

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université Constantine 1

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**

**AYAD Radia**

**THEME**

**Etude phytochimique et activité antioxydante de la  
plante *Centaurea melitensis* L.**

**Devant le jury**

**Salah AKKAL**

**Prof. U. Constantine 1**

**Président**

**Kamel MEDJROUBI**

**Prof. U. Constantine 1**

**Rapporteur**

**Amar ZELLAGUI**

**M.C. U. Oum el Bouaghi**

**Examineur**

**Merzoug BENAHMED**

**M.C. U. de Tebessa**

**Examineur**

**21 Mars 2013**

## REMERCIEMENTS

*Ce travail a été effectué conjointement entre les laboratoires de phytochimie et analyses physico-chimiques et biologiques de l'université Constantine 1, sous la direction de Monsieur le professeur Kamel MEDJROUBI, et le laboratoire de Ténérife-Espagne sous la direction de Monsieur le professeur Jaime BERMÉJO.*

*Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à Monsieur le professeur Kamel MEDJROUBI, pour m'avoir accueilli dans son laboratoire. Je remercie d'avoir accepté de diriger mes travaux, ainsi que pour ses nombreux conseils scientifiques.*

*Je remercie Monsieur le professeur Salah AKKAL, pour l'honneur qu'il me fait en acceptant la présidence du jury et pour ses remarques constructives, ses suggestions scientifiques et sa gentillesse.*

*Mes remerciements vont également à Monsieur le Docteur Amar ZELLAGUI, Maître de conférence de l'université d'Oum el Bouagui et Monsieur le Docteur MERZOUG Benahmed, Maître de conférence de l'Université de Tebessa, d'avoir accepté de juger ce travail.*

*J'exprime ma sincère reconnaissance aux professeur Jaime BERMÉJO, et le Docteur léon FRANCISCO, pour les conseils qu'ils m'ont prodigués et l'enregistrement des spectres, durant mon séjour au laboratoire de Ténérife.*

*Mes remerciements s'adressent également à tous les chercheurs du laboratoire de phytochimie et analyses physico-chimiques et biologiques de l'université Constantine 1, et tout particulièrement à Fatima zohra BELFADEL, Souheila LAAOUR, Amel ACHOURI, Salima AZZOUZI,*

*Nabila ZAABAT, Zinelebidine ABABSA, Mostapha LEFFHAL, Elhani MEKHLOUFI...*

*Nombreuses sont les personnes qui m'ont aidé à l'élaboration de ce travail. C'est aussi à elles que s'adressent mes remerciements et ma sympathie surtout le docteur DJARRI Lakhder.*

*Enfin, Je remercie Monsieur le Docteur Gérard DE BELAIR de l'Université Badji Mokhtar de Annaba, pour l'identification de la plante.*

*À mes parents, à mon oncle SEDDIK*

*À mes frères, à mes sœurs*

*À toute ma famille.*

*À tous mes amis.*

*Qu'ils soient remerciés pour leurs  
encouragements.*



## **ABREVIATIONS**

**<sup>13</sup>C** : Spectre de carbone 13

**<sup>1</sup>H** : Spectre du proton

**AcOEt** : Acétate d'éthyle

**Arab** : Arabinose

**Bz** : Benzyl

**CCM** : Chromatographie sur couche mince

**CDCl<sub>3</sub>** : Chloroforme deutéré

**COSY** : Correlation Spectroscopy

**d** : Doublet

**DCM** : dichlorométhane

**dd** : Doublet de doublets

**DEPT**: Distorsionless Enhancement by Polarization Transfer

**DPPH**: 2, 2'-diphenyl-1-picrylhydrazyle

**EIMS**: Electrospray ionization mass spectrometry

**Et al.** : et autres auteurs

**EtOH** : Ethanol

**FPP**: Farnesyl pyrophosphate

**Glu**: Glucose

**Gluc**: Glucoronyl

**HMBC**: Heteronuclear Multiple Bond Correlation

**HMQC**: Heteronuclear Multiple Quantum Correlation

**HSQC**: Heteronuclear Single Quantum Correlation

**IC<sub>50</sub>**: Half maximal inhibitory concentration

**J(Hz)** : Constante de couplage exprimée en Hertz

**M** : Masse molaire

**m** : Multiplet

**MeOH** : Méthanol

**MeOD**: Méthanol deutéré

**NOE**: Nuclear Overhauser Enhancement

**ppm**: Partie par million

**Rha** : Rhamnose

**RMN:** Résonance Magnétique Nucléaire

**ROESY:** Rotating Overhauser Effect Spectroscopy

**Rut:** rutinoside

**s:** Singulet

**t:** Triplet

**UV:** Ultraviolet

**$\delta$  (ppm) :** Déplacement chimique exprimé en ppm

**$\lambda$  max :** Longueur d'onde maximale d'absorbance

## **LISTE DES FIGURES**

### **CHAPITRE I**

<b>Figure 1</b> : Classification des métabolites secondaires et de leurs abondances relatives .....	5
<b>Figure 2</b> : Structure de l'aspirine .....	5
<b>Figure 3</b> : Structure de taxol.....	6
<b>Figure 4</b> : Les différents squelettes des lactones sesquiterpéniques.....	7
<b>Figure 5</b> : Squelette de base des flavonoïdes.....	10

### **CHAPITRE II**

<b>Figure 1</b> : Squelette de base des germacranolides.....	21
<b>Figure 2</b> : Squelette de base des élémanolides.....	22
<b>Figure 3</b> : Squelette de base des eudesmanolides.....	23
<b>Figure 4</b> : Squelette de base des guaianolides.....	24
<b>Figure 5</b> : Squelette de base des guaianolides de la catégorie I.....	24
<b>Figure 6</b> : Squelette de base des guaianolides de la catégorie II.....	25
<b>Figure 7</b> : Squelette de base des guaianolides de la catégorie III.....	25
<b>Figure 8</b> : Squelette de base des guaianolides de la catégorie IV.....	26
<b>Figure 9</b> : Squelette de base des guaianolides de la catégorie V.....	26
<b>Figure 10</b> : Squelette de base des héliangolides.....	27
<b>Figure 11</b> : Squelette de base des élémanes.....	27
<b>Figure 12</b> : Evolution du nombre des publications citant le mot clé « polyphenols ».....	45

### **CHAPITRE III**

<b>Figure 1</b> : Présentation du <i>Centaurea melitensis</i> L.....	70
<b>Figure 2</b> : Organigramme d'extraction du <i>Centaurea melitensis</i> L.....	74

### **CHAPITRE IV**

<b>Figure 1</b> : Structure de l'unité de l'isobutyrate.....	81
<b>Figure 2</b> : Squelette de base des germacranolides.....	82
<b>Figure 3</b> : Structure de 8 $\alpha$ -O-isobutyrate salomonitenolide.....	86
<b>Figure 4</b> : Structure de 4'-hydroxybutyrate.....	93
<b>Figure 5</b> : Structure de l'arctiopicrine.....	95

<b>Figure 6</b> : Structure de base des élémanolides.....	<b>99</b>
<b>Figure 7</b> : Structure de 4'-hydroxyméthacrylate.....	<b>101</b>
<b>Figure 8</b> : Structure de SL-4A; 8 $\alpha$ -(4'-hydroxyméthacrylate) dehydromelitensine.....	<b>103</b>
<b>Figure 9</b> : Structure de SL-4P ; 8 $\alpha$ -(4'-hydroxybutyrate) dehydromelitensine.....	<b>105</b>
<b>Figure 10</b> : Structure de SL-A' ; l'elemarcamanine .....	<b>128</b>
<b>Figure 11</b> : Structure de l'Onopordopicrine .....	<b>137</b>
<b>Figure 12</b> : Structure de SL-7P' (SL-4P') ; Methyl-8 $\alpha$ -(3'-hydroxybutyrate)-6 $\alpha$ , 15-dihydroxyelema-1, 3,11(13)-trien-12-oate .....	<b>150</b>
<b>Figure 13</b> : Spectre UV du produit FL-3 dans le MeOH ; MeOH+NaOH (Stable après 5mn) .....	<b>159</b>
<b>Figure 14</b> : Spectre UV du produit FL-3 dans le MeOH ; MeOH+AlCl <sub>3</sub> ; MeOH+AlCl <sub>3</sub> +HCL .....	<b>160</b>
<b>Figure 15</b> : Spectre UV du produit FL-3 dans le MeOH ; MeOH+NaOAc; MeOH+NaOAc+H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> .....	<b>160</b>
<b>Figure 16</b> : Structure de la 5,7, 4'-trihydroxy-6-méthoxyflavone (Hispiduline) .....	<b>163</b>
<b>Figure 17</b> : Spectre UV du produit FL-4 dans le MeOH ; MeOH+NaOH (Stable après 5mn) .....	<b>165</b>
<b>Figure 18</b> : Spectre UV du produit FL-4 dans le MeOH ; MeOH+AlCl <sub>3</sub> ; MeOH+AlCl <sub>3</sub> +HCl .....	<b>166</b>
<b>Figure 19</b> : Spectre UV du produit FL-4 dans le MeOH ; MeOH+NaOAc; MeOH+NaOAc+H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> .....	<b>166</b>
<b>Figure 20</b> : Structure de la 5,7, 4'-trihydroxy-3, 6-diméthoxyflavone (Jacéosidine) .....	<b>169</b>
<b>Figure 21</b> : Spectre UV du produit FL-2 dans le MeOH ; MeOH+NaOH (Stable après 5mn) .....	<b>171</b>
<b>Figure 22</b> : Spectre UV du produit FL-2 dans le MeOH ; MeOH+AlCl <sub>3</sub> ; MeOH+AlCl <sub>3</sub> +HCl.....	<b>172</b>
<b>Figure 23</b> : Structure de la 5, 7,3',4'-tetrahydroxy-6-méthoxyflavone (Népetine).....	<b>176</b>
<b>Figure 24</b> : Structure de l'acide 3,4-dihydroxybenzoïque.....	<b>182</b>

## **CHAPITRE V**

<b>Figure 1</b> : Les éléments essentiels pour l'activité antioxydante des flavonoïdes.....	<b>187</b>
<b>Figure 2</b> : Délocalisation des électrons dans la radical flavonoxy.....	<b>188</b>
<b>Figure 3</b> : Corrélation entre les concentrations et l'activité antioxydante.....	<b>192</b>

## **LISTE DES TABLEAUX**

### **CHAPITRE II**

<b>Tableau 1</b> : Groupes d'esters existant en C <sub>(8)</sub> dans les lactones sesquiterpéniques du genre <i>Centaurea</i> .....	<b>28</b>
<b>Tableau 2</b> : Les lactones sesquiterpéniques isolées du genre <i>Centaurea</i> (2005-2012).....	<b>30</b>
<b>Tableau 3</b> : Les flavonoïdes isolés du genre <i>Centaurea</i> (2005-2012).....	<b>47</b>
<b>Tableau 4</b> : Activité antioxydante, contenance en composés polyphénolique et flavoniques des centaureés étudiées.....	<b>60</b>
<b>Tableau 5</b> : Quelques molécules bioactives isolés des centaureés.....	<b>61</b>

### **CHAPITRE III**

<b>Tableau 1</b> : Fractionnement de l'extrait dichlorométhane.....	<b>75</b>
<b>Tableau 2</b> : Fractionnement de l'extrait acétate d'éthyle.....	<b>76</b>
<b>Tableau 3</b> : Fractionnement de l'extrait n-butanolique.....	<b>77</b>

### **CHAPITRE IV**

<b>Tableau 1</b> : RMN- <sup>1</sup> H, COSY <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) du produit SL-1.....	<b>87</b>
<b>Tableau 2</b> : RMN- <sup>13</sup> C, DEPT 135 (100 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) et COSY <sup>1</sup> H- <sup>13</sup> C (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) du produit SL-1.....	<b>88</b>
<b>Tableau 3</b> : RMN- <sup>1</sup> H, COSY <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H et HMBC (400 MHz, MeOD) du produit SL-2.....	<b>96</b>
<b>Tableau 4</b> : RMN- <sup>13</sup> C, DEPT 135, 90 (100 MHz, MeOD) et COSY <sup>1</sup> H- <sup>13</sup> C (400 MHz, MeOD) du produit SL-2.....	<b>97</b>
<b>Tableau 5</b> : RMN- <sup>1</sup> H (400 MHz, MeOD), RMN- <sup>13</sup> C (100 MHz, MeOD) du produit SL-4A.....	<b>104</b>
<b>Tableau 6</b> : RMN- <sup>1</sup> H (400 MHz, MeOD), RMN- <sup>13</sup> C (100 MHz, MeOD) du produit SL-4P.....	<b>106</b>
<b>Tableau 7</b> : RMN- <sup>1</sup> H, COSY <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H et HMBC (400 MHz, MeOD) du produit SL-4P.....	<b>126</b>
<b>Tableau 8</b> : RMN- <sup>13</sup> C, DEPT 135, 90 (100 MHz, MeOD) et COSY <sup>1</sup> H- <sup>13</sup> C (400 MHz, MeOD) du produit SL-4P.....	<b>127</b>
<b>Tableau 9</b> : RMN- <sup>1</sup> H, COSY <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H et HMBC (400 MHz, MeOD) du produit SL-4A'.....	<b>128</b>

<b>Tableau 10</b> : RMN- <sup>13</sup> C, DEPT 135, 90 (100 MHz, MeOD) et COSY <sup>1</sup> H- <sup>13</sup> C (400 MHz, MeOD) du produit SL-4A' .....	<b>129</b>
<b>Tableau 11</b> : RMN- <sup>1</sup> H, COSY <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H et HMBC (400 MHz, MeOD) du produit SL-6.....	<b>138</b>
<b>Tableau 12</b> : RMN- <sup>13</sup> C, DEPT 135, 90 (100 MHz, MeOD) et COSY <sup>1</sup> H- <sup>13</sup> C (400 MHz, MeOD) du produit SL-6.....	<b>139</b>
<b>Tableau 13</b> : RMN- <sup>1</sup> H, COSY <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H et HMBC (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) du produit SL-7A' .....	<b>148</b>
<b>Tableau 14</b> : RMN- <sup>13</sup> C, DEPT 135 (100 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) et COSY <sup>1</sup> H- <sup>13</sup> C (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) du produit SL-7A' .....	<b>149</b>
<b>Tableau 15</b> : RMN- <sup>1</sup> H, COSY <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H et HMBC (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) du produit SL-7P' ...	<b>150</b>
<b>Tableau 16</b> : RMN- <sup>13</sup> C, DEPT 135 (100 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) et COSY <sup>1</sup> H- <sup>13</sup> C (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) du produit SL-7P' .....	<b>151</b>
<b>Tableau 17</b> : UV (λ <sub>max</sub> , nm) du produit FL-3.....	<b>163</b>
<b>Tableau 18</b> : RMN- <sup>1</sup> H, ROESY (400 MHz, Acétone) du produit FL-3.....	<b>164</b>
<b>Tableau 19</b> : UV (λ <sub>max</sub> , nm) du produit FL-4.....	<b>169</b>
<b>Tableau 20</b> : RMN- <sup>1</sup> H, ROESY (400 MHz, MeOD) du produit FL-4.....	<b>169</b>
<b>Tableau 21</b> : UV (λ <sub>max</sub> , nm) du produit FL-2.....	<b>176</b>
<b>Tableau 22</b> : RMN- <sup>1</sup> H, ROESY (500 MHz, MeOD) du produit FL-2.....	<b>176</b>
<b>Tableau 23</b> : Données de la RMN- <sup>13</sup> C et DEPT 135 (125 MHz, MeOD) du produit FL-2.....	<b>177</b>
<b>Tableau 24</b> : RMN- <sup>1</sup> H, HMBC (400 MHz, MeOD) du produit FL-2' .....	<b>182</b>
<b>Tableau 25</b> : RMN- <sup>13</sup> C (100 MHz, MeOD) du produit FL-2' .....	<b>182</b>

## **CHAPITRE V**

<b>Tableau 1</b> : Résultats de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique du <i>Centaurea melitensis</i> L. ....	<b>191</b>
<b>Tableau 2</b> : Activité antioxydante (Inhibition de DPPH·) des quatre centaurées.....	<b>192</b>
<b>Tableau 3</b> : Résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique du <i>Centaurea melitensis</i> L. ....	<b>195</b>

## SOMMAIRE

<b>INTRODUCTION GÉNÉRALE .....</b>	<b>1</b>
Références bibliographiques.....	3
<b>I. PRINCIPAUX MÉTABOLITES SECONDAIRES DE LA FAMILLE DES ASTÉRACÉES.....</b>	<b>4</b>
<b>I.1. Famille des Astéracées : morphologie, date d'introduction et distribution.....</b>	<b>4</b>
<b>I.2. Les métabolites secondaires .....</b>	<b>4</b>
<b>I.3. Principaux métabolites secondaires des Astéracées.....</b>	<b>6</b>
<b>I.3.1. Les lactones sesquiterpéniques.....</b>	<b>6</b>
<b>I.3.1.1. Structure .....</b>	<b>6</b>
<b>I.3.1.2. Intérêt thérapeutique des lactones sesquiterpéniques.....</b>	<b>8</b>
<b>I.3.2. Les flavonoïdes .....</b>	<b>10</b>
<b>I.3.2.1. Structure .....</b>	<b>10</b>
<b>I.3.2.2. Intérêt thérapeutique des flavonoïdes .....</b>	<b>11</b>
Références bibliographiques .....	13
<b>II. PRINCIPAUX MÉTABOLITES SECONDAIRES DU GENRE <i>CENTAUREA</i>.....</b>	<b>19</b>
<b>II. Principaux métabolites secondaires du genre <i>Centaurea</i>.....</b>	<b>19</b>
<b>II.1. Les lactones sesquiterpéniques du genre <i>Centaurea</i>.....</b>	<b>19</b>
<b>II.1.1 Les germacranolides du genre <i>Centaurea</i> .....</b>	<b>21</b>
<b>II.1.2. Les élémanolides du genre <i>Centaurea</i> .....</b>	<b>21</b>
<b>II.1.3. Les eudesmanolides du genre <i>Centaurea</i> .....</b>	<b>22</b>
<b>II.1.4. Les guaianolides du genre <i>Centaurea</i> .....</b>	<b>23</b>
<b>II.1.5. Les héliangolides du genre <i>Centaurea</i> .....</b>	<b>26</b>
<b>II.1.6. Les élémanes du genre <i>Centaurea</i> .....</b>	<b>27</b>
<b>II.2. Les flavonoïdes du genre <i>Centaurea</i> .....</b>	<b>45</b>
<b>II.3. Intérêt thérapeutiques du genre <i>Centaurea</i> et de ses principaux métabolites secondaires.....</b>	<b>59</b>
Références bibliographiques.....	62

<b>III. ÉTUDE CHIMIQUE DE L'ESPÈCE : <i>CENTAUREA MELITENSIS</i> L.</b> .....	<b>69</b>
<b>III.1.</b> Place dans la systématique .....	<b>69</b>
<b>III.2.</b> Description botanique de l'espèce <i>melitensis</i> L.....	<b>69</b>
<b>III.3.</b> Études phytochimiques antérieures sur l'espèce <i>Centaurea melitensis</i> L.....	<b>70</b>
<b>III.4.</b> Matériels et méthodes .....	<b>72</b>
<b>III.5.</b> Analyse chimique .....	<b>72</b>
<b>III.5.1.</b> Extraction de <i>Centaurea melitensis</i> L.....	<b>72</b>
<b>III.5.2.</b> Séparation et purification de l'extrait dichlorométhane .....	<b>75</b>
<b>III.5.3.</b> Séparation et purification de l'extrait acétate d'éthyle .....	<b>76</b>
<b>III.5.4.</b> Séparation et purification de l'extrait n-butanolique .....	<b>77</b>
Références bibliographiques .....	<b>78</b>
<b>IV. IDENTIFICATION STRUCTURALE DES PRODUITS ISOLÉS</b> .....	<b>79</b>
<b>IV.I.</b> Identification structurale des produits isolés de la phase dichlorométhane .....	<b>79</b>
<b>IV.I.1.</b> Identification structurale du produit <b>SL-1</b> .....	<b>79</b>
<b>IV.I.2.</b> Identification structurale du produit <b>SL-2</b> .....	<b>89</b>
<b>IV.I.3.</b> Identification structurale du produit <b>SL-4</b> .....	<b>98</b>
<b>IV.I.4.</b> Identification structurale du produit <b>SL-6</b> .....	<b>131</b>
<b>IV.I.5.</b> Identification structurale du produit <b>SL-7</b> .....	<b>140</b>
<b>IV.I.6.</b> Étude quantitative et comparative des deux mélanges <b>SL-4</b> et <b>SL-7</b> par RMN- <sup>1</sup> H.....	<b>152</b>
<b>IV.I.7.</b> Identification structurale du produit <b>FL-3</b> .....	<b>159</b>
<b>IV.I.8.</b> Identification structurale du produit <b>FL-4</b> .....	<b>165</b>
<b>IV.2.</b> Identification structurale des produits isolés de la phase acétate d'éthyle.....	<b>171</b>
<b>IV.2.1.</b> Identification structurale du produit <b>FL-2</b> .....	<b>171</b>
<b>IV.2.2.</b> Identification structurale du produit <b>FL-2'</b> .....	<b>178</b>
Références bibliographiques .....	<b>183</b>
<b>V. TESTS BIOLOGIQUES DE L'EXTRAIT MÉTHANOLIQUE</b> .....	<b>185</b>
<b>V.1.</b> Activité antioxydante .....	<b>185</b>
<b>V.1.1.</b> Introduction .....	<b>185</b>
<b>V.1.2.</b> Qu'est-ce qu'un radical libre ? .....	<b>185</b>



V.1.3. Les polyphenols antioxydants .....	186
V.1.4. Activité des flavonoïdes vis-à-vis des espèces radicalaires .....	186
V.1.5. Relation structure-activité .....	186
V.1.6. Principe du test au radical libre DPPH <sup>•</sup> .....	189
V.1.7. Matériels et méthodes .....	190
V.1.8. Résultats et discussions .....	190
V.2. Activité antibactérienne.....	193
V.2.1. Introduction .....	193
V.2.2. Quelles sont les bactéries ?.....	194
V.2.3. Matériels et méthodes .....	194
V.2.3.1. Procédure microbiologique .....	194
V.2.4. Résultats et discussions .....	195
Références bibliographiques .....	197
<b>CONCLUSION GÉNÉRALE .....</b>	<b>203</b>

---

## *INTRODUCTION GENERALE*

Les plantes ont toujours fait partie de l'environnement de l'homme. Les fruits, les racines, les plantes et les autres substances naturelles ont d'abord été connus pour leurs propriétés nutritives puis ensuite pour leurs vertus curatives.

A travers les siècles, la connaissance, la compréhension et la maîtrise des extraordinaires vertus que recèlent les plantes et leurs utilisations thérapeutiques s'appelle la phytothérapie. Aujourd'hui, son efficacité prouvée et ses bienfaits incontestables pour notre santé ont permis à la phytothérapie d'entrer dans notre vie de tous les jours.

Certes, pendant une grande partie du XXe siècle, les médicaments chimiques ont occupé le devant de la scène, donnant d'excellents résultats. Cependant, bien qu'efficaces, ils ne sont pas totalement dépourvus d'effets secondaires, d'où la reconnaissance des plantes médicinales [1].

Ainsi, personne ne peut nier l'importance des plantes médicinales et la découverte des produits naturels, en fait la plupart de nouvelles applications cliniques de métabolites secondaires isolés des plantes et de leurs dérivés ont été engagés dans la lutte contre le cancer au cours du dernier demi-siècle [2-4]. En effet, 40% des médicaments anticancéreux étaient des produits naturels et leurs dérivés. Paradoxalement, seulement 8% ont été synthétiques et même imités de ces produits dans la période allant de 1940 jusqu'à 2002 [4].

En Algérie il en existe 3000 espèces appartenant à différentes familles botaniques dont la famille des astéracées (composées) constitue l'une des plus grandes familles les plus étudiées. Ainsi, le genre *Centaurea* a fait l'objet de nombreuses recherches phytochimique et pharmacologique durant plusieurs années [5-12]. C'est dans ce contexte que s'inscrit notre étude ayant comme objectif l'investigation phytochimique et biologique de l'extrait méthanolique de l'espèce *Centaurea melitensis* L.

Ce travail est axé sur cinq chapitres essentiels :

Le premier chapitre, consacré à l'étude bibliographique des principaux métabolites secondaires des astéracées, renferme une brève présentation de la famille des astéracées, leurs métabolites secondaires les plus courants, ainsi que quelques intérêts thérapeutiques de ces métabolites.

Dans le deuxième chapitre, nous aborderons les principaux métabolites du genre *Centaurea*, Cette étude inclus une bibliographie approfondie sur les lactones sesquiterpéniques et les flavonoïdes issues de ce genre pendant la période allant de 2005 jusqu'à 2012, permettant ainsi leurs définitions, leurs classifications et éventuellement l'illustration de quelques molécules bioactives isolées très récemment.

Le troisième chapitre concerne la partie expérimentale relative à nos travaux, dans cette partie nous nous intéresserons à l'étude chimique de l'espèce *Centaurea melitensis* L., une plante algérienne annuelle. Ainsi qu'une présentation des techniques d'isolement et d'analyse utilisées.

Le quatrième chapitre reporte les résultats obtenus suivis de discussions concernant la détermination structurale des produits isolés de l'espèce *Centaurea melitensis* L.

Enfin, le dernier chapitre, sera réservé à des tests biologiques sur l'extrait méthanolique de notre plante, suivis par une conclusion générale.

## Références bibliographiques

1. *La phytothérapie de A à Z. la santé par les plantes*, 2005. Editions Alpen, pp. 1-4.
2. Newman, D.J., Cragg, G.M., Snader, K.M., 2000. The influence of natural products upon drug discovery. *Natural Product Reports* **17** (3), 215– 234.
3. Butler, M.S., 2004. The role of natural product chemistry in drug discovery. *Journal of Natural Products* **67** (12), 2141-2153.
4. Newman, D.J., Cragg, G.M., Snader, K.M., 2003. Natural products as sources of new drugs over the period 1981–2002. *Journal of Natural Products* **66** (7), 1022– 1037.
5. Quezel, P. and Santa, S., 1963. *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. Tome I, C.N.R.S. Paris.
6. Bentamène, A., Benayache, S., Crèche, J., Petit, G., Bermejo, J., Leon, F., Benayache, F., 2005. A new guaianolide and other sesquiterpene lactones from *Centaurea acaulis* L. (Asteraceae). *Biochemical Systematics and Ecology* **33**, 1061-1065.
7. Medjroubi, K., Benayache, F., Bermejo, J., 2005. Sesquiterpene lactones from *Centaurea musimomum*. Antiplasmodial and cytotoxic activities. *Fitoterapia* **76**, 744-746.
8. Seghiri, R., Mekkiou, R., Boumaza, O., Benayache, S., Bermejo, J., Benayache, F., 2006. Phenolic compounds from *Centaurea Africana*. *Chemistry of Natural Compounds* **42**(6), 491-492.
9. Akkal, S., Benayache, F., Medjroubi, K. and Tillequin, F., 2007. Flavonol glycosides from *Centaurea furfuracea* antiplasmodial and cytotoxic activities. *Chemistry of Natural Compounds* **43**(3), 319-320.
10. Djeddi, S., Karioti, A., Sokovic, M., Koukoulitsa, C., Skaltsa, H., 2008. A novel sesquiterpene lactone from *Centaurea pullata*: Structure elucidation, antimicrobial activity, and prediction of pharmacokinetic properties. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **16**, 3725-3731.
11. Mezaache, N., Bendjeddou, D., Satta, D., Mekkiou, R., Benayache, S., Benayache, F., 2010. Secondary metabolites from *Centaurea lippii*. *Chemistry of Natural Compounds* **46** (5), 801-802.
12. Nacer, A., Merza, J., Kabouche, Z., Rhouati, S., Boustie, J., Richomme, P., 2012. Sesquiterpene lactones from *Centaurea tougourensis*. *Biochemical Systematics and Ecology* **43**, 163-165.

---

*REVUE BIBLIOGRAPHIQUE*

*CHAPITRE I*

*PRINCIPAUX MÉTABOLITES*

*SECONDAIRES DE LA FAMILLE DES*

*ASTÉRACÉES*

## Chapitre I. Principaux métabolites secondaires de la famille des Astéracées

### I.1. Famille des Astéracées : morphologie, date d'introduction et distribution

La famille des Astéracées (Composées) est la plus vaste famille de la division des spermatophytes, avec plus de 900 genres et au moins 12 000 espèces répandues sur toute la planète [1]. Les composées sont relativement moins abondantes dans l'ancien monde que dans l'Amérique du Nord où elles forment environ un huitième de la flore vasculaire [1].

Elles sont probablement apparues à la fin du Cétacé ou au début de l'Eocène, et le point d'origine paraît être la région andine de l'Amérique du Sud où elles constituent aujourd'hui un quart de la flore vasculaire [1].

Les traits saillants de la distribution géographique de cette immense famille ont une grande portée biologique. Les tribus des Astérées et des séneçonées sont toutes cosmopolites ou à peu près. Les Cichoriées, les Cynarées et les Anthémidées appartiennent surtout à l'hémisphère nord. Les Calendulées et les Arctotidées sont africaines. Les Vernoniées, les Eupatoriées, les Hélianthées, les Hélieniées et les Mutisiées sont essentiellement américaines. La grande tribu des Inulées appartient surtout à l'ancien monde. Les espèces extra-tropicales communes aux deux hémisphères ne sont guère plus d'une quarantaine [1].

L'Afrique, l'Australie et l'Amérique occidentale paraissent posséder les représentants les plus anciens du groupe. L'Afrique offre la plus grande variété de témoins isolés des types éteints. L'Amérique andine possède quelques espèces qui se rapprochent du type que l'on peut considérer comme le type primitif de la famille entière. Une distribution géographique sauvage importante de cette famille existe aussi en Turquie, Canada, Inde, Iran et les pays Baltes [2].

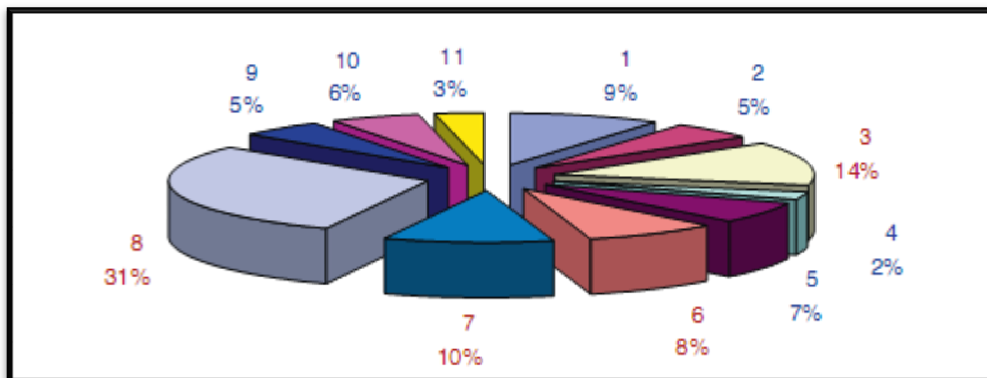
### I.2. Les métabolites secondaires

Les plantes contiennent des métabolites secondaires qui peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes, par opposition aux métabolites primaires qui alimentent les grandes voies du métabolisme central.

Ces métabolites secondaires exercent une action déterminante sur l'adaptation des plantes à leur environnement. Ils participent ainsi, de manière très efficace, à la



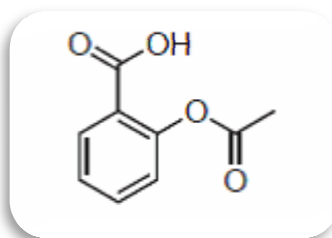
tolérance des végétaux à des stress variés (attaque de pathogènes d'insectes, sécheresse, lumière UV) [3].



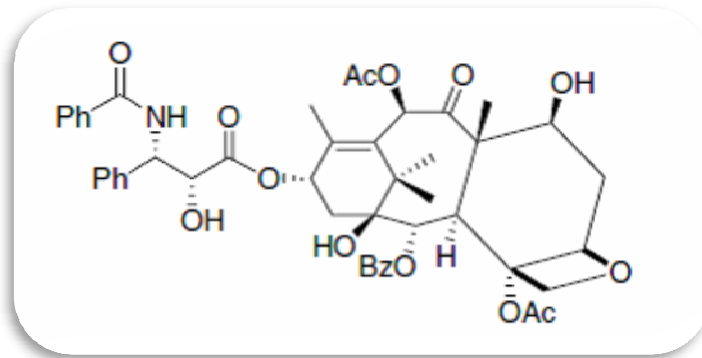
- 1 : composés aliphatiques simples ; 2 : acides gras et polyacétylènes  
3 : acides benzoïques et cinnamiques ; 4 : quinines ; 5 : coumarines  
6 : flavonoïdes ; 7 : monoterpènes ; 8 : sesquiterpènes ; 9 : autres terpenoïdes  
10 : composés azotés ; 11 : composés sulfurés.

**Figure 1 :** Classification des métabolites secondaires et de leurs abondances relatives (En tenant compte des résultats publiés jusqu'à l'année 2001 [4])

D'un point de vue applicatif, ces molécules constituent souvent la base des principes actifs des plantes médicinales. L'évaluation de la valeur thérapeutique de ces métabolites (taxanes de l'if, alcaloïdes de la pervenche de Madagascar...) fait l'objet de nombreuses recherches et amène à l'identification des principaux éléments actifs de la plante. De l'aspirine au taxol, l'industrie pharmaceutique s'appuie largement sur la diversité et les propriétés biologiques des métabolites secondaires des végétaux pour le développement de nouveaux médicaments [3].



**Figure 2 :** Structure de l'aspirine



**Figure 3** : Structure de taxol

### I.3. Principaux métabolites secondaires des Astéracées

Dernièrement, un grand intérêt était orienté vers les études chimio systématiques et chimio taxonomiques basées sur les métabolites secondaires présents dans les plantes supérieures [5-8] ; parmi ces études on compte plusieurs [9-14] renfermant la famille des Astéracées.

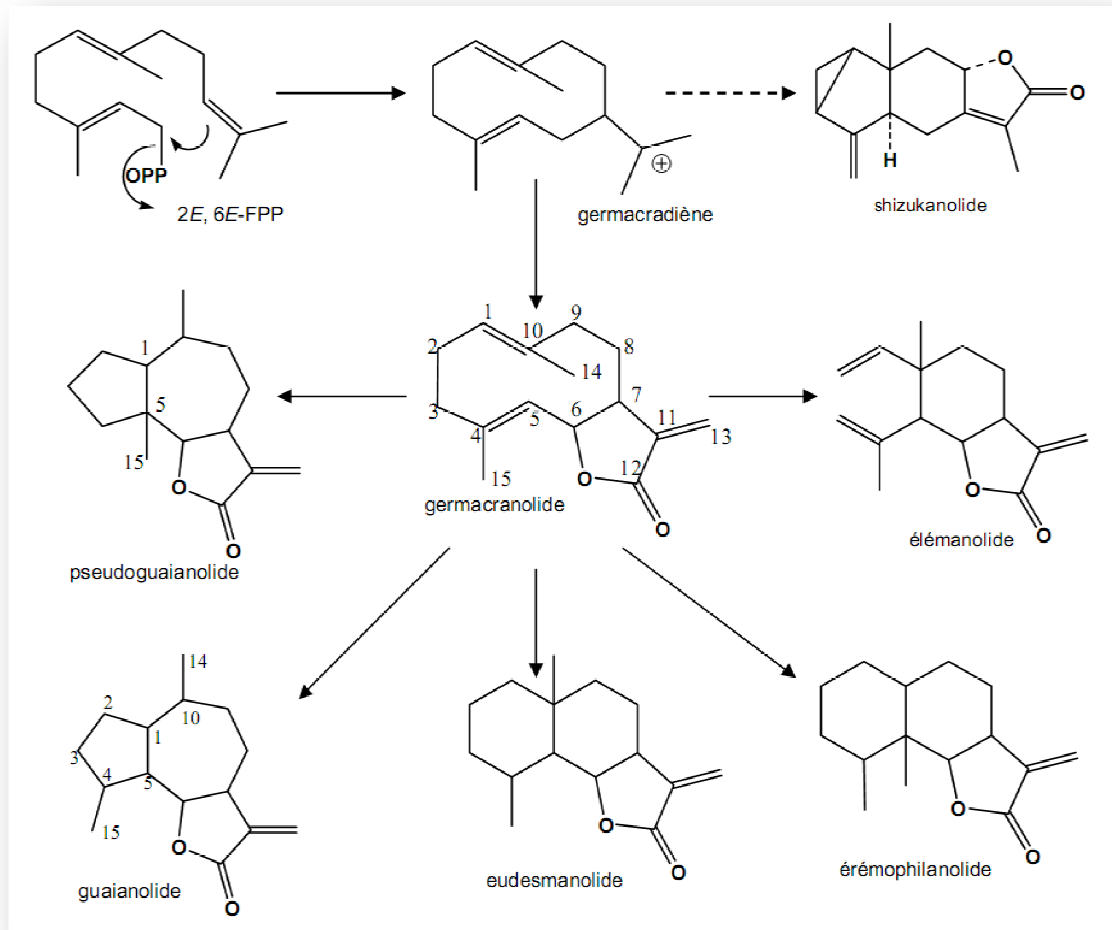
En se basant sur les investigations phytochimiques ; différentes espèces appartenant à cette famille, biosynthétisent une variété de substances naturelles ; tel que les triterpènes, les stéroïdes, les anthocyanes, les lignanes, les alcaloïdes, les polyacétylènes, les flavonoïdes et les sesquiterpènes [15]. Mais les sesquiterpènes lactones (STLs), occupent la classe la plus étudiée parmi ces métabolites, et sont considérées comme des marqueurs chimio taxonomiques dans la famille des composées [16, 17].

#### I.3.1. Les lactones sesquiterpéniques

##### I.3.1.1. Structure

Les lactones sesquiterpéniques sont des métabolites secondaires des plantes partageant tous une même origine, elles sont issues de la cyclisation d'un précurseur terpène, le farnésyl-pyrophosphate (2E, E-FPP) qui donne le germacradiène (Figure 4) [18]. En s'appuyant sur la structure carbonée de base, on peut dégager les principales classes de lactones sesquiterpéniques : les germacranolides, les élémanolides, les eudesmanolides, les guaianolides et les pseudoguaianolides [19], cependant la structure de sesquiterpènes lactones peut supporter plusieurs arrangements (Shizukanolides, éremophilanolides ...) [20].

Elles sont caractérisées, comme l'indique le nom, par la présence d'une  $\gamma$ -lactone qui peut être *Cis*-12,6 ; *Cis*-12,8 ; *Trans*-12,6 et, c'est le cas fréquent ; *Trans*-12,8. En règle générale elle est du type  $\alpha$ -méthylène- $\gamma$ -lactone [19,21].



**Figure 4** : Les différents squelettes des lactones sesquiterpéniques

Parmi les autres modifications structurales, on peut citer :

- L'incorporation des groupes hydroxyles que se soit libres ou estérifiés, ainsi que des époxydes est communément fréquent [22-24], il s'ajoute à ces variations structurales la détection des atomes d'halogènes et des sulfures dans quelques structures [21,25-26].
- L'abondance naturelle rare de lactones sesquiterpéniques aussi bien sous la forme glycoside que sous la forme de dimères [22-24,27].

### I.3.1.2. Intérêt thérapeutique des lactones sesquiterpéniques

De nombreuses recherches ont été prouvées que la diversité large des activités biologiques est liée directement à la grande variété de structures chimiques [28].

Durant la recherche consacrée aux composés anti-tumoraux isolés des plantes, les lactones sesquiterpéniques prennent une importance croissante notamment grâce à leurs activités sur différents types d'organismes et systèmes. En effet, elles forment un des plus large groupes des composés cytotoxiques et anti-tumoraux d'origine végétale, dont la majorité a été isolé de la famille des « Astéracées ».

Elles sont également présentes dans les familles « Magnoliacée », « Apiacée » et quelques moisissures [28]. La plupart de ces lactones déjà connues, possèdent des activités cytotoxiques *in vitro* contre les cellules cancéreuses KB et celles de leucémie P388, cette dernière activité qui a été évalué *in vivo* [29-32].

De nombreuses publications ont mis en évidence l'existence de relations : Structure- Activité cytotoxique dans le cas des lactones sesquiterpéniques [33-45].

Ainsi, les études chimiques ont montrés que tous les sesquiterpènes lactones agissent avec les thiols, à titre d'exemple : la cystéine, selon une addition rapide de type Michael [35,36,42], ces réactions sont chimiquement liées aux structures des carbonyles insaturés tel que le groupe  $\alpha$ -méthylène- $\gamma$ -lactone, le groupe cyclopentanone  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturé, ou l'ester conjugué [35,43].

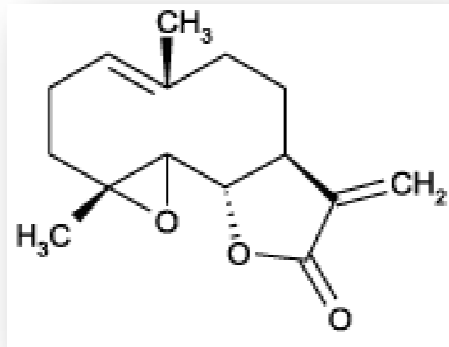
Ces résultats proviennent d'études expérimentales ont montrés encore que les lactones sesquiterpéniques, inhibent la croissante des tumeurs par l'alkylation sélective des macromolécules biologiques régulatrices de croissante, comme les enzymes clés qui contrôlent la division cellulaire, ce qui permet aux cellules de subir le phénomène d'apoptose naturelle [44,45].

La différence d'activité entre les lactones sesquiterpéniques individuelles peut être expliquée par le nombre différent des groupes structuraux alkylants [36,46-48], mais d'autres facteurs, comme la lipophilie, la géométrie moléculaire et l'environnement chimique ou le groupe sulfudryle ciblé peuvent encore influencer l'activité de lactones sesquiterpéniques [34,46,48].

Diverses drogues renfermant ce type de composés existent, à titre d'exemple : le parthénolide (Structure 1), une molécule antileishmanienne ; isolée de *Tanacetum parthenium* (L) Schultz-Bip, (ou grande camomille) appartenant à la famille des astéracées, ce principe actif a été décrit comme un inhibiteur de la transcription du

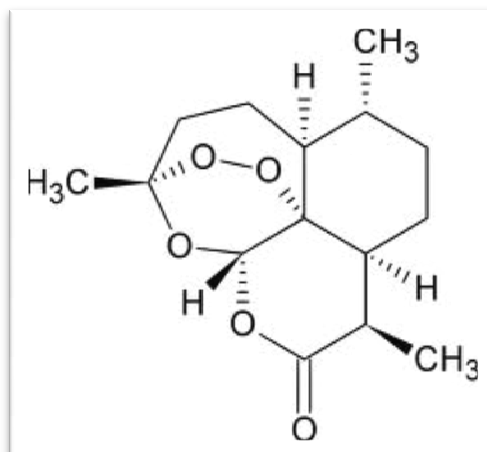
facteur NF-Kb (facteur impliqué dans l'activation du processus inflammatoire) qui inactive l'oxyde nitrique synthétase (iNOS).

Il peut aussi inhiber la formation d'œdème sur des rats et des souris en inhibant la réponse inflammatoire et montre une propriété antidouleurs [49,50].



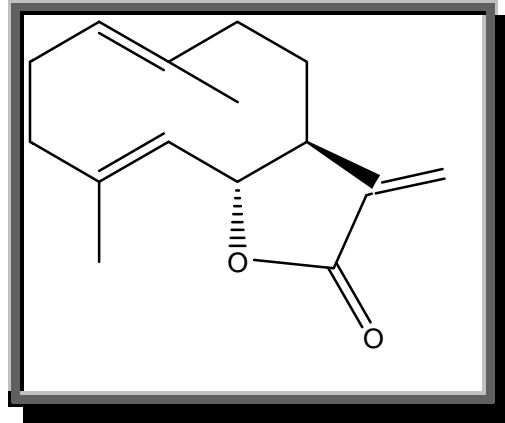
Structure 1

Dans l'autre coté, on trouve l'artémisinine (Structure 2), un excellent anti malarique, le principe actif a été isolé d'*Artemisia annua* (Armoise annuelle) appartenant à la même famille (Astéracées) par les scientifiques chinois en 1972, l'artémisinine, une sesquiterpène lactone renfermant un motif d'un peroxyde endo dans leur structure [51].



Structure 2

Le costunolide (Structure 3), récemment isolé du *Centaurea acaulis* [52], toujours de la même famille des astéracées, exerce des effets inhibiteurs sur la fonction tueuse des lymphocytes T cytotoxiques [53].



Structure 3

D'autres études ont également montré que le costunolide inhibe la synthèse de l'oxyde nitrique (NO), déclencheur chimique de l'inflammation [54] et déprime la croissance des cellules cancéreuses [55].

### I.3.2. Les flavonoïdes

#### I.3.2.1. Structure

Le terme flavonoïde regroupe une très large gamme de composés naturels polyphénoliques. Ils sont largement distribués dans le règne végétal et sont couramment consommés quotidiennement dans l'alimentation. Ils sont retrouvés également dans les plantes médicinales [56].

Les flavonoïdes ont tous une origine biosynthétique commune et par conséquent, possèdent tous un même squelette de base de quinze atomes de carbones constitué de deux unités aromatiques, deux cycles en C6 (A et B) reliés par une chaîne en C3 [56,57].

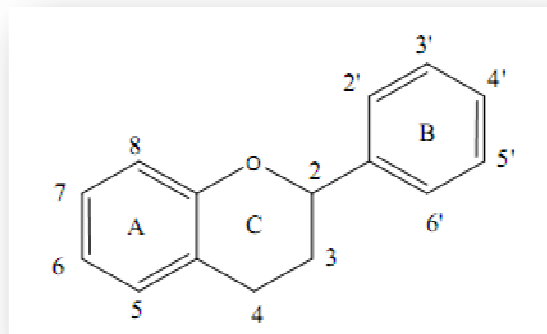


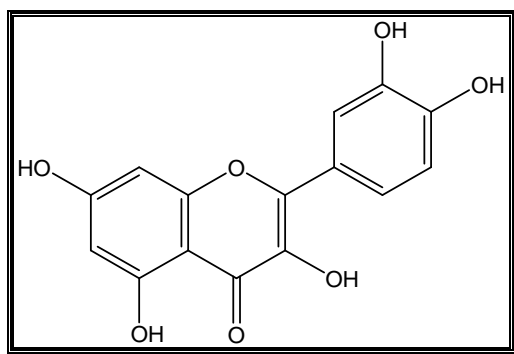
Figure 5 : Squelette de base des flavonoïdes

Ils sont divisés en plusieurs classes qui incluent les flavones, flavonols, flavanones, flavanols, anthocyanidines et isoflavones [58,59].

### I.3.2.2. Intérêt thérapeutique des flavonoïdes

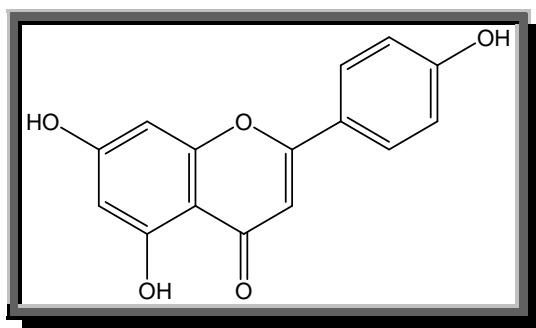
Les flavonoïdes possèdent de nombreuses activités présentant un intérêt en thérapeutique telles que : antioxydante, hépatoprotectrice, diurétique, antibactérienne, chimioprotectrice, antidiabétique, antiallergique [60-62] et certains ont démontrés des effets cardioprotecteurs importants [63,64].

Ils sont capables de protéger la muqueuse gastrique contre divers agents ulcérogènes : on peut citer par exemple la quercétine (Structure 4), flavonoïde isolé de plusieurs espèces appartenant à la famille des astéracées, ce composé exerce une activité anti-ulcérogène mise en évidence chez le rat dont l'ulcère gastrique a été induit par l'éthanol [65].



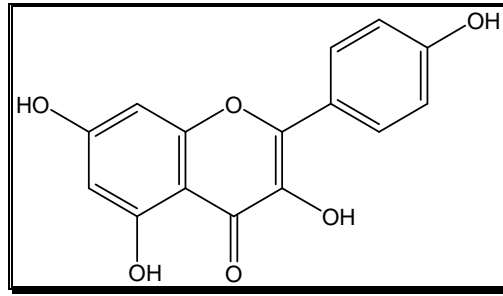
Structure 4

L'apigénine (Structure 5) une flavone trouvée dans de nombreuses plantes appartiennent à la famille des astéracées, possède encore des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et anticancéreuses [66].

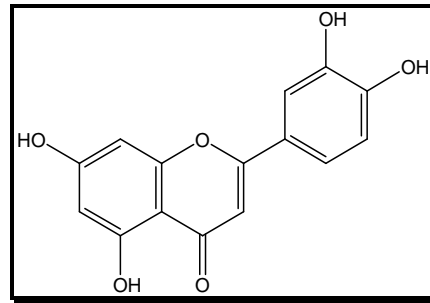


Structure 5

Hirano et al. 2001 ont évalué l'activité inhibitrice de la quercétine, l'apigénine, le kaempférol (Structure 6) et la lutéoline (Structure 7) vis-à-vis le radical DPPH [67].



Structure 6



Structure 7

La majorité des activités biologiques des flavonoïdes est due à leur pouvoir antioxydant et chélateur, en effet, ils peuvent agir de différents façons dans les processus de régulation du stress oxydant [68-70] : par capture directe des radicaux, par chélation des métaux de transition comme le fer (empêchant ainsi la réaction de fenton) et par inhibition de l'activité de certains enzymes responsables de la production des espèces réactives de l'oxygène (ERO).



**Références bibliographiques**

1. Moreau, F., 1960. *Botanique : Procaryotes (cyanophites et bactéries). Eucaryotes (algues, champignons et végétaux supérieurs). La plante dans ses rapports avec le milieu*. Ed. Paris, Gallimard.
2. Ivancheva, S. et Tsvetkova, R., 2003. Distribution of flavonoid aglycones in tribe Anthemideae (Asteraceae). *Advances in Phytochemistry*, 85-95.
3. Hadj Salem, J., 2009. Thèse de doctorat, INPL, Université de Nancy.
4. Francisco, A. M., Jose L.G. G., Juan, C.G. G., 2007. Evolution and current status of ecological phytochemistry, Review. *Phytochemistry* **68**, 2917–2936.
5. Alvarenga, S.A.V., Gastmans, J.P., Rodrigues, G.V., Moreno, P.R.H., Emerenciano, V.P., 2001. A computer-assisted approach for chemotaxonomic studies -diterpenes in Lamiaceae. *Phytochemistry* **56**, 583–595.
6. Gottlieb, O.R., 1972. Chemosystematics of the lauraceae. *Phytochemistry* **11**, 1537–1570.
7. Gottlieb, O.R., 1982. *Micromolecular Evolution, Systematics and Ecology*, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, NY.
8. Harborne, J.B., Williams, C.A., 1994. Recent advances in the chemosystematics of the monocotyledons. *Phytochemistry* **37**, 3–18.
9. Bohlmann, F., 1990. Chemistry of the Heliantheae (Compositae). In T. J. Mabry and G. Wagenitz [eds.], Research advances in the Compositae, *Plant Systematics and Evolution*, Supplementum **4**. Springer-Verlag, Wien, Austria. 67–75.
10. Emerenciano, V.P., Militao, J.S.L.T., Campos, C.C., Romoff, P., Kaplan, M.A.C., Zambon, M., Brant, A.J.C., 2001. Flavonoids as chemotaxonomic markers for Asteraceae. *Biochem. Syst. Ecol.* **29**, 947–957.
11. Harborne, J.B., Turner, B.L., 1984. *Plant Chemosystematics*, Academic Press, London.
12. Seaman, F.C., 1982. Sesquiterpene lactone as taxonomic characters in the asteraceae. *Bot. Rev.* **48**, 123–551.
13. Spring, O., Buschmann, H., 1994. A chemosystematic survey of sesquiterpene lactones in the Helianthinae (Compositae). In: Hind, D.J.N., Beentje, H.J. 1996. (Eds.), Compositae: Systematics, Proceedings of the International Compositae Conference, vol. 1. Kew Scientist, Kew, pp. 307–311.

14. Zdero, C., Bohlmann, F., 1990. Systematics and evolution within the Compositae, seen with the eyes of a chemist. *Plant Syst. Evol* **171**, 1–14.
15. Al-Easa, H. S.; Rizk, A. M., 1992. Constituents of *Centaurea* species. *Qatar Univ. Sci. J.* **12**, 27–57.
16. Hegnauer, R., 1964. *Chemotaxonomie, der Pflanzen*, Birkhäuser Verlag, Basel-Stuttgart.
17. Herout, V., Sorm, F., 1969. *Sesquiterpenoids in the Compositae*, Harbone, J. and Swain, T(eds), Academic Press, London-New York.
18. Zhang, S., Won, Y. K., Ong, C. N., Shen, H. M., 2005. Anti-cancer potential of sesquiterpene lactones: bioactivity and molecular mechanisms. *Curr. Med. Chem. Anti Canc. Agents* **5**, 239-249.
19. Yoshioka, H., Mabry, T.J., Timmermann, B., N., 1973. *Sesquiterpene Lactones: Chemistry, NMR and Plant Distribution*, University of Tokyo Press.
20. Seaman, F. C., 1982. Sesquiterpene lactone as taxonomic characters in the asteraceae. *Bot. Rev.* **48**,121-595.
21. Siuda, J.F. and De Bernardis, J.F., 1973. Naturally occurring halogenated organic compounds. *Lloydia* **36**, 107.
22. Herz,W., Aota,K., Holub,M., Samek, Z., 1970. Sesquiterpene lactones and lactone glycosides from *Hymenoxys* species. *J. Org. Chem.* **35**, 2611-2624.
23. Herz, W.,Ramakrishnan, G.,Murari, R., 1978. A glycosidic germacradienolide from *Eupatorium altissimum*. *Phytochemistry* **17**, 1953-1955.
24. Kisiel, W., 1975. Phytochemical investigations of *Vernonia flexuosa* Sims. Part II. Vernoflexuoside and vernoflexin--new sesquiterpene lactones. *Pol. J. Pharmacol. Pharm.* **27**, 461-467.
25. Gonzalez, A.G., Bermejo, J., Breton, J.L., Massanet, G., Triana, M. J., 1974. Chlorohyssopifolin C, D, E and vahlenin, four new sesquiterpene lactones from *Centaurea hyssopifolia*. *Phytochemistry* **13**, 1193-1197.
26. Kondo, Y., Yoshizaki,F., Hamada, F., Imai,J., Kusano, G., 1977. *Tetrahedron Lett.* **25**, 2155-2158.
27. Qin, J. J., Jin, H.Z., Fu, J. J., Hu, X. J., Wang, Y., Yan, S.K., Zhang, W. D., 2009. Japonicones A–D, bioactive dimeric sesquiterpenes from *Inula japonica* Thunb. *Bioorganic & Medicinal Chemistry letters* **19**, 710-713.

28. Picman, A., K., 1986. Biological activities of sesquiterpene lactones. *Biochem. Syst. Ecol.* **14**, 255-281.
29. Hartwell, J.L., 1976. Types of anticancer agents isolated from plants. *Cancer Treat. Rep.* **60**, 1031-1067.
30. Pettit, G.R., 1977. *Biosynthetic Products for Cancer Chemotherapy*, Plenum Press, New York.
31. Cordell, G.A., 1977. In: Wagner, H., Wolff, P. (Eds.), *New Natural Products and Plant Drugs with Pharmacological, Biological or Therapeutical Activity*, Springer, Berlin.
32. Sticher, O., 1977. In: Wagner, H., Wolff, P. (Eds.), *New Natural Products and Plant Drugs with Pharmacological, Biological or Therapeutical Activity*, Springer, Berlin.
33. Hartwell, J.L., Abbott, B.J., 1969. Antineoplastic principles in plants: recent developments in the field. *Adv. Pharmacol. Chemother.* **7**, 117-209.
34. Kupchan, S.M. Trans. N. Y., 1970. Recent advances in the chemistry of tumor inhibitors of plant origin. *Acad. Sci.* **32**, 85-106.
35. Kupchan, S.M., Fessler, D.C., Eakin, M.A., Giacobbe, T.J., 1970. Reactions of alpha methylene lactone tumor inhibitors with model biological nucleophiles. *Science* **168**, 376-378.
36. Kupchan, S.M., Eakin, M.A., Thomas, A.M., 1971. Tumor inhibitors. 69. Structure-cytotoxicity relationships among the sesquiterpene lactones. *J. Med. Chem.* **14**, 1147-1152.
37. Hladon, B., Drożdż, B., Holub, M., Bobkiewicz, T. Arch., 1975. Sesquiterpene lactones. XVI. In vitro studies on cytotoxic properties of sesquiterpene lactones in tissue cultures of human and animal malignant cells. *Immunol. Ther. Exp.* **23**, 845-855.
38. Lee, K.H., Huang, E.S., Piandosi, C., Pagano, J., Geissman, T.A., 1971. Cytotoxicity of sesquiterpene lactones. *Cancer Res.* **31**, 1649-1654.
39. Lee, K.H., Meck, R., Piandosi, C., Huang, E.S., 1973. Antitumor agents. 4. Cytotoxicity and in vitro activity of helenalin esters and related derivatives. *J. Med. Chem.* **16**, 299-301.

40. Lee, K.H., Hall, I.H., Mar, E.C., Starnes, C.O., El Gebaly, S.A., Waddel, T.G., Hadgraft, R.I., Ruffner, C.G., Weidner, I., 1977. Sesquiterpene antitumor agents: inhibitors of cellular metabolism. *Science* **196**, 533-536.
41. Ganjian, I., Kubo, I., Fludzinski, P., 1983. Insect antifeedant elemanolide lactones from *Vernonia amygdalina*. *Phytochemistry* **22**, 2525-2526.
42. Kupchan, S.M., Giacobbe, T.J., Krull, I.S., Thomas, A.M., Eakin, M.A., Fessler, D.C., 1970. Tumor inhibitors. LVII. Reaction of endocyclic  $\alpha$ , $\beta$ -unsaturated  $\gamma$ -lactones with thiols. *J. Org. Chem.* **35**, 3539-3543.
43. Schmidt, T.J., 1997. Helenanolide-type sesquiterpene lactones—III. Rates and stereochemistry in the reaction of helenalin and related helenanolides with sulfhydryl containing biomolecules. *Bioorg. Med. Chem.* **5**, 645-653.
44. Schmidt, T.J., 1999. Toxic activities of sesquiterpene lactones: Structural and biochemical aspects. *Curr. Org. Chem.* **3**, 577-608.
45. Dirsch, V.M., Stuppner, H., Vollmar, A.M., 2001. Helenalin triggers a CD95 death receptor-independent apoptosis that is not affected by overexpression of Bcl-x(L) or Bcl-2. *Cancer Res.* **61**, 5817-5823.
46. Heilmann, J., Wasescha, M.R., Schmidt, T.J., 2001. The influence of glutathione and cysteine levels on the cytotoxicity of helenanolide type sesquiterpene lactones against KB cells. *Bioorg. Med. Chem.* **9**, 2189-2194.
47. Karabunarliev, S., Mekenyan, O.G., Karcher, W., Russom, C.L., Bradbury, S.P., 1996. Quantum-chemical descriptors for estimating the acute toxicity of electrophiles to the fathead minnow (*Pimephales promelas*): An analysis based on molecular mechanisms. *Quant. Struct.-Act. Relat.* **15**, 302-310.
48. Cramer, R.D., Patterson, D.E., Bunce, J.D., 1988. Comparative molecular field analysis (CoMFA). 1. Effect of shape on binding of steroids to carrier proteins. *J. Am. Chem. Soc.* **110**, 5959-5967.
49. Calixto, J. B., Scheidt, C., Otuki, M., Santos, A. R. S., 2001. Biological activity of plant extracts: novel analgesic drugs. *Expert Opinion on Emerging Drugs* **6**, 261-279.
50. Kwok, B. H., Koh, B., Ndubuisi, M. I., El ofsson, M., Crews, C. M., 2001. The anti-inflammatory natural product parthenolide from the medicinal herb feverfew directly binds to and inhibits IB kinase. *Chem. Biol.* **8**, 759-766.

51. Heinrich, M., Barnes, J., Gibbons, S., Williamson, E.M., 2004. *Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy*. Churchill Livingstone, Edinburgh.
52. Bentamène, A., Benayache, S., Crèche, J., Petit, G., Bermejo, J., Leon, F., Benayache, F., 2005. A new guaianolide and other sesquiterpene lactones from *Centaurea acaulis* L. (Asteraceae). *Biochemical Systematics and Ecology* **33**, 1061-1065.
53. Taniguchi, M., Kataoka, T., Suzuki, H., Uramoto, M., Ando, M., Arao, K., Magae, J., Nishimura, T., Otake, N., Nagai, K., 1995. Costunolide and dehydrocostus lactone as inhibitors of killing function of cytotoxic T lymphocytes. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **59**, 2064–2067.
54. Lee, H.J., Kim, N.Y., Son, H.J., Kim, K.M., Sohn, D.H., Lee, S.H., Ryu, J.H., 1999. A sesquiterpene, dehydrocostus lactone, inhibits the expression of inducible nitric oxide synthase and TNF-alpha in LPS-activated macrophages. *Planta Med.* **65**, 104– 108.
55. Hall, I.H., Lee, K.H., Mar, E.C., Starnes, C.O., Wadell, T.G., 1977. Antitumor agents. 21. A proposed mechanism for inhibition of cancer growth by tenulin and helenalin and related cyclopentenones. *J. Med. Chem.* **20**, 333– 337.
56. Bruneton, J., 1999. *Pharmacognosie: phytochimie, plantes médicinales*; Éditions Tec & Doc: Paris, France.
57. Pietta, P. G., 2000. Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products* **63**, 1035-1042.
58. Heim, K.E., Tagliaferro, A.R., Bobilya, D.J., 2002. Flavonoid antioxidants Chemistry,metabolism and structure-activity relationships. *Journal of nutritional Biochemistry* **13**, 572-584.
59. Heindrich, A.B., 2006. Flavonoid-membrane interactions: possible consequences for biological effects of some polyphenolic compounds. *Acta Pharmacologica Sinica* **27**, 27-40.
60. Sharma, B., Viswanath, G., Salunke, R., Roy, P., 2008. Effects of flavonoid-rich extract from seeds of *Eugenia jambolana* (L.) on carbohydrate and lipid metabolism in diabetic mice. *Food Chem.* **110**, 697-705.
61. Mercader, A.G., Duchowicz, P.R., Frandez, F. M., Castro, E. A., Bennardi, D.O., Autino, J.C., Romanelli, G. P., 2008. QSAR prediction of inhibition of aldose reductase for flavonoids. *Bioorgan. Med.Chem.* **16**, 7470-7476.

62. Cushine, T.P.T., Lamb, A.J., 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *Int.J.antimicrob. Ag.* **26**, 343-356.
63. Hooper, L., Kroon, P.A., Rimm, E. B., Cohn, J.S., Harvey, I., Le Cornu, K.A., Ryder, J.J., Hall, W.L., Cassidy, A., 2008. Flavonoids, flavonoid-rich foods, and cardiovascular risk: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Am.J.Clin.Nutr.* **88**, 38-50.
64. Lotito, S.B., Frei, B., 2006. Consumption of flavonoid-rich foods and increased plasma antioxidant capacity in humans: Cause, Consequence, or epiphenomenon? *Free. Radic. Biol. Med.* **41**, 1727-1746.
65. Martin, M. J., Marhuenda, E., Perez-guerrero, C., 1994. Antiulcer effect of naringin on gastric lesions induced by ethanol in rats. *Pharmacology* **49 (3)**, 144-150.
66. Shukla, S., Gupta, S., 2010. Apigenin: A Promising Molecule for Cancer Prevention . *Pharmaceutical Research* **27(6)**, 962-978.
67. Hirano, R., Sasamoto, W., Matsumoto, A., Itakura, H., Igarachi, O., Kondo, K., 2001. Antioxidant ability of various flavonoids against DPPH radicals and LDL oxidation. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **47**, 357-362.
68. Cotelle, N., 2001. Role of flavonoids in oxidative stress. *Curr. Top. Med. Chem.* **1**, 569-590.
69. Nijveldt, R.J., Van Nood, E., Van Hoorn, D. E. C., Boelens, P.G., Van Leeuwen, P. A. M., 2001. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am. J. Clin. Nutr.* **74**, 418-425.
70. Peterson, J., Dwyer, J., 1998. Flavonoids: dietary, occurrence and biochemical activity. *Nutr. Res.* **18**, 1995-2018.

*CHAPITRE II*

*PRINCIPAUX MÉTABOLITES*

*SECONDAIRES DU GENRE*

*CENTAUREA*

## Chapitre II. Principaux métabolites secondaires du genre *Centaurea*

### II. Principaux métabolites secondaires du genre *Centaurea*

Le genre *Centaurea*, tribu Cynareae, famille Asteraceae, compte environ 700 espèces de cette famille, ce dernier est très répandu aussi bien sur le territoire Algérien qu'en Europe méridionale, le bassin méditerranéen, l'ouest de l'Asie et le continent Américain [1].

Ce genre, a fait l'objet de nombreuses études phytochimiques, ces travaux ont conduit à l'isolement de produits acétyléniques [2], des alcaloïdes [3], de composé phénoliques [4-7], et de lactones sesquiterpéniques, qui sont les principaux métabolites secondaires de ces espèces à coté des flavonoïdes [7-12].

#### II.1. Les lactones sesquiterpéniques du genre *Centaurea*

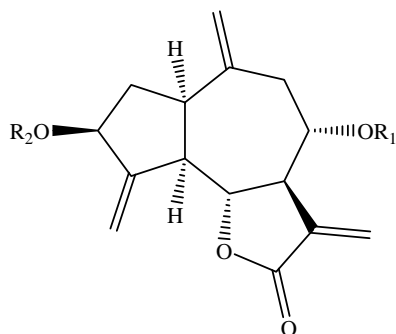
Les lactones sesquiterpéniques du genre *Centaurea* sont dans la majorité du type guaiane et germacrane [11,12-14] cependant des élémanolides et eudesmanolides [15,16] ainsi que des héliangolides y ont été isolés [17], on note également la séparation des sesquiterpènes de squelette élémene [12].

Dans la nouvelle flore d'Algérie, Quezel et Santa ont reporté et décrit 45 espèces du genre *Centaurea* sur le sol Algérien [18]. Les études bibliographiques sur le genre *Centaurea* du point de vu composition en lactones sesquiterpéniques ont montrés la prédominance du squelette des guaianolides en premier lieu, les germacranolides en deuxième lieu, puis les élémanolides et dernièrement les héliangolides et les élémanes.

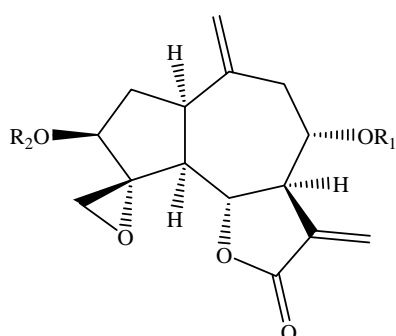
Les études précédentes [8-10], ont montrées par ailleurs que les lactones du type germacranolide les plus rencontrées sont : le salonitenolide **2**, la cnicine **7** et l'acétoxycnicine **9**.

Dans l'ensemble des mêmes études, les sesquiterpènes du type guaianolides les plus prédominantes sont : la déacylcynaropicrine **46**, l'aguérine B **47**, la cynaropicrine **49**, la répine **64**, la janérine **65**, la chlorojanérine **74**, la centaurépensine **80**, la linichlorine B, le 15-déoxyrépicrine, l'acroptiline, et la cébelline D. Avec une prédominance remarquée de la cynaropicrine dans le genre *Centaurea*.

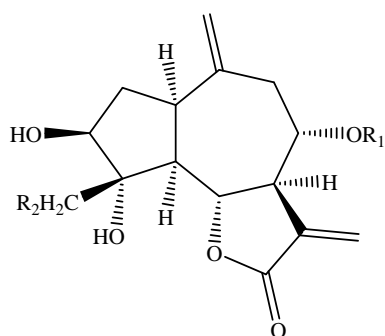




- Linichlorine B, R<sub>1</sub>= (2'-OH-4'-Cl) iBut, R<sub>2</sub> = H.
- 15-déoxyrépicrine, R<sub>1</sub>= E-Mac, R<sub>2</sub> = H.



- Acroptiline, R<sub>1</sub>= (2'-OH-4'-Cl) iBut, R<sub>2</sub>= OH.



- Cébeline D, R<sub>1</sub>= 4'-OH Tig, R<sub>2</sub>= Cl.

Pour les lactones du type élémanolide les plus fréquemment trouvées sont : la 11,13-dehydromélitensine **22**, la mélitensine **23**, et le 15-hydroxy-8 $\alpha$ -(1',2'-dihydroxy-ethyl)-acryloxy-elema-1, 3,11(13)-trien-6,12-olide **25**.

Dans ce cadre, Notre étude bibliographique sur les investigations chimiques de ce genre est complémentaire aux études précédentes, En prenant en considération les recherches réalisées durant la période allant de 2005 à 2012.

### II.1.1 Les germacranolides du genre *Centaurea*

Les lactones sesquiterpéniques du type germacranolide renferme dans leur squelette de base un cycle à dix atomes de carbones (Figure 1).

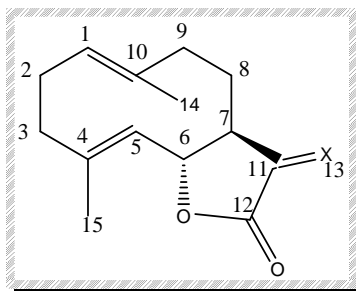


Figure 1

D'après notre étude concernant ce type de structures issues du genre *Centaurea*, la lactonisation se fait toujours en C<sub>(6)</sub>, le carbone C<sub>(8)</sub> est souvent substitué par des groupes esters ou hydroxyles de stéréochimie  $\alpha$ , à l'exception de la structure **17** où elle substituée par une fonction cétone.

La majorité de ces structures, renferme deux doubles liaisons de configurations E, E, une entre C<sub>(1)</sub> et C<sub>(10)</sub> et l'autre entre C<sub>(4)</sub> et C<sub>(5)</sub>, la première double liaison peut être remplacée par une autre exocyclique entre C<sub>(10)</sub> et C<sub>(14)</sub>, et par conséquent le carbone C<sub>(1)</sub> porte un groupe hydroxyle de stéréochimie  $\alpha$  ou  $\beta$ , ces cas sont rencontrés dans les structures **20**, **21**.

La double liaison exocyclique en C<sub>(11)</sub> peut être réduite en 11 $\alpha$ -H, 13 $\beta$ -Me **16** ou 11 $\beta$ -H, 13 $\alpha$ -Me **15**.

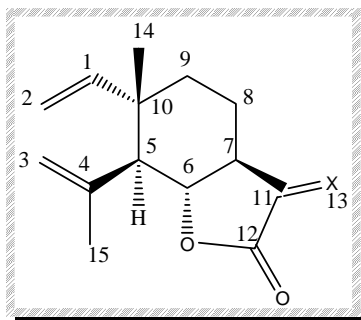
Le carbone C<sub>(4)</sub>, est souvent porte le groupement CH<sub>2</sub>OH, on peut cependant citer le cas de produit **1** où le carbone C<sub>(4)</sub> porte un méthyle.

À l'exception des composés inventoriés dans notre recherche bibliographique, le carbone C<sub>(9)</sub>, des deux germacranolides **18**, **19**; porte un hydroxyle de stéréochimie  $\beta$ . Les hydrogènes H-6 et H-7 ont toujours une stéréochimie  $\beta$  et  $\alpha$  respectivement.

Le composé **4**, un dimère (Onopordopicrine-Valine) est signalé pour la première fois comme produit naturel isolé du genre *Centaurea*.

### II.1.2. Les élémanolides du genre *Centaurea*

Les lactones sesquiterpéniques du type élémanolide ont comme squelette de base un monocycle à six atomes de carbones (Figure 2).



**Figure 2**

Les caractéristiques principales de ce squelette sont manifestées par la stéréochimie  $\alpha$  de la double liaison  $C_{(1)}-C_{(10)}$ ,  $\beta$  de la liaison  $C_{(4)}-C_{(5)}$ ,  $\alpha$  de l'hydrogène porté par le carbone  $C_{(10)}$ .

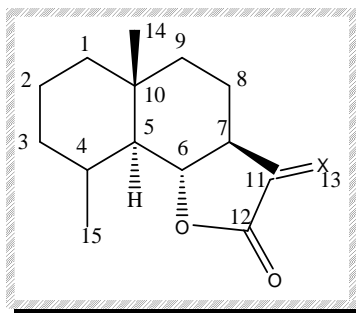
Tous les élémanolides du genre *Centaurea* contiennent une double liaison entre  $C_{(1)}$  et  $C_{(2)}$  et une autre entre  $C_{(3)}$  et  $C_{(4)}$  et en général une double liaison exocyclique en  $C_{(11)}$  qui peut être réduite en  $11\beta\text{-H}$ ,  $13\alpha\text{-Me}$  dans les composés 23, 24.

Le carbone  $C_{(4)}$  porte le groupement  $\text{CH}_2\text{OH}$  excepté dans les composés 27, 29 où il porte le groupement fonctionnel  $\text{CHO}$ , ou le groupe acétate respectivement, la lactonisation se fait en  $C_{(6)}$ , et le carbone  $C_{(8)}$  porte des groupes d'esters ou hydroxyles avec une stéréochimie  $\alpha$  dans tous les cas rencontrés dans notre recherche bibliographique.

Dans le cas de composé 28, le  $\beta$ -Méthyle en  $C_{(10)}$ , est remplacé par le groupement  $\text{CH}_2\text{OH}$ , en conservant la même stéréochimie.

### II.1.3. Les eudesmanolides du genre *Centaurea*

Les eudesmanolides sont communément dérivées d'un squelette de base de deux cycles hexagonaux (Figure 3), ils se distinguent par la stéréochimie  $\alpha$  de l'hydrogène H-5 et par la stéréochimie  $\beta$  du méthyle porté par le carbone  $C_{(10)}$ . Ce méthyle est caractérisé dans la RMN- $^1\text{H}$  par un déplacement chimique inférieur à 1ppm [8].



**Figure 3**

La majorité des eudesmanolides du genre *Centaurea* décrits dans le cadre de ce travail, ont leur groupe lactonique fermé en C<sub>(6)</sub>. À l'exception des trois composés (**43** – **45**) où l'absence de ce dernier est remarquée.

Comme dans les structures précédentes le carbone C<sub>(8)</sub> des eudesmanolides porte des groupes esters ou hydroxyles de stéréochimie  $\alpha$ . Excepté dans les composés (**41** - **45**).

En se basant sur les structures d'eudesmanolides décrites d'après cette étude, dix groupements en position C<sub>(8)</sub> ont été mis en évidence, il s'agit d'un hydroxyle (**33**, **37**, **38**) et de cinq esters de structures différentes (**30** – **32**, **34** – **36**, **39** – **40**).

La double liaison exocyclique en C<sub>(11)</sub> peut être réduite en 11 $\beta$ -H, 13 $\alpha$ -Me (**37** – **40**), le carbone C<sub>(4)</sub> peut porter différents groupements fonctionnels ( $\alpha$  (OH),  $\alpha$ (CHO),  $\beta$ (CHO)...) comme dans la majorité des composés étudiés, ou une double liaison ( $\Delta^{3,4}$  ou  $\Delta^{4,15}$ ) cas illustré dans les structures (**41** – **43**).

La substitution par un  $\beta$  hydroxyle en C<sub>(1)</sub>, est presque signalée dans tout les eudesmanolides. Concernant la stéréochimie des hydrogènes H-6 et H-7, elle est toujours  $\beta$  et  $\alpha$  respectivement.

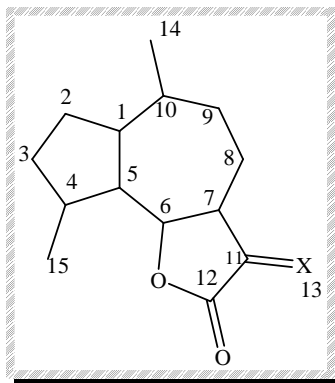
En RMN<sup>1</sup>-H l'hydrogène H-6 donne un signal souvent sous forme d'un triplet [19]. Cela est considéré comme une particularité des eudesmanolides.

On note qu'en 2007, deux eudesmanes glucosylés en C<sub>(3)</sub> (**43**, **44**) ont été isolés de *Centaurea hierapolitana* pour la première fois [15].

#### II.1.4. Les guaïanolides du genre *Centaurea*

Les lactones du type guaïanolide ont comme squelette de base un cycle pentagonal et un autre heptagonal (Figure 4), celles isolées du genre *Centaurea*, sont caractérisées par la stéréochimie  $\alpha$  des protons H-1, H-5 et H-7 et la stéréochimie  $\beta$

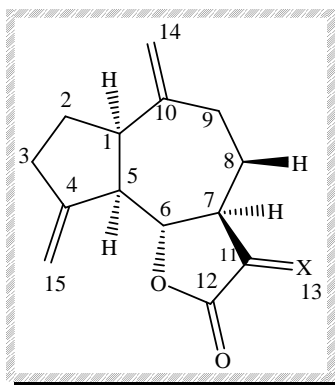
des protons H-6 et H-8 dans le cas d'une substitution en C<sub>(8)</sub> et une fermeture du cycle lactonique en C<sub>(6)</sub>.



**Figure 4**

En se basant sur l'analyse structurale déjà formulé des guaianolides du genre *Centaurea* [8], on peut conserver la même répartition en cinq catégories :

Dans **la catégorie I**, Nous sommes intéressé aux guaianolides qui ont dans leurs structures ; deux doubles liaisons exocycliques C<sub>(4)</sub>-C<sub>(15)</sub> et C<sub>(10)</sub>-C<sub>(14)</sub> (Figure 5) à l'exception du composé **54**, où la double liaison en C<sub>(4)</sub>-C<sub>(15)</sub> porte des groupements 4-OH et 15-OAc, et du composé **62** où le carbone C<sub>(10)</sub> porte un 10 $\beta$ -OH et un 10 $\alpha$ -CH<sub>2</sub>Cl.



**Figure 5**

Notre étude donne dix sept molécules où la différence se repose sur :

La substitution sur C<sub>(3)</sub> qui peut être  $\beta$ -OH ou  $\beta$ -OAc, cas des structures (**46** – **52**, **54** – **62**).

La substitution en C<sub>(11)</sub> qui peut être, un  $\alpha$  ou  $\beta$ - méthyle **58**, **59**; 11 $\alpha$ -OH, 13 $\beta$ -CH<sub>2</sub>OH, 11 $\alpha$ -OH, 13 $\beta$ -CH<sub>2</sub>OAc, ces deux dernières substitutions sont présentes dans les lactones **60**, **61**.

La substitution en  $C_{(8)}$  est la plus rencontrée soit des hydroxyles (**46**, **48**, **53**, **55**), soit des groupements esters diversifiés (**47**, **49** – **52**, **54**), à l'exception des composées (**56** – **62**).

La **catégorie II** rassemble huit lactones (**63** – **70**), dont la particularité rencontrée dans leurs structures est la présence d'une fonction époxyde en  $C_{(4)}$  de stéréochimie  $\beta$ - $C_{(15)}$ , en plus de la double liaison exocyclique en  $C_{(11)}$ , et le  $\beta$ -OH en  $C_{(3)}$  (Figure 6).

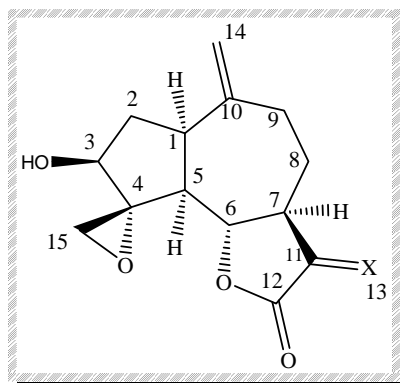


Figure 6

La différence structurale de ces composés réside dans les substitutions en  $C_{(8)}$  par des esters diversifiés, et en  $C_{(3)}$  qui peut être porté un groupement acétate **68**.

La **catégorie III** : les treize lactones incluses dans cette catégorie ont toute une substitution  $\alpha$ -OH,  $\beta$ - $CH_2R$  en  $C_{(4)}$  ou R varie d'une structure à l'autre (R= Cl, OH, OAc, OOH) cas des structures (**72** – **83**) excepté du composé **71**. Ces guaianolides ont comme squelette de base celui sur la figure 7 :

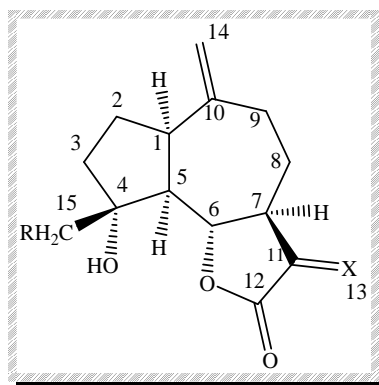


Figure 7

Les molécules relatives à ce groupe se distinguent par la présence d'un  $\beta$ -OH en position  $C_{(3)}$ , à l'exception du produit **82**, une double liaison exocyclique en  $C_{(11)}$ , un  $C_{(8)}$  diversement substitué.

La catégorie IV, la caractéristique principale des quatre lactones de ce groupe ; est la présence d'une fonction oxo en C<sub>(3)</sub> et  $\alpha$ -Me en C<sub>(4)</sub> excepté de composé **87**. Le squelette de base de ces composés est donné dans la figure 8 :

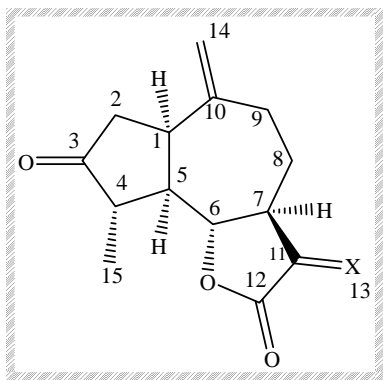


Figure 8

Ces structures se distinguent par la substitution en C<sub>(11)</sub> qui peut être 13 $\beta$ -Me, 11 $\alpha$ -H **87**, 13 $\beta$ -CH<sub>2</sub>OH, 11 $\alpha$ -OH **84**, 11  $\alpha$ -OH et 13  $\beta$ -CH<sub>2</sub>OAc **85**. Le carbone C<sub>(8)</sub>, peut être substitué par un  $\alpha$ -OH comme dans la lactone **86**.

La catégorie V, est représentée par la structure du cynaratriol **88**, elle se distingue par la présence d'un  $\alpha$ -Me en C<sub>(4)</sub> et d'un  $\beta$ -OH en C<sub>(3)</sub>. Le squelette de base de cette dernière est donné dans la figure 9 :

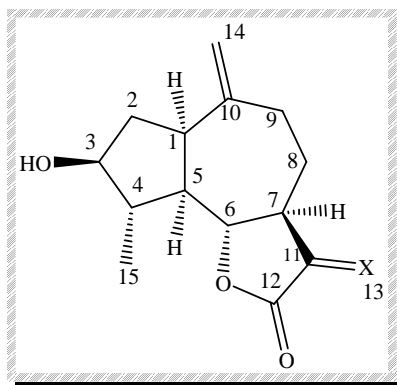
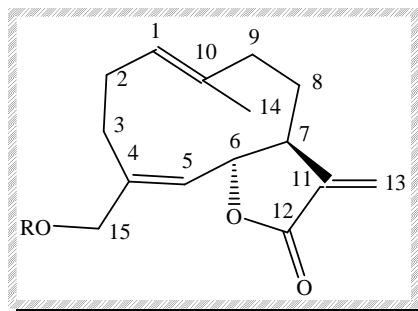


Figure 9

Le carbone C<sub>(11)</sub> du cynaratriol porte à la place de la double liaison exocyclique un  $\alpha$ -OH et un  $\beta$ -CH<sub>2</sub>OH.

### II.1.5. Les héliangolides du genre *Centaurea*

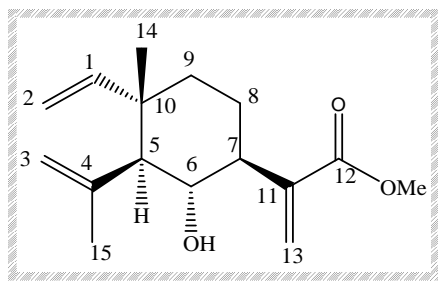
Les héliangolides montrent une grande similarité structurale avec celle des germacranolides ; avec une double liaison de configuration (E) entre C<sub>(1)</sub> et C<sub>(10)</sub> et l'autre (Z) entre C<sub>(4)</sub> et C<sub>(5)</sub> (Figure 10).

**Figure 10**

Les deux structures reportées dans notre recherche sont fermées en  $C_{(6)}$ , présentent une stéréochimie  $\beta$  H-6,  $\alpha$  H-7,  $\beta$  H-8, une double liaison exocyclique en  $C_{(11)}$ , deux double liaisons, une entre  $C_{(4)}$ - $C_{(5)}$ , et l'autre entre  $C_{(1)}$  et  $C_{(10)}$ , le carbone  $C_{(4)}$  peut porter le groupement fonctionnel CHO, cas du composé **89** ou le substituant  $CH_2OAc$  comme dans le composé **90**. Ces deux héliangolides sont substituées en  $C_{(8)}$ , par la même chaîne latérale.

### II.1.6. Les élémanes du genre *Centaurea*

Les élémanes comme l'indique le nom, ont le même squelette de base des élémanolides cependant l'absence du caractère lactonique est signalée (Figure 11).

**Figure 11**

L'ossature principale est caractérisée par la stéréochimie  $\beta$  de la chaîne de l'ester méthylique en  $C_{(7)}$ ,  $\alpha$  de l'hydroxyle porté par le carbone  $C_{(6)}$ .

L'elemarcarmanine **91**, est la structure la plus fréquente dans le genre *Centaurea*.



**Tableau 1 : Groupes d'esters existant en C<sub>(8)</sub> dans les lactones sesquiterpéniques du genre *Centaurea***

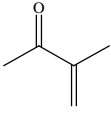
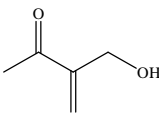
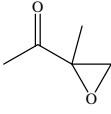
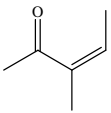
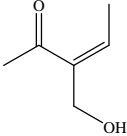
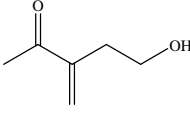
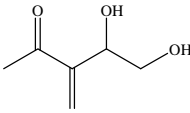
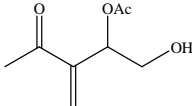
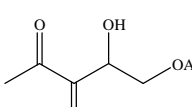
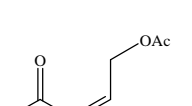
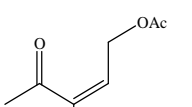
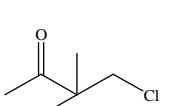
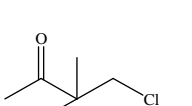
Structure de la chaîne	Nomenclature
	Méthacrylate = (Mac)
	4'-hydroxyméthacrylate= (4'-OH Mac) ou 3'-hydroxy-2-methylene-propanoate
	Epoxy-méthacrylate= (E-Mac)
	Angelate= (Ang) ou Tiglate
	5'-hydroxyangelate= (5'-OH Ang) ou 5'-hydroxytiglate
	1'-hydroxyethylacrylate= (1'-OH-Et ) Acr ou 4'-hydroxy-2' methylenebutanoate
	1',2'-dihydroxyethylacrylate= (1',2'-OH-Et) Acr ou 3',4'-dihydroxy-2' methylenebutanoate

Tableau 1 (Suite)

Structure de la chaîne	Nomenclature
	<p>2'-acetoxy-1' hydroxyethylacrylate =            (2'-OAc-1'-OH-Et) Acr            ou 3'-acetoxy-4'-hydroxy-2' methylenebutanoate</p>
	<p>1'-acetoxy-2'-hydroxyethylacrylate = (1'-OAc-2'-OH)Acr            ou 4'-acetoxy-3-hydroxy-2'-methylenebutanoate</p>
	<p>4'-acetoxytiglate= (4'-OAc) Tig</p>
	<p>4'-acetoxy-5'-hydroxytiglate= (4'-OAc-5'-OH)Tig            ou 4'-acétyl-2-hydroxymethylbuten-2-oate</p>
	<p>2'-hydroxy-4'-chloroisobutyrate= (2'-OH-4'-Cl)iBut</p>
	<p>2'-acetoxy-4'chloroisobutyrate= (2'OAc-4'-Cl)iBut</p>

**Tableau 2 : les lactones sesquiterpéniques isolées du genre *Centaurea*  
(2005-2012)**

<b>Espèces</b>	<b>Origines</b>	<b>Structures</b>	<b>Références</b>
1. <i>Centaurea acaulis</i> L.	Mila (Algérie)	<b>1, 41, 42, 48, 57, 62</b>	[11]
2. <i>Centaurea affinis</i> Friv.	(Serbie)	<b>7</b>	[20]
3. <i>Centaurea ainetensis</i>	(Liban)	<b>55</b>	[21]
4. <i>Centaurea arenaria</i> Bieb.ex Willd	(Serbie)	<b>7</b>	[20]
5. <i>Centaurea aspera</i> L. sub sp. <i>aspera</i>	Bunol-Valence (Espagne)	<b>3, 4, 11, 12, 17, 18, 19, 91, 92</b>	[12]
6. <i>Centaurea aspera</i> L. subsp. <i>stenophylla</i>	El Saler-Valence (Espagne)	<b>2, 3, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 18, 19</b>	[12]
7. <i>Centaurea aspera</i> L. subsp. <i>stenophylla</i>	Sollana-Valence (Espagne)	<b>2, 7, 9, 10, 11</b>	[12]
8. <i>Centaurea babylonica</i> L.	Vallée de Nahr-el- kelb (Liban)	<b>64, 65, 66, 69, 75, 77</b>	[22]
9. <i>Centaurea bella</i> Trauv.	(Pologne)	<b>16, 64</b>	[23]
10. <i>Centaurea</i> <i>calcitrapa</i> L.	(Algérie)	<b>7</b>	[24]
11. <i>Centaurea</i> <i>crocodylum</i> L.	(Pologne)	<b>2, 7</b>	[23]
12. <i>Centaurea cuneifolia</i> Sm.	(Serbie)	<b>7</b>	[20]
13. <i>Centaurea deflexa</i> Wagenitz	Konya-Taskent (Turquie)	<b>47, 49, 87</b>	[25]

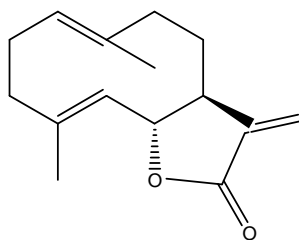
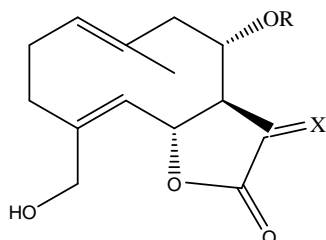
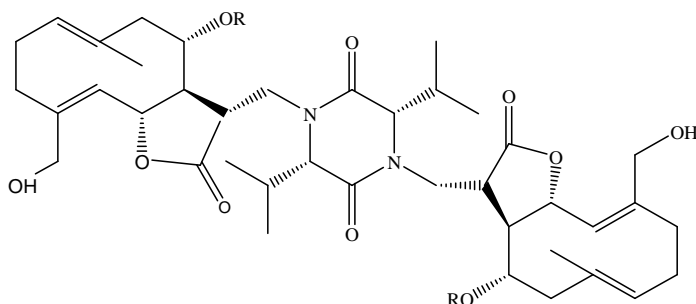
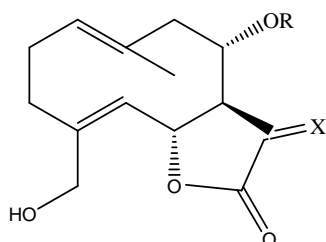
Tableau 2 (Suite)

<b>Espèces</b>	<b>Origines</b>	<b>Structures</b>	<b>Références</b>
14. <i>Centaurea depressa</i> M. Bieb.	Ankara (Turquie)	<b>60, 61</b>	[26]
15. <i>Centaurea glaberima</i> Tausch.	(Montenegro)	<b>7</b>	[21]
16. <i>Centaurea grisebachii</i> ssp. <i>Grisebachii</i> (Nyman) Heldr.	Macedonia (Grèce)	<b>2, 7, 11, 22, 25, 30, 31, 33, 34, 36</b>	[27]
17. <i>Centaurea haloleuca</i> Boiss.	(Italie)	<b>49, 64, 65, 69, 75, 78, 79, 82</b>	[28,29]
18. <i>Centaurea helenioides</i> Boiss.	Maçka-Trabzon (Turquie)	<b>49,86</b>	[30]
19. <i>Centaurea hierapolitana</i> Boiss.	Sarakoy-Bababag (Turquie)	<b>28, 29, 43, 44</b>	[15]
20. <i>Centaurea jacea</i> L.	Budörs (Hongrie)	<b>7, 9</b>	[31]
21. <i>Centaurea lippii</i> L.	(Algérie)	<b>7</b>	[32]
22. <i>Centaurea lusitanica</i> Boiss. Et Reuter	(Pologne)	<b>18</b>	[23]
23. <i>Centaurea maculosa</i> L.	Albany (USA)	<b>7</b>	[33]
24. <i>Centaurea marocanna</i> Ball.	Sahara (Algérie)	<b>7, 22, 25, 26, 35</b>	[6,10]
25. <i>Centaurea moesiaca</i> Urum.& J. Wagner	Razdol (Bulgarie)	<b>3, 6, 7, 8, 9, 11, 20, 21, 25, 30, 31</b>	[34]

Tableau 2 (Suite)

Espèces	Origines	Structures	Références
26. <i>Centaurea musimomum</i> Maire, Bull.	Souk-Ahras (Algérie)	<b>47, 49, 50, 63, 65, 68, 73, 74, 80, 81, 84, 85, 88</b>	[8, 13,35]
27. <i>Centaurea napifolia</i> L.		<b>3, 7</b>	[36]
28. <i>Centaurea nicaeensis</i> All.var walliana Maire	(Algérie)	<b>23</b>	[37]
29. <i>Centaurea pamphylica</i> Boiss.& Heldr.	Anatolia (Turquie)	<b>45</b>	[38]
30. <i>Centaurea pannonica</i> (Heuffel) Simonkai	Šumadija (Serbie)	<b>51, 52, 53, 54, 65, 67, 69, 71, 72, 76, 83</b>	[39-41]
31. <i>Centaurea parviflora</i> Desf.	(Algérie)	<b>7</b>	[42]
32. <i>Centaurea</i> <i>ptosimopappa</i> L.	Anatolia (Turquie)	<b>46, 49, 56, 57, 58, 59, 65, 74, 84</b>	[14]
33. <i>Centaurea pullata</i> L.	Blida (Algérie)	<b>12, 13, 14, 15, 23, 24, 37, 38, 39, 40</b>	[16,43]
34. <i>Centaurea salonitana</i> Vis.	(Serbie)	<b>7</b>	[21]
35. <i>Centaurea soltitalis</i> L.subsp. <i>soltitalis</i> (CSS)	Ankara (Turquie)	<b>60, 61</b>	[26]
36. <i>Centaurea stoebe</i> L.	(Serbie)	<b>7</b>	[21]
37. <i>Centaurea splendens</i> L.	(Serbie)	<b>7</b>	[21]
38. <i>Centaurea spinosa</i> L.	(Grèce)	<b>7, 9, 11, 25, 27, 30, 31, 32, 36, 93</b>	[44]
39. <i>Centaurea tougourensis</i> Boiss ;& Reut	Batna (Algérie)	<b>7, 25, 89, 90</b>	[17]

## Structures des lactones sesquiterpéniques (1) à (93)

**1** Costunolide**2** Salonitenolide ; R= H, X= CH<sub>2</sub>**3** Onopordopicrine ; R= 4'-OH Mac, X=CH<sub>2</sub>**4** Onopordopicrine-Valine ; R= 4'-OH Mac**5** 8 $\alpha$ -O-(angeloyl)-salonitenolide ; R= Ang, X= CH<sub>2</sub>**6** 8 $\alpha$ -O-(5'-hydroxyangeloyl)-salonitenolide ; R= 5'-OH Ang, X= CH<sub>2</sub>**7** Cnicine ; R= (1',2'-OH-Et) Acr, X= CH<sub>2</sub>**8** 3'-acetylcnicine ; R= (2'-OAc-1'-OH-Et) Acr, X= CH<sub>2</sub>**9** 4'-acetylcnicine ; R= (1'-OAc-2'-OH-Et) Acr, X= CH<sub>2</sub>**10** 8 $\alpha$ -O-(4'-acetoxyangeloyl)-salonitenolide ; R= (4'-OAc) Tig, X= CH<sub>2</sub>**11** 8 $\alpha$ -O-(4'-acetoxy-5'-hydroxyangeloyl)-salonitenolide ;R= (4'-OAc-5'-OH) Tig, X= CH<sub>2</sub>

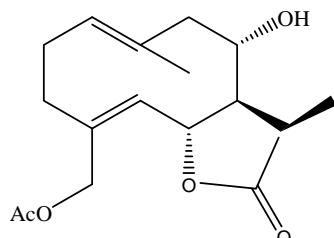
**12** 11 $\beta$ , 13-dihydrosalonitenolide ; R= H, X=  $\beta$ -H,  $\alpha$ -Me

**13** 11 $\beta$ , 13-dihydro-19-desoxycnicine ; R= (1'-OH-Et) Acr, X=  $\beta$ -H,  $\alpha$ -Me

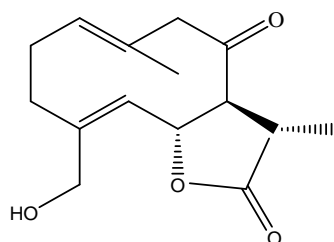
**14** 11 $\beta$ , 13-dihydrocnicine ; R= (1',2'-OH-Et) Acr, X=  $\beta$ -H,  $\alpha$ -Me

**15** 8 $\alpha$ -O-(4'-acetoxy-5'-hydroxyangeloyl)- 11 $\beta$ , 13-dihydrocnicine,

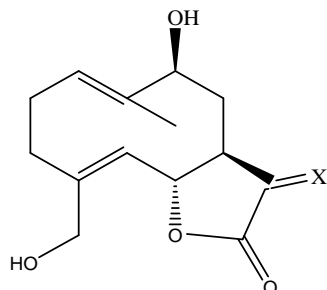
R= (4'-OAc-5'-OH) Tig, X=  $\beta$ -H,  $\alpha$ -Me



**16** Cébélline M

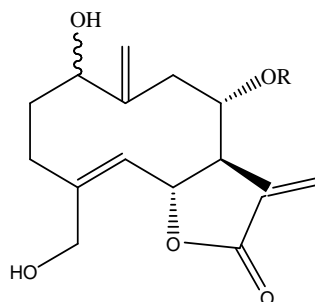


**17** 8-Oxo-15-hydroxygermacra-1(10), E, 4Z-dien-11 $\beta$ H-12,6 $\alpha$ -olide



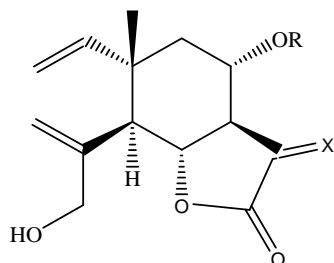
**18** Sténophylloide ; X= CH<sub>2</sub>

**19** Dihydrosténophylloide ; X=  $\beta$ -H,  $\alpha$ -Me



**20** 1 $\beta$ ,15-Dihydroxy-8 $\alpha$ -(3,4-dihydroxy-2-methylenebutanoyloxy)-4E, 10(14), 11(13) germacatrien-12, 6 $\alpha$ -olide ; R= (1',2'-OH-Et) Acr,  $\beta$ -OH

**21** 1 $\alpha$ ,15-Dihydroxy-8 $\alpha$ -(3,4-dihydroxy-2-methylenebutanoyloxy)-4E,10(14), 11(13)-germacatrien-12, 6 $\alpha$ -olide ; R= (1',2'-OH-Et) Acr,  $\alpha$ -OH



**22** 11 $\beta$ , 13-dehydromélitensine ; R=H, X= CH<sub>2</sub>

**23** Mélitensine ; R= H, X=  $\beta$ -H,  $\alpha$ -Me

**24** 8 $\alpha$ -O-(4-hydroxy-2-methylenebutanoyloxy) mélitensine ;

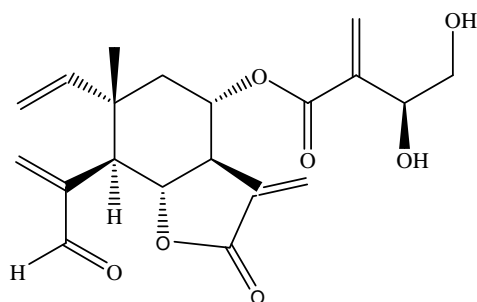
R= (1'-OH-Et) Acr, X=  $\beta$ -H,  $\alpha$ -Me

**25** 8 $\alpha$ -O-(3,4-dihydroxy-2-methylene-butanoxy)-dehydromélitensine ;

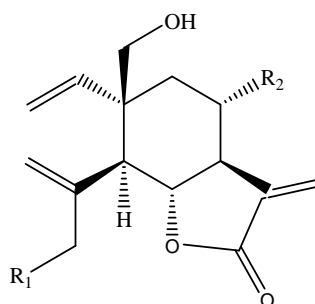
R= (1',2'-OH-Et) Acr, X= CH<sub>2</sub>

**26** 8 $\alpha$ -O-(2'-hydroxymethyl-2'-butenoxy) dehydromélitensine ;

R= 5'-OH Ang, X= CH<sub>2</sub>



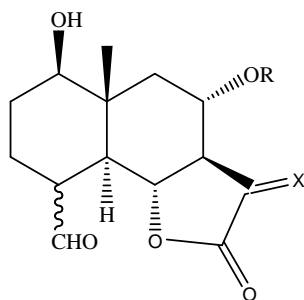
**27** 8 $\alpha$ -O-(3, 4-dihydroxy-2-methylenebutanoyloxy)-15-oxo-5, 7 $\alpha$ H, 6 $\beta$ H-eleman-1, 3, 11(13)-trien-6, 12-olide



**28** Hierapolitanine A; R<sub>1</sub>= OH, R<sub>2</sub>= Mac



**29** Hierapolitanine B;  $R_1 = \text{OCOCH}_3$ ,  $R_2 = 4' \text{-OH Mac}$



**30** Malacitanolide ;  $R = (1', 2' \text{-OH-Et}) \text{ Acr}$ ,  $X = \text{CH}_2$ ,  $\beta\text{-CHO}$

**31**  $8\alpha - O - (3\text{-hydroxy-4-acetoxy-2-methylenebutanoyloxy})\text{-4-epi-sonchucarpolide}$  ;  
 $R = (1' \text{-OAc-2' -OH-Et}) \text{ Acr}$ ,  $X = \text{CH}_2$ ,  $\beta\text{-CHO}$

**32**  $8\alpha\text{-O-(4-acetoxy-2-hydroxymethylbuten-2-oyloxy)-4-epi-sonchucarpolide}$  ;  
 $R = (4' \text{-OAc-5' -OH}) \text{ Tig}$  ,  $X = \text{CH}_2$ ,  $\beta\text{-CHO}$

**33**  $8\alpha\text{-hydroxy-4-epi-sonchucarpolide}$  ;  $R = \text{H}$ ,  $X = \text{CH}_2$ ,  $\beta\text{-CHO}$

**34**  $8\alpha\text{-O-(3-hydroxy-4-acetoxy-2-methylenebutanoyloxy)-sonchucarpolide}$  ;  
 $R = (1' \text{-OAc-2' -OH-Et}) \text{ Acr}$ ,  $X = \text{CH}_2$ ,  $\alpha\text{-CHO}$

**35**  $8\alpha\text{-O-(2'-hydroxymethyl-2'-butenoyloxy) sonchucarpolide}$  ;  
 $R = 5' \text{-OH Ang}$ ,  $X = \text{CH}_2$

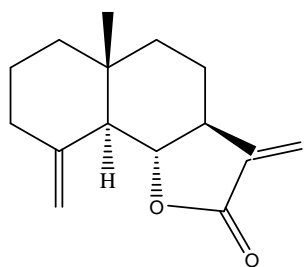
**36** 4-epi-malacitanolide ;  $R = (1', 2' \text{-OH-Et}) \text{ Acr}$ ,  $X = \text{CH}_2$ ,  $\alpha\text{-CHO}$

**37**  $8\alpha\text{-hydroxy-11}\beta$ , 13-dihydro-4-epi-sonchucarpolide ;  
 $R = \text{H}$ ,  $X = \beta\text{-H}$ ,  $\alpha\text{-Me}$ ,  $\beta\text{-CHO}$

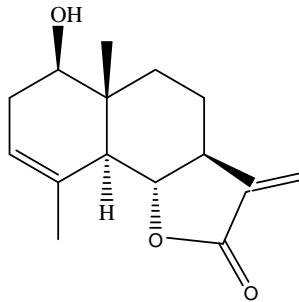
**38**  $8\alpha\text{-hydroxy-11}\beta$ , 13-dihydro-onopordaldehyde ;  $R = \text{H}$ ,  $X = \beta\text{-H}$ ,  $\alpha\text{-Me}$ ,  $\alpha\text{-CHO}$

**39**  $8\alpha\text{-O-(4-hydroxy-2-methylenebutanoyloxy)-11}\beta$ , 13-dihydro-4-epi-sonchucarpolide ;  $R = (1' \text{-OH-Et}) \text{ Acr}$ ,  $X = \beta\text{-H}$ ,  $\alpha\text{-Me}$ ,  $\beta\text{-CHO}$

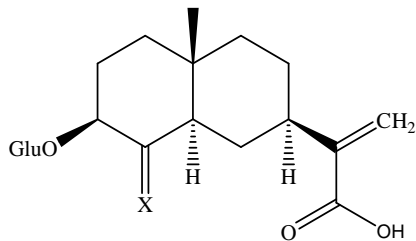
**40**  $8\alpha\text{-O-(4-hydroxy-2-methylenebutanoyloxy)-11}\beta$ , 13-dihydro-sonchucarpolide ;  
 $R = (1' \text{-OH-Et}) \text{ Acr}$ ,  $X = \beta\text{-H}$ ,  $\alpha\text{-Me}$ ,  $\alpha\text{-CHO}$



**41**  $\beta$ -cyclocostunolide

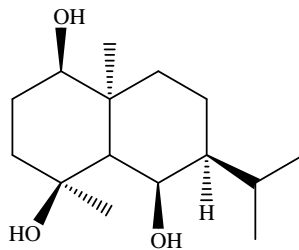


**42** Santamarine

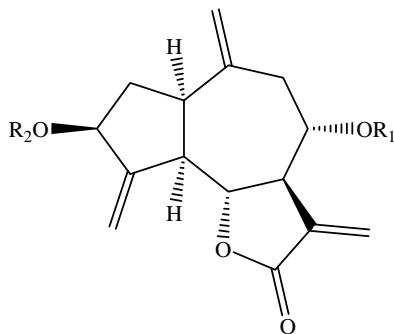


**43** Hierapolitanine C; X= CH<sub>2</sub>

**44** Hierapolitanine D; X=  $\beta$ -OH,  $\alpha$ -Me



**45** Pterodontriol



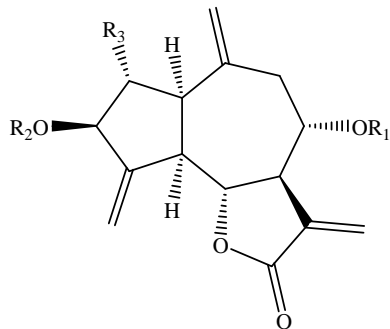
**46** Deacylcyanaropicrine ; R<sub>1</sub>= R<sub>2</sub>= H

**47** Aguérine B ; R<sub>1</sub>= Mac, R<sub>2</sub>= H

**48** Kandavanolide ; R<sub>1</sub>= H, R<sub>2</sub>= COCH<sub>3</sub>

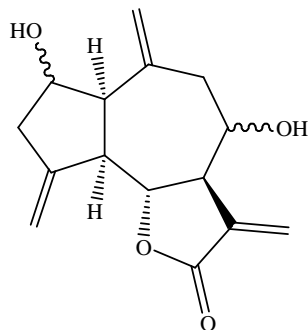
**49** Cynaropicrine;  $R_1 = 4'\text{-OH Mac}$ ,  $R_2 = \text{H}$

**50** Linichlorine B diacétate;  $R_1 = (2'\text{OAc-}4'\text{-Cl}) \text{iBut}$ ,  $R_2 = \text{COCH}_3$

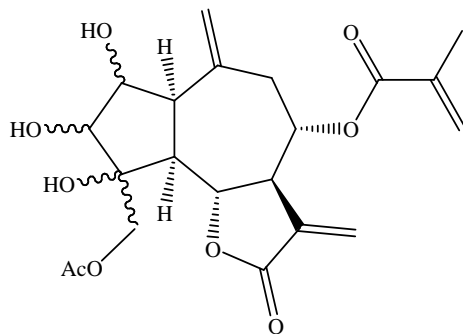


**51** Répdiolide ;  $R_1 = \text{Mac}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{OH}$

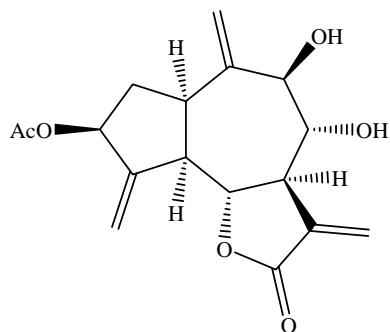
**52** Chlororépdiolide ;  $R_1 = \text{Mac}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{Cl}$



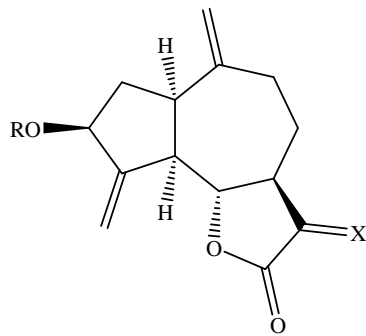
**53** (3aR, 6aR, 9aR, 9bR)-decahydro-4, 7-dihydroxy-3, 6, 9-triméthylèneazuleno-[4, 5-b] furan-2(2bH)-one



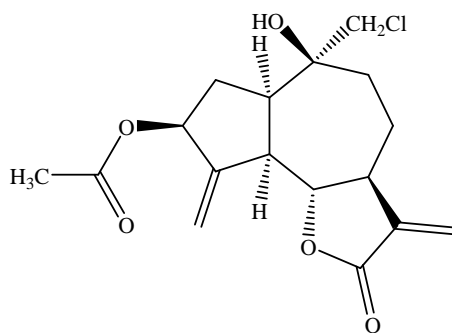
**54**



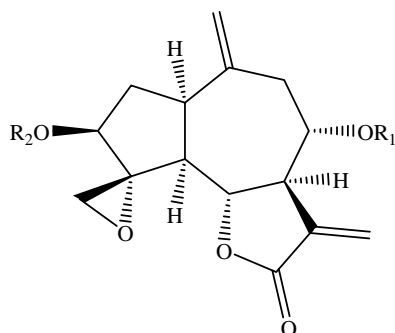
**55** Salograviolide A



- 56** Zaluzaline C; R= H, X= CH<sub>2</sub>  
**57** Zaluzaline D; R= COCH<sub>3</sub>, X= CH<sub>2</sub>  
**58** 11 $\alpha$ , 13-dihydro-deacylcynaropicrine; R= H, X=  $\alpha$ -H,  $\beta$ -Me  
**59** 11 $\beta$ , 13-dihydro-deacylcynaropicrine; R= H, X=  $\beta$ -H,  $\alpha$ -Me  
**60** Solstitialine A; R= H, X=  $\alpha$ -OH,  $\beta$ -CH<sub>2</sub>OH  
**61** 13-Acetylsolstitialine; R= H, X=  $\alpha$ -OH,  $\beta$ -CH<sub>2</sub>OCOCH<sub>3</sub>



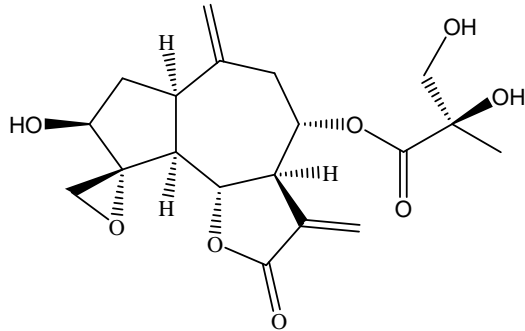
- 62** 14-chloro-10 $\beta$ -hydroxy-10(14)-dihydrozaluzanine D



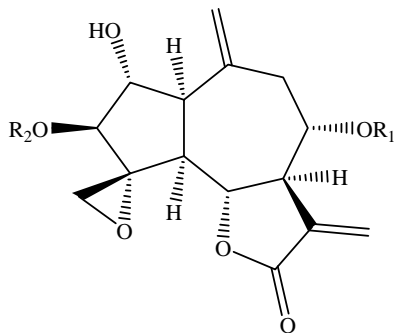
- 63** 17, 18-désoxyrépine; R<sub>1</sub>= Mac, R<sub>2</sub> =H  
**64** Répine; R<sub>1</sub>= E-Mac, R<sub>2</sub>= H  
**65** Janérine ; R<sub>1</sub>= 4'-OH Mac, R<sub>2</sub> =H  
**66** Chlorohyssopifoline ; R<sub>1</sub>= S-(2'-OH-4'-Cl) iBut, R<sub>2</sub>= OH

**67** Chlorohyssopifoline C ;  $R_1 = (2'-OH-4'-Cl) iBut$ ,  $R_2 = OH$

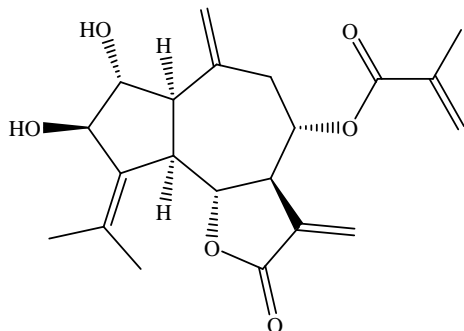
**68** Répine monoacétate ;  $R_1 = E-Mac$ ,  $R_2 = COCH_3$



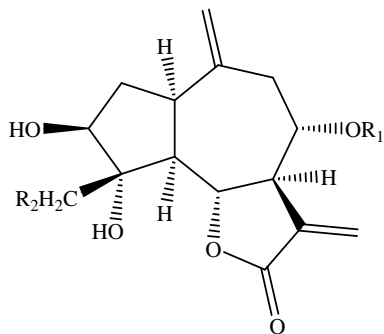
**69** Babyline A



**70** Epoxyrépiolide ;  $R_1 = Mac$ ,  $R_2 = H$



**71** (3aR, 4S, 6aR, 7R, 8R, 9aR, 9bR)- dodecahydro-7, 8-dihydroxy-3, 6-diméthylène-2-oxo-9-(propan-2-ylidene) azuleno [4,5-b] furan-4-ylmethacrylate



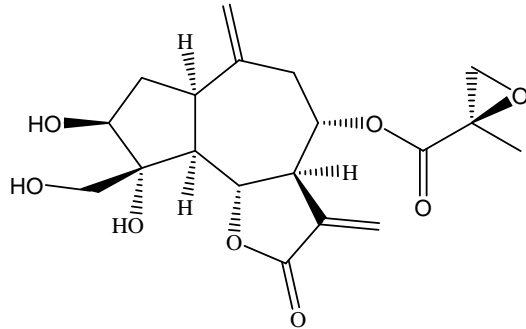
**72** 19-désoxyjanérine ;  $R_1 = Mac$ ,  $R_2 = OH$

**73** 19-désoxy-15-Chlorojanérine ;  $R_1 = \text{Mac}$ ,  $R_2 = \text{Cl}$

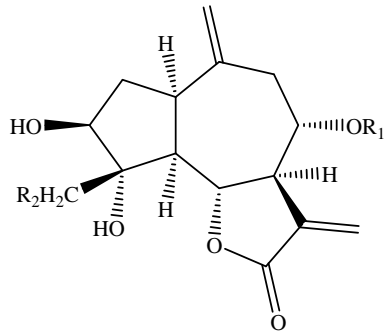
**74** Chlorojanérine ;  $R_1 = 4' \text{-OH Mac}$ ,  $R_2 = \text{Cl}$

**75** Cébéline J ;  $R_1 = (2' \text{-}\beta\text{-OH-4' -Cl}) \text{iBut}$ ,  $R_2 = \text{OH}$

**76** Rhaposerpine ;  $R_1 = (2' \text{-}\beta\text{-OH-4' -Cl}) \text{iBut}$ ,  $R_2 = \text{OCOCH}_3$



**77** Babyline B

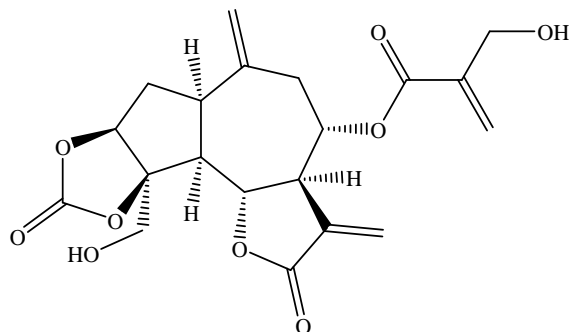


**78** Cébéline G;  $R_1 = 4' \text{OH Mac}$ ,  $R_2 = \text{OCOCH}_3$

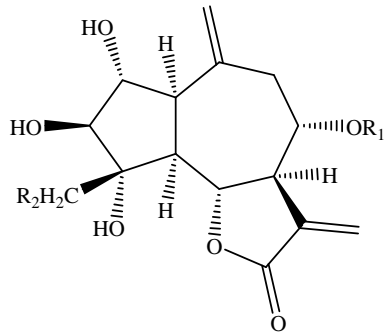
**79** 15-déschloro-15-hydroperoxychlorojanérine;  $R_1 = 4' \text{-OH Mac}$ ,  $R_2 = \text{OOH}$

**80** Centaurepensine ;  $R_1 = \text{S-(2' -OH-4' -Cl) iBut}$ ,  $R_2 = \text{Cl}$

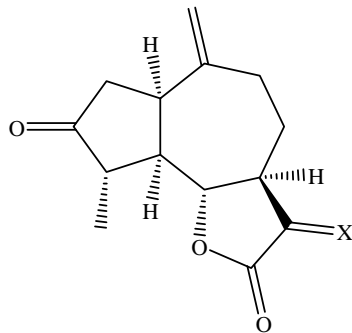
**81** Epicentaurepensine;  $R_1 = \text{R-(2' -OH-4' -Cl) iBut}$ ,  $R_2 = \text{Cl}$



**82** Haloleucine

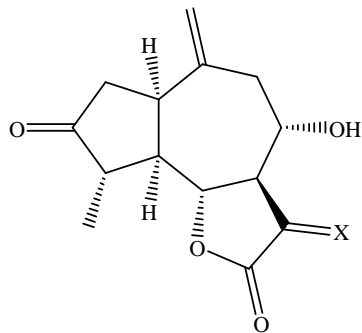


**83** Cébéline E ; R<sub>1</sub>= Mac, R<sub>2</sub>= Cl

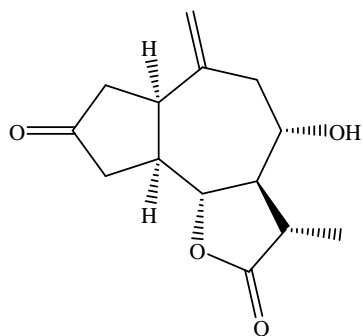


**84** 4 $\beta$ , 15-dihydro-3-dehydrosolstitialine A; X=  $\alpha$ -OH,  $\beta$ -CH<sub>2</sub>OH

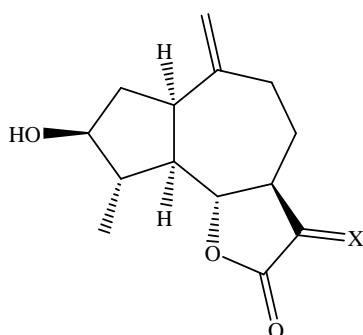
**85** 4 $\beta$ , 15-dihydro-3-dehydrosolstitialine A monoacétate; X=  $\alpha$ -OH,  $\beta$ -CH<sub>2</sub>OCOCH<sub>3</sub>



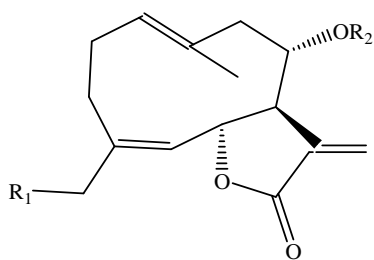
**86** Grosheimine, X= CH<sub>2</sub>



**87** (3S, 3aR, 4S, 6aR, 6aS, 9bR)-4-hydroxy-3-methyl-6-methyleneoctahydroazulen  
[4, 5-b] furan-2, 8(3H, 9bH)-dione



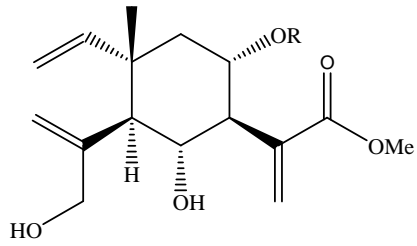
**88** Cynaratriol; X=  $\alpha$ -OH,  $\beta$ -CH<sub>2</sub>OH



**89** (6R, 7R, 8S, 3'R) 8 $\alpha$ -(3, 4-dihydroxy-2-methylene-butanoyloxy)-15-oxo-helianga  
1(10), 4(5), 11(13) trien-6-olide; R<sub>1</sub>=CHO, R<sub>2</sub>= (1', 2'-OH-Et) Acr

**90** (6R, 7R, 8S, 3'R) 8 $\alpha$ -(3, 4-dihydroxy-2-methylene-butanoyloxy)-15-acetoxy-  
helianga 1(10), 4(5), 11(13) trien-6-olide;  
R<sub>1</sub>= CH<sub>2</sub>OCOCH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub>= (1', 2'-OH-Et) Acr





**91** Elemarcarmanine; R= 4'-OH Mac

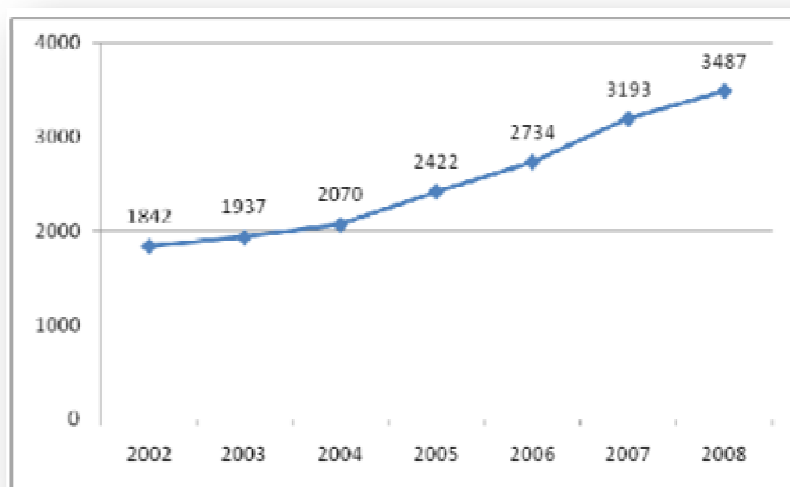
**92** Methyl 8 $\alpha$ -(Z-2-hydroxymethyl-4-acetoxybut-2-enoyloxy)-6 $\alpha$ ,15-dihydroxyelema-1, 3, 11(13)-trien-12-oate; R= (4'-OAc-5'-OH) Tig

**93** Methyl 8 $\alpha$ -O-(3, 4-dihydroxy-2-methylenebutanoyloxy)-6 $\alpha$ , 15-dihydroxyelema-1, 3, 11(13)-trien-12-oate; R= (1', 2'-OH-Et) Acr

## II.2. Les flavonoïdes du genre *Centaurea*

Avec plus de 8000 structures phénoliques connues, les polyphénols constituent l'une des plus grandes familles des métabolites secondaires largement répandue dans la nature [45,46].

Durant ces dernières années les polyphénols fonctionnels attirent l'attention de beaucoup de chercheurs (biologistes, chimistes, pharmaciens...), notamment pour leurs potentialités thérapeutiques, l'importance croissante de ces composés est mentionnée dans la figure 12 [47] :



**Figure 12** : Evolution du nombre des publications citant le mot clé « polyphénols » (Scopus, Juin 2009)

Les flavonoïdes font partie de la classe des polyphénols, ces derniers occupent un rôle central dans la recherche chimique et pharmaceutique, durant des années et jusqu'à présent, en effet, plus de 2000 publications annuelles contenant « flavonoïdes » comme mot clé [48,49].

Les espèces du genre *Centaurea*, ont fait l'objet d'études phytochimiques diverses qui ont montré leur richesse en flavonoïdes [4-7,10, 42], dont la majorité est de type flavone. Les recherches bibliographiques précédentes [10,50], sont en faveur d'une prédominance remarquable de l'apigénine **94**, l'hispiduline **123** et la jaceosidine **136** comme flavones dans ce genre.

Concernant les flavonols ; les plus accumulés sont la quercétine **156**, suivie par le kaempférol **139** et la centaureidine **105**. Ces études ont montrées que les

flavonoïdes-*O*-glycosylés sont les plus abondants par rapport aux *C*-glycosylés qui sont rares dans les espèces de genre *Centaurea*

Notons qu'un apport élevé en flavonoïdes glucosylés est signalé dans ce genre.

Tableau 3 : Les flavonoïdes isolés du genre *Centaurea* (2005-2012)

Espèces	Origines	Structures	Références
1. <i>Centaurea acaulis</i> L.	Mila (Algérie)	<b>119, 123, 167</b>	[6]
2. <i>Centaurea africana</i> Lamk var. <i>africana</i>	El-Kala (Algérie)	<b>98, 99, 105, 106, 107, 110, 116, 123, 135, 147, 164, 165, 172</b>	[7,50-52]
3. <i>Centaurea calcitrapa</i> L.	(Algérie)	<b>94, 113, 120, 121, 123, 135</b>	[24]
4. <i>Centaurea deflexa</i> Wagenitz	Konya-Taskent (Turquie)	<b>96, 111, 132, 133, 138, 144, 159, 166, 170</b>	[25]
5. <i>Centaurea dimorpha</i> Viv.	(Algérie)	<b>94, 123</b>	[53]
6. <i>Centaurea ensiformis</i> P.H. Davis	Montagne de Sandras-Anatolia (Turquie)	<b>101, 112, 159</b>	[54]
7. <i>Centaurea furfuracea</i> Coss. Et Kral	(Algérie)	<b>128, 130</b>	[4]
8. <i>Centaurea gigantea</i> Boiss.		<b>113, 129, 131, 149</b>	[55]
9. <i>Centaurea grisebachii</i> ssp. Grisebachii (Nyman) Heldr.	Macedonia (Grèce)	<b>114, 121, 136, 158, 163</b>	[27]
10. <i>Centaurea hierapolitana</i> Boiss.	Sarakoy-Bababag, Denizli (Turquie)	<b>123, 136, 141, 159</b>	[15]

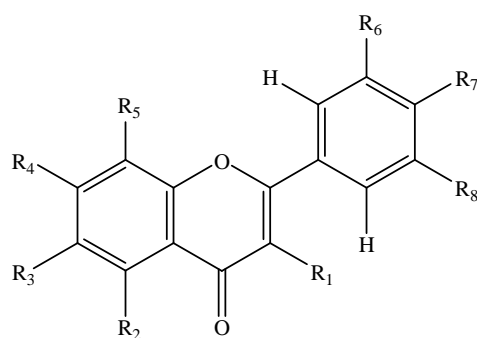
Tableau 3 (Suite)

<b>Espèces</b>	<b>Origines</b>	<b>Structures</b>	<b>Références</b>
11. <i>Centaurea jacea</i> L.	Budörs (Hongrie)	<b>94, 102, 105, 113, 121, 123, 127, 140</b>	[31]
12. <i>Centaurea lippii</i> L.	(Algérie)	<b>134, 140</b>	[32]
13. <i>Centaurea marocanna</i> Ball.	Nord du Sahara (Algérie)	<b>94, 97, 115, 123, 127, 171</b>	[6,56]
14. <i>Centaurea moesiaca</i> Urum.& J. Wagner	Razdol (Bulgarie)	<b>94, 102, 105, 117, 123, 127, 135, 140, 153</b>	[34]
15. <i>Centaurea montana</i> L.	Paguignan, 34210 Olonzac (France)	<b>145</b>	[3]
16. <i>Centaurea microcarpa</i> Coss. et Durieu	(Algérie)	<b>123, 142, 147, 150, 168, 169.</b>	[57]
17. <i>Centaurea nicaeensis</i> All.var walliana Maire	(Algérie)	<b>94, 97, 100, 136, 173</b>	[35,50]
18. <i>Centaurea omphalotricha</i> Coss. & Durieu ex Batt. & Trab	Oued Biskra (Algérie)	<b>109, 148, 156, 160, 162</b>	[58]
19. <i>Centaurea parviflora</i> Desf.	(Algérie)	<b>122, 140, 163, 174</b>	[42,59]
20. <i>Centaurea pullata</i> L.	(Algérie)	<b>114, 136</b>	[60]

Tableau 3 (Suite)

<b>Espèces</b>	<b>Origines</b>	<b>Structures</b>	<b>Références</b>
21. <i>Centaurea ruthenica</i> Lam.	Sary-Tash (Kirghistan)	<b>102, 103, 104, 136, 137, 150, 151, 152, 154, 155, 157, 168, 169</b>	[61]
22. <i>Centaurea sphaerocephala</i> L.	(Algérie)	<b>94, 95, 110, 111, 143, 147</b>	[62-64]
23. <i>Centaurea sulphurea</i> Willd.	(Algérie)	<b>114, 120, 136, 147, 161</b>	[65]
24. <i>Centaurea tougourensis</i> Boiss. & Reut	Batna (Algérie)	<b>94, 120, 136, 139, 147, 161</b>	[66]
25. <i>Centaurea urvillei</i> DC. Subsp. <i>urvillei</i>	Bornova-IZMIR (Turquie)	<b>94, 97, 98, 118, 124, 125, 126, 139, 143, 146</b>	[67]

## Structures des flavonoïdes (94) à (174)



**94** Apigénine ;  $R_1 = R_3 = R_5 = R_6 = R_8 = H$ ,  $R_2 = R_4 = R_7 = OH$ .

**95** 3'-méthoxyapigénine ;  $R_1 = R_3 = R_5 = R_8 = H$ ,  $R_2 = R_4 = R_7 = OH$ ,  $R_6 = OMe$ .

**96** Apigénine-6-C- $\beta$ -glucopyranosyl-8-C- $\beta$ -apiofuranoside ;

$R_3 = C\text{-Glu}$ ,  $R_5 = C\text{-Apiofuranoside}$ ,  $R_1 = R_6 = R_8 = H$ ,  $R_2 = R_4 = R_7 = OH$ .

**97** Apigénine-7-O- $\beta$ -D-methylglucopyranoside ;

$R_1 = R_3 = R_5 = R_6 = R_8 = H$ ,  $R_2 = R_7 = OH$ ,  $R_4 = O\text{-Methyl-Glu}$ .

**98** Apigénine-7-O- $\beta$ -D-glucopyranoside ;

$R_1 = R_3 = R_5 = R_6 = R_8 = H$ ,  $R_2 = R_7 = OH$ ,  $R_4 = O\text{-Glu}$ .

**99** 5-méthoxyapigénine-7-O- $\beta$ -D-glucopyranoside ;

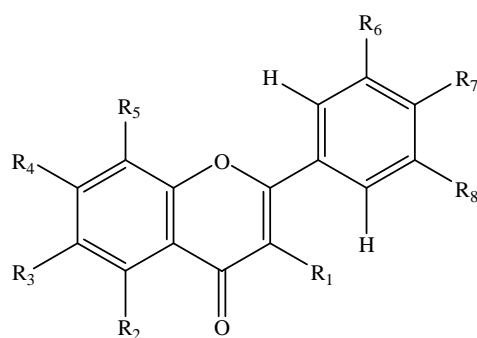
$R_1 = R_3 = R_5 = R_6 = R_8 = H$ ,  $R_2 = OMe$ ,  $R_7 = OH$ ,  $R_4 = O\text{-Glu}$ .

**100** Apigénine-4'-(6''-methylglucopyranoside) ;

$R_1 = R_3 = R_5 = R_6 = R_8 = H$ ,  $R_2 = R_4 = OH$ ,  $R_7 = O\text{-Methyl-Glu}$ .

**101** Apigénine-6, 8-di-C-glucoside (Vicénine 2) ;

$R_3 = C\text{-Glu}$ ,  $R_5 = C\text{-Glu}$ ,  $R_1 = R_6 = R_8 = H$ ,  $R_2 = R_4 = R_7 = OH$ .



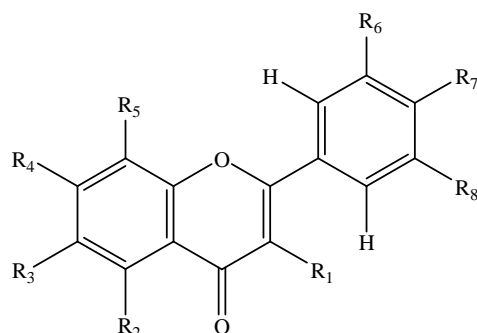
**102** Axillarine;  $R_1 = R_3 = OMe$ ,  $R_5 = R_6 = H$ ,  $R_2 = R_4 = R_7 = R_8 = OH$ .

**103** Axillarine-7-O-glucoside;

$R_1 = R_3 = OMe$ ,  $R_5 = R_6 = H$ ,  $R_2 = R_7 = R_8 = OH$ ,  $R_4 = O\text{-Glu}$ .

**104** Axillarine-7-*O*-galactoside;

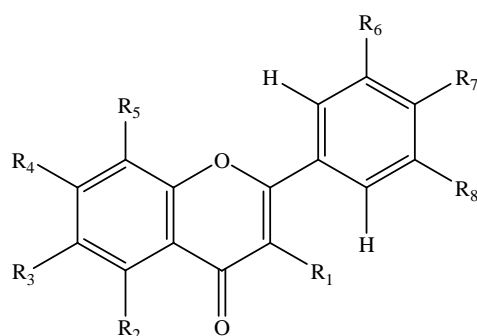
$R_1 = R_3 = \text{OMe}$ ,  $R_5 = R_6 = \text{H}$ ,  $R_2 = R_7 = R_8 = \text{OH}$ ,  $R_4 = \text{O-Gal}$ .

**105** Centaureidine;  $R_1 = R_3 = R_7 = \text{OMe}$ ,  $R_5 = R_6 = \text{H}$ ,  $R_2 = R_4 = R_8 = \text{OH}$ .**106** Centaureidine-7-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside;

$R_1 = R_3 = R_7 = \text{OMe}$ ,  $R_5 = R_6 = \text{H}$ ,  $R_2 = R_8 = \text{OH}$ ,  $R_4 = \text{O-Glu}$ .

**107** Centaureidine-7-(6''-sinapyl-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside) (Algérianine) ;

$R_1 = R_3 = R_7 = \text{OMe}$ ,  $R_5 = R_6 = \text{H}$ ,  $R_2 = R_8 = \text{OH}$ ,  $R_4 = \text{O-Sinapyl-Glu}$ .

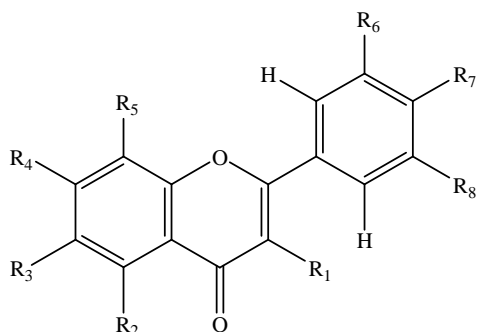
**108** Centaureine ;  $R_1 = R_3 = R_7 = \text{OMe}$ ,  $R_5 = R_8 = \text{H}$ ,  $R_2 = R_6 = \text{OH}$ ,  $R_4 = \text{O-Glu}$ .**109** Chrysrine;  $R_1 = R_3 = R_5 = R_6 = R_7 = R_8 = \text{H}$ ,  $R_2 = R_4 = \text{OH}$ **110** Chrysoeriol;  $R_1 = R_3 = R_5 = R_8 = \text{H}$ ,  $R_2 = R_4 = R_7 = \text{OH}$ ,  $R_6 = \text{OMe}$ .**111** Chrysoeriol-7-*O*- $\beta$ -glucoside;

$R_1 = R_3 = R_5 = R_8 = \text{H}$ ,  $R_2 = R_7 = \text{OH}$ ,  $R_6 = \text{OMe}$ ,  $R_4 = \text{O-Glu}$

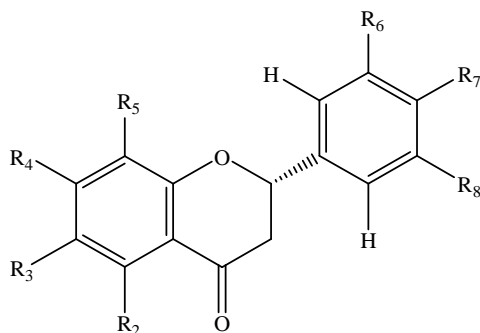
**112** Chrysoeriol-7-*O*-rutinoside;

$R_1 = R_3 = R_5 = R_8 = \text{H}$ ,  $R_2 = R_7 = \text{OH}$ ,  $R_6 = \text{OMe}$ ,  $R_4 = \text{O-Rut}$ .

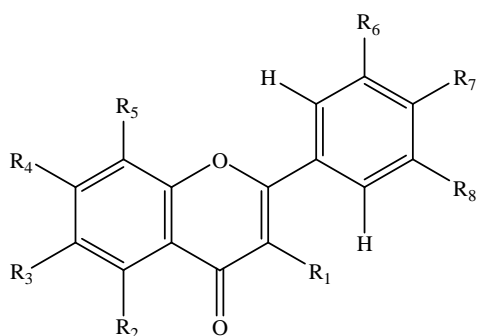




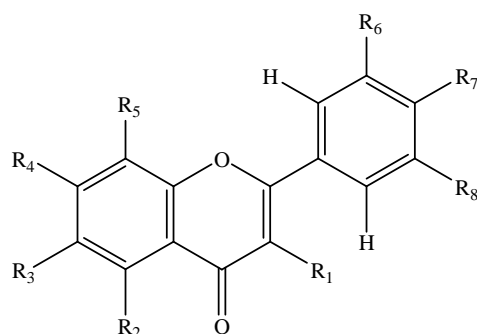
- 113** Cirsiliol;  $R_1 = R_5 = R_8 = H$ ,  $R_2 = R_6 = R_7 = OH$ ,  $R_3 = R_4 = OMe$ .  
**114** Cirsilineol;  $R_1 = R_5 = R_8 = H$ ,  $R_2 = R_7 = OH$ ,  $R_3 = R_4 = R_6 = OMe$ .  
**115** Cirsimaritine;  $R_1 = R_5 = R_6 = R_8 = H$ ,  $R_2 = R_7 = OH$ ,  $R_3 = R_4 = OMe$ .  
**116** Corniculatusine;  $R_1 = R_2 = R_4 = R_6 = R_7 = OH$ ,  $R_3 = R_8 = H$ ,  $R_5 = OMe$ .  
**117** Desmethoxycentaureidine;  $R_1 = R_5 = R_8 = H$ ,  $R_2 = R_4 = R_6 = OH$ ,  $R_3 = R_7 = OMe$ .



- 118** Eriodictyol-7-*O*- $\beta$ -D-gluconopyranoside;  
 $R_2 = R_7 = R_8 = OH$ ,  $R_3 = R_5 = R_6 = H$ ,  $R_4 = O$ - Gluc.



- 119** Ermarine;  $R_1 = R_7 = OMe$ ,  $R_3 = R_5 = R_6 = R_8 = H$ ,  $R_2 = R_4 = OH$ .  
**120** Eupatorine;  $R_1 = R_5 = R_6 = H$ ,  $R_2 = R_8 = OH$ ,  $R_3 = R_4 = R_7 = OMe$ .  
**121** Eupatiline;  $R_1 = R_5 = R_8 = H$ ,  $R_2 = R_4 = OH$ ,  $R_3 = R_6 = R_7 = OMe$ .  
**122** Genkwanine;  $R_1 = R_3 = R_6 = R_8 = H$ ,  $R_2 = R_7 = OH$ ,  $R_4 = OMe$ .



**123** Hispiduline;  $R_1 = R_5 = R_6 = R_8 = H$ ,  $R_2 = R_4 = R_7 = OH$ ,  $R_3 = OMe$ .

**124** Hispiduline-7-*O*- $\beta$ -D-glucuronopyranoside;

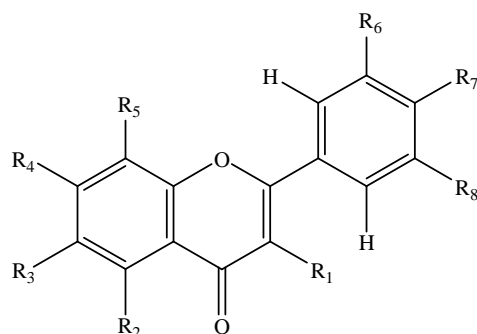
$R_1 = R_5 = R_6 = R_8 = H$ ,  $R_2 = R_7 = OH$ ,  $R_3 = OMe$ ,  $R_4 = O$ -Gluc.

**125** Hispiduline-7-*O*- $\beta$ -D-methylglucuronopyranoside;

$R_1 = R_5 = R_6 = R_8 = H$ ,  $R_2 = R_7 = OH$ ,  $R_3 = OMe$ ,  $R_4 = O$ -Methyl-Gluc

**126** Hispiduline-7-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside;

$R_1 = R_5 = R_6 = R_8 = H$ ,  $R_2 = R_7 = OH$ ,  $R_3 = OMe$ ,  $R_4 = O$ -Glu.



**127** Isokaemferide;  $R_1 = OMe$ ,  $R_3 = R_5 = R_6 = R_8 = H$ ,  $R_2 = R_4 = R_7 = OH$ .

**128** Isokaemferide-7-*O*-methylglucuronide;

$R_1 = OMe$ ,  $R_3 = R_5 = R_6 = R_8 = H$ ,  $R_2 = R_7 = OH$ ,  $R_4 = O$ -Methyl-Gluc.

**129** Isoorientine-2''-(4'''-hydroxybenzoate);

$R_1 = R_5 = R_8 = H$ ,  $R_2 = R_4 = R_6 = R_7 = OH$ ,  $R_3 = C$ -2''-(4'''-hydroxybenzoate)-Glu

**130** Isokaemferide-7-*O*-glucuronide;

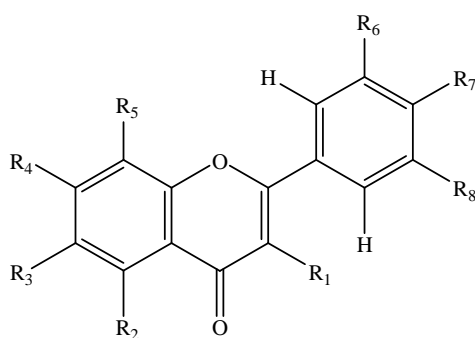
$R_1 = OMe$ ,  $R_3 = R_5 = R_6 = R_8 = H$ ,  $R_2 = R_7 = OH$ ,  $R_4 = O$ -Gluc.

**131** Isoorientine;  $R_1 = R_5 = R_8 = H$ ,  $R_2 = R_4 = R_6 = R_7 = OH$ ,  $R_3 = C$ -Glu

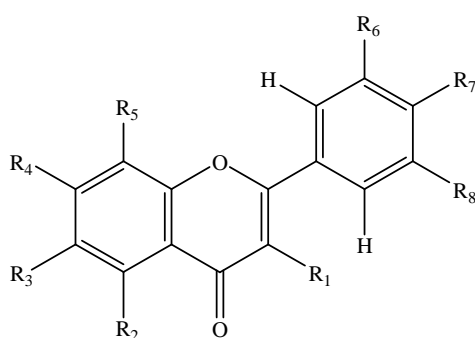
**132** Isorhamnetine;  $R_1 = R_2 = R_4 = R_7 = OH$ ,  $R_3 = R_5 = R_8 = H$ ,  $R_6 = OMe$ .

**133** Isoshaftoside;  $R_1 = R_6 = R_8 = H$ ,  $R_2 = R_4 = R_7 = OH$ ,  $R_3 = C$ -Arab,  $R_5 = C$ -Glu.

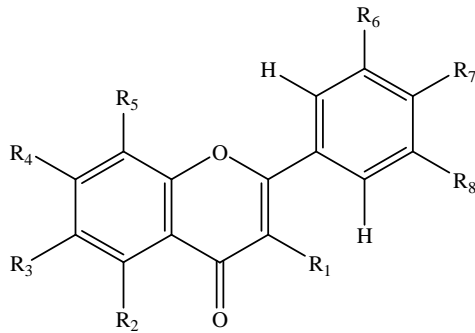
**134** Isovitexine;  $R_1 = R_5 = R_6 = R_8 = H$ ,  $R_2 = R_4 = R_7 = OH$ ,  $R_3 = C$ -Glu.



- 135** Jaceidine;  $R_1 = R_3 = R_6 = \text{OMe}$ ,  $R_2 = R_4 = R_7 = \text{OH}$ ,  $R_5 = R_8 = \text{H}$ .
- 136** Jaceosidine;  $R_1 = R_5 = R_8 = \text{H}$ ,  $R_3 = R_6 = \text{OMe}$ ,  $R_2 = R_4 = R_7 = \text{OH}$ .
- 137** Jaceosidine-7-*O*-glucoside;  
 $R_1 = R_5 = R_8 = \text{H}$ ,  $R_3 = R_6 = \text{OMe}$ ,  $R_2 = R_7 = \text{OH}$ ,  $R_4 = \text{Glu}$ .
- 138** Kaempferide;  $R_1 = R_2 = R_4 = \text{OH}$ ,  $R_3 = R_5 = R_6 = R_8 = \text{H}$ ,  $R_7 = \text{OMe}$ .



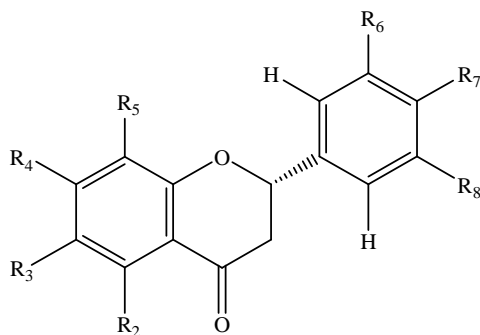
- 139** Kaempférol;  $R_1 = R_2 = R_4 = R_7 = \text{OH}$ ,  $R_3 = R_5 = R_6 = R_8 = \text{H}$ .
- 140** Kaempférol-3-*O*-rutinoside;  
 $R_1 = \text{O-Rut}$ ,  $R_2 = R_4 = R_7 = \text{OH}$ ,  $R_3 = R_5 = R_6 = R_8 = \text{H}$ .
- 141** Kaempferol-3, 6-dimethylether;  
 $R_1 = R_3 = \text{OMe}$ ,  $R_2 = R_4 = R_7 = \text{OH}$ ,  $R_5 = R_6 = R_8 = \text{H}$ .
- 142** Kaempferol-7-*O*-glucoside;  
 $R_1 = R_2 = R_7 = \text{OH}$ ,  $R_3 = R_5 = R_6 = R_8 = \text{H}$ ,  $R_4 = \text{O-Glu}$ .



**143** Lutéoline;  $R_1 = R_3 = R_5 = R_8 = H$ ,  $R_2 = R_4 = R_6 = R_7 = OH$ .

**144** Luteoline-4'-*O*- $\beta$ -glucopyranoside;

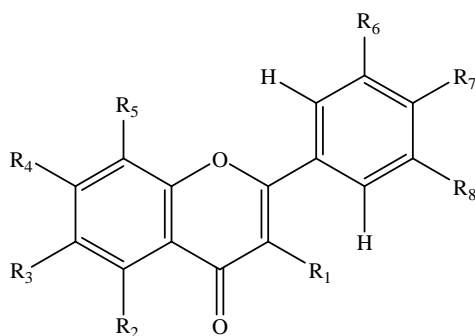
$R_1 = R_3 = R_5 = R_8 = H$ ,  $R_2 = R_4 = R_6 = OH$ ,  $R_7 = O\text{-Glu}$ .



**145** Montanoside;  $R_2 = R_7 = OH$ ,  $R_3 = R_5 = R_6 = R_8 = H$ ,  $R_4 = O\text{-Apiose-Gluc}$ .

**146** Naringenine-7-*O*- $\beta$ -D-glucuronopyranoside;

$R_2 = R_7 = OH$ ,  $R_3 = R_5 = R_6 = R_8 = H$ ,  $R_4 = O\text{-Gluc}$ .



**147** Nepetine;  $R_1 = R_5 = R_8 = H$ ,  $R_3 = OMe$ ,  $R_2 = R_4 = R_6 = R_7 = OH$ .

**148** Oroxyline A;  $R_1 = R_5 = R_6 = R_7 = R_8 = H$ ,  $R_3 = OMe$ ,  $R_2 = R_4 = OH$ .

**149** Orientine;  $R_1 = R_3 = R_8 = H$ ,  $R_2 = R_4 = R_6 = R_7 = OH$ ,  $R_5 = C\text{-Glu}$ .

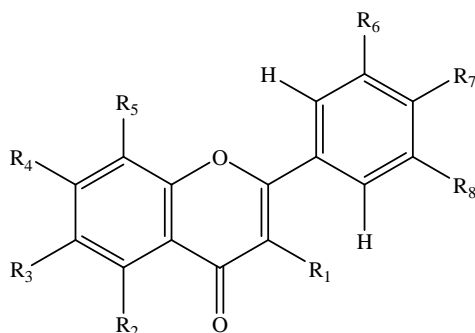
**150** Patuletine;  $R_1 = R_2 = R_4 = R_6 = R_7 = \text{OH}$ ,  $R_3 = \text{OMe}$ ,  $R_5 = R_8 = \text{H}$ .

**151** Patuletine-7-*O*-glucoside;

$R_1 = R_2 = R_6 = R_7 = \text{OH}$ ,  $R_3 = \text{OMe}$ ,  $R_5 = R_8 = \text{H}$ ,  $R_4 = \text{O-Glu}$ .

**152** Patuletine -3, 7-di-*O*-glucoside;

$R_1 = R_4 = \text{O-Glu}$ ,  $R_2 = R_6 = R_7 = \text{OH}$ ,  $R_3 = \text{OMe}$ ,  $R_5 = R_8 = \text{H}$ .



**153** Pectolarigenine ;  $R_1 = R_5 = R_6 = R_8 = \text{H}$ ,  $R_3 = R_7 = \text{OMe}$ ,  $R_2 = R_4 = \text{OH}$ .

**154** Quercetagine ;  $R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = R_6 = R_7 = \text{OH}$ ,  $R_5 = R_8 = \text{H}$ .

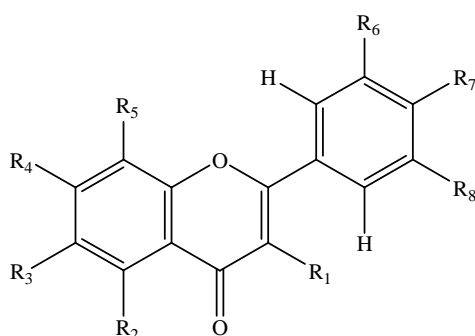
**155** Quercetagine-7-*O*-glucoside ;

$R_1 = R_2 = R_3 = R_6 = R_7 = \text{OH}$ ,  $R_4 = \text{O-Glu}$ ,  $R_5 = R_8 = \text{H}$ .

**156** Quercétine ;  $R_1 = R_2 = R_4 = R_6 = R_7 = \text{OH}$ ,  $R_3 = R_5 = R_8 = \text{H}$ .

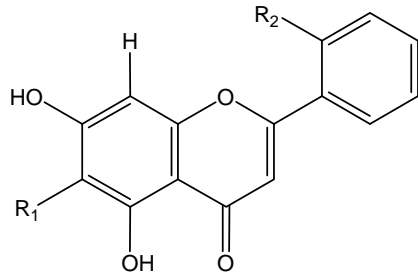
**157** Quercétine-3-*O*-glucoside ;

$R_1 = \text{O-Glu}$ ,  $R_2 = R_4 = R_6 = R_7 = \text{OH}$ ,  $R_3 = R_5 = R_8 = \text{H}$ .

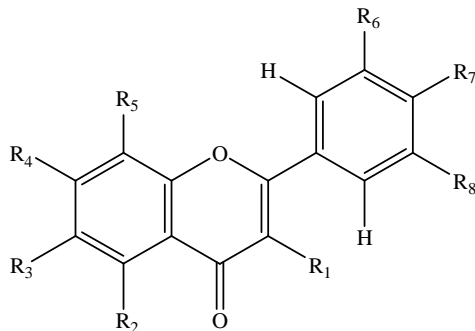


**158** Salvigenine;  $R_1 = R_5 = R_6 = R_8 = \text{H}$ ,  $R_3 = R_4 = R_7 = \text{OMe}$ ,  $R_2 = \text{OH}$ .

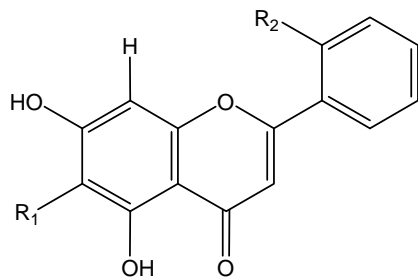
**159** Shaftoside;  $R_1 = R_6 = R_8 = \text{H}$ ,  $R_2 = R_4 = R_7 = \text{OH}$ ,  $R_3 = R_5 = \text{C-Glu}$ .



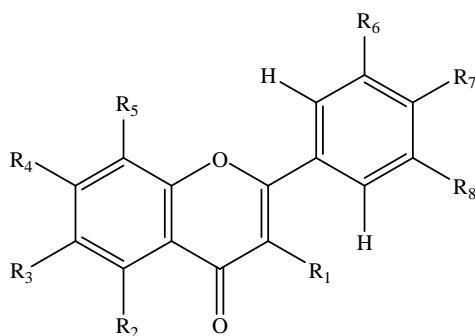
**160** Tenaxine II; R<sub>1</sub>= OMe, R<sub>2</sub>= OH.



**161** 3'-O-méthyleupatorine; R<sub>1</sub>= R<sub>5</sub>= H, R<sub>2</sub>= R<sub>8</sub>= OH, R<sub>3</sub>= R<sub>4</sub>= R<sub>6</sub>= R<sub>7</sub>= OMe.



**162** 5, 7, 2'-trihydroxyflavone; R<sub>1</sub>= H, R<sub>2</sub>= OH.



**163** 5-hydroxy-6, 7, 3', 4'-tetramethoxy flavone;

R<sub>1</sub>= R<sub>5</sub>= R<sub>8</sub>= H, R<sub>2</sub>= OH, R<sub>3</sub>= R<sub>4</sub>= R<sub>6</sub>= R<sub>7</sub>= OMe.

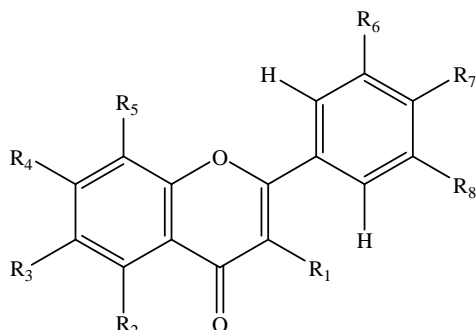
**164** 5, 7, 8-trihydroxy-3'-rhamnosylflavone;

R<sub>1</sub>= R<sub>3</sub>= R<sub>7</sub>= R<sub>8</sub>= H, R<sub>2</sub>= R<sub>4</sub>= R<sub>5</sub>= OH, R<sub>6</sub>= O-Rha.

**165** 4'-methylgossypetine;  $R_1 = R_2 = R_4 = R_5 = R_6 = \text{OH}$ ,  $R_3 = R_8 = \text{H}$ ,  $R_7 = \text{OMe}$ .

**166** 7, 3', 4'-trimethoxyquercetine;

$R_1 = R_2 = \text{OH}$ ,  $R_3 = R_5 = R_8 = \text{H}$ ,  $R_4 = R_6 = R_7 = \text{OMe}$ .



**167** 6-méthoxyisoprotal ;  $R_1 = R_2 = R_5 = R_6 = R_8 = \text{H}$ ,  $R_3 = R_4 = \text{OMe}$ ,  $R_7 = \text{OH}$ .

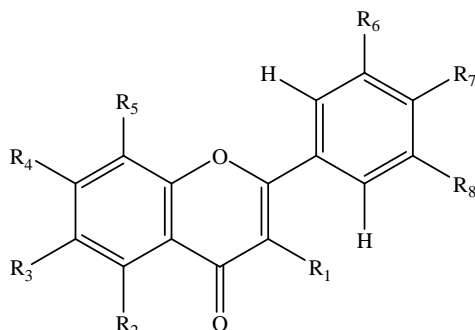
**168** 6-méthoxykaempferol ;  $R_1 = R_2 = R_4 = R_7 = \text{OH}$ ,  $R_3 = \text{OMe}$ ,  $R_5 = R_6 = R_8 = \text{H}$ .

**169** 6-méthoxykaempferol-7-O-glucoside ;

$R_1 = R_2 = R_7 = \text{OH}$ ,  $R_3 = \text{OMe}$ ,  $R_4 = \text{O-Glu}$ ,  $R_5 = R_6 = R_8 = \text{H}$ .

**170** 3, 7, 4'-trimethoxykaempferol;

$R_1 = R_4 = R_7 = \text{OMe}$ ,  $R_2 = \text{OH}$ ,  $R_3 = R_5 = R_6 = R_8 = \text{H}$ .



**171** 6-méthoxyisokaempferide;  $R_1 = R_3 = \text{OMe}$ ,  $R_5 = R_6 = R_8 = \text{H}$ ,  $R_2 = R_4 = R_7 = \text{OH}$ .

**172** 3, 7, 8, 4'-tetraméthylgossypetine;

$R_1 = R_4 = R_5 = R_7 = \text{OMe}$ ,  $R_2 = R_6 = \text{OH}$ ,  $R_3 = R_8 = \text{H}$

**173** 5, 4'-dihydroxy-6, 7, 3'-triméthoxyflavone;

$R_1 = R_5 = R_8 = \text{H}$ ,  $R_2 = R_7 = \text{OH}$ ,  $R_3 = R_4 = R_6 = \text{OMe}$ .

**174** 7, 4'-dihydroxy-5-méthoxyflavone;

$R_1 = R_3 = R_5 = R_6 = R_8 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{OMe}$ ,  $R_4 = R_7 = \text{OH}$ .

### II.3. Intérêt thérapeutiques du genre *Centaurea* et de ses principaux métabolites secondaires

Dans la littérature, plusieurs espèces du genre *Centaurea* sont référenciées pour large utilisation en médecine traditionnelle [68-69], Notons par exemple :

- *Centaurea iberica* Trev.ex Sprengel utilisée pour les traitements des abcès, et l'asthme [68].
- *Centaurea calcitrapa* L., *Centaurea jacea* L. et *Centaurea sinaica* sont utilisées dans le traitement de la fièvre [68].
- *Centaurea melitensis* et *Centaurea pallasensis*, elles sont très connues pour ses activités diurétiques, digestives et antidiabétiques [69].

De plus, plusieurs études récentes ont montrées l'activité anti inflammatoire des centaurees (*Centaurea ainetensis*, *Centaurea tchihatcheffii* Fischer...) [70,71], antibacterienne de l'extrait méthanolique du *Centaurea diffusa* [72] et antipyreétique du *Centaurea calcitrapa* et *Centaurea jacea* [73].

Dans le cadre de l'étude de la biodiversité de la flore algérienne, le genre *Centaurea* présente un grand intérêt, notamment comme source de sesquiterpènes lactones et flavonoïdes, en effet, les études précédentes ont montrés que les extraits chloroformes de deux centaurees algériennes, *Centaurea furfuracea*, *Centaurea musimumom* ont des activités anti-plasmodiale et cytotoxique importantes [4, 13].

Aux cours de ces dernières décennies, l'investigation biologique des extraits et des constituants chimiques du genre *Centaurea*, a montrée qu'ils possèdent diverses activités biologiques, notamment l'activité anti oxydante : à titre d'exemple :

En Turquie, des études réalisées sur les extraits de cinq centaurees concernant l'activité antioxydante (voir Tableau-ci-dessous), ont permet de dégager que les composés phénoliques et flavoniques sont responsables de la capacité antiradicalaire totale des plantes [74].



**Tableau 4 : Activité antioxydante, contenance en composés polyphénoliques et flavoniques des centaurees étudiées**

<b>Espèces</b>	<b>Composés polyphénoliques</b>	<b>Flavonoïdes</b>	<b>IC50 (µg/ml)</b>
<i>C. amanicola</i>	104,596±7,674	134, 252±0,615	581,358±3,033
<i>C. cheirolopha</i>	175,404±3,908	245,035±5,042	227,448±2,136
<i>C. kurdica</i>	135,707±0,463	165,209±2,214	367,711±2,652
<i>C. rigida</i>	113,586±2,018	76,252±2,214	475,056±0,345
<i>C. ptosimopappoide</i>	82,273±4,762	156,165±0,738	745,133±20,904

Une synthèse de quelques études concernant les molécules bioactives isolées du genre *Centaurea* est présentée dans le tableau suivant :

**Tableau 5 : Quelques molécules bioactives isolés des centaurées**

<b>Structures</b>	<b>Nom de la molécule</b>	<b>Origines &amp; Références</b>	<b>Tests et activités développés</b>
(47)	(Aguérine B)	<i>C. deflexa</i> [25]	<b>Antiproliférative</b>
(107)	(Algérianine)	<i>C. Africana</i> [51]	<b>Cytotoxique</b>
(105)	(Centaureidine)	<i>C. jacea</i> L. [31]	<b>Antiproliférative et cytotoxique</b>
(139)	(Kaempférol)	<i>C. urvillei</i> [67]	<b>Antiprotosomale</b>
(145)	(Montanoside)	<i>C. montana</i> [3]	<b>Antioxydante et cytotoxique</b>
(60)	(Solstitialine A)	<i>C. depressa</i> <i>C. solstitialis</i> [26]	<b>Antinociceptive et antipyrétique</b>
(61)	(Acetylsolstitialine)	<i>C. depressa</i> <i>C. solstitialis</i> [26]	<b>Antinociceptive et antipyrétique</b>
(87)	(15-nor-guaianolide)	<i>C. deflexa</i> [25]	<b>Antiproliférative</b>
(24)	(8 $\alpha$ -O-(4-hydroxy-2-méthylènebutanoyloxy) mélitensine)	<i>C. pullata</i> [16]	<b>Antimicrobienne et antifongique</b>
(60)	(Solstitialine A)	<i>C. solstitialis</i> [75]	<b>Antiulcérogène</b>
(61)	(Acetylsolstitialine)		
(74)	(Chlorojanérine)		

**Références bibliographiques**

1. Mabberley, D.J., 1987. *The Plant Book* **110**, Combridge University Press.
2. Bohlman, F., Burkhardt, T., Zdero, C., 1973. *Naturally occurring Acetylenes* **452**, Academic Press, London.
3. Shoeb, M., MacManus, S. M., Jaspars, M., Trevidu, J., Nahar, L., Kong-Thoo-Lin, P., Sarker, S. D., 2006. Americanin, a bioactive dibenzylbutyrolactone lignan, from the seeds of *Centaurea Americana*. *Tetrahedron* **62**, 11172-11177.
4. Akkal, S., Benayache, F., Medjroubi, K. and Tillequin, F., 2007. Flavonol glycosides from *Centaurea furfuracea* antiplasmodial and cytotoxic activities. *Chemistry of Natural Compounds* **43(3)**, 319-320.
5. Shoeb, M.; Celik, S.; Jaspars, M.; Kumarasamy, Y.; MacManus, S. M.; Nahar, L.; Paul, K. T.; Sarker, S. D., 2005. Montamine, a unique dimeric indole alkaloid, from the seeds of *Centaurea montana* (Asteraceae), and its *in vitro* cytotoxic activity against the CaCo2 colon cancer cells. *Tetrahedron* **61**, 9001–9006.
6. Bentamene, A., Benayache, S., Creche, J., Bermejo, J. and Benayache, F., 2007. Sesquiterpene lactones and phenolic compounds from *Centaurea maroccana*. *Chemistry of Natural Compounds* **43(6)**, 749-750.
7. Seghiri, R., Mekkiou, R., Boumaza, O., Benayache, S., Bermejo, J., Benayache, F., 2006. Phenolic compounds from *Centaurea Africana*. *Chemistry of Natural Compounds* **42(6)**, 491-492.
8. Medjroubi, K., 1999. Thèse de doctorat, Université de Constantine.
9. Nacer, A., 2009. Thèse de Doctorat, Université de Constantine.
10. Bicha, S., 2010. Thèse de Doctorat, Université de Constantine.
11. Bentamène, A., Benayache, S., Crèche, J., Petit, G., Bermejo, J., Leon, F., Benayache, F., 2005. A new guaianolides and other sesquiterpene lactones from *Centaurea acaulis* L. (Asteraceae). *Biochemical Systematics and Ecology* **33**, 1061-1065.
12. Marco, J., A., Sanz-Cervera, J., F., Yuste, A., Sancenón, F., Carda, M., 2005. Sesquiterpenes from *Centaurea aspera*. *Phytochemistry* **66**, 1644-1650.
13. Medjroubi, K., Benayache, F., Bermejo, J., 2005. Sesquiterpene lactones from *Centaurea musimomum*. Antiplasmodial and cytotoxic activities. *Fitoterapia* **76**, 744-746.

14. Çelik, S., Rosselli, S., Maggio, A., M., Raccuglia, R., A., Uysal, I., Kisiel, W., Michalska, K., Bruno, M., 2006. Guaianolides and lignans from the aerial parts of *Centaurea ptosimopappa*. *Biochemical Systematics and Ecology* **34**, 349-352.
15. Karamenderes, C., Bedir, E., Pawar, R., Baykan, S., Khan, I., A., 2007. Elemanolide sesquiterpenes and eudesmane sesquiterpene glycosides from *Centaurea hierapolitana*. *Phytochemistry* **68**, 609-615.
16. Djeddi, S., Karioti, A., Sokovic, M., Koukoulitsa, C., Skaltsa, H., 2008. A novel sesquiterpene lactone from *Centaurea pullata*: Structure elucidation, antimicrobial activity, and prediction of pharmacokinetic properties. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **16**, 3725-3731.
17. Nacer, A., Merza, J., Kabouche, Z., Rhouati, S., Boustie, J., Richomme, P., 2012. Sesquiterpene lactones from *Centaurea tougourensis*. *Biochemical Systematics and Ecology* **43**, 163-165.
18. Quezel, P., Santa, S., 1963. *Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*, Tome II.
19. Yoshioka, H., Mabry, T.J., Timmermann, B.N., 1973. *Sesquiterpene Lactones: Chemistry, NMR and Plant Distribution*, University of Tokyo Press.
20. Tešević, V., Milosavljević, S., Vajs, V., Janačković, P., Đorđević, I., Jadranin, M., Vučković, I., 2007. Quantitative analysis of sesquiterpene lactone cnicin in seven *Centaurea* species wild-growing in Serbia and Montenegro using <sup>1</sup>H-NMR spectroscopy. *J. Serb. Chem. Soc.* **72** (12), 1275–1280, JSCS–3660.
21. Saliba, N.A.; Dakdouki, S.; Homeidan, F.R.; Kogan, J.; Bouhadir, K.; Talhouk, S.N. & Talhouk, R.S., 2009. Bio-guided identification of an anti-inflammatory guaianolide from *Centaurea ainetensis*. *Pharmaceutical Biology* **47**(8), 701-707.
22. Bruno, M., Rosselli, S., Maggio, A., Raccuglia, R. A., Arnold, N.A., 2005. Guaianolides from *Centaurea babylonica*. *Biochemical Systematics and Ecology* **33**, 817-825.
23. Nowak, G., Dawid-Pač, R., Urbańska, M., Nawrot, J., 2011. TLC of selected sesquiterpenoids of the Asteraceae family, *Acta Soc. Bot. Pol.* **80**(3), 193-196.
24. Kitouni, R., 2007. Mémoire de magister, Université Mentouri Constantine.
25. Chica, A., Tebano, M., Adinolfi, B., Ertugrul, K., Flamini, G., Nieri, P., 2011. Anti-proliferative activity of aguerin B and a new rare nor-guaianolide lactone

- isolated from the aerial parts of *Centaurea deflexa*. *European Journal of Medicinal Chemistry* **46**, 3066-3070.
26. Akkol, E. K., Arif, R., Ergun, F., Yesilada, E., 2009. Sesquiterpene lactones with antinociceptive and antipyretic activity from two *Centaurea* species. *Journal of Ethnopharmacology* **122**, 210-215.
  27. Djeddi, S., Argyropoulou, C., Skaltsa, H., 2008. Secondary metabolites from *Centaurea grisebachii* ssp. *Grisebachii*. *Biochemical Systematics and Ecology* **36**, 336-339.
  28. Rosselli, S., Maggio, A. M., Raccuglia, R. A., Simmonds, M. S. J., Arnold, N. A., Bruno, M., 2006. Guaianolides from the aerial parts of *Centaurea hololeuca*. *Nat. Prod. Commun.* **1**, 281-285.
  29. Rosselli, S., Maggio, A. M., Bellone, G. and Bruno, M., 2006. The first example of natural cyclic carbonate in terpenoids. *Tetrahedron Letters* **47**, 7047-7050.
  30. Yayli, N., Baltaci, C., Gök, Y., Aydin, E., üçüncü, O., 2006. Sesquiterpene lactones from *Centaurea helenioides* Boiss. *Turk. J. Chem.* **30**, 229 - 233.
  31. Forgo, P., Zupkó, I., Molnár, J., Vasas, A., Dombi, G., Hohmann, J., 2012. Bioactivity-guided isolation of antiproliferative compounds from *Centaurea jacea* L. *Fitoterapia* **83**, 921-925.
  32. Mezaache, N., Bendjeddou, D., Satta, D., Mekkiou, R., Benayache, S., Benayache, F., 2010. Secondary metabolites from *Centaurea lippii*. *Chemistry of Natural Compounds* **46 (5)**, 801-802.
  33. Kumudini, M., M., Weste, O., George, S., and Alan, L., 2006. Plant-derived natural products exhibiting activity against Formosan subterranean termites (*Coptotermes formosanus*). *Pest. Manag. Sci.* **62**, 565–570
  34. Trendafilova, A., Todorova, M., Bancheva, S., 2007. Secondary metabolites from *Centaurea moesiaca*. *Biochemical Systematics and Ecology* **35**, 544-548.
  35. Rodríguez, M. L., García, V. P., Zater, H., Benayache, S. and Benayache, F., 2009. Cynatriol, a sesquiterpene lactone from *Centaurea musimomum*. *Acta Cryst.* **E65**, 1867–1868.
  36. Bach, S. M., Fortuna, M., A., Attarian, R., de Trimarco, J.T., Catalán, C.A., Av-Gay, Y. & Bach, H., 2011. Antibacterial and cytotoxic activities of the sesquiterpene lactones cnicin and onopordopicrin. *Nat. Prod. Commun.* **6(2)**, 163-166.

37. Hammoud, L., Seghiri, R., Benayache, S., Mosset, P., Lobstein, A., Chaabi, M., León, F., Brouard, I., Bermejo, J., Benayache, F., 2012. A new flavonoid and other constituents from *Centaurea nicaeensis* All. var. walliana M. *Naturel Product Research* **26(3)**, 203-208.
38. Shoeb, M., MacManus, S. M., Kong-Thoo-Lin, P., Celik, S., Jaspars, M., Nahar, L., Sarker, S. D., 2007. Bioactivity of the extracts and isolation of lignans and a sesquiterpene from the aerial parts of *Centaurea pamphylica* (Asteraceae). *DARU* **15(3)**, 118-122.
39. Milosevic, T., Gousiadou, C., Muratspahic, Pavlovic, D., Solujic, S., Skaltsa, H., 2011. A New Guaianolide from the aerial parts of *Centaurea pannonica* (Heuffel) Simonkai, Book of Abstracts of the 59<sup>th</sup> International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research (Antalya, Turkey, 4.-9. September 2011) *Planta Medica*, **77** (2011), str. 1348, (ISSN: 0032-0943).
40. Milošević-Ifantis, T., Muratspahic, Pavlovic, D., Solujic, S., Skaltsa, H., 2012. Secondary metabolites from the aerial parts of *Centaurea pannonica*, 8th Joint Meeting of AFERP, ASP, GA, PSE and SIF, New York City, July 28 - August 1, *Planta Med.* **78** - PI350 (2012), issue 11, 1027-1310.
41. Milosevic, T., Gousiadou, C., Muratspahic, Pavlovic, D., Solujic, S., Skaltsa, H., 2011. Secondary metabolites from the aerial parts of *Centaurea pannonica*, Congresso S. I. F. 2011, Università degli Studi Roma "Sapienza", Sociata Ttaliana di Fitochimica, p.8.
42. Belbache, H., 2007. Thèse de magister, Université Mentouri Constantine.
43. Djeddi, S., Karioti, A., Sokovic, M., Stojkovic, D., Seridi, R., Skaltsa, H., 2007. Minor Sesquiterpene Lactones from *Centaurea pullata* and Their Antimicrobial Activity. *J. Nat. Prod.* **70**, 1796.
44. Saroglou, V., Karioti, A., Demetzos, C., Dimas, K., Skaltsa, H., 2005. Sesquiterpene Lactones from *Centaurea spinosa* and Their Antibacterial and Cytotoxic Activities. *J. Nat. Prod.* **68 (9)**, 1404–1407
45. Bruneton J., 1999. *Pharmacognosie: phytochimie, plantes médicinales*, Éditions Tec & Doc: Paris, France.
46. Pietta, P., G., 2000. Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products* **63**, 1035-1042.

47. Pereira, D. M., Valentão, P., Pereira, J. A., Andrade, P.B., 2009. Phenolics : From Chemistry to Biology. *Molecules* **14**, 2202-2211.
48. Havsteen, B.H., 2002. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology and Therapeutics* **96**, 67-202.
49. Middleton Jr., E., Kandaswami, C., Theoharides, T.C., 2000. The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. *Pharmacological Reviews* **52**, 673-751.
50. Seghiri, R., 2007. Thèse de doctorat, Université de Constantine.
51. Seghiri R., Mekkiou R., Boumaza O., Benayache S., Mosset P., Quintana J., Estévez F., León F., Bermejo J., Benayache F., 2009. A flavonoid with cytotoxic activity and other constituents from *Centaurea Africana*. *Phytochem. Lett.* **2**, 114-118.
52. Mansour, A., 2009. Mémoire de magister, Université Mentouri Constantine.
53. Ababsa, Z., 2009. Mémoire de magister, Université Mentouri Constantine.
54. Baykan-Erel, S., Bedir, E., Khan, I. A., Karaalp, C., 2010. Secondary metabolites from *Centaurea ensiformis* P.H. Davis. *Biochemical Systematics and Ecology* **38**, 1056-1058.
55. Shoeb, M., Jaspars, M., MacManus, S.M., Celik, S., Nahar, L., Thoo-Lin, P.K., Sarker, S.D., 2007. Anti-colon cancer potential of phenolic compounds from the arial parts of *Centaurea gigantea* (Asteraceae). *Journal of Natural Medicines* **61**, 164-169.
56. Bicha, S., Bentamène, A., Benaïssa, O., Benayache, S., Garcia, V. P., Leon, F., Brouard, I., Bermejo, J. and Benayache, F., 2011. flavonoid aglycones from *Centaurea maroccana*. *Chemistry of Natural compounds* **47(1)**, 105-106.
57. Louaar, S., Achouri, A., Lefahal, M., Laouer, H., Medjroubi, K., Duddeck, H., Akkal, S., 2011. Flavonoids from Algerian endemic *Centaurea microcarpa* and their chemotaxonomical significance. *Natural product communications* **6(11)**, 1603-1604.
58. Mouffok, S., Haba, H., Lavaud, C., Long, C., Benkhaled, M., 2012. Chemical constituents of *Centaurea omphalotricha* Coss. & Durieu ex Batt. & Trab. *Rec. Nat. Prod.* **6(3)**, 292-295.
59. Belkacem, S., 2009. Mémoire de magister, Université Mentouri Constantine

60. Medjroubi, K., Mezhoud, S., Benayache, F., Seguin, E. and Tillequin, F., 2005. flavonoids of the aerial parts of *Centaurea pullata*. *Chemistry of Natural Compounds* **41(2)**, 226-227.
61. Mishio, T., Honma, T., Iwashina, T., 2006. Yellow flavonoids in *Centaurea ruthenica* as flower pigments. *Biochemical Systematics and Ecology* **34**, 180-184.
62. Bentamène, A., Baz, M., Boucheham, R., Benayache, S., Creche, J. and Benayache, F., 2008. Flavonoid aglycones from *Centaurea Sphaerocephala*. *Chemistry of Natural compounds* **44(2)**, 234-235.
63. Bentamène, A., Boucheham, R., Baz, M., Benayache, S., Creche, J. and Benayache, F., 2010. Flavonoid glucosides from *Centaurea Sphaerocephala* *Chemistry of Natural compounds* **46(3)**, 452-453.
64. Baz, M., 2006. Mémoire de magister, Université de Constantine.
65. Kabouche, A., Kabouche, Z., Touzani, R. and Bruneau, C., 2011. Flavonoids from *Centaurea sulphurea*. *Chemistry of Natural compounds* **46(6)**, 966-967.
66. Nacer, A., Boustie, J., Bernard, A., Touzani, R., Kabouche, Z., 2006. Aglycone flavonoids of *Centaurea tougourensis* from Algeria. *Chemistry of Natural compounds* **42**, 230.
67. Gülcemal, D., Alankuş-Çalışkan, Ö., Karaalp, C., Örs, A. U., Ballar, P., Bedir, E., 2010. Phenolic Glycosides with antiproteasomal activity from *Centaurea urvillei* DC. subsp. *Urvillei*. *Carbohydrate Research* **345**, 2529-2533.
68. Yesilada, E., 2002. *Biodiversity in Turkish Folk Medicine*. In: Şener, B. (Ed.), *Biodiversity: Biomolecular Aspects of Biodiversity and Innovative Utilization*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, London, UK, pp. 119–135.
69. Kamanzi, K., Raynaud, J., Voirin, B., 1983. The C-glycosyl flavonoids from flowers of *Centaurea malitensis*. *Plantés Medicinale et Phytothérapie* **17**, 47–51.
70. Talhouk, R. S., El-Jouni, W., Baalbaki, R., Gali-Muhtasib, R., Kogan, J. and Talhouk, S.N., 2008. Anti-inflammatory bio-activities in water extract of *Centaurea ainetensis*. *Journal of Medicinal Plants Research* **2(2)**, pp. 024-033.
71. Koca, U., Toker, G. and Akkol, E. K., 2009. Assessment of the Extracts of *Centaurea tchihatcheffii* Fischer for Anti-inflammatory and Analgesic Activities in Animal Models. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* **8(3)**, 193-200.



72. Skliar, M.I., Toribio, M.S., Oriani, D.S., 2005. Antimicrobial activity of *Centaurea diffusa*. *Fitoterapia* **76**, 737-739.
73. Kumarasamy, Y., Middleton, M., Reid, R., Nahar, L., Sarker, S., 2003. Biological activity of serotonin conjugates from the seeds of *Centaurea nigra*. *Fitoterapia* **74**, 609-612.
74. Aktumsek, A., Zengin, G., Guler, G. O., Cakmak, Y.S., Duran, A., 2011. Screening for in vitro antioxidant properties and fatty acid profiles of five *Centaurea* L. species from Turkey flora. *Food and Chemical Toxicology* **49**, 2914-2920.
75. Gürbüz, İ., Yesilada, E., 2007. Evaluation of the anti-ulcerogenic effect of sesquiterpene lactones from *Centaurea solstitialis* L. ssp. *solstitialis* by using various *in vivo* and biochemical techniques. *Journal of Ethnopharmacology* **112**, 284-291.

---

## *PARTIE EXPÉRIMENTALE*

*CHAPITRE III*

*ÉTUDE CHIMIQUE DE L'ESPÈCE :  
CENTAUREA MELITENSIS L.*

### Chapitre III. Etude chimique de l'espèce : *Centaurea melitensis* L.

#### III.1. Place dans la systématique

Embranchement : Angiospermeae

Classe : Dicotyledoneae

Ordre : Asterales

Famille : Astéraceae

Sous-Famille : Cynareae

Genre : *Centaurea*

Espèce : *melitensis* L.

#### III.2. Description botanique de l'espèce *Centaurea melitensis* L.

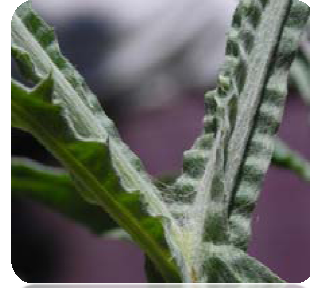
C'est une plante annuelle, à tiges dressées, raides et parcourues par des ailes étroites, les feuilles inférieures disposées en rosette, vert-foncées, dentées-découpées à mucrons noirs, les fleurs jaunes glanduleuses en capitules solitaires ou agrégés [1].



A : Photo d'un champ du *Centaurea melitensis* L.



**B** : Photo de la fleur



**C** : Photo de la tige

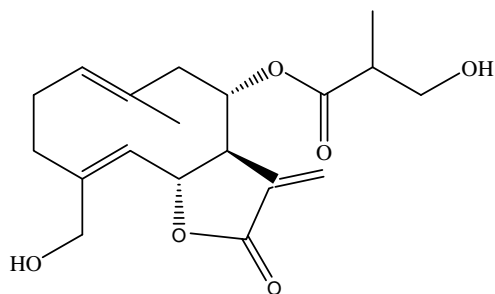


**Figure 1** : Présentation du *Centaurea melitensis* L.

### III.3. Etudes phytochimiques antérieures sur l'espèce *Centaurea melitensis* L.

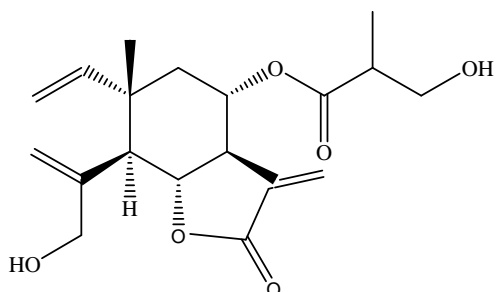
Les travaux effectués sur l'espèce *Centaurea melitensis* L. ont permis de mettre en évidence la présence de sesquiterpènes lactones [2,3] et des flavonoïdes [4,5].

Le squelette des germanocranolides est représenté par l'onopordopicrine **3** comme constituant principal de l'extrait diéthyloéther avec 38%, suivi par l'arctiopicrine 8% puis le salonitenolide **2** 3% [2].



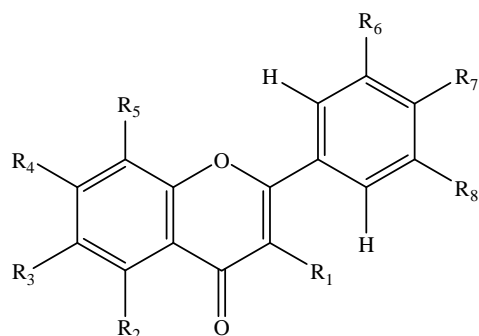
- Arctiopicrine.

Les élémanolides isolés du *Centaurea melitensis* L. sont la 11,13-dehydromélitensine **22**, la mélitensine **23** et son dérivé : Le  $\beta$ -hydroxyisobuturatemélitensine [3].



- $\beta$ -hydroxyisobuturatemélitensine

Concernant les flavonoïdes, les études phytochimiques sur la même espèce, ont décrit la richesse et la diversité par ces métabolites secondaires notamment les glycosylés soit *O*-glycosylés (Hispiduline-7-*O*-rutinoside **175**, Lutéoline-4'-*O*-arabinose **176**, Lutéoline-7-*O*-glucoside **177**, Myrécétine-3, 5'-diméthylether-7-*O*-glucoside **178**) ou *C*-glycosylés (Apigénine-6,8-di-*C*-glucoside (Vicénine-2-) **101**, Lutéoline-6-*C*-glucoside (Isoorientine) **131**, Schaftoside **159**, Népétrine **179**) [4,5].



Structures	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>	R <sub>8</sub>
<b><u>175</u></b>	H	OH	OMe	<i>O</i> -Rut	H	H	OH	H
<b><u>176</u></b>	H	OH	H	OH	H	OH	<i>O</i> -Ara	H
<b><u>177</u></b>	H	OH	H	<i>O</i> -Glu	H	OH	OH	H
<b><u>178</u></b>	OMe	OH	H	<i>O</i> -Glu	H	OH	OH	OMe
<b><u>179</u></b>	H	OH	OMe	<i>O</i> -Glu	H	OH	OH	H

### III.4. Matériels et méthodes

Les parties aériennes de *Centaurea melitensis* L. ont été récoltées au mois de Juin 2008 dans la région de Boussaâda, la plante a été identifié par le botaniste Dr Gérard De Belair (Département de biologie, Université d'Annaba).

### III.5. Analyse chimique

#### III.5.1. Extraction de *Centaurea melitensis* L.

Après la cueillette en période de floraison, les différents organes des parties aériennes du matériel végétal (fleurs, feuilles, tiges) sont séparés et séchés dans un endroit frais et aéré à l'abri des rayons solaires et de l'humidité. 1070 g de la matière végétale sont mises à macérer à température ambiante 3×24 h Après concentration à une température n'excédant pas 45°C, la solution alcoolique réduite à environ 150 ml est diluée avec de l'eau distillée à raison de 400 ml par kg de matière sèche puis additionnée d'acétate de plomb [(CH<sub>3</sub>COO)<sub>4</sub>Pb] pour éliminer la chlorophylle par précipitation [6].

Après filtration, la solution devenue brune a subi des extractions successives de type liquide-liquide en utilisant des solvants de polarité croissante en commençant par le dichlorométhane, puis l'acétate d'éthyle et en dernier le n-butanol. Les trois phases organiques ainsi obtenues (dichlorométhane, acétate d'éthyle et n-butanol) sont séchées par

du sulfate de sodium anhydre, puis filtrées, concentrées à sec sous pression réduite donnant les extraits correspondants.

La figure suivante résume les différentes étapes de cette extraction :



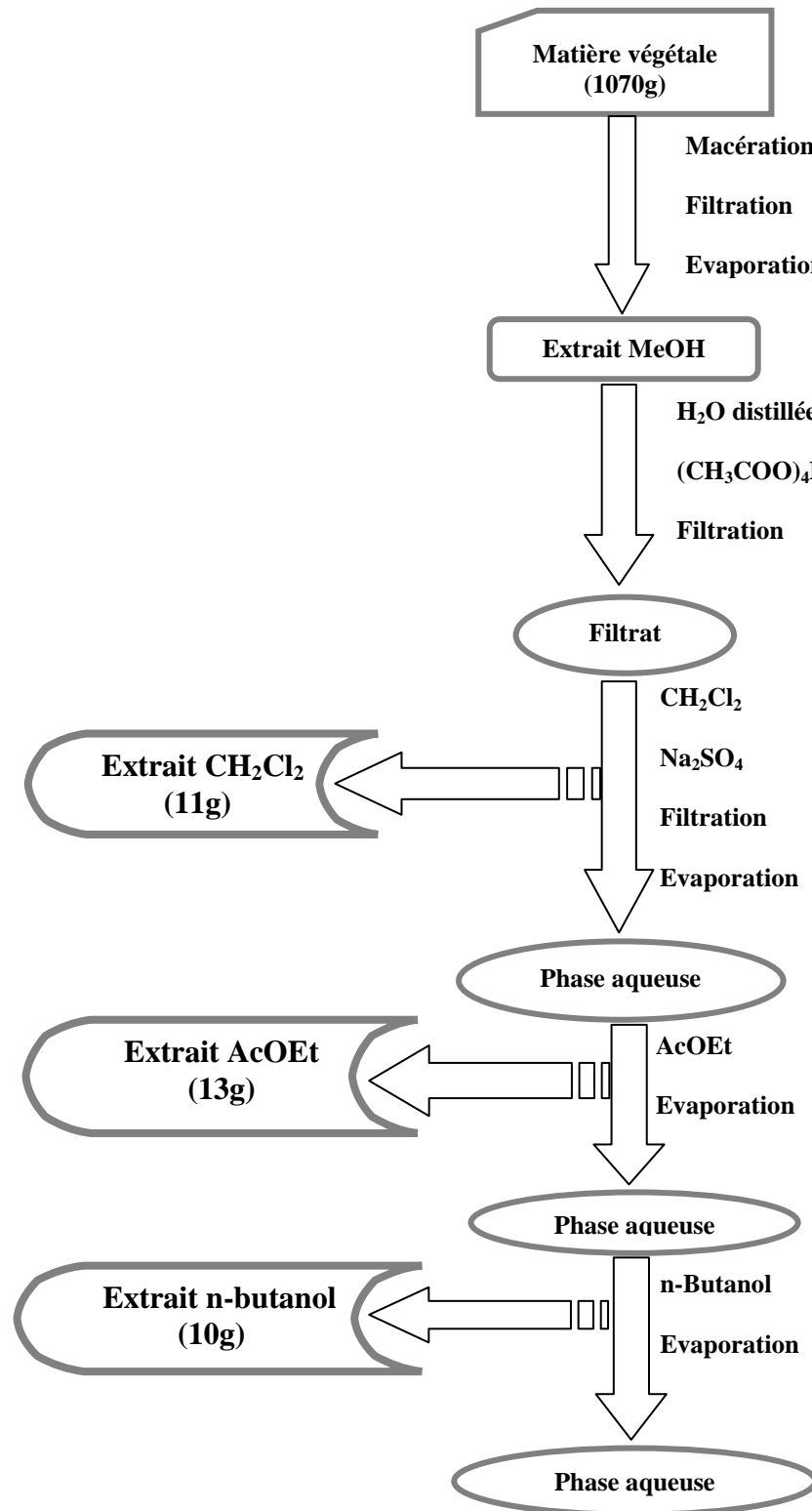


Figure 2 : Organigramme d'extraction du *Centaurea melitensis* L.

### III.5.2. Séparation et purification des composés de l'extrait dichlorométhane :

Le premier fractionnement de l'extrait  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (9g) est réalisé sur une colonne de gel de silice (Powder 4-6%, 0,04-0,063mm) préparée dans le dichlorométhane, l'élution a été faite à l'aide d'un mélange ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -Acétone) avec des polarités croissantes et un fractionnement tous les 150 ml. Les fractions recueillies sont regroupées suivant la similitude de leur profil chromatographique sur couche mince, les plaques sont visualisées sous lampe UV (254 et 365 nm) puis révélées avec un révélateur à base d'acide sulfurique et chauffées à 100 °C pendant 3 min.

Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau suivant :

**Tableau 1 : Fractionnement de l'extrait dichlorométhane**

Lot de fractions	N° de la fraction	Système d'élution	
		% $\text{CH}_2\text{Cl}_2$	%Acétone
1-27	F1	100	0
28-30	F2	95	5
31-48	F3	90	10
49-59	F4	85	15
60-77	F5	80	20
78-90	F6	75	25
91-96	F7	70	30
97-120	F8	65	35
121-135	F9	60	40
136-143	F10	55	45
144-157	F11	50	50

- **Etude des fractions : F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub>, F<sub>4</sub>, F<sub>6</sub>, F<sub>7</sub>**
  - La fraction F<sub>2</sub> (400mg) a subi une séparation chromatographique sur colonne en utilisant le gel de silice (Powder 4-6%, 0,04-0,063mm) comme phase stationnaire, l'élution a été réalisé par l'hexane-acétate d'éthyle avec des polarités croissantes, la purification des fractions intermédiaires sur plaques préparatives de gel de silice (Silica gel GF, 1500Microns) en utilisant le système ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -Acétone ; 90 :10) a donné les deux produits **SL-1** et **SL-2**.
  - La fraction F<sub>3</sub> a été rechromatographiée sur colonne de Séphadex LH-20 en utilisant le méthanol comme éluant a donné le produit **FL-3** et **FL-4**.

- La fraction F<sub>4</sub> a subi une séparation chromatographique sur plaques préparatives de gel de silice (Silica gel GF, 1500Microns) en utilisant le système (n-hexane-Acétate d'éthyle ; 50 : 50) qui a mené au produit **SL-4**.
- La fraction F<sub>6</sub> ; renferme un produit majoritaire **SL-6** qui a été précipité sous la forme cristalline.
- La fraction F<sub>7</sub> a subi une séparation sur plaques préparatives de gel de silice (Silica gel GF, 1500Microns) éluées par le système (hexane-AcOEt ; 50 :50), qui a menée au produit **SL-7**.

### III.5.3. Séparation et purification des composés de l'extrait acétate d'éthyle

Environ 8g de l'extrait acétate d'éthyle sont déposés sur colonne de gel de silice (type 60, 230-400 mesh, Merck) préparée dans l'hexane, l'élution a été faite à l'aide d'un mélange (n-hexane-acétate d'éthyle-MeOH) avec des polarités croissantes, les fractions recueillies (150ml) ont été rassemblées sur la base d'analyse par CCM analytiques à l'aide d'une lampe UV (254 et 365 nm) et la révélation par un révélateur à base d'acide sulfurique et chauffage à 100°C pendant 3 min.

Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau suivant :

**Tableau 2 : Fractionnement de l'extrait acétate d'éthyle**

Lot de fractions	N° de la fraction	Système d'élution		
		% Hexane	% acétate d'éthyle	% Méthanol
1-10	F1	100	0	0
11-22	F2	100	0	0
24-31	F3	100	0	0
32-43	F4	100	0	0
44-51	F5	90	10	0
52-55	F6	80	20	0
56-60	F7	70	30	0
61-73	F8	60	40	0
74-79	F9	50	50	0
80-90	F10	40	60	0
91-96	F11	30	70	0
97-106	F12	20	80	0
107-118	F13	10	90	0
119-122	F14	0	100	0
122-126	F15	0	80	20
127-137	F16	0	70	30
138-141	F17	0	60	40
142-148	F18	0	50	50
149-161	F19	0	0	100

Seules les fractions F<sub>9</sub> et F<sub>12</sub>, ont été étudiées.

- La fraction (F<sub>9</sub>, 44 mg) a été rechromatographiée sur plaques préparatives de gel de silice (Silica gel GF, 1500Microns) en utilisant le système (hexane : acétate d'éthyle ; 50 :50) et a donné le produit **FL-2**.
- La fraction F<sub>12</sub> a été rechromatographiée sur plaques préparatives de gel de silice (Silica gel GF, 1500Microns) en utilisant le système (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : MeOH ; 80 :20) et a donné le produit **FL-2'**.

#### III.5.4. Séparation et purification des composés de l'extrait n-butanolique

L'extrait n-butanolique (8g) a été chromatographié sur colonne de polyamide SC-6, montée dans le toluène, l'élution a été faite par le toluène enrichi progressivement en méthanol, et terminée par le méthanol pur. Les fractions sont réunies suivant leur chromatogramme sur couche mince.

Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau suivant :

**Tableau 3 : Fractionnement de l'extrait n-butanolique**

Lot de fractions	N° de la fraction	Système d'élution	
		% Toluène	% Méthanol
1-3	F1	100	0
4-11	F2	98	2
12-16	F3	95	5
17-21	F4	93	7
22-27	F5	90	10
28-31	F6	85	15
32-35	F7	80	20
36-41	F8	75	25
42-49	F9	70	30
50-54	F10	65	35
55-59	F11	60	40
60-63	F12	55	45
64-69	F13	50	50
70-78	F14	40	60
79-84	F15	30	70
85-87	F16	20	80
88-90	F17	0	100

- La fraction F<sub>13</sub> a été rechromatographiée sur plaques préparatives de polyamide (DC6) avec le système (H<sub>2</sub>O-MeOH-Mec-Acétylecétone : 13.3.3.1) et donnée trois flavonoïdes à l'état pur (en cours de l'identification).

## Références bibliographiques

1. Quezel, P., Santa, S., 1963. *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*, Tome II.
2. Barrero, A. F., Sanchez, J. F., Rodriguez, I. and Soria Sanz, C., 1989. Germacranolides from *Centaurea melitensis*. *Phytochemistry* **28**, 1975-1976.
3. Gonzalez, A. G., Arteaga, J. M. and Brenton, J. L., 1975. Elemanolides from *Centaurea melitensis*. *Phytochemistry* **14**, 2039.
4. Kamanzi, K., Raynaud, J., Voirin, B. 1982, Flavone glycosides of *Centaurea melitensis* Compositae. *Die Pharmazie*, **37**, 454-455.
5. Kamanzi, K., Voirin, B. and Raynaud, J., 1983. The C-glycosyl flavonoids from flowers of *Centaurea malitensis*. *Plantés Medicinale et Phytothérapie* **XVII (1)**, 47- 51.
6. Geppert, B., Drożdż, B., Kielczewski, M., Holub, M., 1983. *Acta. Soc. Bot. Pol.*, **52**, 23.

*CHAPITRE IV*

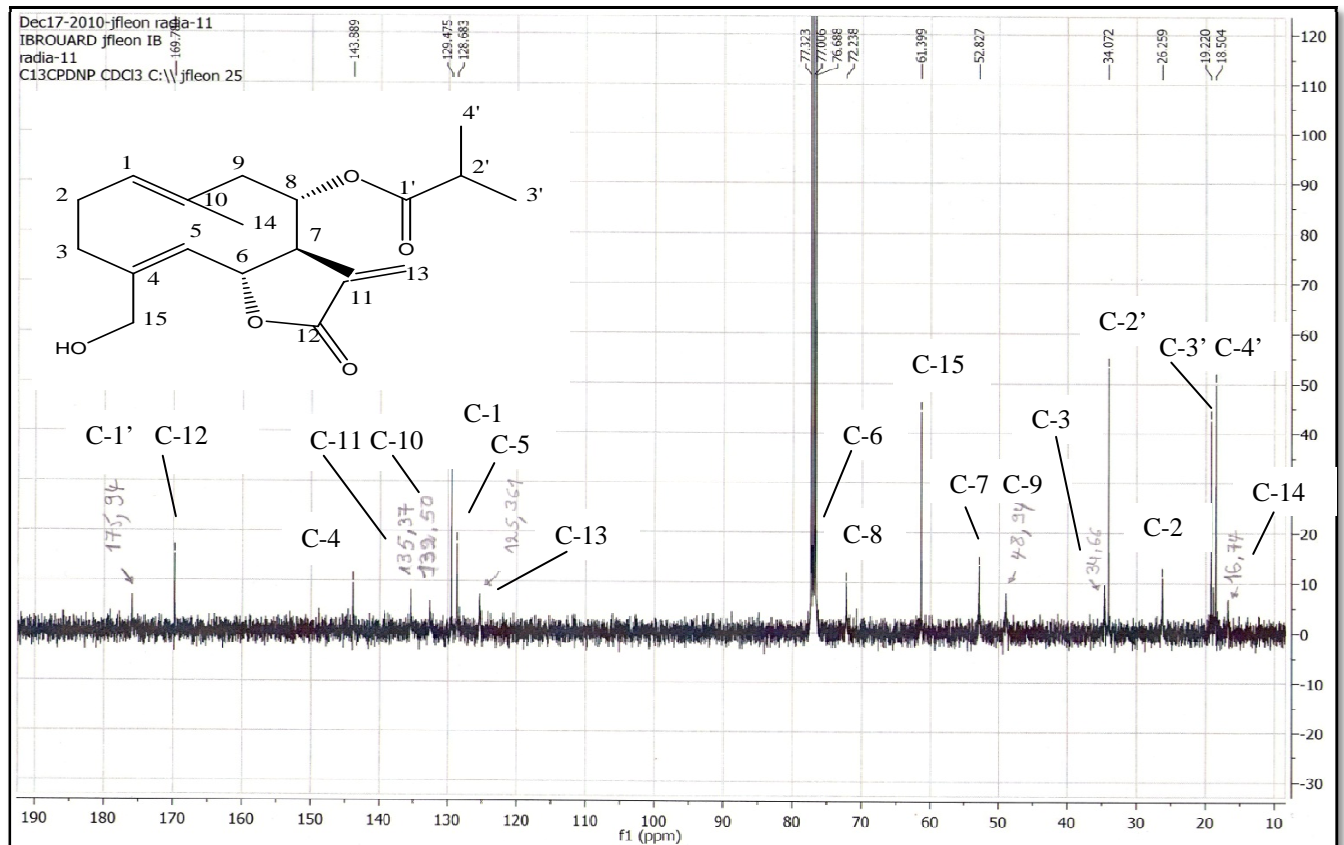
*IDENTIFICATION STRUCTURALE DES  
PRODUITS ISOLÉS*

## Chapitre IV. Identification structurales des produits isolés

### IV.1. Identification structurale des produits isolés de la phase dichlorométhane :

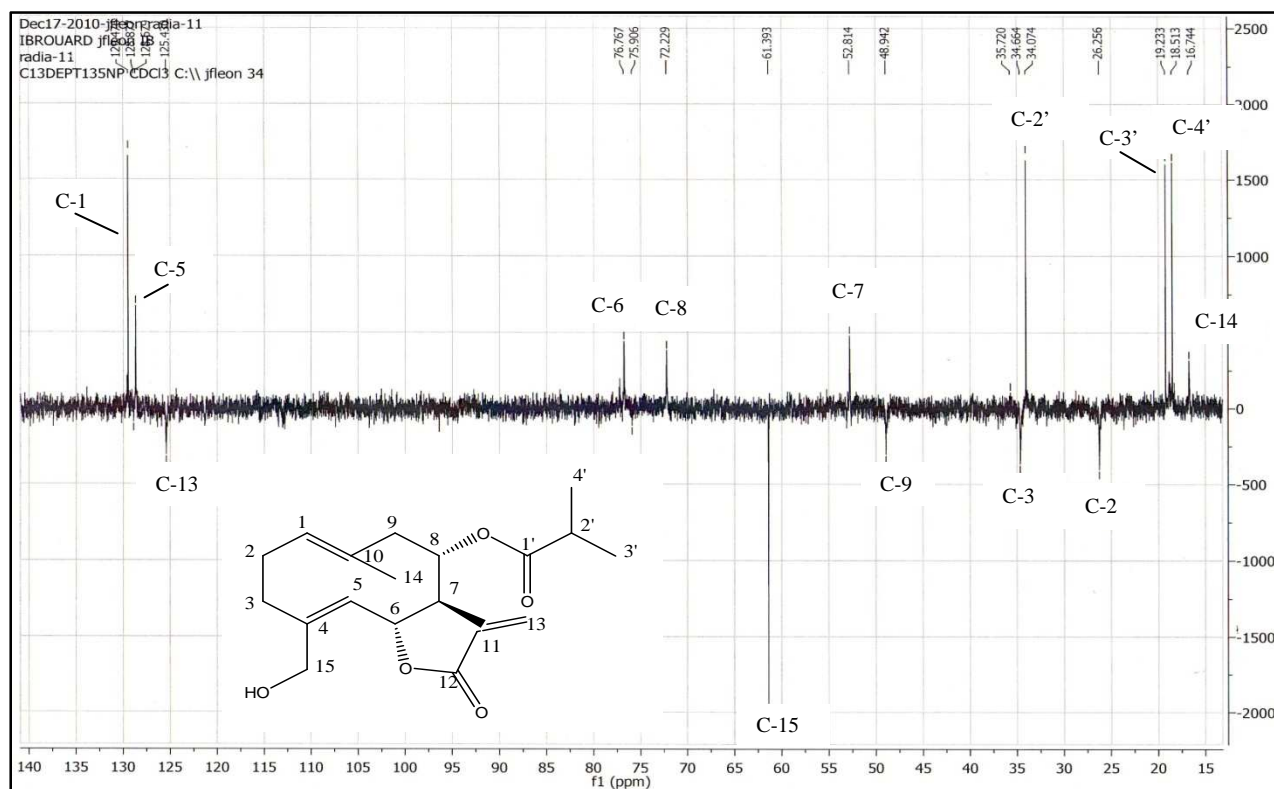
#### IV.1.1. Identification structurale du produit SL-1 :

Le spectre RMN-<sup>13</sup>C (Spectre n°1), montre la présence de deux carbonyles : l'un à  $\delta$  175, 94 (ester) et l'autre à  $\delta$  169, 78 ppm (ester  $\alpha$ ,  $\beta$  insaturé).



Spectre n°1 : RMN-<sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) du produit SL-1

Le spectre relatif à la séquence DEPT 135 (Spectre n°2), montre la présence de : trois méthyles, cinq méthylènes dont un éthylénique (double liaison exocyclique) et un oxygéné, six méthines dont deux éthyléniques et deux oxygénés, et confirme la présence de cinq carbones quaternaires dont trois éthyléniques.

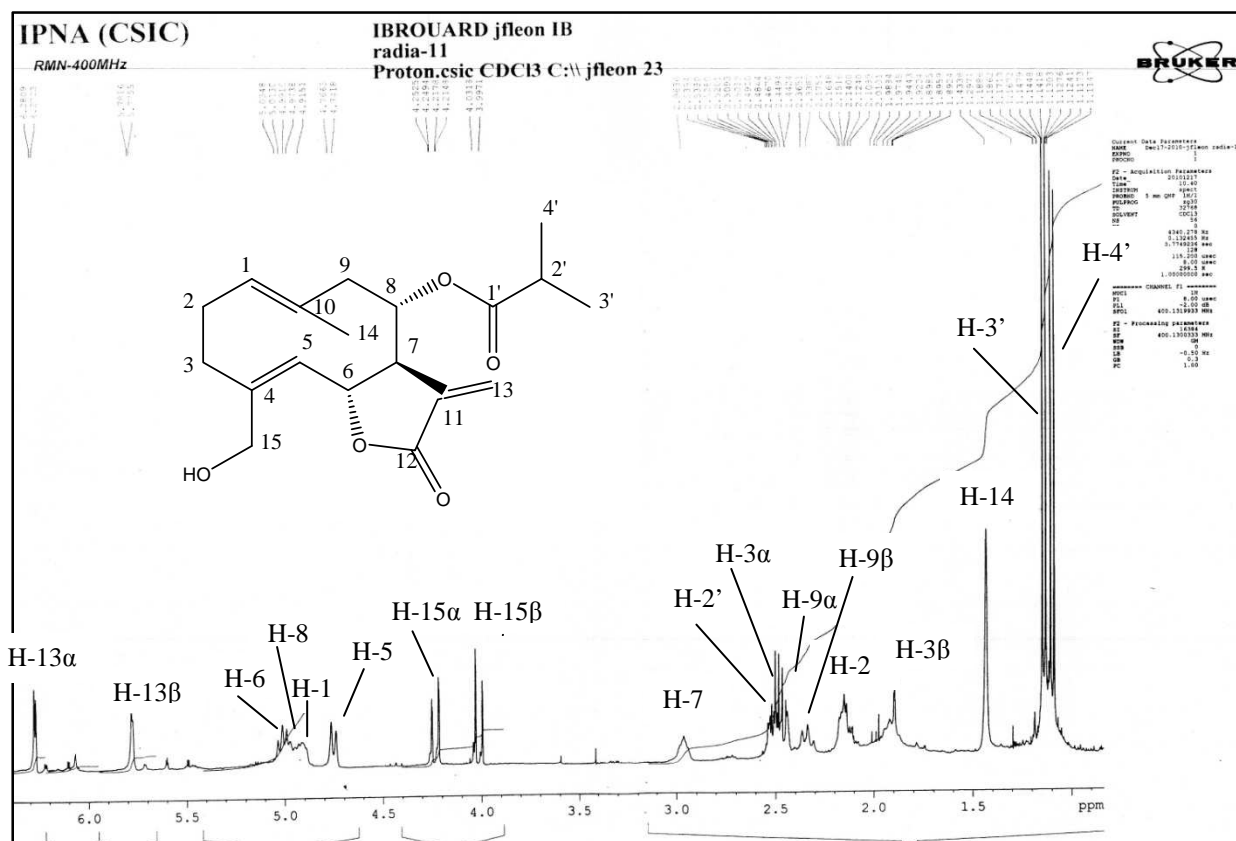


**Spectre n°2 : DEPT 135 (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) du produit SL-1**

En tenant compte de la présence des oxygènes dans la molécule, on a la formule brute C<sub>19</sub>H<sub>26</sub>O<sub>5</sub>.

L'examen des déplacements chimiques sur le spectre RMN-<sup>13</sup>C, montre que parmi les sept insaturations indiquées par cette formule brute, cinq ont été présentes comme des liaisons multiples (trois doubles liaisons dont une exocyclique et deux fonctions carbonyles) indiquant la nature bicyclique de la molécule.





Spectre n°3 : RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) du produit SL-1

L'inspection des données de la RMN-<sup>1</sup>H (spectre n°3) et <sup>13</sup>C de **SL-1**, montre les signaux caractéristiques de l'isobutyrate ; (<sup>1</sup>H : δ 1,11 d ( $J= 7,0$  Hz), H-4', 3H ; 1,14 d ( $J= 7,0$  Hz), H-3', 3H et 2,52 m, H-2', 1H, <sup>13</sup>C : 18, 50, C-4' ; 19, 22, C-3' ; 34, 07, C-2' et 175, 94, C-1') ppm [1-4], dont la confirmation est aisée grâce à la corrélation observée entre le proton H-2' et les deux méthyles dans le spectre COSY <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H (spectre n° 5) (L'étalement de la zone 0,00-5,20 ppm).

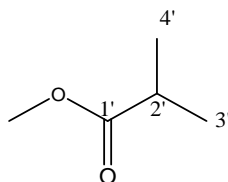
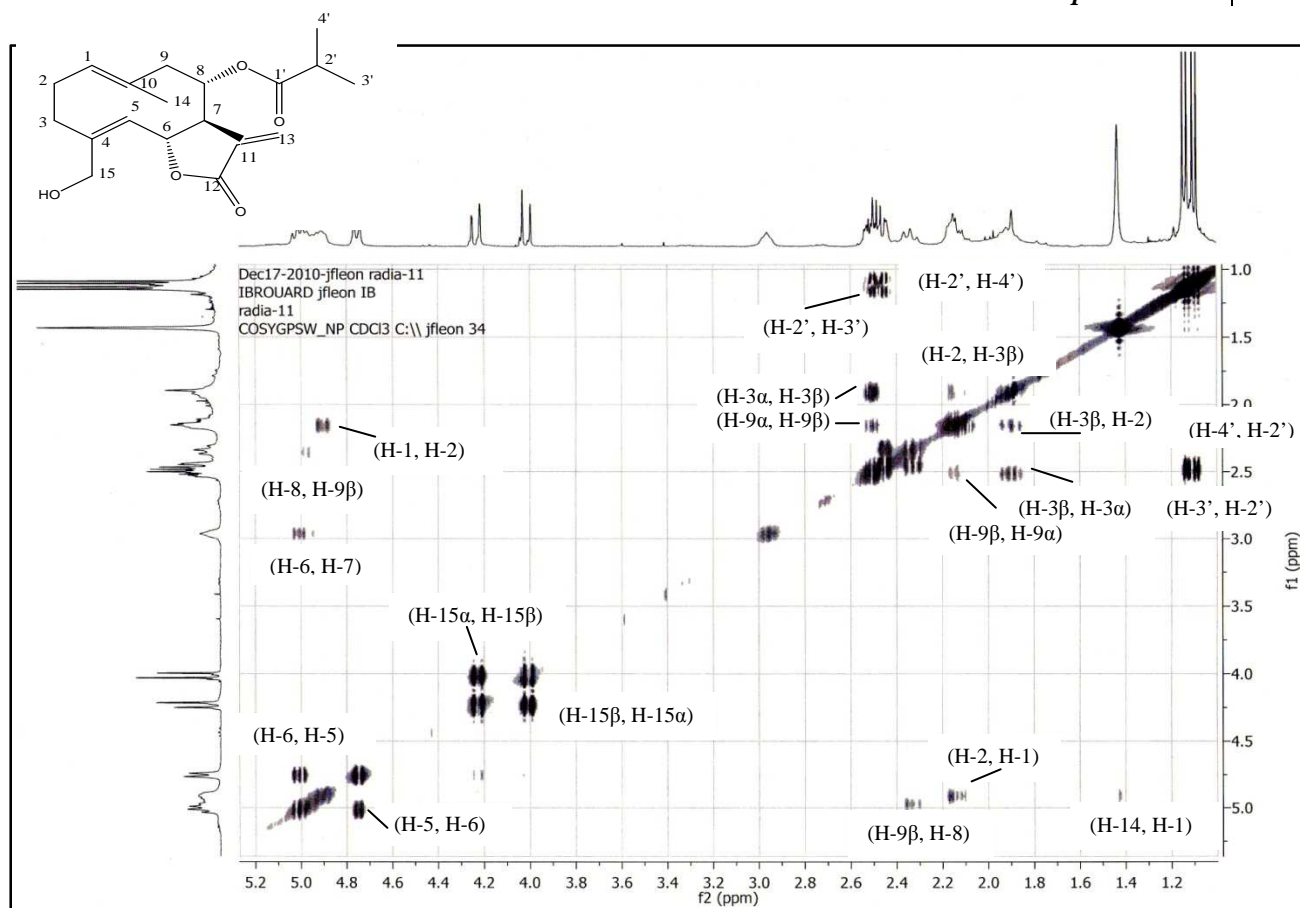


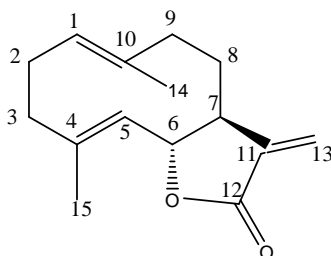
Figure 1 : Structure de l'unité de l'isobutyrate



### L'étalement du spectre COSY $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ dans la zone (0,00 - 5,20 ppm)

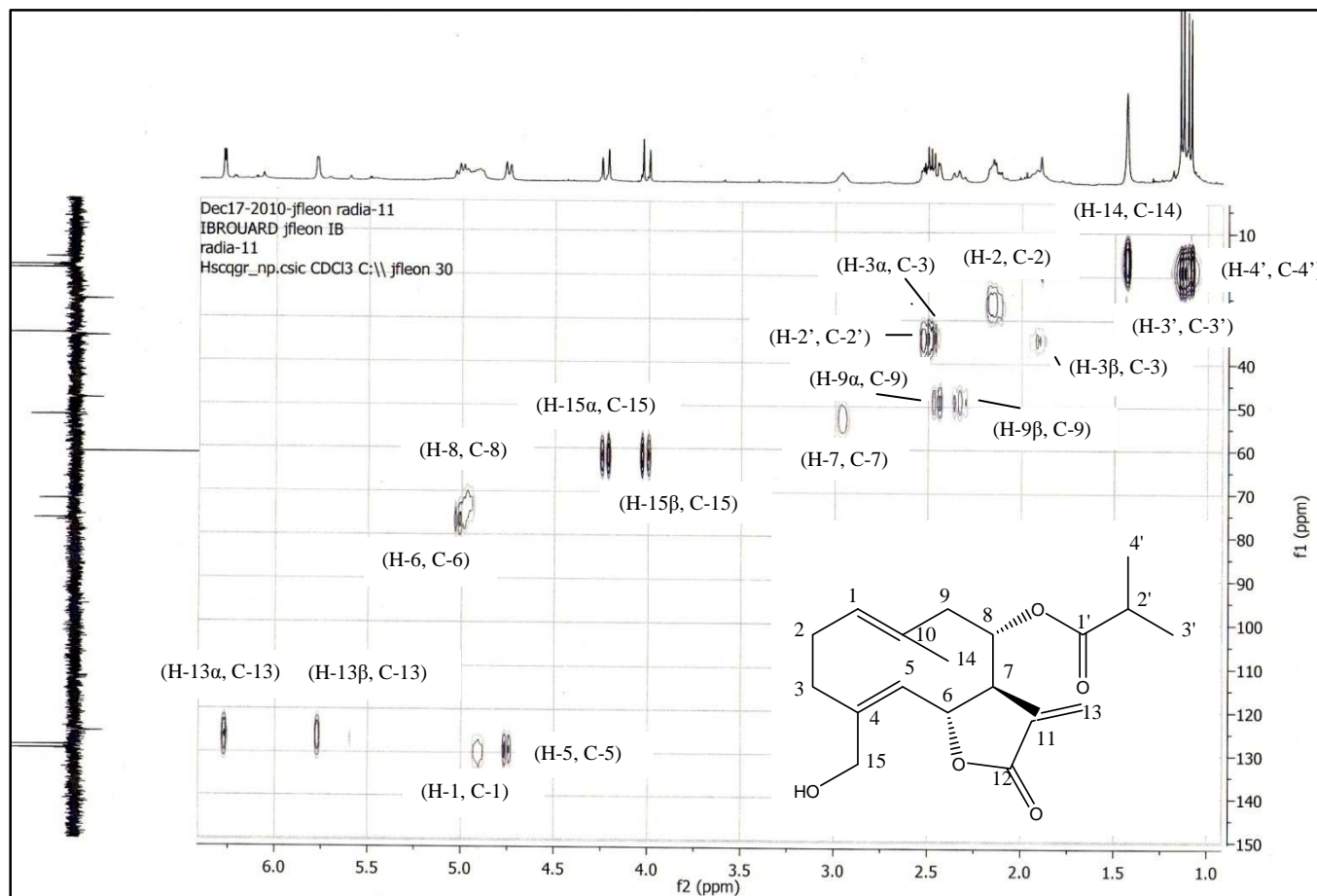
D'après les données de la RMN- $^{13}\text{C}$  et de la séquence DEPT 135 montrant la présence de 19 signaux et après la soustraction des quatre résonances caractéristiques de l'unité de l'isobutyrate, les 15 signaux restant ne peuvent être engagés que dans un squelette sesquiterpénique à deux cycles comme signalé précédemment.

En se basant sur l'examen détaillé des spectres RMN- $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  et par analogie à la bibliographie cette molécule ne peut être qu'un germacranolide renfermant deux doubles liaisons en  $\Delta^{1(10)}$  et  $\Delta^4$  [1-8].



**Figure 2** : Squelette de base des germacranolides

On peut en trouver la confirmation en regardant aux quatre signaux résonnants à  $\delta$  143,88, C-4 ; 132,50, C-10 ; 129,47, C-1 ; 128,68, C-5 dans le spectre  $^{13}\text{C}$ , et en observant les corrélations directes des deux derniers (C-1, C-5) dans le spectre HSQC (spectre n°4).



**Spectre n°4 : HSQC (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) du produit SL-1**

Ainsi l'enregistrement du spectre RMN- $^1\text{H}$  a donné les signaux caractéristiques des protons éthyléniques H-1 et H-5 dans la zone (4,60 à 5,80 ppm), notamment le doublet typique attendu pour H-5 ( $J = 9,8$  Hz) à 4,75 ppm [1-8].

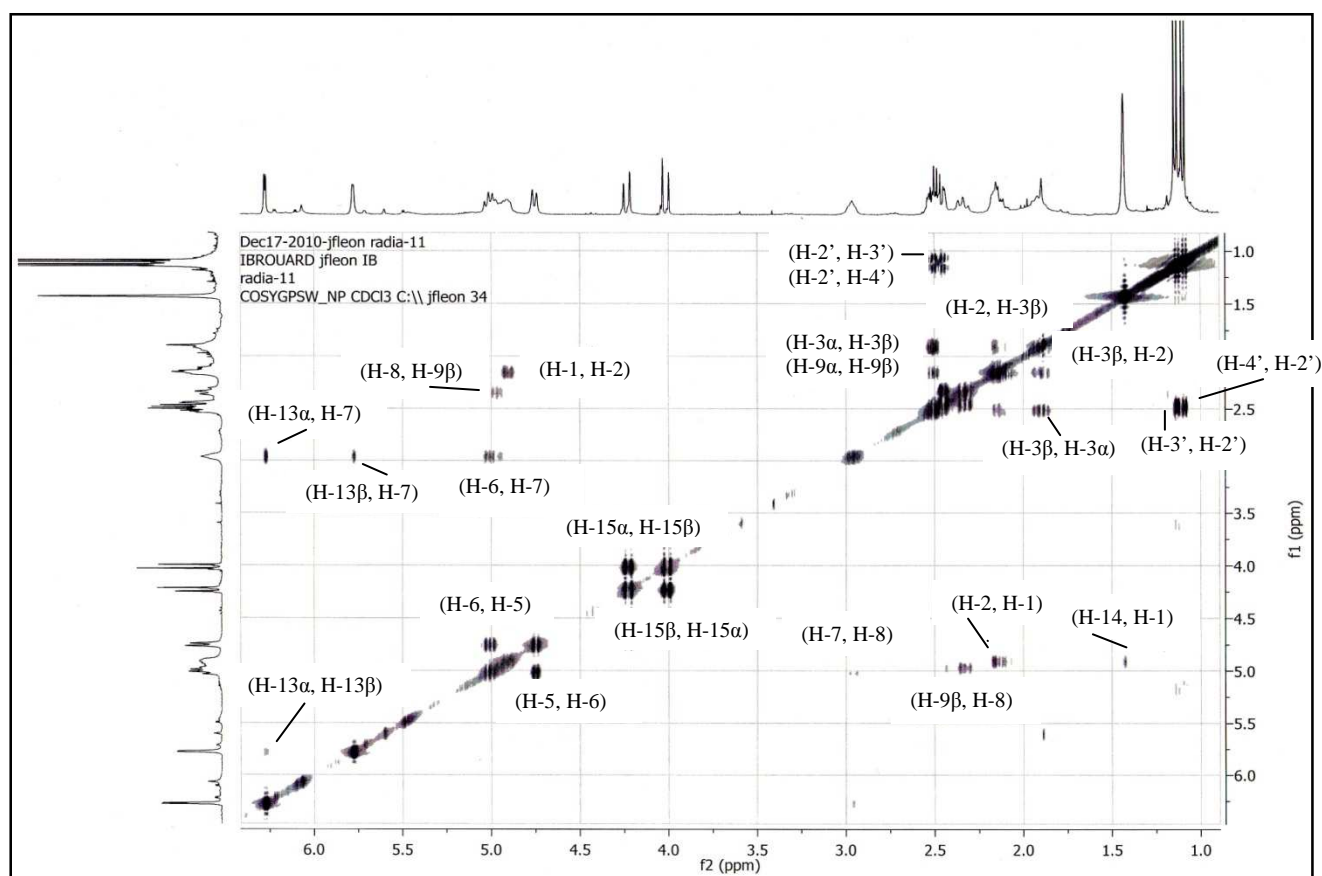
D'un autre coté, les résultats obtenus à partir des expériences de RMN- $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  et DEPT 135, ont montrés la présence d'une lactone  $\alpha, \beta$  insaturé fermée en C-6 ; Ceci est confirmé par le triplet apparait à  $\delta$  5,02 ppm attribué au proton H-6 porté par le carbone de fermeture couplé qu'à deux noyaux en position axiale par rapport à lui.

En se basant sur la supposition que H-7 admet une stéréochimie  $\alpha$ , H-6 doit être orienté  $\beta$ , en effet la valeur large de la constante de couplage ( $J_{5,6} = J_{6,7} = 8,8$  Hz) suggère

l'orientation anti-periplanaire de ces deux protons (H-6,H-7), d'une part, et indique l'orientation *trans*-diaxiale des protons (H-5, H-6) d'autre part [1-8].

L'orientation de ces trois noyaux (H-5, H-6 et H-7) est en accord avec les arguments biogénétiques observés pour les germacranolides du genre *Centaurea* [7-12].

Après l'attribution de H-5 (d,  $J= 9,8$  Hz,  $\delta$  4,75 ppm), H-6 (t,  $J= 8,8$  Hz,  $\delta$  5,02 ppm) et H-7 ( $\delta$  2,96 ppm) il devient aisé d'attribuer les signaux de H-8, H-9 $\alpha$  et H-9 $\beta$  grâce au spectre COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  (Spectre n°5).



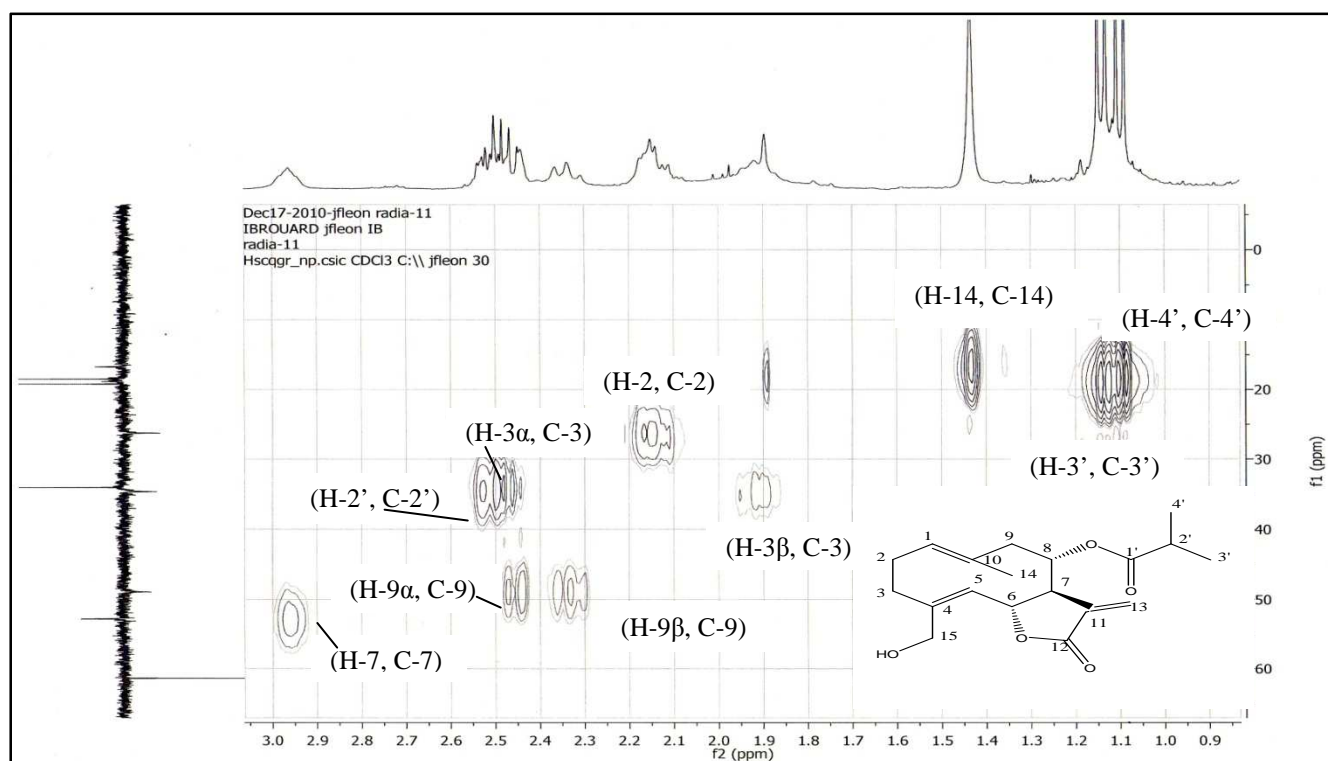
**Spectre n° 5: COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) du produit SL-1**

Un examen approfondi de ce spectre montre une corrélation entre H-7 à  $\delta$  2,96 ppm et un signal masqué à  $\delta$  4,98 ppm qui doit être H-8 qui est corrélé avec le carbone résonnant à  $\delta$  72,22 ppm dans le spectre HSQC, l'attribution de H-8 dans le spectre COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  permet de localiser H-9 $\beta$  à  $\delta$  2,34 ppm, lequel mène à H-9 $\alpha$  à  $\delta$  2,44 ppm sur le même spectre.

Le signal à  $\delta$  4,91 ppm est attribuable au proton H-1 grâce à sa corrélation avec le carbone placé à  $\delta$  129,47 ppm dans le spectre HSQC, ce dernier proton permet d'identifier H-2 $\alpha$  et H-2 $\beta$  situés dans l'intervalle 2,10-2,17 ppm, cette supposition est confirmée par les

corrélations de ces noyaux avec le même carbone résonnant à  $\delta$  26,25 ppm dans le spectre HSQC.

Suite à la corrélation observée entre H-1 et le méthyle situé à  $\delta$  1,43 ppm dans le spectre COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ , il apparaît que ce dernier ne peut être que le méthyle-14 d'un germacranolide que l'on placerait en C-10.



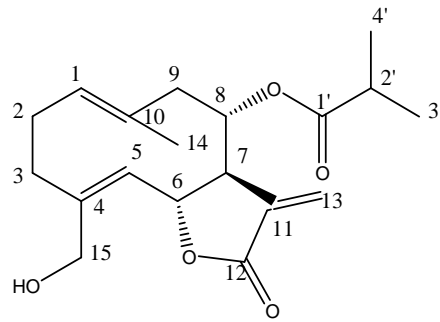
### L'étalement du spectre n°5 dans la zone ( $^1\text{H}$ : 0,00-3,05 ppm ; $^{13}\text{C}$ : 0,00-70 ppm) du produit SL-1

Le spectre RMN- $^1\text{H}$  montre encore un système AB à ( $\delta$  4,25 d,  $J= 12,6$  Hz et  $\delta$  4,02 d,  $J= 13,8$  Hz) attribuable aux protons H-15 $\alpha$  et H-15 $\beta$ , vu la corrélation de ces derniers avec le carbone oxygéné à  $\delta$  61,39 ppm dans le spectre HSQC, il en découle qu'un groupement hydroxyle OH serait porté par le même carbone, que l'on placerait en C-4.

Par ailleurs la valeur du déplacement chimique de H-8 ( $\delta$  4,98 ppm) est en accord avec la localisation du groupement isobutyrate en C-8 ( $\delta$  72,22 ppm) [1-8].

Ces informations additionnées à celles obtenues par des arguments biogénétiques, exigent que le proton H-8 doive être orienté  $\beta$  [1-12].

Cette analyse spectroscopique comparée avec celle de la littérature [1-4] mène à la structure de 8 $\alpha$ -O-isobutyrate salitenolide.



**Figure 3** : Structure de 8 $\alpha$ -O-Isobutyroylsalonitenolide

Ce produit isolé du genre *Onopordon*, *Cheirolophus* et *Brachylaena* [1-4], n'a jamais été isolé du genre *Centaurea*.

Les données spectroscopiques de RMN- $^1\text{H}$ , COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  et RMN- $^{13}\text{C}$ , DEPT, HSQC sont résumées dans les tableaux suivants :

**Tableau 1 : RMN- $^1\text{H}$ , COSY $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de produit SL-1**

<b>H</b>	<b><math>\delta</math> ppm</b>	<b><math>J</math> (Hz)</b>	<b>COSY <math>^1\text{H}</math>-<math>^1\text{H}</math></b>
1	4.91 m		H-2 $\alpha$ , H-2 $\beta$ , H-14
2 $\alpha$	2.1-2.17 m		H-1, H- 3 $\beta$
2 $\beta$			
3 $\alpha$	2.50 m		H-2, H- 3 $\beta$
3 $\beta$	1.90 m		H-2, H- 3 $\alpha$
5	4.75 d	9.8	H-6
6	5.02 t	8.8	H-5, H-7
7	2.96 m		H-6, H-13 $\alpha$
8	4.98 m		H-9 $\beta$
9 $\alpha$	2.44 m		H-9 $\beta$
9 $\beta$	2.34 t	10.5	H-8
13 $\alpha$	6.28 d	3.4	H-7, H-13 $\beta$
13 $\beta$	5.78 d	2.4	H-7
14	1.43 s		H-1
15 $\alpha$	4.25 d	12.6	H-15 $\beta$ , H- 5
15 $\beta$	4.02 d	13.8	H-15 $\alpha$ , H-5
2'	2.52 m		H-3', H-4'
4'	1.11 d	7.0	H-2'
3'	1.14 d	7.0	H-2'

**Tableau 2 : RMN-<sup>13</sup>C, DEPT 135 (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) et HSQC (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de produit SL-1**

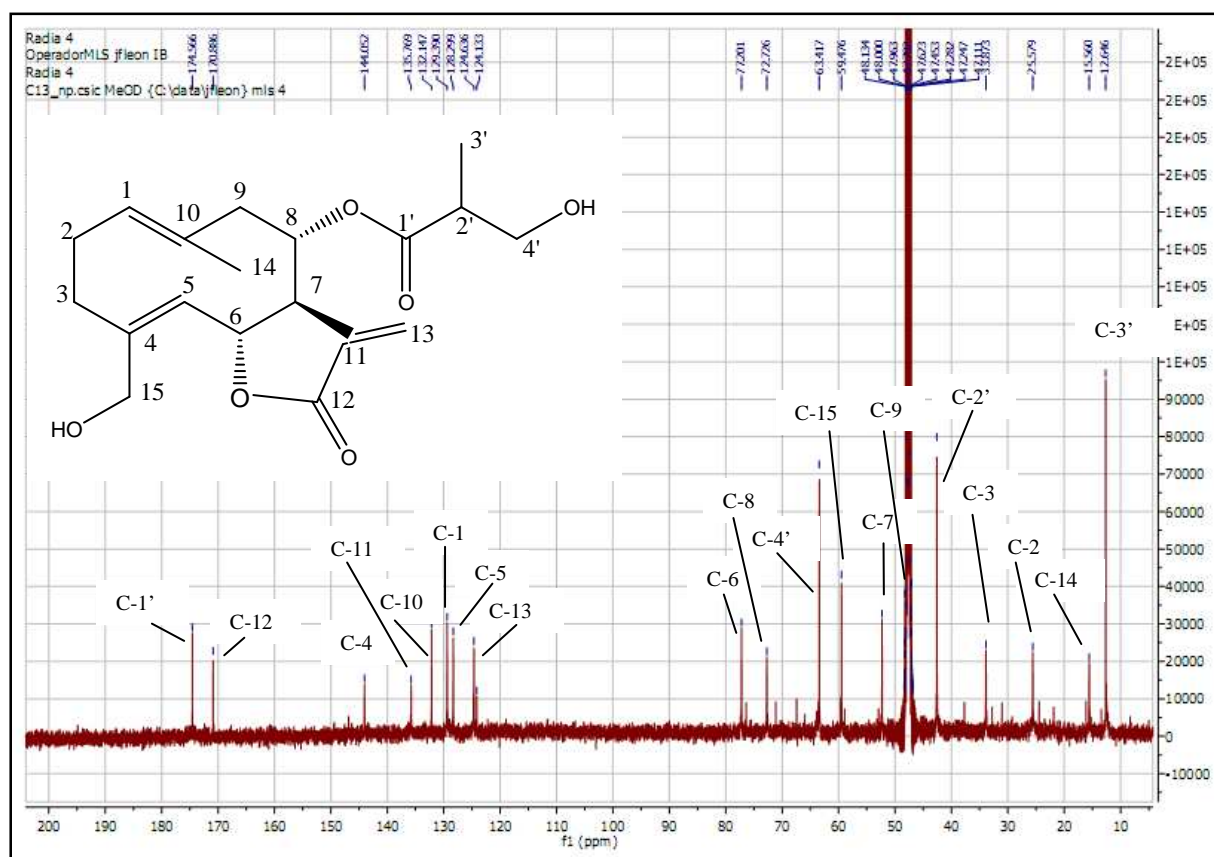
<b>C</b>	<b>δ ppm</b>	<b>DEPT</b>	<b>HSQC</b>
1	129.47	CH	1
2	26.25	CH <sub>2</sub>	2α, 2β
3	34.66	CH <sub>2</sub>	3α, 3β
4	143.88	C	
5	128.68	CH	5
6	76.76	CH	6
7	52.81	CH	7
8	72.22	CH	8
9	48.94	CH <sub>2</sub>	9α, 9β
10	132.50	C	
11	135.37	C	
12	169.78	C	
13	125.36	CH <sub>2</sub>	13α, 13β
14	16.74	CH <sub>3</sub>	14
15	61.39	CH <sub>2</sub>	15α, 15β
1'	175.94	C	
2'	34.07	CH	2'
4'	19.22	CH <sub>3</sub>	4'
3'	18.50	CH <sub>3</sub>	3'



### IV.1.2. Identification structurale du produit SL-2

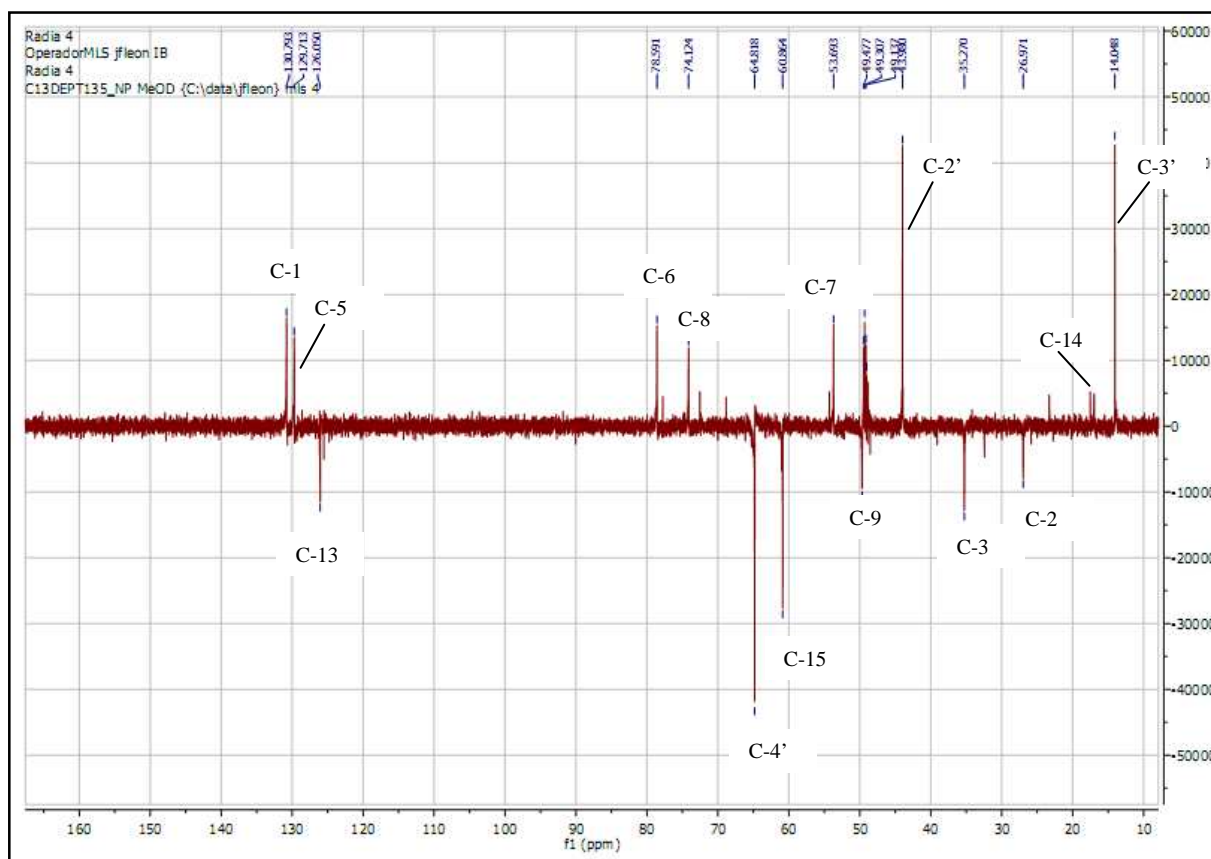
Les spectres RMN-<sup>1</sup>H (spectre n° 9) , <sup>13</sup>C (spectre n°6) et DEPT 135 (spectre n°7) relatifs au produit **SL-2** montrent une grande similitude comparativement à ceux de **SL-1**.

Ainsi l'examen simultané de ces expériences, additionné au spectre HSQC montre la présence de :

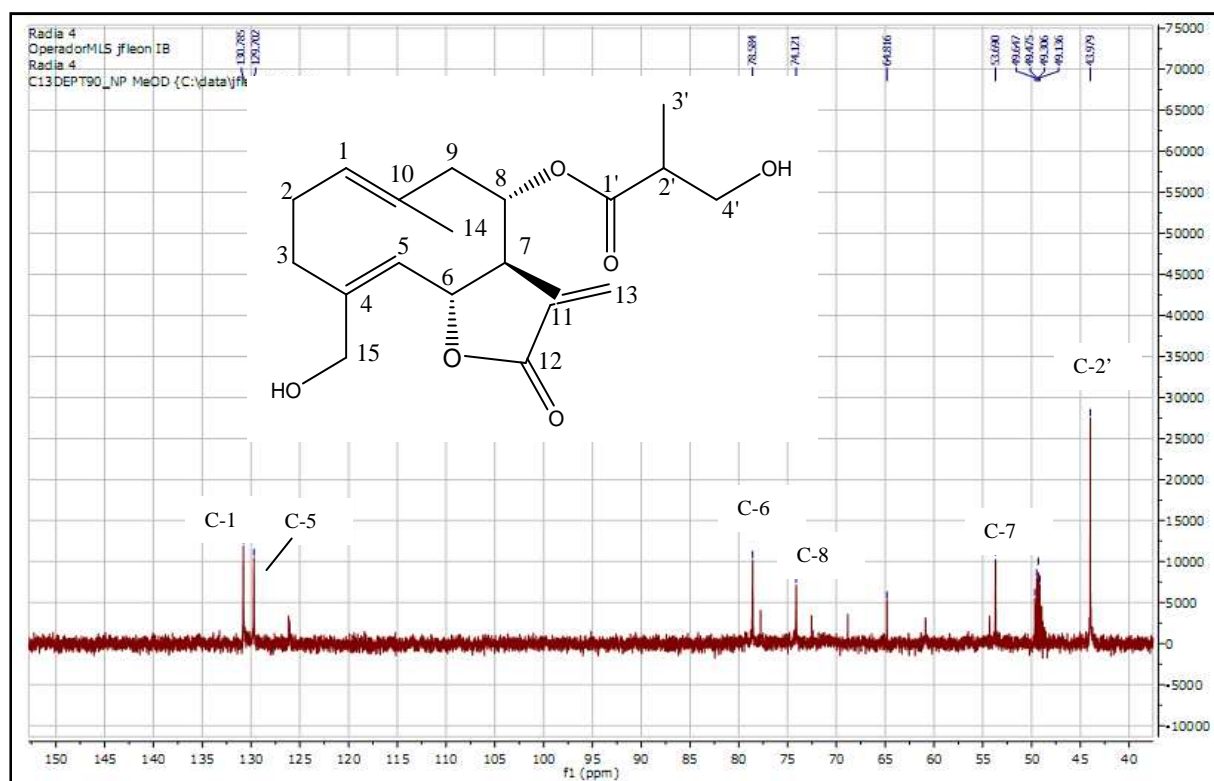


Spectre n°6 : RMN-<sup>13</sup>C (100 MHz, MeOD) du produit SL-2

- Deux méthyles.
- Six méthylènes dont un oléfinique, deux oxygénés et trois aliphatiques.
- Six méthines dont deux oléfiniques, deux oxygénés et deux aliphatiques.
- Cinq carbones quaternaires sp<sup>2</sup> dont deux carbonyles l'un à  $\delta$  174,56 ppm (ester) et l'autre à  $\delta$  170,88 ppm (lactone  $\alpha$ ,  $\beta$  insaturé).



Spectre n°7 : DEPT 135 (100 MHz, MeOD) du produit SL-2

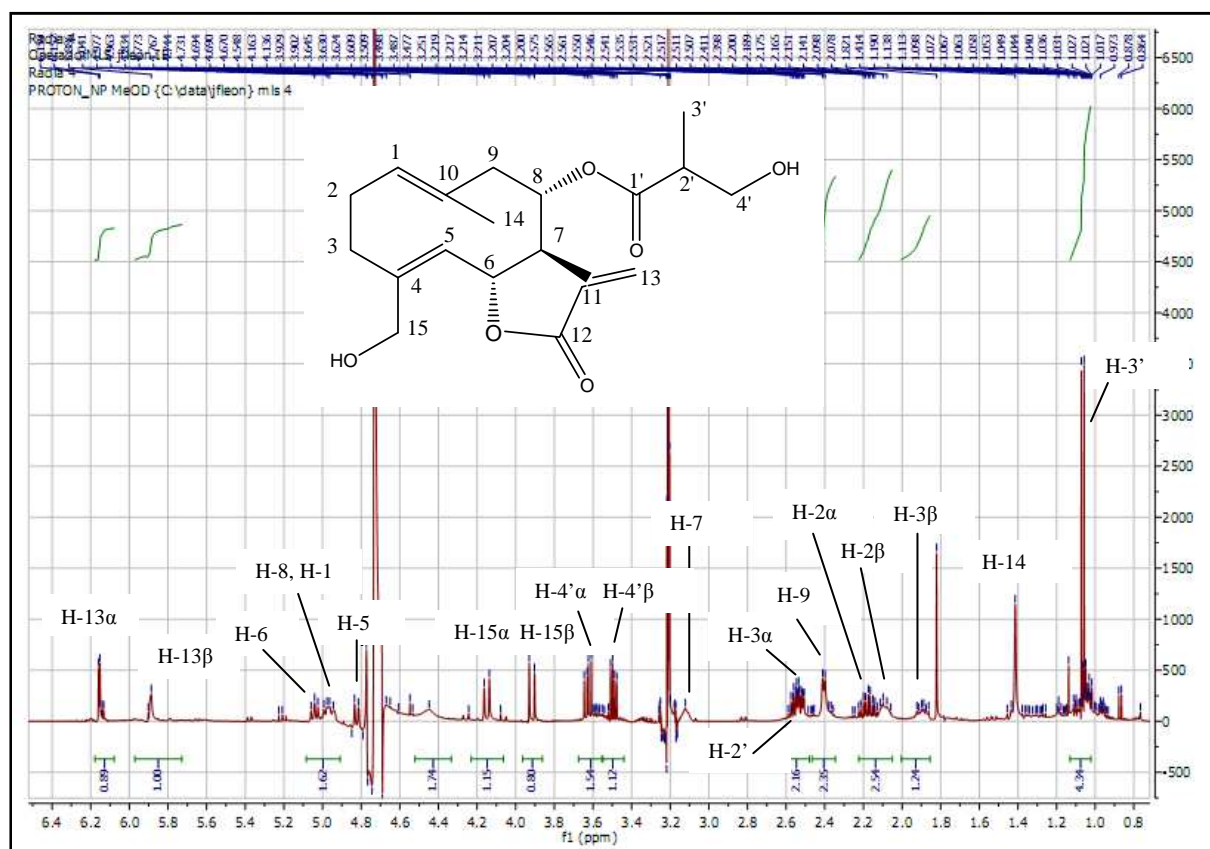


Spectre n°8 : DEPT 90 (100 MHz, MeOD) du produit SL-2

Toutes ces informations mènent à la formule moléculaire  $C_{19}H_{26}O_6$ , soit une molécule comporte sept insaturations dont cinq engagées dans les groupements cités précédemment (trois doubles liaisons et deux fonctions carbonyles), les deux restantes ne peuvent être épuisées que dans les deux cycles du squelette sesquiterpénique d'un germacranolide, dont les caractéristiques spectroscopiques sont clairs sur le spectre RMN- $^1H$  (spectre n°9), avec le doublet attribuable au proton H-5 (d,  $J= 11,4$  Hz) à  $\delta$  4,83 ppm d'une part, et l'apparition du proton H-1 dans la zone (4,65-5,49 ppm) d'autre part [1-8].

Le triplet à  $\delta$  5,02 ppm ( $J= 11,4$  Hz) sur le même spectre caractéristique du proton porté par le carbone de lactonisation ( $\delta$  78,59 ppm) ne peut être attribué qu'à H-6, qui doit être orienté  $\beta$ .

La présence d'une lactone *Trans* 6, 12 est confirmée par la valeur large de la constante de couplage  $J_{5,6}= J_{6,7}= 11,4$  Hz et la multiplicité de H-6 (t,  $J= 11,4$  Hz) [1-8].

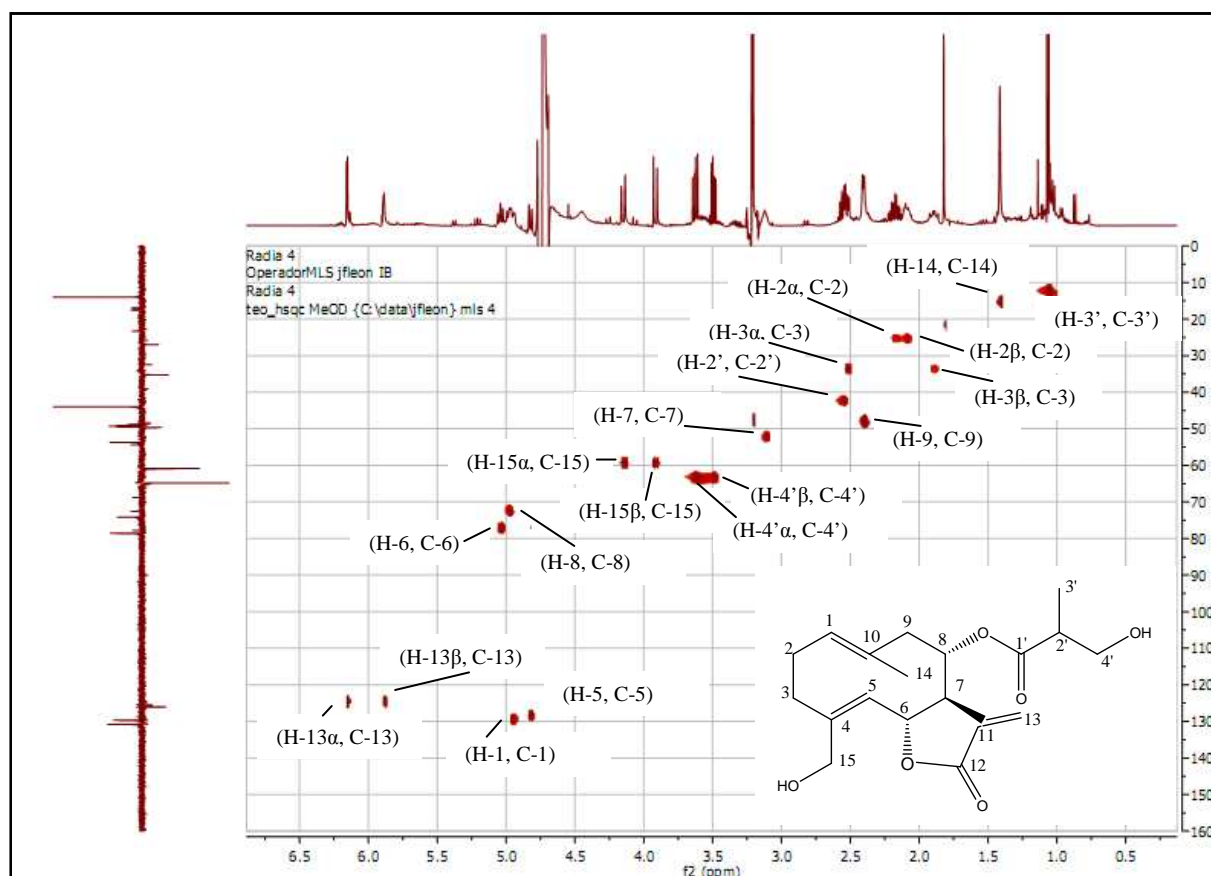


**Spectre n°9 : RMN $^1H$  du produit (400 MHz, MeOD) SL-2**

La seule différence consiste aux signaux relatifs de la chaîne latérale qui est attachée au carbone C-8 du squelette sesquiterpénique. En effet, on remarque la disparition du doublet d'un des deux méthyles de l'isobutyrate de **SL-1**, et l'apparition de deux systèmes ABX, le

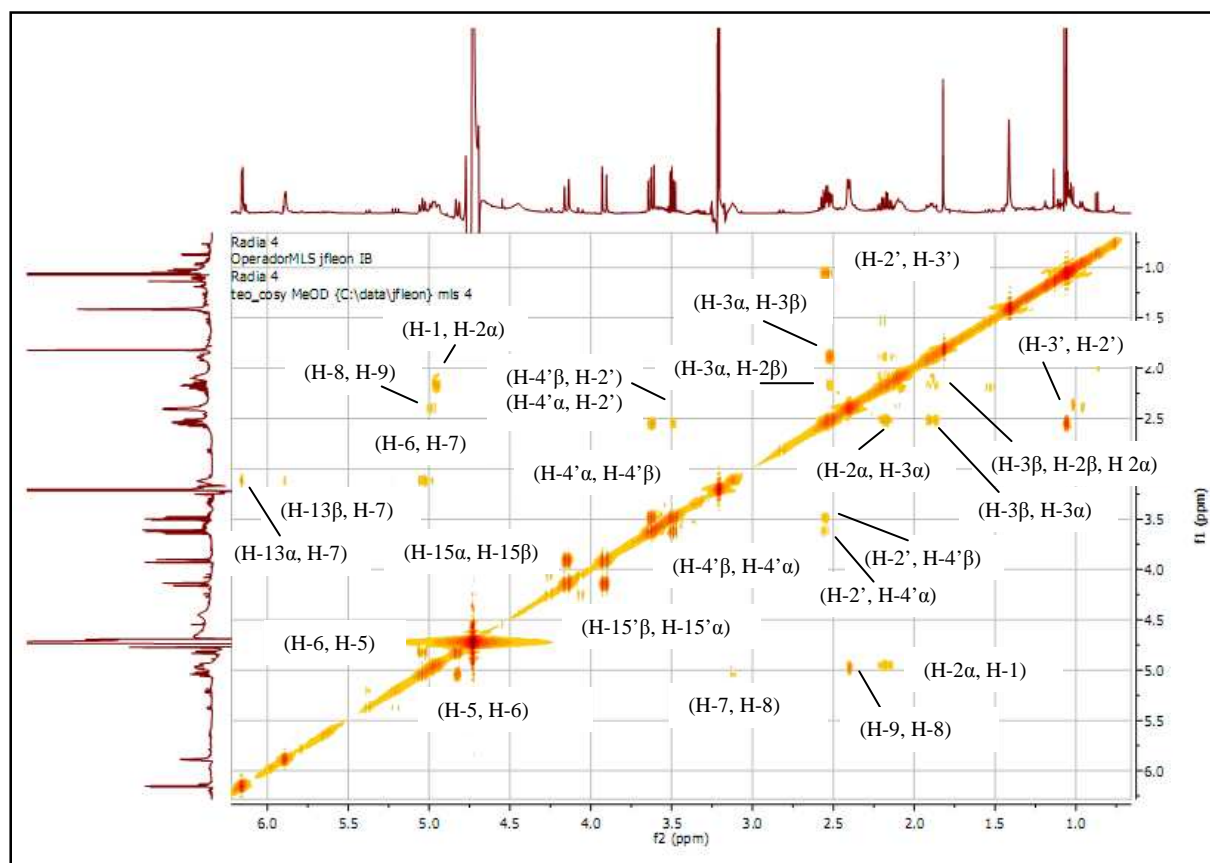
premier à  $\delta$  3,48 ppm (dd,  $J= 5,7 ; 11,4$  Hz) et le deuxième à  $\delta$  3,61 ppm (dd,  $J= 8,2 ; 11,4$  Hz) dans le spectre RMN- $^1\text{H}$  de **SL-2**, le déplacement chimique de ces signaux sont en faveur d'un méthylène oxygéné.

D'autre part, les données du spectre RMN- $^{13}\text{C}$  (spectre n° 6) et de la séquence DEPT 135 (spectre n° 7) montrent, en effet, l'apparition d'un  $\text{CH}_2$  à  $\delta$  64,81 ppm qui corrèle avec ces deux systèmes ABX dans le spectre HSQC (spectre n° 10), dont le déplacement chimique confirme l'hydroxylation discuté plus haut. De plus la disparition d'un signal relatif d'un méthyle est remarquée sur ces spectres (n° 6 et 7).



**Spectre n°10 : HSQC (400 MHz, MeOD) du produit SL-2**

Les signaux de cette chaîne latérale ne peuvent être présentes que dans l'unité de 4'-hydroxybutyrate [1,13], dont l'identification est aisée dans le spectre COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  (spectre n° 11) grâce à la corrélation nette entre les protons (H-4') des deux systèmes ABX et le proton H-2' à  $\delta$  2,52 ppm, lequel mène au signal intégrant les trois protons (H-3') du méthyle-3' qui apparaissent sous la forme d'un doublet ( $J= 7,1$  Hz) à  $\delta$  1,08 ppm dans le spectre RMN- $^1\text{H}$ .



Spectre n°11 : COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  (400 MHz, MeOD) du produit SL-2

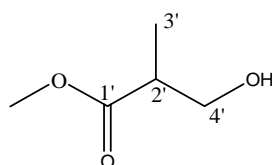


Figure 4 : Structure de 4'-hydroxybutyrate

L'attribution des autres différents signaux repose sur la comparaison avec celle du produit **SL-1**, en étudiant approfondiment les spectres RMN 1-D et 2-D (COSY $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ , HSQC) de **SL-2**.

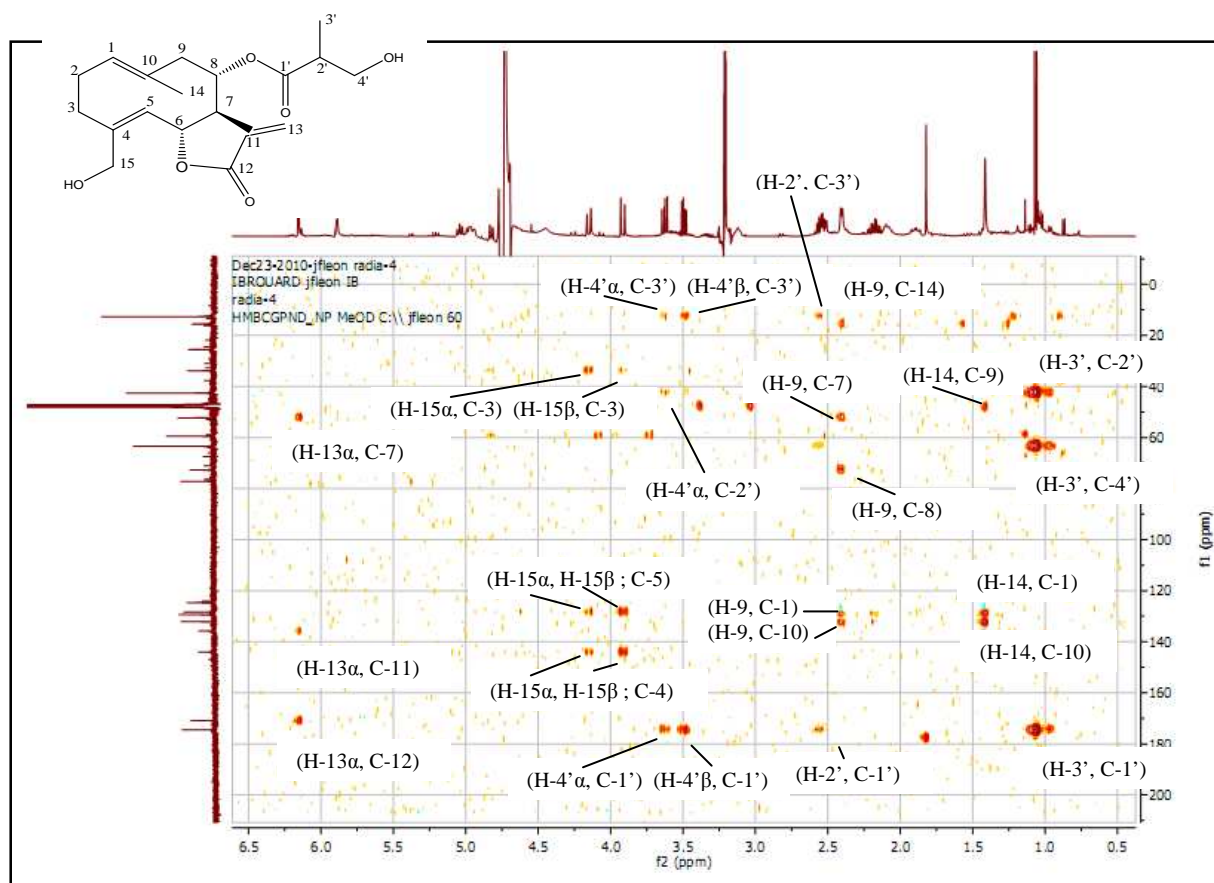
Afin de confirmer les résultats obtenus et de lever les ambiguïtés des signaux masqués, nous avons procédé à une expérience HMBC (spectre n° 12), qui montre clairement :

- Une corrélation entre les protons de  $\text{CH}_3$  à  $\delta$  1,41 ppm et les trois carbones C-10, C-1 et C-9, cette corrélation confirme la position de ce méthyle en C-10 qui doit être le méthyle 14 d'un germacranolide.



- Une corrélation entre les protons CH<sub>2</sub>-O- et les carbones C-4, C-5 et C-3, ces protons ne peuvent être que les protons H-15 $\alpha$ , H-15 $\beta$ , qu'on les placerait en C-4 de la même molécule.
- Une corrélation entre le proton H-13 $\alpha$  et le carbonyle lactonique C-12.
- Une corrélation entre le proton H-2' et le carbonyle C-1' à  $\delta$  174,56 ppm d'une part, et le carbone C-3' d'autre part.
- Une corrélation entre les deux protons H-4' et les carbones C-3' (méthyle), et le carbonyle C-1'.
- Une corrélation entre les protons du méthyle (H-3') et les carbones C-2', C-4' et C-1'.

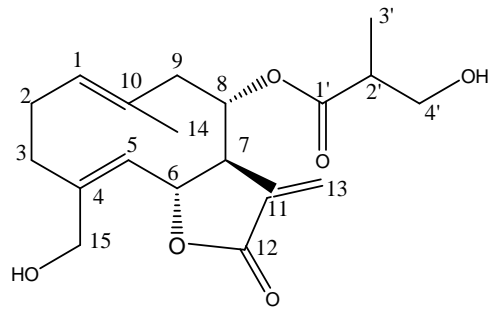
Toutes ces constatations confirment que **SL-1** et **SL-2** ont le même squelette de base des germacranolides à l'exception des signaux de la chaîne latérale.



**Spectre n°12 : HMBC (400 MHz, MeOD) du produit SL-2**

La localisation de cette chaîne latérale en carbone C-8, est un choix raisonnable, que l'on justifié par la valeur du déplacement chimique de sa résonance à  $\delta$  74,12 ppm [1-8].

L'ensemble de ces informations comparées avec celles de la littérature [1,13] est en complet accord avec la structure de l'arctiopicrine.



**Figure 5** : Structure de l'arctiopicrine

Ce dernier a été isolé précédemment de cette espèce [13].

Tableau 3 : RMN-<sup>1</sup>H, COSY<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H et HMBC (400 MHz, MeOD) de SL-2

H	δ ppm	J (Hz)	COSY <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H	HMBC
1	4.95 m		H-2 $\alpha$ , H- 2 $\beta$	
2 $\alpha$	2.20 dt	5.0 ; 10.7	H-1, H-3 $\beta$	C-3, C-10
2 $\beta$	2.10 m		H-3 $\beta$	
3 $\alpha$	2.50 m		H-3 $\beta$	
3 $\beta$	1.90 br dt	5.7 ; 12.7	H-2 $\alpha$ , H-3 $\alpha$	
5	4.83 d	11.4	H-6	C-15
6	5.02 t	11.4	H-5, H-7	
7	3.12 m		H-6, H-8	
8	4.96 m		H-9 $\beta$	
9 $\alpha$	2.40 m	8.5	H-8	C-7, C- 8, C-10, C-14
9 $\beta$	2.40 m	8.5	H-8	
13 $\alpha$	6.15 d	3.5	H-7	C-7, C-11, C-12
13 $\beta$	5.88 d	1.4	H-7	
14	1.41 s		H-1	C-9, C-10
15 $\alpha$	4.15 d	12.8	H-15 $\beta$	C-3, C-4, C-5
15 $\beta$	3.91 d	12.8	H-15 $\alpha$	C-4, C-5
2'	2.52 m		H-4' $\alpha$ , H-4' $\beta$ , H-4'	C-1', C-3'
4' $\alpha$	3.61 dd	8.2 ; 11.4	H-2'	C-1'
4' $\beta$	3.48 dd	5.7 ; 11.4	H-2'	C-1', C-3'
3'	1.08 d	7.1	H-2'	C-1', C-2', C-4'

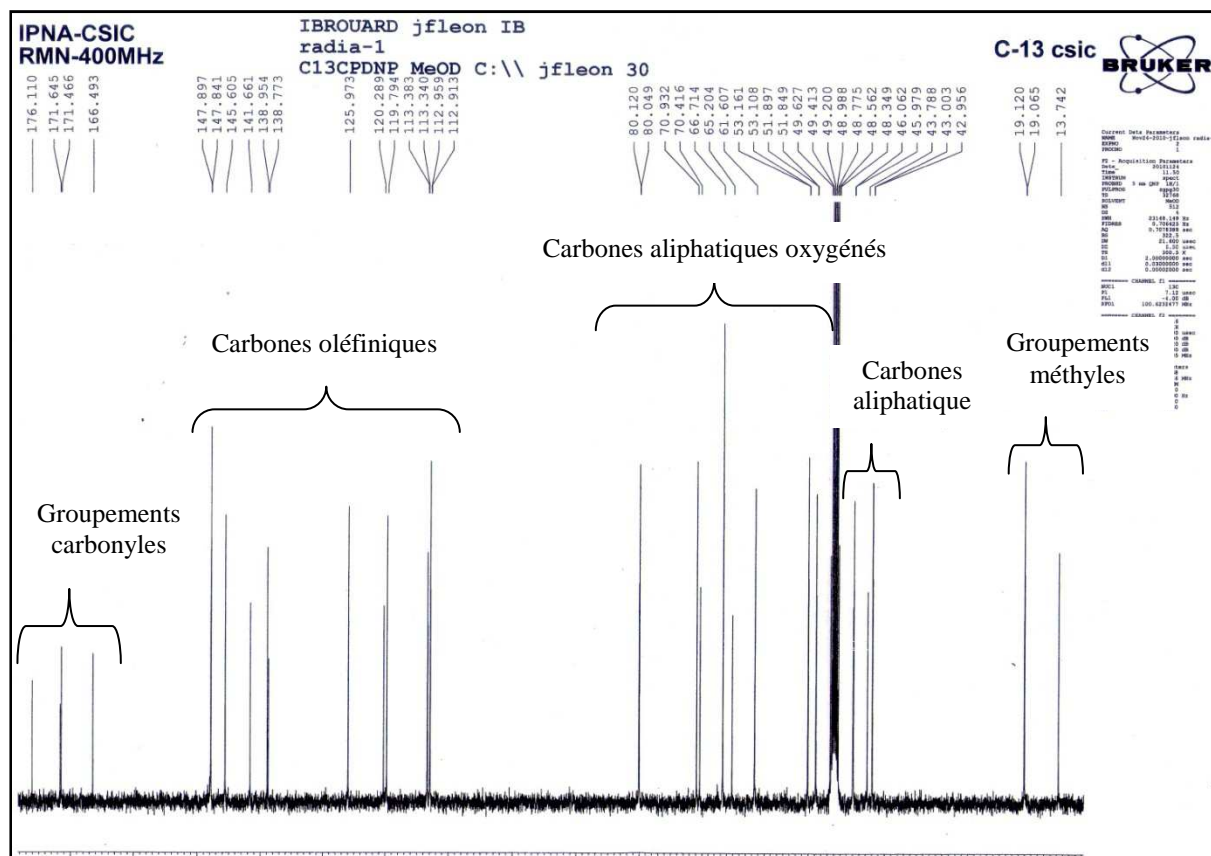


**Tableau 4 : RMN-<sup>13</sup>C, DEPT 135, 90 (100 MHz, MeOD) et HSQC (400 MHz, MeOD) de SL-2**

<b>C</b>	<b>δ ppm</b>	<b>DEPT</b>	<b>HSQC</b>
1	130.79	CH	1
2	26.97	CH <sub>2</sub>	2α, 2β
3	35.27	CH <sub>2</sub>	3α, 3β
4	144.05	C	
5	129.71	CH	5
6	78.59	CH	6
7	53.69	CH	7
8	74.12	CH	8
9	49.47	CH <sub>2</sub>	9α, 9β
10	132.14	C	
11	135.76	C	
12	170.88	C	
13	126.05	CH <sub>2</sub>	13α, 13β
14	15.56	CH <sub>3</sub>	14
15	60.86	CH <sub>2</sub>	15α, 15β
1'	174.56	C	
2'	43.98	CH	2'
4'	64.81	CH <sub>2</sub>	4'α, 4'β
3'	12.64	CH <sub>3</sub>	3'

### IV.1.3. Identification structurale du produit SL-4.

Tout indique un mélange de deux produits. Notre approche sera donc de relever certaines informations que nous identifions effectivement et d'attendre jusqu'à ce que nous ayons d'autres confirmations.



Spectre n° 13 : RMN-<sup>13</sup>C (100 MHz, MeOD) du mélange SL-4

En partant de l'extrémité haute fréquence du spectre <sup>13</sup>C (spectre n° 13), on compte 36 atomes de carbones que nous pouvons répartir comme suit :

- Quatre résonances situées dans l'intervalle de  $\delta$  166,49 à 176,11 ppm, correspondantes aux groupements carbonyles dont deux caractéristiques des  $\gamma$ -lactones sesquiterpéniques.
- Six résonances relatives aux carbones oléfiniques présentes dans l'intervalle de  $\delta$  138,77 à 147,89 ppm, dont quatre attribuables aux carbones quaternaires et deux laissent penser aux méthines caractéristiques des carbones libellés C-1 ( $\delta$  147,89 et 147,84 ppm) des lactones sesquiterpéniques de type élémanolide.

- Sept autres situés dans le domaine oléfinique entre  $\delta$  112,91 et 125,97 ppm, dont quatre ( $\delta$  112,95 ; 112,91 ; 113,38 ; 113,34 ppm) concordent avec les résonnances des méthylènes terminaux que nous pourrions attribuer aux carbones C-2, C-3 respectivement de deux élémanolides, ce qui confirme notre hypothèse précédente.

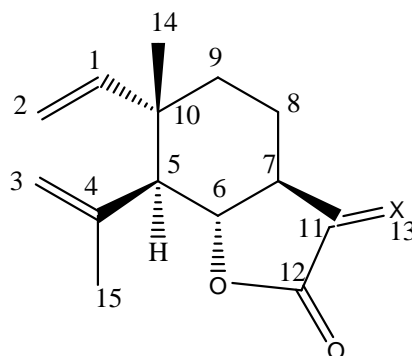
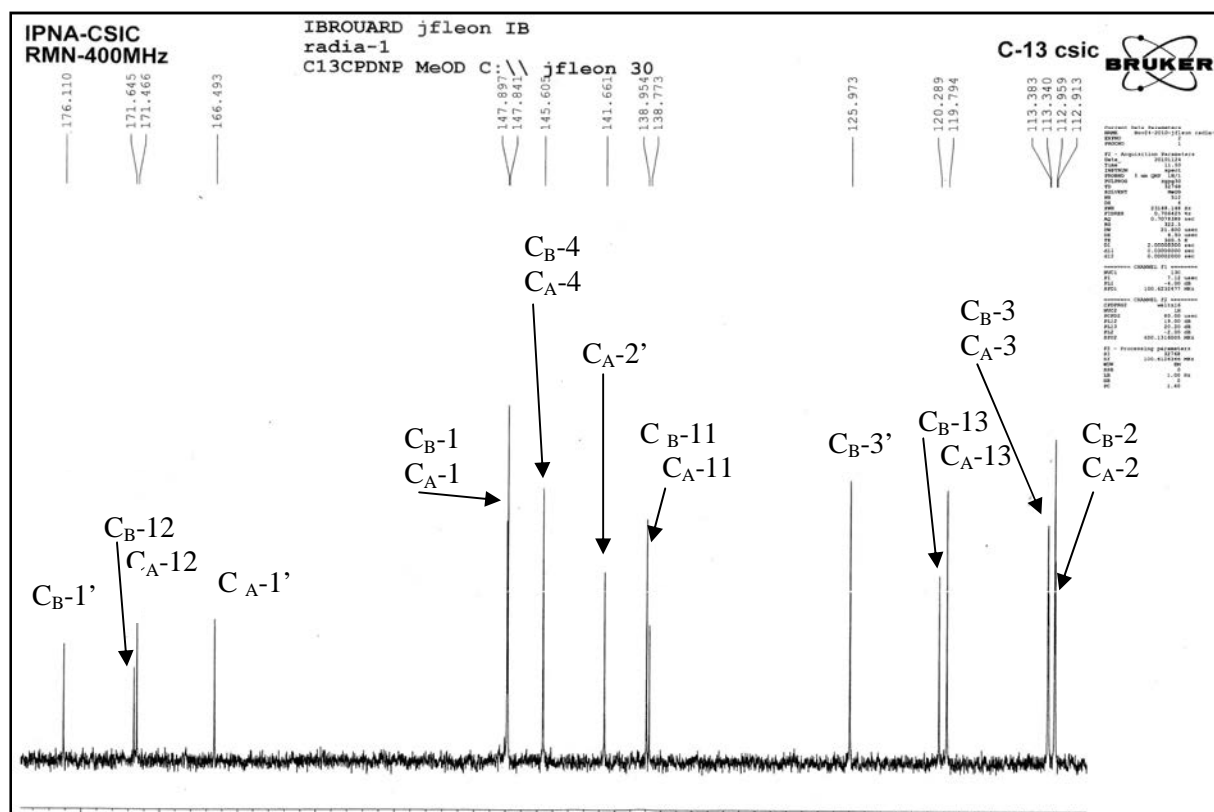


Figure 6 : Structure de base des élémanolides

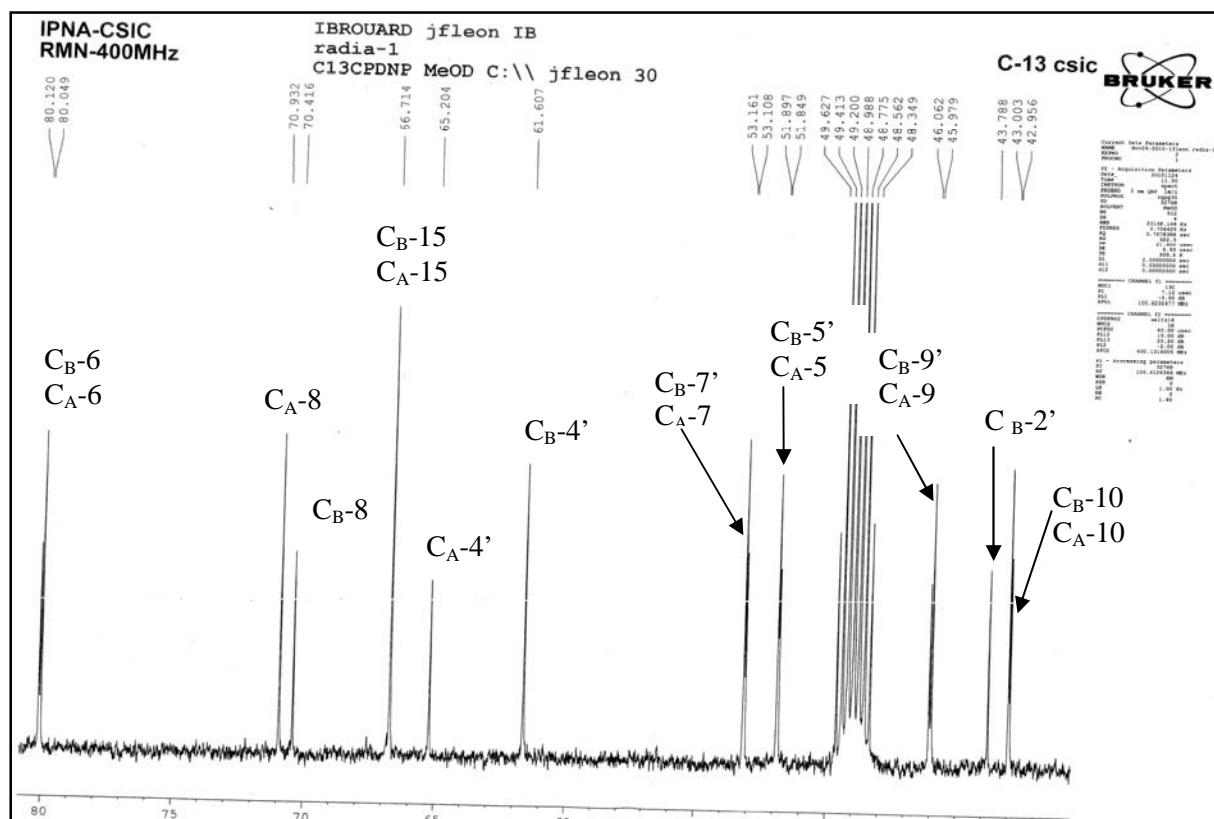


#### Étalement du spectre n°13 dans la zone 110,00 - 176,50 ppm

C<sub>A</sub> : Signaux relatifs aux carbones du produit **SL-4A**

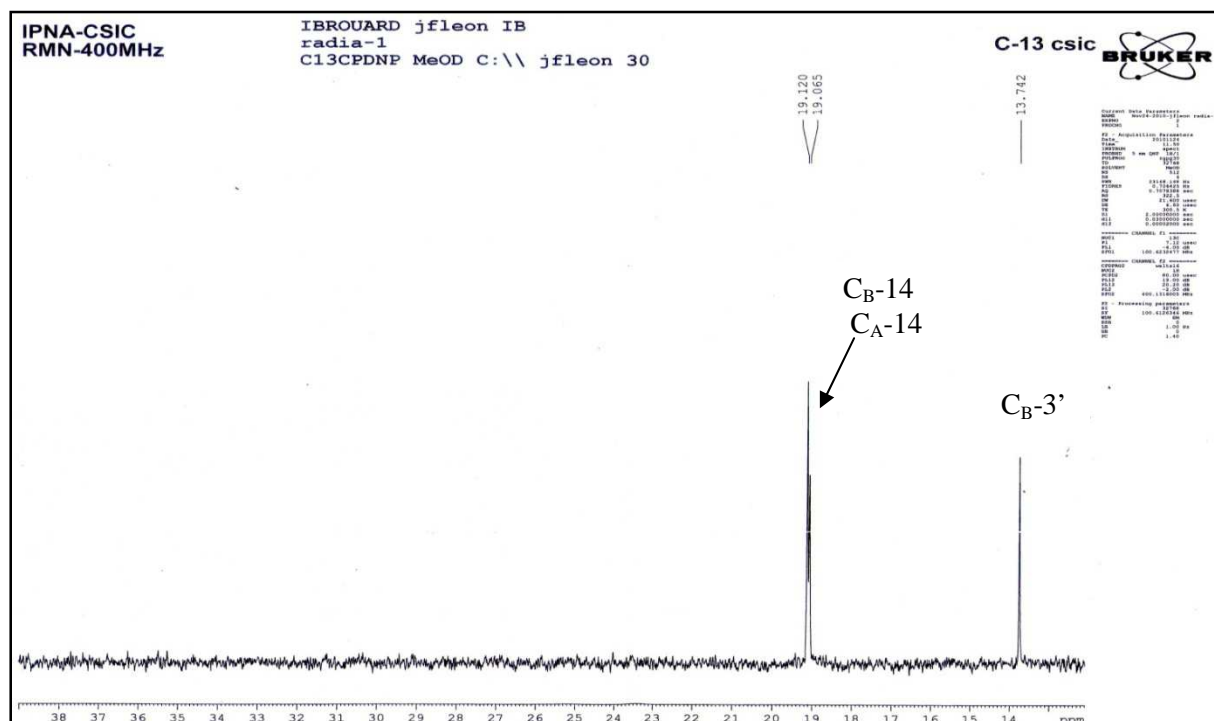
C<sub>B</sub> : Signaux relatifs aux carbones du produit **SL-4P**

- Une région aliphatique allant de  $\delta$  42,95 jusqu'à 80,12 ppm, comporte 16 atomes de carbones, dont sept sont oxygénés.



### Etagement de spectre n°13 dans la zone 40,00 – 80,20 ppm

- Trois groupements méthyles entre  $\delta$  13,74 et 19,12 ppm.



### Etagement de spectre n°13 dans la zone 13,00 – 39,00 ppm

$C_A$  : Signaux relatifs aux carbones du produit **SL-4A**

$C_B$  : Signaux relatifs aux carbones du produit **SL-4P**

Un regard sur le spectre RMN- $^1\text{H}$  (spectre n° 14) de ce mélange, révèle une interaction inattendue. Il semble que les signaux relatifs aux deux chaînes latérales : 4'-hydroxyméthacrylate [7] et 4'-hydroxybutyrate [1,13] (Figure 4) sont présents :

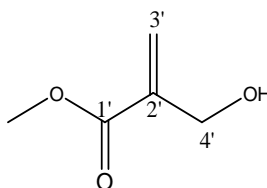
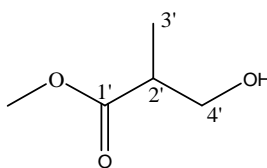
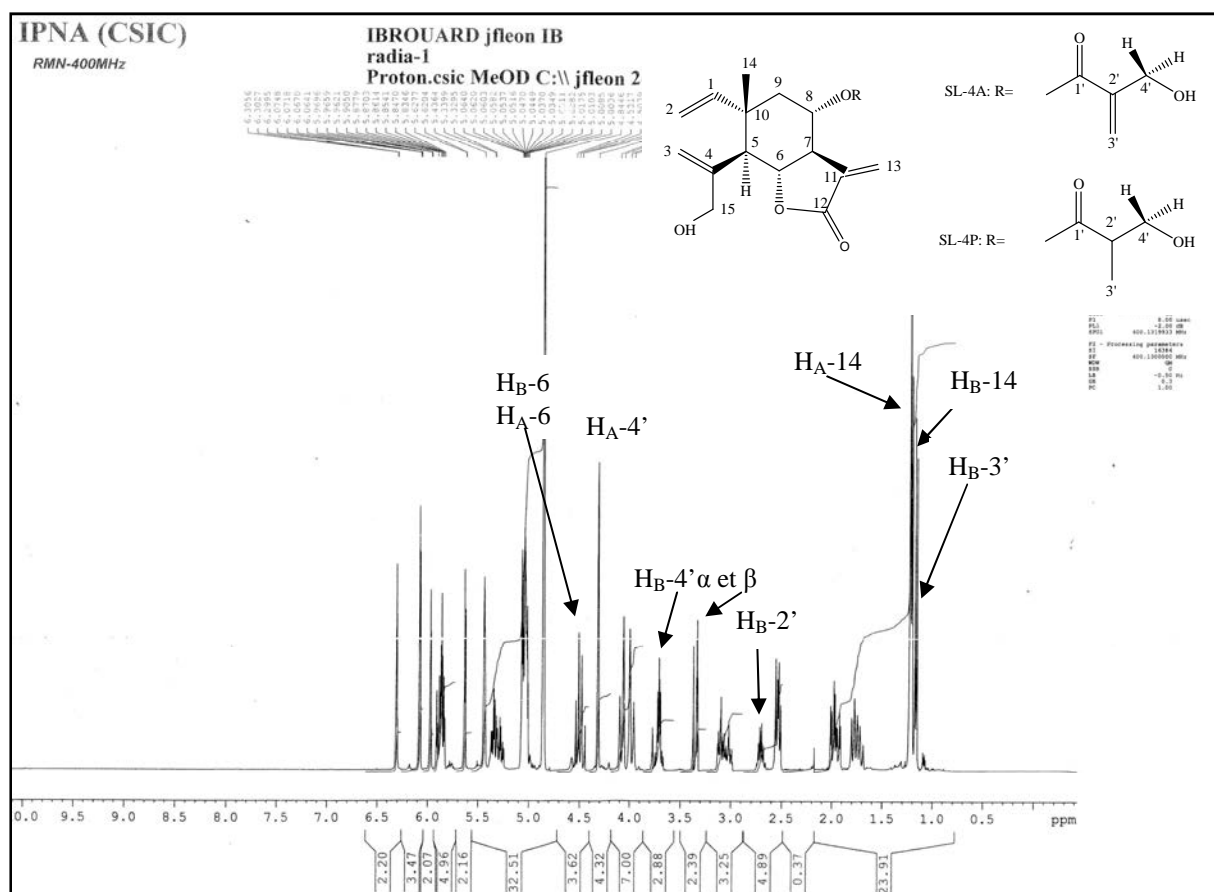


Figure 7 : Structure de 4'-hydroxyméthacrylate



Structure de 4'-hydroxybutyrate



$H_A$  : Signaux relatifs aux protons du produit SL-4A

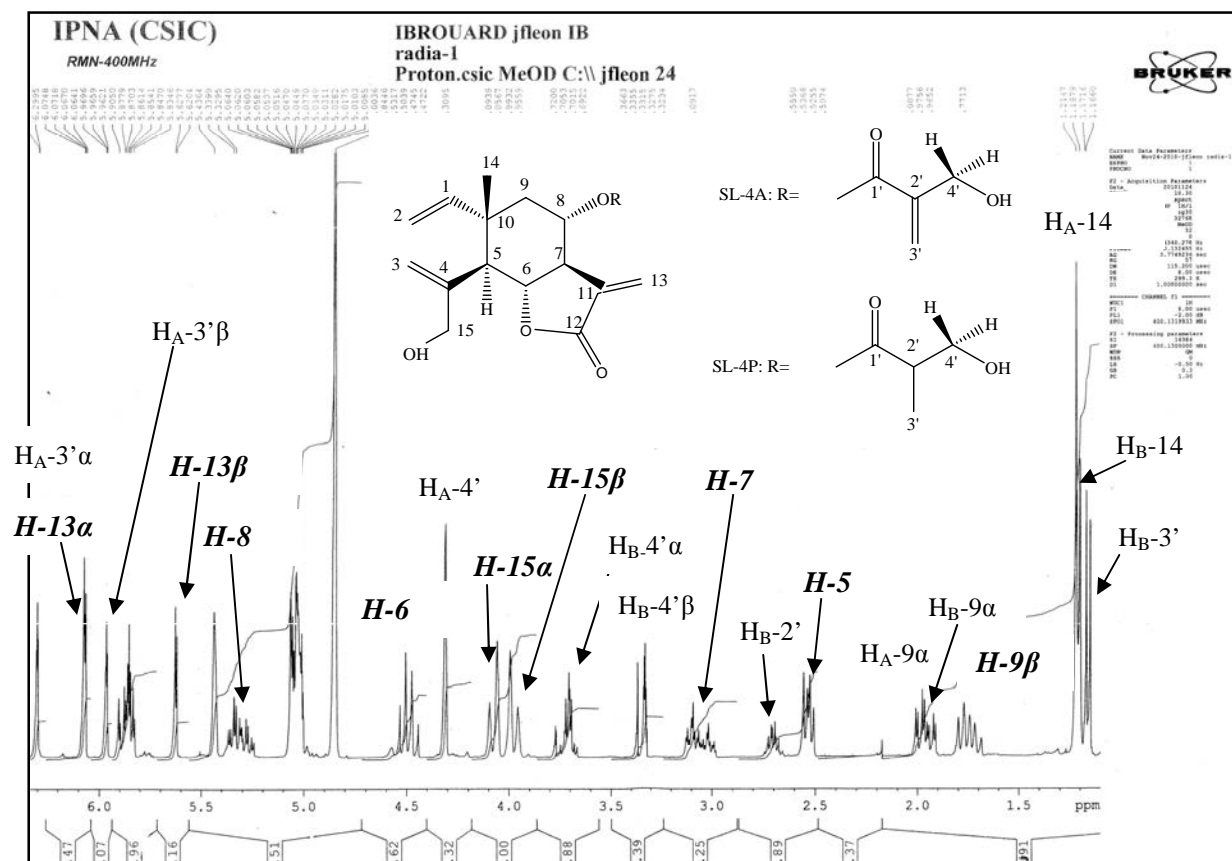
$H_B$  : Signaux relatifs aux protons du produit SL-4P

Spectre n°14 : RMN- $^1\text{H}$  (400 MHz, MeOD) du mélange SL-4

Nous commençons avec le singlet large à  $\delta$  4,30 ppm, ce signal intégrant deux protons, qui ne peuvent être que les protons  $H_{A-4'}$  de la chaîne : 4'-hydroxyméthacrylate, dont la valeur de déplacement chimique confirme l'hydroxylation.

Nous nous attendons donc les deux singlets correspondants aux protons libellés  $H_{A-3'}$  à l'extrémité gauche du spectre RMN- $^1H$ , entre  $\delta$  5,90 et 6,30 ppm. Toutefois, de nombreux protons sont intriqués dans cette portion du spectre.

Comme signalé plus haut, ce spectre montre également les fragments structuraux de la chaîne : 4'-hydroxybutyrate, avec deux paires de protons détectés sous la forme de multiplets ; l'un à  $\delta$  3,30 ppm et l'autre à  $\delta$  3,70 ppm que nous les libellons  $H_{B-4'\beta}$  et  $H_{B-4'\alpha}$  respectivement. De plus ce spectre, porte à l'extrémité droite un doublet ( $J=6,8$  Hz) apparent à  $\delta$  1,16 ppm, intégrant trois protons qui doivent être les protons  $H_{B-3'}$  du méthyle de la chaîne supposée. Comme nous nous y attendions, l'absorption complexe à  $\delta$  2,70 ppm devrait être confronté au proton libellé  $H_{B-2'}$ .



$H_A$  : Signaux relatifs aux protons du produit **SL-4A**

$H_B$  : Signaux relatifs aux protons du produit **SL-4P**

***H*** (*gras en italique*): Signaux superposés des protons des deux produits **SL-4A** et **SL-4P**

**Agrandissement du spectre n° 14 du mélange SL-4.**

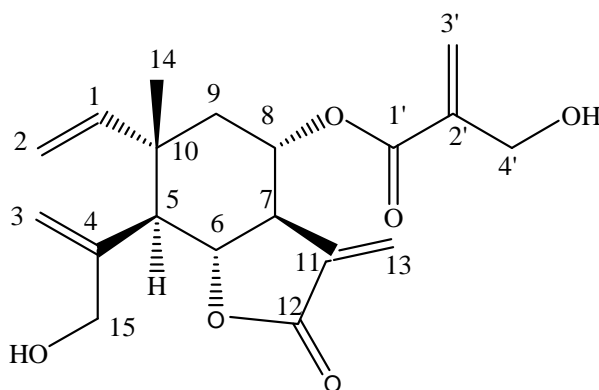
Considérons ensuite les deux singulets à  $\delta$  1,19 et 1,21 ppm. Nous avons déjà supposé qu'il s'agit de deux élémanolides, ces données ajoutées à la présence de deux carbones quaternaires à  $\delta$  42,95 et 43,00 ppm orientent vers des structures portant des méthyles angulaires, ces deux méthyles représentent les méthyles 14 de ces squelettes.

Par ailleurs, ce spectre montre un système AB à  $\delta$  4,07 et 3,97 ppm ( $J= 14,9$  Hz), attribuable, vu la multiplicité, à **H-15 $\alpha$**  et **H-15 $\beta$**  respectivement, la valeur des déplacements chimiques de ces noyaux confirme bien la présence d'un groupement hydroxyle en **C-15**. Le fait que ce mélange soit deux produits de type élémanolide permet l'attribution de deux doublets, l'un à  $\delta$  2,54 ppm ( $J= 11,8$  Hz) à H<sub>A</sub>-5 du premier élémanolide, et l'autre à  $\delta$  2,51 ppm ( $J= 11,7$  Hz) au même proton (H<sub>B</sub>-5) du deuxième élémanolide.

Un point important au sujet des lactones sesquiterpéniques est le problème de fermeture. Un examen minutieux de la zone [4,25 - 4,75] ppm, nous a permis de voir un doublet de doublets à  $\delta$  4,50 ppm ( $J= 11,1 ; 9,8$  Hz), signal attendu pour **H-6**, que nous avons dans un premier temps survolé. Ce signal enregistré signifiant que le proton porté par le carbone de la fermeture n'est couplé qu'à deux noyaux en position axiale par rapport à lui. Ceci en faveur d'une fermeture en **C-6**, de plus et sachant que **H-6** admet une stéréochimie  $\beta$ , donc **H-7** et **H-5** doivent être  $\alpha$ .

Avec ces attributions en main, nous n'avons aucune confirmation qui nous permet de connecter ces segments de ces squelettes.

Jusqu'à maintenant, en se basant sur les informations extraites des deux spectres RMN-<sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C (voir les tableaux ci-dessous) et par analogie à la bibliographie [1-2, 6, 14] nous proposons ces deux structures :

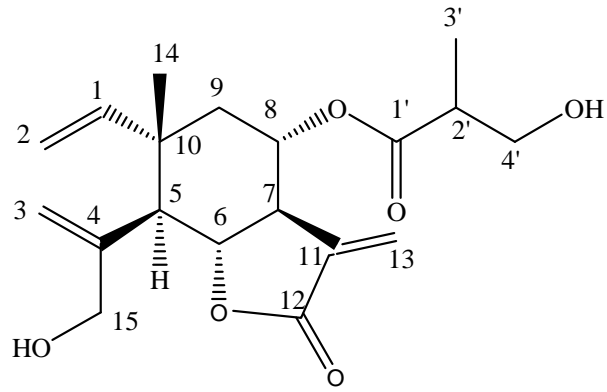


**Figure 8** : Structure de **SL-4A** ; 8 $\alpha$ - (4'-hydroxyméthacrylate) dehydromelitensine

Tableau 5 : RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, MeOD), RMN-<sup>13</sup>C, (100 MHz, MeOD) du produit SL-4A

Position	$\delta_H$ (J en Hz)	$\delta_C$
1	5,85 m	147,89
2 $\alpha$ et $\beta$	5,05 m	112,95
3 $\alpha$	5,43 br s	113,38
3 $\beta$	5,06 m	
4	-	145,60
5	2,54 d ( $J= 11,8$ )	51,89
6	4,5 dd ( $J= 11,1 ; 9,8$ )	80,12
7	3,11 m	53,16
8	5,33 m	70,93
9 $\alpha$	2,00 dd ( $J= 4,1; 12,8$ )	46,06
9 $\beta$	1,77 m	
10	-	43,00
11	-	138,95
12	-	171,64
13 $\alpha$	6,07 d ( $J= 3,1$ )	120,28
13 $\beta$	5,62 d ( $J= 2,9$ )	
14	1,21 s	19,12
15 $\alpha$	4,07 d ( $J= 14,8$ )	66,71
15 $\beta$	3,97 d ( $J= 14,9$ )	
1'	-	166,49
2'	-	141,66
3' $\alpha$	6,30 d ( $J= 1,2$ )	125,97
3' $\beta$	5,96 d ( $J= 1,4$ )	
4'	4,30 s	65,20





**Figure 9** : Structure de **SL-4P** ; 8 $\alpha$ - (4'-hydroxybutyrate) dehydromelitensine

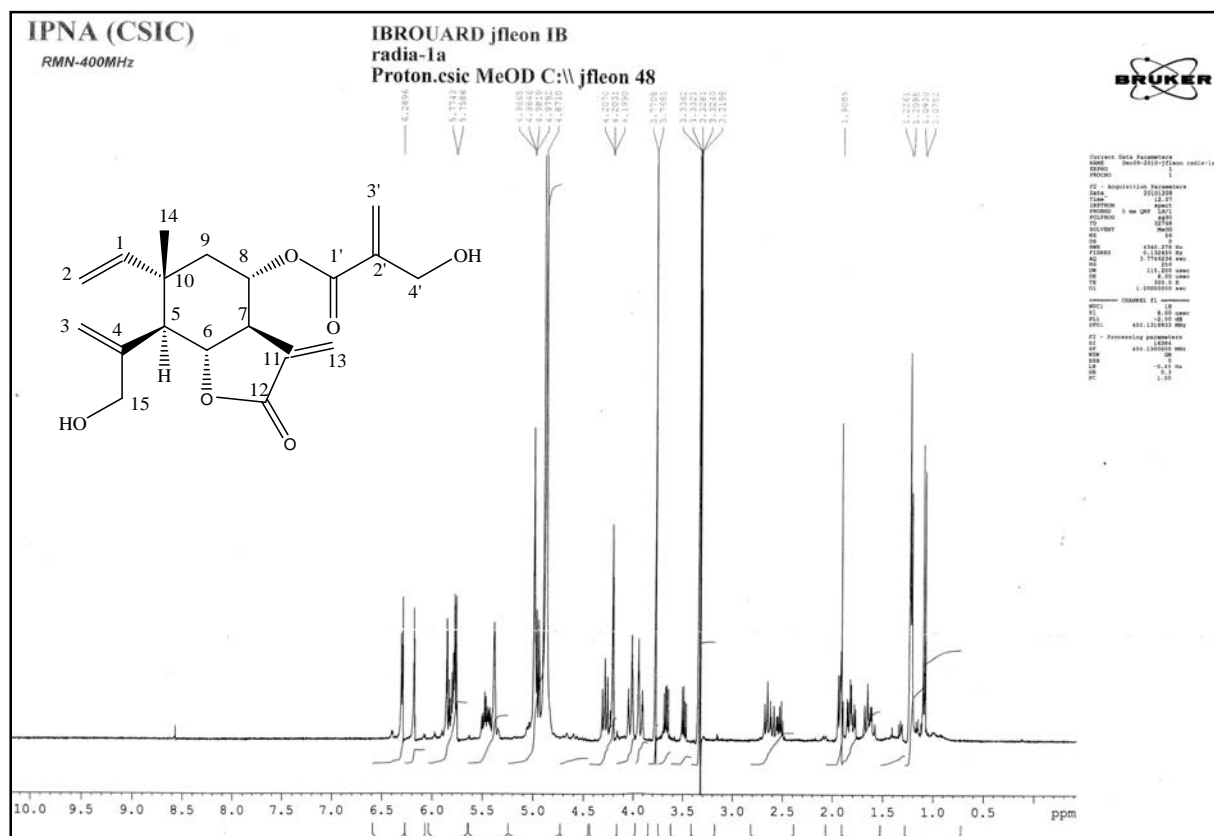
**Tableau 6 : RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, MeOD), RMN-<sup>13</sup>C, (100 MHz, MeOD) du produit SL-4P**

Position	$\delta_{\text{H}}$ (J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$
1	5,83 m	147,84
2 $\alpha$ et $\beta$	5,05 m	112,91
3 $\alpha$	5,43 br s	113,34
3 $\beta$	5,06 m	
4	-	145,60
5	2,51 d ( $J= 11,7$ )	51,84
6	4,5 dd ( $J= 11,1 ; 9,8$ )	80,04
7	3,09 m	53,10
8	5,27 m	70,41
9 $\alpha$	1,95 dd ( $J= 4,1; 12,8$ )	45,97
9 $\beta$	1,77 m	
10	-	42,95
11	-	138,77
12	-	171,46
13 $\alpha$	6,07 d ( $J= 3,0$ )	119,79
13 $\beta$	5,62 d ( $J= 2,9$ )	
14	1,19 s	19,06
15 $\alpha$	4,07 d ( $J= 14,8$ )	66,71
15 $\beta$	3,97 d ( $J= 14,9$ )	
1'	-	176,11
2'	2,70 d	43,78
3'	1,16 d ( $J= 7,0$ )	13,74
4' $\alpha$	3,70 m	61,60
4' $\beta$	3,30 m	

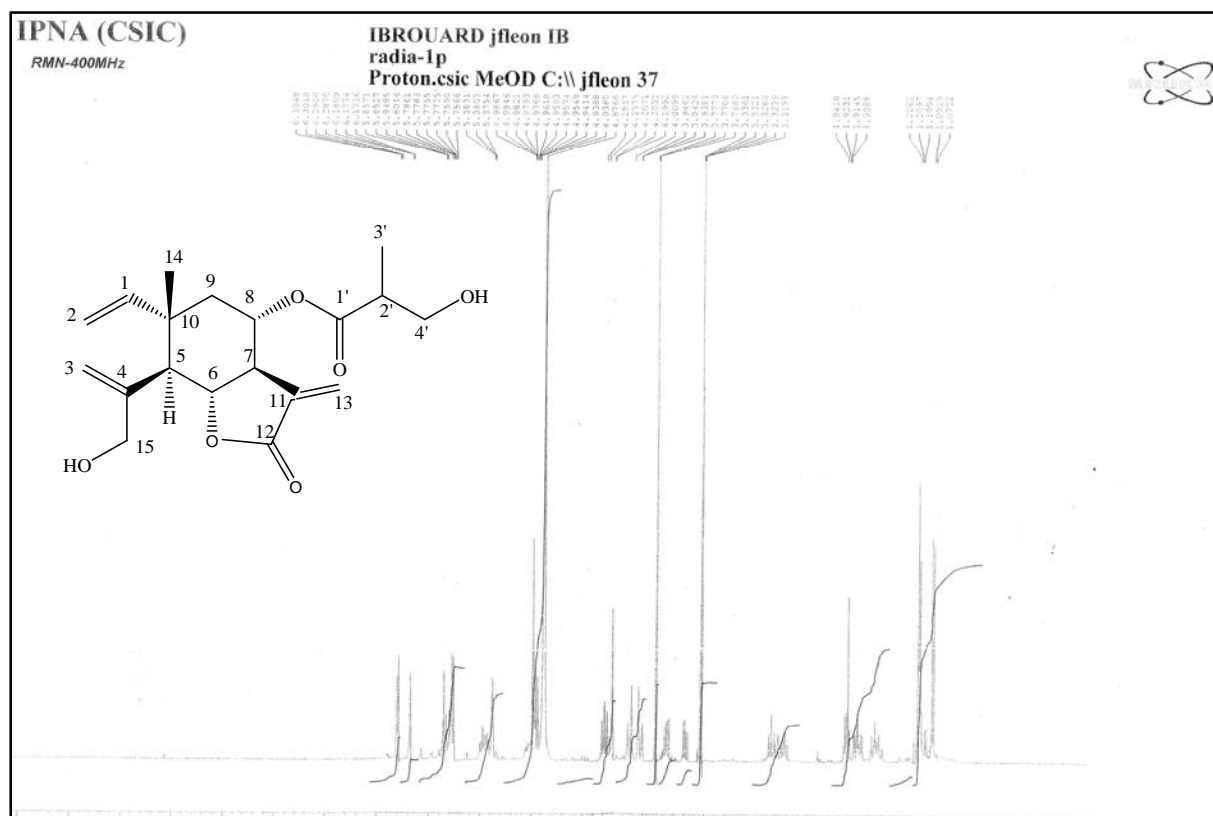
Notre conclusion est incertaine. En effet plusieurs questions restent en suspens, les preuves de cette approche d'élucidation ne reposent que sur les déplacements chimiques et les motifs de couplage issus de l'étude des spectres 1-D, ce qui nécessite des analyses détaillées univoques avec des expériences 2-D.

Compte tenu de la complexité des deux structures nous aurons besoin ici d'une autre séparation et purification, et plus loin de l'enregistrement des autres spectres RMN mono et bidimensionnelles.

Le mélange a subi alors une autre séparation chromatographique sur deux plaques analytiques de gel de silice (Silica gel 60 F<sub>254</sub>) éluées par le système (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : Acétone) dans les proportions respectives (8 : 2) pour donner deux produits. Ces résultats laissent attendre deux spectres RMN-<sup>1</sup>H différents.

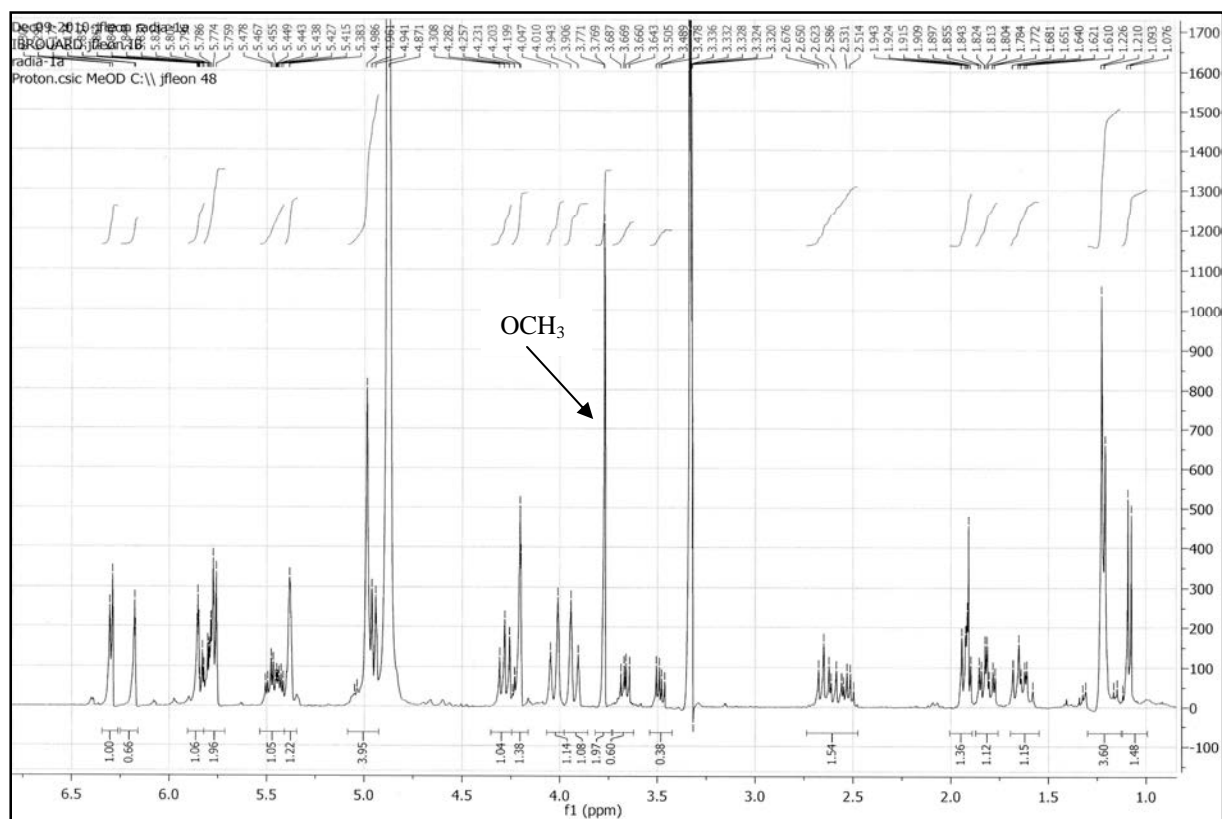


Spectre n° 15 : RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, MeOD) du produit SL-4A

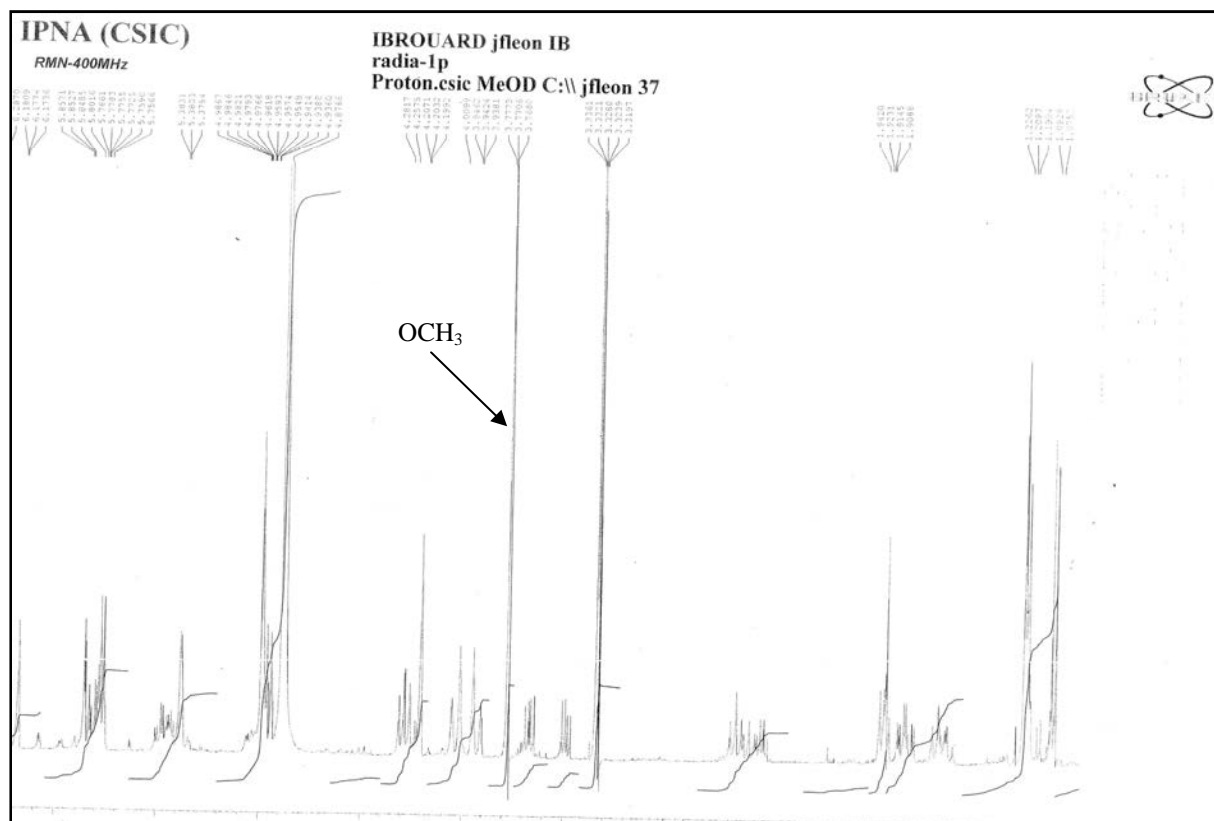


**Spectre n° 16 : RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, MeOD) du produit SL-4P**

D'après les données de spectres RMN-<sup>1</sup>H des deux produits, il apparait clairement que leur séparation n'est pas parfaite. En effet, on retrouve tous les signaux relatifs au mélange initial (Spectre n° 14). De même, les deux spectres (Spectres n° 15 et 16) montrent une grande similitude dans la distribution des protons. La différence réside dans le fait qu'un nouveau signal situé à  $\delta$  3,78 ppm est apparu sous la forme d'un singulet, autrement dit nous avons un groupement méthoxyle, cela suppose l'ouverture de l'un des deux cycles lactoniques pendant l'opération de la séparation.



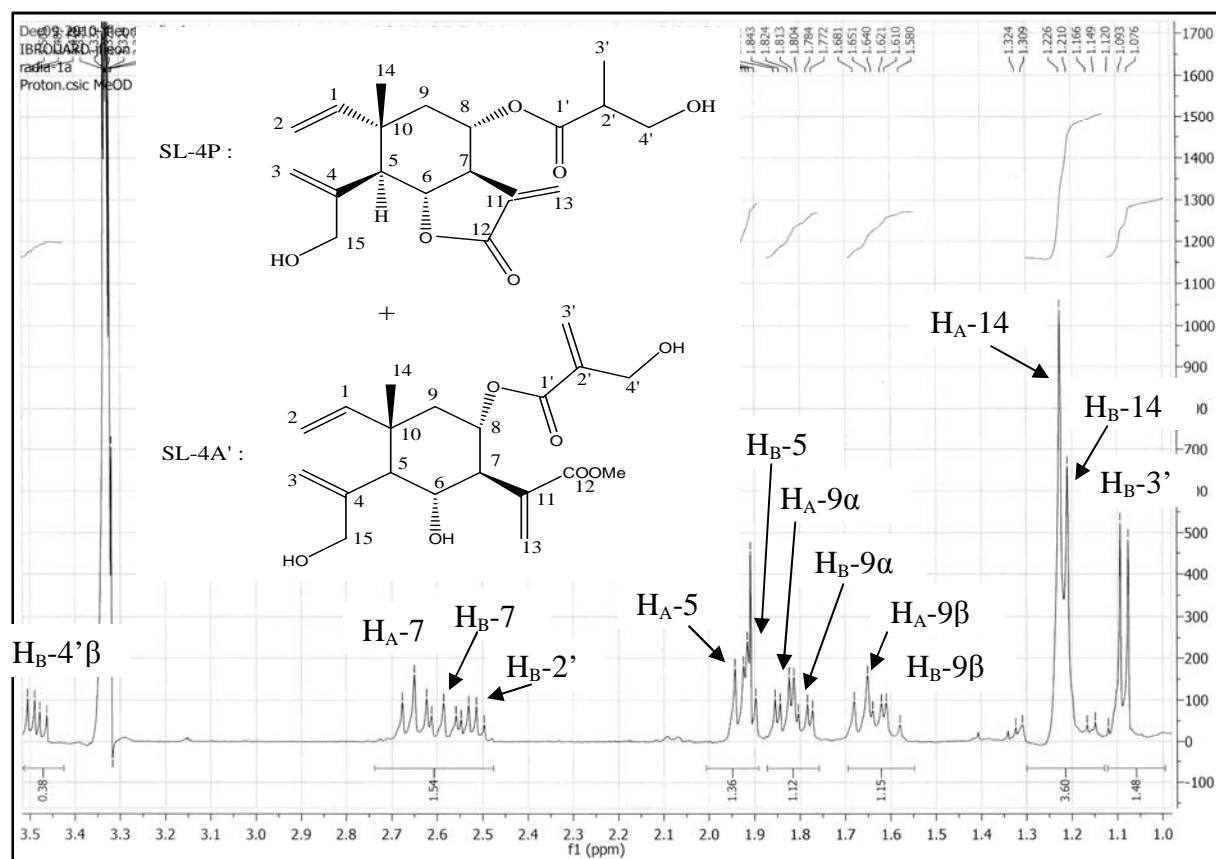
Agrandissement du spectre n° 15 du produit SL4-A



Agrandissement du spectre n°16 du produit SL-4P

Vu l'importance de ces résultats, et la mise en évidence de problème des quantités et des artefacts issus de la séparation, nous n'avons aucun choix : le seul moyen de suivre cette étude est de compléter les autres analyses spectrales (DEPT 135, 90 ; COSY ; HSQC ; HMBC ; ROESY) de ce mélange.

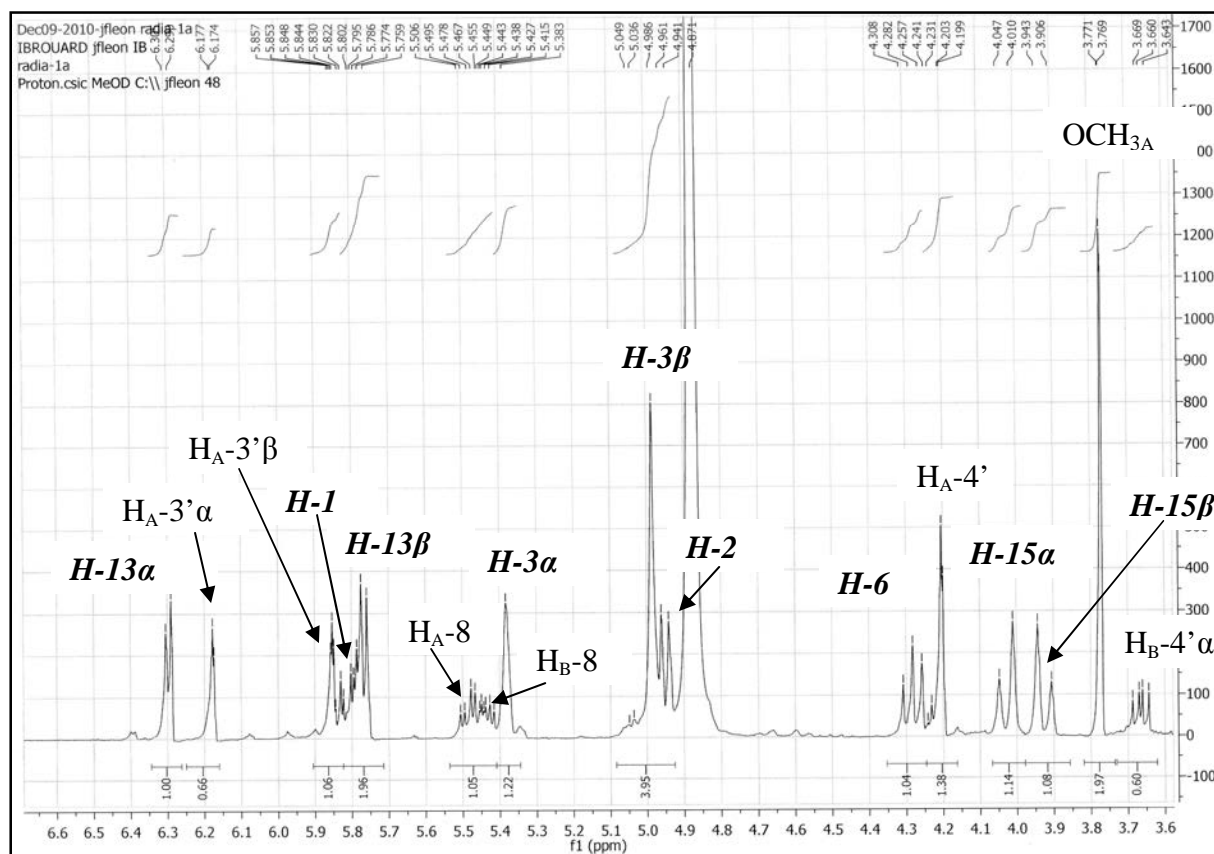
Nous sommes maintenant prêts à retourner à l'analyse des spectres mono et bidimensionnelles enregistrés :



$H_A$  : Signaux relatifs aux protons du produit **SL-4A'**

$H_B$  : Signaux relatifs aux protons du produit **SL-4P**

**Étalement du spectre n° 15 dans la zone 1,00 – 3,50 ppm**



H<sub>A</sub> : Signaux relatifs aux protons du produit SL-4A'

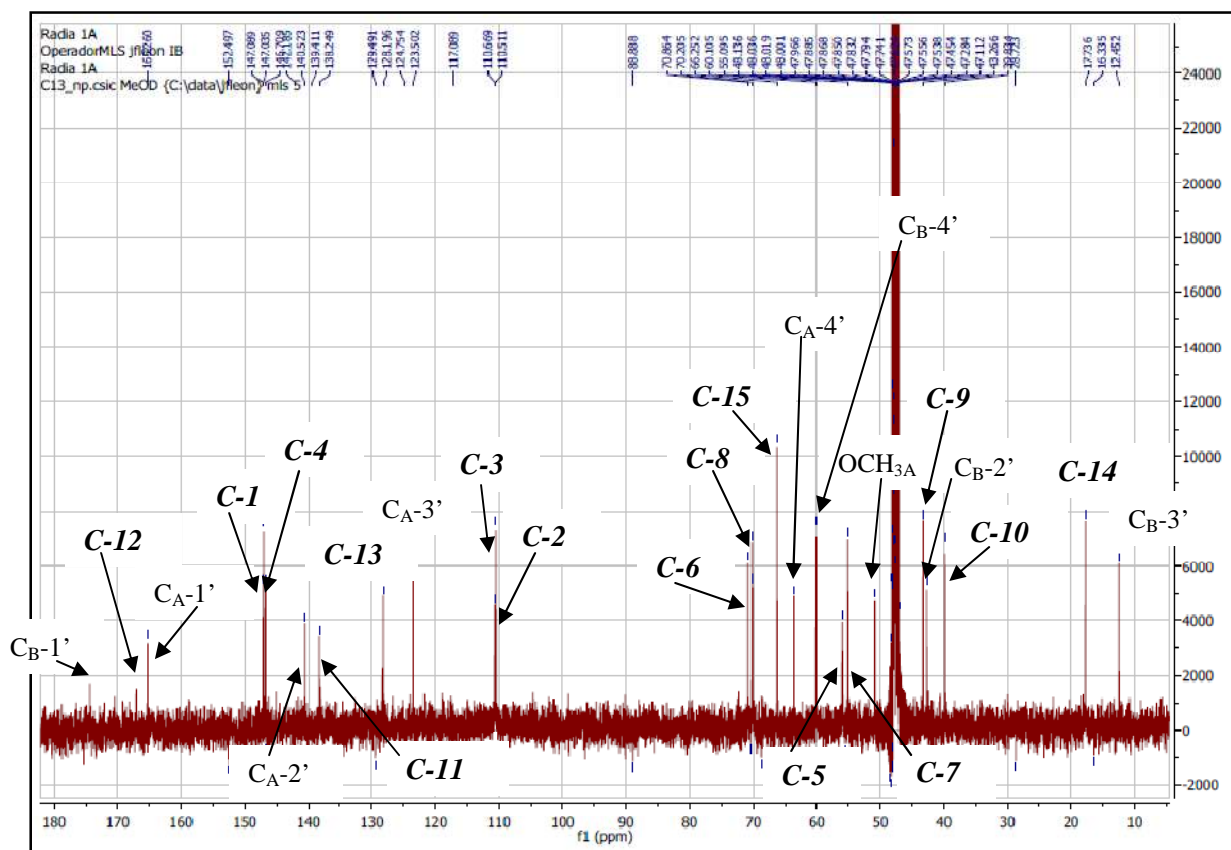
H<sub>B</sub> : Signaux relatifs aux protons du produit SL-4P

**H (gras en italique)**: Signaux superposés des protons des deux produits SL-4A' et SL-4P

**Etalement du spectre n° 15 dans la zone 3,60 – 6,60 ppm**

D'après les données du spectre <sup>13</sup>C (spectre n° 17) et les séquences DEPT 135 et 90 (spectres n° 18 et 19 respectivement), nous savons déjà que ce mélange présente :

- Deux résonnances de carbones méthyles (δ 13,85 et 19,13 ppm).
- Onze résonnances de carbones méthylènes (δ 44,65 ; 44,69 ; 61,49 ; 64,98 ; 67,64 ; 111,86 ; 111,91 ; 112,02 ; 124,89 ; 129,60 et 129,74 ppm).
- Huit résonnances de carbones méthines (δ 44,08 ; 56,47 ; 57,38 ; 71,48 ; 71,59 ; 72,25 ; 148,42 et 148,48 ppm).
- Sept résonnances de carbones quaternaires (δ 43,26 ; 138,24 ; 140,52 ; 147,03 ; 165,27 ; 167,00 et 174,90 ppm).



$C_A$  : Signaux relatifs aux carbones du produit **SL-4A'**

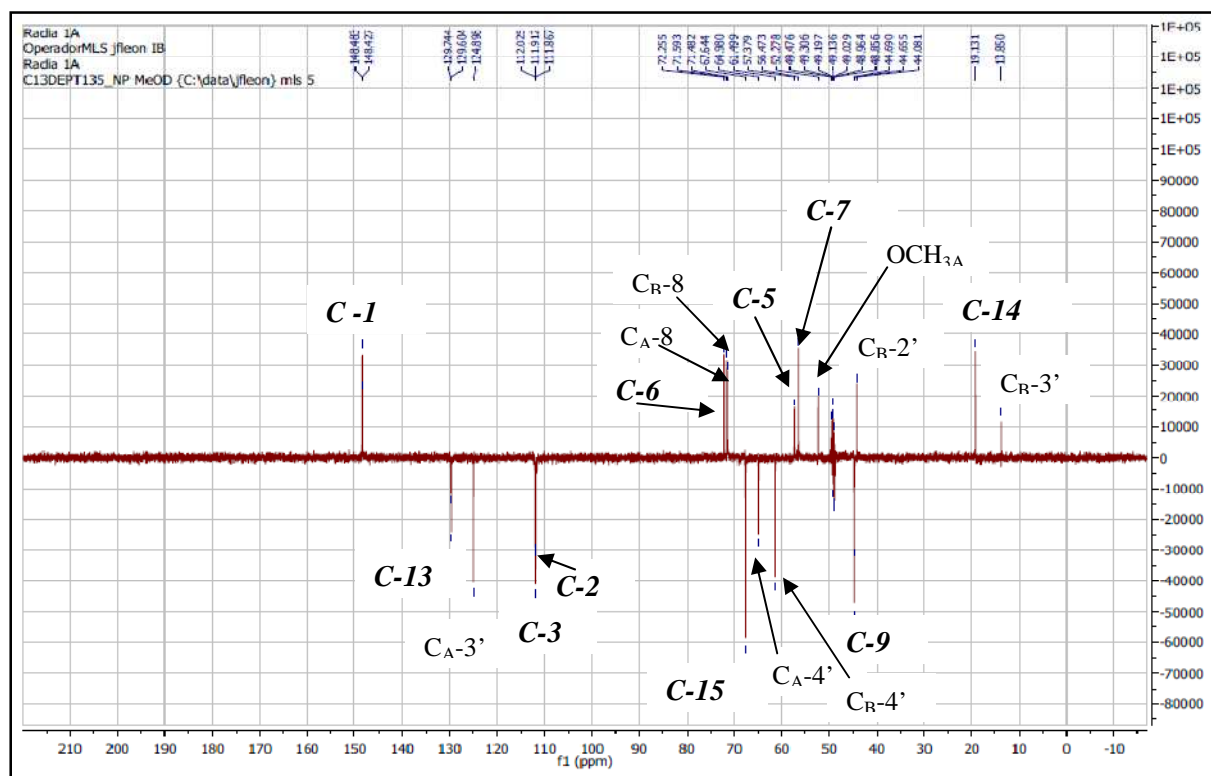
$C_B$  : Signaux relatifs aux carbones du produit **SL-4P**

$C$  (*gras en italique*): Signaux superposés des carbones des deux produits **SL-4A'** et **SL-4P**

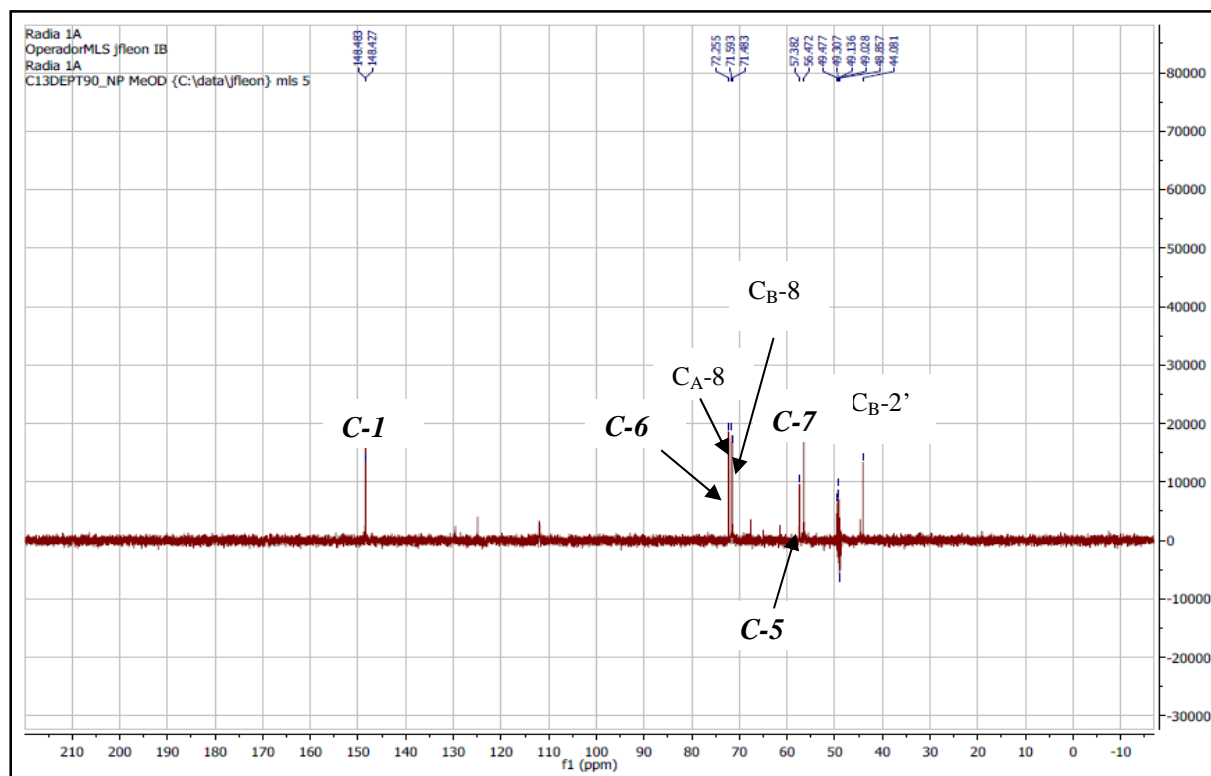
**Spectre n° 17 : RMN- $^{13}C$  (100 MHz, MeOD) du mélange SL-4**

Plus intéressant et plus utile, comparons les deux sous spectres DEPT 135 et 90 : (spectres n° 18 et 19) la résonance à  $\delta$  52,47 ppm dans le spectre DEPT 135 ne peut être attribuée qu'à un groupement méthoxyle, d'où se pose le problème de l'ouverture d'un cycle lactonique des deux élémantolides.





Spectre n° 18 : DEPT 135 (100 MHz, MeOD) du mélange SL-4



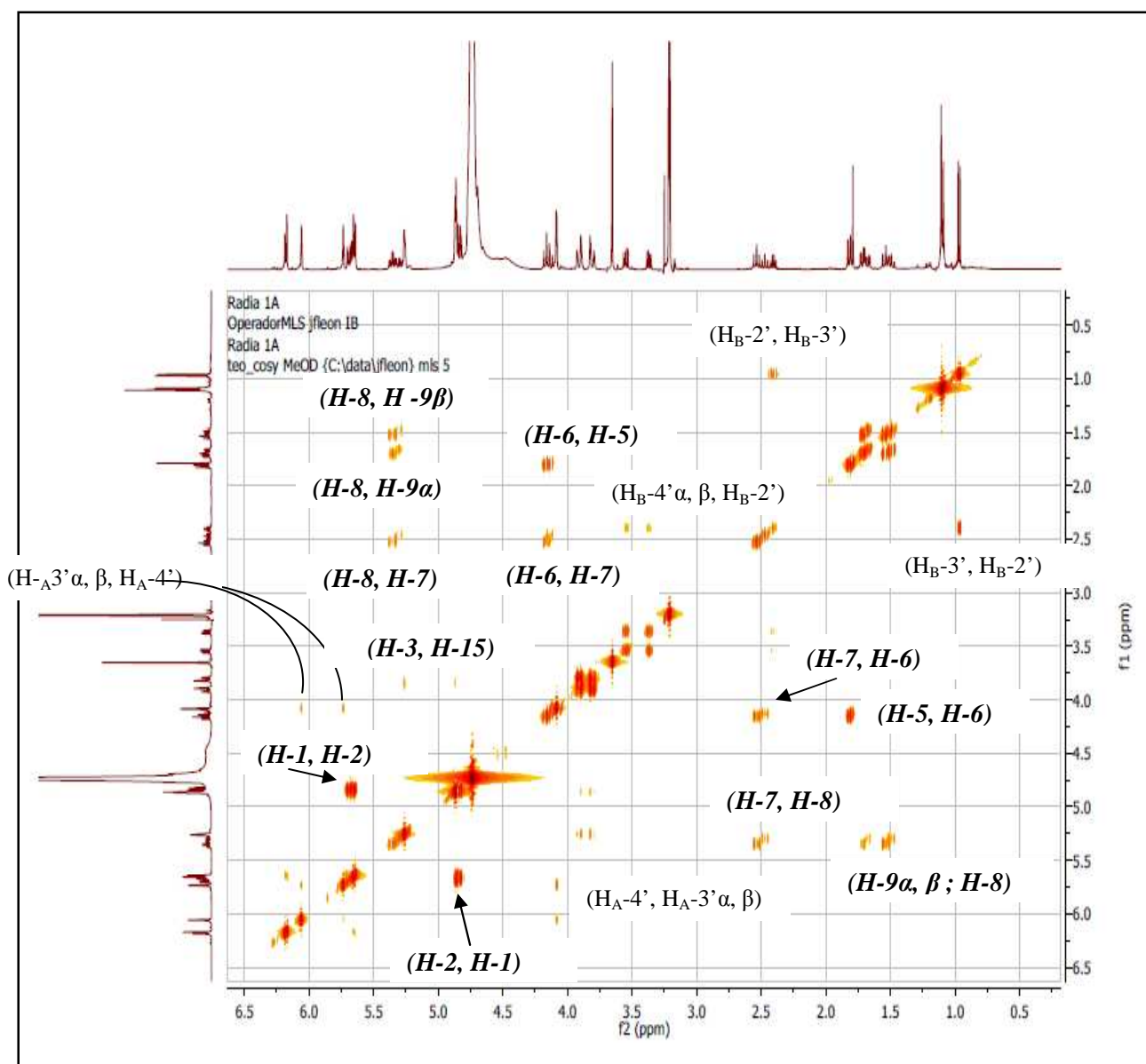
Spectre n° 19 : DEPT 90 (100 MHz, MeOD) du mélange SL-4

$C_A$  : Signaux relatifs aux carbones du produit SL-4A'

$C_B$  : Signaux relatifs aux carbones du produit SL-4P

$C$  (*gras en italique*): Signaux superposés des carbones des deux produits SL-4A' et SL-4P

Bien que nous connaissions les structures des deux produits de ce mélange, il sera logique d'obtenir trente huit (38) atomes de carbones. Dans notre cas le nombre de carbones reste incomplet dans tous les enregistrements des spectres  $^{13}\text{C}$ . Cette incohérence apparente peut s'expliquer par la superposition des pics en raison de la polarité similaire des deux sesquiterpènes lactones. Ainsi que le manque de résolution que nous attribuons à l'effet du solvant.



$H_A$  : Signaux relatifs aux protons du produit **SL-4A'**

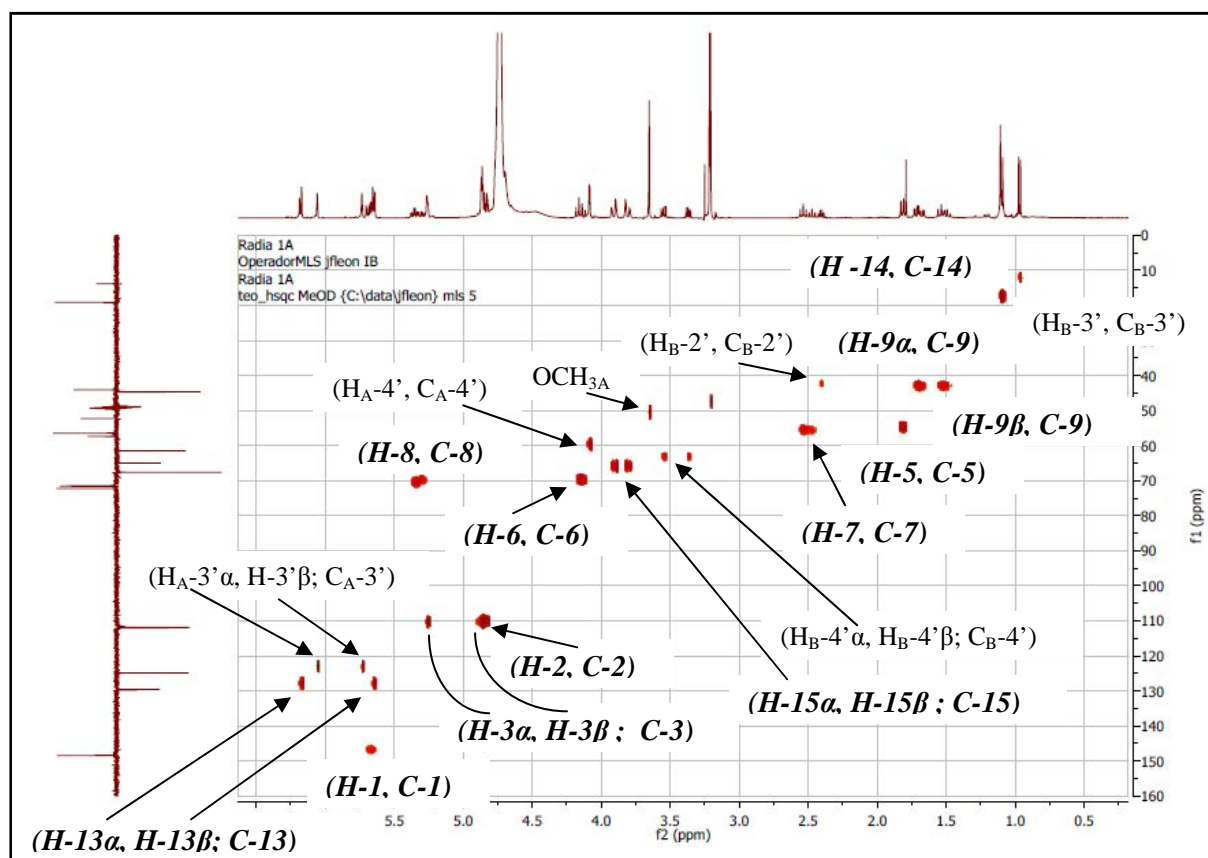
$H_B$  : Signaux relatifs aux protons du produit **SL-4P**

***H*** (*gras en italique*): Signaux superposés des protons des deux produits **SL-4A'** et **SL-4P**

Spectre n° 20 : COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  (400 MHz, MeOD) du mélange **SL-4**

Les données de connectivité issues du spectre COSY<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H (spectre n° 20) sont des plus rassurantes et nous allons utiliser le proton **H-5** comme point de départ. Ce proton apparent vers  $\delta$  1,90 ppm, permet de confirmer l'attribution du signal à  $\delta$  4,28 ppm, au proton **H-6**, lequel mène au proton **H-7**, situé vers  $\delta$  2,65 ppm, qui est à son retour montre une corrélation nette avec le proton à  $\delta$  5,47 ppm qui ne peut être que le proton **H-8** sur ce même spectre. En outre, ce dernier proton nous aide à localiser les deux protons **H-9 $\alpha$**  et **H-9 $\beta$**  vers  $\delta$  1,65 et 1,82 ppm respectivement, dont la corrélation directe à la résonance du carbone **C-9** à  $\delta$  44,69 ppm est apparée dans le spectre HSQC (spectre n° 21).

D'autre part, nous notons une évidente corrélation entre le proton situé dans la région allant de  $\delta$  5,79 à 5,83 ppm que nous attribuons à **H-1**, avec les deux résonnances des protons libellés **H-2 $\alpha$**  et **H-2 $\beta$**  qui sont intriqués vers  $\delta$  4,94 à 4,98 ppm, dans le spectre RMN-<sup>1</sup>H (spectre n° 15).



H<sub>A</sub> ; C<sub>A</sub> : Signaux relatifs aux protons et carbones du produit **SL-4A'**

H<sub>B</sub> ; C<sub>B</sub> : Signaux relatifs aux protons et carbones du produit **SL-4P**

**H, C (gras en italique)**: Signaux superposés des protons et des carbones des deux produits **SL-4A'** et **SL-4P**

**Spectre n° 21: HSQC (400 MHz, MeOD) du mélange SL-4**

Ces attributions sont également appuyées par l'intermédiaire du spectre HSQC, qui présente deux corrélations directes, dont la première entre La résonance du méthine **C-1** vers  $\delta$  148 ppm et son proton **H-1**, et la deuxième entre celle du méthylène **C-2** vers  $\delta$  111 ppm et ses protons **H-2 $\alpha$**  et **H-2 $\beta$** .

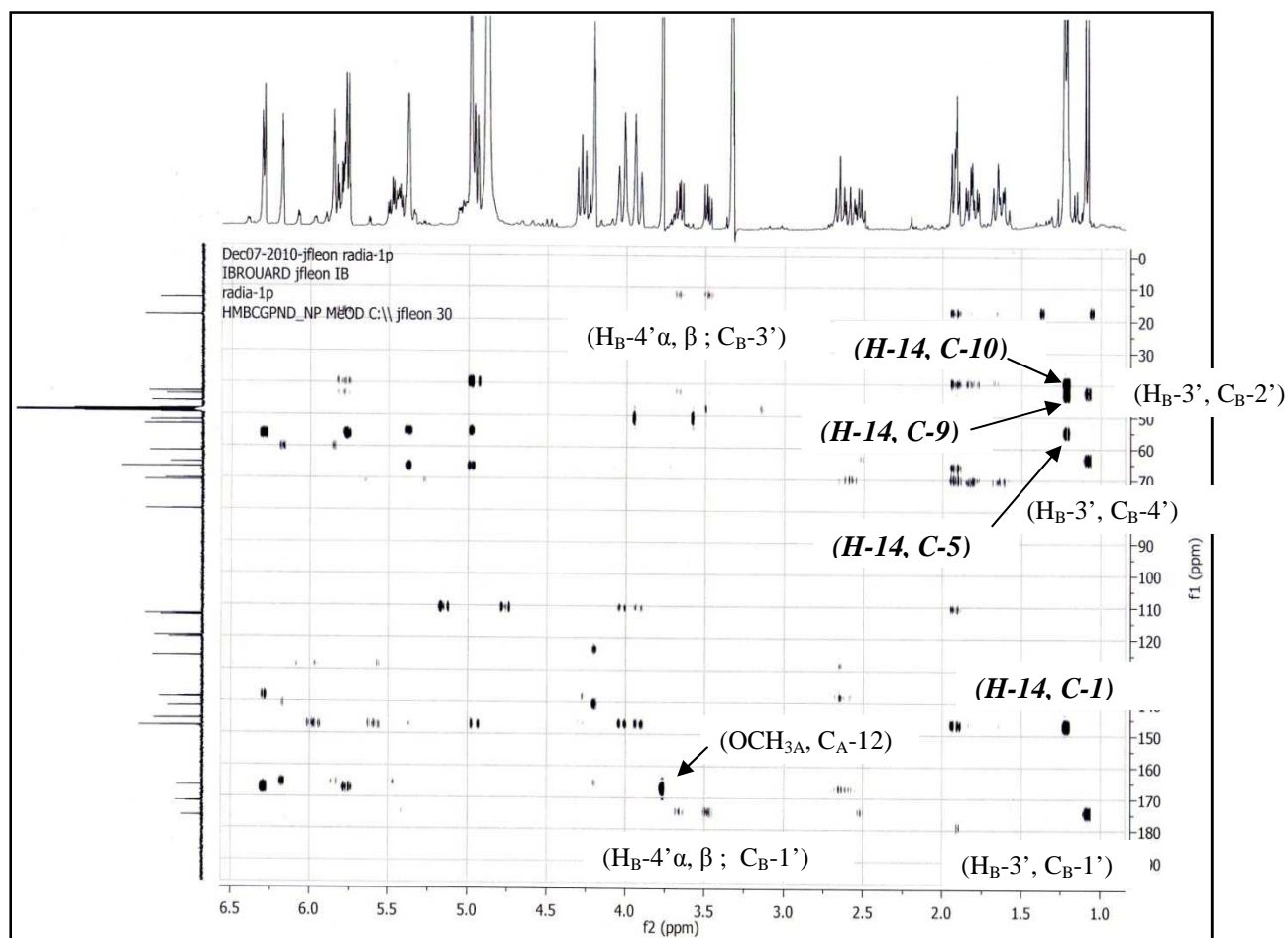
L'étude du spectre COSY<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H (spectre n° 20), montre en plus d'autres corrélations allyliques à longue distance entre les protons **H-3 $\alpha$**  et **H-3 $\beta$**  résonnants à  $\delta$  5,38 et 4,98 ppm respectivement, et les deux protons **H-15 $\alpha$**  et **H-15 $\beta$**  localisés à  $\delta$  4,02 et 3,92 ppm. Cette constatation placerait alors ce groupement hydroxylé en **C-4**, ce qui concorde avec notre élucidation précédente.

Concernant les deux chaînes latérales, les connectivités COSY nous permettent de construire les segments de chaque structure, pour plus de clarté : la structure de 4'-hydroxy méthacrylate est facilement assurée grâce aux corrélations allyliques observées entre les deux protons H<sub>A</sub>-3' $\alpha$  et H<sub>A</sub>-3' $\beta$  situés à  $\delta$  6,17 et 5,84 ppm, portés par le carbone C<sub>A</sub>-3' apparent à  $\delta$  124,89 ppm dans le spectre HSQC, et le singulet large attribué aux protons H<sub>A</sub>-4' situés à  $\delta$  4,20 ppm dans le spectre RMN-<sup>1</sup>H.

De même, la structure de 4'-hydroxybutyrate est confirmée par les deux taches de corrélations entre les deux protons H<sub>B</sub>-4' $\alpha$  et H<sub>B</sub>-4' $\beta$  signalés à  $\delta$  3,66 et 3,48 ppm respectivement, et le proton libellé H<sub>B</sub>-2' lié au carbone C<sub>B</sub>-2' résonnant à  $\delta$  44,08 ppm, d'après le spectre HSQC. Ce dernier proton (H<sub>B</sub>-2') nous aide à placer le doublet ( $J= 6,8$ ) intégrant les protons H<sub>B</sub>-3' du méthyle de cette chaîne à  $\delta$  1,08 ppm.

Le retour au spectre HSQC (spectre n° 21), nous a été d'une aide précieuse lors de transférer toutes les attributions <sup>1</sup>H, aux celles des signaux <sup>13</sup>C, dans lequel nous avons découvert une tache de corrélation directe entre le singulet intégrant trois protons situé à  $\delta$  3,76 ppm dans le spectre RMN-<sup>1</sup>H, et le carbone résonnant à  $\delta$  52,28 ppm dans la séquence DEPT 135, rappelant ainsi la présence d'un groupement méthoxyle. Ce qui confirme d'une manière définitive l'ouverture de l'un des deux cycles lactoniques.

De ce fait, l'analyse spectroscopique de ce mélange, nécessite une expérience HMBC (spectre n° 22) pour vérifier et confirmer nos résultats :



H<sub>A</sub> ; C<sub>A</sub> : Signaux relatifs aux protons et carbones du produit **SL-4A'**

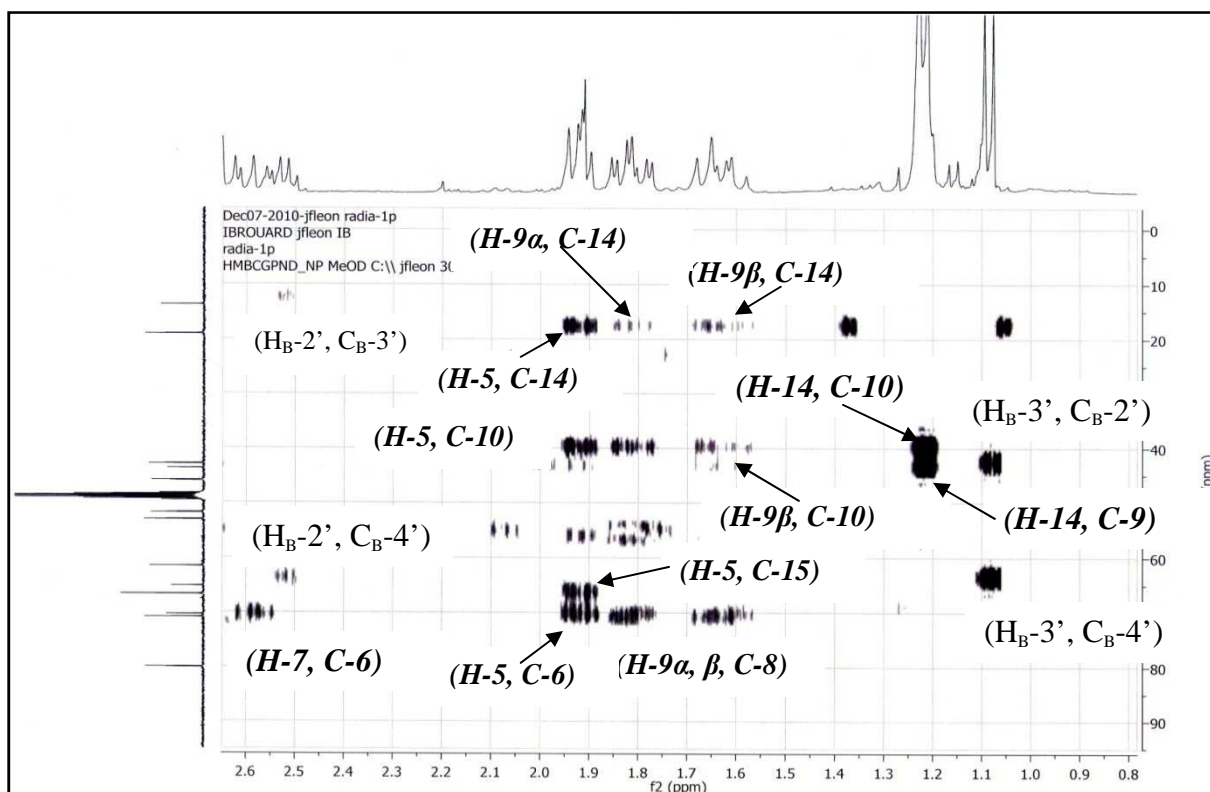
H<sub>B</sub> ; C<sub>B</sub> : Signaux relatifs aux protons et carbones du produit **SL-4P**

**H, C (gras en italique)**: Signaux superposés des protons et des carbones des deux produits **SL-4A'** et **SL-4P**

#### Spectre n° 22: HMBC (400 MHz, MeOD) du mélange SL-4

L'examen approfondi des données du spectre HMBC (spectre n° 22) montre :

- Trois corrélations entre les protons H<sub>B</sub>-3' du méthyle situé à δ 1,08 ppm, et les carbones C<sub>B</sub>-2', C<sub>B</sub>-4', C<sub>B</sub>-1' (groupement carbonyle) résonnants à δ 44,08 ; 61,49 ; et 174,90 ppm respectivement.
- Deux faibles corrélations entre le proton H<sub>B</sub>-2' apparent à δ 2,52 ppm, et les carbones libellé C<sub>B</sub>-3' (δ 13,85 ppm) et C<sub>B</sub>-4'.



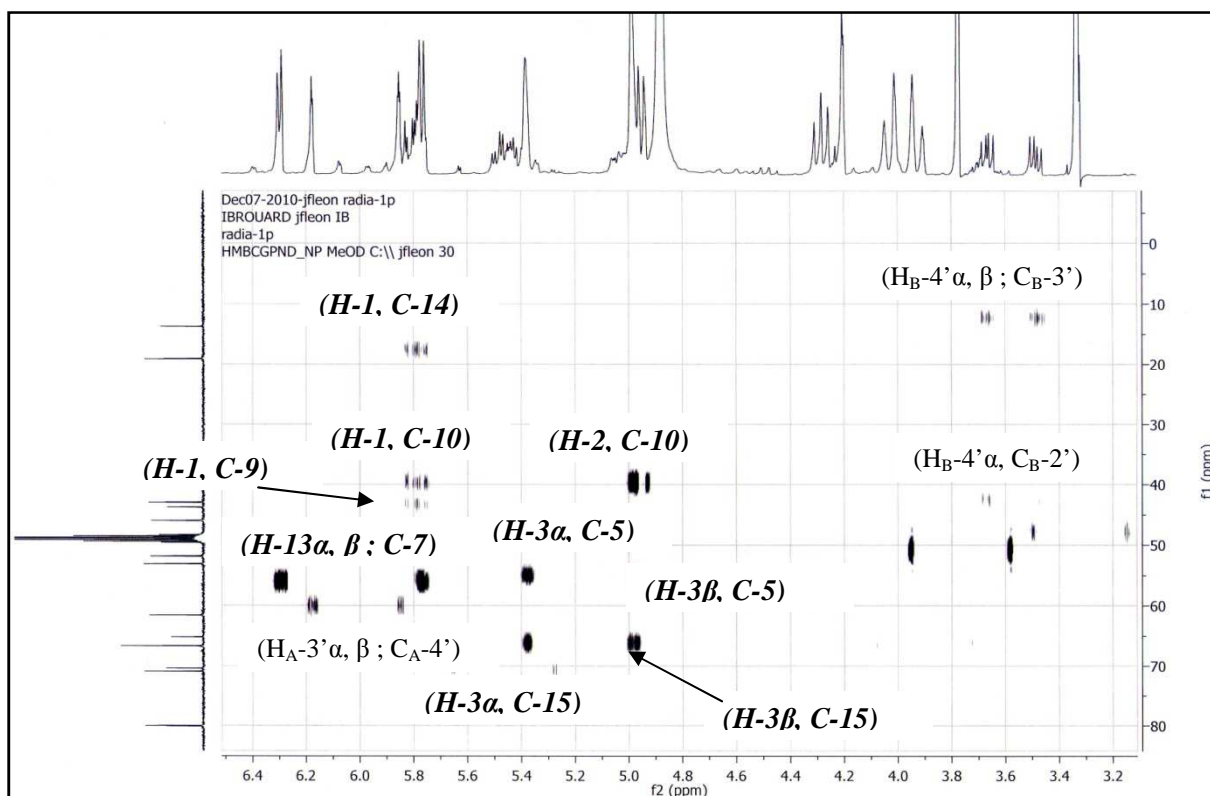
$H_A$  ;  $C_A$  : Signaux relatifs aux protons et carbones du produit **SL-4A'**

$H_B$  ;  $C_B$  : Signaux relatifs aux protons et carbones du produit **SL-4P**

*H, C* (*gras en italique*): Signaux superposés des protons et des carbones des deux produits **SL-4A'** et **SL-4P**

Étalement du spectre n° 22 dans la zone ( $^1H$  :  $\delta$  0,00 – 2,70 ;  $^{13}C$  :  $\delta$  0,00 - 95,00 ppm)

- Des corrélations entre les protons  $H_{B-4'\alpha}$  et  $H_{B-4'\beta}$  localisés à  $\delta$  3,66 et 3,50 ppm respectivement, et les carbones  $C_{B-3'}$  ( $\delta$  13,85 ppm),  $C_{B-2'}$  et le groupement carbonyle  $C_{B-1'}$ . Ces constatations confirment alors la structure de la chaîne : 4'-hydroxybutyrate, qui doit être portée par le carbone  $C_{B-8}$  ( $\delta$  71,48 ppm) de ce squelette. Cette hypothèse est justifiée par une faible corrélation entre le proton  $H_{B-8}$  ( $\delta$  5,44 ppm) et le groupement carbonyle  $C_{B-1'}$ .



$H_A$  ;  $C_A$  : Signaux relatifs aux protons et carbones du produit **SL-4A'**

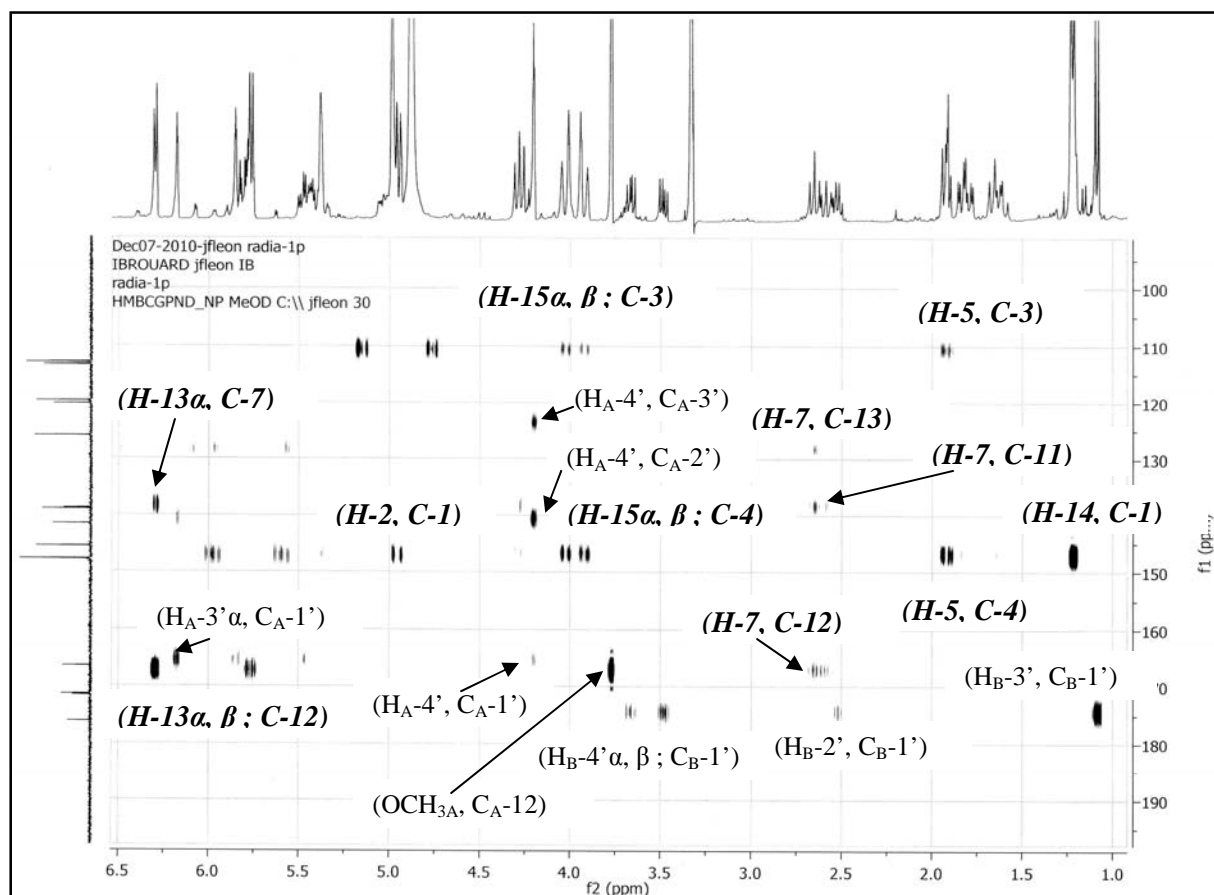
$H_B$  ;  $C_B$  : Signaux relatifs aux protons et carbones du produit **SL-4P**

*H, C (gras en italique)*: Signaux superposés des protons et des carbones des deux produits **SL-4A'** et **SL-4P**

**Etalement du spectre n° 22 dans la zone ( $^1H$  :  $\delta$  3,20 – 6,50 ;  $^{13}C$  :  $\delta$  0,00 - 85,00 ppm)**

De même, cette expérience assure le séquençage des carbones de la chaîne 4'-hydroxyméthacrylate, et montre :

- Deux taches de corrélations nettes, la première entre la résonnance du proton  $H_{A-4'}$  à  $\delta$  4,20 ppm et celle du carbone  $C_{A-3'}$  à  $\delta$  124,89 ppm, et la deuxième entre le même proton et le carbone  $C_{A-2'}$  dont le déplacement chimique apparait à  $\delta$  140,52 ppm. En plus de ces observations, on note également une faible corrélation entre le proton  $H_{A-4'}$  et le groupement carbonyle  $C_{A-1'}$  situé à  $\delta$  165,27 ppm. Comme nous avons été attendus, une faible corrélation a été observée entre le proton  $H_{A-8}$  ( $\delta$  5,48 ppm) et le groupement carbonyle  $C_{A-1'}$ , suggérant la localisation du groupement 4'-hydroxyméthacrylate en  $C_{A-8}$  ( $\delta$  71,59 ppm).



$H_A$  ;  $C_A$  : Signaux relatifs aux protons et carbones du produit **SL-4A'**

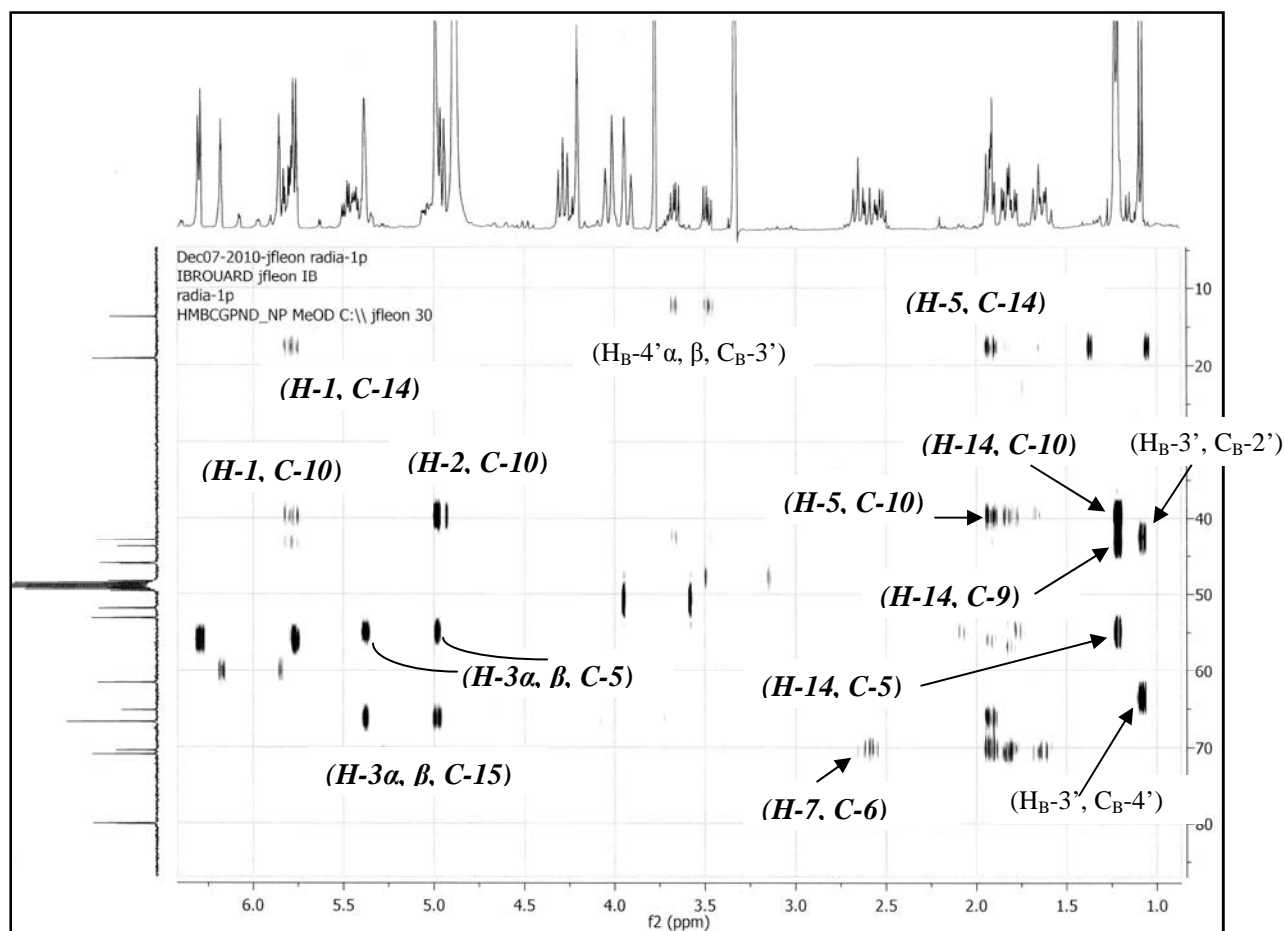
$H_B$  ;  $C_B$  : Signaux relatifs aux protons et carbones du produit **SL-4P**

***H, C*** (*gras en italique*): Signaux superposés des protons et des carbones des deux produits **SL-4A'** et **SL-4P**

**Etallement du spectre n° 22 dans la zone ( $^1H$  :  $\delta$  1,00 – 6,50 ;  $^{13}C$  :  $\delta$  95,00 - 190,00 ppm)**

- La localisation du groupement méthyle en **C-10** est consolidée par la corrélation observée entre les protons du méthyle **H-14** vers  $\delta$  1,22 ppm et le carbone **C-10** à  $\delta$  39,83 ppm.





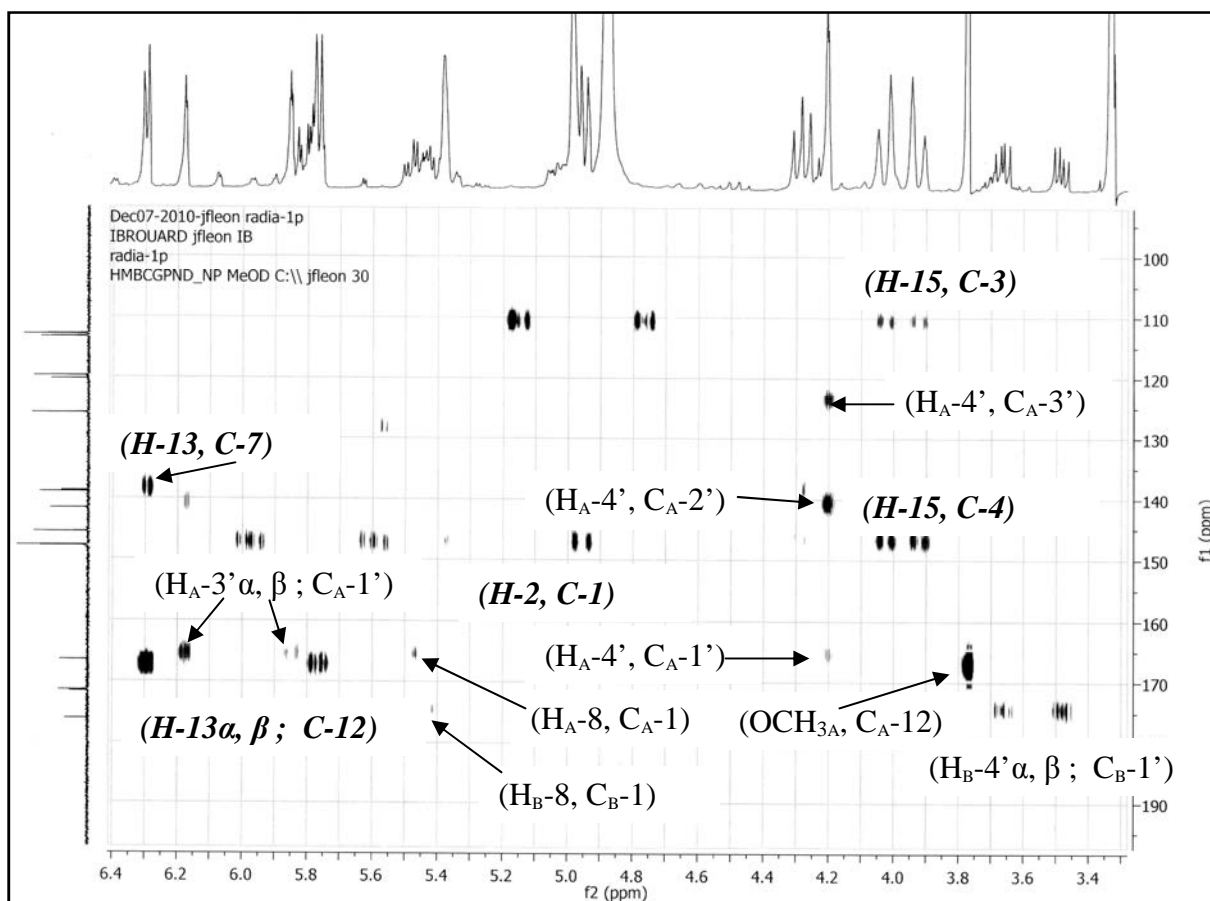
H<sub>A</sub> ; C<sub>A</sub> : Signaux relatifs aux protons et carbones du produit **SL-4A'**

H<sub>B</sub> ; C<sub>B</sub> : Signaux relatifs aux protons et carbones du produit **SL-4P**

***H, C (gras en italique)***: Signaux superposés des protons et des carbones des deux produits **SL-4A'** et **SL-4P**

**Etallement du spectre n° 22 dans la zone ( $^1\text{H}$  :  $\delta$  1,00 – 6,50 ;  $^{13}\text{C}$  :  $\delta$  10,00 - 85,00 ppm)**

- Etant donné que les protons ***H-15 $\alpha$***  et ***H-15 $\beta$***  du système AB montrent des corrélations avec la résonance du carbone ***C-4*** à  $\delta$  146,70 ppm dans le spectre HMBC, cela confirmera que ce groupement hydroxylé soit porté par ce dernier carbone.



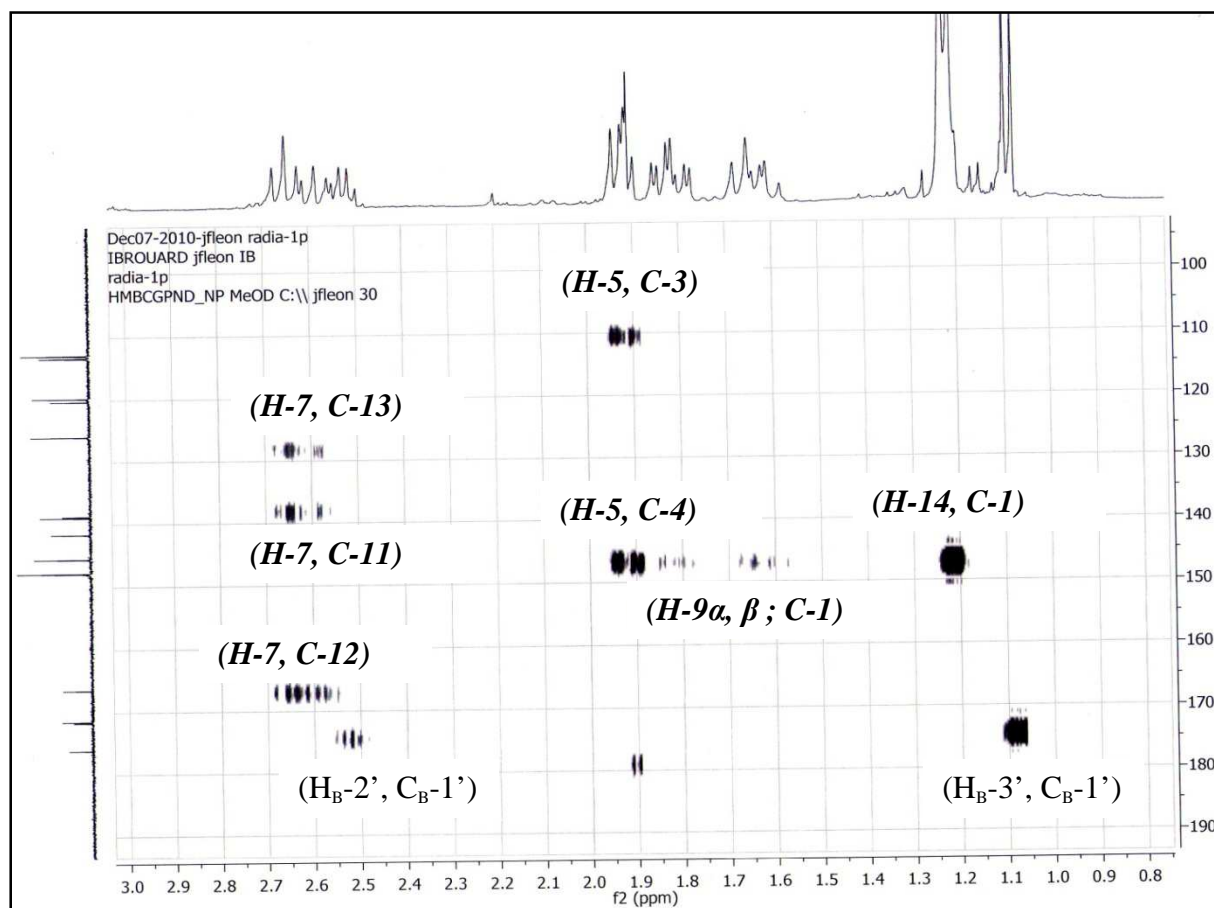
$H_A$  ;  $C_A$  : Signaux relatifs aux protons et carbones du produit **SL-4A'**

$H_B$  ;  $C_B$  : Signaux relatifs aux protons et carbones du produit **SL-4P**

***H, C*** (*gras en italique*): Signaux superposés des protons et des carbones des deux produits **SL-4A'** et **SL-4P**

**Etalement du spectre n° 22 dans la zone ( $^1H$  :  $\delta$  3,20 – 6,50 ;  $^{13}C$  :  $\delta$  100,00 - 195,00 ppm)**

Ce même spectre présente également : une évidente corrélation entre le groupement méthoxyle ( $\delta$  3,76 ppm) et le carbonyle  $C_{A-12}$  à  $\delta$  167,00 ppm, indiquant ainsi la structure d'un ester méthylique que l'on placerait en  $C_{A-7}$  ( $\delta$  56,47 ppm) grâce à la faible corrélation notée entre son proton ( $H_{A-7}$  à  $\delta$  2,65 ppm) et le même carbonyle.



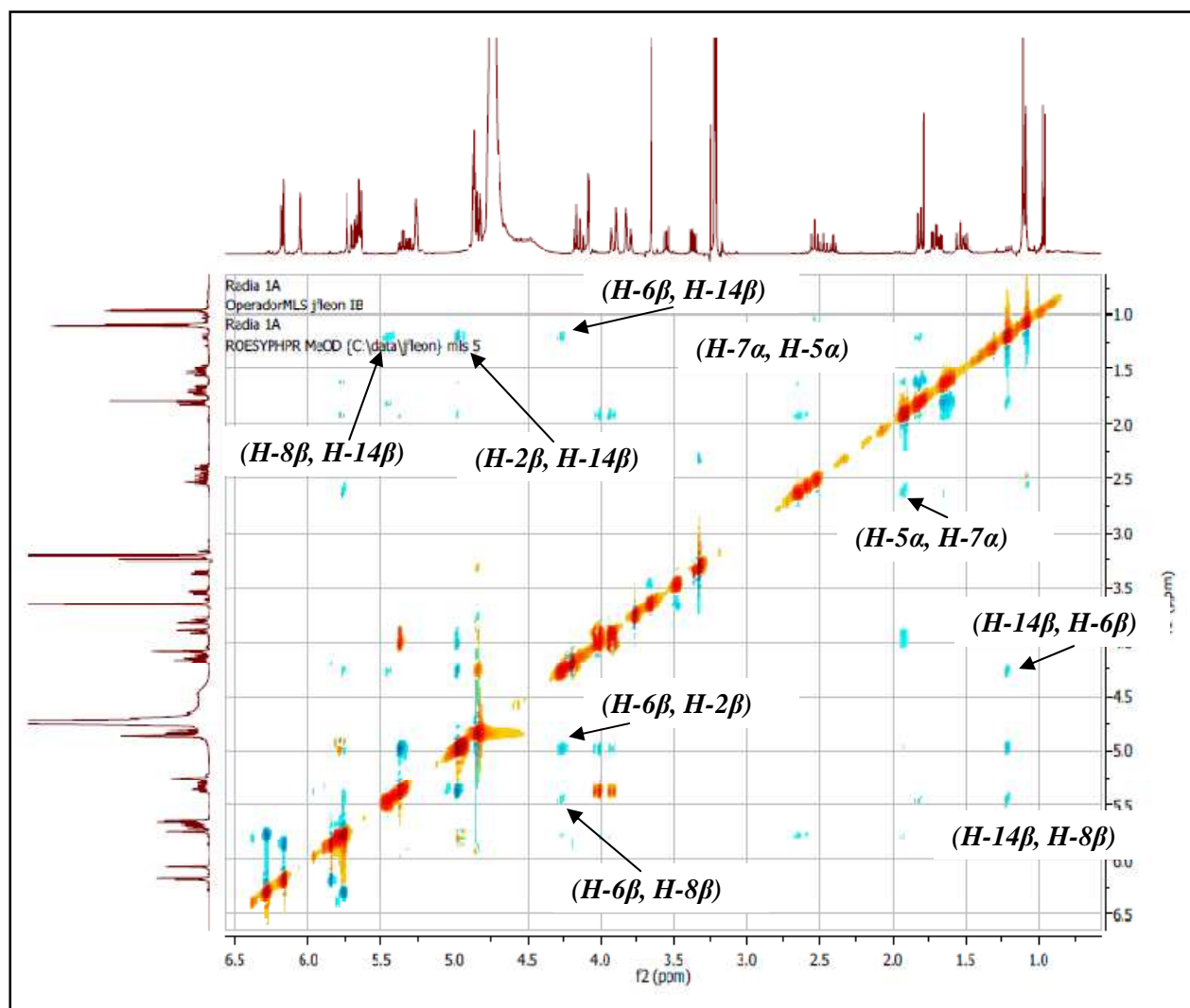
$H_A$  ;  $C_A$  : Signaux relatifs aux protons et carbones du produit **SL-4A'**

$H_B$  ;  $C_B$  : Signaux relatifs aux protons et carbones du produit **SL-4P**

*H, C (gras en italique)*: Signaux superposés des protons et des carbones des deux produits **SL-4A'** et **SL-4P**

**Étalement du spectre n° 22 dans la zone ( $^1H$  :  $\delta$  0,70 – 3,00 ;  $^{13}C$  :  $\delta$  100,00 - 190,00 ppm)**

Dans l'intégralité du spectre ROESY (spectre n° 23), les corrélations présentes, montrent à la fois celles du spectre COSY et du spectre NOE. Concernant notre étude, nous nous sommes intéressés aux corrélations entre les protons à travers l'espace, ainsi l'examen des données de ce spectre montre :



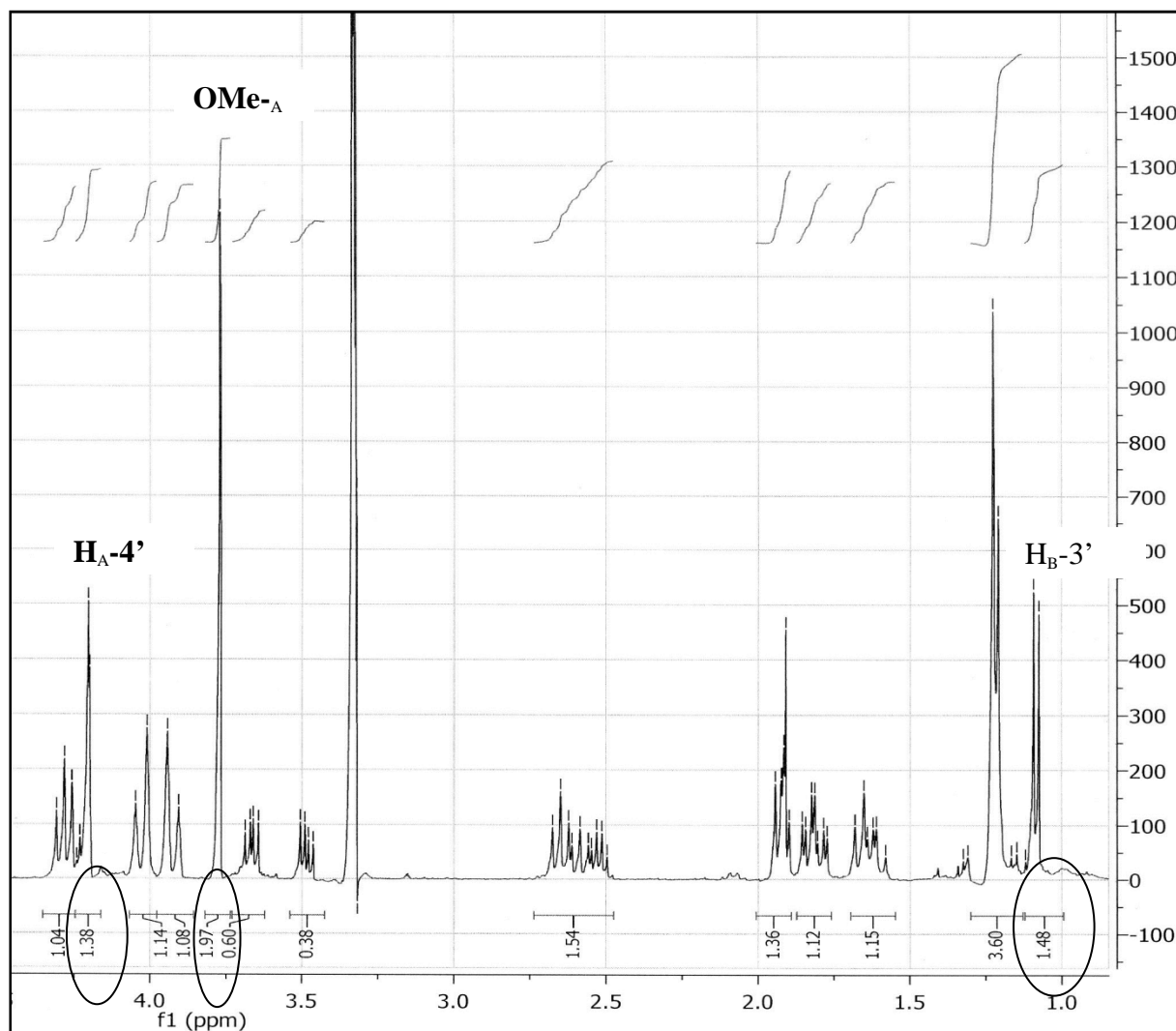
*H* (*gras en italique*): Signaux superposés des protons des deux produits **SL-4A'** et **SL-4P**  
 Spectre n° 23 : ROESY (400 MHz, MeOD) du mélange **SL-4**

- Une corrélation entre les deux protons (*H-5α, H-7α*).
- Des corrélations entre les deux protons (*H-6β, H-14β*) ; (*H-6β, H-2β*) et (*H-6β, H-8β*).
- D'autres corrélations entre les deux protons (*H-2β, H-14β*) et (*H-8β, H-14β*).

Donc et comme c'était prévu, ces résultats réunis donnent des preuves qui confortent notre interprétation.

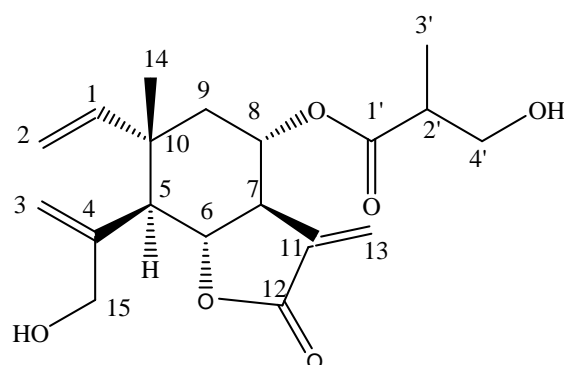
Avant de terminer notre discussion, il nous reste le problème de l'ouverture ; en admettant par exemple, l'ouverture du cycle lactonique d'élémanolide **SL-4P**, l'intégral attendu pour le groupement méthoxyle dans le spectre RMN-<sup>1</sup>H serait alors proportionnel à celui du groupement méthyle H<sub>B-3'</sub>. Dans notre cas, l'intégral enregistré (1,97 pour les trois

protons du groupe méthoxyle) est proportionnel à celui du méthylène hydroxylé  $H_A-4'$  (1,38 pour les deux protons de ce dernier) signifiant ainsi que la lactone ouverte soit **SL-4A**.



**Etallement du spectre n°15 dans la zone (0,50-4,50 ppm).**

L'ensemble des résultats de cette analyse structurale comparé avec la littérature et résumé dans les tableaux 7, 8, 9 et 10 a permis de mettre en évidence les deux structures des produits **SL-4P** [1,13] et **SL-4A'** [2,8] :



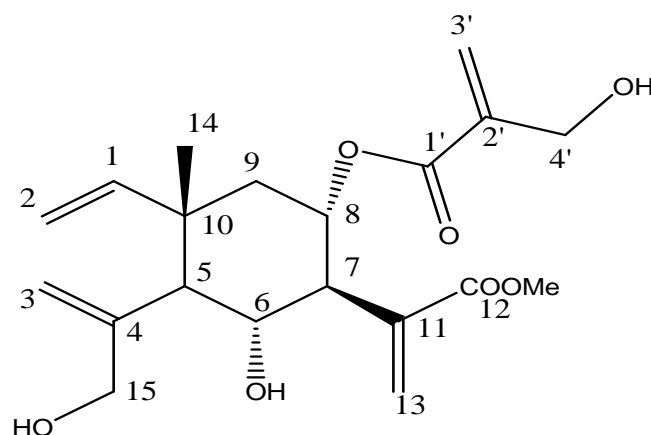
**SL-4P** : 8 $\alpha$ -(4'-hydroxybutyrate) dehydromelitensine

**Tableau 7: RMN-<sup>1</sup>H, COSY<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H et HMBC (400 MHz, MeOD) du produit SL-4P**

H	$\delta$ ppm	J (Hz)	COSY <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H	HMBC
1	5.81 m		H-2 $\alpha$ , H-2 $\beta$	C-1, C-5, C-9, C-10
2 $\alpha$	4.98 d	10,0	H-1	C-1, C-10
2 $\beta$	4.95 d	18,0	H-1	C-1, C-10
3 $\alpha$	5,38 br s		H-15	C-4, C-5, C-15
3 $\beta$	4,98 br s		H-15	C-4, C-5, C-15
5	1,90 d	10,8	H-6	C-3, C-4, C-6, C-10, C-14, C-15
6	4,26 dd	10,0; 10,4	H-5, H-7	C-4, C-5, C-11
7	2,58 t	10,8	H-6, H-8	C-8, C-11, C-13
8	5.48 m		H-7, H-9 $\alpha$ , H-9 $\beta$	C-1', C-7, C-11
9 $\alpha$	1,64 m		H-8, H-9 $\beta$	C-1, C-5, C-8, C-10, C-14
9 $\beta$	1,83 m		H-8, H-9 $\alpha$	C-1, C-5, C-8, C-10, C-14
13 $\alpha$	6.30		H-13 $\beta$	C-7, C-11, C-12
13 $\beta$	5.76		H-13 $\alpha$	C-7, C-11, C-12
14	1.21 s			C-1, C-5, C-9, C-10
15 $\alpha$	4.04 d	14,8	H-3 $\alpha$ , H-3 $\beta$	C-3, C-4, C-5
15 $\beta$	3,92 d	14,8	H-3 $\alpha$ , H-3 $\beta$	C-3, C-4, C-5
2'	2,52 m		H-3', H4' $\alpha$ , H-4' $\beta$	
3'	1,08 d	6,8	H-2'	C-1', C-2', C-4'
4' $\alpha$	3,66 dd	6,8; 10,4	H-2'	C-1', C-2', C-3'
4' $\beta$	3,50 dd	4,4; 10,8	H-2'	C-1', C-2', C-3'

Tableau 8 : RMN-<sup>13</sup>C, DEPT 135, 90 (100 MHz, MeOD) et HSQC (400 MHz, MeOD) du produit SL-4P

C	δ ppm	DEPT	HSQC
1	148,42	CH	1
2	111,86	CH <sub>2</sub>	2α, 2β
3	112,02	CH <sub>2</sub>	3α, 3β
4	146,70	C	
5	57,37	CH	5
6	72,25	CH	6
7	56,47	CH	7
8	71,48	CH	8
9	44,65	CH <sub>2</sub>	9α, 9β
10	39,83	C	
11	138,24	C	
12	167,00	C	
13	129,60	CH <sub>2</sub>	13α, 13β
14	19,13	CH <sub>3</sub>	14
15	67,64	CH <sub>2</sub>	15α, 15β
1'	174,90	C	
2'	44,08	CH	2'
3'	13,85	CH <sub>3</sub>	3'
4'	61,49	CH <sub>2</sub>	4'α, 4'β



**Figure 10** : Structure de SL-A' ; l'elemarcarmanine

**Tableau 9** : RMN- $^1\text{H}$ , COSY $^1\text{H}-^1\text{H}$  et HMBC (400 MHz, MeOD) du produit SL-4A'

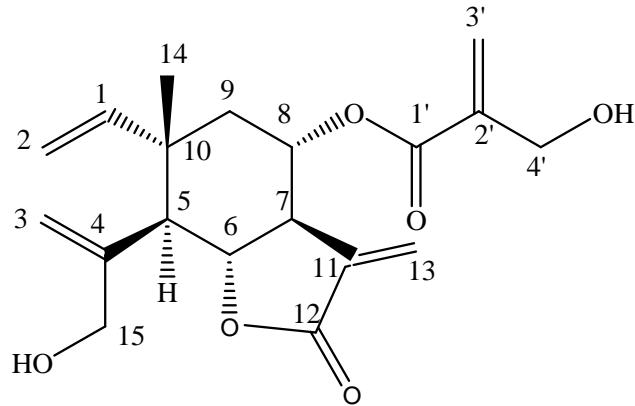
H	$\delta$ ppm	$J$ (Hz)	COSY $^1\text{H}-^1\text{H}$	HMBC
1	5.81 m		H-2 $\alpha$ , H-2 $\beta$	C-1, C-5, C-9, C-10
2 $\alpha$	4.98 d	10,0	H-1	C-1, C-10
2 $\beta$	4.95 d	18,0	H-1	C-1, C-10
3 $\alpha$	5,38 br s		H-15	C-4, C-5, C-15
3 $\beta$	4,98 br s		H-15	C-4, C-5, C-15
5	1,92 d	11,2	H-6	C-3, C-4, C-6, C-10, C-14, C-15
6	4,26 dd	10,0; 10,4	H-5, H-7	C-4, C-5, C-11
7	2,65 t	10,4	H-6, H-8	C-8, C-11, C-13
8	5.48 td	4,4; 11,2	H-7, H-9 $\alpha$ , H-9 $\beta$	C-1', C-7, C-11
9 $\alpha$	1,64 m		H-8, H-9 $\beta$	C-1, C-5, C-8, C-10, C-14
9 $\beta$	1,83 dd	4,4; 12,4	H-8, H-9 $\alpha$	C-1, C-5, C-8, C-10, C-14
13 $\alpha$	6.30		H-13 $\beta$	C-7, C-11, C-12
13 $\beta$	5.76		H-13 $\alpha$	C-7, C-11, C-12
14	1.22 s			C-1, C-5, C-9, C-10
15 $\alpha$	4.04 d	14,8	H-3 $\alpha$ , H-3 $\beta$	C-3, C-4, C-5
15 $\beta$	3,92 d	14,8	H-3 $\alpha$ , H-3 $\beta$	C-3, C-4, C-5
4'	4.20 s		H-3' $\alpha$ , H-3' $\beta$	C-1', C-2', C-3'
3' $\alpha$	6,17 br s		H-4', H-3' $\beta$	C-1', C-2', C-4'
3' $\beta$	5,83 br s		H-4', H-3' $\alpha$	C-1', C-2', C-4'
OMe	3,77 s			C-12



**Tableau 10 : RMN-<sup>13</sup>C, DEPT 135, 90 (100 MHz, MeOD) et COSY <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C (400 MHz, MeOD) du produit SL-4A'**

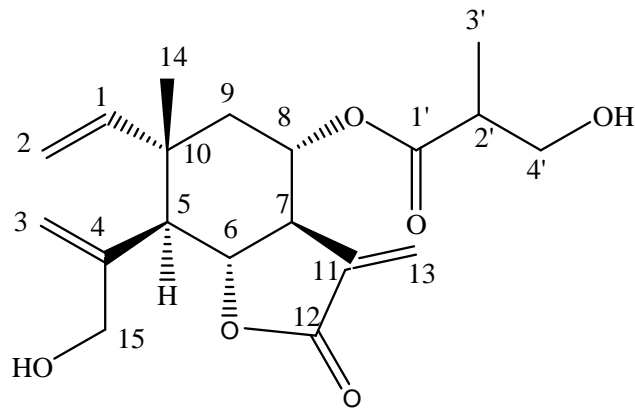
C	δ ppm	DEPT	COSY <sup>1</sup> H- <sup>13</sup> C
1	148,48	CH	1
2	111,91	CH <sub>2</sub>	2α, 2β
3	112,02	CH <sub>2</sub>	3α, 3β
4	146,70	C	
5	57,37	CH	5
6	72,25	CH	6
7	56,47	CH	7
8	71,59	CH	8
9	44,69	CH <sub>2</sub>	9α, 9β
10	39,83	C	
11	138,24	C	
12	167,00	C	
13	129,74	CH <sub>2</sub>	13α, 13β
14	19,13	CH <sub>3</sub>	14
15	67,64	CH <sub>2</sub>	15α, 15β
1'	165,27	C	
2'	140,52	C	
3'	124,89	CH <sub>2</sub>	3'α, 3'β
4'	64,98	CH <sub>2</sub>	4'
OMe	52,27	CH <sub>3</sub>	OMe

Grâce à cette analyse on déduit que le mélange **SL-4** a été composé de deux élémanolides, dont les caractéristiques spectroscopiques sont en complet accord avec les structures de : 8α- (4'-hydroxyméthacrylate) dehydromelitensine (**SL-4A**) et 8α- (4'-hydroxybutyrate) dehydromelitensine (**SL-4P**). Ce qui confirme d'une manière définitive notre élucidation structurale.



**SL-4A** : 8 $\alpha$ -(4'-hydroxyméthacrylate) dehydromelitensine

Cette molécule est décrite pour la deuxième fois dans le genre *Centaurea*, elle a été isolée seulement de l'espèce *Centaurea tangananesis* [15].

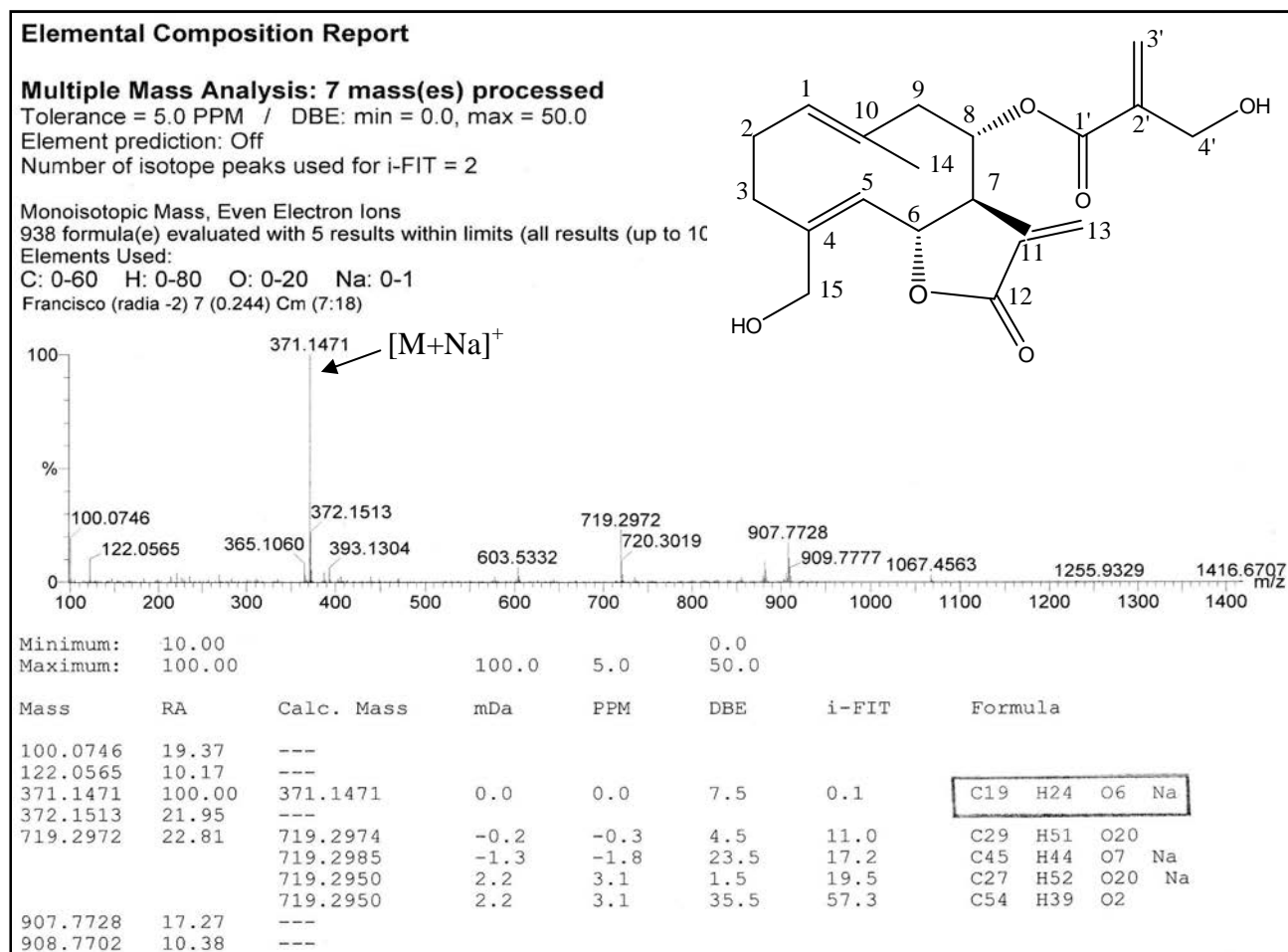


**SL-4P** : 8 $\alpha$ -(4'-hydroxybutyrate) dehydromelitensine

Ce composé a été déjà isolé de cette espèce [14].

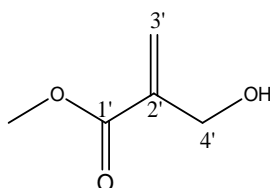
### IV.1.4. Identification structurale du produit SL-6

Le spectre EIMS (spectre n° 24) de ce produit **SL-6** donne une masse d'un pic à 371,471[M+Na]<sup>+</sup>, correspondante à la formule moléculaire C<sub>19</sub>H<sub>24</sub>O<sub>6</sub>, avec une déficience en hydrogène de huit.

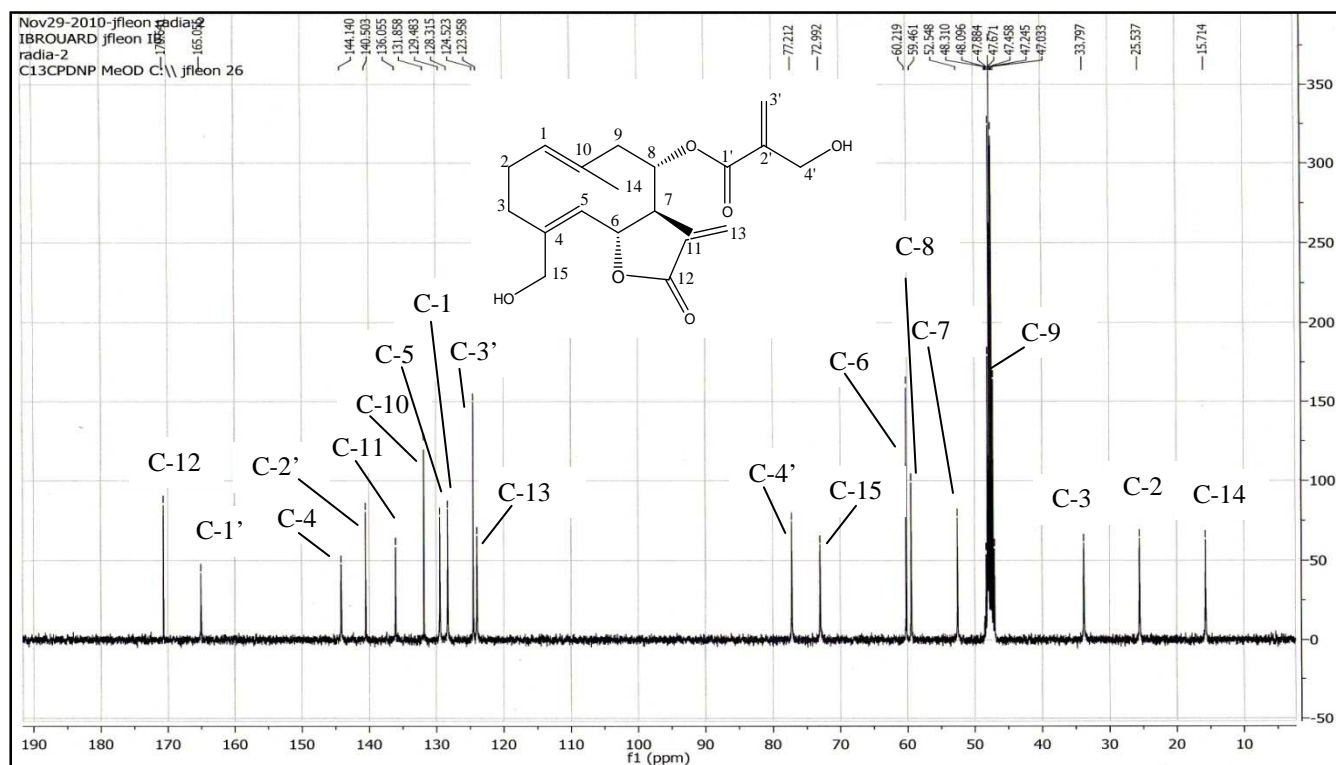
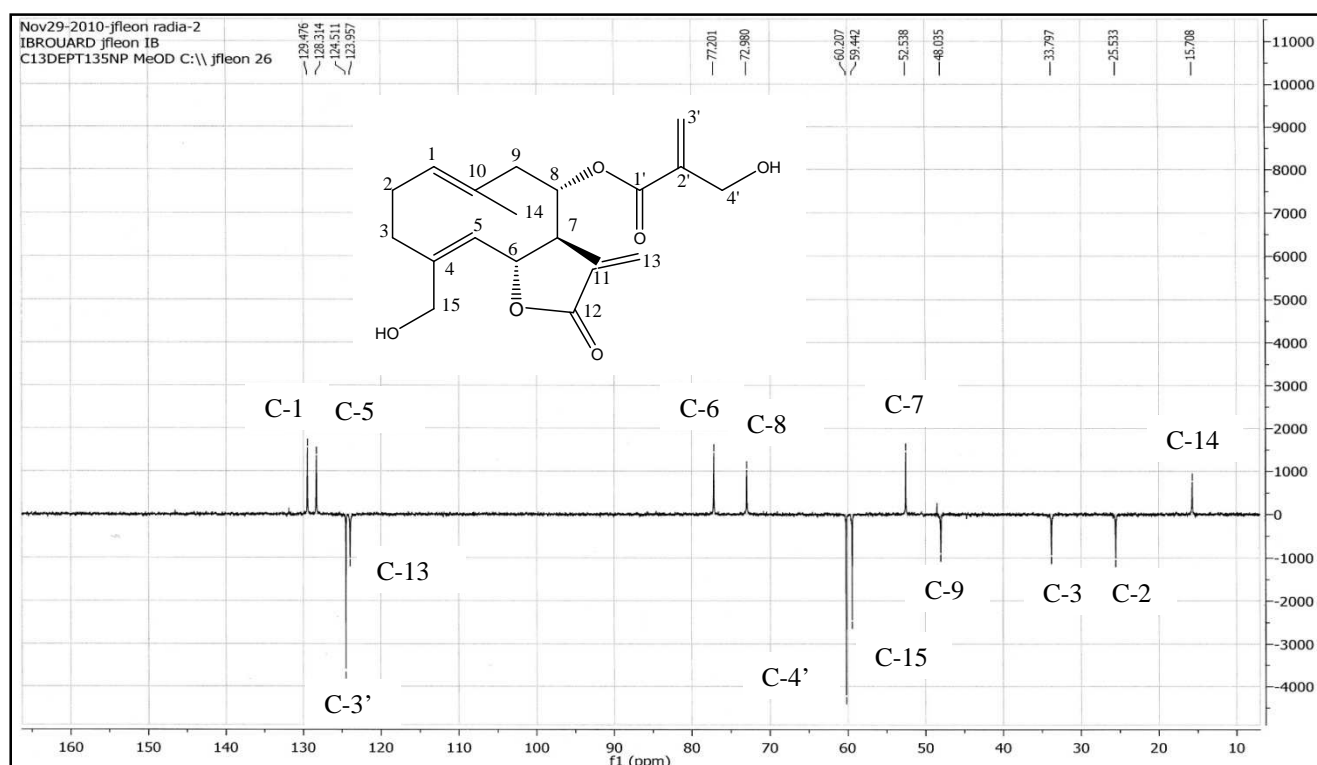


### Spectre n°24 : EIMS du produit SL-6

En examinant la synergie entre les spectres RMN-<sup>1</sup>H (spectre n° 27), RMN-<sup>13</sup>C (spectre n° 25) et les expériences DEPT 135 (spectres n° 26) on peut d'ores et déjà présumer la structure d'un germacranolide renfermant une chaîne latérale dont les signaux spectroscopiques sont en complet accord avec le 4'-hydroxyméthacrylate [1-12].

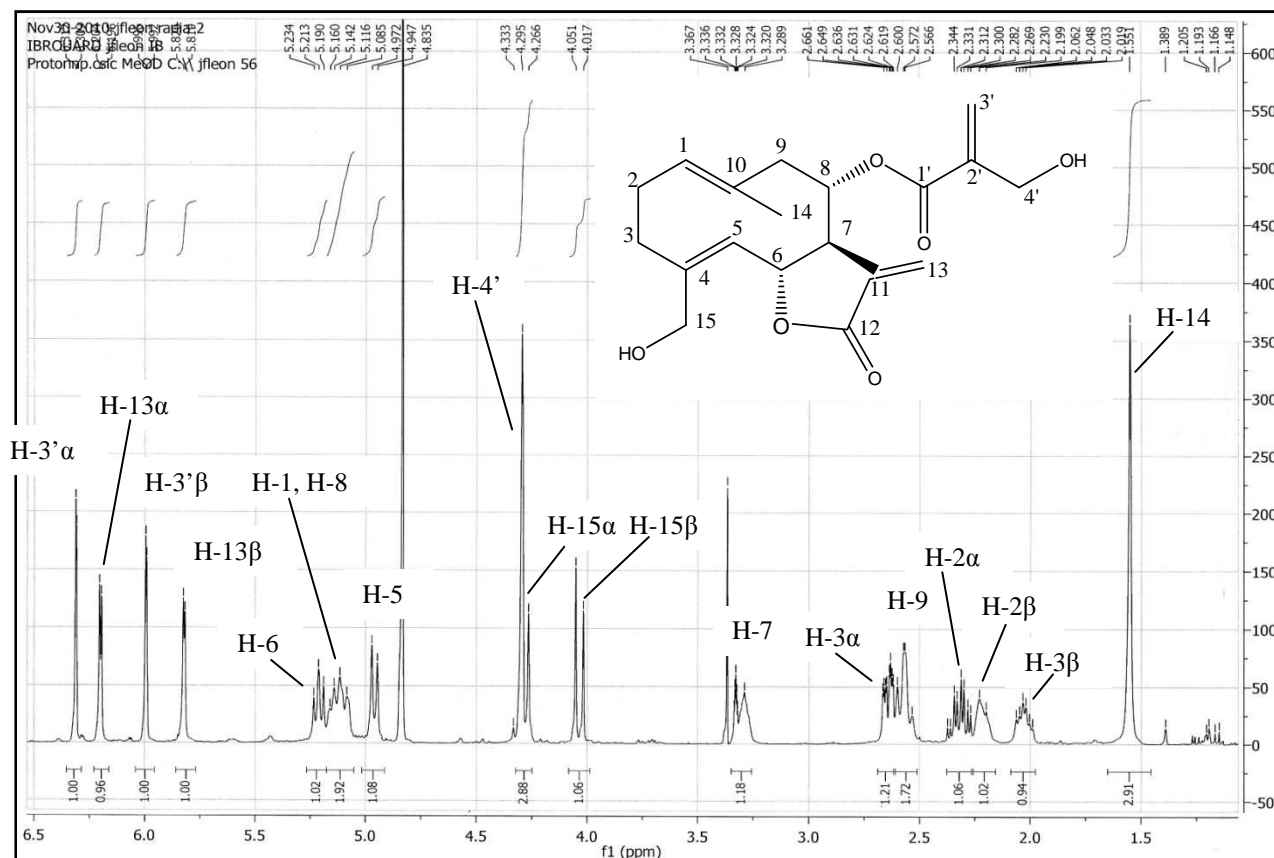


**Figure 7** : Structure de 4'-hydroxyméthacrylate

Spectre n°25 : RMN-<sup>13</sup>C (100 MHz, MeOD) du produit SL-6

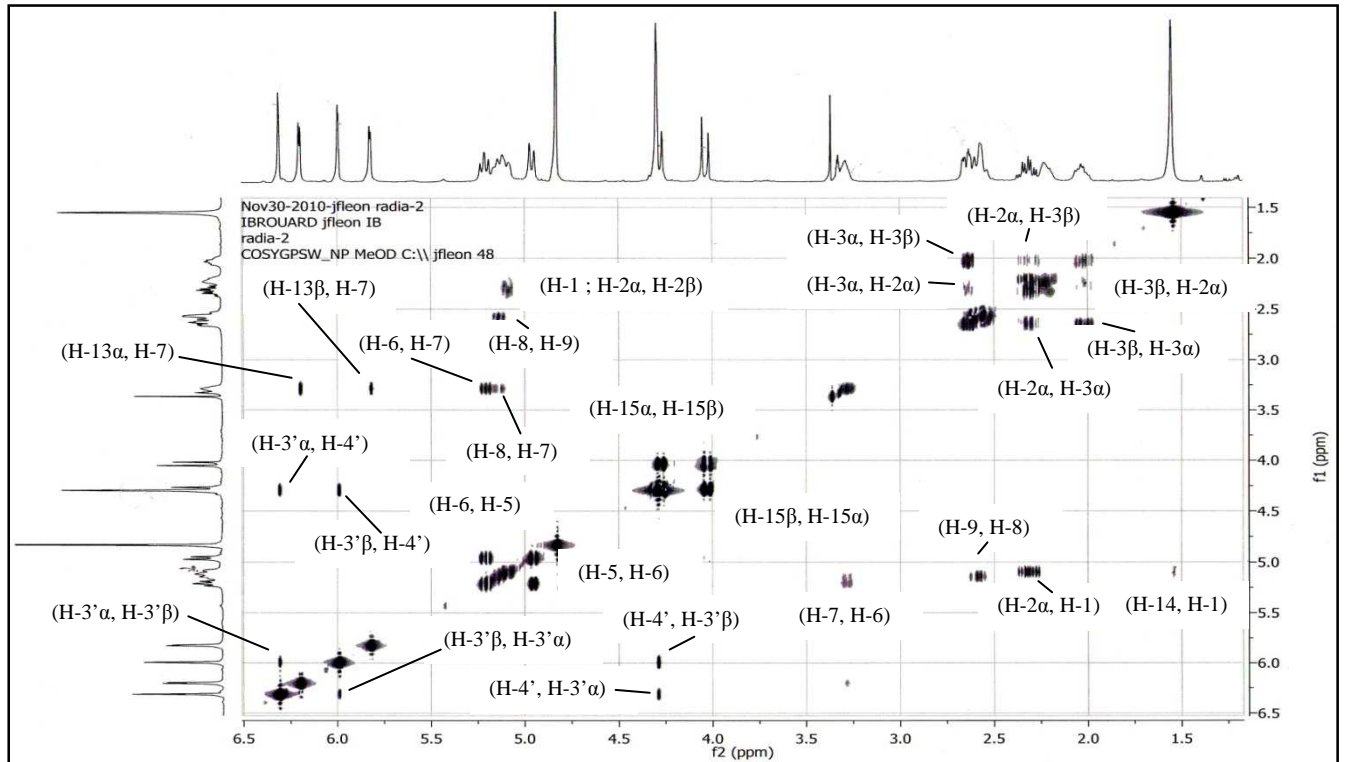
Spectre n°26 : DEPT 135 (100 MHz, MeOD) du produit SL-6

Le spectre RMN-<sup>1</sup>H indique immédiatement l'apparition de deux singulets l'un à  $\delta$  6,31 et l'autre à  $\delta$  6,00 ppm, comparativement aux spectres précédents (relatifs aux **SL-1** et **SL-2**) qui doivent être les protons H-3' $\alpha$  et H-3' $\beta$ . Ces derniers corrélient directement à la résonnance du méthylène à  $\delta$  124, 51 ppm, dans le spectre HSQC (spectre n° 29).

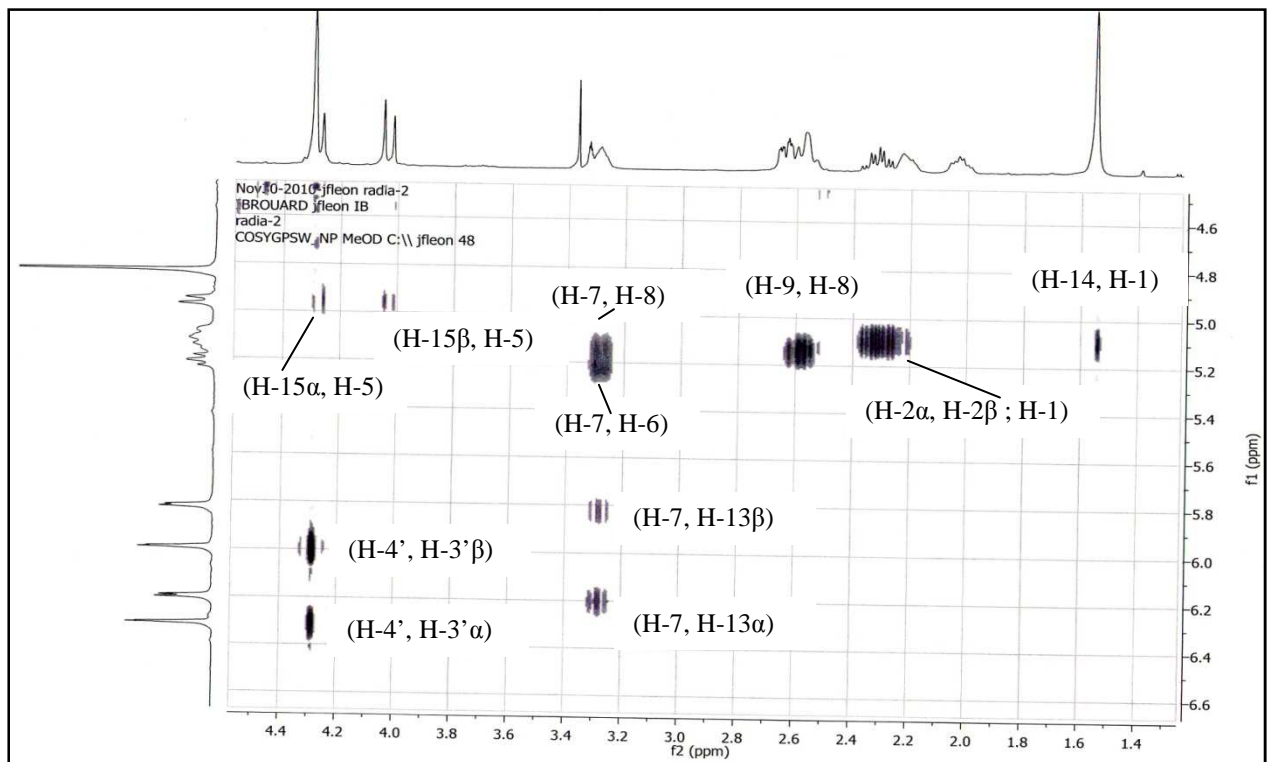


**Spectre n°27 : R.M.N-<sup>1</sup>H (400 MHz, MeOD) du produit SL-6**

Remarquons encore que ces deux protons (H-3' $\alpha$  et H-3' $\beta$ ), permettent de distinguer le singulet large intégrant les deux protons (H-4') situés apparemment superposés sur le doublet à  $\delta$  4,28 ppm qui doit être le proton libellé H-15 $\alpha$  ( $J = 11,7$  Hz), dans le spectre COSY <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H (spectre n° 28).

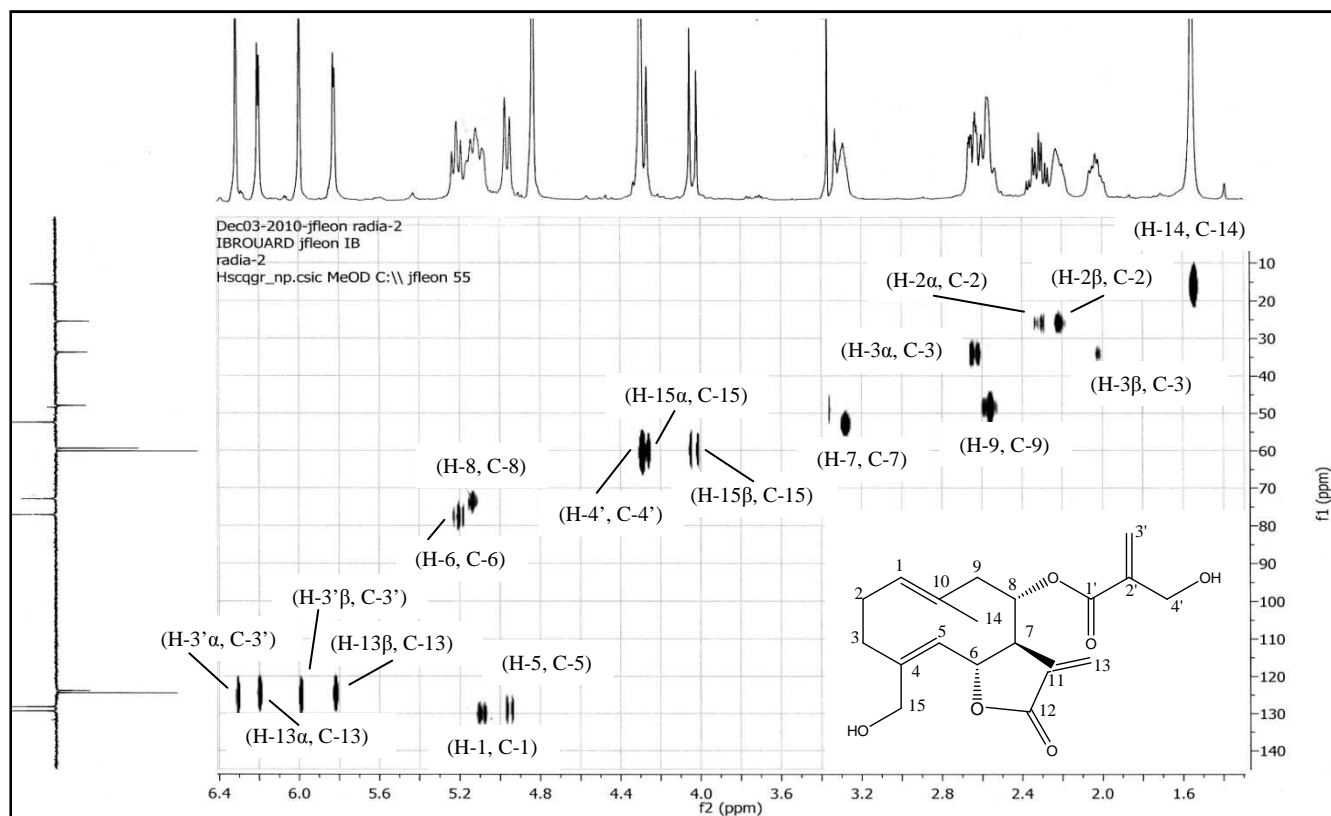


Spectre n°28 : COSY  $^1\text{H}$ -  $^1\text{H}$  (400 MHz, MeOD) du produit SL-6



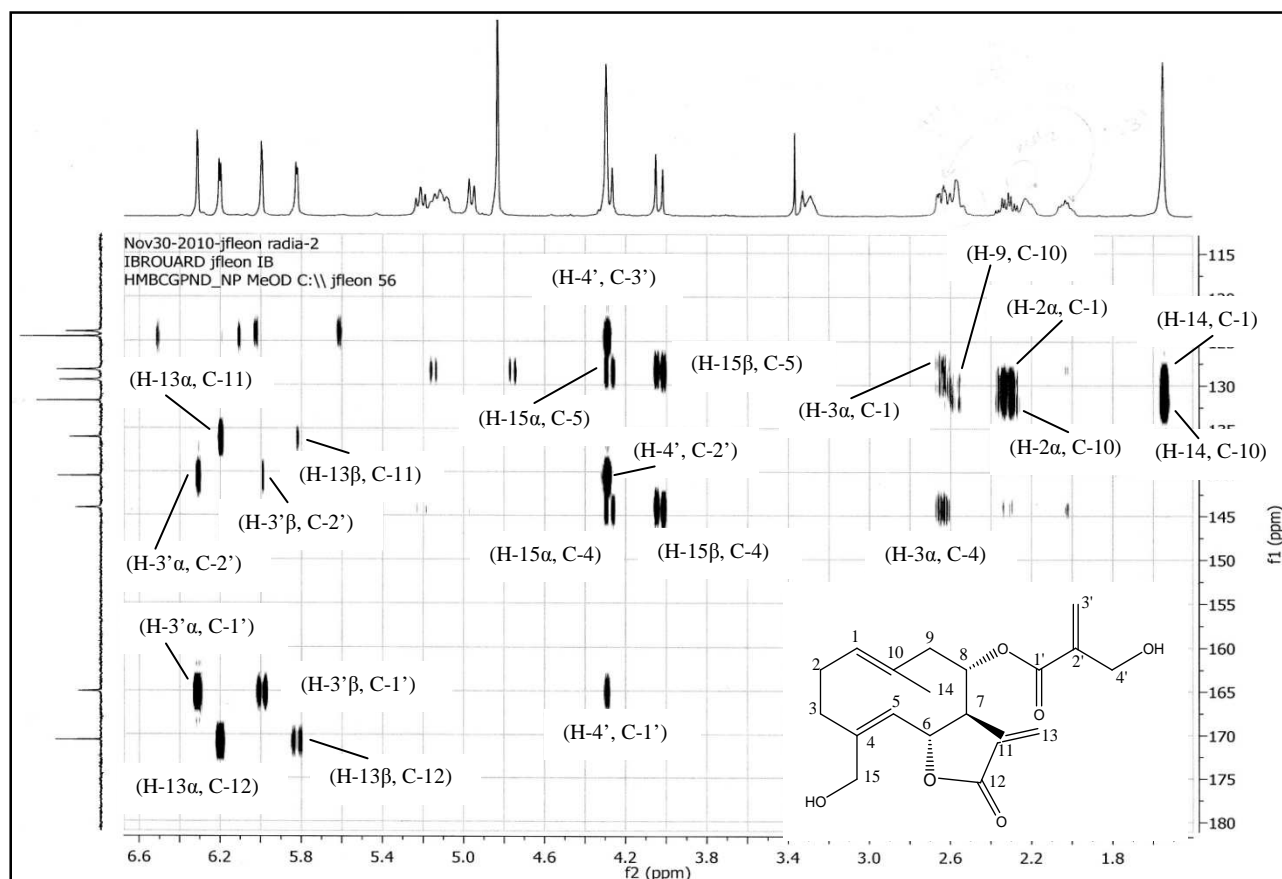
Étalement du spectre n° 28 du produit SL-6 dans l'intervalle (0,00-4,80 ppm)

Le spectre HSQC est sans équivoque, il indique deux corrélations directes entre deux signaux localisés à  $\delta$  4,03 et 4,28 ppm dans le spectre RMN- $^1\text{H}$  et deux résonnances des deux méthylènes oxygénés à  $\delta$  59,46 et 60,21 ppm dans le spectre DEPT 135. Ce qui nécessite alors une expérience HMBC (spectre n°30) pour attribuer et clarifier les signaux masqués.



**Spectre n°29 : HSQC (400 MHz, MeOD) du produit SL-6**

Ce spectre établit rapidement la preuve de la présence d'un système AB relatif aux protons H-15 $\alpha$  (d,  $J$ = 11,7 Hz) et H-15 $\beta$  (d,  $J$ = 13,5 Hz) et d'un singulet large corrélent différemment aux carbones. Et nous a permis d'attribuer ce singulet aux protons H-4' de la chaîne 4'-hydroxyméthacrylate. Ainsi, les trois corrélations nettes entre ces protons et le carbonyle C-1', le carbone C-2' et le carbone C-3' sur ce même spectre, assurent notre élucidation.



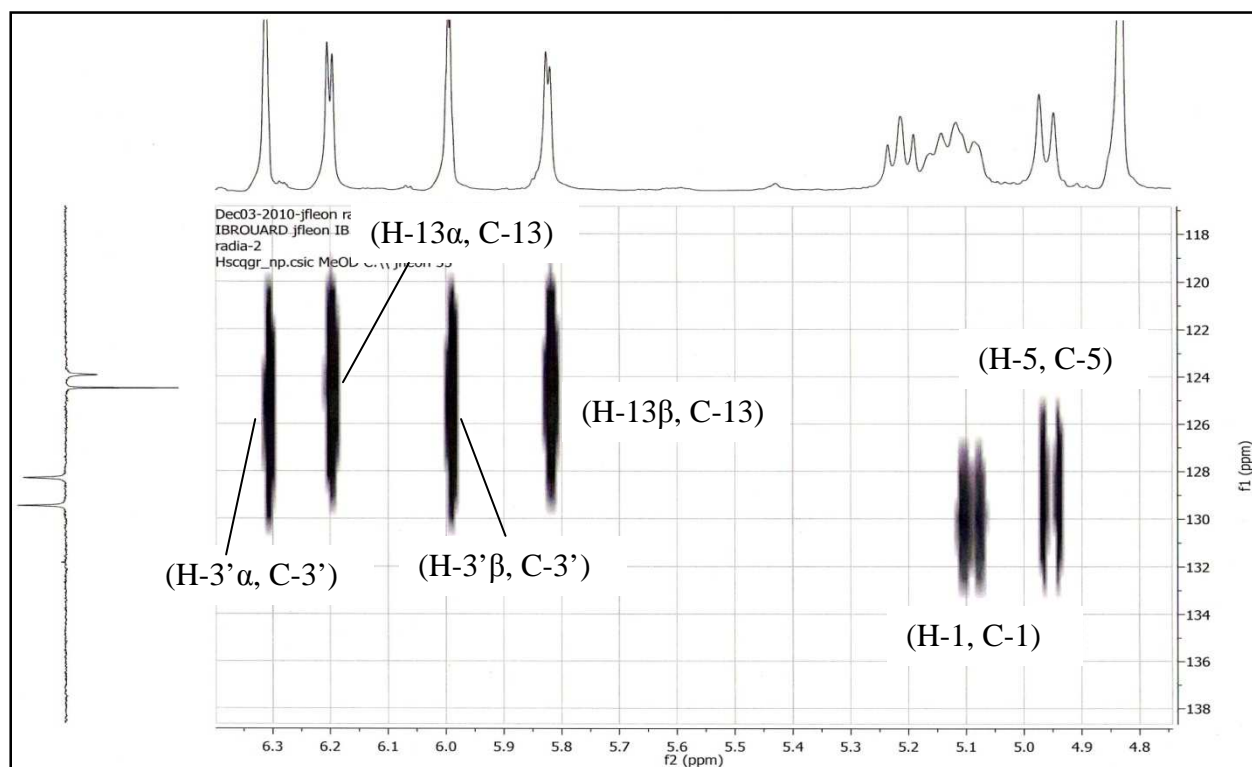
**Spectre n°30: HMBC (400 MHz, MeOD) du produit SL-6 ; ( $^1\text{H}$  :  $\delta$  1,00 – 6,60 ;  $^{13}\text{C}$  :  $\delta$  110,00 - 180,00 ppm)**

À ce point, nous pouvons maintenant attribuer la nouvelle insaturation à cette double liaison ( $\text{C}=\text{CH}_2$ ) de la chaîne latérale, qui doit être localisée en C-8 du squelette d'un germacranolide, en raison de son déplacement chimique ( $\delta$  72,98 ppm).

L'inventaire des pièces restantes d'après les spectres  $^{13}\text{C}$ / DEPT (un carbonyle à  $\delta$  170,64 ppm ; trois carbones quaternaires type  $\text{sp}^2$  à  $\delta$  144,14, 136,05 et 131,85 ppm ; cinq méthylènes dont un oxygéné à  $\delta$  59,46 ppm ; trois aliphatiques à  $\delta$  48,03, 33,79 et 25,53 ppm ; un seul méthyle à  $\delta$  15,71 ppm), et le fait qu'ils restent deux insaturations non employées, pour les deux cycles du squelette sesquiterpénique, nous confirment notre hypothèse.

D'autres preuves nous permettent d'agencer ces pièces, tout d'abord, le spectre COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  (spectre n°28), nous dit que les deux doublets typiques relatifs aux protons (H-13 $\alpha$  et H-13 $\beta$ ) sont couplés de manière allylique avec l'absorption complexe CH à  $\delta$  3,32 ppm qui doit être le proton libellé H-7. Ensuite l'étalement du spectre HSQC dans la zone (4,70-6,50 ppm) révèle la corrélation directe de ces doublets (H-13 $\alpha$  et H-13 $\beta$ ) à la résonance du carbone situé à  $\delta$  123,95 ppm et permet de différencier les deux méthylènes proches.

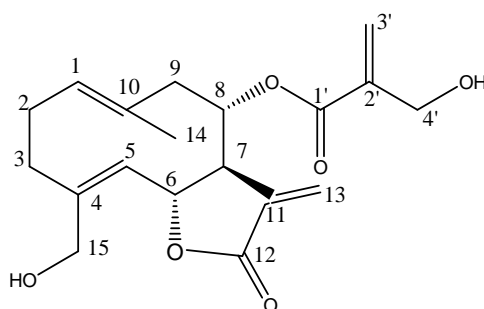




### Étalement du spectre n° 28 dans la zone (4,70-6,50 ppm)

Une fois encore, le spectre HMBC (spectre n° 30) résout la question, et montre des corrélations entre les protons H-13 $\alpha$  et H-13 $\beta$  et le carbonyle à  $\delta$  170,64 ppm qui ne peut être que le carbone C-12 lactonique, et le carbone C-11 situé à  $\delta$  136,05 ppm dans le spectre  $^{13}\text{C}$ .

Les informations combinées des spectres RMN- $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  / DEPT, COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ , HSQC et HMBC comparativement à celles de la littérature [8,13], sont suffisamment convaincantes pour établir la structure de l'Onopordopicrine.



**Figure 11** : Structure de l'Onopordopicrine

Ce composé a été déjà isolé précédemment de cette espèce [13].

Ces résultats sont résumés dans les tableaux 11 et 12 ci-dessous.

Tableau 11 : RMN-<sup>1</sup>H, COSY<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H et HMBC (400 MHz, MeOD) du produit SL-6

H	δ ppm	J (Hz)	COSY <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H	HMBC
1	5.08 m		H-2α, H-2β	
2α	2.30 m		H-3β	C-1, C-10
2β	2.28 m		H-3β	
3α	2.63 m		H-2α, H-3β	C-1, C-4
3β	2.06 m		H-2α, H-3α	
5	4.95 d	9.8	H-6	
6	5.21 t	8.4	H-5, H-7	
7	3.32 m		H-6, H-13α	
8	5.08 m		H-7, H-9β	
9α	3.36		H-8	C-10
9β	2.63 m		H-8	C-10
13α	6.20 d	3.4	H-7	C-11, C-12
13β	5.82 d	2.8	H-7	C-11, C-12
14	1.55		H-1	C-1, C-10
15α	4.28 d	11.7	H-5, H-15β	C-4, C-5
15β	4.03 d	13.5	H-5, H-15α	C-4, C-5
4'	4.29 s		H-3'α, H-3'β	C-1', C-2', C-3'
3'α	6.31 s		H-4', H-3'β	C-1', C-2'
3'β	6.00 s		H-4', H-3'α	C-1', C-2'

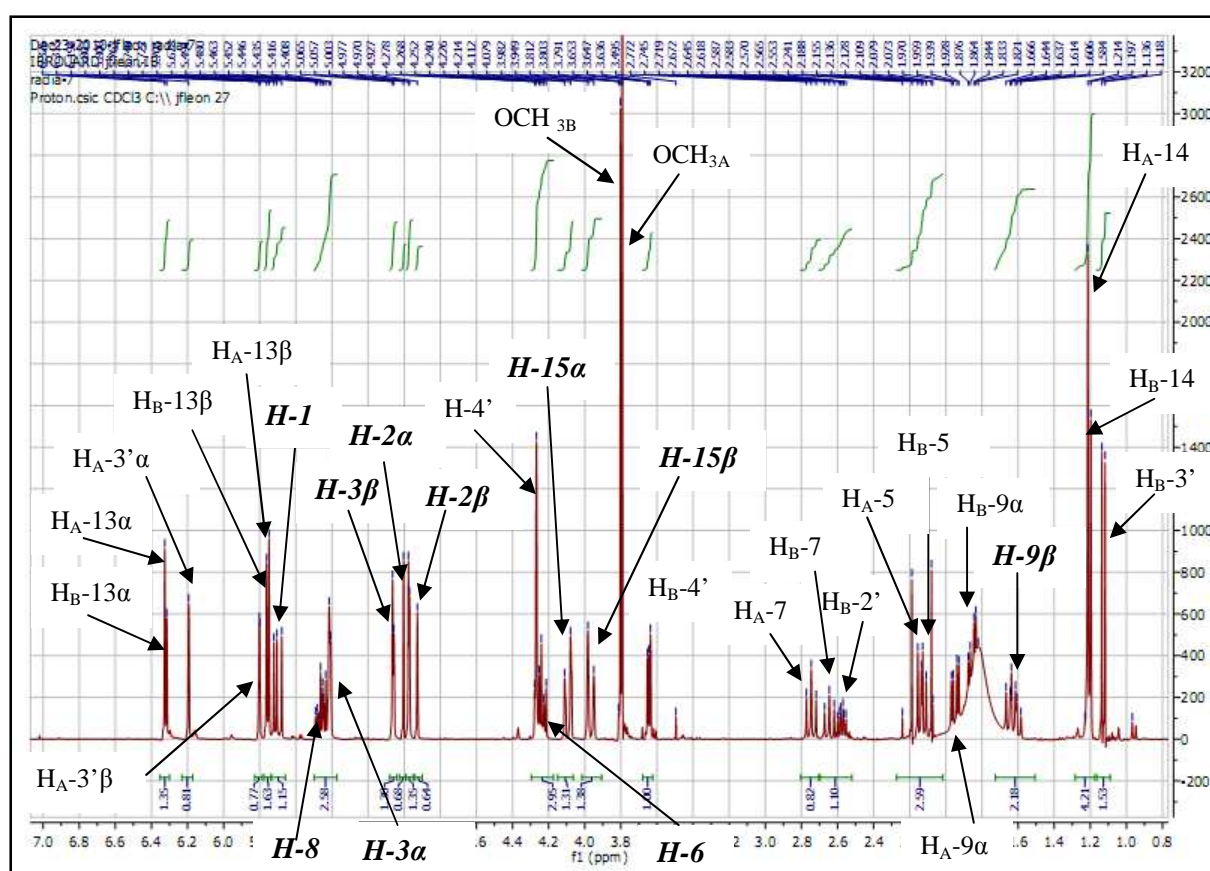
**Tableau 12 : RMN-<sup>13</sup>C, DEPT 135, 90 (100 MHz, MeOD) et HSQC (400 MHz, MeOD) du produit SL-6**

<b>C</b>	<b>δ ppm</b>	<b>DEPT</b>	<b>HSQC</b>
1	128.31	CH	1
2	25.53	CH <sub>2</sub>	2α, 2β
3	33.79	CH <sub>2</sub>	3α, 3β
4	144.14	C	
5	129.47	CH	5
6	77.20	CH	6
7	52.53	CH	7
8	72.98	CH	8
9	48.03	CH <sub>2</sub>	9α, 9β
10	131.85	C	
11	136.05	C	
12	165.05	C	
13	123.95	CH <sub>2</sub>	13α, 13β
14	15.71	CH <sub>3</sub>	14
15	59.46	CH <sub>2</sub>	15α, 15β
1'	170.64	C	
2'	140.50	C	
3'	124.51	CH <sub>2</sub>	3'α, 3'β
4'	60.21	CH <sub>2</sub>	4'

### IV.1.5. Identification structurale du produit SL-7

Le spectre RMN-<sup>1</sup>H (Spectre n°31), du produit **SL-7** présente une allure semblable à celle des spectres RMN-<sup>1</sup>H de mélange **SL-4** (spectre n°14, 15, 16), signifiant que ce produit est un mélange, exception faite de la présence de deux groupements méthoxyles, dont l'identification est aisée grâce aux deux singulets apparents à  $\delta$  3,78 et 3,79 ppm sur ce même spectre, ce qui laisse penser à l'ouverture des deux cycles lactoniques des deux élémantolides **SL-4A** et **SL-4P**, autrement dit le mélange **SL-7** est probablement le même mélange **SL-4**.

D'autre part, d'après ce qui précède, la résolution de ces spectres enregistrés dans le CDCl<sub>3</sub>, paraisse meilleure que celle des spectres enregistrés dans le MeOD.

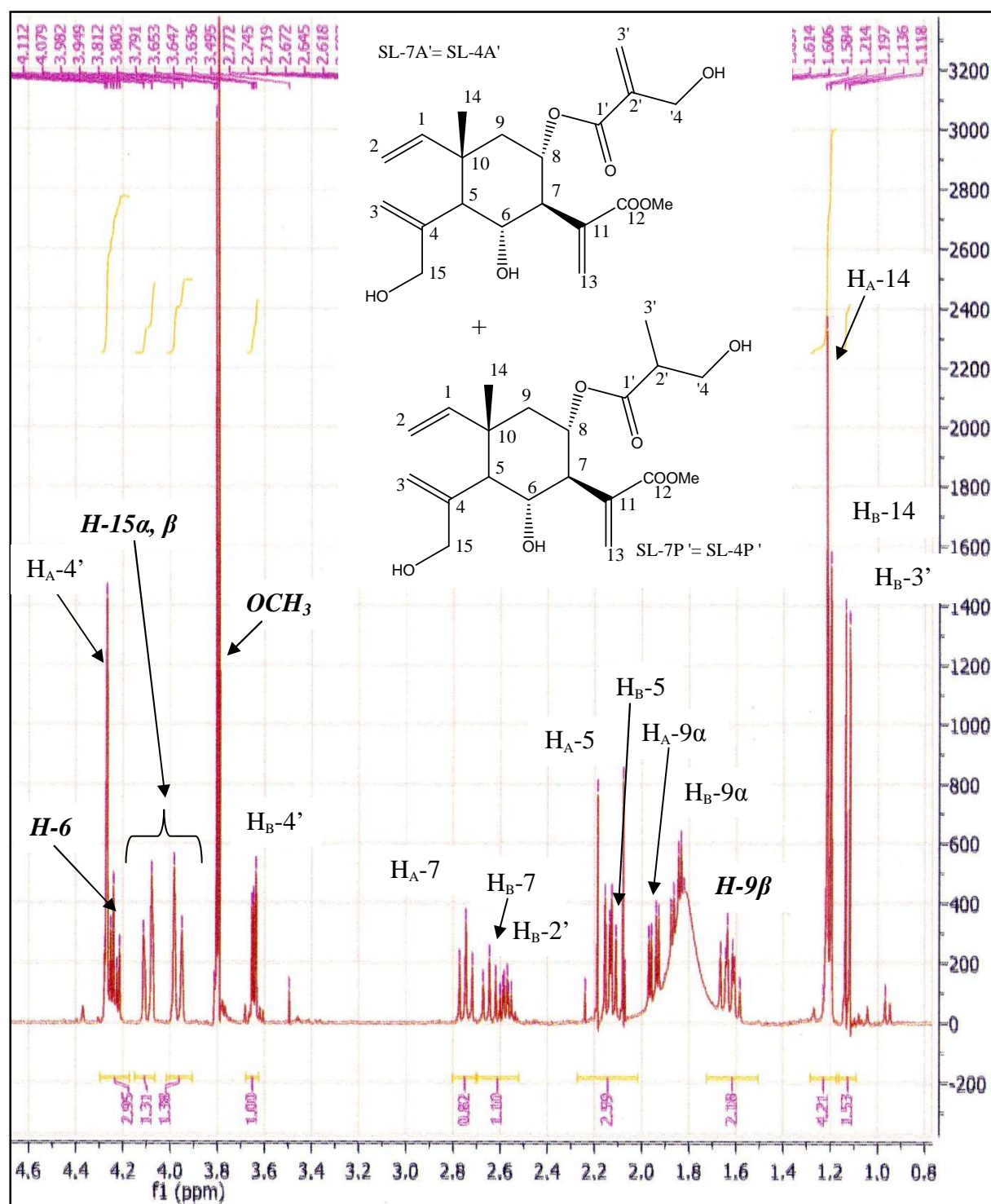


H<sub>A</sub> : Signaux relatifs aux protons du produit **SL-7A'**

H<sub>B</sub> : Signaux relatifs aux protons du produit **SL-7P'**

*H (gras en italique)*: Signaux superposés des protons des deux produits **SL-7A'** et **SL-7P'**

Spectre n°31 : RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) du mélange **SL-7**.

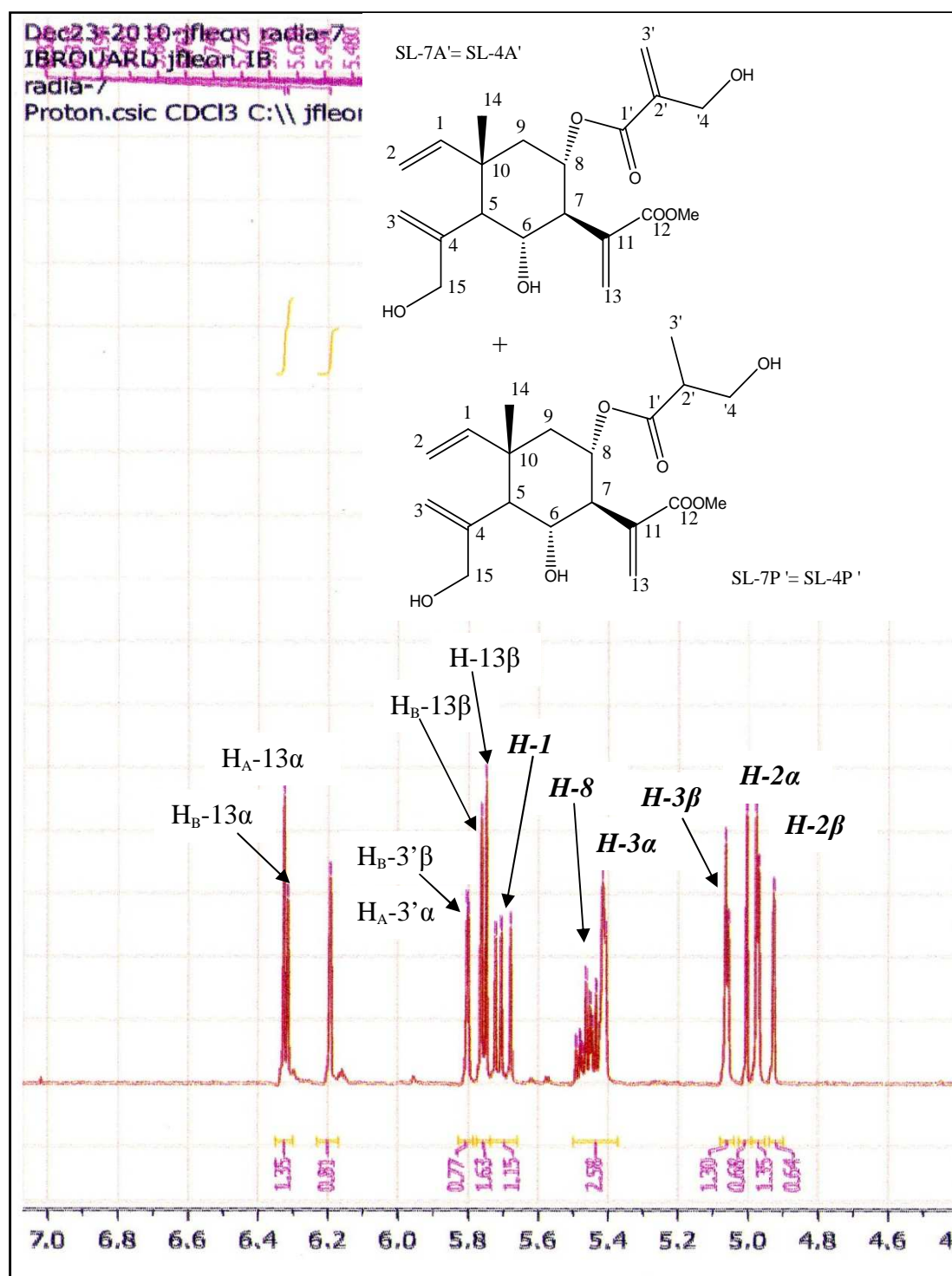


$H_A$  : Signaux relatifs aux protons du produit **SL-7A'**

$H_B$  : Signaux relatifs aux protons du produit **SL-7P'**

***H*** (*gras en italique*): Signaux superposés des protons des deux produits **SL-7A'** et **SL-7P'**

Étalement du spectre n° 31 dans la zone (0,80 – 4,60 ppm)



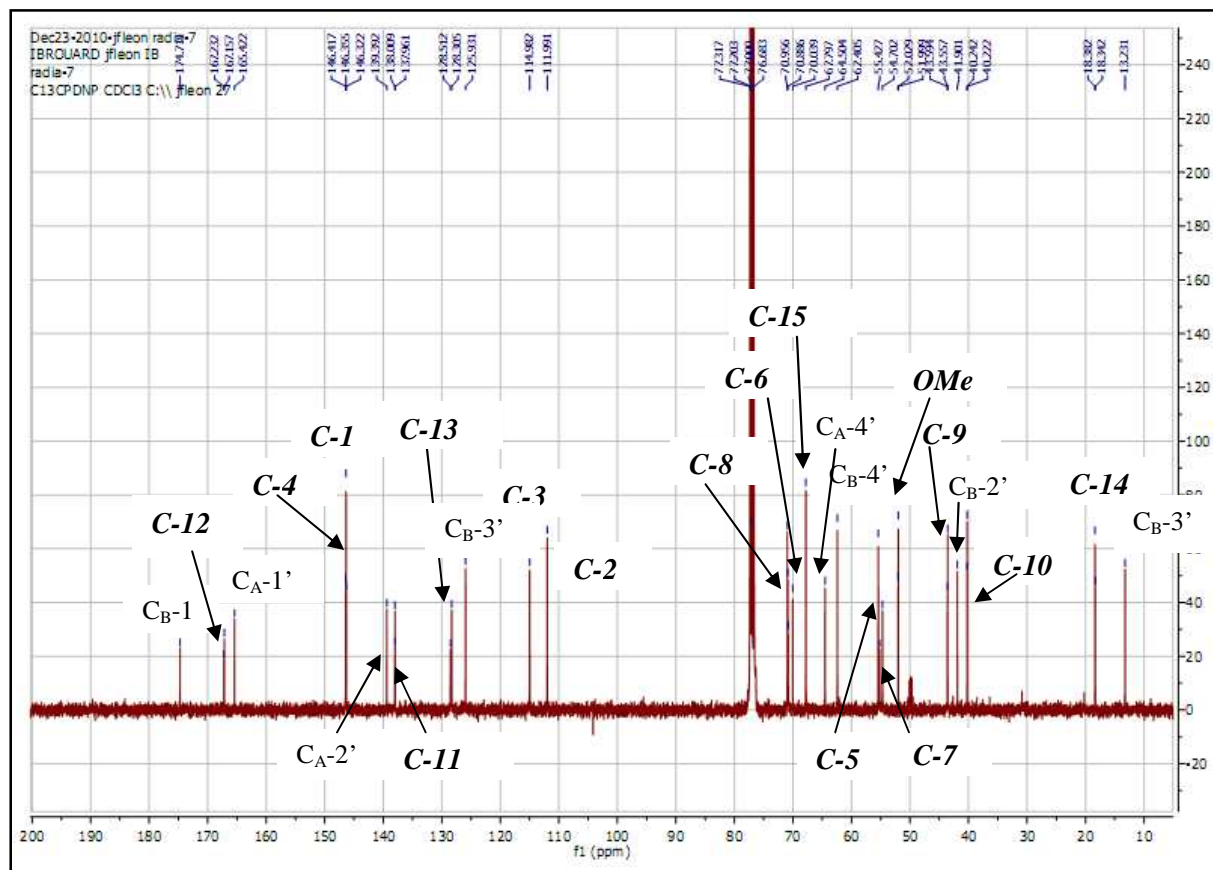
$H_A$  : Signaux relatifs aux protons du produit **SL-7A'**

$H_B$  : Signaux relatifs aux protons du produit **SL-7P'**

***H*** (*gras en italique*): Signaux superposés des protons des deux produits **SL-7A'** et **SL-7P'**

**Etallement du spectre n° 31 dans la zone (4,50 – 6,40 ppm)**

L'examen simultané des spectres RMN- $^{13}\text{C}$  et des séquences DEPT 135 permet en effet de retrouver les résonances du carbone relatives aux deux groupements méthoxyles ( $\delta$  52,02 et 52,05 ppm), en plus des autres signaux relatifs aux deux squelettes sesquiterpéniques.



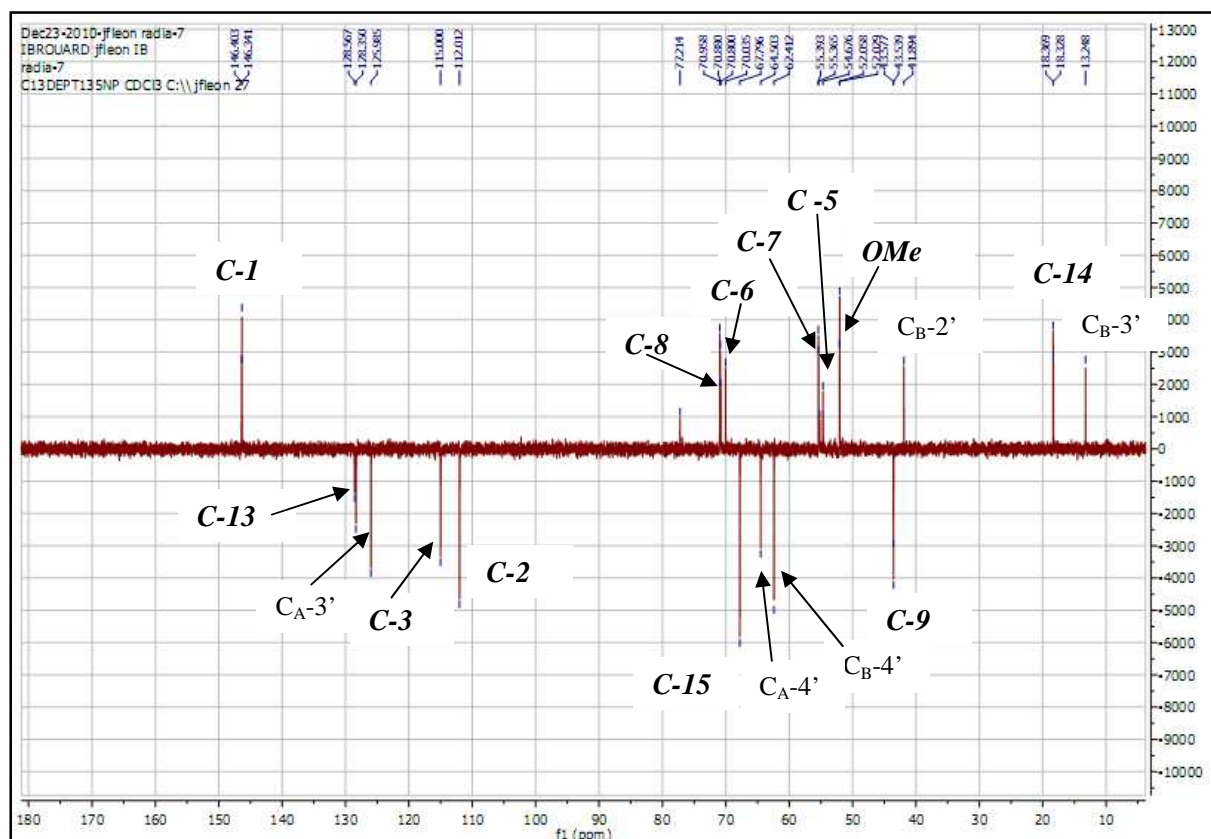
$C_A$  : Signaux relatifs aux carbones du produit **SL-7A'**

$C_B$  : Signaux relatifs aux carbones du produit **SL-7P'**

***C*** (*gras en italique*): Signaux superposés des carbones des deux produits **SL-7A'** et **SL-7P'**

Spectre n°32 : RMN- $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) du mélange **SL-7**.





$C_A$  : Signaux relatifs aux carbones du produit **SL-7A'**

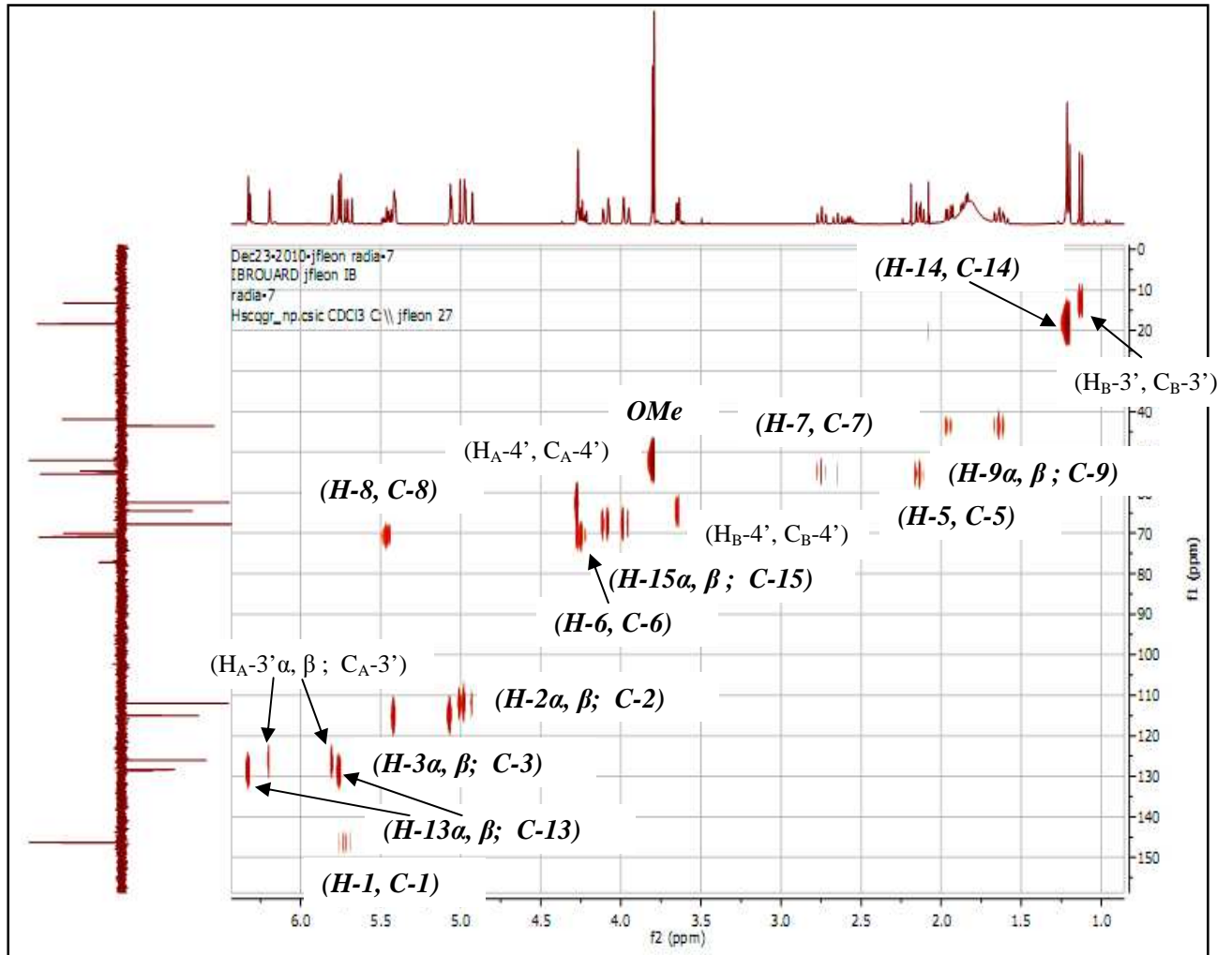
$C_B$  : Signaux relatifs aux carbones du produit **SL-7P'**

***C*** (*gras en italique*): Signaux superposés des carbones des deux produits **SL-7A'** et **SL-7P'**

**Spectre n°33 : DEPT 135 (100 MHz,  $CDCl_3$ ) du mélange SL- 7.**

L'étude du spectre HSQC, donne des corrélations directes entre les résonances des protons et celles des carbones correspondantes, ces attributions sont conformes avec celles attendus pour les deux structures décrites. De plus, les attributions des protons sont consolidées par le spectre COSY  $^1H$ - $^1H$  (spectre n° 35) qui est en tout point identique à celui de mélange **SL-4**.



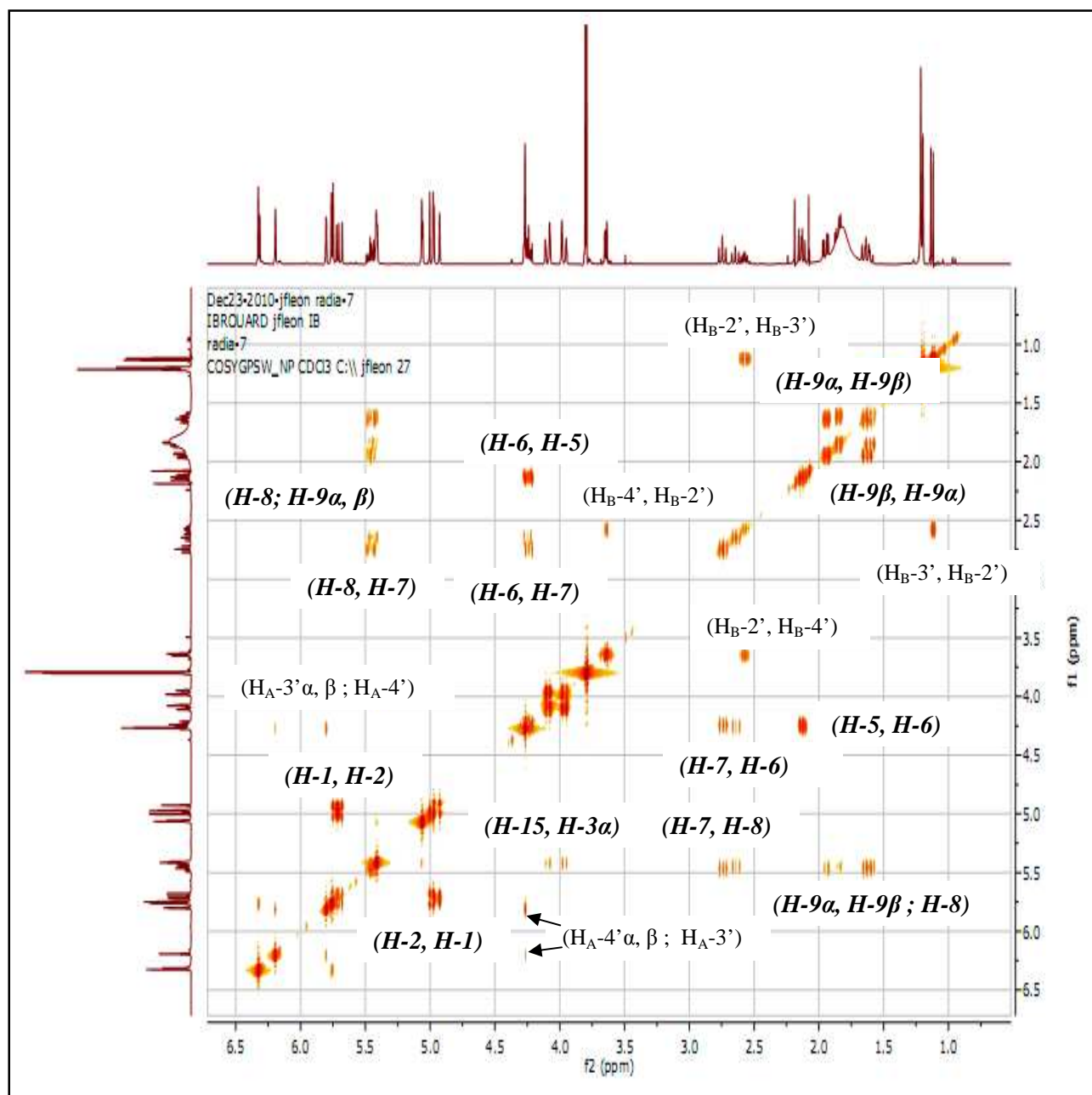


$H_A, C_A$  : Signaux relatifs aux protons et carbones du produit **SL-7A'**

$H_B, C_B$  : Signaux relatifs aux protons et carbones du produit **SL-7P'**

***H, C*** (*gras en italique*): Signaux superposés des protons et des carbones des deux produits **SL-7A'** et **SL-7P'**

**Spectre n°34 : HSQC (400 MHz,  $CDCl_3$ ) du mélange SL- 7.**



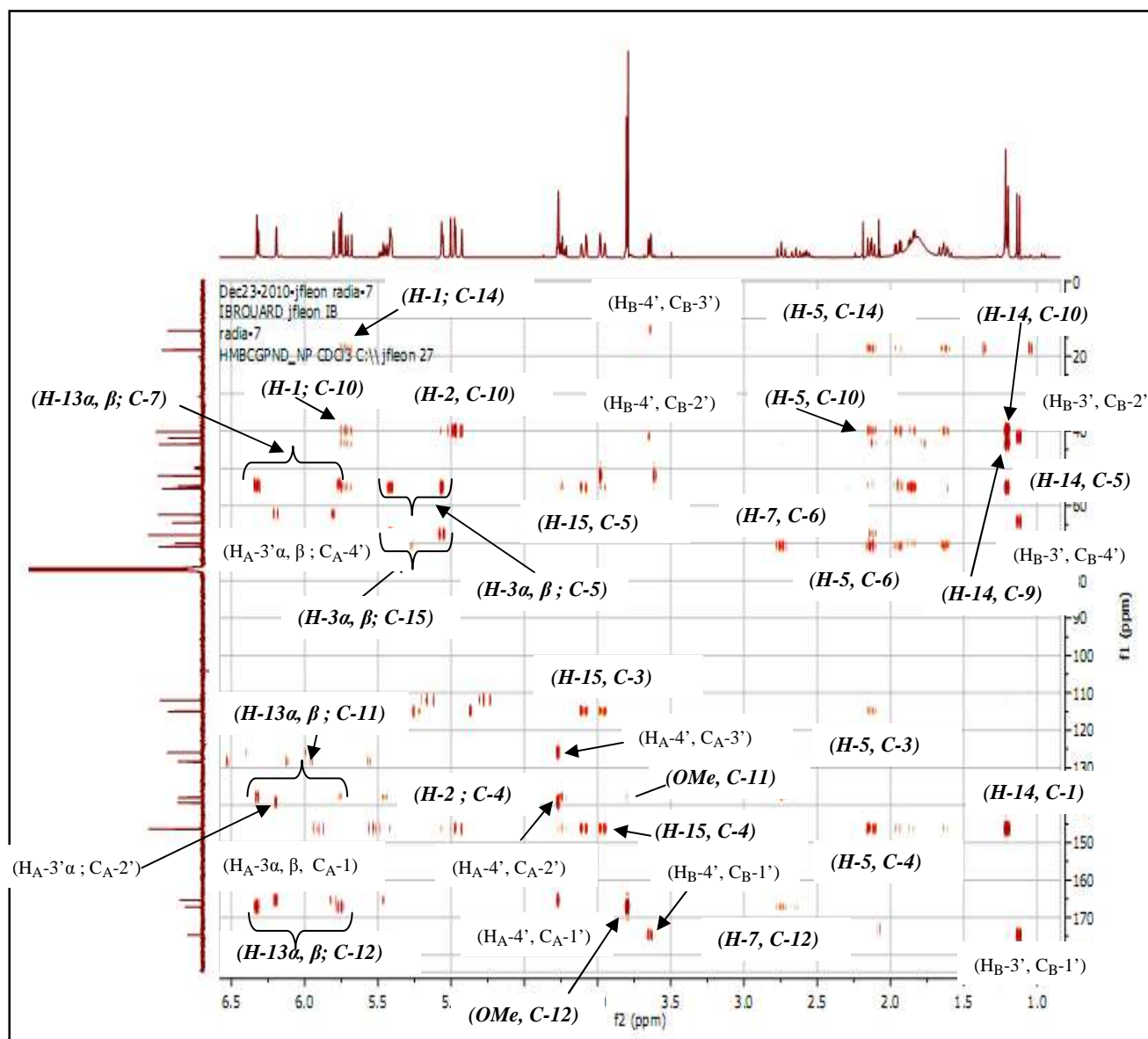
$H_A$  : Signaux relatifs aux protons du produit **SL-7A'**

$H_B$  : Signaux relatifs aux protons du produit **SL-7P'**

***H*** (*gras en italique*): Signaux superposés des protons des deux produits **SL-7A'** et **SL-7P'**

**Spectre n°35: COSY  $^1H$ - $^1H$  (400 MHz,  $CDCl_3$ ) du mélange **SL-7**.**

Comme c'était prévu, l'évaluation du spectre HMBC de ce mélange **SL-7** a donnée des confirmations en accord avec celles issues des autres spectres RMN-2D. Notamment l'évidente corrélation entre les deux groupements méthoxyles apparents à  $\delta$  3,78 et 3,79 ppm dans le spectre RMN- $^1H$ , et les deux carbonyles résonnants à  $\delta$  167,23 et 167,15 ppm dans le spectre RMN- $^{13}C$  respectivement.



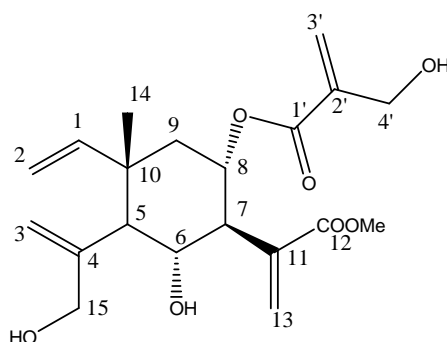
$H_A, C_A$  : Signaux relatifs aux protons et carbones du produit **SL-7A'**

$H_B, C_B$  : Signaux relatifs aux protons et carbones du produit **SL-7P'**

*H, C (gras en italique)*: Signaux superposés des protons et des carbones des deux produits **SL-7A'** et **SL-7P'**

**Spectre n°36: HMBC (400 MHz,  $CDCl_3$ ) du mélange SL-7.**

En s'appuyant sur ces données réunies dans les tableaux 13, 14, 15 et 16, on peut attribuer la structure de l'élémarcarmanine à **SL-7A'**(**SL-4A'**) et le méthyl-8 $\alpha$ -(3'-hydroxybutyrate)-6 $\alpha$ , 15-dihydroxyelema-1, 3,11(13)-trien-12-oate à **SL-7P'**(**SL-4P'**).



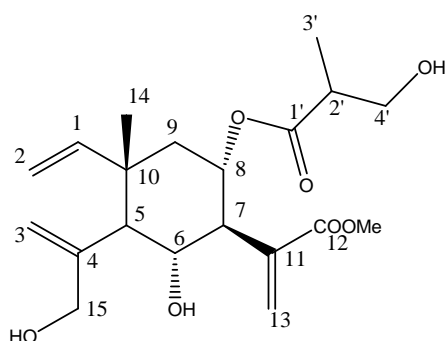
SL-7A'(SL-4A') ; l'élémarcarmanine

Tableau 13 : RMN-<sup>1</sup>H, COSY<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H et HMBC (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) du produit SL-7A'

H	δ ppm	J (Hz)	COSY <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H	HMBC
1	5.70 dd	10,8; 17,2	H-2 $\alpha$ , H-2 $\beta$	C-1, C-5, C-9, C-10
2 $\alpha$	4.98 d	10,8	H-1	C-1, C-10
2 $\beta$	4.42 d	17,6	H-1	C-1, C-10
3 $\alpha$	5,40 br s		H-15	C-4, C-5, C-15
3 $\beta$	4,04 br s		H-15	C-4, C-5, C-15
5	2,14 d	10,4	H-6	C-3, C-4, C-6, C-10, C-14, C-15
6	4,24 t	10,4	H-5, H-7	C-4, C-5, C-11
7	2,73 t	10,8	H-6, H-8	C-8, C-11, C-13
8	5.45 m		H-7, H-9 $\alpha$ , H-9 $\beta$	C-1', C-7, C-11
9 $\alpha$	1,93 dd	4,4; 12,8	H-8, H-9 $\beta$	C-1, C-5, C-8, C-10, C-14
9 $\beta$	1,60 m		H-8, H-9 $\alpha$	C-1, C-5, C-8, C-10, C-14
13 $\alpha$	6.32 s		H-13 $\beta$	C-7, C-11, C-12
13 $\beta$	5.74 s		H-13 $\alpha$	C-7, C-11, C-12
14	1.21 s			C-1, C-5, C-9, C-10
15 $\alpha$	4.07 d	13,2	H-3 $\alpha$ , H-3 $\beta$ , H-15 $\beta$	C-3, C-4, C-5
15 $\beta$	3,94 d	13,2	H-3 $\alpha$ , H-3 $\beta$ , H-15 $\alpha$	C-3, C-4, C-5
3' $\alpha$	6,18 s		H-4', H-3' $\beta$	C-1', C-2', C-4'
3' $\beta$	5,80 s		H-4', H-3 $\alpha$	C-1', C-2', C-4'
4'	4,25 s		H-3' $\alpha$ , H-3' $\beta$	C-1', C-2', C-3'
OMe	3,79 s			C-11, C-12

**Tableau 14 : RMN-<sup>13</sup>C, DEPT 135 (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) et COSY <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  
du produit SL-7A'**

<b>C</b>	<b>δ ppm</b>	<b>DEPT</b>	<b>COSY <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C</b>
1	146,40	CH	1
2	112,01	CH <sub>2</sub>	2α, 2β
3	115,00	CH <sub>2</sub>	3α, 3β
4	146,30	C	
5	55,36	CH	5
6	70,80	CH	6
7	55,39	CH	7
8	70,95	CH	8
9	43,57	CH <sub>2</sub>	9α, 9β
10	40,24	C	
11	138,00	C	
12	167,23	C	
13	128,56	CH <sub>2</sub>	13α, 13β
14	18,36	CH <sub>3</sub>	14
15	67,79	CH <sub>2</sub>	15α, 15β
1'	165,42	C	
2'	139,39	C	
3'	125,93	CH <sub>2</sub>	3'α, 3'β
4'	64,50	CH <sub>2</sub>	4'
OMe	52,05	CH <sub>3</sub>	OMe



**Figure 12** : Structure de **SL-7P'**(**SL-4P'**) ; Methyl-8 $\alpha$ -(3'-hydroxybutyrate) -6 $\alpha$ , 15-dihydroxyelema-1, 3,11(13)-trien-12-oate

**Tableau 15** : RMN- $^1\text{H}$ , COSY $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  et HMBC (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) du produit **SL-7P'**

H	$\delta$ ppm	J (Hz)	COSY $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$	HMBC
1	5.70 dd	10,8; 17,2	H-2 $\alpha$ , H-2 $\beta$	C-1, C-5, C-9, C-10
2 $\alpha$	4.98 d	10,8	H-1	C-1, C-10
2 $\beta$	4.42 d	17,6	H-1	C-1, C-10
3 $\alpha$	5,40 br s		H-15	C-4, C-5, C-15
3 $\beta$	4,04 br s		H-15	C-4, C-5, C-15
5	2,11 d	10,4	H-6	C-3, C-4, C-6, C-10, C-14, C-15
6	4,24 t	10,4	H-5, H-7	C-4, C-5, C-11
7	2,64 t	10,8	H-6, H-8	C-8, C-11, C-13
8	5.45 m		H-7, H-9 $\alpha$ , H-9 $\beta$	C-1', C-7, C-11
9 $\alpha$	1,83 dd	4,4; 12,8	H-8, H-9 $\beta$	C-1, C-5, C-8, C-10, C-14
9 $\beta$	1,60 m		H-8, H-9 $\alpha$	C-1, C-5, C-8, C-10, C-14
13 $\alpha$	6.31 s		H-13 $\beta$	C-7, C-11, C-12
13 $\beta$	5.80 s		H-13 $\alpha$	C-7, C-11, C-12
14	1.19 s			C-1, C-5, C-9, C-10
15 $\alpha$	4.07 d	13,2	H-3 $\alpha$ , H-3 $\beta$ , H-15 $\beta$	C-3, C-4, C-5
15 $\beta$	3,94 d	13,2	H-3 $\alpha$ , H-3 $\beta$ , H-15 $\alpha$	C-3, C-4, C-5
2'	2,52 m		H-3', H-4' $\alpha$ , H-4' $\beta$	C-1', C-2', C-4'
3'	1,12 d	7,2	H-2'	C-1', C-2', C-3'
4'	3,64 m		H-2'	C-1', C-2', C-3'
OMe	3,78 s			C-11, C-12

**Tableau 16 : RMN-<sup>13</sup>C, DEPT 135 (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) et HSQC (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) du produit SL-7P'**

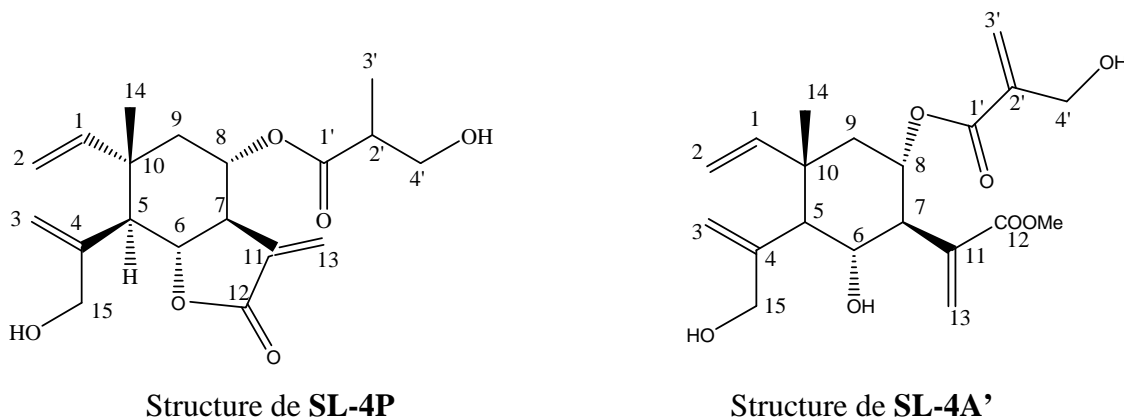
<b>C</b>	<b>δ ppm</b>	<b>DEPT</b>	<b>HSQC</b>
1	146,34	CH	1
2	112,01	CH <sub>2</sub>	2α, 2β
3	115,00	CH <sub>2</sub>	3α, 3β
4	146,30	C	
5	54,67	CH	5
6	70,03	CH	6
7	55,39	CH	7
8	70,88	CH	8
9	43,53	CH <sub>2</sub>	9α, 9β
10	40,22	C	
11	137,96	C	
12	167,15	C	
13	128,35	CH <sub>2</sub>	13α, 13β
14	18,32	CH <sub>3</sub>	14
15	67,79	CH <sub>2</sub>	15α, 15β
1'	174,71	C	
2'	41,89	CH	2'
3'	13,24	CH <sub>3</sub>	3'
4'	62,41	CH <sub>2</sub>	4'
OMe	52,02	CH <sub>3</sub>	OMe

#### IV.1.6. Etude quantitative et comparative des deux mélange SL-4 et SL-7 par RMN-<sup>1</sup>H

Bien que la RMN soit une méthode réservée au domaine de l'analyse structurale, par la qualité des renseignements qu'elle apporte, elle sert accessoirement à étudier la composition de mélanges. Cette application est possible si les signaux choisis pour repérer chaque constituant ont des aires qui peuvent être mesurées séparément [16].

##### ➤ Dans le cas de mélange SL-4 :

Dans notre cas, les signaux sélectionnés pour chaque composé de mélange SL-4 ne correspond pas globalement au même nombre de protons, parce que la partie étudiée du spectre de chaque composé a été choisie en raison de la simplicité et l'absence des signaux superposées, le rapport des aires des deux signaux est représentatif du rapport  $n_{4A'}/n_{4P}$  des nombres respectifs de molécules de **SL-4A'** et de **SL-4P**.



Structure de **SL-4P**

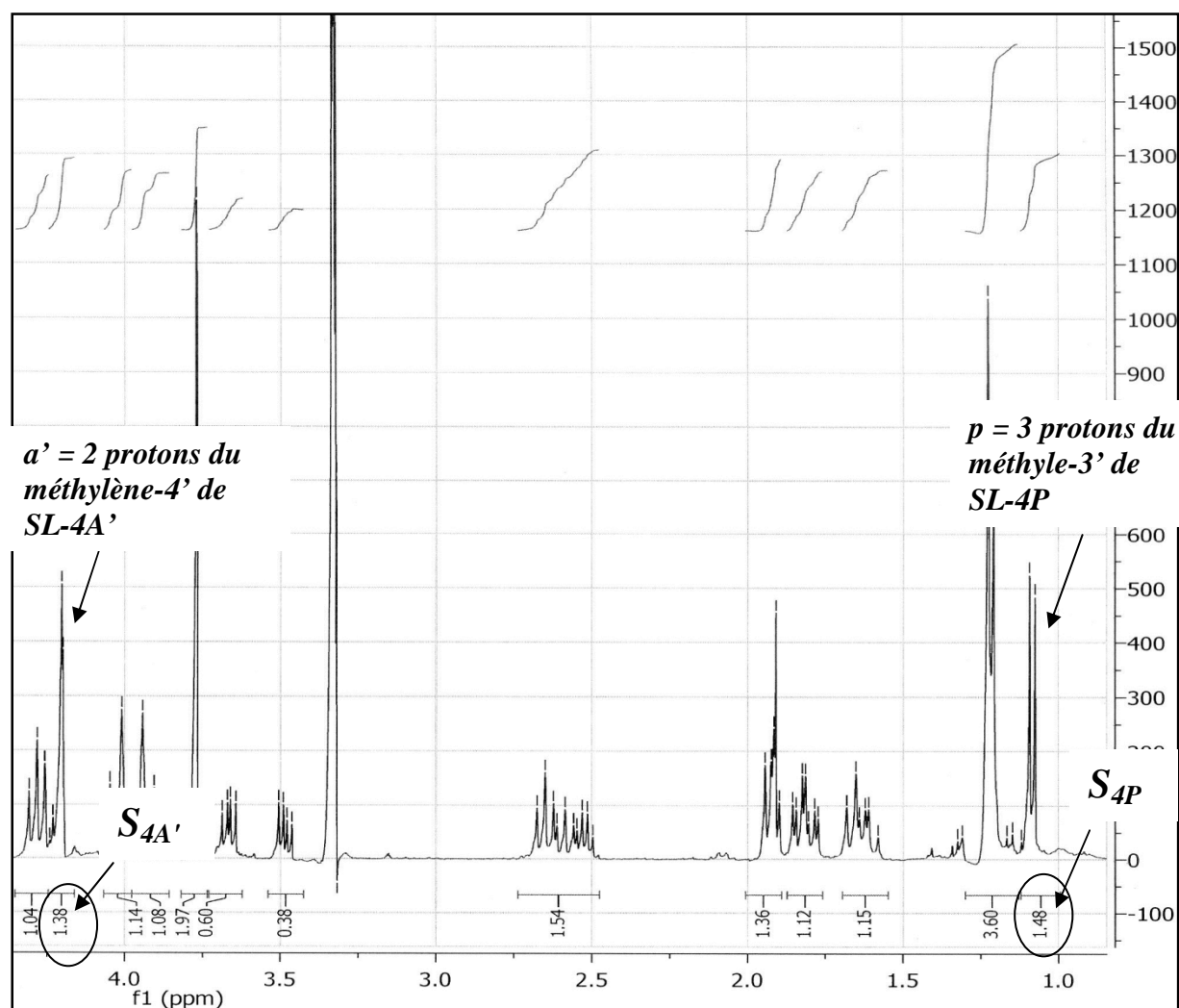
Structure de **SL-4A'**

En désignant par exemple par  $S_{4A'}$  l'aire du signal (intégrant les deux protons H-4') du produit **SL-4A'** et par  $S_{4P}$  celle (intégrant les trois protons H-3') du produit **SL-4P**.

Supposons, que le signal sélectionné pour le composé **SL-4A'** corresponde à  $a'$  protons et le signal choisi pour le composé **SL-4P**, à  $p$  protons. On divisera donc chaque aire sélectionnée par le nombre de protons qui est à l'origine, afin de normaliser les aires à celles d'un seul proton, pour **SL-4A'** ou pour **SL-4P**. En remplaçant  $S_{4A'}$  et  $S_{4P}$  par les aires ainsi corrigées,  $S_{4A'}/a'$  et  $S_{4P}/p$ , on aura donc :

$$n_{4A'} / n_{4P} = (S_{4A'} / a') / (S_{4P} / p)$$





### Étalement du spectre n° 15 dans la zone (0,50- 4,75 ppm)

En appelant  $C_{4A'}$  et  $C_{4P}$  les concentrations exprimées en pourcentages massiques de **SL-4A'** et **SL-4P**, dont les masses molaires sont  $M_{4A'}$  et  $M_{4P}$ , et sachant que ce mélange **SL-4** ne contient que ces deux constituants, on écrira :

$$C_{4A'} + C_{4P} = 100$$

Et

$$C_{4A'} / C_{4P} = n_{4A'} \times M_{4A'} / n_{4P} \times M_{4P}$$

Ou, en faisant intervenir la relation suivante :  $n_{4A'} / n_{4P} = (S_{4A'} / a') / (S_{4P} / p)$

$$\frac{C_{4A'}}{C_{4P}} = \frac{(S_{4A'} / a') \times M_{4A'}}{(S_{4P} / p) \times M_{4P}}$$

Soit après calculs,

$$C_{4A'} = 100 \times \frac{\left(\frac{S_{4A'}}{a'}\right) \times M_{4A'}}{\left(\frac{S_{4A'}}{a'}\right) \times M_{4A'} + \left(\frac{S_{4P}}{p}\right) \times M_{4P}} \quad \text{et} \quad C_{4P} = 100 \times \frac{\left(\frac{S_{4P}}{p}\right) \times M_{4P}}{\left(\frac{S_{4A'}}{a'}\right) \times M_{4A'} + \left(\frac{S_{4P}}{p}\right) \times M_{4P}} \quad (**)$$

D'après ce qui précède, nous savons déjà que :

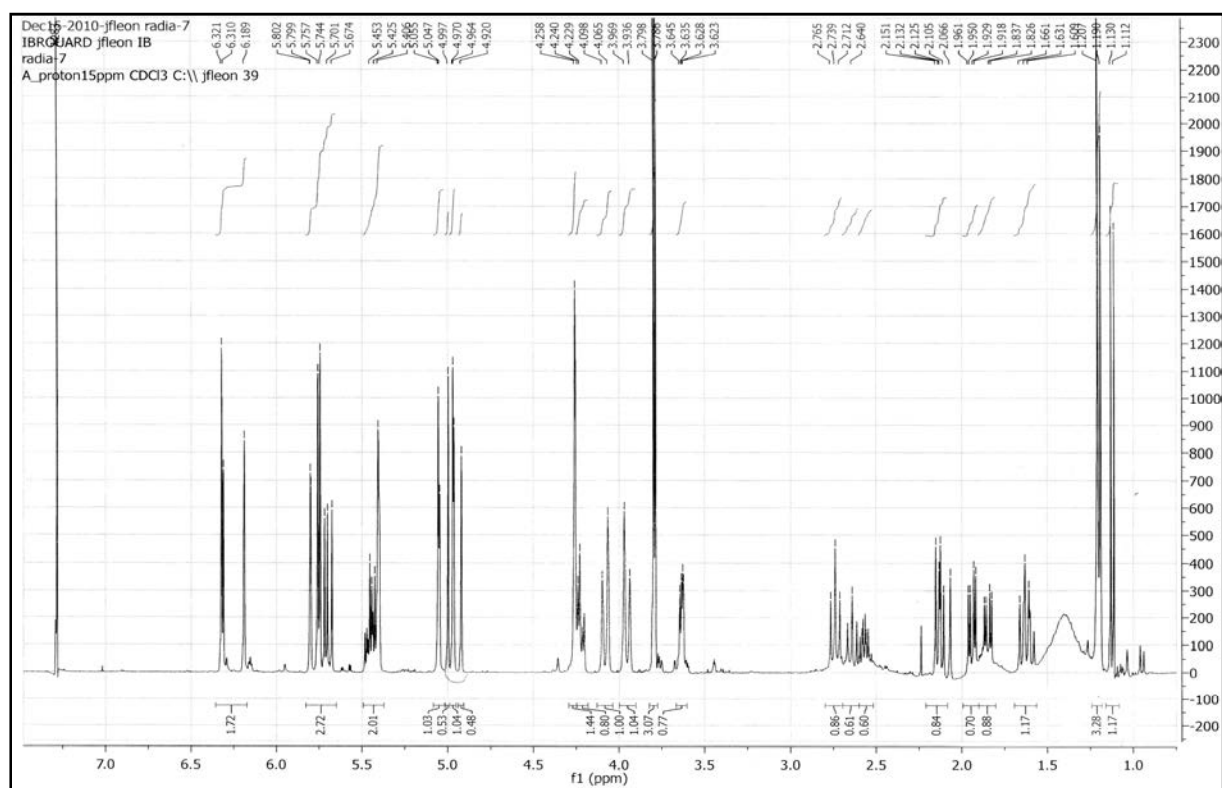
**SL-4A'**  $\equiv$  C<sub>20</sub>H<sub>28</sub>O<sub>7</sub>,  $M_{4A'} = 380$  g/mole; **SL-4P**  $\equiv$  C<sub>19</sub>H<sub>26</sub>O<sub>6</sub>,  $M_{4P} = 350$  g/mole.

$S_{4A'} = 1,38$ ,  $a' = 2$  ;  $S_{4P} = 1,48$ ,  $p = 3$ .

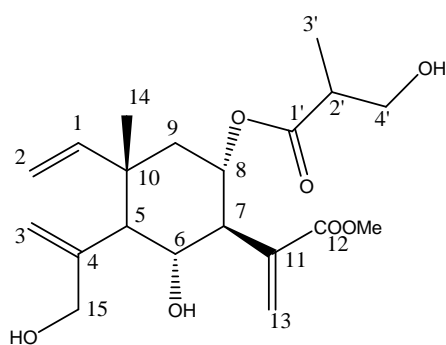
En exploitant alors les relations (\*\*), on peut déduire que :

$$C_{4A'} = 60,29\% \quad \text{et} \quad C_{4P} = 39,71\% \quad \text{en masse}$$

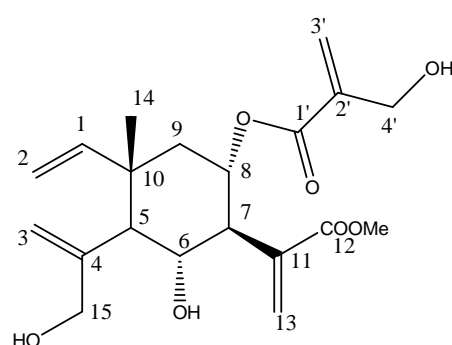
- Dans le cas de mélange SL-7, un autre enregistrement du spectre RMN-<sup>1</sup>H a été étudié, afin de préciser et séparer l'intégral pour les signaux choisis :



Spectre n° 31' : RMN-<sup>1</sup>H de mélange SL-7 après la précision de l'intégral de quelques signaux



Structure de SL-7P'



Structure de SL-7A'

Dans ce cas où les signaux choisis des deux composés **SL-7A'** et **SL-7P'** ont le même nombre de protons, le rapport des aires des deux signaux reste représentatif du rapport  $n_{7A'}/n_{7P'}$ , des nombres respectifs de molécules de **SL-7A'** et de **SL-7P'**.

En désignant par  $S_{7A'}$ , l'aire du signal (intégrant les deux protons H-4') du produit **SL-7A'** et par  $S_{7P'}$ , celle du produit **SL-7P'**, on aura :

$$n_{7A'} / n_{7P'} = S_{7A'} / S_{7P'}$$

En appelant  $C_{7A'}$  et  $C_{7P'}$  les concentrations exprimées en pourcentages massiques de **SL-7A'** et **SL-7P'**, dont les masses molaires sont  $M_{7A'}$  et  $M_{7P'}$ , et sachant que ce mélange **SL-7** ne contient que ces deux constituants, on écrira :

$$C_{7A'} + C_{7P'} = 100$$

Et

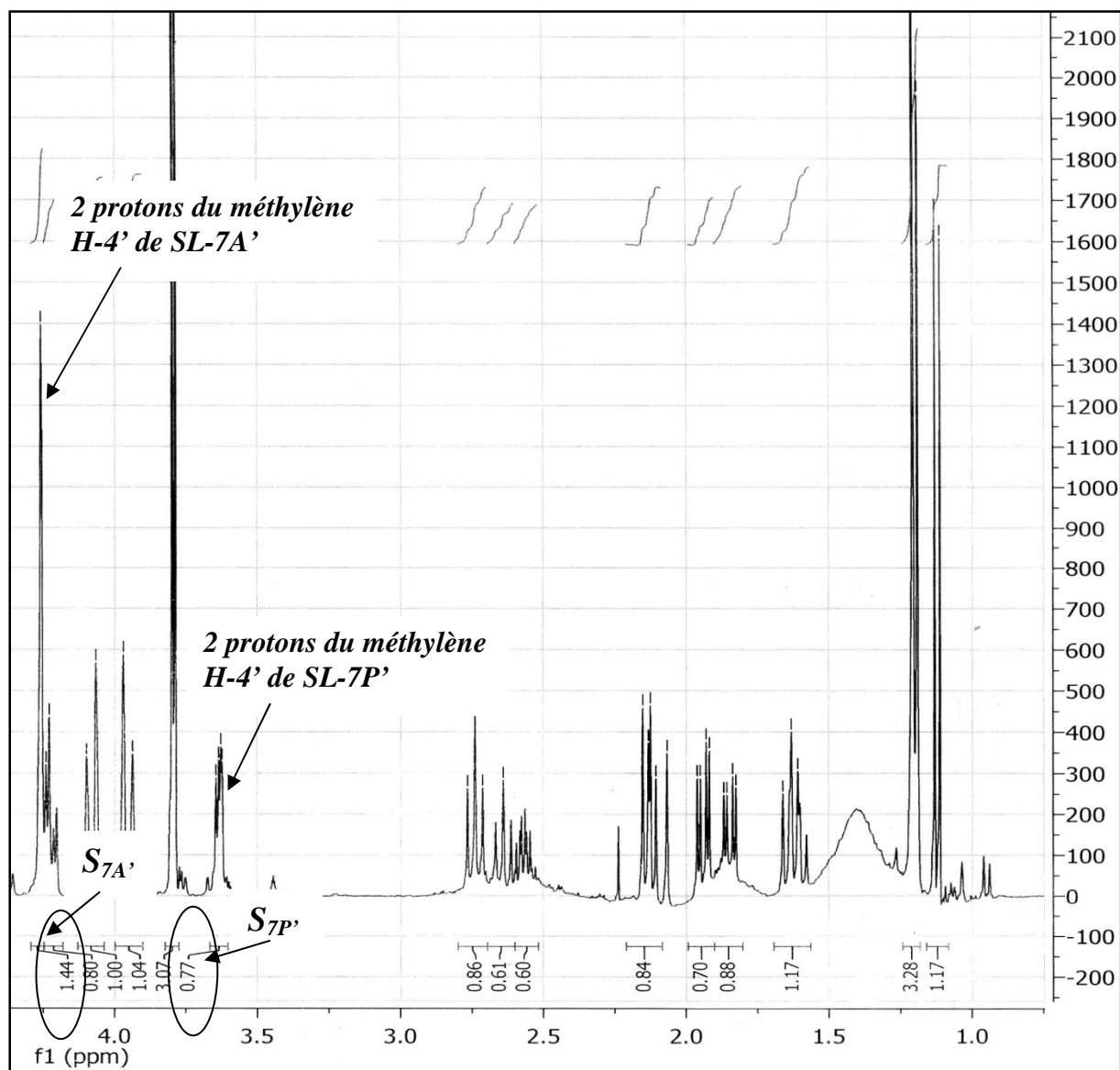
$$C_{7A'} / C_{7P'} = n_{7A'} \times M_{7A'} / n_{7P'} \times M_{7P'}$$

Ou, en faisant intervenir la relation suivante :  $n_{7A'} / n_{7P'} = S_{7A'} / S_{7P'}$ ,

$$\frac{C_{7A'}}{C_{7P'}} = \frac{S_{7A'} \times M_{7A'}}{S_{7P'} \times M_{7P'}}$$

Soit après calculs, on obtient les deux relations (¶) :

$$C_{7A'} = 100 \times \frac{S_{7A'} \times M_{7A'}}{S_{7A'} \times M_{7A'} + S_{7P'} \times M_{7P'}} \quad \text{et} \quad C_{7P'} = 100 \times \frac{S_{7P'} \times M_{7P'}}{S_{7A'} \times M_{7A'} + S_{7P'} \times M_{7P'}}$$



### Étalement du spectre n° 31' dans la zone (0,50-4,75 ppm)

D'après ce qui précède, nous savons déjà que :

$\text{SL-7A}' \equiv \text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_7$ ,  $M_{7A}' = 380$  g/mole;  $\text{SL-7P}' \equiv \text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_7$ ,  $M_{7P}' = 382$  g/mole.

$S_{7A}' = 1,44$ ;  $S_{7P}' = 0,77$ .

D'après les relations (¶), on trouvera :

$$C_{7A}' = 65,04\% \text{ et } C_{7P}' = 34,96\% \text{ en masse}$$

On satisfait à cette analyse quantitative en comparant la composition chimique en masse de ces deux mélanges **SL-4** et **SL-7**. Or la différence des conditions de l'enregistrement (concentration initiale, température, solvant...) justifie celle des pourcentages massiques de la

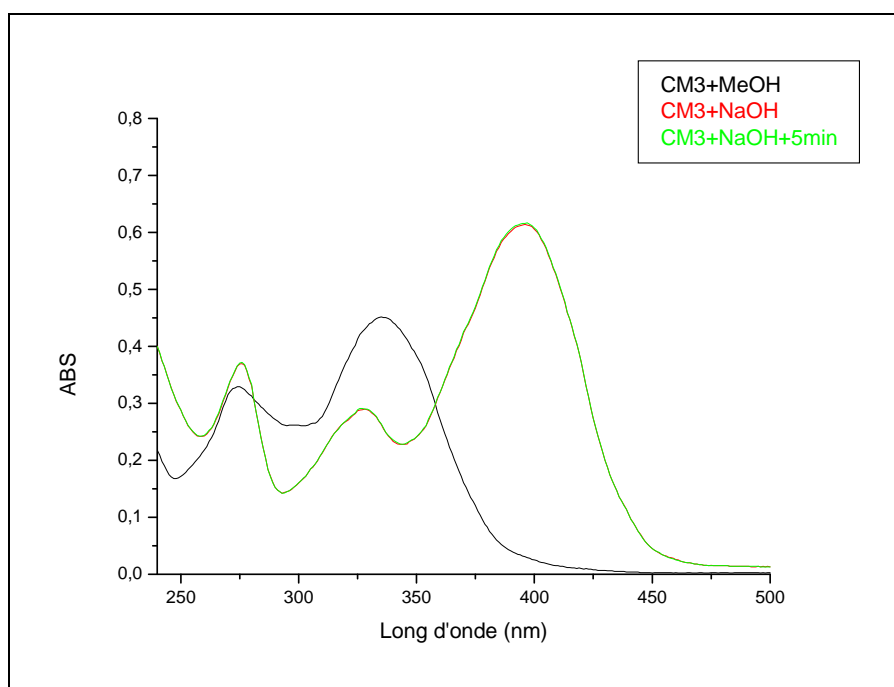
composition chimique de ces derniers [17], et conduit à confirmer l'ouverture des deux cycles lactoniques des deux élémanolides de **SL-4A** et **SL-4P** dans le mélange **SL-7**.

#### IV.1.7. Identification structurale du produit FL- 3 :

La fluorescence violette du composé **FL-3** et la longueur d'onde des bandes I et II dans le méthanol à 275 nm et 338 nm respectivement, indiquent qu'il s'agit bien d'un flavonoïde substitué en 3 ou de type flavone.

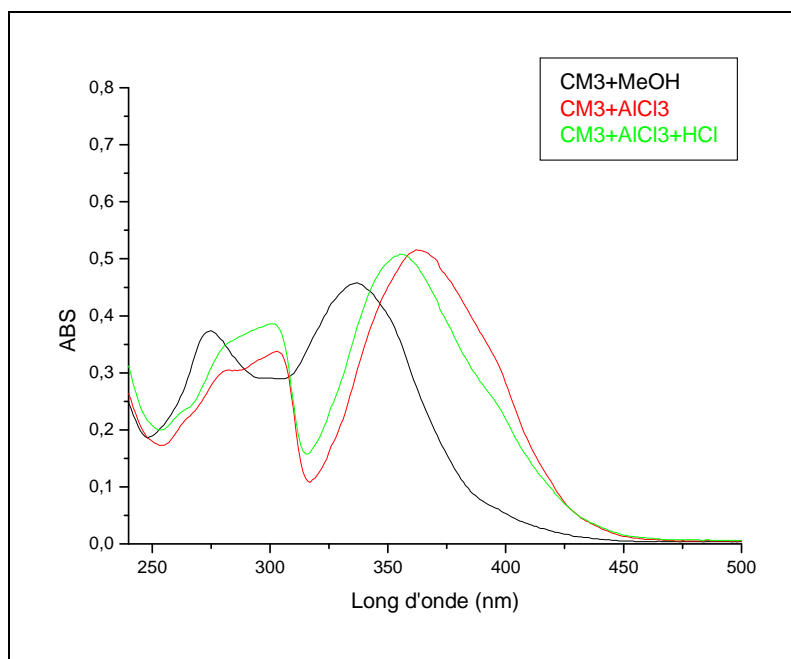
En exploitant les constatations ci-dessous ; la série spectrale UV, avec addition de réactifs montre une flavone portant un OH libre en position 5, 7 et 4', ainsi :

L'ajout de NaOH provoque un déplacement bathochromique de la bande I de +62 nm par rapport au spectre enregistré dans le MeOH, ce qui indique un OH libre en position 4'. La stabilité du spectre enregistré après 5 minutes prévoit l'absence d'un système ortho di-OH sur le cycle B.



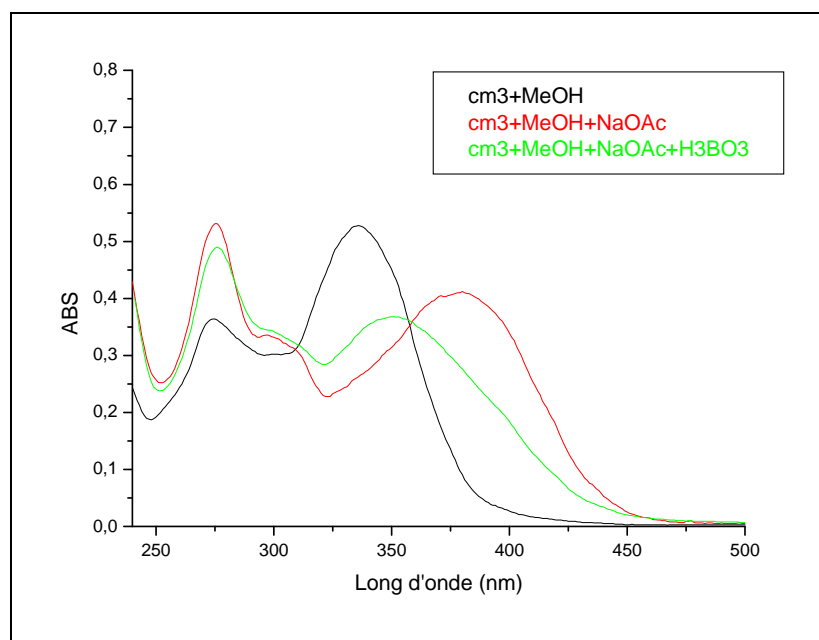
**Figure 13** : Spectre UV du produit FL-3 dans le MeOH ; MeOH+NaOH (Stable après 5 mn)

D'un autre coté, l'apparition d'une nouvelle bande à 327 nm dans les mêmes conditions, met en évidence la présence d'un OH libre en position 7.



**Figure 14** : Spectre UV du produit FL-3 dans le MeOH ; MeOH+AlCl<sub>3</sub> ; MeOH+AlCl<sub>3</sub>+HCl

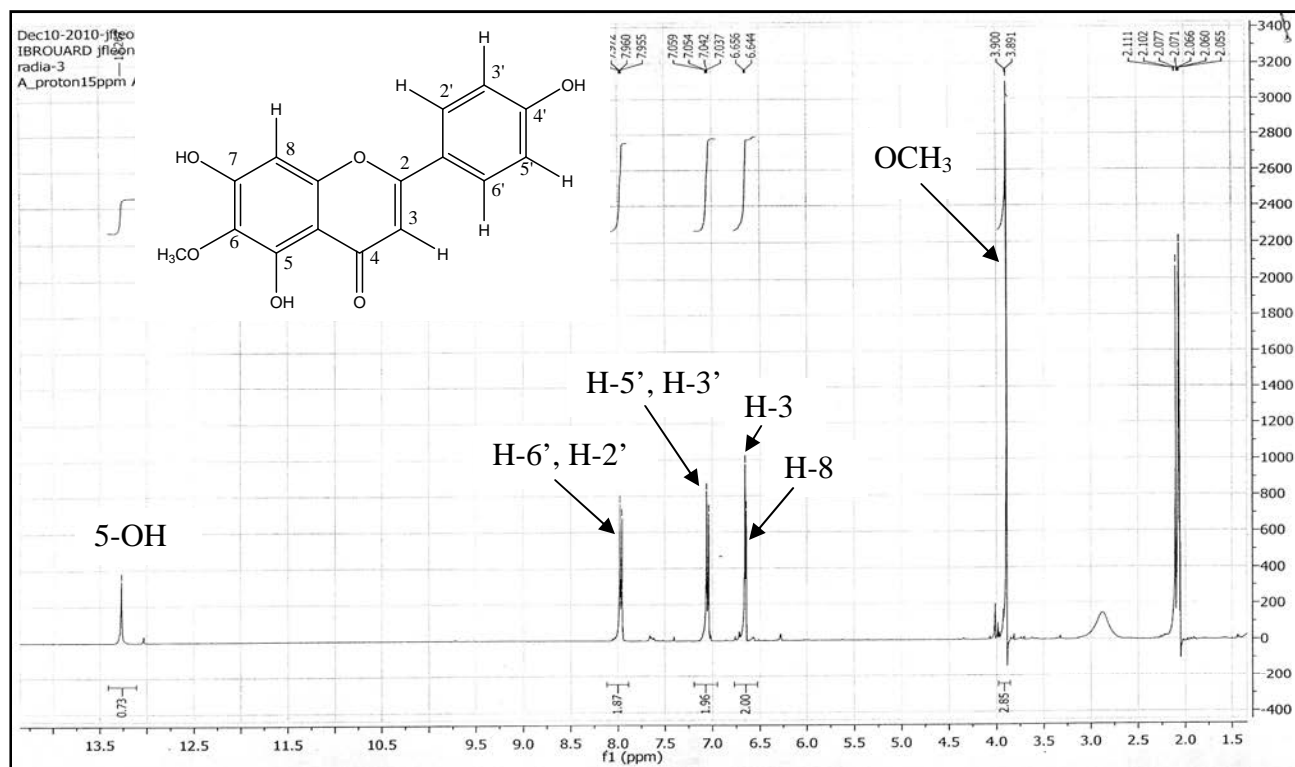
Les données du spectre UV enregistré dans le réactif AlCl<sub>3</sub> comparativement avec celles du spectre enregistré dans le MeOH excluent la présence d'un ortho di-OH, alors que l'addition de HCl provoque un déplacement bathochromique de la bande I de + 19 nm, par rapport au spectre méthanolique et indique la présence d'un 5-OH avec une oxygénation en position 6.



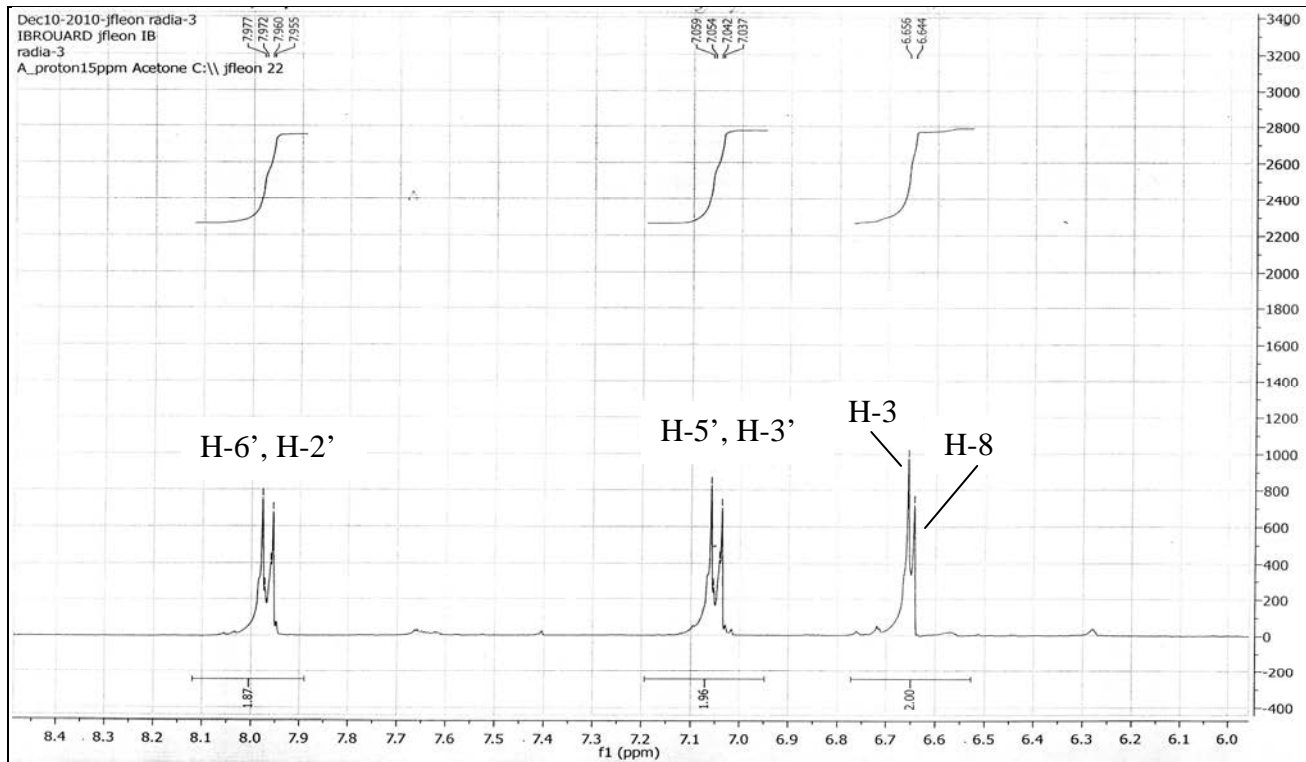
**Figure 15** : Spectre UV du produit FL-3 dans le MeOH ; MeOH+NaOAc ;  
MeOH+NaOAc+H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>



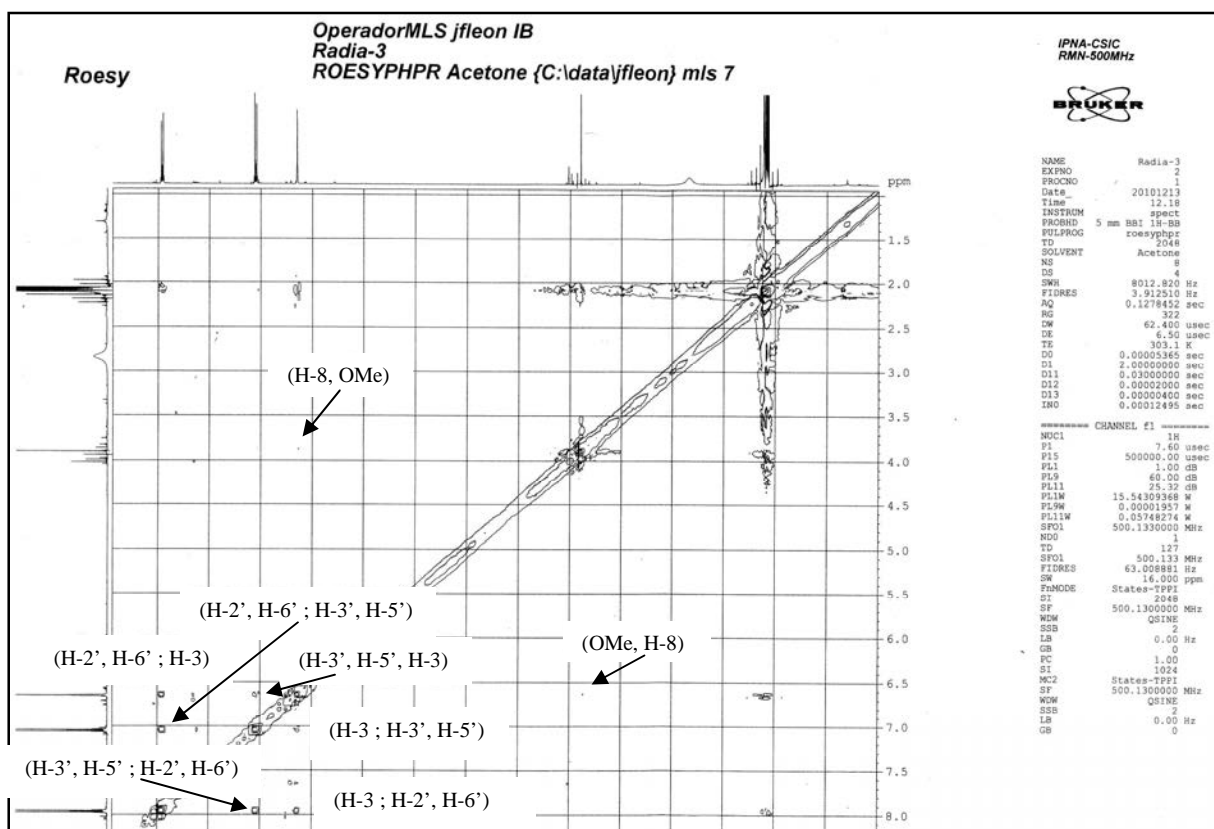
L'allure de spectre RMN-<sup>1</sup>H (Spectre n°37), confirme ces hypothèses avec la présence d'un groupe méthoxyle à 3.89 ppm et des signaux aux protons : 5-OH,  $\delta$  13.26 ppm ; H-6', H-2',  $\delta$  7.96 ppm (d,  $J=8.8$  Hz) ; H-5', H-3' ;  $\delta$  7.04 ppm (d,  $J=8.8$  Hz) ; H-8,  $\delta$  6.65 ppm (s), H-3,  $\delta$  6.64 ppm (s).



Spectre n°37 : RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, Acétone) du produit FL- 3.

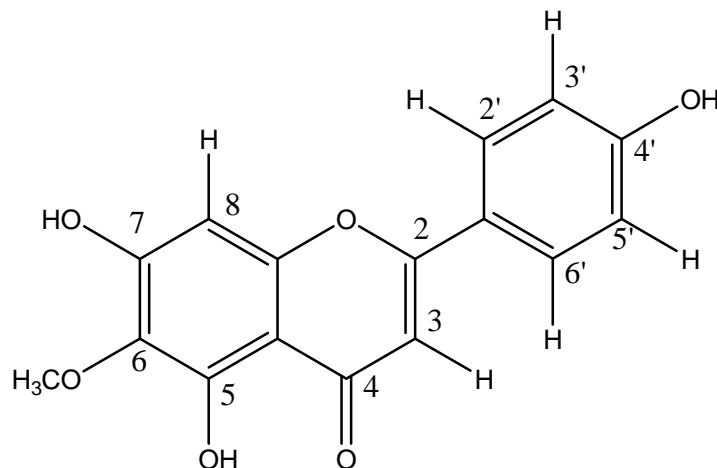


Etalement du spectre n°37 dans la zone 6.00- 8.40 ppm.



Spectre n° 38 : ROESY (400 MHz, Acétone) du produit FL-3

L'ensemble de ces données résumées dans les tableaux 17 et 18, ainsi que la co-chromatographie avec des échantillons authentiques nous a conduits à la structure de : 5, 7,4'-hydroxy-6-méthoxyflavone (Hispiduline) [18].



**Figure 16** : Structure du 5, 7,4'-trihydroxy-6-méthoxyflavone (Hispiduline)

Ce composé est isolé pour la première fois de l'espèce *Centaurea melitensis* L.

**Tableau 17** : UV ( $\lambda_{max}$ , nm) du produit FL-3

Réactifs	Bande II	Autres bandes	Bande I
MeOH	275		338
+NaOH	275	327	400
+AlCl <sub>3</sub>	284		368
+AlCl <sub>3</sub> +HCl	284		357
+NaOAc	277		380
+NaOAc+H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	275		350

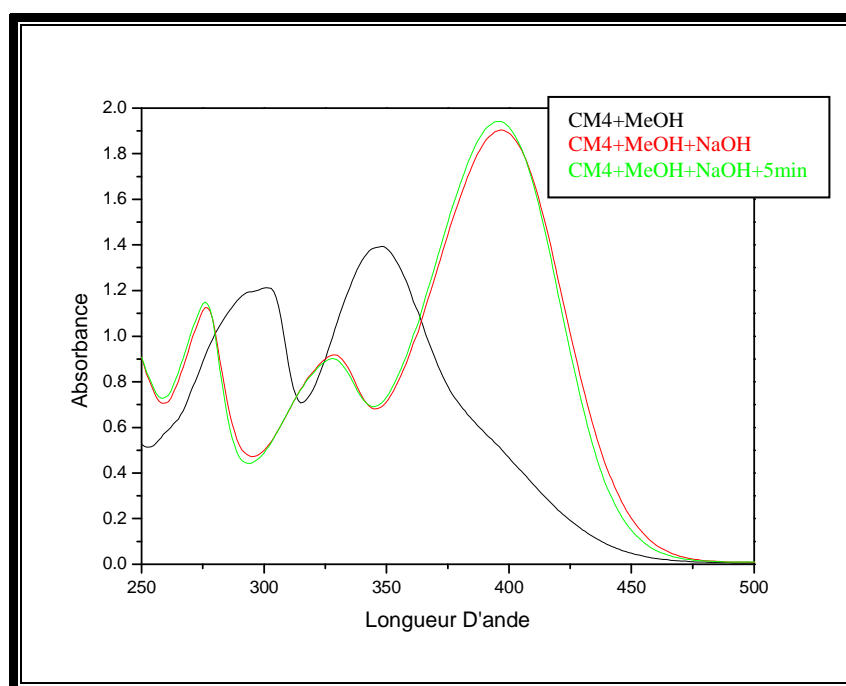
Tableau 18 : RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, Acétone) du produit FL-3

<b>H</b>	<b>δ ppm</b>	<b>J (Hz)</b>	<b>ROESY</b>
OH	13.26		
2',6'	7.97 d	8,8	H-3', H-5', H-3
3',5'	7.05 d	8,8	H-2', H-6', H-3
3	6.65 s		H-2', H-3', H-5', H-6'
8	6.64 s		OMe-6
OMe-6	3.89 s		H-8

#### IV.1.8. Identification structurale du produit FL-4

La fluorescence violette du composé **FL-4** et la longueur d'onde de la bande I dans le méthanol à 348 nm, sur le spectre UV, sont caractéristiques d'un flavonoïde substitué en 3 ou d'une flavone.

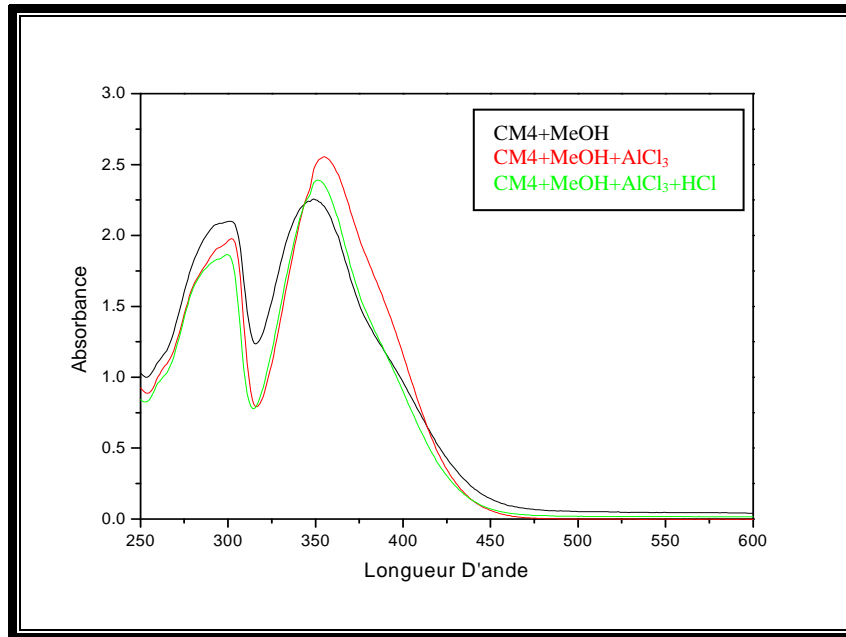
Comme une structure de type flavone est suggérée, une série spectrale UV, avec addition de réactifs a été faite dont les résultats ont montrés une flavone portant un OH libre en position 5 et substituée en position 6, 7, 3' et 4' que l'on a assuré par :



**Figure 17** : Spectre UV du produit FL-4 dans le MeOH ; MeOH+NaOH (Stable après 5 mn)

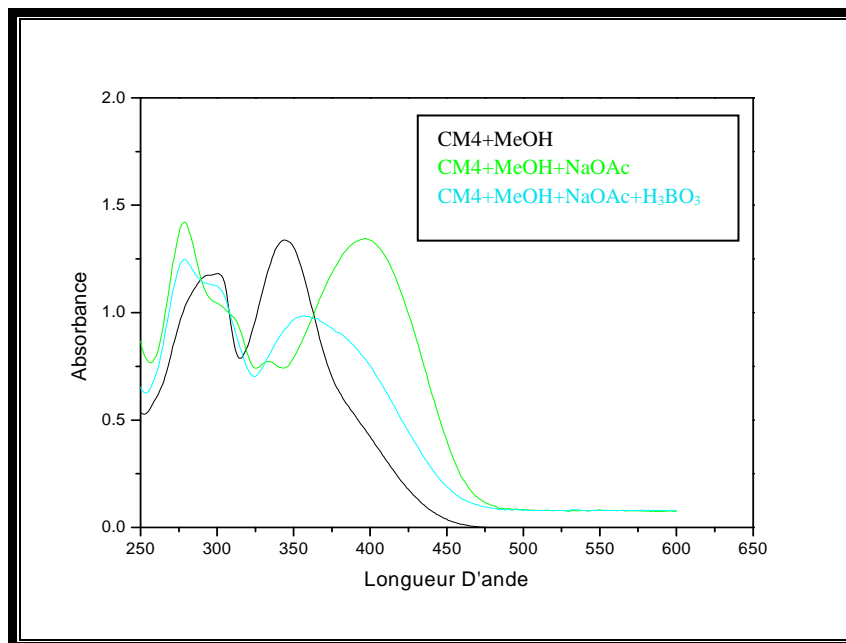
L'effet bathochrome de la bande I (+51 nm) après addition de NaOH par rapport au spectre méthanolique avec une augmentation de l'intensité d'absorption, oriente vers la présence d'un OH libre en position 4'. L'apparition d'une nouvelle bande à  $\lambda_{\max} = 328$  nm indique la présence d'un OH libre en position 7.

D'autre part, La stabilité du spectre enregistré après 5 minutes prévoit l'absence d'un système ortho di-OH sur le cycle B.



**Figure 18** : Spectre UV du produit FL-4 dans le MeOH ; MeOH+AlCl<sub>3</sub> ; MeOH+AlCl<sub>3</sub>+HCl

Le spectre UV enregistré dans AlCl<sub>3</sub>/HCl ne montre pas de déplacement significatif des maxima de la bande I par rapport au spectre enregistré dans AlCl<sub>3</sub> et l'effet bathochrome faible de la bande I sur le spectre enregistré dans NaOAc/H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> par rapport au spectre méthanolique sont témoins de l'absence du système ortho di-OH sur le cycle B.

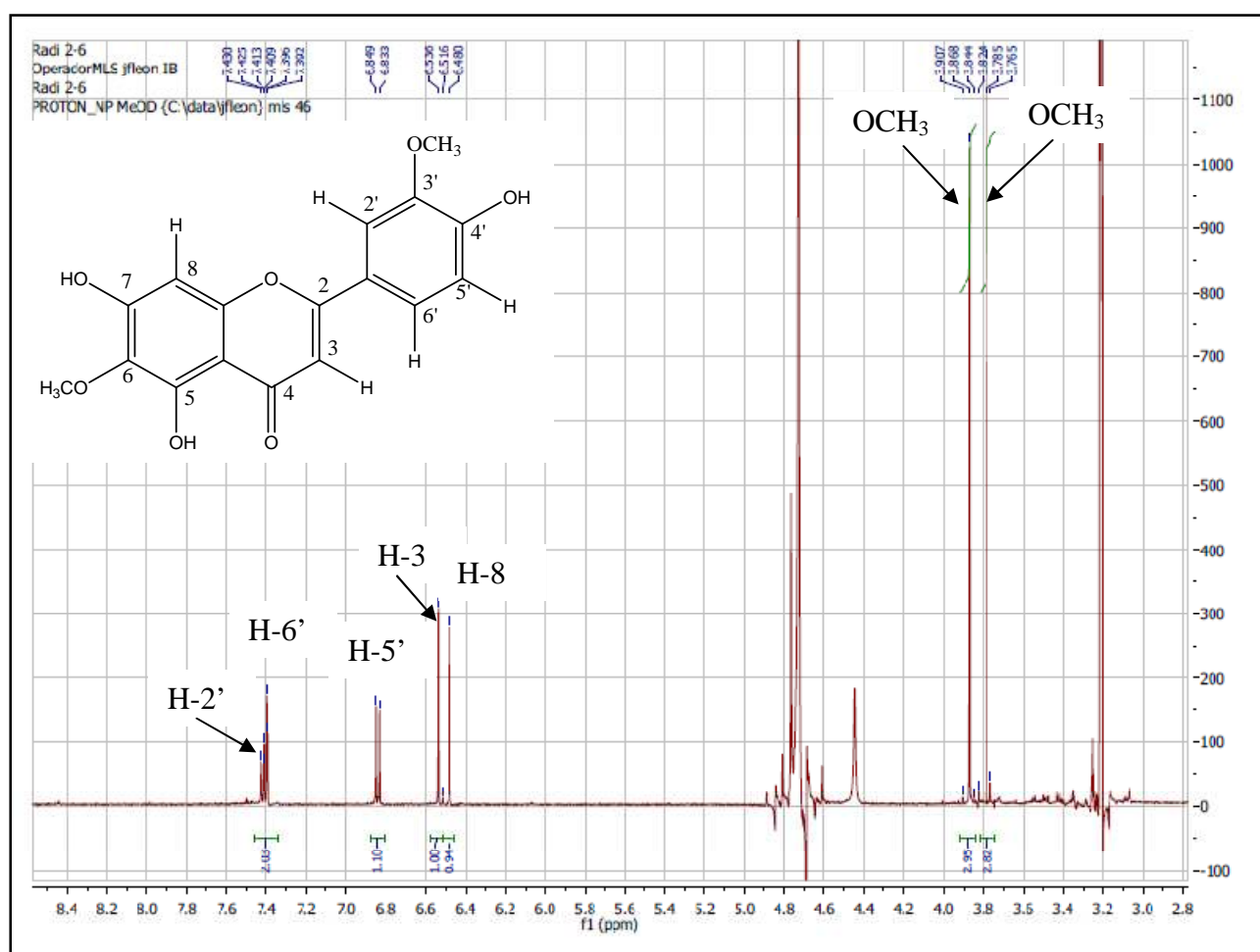


**Figure 19** : Spectre UV du produit FL-4 dans le MeOH ; MeOH+NaOAc ; MeOH+NaOAc+H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>

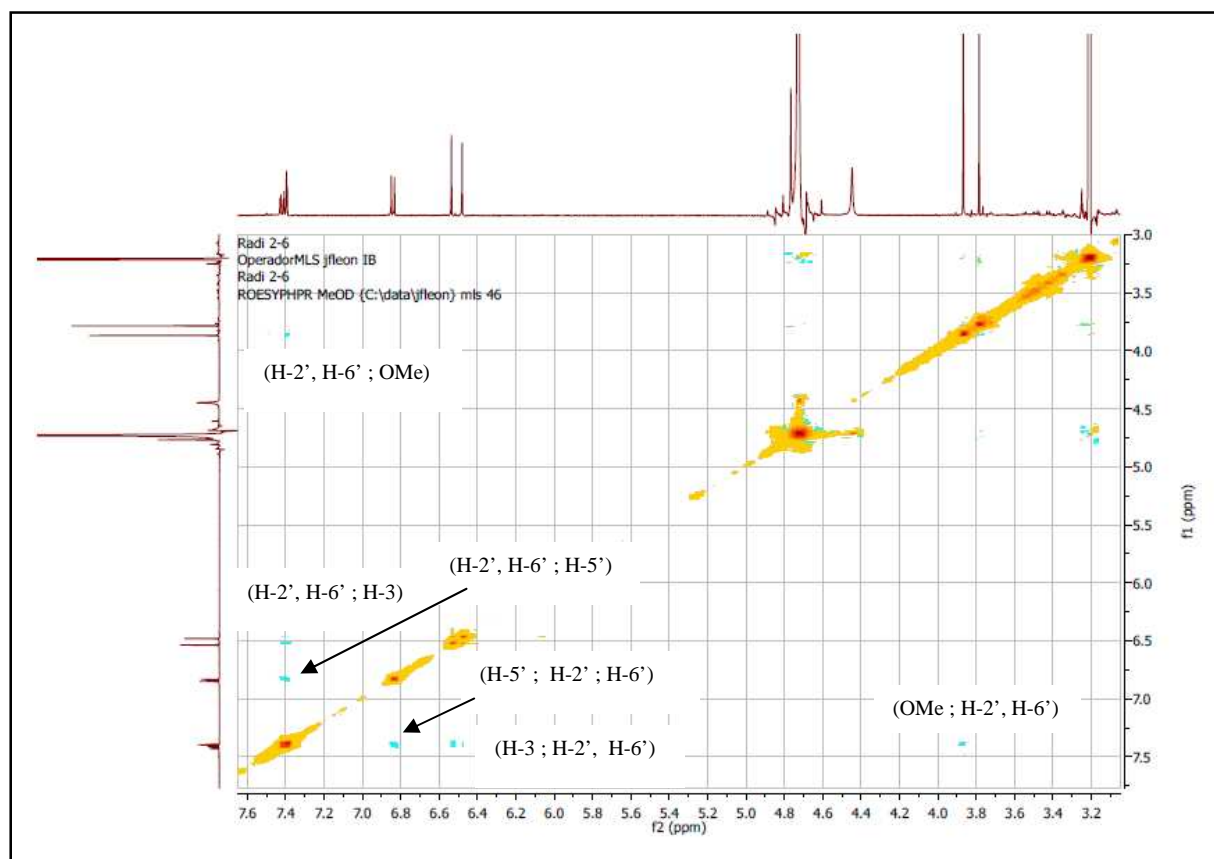
Le déplacement bathochromique de +20 nm de la bande II après l'addition de NaOAc par rapport au spectre enregistré dans le MeOH confirme la présence d'un OH libre en position 7.

L'étude des spectres RMN-<sup>1</sup>H (Spectre n°39) et ROESY (Spectre n°40), confirme ces informations et montre, en effet :

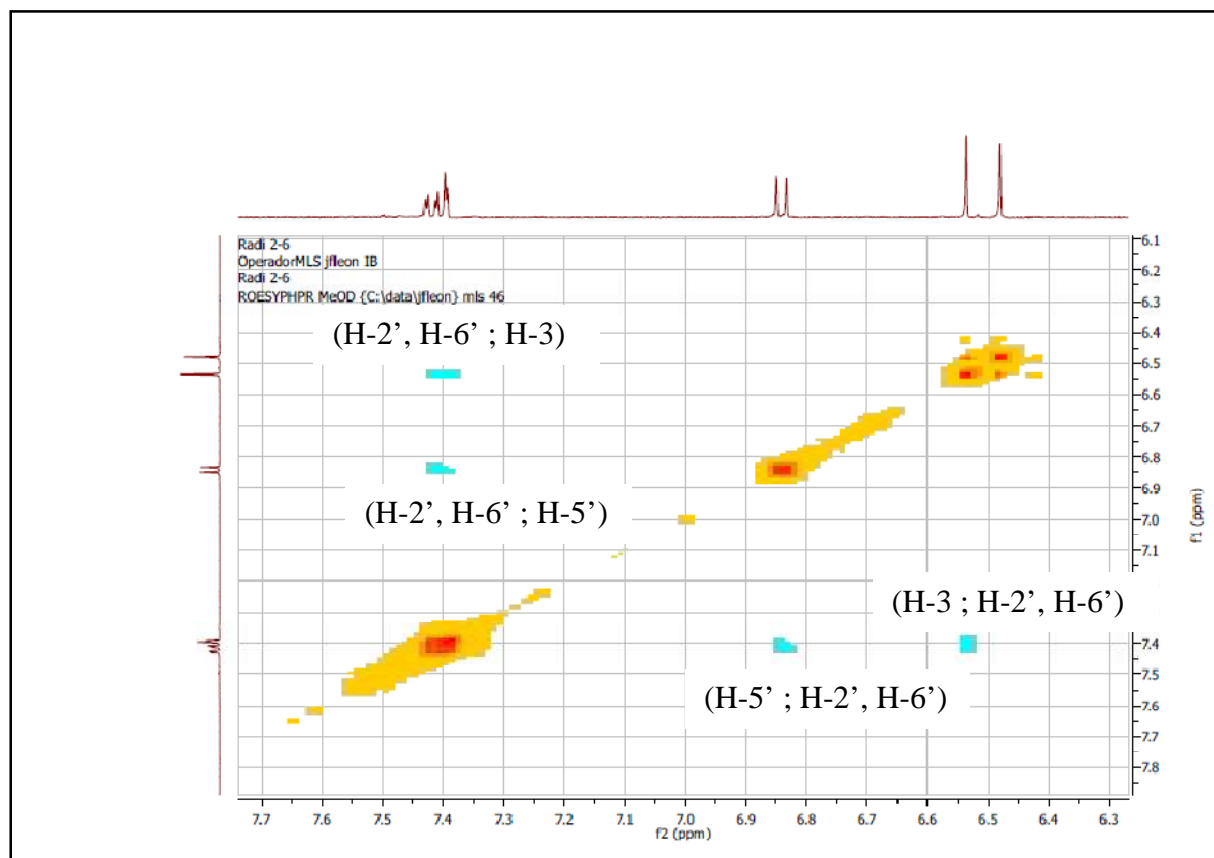
- Deux groupements méthoxyles l'un à  $\delta$  3,78 et l'autre à  $\delta$  3,85 ppm.
- Des signaux relatifs aux protons : H-2',  $\delta$  7,43 ppm (d,  $J= 2,0$  Hz) ; H-6',  $\delta$  7,40 ppm (dd,  $J= 6,8 ; 1,6$  Hz) ; H-5',  $\delta$  6,84 ppm (d,  $J= 6,4$  Hz) ; H-3,  $\delta$  6,53 ppm (s) ; H-8,  $\delta$  6,48 ppm (s).



Spectre n° 39 : RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, MeOD) du produit FL-4



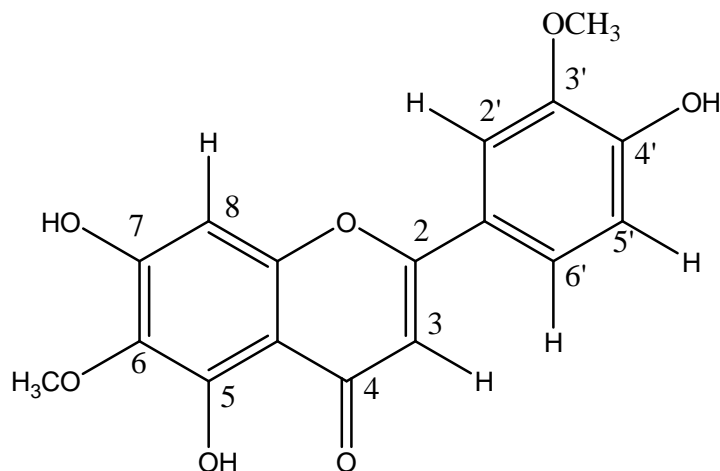
Spectre n° 40 : ROESY (400 MHz, MeOD) du produit FL-4



Étalement du spectre n° 40 dans la zone (6,10- 7,80 ppm)



L'ensemble de ces données résumé dans les tableaux 19 et 20, nous a conduit à la structure de la structure de la 4', 5, 7-trihydroxy-3', 6-diméthoxyflavone (Jacéosidine). Cette identification est confirmée par comparaison des données spectrales avec celles publiées dans la littérature [19], et la co-chromatographie avec des échantillons authentiques.



**Figure 20** : Structure de la 4', 5, 7-trihydroxy-3', 6-diméthoxyflavone (Jacéosidine)

Cette molécule est répertoriée pour la première fois dans notre espèce.

**Tableau 19** : UV ( $\lambda_{max}$ , nm) du produit FL-4

Réactifs	Bande II	Autres bandes	Bande I
MeOH	290		348
+NaOH	275	328	399
+AlCl <sub>3</sub>	290		360
+AlCl <sub>3</sub> +HCl	290		355
+NaOAc	310		401
+NaOAc+H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	302		359

Tableau 20 : RMN-<sup>1</sup>H, ROESY (400 MHz, MeOD) du produit FL-4

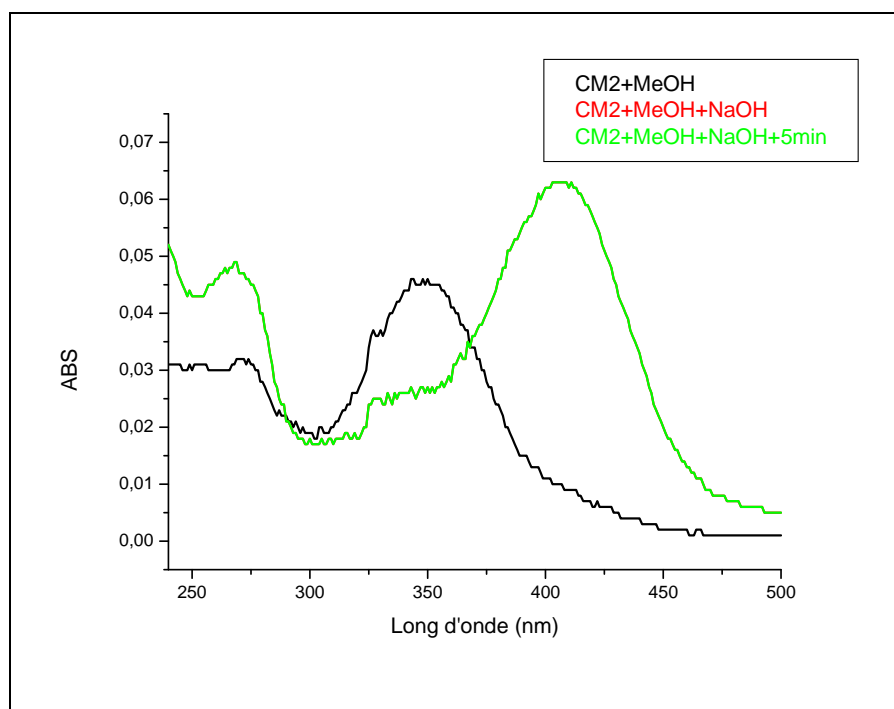
H	δ ppm	J (Hz)	ROESY
2'	7.43 d	2.0	H-3, H-5', OMe-3'
6'	7.40 dd	6,8 ; 1,6	H-3, H-5', OMe-3'
5'	6.84 d	6,4	H-2', H-6'
3	6.53 s		H-2', H-6'
8	6.48 s		
OMe-3'	3.78 s		H-2', H-6'
OMe-6	3,85 s		

## IV.2. Identification structurale des produits isolés de la phase acétate d'éthyle

### IV.2.1. Identification structurale du produit FL-2 :

La fluorescence violette du composé **FL-2** et la longueur d'onde des bandes I et II dans le méthanol à 274 nm et 346 nm respectivement, indiquent qu'il s'agit bien d'un flavonoïde substitué en 3 ou de type flavone.

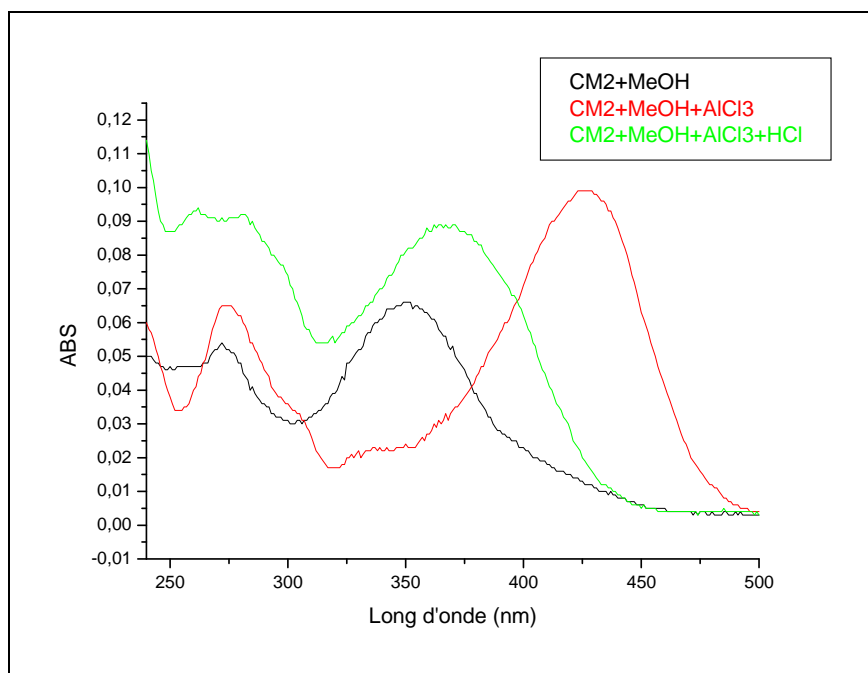
De plus, la série spectrale UV, avec addition de réactifs montre une flavone portant un OH libre en position 5, 7, 3' et 4', en effet :



**Figure 21** : Spectre UV du produit FL-2 dans le MeOH ; MeOH+NaOH (Stable après 5 mn)

L'ajout de NaOH induit un déplacement bathochromique de la bande I de +62 nm avec augmentation de l'intensité d'absorption par rapport au spectre enregistré dans le MeOH, suggère un OH libre en position 4'.

L'apparition d'une nouvelle bande à 333 nm sur le même spectre, oriente vers un OH libre en position 7.



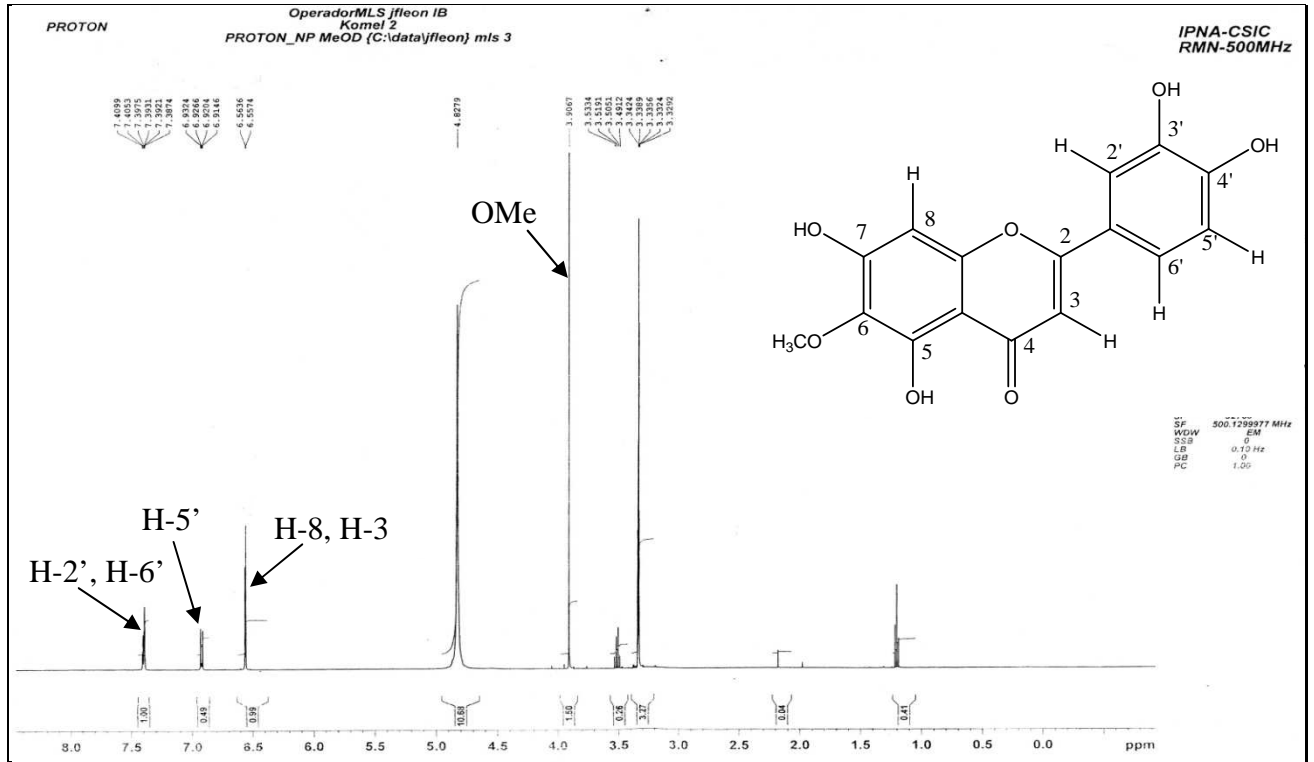
**Figure 22** : Spectre UV du produit FL-2 dans le MeOH ; MeOH+AlCl<sub>3</sub> ; MeOH+AlCl<sub>3</sub>+HCl

L'apparition d'une seule bande dans l'intervalle [420-430] après l'ajout du réactif AlCl<sub>3</sub> indique un ortho di-OH (3', 4') sur le cycle B avec 5-OH et confirme la structure d'une flavone [20].

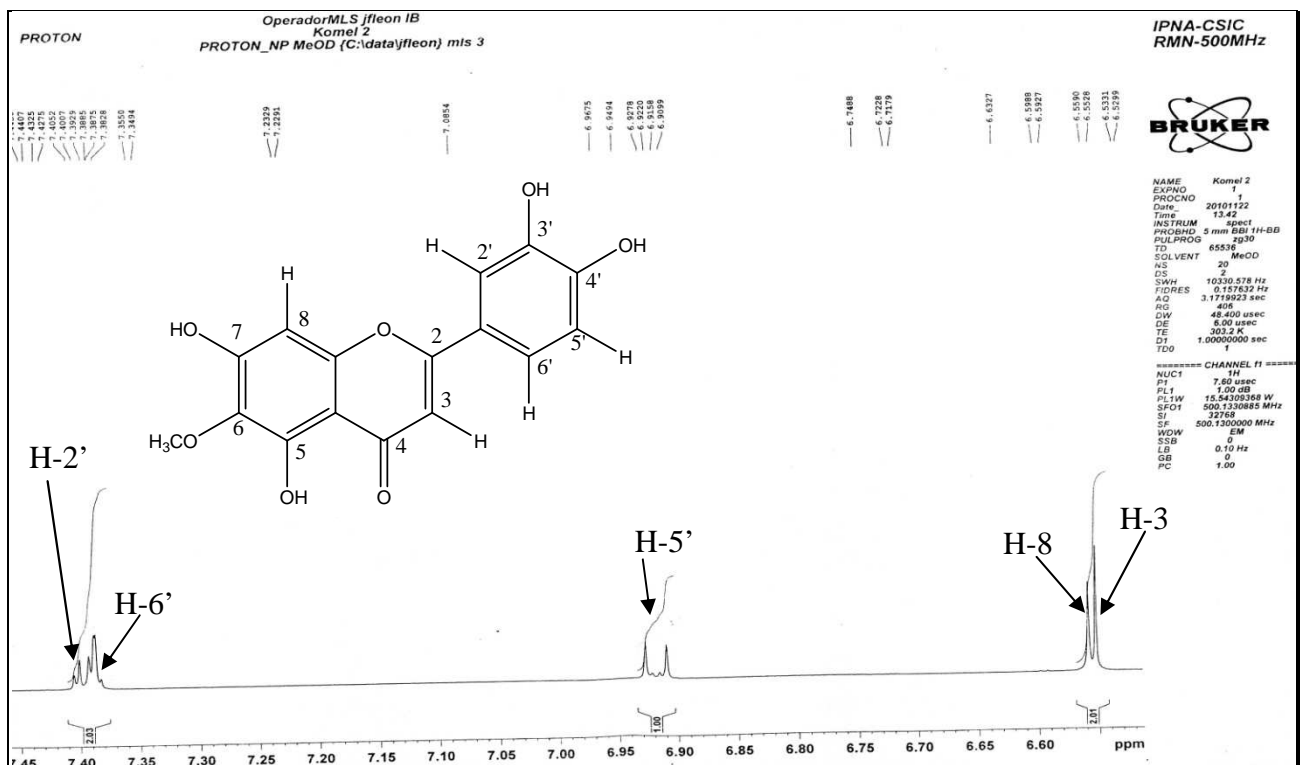
L'allure de spectre RMN-<sup>1</sup>H (Spectre n°41) et les données de spectre ROESY (Spectre n°42) ; confirment ces hypothèses avec la présence d'un groupe méthoxyle à 3.90 ppm et des signaux aux protons :

H-2', δ 7.40 ppm (d,  $J = 2.2$  Hz), H-6', δ 7.38 (dd,  $J = 8.9$  et  $2.3$  Hz), H-5', δ 6.91 (d,  $J = 8.9$ ), H-8, δ 6.55 ppm (s), H-3, δ 6.55 ppm (s).

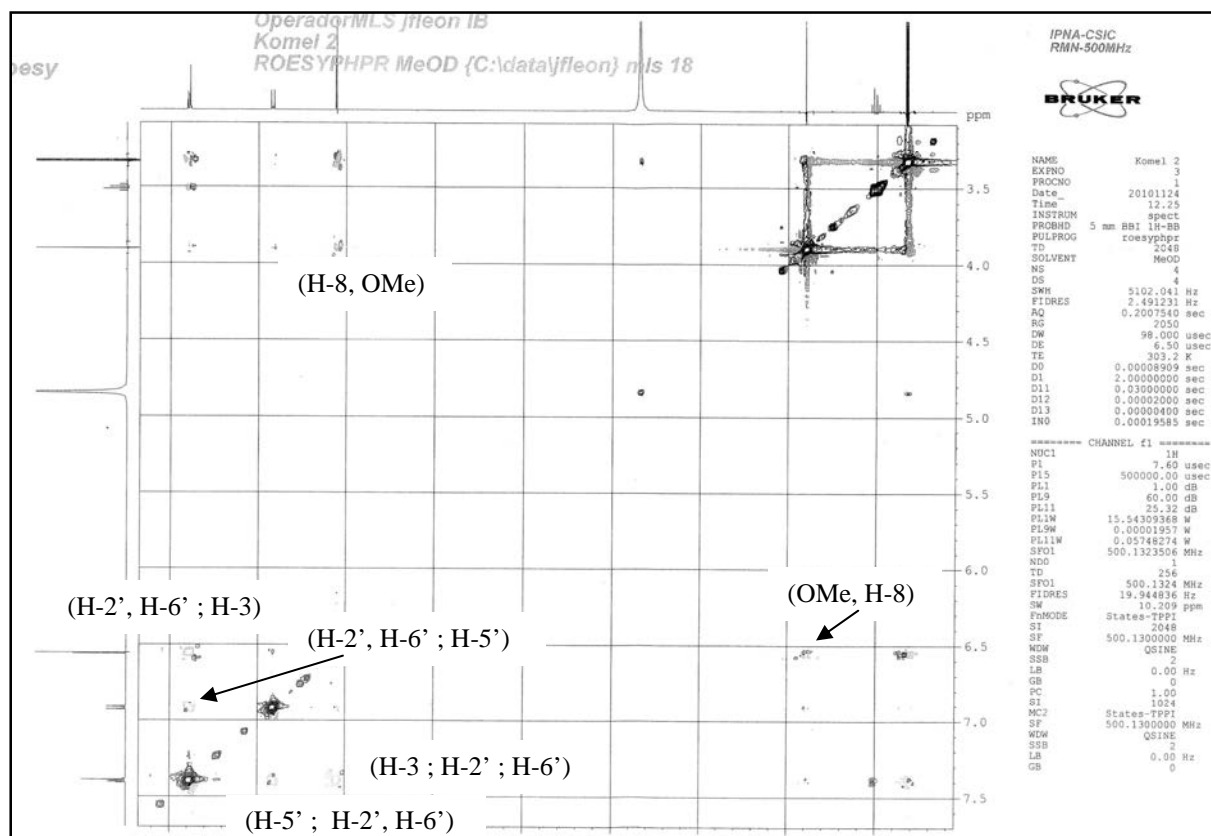
La mesure des spectres RMN-<sup>13</sup>C (Spectre n°43), DEPT 135 (Spectre n°44) consolide ces propositions. En particulier, la résonnance à δ 60,94 ppm assignable au groupement méthoxyle, et la présence de cinq groupements méthines.



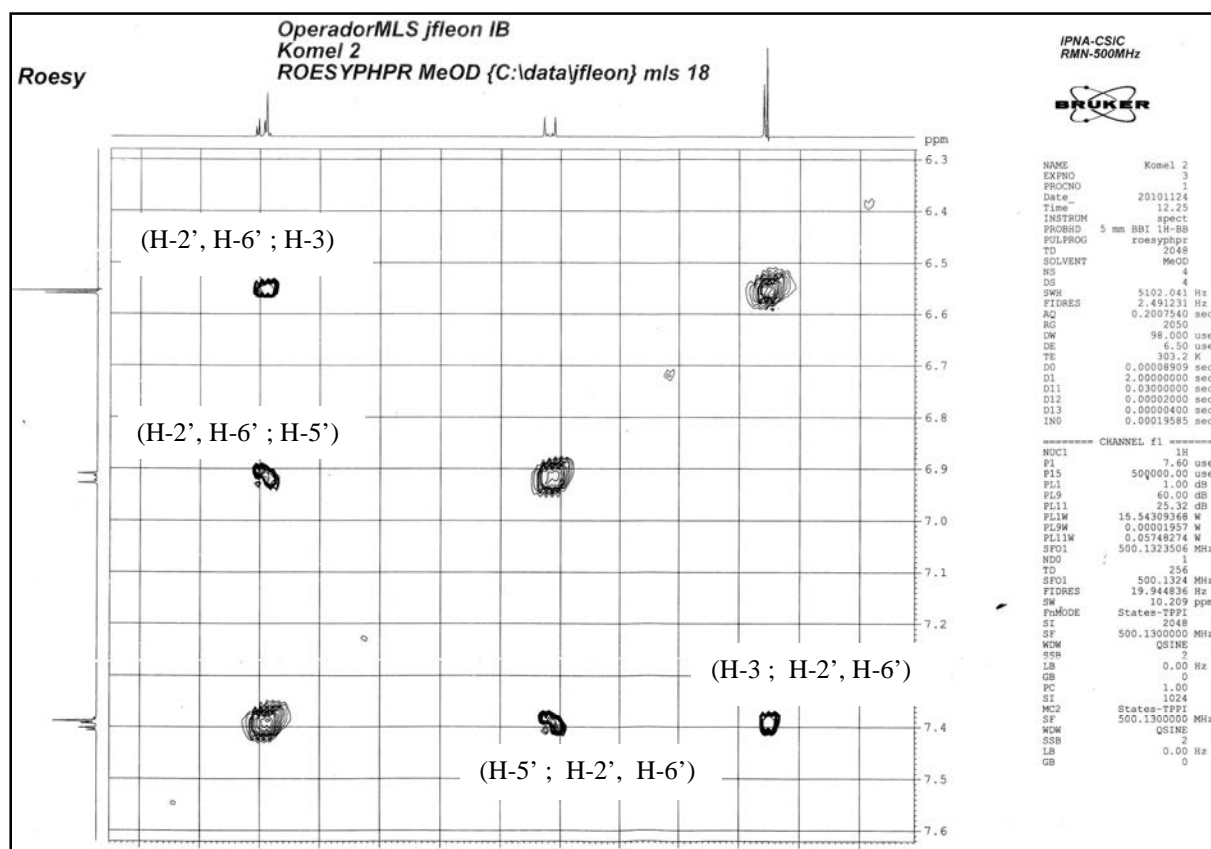
Spectre n° 41 : RMN-<sup>1</sup>H (500 MHz, MeOD) du produit FL-2.



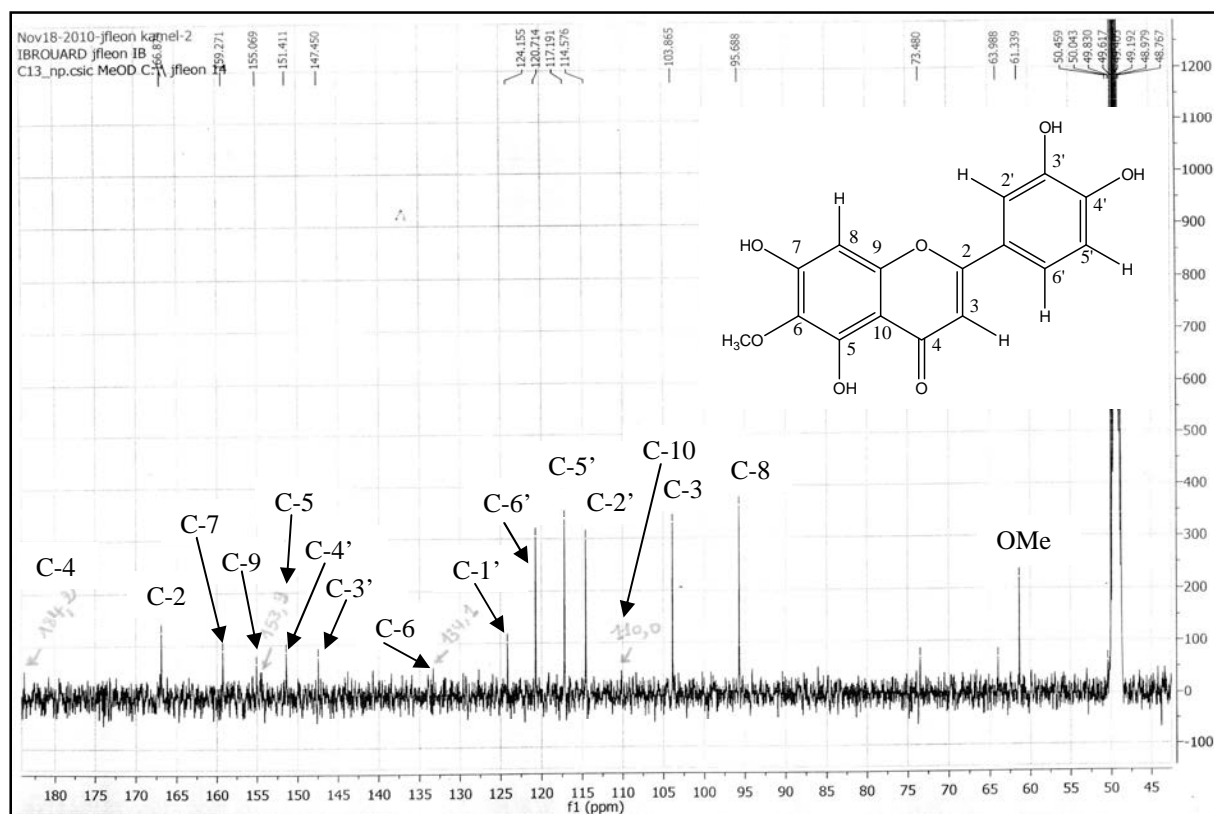
Etalement du spectre n°41 dans la zone 6.50- 7.45 ppm.



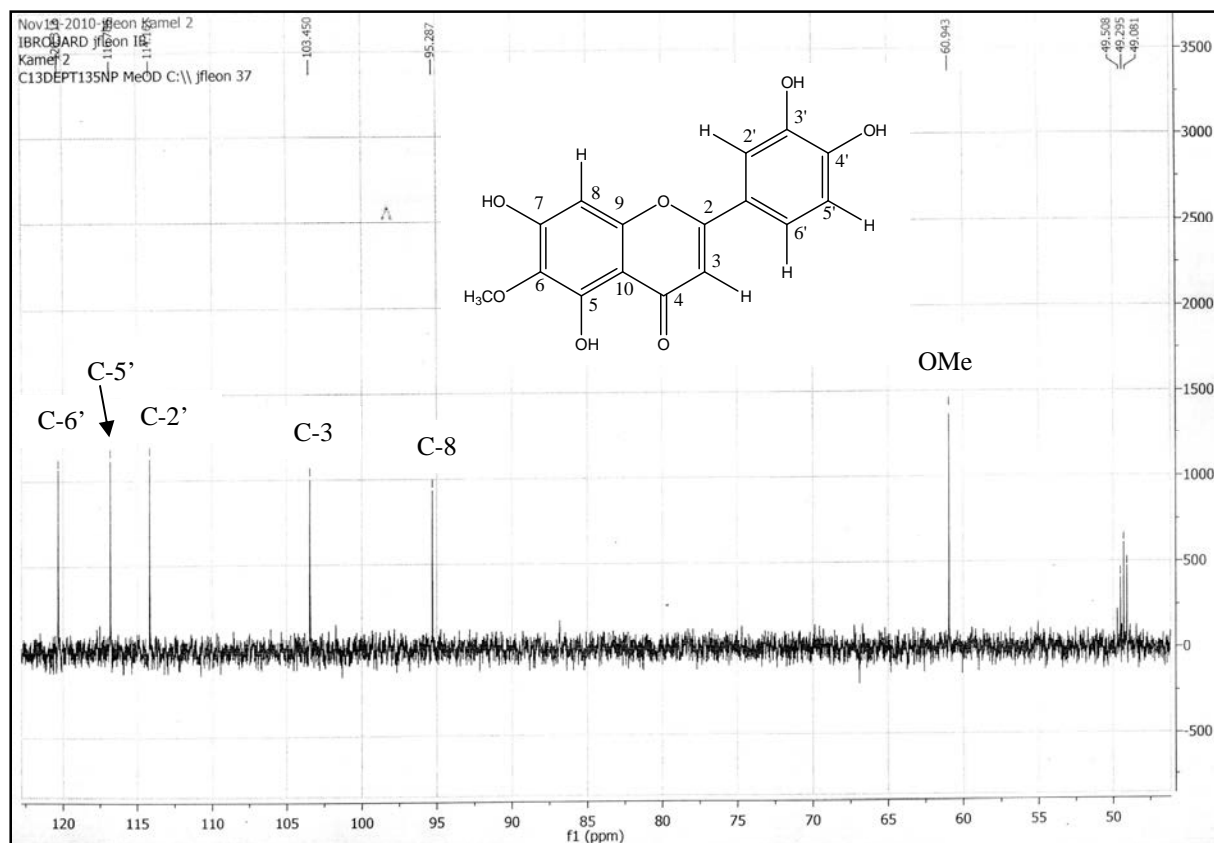
Spectre n° 42 : ROESY (500 MHz, MeOD) du produit FL-2



Etalement du spectre n°42 dans la zone (6,30- 7,60 ppm)

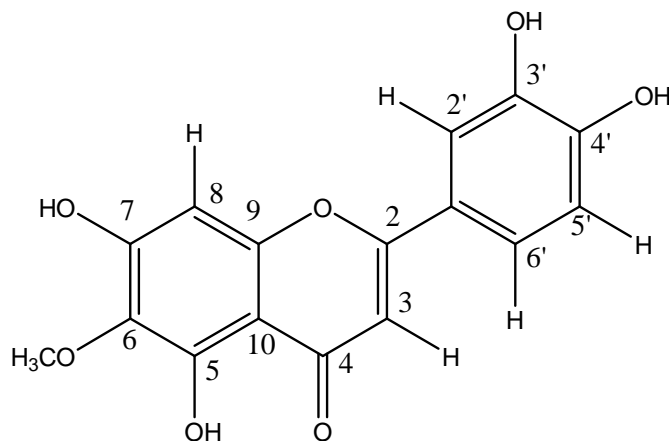


Spectre n° 43 : RMN-<sup>13</sup>C (125 MHz, MeOD) du produit FL-2



Spectre n° 44 : DEPT 135 (125 MHz, MeOD) du produit FL-2

L'ensemble de ces données résumées dans les tableaux 21, 22 et 23, ainsi que la co-chromatographie avec des échantillons authentiques nous a conduit à la structure de : 5, 7,3',4'-tetrahydroxy-6-méthoxyflavone (Népétine) [21].



**Figure 23** : Structure de la 5, 7,3',4'-tetrahydroxy-6-méthoxyflavone (Népétine)  
Cette molécule est signalée pour la première fois dans cette espèce.

**Tableau 21** : UV ( $\lambda_{max}$ , nm) du produit FL-2

Réactifs	Bande II	Autres bandes	Bande I
MeOH	274		346
+NaOH	272	333	408
+AlCl <sub>3</sub>	275		428
+AlCl <sub>3</sub> +HCl	286		369

**Tableau 22** : RMN-<sup>1</sup>H, ROESY (500 MHz, MeOD) du produit FL-2

H	$\delta$ ppm	J (Hz)	ROESY
2'	7.40 d	2.2	H-3, H-5'
6'	7.38 dd	8.6 ; 2.3	H-3, H-5'
5'	6.91 d	8.9	H-2', H-6'
3	6.55 s		
8	6.55 s		OMe-6
OMe-6	3.90 s		H-8



**Tableau 23 : Données de la RMN-13C et DEPT 135(125 MHz, MeOD) du produit FL-2**

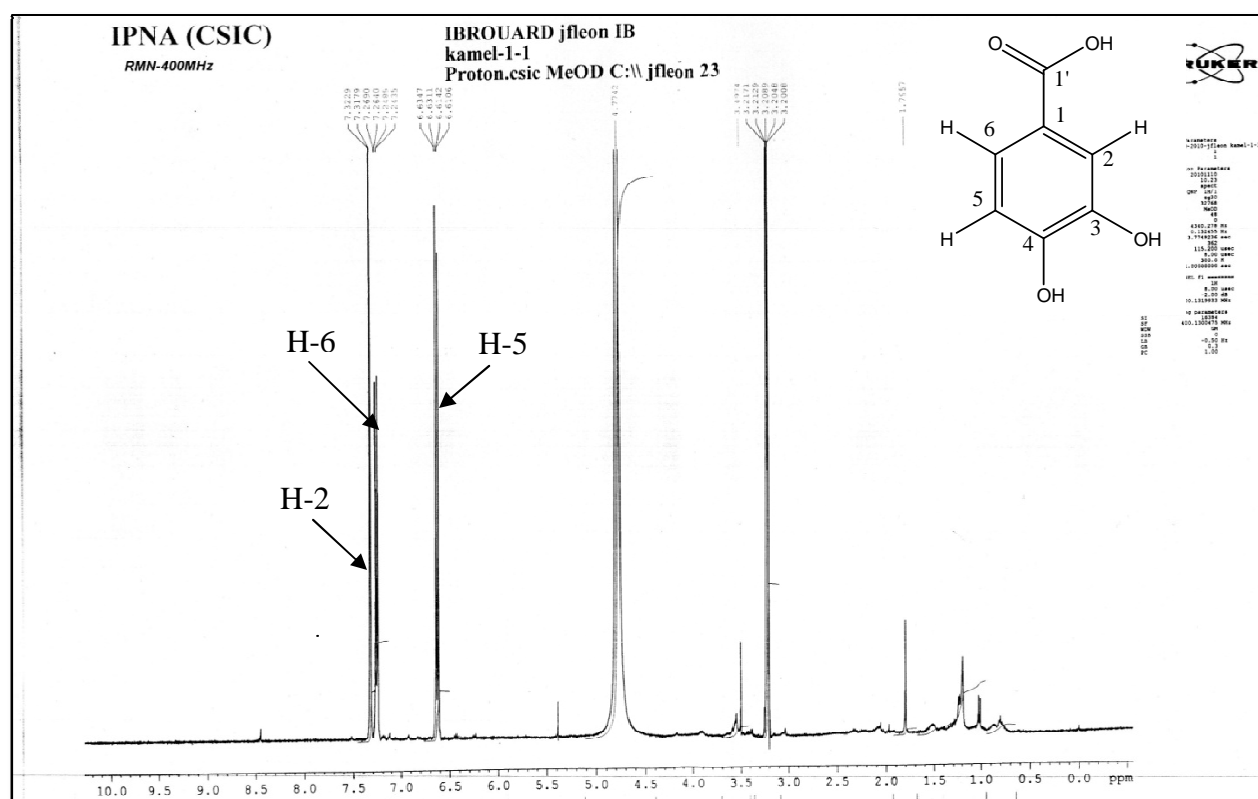
Déplacements chimiques	DEPT	Attributions
166,87	C	C-2
103,45	CH	C-3
184,20	C	C-4
153,90	C	C-5
134,10	C	C-6
159,27	C	C-7
95,25	CH	C-8
155,06	C	C-9
110,00	C	C-10
124,15	C	C-1'
114,16	CH	C-2'
147,45	C	C-3'
151,41	C	C-4'
116,78	CH	C-5'
120,31	CH	C-6'
60,94	OMe	OMe-6

### IV.2.2. Identification structurale du produit FL-2'

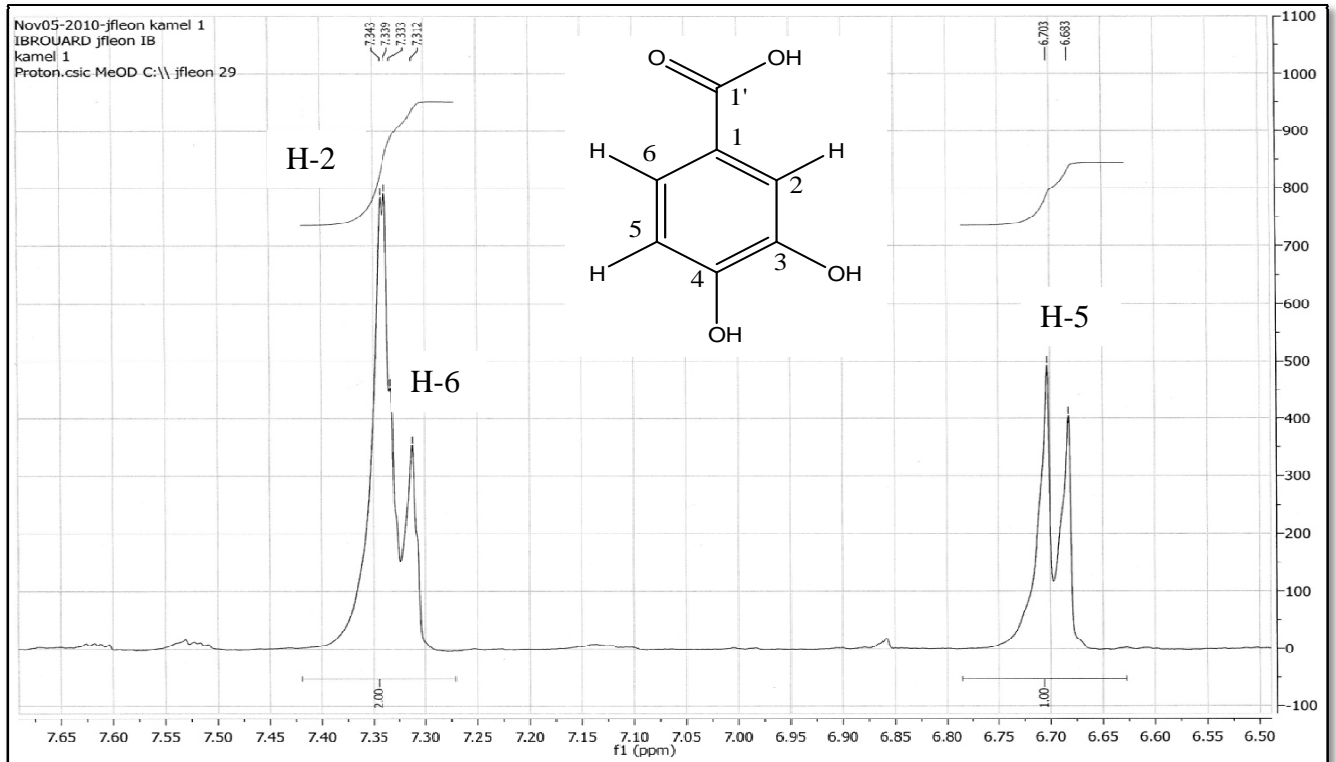
Il est assez probable que le composé **FL-2'**, bien qu'est une petite molécule, soit un composé aromatique.

Le spectre RMN- $^1\text{H}$  (Spectre n°45) indique trois types de protons différents dans des rapports de gauche à droite : 1 : 1 : 1 dans l'intervalle [6,50- 7,50] ppm. Soit un total de trois protons.

Il peut être judicieux, arrivé là, de considérer la possibilité de la présence d'un noyau aromatique trisubstitué en position 1, 3 et 4. En effet, les trois protons aromatiques présentent : un doublet à  $\delta$  7,33 ppm correspondant à un couplage en *méta* ( $J = 2,0$  Hz), il s'agit du proton H-2, un deuxième doublet de doublet à  $\delta$  7,31 ppm correspondant à un double couplage en *ortho* ( $J = 8,2$  Hz) et en *méta* ( $J = 2,0$  Hz), relatif au proton H-6, ainsi qu'un troisième doublet résonnant à  $\delta$  6,69 ppm et correspondant à un couplage en *méta* ( $J = 8,2$  Hz) qui doit être le proton libellé H-5.

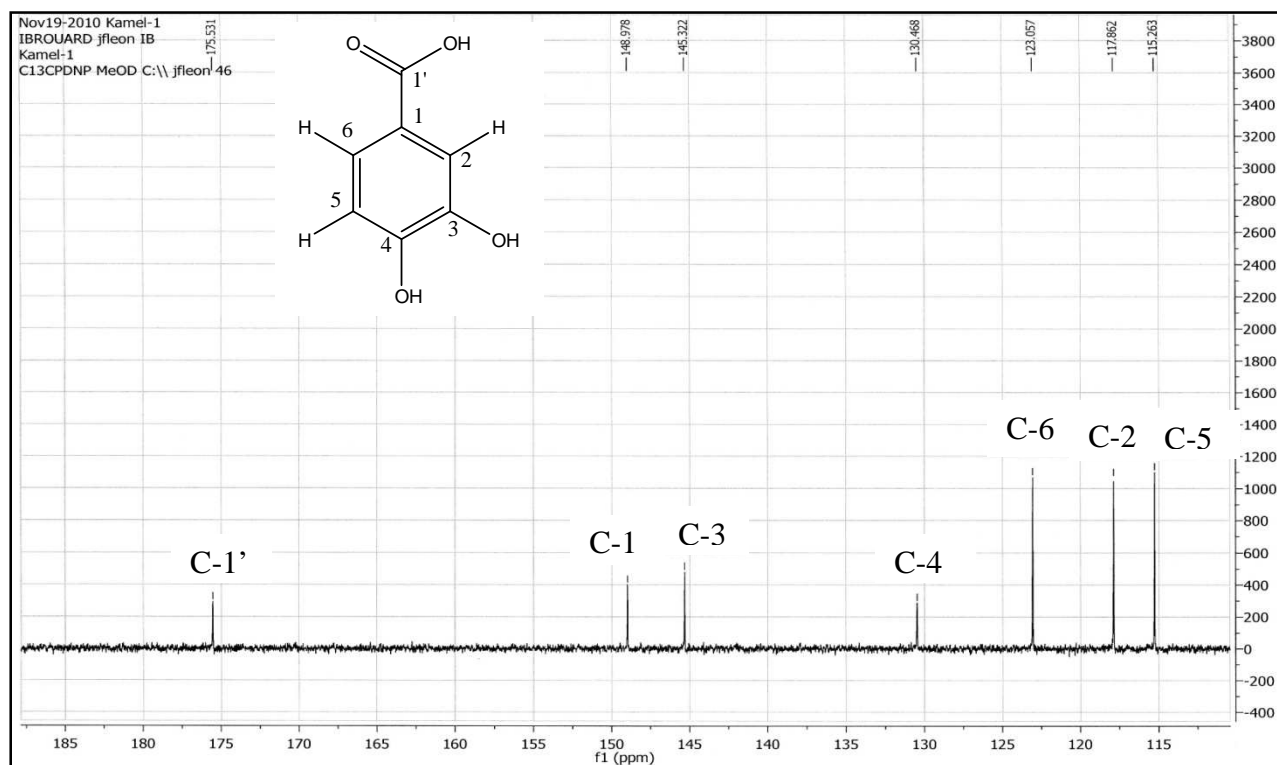


Spectre n°45 : RMN- $^1\text{H}$  (400 MHz, MeOD) du produit FL-2'



### Étalement du Spectre n°45 dans la zone 6.50- 7.65 ppm.

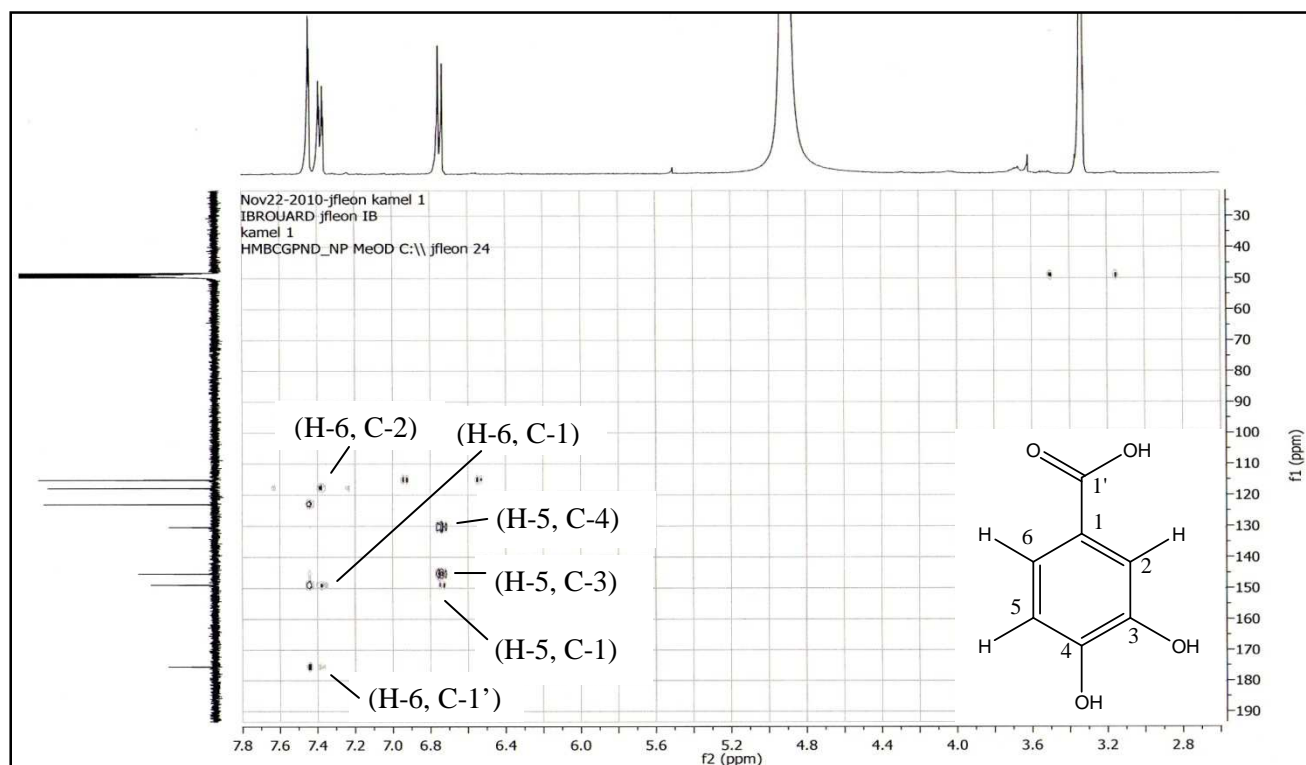
Le spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (Spectre n°46) indique la présence d'un carbonyle à  $\delta$  175,53 ppm, trois carbones quaternaires aromatiques dont deux oxygénés l'un à  $\delta$  145,32 et l'autre à  $\delta$  130,46 ppm, et confirme la présence de trois méthines aromatiques, auxquels nous ajoutons trois groupements OH. Il est alors possible de proposer la formule brute  $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_4$  dont l'indice de déficience en hydrogène est cinq. Ce degré d'insaturation rend compte à lui seul la présence d'un cycle aromatique, et une fonction carbonyle, ce qui confirme notre hypothèse précédente.



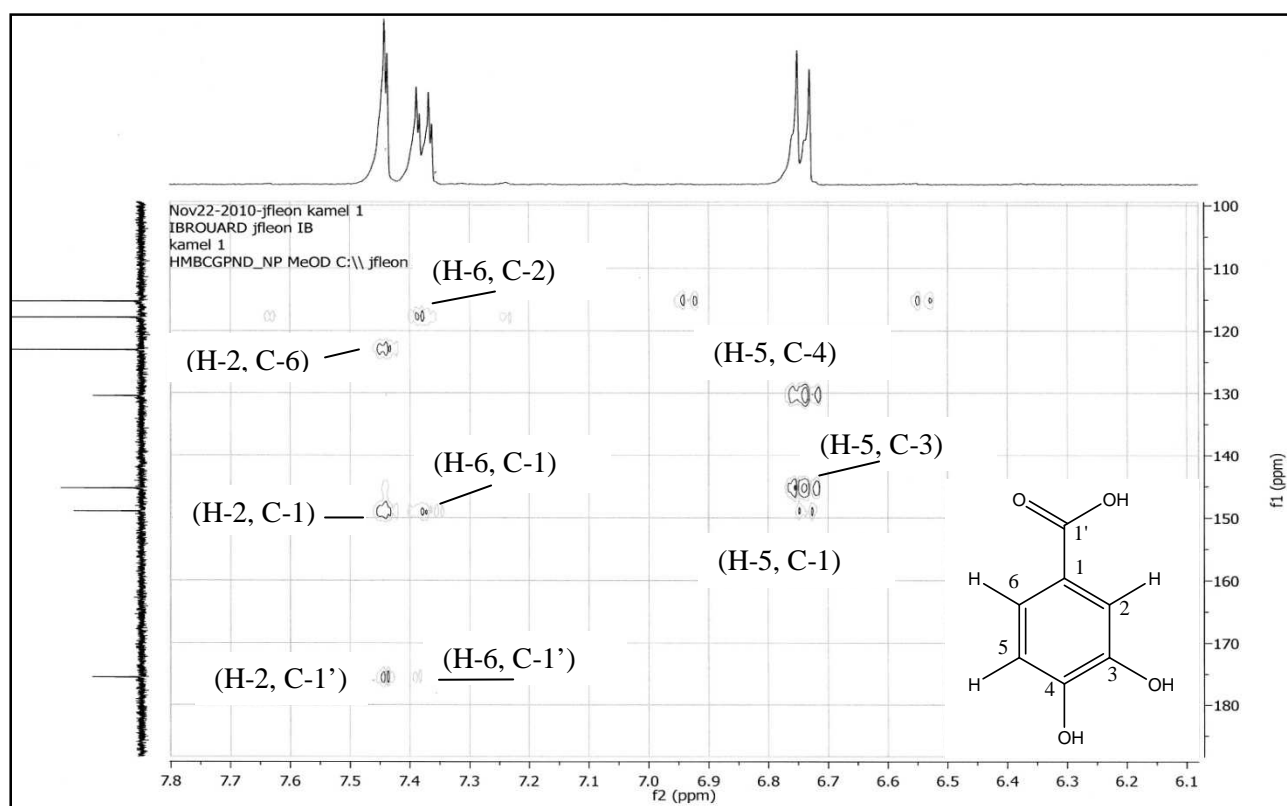
**Spectre n°46 : RMN-<sup>13</sup>C (100 MHz, MeOD) du produit FL-2'.**

Le spectre HMBC (Spectre n°47) corrobore très bien ces prévisions et nous donne une preuve directe de chaque position dans la molécule, en effet cette expérience a montré une corrélation nette entre le proton H-2 résonnant à  $\delta$  7,33 ppm et les carbones C-1', C-1 et C-6 situés à  $\delta$  175,53 ppm, 148,97 ppm et 123,05 ppm respectivement.

De la même manière dans le même spectre nous trouvons des crêtes des corrélations entre le proton H-6 résonnant  $\delta$  7,30 ppm et les carbones C-1', C-1 et C-2 qui apparaît à  $\delta$  148, 97 ppm d'un côté, et des autres corrélations entre le proton H-5 situé à  $\delta$  6,69 ppm et les carbones C-1, C-3 à 145,32 ppm et C-4 à 130, 46 ppm d'un autre côté.

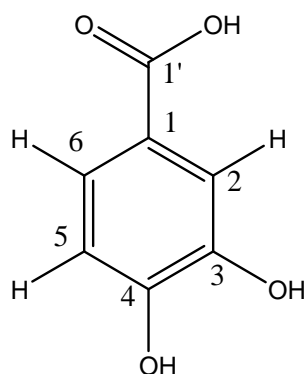


Spectre n°47 : HMBC (400 MHz, MeOD) du produit FL-2'.



Étalement du spectre n°47 du produit FL-2' dans la zone 6.10- 7.80 ppm

Sur la base de ces données le composé **FL-2'** est identifié comme étant : L'acide-3, 4 dihydroxybenzoïque ou l'acide protocathéchique [22].



**Figure 24** : Structure de l'acide-3, 4 dihydroxy benzoïque.

Ce dernier n'a jamais reporté dans l'espèce *Centaurea melitensis* L.

L'ensemble de ces données spectrales est résumé dans les tableaux suivants :

**Tableau 24** : RMN-<sup>1</sup>H, HMBC (400 MHz, MeOD) du produit FL-2'

H	δ ppm	J (Hz)	HMBC
2	7.33 d	2	1', 1, 6
6	7.26 dd	8.2 ; 2	1', 1, 2
5	6.63 d	8.2	1, 3, 4

**Tableau 25** : RMN-<sup>13</sup>C (100 MHz, MeOD) du produit FL-2'

C	δ ppm
1'	175.53
1	148.97
2	117,86
3	145,32
4	130.46
5	115,26
6	123,05

## Références bibliographiques

1. Miski, M., Ali, H. M., Mabry, T. J. 1988. Sesquiterpene lactones of *Onopordon Tauricum*. *Phytochemistry* **27**(5), 1417-1420.
2. Marco, J.A., Sanz-Cervera, J.F., Garcia-Lliso, V., Susanna, A., Garcia-Jacas, N., 1994. Sesquiterpene lactones, lignans and aromatic esters from *Cheirolophus* species. *Phytochemistry* **37**, 1101-1107.
3. Rustaiyan, A., Nazarians, L., Bohlmann, F., 1979. Two new germacranolides from *Onopordon leptolepis*. *Phytochemistry* **18**, 883-884.
4. Bohlmann, F., Zdero, C., 1982. Sesquiterpenes lactones from *Brachylaena* species. *Phytochemistry* **21**, 647-651.
5. Lazari, D., Garcia, B., Skaltsa, H., Pedro, J. R., Harvala, C., 1998. Sesquiterpene lactones from *Onopordon laconicum* and *O. sibthorpiatum*. *Phytochemistry* **47**, 415-422.
6. Garcia, B., Skaltsa, H., Navarro, F. I., Pedro, J. R., Lazari, D., 1996. Sesquiterpenes lactones and elemene derivatives from *Onopordon myriacanthum*. *Phytochemistry* **41**, 1113-1117.
7. Bruno, M., Paternostro, M. P., Gedris, T. E., Herz, W., 1996. Sesquiterpene lactones and other constituents of *Centaurea nicaensis*. *Phytochemistry* **41**, 335-336.
8. Marco, J.A., Sanz-Cervera, J.F., Yuste, A., Félix, S., Miguel, C., 2005. Sesquiterpenes from *Centaurea aspera*. *Phytochemistry* **66**, 1644-1650.
9. Trendafilova, A., Todorova, M., Bancheva, S., 2007. Secondary metabolites from *Centaurea moesiaca*. *Biochemical Systematics and Ecology* **35**, 544-548.
10. Mezaache, N., Bendjedou, D., Satta, D., Mekkiou, R., Benayache, S., Benayache, F., 2010. Secondary metabolites from *Centaurea lippii*. *Chemistry of Natural Compounds* **46** (5), 801-802.
11. Kitouni, R., 2007. Mémoire de magister, Université Mentouri Constantine.
12. Medjroubi, K., 1999. Thèse de doctorat, Université Mentouri Constantine.
13. Barrero, A. F., Sanchez, J. F., Rodriguez, I. and Soria Sanz, C., 1989. Germacranolides from *Centaurea melitensis*. *Phytochemistry* **28**, 1975-1976.
14. Gonzalez, A. G., Arteaga, J. M. and Brenton, J. L., 1975. Elemnolides from *Centaurea melitensis*. *Phytochemistry* **14**, 2039.
15. Al-Easa, H. S.; Rizk, A. M., 1992. Constituents of *Centaurea* species. *Qatar Univ. Sci. J.* **12**, 27-57.

16. Rouessac, F., Rouessac, A., Cruché, D., 2004. *Analyse chimique. Méthodes et techniques instrumentales modernes. Cours et exercices corrigés*. 6<sup>e</sup> édition, Dunod, Paris. p.302-303.
17. Bharti, S. K., Roy, R., 2012. Quantitative <sup>1</sup>H NMR spectroscopy. *Trends in Analytical Chemistry* **35**, 5-26.
18. Bicha, S., 2010. Thèse de Doctorat, Université de Constantine.
19. Nacer, A., Boustie, J., Bernard, A., Touzani, R., Kabouche, Z., 2006. Aglycone flavonoids of *Centaurea tougourensis* from Algeria. *Chemistry of Natural compounds* **42**, 230.
20. Voirin, B., 1983. UV spectral differentiation of 5-hydroxy- and 5-hydroxy-3-methoxyflavones with Mono-(4' -), Di-(3', 4') or Tri-(3', 4', 5')-substituted B rings. Review, *Phytochemistry* **22**, 2107-2145.
21. Kabouche, A., Kabouche, Z., Touzani, R. and Bruneau, C., 2011. Flavonoids from *Centaurea sulphurea*. *Chemistry of Natural compounds* **46(6)**, 966-967.
22. Benahmed, M., 2009. Thèse de doctorat, Université Mentouri Constantine.



*CHAPITRE V*

*TESTS BIOLOGIQUES DE L'EXTRAIT  
MÉTHANOLIQUE*

## Chapitre V. Tests biologiques de l'extrait méthanolique

### V.1. Activité antioxydante

#### V.1.1. Introduction

L'oxygène (O<sub>2</sub>) est le premier élément essentiel pour la vie, responsable du fonctionnement normal de tout le système aérobie [1]. Par contre l'O<sub>2</sub> est responsable d'un nombre de processus d'oxydation suivi de mauvaises conséquences comme le stress oxydatif (oxydant) [2,3].

Selon les points de vue actuels, le stress oxydant peut être défini comme étant « un déséquilibre entre la production et l'élimination des métabolites réactifs de l'oxygène et du nitrogène en faveur de leur production conduisant à des dommages potentiels [4] et à des dégâts cellulaires irréversibles [5] ».

Ces dernières années, l'intérêt porté aux antioxydants naturels, en relation avec leurs propriétés thérapeutiques, a augmenté considérablement. Des recherches scientifiques dans diverses spécialités ont été développées pour l'extraction, l'identification et la quantification de ces composés à partir de plusieurs substances naturelles à savoir, les plantes médicinales et les produits agroalimentaires [6-8].

Un antioxydant est une molécule qui possède une capacité à capter ou à piéger les radicaux libres produits spontanément et d'une façon continue dans l'organisme vivant [9].

#### V.1.2. Qu'est-ce qu'un radical libre ?

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié. Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se réappairer, déstabilisant ainsi d'autres molécules. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne.

Ils sont produits dans notre organisme sous l'action de radiations ionisantes, de rayons UV, ou au cours des réactions enzymatiques. Ce mécanisme peut mener à un désordre dans les structures moléculaires, en oxydant les lipides membranaires, les protéines cellulaires, les acides nucléiques, provoquant ainsi la mort cellulaire avant d'être neutralisés [10].

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation. Les antioxydants les plus connus sont le β-carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E) ainsi que les composés phénoliques. En effet, la plupart des antioxydants de synthèse ou d'origine naturelle possèdent des

groupes hydroxyphénoliques dans leurs structures et les propriétés antioxydantes sont attribuées en partie, à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles ( $\text{OH}^\bullet$ ) et superoxydes ( $\text{O}_2^\bullet$ ) [11-14].

### V.1.3. Les polyphénols antioxydants

Les phénols simples, acides phénoliques et les flavonoïdes jouent un rôle capital dans l'élimination et la détoxification des radicaux libres, et permettent d'augmenter la résistance des LDL à l'oxydation et d'inhiber la peroxydation des lipides.

Par ailleurs, ils possèdent des propriétés anti-inflammatoires et antihémorragiques, des propriétés antibactériennes et antifongiques, en particulier à l'égard des organismes phytopathogènes. Les flavonoïdes tendent que des polyphénols présentent de nombreuses activités : anti oxydantes, anti-inflammatoires, inhibitrices d'enzymes, et prévention des maladies cardiovasculaires. Pharmacologiquement, les aglycones sont particulièrement efficaces. Certains ont des activités hépatoprotectrices, diurétiques, vasodilatatrices, antibactériennes, inhibitrices de l'aldolase réductase et antiallergiques [15-17].

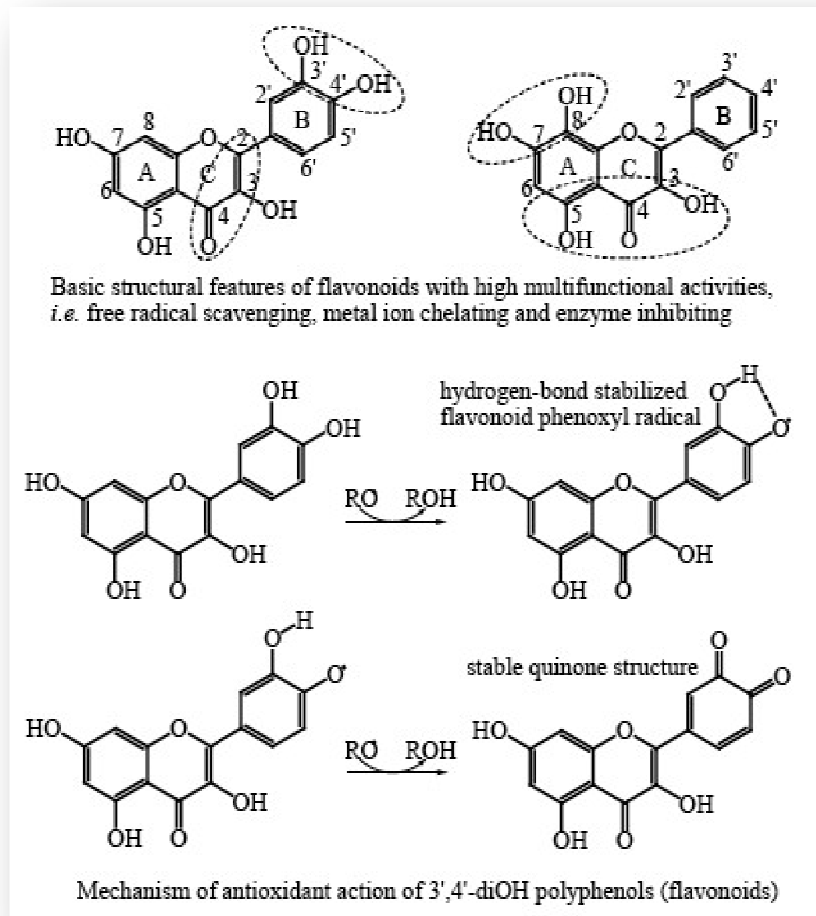
### V.1.4. Activité des flavonoïdes vis-à-vis des espèces radicalaires

Les flavonoïdes possèdent une structure aromatique permettant une stabilisation électronique importante et donc une bonne stabilisation de leurs formes radicalaires ainsi les résultats obtenus *in vitro* pour l'étude de l'activité antioxydante des flavonoïdes ont montré que cette activité est essentiellement liée à leur capacité à piéger les espèces réactives de l'oxygène comme les radicaux superoxydes, hydroxyles, et alkoxydes [18-21].

### V.1.5. Relation structure-activité

De nombreuses études ont mis en évidence l'existence de relations structure-activités (RSA) dans le cas des flavonoïdes, ces relations dépendent essentiellement du nombre et de la position de leurs groupements fonctionnels.

Les éléments structuraux nécessaires à l'obtention d'une activité antioxydante optimale ont pu être établis par plusieurs chercheurs et sont présentés dans la figure 1 :



**Figure 1** : Les éléments essentiels pour l'activité antioxydante des flavonoïdes

Les résultats obtenus pour l'étude de l'activité antioxydante des flavonoïdes *in vitro* ont montré que cette activité est liée essentiellement à l'arrangement des groupes fonctionnels attachés à la structure de base [22] :

- Les groupes hydroxyles

La capacité de piégeage des radicaux libres est fortement attribuée aux substituants hydroxyles les plus réactifs dans la molécule, en participant à la réaction suivante :

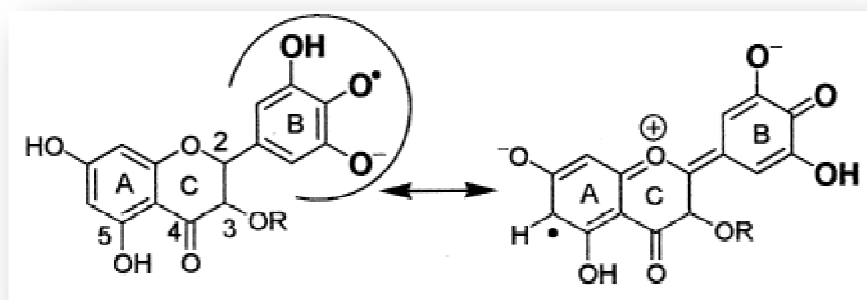


Plusieurs études ont montrées que les hydroxyles attachés au cycle B des flavonoïdes sont les plus déterminants de ce piégeage, ces groupes peuvent donner un hydrogène et un électron aux radicaux hydroxyles, peroxydes, et peroxydinitriles, menant à leur stabilisation d'une part, et engendrant des radicaux des flavonoïdes plus stable, d'autre part [23-25].

En effet, la présence de la structure 3',4'-catéchol dans les flavonoïdes (cycle B) augmente leur activité anti- oxydante, d'une manière remarquable [25-27].

Par exemple la capacité de piégeage des radicaux peroxydes attribuée au lutéoline est plus forte que celle attribuée au kaempférol, tout les deux renferment des groupes hydroxyles identiques dans leurs structures, mais le kaempférol est manqué de la structure catéchol (sur le cycle B) [28,29]. Cette caractéristique a été expliquée par les raisons suivantes :

L'oxydation des flavonoïdes, a lieu dans le cycle B, quand le catéchol est présent [28], ce qui donne un radical ortho-semi quinone très stable par la délocalisation faciles des électrons [25,30].



**Figure 2** : Délocalisation des électrons dans le radical flavonoxyle.

L'hydroxyle en position 5 dans le cycle A, peut participer à l'activité antioxydante, tandis que les autres hydroxyles de ce cycle sont corrélés faiblement à cette activité [31].

La présence de 3-OH libre en cycle C augmente le piégeage des radicaux libres par les flavonoïdes, en raison que ce groupe permet la conjugaison entre les cycles aromatiques A, C, et B. L'activité antioxydante, ne dépend pas de la fermeture du cycle C, en effet, les chalcones sont des antioxydantes meilleures [32].

- La -O-méthylation

Des études Concernant la 4'-O-méthylation ont montrés que la 4'-O-méthylation de la quercetine en tamarixetine réduit considérablement l'inhibition de la peroxydation lipidique [27]. D'autres études ont reportés que la capacité de 3',4'-diméthoxykaempférol de piéger les peroxydes est la moitié de celle de kaempférol [24].

- La double liaison 2-3, et la fonction 4-oxo

Parmi les caractéristiques des flavonoïdes est la présence ou l'absence de la double liaison entre les deux carbones 2 et 3, en conjugaison avec la fonction carbonyle en 4 [33].

Une étude comparative entre l'activité antioxydante de la quercetine et celle de la taxifoline a montré que la première est plus forte [26]. L'analyse structurale de ces composés

montre que tous les deux renferment un groupe carbonyle en 4 mais la taxifoline n'a pas une double liaison 2-3 ; en effet, la majorité des recherches sont en faveur de la présence d'une double liaison 2-3 en conjugaison avec le groupe 4-oxo [31].

- La O-glycosylation

Les aglycones sont plus réactifs que leurs glycosides correspondants [26,34]. Ainsi, les propriétés antioxydantes des flavonols glycosides isolés à partir de thé sont réduites en fonction du nombre des glycosides [35].

- Le degré de polymérisation

Les proanthocyanidines dimères et trimères sont plus efficaces par rapport aux flavonoïdes monomères contre les anions superoxydes [36], les tétramères sont plus forts [37].

Donc, il apparaît que les effets antioxydants sont fortement corrélés avec l'augmentation du degré de polymérisation [38-39].

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer, *in vitro* et *in vivo*, l'activité antioxydante par piégeage de radicaux différents, Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation et la nature diversifiée des antioxydants, avec des composants à la fois hydrophiles et hydrophobes, il n'y a pas une méthode universelle par laquelle l'activité antioxydante peut être mesurée quantitativement d'une façon bien précise.

Le plus souvent il faut combiner les réponses de tests différents et complémentaires pour avoir une indication sur la capacité antioxydante de l'échantillon à tester [40-42].

De point de vue méthodologique, le test au radical libre DPPH<sup>•</sup> est recommandé pour des composés contenant des groupes SH, NH et OH [43].

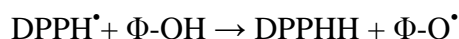
#### V.1.6. Principe du test au radical libre DPPH<sup>•</sup>

- Réaction entre le radical libre DPPH<sup>•</sup> et l'antioxydant

Le composé chimique 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyle fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques [44,45]. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote du fait de cette délocalisation, les molécules du radical ne forment pas des dimères, i.e. DPPH<sup>•</sup> reste dans sa forme monomère relativement stable à température ordinaire. La délocalisation provoque aussi la couleur violette bien caractéristique de la solution de DPPH<sup>•</sup>.

La mesure de l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de la coloration violette, due à une recombinaison des radicaux DPPH<sup>•</sup>, mesurable par spectrophotométrie à 515-518 nm.

Dans le cas des composés phénoliques (Φ-OH), le mécanisme principal d'action est le piégeage des radicaux libres par le transfert de l'atome H sur le DPPH<sup>•</sup> alors transformé en une molécule stable DPPHH [46] :



### V.1.7. Matériels et méthodes

L'activité antiradicalaire a été évaluée, in vitro, par le test de DPPH. Cette méthode spectrophotométrique utilise le radical DPPH<sup>•</sup> (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyle) de couleur violette comme réactif, qui vire au jaune, en présence de capteurs de radicaux libres, et se réduit en 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazine. Ceci permet de suivre la cinétique de décoloration à 517 nm. Pour cela, 15 µl d'extrait méthanolique a été incubé avec 1.5 ml d'une solution méthanolique de DPPH à 100Mm. Après une période d'incubation de 15 min, les absorbances à 517 nm ont été enregistrées [47].

Les résultats obtenus pour l'extrait testé ont été exprimés par rapport à ceux obtenus pour le quercétine pris comme antioxydant de référence. Le pourcentage d'inhibition (I%) du radical DPPH<sup>•</sup> par l'extrait de *Centaurea melitensis* L. a été calculé comme suit :

$$I\% = [(AC-AE)/AC] \times 100$$

AC : absorbance en absence de l'inhibiteur (contrôle négatif)

AE : absorbance en présence de l'inhibiteur (échantillon-l'extrait)

### V.1.8. Résultats et discussions

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

**Tableau 1 : Résultats de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de *Centaurea melitensis* L.**

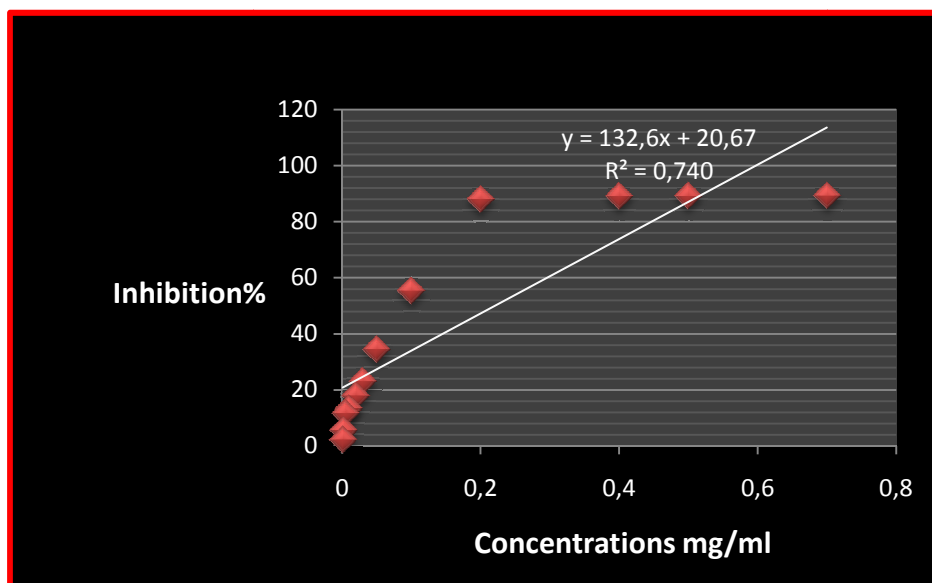
<b>Concentrations de l'extrait (<i>C.melitensis</i> L. / Quercetine) (mg/ml)</b>	<b>I% du radical DPPH<sup>•</sup> par L'extrait (<i>C.melitensis</i> L.)</b>	<b>I% du radical DPPH<sup>•</sup> par la Quercetine</b>
<b>0.0012</b>	<b>01.95%</b>	<b>46.45±1.78%</b>
<b>0.0025</b>	<b>05.32%</b>	<b>94.72±0.30%</b>
<b>0.0050</b>	<b>11.41%</b>	<b>95.81±0.13%</b>
<b>0.0100</b>	<b>13.04%</b>	<b>95.91±0.00%</b>
<b>0.0200</b>	<b>17.71%</b>	<b>96.06±0.04%</b>
<b>0.0300</b>	<b>22.82%</b>	-
<b>0.0500</b>	<b>34.13%</b>	-
<b>0.1000</b>	<b>55.10%</b>	-
<b>0.2000</b>	<b>87.71%</b>	-
<b>0.4000</b>	<b>88.80%</b>	-
<b>0.5000</b>	<b>88.91%</b>	-
<b>0.7000</b>	<b>89.02%</b>	-

Les résultats figurant dans le tableau ci-dessus, illustrent les pourcentages de l'activité antiradicalaire de l'extrait de *Centaurea melitensis* L. vis-à-vis du radical libre DPPH<sup>•</sup>.

On constate que l'extrait MeOH de *C.melitensis* L. présente une activité antiradicalaire significative vis-à-vis du radical DPPH<sup>•</sup> avec un pourcentage d'inhibition variant de 1,95% jusqu'à 89,02% à différentes concentrations.

On peut conclure que l'augmentation de cette activité est liée à celle de différentes concentrations de l'extrait, ce qui prouve une forte corrélation linéaire entre les deux facteurs (concentrations et piégeage des radicaux libres par l'extrait- Figure 3).





**Figure 3** : Corrélation entre les concentrations et l'activité antioxydante.

Des études réalisées sur les extraits de trois centaurees concernant la même activité (voir Tableau-ci-dessous), ont montrées une activité inhibitrice considérable du radical DPPH<sup>\*</sup>, cette activité est très proche de celle de *Centaurea melitensis* ( $IC_{50} = 22,8 \times 10^{-2} \text{ mg/ml}$ ).

**Tableau 2** : Activité antioxydante (Inhibition de DPPH<sup>\*</sup>) des quatre centaurees

Extraits	Espèces	$IC_{50}$ (mg/ml)	Références
n-Hexane	<i>C. americana</i> Nutt.	$6,9 \times 10^{-1}$	[48]
DCM		$2,8 \times 10^{-1}$	
MeOH		$5,2 \times 10^{-2}$	
MeOH	<i>C. montana</i> L.	$32,7 \times 10^{-2}$	[49]
n-Hexane	<i>C. pamphylica</i> Boiss.	-	[50]
DCM	& Heldr.	$72,6 \times 10^{-2}$	
MeOH		$47,3 \times 10^{-2}$	
MeOH	<i>C. melitensis</i> L.	$22,8 \times 10^{-2}$	

DCM : dichlorométhane.

MeOH : méthanolique.

En se basant sur les résultats des extraits MeOH, la comparaison des activités respectives de ces quatre centaureés suggère que la meilleure activité est celle de *Centaurea americana* Nutt. avec une  $IC_{50} = 5,2 \times 10^{-2}$  mg/ml suivie par celle de *Centaurea melitensis* L. avec une  $IC_{50} = 22,8 \times 10^{-2}$  mg/ml qui est statistiquement supérieure à celle du *Centaurea montana* L. avec une  $IC_{50} = 32,7 \times 10^{-2}$  mg/ml et celle du *Centaurea pamphylica* Boiss. & Heldr., Ce dernier extrait est le moins actif avec une  $IC_{50} = 47,3 \times 10^{-2}$  mg/ml.

Alors que les résultats des différents extraits de la même plante (*C. americana* et *C. pamphylica*) montrent que les extraits MeOH (polaires) présentent une activité antiradicalaire plus intéressante que celle des extraits n-hexane et DCM (apolaires). Il existe probablement des différences qualitatives dans la nature des composés phénoliques (qui entrent dans la composition des extraits) influençant le pouvoir antioxydant des extraits [51].

L'importance de l'activité antioxydante de ces extraits pourrait être attribuée à la richesse en molécules à haut potentiel antioxydant telles que les acides phénoliques, les lignanes et les flavonoïdes. Ainsi une étude comparative a permis la mise au point de relation « espèce *Centaurea*- richesse en polyphénols ». Cette étude montre que *C. americana* soit la plus riche en polyphénols suivie par *C. melitensis* puis *C. montana* et dernièrement *C. pamphylica*, d'autre part la majeure partie de ces molécules est rencontrée dans les extraits polaires de la plante.

Plusieurs facteurs peuvent influencer sur la teneur en composés phénoliques. Des études ont montré que les facteurs extrinsèques (tels que les facteurs géographiques et climatiques), les facteurs génétiques, mais également le degré de maturation de la plante et la durée de stockage ont une forte influence sur le contenu en polyphénols [52, 53].

## V.2. Activité antibactérienne

### V.2.1. Introduction

Ces dernières décennies, l'usage des plantes médicinales connaît un regain d'intérêt. Selon les estimations de l'OMS (2002), plus de 80 % de la population en Afrique utilisent encore la médecine traditionnelle pour répondre à leurs besoins de soins de santé. Ceci est lié à la toxicité des produits chimiques, au coût élevé des médicaments chimiques, à l'éloignement et/ou l'insuffisance des centres de santé surtout en milieu rural, qui limitent une prise en charge véritable des problèmes de santé publique [54].

Par ailleurs, la maîtrise des infections bactériennes et fongiques devient complexe du fait de l'émergence de bactéries et de champignons résistants à de nombreux antibiotiques

conventionnels [55]. Ainsi Le traitement des infections bactériennes est en général basé sur l'utilisation des antibiotiques. La très grande utilisation souvent inadaptée de ces molécules antibactériennes a entraîné la sélection de souches bactériennes multirésistantes. C'est le cas par exemple des bactéries productrices de  $\beta$ -lactamase à spectre élargie (BLSE), résistantes à toutes les  $\beta$ -lactamines et des bactéries qui présentent une résistance aux fluoroquinolones telles que l'acide nalidixique et la ciprofloxacine. En effet les  $\beta$ -lactamines et les fluoroquinolones constituent deux familles d'antibiotiques les plus utilisées en thérapeutique humaine [56].

La résistance des bactéries à ces antibiotiques désarme souvent les médecins face à certaines infections d'origine bactérienne [57]. Il est donc important d'orienter les recherches vers de nouvelles voies et surtout vers les végétaux qui ont toujours servi de base à de nouveaux médicaments [58].

### V.2.2. Quelles sont les bactéries ?

Les bactéries sont des êtres vivants appartenant à un groupe caractérisé par une structure unicellulaire très simple, à noyau diffus et se reproduisant par scissiparité (division en deux). Certaines bactéries ont un effet bénéfique sur l'organisme, comme celles qui vivent dans l'intestin et contribuent à la digestion, et celles qui, présentes en permanence sur la peau, empêchent les bactéries pathogènes de la coloniser (flore saprophyte). D'autres sont pathogènes, à l'origine de nombreuses affections [59].

A l'heure actuelle, l'activité antimicrobienne *in vitro* d'une substance ou d'un extrait peut être mise en évidence par un grand nombre de techniques classiques, aussi bien en milieu solide qu'en milieu liquide.

### V.2.3. Matériels et méthodes

#### V.2.3.1. Procédure microbiologique

L'évaluation *in vitro* de l'activité antimicrobienne de *Centaurea melitensis* a été réalisée par la technique de diffusion en milieu solide [60]. Les souches microbiennes utilisées sont : trois souches bactériennes de référence (*Acinetobacter (sp)*, *Staphylococcus aureus* et *Proteus mirabilis*) et deux isolats fongiques (*Trichophyton rubrum* et *Trichophyton mentagraphytes*) issues à partir des prélèvements de malades (selles).

Ces bactéries sont pathogènes et sont connues pour leur forte antibiorésistance et leur pouvoir invasif et toxique chez l'homme. Elles sont fréquemment rencontrées dans de

nombreuses infections et posent un problème clinique et thérapeutique. Les espèces fongiques choisies sont toxiques et pathogènes.

Les souches bactériennes sont des lots de «American Type Culture Collection » (ATCC), elles sont entretenues par repiquage sur gélose nutritive favorable à leur croissance MHA (*Muller Hinton Medium*) pendant 24 h à l'obscurité à 37 °C à l'exception d'*Acinetobacter (sp)* à 30 °C. Elles sont cultivées par repiquage sur le même milieu précédent pendant 48 h à l'obscurité à 25 °C. L'activité antimicrobienne est déterminée en terme de diamètre de la zone d'inhibition de croissance microbienne produite autour des disques après incubation.

#### V.2.4. Résultats et discussions

Les résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique du *C. melitensis* L. sont résumés dans le tableau suivant :

**Tableau 3 : Résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique du *C. melitensis* L.**

Nom		<i>C. melitensis</i> L. (EM : 5mg/ml)
Bactéries		Diamètre de la zone d'inhibition* (mm)
<b>Gram positive</b>		
<i>Staphylococcus Aureus</i>	ATCC 4776	NA
<b>Gram negative</b>		
<i>Acinetobacter (sp)</i>	ATCC 4758	16
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 4738	NA
<b>Isolats fongiques</b>		
<i>Trichophyton rubrun</i>		NA
<i>Trichophyton dermaphytes</i>		NA

EM : extrait méthanolique

\*: diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques par l'ajout de 40µl de l'EM.

NA : non active ; les valeurs sont la moyenne de deux répétitions.

D'après le tableau 3 l'extrait méthanolique du *C. melitensis* L. a un effet plus prononcé seulement contre *Acinetobacter (sp)* avec un diamètre de zone d'inhibition de croissance de 16 mm (à concentration 5mg/ml). En contre partie, la résistance des bactéries (*Staphylococcus*

*Aureus*, *Proteus mirabilis*) et les isolats fongiques (*Trichophyton rubrum*, *Trichophyton dermaphytes*), a été remarquée.

En général, La résistance des Gram négative est attribuée à leur membrane externe hydrophile qui peut bloquer la pénétration de composés hydrophobes dans la membrane cellulaire cible [61]. Du moment que la différence d'action de l'extrait méthanolique du *C. melitensis* L. contre les bactéries à gram négative, elle lui confère une activité sélective.

Il est frappant de noter que des études antécédentes ont démontré que le composé onopordopicrine isolé du *C. sonchifolia* L. n'est pas significatif contre les microorganismes suivants : *Candida albicans* (souche A-26), *Trichophyton dermaphytes* (souche A-23) et *Saccharomyces cerevisiae* (souche M-25) [62]. Comme ce composé est un produit majoritaire dans l'espèce *C. melitensis*, il se peut que l'activité de son extrait méthanolique soit masquée par leur prédominance.

Certes l'extrait méthanolique de *C. melitensis* L. renferme une quantité appréciable de polyphenols qui sont connus par leur activité antimicrobienne mais il n'a montré qu'une seule activité inhibitrice sur la souche *Acinetobacter (sp)*, ces résultats peuvent être expliqué par la présence des sucres et des flavonoïdes glycosides qui sont des agents capables de déprimer l'activité antimicrobienne des extraits [63-68].

En conclusion, ces résultats préliminaires *in vitro*, sont satisfaisantes et nécessaires pour le potentiel *in vivo* de l'extrait méthanolique de *Centaurea melitensis* L. et les produits isolés.

## Références bibliographiques

1. Namiki, M., 1990. Antioxidants/Antimutagens in Food. *CRC critical reviews in food science and nutrition* **29**, 273-300.
2. Dalton, D.A., 1995. Antioxidant defences of plants and fungi. *Ed. Oxidative Stress and Antioxidant Defences in Biology*, 298-355.
3. Garcia-Plazaola, J.I. et Becerril, J.M., 1999. A rapid HPLC method to measure lipophilic antioxidants in stressed plants: simultaneous determination of carotenoids and tocopherols. *Phytochemical Analysis* **10**, 307-313.
4. Durackova, Z., Djrolo, F., Houngbe, H., Avode, G., Attoulou, V., Addra, B., Kodjoh, N., Avimadj, M., 2008. Oxidants, Antioxidants and Oxidative stress. *Mitochondrial medicine*. Gvozdjakova A (ed). P: 19-43.
5. Abuja, P.M. and Albertini, R., 2001. Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clinica Chimica Acta* **306**, 1-17.
6. Sanchez, M.C., 2002. Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Science and Technology International* **8** (3), 121-137.
7. Marc, Fr., Davin, A., Deglène, B, L., Ferrand C. et all., 2004. Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *Erudit, M/S : médecine sciences* **20(4)**, 458-463.
8. Huang, D., Ou, B., Prior, R. L., 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53**, 1841-1856.
9. Zaabat, N., 2011. Thèse de doctorat, Université Mentouri- Constantine.
10. Marfak, A., 2003. Thèse de doctorat, Université de limoges.
11. Rice, E.C.A., Miller, N.J., Bolwell, P.G., Bramley, P.M., 1995. Pridham, J.B. The relative antioxidant activities of plant derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical Research* **22**, 375-383.
12. Burda, S., Oleszek, W., 2001. Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **49**, 2774-2779.
13. Antolovich, M., Prenzler, P.D., Patsalides, E., McDonald, S., Robards K., 2002. Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*. **127**, 183-198.
14. Bartosz, G., 2003. Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Comments on Toxicology* **9**, 5-21.

15. Sharma, B., Viswanath, G., Salunke, R., Roy P., 2008. Effects of flavonoid-rich extract from seeds of *Eugenia jambolana* (L.) on carbohydrate and lipid metabolism in diabetic mice. *Food Chem.* **110**, 697-705.
16. Mercader, A.G., Duchowicz, P.R., Frandez, F. M., Castro, E. A., Bennardi, D.O., Autino, J.C., Romanelli, G. P., 2008. QSAR prediction of inhibition of aldose reductase for flavonoids. *Bioorgan. Med.Chem.* **16**, 7470-7476.
17. Cushine, T.T.P., Lamb, A.J., 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *Int.J.antimicrob. Ag.* **26**, 343-356.
18. Krishnamachari, V., Levine, L.H., Pare, P.W., 2002. Flavonoid oxidation by the Radical Generator AIBN: A Unified Mechanism for Quercetin Radical Scavenging. *J. Agric. Food Chem.* **50**, 4357-4363.
19. Mc Phail, D. B., Hartley, R. C., Gardner, P.T., Duthie, G.G., 2003. Kinetic and Stoichiometric Assessment of the Antioxidant Activity of Flavonoids by Electron Spin Resonance Spectroscopy. *J. Agric. Food Chem.* **51**, 1684-1690.
20. Nagai, S., Ohara, K., Mukai, K., 2005. Kinetic Study of the Quenching Reaction of Singlet Oxygen by Flavonoids in Ethanol Solution. *J. Phys. Chem., B.* **109**, 4234-4240.
21. Rajendran, M., Manisankar, P., Gandhidasan, R., Murugesan, R., 2004. Free Radicals Scavenging Efficiency of a Few Naturally Occurring Flavonoids: A Comparative Study. *J. Agric. Food Chem.* **52**, 7389-7394.
22. Heim, K.E., Tagliaferro, A.R., Bobilya D.J., 2002. Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *J. Nutr. Biochem.* **13**, 572-584.
23. Pannala, A. S., Chan, T.S., O'Brien, P.J., Rice-Evans, C.A., 2001. Flavonoid B-ring chemistry and antioxidant activity: fast reaction kinetics. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **282**, 1161-1168.
24. Burda, S., Oleszek, W., 2001. Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. *J. Agric. Food Chem.* **49**, 2774-2779.
25. Cao, G., Sofic, E., Prior, R.L., 1997. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. *Free Radic. Biol. Med.* **22**, 749-760.
26. Mora, A., Paya, M., Rios, J.L., Alcaraz, M.J., 1990. Structure-activity relationships of polymethoxyflavones and other flavonoids as inhibitors of non-enzymic lipid peroxidation. *Biochem. Pharmacol.* **40**, 793-797.
27. Ratty, A.K., Das, N.P., 1988. Effects of flavonoids on nonenzymatic lipid peroxidation: structure-activity relationship. *Biochem. Med. Metab. Biol.* **39**, 69-79.

28. Dugas Jr, A.J. , Castaneda-Acosta, J. G., Bonin, C. , Price, K.L. , Fischer, N.H. , Winston, G.W. , 2000. Evaluation of the total peroxy radical scavenging capacity of flavonoids: structure-activity relationships. *J. Nat .Products*. **63**, 327–331.
29. Van Acker, S.A.B.E., De Groot, M.J., Van den Berg, D.J., Tromp, M.N.J.L., Den Kelder, G.D.O., Van der Vijgh, W.J.F., Bast, A.,1996. A quantum chemical explanation of the antioxidant activity of flavonoid. *Chem. Res. Toxicol* . **9**, 1305–1312.
30. Kerry, N., Rice-Evans, C., 1999. Inhibition of peroxynitrite-mediated oxidation of dopamine by flavonoid and phenolic antioxidants and their structural relation ships. *J .Neurochem* . **73**, 247–253.
31. Arora, A., Nair, M.G., Strasburg, G.M., 1998. Structure-activity relation ships for antioxidant activities of a series of flavonoids in a liposomal system. *Free. Radic. Biol .Med*. **24**, 1355–1363.
32. Cholbi, M.R., Paya, M. M.J., 1990. Alcaraz, Inhibitory effects of phenolic compounds on CCl<sub>4</sub>-induced microsomal lipid peroxidation. *Experientia* **47**, 195–199.
33. Matthiesen, L., Malterud, K.E., Sund, R.B., 1997. Hydrogen bond formation as basis for radical scavenging activity: a structure-activity study of C-methylated dihydrochalcones from *Myrica gale* and structurally related acetophenones. *Free. Radic. Biol. Med*. **2**, 307–311.
34. Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Paganga, G., 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free. Radic. Biol. Med*. **20**, 933–956.
35. Gao, Z., Huang, K., Yang, X., Xu, H., 1999. Free radical scavenging and antioxidant activities of flavonoids extracted from the radix of *Scutellaria baicalensis Georgi*. *Biochim Biophys Acta* **472**, 643–650.
36. Ioku, K., Tsushida, T. Takei, Y., Nakatani, N., Terao, J., 1995. Antioxidant activity of quercetin monoglucosides in solution and phospholipid bilayers. *Biochim. Biophys .Acta* **1234**, 99–104.
37. Vennat, B., Bos, M.-A., Pourrat, A., Bastide, P. ,1994. Procyanidins from tormentil: fractionation and study of the anti-radical activity towards superoxide anion. *Biol .Pharm .Bull*. **17**, 1613–1615.
38. Arteel, G.E., Sies, H., 1999. Protection against peroxynitrite by cocoa polyphenol oligomers. *FEBS Lett* **462**, 167–170.
39. Castillo, J., Benavente-Garcia, O., Lorente, J., Alcaraz, M., Redondo, A., Ortuno, A., Del Rio, J.A., 2000. Antioxidant activity and radioprotective effects against chromosomal



- damage induced in vivo by X-rays of flavan-3-ols (procyanidins) from grape seeds (*Vitis vinifera*): comparative study versus other phenolic and organic compounds. *J. Agr. Food Chem.* **48**, 1738–1745.
40. Tabart, J., Kevers, C., Pincemail, J., Defraigne, J., Dommes, J., 2009. Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests. *Food Chemistry* **113**, 1226-1233
  41. De Gaulejac, S. C., Provost, N., Vivas, N., 1999. Comparative study of polyphenol scavenging activities assessed by different methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **47**, 425-431.
  42. Hua, L., Xiaoyu, W., Peihong, L., Yong, L., Hua, W., 2008. Comparative Study of Antioxidant Activity of Grape (*Vitis vinifera*) Seed Powder Assessed by Different Methods. *Journal of Food and Drug Analysis* **16 (6)**, 67-73.
  43. Salah, N., Miller, N.J., Paganga, G., Tijburg, L., Bolwell, G.P., Rice, E.C.A., 1995. Polyphenolic flavanols as scavengers of aqueous phase radicals and as chain breaking antioxidants. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 339-346.
  44. Blois, M.S., 1958. Antioxidant determinations by the use of stable free radical. *Nature* **181**, 1199-1200.
  45. Brand, W. W., Cuvelier, M.E., Berset, C., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie* **28**, 25-30
  46. Molyneux, P., 2004. The use of stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* **26 (2)**, 211-219.
  47. Takao, T., Kitatani, F., Watanabe, N., Yagi, A., Sakata, K., 1994. A simple screening method for antioxidants and isolation of several antioxidants produced by marine bacteria from fish and shellfish. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* **58**. 1780-1783.
  48. Shoeb, M., MacManus, S. M., Jaspars, M., Trevidu, J., Nahar, L., Kong-Thoo-Lin, P., Sarker, S. D., 2006. Americanin, a bioactive dibenzylbutyrolactone lignan, from the seeds of *Centaurea Americana*. *Tetrahedron* **62**, 11172-11177.
  49. Shoeb, M.; Celik, S.; Jaspars, M.; Kumarasamy, Y.; MacManus, S. M.; Nahar, L.; Paul, K. T.; Sarker, S. D., 2005. Montamine, a unique dimeric indole alkaloid, from the seeds of *Centaurea montana* (Asteraceae), and its *in vitro* cytotoxic activity against the CaCo2 colon cancer cells. *Tetrahedron* **61**, 9001–9006.
  50. Shoeb, M., MacManus, S. M., Kong-Thoo-Lin, P., Celik, S., Jaspars, M., Nahar, L., Sarker, S. D., 2007. Bioactivity of the extracts and isolation of lignans and a

- sesquiterpene from the aerial parts of *Centaurea pamphylica* (Asteraceae). *DARU* **15**(3), 118-122.
51. Sokol-Letowska, A., Oszmiansk, J., Wojdylo, A., 2007. Antioxydant activity of the phenolic compounds of hawthorn, pine and skullcap. *Food Chemistry* **103**, 853-859.
  52. Aganga, A.A., Mosase, K.W., 2001. Tannins content, nutritive value and dry matter digestibility of *Lonchocarpus capussa*, *Ziziphus mucropata*, *Sclerocarya birrea*, *Kirkia acuminata* and *Rhus lancea* seeds. *Animal Feed Science and Technology* **91**, 107-113.
  53. Pedneault, K., Leonhart, S., Angenol, L., Gosselin, A., Ramputh, A. et Arnason, J.T., 2001. *Influence de la culture hydroponique de quelques plantes médicinales sur la croissance et la concentration en composés secondaires des organes végétaux*. Texte de conférence, 5ème colloque sur les produits naturels d'origine végétale, Université Laval, Qc, Canada, 1-5.
  54. Organisation mondiale de la santé (OMS), 2002. *Résistance aux antimicrobiens*; Aide mémoire N°194, Révisé.
  55. Kacou-N'Douba, A., Bouzid, S. A., Guessenned, K. N., Kouassi, M., Bengue, A. A., Faye-Kette, A. Y. H., Dosso, M., 2001. Antimicrobial resistance of nasopharyngeal isolates of *Streptococcus pneumoniae* in health carriers/ report of a study in 5-year-olds in marcoroy; Abidjan Côte d'Ivoire. *Annals of Tropical Paediatrics: International child health*. **21** (2), pp. 149-154.
  56. Archibalt, L., Phillips, L., Monnet, D., Mac Govan, J. E., Tenover Jr, F. and Gaynes, R., 1997. Antimicrobial resistance in isolates from in patients and outpatients in the United States. Increasing importance of the intensive care unit. *Clinic. Infect. Dis.* **24**, 211-215
  57. Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 2002. *Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002-2005*. WHO/EDM/TRM/2002, Genève, 65 p.
  58. Oussou, K. R., Yolou, S. F., Tue Bi, B., Kanko, C., Boti, J. B., Ahibo C. and Casanova, J., 2010. Etude Chimique Bio-Guidée de L'huile Essentielle de *Ocimum Gratissimum* (Lamiaceae), *European Journal of Scientific Research* **40** (1), 50 -59.
  59. *Petit Larousse de la médecine*, 2002. Larousse, VUEF.
  60. Ergene, A., Guler, P., Tan, S., Mirici, S., Hamzaoglu, E. and Duran, A., 2006. Antimicrobial and antifungal activity of *Heracleum sphondylium subsp. artivinense*. *African Journal of Biotechnology* **5**(11), 1087-1089.

61. Wan, J., Wilcock, A., Coventry, M.J., 1998. The effect of essential oils of basil of the growth *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*. *J. Appl. Microbiol.* **84**, 152-158.
62. Gonzalez, A. G., Darias, V., Alonso, G. and Estévez, E., 1980. The Cytostatic Activity of the Chlorohyssopifolins, Chlorinated Sesquiterpene Lactones from *Centaurea*. *Planta Med.* **40**, 179-184.
63. Scalbert, A., 1991. Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry* **30**, 3875-3883.
64. Bruneton, J., 1993. *Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales*. 2<sup>ème</sup> édition, Tec et Doc (Ed.), Paris, 914p.
65. Elegami, A.A., Elnino, E.I., Eltohami, M.S., Muddathist, K., 2002. Antibacterial activity of some species of family *Combretaceae*. *Phytotherapy Research* **16**, 555-561.
66. Hatano, T., Kusuda, M., Inada, K., Ogawa, T.O., Shiota, S., Tsuchiya, T., Yoshida, T., 2005. Effects of tannins and related polyphenols on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Phytochemistry* **66**, 2047-2055.
67. Sanogo, R., Diallo, D., Diarra, S., Ekoumon, C., Bougoudougou, F., 2006. Activité antibactérienne et antalgique des deux recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et la cystite au Mali. *Mali Medical* **1**, 18-24.
68. Surveswaran, S., Cai, Z.Y., Cark, H., Sun, M., 2007. Systematic evaluation of natural phenolic antioxidant from 133 indian medicinal plants. *Food Chemistry* **102**, 938-953.

---

## *CONCLUSION GÉNÉRALE*

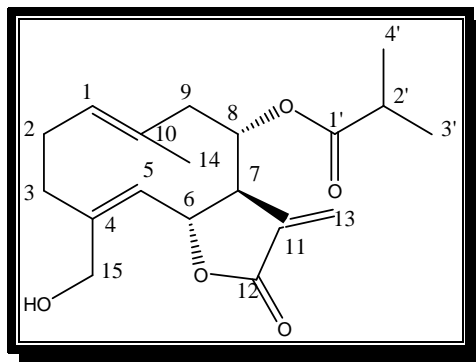
## Conclusion générale

La richesse et la diversité structurales des métabolites secondaires isolés de la famille Asteraceae, nous a contraint à limiter nos investigations au genre *Centaurea*. Ce genre est connu depuis longtemps comme source de sesquiterpènes lactones et de flavonoïdes.

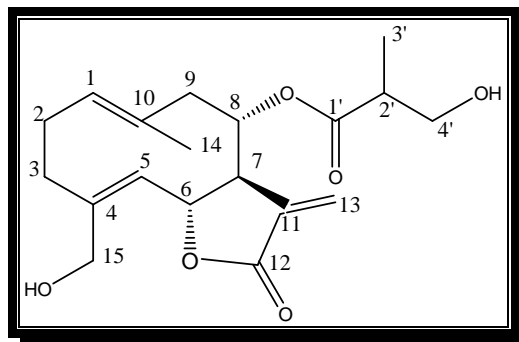
Une recherche phytochimique sur l'espèce *Centaurea melitensis* L., nous a permis de mettre en évidence, la présence de :

✚ Trois germacranolides

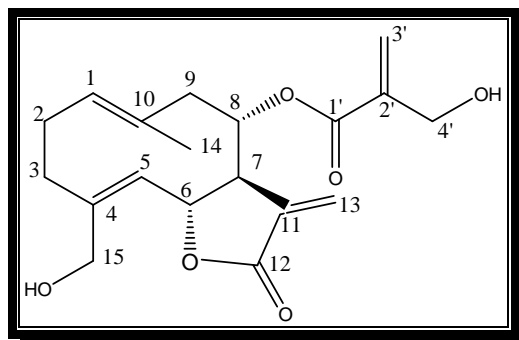
- SL-1= 8 $\alpha$ -O-Isobutyroylsalonitenolide (**Nouveau dans le genre et l'espèce**)



- SL-2= L'arctiopicrine

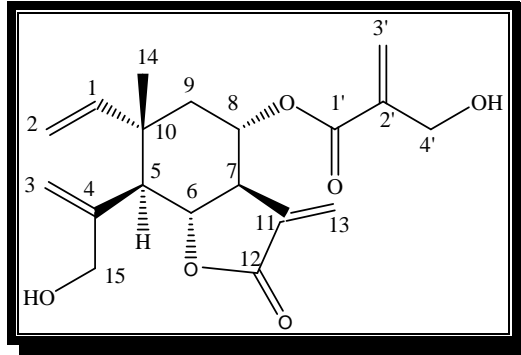


- SL-6= L'onopordopicrine

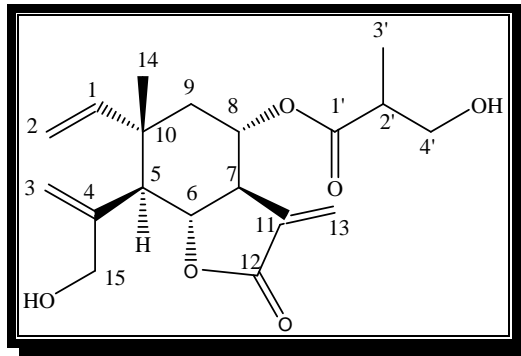


Deux élémanolides

- SL-4A= 8 $\alpha$ - (4'-hydroxyméthacrylate) dehydromelitensine  
(Nouveau dans l'espèce et rare dans le genre *Centaurea*)

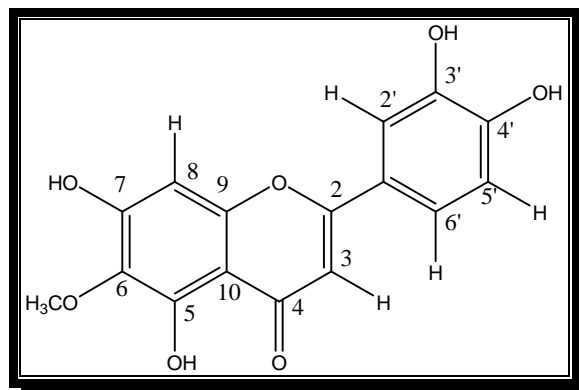


- SL-4P= 8 $\alpha$ - (4'-hydroxybutyrate) dehydromelitensine

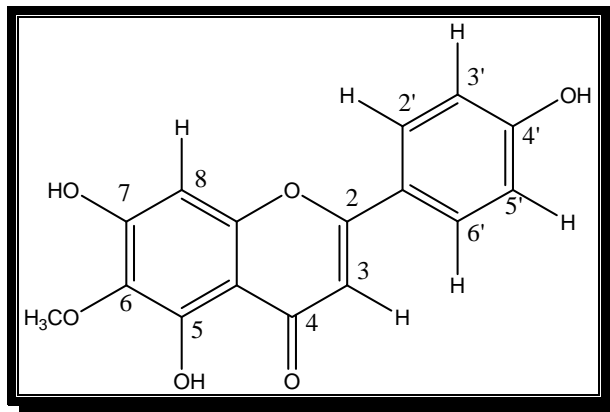


Trois flavonoïdes aglycones et un acide phénolique.

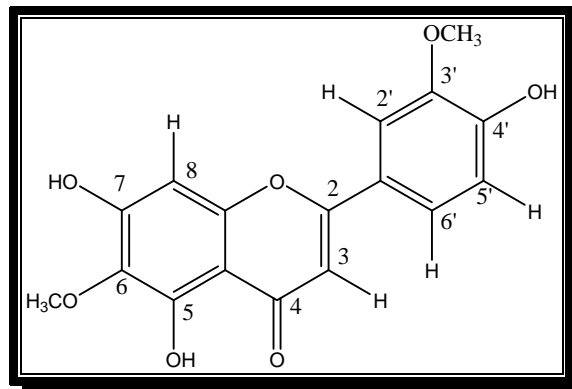
- FL-2= 5, 7,3',4'-hydroxy-6-méthoxyflavone (Népétine) (Nouveau dans l'espèce)



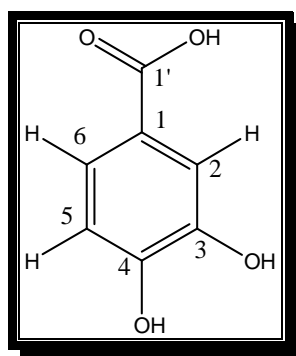
- FL-3= 5, 7,4'-hydroxy-6-méthoxyflavone (Hispiduline) (**Nouveau dans l'espèce**)



- FL-4= 4', 5, 7-trihydroxy-3', 6-diméthoxyflavone (Jacéosidine)  
(**Nouveau dans l'espèce**)



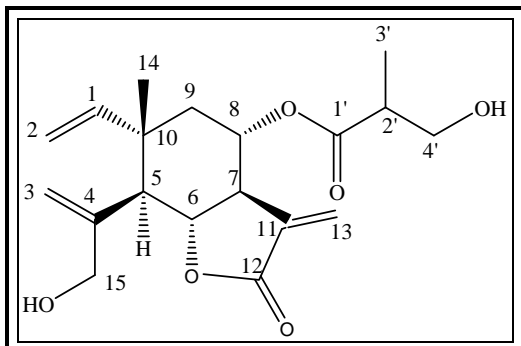
- FL-2'= L'acide-3, 4 dihydroxy benzoïque (**Nouveau dans l'espèce**)



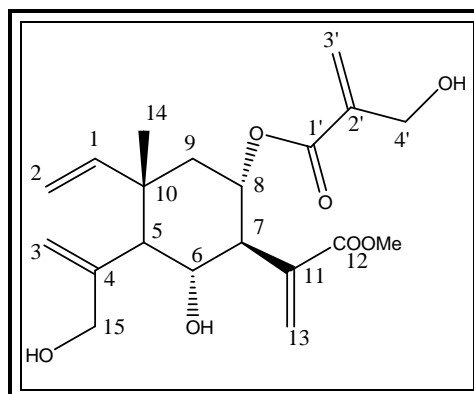
Il nous a paru nécessaire, dans la partie d'identification structurale des produits isolés de mettre en relief le pourcentage en masse de la composition chimique de mélanges identiques étudiés, en l'occurrence **SL-4** et **SL-7**, et, à ce propos, d'introduire l'approche quantitative de la RMN-<sup>1</sup>H, qui permet de confirmer et enrichir nos informations.

Nous vivons une époque marquée par la recherche d'une vie plus saine et par une certaine quête de valeurs essentielles.

➤ **Le mélange SL-4 : 39,71% de SL-4P et 60,29% de SL-4A' en masse**

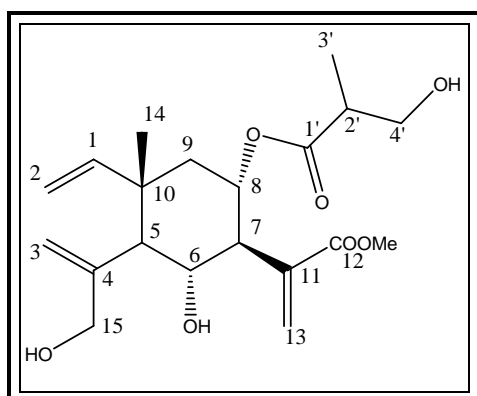


Structure de SL-4P

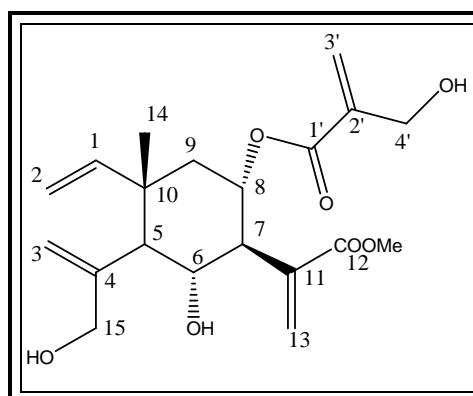


Structure de SL-4A'

➤ **Le mélange SL-7 : 34,96% de SL-7P' et 65,04% de SL-7A' en masse**



Structure de SL-7P'



Structure de SL-7A' (SL-4A')

Parallèlement, à l'étude spectroscopique détaillée des composés cités plus haut, l'extrait méthanolique de l'espèce Algérienne *Centaurea melitensis* L. a montré une activité antioxydante considérable avec une  $IC_{50} = 22,8 \times 10^{-2}$  mg/ml et une activité antibactérienne significative contre la bactérie *Acinetobacter* (sp).



## Résumé

Au cours de ce travail nous nous sommes intéressés aux principaux métabolites secondaires de la famille des astéracées (composées). Notre intérêt a porté sur les lactones sesquiterpéniques et les flavonoïdes issus du genre *Centaurea*. Ainsi une étude approfondie a permis d'établir un recueil de structures connues et nouvelles de ces molécules.

Cette étude allant de 2005 jusqu'à fin 2012 a montré que 51 espèces ont été investiguées. Ces travaux mentionnent 174 structures diversement variées, pour les deux types de ces métabolites avec une prédominance remarquée pour le squelette sesquiterpénique dont la majeure partie est de type guaiane.

Notre expérimentation phytochimique et biologique sur la plante algérienne *Centaurea melitensis* L., a permis d'une part l'isolement de quatorze (14) molécules (seulement onze (11) ont été identifiées) : Trois germacranolides à l'état pur, un mélange de deux élémanolides, un autre mélange de deux élémanes, trois flavonoïdes aglycones et un acide phénolique.

D'autre part de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de cette espèce.

La détermination de structures a été réalisée par la combinaison des données des méthodes spectrométriques et spectroscopiques modernes (EIMS, UV, RMN-1D, 2-D).

**Mots clés :** Astéracées ; *Centaurea melitensis* L. ; flavonoïdes ; sesquiterpènes lactones ; activité antioxydante.

## **Abstract**

In this work we have been interested by secondary metabolites of the Asteraceae family. Our interest has been on the sesquiterpene lactones and flavonoids descended from the genus *Centaurea*. Thus a deep biographic study has established a collection of familiar and new structures of these molecules.

This study from 2005 until the end of 2012 showed that 51 species have been investigated. These works mention 174 structures variously varied for both of these metabolites, with a predominance noticed for the sesquiterpene skeleton which the majorities are guainolides.

Our phytochemical and biological experimentation on the Algerian species *Centaurea melitensis* L. has on one hand highlight the isolation of fourteen (14) molecules (only eleven (11) have been identified): Three germacranolides in the pure state, a mixture of two elemanolides, another mixture of two elemanes, three flavonoid aglycones and a phenolic acid.

On the other hand the working up of the antioxidant of the methanolic extract of our plant.

The determination of structures has been realised by combining the results of spectrometric and spectroscopic methods (EIMS, UV, NMR-1D, 2-D).

**Key words:** Asteraceae; *Centaurea melitensis* L.; flavonoids; sesquiterpene lactones; antioxidant activity.

## الملخص

خلال هذا العمل ركزنا على الأيضات الثانوية للعائلة المركبة. وقد انصب اهتمامنا بصفة خاصة على المركبات اللاكتونية و الفلافونيدات المنحدرة من جنس السنثوريا. حيث قمنا بدراسة مرجعية وافية سمحت لنا بالتعرف على مجموعة من الهياكل المألوفة و الجديدة من هذه الجزيئات.

هذه الدراسة الممتدة من عام 2005 إلى نهاية 2012 بينت أن 51 جنس من السنثوريا قد تم دراستها حيث ذكرت هذه الأعمال أن 174 بنية مختلفة و متنوعة قد فصلت لكلا هذه الأيضات مع وجود غالبية واضحة للهيكل السييسكوتربيني والذي معظمه من نوع .Guaiane

فيما يخص تجربتنا الفيتو كيميائية على النبتة الجزائرية *Centaurea melitensis* فقد سمحت هذه الدراسة، بعزل أربعة عشر مركبا حيث تم التعرف على احد عشر من بينها: سبع لاكتونات سييسكويتربينية ثلاث منها في الحالة النقية، ثلاث فلافونيدات و حمض فينولي .

ومن جهة أخرى أظهرت التحاليل البيولوجية أن المستخلص الميثانولي لهذه النبتة له فعالية معتبرة مضادة للأكسدة.

إن تحديد الصيغ البنوية للمركبات السابقة الذكر قد تم بالاعتماد على الطرق التحليلية الطيفية الحديثة:

(EIMS, UV, RMN-1D, 2-D) .

الكلمات المفتاح : العائلة المركبة، *Centaurea melitensis*، الفلافونيدات،

السييسكويتربينات اللاكتونية، الفعالية المضادة للأكسدة.