

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université MENTOURI de Constantine

N° d'ordre :.....
Série :.....

THESE

Présentée à la faculté des Sciences exactes
Département de Chimie

Pour l'Obtention du Diplôme de

DOCTORAT en SCIENCES

En Chimie Organique

Option : Phytochimie

Par

Mme : *Bouderdara Nabila*

THEME

**Séparation et détermination de structures des métabolites
secondaires de *Cachrys libanotis* L.**

- 21 Avril 2013 -

Devant le jury

Salah Akkal	Prof. U. Mentouri de Constantine	Président
Kamel Medjroubi	Prof. U. Mentouri de Constantine	Rapporteur
Elisabeth Seguin	Prof. U. de Rouen	Co-Encadreur
Ahcène Bouchemma	Prof. U. Oum el Bouaghi	Examineur
Hocine Dendougui	Prof. U. Ouargla	Examineur

Remerciements

*J'ai eu la chance et le plaisir d'effectuer ce travail de recherche entre le laboratoire de phytochimie et analyse physico-chimiques et biologique de l'Université Mentouri de Constantine, sous la direction de Monsieur **Kamel Medjroubi**, Professeur à la faculté des Sciences Exactes faculté de l'Université Mentourie de Constantine, et Madame **Elisabeth Seguin**, Professeur à la faculté de Médecine et de Pharmacie de l'Université de Rouen.*

*Je tiens à exprimer ma reconnaissance à Monsieur le Professeur **Kamel Medjroubi**, mon directeur de thèse, pour la confiance qu'il m'a accordée en m'accueillant au sein de son équipe ; d'une part pour mener à bien le sujet de recherche qu'il m'a confié, mais également pour ses compétences scientifiques. Sa disponibilité et son soutien m'ont été d'une grande aide pour l'aboutissement de ce travail.*

*Je tiens à remercier plus particulièrement Madame le Professeur **Elisabeth Seguin** de m'avoir chaleureusement accueillie au sein de son laboratoire durant des mois de stage de recherche, pour sa disponibilité et ses précieux conseils. J'ai apprécié son dynamisme et son enthousiasme communicatifs, l'attention et l'intérêt qu'elle a porté à mon travail, ainsi que sa gentillesse et ses encouragements dont elle a fait preuve à mon égard.*

*Mes remerciement vont également à Monsieur le Professeur **Salah Akkal**, de l'Université Mentouri de Constantine, pour le grand honneur qu'il me fait en président le jury de thèse.*

*Je remercie également Monsieur le Professeur **Hocine Dendougui**, de l'université de Ouargla et Monsieur le Professeur **Ahcène Bouchemma**, de l'Université d'Oum el Bouaghi, pour avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse.*

*Ce travail aurait été incomplet sans l'implication de Monsieur le Professeur **Philippe Verite** dans la réalisation de cette thèse. Qu'il accepte ici l'expression de ma profonde gratitude.*

*Ma reconnaissance va également à Monsieur **Abdelhakim El Omri**, Maître de conférences à la faculté de médecine et de pharmacie de Rouen, qui m'a constamment guidé durant les mois de stage.*

*Toute ma gratitude vas à Mademoiselle **Marie-Laure Groult**, Maître de conférence à la faculté de Médecine et de pharmacie de Rouen qui a toujours été disponible pour m'apporter aide et conseil avisés surtout en Botanique. Quelle soit assurée de ma sincère reconnaissance.*

*Mes remerciements s'adressent également à tout les chercheures du Laboratoire de Chimie pharmaceutique de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de l'Université de Rouen : **Hilarion Matouet, Ruben Francis** et **Joseph Privat**, ainsi que les chercheurs du laboratoire de phytochimie et analyse physico-chimiques et biologique de l'Université Mentouri de Constantine : **Djarri Lakhdar** et **Zaabat Nabila** pour leurs aide et encouragement.*

*J'adresse enfin ma reconnaissance, à tous ceux qui ont de près ou de loin, contribué à l'élaboration de cette thèse. Je citerai en particulier ma fille **Maroua Iness** pour son aide en informatique, ainsi que le personnel du laboratoire de Chimie pharmaceutique UMR CNRS 6014 de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de l'Université de Rouen : **Nadia Languette** et **Antonie**.*

ABREVIATIONS

^{13}C	Spectre de carbone 13
^1H	Spectre du proton
AcOEt	Acétate d'éthyle
C_6H_{12}	Cyclohexane
CCM	Chromatographie sur couche mince
CDCl_3	Chloroforme deutéré
COSY	Correlation Spectroscopy
CPG	Chromatographie phase gazeuse
d	Doublet
dd	Doublet de doublets
DEPT	Distorsionless Enhancement by Polarization Transfer
DMAP	Dimethylallyl pyrophosphate
DMSO	Diméthylsulfoxyde
<i>Et al.</i>	et autres auteurs
EtOH	Ethanol
FID	Ionisation de flamme
FPP	Farnesil pyrophosphate
GGPP	Geranylgeranyl pyrophosphate
Glu	Glucose
GPP	Geranyl pyrophosphate
HE	Huile essentielle
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Correlation
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Correlation
IC	Ionisation chimique
IE	Impact électronique
I_R	Indice de rétention
$J(\text{Hz})$	Constante de couplage exprimée en Hertz
m	Multiplet
m/z	Masse/charge
MeOH	Méthanol
NOESY	Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy
NPP	Neryl pyrophosphate
PM	Poids moléculaire
q	Quadruplet
R _f	Rapport frontal
Rha	Rhamnose
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
ROESY	Rotating Overhauser Effect Spectroscopy
s	Singulet
SM	Spectrométrie de masse
t	Triplet
TMS	Triméthylsilane
tr	Temps de rétention
uma	Unité de masse atomique
UV	Ultraviolet
$\delta(\text{ppm})$	Déplacement chimique exprimé en ppm
λ_{max}	Longueur d'onde maximale d'absorbance

Sommaire

Introduction	1
Référence	5
Chapitre I : Rappels botaniques et chimiques de la famille des Apiacées et du genre <i>Cachrys</i>	
I-1 La famille des Apiacées	
I-1-1 Les Apiacées dans la systématique.....	7
I-1-2 Répartition géographique.....	8
I-1-3 Caractères botaniques généraux de la famille.....	9
I-1-4 Composition chimique.....	10
I-1-4-1 Les huiles essentielles.....	10
I-1-4-2 Les coumarines.....	17
I-1-5 propriétés thérapeutiques et pharmacologiques.....	26
I-2 Présentation du genre <i>Cachrys</i>	27
I-2-1 Nomenclature.....	27
I-2-2 Caractéristiques botaniques.....	28
I-2-3 Distribution.....	28
I-2-4 Propriétés biologiques et pharmacologiques du genre <i>Cachrys</i>	28
I-2-4-1 Utilisations traditionnelles.....	28
I-2-4-2 Activités biologiques.....	29
I-2-4-2-1 Activité anti-inflammatoire.....	29
I-2-4-2-2 Activité de photoprotection.....	30
I-2-5 Travaux phytochimiques antérieurs.....	31
I-2-5-1 Les Coumarines.....	31
I-2-5-2 Les huiles essentielles.....	33
I-2-5-3 Divers.....	36
I-3 L'espèce <i>Cachrys libanotis</i> L.	39
I-3-1 Nomenclature et synonymies.....	39
I-3-2 Place systématique.....	41
I-3-3 Description botanique.....	42
I-3-4 Distribution.....	42
I-3-5 Phototoxicité de <i>Cachrys libanotis</i> L.	43
Références.....	46
Chapitre II : Chimie et biologie des coumarines et des huiles essentielles	
II-A Les coumarines.....	61
II-A-1 Définition.....	61
II-A-2 Origines.....	64
II-A-3 Les coumarines dans le règne végétal.....	65
II-A-4 Diversité structurale.....	65
II-A-5 Structures chimiques.....	66
II-A-5-1 Les coumarines simples.....	66
II-A-5-2 Les coumarines complexes.....	68
II-A-5-2-1 Les furocoumarines.....	68
II-A-5-3 Les pyranocoumarines.....	70
II-A-5-3-1 Les pyranocoumarines simples.....	70
II-A-5-3-2 Les dipyrancoumarines.....	71
II-A-5-4 Coumarines à l'état dimérique ou trimériques.....	73

II-A-5-5 Les coumarines substituées sur le cycle pyrone.....	74
II-A-6 Nomenclature.....	74
II-A-7 Voies de biosynthèse.....	74
II-A-7-1 Voie générale de biosynthèse des phénylpropanoïdes.....	74
II-A-7-2 Voie de biosynthèse des coumarines simples.....	78
II-A-7-3 Voie de biosynthèse des furocoumarines.....	79
II-A-8 Activités biologiques.....	81
II-A-9 Propriétés physico-chimiques.....	82
II-A-9-1 Caractères physiques.....	82
II-A-9-2 Solubilité.....	82
II-A-9-3 Détection.....	83
II-A-9-4 Isolement.....	83
II-A-9-5 Caractérisation.....	83
II-A-9-6 Fluorescence sous la lumière UV	84
II-A-10 Analyse structurales.....	84
II-B Les huiles essentielles.....	86
II-B-1 Définition.....	86
II-B-2 Propriétés physico-chimiques.....	86
II-B-3 Localisation et structure histologique des huiles essentielles.....	86
II-B-4 Rôle écologique.....	87
II-B-5 Les méthodes d'extraction.....	87
II-B-5-1 L'hydrodistillation.....	87
II-B-5-2 L'hydrodistillation assistée par micro-ondes.....	88
II-B-5-3 L'hydrodistillation assistée par ultrasons.....	88
II-B-5-4 Entraînement à la vapeur d'eau.....	88
II-B-5-5 Hydrodiffusion.....	89
II-B-5-6 L' «expression» par solvant volatil.....	89
II-B-5-7L' «expression» mécanique.....	89
II-B-5-8 L'enfleurage.....	90
II-B-5-9 L'extraction au CO ₂ supercritique.....	90
II-B-5-10 Turbodistillation.....	91
II-B-6 Composition chimique des huiles essentielles.....	91
II-B-6-1Principales structures chimiques terpéniques.....	91
II-B-6-1-1 Les monoterpènes.....	91
II-B-6-1-2Les sesquiterpènes.....	93
II-B-6-1-3Les diterpènes.....	93
II-B-7La biosynthèse des terpénoïdes dans le règne végétal.....	93
II-B-8 Activités biologiques.....	98
II-B-8-1 Propriétés anti-infectieuse.....	98
II-B-8-2 Propriétés anti-inflammatoires.....	99
II-B-8-3 Propriétés à visée neurotrope.....	99
II-B-8-4 Propriétés digestives.....	100
II-B-9 Analyses chimiques.....	100
II-B-9-1 La Chromatographie en phase gazeuse (CPG).....	100
II-B-9-2 Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse (CPG/SM).....	101
II-B-9-3Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à un Détecteur à Ionisation de Flamme (GC/FID).....	103
II-B-10 Etablissement de structure des produits isolés.....	103
Références.....	105

Chapitre III : Travaux personnelles

III-1 Récolte et identification botanique.....	119
III-2 Etude de l'huile essentielle de <i>Cachrys libanotis</i> L.	119
III-2-1 Extraction de l'huile essentielle.....	119
III-2-2 Analyse des huiles essentielles.....	119
III-2-2-1 Chromatographie en phase gazeuse avec détecteur à ionisation de flamme.....	119
III-2-2-2 Chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse.....	120
III-2-2-3 Identification des composés.....	120
III-2-3 Résultats et discussions.....	120
III-2-4 Conclusion.....	125
III-3 Etude des métabolites secondaires de <i>Cachrys libanotis</i> L.	126
III-3-1 Extraction par gradient de solvant.....	126
III-3-2 Etude phytochimique de l'extrait méthanolique.....	128
III-3-3-Fractionnement de la phase C.....	129
III-3-4 Etude des différents lots.....	131
III-3-5 Détermination de structures des composés isolés.....	135
III-3-5-1 Détermination de structure du composé H253.....	135
III-3-5-2 Détermination de structure du composé H255.....	141
III-3-5-3 Détermination de structure du composé H285.....	144
III-3-5-4 Détermination de structure du composé H284.....	150
III-3-5-5 Détermination de structure du composé H274.....	156
III-3-5-6 Détermination de structure du composé H279.....	163
III-3-5-7 Détermination de structure du composé H275.....	168
III-3-5-8 Détermination de structure du composé H288.....	173
III-3-5-9 Détermination de structure du composé H278.....	177
III-3-5-10 Détermination de structure du composé H277.....	185
III-3-5-11 Détermination de structure du composé H290.....	191
Références.....	199
Conclusion générale.....	203
Partie expérimentale.....	207

Introduction générale

Introduction générale

Depuis l'antiquité, les produits naturels, notamment ceux d'origine végétale ont toujours été une source importante d'agents thérapeutiques. Actuellement, environ 25-30% de tous les médicaments disponibles pour le traitement des maladies sont dérivés des produits naturels (des plantes, des animaux, des bactéries et des champignons) ou sont des dérivés de produits naturels. En dépit de cela, dans les dernières décennies, principalement en raison de l'avancée de la chimie de synthèse, la recherche sur les produits naturels dans l'industrie pharmaceutique a connu un lent déclin. Toutefois, des données récentes de l'industrie pharmaceutique montrent que, pour certaines maladies complexes, les produits naturels représentent toujours une source extrêmement précieuse pour la production de nouvelles entités chimiques, car ils représentent des structures privilégiées choisies par les mécanismes d'évolution sur une période de millions d'années [1-4].

L'Algérie, de part sa situation géographique et climatique, possède une flore particulièrement riche et diversifiée depuis longtemps exploitée par la médecine traditionnelle de ses habitants. Cette flore comprend environ 4000 taxons répartis en 131 familles et 917 genres. Le nombre d'endémiques nationales est de 464 (387 espèces, 53 sous espèces et 24 variétés) [5]. Par ailleurs, on ne peut que se réjouir du fait que l'Algérie est un bon exemple de pays en développement qui a pris conscience de la richesse et de l'importance de sa médecine traditionnelle puisque tout en s'efforçant de moderniser son système de santé sur le modèle occidental, elle rend prioritaire l'étude des plantes médicinales par les laboratoires de recherche universitaires, dans le but de rationaliser leurs utilisations encore très répandues dans ce pays .

C'est sur la base de ce constat que repose cette étude qui est le fruit d'une collaboration entre le laboratoire de phytochimie et analyses physico-chimiques et biologiques de l'université Mentouri de Constantine et l'UFR de médecine et de pharmacie de Rouen. Ces deux laboratoires, depuis une dizaine d'années, développent des travaux en collaboration sur des familles de plantes sélectionnées, pour contribuer à la valorisation de la flore algérienne, qui n'a pas encore livré tous ses secrets dans les domaines de la phytothérapie et de la chimiothérapie.

L'exploration des plantes médicinales en Algérie, actuellement menée au sein de notre laboratoire, est consacrée exclusivement à la famille des Apiacées largement utilisée, d'une part, à des fins alimentaires et d'autre part, en médecine traditionnelle pour soigner certaines pathologies.

Les recherches poursuivies dans les deux laboratoires, dédiées à la découverte de nouveaux composés actifs, ont montré que les espèces de la famille des Apiacées étaient une source de métabolites secondaires particulièrement variés [6,7] dont certains représentants sont de structure originale. C'est par exemple le cas du carunoside, une furocoumarine, isolée de *Carum montanum*, décrite pour la première fois [8].

Au-delà de cet objectif principal, visant la recherche de nouvelles structures à potentialités biologiques, notre laboratoire oriente une partie de ses activités vers l'étude de nouvelles huiles essentielles.

En effet, les huiles essentielles représentent aujourd'hui une importante part de marché dans l'univers des cosmétiques, de la santé et du bien-être. Les cosmétiques après avoir privilégié la piste des molécules de synthèse, moins coûteuses à produire, ont tendance aujourd'hui à se retourner vers les molécules naturelles d'où l'intérêt des laboratoires pour les huiles essentielles totalement naturelles. Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de composés naturels qui peuvent être rencontrés dans une large variété de plantes. Dans notre laboratoire, le choix des espèces végétales est fonction de leur abondance dans la nature et de leurs qualités odoriférantes. De nombreuses études ont été publiées sur la composition d'huiles essentielles obtenues à partir de différents organes des plantes et provenant de sites de récolte variés [9,10].

Pour notre part, conformément à l'axe de recherche principal de notre laboratoire (laboratoire de phytochimie et analyses physico-chimiques et biologiques de l'université Mentourie Constantine), la plante retenue dans le cadre du présent travail de recherche est *Cachrys libanotis* L., espèce appartenant à la famille des Apiacées.

Objectifs

A ce jour, à notre connaissance, les résultats des recherches bibliographiques sur d'éventuels travaux précédemment effectués sur cette espèce, ont montré que l'huile essentielle de *Cachrys libanotis* L. n'a pas fait l'objet d'investigations sur le plan chimique et biologique. En revanche, les travaux de Pinar *et al.* [11] ont porté sur les coumarines que contient cette plante. On peut donc souligner le caractère innovant de cette recherche, couplant une étude sur la composition chimique de l'huile essentielle de cette espèce et une étude phytochimique relatives aux métabolites secondaires isolés de *Cachrys libanotis* récoltée en Algérie. Il serait judicieux de procéder à une étude comparative entre les deux variétés et voir l'influence de l'environnement et l'effet des variations géographiques sur la biogenèse.

Nos travaux seront présentés comme suit :

- Un premier chapitre, essentiellement bibliographique, est consacré à une présentation botanique de la famille des Apiacées, du genre *Cachrys*, ainsi qu'aux travaux phytochimiques antérieurs relatifs aux métabolites secondaires les plus couramment isolés de la famille et du genre. Ce chapitre rapporte également les activités biologiques de la plus part de ces composés.
- Un deuxième chapitre présente des généralités sur les coumarines et les huiles essentielles, la classification, les structures, les sources naturelles, la biosynthèse, les méthodes d'extractions et d'analyses et les utilisations thérapeutiques.
- Un troisième chapitre, expérimental, consiste en la présentation de nos travaux avec les protocoles d'isolement et de purification et la discussion des résultats obtenus.
- Enfin, nous présenterons une conclusion générale.

Références

- 1: Boldi, A.M., *Current Opinion in Chemical Biology*, Libraries from natural product-like scaffolds, **8**, 2004, 281.
- 2: Clardy, J. and Walsh, C., *Nature*, Lesson from natural molecules, **432**, 2004, 729.
- 3: Koehn, F. E. and Carter, G. T., *Nature Review Drug Discovery*, The evolving role of natural products in drug discovery, **4**, 2005, 206.
- 4: Newman D. J., Cragg, G. M., *Journal of Natural Products*, Natural products as sources of new drugs over the period 1981 to 2010, **75**, 2012, 311.
- 5: Radford, E. A., Catullo, G. and De Montmollin, B., *Zones importantes pour les plantes en Méditerranée méridionale et orientale*, VICN, Planta life, Gland, Suisse et Malaga, Espagne, 2011.
- 6: Bousetla, A., Akkal, S., Medjroubi, K., Louaar, S., Azouzi, S., Djarri, L., Zaabat, N., Laouer, H., Chosson, E. and Seguin, E., *Chemistry of Natural Compounds*, Flavonoid glycosides from *Ammoides pussila*, **41** (1), 2005, 547.
- 7: Benahmed, M., Akkal, S., Elomri, A., Laouer, H., Vérite, P. and Seguin, E., *Chemistry of Natural Compounds*, Secondary constituents from *Carum montanum*, **44** (4), 510.
- 8: Benahmed, M., Akkal, S., Laouer, S., Laouer, H. and Duddeck, H., *Biochemical systematics and ecology*, A new furanocoumarin glycoside from *Carum montanum* (Apiaceae), **34**, 2006, 645.
- 9: Djarri, L., Medjroubi, K., Akkal, S., Elomri, A., Seguin, E. and Vérité, P., *Flavour and fragrance journal*, Composition of the essential of aerial parts of an endemic species of the Apiacea of Algeria, *Daucus reboudii* Coss, **21**, 2006, 647.
- 10: Djarri, L., Medjroubi, K., Akkal, S., Elomri, A., Seguin, E., Groult, M-L. and Vérité, P., *Molecules*, Variability of two Essential oils of *Kundmannia sicula* (L.) DC., A traditional Algerian Medicinal plant, **13**, 2008, 812.
- 11: Pinar, M., *Anales de Quimica*, Coumarins of *Magydaris panacifolia*, *Cachrys sicula* and *Lafuentea rotundifolia*, **73**, 1977, 599.

Chapitre I :

Rappels botaniques et chimiques de la
famille des Apiacées et du genre
Cachrys

I-1 La famille des Apiacées

I -1-1 Les Apiacées dans la systématique

Cette vaste famille a été créée par Antoine Laurent de Jussieu en 1789 sous le nom d'Umbelliferae, puis nommée Apiacées par John Lindley en 1836 [1]. Cette famille a été également jusqu'à il y a quelques années très fréquemment décrite sous le nom d'Ombellifères, en relation avec la structure en ombelles des inflorescences.

Selon la classification classique d'Arthur Cronquist [2, 3], basée sur des caractères morpho-anatomiques et chimiques, la famille appartient à la division des Magnoliophyta (encore appelées Angiospermes ou plantes à fleurs), classe des Magnoliopsida, sous-classe des Rosidae et ordre des Apiales. Cette position systématique est discutée au sein de la communauté scientifique des Botanistes. En effet, d'autres auteurs classiques de référence tels que Thorne, Dahlgren ou encore Takhtajan, la placent au sein des Araliales en raison de caractères morphologiques proches de la famille des Araliacées [4].

Dans la systématique classique, suivant en cela les travaux de Drude [5], les Apiacées se répartissent en 3 sous-familles selon les caractères morphologiques du fruit : les Apioideae (sous-famille la plus vaste), les Hydrocotyloideae et les Saniculoideae.

Une autre classification, plus récente, est la classification phylogénétique dite «APG» (Angiosperm Phylogeny Group), régulièrement actualisée (dernière version APG III 2009). Celle-ci, basée sur des caractères moléculaires issus de gènes chloroplastiques permet de faire apparaître une dynamique évolutive ainsi que des liens de parenté existant entre les différents taxons.

Selon cette classification, l'ordre des Apiales serait monophylétique. Les Apiacées occupent une position assez haute dans l'évolution en faisant partie des Eu-dicotylédones évoluées encore appelées Astérides. Malgré tout, les Apiacées n'en possèdent pas tous les critères, à savoir par exemple des fleurs encore dialypétales, alors que la majorité des Astérides présentent des fleurs gamopétales, reflet d'une adaptation évolutive à la protection des pièces reproductrices. Par contre, le caractère tenuinucellé des ovules et la présence d'un seul tégument, ou bien encore certains caractères biochimiques, signent leur appartenance aux Astérides.

Une synthèse de la position systématique de la famille des Apiacées selon les principaux auteurs précédemment cités figure dans le tableau-01 suivant.

Auteur	Engler	Cronquist	Thorne	Dahlgren	Takhtajan	APGIII
Super-classe						Tricolpées (Eudicotylédones)
Classe	Dicotyledonae	Magnoliopsida				Tricolpées évoluées
Sous-classe	Archichlamydae	Rosidae	Magnoliidae		Cornidae	Asteridae
Super-ordre			Cornanae	Aralianae		Euastéridées IIIou Campanulidées
Ordre	Umbelliflorae	Apiales	Araliales			Apiales
Famille	Umbelliflorae	Apiaceae				

Tableau-01 : Position de la famille des Apiacées dans les systèmes de classifications évolutives.

I-1-2 Répartition géographique

Cette vaste famille rassemble 446 genres pour environ 3500 espèces cosmopolites [1], mais elle est particulièrement représentée dans les régions tempérées de l'hémisphère nord et des montagnes tropicales (figure-01).

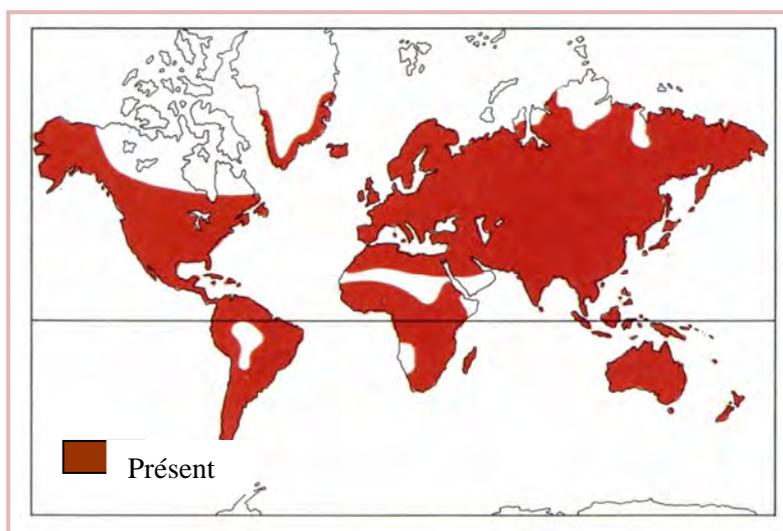


Figure-01 : Répartition géographique mondiale des Apiacées [6].

Il s'agit d'une famille très homogène, une des plus faciles à reconnaître, grâce à ses inflorescences en ombelles généralement composées, inversement les espèces sont parfois difficiles à distinguer les unes des autres.

Les principaux genres sont *Eryngium*, avec 230 espèces, *Bupleurum*, avec 180 espèces, *Ferula*, avec 170 espèces, *Pimpinella*, avec 150 espèces, *Peucedanum*, avec 120 espèces, *Hydrocotyle*, avec 120 espèces, *Angelica*, avec 100 espèces, *Lomatium*, avec 70 espèces, *Heracleum*, avec 65 espèces et *Apium*, avec 25 espèces.

Les genres se répartissent entre les continents, avec une prédominance pour le continent asiatique.

Continent	Genres	Endémiques
Afrique	126 divers	50
Amérique	197	52
Asie	265	159
Australie	36	11
Europe	139	29

Tableau-02 : Répartition mondiale des genres d'Apiacées [6].

La famille des Apiacées occupe une place importante dans la flore algérienne où elle est représentée par 56 genres, 130 espèces (dont 24 endémiques) et 26 sous espèces [7].

I-1-3 Caractères botaniques généraux de la famille

La famille est relativement homogène et caractérisée notamment par son inflorescence typique, l'ombelle.

Il s'agit de plantes herbacées, annuelles, bisannuelles ou vivaces, parfois arbustives.

Les feuilles sont alternes, composées, rarement simples. Souvent, les pétioles sont élargis à leur base, engainant la tige. La tige est souvent creuse. Les fleurs sont réunies en ombelles simples ou composées, munies de bractées à la base appelées involucelles. Elles comptent 5 pétales et 5 étamines et un ovaire à deux loges. Les fruits sont formés de 2 méricarpes accolés à un axe central, le carpophore, se séparant à maturité. Chaque méricarpe présente deux faces :

commissurale (plane) et dorsale (convexe). La face dorsale porte au moins 5 côtes séparées par 4 vallécules contenant des canaux sécréteurs courts (bandelettes) [8,9].

I-1-4 Composition chimique

La famille des Apiacées est connue pour la grande diversité en métabolites secondaires et notamment pour ceux de leurs huiles essentielles.

L'ensemble des résultats de la littérature et de nos propres travaux nous a permis de recenser pour cette famille une grande variété de coumarines [10-15], de sesquiterpènes [16-21], de composés acétyléniques [22-28], d'huiles essentielles [29-37], de flavonoïdes [38-42] et de lactones sesquiterpéniques [43-45]. Ces principes actifs sont les principaux métabolites secondaires de cette famille.

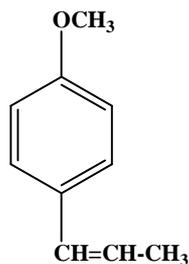
La présence de chromones [46-49], de chalcones [50,51], de saponines [52,53] et d'alcaloïdes [54], a été signalée dans quelques espèces de cette famille.

Notre étude s'est portée plus particulièrement sur les huiles essentielles et les coumarines des Apiacées en général dans la mesure où les autres composés n'ont pas été abordés lors du travail expérimental que nous avons réalisé.

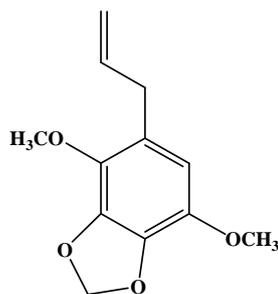
I-1-4-1 Les huiles essentielles

Les Apiacées sont le plus souvent des plantes aromatiques. On note la présence de canaux sécréteurs synthétisant des huiles essentielles ou des gommes résines, leur conférant des odeurs et saveurs caractéristiques. Ces propriétés organoleptiques font que de nombreuses espèces sont largement utilisées comme légumes ou condiments.

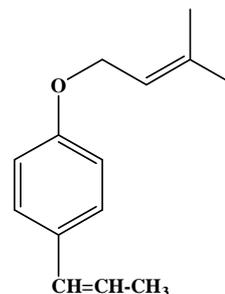
Les huiles essentielles des Apiacées sont riches en dérivés phénylpropaniques tels que l'anéthole (*Pimpinella anisum*), l'apiol (*Apium petroselinum*) et la foeniculine (*Foeniculum vulgare*).



Anéthol



Apiol



Foeniculine

Et en terpènes comme le β -caryophyllène, le limonène ou la carvone [55].

Nous citons les travaux de Karlson qui a passé en revue la composition chimique des huiles essentielles des fleurs et des feuilles de six espèces de la famille des Apiacées : *Aegopodium podagraria*, *Anthriscus sylvestris*, *Carum carvi*, *Heracleum sibiricum*, *Laserpitium latifolium* et *Pastinaca sativa*. Un certain nombre de constituants communs sont retrouvés de façon quasiment constante. Il s'agit de l' α -pinène, α -pinène, cis- β -ocimène, trans- β -ocimène, limonène, sabinène et du myrcène, mais chaque huile essentielle est caractérisée par un constituant spécifique, bien souvent largement majoritaire.

Heracleum sibiricum et *Pastinaca sativa* ont le même composé majoritaire le cis-ocimène suivi par le trans-ocimène avec des teneurs de 62% et 26,31% respectivement.

La plupart des monoterpènes possède des stéréo-isomères, dus soit à la présence d'un ou plusieurs carbones asymétriques, soit à l'existence de configurations Z et E, par certaines doubles liaisons. Généralement dans le végétal, on ne trouve qu'un stéréo-isomère déterminé et la forme active est souvent optiquement active et exclut le racémique. La composition énantiomérique en monoterpènes chiraux est déterminée par chromatographie gazeuse multidimensionnelle.

Le (+)- carène se trouve dans *H-sibiricum* et *C. carvi*, le (-) sabinène est le composé majoritaire de *L. latifolium* et *A. sylvestris*.

Des composés azotés, plusieurs esters aliphatiques à courte chaîne et le linalol sont identifiés exclusivement dans les senteurs aromatiques des fleurs [56].

Pour mieux voir, la composition chimique des huiles essentielles de la famille des Apiacées, nous passerons en revue les huiles de différents genres de cette famille. On peut citer :

➤ Les huiles essentielles de genre *Peucedanum*

Le genre *Peucedanum* regroupe 29 espèces et de très nombreuses études ont été menées sur la composition chimique de l'huile essentielle de ce genre.

L'analyse de l'huile essentielle des parties aériennes et des fruits de *Peucedanum verticillare* par GC et GC/SM a permis d'identifier 32 composés, le sabinène (39,6 - 63,0%), l'anéthol (29,5 - 1,8%), le β -caryophyllène (0,3 - 0,6%), l' α -phéllandène (5,6 - 9,3%) et le (Z)- β -farnésène (1,1 - 12,8%) sont les composés majoritaires [57].

D'autres auteurs ont passé en revue la composition chimique des huiles essentielles de ce genre pour les espèces suivantes à savoir *P.oreoselinum* [58], *P.officinale* [59], *P.grande* [60], *P.palustre* [61], *P.zeukeri* [62], *P.cachrydifolia* [63], *P.nashanense* [64] et *P.quangxiense* [65]. Le limonène reste l'un des principaux constituants majoritaires des huiles essentielles de *P.oreoselinum*, *P.officinale*, *P.grande*, *P.cachrydifolia* et *P.zenkeri* avec des teneurs de 49, 9,42, 10, 14, 36 et 23,2% respectivement, par contre, il ne figure pas dans l'huile essentielle de *P.verticillare*, qui se distingue des autres par une teneur plus importante en α -phéllandène (5,6 - 20,8%) trouvé en faible pourcentage dans les autres espèces (0,2- 1,2%).

D'autres composés majoritaires caractérisent l'huile essentielle de *P.verticillare* l'athénol (29,5%) et l'épicamphore (7,8%) que l'on ne trouve d'ailleurs dans l'huile essentielle d'aucune autre espèce du genre *Peucedanum*.

Par ailleurs le nérol est présent (3,5%) dans la composition de l'huile essentielle de *P.verticillare* et il est présent uniquement dans *P.cachrydifolia* sous forme de trace.

De même, le myrcène est présent avec une teneur appréciable dans l'huile essentielle de *P.verticillare*, *P.palustre* et *P.zenkeri* et avec un pourcentage moins important dans *P.officinale* et *P.cachrydifolia*.

Enfin, l'analyse par GC et (GC/SM) de l'huile essentielle de fruits de *Peucedanum tauricum* a conduit à l'identification de monoterpènes hydrocarbonés (myrcène, limonène, (Z)- β -ocimène), oxygéné, (linalol) et des sesquiterpènes hydrocarbonés (α -ylangène, α -copaène, β -bourbonène, guaia- 6,9 diène, sélina-5,11- diène, β -caryophyllène, α -guaïne, α -humulène) [66].

Plus tard, Bartnik et ces collaborateurs séparent par GC préparative cinq sesquiterpènes, α et β -selinène, γ -cadinène et deux nouvelles structures de type guaine, guaia-1(10), 11-diène et guaia-9,11-diène [67]. (figure-02).

La détermination structurale s'est faite en combinant les séquences les plus performantes de RMN mono et bi dimensionnelle.

➤ **Les huiles essentielles du genre *Prangos***

De nombreuses études ont été réalisées sur le genre *Prangos*, la majorité d'entre-elles concernent l'espèce *Prangos ferulacea* (L.) Lindl..

La fraction monoterpénique, notamment hydrocarbonée (α et β -pinène, sabinène, limonène et γ -terpinène) reste globalement majoritaire pour la plupart des espèces étudiées.

Les composés majoritaires identifiés dans l'huile essentielle des fruits de *P.ferulacea* de Turquie sont l' α -pinène (16,7%), le γ -terpinène (30,2%), le *p*-cymène (9,9%), le (E)- β -ocimène (7,7%), le (Z)- β -ocimène (7,1%) et le germacrène-B (6,6%) [68].

La composition chimique de l'huile essentielle des parties aériennes de *P.ferulacea* en provenance de l'Iran est riche en β -pinène (22,9%), γ -3-carène (16,0%), α -pinène (12,6%) et épi- α -bisabolol (7,7%) [69].

Les composés majoritaires présents dans l'huile essentielle des graines sont le β -pinène (33,8%), l' α -pinène (10,1%), le γ -3-carène (10,7%) et le limonène (8,9%).

Par ailleurs, l'huile essentielle des fruits de *Prangos uechtrizii* est riche en *p*-cymène (10,9%), β -phellandrène (7,8%), γ -terpinène (7,0%), α -phellandrène (6,3%), α -pinène (6,1%). Signalons la présence du 7-épi-1,2 deshydrosesquicinéol qui a été identifié pour la première fois dans cette espèce [70].

En général, la composition présente plus de 80% de monoterpènes, 10% de phénols, et près de 8% de sesquiterpènes dans *P.ferulacea* et *P.uechtrizii*.

Par contre, l'analyse de l'huile essentielle des fruits de *P.heyniae* a montré une dominance de sesquiterpènes de nature rare, dont les composés majoritaires sont : β -bisabolénal (18,0 – 53,3%), β -bisabolénol (2,3 – 14,6%), β -bisabolène (10,1 , 12,1%), germacrène D (13,5%) et germacrène-B (9,4%) [71].

De même, l'huile essentiel de *Prangos uloptera* a montré une dominance des sesquiterpènes allant jusqu'à (53%) [72, 73].

➤ Les huiles essentielles du genre *Angelica*

Angelica archangelica (angélique) est riche en huile essentielle. Cette huile confère à la plante un pouvoir anti-infectieux, immuno-stimulant, neurosédatif. Toute fois, du fait de la présence de terpènes, phénols, et bien d'autres composants, l'huile essentielle doit être utilisée avec précaution.

La plupart des travaux réalisés sur l'angélique portent sur les racines et les fruits.

Teneur en huile essentielle dans la racine d'*A.archangelica* est de 0,4 à 0,8% obtenue par entraînement à la vapeur d'eau, elle renferme une cinquantaine de constituants, essentiellement représentés par les hydrocarbures terpéniques (80 à 90%), l' α -pinène et le β -phellandrène, étant les composés majoritaires (selon les travaux de Taskinen et Nykänen en 1975, l' α -pinène représente 24% des constituants de l'huile essentielle) [74].

L'analyse d'une chromatographie en phase gazeuse révèle que seulement les racines dont le diamètre est supérieur à 5 mm ont une forte concentration en α et β -phellandrène, dont la présence influence l'arôme de l'huile [75].

Les taux des différents hydrocarbures terpéniques varient d'une étude à l'autre, et même au sein d'une même étude, en fonction de nombreux facteurs tels que la température, la pression ou la nature du solvant d'extraction. La composition en huile essentielle peut également varier selon l'évolution végétative de la plante [76]. Une étude de l'huile essentielle de la racine d'angélique montre même que selon la partie de l'organe considéré (racines ou radicules), sa composition varie [77].

L'huile essentielle de racine d'angélique contient également des lactones macrocycliques : le 12-méthyl- ω -tridécanolide- découvert en 1975 par J. Taskinen- le ω -tridécanolide, le ω -heptadécanolide et le ω -pentadécanolide. Ce dernier, appelé également exaltolide, est un composé musqué responsable de la forte odeur de la racine d'angélique.

Par ailleurs, la teneur en huile essentielle varie de 1 à 1,5% dans les fruits d'*Angelica archangelica*.

Qualitativement, la composition de l'huile essentielle du fruit d'angélique est proche de celle de la racine, mais notons la présence dans l'huile essentielle des fruits de deux triterpènes : l'acétate de lupéol et l'acétate d' α -amyrine.

Il existe quelques différences quantitatives, avec en particulier une prédominance des β -phellandrène et limonène qui représentent respectivement 35 et 38% de la totalité de l'huile essentielle selon l'étude de Lawrence en 1981 [76].

En 1980, Ashraf et ses collaborateurs ont découvert une quantité importante d'hexyl-méthylphtalate dans l'huile essentielle de graines d'*Angelica archangelica* d'origine pakistanaise [78].

Nous citerons aussi la composition en huile essentielle d'autres espèces du genre *Angelica* telle que *A. sinensis* Diels.

Selon les études menées par l'institut des plantes Médicinales de l'Académie de Chine, le Danggui (nom chinois de *A. sinensis* Diels) contient : de 0,2 à 0,4% d'huile essentielle dont les principaux constituants sont le ligustilide (45%), le 3-n-butylidène-phtalide (11,3%) et le n-butylphtalide) [79].

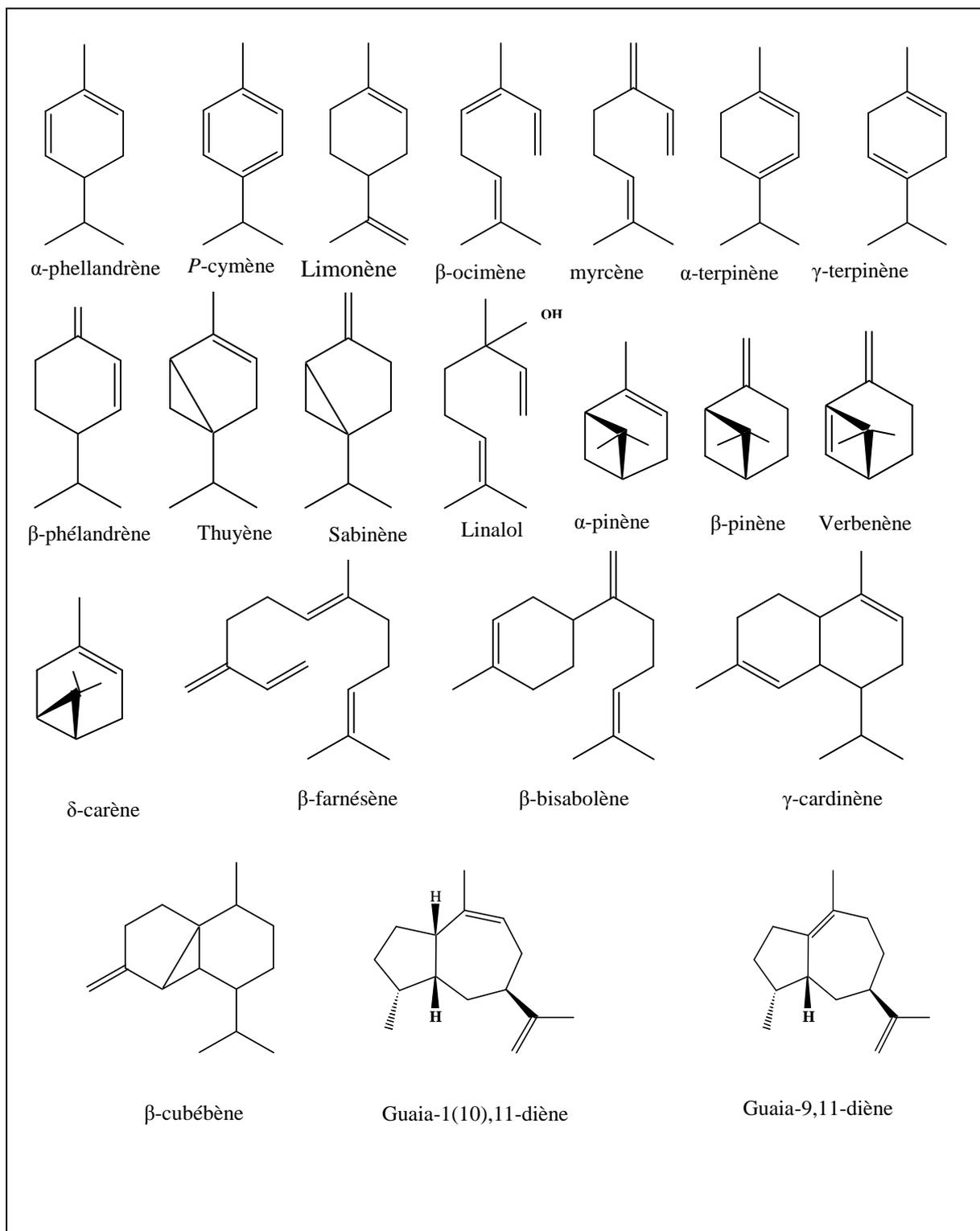


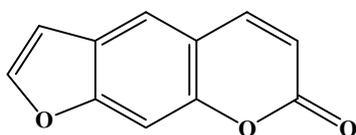
Figure-02 : Quelques principaux constituants identifiés dans les huiles essentielles de la famille des Apiacées.

I-1-4-2 Les coumarines

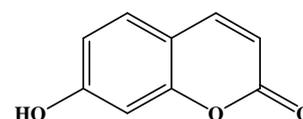
Les coumarines sont des molécules dérivées du phenylpropane, très répandues chez les Apiacées. On rencontre majoritairement les furocoumarines, linéaires ou angulaires dont le noyau de base est le psoralène 1.

D'après la littérature, Murray, Mentez et Brown ont rapporté et décrit que plus de 410 espèces appartenant à 87 genres de la famille des Apiacées contiennent des coumarines.

Les coumarines simples à l'exception de l'ombéllifèrone 2 sont moins répandues. De même que les pyranocoumarines, dont la forme linéaire est absente chez les Apiacées [80].



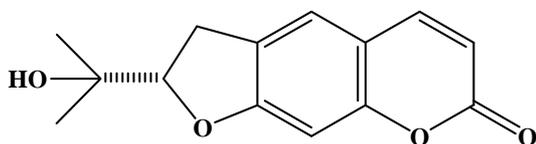
Psoralène 1



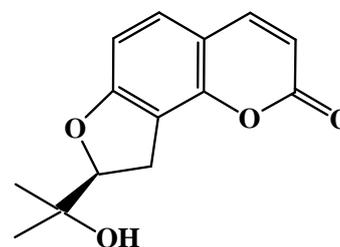
Ombéllifèrone 2

Les

dihydrofurocoumarines linéaires et angulaires marmésine 3 et columbianétine 4 précurseurs des deux types de furocoumarines, se rencontrent fréquemment dans la famille des Apiacées. En particulier columbianétine, est présente dans les Apiacées où les furocoumarines angulaires sont rarement, voire jamais trouvées, justifiant l'hypothèse d'un système enzymatique moins bien développé pour l'élaboration de la série angulaire dans la plupart des plantes [80]



Marmésine 3



Columbianétine 4

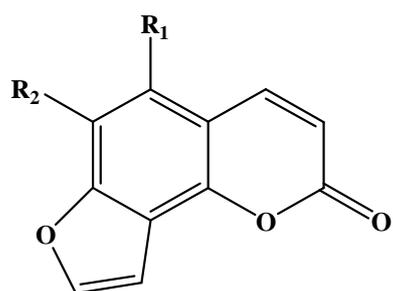
- Les deux types de **furocoumarines** sont bien réponsus dans la famille, mais la série **angulaire** est principalement confinée à quelques genres comme *Heraclium* [81-86], *Pimpinella*, *Pastinaca* [80] et presque absente dans d'autres, comme *Angelica* [87-90], *Prangos* [91-95], *Peucedanum* [96-100] et *Seseli* [101-113].

L'investigation phytochimique menée par Tosun sur les fruits de *Heracleum crenatifolium* a conduit à la séparation et l'identification de trois furocoumarines angulaires, l'isobergaptène **5**, la pimpinelline **6**, la sphondine **7**, et trois furocoumarines linéaires, le bergaptène [13], l'isopimpinelline [21], et le byakangélicol [12]. Le bergaptène [13] a montré une activité anticonvulsivante significative [104].

Par ailleurs, les mêmes furocoumarines angulaires ont été identifiées dans les racines de *Heracleum stevenii* et *Heracleum villosa*. En plus, des composés mentionnés, l'angélicine **8** a été isolée de *Heracleum stevenii* [105].

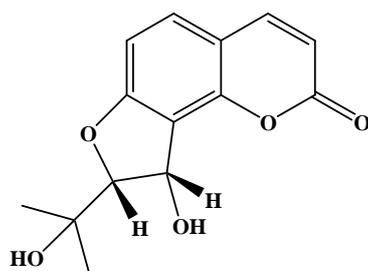
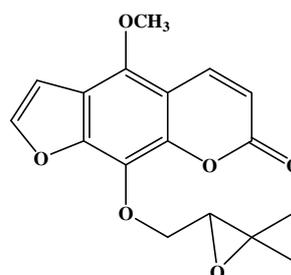
De même, *Heracleum lanatum* a montré la même composition en furocoumarines angulaires qu'*Heracleum stevenii*, et la même composition qu'*Heracleum villosa* en furocoumarines linéaires (bergaptène, xanthotoxine, isopimpinelline) sans le psoralène [106].

Les travaux effectués par Gupta en 1976 ont permis d'identifier deux nouvelles structures dont l'Hératomine **9** et l'Hératomol **10** isolées des racines de *Heracleum thomsoni* [107].

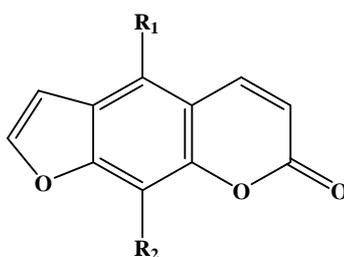


	R ₁	R ₂
Isobergaptène 5	OCH ₃	H
Pimpinelline 6	OCH ₃	OCH ₃
Sphondine 7	H	OCH ₃
Angélicine 8	H	H
Hératomine 9	H	OCH ₂ - CH=C(CH ₃) ₂
Hératomol 10	H	OH

Citons aussi, les travaux de Gupta sur *Heracleum wallichii* et *H. nepalense*, qui ont permis d'identifier l'isobergaptène **5**, l'isopimpinelline **21**, la sphondine **7** et le bergaptène **13** [108]. Plus tard, les investigations phytochimiques sur *H. wallichii* ont conduit à la séparation de trois dihydrofurocoumarines, la columbianétine **4**, la marmésine **3** et le vaginidiol **11** [109].

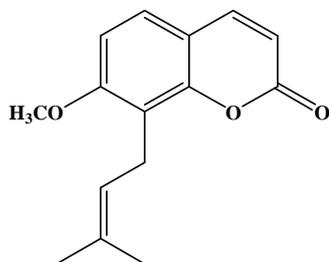
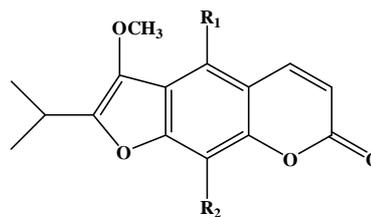
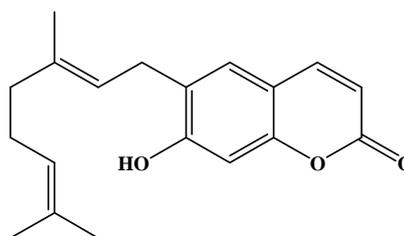
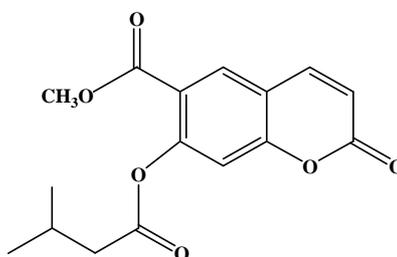
Vaginidiol **11**Byakangélicol **12**

Les études menées par Hadacek sur le genre *Peucedanum* du point de vue composition en coumarines et leur activité insecticide a permis de voir que les différents types de structures de coumarines notamment les coumarines simples, les furanocoumarines linéaires, les dihydropyranocoumarines linéaires et angulaires sont présents dans *Peucedanum arenarium*, *P.austriacum*, *P.coriaceum*, *P.longifolium*, *P.officinale*, *P.oreoselinum*, *P.ostruthium* et *P.palustre* [110]. Les différentes structures sont décrites ci-dessous :

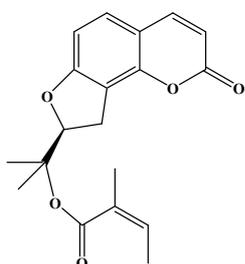
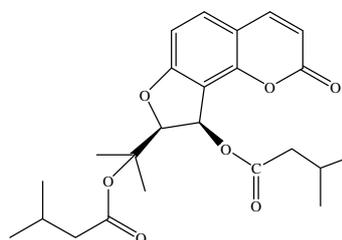


	R ₁	R ₂
Bergaptène 13	OCH ₃	H
Isoimpératorine 14		H
Oxypeucedanine 15		H
Hydrate d'oxypeucedanine 16		H
Ostruthol 17		H
Xanthotoxine 18	H	OCH ₃
Impératorine 19	H	
Angélate d'isobyakangélicine 20		OCH ₃
Isopimpinelline 21	OCH ₃	OCH ₃

	R ₁	R ₂
Peucedanine 22	H	H
8-Méthoxypeucedanine 23	H	OCH ₃

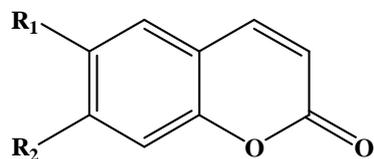
Osthol **24**Ostruthine **25**Isobutyrate d'officinaline **26**

Bien que les furanocoumarines angulaires sont absents la présence de deux dihydrofurocoumarines, columbianadine **27** et athamantine **28** à été signalée.

Columbianadine **27**Athamantine **28**

Par ailleurs, l'étude phytochimique plus récente menée sur l'extrait dichlorométhane des fruits de *Peucedanum tauricum* a conduit à la séparation et à l'identification de trois furanocoumarines linéaires : le béraptène **13**, la peucedanine **22** et l'hydrate d'oxypeucedanine **16** et de trois coumarines simples : l'officinaline **29**, l'isobutyrate d'officinaline **26** et la

peuruthénicine **30**. C'est pour la première fois que les structures d'isobutyrate d'officinaline **26** et l'hydrate d'oxypeucedanine **16** sont décrites dans *P.tauricum* [111].



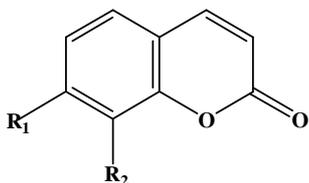
	R ₁	R ₂
Officinaline 29		OH
Peuruthénicine 30	OH	

En revanche, les **furocoumarines linéaires** sont largement distribuées dans le genre *Prangos*, *Angelica* et *Peucedanum*.

De profondes investigations effectuées sur plusieurs parties des plantes ont permis d'identifier des coumarines des racines, des feuilles et des fruits de plusieurs espèces du genre *Prangos* notamment, *Prangos pabularia*, *P.lipskyi*, *P.ornata*, et *P.ferulacea* [112].

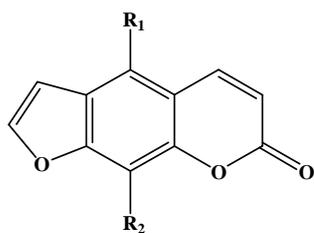
Les coumarines communes isolées sont des :

- Coumarines simples : osthole **24**, méranzine **31** et l'hydrate de méranzine **32**.

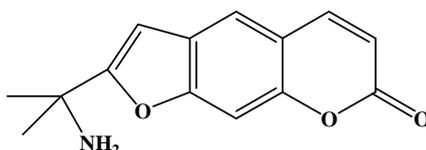


	R ₁	R ₂
Méranzine 31	OCH ₃	
Hydrate de méranzine 32	OCH ₃	

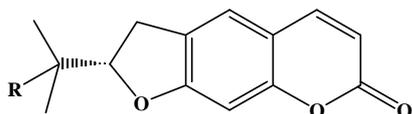
- Furocoumarines linéaires : xanthotoxol **33**, impérorine **19**, oxyimpérorine **34**, hydrate d'oxyimpérorine **35**, bergaptène **13**, isoimpérorine **14**, hydroxypeucedanine **15**, hydrate d'oxypeucedanine **16**, pranférol **36**, alloimpérorine **37**, prangosine **38**, et peucedanine **22**.



	R ₁	R ₂
Xanthotoxol 33	H	OH
Oxyimpératorine 34	H	
Hydrate d'oxyimpératorine 35	H	
Alloimpératorine 37	CH ₂ -CH=C-(CH ₃) ₂	OH
Pranférol 36	OCH ₂ COH-C(CH ₃) ₂	H

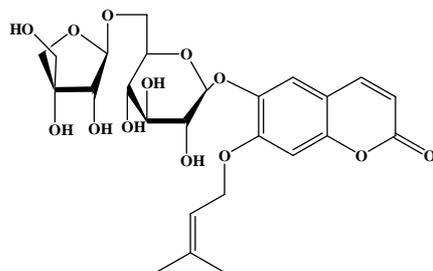
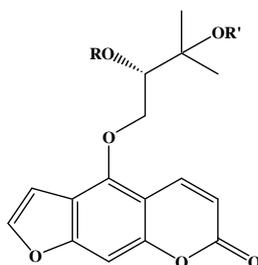
Prangosine **38**

- Dihydrofurocoumarines : marmésine **3**, prantshimine **39**, sprenghianine **40**.



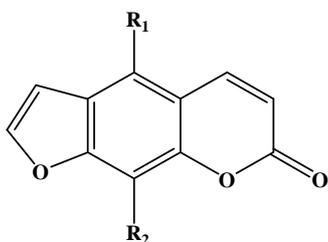
	R
Prantschimine 39	
Sprenghianine 40	

Citons également, en plus des coumarines isolées des racines de *Prangos uloptera* par Abyshev en 1968 [91] (osthole **24**, isoimpératorine **14**, hydrate d'oxypeucedanine **16**, pranférol **36**, prantshimine **39** et marmésine **3**). Plus récemment, les travaux réalisés par l'équipe de Razavi en 2008 ont mis en évidence trois nouvelles structures de coumarines glycosylées dont 6-O-[β -D-apiofuranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl]-prénylétine **41**, 3''-O-[β -D-apiofuranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl]-hydrate d'oxypeucedanine **42** et 2''-O-[β -D-apiofuranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl]-hydrate d'oxypeucedanine **43** [113].

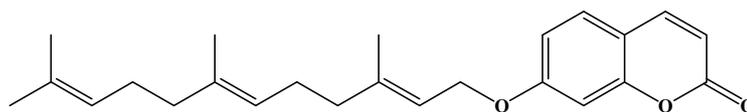
6-O-[[β -D-apiofuranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl]-prénylétine **41**

	R	R'
3''-O-[[β -D-apiofuranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl]-hydrate oxypeucédanine 42	H	β -D-apiofuranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl
2''-O-[[β -D-apiofuranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl]-hydrate oxypeucédanine 43	β -D-apiofuranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl	H

Angelica sylvestris, comme la majorité des Apiacées, contient un grand nombre de coumarines, bien que des furanocoumarines angulaires aient été identifiées dans d'autres espèces du genre *Angelica*, aucune n'a été isolée jusqu'à présent dans l'espèce *sylvestris*. Les coumarines isolées en plus du bergaptène **13** et l'isoimperatorine **14** sont ci-dessous [114].



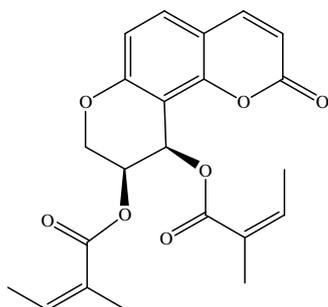
	R ₁	R ₂
Aviprine 44		H
Byakangélicine 45	OCH ₃	



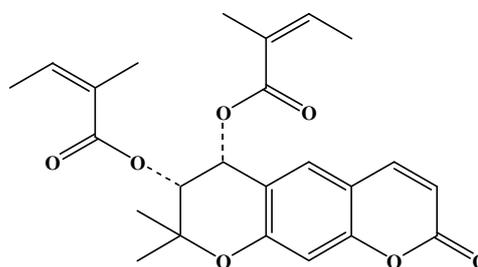
Umbelliprénine **46**

- Les **dihydropyranocoumarines** linéaires sont présentes dans la famille des Apiacées [115-116], mais leurs homologues angulaires sont plus fréquents [80].

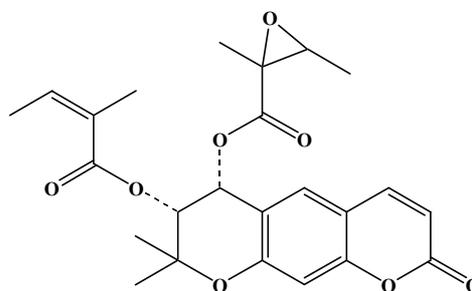
On rappelle les travaux de Hadacek [110], les dihydropyranocoumarines isolées sont les suivantes :



Anomaline **47**

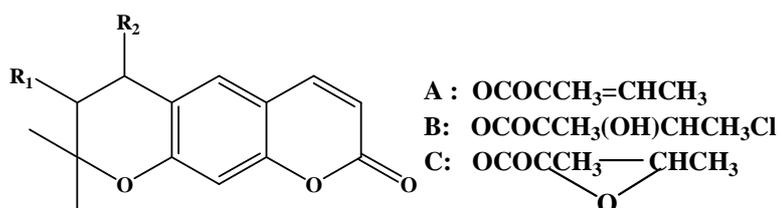


Xanthaline **48**



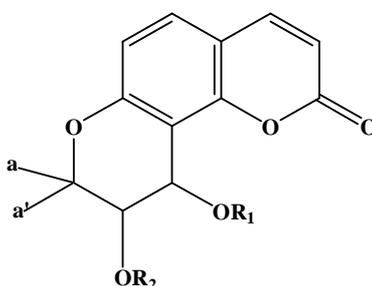
Peuarénine **49**

On cite aussi les dihydropyranocoumarines linéaires isolées des racines de *Peucedanum arenarium* [117].



	R₁	R₂
Xanthaline 48	A	A
Peuarénarine 50	A	C
Peuarénine 51	C	C
Peuarine 52	A	OCH ₃
Peuchlorine 53	A	B
Peuchlorinine 54	C	B
Peuchloridine 55	B	B
Cis-isokhélactone 56	OH	OH

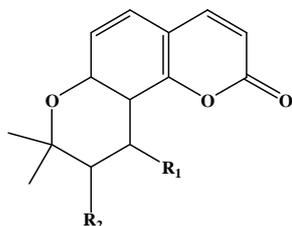
De même, *Seseli bocconi* a montré une richesse en dihydropyranocoumarines angulaires [118]. En plus de l'anomaline **47** les autres structures sont citées ci-dessous :



	R₁	R₂
3'-angéloyl-4'-acétyl- <i>cis</i> -khellactone (isoptéryxine) 57	Ac	
3'-isobutyl-4'-acétyl- <i>cis</i> -khellactone 58	Ac	
3'-angéloyl- <i>cis</i> -khellactone 59	H	

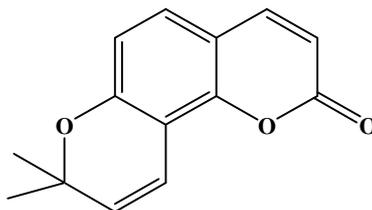
Les travaux menés par Akihisa en 2003 ont conduit à la séparation et l'identification de six dihydropyranocoumarines angulaires d'*Angelica keiskei*. Les coumarines identifiées sont ci-dessous [119].

	R1	R2
Lasépitine 60		OH
Isolasépitine 61	OH	



3'-Sénécioyl khellactone 62		OH
4'-Sénécioyl khellactone 63		OH
Sélinidine 64	H	
Ptéryxine 65		OCOCH ₃

Du point de vue chimiotoxonomique l'absence de certaines coumarines est aussi importante que leur présence ; il est intéressant de noter que les pyranocoumarines linéaires ne se produisent pas dans la famille des Apiacées. Suite à une enquête auprès de 300 espèces appartenant à cette famille la séséline était la seule pyranocoumarine angulaire détectée [120, 80].

Séséline **66**

I-1-5 Propriétés pharmacologiques et thérapeutiques

La médecine traditionnelle reconnaît à plusieurs espèces de la famille des Apiacées des vertus thérapeutiques certaines. Elles sont utilisées pour leurs activités anti-inflammatoire [121-124], antimicrobienne [125, 126], antifongique [127, 128], analgésique [129], antibactérienne [130], anticonvulsivante [131-134], antirhumatismale [135], antioxydante [136], antitumorale [137, 138], cytotoxique [139, 140] et des propriétés chimiopréventives [141], qui sont attribuées à différentes substances.

La plupart des Apiacées utilisées comme condiments sont également réputées pour leurs nombreuses propriétés médicinales. Les plus importantes :

- *Pimpinella anisum* (l'anis vert), relaxant et utilisé dans les troubles digestifs [142].

- *Petroselinum sativum* (persil) possède des propriétés carminatives et stomachiques. Elle est également diurétique. En l'usage externe, les feuilles sont utilisées pour calmer les piqûres d'insectes, les irritations cutanées, les contusions et les ecchymoses [143].
- *Coriandrum sativum* (coriandre), très efficace dans les affections gastro-intestinales [143].
- *Angelica archangelica* (l'angélique officinale) hépatoprotectrice [144].
- *Foeniculum vulgare* (fenouil) en plus de ses propriétés diurétiques et carminatives possède des activités antioxydantes et anti-inflammatoires [145].
- *Angelica sinensis* peut promouvoir la prolifération des cellules endothéliales vasculaires ainsi que la synthèse d'ADN. En effet, *in vitro*, *A. sinensis* stimule la croissance des cellules endothéliales et augmente le nombre de cellules en phase S [146]. De plus, l'expression de VEGF (vascular endothelial growth factor : facteur de croissance de l'endothélium vasculaire) est plus élevée ; ainsi que celle de ICAM-L (intercellular adhesion molecule-1 : molécule d'adhésion intercellulaire) [147].

Ces observations suggèrent que *A. sinensis* peut avoir un effet sur la genèse et le développement de la néo-vascularisation lors d'ischémie cardiaque.

Une étude (2002) a été menée sur un modèle de souris présentant des déficiences en globules rouges, blancs, réticulocytes et en cellules de la moelle osseuse (précurseurs hématopoïétiques). Ces souris ont reçu des injections de décoction de racine d'*A. sinensis* (contenant de la vitamine B12, de l'acide folinique et de la biotine) qui ont eu comme effet une stimulation de l'hématopoïèse. De plus, les polysaccharides induisent la différenciation des cellules souches vers la lignée érythrocytaire. Ils pourraient être un inducteur naturel d'où une perspective de développement et d'applications prometteuses [148].

I-2 Présentation du genre *Cachrys*

I-2-1 Nomenclature [149].

Le genre *Cachrys*, initialement décrit par Linné (Sp. Pl. 246 1753), est un genre monotypique à l'historique nomenclatural assez complexe car partagé avec deux autres genres :

Hippomarathrum Link non P.G. Gaertn., B. Mey. & Scherb., et *Prangos* Lindl., aux délimitations floues et contradictoires selon les différents auteurs.

Les trois genres furent identifiés comme tels et séparés par certains auteurs. C'est le cas de Boissier en 1872, Drude en 1898, Fiori en 1925, ou plus près de nous Fedchenko en 1950 ou encore Mouterde en 1970 [149].

Tutin quant à lui, regroupa les trois genres sous le genre unique de *Cachrys* en 1968 [151].

D'autres auteurs regroupèrent les deux genres *Cachrys* L. et *Hippomarathrum* Link sous le genre *Cachrys* et séparèrent le genre *Prangos*.

Il semble admis actuellement que les genres *Cachrys* et *Prangos* sont regroupés sous le genre unique *Cachrys* L. et que le genre *Hippomarathrum* Link est bien séparé avec un statut de nom conservé. Cette séparation repose notamment sur certains critères morfo-anatomiques comparés des fleurs et des fruits [149] et sur la typification de *Cachrys libanotis* L. exposée dans le paragraphe ci-après.

Cette clarification nomenclaturale préalable du genre *Cachrys* nous apparaît fondamentale afin de pouvoir en conséquence nommer de façon certaine et officiellement reconnue les spécimens étudiés lors de notre travail de recherche.

I-2-2 Caractéristiques botaniques

Plante vivace de 40-80 cm, glabre, à feuilles divisées en lanières linéaires. Ombelles à 8 rayons en moyenne. Bractées de l'involucre et de l'involucelle lancéolées, entières ou pennatiséquées. Calice à dents persistantes, fleurs jaunes, styles divariqués, plus longs que le stylopode. Fruits ovoïdes de 10 à 15mm, rétrécis au sommet, glabres, à péricarpe induré et à côtes épaisses non ailées.

Habitats : lieux arides, haies, cultures [7].

I-2-3 Distribution

Le genre *Cachrys* compte environ 100 espèces [150]. Il est réparti aussi bien sur le territoire algérien qu'en Europe en Asie, et est largement distribué dans le bassin méditerranéen [151-152].

I-2-4 Propriétés biologiques et pharmacologiques du genre *Cachrys*

I-2-4-1 Utilisations traditionnelles

En usage thérapeutique traditionnel, les feuilles de *Cachrys ferulacea* (L.) Glestani [= *Prangos ferulecea* (L.) Lindley] sont utilisées au Caucase comme condiment dans les salades et en thérapie pour certains troubles digestifs. Cette est plante très répandue dans les régions méditerranéennes notamment en, Turquie, Irak, Iran, Inde et Serbie, ce taxon est en voie de disparition [153].

- En Turquie, les espèces du genre *Cachrys* sont généralement prescrites traditionnellement pour leurs propriétés toniques et carminatives. Elles sont également utilisées pour traiter les vers intestinaux, stopper les hémorragies externes et en application locale pour panser les plaies et les blessures [154].
- Manunta [155] suggère que *C. ferulacea* était botaniquement identique au silphium dont l'image de cette plante figurait sur la plupart des pièces de monnaie de l'ancienne colonie grecque Cyrène ; appelée aujourd'hui Shalhat en Lybie. Le Silphium était utilisé comme condiment dans la cuisine gréco-romaine. Il est cité dans des recettes d'Apicius où cette plante était utilisée en fourrage dans les pâturages arides. Les animaux qui se nourrissaient de Silphium étaient furent soudain très recherchés pour la qualité de leur viande [155].
- En Serbie et les régions environnantes, les racines de la plante sont utilisées en médecine traditionnelle pour guérir les hémorroïdes.

I-2-4-2 Activités biologiques

Les travaux effectués sur les coumarines du genre *Cachrys* ont mis en évidence des propriétés pharmacologiques.

I-2-4-2-1 Activité anti-inflammatoire

Des études phytochimiques et biologiques visant la découverte et le développement de nouveaux agents anti-inflammatoires à partir de sources naturelles ont été menées dans le laboratoire de Abad et son équipe pendant un certain nombre d'années [156].

Dans cette étude trois furocoumarines naturelles (impérorine, isoimpérorine et prantshimine) isolées de *Cachrys trifida* ont été évaluées comme inhibiteurs potentiels de certaines fonctions des macrophages impliqués dans le processus inflammatoire.

Ces furocoumarines ont été testées dans deux systèmes expérimentaux :

- Des macrophages « de péritoine » de souris stimulés par ionophore qui sont utilisés comme source de cyclooxygénase-1 (COX-1) et de 5-lipoxygénase (5-LO).
- Des macrophages péritonéaux de souris stimulés par des lipopolysaccharides de *E.coli* qui servent à tester l'activité de l'anti-cyclooxygénase-2 (COX-2) et de la nitrique-oxydesynthase. Toutes les furocoumarines mentionnées ci-dessus ont montré un effet significatif sur la 5-lipoxygénase (leucotriènes) avec des valeurs d'IC₅₀ < 15 µm.

L'impératorine et l'isoimpératorine montrent une inhibition de la libération de prostaglandine E₂ (via la COX-1 et la COX-2) supérieure à la moyenne, avec des pourcentages d'inhibition similaires à ceux des médicaments de référence, l'indométacine et le nimésulide, respectivement.

Parmi les trois furocoumarines, seulement l'impératorine induit une réduction significative de la production d'oxyde nitrique.

L'impératorine et l'isoimpératorine peuvent être classées comme inhibiteurs doubles, car il était évident que les voies de la cyclooxygénase et de la lipoxygénase du métabolisme archaïque ont été inhibées par ces composés.

Cependant l'inhibition sélective de la voie de la 5-lipoxygénase est suggérée comme étant la principale cible de l'action de la prantschimagine.

I-2-2-2-2 Activité de photoprotection

L'exposition chronique de la peau aux radiations solaires est la principale cause de mélanomes cutanés. Les radiations UV solaires affectant la peau sont limitées aux UVA (320-400nm) et aux UVB (280-300nm). Alors que les UVB n'atteignent que l'épiderme et les couches superficielles du derme, les UVA pénètrent plus profondément. La réponse biologique à ce stress peut être immédiate et passagère (inflammation, brûlure), retardée et chronique (vieillesse de la peau, cancer). Ce stress oxydant induit entre autre une augmentation des radicaux libres, qui dégradent les composants cellulaires : lipides, protéines, bases nucléiques. L'utilisation des antioxydants, comme les coumarines, peut prévenir ou diminuer les dommages de la peau induits par les stress oxydants en particulier ceux des radiations UV [157], en modulant la réponse cellulaire et en piégeant les espèces radicalaires oxygénées.

Ainsi Menichini et ces collaborateurs ont étudié le potentiel de piéger les radicaux libres et l'activité antioxydante de l'extrait chloroformique obtenue à partir des parties aériennes de *C. pungens* Jan et sa phototoxicité sur les cellules de mélanome A 375, "en vue de possibles applications pharmaceutiques". La relation entre antioxydant, activité phototoxique et la composition en polyphénols a été également étudiée [158].

Cette étude a démontré une forte activité phototoxique de la fraction riche en coumarine et offre une nouvelle perspective pour le développement d'autres potentiels utiles en thérapie photodynamique pour le traitement des cancers de la peau sans mélanome ainsi que pour les mélanomes.

I-2-5 Travaux phytochimiques antérieurs

Une recherche bibliographique réalisée sur les espèces du genre *Cachrys*, montre que des 100 espèces du genre distribuées dans le monde, environ une dizaine d'espèces avaient été phytochimiquement étudiées. Les travaux de recherche de Menichini et collaborateurs montrent que les espèces du genre sont continuellement étudiées mais ces études tournent fréquemment autour des mêmes espèces *C. ferulacea* et *C. sicula*.

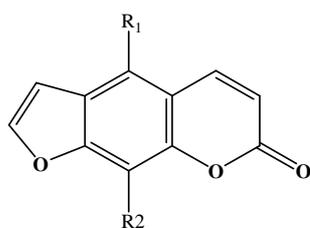
Il apparait de l'ensemble des travaux publiés que ce genre est une source intéressante de molécules bioactives dont les plus fréquentes sont les furocoumarines et les huiles essentielles.

I-2-5-1 Les coumarines

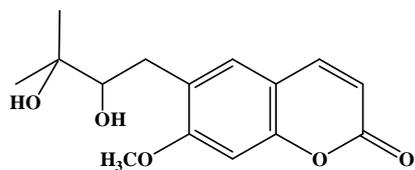
La plupart des travaux réalisés sur le genre *Cachrys* portent sur les feuilles, les tiges, les racines et les fruits. Les principaux composés isolés de ce genre sont une grande variété de coumarines dont les furocoumarines linéaires sont les plus répandues.

Espèces	Origines	Parties	Structures	Références
<i>C. sicula</i>	Espagne	ombelles racines	<u>3</u> , <u>13</u> , <u>14</u> , <u>15</u> , <u>18</u> , <u>19</u> , <u>21</u> , <u>39</u> , <u>40</u> , <u>62</u> , <u>63</u> , <u>64</u> , <u>66</u>	[159]
<i>C. ferulacea</i>	(Sardaigne) Italie	feuilles racines	<u>14</u> , <u>19</u> , <u>24</u> , <u>34</u> , <u>71</u>	[160]

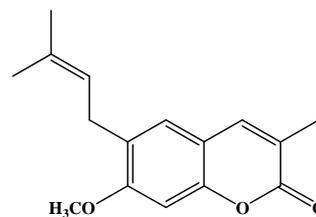
<i>C. ferulacea</i>	(Sicile) Italie	fruits	<u>13</u> , <u>14</u> , <u>19</u> , <u>24</u>	[161]
<i>C. odontalgia</i>	Russie	Fruits	<u>3</u> , <u>13</u> , <u>14</u> , <u>19</u> , <u>24</u> , <u>34</u> , <u>39</u>	[162]
<i>C. pubescens</i>		Racines	<u>14</u> , <u>19</u> , <u>39</u> , <u>62</u>	[163]
<i>C. libanotis</i>	Espagne	parties aériennes	<u>3</u> , <u>13</u> , <u>14</u> , <u>18</u> , <u>21</u> , <u>39</u> , <u>40</u> , <u>68</u> , <u>70</u>	[164]
<i>C. trifida</i>	Espagne	parties aériennes	<u>3</u> , <u>13</u> , <u>14</u> , <u>15</u> , <u>18</u> , <u>19</u> , <u>21</u> , <u>39</u> , <u>40</u> , <u>61</u>	[165]
<i>C. pungens</i>	(Calopezzati) Italie	parties aériennes	<u>1</u> , <u>4</u> , <u>13</u> , <u>18</u> , <u>21</u> , <u>65</u> , <u>67</u> , <u>72</u>	[158]



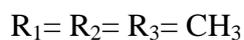
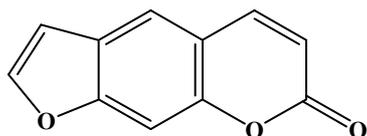
	R₁	R₂
Cnidiline <u>61</u>		OCH₃
Saxaline <u>62</u>		H
Tertio-O-méthylheraclénol <u>63</u>	H	
Pabuléol <u>64</u>		H
Isooxypeucedanine <u>65</u>	OCH₂COC(CH₃)₂	H



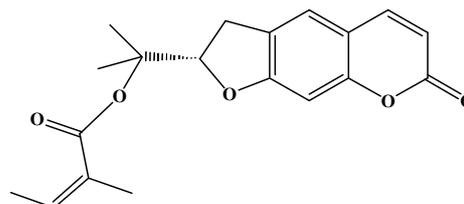
Uloptérol **66**



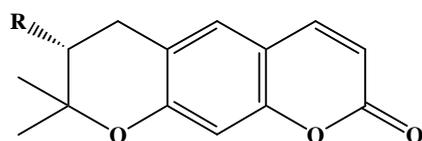
3-Méthylsubérosine **67**



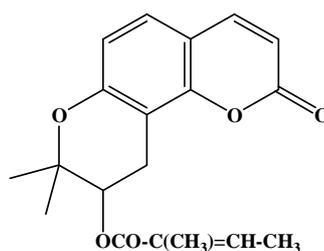
Triméthylpsoralène **68**



Deltoine **6**



	R
3'-hydroxy-3',4'- dihydroxanthylétine 70	OH
Décursine 71	



Jatamancine **72**

I-2-5-2 Les huiles essentielles

Dans la littérature la majorité des études sur la composition chimique des huiles essentielles porte sur les genres *Prangos* et *Hippomarathrum* étroitement liés à *Cachrys* [70, 71], [166].

L'espèce *Cachrys ferulacea* (L.) Galestani [= *Prangos ferulacea* (L.) Lindley] est la plus étudiée [68, 167].

Les composés majoritaires de l'huile essentielle obtenue des fruits sont l' α -pinène (18,2%), le sabinène (15,9%), le limonène (15,1%), le cis-chrysanthényl acétate (14,5%) et le 2,3,4-triméthyl benzaldéhyde.

L'étude menée par Pala-Paul et collaborateurs, s'inscrit dans le cadre général des travaux réalisés sur la valorisation des ressources naturelles en Espagne.

Les recherches ont porté sur la caractérisation de l'huile essentielle obtenue à partir des différents organes de *Cachrys trifida* (fleurs, feuilles, tiges+feuilles, racines) de quatre échantillons récoltés dans des localités différentes d'une part, et sur l'influence de la période de maturité de la plante sur la composition chimique de l'huile essentielle des quatre populations d'autre part [168].

Les composés majoritaires sont résumés dans le tableau-03

	Fleurs (%)	Fruits (%)	Tiges et feuilles (%)	Racines (%)
γ -Terpinène	32,4-38,8	28,3-37,3	3,8-8,5	8,2-13,6
(E)- β -Ocimène	27,3-36,8	—	61,0-70,7	—
Limonène	6,0-24,2	14,2-34,5	7,3-48,0	1,4-1,8
<i>p</i> -Cymène	7,2-7,4	14,1-24,5	2,7-5,8	8,0-10,9
(E)-Nérolidol	0,4-3,1	Trace	2,7-5,8	Trace
α -Pinène	1,2-1,5	3,8-11,3	0,9-4,3	0,1-0,6
Myrcène	1,1	0,9-2,8	0,8-1,9	1,1-1,4
Sabinène	0,7-1,2	0,5-0,9	0,2	Trace
(Z)- β -Ocimène	—	3,0-8,0	20,5-51,5	T-0,1
β -Phellandrène	—	1,1-3,6	2,7- 2,6	2,9-3,1
α -Phéllandrène	0,2-0,9	1,2-2,8	0,1-1,0	0,4-0,7
<i>p</i> -Cymèn-8-ol	—	—	—	1,1-1,7
2,4,6-Triméthyl- benzaldéhyde	—	—	—	0,1-1,6
(E, Z)-2,4- Décadiènal	—	—	—	0,1-1,4
Terpinolène	0,3%	0,2-0,4	0,2 -4,9	61,8-70,7

Tableau-03 : principaux constituants identifiés dans l'huile essentielle de *Cachrys trifida*

Les fleurs contiennent le maximum d'huile essentielle avec une teneur de l'ordre de (1,8-2%). Tandis que les racines en produisent moins avec un très faible pourcentage. (0,2-0,3%).

La composition chimique des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation des parties aériennes et des racines de *Cachrys trifida* est dominée par les hydrocarbures monoterpéniques (92,5-98,7%), représentés principalement par le γ -terpinène, le limonène et le (E)- β -ocimène dans les différentes populations.

Toutefois, l'huile essentielle des fleurs présente une composition riche en (E)- β -ocimène (27,3-36,8%), celle des fruits contient son isomère le (Z)- β -ocimène. (3,0-8,0%).

Par ailleurs, le terpinolène est le constituant majoritaire de l'huile essentielle des racines (61,8-70,7%) et se trouve avec un très faible pourcentage dans les huiles essentielles (fleurs, fruits, tiges+feuilles).

Enfin, le *p*-cymèn-8-ol, le 2,4,6-triméthyl benzaldéhyde et le (E,Z)-2,4-décadiène caractérisent l'huile essentielle des racines de *Cachrys trifida* que l'on ne trouve dans l'huile essentielle d'aucun autre organe de la plante.

➤ ***Cachrys sicula* L.**

Pala-Paul et ses collaborateurs se sont intéressés à l'étude de la variabilité de la composition chimique de l'huile essentielle de *Cachrys sicula* selon l'évolution végétative de la plante, selon la partie de l'organe considéré (feuilles, fleurs, tiges ombelles, racines) et enfin selon le site de cueillette [169].

L'analyse en (CG /MS) et (GC/FID) des différentes huiles essentielles obtenues par hydrodistillation montrée qu'elles sont essentiellement représentées par les monoterpènes (95,2-99,5%).

La teneur en sesquiterpènes est de (0,4-4,7%). Les composés majoritaires étant le *p*-cymène (7,3-36,7%), l' α -terpinène (1,8-27,2%), l' α -pinène (3,9-4,8%), le sabinène (3,1-21,3%), le myrcène (6,0-18,8%), le (E)- β -ocimène (1,8-27,2%), le (Z)- β -ocimène (1,8-27,2%) et le (Z)- β -ocimène (0,1-17,2%). Les principaux constituants, avec leurs teneurs, des huiles essentielles des différents organes de *Cachrys Sicula* sont réunies dans le tableau-04

Constituants	Tiges + feuilles	Ombelles	Fruits	Fleurs
p-Cymène	17,8-36,7	12,2-15,7	7,3-7,5	21,0-24,0
Myrcène	6,1-18,8	15,2-17,9	15,0-18,8	6,0-17,7
Sabinène	4,4-18,5	10,3-21,3	4,0-13,1	3,1-3,9
α -Pinène	8,1-16,3	12,9-15,5	19,1-21,8	3,9-17,5
γ -Terpinène	6,2-15,7	18,0-19,6	1,8-21,6	17,5-27,2
(Z)- β -Ocimène	3,8-10,5	3,2-8,6	2,7-7,0	6,2-12,9
α -Thujène	t-5,1%	3,7-4,7	5,9-6,7	—
Limonène	0,4-4,3	2,5-3,4	2,0-2,6	t-3,9
Terpinolène	1,6-3,2	—	—	1,3-1,6
Oxyde de <i>trans</i> -limonène	t-3,2%	—	—	0,4-9,7
Linalol	—	1,0-1,9	—	—
(E)- β -Ocimène	—	1,1-1,2	1,8-17,2	—
Terpinène-4-ol	—	1,1	0,6-5,6	—
<i>p</i> -Menta-1,5-diène-8-ol	t-0,2	0,1	0,2-5,3	T
δ -3-Carène	t-0,1	T	0,1-2,1	0,3
α -Terpinène	t-2,5	0,1-1,7	1,7-1,7	1,1-2,2

Tableau-04 : Principaux constituants identifiés dans les huiles essentielles de *Cachrys sicula*.

L'analyse des huiles essentielles des différents organes de *Cachrys sicula* montre une différence quantitative mais généralement la même composition du point de vue qualitative.



***Cachrys alpina* Bieb.**

L'analyse par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse de l'huile essentielle des fruits de *Cachrys alpina* en provenance de Turquie obtenue par hydrodistillation a conduit à l'identification de 29 composés représentant environ 98% de la composition totale de l'huile dont le *p*-cymène (9,3%), l' α -phellandrène (9,1%), le germacrène-D (8,2%) et l' α -pinène (6,3%) [170].

L' α -humulène présente le principal hydrocarbure sesquiterpénique de l'huile avec un pourcentage de 33,1%.

I-2-5-3 Divers

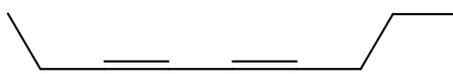
D'après les études phytochimiques antérieures, sur le genre *Cachrys*, la plupart des produits naturels signalés et répertoriés, appartiennent aux grands groupes des composés coumariniques, et des huiles essentielles, la présence de composés acétyléniques [155], de flavonoïdes [158] et de dérivés azotés [171] a été signalée dans quelques espèces de ce genre.

- Les premiers travaux réalisés *Cachrys ferulacea* (synonyme de *Prangos furelacea*) datent de 1996.

Plus récemment, les travaux publiés par l'équipe de Dokovic sur l'huile essentielle des racines de *Cachrys ferulacea* en provenance du Montenegro, obtenue par hydrodistillation, a permis l'isolement et la caractérisation d'une simple diène la 3,5-nonadiène par CG préparative [155].

C'est pour la deuxième fois que la présence de la 3,5-nonadiène est signalée parmi les produits naturels, elle est initialement isolée des racines des racines du *Selinum tenuifolium*.

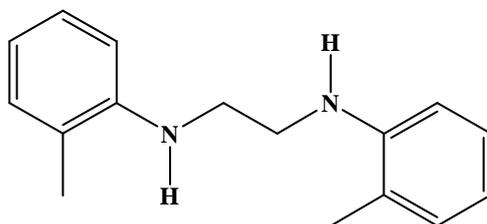
La 3,5-nonadiène a manifesté des propriétés biologiques sélectives *in vivo*. Elle inhibe la production endogène du monoxyde d'azote (NO) dans les macrophages péritonéaux de rats à des valeurs d' $IC_{50}=6,7 \pm 0,8 \mu M$ mais à cette dose elle n'inhibe pas la prolifération des lymphocytes T.



3,5-Nonadiène

- Les premiers travaux qui ont permis de caractériser la N-N'-di-O-tolyléthyléthyldiamine à partir d'une source naturelle commencent avec Pinar et al en 1975 [171]. Ce composé a été séparé à partir de la fraction acidifiée de l'extrait méthanolique de la plante entière *Cachrys sicula*, avec une teneur de 0,01% la détermination structurale s'est faite en combinant des méthodes spectroscopiques, UV, IR, RMN et en comparant avec les résultats spectraux d'un échantillon de synthèse [173]. Cette

plante endémique des régions méditerranéennes, très répandue dans le sud d'Espagne a montré une activité insecticide [174].

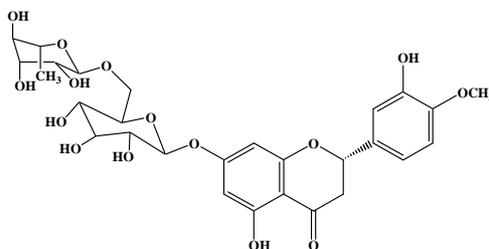


N-N'-di-O-tolylethyldiamine

- Très récemment, durant l'investigation phytochimique menée par Menichini [158] sur l'extrait méthanolique des parties aériennes de *Cachrys pungens* en provenance d'Italie, un précipité blanc s'est déposé.

La caractérisation du composé s'est faite par la détermination structurale de cette molécule par spectrométrie de résonance magnétique nucléaire (RMN), les données spectrales ont permis de l'identifier comme étant l'hésperidine (héspérétin-7-O-rutinoside) un glucoside flavanone.

C'est la première fois qu'un flavonoïde est signalé dans le genre *Cachrys* mais l'hésperidine a été déjà isolée dans la famille des Apiacées [173].



Hésperidine (héspérétine-7-O-rutinoside)

le 2,3,4-triméthylbenzaldéhyde après une série de chromatographies suivie d'une purification sur plaque préparative de silice de l'extrait benzénique des racines de *Cachrys sicula* [159].

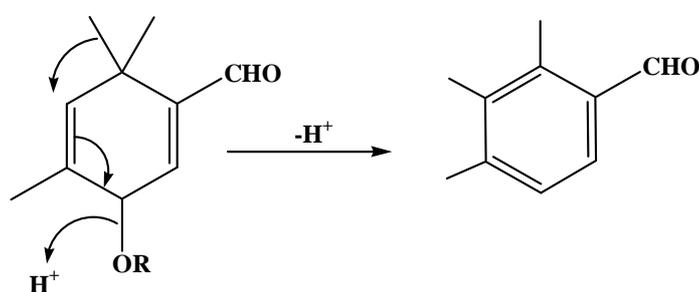
La structure de ce composé a été élucidée par les analyses spectroscopiques de RMN H et IR qui sont en accord par comparaison avec la bibliographie.

Il a été conclu que le 2,3,4-triméthylbenzaldéhyde est un produit de décomposition thermique ou de décomposition dû à la méthode d'extraction, il est considéré comme un artefact. En effet en présence de traces d'acides et à température ambiante les

esters de férulyles se décomposent partiellement par une réaction de réarrangement (migration d'un groupe méthyle) en 2,3,4- triméthylbenzaldéhyde .

Un examen attentif de quelques fractions légèrement plus polaires de la chromatographie principale a permis de détecter et d'isoler l'aldéhyde d'origine identifié comme un mélange des esters de type senécioate angélate et tiglatae dans un rapport 9 :7 :4 respectivement.

Ce produit pourrait être considéré comme un indicateur de présence d'esters de férulyle dans un extrait brut d'une plante étudiée. Les esters de férulol ont été isolés pour la première fois de *Ferula hispanica*.



R= Ang, Sen, Tgl

2,3,4-triméthylbenzaldéhyde

- L'ombelliférose, un trisaccharide, a été isolé des fruits de *Cachrys ferulacea* [174].

Ce sucre est caractéristique de la famille des Apiacées comme matière de réserve [175].

La structure a été élucidée par les méthodes spectrométriques les plus performantes de RMN 2 D C^{13} -H (COLOC) (shift corrélation by long range coupling).

I-3 L'espèce *Cachrys libanotis* L.

I-3-1 Nomenclature et synonymies

L'historique nomenclatural de *Cachrys libanotis* L. se révèle également, ainsi que celle du genre *Cachrys* d'une grande complexité. En effet, *Cachrys libanotis* semble être un complexe spécifique insuffisamment étudié avant les travaux de Gruenberg-Fertig *et al.*, qui en tracent un historique très détaillé [149]. Si ce travail dépasse toutefois le cadre de notre recherche, nous pouvons cependant exposer les conclusions nomenclaturales et taxinomiques auxquelles aboutissent ces auteurs contemporains.

C. libanotis fut décrit en 1737 par Linné dans le « *Hortus Cliffortianus* » sous 3 variétés différentes (variétés alpha, bêta et gamma), puis en 1753 dans le protologue du *Species Plantarum* sous l'espèce *Cachrys libanotis*, puis dans la seconde édition du *Species Plantarum* en 1762.

D'autres auteurs vont concevoir postérieurement autrement ce taxon. C'est le cas de Morison (1699) ou de De Candolle (1830). Selon l'opinion de Gruenberg-Fertig *et al.*, *C. libanotis* au sens de De Candolle doit être inclus dans le genre *Hippomarathrum*. (Gruenberg-Fertig *et al.*, 1973), ce que nous présenterons en fin de paragraphe dans les synonymies.

La typification par Gruenberg-Fertig *et al.* de l'espèce *C. libanotis*, décrite (ainsi que le genre *Cachrys*) par Linné en 1753 (Sp. Pl. 246 1753) [176] repose sur les analyses comparées des descriptions et dessins de différents auteurs ainsi que sur l'examen comparé d'exsiccata issus de plusieurs herbiers internationaux tels que l'herbier de George Clifford au British Museum de Londres (BM), celui de Gaspard Bauhin à Bâle (BAS), ou encore l'herbier de Burser (élève de G. Bauhin) à Upsal en Suède (UPS).

Le spécimen choisi, en accord avec le protologue de *C. libanotis* dans le *Species Plantarum* (1753) précédemment cité, et admis comme lectotype de l'espèce *Cachrys libanotis* L. par Gruenberg-Fertig *et al.*, est issu de l'herbier Burser. Il s'agit d'un exsiccata portant des fruits mûrs, vu par Linné et identifié par lui comme *Cachrys libanotis*.

Ce spécimen correspond aux espèces *C. trifida* Mill. et *C. laevigata* Lam. (Ce dernier identifié par Juel en 1936) [177].

En conséquence, nous pouvons présenter la nomenclature de *C. libanotis* L. ainsi que ses synonymies de la façon suivante (Gruenberg-Fertig *et al.*, 1973) :

Cachrys libanotis L., Sp. Pl. 246. 1753 p.p. excl. Hort. Cliff. 94 var. β et γ p.p., et Morison, Hist. s. 9 t. I f. 3 & f. 6

= *C. libanotis* L., Sp. Pl. ed. 2, 355. 1762 p.p. excl. Morison, Hist. s. 9 T. I f. 3 & f. 6

= *C. trifida* Mill., Gard. Dict. Ed. 8 No. I. 1768

= *C. laevigata* Lam., Encycl. I: 259. 1783

= *C. morisonii* All., Auct. Fl. Pedem. 23. 1789

= *C. libanotis* sensu Gouan (illégitime), Ill. Obs. Bot. 12. 1773

= *C. libanotis* sensu Lam., Fl. Franç. 3 : 467. 1778

En ce qui concerne *Cachrys libanotis* sensu DC. non L. [178] et d'après les travaux de recherche des auteurs Gruenberg-Fertig *et al.*, nous proposons les synonymies suivantes :

Cachrys libanotis sensu DC. non L.

= *Hippomarathrum bocconeii* Boiss., Ann. Sci. Nat. Bot. Ser. 3, 2 :74 (1844)

= *Hippomarathrum libanotis* (L.) W.D.J.Koch ex DC., Prodr. 4 : 237 (1830)

= *Hippomarathrum libanotis* subsp. *bocconeii* (Boiss.) Maire, Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. Nord 25 : 302 (1934).

D'autres synonymes de *Cachrys libanotis* sont mentionnés (plus rarement) dans la littérature ainsi que plusieurs variétés. Nous les citons pour information :

= *C. libanotis* Salzm. ex Ball (illégitime), J. Linn. Soc., Bot. 16 :463.1878

= *C. humilis* Schousb. (1800)

= *C. peucedanoides* Desf. (1798)

= *C. amplifolia* Ledeb., Pl. Nov. 6.1831

= *C. crispa* Pers., Syn. Pl. 1 : 311.1805

= *C. longiloba* DC., Prodr.4 : 237.1830

= *C. microcarpa* M. Bieb., Tabl. Prov. Mer Casp. 113. 1798

= *C. nudicaulis* Godet ex DC., Prodr. 4 : 237. 1830

= *C. libanotis* var. *leiocarpa* (Boiss. & Reut.) Pau

= *C. libanotis* var. *pterochlaena* (DC.) Pau

= *C. pterochlaena* var. *leiocarpa* Coss., Notes Pl. Crit. 37.1849

Une autre combinaison sous un autre genre mise en synonymie a été également relevée dans la littérature [179].

Cachrydium libanotis Link, Handbuch 1 :339.1829

I-3-2 Place systématique

D'après la position systématique de la famille des Apiacées selon Cronquist [3] précédemment citée, *Cachrys libanotis* occupe la place systématique suivante :

Embranchement	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Apiales
Famille	Apiacées
Sous-famille	Apioideae
Genre	<i>Cachrys</i>
Espèce	<i>libanotis</i>

I-3-3 Description botanique

Dans la « nouvelle flore de l'Algérie » Quezel et Santa [7] ont reporté et décrit deux sous-espèces de *H. libanotis*. Koch. Celles-ci se distinguent par les bractées de l'involucre ainsi que par leurs fruits :

- bractées de l'involucre entières ou incomplètement pinnatiséquées et fruits lisses :
H. libanotis Koch ssp. *Bocconei* (Boiss.) Maire (= *Cachrys libanotis* L.).
- Bractées de l'involucre bipennatiséquées et fruits plus ou moins tuberculeux sur les côtes (incluant *H. crispatum* Pomel et *C. pungens* Jan.) : *H. libanotis* Koch ssp. *pterochlaenum* (Boiss.) Maire.



Figure-03 : *Cachrys libanotis* (fleurs, feuilles, tiges) [180].

I-3-4 Distribution

L'espèce *Cachrys libanotis* est répandue dans tout le bassin méditerranéen, dans le sud ouest de l'Europe ainsi que dans tout le Maghreb [181, 182].

En Algérie, elle est répandue dans le Tell constantinois, l'Atlas Saharien ou constantinois, les Aurès compris. Elle est présente dans les différentes régions allant de Skikda jusqu'à la frontière tunisienne [7].

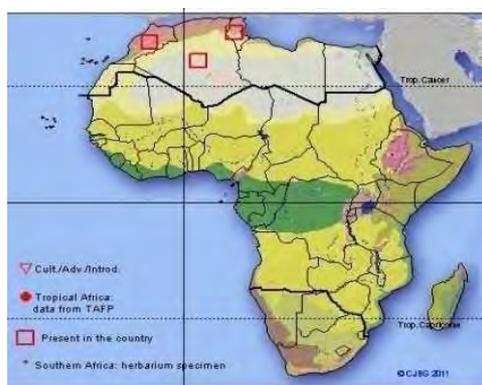


Figure-04 : Distribution de *Cachrys libanotis* L. en Afrique du Nord [179].



Figure-05 : Distribution de *Cachrys libanotis* L. en Algérie [7].

I-3-5 Photoxicité de *Cachrys libanotis* L.

Le terme de phytophotodermatose a été proposé en 1942 par le biologiste londonien Robert Klaber [183], qui suggérait l'utilisation de ce terme pour toute réaction de la peau en contact avec des plantes et irradiation solaire simultanée («*phyto*» signifiant plante, «*photo*» pour lumière et «*dermatitis*» pour inflammation de la peau).

Oppenheim fut probablement le premier auteur à décrire la phytodermatite phototoxique de contact [184] qu'il dénomma «*dermite des prés*», encore «*dermatitis bullosa striata pratensis*».

Les premières études sur la composition chimique de *Cachrys libanotis* L. datent de 1977. Les dermatites provoquées après contact avec cette plante ont attiré l'attention d'un groupe de chercheurs italiens [185, 186] qui ont isolé et identifié des furocoumarines comme étant les principes actifs. Les 3 cas de dermatites signalées sont :

1^{er} cas

Un homme âgé de 33 ans lors d'un voyage en Alghero (coté Nord-ouest de Sardaigne (Italie)), avait cueilli des fleurs jaunes d'une plante à l'état sauvage dans le maquis à environ 300m de la rive par un temps chaud. Après 24h, un érythème rouge vif s'est formé sur ses mains dont la surface devient œdémateuse avec formation de petites vésicules. Avec un

traitement les lésions ont disparu après 15 jours, mais l'érythème persista en laissant subsister une hyperpigmentation résiduelle avec des démangeaisons pendant plus de deux ans.

2^{eme} cas

La femme du premier sujet âgée de 31 ans développe des plaques rouges enflées sur son bras droit après un contact avec les mains contaminées de son mari. Une hyperpigmentation a persisté plus de 8 mois.

3^{eme} cas

Un chercheur de 25 ans lors de cette étude, verse accidentellement quelques gouttes de l'extrait méthanolique de *C. libanotis* sur sa main gauche, 24h plus tard un érythème rouge s'est formé et une hyperpigmentation persista pendant plus de 12mois.

Conclusion

La plante en question a été identifiée à l'institut botanique et pharmaceutique de l'université de Sassari comme étant *Cachrys libanotis* L.. Cette espèce est rare dans l'ouest de la méditerranée, et très difficile à classer.

Les analyses effectuées par (HPLC-UV) et (GC-SM) sur l'extrait méthanolique des parties aériennes de *Cachrys libanotis* ont montré que cette plante est riche en furocoumarines avec une teneur de (1,13%) par rapport au poids de la plante avec des concentrations en xanthotoxine de l'ordre de (42%) en triméthylpsoralène de (4%) en isopimpinéline (6%) et en bergaptène (4%).

Ces composés sont responsables des lésions observées. La phytophotodermatite apparaît 24h après le contact et est caractérisée par des lésions vésiculeuses rouges en cas d'exposition au UVA. Les psoralènes se combinent aux bases pyrimidiniques de l'ADN cellulaire de l'épiderme par photoaddition, cette liaison empêche la réplication de l'ADN et déclenche un processus inflammatoire.

Références

- 1 : Boitineau, M., *Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs*, Lavoisier, Tec & Doc, Paris, 2010.
- 2: Cronquist, A., *An integrated system of classification of flowering plants*, Columbia university press, New York, 1981.
- 3 : Cronquist, A., *The evolution and classification of flowering plants*, the New York Botanical Garden, New York , 1988.
- 4 : Urbain, A., *Thèse doctorat en sciences Reims*, Isolement de xanthones et coumarines inhibitrices de l'acétylcholinestérase, respectivement à partir de *Gentianella campestris* (L.) Börner et *Gentianella amarella* (L.) Börner ssp. *Acuta* (Michx.) J.M. Gillett (Gentianaceae), et *Peucedanum ostruthium* (L.) Koch (Apiaceae), N°**3934**, 2007.
- 5 : Drude, O., *Umbelliferae*, in ENGLER-PRANTL, *Natürliche Pflanzenfamilien*, **III**, 8, 1898.
- 6 : Heywood, V. H., *Les plantes à fleurs, 306 familles de la flore mondiale*, Nathan, Paris, 1996.
- 7 : Quezel, P., Santa, S., , *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*, Edition du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, 1963.
- 8: Coste, H., Flahault, C.H., *Flore descriptive et illustrée de la France de la Corse et des contrées limitrophes*, Librairie scientifique et technique, Paris, Tome II, 1998.
- 9: Dupont, F., Guignard, J. L., *Botanique, les familles de plantes*, Elsevier Masson. A. S, Paris, 2012.
- 10: Guz, N. R., Lorenz, P. and Stermitz, Fr., *Tetrahedron Letters*, New coumarins from *Harbouria trachypleura*: isolation and synthesis, **42**, 2001, 6491.
- 11: Jimenez, B., Grande, M. C., Anaya, J., Torres, P. and Grande, M., *Phytochemistry*, Coumarins from *Ferulago capillaris* and *F. brachyloba*, **53**, 2000, 1025.
- 12: Ognyanov, I. and Botcheva, D. Z., *Planta Medica*, Natural coumarins: coumarins in *Ferulago meoides* (L.) Boiss, **17**, 1969, 65.
- 13: Kang, S. Y., Lee, K. Y., Park, M, J., Kim, Y. C., Markelonis, G. J., Oh, T. H. and Kim, Y. C., *Neurobiology of Learning and Memory*, Decursin from *Angelica gigas* mitigates amnesia induced by scopolamine in mice, **79**, 2003, 11.
- 14: Tada, Y., Shikishima, Y., Takaishi, Y., Shibata, H., Higuti, T., Honda, G., Ito, M., Takeda, Y., Kodzhimatov, O. K., Ashurmetov, O. and Ohmoto, Y., *Phytochemistry*, Coumarins and γ -pyrone derivatives from *Prangos pabularia*: antibacterial activity and inhibition of cytokine release, **59**, 2002, 649.

- 15: Nazari, Z. E. and Iranshahi, M., *Phytotherapy Research*, Biologically Active Sesquiterpene Coumarins from *Ferula* Species, **25**, 2011, 315.
- 16: Jabrane, A., Ben Jannet, H., Mighri, Z., Mirjolet, F. J., Duchamp, O., Harzallah Skhiri, F. and Lacaille Dubois, M. A., *Chemistry & Biodiversity*, Two new Sesquiterpene Derivatives from the Tunisian Endemic *Ferula tunetana*, **07**, 2010, 392.
- 17: Ahmed, A. A., Abdel-Razek, M. H., Nassar, M. I., Izumi, S., Ohta, S., and Hirata, T., *Phytochemistry*, An eudesmanolide and a carotene from *Ferula sinaica*, **57**, 2001, 513.
- 18: Ahmed, A. A., Bishr, M. M., El-Shanawany, M. A., Attia, E. Z., Ross, S. A. and Pare, P. W., *Phytochemistry*, Rare trisubstituted sesquiterpenes daucanes from the wild *Daucus carota*, **66**, 2005, 1680.
- 19: Galal, A. M., Abourashed, E. A., Ross, S. A., Elsohly, M. A., Al-Said, M. S. and El-Feraly, M. S., *Journal of Natural Products*, Daucane sesquiterpenes from *Ferula hermonis*, **64**, 2001, 399.
- 20: Miski, M., Moubasher, H. A. and Mabry, T. J., *Phytochemistry*, Sesquiterpene arylesters from *Ferulago antiochia*, **29**, 1990, 881.
- 21: Barrero, A. F., Herrador, M. M. and Arteaga, P., *Phytochemistry*, Sesquiterpenes and phenylpropanoids from *Seseli vayredanum*, **31**, 1992, 203.
- 22: Hadacek, F., Greger, H., Grenz, M. and Bohlmann, F., *Phytochemistry*, Olefinic and acetylenic butenolides from *Peucedanum alsaticum*, **26** (5), 1987, 1527.
- 23: Hu, C. Q., Chang, J. J. and Lee, K. H., *Journal of Natural Products*, Antitumor agents, 115, Seselidiol, a new cytotoxic polyacetylene from *Seseli mairei*, **53**, 1990, 932.
- 24: Ruberto, G., Cannizzo, S., Amico, V., Bizzini, M. and Piatelli, M., *Journal of Natural Products*, Chemical constituents of *Ferulago nodosa*, **57**, 1994, 1731.
- 25: Lund, E. D., *Phytochemistry*, Polyacetylenic carbonyl compounds in carrot, **31**, 1992, 3621.
- 26: Schulte, K. E., Rucker, C. and Backe, W., *Archive Der Pharmazie*, Polyacetylenes from *Pimpinella anisum*, **303**, 1970, 912.
- 27: Zidom, C., Jöhrer, K. and Ganzera, M., *Journal of Agricultural and Food chemistry*, Polyacetylenes from the Apiacea vegetables carrot, celery, fennel, parsley, and parsnip and their cytotoxic activities, **53**, 2005, 2518.
- 28: Prior, R. M., Lundgaard, N. H., Light, M. E., Stafford, C. I., Van Staden, J. and Jaeger, A. K., *Journal of Ethnopharmacology*, The polyacetylene faltarindol with COX-1 activity isolated from *Aegopodium podagraria* L., **113**, 2007, 176.

- 29: Maggi, F., Lucarini, D., Tirillini, B., Sagratini, G., Papa, F. and Vittori, S., ***Biochemical Systematics and Ecology***, Chemical analysis of the essential oil of *Ferula glauca* L. (Apiaceae) growing in Marche (central Italy), **37**, 2009, 432.
- 30: Dev, V., Whaley, W. H., Bailey, S. R., Chea, E., Dimaano, J. G., Jogani, D. K., Ly, B. and Eggett, D., ***Biochemical Systematics and Ecology***, Essential oil composition of nine Apiaceae species from western United States that attract the female Indra Swallowtail butterfly (*Papilio indra*), **38**, 2010, 538.
- 31: Ferrari, B., Tomi, F. and Casanova, J., ***Flavour and Fragrance Journal***, Composition and chemical variability of *Ferula communis* essential oil from Corsica, **20**, 2005, 180.
- 32: Vérité, P., Nacer, A., Kabouche, Z. and Seguin, E., ***Flavour and Fragrance Journal***, Composition of seeds and stems essential oils of *Pituranthos scoparius* (Coss. & Dur.) Schinz, **19**, 2004, 562.
- 33: Nazemiyeh, H., Razavi, S. M., Delazar, A., Hajiboland, R., Mozaffarian, V., Nahar, L. and Sarker, S. D., ***Natural Product Communication***, Essential oil composition of the umbels and fruits of *Prangos uloptera* DC., **2**, 2007, 89.
- 34: Tosum, A., Baba, M., Kodama, T., Nakanishi, H. and Okuyama, T., ***Natural Medicines***, the composition of essential oil of *Seseli* L. species growing in Turkey, **59**, 2005 b, 85.
- 35: Pala- Paul, J., Copeland, L. M., Brophy, J. J. and Goldsack, R. J., ***Biochemical systematics and Ecology***, Essential oil composition of *Eryngium rosulatum* P. W. Michael ined: A new undescribed species from eastern Australia, **34**, 2006, 796.
- 36: Pala-Paul, J., Brophy, J. J., Alonso, M. J. P., Usano, J. and Soria, S. C., ***Journal of Chromatography A***, Essential oil composition of the different parts of *Eryngium corniculatum* Lam. (Apiaceae) from Spain, **1175**, 2007, 289.
- 37: Özek, T., Özek, G., Baser, K. H. C. and Duran, A., ***Journal of Essential Oil Research***, Comparison of the essential oils of three endemic Turkish *Heracleum* species obtained by different isolation techniques, **17** (6), 2005, 605.
- 38: Louaar, S., Akkal, S., Bayet, C., Laouaar, H. and Guilet, D., ***Chemistry of Natural Compounds***, Flavonoids of aerial parts of an endemic species of the Apiaceae of Algeria, *Ammoides atlantica*, **44** (4), 2008, 516.
- 39: Kofinas, C., Chinou, I., Loukis, A., Harvala, C., Maillard, M. and Hostettmann, K., ***Phytochemistry***, Flavonoids and bioactive coumarins of *Tordylium apium*, **48** (4), 1998, 637.
- 40: Chang, W. L., Chiu, L. W., Lai, J. H. and Lin, H. C., ***Phytochemistry***, Immunosuppressive flavones and lignans from *Bupleurum scorzonerifolium*, **64**, 2003, 1375.

- 41: Harborne, J. B. and Williams, C. A., *Phytochemistry*, Flavonoid pattern in the fruits of the Umbelliferae, **11**, 1972, 1741.
- 42: Gebhardt, Y., Witte, S., Forkmann, G., Lukacin, R., Matern, U. and Martens, S., *Phytochemistry*, Molecular evolution of flavonoid dioxygenase in the family Apiaceae, **66**, 2005, 1273.
- 43: Barrero, A. F., Herrador, M. M. and Arteaga, P., *Phytochemistry*, Sesquiterpene lactones and other constituents of *Seseli vayredanum*, **37**, 1994, 1351.
- 44: Suzuki, K., Okasaka, M., Kashiwada, Y., Takaishi, Y., Honda, G., Ito, M., Tekeda, Y., Kodzhimatov, O. K., Ashurmetov, O., Sekiya, M. and Ikeshiro Y., *Journal of Natural Products*, Sesquiterpene Lactones from the Roots of *Ferula varia* and Their Cytotoxic Activity, **70**, 2007, 1915.
- 45: Iranshahi, M., Hosseini, S. T., Shahverdi, A. R., Molazade, K., Khan, S. S., and Ahmad, U. V., *Phytochemistry*, Diversolides A-G, guaianolides from the roots of *Ferula diversivittata*, **69**, 2008, 2753.
- 46: Miski, M. and Jakupovic, J., *Phytochemistry*, Cyclic Farnesyl-coumarin and farnesyl-chromone derivatives from *Ferula communis* subsp. *communis*, **29** (6), 1990, 1995.
- 47: Baranauskaite, D., *Medicina*, Chemical investigation of *Peucedanum tauricum*, **12**, 1970, 161.
- 48: Reisch, J., Khaled, S. A., Szendrei, K. and Novak, I., *Phytochemistry*, New chromones from *Peucedanum osthuthium*, **14**, 1975, 1137.
- 49: Varga, E., Simokovics, J., Szendrei, K. and Reisch, J., *Hungarica Fitoterapia*, Furanocoumarins and chromones from the fruits of *Peucedanum osthuthium* L. (Koch) (Umbelliferae), **50**, 1979, 259.
- 50: Baba, K., Nakata, K., Taniguchi, M., Kido, T. and Kozawa, M., *Phytochemistry*, Chalcones from *Angelica keiskei*, **29**, 1990, 3907.
- 51: Nakata, K., Taniguchi, M. and Baba, K., *Natural Medicines*, three chalcones from *Angelica keiskei*, **53**, 1999, 329.
- 52: Baranauskaite, D., *Medicina*, Determination of saponins in roots and fruit of *Peucedanum tauricum*, **10**, 1968, 257.
- 53: Hiller, K., Nguyen, K. Q., Dohnert, H. and Franke, P., *Pharmazie*, The saponine-saponinogen spectrum in *Erungium amethystinum* L., 27. Contribution to chemicals contained in various Saniculoideae, **32**, 1977, 184.
- 54: Pachaly, P., Kroll-Hortsmann, A. and Sin, K. S., *Pharmazie*, *Angelicastigmin*, a new serine alkaloid from *Angelica polymorpha*, **55** (10), 2000, 777.
- 55: Bruneton, J., *Pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales*, 4ième édition, Lavoisier, Tec & Doc, Paris, 2009.

- 56: Borg-Karlson, A. K., Valterova, I. and Andres-Nilsson, L., ***Phytochemistry***, Volatile compounds from Flowers Of six species in the family Apiaceae: Bouquets for different pollinators, **35** (1), 1994, 111.
- 57: Fraternali, D., Giamperi, L., Ricci, D. and Manunta, A., ***Biochemical Systematics and Ecology***, Composition of the essential oil of *Peucedanum verticillare*, **28**, 2000, 143.
- 58: Sevarda, A. L., Kuznetsowa, G. A., Pavlovic, S. and Jancie, R., ***Arch. Farm.***, Quantity and composition of essential oil in the plant parts of *Peucedanum oreoselinum* Moench, **32**, 1982, 121.
- 59: Kubeczka, K. H. and Ullmann, L., ***E.P.P.O.S.*** The essential oil from *Peucedanum officinale* leaves, **LXIII** (5), 1981, 265.
- 60: Thakkar, S. M., Deshmukh, V. K., Saoji, A. W. and Parashar, V. V., ***Journal Indian Chemical Society***, Chemical examination of fruits and leaves of *Peucedanum grande*, **64**, 1987, 646.
- 61: Schmaus, G., Schultze, N. and Kubeczka, K. H., ***Planta Medica***, Volatile constituents of *Peucedanum palustre*, **55**, 1989, 482.
- 62: Menut, C., Mve-Mba, C. E., Lamaty, G., Zollo, P. H. A., Tchoumboungang, F. and Bessiere, J. M., ***Journal of Essential Oil Research***, Aromatic plants of tropical central Africa, XVIII-Essential oils of leaf and rhizome of *Peucedanum zenkeri* Engl. from Cameroon, **7**, 1995, 77.
- 63: Harkiss, K. J. and Salehy Surmaghy, M. H., ***Planta Medica***, Constituents of the essential oil of the fruits of *Diplotaenia cachrydifolia*, **54**, 1998, 342.
- 64: Buming, L., Maoxiang, L., Quanling, Wei, C. and P., Xuezhong, Z., ***Fenxi Huaxue***, Chemical constituents of essential oil of *Peucedanum nashanense* Shan et Sheh, **23**, 1995, 885.
- 65: Buming, L., Moaxiang, L., Wei, P., Quanling, C., Xuezhong, Z., ***Zhongcaoyao***, Studies of chemical constituents of essential oil from Guangxi Qianhu (*Peucedanum quangxiense*), **27**, 1996, 588.
- 66: Joulain, D. and König, W. A., the Atlas of spectral Data of Sesquiterpene Hydrocarbons, E. Bi:-Verlag, Hamburg, 1998.
- 67: Bartni K, M., Glowniak, K. and Mardarowicz, M., ***Acta Poloniae Pharm***, Essential oil from fruit from *Peucedanum tauriceum* Bieb, **59**, 2002, 457.
- 68: Baser, K. H. C., Ermin, N., Adigüzel, N. and Aytac, Z., ***Journal of Essential Oil Research***, composition of essential oil of *Prangos ferulacea* (L.) Lindl., **8**, 1996, 297.
- 69: Sefidkon, F., Khajavi, M. S. and Malackpour, B., ***Journal of Essential Oil Research***, Analysis of the oil *Prangos ferulacea* (L.) Lindl., **10**, 1998, 81.

- 70: Özcan, M., Bağcı, Y., Akgül, A., Dural, H. and Novak, J., *Journal of Essential Oil Research*, Chemical composition of the essential oil of *Prangos uechtritzi* Boiss. Et Hausskn fruits from Turkey, **12**, 2000, 183.
- 71: Baser, K. H. C., Özek, T., Demirci, B., and Duman, H., *Flavour and Fragrance Journal*, Composition of the essential oil *Prangos heyniae* H. Duman et M. F., Watson, a new endemic from Turkey, **15**, 2000, 47.
- 72: Sefidkon, F. and Navatii, M., *Journal of Essential Oil Research*, Chemical composition of the oil of *Prangos uloptera* DC., **13**, 2001, 84.
- 73: Mazloomifar, H., Bigdeli, M., Saber, M. and Rustaiyan, A., *Journal Essential Oil Research*, Essential oil of *Prangos uloptera* DC., from Iran, **16**, 2004, 415.
- 74: Taskinen, J. and Nykänan, L., *Acta chemica scandinavica*, Chemical composition of *Angelica* root oil, **29** (7), 1975, 757.
- 75: Pasqua, G., Monacelli, B. and Silvestrini, A., *European Journal of Histochemistry*, Accumulation of essential oils in relation to roots differentiation in *Angelica archangelica* L., **47** (1), 2003, 87.
- 76: Lawrence, B. M., *Perfumer and flavorist*, Progress in essential oils, **6** (3), 1981, 46.
- 77: Muller, D., *Thèse Pharmacie Clermont-Ferrand, L'Angélique : Angelica archangelica* L. : Etude particulière de l'huile essentielle, n°**26**, 1990.
- 78 : Auzanneau, S., *Thèse Pharmacie Poitiers, Angelica archangelica* L. : évolution quantitative des constituants de la racine d'angélique cultivée dans la région niortaise, n°**1504**, 1993.
- 79: Wang, Q., Ding, F., Zhu, N., He, P. and Fang, Y., *Biomedical Chromatography*, Determination of the compositions of polysaccharides from Chinese herbs by capillary zone electrophoresis with amperometric detection, **17** (7), 2003, 483.
- 80: Murray, R. H. D., Mendez, J. and Brown, S. A., *The Natural Coumarins*, John Wiley & Sons Ltd, New York, 1982.
- 81: Razdan, T. K., Kachroo, V., Harkar, S. and Koul, S., *Phytochemistry*, Furanocoumarins from *Heracleum canescens*, **21**, 1982, 923.
- 82: Niu, X. M., Li, S. H., Wu, L. X., Li, L., Gao, L. H. and Sun, H. D., *Planta Medica*, Two new coumarin derivatives from the roots of *Heracleum rapula*, **70**, 2004, 578.
- 83: Taniguchi, M., Yakota, O., Shibano, M., Wang, N. H. and Baba, K., *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, Four coumarins from *Heracleum yunnngingense*, **53** (6), 2005, 701.
- 84: Sun, H. D., Lin, Z. W. and Niu, F. T., *Acta Botanica Sinica*, On the chemical constituents of the roots of *Angelica apaensis* Shan et Yuan, *Heracleum rapula* Fr., and *Heracleum scabridum* Fr., **20** (3), 1978, 244.

- 85: Souri, E., Farsam, H., Sarkheil, P. and Ebadi, F., **Pharmaceutical Biology**, Antioxidant activity of some furanocoumarins isolated from *Heracleum persicum*, **42** (6), 2004, 396.
- 86: Ibadullaeva, S. D. and Serkerov, S. V., **Chemistry of Natural Compounds**, coumarins of *Heracleum pastinacifolium*, **36** (5), 2000, 534.
- 87: Furumi, K., Fujioka, T., Fujii, H., Okabe, H., Mihashi, K., Nakano, Y., Matsunaga, H., Katano, M. et Mori, M., **Bioorganic Medicinal Chemistry Letters**, Novel antiproliferative falcariindiol furanocoumarin ethers from the root of *Angelica japonica*, **8**, 1998, 93.
- 88: Lemmich, J., Hacelaund, S. and Thastrup, O., **Phytochemistry**, Dihydrofuranocoumarin glucosides from *Angelica archangelica* and *A. sylvestris*, **22**, 1983, 553.
- 89: Harkar, S., Razdan, T. K. and Waight, E. S., **Phytochemistry**, Steroids, chromons and coumarins from *Angelica officinalis*, **23**, 1984, 419.
- 90: Thastrup, L. and Lemmich, L., **Phytochemistry**, Furanocoumarin glycosides of *Angelica archangelica* subsp. *litoralis*, **22**, 1983, 2035.
- 91: Abyshev, A. Z. and Kutnevich, A. M., **Khimiya Prirodnykh Soedinenii**, A study of the coumarin composition of the roots of *Prangos uloptera*, **4** (6), 1968, 378.
- 92: Abyshev, A. Z. and Denisenko, P.P., **Khimiya Prirodnykh Soedinenii**, Coumarins composition of *Prangos uloptera* roots, **6**, 1973, 767.
- 93: Razvi, S. M., Nazemiyeh, H., Hajiboland, R., Kumarasamy, Y., Delazar, A., Nattar, L. and Sarker, S. D., **Journal Pharmacognosy**, Coumarins from the aerial parts of *Prangos uloptera* (Apiaceae). Braz, **18**, 2008, 1.
- 94: Koul, S. K., Dahar, K. L. and Thakur, R. S., **Phytochemistry**, A new coumarin glycoside from *Prangos pabularia*, **18**, 1979, 1762.
- 95: Bubeva, I. and Zheleva, A., **Farmatsiya**, Natural coumarins VI coumorin contents of *Prangos ferulacea*, **13**, 1973, 36.
- 96: Chen, I. S., Chang, C. T., Sheen, W., S., Teng, C. M., Tsai, I. L., Duh, C. Y. and Ko, F. N., **Phytochemistry**, Coumarins and antiplatelet aggregation constituents from Formosan *Peucedanum japonicum*, **41**, 1996, 525.
- 97: Tesso, H., Konig, W. A., Kubecxka, K. H., Bartnik, M. and Glowniak, K., **Phytochemistry**, Secondary metabolites of *Peucedanum tauricum* fruits, **66**, 2005, 707.
- 98: Hiermann, A., Schantl, D., Schubert-Zsilaveez, M. and Reiner, J., **Phytochemistry**, Coumarins from *Peucedanum ostruthium*, **43**, 1996, 881.

- 99: Ikeshiro, Y., Mase, I. and Tomita, Y., ***Phytochemistry***, Dihydropyranocoumarins from roots of *Peucedanum japonicum*, **31**, 1992, 4303.
- 100: Liu, R., Feng, L., Sun, A. and Kong, L., ***Journal of Chromatographie A***, Preparative isolation and purification of coumarins from *Peucedanum praeruptorum* Dunn by high speed counter-current-chromatography, **1057**, 2004, 89.
- 101: Banerjee, S. K., Gupta, B. D., Kumar, R. and Atal, C. K., ***Phytochemistry***, New coumarins from the umbels of *Seseli sibiricum*, **19**, 1980, 281.
- 102: Ceccherlli, P., Curini, M., Marcotullio, M. C. and Madruzzo, G., ***Journal of Natural Products***, Tortuoside, a new natural coumarin glucoside from *Seseli tortuosum*, **53**, 1990, 536.
- 103: Coassini Lokar, L. R. and Delben, S., ***Phytochemistry***, photoactive furocoumarins in two populations of *Seseli elatum*, **27**, 1998, 1073.
- 104: Tosun, F., Kızılay, Ç. A., Erol, K., Kılıç, F. S., Kürkçüoğlu, M., Başer, K. H. C., ***Food Chemistry***, Anticonvulsant activity of furanocoumarins and the essential oil obtained from the fruits of *Heracleum crenatifolium*, **107**, 2008, 990.
- 105: Komissarenko, N. F., Giorgobiani, E. D., ***Khimiya Prirodnikh Soedinenii***, Furocoumarins of the roots of *Heracleum stevenii* and *H. villosa*, **4** (6), 1968, 378.
- 106: Steck, W., ***Phytochemistry***, Leaf furanocoumarins of *Heracleum lanatum*, **9**, 1970, 1145.
- 107: Gupta, B. D., Banerjee, S. K. and Handa, K. L., ***Phytochemistry***, Coumarins from *Heracleum wallichii* and *H. neplense*, **14**, 1975, 2533.
- 108: Bishan, D., Gupta, Sanil, K., Gupta, B. D., Banerjee, K. L. Handa and C. K. Atal, ***Phytochemistry***, Heratomin and Heratomol, new coumarins from *Heracleum thomsoni*, **15**, 1976, 1319.
- 109: Gupta, B. D., Banerjee, S. K. and Handa, K. L., ***Phytochemistry***, Alkaloids and coumarins of *Heracleum wallichii*, **15**, 1976, 576.
- 110: Hadaček, F., Müller, C., Werner, A., Greger, H. and Proksch, P., ***Journal of Chemical Ecology***, Analysis, isolation and insecticidal activity of linear furanocoumarins and other coumarin derivatives from *Peucedanum* (Apiaceae: Apioideae), **20** (8), 1994, 2035.
- 111: Tesso, H., König, W. A., Kubeczka, K. H., Bartnik, M. and Glowniak, K., ***Phytochemistry***, Secondary metabolites of *Peucedanum tauricum* fruits, **66**, 2005, 707.
- 112: Kuznetsova, G.A., ***Rastitel'nye Resursy***, Coumarins and furocoumarins in *Prangos species*, **6** (4), 1970, 534.

- 113: Razavi, S. M., Nazemiyeh, H., Delazar, A., Hajiboland, R., Rahman, M. M., Gibbons, S., Nahar, L. and Sarker, S. D., ***Phytochemistry Letters***, Coumarins from the roots of *Prangos uloptera*, **1**, 2008, 159.
- 114: Murphy, E. M., Nahar, L., Byres, M., Shoeb, M., Siakalima, M., Rahman, M. M., Gray, I. A. and Sarker, S. D., ***Biochemical Systematics and Ecology***, Coumarins from the seeds of *Angelica sylvestris* (Apiaceae) and their distribution within the genus *Angelica*, **32**, 2004, 203.
- 115: Alkhatib, R., Hennebelle, T., Roumy, V., Sahpaz, S., Süzgeç, S., Akalın, E., Meriçli, A. H. and Bailleul, F., ***Biochemical Systematics and Ecology***, Coumarins, caffeoyl derivatives and a monoterpenoid glycoside from *Ferulago asparagifolia*, **37**, 2009, 230.
- 116: Tosun, A., Özkal, N., Baba, M. and Okuyama, T., ***Turkish Journal of Chemistry***, Pyranocoumarins from *Seseli gummiferum* subsp. *corymbosum* growing in Turkey, **29**, 2005, 327.
- 117: Zheleva, A. B., Mahandru, M. M. and Ivanova, ***Phytochemistry***, Four new coumarins from the roots of *Peucedanum arenarium*, **15**, 1976, 209.
- 118: Bellino, A., Venturella, P., Marino, M. L., Servettaz, O. and Venturella, G., ***Phytochemistry***, Coumarins from *Seseli bocconi*, **25**, 1986, 1195.
- 119: Akihisa, T., Tokuda, H., Ukiya, M., Iizuka, M., Schneider, S., Ogasawara, K., Mukainaka, T., Iwatsuki, K., Suzuki, T., and Nishini, H., ***Cancer Letters***, Chalcones, coumarins, and flavanones from the exudates of *Angelica keiskei* and their chemopreventive effects, **201**, 2003, 133.
- 120: Tandan, S. K., Chandra, S., Tripathi, H. C. and Lat, J., ***Fitoterapia***, Pharmacological action of Seselin, a coumarin from *Seseli indicum* seeds, **16**, 1990, 360.
- 121: Tabanca, N., Ma, G., Pasco, D. S., Bedir, E., Kirimer, N., Husnu, K., Baser, C., Khan, I. A. and Khan, S. I., ***Phytotherapy Research***, Effect of essential oils and isolated compounds from *Pimpinella species* on NF- KB: a target for anti-inflammatory therapy, **21**, 2007, 741.
- 122: Menghini, L., Epifano, F., Genovese, S., Marcotullio, M. C., Sosa, S. and Tubaro, A., ***Phytotherapy Research***, Anti inflammatory Activity of Coumarins from *Ligusticum lucidum* Mill. subsp. *cuneifolium* (Guss.) Tammaro (Apiaceae), **24**, 2010, 1697.
- 123: Hajhashemi, V., Sajjadi, S. E. and Heshmati, M., ***Journal of Ethnopharmacology***, Anti-inflammatory and analgesic properties of *Heracleum persicum* essential oil and hydroalcoholic extract in animal models, **124**, 2009, 475.
- 124: Küpeli, E., Tosun, A. and Yesilada, E., ***Journal of Ethnopharmacology***, Anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Seseli* L. species (Apiaceae) growing in Turkey, **104**, 2006, 310.

- 125: Maggi, F., Cecchini, C., Gresci, A., Coman, M. M., Trillini, B., Segratini, G. and Papa, F., *Fitoterapia*, Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from *Ferula glauca* L. (*F. communis* L. subsp. *glauca*) growing in Marche (central Italy), **80**, 2009, 68.
- 126: Kwon, Y. S., Kobayashi, A., Kajiyama, S. L., Kawazu, K., Kanzaki, H. and Kim, C. M., *Phytochemistry*, Antimicrobial constituents of *Angelica dahurica* roots, **44**, 1997, 887.
- 127: Momin, R. A. and Nair, M. G., *Journal of Agricultural and Food chemistry*, Mosquitocidal, nematocidal, and antifungal compounds from *Apium graveolens* L. seeds, **49**, 2001, 142.
- 128: Meepagala, K. M., Sturtz, G., Wedge, D. E., Schrader, K. K., and Duke, S. O., *Journal of Chemical Ecology*, Phytotoxic and antifungal compounds from two Apiaceae species, *Lomatium californicum* and *Ligusticum hultenii*, rich sources of Z-ligustilide and apiol, respectively, **31**, 2005, 1567.
- 129: Larhsini, M., Lazrek, H. B., Amarouch, H. and Jana, M., *Journal of Ethnopharmacology*, Investigation of antifungal and analgesic activities of extracts from *Sium nodiflorum*, **53**, 1996, 105.
- 130: Chou, S. C., Everngam, M. C., Sturtz, G. and Beck, J. J., *Phytotherapy Research*, Antibacterial activity of components from *Lomatium californicum*, **20**, 2006, 153.
- 131: Janahmadi, M., Niazi, F., Danyali, S. and kamalinejad, M., *Journal of Ethnopharmacology*, Effects of the fruit essential oil of *Cuminum cyminum* L. (Apiaceae) on pentylenetetrazol-induced epileptiform activity in F.1 neurones of *Helix aspersa*, **104**, 2006, 278.
- 132: Sayyah, M., Mahboubi, A. and kamalinejad, M., *Pharmaceutical Biology*, Anticonvulsant effect of the fruit essential oil of *Cuminum cyminum* in mice, **40** (6), 2002, 478.
- 133: Janahmadi, M., Farajnia, S., Vatanparast, J., Abbasipour, H. and Kamalinejad, M., *Journal of Ethnopharmacology*, The fruit essential oil of *Pimpinella anisum* L. (Umbelliferae) induces neuronal hyperexcitability in snail parathy through attenuation of after-hyperpolarization, **120**, 2008, 360;
- 134: Sayyah, M., Moaied, S. and Kamalinejad, M., *Journal of Ethnopharmacology*, Anticonvulsant activity of *Heracleum persieum* seed, **98**, 2005, 209
- 135: Adams, M., Berset, C., Kessler, M. and Hamburger, M., *Journal of Ethnopharmacology*, Medicinal herbs for treatment of rheumatic disorders- A survey of European herbals from the 16th and 17th century, 2008, doi: 10. 1016/j.jep. 2008. 11. 010.

- 136: Rovindra, P. V. and Narayan, M. S., *International Journal of Food sciences and Nutrition*, Antioxidant activity of the anthocyanin from carrot (*Daucus carota*) callus culture, **54**, 2003, 349.
- 137: Okiyana, T., Takata, M., Takayasu, J., Hasegawa, T., Tokuda, H., Nishino, A., Nishino, H. and Iwashima, A., *Planta Medica*, Anti-tumor, promotion by principles obtained from *Angelica keiskei*, **57**, 1991, 242.
- 138: Babu, T. D., Kuttan, G. and Padikkala, J., *Journal of Ethnopharmacology*, Cytotoxic and anti-tumor properties of certain taxa of Umbelliferae with special reference to *Centella asiatica* (L.) Urban, **48**, 1995, 53.
- 139: Uğur, M S., Gürkan, E., Körsal, E. P. and Tuzlaci, E., *Fitoterapia*, Cytotoxicity assay and fibrinolytic evaluation of *Heracleum sphondylium* and *Ferulago thirkeana*, **64**, 1998, 378.
- 140: Doğanca, S., Gürken, E., Hirlak, F., Tüzün, O. T. and Tuzlaci, E., *Fitoterapia*, Cytotoxicity assay of some *Ferulago aucheri* extractives using *Artemia salina* (Brine shrimp), **68**, 1997, 1977.
- 141: Akihisa, T., Tokuda, H., Ukiya, M., Lizuka, M., Schneider, S., Ogasawara, K., Mukainaka, T., Iwatsuki, K., Suzuki, T. and Nishino, H., *Cancer letters*, chalcones, coumarins, and flavanones from the exudates of *Angelica keiskei* and their chemopreventive effects, **201**, 2003, 135.
- 142: Tirapelli, C. R., de Andrade, C. R., Cassano, A. O., De Souza, F. A., Ambrosio, S. R., da Costa, F. B. and de Oliveira A. M., *Journal of Ethnopharmacology*, Antispasmodic and relaxant effects of the hidroalcoholic extract of *Pimpinella anisum* (Apiaceae) on rat anococcygeus smooth muscle.
- 143: Debuigne, G., Couplan, F., *Petit LAROUSSE des plantes qui guérissent*, 500 plantes, Larousse, Paris, 2006.
- 144: Yeh, M.-L., Liu C.-F., Huang C.-L., Huang, T.-C., *Pharmacology*, Hepatoprotective effect of *Angelica archangelica* in chronically ethanol-treated mice, **68**, 2003, 70.
- 145: Choi, E.-M., Hwang, J.-K., *Fitoterapia*, Antiinflammatory, analgesic and antioxidant activities of the fruit of *Foeniculum vulgare*, **75**, 2004, 557.
- 146: Lei, Y., Gao, Q. and Li, Y. S., *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi*, Study on effects of *Astragalus*, *Angelica* and their combination on vascular endothelial cell proliferation in vitro, **23** (10), 2003, 753.
- 147: Wu, Y. and Zhu, B., *Hua Xi Yi Ke Da Xue Xue Bao*, Effect of danggui buxue decoction on proliferation and expression of intercellular adhesion molecule-1 in human umbilical vein endothelial cells, **32** (4), 2001, 593.

- 148: Ning, L., Chen, C. X., Jin, R. M., Wu, Y. P., Zhang, H.G., Sun, C. L. and Hu, Z. B., *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, Effect of components of dang-gui-bu-xue decoction on hematopenia, **27** (1), 2002, 50.
- 149: Gruenberg-Fertig, I., Heyn, C. C., and Herrstadt, I., *Taxon*, Typification of *Cachrys libanotis* L. (Umbellif), **22** (4), 1973, 425.
- 150: IPNI: International Plant Name Index Query (available with <http://www.ipni.org/index.html>).
- 151: Tutin, T. G., Heywood V. H. and Burges, N. *Flora Europaea*, Cambridge University Press, London, 1968.
- 152: Zohary, M., *Flora Palaestina*, Goldberg, Jerusalem, 1972.
- 153: Stevanović, V., *The Red Book of Flora Of Serbia*, Belgrade, **1**, 1999, 370.
- 154: Baser, K. H., Demirci, B., Demirci, F., Bedir, E., Weyerstahl, P. and Marschall, H., *Planta Medica*, A new bisabolene derivative from the essential oil of *Prangos uechtrizii* fruits, **66**, 2000, 674.
- 155: Đoković, D. D., Bulatović, V. M., Božić, Đ. B., Kataranovski, V. M., Zarakčić, M. T., and Kovačević, N. N., *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 3,5-Nonadiyne Isolated from the Rhizome of *Cachrys ferulacea* Inhibits Endogenous Nitric Oxide Release by Rat Peritoneal Macrophages, **52** (7), 2004, 853.
- 156: Abad, M. J., de las Heras, B., Silván, A. M., Pascual, R., Bermejo, P., Rodriguez, B. and Villar, A. M., *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, Effects of furocoumarins from *Cachrys trifida* on some macrophage functions, **53**, 2001, 1163.
- 157: Sander, C. S., Chang, H., Hamm, F., Elsner, P. and Thiele, J. J., *International Journal Dermatology*, Role of oxidative stress and the antioxidant network in cutaneous carcinogenesis, **43**, 2004, 326.
- 158: Menichini, G., Alfano, C., Provenzano, E., Marrelli, M., Statti, G. A., Menichini, F. and Conforti, F., *Cell Proliferation*, *Cachrys pungens* Jan inhibits human melanoma cell proliferation through photo-induced cytotoxic activity, **45**, 2012, 39.
- 159: Grande, M., Aguado, M. T., Mancheno, B. and Piera, F., *Phytochemistry*, Coumarins and ferulol esters from *Cachrys sicula*, **52** (2), 1986, 505.
- 160: Pistelli, L., Catalano, S., Mununta, A. and Marsili, A., *Planta Chemica*, Coumarins from *Cachrys ferulacea* Collected in Sardinia, **55**, 1989, 203.
- 161: Camarda, L., Mazzola, P. and Sprio, V., *Journal of Natural Products*, Coumarins from the fruits of *Cachrys ferulacea*, **50**, 1987, 310.
- 162: Komissaren, N. F., *Khimiya Prirodnikh Soedinenii*, Pranchimgin from *Cachrys odontalgica*, **5** (3), 1969, 177.

- 163: Ignat'eva, N. S., Vandyshev, V. V. and Pimenov, M. G., ***Khimiya Prirodnykh Soedinenii***, Coumarins from the roots of *Cachrys pubescens*, 1972, 388.
- 164: Pinar, M., ***Anales de Quimica***, Coumarins of *Magydaris oanacifolia*, *Cachrys sicula* and *Lafuentea rotundifolia*, **73**, 1977, 599.
- 165: Hernandez, A. and Rodriguez, B., ***Anales de Quimica***, Coumarins from *Cachrys trifida* Miller, Serie C, **77**, 1981, 259.
- 166: Baser, K. H.C., Özek, T. and Aytac, Z., ***Journal of Essential Oil Research***, Essential oil of *Hippomarathrum boissieri* Reuter et Hausskn., **12**, 2000, 231.
- 167: Bertoli, A., Pistelli, T., Morelli, I., Spinelli, G., and Manunta, A., ***Journal of Essential Oil Research***, Constituents of *Cachrys ferulacea* oils, **10**, 1998, 533.
- 168: Palà-Paül, J., Velasco-Negueruela, A., Pérez-Alonso, M. J. and Maqueda, J., ***Journal of Essential Oil Research***, Volatile Oil Constituents from Different Parts of *Cachrys trifida* L., **16**, 2004, 347.
- 169: Palà-Paül, J., Velasco-Negueruela, A., Pérez-Alonso, M. J. and Sanz, J., ***Flavour and Fragrance Journal***, Essential oil composition of the aerial parts of *Cachrys sicula* L., **17**, 202, 64.
- 170: Baser, K. H.C., Demirci, B., Akalin, E. and Oezhatay, N., ***Journal of Essential Oil Research***, Composition of the essential oil of *Cachrys alpina* Bieb., **16**, 2004, 167.
- 171: Pinar, M. and Alemany, A., ***Phytochemistry***, N-N'-DI-O-Tolyethylendiamine from *Cachrys sicula*, **14**, 1975, 313
- 172: Pascual-Villalobos, M. J. and Robledo, A., ***Industrial Corps and Products***, Screening for anti-insect activity in Mediterranean plants, **8**, 1998,183.
- 173: Cisowski, W., ***Roczniki Chemii***, Flavonoid compounds in some species of *Peucedanum* genus, **49**, 1975, 1823.
- 174: Pistelli, L., Marsili, A., Morelli, I., Barili, L. P. and Pizza, C., ***Planta Medica***, Umbellifereose from *Cachrys ferulacea* Seeds: Determination of the sugar Sequence by NMR 2D- COLOC technique, **56**, 1990, 230.
- 175: Judd, W. S., Campbell, C. S., Kellogg, E. A. and Stevens, P., ***Botanique systématique. Une perspective phylogénétique***, 1^{ière} édition, De Boeck université s.a., 2002.
- 176: Linnaeus, C. V., ***Species plantarum***, Stockholm, 1753, 246.
- 177: Juel, H. O., ***Symb. Bot. Upsal.***, Joachim Burser's Hortus Siccus, 1936, 49.
- 178: Le Floch, E. et Boulos, L., and Véla, E., ***Flore de Tunisie. Catalogue synonymique commenté***, Montpellier, 2010, 62.
- 179 : <http://www.tropicos.org> <http://www.tela-botanica.org> <http://www.theplantlist.org>

- 180 : <http://www.flickr.com>
- 181 : Pignatti, S., *Flora d'Italia*, Edagricole, Bologna, 1982.
- 182 : Valdès, B., Redjali, M., Achlal, A., Jury, S. L. and Montserrat, J. M., *Catalogue des plantes vasculaires du Nord du Maroc*, Consejo Superior de Investigaciones Cientificas, Madrid, 2002.
- 183: Klaber, R., *British journal of Dermatology*, Phyto-Photo-Dermatitis, **54**, 1942, 193.
- 184: Oppenheim, M., *Annals of Dermatology*, Dermatite bulleuse striée consecutive aux bains de soleil dans les près (Dermatitis Bullosa Striata Pratensis), **3**, 1932, 1.
- 185 :Ena, P., Cerri, R., Dessi, G., Mancon, P. M. and Atzei, A. D., *Contact Dermatitis*, Phototoxicity due to *Cachrys libanotis*, **24**, 1991, 1.
- 186 : Ena, P., Dessi, G., Chiarolini, F. and Fabbri, P., *Contact Dermatitis*, Phytophotodermatitis from *Cachrys species*, **20**, 1989, 144.

Chapitre II :

Chimie et Biologie des Coumarines et des Huiles Essentielles

II-A Les coumarines

II-A-1 Définition

Les coumarines, constituants naturels de nombreuses plantes et huiles essentielles, sont des dérivés de la benzo- α -pyrone, qui est formée par condensation d'un cycle benzénique avec un noyau α -pyrone.

La coumarine proprement dite, 1,2-benzopyrone, est la lactone de l'acide o-hydroxycinnamique [1,2] (figure-01).

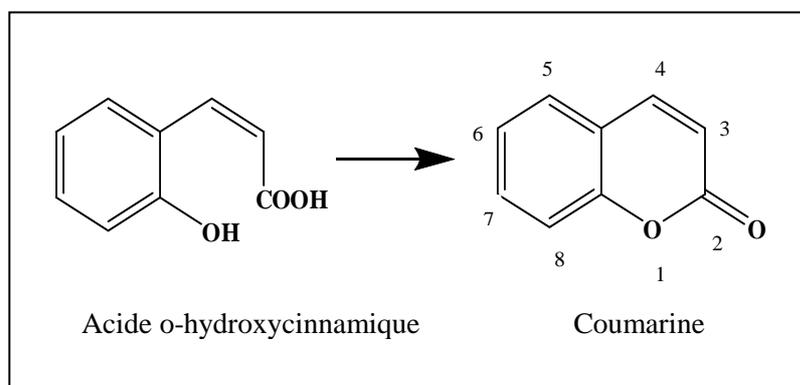


Figure-01 : Formule semi-développée de la coumarine.

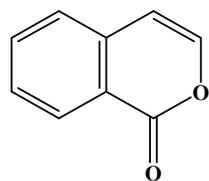
Environ 1300 coumarines ont été identifiées, principalement comme métabolites secondaires dans des plantes vertes, mais aussi dans les champignons et les bactéries [3-5].

Il existe de nombreuses substitutions possibles à partir de la structure de la coumarine, qui expliquent l'existence d'une grande variété de ces molécules dans la nature [6].

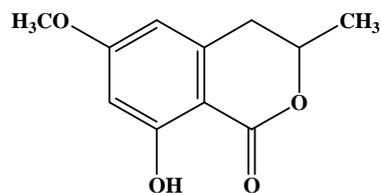
A côté des coumarines proprement dites, se placent les **isocoumarines**, qui représentent une classe proche de celle des coumarines simples, mais leurs propriétés n'ont pas été étudiées précisément (figure-02). Toutefois, il a été découvert que la 6-méthoxy-8-hydroxy-3-méthyl-3,4-dihydrocoumarine, encore appelée 6-méthoxymelléine possède des propriétés antibiotiques. Il s'agit d'une phytoalexine, produite à partir de carottes après infection fongique. Ces isocoumarines, possédant une faible toxicité vis-à-vis des mammifères, pourraient présenter des applications commerciales [6].

Les isocoumarines sont présentes dans la famille des Apiacées, on cite comme exemple les trois nouvelles structures isocoumariniques isolées pour la première fois de *Coriandrum*

sativum, à savoir les coriandrones C-E, en plus de la coriandrone A, coriandrone B, coriandrine et de la dihydrocoriandrine (figure-03) déjà isolées antérieurement [7].

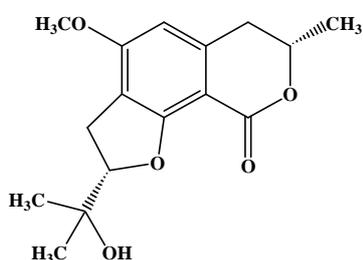


Isocoumarine

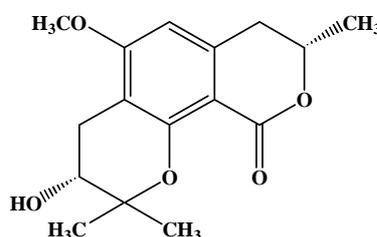


6-méthoxymelléine

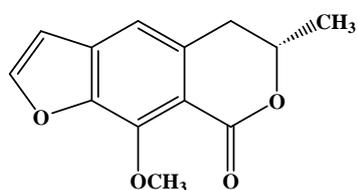
Figure-02 : Formules des isocoumarines.



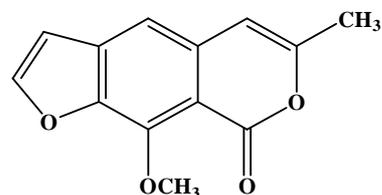
Coriandrone A



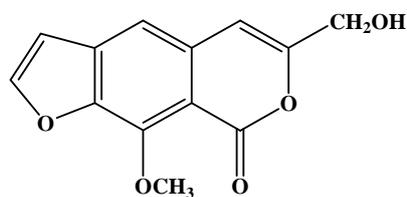
Coriandrone B



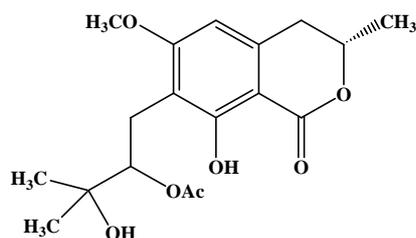
Dihydrocoriandrine



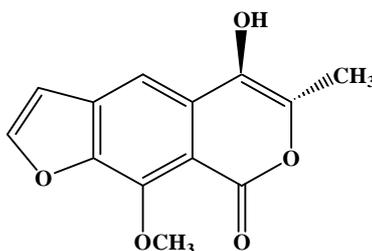
Coriandrine



Coriandrone C



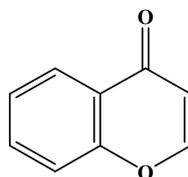
Coriandrone D



Coriandrone E

Figure-03 : Structures des isocoumarines isolées de *Coriandrum sativum*.

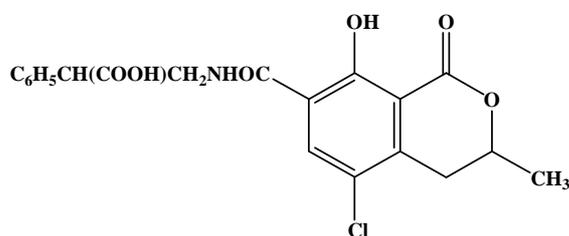
l'hétérocycle, elles sont apparentées chimiquement aux **chromones** (figure-04).

**Figure-04** : Formule d'une chromone.

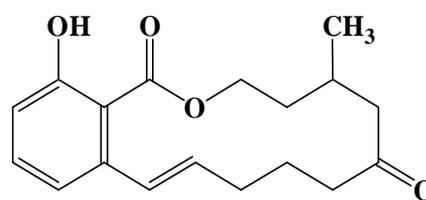
Des dérivés par synthèse de la coumarine (difénacoum , brodifacoum) sont utilisés comme rodenticides anticoagulants. Ce sont des molécules de seconde génération : «superwarfarine» à action anticoagulante prolongée.

Les mycotoxines (figure-05) sont des toxines élaborées par des champignons inférieurs à la surface de nombreux aliments. Parmi celles-ci, les trois qui posent le plus de problème en santé publique, possèdent une structure coumarinique :

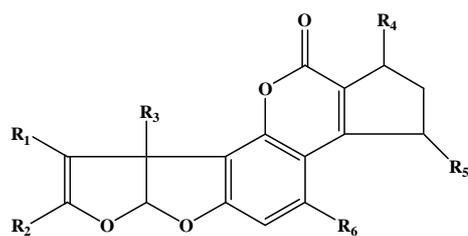
- Les aflatoxines [8], produites par *Aspergillus flavus* ou *Aspergillus clavatus*, sont des hépatotoxines et l'Aflatoxines B₁ est responsable d'un cancer du foie chez l'homme.
- L'ochratoxine A [8], produite par *Aspergillus crenophialum* et *Penicillium viridicatus*, est néphrotoxique et pourrait donner des cancers du rein chez l'homme.
- La zéaralénone [8] et ses dérivés macrolides lactoniques , produits par des espèces de *Fusarium* , possèdent des propriétés oestrogéniques .



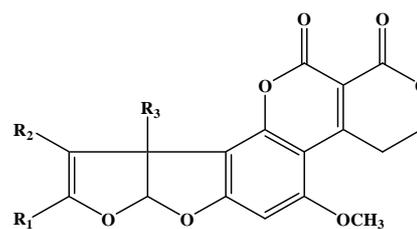
Ochratoxine A



Zéaralénone



Aflatoxines	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆
B ₁	H	H	H	0	H	OCH ₃
B ₂	H ₂	H ₂	H	0	H	OCH
B _{2a}	OH	H ₂	H	0	H	OCH ₃
M ₁	H	H	OH	0	H	OCH ₃
M ₂	H ₂	H ₂	OH	0	H	OCH ₃
P ₁	H	H	H	0	H	OH
Q ₁	H	H	H	0	OH	OCH ₃
R ₀	H	H	H	OH	H	OCH ₃

Aflatoxine B₁ et ses dérivés

Aflatoxines	R ₁	R ₂	R ₃
G ₁	H	H	H
G ₂	H ₂	H ₂	H
G _{2a}	OH	H ₂	H
GM ₁	H	H	OH

Aflatoxine G₁ et ses dérivés**Figure-05** : Structures chimiques des trois principales mycotoxines.

Au cours de ce travail, nous nous intéresserons qu'aux coumarines naturelles (simples, furanocoumarines et pyranocoumarines) utilisées en thérapeutique. On revanche les isocoumarines et les mycotoxines ne seront pas traitées.

II-A-2 Origine

Ce qu'on entend par «coumarine», nom donné en 1835 par Guibourt [9] Leur chef de fille, la coumarine proprement dite, est l' α -benzopyrone, substance hétérocyclique fortement odorante qui donne une odeur agréable à la fève Tonka.

Les coumarines tirent leur nom de « Coumarou» nom vernaculaire de la fève Tonka (*Dipteryx odorata*. (Aubl.) Willd., Fabacées) d'où fut isolée la coumarine [10].

L'isolement de la coumarine a été rapporté pour la première fois par Vogel en 1820 [11]. Bien que la coumarine soit la première des coumarines décrites, elle n'a pas été la première à être isolée. En 1812 Vauquelin extrait un glycoside de la plante *Daphne alpina*. Ce composé

sera appelé plus tard Daphnine mais la structure est restée inconnue jusqu'en 1939 quand Wessely et Sturm la décrivent comme la 8-hydroxy-7- β -D-glucosyloxy coumarine (figure-06).

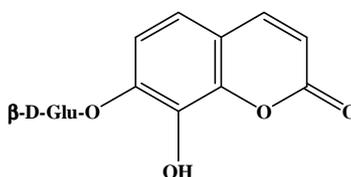


Figure-06 : Structure de la Daphnine.

II-A-3 Les coumarines dans le règne végétal

Aujourd'hui, près d'un millier de coumarines ont été décrites dans plus de 800 espèces de plantes et dans les micro-organismes [3]. Les plus simples d'entre elles sont largement distribuées dans tout le règne végétal. Elles sont surtout présentes chez les Dicotylédones et sont abondantes dans certaines familles telles que : Oléacées, Loganiacées, Solanacées. Certaines familles élaborent des structures très variées avec des molécules parmi les plus complexes en particulier les Rutacées, Astracées, Fabacées et Apiacées à la quelle appartient l'espèce étudiée [12].

Dans la littérature, près de 176 espèces appartenant à la famille des Rutacées contiennent des coumarines avec des structures très variées [13].

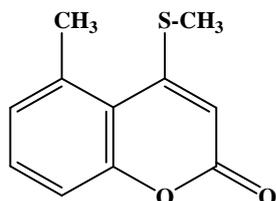
Les coumarines sont formées dans les différentes parties des plantes et s'accumulent essentiellement dans les fruits et les racines suivies par les feuilles et les écorces, ainsi que les tissus âgés ou lésés [14].

II-A-4 Diversité structurale

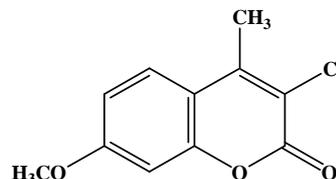
A part la coumarine, la 4-méthylthio-5-méthyl coumarine isolée de la plante *Onoseris hyssopifolia* [3], et la 3-chloro-7-méthoxy-4-méthyl-coumarine isolée récemment de *Ficus krishnae* [15] toutes les coumarines sont substituées par un groupe oxygéné sur une ou plusieurs des six positions du squelette principal.

Du point de vue structural, on les classe en coumarines simples avec des substituants sur le cycle du benzène (hydroxylées, alcoxylées et alkylées et leurs glycosides), les

furanocoumarines, les pyranocoumarines, di et trimères, et le dernier groupe sera celui des coumarines substituées en position 3 et ou 4 sur le cycle pyrone [16].



4-méthylthio-5-méthylcoumarine



3-chloro-7-méthoxy-4-méthylcoumarine

II-A-5 Structures chimiques

II-A-5-1 Les coumarines simples

Ces composés sont très répandues dans le règne végétal et plus de 700 structures sont déjà décrites [17]. La majorité des coumarines sont substituées en C7 par un hydroxyle. La 7-hydroxycoumarine connue sous le nom d'ombelliférone est précurseur des coumarines 6,7-di-et 6,7,8 trihydroxylées.

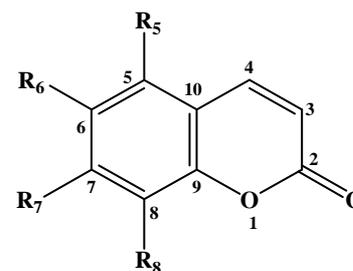
Les divers groupes hydroxylés en C6, C7 et C8 peuvent ensuite :

➤ Etre méthylés

Les coumarines les plus répandues dans le règne végétal possèdent des substitutions (OH ou OCH₃) en 6 et 7.

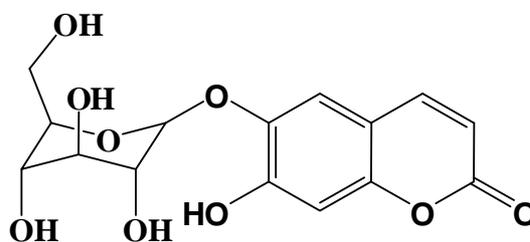
	Les coumarines aglycones		
	R6	R7	R8
Ombelliférone	H	OH	H
Herniarine	H	OCH ₃	H
Esculétol	OH	OH	H
Scopolétol	OCH ₃	OH	H
Scopanone	OCH ₃	OCH ₃	H
Fraxétol	OCH ₃	OH	OH
Hydrangétine	H	H	OCH ₃
Daphnétine	H	H	OH
Isoscopolétine	OH	H	OCH ₃

Isofraxidine	H	OH	OCH ₃
--------------	---	----	------------------



➤ **Ou être engagés dans une liaison hétérosidique.**

Quelques glucosides de coumarine				
Gluc = β-D-glucopyranosyloxy				
	Synonyme	R6	R7	R8
Skimmine	7-O-glucosyl-ombelliférone	H	Gluc	H
Esculoside	6-O-glucosyl-esculétol	Gluc	OH	H
Cichoriine	7-O-glucosyl-esculétol	OH	Gluc	H
Scopoline	7-O-glucosyl-6-méthoxycoumarine	OCH ₃	Gluc	H



Esculoside

Figure-06 : Exemples de structures de coumarines simples sous la forme aglycone ou hétérosidique.

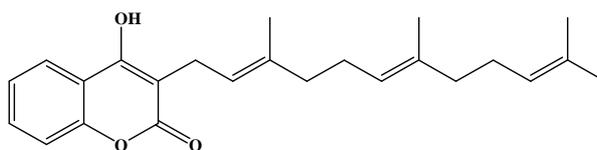
➤ Etre prénylées

Ces molécules peuvent aussi être associées avec des chaînes isopréniques en C₅, C₁₀ (monoterpènes) ou plus rarement C₁₅ (sesquiterpènes). Un élément structural commun à beaucoup de coumarines est la prénylation : O-prénylation, ou prénylation en C₆ ou en C-8 de l'ombelliférone ou de l'herniarine.

Les coumarines prénylées se rencontrent fréquemment dans la famille des Apiacées [18].

Elles sont très répandues dans le genre *Ferula* [19-21] surtout les éthers de coumarines-sesquiterpènes, des farnésyle coumarines cycliques.

On cite le féruléol et ses dérivés qui sont responsables de la toxicité de l'espèce *F. communis* var. *breviedia* qui provoque une maladie hémorragique mortelle (ferulosis) [22].



Féruléol

La réactivité importante de la chaîne isoprénique en C₅, en C₁₀, plus rarement, en C₁₅, explique l'existence d'un grand nombre de structure dérivées. (époxydées, mono-et dihydroxylées, cyclisées,.....etc.

La prénylation est également à l'origine des coumarines polycycliques, furano-et pyranocoumarines et dans quelques cas il peut y avoir formation d'un cycle.

Composés	Synonyme	R6	R7	R8
Auraptène	7-géraniloxy coumarine	H	O-géranyl	H
Subérosine	7-méthoxy-6-(3-méthyl-2-butényl) coumarine	amylényl	OCH ₃	H
Osthol	7-méthoxy-8-(3-méthyl-2-butényl)- coumarine	H	OCH ₃	Amylényl

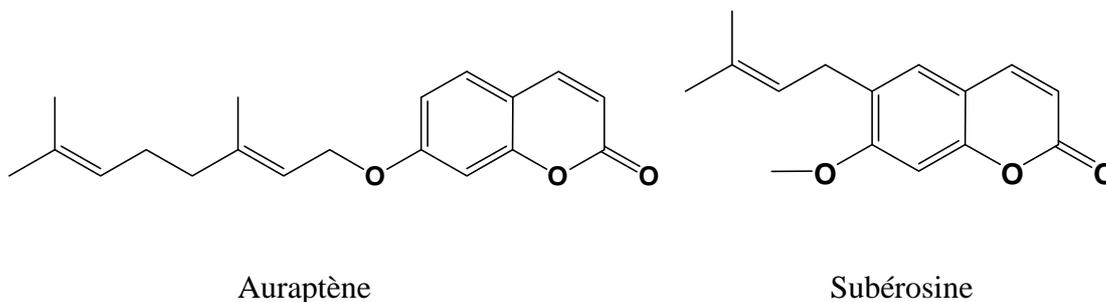


Figure-07 : Exemples de structures coumariniques prénylées.

II-A-5-2 Les coumarines complexes

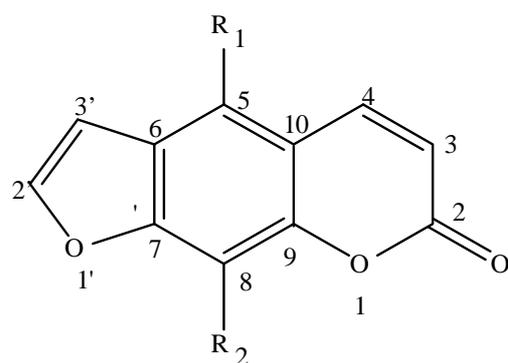
II-A-5-2-1 Les furocoumarines

Les furocoumarines sont des molécules tricycliques, produites par la condensation de deux hétérocycles, coumarine (ou benzo- α -pyrone) et furane. La position du cycle furane permet de distinguer deux types de furocoumarines : la série linéaire et la série angulaire. Les furocoumarines constituent une classe de molécules abondantes, où chaque membre se distingue par la présence de divers groupements (hydroxy, alkoxy, géranyloxy...) sur les carbones 5, 6 et 8 [23].

➤ La série linéaire

La série linéaire constitue le groupe très important des psoralènes, molécules hautement photosensibilisantes. Le noyau furane est en position 6-7. Les deux substituants R_1 et R_2 sont en position 5 et 8 ou encore en 2' et 3'.

Le psoralène a été isolé pour la première fois de *Psoralea corrylifolia*.

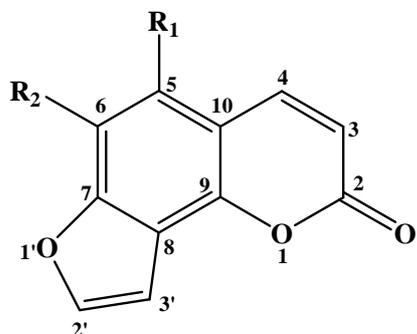


Nom	R_1	R_2
Psoralène	H	H
Bergaptène (5-MOP)	OCH ₃	H
Xanthotoxine (8-MOP)	H	OCH ₃
Bergaptol	OH	H
Xanthotoxol	H	OH
Isopimpinelline	OCH ₃	OCH ₃

Figure-08 : Structure chimique des principales furocoumarines linéaires.

➤ La série angulaire

Les molécules appartenant à ce groupe sont en général très peu photosensibilisantes. Le noyau furane est en position 7-8 et les deux substituants sont en position 5 et 6 ou encore en 2' et 3' (figure-09).



Nom	R ₁	R ₂
Angélicine	H	H
Isobergaptène	H	OCH ₃
Sphondine	OCH ₃	OH
Pimpinelline	OCH ₃	OCH ₃

Figure-09 : Structure chimique des principales furocoumarines angulaires.

➤ Les Dihydrofurocoumarines

Elles se distinguent des précédentes par la disparition de l'insaturation au niveau du cycle furane. Les principales dihydrofurocoumarines linéaires et angulaires sont représentées dans la (figure-10).

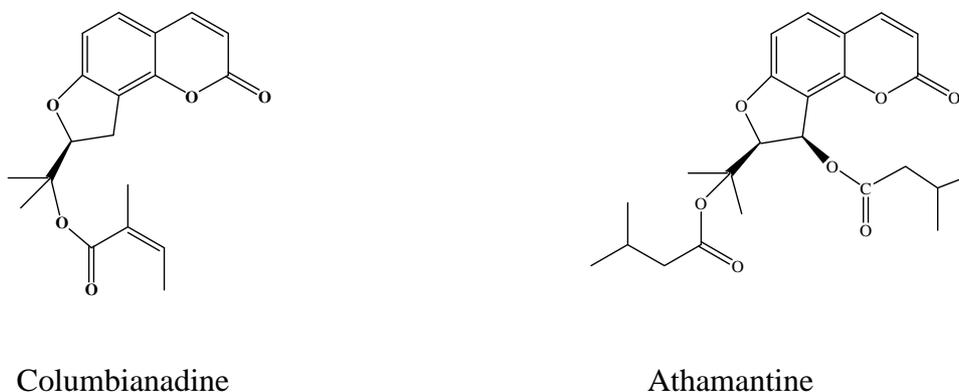
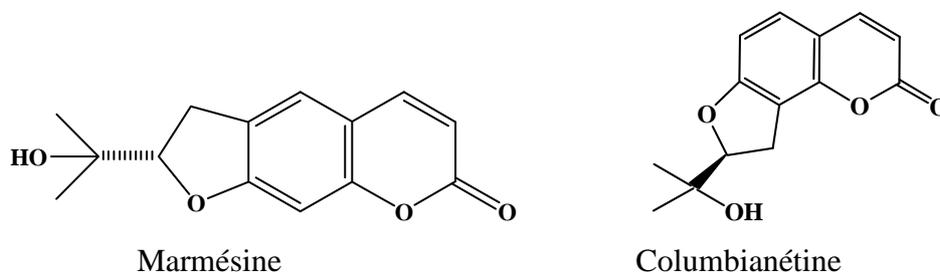


Figure-10 : Structures de quelques dihydrofurocoumarines.

On retrouve les furocoumarines majoritairement dans 4 familles taxonomiques : les Légumineuses (*Psoralea sp.* et *Coronilla sp.*), les Moracées (*Ficus carica*), les Rutacées (*Ruta graveolens*, *Citrus lemon*, *Citrus paradisi*, *Citrus bergamia*) et les Apiacées (*Ammi majus*, *Pastinaca sativa*, *Apium graveolens*, *Petroselinum crispum...*) [24].

. La répartition en furocoumarines varie d'une famille à l'autre. Alors que les Moracées et les Légumineuses ne synthétisent principalement que deux types de molécules (psoralène et bergaptène pour les Moracées ; psoralène et angélicine pour les Légumineuses), les Rutacées et surtout les Apiacées en synthétisent un large panel. Le bergaptène, la xanthotoxine et l'isopimpinelline constituent néanmoins les formes principales dans ces deux familles [25].

II-A-5-3 Les pyranocoumarines

II-A-5-3-1 Les pyranocoumarines simples

La plupart des pyranocoumarines sont décrites dans la famille des Rutacées [26, 27] et des Apiacées [29].

Composées formées par la fusion d'un hétérocycle pyrane avec la coumarine.

- Soit dans le prolongement (forme linéaire) xanthylétine
- Soit latéralement (forme angulaire) séseline, visnadine .

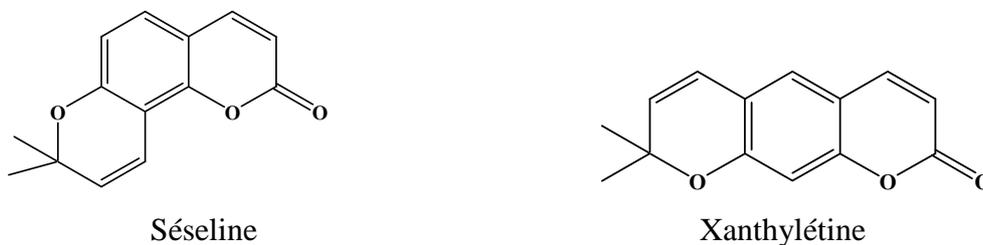


Figure-11 : Structures de quelques pyranocoumarines simples.

II-A-5-3-2 Les Dipyrano-coumarines

Les dipyrano-coumarines peuvent être classées en trois groupes bien distincts, selon que le substituant en position C4 de la lactone est soit un groupement n-propyle (calanolides), soit un groupement phényle (inophyllums), soit un groupement méthyle (cordatolides).

Ces composés peuvent se classer en quatre groupes élémentaires :

- Groupe 1 : Les dipyrano-coumarines tétracycliques, où le cycle C porte un groupe gem-diméthyle.

- Groupe 2 : les dipyrano-coumarines tétracycliques dont les cycles pyraniques C et D ont été inversés.
- Groupe 3 : Les pyrano-coumarines tricycliques qui comportent un équivalent non cyclique des cycles C ou D de la structure tétracyclique des classes précédentes.

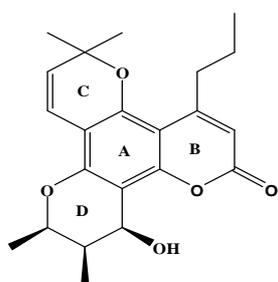
Certaines coumarines du groupe 3 sont des dihydrocoumarines dont la liaison C3-C4 est saturée.

Les coumarines des groupes 1 et 2 peuvent également être divisées en deux sous groupes, selon qu'elles comportent un cycle chromanol ou un cycle chromanone, dépendant de la nature de la fonction oxygénée portée par le carbone C4 dans les cycles 2,3-diméthylpyranes. Les pseudo-calanolides C et D avaient d'abord été identifiés comme faisant partie du groupe 1, avec un groupe *gem*-diméthyle sur le cycle C. Mais on s'est aperçu grâce aux déplacements chimiques en RMN ^1H qu'on avait affaire à des calanolides du groupe 2, où le groupe *gem*-diméthyle est porté par le cycle D [30, 31]. Les dipyranocoumarines se rencontrent largement dans le genre *Calophyllum* qui est un groupe d'arbres tropicaux constitué d'environ 200 espèces différentes, couvrant principalement la zone Indo-Pacifique [32].

Quelques exemples de coumarines classés par série

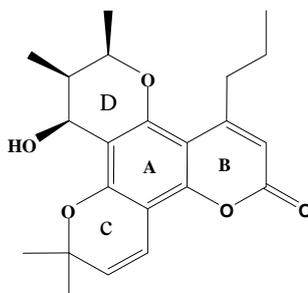
➤ La série des Calanolides

Groupe 1



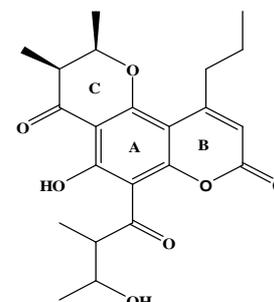
(+) –Calanolide A

Groupe 2

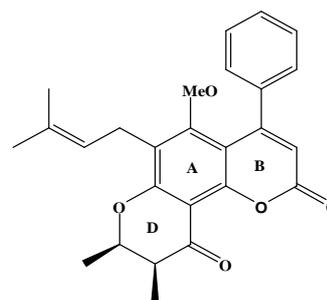
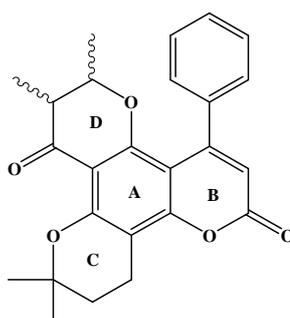
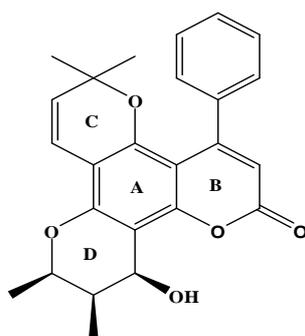


(+) –Pseudo-calanolide

Groupe 3



(+) –Calanolide E

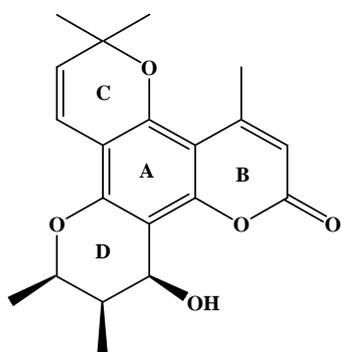


(+) –Inophyllum B

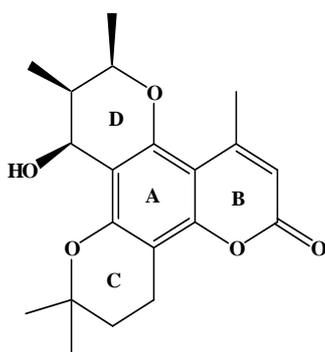
6,7-trans-Tomentolide A

(+) –Teysmanone B

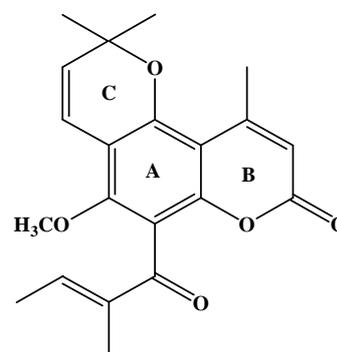
➤ **La série des Cordatolides :**



(+) – Cordatolide A



(+) –Pseudo- cordatolide A

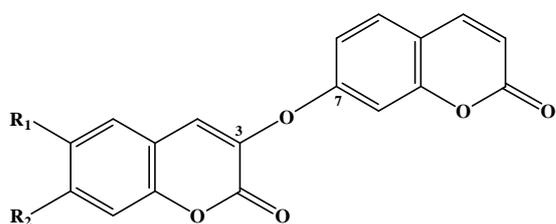


(+) – Cordatolide E

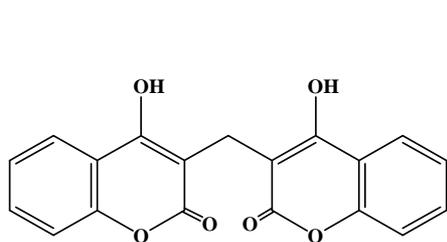
Les coumarines peuvent également exister à deux états :

II-A-5-4 Coumarines à l'état dimérique ou trimériques

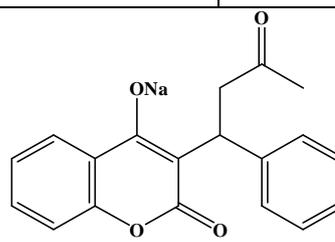
Ce sont des composés formés par la liaison de deux ou trois unités coumariques simples.



Composés	R ₁	R ₂
Daphinorétine	OCH ₃	OH
Rutamontine	OH	OCH ₃
Daphinorine	OCH ₃	O-Glu
Edgeworine	H	OH



Dicoumarol



Warfarine sodique

Figure-12 : Structures de coumarines à l'état dimérique.

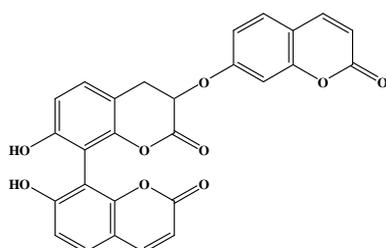
Le dicoumarol (figure-12), isolé du Mélilot gâté en 1941 par Link [1], est un anticoagulant antivitamine K. La warfarine, AVK obtenu par synthèse, dérivé de la 4-hydroxycoumarine. Elle est actuellement commercialisée en France sous le nom de COUMADINE® (comprimés sécables de 2 ou 10mg).

D'autres antivitaminiques K dérivés de la 4-hydroxycoumarine sont également commercialisés :

- L'acénocoumarol SINTROM 4 mg , MINISINTROM 1mg .
- Le tiocloमारol APEGMONE .

Les principales indications de ces médicaments sont la prévention de la maladie thrombo-embolique, le port de prothèses valvulaires mécaniques ou biologiques, les valvulopathies, la fibrillation auriculaire, l'infarctus du myocarde compliqué d'insuffisance cardiaque ou de trouble du rythme ou d'anévrisme, les embolies récidivantes.

Des coumarines trimères ont été isolées d'*Edgeworthia chrysantha* et d'*Edgeworthia gardneri* de la famille des Thymelacées [33, 34].

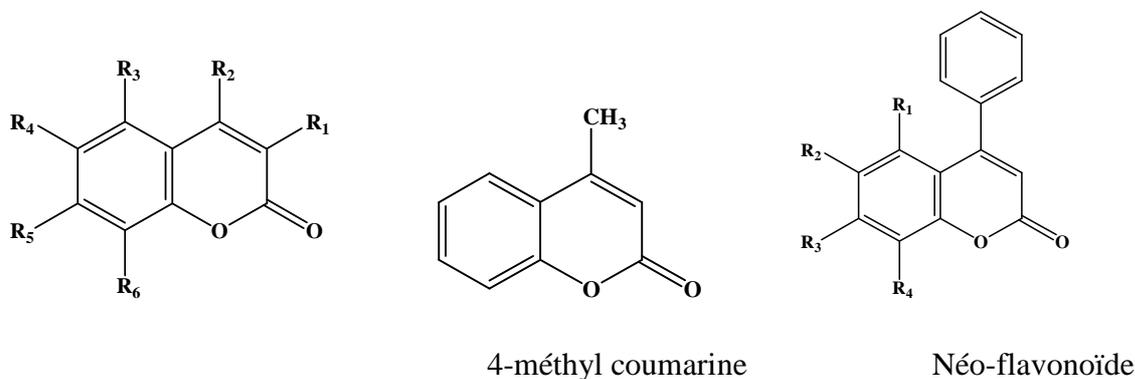


Edgeworoside A	(R=Rhamnose)
Edgeworoside B	(R=Glucose)

Figure-13 : Structure de coumarine à l'état trimérique.

II-A-5-5 Les coumarines substituées sur le cycle pyrone

Certaines coumarines sont substituées sur l'hétérocycle pyrone en C3 et ou C4 exemple la 4-méthyl coumarine. Lorsque le substituant R_2 est un groupe phényle la molécule appartient aussi à la famille des néo-flavonoïdes ou les 4-arylcoumarines.



II-A-6 Nomenclature

Les coumarines sont désignées en ajoutant au nom de la structure de base, les noms et positions des résidus supplémentaires. La plupart des furocoumarines ont cependant des dénominations reprenant le nom des plantes dans lesquelles elles ont été décrites pour la première fois (le bergaptène présent dans *Citrus bergamia*, la rutarétine ou la rutarine dans *Ruta graveolens*), ou bien encore liées à leurs propriétés (la xanthotoxine pour sa couleur et son activité biologique). On désigne dans certains cas l'isomère linéaire ou angulaire d'une molécule par le préfixe iso- comme par exemple dans le cas de l'isopimpinelline [3].

II-A-7 Voies de biosynthèse

II-A-7-1 Voie générale de biosynthèse des phénylpropanoïdes

Les phénylpropanoïdes sont des métabolites secondaires synthétisés par les plantes supérieures dont le précurseur est la phénylalanine, ainsi que la tyrosine chez les monocotylédones. La synthèse des acides aminés aromatiques (Phe, Tyr) est issue de la voie de synthèse du shikimate qui débute par une aldolcondensation entre le phosphoénolpyruvate et l'érythrose-4-phosphate (produit intermédiaire du cycle de Calvin) pour former un composé en C7. Ce composé va ensuite se cycliser en un dérivé du cyclohexane et va subir une déshydroxylation suivie d'une réduction pour former le shikimate. Celui-ci va subir une cascade de réactions menant à la synthèse de la phénylalanine (figure-13)

A partir de la phénylalanine, la voie de biogenèse des phénylpropanoïdes permet la synthèse de dérivés du phénylpropane dont le squelette de base est un composé en C6C3.

La voie des phénylpropanoïdes constitue le point de départ de la synthèse de divers métabolites (figure-14) [35].

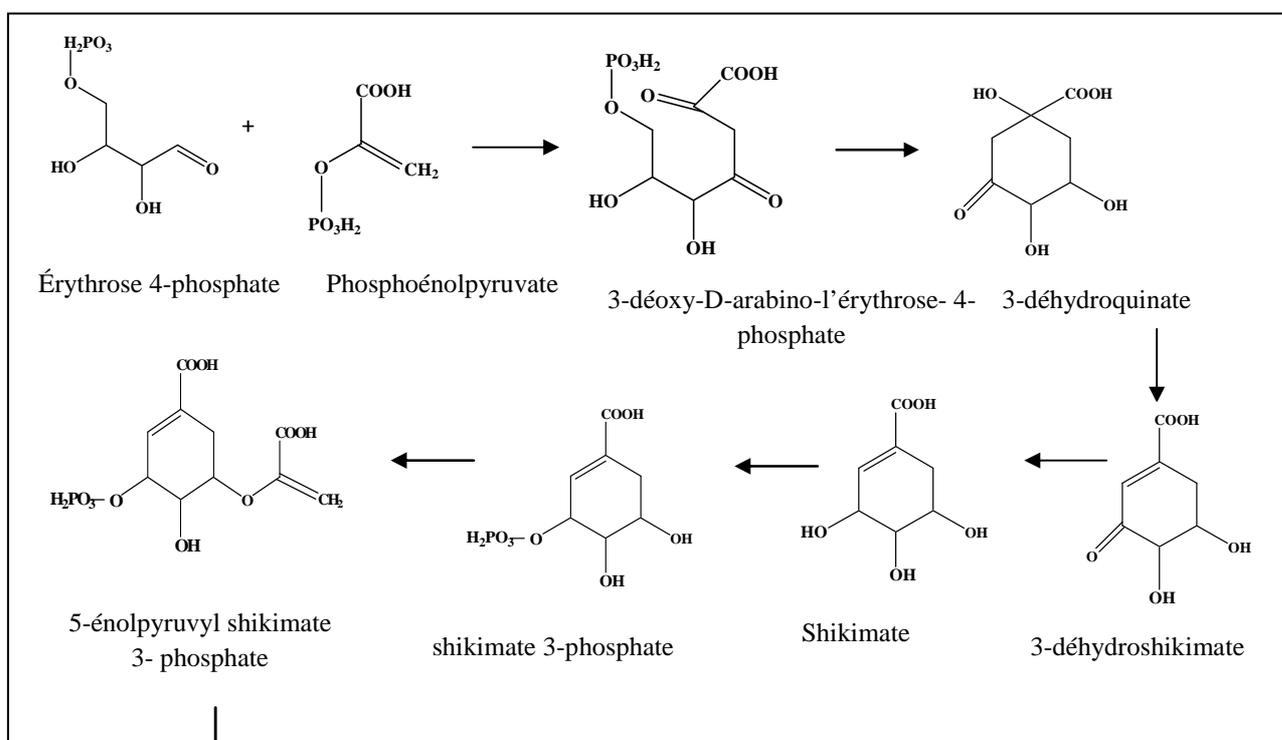


Figure-13: Représentation de la voie de biosynthèse de la phénylalanine [12].

La conversion de la phénylalanine en acide cinnamique par la phénylalanine ammonia-lyase (PAL) marque l'entrée dans la voie des phénylpropanoïdes (figure-14).

La déamination oxydative de la phénylalanine en acide cinnamique est catalysée par la L-phénylalanine ammonia-lyase (PAL). La PAL est une enzyme clé à l'embranchement des voies de biosynthèse des phénylpropanoïdes et des acides aminés aromatiques. L'acide p-coumarique se forme en général par hydroxylation de l'acide cinnamique grâce à la cinnamate 4-hydroxylase (C4H) qui est une enzyme membranaire du réticulum endoplasmique. Néanmoins, on peut également avoir une déamination oxydative de la tyrosine en acide p-coumarique, réaction catalysée par la L-tyrosine ammonia-lyase (TAL).

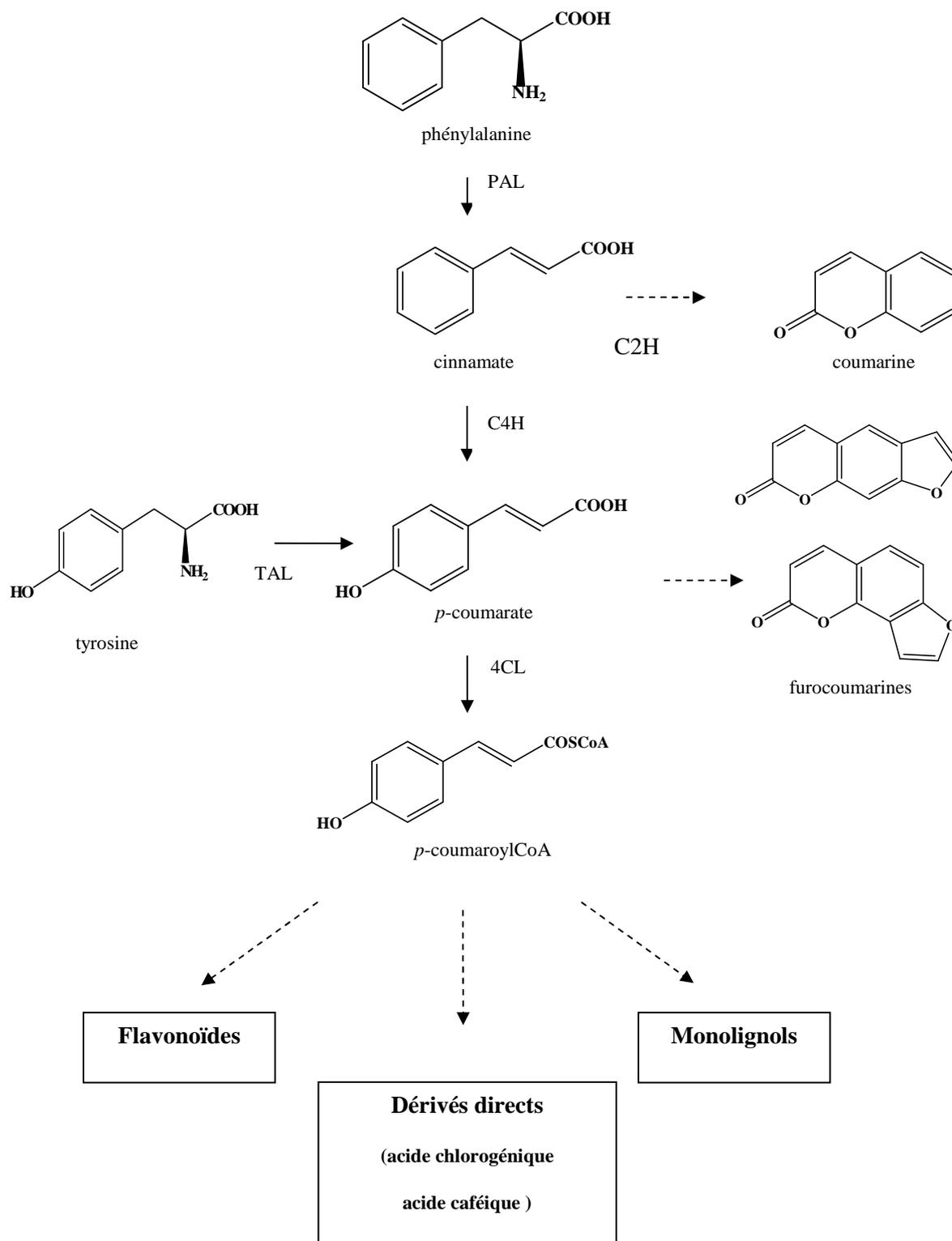


Figure-14 : Représentation partielle de la voie de biosynthèse des phénylpropanoïdes. PAL : Phénylalanine Amonia-lyase ; TAL : Tyrosine Amonia-Lyase ; C4H : Cinnamate 4-Hydroxylase ; 4CL : *p*-Coumarate CoA Ligase [12].

II-A-7-2 Voie de biosynthèse des coumarines simples

Les coumarines simples sont issues du métabolisme de la phénylalanine via un acide cinnamique qui peut suivre ensuite deux voies : la première est initiée par une hydroxylation en position 2 (ortho-hydroxylation) par l'enzyme cinnamate 2-hydroxylase (C2H) [36], il y a ensuite isomérisation photocatalysée de la double liaison trans/cis et lactonisation (réaction spontanée) (figure- 15). Cette voie conduit aux coumarines «vraies». La seconde voie, beaucoup plus classique implique une hydroxylation du cinnamate en position 4 par l'enzyme cinnamate 4-hydroxylase (C4H). L'acide *p*- coumarique ensuite est hydroxylée en position 2 donnant l'acide 2,4-dihydroxycinnamique qui conduit à l'ombelliférone (figure-15) [37].

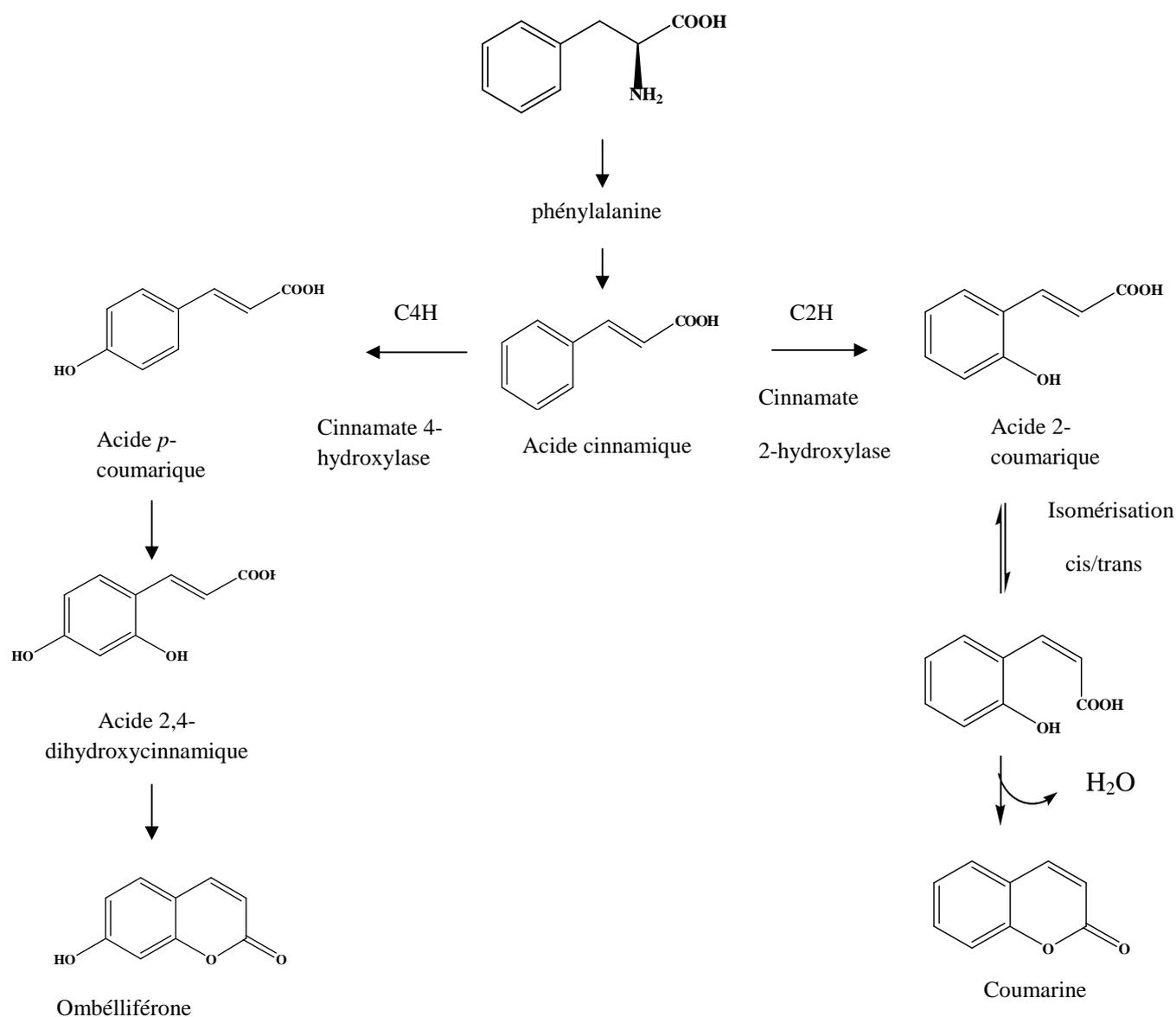


Figure-15 : Schéma récapitulatif des voies de biosynthèse des coumarines simples et l'Ombelliférone [36].

II-A-7-3 Voie de biosynthèse des furocoumarines

La voie de biosynthèse des furocoumarines, présente chez un nombre assez restreint d'espèces, implique la 2-hydroxylation du p-coumarate par l'enzyme coumarate 2-hydroxylase (C2H). De manière plus générale, on présumait que les hydroxylation en *ortho* des C6C3 étaient faites par des enzymes à cytochrome P450 [37].

Le 2,4-dihydroxycinnamate va ensuite se condenser par estérification intramoléculaire (lactonisation) pour former l'ombelliférone [38]. Ensuite, l'ombelliférone est prénylée par l'ajout d'une unité isoprène, le diméthylallylpyrophosphate (DMAPP). Le groupement prényl peut être ajouté sur les carbones C6 ou C8 de l'ombelliférone, orientant la synthèse respectivement vers les furocoumarines linéaires ou angulaires. L'enzyme catalysant cette réaction est la diméthylallyl transférase (aussi appelée diméthylallylpyrophosphatase) [39].

La déméthylsubérosine est convertie en (+)-marmésine par cyclisation intramoléculaire entre l'hydroxyle en C7 et la fonction alcène du prényl en C6 par la marmésine synthase. Cette étape est catalysée par un cytochrome P450 localisé dans le réticulum endoplasmique chez *Ammi majus* [40].

La (+)-marmésine est ensuite métabolisée en psoralène par libération d'une molécule d'acétone. Là aussi, cette étape est catalysée par un cytochrome P450 localisé dans le réticulum endoplasmique chez *Ammi majus* [40]. L'enzyme réalisant la conversion de la (+)-marmésine en psoralène, i.e la Psoralène Synthase, a été clonée par la suite à partir de cellules élicitées d'*Ammi majus* [41].

L'hydroxylation en position 5 et 8 du psoralène génère la formation de xanthotoxol et bergaptol, cette double hydroxylation séquentielle est nécessaire pour permettre la formation du 5,8-dihydroxy-psoralène, précurseur physiologique majeur de l'isopimpinelline.

La O-méthylation du bergaptol et du xanthotoxol est catalysée par la O-méthyltransférase, pour finalement donner la xanthotoxine et le bergaptène [42].

La (figure-16) rassemble les voies de biosynthèse possible conduisant aux furanocoumarines linéaires et angulaires.

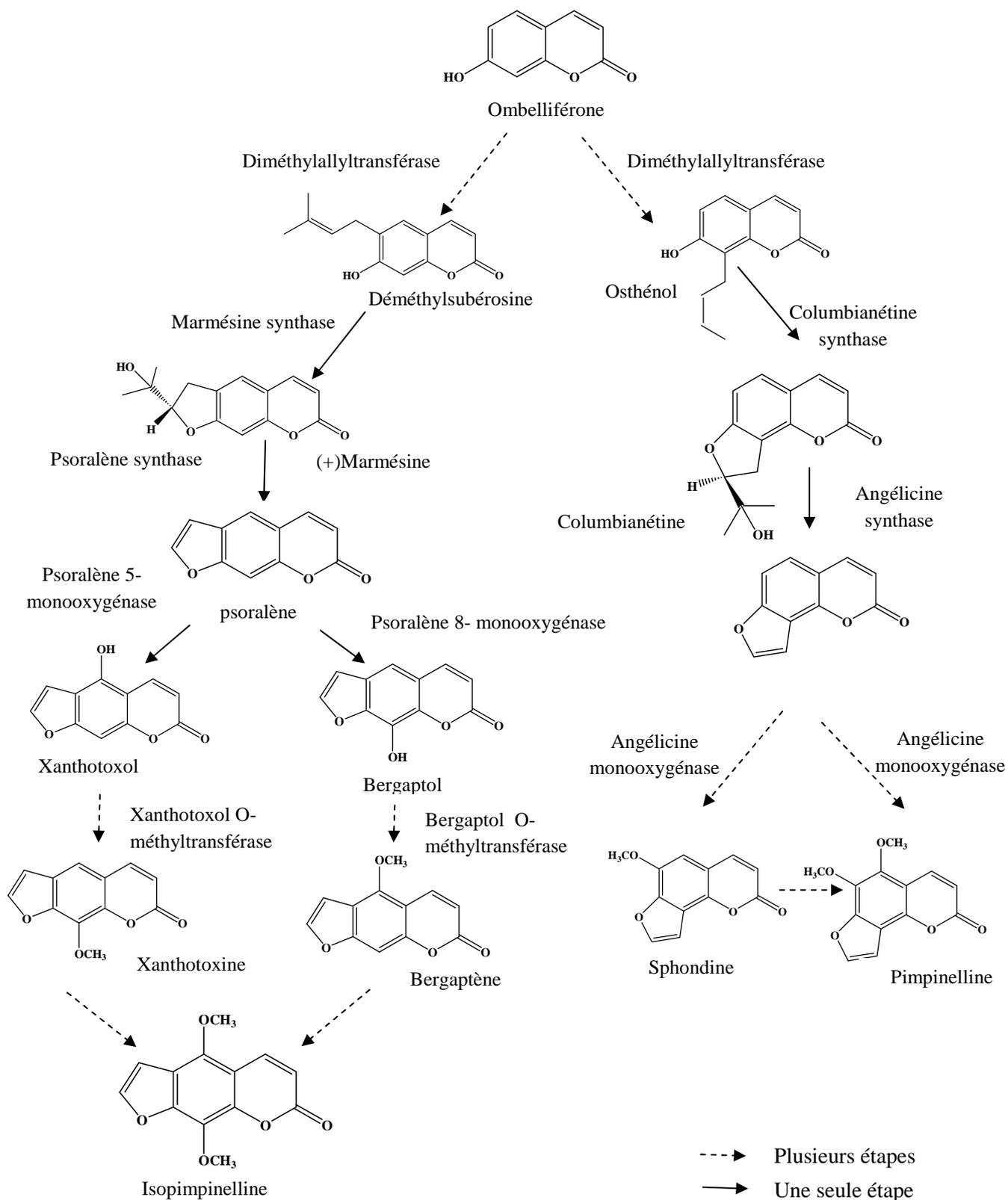


Figure-16 : Schéma récapitulatif des voies de biosynthèse des furanocoumarines [37].

II-A-8 Activités biologiques

Les coumarines possèdent de nombreuses propriétés biochimiques et pharmacologiques et leurs activités dépendent de la structure et de la nature des substituants [43-45]. On peut citer par exemple, des activités de réduction d'œdèmes [46-48], de vasodilatation [49,50], anti-inflammatoire [51,52], antimicrobienne [53-57], antivirale [58], antifongique [59], antiplasmodiale [60], anticonvulsivante [61-63], antitumorale [64,65], anticancéreuse [66, 67], d'inhibition d'enzyme [68, 69]. Elles peuvent aussi manifester des effets œstrogéniques [70], anti-néoplasiques [71]. Elles inhibent l'agrégation plaquettaire [72] ainsi que l'activité de l'acétylcholinestérase [73-75].

Kaneko [76] et Zhang [77] ont étudié en particulier l'influence de la structure des coumarines sur leur activité antiradicalaire. Ils ont mis en évidence que la structure caractéristique des coumarines, c'est-à-dire la 1,2-pyrone, affecte peu l'activité antioxydante de ces molécules. Par contre, la présence d'une fonction catéchol a un rôle important pour les propriétés antiradicalaires.

Activité	Facteurs accroissant l'activité
Antiradicalaire	-Nombre de groupements OH libre -La présence d'une partie catéchol
Inhibition de la xanthine oxydase	-Absence de groupement en C5 -Présence de la double liaison C4-C3 -Groupement OH libres en C7,C6 -La petite taille des groupements substituants la position C4
Cytotoxique	-Présence d'une partie catéchol -2 groupements phénoliques en positions 6,7 ou en 6,8

Tableau-01 : Effet de la structure sur les activités antioxydante, inhibitrice d'enzyme et cytotoxique des coumarines [76,78, 79, 44].

Les coumarines ont un potentiel cytotoxique pouvant s'avérer intéressant dans le cas d'un traitement antitumorale [44]. En effet, il est apparu que la cytotoxicité des coumarines est dépendante de la cellule ciblée. De par leur propriété chélatante, antioxydante et anticoagulante [80], les coumarines apparaissent comme des molécules potentiellement cytotoxiques à intérêts thérapeutiques [44].

D'une manière générale, les coumarines sont considérées comme des phytoalexines produites en réponse à des attaques pathogènes ou des stress abiotiques [81]. Des études ont d'ailleurs confirmé l'activité insecticide et larvicide des furocoumarines [82, 83].

La protection des plantes contre les herbivores, les insectes et les microorganismes pathogènes est due aux propriétés phototoxiques de ces molécules [84].

Chez les humains, les furocoumarines sont à l'origine de problèmes de photosensibilisation. Bien que ce phénomène de photosensibilisation soit incommode pour les personnes saines, il est en revanche mis à profit dans le traitement de certaines pathologies de la peau telles que le vitiligo ou le psoriasis [85].

L'utilisation des furocoumarines est retrouvée dans le cadre des nouveaux développements des divers domaines thérapeutiques, comme le traitement symptomatique de multiples scléroses [86], la photochimiothérapie de lymphome à cellules T [87] et la chimiothérapie de tumeurs résistantes à la polychimiothérapie [88].

II-A-9 Propriétés physico-chimiques

II-A-9-1 Caractères physiques

Les coumarines sont des solides cristallisés blancs ou jaunâtres de saveur généralement amère et présentant une odeur plaisante et caractéristique.

Le point de fusion de la coumarine se situe vers 68-70°C et son point d'ébullition est de 303°C [2].

II-A-9-2 Solubilité

Les propriétés chimiques sont principalement dues à la fonction lactone insaturée, notamment l'ouverture de l'anneau lactonique en milieu alcalin [12].

La coumarine est largement soluble dans l'éthanol, le chloroforme et les huiles, alors qu'elle est soluble en petite quantité dans l'eau bouillante et légèrement soluble dans l'eau à 20°C [2].

Les coumarines libres sont solubles dans les alcools et dans les solvants organiques tels que l'éther ou les solvants chlorés, avec lesquels on peut les extraire [2].

Les formes hétérosidiques sont plus ou moins solubles dans l'eau, et sont solubles dans l'alcool [12].

Certaines coumarines sont sublimables et entraînaient à la vapeur d'eau.

Elles forment des combinaisons insolubles avec les sels de plomb [1].

L'extraction est faite par l'éthanol ou les solvants organiques ; on peut les isoler à l'état de complexes plombiques [1].

II-A-9-3 Détection

5ml d'extrait étheré obtenu après une macération de 24 heures sont évaporés à l'air libre, puis repris avec 2ml d'eau chaude. La solution est partagée entre 2 tubes à essai. La présence de coumarines est révélée après ajout dans l'un des tubes de 0,5 ml de NH₄OH à 25% et observation de la fluorescence sous une lampe UV à 366nm. Une fluorescence intense dans le tube où il a été ajouté l'ammoniaque indique la présence de coumarines.

II-A-9-4 Isolement

Les procédures d'isolement se réalisent pour la plupart des coumarines par des extractions successives à l'aide de solvants de polarité croissante. Ainsi, l'éther de pétrole est fréquemment utilisé comme premier solvant. La plupart des produits coumariniques oxygénés n'étant pas solubles dans ce dernier, cette extraction est suivie de l'emploi de méthanol et éthanol comme solvants. Cette technique permet d'obtenir la cristallisation des glycosides coumariniques.

II-A-9-5 Caractérisation

La plupart des propriétés physico-chimiques citées précédemment sont mises à profit pour la mise en évidence et l'identification des coumarines. Il est possible de séparer et de caractériser les coumarines par les techniques de chromatographie sur couche mince (CCM), de chromatographie gazeuse (GC) [89, 90], et de chromatographie liquide haute performance (HPLC) [91-93].

II-A-9-6 Fluorescence sous la lumière UV

Les coumarines sont caractérisées par une fluorescence sous UV à 366 nm de couleur bleue, violette ou rose, vert, jaune ou pourpre [94, 95]. Cette fluorescence est en général :

- Bleue pour les coumarines hydroxylées en 7 (Umbélliférone).
- Pourpre pour les coumarines prénylées.
- Jaune pour les furanocoumarines [95].

Cette fluorescence est intensifiée sur le chromatogramme, observé sous la lumière UV par les vapeurs de NH_3 , par pulvérisation du chromatogramme par le réactif de Bornträger ou l'acétate de plomb.

II-A-10 Analyse structurale

➤ Spectroscopie infrarouge IR :

Cette technique fournit des informations sur les groupements fonctionnels d'une molécule. Pour les coumarines :

- L'absorption $\text{C}=\text{O}$ de la lactone conjuguée apparaît pratiquement dans la région $1550\text{-}1750\text{ cm}^{-1}$ [96, 45].
- L'absorption OH du phénol est observée à 3550 cm^{-1} .

➤ Spectroscopie ultraviolette UV :

Les coumarines ont un spectre UV caractéristique, fortement influencé par la nature et la position des substituants et profondément modifié en milieu alcalin : KOH , NaOH , NaOCH_3 et en présence de AlCl_3 qui forme un complexe avec les hydroxyles portés par des carbones adjacents, ce qui induit un déplacement bathochrome [12].

Pour la coumarine, les absorptions maximales sont présentées dans deux bandes à 276 cm^{-1} et 311 cm^{-1} . La présence des substituants alkylés induit des modifications des valeurs de la bande en 311 cm^{-1} qui est déplacée vers 325 cm^{-1} [3]. Selon la position des OH , le déplacement est plus au moins fort [12].

➤ Spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

En RMN du proton, l'observation d'une paire de doublets de constante de couplage 9,5 Hz, centrés entre δ 6,1-6,4 et entre δ 7,5-8,3 (CDCl_3) correspond respectivement aux signaux des

protons H3 et H4 et est caractéristique d'une coumarine non substituée sur le cycle pyrone. Cependant la présence d'une oxygène ou d'un substituant alkyle en C5, décale de façon caractéristique la résonance du proton H4 vers δ 7,9-8,2 ppm [97, 98].

➤ Spectrométrie de masse

Les spectres de masse en impact électrique (I.E.) des coumarines dans les cas particuliers des hydroxycoumarines et des alcoxycoumarines montrent un pic de base correspondant à la perte du monoxyde de carbone (CO), une particule neutre fortement stable provenant du cycle pyrone-carbonyl de l'ion moléculaire. S'il y a plusieurs groupements CO dans une molécule, ils peuvent être éliminés les uns après les autres [99, 100].

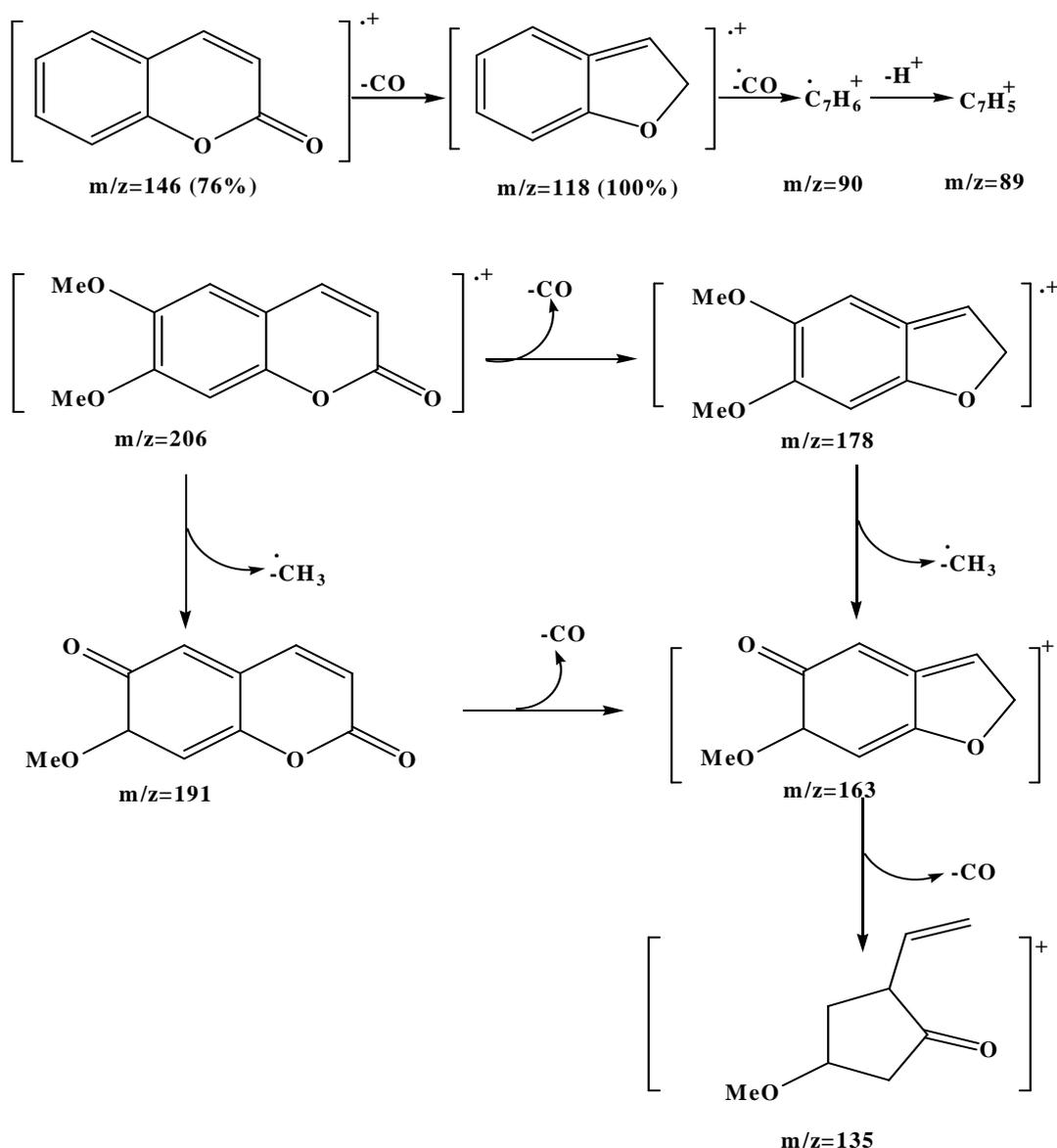


Figure-17 : Exemple de fragmentation en SM des coumarines [99, 100].

II-B Les huiles essentielles

II-B-1 Définition

Selon la Pharmacopée Européenne, 7^{ème} édition définit l'huile essentielle comme : «produit odorant et volatil généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit

- par entraînement à la vapeur d'eau, soit
- par distillation sèche, soit
- par un procédé mécanique sans chauffage.

Une huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition».

II-B-2 Propriétés physico-chimiques [12]

- Ce sont des liquides rarement visqueux (myrrhe) ou cristallisés à température ambiante (camphre).
- Elles sont volatiles, ce qui les oppose aux huiles grasses (huile de noisette, huile d'avocat, huile d'olive, etc...). Cette volatilité leur confère leur caractère odorant et est à la base d'un de leur mode d'obtention à partir du végétal (l'entraînement à la vapeur d'eau).
- Elles sont pour la plupart, plus légères que l'eau et non miscibles, très peu solubles, pour la plupart insolubles dans l'eau.
- Elles sont actives sur la lumière polarisée et ont un indice de réfraction élevé.
- Elles sont totalement solubles dans les huiles grasses, particulièrement solubles dans les alcools à titres élevés et les solvants organiques.
- Elles ne sont que très rarement colorées.

II-B-3 Localisation et structure histologique des huiles essentielles

Toutes les parties des plantes aromatiques peuvent contenir de l'huile essentielle [101].

- Les fleurs bien sur, exemples : orange, rose, lavande ; le bouton floral (girofle) ou les bractées (ylang-ylang).
- Les feuilles le plus souvent, exemples : eucalyptus, menthe, thym, laurier, sarriette, sauge, aiguilles de pin, de sapin.

- Les organes souterrains, exemples : racines (vétiver), rhizomes (gingembre, acore)
- Les fruits, exemples : fenouil, anis, épicarpes des Citrus.
- Les graines : noix de mescalade, coriandre.
- Le bois et les écorces, exemple : cannelle, santal, bois de rose.

Les huiles essentielles sont produites par diverses structures spécialement différenciées dont le nombre et les caractéristiques sont très variables.

- Les poils sécréteurs épidermiques rencontrés souvent chez les Lamiacées, Géraniacées et Verbénacées. Ils produisent les essences dites superficielles.
- Les organes sécréteurs sous-cutanés comprenant des cellules et des poches sécrétrices qui sont généralement disséminées au sein du tissu végétal chez les Myrtacées, Rutacées, ainsi que des canaux sécréteurs chez les Apiacées.

La composition chimique d'une huile essentielle peut varier considérablement :

- Dans une même plante selon les organes (feuille, fleur, fruit, bois).
- Dans l'année selon la saison pour une même plante.
- Selon les conditions de culture pour une même espèce végétale (ensoleillement, humidité, longueur du jour, fertilité du sol).
- Selon les races chimiques (ou chemotypes) pour une même espèce (l'exemple classique est le thym avec 7 races chimiques).

II-B-4 Rôle écologique

Parmi les composants majoritaires des huiles essentielles, nous trouvons les terpénoïdes qui possèdent un rôle écologique lors des interactions végétales, comme agents allélopathiques, c'est-à-dire inhibiteurs de la germination, mais aussi lors des interactions végétal-animal, comme agent de protection contre les prédateurs tels que les insectes. Ils interviennent également, par leurs odeurs caractéristiques, dans l'attraction de pollinisateurs [102].

II-B-5 Les méthodes d'extraction

II-B-5-1 L'hydrodistillation

L'hydrodistillation est sans aucun doute le procédé chimique le plus ancien. En effet il fut importé en Europe par les Arabes entre le VIII^{ème} et le X^{ème} siècle mais le principe était déjà connu et utilisé par les Egyptiens dès le IV^{ème} siècle après J.C. Il est aussi le plus utilisé, le

plus rentable et celui convenant le mieux à l'extraction des molécules en vue d'une utilisation thérapeutique [103]. Cette méthode peut facilement être reproduite en laboratoire et ne nécessite pas beaucoup de matériel. Elle est réalisée en 2 étapes. La partie de la plante contenant la molécule à extraire est placée dans un ballon avec de l'eau et quelques morceaux de pierre ponce pour assurer le brassage de la solution. L'eau est portée à ébullition entraînant avec elle les molécules aromatiques. En passant dans un réfrigérant, les vapeurs sont condensé et l'huile essentielle se sépare par différence de densité.

Après avoir laissé reposer le contenu quelques secondes, il est possible d'éliminer totalement l'eau aromatique [104].

II-B-5-2 L'hydrodistillation assistée par micro-ondes

Il existe divers exemples d'application de cette technique à l'extraction de certains organes végétaux (hydrodistillation par micro-ondes, entraînement par micro-ondes et extraction par solvants organiques assisté par micro-onde).

Le matériel végétal est placé en présence d'une quantité d'eau suffisante ou de solvant dans un ballon disposé dans l'enceinte du four à micro-ondes. L'ensemble étant chauffé sans jamais atteindre l'ébullition durant de courtes périodes. Ce procédé consiste à irradier par micro-ondes de la matière végétale et d'atteindre directement les systèmes glandulaires et vasculaires du végétal. Le système de réfrigération ainsi que la partie prévue pour la récupération des essences sont situés à l'extérieur du four [105, 106].

II-B-5-3 L'hydrodistillation assistée par ultrasons

Les microcavitations générées par les ultrasons, désorganisent la structure des parois végétales, notamment les zones cristallines cellulosiques. Les ultrasons favorisent la diffusion et peuvent modifier l'ordre de distillation des constituants des huiles essentielles. Dans certains cas, les rendements en huile essentielle sont augmentés et les cinétiques accélérés. L'utilisation des ultrasons pendant l'hydrodistillation est inefficace. Une unité d'hydrodistillation équipée d'une fontaine d'ultrasons peut permettre d'atteindre plus vite le point d'ébullition, mais ne dégonfle pas les bulles [107, 108].

II-B-5-4 Entraînement à la vapeur d'eau

A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. Le principe de la distillation à la vapeur d'eau consiste à faire passer la vapeur d'eau à travers la plante à une température adéquate pour détruire les cellules végétales, libérer les molécules aromatiques et les entraîner dans un serpentin de refroidissement. Là, les vapeurs refroidies retournent à l'état liquide formant un mélange «eau + huile essentielle». Recueillies dans un essencier, l'huile essentielle et l'eau florale se séparent par simple différence de densité. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile [109].

II-B-5-5 Hydrodiffusion

L'hydrodiffusion est une variante de l'entraînement à la vapeur. Dans le cas de l'hydrodiffusion, le flux de vapeur n'est pas ascendant. Cette technique exploite ainsi l'action osmotique de la vapeur d'eau. Le principe de cette méthode réside dans l'utilisation de la pesanteur pour dégager et condenser le mélange «vapeur d'eau-huile essentielle» dispersé dans la matière végétale. Comme pour l'entraînement à la vapeur d'eau, l'hydrodiffusion présente l'avantage de ne pas mettre en contact le matériel végétal et l'eau [109, 110].

II-B-5-6 L' «expression» par solvant volatil

Le matériel végétal dont on veut extraire une huile est placé sur des grilles puis dans des cuves appelées extracteurs. On les remplit de solvant et on effectue ainsi plusieurs extractions successives. Le mélange est ensuite envoyé dans un décanteur où on le laisse reposer. Cette phase de repos va permettre d'obtenir deux phases: celle au fond contiendra l'eau contenue dans les plantes, l'eau étant plus lourde que le solvant celui-ci sera à la surface. Les huiles essentielles étant très solubles dans le solvant se retrouvent dans la même phase, il suffit donc d'éliminer l'eau. Ensuite on évapore le solvant afin d'obtenir l'huile essentielle. On obtient ainsi une «concrète» si le matériel végétal de départ consiste en fleurs fraîchement cueillies, ou un «résinoïde» s'il est composé de racines, graines ou mousses. Après obtention des extraits, on effectue dans le cas des «concrètes» un lavage à l'alcool dans des batteuses pour séparer les cires végétales. Ces cires sont ensuite éliminées grâce à un glaçage (action du froid) ainsi qu'une filtration. Par évaporation de l'alcool on obtient «l'absolu de concrète». Le «résinoïde» peut être lui utilisé tel quel [103].

II-B-5-7 L' «expression» mécanique

Cette technique est utilisée pour extraire les huiles essentielles des agrumes de la famille des Rutacées (citron, orange, mandarine, ainsi que la bergamote qui est issue d'un greffon de citronnier et de bigaradier). C'est une méthode assez simple qui consiste à briser mécaniquement (abrasion, compression, incision, perforation, ...) les poches à essence (souvent au niveau de l'écorce ou péricarpe du fruit) pour recueillir un mélange d'essences odorantes et d'eau.

Dans le cas des agrumes, on parle d' "essence" et non d'huile essentielle car aucune modification chimique liée à des solvants ou à la vapeur n'a lieu (contrairement à l'hydrodistillation ou à l'extraction par solvants volatils où cette modification est possible) [111].

II-B-5-8 L'enfleurage

On distingue deux types d'enfleurage: à froid ou chaud; L'enfleurage à froid consiste à piquer des fleurs fraîches dans de la graisse, cette dernière absorbant ainsi les molécules odorantes. On remplace régulièrement des fleurs pour gorger au maximum les graisses (on estime qu'un kilo de graisse absorbe trois kilos de fleurs). C'est ce qu'on appelle le défleurage. La graisse est ensuite lavée à l'alcool dans des batteuses, on évapore l'alcool et on obtient ainsi une absolue de pommade.

L'enfleurage à chaud (ou digestion) consiste quant à lui à faire fondre dans de grandes marmites au bain-marie de la graisse à laquelle on ajoute les fleurs. On renouvelle les fleurs tous les deux jours environ. Puis on filtre le tout à travers plusieurs couches de tissus (lin et coton) afin de séparer la graisse inutile de la pommade. On peut utiliser cette pommade telle quelle ou la traiter par la même méthode que pour l'enfleurage à froid afin d'obtenir une absolue [111].

II-B-5-9 L'extraction au CO₂ supercritique

Le terme supercritique signifie que le CO₂, sous pression et à une température de 31°C, se trouve entre l'état liquide et l'état gazeux. Lorsqu'il est dans cet état, le CO₂ est capable de dissoudre de nombreux composés organiques et c'est cette même propriété dont les fabricants se servent pour extraire les huiles essentielles. La matière végétale est chargée dans l'extracteur où est ensuite introduit le CO₂ supercritique (sous pression et réfrigéré). Le mélange est ensuite recueilli dans un vase d'expansion où la pression est considérablement réduite. Le CO₂ s'évapore et il ne reste plus que l'huile essentielle [112, 113].

II-B-5-10 Turbodistillation

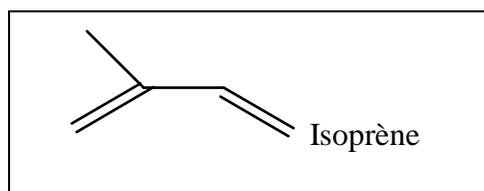
C'est une hydrodistillation accélérée en discontinu. Son objectif est de limiter les inconvénients dus soit à une longue durée d'extraction, soit à une superpression. Pour activer la distillation à la pression atmosphérique, l'alambic est équipé d'une turbine qui permet, d'une part la dilacération des matières végétales et, d'autre part un meilleur coefficient de transfert thermique grâce à l'agitation turbulente et l'augmentation de la surface de vaporisation. Le procédé permet en outre la récupération des fractions les plus volatiles grâce à un système de condensation secondaire. La présence d'une colonne à plateaux contribue à l'enrichissement des vapeurs en huile essentielle, d'où une amélioration du rapport d'entraînement. Un système de cohobage recycle les eaux aromatiques en tête de colonne afin de favoriser l'entraînement des composés non décantés [114].

II-B-6 Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont constituées principalement de deux groupes de composés odorants distincts. Il s'agit des terpènes, prépondérants dans la plupart des essences, et des dérivés du phénylpropane, retrouvés en tant que composés majoritaires dans quelques-unes. Divers autres constituants minoritaires leurs sont associés. De nombreux dérivés porteurs de fonctions chimiques variées sont également considérés comme des composés terpéniques.

II-B-6-1 Principales structures chimiques terpéniques

Le mot «terpène» tire son origine du mot térébenthine. En 1818, la térébenthine a été découverte comme étant un mélange d'hydrocarbures avec un ratio carbone/hydrogène de 5/8. Les isoprénoides ont une structure plus ou moins complexe issue de la condensation de molécules à chaîne carbonée linéaire à 5 atomes de carbone qui dérivent du 2-méthylbutadiène (isoprène). Le chimiste Ruzicka proposa une nomenclature pour les dérivés isopréniques en fonction du nombre d'unités d'isoprène qui les constituent : monoterpène C10, sesquiterpènes C15, diterpènes C20, sesterpènes C25, triterpènes C30 et carotenoïdes C40 [115-117].



II-B-6-1-1 Les monoterpènes

Les terpènes proprement dit sont des hydrocarbures en C₁₀. Plus de 900 monoterpènes connus se trouvent principalement dans 3 catégories structurales : les monoterpènes linéaires (acyclique), les monoterpènes avec un cycle unique (monocycliques) et ceux avec deux cycles (bicycliques). Ils résultent d'une fusion typique tête-à-queue des unités d'isoprène [102, 118].

➤ **Les monoterpènes acycliques**

Le géranyl pyrophosphate (GPP), le premier composé issu du mévalonate est le précurseur de cette catégorie de monoterpènes. Dans ce groupe, le géraniol est le plus répandu dans le règne végétal [116].

➤ **Les monoterpènes monocycliques**

Ces composés sont formés à partir du néryl pyrophosphate (NPP) ou du géranyl pyrophosphate (GPP) [119]. Les composés aromatiques sont les plus importants dans cette catégorie, comme le *p*-cymène et ses dérivés hydroxylés qui se trouvent associés avec l' α -terpinène. On distingue 4 groupes dans cette catégorie:

- Les hydrocarbures en C₁₀H₁₆ contenant deux doubles liaisons: le D-limonène et les phellandrènes sont les représentants les plus connus de cette famille.
- Les hydrocarbures en C₁₀H₁₈ contenant une double liaison : les terpinéols sont les plus fréquents dans cette famille.
- Les hydrocarbures en C₁₀ H₂₀: Les menthanes (hydrocarbures saturés) n'existent pas à l'état naturel, mais on trouve leurs dérivés alcool et cétone correspondants: le menthol et la menthone.
- Les hydrocarbures en C₁₀H₂₀ contenant un oxyde: dans cette famille, le cinéole ou l'eucalyptol sont très abondants.

➤ **Les monoterpènes bicycliques**

Ces composés se trouvent dans un grand nombre d'huiles essentielles, surtout celles issues des conifères. La plupart de ces monoterpènes font partie des familles pinane, bornane ou thujane tandis que les familles fenchane et carane sont moins représentées. Les monoterpènes majeurs issus du pinane sont l' α -pinène et le β -pinène qui sont largement distribués dans les plantes. Le bornéol, l'isobornéol et camphre sont les terpènes les plus importants dans la famille bornane. Les terpènes les plus communs de type thujane sont les cétones thujone et isothujone,

les alcools et les hydrocarbures associés. La fenchone et les alcools l' α -fenchol et le β -fenchol sont des constituants majeurs de la famille fenchane. Enfin, le 3-carène est le seul monoterpène commun de la famille carane.

II-B-6-1-2 Les sesquiterpènes

Ce sont des hydrocarbures possédant 15 carbones, de formule brute $C_{15}H_{24}$. Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes puisque plus de 3000 molécules y ont été recensées. Les sesquiterpènes se divisent en plusieurs catégories structurelles: acyclique, monocyclique, bicyclique, tricyclique, polycyclique.

➤ **Les sesquiterpènes acycliques**

Ils sont susceptibles d'être dérivés du trans-farnésyl pyrophosphate (FPP) qui constitue l'analogue de la génération des monoterpènes acycliques à partir de GPP. Généralement tous les monoterpènes acycliques ont un analogue sesquiterpène direct [119].

➤ **Les sesquiterpènes monocycliques**

Les sesquiterpènes monocycliques sont divisés principalement en 4 familles-type: bisabolane, germacrane, élémène et humulane. Le zingibérène est un exemple de la famille du bisabolane, que l'on trouve par exemple dans l'essence de Gingembre.

➤ **Les sesquiterpènes polycycliques**

Parmi les sesquiterpènes polycycliques, le caryophyllène est le plus important; on le retrouve principalement dans le poivre et certaines épices.

II-B-6-1-3 Les diterpènes

Ce sont des substances avec 20 atomes de carbone C_{20} élaborées à partir de 4 unités d'isoprène; ils se forment à partir de leur précurseur, le géranylgeranylpyrophosphate (GGPP) [116, 119]. Ces composés sont principalement présents dans les plantes supérieures et dans les champignons. Il existe environ 2700 diterpènes dans la nature dont la majorité est sous forme cyclique. Parmi les diterpènes linéaires, on rencontre la famille phytane dont le phytol est le représentant le plus connu de la chlorophylle ou des vitamines K et E. Les diterpènes cycliques sont des dérivés du cyclophytane. Le rétinol et le rétinol, deux formes de la vitamine A sont les plus connus dans cette famille.

II-B-7 La biosynthèse des terpénoïdes dans le règne végétal

Comme vu ci-dessus, les terpènes sont des produits d'un enchaînement de leur unité de base, et la biosynthèse de terpènes se déclenche par activation de l'isoprène (activé par ATP). En 1956 un composé en C6 (acide mévalonique, MVA) a été découvert en tant que clé de la biosynthèse des terpénoïdes. Plus tard son intervention dans le métabolisme du cholestérol a été démontrée et la voie métabolique, de l'acétyl-CoA jusqu'à l'isoprène actif par l'intermédiaire de MVA a été élucidée [116, 119].

➤ La biosynthèse d'unité de base isoprène

Deux molécules d'acétyl-CoA réagissent ensemble en donnant naissance à l'acétoacétyl-CoA, lequel en fixant une troisième molécule d'acétyl-CoA forme le β -hydroxy- β -méthylglutaryl-CoA. Ensuite, la réduction en alcool du carboxyle combiné au CoA conduit à la formation de MVA. En éliminant une molécule de CO_2 , le MVA est converti en isopentényl pyrophosphate (IPP) ou isoprène actif. C'est le IPP qui constitue l'unité isoprénique d'enchaînement, et il s'isomérisé en diméthylallyl pyrophosphate (DMAPP) [116, 119] (figure-18).

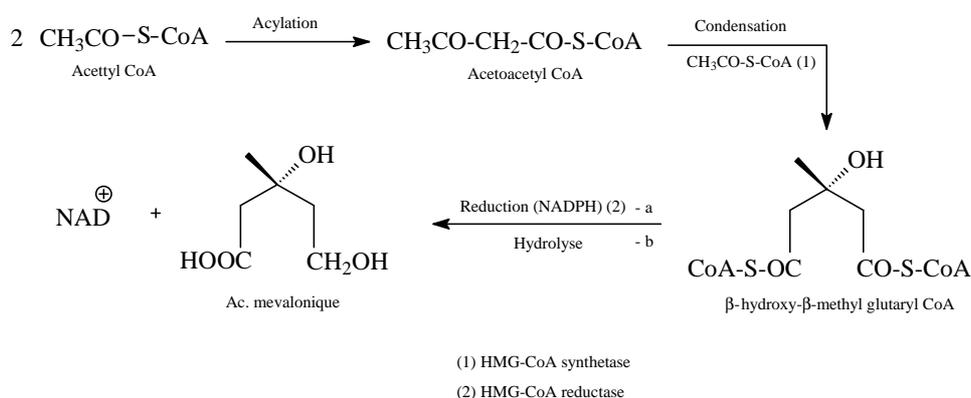


Figure-18 : Formation de l'acide mévalonique.

➤ La biosynthèse des diphosphates d'isopentényle et de diméthylallyle, équivalents biologiques de l'isoprène

Le diphosphate d'isopentényle (IPP) et le diphosphate de diméthylallyle (DMAPP) sont les précurseurs des tous les isoprénoïdes chez tous les êtres vivants. Ces deux métabolites représentent les équivalents biologiques de l'isoprène dont ils possèdent le squelette ramifié en C5. La formation d'IPP a été considérablement étudiée dans les années 50. Deux voies de biosynthèse, tout à fait différentes, mènent à l'IPP, la voie du mévalonate et voie du 2-C-méthyl-D-érythriol 4-phosphate ou voie du MEP [116, 119].

➤ La voie du mévalonate

La voie du mévalonate, la plus anciennement connue, utilise l'acétyl-CoA comme produit de départ. Une succession de condensation de trois unités d'acétyl-CoA mène à la formation de 3-hydroxyméthylglutaryl-CoA (HMG-CoA) qui est réduit en mévalonate. Deux phosphorylations consécutives fournissent successivement le mévalonate 5-phosphate et le mévalonate 5-diphosphate. Ce dernier intermédiaire est ensuite soumis à une phosphorylation de son hydroxyle tertiaire suivie d'une décarboxylation concomitante qui conduit à l'IPP. Finalement l'IPP est isomérisé en DMAPP par une isomérase [116, 119] (figure-19, 20).

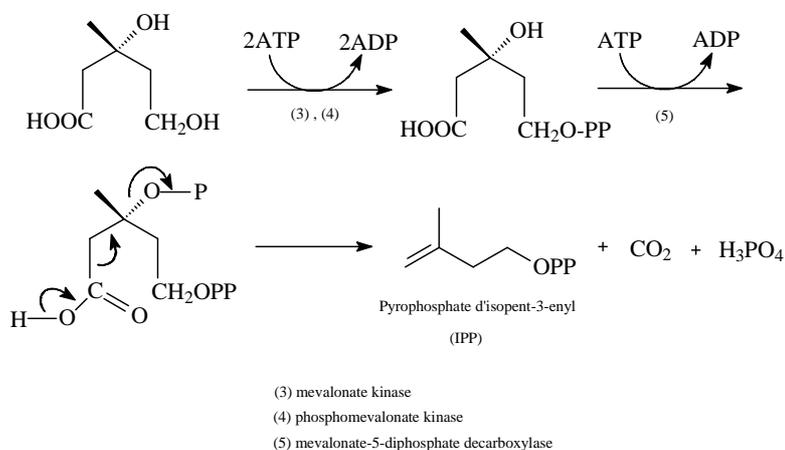


Figure-19 : Formation de l'isopentényl pyrophosphate (IPP) à partir de l'acide mévalonique.

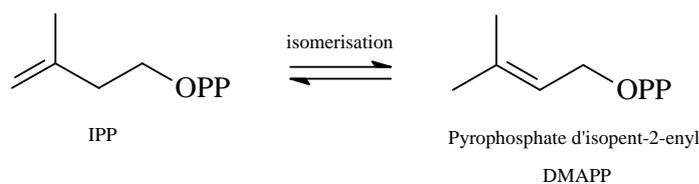


Figure-20 : Isomérisation de l'IPP en pyrophosphate de diméthylallyle (DMAPP).

➤ La voie du MEP

Les deux premiers précurseurs de cette voie sont le pyruvate et le glycéraldéhyde 3-phosphate (GAP), tous deux issus directement du métabolisme du glucose. La première réaction, catalysée par la 1-désoxy-D-xylulose 5-phosphate synthase (DXS), conduit au 1-désoxy-D-xylulose 5-phosphate (DXP). Ce pentulose subit un réarrangement intramoléculaire suivi d'une réduction concomitante de l'aldéhyde intermédiaire pour fournir le 2-C-méthyl-D-

érythritol 4-phosphate (MEP). Ces deux réactions sont catalysées par la 1- désoxy-D-xylulose5-phosphate isoméro-réductase (DXR). Les étapes suivantes correspondent à des modifications du 2-C-méthyl- D-érythritol 4-phosphate : la formation du 4-(cytidine 5'-diphospho) -2-C-méthyl-D-érythritol (CDP-ME) suivie de la phosphorylation de l'alcool tertiaire pour donner le 2-phospho-4-(cytidine 5'-diphospho)-2-C-méthyl-D-érythritol (2PCDP-ME) et finalement la formation du 2-C-méthyl-D-érythritol 2,4-cyclodiphosphate (MECDP). Ce composé est ensuite transformé en diphosphate de(E)-4-hydroxy-3-méthylbut- 2ényle (HMBPP). Le dernier précurseur de cette voie indépendante du mévalonate est finalement transformé soit en diphosphate d'isopentényle soit en diphosphate de diméthylallyle. Toutes ces étapes constituent la voie de biosynthèse des isoprénoides avec comme intermédiaire le MEP [116, 119] (figure-21).

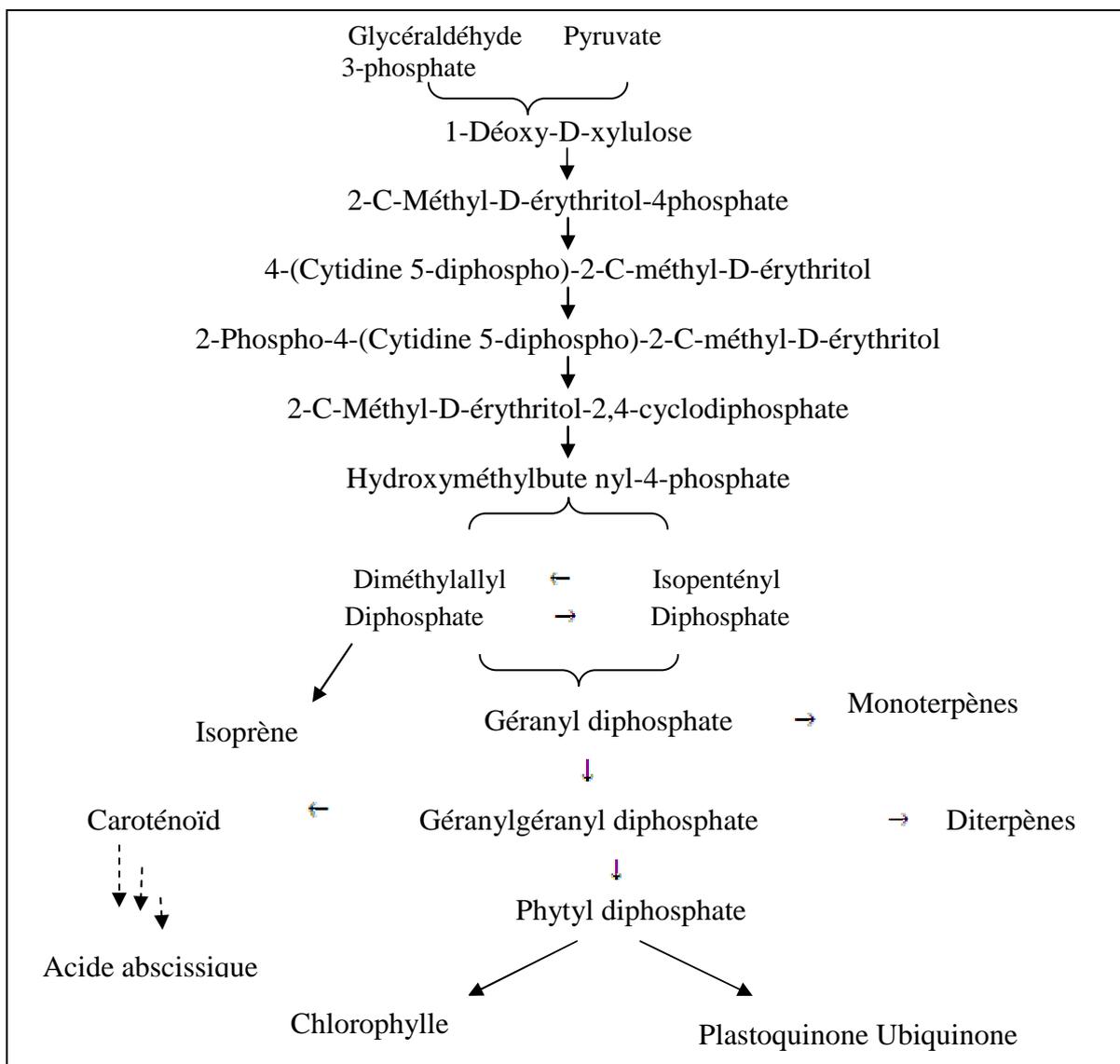


Figure-21 : Biosynthèse des isoprénoides par la voie du MEP [120].

➤ La biosynthèse des terpènes

La condensation du diphosphate d'isopentényle (entité nucléophile) sur le diphosphate de diméthylallyle (entité électrophile) mène au diphosphate de géranyle (GPP, C₁₀), précurseur des monoterpènes (figure-22, 23).

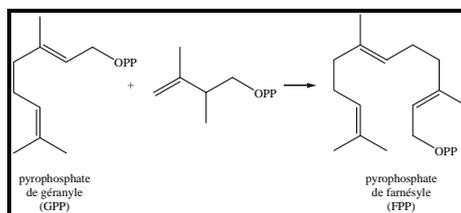


Figure- 22 : Formation du pyrophosphate de farnésyle (FPP) par condensation du GPP avec l'IPP.

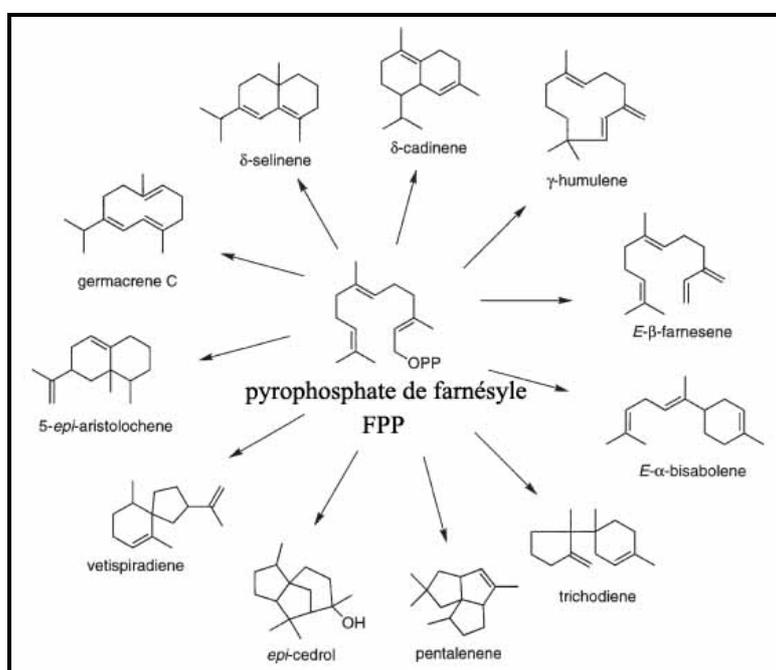


Figure-23 : Voies de biosynthèse des sesquiterpènes à partir du pyrophosphate de farnésyle [12].

Une condensation supplémentaire de type tête-à-queue de l'IPP sur le GPP conduit au diphosphate de farnésyle (FPP, C₁₅), précurseur des sesquiterpènes. Une élongation supplémentaire du diphosphate de farnésyle avec une entité d'IPP, conduit au diphosphate de géranylgeranyl (GGPP), précurseur des diterpènes et des caroténoïdes. Tandis qu'une condensation "tête-à-tête" de deux molécules de diphosphates de farnésyle aboutit au squalène (C₃₀), précurseur des triterpènes, des stérols et des hopanoïdes. Enfin, les composés isopréniques en C_{5n}, précurseurs des polyprénols et des quinones, proviennent de

condensations successives de l'IPP sur le GGPP. Les prényles transférases permettent l'élongation des chaînes prényles par addition d'une molécule d'IPP. Ces précurseurs acycliques isopréniques peuvent subir différentes réactions chimiques (oxydations, cyclisations suivies de transpositions), ce qui permet de dénombrer à ce jour plus de 22000 isoprénoïdes.

II-B-8 Activités biologiques

Les huiles essentielles ont des propriétés médicinales nombreuses et variées. On peut citer :

II-B-8-1 Propriétés anti-infectieuse

➤ Propriétés antibactérienne, antifongique

En phytothérapie, les huiles essentielles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne, par exemple contre les bactéries endocanaliaires [121] et d'origine fongique contre les dermatophytes [122]. Dans les domaines phytosanitaire et agro-alimentaire, les huiles essentielles ou leurs composés actifs peuvent également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes [123] et les microorganismes envahissant les denrées alimentaires. Le carvacrol, le p-cymène et le γ -terpinène de l'huile essentielle d'*Origanum acutidens*, ont des effets fongiques contre *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Monilinia fructicola* et *Rhizoctonia solani* [124].

➤ Pouvoir antiviral

L'huile essentielle de *Salvia fructicosa* a montré une activité virucide importante contre le virus de l'herpes simplex type 1 (HSV-1).

Une destruction de l'enveloppe de HSV-1 par le traitement avec l'huile essentielle d'origan a été décrite. Cet effet est dû à une interaction entre l'huile essentielle avec l'enveloppe et les glycoprotéines virales impliquées dans l'adsorption et la pénétration dans la cellule hôte [125].

➤ Pouvoir antiparasitaire

Des effets antiparasitaires ont été montrés par les huiles essentielles d'*Eucalyptus globules*, de *Lavandula officinalis* et de *Citrus limonum*.

Certains composants d'huiles essentielles empêchent le développement et détruisent les parasites. Le groupe des phénols possède une action puissante contre les parasites, les cétones et les lactones possèdent aussi une certaine toxicité [126].

➤ **Pouvoir antiseptique**

Toutes les huiles essentielles sont fortement antiseptiques en raison du haut pourcentage d'alcools dans leur composition. Dans des préparations pharmaceutiques, les terpènes phénoliques, comme le thymol et le carvacrol, sont souvent utilisés comme antiseptiques antibactériens et antifongiques. Le thymol est très irritant, astringent et caustique [125].

➤ **Insectifuge et insecticide**

Certaines huiles essentielles peuvent être appliquées en cas de piqûres d'insectes (*Melaleuca quinquenervia* et *Ocimum gratissimum*) [128, 124].

➤ **Propriétés cicatrisantes**

Les huiles essentielles de *Lavandula angustifolia* et de *Citrus limonum* stimulent les processus de cicatrisation.

II-B-8-2 Propriétés anti-inflammatoires

Les huiles essentielles peuvent être utilisées pour traiter les troubles articulaires inflammatoires comme les tendinites [129]. Tung et ses collaborateurs ont montré que l'huile essentielle de *Cinnamomum osmophloeum* a des activités anti-inflammatoires. En outre, ils ont aussi indiqué que le trans-cinnamaldehyde, l'oxide de caryophyllène, le L- bornéol, l'acétate de L-bornyle, l'eugénol, le β -caryophyllène, le (E)-nérolidol et l'acétate de cinnamyle ont fait la preuve d'importantes activités anti-inflammatoires dans la suppression de la production d'oxyde nitrique par stimulation de LPS-macrophages [130].

II-B-8-3 Propriétés à visée neurotrope

➤ **Pouvoir analgésique, antalgique et anesthésique**

De nombreuses huiles essentielles présentent une activité contre tous types de douleurs : gastriques, musculaires, céphalées, rhumatismes [131, 132] Franca et al, ont montré les propriétés analgésiques de l'huile essentielle d'*Ocimum selloi* et du méthylchavicol [133].

L'huile essentielle d'*Hyptis fruticosa* a une activité antinociceptive périphérique et analgésique. Menezes Peana ont montré que le (-) linalol possèdent une activité analgésique [134, 135].

➤ **Huiles essentielles sédatives**

La prise de certaines huiles essentielles (*Perilla frutescens*, *Syzygium aromaticum*) agit sur le moral et sur le bien-être physique et psychique. Elles calment les anxieux et insomniaques, tonifient les déprimés, détendent les nerveux, émotifs, hypertendus et irrités [136, 137].

II-B-8-4 Propriétés digestives

Les huiles essentielles favorisent la motricité intestinale, stimulent les fonctions hépatobiliaires et ont un pouvoir anti-fermentaire.

Une étude récente a examiné l'activité thérapeutique de l'huile essentielle de *Croton cajucara* dans des ulcères chroniques de l'estomac, en augmentant l'expression des facteurs de croissance épidermique (EGF), le niveau plasmatique de somatostatine et en diminuant le niveau de gastrine [139].

Wang et ces collaborateurs ont révélé qu'une faible dose de l'huile essentielle de *Croton tiglium* avait augmenté la motilité gastro-intestinale, tandis qu'une forte dose avait des effets inhibiteurs. Cette même huile essentielle a d'autre part un effet semblable sur la contraction du colon et de l'intestin grêle [139].

Outre ces applications, les huiles essentielles présentent d'autres activités pharmacologiques et biologiques : elles sont antioxydantes [140-142], tonifiantes [143, 144], antispasmodiques [145, 146], hypoglycémiantes [147, 148], cytotoxiques [149, 150], phototoxiques [118], anticarcinogènes [151, 152].

II-B-9 Analyses chimiques

II-B-9-1 La Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une méthode d'analyse par séparation qui s'applique aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. La CPG est la technique usuelle pour l'analyse des huiles essentielles. Elle permet d'obtenir la séparation de composés volatils de mélanges très complexes et l'analyse quantitative des résultats à partir d'un volume d'injection réduit [153].

Pour chacun des composés, des indices de rétention expérimentaux peuvent être obtenus. Ils sont calculés à partir du temps de rétention du composé, encadré dans une gamme étalon d'alcane ou plus rarement d'esters méthyliques linéaires, à température constante (indice de Kovats) ou en programmation de température (indice de rétention) [154]. Ces indices sont ensuite comparés avec ceux des produits de référence (mesurés au laboratoire ou décrits dans la littérature). Toutefois l'identification peut être incertaine car il est fréquent d'observer des variations expérimentales, parfois importantes, lorsque l'on compare les indices de rétention obtenus au laboratoire et ceux de la littérature(en particulier sur colonne polaire). C'est pourquoi la comparaison des indices sur deux phases stationnaires de polarité différente est nécessaire. On mesure deux indices : l'un sur phase apolaire, l'autre sur phase polaire. Malgré tout, ceci ne peut suffire à une identification complète, sans l'apport du couplage entre la CPG et une technique d'identification spectroscopique : en général la spectrométrie de masse (CPG/SM).

II-B-9-2 Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse (CPG/SM)

Le couplage CPG/SM peut être utilisé avec divers types d'analyseurs de masses et selon plusieurs modes d'ionisation. Le mode d'ionisation par impact électronique (SM-IE) est la technique la plus utilisée en routine et notamment dans le domaine des huiles essentielles. Il permet de connaître, dans la grande majorité des cas, la masse moléculaire d'un composé et d'obtenir des informations structurales relatives à une molécule à partir de sa fragmentation assez reproductibles et donc utilisables dans une banque de données [155]. Dans la source d'ionisation les molécules sont bombardées à l'aide d'électrons, conduisant ainsi à la formation d'ions en phase gazeuse. Les ions sont ensuite dirigés vers l'analyseur de l'appareil. Il existe plusieurs types d'analyseurs de masse dont les plus utilisés pour l'analyse des huiles essentielles sont le «quadrupôle» et le «piège à ions» (ou «ion trap» en anglais). Le quadrupôle ainsi que l'«ion trap» utilisent la stabilité des trajectoires pour séparer les ions selon leur rapport masse sur charge (m/z).

En ce qui concerne l'«ion trap» (ou quistor), il est constitué d'une électrode circulaire, couverte de deux calottes sphériques. Conceptuellement, on peut voir cet appareillage comme un quadripôle circulaire [156]. La superposition des tensions continues et alternatives permet d'obtenir une sorte de «quadrupôle à trois dimensions» dans lequel les ions sont gardés captifs «piégés» sur une trajectoire formant une sorte de huit à trois dimensions. Les ions de

différentes masses sont présents simultanément dans la trappe, et on cherchera à les expulser en fonction de leur masse pour obtenir le spectre. Cette technique consiste donc à produire des ions directement dans la trappe par impact électronique. Il n'y a pas de source séparée. Les ions sont formés par un flux d'électrons de courte durée et piégés au moyen de radiofréquences [157].

Le faisceau d'ions ayant traversé l'analyseur de masse, est ensuite détecté et transformé en un signal utilisable. Pour ce faire, il existe différents types de détecteurs capables de transformer un courant ionique faible en un signal mesurable. Toutefois, les détecteurs les plus courants sont les multicapteurs d'électrons ou de photons, permettant l'augmentation de l'intensité du signal détecté.

Finalement, l'outil informatique enregistre les données provenant du spectromètre de masse et les convertit en valeurs de masses et d'intensités de pics puis en courant ionique total. Il permet l'examen des données enregistrées et leur manipulation: spectres de masse, chromatogrammes reconstitués, soustraction d'un spectre par rapport à un autre, calcul d'une moyenne sur plusieurs spectres, etc....

Les spectres de masse ainsi obtenus sont ensuite comparés avec ceux des produits de référence contenus dans les bibliothèques informatisées disponibles commerciales (NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library, Wiley Registry of Mass Spectral Data, contenant plusieurs milliers de spectres.

En plus de leurs spectres de masse, les composés sont parfois recensés dans les banques de données ou la littérature, en fonction soit de leur indice de rétention soit de l'indice de Kovats (IK). Après comparaison avec l'analyse d'un mélange d'alcane réalisés dans les mêmes chromatographiques, en mode isotherme, l'indice de rétention spécifique (IK) pour chaque composé peut être calculé au moyen de la formule suivante:

$$IR = 100 \left[n + \frac{t_r - t_{r,n}}{t_{r,n+1} - t_{r,n}} \right]$$

n= nombre de carbones de l'alcane dont le temps de rétention précède celui du composé dont on veut déterminer l'indice.

t_r =temps de rétention réduit du composé ($t_r = t_r - t_0$ avec t_r temps de rétention du composé et t_0 temps de rétention d'un composé non retenu) en minutes.

t_0 = temps de rétention d'un composé non retenu en minutes.

t_{r_n} = temps de rétention réduit de l'alcane dont le temps de rétention précède celui du composé (en minutes).

$t_{r_{n+1}}$ = temps de rétention réduit de l'alcane dont le temps de rétention suit celui du composé (en minute).

II-B-9-3 Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à un Détecteur à Ionisation de Flamme (GC/FID)

Le détecteur à ionisation de flamme (FID) est le plus populaire des détecteurs. Son principe de fonctionnement est le suivant. Lorsque le soluté est brûlé dans une flamme d'hydrogène, il se forme par combustion du CO et CO₂ qui sont ensuite ionisés en CO⁺ CO₂⁺. Ces ions sont collectés par une électrode, souvent en forme de grille cylindrique centrée autour de l'axe de la flamme et portée à un potentiel variant entre 100 et 300 V. Le courant ionique est ensuite amplifié et enregistré. C'est un détecteur universel qui répond à tout composé organique: (il ne répond pas aux gaz permanents ainsi qu'à un certain nombre de gaz minéraux et organiques : CO, CO₂, COS, CS₂, SO₂, H₂O, NH₃, NO, N₂O, HCOOH, HCHO, SiCl₄). Ce détecteur est très sensible mais nécessite des débits gazeux très stables. Le courant très faible qui résulte de la détection est fortement amplifié et transformé en une tension mesurable par un électromètre. L'aire du pic varie selon la quantité de composé élué dans une relation linéaire sur un très large domaine de concentrations. Comme par ailleurs la réponse (signal/ masse) du détecteur FID est assez comparable pour de nombreux composés organiques (contrairement au cas de la détection en SM où les réponses peuvent être très différentes), la GC/FID est très utile pour l'analyse quantitative et notamment pour l'analyse semi-quantitative des huiles essentielles (par normalisation directe des aires du chromatogramme sans aucun étalonnage préalable).

II-B-10 Etablissement de structure des produits isolés

La stratégie de l'analyse d'une huile essentielle commence par une étude de GC-MS, qui permet l'identification des composants de l'huile par la comparaison des spectres de masse de l'échantillon avec celles d'une bibliothèque de spectre. Pour certains cas douteux et/ou pour les molécules non identifiées dans les bibliothèques de spectres, on peut avoir besoin d'isoler les produits et d'étudier leurs spectres RMN.

Un composé inconnu a besoin d'une élucidation complète de sa structure. Pour cela la spectroscopie RMN est toujours la meilleure méthode pour la détermination de la structure. L'interprétation des spectres ^1H , ^{13}C , DEPT(90-135), COSY, HMQC, HSQC, HMBC et NOESY conduit généralement non seulement à la détermination de la structure de la molécule, mais aussi à la détermination de sa configuration relative [158].

Références

- 1 : Paris, M., Hurabielle, M., *Abrégé de matière médicale*, Masson : Paris, **1**, 1981.
- 2 : Egan, D. A., Cox, D., O'Kennedy, R., Moran, E., Prosser, E. and Thornes, R. D., *Drug Metabolism Reviews*, The pharmacology Metabolism, Analysis, and Applications of Coumarin and Coumarin-Related compounds, **22**, 1990, 503.
- 3: Murray, R. D. H., Mendez, J. and Brown, S. A., *The Natural Coumarins, Occurrence, Chemistry and Biochemistry*, John Wiley & Sons LTD: New York, 1982.
- 4: Murray, R. D. H., *Natural Product Reports*, Coumarins, **6**, 1989, 591.
- 5: Murray, R. D. H., Herz, W., Kirby, C. W., Steglich, W. and Tamm, C., *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*, Springer-Verlag: Berlin, 1991.
- 6: Hoult, J. R. S. and Paya, M., *Gen. Pharmac*, Pharmacological and Biochemical Actions of simple coumarins: Natural products with therapeutic potential, **27** (4), 1996, 713.
- 7: Taniguchi, M., Yanai, M., Xiao, Q. Y., Kido, T., and Baba, K., *Phytochemistry*, Three Isocoumarins from *Coriandrum sativum*, Japan, **42** (3), 1996, 843.
- 8: Phohl-Leszkowicz, A., *Les mycotoxines dans l'alimentation, évaluation et gestion du risque*, Tec & Doc : Paris, 1999.
- 9: Duquénois, P., *Pharm. Weekblad*, Coumarins et Dérivés : Répartition Dans le Règne Végétal et Biosynthèse, **102**, 1967, 443.
- 10: Haskins, F. A. and Gorz, H. J., *Science*, Glucosides of coumarinic and o-coumaric acids in the tonka bean, **139**, 1963, 496.
- 11: Trost, B. M., Toste, F. D., and Greenman, K. *Journal of the American Chemical Society*, Atom economy. Palladium-catalyzed formation of coumarins by addition of phenols and alkynoates via a Net C-H insertion **125**, 2003, 4518.
- 12 : Bruneton, J., *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales*, 4ième édition, Lavoisier : Tec & Doc : paris, 2009.
- 13: Cray, A. L. and Waterman, P. G., *Phytochemistry*, Chemosystematics in Rutaceae IX, Coumarins in the Rutaceae, **17**, 1978, 845.
- 14: Lacy, A. and O'Kennedy, R., *Current Pharmaceutical Design*, Studies on Coumarins and Coumarin-Related Compounds to Determine their Therapeutic Role in the Treatment of Cancer, **10**, 2004, 3797.
- 15: Parveen, M., Ali, A., Malla, A. M., Pereira Silva, P. S. and Ramos Silva, M., *Chemical Papers*, A halogenated coumarin from *Ficus krishnae*, **65** (5), 2011, 735.
- 16: O'Kennedy, R., Thornes, R. D., *Coumarins: Biology, Application and Mode of Action*, John Wiley & Sons: Chichester, New York, 1997.

- 17: Harbone, J. B., *Classes and Functions of Secondary Products from Plants*, Imperial College Press: London, 1999.
- 18: Curini, M., Cravotto, G., Epifano, F. and Giannone, G., *Current Medicinal Chemistry*, Chemistry and biological activity of natural and synthetic prenyloxycoumarins, **13**, 2006, 199.
- 19: Esmail Nazari, Z. and Iranshahi, M., *Phytotherapy Research*, Biologically Active Sesquiterpene Coumarins from *Ferula* Species, **25**, 2011, 315.
- 20: Iranshahi, M., Mojarab, M., Sadeghian, H., Hannafi-Bojd, M. Y. and Schneider, B., *Phytochemistry*, Polar secondary metabolites of *Ferula persica* roots, **69**, 2008, 473.
- 21: Oughlissi-Dehak, K., Lawton, P., Michalet, S., Bayet, C., Darbour, N., Hadj-Mohammed, M., Badjah-Hadj-Ahmed, Y. A., Dijoux-Franca, M.-G. and Guilet, D., *Phytochemistry*, Sesquiterpenes from aerial parts of *Ferula vesceritensis*, **69**, 2008, 1933.
- 22: Abd El-Razek, M., Hirata, T. H. and Ohta, S., *Heterocycles*, Terpenoid Coumarins of the Genus *Ferula*, **60**, 2003, 689.
- 23: Matern, U., Strasser, H., Wendorff, H. and Hamerski, D., *Coumarins and furanocoumarins, Cell culture and somatic cell genetics of plants*, Academic Press: New York, 1988.
- 24: Pathak, M. A. and Fitzpatrick, T. B., *Photodermatology, Photoimmunology and Photomedicine*, The evolution of photochemotherapy with psoralens and UVA (PUVA): 2000 BC to 1992 AD, **9** (1), 1992, 33.
- 25: Bourgaud, F., Allard, N., Guckert, A. and Forlot, P., *Natural sources of furocoumarins*, J. Libbey Eurotext: Paris, 1989.
- 26: Anaya, A. L., Macías-Rubalcava, M., Cruz-Ortega, R., García-Santana, C., Sanchez-Monterrubio, P. N., Hernández-Bautista, B. E. and Mata, R., *Phytochemistry*, Allelochemicals from *Stauranthus perforatus*, a Rutaceous tree of the Yacutan Peninsula, Mexico, **66**, 2005, 494.
- 27: Sarker, S. D., Armstrong, J. A., Gray, A. I., Waterman, P. G., *Phytochemistry*, Pyranocoumarins from *Eiostemon apiculatus*, **22**, 2002, 641.
- 28: Zgórká, G., Dragan, T., Glowniak, K. and Basiura, E., *Journal of Chromatography A*, Determination of furanochromones and pyranocoumarins in drugs and *Ammi visnaga* fruits by combined solid-phase extraction--high-performance liquid chromatography and thin-layer chromatography—high-performance liquid chromatography, **797**, 1998, 305.
- 29: Wierzchowska-Renke, K., *Acta Poloniae Pharmaceutica*, Preliminary studies on coumarin compounds in plants of the Umbelliferae family, **31**, 1974, 225.

- 30: McKee, T. C., Cardellina, J. H., Dreyer, G. B. and Boyd, M. R., *Journal of Natural Products*, The pseudocalanolides: structure revision of calanolides C and D, **58** (6), 1995, 916.
- 31: Palmer, C. J. and Josephs, J. L., *Journal of the Chemical Society*, Synthesis of the *Calophyllum* Coumarins. Part 2, Perkin Trans. 1, **24**, 1995, 3135.
- 32: Guilet, D. Seraphin, D., Rondeau, D., Richomme, P. and Bruneton, J., *Phytochemistry*, Cytotoxic coumarins from *Calophyllum dispar*, **58**, 2001, 571.
- 33: Xu, P., Xia, Z. and Lin, Y., *Biochemical Systematics and Ecology*, Chemical constituents from *Edgeworthia gardneri* (Thymelaeaceae), **45**, 2012, 148.
- 34: Kimiye, B., Masahiko, T., Yuko, Y., Mitsugi, K., *Phytochemistry*, Chemical studies on the thymelaeaceous plant. Part 7. Coumarin glycosides from *Edgeworthia chrysantha*, **29** (1), 1990, 247.
- 35: Guignard, J. L., *Biochimie végétale*, Dunod : Paris, 2000.
- 36: Sollai, F., Zucca, P., Sanjust, E., Steri, D. and Rescigno, A., *Biological Pharmaceutical Bulletin*, Umbelliferone and Esculetin: Inhibitors or Substrates for Polyphenol Oxidases, **31** (12), 2008, 2187.
- 37: Bourgaud, F., Hehn, A., Larbat, R., Doerper, S., Gontier, E., Kellner, S. and Matern, U., *Phytochem Reviews*, Biosynthesis of coumarins in plants: a major pathway still to be unravelled for cytochrome P450 enzymes, **5**, 2006, 293.
- 38: Brown, S. A. and Sampathkumar, S., *Canadian Journal of Biochemistry Cell Biology*, The biosynthesis of isopimpinelline, **55**, 1977, 686.
- 39: Hübner, S., Hehmann, M., Schreiner, S., Martens, S., Lukačín, R. and Matern, U., *Phytochemistry*, Functional expression of cinnamate 4-hydroxylase from *Ammi majus* L., **64**, 2003, 445.
- 40: Hamerski, D. and Matern, U., *FEBS Letters*, Biosynthesis of psoralens. Psoralen 5-monooxygenase activity from elicitor treated *Ammi majus* cells, **239**, 1988 a, 263.
- 41: Larbat, R., Kellner, S., Specker, S., Hehn, A., Gontier, E., Hans, J., Bourgaud, F. and Matern, U., *JBC*, Molecular Cloning and Functional Characterization of Psoralen Synthase, the First Committed Monooxygenase of Furanocoumarin Biosynthesis, **282** (1), 2007, 542.
- 42: Hehmann, M., Richard, L., Halina, E. and Ultrich, M., *European Journal of Biochemistry*, Furanocoumarin biosynthesis in *Ammi majus* L. cloning of bergaptol O-methyltransferase, **271** (Issue 5), 2004, 932.
- 43: Fylaktakidou, K. C., Hadjipavlou-Litina, D. J., Litinas, K. E. and Nicolaidis, D. N., *Current Pharmaceutical Design*, Natural and synthetic coumarin derivatives with anti-inflammatory/ antioxidant activities, **10**, 2004, 3813.

- 44: Kostova, I., *Current Medicinal Chemistry*, Anticancer Agents, Synthetic and natural coumarins as cytotoxic agents, **5**, 2005, 29.
- 45: Kostova, I. and Mojzic, J., *Future HIV Therapy*, Biologically active coumarins as inhibitors of HIV-1, **1**, 2007, 315.
- 46: Lake, B. G., *Food and Chemical Toxicology*, Coumarin Metabolism, Toxicity and Carcinogenicity: Relevance for Human Risk Assessment, **37**, 1999, 423.
- 47: Felter, S. P., Vassallo, J. D., Carlton, B. D. and Daston, G. P., *Food and Chemical Toxicology*, A safety assessment of coumarin taking into account species-specificity of toxicokinetics, **44**, 2006, 462.
- 48: Casley-Smith, J. R., *International Journal of Angiology*, Benzo-pyrones in the treatment of lymphoedema, **18** (1), 1999, 31.
- 49: Chen, J., Chiou, W. F., Chen, C. C. and Chen, C. F., *J. Urol.*, Effect of the plant-extract osthole on the relaxation of rabbit corpus cavernosum tissue in vitro, **163** (6), 2000, 1975.
- 50: He, J. Y., Zhang, W., He, L. C. and Cao, Y. X., *European Journal of Pharmacology*, Imperatorin induces vasodilatation possibly via inhibiting voltage dependent calcium channel and receptor-mediated Ca²⁺ influx and release, **573**, 2007, 170.
- 51: Liu, J. X., Zhang, W. P., Zhou, L., *J. Chin. Med. Mater*, anti-inflammatory effect and mechanism of osthol in rats, **28**, 2005, 1002.
- 52: Menghini, L., Epifano, F., Genovese, S., Marcotullio, M. C., Sosa, S. and Tubaro, A., *Phytotherapy Research*, Antiinflammatory Activity of Coumarins from *Ligusticum lucidum* Mill. subsp. *cuneifolium* (Guss.) Tammara (Apiaceae), **24**, 2010, 1697.
- 53: Ojala, T., Remes, S., Haansuu, P., Vuorela, H., Hiltunen, R., Haahtela, K. and Vuorela, P., *Journal of Ethnopharmacology*, Antimicrobial activity of some coumarin containing herbal plants growing in Finland, **73**, 2000, 299.
- 54: Smyth, T., Ramachandran, V. N. and Smyth, W. E., *International Journal of Antimicrobial Agents*, A study of the antimicrobial activity of selected naturally occurring and synthetic coumarins, **33**, 2009, 421.
- 55: Lu, M., Nicoletti, M., Battinelli, L. and Mazzanti, G., *Il Farmaco*, Isolation of praeruptorins A and B from *Peucedanum paraeruptorum* Dunn. and their general pharmacological evaluation in comparison with extracts of the drug, **56**, 2001, 417.
- 56: Quadri-Spinelli, T., Heilmann, J., Ralli, T. and Sticher, O., *Planta Medica*, Bioactive coumarin derivatives from the fern *Cyclosorus interruptus*, **66**, 2000, 728.
- 57: Melliou, E., Magiatis, P., Mitaku, S., Skaltsounis, A.-L., Chinou, E. and Chinou, I., *Journal of Natural Products*, Natural and synthetic 2,2-dimethylpyranocoumarins with antibacterial activity, **68**, 2005, 78.

- 58: Ju, Y., Zhao, Y. F., Srill, C. C. and Sacalis, J. N., *Tsinghua Science and Technology*, Cytotoxic compounds from *Zanthoxylum americanum*, **5**, 2000, 159.
- 59: Sunthitikawinsakul, A., Kongkathip, N., Kongkathip, B., Phonnakhu, S., Daly, J. W., Spande, T. F., Nimit, Y. and Tochanarusngrai, S., *Planta Medica*, Coumarins and carbazoles from *Clausena excavate* exhibited antimycobacterial and antifungal activities, **69**, 2003, 155.
- 60: Yenjai, C., Sripontan, S., Sriprajun, P., Kittakoop, P., Jintasirikul, A., Tanticharoen, M. and Thebtaranonth, Y., *Planta Medica*, Coumarins and carbazoles with antiplasmodial activity from *Clausena harmandiana*, **66**, 2000, 277.
- 61: Luszczi, J. J., Wojda, E., Andres-Mach, M., Cisowski, W., Glensk, M., Glowniak, K. and Czuczwar, J. S., *Epilepsy Research*, Anticonvulsant and acute neurotoxic effects of imperatorin, osthole and valproate in the maximal electroshock seizure and chimney tests in mice: A comparative study, **85**, 2009, 293.
- 62: Luszczi, J. J., Wojda, E., Raszewski, G., Glowniak, K. and Czuczwar, S. J., *Pharmacological Reports*, Influence of imperatorin on the anticonvulsant and acute adverse-effect potential of lamotrigine in maximal electroshock-induced seizures and chimney test in mice, **60**, 2008, 566.
- 63: Luszczi, J. J., Glowniak, K. and Czuczwar, S. J., *European Journal of Pharmacology*, Imperatorin enhances the protective activity of conventional antiepileptic drugs against maximal electroshock-induced seizures in mice, **574**, 2007b, 133.
- 64: Chou, S. Y., Hsu, C. S., Wang, K. T., Wang, M. C. and Wang, C. C., *Phytotherapy Research*, Antitumor effects of Osthol from *Cnidium monnieri*: an in vitro and in vivo study, **21**, 2007, 226.
- 65: Zhou, J., Cheng, W. X. and Xu, Y. H., *Zhejiang. J. Integr. Tradit. West Med.* Experimental study on antitumour effect of osthole extracted from the fruits of *Cnidium monnieri* (L.) Cusson, **12**, 2002, 76.
- 66: You, L., An, R., Wang, X. and Li, Y., *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, Discovery of novel osthole derivatives as potential anti-breast cancer treatment, **20**, 2010, 7426.
- 67: Hirata, T., Fujii, M., Akita, K., Yanaka, N., Ogawa, K., Kuroyanagi, M., Hongo, D., *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, Identification and physiological evaluation of components from citrus fruits as potential drugs for anti-corpulence and anticancer, **17**, 2009, 25.
- 68: Ho, P. C., Saville, D. J. and Wanwimolruk, S., *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, Inhibition of human CYP3A4 activity by grapefruit flavonoids, furanocoumarins and related compounds, **4** (3), 2001, 217.

- 69: Kleiner, H. E., Xia, X., Sonoda, J., Zhang, J., Pontius, E., Abey, J., Evans, R.,M., Moore, D. D. and DiGiovanni, J., *Toxicology and Applied Pharmacology*, Effects of naturally occurring coumarins on hepatic drug-metabolizing enzymes in mice, **232**, 2008, 337.
- 70: Zhang, Q., Qin, L. and He, W., *Planta Medica*, Coumarins from *Cnidium monnieri* and their antiosteoporotic activity, **73**, 2007, 13.
- 71: Okamoto, T., Kawasaki, T., Hino, O., *Biochem. Pharmacol.*, Osthol prevents anti-fas antibodyinduced hepatitis in mice by affecting the caspase-3-mediated apoptotic pathway, **65**, 2003, 677.
- 72: Chen, K. S.,Wu, C. C., Chang, F. R., Chiang, M. Y., Wang, W. Y. and Wu, Y. C., *Planta Medica*, Bioactive coumarins from the leaves of *Murraya omphalocarpa*, **69**, 2003, 654.
- 73: Kang, S. Y., Lee, K. Y., Sung, S. H., Park, M. J. and Kim, Y. C., *Journal of Natural Products*, Coumarins from *Angelica gigas* inhibit acetylcholinesterase: structure-activity relationships, **64**, 2001, 683.
- 74: Kim, D. K., Lim, J. P., Yang, J. H., Eom, D. O., Eun, J. S. and Leem, K. H., *Archives of Pharmacal Research*, Acetylcholinesterase inhibitors from the roots of *Angelica dahurica*, **25**, 2002, 856.
- 75: Dall'Acqua, S., Maggi, F., Minesso, P., Salvagno, M., Papa, F., Vittori, S. and Innocenti, G., *Fitoterapia*, Identification of non-alkaloid acetylcholinesterase inhibitors from *Ferulago campestris* (Basser) Grecescu (Apiaceae), **81**, 2010, 1208.
- 76: Kaneko, T., Baba, N. and Matsuo, M., *Chemico-Biological Interactions*, Protection of coumarins against linoleic acid hydroperoxide-induced cytotoxicity, **142**, 2003, 239.
- 77: Zhang, H. Y. and Wang, L. F., *Journal of Molecular Structure Theochem*, Theoretical elucidation of structure-activity relationship for coumarins to scavenge peroxy radical, **673**, 2004, 199.
- 78: Chang, W. S. and Chiang, H. C., *Anticancer Research*, Structure-activity relationship of coumarin in xanthine oxidase inhibition, **15**, 1995, 1969.
- 79: Kolodziej, H., Kayser, O., Woerdenbag, H. J., Van Uden, W. and Pras, N., *Journal of Biosciences*, Structure cytotoxicity relationship of a series of natural and semi-synthetic simple coumarins as assessed in two human tumour cell lines, **52**, 1997, 240.
- 80: Monti, M., Pinotti, M. and Appendino, G., *Biochim Biophys Acta*, Characterization of anti-coagulant properties of prenylated coumarin ferulenol, **1770**, 2007, 1437.
- 81: Masuda, T., Takasugi, M. and Anetai, M., *Phytochemistry*, Psoralen and other linear furanocoumarins as phytoalexins in *Glehnia littoralis*, **47**, 1998, 13.
- 82: Rosenthal, G. A. and Barenbaum, M. R., *Herbivores: Their Interactions with Secondary Plant Metabolites*, 2nd edition, Academic Press: New York, **1**, 1992.

- 83: Hadacek, F., Müller, C., Werner, A., Greger, H. and Proksch, P., *Journal of Chemical Ecology*, Analysis, isolation and insecticidal activity of linear furanocoumarins and other coumarin derivatives from *Peucedanum ostruthium* (Apiaceae: Apioideae), **20**, 1994, 2035.
- 84: Ojala, T., Remes, S., Haansuu, P., Vuorela, H., Hiltunen, R., Haahtela, K. and Vuorela, P., *Journal of Ethnopharmacology*, Antimicrobial activity of some coumarin containing herbal plants growing in Finland, **73** (1-2), 2000, 299.
- 85: Diawara, M. M., Allison, T., Kulkosky, P. and Williams, D. E., *Cancer Letts*, Psoralen induced growth inhibition in Wistar Rats, **114**, 1997, 159.
- 86: Pereira, L., Villinger, F., Wulff, H., Sankaranarayanan, A. and Raman, G., *Experimental Biology and Medicine*, Pharmacokinetics, toxicity, and functional studies of the selective kv1.3 channel blocker 5-(4-Phenoxybutoxy) Psoralen in rhesus Macaques, **232**, 2007, 1338.
- 87: Plumas, J., Drillat, P., Jacob, M. and Richard, M. J., *Bulletin Du Cancer*, Extracorporeal photochemotherapy for treatment of clonal T cell proliferations, **90**, 2003, 763.
- 88: Kawase, M., Sakagami, H., Motohashi, N., Hauer, H., Chatterjee, S. S. and Spengler, G., *In Vivo*, Coumarin derivatives with tumor-specific cytotoxicity and multidrug resistance reversal activity, **19**, 2005, 705.
- 89: Miller, K. G., Poole, C. F. and Pawloski, T. M. P., *Chromatographia*, Classification of the botanical origin of cinnamon by solid-phase microextraction and gas chromatography, **42**, 1996.
- 90: Rychlik, M., *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Quantification of free coumarin and its liberation from glucosylated precursors by stable isotope dilution assays based on liquid chromatography-tandem mass spectrometric detection, **56**, 2008, 796.
- 91: Tosun, A., Baba, M. and Okuyama, T., *Journal of Natural Medicines*, HPLC analysis of coumarins in Turkish *Seseli* species (Umbelliferae).
- 92: Kamiński, M., Kartanowicz, R., Kamiński, M. M., Królicka, A., Swida-Gorycka, M., Łojkowska, E. and Gorzeń, W., *Journal of Separation Science*, HPLC-DAD in identification and quantification of selected coumarins in crude extracts from plant cultures of *Ammi majus* and *Ruta graveolens*, **26**, 2003, 1287.
- 93: Teng, W-Y., Chen, C-C. and Chung, R-S., *Phytochemical Analysis*, HPLC Comparison of Supercritical Fluid Extraction and Solvent Extraction of Coumarins from the Peel of *Citrus maxima* Fruit, **16**, 2005, 459.
- 94: Brou, K. G., Mamyrbekova-Bekro, J. A., Dogbo, D. O., Gogbeu, S. J. and Bekro, Y-A., *European Journal of Scientific Research*, On the Qualitative Phytochemical Composition of Crude Hydromethanolic extracts of the Leaves of 6 Varieties of *Manihot esculenta* Crantz of Côte d'Ivoire, **45** (2), 2010, 200.

- 95: Wagner, H., Bladt, D. and Zgainski, E., *Plant drug analysis, a thin layer, chromatography*, Springer Verlag: Berlin, 2nd edition, 1996.
- 96: Prachyawarakorn, V., Mahidol, C., and Ruchirawat, S., *Phytochemistry*, Pyranocoumarins from the Twigs of *Mammea siamensis*, **67**, 2006, 924.
- 97: Widodo, G. P., Sukrasno, S. E. Y. and Adnyana, I. K., *International Journal of Pharmacology*, A coumarin from *Ageratum* leaves (*Ageratum conyzoides* L.), **4**, 2008, 56.
- 98: Tosun, A., Baba, M., Baba, M. and Okuyama, T., *Turkish Journal of Chemistry*, Pyranocoumarins from *Seseli gummiferum* subsp. *corymbosum* growing in Turkey, **29**, 2005, 327.
- 99: Yang, Z., Kinoshita, T., Tanida, A., Sayama, H., Morita, A. and Watanabe, N., *Food Chemistry*, Analysis of coumarin and its glycosidically bound precursor in Japanese green tea having sweet-herbaceous odour, **114**, 2009, 289.
- 100: Barnes, C. S. and Occolowitz, J. L., *Australian Journal of Chemistry*, The mass spectra of some naturally occurring oxygen heterocycles and related compounds, **17**, 1964, 975.
- 101: Teuscher, E., Anton, R. and Lobstein, A., *Plantes aromatiques, Épices, aromates, condiments et huiles essentielles*, Tec & Doc : Paris, 2005.
- 102: Hartmann, T., *Phytochemistry*, From waste products to ecochemicals : Fifty years research of plant secondary metabolism, **68**, 2007, 2831.
- 103: El Hattab, M., Culioli, G., Pioveti, L., Chitour, S. E. and Valls, R., *Journal of Chromatography A*, Comparison of various extraction methods for identification and determination of volatile metabolites from the brown alga *Dictyopteris membranacea*, **1**, 2007, 1143
- 104: Willem, J. P., *Les huiles essentielles, médecine d'avenir*, du Dauphin : Paris, 2004.
- 105: Golmakini, M. T. and Rezaei, K., *Food Chemistry*, Comparison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L., **109**, 2008, 925.
- 106: Vian, M. A., Fernandez, X., Visinoni, F. and Chemat, F., *Journal of Chromatography A*, Microwave hydrodiffusion and gravity, a new technique for extraction of essential oils, **1190**, 2008, 14.
- 107: Vinatoru, M., *Ultrasonics Sonochemistry*, An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs, **8**, 2001, 303.
- 108: Roldan-Gutierrez, J. M. and Ruiz-Jimenez, J. and Luque de Castro M.D., *Talanta*, Ultrasound-assisted dynamic extraction of valuable compounds from aromatic plants and flowers as compared with steam distillation and superheated liquid extraction, **75**, 2008, 1369.

- 109: Neffati, A., *Thèse de doctorat en Sciences de l'université de Caen*, Etude de la composition chimique et évaluation d'activités biologiques de l'huile essentielle d'une Apiaceae de Tunisie : *Pituranthos chloranthus*, 2010.
- 110: Meyer-Warnod, B., *Perfumer and Flavorist*, Natural essential oils: extraction processes and applications to some major oils, **9**, 1984, 93.
- 111: Sonwa, M. M., *Thèse doctorat Université de Mbamougong*, Isolation and structure elucidation of essential oil constituents: Cameroon, 2000.
- 112: Safaralie, A., Fatemi, S. and Sefidkon, F., *Journal of chromatography A*, Essential oil composition of valeriana officinalis L. roots cultivated in Iran Comparative analysis between supercritical CO₂ extraction & hydrodistillation, **1180**, 2008, 159.
- 113: Grosso, C., Ferraro, V., Figueiredo, A. C., Barroso, J. G., Coelho, J. A. and Palavra, A. M., *Food chemistry*, Supercritical carbon dioxide extraction of volatile oil from Italian coriander seeds, **111**, 2008, 197.
- 114: Lagunez Rivera, L., *Thèse de l'Institut National Polytechnique de Toulouse*, Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffé par induction thermomagnétique directe, 2006.
- 115: Knoss, W. and Reuter, B., *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, Biosynthesis of isoprenic units via different pathways: Occurrence and future prospects, **73**, 1998, 45.
- 116: Lamati, A., Badoc, A., Deffieux, G. and Carde, J.-P., *Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux*, Biogenèse des monoterpènes II- La chaîne isoprénique, **133**, 1994, 79.
- 117: Theis, N. and Lerchau, M., *International Journal of Plant Sciences*, The evolution of function in plant secondary metabolites, **164**, 2003, 93.
- 118: Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. and Idaomar, M., *Food and Chemical Toxicology*, Biological effects of essential oils- A review, **46**, 2008, 446.
- 119 : Vandermoten, S., Cusson, M., Francis, F. and Haubruge, E., *Biotechnology Agronomy Society Environnement*, La biosynthèse des isoprénoides chez les pucerons : une cible potentielle de nouveaux bio-insecticides ?, **12**, 2008, 451.
- 120 : Oswald, M., *Thèse de Doctorat de l'Université Louis Pasteur*, Strasbourg I : Déterminisme génétique de la biosynthèse des terpinéols aromatiques chez la vigne, 2006.
- 121: Pellecuer, J., Roussel, J. L. and Andary, C., *Rivista Italiana Essenzo*, Recherche du pouvoir antifongique de quelques huiles essentielles. (EPPOS), **23**, 1980, 45.
- 122 : Chaumont, J. P. and Leger, D., *Plant med Phyto*, Propriétés antifongiques de quelques phénols et de composés chimiquement très voisins. Relations structure – activité, **23**, 1989, 124.

- 123: Zambonelli, A., D'Aurelio, A. Z., Severi, A., Benvenuti, E., Maggi, L. and Bianchi, A., ***Journal of Essential oil Research***, Chemical composition and fungicidal activity of commercial essential oils of *Thymus vulgaris* L., **16**, 2004, 69.
- 124: Kordali, S., Cakir, A., Ozer, H., Cakmakci, R., Kesdek, M. and Mete, E., ***Bioresource Technology***, Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish *Origanum acutidens* and its three components, carvacrol, thymol and p-cymene, **99**, 2008, 8788.
- 125: Koch, C., Reichling, J., Schneele, J. and Schnitzler, P., ***Phytomedicine***, Inhibitory effect of essential oils against *Herpes simplex* virus type 2, **15**, 2008, 71.
- 126: Monzote, L., Montalvo, A. M., Scull, R., Miranda, M. and Abreu, J., ***Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis***, Activity, toxicity and analysis of resistance of essential oil from *Chenopodium ambrosioides* after intraperitoneal, oral and intralesional administration in BALB/c mice infected with *Leishmania amazonensis*: A preliminary study, **61**, 2007, 148.
- 127: Karbach, J., Königkamp, S., Warnke, P., Behrens, E. and Al-Nawas, B., ***International Journal of Antimicrobiol Agents***, Antimicrobial effect of antibacterial essential oils and three common antiseptic products., **29**, 2007, 303.
- 128: Isman, M. B., ***Crop Protection***, Plant essential oils for pest and disease management, **19**, 2000, 603.
- 129: Hajhashemi, V., Ghannadi, A. and Sharif, B., ***Journal of Ethnopharmacology***, Anti-inflammatory and analgesic properties of the leaf extracts and essential oil of *Lavandula angustifolia* Mill., **89**, 2003, 67.
- 130: Tung, Y. T., Chua, M. T., Wang, S. Y. and Chang, S. T., ***Bioresource Technology***, Anti-inflammation activities of essential oil and its constituents from indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophloeum*) twigs, **99**, 2008, 3908.
- 131: Silva, J., Abebe, W., Sousa, S. M., Duarte, V. G., Machado, M. I. L. and Matos, F. J. A., ***Journal of Ethnopharmacology***, Analgesic and anti-inflammatory effects of essential oils of Eucalyptus, **89**, 2003, 277.
- 132: Abena, A. A., Diatwa, M., Gakosso, G., Gbeassor, M., Hondi-Assah, T. and Ouamba, J. M., ***Fitoterapia***, Analgesic, antipyretic and anti-inflammatory effects of essential oil of *Lippia multiflora*, **74**, 2003, 231.
- 133: Franca, C. S., Menezes, F. S., Costa, L. C. B., Niculau, E. S., Alves, P. B., Pinto, J. E. B. and Marçal, R. M., ***Fitoterapia***, Analgesic and antidiarrheal properties of *Ocimum selloi* essential oil in mice, **79**, 2008, 573.
- 134: Menezes, I. A. C., Marques, M. S., Santos, T. C., Dias, K. S., Silva, A. B. L., Mello, I. C. M., Lisboa A. C. C. D., Alves, P. B., Cavalcanti, S. C. H., Marçal, R. M. and Antonioli,

- A. R., *Fitoterapia*, Antinociceptive effect and acute toxicity of the essential oil of *Hyptis fruticosa* in mice, **78**, 2007, 192.
- 135: Peana, A. T., Marzocco, S., Popolo, A. and Pinto, A., *Life Sciences*, (-)-Linalool inhibits in vitro NO formation: Probable involvement in the antinociceptive activity of this monoterpene compound, **78**, 2006, 719.
- 136: Socorro, V. F. M., Francisco, J. A. M., Leal-Cardoso, J. H. and Criddle, D. N., *Journal of Ethnopharmacology*, Relaxant effects of the essential oil of *Ocimum gratissimum* on isolated ileum of the guinea pig, **81**, 2002, 1.
- 137: Sadraei, H., Ghannadi, A. and Malekshahi, K., *Fitoterapia*, Relaxant effect of essential oil of *Melissa officinalis* and citral on rat ileum contractions, **74**, 2003, 445.
- 138: Jang, I. S. Ko, Y. H., Kang, S. Y. and Lee, C. Y., *Animal Feed Science and Technology*, Effect of a commercial essential oil on growth performance, digestive enzyme activity and intestinal microflora population in broiler chickens, **134**, 2007, 304.
- 139: Wang, X., Zhang, F. M., Liu, Z. X., Feng, H. Z., Yu, Z. B., Lu, Y. Y., Zhai, H. H., Bai, F. H., Shi, Y. Q., Lan, M., Jin, J. P. and Fan, D. M., *Journal of Ethnopharmacology*, Effects of essential oil from *Croton tiglium* L. on intestinal transit in mice, **117**, 2008, 102.
- 140: Lopes-Lutz, D., Alviano, D. S., Alviano, C. S. and Kolodziejczyk, P. P., *Phytochemistry*, Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxydant activities of *Artemisia essential* oils, **69**, 2008, 1732.
- 141: Prieto, J. M., Iacopini, P., Cioni, P. and Chericoni, S., *Food Chemistry*, In vitro activity of the essential oils of *Origanum Vulgare*, *Satureja Montana* and their main constituents in peroxynitrite-induced oxidative processes, **104**, 2007, 889.
- 142: Van Houten, B., Woshner, V. and Santos, J. H., *DNA Repair*, Role of mitochondrial DNA in toxic responses to oxidative stress, **5**, 2006, 145.
- 143: Blanco, M. M., Costa, C. A. R. A., Freire A. O., Santos, J. G. and Costa, M., *Phytomedicine*, Neurobehavioral effect of essential oil of *Cymbopogon citratus* in mice, **16**, 2007, 265.
- 144: Quintans-Junior L. J., Souza, T. T., Leite, B. S., Lessa, N. M. N., Bonjardim L. R., Santos, M. R. V., Alves, P. B., Blankc, A. F. and Antonioli, A. R., *Phytomedicine*, Phytochemical screening and anticonvulsant activity of *Cymbopogon winterianus* Jowitt (Poaceae) leaf essential oil in rodents, **15**, 2008, 619.
- 145: Gornemann, T., Nayal, R., Pertz, H. H. and Melzig, M. F., *Journal of Ethnopharmacology*, Antispasmodic activity of essential oil from *Lippia dulcis* Trev., **117**, 2008, 166.

- 146: Ponce-Monter, H., Campos, M. G., Pérez, S., Pérez, C., Zavala, M., Macias, A., Oropeza, M. and Cardenas, N., *Fitoterapia*, Chemical composition and antispasmodic effect of *Casimiroa pringlei* essential oil on rat uterus, **79**, 2008, 446.
- 147: Sepici –Dincel, A., Ereften Acikgoz, S., Evik, C., Sengelen, M. and Yesilada E., *Journal of Ethnopharmacology*, Effects of in vivo antioxidant enzyme activities of myrtle oil in normoglycaemic and alloxan diabetic rabbits, **110**, 2007, 498.
- 148: Sepici, A. I., Gürbüz Cevik, C. and Yesilada, E., *Journal of Ethnopharmacology*, Hypoglycaemic effects of myrtle oil in normal and alloxan-diabetic rabbits, **93**, 2004, 311.
- 149: Di Pasqua, R., Betts, G., Hoskins, N., Edwards, M., Ercolini, D. and Mauriello, G., *Journal of Agricultural and Food chemistry*, Membrane toxicity of antimicrobial compounds from essential oils, **55**, 2007, 4863.
- 150: Sacchetti, G., Maietti, S., Muzzoli, M., Scaglianti, M., Manfredini, S., Radice, M. and Bruni, R., *Food Chemistry*, Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in food, **91**, 2005, 621.
- 151: Tsuneki, H., Ma, E. L., Kobayashi, S., Sekizaki, N., Maekawa, K., Sasaoka, T., Wang, M. W. and Kimura, I., *European Journal of Pharmacology*, Antiangiogenic activity of beta-eudesmol in vitro and in vivo, **512**, 2005, 105.
- 152: Carnesecchi, S., Bras-Gonc alves, R., Bradaia, A., Zeisel, M., Gosse, F., Poupon, M. F. and Raul, F., *Cancer Letters*, Geraniol a component of plant essential oils, modulates DNA synthesis and potentiates 5-fluorouracil efficacy on human colon tumor xenografts, **215**, 2004, 53.
- 153: Adams, R. P., *Identification of essential oil Components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy*, Allured, Carol Stream IL: USA, 2001.
- 154: Souici, M. L., Lourici, L., Messadi, D., *Lebanese Science Journal*, Relation Structure/ Retention chromatographique de treize alkylnaphtalènes, **8**, 2007, 63.
- 155 : Bouchonnet, S., *Spectra Analyse*, Comparaison des performances des analyseurs quadrupolaires en spectrométrie de masse : trappes ioniques versus quadripôles, **222**, 2001, 11.
- 156: March, R. E., *Journal of Mass Spectrometry*, An introduction to quadrupole ion trap mass spectrometry, **32**, 1997, 351.
- 157: Bouchonnet, S., Hoppilliard, Y. and Kargar-Grisel, T., *Spectra Analyse*, Les différents types de spectromètres de masse utilisées pour l'analyse des composés organiques et bio-organiques, **207**, 1999, 11.

158: Djarri, L., *Thèse de doctorat en science Université de Constantine*, Contribution à l'étude des huiles essentielles et des métabolites secondaires de trois plantes Algériennes de la famille des Apiaceae, 2011.

Chapitre III :

Travaux personnels

III-1 Récolte et identification botanique

Les parties aériennes (tiges, feuilles et fleurs) ont été collectées au cours de la période de floraison à El Kala, wilaya d'Etaref, au Nord-Est de l'Algérie en juin 2001. L'identification a été faite par le Docteur Gérard de Belair de l'université Badji Mokhtar d'Annaba. Un spécimen a été déposé au laboratoire de phytochimie et analyses physicochimiques et biologiques (équipe N° 4), Campus Chaabet Ersas, université Mentouri-Constantine, avec le numéro d'acquisition ChifaDZUMCAPHL00004.

Les analyses ont porté sur les parties aériennes du matériel végétal travaillé après séchage à l'abri des rayons solaires.

III -2 Etude de l'huile essentielle de *Cachrys libanotis* L.

III-2-1 Extraction de l'huile essentielle

Les parties aériennes (tiges, feuilles et fleurs) de *Cachrys libanotis* L. sont soumises à une hydrodistillation en se servant d'un dispositif d'extraction type Clevenger. L'opération consiste à immerger une quantité de la masse végétale (20g) dans un ballon en verre (de 1 litre) contenant 500 ml d'eau distillée. Le mélange est porté à ébullition à l'aide d'un chauffe ballon. Les vapeurs chargées de l'huile essentielle passent à travers le réfrigérant où aura lieu la condensation. Les gouttelettes d'huile ainsi produites s'accumulent dans le tube rempli au préalable d'eau distillée. En raison de la différence de densité, l'huile surnage à la surface de l'eau et elle est récupérée, puis séchée par un déshydratant (sulfate de sodium) pour éliminer le peu d'eau susceptible d'avoir été retenu dans l'huile. L'hydrodistillation dure de 2 à 3 heures. Les huiles essentielles obtenues sont conservées dans des flacons inactiniques à l'abri de la lumière et à une température de 4 C°.

III-2-2 Analyse des huiles essentielles

III-2-2-1 Chromatographie en phase gazeuse avec détecteur à ionisation de flamme

L'analyse chromatographique en phase gazeuse a été effectuée à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse Varian 3400 équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID) et d'une colonne capillaire en silice fondue Macherey Nagel (50 m x 0,25 mm de diamètre interne x 0,25 µm épaisseur du film). La phase stationnaire est une phase apolaire SE 52 (phényl 5%, 95% diméthylpolysiloxane). Le chromatogramme a été réalisé en maintenant la température du four à 60°C puis la température a été programmée de 60°C à

280°C avec un pas de 3°C/min. L'injecteur et le détecteur ont été maintenus à une température de 280°C. L'azote a été utilisé comme gaz vecteur. Le chromatographe en phase gazeuse a été exploité en mode splitless.

III-2-2-2 Chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse

L'échantillon a été analysé par GC-MS. Les analyses ont été effectuées sur un chromatographe gaz Agilent 6890 équipé d'une colonne capillaire en silice fondue de 50 m de long, 0,25 mm de diamètre et 0,25 µm d'épaisseur du film, avec une phase stationnaire apolaire (phényle 5%, 95% méthylpolysiloxane), directement relié à un spectromètre de masse quadripôle Hewlett-Packard 5973. Le gaz vecteur est l'hélium. Le chromatographe en phase gazeuse a été exploité en mode splitless.

Les conditions chromatographiques sont les suivantes: four chauffé avec une programmation de température de 60° C à 280° C à une vitesse de 3 °C/min et maintien de la température finale pendant 20 min. L'injecteur et la ligne de transfert ont été maintenus à une température de 280°C. Pour chaque échantillon, l'analyse a été réalisée par impact électronique (IE) à 70 eV ou par ionisation chimique (IC) avec le méthane comme gaz sous pression utilisé. La température de la source d'ions a été maintenue à 250°C.

III-2-2-3 Identification des composés

L'identification des composés a été réalisée par la comparaison des spectres de masse des produits de l'huile avec les spectres de masse des bibliothèques commerciales informatisées (Wiley-275 et NIST-98) et avec ceux de la base de données élaborée par le laboratoire à partir de substances authentiques.

La formule modifiée de Van den Dool et Kratz [1] a été utilisée pour calculer les indices de rétention. La colonne et les conditions d'analyse utilisées pour la détermination des indices de rétention sont celles qui sont décrites ci-dessus dans la section sur la chromatographie en phase gazeuse.

La confirmation a été faite par la comparaison des indices de rétention des produits séparés avec ceux décrits dans la librairie Adams [2].

III-2-3 Résultats et discussions

Les parties aériennes de *Cachrys libanotis* (180) ont été hydrodistillées selon la procédure décrite dans la pharmacopée européenne [3], pour obtenir 1ml d'huile ce qui correspond à un rendement de 0,55% V/M.

La composition et les pourcentages des composants identifiés dans l'huile essentielle sont résumés dans le tableau-01. Les composés sont classés par ordre de leur indice de rétention (IR) calculé sur une phase stationnaire apolaire. La chromatographie gazeuse révèle la présence de 31 composés représentant 81.1% de la composition globale de l'huile essentielle composée de 31.9% de monoterpènes, 45.4% de sesquiterpènes et 3.8% d'hydrocarbures.

Les monoterpènes non oxygénés et oxygénés représentent 89.2% et 10.8% respectivement de la composition globale en monoterpènes de l'huile essentielle.

- Le γ -terpinène (6.4%) suivie par le p-cymène (5.5%) et limonène (5.1%) semblent être représentatifs des monoterpènes non oxygénés.
- Le p-cymèn-8-ol (2.5%) est représentatif des monoterpènes oxygénés.
- La composition de l'huile essentielle en sesquiterpènes domine. Le pourcentage en sesquiterpènes non oxygénés et oxygénés sont de 76.6% et 23.4% respectivement de la composition globale en sesquiterpènes de l'huile essentielle.
- La composition de l'huile essentielle est dominée par les sesquiterpènes non oxygénés (34.8% du total) dont le germacrène-D (18.2%) est le constituant majoritaire de cette classe et de l'huile essentielle. L'oxyde de caryophyllène (5.1%) est le constituant majoritaire des sesquiterpènes oxygénés.

Des résultats similaires ont été trouvés seulement pour l'analyse quantitative de l'huile essentielle des fruits de *Cachrys alpina* [4] où les sesquiterpènes non oxygénés dominent avec le α -humulène comme composé majoritaire.

Tableau-01 : Composition de l'huile essentielle des parties aériennes de *Cachrys libanotis* L.

N°	Produit	Formule brute	PM	IR	%
1	α -Pinène	C ₁₀ H ₁₆	136	940	1.2
2	Verbenène	C ₁₀ H ₁₄	134	962	traces
3	Sabinène	C ₁₀ H ₁₆	136	979	3.1
4	β -Pinène	C ₁₀ H ₁₆	136	984	4.0
5	Myrcène	C ₁₀ H ₁₆	136	993	3.2
6	α -Terpinène	C ₁₀ H ₁₆	136	1023	traces
7	p-Cymène	C ₁₀ H ₁₆	134	1030	5.5

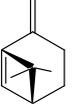
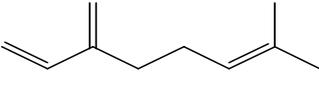
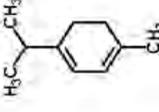
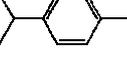
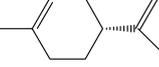
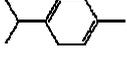
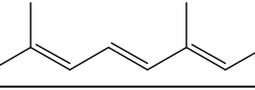
8	Limonène	C ₁₀ H ₁₆	136	1033	5.1
9	γ-Terpinène	C ₁₀ H ₁₆	136	1063	6.4
10	α-Terpinolène	C ₁₀ H ₁₆	136	1094	traces
11	allo-Ocimène	C ₁₀ H ₁₆	136	1131	traces
12	Pinocarvone	C ₁₀ H ₁₄ O	150	1172	0.2
13	Terpinèn-4-ol	C ₁₀ H ₁₈ O	154	1184	0.1
14	p-Cymèn-8-ol	C ₁₀ H ₁₄ O	150	1193	2.5
15	Myrténol	C ₁₀ H ₁₆ O	152	1204	0.1
16	Thymol méthyl- éther	C ₁₀ H ₁₆ O	164	1233	traces
17	Thymol	C ₁₀ H ₁₄ O	150	1293	0.5
18	Carvacrol	C ₁₀ H ₁₄ O	150	1305	traces
19	Bicycloélemène	C ₁₅ H ₂₄	204	1317	0.4
20	α-Cubébène	C ₁₅ H ₂₄	204	1355	0.9
21	α-Copaène	C ₁₅ H ₂₄	204	1383	4.0
22	C ₁₅ H ₂₄	C ₁₅ H ₂₄	204	1393	2.6
23	β-Cubebène	C ₁₅ H ₂₄	204	1396	1.5
24	C ₁₅ H ₂₄	C ₁₅ H ₂₄	204	1428	1.7
25	Calarène	C ₁₅ H ₂₄	204	1438	1.2
26	C ₁₅ H ₂₄	C ₁₅ H ₂₄	204	1454	0.2
27	C ₁₅ H ₂₄	C ₁₅ H ₂₄	204	1473	0.1
28	ar-Curcumène	C ₁₅ H ₂₂	202	1487	0.1
29	Germacrène-D	C ₁₅ H ₂₄	204	1491	18.0
30	C ₁₅ H ₂₄	C ₁₅ H ₂₄	204	1503	1.0
31	γ-Cadinène	C ₁₅ H ₂₄	204	1531	2.4
32	cis-Calamenène	C ₁₅ H ₂₂	202	1533	0.4
33	α-Calacorène	C ₁₅ H ₂₀	200	1554	0.3
34	Spathulénol	C ₁₅ H ₂₄ O	220	1590	4.1
35	Oxide de Caryophyllène	C ₁₅ H ₂₄ O	220	1597	5.1
36	C ₁₅ H ₂₄ O	C ₁₅ H ₂₄ O	220	1616	0.9
37	C ₁₅ H ₂₄ O	C ₁₅ H ₂₄ O	220	1658	0.5
38	Neophytadiène	C ₂₀ H ₃₈	278	1836	3.8

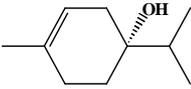
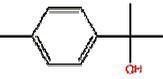
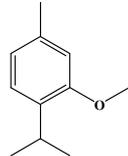
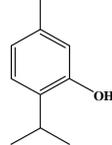
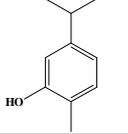
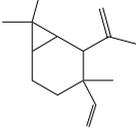
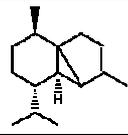
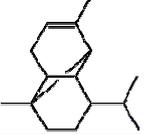
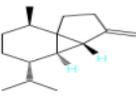
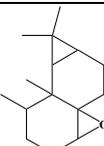
Traces : % < 0,01, **IR** : Indice de rétention, **PM** : poids moléculaire

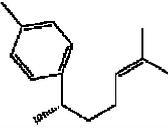
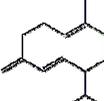
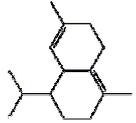
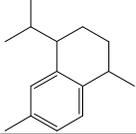
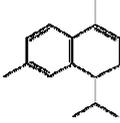
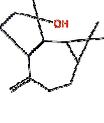
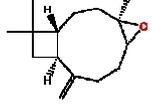
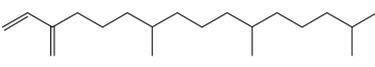
Famille de Composés	%
Monoterpènes hydrocarbonés	89,2%
Monoterpènes oxygénés	10,8%
Sesquiterpènes hydrocarbonés	76,6%
Sesquiterpènes oxygénés	23,4%

Les noms et les formules des principaux composés identifiés dans l'huile essentielle de *Cachrys libanotis* L. sont résumés dans le tableau-02.

Tableau-02 : Structure des composés identifiés dans l'huile essentielle de *Cachrys libanotis* L.

N°	Nom du produit	Formule	Structure
1	α -Pinène (monoterpène)	$C_{10}H_{16}$	
2	Verbénène (monoterpène)	$C_{10}H_{14}$	
3	Sabinène (monoterpène)	$C_{10}H_{16}$	
4	β -Pinène (monoterpène)	$C_{10}H_{16}$	
5	Myrcène (monoterpène)	$C_{10}H_{16}$	
6	α -Terpinène (monoterpène)	$C_{10}H_{16}$	
7	<i>p</i> -Cymène (monoaromatique)	$C_{10}H_{14}$	
8	Limonène (monoterpène)	$C_{10}H_{16}$	
9	γ -Terpinène (monoterpène)	$C_{10}H_{16}$	
10	α -Terpinolène (monoterpène)	$C_{10}H_{16}$	
11	<i>allo</i> -Ocimène (monoterpène)	$C_{10}H_{16}$	

12	Pinocarvone (monoter-oxyg)	$C_{10}H_{14}O$	
13	Terpinèn-4-ol (monoter-oxyg)	$C_{10}H_{18}O$	
14	<i>p</i> -Cymèn-8-ol (monoter-oxyg)	$C_{10}H_{14}O$	
15	Myrténol (monoter-oxyg)	$C_{10}H_{16}O$	
16	Thymol méthyl ether (monoter-oxyg)	$C_{10}H_{16}O$	
17	Thymol (monoter-oxyg)	$C_{10}H_{14}O$	
18	Carvacrol (monoter-oxyg)	$C_{10}H_{14}O$	
20	Bicycloélemène (sesquiterpène)	$C_{15}H_{24}$	
21	α -Cubébène (sesquiterpène)	$C_{15}H_{24}$	
22	α -Copaène (sesquiterpène)	$C_{15}H_{24}$	
24	β -Cubébène (sesquiterpène)	$C_{15}H_{24}$	
26	Calarène (sesquiterpène)	$C_{15}H_{24}$	

28	<i>ar</i> -Curumène (sesquiterpène)	$C_{15}H_{22}$	
29	Germacrène-D (sesquiterpène)	$C_{15}H_{24}$	
31	γ -Cadinène (sesquiterpène)	$C_{15}H_{24}$	
32	<i>cis</i> -Calaménène (sesquiterpène)	$C_{15}H_{22}$	
33	α -Calacorène (sesquiterpène)	$C_{15}H_{20}$	
34	Spathuléol (sesq-oxy)	$C_{15}H_{24}O$	
35	Oxide de caryophyllène (sesq-oxy)	$C_{15}H_{24}O$	
38	Néophytadiène (diterpène)	$C_{20}H_{38}$	

III-2-4 Conclusion

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes constitués de plusieurs dizaines, voir de plus d'une centaine de composés, principalement des terpènes. Les huiles essentielles peuvent contenir également des composés aliphatiques (monoterpéniques) ou des phénylpropanoïde.

Ces produits naturels présentent un grand intérêt comme matières premières destinées à différents secteurs d'activité tels que la pharmacie, la cosmétique, la parfumerie et l'agroalimentaire.

L'étude de la composition chimique des huiles essentielles a permis à la science des arômes de se développer telle qu'elle est aujourd'hui. Les spécialistes dans ce domaine sont toujours à l'affût de nouvelles substances pouvant servir dans l'industrie du parfum ou des arômes. Ainsi donc, toute plante qui possède une odeur agréable peut être soumise à un traitement d'extraction par la vapeur d'eau afin d'en soutirer l'huile essentielle qui sera étudiée quand à sa composition chimique et quant à ses caractéristiques physiques afin d'en vérifier le potentiel d'exploitation économique.

Cette recherche portant sur l'analyse de l'huile essentielle de *Cachrys libanotis* L. avait comme objectif l'évaluation de la productivité de cette espèce en terme d'huile essentielle de même que l'identification des constituants de cette huile.

L'étude de l'huile a été effectuée sur les parties aériennes de la plante. La détermination de la composition chimique et le rendement a nécessité l'utilisation de différentes méthodes d'analyses. Elle a été analysée par chromatographie en phase gazeuse (CG /FID) et spectrométrie de masse (CG/SM).

La méthode d'extraction par hydrodistillation a permis d'obtenir une teneur en huile de 0,55% et son analyse nous a permis d'identifier 31 composés.

On peut remarquer la présence, en proportions importantes des sesquiterpènes avec prédominance des sesquiterpènes hydrocarbonés dont le germacrène- D est le constituant majoritaire.

III-3 Etude des métabolites secondaires de *Cachrys libanotis* L.

III-3-1 Extraction par gradient de solvant

Les résultats des analyses préliminaires ont conduit à envisager une extraction des parties aériennes de *Cachrys libanotis* L. par gradient de solvant. 686g du matériel Végétal ont été réduit en poudre par broyage, celle-ci a été successivement extraite par macération à froid avec des solvants de polarité croissante, d'abord dans le cyclohexane (3x31) ; ensuite dans le dichlorométhane (3x31) et enfin dans le méthanol (3x31) jusqu'à l'épuisement en laissant macérer à chaque fois pendant 24h.

Les filtrats récupérés ont été évaporés à sec sous vide à une température entre 40° et 45° C (figure-01).

Les masses des différents extraits des parties aériennes sont résumés dans le tableau-03.

Masse de la plante : 686g	Rendements	
Masse de l'extrait cyclohexanique	12.32g	1.88%
Masse de l'extrait dichlorométhanique	16.32g	2.38%
Masse de l'extrait méthanolique	79.39g	11.57%

Tableau-03 : Masse et pourcentage des différents extraits des parties aériennes des *C. libanotis* L.

Les résultats des tests préliminaires sur plaques CCM effectués sur les différents extraits obtenus nous ont orienté dans notre choix qui s'est porté sur l'extrait méthanolique qui a montré une plus grande richesse en métabolites se référant bien sur aux nombre de taches visualisées sous UV à 254 et 365 nm.

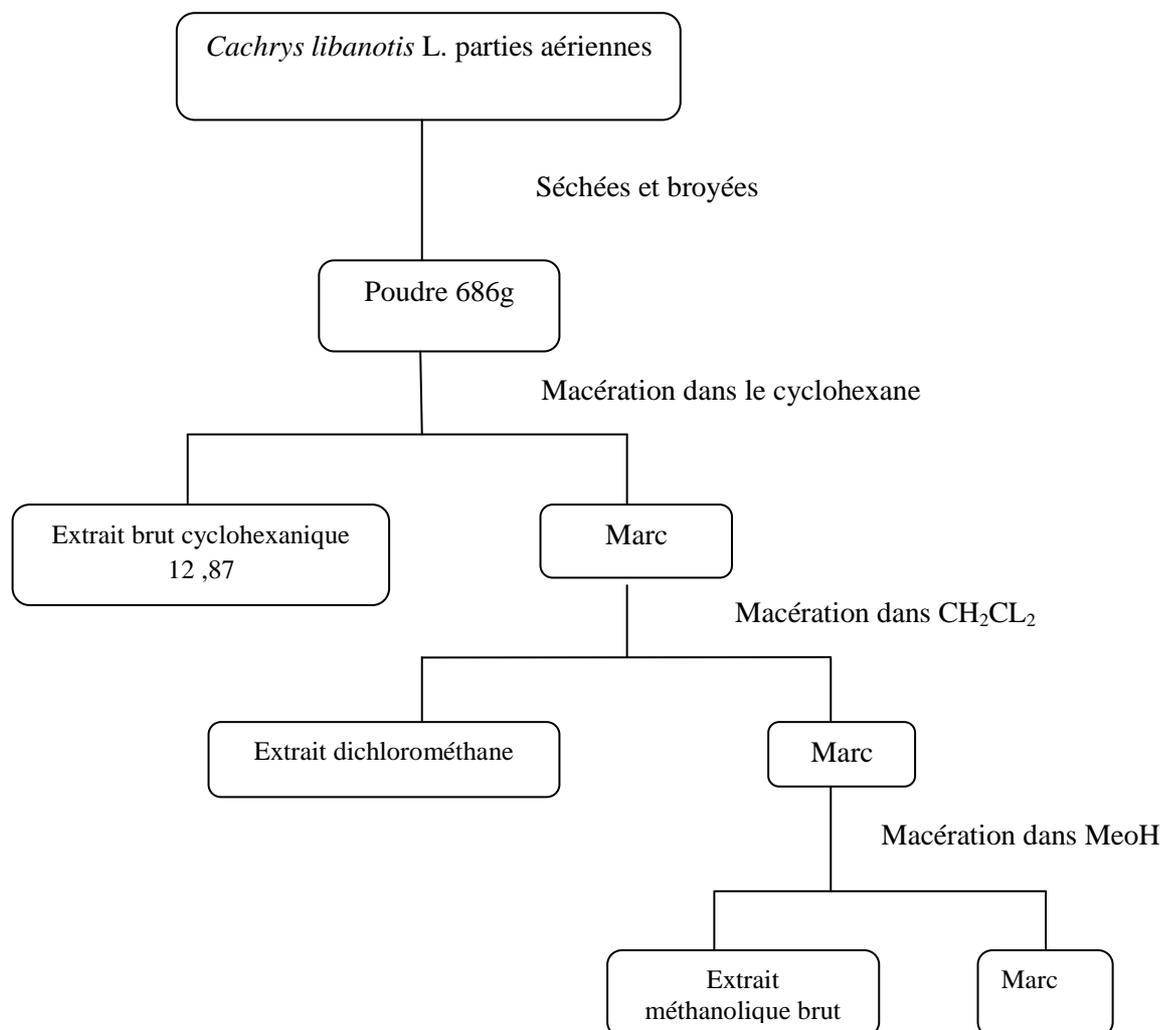


Figure-01: Récapitulatif de l'extraction des parties aériennes de *C. libanotis* avec les différents solvants.

III-3-2 Etude phytochimique de l'extrait méthanologique

Les 79.39g de l'extrait ont été dissous dans le méthanol. L'élimination de la chlorophylle se fait par précipitation par l'eau portée à ébullition

200ml d'eau chaude sont ajoutés à la solution méthanologique. On laisse reposer dans le réfrigérateur, après une nuit, le mélange est filtré sous vide. Le filtrat obtenu est épuisé successivement par l'acétate d'éthyle (Extrait A) et le BuOH (phase B) (figure-02).

Une plaque CCM à usage analytique de contrôle a montré que les deux phases A et B ont le même profil chromatographique ce qui nous a amenés à les mélanger. Le mélange des deux phases est nommé la phase C (Phase A + Phase B = Phase C).

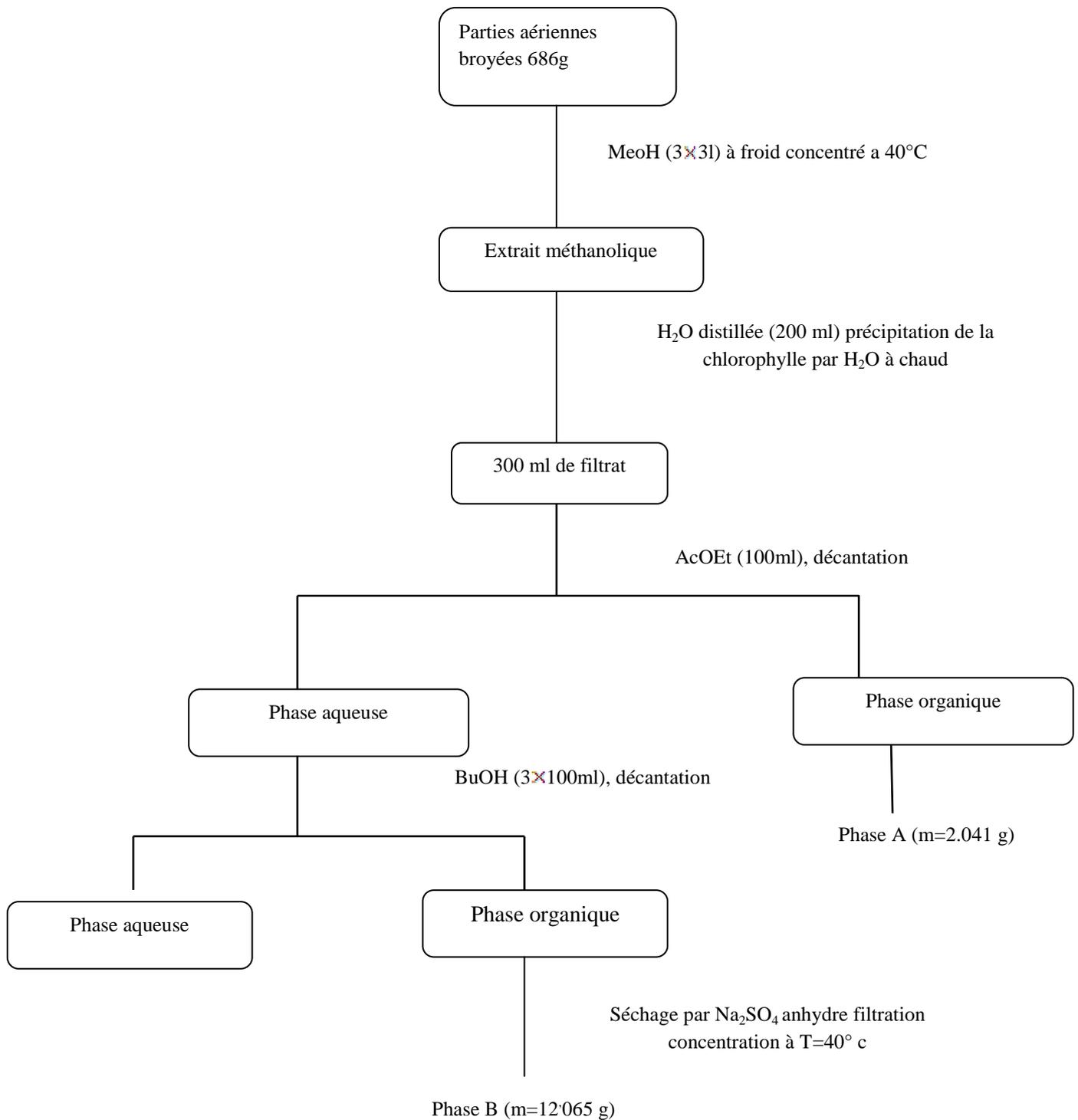


Figure-02 : Récapitulatif de l'extraction de l'extrait méthanolique des parties aériennes de *C.libanotis* L.

III-3-3-Fractionnement de la phase C

Le fractionnement de la phase C a été réalisé par chromatographie sur colonne. 14g de la phase C

sont déposés sur une colonne de gel de silice 60 Merck de granulométrie (70-200 μm) préparé dans le dichlorométhane.

L'élution a été faite par le dichlorométhane avec des pourcentages croissant de méthanol. Nous avons réalisé des fractions de 100 ml, le suivi de la composition est effectué par chromatographie sur couche mince de gel de silice sur support aluminium (usage analytique), les plaques sont visualisées sous lumière UV (254 et 365) puis révélées par la vanilline sulfurique (1g de vanilline , 2ml d'acide sulfurique et 100ml d'éthanol 95%) , puis chauffage quelques minutes à 100°C.

Les fractions sont réunies suivant leurs chromatogrammes sur couche mince. Le tableau-04 rassemble les résultats de cette colonne.

N° de fraction	% de CH_2Cl_2	% de MeOH	Lot	Masse en (mg)	Remarques
$F_1 \rightarrow F_2$	100	0			Solvant
$F_3 \rightarrow F_{11}$	97	3	A	50 mg	Phtalates
$F_{12} \rightarrow F_{14}$	97	3	B	11,2 mg	Une tache qui absorbe à 365 nm
$F_{15} \rightarrow F_{30}$	95	5	C	33,1	Mélange complexe
$F_{31} \rightarrow F_{35}$	90	10	D	682,8	2 produits majoritaires qui absorbent à 254 et 365 nm
$F_{36} \rightarrow F_{40}$	90	10	E	495,2	2 produits majoritaires qui absorbent à 365 nm
$F_{41} \rightarrow F_{88}$	80	20	F	1999,8	Mélange complexe
$F_{89} \rightarrow F_{125}$	80	20	G	1784,7	Mélange complexe avec 2 produits majoritaires
$F_{126} \rightarrow F_{136}$	60	40	H	1723,6	Mélange complexe avec 2 produits majoritaires
$F_{137} \rightarrow F_{146}$	50	50	I	1866,7	Mélange complexe avec 2 produit majoritaires
$F_{147} \rightarrow F_{160}$	30	70	J	1982,4	Mélange complexe
$F_{161} \rightarrow F_{170}$	0	100	K	1979,5	Mélange complexe avec un précipité blanc

F ₁₈₀ → F ₁₉₅	0	100	L	1072	Fin de colonne mélange complexe
-------------------------------------	---	-----	---	------	------------------------------------

Tableau-04 : Résultats de fractionnement de la phase C des parties aériennes de *C.libanotis* L.

➤ Traitement du **lot B**

La fraction B a donné le produit H255 (m=11,2 mg) à l'état pur dont la plaque analytique après révélation par la vanilline sulfurique et chauffage montre un spot de couleur pourpre. Ce produit est soluble dans le chloroforme.

➤ Traitement du **lot D** (m=682.8 mg)

Cette fraction a été chromatographiée sur colonne de gel de silice de granulométrie : 20-40µm, élution par l'acétate d'éthyle à 100% , volume de chaque fraction 15ml, nombre de fractions obtenues : 34 .Ces fractions ont été réunies en cinq fractions (D₁-D₅) après le suivi de la composition par chromatographie sur couche mince de gel de silice sur support Aluminium (usage analytique).

La sous-fraction D₄ a donné les produits , H288 et H279 qui ont été séparés par chromatographie préparative sur couche mince de gel de silice après 3 éluions avec le système CH₂Cl₂-AcOEt (7 :3) comme éluant. , H288 absorbe à 254et H279 à 365 nm.

➤ Traitement de **lot E** (m=495.2 mg)

Le lot E a été chromatographié sur colonne de gel de silice granulométrie : 20-40µm préparé dans le dichlorométhane. Elution par AcOEt 100% volume de chaque fraction 15ml, nombre de fractions obtenues 40 sont regroupées selon le suivi de leurs compositions en six fractions de E₁ à E₆ par chromatographie sur couche mince de gel de silice sur support Aluminium (usage analytique).

La sous-fraction E₂ a donné le composé H253 à l'état pur sous forme de poudre blanche dont la plaque analytique après révélation par la vanilline sulfurique et chauffage montre un spot de couleur pourpre ce produit est soluble dans le CH₂CL₂ et sa masse est de 60,5 mg.

Ce produit se trouve aussi dans le lot F et c'est le produit majoritaire de la plante . On le trouve très majoritaire dans le lot F.

La sous-fraction E₄ a donné le composé H274 (m=19 mg) qui a été purifié par chromatographie préparative sur couche mince de gel de silice après deux éluions avec le système de solvant CH₂CL₂/AcOEt (4 :6) comme éluant.

➤ Traitement du **lot G** (m=1784,7 mg)

Le lot G a été chromatographié sur colonne de gel de silice (20-40µm) préparé dans CH₂CL₂ élution par le mélange CH₂CL₂/ AcOEt (2 :8) volume de chaque fractions 30ml, 200 fractions ont été recueillies et rassemblées en 6 sous-fractions indexées de G₁ à G₅ en raison a la fois des masses et des profils chromatographiques seules les sous fractions G₃ et G₅ ont fait l'objet d'une étude ultérieure.

La sous – fraction G₃ (m=33mg) a donné le produit H275 à l'état pur sous forme d'aiguille blanche de masse 9mg soluble dans le Chloroforme qui s'est formé sur les parois du tube dans la sous-fraction G₃.

La sous fraction G₅ (m=540mg) a été chromatographié sur colonne de gel de silice (20-40µm) élution par gradient de solvants ACOET /MeOH (100 : 0 à 50 : 50) on recueille un total de 100 fractions de 20ml qui ont été chromatographiées et réunies à nouveau pour donner le produit H284 (m=12 mg) qui a été purifié par chromatographie préparative sur couche mince de gel de silice après 2 éluions avec le système de solvants AcOEt/ MeOH/ H₂O/ AA (7.5 : 1 : 1 : 0.5).

➤ Traitement du **lot H** (m=1723.6 mg)

Le lot a été chromatographié sur colonne de gel de silice (20-40µm) avec un système d'élution AcOEt/ MeOH (9 : 1). Six sous-fractions sont obtenues de H₁ à H₆.

La sous-fraction H₄ (65 mg) a donné le produit H278 à l'état pur sous forme d'un précipité blanc de masse (23 mg).

La sous-fraction H₆ (365 mg) a donné le produit H285 qui a été purifié par chromatographie préparative sur couche mince de gel de silice après 3 éluions avec le système de solvant AcOEt/ MeOH/ H₂O/ A-A (7,5 : 1 : 1 : 0,5).

Comme éluant, ce produit absorbe à 365 nm et donne un spot de couleur violet à 365nm révélé avec la vanilline donne un spot pourpre de masse 9 mg.

➤ Traitement du **lot I** (m=1866.7 mg)

Le lot I a été chromatographié sur colonne de gel silice (20-40 μ m) élution par gradient de solvants AcOEt/ MeOH (100 : 0 à 0 : 100). On recueille un total de 200 fractions de 30ml chacune. Celles-ci ont été regroupées en cinq sous – fractions indexées de I₁ à I₅.

La sous-fraction I₃ (m=366 mg) a donné le produit H277 (m=40mg) sous forme de poudre blanche.

➤ **Traitement du lot K**

Le lot K a donné le produit H290 à l'état pur sous forme de poudre blanche de masse (m=70mg).

Phase C
(Phase A+ Phase B)

Chromatographie sur colonne de gel de silice
(20-70µM) éluant CH₂Cl₂-MeOH

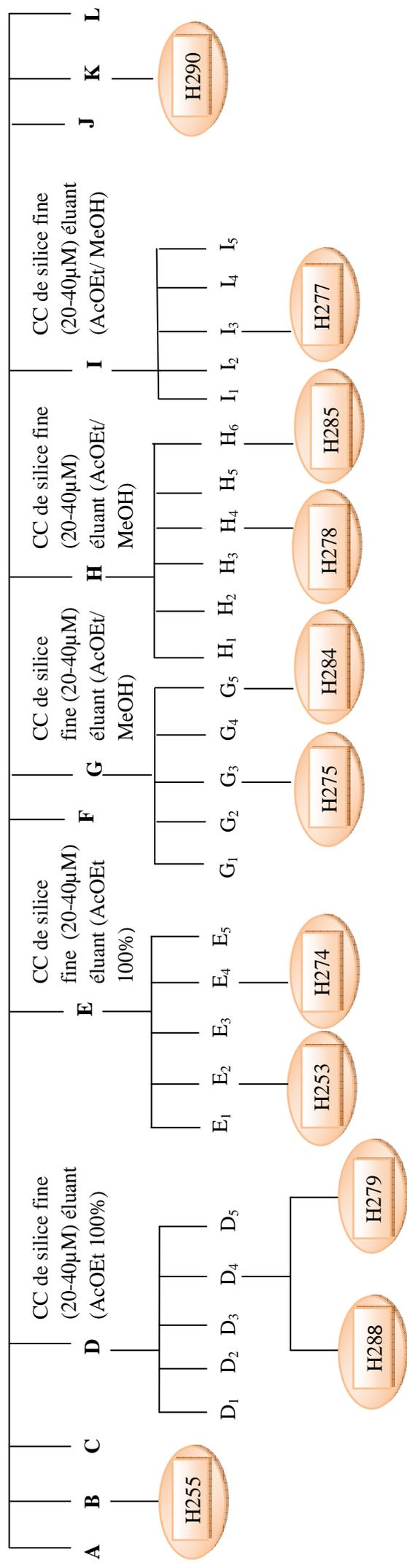


Figure-03 : Séparation, purification des différents composés de *Cachrys libanotis* L.

III-3-5 Détermination de structures des composés isolés

III-3-5-1 Détermination de structure du composé H253

Le spectre de masse en ES⁺ (figure-04), donne une masse d'un pic à 301 [M+Na]⁺ de formule brute C₁₅H₁₈O₅, ce qui indique un degré d'insaturation de sept.

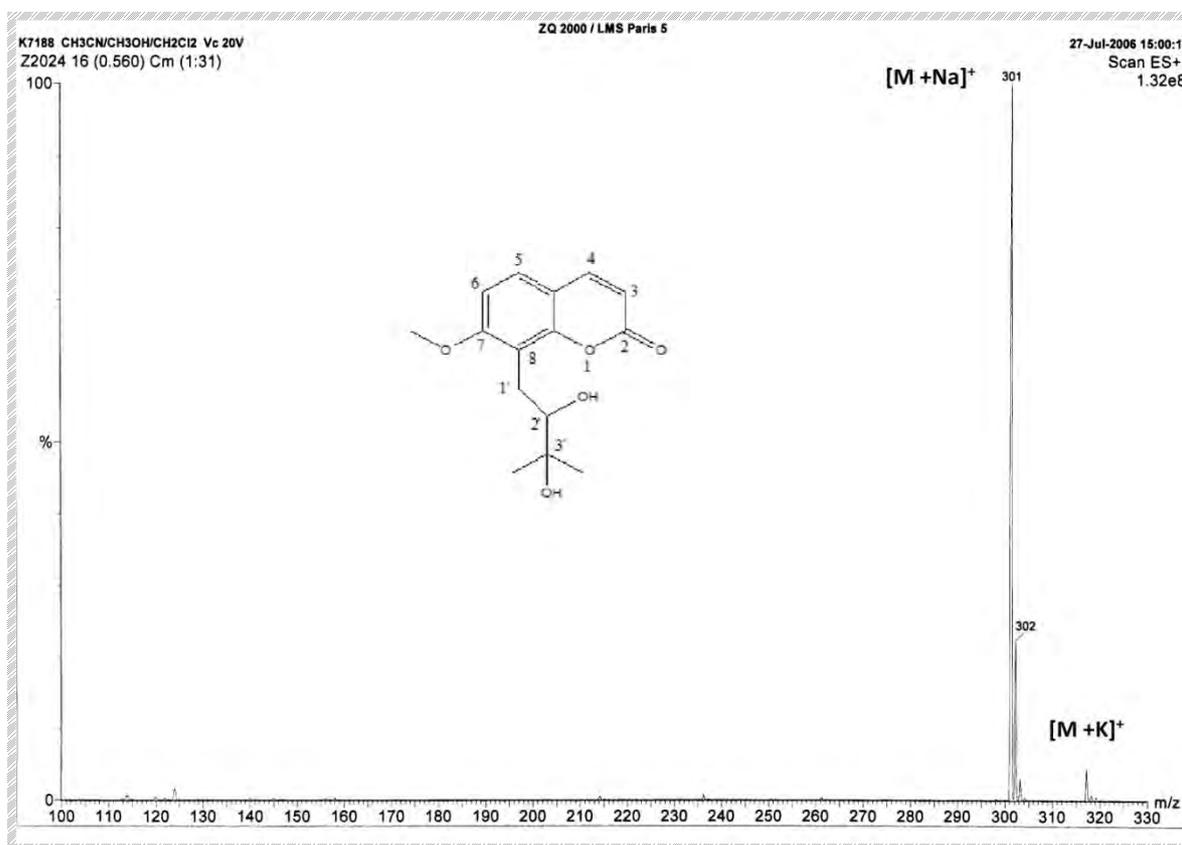


Figure-04: Spectre de masse en ES⁺ du composé H253.

Le spectre RMN-¹H (figure-05) présente deux systèmes AB. Un doublet AB à δ_H 7.60 et à δ_H 6.17 ($J = 9.4$ Hz) caractérisant une coumarine non substitué aux positions 3 et 4 [5]. Un autre doublet AB à δ_H 7.31 et à δ_H 6.84 ($J = 8.5$ Hz) attribuables aux protons H-5 et H-6. Le couplage ortho du proton H-6 et le singulet intégrant pour trois protons à δ_H 3.89 (OCH₃) confirment la présence dans cette molécule d'un squelette de type coumarine substitué aux positions 7 et 8 [6] (figure-06). Le même spectre présente d'une part des signaux de type ABX à δ_H 2.98 (2H, d, $J = 8.8$ Hz) et à δ_H 3.58 (1H, dd, $J = 8.6, 4.1$ Hz) assignés aux protons H-1' et H-2' respectivement, et d'autre part un singulet à δ_H 1.28 intégrant pour 6H correspondant aux deux méthyles géminés du groupe hydroxy isopropyle [7] (figure-07).

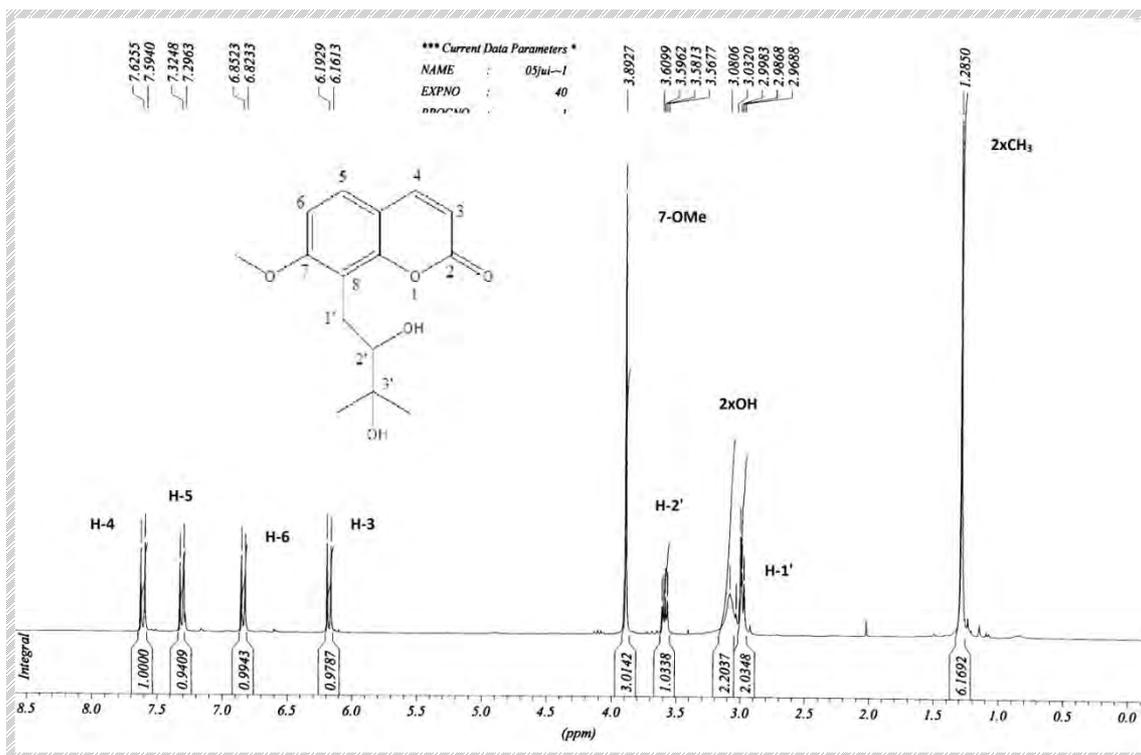


Figure-05: Spectre RMN- ¹H (300 MHz, CDCl₃) du composé H253.

Les corrélations observées sur le spectre Cosy ¹H-¹H (figure-08) consolident ces hypothèses.

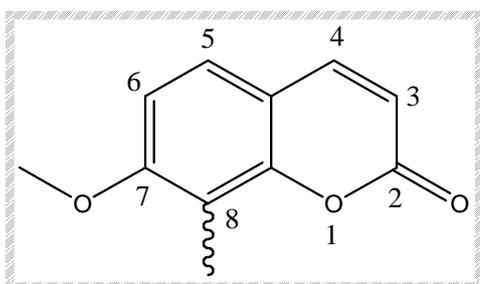


Figure-06

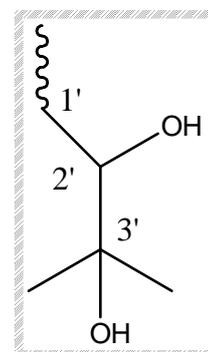


Figure-07

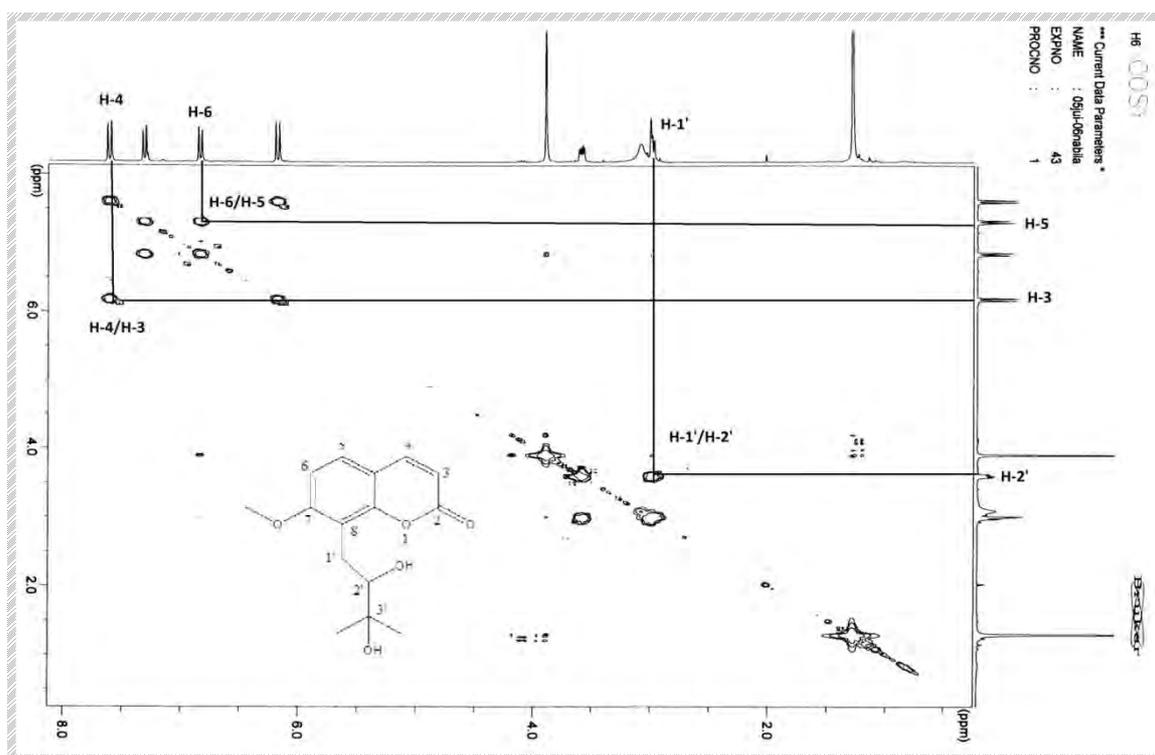


Figure-08: Spectre Cosy ^1H - ^1H (300 MHz, CDCl_3) du composé H253.

Le spectre RMN- ^{13}C (figure-09) et la séquence DEPT 135 (figure-10) confirment les données de la masse par la présence de 15 résonances, incluant :

- Six carbones quaternaires de type sp dont quatre oxygénés.
- Quatre groupements CH de type sp^2 et un groupement CH oxygéné de type sp^3 .
- Un méthylène.
- Un méthyle oxygéné.
- Deux méthyles liés à un carbone quaternaire portant un groupement hydroxyle.

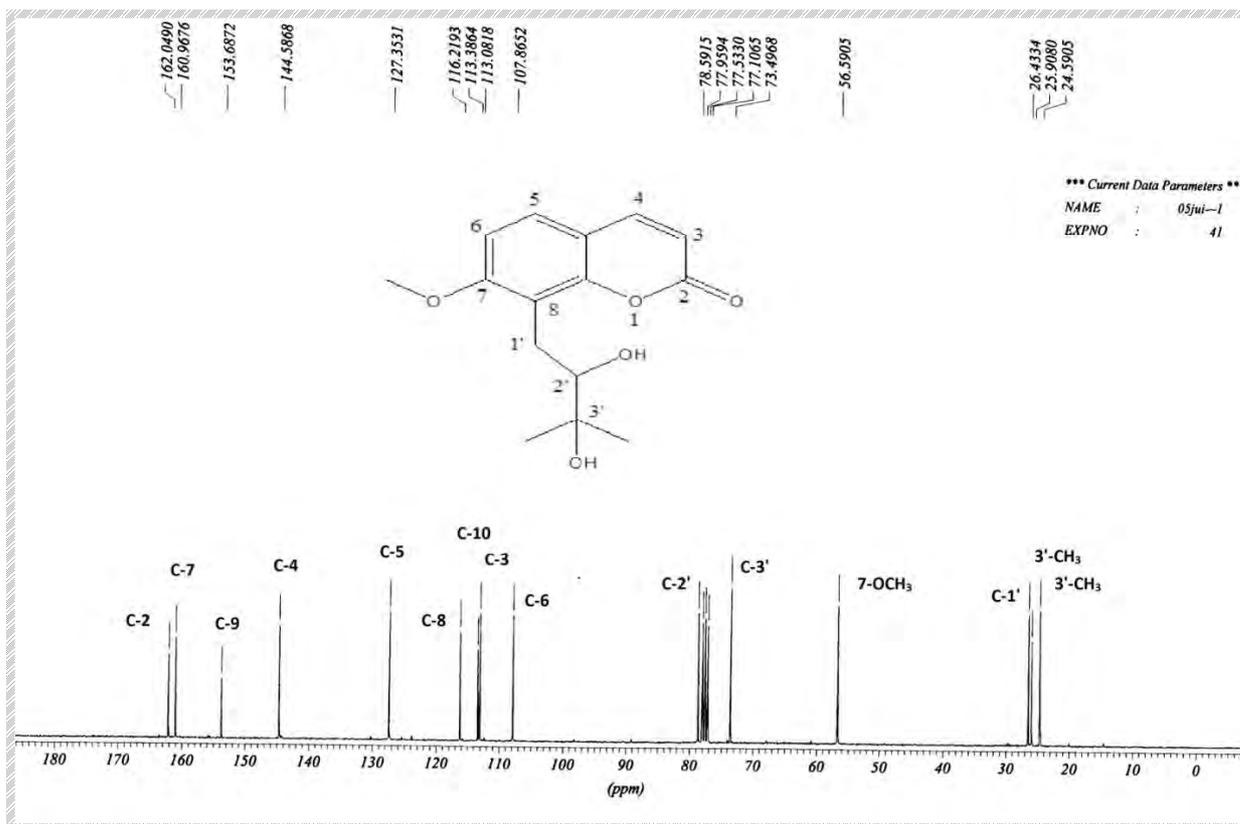


Figure-09: Spectre ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) du composé H253.

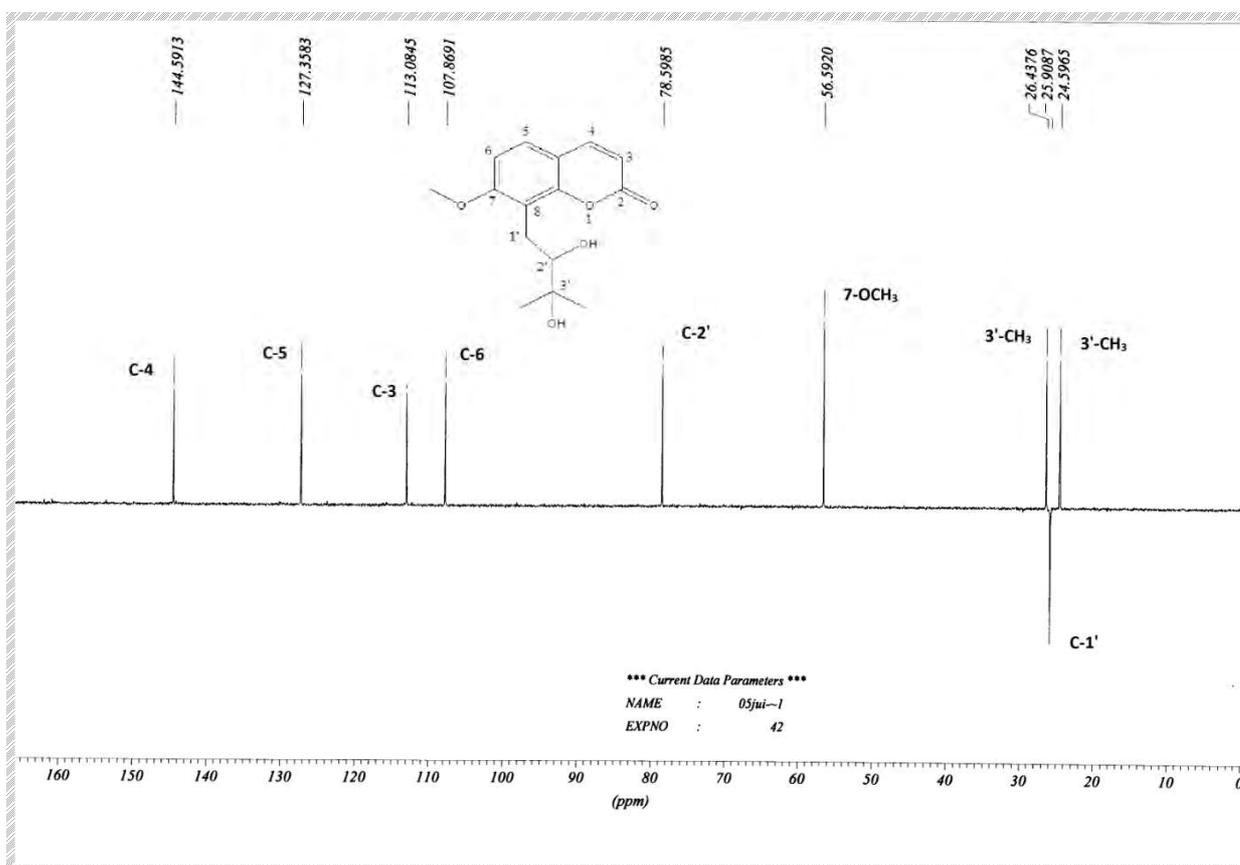


Figure-10: Spectre DEPT 135 (75 MHz, CDCl_3) du composé H253.

L'évaluation du spectre HMQC (figure-11) nous a permis de démontrer que :

- les protons éthyléniques situés à δ_H 6.17, δ_H 6.84, δ_H 7.31 et à δ_H 7.60 sont portés par les carbones résonnant à δ_C 113.1, δ_C 107.9, δ_C 127.3 et à δ_C 144.6.
- Le proton méthylène à δ_H 2.98 est attaché au carbone résonnant à δ_C 25.9.
- Le proton à δ_H 3.58 est lié au carbone situé à δ_C 78.6.

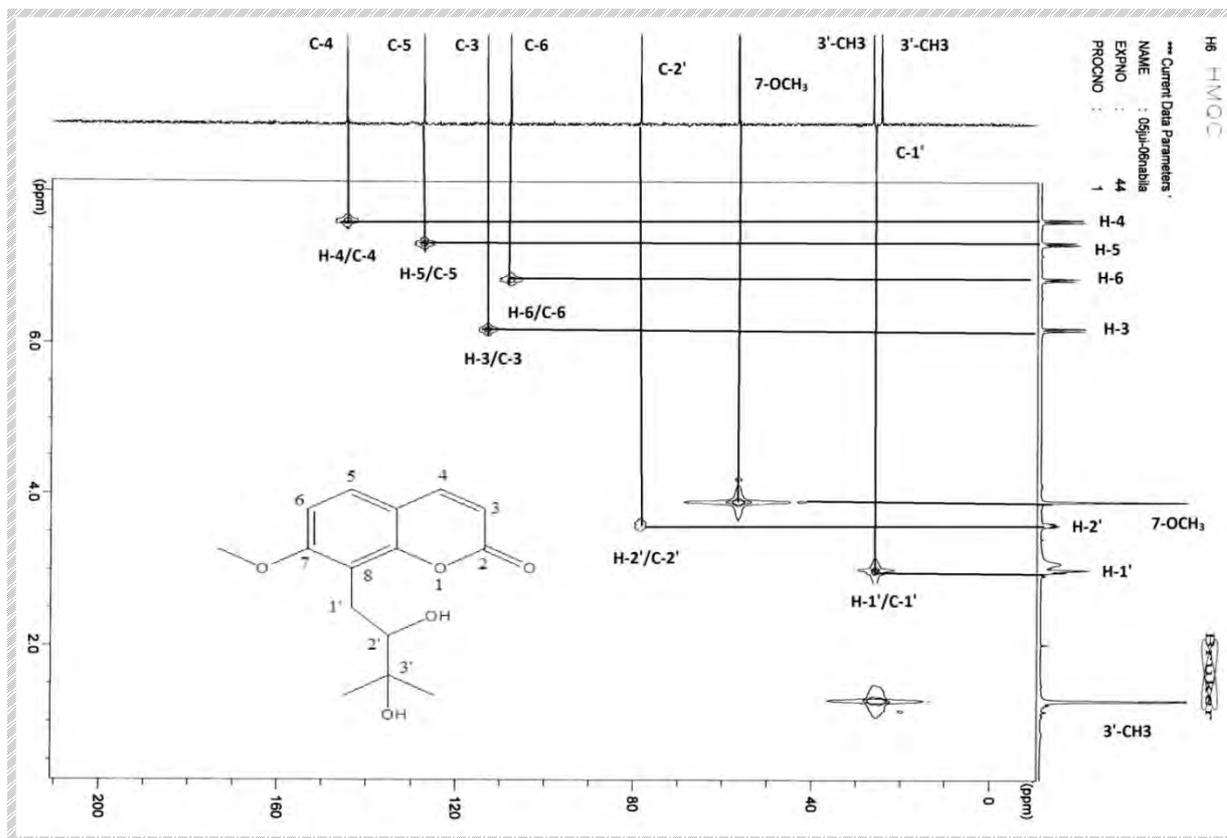


Figure-11: Spectre HMQC (300 MHz, CDCl_3) du composé H253.

Sur le spectre HMBC (figure-12) nous avons identifié les corrélations existantes d'une part entre le carbone C-7 et les protons du groupement méthoxyle ce qui conforte l'attachement de ce dernier en position 7 et d'autre part entre le carbone C-8 et le proton H-1' du groupement hydroxy isopropyle ce qui confirme l'attachement de ce dernier en position 8.

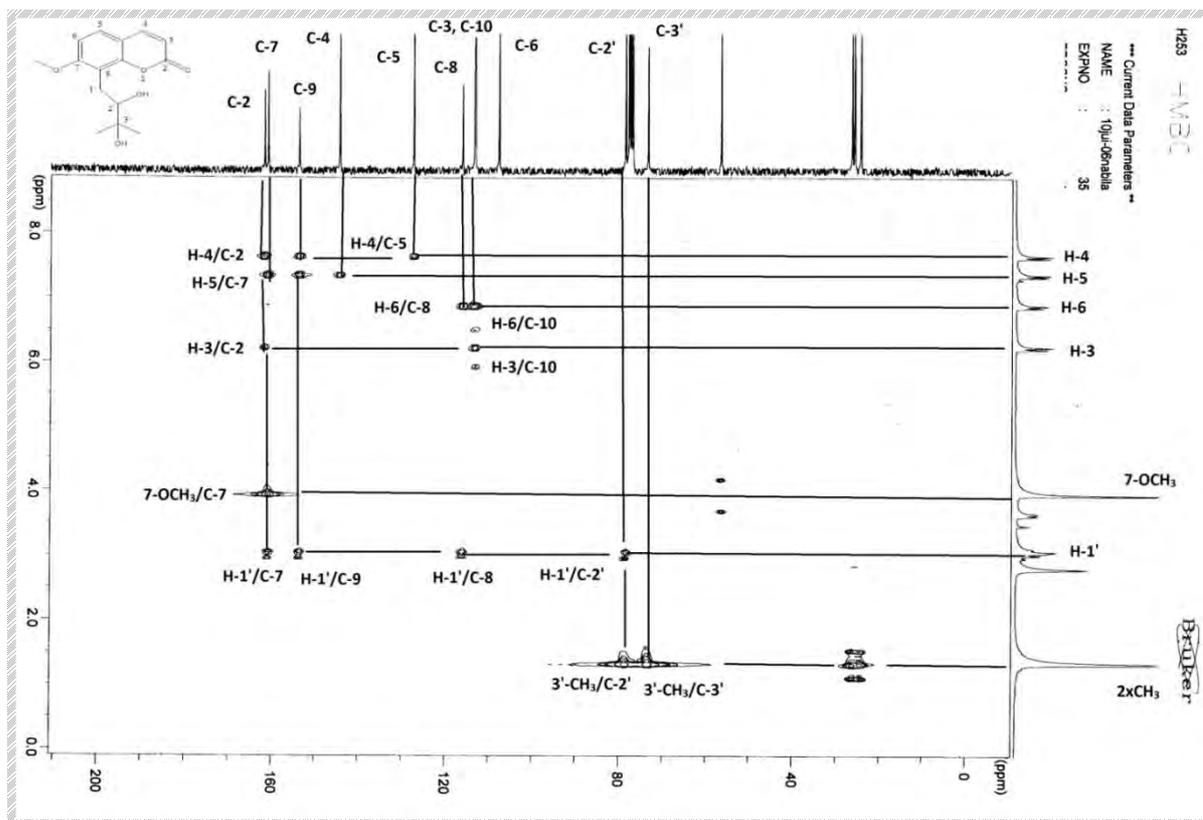


Figure-12: Spectre HMBC (300 MHz, CDCl_3) du composé H253.

Toutes ces données rassemblées dans le tableau-05 et comparées à celles de la littérature [8, 9] permettent d'identifier la structure du composé H253 à celle de l'hydrate de méranzine (figure-13).

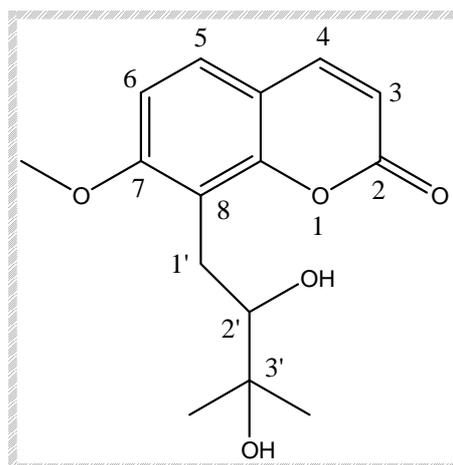


Figure-13 : Hydrate de méranzine.

Tableau-05 : Déplacements chimiques δ (ppm) ^{13}C (75 MHz) et ^1H (300 MHz) du composé H253 (CDCl_3).

Position	^{13}C	^1H (m, J Hz)	Corrélations COSY	Corrélations HMQC	Corrélations HMBC
2	162.0				
3	113.1	6.17 (1H, d, 9.4)	H-4	C-3	C-10, C-2
4	144.6	7.60 (1H, d, 9.4)	H-3	C-4	C-5, C-2, C-9
5	127.3	7.31 (1H, d, 8.5)	H-6	C-5	C-4, C-9, C-7
6	107.9	6.84 (1H, d, 8.7)	H-5	C-6	C-8, C-10
7	160.1				
8	116.2				
9	153.7				
10	113.4				
1'	25.9	2.98 (2H, d, 8.8)	H-2'	C-1'	C-2', C-8, C-9, C-7
2'	78.6	3.58 (1H, dd, 8.6, 4.1)	H-1'	C-2'	
3'	73.5				
3'-CH ₃	26.4	1.28 (3H, s)			C-3', C-2'
3'-CH ₃	24.6	1.28 (3H, s)			C-3', C-2'
7-OMe	56.6	3.89 (3H, s)			C-7
OH		3.06 (2H, large s)			

III-3-5-2 Détermination de structure du composé H255

La formule moléculaire du composé H255, $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_3$ est déduite sur la base de l'ion moléculaire à m/z 244 $[\text{M}]^+$ obtenu en Impact électronique (figure-14). Le spectre de masse EI montre également des ions à m/z 229 $[\text{M}-\text{CH}_3]^+$, à m/z 213 $[\text{M}-\text{CH}_3\text{O}]^+$, à m/z 201 $[\text{M}-\text{CO}-\text{CH}_3]^+$ et à m/z 189 $[\text{M}+\text{H}-2\text{CO}]^+$. La formule molécule indique un degré d'insaturation de 8. Une insaturation en plus par rapport à celle du H253 confirme la présence dans cette molécule d'une double liaison éthylénique sur la chaîne latérale en position 8.

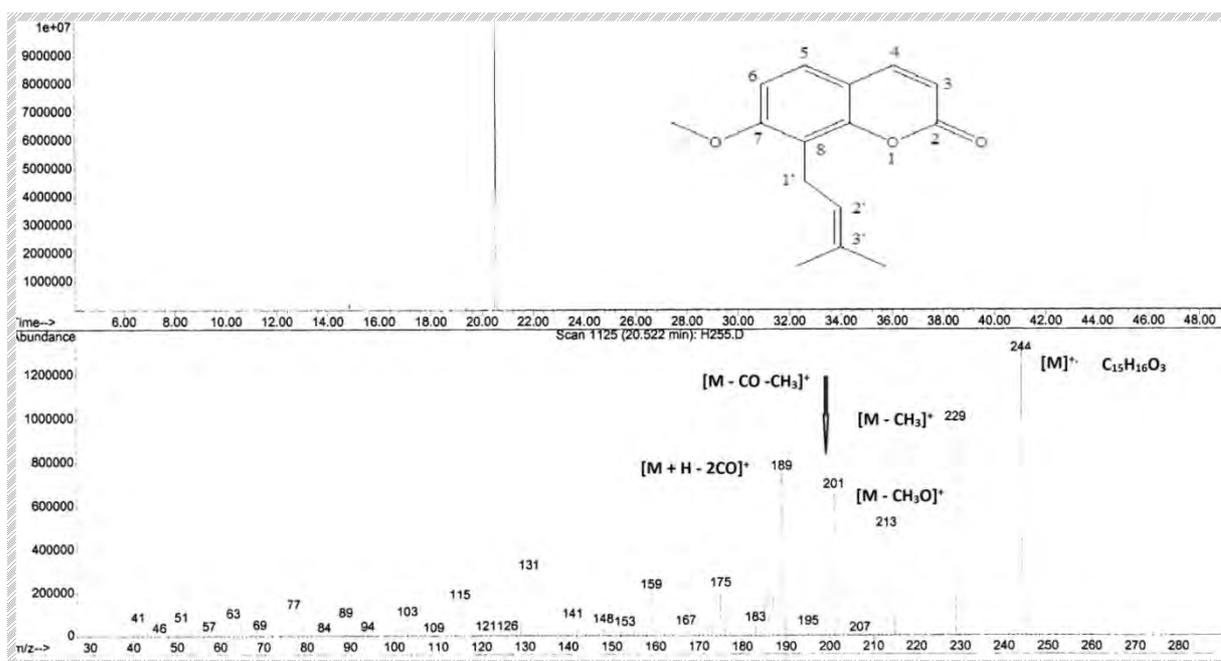


Figure-14: Spectre de masse en EI du composé H255.

La mesure du spectre proton du composé H255 (figure-15) est superposable à celle de la meranzin hydrate. En effet, son spectre RMN- ^1H se distingue de celui de H253 par l'apparition d'un multiplet à δ_{H} 5.23 relatif au proton oléfinique H-2' et par l'absence du doublet de doublet à δ_{H} 3.58 du proton porté par un carbone sp^3 oxygéné dans le composé H253. Ce qui permet de déduire la présence d'une double liaison à ce niveau. L'ensemble de ces données rassemblées dans le tableau-06 et associées à celles obtenues par spectrométrie de masse, permettent d'identifier le composé H255 comme étant l'osthole (figure-16) [10, 11].

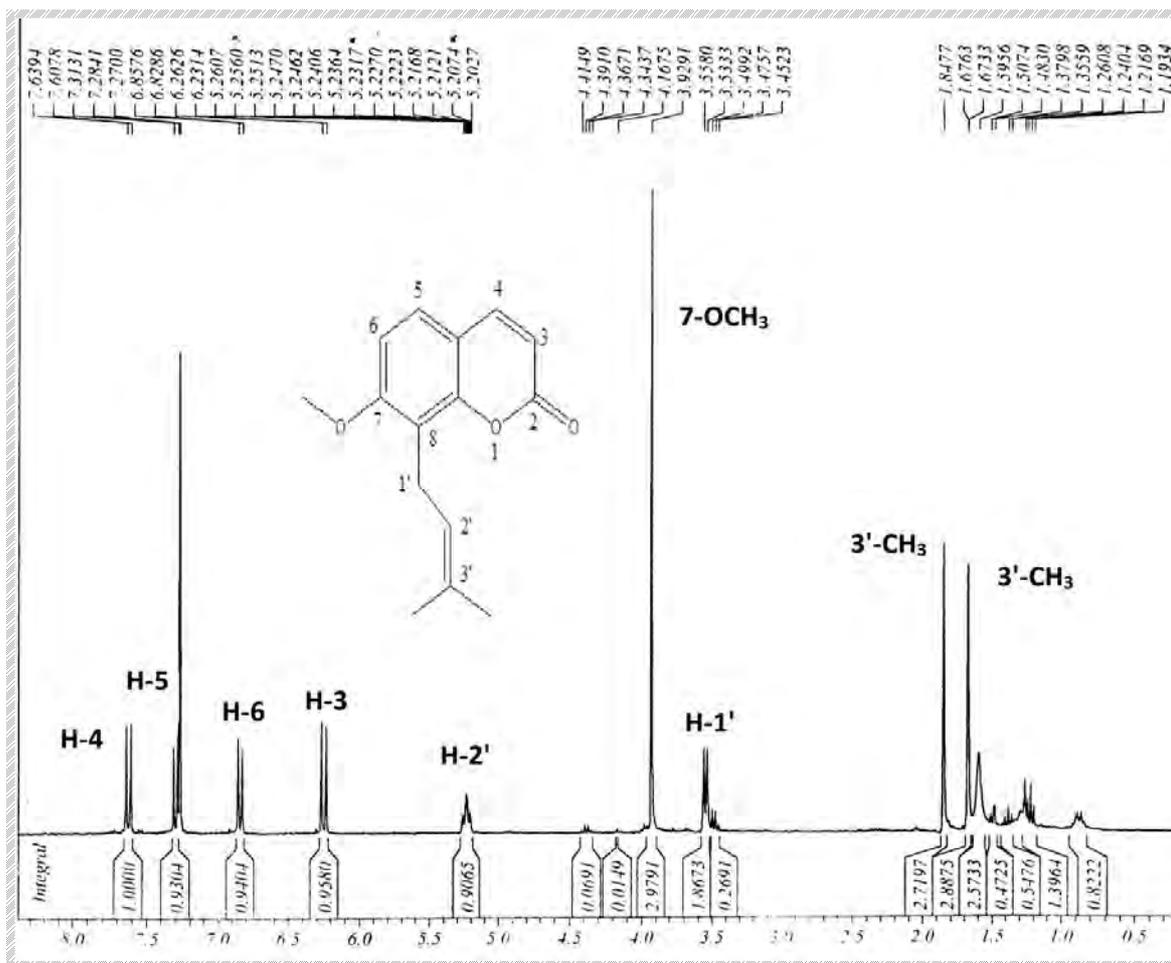


Figure-15: Spectre RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3) du composé H255.

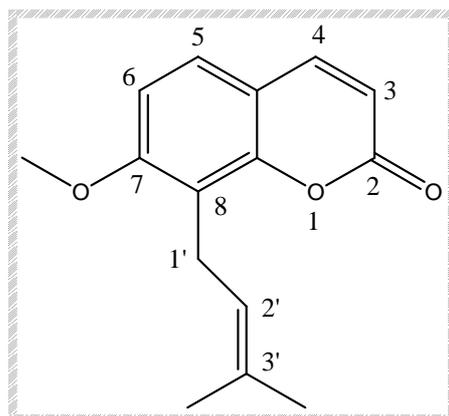


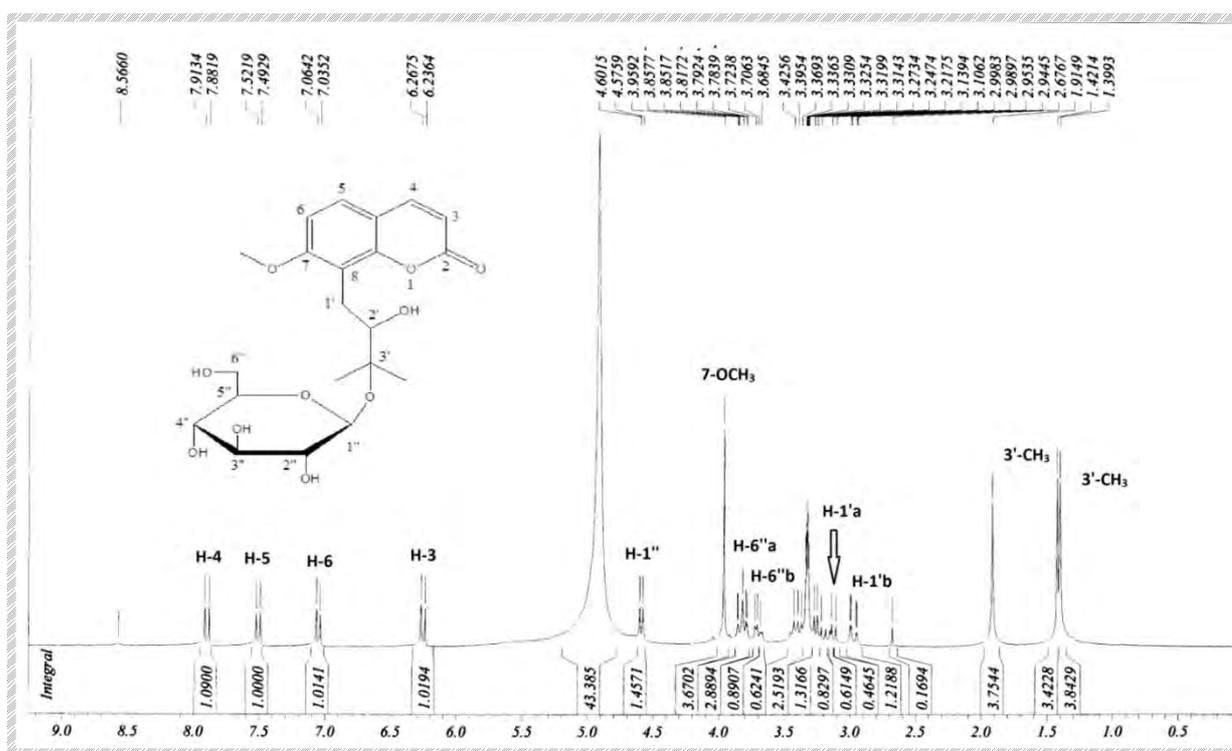
Figure-16 : Osthole

Tableau-06 : Déplacements chimiques δ (ppm) ^1H (300 MHz) du composé H255 (CDCl_3)

Position	^1H (m, J Hz)
3	6.25 (1H, d, 9.5)
4	7.62 (1H, d, 9.5)
5	7.30 (1H, d, 8.7)
6	6.84 (1H, d, 8.7)
1'	3.54 (2H, d, 7.4)
2'	5.23 (1H, m)
3'-CH ₃	1.67 (3H, s)
3'-CH ₃	1.84 (3H, s)
7-OMe	3.93 (3H, s)

III-3-5-3 Détermination de structure du composé H285

Le spectre proton de ce composé (figure-17) montre une similitude structurale avec le composé H253, la différence majeure par rapport au composé H253 réside en la présence des signaux de la partie osidique, notamment le proton anomérique H-1'' résonnant sous forme d'un doublet δ_{H} 4.58 ($J=7.7\text{Hz}$) d'un β -glucose.

**Figure-17:** Spectre RMN- ^1H (300 MHz, CD_3OD) du composé H285.

L'expérience Cosy ^1H - ^1H (figure-18) montre les corrélations entre les protons oléfiniques H-3/ H-4 et H-5/ H-6 et également entre le proton H-1'' et H-2''.

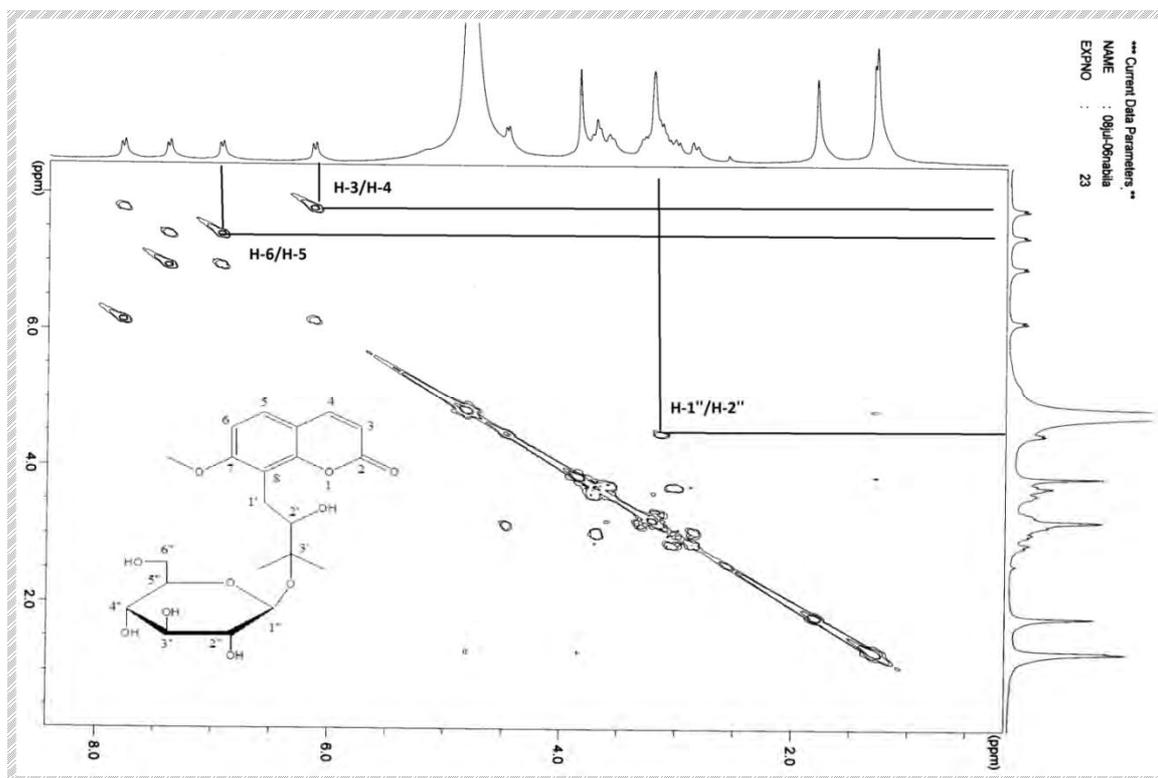


Figure-18: Spectre Cosy ^1H - ^1H (300 MHz, CD_3OD) du composé H285.

Les spectres RMN ^{13}C , et DEPT 135 (figures 19 et 20) de ce composé se différencient de ceux du composé H253 par l'apparition des signaux des carbones relatifs au β -glucose et par le déblindage d'environ 8.8 ppm du carbone quaternaire C-3' résonnant à δ_{C} 82.3 par rapport au même carbone quaternaire C-3' situant à δ_{C} 73.5 du H253 (figure-21). Cette donnée nous permet d'ores et déjà de placer le β -glucose en position 3' [12].



Figure-21

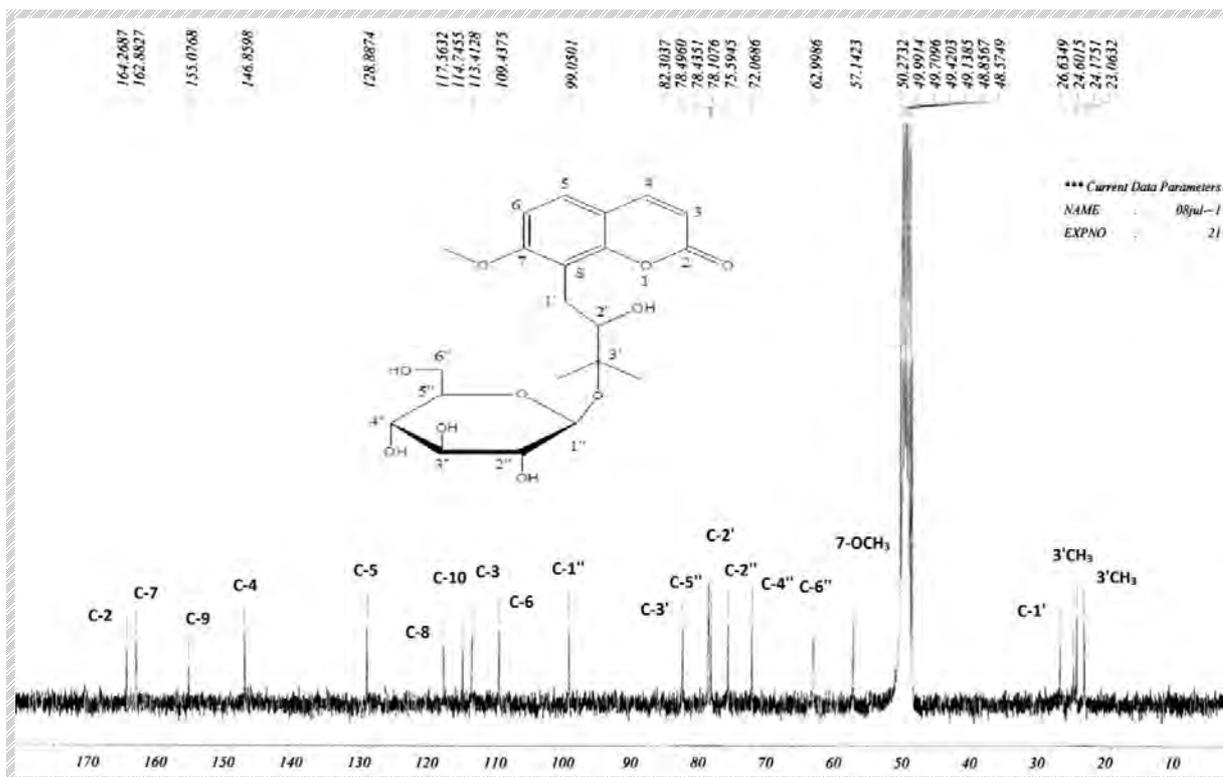


Figure-19: Spectre ^{13}C (75 MHz, CD_3OD) du composé H285.

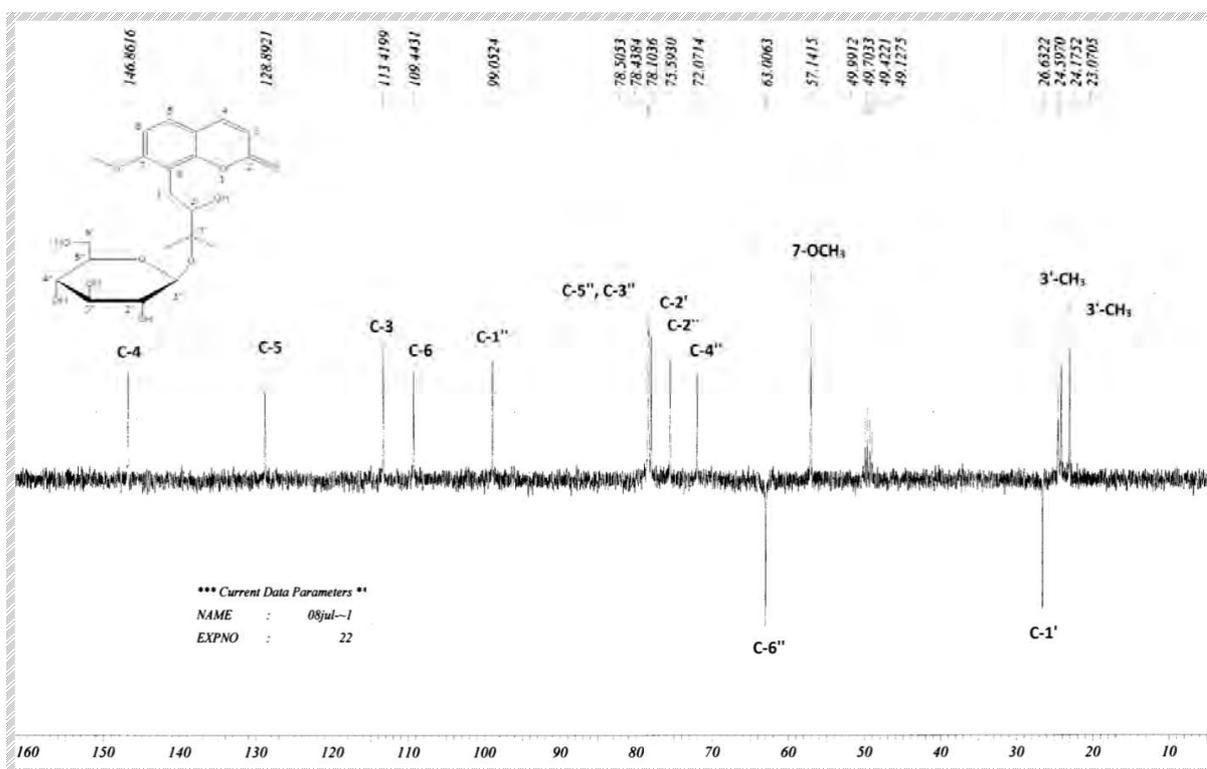


Figure-20: Spectre DEPT 135 (75 MHz, CD_3OD) du composé H285.

L'examen du spectre hétéronucléaire HMQC (^1H - ^{13}C) à courte distance (figure-22), nous a permis d'effectuer les attributions aux atomes de carbones de cette molécule.

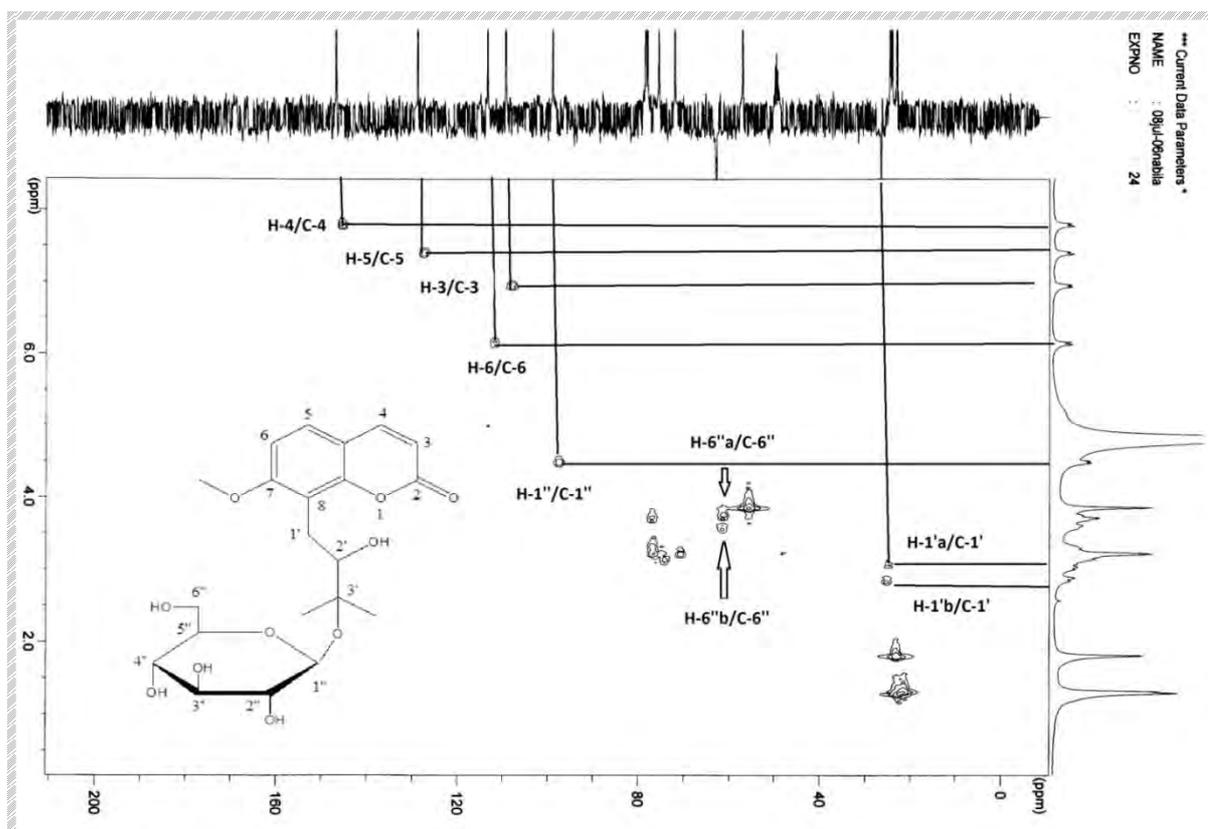


Figure-22: Spectre HMQC (300 MHz, CD₃OD) du composé H285.

Sur le spectre HMBC (figure-23) nous avons identifié la corrélation existante entre le carbone C-3' et le proton anomérique H-1'' du β -glucose ce qui conforte l'attachement de ce dernier en C-3'. Le rattachement du C-1' au carbone C-8 est justifié par la corrélation entre H-1'b et C-8. La corrélation entre les protons du groupement méthoxyle et le carbone C-7 démontre la position de ce dernier en 7.

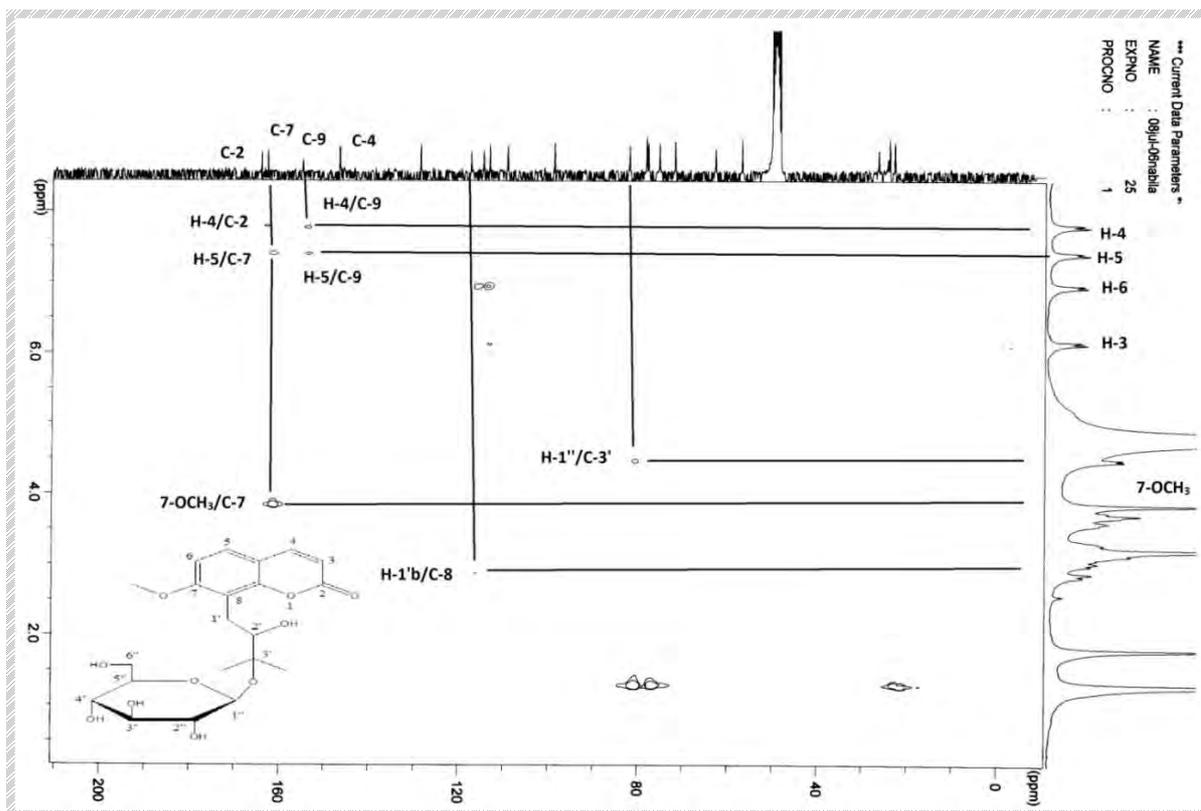


Figure-23: Spectre HMBC (300 MHz, CD₃OD) du composé H285.

Les ions fragments à m/z 246 $[M+1 - CH_3 - Glu]^+$, à m/z 213 $[M-1 - CO - H_2O - Glu]^+$ et à m/z 188 $[M-1 - CH_3 - 2CO - Glu]^+$. Observés sur le spectre de masse en EI (figure-24) consolident nos hypothèses.

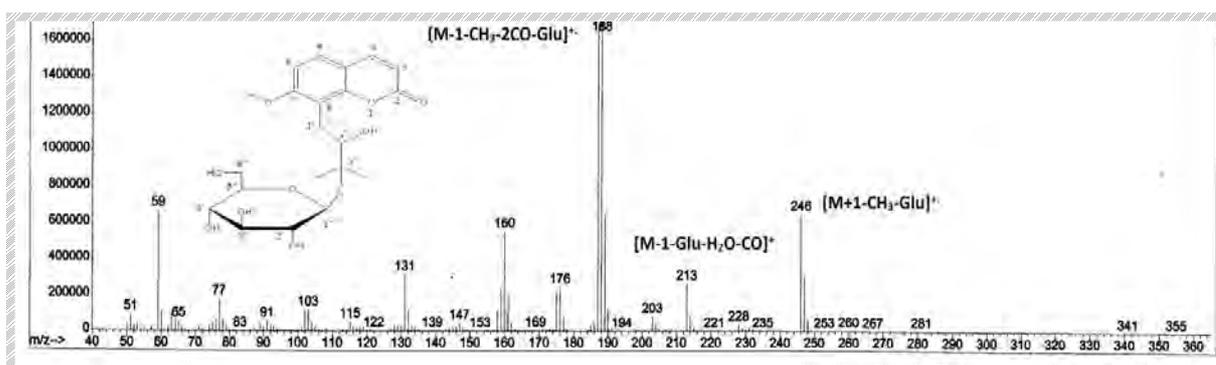


Figure-24: Spectre de masse en EI du composé H285.

L'ensemble de ces données regroupées dans le tableau-07, et appuyées avec celles de la littérature [13] ont permis de conclure que le composé H285 n'est autre que le 3'-O- β -glucopyranoside de l'hydrate de méranzine (figure-25).

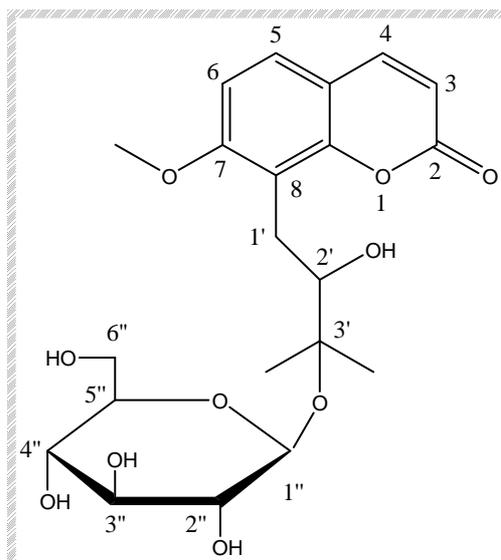


Figure-25: 3'-O- β -glucopyranoside de l'hydrate de méranzine.

Tableau-07 : Déplacements chimiques δ (ppm) ^{13}C (75 MHz) et ^1H (300 MHz) du composé H285 (CD_3OD)

Position	^{13}C	^1H (m, J Hz)	Corrélations COSY	Corrélations HMQC	Corrélations HMBC
2	164.3				
3	113.4	6.25 (1H, d, 9.3)	H-4	C-3	C-10
4	146.3	7.89 (1H, d, 9.4)	H-3	C-4	C-2, C-9
5	128.9	7.50 (1H, d, 8.7)	H-6	C-5	C-9, C-7
6	109.4	7.05 (1H, d, 8.7)	H-5	C-6	C-8, C-10
7	162.8				
8	117.5				
9	155.1				
10	114.7				
7-OMe	57.1	3.95 (3H, s)			C-7
1'a	26.6	3.12 (1H, d, 9.9)		C-1'	
1'b	26.6	2.97 (1H, dd, 9.9, 13.5)	H-2'	C-1'	
2'	78.1	3.32 (1H, m)	H-1'b	C-2'	
3'	82.3				
3'-CH ₃	24.2	1.36 (3H, s)			
3'-CH ₃	23.1	1.35 (3H, s)			
1''	99.0	4.58 (1H, d, 7.7)	H-2''	C-1''	C-3'
2''	75.6	3.26 (1H, d, 7.7)	H-1''	C-2''	
3''	78.4				
4''	72.1				
5''	78.5	3.10 (m)			
6''a	63.0	3.84 (1H, d, 12.1)		C-6''	
6''b	63.0	3.70 (1H, dd, 5.2, 11.8)		C-6''	

III-3-5-4 Détermination de structure du composé H284

La mesure du spectre de masse ES en mode positif du composé H284 (figure-26) a indiqué la présence d'un ion moléculaire à m/z 497 $[M-H]^+$ correspondant à une formule brute en $C_{23}H_{30}O_{12}$, ainsi que divers ions à m/z 455 $[M-CH_3-CO]^+$, à m/z 413 $[M-C_2H_3O]^+$, à m/z 415 $[M+H-C_2H_3O-CH_3-CO]^+$, à m/z 304 $[M+H-Glu-CH_3]^+$ et m/z 245 $[M+H-Glu-CH_3-C_2H_3O_2]^+$.

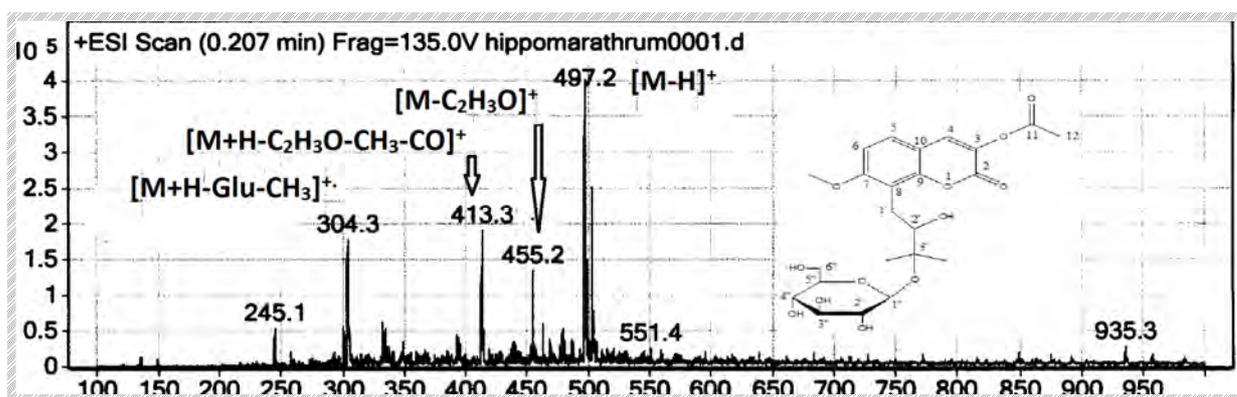


Figure-26 : Spectre de masse en ES^+ du composé H284.

Le spectre proton de ce composé (figure-27) présente une grande ressemblance structurale avec celui du composé H285, hormis quelques légères différences concernant les déplacements chimiques des protons on observe en effet :

- La disparition du signal du proton H-3 permettant ainsi de montrer que ce composé est substitué en position 3,
- le déblindage ($\Delta\delta = + 0,17$ ppm), du proton H-4 qui apparait sous la forme d'un singulet confirmant également la présence d'un substituant en position 3.

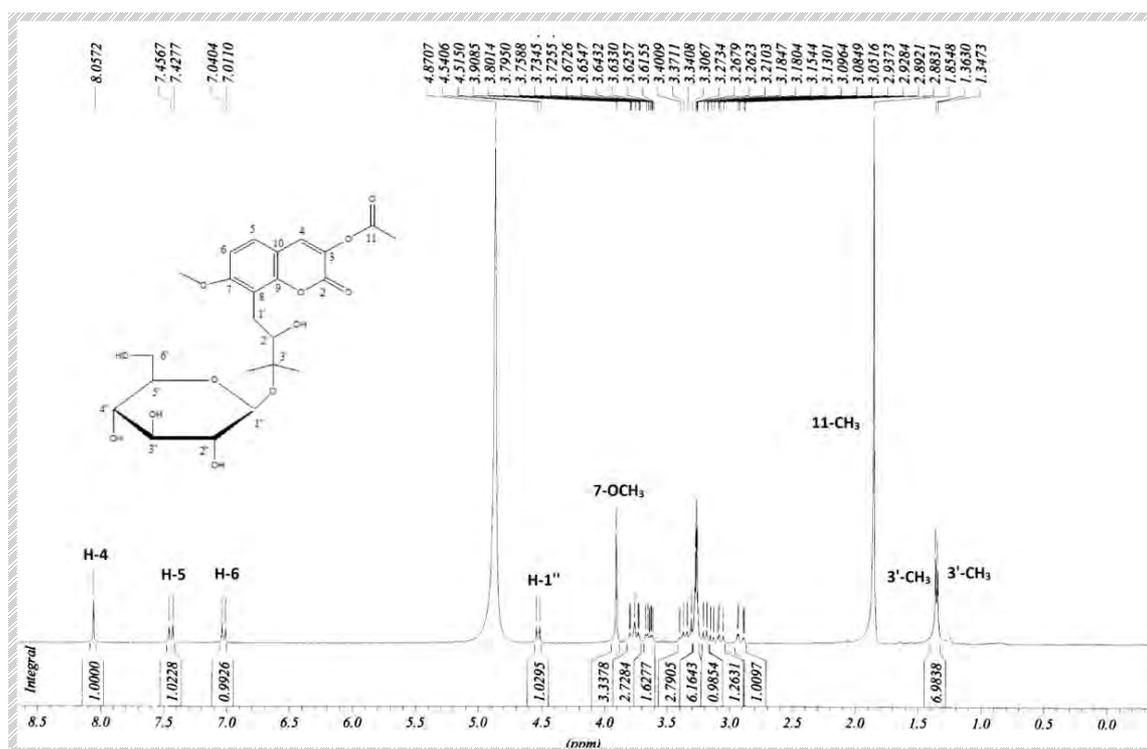


Figure-27: Spectre RMN- ^1H (300 MHz, CD_3OD) du composé H284.

Le spectre Cosy ^1H - ^1H (figure-28) de ce composé montre quelques corrélations, notamment celles entre les protons H-6 et H-5 du noyau 1,2 benzopyrane et celles entre les protons H-1'' et H-2'' de la partie osidique.

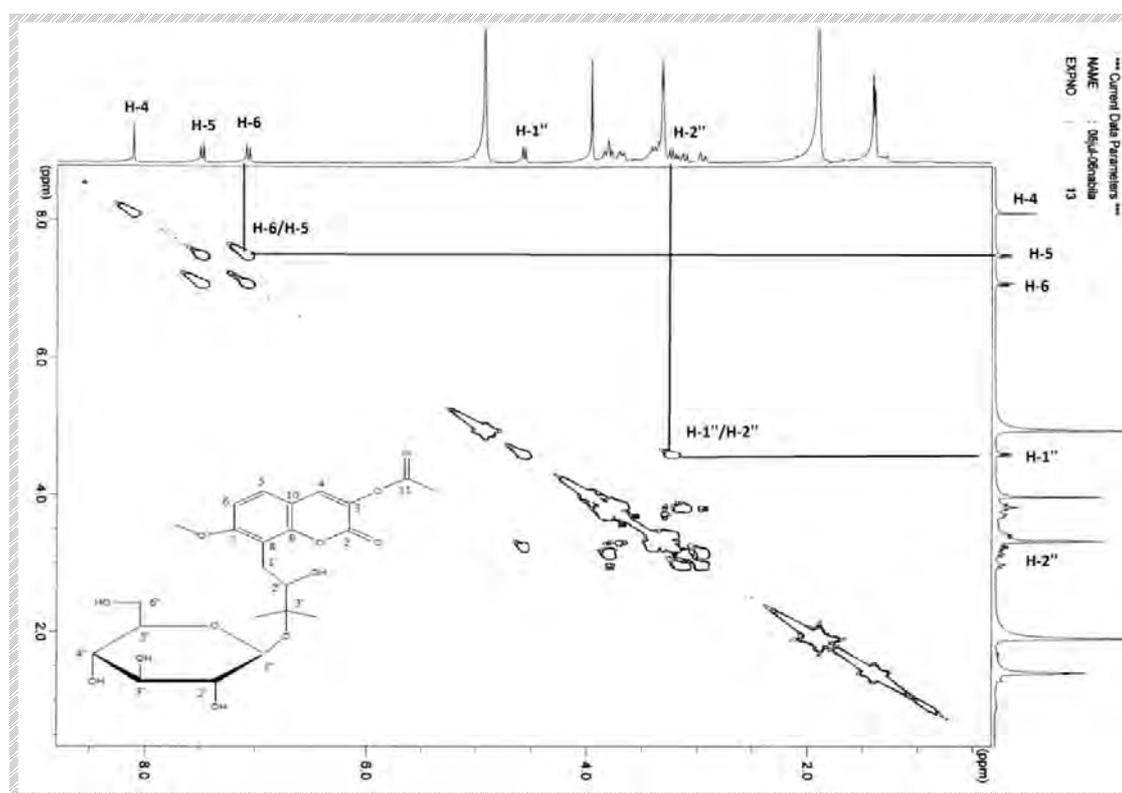


Figure-28: Spectre Cosy ^1H - ^1H (300 MHz, CD_3OD) du composé H284.

Le spectre RMN ^{13}C de ce composé (figure-29) diffère de celui du composé H285 d'une part par le déplacement chimique du carbone C-3, cette différence de déplacement d'environ 5,6 ppm vers les bas champs est caractéristique d'un carbone quaternaire sp^2 oxygéné, et d'autre part par une différence de déplacement d'environ 3 ppm vers les hauts champs du carbone C-4. La jonction C-O entre le carbone C-3 et le groupement acétate est consolidée par l'apparition des signaux de ce dernier à δ_{C} 180.7 relatif au carbone C-11 du groupe carbonyle et à δ_{C} 24,6 correspondant au groupement méthyle [14].

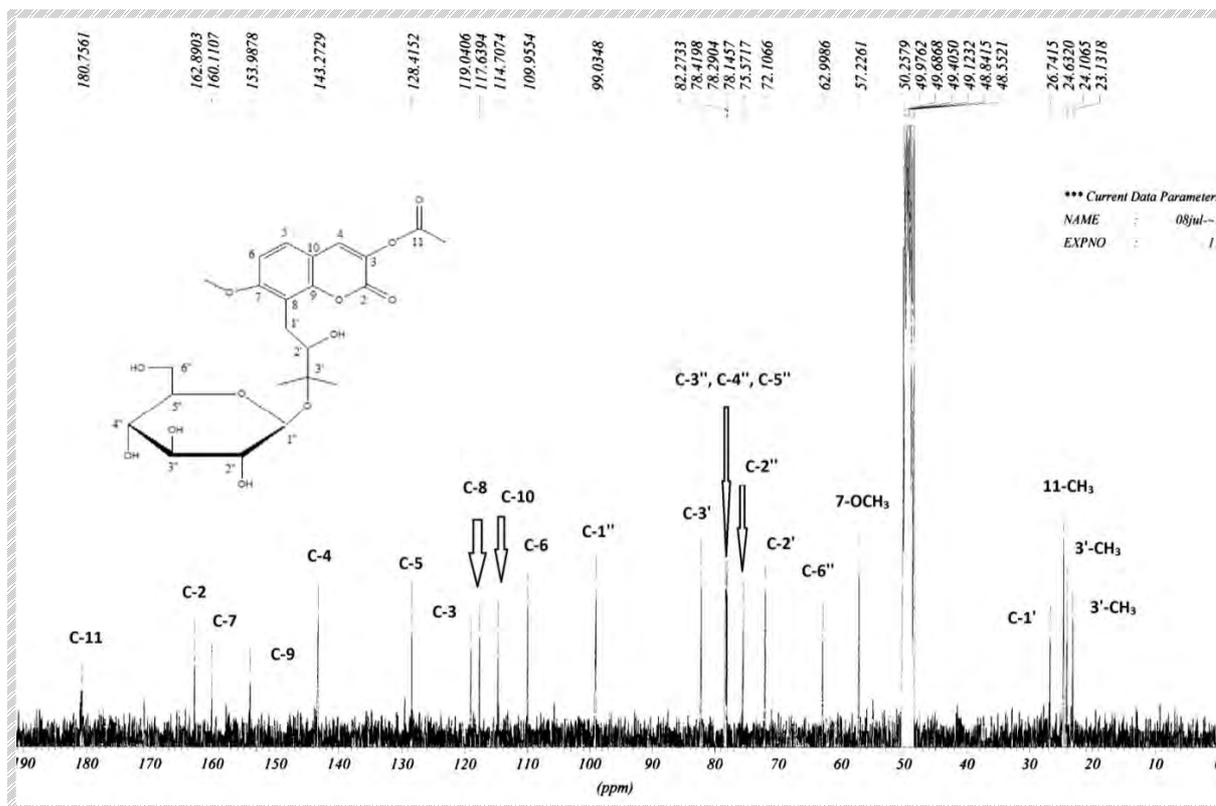


Figure-29: Spectre ^{13}C (75 MHz, CD_3OD) du composé H285.

La mesure du spectre DEPT 135 (figure-30) du composé H284 montre entre autre la disparition du signal du carbone C-3 confirmant ainsi que ce dernier est un carbone quaternaire.

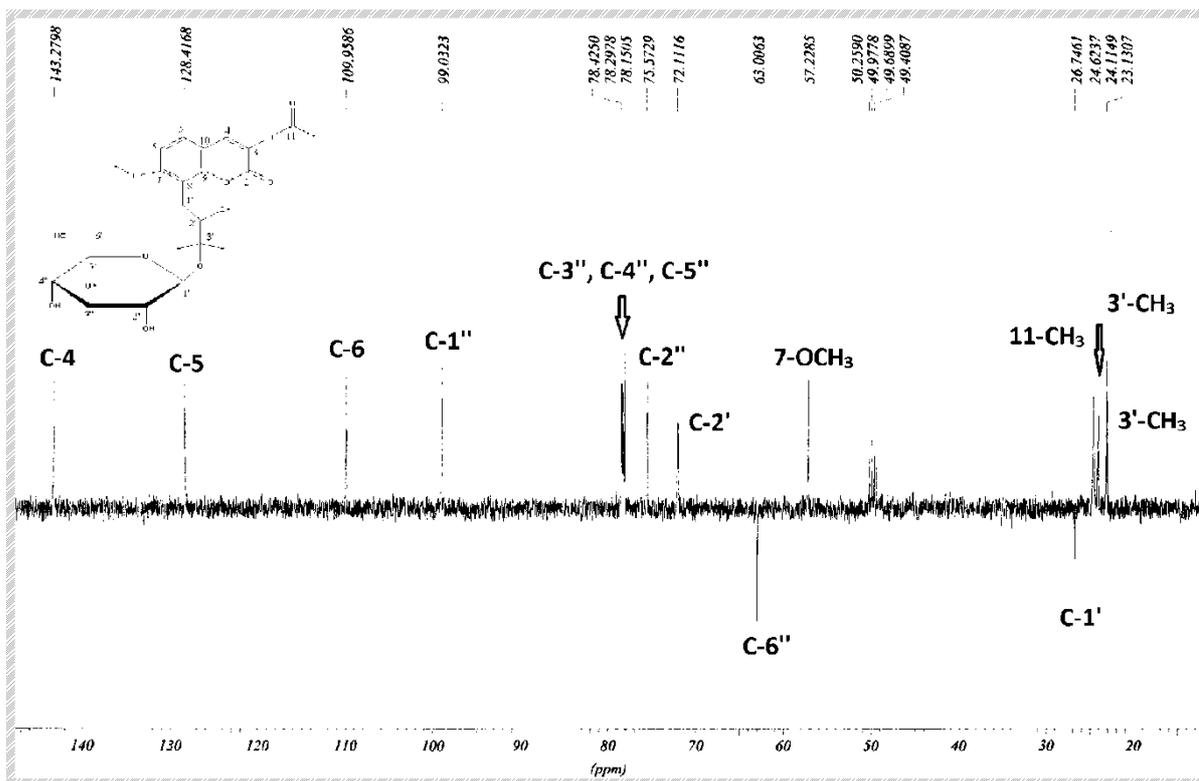


Figure-30: Spectre DEPT 135 (75 MHz, CD₃OD) du composé H284.

L'examen du spectre hétéronucléaire HMQC (¹H-¹³C) à courte distance (figure-31), nous a permis d'effectuer les attributions aux atomes de carbones de cette molécule.

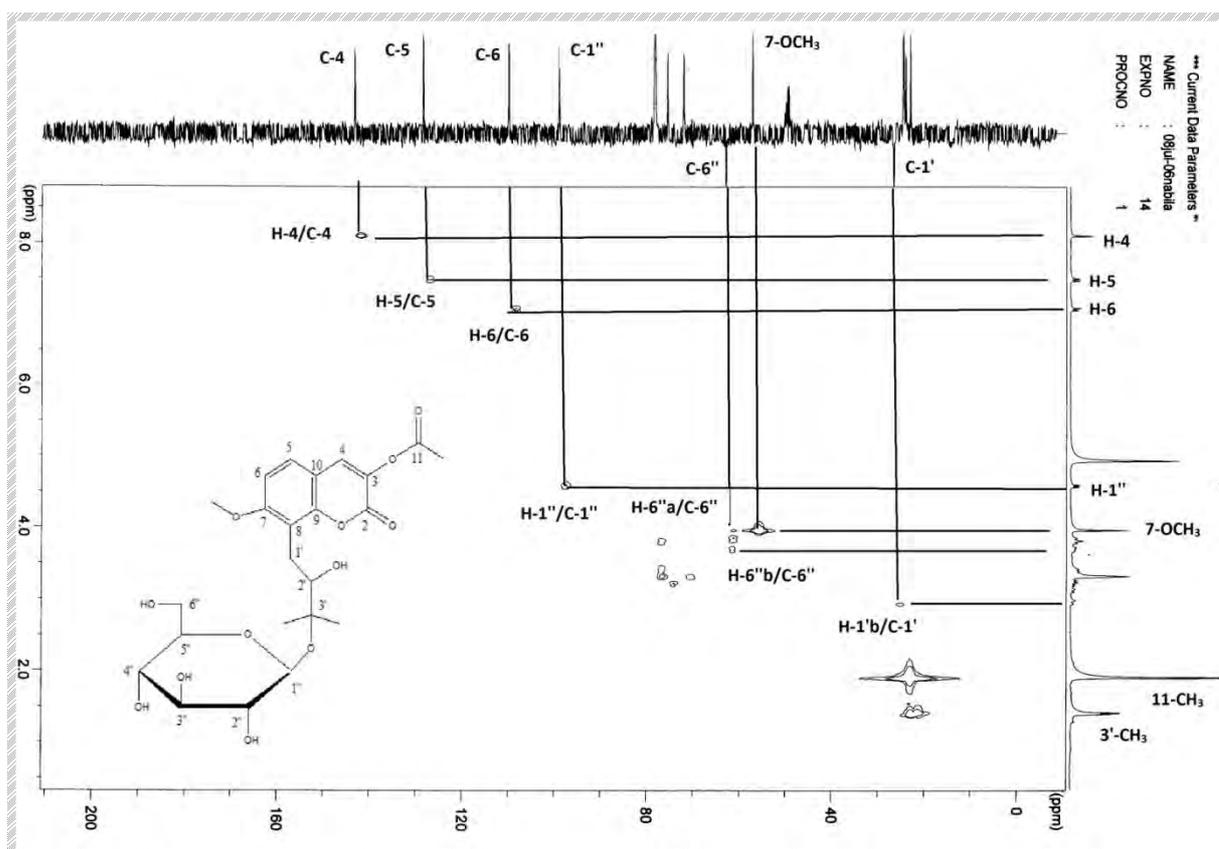


Figure-31: Spectre HMQC (300 MHz, CD₃OD) du composé H284.

Le spectre HMBC (figure-32) présente les corrélations les plus importantes, notamment celle entre le carbone C-3' et le proton anomérique H-1'' du β -glucose et celle entre les protons du groupement méthoxyle et le carbone C-7. On note également la corrélation entre le groupement méthyle et le carbone C-11.

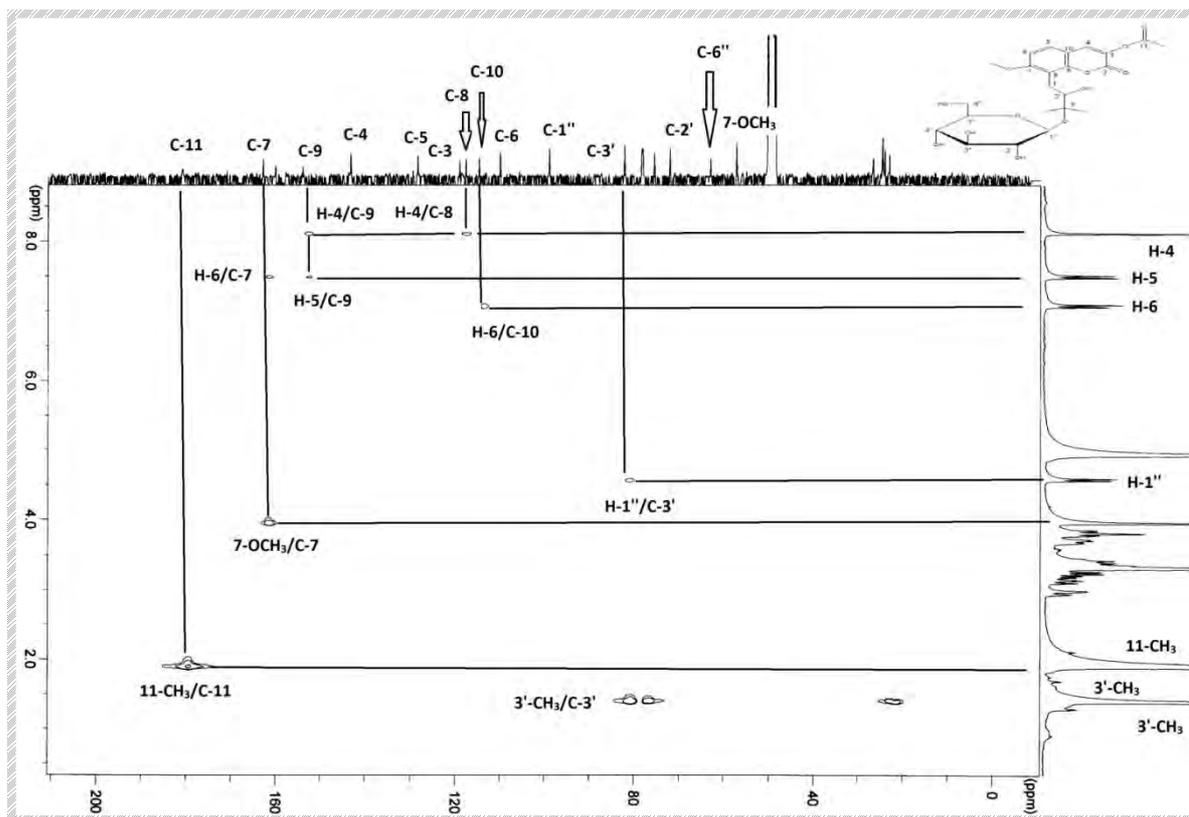


Figure-32: Spectre HMBC (300 MHz, CD₃OD) du composé H285.

L'ensemble de ces données rassemblées dans le tableau-08, nous a mené à la structure du composé H284. Ce composé n'a jamais été décrit dans la littérature. Nous lui avons donné le nom de " 3-acétyl-3'-O-β-glucopyranoside de l'hydrate de méranzine " (figure-33).

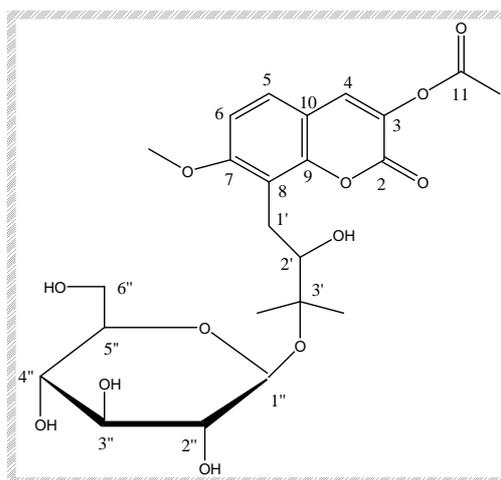


Figure-33: 3-acétyl-3'-O-β-glucopyranoside de l'hydrate de méranzine.

Tableau-08 : Déplacements chimiques δ (ppm) ^{13}C (75 MHz) et ^1H (300 MHz) du composé H284 (CD_3OD).

Position	^{13}C	^1H (m, J Hz)	Corrélations COSY	Corrélations HMQC	Corrélations HMBC
2	162.9				
3	119.0				
4	143.3	8.06 (1H, s)		C-4	C-3, C-9
5	128.4	7.44 (1H, d, 8.7)	H-6	C-5	C-9, C-7
6	109.9	7.02 (1H, d, 8.6)	H-5	C-6	C-8, C-10
7	160.1				
8	117.6				
9	153.9				
10	114.7				
11	180.7				
12	24.6	1.85			C-11
7-OMe	57.2	3.90 (3H, s)			C-7
1'a	26.7	3.32 (1H, d, 9.9)	H-1'b	C-1'	
1'b	26.7	3.09 (1H, dd, 9.9, 13.9)	H-1'a	C-1'	
2'	72.1	3.32 (1H, d, 9.9)	H-1'a, H-1'b	C-2'	
3'	82.3				
3'-CH ₃	24.1	1.36 (3H, s)			C-3', C-2'
3'-CH ₃	23.1	1.35 (3H, s)			C-3', C-2'
1''	99.0	4.53 (1H, d, 7.7)	H-2''	C-1''	C-3'
2''	75.6	3.19 (1H, d, 7.7)	H-1''	C-2''	C-1''
3''	78.3				
4''	78.1				
5''	78.4				
6''a	62.9	3.78 (1H, d, 12.8)		C-6''	
6''b	62.9	3.65 (1H, dd, 5.4, 12.8)		C-6''	

III-3-5-5 Détermination de structure du composé H274

Le spectre RMN- ^1H de ce composé (figure-34) met en évidence les protons caractéristiques du cycle α -pyrone, en occurrence le H-3 à δ_{H} 5.95 (d, $J = 9,5$ Hz) et le H-4 à δ_{H} 7.30 (d, $J = 9.5$ Hz). Le signal du singulet à δ_{H} 6.53 révèle la présence dans cette molécule d'un cycle aromatique tri substitué d'une coumarine linéaire appartenant soit au système dihydrofurane, soit au système dihydropyrane (figures 35 et 36). La nature du cycle lactonique qui est fusionné au reste de la molécule est déduit par la présence du signal à δ_{H} 4.66 (dd, 1H, $J = 8.0, 9.3$ Hz) et des signaux à δ_{H} 3.17 (1H, dd, 8.2, 15.9 Hz) et à δ_{H} 3.01 (1H, dd, 9.6, 15.9 Hz) correspondant à un système ABX. Sur le même spectre, on observe trois singulets, l'un à δ_{H} 3.38 intégrant pour trois protons assignables au groupement méthoxyle et deux autres intégrant également pour 3H à δ_{H} 1.35 et à δ_{H} 1.15 relatifs aux deux groupements méthyles. Les déplacements

chimiques vers les bas champs de ces deux groupements méthyles suggèrent qu'ils sont portés par un carbone oxygéné. A ce stade de la démonstration, nous avons quatre structures probables pour ce composé.

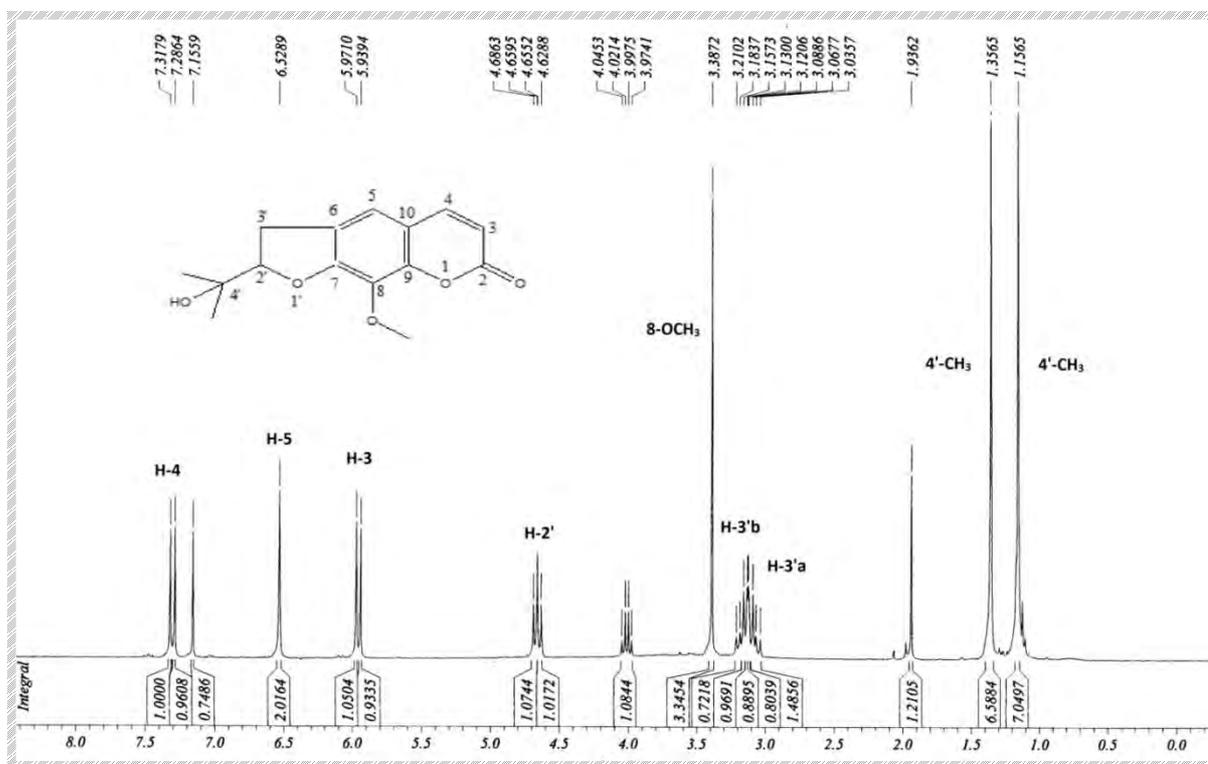


Figure-34: SpectreRMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3) du composé H274.

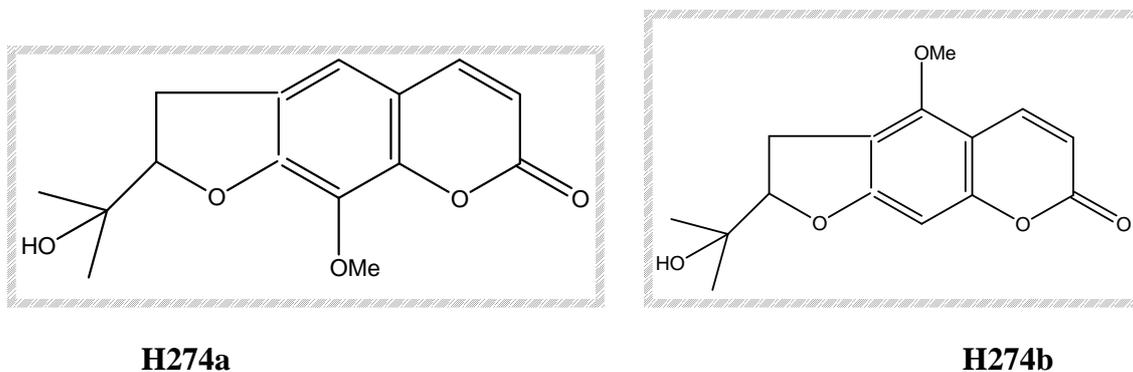


Figure-35: Système dihydrofurane.

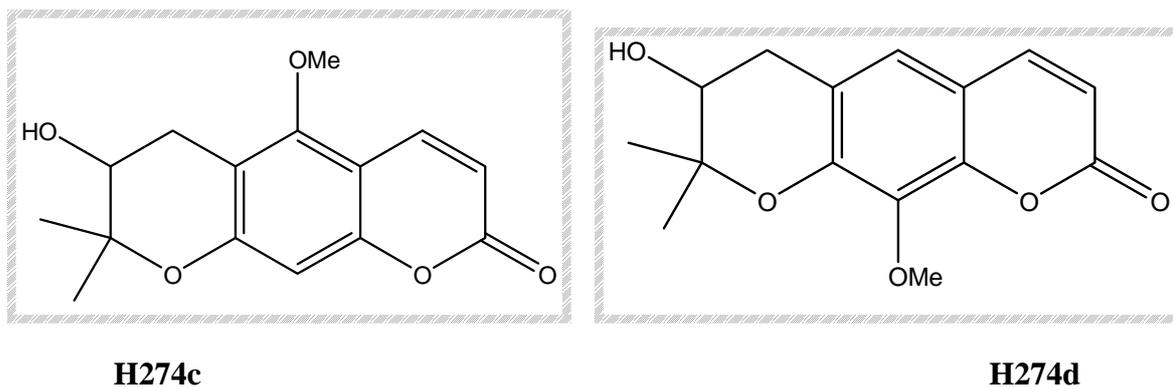


Figure-36 : Système dihydropyrane.

Le spectre RMN - ^{13}C (figure-37) et le spectre DEPT 135 (figure-38) montrent la présence de :

- Deux méthyles
- Quatre méthynes dont trois sp^2 et un sp^3 oxygéné.
- Un méthylène
- Six carbones quaternaires.

Si on soustrait de la formule brute de ce composé, les deux oxygènes du cycle pyrone, l'oxygène du groupement méthoxyle et l'oxygène du cycle lactonique des deux systèmes proposés, l'oxygène restant serait celui du groupement hydroxyle. L'absorption à $\delta_{\text{C}} 72.7$ indique que ce groupement hydroxyle est lié à un carbone quaternaire [15], ce qui élimine les représentations H274c et H274b. En effet, les signaux du carbone tertiaire et du proton porté par ce dernier sont facilement discernables en RMN [16] :

- à $\delta_{\text{H}} 4.7$ et à $\delta_{\text{C}} 85-90$ pour 2'-(2'-hydroxyisopropyl) dihydrofuranocoumarines, dans notre cas $\delta_{\text{H}} 4.66$ et $\delta_{\text{C}} 91.6$ pour la position du carbone C-2',
- à $\delta_{\text{H}} 3.9$ et à $\delta_{\text{C}} 70$ pour 3'-hydroxydihydrofuranocoumarines pour la position C-3'.

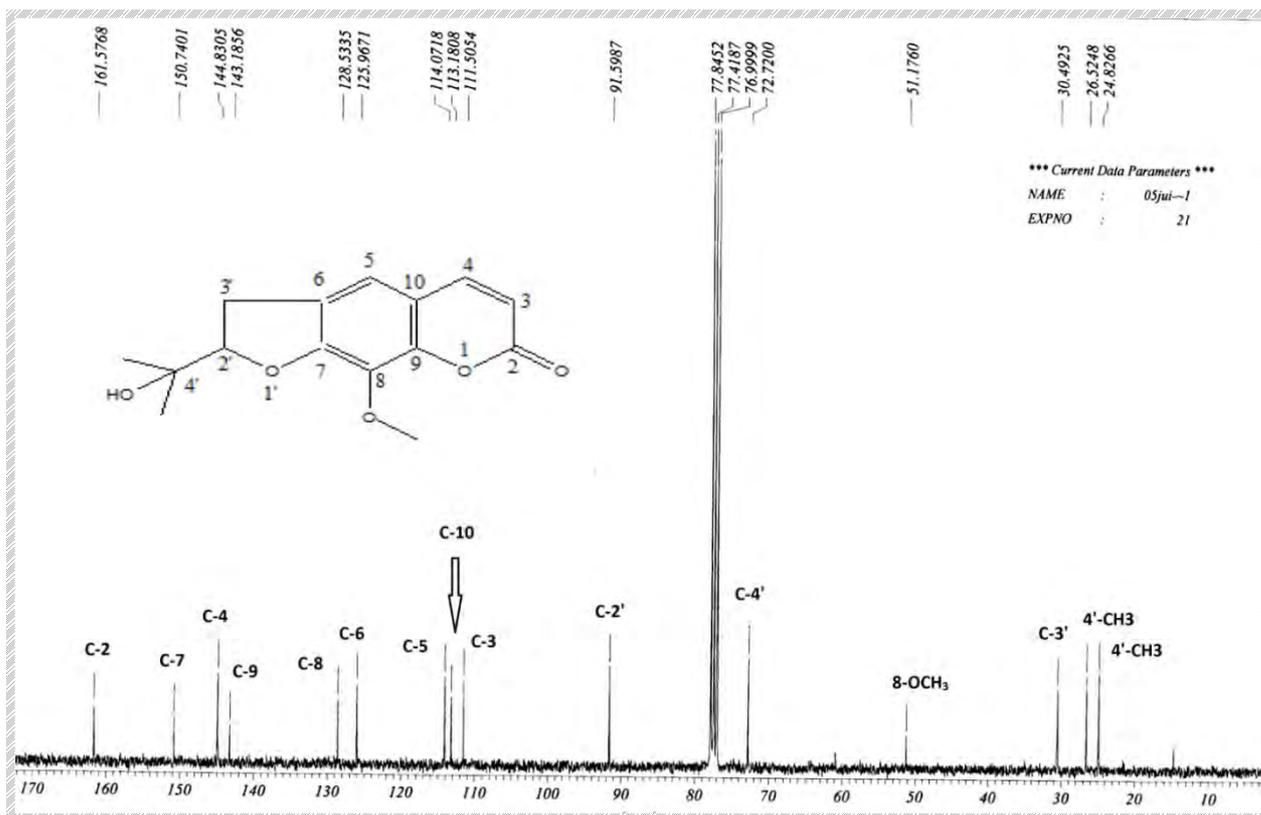


Figure-37 : Spectre ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) du composé H274.

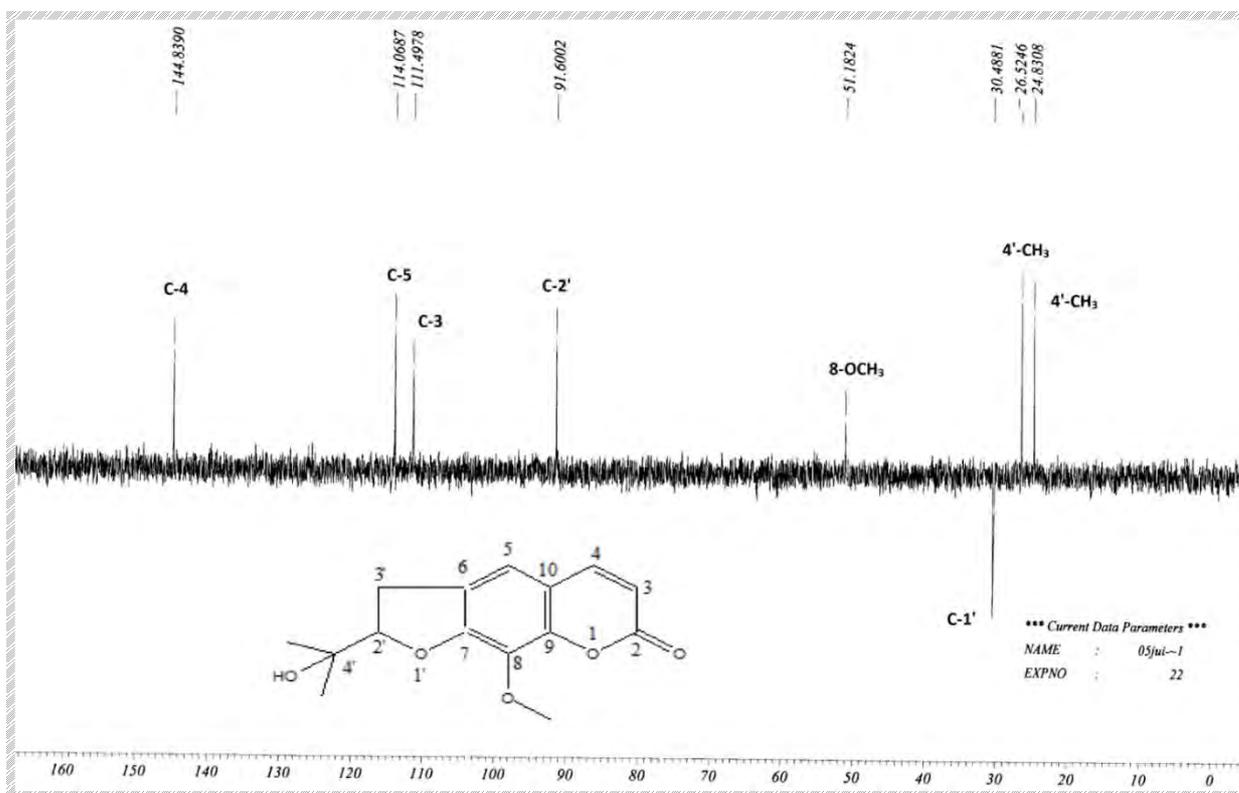


Figure-38: spectre DEPT 135 (75 MHz, CDCl_3) du composé H274.

La mesure du spectre Cosy ^1H - ^1H (figure-39) montre une corrélation due à un couplage ^4J entre le proton H-5 et l'un des protons porté par le carbone C-3' permettant ainsi de placer le groupement méthoxyle en position C-8, ce qui élimine la représentation H274b.

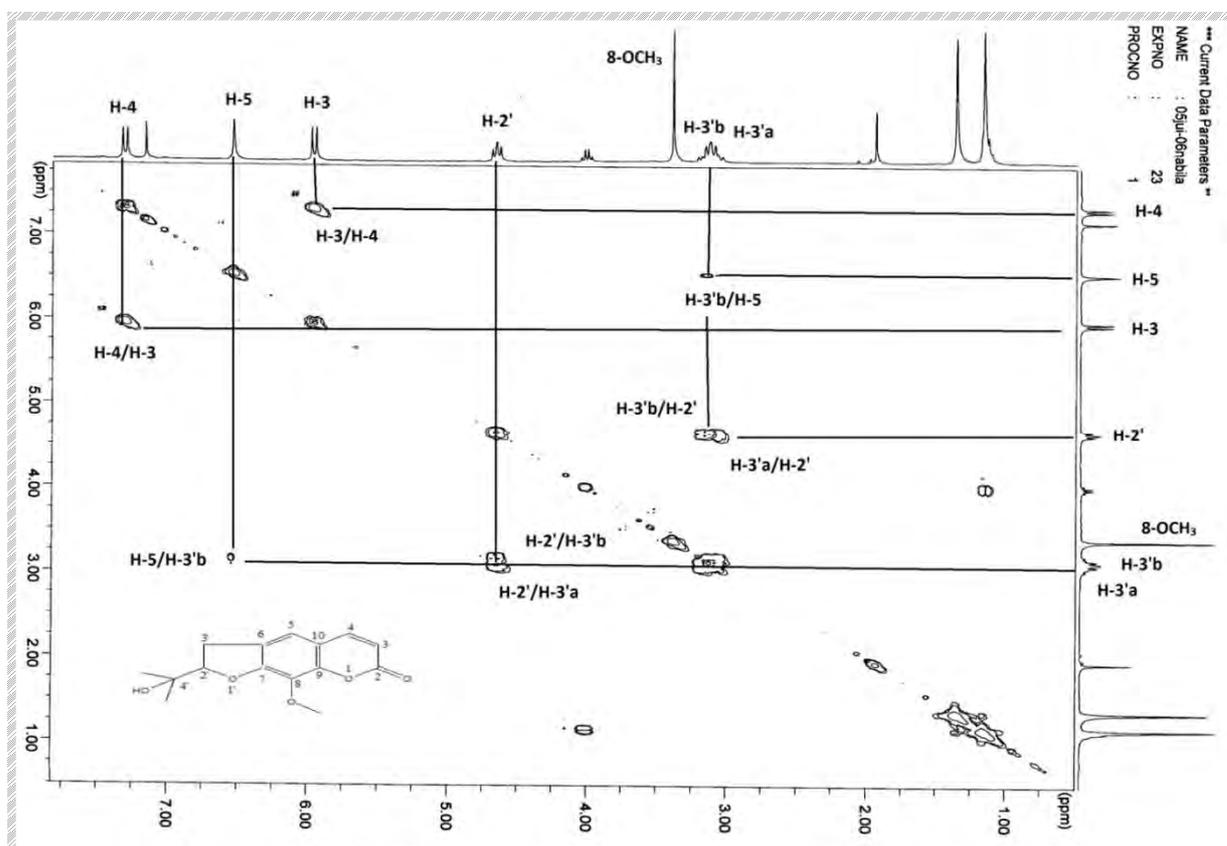


Figure-39 : spectre Cosy ^1H - ^1H (300 MHz, CDCl_3) du composé H274.

L'attribution de tous les protons de la structure H274a a mené à l'attribution des quinze atomes de carbone grâce au spectre HMQC (figure-40).

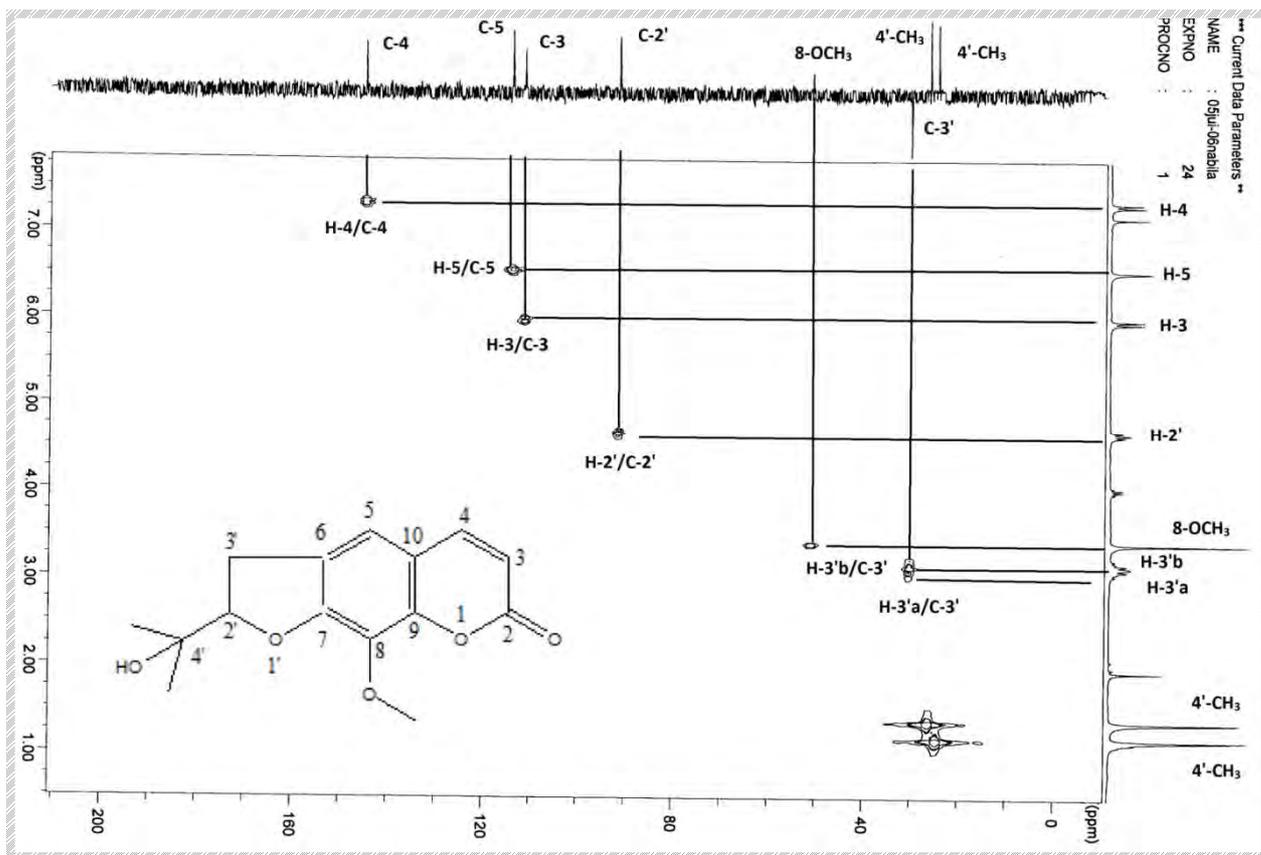


Figure-40: Spectre HMQC (300 MHz, CDCl_3) du composé H274.

La corrélation entre le proton H-5 et le carbone C-3' observée sur le spectre HMBC (figure-41) conforte la position du groupement méthoxyle en C-8.

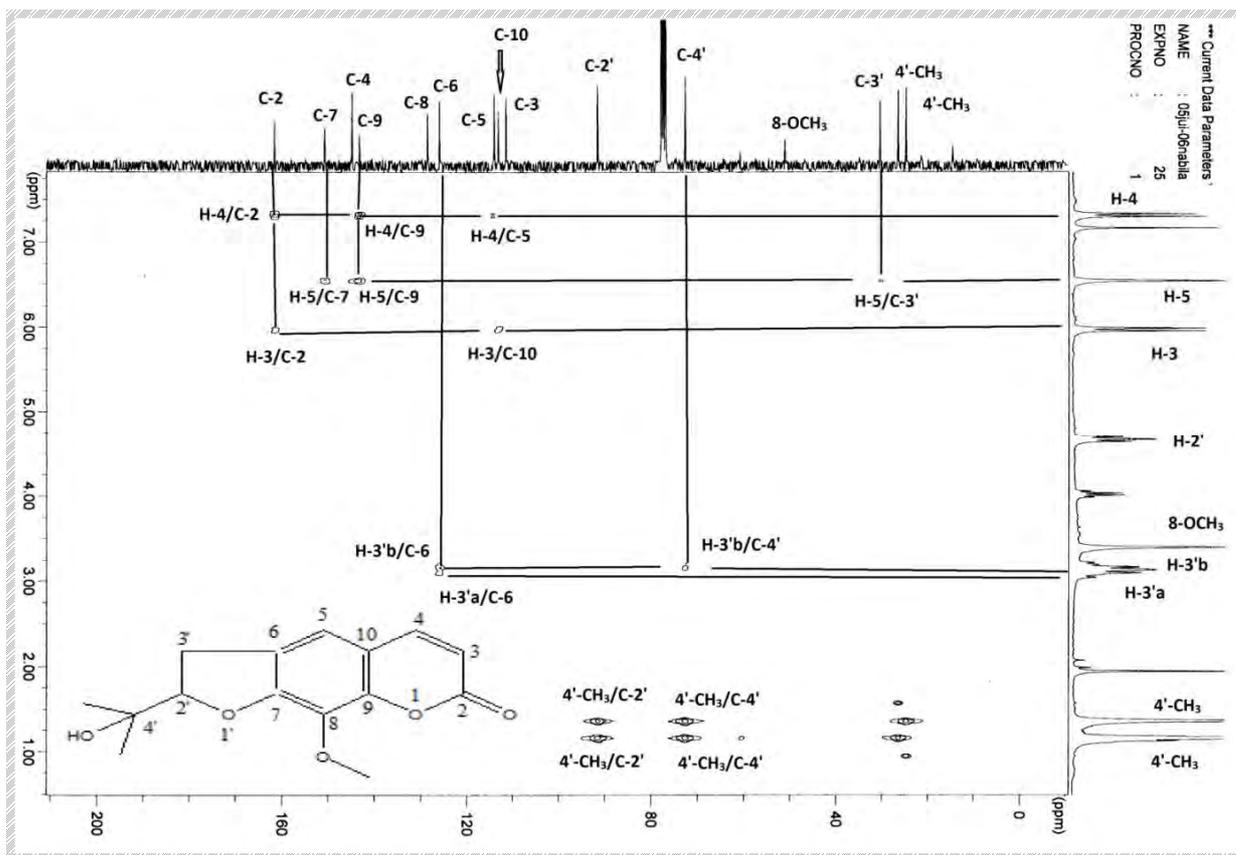


Figure-41: Spectre HMBC (300 MHz, CDCl_3) du composé H274.

Les ions fragments à m/z 262 $[\text{M} - 1 - \text{CH}_3]^+$, à m/z 229 $[\text{M} - 1 - \text{CH}_3 - \text{H}_2\text{O} - \text{CH}_3]^+$ et à m/z 203 $[\text{M} - 1 - \text{CH}_3 - \text{C}_3\text{H}_7\text{O}]^+$ observés sur le spectre de masse en IE (figure-42) confirment nos suppositions.

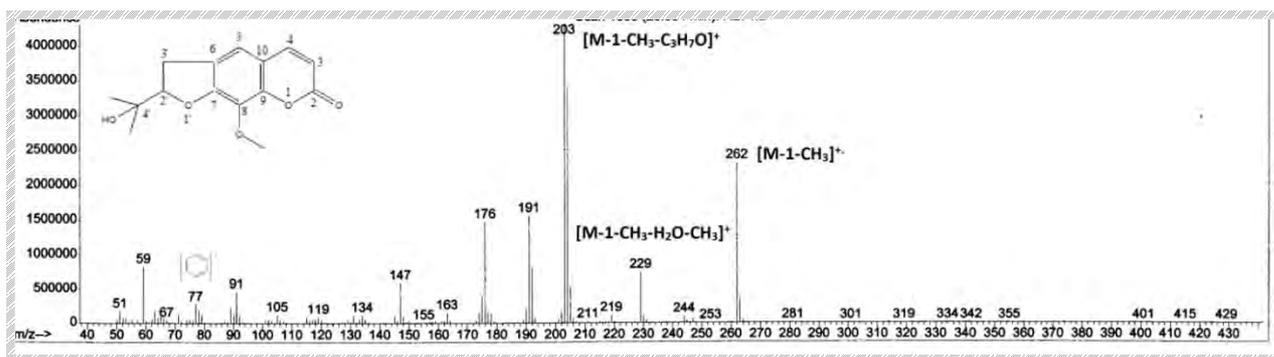


Figure-42: Spectre de masse en EI du composé H274.

L'ensemble de ces données regroupées dans le tableau-09, et appuyées avec celles de la littérature [17] ont permis de conclure que le composé H274 n'est autre que 8-méthoxy marmésine (figure-43).

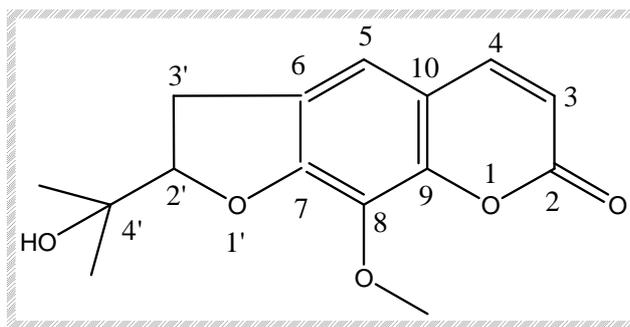


Figure-43: 8-méthoxy marmésine

Tableau-09 : Déplacements chimiques δ (ppm) ^{13}C (75 MHz) et ^1H (300 MHz) du composé H274 (CDCl_3)

Position	^{13}C	^1H (m, J Hz)	Corrélations COSY	Corrélations HMQC	Corrélations HMBC
2	161.6				
3	111.5	5.95 (1H, d, 9.5)	H-4	C-3	C-10, C-2
4	144.8	7.30 (1H, d, 9.5)	H-3	C-4	C-5, C-2, C-8
5	114.1	6.53 (1H, s)		C-5	C-4, C-9, C-8, C-3'
6	125.9				
7	150.7	150.7			
8	128.5	128.5			
9	143.2	143.2			
10	113.2				
2'	91.6	4.66 (1H, dd, 8.0, 9.3)	H-3'a, H-3'b	C-2'	C-2', C-8, C-9, C-7
3'a	30.5	3.01 (1H, dd, 9.6, 15.9)	H-2'	C-3'	C-6, C-4'
3'b	30.5	3.17 (1H, dd, 8.2, 15.9)	H-2'	C-3'	C-6, C-4'
4'	72.7				
4'-CH ₃	26.5	1.35 (3H, s)			C-4', C-2'
4'-CH ₃	24.8	1.15 (3H, s)			C-4', C-2'
8-OMe	51.2	3.38 3H, s)			

III-3-5-6 Détermination de structure du composé H279

Les données spectrales relevées du spectre RMN- ^1H (figure-44) de ce composé montrent une similitude structurale avec le composé décrit précédemment, la différence notable par rapport au composé H274 réside en l'absence du signal du groupement méthoxyle. Le signal du H-3' qui apparaît sous forme d'un triplet à δ_{H} 3.82 est caractéristique du système dihydropyrane [18].

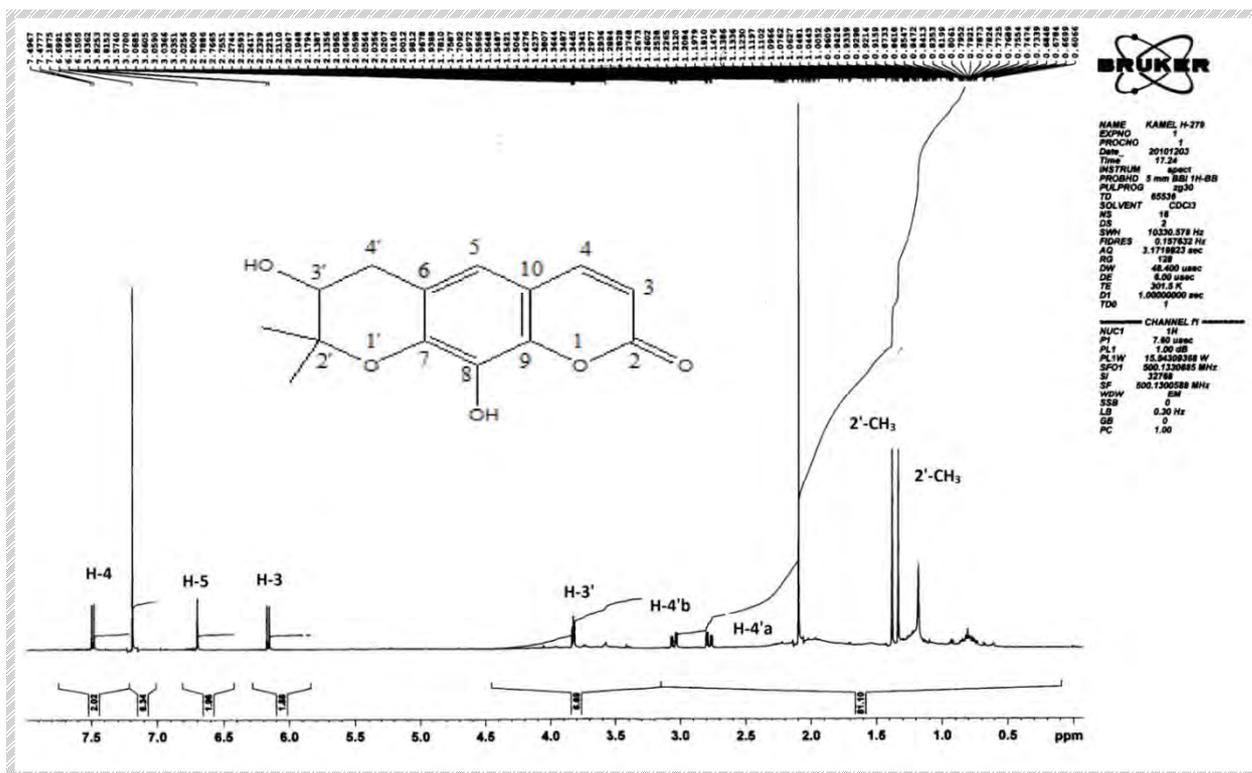


Figure-44: Spectre RMN- ¹H (500 MHz, CDCl₃) du composé H279.

La mesure du spectre RMN-¹³C (figure-45) confirme cette hypothèse. En effet, on détecte deux signaux à δ_C 69,2 et à δ_C 78,9 attribuables respectivement à C-3' et à C-2' et caractérisant le système dihydropyrane [19].

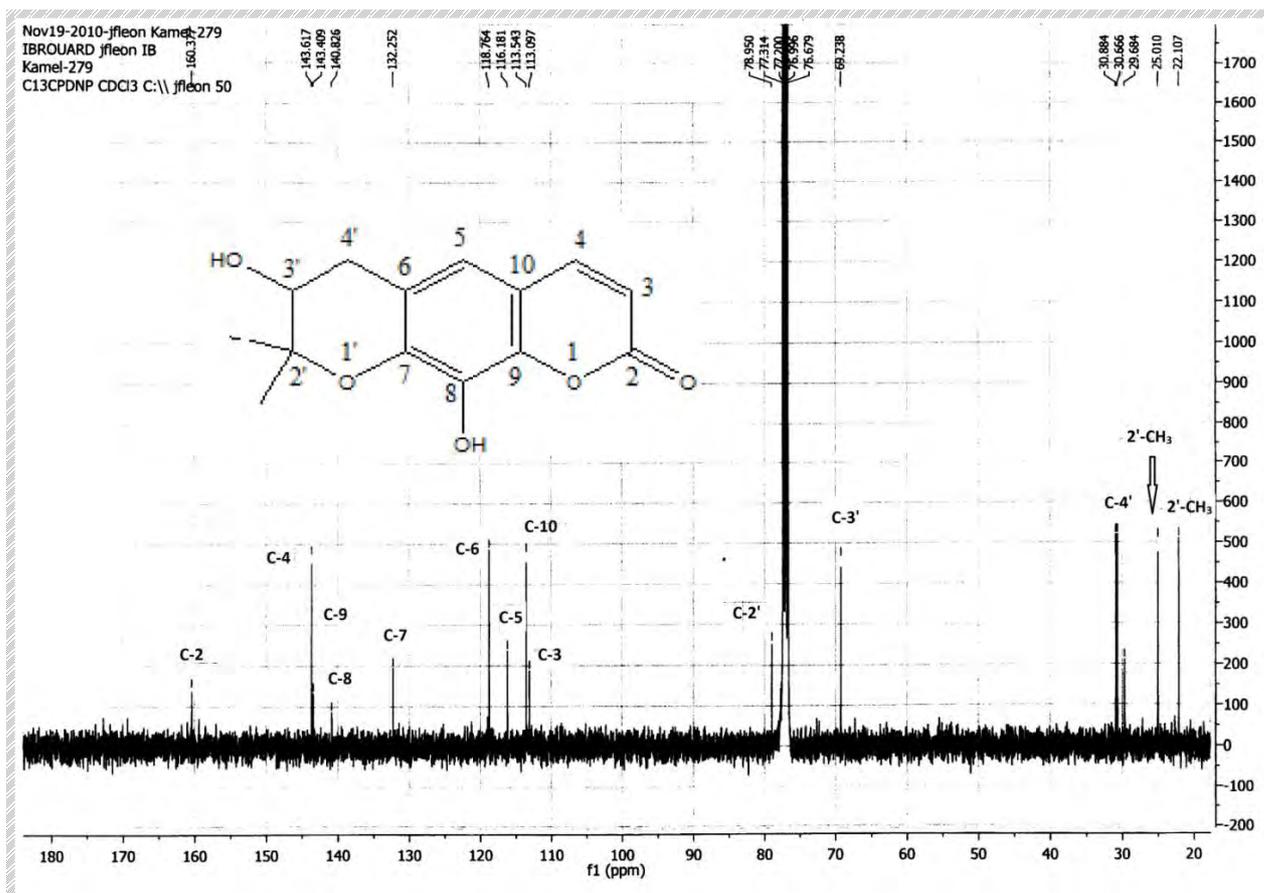


Figure-45: Spectre ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) du composé H279.

Le spectre de masse obtenu en ES mode positif (figure-46) donne un ion pseudo moléculaire à m/z 285,0739 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ correspondant à une formule en $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{O}_5$, révélant ainsi la présence des deux groupes hydroxyles dans cette molécule.

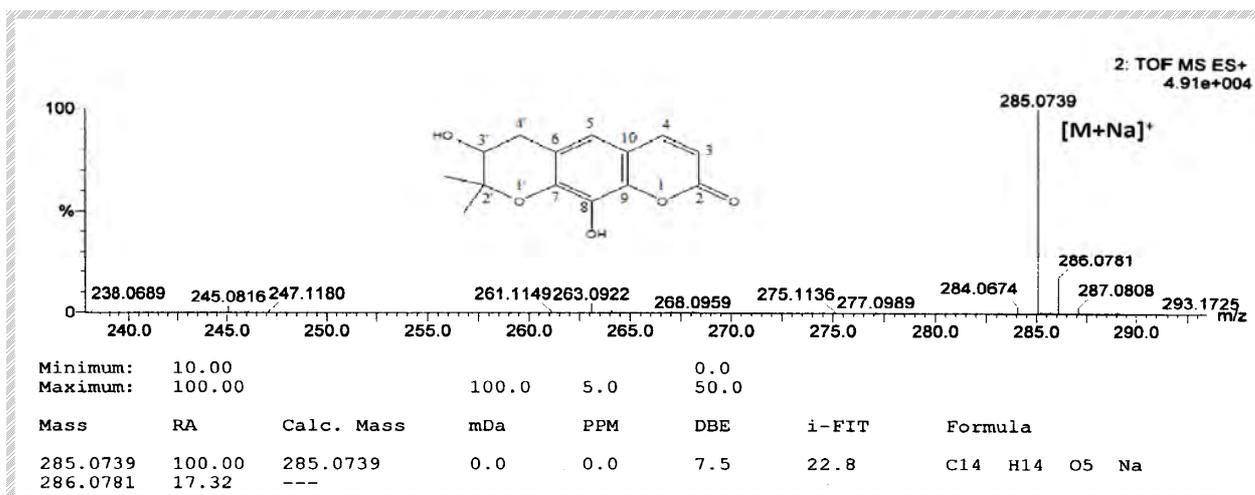


Figure-46: Spectre de masse en ES^+ du composé H279.

L'emplacement du groupe hydroxyle en position C-8 est consolidé d'une part par la corrélation due à un couplage 4J entre le proton H-5 et H-4'b sur le spectre Cosy 1H - 1H (figure-47) et d'autre part par les deux corrélations entre H-5 / H-4'b et H-5 / H-4'a sur le spectre ROESY (figure-48).

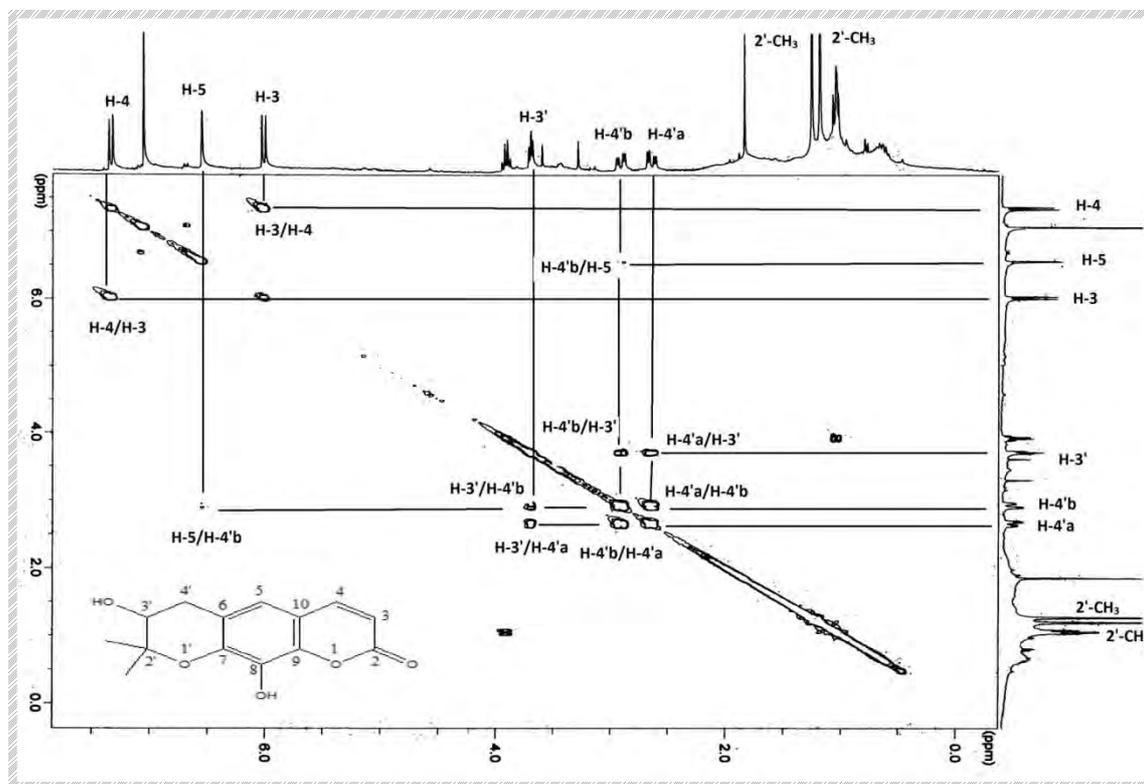


Figure-47: Spectre Cosy 1H - 1H (300 MHz, $CDCl_3$) du composé H279.

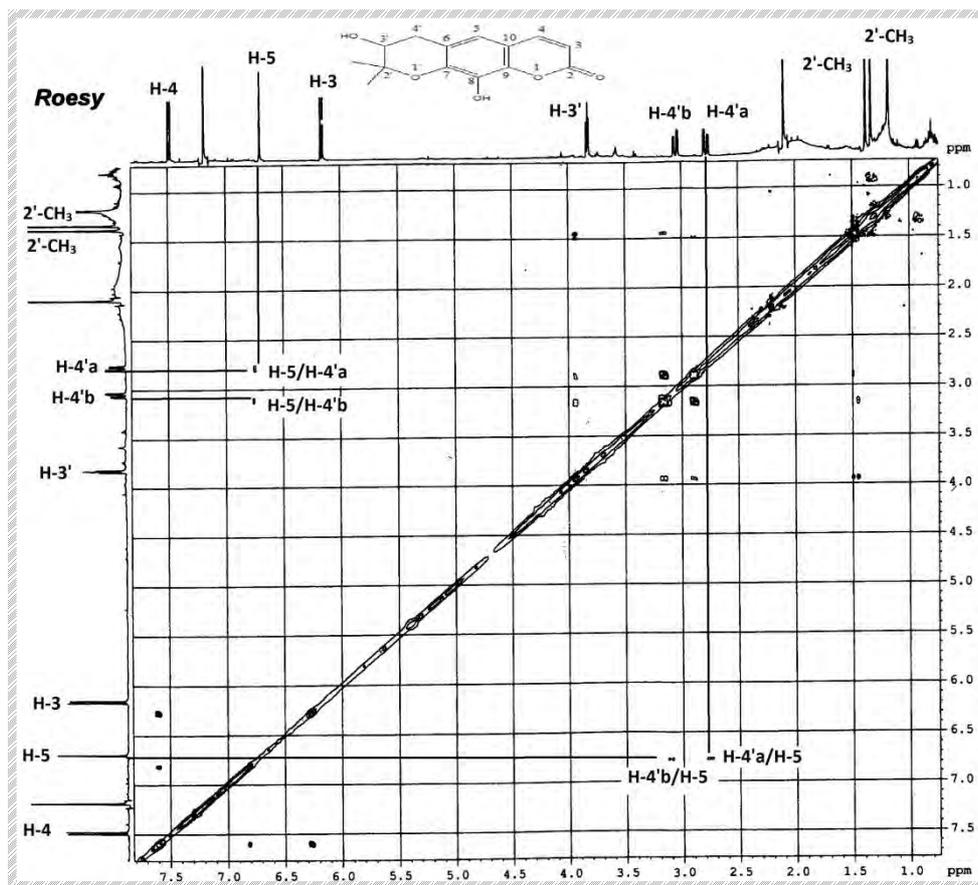


Figure-48 : Spectre ROESY (400 MHz, CDCl₃) du composé H279.

L'ensemble de ces données tableau-10, associées à celles obtenues par spectrométrie de masse, nous a permis d'identifier le composé H279. Ce composé est totalement original, nous lui avons attribué le nom de 8-hydroxy décursinol (figure-49).

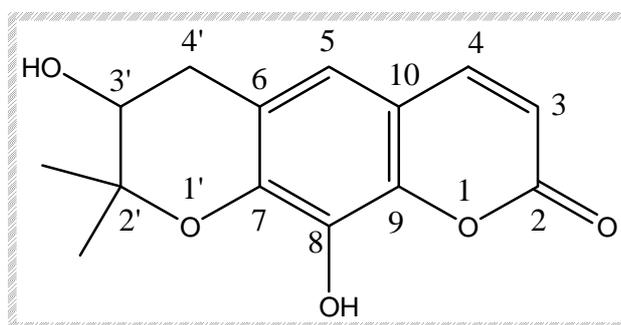


Figure-49: 8-hydroxy décursinol

Tableau-10: Déplacements chimiques δ (ppm) ^{13}C (125MHz) et ^1H (500 MHz) du composé H279 (CDCl_3)

Position	^{13}C	^1H (m, J Hz)
2	160.4	
3	113.1	6.16 (1H, d, 9.5)
4	143.6	7.48 (1H, d, 9.5)
5	116.2	6.69 (1H, s)
6	118.7	
7	140.8	
8	132.2	
9	143.4	
10	113.5	
2'	78.9	
3'	69.2	3.82 (1H, t, 5.4)
4'b	30.8	3.05 (1H, dd, 4.4, 16.7)
4'a	30.8	2.78 (1H, dd, 5.7, 16.7)
2'-CH ₃	25.0	1.38 (3H, s)
2'-CH ₃	22.1	1.33 (3H, s)

III-3-5-7 Détermination de structure du composé H275

Le spectre RMN- ^1H (figure-50) présente :

- Deux systèmes AB, l'un à δ_{H} 7.60 et à δ_{H} 6.18 ($J = 9.5$ Hz) relatif aux protons du cycle pyrone et l'autre à δ_{H} 7.23 et à δ_{H} 6.86 ($J = 8.4$ Hz) attribuable aux protons H-5 et H-6 respectivement.
- Deux singulets à δ_{H} 1.39 et à δ_{H} 1.28 intégrant chacun pour trois 3H et qui sont assignables aux deux groupements méthyles.
- Un doublet à δ_{H} 3.66 (1H, $J = 10.3$ Hz) relatif au proton H-3', un doublet à δ_{H} 3.34 (1H, $J = 14.7$ Hz) et un doublet de doublet à δ_{H} 2.61 (1H, $J = 10.6, 14.7$ Hz) correspondant aux protons H-4'b et H-4'a respectivement.
- Un singulet à δ_{H} 3.45 d'une surface de 3H relatif au groupement méthoxyle.

Ces données spectrales sont en faveur d'un système dihydropyrane angulaire [20].

L'analyse des spectres RMN- ^{13}C - et DEPT 135 (figures 51 et 52) a permis la confirmation de ces éléments révélant ainsi la présence de:

- Cinq méthynes dont quatre sp^2 et un sp^3 .
- Un méthylène.
- Six carbones quaternaires.

- Deux méthyles.
- Un groupement méthoxyle.

Les signaux résonnant à δ_C 80.8 et à δ_C 73.8 relatifs respectivement aux carbones C-3' et C-2' caractérisent le système dihydropyrane.

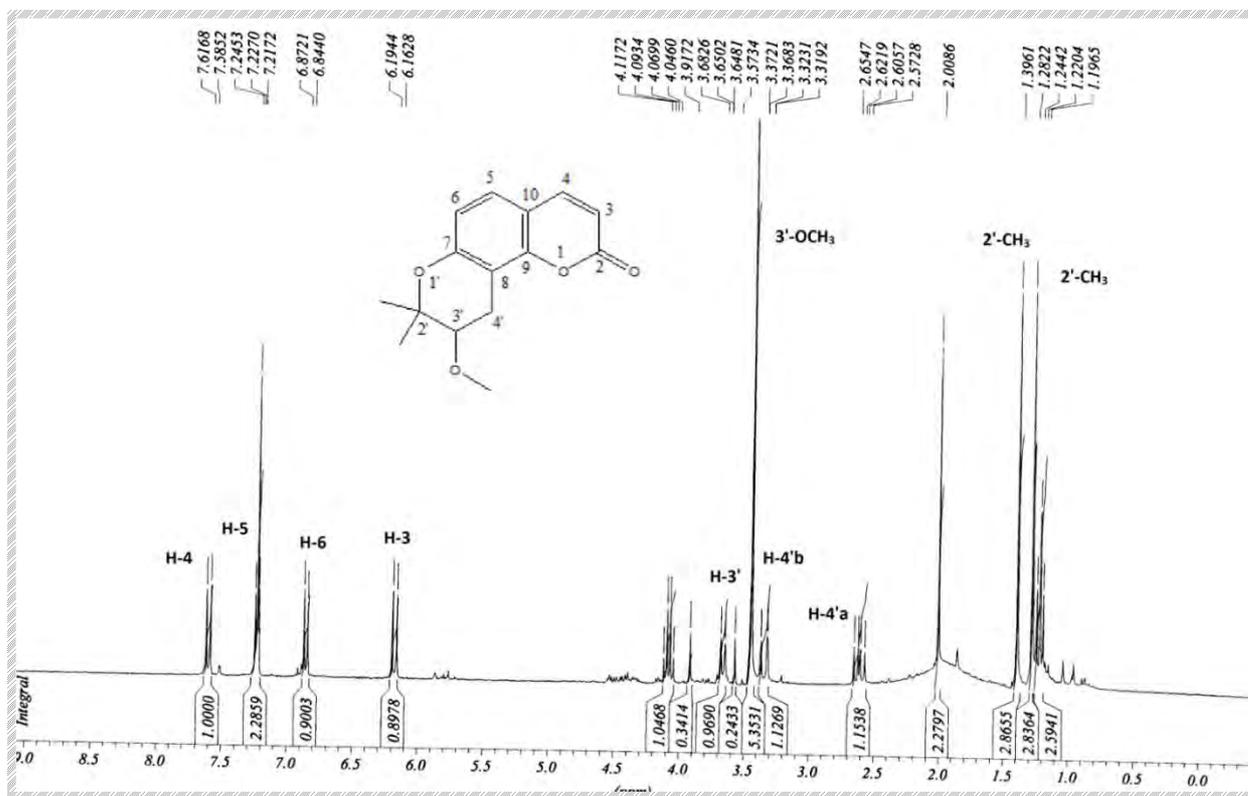


Figure-50: SpectreRMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3) du composé H275.

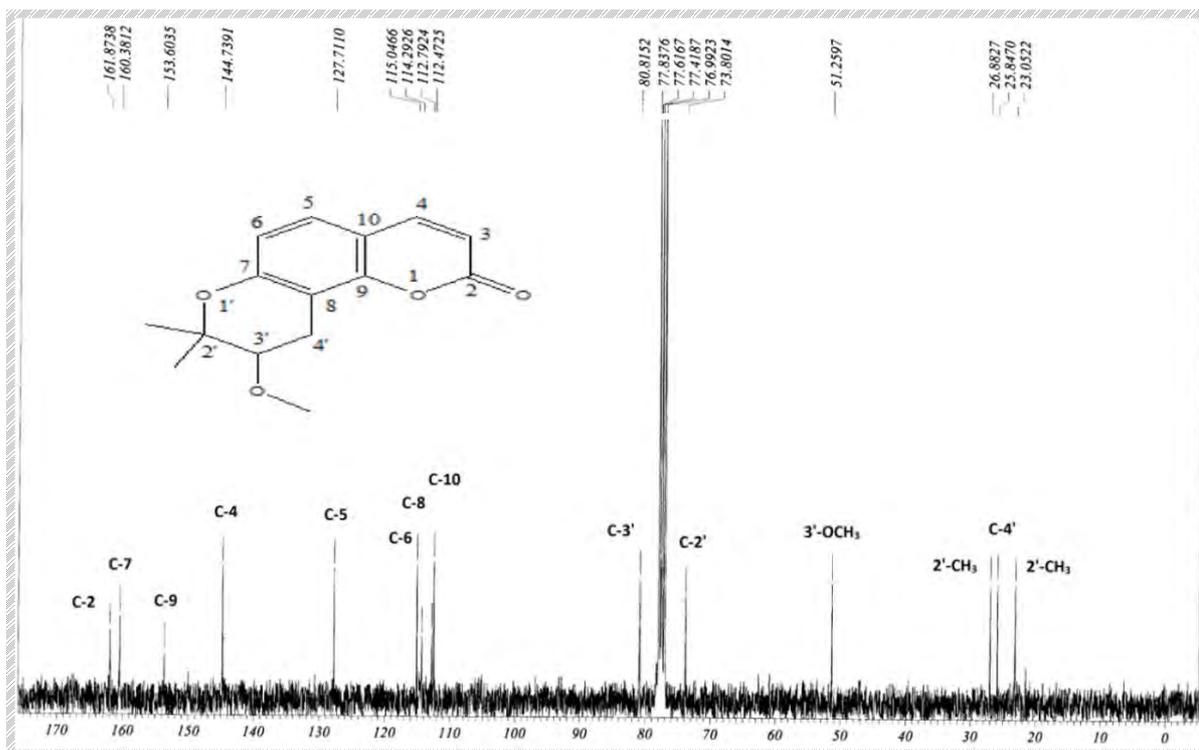


Figure-51: Spectre ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) du composé H275.

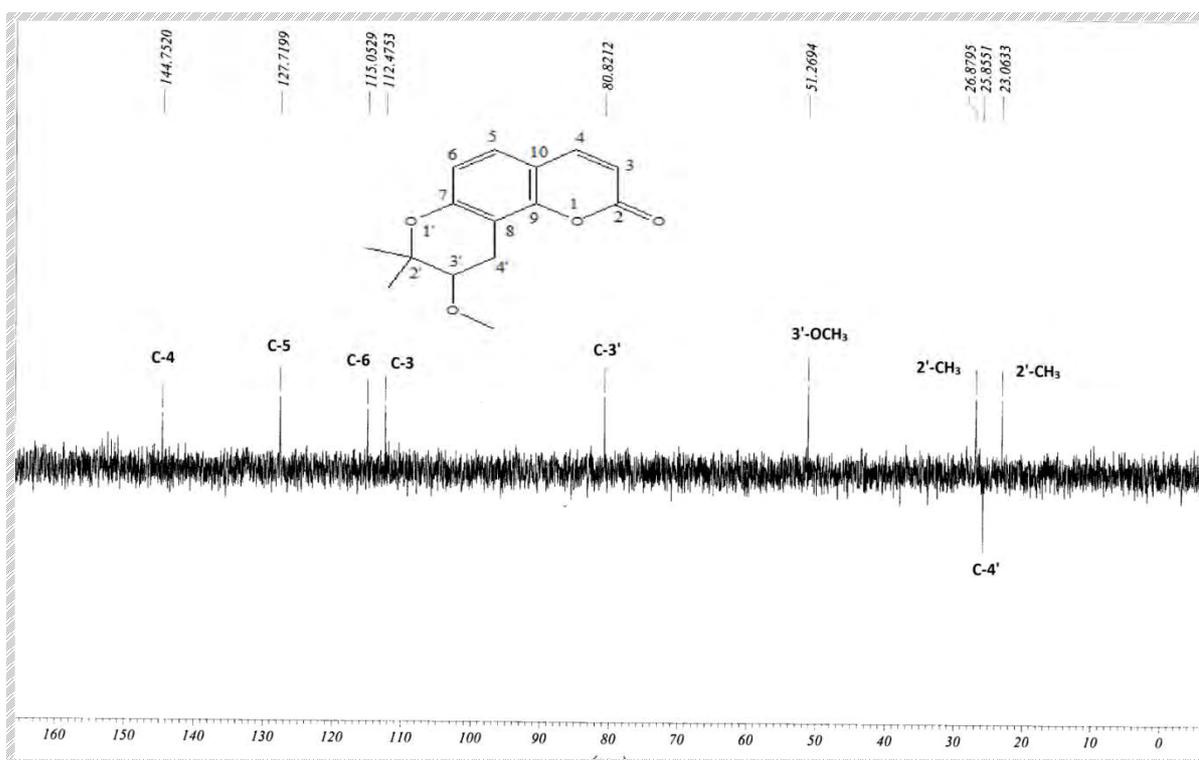


Figure-52: Spectre DEPT 135 (75 MHz, CDCl_3) du composé H275.

L'attribution complète des signaux a été réalisée par l'analyse des spectres de corrélations homonucléaires COSY (figure-53) et hétéronucléaires HMQC (figure-54).

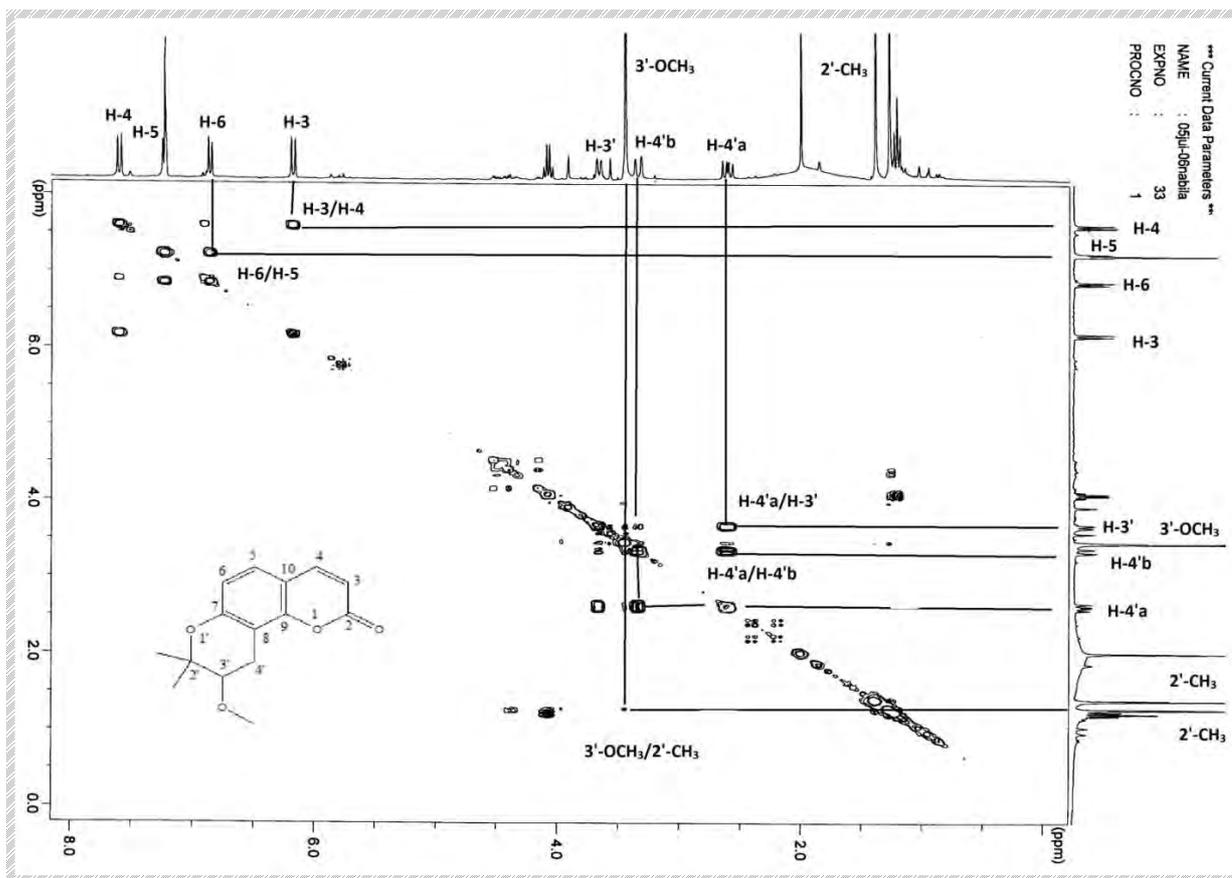


Figure-53: Spectre Cosy ^1H - ^1H (300 MHz, CDCl_3) du composé H275.

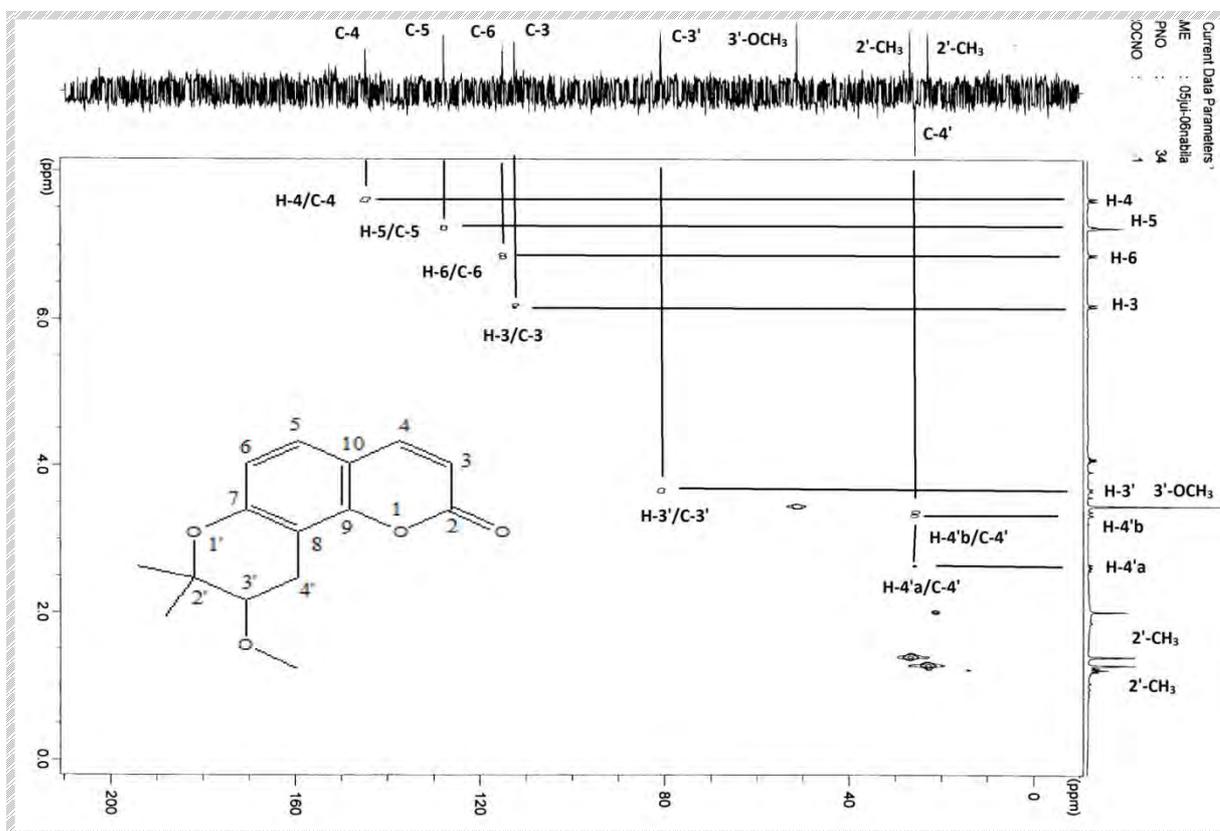


Figure 54: Spectre HMQC (300 MHz, CDCl_3) du composé H275.

La position du groupe méthoxyle en position C-3' a été déterminée par les corrélations sur le spectre HMBC (figure-55) entre les protons des deux groupements méthyles et le carbone C-3'.

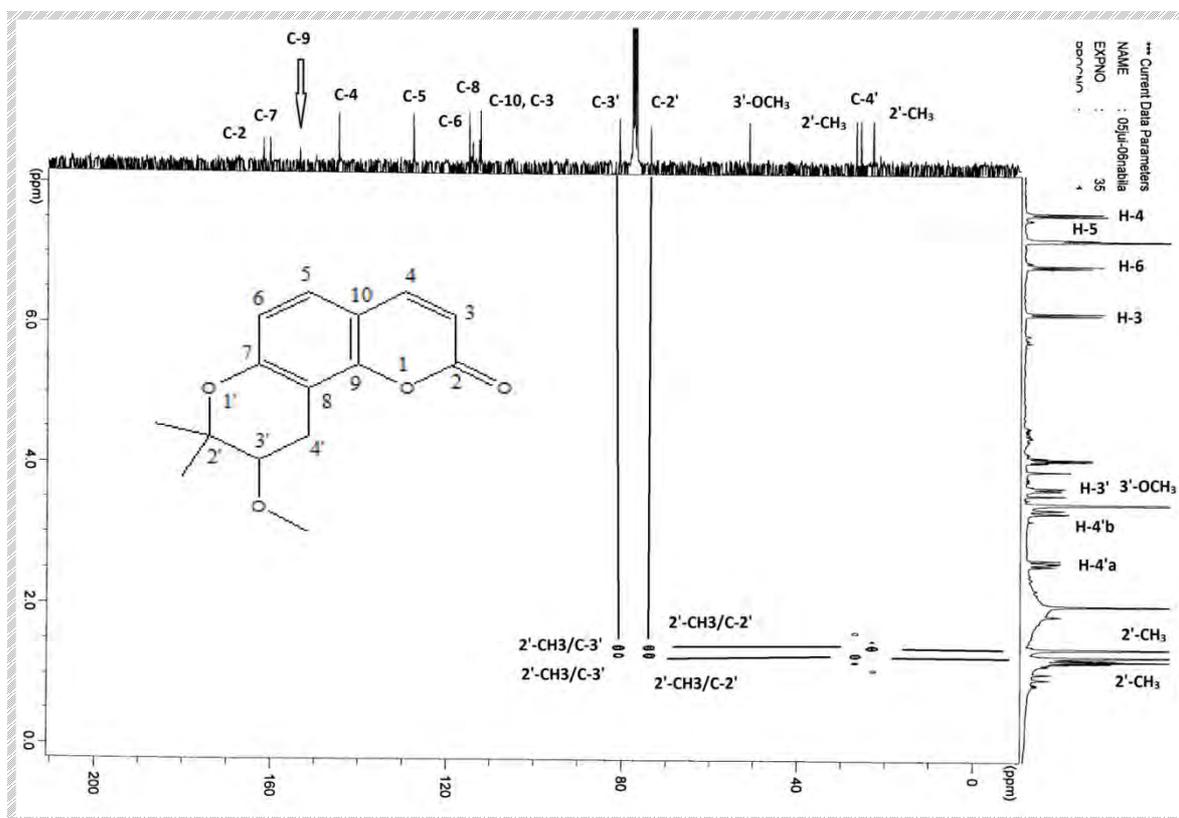


Figure-55: Spectre HMBC (300 MHz, CDCl_3) du composé H275.

Par comparaison des données de la littérature [21] avec ceux du composé H274 rassemblées dans le tableau-11, la structure suivante a été attribuée à ce composé comme étant la 3'-méthoxy dihydroséséline (figure-56).

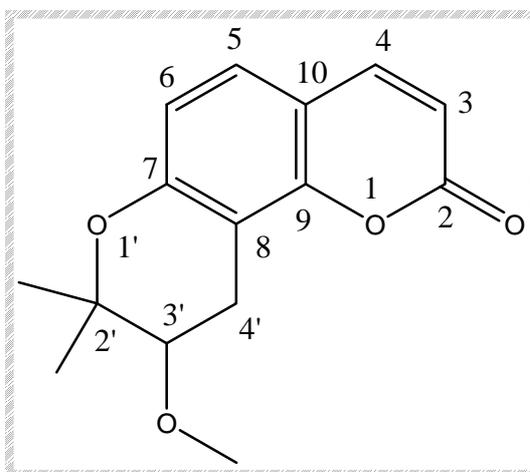


Figure-56: 3'-méthoxy dihydroséséline

Tableau-11: Déplacements chimiques δ (ppm) ^{13}C (75 MHz) et ^1H (300 MHz) du composé H275(CDCl_3).

Position	^{13}C	^1H (m, J Hz)	Corrélations COSY	Corrélations HMQC	Corrélations HMBC
2	161.9				
3	112.5	6.18 (1H, d, 9.5)	H-4	C-3	
4	144.7	7.60 (1H, d, 9.5)	H-3	C-4	
5	127.7	7.23 (1H, d, 8.4)	H-6	C-5	
6	115.0	6.86 (1H, d, 8.4)	H-5	C-6	
7	160.4				
8	114.3				
9	153.6				
10	112.8				
2'	73.8				
3'	80.8	3.66 (1H, d, 10.3)	H-4'b	C-3'	
4'a	25.8	2.61 (1H, dd, 10.6, 14.7)	H-4'b	C-4'	
4'b	25.8	3.34 (1H, d, 14.7)	H-4'a	C-4'	
2'-CH ₃	26.9	1.39 (3H, s)			C-3', C-2'
2'-CH ₃	23.0	1.28 (3H, s)			C-3', C-2'
3'-OMe	51.3	3.45 (3H, s)			

III-3-5-8 Détermination de structure du composé H288

Le spectre RMN- ^1H du composé H288 (figure-57) présente de grandes similitudes avec celui du Composé H275.

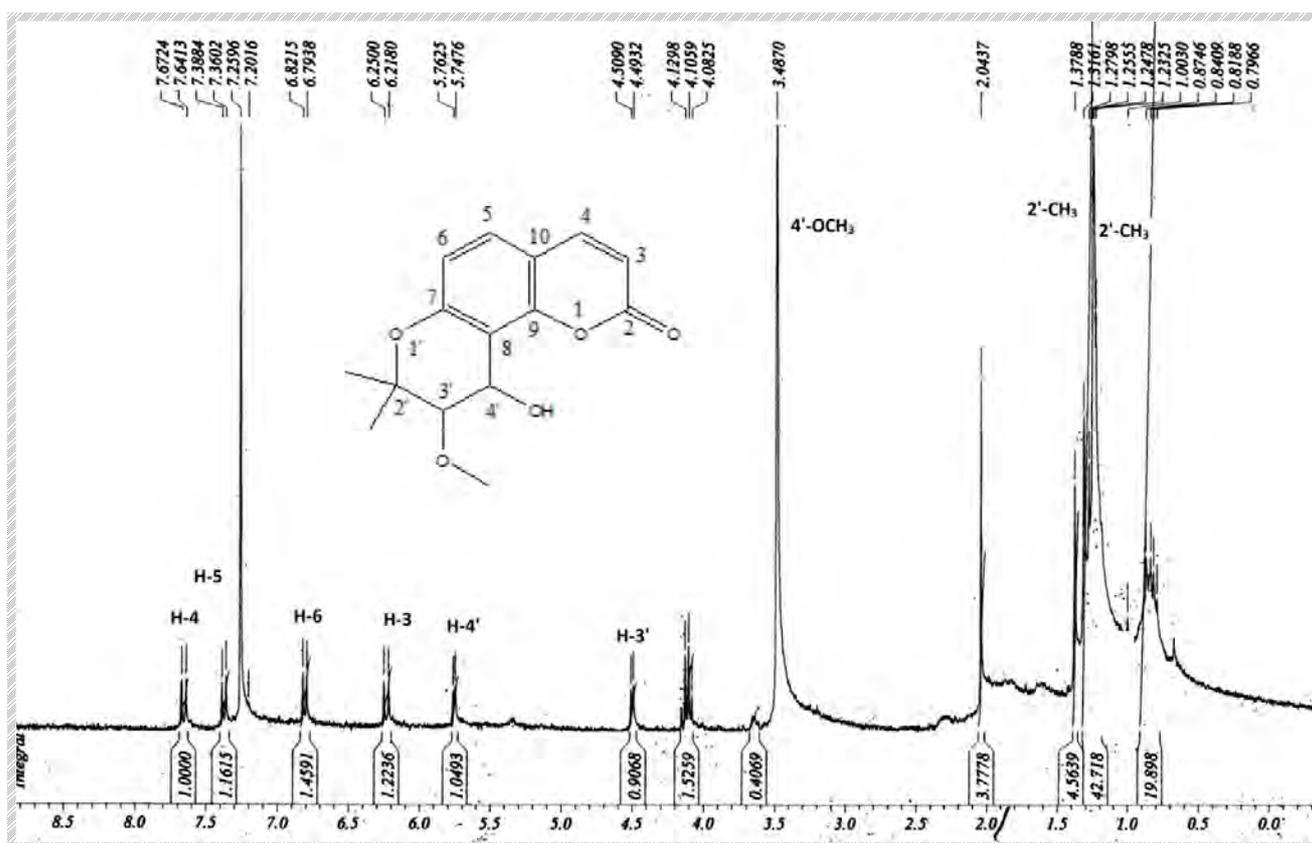
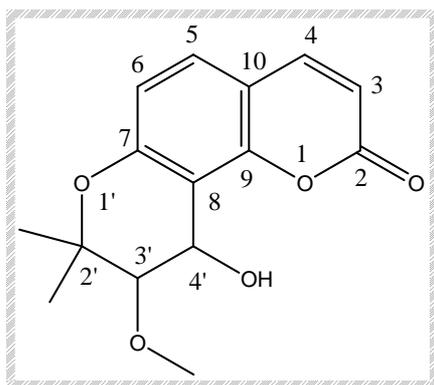


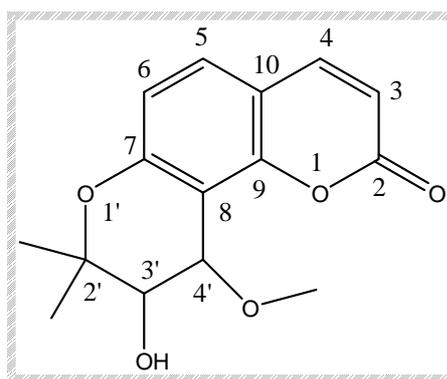
Figure-57: SpectreRMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3) du composé H288.

On reconnaît les protons caractéristiques du noyau α -pyrone à savoir les protons H-3 et H-4, les protons H-5 et H-6 du noyau aromatique et le proton H-3' du cycle lactonique qui est légèrement déblindé ($\Delta\delta = +0,84$ ppm). On note aussi la présence de deux groupes méthyles et un groupement méthoxyle. La différence se résume à la disparition des signaux relatifs aux deux protons H-4'a et H-4'b dans la région [2,60 -3,50 ppm] qui étaient présents sur le spectre proton du composé H275 et l'apparition d'un signal sur le spectre proton du composé H288 sous forme de doublet intégrant pour un 1H à δ_{H} 5.75 relatif à H-4' et confirmant ainsi la présence d'un groupement hydroxyle dans cette molécule.

Cette analyse conduit à deux structures probables pour ce composé (figure-58). Une étude bibliographique sur les composés 3'-O- méthylkhellactone et 4'-O-méthyl khellactone résumée dans le tableau-12 nous a permis d'enlever cette ambiguïté [22, 23].



H288a



H288b

Figure-58

Tableau-12 : Déplacements chimiques de H-3' et H-4'

	H-3'	H-4'
4'-O-méthyl-cis-khellactone	δ_H 4.68 (d, J = 5.4Hz)	δ_H 3.80 (d, J = 5.4 Hz)
4'-O-méthyl-trans-khellactone	δ_H 4.58 (d, J = 3Hz)	δ_H 3.92 (d, J = 5.4 Hz)
 4'-O-méthylkhellactone		
3'-O-méthyl-trans-khellactone	δ_H 3.39 (d, J = 4.5Hz)	δ_H 5.12 (d, J = 4.5 Hz)
 3'-O-méthylkhellactone		

On remarque aisément d'après les données du tableau-12 que les déplacements chimiques et les constantes de couplage de H-3' et H-4' favorisent la représentation H288a dont les données sont reportées dans le tableau-13. Les ions fragments relevés sur le spectre de masse en IE (figure-59) à m/z 226 $[M-2-H_2O-2CH_3]^+$ et à m/z 198 $[M-2-H_2O-2CH_3-CO]^+$ caractérisent les dihydroxyranocoumarines de type khellactone [24].

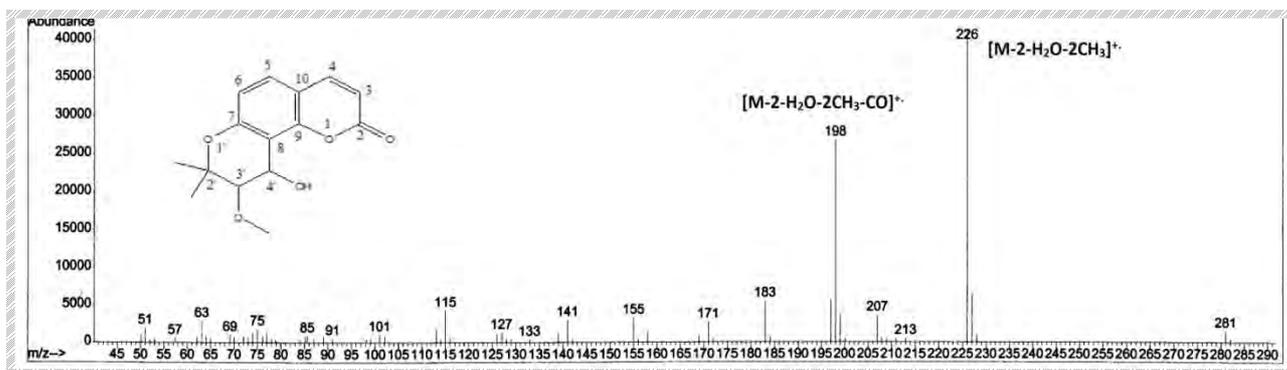


Figure 59: Spectre de masse en EI du composé H275.

L'ensemble de ces données permet d'identifier H288 comme étant le 4'-hydroxy-3'-méthoxy dihydroséséline (figure-60).

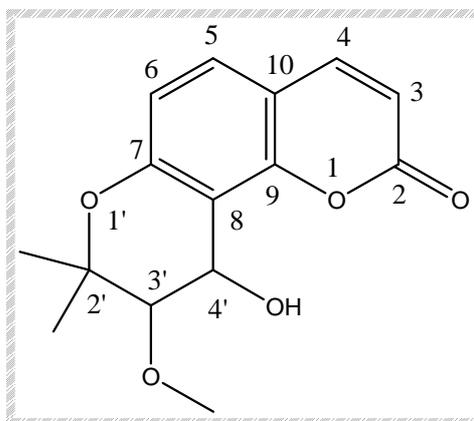


Figure-60: 4'-hydroxy - 3'-méthoxy- dihydroséséline

Tableau-13 : Déplacements chimiques δ (ppm) 1H (300 MHz) du composé H288 ($CDCl_3$)

Position	1H (m, J Hz)
3	6.23 (1H, d, 9.6)
4	7.65 (1H, d, 9.3)
5	7.39 (1H, d, 8.4)
6	6.80 (1H, d, 8.3)
3'	4.50 (1H, d, 4.7)
4'	5.75 (1H, d, 4.5)
2'-CH ₃	1.37 (3H, s)
2'-CH ₃	1.31 (3H, s)
4'-OMe	3.48 (3H, s)

III-3-5-9 Détermination de structure du composé H278

Sur le spectre de masse du composé H278 (figure-61) réalisé en électrospray (SM-ESI) en mode positif, on observe un ion moléculaire à m/z 431 $[M+Na]^+$ indiquant une formule brute de $C_{20}H_{24}O_9$.

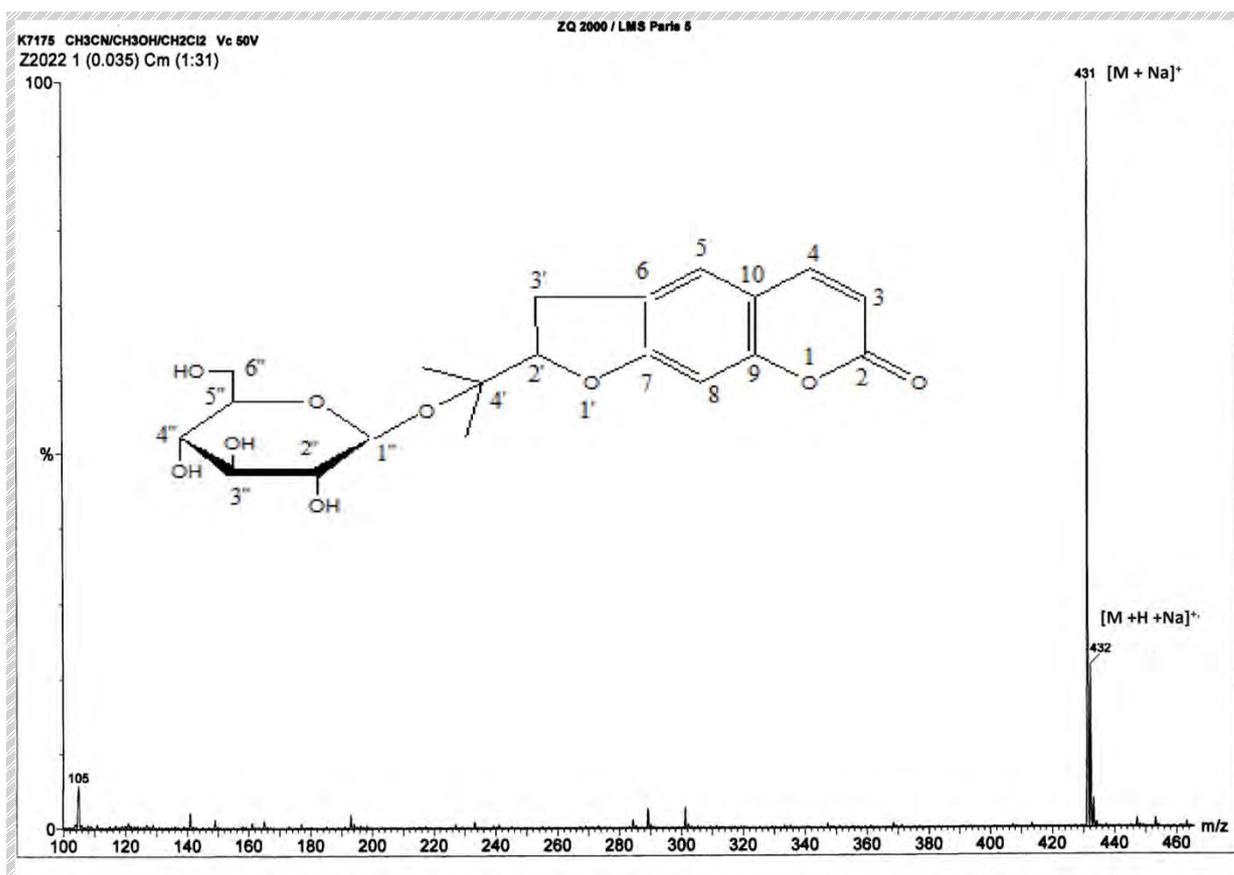


Figure-61: Spectre de masse en ES^+ du composé H278.

Le spectre de RMN- 1H (figure-62) présente les signaux caractéristiques d'une dihydrofuranocoumarine linéaire :

- La partie α -pyrone (cycle B) est représentée par les deux signaux du système AB à δ_H 7.95 (d, $J = 9.5$ Hz) et à δ_H 6.22 (d, $J = 9.5$ Hz) relatifs à H-4 et H-3 respectivement.
- Deux singulets à du cycle A à δ_H 7.49 et à δ_H 6.82 attribuables à H-5 et H-8 respectivement.
- Les multiplets à δ_H 4.81, à δ_H 3.29 et à δ_H 3.21 caractérisent la partie dihydrofurane (cycle C).

Sur ce même spectre on observe également :

- Deux singulets légèrement déblindés d'une surface de trois protons à δ_H 1.26 et à δ_H 1.23.
- Un doublet centré sur 4.78 ppm ($J = 7.8\text{Hz}$) relatif au proton en 1'' d'un β -glucose couplant avec le proton en 2'', la corrélation de ce couplage di axial est visible sur le spectre Cosy ^1H - ^1H .
- Un multiplet à δ_H 4.81 intégrant pour quatre protons dont un correspondant à H-2' et les trois autres sont relatifs aux groupements hydroxyles de l'hexose.
- Un triplet à δ_H 4.28 assignable au groupement hydroxyle portée par le carbone C-6'' de l'hexose.

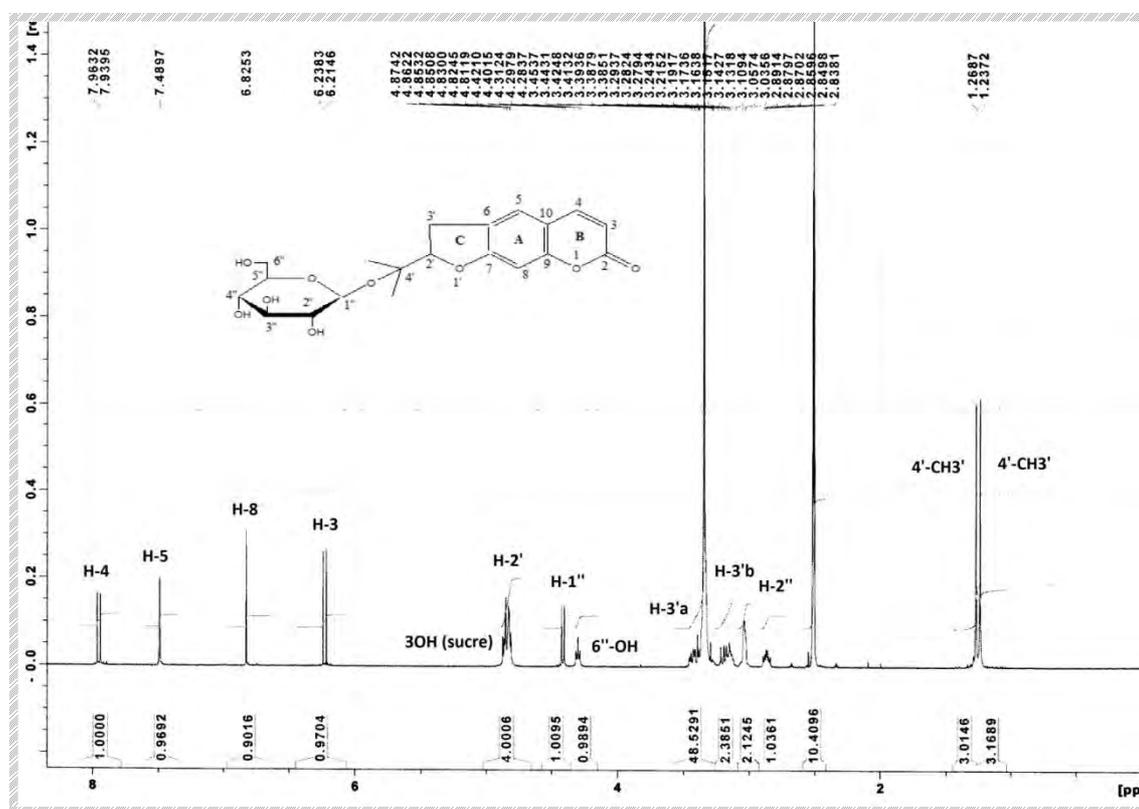


Figure-62: Spectre RMN- ^1H (400 MHz, DMSO) du composé H278.

L'expérience Cosy ^1H - ^1H (figure-63) met en évidence les corrélations attendues entre : H-3 et H-4, H-1'' et H-2'', H-3'a, H-3'b et H-5 (couplage 4J), H-3'a, H-3'b et H-2'. Les trois groupements OH et certains protons de l'hexose, H-6''a, H-6''b et 6''-OH.

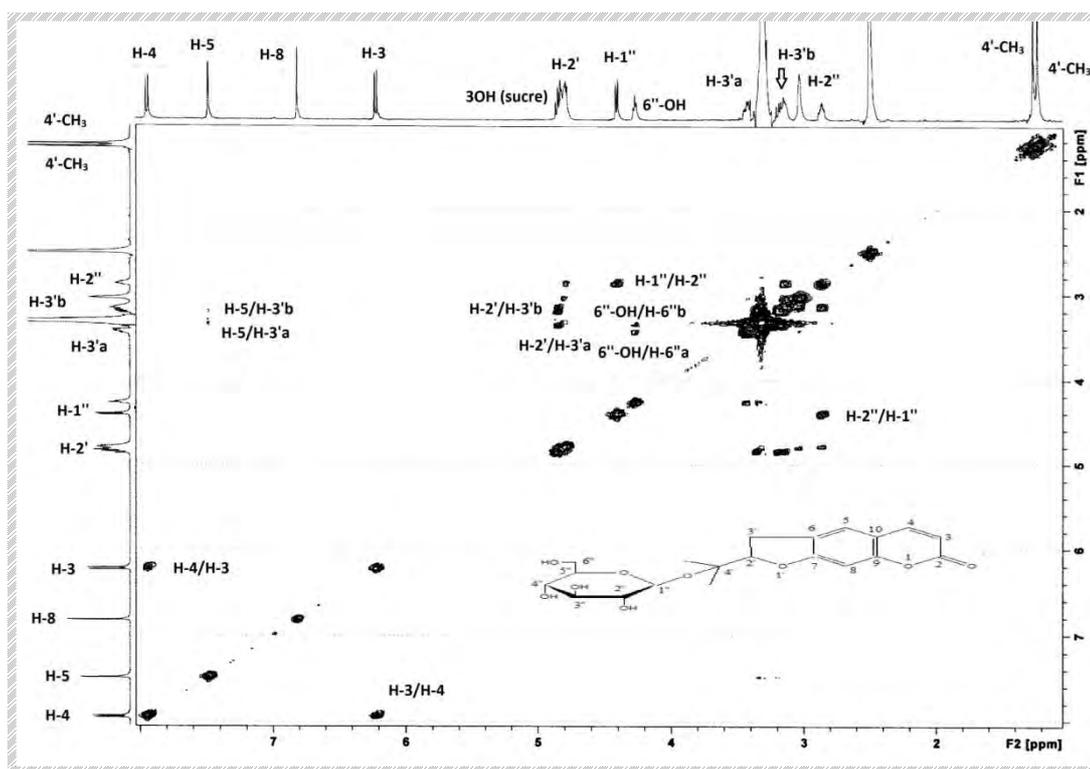


Figure-63: Spectre Cosy ^1H - ^1H (400 MHz, DMSO) du composé H278.

L'analyse des spectres RMN- ^{13}C (figure-64), DEPT 135 (figure-65) et DEPT 90 (figure-66) ont fourni plus d'indications. Ces spectres ont ainsi montré la présence de :

- Un signal à δ_{C} 90.6 relatif au carbone C-2' du cycle C d'une dihydrofuranocoumarin.
- Un signal déblindé à δ_{C} 77.4 ($\Delta\delta = +4.7\text{ppm}$) relatif au carbone quaternaire oxygéné C-4' comparé à celui du composé H275 (figure-37) révélant d'ores et déjà que le β -glucose est porté par ce carbone.
- Dix méthynes dont quatre sp^2 insaturés.
- Deux méthylènes dont un oxygéné.
- Deux méthyles.
- Six carbones non protonés.

Ainsi, les 20 signaux dénombrés ont permis le calcul de la formule brute $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_9$ correspondant à un poids moléculaire de 408 uma en accord avec les résultats fournis par l'expérience de masse en ES^+ .

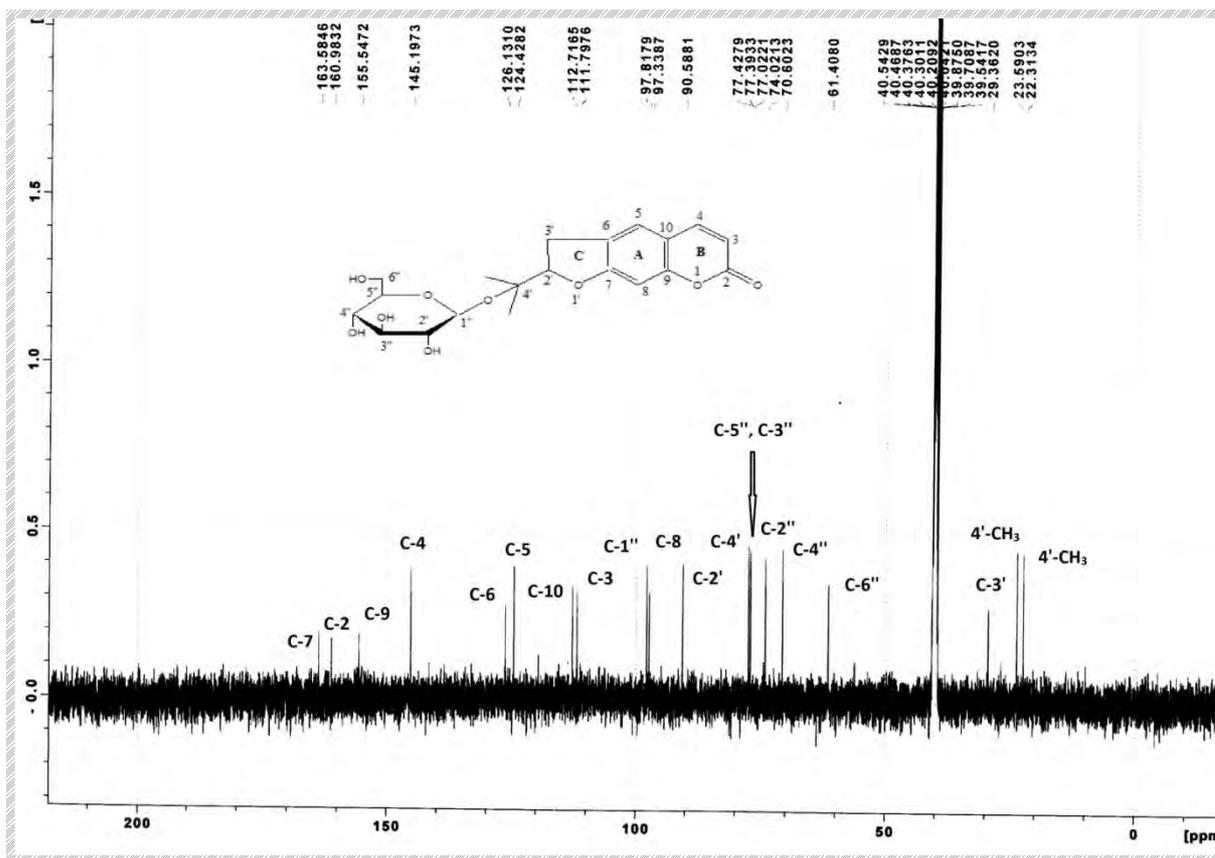


Figure-64: Spectre ^{13}C (100 MHz, DMSO) du composé H278.

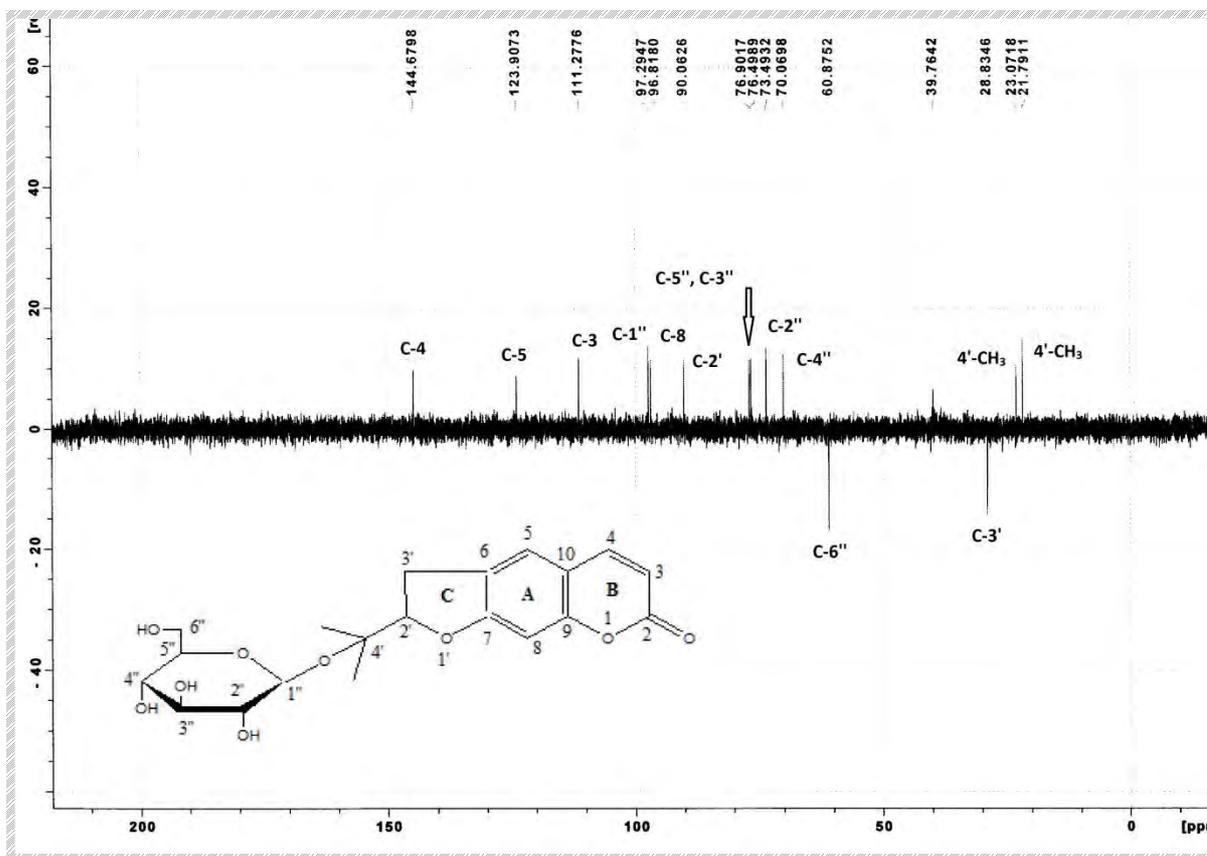


Figure-65: Spectre DEPT 135 (100 MHz, DMSO) du composé H278.

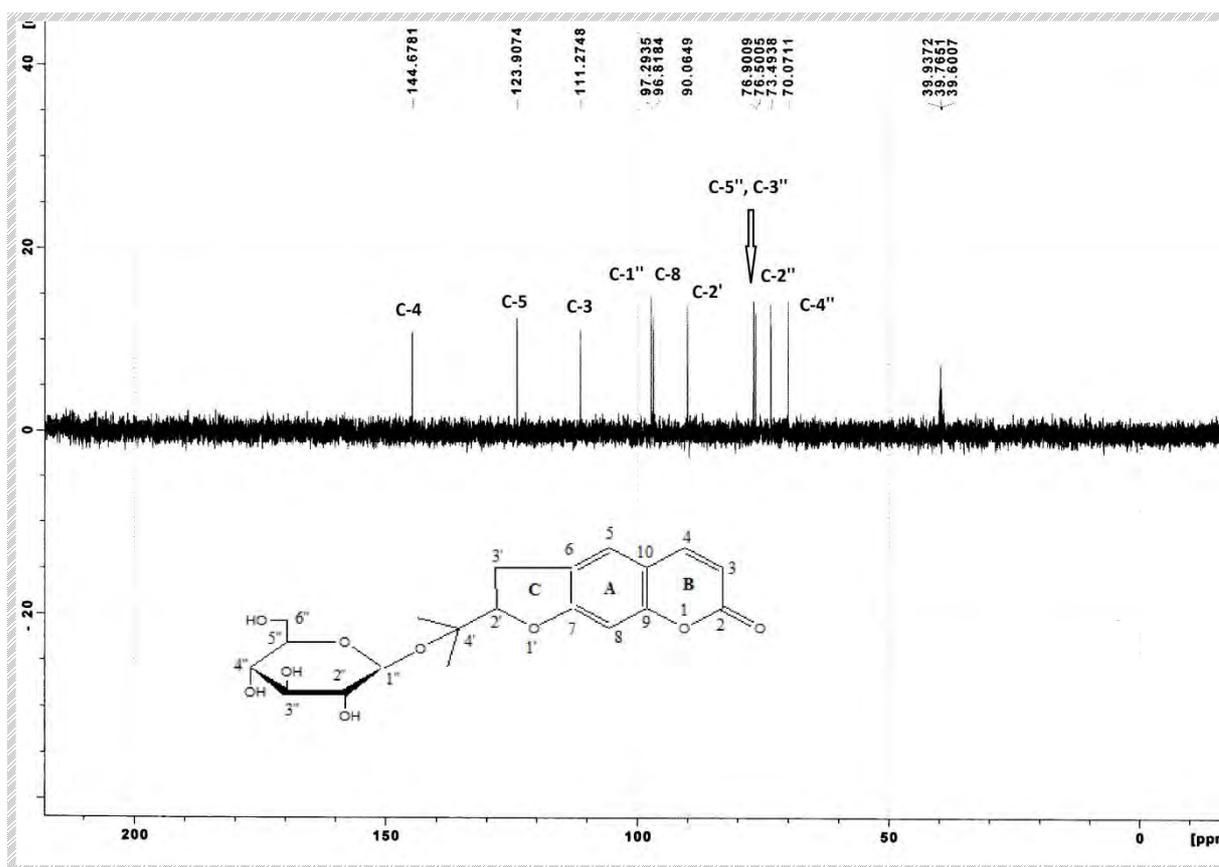


Figure-66: Spectre DEPT 90 (100 MHz, DMSO) du composé H278.

L'attribution complète des signaux a été réalisée par l'analyse des spectres de corrélations homonucléaires COSY et hétéronucléaires HSQC (figure-67).

La mesure du spectre de corrélations hétéronucléaires HSQC a conduit à l'établissement des connections géminales ^1H - ^{13}C -RMN du composé H278. Il a ainsi pu être démontré que les protons localisés à $\delta_{\text{H}}7.49$ et à $\delta_{\text{H}}6.82$ corrélient aux signaux centrés à $\delta_{\text{C}}124.4$ et à $\delta_{\text{C}}97.3$ respectivement.

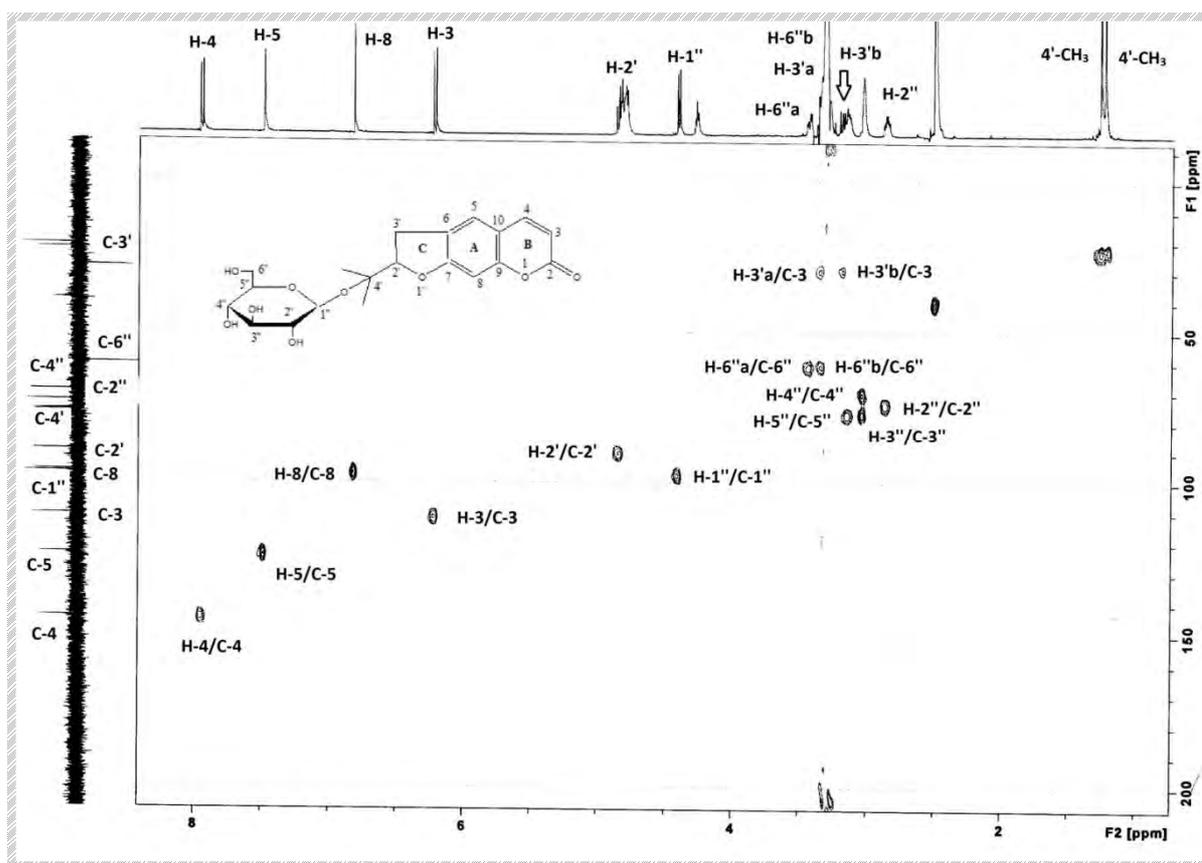


Figure-67: Spectre HSQC (400 MHz, DMSO) du composé H278.

L'analyse du spectre de corrélations hétéronucléaires observées à longue distance HMBC (figure-68) a permis la confirmation de la liaison du sucre à l'aglycone en montrant clairement le couplage du proton anomérique du glucose H-1'' avec le carbone C-4' de l'aglycone. Les corrélations observées entre le proton H-8 et les carbones C-7 et C-9 confirment la position de ce dernier. Par ailleurs, les corrélations constatées d'une part entre H-4/C-2 et H-3/C-2 et d'autre part entre H-5/C-7 et H-8/C-7 nous ont permis d'attribuer le signal résonnant à δ_C 163.6 au carbone C-7.

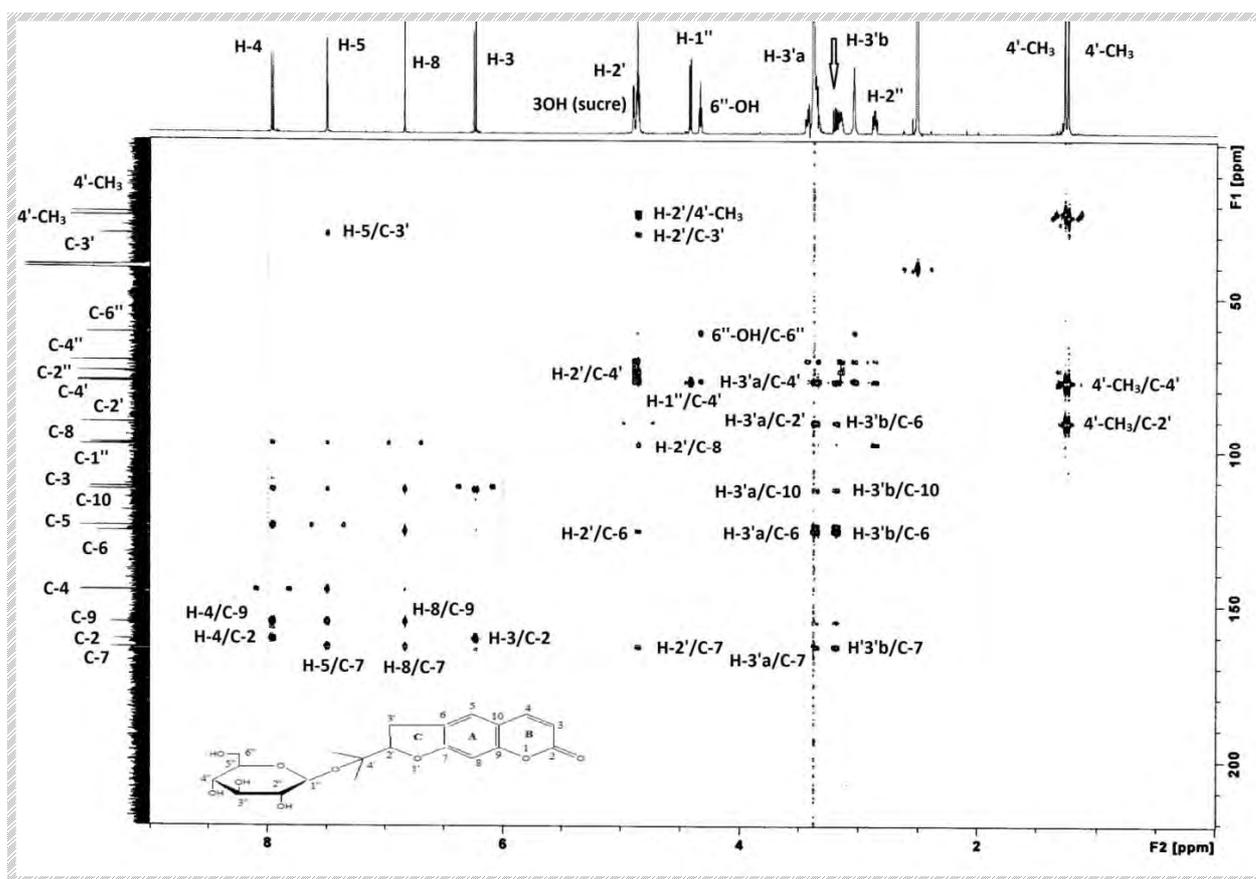


Figure-68: Spectre HMBC (600 MHz, DMSO) du composé H278.

Par comparaison des données de la littérature [25, 26] avec ceux du composé H278 qui sont reportés dans le tableau-14, la structure suivante a été attribuée à ce composé (figure-69).

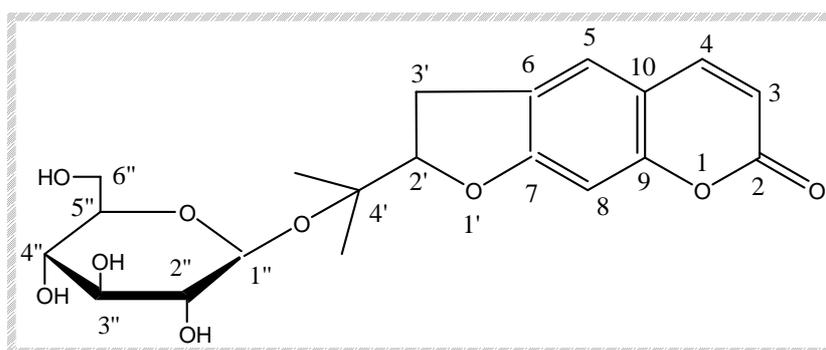


Figure 69: Marmésinine.

Tableau-14 : Déplacements chimiques δ (ppm) ^{13}C (100 MHz) et ^1H (400 MHz) du composé H278(DMSO).

Position	^{13}C	^1H (m, J Hz)	Corrélations COSY	Corrélations HMQC	Corrélations HMBC
2	160.9				
3	111.8	6.22 (1H, d, 9.5)	H-4	C-3	C-2, C-10
4	145.2	7.95 (1H, d, 9.5)	H-3	C-4	C-2, C-9, C-5, C-3
5	124.4	7.49 (1H, s)		C-5	C-7, C-9, C-4, C-10
6	126.1				
7	163.6				
8	97.3	6.82 (1H, s)		C-8	C-7, C-9, C-6, C-10
9	155.5				
10	112.7				
2'	90.6	4.81 (1H, m)	H-3'a, H-3'b	C-2'	C-3', C-6, C-7, C-4'
3'a	29.3	3.29 (1H, m)		C-3'	C-7, C-6, C-5, C-4'
3'b	29.3	3.21(1H, m)		C-3'	C-7, C-6, C-5, C-4'
4'	77.4				
4'-CH ₃	23.6	1.26 (3H, s)			C-3', C-2'
4'-CH ₃	22.3	1.23 (3H, s)			C-3', C-2'
1''	97.8	4.41 (1H, d, 7.8)	H-2''	C-1''	C-4'
2''	74.0	2.86 (1H, m)		C-2''	C-1''
3''	77.0	3.04 (1H, m)		C-3''	
4''	70.6	3.04 (1H, m)		C-4''	
5''	77.3	3.19 (1H, m)		C-5''	
6''a	61.4	3.40 (1H, dd, 4.6, 12.5)		C-6''	
6''b	61.4	3.27 (1H, m)		C-6''	
		4.81 (3OH,m)			
6''-OH		4.28			

III-3-5-10 Détermination de structure du composé H277

Le spectre de masse en électrospray positif (figure-70) donne un ion moléculaire à m/z 447 $[M+Na]^+$, correspondant à une formule brute en $C_{20}H_{24}O_{10}$. Cette formule diffère d'un atome d'oxygène par rapport à celle du composé H278, ce qui peut laisser supposer la présence d'un groupement hydroxyle dans cette molécule.

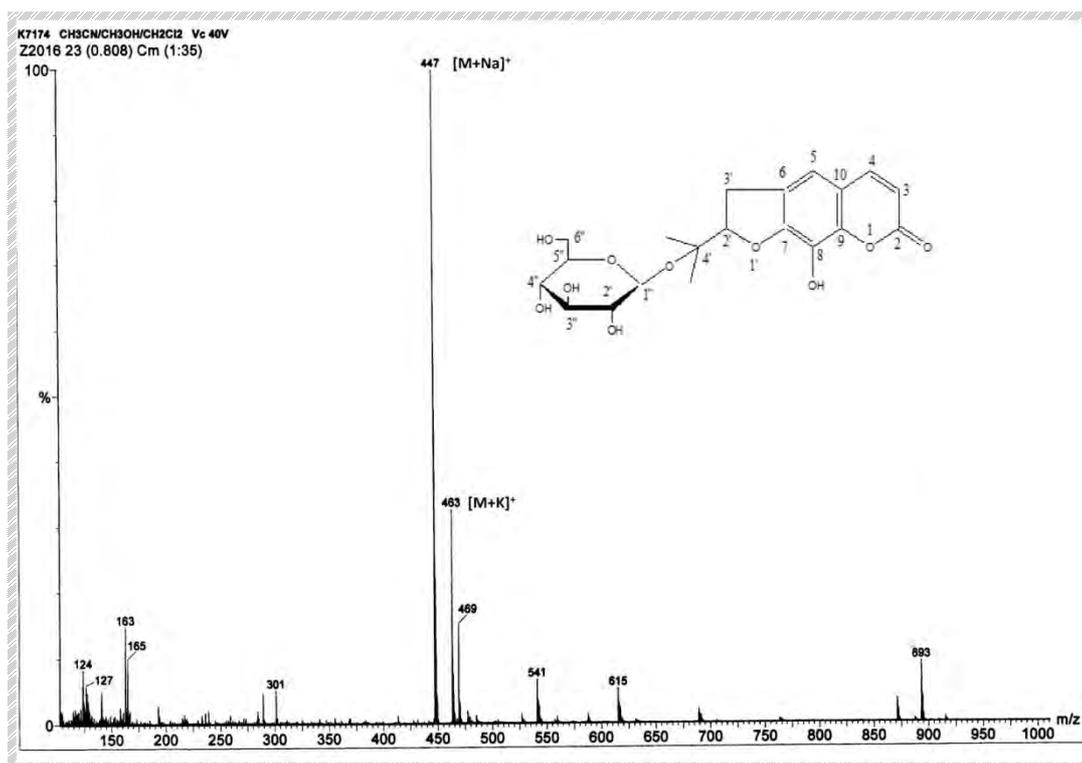


Figure-70: Spectre de masse en ES^+ du composé H277.

Le spectre RMN- 1H (figure-71) de ce composé présente de grandes similitudes avec celui du H278. La seule différence se résume à la disparition du signal à δ_H 6.82 relatif au proton H-8 attestant la présence du groupement hydroxyle à cette position. Les deux corrélations relevées sur le spectre $Cosy$ 1H - 1H (figure-71) qui sont dues aux couplages à longue distance (4J) entre H-5/H-3'a et H-5/H-3'b confortent la position du groupement OH en position 8.

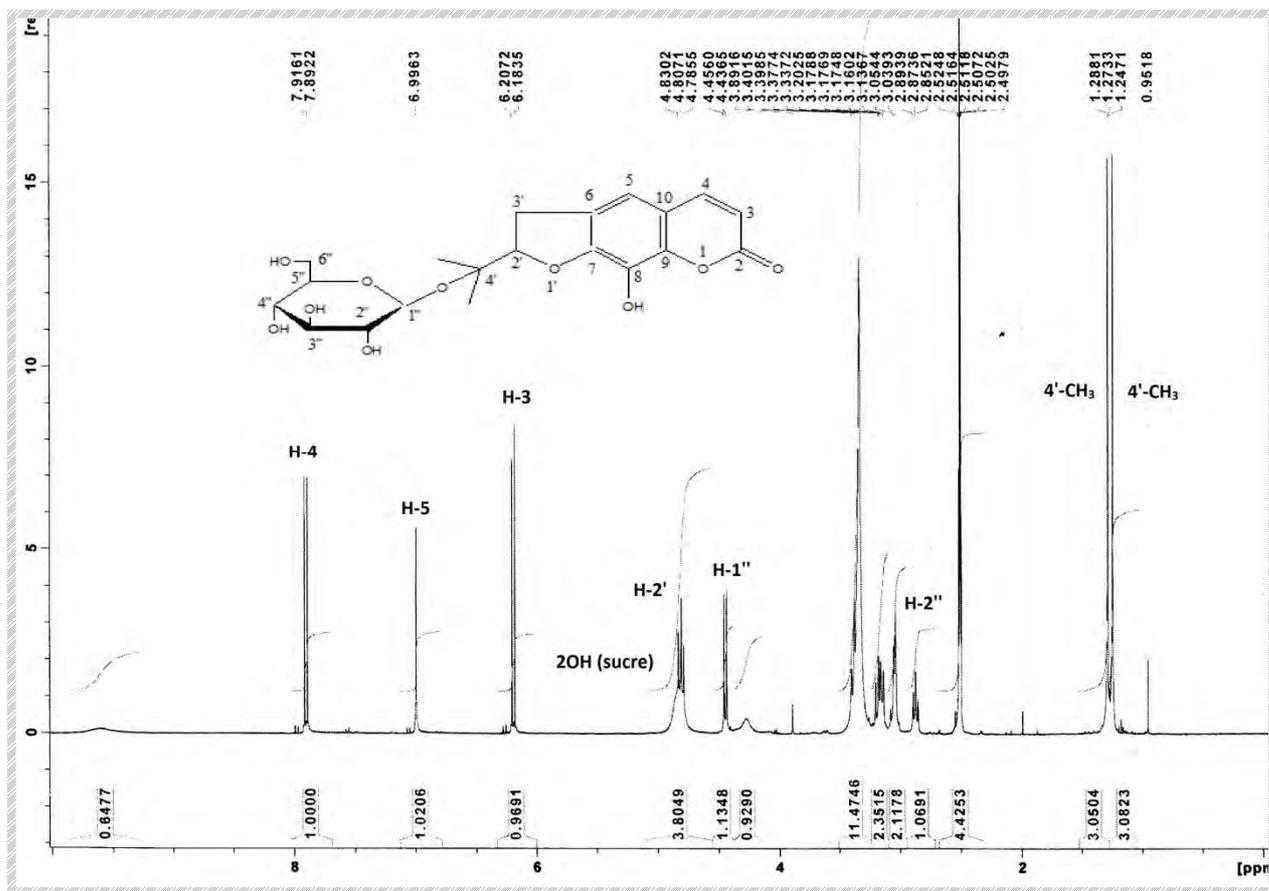


Figure-71: Spectre RMN-¹H (400 MHz, DMSO) du composé H277.

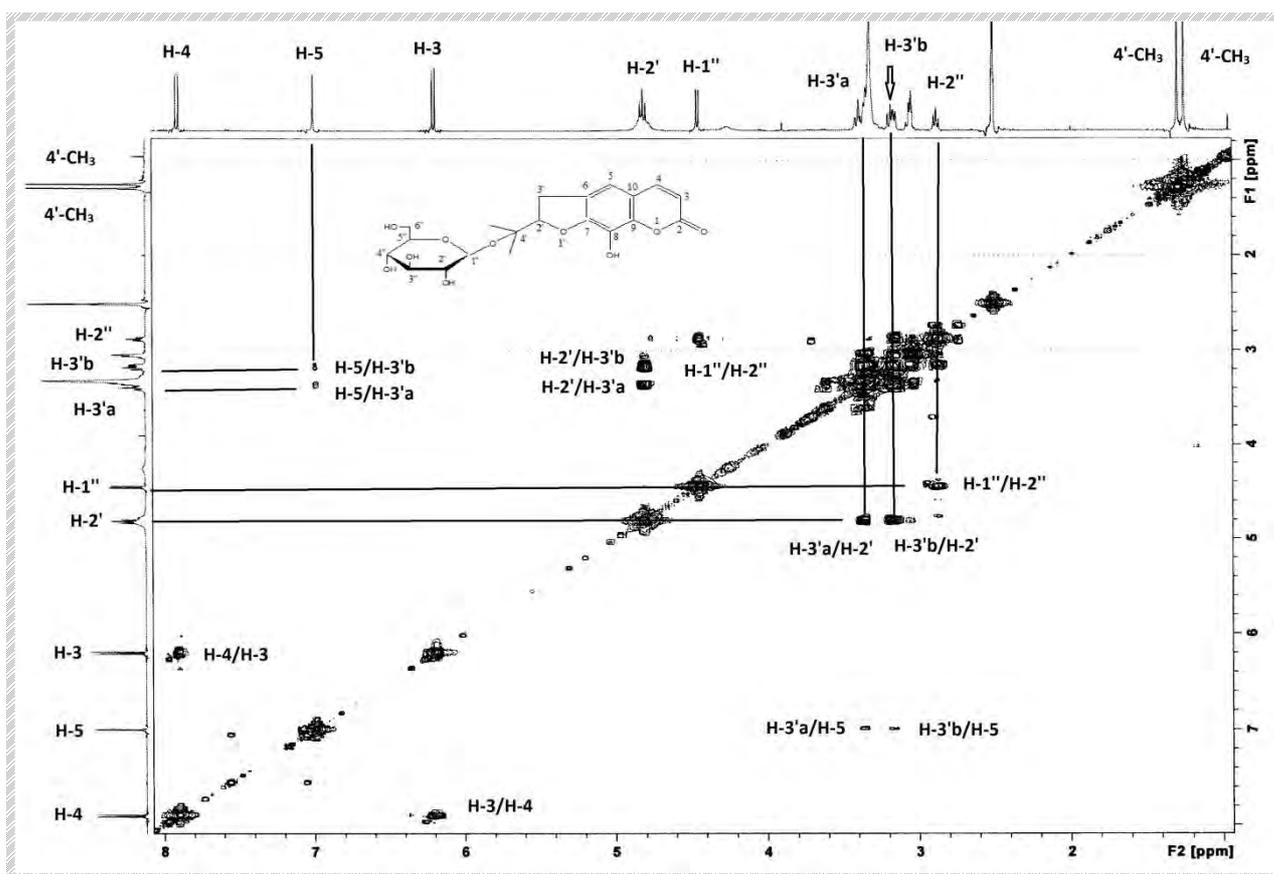


Figure-72: Spectre Cosy ^1H - ^1H (400 MHz, DMSO) du composé H277.

Les spectres RMN- ^{13}C (figure-73), DEPT 90 (figure-74) et DEPT 135 (figure-75) de ce composé ressemblent à ceux du H278. La différence de taille par rapport au composé H278 réside donc en la disparition du signal du méthyne résonnant à δ_{C} 97.3 et l'apparition d'un signal situant à δ_{C} 128.8 relatif à un carbone non protoné, confirmant ainsi la position du groupement OH en 8.

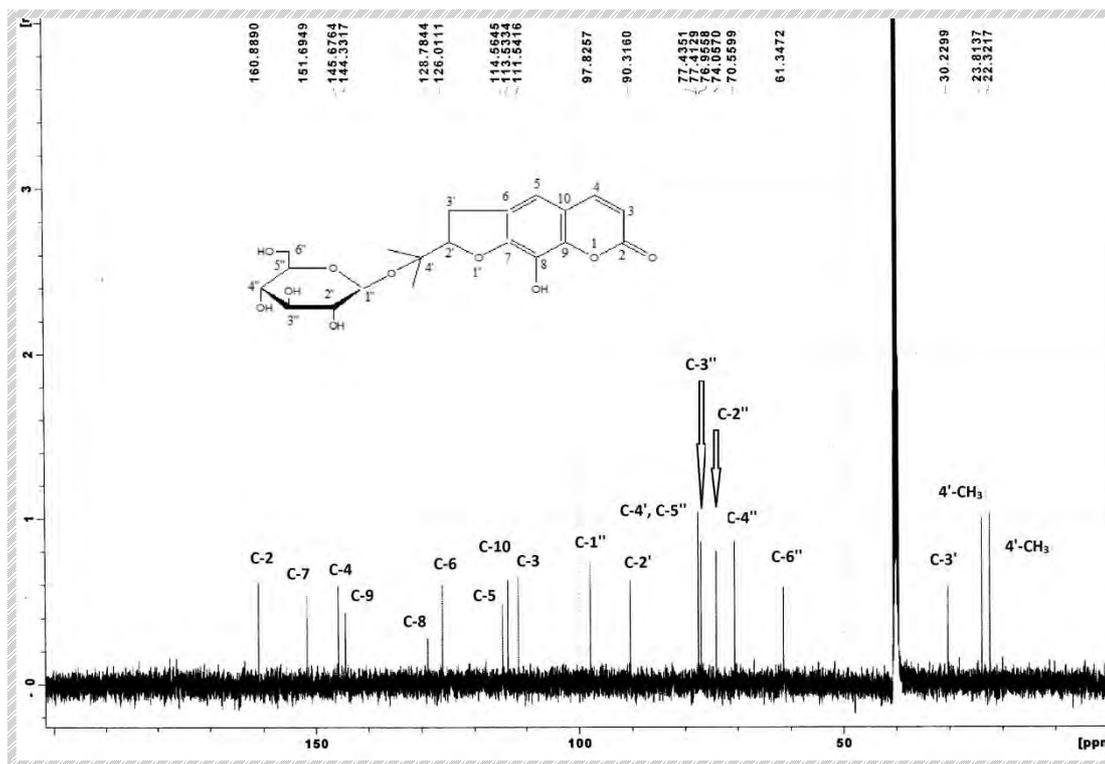


Figure-73 : Spectre ^{13}C (100 MHz, DMSO) du composé H277.

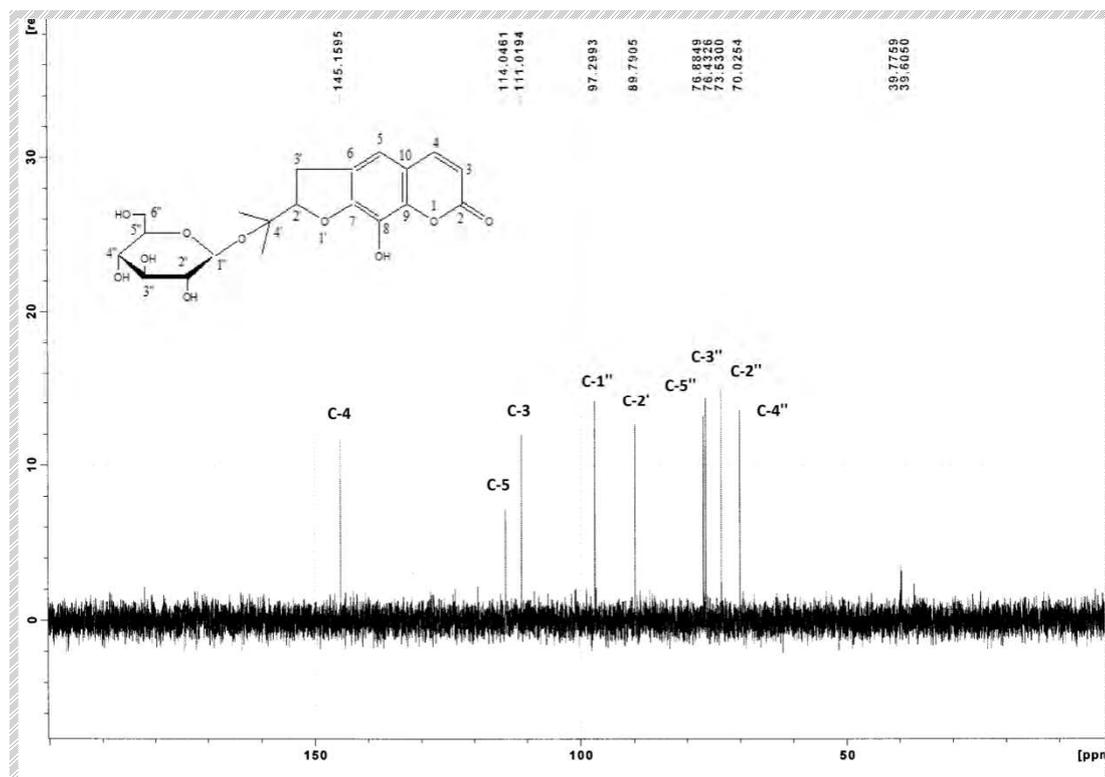


Figure-74: Spectre DEPT 90 (100 MHz, DMSO) du composé H277.

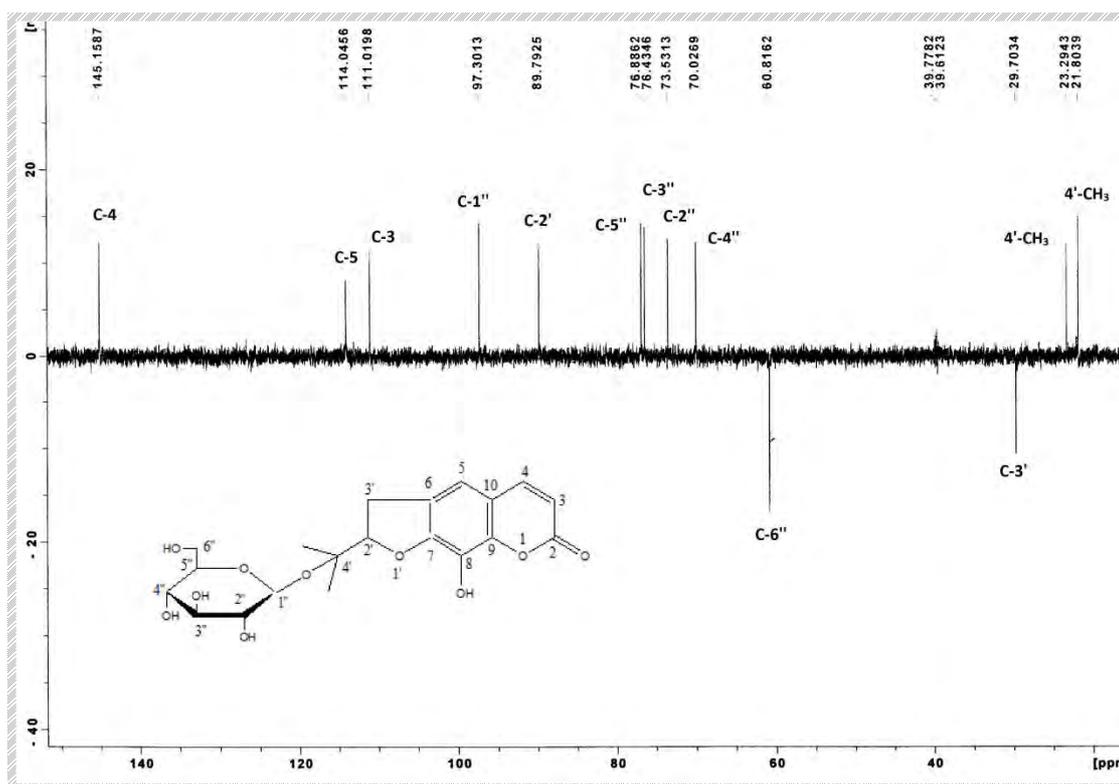


Figure-75: Spectre DEPT 135 (100 MHz, DMSO) du composé H277.

La mesure du spectre de corrélations hétéronucléaires HSQC (figure-76) a permis l'établissement des connections géminales ^1H - ^{13}C -RMN du composé H277.

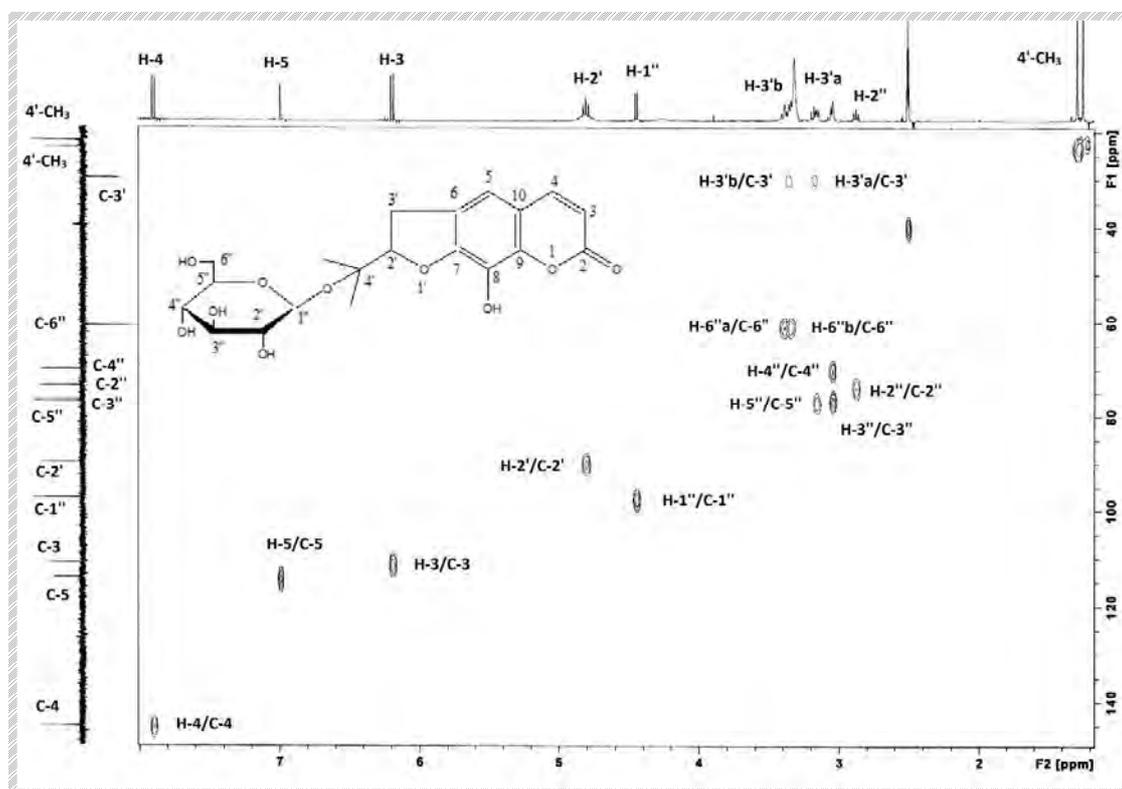


Figure-76: Spectre HSQC (400 MHz, DMSO) du composé H277.

L'analyse du spectre de corrélations hétéronucléaires observées à longue distance HMBC (figure-77) a dévoilé une corrélation entre le proton H-5 et le carbone C-3' suggérant l'attachement du groupe OH en C-8, ainsi qu'une corrélation entre le proton anomérique H-1'' et le carbone C-4' consolidant la position du β -glucose.

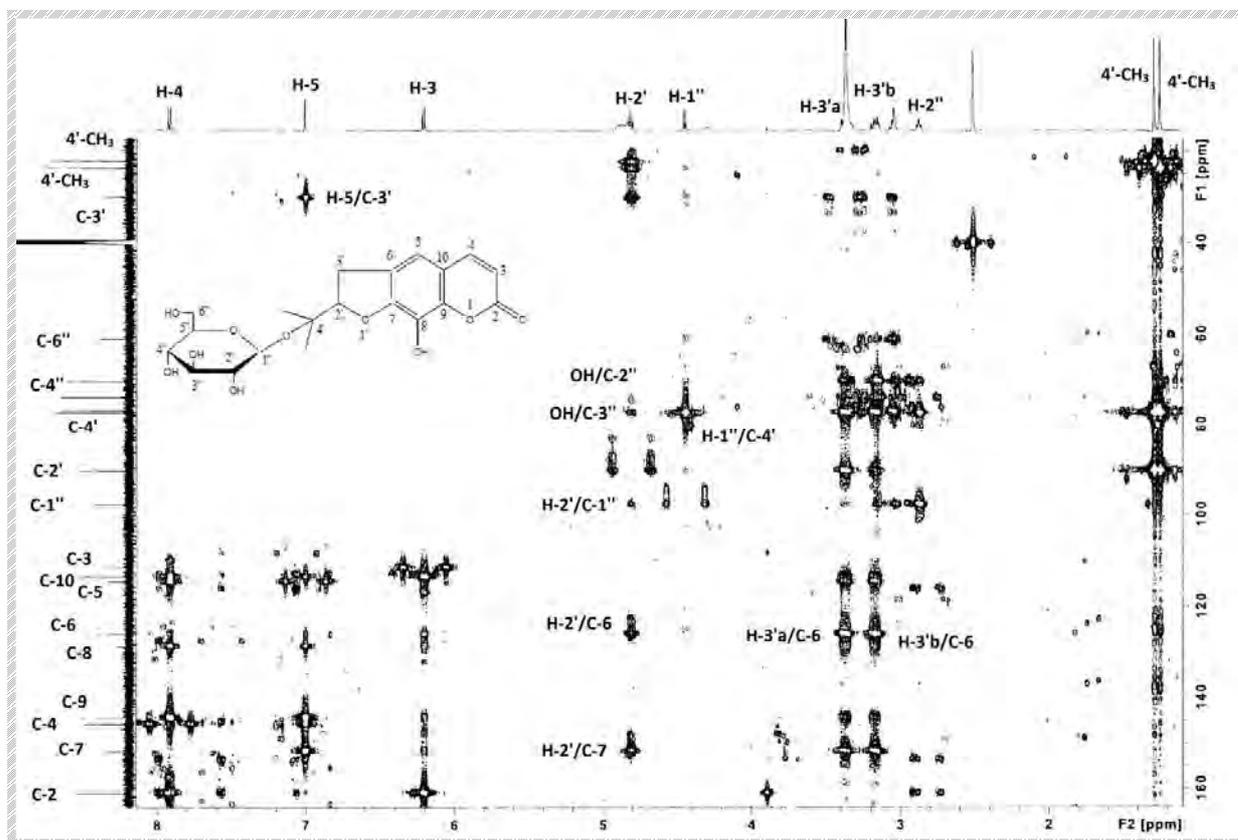


Figure-77: Spectre HMBC (600 MHz, DMSO) du composé H277.

Sur la base de ces résultats reportés dans le tableau-15 et comparés avec ceux de la littérature [26], la structure du composé H277, présentée ci-dessous, a pu être établie comme étant la 8-hydroxymarmésinine (figure-78).

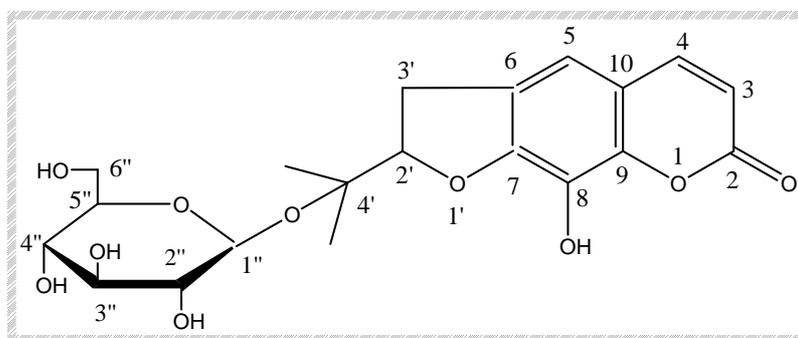


Figure 78: 8-hydroxymarmésinine.

Tableau-15 : Déplacements chimiques δ (ppm) ^{13}C (100 MHz) et ^1H (400 MHz) du composé H277 (DMSO).

Position	^{13}C	^1H (m, J Hz)	Corrélations COSY	Corrélations HMQC	Corrélations HMBC
2	160.8				
3	111.0	6.19 (1H, d, 9.5)	H-4	C-3	C-2, C-10
4	145.1	7.90 (1H, d, 9.5)	H-3	C-4	C-2, C-9, C-8, C-10
5	114.0	6.99 (1H, s)		C-5	C-7, C-9, C-4, C-10
6	126.0				
7	151.7				
8	128.8				
9	144.3				
10	113.5				
2'	90.3	4.80 (1H, t, 9.2)	H-3'a, H-3'b	C-2'	C-3', C-6, C-7, 4'-CH ₃
3'a	30.2	3.37 (1H, m)		C-3'	C-7, C-6, C-5, C-4'
3'b	30.2	3.18 (1H, m)		C-3'	C-7, C-6, C-5, C-4'
4'	77.4				
4'-CH ₃	23.8	1.28 (3H, s)			C-3', C-2'
4'-CH ₃	21.3	1.24 (3H, s)			C-3', C-2'
1''	97.8	4.44 (1H, d, 7.8)	H-2''	C-1''	C-4'
2''	74.0	2.87 (1H, t, 8.1)		C-2''	C-1''
3''	76.9	3.04 (1H, m)		C-3''	
4''	70.5	3.04 (1H, m)		C-4''	
5''	77.4	3.16 (1H, m)		C-5''	
6''a	61.3	3.39 (1H, m)		C-6''	
6''b	61.3	3.33 (1H, m)		C-6''	
		4.80 (2OH, m)			

III-3-5-11 Détermination de structure du composé H290

Sur le spectre de masse (figure-79) réalisé en électrospray en mode positif et à haute résolution, nous observons un ion quasi-moléculaire à $m/z = 633,1788$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ correspondant à une formule brute de $\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{O}_{15}$ (masse calculée 610,1795).

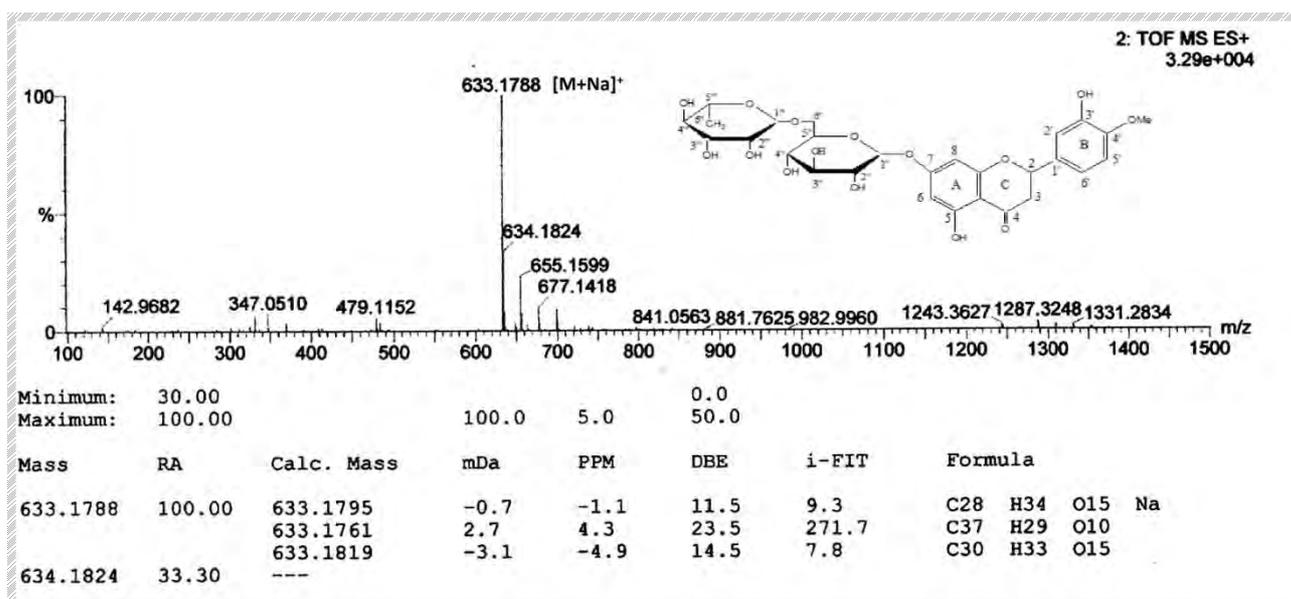


Figure-79: Spectre de masse en ES⁺ du composé H290.

Le spectre RMN-¹³C (figure-80) et le spectre DEPT 135 (figure-81) révèlent vingt-huit signaux comprenant deux méthyles dont un oxygéné, deux méthylènes dont un oxygéné, six méthynes dont onze oxygénés et huit carbones non protonés. Les signaux à δ_C 78.7, à δ_C 42.4 et à δ_C 197.3 sont propres aux carbones C-2, C-3 et C-4 du cycle C d'une flavonone [28]. Ces spectres montrent également des signaux correspondant à deux carbones anomériques à δ_C 99.8 (C-1''- glucose) et à δ_C 100.9 (C-1'''- rhamnose). Le déblindage du signal du carbone C-6'' centré à δ_C 66.4 ($\Delta\delta \approx 5$ ppm) suggère que le composé H290 est une flavonone diglycoside avec le rhamnose en position terminale.

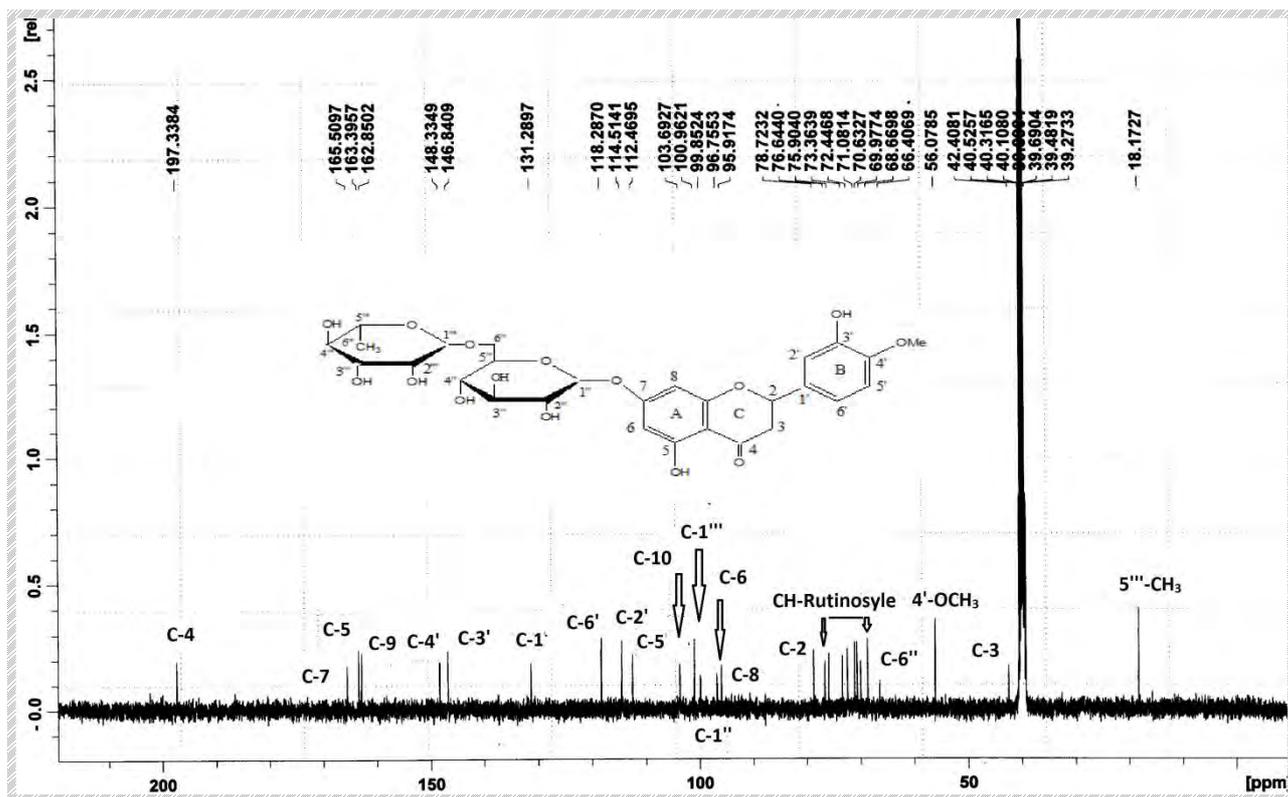


Figure-80: Spectre ^{13}C (100 MHz, DMSO) du composé H290.

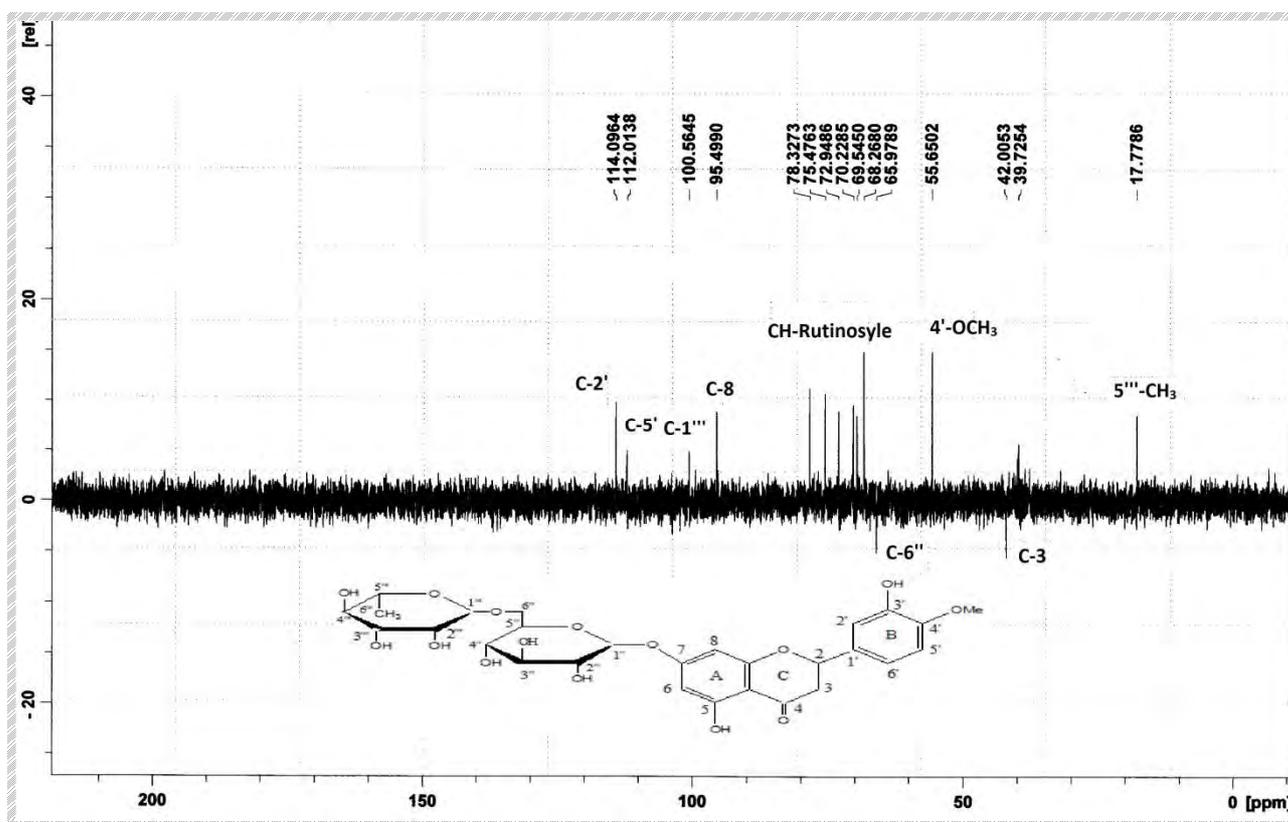


Figure-81: Spectre DEPT 135 (100 MHz, DMSO) du composé H290.

La mesure du spectre RMN- ^1H (figure-82) met en évidence un système AMX caractéristique d'une flavonone avec des résonances à δ_{H} 5.50 (1H, dd, $J = 3.2, 12.2$ Hz, H-2), à δ_{H} 3.31 (1H, m, H-3ax) et à δ_{H} 2.78 (1H, dd, $J = 3.2, 17.2$ Hz, H-3eq). L'analyse de la région aromatique de ce spectre a permis de constater la présence de trois protons aromatiques à δ_{H} 6.92 attribuables à H-2', H-6' et H-5' suggérant ainsi que le cycle B est disubstitué. Deux doublets (d, $J=2.2$ Hz), intégrant chacun pour un proton à δ_{H} 6.12 (H-8) et à δ_{H} 6.14 (H-6), dont les constantes de couplage indiquent qu'ils ont une position relative *mé*ta sur le cycle A, ce qui laisse penser que C-5 et C-7 sont des carbones quaternaires oxygénés. On remarque également la présence de deux signaux (voire les spectres HSQC (figure-84) et HMBC (Figure-85) l'un à δ_{H} 12.0 (1H, s) assignable au groupement hydroxyle chélaté porté par le carbone C-5, et l'autre à δ_{H} 9.25 (1H, s) qui peut être attribué à 4'-OH ou à 3'-OH.

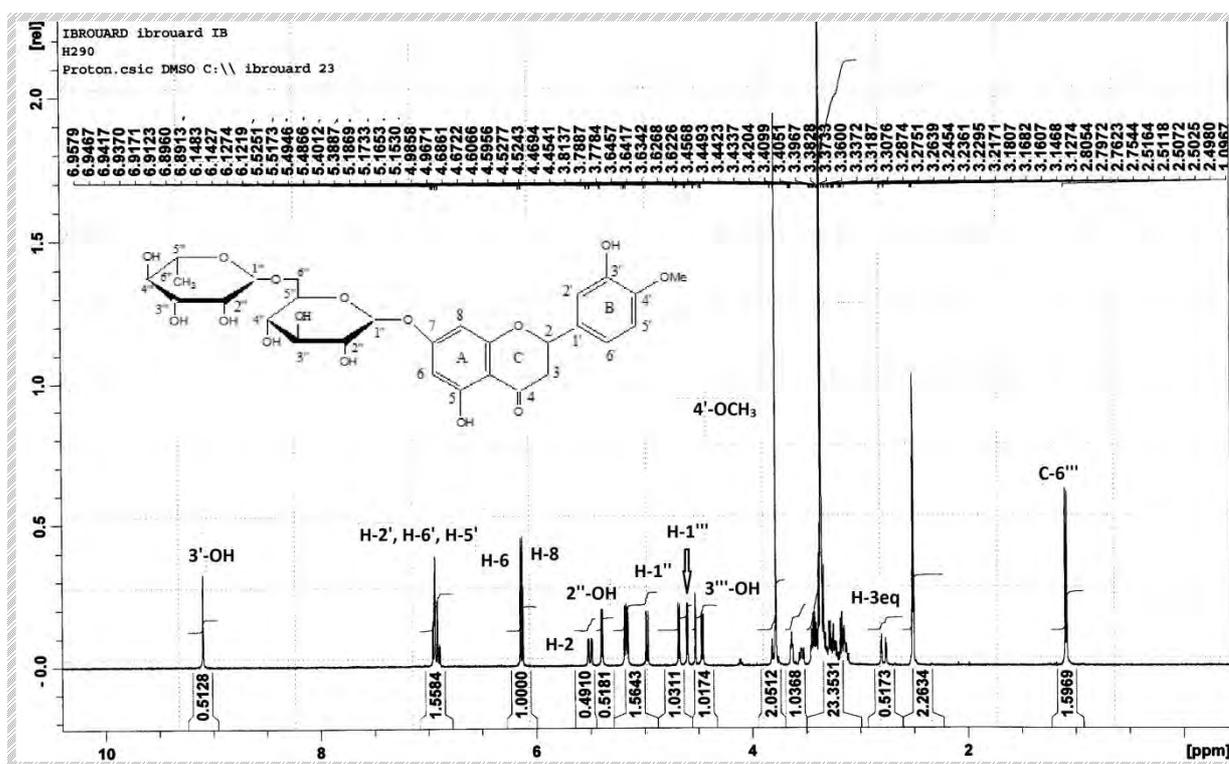


Figure-82: Spectre RMN- ^1H (400 MHz, DMSO) du composé H290.

Les doublets à δ_{H} 4.97 ($J = 7.5$ Hz) et à δ_{H} 4.52 ($J = 1.3$ Hz) correspondent aux protons anomériques du β -glucose et du α -rhamnose respectivement. Les corrélations observées en Cosy- ^1H - ^1H (figure-83), permettent de déduire la présence du diglycoside et du système AMX d'une flavonone.

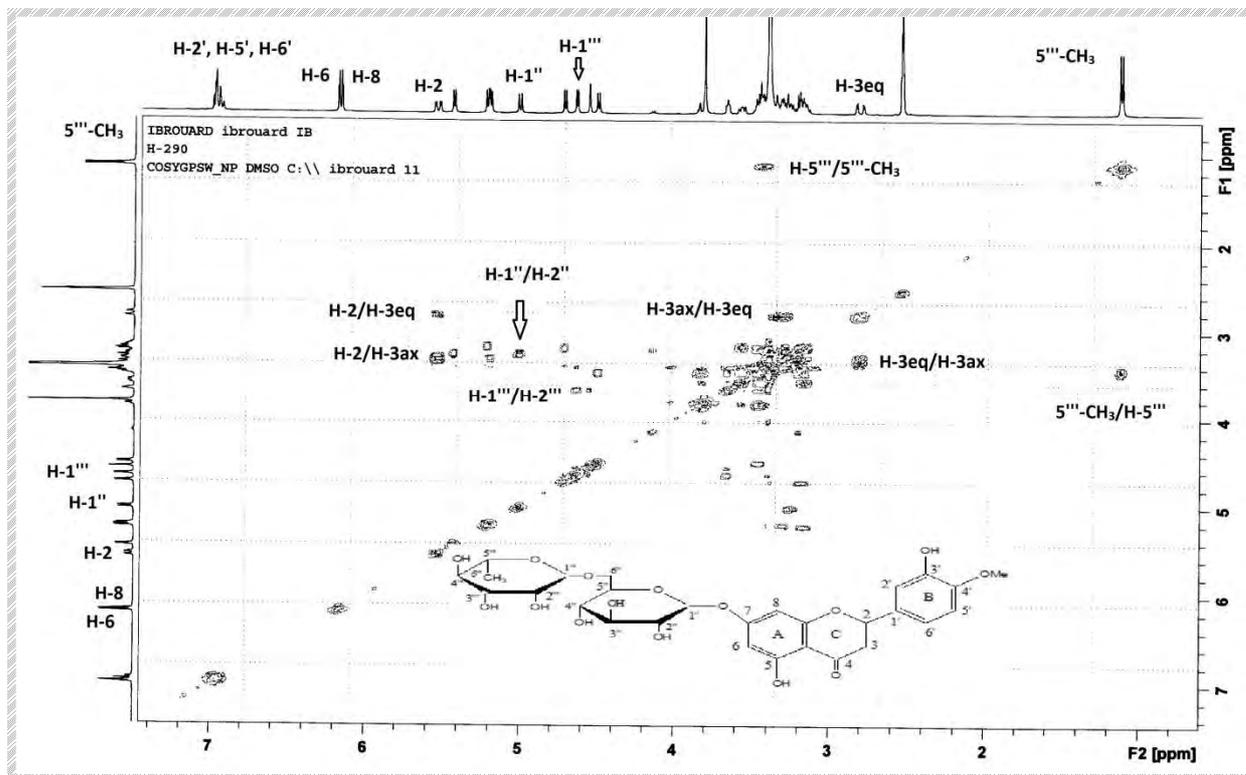


Figure 83: Spectre Cosy ^1H - ^1H (400 MHz, DMSO) du composé H290.

La mesure du spectre de corrélations hétéronucléaires HSQC (figure-84) a conduit à l'établissement des connexions géminales ^1H - ^{13}C -RMN du composé H290.

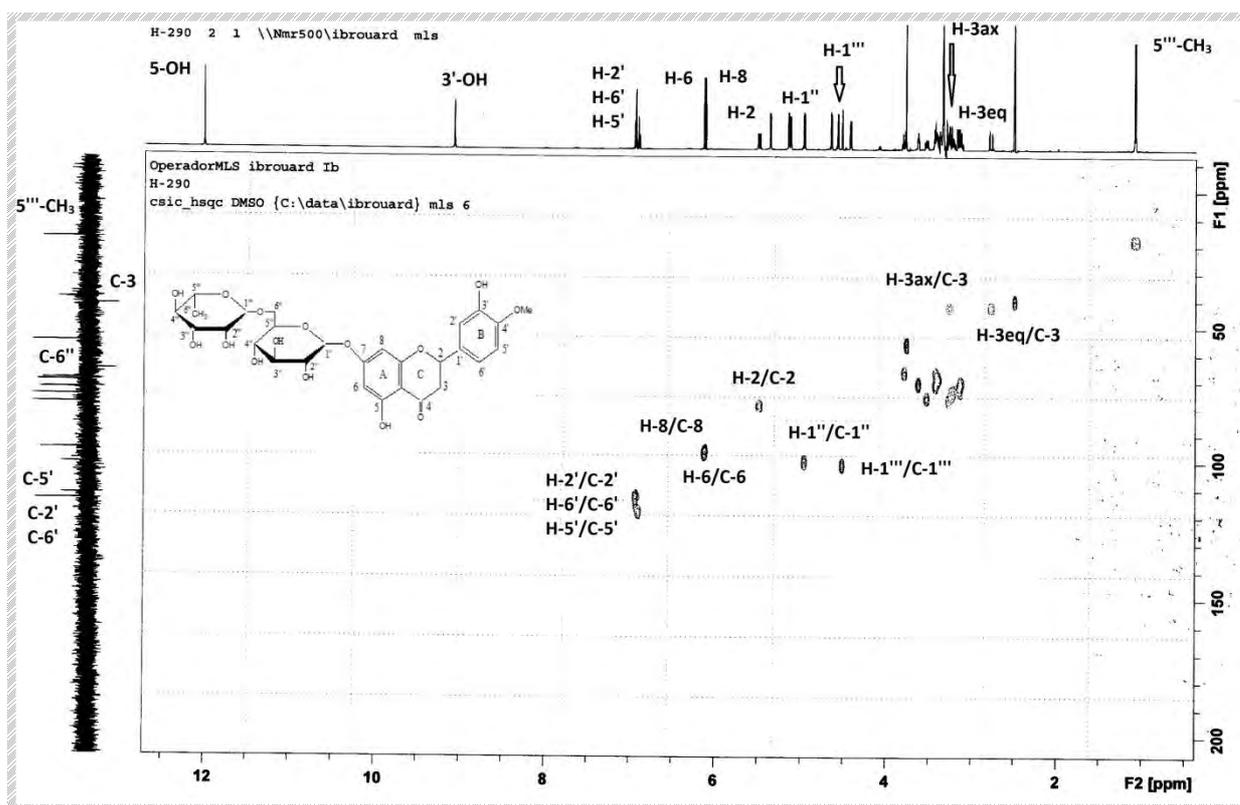


Figure 84: Spectre HSQC (400 MHz, DMSO) du composé H290.

L'analyse du spectre de corrélations hétéronucléaires observées à longue distance (figure-85) a permis la confirmation de la liaison du sucre à l'aglycone en montrant clairement le couplage du proton anomérique du glucose H-1'' avec le carbone C-7 de l'aglycone. Par ailleurs, la corrélation observée entre le proton à δ_H 4.52 relatif à H-1'' et le carbone situé à δ_C 66.4 relatif à C-6'' consolide la jonction 1-6 de l'enchaînement glucose-rhamnose. La localisation du méthoxyle en C-4' a aussi pu être possible par les corrélations détectées entre 4'-OCH₃/C-4', 3'-OH/C-3' et 3'-OH/C-2'.

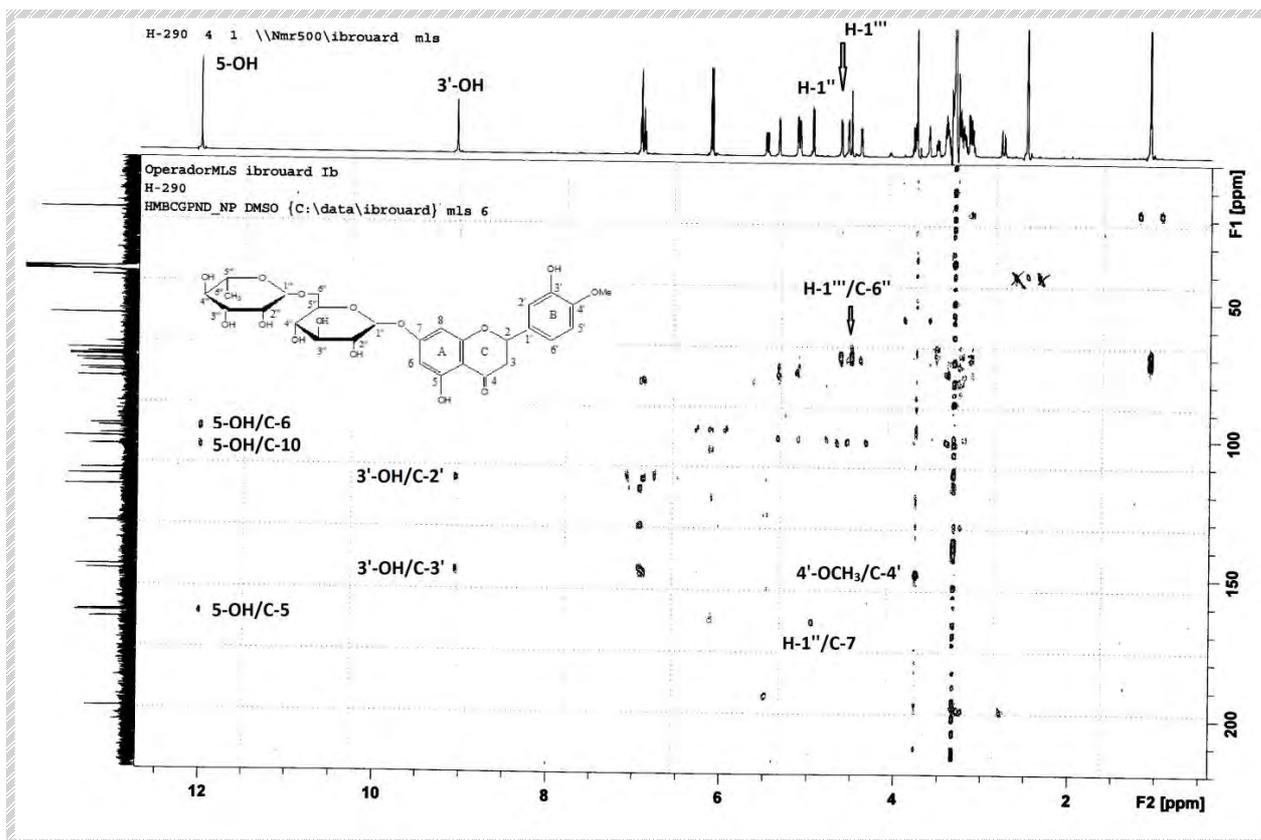


Figure-85: Spectre HMBC (400 MHz, DMSO) du composé H290.

L'ensemble des données précédentes regroupées dans le tableau-16 nous permet d'identifier le composé H290 comme étant la 7-O-[α -rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -glucopyranosyl]-3', 5, 7-trihydroxy-4'-méthoxyflavone) ou hespéridine (figure-86).

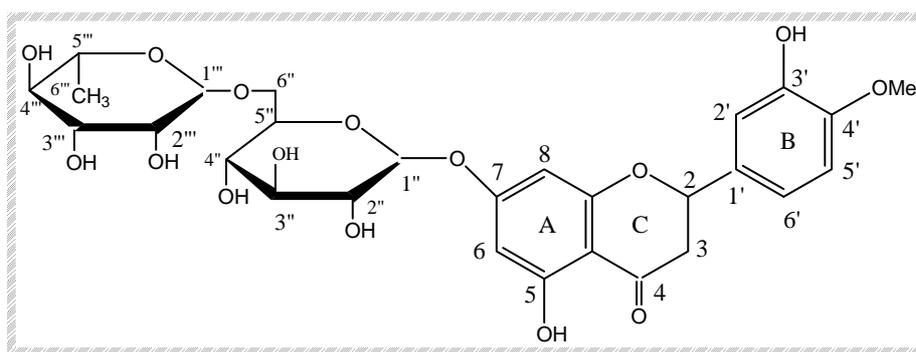


Figure-86: Hespéridine.

Tableau-16 : Déplacements chimiques δ (ppm) ^{13}C (100 MHz) et ^1H (400 MHz) du composé H290 (DMSO)

Position	^{13}C	^1H (m, J Hz)	Corrélations COSY	Corrélations HMQC	Corrélations HMBC
2	78.7	5.50 (1H, dd, 3.2, 12.2)	H-3ax, H-3eq	C-2	

3ax	42.4	3.31 (1H, m)		C-3	
3eq	42.4	2.78 (1H, dd, 3.2, 17.2)	H-3ax	C-3	
4	197.3				
5	163.4				
6	96.7	6.14(1H, d, 2.2)		C-6	C-8, C-10
7	165.5				
8	95.9	6.12(1H, d, 2.2)		C-8	C-6
9	162.8				
10	103.7				
4'-OMe	56.1	3.77 (3H, s)			C-4'
1'	131.3				
2'	114.5	6.92 (1H, m)		C-2'	C-2, C-3', C-1', C-6'
3'	146.8				
4'	148.3				
5'	112.5	6.92 (1H, m)		C-5'	C-6', C-2'
6'	118.3	6.92 (1H, m)		C-6'	C-2, C-1', C-2'
1''	99.8	4.97 (1H, d, 7.5)	H-2''	C-1''	C-7
2''	73.3	3.21 (1H, m)	H-1''	C-2''	
3''	76.6	3.25 (1H, m)		C-3''	
4''	69.9	3.15 (1H, m)		C-4''	
5''	75.9	3.53 (1H, m)	H-4''	C-5''	
6''a	66.4	3.80 (1H, d, 10.0)	H-5''	C-6''	
6''b	66.4	3.38 (1H, m)		C-6''	C-1'''
1'''	100.9	4.52 (1H, d, 1.3)	H-2'''	C-1'''	C-6''
2'''	70.6	3.63 (1H, m)	H-1'''		
3'''	71.1	3.42 (1H, m)			
4'''	72.4	3.17 (1H, m)			
5'''	68.6	3.40 (1H, m)		C-5'''	
6'''	18.2	1.09 (3H, d, 6.2)	H-5'''		
5-OH		12.10 (1H,s)			C-5, C-6, C-10
3'-OH		9.25 (1H,s)			C-3', C-2'
2''-OH		5.39 (1H, d, 5.0)	H-2''		
3''-OH		5.18 (1H, d, 5.4)	H-3''		
4''-OH		5.16 (1H, d, 4.9)	H-4''		
2'''-OH		4.60 (1H, d, 4.4)	H-2'''		
3'''-OH		4.46 (1H, d, 6.1)	H-3'''		
4'''-OH		4.68 (1H, d, 5.5)	H-4'''		

Références

- 1 : Tranchant, J., *Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse*, Masson, Paris, 1995.
- 2 : Adams, R. P., *Identification of essential oil components by gaz chromatography/ mass spectrometry*, Allured Published Corporation, Carol Stream, 2nd edition, 2001.
- 3: *Pharmacopée Européenne*, 5eme Ed, Conseil de l'Europe: Strasbourg, **2**, 2005, 2667.
- 4 : Basser, K. H. C., Demirci, B., Akalin, E., Oezhatay, N., *Journal of Essential Oil Research*, Composition of the essential oil of *Cachrys alpina* Bieb., **16**, 2004, 167.
- 5: Murray, R.D.H., Mendez, J. and Brown, S.A., *The Natural Coumarins*, John wiley & Sons Ltd: New York, 1982.
- 6: Chihiro, I. and Hiroshi, F., Constituents of *Murraya exotica* L. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, Structure Elucidation of New Coumarins, **35** (10), 1987, 4277.
- 7: Cai, J. Na., Basnet, P., Wang, Z. T., Komatsu, K., Shan Xu and Tani, T., *Journal of natural Product*, Coumarins from the fruits of *Cnidium monnieri*, **63**, 2000, 485.
- 8: Zhou, P., Takaishi, Y., Duan, H., Chen, B., Honda, G., Itoh, M., Takeda, Y., Kodzhimatov, O.K, Lee, K.H., *Phytochemistry*, Coumarin and biocoumarin from *Ferula sumbul*: anti-HIV activity and inhibition of cytokine release, **53**, 2000, 689.
- 9: Imai, F., Kinoshita, T and Sankawa, U., *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, Constituents of the leaves of *Murraya paniculata* collected in Taiwan, **37**(2), 1989, 358.
- 10: Basile, A., Sorbo, S., Spadaro, V., Bruno, M., Maggio, A., Faraone, N. and Rosselli, S., *Molecules*, Antimicrobial and Antioxidant Activities of Coumarins from the Roots of *Ferulago campestris*(Apiaceae), **14**, 2009, 939.
- 11: Stefano, V.D., Pitonzo, R. and Schillaci, D., *Chemistry of Natural Compounds*, Chemical Constituents and Antiproliferative Activity of *Euphorbia bivonae*, **47** (4), 2011, 660.
- 12: Mchale, D., Khopkar, P.P and Sheridan, J.B., *Phytochemistry*, Coumarin glycosides from *Citrus flavedo*, **26**(9), 1987, 2547.

- 13: Ceccherelli, P., Curini, M., Marcotullio, M.C., Madruzzo, G., *Journal of Natural Products*, Tortuoside, a new natural coumarin glucoside from *Seseli tortuosum*, **53** (2), 1990, 536.
- 14: Cai, J. Na., Basnet, P., Wang, Z. T., Komatsu, K., Shan Xu, L and Tani, T., *Journal of Natural Products*, Coumarins from the Fruits of *Cnidium monnieri*, **63**, 2000, 485.
- 15: Joo., S.H., Lee, S.C., Kim, S.K., *Journal of Plant Biology*, UV absorbent, Marmesin, from the Bark of Thanakha, *Hesperethusa crenulata* L., **47** (2), 2004, 163.
- 16: Alkhatib, R., Hennebelle, T., Roumy, V., Sahpaz, S., Suzgec, S., Akalin, E., Mericli, A.H., Bailleul, F., *Biochemical Systematics and Ecology*, Coumarins, caffeoyl derivatives and a monoterpenoid glycoside from *Ferulago asparagifolia*, **37**, 2009, 230.
- 17: Monteiro, V., Mathias, L., Vieira, I., Schripsema, J., Raimundo., B.F., *Journal of the Brazilian Chemical Society*, Prenylated Coumarins, Chalcone and New Cinnamic Acid and Dihydrocinnamic Acid Derivatives from *Brosimum gaudichaudii*, **13** (2), 2002, 281.
- 18: Yao, N.H., Kong, L.Y., *Chinese Chemical Letters*, New Coumarins from *Peucedanum decursivum*, **10** (6), 1999, 477.
- 19: Nemoto, T., Ohshima, T., Shibasaki, M., *Tetrahedron*, Enantioselective total syntheses of (+)-decursin and related natural compounds using catalytic asymmetric epoxidation of an enone, **59**, 2003, 6889.
- 20: Tosun, A., Ozkal, N., Baba, M., Okuyama, T., *Turk Journal Chemistry*, Pyranocoumarins from *Seseli gummiferum* subsp. *Corymbosum* Growing in Turkey, **29**, 2005, 327.
- 21: Chatterjee, A., Basak, B., Datta, U., Banerji, J., Neuman, A., Prangé, T., *Indian Journal of Chemistry*, Studies on the chemical constituents of *Nardostachys jatamansi* DC (Valerianaceae), **44** B, 2005, 430.
- 22: Bellino, A., Venturella, P., Marino, M.L., Servettaz, O., Venturella, G., *Phytochemistry*, Coumarins from *Seseli bocconi*, **25** (5), 1986, 1195.
- 23: Gonzalez, A.G., Barroso, J.T., Dorta, H.L, Luis, J.R., Luis, F.R., *Phytochemistry*, Pyranocoumarin derivatives from *Seseli tortuosum*, **18**, 1979, 1021.
- 24: Swager, T. M., Cardellina II, G. H., *Phytochemistry*, Coumarins from *Musineon divaricatum*, **24** (4), 1985, 805.
- 25: Lemmich, J., Havelund, S., Thastrup, O., *Phytochemistry*, Dihydrofuranocoumarin Glucosides from *Angelica archangelica* and *Angelica silvestris*, **22** (2), 1983, 553.

- 26: Gu, Z. M., Zhang, D., Yang, X., Hattori, M., Namba, T., ***Chemical and Pharmaceutical Bulletin***, Isolation of Two New Coumarin Glycosides from *Notopterygium forbesii*, 38 (9), 1990, 2498.
- 27: Ahluwalia, V. K., Boyd, D. R., Jain, A. K., Khandari, C. H., Sharma, N. D., ***Phytochemistry***, Furanocoumarin Glycosides From the Seeds *Apium graveolens*, 27 (4), 1988, 1181.
- 28: Shagufta, P., Tareen, M., Afza, R., Lubna N., ***Zeitschrift fuer Naturforschung B***, Atriplicisides A and B, Two New Glycosides from *Perovskia atriplicifolia*, 62 (6), 2007, 863.

Conclusion Générale

Conclusion générale

Cette étude s'inscrit dans le cadre d'une contribution à la valorisation des ressources naturelles de l'Algérie.

Les résultats de nos recherches bibliographiques et de nos études expérimentales nous ont permis de mieux connaître *Cachrys libanotis* L., espèce algérienne appartenant à la famille des Apiacées, sous différents aspects.

Nos travaux expérimentaux nous ont permis tout d'abord d'étudier la composition chimique de l'huile essentielle de *Cachrys libanotis* L. qui, à ce jour, n'avait jamais fait l'objet d'investigation phytochimique.

La détermination cette composition a nécessité l'utilisation de différentes méthodes d'analyses, en particulier la chromatographie en phase gazeuse (CG/ FID) et la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/ MS).

La méthode d'extraction par hydrodistillation a permis d'obtenir une teneur de 0,5% V/M d'huile essentielle. Son analyse nous a permis d'identifier 31 composés. Le germacrène D (8,0%), le γ -terpinène (6,4%), le *p*-cymène (5,5%), l'oxyde de caryophyllène (5,1%) et le limonène (5,1%) sont les composants majoritaires de cette huile essentielle. On peut remarquer que la composition de cette huile essentielle est dominée par les sesquiterpènes non oxygénés (dont le germacrène-D est le constituant majoritaire) ce qui, parmi les huiles essentielles de divers *Cachrys* étudiées antérieurement, n'avait été observé que dans la composition de l'huile essentielle des fruits de *Cachrys alpina*.

Dans un second temps, l'étude phytochimique des parties aériennes de *Cachrys libanotis* L. a permis d'identifier onze composés presque uniquement de type coumarine, parmi lesquels deux sont de structure originale n'ayant antérieurement jamais été décrites.

La détermination de structure de ces composés a été réalisée à l'aide de méthodes spectroscopiques de RMN mono et bidimensionnelles et de spectrométrie de masse.

Le fractionnement de la phase butanolique et la phase acétate d'éthyle réunies ensemble a conduit à l'isolement de dix coumarines :

- Quatre coumarines simples, qui sont : l'osthole, l'hydrate de méransine, le 3'-O- β -glucopyranoside de l'hydrate de méransine et une nouvelle structure à laquelle nous avons attribué le nom de 3-acétyl-3'-O- β -glucopyranoside de l'hydrate de méransine,
- Trois dihydropyranocoumarines dont deux sont angulaires : la 3'-méthoxy dihydrosésélétine, et la 4'-hydroxy-3'-méthoxydihydrosésélétine et une nouvelle dihydropyranocoumarine linéaire : le 8-méthoxy décursinol,
- Trois dihydrofurocoumarines linéaires : la 8-méthoxy marmésine, la marmésinine, et la 8-hydroxy marmésinine.

L'étude phytochimique des parties aériennes de *Cachrys libanotis* L. ont permis également l'isolement d'un flavonoïde : l'héspéridine.

Les huiles essentielles d'une part et les coumarines d'autre part sont des composants fréquemment présents dans les plantes de la famille des Apiacées ainsi que dans celles appartenant au genre *Cachrys*. Les résultats obtenus lors de notre étude phytochimique des parties aériennes de *Cachrys libanotis* sont donc tout à fait en accord avec les travaux antérieurement publiés sur cette famille et sur ce genre avec prédominance, comme chez les autres espèces de *Cachrys* antérieurement étudiés, de fuurocoumarines linéaires. En effet les métabolites secondaires de type coumarine ont été majoritairement trouvés dans l'extrait méthanolique étudié.

À l'issue de la présente étude, les perspectives suivantes peuvent être dégagées.

Il est tout d'abord intéressant de poursuivre les travaux entrepris sur l'étude phytochimique de *Cachrys libanotis* L. variété algérienne, en se focalisant sur les extraits cyclohexanique et dichlorométhanique des parties aériennes en vue d'isoler des métabolites secondaires appartenant à d'autres familles chimiques et de structure originale.

Par ailleurs, une valorisation biologique de *Cachrys libanotis*, d'une part de son huile essentielle avec la recherches de propriétés antibactériennes et antifongiques et d'autre part des tests biologiques seraient à effectuer sur l'ensemble des coumarines que nous avons isolées, en vue de leur valorisation dans le domaine pharmaco-

médicinal vue l'utilisation de cette plante en médecine traditionnelle algérienne pour soulager les douleurs de rhumatisme. Elle est utilisée sous forme de compresses sur les articulations de genou.

Partie expérimentale

Matérielles et méthodes

I- Appareillage

➤ Analyse CPG-SM

Les analyses en CPG-SM ont été réalisées avec un chromatographe en phase gazeuse Agilent 6890 équipé d'une colonne capillaire apolaire Macherey Nagel Permabond SE 52 (50m x 0,25mm ID x 0,25µm), le gaz porteur a été l'hélium. Le four est chauffé entre 60 et 280 °C à une vitesse de 3 °C/mn, la température finale a ensuite été maintenue pendant 20 min, l'injecteur a été quant à lui maintenu à une température de 280 °C. L'appareil GC est directement interfacé avec un spectromètre de masse Hewlett Packard 5973 opérant en mode E.I (Impacte Electronique). La ligne de transfert a été maintenue à une température de 280 °C.

➤ Analyse CPG-FID

Les analyses en GC-FID ont été réalisées avec un chromatographe en phase gazeuse Varian Star 3400 CX équipé de la même colonne que celle utilisée pour l'analyse GC-MS. Le gaz porteur été de l'azote. Les conditions chromatographiques ont été similaires à celles décrites dans le paragraphe précédent. L'injecteur et le FID ont été maintenus à une température de 280 °C.

➤ Spectroscopie de masse (SM)

Les spectres de masse ont été enregistrés soit en impact électronique (EIMS) soit en ionisation chimique (CIMS).

EIMS : l'énergie appliquée sur les filaments lors des analyses est de 70 eV, la température de la source et celle des quadripôles sont maintenues respectivement à 280°C et 150°C.

CIMS : l'énergie électrique est de 235 eV, le gaz réactif utilisé ici est le méthane, la température de la source et celle du quadripôle sont maintenues respectivement à 250°C et 106°C.

➤ Spectres de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

L'ensemble des spectres de résonance magnétique nucléaire (RMN) monodimensionnels (¹H RMN, ¹³C RMN, *J*-mod et Dept 90 et 135) et bidimensionnels

(HMQC, HMBC, HSQC, ROESY, COSY, NOESY) ont été enregistrés sur des appareils types BRUKER de fréquences 300, 400, 500, et 600 MHz. Les déplacements chimiques (δ) sont exprimés en ppm et les constantes de couplages (J) sont exprimées en Hz).

II- Méthodes chromatographiques

➤ Chromatographie sur Couche Mince

Les chromatographies sur couche mince (CCM) sont effectuées sur gel de silice 60 F₂₅₄, épaisseur 0,25mm, sur feuille d'aluminium (Merck). La phase mobile est généralement constituée d'un mélange binaire ou ternaire de solvants, variable selon le type de séparation recherchée.

Après développement de la CCM, la plaque est révélée :

- 1)- par examen en lumière ultraviolette à 254 et 366 nm,
- 2)- par pulvérisation du réactif à la vanilline sulfurique (1g de vanilline, 2 ml d'acide sulfurique et 100 ml d'éthanol 95%), puis chauffage quelques minutes à 100°C.

➤ Chromatographies sur colonne

Les chromatographies sur colonne sont effectuées sur une phase stationnaire de silice 60 Merck de différentes granulométries (70-200 μ m, 20-45 μ m ou 6-35 μ m).

La taille de la colonne est choisie en fonction de la quantité d'extrait à disposition. Les systèmes d'élution utilisés sont composés de mélanges de solvants dans les proportions déterminées au préalable par CCM.

Résumé

Cette étude a été consacrée à l'étude phytochimique des parties aériennes de *Cachrys libanotis* L. variété Algérienne de la famille des Apiacées.

Notre expérimentation a permis, d'une part la séparation et la purification de onze composés grâce à l'utilisation de diverses techniques chromatographiques (CCM, CC). Toutes ces structures ont été établies par méthodes spectrales (SM et RMN), parmi les composés isolés dix coumarines dont deux sont de structure originales et un flavonoïde.

D'une autre part, cette étude a permis l'analyse de la composition chimique de l'huile essentielle de *Cachrys libanotis* L. par l'utilisation de différentes méthodes d'analyses : la chromatographie en phase gazeuse (CG/ FID) et la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/ MS). Le germacrène D (8,0%), le γ -terpinène (6,4%), le *p*-cymène (5,5%), l'oxyde de caryophyllène (5,1%) et le limonène (5,1%) sont les composants majoritaires de cette huile essentielle.

Mots clés : *Cachrys libanotis* L. Apiacées, coumarines, huiles essentielles.

Summary

The subject of this work concerns the phytochemical study of *Cachrys libanotis* L. from east Algeria, species of the Apiaceae family.

Isolation and purification of compounds from aerial parts of *Cachrys libanotis* L. were performed by several chromatographic methods (CCM, CC), the structures were established by spectral methods (NMR, MS).

Eleven secondary metabolites were identified. Ten of the isolated compounds are coumarins, whose two are described for the first time. The last one is a flavonoid.

The chemical composition of the essential oil of *Cachrys libanotis* L. was analysed by (GC-FID) and (GC-MS). Thirty-one compounds were identified, the main components were: germacrene-D (8,0%), γ -terpinene (6,4%), *p*-cymene (5,5%), caryophyllene oxide (5,1%) and limonene (5,1%).

Key words: *Cachrys libanotis* L., Apiaceae, coumarins, essential oil.