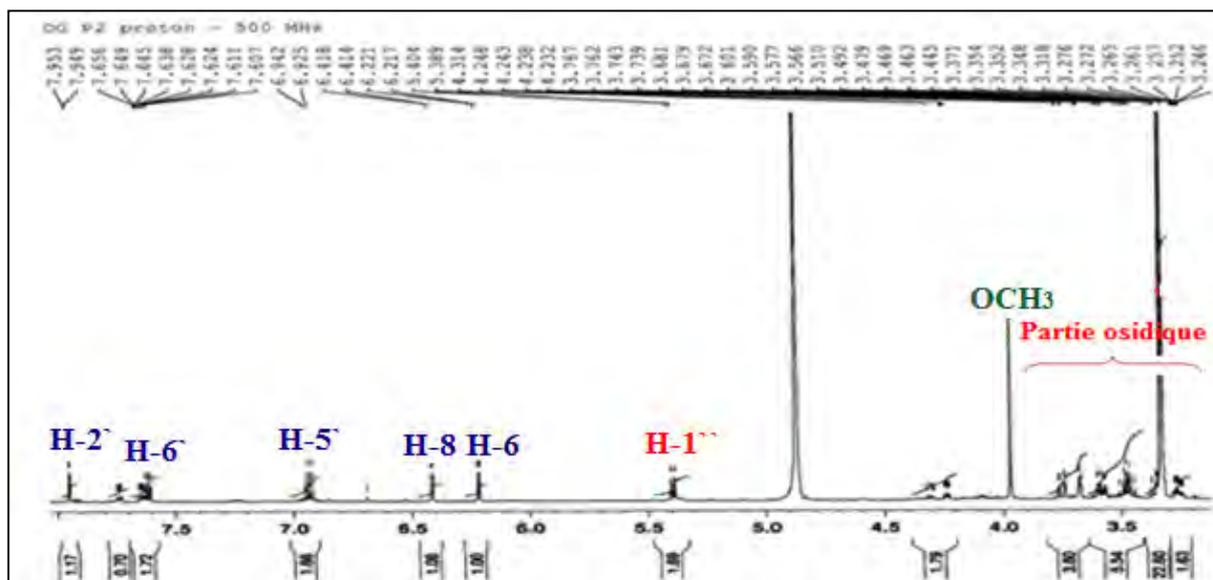


Figure 73: Spectre RMN ¹H du composé P₂ (CD₃OD, 500 MHz).

L'analyse des spectres COSY (figure 74) et HSQC (figure 75) permet d'identifier le sucre comme étant β-D-glucopyranoside à partir de l'anomère à 5,39 ppm ($J = 7,4$ Hz), caractérisé par les protons H-2'', H-3'', H-4'', H-5'', H-6'' [305].

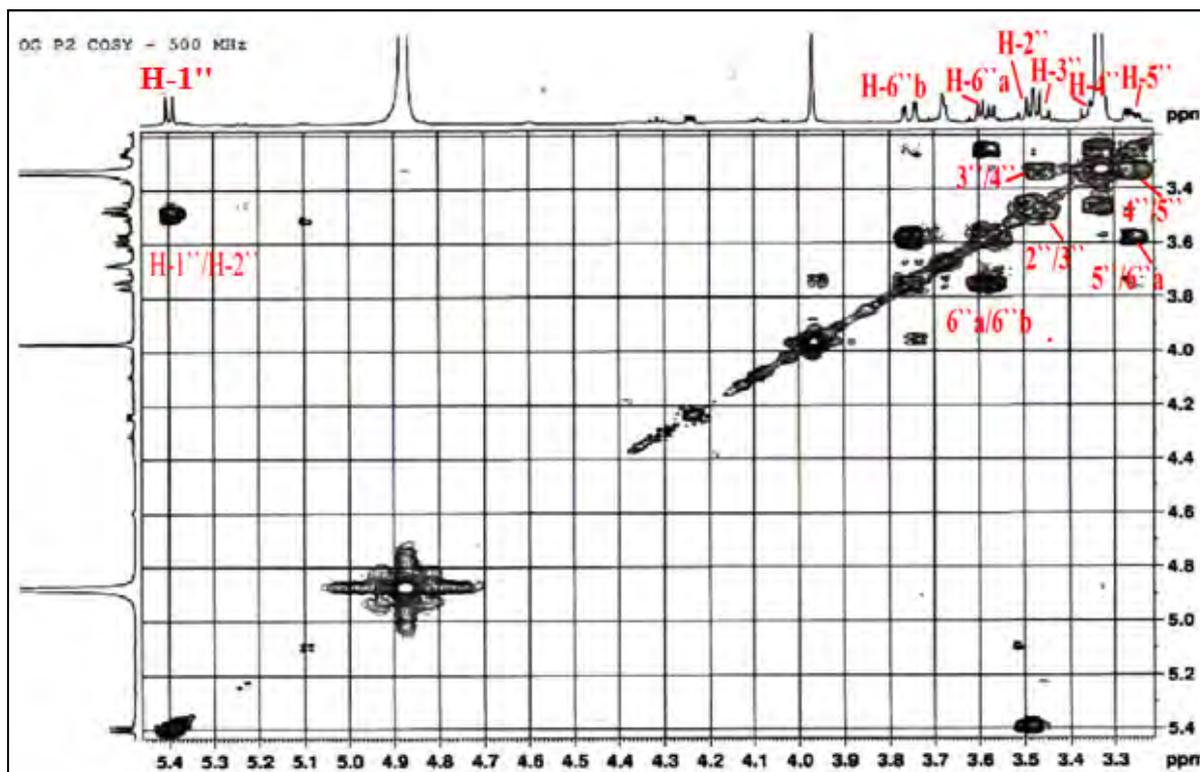


Figure 74: Spectre COSY du composé P₂.

L'analyse du spectre HSQC Jmod permet d'attribuer chaque proton au carbone qui le porte :

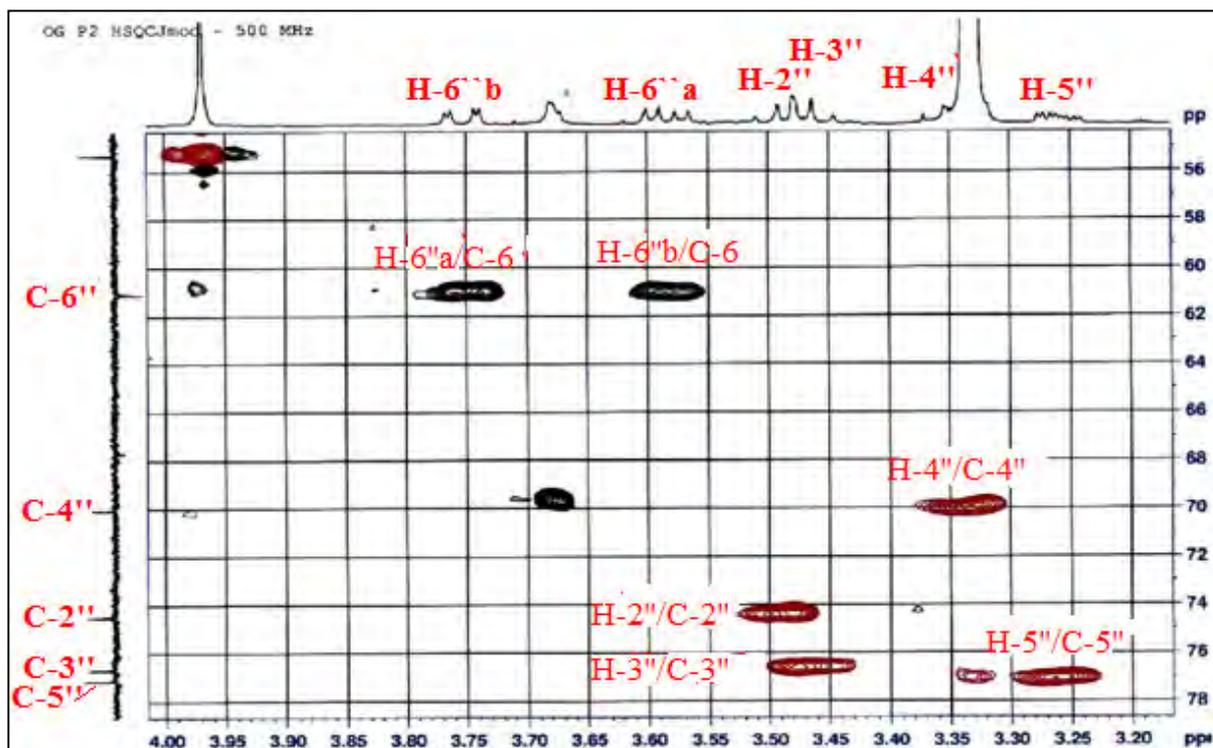


Figure 75: Spectre HSQC Jmod du composé **P₂**.

Le spectre HMBC (figure 76, 77) montre une corrélation H-C entre le groupement méthoxyle à $\delta_H = 3,96$ ppm et le carbone C-3' à $\delta_C = 147,2$ ppm ce qui indique que le méthoxyle est porté par le carbone C-3' donc le squelette flavonique est un isorhamnétine. Une tache de corrélation est observée entre le proton anomérique $\delta_H = 5,39$ ppm et le carbone C-3 ($\delta_C = 134,1$ ppm) de la génine indiquant que le glucose est fixé sur la génine isorhamnétine en position 3.

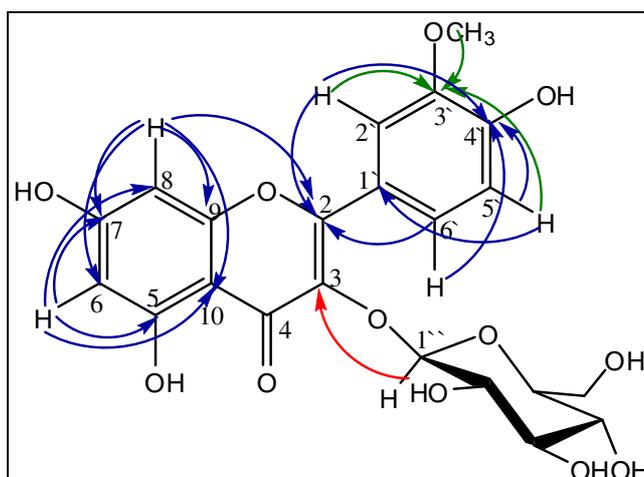
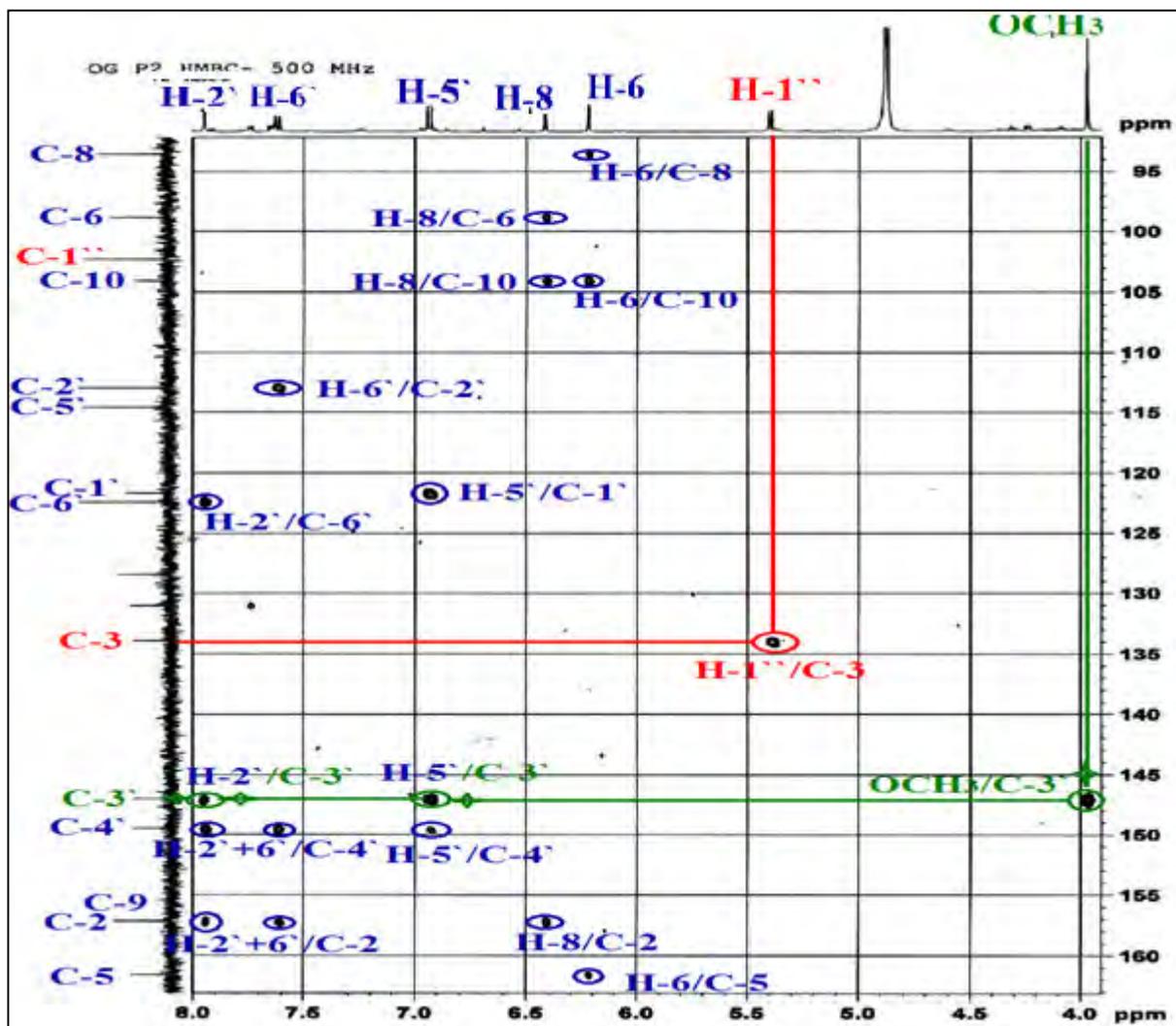


Figure 76: Importantes corrélations HMBC (H-C) du composé **P₂**.

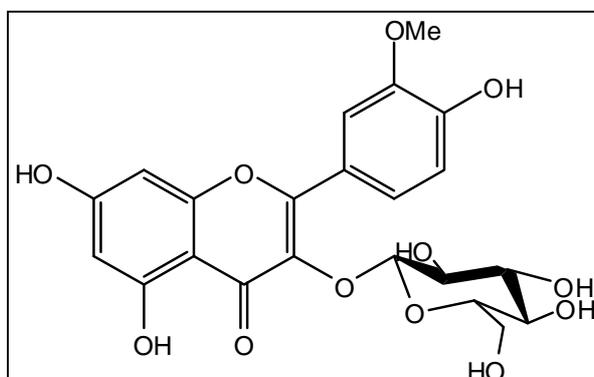
Figure 77: Spectre HMBC du composé P_2 .

Les attributions finales des signaux sont dressées dans le tableau 31.

Tableau 31: Déplacements chimiques en RMN ^1H (500 MHz) et RMN ^{13}C (125 MHz) du composé P_2 dans CD_3OD .

N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)	N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)
2	157,2	-	4 [^]	149,6	/
3	134,1	-	5 [^]	114,6	6,93, d (8,5)
4	177,9	-	6 [^]	122,4	7,64 dd, (8,5; 2,0)
5	161,7	-	OMe	55,4	3,96, s
6	98,8	6,22, d (2,0)	Glucose en 3		
7	166,2	-	1 [^]	102,3	5,39, d (7,4)
8	93,6	6,41, d (2,0)	2 [^]	74,5	3,49, t (9,1)
9	155,8	-	3 [^]	76,7	3,46, t (9,1)
10	104,1	-	4 [^]	70,1	3,35, t (8,2)
1 [^]	121,8	-	5 [^]	77,1	3,26, m
2 [^]	112,9	7,95, d (2,0)	6 [^]	61,1	a : 3,59 dd, (12,0; 5,5)
3 [^]	147,2	-			b : 3,75 dd, (11,9; 2,3)

Les expériences ^1H RMN, ^{13}C , HSQC, J -modulé, COSY H-H et HMBC combinées permettent d'identifier la structure du composé P_2 comme étant **isorhamnetin-3- O - β -D-glucoside**, isolé pour la première fois des fleurs d'*Argemone Mexicana* [307] et *Calendula officinalis* [308].



Isorhamnetin-3- O - β -D-glucoside (P_2).

1.3. Le composé P_3

La fluorescence noire violette sous lumière de Wood est caractéristique d'une flavone ou d'un flavonol substitué en 3.

Le comportement chromatographique indiqué par les valeurs du R_f :

- $R_f = 0.16$ (Toluène/MEC/MeOH 4:3:3)
- $R_f = 0.21$ (H_2O /MeOH/MEC/Acétylacétone 13:3:3:1).

Le spectre UV (figure 78) enregistré dans le méthanol donne deux bandes d'absorption, une bande I à 346 nm et l'autre bande II à 256 nm, indiquant un squelette de type flavone pour le composé P_3 .

L'effet bathochromique ($\Delta\lambda = + 48$ nm) observé après l'addition de NaOH avec augmentation de son intensité optique indique la présence d'un OH libre en position 4.

L'absence d'une nouvelle bande entre 320 et 335 nm suggère l'absence d'un OH libre en position 7.

L'ajout de NaOAc n'induit à la solution méthanolique pas de déplacement bathochrome de la bande II, ce qui signifie que le groupement hydroxyle, en position 7, est substitué.

L'addition de H_3BO_3 à la solution MeOH+NaOAc provoque un effet bathochrome de la bande I ($\Delta\lambda = + 36$ nm) indiquant la présence d'un système 3',4'-dihydroxy sur le cycle B, cette hypothèse est confirmée par le déplacement hypsochrome de la bande I ($\Delta\lambda = - 39$ nm),

observé sur le spectre enregistré dans MeOH+AlCl₃+HCl, comparativement à celui enregistré dans la solution MeOH+AlCl₃.

Après ajout de HCl à la solution d'AlCl₃+MeOH, on observe un déplacement bathochromique de la bande I de $\Delta\lambda = + 43$ nm par rapport a celle observé dans le spectre enregistré dans MeOH, indiquant la présence d'un groupement OH libre en position 5 (tableau 32)

Tableau 32: Données spectrales UV du composé P₃.

Solvants- réactifs	λ_{\max} Bande I (nm)	λ_{\max} Bande II (nm)	Autres bandes
MeOH	346	257	
+NaOH	394	266	
+NaOAc	404	252	
+NaOAc+H ₃ BO ₃	382	262	
+ AlCl ₃	428	273	
+ AlCl ₃ +HCl	389	274	
Le spectre est stable Après 5min			

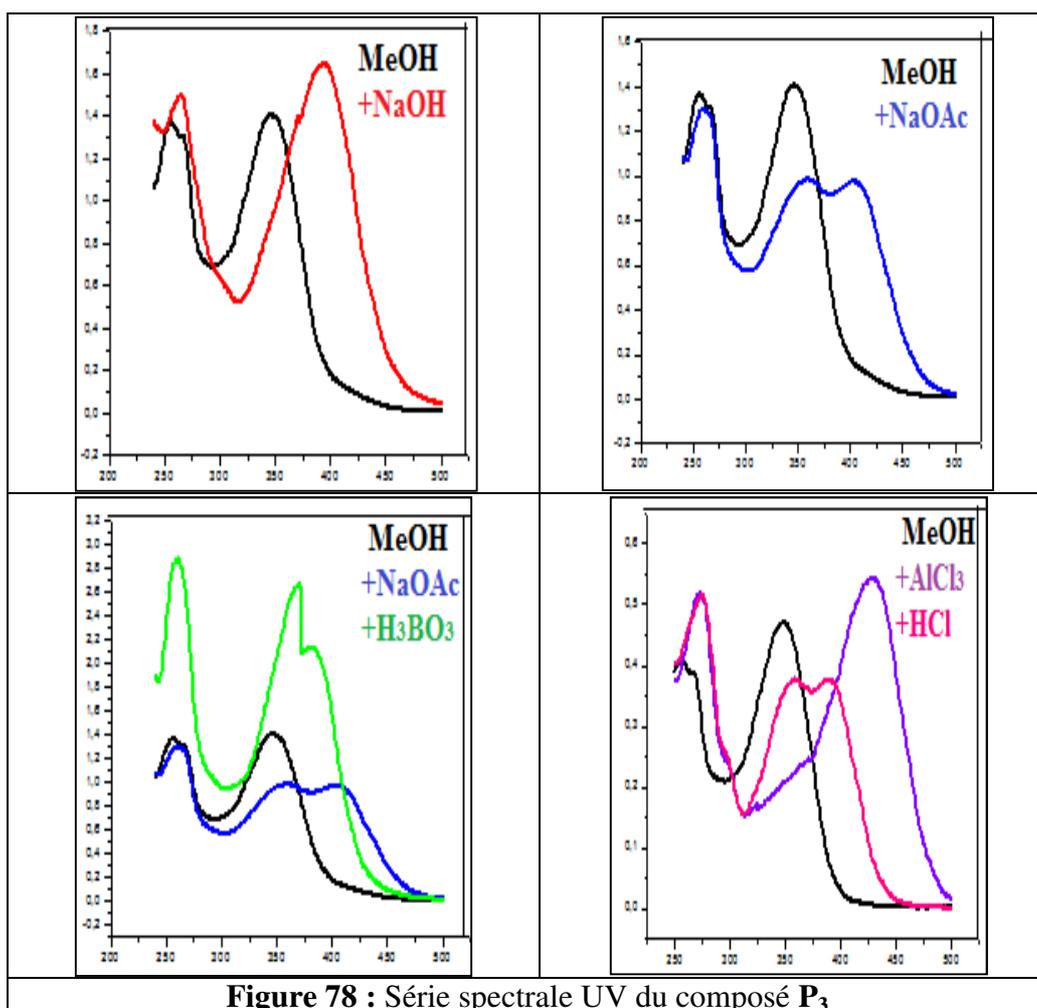


Figure 78 : Série spectrale UV du composé P₃.

Toutes ces données nous permettent de proposer une structure partielle menant à la lutéoline (figure 79).

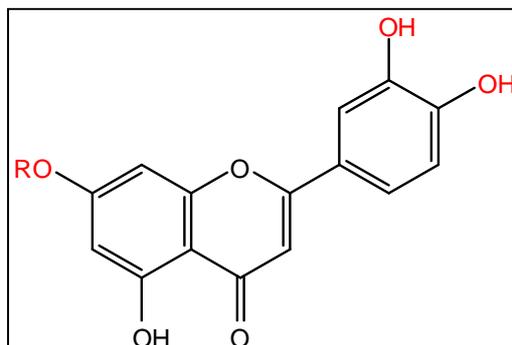


Figure 79 : Structure partielle du composé **P₃**.

L'analyse du composé **P₃** (figure 80), par HR-SMESI, donne un ion pseudomoléculaire $[M+Na]^+$ à $m/z=471$, compatible avec la formule brute $C_{21}H_{20}O_{11}$. Le spectre RMN du ^{13}C (figure 81), présente effectivement 21 signaux.

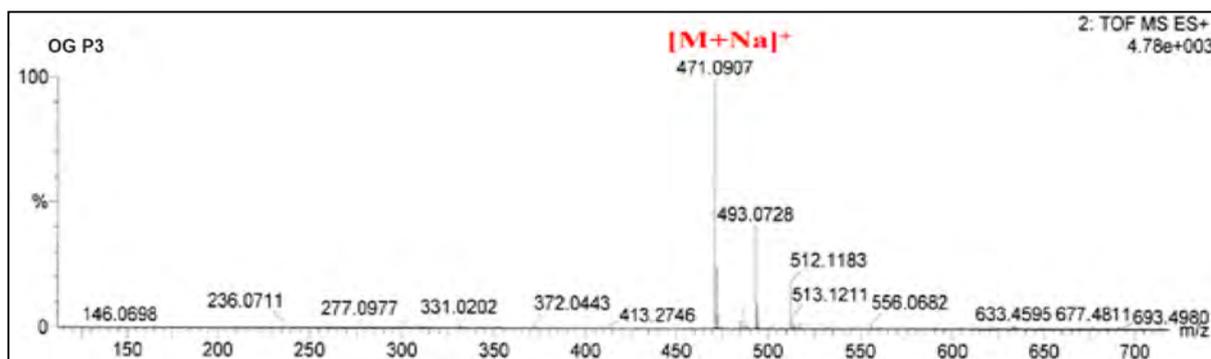


Figure 80: Spectre de masse HR-SMIE du composé **P₃**.

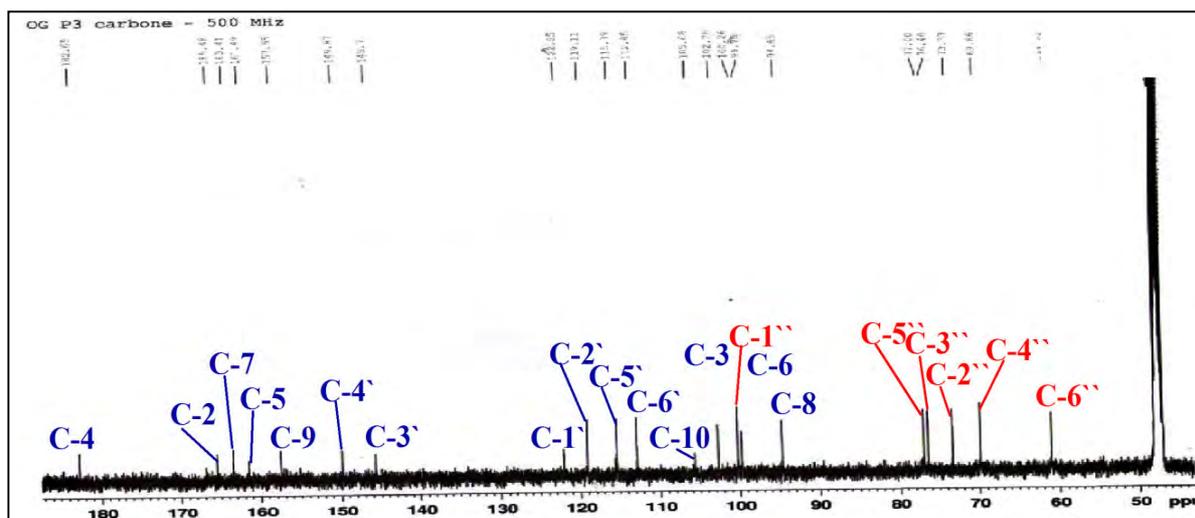


Figure 81: Spectre RMN ^{13}C du composé **P₃** (CD_3OD , 125 MHz).

Le spectre RMN ^1H du composé P_3 (figure 82) montre les six signaux des six protons caractéristiques de la lutéoline :

- Deux doublets couplent entre eux en méta ($J = 2,1$ Hz), intégrant chacun pour un proton à 6,52 ppm (H-6) et 6,81 ppm (H-8).
- Un doublet résonne à $\delta_{\text{H}} = 7,45$ ppm ($J = 2,1$ Hz) et un doublet de doublet à $\delta_{\text{H}} = 7,42$ ppm ($J = 2,1$ et 8,2 Hz) respectivement dues aux protons H-2' et H-6', un doublet due à H-5' apparaissant à $\delta_{\text{H}} = 6,93$ ppm ($J = 8,2$ Hz).
- Un singulet observé à $\delta_{\text{H}} = 6,62$ ppm est du à la résonnance de H-3.

L'apparition d'un doublet à $\delta_{\text{H}} = 5,09$ ppm ($J = 7,1$ Hz) caractéristique d'un proton anomérique et des signaux entre $\delta_{\text{H}} = 3,44$ ppm et $\delta_{\text{H}} = 3,96$ ppm indiquent la présence d'un ose.

La constante de couplage ($J = 7,1$ Hz) observée pour le proton anomérique de P_3 suggère une liaison de configuration β entre le sucre et la lutéoline.

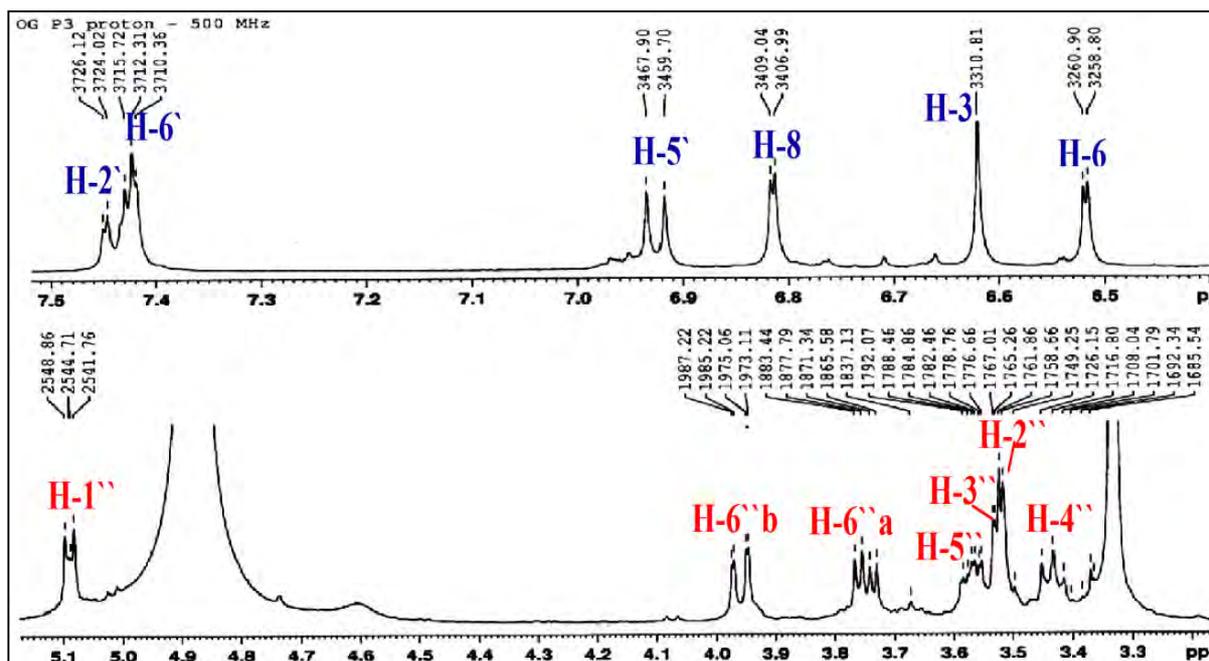


Figure 82: Spectre RMN ^1H du composé P_3 (CD_3OD , 500 MHz).

On observe dans le spectre COSY (figure 83) les sept protons du sucre qui couplent entre eux avec de grandes valeurs de constante de couplage (> 7 Hz). Leurs déplacements chimiques ainsi que les déplacements de leurs carbones (figure 81) sont caractéristiques d'un glucose [305].

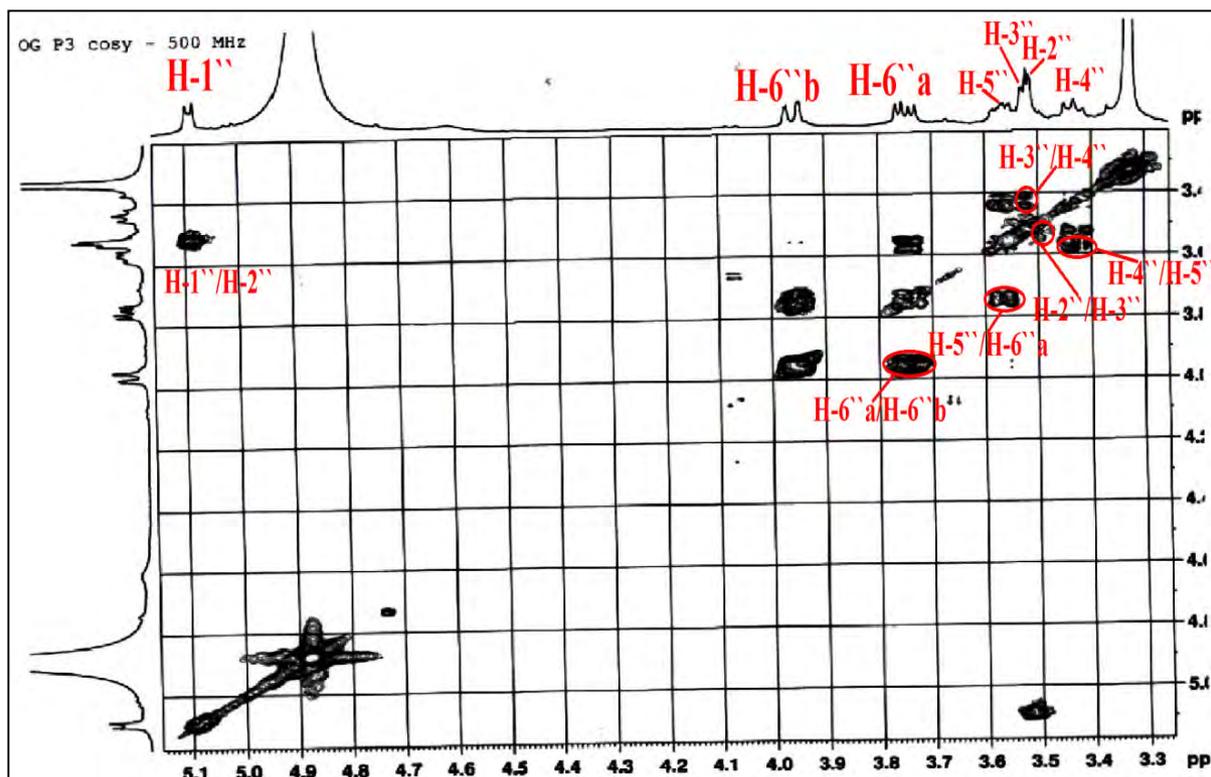


Figure 83: Spectre COSY du composé P₃.

La corrélation observée sur le spectre HMBC entre le proton anomérique H-1'' et le carbone C-7 confirme que le glucose est attaché à la génine en position 7 (figure 84).

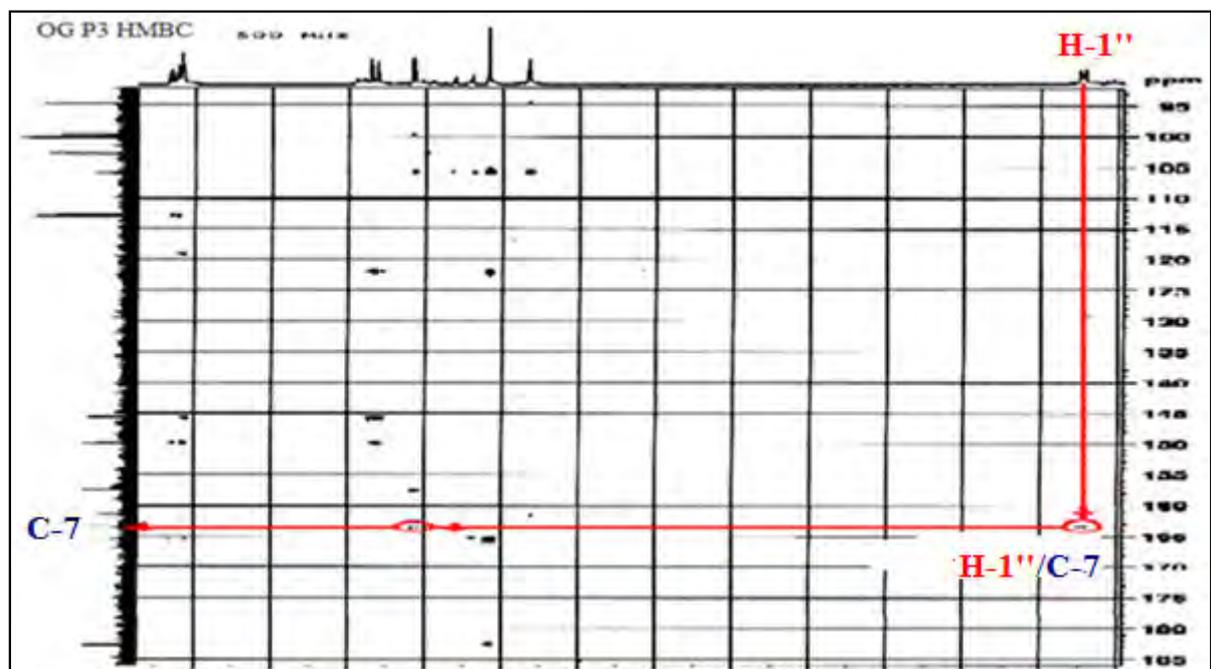


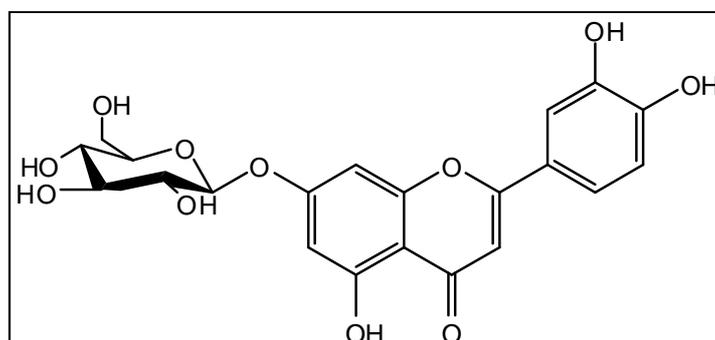
Figure 84: Spectre HMBC du composé P₃.

Les déplacements chimiques des signaux observés en RMN du ^1H et du ^{13}C sont dressés dans le tableau 33

Tableau 33: Déplacements chimiques en RMN ^1H (500 MHz) et RMN ^{13}C (125 MHz) du composé **P₃** dans CD_3OD .

N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)	N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)
2	165,5	/	3'	149,9	/
3	102,8	6,62, s	4'	145,7	/
4	182,7	/	5'	115,4	6,93, d (8,2)
5	161,5	/	6'	112,9	7,42, dd (8,2; 2,1)
6	99,8	6,52, d (2,1)	Glucose en 7		
7	163,4	/	1''	100,3	5,09, d (7,1)
8	94,7	6,81, d (2,1)	2''	73,3	3,52, m
9	157,6	/	3''	76,5	3,53, m
10	105,7	/	4''	69,9	3,44, t (9,3)
1'	122,1	/	5''	77,0	3,57, m
2'	119,1	7,45, d (2,1)	6''	61,1	a : 3,96, dd (12,1; 2,0) b : 3,75, dd (12,1; 5,7)

Ces données permettent d'attribuer sans ambiguïté au composé **P₃** la structure connue de : lutéolin-7-*O*- β -D-glucoside [309].



Lutéolin-7-*O*- β -D-glucoside (**P₃**).

1.4. Le composé **P₄**

L'analyse du spectre de masse haute résolution HR-ESI-MS du composé **P₄** (figure 85), révèle deux ions pseudo-moléculaires à m/z 455,0948 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (calculé 455,0954 et m/z 433,1207 $[\text{M}+\text{H}]^+$, caractéristiques des flavonoïdes C-glycosides. En soustrayant la masse de l'apigénine (270 *uma*), il reste 162 *uma* soit l'équivalent d'un hexose.

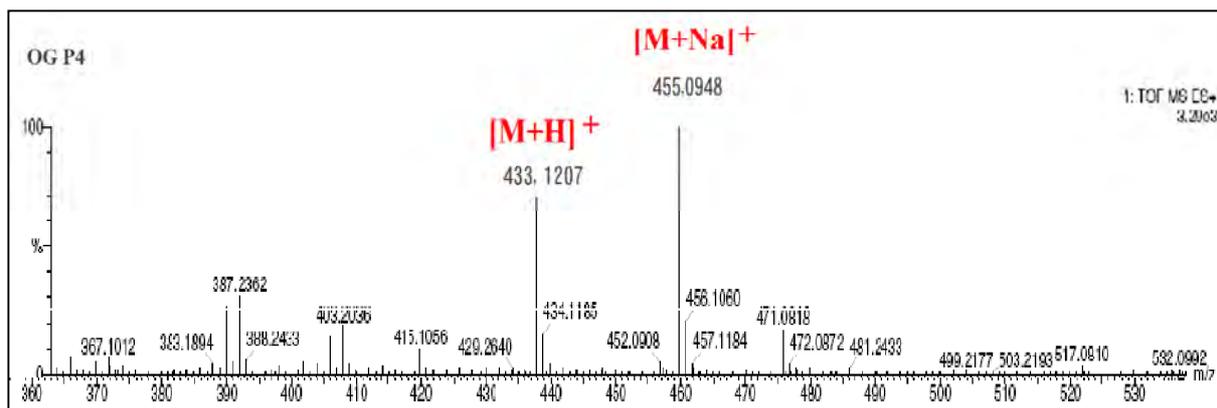


Figure 85: Spectre de masse HR-MS -ESI du composé **P₄**.

L'examen du spectre RMN ¹H (figure 86, 87) montre la présence d'un ensemble de signaux caractérisant un squelette flavonique reconnaissable par :

- Un singulet d'intégration 1H à $\delta_H = 6,61$ ppm attribuable à H-3, ce qui confirme la structure d'une flavone.
- Un système AB caractéristique d'une oxygénation en position 4' sur le noyau B, ainsi les doublets à $\delta_H = 7,87$ ppm et $\delta_H = 6,95$ ppm ($J = 8,8$ Hz) d'intégration 2H chacun sont attribuables à H-2',6' et H-3',5' respectivement.
- Un autre signal sous forme d'un singulet à $\delta_H = 6,50$ ppm d'intégration 1H attribuable soit à H-6 soit à H-8 indiquant ainsi que le noyau A est substitué en positions 7, 5 et soit en 6 ou en 8.
- Sur le même spectre on remarque la présence d'un signal sous forme d'un doublet à $\delta_H = 4,93$ ppm avec une constante de couplage ($J = 9,9$ Hz) caractérisant le proton anomérique d'un sucre ainsi que les autres signaux de ce sucre entre $\delta_H = 3,4$ ppm et $\delta_H = 4,3$ ppm.

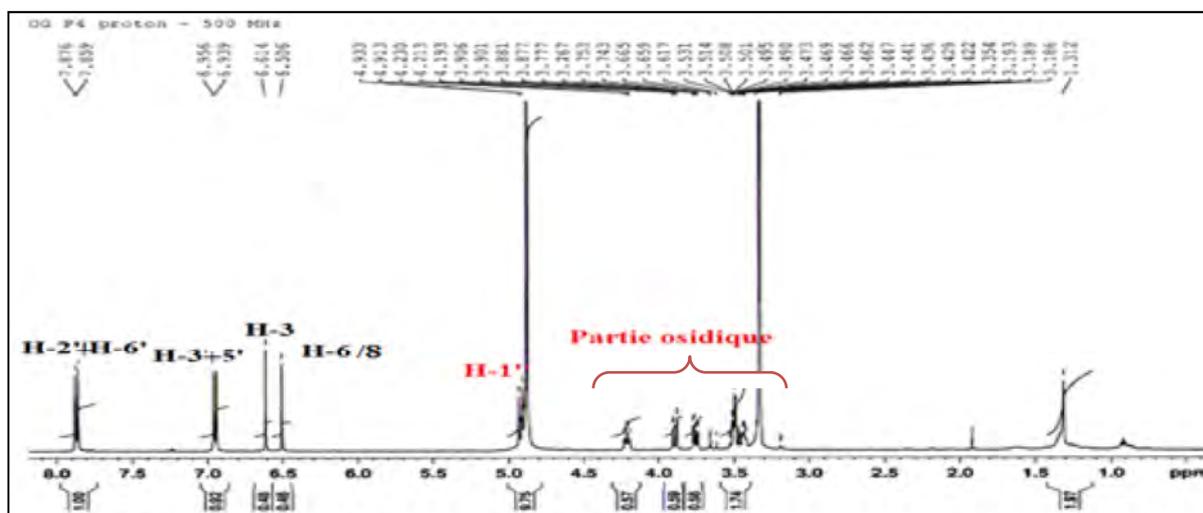


Figure 86: Spectre RMN ¹H du composé **P₄** (CD₃OD, 500 MHz).

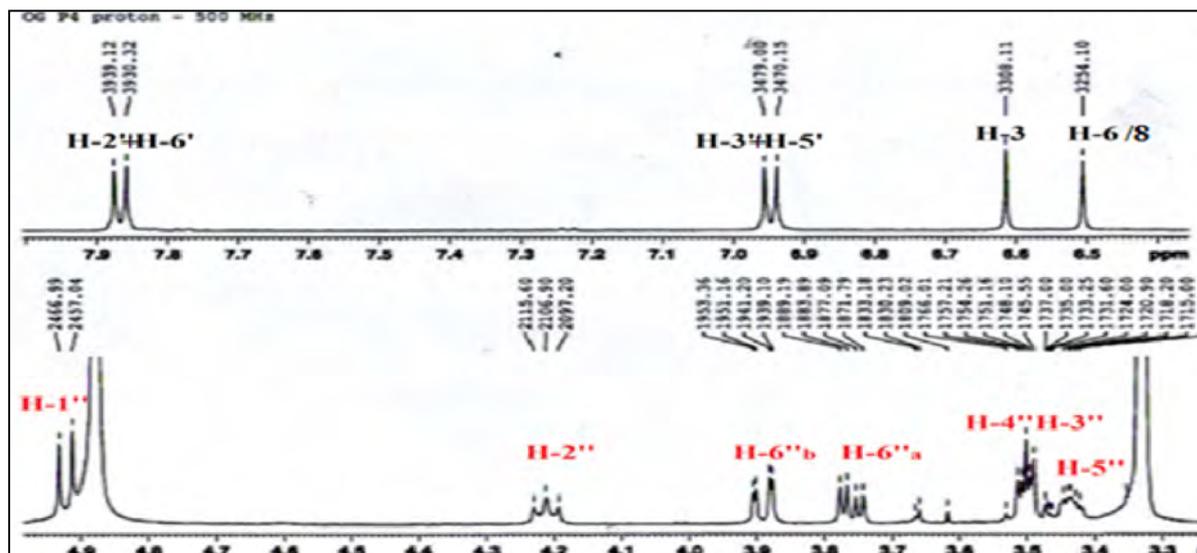


Figure 87: Spectre RMN ¹H étalé du composé P₄ (CD₃OD, 500 MHz).

Les protons du sucre sont identifiés par l'analyse du spectre COSY (figure 88) qui permet d'identifier le sucre au glucose en se basant sur les valeurs des déplacements chimiques et des constantes de couplages de ces protons.

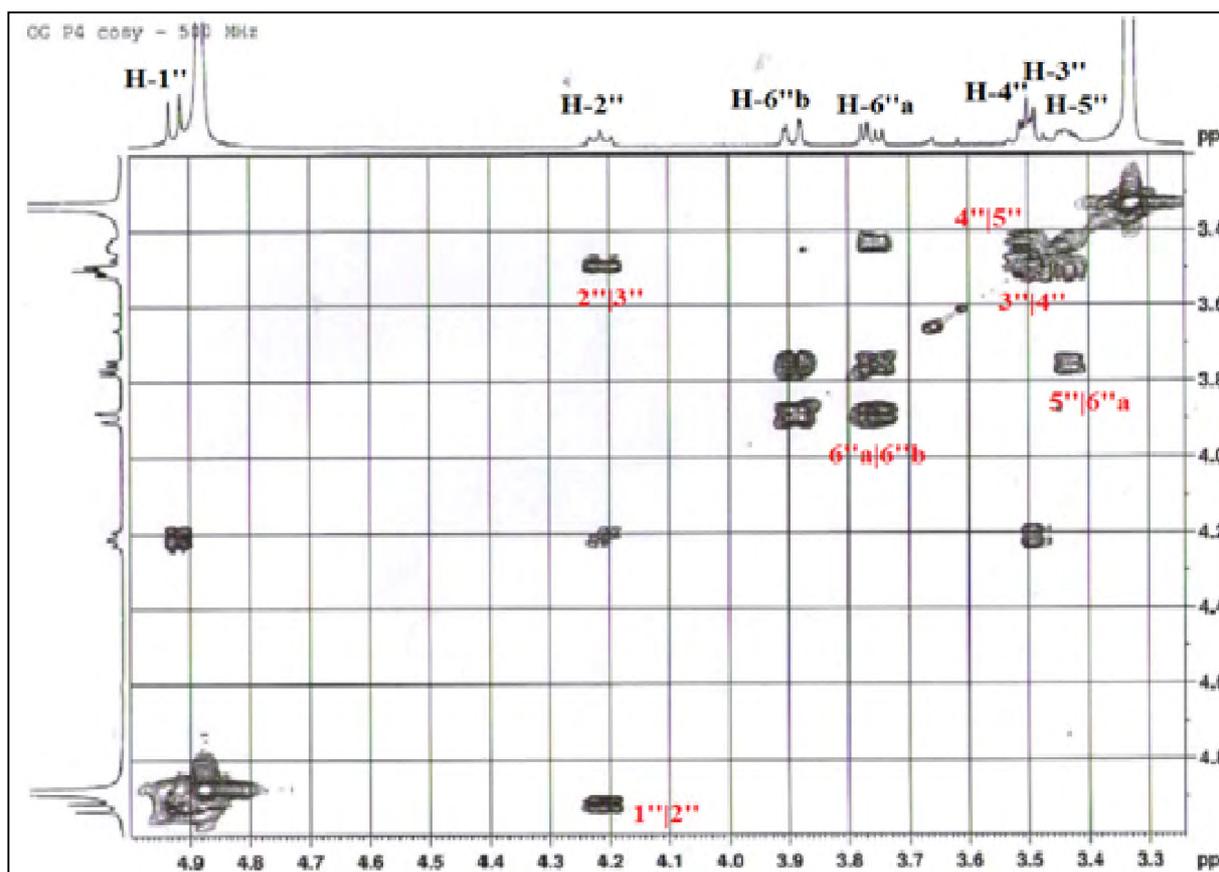


Figure 88: Spectre COSY de la partie osidique du composé P₄.

Le déplacement chimique du carbone portant le proton anomérique obtenu par l'analyse de l'expérience HSQC Jmod blindé indique celle d'un groupement CH lié à un seul atome d'oxygène, ce qui suppose que la jonction génine-sucre est une liaison de type C-C (figure 89).

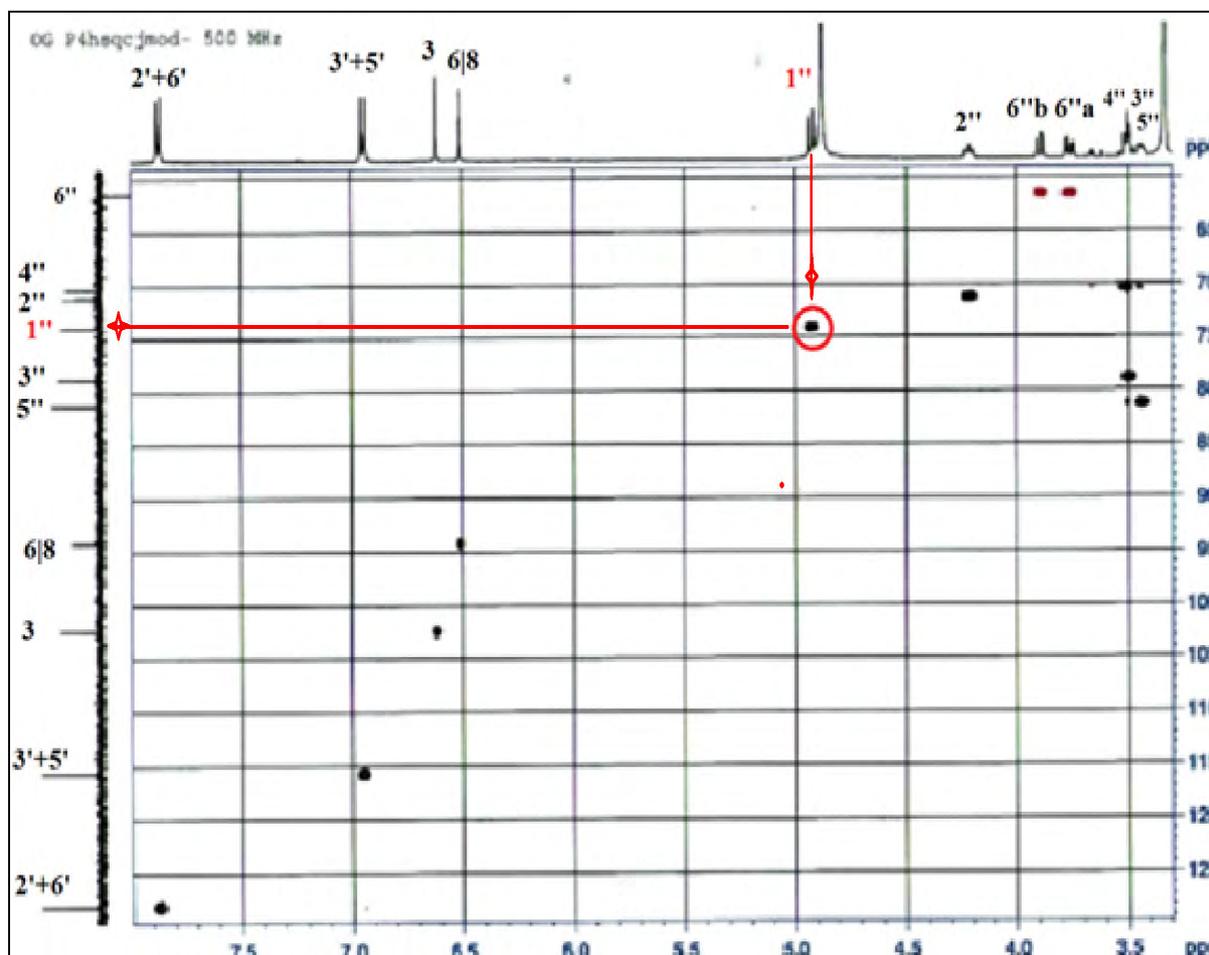


Figure 89: Spectre HSQC Jmod du composé **P₄**.

Sur le spectre HMBC, le proton H-6 ou H-8 donne deux taches de corrélations avec deux atomes de carbones oxygénés autres que le C-5, par conséquent ce sont les carbones C-7 et C-9, donc ce proton ne peut être qu'en C-8 ($\delta_C = 94,1$ ppm). L'emplacement du proton en C-8 et non en C-6 impose la substitution du C-6 par le glucose *via* une liaison C-C, ceci est confirmé par les corrélations observées entre le proton anomérique et les carbones C-5, C-7 et le carbone à $\delta_C = 108,1$ ppm qui ne peut être que le C-6 vu la valeur de son déplacement chimique (figure 90).

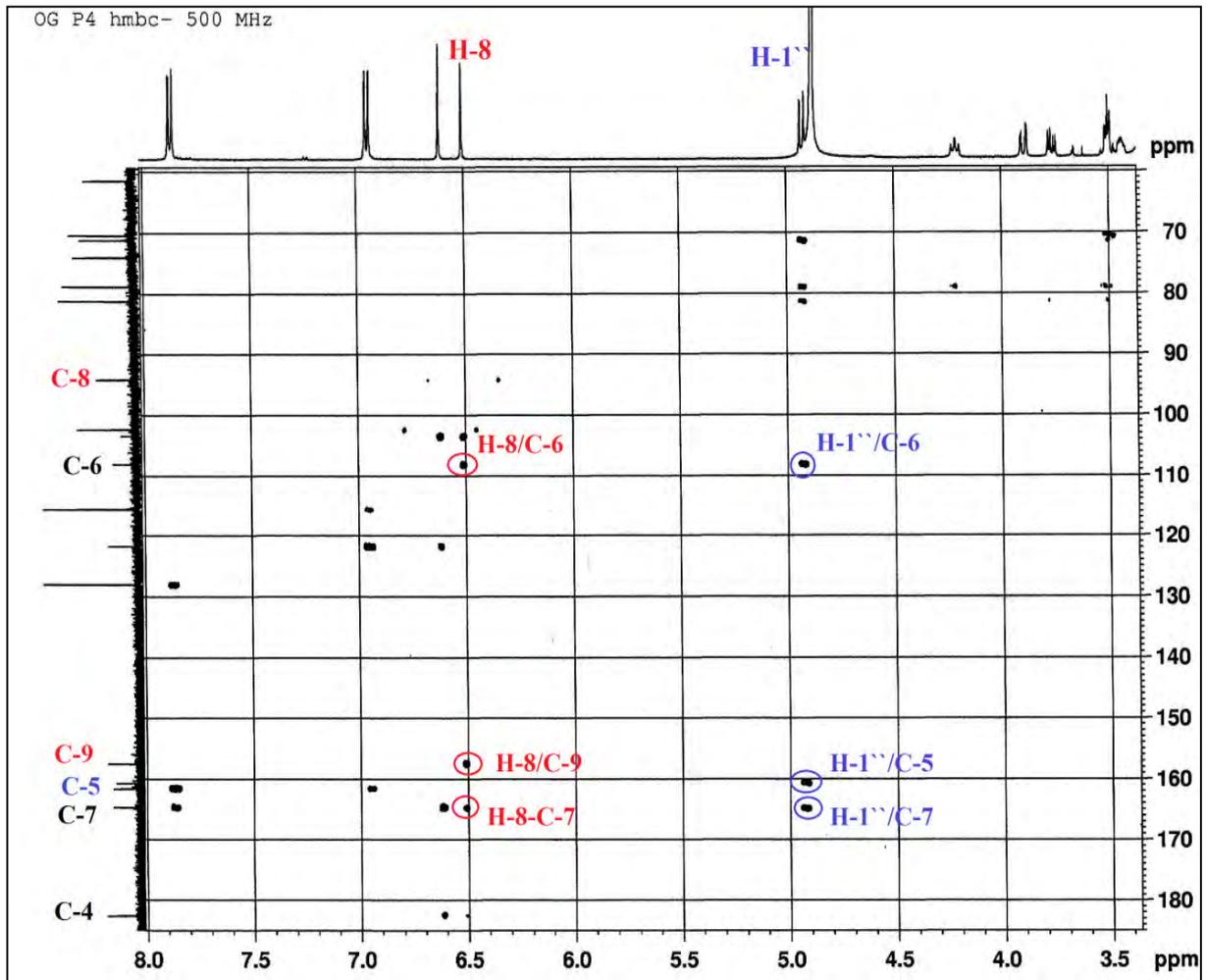


Figure 90: Spectre HMBC du composé P₄.

Toutes ces données permettent d'identifier tous les carbones du composé P₄ (figure 91).

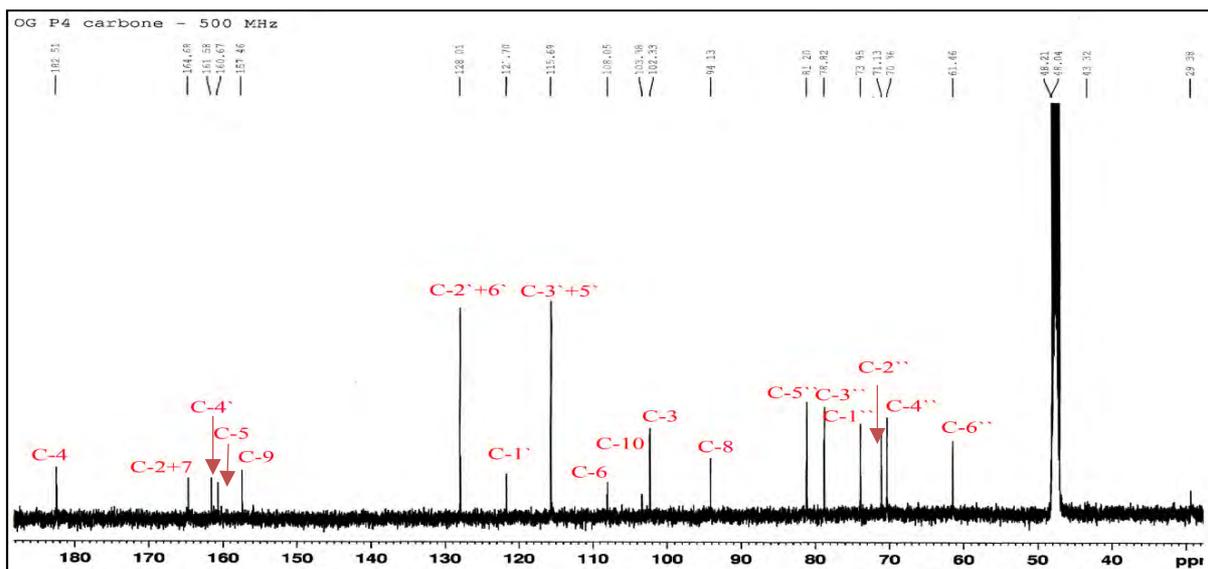


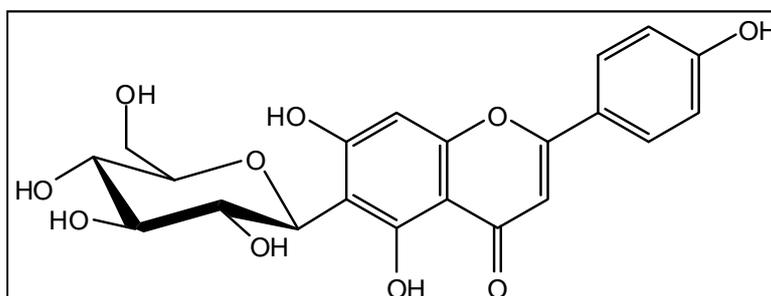
Figure 91: Spectre RMN ^{13}C du composé P₄.

Par ailleurs, l'analyse de l'ensemble des spectres (RMN ^1H , ^{13}C , COSY, HSQC, HMBC) ainsi que la comparaison avec la littérature ont permis de faire toutes les attributions des signaux (tableau 34).

Tableau 34: Déplacements chimiques en RMN ^1H (500 MHz) et RMN ^{13}C (125 MHz) du composé **P₄** dans CD₃OD.

N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)	N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)
2	164,7	-	3`	115,7	6,95, d (8,8)
3	102,3	6,61, s	4`	161,6	-
4	182,5	-	5`	115,7	6,95, d (8,8)
5	160,7	-	6`	128,0	7,87, d (8,8)
6	108,1	-	Glucose en 6		
7	164,9	-	1``	74,0	4,92, d (9,9)
8	94,1	6,50, s	2``	71,1	4,21, t (9,7)
9	157,5	-	3``	78,8	3,49, t (8,6)
10	103,4	-	4``	70,4	3,51, t (8,8)
1`	121,7	-	5``	81,2	3,44, m
2`	128,0	7,87, d (8,8)	6``	61,5	a : 3,76, dd (12,1; 5,3) b : 3,89, dd (12,2; 2,2)

Le composé **P₄** est identifié comme étant l'**isovitexine : Apigenin-6-C- β -D-glucoside [310]**.



Apigenin-6-C- β -D-glucoside (isovitexine) (**P₄**).

1.4. Le composé **P₅**

Le spectre de masse haute résolution obtenu par HR-MS -ESI (figure 92) montre un ion pseudo-moléculaire à m/z 689,1691 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (calculé 689,1691) qui correspond à la formule brute $\text{C}_{30}\text{H}_{34}\text{O}_{17}$.

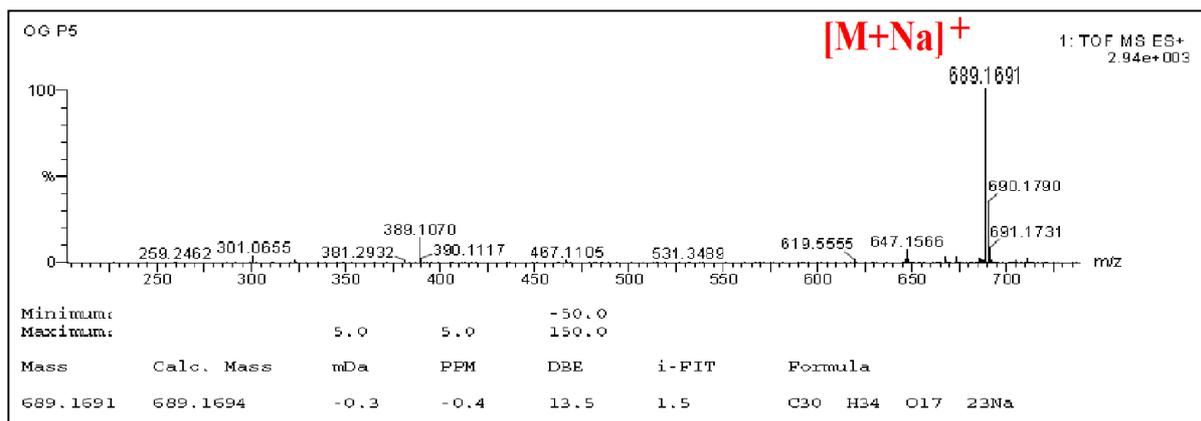


Figure 92: Spectre de masse HR-MS –ESI du composé P_5 .

L'examen du spectre RMN 1H (figure 93), enregistré dans CD_3OD , montre la présence des signaux caractéristiques d'un squelette de type flavonoïde que l'on peut identifier par :

- Un singulet observé à $\delta_H = 6,73$ ppm d'intégration 1H due à la résonance H-3.
- Deux doublets d'intégration 2H chacun à $\delta_H = 7,12$ ppm ($J = 8,8$ Hz) et à $\delta_H = 8,03$ ppm ($J = 8,8$ Hz) attribuables respectivement à (H-3' et H-5') et (H-2' et H-6').
- Un signal sous forme d'un singulet d'intégration 1H à $\delta_H = 6,78$ ppm attribuable soit à H-6 soit à H-8, indiquant ainsi la substitution du cycle A en positions 5,6 et 7 ou bien 5,7 et 8.
- Un singulet d'intégration 3H résonnant à $\delta_H = 3,92$ ppm attribuable à un méthoxy.
- Un singulet à 2,00 ppm d'intégration 3H attribuable à un méthyle.
- Deux parties osidiques caractérisées par les deux protons anomériques de deux sucres $\delta_H = 5,06$ ppm ($J = 7,5$ Hz) et $\delta_H = 4,83$ ppm ($J = 7,9$ Hz) ainsi que les autres signaux de ces deux sucre entre $\delta_H = 3,42$ ppm $\delta_H = 4,47$ ppm.

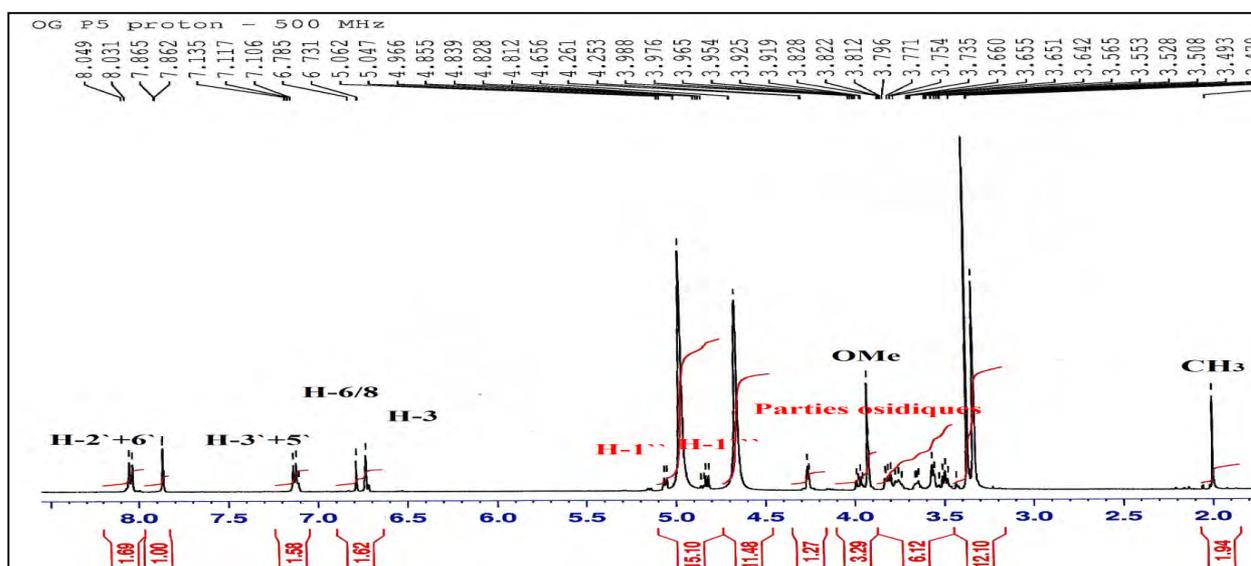


Figure 93: Spectre RMN 1H du composé P_5 (CD_3OD , 500 MHz).

Les deux sucres sont identifiés en tant que glucoses à partir de leurs protons anomériques et l'analyse du spectre COSY qui permet de mettre en évidence la présence de sept proton d'un premier hexose et sept d'un second, les grandes valeurs des constantes de couplage ($>7\text{Hz}$) révèlent qu'ils sont tous axiaux, caractéristiques d'un $\beta\text{-D-glucopyranose}$ (figure 94) [305].

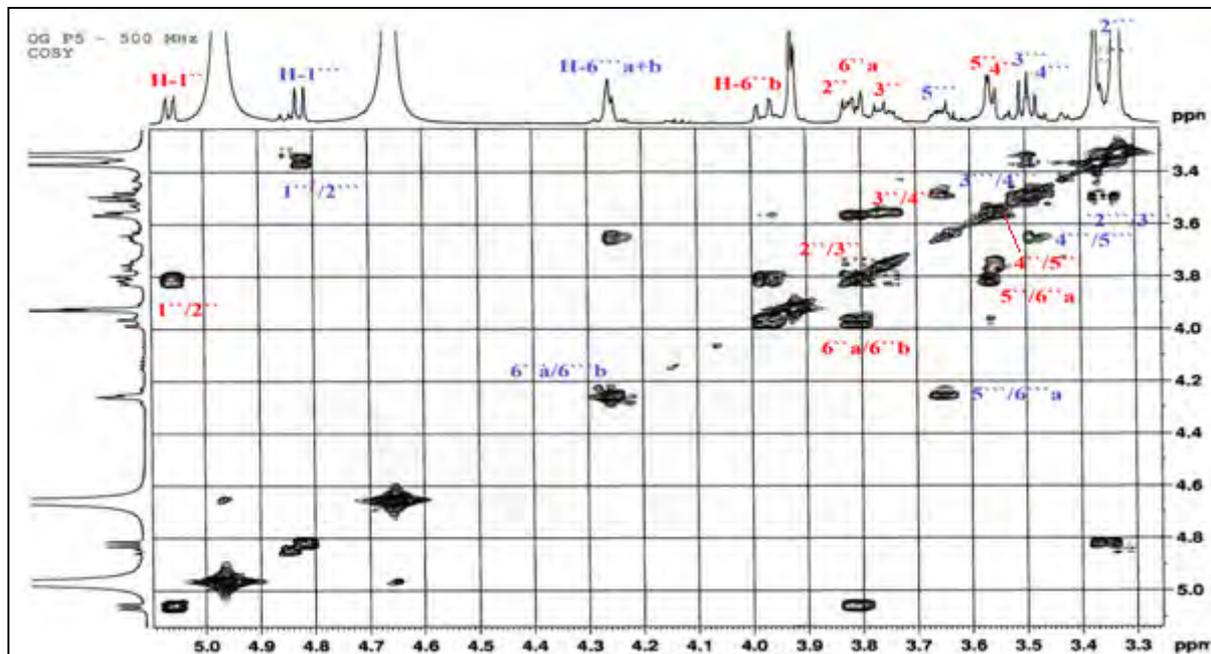


Figure 94: Spectre COSY du composé P_5 .

Les carbones respectifs aux protons des deux glucoses ainsi que ceux de la partie aromatique, sont attribués à l'aide du spectre HSQC (figures 95, 96).

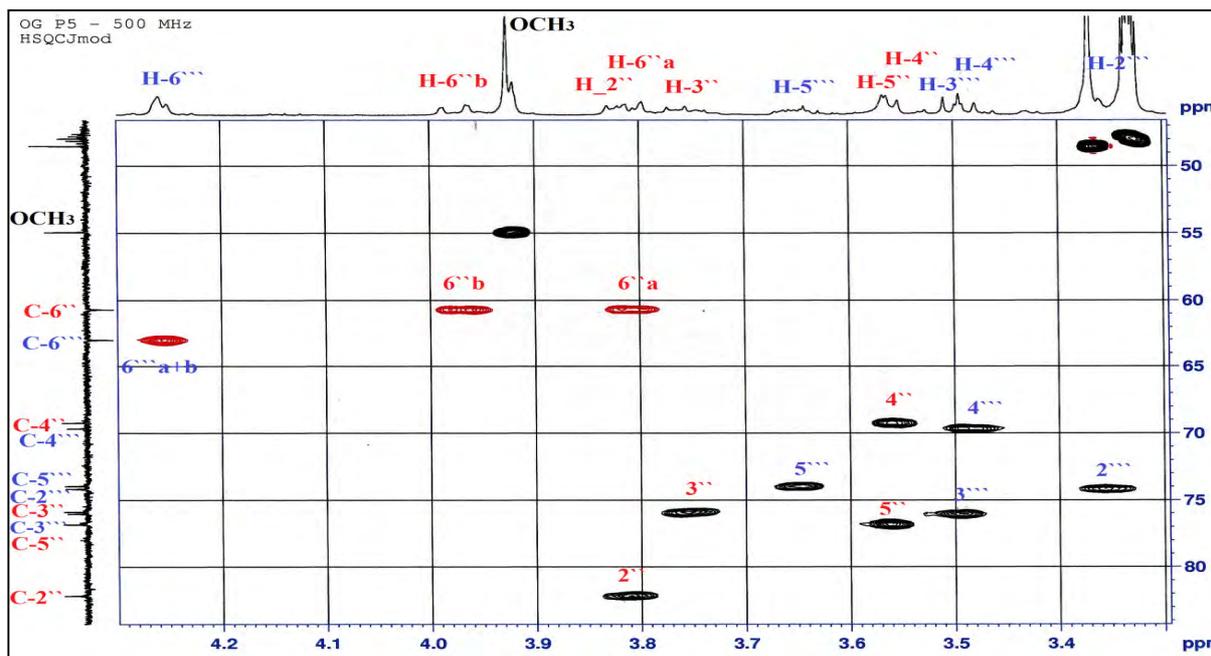


Figure 95: Spectre HSQC Jmod de la partie osidique du composé P_5 .

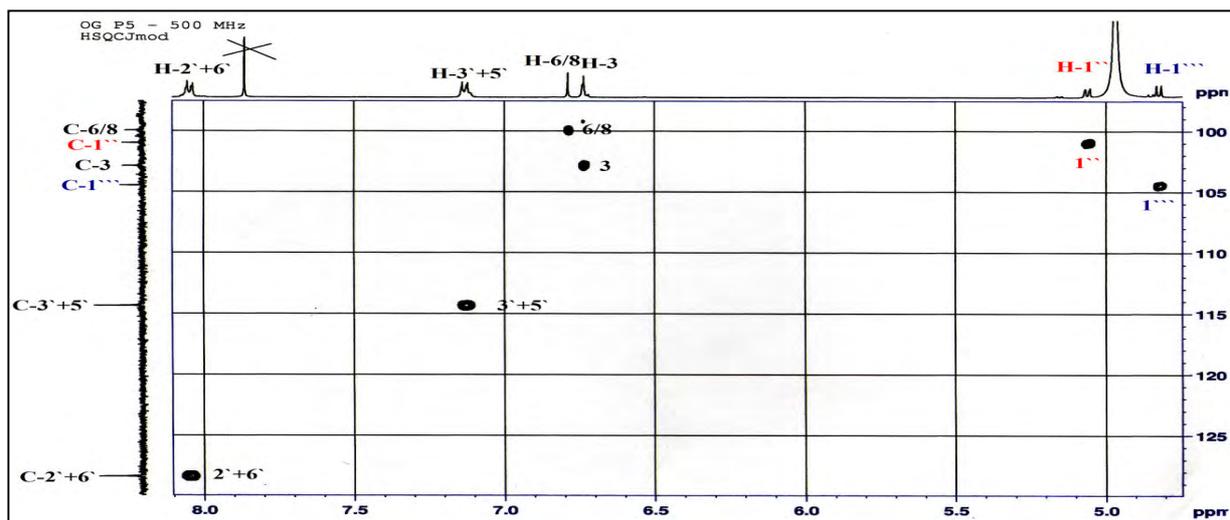


Figure 96: Spectre HSQC Jmod de la partie génère du composé P₅.

Sur le spectre HMBC (figure 97) le proton H-6 ou H-8 donne deux taches de corrélations H-C avec deux atomes de carbones oxygénés, par conséquent ce sont les carbones C-5 et C-7, donc ce proton ne peut être qu'en C-6 ($\delta_C = 100,0$ ppm).

Une tache de corrélation est observée entre le proton H-6 et un carbone quaternaire oxygéné à $\delta_H = 128$ ppm qui ne peut être que le carbone C-8 [311].

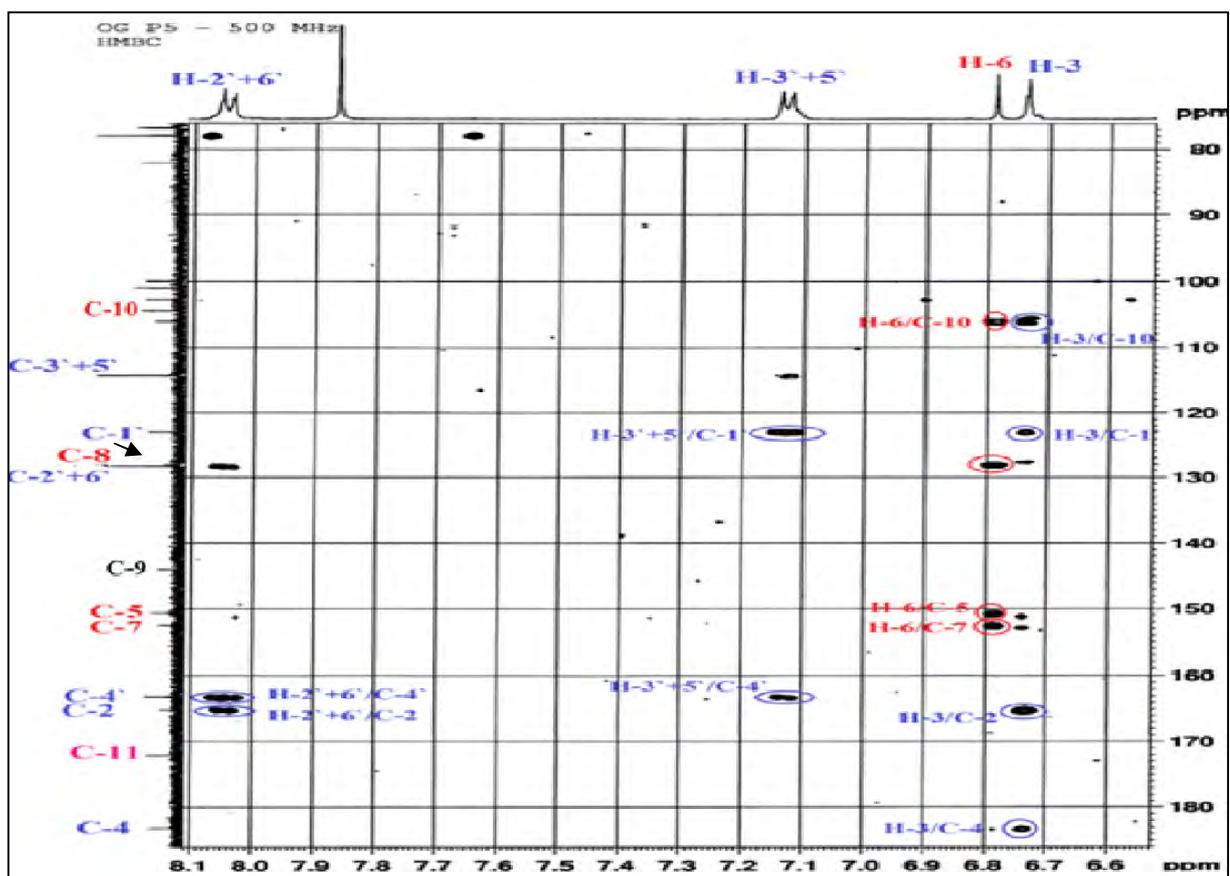


Figure 97: Spectre HMBC de la partie aromatique du composé P₅.

Ce même spectre (figure 97,98) montre des corrélations entre les protons H-2`+H-6`, H-3`+5`, le méthoxyle et le carbone C-4` ($\delta_C = 163,2$ ppm) indiquant que ce carbone est substitué par le méthoxyle.

On observe sur ce spectre aussi des taches de corrélations C-H entre le proton H-2`` du glucose interne et le carbone C-1`` du glucose terminal, et inversement entre le carbone C-2`` du glucose interne qui est déblindé par rapport aux autres protons des glucoses ($\delta_C = 82,2$ ppm) indiquant sa substitution OR, et le proton anomérique du glucose terminal H-1`` mettant en évidence la liaison : **β -D-glucosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-glucoside**. Cette partie est fixé sur la génine en position 7 comme l'atteste la corrélation entre le carbone C-7 et le proton anomérique H-1`` du glucose interne (figure 98).

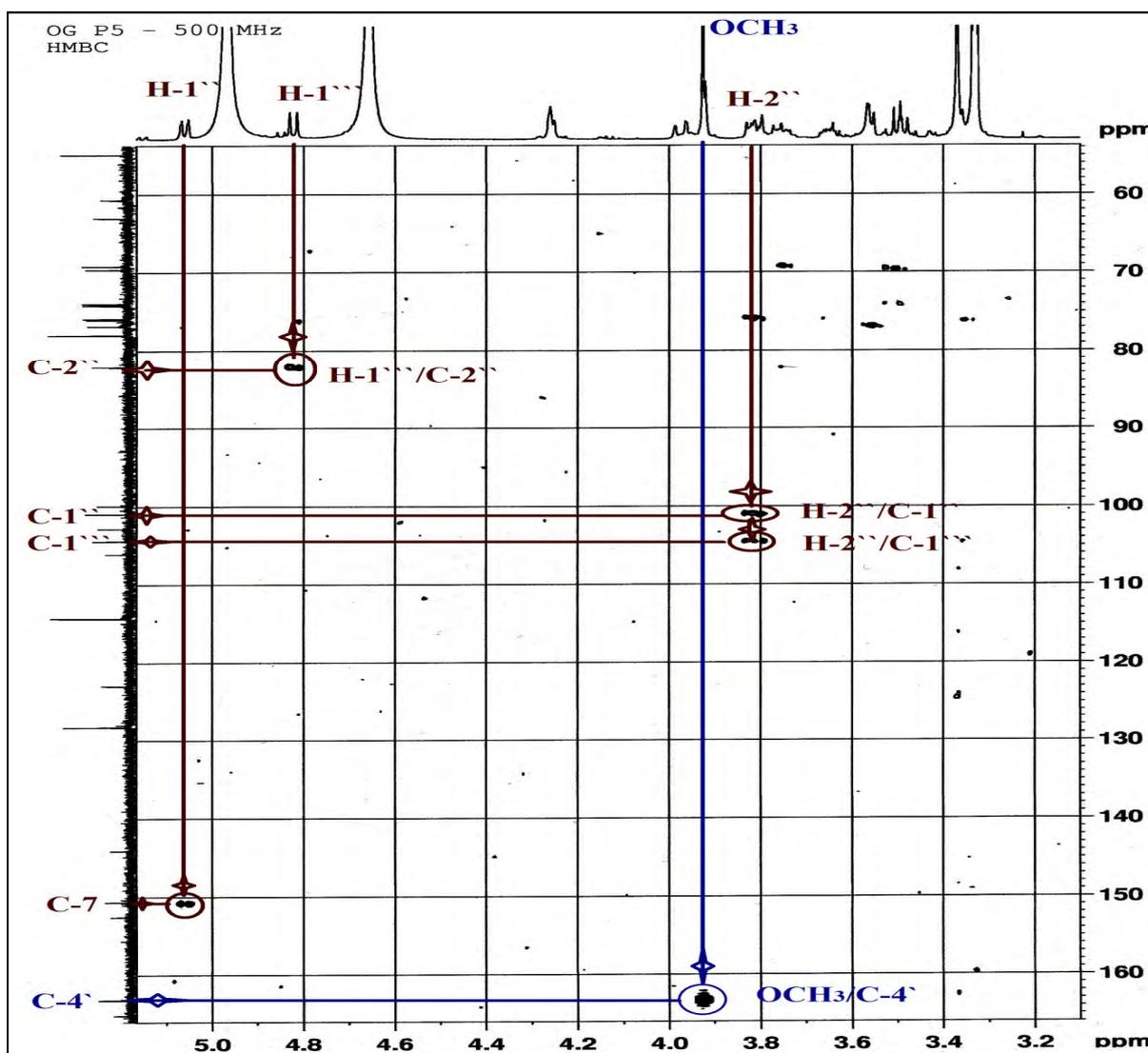


Figure 98: Spectre HMBC de la partie osidique du composé P₅.

Sur le même spectre, on observe une tache de corrélation entre les protons du méthyle ($\delta_H = 2,00$ ppm) et un carbone d'un carbonyle d'une fonction ester ($\delta_C = 172,1$ ppm) formant un groupement acétyle, ce carbonyle corrèle également avec les protons H-6'' du glucose terminal, cela indique que le glucose terminal est estérifié en position 6'' (figures 99, 100) [312].

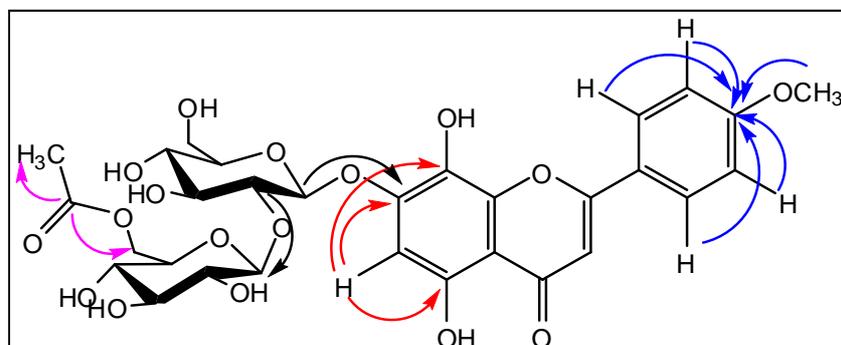


Figure 99: Importantes corrélations HMBC (H-C) du composé **P₅**.

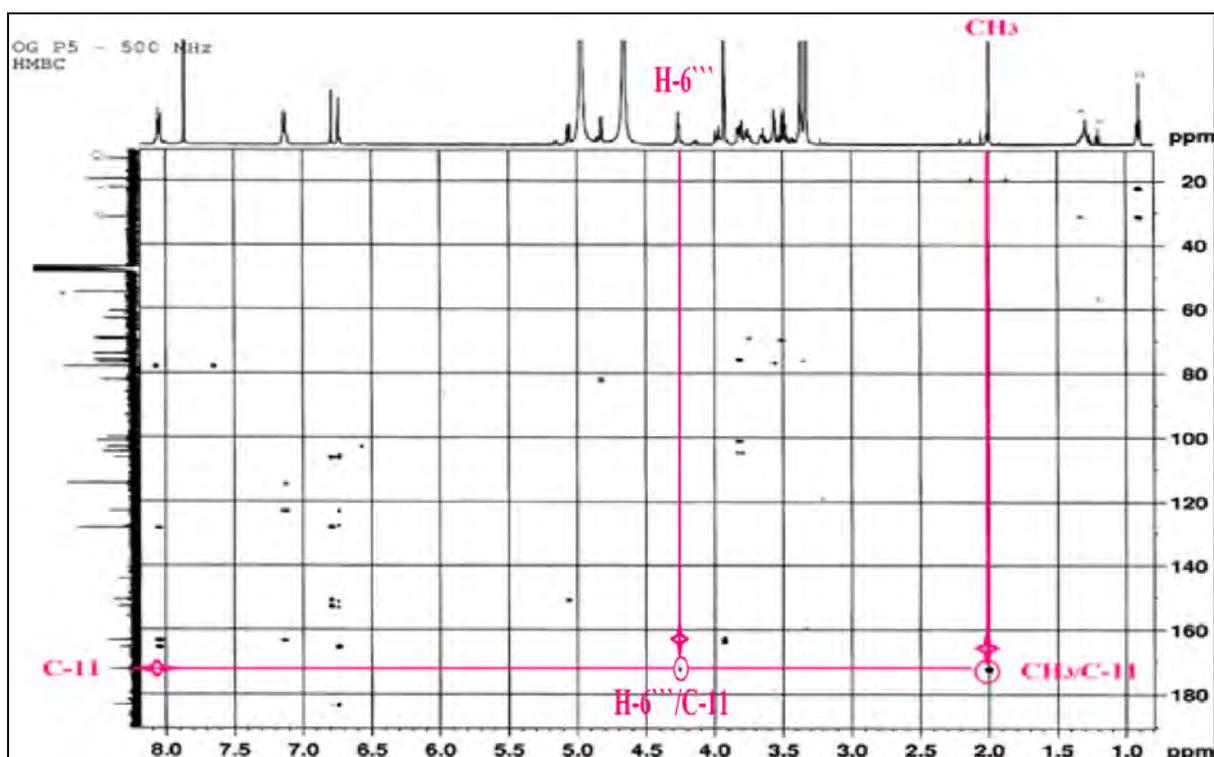


Figure 100: Spectre HMBC du composé **P₅**.

Le spectre NOESY (figure 101) confirme la fixation de la partie osidique en position 7 par la tache de corrélation entre le proton H-6 et le proton anomérique du premier glucose ainsi que la fixation du méthoxyle en position 4' par la corrélation entre le méthoxyle et les protons 3' et 5'.

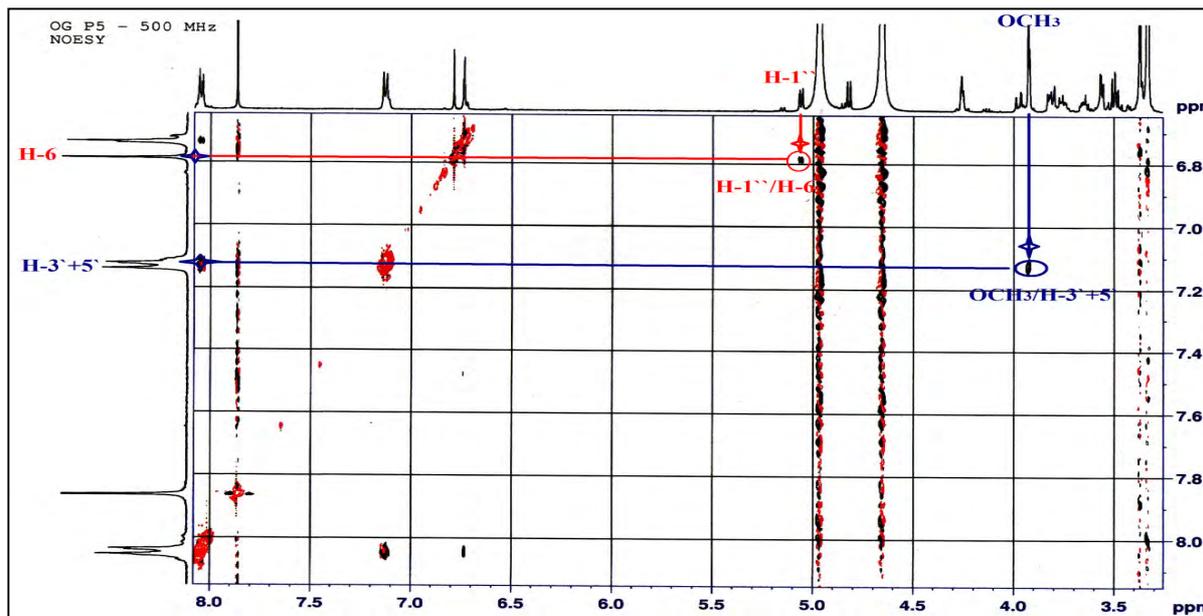


Figure 101: Spectre NOESY du composé P₅.

Le spectre ¹³C montre l'attribution de tous les carbones du composé P₅ (figure 102)

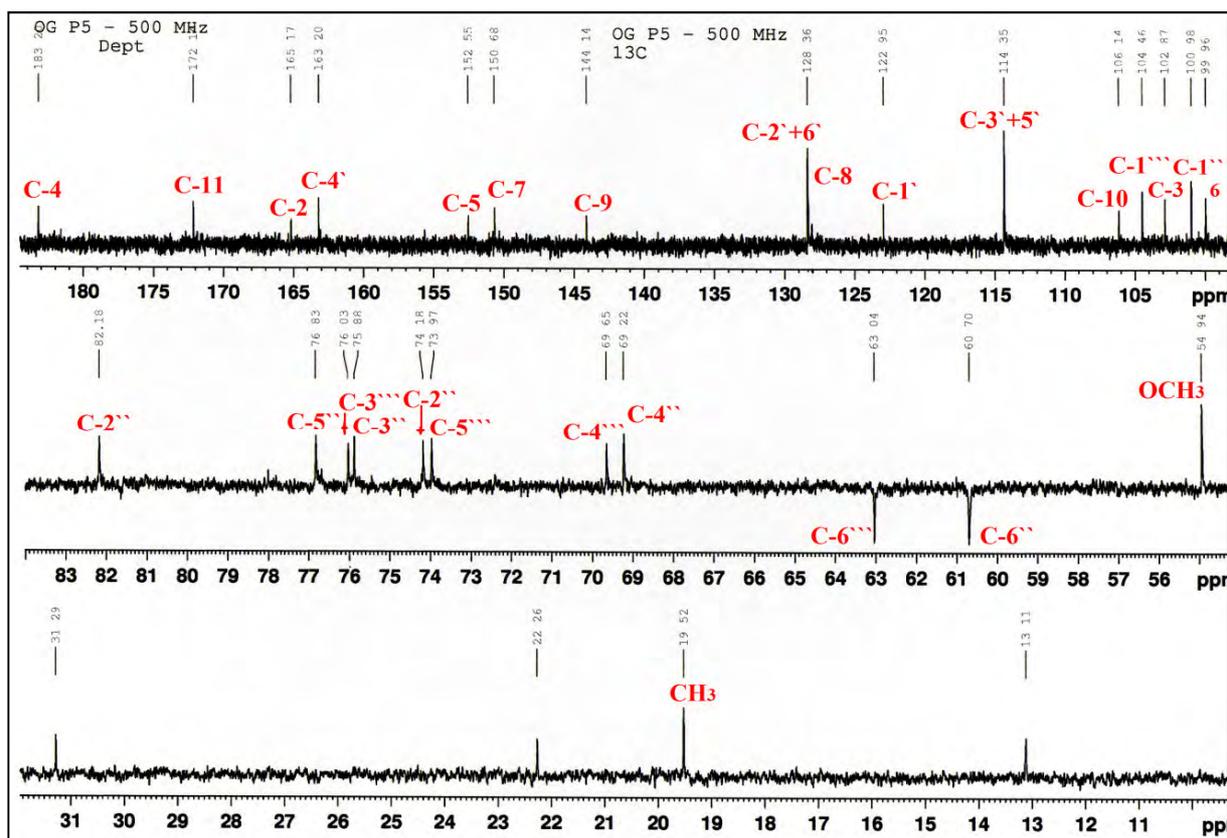


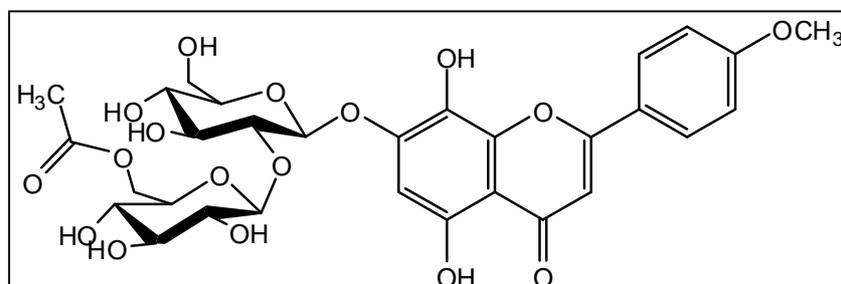
Figure 102: Spectre RMN ¹³C du composé P₅ (CD₃OD, 125 MHz).

Les valeurs des déplacements chimiques des protons et des carbones sont dressées dans le tableau 35.

Tableau 35: Déplacements chimiques en RMN ^1H (500 MHz) et RMN ^{13}C (125 MHz) du composé **P₅** dans CD₃OD.

N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)	N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)
2	165,2	-	CH ₃	19,5	2,00, s
3	102,9	6,73, s	OCH ₃	54,9	3,92, s
4	183,2	-	Glucose en 7		
5	152,6	-	1 ^{''}	101,0	5,06, d (7,5)
6	100,0	6,78, s	2 ^{''}	82,2	3,83, t (8,0)
7	150,7	-	3 ^{''}	75,9	3,76, t (8,5)
8	128,1	-	4 ^{''}	69,2	3,55, t (9,2)
9	144,1	-	5 ^{''}	76,8	3,57, m
10	106,1	-	6 ^{''}	60,7	a : 3,98 b : 3,80
11	172,1	-	Glucose en 2 ^{''}		
1'	123,0	-	1 ^{'''}	104,5	4,83, d (7,9)
2'	128,4	8,04, d (8,8)	2 ^{'''}	74,2	3,38, t (7,7)
3'	114,4	7,12, d (8,8)	3 ^{'''}	76,0	3,51, t (8,6)
4'	163,2	-	4 ^{'''}	69,7	3,49, t (9,1)
5'	114,4	7,12, d (8,8)	5 ^{'''}	74,0	3,65, m
6'	128,4	8,04, d (8,8)	6 ^{'''}	63,0	4,26, m

Toutes ces données nous permettent de proposer pour le composé **P₅**, la nouvelle structure de:
4'-O-Methylisoscutellarein-7-O-(6'''-O-acétyl- β -D-glucosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucoside



4'-O-Methylisoscutellarein-7-O-[6'''-O-acétyl- β -D-glucosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucoside] (**P₅**).

1.6. Le composé **P₆**

Le spectre de masse haute résolution HR-ESI-MS (figure 103) montre une masse égale à 651,1566 correspondant à $[\text{M}-\text{H}]^+$ donnant la formule brute C₂₉H₃₂O₁₇.

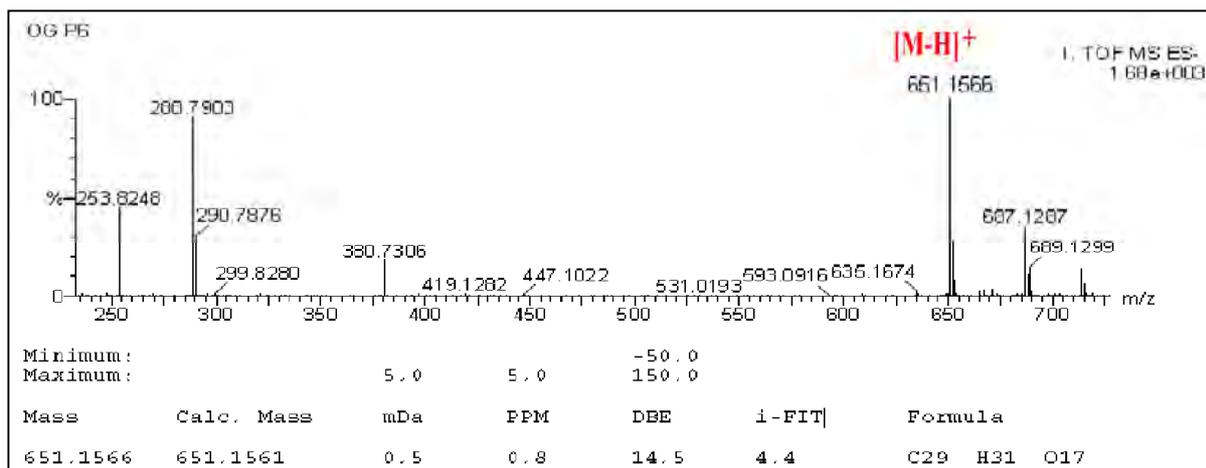


Figure 103: Spectre de masse HR-MS-ESI du composé **P₆**.

Une grande similitude est observée entre les spectres RMN ^1H (figures 104, 105) et ^{13}C (figure 106) du composé **P₆** et ceux du composé **P₅**. On retrouve tous les signaux caractéristiques du composé **P₅** : les deux doublets des (H-3'+5') et (H-2'+6') à $\delta_{\text{H}} = 7,12$ ppm ($J = 8,8$ Hz) et $\delta_{\text{H}} = 8,04$ ppm ($J = 8,8$ Hz) respectivement, le singulet d'intégration 1H attribuable à H-6 résonnant à $\delta_{\text{H}} = 6,78$ ppm et le singulet d'intégration 1H du proton H-3 à $\delta_{\text{H}} = 6,73$ ppm. Le spectre RMN montre également les signaux des protons des deux glucoses.

La différence réside en la disparition du méthoxyle sur le spectre du composé **P₆** qui est apparu dans les spectres du composé **P₅** à $\delta_{\text{H}} = 3,9$ ppm, $\delta_{\text{C}} = 55,0$ ppm et attaché en position 4' du cycle B, cela indique que le cycle B du composé **P₆** est substitué en position 4' par un OH.

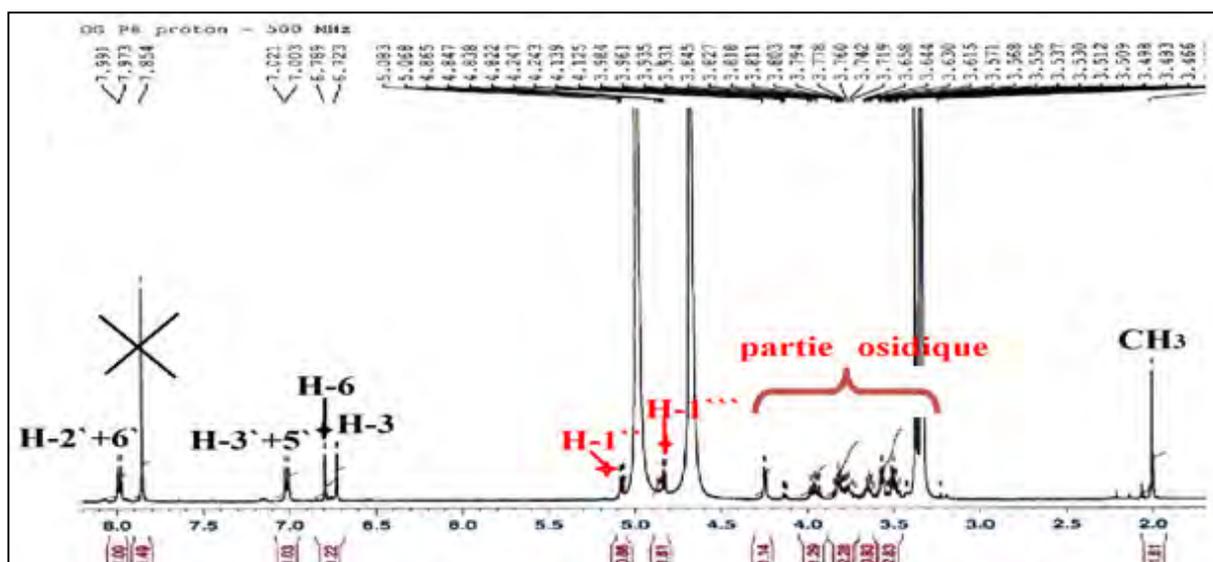


Figure 104: Spectre RMN ^1H du composé **P₆** (CD_3OD , 500 MHz).

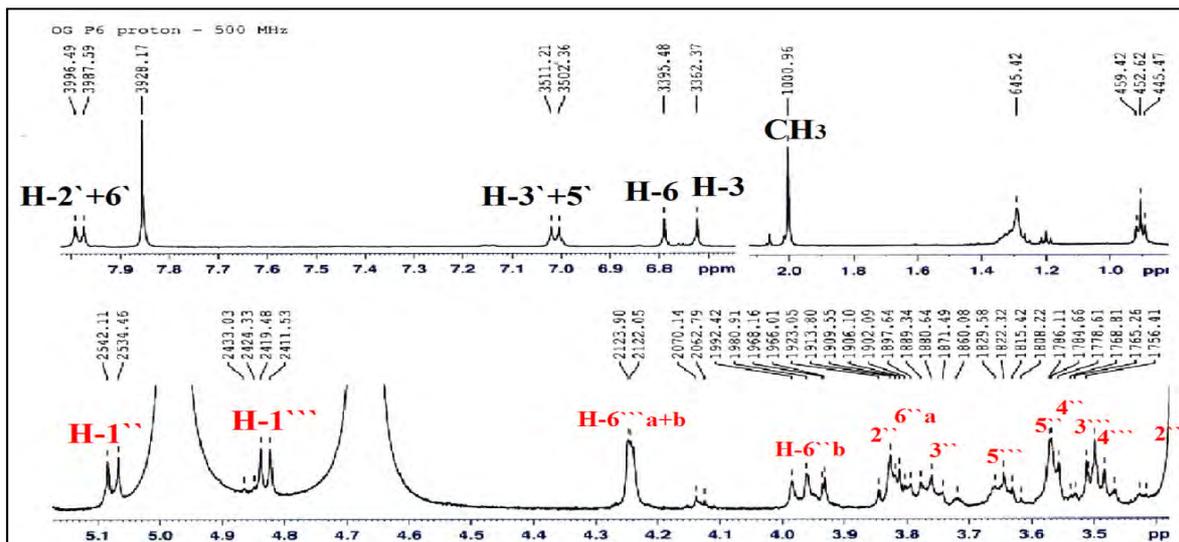


Figure 105: Spectre RMN ¹H étalé du composé P₆ (CD₃OD, 500 MHz).

Le spectre ¹³C montre l'emplacement de tous les carbones du composé P₆ (figure 106)

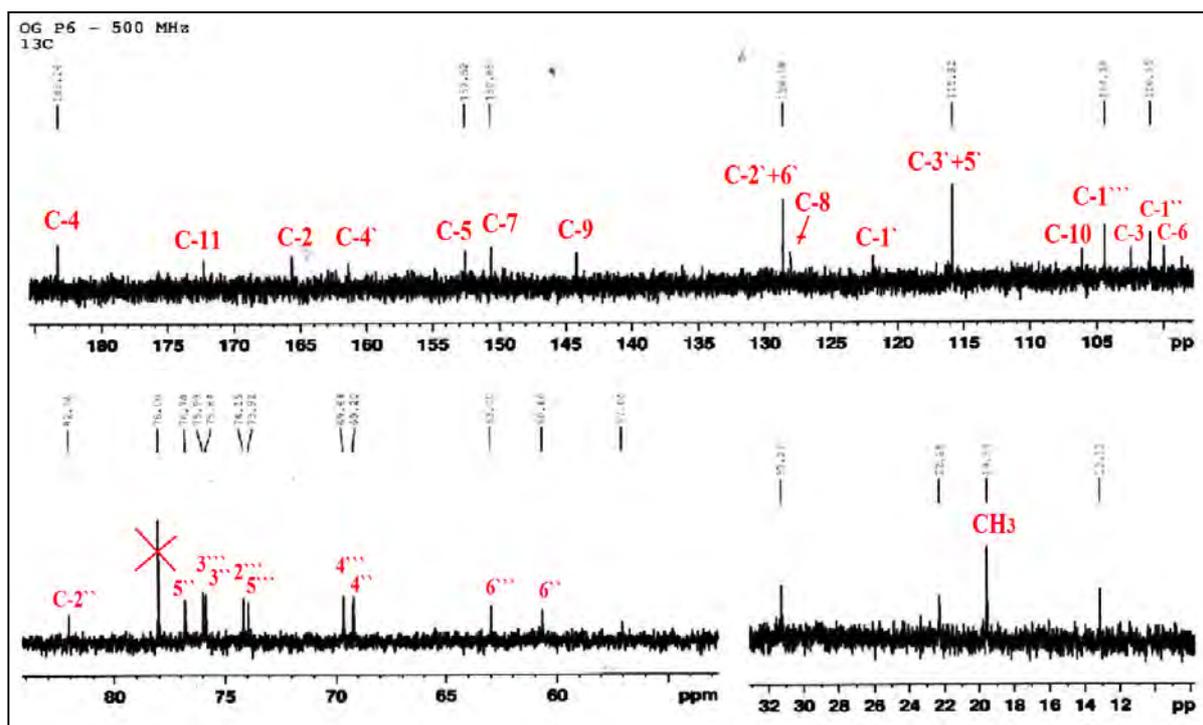
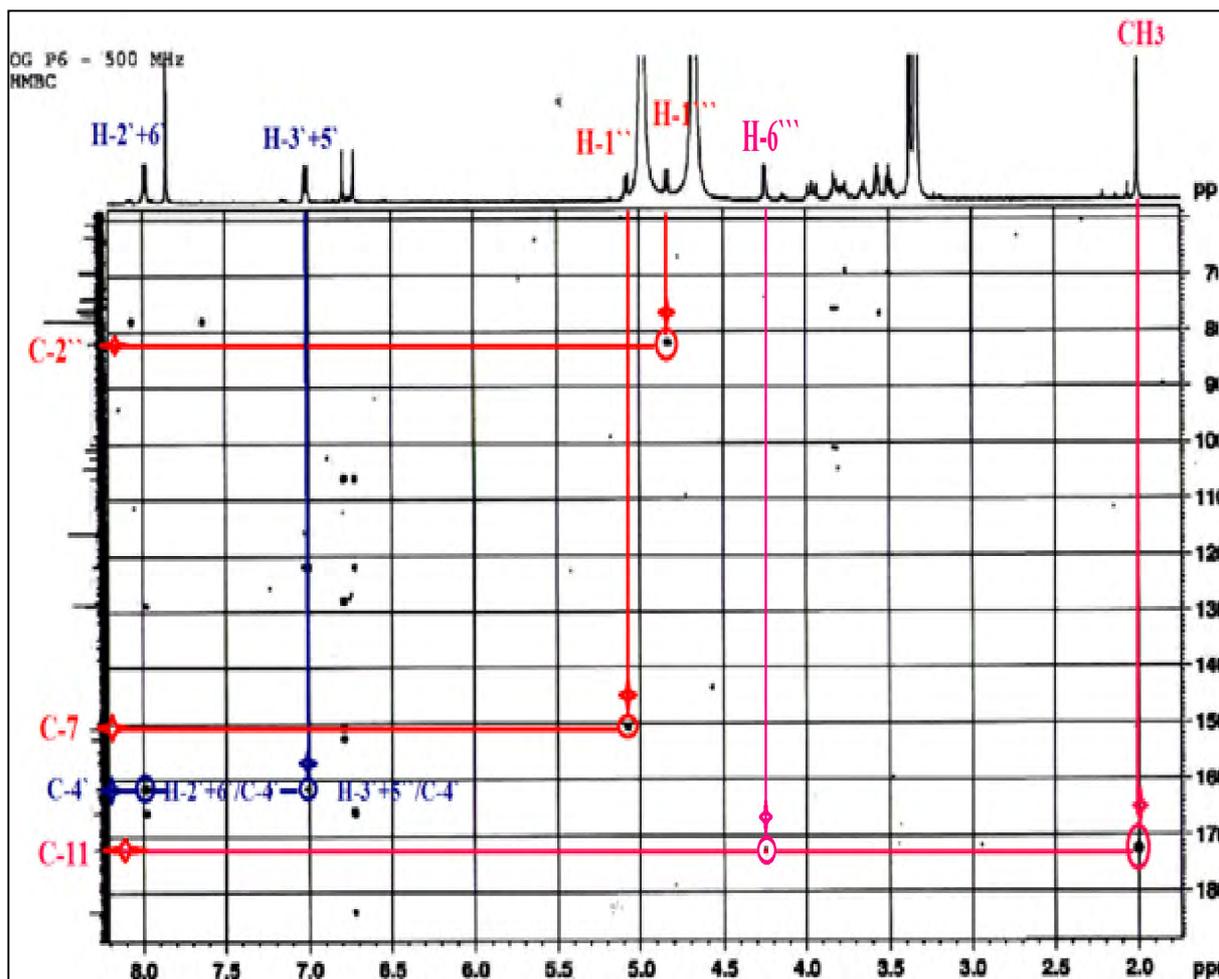


Figure 106: Spectre RMN ¹³C du composé P₆ (CD₃OD, 125 MHz).

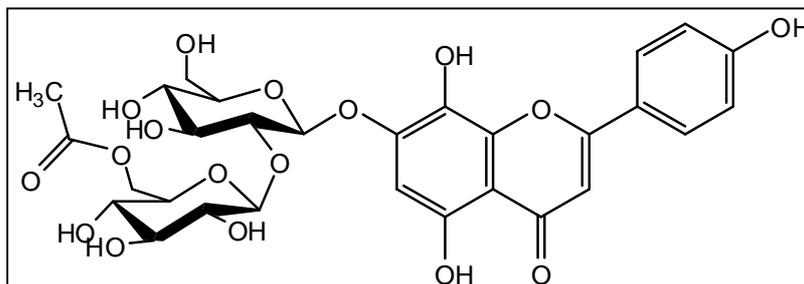
Cette hypothèse est confirmé sur le spectre HMBC (figure 107) qui montre deux taches de corrélation entre les protons H-2'+6', H-3'+5' et le carbone C-4'.

Le reste de la partie génine ainsi que la partie osidique est identique point par point au composé P₅.

Figure 107: Spectre HMBC du composé P₆.Tableau 36: Déplacements chimiques en RMN ¹H (500 MHz) et RMN ¹³C (125 MHz) du composé P₆ dans CD₃OD.

N°	δ _C	δ _H (m, J Hz)	N°	δ _C	δ _H (m, J Hz)
2	165,3	-	CH ₃	19,5	2,00, s
3	102,5	6,73, s	Glucose en 7		
4	183,2	-	1''	101,0	5,08, d (7,5)
5	152,5	-	2''	82,1	3,86, t (8,0)
6	100,0	6,78, s	3''	75,8	3,78, t (8,5)
7	150,7	-	4''	69,1	3,56, t (8,5)
8	128,0	-	5''	76,7	3,58, m
9	144,2	-	6''	60,7	a : 3,98 b : 3,80
10	106,1	-	Glucose en 2''		
11	172,2	-	1'''	104,4	4,84, d (7,9)
1'	121,9	-	2'''	74,2	3,38, t (7,7)
2'	128,6	8,04, d (8,8)	3'''	76,0	3,52, t (8,6)
3'	115,6	7,12, d (8,8)	4'''	69,5	3,49, t (9,1)
4'	161,3	-	5'''	73,9	3,67, m
5'	115,6	7,12, d (8,8)	6'''	63,1	4,26, m
6'	128,6	8,04, d (8,8)			

Toutes ces données nous permettent de proposer pour le composé **P₆**, la nouvelle structure de: **Isoscutellarein-7-O-(6'''-O-acétyl-β-D-glucosyl-(1→2)-β-D-glucoside)**.



Isoscutellarein-7-O-[6'''-O-acétyl-β-D-glucosyl-(1→2)-β-D-glucoside] (**P₆**).

1.7. Le composé **P₇**

L'examen des spectres RMN ¹H (figures 108, 109) et ¹³C (figure 110) du composé **P₇** montre les mêmes signaux présentés dans les spectres du composé **P₅** sauf le méthyle à δ_H = 2,00 ppm sur le spectre du proton et le carbone du carbonyle sur le spectre du carbone à δ_C = 172,1 ppm, cela indique que le glucose terminal n'est pas estérifié. Soit : le singulet d'intégration 3-H attribuable au méthoxy à δ_H = 3,88 ppm, le singulet d'intégration 1H à δ_H = 6,92 ppm attribuable au proton H-3, les 2 doublets de H-2'+6' et H-3'+5' à δ_H = 8,11 ppm et δ_H = 7,17 ppm (*J* = 9,0 Hz) respectivement d'intégration 2H chacun, le singulet d'intégration 1H du proton H-6 à δ_H = 6,66 ppm. Le spectre RMN montre également les signaux des protons des deux glucoses.

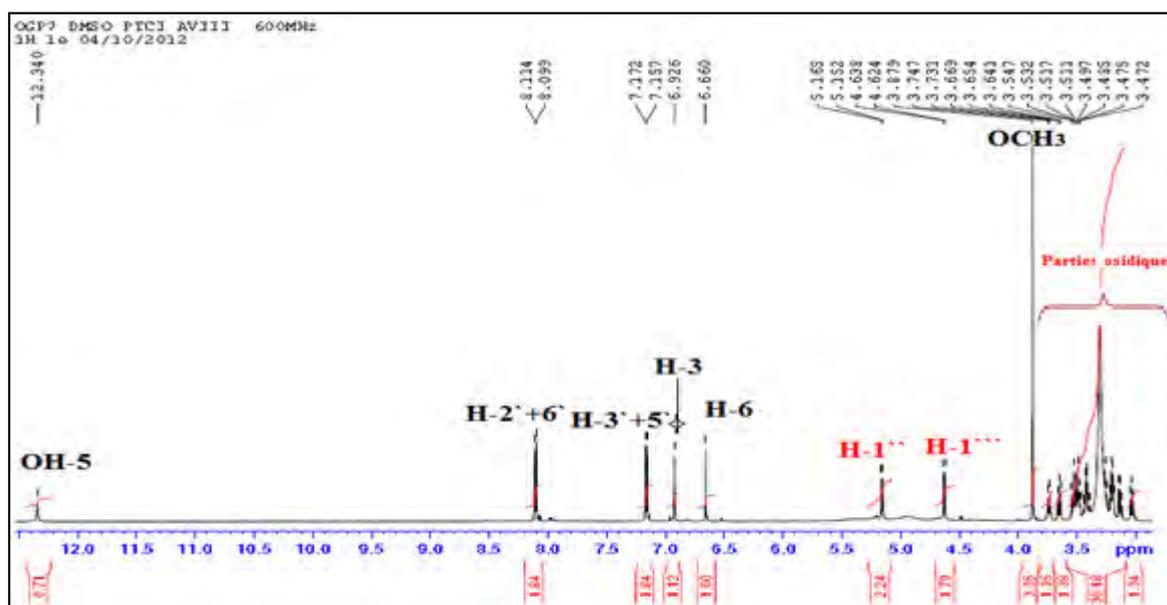


Figure 108: Spectre RMN ¹H du composé **P₇** (DMSO, 600 MHz).

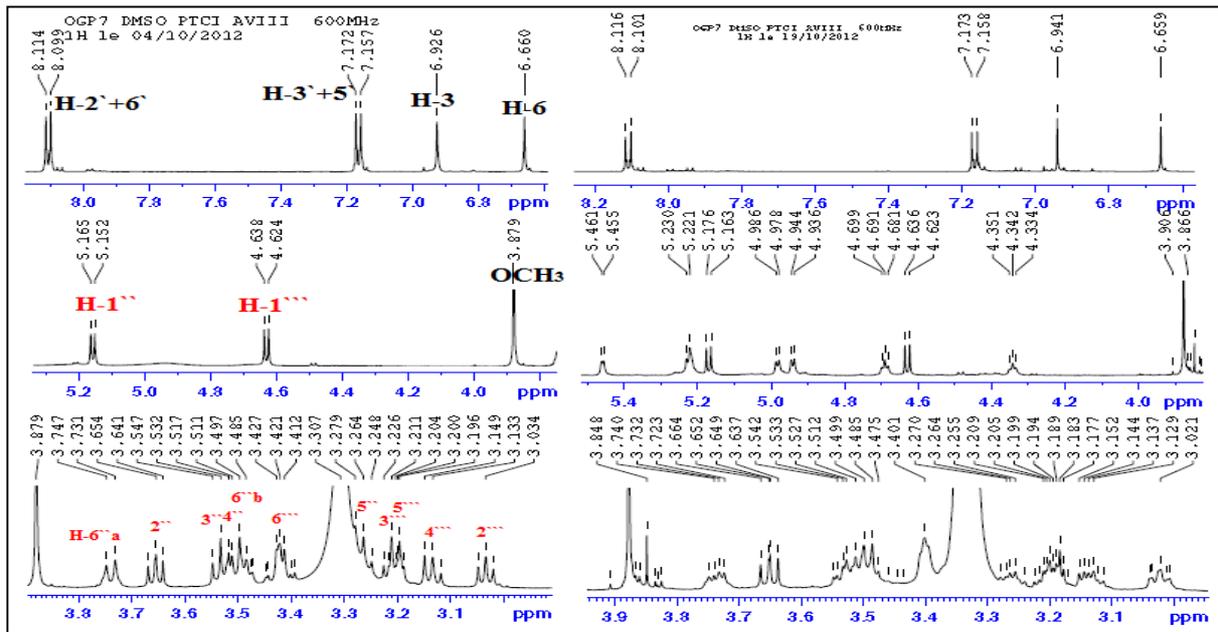


Figure 109: Spectre RMN ¹H étalé du composé P₇ (DMSO, 600 MHz).

Le spectre ¹³C montre les déplacements chimiques de tous les carbones de composé P₇ (figure 110) :

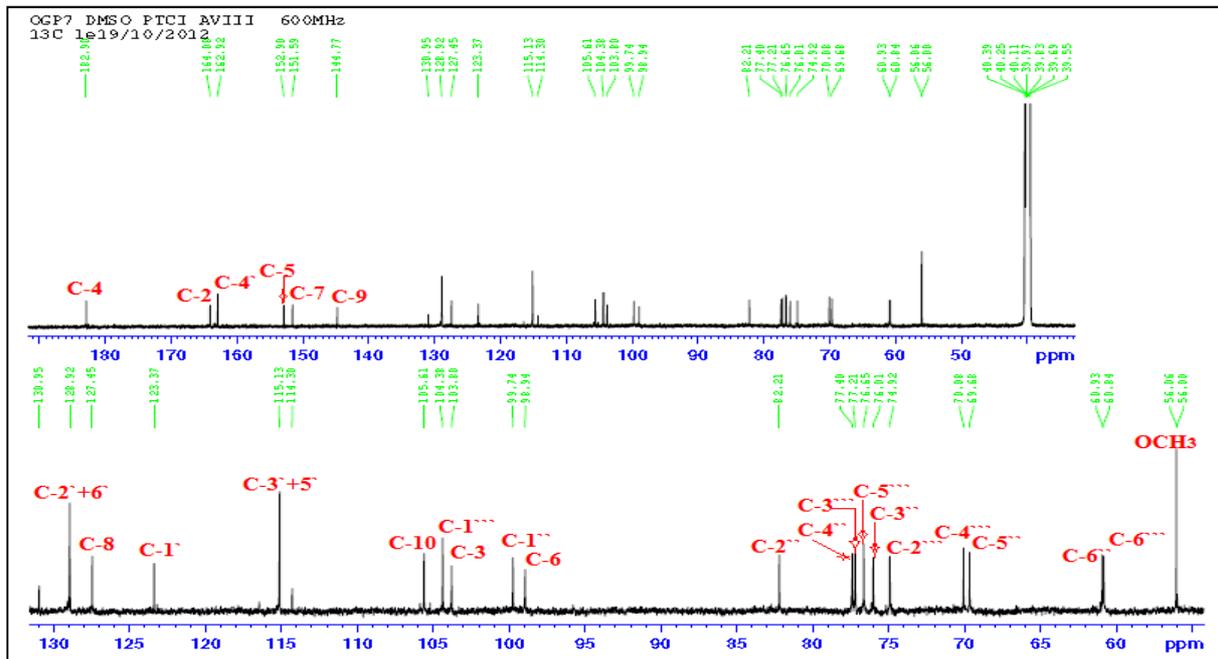


Figure 110: Spectre ¹³C du composé P₇ (DMSO, 150 MHz).

Comme le spectre est enregistré dans le DMSO on remarque les signaux correspondants des OH des sucres qui couplent entre eux sur les spectres COSY et HMBC après 15 jours du premier enregistrement.

L'attribution complète des signaux a été réalisée par l'analyse des corrélations homonucléaires COSY (figure 111), hétéronucléaires HSQC (figures 112, 113), et HMBC (figures 114, 115).

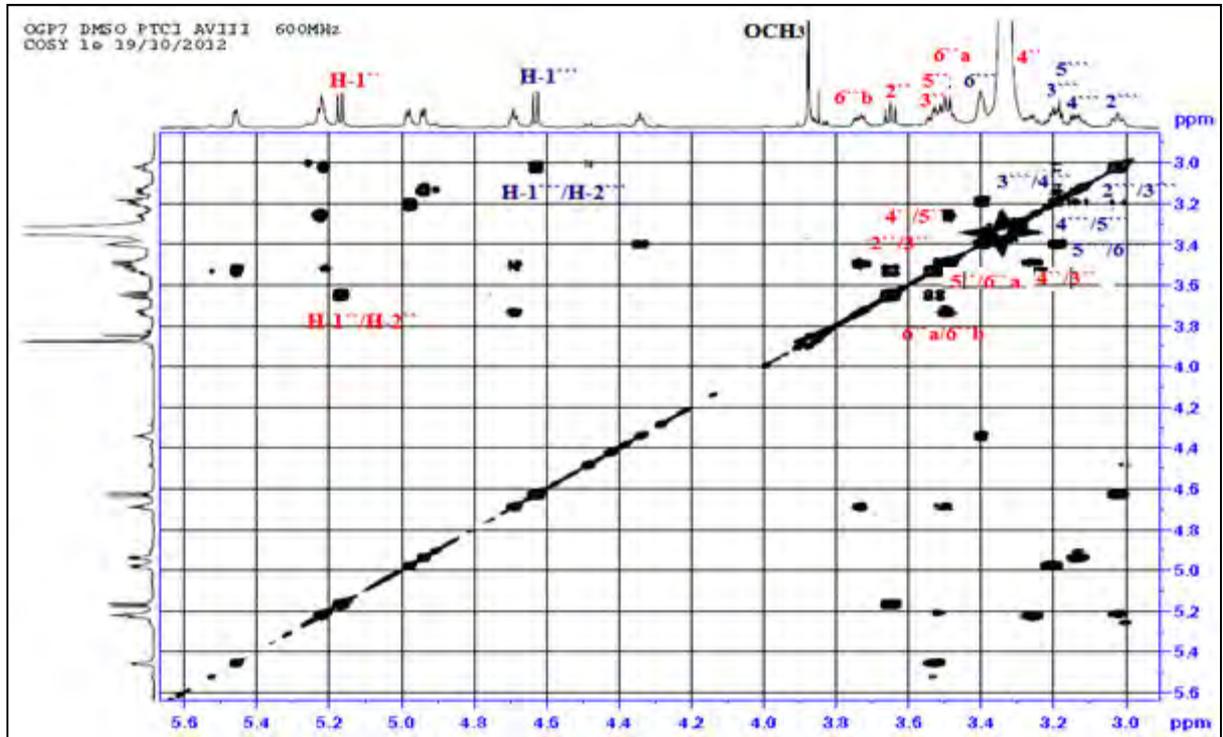


Figure 111: Spectre COSY du composé P7.

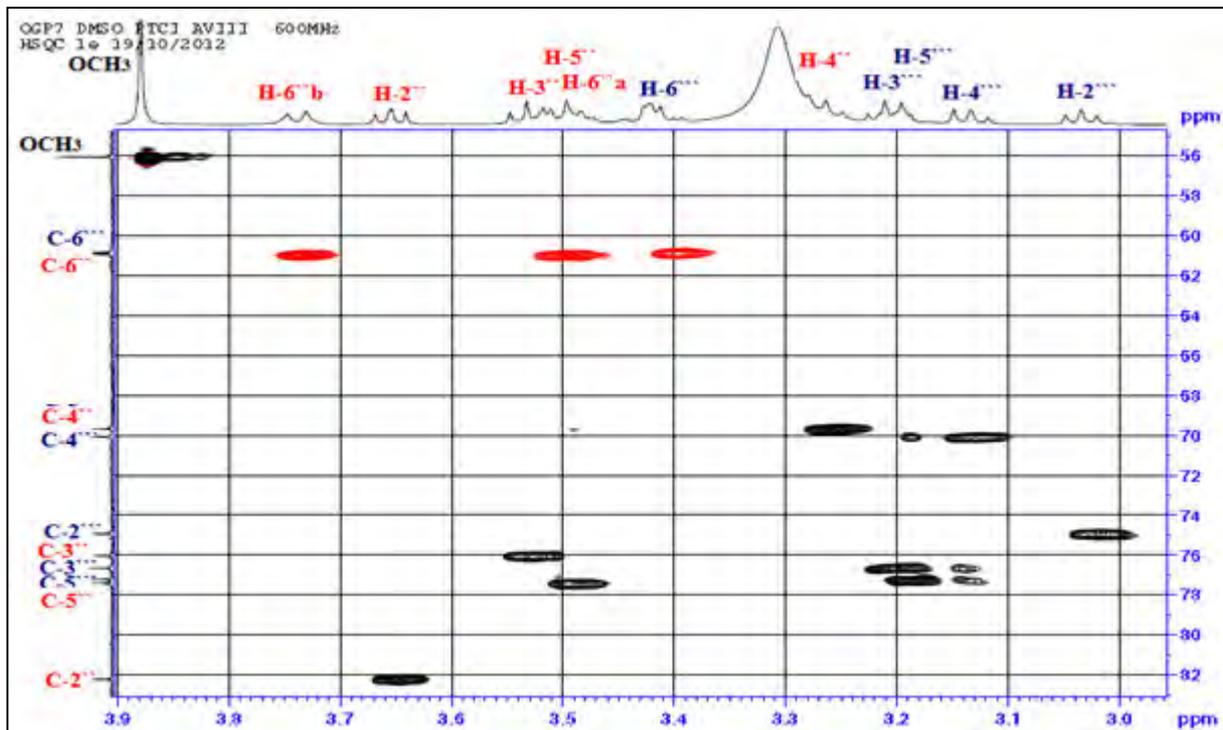


Figure 112: Spectre HSQC de partie osidique du composé du P7.

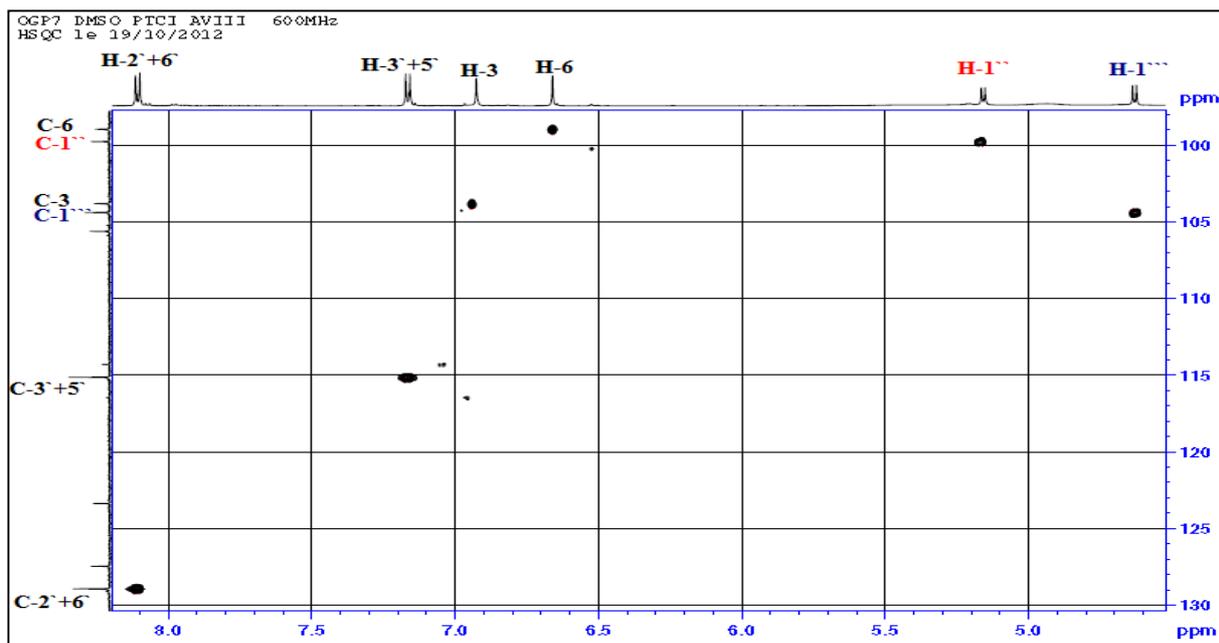


Figure 113: Spectre HSQC de la partie génine du composé P₇.

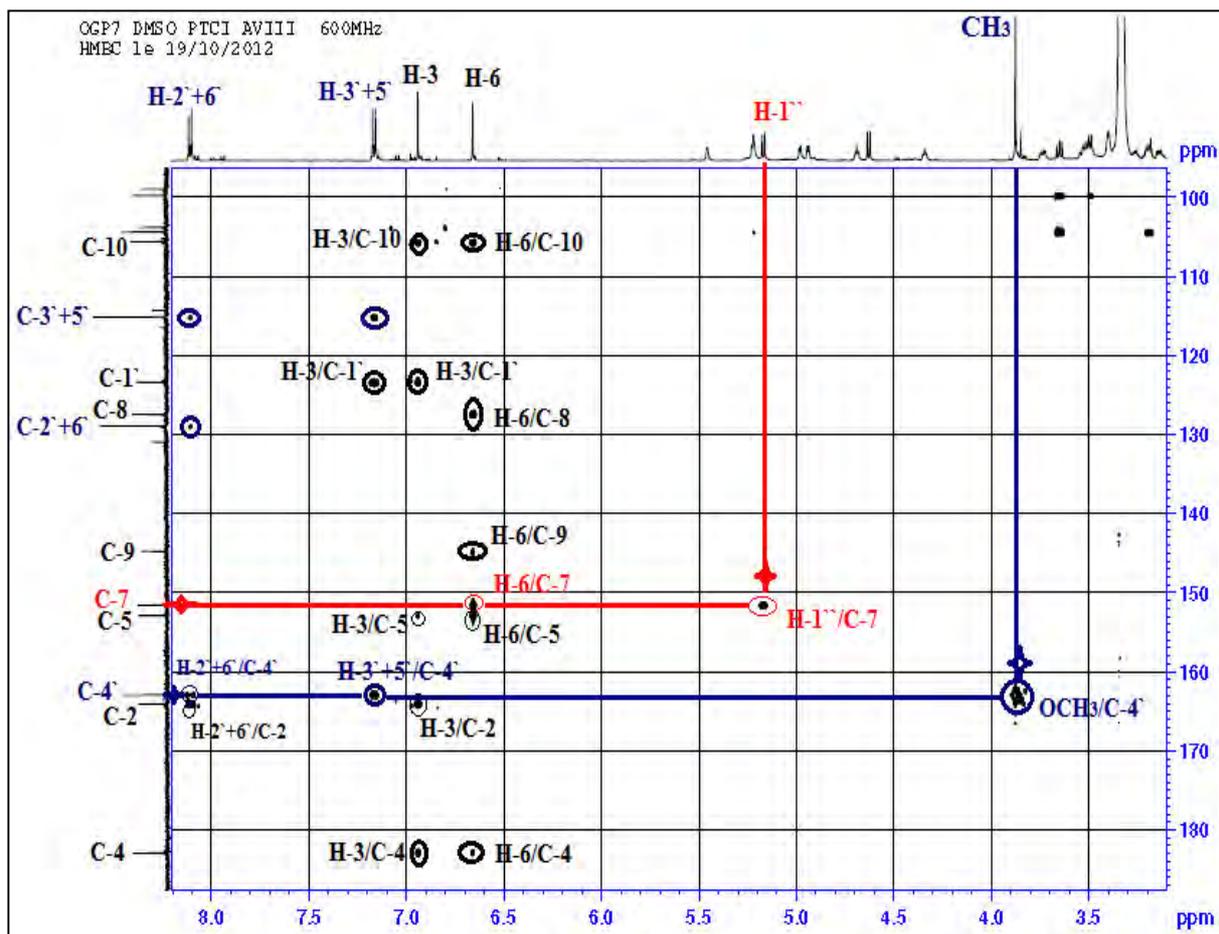


Figure 114: Spectre HMBC du composé P₇.

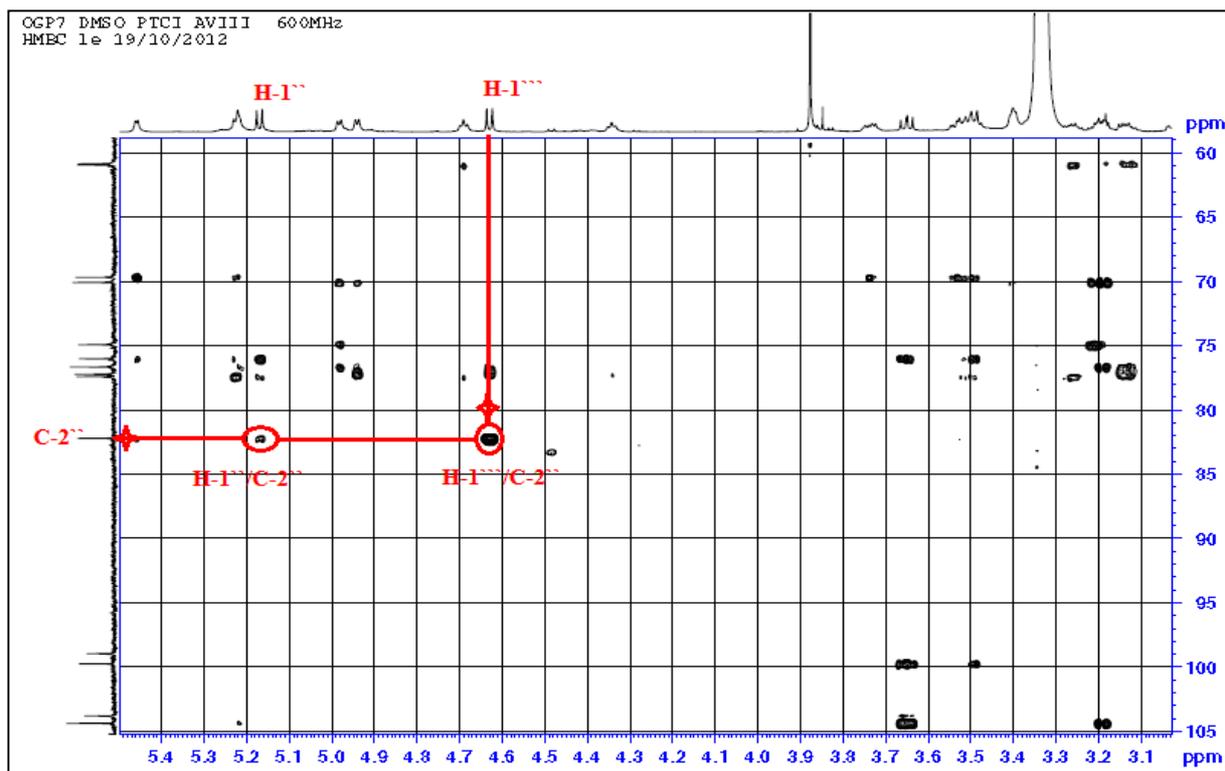
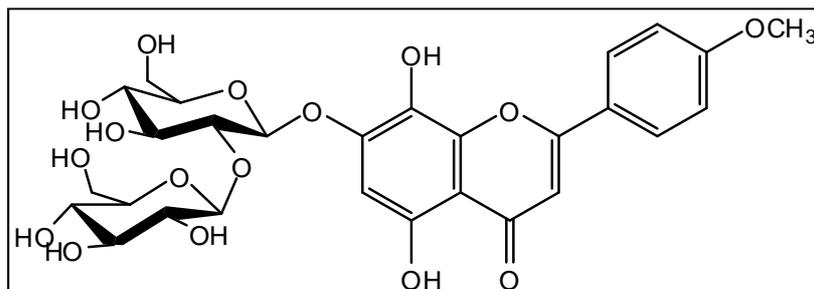


Figure 115: Spectre HMBC du composé **P₇**.

Tableau 37 : Déplacements chimiques en RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) du composé **P₇** dans DMSO

N°	δ _C	δ _H (m, J Hz)	N°	δ _C	δ _H (m, J Hz)
2	164,1	-	OCH ₃	56,1	3,88, s
3	103,8	6,92, s	Glucose en 7		
4	182,9	-	1''	99,7	5,16, d (7,8)
5	152,9	-	2''	82,2	3,65, t (7,8)
6	98,9	6,66, s	3''	76,0	3,53, t (9,0)
7	151,6	-	4''	69,7	3,25, m
8	127,5	-	5''	77,4	3,5, m
9	144,8	-	6''	60,9	a : 3,5 b : 3,74
10	105,6	-	Glucose en 2''		
1'	123,4	-	1'''	104,4	4,63, d (8,4)
2'	128,9	8,11, d (9,0)	2'''	74,9	3,03, t (7,8)
3'	115,1	7,17, d (9,0)	3'''	77,2	3,21, t (9,0)
4'	162,5	-	4'''	70,1	3,13, t (9,6)
5'	115,1	7,17, d (9,0)	5'''	76,7	3,19, m
6'	128,9	8,11, d (9,0)	6'''	60,8	3,42, m

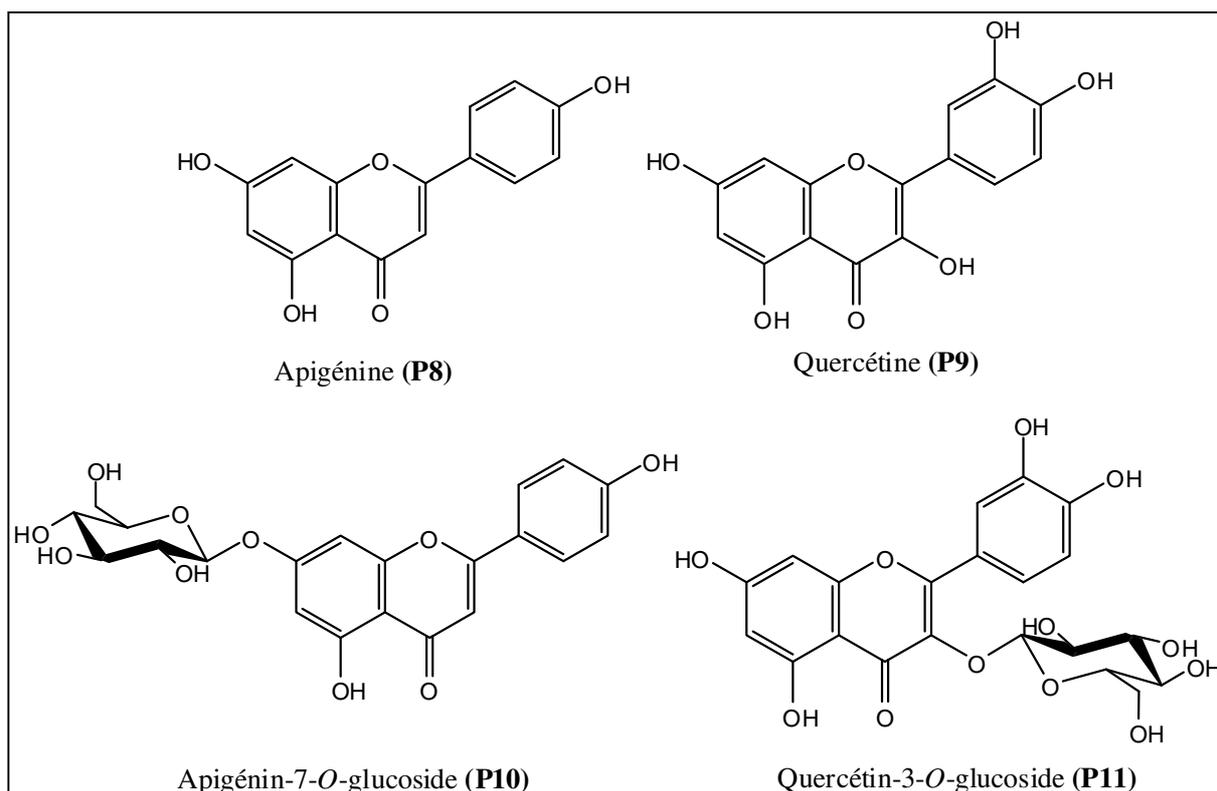
L'analyse de l'ensemble de ces données spectrales nous a permis de déduire une nouvelle structure pour le composé **P₇**, il s'agit de : **4'-O-Methylisoscutellarein-7-O-[-β-D-glucosyl-(1→2)-β-D-glucoside]**.



4'-*O*-Methylisoscuteellarein-7-*O*-[[β -D-glucosyl-(1 \rightarrow 2)]- β -D-glucoside] (**P7**).

1.8. Produits isolés de la première récolte de 2008

Les composés obtenus de la phase butanolique de la plante récoltée en 2008 ont également été identifiés de manière classique (série spectrale UV, en présence de réactifs spécifiques et RMN monodimensionnelle) [312] : **Apigénine (P8)**, **Quercétine (P9)**, **Apigénine 7-*O*-glucoside (P10)**, **Quercétine 3-*O*-glucoside (P11)**.



2. Détermination structurale des composés isolés de *Chrysanthemum deserticum* Batt. & Trab.

2.1. Composés de l'extrait chloroformique

2.1.a. Le composé C₁

L'étude du spectre RMN ¹³C (figure 116) du composé C₁ et les séquences DEPT montrent la présence de 15 atomes de carbones répartis comme suit :

- 4 groupements CH₂ hybridés sp³ dont un oxygéné ($\delta_C = 61,1$ ppm). on signale le CH₂ à $\delta_C = 29,7$ ppm qui ne peut être attribuable qu'aux graisses des solvants.
- 3 groupements CH dont deux éthyléniques résonnant à $\delta_C = 123,8$ ppm et $\delta_C = 118,4$ ppm.
- 5 groupements CH₃.
- 3 carbones quaternaires dont deux éthyléniques à $\delta_C = 142,1$ ppm et $\delta_C = 131,8$ ppm et un carbone de carbonyle à $\delta_C = 173,2$ ppm.

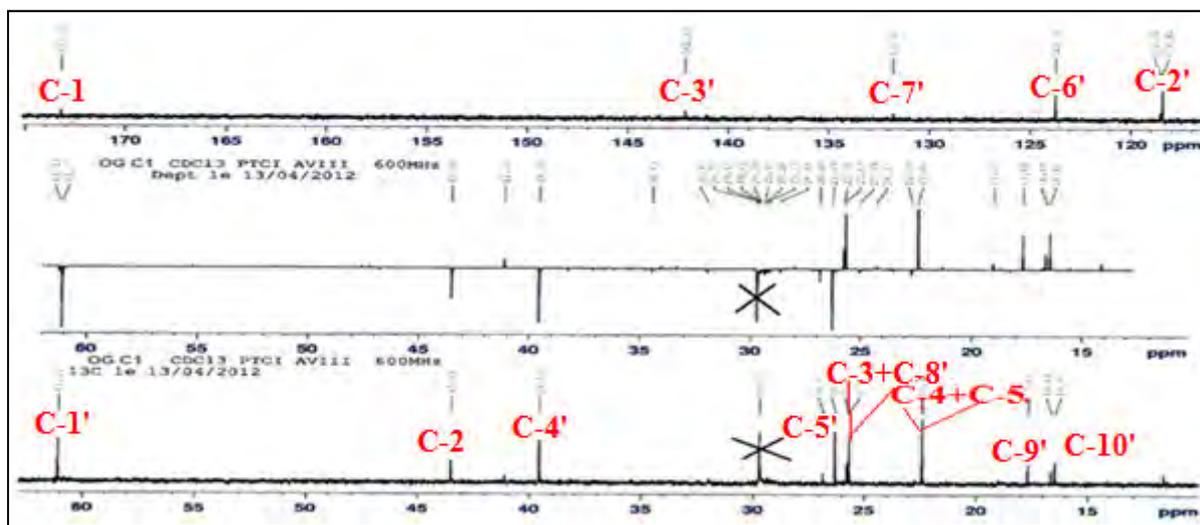


Figure 116: Spectres RMN ¹³C et DEPT du composé C₁ (CDCl₃, 150 MHz).

A ce stade, on peut évaluer le nombre d'atomes d'hydrogènes à 26, on remarque dans le spectre RMN ¹H (figure 117) :

- Deux multiplets à $\delta_H = 5,37$ ppm et $\delta_H = 5,10$ ppm attribuables respectivement aux CH éthyléniques.
- Trois doublets, un à $\delta_H = 4,61$ ppm ($J = 7,1$ Hz) attribuable à un CH₂ oxygénés, le deuxième à $\delta_H = 2,2$ ppm ($J = 7,1$ Hz) attribuable au CH₂ déblindé par un groupement

attracteur d'électron qui ne peut être que le carbonyle et le dernier à $\delta_H = 0,97$ ppm ($J = 6,7$ Hz) attribuable à deux méthyles.

- Deux multiplets à $\delta_H = 2,12$ ppm et $\delta_H = 2,07$ ppm qui ne peuvent être attribués qu'aux deux CH_2 voisins portés par les deux carbones quaternaires éthyléniques.
- 3 singulets attribuables aux méthyles dans l'intervalle des déplacements chimiques inférieur à 1,72 ppm déblindés par des liaisons éthyléniques ($\delta_H = 1,70$ ppm, $\delta_H = 1,72$ ppm et $\delta_H = 1,62$ ppm).

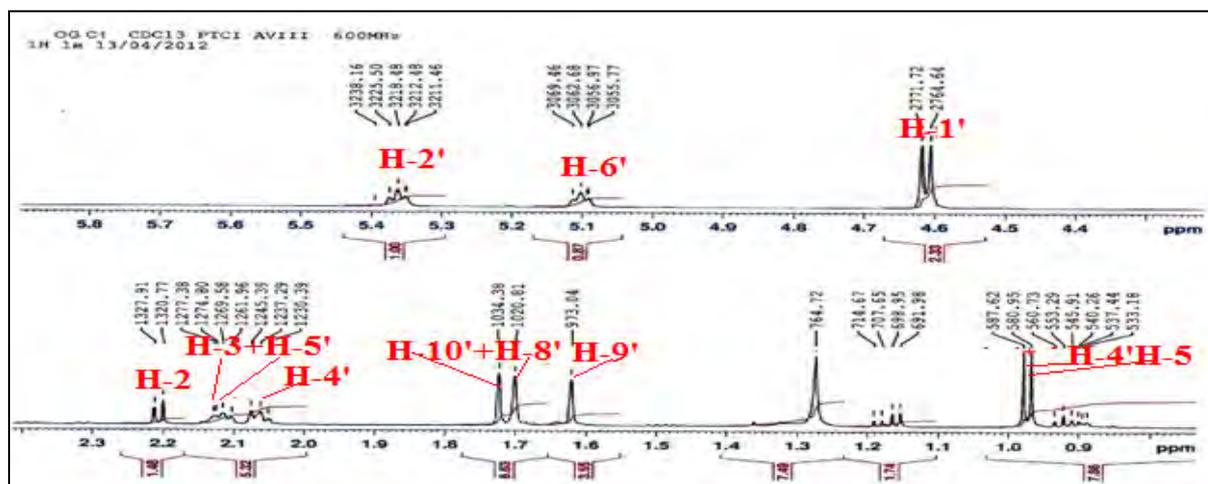
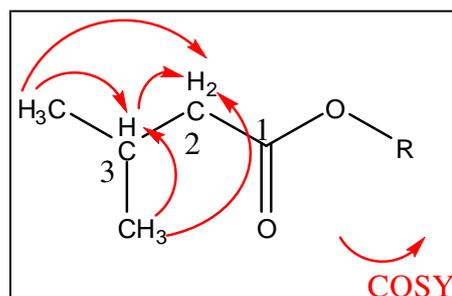


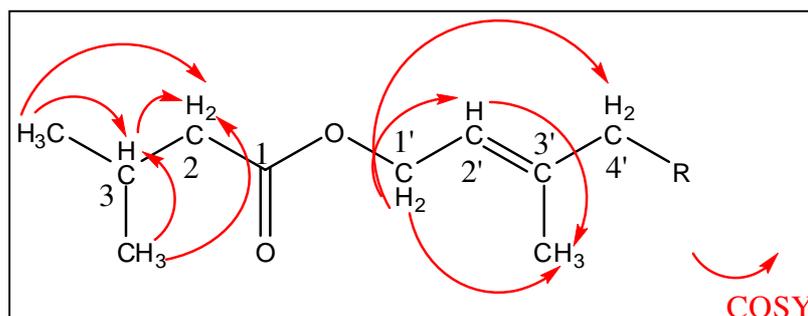
Figure 117: Spectre RMN 1H du composé C_1 ($CDCl_3$, 600 MHz).

Ces observations permettent de suggérer que l'atome d'oxygène signalé plus haut sur un groupement CH_2 ne peut être lié qu'au carbonyle formant un groupement ester, ce qui mène à la formule brute $C_{15}H_{26}O_2$.

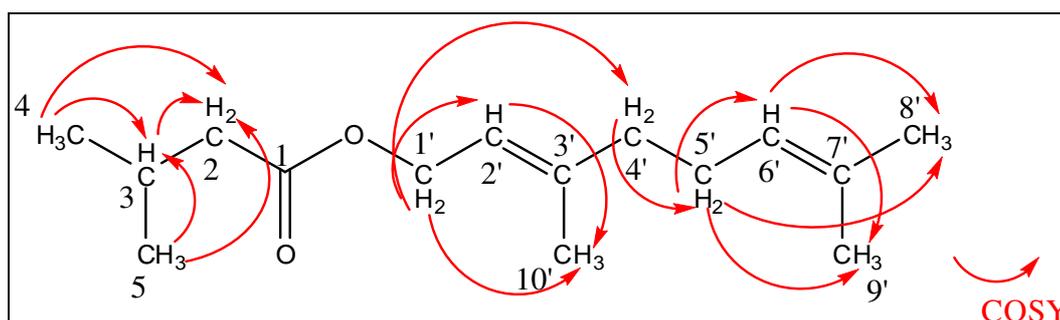
L'examen du spectre COSY (figure 118) montre que les deux méthyles résonnant à $\delta_H = 0,97$ ppm corrélient avec le proton du CH résonnant à $\delta_H = 2,1$ ppm ainsi qu'avec le CH_2 à $\delta_H = 2,2$ ppm qui est lié à la fonction ester, on remarque aussi une tache de corrélation entre les protons de ce CH et ce CH_2 ce qui suggère que ces deux atomes de carbones sont voisins. Toutes ces observations ont permis de suggérer la structure d'une partie de la molécule :



Ce même spectre montre des taches de corrélation entre les protons du CH₂ oxygéné ($\delta_H = 4,61$ ppm) et le proton du CH éthyléniques résonnant à $\delta_H = 5,37$ ppm, et les protons de ces deux carbones corrélerent avec les protons du CH₃ résonnant à $\delta_H = 1,72$ ppm, ce qui permet de placer ce groupement méthyle sur la double liaison. On remarque aussi une corrélation entre les protons du CH₂ oxygéné et les protons d'un autre CH₂ non oxygéné résonnant à $\delta_H = 2,07$ ppm suggérant l'existence d'une unité isoprène :



Par ailleurs, ce spectre COSY montre une corrélation entre les protons d'un autre CH₂ non oxygéné ($\delta_H = 2,12$ ppm) et un autre CH éthylénique ($\delta_H = 5,1$ ppm), ces protons montrent des corrélations avec deux groupements méthyles résonnant à $\delta_H = 1,7$ ppm et $\delta_H = 1,62$ ppm ce qui permet de les placer sur la double liaison, suggérant la présence d'une autre unité isoprène. On observe aussi une tache de corrélation entre les protons de ce CH₂ non oxygéné ($\delta_H = 2,12$ ppm) et ceux de l'autre CH₂ non oxygéné ($\delta_H = 2,07$ ppm), indiquant la liaison des deux unités isoprènes, d'où la structure :



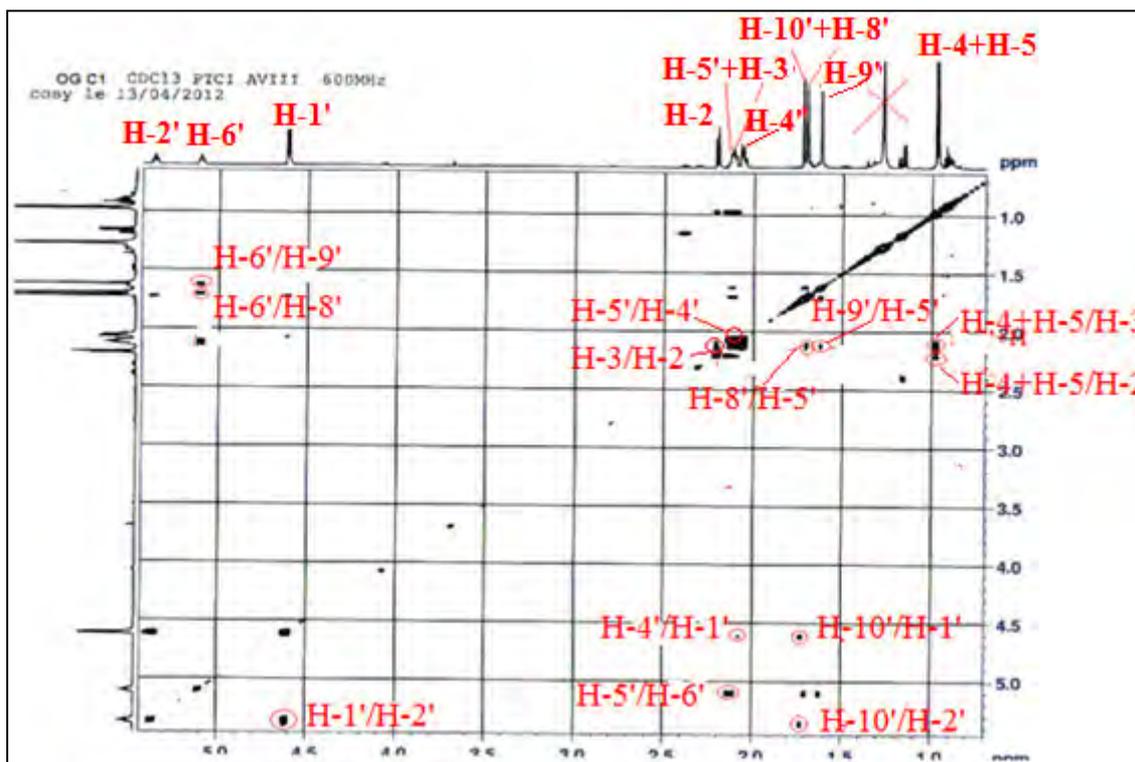
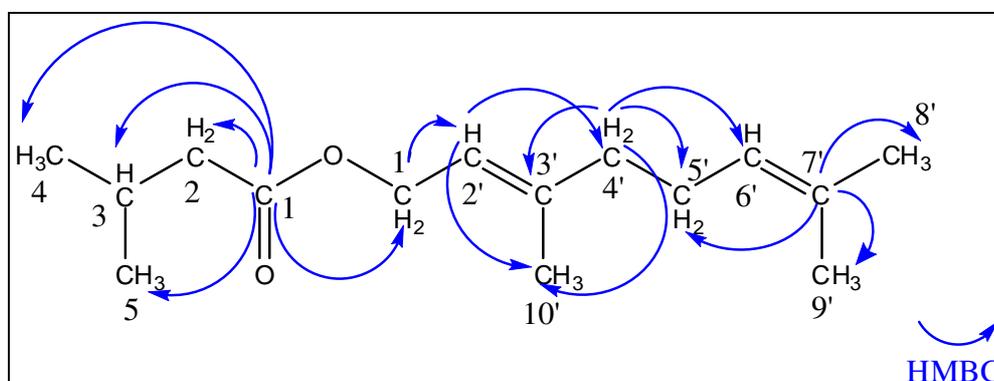


Figure 118: Spectre COSY du composé C_1 .

L'examen du spectre HMBC (figure 119, 120) confirme toutes ces suggestions, on observe :

- Des taches de corrélations entre le carbonyle de la fonction ester (C-1) et les protons: H-2, H-3, H-4 et H-5.
- Une corrélation entre le carbone H-1' et le proton éthylénique 2' qui montre ainsi des corrélations avec le méthyle H-10' et le carbone C-4', les protons de ce dernier carbone corrélerent avec le méthyle H-10', le carbone C-5', le carbone éthylénique C-6' et le quaternaire C-3'.
- Le quaternaire C-7' montre des corrélations avec les protons H-5' et les deux méthyles H-8' et H-9'.



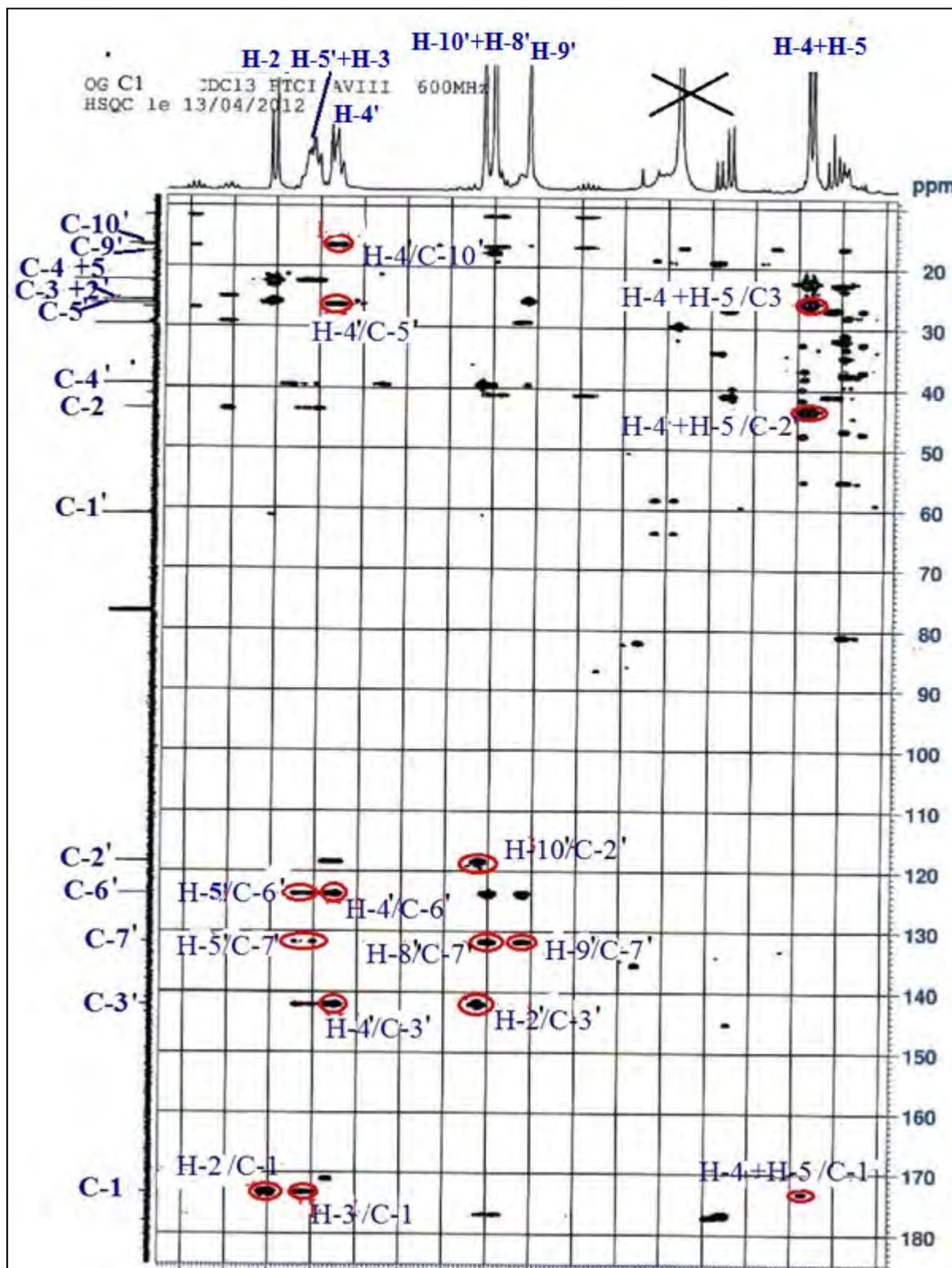
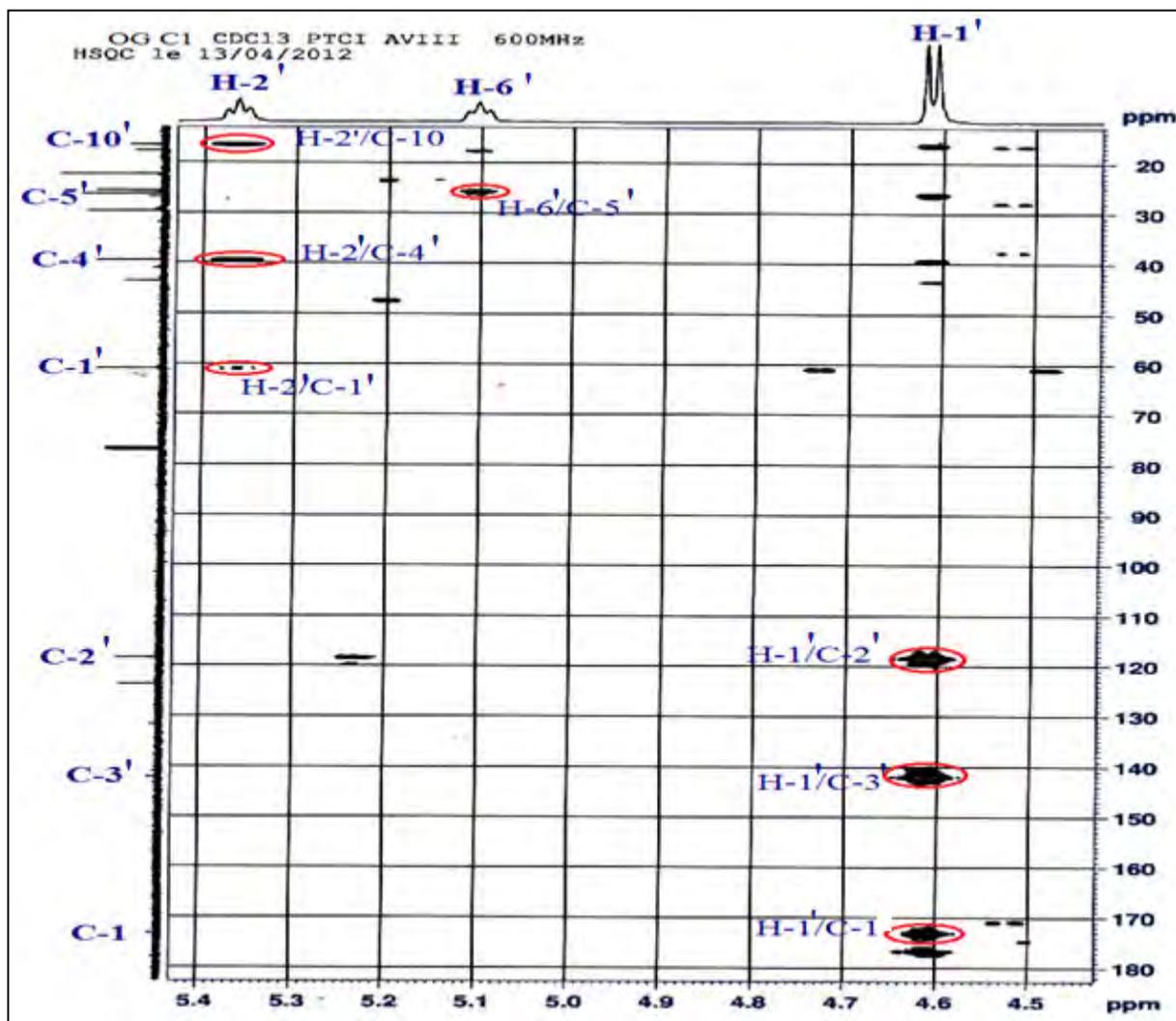
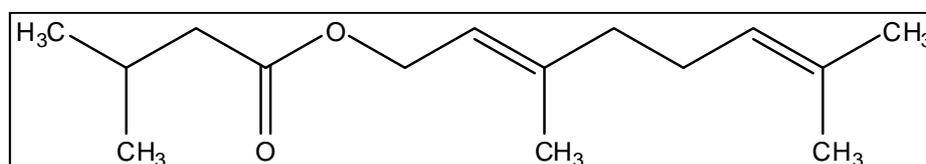


Figure 119: Spectre HMBC du composé C₁.

Figure 120: Spectre HMBC du composé C₁.Tableau 38: Déplacements chimiques en RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) du composé C₁ dans CDCl₃

N°	δ _C	δ _H (m, J Hz)	N°	δ _C	δ _H (m, J Hz)
1	173,2	-	4 [^]	39,5	2,07, t (8,1)
2	43,5	2,2, d (7,1)	5 [^]	26,3	2,12, m
3	25,8	2,1, m	6 [^]	123,8	5,1, m
4	22,4	0,97, d (6,7)	7 [^]	131,8	-
5	22,4	0,97, d (6,7)	8 [^]	25,7	1,7, s
1 [^]	61,1	4,61, d (7,1)	9 [^]	17,7	1,62, s
2 [^]	118,4	5,37, m	10 [^]	16,5	1,72, s
3 [^]	142,1	-			

Toutes ces données mènent à la structure de : l'isovalérate de géranyle (3',7'-dimethylocta-2',6'-dienyl-3-methylbutanoate) [313].



Isovalérate de géranyle (C₁).

2.1.b. Le composé C₂

L'étude du spectre RMN ¹³C (figure 121) du composé C₂ et les séquences DEPT montrent la présence de 18 atomes de carbone que nous pouvons répartir comme suit :

- Neuf groupements CH₂ hybridés sp³.
- Trois groupements CH.
- Cinq groupements méthyles CH₃.
- Un carbone quaternaire à δ_C = 209,4 ppm attribuable au groupement carbonyle C=O.

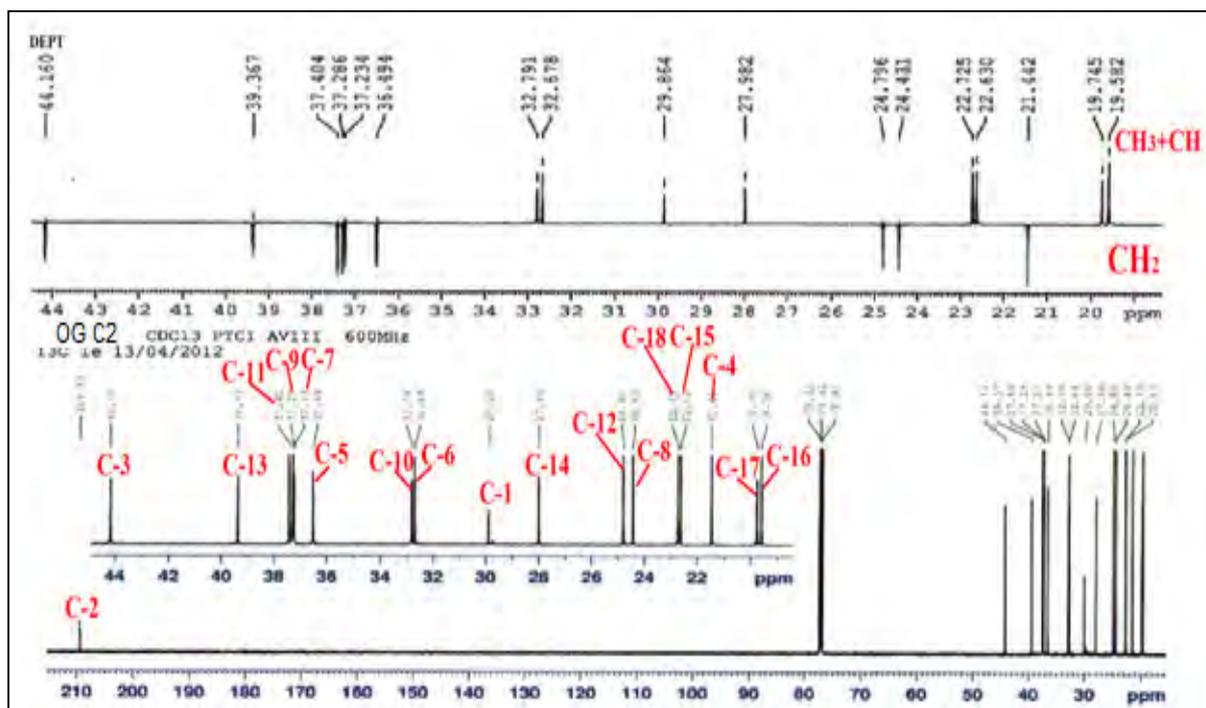


Figure 121: Spectres RMN ¹³C et DEPT du composé C₂ (CDCl₃, 150 MHz).

A ce stade on peut évaluer le nombre d'atomes d'hydrogène à 36 atomes. Par ailleurs, le spectre RMN ¹H (figure 122) montre la présence de :

- Quatre signaux sous formes de doublets dans l'intervalle de $\delta_H = 0,85$ ppm et $\delta_H = 0,9$ ppm attribuables aux groupements CH_3 .
- La zone variant de $\delta_H = 1$ ppm à $\delta_H = 1,7$ ppm correspond aux protons des groupements CH_2 et CH .
- Un signal sous forme d'un singulet observé à $\delta_H = 2,16$ ppm d'intégration 3H attribuable à un groupement méthyle, la valeur de son déplacement chimique ainsi que sa multiplicité indique sa position voisine au groupement carbonyle.
- On observe aussi un singulet à $\delta_H = 2,42$ ppm d'intégration 2H attribuable à un CH_2 déblindé ce qui suggère que ce groupement aussi est voisin au carbonyle

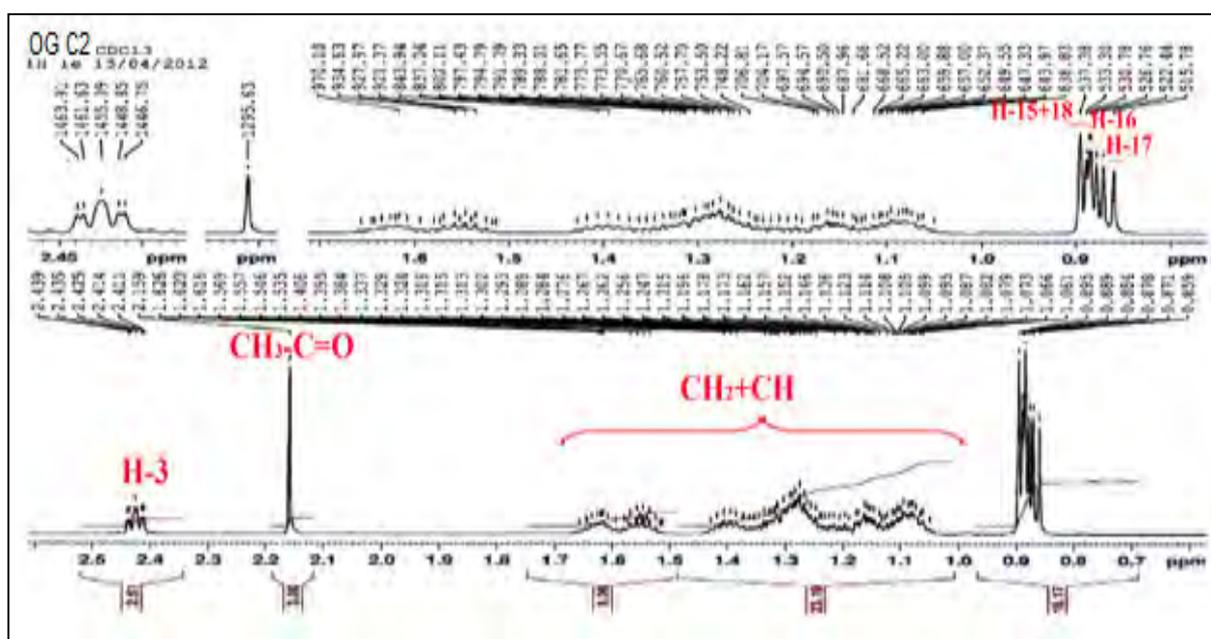
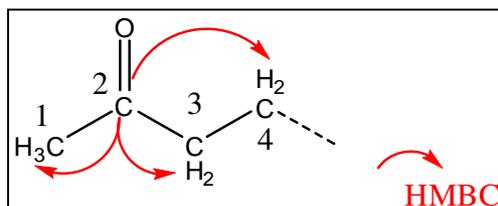


Figure 122: Spectre RMN 1H du composé C_2 ($CDCl_3$, 600 MHz).

L'examen de l'expérience HMBC (figure 123) confirme cette suggestion par la présence des corrélations entre le carbonyle résonnant à $\delta_C = 209,4$ ppm et les protons du méthyle qui résonne à $\delta_H = 2,16$ ppm, ce carbonyle corrèle également avec les protons du CH_2 résonnant à $\delta_H = 2,42$ ppm ainsi que les protons d'un autre CH_2 qui résonnent l'un à $\delta_H = 1,56$ et l'autre à $\delta_H = 1,63$ ppm d'où la portion de structure :



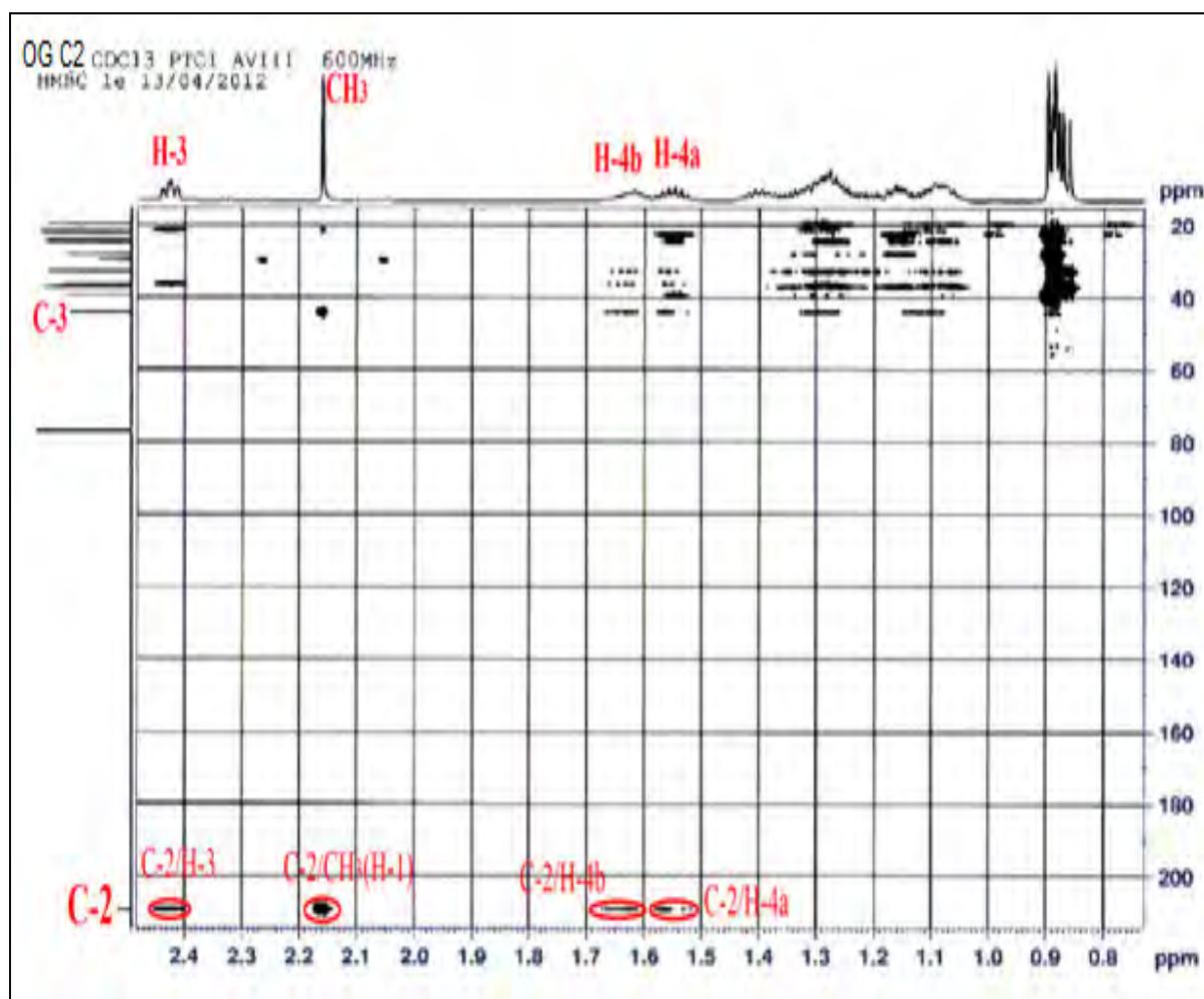
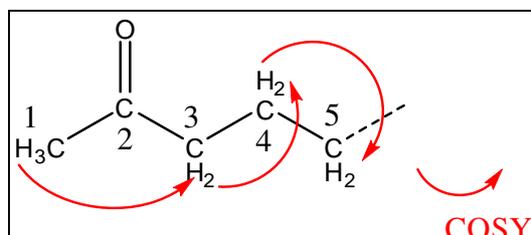


Figure 123: Spectre HMBC du composé C₂.

L'analyse du spectre COSY (figure 124) montre également des taches de corrélations entre : les protons du méthyle en position 1 et les protons du CH₂ en position 3. Ce dernier CH₂ montre une corrélation avec le CH₂ en position 4 lequel corrèle avec un autre CH₂ résonnant à $\delta_H=1,12$ et $1,3$ ppm, ce qui permet d'écrire une partie de la structure :



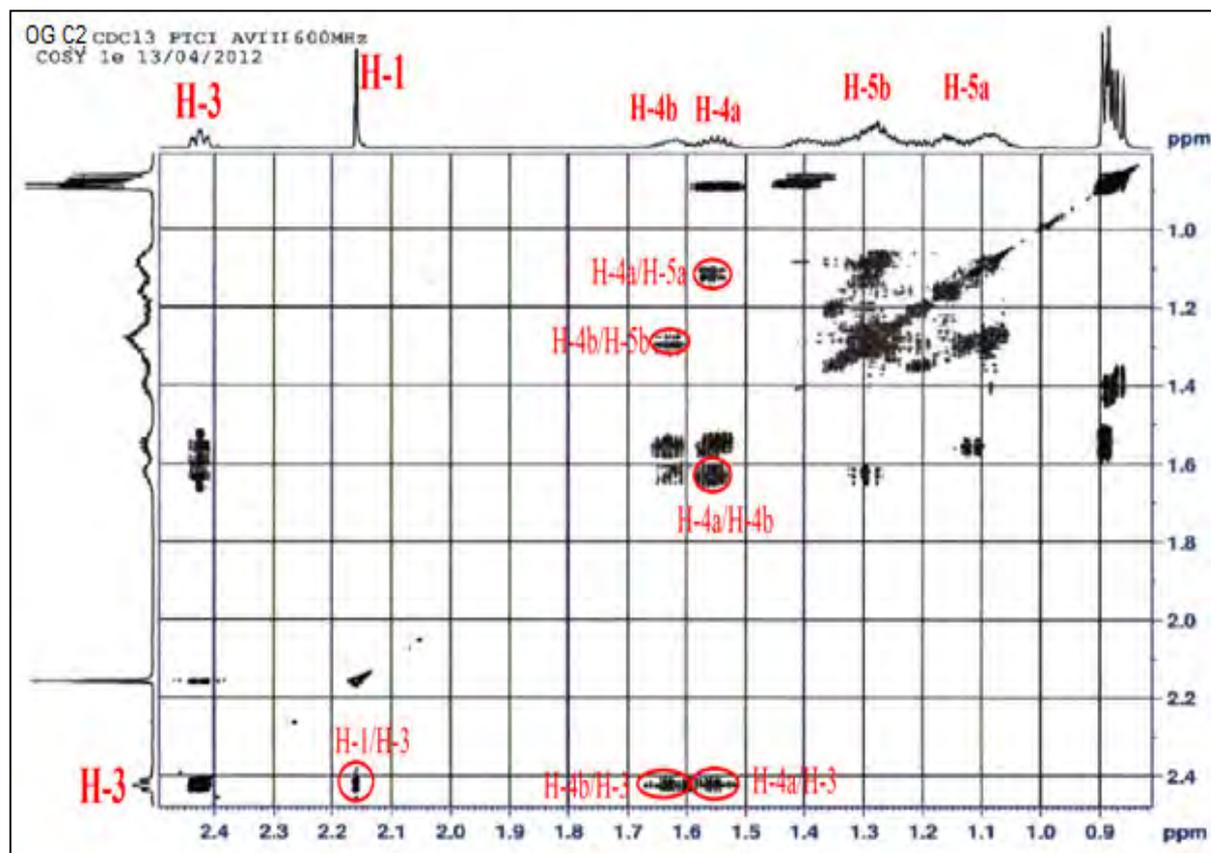


Figure 124: Spectre COSY du composé C₂.

Le spectre RMN ¹H (figure 122) montre la présence d'un doublet d'intégration 6H à $\delta_H = 0,89$ ppm ($J = 6,6$ Hz) attribuable aux deux méthyles signifiant la présence d'un groupement isopropyle dans la structure. Deux autres méthyles apparaissent tous les deux sous forme de doublets à $\delta_H = 0,88$ ppm, ($J = 6,6$ Hz) et $\delta_H = 0,86$ ppm, ($J = 6,6$ Hz) signifiant la présence de deux méthyles portés respectivement par deux groupements CH, toutes ces données suggèrent que la structure de ce composé est une chaîne aliphatique liée à un carbonyle comme suit :

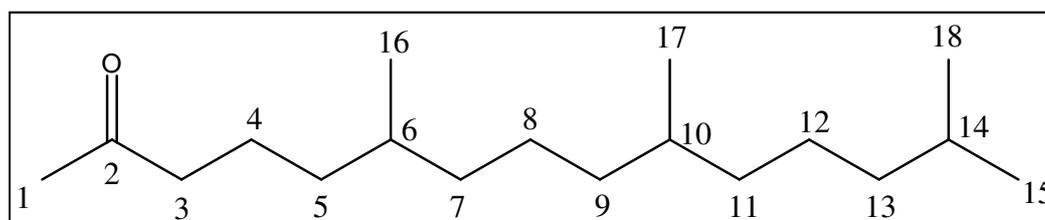
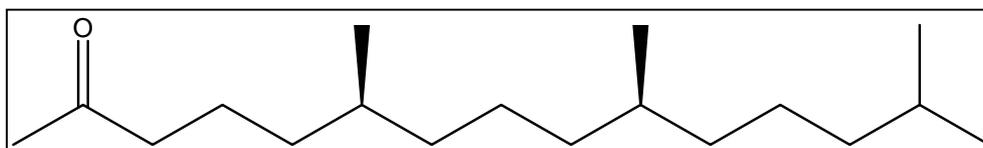


Tableau 39: Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé C_2 dans CDCl_3 .

N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)	N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)
1	29,9	2,16, s	10	32,8	Des multiplets entre 1,06 \rightarrow 1,63
2	209,4	-	11	37,4	
3	44,2	2,43, m	12	24,8	
4	21,4	Des multiplets entre 1,06 \rightarrow 1,63	13	39,4	
5	36,5		14	28,0	
6	32,7		15	22,6	
7	37,2		16	19,6	0,88, d (6,6)
8	24,4		17	19,8	0,86, d (6,6)
9	37,3		18	22,7	0,89, d (6,6)

L'analyse spectrale combinée (RMN ^1H , ^{13}C , COSY, HSQC, HMBC) qui est en accord avec celle indiquée dans la littérature mène à la structure de la **phytone (6R,10R)-6,10,14-triméthylpentadécane-2-one** pour le composé C_2 [314].

La configuration absolue des carbones 6 et 10 n'a été rapportée qu'une seule fois en 1989 par Suga *et al* [314].

(6R,10R)-6,10,14-triméthylpentadécane-2-one Phytone (C_2)

2.1.c. Le composé C_3

L'étude du spectre RMN ^{13}C (figure 125) de ce composé et les séquences DEPT montrent la présence de 15 atomes de carbone :

- 4 groupements CH_3 ,
- 3 groupements CH_2
- 5 groupements CH dont un éthylénique à $\delta_{\text{C}} = 122,9$ ppm et un oxygéné à $\delta_{\text{C}} = 90,9$ ppm
- 3 carbones quaternaires dont un éthylénique à $\delta_{\text{C}} = 146,4$ ppm.

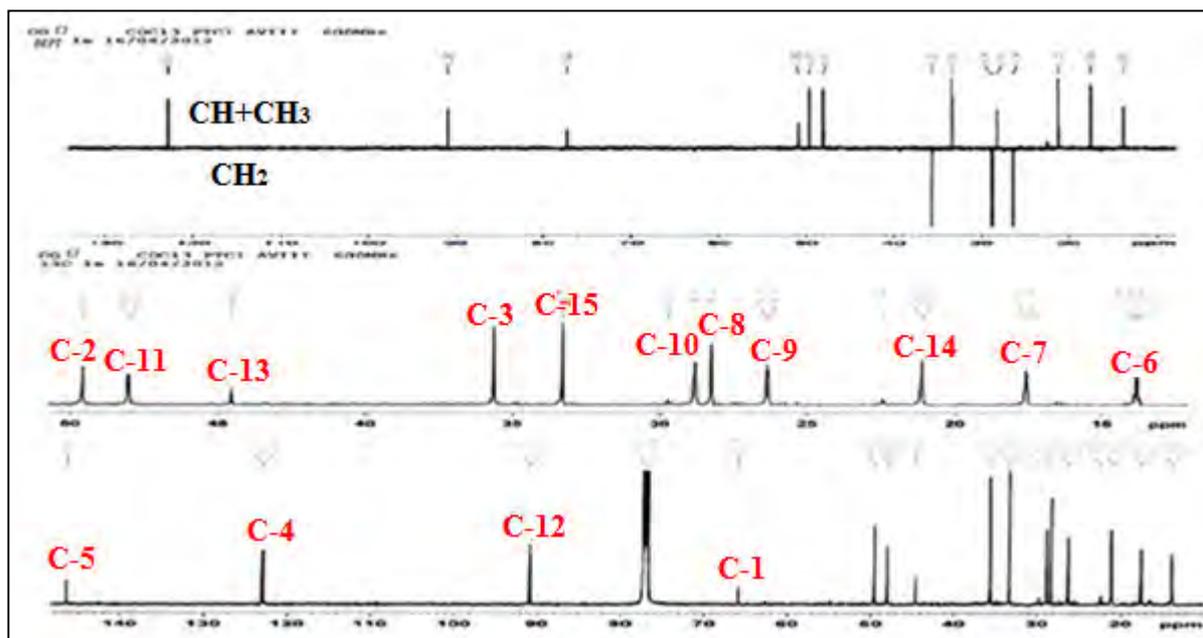


Figure 125: Spectres RMN ^{13}C et DEPT du composé C_3 (CDCl_3 , 150 MHz).

Ces observations permettent de recenser 23 atomes d'hydrogènes, on remarque d'après l'analyse du spectre RMN ^1H (figure 126):

- Un doublet à $\delta_{\text{H}} = 5,19$ ppm ($J = 1,6$ Hz) d'intégration 1H attribuable à un CH éthylénique.
- Un singulet à $\delta_{\text{H}} = 3,7$ ppm d'intégration 1H attribuable à un CH oxygéné.
- 4 signaux d'intégrations 3H chacun attribuables aux groupements méthyles.
- Des multiplets entre $\delta_{\text{H}} = 1,5$ ppm et $\delta_{\text{H}} = 2,5$ ppm attribuables aux CH et CH_2 .

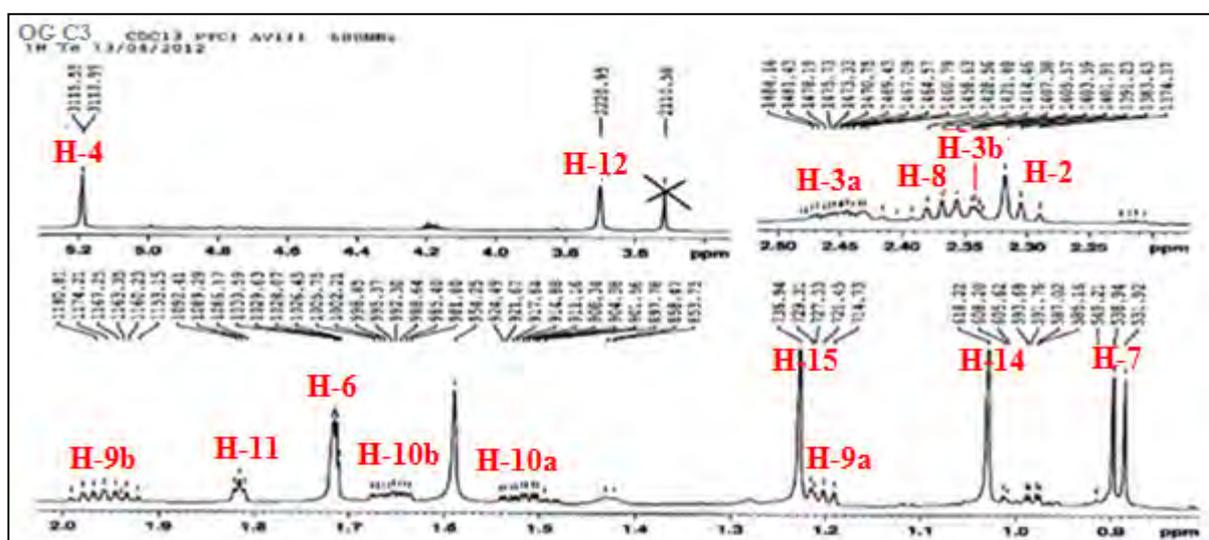


Figure 126: Spectre RMN ^1H du composé C_3 (CDCl_3 , 600 MHz).

L'analyse du spectre HSQC *J*-modulé (figure 127) permet de corrélérer chaque carbone à son proton correspondant.

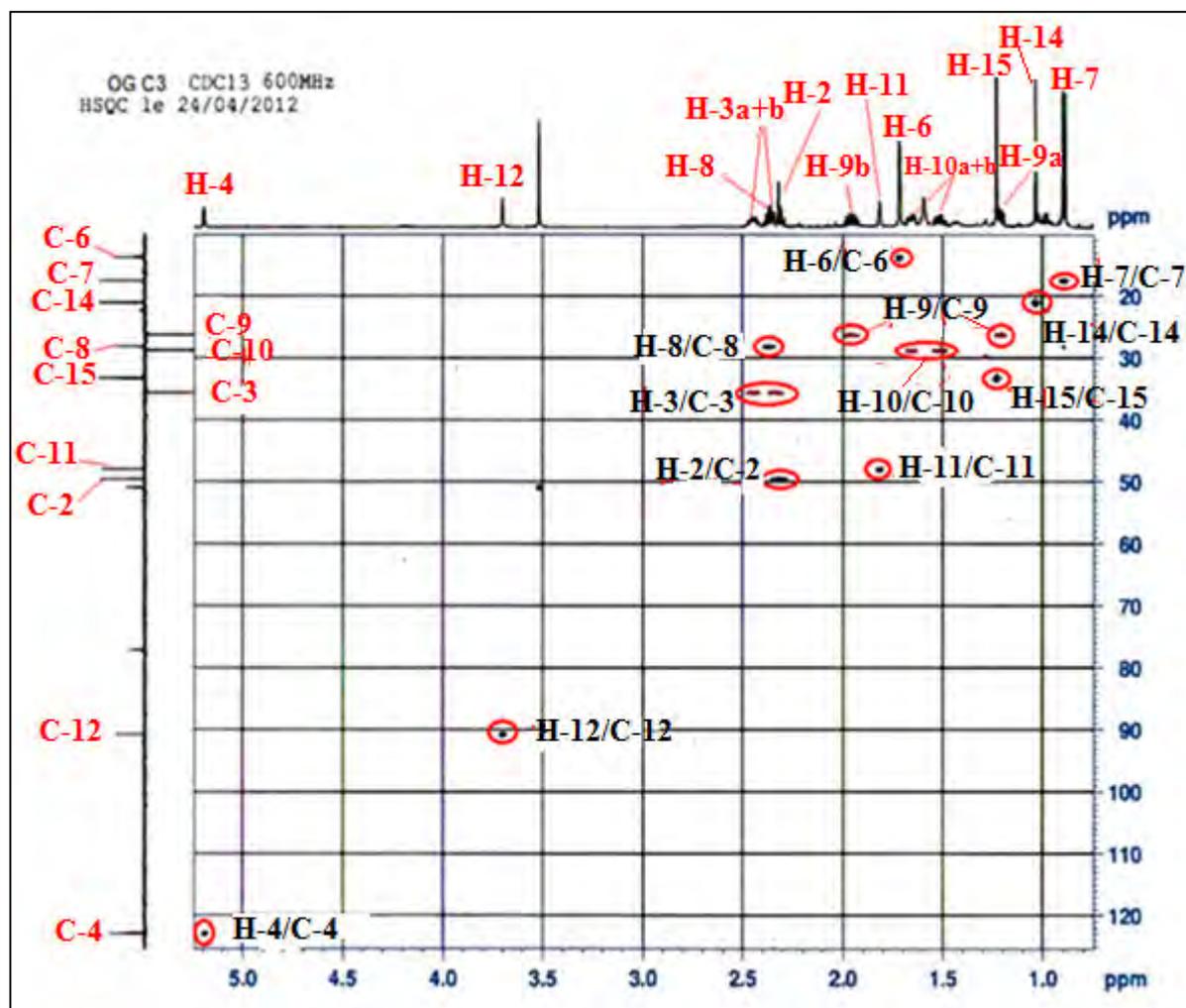


Figure 127: Spectre HSQC *J*-modulé du composé C₃.

Ces informations suggèrent que l'atome d'oxygène signalé plus haut, sur un groupement CH, ne peut être que sous la forme d'un groupement hydroxyle, ce qui mène à la formule brute C₁₅H₂₄O.

Le spectre de masse ESI-MS de ce composé enregistré en mode positif (figure 128) confirme cette formule brute en montrant un pic d'ion pseudo moléculaire à $m/z = 221,1396$ [M+H]⁺ correspondant à la formule brute C₁₅H₂₄O, et la présence de quatre insaturations. On constate également la présence d'un pic à $m/z = 203,1143$ [M+H-18]⁺, attestant la perte d'une molécule d'eau et la présence d'une fonction OH.

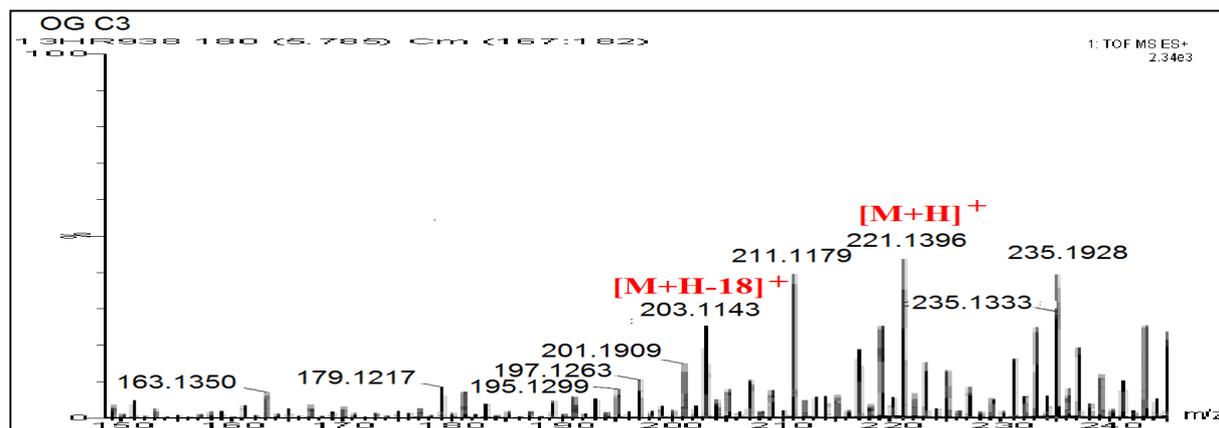
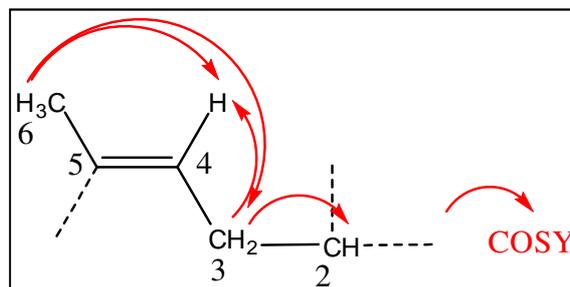
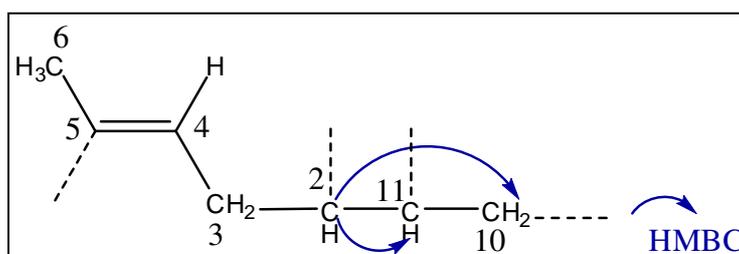


Figure 128: Spectre de masse ESI-MS du composé C₃.

Dans le spectre COSY homonucléaires (figure 129) de ce composé, on observe le couplage H-H entre les protons du méthyle résonnant à $\delta_H = 1,71$ ppm et le proton éthylénique à $\delta_H = 5,2$ ppm ainsi que les protons d'un groupement CH₂ résonnant à $\delta_H = 2,35$ et $2,45$ ppm ce qui permet de placer ce groupement méthyle sur la double liaison, et les protons de ce CH₂ couplent avec un proton d'un CH résonnant à $\delta_H = 2,31$ ppm ainsi qu'avec le proton éthylénique d'où la portion de structure :



L'examen du spectre HMBC (figure 130) montre des corrélations entre le carbone C-2 et un proton d'un CH résonnant à $\delta_H = 1,81$ ppm, et entre ce même carbone et des protons d'un groupement CH₂ résonnant à $\delta_H = 1,52$ - $1,66$ ppm, ces observations nous permettent d'écrire :



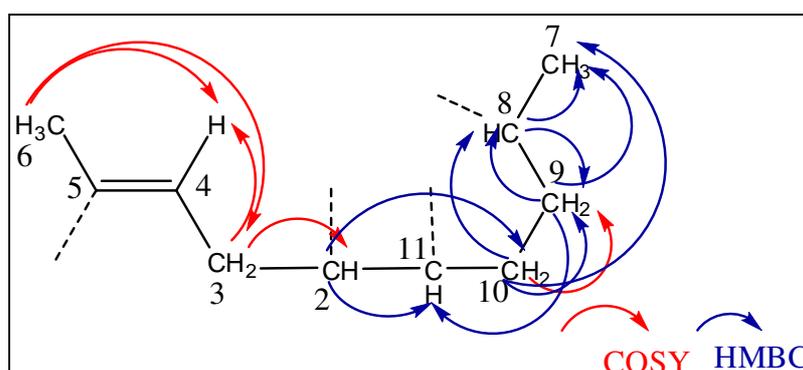
On revient au spectre COSY (figure 129) où on observe des corrélations entre les protons H-10 et les protons d'un autre groupement CH₂ résonnant à $\delta_H = 1,2-1,95$ ppm, il s'agit de la position 9.

L'expérience HMBC (figure 130) montre également des corrélations entre le carbone C-10 et les protons H-9, et entre ce même carbone et un proton correspondant à un CH résonnant à $\delta_H = 2,37$ ppm qui est le proton H-8.

Ce spectre montre aussi les corrélations suivantes :

- Entre le carbone C-9 et les protons H-11, H-10 et H-8.
- Entre le carbone C-8 et les protons H-11, H-10 et H-9.
- Entre les trois carbone C-10, C-9 et C-8 et les protons d'un méthyle résonnant à $\delta_H = 0,89$ ppm (CH₃-7), ce qui permet de le placer en position 8.

Toutes ces informations suggèrent la portion :



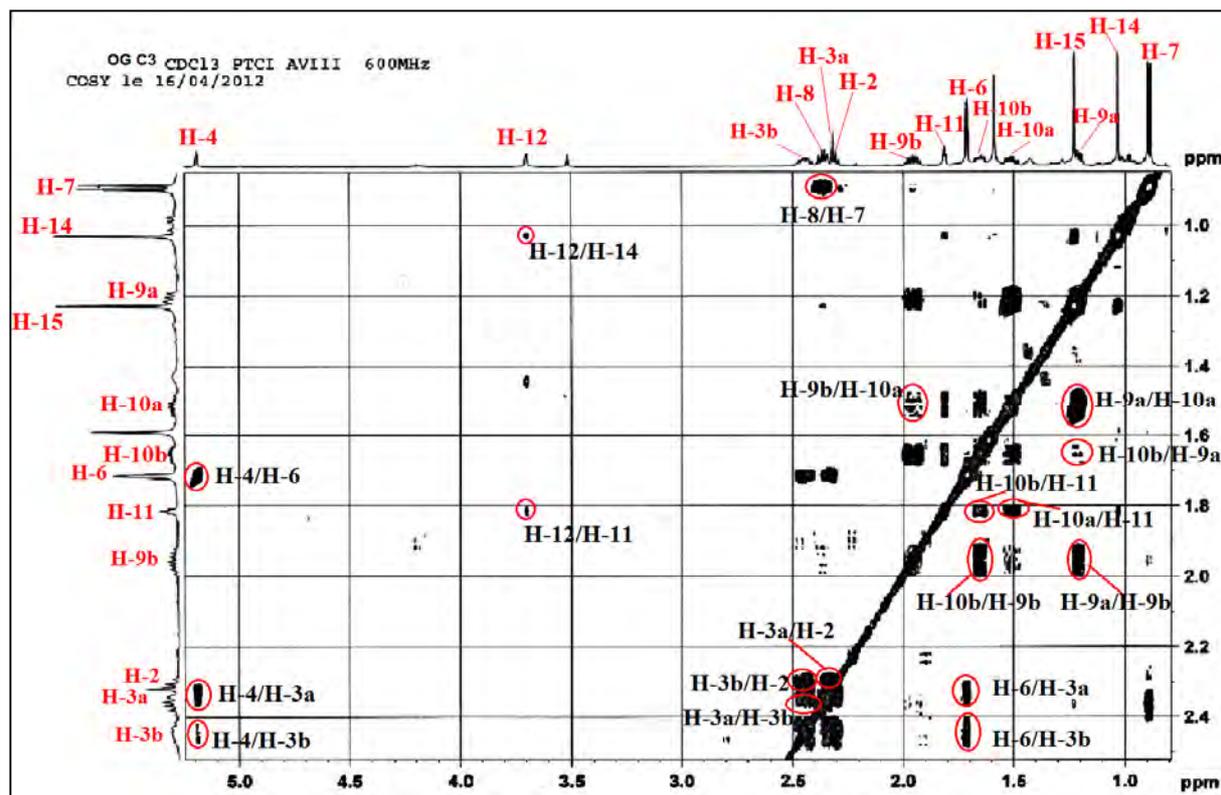
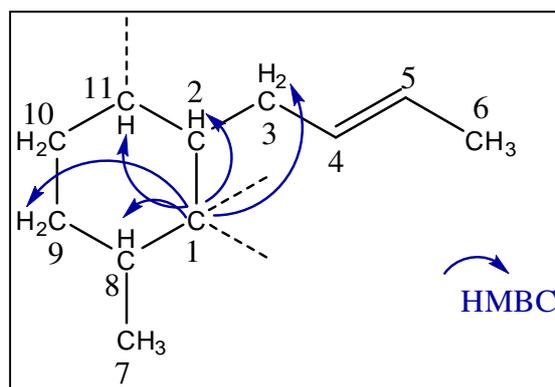
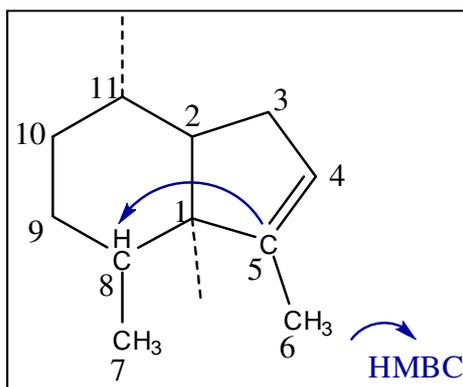


Figure 129 : Spectre COSY du composé C₃.

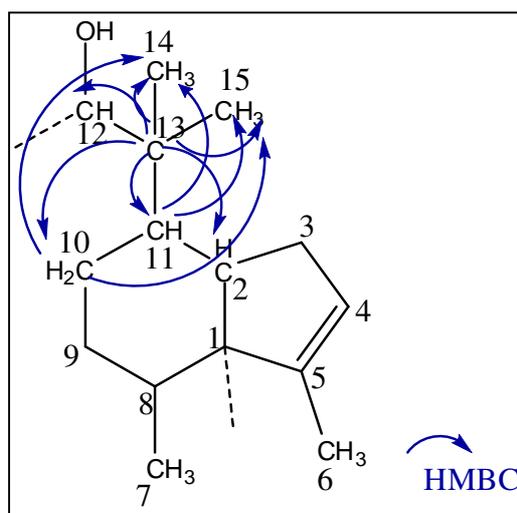
On remarque sur ce même spectre HMBC que le carbone quaternaire C-1 qui résonne à $\delta_C = 65,9$ ppm corrèle en $^2J_{H-C}$ avec les protons H-2, H-8 et en $^3J_{H-C}$ avec les protons H-3, H-11 et H-9 ce qui suggère la formation d'un cycle à 6 comme suit :



Le quaternaire éthylénique C-5 résonnant à $\delta_C = 146,4$ ppm corrèle avec le proton H-8 ce qui suggère de relier les deux quaternaires C-5 et C-1 :



Le spectre RMN ^{13}C (figure 126) montre la présence d'un autre carbone quaternaire résonnant à $\delta_{\text{C}} = 44,5$ ppm qui corrèle en HMBC (figure 130) avec les protons H-2, H-11 et H-10, ce qui permet de l'attacher au carbone C-11. D'autres corrélations sont visualisées entre les carbones C-11, C-10 et C-13 et les protons des deux méthyles résonnant à $\delta_{\text{H}} = 1,03$ ppm et $\delta_{\text{H}} = 1,23$ ppm qui ne peuvent être placés que sur le carbone quaternaire C-13, et ce dernier (C-13) corrèle également avec le proton oxygéné (H-12) résonnant à $\delta_{\text{H}} = 3,70$ ppm :



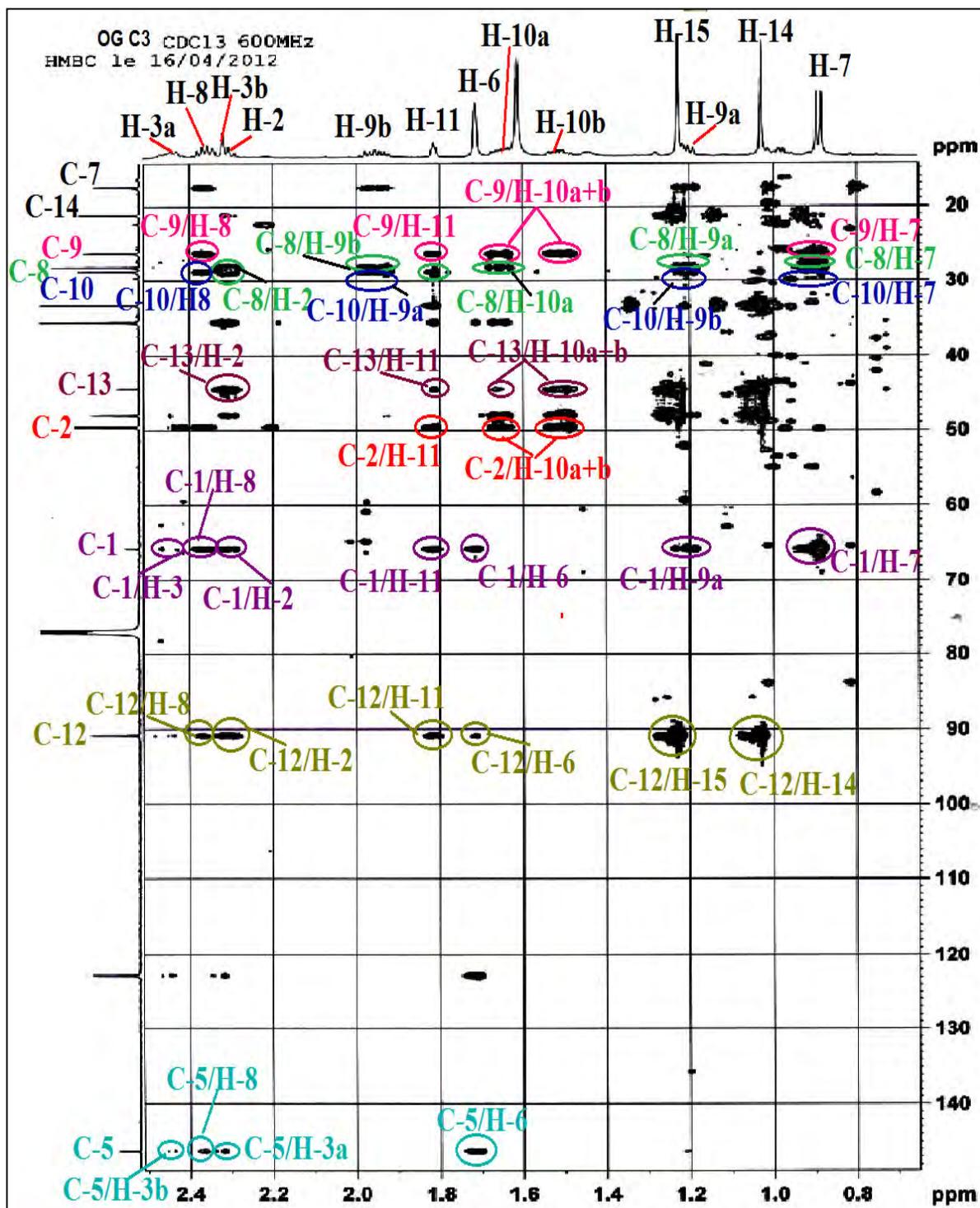


Figure 130: Spectre HMBC du composé C₃.

Le spectre HMBC (figure 131) montre aussi des taches de corrélations entre le proton oxygéné H-12 et les deux carbones quaternaires C-5, C-1 et le carbone C-8, vue la longue distance entre ce proton et ces carbones, il est impossible de réaliser les corrélations à travers les liaisons de la structure, ceci permet de relier le carbone oxygéné C-12 et le quaternaire C-1 en formant un pont entre eux, d'où la structure finale :

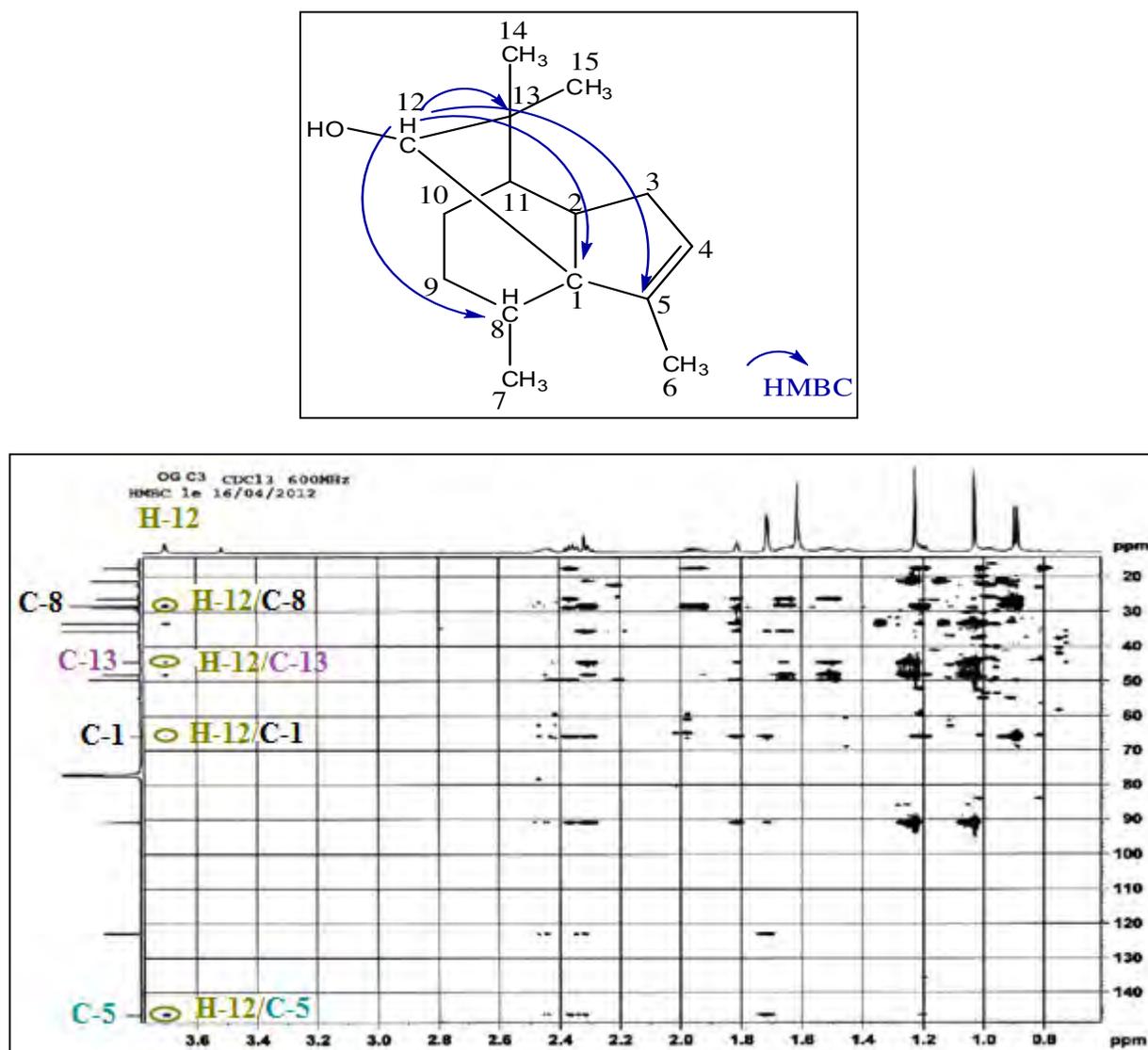


Figure 131: Spectre HMBC du composé C_3 .

La stéréochimie des centres asymétriques de ce composé a été établie grâce à l'étude du spectre NOESY (figure 132,133) qui donne les indications suivantes :

- Des taches de corrélations entre les protons du méthyle 7 et les protons : H-2, H-6, H-10a et H-9a, indiquant la même orientation pour l'ensemble de ces noyaux.
- Des taches de corrélations sont observées entre les protons du méthyle 14 et les deux protons H-10b et H-9b admet la même orientation pour ces noyaux différente de celle des noyaux précédents.
- Les protons du méthyle 15 qui a une orientation automatiquement différente de celle du méthyle 14 corrélient avec les protons H-12 et H-3b, indiquant la même orientation pour ces noyaux.

Toutes ces données confèrent la configuration S, R, R, R pour les carbones C-1, C-12, C-2 et C-5 respectivement.

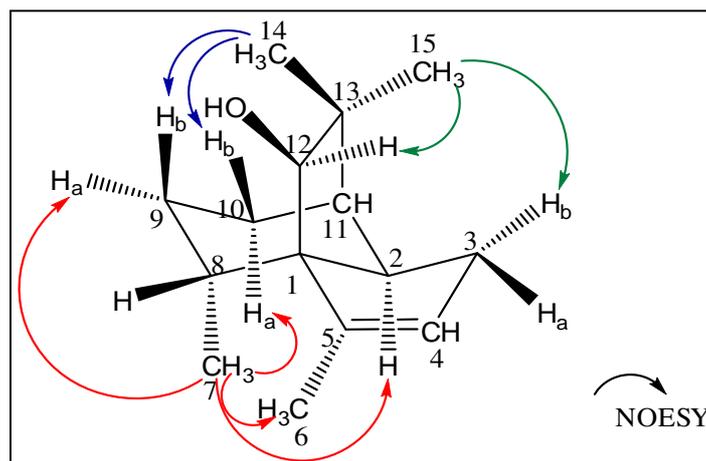


Figure 132: Importants effets nOe observés pour le composé C_3

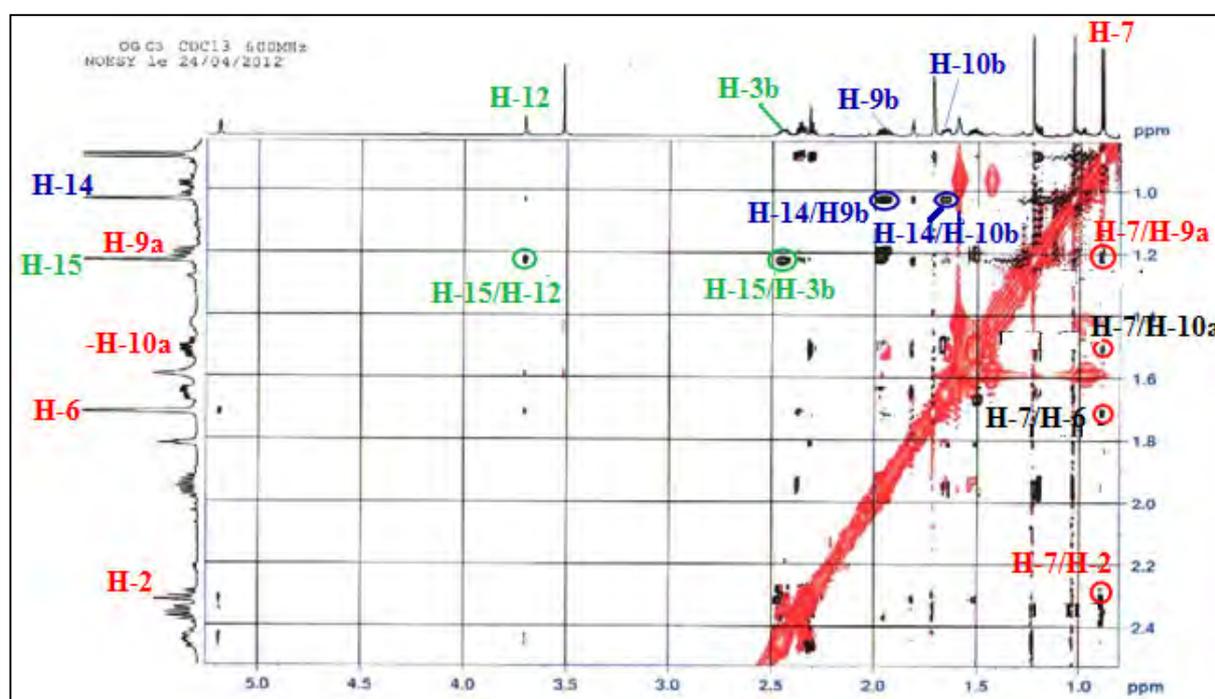
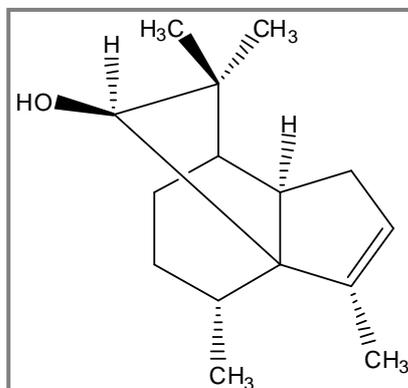


Figure 133: Spectre NOESY du composé C_3 .

Tableau 40: Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé C_3 dans CDCl_3 .

N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)	N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)
1	65,9	-	9	26,4	a : 1,21, m b : 1,96, m
2	49,6	2,31, t (9,1)	10	28,8	a : 1,52, m b : 1,66, m
3	35,6	a : 2,34, m b : 2.45, m	11	48,0	1,82, t (3,1)
4	122,9	5,19, d (1,6)	12	90,9	3,7, s
5	146,4	-	13	44,5	-
6	13,8	1,71, s	14	21,1	1,03, s
7	17,6	0,89, d (7,0)	15	33,3	1,23, s
8	28,2	2,37, t (7,1)			

L'analyse spectrale de ce composé combinée (RMN ^1H , ^{13}C , COSY, HSQC, HMBC, NOESY) permet d'attribuer au composé C_3 la structure de: **1S, 8R, 11R, 2R, terrecyclen-2-ol** que nous avons nommé **deserticolol**, un nouveau sesquiterpène de type quadrane isolé pour la première fois dans le règne végétal.



Deserticolol (C_3).

2.1.d. Le composé C_4

La formule moléculaire brute $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$ du composé a été déduite à partir du spectre de masse haute résolution HR-MS -ESI (figure 134). Il montre en effet un pic de l'ion moléculaire à m/z 426,3759 $[\text{M}]^+$ correspondant à une masse moléculaire égale à 426 *uma*.

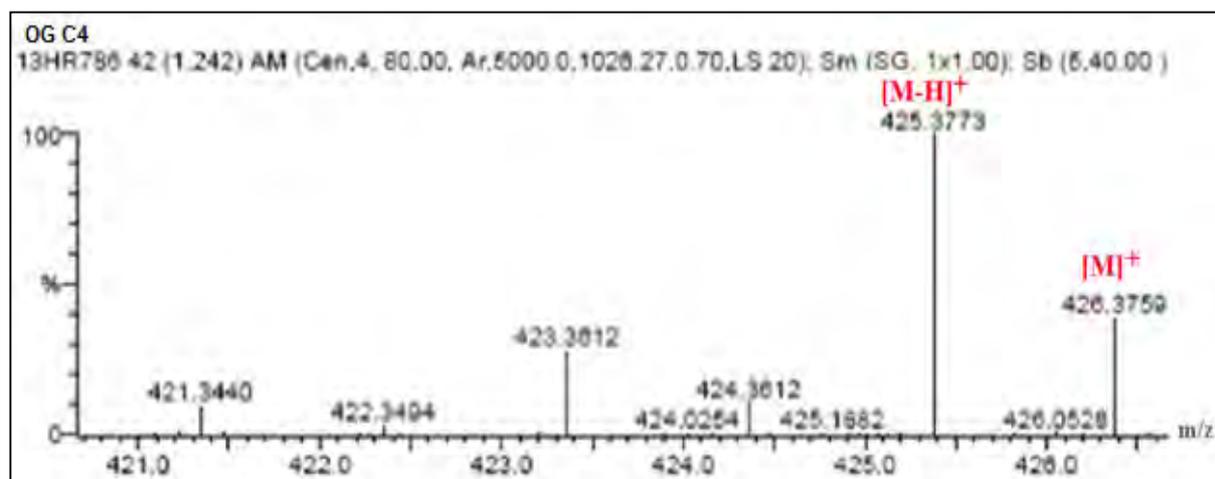


Figure 134: Spectre de masse HR-MS -ESI du composé C_4 .

Le spectre de RMN ^{13}C (figure 135) indique la présence de 30 carbones. On distingue quelques carbones caractéristiques :

- sept carbones méthylénique résonnant entre δ_{C} 14,8 et 28,0 ppm,

- un ensemble de carbones résonnant entre δ_C 18,3 et 55,3 ppm, attribuables aux CH_2 , CH et C quaternaires.
- un carbone de méthyne oxygéné (CHOH) à $\delta_C = 79,0$ ppm,
- deux carbones oléfiniques à $\delta_C = 107,2$ ppm et 154,6 ppm.

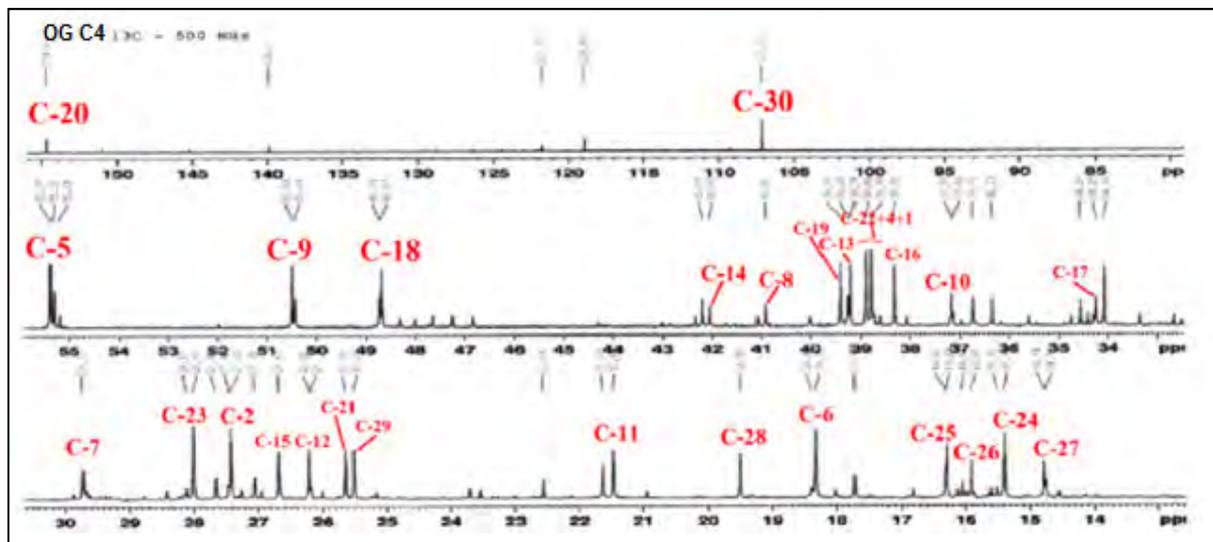


Figure 135: Spectre RMN ^{13}C du composé C_4 (CDCl_3 , 150 MHz).

L'analyse du spectre de RMH ^1H (figure 136) montre dans la région blindée allant de 0,79 à 1,05 ppm, sept fins singulets s'intégrant pour trois protons chacun correspondant aux sept méthyles d'un squelette triterpénique pentacyclique et résonnant à δ_H 0,79 (H-24), 0,87 (H-25), 0,88 (H-28), 0,95 (H-27), 0,99 (H-23), 1,04 (H-26) et 1,05 (H-29). Un massif de protons résonnant entre 0,73 et 2,22 ppm correspondant aux $-\text{CH}$ et $-\text{CH}_2$ des cinq cycles et un signal sous forme de doublet dédoublé à δ_H 3,23, (*dd*, $J = 11,4$ et $4,8$ Hz, H-3).

Le spectre RMH ^1H présente également deux signaux à δ_H 4,62 (*d*, $J = 1,9$) et 4,64 (*d*, $J = 2,0$) attribuables aux protons éthyléniques d'un groupement méthylène exocyclique. L'analyse des couplages hétéronucléaires $^1J_{\text{H-C}}$ visualisés sur le spectre HSQC *J*-modulé (figure 137) permet de déterminer le déplacement chimique de leur carbone à δ_C 107,2 (C-30).

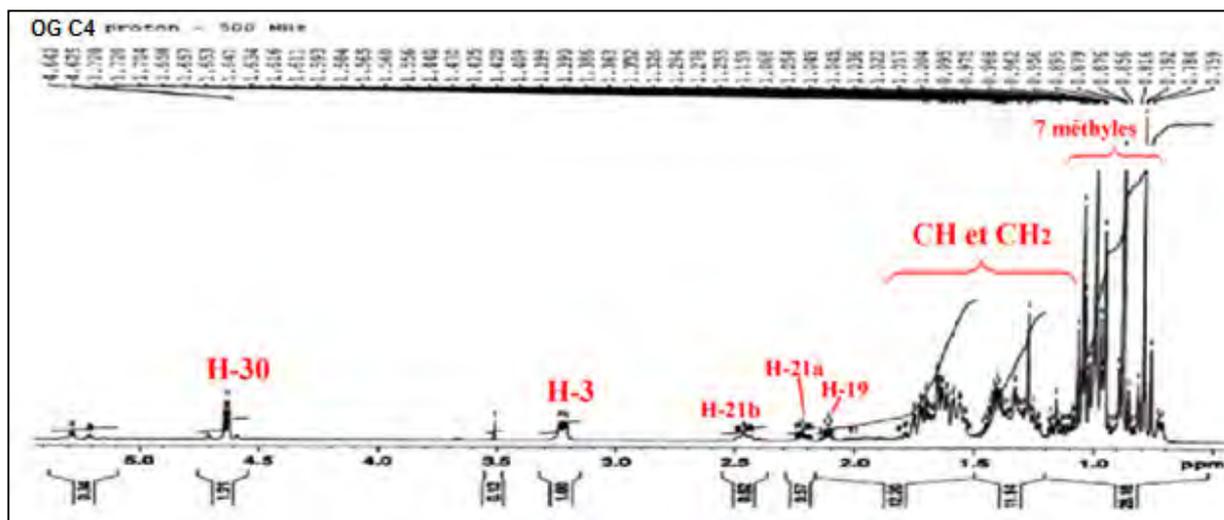


Figure 136: Spectre RMN ^1H du composé C_4 (CDCl_3 , 500 MHz).

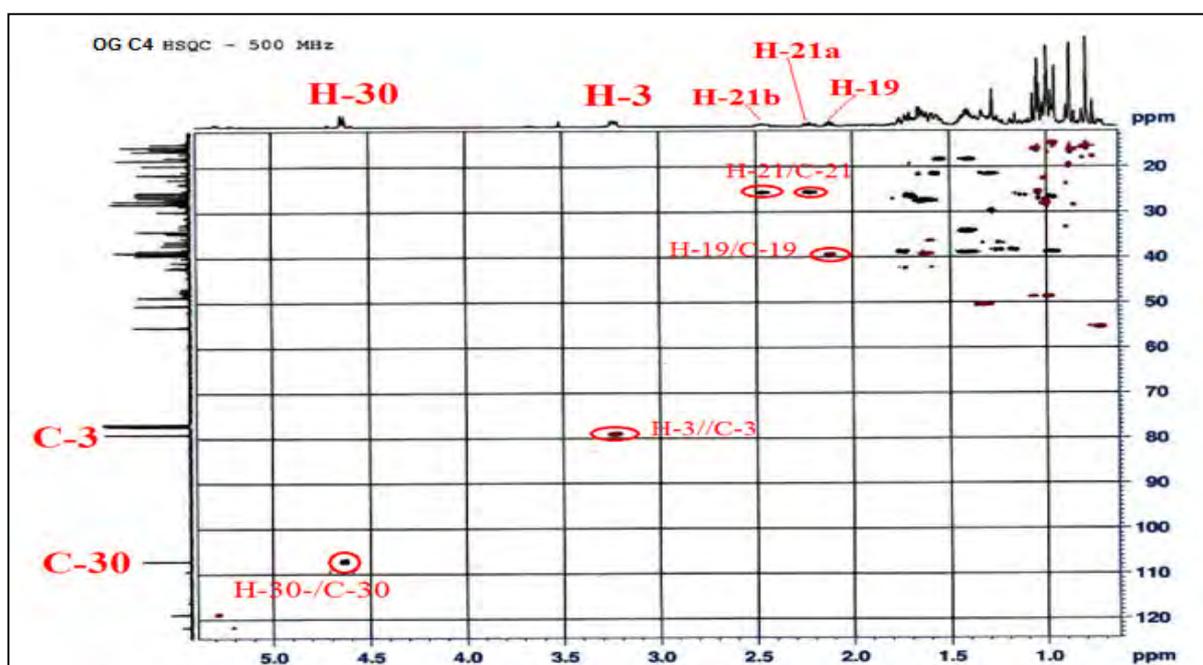


Figure 137: Spectre HSQC J -mod du composé C_4 .

Les protons géminés du groupement méthylène corrént en HMBC (figure 138) avec C-19 et C-21.

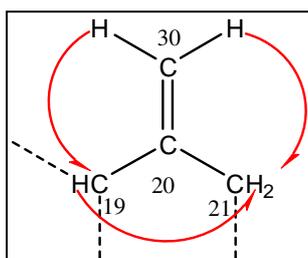


Figure 138: Corrélation HMBC des protons éthyléniques géminés.

L'expérience HSQC (figure 137) permet de détecter les protons portés par ces carbones apparaissant à 2,11, (*t*, $J = 6,9$ Hz, H-19), 2,22, (*dq*, $J = 15,4$ et $5,3$ Hz, H-21a) et 2,46 (*td*, $J = 7,9$ Hz, H-21b).

Les protons H-19 et H-21 corrélient en HMBC (figure 139) en $^3J_{H-C}$ avec un carbone quaternaire résonnant à 34,5 ppm correspondant au carbone C-17. Ce dernier présente également des corrélations avec les protons H-13 (1,61 ppm), H-15 (0,97 et 1,71 ppm), H-16 (1,16, 1,23 ppm), H-18 (0,98 ppm). Les déplacements chimiques des carbones correspondants ont été déterminés par l'analyse du spectre HSQC à δ_C 39,2, 26,2, 38,3 et 48,7 respectivement.

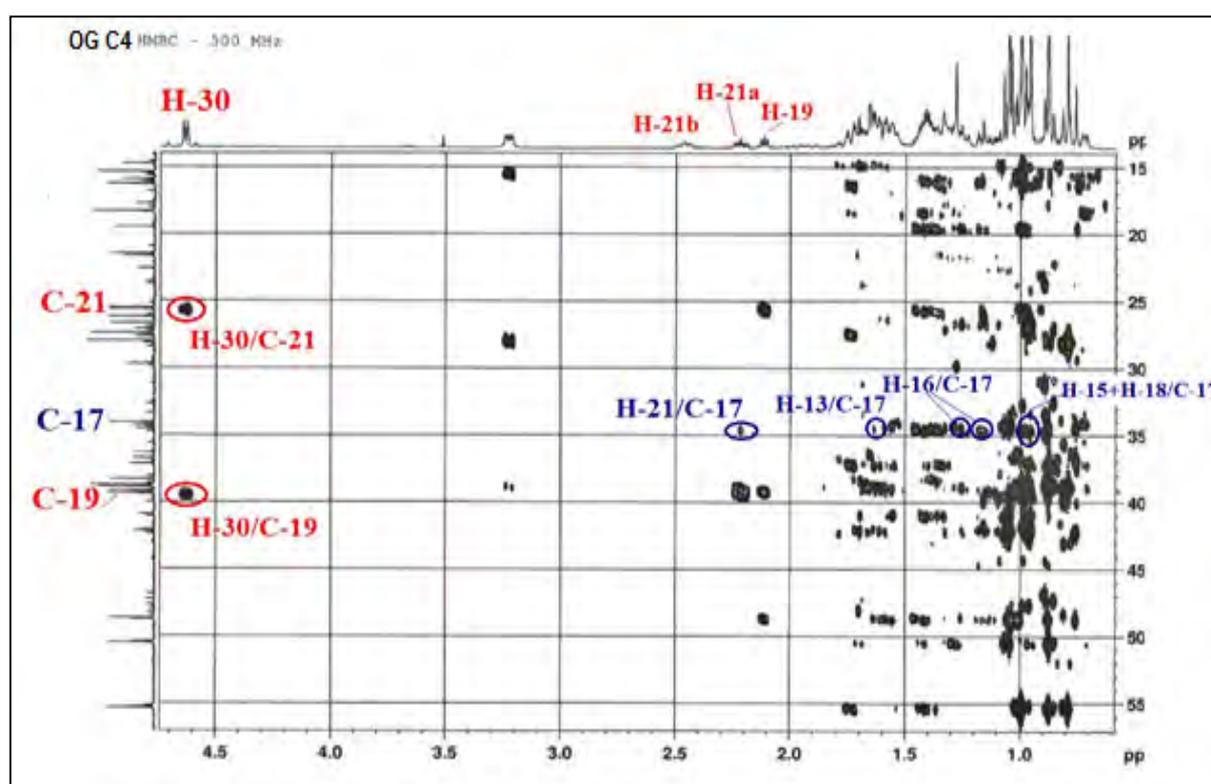


Figure 139: Spectre HMBC du composé C₄.

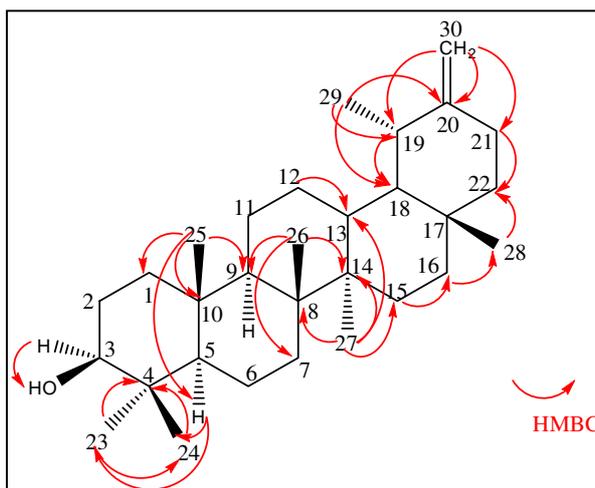


Figure 140: Importantes corrélations HMBC $^2J_{\text{HC}}$ et $^3J_{\text{HC}}$ observées pour le composé **C₄**.

La stéréochimie du composé **C₄** est mise en évidence par les observations des effets overhauser (rOe) à travers l'espace obtenues sur le spectre ROESY (figure 141). En effet il présente des corrélations entre H-3 α /H-5, H-3 α /H-23 et H-5 α /H-23, il montre également des corrélations H-30 / H-19 β et H-30/H-21 β .

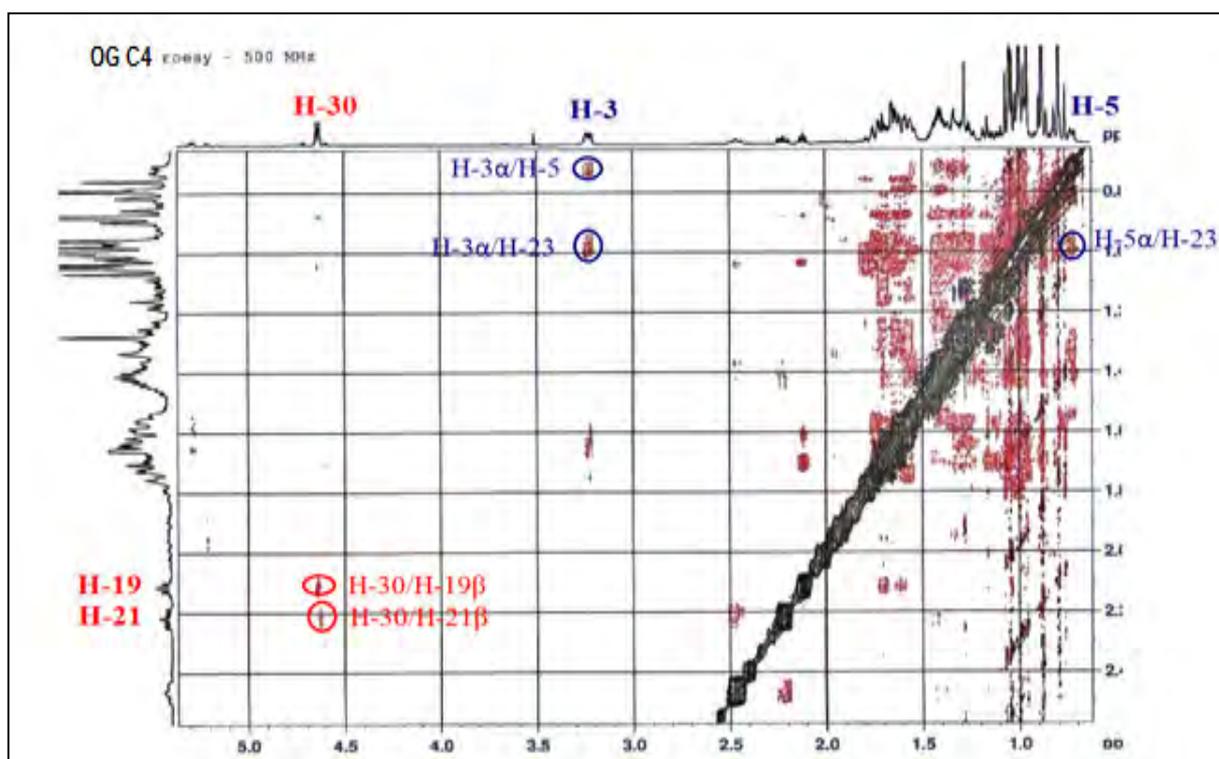
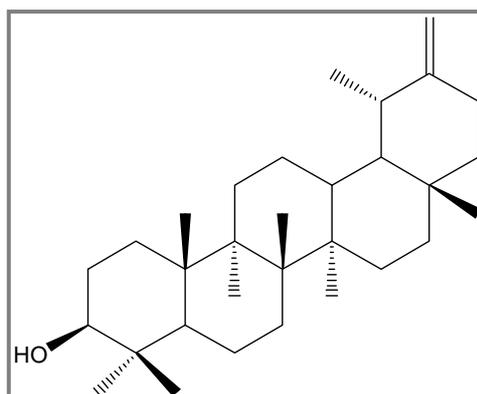


Figure 141: Spectre ROESY du composé **C₄**.

Tableau 41: Déplacements chimiques en RMN ^1H (500 MHz) et RMN ^{13}C (125 MHz) du composé **C₄** dans CDCl_3 .

N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)	N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)
1	38,8	0,97, m, 1,74, td (13,5; 3,5)	16	38,3	1,16, m, 1,23, t (13,4)
2	27,4	1,60, dd (13,1; 4,1), 1,64, dd (11,6; 3,8)	17	34,5	-
3	79,0	3,23, dd (11,4; 4,8)	18	48,7	0,98, m
4	38,8	-	19	39,4	2,11, t (6,9)
5	55,3	0,73, dl (12,5)	20	154,6	-
6	18,3	1,40, t (15,8), 1,53, m	21	25,6	2,22, dq (15,4; 5,3), 2,46, tq (7,9)
7	34,1	1,41, t(15,8)	22	38,9	1,41, t (15,8)
8	40,9	-	23	28,0	0,99, s
9	50,5	1,31, m	24	15,3	0,79, s
10	37,1	-	25	16,3	0,87, s
11	21,4	1,32, dd (9,5; 4,5), 1,56, dd (13,6; 4,5)	26	15,9	1,04, s
12	26,7	1,13, m, 1,70, dd (13,4; 4,5)	27	14,8	0,95, s
13	39,2	1,61, ddd (12,6; 4,1; 2,8)	28	19,5	0,88, s
14	42,2	-	29	25,5	1,05, s
15	26,2	0,97, m, 1,71, dd (13,4; 3,5)	30	107,2	4,62, d (1,9), 4,64, d (2,0)

Les expériences HSQC *J*-modulé, COSY H-H et HMBC combinées, permettent d'assigner sans difficulté tous les déplacements chimiques des protons et des carbones (tableau 41) et d'attribuer sans ambiguïté à ce composé **C₄**, la structure de **taraxastérol** ou **3 β ,18 α ,19 α -urs-20(30)-en-3-ol**, un triterpène pentacyclique très présent dans la famille des Asteraceae, isolé pour la première fois de *Taraxacum officinalis* (Asteraceae) [315] et il possède plusieurs activités : antibactérienne, antitumorale [316-318] et anti-inflammatoire [319].

3 β ,18 α ,19 α -urs-20(30)-en-3-ol (taraxastérol) (**C₄**).

2.1.e. Le composé **C₅**

Le spectre de masse HR-MS-ESI (figure 142) enregistré en mode positif montre un pic d'ion pseudo-moléculaire, $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 491,3865 soit une masse moléculaire égale à 468 *uma* correspondant à la formule brute $\text{C}_{32}\text{H}_{52}\text{O}_2$.

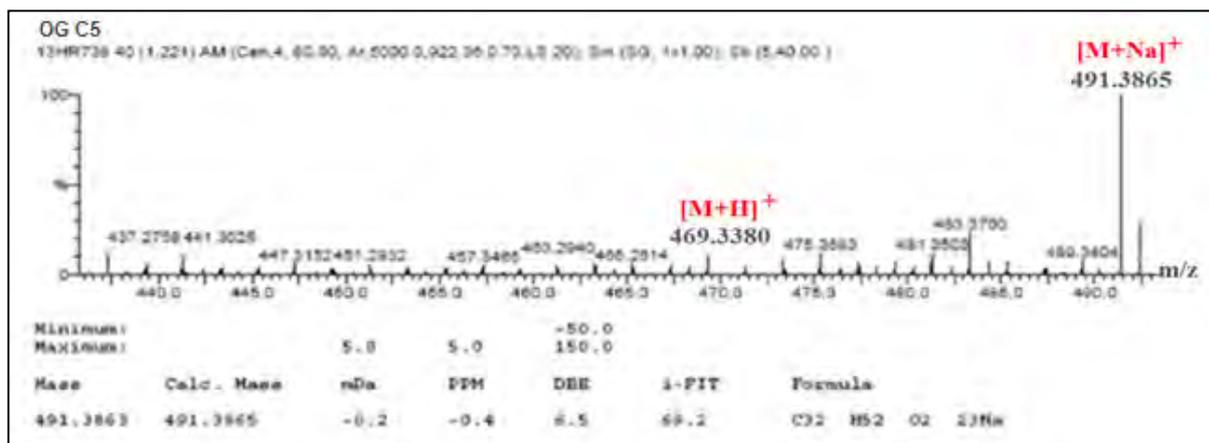


Figure 142: Spectre de masse HR-MS-ESI du composé C₅.

Le spectre RMN ¹³C *J*-modulé (figure 143) du produit C₅ montre de grandes ressemblances avec le composé C₄ décrit précédemment. En effet, on observe dans la région blindée, 7 signaux entre 14,7 et 27,6 ppm correspondant aux sept méthyles d'un squelette triterpénique pentacyclique et dans la région déblindée, trois signaux résonnant à 107,1, 154,7 et 171,0 ppm attribuables respectivement à un carbone éthylénique (CH) et deux carbones quaternaires.

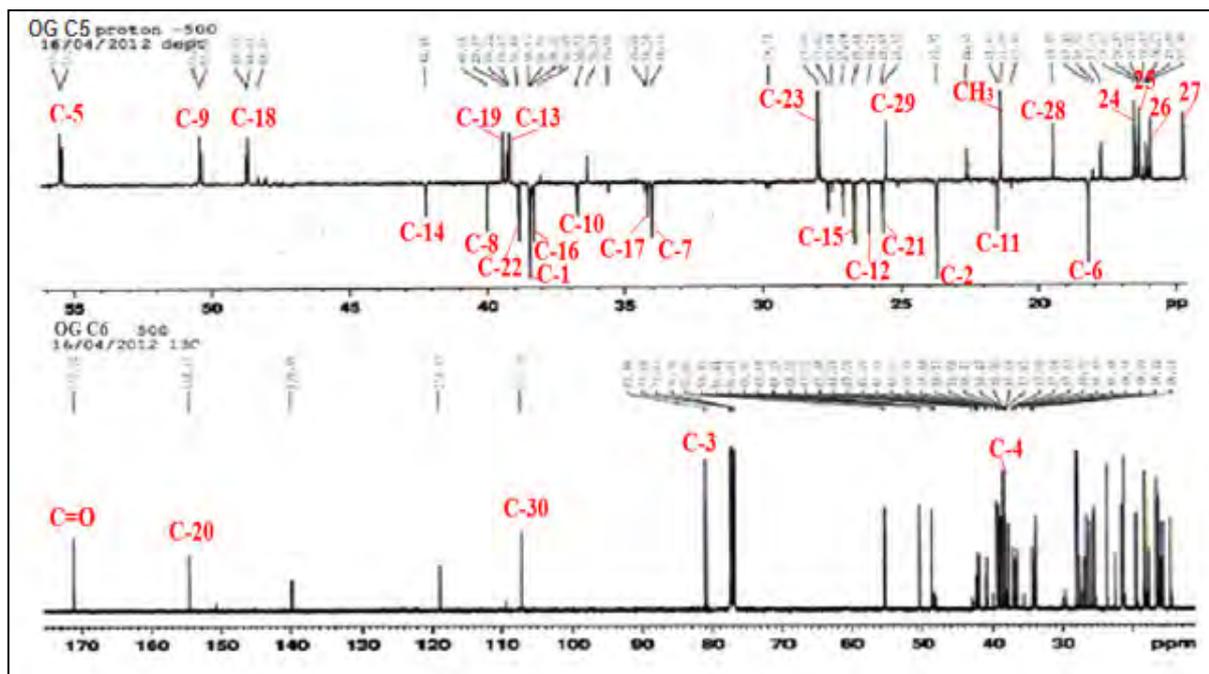


Figure 143: Spectre RMN ¹³C *J*-modulé du composé C₅ (CDCl₃, 125 MHz).

Le spectre RMN ¹H (figure 144) présente à champ fort sept signaux singulets fins attribuables aux groupements méthyles résonnant à δ_H 0,86 (3H, *s*, H-23), 0,85 (3H, *s*, H-24), 0,90 (3H, *s*, H-25), 1,03 (3H, *s*, H-26), 0,94 (3H, *s*, H-27), 0,86 (3H, *s*, H-28) et 1,04 (3H, *s*, H-29) et un massif de protons résonnant entre 0,82 à 2,45 ppm correspondant aux -CH et -CH₂ des cinq

cycles. Il montre aussi à champ faible, deux signaux résonnant à 4,50 et 4,62 ppm, correspondant respectivement à un proton oxyméthine (H-3) et un proton éthylénique. La valeur du déplacement chimique du proton H-3 suggère une acylation au niveau du carbone C-3, plus précisément par un groupement CH_3CO au regard d'un signal singulet d'intégration 3H résonnant à 2,05 ppm.

L'expérience HSQC J -modulé permet d'identifier les carbones qui les portent. Ils résonnent respectivement à 80,9 (C-3) et 107,1 ppm. La multiplicité de H-3 (dd , $J = 11,2$ et $5,6$ Hz) implique qu'il est α -axial.

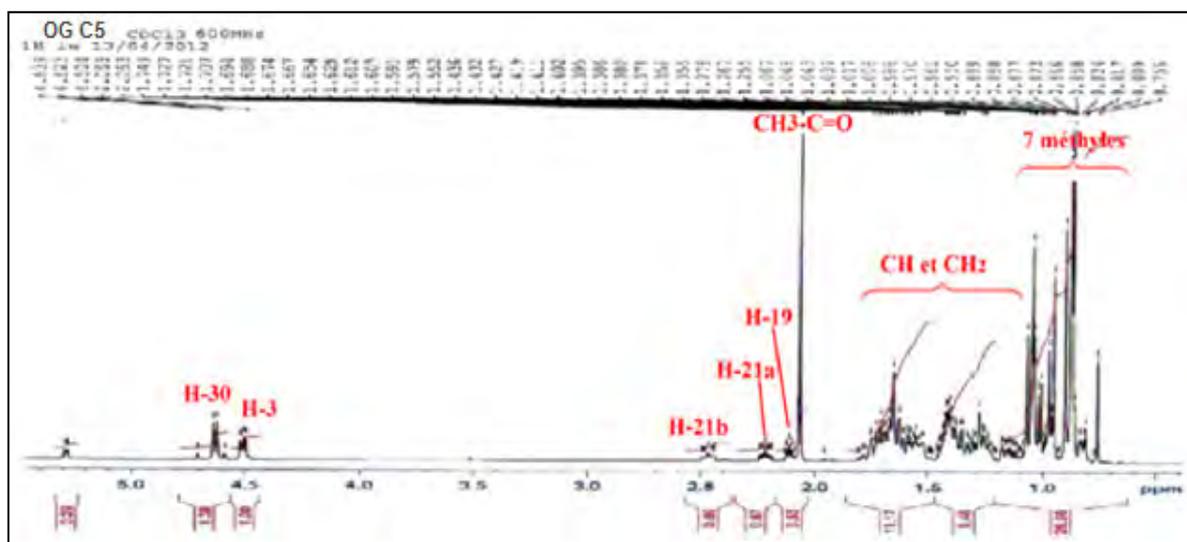
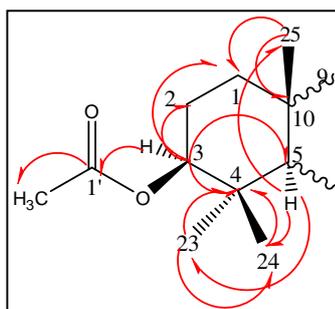


Figure 144: Spectre RMN ^1H du composé C_5 (CDCl_3 , 500 MHz).

Le carbone C-3 présente en HMBC (figure 145), des corrélations avec les protons H-1 (δ_{H} 1,04 -1,74), H-2 (δ_{H} 1,65), H-5 (δ_{H} 0,82), les protons des groupements méthyles Me-23 (δ_{H} 0,86) et Me-24 (δ_{H} 0,85) ainsi qu'avec les protons du groupement acétoxy CH_3COO résonnant à 2,05 ppm lié au carbone C-3. Le proton H-3 corrèle avec les carbones C-2 (δ_{C} 23,7), C-4 (δ_{C} 38,4), C-23 (δ_{C} 27,6), C-24 (δ_{C} 16,5) et un carbone quaternaire fortement déblindé résonnant à 171,0 ppm attribuable au carbonyle du groupement acyle Me-CO.



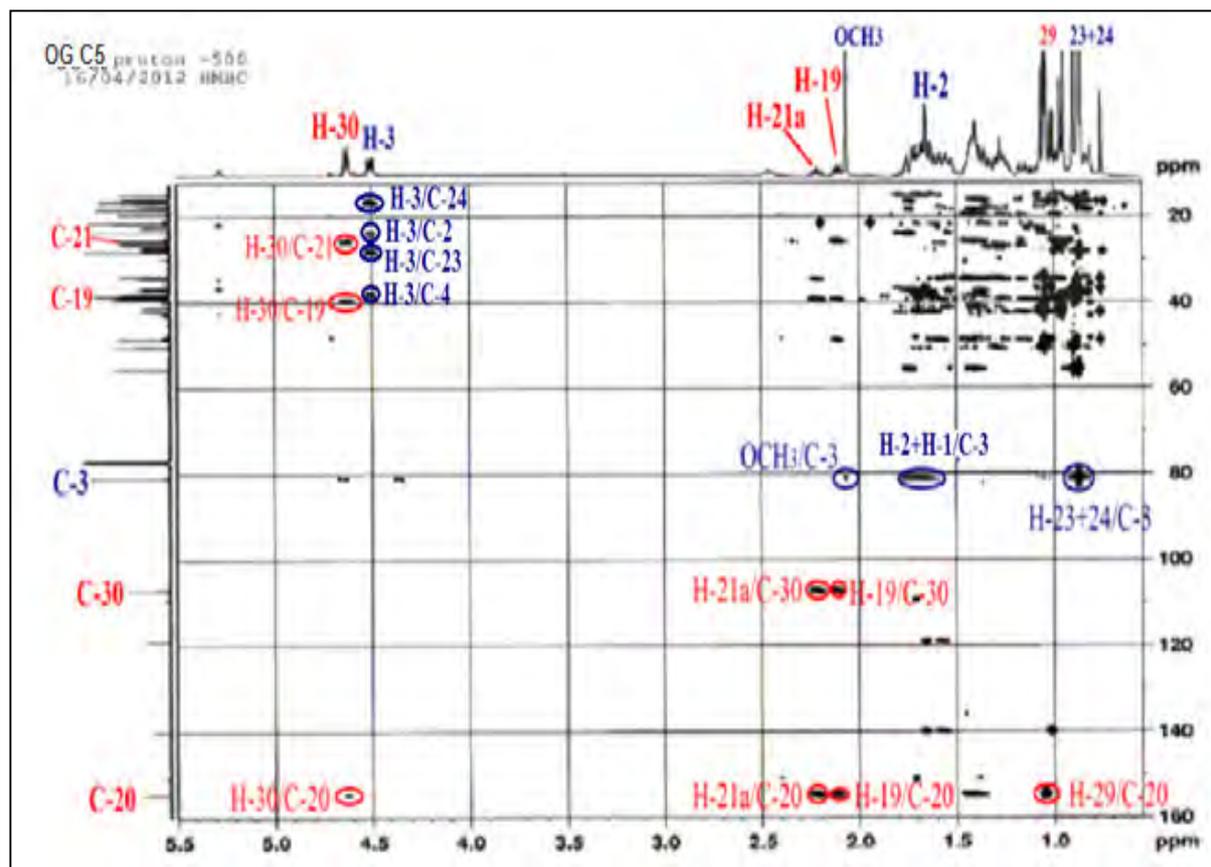
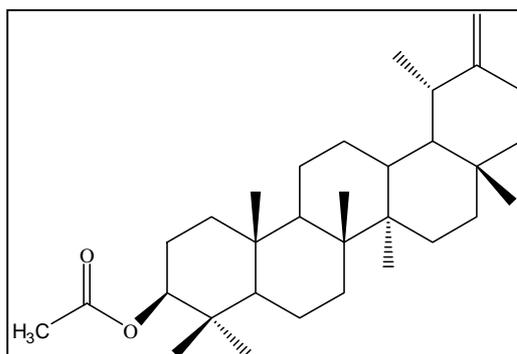


Figure 145: Spectre HMBC du composé C₅.

Tableau 42: Déplacements chimiques en RMN ¹H (500 MHz) et RMN ¹³C (125 MHz) du composé C₅ dans CDCl₃.

N°	δ _C	δ _H (m, J Hz)	N°	δ _C	δ _H (m, J Hz)
1	38,5	1,04, td (14,6; 3,5) 1,74, td (13,4; 3,5)	17	34,2	-
2	23,7	1,65, t (11,4)	18	48,7	0,98, t (7,3)
3	80,9	4,50, dd (11,2; 5,6)	19	39,4	2,11, t (6,9)
4	38,4	-	20	154,7	-
5	55,3	0,82, dm (13,4)	21	25,6	2,22, dq (15,4; 5,2) 2,45, tq (7,4)
6	18,2	1,41, m, 1,52, m	22	38,9	1,40, t (15,8)
7	34,0	1,41, tm (12,8)	23	27,6	0,86, s
8	40,0	-	24	16,5	0,85, s
9	50,1	1,34, dd (12,5; 2,7)	25	16,4	0,90, s
10	36,7	-	26	15,9	1,03, s
11	21,5	1,27, dd (9,3; 3,1) 1,56, dd (9,8; 3,1)	27	14,7	0,94, s
12	26,2	1,12, m, 1,70, dd (11,8; 5,6)	28	19,5	0,86, s
13	39,2	1,61, ddd (13,1; 3,7; 2,3)	29	25,5	1,04, s
14	42,2	-	30	107,1	4,62, d (2,3), 2,64 d (2,3)
15	26,7	0,96, dd (10,8; 5,6) 1,70, dd (11,8; 5,6)	CH3	21,3	2,05, s
16	38,4	1,16, dd (14,3; 2,8) 1,24, dd (10,5; 5,1)	COO	171,0	-

L'ensemble des données spectroscopiques RMN ^1H et ^{13}C , COSY H-H, HSQC, HMBC conduit sans équivoque au **3 β -acetoxy-20 (30) taraxastene (taraxastérol acétate) [320]**.



3 β -acetoxy-20 (30) taraxastene (taraxastérol acétate) (C_5).

2.1.f. Le composé C_6

Le spectre de masse haute résolution obtenu en HR-MS-ESI (figure 146), montre un pic d'ion pseudo-moléculaire à m/z 441,2724 $[\text{M}+\text{H}]^+$, soit une masse moléculaire égale à 440 correspondant à une formule brute en $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_2$.

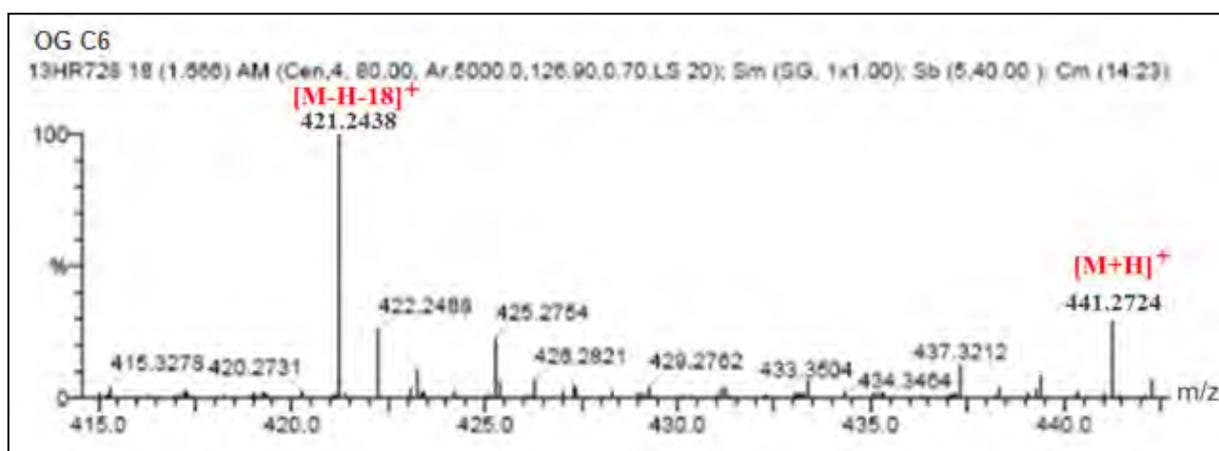


Figure 146: Spectre de masse HR-MS-ESI du composé C_6 .

Le spectre RMN ^1H (Figure 147), du composé C_6 enregistré dans le CDCl_3 , est très voisin de celui du composé C_4 . Il permet de reconnaître entre autres :

- Les sept signaux singulets fins attribuables aux groupements méthyles résonnant à δ_{H} 0,99 (3H, s, H-23), 0,79 (3H, s, H-24), 0,87(3H, s, H-25), 1,05 (3H, s, H-26), 0,98 (3H, s, H-27), 0,84 (3H, s, H-28) et 1,08 (d, $J = 6,8$, H-29),
- le massif de protons résonnant entre 0,72 et 2,93 ppm correspondant aux -CH et -CH $_2$ des cinq cycles,

- les deux signaux à δ_H 4,88, s et 5,08, s attribuable aux protons éthyléniques d'un groupement méthylène exocyclique.

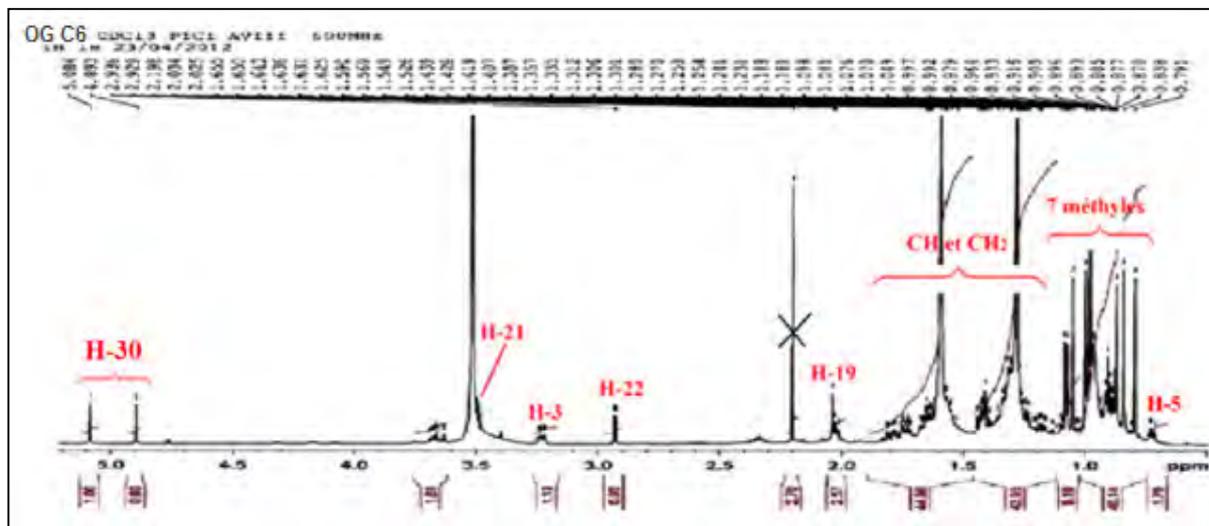


Figure 147: Spectre RMN ^1H du composé C_6 (CDCl_3 , 500 MHz).

Le spectre RMN ^{13}C (figure 148) est quasi similaire à celui du composé C_4 , toutefois la seule différence notable par rapport à la molécule C_6 apparaît au niveau du cycle E et ce la par le déblindage des carbones C-21 et C-22. En tenant compte de leurs déplacements chimiques δ_C 56,1/ δ_H 3,48 et 64,0/ δ_H 2,92 respectifs, on peut supposer que ces deux carbones sont liés à un oxygène. Des données dans la littérature indiquent qu'il s'agit d'un époxy [296].

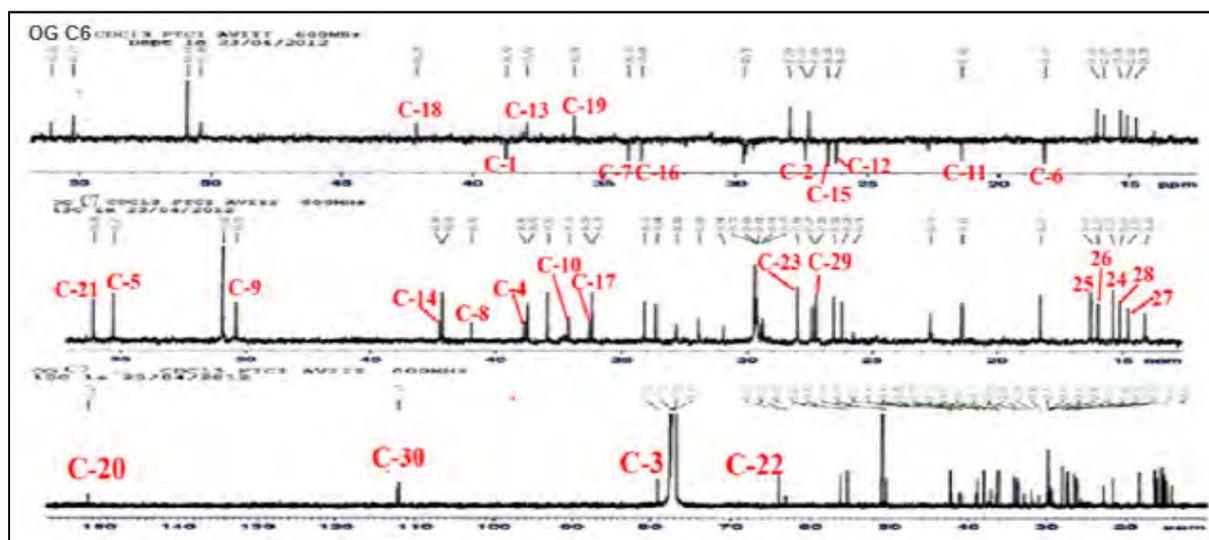


Figure 148: Spectre RMN ^{13}C du composé C_6 (CDCl_3 , 125 MHz).

Cette attribution est confirmée d'une part, par le spectre COSY H-H (figure 149) qui montre une tache de corrélation entre le H-21 et le H-22, et d'autre part par le spectre HMBC (figure

150) qui montre des corrélations ${}^2J_{\text{H-C}}$ et ${}^3J_{\text{H-C}}$ entre le proton H-22 et les carbones C-16, C-17, C-18 et C-21, et entre le proton H-21 et les carbones C-20 et C-30.

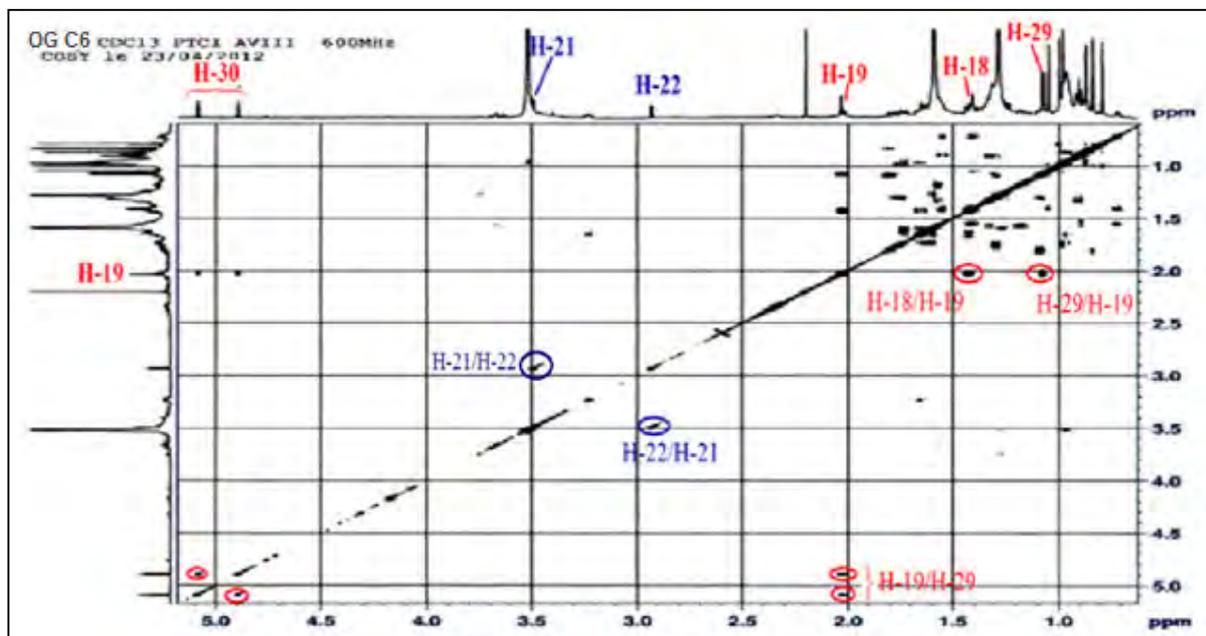


Figure 149: Spectre COSY du composé C_6 .

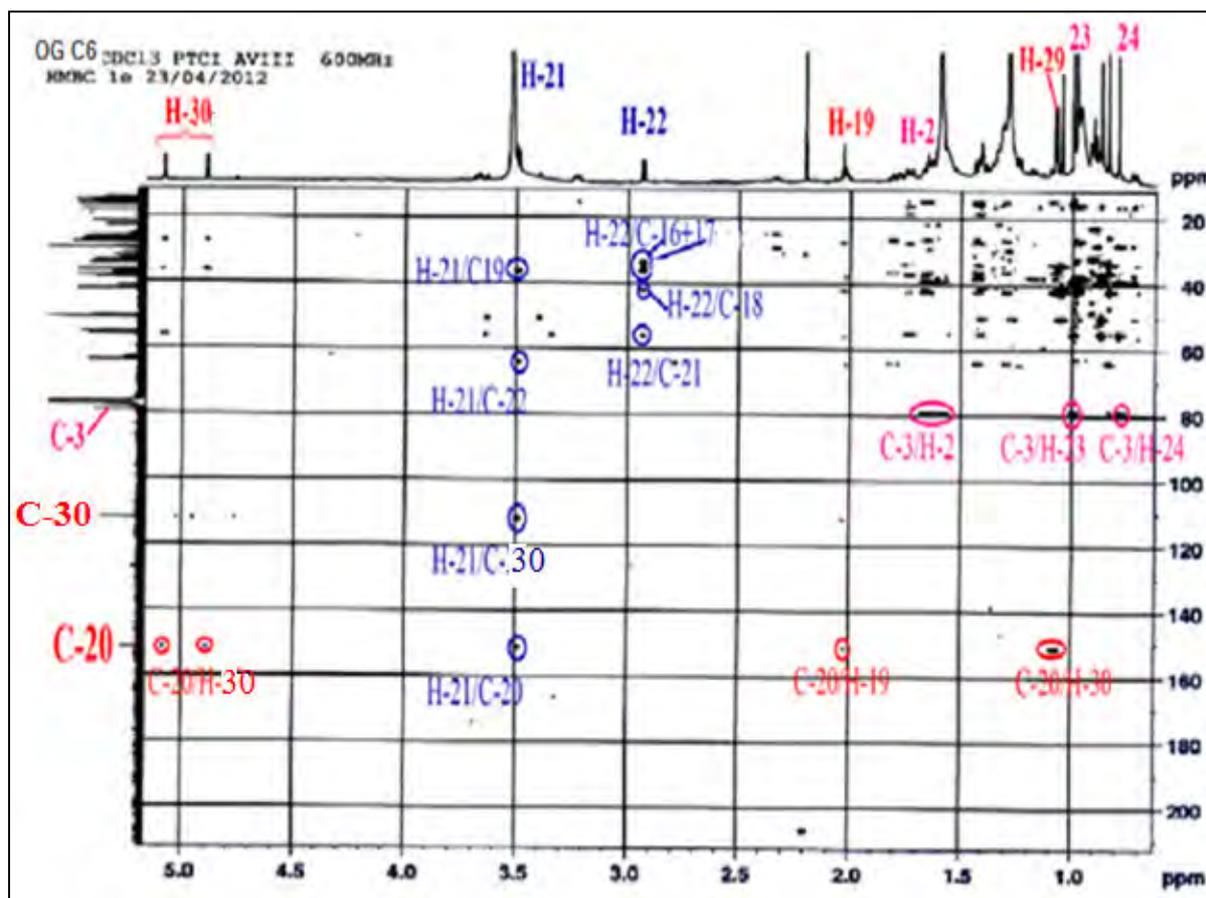
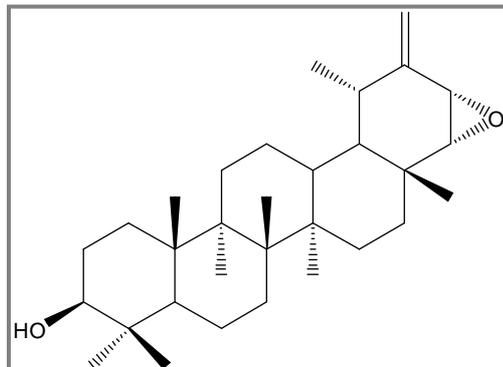


Figure 150: Spectre HMBC du composé C_6 .

Tableau 43: Déplacements chimiques en RMN ¹H (500 MHz) et RMN ¹³C (125 MHz) du composé **C₆** dans CDCl₃.

N°	δ _C	δ _H (m, J Hz)	N°	δ _C	δ _H (m, J Hz)
1	38,7	0,96, m, 1,73, td (13,1; 3,5)	16	33,6	1,28, m, 1,78, ddd (13,6; 4,3; 2,8)
2	27,4	1,59, m, 165, m	17	36,3	-
3	78,9	3,23, dd (11,5; 4,6)	18	42,1	1,42, t (7,5)
4	38,9	-	19	36,2	2,02, t (6,9)
5	55,3	0,72, dl (9,3)	20	151,4	-
6	18,3	1,41, t (11,6), 1,55, m	21	56,1	3,48, d (4,7)
7	34,1	1,41, t (11,6)	22	64,0	2,93, d (4,6)
8	40,9	-	23	27,9	0,99, s
9	50,4	1,33, m	24	15,4	0,79, s
10	37,1	-	25	16,3	0,87, s
11	21,4	1,27, m, 1,57, m	26	15,9	1,05, s
12	25,7	1,16, dd (12,7; 4,4), 1,59, m	27	14,8	0,98, s
13	37,1	1,56, t (4)	28	15,1	0,84, s
14	42,2	-	29	27,3	1,08, d (6,8)
15	26,5	1,08, dd (10,0; 3,7), 1,75, m (10,6; 3,7)	30	111,9	4,88, s, 5,08, s

L'analyse des spectres de RMN ¹H, ¹³C, (tableau 43) HSQC, HMBC de **C₆** montre que ce composé est identique point par point au **ptiloepoxide**, précédemment isolé à partir des parties aériennes de *Ptilostemmon gnaphaloides* [321].

Ptiloepoxide (**C₆**).

2.1.g. Le composé **C₇**

Le composé **C₇** présente une formule moléculaire en C₃₂H₅₂O₃. Cette formule est déterminée grâce au spectre de masse haute résolution HR-MS-ESI obtenu en mode positif qui présente un pic pour l'ion pseudo-moléculaire à *m/z* 507,3824 [M+Na]⁺ (figure 151), correspondant à une masse moléculaire égale à 484, soit un gain de 16 *uma*, ce qui suggère la présence d'un hydroxyle supplémentaire par rapport au composé **C₅**.

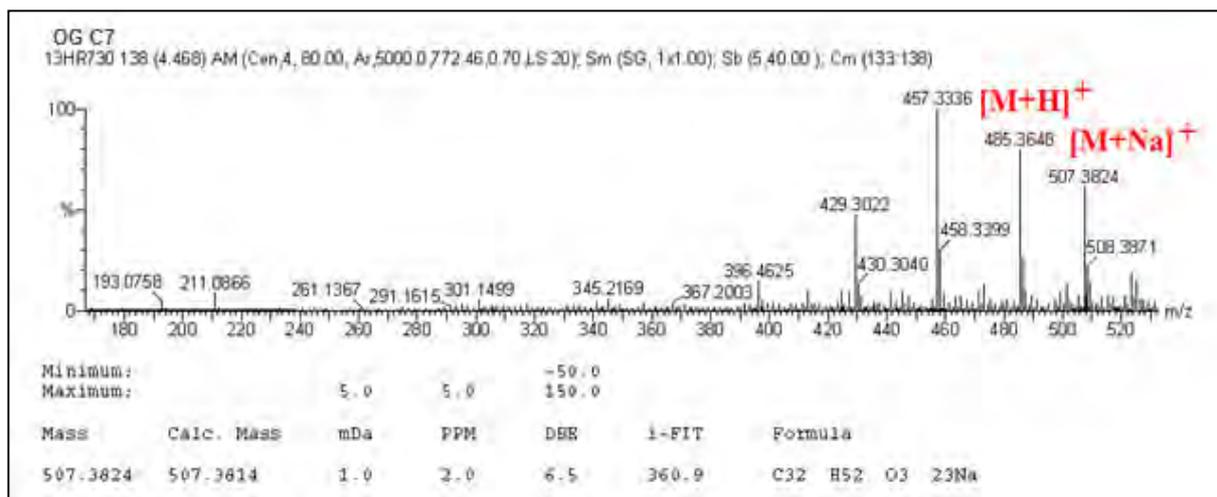


Figure 151: Spectre de masse HR-MS-ESI du composé C_7

Le spectre de RMN 1H (figure 152) du composé C_7 est très proche de celui du composé C_5 . En effet, on reconnaît pratiquement tous les signaux du taraxasterol acetate. La différence notable consiste en l'apparition d'un signal supplémentaire déblindé résonnant à δ_H 4,43(dd, $J = 9$ et 5,4 Hz).

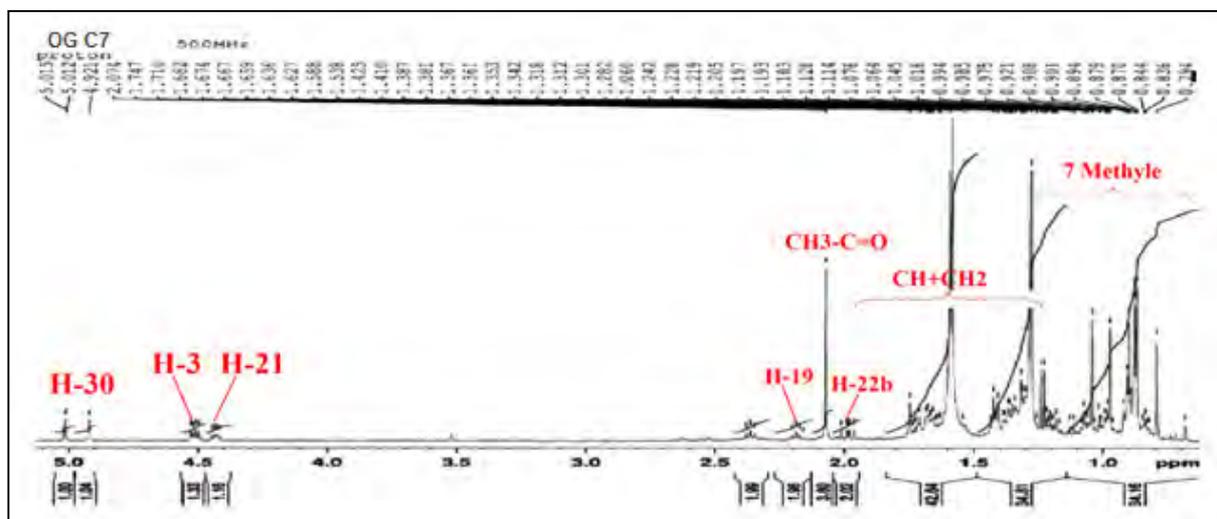


Figure 152: Spectre RMN 1H du composé C_7 ($CDCl_3$, 500 MHz).

L'expérience HSQC (figure 153) permet de détecter son carbone à 71,3 ppm. Ces observations nous orientent cette fois vers une génine triterpénique à squelette 3β -acetoxy-20(30) taraxastene, porteuse d'un groupement hydroxyle (OH).

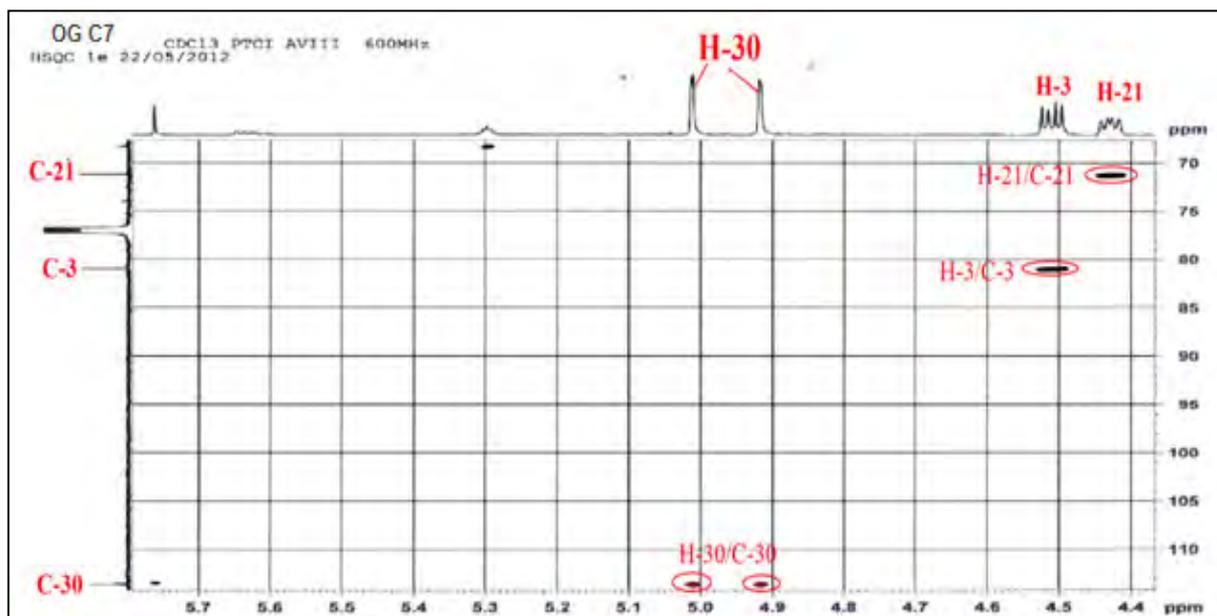


Figure 153: Spectre HSQC du composé C₇.

L'analyse COSY H-H (figure 154) montre une tache de corrélation entre les deux protons H-22 résonnant à 1,36 et 1,99 ppm et le proton résonnant à 4,43 ppm, ce qui laisse logiquement déduire que l'un des groupements OH est fixé au carbone C-21.

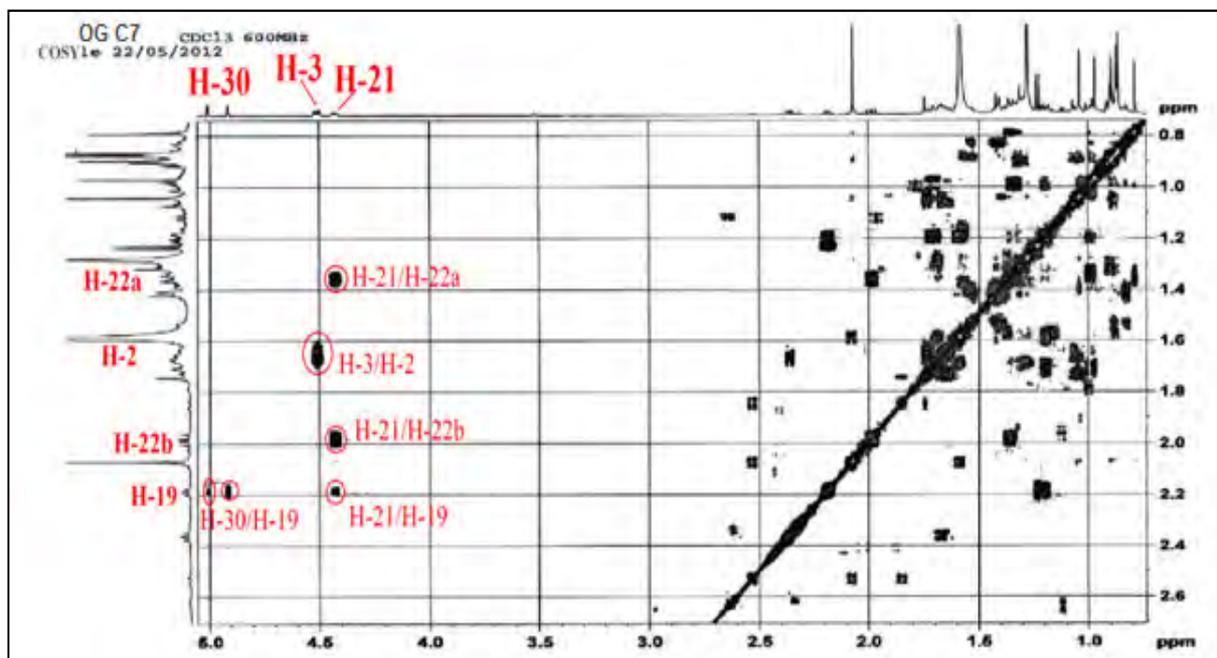


Figure 154: Spectre COSY du composé C₇.

Cette attribution est confirmée par l'expérience HMBC (figure 155) qui montre des corrélations $^2J_{H-C}$ et $^3J_{H-C}$ entre le proton H-21 et les carbones : C-19, C-20, et C-30.

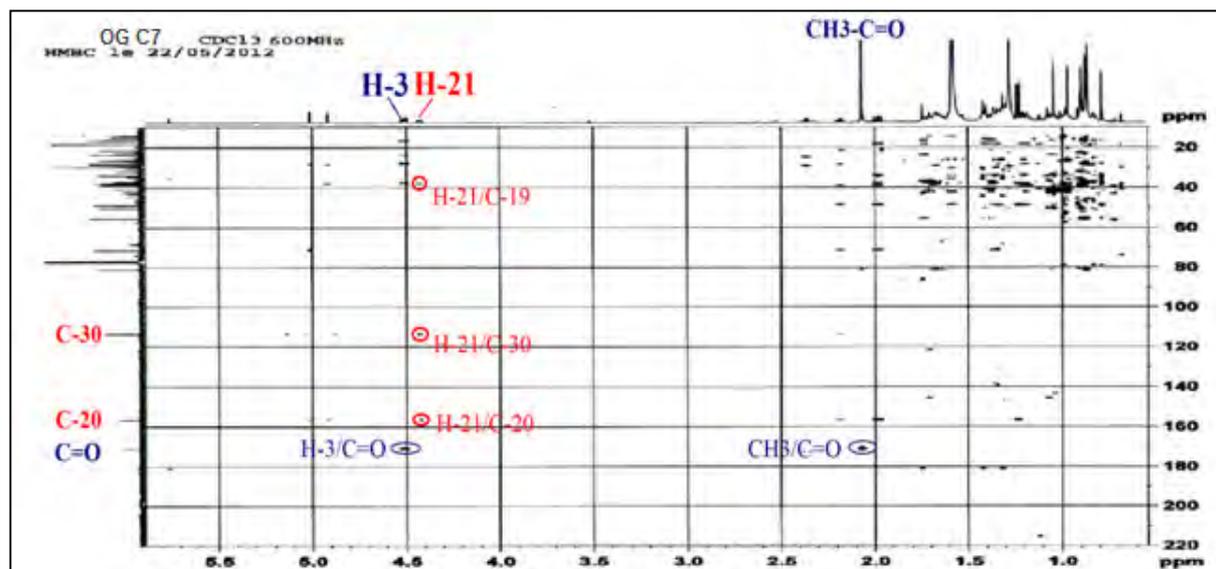


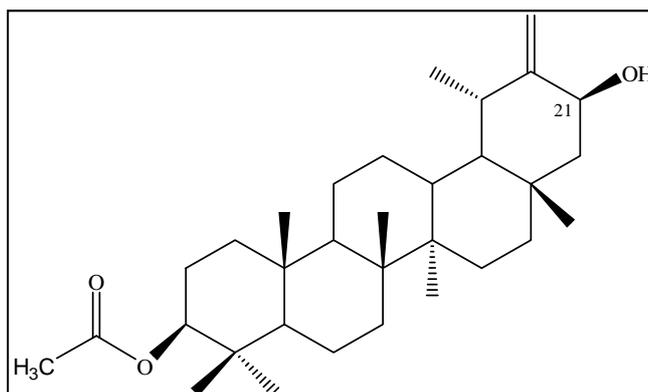
Figure 155: Spectre HMBC du composé C₇.

Le proton H-21 est pris en position α -axiale du fait de la grande valeur de constante de couplage (dd , $J = 9,0$ et $5,4$ Hz).

Tableau 44: Déplacements chimiques en RMN ¹H (500 MHz) et RMN ¹³C (125 MHz) du composé C₇ dans CDCl₃.

N°	δ_C	δ_H (m, J Hz)	N°	δ_C	δ_H (m, J Hz)
1	38,4	1,05, m, 1,73, dm (10,5)	17	34,8	-
2	23,7	1,66, m	18	48,4	1,20, t (7,1)
3	80,9	4,51, dd (10,4; 5,6)	19	38,1	2,18,qt (7,5)
4	37,6	-	20	156,6	-
5	55,4	0,83, dl (11,3)	21	71,3	4,43, dd (9,0; 5,4)
6	18,2	1,41, m, 1,53, m	22	48,8	1,36, d (12,7), 1,99, dd (13,7; 9,1)
7	33,9	1,42, m	23	27,9	0,87, s
8	40,9	-	24	16,5	0,86, s
9	50,3	1,37, dd (12,7; 4,2)	25	16,3	0,90, s
10	37,0	-	26	15,9	1,03, s
11	21,4	1,29, m, 1,57, m	27	14,7	0,96, s
12	25,9	1,17, m, 1,69, m	28	18,2	0,78, s
13	38,9	1,59, m	29	28,4	1,23, d (7,0)
14	42,9	-	30	113,6	4,92, sl, 5,01, d (1,5)
15	26,1	0,99, dd (11,9; 4,7), 1,71, tm	CH3	21,3	2,06, s
16	37,0	1,19, dd (10,8; 4,9), 1,33, t (11,5)	COO	171,0	-

L'analyse conjuguée des spectres COSY, HSQC et HMBC, permet de caractériser tous les protons et carbones de la molécule (tableau 44). Le composé C₇ est donc : **3 β ,21- β -dihydroxy-taraxast-20(30)ène-3-acétate [322]**.



3β,21-β-dihydroxy-taraxast-20(30)ène-3-acétate (C₇).

2.1.h. Le composé C₈

Le composé C₈ présente une formule moléculaire en C₂₉H₅₁O₂, formule déterminée grâce au spectre de masse HR-MS-ESI (figure 156) qui présente un pic d'ion moléculaire à m/z 431,3526 [M]⁺, correspondant à une masse moléculaire égale à 431 *uma*.

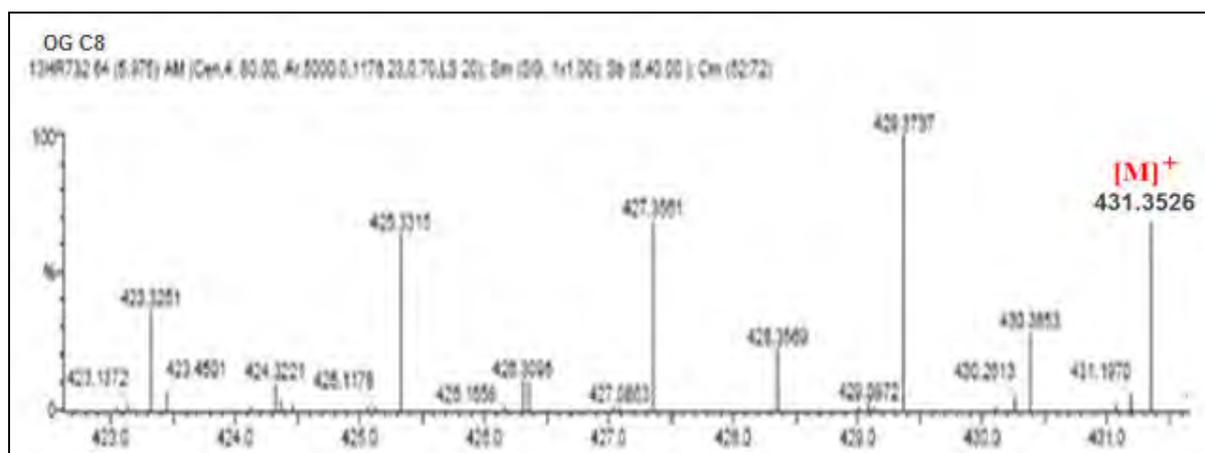


Figure 156: Spectre de masse HR-MS-ESI du composé C₈.

Le spectre de RMN ¹H (figure 157) montre la présence des signaux caractéristiques d'un stérol, sur lequel on distingue le proton éthylénique H-6 à 5,63 ppm (*dd*, $J = 5,2$ et $1,9$ Hz) sous forme d'un doublet de doublet, le proton H-3 à 3,62 ppm (*tt*, $J = 11,3$ et $5,6$ Hz) sous forme de multiplet, les deux singulets d'intensité 3H correspondant aux deux méthyles CH₃-18 à 0,71 ppm et le CH₃-19 à 1,01 ppm, les trois doublets d'intensité 3H des trois méthyles CH₃-21 à 0,96 ppm (*d*, $J = 6,5$ Hz), CH₃-26 à 0,82 ppm (*d*, $J = 6,9$ Hz) et CH₃-27 à 0,85 ppm (*d*, $J = 6,8$ Hz) et le triplet du méthyle CH₃-29 à 0,86 ppm (*t*, $J = 7,4$ Hz). Il montre également un signal déblindé résonnant à δ_H 3,88 sous forme d'un singulet large.

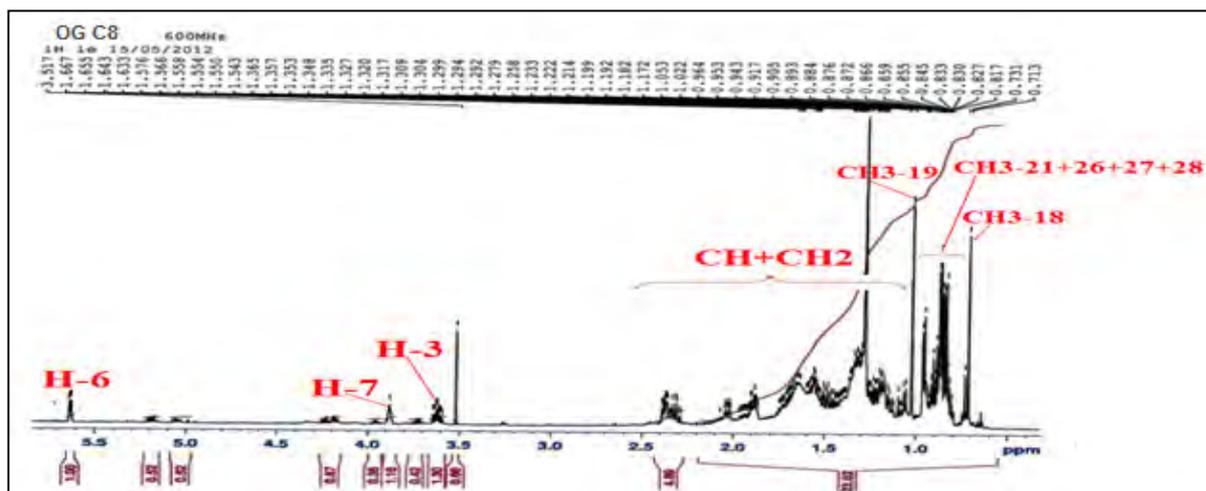


Figure 157: Spectre RMN ^1H du composé C_8 (CDCl_3 , 600MHz).

Sur le spectre RMN ^{13}C (figure 158), on observe clairement les signaux des six groupements méthyles apparaissant dans la zone allant de 11,6 à 19,8 ppm, deux signaux résonnant à 123,9 et 146,3 ppm correspondant aux 2 carbones (C-H et quaternaire) du système oléfinique et enfin deux signaux repéré à 65,4 et 71,4 ppm indiquant la présence de deux carbones oxydés (CH-O).

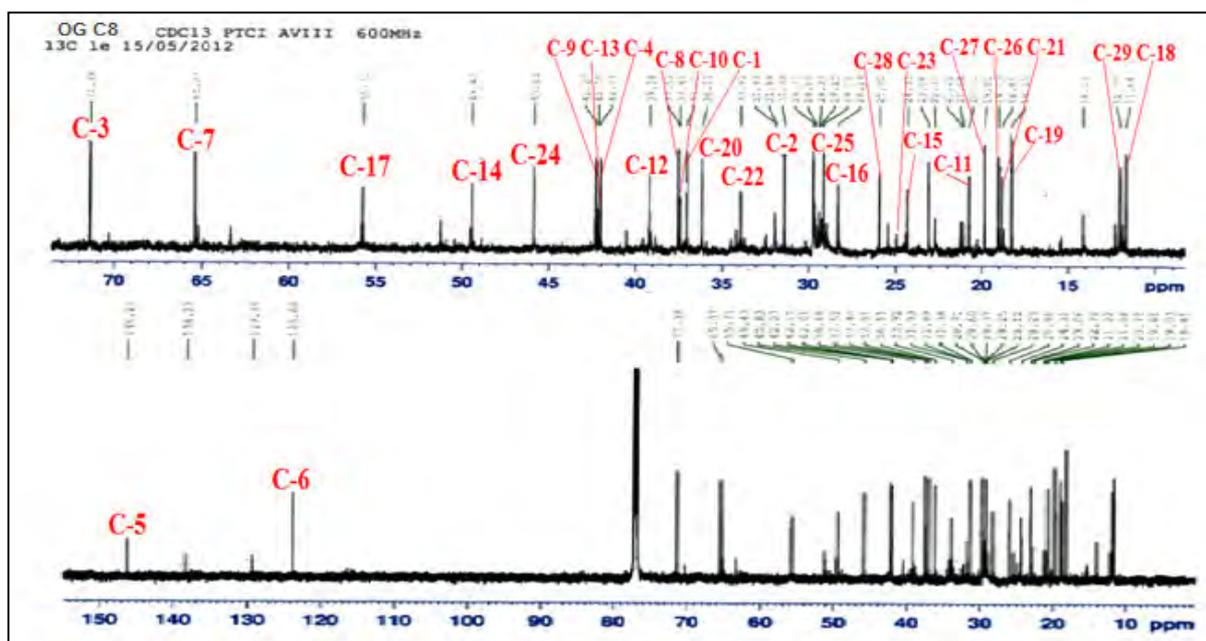


Figure 158: Spectre RMN ^{13}C du composé C_8 (CDCl_3 , 150 MHz).

L'analyse combinée des spectres RMN ^1H (figure 157) COSY et HSQC montre la présence d'un signal sous forme d'un triplet de triplet à δ_{H} 3,62 correspondant au proton oxyméthine H-3 caractéristique des stérols. Ce dernier couple en COSY (figure 159) avec les protons H-2 et H-4, ce qui permet d'attribuer leurs déplacements chimiques à 1,55 ppm (H-2a), 1,87 ppm

(H-2b) et 2,31 ppm (H-4), leurs carbones sont assignés par l'expérience HSQC à δ_C 31,4 ppm et 42,0 respectivement.

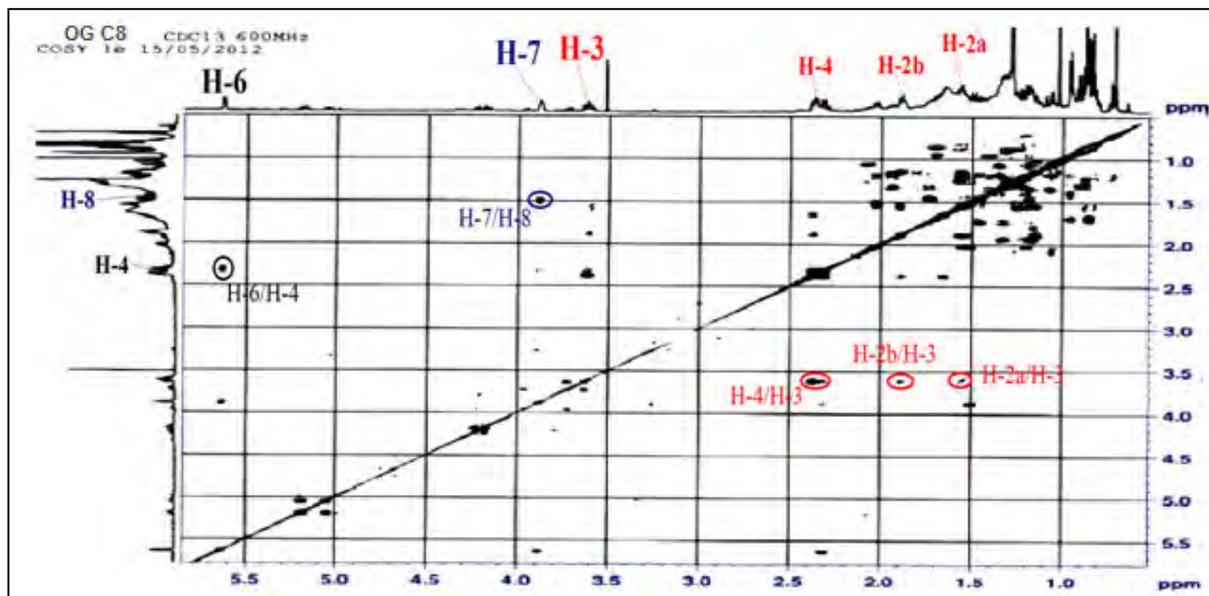


Figure 159: Spectre COSY du composé C₈.

Sur le spectre HMBC, le CH₃-19 apparaissant à 1,01 ppm corrèle avec le carbone oléfinique quaternaire résonnant à 146,3 ppm ne pouvant être que le carbone C-5 (figure 160). Il couple également avec le carbone secondaire C-1 (δ_C 37,0), le carbone quaternaire C-10 (δ_C 37,4) et enfin le carbone méthine C-9 (δ_C 42,3) (figure 149). Les carbones C-5 et C-9 corréleront en $^3J_{C-H}$ avec un proton déblindé à 3,88 ppm, ce qui laisse déduire que le deuxième groupement OH est fixé au carbone C-7 (figures 160, 161).

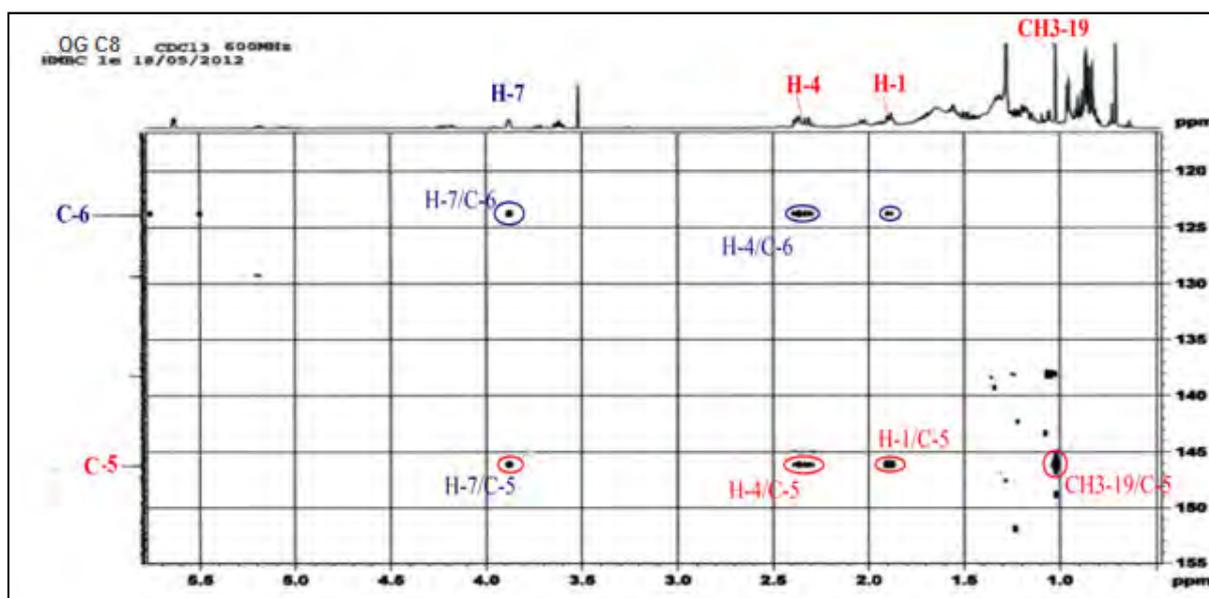


Figure 160: Spectre HMBC du composé C₈.

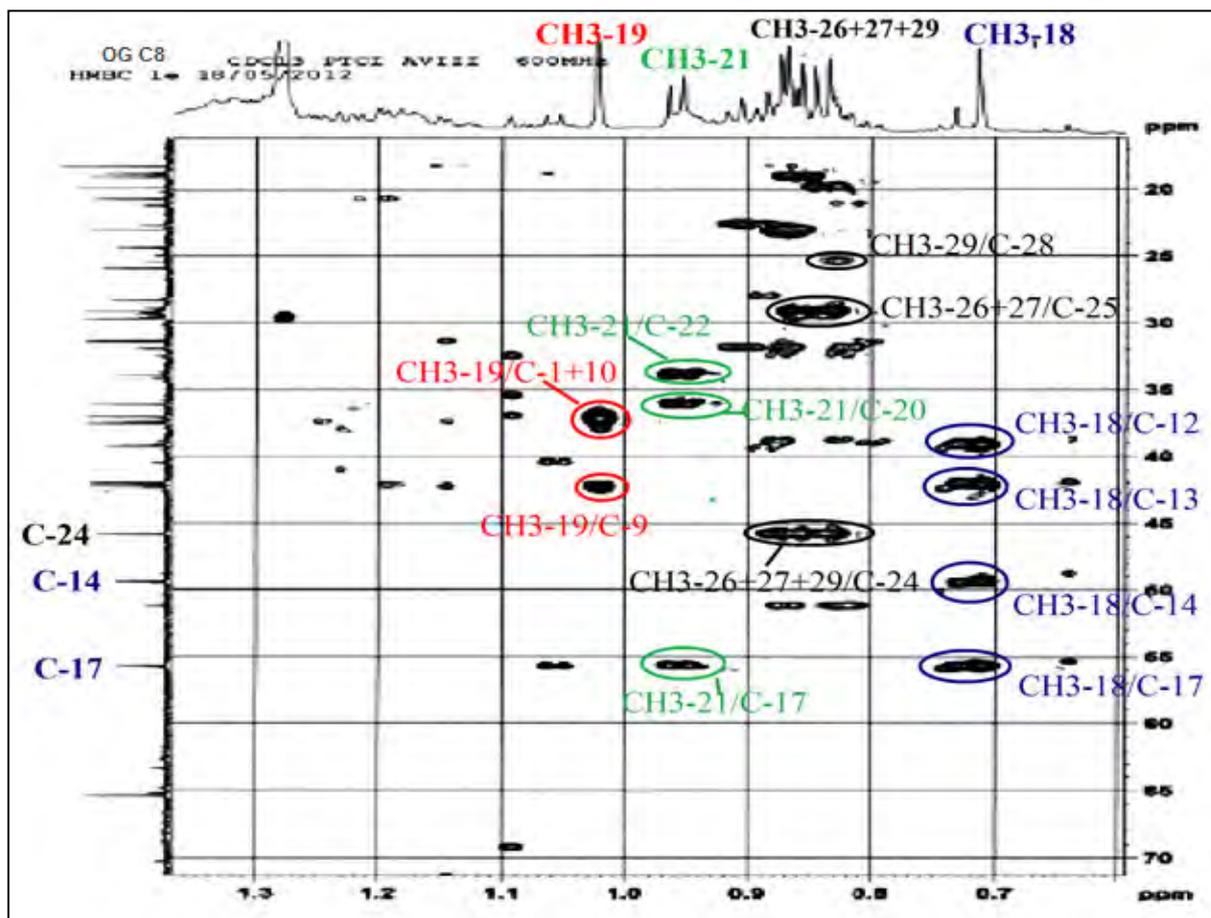


Figure 161: Spectre HMBC du composé C₈.

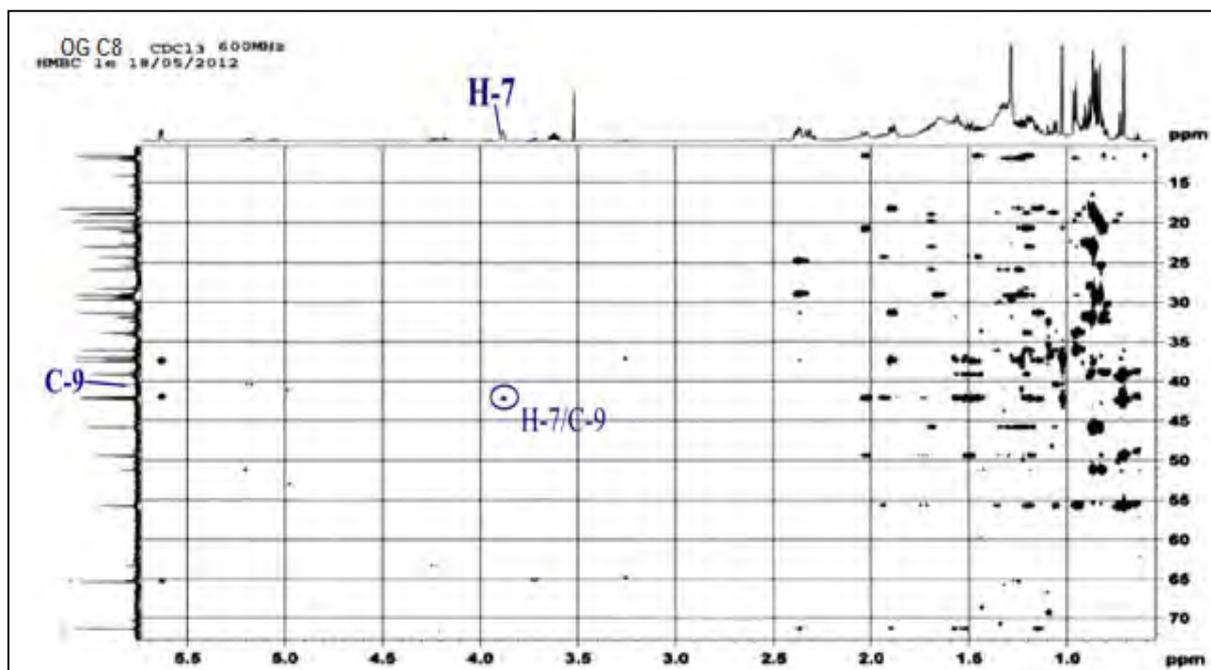


Figure 162: Spectre HMBC du composé C₈.

Cette attribution est confirmée par l'expérience COSY qui montre une tache de corrélation entre le proton H-7 résonnant à 3,88 ppm et le proton H-8 résonnant à 1,49 ppm (figure 159). L'orientation β -axiale du proton H-7 est déterminée par l'effet rOe entre ce proton et le proton H-9 (figure 163)

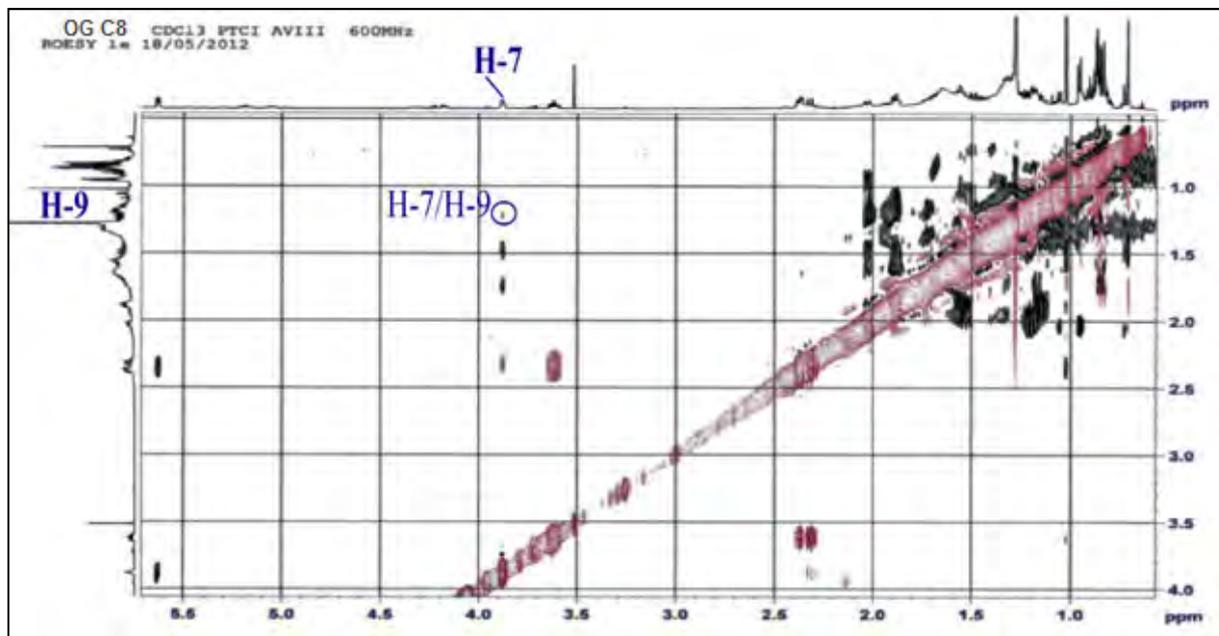


Figure 163: Spectre ROESY du composé C₈.

Le CH₃-18 résonnant à 0,71 ppm corrèle en HMBC (figure 161) avec le carbone secondaire C-12 (δ_C 39,2), le carbone quaternaire C-13 (δ_C 42,2) et les carbones tertiaires C-14 (δ_C 49,4) et C-17 (δ_C 55,7). Ce dernier a été identifié sur la base de son couplage en $^3J_{C-H}$ aussi avec les protons méthyliques CH₃-21 repérés à 0,96 ppm (3H, *d*, $J = 6,5$ Hz). Ceux-ci couplent également avec les carbones C-20 (δ_C 36,1) et C-22 (δ_C 33,9).

Les groupements méthyles CH₃-26 et CH₃-27 apparaissant respectivement à δ_H 0,82 (3H, *d*, 6,9 Hz, H-26) et δ_H 0,85 (3H, *d*, 6,8 Hz, H-27) sont identifiés sur la base de leur corrélation commune avec les carbones méthines C-25 et C-24 repérés respectivement à 29,1 et 45,8 ppm. Ce dernier présente un couplage avec un triplet résonnant à 0,86 ppm attribué aux protons du méthyle CH₃-29 du stérol. Eux-mêmes couplent avec un carbone secondaire apparaissant à 25,9 ppm attribuable au carbone C-28.

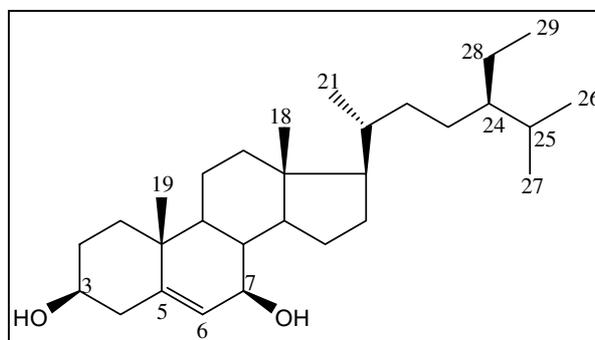
Les autres carbones de la génine sont identifiés par l'analyse combinée des expériences COSY H-H, HSQC et HMBC (tableau 45).

Tableau 45: Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé C_8 dans CDCl_3 .

N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)	N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)
1	37,0	1,14, m, 1,89, m	16	28,3	1,32, t (10,5) , 1,92, m
2	31,4	1,55, m, 1,87, m	17	55,7	1,20, t (10,1)
3	71,4	3,62, tt (11,3; 5,6)	18	11,6	0,71, s
4	42,0	2,31, t (11,3), 2,37, dd (11,8; 3,4)	19	18,3	1,01, s
5	146,3	-	20	36,1	1,36, m
6	123,9	5,63, dd (5,2; 1,9)	21	18,8	0,96, d (6,5)
7	65,4	3,88, sl	22	33,9	1,34, m, 2,35, m
8	37,5	1,49, m	23	25,0	1,65, m
9	42,3	1,24, m	24	45,8	0,95, m
10	37,4	-	25	29,1	1,69, m
11	20,7	1,54, m	26	19,0	0,82, d (6,9)
12	39,2	1,19, m, 1,59, dt (12,3; 3,4)	27	19,8	0,85, d (6,8)
13	42,2	-	28	25,9	1,26, m
14	49,4	1,45, m	29	12,0	0,86, t (7,4)
15	24,3	1,15, m, 1,74, m			

La structure finale du composé C_8 est ainsi déterminée comme étant **7 β -hydroxy- β -sitosterol** isolé précédemment de *Chisocheton tomentosus* (Asteraceae) [323].

Le 7 β -hydroxy- β -sitosterol a fait l'objet d'une étude pharmacologique qui a montré qu'il possède des propriétés anti-prolifératives sur les cellules humaines de cancer du sein MCF-7 [323].

7 β -hydroxy- β -sitosterol (C_8).

2.1.i. Le composé C_9

Le spectre RMN ^1H (figure 164) du composé C_9 montre la présence :

- d'un singulet d'intégration 3H à $\delta_{\text{H}} = 2,01$ ppm attribuable aux protons d'un méthyle.
- de trois signaux d'intégration 1H chacun, attribuables à trois protons oléfiniques dont un est oxygéné ($\delta_{\text{H}} = 5,2$ ppm, $\delta_{\text{H}} = 5,64$ ppm et $\delta_{\text{H}} = 6,64$ ppm).
- de trois signaux d'intégration 1H chacun, attribuables à trois protons méthines ($\delta_{\text{H}} = 5,69$ ppm, $\delta_{\text{H}} = 4,18$ ppm et $\delta_{\text{H}} = 4,4$ ppm).

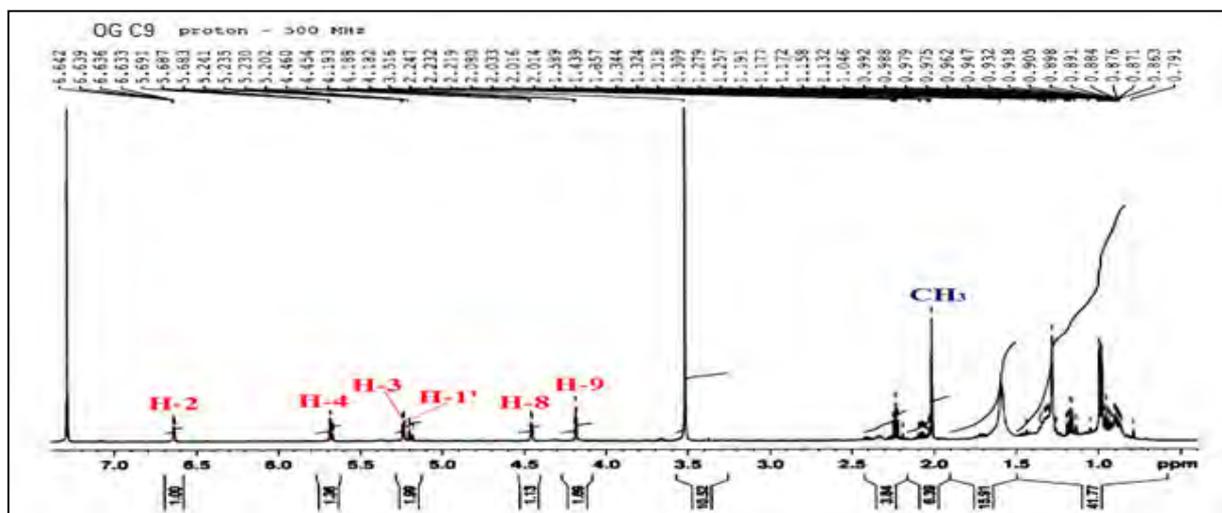


Figure 164: Spectre RMN ^1H du composé C_9 (CDCl_3 , 500 MHz).

Le spectre RMN ^{13}C et les séquences DEPT (figure 165) montrent également la présence :

- d'un carbone d'un méthyle à $\delta_{\text{C}} = 4,6$ ppm.
- de deux carbones oléfinique à $\delta_{\text{C}} = 86,8$ ppm et $\delta_{\text{C}} = 100,4$ ppm et un carbone oléfinique oxygéné à $\delta_{\text{H}} = 148,5$ ppm.
- de trois méthines à $\delta_{\text{C}} = 74,5$ ppm, $\delta_{\text{C}} = 58,9$ ppm et $\delta_{\text{C}} = 53,6$ ppm, les valeurs des déplacements chimiques des deux derniers indiquent qu'ils sont liés à un oxygène, il s'agit d'un époxy en positions 8 et 9.
- de six carbones quaternaires dont un oxygéné à $\delta_{\text{C}} = 110,9$ ppm, un oléfinique oxygéné à $\delta_{\text{C}} = 163,2$ ppm et 4 acétylénique à $\delta_{\text{C}} = 80,2$ ppm, $\delta_{\text{C}} = 64,5$ ppm, $\delta_{\text{C}} = 79,0$ ppm et $\delta_{\text{C}} = 68,4$ ppm.

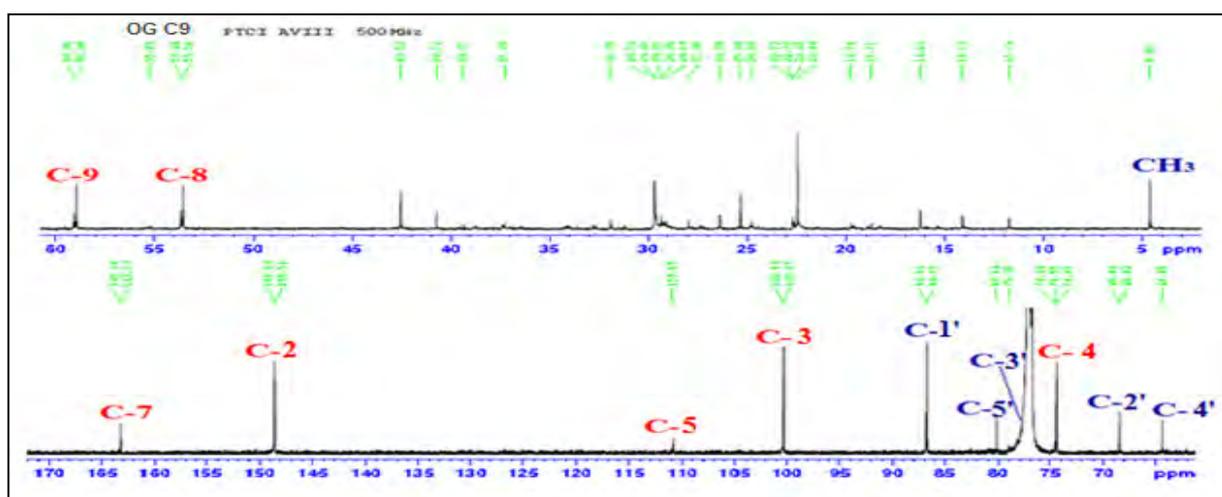


Figure 165: Spectre RMN ^{13}C du composé C_9 (CDCl_3 , 125MHz).

Le spectre COSY (figure 166) montre des corrélations H-H entre les deux protons oxygénés en position 8 et 9, ce qui indique qu'ils sont voisins, ceci favorise la présence d'un époxy entre ces deux positions.

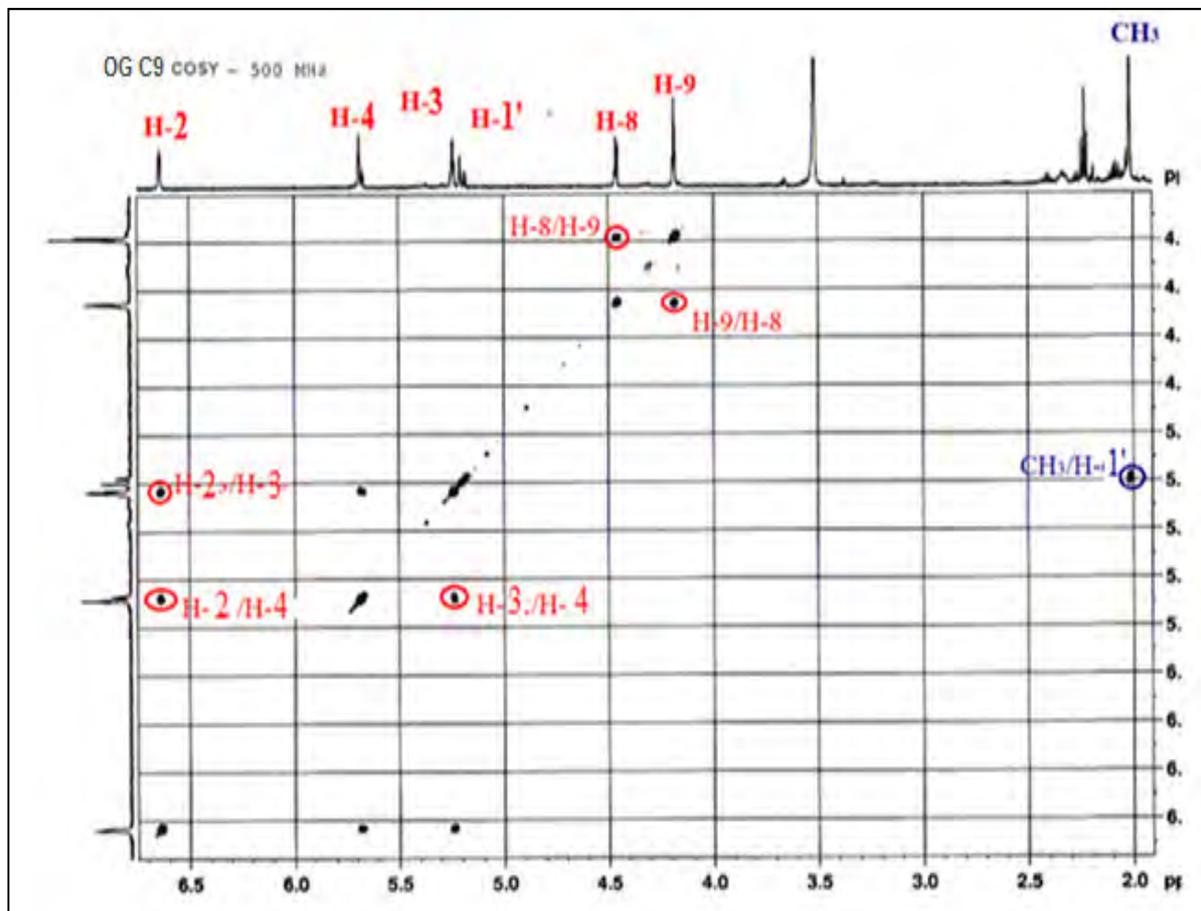


Figure 166: Spectre COSY du composé C₉.

Les protons du méthyle en position 6[^] ($\delta_H = 2,01$ ppm) corrélient en HMBC (figure 167) avec les quatre carbones quaternaires acétyléniques C-5[^] ($\delta_C = 80,2$ ppm), C-4[^] ($\delta_C = 64,5$ ppm), C-3[^] ($\delta_C = 79,0$ ppm) et C-2[^] ($\delta_C = 68,4$ ppm), le carbone oléfinique C-1[^] ($\delta_C = 86,8$ ppm) et le carbone quaternaire oléfinique oxygéné C-7 ($\delta_C = 163,2$ ppm).

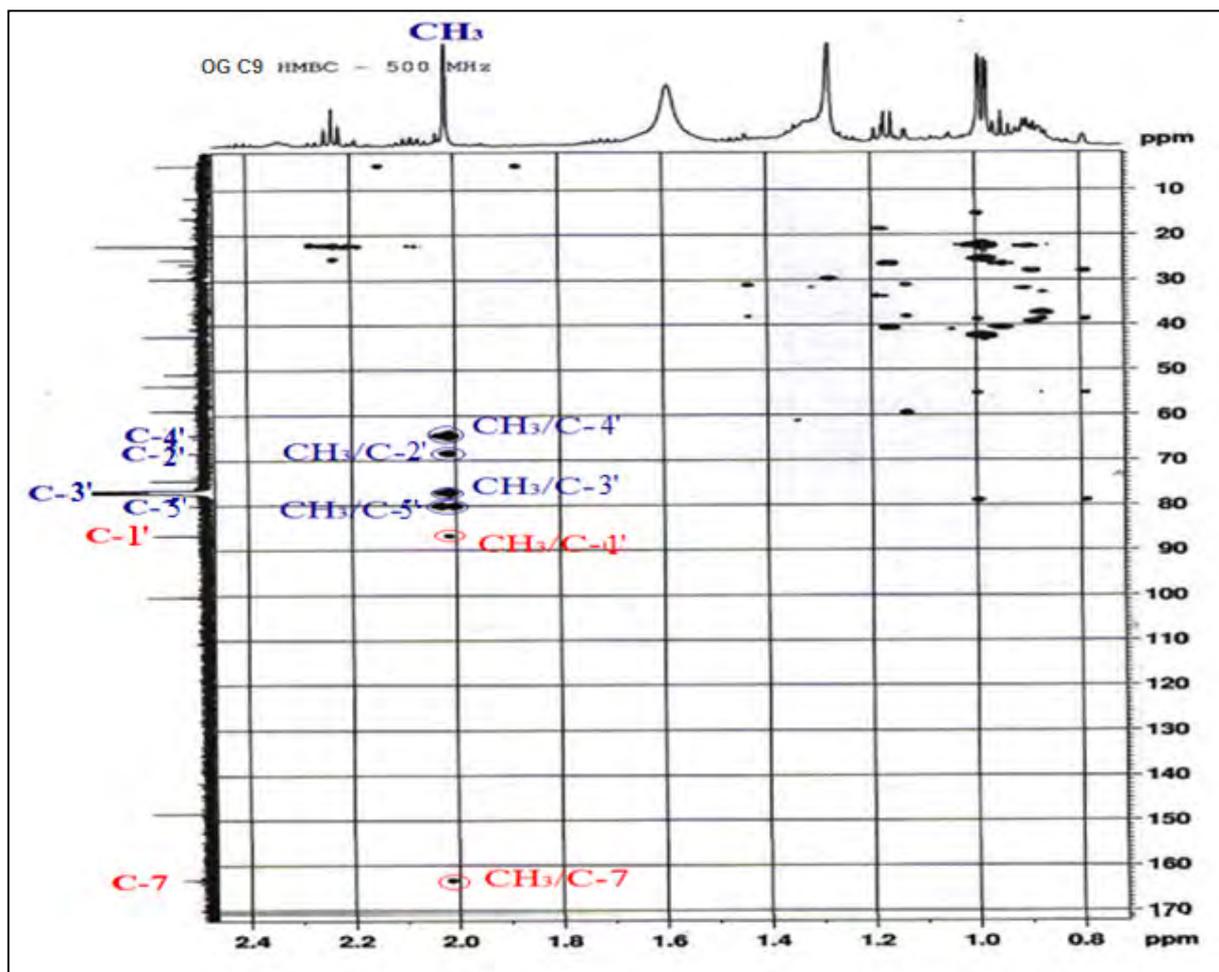


Figure 167: Spectre HMBC du composé C₉.

Le spectre (figure 168) montre aussi que le carbone oléfinique oxygéné C-7 corrèle avec le proton oléfinique H-1' ainsi qu'avec le proton oxygéné H-9.

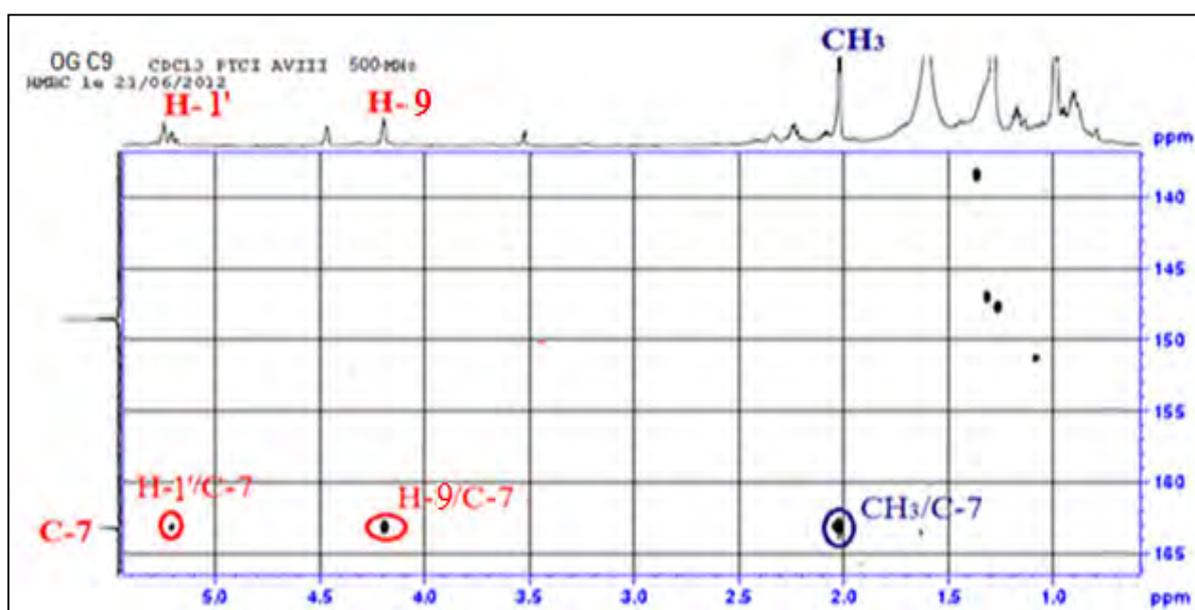


Figure 168: Spectre HMBC du composé C₉.

Ce même spectre (figure 169) montre des corrélations entre le proton H-1' ($\delta_H = 5,2$ ppm) et le carbone C-8 ($\delta_C = 53,6$ ppm), ce dernier couple également avec le proton H-9 ($\delta_H = 4,18$ ppm).

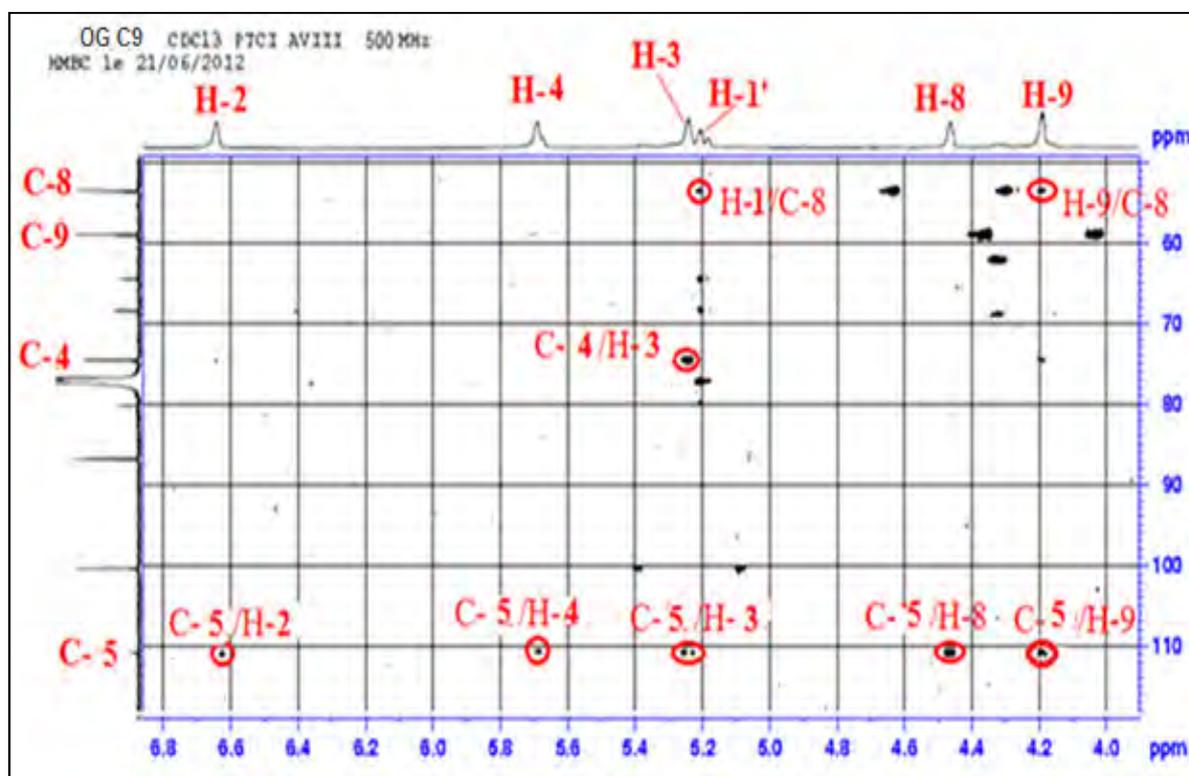


Figure 169: Spectre HMBC du composé **C₉**.

Des corrélations $^2J_{H-C}$ et $^3J_{H-C}$ sont observées entre le carbone quaternaire oxygéné C-5 ($\delta_C = 110,4$ ppm) et les deux protons oxygénés H-8 ($\delta_H = 4,40$ ppm) et H-9 ($\delta_H = 4,18$ ppm), le proton méthine H-4 ($\delta_H = 5,69$ ppm), le proton oléfinique H-3 ($\delta_H = 5,24$ ppm) et le proton oléfinique oxygéné H-2 ($\delta_H = 6,64$ ppm) (figure 169).

Toutes ces informations suggèrent la présence d'une unité spiroacétal cyclique avec un époxy en position 8 et 9 liée à un diacétylényl (figure 170) [324].

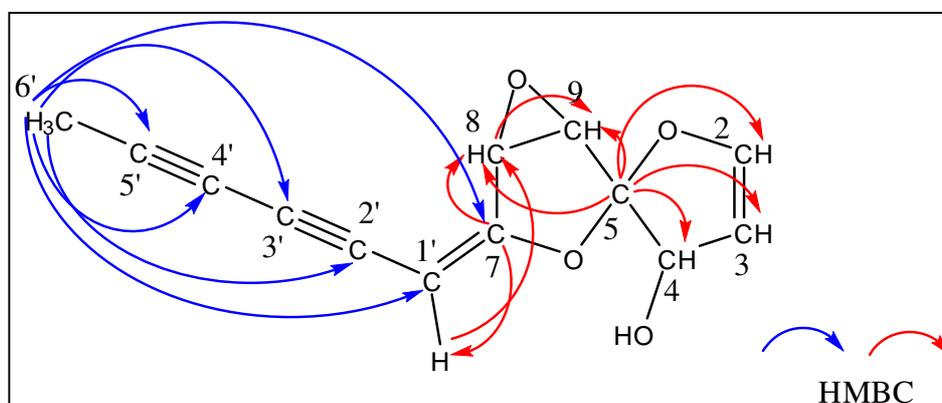


Figure 170: Importantes corrélations HMBC $^2J_{H-C}$ et $^3J_{H-C}$ observées pour le composé **C₉**

Le spectre NOESY (figure 171) de ce composé n'a montré aucune corrélation entre le proton oléfinique H-1' et le proton oxygéné H-8, ce qui indique la géométrie *E* pour la double liaison C-1'/C-7.

Ce même spectre montre une corrélation entre le proton H-4 de la fonction alcool et l'un des deux protons de l'époxy qui est le H-9, ce indique la même orientation pour l'ensemble de ces noyaux

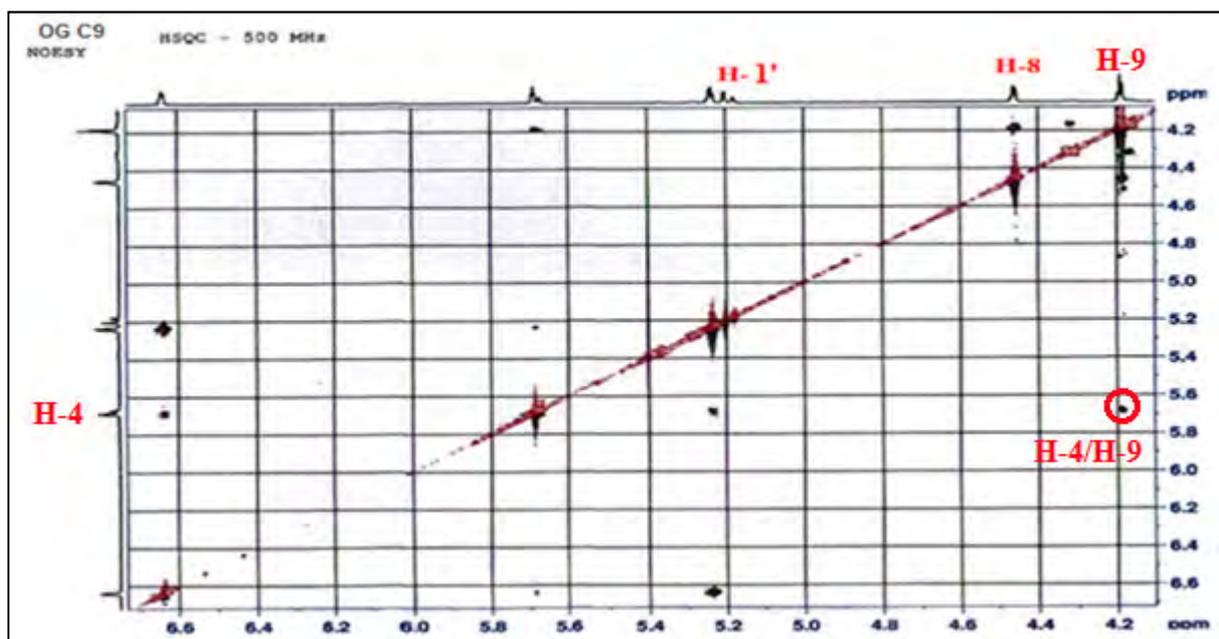
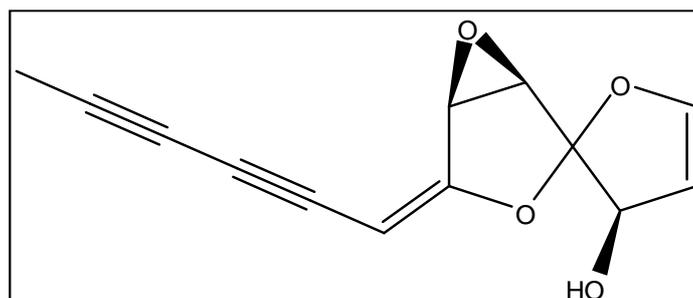


Figure 171: Spectre NOESY du composé C₉.

Tableau 46: Déplacements chimiques en RMN ¹H (500 MHz) et RMN ¹³C (125 MHz) du composé C₉ dans CDCl₃.

N°	δ _C	δ _H (m, J Hz)	N°	δ _C	δ _H (m, J Hz)
1'	86,8	5,2, m	3	100,4	5,24, dd (3,0; 2,5)
2'	68,4	-	4	74,5	5,69, t (2,5)
3'	79,0	-	5	110,9	-
4'	64,5	-	7	163,2	-
5'	80,2	-	8	53,6	4,40, dd (5,5; 2,9)
6'	4,6	2,01, s	9	58,9	4,18, dd (5,5; 2,8)
2	148,5	6,64, dd (3,0; 1,8)			

L'analyse des spectres de RMN ¹H, ¹³C, (tableau 46) HSQC, HMBC de C₉ est en accord avec celle trouvée dans la littérature et permet d'attribuer à ce composé la structure de : **8,9-époxy-7-[(E)-2,4-hexadiynylidene]-1,6-dioxa-spiro [4.4] non-2-en-4-ol**, isolé précédemment de l'espèce *Chrysanthemum ircutianum* Turcz [324].



8,9-epoxy-7-[(*E*)-2,4-hexadiynylidene]-1,6-dioxa-spiro [4.4] non-2-en-4-ol (**C₉**).

2.1.j. Le composé **C₁₀**

Le spectre RMN ¹H (figure 172) enregistré dans CDCl₃ du composé **C₁₀**, montre dans la région des aromatiques, la présence de système ABX d'un cycle aromatique, on observe :

- Deux doublets d'intégration 1H chacun à $\delta_H = 7,05$ ppm ($J = 8,8$ Hz) et $\delta_H = 8,24$ ppm ($J = 2,4$ Hz) attribuables aux protons H-1 et H-4 respectivement.
- Un doublet de doublet d'intégration 1H à $\delta_H = 8,13$ ppm ($J = 8,8$ et 2,4 Hz) attribuable au proton H-2.

Ceci indique que ce cycle aromatique est substitué en positions 3, 5 et 6.

Le spectre montre aussi :

- Un signal d'un méthoxyle à $\delta_H = 4,00$ ppm sous forme de singulet.
- Un singulet à $\delta_H = 2,60$ ppm d'intégration 3H attribuable à un CH₃-C=O.
- Un doublet d'intégration 6H à $\delta_H = 1,00$ ppm attribuable à deux méthyles.
- Un doublet d'intégration 2H à $\delta_H = 2,80$ ppm correspondant à un CH₂.
- Un multiplet d'intégration 1H à $\delta_H = 2,20$ ppm attribuable à un CH.

Le spectre montre également des signaux qui ne sont pas reliés à la structure (impurités)

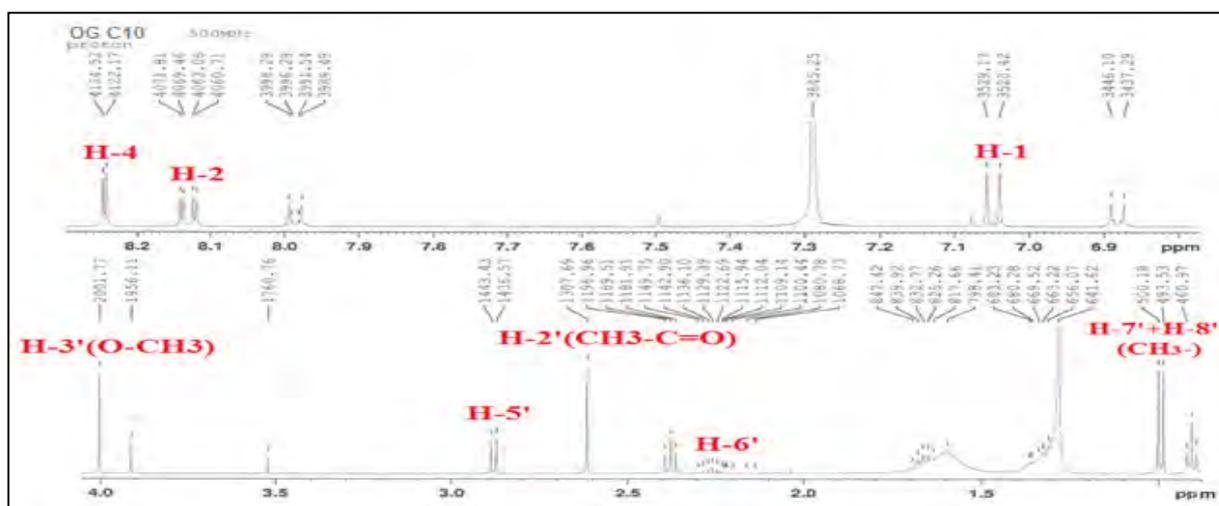


Figure 172: Spectre RMN ¹H du composé **C₁₀** (CDCl₃, 500 MHz).

L'expérience du spectre HMBC (figure 173) montre des corrélations entre le carbone quaternaire attribuable à un carbonyle résonnant à $\delta_C = 196,5$ ppm et les protons H-2 ($\delta_H = 8,13$ ppm), H-4 ($\delta_H = 8,24$ ppm) ainsi que les protons du méthyle qui résonne à $\delta_C = 2,6$ ppm, ce même spectre montre des corrélations entre le carbone quaternaire résonnant à $\delta_C = 161,7$ ppm et les protons H-4 ($\delta_H = 8,24$ ppm), H-1 ($\delta_H = 7,05$ ppm) ainsi que les protons du méthoxy. Ces informations indiquent la substitution de la position 3 par le groupement acyle $\text{CH}_3\text{-C=O}$ ainsi que la substitution de la position 6 par un méthoxy.

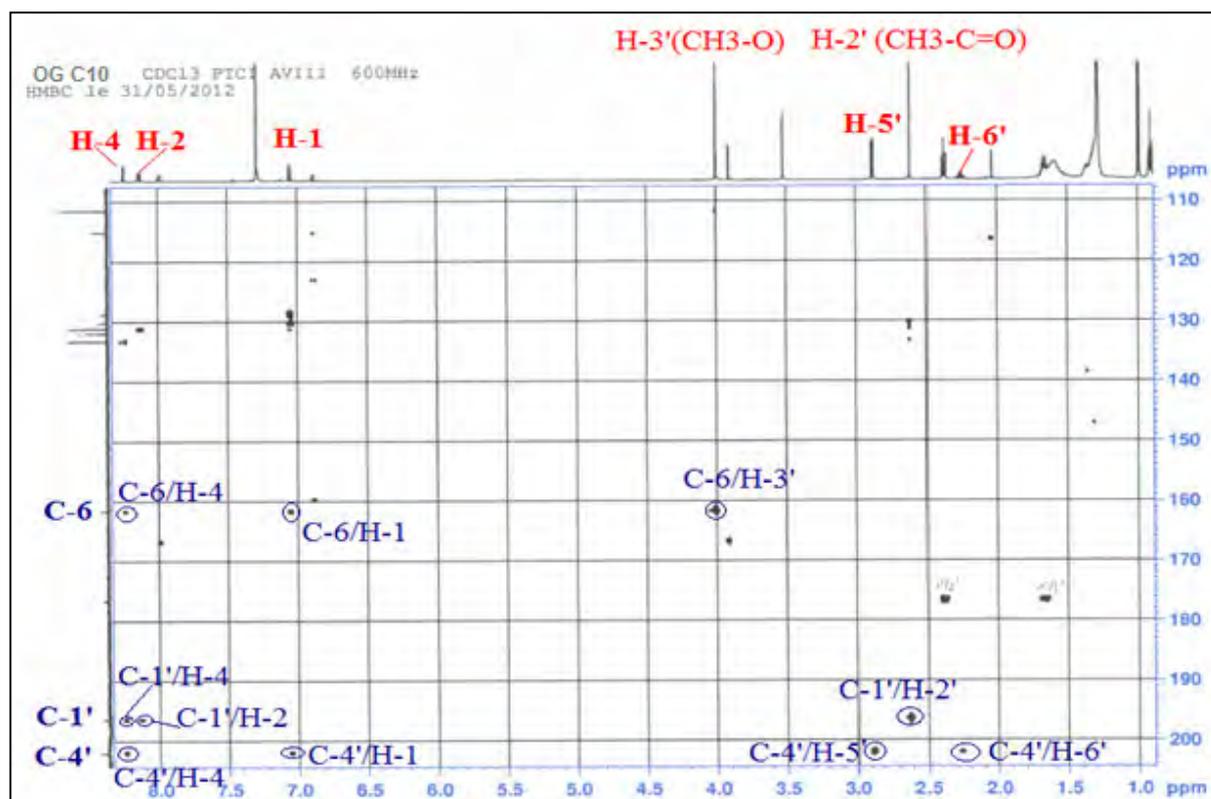
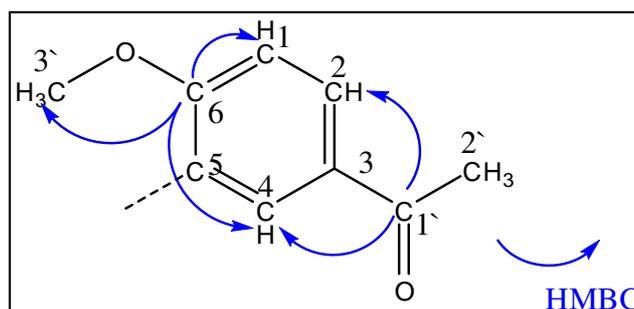


Figure 173: Spectre HMBC du composé C_{10} .

Le spectre COSY (figure 174) des corrélations H-H entre les protons du CH_2 (H-5') et le proton du CH (H-6') et entre ce dernier et les deux méthyles qui résonnent à $\delta_H = 1,00$ ppm (H-7' + H-8'), d'où la portion :

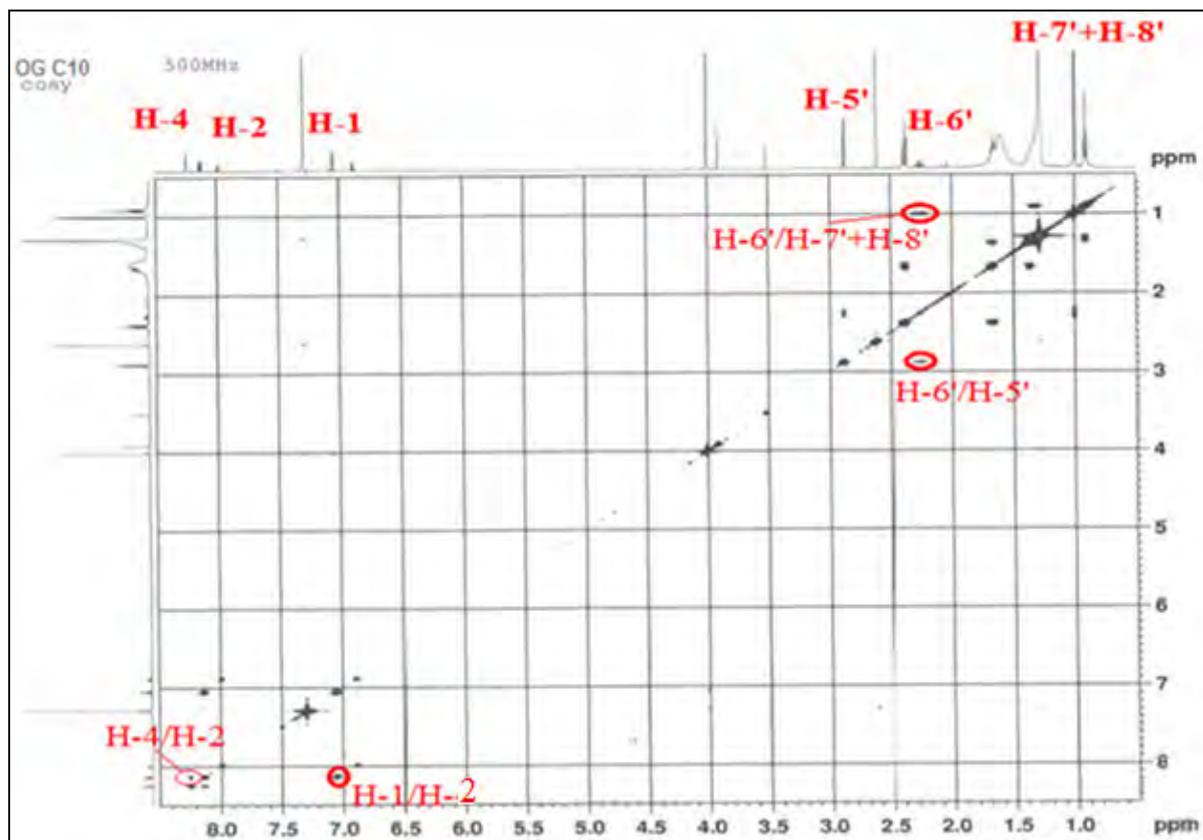
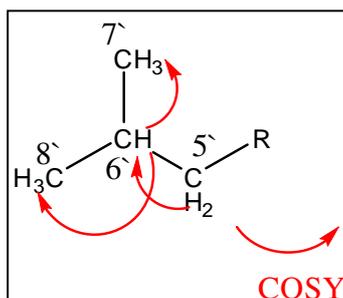
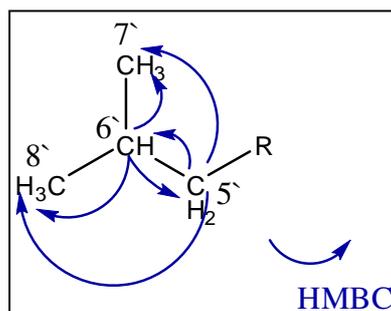


Figure 174 : Spectre COSY du composé C₁₀.

Cela est confirmé par l'expérience HMBC (figure 175) qui montre des corrélations entre le carbone C-6[∘] et les protons H-5[∘] et H-7[∘]+H-8[∘] et inversement, entre le carbone C-5[∘] et les protons H-6[∘] et H-7[∘]+H-8[∘].



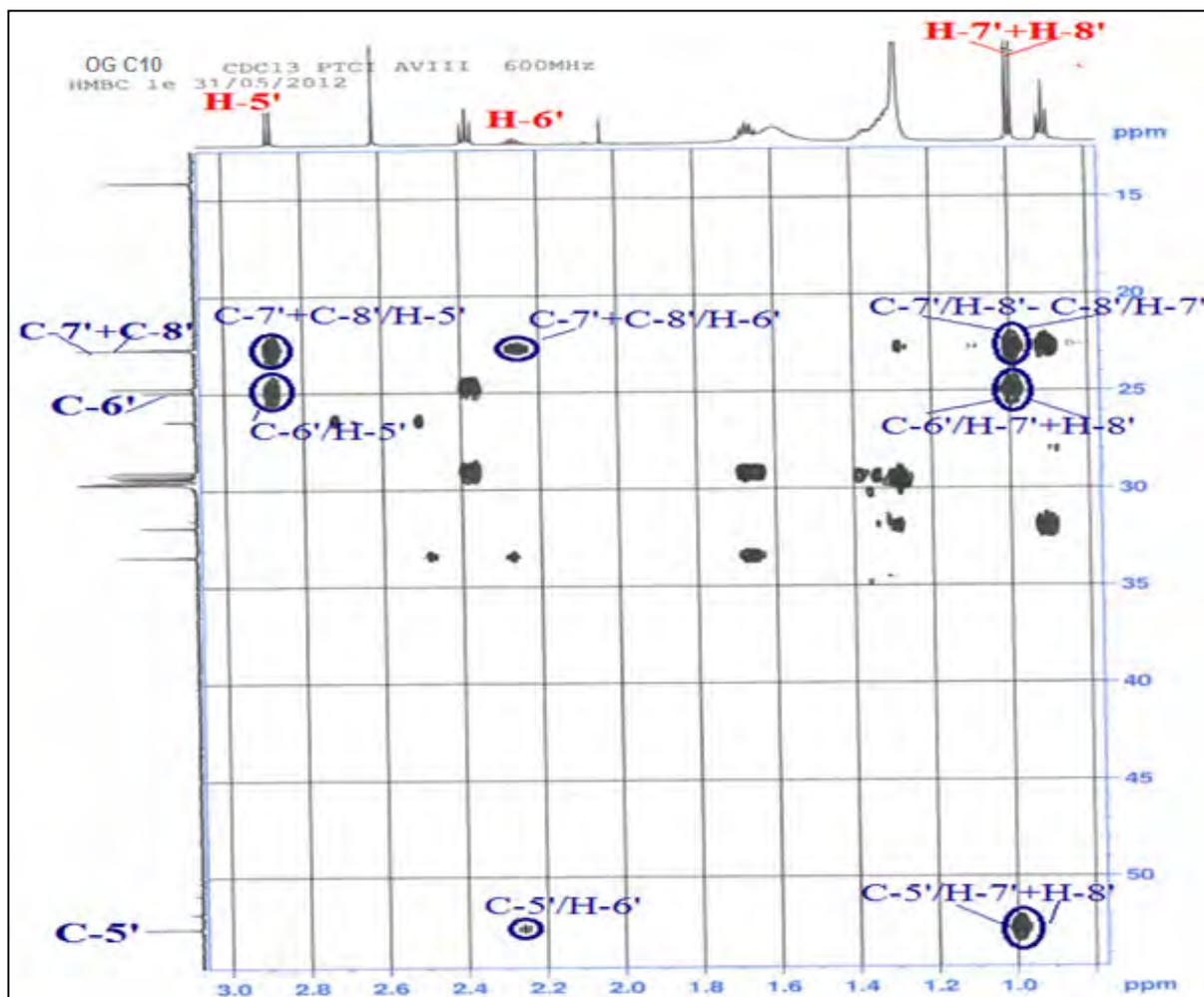
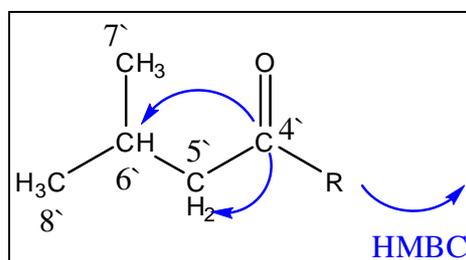


Figure 175: Spectre HMBC du composé C₁₀.

On observe sur ce même spectre le carbonyle résonnant à $\delta_C = 202,1$ ppm (C-4') qui couple en $^2J_{C-H}$ $^3J_{C-H}$ avec les protons H-5' et H-6' (figure 173) d'où la portion :



On observe aussi une corrélation entre ce carbonyle (C-4') et les protons H-1 et H-4, cela permet de relier cette portion avec le cycle aromatique en position 6 (figure 173).

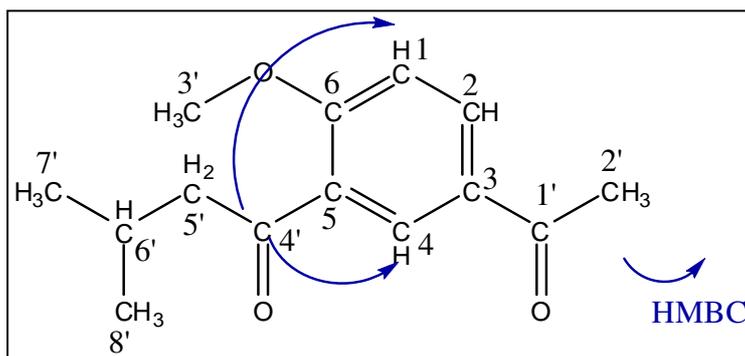
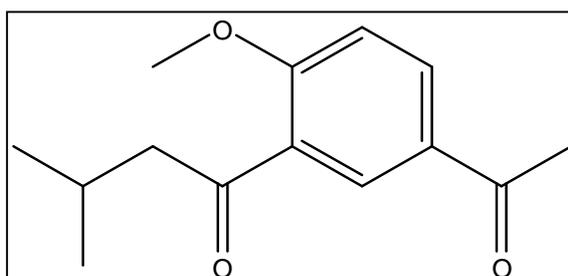


Tableau 47: Déplacements chimiques en RMN ^1H (500 MHz) et RMN ^{13}C (1125 MHz) du composé C_{10} dans CDCl_3 .

N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)	N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)
1	111,5	7,05, d (8,8)	2`	29,1	2,60, s
2	133,2	8,13, dd (8,8; 2,4)	3`	55,9	4,00, s
3	130,2	-	4`	202,1	-
4	131,2	8,24, d (2,4)	5`	52,7	2,80, d (6,9)
5	128,8	-	6`	24,5	2,20, m
6	161,7	-	7`	22,7	1,00, d (6,2)
1`	196,5	-	8`	22,7	1,00, d (6,2)

L'analyse conjuguée des spectres COSY, HSQC et HMBC, permet de caractériser tous les protons et carbones de la molécule (tableau 47). Le composé C_{10} est donc une hydroxyacétophénone : l'**espeltone** isolé pour la première fois d' *Espeletia schultzii* [325].



Espeltone (C_{10}).

2.2. Composés de l'extrait butanolique

2.2.a. Le composé C₂₀

Le spectre de masse haute résolution obtenu par HR-MS-ESI (figure 176) montre un ion pseudo moléculaire à $m/z = 675,1545$ $[M+Na]^+$ (calculé 675,1537) qui correspond à la formule brute C₂₉H₃₂O₁₇.

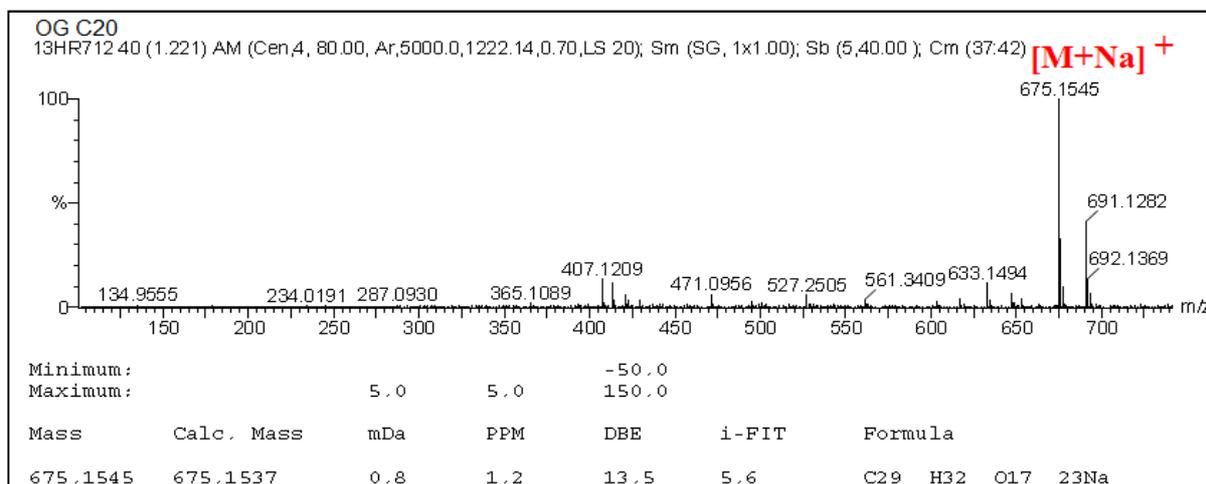


Figure 176: Spectre de masse HR-MS-ESI du composé C₂₀.

Les signaux présents sur le spectre RMN ¹H (figure 177) du composé C₂₀ (CD₃OD, 500 MHz) dans la région de protons aromatiques sont en faveur d'un squelette de type lutéoline.

En outre, nous observons les signaux de deux protons anomériques à $\delta_H = 5,23$ ppm et $\delta_H = 4,66$ ppm indiquant la présence de deux sucres. Ce spectre montre aussi la présence d'un singulet d'intégration 3H correspondant à un méthyle à $\delta_H = 2,02$ ppm.

Cette génine flavonique diglycosylée montre un système ABX, les signaux : $\delta_H = 7,44$ ppm (d, $J = 2,1$ Hz, 1H), $\delta_H = 6,93$ ppm (d, $J = 8,3$ Hz, 1H) et $\delta_H = 7,42$ ppm (dd, $J = 8,3$ Hz et 2,1 Hz, 1H), attribuables respectivement aux protons H-2', H-5' et H-6' du cycle B.

Le spectre montre également deux doublets d'intégration 1H chacun à $\delta_H = 6,51$ ppm ($J = 2,1$ Hz) et $\delta_H = 6,79$ ppm ($J = 2,1$ Hz) attribuables respectivement aux protons H-6 et H-8 du cycle A. Le singulet observé à $\delta_H = 6,60$ ppm d'intégration 1H correspond au proton H-3.

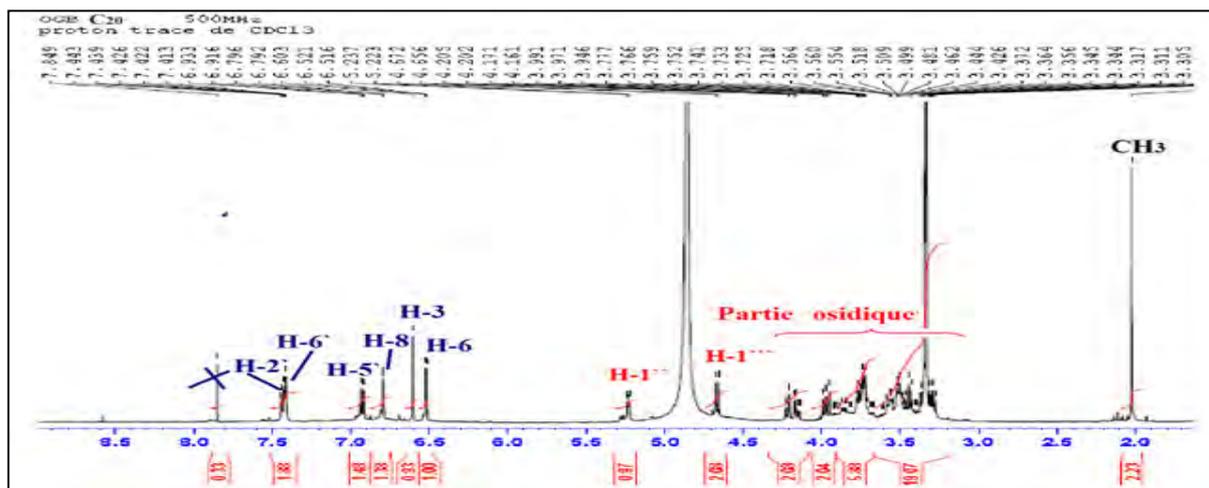


Figure 177: Spectre RMN ^1H du composé C_{20} (CD_3OD , 500 MHz).

A partir des valeurs des constantes de couplages des deux protons anomériques ($J_{\text{H-1}''} = 7,0$ Hz et $J_{\text{H-1}''''} = 8,9$ Hz) ainsi que l'analyse du spectre COSY (figure 178) qui montre sept protons chacun des deux hexoses couplent entre eux avec de grande valeurs de constante de couplage (>7 Hz), les deux parties osidiques sont identifiées comme étant le β -D-glucopyranose.

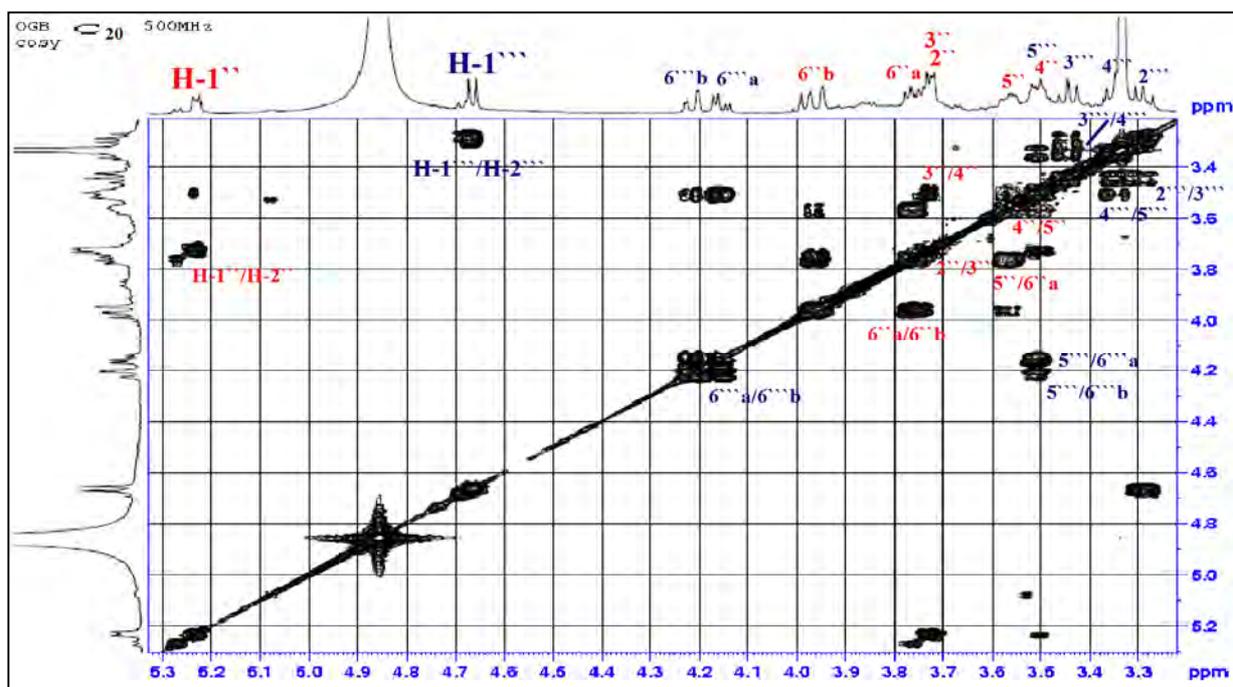


Figure 178: Spectre COSY partie osidique du composé C_{20} .

Une corrélation $^3J_{\text{H-C}}$ est visualisée sur le spectre HMBC (figure 179) entre le carbone anomère du glucose terminal et le proton $\text{H-2}''$ du glucose interne et inversement entre le

carbone C-2'' du glucose interne et le proton anomérique H-1''' du glucose terminal mettant en évidence la liaison β -D-glucosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-glucoside.

Ce même spectre montre une tache de corrélation entre le proton anomérique H-1'' du glucose interne et le carbone C-7 indiquant la fixation de ce glucose en position 7 de la génine. L'effet NOe (figure 180), observé entre ce proton anomérique et les protons H-6 et H-8, confirme cette hypothèse.

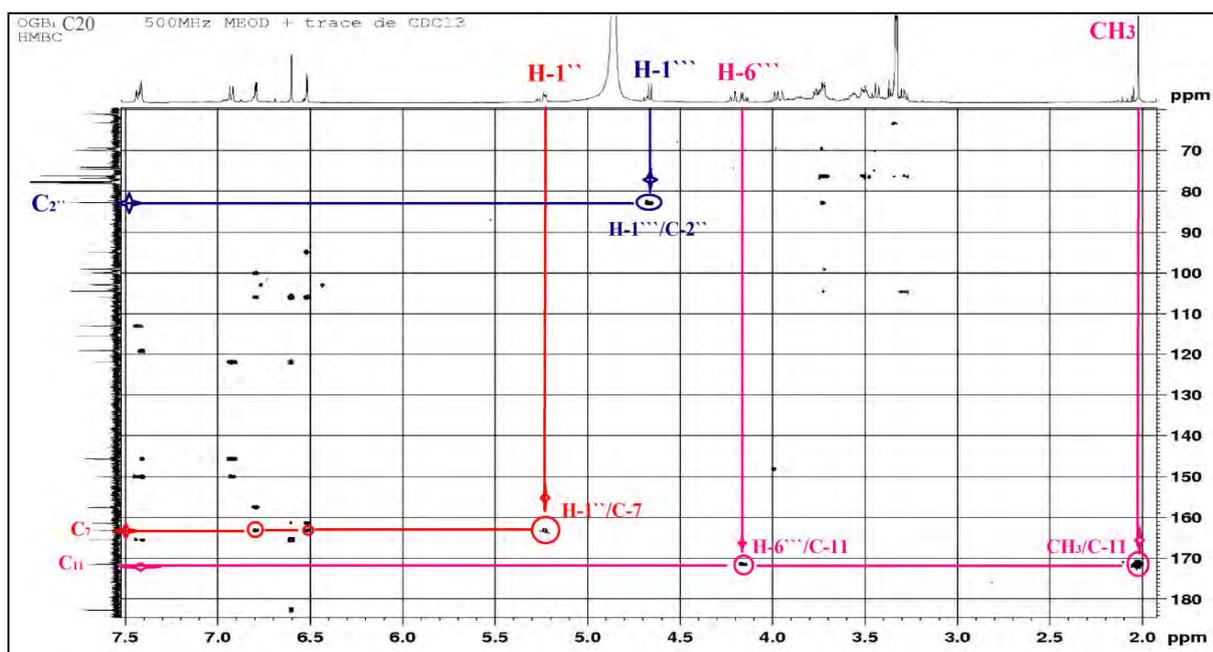


Figure 179: Spectre HMBC du composé C₂₀.

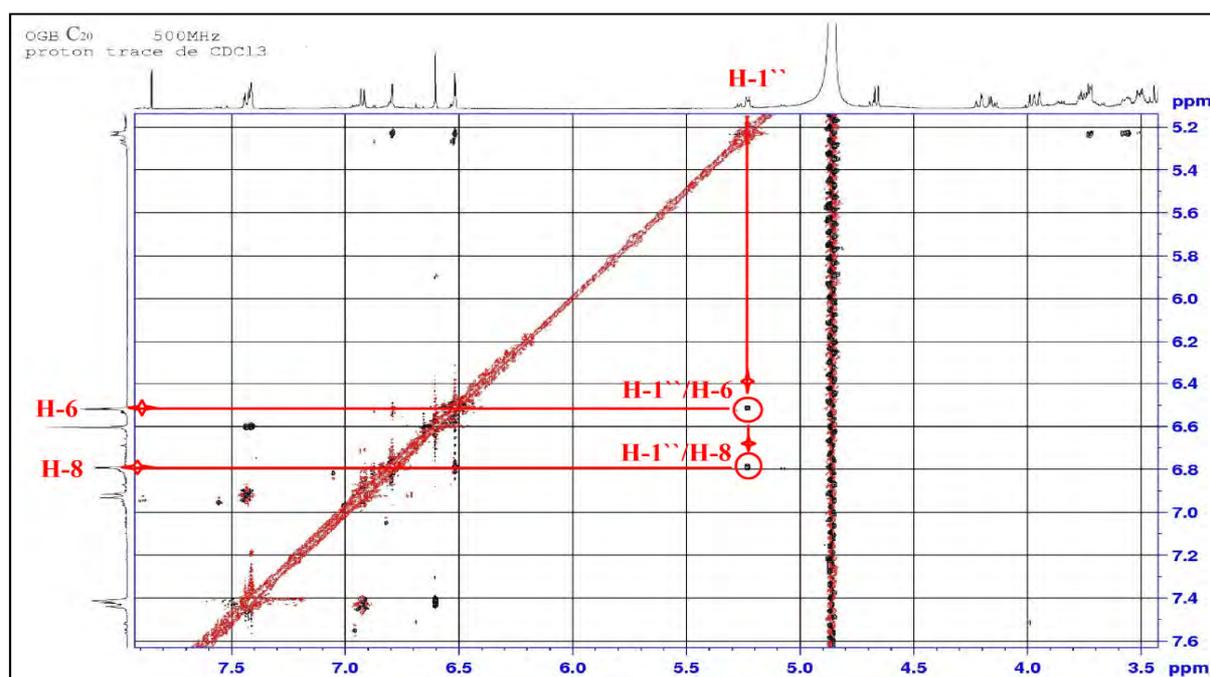


Figure 180: Spectre NOESY du composé C₂₀.

On peut aussi distinguer, à partir du spectre HMBC (figure 179), une tache de corrélation correspondant aux protons du méthyle ($\delta_H = 2,02$ ppm) couplés au carbone quaternaire résonnant à un champ faible à $\delta_C = 171,5$ ppm, indiquant la présence d'un carbonyle d'une fonction ester.

Le carbone en question est également corrélé aux protons résonnant à $\delta_H = 4,16$ ppm et $\delta_H = 4,22$ ppm correspondant aux protons H-6^{'''a} et H-6^{'''b} respectivement, indiquant l'acétylation du glucose terminal en position C-6^{'''}.

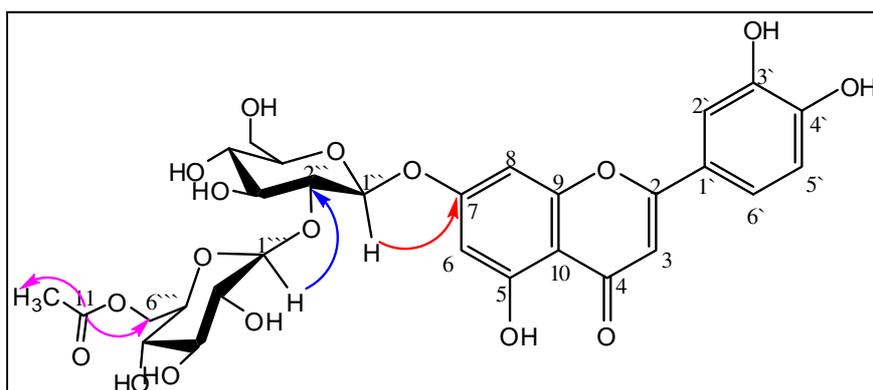


Figure 181: Importantes corrélations HMBC observées pour le composé **C₂₀**.

Les expériences HSQC *J*-modulé, COSY H-H et HMBC combinées, permettent d'identifier tous les carbones du squelette flavonique ainsi que les parties osidiques (figure 182) (tableau 48).

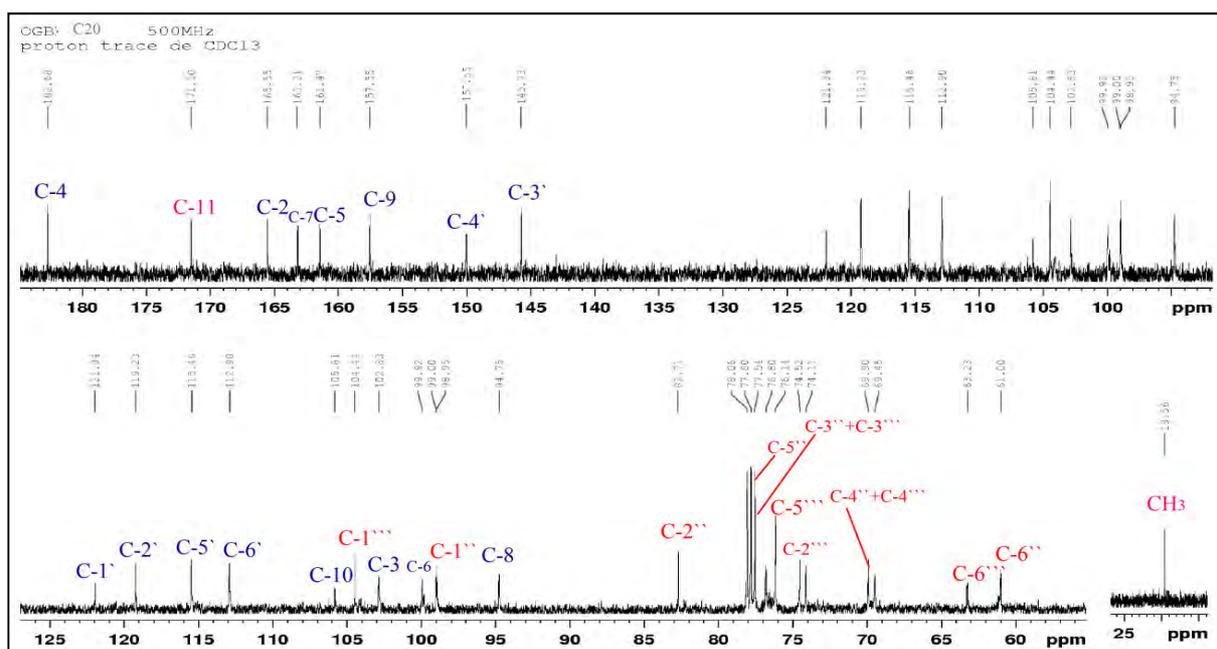
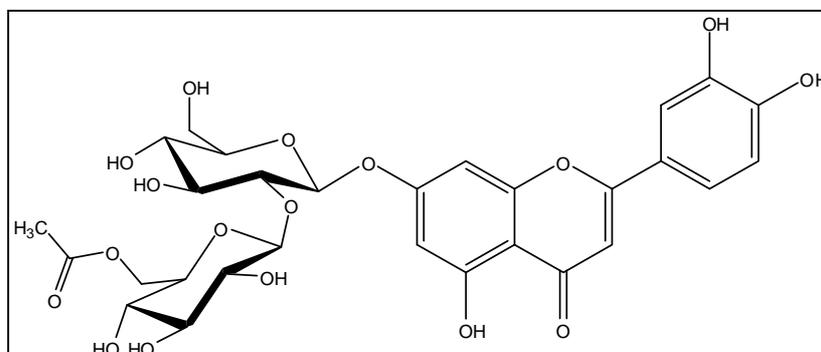


Figure 182: Spectre RMN ^{13}C du composé **C₂₀** (CD_3OD , 125 MHz).

Tableau 48: Déplacements chimiques en RMN ^1H (500 MHz) et RMN ^{13}C (125 MHz) du composé C_{20} dans CD_3OD .

N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)	N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)
2	165,6	-	CH_3	19,6	2,02, s
3	102,8	6,6, s	Glucose en 7		
4	182,7	-	1 $''$	99,0	5,23, d (7,0)
5	161,5	-	2 $''$	82,7	3,72, t (7,6)
6	99,9	6,51, d (2,1)	3 $''$	76,1	3,73, t (7,9)
7	163,2	-	4 $''$	69,9	3,50, t (9,2)
8	94,8	6,79 d (2,1)	5 $''$	76,8	3,57, m
9	157,6	-	6 $''$	61,0	a : 3,76 dd (12,4- 5,6) b : 3,96 dl (10.0)
10	105,8	-	Glucose en 2 $''$		
11	171,5	-	1 $'''$	104,4	4,66, d (8,9)
1 $'$	121,9	-	2 $'''$	74,5	3,44, t (8,4)
2 $'$	119,2	7,44 d (2,1)	3 $'''$	76,1	3,37, t (9,2)
3 $'$	145,7	-	4 $'''$	69,9	3,52, t (9,2)
4 $'$	150,0	-	5 $'''$	74,1	3,65, m
5 $'$	115,5	6,93 d (8,3)	6 $'''$	63,2	a : 4,16 dd (11,8; 4,9), b : 4,22 dd (11,9; 2,1)
6 $'$	112,9	7,42 dd (8,3; 2,1)			

Toutes ces données spectrales permettent d'attribuer au composé C_{20} la structure de : **lutéolin-7-O-[β -D-glucosyl-[6 $''$ -acétyl-(1 \rightarrow 2)-glucoside]** ou **Linariifolioside** isolé précédemment de l'espèce *Carduus crispus* Linn (Asteraceae) [326].

Linariifolioside (C_{20}).

2.2.b. Le composé C_{21}

Le spectre de masse haute résolution obtenu par HR-MS-ESI (figure 183) montre un ion pseudo moléculaire à $m/z = 349,0892$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (calculé 349,0892) qui correspond à la formule brute $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_8$.

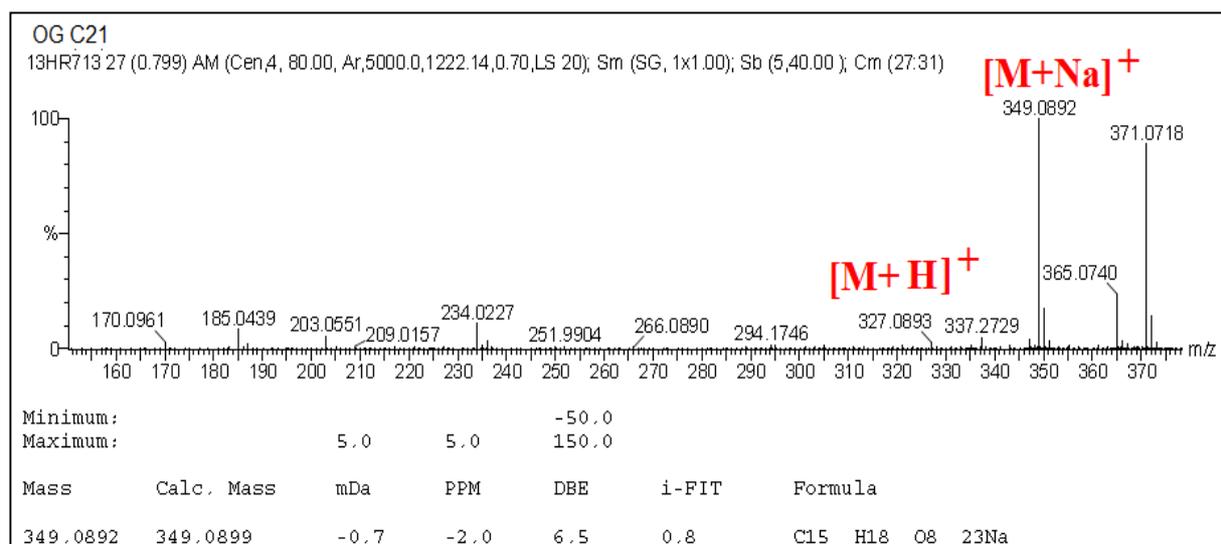


Figure 183: Spectre de masse HR-ESI-MS du composé **C₂₁**.

Les signaux présents sur le spectre RMN ^1H (figure 184) du composé **C₂₁** enregistré dans CD_3OD dans la région des protons aromatiques sont en faveur d'un noyau phényle non substitué, on observe :

- Deux triplets à $\delta_{\text{H}} = 7,22$ ppm ($J = 7,4$ Hz) et $\delta_{\text{H}} = 7,31$ ppm ($J = 7,8$ Hz), le premier intègre pour 1H attribuable à H-4 et le second intègre pour 2H attribuable aux H-3 et H-5.
- Un doublet à $\delta_{\text{H}} = 7,83$ ppm ($J = 7,4$ Hz) d'intégration 2H attribuable aux protons H-2 et H-6.

Le spectre montre aussi la présence d'un doublet à $\delta_{\text{H}} = 5,05$ ppm ($J = 7,7$ Hz) d'intégration 1H et des signaux dans l'intervalle $\delta_{\text{H}} = 3,26$ ppm et $\delta_{\text{H}} = 3,78$ ppm indiquant la présence d'une partie osidique dans la structure qui est identifié comme étant le β -D-glucopyranoside à partir de l'analyse des spectres COSY (figure 185) et HSQC (figure 186) qui permet de mettre en évidence la présence de sept protons d'un hexose ainsi que les constantes de couplages vicinales mesurées à partir du spectre RMN ^1H étalé, qui sont toutes supérieures à 7 Hz, ce qui indique que les sept protons du sucre sont tous *trans*- diaxiaux.

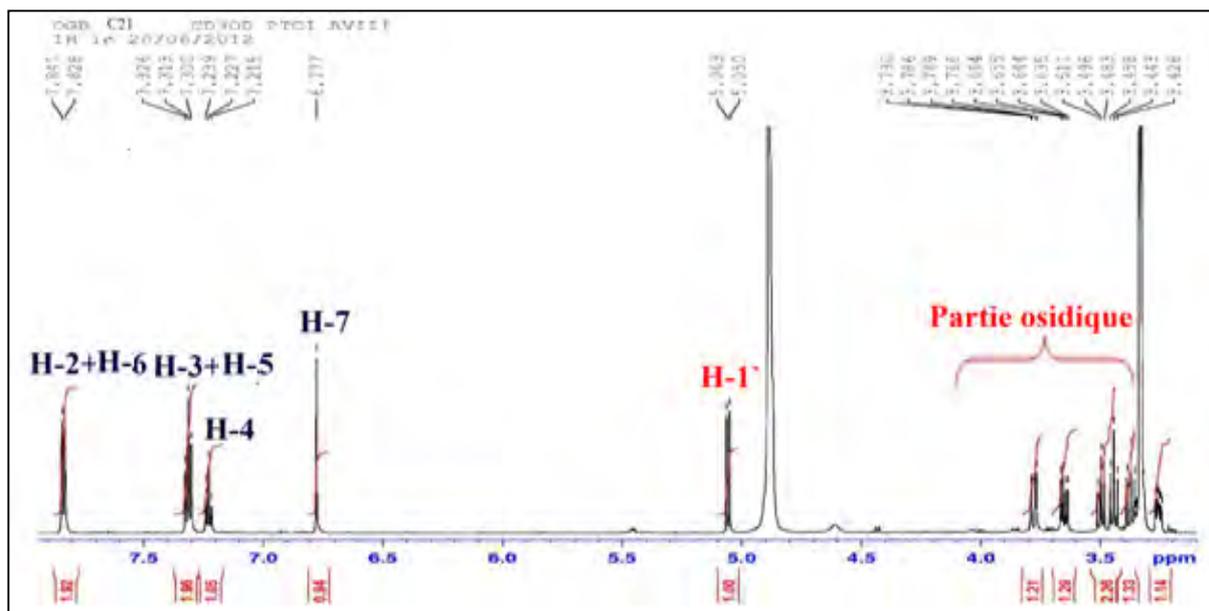


Figure 184: Spectre RMN ^1H du composé C_{21} (CD_3OD , 600MHz).

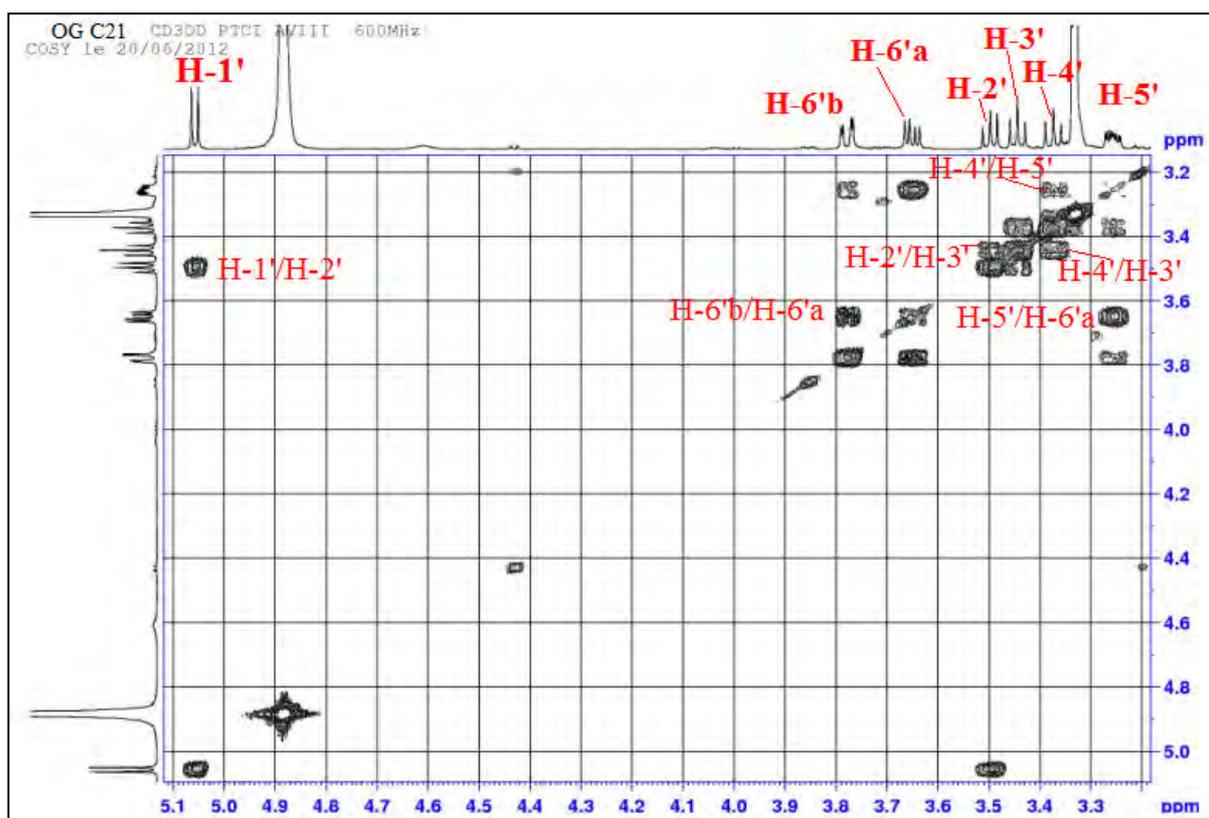


Figure 185: Spectre COSY du composé C_{21} .

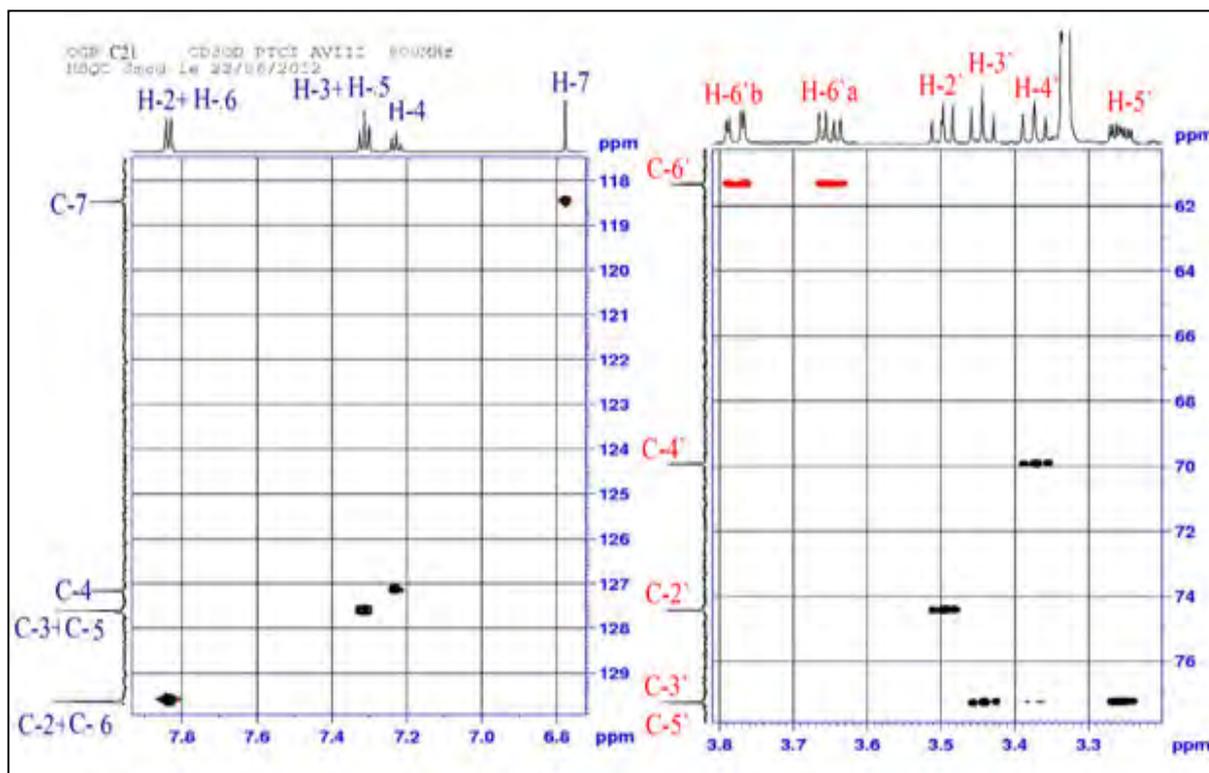


Figure 186: Spectre HSQC du composé C₂₁.

Le spectre RMN ¹³C (figure 187), montre la présence de deux carbones insaturés C-7 ($\delta_C = 118,5$ ppm) correspondant au signal présenté dans le spectre RMN ¹H par un singulet ($\delta_H = 6,77$ ppm), et le carbone quaternaire C-8 ($\delta_C = 148,5$ ppm). Ce spectre montre aussi un carbone quaternaire à $\delta_C = 170,4$ ppm attribuable à un carbonyle d'un groupement carboxyle. Toutes ces informations indiquent une structure d'acide cinnamique substitué.

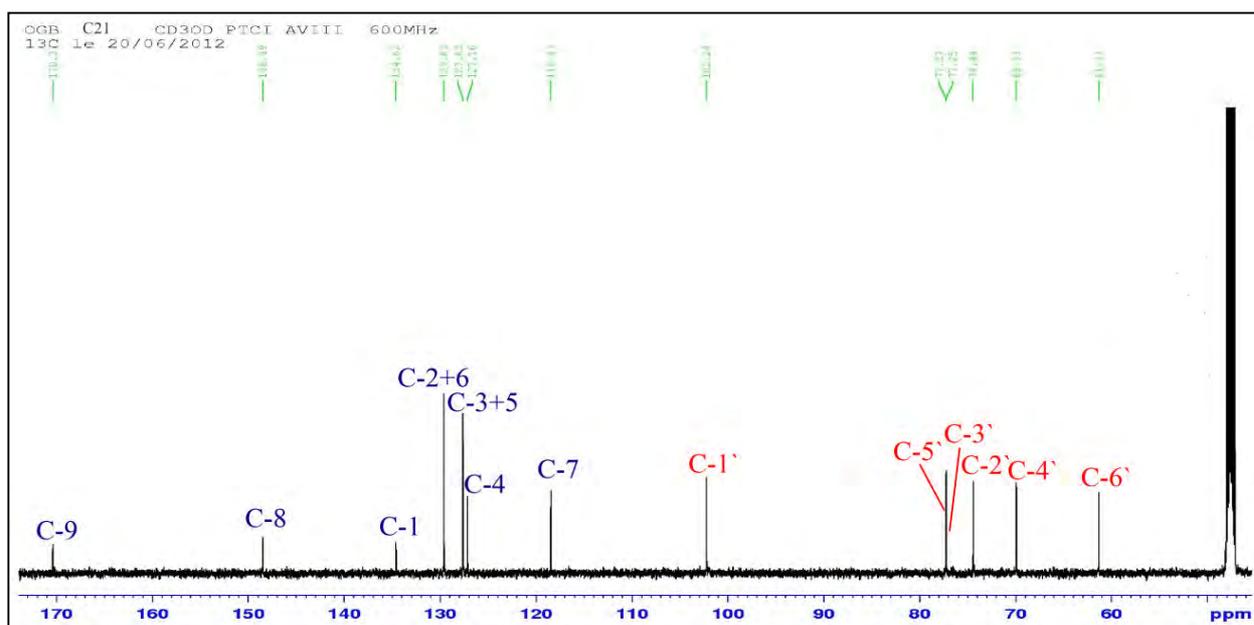


Figure 187: Spectre RMN ¹³C du composé C₂₁ (CD₃OD, 150MHz).

L'expérience du spectre HMBC (figure 188, 189) montre des corrélations $^2J_{H-C}$ et $^3J_{H-C}$ entre le proton H-7 ($\delta_H = 6,77$ ppm), le carbone quaternaire C-8 et le carbone du carbonyle de l'acide carboxylique. Ce même proton corrèle en $^3J_{H-C}$ avec le carbone C-2+C-6 du phényle. Ces observations confirment la structure d'acide cinnamique substitué.

En outre, une corrélation $^3J_{H-C}$ est observée entre le proton anomérique ($\delta_H = 5,05$ ppm) et le carbone oléfinique C-8 ($\delta_C = 148,5$ ppm) indiquant l'attachement du glucose à ce carbone C-8.

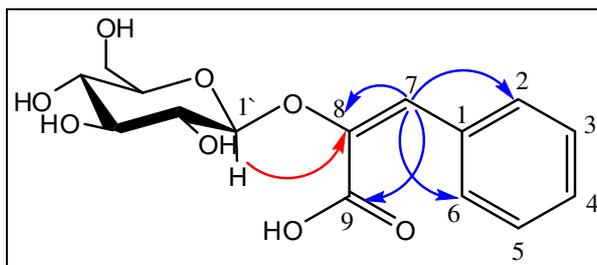


Figure 188: Importantes corrélations HMBC observées pour le composé C_{21} .

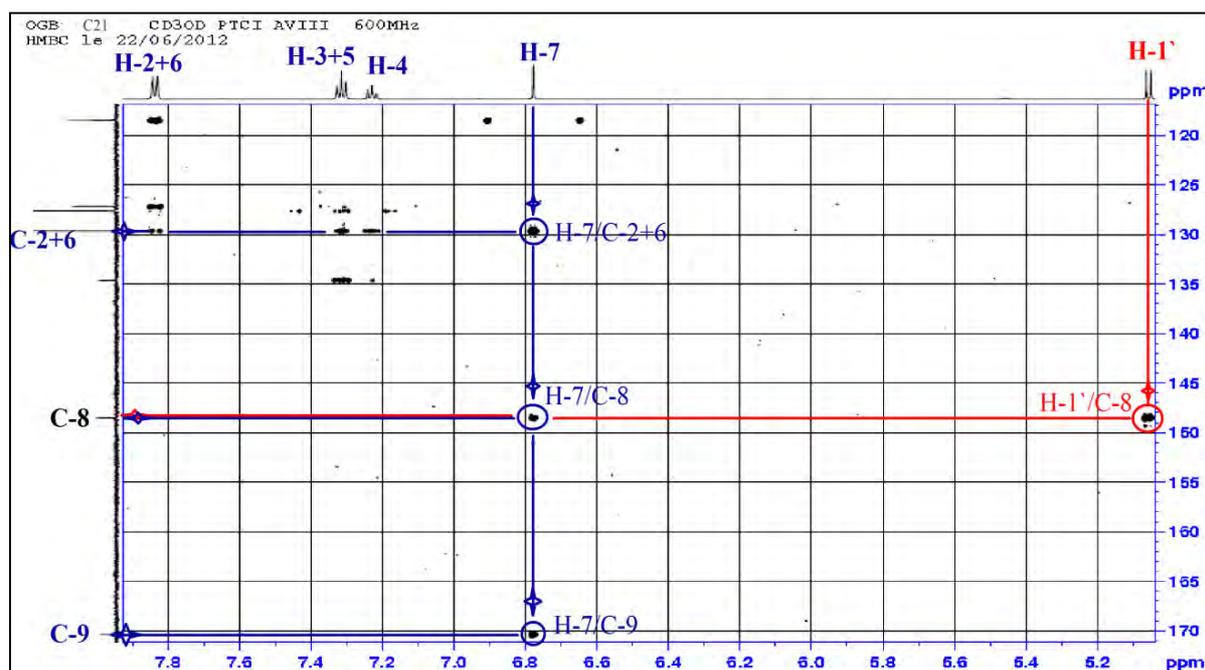


Figure 189: Spectre HMBC du composé C_{21} .

Le spectre de l'expérience NOESY (figure 190) n'a montré aucune interaction spatiale entre les protons du phényle et les protons du glucose, ce qui suggère la configuration (*E*) des substituants.

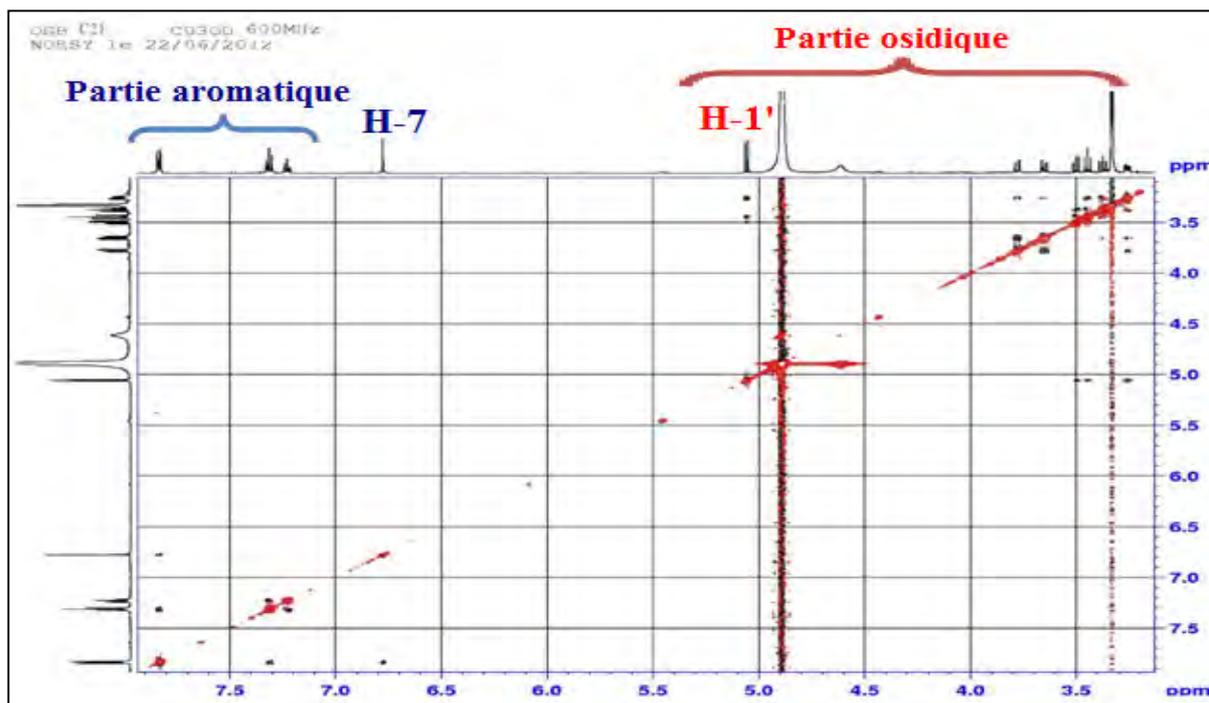
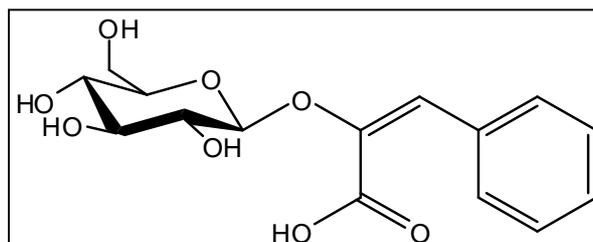


Figure 190: Spectre NOESY du composé C₂₁.

Tableau 49: Déplacements chimiques en RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) du composé C₂₁ dans CD₃OD.

N°	δ _C	δ _H (m, J Hz)	N°	δ _C	δ _H (m, J Hz)
1	134,6	-	9	170,4	-
2	129,6	7,83, d (7,5)	Glucose en 8		
3	127,6	7,31, t (7,8)	1`	102,2	5,05, d (7,7)
4	127,2	7,22, t (7,4)	2`	74,4	3,49, t (9,1)
5	127,6	7,31, t (7,8)	3`	77,3	3,44, t (8,9)
6	129,6	7,83, d (7,5)	4`	70,0	3,37, t (9,5)
7	118,5	6,77, s	5`	77,3	3,26, m
8	148,5	-	6`	61,3	a : 3,65, dd (12,0; 2,3) b : 3,78, dd(12,0; 2,3)

Par conséquent le composé C₂₁ est identifié comme étant : l'acide (E)-8-O-β-D-glucosyl-oxy-cinnamique isolé déjà mais avec la configuration (Z) de l'espèce *Onobrychis viciifolia* [327].



Acide (E)-8-O-β-D-glucopyranosyl-oxy-cinnamique (C₂₁).

2.2.c. Le composé C₂₂

Le spectre de masse haute résolution obtenu par HR-MS-ESI (figure 191) montre un ion pseudo moléculaire à $m/z = 587,1371$ $[M+Na]^+$ (calculé 587,1371) qui correspond à la formule brute C₂₆H₂₈O₁₄.

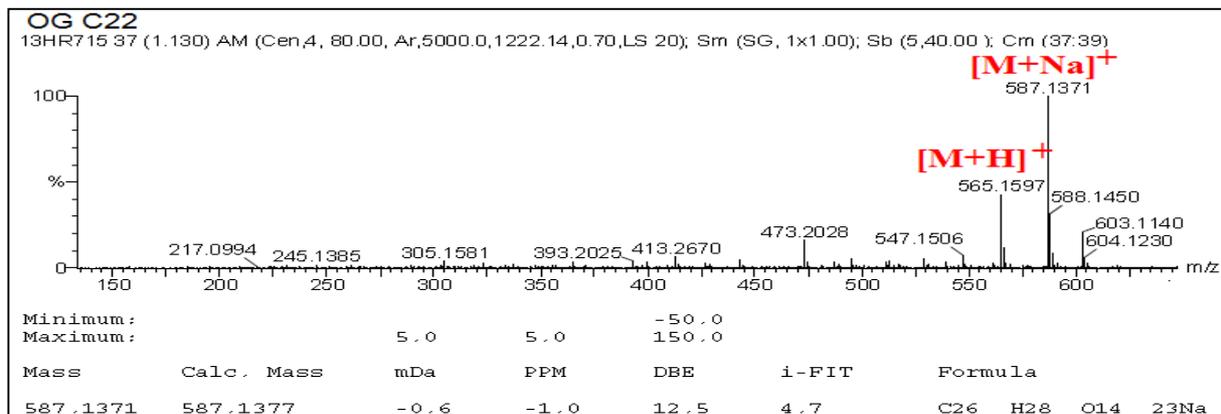


Figure 191: Spectre de masse HR-MS-ESI du composé C₂₂.

Le spectre RMN ¹H (figure 192), enregistré dans CD₃OD, du composé C₂₂ indique que ce composé est un flavonoïdes diglycosylé. On observe :

- un système AB : les doublets à $\delta_H = 8,00$ ppm ($J = 8,7$ Hz) et $\delta_H = 6,95$ ppm ($J = 8,7$ Hz) d'intégration 2H chacun attribuables successivement aux protons aromatiques H-2'+H-6' et H-3'+H-5' du cycle B et indiquant la substitution de la position 4'.
- un singulet d'intégration 1H à $\delta_H = 6,65$ ppm attribuable à H-3.
- On remarque l'absence des signaux correspondant aux H-6 et H-8 ce qui suggère la substitution de ces deux positions.
- on observe aussi deux signaux correspondant aux deux protons anomériques indiquant la présence de deux parties osidiques dans la structure.

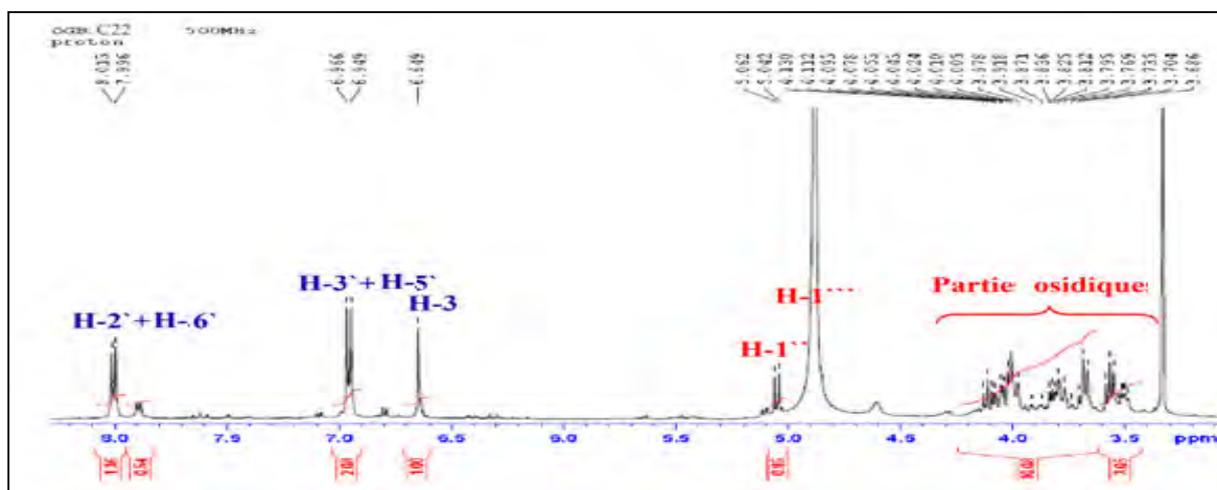


Figure 192: Spectre RMN ¹H du composé C₂₂ (CD₃OD, 500MHz).

Les valeurs des déplacements chimiques des carbones anomériques, attribuées à l'aide du spectre HSQC (figure 194) ($\delta_{C-1''}=73,66\text{ppm}$, $\delta_{C-1'''}=75,13\text{ppm}$) indiquent que la jonction génine-sucre est une liaison C-C pour les deux sucres.

La première partie osidique caractérisée par son proton anomère résonnant à $\delta_H = 5,05\text{ ppm}$ est identifiée comme étant le β -D-glucopyranose à partir de l'analyse du spectre COSY (figure 193) qui permet d'identifier les sept protons de ce glucose et les attribuer à l'aide du spectre HSQC à leurs carbones correspondant.

L'analyse des spectres COSY (figure 193) et HSQC (figure 194) montre six protons pour la deuxième partie osidique, il s'agit d'un pentose. La grande valeur du constante de couplage $J_{1,2}$ indique un proton anomère axial et celle $J_{4,5} = 2,4\text{ Hz}$ indique un H-4''' équatorial. Les valeurs des déplacements chimiques des carbones portant les six protons attribués par l'analyse du spectre HSQC (figure 194) comparativement avec ceux trouvés dans la littérature suggèrent la structure du β -L-arabinopyranose pour le deuxième ose [305].

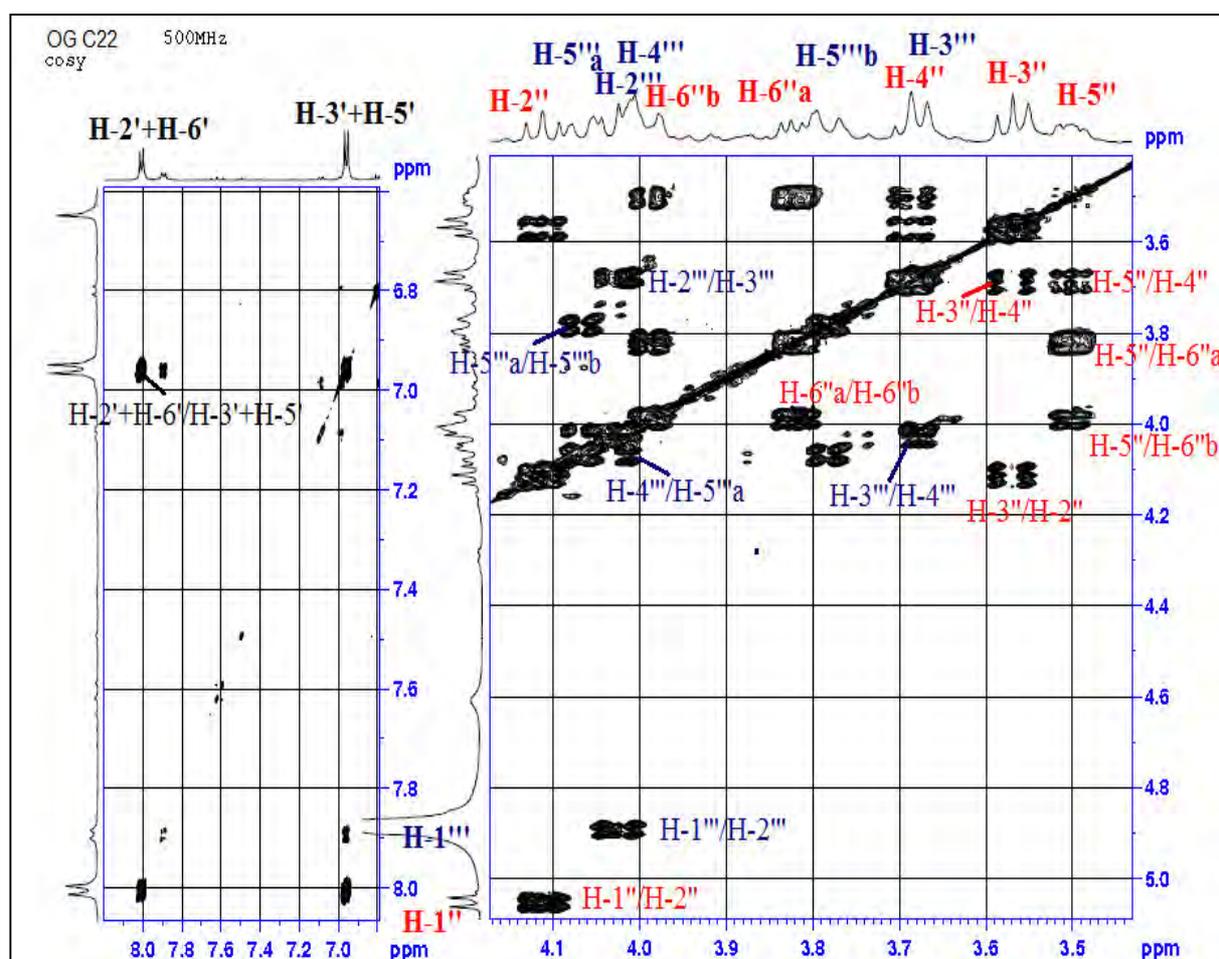


Figure 193: Spectre COSY du composé C₂₂.

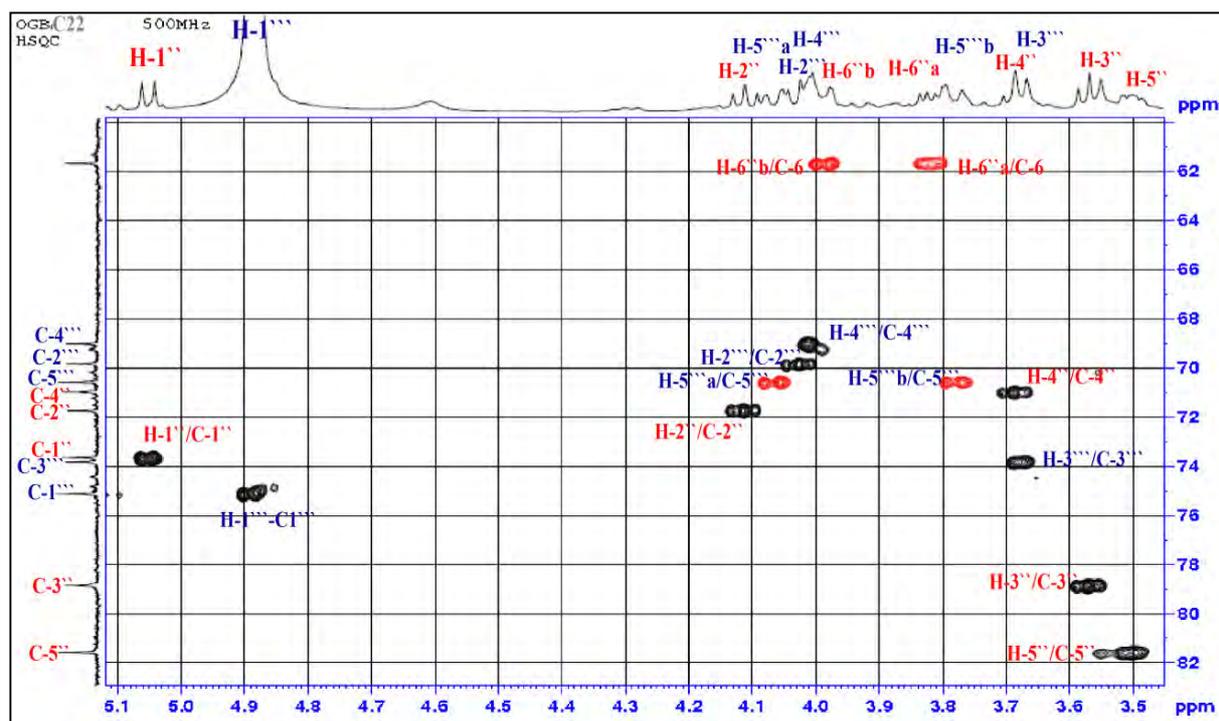


Figure 194: Spectre HSQC du composé C_{22} .

Les taches de corrélations $^2J_{H-C}$ et $^3J_{H-C}$ observées sur le spectre HMBC (figures 195, 196) entre le proton anomère du glucose ($\delta_H = 5,1$ ppm) et les carbones C-7, C-8, et C-9 indiquent la fixation du glucose au carbone C-8, alors que les corrélations observées entre le proton anomère de l'arabinose ($\delta_H = 4,90$ ppm) et les carbones C-5, C-6 et C-7 indique que l'arabinose est attaché au carbone C-6.

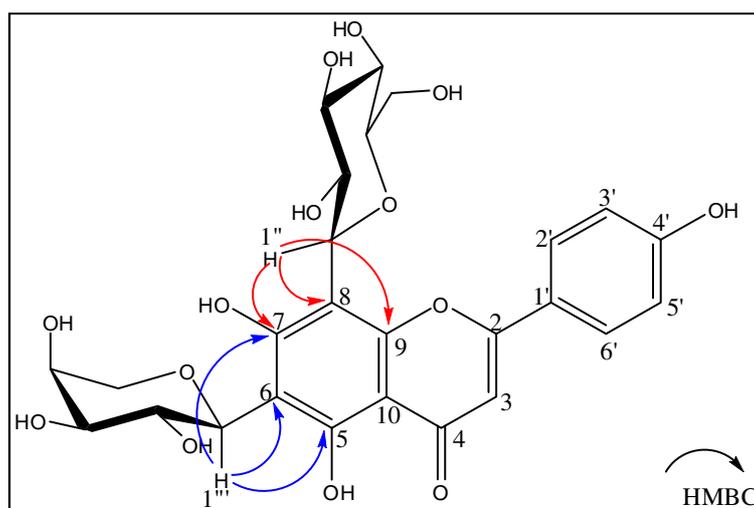


Figure 195: Importantes corrélations HMBC observées pour le composé C_{22} .

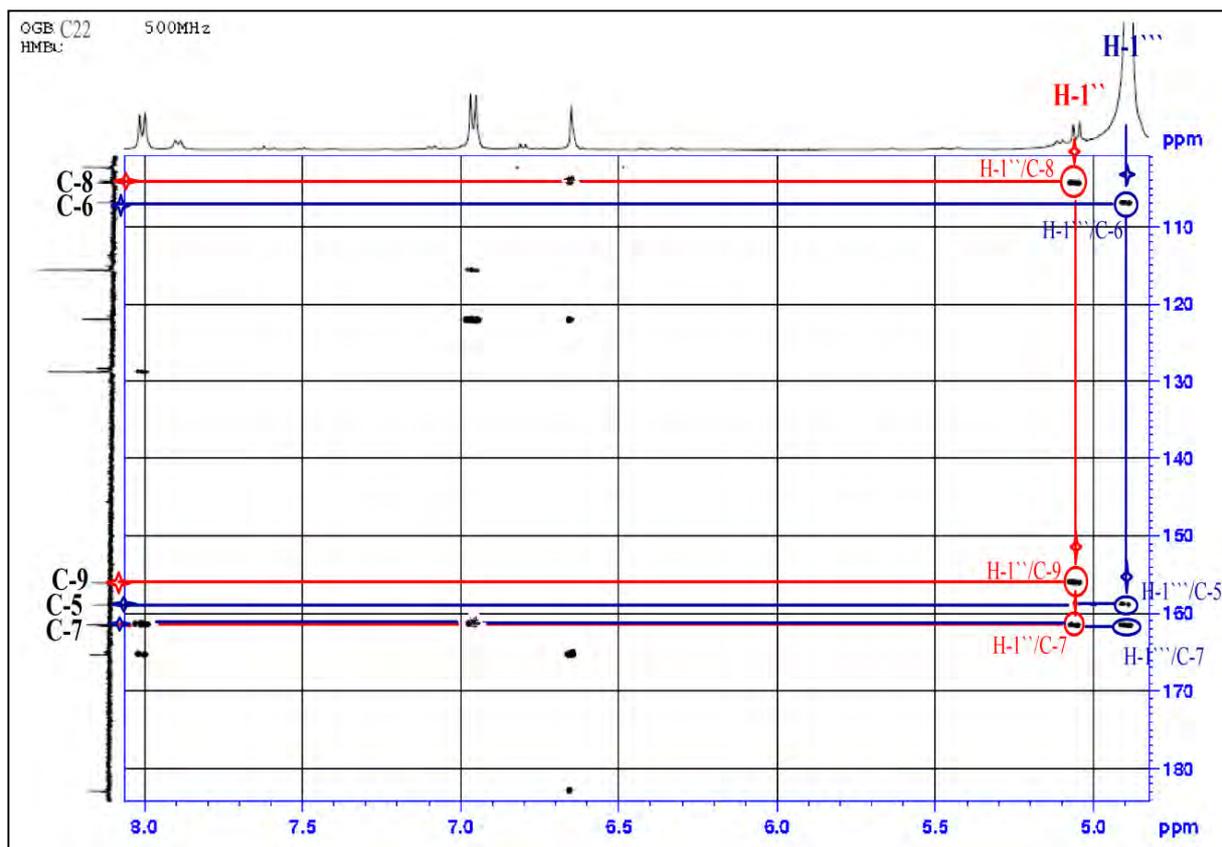


Figure 196: Spectre HMBC du composé C_{22} .

Les expériences HSQC J -modulé, COSY H-H et HMBC combinées, permettent d'identifier tous les carbones du squelette flavonique ainsi que les parties osidiques (figure 197) (tableau 50).

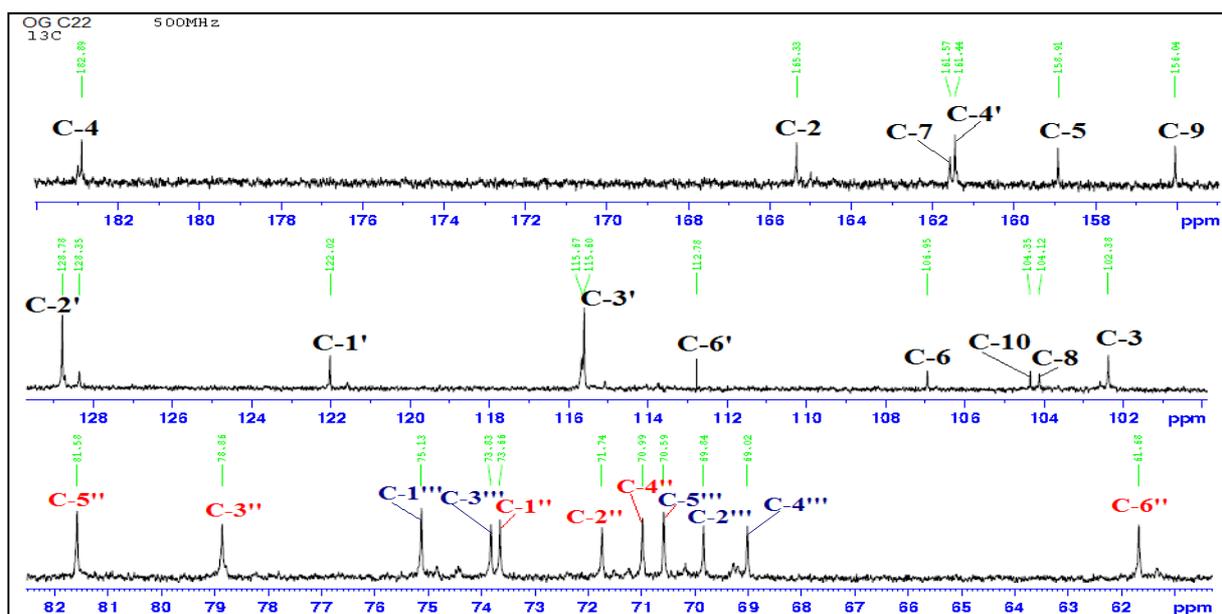
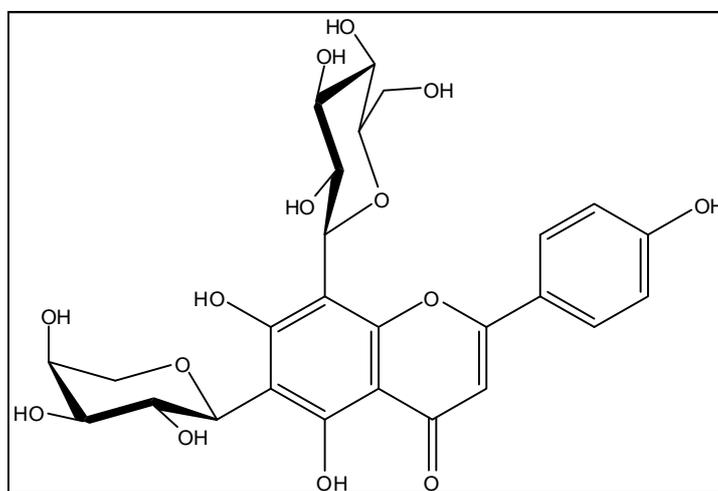


Figure 197: Spectre RMN ^{13}C du composé C_{22} (CD_3OD , 125MHz).

Tableau 50: Déplacements chimiques en RMN ^1H (500 MHz) et RMN ^{13}C (125 MHz) du composé C_{22} dans CD_3OD .

N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)	N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)
2	165,3	-	6`	112,8	8,00, d (8,7)
3	102,4	6,65 s	Glucose en 8		
4	182,9	-	1``	73,7	5,05, d (9,9)
5	158,9	-	2``	71,7	4,12, t (9,3)
6	106,9	-	3``	78,9	3,57, t (8,9)
7	161,6	-	4``	71,0	3,68, t (9,2)
8	104,1	-	5``	81,6	3,5, m
9	156,0	-	6``	61,7	a : 3,82 dd (12,2; 5,7) b : 3,98 d (11,8)
10	104,4	-	Arabinose en 6		
1`	122,0	-	1````	75,1	4,90, d
2`	128,8	8,00, d (8,7)	2````	69,8	4,02, t (6,9)
3`	115,6	6,95, d (8,7)	3````	73,8	3,67, d (9,4)
4`	161,4	-	4````	69,0	4,01, d (2,4)
5`	115,6	6,95, d (8,7)	5````	70,6	a : 4,08 dd (12,1; 2,1) b : 3,77 d (12,1)

L'analyse spectrale combinée permet d'attribuer à ce composé C_{22} la structure de : **apigenin-8-C- β -D-glucosyl-6-C- β -L-arabinoside**, précédemment isolé à partir des parties aériennes de *Chrysanthemum morifolium* Ramat [328].

Apigenin-8-C- β -D-glucosyl-6-C- β -L-arabinoside (C_{22}).

2.2.d. Le composé C_{23}

Le spectre de masse haute résolution obtenu par HR-MS-ESI (figure 198) montre un ion pseudo-moléculaire à m/z 455,0956 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (calculé : 455,0956) qui correspond à la formule brute $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$.

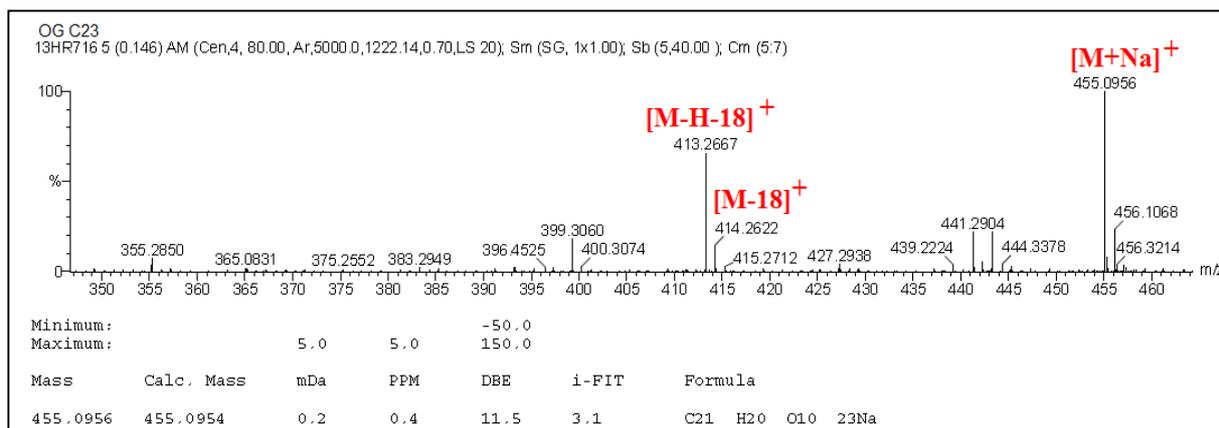


Figure 198: Spectre de masse HR-MS-ESI du composé **C₂₃**.

L'examen du spectre RMN ^1H (figure 199) (CD_3OD , 500MHz) permet d'observer des signaux compatibles avec la structure d'une apigénine dans la région des aromatiques :

- un singulet d'intégration 1H à $\delta_{\text{H}} = 6,53$ ppm attribuable à H-3.
- deux doublets à $\delta_{\text{H}} = 6,48$ ppm ($J = 2,1$ Hz) et $\delta_{\text{H}} = 6,81$ ppm ($J = 2,1$ Hz) d'intégration 1H chacun attribuables aux protons H-6 et H-8, respectivement.
- deux doublets couplés avec une forte constante de couplage à $\delta_{\text{H}} = 7,76$ ppm ($J = 8,8$ Hz) et $\delta_{\text{H}} = 6,70$ ppm ($J = 8,8$ Hz) correspondant aux protons H-3'+H-5' et H-2'+H-6' respectivement, indiquant la substitution du cycle B en position 4'.

L'apparition d'un doublet à $\delta_{\text{H}} = 5,09$ ppm ($J = 7,2$ Hz), caractéristique d'un proton anomérique et des signaux entre $\delta_{\text{H}} = 3,32$ ppm et $\delta_{\text{H}} = 3,97$ ppm, indique la présence d'un sucre lié à l'apigénine par une liaison de configuration β , vu la constante de couplage du proton anomère [305].

Les constantes de couplage vicinal mesurées à partir du spectre RMN ^1H étalé (figure 199) entre les protons H-1'' et H-2'' (7,2 Hz), H-2'' et H-3'' (8,9 Hz), H-3'' et H-4'' (9,3 Hz) et H-4'' et H-5'' (9,3 Hz) sont toutes supérieures à 7 Hz, ce qui indique qu'ils sont tous *trans*-diaxiaux. Ceci est caractéristique d'un β -D-glucopyranose [305].

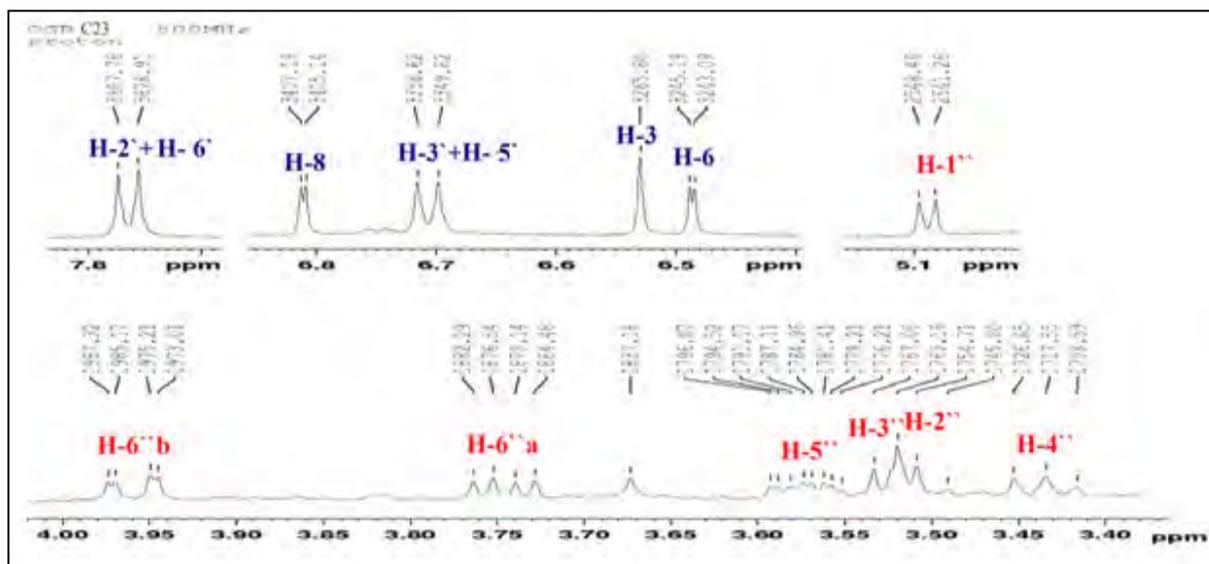


Figure 199: Spectre RMN ^1H étalé du composé C_{23} (CD_3OD , 500MHz).

L'expérience du spectre HMBC (figure 200) permet de déterminer la position glucosylée de la molécule. Le signal du proton anomérique ($\delta_{\text{H}} = 5,09$ ppm) du glucose corrèle avec le signal du carbone C-7 de la génine résonnant à $\delta_{\text{C}} = 163,1$ ppm, indiquant la substitution de la position 7 par un glucose, cela est confirmé dans le spectre NOESY (figure 201) qui montre des taches de corrélations entre le proton anomérique et les protons H-6 et H-8.

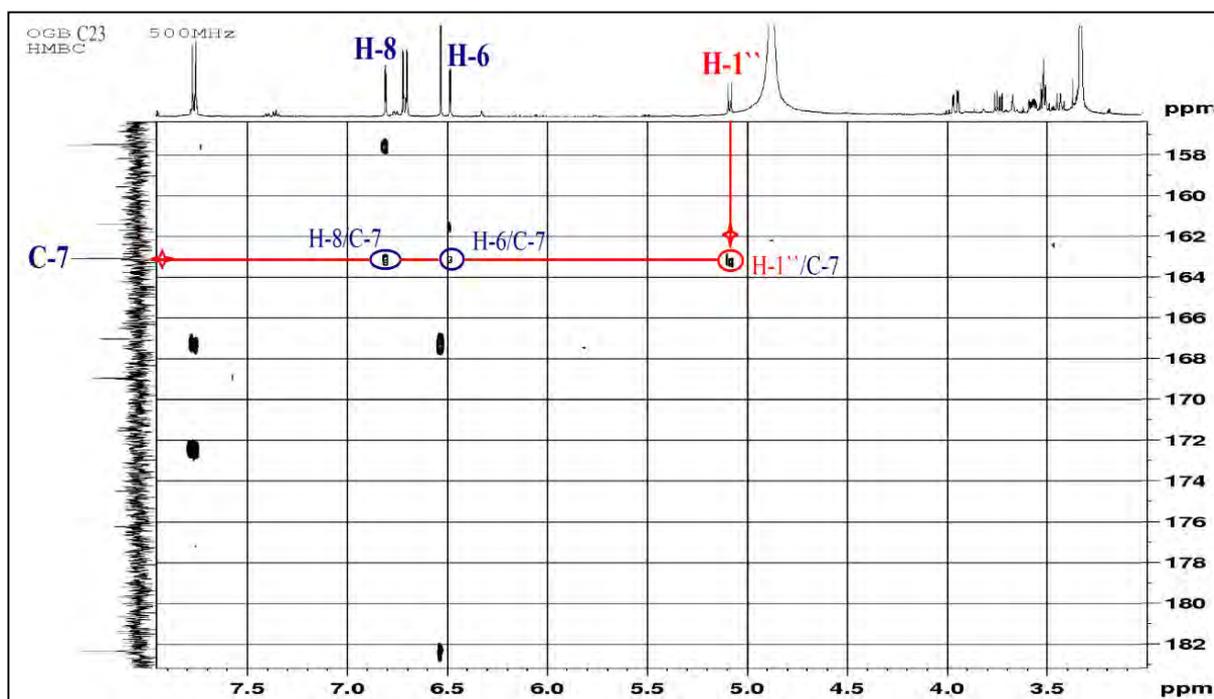


Figure 200: Spectre HMBC du composé C_{23} .

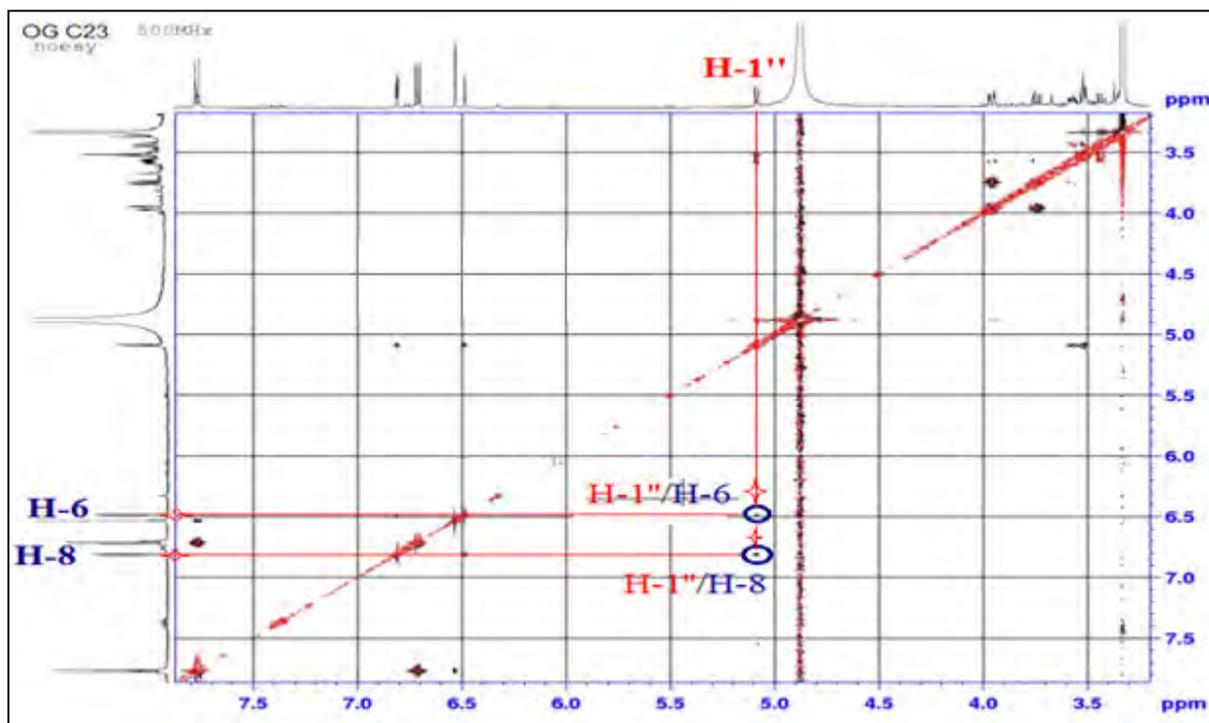


Figure 201: Spectre NOESY du composé C₂₃.

Les expériences HSQC *J*-modulé, COSY H-H et HMBC combinées, permettent d'identifier tous les carbones du squelette flavonique ainsi que les parties osidiques (figure 202) (tableau 51).

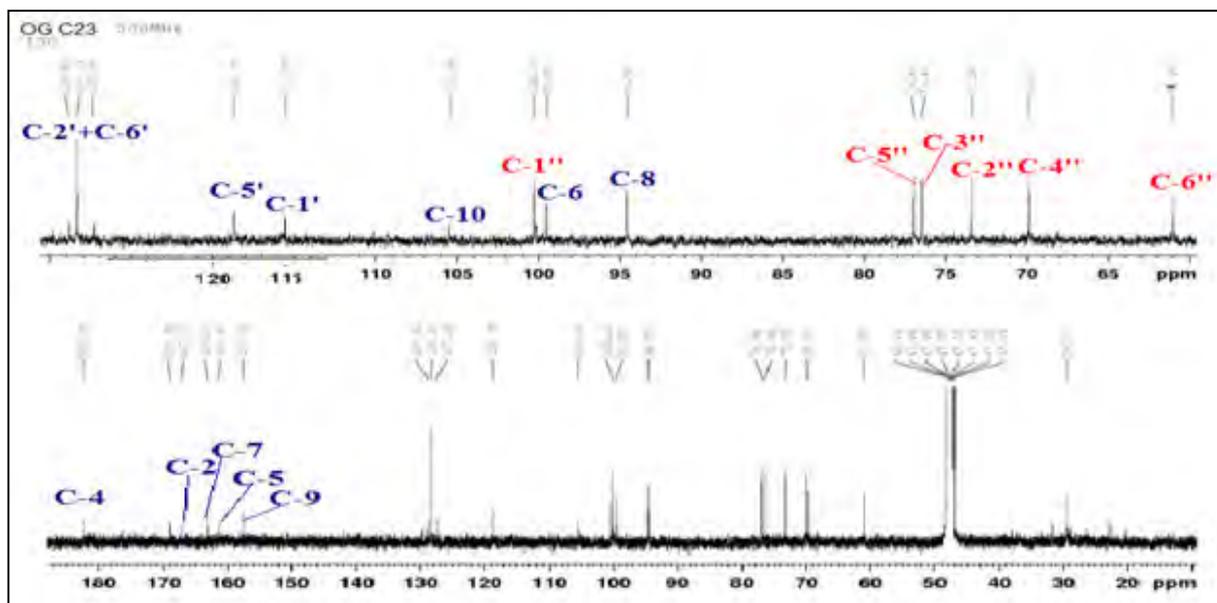


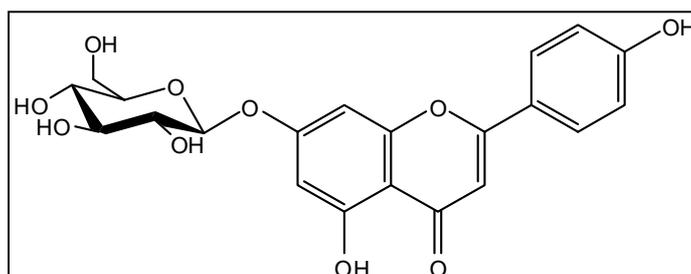
Figure 202: Spectre RMN ¹³C du composé C₂₃ (CD₃OD, 125MHz).

Tableau 51: Déplacements chimiques en RMN ^1H (500 MHz) et RMN ^{13}C (125 MHz) du composé C_{23} dans CD_3OD .

N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)	N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)
2	167,1	-	3`	118,7	6,70, d (8,8)
3	100,2	6,53, s	4`	161,7	-
4	182,4	-	5`	118,7	6,70, d (8,8)
5	161,4	-	6`	128,3	7,76, d (8,8)
6	99,5	6,48, d (2,1)	Glucose en 7		
7	163,1		1``	100,2	5,09, d (7,2)
8	94,5	6,81, d (2,1)	2``	73,4	3,52, t (8,9)
9	157,5	-	3``	76,4	3,56, t (7,0)
10	105,5	-	4``	69,9	3,43, t (9,3)
1`	115,4	-	5``	76,9	3,59, m
2`	128,3	7,76, d (8,8)	6``	61,1	a : 3,75 dd (12,2; 5,8), b : 3,96 dd (12,1; 2,1)

L'analyse spectrale combinée permet d'attribuer à ce composé C_{23} la structure de :

apigenin-7-O- β -D-glucoside [329].



Apigenin-7-O- β -D-glucoside (C_{23}).

2.2.e. Le composé C_{24}

L'examen du spectre RMN ^1H (figure 203) du composé C_{24} montre une grande similitude avec celui du composé C_{23} , on observe la région de la partie osidique caractérisée par son proton anomérique à $\delta_{\text{H}} = 4,56$ ppm ($J = 7,7$ Hz) et les signaux des autres protons dans l'intervalle de $\delta_{\text{H}} = 3,32$ ppm et $\delta_{\text{H}} = 3,97$ ppm. Les constantes de couplage vicinal mesurées entre ces protons ($>7\text{Hz}$) indiquent leurs positions axiales conduisant à la structure de β -D-glucopyranoside de la partie osidique

On observe aussi tous les signaux de la génine du C_{23} : un doublet d'intégration 2H apparaît à $\delta_{\text{H}} = 6,82$ ppm avec une constante de couplage ($J = 8,8$ Hz) permettant l'attribution de ce signal à H-3`+H-5`. De même, la constante de couplage ($J = 8,8$ Hz) du doublet qui apparaît à $\delta_{\text{H}} = 8,00$ ppm permet l'attribution de ce signal d'intégration 2H à H-2`+H-6`. Un singulet à $\delta_{\text{H}} = 6,40$ ppm d'intégration 1H correspond au proton H-3.

La différence réside au niveau du cycle A où on observe l'apparition d'un seul signal sous forme d'un singulet attribuable soit à H-6 ou H-8. Toutefois, le spectre HSQC (figure 204) montre que ce proton corrèle avec le carbone dont le signal apparaît à $\delta_C = 102,5$ ppm, donc il ne peut être attribué qu'au carbone C-6 [310]. Cela suggère la substitution de la position 8 par le glucose.

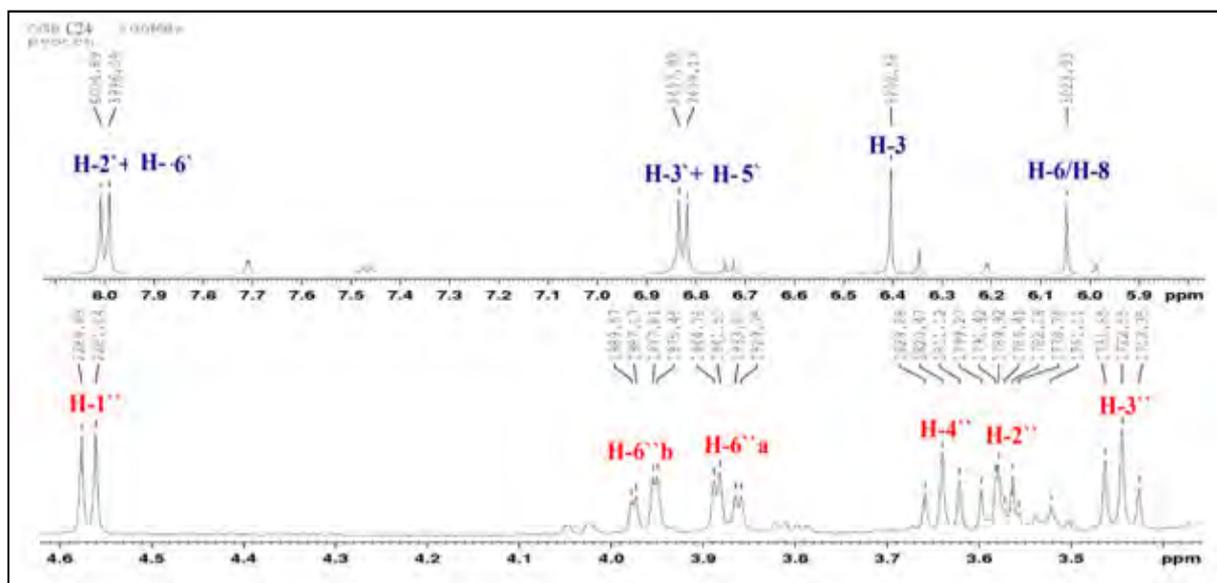


Figure 203: Spectre RMN ^1H étalé du composé C_{24} (CD_3OD , 500MHz).

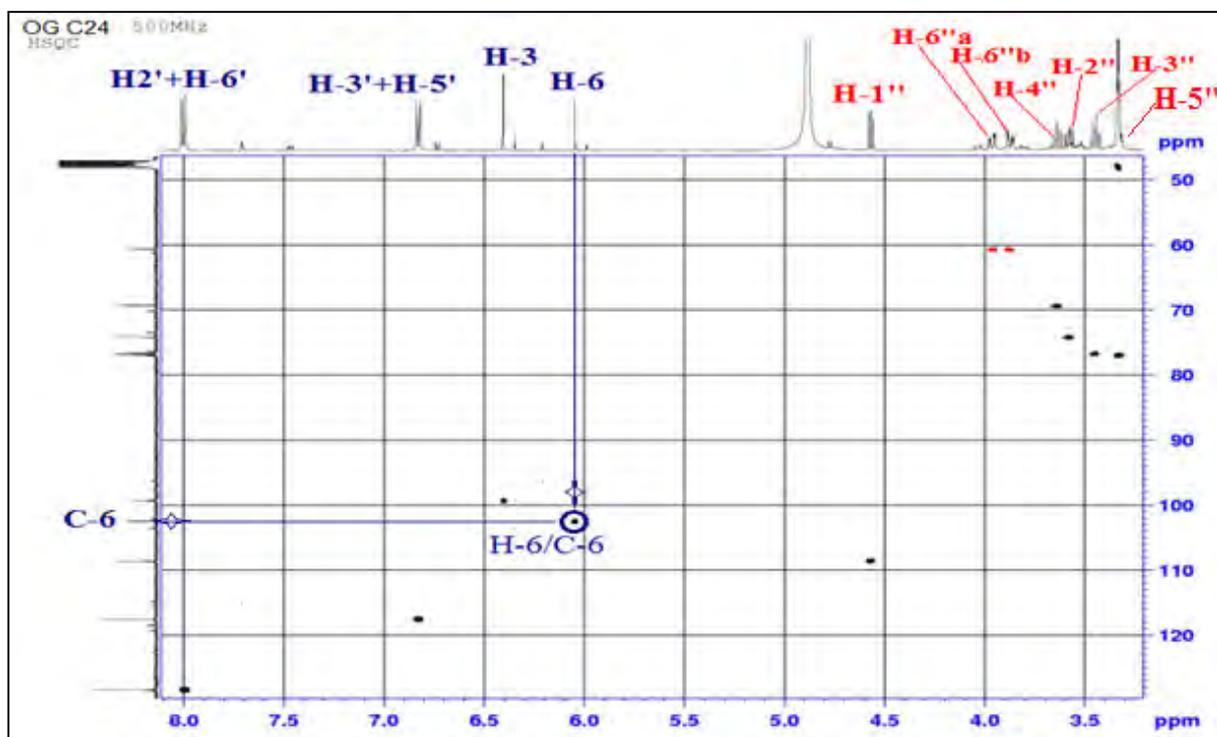


Figure 204: Spectre HSQC du composé C_{24} .

Des corrélations $^3J_{H-C}$ sont observées sur le spectre HMBC (figures 205, 206) entre le proton H-6 et le carbone apparaissant à $\delta_C = 128,5$ ppm qui ne peut correspondre qu'à C-8, et entre ce dernier carbone et le proton anomérique du glucose $\delta_H = 4,56$ ppm, confirmant la substitution de la position 8 par le glucose.

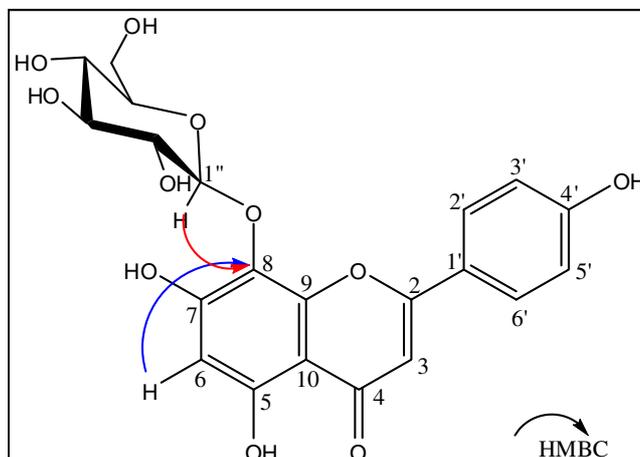


Figure 205: Importantes corrélations HMBC observées pour le composé C₂₄.

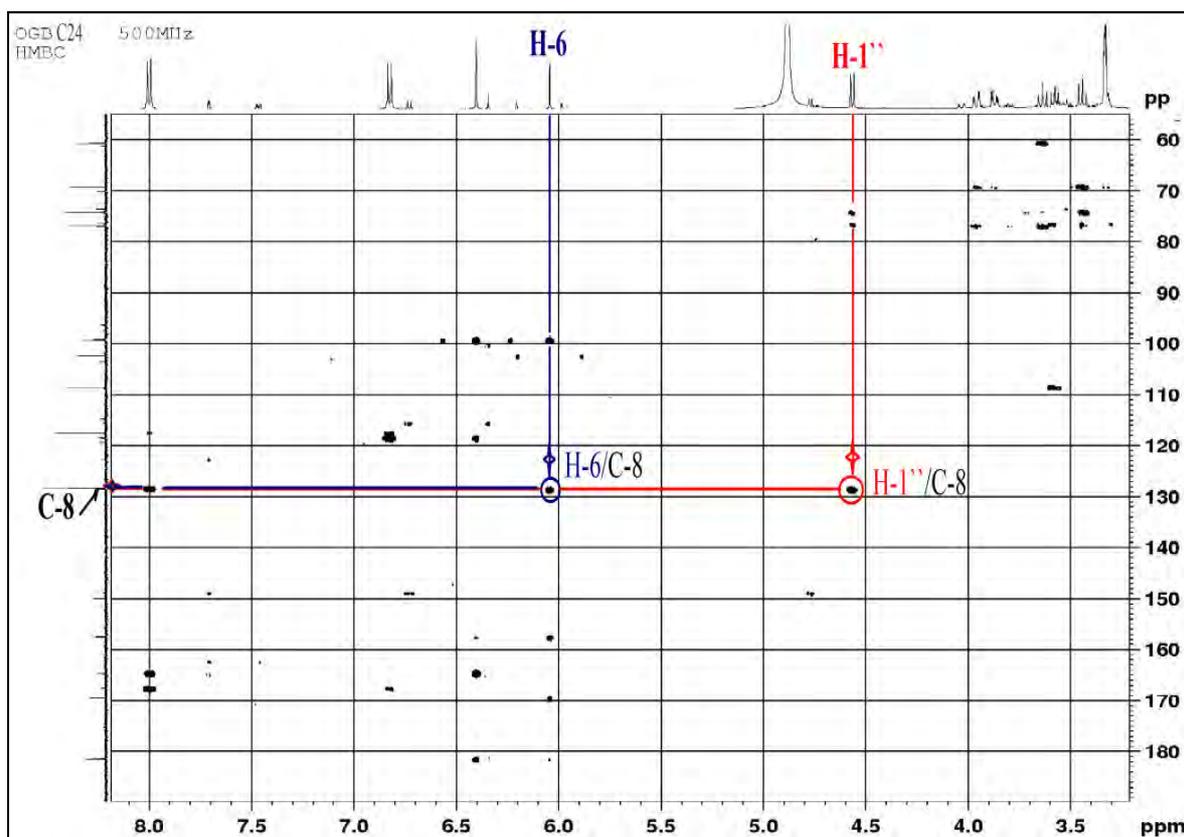


Figure 206: Spectre HMBC du composé C₂₄.

Les expériences RMN ^1H , HSQC J -modulé, COSY H-H et HMBC combinées permettent d'accorder chaque carbone de la structure à son signal correspondant (figure 207) (tableau 52).

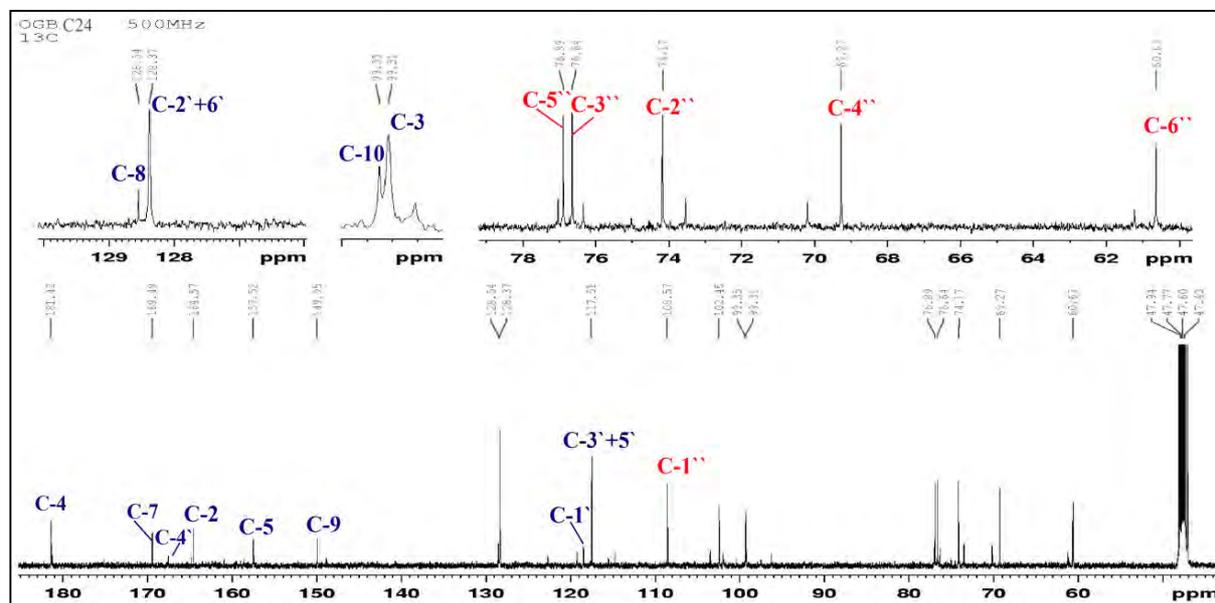
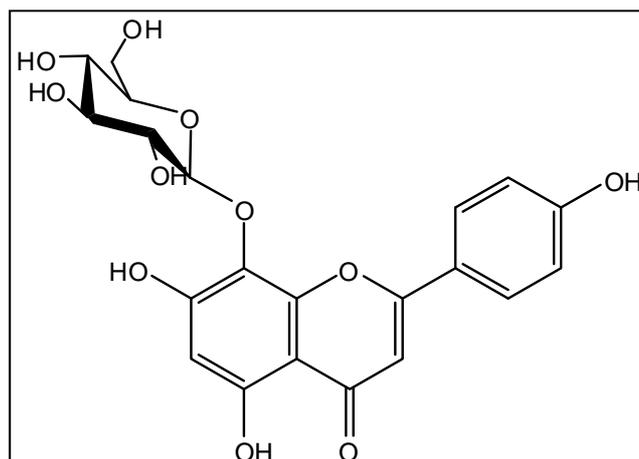


Figure 207: Spectre RMN ^{13}C du composé C_{24} (CD_3OD , 125MHz).

Tableau 52: Déplacements chimiques en RMN ^1H (500 MHz) et RMN ^{13}C (125 MHz) du composé C_{24} dans CD_3OD .

N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)	N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)
2	164,6	-	3`	117,5	6,82, d (8,8)
3	99,3	6,40, s	4`	167,7	-
4	181,4	-	5`	117,5	6,82, d (8,8)
5	157,5	-	6`	128,4	8,00, d (8,8)
6	102,5	6,04, s	Glucose en 8		
7	169,5	-	1``	108,6	4,56, d (7,7)
8	128,5	-	2``	74,2	3,58, t (9,3)
9	150,0	-	3``	76,6	3,45, t (9,3)
10	99,4	-	4``	69,3	3,64, t (9,4)
1`	118,5	-	5``	76,9	3,32, m
2`	128,4	8,00, d (8,8)	6``	60,6	a : 3,88 dd (11,8; 3,3) b : 3,97 dd (11,8; 2,4)

L'analyse spectrale combinée permet d'attribuer à ce composé C_{24} la structure de :
isoscutellarein-8-O- β -D-glucoside [330].

Isoscutellarein-8-*O*- β -D-glucoside (**C₂₄**).

2.2.f. Le composé **C₂₅**

Le spectre de masse haute résolution obtenu par HR-MS-ESI (figure 208) montre un ion pseudo-moléculaire à m/z 599,1381 $[M+Na]^+$ (calculé : 599,1381) qui correspond à la formule brute $C_{27}H_{28}O_{14}$.

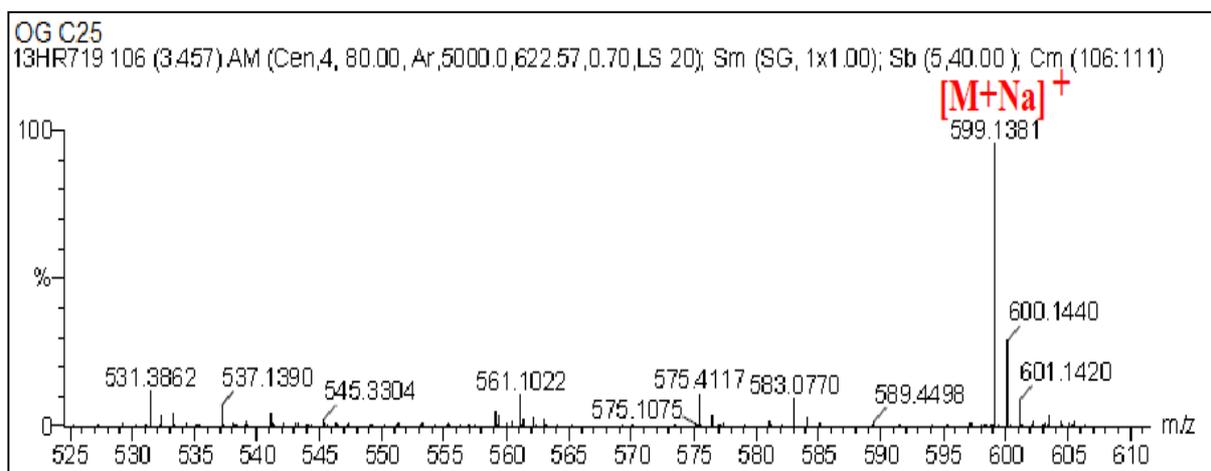


Figure 208: Spectre de masse HR-MS-ESI du composé **C₂₅**.

Le spectre de RMN 1H (figure 209) du composé **C₂₅** rappelle sans ambiguïté celui de **C₂₃**. La comparaison des spectres des deux composés permet de reconnaître pratiquement tous les signaux de la partie aromatique ainsi que la partie osidique du composé **C₂₃**. Il s'agit donc d'une apigénine substituée en position 7 par un glucose.

La différence entre ces deux composés réside dans l'apparition d'une nouvelle partie résonnant vers les champs forts du spectre, cette partie comporte :

- un singulet d'intégration 3H à $\delta_H = 1,28$ ppm correspondant à un méthyle.

- Quatre doublets d'intégration 1H chacun à $\delta_H = 2,65, 2,60, 2,52, 2,32$ ppm correspondant à deux méthylènes.

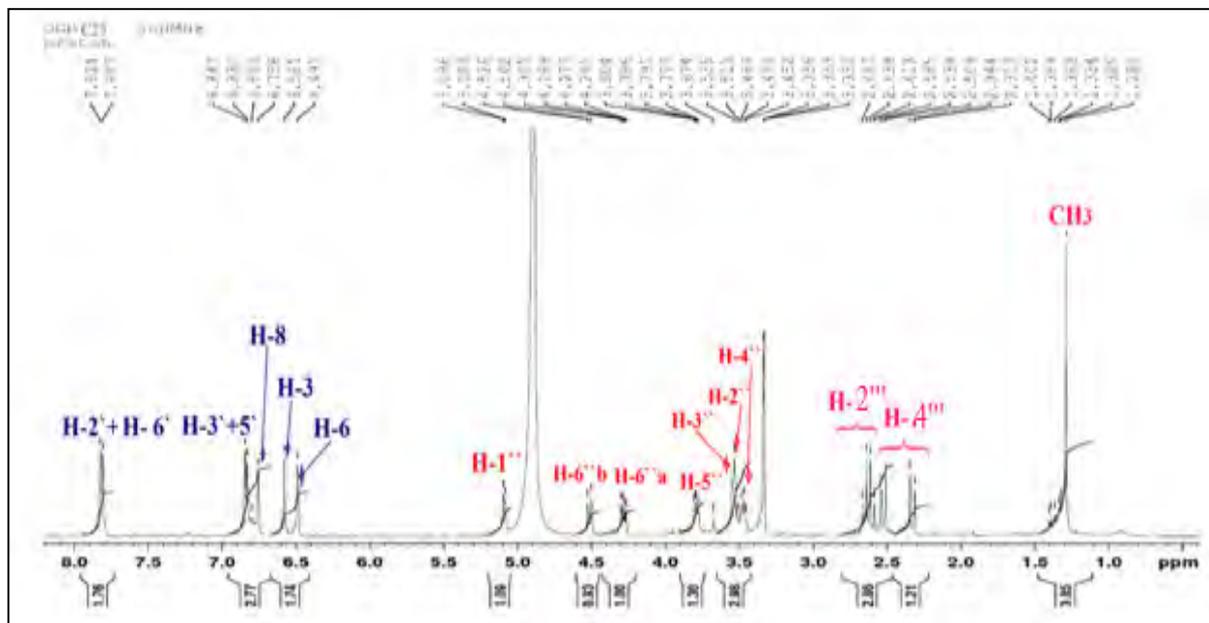


Figure 209: Spectre RMN ^1H du composé C_{25} (CD_3OD , 500MHz).

L'expérience HMBC (figure 210, 211) montre des corrélations $^2J_{\text{H-C}}$ et $^3J_{\text{H-C}}$ entre les signaux de cette nouvelle partie, on observe des taches de corrélations :

- entre les protons des deux méthylènes et le carbone du méthyle.
- entre les protons du méthylène résonnant à $\delta_H = 2,65-2,60$ ppm plus les protons du méthyle et le carbone correspondant à l'autre méthylène ($\delta_C = 46,3$ ppm), et entre les protons de ce dernier ($\delta_H = 2,52-2,32$ ppm) plus les protons du méthyle et le carbone du premier méthylène résonnant à $\delta_H = 45,84$ ppm.
- entre tous les protons de cette partie (les deux CH_2 et CH_3) et un carbone quaternaire oxygéné apparaissant à $\delta_C = 69,6$ ppm.

Ces données permettent de proposer une partie de la structure de cette chaîne :

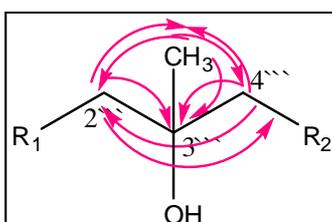


Figure 210: Corrélations HMBC observées pour le composé C_{25}

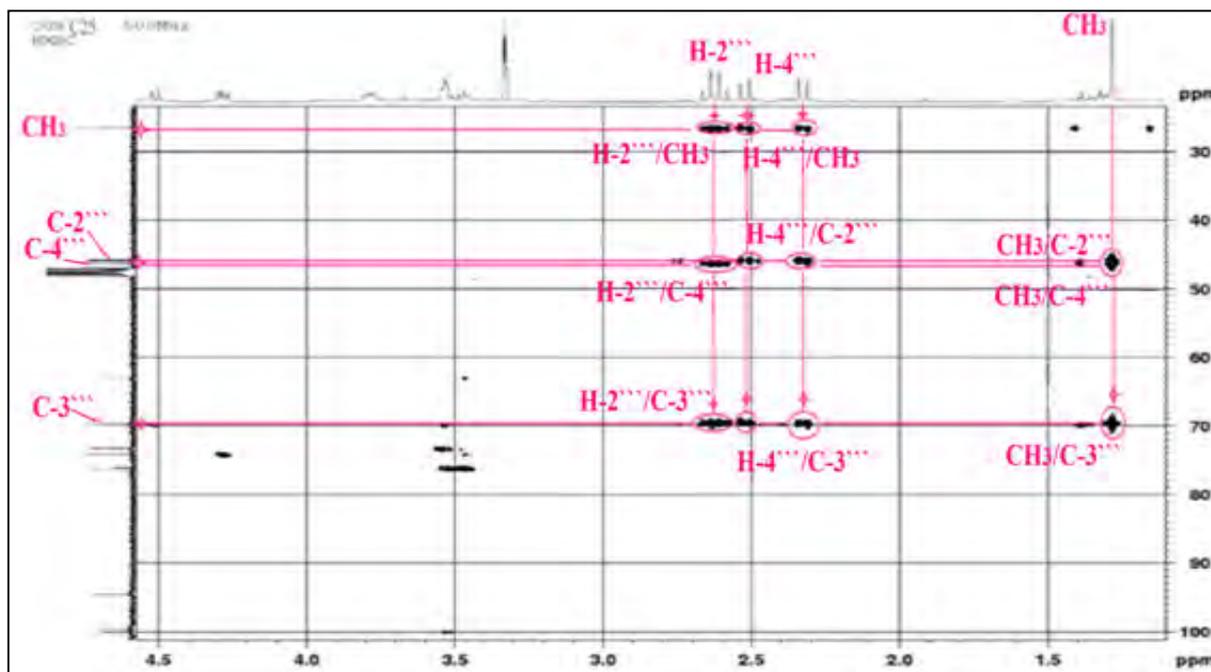


Figure 211: Spectre HMBC du composé C_{25} .

Les déplacements chimiques des deux méthylènes obtenus à partir du spectre RMN ^{13}C (figure 212) ($\delta_{C-2'''} = 45,8$ ppm et $\delta_{C-4'''} = 46,3$ ppm) indiquent qu'ils sont liés aux groupements carbonyles.

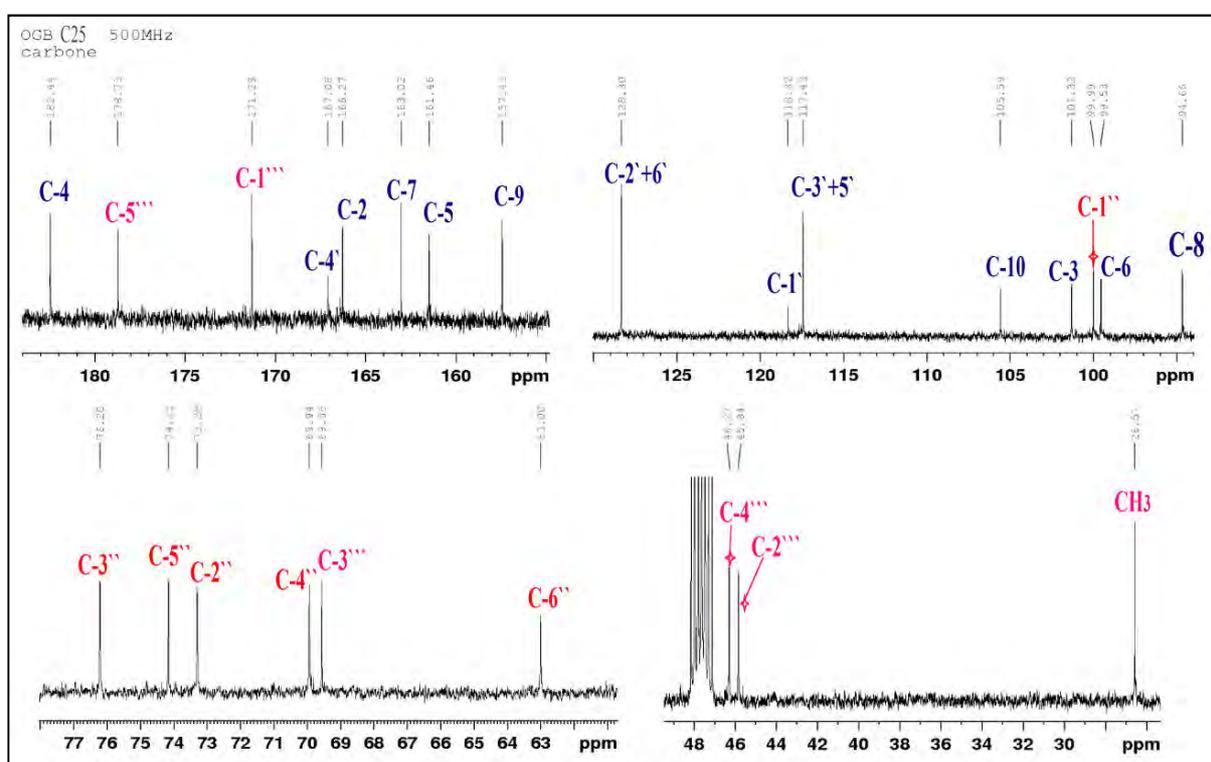


Figure 212: Spectre RMN ^{13}C du composé C_{25} (CD_3OD , 125MHz).

Cette hypothèse est confirmée par les corrélations HMBC (figures 213, 214) visualisées entre les protons en position 2''' et les protons en position 6'' du glucose et le carbone du carbonyle d'une fonction ester à $\delta_C = 171,3$ ppm indiquant que cette partie est fixée en position 6'' du glucose par une liaison ester. Un autre carbonyle d'une fonction acide ne corrèle qu'avec les protons en position 4'', indiquant la fin de cette chaîne par un groupement carboxylique.

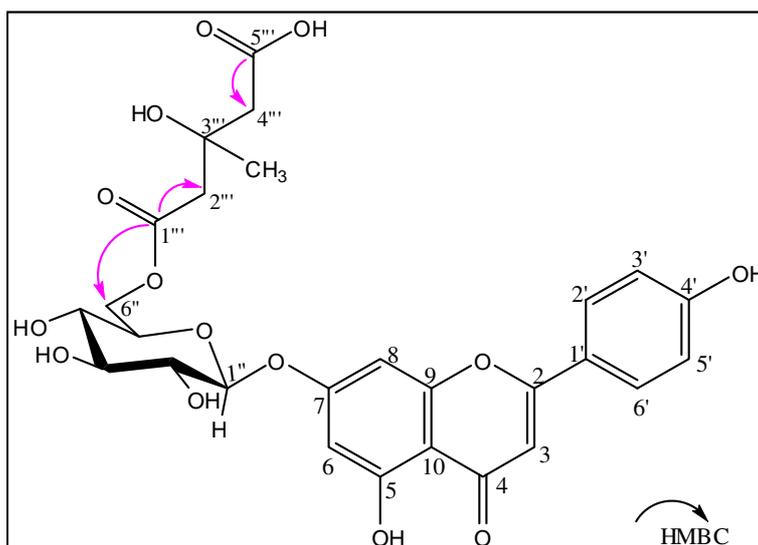


Figure 213: Importantes corrélations HMBC observées pour le composé **C₂₅**.

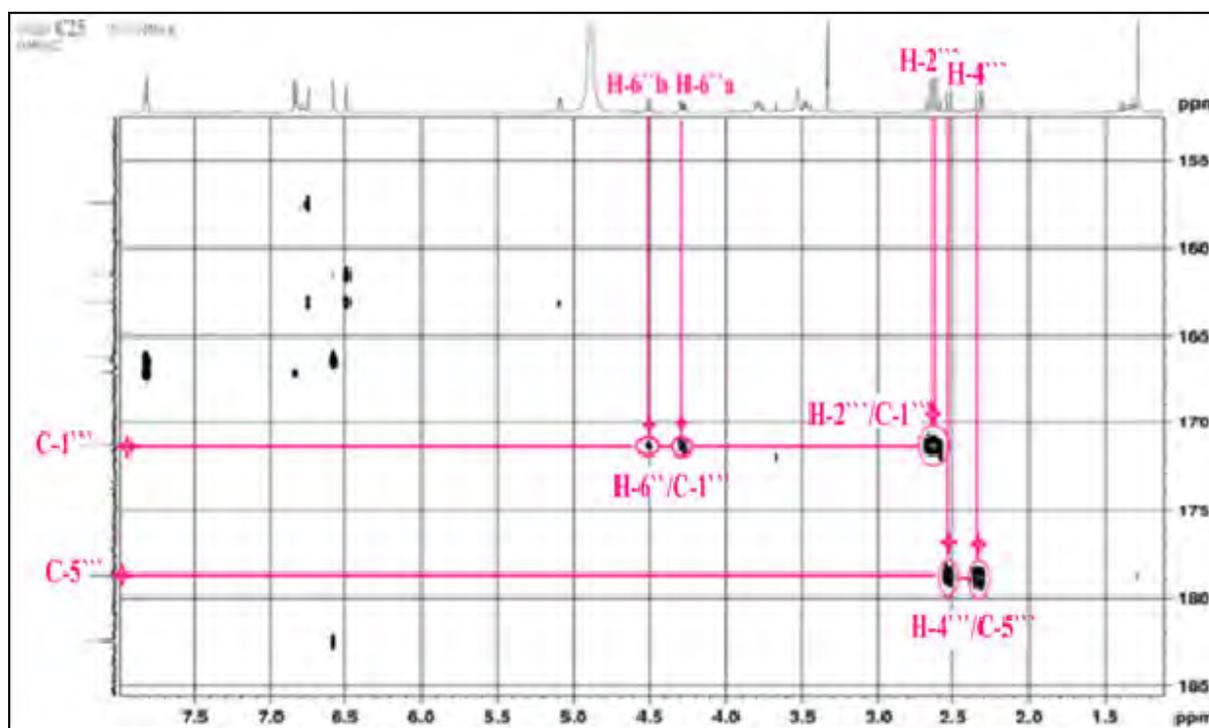
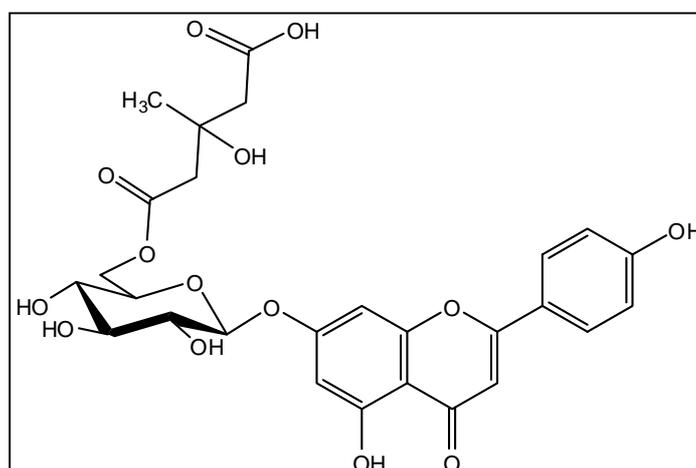


Figure 214: Spectre HMBC du composé **C₂₅**.

Tableau 53: Déplacements chimiques en RMN ^1H (500 MHz) et RMN ^{13}C (125 MHz) du composé C_{25} dans CD_3OD .

N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)	N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)
2	166,3	-	6°	128,3	7,81, d (8,5)
3	101,3	6,58 s	Glucose en 7		
4	182,4	-	1°	100,0	5,09, d (7,2)
5	161,5	-	2°	73,3	3,50, t (8,6)
6	99,5	6,49, sl	3°	76,2	3,51, t (7,8)
7	163,0	-	4°	69,9	3,48, t (9,1)
8	94,7	6,75, sl	5°	74,2	3,53, m
9	157,4	-	6°	63,0	a : 4,43, d (12,1) b : 4,5, dd (12,1; 7,0)
10	105,6	-	1°	171,3	-
1°	118,3	-	2°	45,8	a : 2,65, d (14,0) b : 2,60, d (14,0)
2°	128,3	7,81, d (8,5)	3°	69,6	-
3°	117,4	6,84, d (8,5)	4°	46,3	a : 2,52, dd (15,5) b : 2,32, dd (15,5)
4°	167,1	-	5°	178,7	-
5°	117,4	6,84, d (8,5)	CH ₃	26,6	1,3, s

Les expériences RMN ^1H , HSQC J -modulé, COSY H-H et HMBC combinées permettent d'attribuer au composé C_{25} la structure de : **Chamaeloside (apigenin-7- O -[β -D-glucoside-6°-(3°-hydroxy-3°-methyl-glutarate))**, isolé pour la première fois de *Chamaemelum nobile* [331].

Chamaeloside (C_{25}).

2.2.g. Le composé C_{26}

L'analyse des spectres du composé C_{26} montre une très grande ressemblance avec le composé C_{24} , il s'agit d'un β -D-glucopyranoside lié en position 8 de la génine *via* une liaison C-O. La différence réside au niveau du cycle B de l'aglycone où on observe, à partir du spectre RMN ^1H (figure 215), un système ABX, les signaux : $\delta_{\text{H}} = 7,69$ ppm (d, $J = 2,3$ Hz, 1H), $\delta_{\text{H}} = 7,02$

ppm (d, $J = 8,5$ Hz, 1H) et $\delta_H = 7,53$ ppm (dd, 1H), attribuables respectivement aux protons H-2', H-5' et H-6' du cycle B.

On observe aussi l'apparition d'un singulet à $\delta_H = 3,99$ ppm, attribuable à un méthoxyle.

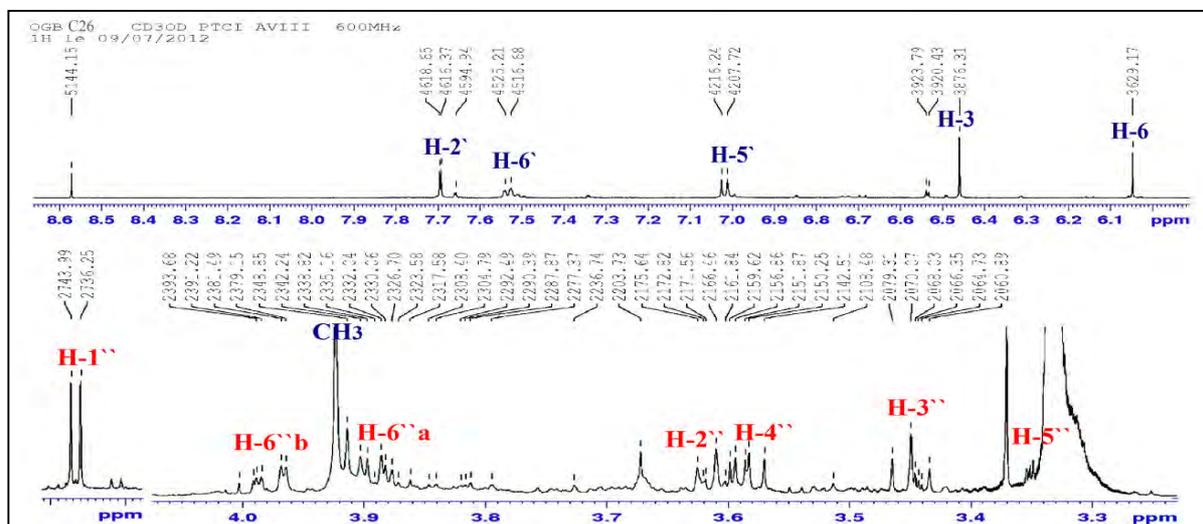


Figure 215: Spectre RMN ^1H du composé C_{26} (CD_3OD , 600MHz).

L'expérience du spectre HMBC (figure 216) montre une tache de corrélation entre les protons du méthoxy et le carbone C-3', indiquant la substitution de la position 3' par ce méthoxy.

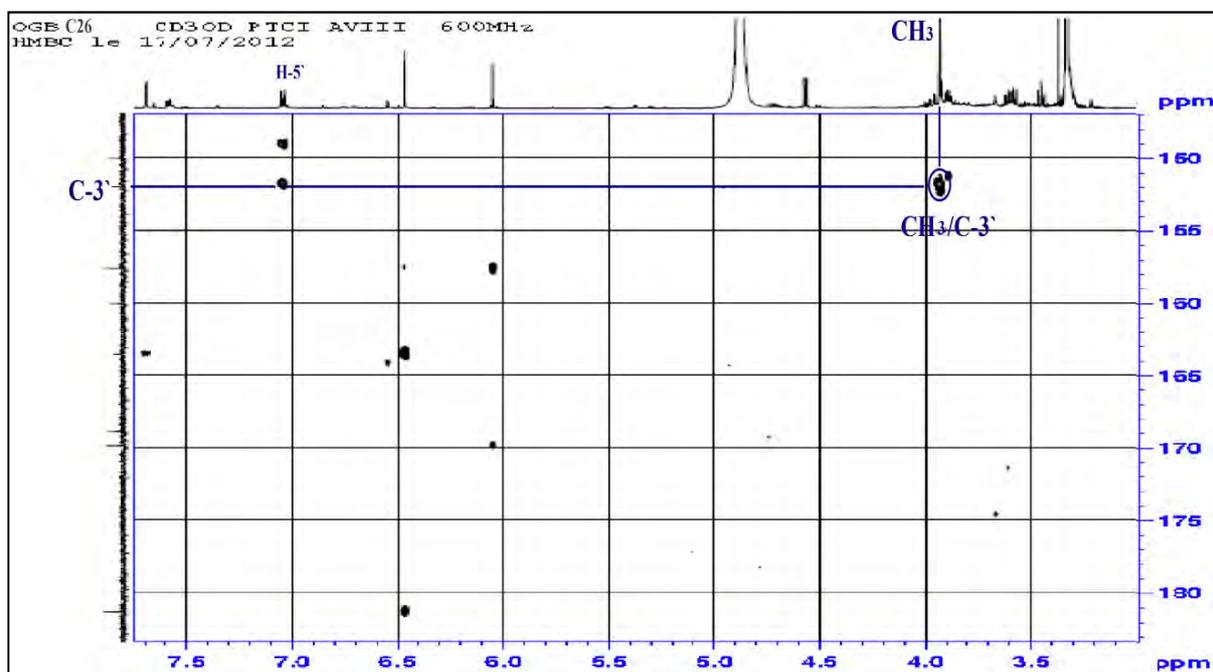


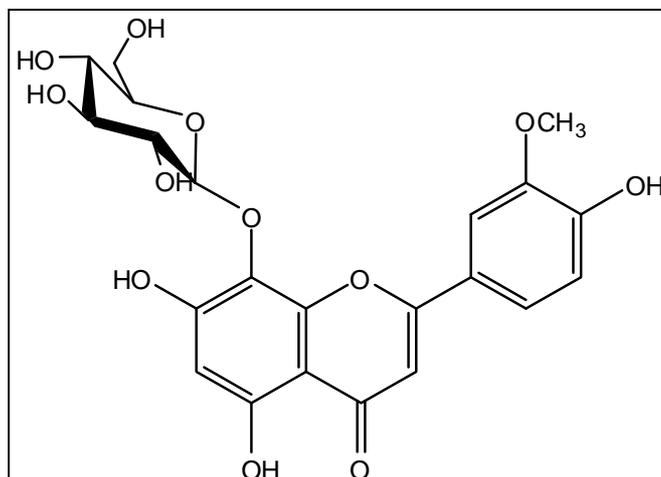
Figure 216: Spectre HMBC du composé C_{26} .

Les expériences RMN ^1H , HSQC J -modulé, COSY H-H et HMBC combinées permettent d'accorder chaque carbone de la structure à son signal correspondant (tableau 54).

Tableau 54: Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé C_{26} dans CD_3OD .

N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)	N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)
2	163,7	-	4 $^{\wedge}$	149,3	-
3	101,3	6,46, s	5 $^{\wedge}$	110,9	7,02, d (8,5)
4	181,4	-	6 $^{\wedge}$	117,6	7,53, dd
5	157,7	-	CH ₃	54,9	3,93, s
6	102,6	6,05, s	Glucose en 8		
7	169,9		1 $^{\wedge\wedge}$	108,7	4,57, d (7,7)
8	128,9	-	2 $^{\wedge\wedge}$	74,3	3,61, t (9,2)
9	150,1	-	3 $^{\wedge\wedge}$	76,9	3,45, t (9,2)
10	99,4	-	4 $^{\wedge\wedge}$	69,1	3,58, t (7,7)
1 $^{\wedge}$	124,2	-	5 $^{\wedge\wedge}$	76,9	3,35, m
2 $^{\wedge}$	113,9	7,79, d (2,3)	6 $^{\wedge\wedge}$	60,3	a : 3,89 dd, (12,2; 3,4), b : 3,98 dd, (12,1; 2,4)
3 $^{\wedge}$	151,9	-			

Les expériences HSQC, COSY et HMBC combinées nous permettent d'assigner sans ambiguïté d'attribuer au composé C_{26} la structure de : **3 $^{\wedge}$ -O-methylhypolaetin- 8-O- β -D-glucoside [332]**.



3 $^{\wedge}$ -O-Methylhypolaetin- 8-O- β -D- glucoside (C_{26}).

3. Activité antioxydante

3.1. Activité antioxydante déterminée par la méthode du DPPH

➤ **Résultats :**

Les résultats obtenus du test de mesure de l'absorbance du radical libre DPPH nous permettent de tracer les graphes de variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration pour chaque échantillon testé (figure 217, 218)

Il semble que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration de tous les extraits et les produits testés ainsi que pour le témoin α -tocophérol.

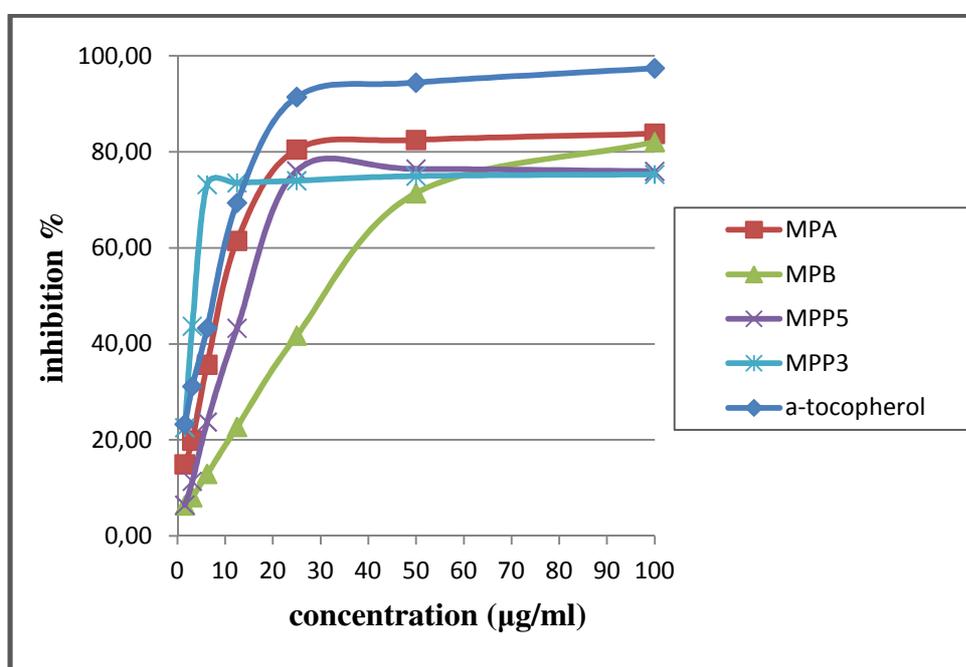


Figure 217: Courbes représentant l'activité antioxydante des extraits et des produits de *M. pubescens* par le test du DPPH.

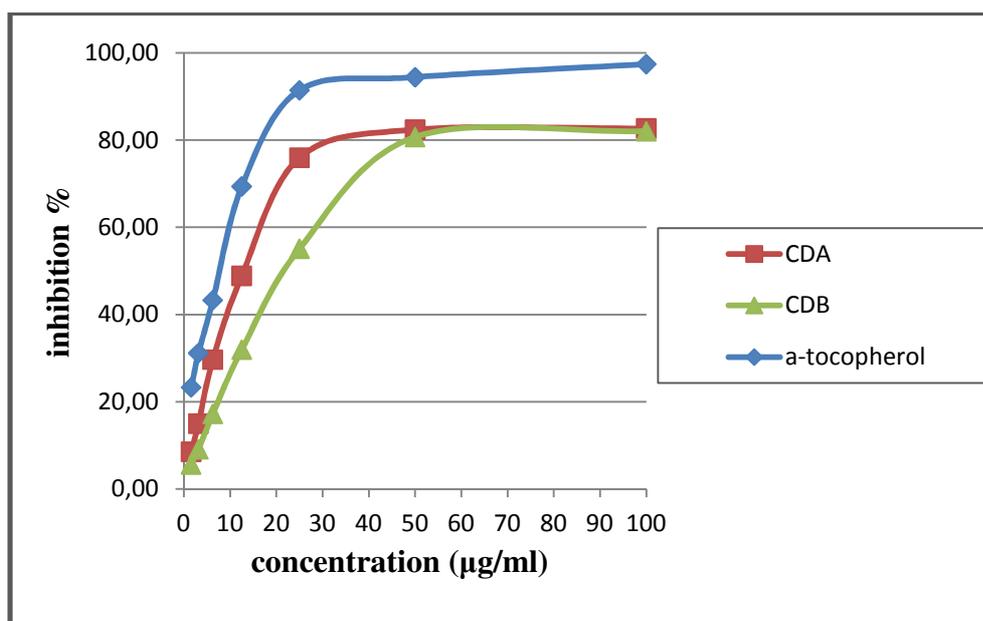


Figure 218: Courbes représentant l'activité antioxydante des extraits de *C. deserticum* par le test du DPPH.

Les valeurs des IC_{50} exprimées en $\mu\text{g/ml}$ calculées graphiquement à partir des droites de régression obtenues, représentant les pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations de chaque échantillon testé, sont présentées dans le tableau 55.

La valeur d' IC_{50} du témoin α -tocophérol est également donnée sur le même tableau afin de le comparer avec celui des échantillons testés.

Tableau 55 : Pouvoir d'inhibition IC_{50} des échantillons étudiés

La plante	L'extrait/produit	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	IC_{50} de l' α -tocopherol
<i>M. pubescens</i>	MPA	$9,79 \pm 0,11$	$7,31 \pm 0,17$
	MPB	$33,07 \pm 0,47$	
	MPP3	$3,98 \pm 0,02$	
	MPP5	$15,69 \pm 0,13$	
<i>C. deserticum</i>	CDA	$13,97 \pm 0,46$	
	CDB	$22,08 \pm 0,71$	

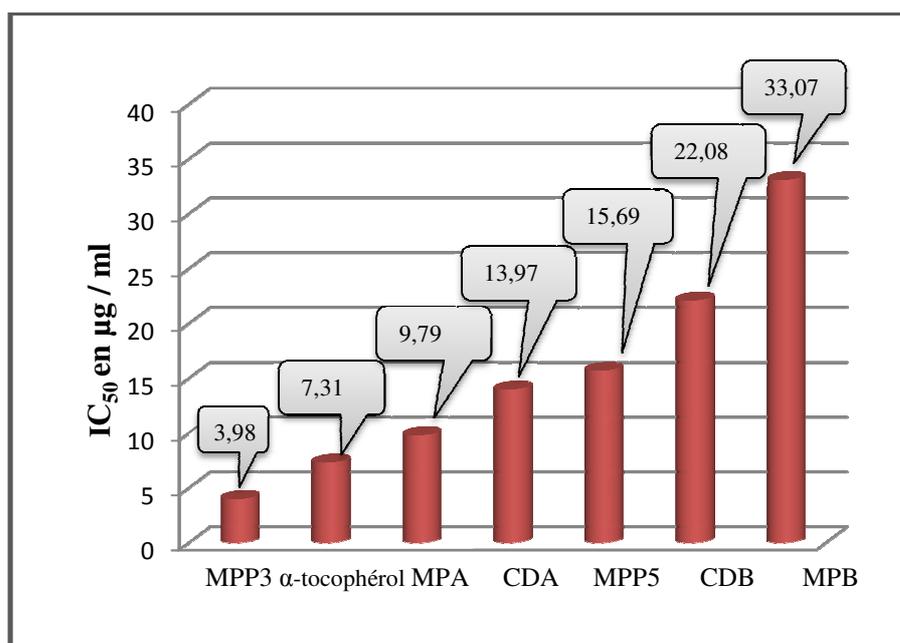


Figure 219: les valeurs des IC₅₀ exprimés en µg / ml des échantillons étudiés classés en ordre croissant (DPPH).

➤ **Discussion des résultats :**

Les pourcentages d'inhibitions de l'activité anti radicalaire révèlent que tous les extraits étudiés des deux plantes et les 2 flavonoïdes isolés de *M. pubescens* ont des propriétés antioxydantes intéressantes.

Les valeurs des IC₅₀ qui sont inversement proportionnelles à l'activité antioxydante, sont en accord avec ces observations.

D'après l'histogramme schématisé dans la figure 217, représentant le classement décroissant de l'activité antioxydante, on remarque que le flavonoïde MPP₃ a le pouvoir antioxydant le plus fort avec la valeur de IC₅₀ de 3,98 µg/ml, suivi par le α-tocophérol (7,31 µg/ml), l'extrait MPA (9,79 µg/ml), l'extrait CDA (13,97 µg/ml), le flavonoïde MPP5 (15,69 µg/ml), extrait CDB (22,08 µg/ml) et enfin, l'extrait MPB (33,07 µg/ml).

L'activité antioxydante manifestée par l'extrait butanolique de *M. pubescens* est 4 fois inférieure à celle du standard α-tocophérol, alors que l'activité manifestée par l'extrait acétate d'éthyle est très proche de celle de l'α-tocophérol.

L'extrait butanolique de *C. deserticum* est 3 fois moins actif que le standard α-tocophérol alors que l'extrait acétate d'éthyle est seulement 1 fois est demi moins actif que l'α-tocophérol.

En se basant sur ces résultats obtenus, on peut conclure que la variation de capacité antioxydante de ces extraits comparativement à celle du témoin α -tocophérol pourrait être principalement due à la présence de composés phénoliques, et de leur taux dans ces extraits.

En comparaison avec l'antioxydant standard, les deux flavonoïdes isolés de l'extrait butanolique de *M. pubescens* s'avèrent être mieux actifs comme piègeurs du radical DPPH par rapport à l'extrait butanolique. Leur activité anti radicalaire présente des valeurs de IC_{50} importantes avec 3,98 $\mu\text{g/ml}$ pour P_3 qui est 1 fois et demi plus actif que le standard α -tocophérol, et 15,69 $\mu\text{g/ml}$ pour P_5 qui est 2 fois moins actif que l' α -tocophérol.

Le flavonoïde P_3 est 4 fois plus actif que le flavonoïde P_5 , ceci est dû principalement à la présence des sites potentiels au sein de sa structure, qui restent nécessaires à l'obtention d'une activité antioxydante optimale et de l'effet scavenger vis-à-vis du radical DPPH.

La position de la double liaison dans le cycle C ainsi que le nombre et/ou la position des groupements hydroxyles (OH), sont les éléments les plus importants pour expliquer l'augmentation ou la diminution de l'activité antiradicalaire de nos flavonoïdes.

3.2. Activité antioxydante déterminée par la méthode de l'ABTS⁺

➤ Résultats

Les figures 220 et 221 représentent, comme précédemment, les droites de régression des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations de chaque échantillon testé, obtenues à partir des valeurs expérimentales.

On observe que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration des extraits et des 2 flavonoïdes testés, ainsi que pour le standard α -tocophérol.

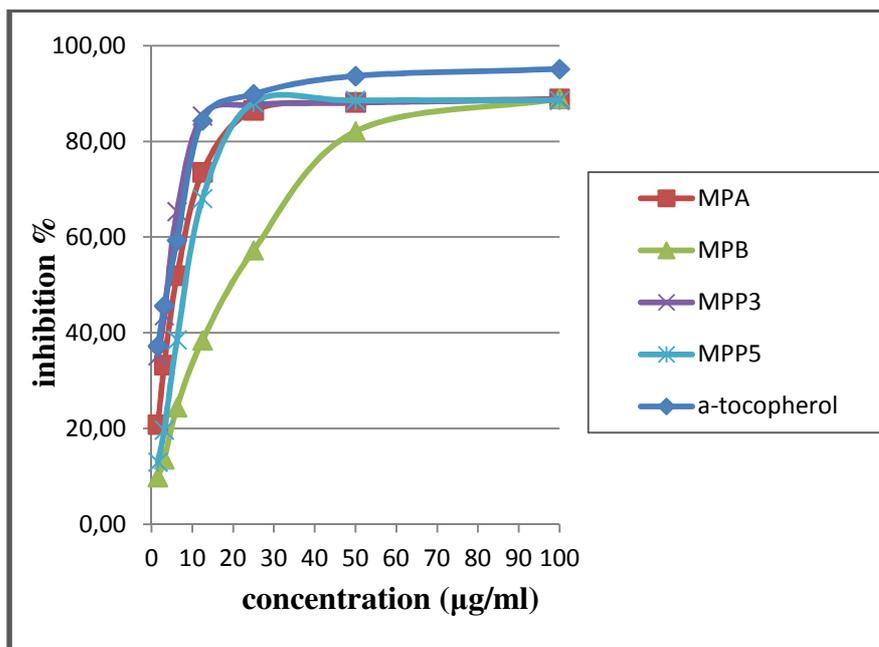


Figure 220: Courbes représentant l'activité antioxydante des extraits et des flavonoides de *M. pubescens* par le test de l'ABTS⁺.

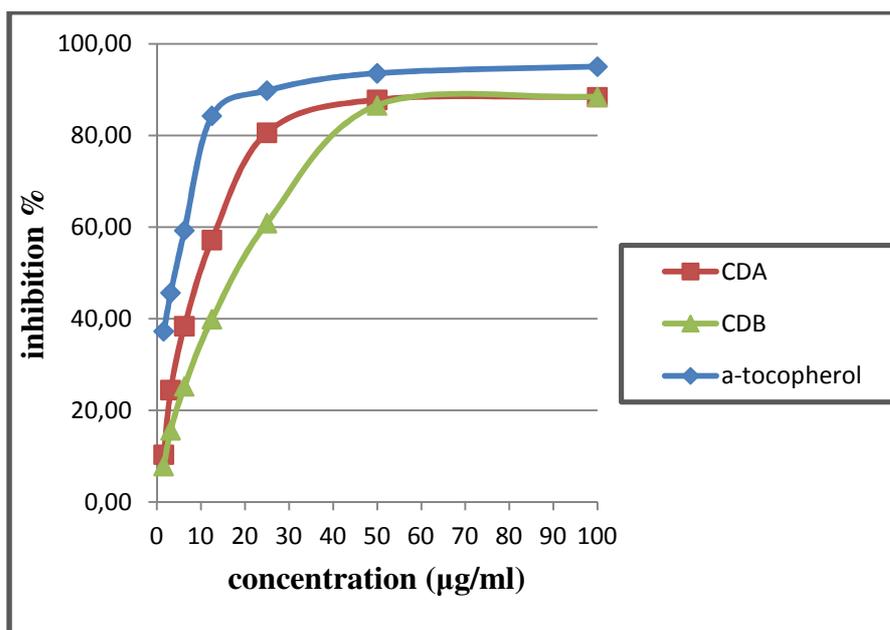
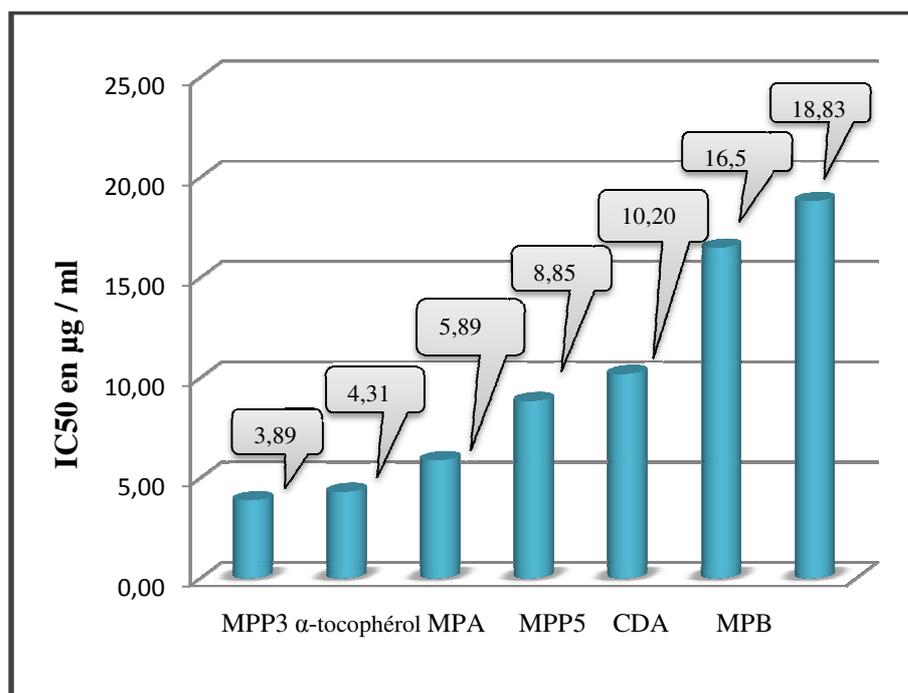


Figure 221: Courbes représentant l'activité antioxydante des extraits de *C. deserticum* par le test de l'ABTS⁺.

Le tableau 56 présente les valeurs du pouvoir antioxydant (IC₅₀) de chaque échantillon testé ainsi que le standard α -tocophérol, calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés.

Tableau 56: Pouvoir d'inhibition IC_{50} des échantillons étudiés.

La plante	L'extrait/produit	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	IC_{50} de l' α -tocophérol
<i>M. pubescens</i>	MPA	$5,89 \pm 0,11$	$4,31 \pm 0,10$
	MPB	$16,50 \pm 0,48$	
	MPP3	$3,89 \pm 0,06$	
	MPP5	$8,85 \pm 0,02$	
<i>C. deserticum</i>	CDA	$10,20 \pm 0,10$	
	CDB	$18,83 \pm 0,17$	

**Figure 222:** les valeurs des IC_{50} exprimés en $\mu\text{g/ml}$ des échantillons étudiés classés en ordre croissant (ABTS⁺).

➤ Discussion des résultats :

Les pourcentages d'inhibition et les valeurs du pouvoir antioxydant montrent clairement que tous les échantillons testés possèdent des propriétés antioxydantes intéressantes.

Le classement des extraits et des flavonoïdes testés comparativement avec le témoin α -tocophérol selon leur activité antioxydante par ordre décroissant est le suivant :

le flavonoïde MPP3 ($3,89 \mu\text{g/ml}$) > α -tocophérol ($4,31 \mu\text{g/ml}$) > MPA ($5,89 \mu\text{g/ml}$) > le flavonoïde MPP5 ($8,85 \mu\text{g/ml}$) > CDA ($10,20 \mu\text{g/ml}$) > MPB ($16,5 \mu\text{g/ml}$) > CDB (figure 222).

D'après ce classement on remarque que l'extrait butanolique de *M. pubescens* est 4 fois moins actif que l' α -tocophérol, alors que l'activité de l'extrait acétate d'éthyle est très proche de celle de l' α -tocophérol.

Pour *C. deserticum*, son extrait butanolique est 4 fois moins puissant que le standard α -tocophérol, alors que son extrait acétate d'éthyle est 2 fois seulement moins actif que le standard.

Les résultats obtenus montrent que les deux flavonoïdes isolés de l'extrait butanolique de *M. pubescens* sont plus actifs que cet extrait, ils montrent aussi que l' α -tocophérol est moins antioxydant que flavonoïde P₃, et il est 2 fois seulement plus actif que le flavonoïde P₅.

3.3. Corrélation entre l'activité antioxydante déterminée par le radicale libre DPPH et celle déterminée par le radical cation ABTS :

Les résultats de l'activité antioxydante obtenus par les deux méthodes DPPH et ABTS indiquent que les extraits acétate d'éthyle et butanolique des deux plantes *M. pubescens* et *C. deserticum* ainsi que les flavonoïdes isolés de l'extrait butanolique de *M. pubescens* ont des pouvoirs antioxydants puissants.

Nous avons tenté de chercher une corrélation entre les deux tests utilisés pour l'évaluation de l'activité antioxydante (figure 223), le coefficient de corrélation trouvé est de l'ordre de 0,73, ce qui montre une bonne affinité et peut être le même mode d'action.

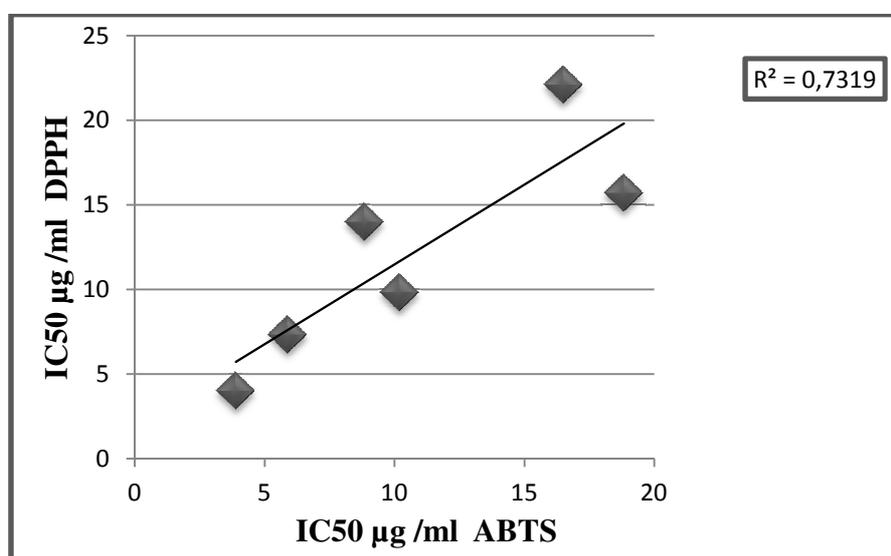


Figure 223: Corrélation linéaire entre ABTS et DPPH.

3.4. Conclusion

L'activité antioxydante des extraits acétate d'éthyle et butanolique des deux plantes *M. pubescens* et *C. deserticum* a été déterminée par les tests de DPPH et d'ABTS, les deux ayant confirmé leurs pouvoir scavenger de radicaux libres. Cette activité est liée en grande partie à la composition des extraits et leur richesse en composés phénoliques et en flavonoïdes.

Les deux méthodes appliquées pour l'évaluation de l'activité antioxydante ont également montré le pouvoir antioxydant puissant des deux flavonoïdes isolés de *M. pubescens*.

Une bonne corrélation a été établie entre l'activité antioxydante évaluée par le radical libre DPPH et celle évaluée par le radical cation ABTS.

CONCLUSION

GENERALE

Conclusion générale

Le présent travail a été consacré à l'étude phytochimique et l'évaluation du potentiel biologique de deux espèces végétales algériennes appartenant à la famille des Asteraceae, *Matricaria pubescens* (Desf.) Sch. Bip. et *Chrysanthemum deserticum* Batt. & Trab.

En ce qui concerne *Matricaria pubescens*, les travaux d'extraction, séparation de la phase butanolique et de purifications nous a permis d'isoler et d'identifier par l'analyse spectroscopique (UV-Visible, la RMN et ses séquences, bidimensionnelle : COSY, ROESY, NOESY, HSQC, HMBC, ainsi que la spectrométrie de masse IE et ES), **11** flavonoïdes :

- Apigénine
- Luteoline
- Quercétine
- Apigénine 7-*O*- β-D -glucoside
- Luteoline 7-*O*- β-D -glucoside
- Quercétine 3-*O*- β-D -glucoside
- Isorhamnetine 3-*O*- β-D -glucoside
- Isovitexine (nouveau pour le genre)
- **4'-*O*-Methylisoscuteallareine-7-*O*-[6'''-*O*-acétyl-β-D-glucosyl-(1→2)-β-D-glucoside].**
- **Isoscuteallareine-7-*O*-[6'''-*O*-acétyl-β-D-glucosyl-(1→2)-β-D-glucoside].**
- **4'-*O*-Methylisoscuteallareine-7-*O*-[β-D-glucosyl-(1→2)-β-D-glucoside].**

A notre connaissance les trois derniers composés sont de nouvelles structures isolés pour la première fois dans le règne végétal.

L'investigation phytochimique des parties aériennes de l'espèce *Chrysanthemum deserticum* a conduit à l'isolement de **26** composés, parmi lesquels nous avons établi à l'heure actuelle, la structure de **17** composés dont **10** isolés de la phase chloroformique:

- 4 triterpènes de type taraxastane: taraxastérol, taraxastérol acétate, ptiloépoxyde et 3β,21-β-dihydroxy-taraxast-20(30)ène-3-acétate ce dernier isolé pour la première fois de la famille des Asteraceae
- 1 stérol : 7α-hydroxy-β-sitosterol.

- 1 nouveau sesquiterpène : **terrecyclen-2-ol (deserticolol)**.
- La phytone: (6R,10R)-6,10,14-trimethylpentadecan-2-one.
- L'isovalérate de géranyle: 3',7'-dimethylocta-2',6'-dienyl-3-methylbutanoat.
- 1 polyacétyle : (8,9-epoxy-7-[(E)-2,4-hexadiynylidene]-1,6-dioxa-spiro [4.4] non-2-en-4-ol).
- 1 hydroxyacétophénone (espeleton).

Et 7 composés obtenus à partir de la phase butanolique dont 6 flavonoïdes et un acide cinnamique glucosylé :

- Linariifolioside (à notre connaissance ce composé est nouveau pour le genre *Chrysanthemum*)
- Apigénine 8-C-β-D-glucosyl-6-C-α-L-arabinosyle
- Apigénine 7-O-β-D-glucoside
- Isoscutellareine-8-O-β-D-glucoside
- Chamaemeloside (isolé pour la première fois du genre *Chrysanthemum*)
- 3'-O-Methylhypolaetine- 8-O-β-D- glucoside (à notre connaissance ce composé est nouveau pour la famille des Asteraceae)
- Acide (E)-8-O-β-D-glucopyranosyl-oxy-cinnamique (isolé pour la première fois avec la configuration E).

Le potentiel anti-radicalaire des extraits butanoliques et d'acétate d'éthyles des deux espèces étudiées ainsi que des deux flavonoïdes (luteoline-7-O-β-D-glucoside et 4'-O-methylisoscutellareine-7-O-[6'''-O-acétyl-β-D-glucosyl-(1→2)-β-D-glucoside]) isolés de *Matricaria pubescens* a été déterminé par les méthodes du DPPH et ABTS. Les résultats ont montré que les extraits et les flavonoïdes testés possèdent une excellente activité antioxydante.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- [1] Gaussen, H., Leroy, H. F. (1982). *Précis de Botanique (végétaux supérieurs)*. 2^{ème} Ed. 426.
- [2] Ozenda, P. (1977). *Flore du Sahara*. Ed CNRS, Paris. France. 250-259.
- [3] Quezel, F., Santa, S. (1962-1963). *Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. Vol. 1-2. Ed. CNRS, Paris France.
- [4] Guignard, J.L. (1994). *Abrégé Botanique*. 9^{ème} Ed. Édition Masson, Paris. France. 204.
- [5] Stevens, P. F. (2008). *Angiosperm Phylogeny Website*. Version 9.
- [6] Panero, J.L., Funk, V.A. (2002). Toward a phylogenetic subfamilial classification for the Compositae (Asteraceae). *Proceedings of the biological society of Washington*. 115(4): 909-922.
- [7] Panero, J. L., Funk, V. A. (2008). The value of sampling anomalous taxa in phylogenetic studies: major clades of the Asteraceae revealed. *Molecular Phylogenetics*. 47: 757-782.
- [8] Panero, J. L. (2008). Shared molecular signatures support the inclusion of *Catamixis* in subfamily Pertyoideae (Asteraceae). *Phytologia*. 90: 418.424.
- [9] Mitsui, Y., Chen, S.T., Peng, C.I., Deng, Y.F., Setoguchi, H. (2008). Phylogeny and biogeography of the genus *Ainsliaea* Asteraceae in the Sino-Pacific region based on nuclear rDNA and plastid DNA sequence data. *Annals of Botany*. 101: 111-124.
- [10] Jeffrey, C. (2007). Tribe Gymnarrheneae. Families and Genera of Vascular Plants, vol. VIII, Flowering Plants, Eudicots, Asterales. *Springer-Verlag, Berlin*. 147-148
- [11] Nordenstam, B. (2007). Compositae: tribe Corymbieae. Families and Genera of Vascular Plants, vol. VIII, Flowering Plants, Eudicots, Asterales. *Springer-Verlag, Berlin*. 207-208
- [12] Weitz, F. M. (1989). A revision of the genus *Corymbium* (Asteraceae). *South African Journal of Botany*. 55: 598-629.
- [13] Bonnier., G. (1934). *Flore complète de France, Suisse et Belgique*. Édition 10. p 118.
- [14] Crete., P. (1965). *Précis de botanique*. Masson, Paris. Édition 2. p 429.
- [15] Eldahmy, S., Jakupovic, J., Bohlmann, F., Sarg, T.M. (1985). New humulene derivatives from *Asteriscus graveolens*. *Tetrahedron*. 41(2): 309-316.
- [16] San Feliciano, A., Medarde, M., Miguel del Corral, J. M., Aramburu, A., Gordaliza, M., Barrero, A. F. (1989). Aquatolide a new type of humulane-related sesquiterpene lactone. *Tetrahedron Letters*. 30(21): 2851-2854.
- [17] Stefan Safer, S., Serhat, S., Cicek, S.S., Valerio Pieri, V., Stefan Schwaiger, S., Peter Schneider, P., Volker Wissemann, V., Hermann Stuppner, H. (2011). Metabolic

fingerprinting of *Leontopodium* species (Asteraceae) by means of ¹H NMR and HPLC–ESI-MS. *Phytochemistry*. 72: 1379–1389.

[18] Calabria, L.M., Piacente, S., Kapusta, I., Dharmawardhane, S.F., Segarra, F.M., Pessiki, P.J., Mabry, T.J. (2008). Triterpene saponins from *Silphium radula*. *Phytochemistry*. 69(4): 961–972.

[19] Flamini, G., Pardini, M., Morelli, I., Ertugrul, K., Dural, H., Bagci, Y., Kargioglu, M. (2002). Flavonoid glycosides from *Centaurea pseudoscabiosa* subsp. *pseudoscabiosa* from Turkey. *Phytochemistry*. 61(4): 433–437.

[20] Nacer, A., Bernard, A., Boustie, J., Touzani, R., Kabouche, Z. (2006). Aglycone flavonoids of *Centaurea tougourensis* from Algeria. *Chemistry of Natural Compounds*. 42(6): 230-231.

[21] Brighenti, F. (2007). Dietary fructans and serum triacylglycerols : A meta-analysis of randomized controlled trials. *The Journal of nutrition*. 137(11): 112.

[22] Adolphi, B., Scholz-Ahrens, K.E., de Vrese, M., Açil, Y., Laue, C., Schrezenmeir, J. (2009). Short-term effect of bedtime consumption of fermented milk supplemented with calcium, inulin-type fructans and caseinphosphopeptides on bone metabolism in healthy, postmenopausal women. *European Journal of Nutrition*. 48(1): 45-53.

[23] ARMA Robin. *Plantes alimentaires*. [Consulté le 7 /05/2013]. Disponible à partir de : <http://www.robinarma.com>.

[24] Wikipédia. *Lactuca sativa*. [Consulté le 7 /05/2013]. Disponible à partir de: <http://fr.wikipedia.org/wiki/Laitue>

[25] Shivani, S., Sunil, S. (2013). Antidiabetic effect of *Helianthus annuus* l., seeds ethanolic extract in streptozotocin- nicotinamide induced type 2 diabetes mellitus. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 5(2): 382-387.

[26] Amsol, Prolea. (2002). L'huile de tournesol: un partenaire de notre alimentation quotidienne. *Industrie des semences de plantes oléoprotéagineuses*. France.

[27] Bown, D. (1995). *Encyclopaedia of Herbs and their Uses*. Édition Dorling Kindersley. London.

[28] Herboristerie du palais royal- Michel Pierre – Paris. [Consulté le 7 /05/2013].disponible à partir de : <http://www.herboristerie.com>.

[29] Chenuet., G. (2007). La santé par les plantes. *Phytothérapie*. Digest Sélection du Reader. P 320.

[30] Wichtl, M. (2004). Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals: A Handbook for Practice on a Scientific Basis, 3^o Edition. *Stuttgart: Medpharm GmbH Scientific Publishers*.

- [31] Bradley, P.R. (1992). British Herbal Compendium: A Handbook of Scientific Information on Widely Used Plant Drugs, vol 1. *Bournemouth: British Herbal Medicine Association*.
- [32] Alaniz, F.S., Mazzarini L.A., Demo, M.S., Sabini, L.I., Maldonado A.M. (2010). Derivated products from *Achyrocline satureioides* and *Arnica Montana*, with immunomodulating effects. *Molecular Medicinal Chemistry*. 20: 121-124.
- [33] Millanvoye, G. (1986). Mini-encyclopédie des médecines naturelles. France Loisirs, Paris.
- [34] Belury., M. (2011). Daily dose of safflower oil can help reduce cardiovascular disease. *Medical Research News*. Published on March 22, 2011.
- [35] L'équipe des enseignants du DUMENAT Phytothérapie (faculté de médecine Paris-XIII, Bobigny). La santé par les plantes. *Phytothérapie*. Sélection du Reader's Digest, coll. Vidal.
- [36] Gawrońska-Grzywacz, M., Krzaczek, T., Nowak, R., Los, R., Malm, A., Cyranka, M., Rzeski, W. (2011). Biological activity of new flavonoid from *Hieracium pilosella* L.. *Central European Journal of Biology*. 6(3): 397-404.
- [37] Lipton, R.B., Gobel, H., Einhaupl, K.M., Wilks, K., Mauskop., A. (2004). Petasites hybridus root (butterbur) is an effective preventive treatment for migraine. *Neurology*. 63: 2240-2244.
- [38] Demir, H., Açık, L., Bali, E.B., Koç, L.Y., Kaynak, G. (2009). Antioxidant and antimicrobial activities of *Solidago virgaurea* extracts. *African Journal of Biotechnology*. 8(2): 274-279.
- [39] John Peter Paul, J., Revathy, I., Johnson, M. (2012). In vitro propagation of *Solidago virgaurea* L. through nodal culture. *Research in Plant Biology*. 2(4): 8-15.
- [40] Evans, W.C. (1996). *Trease and Evans' Pharmacognosy*. 14th ed. W.B. Saunders: London, UK. p 288.
- [41] Mordujovich-Buschiazzo, P., Balsa, E.M., Buschiazzo, H.O., Mandrile, E., Rosella, M., Schinella, G., Fioravanti, D. (1996). Anti-inflammatory activity of *Tanacetum vulgare*. *Fitoterapia*. 67: 319-322.
- [42] Juan-Badaturuge, M., Habtemariam, S., Jackson, C., Thomas, M.J.K. (2009). Antioxidant principles of *Tanacetum vulgare* L. aerial parts. *Natural Product Communications*. 4: 1561-1564.
- [43] Li, Z.Y., Zhi, H.J., Xue, S.Y., Sun, H.F., Zhang, F.S., Jia, J.P., Xing, J., Zhang, L.Z., Qin, X.M. (2012). Metabolomic profiling of the flower bud and rachis of *Tussilago farfara* with antitussive and expectorant effects on mice. *Journal of Ethnopharmacology*. 140(1): 83-90.
- [44] Lieutaghi, P. Actes Sud. (1996). Le livre des bonnes herbes. 3ème édition. Édition: Actes Sud, Arles

- [45] Couplan, F., Stinner, E. (2009). Guide des plantes sauvages comestibles et toxiques, les guides du naturaliste. Édition : Delachaux et Niestlé. France.
- [46] Ducerf, G. (2006). Guide ethnobotanique de Phytothérapie. Éditions Promonature,
- [47] Pavelaa, R., Sajfirtová, M., Sovová, H., Bárnét, M., Karban, J. (2010). The insecticidal activity of *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz Bip. Extracts obtained by supercritical fluid extraction and hydrodistillation. *Industrial Crops and Products*. 31(3): 449-454.
- [48] Rugutt, J.K., Henry, C.W., Franzblau, S.G., Warner, I.M. (1999). NMR and Molecular Mechanics Study of Pyrethrins I and II. *Agricultural and Food Chemistry*. 47(8): 3402-3410.
- [49] Liddell, H.G., Scott, R. (1940). A Greek-English Lexicon. 9ème, avec supplément révisée en 1996. Édition : Oxford
- [50] Didier vereek. Fleurs du sud de la France méditerranées et montagnes. *Matricaria*. [Consulté le 10/11/2013] Disponible à partir de : <http://www.fleursdusud.fr/index.php/component/phocagallery/category/593-matricaria>.
- [51] Guignard J.L., Cossen L., Henry M., (1985). *Abrégé de Phytochimie*, Ed. Masson, Paris.
- [52] Bruneton. J. (1999). *Pharmacognosie: phytochimie, plantes médicinales*. Édition : Techniques et Documentation Lavoisier, Paris.
- [53] Goto, T., Kondo T. (1991). Structure and molecular stacking of anthocyanins Flower color variation. *Angewandte Chemie* 30: 17-33.
- [54] Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Paganga, G. (1997). antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*. 2:152.
- [55] Van, d.B.R., Haenen, G., Van, d.B.H., Van, d.V.W., Bast, A. (2000). The predictive value of antioxidant capacity of structurally related flavonoids using the Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay. *Food Chemistry*. 70: 391-395.
- [56] Stavric, B., Matula, T.I. (1992). Flavonoids in food. Their significance for nutrition and health, Lipid soluble and antioxidants: *Biochemistry and clinical applications*. 274-294.
- [57] Das, H.C., Wang, J.H., Lien, E.J. (1994). Carcinogenicity and cancer preventing activities of flavonoids: A structure-system-activity relationship (SSAR) analysis. *Progress in Drug Research*. 133 – 136.
- [58] Bidet. D., Gaignault, J.C., Girard, P., Trotin, F. (1987). Inflammation, allergie, douleur et acide arachidonique: du jardin des Hespérides à la cascade de l'acide arachidonique: Les flavonoïdes. *L'actualité chimique*. 89 - 97.
- [59] Amaral, A.C.F., Kuster, R.M., Gonçalves, J.L.S., Wigg, M.D. (1999). Antiviral investigation on the flavonoids of *Chamaesyce thymifolia*. *Fitoterapia*. 70: 293-295.
- [60] Di Carlo, G., Mascolo, N., Izzo, A.A., Capasso, F. (1999). Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Review life sciences*. 65: 337-353.

- [61] Wagner, H., Wierer, M., Bauer, R. (1986). In vitro Hemmung der Prostaglandin-Biosynthese durch etherische Öle und phenolische Verbindungen. *Planta Medica*. 184-187
- [62] Babenko, N.A.; Shakhova, E.G. (2006). Effects of *Chamomilla recutita* flavonoids on age-related liver sphingolipid turnover in rats. *Experimental Gerontology*. 41(1): 32-39.
- [63] Bruneton, J. (1993). Pharmacognosie, Phytochimie des Plantes médicinales, Techniques et Documentation, Lavoisier, Paris 268.
- [64] Kunde, R., Isaac, O. (1979). On the flavones of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) and a new acetylated apigenin-7-glucoside *Planta medica*. 37(2): 124-130.
- [65] Poethke, W., Bulin, P. (1969). Phytochemical study of a new hybrid chamomile variety. II. Essential oil. *Pharm Zentralh*. 108: 813-823.
- [66] Redaelli, C., Formentini, L., Santaniello, E. (1980). Apigenin 7-glucoside and its 2"- and 6"-acetates from ligulate flowers of *Matricaria chamomilla*. *Phytochemistry*, 19(5):985-986.
- [67] Redaelli, C., Formentini, L., Santamillo, E. (1981). Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography Analysis of Apigenin and its Glucosides in Flowers of *Matricaria chamomilla* and Chamomile Extracts. *Planta medica*. 42(3): 288-292.
- [68] Gupta, V., Mittal, P., Bansal, P., Khokra, S., Kaushik, D. (2010). Pharmacological Potential of *Matricaria recutita*-A Review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*. 2(1): 12-16
- [69] Tyihak, E., Sarkany-Kiss, J., Verzar-Petri, G. (1962). Phytochemical investigation of apigenin glycosides of *Matricaria chamomilla*. *Pharmazie*. 17: 301-304.
- [70] Mericli, A.H., Korkmaz, Y. (1992). Flavonoids of *Matricaria chamomilla* var. *recutita* Sample with no Chamazulene in the Volatile Oil. *Acta Pharmaceutica Turcica*. 34 (3): 73.
- [71] Haghi, G., Hatami, A., Safaei, A., Mehran, M. (2014). Analysis of phenolic compounds in *Matricaria chamomilla* and its extracts by UPLC-UV. *Research in Pharmaceutical Sciences*. 9(1): 31-37
- [72] Merfort, I., Heilmann, J., Hagedom, L.U., Lippold, B.C. (1994). In vivo skin penetration studies of camomile flavones. *Pharmazie*, 49 (7): 509-511.
- [73] Švehlíková, V., Bennett, R.N., Mellon, F.A., Needs, P.W., Piacente, S., Kroon, P.A., Bao, Y. (2004). Isolation, identification and stability of acylated derivatives of apigenin 7-O-glucoside from chamomile (*Chamomilla recutita* [L.] Rauschert). *Phytochemistry*. 65(16): 2323-2332
- [74] Srivastava, J. K., Gupta, S. (2009). Extraction, characterization, stability and biological activity of flavonoids isolated from chamomile flowers. *Molecular and Cellular Pharmacology*. 1(3): 138-147.
- [75] Yansong, y., Langsheng, p. (2008). Isolation and structural determination of flavones from *Matricaria chamomilla* L.. *Yingyong Huagong*. 37(6): 697-698.

- [76] Iverson, C.D., Zahid, S., Li, Y., Shoqafi, A.H., Ata, A., Samarasekera, R. (2010). Glutathione S-transferase inhibitory, free radical scavenging, and anti-leishmanial activities of chemical constituents of *Artocarpus nobilis* and *Matricaria chamomilla*. *Phytochemistry Letters*. 3(4): 207-211.
- [77] Peneva, P., Ivancheva, S., Terzieva, L. (1989). Essential oil and flavonoids in the recemes of chamomile (*Matricaria recutita*). *Rasteniiev `dni Nauki (bulgaria)*. 26(6):25-33.
- [78] Menzvani, E., Tosi, B., Bonova, A., Reschiglioni, P. (1990). Automated multiple development high-performance thin-layer chromatographic analysis of natural phenolic compounds. *Chromatography*. 511: 396-401.
- [79] Suganda, A.G., Amoros, M., Fauconnier, B., Girre, L. (1984). Antiherpetic and Antipoliomyelitic Actions of *Matricaria Inodora*. *Plantas Medicinales et Phytotherapie*. 18(4): 215-225.
- [80] Arak, E., Raal, A., Pehk, T., Mäeorg, U. (1988). The ingredients of *Matricaria Discoidea* geranylisovalerate, trans- β -farnesene and herniarin. *khimiya prirodnykh soedinenii*. (6): 806.
- [81] MATHÈ, I. (1960). Data of change the proazulene-content of *Matricaria* in productive areas of Hungary. *Gyûgyszerèszet*. 4:269-274.
- [82] Haensel, R., Rimpler, H., Walther, K. (1966). A flavone lipophile de camomille (*Matricaria chamomilla* L.). *Naturwissenschaften*. 53(1): 19.
- [83] Redaelli, C., Formentini, L., Santaniello, E. (1981). Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography Analysis of Apigenin and its Glucosides in Flowers of *Matricaria chamomilla* and Chamomile Extracts. *Planta Medica*. 42: 288
- [84] Zekovic, Z., Pekić, B., Lepojević, Ž., Petrović, L. (1994). Chromatography in our investigations of camomile (*Matricaria chamomilla* L.). *Chromatographia*. 39(9-10): 587-590
- [85] Pietta, P., Manera, E., Ceva, P. (1987). Simultaneous isocratic high-performance liquid chromatographic de-termination of flavones and coumarins in *Matricaria chamomilla* extracts. *Journal of Chromatography*. 404: 279-281
- [86] Avallone, R., Zanolli, P., Puia, G., Kleinschnitz, M., Schreier, P., Baraldi, M. (2000). Pharmacological Profile of Apigenin, a Flavonoid Isolated from *Matricaria chamomilla*. *Biochemical Pharmacology*. 59:1387-1394
- [87] Repcak, M., Eliasova, A., Ruscancinova, A. (1998). Production of herniarin in diploid and tetraploid *Chamomilla recutita*. *Pharmazie*. 53(4): 279.
- [88] Kováčik, J., Grúz, J., Bačkor, M., Tomko, J., Strnad, M., Repčák, M. (2008). Phenolic compounds composition and physiological attributes of *Matricaria chamomilla* grown in copper. *Environmental and Experimental Botany*. 62: 145-152.

- [89] Redaelli, C., Formentini, L., Santamillo, E. (1982). Apigenin 7-glucoside diacetates in ligulate flowers of *Matricaria chamomilla*. *Phytochemistry*. 21(7): 1828-1830.
- [90] Exner, J., Reichling, J., Cole, T.C.H., Becker, H. (1981). Flavonoid in *Matricaria chamomilla* *Planta medica*. 41 (2): 200.
- [91] Tschiersch, K., Hoelzl, J. (1992). Evidence and analytical procedure for acylated apigenin-7-glucosides. *Pharmazeutische Zeitung Wissenschaft*. 5(5): 214.
- [92] Mirunalini, S., krishnaveni, M. (2011). Coumarin: A Plant derived Polyphenol with wide Biomedical Applications. *International Journal of PharmTech Research*. 3(3): 1693-1696.
- [93] Repčák, M., Suvák, M. (2013). Methyl jasmonate and Echinothrips americanus regulate coumarin accumulation in leaves of *Matricaria chamomilla*. *Biochemical Systematics and Ecology*. 47: 38-41.
- [94] Szalontai, M., Verzar, P.G., Florian, E. (1977). Contribution to the study of antimycotic effect of biologically active components of *Matricaria chamomilla* L. *Parfümerie und Kosmetik*. 58(5): 121-127.
- [95] Redaelli, C., Formentini, L., Santaniello, E. (1981). HPLC Determination of coumarins in *Matricaria chamomilla*. *Planta medica*. 43(4): 412-413.
- [96] Power Frederick, B., Browning, H. J. (1914). The constituents of the flowers of *Matricaria Chamomilla*. *Journal of the American Chemical Society*. 105: 2280- 2291.
- [97] Mericli, A.H. (1990). The lipophilic compounds of a Turkish *Matricaria chamomilla* variety with no chamazuline in the volatile oil. *International journal of crude drug research*. 28:145–147.
- [98] Petrułova-poracho, V., Repcak, M., Vilkova, M., Imrich, J. (2013). Coumarins of *Matricaria chamomilla* L.: aglycones and glycosides. *Food chemistry*. 141(1): 54-59.
- [99] Prosvski, M.A., Oleshko, G.I. (1985). Phenolic compounds of *Matricaria discordea*. *Khimija Prirodnykh Soyedineniy*. (5): 712.
- [100] Jain, T., Karchasy, J.J. (1971). Concerning the chemical constituents of *Matricaria matricarioides*. *Phytochemistry*. 10(11): 2825-2826.
- [101] Ceska, O., Chaudhary, S.K., Warrington, P.J., Ashwood, S. (1992). Coumarins of chamomile, *Chamomilla recutita*. *Fitoterapia*. 63(5): 387-394.
- [102] Kotov, A.G., Khvorist, P.P., Komissarenko, N.F. (1991). Coumarins of *Matricaria recutita*. *Khimija Prirodnykh Soyedineniy*. (6): 835.
- [103] Tosi, B., Romagnoli, C., Menziani, A.E., Bruni, A. (1995). Characterization of Coumarins in Chamomile Preparations Sold in Italy. *Pharmaceutical Biology*. 33(2): 144-147.

- [104] Negoescu, E., Botea, M., Mutihac, L., Faraianu, C., Culea, M., Palibroda, N. (1982). Qualitative characterization studies of the composition of the extract obtained from the flowers of chamomile. *Revista de Chimie* . 33(9): 162-167.
- [105] De pasquale, A., Silvestri, R. (1975). Content of the active principles in various parts of *Matricaria chamomilla*. *Atti-Conv Naz Olii Essenz Sui Deriv Agrum*. 607: 130–136.
- [106] Redaelli, C., Formentini, L., Santaniello, E. (1981). High-performance liquid chromatography of *cis*- and *trans*-en-in-dicyclo ethers (spiro ethers) in *Matricaria chamomilla* L. flowers and in chamomile extracts. *Chromatography A*. 209 (1): 112.
- [107] Kiselva, E.I, Kibal'chich P.N. (1970). *Matricaria matricarioides* (Less) Porter. *Farmatsiya*. 19(3): 71.
- [108] Greger, H., Hofer, O. (1984). On the pungent principle of *Matricaria pubescens*. *Phytochemistry*. 23(5): 1174.
- [109] Eich E, Geissler, H., Mutschler, E., Schunack, W. (1969). Direct quantitative evaluation of thin layer chromatograms by remission- and fluorescence measurement. 2. Determination of drugs in 2 combination preparations by remission measurements. *Arzneimittelforschung* . 19(11): 1895-1897.
- [110] Hethelyi, B.E., Korany, K., Simandi, B., Domokas, P.J. (2002). Aromes herbs supercritical extracts obtained by extraction with GC and GC / MS analysis. *Olaj Szappan Kozmetika*. 51(6): 47.
- [111] Arak, E., Raal, A., Tommeorg, J. (1986). *Matricaria-Matricarioides* a Substitute for the Inflorescence of *Matricaria-Recutita*. *Farmatsiya*. 35(4): 22.
- [112] Robles, M., Aregullin, M., West, J., Rodriguez, E. (1995). Recent studies on the Zoo pharmacognosy, pharmacology, and neurotoxicology of sesquiterpene lactones. *Planta Medica*. 61: 199-203.
- [113] Cho, J. Y., Baik, U.K., Jung, J.H., Park, M. (2000). In vitro anti-inflammatory effects of cynaropicrin, a sesquiterpene lactone, from *Saussurea lappa*. *European Journal of Pharmacology*. 398: 399-407.
- [114] Kasai, R., Shingu, T., Wu, R.Y., Hal, I.H., Lee, K.H. (1982). Anti tumor agents 57. the isolation and structural elucidation of microhelenin a new anti leukemic norpseudoguaianolide and microhelenin from *Helenium microcephalum*. *Journal of Natural Products*. 45(3): 317-320.
- [115] Skaltse, H., Lazari, D., Panagouleas, C., Geogiadou, E., Garcia, B., Sokovic, M. (2000). Sesquiterpene lactones from *Centaurea thessala* and *Centaurea attica*. Antifungal activity. *Phytochemistry*. 55(8): 903-908.
- [116] Picman, A.K. (1986). Biological activities of sesquiterpene lactones. *Biochemical Systematics and Ecology*. 14: 255-281.

- [117] Zaiter, L., Bouheroum, M., Benayache, S., Benayache, F., Leo'n, F., Brouard, I., Quintana, J., Este'vez, F., Bermejo, J. (2007). Sesquiterpene lactones and other constituents from *Matricaria chamomilla* L.. *Biochemical Systematics and Ecology*. 35: 533-538.
- [118] Das, M., Ram, G., Singh, A., Mallavarapu, G.R., Ramesh, S., Ram, M., Kumai, S. (2002). volatils constituants of different plant parts of *Matricaria recutita* L. rausch grown in the indo gangetic plains. *Flavour and Fragrance*. 17(1): 12.
- [119] Ahmed, A.A., Abou Elela, M.A. (1999). Highly oxygenated bisabolenes and an acetylene from *Matricaria aurea*. *Phytochemistry*. 51: 551-554.
- [120] Doskotch, R.W., Beal, J.L. (1970). The isolation and identification of the numbing principle in *Chrysanthemum anethifolium*. *Lloydia*. 33(3): 393-394.
- [121] Giesbrecht, A.M., de Alvarenga, M.A., Gottlieb, O.R., Gottlieb, H.R. (1984). (2E, 4E)-N-isobutyl-9-piperonyl-nona-2 ,4-Amide dienoc de *Ottonia anisum* . *Planta medica*. 43(12): 375-377.
- [122] John, T., Graham, K., Towers, G.H.N. (1982). Molluscicidal activity of affinin and other isobutylamides from the asteraceae. *Phytochemistry*. 21(11): 2737-2738.
- [123] Bohlmann, F., Hartono, L., Jakupovic, J. (1985). Highly unsaturated amides from *Salmea scandens*. *Phytochemistry*. 24(3): 595-596.
- [124] Planète Botanique. Camomille [consulté le 09/05/2013] http://www.planetbotanic.ca/fact_sheets/chamomile.htm. Récupéré le 12/02/2009.
- [125] Morteza Jarrahi. (2008). An experimental study of the effects of *Matricaria chamomilla* extract on cutaneous burn wound healing in albino rats. *Natural Product Research*. 22(5): 422-427.
- [126] Mckay, D.L., Blumberg, J.B. (2006). A review of the bioactivity and potential health benefits of chamomile tea (*Matricaria recutita*). *Phytotherapy Research*. 20(7): 519-530.
- [127] Nayak, B.S., Raju, S.S., Rao, A.V. (2007). Wound healing activity of *Matricaria recutita* L. extract. *Journal of Wound Care* . 16(7): 298-302.
- [128] Zhao, Z.G. (2012). Sunscreen emulsion. *Faming Zhuanli Shenqing*. CN 102772327 A 20121114
- [129] Srivastava, J.K., Gupta, S. (2007). Antiproliferative and apoptic effects of chamomile extract in various human cancer calls. *Agricultural and Food Chemistry*. 55(23): 9470-9478.
- [130] Prabakaran, D., Ashokkumar, N. (2012). Antihyperglycemic effect of esculetin modulated carbohydrate metabolic enzymes activities in streptozotocin induced diabetic rats. *Journal of Functional Foods*. 4(4): 776-783.
- [131] Boutaghane, N., Kabouche, A., Touzani, R., Ahmad Maklad, Y., El-Azzouny, A., Bruneau, C., Kabouche, Z. (2010). GC/MS Analysis and Analgesic Effect of the Essential Oil of *Matricaria pubescens* from Algeria. *Natural Product Communications*. 5(0): 1-3.

- [132] Thornfeldt, C., (2005). Cosmeceuticals Containing Herbs: Fact, Fiction, and Future. *The American Society for Dermatologic Surgery*. 31: 873–880.
- [133] Achterrath, T.U., Kunde, R., Flaskamp, E., Isaac, O., Thiemer, K. (1980). Pharmacological Investigations with Compounds of Chamomile. *Planta medica*. 39 (1): 38-50.
- [134] Viola, H., Wasowski, C., Levied, S.M., Wolfman, C., Silveria, R., Dayas, F., Medina, J.H., Paladini, A.C. Apigenin, a Component of *Matricaria recutita* Flowers, is a Central Benzodiazepine Receptors-Ligand with Anxiolytic Effects. (1995). *Planta medica*. 61(3): 216.
- [135] Hamdy Robya, M.H., Sarhana, M.A., Selima, K.A., Khalel, K.B. (2013). Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and extracts of fennel (*Foeniculum vulgare* L.) and chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). *Industrial Crops and Products*. 44 : 437–445
- [136] Szalontai, M., Verzar, P.G., Florian, E. (1997). Contribution to the study of antimycolic effect of biologically active components of *Matricaria chamomilla* L. *Parfumerie und Kosmetik*. 58(5): 121-127.
- [137] Szalontai, M., Verzar, P.G., Florian, E. (1976). Data on the antifungal effect of biologically active components of *Matricaria chamomilla* L. *Acta Pharmaceutica Hungarica*. 46 (5-6): 247.
- [138] Della, I.R., Tubaro, A., Redaelli, C. (1981). Evaluation of the S.N.C. mouse of some plant extracts and their combination. *Rivista Di Neurologia*. 51(5): 310.
- [139] Snuparek, V., Varga, I., Frimm, R., Gattnar, O., Oravec, V., Minezinger, S. (1988). Ethanolic chamomile extract for use in pharmaceuticals and cosmetics. CS 25992 B1 19881015.
- [140] AL-Hindawi, M.K., AL-Deen, I.H., Nabi, M.H., Ismail, M.,A. (1989). Anti-inflammatory activity of some Iraqi plants using intact rats. *Ethnopharmacology*. 26(2): 168.
- [141] Ohtsuka, A., Nunoshiba, T., Nakayama, K., Naminshi, R., Saigusa, S., Yoshimasa, H., Nishioka, H. (1986). Screening of antimutagenic activities of herbal extracts. *Environmental Mutagenesis and Related Subjects*. 164(4): 277-278.
- [142] Asgary, S., Naderi, G.A., Bashardoost, N., Etminan, Z.Z. (2002). Antioxidant effect of the essential oil and extract of *Matricaria chamomilla* L. on isolated rat hepatocytes. *Journal of Medicinal Plants*. 1(1): 69-76.
- [143] Rozbeh, F. (2013). Chemical Constituents and Antioxidant Properties of *Matricaria recutita* and *Chamaemelum nobile* Essential Oil Growing Wild in the South West of Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 16(4): 531-537.
- [144] Pereira, R.P., , Fachinnetto, R., , Prestes, A.D.S., Puntel, R.L., , Santos da Silva, G.N., , Berta, M. (2012). Antioxidant Effects of Different Extracts from *Melissa officinalis*, *Matricaria recutita* and *Cymbopogon citratus*. *Neurochemical Research* . 34(5):973-983.

- [145] subiza, J., Subuza, J.L., Alonso, M., Hinojosa, M., Garcia, R., Jerez, M., Subiza, E. (1990). Allergic conjunctivitis to chamomile tea. *Annals of Allergy*.65:127-132.
- [146] Azuma, S., Yada, Y., Imokawo, G., Shibuya, Y. (1995). Skin-lightening preparation containing *matricaria chamomilla* extracts. JP 07033634 A 19950203.
- [147] Trovato, A., Monforte, M.T., Forestieri, A.M., Pizzimenti, F. (2000). . In vitro anti-mycotic activity of some medicinal plants containing flavonoids. *Bollettino chimico farmaceutico*. 139(5): 227.
- [148] Ramos, M.F.S., Santos, E.P., Bizarre, C.H.B., Mattos, H.A., Padilha, M.R.S. (1996). Preliminary studies towards utilization of various plant extracts as antisolar agents. *International Journal of Cosmetic Science*. 18(3): 101.
- [149] Mulinacci, N., Romani, A., Pinelli, P., Vincieri, F.F., Prucher, D. (2000). Caractérisation of *Matricaria recutita* L. extraits de fleur par HPLC-MS et HPLC-DAD. *Chromatographia*. 51(5/6): 301-307.
- [150] Dweck, A.C. (1998). The German chamomile (*Matricaria recutita*). *International Journal for Applied Science*. 124: 518-519
- [151] kobayashi, Y. (2007). Anti-inflammatory and anti-puritic effect of German chamomile. *Aromatopia*. 83: 10-14.
- [152] Hoffman, D. (1992). The new holistic herbal. *Rockport, MA: Element Books*.
- [153] Poletti, A. (1982). Fleurs et Plantes Médicinales, Ed. Delachaux Nestle. S.A., Neuchâtel Suisse, 116.
- [154] Makhoulfi, A., Moussaoui, A., Lazouni, H.A. (2012). Antibacterial activities of essential oil and crude extracts from *Matricaria pubescens* (Desf.) growing wild in Bechar, South west of Algeria. *Journal of Medicinal Plants Research*. 6(16) : 3124-3128
- [155] Suganda, A.G., Amoros, M., Girre, L., Fauconnier, B. (1983). Inhibitory effects of some crude and semi-purified extracts of indigenous French plants on the multiplication of human herpesvirus 1 and poliovirus 2 in cell culture. *Journal of Natural Products*. 46(5): 626-632.
- [156] Kumar, A., Singh, S.P., Bhakuni, R.S. (2005). Secondary metabolites of *Chrysanthemum* genus and their biological activities. *current science*. 89(9): 1489-1501.
- [157] History of the *Chrysanthemum*. *National Chrysanthemum Society USA*.
- [158] Ancien *Chrysanthemum* poésie de la Chine [consulté le [23/10/2013]. Disponible a partir de : <http://www.guoxue.com/365/index.php?kid=006>
- [159] Remarkable Investment Attraction Result of Tongxiang City. [2002-2003]. *Zhejiang Foreign Trade and Economic Cooperation*.

- [160] Fleurs de chrysanthème. [consulté le 23/10/2013]. Disponible à partir de : <http://landscaping.about.com/od/landscapecolor/p/chrysanthemums.htm>.
- [161] Ayumi, U., Masashi, N., Junichi, K., Tsukasa, I. (2012). Internal and external flavonoids from the leaves of Japanese *Chrysanthemum* species (Asteraceae). *Biochemical Systematics and Ecology*. 41: 142-149.
- [162] Ochocka, R. J., Rajzer, D., Kowalski, P., Lamparczyk, H. (1995). Coumarins from *Chrysanthemum segetum*, Determination of coumarins from *Chrysanthemum segetum* L. by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A*. 709:197-202.
- [163] Harborne, J.B., Baxter, H. (1999). The handbook of natural flavonoids. *Lavoisier librairie*. 1770 p.
- [164] Wang, J.S, Zhou, J., Kong, L.Y. (2012). Three new germacrane-type sesquiterpene stereoisomers from the flowers of *Chrysanthemum indicum*. *Fitoterapia*. 83(8): 1675-1679.
- [165] Toshihiro, A., Scott G.F., Motohiko, U., Hiroki, O., Fangqiu, Z., Ken, Y., Takashi, S., Yumiko, K. (2005). Antitubercular activity of triterpenoids from Asteraceae flowers. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*. 28(1): 158-160.
- [166] Shin, K.H., Kang, S.S., Seo, E.A, Shin, S.W. (1995). Isolation of aldose reductase inhibitors from the flowers of *Chrysanthemum boreale*. *Archives of Pharmacal Research* .18 (2): 65-68.
- [167] Sashida, Y., Nakata, H. (1983). Sesquiterpene lactones from *Pyrethrum* flowers. *Phytochemistry*. 22(5): 1219-1222.
- [168] Valant, V.K.M., Wollenweber, E., Faure, R., Gaydou, E. (2003). : New exudate flavonoids of species from the *Chrysanthemum* complex (Asteraceae-Anthemideae). *Biochemical Systematics and Ecology*. 31: 545-548
- [169] Ibrahim, L.F., El-Senousy, W.M., Hawas, U.W. (2007). NMR spectral analysis of flavonoids from *Chrysanthemum coronarium*. *Chemistry of Natural Compounds*. 43(6): 659-662.
- [170] Miyazawa, M., Hisama, M. (2003). Antimutagenic activity of flavonoids from *Chrysanthemum morifolium*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 67(10): 2091-2099.
- [171] Lingyun, J., Qishi, S., Shunwang, H. (2003). Isolation and identification of flavonoids from *Chrysanthemum morifolium* Ramat. *Zhongguo Yaowu Huaxue Zazhi*. 13(3): 159-161.
- [172] Yuanyuan,X., Dan, Y., Huifang, T., Qilong, W. (2009). Chemical constituents in flowers of *Chrysanthemum morifolium* Ramat. *Zhongguo Yaowu Huaxue Zazhi*. 19(4): 276-279.
- [173] Khalifa, A., Abdallah, O.M., Mesbah, M.K., (1991). sesquiterpene lactones and flavonoids from *Chrysanthemum vulgare* (L) Brenh. *Bull. Bulletin of the Faculty of Pharmacy*. 29(3): 63-66.

- [174] Yufang, P., Wentao, Z., Chuanlian, X. (2010). Evaluation of flavonoids from *Flos Chrysanthemi* on cell proliferation in human cancer cells. *Zhongguo Yaoxue Zazhi (Beijing, China)*. 45(19): 1454-1459.
- [175] Wolbis, M. (1981). Investigation of *Chrysanthemum balsamita*. II. Polyphenolic compounds. *Acta Poloniae Pharmaceutica*. 38(6): 705-710.
- [176] Asen, S., Stewart, R.N., Norris, K.H. (1975). Flavones from peacock and regal anne *Chrysanthemum* flowers. *Phytochemistry*. 14 (5-6): 1443-1444.
- [177] Liu, Q, Wu, D., Wang, L., Liu, J., Wang Ju, T. (2001). *Chrysanthemum* Content Analysis of flavonoids. *Zhongcaoyao*. 32(4): 308-310.
- [178] Arisawa, M., Ishiwari, Y., Nakaoki, T., Sekino, S., Takakuwa, T. (1969). Studies on Unutilized Resources Part 3 Components of Juncus-M Genus Plants Juncaceae-M the Leaves of *Aesculus-Turbinata-D* Hippocastanaceae-D and the Petals of *Crysanthemum-Morifolium-D* Compositae-D. *Shoyakugaku Zasshi*. 23(2): 49-52.
- [179] Liu, Q., Shen, Q., Liu, J., Wu, D., Wang, J. (2001). Gongju chemical constituents. *Zhongguo Zhongyao Zazhi*. 26(8): 547-548.
- [180] Hu, C.Q., Chen, K., Shi, Q. (1994). Anti-aids agents. 101. Acacetin-7-O- β -D-galactopyranoside, an anti-HIV principle from *Chrysanthemum morifolium* and structure-activity correlation with some related flavonoids. *Journal of Natural Products*. 57: 42-51.
- [181] Rao, P.R., Seshadri, T.R., Sharma, P. (1973). Polyphenolic constituents of *Pyrethrum* flowers (*Chrysanthemum cinerariaefolium*). *Current Science*. 42: 811-812.
- [182] Glennie, C.W., Harborne, J. B. (1972). Flavonoids of *Pyrethrum*. *Pyrethrum Post*. 11(3): 82-84.
- [183] Harborne, J.B., Heywoode, V.H., Saleh, N.A.M. (1970). Chemosystematics of the Compositae: Flavonoid patterns in the *Chrysanthemum* complex of the tribe Anthemideae. *Phytochemistry*. 9 (9): 2011-2017.
- [184] Li-ming, Z., Cheng-hui, W., Zhi-qiang, X. (2012). Identification of the flavonoids and phenolic acids in *Dendranthema morifolium* (Ramat) Tzvel. cv. Chuju and their effect on sensory quality of cigarette. *Anhui Nongye Kexue*. 40(23): 11820-11822.
- [185] Khallouki, F., Hmamouchi, M., Younos, C., Soulimani, R., Essassi, E.M. (2000). A new flavonoid from the aerial parts of *Chrysanthemum viscidhirtum*. *Fitoterapia*. 71(4): 413-416.
- [186] Harborne, J.B. (1967). Comparative Biochemistry of the flavonoids. *Academie Press. New York*. p 40.
- [187] Singh, R. P., Agrawal, P., Yim, D., Agarwal, C., Agarwal, R. (2005). Acacetin inhibits cell growth and cell cycle progression, and induces apoptosis in human prostate cancer cells: structure-activity relationship with linarin and linarin acetate. *Carcinogenesis*. 26(4): 845-854.

- [188] Chatterjee, A., Sarkar, S., Saha, S.K. (1981). Acacetin 7-O- β -D-galactopyranoside from *Chrysanthemum indicum*. *Phytochemistry*. 20(7): 1760-1761.
- [189] Wang, H.K., Xia, Y., Yang, Z.Y., Natschke, S.L.M., Lee, K.H. (1998). Recent advances in the discovery and development of flavonoids and their analogues as antitumor and anti-HIV agents. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 439: 191-225
- [190] Plouvier, V. (1966). Flavone heterosides: kaempferol 3-rhamnoglucoside, myricitrin, linarin, and saponarin. *Sciences Naturelles*. 262(12): 1368-1371.
- [191] Hu, B., Jiang, H., Yang, J., Zeng, S. (2004). Determination of luteolin and luteolin-7- β -D-glucoside in *Chrysanthemum morfolium* Ramat. from different collection time by RP-HPLC. *Zhejiang Daxue Xuebao, Yixueban*. 33(1): 29-32.
- [192] He, Y., Li, R., Shen, L. (1982). Isolation and identification of the flavonoids of *Chrysanthemum indicum*L. *Academic Journal of Beijing Medical College*. 14(3): 259-261.
- [193] Sun-Yup, S., Hye-Sook, K., Hyeon-Jin, S., Young-Ju, L., Jeong-Ro, P., Soon-Sil, C., Young-Hwan, S., Dae-Seok, B. (2012). Isolation and identification of flavonoids from Gujeolcho (*Chrysanthemum zawadskii* var. *latilobum*) as inhibitor of histamine release. *Food Science and Biotechnology*. 21(2): 613-617.
- [194] Lee, K. H. (1996). Book of Abstracts, *American Chemical Society*.
- [195] Beninger, C.W, Abou-Zaid, M.M., Kistner, A.L., Hallett, R.H., Iqbal, M.J., Grodzinski, B, Hall, J.C. (2004). A flavanone and two phenolic acids from *Chrysanthemum morifolium* with phytotoxic and insect growth regulating activity. *Journal of Chemical Ecology*. 30(3): 589-606.
- [196] Wilcox, B.H.R. (1984). Flavonoid distribution patterns in *Leucanthemum* and related species from North Africa. *Biochemical Systematics and Ecology*. 12(4): 357-361.
- [197] Shen H.G., Fang, Q., Wang, H., Jin, Y.M. (2010). Determination of quercetin, luteolin, apigenin and acacetin in *Flos Chrysanthemi Indici* by RP-HPLC. *China Journal of Chinese Material Medica*. 2010-02
- [198] Mezache, N., Akkal, S., Laouar, H., Seguin, E. (2009). Flavonoids from *Chrysanthemum myconis* and their antibacterial activity. *Chemistry of Natural Compounds*. 45(5): 715-716
- [199] Gessman, T. A., Steelink, C. (1957). Flavonoid Petal Constituents of *Chrysanthemum segetum* L. *Organic Chemistry*. 22(8): 946-948.
- [200] Anyos, T., Steelink, C. (1960). Fluorescent petal constituents of *Chrysanthemum coronarium* L. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 90: 63-67.
- [201] Harborne, J.B., Heywood, V.H., King, L. (1976). *Biochemical Systematics and Ecology*. 4: 1- 4.
- [202] Jurd, L. (1962). *Chemistry of Flavonoid Compounds*. Pergamon Press, Oxford. p 126.

- [203] Cheng, W., Cheng, X., Zeng, Y., Zhang, W. (2013). One new flavonoid glycoside from *Chrysanthemum morifolium*. *Asian Journal of Chemistry*. 25(4): 2335-2336.
- [204] Ahmed, Kh. M., Khattab, A. M., El-Khrisy, E. A. M., Abdel-Hamid, A. Z. (1999). Constituents and molluscicidal activity of the aerial parts of *Acacia saligna*, *Chrysanthemum coronarium* and *Chrysanthemum parthenium*. *Bulletin of the National Research Centre (Egypt)*. 24(1): 13-25.
- [205] Park, K. H., Yang, M. S., Park, M. K., Kim, S. Ch., Yang, Ch. H., Park, S. J., Lee, J. R. (2009). A new cytotoxic guaianolide from *Chrysanthemum boreale*. *Fitoterapia*. 80: 54-56.
- [206] Yue-Feng, B., Lu, J., She-Po, S., Xiao-Li, S., Yuan-Yuan, C., Yang-Bing, Z. (2010). New Sesquiterpenes from the Flowers of *Chrysanthemum indicum* L.. *Helvetica Chimica Acta*. 93(10): 1953-1959.
- [207] Hyun Jung, S., So Young, L., Ju Sun, K., Sanghyun, L., Ran Joo, C., Ha Sook, C., Yeong Shik, K., Sam Sik, K. (2012). Sesquiterpenes and other constituents from *Dendranthema zawadskii* var. *latilobum*. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*. 60(3): 306-314.
- [208] Park, K.H., Yang, M. S., Park, M.K., Kim, S.C., Yang C.H., Park, S. J., Lee, J.R. (2009). A new cytotoxic guaianolide from *Chrysanthemum boreale*. *Fitoterapia*. 80: 54-56.
- [209] Leilei, L., Rui, W., Junli, Y., Yanping, S. (2012). Five New Sesquiterpenoids from *Chrysanthemum indicum*. *Chinese Journal of Chemistry*. 30(6): 1255-1260.
- [210] Zi-Ming, F., Shuang, S., Peng-Fei, X., Jian-Shuang, J., Pei-Cheng, Z. (2009). Three New Sesquiterpenoids from *Chrysanthemum indicum* L.. *Helvetica Chimica Acta*. 92(9): 1823-1828.
- [211] Doskotch, R.W., El-feraly, F.S., Hufford, C.D. (1971). Sesquiterpene lactones from *Pyrethrum* flowers. *Canadian Journal of Chemistry*. 49: 2103-2110.
- [212] Hu, L., Chen, Z. (1997). Sesquiterpenoid alcohols from *Chrysanthemum morifolium*. *Phytochemistry*. 44: 1287-1290.
- [213] Haruna, M., Kato, M., Ito, K., Toshiaki, N., Sugihara, H., Murata, H. (1981). Angeloylcumambrin-B, An antimicrobial and sesquiterpene lactone from *Chrysanthemum ornatum* var. *spontaneous*. *Phytochemistry*, 20: 2583-2584.
- [214] Mladenova, K., Tsankova, E., Ivanova, B.S. (1985). Sesquiterpene lactones from *Chrysanthemum indicum*. *Planta Medica*. 3: 284-285.
- [215] El-Masry, E., Abou-Donia, A.H.A., Darwish, F.A., Abou-karam, M.A., Grenz, M., Bohlmann, F. (1984). Sesquiterpene lactones from *Chrysanthemum coronarium*. *Phytochemistry*. 23: 2953-2954.
- [216] Yoshikawa, M., Morikawa, T., Toguchida, I., Harima, S., Matsuda, H. (2000). Inhibitors of nitric oxide production and absolute stereostructures of five new germacrane-

type, sesquiterpenes, Kikkanols D, D Monoacetate, E, F and F Monoacetate from the flowers of *Chrysanthemum indicum* L. *Chemical and pharmaceutical bulletin*. 48: 651–656.

[217] Marco, J.A., Sanz, J.F., Jakupovic, J., Huneck, S. (1990). New sesquiterpene lactones and acetylenes from *Chrysanthemum lavandulifolium*. *Tetrahedron*. 46(19): 6931-6938.

[218] Kim, J.S., Im, K.S., Jung, J.H., Kim, Y.L., Kim, J., Shim, C.J., Lee, C.O. (1998). New Bioactive Polyacetylenes from the Marine Sponge *Petrosia* sp. *Tetrahedron*. 54(13): 3151-3158.

[219] Isaacs, S., Kashman, Y., Loya, S., Hizi, A. (1993). Petrosynol and petrosolic acid, two novel natural inhibitors of the reverse transcriptase of human immunodeficiency virus from *Petrosia* sp. *Tetrahedron*. 49(10): 435-438.

[220] Li, H.Y., Matsunaga, S., Fusetani, N. (1994). Corticatic acids A-C, antifungal acetylenic acids from the marine sponge, *Petrosia corticata*. *Journal of Natural Products*. 57(10): 1464-1467

[221] Hallock, Y.F., Cardellina, J.H., Balaschak, M.S., Alexander, M.R., Prather, T.R., Shoemaker, R.H., Boyd, M.R. (1995). Antitumor activity and stereochemistry of acetylenic alcohols from the sponge *Cribrochalina vasculum*. *Journal of Natural Products*. 58(12): 1801-1807.

[222] Christensen, L.P., Brandt, K. (2006). Bioactive polyacetylenes in food plants of the Apiaceae family: occurrence, bioactivity and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 41(3): 683-693.

[223] Wrang, P.A., Lam, J. (1975). Polyacetylenes from *Chrysanthemum leucanthemum*. *Phytochemistry*. 14(4): 1027–1035.

[224] Pellati, F., Calò, S., Benvenuti, S. (2007). High-performance liquid chromatography analysis of polyacetylenes and polyenes in *Echinacea pallida* by using a monolithic reversed-phase silica column. *Chromatography A*. 1149(1): 56-65.

[225] Liu, L.L., Wang, R., Shi, Y.P. (2011). Chrysindins A-D, polyacetylenes from the flowers of *Chrysanthemum indicum*. *Planta Medica*. 77(16): 1806-1810.

[226] Inés, S., Bellido, J.M., Miguel, D.C., Gordaliza, M., Tamame, M., Caballero, E. (1988). Polyacetylenes from *Leucanthemum pallens*. *Phytochemistry*. 27(1): 282–283

[227] Sanz, J.F., Falcó, E., Marco, J.A. (1990). New acetylenes from *Chrysanthemum coronarium* L. *Liebigs Annalen der Chemie*. 1990(3): 303–305.

[228] Rahman, M.A., Cho, S.C., Song, J., Mun, H.T., Moon, S.S. (2007). Dendrazawaynes A and B, antifungal polyacetylenes from *Dendranthema zawadskii* (Asteraceae). *Planta Medica*. 73(10): 1089-1094.

[229] Mladenova, K., Mikhailova, R., Tsutsulova, A., Beremliiski, K., Stoianova-Ivanova, B. (1989). Triterpene alcohols and sterols in *Chrysanthemum indicum* absolute. *Doklady Bolgarskoi Akademii Nauk*. 42(9): 39-41.

- [230] Boutaghane, N., Voutquenne-Nazabadioko, L., Simon, S., Harakat, D., Benlabed, K., Kabouche, Z. (2013). A new triterpenic diester from the aerial parts of *Chrysanthemum macrocarpum*. *Phytochemistry Letters*. 6: 519–525
- [231] Shoji, Y., Yasushi, M., Toshihiro, N. (1990). Studies on the constituents of *chrysanthemi flos*. *Shoyakugaku Zasshi*. 44(4): 335-8.
- [232] Motohiko, U., Toshihiro, A., Harukuni, T., Hiroyukis, S., Hoyoku, N. (2002). Constituents of Compositae plants III. Anti tumor promoting effects and cytotoxic activity against human cancer cell lines of triterpen diols from edible *Chrysanthemum* flowers. *Cancer letters*. 177(1): 7-12.
- [233] Motohiko, U., Toshihiro, A., Ken, Y., Yoshimasa, K., Yumiko, K., Kazuo, K., Tamotsu, N., Michio, T. (2001). Constituents of Compositae plants. 2. Triterpene diols, triols, and their 3-O-fatty acid esters from edible *Chrysanthemum* flower extract and their anti-inflammatory effects. *Agricultural and Food Chemistry*. 49(7): 3187-3197.
- [234] Fujun, G., Guoliang, W., Xiao, Y., Xiaojun, W. (1994). Chemical constituents of the flowers of *Dendranthema indicum* (L.) Des Monl var. aromaticum Q. H. Liu et S. F. Zhang. *Natural Product Research and Development*. 6(3): 32-34.
- [235] Sam Sik, K., Ju Sun, K., Kun Ho, S., Chong Ock, L., Young Hee, K. (1996). Isolation of handelin from *Chrysanthemum boreale*. *Archives of Pharmacal Research*. 19(5): 406-410.
- [236] Wilkomirski, B., Dubielecka, B. (1996). Sterol content as a similarity marker of different organs of two varieties of *Chrysanthemum parthenium*. *Phytochemistry*. 42: 1603-1604.
- [237] Nianyun, Y., Ainong, R., Wanchun, H., Shihui, Q., Jin'ao, D., Lijuan, T. (2005). Chemical constituents of *Dendranthema nankingense*. *Zhongguo Yaoke Daxue Xuebao*. 36(5): 402-404.
- [238] Yaohua, G., Minjian, Q. (2006). Chemical constituents of *Dendranthema morifolium* Ramat. *Zhongcaoyao*. 37(12): 1784-1786.
- [239] Jung-Min, C., Eun-Ok, L., Hyo-Jung, L., Kwan-Hyun, K., Kyoo-Seok, A., Bum-Sang, S., Nam-Il, K., Myoung-Chong, S., Nam-In, B., Sung-Hoon, K. (2007). Identification of campesterol from *Chrysanthemum coronarium* L. and its antiangiogenic activities. *Phytotherapy Research*. 21(10): 954-959.
- [240] Kyung-Dong, L., Tae-Joung, H., Byong-Won, L., Jong-Rok, L., Jun, L., Sun-Woo, H., Dong-Young, C., Sang-Hae, N., Min-Suk, Y. (2003). Isolation and identification of terpenoids from the leaf of *Chrysanthemum coronarium* L. *Han'guk Nonghwa Hakhoechi*. 46(1): 55-59.
- [241] Shahat, A.A., Apers, S., Pieters, L., Vlietinck, A.J. (2001). Isolation and complete NMR assignment of the numbing principle from *Chrysanthemum morifolium*. *Fitoterapia*. 72: 89-91.

- [242] Pukalskas, A., Venskutonis, P.R., Dijkgraaf, I., van Beek, T.A. (2010). Isolation, identification and activity of natural antioxidants from costmary (*Chrysanthemum balsamita*) cultivated in Lithuania. *Food Chemistry*. 122: 804–811.
- [243] Myoung-Chong, S., Dong-Hyun, K., Yoon-Hee, H., Dae-Keun, K., In-Sik, C., Sung-Hoon, K., Mi-Hyun, P., Byoung-Mog, K., Youn-Hyung, L., Nam-In, B. (2003). Search for biologically-active materials from edible plant resources. Part VII. Terpenes from the aerial parts of *Chrysanthemum coronarium* L. *Agricultural Chemistry and Biotechnology*. 46(3): 118-121.
- [244] Wolverton, B.C., McDonald, R. C., Watkins, E. A. Jr. (1984). Foliage plants for removing indoor air pollution from energy-efficient homes. *Economic Botany*. 38(2): 224-228.
- [245] Shawkat, M. S., Khazaal, A. Q., Majeed, M.R. (2011). extraction of pyrethrins from *Chrysanthemum cinerariaefolium* petals and study its activity against beetle flour tribolium castanum. *Iraqi Journal of Science*. 52(4): 456-463.
- [246] Grdiša, M., Carović-Stanko, K., Kolak, I., Šatović, Z. (2009). Morphological and Biochemical Diversity of Dalmatian Pyrethrum (*Tanacetum cinerariifolium* (Trevir.) Sch.Bip.). *Agriculturae Conspectus Scientificus*. 74 (2): 73-80.
- [247] Jiangsu New Medical College. (1993). *Dictionary of Chinese Materia Medical Science and Technology Press*. Shanghai.
- [248] Matsuda, H., Morikawa, T., Toguchida, I., Harima, S., Yoshikawa, M. (2002). Medicinal Flowers VI. Absolute stereostructures of two new flavanone glycosides and a phenylbutanoid glycoside from the flowers of *Chrysanthemum indicum* L.: their inhibitory activities for rat lens aldose reductase. *Chemical and pharmaceutical bulletin*. 50: 972–975.
- [249] Chu, Q., Fu, F., Guan, Y., Ye, J. (2004). Determination and differentiation of *flos Chrysanthemum* based on characteristic electrochemical profiles by capillary electrophoresis with electrochemical detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52: 7828-7833.
- [250] Lai, J. P., Lim, Y. H., Su, J., Shen, H. M., Ong, C. N. (2007). Identification and characterization of major flavonoids and caffeoylquinic acids in three Compositae plants by LC/DAD–APCI/MS. *Journal of Chromatography* . 848: 215-225.
- [251] Editorial Committee of China Pharmacopoeia. (2005). China Pharmacopoeia. Part I (China Chemical Industry Press, Beijing). p. 218.
- [252] Japanese Pharmacopoeia Editorial Committee. (2006). Japanese Pharmacopoeia. 15th ed. (Hirohawa Press, Tokyo). pp. 170–173.
- [253] Jung, E.B., Shin, M.K. (1990). Hyang Yak Dae Sa Jun. Young Lim Sa (3rd ed.), Seoul, Korea.
- [254] Macdonald, H.G. (1997). A dictionary of natural products. Medford. New Jersey: Plexus publishing Inc. p 185
- [255] Lee, Y.N. (1996). Flora of Korea. Kyo-Hak. p 827.

- [256] Kang, S.S., Kim, J.S., Son, K.H., Lee, C.O., Kim, Y.H. (1996). Isolation of handelin from *Chrysanthemum boreale*. *Archives of Pharmacal Research*. 19 (5): 406–410.
- [257] Han, C.S., Kim, W.T., Choi, H.Y., Ham, I., Yang, G., Bang, C. (2010). Compound comprising extracts or fractions of *chrysanthemum boreale* makino having anti-inflammation activity. *patentscope*. KR 2010006651 A 20100270
- [258] Ben Sassi, A., Harzallah-Skhiri, F., Borgi, W., Chouchéne, N., Aouni, M. (2007). Effects of methanol extract of *Chrysanthemum trifurcatum* (Desf.) Batt. and Trab. on duodenal motility of rat. *Comptes rendus Biologies*. 330(3): 226-230.
- [259] Bellakhdar, J., Claisse, R., Fleurentin, J., Younos, C. (1991). Repertory of standard herbal drugs in the Moroccan pharmacopoeia. *Journal of Ethnopharmacology*. 35: 123.
- [260] Do, Y.L., Goya, C., Taesook, Y., Myeong, S.C., Byung, K.C., Hok, K. (2009). Antiinflammatory activity of *Chrysanthemum indicum* extract in acute and chronic cutaneous inflammation. *Journal of Ethnopharmacology*. 123: 149-154.
- [261] Wang, Z.G., Ren, A.N., Xu, L., Sun, X.J., Hua, X.B. (2000). The experimental Study on the immunological and anti-inflammatory activities of *Chrysanthemum indicum*. *Chinese Journal of Traditional Medical Science and Technology*. 2: 92-93.
- [262] Yu, S., Xiaobin, M., Jianxun, L. (2012). Compounds from fraction with cardiovascular activity of *Chrysanthemum indicum*. *Zhongguo Zhongyao Zazhi*. 37(1): 61-65.
- [263] Hui-juan, W., Yang-ming, H., Ke-ting, C., Yun-jun, Y., Li, X., Yun, L. (2012). Chemical composition and antimicrobial mechanism of essential oil from *Dendranthema indicum* var. aromaticum. *Shipin Kexue (Beijing, China)*. 33(17): 35-39.
- [264] Hyoung Ja, K., Jae Yeol, L., Yong Sup, L., Seon Hee, S. (2005). Compound having antioxidant or antiviral activity obtained from *Chrysanthemum indicum* extract. *Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo*. KR 2005001899 A 20050107.
- [265] Hu, C.Q., Chen, H., Chi, Q. (1994). Anti-AIDS Agents, 10. Acacetin-7-O- β -D-galactopyranoside, an Anti-HIV Principle from *Chrysanthemum morifolium* and a Structure-Activity Correlation with Some Related Flavonoids. *Journal of Natural Products*. 57(1): 42-51.
- [266] Hyoung Ja, K., Jae Yeol, L., Yong Sup, L. (2005). Compound having antiviral activity and extract of *Chrysanthemum morifolium* comprising the same which are useful for treatment of diseases caused by hiv or alleviation of symptom of the diseases. *Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo*. KR 2005001900 A 20050107.
- [267] Keyong Ho, L., Won Ho, Y., Choa Hyung, C. (2005). Anti-ulcer effect of apigenin-7-O- β -D-glucuronide isolated from *Chrysanthemum morifolium* ramataelle. *Saengyak Hakhoechi*. 36(3): 171-176.
- [268] Hyoung Ja, K., Yong Sup, L. (2005). Identification of new dicaffeoylquinic acids from *Chrysanthemum morifolium* and their antioxidant activities. *Planta Medica*. 71(9): 871-876

- [269] Urziva, A., Mendoza, L. (2003). Antibacterial activity of fresh flowerheads of *Chrysanthemum coronarium*. *Fitoterapia*. 74: 606-608
- [270] Agelo Poulos, N., Birkett, M.A., Hik, A.J., Kopper, A.M., Pickett, J.A., Pow, E.M. (1999). Exploiting semichemicals in insect control. *Journal of Pesticide Science*. 55: 225-235.
- [271] Alvarex-Castellanos, P.P., Bishop, C.D., Pascaul-Villalobos, M.J. (2001). Antifungal activity of the essential oil of flowerheads of garland *Chrysanthemum* (*C. coronarium*) against agricultural pathogens. *Phytochemistry*. 57: 99–102.
- [272] Chung Hwan, L., Ji Yeong, K., Jeong Sang, K., Jeong Han, Y., Sun Seong, L., Jeong Nam, C. (2010). Mycosinol derivatives for inducing NAD(P)H:quinone oxidoreductase and its application. *Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo*. KR 2010089988 A 20100813.
- [273] Sun Seong, L., Jeong Sang, K., Yeon Sil, L., Jeong Han, Y. (2010). Acetylene compound from *Chrysanthemum zawadskii* and its use for inducing quinone oxidoreductase antioxidation activity and treatment of cancer. *Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo*. KR 2010053301 A 20100520.
- [274] Dae-Sik, J., Ki-Hun, P., Sang-Uk, C., Sang-Hae, N., Min-Suk, Y. (1997). Antibacterial substances of the flower of *Chrysanthemum zawadskii* Herbich var. *latilobum* Kitamura. *Han'guk Nonghwa Hakhoechi*. 40(1): 85-88.
- [275] Kim, Y., Han, J., Sung, J., Sung, M., Choi, Y., Jeong, H.S., Lee, J. (2012). Antiinflammatory activity of *Chrysanthemum zawadskii* var. *latilobum* leaf extract through haem oxygenase-1 induction. *Journal of Functional Food*. 4: 474 – 479.
- [276] Dae Sik, J., Ki Hun, P., Min Suk, Y. (1998). Germacranolides from flowers of *Chrysanthemum boreale* Makino. *Saengyak Hakhoechi*. 29(2): 67-70.
- [277] Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., Defraigne, J.O. (2002). Nutrition et stress antioxydant. Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. 16(4): 233-239
- [278] Finaud, J., Lac, G., Filaire, E. (2006). Oxidative Stress. Relationship with Exercise and Training. *Sports Medicine*. 36 (4): 327-58.
- [279] Mac Laren, D. (2007). Advances in sports and exercise science series. *Nutrition and Sport*.
- [280] Sayre, L.M., Moreira, P.I., Smith, M.A., Perry, G. (2005). Metal ions and oxidative protein modification in neurological disease. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanità*. 41(2): 143-164.
- [281] Goto, M., Ueda, K., Hashimoto, T., Fujiwara, S., Matsuyama, K., Kometani, T., Kanazaw K. (2008). A formation mechanism for 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine mediated by peroxidized 2'-deoxythymidine. *Free Radical Biology and Medicine*. 45: 1318–1325.
- [282] Favier, A. (2003), Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. 108-115.

- [283] Gardès-Albert, M., Abedinzadeh, Z., Jore, D. (2003). *L'actualité chimique*. 269-270.
- [284] Halliwell, B. (1999). How to characterize a biological antioxidant. *Free radical research communications*. 9: 1-32.
- [285] Goudable, J., Favier, A. (1997). Oxidative free radicals and antioxidants. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. 11(2): 115–120
- [286] Moure, A., Cruz, J.M. (2001). Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, 72(2): 145-171.
- [287] Wolinsky, I. (1998). *Nutrition in Exercise and Sport*. 3th edition. New York: CRC Press.
- [288] Shils, M.E., Shike, M., Ross, A.C., Caballero, B., Cousins, R.J. (2006). *Modern Nutrition in Health and Disease. Tenth Edition*. Lippincott Williams & Wilkins.
- [289] Koolman, J., Rohm, K.H. (1999). *Atlas de Poche de Biochimie*. Flammarion:Paris
- [290] Igor Passi, L.B. (2002). Etude des activités biologiques de *Fagara zanthoxylo*_des Lam.(Rutaceae). *Thèse Pharmacie, Bamako*. p 133.
- [291] Budic-letto, T., Lovric, J. (2002). Identification of Phenolic Acids and Changes in their Content during Fermentation and Ageing of White Wines Posip and Rukatac. *Food Technology and Biotechnology*. 40(3): 221-225
- [292] Yu, R., Mandlekar, S., Tony-kong, A.N. (2000). Molecular mechanisms of butylated hydroxyanisole-induced toxicity: induction of apoptosis through direct release of cytochrome C. *Molecular Pharmacology*. 58: 431-437.
- [293] Yaacoub, R. (2009). Impact nutritionnel et sanitaire de la torréfaction des fruits et graines oléagineux. Intérêt de la fluorescence comme outil de contrôle des composés néoformés., *Thèse de doctorat N° 2009AGPT0048*, Institut des sciences et industries du vivant et de l'environnement, Paris.
- [294] Benkiki, N. (2006). Etude phytochimique des plantes médicinales Algériennes : *Ruta montana*, *Matricaria pubescens* et *hypericum perforatum*. Thèse de doctorat. Université de Batna.
- [295] Molyneux, P. (2004). The use of stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 26 (2): 211-219.
- [296] Sanchez-Moreno, C., Larrauri Jose, A., Saura-Calixto, F.(1998) . A Procedure to Measure the Antiradical Efficiency of Polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 76(2): 270-276.
- [297] Blois, M.S. (1958) Antioxidant determinations by the use of stable free radical. *Nature*. 181: 1199-1200.

- [298] Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*. 28: 25-30
- [299] Öztürk, M., Kolak, U., Topcu, G., Oksuz, S., Choudhary, M. I. (2011). Antioxidant and anticholinesterase active constituents from *Micromeria cilicica* by radical-scavenging activity-guided fractionation. *Food Chemistry*. 126: 31–38.
- [300] Rice-Evans, C., Miller, N.J. (1994). Total Antioxidant Status in Plasma and Body Fluids. *Methods in Enzymology*. 234: 279-293.
- [301] Rice-Evans, C., Miller, N.J., Bowell, P.G., Bramley, P.M., Pridham, J.B. (1995). The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical Research*. 22: 375-383.
- [302] Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*. 26 (9/10): 1231-1237.
- [303] Jay, M., Gonnet, J.F. (1974). Les flavonoides de deux Lentibulariacées: *Pinguicula vulgaris* et *Utricularia vulgaris*. *Biochemical Systematics and Ecology*. 2: 47-51.
- [304] Harborne, J.B. (1994). The flavonoids Advances in research since 1986. Éditions Chapman & Hall. Cambridge
- [305] Agrawal, P.K. (1989). Carbon-13 NMR of flavonoids. *Central Institute of Medical and Aromatic Plants, India*. Édition Elsevier, New York.
- [306] Haag-berrurier, M., Duquenois, P. (1962). Extraction and physicochemical characterization of the luteolin in the flowers of the hawkweed *Hieracium pilosella* L. *Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des sciences*. 7(254): 3419-21.
- [307] Rahman, W., Ilyas, M. (1962). Flower Pigments. Flavonoids from *Argemone mexicana* linn. (Papaveraceae). *Journal of Organic Chemistry*. 27(1): 153–155.
- [308] Friedrich, H. (1962). Studies on the isorhamnetin glycosides from the leaves of *Calendula officinalis* L. *Archiv der Pharmazie Berlin*. 295(67): 464-471.
- [309] Sevin, A. (1943). Comparative activity of different polyhydroxy derivatives of flavones on the capillary resistance of the normal and scorbutic guinea pig. *Comptes Rendus*. 216: 505-507.
- [310] Krafczyk, N., Kötke, M., Lehnert, N., Glomb, M. (2008). Phenolic composition of rhubarb. *Journal European Food Research and Technology*. 228 : 187-196.
- [311] Lenherr, A., Lahloub, M.F., Sticher, O. (1984). Three flavonoid glucosides containing acetylated allose from *Stachys recta*. *Phytochemistry*. 23(10): 2343–2345.
- [312] Markham, K.R., Chari, V.M. (1982). Carbon-13 NMR spectroscopy of flavonoids. In: *The Flavonoids: Advances in Research* (Harborne, J.B., Mabry, T.J.). Chapman & Hall, London.

- [313] Toshio, O., Iwao, A., Kanji, I., Koichiro S. (1998). Geranyl isovalerate accumulation in adventitious root culture of *anthemis nobilis*. *Phytochemistry*. 37(5): 860-863.
- [314] Suga, T., Nakai, A., Munesada, K. (1989). Glycinoprenols: novel polyprenols possessing a phytol residue from the leaves of soybean. *Journal of Organic Chemistry*. 54 : 3390-3393.
- [315] Power, F.B., Browning, H. J. (1912). Constituents of *Taraxacum* Root. *Journal of chemical society*. 101: 2411-2429.
- [316] Dain, J., Zhao, C., Zhang, Q., Liu, Z.L., Zheng, R., Yang, L. (2001). Taraxastane-type triterpenoids from *Saussurea petrovii*. *Phytochemistry*. 58: 1107-1111.
- [317] Singh, B., Dubey, M. (2001). Estimation of triterpenoids from *Heliotropium marifolium* Koen ex. Retz. *in vivo* and *in vitro*. I. *Antimicrobial screening*. *Phytotherapy Research*. 15: 231-234.
- [318] Villarreal, M.L., Alvarez, L., Alonso, D., Navarro, V., Garcia, P., Delgado, G. (1994). Cytotoxic and antimicrobial screening of selected terpenoids from Asteraceae species. *Journal of Ethnopharmacology*. 42: 25-9.
- [319] Singh, B., Sahuand, P.M., Sharma, M.K. (2002). Anti-inflammatory and antimicrobial activities of triterpenoids from *Strobilanthes callosus* Nees. *Phytomedicine*. 9: 355-359.
- [320] Admya Chaudhury, N., Ghosh, D. (1970). Taraxasterol and other triterpenoids in *Capparis seplaria* leaves. *Phytochemistry*. 9: 1885.
- [321] Menichini, F., Di Benedetto, R., Delle Monach, F. (1996). A triterpene epoxide and a gualanolide from *Ptilostemmon gnaphaloides*. *Phytochemistry*. 41: 1377-1379.
- [322] Duarte, N., Ramallete, C., Varga, A., Molnar, J., Ferreira, M.J. (2009). Multidrug Resistance Modulation and Apoptosis Induction of Cancer Cells by Terpenic Compounds Isolated from *Euphorbia* Species. *Anticancer Research*. 29: 4467-4472.
- [323] Tasyriq, M., A. Najmuldeen, I., In, L. A., Khalit, M., Awang, K., Hasima, N. (2012). 7 α -Hydroxy- β -Sitosterol from *Chisocheton tomentosus* Induces Apoptosis via Dysregulation of Cellular Bax/Bcl-2 Ratio and Cell Cycle Arrest by Downregulating ERK1/2 Activation. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 12.
- [324] Bohlmann, F., Fanghaenel, L., Kleine, K.M., Kramer, H.D., Moench, H., Schuber, J. (1965). Polyacetylene compounds. New polyynes from the genus *Chrysanthemum*. *Chemische Berichte*. 98(8): 2596-2604.
- [325] Bohlman, F., Rao, N. (1973). Neue hydroxyacetophenone derivat aus *Espeletia schltzii* Wedd. *Chem. Ber*. 106: 3035-3038.
- [326] Xie, W.D., Li, P.L., Jia, Z.J. (2004). A new flavone glycoside and other constituents from *Carduus crispus*. *Pharmazie*. 60: 233-236

- [327] Yinrong, L., Yan, S., Yeap Foo, L., McNabb, W.C., Molan, A.L. (2000). Phenolic glycosides of forage legume *Onobrychis viciifolia*. *Phytochemistry*. 55: 67-75.
- [328] Long-Ze ,Lin., James M, Harnly L. (2010). Identification of the phenolic components of *Chrysanthemum* flower *Chrysanthemum morifolium* Ramat. *Food Chemistry*. 120: 319–326.
- [329] Bennini, B., Chulia, A., Kaouadji, M., Thomasson, F. (1992). Flavonoid glycosides from *Erica cinerea*. *Phytochemistry*. 31: 2483–248.
- [330] Topcu, G., Ay, M., Bilici, A., Sarikurkcu, G., Öztürk, M., Ulubelen, A. (2007). A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food Chemistry*. 103(3): 816–822.
- [331] Tschan, G.M., König, G.M., Wright, A.D., Sticher, O. (1996). Chamaemeloside, a new flavonoid glycoside from *Chamaemelum nobile*. *Phytochemistry*. 41(2): 643-646.
- [332] Omas, F., Oirin, B., Barberan, F.A.T., Lebreton, P. (1985). Hypolaetin 8-glucoside from *Sideritis leucantha*. *Phytochemistry*. 24(7): 1617-1618.

ANNEXE

Annexe

• Appareillages

1. Spectrométrie de masse :

Les spectres ESIMS et HRESIMS ont été enregistrés en mode positif et négatif sur un spectromètre Micromass Q-TOF (MANCHESTER, UK).

2. Spectroscopie de RMN :

Les spectres RMN ont été enregistrés sur les spectromètres Bruker soit DRX 500 ou DRX 600 MHz pour ^1H et 125 ou 150 pour ^{13}C , respectivement. Les solvants deutérés utilisés sont précisés, selon la solubilité des composés. Les données sont traitées à l'aide des microprogrammes BRUKER et le logiciel Topspin 2.1.

3. Spectrophotométrie UV-Visible :

Les spectres UV-visible des composés isolés sont enregistrés dans MeOH sur un spectrophotomètre (NICOLET evolution 100).

4. Flash chromatographie

5. Lecteur de microplaques à 96 puits :

Pour mesurer l'absorption des échantillons testés pour l'évaluation du potentiel anti-radicalaire (SpectraMax 340PC³⁸⁴).

ملخص

خصت أشغالنا الفيتوكيميائية و البيولوجية الأجزاء الهوائية لنبتتين أصليتين من الصحراء تنتمي إلى عائلة Asteraceae هما: *Chrysanthemum deserticum* و *Matricaria pubescens* (Desf.) Sch. Bip. Batt. & Trab. والتي تم قطفهما من غرداية.

لقد مكنتنا مختلف طرق الفصل الكروماتوغرافي من عزل 11 مركب من المستخلص البوتانولي لنبتة *Matricaria pubescens* حيث أن ثلاثة منها جديدة إلى جانب 26 مركب من نبتة *Chrysanthemum deserticum* كما تم التعرف على 17 مركب و منها مركب يعزل لأول مرة من المملكة النباتية.

تم التعرف البنوي للمركبات بواسطة مختلف الطرق المطيافية كالرنين النووي المغناطيسي و تطبيقاته (NMR ¹H, NMR ⁻¹³C, DEPT, COSY, HMQC, HMBC and NOESY), و مطيافية الكتلة و فوق البنفسجي إلى جانب مقارنة النتائج مع معطيات المراجع.

أظهرت مستخلصات البوتانول و خلات الإيثيل وفلافونيدي (luteolin- 7-O-β-D-glucoside و [O-methylisoscutellarein-7-O-[6"-O-acetyl-β-D-glucosyl-(1→ 2)-β-D-glucoside]` 4 الذين تم عزلهما من نبتة *Matricaria pubescens*, فعالية ممتازة ضد الأكسدة و ذلك باستعمال طريقتي DPPH و ABTS.

كلمات مفتاحية: Asteraceae, *Matricaria pubescens*, *Chrysanthemum deserticum*, فعالية مضادة للأكسدة.

Abstract

Our phytochemical and biological works concerned the aerial parts of two endemic Saharian species belonging to Asteraceae family: *Matricaria pubescens* (Desf.) Sch. Bip. and *Chrysanthemum deserticum* Batt. & Trab., collected from Ghardaïa.

Several chromatographic methods were used in our experimental works which allowed us to isolate **eleven** products from the butanolic extract of *Matricaria pubescens* from which **three** are new, and **twenty six** products from *Chrysanthemum deserticum* from which **seventeen** were identified and among which one was isolated for the first time from a natural source.

Structures were determined by different spectral methods: nuclear magnetic resonance with different applications (NMR ¹H, NMR -¹³C, DEPT, COSY, HMQC, HMBC and NOESY), the mass spectrometry, UV, as well as comparison with literature data.

Butanolic and ethyl acetate phases of the two studied species together with two flavonoids (luteolin-7-O-β-D-glucoside and 4'-O-methylisoscutellarein-7-O-[6''-O-acetyl]-β-D-glucosyl-(1→2)-β-D-glucoside]), isolated from *Matricaria pubescens*, showed an excellent antioxidant activity, by the use of DPPH and ABTS methods.

Keywords: Asteraceae, *Matricaria pubescens*, *Chrysanthemum deserticum*, antioxidant activity.

Résumé

Nos travaux phytochimiques et biologiques concernent les parties aériennes de deux espèces endémiques sahariennes appartenant à la famille des Asteraceae : *Matricaria pubescens* (Desf.) Sch. Bip. et *Chrysanthemum deserticum* Batt. & Trab. qui ont été récoltés de la région de Ghardaïa.

Les différentes méthodes chromatographiques de séparation utilisées dans notre expérimentation, ont permis l'isolement de **onze** composés de l'extrait butanolique de *Matricaria pubescens* dont **trois** nouveaux, et **vingt six** composés de *Chrysanthemum deserticum* dont **dix sept** identifiés, **un** entre eux isolé pour la première fois par voie naturelle.

La détermination des structures a été réalisée par les différentes méthodes d'analyse spectroscopiques : résonance magnétique nucléaire et ses différentes applications (RMN-¹H, RMN-¹³C, DEPT, COSY, HMQC, HMBC et NOESY), la spectrométrie de masse, l'ultra violet, ainsi que par la comparaison des résultats avec les données de la littérature.

Les phases butanoliques et d'acétate d'éthyle des deux espèces étudiées, en plus des deux flavonoïdes (luteoline 7-*O*-β-D -glucoside et 4'-*O*-methylisoscutellareine-7-*O*-[6'''-*O*-acétyl-β-D-glucosyl-(1→2)-β-D-glucoside]) isolés de *Matricaria pubescens*, ont manifesté une excellente activité antioxydante, par les méthodes du DPPH et de l'ABTS.

Mots clés : Asteraceae, *Matricaria pubescens*, *Chrysanthemum deserticum*, activité antioxydante.

ARTICLE

COMPONENTS OF *Matricaria pubescens* FROM ALGERIAN SEPTENTRIONAL SAHARA

O. Gherboudj,¹ N. Benkiki,¹ E. Seguin,²
F. Tillequin,³ and Z. Kabouche^{1*}

UDC 547.972

The air-dried aerial parts (1200 g) of *Matricaria pubescens* (Desf.) Schultz, collected during flowering (April 2008) at Ghardaia (Algerian Septentrional Sahara), were macerated at room temperature in a methanol solution (70%). The extract was concentrated under low pressure, diluted and filtered to remove chlorophyll, then successively extracted with petroleum ether, dichloromethane, ethyl acetate, and *n*-butanol.

The butanolic extract (10 g) was column chromatographed on polyamid SC6, eluted with toluene–methanol with increasing polarity. Whatman 3MM paper chromatography using 15% AcOH and BAW (*n*-BuOH–AcOH–H₂O, 4:1:5; upper phase) and TLC on polyamid DC6, eluted with H₂O–MeOH–methyl ethyl ketone–acetylacetone (13:3:3:1) followed by column flash chromatography over Sephadex LH-20 in MeOH, led to four pure flavonoids (1–6).

The dichloromethane extract (8 g) was column chromatographed on silica gel (35–70 μm), eluted with petroleum ether–ethyl acetate with increasing polarity and then with methanol.

The major fraction was chromatographed on a silica gel column (20–45 mm), eluted with cyclohexane–ethyl acetate with increasing polarity. Further, TLC using silica gel plates, eluted with cyclohexane–ethyl acetate, led to compounds 7–9.

All compounds were identified by ¹H NMR, ¹³C NMR, EI-MS, and UV analytical methods and acid hydrolysis.

Acid Hydrolysis. Compounds 4–6 were treated with 2M HCl at 100°C for 1 h. The hydrolysates were extracted with EtOAc, and the aglycones were identified by their UV spectra in methanol and by comparison of their *R_f* with authentic samples. Sugars were identified in the aqueous residue by comparison with authentic samples on silica gel TLC plates impregnated with 0.2 M NaH₂PO₄, solvent Me₂CO–H₂O (9:1), and revealed with aniline malonate.

Compound 1, C₁₅H₁₀O₅, mp 345°C, identified as apigenin [1].

Compound 2, C₁₅H₁₀O₆, mp 330°C, identified as luteolin [2].

Compound 3, C₁₅H₁₀O₇, yellow needles (acetone), mp >300°C, identified as quercetin [3].

Compound 4, C₂₁H₂₀O₁₀, mp 220–222°C, identified as apigenin 7-*O*-glucoside [4].

Compound 5, C₂₁H₂₀O₁₁, mp 239–242°C, identified as luteolin 7-*O*-glucoside [5].

Compound 6, mp 218–212°C, identified as quercetin 3-*O*-glucoside [6].

Compound 7, C₁₀H₈O₃, mp 115–117°C (diethyl ether). UV spectrum (MeOH, λ_{max}, nm, log ε): 203.4 (1.332), 204 (1.903), 214 (1.191), 322 (1.162). IR (KBr, ν_{max}, cm⁻¹): 1707 (CO), 2840 (OCH₃), 1613 (aromatic ring). PMR (500 MHz, CDCl₃, δ, ppm, J/Hz): 7.65 (1H, d, J = 10, H-4), 7.35 (1H, d, J = 10, H-5), 6.85 (1H, d, J = 2, H-6), 6.75 (1H, dd, J = 8 and 2, H-8), 6.25 (1H, d, J = 10, H-3), 3.85 (3H, s, OCH₃). ¹³C NMR (500 MHz, CDCl₃, δ, ppm): 161.1 (C-2), 113.1 (C-3), 143.4 (C-4), 128.7 (C-5), 112.6 (C-6), 162.8 (C-7), 100.9 (C-8), 155.9 (C-9), 11.5 (C-10), 55.7 (OCH₃). Mass spectrum (DiC, NH₃), *m/z* 177 [M – H]⁺. Characterized as herniarin [7].

1) Laboratoire d'Obtention de Substances Therapeutiques (L.O.S.T), Faculte des Sciences, Universite Mentouri-Constantine, Campus Chaabat Ersas, 25000, Constantine, Algerie, fax: 213 31 81 88 59, e-mail: zkabouche@yahoo.com; 2) Equipe Pharmacomodulation d'Antitumoraux d'Origine Naturelle et Synthetique, Laboratoire de Pharmacognosie, Faculte de Pharmacie, 22, Boulevard Gambetta, F-76183 Rouen Cedex 1, France; 3) Laboratoire de Pharmacognosie de l'Universite Rene Descartes, U.M.R./C.N.R.S. N 8638, Faculte des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, 4 Avenue de l'Observatoire, F-75006 Paris, France. Published in *Khimiya Prirodnykh Soedinenii*, No. 3, May–June, 2012, pp. 423–424. Original article submitted July 14, 2010.

Compound 8, C₁₀H₁₀O₃, mp 115–117°C (diethyl ether). UV spectrum (MeOH, λ_{max}, nm, log ε): 204.4 (1.189), 279.7 (0.107). IR (KBr, ν_{max}, cm⁻¹): 1752 (CO), 2850 (OCH₃), 1652 (aromatic ring). PMR (500 MHz, CDCl₃, δ, ppm, J/Hz), 7.06 (1H, d, J = 8, H-5), 6.66 (2H, dd, J = 8 and 2, H-6), 6.02 (1H, d, J = 2, H-8), 4.28 (2H, dd, J = 14 and 6, H-4), 4.18 (2H, dd, J = 14 and 6, H-3), 3.75 (3H, s, OCH₃). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃, δ, ppm): 146.1 (C-2), 40.3 (C-3), 36.9 (C-4), 151.4 (C-5), 111.6 (C-6), 160.5 (C-7), 120.2 (C-8), 129.4 (C-9), 108.8 (C-10), 55.4 (OCH₃). Mass spectrum (DiC, NH₃), *m/z* 179 [M – H]⁺. Characterized as 3,4-dehydroherniarin [7].

Compound 9, C₁₄H₁₉NOS, mp 104–106°C. PMR (500 MHz, CDCl₃, δ, ppm, J/Hz): 7.25 (1H, dd, J = 15 and 8, H-3), 7.17 (1H, d, J = 5, H-5' thienyl), 6.95 (1H, dd, J = 5 and 3.5, H-4' thienyl), 6.81 (1H, d, J = 3.5, H-3' thienyl), 6.22 (2H, m, H-4 and H-5), 5.82 (1H, d, J = 15, H-2), 5.61 (3H, t, J = 6.5, NH), 3.69 (2H, d, J = 5, CH₂), 3.18 (2H, dd, J = 7 and 6.5, NHCH₂CH), 1.81 (1H, nonat, J = 7, CHMe₂), 0.93 (6H, d, J = 6.5, 2CH₃). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃, δ, ppm): 166.2 (C-1), 141.6 (C-2' thienyl), 140.2 (C-3), 139.1 (C-5), 129.6 (C-4), 127.0 (C-4' thienyl), 125.0 (C-3' thienyl), 124.0 (C-5' thienyl), 123.5 (C-2), 47.0 (N-CH₂), 33.1 (C-6), 29.6 (C-isobutyl), 20.1 (2Me). Mass spectrum (DiC/NH₃), *m/z* 250 [M – H]⁺ and 177, 149 corresponding to the loss of NHCH₂Me₂ then CO, respectively. Characterized as (2*E*,4*E*)-6-(2-thienyl)-2,4-hexadiene-isobutylamide [8].

ACKNOWLEDGMENT

The authors thank the (DG/RSdT, MESRS), Algeria for financial support.

REFERENCES

1. N. H. El-Sayed, T. M. El-Kubesy, and T. J. Mabry, *Phytochemistry*, **22**, 762 (1994).
2. R. K. Crowden, J. B. Harborne, and V. H. Heywood, *Phytochemistry*, **8**, 1963 (1963).
3. E. S. Nedel'ko and G. K. Nikonov, *Chem. Nat. Comp.*, **23**, 254 (1987).
4. T. Wada and T. Hahori, *Nat. Res.*, **32**, 67 (1953).
5. N. A. M. Saleh, S. I. El-Nougoumy, M. N. El-Hadid, and A. H. Hosni, *Phytochemistry*, **22**, 1417 (1983).
6. A. I. Syrchina, V. G. Gorokhova, N. A. Tyukavkina, V. A. Babkin, and M. G. Voronkov, *Chem. Nat. Comp.*, **16**, 245 (1980).
7. A. De Pasquale and R. Silvestri, *Atti- Conr. Naz. Olu Essenz. Suiderr. Agrum*, **6–7**, 136 (1975).
8. H. Greger and O. Hofer, *Phytochemistry*, **23**, 1174 (1984).