

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Constantine 1
FACULTE DES SCIENCES EXACTES
DEPARTEMENT DE CHIMIE

N° d'ordre :

Série :

THESE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de

Doctorat en Sciences en Chimie organique

Option : Phytochimie

Thème

**Recherche et Détermination Structurale de Métabolites
Secondaires d'espèces du Genre *Centaurea* - Activité
Cytotoxique.**

Par :

KOLLI El-hadj

Sous la direction du Professeur :

BENAYACHE Samir

Devant le jury :

Mme. BENAYACHE Fadila	Pr. Univ. Constantine 1	Présidente
Mr. BENAYACHE Samir	Pr. Univ. Constantine 1	Rapporteur
Mr. MESLI Abderrazzak	Pr. Univ. Djillali Liabes Sidi Bel Abbes	Examineur
Mr. BENKHALED Mohamed	Pr. Univ. El Hadj Lakhdar Batna	Examineur
Mme. BOUMAZA Ouahiba	Pr. Univ. Constantine 1	Examinatrice
Mme. BENYAHIA Samira	M. C. A E. P. S. T Annaba	Examinatrice

Juin 2013

DÉDICACES

"اللهم أنت ربي لا إله إلا أنت خلقتني و أنا عبدك وأنا على
عمدك وعمدك ما استطعت ، أحموك بك من شر ما صنعت ، أبوء
لك بضعفك على و أبوء لك بذنبي فاغفر لي فإنه لا يغفر
الذنوب إلا أنت"

Je dédie ce modeste travail :

A mes très chers parents que DIEU les protège.

A mes frères et sœurs.

A toute la famille.

A tous mes amis et collègues.

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier mon directeur de thèse, Monsieur **Samir BENAYACHE**, professeur à l'université Mentouri de Constantine pour m'avoir accueilli dans son laboratoire, pour sa confiance, sa patience, sa rigueur, sa disponibilité, ses conseils et surtout pour la formation scientifique qu'il m'a apportée pour mener à bien ce travail.

J'adresse mes sincères remerciements à Madame **Fadila BENAYACHE**, professeur à l'université Mentouri de Constantine pour l'honneur qu'elle nous a fait d'accepter de présider le jury de cette thèse, pour ses efforts, son soutien, sa disponibilité, sa compétence, ses conseils et pour toute l'attention qu'elle m'a portée notamment en ce qui concerne la partie spectroscopique.

Je suis également très honoré de la présence de:

- Monsieur **Mesli Abderrezzak**, professeur à l'université Djillali Liabes de Sidi Bel Abbes.
- Monsieur **Benkhaled Mohammed**, professeur à l'université hadj Lakhdar de Batna.
- Madame **Benyahia Samira**, Maitre de conférences à l'université Badji Mokhtar d'Annaba.
- Madame **Boumaza Ouahiba**, Maitre de conférences à l'université Mentouri de Constantine.

En acceptant de juger ce travail, qu'ils trouvent ici le témoignage de ma reconnaissance et de ma respectueuse gratitude.

J'exprime ma profonde reconnaissance et mes vifs remerciements à **Don Jaime Bermejo**, professeur à l'université de la Laguna Tenerife, Espagne, de m'avoir accueilli dans son laboratoire durant mon séjour, pour ses précieux conseils, sa disponibilité et sa gentillesse.

Je remercie chaleureusement Monsieur le docteur **Francisco León** à l'université de la Laguna, pour son soutien, sa grande générosité, sa disponibilité tout au long ma période de stage et pour sa contribution à la réussite de ce travail.

Mes remerciements vont aussi aux autres membres de l'équipe de l'université de la Laguna : **Inaiki Ibrouard, Sara Estévez, José Quintana, Francisco Estévez** pour leurs contributions, leurs soutiens, leurs aides et pour la réalisation des tests biologiques.

Mes vifs remerciements s'adresse également à Monsieur **Haddour Naoufel**, Maître de conférences, à l'université de Lyon, pour sa contribution très efficace dans ce travail, son aide et pour ses précieux conseils.

Mes remerciements vont aussi à l'université du **8 Mai 1945- Guelma** et particulièrement au département de Sciences de la matière et à tous les enseignants de ce département pour leurs soutiens et leurs aides.

Je remercie tout particulièrement mes collègues du laboratoire : **Mechehoud, Bouhroum, Dendougui, Beghidja, Fatima, Fatiha, Sofiane, Wahiba, Samir, Leila, Chawki, Amer, Rachid, Manel, Kaouter, Souad, Amel, Tiba, Souada, Zahia, Sihem, Fayrouz, Omar, Ayoub, Abderrahmane, Nawel, Massika...** Ainsi qu'aux Membres du laboratoire de Phytochimie et Analyses Physico-Chimiques et Biologiques : **Benthamene, Seghiri, Kerkatou, Ratiba, Hichem, Sabrina, Z. Hanene., Leila, B. Hanane, A. Hanene** ...pour leurs aides, soutiens et leurs précieux conseils.

Je voudrai également remercier tous mes collègues de promotion pour leur disponibilité, leur aide précieuse, leur amitié. Je cite en particulier : **Allaoua, Adel, Ammar, Samir, Cherifa, Sana et Saida**, ainsi que mes autres collègues de travail que ce soit à l'université de Constantine ou de Guelma: **Azzedine, Malawi, Sofiane, Chaabane, Abdelkader, Mahdi, Raouf, Abdelmalek, Halima, Soulef, Hadjira, Souheila...**

Enfin, je remercie tous mes amis avec qui j'ai passé de bons moments et qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail par un soutien moral ou matériel je cite en particulier: **Barour Moussa, Abdelmalek, Mounir, Rabea, Mokhtar, Kadour, Ziane, Abbas, Farid, B. Farid, Zaoui, Khaled, Chakib, Verbatim...**

A tous ceux, que je n'ai pas nommé, et qui de près ou de loin ont contribué à l'élaboration de ce travail.

ABREVIATIONS :

UV : Ultra-Violet

SMIE : Spectrométrie de Masse en mode Impact Electronique

ESI : Ionisation par électrospray

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

¹H: Proton

¹³C: Carbone 13

DEPT: Distortionless Enhancement by Polarization Transfert

COSY: Correlated Spectroscopy

NOESY: Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy

ROESY: Rotating Fram Overhauser Effect Spectroscopy

HMBC: Heteronuclear Multiple Bonding Connectivity

H₂QC: Heteronuclear Single Quantum Correlation

δ (ppm) : Déplacement chimique en partie par million

J (Hz) : Constante de couplage exprimé en hertz

s : singulet

d : doublet

dd : doublet de doublets

t : triplet

tt : triplet de triplets

q : quadruplet

m : multiplet

H₂O : Eau

AcOH : acide acétique

MeOH: Methanol

EtOH: Ethanol

H₂SO₄ : Acide sulfurique

AlCl₃ : Chlorure d'Aluminium

NaOH : Hydroxyle de Sodium

NaOAc : Acétate de Sodium

H₃BO₃ : Acide borique

HCl : Acide chlorhydrique

AcOEt : Acétate d'éthyle

CH₂Cl₂ : Dichloromethane

CHCl₃ : Chloroforme

CH₃COCH₃ : Acétone

CDCl₃ : Chloroforme deutéré

CD₃OD : Méthanol deutéré

D₂O : Eau deutérée

CCM : Chromatographie sur Couche Mince

IR : Infra-Rouge

R_f : Facteur de retardation.

m/z : Masse / charge électrique

IC₅₀ : Concentration Inhibitrice de 50%

ATP : adénosine Triphosphate

NADP : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate

NADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate réduite

°C : Température en degrés Celsius

g : gramme

Hz : Hertz

MHz : Megahertz

mg : Milligramme

mn: Minute

ml : millilitre

µg : microgramme

µM : micromolaire

% : Pourcentage

V : volume

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE	1
Références bibliographiques	3

PARTIE SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : Généralités sur les métabolites secondaires

I.1. Introduction.....	4
I.2. Les terpénoïdes	5
I.3. Classification des terpènes.....	5
I.3.1. Les monoterpènes.....	5
I.3.1.1. les monoterpènes acycliques	6
I.3.1.2. les monoterpènes monocycliques et bicycliques	7
I.3.2. les sesquiterpènes.....	8
I.3.2.1. Les sesquiterpènes lactones	8
a. Germacranolides.....	9
b. Elémanolides	10
c. Guaianolides	11
d. Eudesmanolides.....	13
I.3.2.1.1. Intérêt thérapeutique des sesquiterpènes lactones	15
I.4. La biosynthèse des terpénoïdes	15
I.4.1. La biosynthèse des sesquiterpènes lactones	20
I.5. Les flavonoïdes	21
I.5.1. Définition, répartition et classification	21
I.5.2. Biosynthèse des flavonoïdes.....	23
I.5.3. Intérêt thérapeutique des flavonoïdes	25
I.5. Conclusion	25
Références bibliographiques	27

Chapitre II : Les métabolites secondaires les plus fréquents du genre *Centaurea* et travaux effectués sur l'espèce *Centaurea omphalotricha* publiés dans la littérature.

II.1. Introduction	30
II.2. Caractéristiques morphologiques des astéracées.....	30
II.3. Le genre <i>Centaurea</i>	31
II.3.1. Introduction	31
II.3.2. Description botanique du genre <i>Centaurea</i>	31
II.3.3. Les propriétés biologiques et pharmacologiques des Centaurées....	32
II.3.4. Etude bibliographique	34
II.3.5. Les métabolites secondaires les plus courants du genre <i>Centaurea</i>	35
II.3.5.1. Les sesquiterpènes lactones.....	36
II.3.5.2. Les flavonoïdes.....	52
II.3.5.3. Les Lignanes.....	59
II.3.5.4. Les Alcaloïdes	62
II.3.5.5. Triterpènes et stéroïdes.....	64
II.3.6. activités biologiques de quelques composés isolés des espèces du genre <i>Centaurea</i>	65
II.4. Conclusion.....	66
Références bibliographiques	67

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre III : Etude phytochimique de l'espèce *Centaurea Omphalotricha*

III.1. Description botanique	71
III.2. Place dans la systématique.....	71
III.3. Matériel végétal.....	71
III.4. Macération.....	71
III.5. Séparation et purification des produits	74
III.5.1. Etude de l'extrait chloroformique (fleurs & feuilles)	74

III.5.1.1. Etude des fractions F13, F14, F15, F16, F21 et F27.....	75
III.5.1.1.A. Etude de la fraction F14.....	75
III.5.1.1.B. Etude de la fraction F27	76
III.5.1.2. Etude de la fraction F22 (22-26).....	77
III.5.1.2.A. Etude de la sous- fraction S4	78
III.5.1.2.A.1. Etude de la sous- fraction SR6.....	79
III.5.1.2.A.2. Etude de la sous- fraction SR9.....	79
III.5.1.2.A.3. Etude de la sous- fraction SR10.....	80
III.5.1.2.A.4. Etude de la sous- fraction SR14.....	80
III.5.1.3. Etude de la fraction F28 (28-29).....	80
III.5.1.3.A. Etude de la sous- fraction Q8.....	81
III.5.1.3.B. Etude de la sous- fraction Q9.....	82
III.5.1.3.C. Etude de la sous- fraction Q14.....	83
III.5.1.3.D. Etude de la sous- fraction Q16.....	83
III.5.2. Etude de l'extrait Acétate d'éthyle (feuilles).....	83
III.5.2.A. Etude de la fraction A7	84
III.5.2.B. Etude de la fraction M (A8-A12)	84
III.5.2.B.1. Etude de la sous-fraction M5	85
III.5.2.B.2. Etude de la sous-fraction M7	86
III.5.2.B.3. Etude de la sous-fraction M9	86

Chapitre IV : Résultats et Discussions

IV. 1. Identification des produits isolés de l'espèce *C. Omphalotricha*.

IV.1. 1. Elucidation structurale du composé 1	90
IV.1. 2. Elucidation structurale du composé 2	100
IV.1. 3. Elucidation structurale du composé 3	106
IV.1. 4. Elucidation structurale du composé 4	118
IV.1. 5. Elucidation structurale du composé 5	128

IV.1. 6. Elucidation structurale du composé 6	136
IV.1. 7. Elucidation structurale du composé 7	141
IV.1. 8. Elucidation structurale du composé 8	150
IV.1. 9. Elucidation structurale du composé 9	155
IV.1. 10. Elucidation structurale du composé 10	158
IV.1. 11. Elucidation structurale du composé 11	164
IV.1. 12. Elucidation structurale du composé 12	170
IV.1. 13. Elucidation structurale du composé 13	175
IV.1. 14. Elucidation structurale du composé 14	180
IV.1. 15. Elucidation structurale du composé 15	185
IV.1. 16. Elucidation structurale du composé 16	186
IV.1. 17. Elucidation structurale du composé 17	189
Références bibliographiques	191

Chapitre V : Activité cytotoxique

V.1. Introduction	192
V.2. Culture cellulaire et les essais cytotoxiques.....	193
V.3. Résultats et discussion.....	193
V.4. Conclusion.....	195
Références bibliographiques	196
Conclusion générale	197

Introduction
générale

Introduction générale

Depuis l'apparition de l'homme sur terre et son contact accidentel avec la nature et sa lutte pour y survivre, l'être humain s'efforce d'essayer d'apprendre ses secrets. Ses motivations sont de satisfaire ses besoins vitaux comme manger, boire, se vêtir mais aussi ses besoins médicaux. Ainsi, il a trouvé dans cet espace le seul refuge pour y répondre. Cependant, parmi les obstacles rencontrés à cette époque, il y a celui de savoir comment exploiter les choses existantes autour de lui pour faire face aux maladies.

L'homme a donc trouvé chez les plantes la seule manière de traiter certaines maladies : par des essais ou par leur utilisation à l'état naturel que ce soit par le goût ou à l'aide d'animaux possédant des caractéristiques instinctives envers ces plantes. Ce qui lui a fait prendre l'avantage de ces propriétés et essayer tout doucement de les appliquer à lui-même jusqu'à l'apparition des premières recherches sur les plantes qui a été en Egypte, au Moyen-Orient, en Inde et en Chine environ 3000 avant JC où l'apparition du premier recueil sur les plantes médicinales, le papyrus égyptien Ebers, que l'on fait remonter à 1500 avant JC [1,2].

Au cours du XVIIIe siècle il est apparu un grand développement dans la chimie végétale, où ce qui est connu comme l'extraction des composés actifs à partir de diverses plantes médicinales différentes a débuté. Actuellement de nombreux médicaments existants d'origine végétale sont utilisés dans la médecine moderne comme la tubocurarine, le relaxant musculaire le plus puissant, est dérivée du curare (*Chondrodendron tomentosum*) et la morphine, l'analgésique le plus puissant, est tirée du pavot à opium (*Papaver somniferum*). D'autres anesthésiants proviennent de plantes : la cocaïne, par exemple, est tirée du coca (*Erythroxylum coca*), la quinine (dérivée du genre *Cinchona*), qui est employée contre la malaria, sans la digoxine (du genre *Digitalis*), qui soigne le cœur, ou encore l'éphédrine (du genre *Ephedra*), que l'on retrouve dans de nombreuses prescriptions contre les rhumes [1].

Dans la médecine moderne la recherche des composés naturels, et en particulier, ceux qui sont biologiquement actifs à partir de divers types de plantes deviennent l'un des moteurs essentielles de la recherche dans ce domaine pour faire face à certaines maladies graves ou mortelles qui sont difficiles à traiter (le sida, le cancer...) par les médicaments disponibles sur le marché.

Parmi les plantes en cours d'étude dans notre laboratoire, nous trouvons en particulier les plantes de la famille des composées et notamment le genre *Centaurea*.

C'est l'une des plantes les plus répandues dans le monde, il y en a environ 25 mille espèces connues [3], elle est présente sur le territoire algérien, en Europe méridionale, sur le bassin méditerranéen, à l'ouest de l'Asie et sur le continent américain [4,5]. Beaucoup de ces types de plantes sont utilisées en médecine traditionnelle et ont montré plusieurs activités différentes, parmi lesquelles : antipelluculaire, antirhumatismale, anti-inflammatoire, diurétique, antipyrétique, cytotoxique et antibactériennes [6].

Ces différentes activités pourraient être dues aux nombreux composés d'intérêt biologique qu'elles contiennent tels que les flavonoïdes, les lactones sesquiterpéniques, les polyphénols, les alcaloïdes...etc.

Notre travail s'inscrit dans le cadre de l'étude phytochimique de l'une des espèces de ce genre, *Centaurea Omphalotricha*, ainsi que l'activité cytotoxique de quelques composés isolés.

Ce travail est une continuation des travaux réalisés auparavant sur ce genre de plantes, qui sont connues pour leurs accumulations des métabolites secondaires de type lactones sesquiterpéniques et flavoniques, connus pour leurs activités biologiques diverses notamment, l'activité cytotoxique et antioxydante [7-10].

La *Centaurea Omphalotricha* est une plante endémique de l'Algérie et de la Tunisie qui a subi peu d'études phytochimiques et pharmacologiques antérieures. Par conséquent, cette étude a montré sa richesse en dérivés polyphénoliques et terpéniques ainsi qu'elle possède des activités anti-oxydante et anti-bactérienne remarquables [11].

Ce manuscrit est reparti en cinq chapitres :

Dans le premier, nous présentons les métabolites secondaires de type terpénoïdes notamment les composés sesquiterpéniques ainsi que les flavonoïdes. Dans lequel nous exposons la définition, la classification, la biosynthèse et l'intérêt biologique de chaque classe.

Le second chapitre est consacré à une présentation de la famille des composées, du genre *Centaurea* ainsi qu'une étude bibliographique approfondie sur l'espèce faisant l'objet de ce travail. Nous développons également les métabolites secondaires les plus connus et l'utilisation thérapeutique de ce genre.

Le troisième chapitre renferme toutes les étapes menant aux produits purs, l'extraction, la séparation sur colonne et sur plaques CCM et purification.

Le quatrième chapitre concerne l'identification structurale des composés isolés en utilisant tout l'arsenal des méthodes physico chimiques d'analyse et des méthodes spectroscopiques modernes (UV-visible, RMN mono et bidimensionnelle (^1H , ^{13}C , DEPT, COSY, HSQC, HMBC, NOESY et ROESY) et de spectrométrie de masse à haute résolution ESI(+).

Le cinquième chapitre est consacré à l'étude de l'activité biologique anti cancer de quelques composés sesquiterpéniques isolés et nous terminons notre travail par une conclusion générale.

Références bibliographiques :

- [1] Paul. Iserin, Michel Masson et Jean-Pierre Restellini, **2007**, Larousse des plantes médicinales, 2ème édition.
- [2] Amritpal Singh Saroya, **2011**, Herbalism, Phytochemistry and Ethnopharmacology, Science Publishers.
- [3] Guignard. J. L, **1994**, Abrégé botanique, 9ème édition, 203-204.
- [4] Quezel, P. Et Santa, S, **1963**, Nouvelle Flore D'Algérie Et Des Régions Désertiques Méridionales, Tome II, CNRS, Paris.
- [5] Mabberley, D.J, **1987**, *The plant book*, Cambridge University Press, 110.
- [6] Y. Bülent Köse; G. İşcan; B. Demirci; K.H.C. Başer et S. Çelik, **2007**, *Fitoterapia*, 78, 253–254.
- [7] Seghiri, R.; Boumaza, O.; Mekkiou, R.; Benayache, S.; Mosset, P.; Quintana, J.; Estévez, F.; León, F.; Bermejo, J.; Benayache, F, **2009**, *Phytochem. Lett*, 2, 114.
- [8] Bentamene, A.; Benayache, S.; Creche, J.; Petit, G.; Bermejo-Barrera, J.; León, F.; Benayache, F, **2005**, *Biochem. Syst. Ecol*, 33, 1061.
- [9] Flamini, G.; Antognoli, E.; Morelli, I, **2001**, *Phytochemistry*, 57, 559.
- [10] Akram Ghantous, A.; Gali-Muhtasib, H.; Vuorela, H.; Saliba, N. A.; Darwiche, N, **2010**, *Drug Discovery Today*, 15, 668.
- [11] Mouffok Soumia, Haba Hamada, Catherine Lavaud, Christophe Long et Benkhaled Mohammed, **2012**, *Rec. Nat. Prod.* 6 (3), 292-295.

Chapitre I :
Généralités sur les
métabolites secondaires

I. Généralités sur les métabolites secondaires :

I.1. Introduction :

Les produits naturels sont des composés organiques qui sont formés par les organismes vivants, l'élucidation de leurs structures et leur chimie de synthèse et biosynthèse sont les principaux domaines de la chimie organique.

Les composés naturels peuvent être subdivisés en trois grandes catégories :

- premièrement les composés qui se produisent dans toutes les cellules et jouent un rôle important dans le métabolisme et la reproduction des cellules. Ces composés comprennent les acides nucléiques et les acides aminés communs et les sucres. Ils sont connus sous le nom de métabolites primaires.
- Deuxièmement, les composés à haute masse moléculaire (polymères) comme la cellulose, les lignines et les protéines qui forment les structures cellulaires.
- Enfin, les composés qui sont caractéristiques d'une gamme limitée d'espèces, ce sont les métabolites secondaires.

La plupart des métabolites primaires exercent leur effet biologique à l'intérieur de la cellule ou de l'organisme qui est responsable de leur production. Par ailleurs les métabolites secondaires ont souvent attiré l'attention en raison de leur effet biologique sur d'autres organismes [1].

La Chimiotaxonomie fournit une autre raison d'examiner les constituants des plantes. Des recherches phytochimiques peuvent révéler des produits naturels qui sont des marqueurs botaniques. Les constituants biologiquement actifs des plantes médicinales, commerciales et toxiques ont été étudiés tout au long du développement de la chimie organique. Beaucoup de ces composés sont des métabolites secondaires. Il a été estimé que plus de 40% des médicaments ont leurs origines dans ces produits naturels. De nombreuses études réalisées sur des composés bioactifs ont conduit à de nouveaux médicaments, comme par exemple le taxol qui est utilisé pour le traitement de diverses maladies cancéreuses.

Les produits naturels ont souvent un rôle écologique dans la régulation des interactions entre les plantes, les micro-organismes, les insectes et les animaux. Ils peuvent être aussi des substances défensives, attractives et des phéromones.

De nombreux métabolites dits secondaires se sont avérés jouer des rôles essentiels dans les relations entre les plantes et leur environnement : plusieurs composés phénoliques participent à la filtration des UV, les pigments floraux sont essentiels aux processus de pollinisation, la présence de phytoanticipines détermine parfois la résistance à des pathogènes [1, 2].

Ils se classent en trois grands groupes :

- Les phénols : tanins, lignine, mélanine, flavonoïdes.
- Les composés azotés : alcaloïdes, bétalaïne, hétérosides cyanogènes et glucosinolates.

- Les terpènes : hémiterpènes (C₅), monoterpènes (C₁₀), sésquiterpènes (C₁₅), diterpènes (C₂₀), triterpènes (C₃₀), tétraterpènes (C₄₀) et polyterpènes (plus que C₄₀).

I. 2. Les terpénoïdes

Les terpénoïdes ou isoprénoïdes constituent une famille importante de molécules naturelles, ce sont des composés résultant de la condensation d'unité de base à cinq carbones de type isoprène (**figure. I.1**) ayant comme formule brute (C₅H₈)_n.

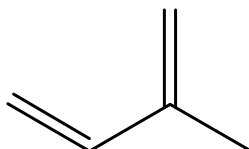


Figure I.1 : Isoprène

Les isoprénoïdes regroupent à la fois des molécules de faible poids moléculaires, volatiles et composent les principaux constituants d'huiles essentielles, et des molécules hautement polymérisées comme par exemple le caoutchouc [2,3].

Les terpénoïdes sont présents chez tous les organismes vivants et possèdent des structures, des propriétés physiques et chimiques, et des activités biologiques très diverses. Plus de 22.000 composés isopréniques ont été répertoriés mais seul un petit pourcentage d'entre eux a été étudié dans la perspective d'évaluer leurs rôles fonctionnels [4].

I. 3. Classification des terpènes

Le terme terpène tire son origine du mot térébenthine. En 1818, la térébenthine a été découverte comme étant un mélange d'hydrocarbure avec un ratio carbone-hydrogène de 5 :8. Depuis, plusieurs huiles essentielles ont été identifiées possédant le même rapport carbone-hydrogène et classifiées parmi les familles terpéniques.

Le chimiste Ruzicka proposa une nomenclature pour les dérivés isopréniques en fonction du nombre d'unités d'isoprène qui les constitue [5,6].

Le classement des terpénoïdes se fait selon le nombre d'entités isopréniques engagées dans leur formation. On distingue ainsi les hémiterpènes (C₅), les monoterpènes (C₁₀), les sesquiterpènes (C₁₅), les diterpènes (C₂₀), les sesterterpènes (C₂₅), les triterpènes (C₃₀), les tétraterpènes (C₄₀) et les polyterpènes (C_{5n}).

I. 3. 1. Les monoterpènes

Tous les monoterpènes sont dérivés du même précurseur : le diphosphate de géranyle (GPP) (**figure I.2**) [7]. Ce sont les constituants les plus simples de la série des terpènes [8]. Ils forment avec les autres composés, les sesquiterpènes et les diterpènes, les principaux constituants des huiles essentielles [9].

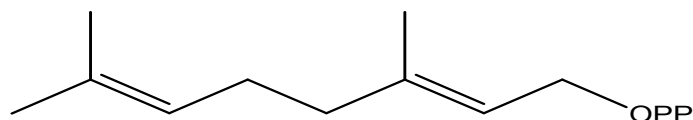


Figure I.2 : diphosphate de géranyle (GPP)

En fonction de leur voie biosynthétique, les monoterpènes sont subdivisés en trois groupes : acycliques, monocycliques et bicycliques.

Trois squelettes de base décrivent chacune d'entre elles : le diméthyle-2,6-octane pour les monoterpènes acycliques, le para menthane pour les monoterpènes cycliques, et le carane pour les monoterpènes bicycliques (**figure I.3**).

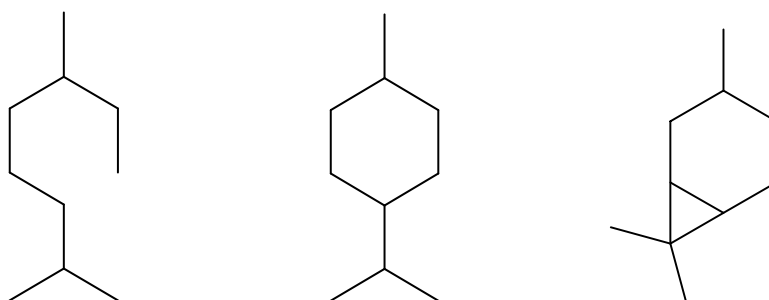


Figure I.3 : 2, 6-diméthyl-octane

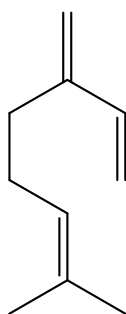
Para-menthane

Carane

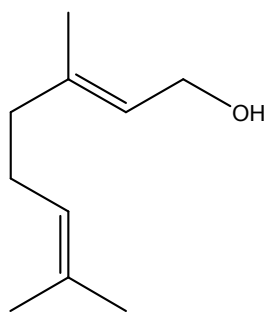
I. 3. 1. 1. Les monoterpènes acycliques

Les monoterpènes acycliques qui dérivent du squelette de base, le 2, 6-diméthyl-octane, peuvent être soit saturés ou non saturés soit fonctionnalisés. Leur structure porte une fonction alcool, aldéhyde, cétone, ester ou éther.

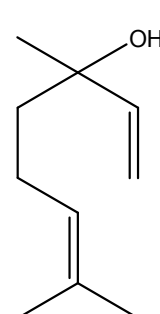
Parmi ces composés, on cite (**figure I.4**) :



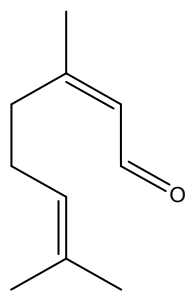
Myrcène



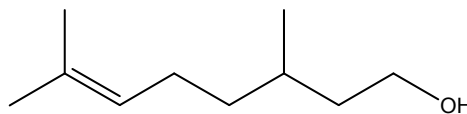
Géraniol



Linalool



Néral



Citronellol

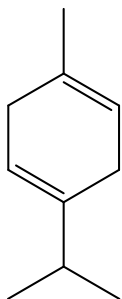
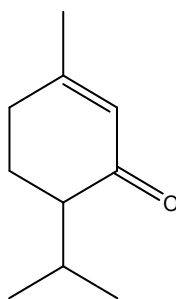
Figure I.4 : Quelques composés monoterpéniques acycliques.

I. 3 .1. 2. Les monoterpènes monocycliques et bicycliques

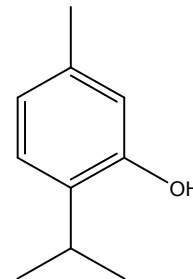
Ce type de composés qui dérivent des squelettes de base, le para-menthane pour les monocycliques ou le carane pour les bicycliques, peuvent aussi être soit saturés ou non saturés, soit renfermer dans leur structures des groupements fonctionnels tels que des fonctions alcool, aldéhyde, cétone...etc.

Parmi ces composés on trouve (**figure I.5**) :

- Les monoterpènes monocycliques

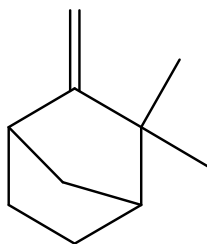
 γ -Terpinene

Pipéritone

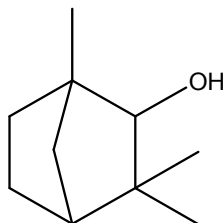


Thymol

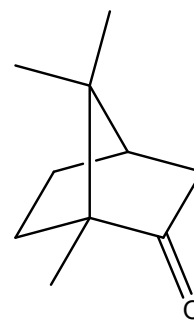
- Les monoterpènes bicyclique



Camphène



Fenchol



Camphre

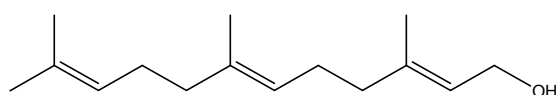
Figure I.5 : Quelques composés monoterpéniques monocycliques et bicycliques

I. 3. 2. Les sesquiterpènes

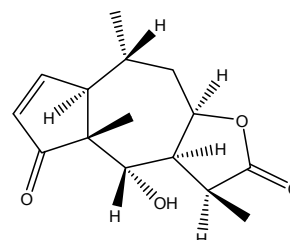
Les sesquiterpènes sont une classe de la famille des terpènes, elles sont constituées par 15 atomes de carbones de formule moléculaire $C_{15}H_{24}$ (condensation de 3 unités isoprènes), elles peuvent aussi être soit acycliques, monocycliques, bicycliques ou tricycliques sous forme d'hydrocarbures ou sous forme d'hydrocarbures oxygénés comme : les alcools, les cétones, les aldéhydes...etc.

Outre ces composés, on peut également trouver chez les plantes d'autres produits tels que les lactones sesquiterpéniques. Ce genre de produits résulte de l'oxydation d'un groupe méthyle du groupe isopropyle attaché au squelette de base sesquiterpénique pour engendrer le groupe lactone [10].

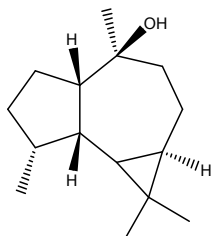
Quelques composés sesquiterpéniques sont représentés dans la **figure I.6**.



Farnesol



Dihydrohénéline



Viridiflorol

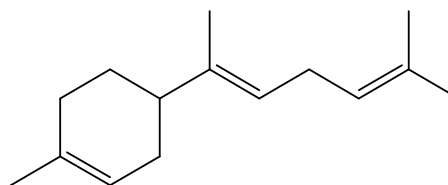
 α -bisabolène

Figure I.6 : Quelques composés sesquiterpéniques

I. 3. 2. 1. Les sesquiterpènes lactones:

Les lactones sesquiterpéniques constituent un groupe très important de produits naturels largement répandus notamment chez les asteracées, plus de 3000 structures ont été identifiés [11].

Le précurseur universel des sesquiterpènes lactones est le farnésyle diphosphate (FPP) qui résulte de la condensation de type tête-à-queue entre l'isopentényle Pyrophosphate (IPP) et le géranyle diphosphate (GPP).

La cyclisation du farnésyl pyrophosphate donne le germacradiène qui est le squelette de base de tous les types de lactones sesquiterpéniques.

Selon la structure des lactones sesquiterpéniques, on peut les subdiviser en plusieurs types : germacranolide, élémanolide, eudesmanolide, éremophilanolide, guaianolide, pseudoguaianolide...etc. (**figure I.7**).

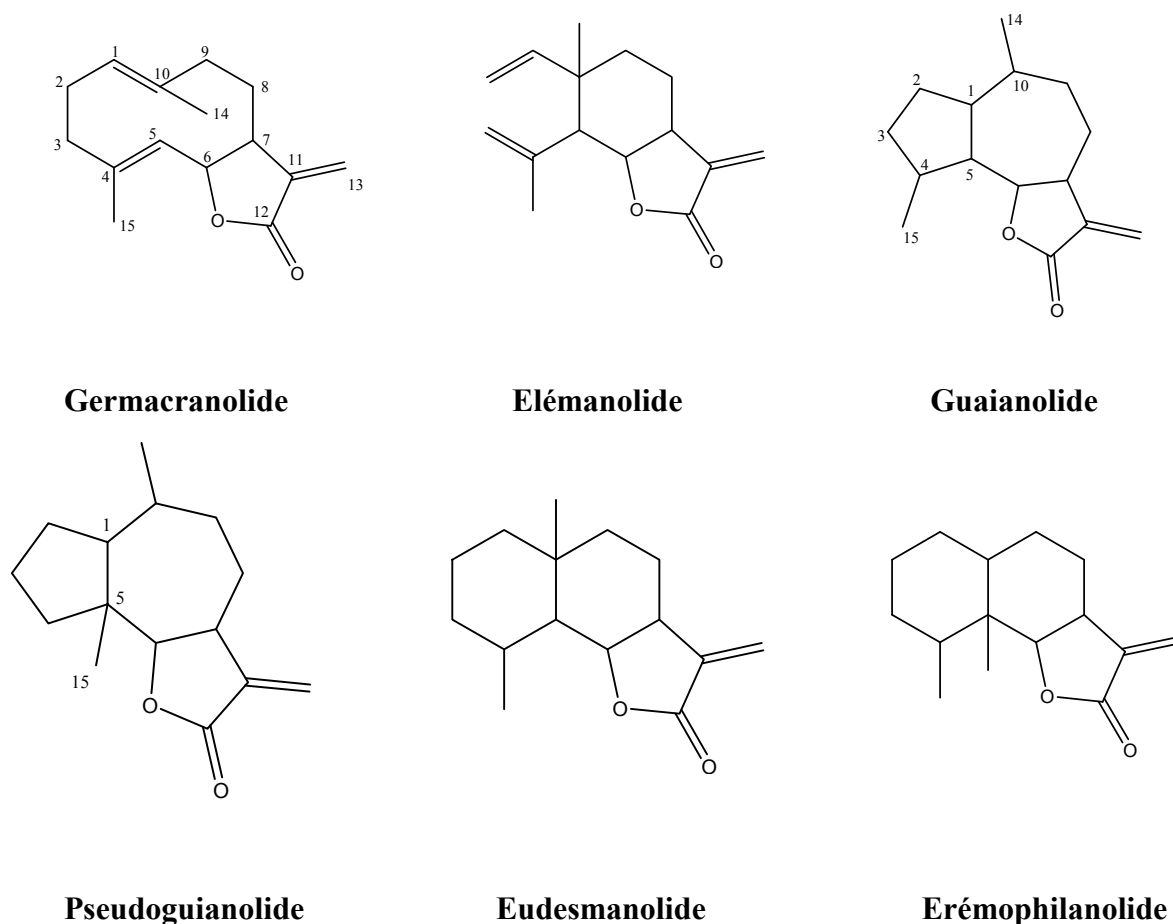


Figure I.7: Les différents types des sesquiterpènes lactones.

a) Germacranolides

Le squelette de base est principalement formé par un cycle à dix atomes renfermant deux double liaison (l'une entre C₁ - C₁₀ et l'autre entre C₄ - C₅), deux méthyles (l'un en position C₄ et l'autre en position C₁₀) lié à un autre cycle de cinq atomes caractérisant la fonction γ -lactone qui porte un méthyle ou double liaison exocyclique en position 11.

La fermeture du cycle lactonique peut s'effectuer en position 6 ou 8 où l'hydrogène en C₇ a toujours une stéréochimie α .

Des études ont montré que ce type de lactones sesquiterpéniques peut exister en trois formes différentes : 6 α , 12 olide ; 8 α , 12 olide et furanogermacrane comme le montre la figure **I.8**.

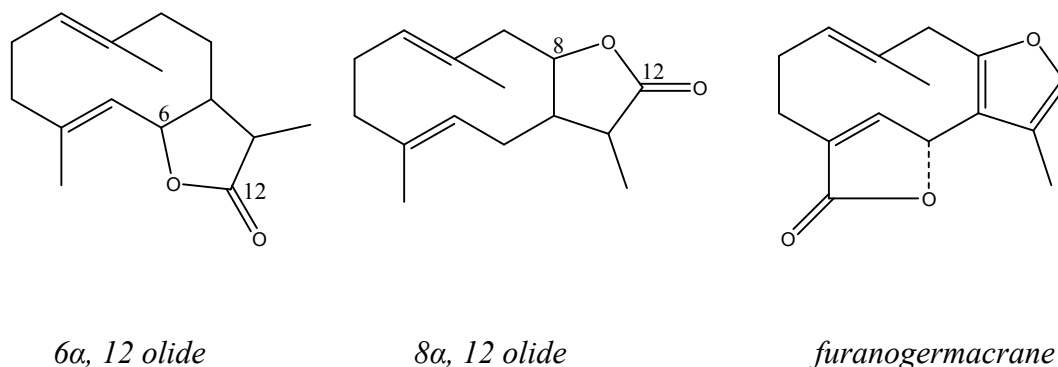
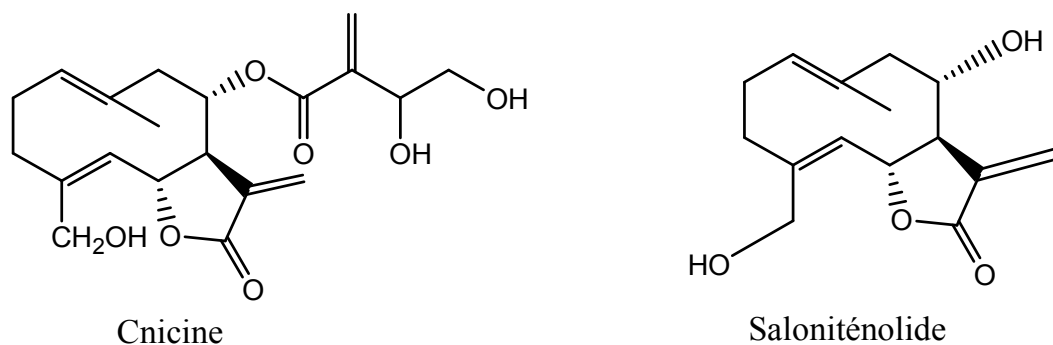


Figure I.8 : Les formes possibles des germacranolides.

Plusieurs composés de ce genre ont été isolés notamment dans la famille des astéracées [12]. Parmi ces composés on peut citer :

La Cnicine et la Saloniténolide isolés de *Centaurea alba* [13].



b) Elémanolides :

Tous les élémanolides ou 2,3-*Seco*-eudesmanolide sont obtenus par un réarrangement de Cope à partir des noyaux de germacranolides. Leur squelette de base est constitué par un monocycle à 6 atomes de carbone attaché à un pentacycle qui caractérise la fonction γ -lactone et des substitutions dans les positions 5 et 10.

En général, les élémanolides se caractérisent par la stéréochimie α de la liaison C₁₀-C₁, β de la liaison C₅-C₄, α pour l'hydrogène en C₅ et β pour le méthyle en C₁₀.

Les carbones en C₆ ou C₈ portent toujours des groupements esters ou hydroxyles avec une stéréochimie α et la lactonisation se fait généralement en position 6, comme le montre le schéma dans la figure I.9 [14].

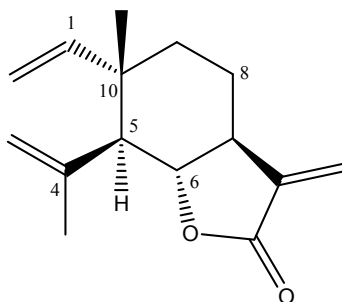
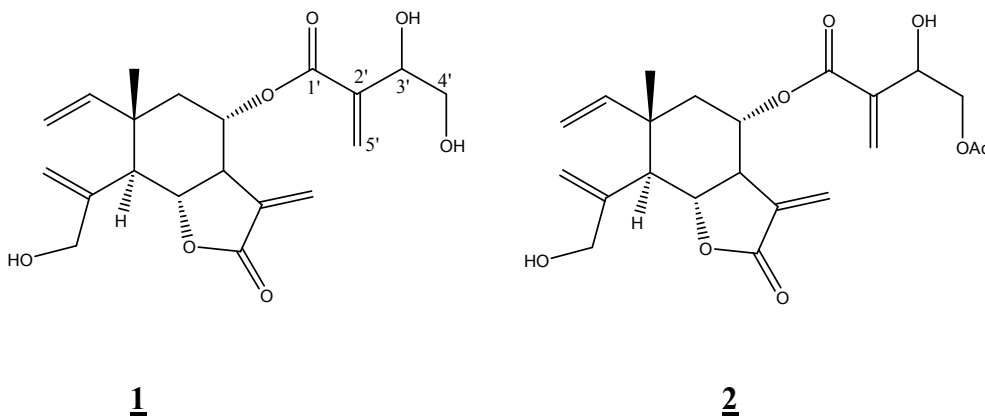


Figure I.9 : Squelette de base des élémanolides

Parmi les composés isolés on peu citer à titre d'exemple :

Le 8α -(3,4-dihydroxy-2-méthylène-butanoyloxy)-déhydro-mélitensine **1** et 8α -(3-hydroxy-4-acétoxy-2-méthylène-butanoyloxy)-déhydro-mélitensine **2** isolés de *Centaura thessala ssp. drakiensis* [15, 16].



c) Guaianolides

Ce genre de composés comporte dans leur structure un cycle heptagonale uni d'un coté avec un cycle pentagonale et de l'autre par un hétérocycle caractérisant la fonction γ -lactone. Ces composés sont caractérisés par la stéréochimie α pour les deux protons liés dans les positions 1 et 5.

La fermeture de la fonction γ -lactone se fait en C-6 comme elle peut être effectuée en C-8 avec une configuration α en C-6 et α ou β en C-8, comme il est élucidé dans la figure I.10.

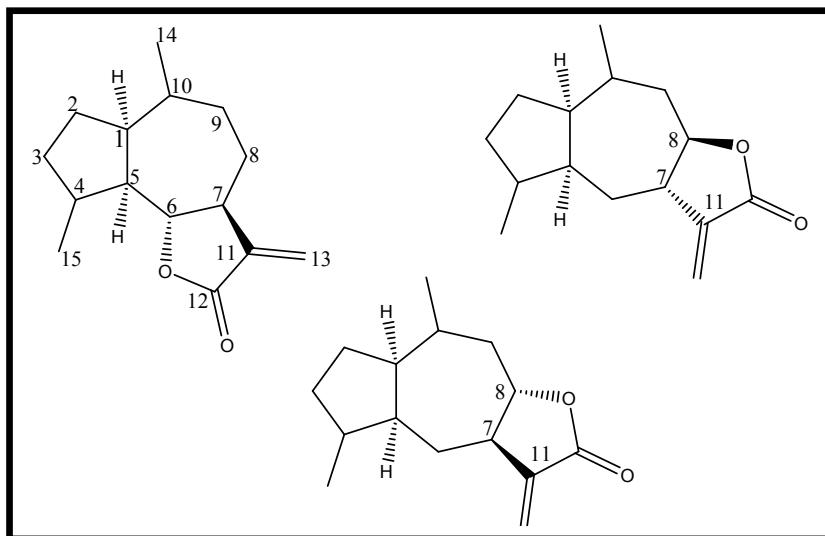
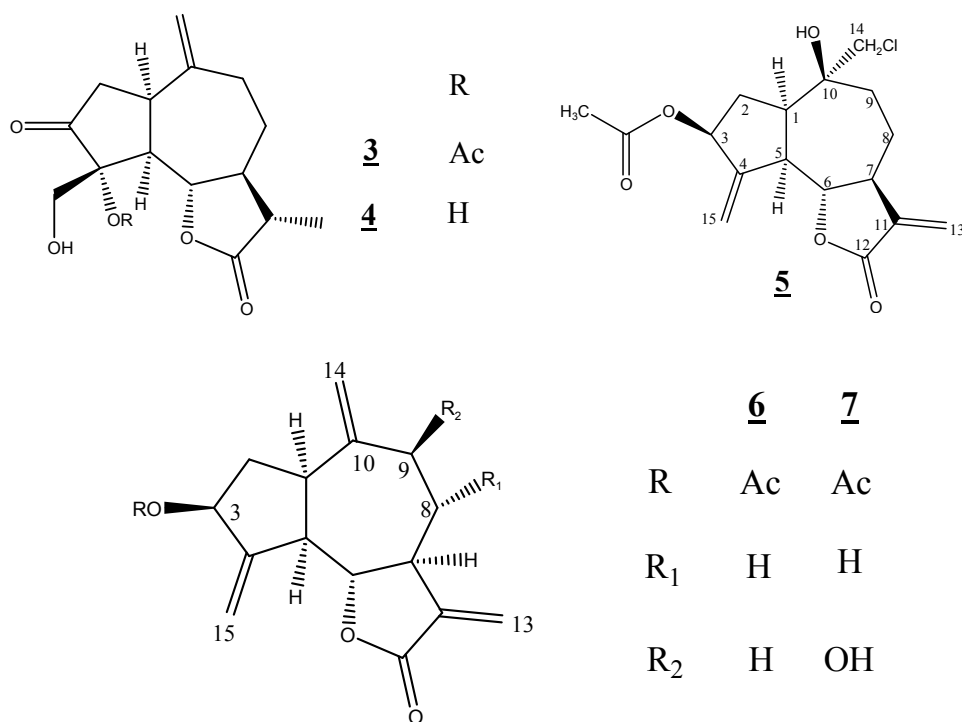


Figure I.10 : Squelettes de bases des guaianolides.

Les deux composés **3** et **4** ont été isolés de *Centaurea musimomum* [16] : 3-oxo-4 α -acetoxy-15-hydroxy-1 α H, 5 α H, 6 β H, 7 α H, 11 β H-guai-10(14)-ene-6,12-olide **3** et 3-oxo-4 α -hydroxy-15-hydroxy-1 α H, 5 α H, 6 β H, 7 α H, 11 β H-guai-10(14)-ene-6,12-olide **4** et 14-chloro-10 β -hydroxy-10(14)-dihydrozaluzanin D (3 β -acetoxy-14-chloro-10 β -hydroxy-1 α H, 5 α H, 6 β H, 7 α H-guai-4(15),11(13)-dien-6,12-olide) **5** isolé de *C. acaulis* L. [17] sont des exemples pour ce type de composés.

D'autres composés de type guaianolide ont été isolés de *centaurea nicolai* [18]. Parmi ces composés on peut citer : le Kandavanolide **6** et le salo-graviolide **7**.



Les Pseudoguianolides sont des composés comme l'indique leur nom qui ressemblent aux guaianolides mais ils se caractérisent par un méthyle en position 5.

d) Eudesmanolides :

Les eudesmanolides sont des composés qui ont un squelette de base formé par deux cycles hexagonaux attachés avec un pentacycle caractérisant la fonction γ -lactone avec deux méthyles comme des substitutions l'un sur la position 4 et l'autre sur la position 10 et un groupement méthylène porté par le carbone 11 du cycle lactonique. La fermeture de la fonction γ -lactone peut s'effectuer en 6 ou en 8 avec une jonction *cis* ou *trans*. Le méthyle porté par le carbone 10 est en position β et les deux hydrogènes portés par les carbones 5 et 7 sont toujours en configuration α comme représenté dans la figure I.11.

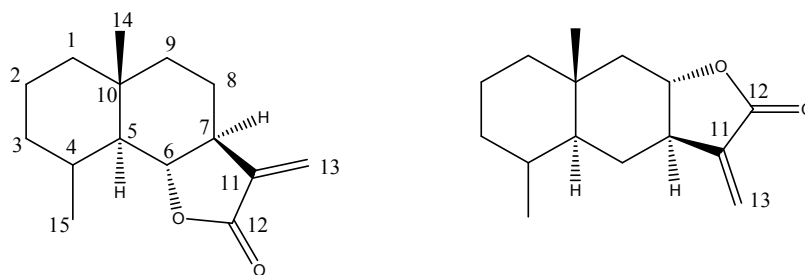
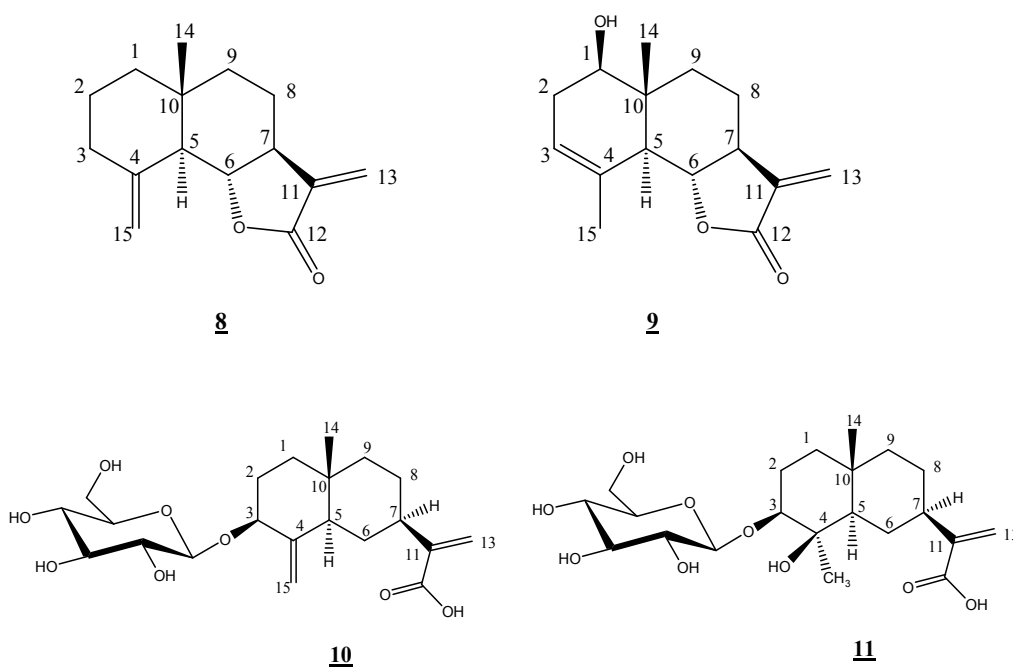


Figure I.11 : Squelettes de bases des eudesmanolides.

Quelques composés isolés du genre *Centaurea*:

- β -cyclocostunolide **8** et santamarin **9** isolés de *C. Acaulis* [18].
- hierapolitanins C **10** et D **11** isolés de *Centaurea hierapolitana* Boiss [19].



Les éremophilanolides sont des composés du même type que les eudesmanolides mais avec un méthyle dans la position 5 au lieu de la position 10.

Il existe un autre type de lactones sesquiterpéniques appelé héliangolide, ce sont des germacranolides avec des doubles liaisons de configuration *E* pour C₁ - C₁₀ et *Z* pour C₄-C₅. La fermeture du cycle lactonique se fait généralement en position 6 et la stéréochimie des hydrogènes portés par les atomes de carbones 6, 7 et 8 est toujours, **β**, **α** et **β** respectivement.

Généralement, les héliangolides renferment dans leur structure une double liaison exocyclique en C₁₁ et des substitutions en C₈ comme le montre la figure I.12.

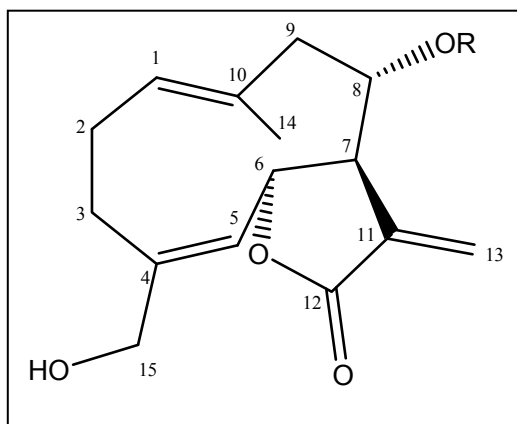


Figure I.12 : Squelette de base des héliangolides.

I. 3. 2. 1. 1. Intérêt thérapeutique des sesquiterpènes lactones :

Les lactones sesquiterpéniques sont caractérisées par la présence d'une fonction γ -lactone. Dans plusieurs cas, à côté du groupement γ -lactone, on retrouve généralement une double liaison exocyclique α , β insaturée. Ces caractéristiques particulières rendent ces molécules de plus en plus actives [20, 21].

Les lactones sesquiterpéniques appelées aussi « Substances ou principes Amères » sont très utilisées dans les domaines biologique et pharmacologique. Des études effectuées dans ce domaine ont montré que certaines lactones sesquiterpéniques ont une activité antibactérienne à l'égard des germes gram positif comme par exemple, l'hénelanine extraite d'*Inula helenium L* et la Cnicine extraite de *Cnicus Beniductus L*. [22]. D'autres lactones ont montré diverses activités biologiques telles que anti-inflammatoire [23], antioxydante [24], antifongique [25], cytotoxique [26].

L'artémisinine isolée de l'espèce *artemisia annua* (Asteracées) a une forte action antipaludique tandis que l'ambrosine, un pseudoguaianolide extrait d'*Ambrosia maritima L*, est un anthelminthique et un molluscide [27].

I. 4. La biosynthèse des terpénoïdes

Les premiers travaux sur la biosynthèse des terpénoïdes ont été effectués par le chimiste Wallach en 1887, qui a montré que les terpènes sont le résultat de condensations successives de type tête-à-queue d'une unité à 5 atomes de carbone qu'on appelle « isoprène ». Cette hypothèse a été confirmée plus tard en 1953 par Ruzicka qui a énoncé le concept de la règle isoprénique [5,6].

Par la suite, Hendrikson a montré les différentes étapes de la biosynthèse des terpènes de façon que l'unité principale de la formation de tous les terpénoïdes est l'acétate.

Le véritable précurseur du squelette terpénique est le pyrophosphate d'isopentényle (IPP) ou l'isoprène actif [28].

Des recherches relativement récentes (1993), ont permis de montrer que l'isopentényl diphosphate est synthétisé biologiquement selon deux voies différentes en fonction de la nature de l'organisme et de la structure du terpène final. Chez les animaux et les plantes supérieures, les sesquiterpènes et les triterpènes proviennent principalement du mévalonate, alors que les mono, di et tétraterpènes sont synthétisés à partir du 1-désoxy-d-xylulose-5-phosphate. Dans les bactéries, les deux voies sont utilisées [29].

La biosynthèse de l'isopentényl diphosphate par la voie du mévalonate est résumée dans la figure, (figure I.13) alors que la deuxième voie est résumée dans la figure (figure I.14).

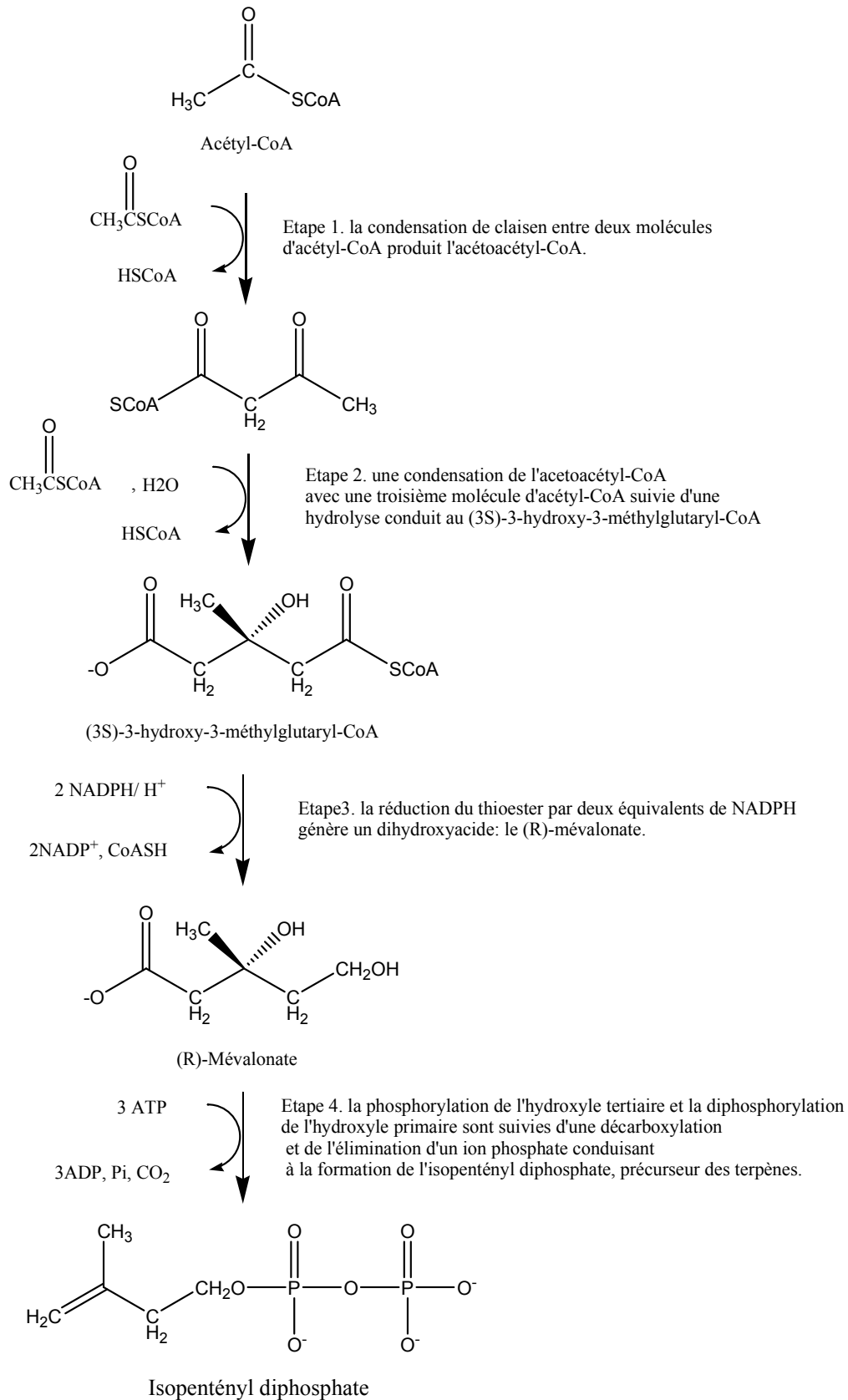


Figure I.13 : La voie du mévalonate

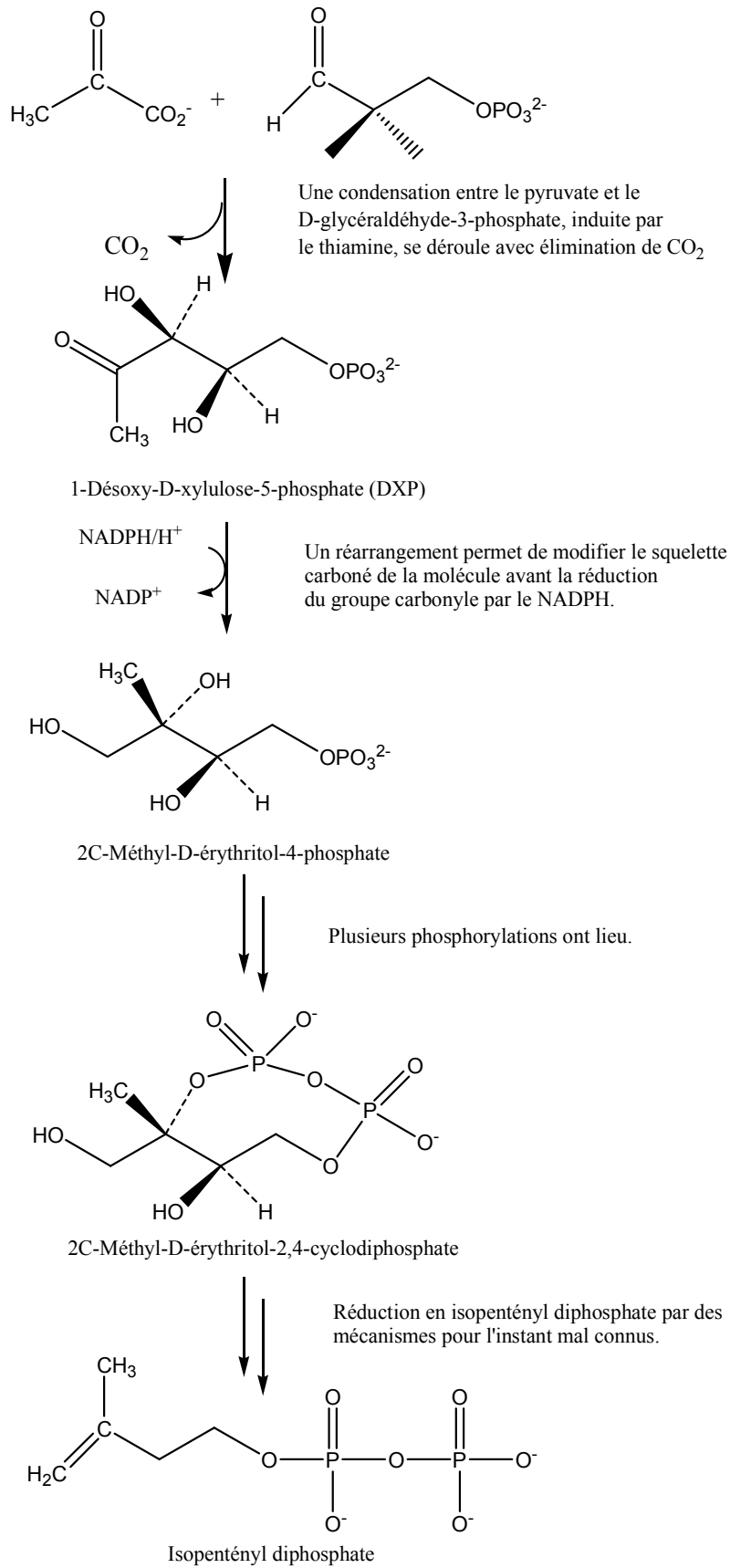


Figure I.14 : La voie du désoxyxylulose phosphate

- La première étape de la voie du mévalonate est une condensation de claisen de deux unités d'acétyl-CoA catalysée par l'enzyme acétoacetyltransférase pour former l'acétoacétyl-CoA.
- La deuxième étape est une réaction de condensation de type aldolique entre l'acétoacétyl-CoA et l'énolate de l'acetyl-CoA. Cette réaction est catalysée par la 3-hydroxy-3-méthylglutaryl-CoA synthase conduisant au (3S)-3-hydroxy-3-méthylglutaryl-CoA.
- La troisième étape est une réaction de réduction du 3-hydroxy-3-méthylglutaryl-CoA en (R)- mévalonate. Cette réaction est catalysée par la 3-hydroxy-3-méthylglutaryl-CoA réductase et nécessite deux équivalents de NADPH.
- La dernière étape concerne la transformation du (R)- mévalonate en isopentényl diphosphate. Cette étape débute en premier lieu par une pyrophosphorylation directe de l'hydroxyle primaire du (R)- mévalonate pour générer le mévalonate-5-diphosphate (diphosphomévalonate). Cela sous l'action de deux enzymes la mévalonate kinase et la phosphomévalonate kinase.

Le mévalonate-5-diphosphate subit une autre phosphorylation sur l'hydroxyle tertiaire suivie d'une décarboxylation et élimination d'un groupe phosphate pour obtenir le pyrophosphate d'isopentényle (**IPP**).

Le véritable précurseur de tous les terpénoïdes est le diméthylallyl pyrophosphate (**DMAPP**), ce dernier est obtenu par l'isomérisation de l'IPP sous l'action de l'enzyme IPP isomérase.

La condensation du DMAPP avec une unité d'IPP forme le géranyl pyrophosphate (**GPP**), un composé en C₁₀ considéré comme le point de départ de tous les monoterpènes.

Une autre condensation de même molécule IPP avec le GPP conduit à un autre composé en C₁₅, le pyrophosphate de farnésyle (**FPP**), un précurseur commun de tous les dérivés sesquiterpéniques.

L'addition d'une nouvelle molécule IPP au GPP donne naissance à un composé en C₂₀, le géranylgeranylpyrophosphate (**GGPP**). Alors que la condensation de deux molécules de FPP peut former un composé en C₃₀, le squalène, précurseur général des stéroïdes et triterpènes. Par contre, la fusion de deux molécules de GPP donne lieu à un composé en C₄₀, précurseur général des tetraterpènes.

L'addition successive des unités d'IPP sur le GGPP fait apparaître des composés polyterpéniques tels que le caoutchouc, le chicle et la gutta-percha qui comportent plus de 2000 à 5000 résidus isoprènes (figure **I.15**).

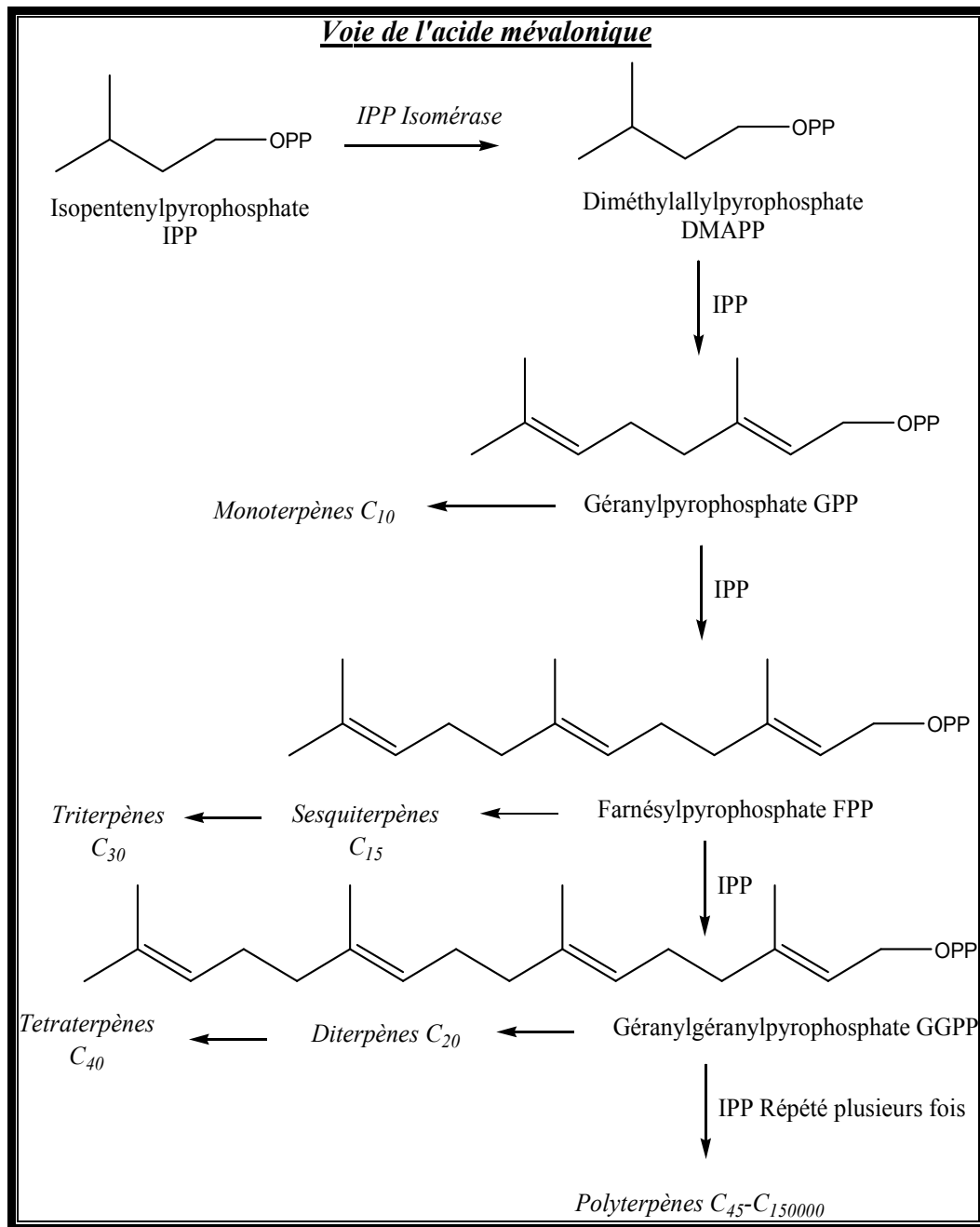


Figure I.15 : Voie de l'acide mévalonique et principales classes de terpénoïdes.

I. 4. 1. La biosynthèse des sesquiterpènes lactones

Comme nous l'avons précédemment mentionné, le pyrophosphate de farnésyle **FPP** est le précurseur universel de tous les dérivés sesquiterpéniques. Ce composé peut exister, selon la stéréochimie des deux premières doubles liaisons du squelette germacra-1(10), 4(5)-diène-6,12-olide, sous forme de quatre isomères possibles. Alors que la formation du macrocycle cyclodécadiène et la fonction γ -lactone peuvent mener à plusieurs formes de type germacranolides. Une série de transformations effectuées sur ces différents squelettes de germacranolides permet d'obtenir les principaux squelettes sesquiterpéniques [30].

La figure **I.16** montre quelques squelettes sesquiterpéniques obtenues lors de ces transformations.

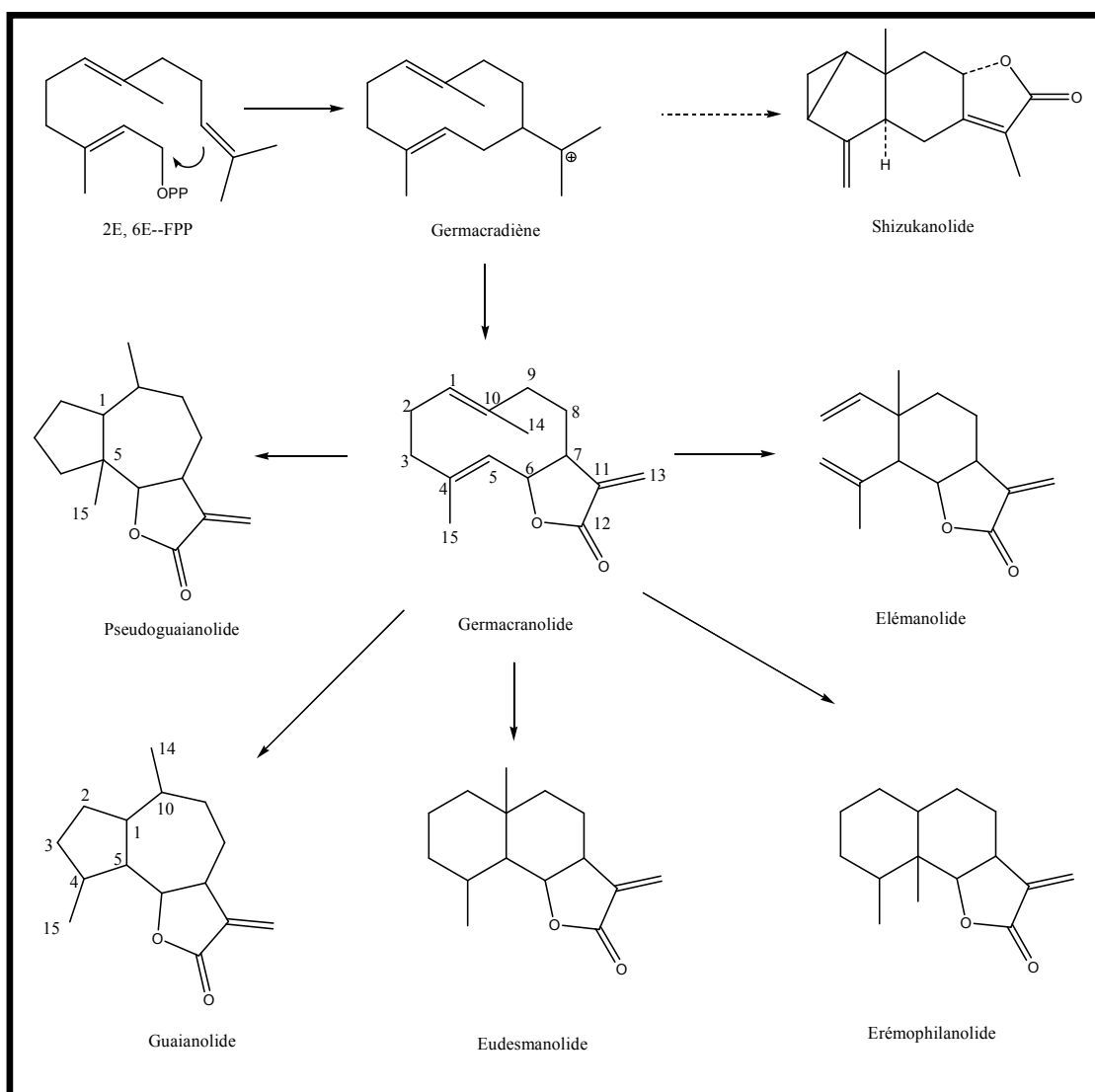


Figure I.16 : Biogenèse des lactones sesquiterpéniques.

I. 5. Les flavonoïdes

I. 5. 1. Définition, répartition et classification

Les flavonoïdes sont des substances naturelles issues des plantes, présentes dans tout le règne végétal et dans tous les organes de plantes supérieures : feuilles, fleurs, racines, écorce, pollen, nectar et graines [31].

Ce sont des pigments responsables de la coloration des végétaux qui sont susceptibles d'assurer la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement ultra-violet (UV) [32].

Les flavonoïdes, ensemble très diversifié de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols, tirent leur origine du mot grec « flavus » qui veut dire jaune [33]. Tous possèdent le même noyau de base flavone ou 2-phenyl chromone (figure I.17). On les retrouve généralement à l'état libre (aglycone) ou sous forme de glycosides. A l'heure actuelle, plus de 4000 flavonoïdes ont été identifiés dans les plantes, les fruits et les légumes [34].

La structure chimique de base est constituée de deux cycles aromatiques (A) et (B) reliés entre eux par une chaîne en trois carbones formant ainsi un assemblage en C6-C3-C6. (figure I.18) [35, 36].

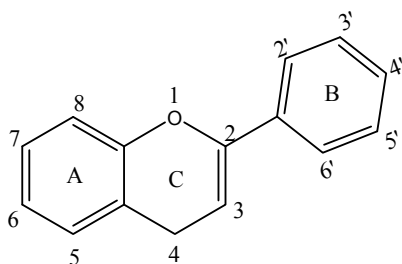


Figure I.17 : Noyau flavone

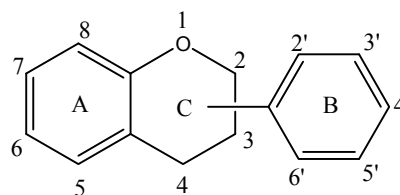


Figure I.18: Squelette de base des flavonoïdes

Au plan structural, le type de noyau détermine les différentes classes des flavonoïdes [37]. On distingue ainsi les chalcones, aurones, flavones, flavonols, flavanones, flavanonols, isoflavones, isoflavanones, anthocyanes.

Le tableau I.1 qui suit regroupe les principales classes de flavonoïdes en se basant seulement sur le cycle C et les substitutions qui les entourent.

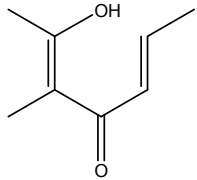
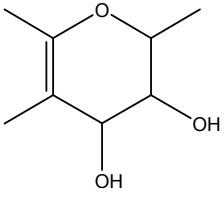
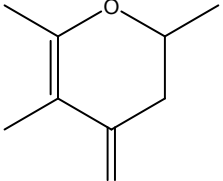
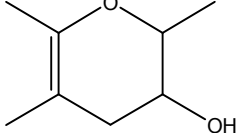
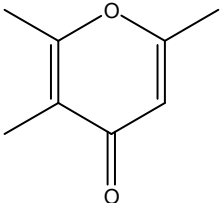
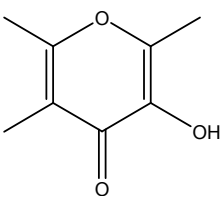
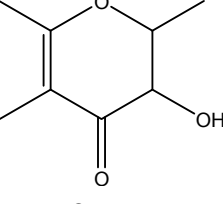
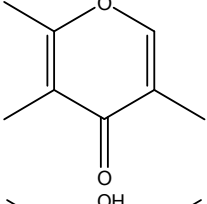
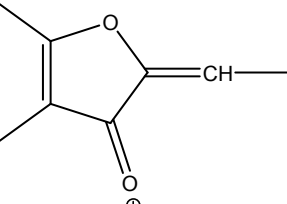
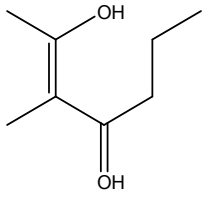
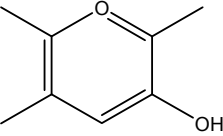
<i>Noyau principal</i>	<i>Type de flavonoïde</i>	<i>Noyau principal</i>	<i>Type de flavonoïde</i>
	<u>Chalcone</u>		<u>Flavan-3,4-diol</u>
	<u>Flavanone</u>		<u>Flavan-3-ol</u>
	<u>Flavone</u>		<u>Flavonol</u>
	<u>Dihydroflavonol</u>		<u>Isoflavone</u>
	<u>Aurone</u>		<u>Dihydrochalcone</u>
	<u>Anthocyanidine</u>		

Tableau I.1 : Les principaux types de flavonoïdes.

I. 5. 2. Biosynthèse des flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont des substances naturelles faisant partie des métabolites secondaires extraits à partir du règne végétal. Elles jouent un rôle important dans le domaine thérapeutique ce qui explique l'intérêt accru que suscite ce type de composés et comme tous les autres produits naturels ils sont caractérisés par une voie biosynthétique commune.

Le composé 4, 2', 4', 6'-tétrahydroxychalcone, précurseur général des flavonoïdes, est issu d'une part, du malonyl-CoA sous l'action de l'enzyme chalcone synthase à partir de la voie acétate-malonate, et, d'autre part, du 4-coumaroyl-CoA, via la voie shikimate. Ce précurseur est métabolisé sous l'action d'une enzyme qui est la chalcone isomérase pour la formation d'un flavanone (naringénine). Ce dernier réagit en premier lieu avec l'enzyme flavone- synthase pour donner une flavone (apigénine) ou avec la (2S)-flavanone-3-hydroxylase pour donner un composé de type dihydroflavonol, le (2R, 3R)-dihydrokaempférol.

L'action de l'enzyme flavonol synthase ou dihydroflavonol-4-réductase sur le (2R, 3R)-dihydrokaempférol va engendrer respectivement un flavonol (kaempférol) ou un flavan-3,4-diol (leucoanthocyanidol). Ce dernier en présence des enzymes spécifiques se métabolise en flavan-3-ols (afzéléchol) ou en anthocyanidols (pélagonidol). Enfin, en présence de la 3-O-glycosyltransférase, le pélargonidol se transforme en anthocyanoside (pélargonidol-3-glucoside) [11].

Les composés flavoniques de chaque sous-classe ainsi obtenus peuvent ensuite être modifiés par des réactions d'hydroxylation, méthylation, glycosylation et acylation.

Les diverses étapes de la biosynthèse des flavonoïdes sont élucidées dans la figure **I.19**.

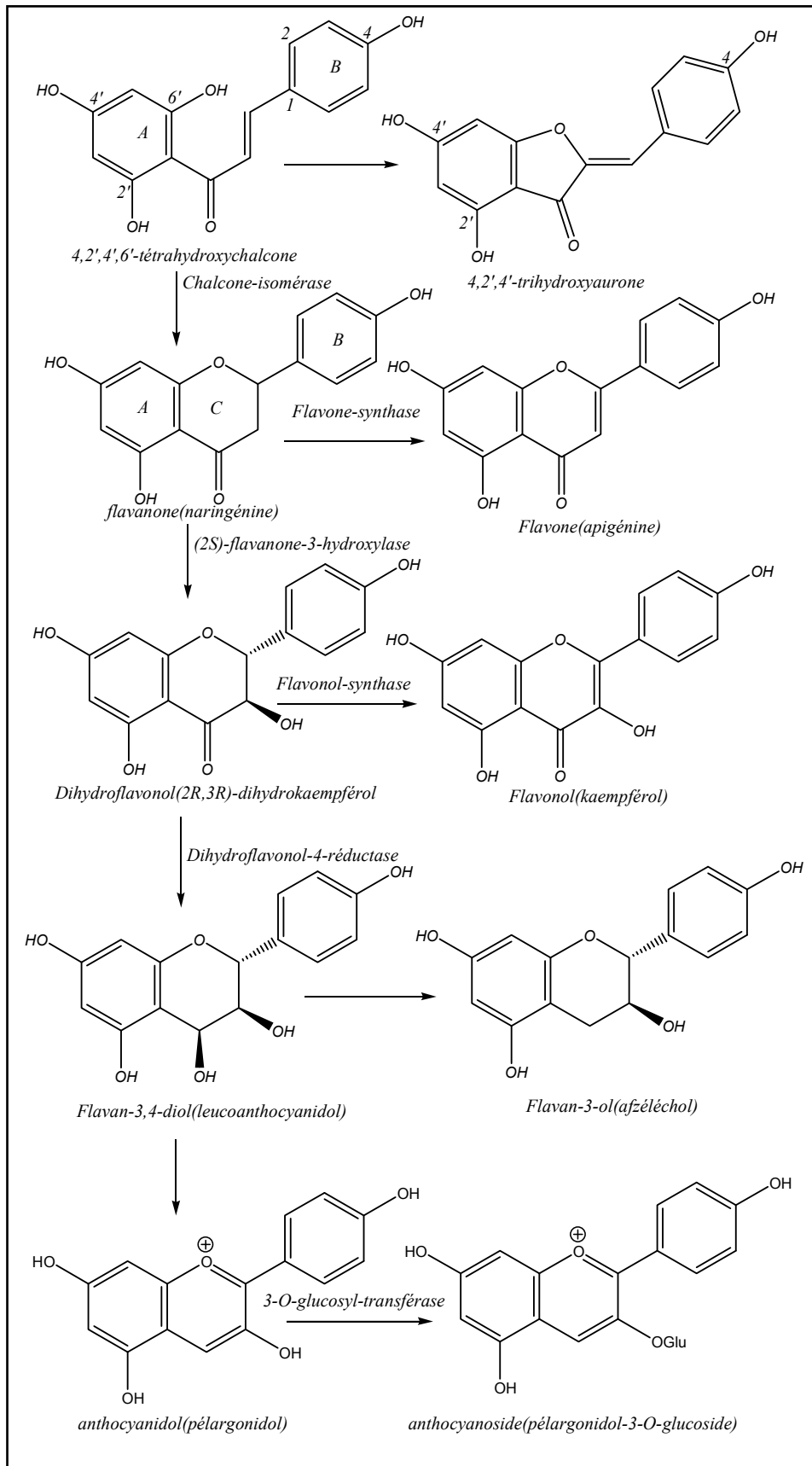


Figure I.19 : Biosynthèse des flavonoïdes.

I. 5. 3. Intérêt thérapeutique des flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent un groupe très diversifié de métabolites secondaires. Plus de 4000 structures ont été répertoriées à ce jour [38]. Ils sont consommés dans la vie quotidienne sous forme de fruits, légumes et boissons.

Les flavonoïdes sont responsables de la couleur des végétaux, par exemple la couleur jaune des fleurs est due à des flavonoïdes jaunes comme les chalcones, les flavonols et les aurones ; les couleurs rouges, violettes et bleues des légumes, fruits et fleurs sont dues à des anthocyanes hydrosolubles [39]. Ainsi, les plantes exercent un effet attracteur sur les insectes et les oiseaux pollinisateurs. Ils ont aussi un rôle dans la protection des plantes et protègent les tissus végétaux contre le rayonnement ultraviolet, les virus et les bactéries pathogènes qui infectent les plantes.

A cause de leur diversité structurale, les flavonoïdes sont reconnus comme des piègeurs de radicaux libres tels que les superoxydes, les peroxydes ou radicaux hydroxyles [40]. Ils inhibent certaines enzymes comme l'histidine décarboxylase, l'élastase, l'aldose réductase, lipooxygénase et cyclooxygénase [41]. Ceci par la formation de complexes avec les métaux comme le fer et le cuivre. De plus, ils augmentent la fluidité des membranes cellulaires et diminuent la perméabilité des capillaires sanguins et les rendent plus résistants : c'est une propriété connue sous le nom de « vitaminique P ». Egalement, ils jouent un rôle important dans la lutte contre les maladies cancérogènes [42, 43].

Ils possèdent aussi de nombreuses propriétés pharmacologiques : ils sont antioxydants [44- 47], antiulcéreux, anti-allergiques, anti-inflammatoires[44,48,49], antitumorales, antivirales [44], antispasmodiques, cytotoxiques, anticarcinogènes [50], et antidépressives [51].

Récemment, il a été montré qu'il existe une corrélation entre l'activité biologique et le squelette structural des flavonoïdes, notamment dans l'activité antioxydante [34]. Cette activité est due à la présence :

- D'une double liaison entre C2 et C3.
- Du groupement hydroxyle en C3.
- Du groupement carbonyle en C4
- De diverses hydroxyles portés sur les noyaux A et B.

D'autres études épidémiologiques ont démontré qu'une consommation régulière de fruits, légumes et boissons diminue le risque de développement de maladies cardiovasculaires et de l'apparition de certains cancers. A cet effet la présence des flavonoïdes au régime alimentaire humain est indispensable [52,53].

I. 6. Conclusion :

L'importance des produits naturels issus des plantes dans les différents domaines (pharmaceutique, thérapeutique, agriculture et cosmétique) nous a conduit à nous intéresser à la recherche et à l'étude bibliographique de ces substances, nous avons focalisé dans cette étude sur diverses familles de métabolites secondaires les plus rencontrés du genre *Centaurea* notamment les composés flavoniques, les

monoterpènes, les sesquiterpènes et plus particulièrement les lactones sesquiterpéniques ainsi, que leur voie biosynthétique et leur intérêt biologique et pharmacologique.

Références bibliographiques :

- [1] James. R. H, **2003**, *Natural Products: The Secondary Metabolites*, royal society of chemistry.
- [2] Harborne. J. B, **2001**, Twenty-five years of chemical ecology, *Nat Prod Rep*, 18, 361-379.
- [3] Dey. P.M, **1991**, *Methods in plant biochemistry*, Volume 7, Harborne. J.B, Terpenoids, Academic Press.
- [4] Connolly. J.D. et Hill. R.A, **1992**, *Dictionary of terpenoids*. London: Chapman and Hall.
- [5] Ruzicka. L, **1959**, *Proc. Chem. Soc*, 341-360.
- [6] Ruzicka. L ; Eschenmoser. A. H. H, **1953**, *Experientia*, 9, 357-396.
- [7] Lamarti. A ; Badoc. A ; Deffieux. G et Carde. J. P, Biogénèse des Monoterpènes, *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, **1994**, 133, 100-118.
- [8] Buneton. J, **1999**, *Phytochimie de plantes médicinales. Pharmacognosie*. 3^{ème} Ed. Tec et Doc Lavoisier, 473p, Paris.
- [9] Svoboda. K. P. et Hampson. J. B, **1999**, Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, antiinflammatory and other related pharmacological activities. *Plant Biology Department, SAC Auchincruive, Ayr, Scotland, UK*.
- [10] Herz, W, **1977**, in : V.H.Heywood, J.B.Harbone, B.L.Turner (Eds.), « The biology and chemistry of the compositae », *Academic Press, london*, P.337, Chapter 11.
- [11] Bruneton. J, **1999**, *Pharmacognosie*, 3e édition, Tec et Doc, Paris, 316, 619,620.
- [12] Nowak. G., Drozd. B et Holub. M, **1996**, *Compositae: systematics*. In: Hinds, D.J.N., Beentje, H.J. (Eds.), *Proceedings of the International Compositae Conference, Kew*, **1994**, vol. 1, pp. 219–227.
- [13] Isabel. F ; José. R. P et Esther. P, **1995**, *Phytochemistry*, 38(3), 655-657.
- [14] Thèse Magistère, Zaabat Nabila, **2002**, Université de Constantine, p.36.
- [15] Helen. S; Diamanto. L; Constantinos. P; Evanthia. G; Begon. G et Marina S, **2000**, *Phytochemistry*, 55, 903-908.
- [16] Medjroubi. K; Benayache. F; Benayache. S; Akkal. S, Khalfallah. N et Aclinou, **1997**, *Phytochemistry*. 45(7), 1449-1451.
- [17] Bentamene. A; Benayache. S; Crèche. J; Petit. G; Barrera. J. B; Leon. F et Benayache. F, *Biochemical systematics and ecology*, **2005**, 33, 1061-1065.
- [18] Vlatka. V; Nina. T; Marina. R; Vele. T; Borislav. T; Pedja. J; Petar. M Et Slobodan. M, **1999**, *Phytochemistry*, 52, 383-386.
- [19] Canan. K; Erdal. B; Rahul. P; Sura. B ET Ikhlas. A. K, *Phytochemistry*, **2007**, 68, 609–615.
- [20] Kupchen. S. M; Eakin. M. A ; Thomas. A. M ; *J Of Med Chem*, **1974**, 168, 376.
- [21] Catherine. K; George. D. G et Helen. S, **2006**, *Journal of Molecular Structure: Theochem*, 759, 215–224.

- [22] Bruneton. J, **1993**, *phytochimie et pharmacognosie des plantes médicinales*, Techniques et documentations Lavoisier.
- [23] Zidron. C., Diesch. V. M., Rüngeler. P., Sosa. S., Loggia. R. D., Merfort. I., Pahl. H. L., Vollmar. A. M. Et Stuppner. H, **1999**, *Planta Med*, 65, 704-708.
- [24] Kubo. I., Chaudhuri. S. K., Kubo. Y., Sanchez. Y., Ogura. T., Saito. T., Tshikawa. H. And Haraguchi. H, **1996**, *Planta Med*, 62, 427-430.
- [25] Wedge. D. E., Galindo. J. C. G. And Macias. F. A, **2000**, *Phytochemistry*, 53, 747-757.
- [26] Doskotch. R. W., El feraly. F. S, **1970**, Cytotoxic sesquiterpenes from *Liriodendron tulipifera* L, *J. Org. Chem*, 35, 1928–1936.
- [27] Thèse Ammar Nacer, Sesquiterpènes lactones et flavonoïdes extraits de deux plantes algériennes de la famille des Astéracées, Université de Constantine, p.11.
- [28] Hendrickson, J. B, **1959**, *Tetrahedron*, 7, 82.
- [29] J Mc Murry ; Tadhgbegley, **2006**, *Chimie organique des processus biologiques*, Editions de Boeck & Larcier s.a.
- [30] Zhang. S., Won. Y. K., Ong. C. N., Shen. H. M, **2005**, *Curr. Med. Chem. Anti-Canc.Agents*. 5, 239-249.
- [31] Marais. J. P. J; Deavours. B; Dixon. R. A et D. Ferreira, **2006**, in: E. Grotewold (Ed.), *The Science of Flavonoids*, Springer, Ohio, , pp. 1–46.
- [32] Rajnerayanama. K., Reddy. M., Charluvadi. M. R Et Krishna D. R, **2001**, *Indian Journal of Pharmacology*, 33, 2-16.
- [33] Duval. C ; Duval. R, **1978**, « *Dictionnaire de la Chimie et de ses Applications* », Edition.Tec & Doc Lavoisier, Paris.
- [34] Cook. N. C and Samman. S, **1996**, *J. Nutr. Biochem*, vol. 7, pp. 66-76.
- [35] Erdman. W. J., Balentine. J. D., Arab. L., Beecher. G., Dwyer. J. T., Folts. J., Harnly., Hollman. J. P., Keen. L. C; Mazza. G., Messina. M., Scalbert. A., Vita. J., Williamson. G. et Burrowes. J, **2007**, Flavonoids and heart health : Proceeding of the ILSI North America flavonoids workshop, may 31-june 1, **2005**, Washington. *Journal of Nutrition.*, 137 (3 supp 1), 718 s-737 s.
- [36] Harborne. J. B, **1964**, “*Biochemistry of phenolic compound*”, Academic press, New York.
- [37] Winkel-Shirley. B, **2001**, *Plant Physiol*, 126, 485–493.
- [38] Bruneton. J, **1999**; *Pharmacognosie-Phytochimie-Plantes médicinales*, 3rd ed.; Tec & Doc: Paris, p. 310.
- [39] Halbwirth. H; Wurst. F; Forkmann. G; Stich. K, **2000**, Biosynthesis of yellow flower pigments belonging to flavonoids and related compounds, in: R.M. Mohan (Ed.), *Research Advances in Phytochemistry*, vol. 1, Global Research Network, Kerala, pp. 35–49.
- [40] Pietta. P, **2000**, Flavonoids as Antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63(7), 1035-1042.
- [41] Havsteen. B, **1993**, *Biochem. Pharmacol*, 32, 1141
- [42] Hollman. P.C.H, **2001**, *J. Sci. Food Agric*, 81, 842–852.
- [43] Hudson. E.A., Dinh. P.A., Kokubu. T., Simmonds. M.S.J., Gescher. A, **2000**, *Biomarkers Prev*. 9, 1163–1170.

- [44] Hanasaki. Y., Ogawa. S., Et Fnkui. S, **1994**, *Free Radical Biol. Med.* 16, 845-850
- [45] Pignol. B., Etienne. A., Crastes de Paulet. A., Deby. C., Mencia- Huerta. J.M., Et Braquet. P, **1988**, Role of flavonoids in the oxygen-free radical modulation of the immune response. In *Plant Flavonoids in Biology and Medicine li. Biochemical, Cellular and Medicinal Properties*, p. 173-182, Alan R. Liss, New York, NY USA
- [46] Fraga. C. G., Martino. V. S., Ferraro. G. E., Coussio. J. D Et Boveris, A, **1987**, *Biochem. Pharmacol*, 36, 717-720.
- [47] Cavallini. L., Bindoli. A Et Siliprandi. N, **1978**, *Pharmacol. Res. Commun.* 10, 133-136.
- [48] Middleton. E; Et Kandaswami. C, **1993**, “The impact of plant flavonoids on mammalian biology: Implications for immunity, inflammation and cancer. In *The Flavonoids: Advances in Research Since*” **1986**. (J.B. Harborne, ed.), p. 619--652, Chapman and Hall, London, UK
- [49] Hope. W.C., Welton. A.F., Fielder-Nagy. C., Batula-Bernardo. C., Et Coffey. J.W, **1983**, *Biochem. Pharmacol.* 32, 367-371.
- [50] Weber. G; Shen. F; Yang. H; Prajda. N; Li. W. **1999**, *Anticancer Res*, 19, 3703–3709.
- [51] Butterweck. V; Jurgenliemk. G; Nahrstedt. A; Et Winterhoff. H, **2000**, *Planta Med.* 66, 3–6.
- [52] Dorant. E; Van Den Brandt. P. A; Goldbohm. R. A and Sturmans. F, **1996**, *Gastroenterology*, 110,12–20.
- [53] Knekt. P; Jārvinen. R; Seppānen. R; Heliōvaara. M; Teppo. L; Pukkala. E and Aromaa. A, **1997**, *Am J Epidemiol*, 146, 223–230.

Chapitre II :

*Les métabolites secondaires
les plus fréquents du genre*

*Centaurea et travaux
effectués sur l'espèce*

*Centaurea omphalotricha
publiés dans la littérature.*

II. Les métabolites secondaires les plus fréquents du genre *Centaurea* et travaux effectués sur l'espèce *Centaurea omphalotricha* publiés dans la littérature :

II.1. Introduction :

Le nom Astéraceae est dérivé de mot grec « Aster » qui signifie étoile, en relation avec la forme de la fleur, la famille Astéracées ou Composées représentent la plus importante famille de la division des spermatophytes. Elle comprend près de 25000 espèces connues, groupées en 1500 genres repartis en 17 tribus répandues à travers le monde [1,2]. Elles sont caractérisées par des fleurs formant des inflorescences très denses, avec des anthères adhérentes les unes aux autres. En Algérie, elle est représentée par 109 genres et plus de 408 espèces [3].

Ce sont presque toutes des plantes herbacées avec souvent des racines charnues (rhizomateuses, tubéreuses ou pivotantes). Mais il existe de rares espèces arborescentes qui peuplent principalement les régions tropicales de la planète. Par exemple, les genres : *Olearia*, *Cassinia*, *Baccharis* et *Senecio* [1] renferment dans leurs tissus des cellules ou des canaux sécréteurs résineux, laticifères ou oléifères [4].

Les Astéracées peuvent être divisées en plusieurs tribus, certaines sont des légumes qui nous sont familiers : laitue, artichaut, endive, chicorée, salsifis et topinambour. Le tournesol est cultivé pour ses graines (cuisine, nourriture pour bétail et huiles industrielles). Quelques Composées fournissent des produits variés : caoutchouc naturel (*Taraxacum*), colorants, médicaments (*Artemisia*, *Anthemis nobilis* L., *Arnica montana* L.), insecticides (*Chrysanthemum cineraria Trev*) et épices (*Artemisia dracunculus* L). Le plus souvent, les Composées sont cultivées comme plantes ornementales, mais il faut aussi y inclure de très nombreuses « mauvaises herbes » [5].

De nombreuses espèces de cette famille sont utilisées en médecine traditionnelle, ce qui explique la richesse de ces plantes en substances naturelles bioactives.

Les sesquiterpènes lactones, les flavonoïdes, les coumarines, les composés phénoliques, les terpènes ainsi que d'autres composés sont les principaux constituants chimiques des astéracées [6].

II. 2. Caractéristiques morphologiques des astéracées:

Les astéracées ont la caractéristique commune d'avoir des fleurs réunies en capitules, c'est à dire serrées les unes aux autres, sans pédoncules, placées sur l'extrémité d'un rameau ou d'une tige et entourées d'une structure formée par des bractées florales. Cette structure en forme de coupe ou de collerette est appelée un involucre.

La fleur des astéracées est très particulière : les étamines sont soudées par leurs anthères déhiscentes vers l'intérieur. Sous les stigmates sont situées des «brosses à pollen». La croissance rapide du style permet un brossage du pollen et sa récupération. Une fois que le stigmate a traversé le tube formé par les anthères, les stigmates se déploient et exposent leur face gluante au pollen. Il faut penser qu'à ce moment-là, du nectar est sécrété.

Les fruits sont des akènes, souvent couronnés d'une aigrette de soies appelée Pappus qui favorise la dispersion des grains par le vent [7].

La famille des composées comprend des espèces à inflorescences très diversifiées, en dehors de la structure commune en capitule. Ces espèces diffèrent notamment par la forme de la corolle. Les tubuliflores, comme le chardon, se caractérisent par une corolle tubulaire terminée par un capitule en forme de disque très simple. Les étamines et le pistil ont un rôle purement fonctionnel. Les liguliflores, comme la chicorée et le pissenlit, ont une corolle de fleurs en languettes. Les étamines et le pistil ont un rôle fonctionnel. Tubulaire terminée par un capitule en forme de disque très simple. Les étamines et le pistil ont un rôle purement fonctionnel. Les radiées, comme le tournesol et la pâquerette, ont des capitules constitués de fleurs centrales cylindriques et de fleurs périphériques en languettes. La corolle est tubulaire à la base et évasée à la périphérie

Pour déterminer la plupart des plantes de cette famille, il est nécessaire de récolter des capitules défleuris, portant des fruits mûrs ou déjà bien formés. L'observation des bractées de l'involucre est également très importante [8].

II. 3. Le genre *Centaurea*

II. 3. 1. Introduction :

Appartenant à la famille des astéracées, le genre *Centaurea* compte environ 700 espèces et 600 sous-espèces [9]. Il est répandu aussi bien sur le territoire algérien qu'en Europe méridionale, dans le bassin méditerranéen, à l'ouest de l'Asie et sur le continent américain [10,11].

En Algérie, le genre *Centaurea* est très présent avec 45 espèces qui sont décrites à travers le territoire [10].

Les investigations phytochimiques réalisées sur ce genre de plantes montrent que les centaurees sont très riches en métabolites secondaires : notamment les lactones sesquiterpéniques [12], les flavonoïdes [13], les composés acétyléniques [14], les alcaloïdes [15] et les stéroïdes [16].

La plupart des lactones sesquiterpéniques isolés de genre *Centaurea* sont de type germacranolide, guaianolide, élémanolide, eudesmanolide...etc. Les germacranolides et les guaianolides sont les composés les plus abondants de ce genre [17].

II. 3. 2. Description botanique du genre *Centaurea* :

Les centaurees sont des plantes herbacées annuelles, bisannuelles ou vivaces, à feuilles alternes. Comme pour toutes les composées, les fleurs, ou fleurons, sont disposées en capitule multiflores homomorphes ou dimorphes, entourées d'un involucre ovoïde ou globuleux à bractées imbriquées sur plusieurs rangs. Dans le cas des centaurees, les fleurs sont toutes tubulées, multiflores homomorphes ou dimorphes, celle de la périphérie (souvent stériles) s'ouvrant largement en cinq lobes. Le plus souvent, leur couleur varie entre le rose, le pourpre et le violet, mais il existe aussi quelques espèces à fleurs jaunes. Ces fleurs entourées d'un involucre ovoïde ou globuleux à bractées imbriquées et inégales sur plusieurs rangs, à la

manière des artichauts . Ces bractées peuvent être ciliées (cas le plus fréquent) ou épineuses. Leur observation est essentielle pour déterminer les espèces. Le réceptacle plan ou sub plan est garni de soies abondantes. Les fruits sont des akènes longs ou ovoïdes, lisses, à hile latéral, profond, barbu ou non, portant une aigrette assez courte, simple ou double, persistante ou caduque [10].

Les Centaurées sont des plantes à résine ou à essence sans latex, ils se multiplient par touffes ou par semis, généralement au printemps. Elles se rencontrent sur différents types d'habitats tels que, les déserts et les semi-déserts, les pentes raides, les hautes montagnes, les terres arables, les zones à inondations périodiques, les zones sèches et partiellement exposées au soleil [18].

II. 3.3. Les propriétés biologiques et pharmacologiques des Centaurées

Plusieurs espèces du genre *Centaurea* sont utilisées dans la médecine populaire pour soigner certaines maladies comme le diabète, les rhumatismes, la malaria, l'hypertension... [19].

Dans la médecine traditionnelle turque des variétés d'espèces du genre *Centaurea* sont utilisées pour soulager la douleur et l'inflammation, les symptômes de la polyarthrite rhumatoïde, la fièvre et les maux de tête [20].

Ces utilisations ont été confirmées par des études scientifiques qui ont mis en évidence diverses propriétés biologiques telles que antipelluculaire, anti-diarrhéique, antirhumatismales, anti-inflammatoire, cholérétique, diurétique, digestive, stomachique, astringent, antipyrétique, cytotoxique et antibactériennes pour ces espèces [21].

Par exemple, les fleurs de la plante *C. Cyanus* sont connues en Europe pour leur utilisation dans la médecine traditionnelle pour traiter les petites inflammations oculaires et comme diurétique, agent cholagogue, antimicrobienne, anti-inflammatoire et immunologique. [22,23].

Les fleurs du genre *Centaurea solstitialis* L. ssp. *solstitialis* sont utilisées en Turquie pour traiter les ulcères peptiques, l'ulcère gastro-duodéal, le paludisme, les rhumes, les maux d'estomac, les douleurs abdominales et les infections herpétiques autour des lèvres [24,25].

Beaucoup d'autres espèces du même genre sont très utilisées dans le domaine de la médecine traditionnelle. Les espèces *C. Cyanus* et *C. Scabiosa* sont utilisées contre la toux, les démangeaisons et en tant que remèdes ophtalmiques [26].

En outre, les espèces *C. Calcitrapa* , *C. Melitensis* et *C.Solstitialis* sont utilisées pour leurs effets hypoglycémiantes tandis que les espèces *C. Calcitrapa*, *C.Iberica* et *C. Jacea* pour leur activité antipyrétique [27].

L'évaluation comparative des extraits méthanoliques de cinq espèces turques du genre *Centaurea* (*C. kurdica*, *C. rigida*, *C. amanicola*, *C. cheirolopha* and *C. ptosimopappoides*) a montré des activités antioxydantes diverses et que l'espèce *C. cheirolopha* est la plus active [28].

Dans une autre étude sur plusieurs espèces de centaurées, il a été montré que l'espèce *Centaurea diffusa* a une activité antimicrobienne [29] et que les autres espèces sont utilisées pour traiter la fièvre, le diabète et comme diurétique [30].

Les parties aériennes avec ou sans fleurs de certaines espèces du genre *Centaurea* sont utilisées dans la médecine turque pour atténuer un large éventail de symptômes. Par exemple, les fleurs de *Centaurea iberica* Trev. ex Sprengel et *Centaurea solstitialis* L. ssp. *solstitialis* (CSS), et les parties aériennes de la *Centaurea virgata* Lam, sont utilisées contre les maux d'estomac [20].

Parmi les effets biologiques exercés par les espèces de *Centaurea*, il a été noté que plusieurs espèces ont été particulièrement recommandées contre les cas inflammatoires tels que les abcès (*Centaurea iberica* Trev. Ex Sprengel), l'asthme (*Centaurea iberica* Trev.ex Sprengel), les hémorroïdes (*Centaurea drahifolia* Sm.), la cicatrisation des plaies (*Centaurea iberica* Trev. Ex Sprengel, *Centaurea virgata* Lam., *Centaurea pterocaula* Trautv.), pour réduire la fièvre (*Centaurea calcitrapa* L., *Centaurea iberica* Trev. ex Sprengel, *Centaurea jacea* L., *Centaurea solstitialis* ssp. *solstitialis*), et les maux de tête (*Centaurea solstitialis* L. ssp. *solstitialis*) [20].

Un large éventail d'effets thérapeutiques ont également été attribués à des espèces *Centaurea* dans les médecines traditionnelles à travers le monde, y compris, les maladies endocriniennes (diabète), les troubles inflammatoires (douleurs rhumatismales, antipyrétique), les symptômes gastro-intestinaux (diarrhée, les indigestions et stomachique), les affections urogénitales (diurétique, pour induire les menstruations), les problèmes cardio-vasculaires (hypotension), parasitaires et les infections microbiennes (antibactérien, antipaludique) [20].

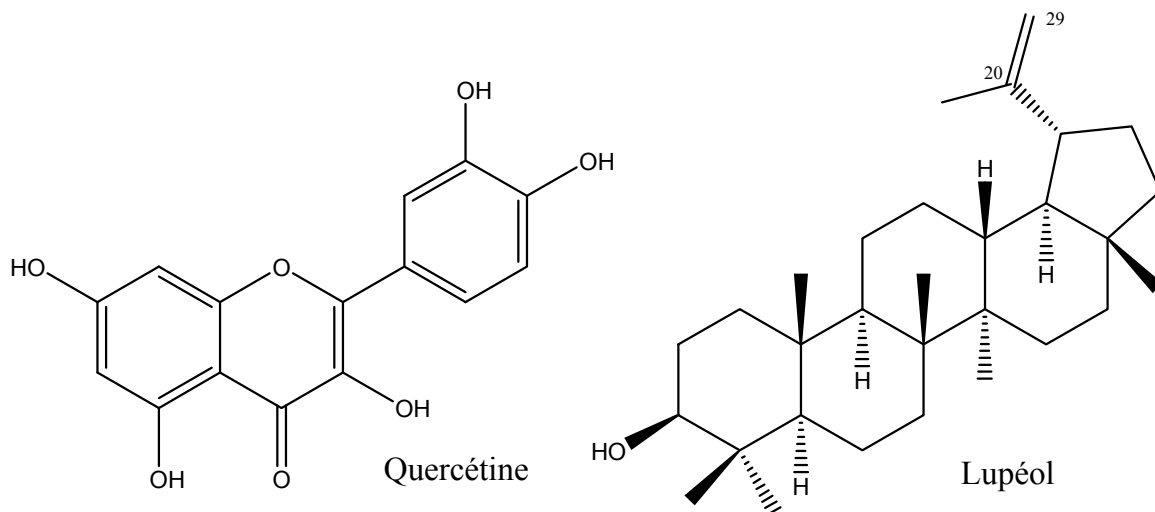
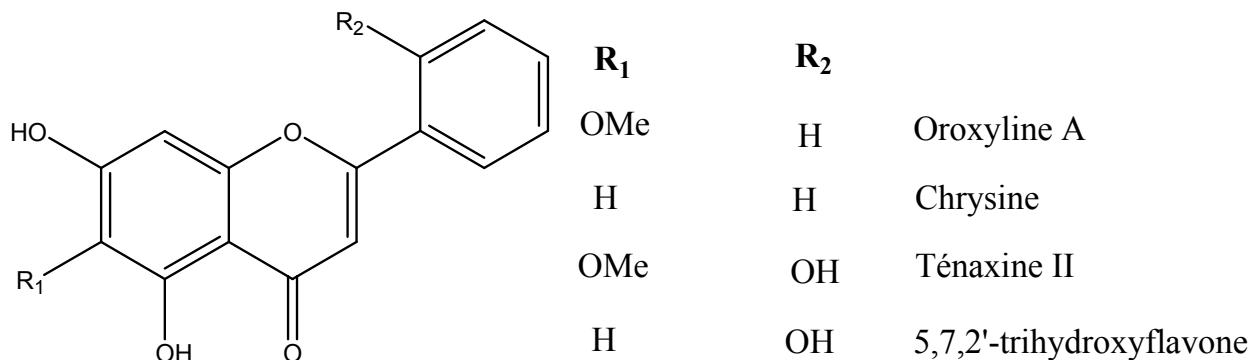
Dans la médecine traditionnelle chinoise, *Centaurea uniflora* a été utilisée contre la fièvre et pour la désintoxication. L'extrait d'acétate d'éthyle de cette espèce inhibe la peroxydation lipidique membranaire et a montré un effet anti-athérosclérotique. L'extrait aqueux de *Centaurea Chilensis* a été utilisé pour réduire la fièvre et les douleurs rhumatismales. *Centaurea Ornate* est également utilisée contre les douleurs rhumatismales et la *Centaurea sinaica* est utilisée pour réduire la fièvre. Les thés préparés à partir des parties aériennes de différentes espèces *Centaurea* sont également utilisés comme hypoglycémiant, tels que *Centaurea ornato*, *Centaurea aspera*, *Centaurea seridis* var. *maritima* et *Centaurea melitensis*. En raison de la saveur amère, les espèces de *Centaurea* sont également utilisées comme tonique digestif ou stomachique comme *Centaurea melitensis* et *Centaurea pallascens*. La *Centaurea melitensis*, *Centaurea pallascens* et la *Centaurea sinaica* sont également utilisées comme diurétique. En Espagne, les parties aériennes de *Centaurea ornato* sont utilisées comme dépuratif et cholagogue, tandis que les racines sont utilisées comme antispasmodique, cytostatique, diurétique, antipaludique, astringent, antinéoplasique, allergène, stomachique, tonique et emménagogue sont des propriétés attribuées à la *Centaurea sinaica* [20].

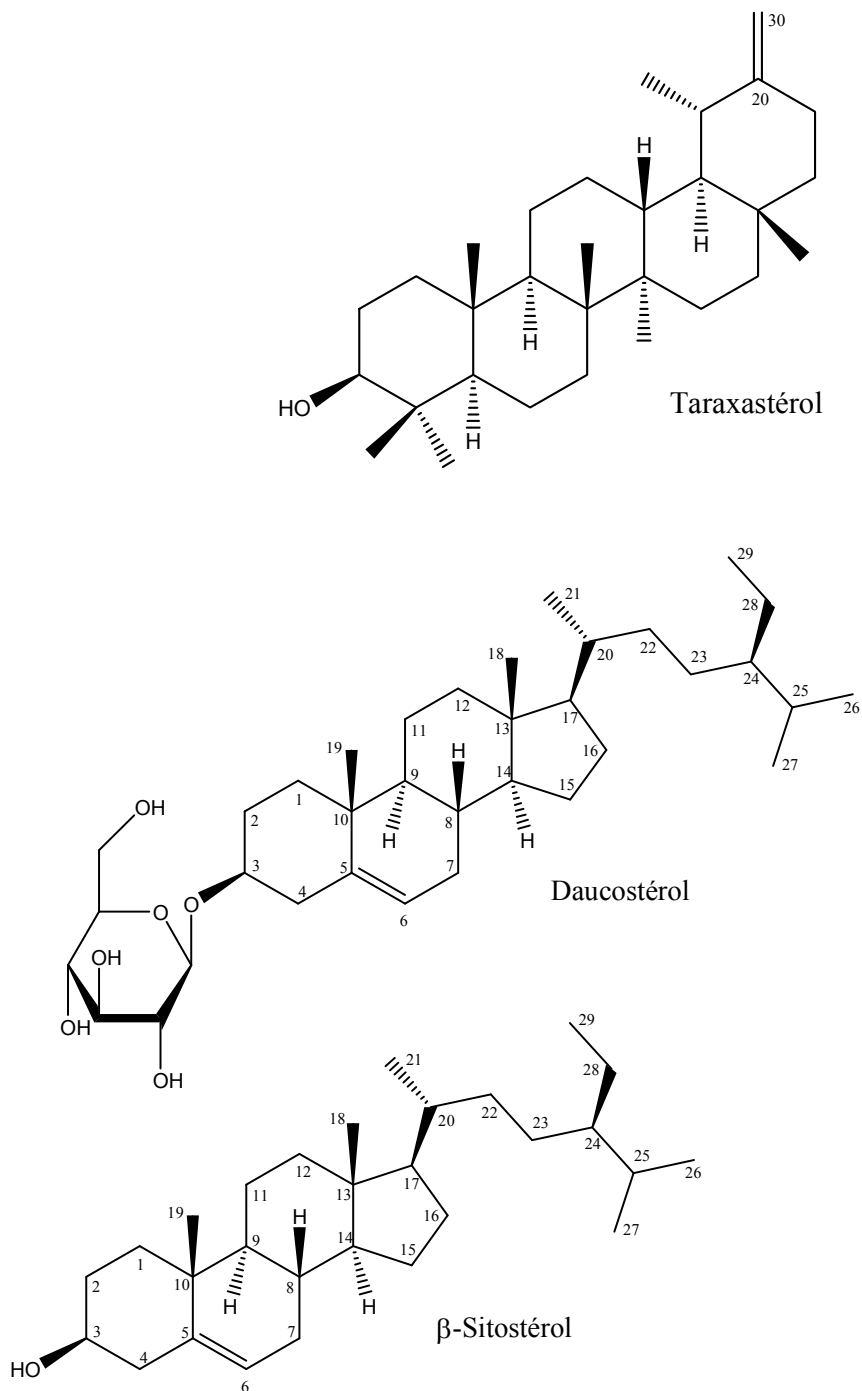
II.3.4. Etude bibliographique

D'après la recherche bibliographique que nous avons réalisée sur cette plante, les seuls travaux sont ceux effectués sur les parties aériennes de l'espèce *Centaurea omphalotricha* Coss. & Durieu. Cette étude a montré que cette plante est très riche en composés phénoliques [31].

En effet l'étude de la phase dichlorométhane de l'extrait hydro-alcoolique de cette espèce a permis la séparation et la détermination structurale de :

- ✓ quatre Flavones : Oroxyline A, Chryisine, Ténaxine II et 5, 7, 2'-trihydroxyflavone.
- ✓ Un Flavonol : Quercétine.
- ✓ Deux Triterpènes pentacycliques à squelette lupane et ursane : Lupéol et Taraxastérol respectivement
- ✓ Deux Stéroïdes : β -Sitostérol et Daucostérol .





II. 3. 5. Les métabolites secondaires les plus courants du genre *Centaurea*.

Comme nous l'avons mentionné précédemment, le genre *Centaurea* est une source importante dans le règne végétal qui produit de nombreux produits naturels : notamment les lactones sesquiterpéniques, les flavonoïdes, les polyphénols, les terpènes et les alcaloïdes.

Les composés qui caractérisent ce genre sont connus pour leurs activités biologiques diverses notamment l'activité antioxydante et l'activité cytotoxique [32].

II. 3. 5. 1. Les sesquiterpènes lactones

Les investigations phytochimiques effectuées sur les espèces du genre *Centaurea* ont révélé que les sesquiterpènes lactone de type guaianolides, germacranolides, elemanolides et eudesmanolides sont les composés les plus rencontrés dans ce genre contrairement à d'autres types [33,34].

Le tableau II-1 représente quelques lactones sesquiterpéniques isolés du genre *Centaurea*.

Tableau II-1 : Quelques lactones sesquiterpéniques isolés du genre *Centaurea*

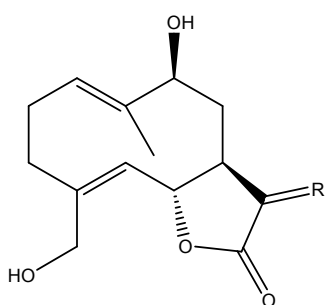
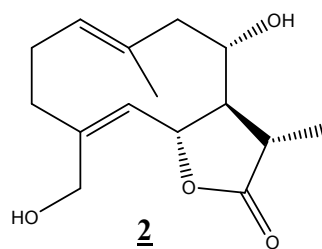
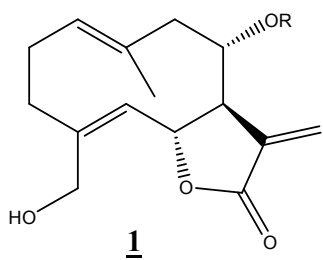
Composé	Structure	Type de Composé	Plante	Réf	
Salonitenolide	<u>1a</u>	germacranolides	<i>C. Aspera</i>	35	
8 α -angeloylsalonitenolide	<u>1b</u>				
8 α -(5-hydroxy)-angeloylsalonitenolide	<u>1c</u>				
salonitenolide-8- <i>O</i> -(4'-acetoxy-5'-hydroxyangelate)	<u>1d</u>				
8 α -(<i>Z</i> -2-Methyl-4-acetoxybut-2-enoyloxy)-15-hydroxygermacra-1(10), <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,11(13)-trien-12,6 α -olide	<u>1e</u>				
Onopordopicrin	<u>1f</u>				
Cnicin	<u>1g</u>				
4'-acetylcnicin	<u>1h</u>				
11 β , 13-dihydrosaloitenolide	<u>2</u>				
8-Oxo-15-hydroxygermacra-1(10), <i>E</i> ,4 <i>Z</i> -dien-11 β H-12,6 α -olide	<u>3</u>				
Sténophylloïde	<u>4</u>				
Dihydrosténophylloïde	<u>5</u>				
Methyl 8 α -(<i>Z</i> -2-hydroxymethyl-4-acetoxybut-2-enoyloxy)-6 α ,15-dihydroxyelema-1,3,11(13)-trien-12-oate	<u>6d</u>				elemanolides
Elemacaranin	<u>6f</u>				
Hierapolitanin A	<u>7</u>	elemanolides			
Hierapolitanin B	<u>8</u>	eudesmanolides			
Hierapolitanin C	<u>9</u>	guaianolides	<i>C.Scoparia</i>	37	
Hierapolitanin D	<u>10</u>				
(1 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>S</i> ,7 <i>R</i> ,8 <i>S</i>)-4 β -(chlorométhyl)-3 β ,4 α -dihydroxy-8 α -(3-formyl-2-méthyl-propénoyloxy)-1 α H,5 α H,6 β H,7 α H-guai-10(14),11(13)-dien-6,12-olide	<u>11</u>	guaianolides	<i>C.Scoparia</i>	37	
(1 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>S</i> ,7 <i>R</i> ,8 <i>S</i>)-4 β -(chlorométhyl)-3 β ,4 α -dihydroxy,8 α -(sarracénoyloxy)-1 α H, 5 α H,6 β H,7 α H-guai-10(14),11(13)-dien-6,12-olide	<u>12</u>				
8 α -hydroxy-3 β -(benzoyloxy)-1 α H,5 α H,6 β H,7 α H-guai-4(15),10(14),11(13)-trien-6,12-olide	<u>13</u>				
3 β -hydroxy-8 α -(3,4-diméthoxybenzoyloxy)-11 β ,13-dihydro-1 α H,5 α H,6 β H,7 α H-guai-4(15),10(14)-dien-6,12-olide	<u>14</u>	germacranolide	<i>C.Moesiaca</i>	38	
Onopordopicrin	<u>15</u>				
Cnicin	<u>16</u>	germacranolides	<i>C.Moesiaca</i>	38	
4'-acetylcnicin	<u>17</u>				
3'-acetylcnicin	<u>18</u>				
salonitenolide-8- <i>O</i> -(4'-acetoxy-5'-hydroxyangelate)	<u>19</u>				
8 α -(5-hydroxy)-angeloylsalonitenolide	<u>20</u>				
Onopordopicrin	<u>21</u>				
8 α -(3,4-dihydroxy-2-méthylènebutanoyloxy)-dehydromelitensin	<u>22</u>				elemanolide
Malacitanolide	<u>23</u>				eudesmanolides
8 α -(3-hydroxy-4-acetoxy-2-méthylènebutanoyloxy)-4- <i>epi</i> -sonchucarpolide	<u>24</u>				
8 α -acyloxy-1,15-dihydroxy-4 <i>E</i> ,10(14),11(13)-germacratrien-12,6 α -olide	<u>25</u>				germacranolides
	<u>26</u>				
Salonitenolide	<u>1a</u>	germacranolides	<i>C. grisebachii ssp</i>	39	
8 α - <i>O</i> -[(4-acetoxy-5-hydroxy)-angeloyl]-salonitenolide	<u>1d</u>				
8 α - <i>O</i> -(3,4-dihydroxy-2-méthylènebutanoyloxy)-11 β ,13-dehydromelitensin	<u>22</u>	elemanolide			

8 α -hydroxy-4- <i>epi</i> -sonchucarpolide	<u>83</u>	eudesmanolides					
8 α - <i>O</i> -(4-acetoxy-3-hydroxy-2-méthylènebutanoxy)-4- <i>epi</i> -sonchucarpolide	<u>24</u>						
8 α - <i>O</i> -(3,4-dihydroxy-2-méthylènebutanoxy)-4- <i>epi</i> -sonchucarpolide	<u>23</u>						
Cnicin	<u>16</u>	germacranolide	<i>C. grisebachii</i> ssp	39			
8 α - <i>O</i> -(3,4-dihydroxy-2-méthylènebutanoxy)-sonchucarpolide (4- <i>epi</i> -malacitanolide)	<u>23</u>	eudesmanolide					
Kandavanolide	<u>30</u>	guaianolides	<i>C. Nicolai</i>	40			
salograviolide A	<u>31</u>						
3-deacetyl-9- <i>O</i> -acetylsalograviolide A	<u>32</u>						
9- <i>O</i> -acetylsalograviolide A,	<u>33</u>						
salograviolide B	<u>34</u>						
Salonitenolide	<u>1a</u>	germacranolides	<i>Centaurea alba</i>	41			
1 β ,13-dihydroxalonenolide	<u>96</u>						
Salonitenolide 8- <i>O</i> -(4'-acetoxy-5'-hydroxy)-angelate	<u>1d</u>						
Cnicin 4'- <i>O</i> -acetate	<u>1h</u>						
Cnicin	<u>16</u>						
Chlorojanerin	<u>38</u>	guaianolides					
Chlorohyssopifolin A (centaurepensis)	<u>39</u>						
Chlorohyssopifolin A (C-17 epimer)	<u>40</u>	guaianolides	<i>C. Scoparia</i>	42			
3 β ,8 α - <i>O</i> -di(4-hydroxy-tigloyl)-1 α H,5 α H,6 β H,7 α H-guai-4(15),10(14),11(13)-triène-6,12-olide.	<u>41</u>						
Cebellin F	<u>42</u>						
8 α ,4'-hydroxytiglate)-8-desacyloxysubluteolide	<u>43</u>						
8-desacylrepin	<u>44</u>						
(1S,3S,5R,6R,7R,8S)-8-angelyloxy-3-hydroxyguai-3(15),10(14),11(13)-triène-6,12-olide	<u>45</u>						
8-desacylcentaurepensis-8- <i>O</i> -(4-hydroxytiglate)	<u>46</u>						
Chlorohyssopifolin A	<u>47</u>						
8 α -hydroxy-1 α ,13-dihydrozaluzanin C	<u>48</u>						
Desacylcynaropicrin	<u>49</u>						
Chlorohyssopifolin B	<u>50</u>						
Chlorojanerin	<u>51</u>						
8-deacylcentaurepensis 8- <i>O</i> -(4-hydroxy)-Tiglate	<u>52</u>						
Chloroscoparin	<u>53</u>						
Chlorohyssopifolin B	<u>54</u>						
Diain	<u>55</u>						
Cynaropicrin	<u>56</u>						
Deacylcynaropicrin	<u>57</u>						
Janerin	<u>58</u>						
Dehydrocostus	<u>59</u>						
Jurineolide	<u>60</u>	germacranolides	<i>C. Musimomum</i>	44			
3-oxo-4 α -acetoxy-15-hydroxy-1 α H,5 α H,6 β H,7 α H,11 β H-guai-10(14)-ène-6,12-olide and	<u>61</u>	guaianolides					
3-oxo-4 α -hydroxy-15-hydroxy-1 α H,5 α H,6 β H,7 α H,11 β H-guai-10(14)-ène-6,12-olide.	<u>62</u>	eudesmanolide	<i>C. Granata</i>	45			
8 α -hydroxy-11 β ,13-dihydro onopordaldehyde.	<u>63</u>	guaianolides	<i>C. Musimomum</i>	46			
4 β ,15-Dihydro-3-dehydroxalstenolide A monoacetate	<u>36</u>						
aguerin B	<u>64</u>						
17,18-desoxyrepin	<u>65</u>						
19-desoxy-15-chlorojanerin	<u>66</u>						
Centaurepensis	<u>39</u>						
Chlorojanerin	<u>51</u>						
linichlorin B diacetate	<u>67</u>						
repin monoacetate	<u>68</u>						
cynaropicrin diacetate	<u>69</u>						
janerin diacetate	<u>70</u>						
β -cyclocostunolide	<u>71</u>				eudesmanolide	<i>C. Acaulis</i> L	47
Costunolide	<u>72</u>				germacranolide		
Zaluzanin D	<u>73</u>				guaianolides		
14-chloro-10 β -hydroxy-10(14)-dihydrozaluzanin D	<u>74</u>						
Santamarin	<u>75</u>	eudesmanolide					
Kandavanolide	<u>76</u>	guaianolide	<i>C. thessala</i>	34			
Cnicin	<u>77</u>	Germacranolides					
4'-acetylcnicin	<u>78</u>						
8 α -[(4-acetoxy-5-hydroxy)-angelate]salonitenolide	<u>79</u>						

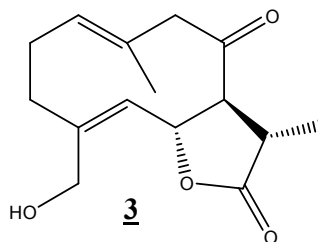
8 α -(3,4-dihydroxy-2-méthylène-butanoyloxy)-déhydro-melitensin	<u>80</u>	elemanolides		
méthyl 8 α -(3,4-dihydroxy-2-méthylène-butanoyloxy)-6 α ,15-dihydroxyelema-1,3,11 (13)-trien-12-oate	<u>81</u>			
8 α -(3-hydroxy-4-acétoxy-2-méthylène-butanoyloxy) déhydro-melitensin	<u>82</u>			
8 α -hydroxy-4- <i>epi</i> -sonchucarpolide.	<u>83</u>	eudesmanolides	<i>C. Attica</i>	
Malacitanolide	<u>84</u>			
4'-acétoxymalacitanolide	<u>85</u>			
Atticin	<u>86</u>			
4- <i>epi</i> -carmanin	<u>87</u>			
11 β , 13-dihydro-8 α -hydroxy-4- <i>epi</i> -sonchucarpolide	<u>88</u>			
11 β ,13-dihydrocnicin	<u>89</u>	germacranolides		
11 β ,13-dihydro-19-desoxycnicin	<u>90</u>			
8 α -O-(4-acétoxy-5-hydroxyangeloyl)-11 β ,13-dihydrocnicin	<u>91</u>			
8 α -O-(4-hydroxy-2-méthylènebutanoyloxy)-11 β ,13-dihydrosonchucarpolide	<u>92</u>	eudesmanolides	<i>C. pullata</i>	48
8 α -O-(4-hydroxy-2-méthylènebutanoyloxy)-11 β ,13-dihydro-4- <i>epi</i> -sonchucarpolide	<u>93</u>			
8 α -O-(4-hydroxy-2-méthylènebutanoyloxy) Melitensin	<u>94</u>	elemanolides		
Melitensin	<u>95</u>			
11 β ,13-dihydrosalonitenolide	<u>96</u>	germacranolide		
8 α -hydroxy-11 β ,13-dihydro-4- <i>epi</i> -sonchucarpolide	<u>97</u>	eudesmanolides		
8 α -hydroxy-11 β ,13-dihydro-onopordaldehyde	<u>98</u>			
Cnicin	<u>77</u>	germacranolide	<i>C. diffusa</i>	49
Babylin A	<u>99</u>	guaianolides	<i>C. babylonica</i>	50
Babylin B	<u>100</u>			
Repin	<u>101</u>			
Chlorohyssopifolin	<u>102</u>			
Janerin	<u>103</u>			
Cebellin J	<u>104</u>			
Subluteolide	<u>105</u>	guaianolides	<i>C. conifera</i>	51
repin	<u>101</u>			
Janerin	<u>58</u>			
Cnicin	<u>77</u>	germacranolide	<i>C. cineraria</i>	
Dehydromelitensin	<u>106</u>	elemanolide		
zaluzanin D	<u>73</u>	guaianolides	<i>C. ptosimopappa</i>	52
zaluzanin C	<u>107</u>			
Janerin	<u>103</u>			
Chlorojanerin	<u>108</u>			
Cynaropicrin	<u>56</u>			
Deacylcynaropicrin	<u>57</u>			
11 α ,13-dihydro-deacylcynaropicrin	<u>109</u>			
11 β ,13-dihydro-deacylcynaropicrin	<u>110</u>			
4 β ,15-dihydro-3-déhydro-solstitialin A	<u>111</u>			
Cnicin	<u>16</u>	germacranolides	<i>C. paniculata</i>	53
4'-acétylcnicin	<u>17</u>			
Chlorojanerin	<u>108</u>	guaianolides	<i>C. solstitialis</i>	54
13-acétyl solstitialin A	<u>112</u>			
solstitialin A	<u>113</u>			
Cnicin	<u>77</u>	germacranolides	<i>C. nicaensis</i>	55
Onopordopicrin	<u>21</u>			
Dihydroamarin	<u>114</u>			
(5R,6R,7R,8S, 10S, 11S- 15-Hydroxy-8-(1,2-dihydroxyethyl)-acryloxyelema-1,3-dien-6,12-olide (3)	<u>115</u>			
agerin B	<u>64</u>	guaianolide	<i>C. deflexa</i>	56
onopordopicrin (1)	<u>21</u>	germacranolide	<i>C. tweediei</i>	57
(1R, 4R, 5R, 6R, 7R, 8S, 10R)-1-Hydroxy-8-méthacryloxy-15-oxoeudesm-11(13)-en-6,12-olide	<u>116</u>	eudesmanolides		
(1R, 4S, 5R, 6R, 7R, 8S, 10R Methyl 1,6-dihydroxy-8-méthacryloxyeudesm-11(13)-en-15-oic acid-12-oate	<u>117</u>			
(6S, 7R, 8S)-8-(40-Hydroxyméthacryloxy)-15-oxohelianga-1(10), 4, 11 (13)-trien-6, 12-olide	<u>118</u>	héliangolide		

(1R, 4S or R, 5R, 6S, 7R, 8S)-15-Hydroxy-8-(40-hydroxymethacroyloxy)-10(14), 11 (13)-guaïadien-6,12-olide	<u>119</u>	guaianolide		
Cnicin	<u>77</u>	Germacranolides	<i>C. affinis</i>	58
Salonitenolide	<u>1a</u>			
Salonitenolide	<u>1a</u>	germacranolides	<i>C. orphanidea</i>	59
Cnicin	<u>77</u>			
4'-O-acetylcnicin	<u>1h</u>			
Malacitenolide	<u>23</u>			
8 α -O-4- <i>epi</i> -sonchucarpolide	<u>83</u>	eudesmanolides	<i>C. orphanidea</i>	59
8 α -O-(4-acetoxy-3-hydroxy-2-methylenebutanoyloxy)-4- <i>epi</i> -sonchucarpolide	<u>24</u>			
8 α -O-(3, 4 dihydroxymethylenebutanoyloxy)-Dehydromelitensin	<u>22</u>	elemanolides		
11,13-dihydro-desacetylcynaropicrin	<u>109</u>	guaianolides	<i>C. ptosimopappoides</i>	60
Cynaropicrin	<u>56</u>			

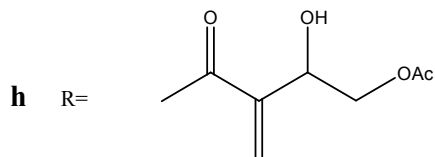
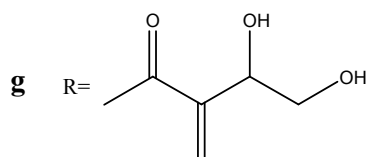
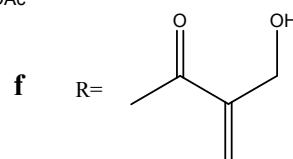
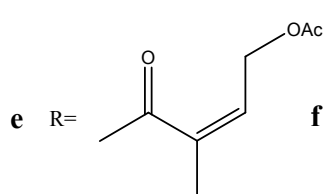
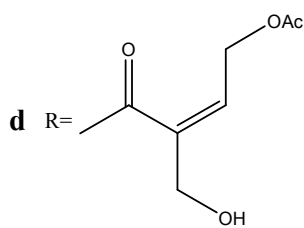
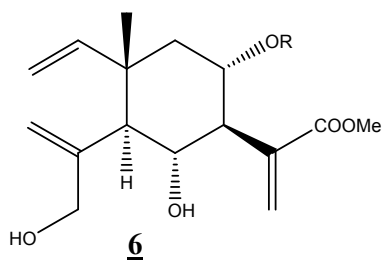
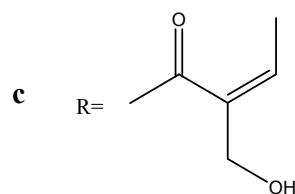
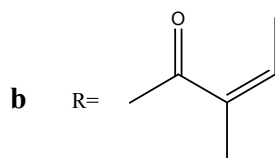
Les structures des différents sesquiterpènes lactones isolés des espèces du genre *Centaurea* cités dans le tableau II. 1 sont présentées dans les figures suivantes :

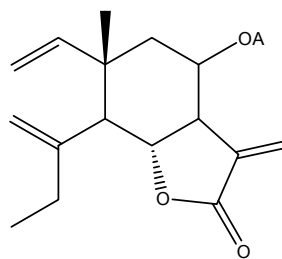
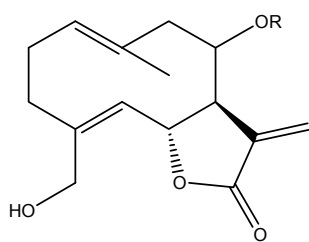


5 R= H, α Me



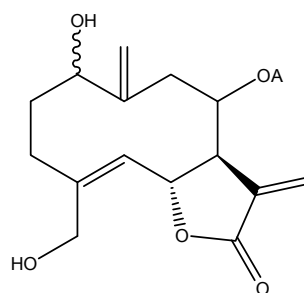
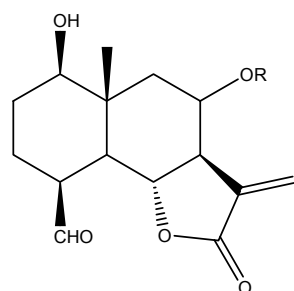
a R= H





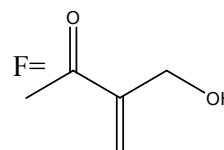
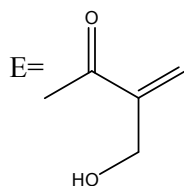
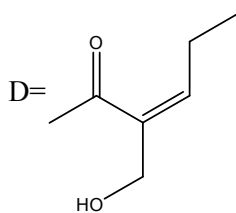
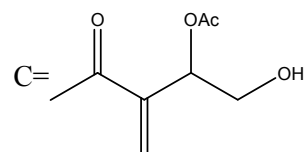
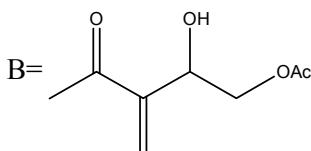
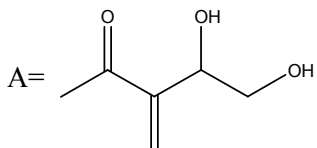
- 16** R= A **19** R= D
17 R= B **20** R= E
18 R= C **21** R= F

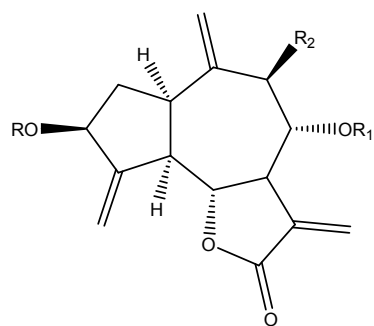
22



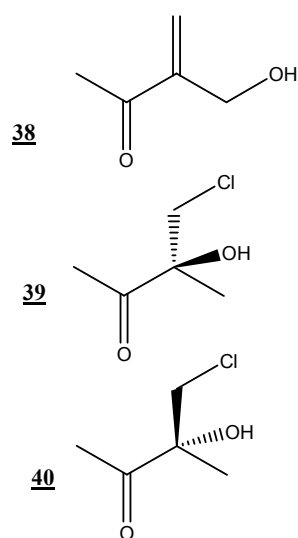
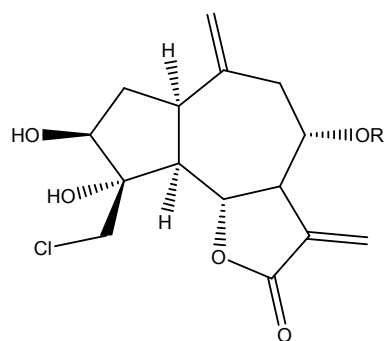
- 23** R= A
24 R= B

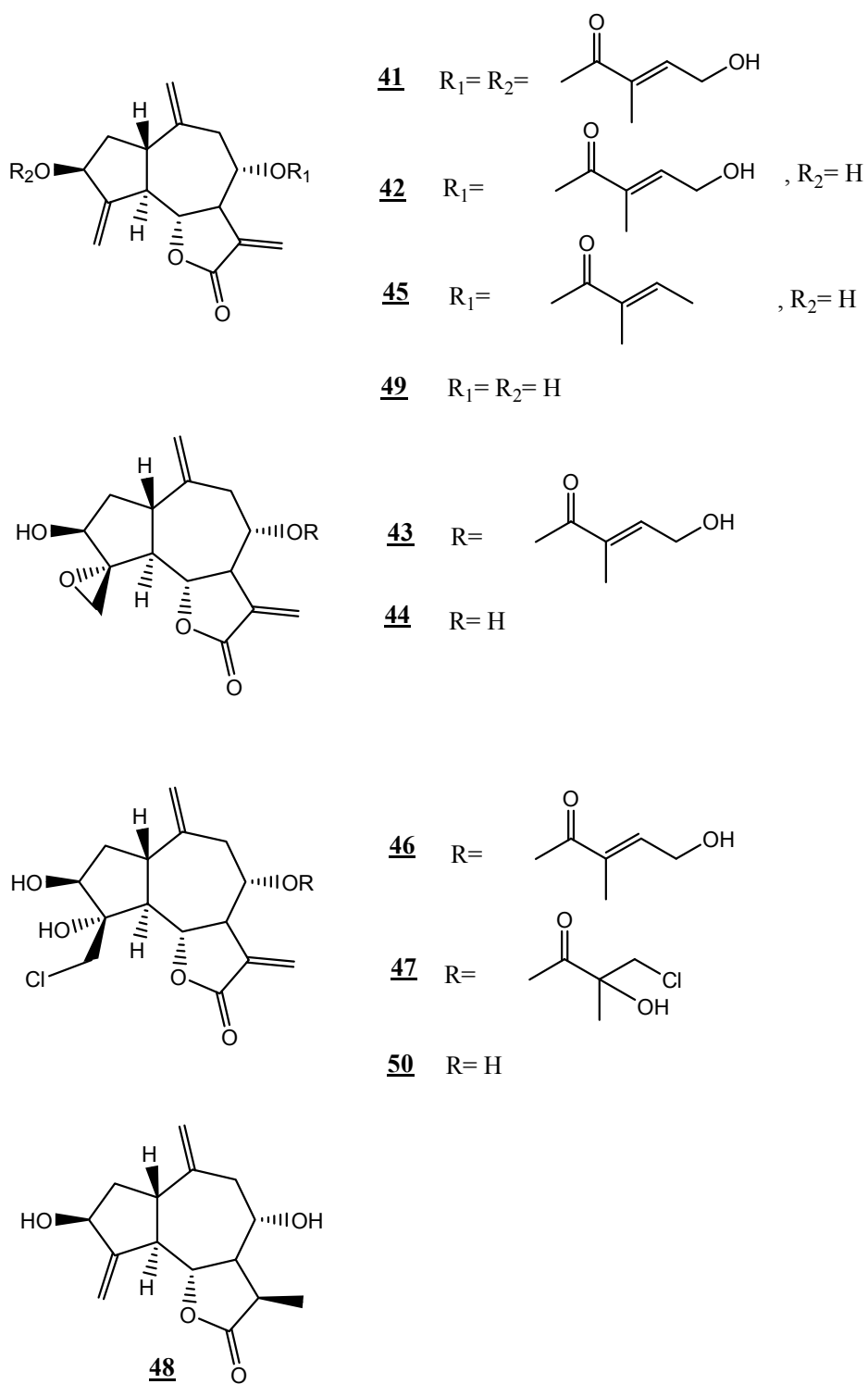
- 25** 1 β -OH
26 1 α -OH

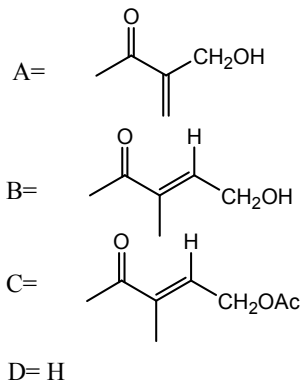
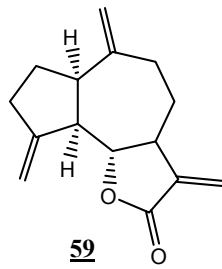
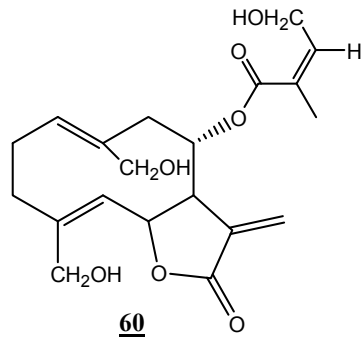
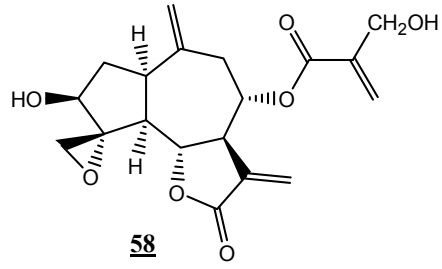
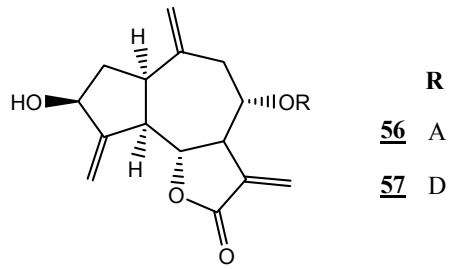
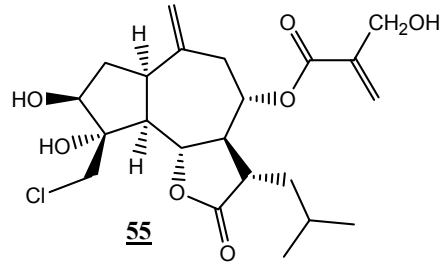
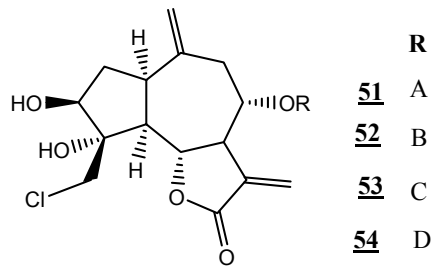


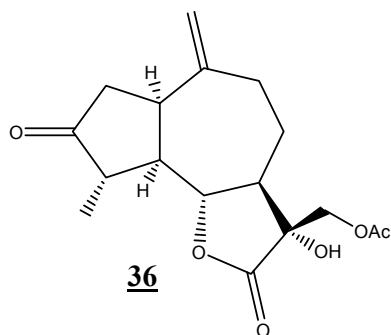
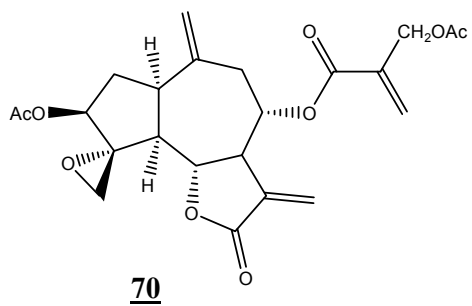
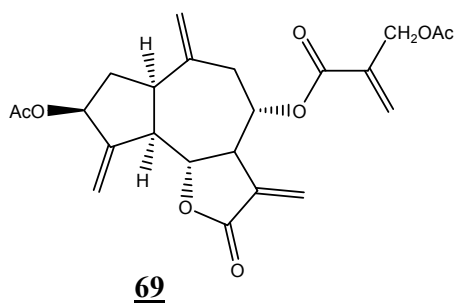
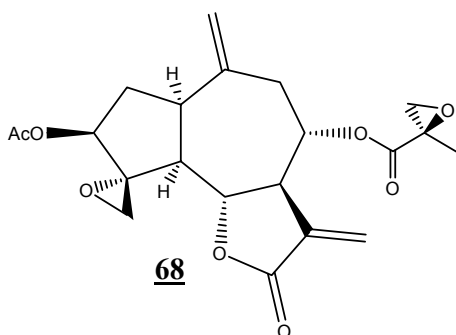
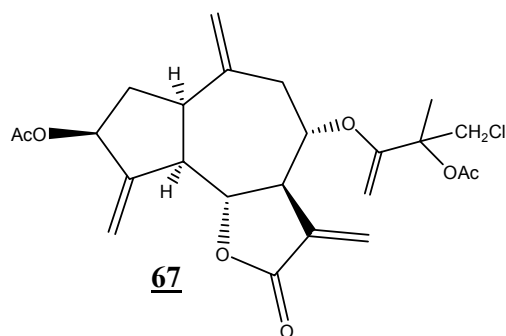
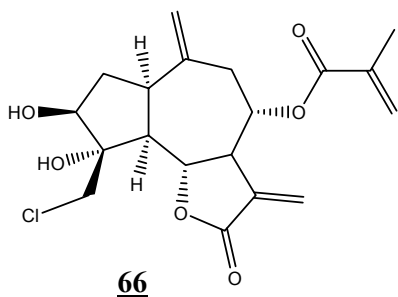
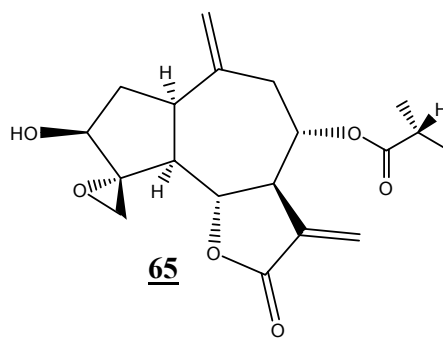
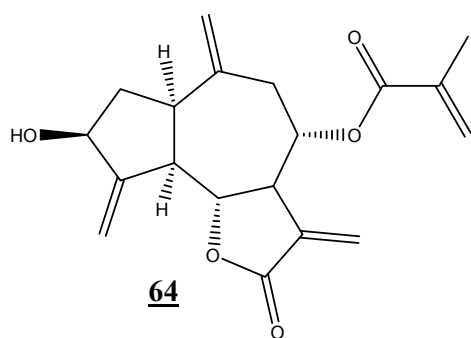


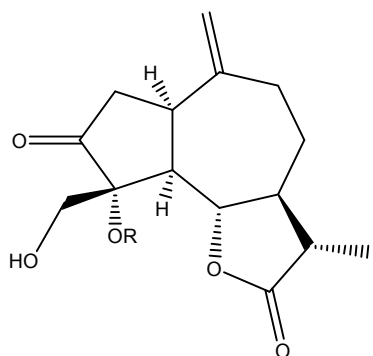
	R	R1	R2
30	Ac	H	H
31	Ac	H	OH
32	H	H	OAc
33	Ac	H	OAc
34	Ac	H	H











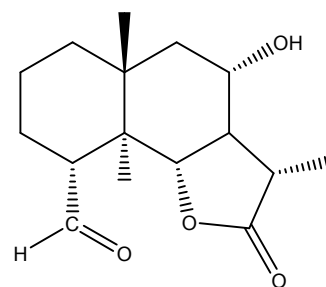
61

62

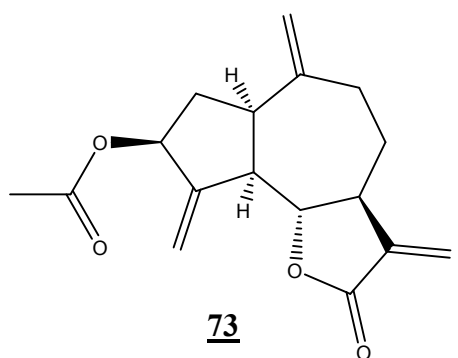
R

Ac

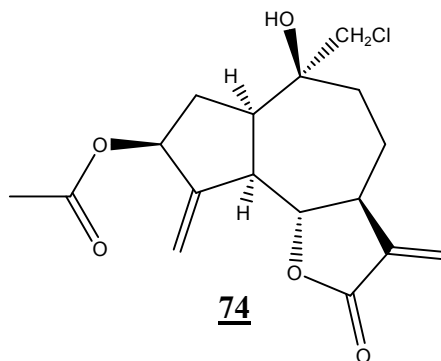
H



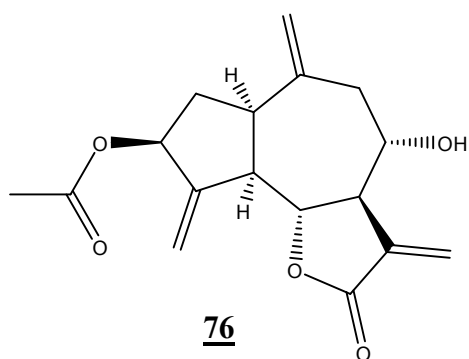
63



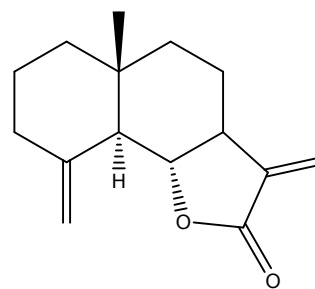
73



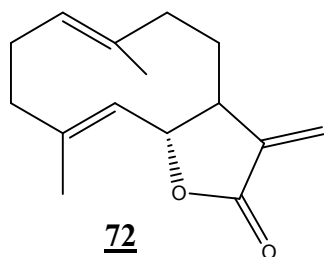
74



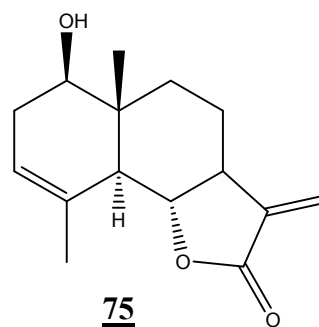
76



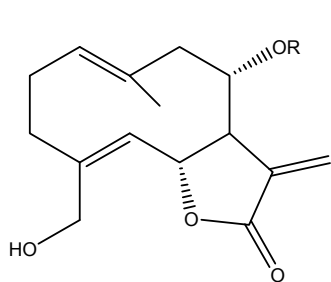
71



72



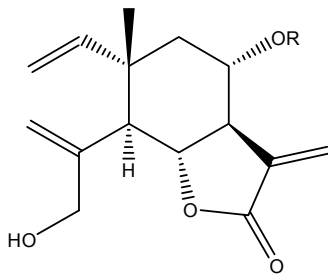
75



77 R= A

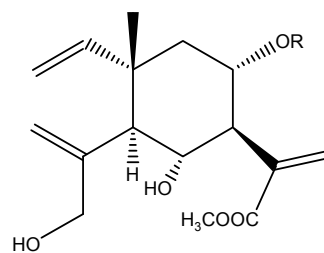
78 R= B

79 R= C

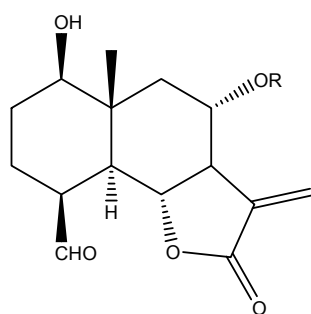


80 R= A

82 R= B



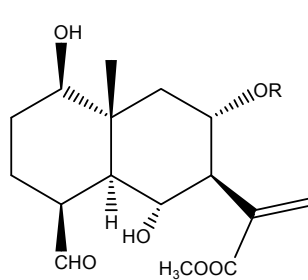
81 R= A



83 R= H

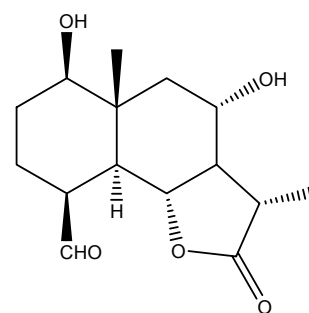
84 R= A

85 R= B

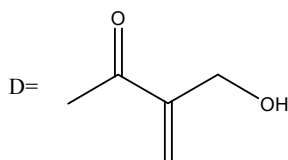
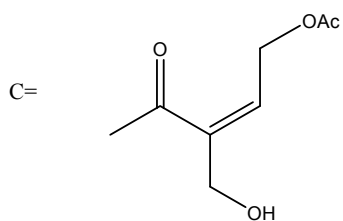
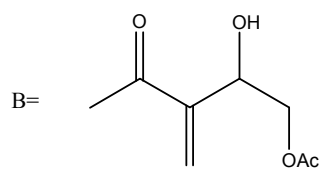
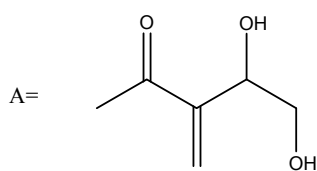


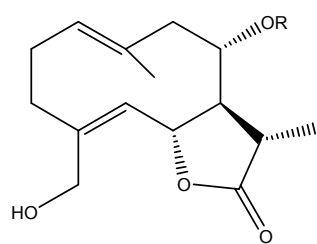
86 R= B

87 R= D



88



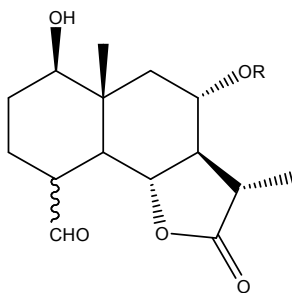


89 R= A

90 R= B

91 R= C

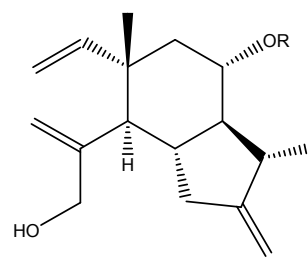
96 R= H



92 R= B, -CHO

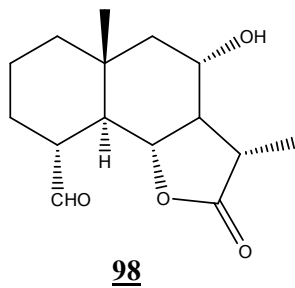
93 R= B, -CHO

97 R= H, -CHO

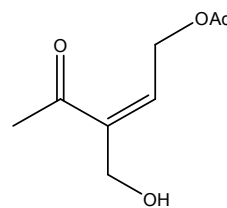
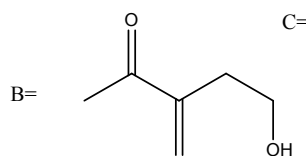
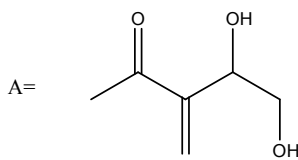


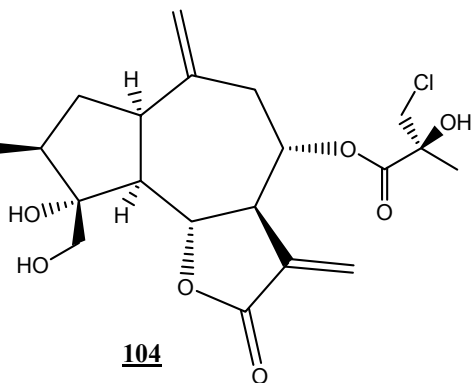
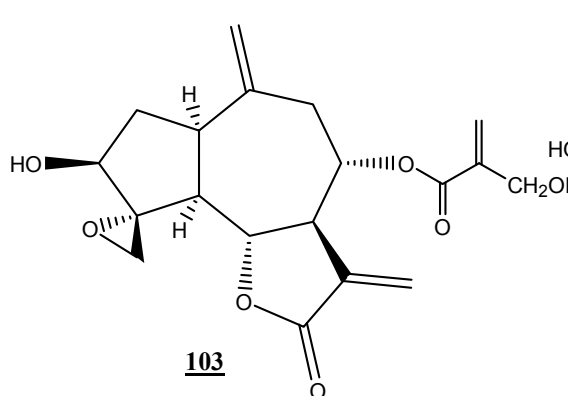
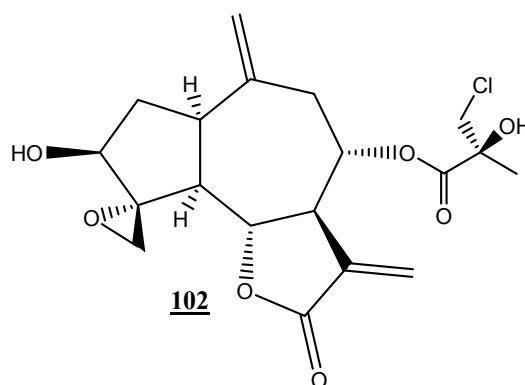
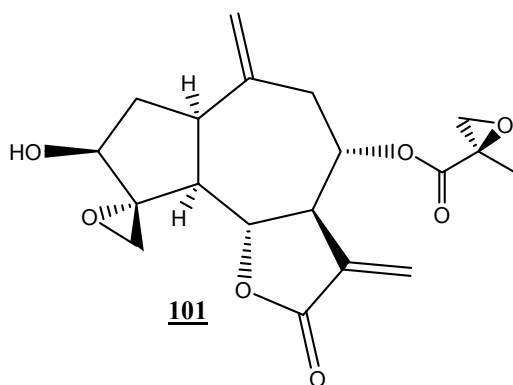
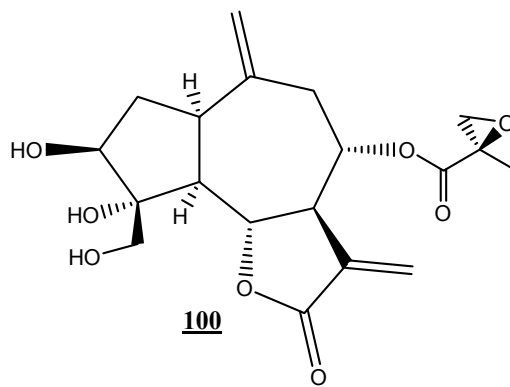
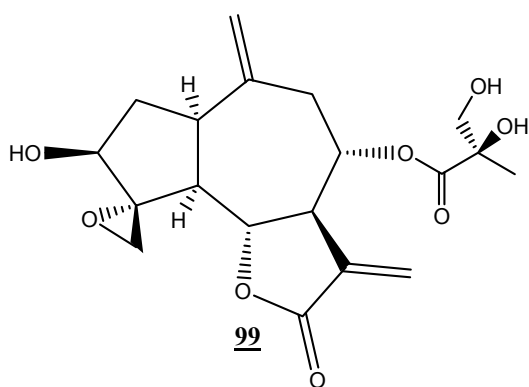
94 R= B

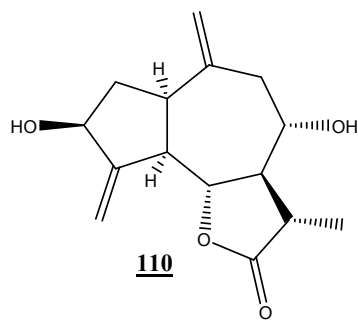
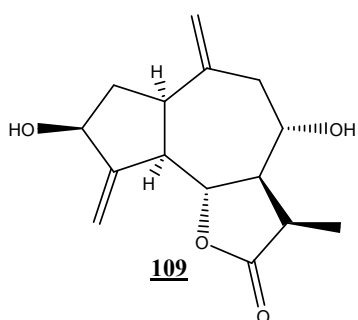
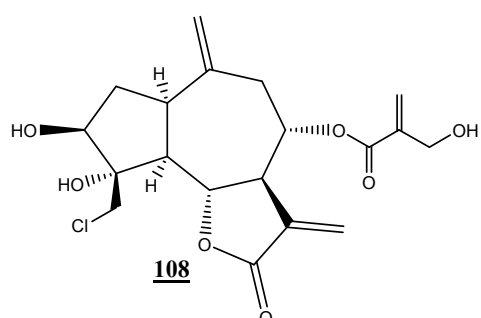
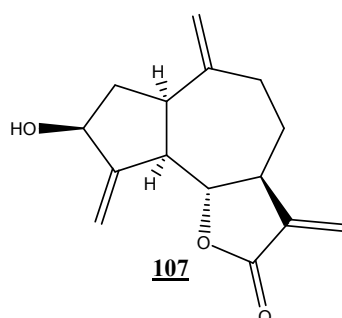
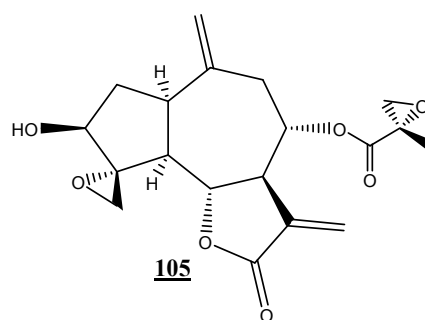
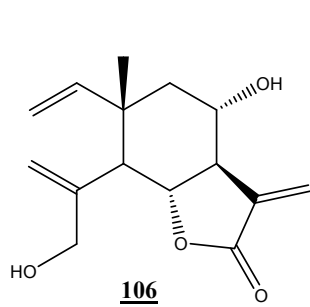
95 R= H

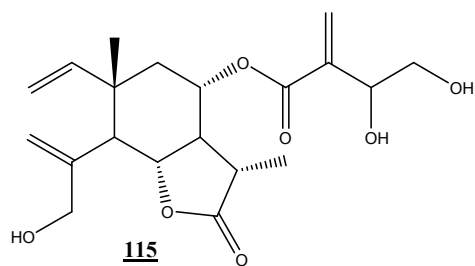
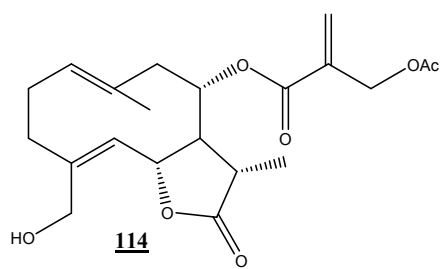
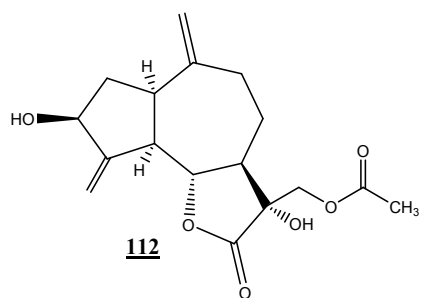
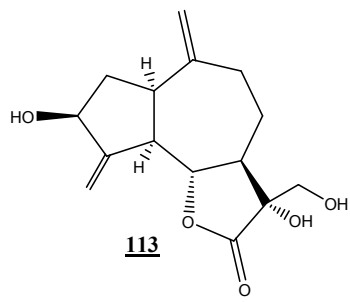
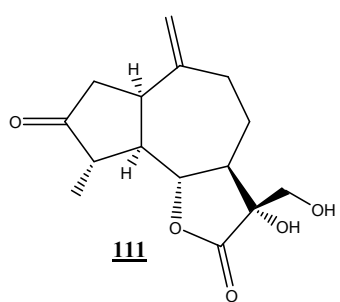


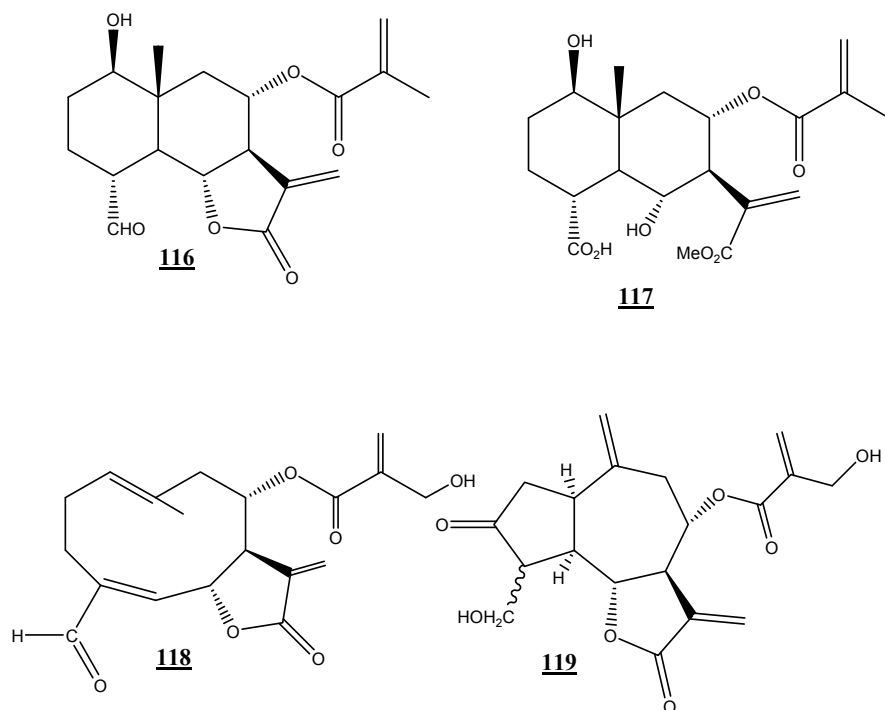
98











II. 3. 5. 2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont largement distribués dans les espèces du genre *Centaurea* :

- l'apigénine, l'hispiduline et la jaceosidine sont les flavones les plus répandues dans ce genre.
- La quercétine, kaempférol et centaureidine sont les flavonols les plus rencontrés dans ce genre.
- Les flavonoïdes *O*-glycosylés sont plus abondants que les *C*-glycosylés.

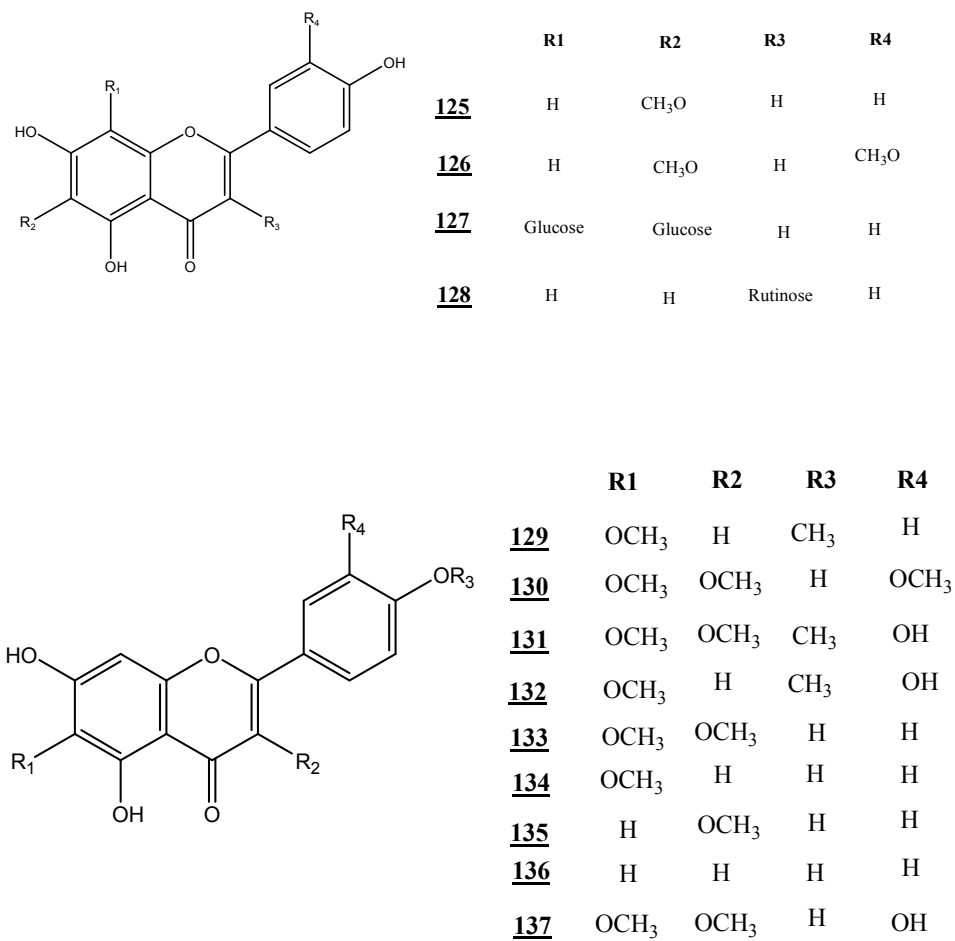
Le tableau **II-2** représente quelques composés flavoniques isolés des espèces du genre *Centaurea*.

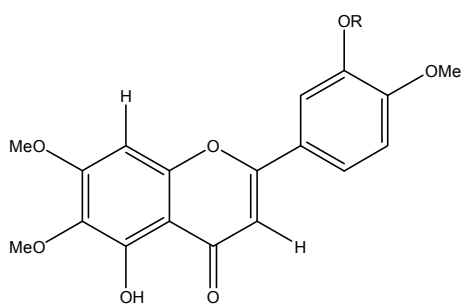
Tableau II. 2

Composé	Structure	Plante	Type de composé	Ref		
hispiduline	<u>125</u>	<i>C. hierapolitana</i>	flavones	36		
jaceosidine	<u>126</u>					
shaftoside	<u>127</u>					
kaempferol-3- <i>O</i> -rutinoside	<u>128</u>	<i>C. Moesiaca</i>	flavonol	29		
Pectolarigenin	<u>129</u>		flavone			
jaceidin	<u>130</u>		flavonols			
centaureidin	<u>131</u>		flavone			
desmethoxycentaureidin	<u>132</u>		flavonol			
kaempferol-3,6-dimethyl ether	<u>133</u>		flavone			
hispidulin	<u>134</u>		flavonol			
isokaempferide	<u>135</u>		flavone			
apigenin	<u>136</u>		flavone			
axillarin	<u>137</u>		flavonol			
5-hydroxy-6,7,3',4'-tetramethoxyflavone	<u>138</u>	<i>C. Granata</i>	flavones	45		
5,3'-dihydroxy-6,7,4'-trimethoxyflavone	<u>139</u>					
pinocembrin 7- <i>O</i> - α -arabinopyranosyl-(1-2)- β -glucopyranoside	<u>140</u>	<i>C. pseudoscabiosa</i>	flavones	61		
chrysin 7- <i>O</i> - β -galactopyranuronoside	<u>141</u>					
baicalein 6-methylether-7- <i>O</i> - β -galactopyranuronoside	<u>142</u>					
Centabracein	<u>143</u>	<i>C. bracteata Scop</i>	flavonols	62		
Bracteoside	<u>144</u>					
Centaradixin	<u>145</u>	<i>C. bracteata</i>		63		
Naringenin-7- <i>O</i> - β -D-glucuronopyranoside	<u>146</u>	<i>C. Urvillei</i>	flavone	64		
6-Hydroxykaempferol-7- <i>O</i> - β -D-glucuronopyranoside	<u>147</u>		flavonol			
hispidulin-7- <i>O</i> - β -D-glucuronopyranoside	<u>148</u>		flavone			
apigenin-7- <i>O</i> - β -D-methylglucuronopyranoside	<u>149</u>		flavones			
hispidulin-7- <i>O</i> - β -D-methylglucuronopyranoside	<u>150</u>					
hispidulin-7- <i>O</i> - β -Dglucopyranoside	<u>151</u>					
apigenin-7- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside	<u>152</u>					
kaempferol	<u>153</u>				flavonol	
apigenin	<u>154</u>				flavones	
luteolin	<u>155</u>				flavonol	
eriodictyol-7- <i>O</i> - β -D-glucuronopyranoside	<u>156</u>		flavonol			
cyanidin 3- <i>O</i> -(6- <i>O</i> -succinylglucoside)-5- <i>O</i> -glucoside	<u>157</u>	<i>C. Cyanus</i>	flavones	65		
centaurocyanin, apigenin 7- <i>O</i> -glucuronide-4'- <i>O</i> -(6- <i>O</i> -malonylglucoside)	<u>158</u>					
Hispidulin 7- <i>O</i> -methylglucuronide	<u>159</u>	<i>C. furfuracea</i>	flavone	66		
patuletin	<u>160</u>	<i>C. ruthenica</i>	flavonols	67		
patuletin 7- <i>O</i> -glucoside	<u>161</u>					
patuletin 3,7-di- <i>O</i> -glucoside	<u>162</u>					
quercetagetin	<u>163</u>					
quercetagetin 7- <i>O</i> -glucoside	<u>164</u>					
6-methoxykaempferol	<u>165</u>					
6-methoxykaempferol 7- <i>O</i> -glycoside	<u>166</u>					
axillarin	<u>167</u>					
axillarin 7- <i>O</i> -galactoside	<u>168</u>					
axillarin 7- <i>O</i> -glucoside	<u>169</u>					
jaceosidin	<u>170</u>				flavone	
jaceosidin 7- <i>O</i> -glucoside	<u>171</u>				flavonol	
quercetin 3- <i>O</i> -glycoside	<u>172</u>					
6- <i>C</i> -glucosylluteolin (Isoorientin)	<u>173</u>	<i>C. macrocephala</i>	flavone	68		
6- <i>C</i> -glucosyl apigenin (Isovitexin)	<u>174</u>					
algerianin	<u>175</u>	<i>C. Africana</i>	flavonols	69		
4'-methylgossypetin	<u>176</u>					
Montanoside	<u>177</u>	<i>C. Montana</i>	flavone	22		
apigenin	<u>136</u>	<i>C. Affinis</i>	flavones	58		
eupatorin	<u>178</u>					
salvigenin	<u>179</u>					

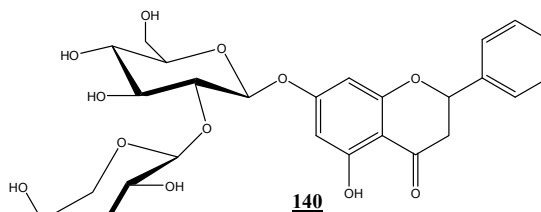
5- desmethylsinensetin	<u>180</u>	<i>C. Orphanidea</i>	flavones	59
Apigenin	<u>136</u>			
Cirsimaritin	<u>181</u>		flavonol	
Luteolin	<u>155</u>			
3-Methoxykaempferol	<u>182</u>	<i>C. incana</i>	flavones	70
6-methoxyapigenin	<u>183</u>		flavonol	
6-methoxyluteolin	<u>184</u>		flavone	
6-methoxykaempferol	<u>185</u>		flavonols	
hispidulin 7-O-glucoside	<u>186</u>			
6-methoxyquercetin 7-O-glucoside	<u>187</u>			
rutin	<u>188</u>			

Les structures des différents flavonoïdes isolés des espèces du genre *Centaurea* cités dans le tableau II. 2 sont présentées dans les figures suivantes :

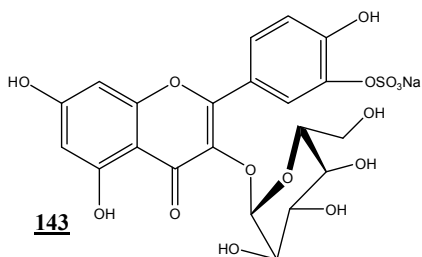




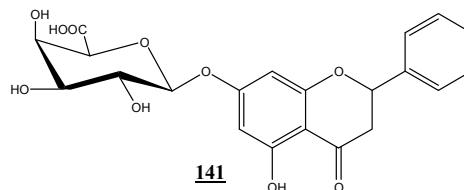
138 CH₃
139 H



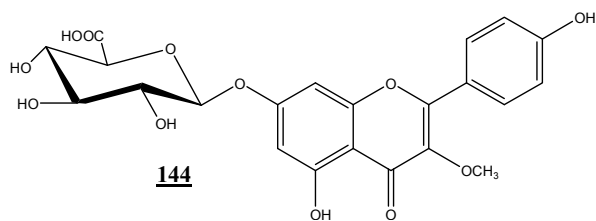
140



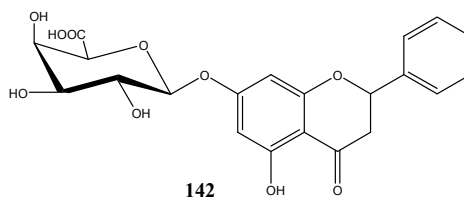
143



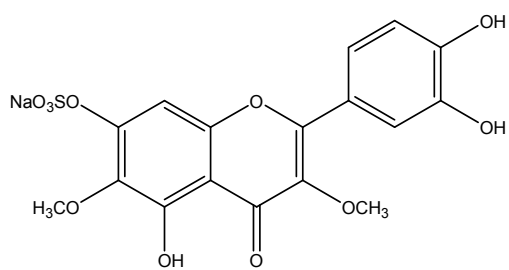
141



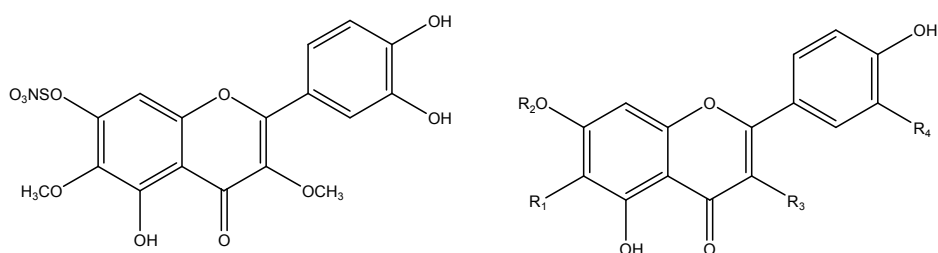
144



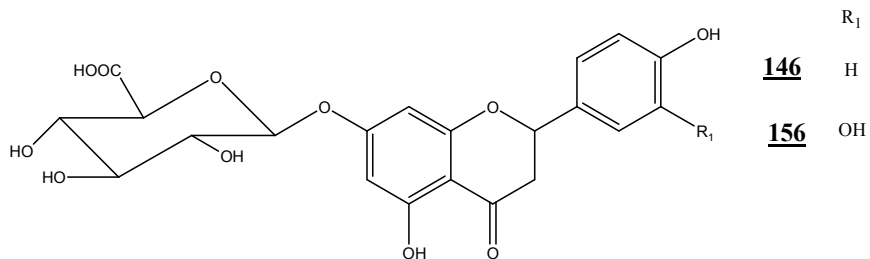
142



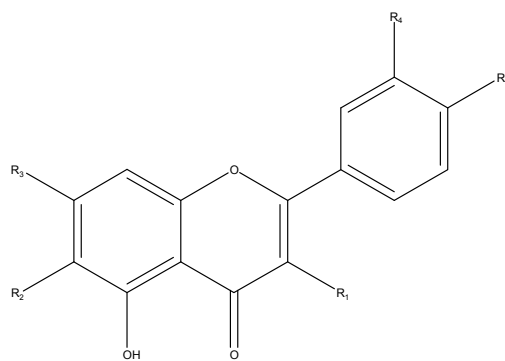
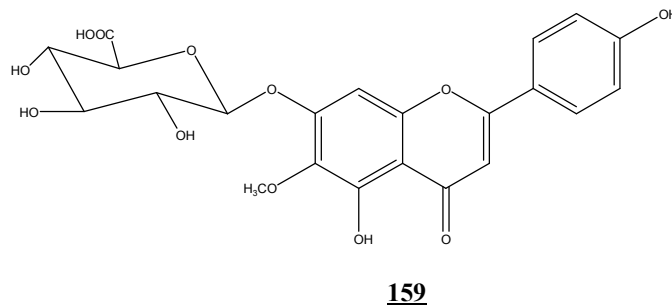
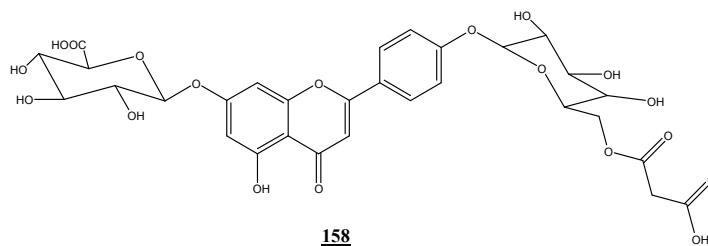
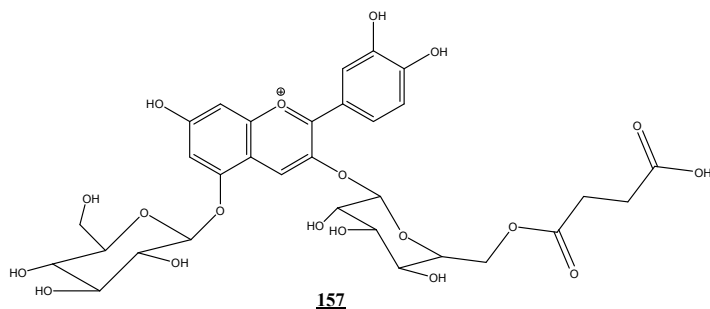
145



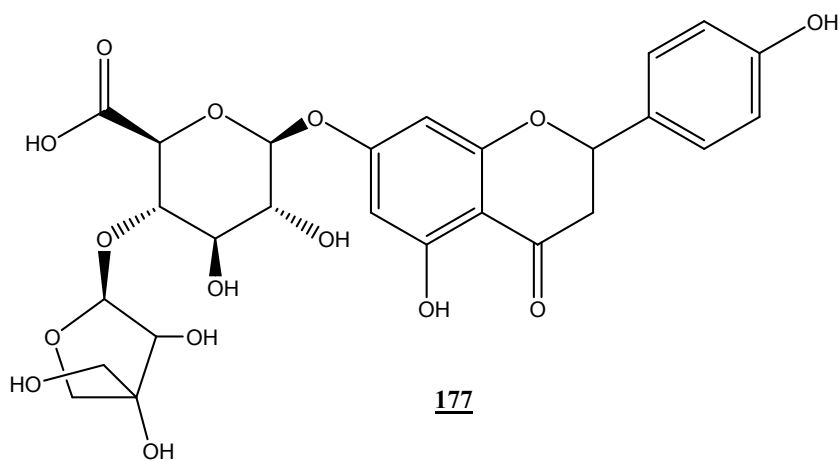
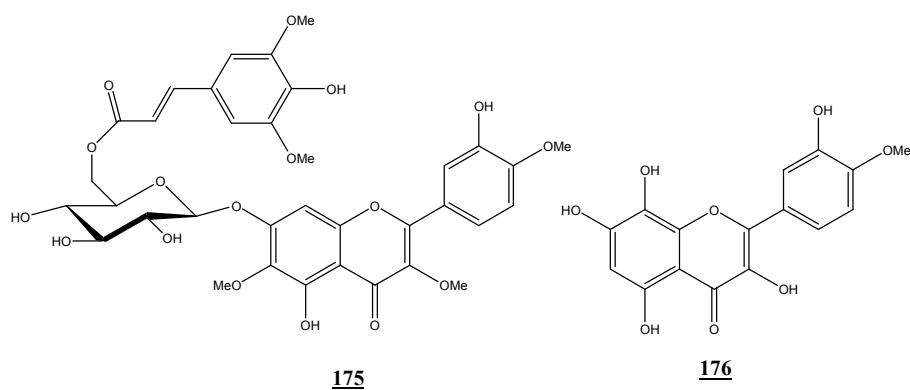
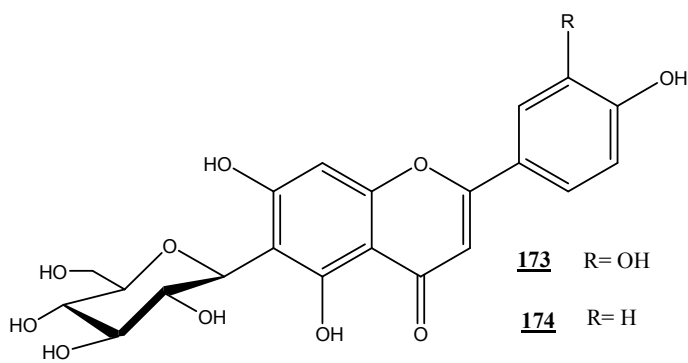
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
<u>147</u>	OH	β-Glucuronide	OH	H
<u>148</u>	OCH ₃	β-Glucuronide	H	H
<u>149</u>	H	β-Methylglucuronide	H	H
<u>150</u>	OCH ₃	β-Methylglucuronide	H	H
<u>151</u>	OCH ₃	β-Glucoside	H	H
<u>152</u>	H	β-Glucoside	H	H
<u>153</u>	H	H	OH	H
<u>154</u>	H	H	H	H
<u>155</u>	H	H	H	OH

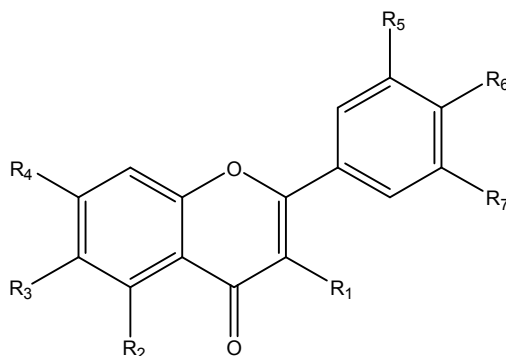


<u>146</u>	R ₁	H
<u>156</u>	R ₁	OH



160 R₁ = OH; R₂ = OCH₃; R₃ = OH; R₄ = OH; R₅ = OH. **161** R₁ = OH; R₂ = OCH₃; R₃ = OGlc; R₄ = OH; R₅ = OH. **162** R₁ = OGlc; R₂ = OCH₃; R₃ = OGlc; R₄ = OH; R₅ = OH. **163** R₁ = OH; R₂ = OH; R₃ = OH; R₄ = OH; R₅ = OH. **164** R₁ = OH; R₂ = OH; R₃ = OGlc; R₄ = OH; R₅ = OH. **165** R₁ = OH; R₂ = OCH₃; R₃ = OH; R₄ = H; R₅ = OH. **166** R₁ = OH; R₂ = OCH₃; R₃ = OGly; R₄ = H; R₅ = OH. **167** R₁ = OCH₃; R₂ = OCH₃; R₃ = OH; R₄ = OH; R₅ = OH. **168** R₁ = OCH₃; R₂ = OCH₃; R₃ = OGal; R₄ = OH; R₅ = OH. **169** R₁ = OCH₃; R₂ = OCH₃; R₃ = OGlc; R₄ = OH; R₅ = OH. **170** R₁ = H; R₂ = OCH₃; R₃ = OH; R₄ = OCH₃; R₅ = OH. **171** R₁ = H; R₂ = OCH₃; R₃ = OGlc; R₄ = OCH₃; R₅ = OH. **172** R₁ = OH; R₂ = H; R₃ = OH; R₄ = OH; R₅ = OH.





	R₁	R₂	R₃	R₄	R₅	R₆	R₇
178	H	OH	OCH ₃	OCH ₃	OH	OCH ₃	H
179	H	OH	OCH ₃	OCH ₃	H	OCH ₃	H
180	H	OH	OCH ₃	OCH ₃	H	OCH ₃	OCH ₃
181	H	OH	OCH ₃	OCH ₃	H	OH	H
182	OCH ₃	OH	H	OH	H	OH	H
183	H	OH	OCH ₃	OH	H	OH	H
184	H	OH	OCH ₃	OH	OH	OH	H
185	OH	OH	OCH ₃	OH	H	OH	H
186	H	OH	OCH ₃	O-Glu	H	OH	H
187	OH	OH	OCH ₃	O-Glu	OH	OH	H
188	ORut	OH	H	OH	OH	OH	H

II. 3. 5. 3. Les Lignanes

Les lignanes sont des substances naturelles végétales constituées principalement par deux unités de phenylpropane. On les trouve dans les graines de céréales, les fruits et les végétaux [71].

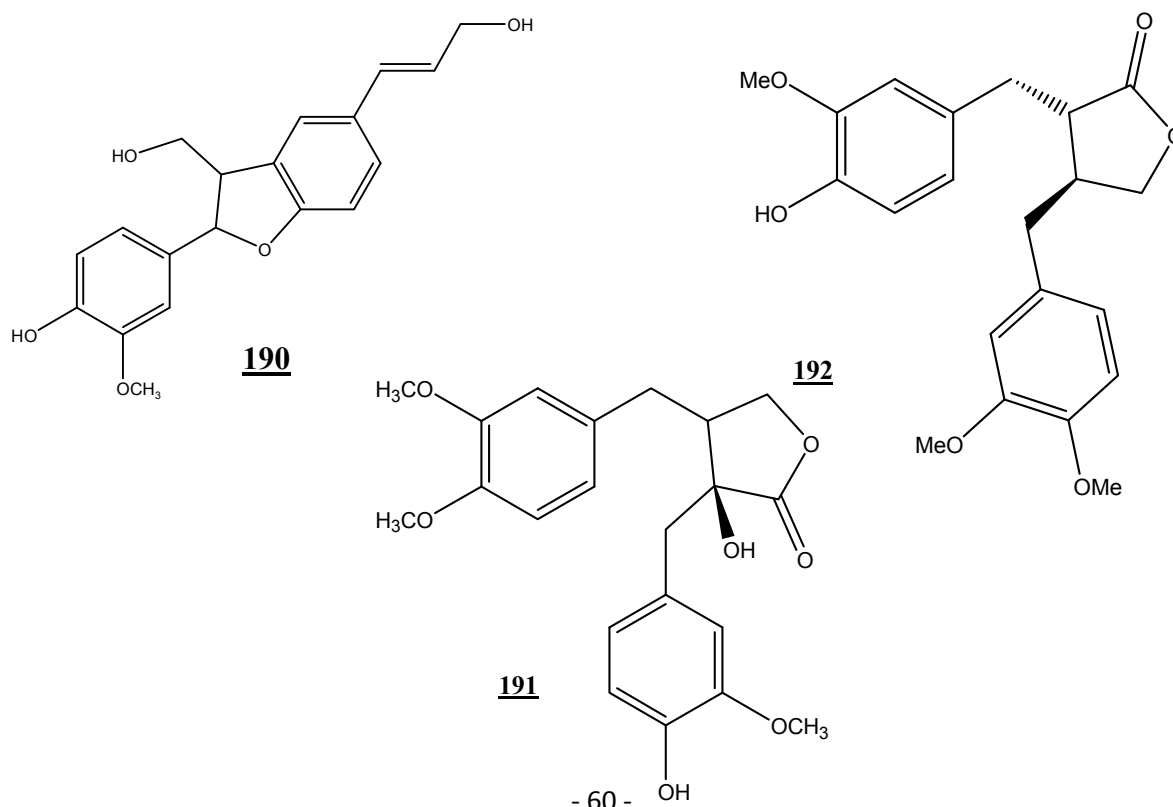
Les études phytochimiques effectuées sur les espèces du genre *Centaurea* ont montré la présence de ces substances dans de nombreuses espèces.

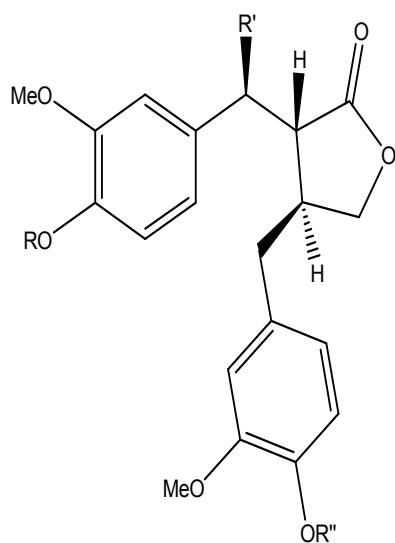
Le tableau **II-3** représente quelques lignanes isolés des espèces du genre *Centaurea*.

Tableau II. 3 : Quelques lignanes isolés des espèces du genre *Centaurea*

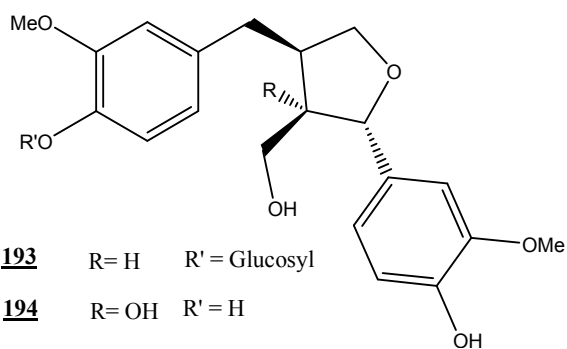
Composé	Structure	Plante	Réf
Matairesinol	<u>189</u>	<i>C. aspera</i>	35
dehydrodiconiferyl alcohol	<u>190</u>	<i>C. hierapolitana</i>	36
Trachelogenin	<u>191</u>	<i>C. moesiaca</i>	38
Matairesinol	<u>189</u>	<i>C. affinis</i>	58, 68
arctigenin	<u>192</u>		
lariciresinol 4'-O- β -D-glucopyranoside	<u>193</u>	<i>C. cyanus</i>	72
Berchemol	<u>194</u>	<i>C. scabiosa</i>	73
Arctigenin	<u>192</u>		
matairesinol	<u>189</u>		
matairesinoside	<u>195</u>		
7 ^(S) -hydroxyarctigenin	<u>196</u>		
Matairesinoside	<u>195</u>	<i>C. americana</i>	74, 75
arctiin	<u>197</u>		
Americanin	<u>198</u>		
arctigenin	<u>192</u>		
matairesinol	<u>189</u>		
lappaol A	<u>199</u>	<i>C. schischkinii</i>	19
arctiin	<u>197</u>		
matairesinoside	<u>195</u>		
matairesinol	<u>189</u>		
arctigenin	<u>192</u>		
arctiin	<u>197</u>	<i>C. nigra</i>	76
matairesinoside	<u>195</u>		
matairesinol	<u>189</u>		
arctigenin	<u>192</u>		
thujaplicatin methyl ether	<u>200</u>		

Les structures des différents lignanes isolés des espèces du genre *Centaurea* cités dans le tableau II. 3 sont présentées dans les figures suivantes :



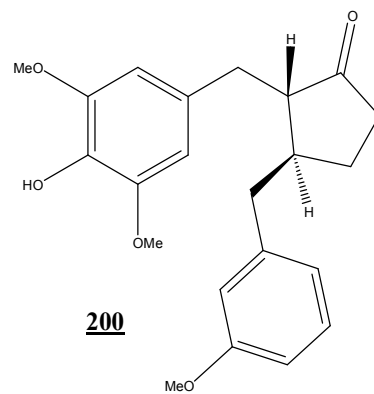


	R	R'	R''
189	H	H	H
195	Glucosyl	H	H
196	H	OH	Me
197	Glucosyl	H	Me

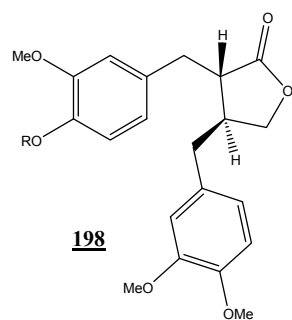


193 R= H R' = Glucosyl

194 R= OH R' = H

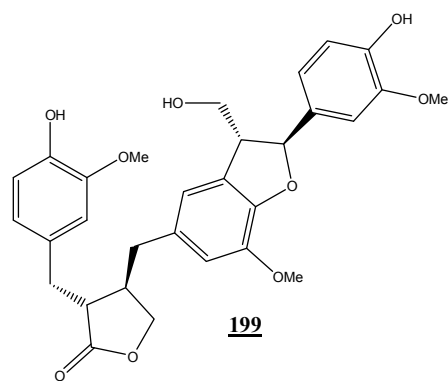


200



198

R=β-D-(3-O-Caffeoyl)-Glucopyranosyl



199

II. 3. 5. 4. Les Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés hétérocycliques comportant un ou plusieurs atomes d'azote et présents dans les plantes. Le mot alcaloïde vient d'alcali, car ce sont des bases organiques qu'on rencontre sous forme de sels d'acides naturels (acétique, oxalique, citrique, lactique,...).

Le nom des alcaloïdes est souvent dérivé du nom de la plante dont ils sont issus et comporte presque toujours la terminaison « ine ».

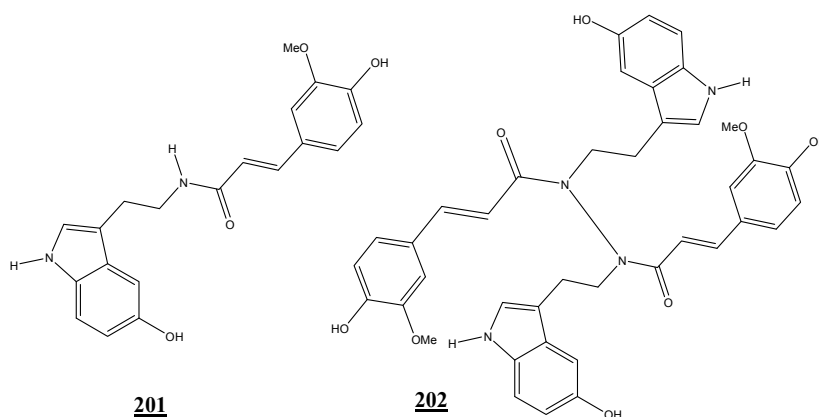
La classification des alcaloïdes est un peu difficile, on les a regroupés selon l'hétérocycle principal qu'ils contiennent. Les alcaloïdes les plus importants appartiennent à la famille de l'indole [77].

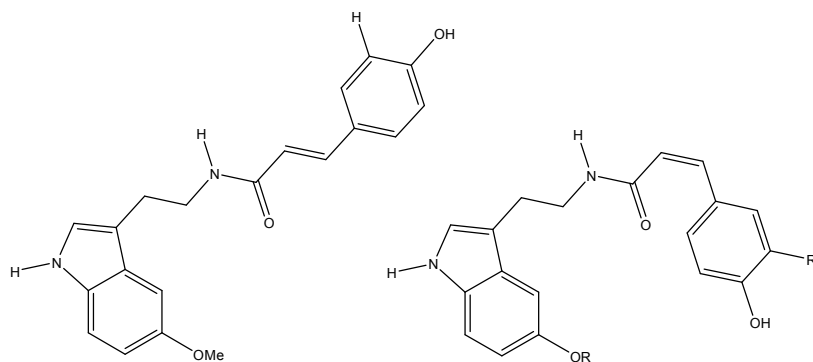
Plusieurs composés de ce type ont été isolés de nombreuses espèces du genre *Centaurea*, le tableau II-4 représente quelques alcaloïdes isolés des espèces de ce genre.

Tableau II. 4 : Quelques alcaloïdes isolés des espèces de ce genre

Composé	Structure	Plante	Réf
moschamine	<u>201</u>	<i>C. Montana</i>	22
montamine	<u>202</u>		
<i>cis</i> -moschamine	<u>203</u>		
centcyamine	<u>204</u>		
<i>cis</i> -centcyamine	<u>205</u>		
moschamine	<u>201</u>	<i>C. Cyanus</i>	23
<i>cis</i> -moschamine	<u>203</u>		
centcyamine	<u>204</u>		
<i>cis</i> -centcyamine	<u>205</u>		
Schischkiniin	<u>206</u>	<i>C. Schischkini</i>	19
Moschamide	<u>207</u>	<i>C. Moschata</i>	78
moschamine	<u>201</u>	<i>C. Nigra</i>	76
N-(<i>p</i> -coumaroyl)-serotonin	<u>208</u>		

Les structures des différents alcaloïdes isolés des espèces du genre *Centaurea* cités dans le tableau II. 4 sont présentées dans les figures suivantes :

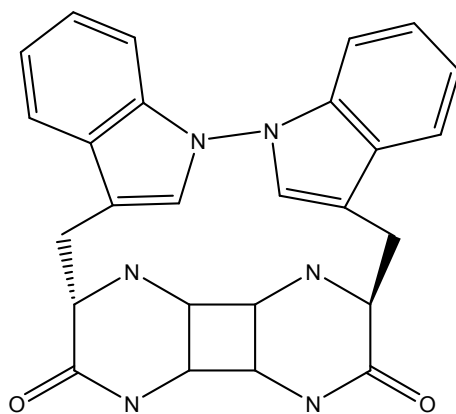




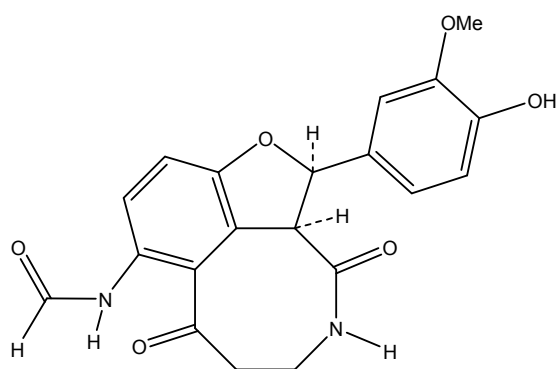
204

203 R= H R' = OMe

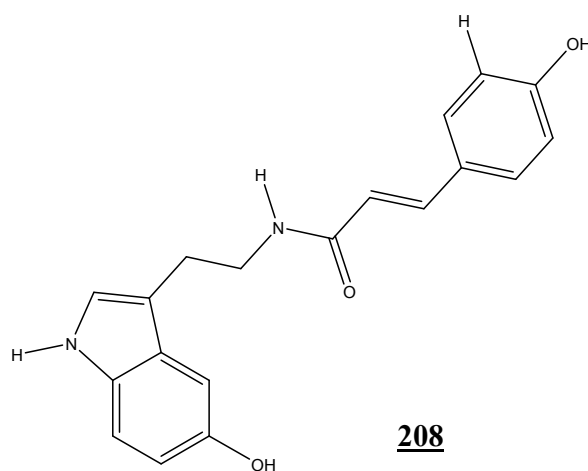
205 R= Me R' = H



206



207



208

II. 3. 5. 5. Triterpènes et stéroïdes

Les triterpènes sont des composés qui renferment dans leur squelette 30 carbones issus de la cyclisation de l'époxysqualène. Ils sont très abondants dans le règne végétal et animal sous forme libre ou étherifié. La cyclisation du cation formé par l'époxysqualène peut conduire à la formation de plusieurs formes triterpéniques : acyclique, tétracyclique ou pentacyclique. Le carbone en position 3 est presque toujours hydroxylé à cause de l'ouverture de l'époxyde [79,80].

Les stéroïdes ne sont pas de vrais terpènes mais des composés de biodégradation de triterpènes qui dérivent du noyau perhydrocyclopenténophénanthrène.

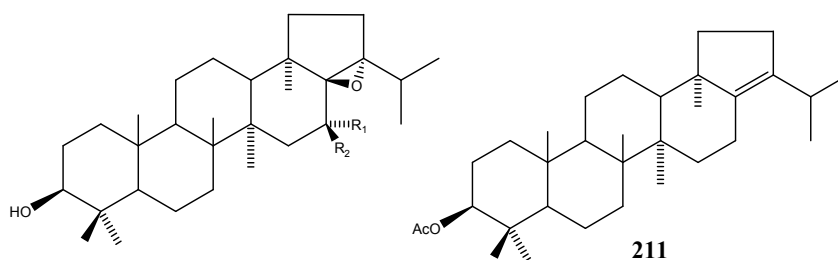
En général, le squelette de base des stéroïdes en forme tétracyclique renferment 17 atomes de carbones [81].

Ces composés sont largement répandus dans de nombreuses plantes appartenant au genre des Centaurées. Le tableau II-5 représente quelques composés de type triterpènes et stéroïdes isolés des espèces de ce genre.

Tableau II. 5 : Quelques composés de type triterpènes et stéroïdes isolés des espèces de ce genre

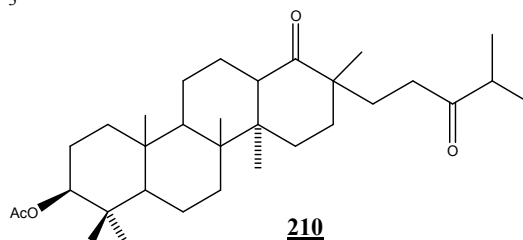
Composé	Structure	Type de Composé	Plante	Réf
17β,21β-epoxy-16α-ethoxyhopan-3β-ol	<u>209</u>	Triterpènes	<i>C. Ptosimopappoides</i>	60
3β-acetoxy-17,24-dioxo-baccharane	<u>210</u>			
3β-acetoxyhop-17(21)-ene	<u>211</u>			
17β,21β-epoxyhopan-3β-ol	<u>212</u>			
stigmasterol	<u>213</u>	Stéroïdes	<i>C. Moschata</i>	82
α-amyrine	<u>214</u>			
Moschatine	<u>215</u>	Stéroïdes		

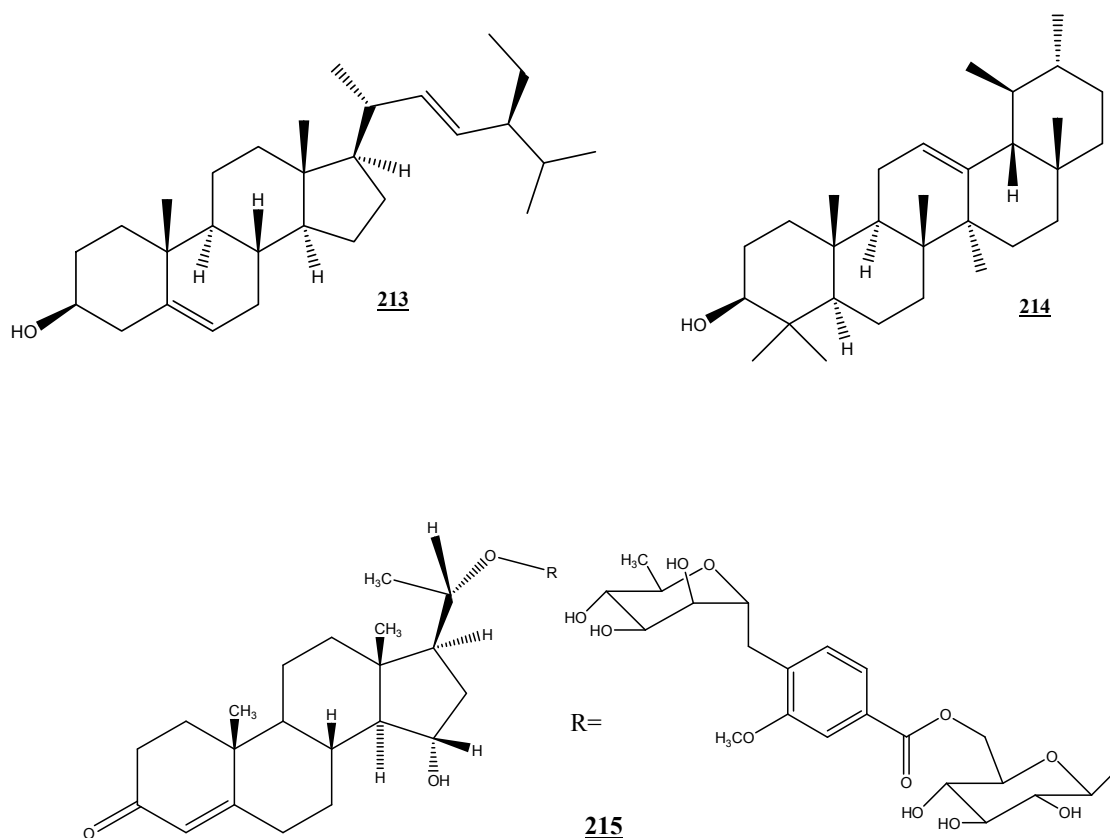
Les structures de ces composés sont présentées dans les figures suivantes :



209 $R_1 = \text{OCH}_2\text{CH}_3$

212 $R_1 = R_2 = \text{H}$





II. 3. 6. Activités biologiques de quelques composés isolés des espèces du genre *Centaurea*

De nombreux métabolites secondaires sont décrits dans différentes espèces du genre *Centaurea* et la plupart de ces composés possèdent des propriétés pharmacologiques remarquables [83,84].

Les sesquiterpènes lactones sont des composés qui caractérisent la famille des astéracées et notamment le genre *Centaurea*. Ces composés sont connus par leurs activités biologiques et pharmacologiques diverses tels que : cytotoxique, antitumeur, antibactérienne et antifongique. Plus de 5000 composés ont été identifiés dans les différentes classes des astéracées [85].

A titre d'exemple, les guianolides : chlorojanerine, 13-acetyl solstitialine A et solstitialine A ont été identifiés comme des composants anti-ulcérogènes de l'extrait chloroformique des parties aériennes de *Centaurea solstitialis* ssp. *Solstitialis* [54].

D'autres études dans le domaine microbiologique ont montré que le composé 13-Acetyl solstitialine A a une activité antibactérienne importante contre les souches isolées de *E. faecalis* à concentration de 1 mg / ml. Cette valeur est proche des concentrations efficaces de l'ampicilline. Le même composé a également montré une importante activité contre le virus de l'ADN, et est aussi puissant que le composé de référence acyclovir à des concentrations maximales et minimales de 16 – < 0.00006 mg / ml [86].

Dans une autre étude, il a été montré que l'Aguirine B a une importante activité antiproliférative [56].

Les composés : cnicine, 4'-acetylcnicine, 8 α -[(4-acetoxy-5-hydroxy)-angelate]salonitenolide, 8 α -(3,4-dihydroxy-2-méthylène-butanoyloxy)-déhydro-melitensin et méthyl 8 α -(3,4-dihydroxy-2-méthylène-butanoyloxy)-6 α ,15-dihydroxyelema-1,3,11 (13)-trien-12-oate séparés de *C. thessala ssp. drakiensis* et *C. attica ssp. attica* ont montré qu'ils possèdent des activités antifongiques remarquables [34].

Les composés isolés de *C. Urvillei* : Kaempférol, apigénine, eriodictyol-7-O- β -D-glucuronopyranoside, 3,5-dihydroxyphényl alcool-3-O- β -Dglucopyranoside et salidroside sont testés pour leurs activités antiprotéasomales et les résultats obtenus ont montré que le Kaempférol est le composé le plus actif par rapport aux autres [64].

II. 4. Conclusion :

Les différentes études phytochimiques réalisées sur diverses espèces du genre *Centaurea* ont montré sa richesse en métabolites secondaires de type : sesquiterpènes lactones, flavonoïdes, alcaloïdes, lignanes, triterpènes et stéroïdes.

Les lactones sesquiterpéniques représentent la majorité des produits isolés et celui du noyau de type germacranolides et guaianolides sont les composés les plus rencontrés dans ce genre.

Références bibliographiques :

- [1] Crete. P, **1965**, Précis de botanique. Masson, Paris, édition 2, 429.
- [2] Guignard. J. L, **1994**, Abrégé botanique, 9ème édition, 203-204.
- [3] Quezel. P and Santa. S, **1963**, Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome I, C.N.R.S. Paris.
- [4] Bruneton, J., **1999**, Plantes toxiques et végétaux dangereux pour l'homme et animaux. Paris 153.
- [5] Ducombs G, **1999**, Lactones Sesquiterpeniques Et Plantes. Rev. Ft. Allergol, 39 (4), 295-298.
- [6] Sarembaud A ; Poitevin B; **1996**, Médicament à usage homéopathique, Ed. Masson, 256p.
- [7] Soumia Mouffok, **2011**, études des métabolites secondaires de *Centaurea Pubescens ssp.*, Thèse de magister, Université de Batna.
- [8] Benaissa Ouahiba, **2011**, Etude des métabolismes terpénique et flavonique d'espèces de la famille des composés, genres *Chrysanthemum* et *Rhantherium*. Activité Biologique. Thèse Doctorat en Sciences, Université Mentouri Constantine.
- [9] Trease, G. F. And Evans, W. C, **1983**, Pharmacognosy, 225, 514, Bailliére,Tindall, London, Philadelphia, Toronto, Mexico City, Rio De Janero, Tokyo, Hong Kong.
- [10] Quezel, P. et Santa, S, **1963**, Nouvelle Flore D'Algérie Et Des Régions Désertiques Méridionales, Tome II, CNRS, Paris.
- [11] Mabberley, D.J, **1987**, *The plant book*, Combridge University Press, 110.
- [12] Fortuna, A. M., Riscala, E. C., Catalan, C. A. N., Gedris, T. E. And Herz, W. **2001**, Sesquiterpene Lactones From *Centaurea Tweediei*, Biochemical Systematics And Ecology, 29, 967-971.
- [13] Flamini, G., Bulleri, C., Bulleri, C., Morelli, I. And Manunta, A. **2000**, A New Flavonoid Glycoside From *Centaurea Horrida*, J. Nat. Prod., 63, 622-663.
- [14] Bohlman, F., Burkhardt, T. And Zdero, C, **1973**, Naturally Occuring Acetylenes, Academic Press, London, 452.
- [15] Ahmed, Z. F., Hammoud, F. M., Rizk, A. M. And Ismail, S. L, **1970**, Planta Med., 18, 227-231.
- [16] Picher, M., Savane, T. And Ampara, T. J, **1984**, J. Nat. Prod., 47, 184-185.
- [17] Bellakhdar, J ; **1997**, la Pharmacopée marocaine traditionnelle, Ibis Press.
- [18] Hellwig F. H., 2004. Centaureinae (Asteraceae) in the Mediterranean history of ecogeographical radiation. Plant Syst. Evol. 246: 137-162.
- [19] Mohammad. S; Sezgin. C; Marcel. J; Yashodharan. K, Stephen M. M; Lutfun .N; Paul. K. T et Satyajit D. S, **2005**, *Tetrahedron*, 61, 9001–9006.
- [20] Esra. K. A; Reyhan. A; Fatma. E et Erdem. Y, **2009**, *Journal of Ethnopharmacology*, 122, 210–215.
- [21] Y. Bülent Köse; G. İşcan; B. Demirci; K.H.C. Başer et S. Çelik, **2007**, *Fitoterapia*, 78, 253–254.
- [22] Mohammad. S; Stephen M. M; Marcel. J; Jioji. T; Lutfun .N; Paul. K. T et Satyajit D. S, **2006**, *Tetrahedron*, 62, 11172–11177.
- [23] Satyajit D. S; Anuszk. L; Lutfun. N; Yashodharan. K et Marcel. J, **2001**, *Phytochemistry*, 67, 1273-1276.

- [24] Yesilada. E., Honda. G., Sezik. E., Tabata. M., Fujita. T., Tanaka. R., Takeda. Y et Takaishi. Y., **1995**, *Journal of Ethnopharmacology*, 46, 133–152.
- [25] Erdem. Y; Ilhan. G; Erdal. B; Irem. Tet Ikhlas A. K, **2004**, *Journal of Ethnopharmacology*, 95 213–219.
- [26] K.H. Baser; G. Honda et W. Miki, **1996**, Herb drugs and herbalist in Turkey. ILCAA Studia Culturae Islamicae, Tokyo.
- [27] J.L. Masso; M. Bertran et T. Adzet, **1979**, *Plant Méd. Phytother.* 13, 41-45.
- [28] Abdurrahman. A; Gokhan. Z; Gokalp. O. G; Yavuz. S. C et Ahmet. D, **2011**, *Food and Chemical Toxicology*, 49, 2914–2920.
- [29] M.I. Skliar; M.S. Toribio et D.S. Oriani, **2005**, *Fitoterapia*, 76, 737– 739.
- [30] Font Quer P, **1995**, Plantas Medicinales. El Dioscorides Renovado. Editorial Labor SA, 851.
- [31] Mouffok Soumia, Haba Hamada, Catherine Lavaud, Christophe Long et Benkhaled Mohammed, **2012**, *Rec. Nat. Prod.* 6 (3), 292-295.
- [32] Stevens. K. L, **1982**, *Phytochemistry*, 21, 1093.
- [33] Fraga. M.F, **2003**, *Nat. Prod. Rep.* 20, 392.
- [34] Helen. S; Diamanto. L; Constantinos. P; Evanthia. G; Begona. G et Marina. S, **2000**, *Phytochemistry*. 55, 903-908.
- [35] Marco. J. A; Juan. F. S; Alberto. Y; Félix. S et Miguel. C, **2005**, *Phytochemistry*, 66, 1644-1650.
- [36] Karamenders. C; Erdal. B; Rahul. P; Sura. B et Ikhlas. A. K, **2007**, *Phytochemistry*, 68, 609-615.
- [37] Youssef. D. T. A, **1998**, *Phytochemistry*, 49(06), 1733-1737.
- [38] Antoaneta. T; Milka. T et Svetlana. B, **2007**, *Biochemical Systematics and Ecology*, 35, 544-548.
- [39] Samah. D; Catherine. A et Helen. S, **2008**, *Biochemical Systematics and Ecology*, 36, 336-339.
- [40] Vlatka. V; Nina. T; Marina .R; Vele .T; Borislav. T; Pedja J; Petar. M et Slobodan. M, **1999**, *Phytochemistry*, 52, 383-386.
- [41] Isabel. F ; José. R. P et Esther. P, **1995**, *Phytochemistry*, 38(3), 655-657.
- [42] Amr. M. H; Norio. N; Meselhy .R. M; Ahlam. M. E; Masao. H et Gamal. H. M, **1997** *Phytochemistry*, 45(3), 551-554.
- [43] Diao. Y et August. W. F, **1998**, *Phytochemistry*, 41(04), 1107-1111.
- [44] Medjroubi. K; Benayache. F; Benayache. S; Akkal. S, Khalfallah. N et Aclinou, **1997**, *Phytochemistry*. 45(7), 1449-1451.
- [45] Kamel. M; Fadila. B; Samir. B; Salah. A; Mohamed. K; Francois. T et Elisabeth. S, **1998**, *Phytochemistry*. 49(8), 2425-2427.
- [46] Kamel. M; Fadila. B et Jaime. B, **2005**, *Fitoterapia*, 76, 744–746.
- [47] Ali. B; Samir. B; Joel. C; Geneviève. P; Jaime. B; Francisco. L et Fadila. B, **2005**, *Biochemical Systematics and Ecology*, 33, 1061-1065.
- [48] Samah. D; Anastasia. K; Marina. S; Catherine. K et Helen. S, **2008**, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 16, 3725-3731.
- [49] A.M. Fortun; E.C. de Riscalá; C.A.N. Catalan; T.E. Gedris et W. Herz, **2002**, *Biochemical Systematics and Ecology*, 30, 805-808.

- [50] Maurizio. B; Sergio. R; Antonella. M; Rosa. A. R et Nelly A. A, **2005**, *Biochemical Systematics and Ecology*, 33, 817-825.
- [51] Maurizio. B; Nadia. V; Caterina. F; Thomas E. G et Werner. H, **1998**, *Biochemical Systematics and Ecology*, 26, 801-803.
- [52] Sezgin. C; Sergio. R; Antonella. M. M; Rosa. A. R; Ismet. U; Wanda. K; Klaudia. M et Maurizio. B, **2006**, *Biochemical Systematics and Ecology*, 34, 349-352.
- [53] Maurizio. B; Antonella. M; Sergio. R; Thomas E. G et Werner. H, **2002**, *Biochemical Systematics and Ecology*, 30, 379-381.
- [54] Ilhan. G et Erdem. Y, **2007**, *Journal of Ethnopharmacology*, 112, 284–291.
- [55] Maurizio. B; Maria Pia. P; Thomas. E. G et Werner. H, **1996**, *Phytochemistry*, 41(01), 335-336.
- [56] Andrea. C; Marianna. T; Barbara. A; Kuddisi. E; Guido. F et Paola. N, **2011**, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 46, 3066-3070.
- [57] Antonio M. F; Elmira. C. R; César A.N. C; Thomas E. Get Werner. H, **2001**, *Biochemical Systematics and Ecology*, 29, 967-971.
- [58] Pedja. J. k; Vele. T; Slobodan. M; Vlatka. V et Petar. D. M, **2004**, *Biochemical Systematics and Ecology*, 32, 355-357.
- [59] C. Gousiadou, H. Skaltsa, **2003**, *Biochemical Systematics and Ecology*, 31, 389-396.
- [60] Sevil. O et Sema. S, **1997**, *Phytochemistry*, 46(03), 545-548.
- [61] Guido. F; Maria. P; Ivano. M; Kuddisi. E; Huseyin. D; Yavuz. B et Mustafa. K, **2002**, *Phytochemistry*, 61, 433–437.
- [62] Guido. F; Elena. A et Ivano. M, **2001**, *Phytochemistry*, 57, 559–564.
- [63] Guido. F; Maria. P et Ivano. M, **2001**, *Phytochemistry*, 58, 1229–1233.
- [64] Derya. G; Özgen. A; Canan. K; Ahmet. U; Petek. B et Erdal. B, **2010**, *Carbohydrate Research*, 345, 2529–2533.
- [65] Kosaku. T; Akiko. O; Shinomi. S; Daisuke. F; Atsuko. T; Yumi. K; Mayumi. Y et Masaaki. S, **2005**, *Phytochemistry*, 66, 1607–1613.
- [66] Salah. A; Fadila. B; Samir. B; Kamel. M; Maurice. J; Francois. T et Elisabeth. S, **1999** *Fitoterapia*, 70, 368-370.
- [67] Tamaki. M; Tamaki. H et Tsukasa. I, **2006**, *Biochemical Systematics and Ecology*, 34, 180–184.
- [68] N.L. Ribeiro; Nahar; Kumarasamy; N. Mir-Babayev et S.D. Sarker, **2002**, *Biochemical Systematics and Ecology*, 30, 1097-1100.
- [69] Ramdane. S; Ouahiba. B; Ratiba. M; Samir. B; Paul. M; Jose. Q; Francisco. E; Francisco. L; Jaime. B et Fadila. B, **2009**, *Phytochemistry Letters*, 2, 114–118.
- [70] Salah. A; Fadila. B; Samir. B et Maurice. J, **1997**, *Biochemical Systematics and Ecology*, 25(04), 361-362.
- [71] Pengelly. A, **2004**, *The constituents of Medicinal Plants : An introduction to the chemistry and therapeutics of herbal medicine*, CABI publishing.
- [72] Mohammad. S; Marcel. J Stephen M. M; Runner R.T. M et Satyajit D. S, **2004**, *Biochemical Systematics and Ecology*, 32, 1201-1204.
- [73] Charles. A. F; Lutfun N; Douglas. F; Yashodharan. K; Raymond. R; Namik F. M et Satyajit D. S, **2003**, *Biochemical Systematics and Ecology*, 31, 303-305.

- [74] Graeme. C; Anuszka. L; Lutfun. N et Satyajit D. S, **2002**, *Biochemical Systematics and Ecology*, 30, 65-67.
- [75] Mohammad. S; Stephen M. M; Yashodharan. K; Marcel. J ; Lutfun. N Paul Kong. T; Hossein. N et Satyajit D. S, **2006**, *Phytochemistry*, 67, 2370-2375.
- [76] Moira. M; Philip J. C; Marcel. J; Yashodharan. K; Lutfun. N; Raymond R et Satyajit D. S, **2003**, *Biochemical Systematics and Ecology*, 31, 653-656.
- [77] Said. R, **2009**, Chimie des produits naturels et des êtres vivants ; office des publications universitaires, 2eme édition.
- [78] Satyajit D. S; Laurence. D; Vladimir. S; Eric. U et Peter G. W, **1998**, *Tetrahedron*, 39, 1421-1424.
- [79] I. Raphael, **1969**, Natural products, Deuxième édition, Academic Press, INC. A laboratory guide, pp: 1-21, pp 169-181.
- [80] Dey. P.M., Harborne, J.B, **1991**, Methods in plant biochemistry. Volume 7, Academic press.
- [81] J .Bruneton, **1993**, « Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales ». 2eme édition ; université de Paris- sud, France, 389-617.
- [82] Satyajit D. S; Laurence. D; Vladimir. S et Huw H. R, **1998**, *Phytochemistry*, 48(06), 1039-1043.
- [83] Sarker. S. D; Savchenko. T; Whiting, P; Sik. V et Dinan. L. N, **1997**, *Nat. Prod. Lett*, 9, 189-199.
- [84] Kaij. K. M; Amoros. M. et Girre. L, **1992**, *Pharm. Acta. Helv*, 67, 178-188.
- [85] Catherine. K; George. D. G et Helen. S, **2006**, *Journal of Molecular Structure: Theochem*, 759, 215-224.
- [86] Berrin. O; Ilhan. G; Taner. K et Erdem.Y, **2009**, *Microbiological Research*, 164, 545-552.

Chapitre III :

*Etude phytochimique de
l'espèce Centaurea
Omphalotricha*

III. Etude phytochimique de l'espèce *Centaurea Omphalotricha*

III.1. Description botanique :

Corps des bractées moyennes et appendices concolores, plante saharienne vivace. Fleurs jaunes, plante glabre ; multicaule ; élancée (40-50 cm) et rigide. Feuilles lancéolées, entières ou lobulées à la base, coriaces et pétiolées, gros capitules (2 cm de large sur 3 de long), bractées avec 3-7 épines latérales courtes. Akènes jaunes clairs, de 3-4 mm, aigrette aussi longue ou plus longue que le corps (Quezel. P and Santa. S, 1963).

III.2. Place dans la systématique :

EmbranchementAngiospermes
 ClasseDicotylédones
 Ordre.....Astérales
 Famille..... Compositae
 Sous-familleTubiflores
 TribuCynarées
 Genre..... *Centaurea*
 Espèce.....*Omphalotricha*



Centaurea Omphalotricha

III.3. Matériel végétal :

La récolte du matériel végétal a été effectuée dans la région de Bechar (Sud Algérien), en période de floraison au mois de mai 2004.

Le matériel végétal récolté a été partagé en trois parties : fleurs, feuilles et tiges. Puis a été séché à l'abri de la lumière du soleil pendant une semaine.

La détermination botanique a été réalisée par le professeur Kaabache (Département des sciences de la nature et de la vie, Université Ferhat Abbas, Sétif).

III.4. Macération :

La matière végétale, séchée et broyée (1104 g de feuilles ; 1500 g fleurs), est macérée séparément avec un mélange hydro-alcoolique : Éthanol/Eau ; (80 :20 ;(v/v)) pendant 48 heures à température ambiante puis filtrée et concentrée sous pression réduite (cette opération a été répétée trois fois).

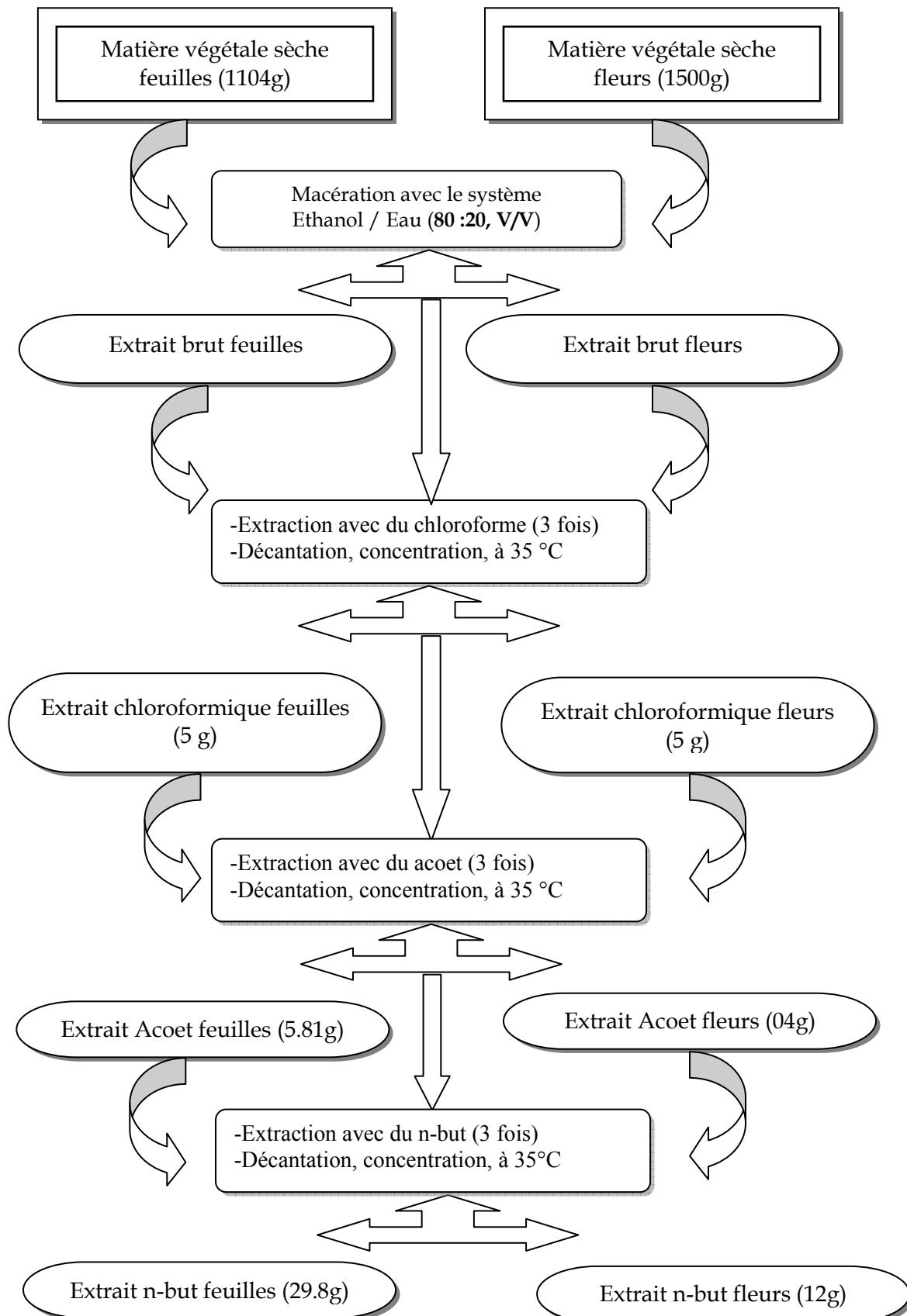
Les deux extraits obtenus ont été dilués dans de l'eau distillée puis laissés au repos pendant 24 h puis filtrés.

Les phases aqueuses obtenues après la filtration ont subi une extraction liquide –liquide par différents solvants commençant par le Chloroforme, l'Acétate d'éthyle et enfin le *n*-Butanol.

Les phases organiques ainsi obtenues (chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol) sont séchées sur du sulfate de sodium anhydre afin d'éliminer toutes traces d'eau, puis filtrées et concentrées à sec sous pression réduite puis pesées.

Les différentes étapes de l'extraction des parties aériennes (fleurs, feuilles) de *Centaurea omphalotricha* sont représentées dans le schéma ci-dessous.

Protocole d'extraction :



III.5. Séparation et purification des produits:

La chromatographie est une méthode analytique largement utilisée pour la séparation des produits selon leur polarité.

III.5.1. Etude de l'extrait chloroformique (fleurs ; feuilles) :

Les tests chromatographiques sur plaques analytiques de gel de silice menés sur les deux extraits chloroformiques (feuilles, fleurs) montrent que ces deux extraits sont presque semblables. Les deux extraits réunis (10 g) ont été dissous dans le minimum de solvant (MeOH), puis mélangés avec un peu de silice et séchés sous vide jusqu'à l'obtention d'une poudre homogène. Cette poudre a été déposée sur une colonne de gel de silice (300 g) préparée dans l'éther de pétrole puis éluée ensuite par l'éther de pétrole enrichi progressivement par de l'acétate d'éthyle.

Des fractions de 25 ml sont recueillies et analysées par chromatographie sur couche mince (CCM) et révélées sous UV . Les fractions identiques sont rassemblées.

Les tableaux ci-dessous montrent les résultats obtenus.

Tableau III.1. A : Pourcentages de solvant utilisé et les fractions correspondantes

<i>Solvant Acet(%)</i>	0	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	80	90	100	MeOH pur
<i>Lot de Fraction</i>	1-40	41-139	140-449	450-519	520-569	570-608	609-638	639-672	673-726	727-763	764-800	801-838	839-875	876-916	917-950	951-1020

- **Tableau III.1. B :** L'ensemble des fractions similaires

Poids(mg)	Lot de fractions	N° fraction
-	1	F1
-	2	F2
-	3	F3
-	4	F4
-	5	F5
-	6	F6
-	7	F7
-	8	F8
-	9	F9
-	10	F10
-	11	F11
-	12-207	F12
65.5	208-264	F13
87.6	265-285	F14
92.4	286-317	F15

- **Suite du Tableau III.1. B :**

Poids(mg)	Lot de fraction	N° fraction
84.4	318-377	F16
75.3	378-429	F17
15.2	430-500	F18
12.5	501-558	F19
19.8	559-591	F20
125	592-664	F21
244	665-691	F22
195	692-710	F23
272	711-738	F24
310	739-785	F25
283	786-830	F26
720	831-863	F27
598	864-904	F28
676	905-964	F29
-	965-1020	F30

III.5.1.1. Etude des fractions F13, F14, F15, F16, F21 et F27:

Suivant leur apparition sous UV- visible et selon leur poids, les fractions sont séparées par chromatographie préparative sur couche mince de gel de silice. Les fractions retenues sont les suivantes : F13, F14, F15, F16, F21 et F27.

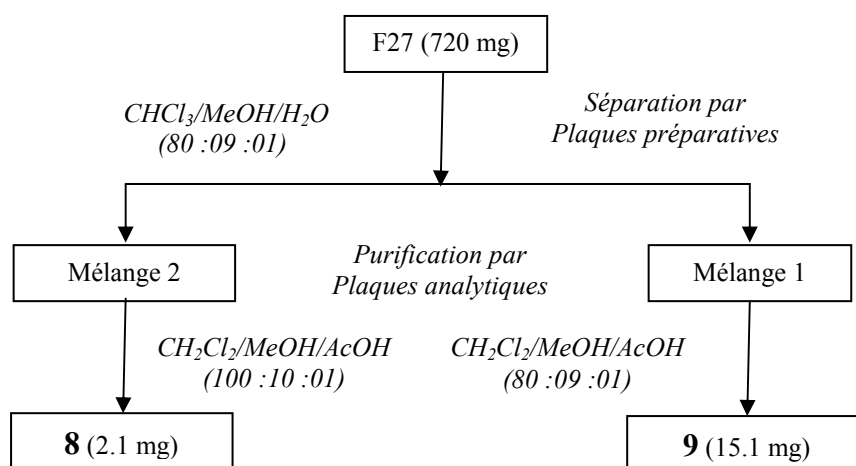
III.5.1.1.A. Etude de la fraction F14 :

La fraction F14 (AcOEt/Ether de pétrole, 15 :85) est soumise à une séparation chromatographique sur plaques de gel de silice (GF 254) éluées par un mélange éther de pétrole/AcOEt/CHCl₃ (7.5 :01 :1.5). Elle a permis d'isoler un produit pur sous forme de

cristaux (aiguilles blanches) purifiés par lavages successifs à l'aide du méthanol. Ce produit est noté **17**. Le même résultat a été obtenu lors de la séparation de la fraction F15.

III.5.1.1.B. Etude de la fraction F27 :

La fraction F27 (720 mg, AcOEt/Ether de pétrole, 20 :80) est soumise à une séparation chromatographique sur plaques de gel de silice (GF 254) éluées par un mélange $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (80 :09 :01) et a conduit à deux mélanges de produits par ordre de polarité croissante. Le premier (149.6 mg) a subi une autre purification sur plaque de gel de silice utilisant comme éluant le système $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{AcOH}$ (80 :09 :01) et a donné un produit d'aspect incolore nommé **9** (15.1 mg). Le deuxième a également subi une purification sur une plaque de gel de silice (CCM), utilisant comme éluant le système : $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{AcOH}$ (100 :10 :01) et a permis d'isoler un produit pur **8** (2.1mg) de couleur grise après révélation par l'acide sulfurique.



▪ Remarque :

Les séparations effectuées sur les autres fractions F13, F16 et F21 ont donné des mélanges complexes de produits en quantité insuffisante pour des séparations successives efficaces.

III.5.1.2. Etude de la fraction F22 (22-26) :

Les fractions 22 à 26 (AcOEt/ether de pétrole 35/65 à 55/45) présentent, selon leur apparition sur plaque analytique de gel de silice, des mélanges de produits très complexes. Elles ont donc été réunies en une seule fraction désignée par le symbole **S** (1.3g) pour une séparation chromatographique sur colonne de gel de silice. Une masse de 1.3 g de la fraction a été dissoute dans le minimum de solvant CH₂Cl₂ puis déposée sur une colonne de gel de silice préparée dans le CH₂Cl₂ et éluée ensuite par le CH₂Cl₂ enrichi progressivement par le MeOH. Le suivi de la colonne et le rassemblement des fractions ont été effectués sur la base de leur apparition sous UV visible.

Les résultats obtenus sont rassemblés dans les tableaux suivants :

- **Tableau III.2. A :** Les pourcentages de solvant utilisé et les fractions correspondantes

<i>Solvant MeOH(%)</i>	0	4	8	10	30	100
<i>Lot de fraction</i>	1-6	7-9	10-12	13-14	15-16	17-18
<i>Volume de fraction</i>	100	50	50	50	50	100

- **Tableau III.2. B :** Fractions similaires

<i>N° fraction</i>	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8
<i>Lot de fraction</i>	1-2	3-4	5-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18
<i>Poids (mg)</i>	35.3	44.2	51.4	413.6	201.4	88.3	81.2	64.5

III.5.1.2. A. Etude de la sous-fraction S4 :

L'analyse de la sous-fraction S4 (413.6 mg : 4 à 8% de MeOH) est purifiée sur colonne de gel de silice avec comme système d'élution $\text{CH}_2\text{Cl}_2 : (\text{CH}_3)_2\text{CO}$.

Une masse de 413.3 mg de la sous-fraction S4 a été dissoute dans le minimum de solvant CH_2Cl_2 puis déposée sur une colonne de gel de silice préparée dans le CH_2Cl_2 et éluee ensuite par le CH_2Cl_2 enrichi progressivement par le $(\text{CH}_3)_2\text{CO}$. Le suivi de la colonne et le rassemblement des fractions a été effectué par révélation sous UV visible. Les sous-fractions de S4 sont désignées par le symbole SR.

Les résultats obtenus sont rassemblés dans les tableaux suivants

- **Tableau III.3. A :** Les pourcentages de solvant utilisé et les fractions correspondantes

<i>Solvant ($\text{CH}_3)_2\text{O}$ (%)</i>	0	2	4	6	8	10	12	15	20	100
<i>Lot de fraction</i>	1-3	4-51	52-91	92-111	112-135	136-159	160-183	184-207	208-231	232-233
<i>Volume de fraction</i>	100	25	25	25	25	25	25	25	25	50

- **Tableau III.3. B :** Fractions similaires

<i>N° fraction</i>	SR1	SR2	SR3	SR4	SR5	SR6	SR7	SR8	SR9	SR10	SR11
<i>Lot de fraction</i>	1-3	4-11	12-19	20-26	27-30	31-39	40-47	48-66	67-78	79-89	90-101
<i>Poids (mg)</i>	-	7.2	5.1	3.4	3.9	4.2	06.2	07.4	14.5	16.9	8.6

- Suite du tableau III.3. B : Fractions similaires

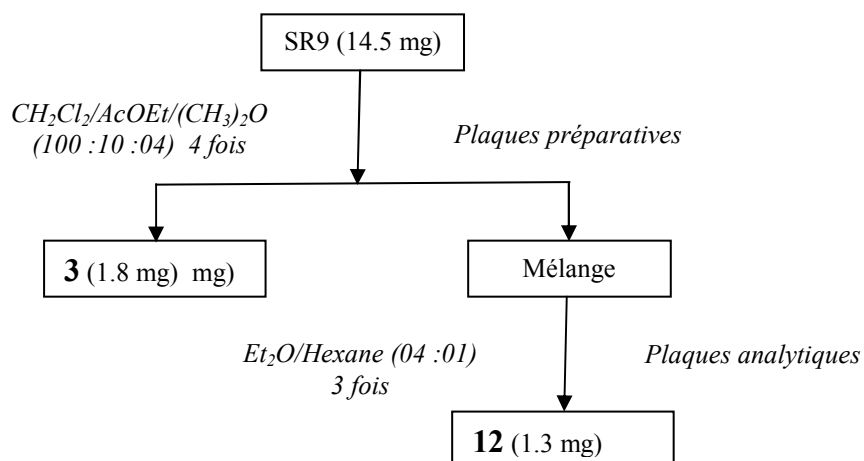
N° fraction	SR12	SR13	SR14	SR15	SR16	SR17	SR18	SR19	SR20	SR21	SR22
Lot de fraction	102-117	118-131	132-143	144-167	168-177	178-187	188-200	201-212	213-231	232-227	228-233
Poids (mg)	11.6	17.5	19.3	31.9	11.8	-	-	24.5	27.2	26.3	164.8

III.5.1.2. A.1. Etude de la sous-fraction SR6

L'analyse de la sous-fraction SR6 (4.2 mg, CH₂Cl₂/Acétone 98:2) par une plaque analytique de gel de silice CCM, utilisant comme système d'éluion le CH₂Cl₂/AcOEt/(CH₃)₂CO (50 :10 :04) a montré, après révélation par l'acide sulfurique, une tache unique avec une coloration jaune. Il s'agit d'un produit pur nommé **7**.

III.5.1.2. A.2. Etude de la sous-fraction SR9

La sous-fraction SR9 (14.5 mg, CH₂Cl₂/Acetone 96:4) est soumise à une séparation sur plaque de gel de silice (GF 254) éluee quatre fois par le système CH₂Cl₂/AcOEt/(CH₃)₂CO (100 :10 :04) et a conduit à un produit pur nommée **3** (1.8 mg) et un mélange qui a subi une autre purification sur une plaque analytique de gel de silice CCM éluee trois fois par le système Et₂O/Hexane (04 :01) pour conduire à un autre produit pur de couleur jaune, après révélation par l'acide sulfurique, nommé **12** (1.3 mg).



III.5.1.2. A.3. Etude de la sous-fraction SR10:

La sous-fraction SR10 (16.9 mg, CH₂Cl₂/Acétone 96:4), est également soumise à une purification par chromatographie sur plaque de gel de silice (GF 254) éluée quatre fois par le système Et₂O/Hexane (05 :01) et a conduit à séparer un produit pur incolore nommé **11** (3.8 mg), donnant après révélation à l'acide une couleur jaune.

III.5.1.2. A.4. Etude de la sous-fraction SR14:

La sous-fraction SR14 (19.3 mg, CH₂Cl₂/Acetone 90:10), a été purifiée par chromatographie sur plaque de gel de silice (GF254) éluée quatre fois par le système Et₂O/Hexane (05 :01) et a conduit à séparer un produit pur incolore nommé **4** (3 mg), donnant après révélation à l'acide une couleur verte foncée.

III.5.1.3. Etude de la fraction F28 (28-29) :

Les deux fractions F28 (AcOEt/Ether de pétrole, 90 :10) et F29 (AcOEt pur), se sont avérées presque identiques. Elles ont donc été réunies en une seule fraction désignée par le symbole Q (1.27g). Après les essais chromatographiques menés sur cette fraction sur plaque analytique de gel de silice CCM, le meilleur éluant choisi est le système CH₂Cl₂/*isopropanol* (8 : 2).

Une masse de 1.27 g de la fraction a été dissoute dans le minimum de solvant CH₂Cl₂ puis déposée sur une colonne de gel de silice préparée dans le solvant CH₂Cl₂ et éluée ensuite par le même solvant enrichi progressivement par l'*isopropanol*. Le suivi de la colonne et le rassemblement des fractions ont été effectués sur la base de leur révélation sous UV- visible.

Tableau III.4. A : Les pourcentages de solvant utilisé et les fractions correspondantes

Solvant (CH ₂) ₂ O(%)	0	4	6	8	10	15	20	100	MeOH Pur
Lot de fraction	1-50	51-70	71-90	91-110	111-131	132-150	151-152	153	154
Volume d'une fraction (ml)	25	25	25	25	25	25	200	200	200

- **Tableau III.4. B : Fractions similaires**

Poids (mg)	Lot de fractions	N° fraction
9.4	1-5	Q1
7.6	6-12	Q2
5.1	13-19	Q3
4.9	20-30	Q4
1.5	31-39	Q5
-	40-59	Q6
-	60-63	Q7
113.3	64-65	Q8
87.7	66-68	Q9
101.3	69-71	Q10
116	72-73	Q11
12.25	74	Q12
15.3	75	Q13

- **Suite du tableau III.4. B : L'ensemble des fractions similaires**

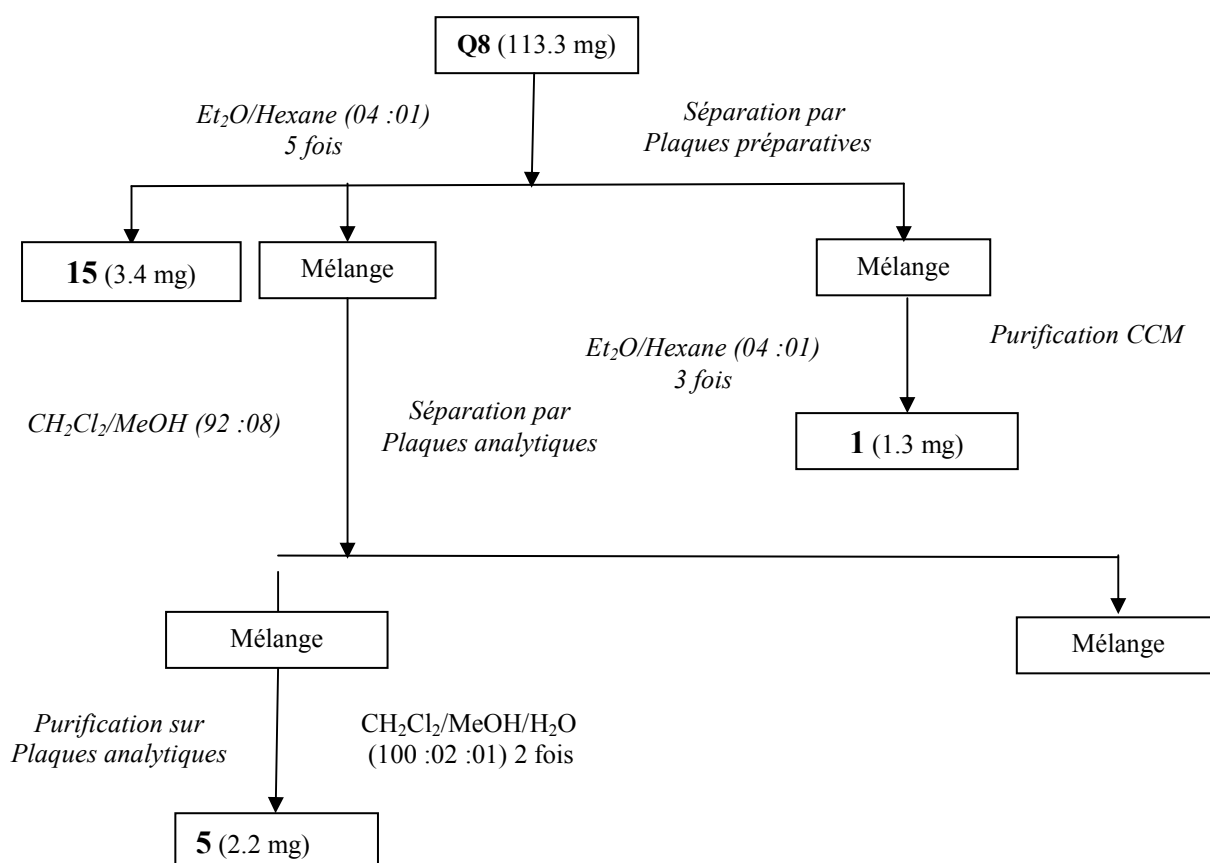
Poids (mg)	Lot de fractions	N° fraction
14	76	Q14
47.6	77-78	Q15
115	79-81	Q16
135.9	82-87	Q17
-	88-106	Q18
10.2	107-118	Q19
26.7	119-131	Q20
17.2	132-149	Q21
-	150	Q22
12.4	151	Q23
27.6	152	Q24
105	153	Q25
121.1	154	Q26

III.5.1.3.A. Etude de la sous-fraction Q8:

La sous-fraction Q8 (113.3 mg, CH₂Cl₂/ isopropanol 96:4), soumise à une séparation sur plaque de gel de silice (GF 254) éluée cinq fois par le système Et₂O/Hexane (02 :01), a conduit à plusieurs bandes classées par ordre de polarité croissante qui sont purifiées de nouveau sur plaques de gel de silice. La première est purifiée en utilisant le même système d'élution et conduit au produit **1** (1.3 mg) donnant après révélation à l'acide sulfurique une tache de couleur verte foncée. La deuxième bande est purifiée sur plaque de gel de silice utilisant comme système d'élution le mélange CH₂Cl₂/MeOH (92:08) et conduit à un mélange, (4.1 mg), purifié sur une plaque analytique de gel de silice CCM éluée deux fois par le système CH₂Cl₂/MeOH/H₂O (100 :02 :01) pour conduire au produit **5** (2.2 mg) . La troisième conduit au produit **15** (3.4 mg). sous forme d'une poudre jaune qui donne sous lumière de Wood (UV 365 nm) donne une coloration noire violette.

Les résultats de cette séparation sont regroupés dans le **Tableau III.5** :

<i>Produits</i>	<i>Poids</i>	<i>Observations</i>
15	3.4 mg	jaune, absorbe sous UV 365, couleur jaune après révélation
1	1.3 mg	incolor, absorbe sous UV 254, couleur verte foncée après révélation



III.5.1.3.B. Etude de la sous-fraction Q9:

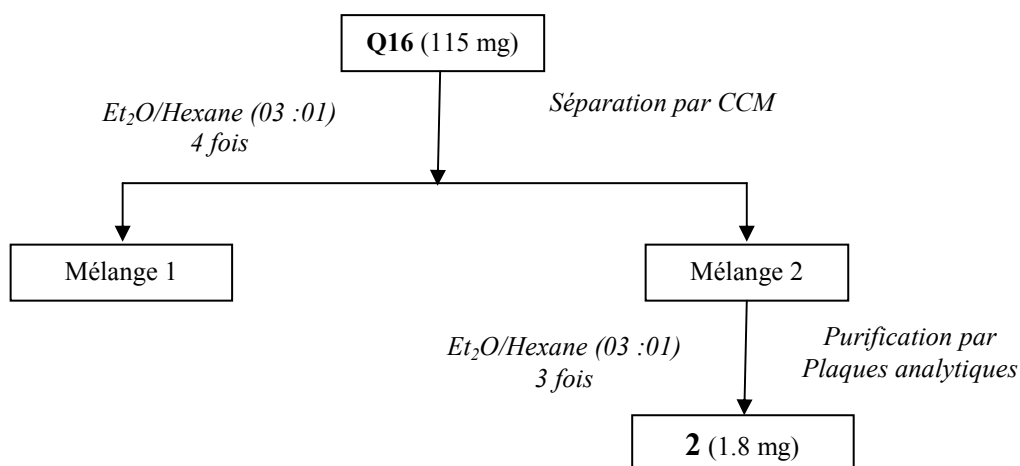
La sous-fraction Q9 (87.7 mg, CH₂Cl₂/ isopropanol 96:4) est soumise à une séparation sur plaque de gel de silice (GF 254) éluée trois fois par le système Et₂O/Hexane (02 :01). Elle a conduit à un composé pur de couleur verte foncée après révélation par l'acide sulfurique, il s'agit du produit **6** (4.6 mg).

III.5.1.3.C. Etude de la sous-fraction Q14:

La purification de la sous-fraction Q14 (14 mg, CH_2Cl_2 / isopropanol 94:6) sur plaque de gel de silice CCM, utilisant comme système d'éluant le Et_2O /Hexane (03 :01) a montré après révélation par l'acide sulfurique une tache unique de couleur grise foncée, il s'agit d'un produit pur nommé **10**.

III.5.1.3.D. Etude de la sous-fraction Q16:

La sous-fraction Q16 (115 mg, issue CH_2Cl_2 / isopropanol 94:6) soumise à une séparation chromatographique sur plaque de gel de silice (GF 254) éluee quatre fois par le système : Et_2O /Hexane (03 :01) a donné deux mélanges de produits dont l'un a été purifié par le même éluant trois fois pour donner un produit pur **2** (1.8 mg) de coloration verte après révélation.



III.5.2. Etude de l'extrait Acétate d'éthyle (feuilles) :

Les essais chromatographiques menés sur l'extrait acétate d'éthyle de *Centaurea Omphalotricha* sur des plaques analytiques de gel de silice ont permis de choisir le bon système d'éluant de la colonne concernée pour cet extrait. En effet, 5.8g de l'extrait a été dissout dans le minimum de solvant (MeOH) puis est mélangé à un peu de silice et séché sous vide jusqu'à l'obtention d'une poudre homogène. Cette poudre a été déposée sur une colonne de gel de silice (200 g) préparée dans le chloroforme puis éluee par le chloroforme enrichi progressivement par de l'acétone.

Les fractions obtenues ont été analysées par chromatographie sur couche mince (CCM) puis rassemblées selon leur profil visualisé sous UV- visible.

Les tableaux ci-dessous montrent les résultats obtenus.

Tableau III.6. A :

<i>Ensemble des fractions</i>	<i>Volume d'une fraction</i>	<i>%Acétone</i>
1-3	250	0
4-5	250	1
6-12	50	2
13-20	100	3
21-25	100	4
26-36	100	5
37-42	50	6
43-48	50	8
49-54	50	10
55-60	50	20
61-62	50	40
63	100	100

Tableau III.6. B :

<i>Lot de fraction</i>	<i>N° fraction</i>
1-4	A1
5	A2
6-7	A3
8-12	A4
13-16	A5
17-22	A6
23-26	A7
27-34	A8
35-43	A9
44-54	A10
55-58	A11
59-63	A12

III.5.2.A. Etude de la fraction A7:

La fraction A7 (12.6 mg CHCl₃/Acetone 96:4) est soumise à une chromatographie sur plaque de gel de silice (CCM) éluée trois fois par le système Et₂O/Hexane (02 :01). Elle a conduit à isoler un composé pur **16** (09.1 mg). de coloration noire violette sous lampe UV à 365 nm et jaune après révélation par l'acide .

III.5.2.B. Etude de la fraction M (A8-A12):

D'après les résultats des tests effectués sur plaque analytique de gel de silice des sous-fractions (A8 à A12), celles-ci se sont avérées de composition chimique presque similaires. Elles ont donc été réunies en une seule fraction désignée par le symbole **M** d'une masse de 421.2 mg.

Cette quantité a été dissoute dans le minimum de solvant (MeOH), mélangée à un peu de silice et séchée sous vide jusqu'à l'obtention d'une poudre homogène. Cette poudre a été déposée sur une colonne de gel de silice (55 g, 70-230 mesh ASTM) préparée dans CH_2Cl_2 puis éluée ensuite par le même solvant enrichi progressivement par de l'acétate d'éthyle.

Le suivi de la séparation de la colonne et le rassemblement des fractions ont été établis sur la base des profils chromatographiques des fractions révélés sous UV- visible, les résultats finals sont récapitulés dans les tableaux suivants :

Tableau III.7. A :

<i>Solvant AcOEt(%)</i>	0	10	20	25	30	50	MeOH Pur	H ₂ O
<i>Lot de fraction</i>	0-2	3-18	19-42	43-74	75-106	107-138	139-140	141-142
<i>Volume des fractions (ml)</i>	100	25	25	25	25	25	50	100

Tableau III.7. B :

<i>N° fraction</i>	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12	M13
<i>Lot de fraction</i>	1-2	3-12	13-27	28-35	36-42	43-57	58-71	72-91	92-108	109-121	122-137	138-140	141-142
<i>Poids (mg)</i>	-	-	-	-	11	-	21.8	27.3	35.3	300	48.9	-	200

III.5.2.B.1. Etude de la sous-fraction M5:

L'analyse de la sous-fraction M5 (11 mg, 20% AcOEt) par une plaque analytique de gel de silice CCM, utilisant comme système d'éluion le $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (46 :04) a montré que cette fraction renferme une seule tache majoritaire de coloration noire violette sous la lampe UV à

365 nm et de couleur jaune après révélation par l'acide sulfurique. Il s'agit d'un produit pur nommé **13**.

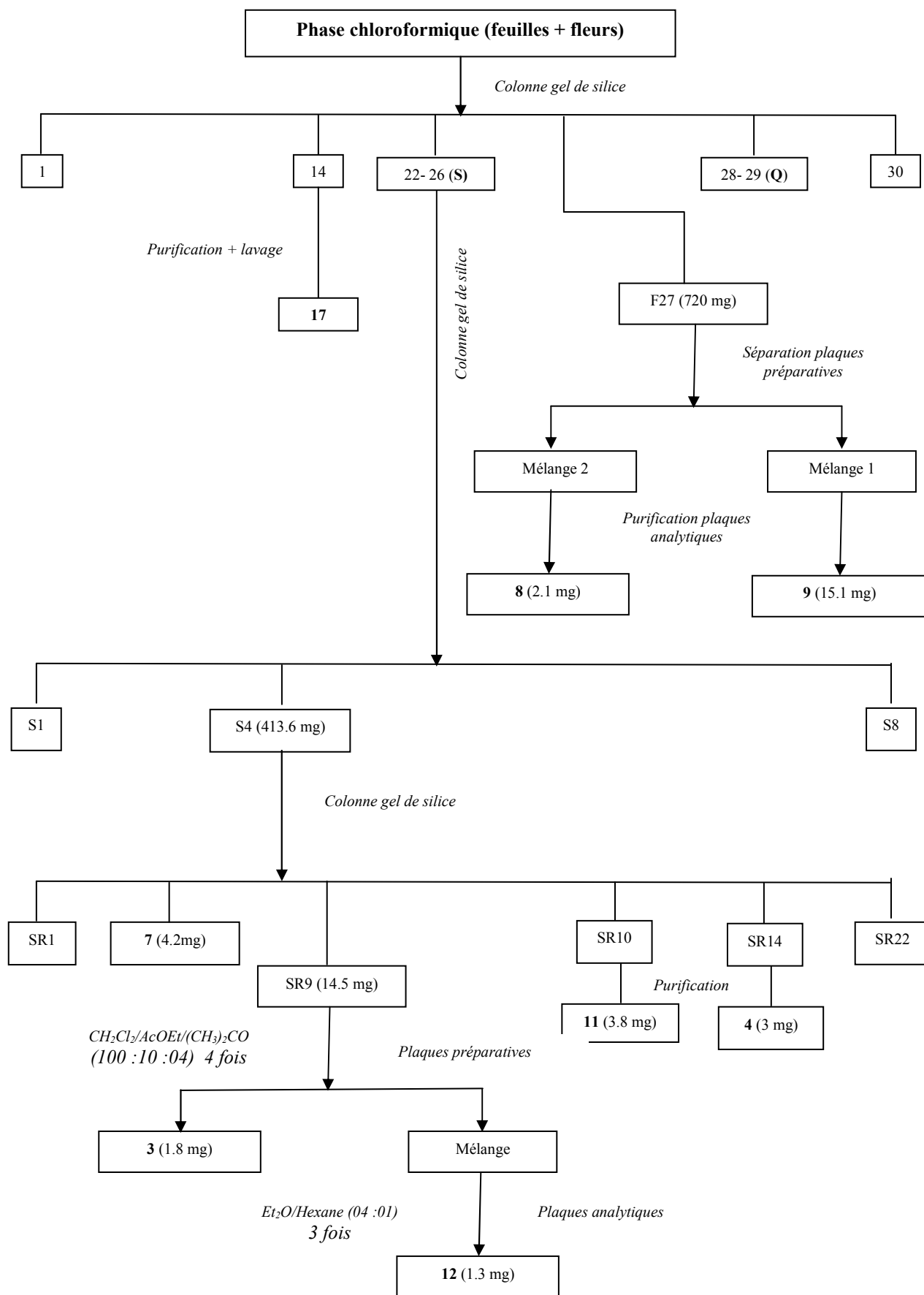
III.5.2.B.2. Etude de la sous-fraction M7:

La sous-fraction M7 (21.8 mg, 25% AcOEt), soumise à une chromatographie sur plaque de gel de silice (GF 254) éluée par le système CH₂Cl₂/MeOH/H₂O (100 :10 :01), a conduit à un composé pur **14** (11.3 mg) de coloration noire violette sous lampe UV à 365 nm et jaune après révélation par l'acide sulfurique.

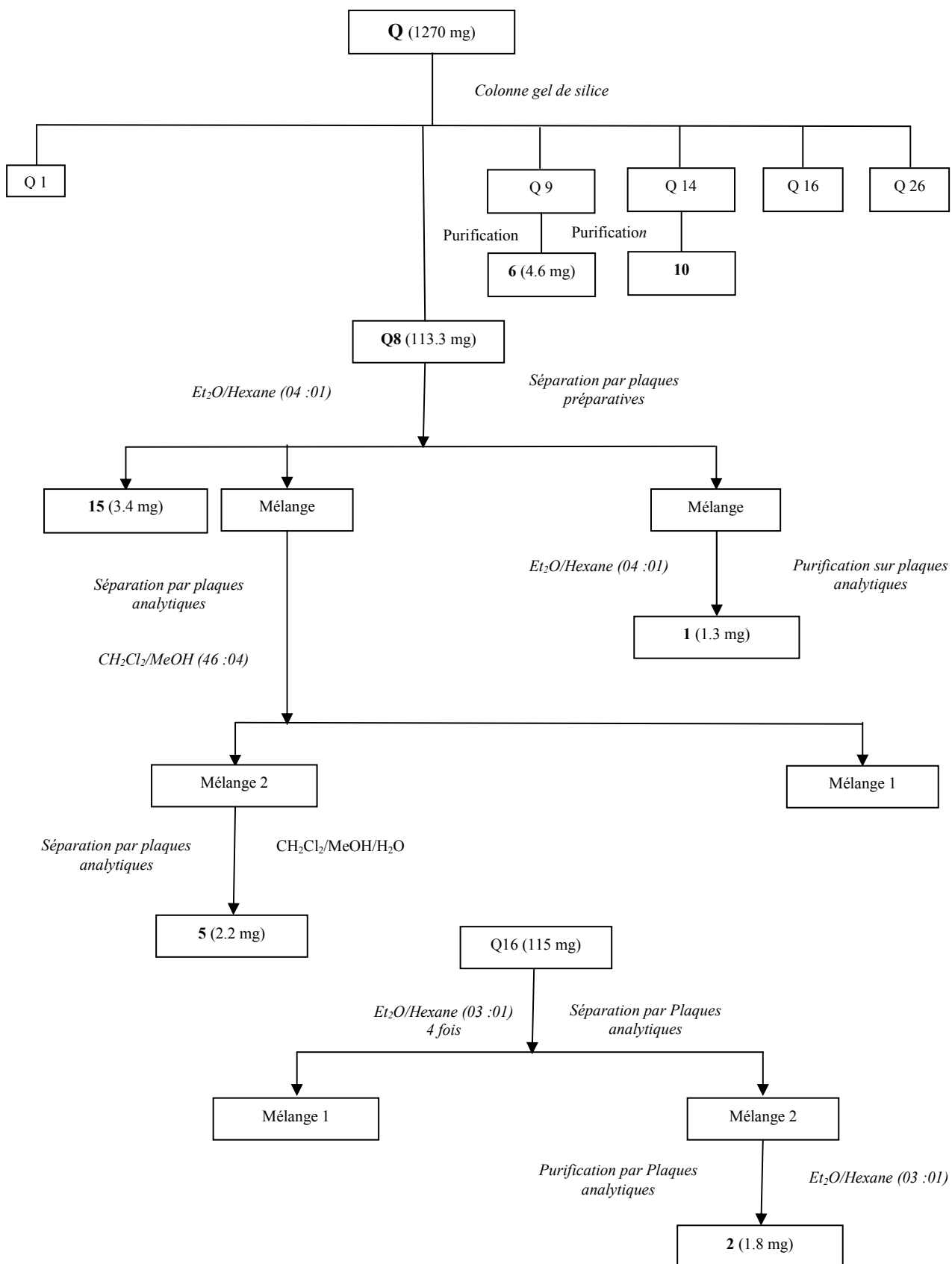
III.5.2.B.3. Etude de la sous-fraction M9:

De la même façon, la sous-fraction M9 (35.3 mg, 30 % AcOEt), soumise à une chromatographie sur plaque de gel de silice (GF 254) éluée par le système CH₂Cl₂/MeOH/H₂O (100 :10 :01), a conduit à isoler un composé pur, **10** (2.5 mg), de coloration grise foncée après révélation à l'acide sulfurique. L'organigramme de séparation et de purification des produits isolés des phases chloroformique et acétate d'éthyle de l'extrait hydroalcoolique du *Centaurea Omphalotricha* est représenté ci-dessous.

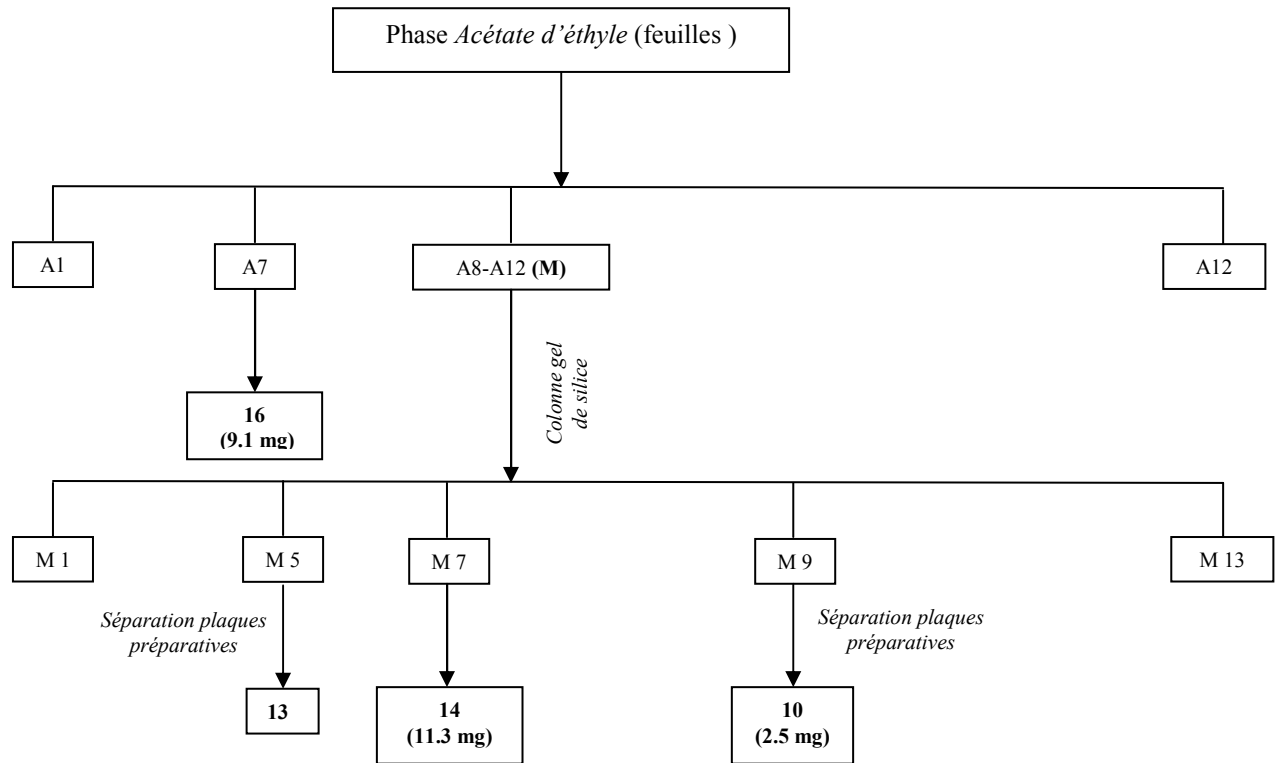
• Phase Chloroformique *C. Omphalotricha*.



Fraction Q :



• Phase Acétate d'éthyle *C. Omphalotricha*



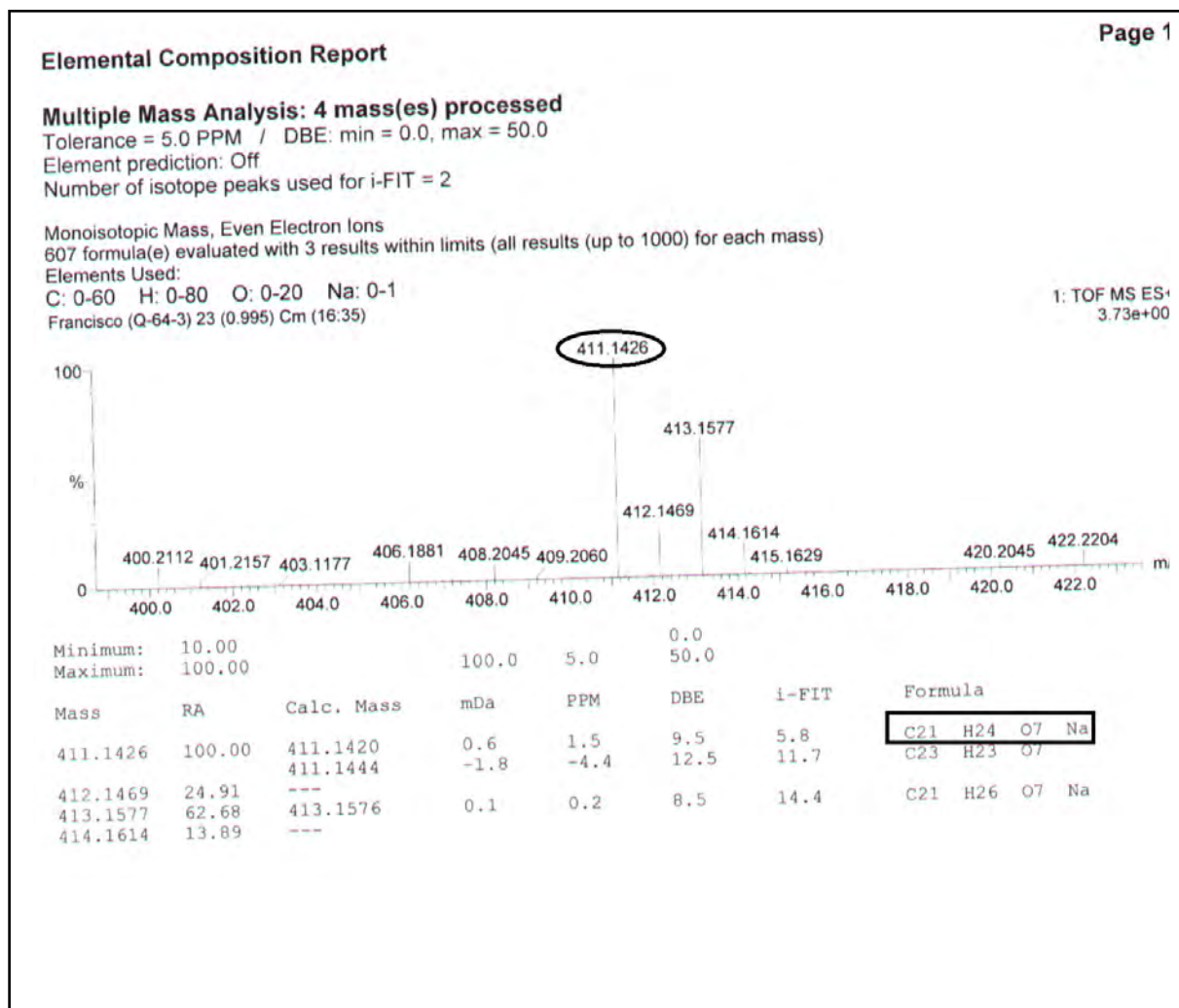
Chapitre IV :

Résultats et Discussions

IV. 1. Identification des produits isolés de l'espèce *C. Omphalotricha*.

IV. 1. 1. Elucidation structurale du composé 1 :

L'examen du spectre de masse à haute résolution enregistré en mode électronébulisation positive [ESI(+)] (**spectre 1-1**) montre un pic quasimoléculaire à $m/z=411,1426$ (cal : 411,1420) correspondant à $[M+Na]^+$, cette donnée permet d'une part de déduire une formule brute $C_{21}H_{24}O_7$ pour cette molécule et d'autre part de déduire la présence de 10 insaturations dans cette molécule.

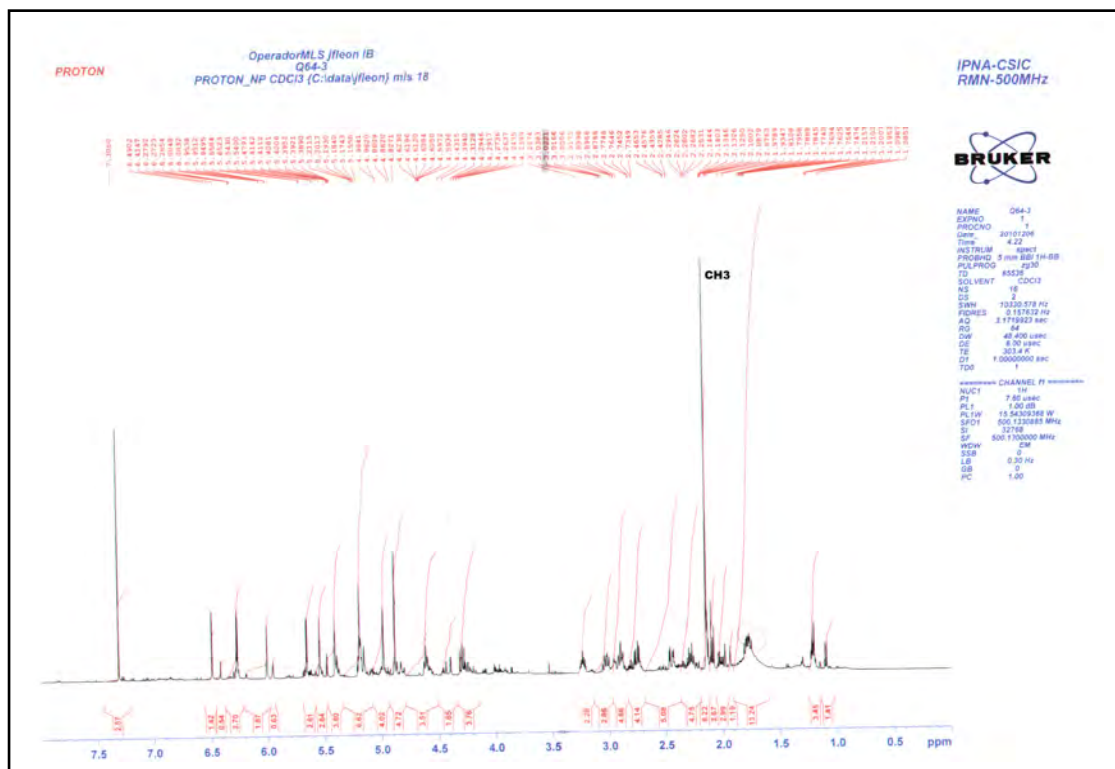


Spectre 1-1 : Spectre [ESI(+)] du composé 1.

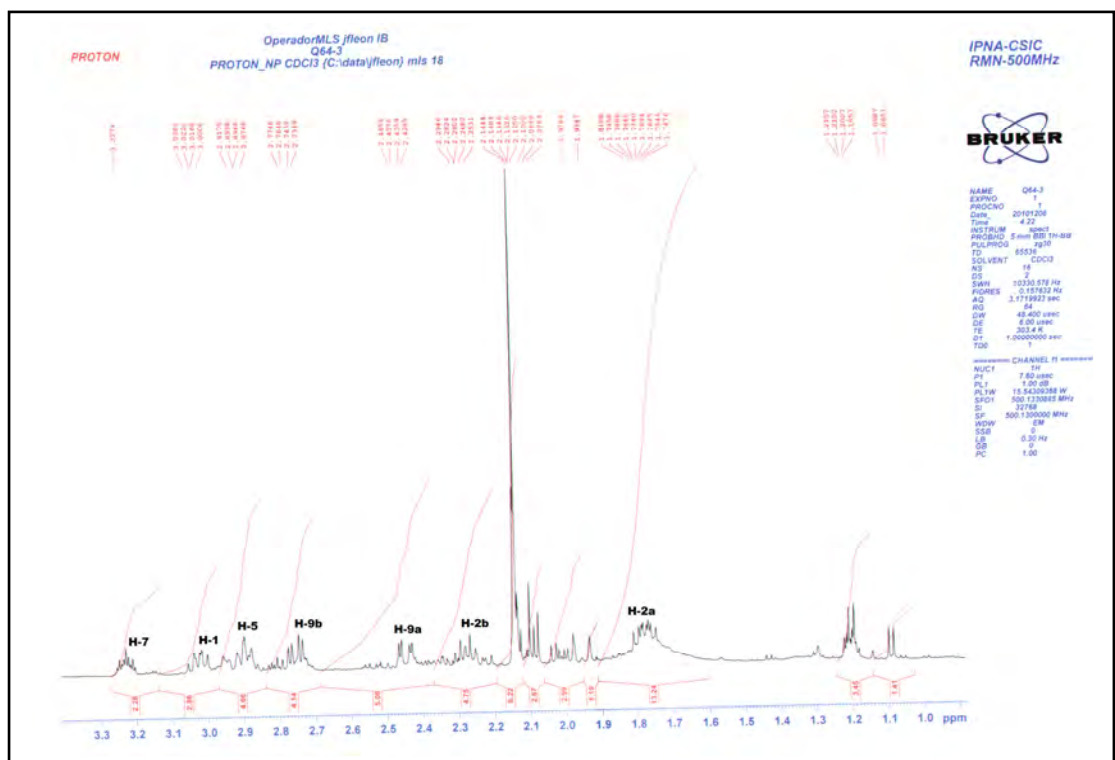
Le spectre proton (**spectre 1-2-b**) de cette molécule montre deux doublets d'intégration d'un proton pour chacun à $\delta=6,27$ ppm ($J=3,5$ Hz) et $\delta=5,65$ ppm ($J=3,1$ Hz).

Sur le spectre HSQC (**spectre 1-3**) Ces deux protons montrant des taches de corrélations avec le même carbone qui apparaît à $\delta_c = 122,5$ ppm, cette observation indique que ces deux protons sont portés par le même carbone éthylénique. Retournant au spectre proton, ces

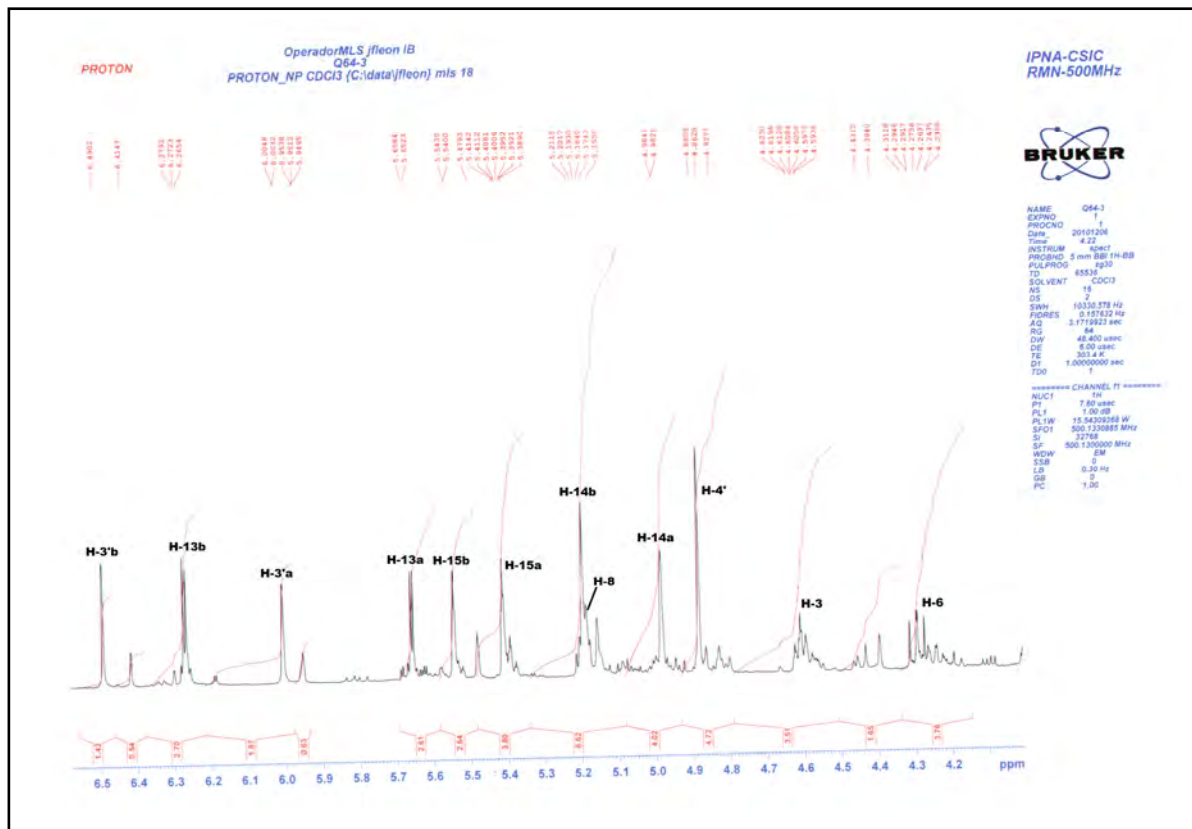
signaux montrant un couplage allylique sont caractéristiques d'une γ -lactone α, β -insaturé. Ce couplage est attribué aux interactions H-13a/H-7 et H-13b/H-7.



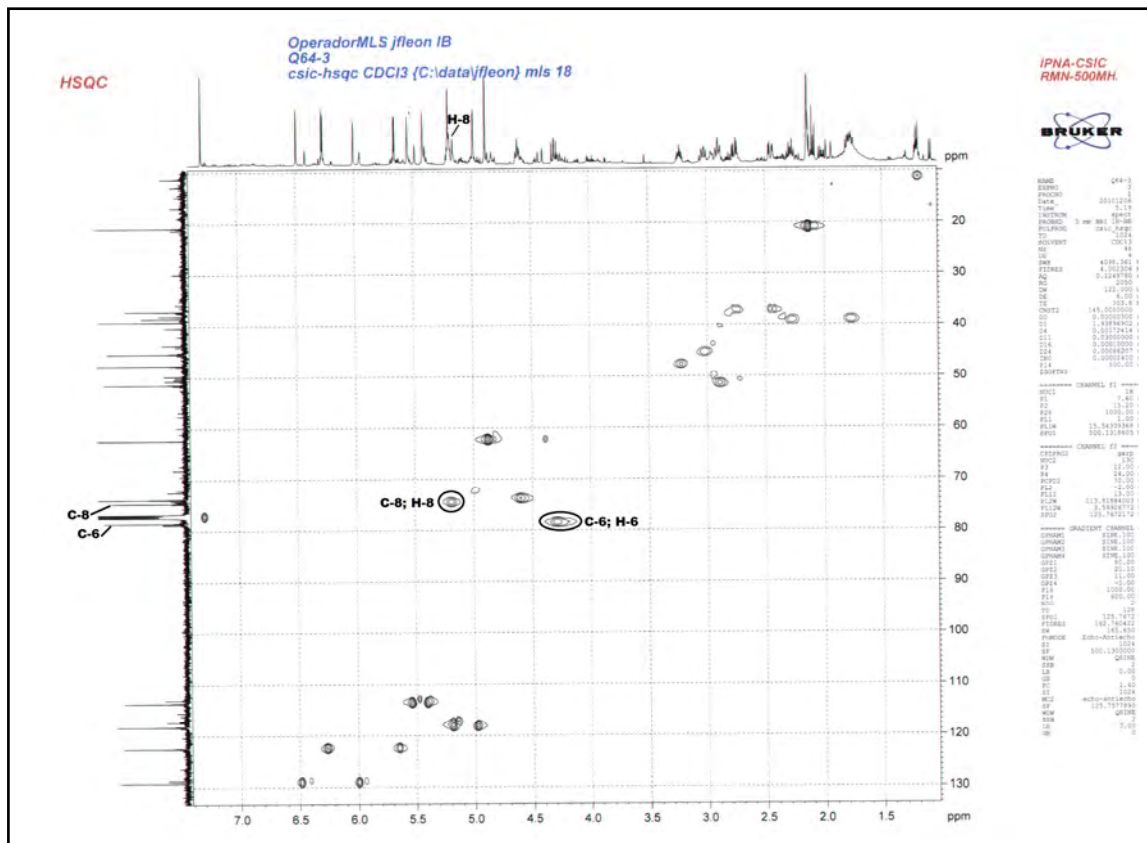
Spectre 1-2 : RMN ^1H (CDCl_3 ; 500 MHz) du composé 1.



Spectre 1-2-a : Etalement du spectre 1-2.



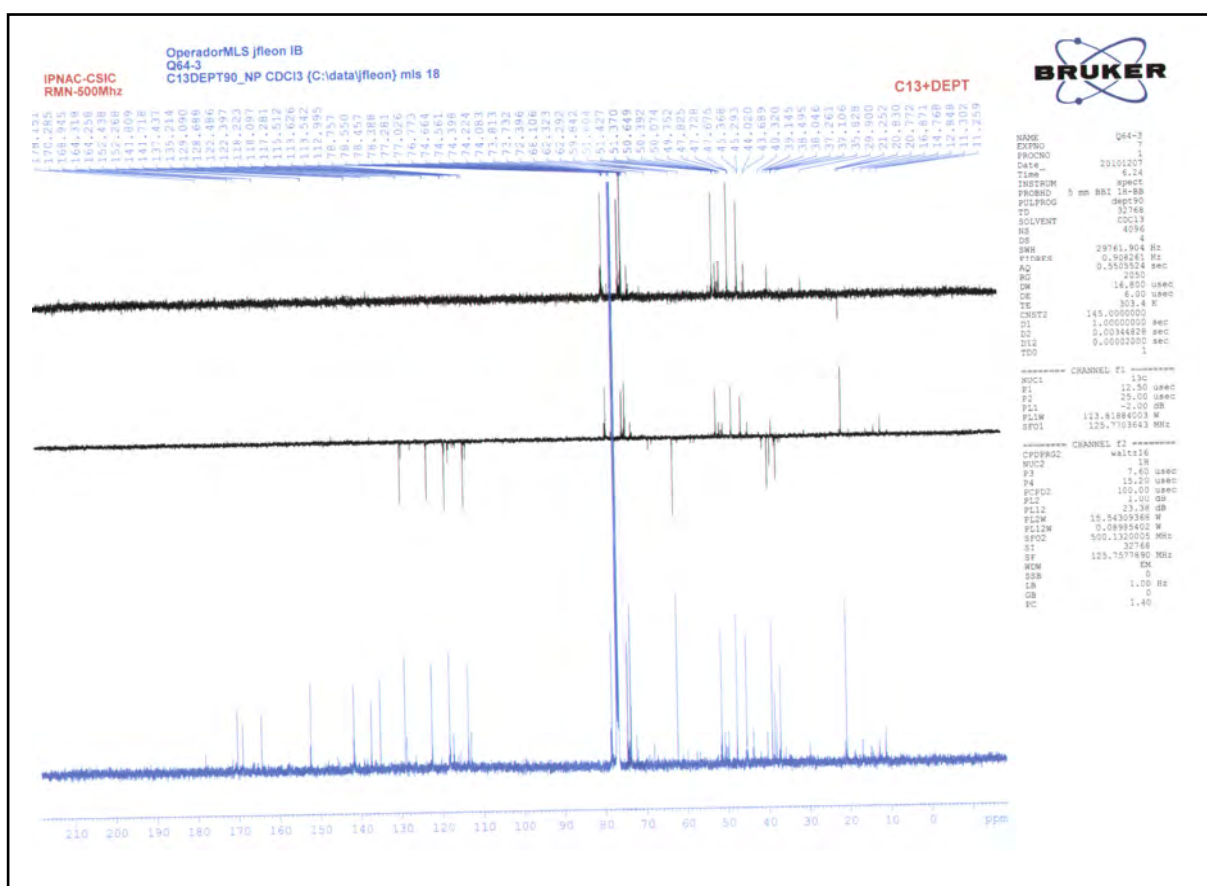
Spectre 1-2-b : Etalement du spectre 1-2



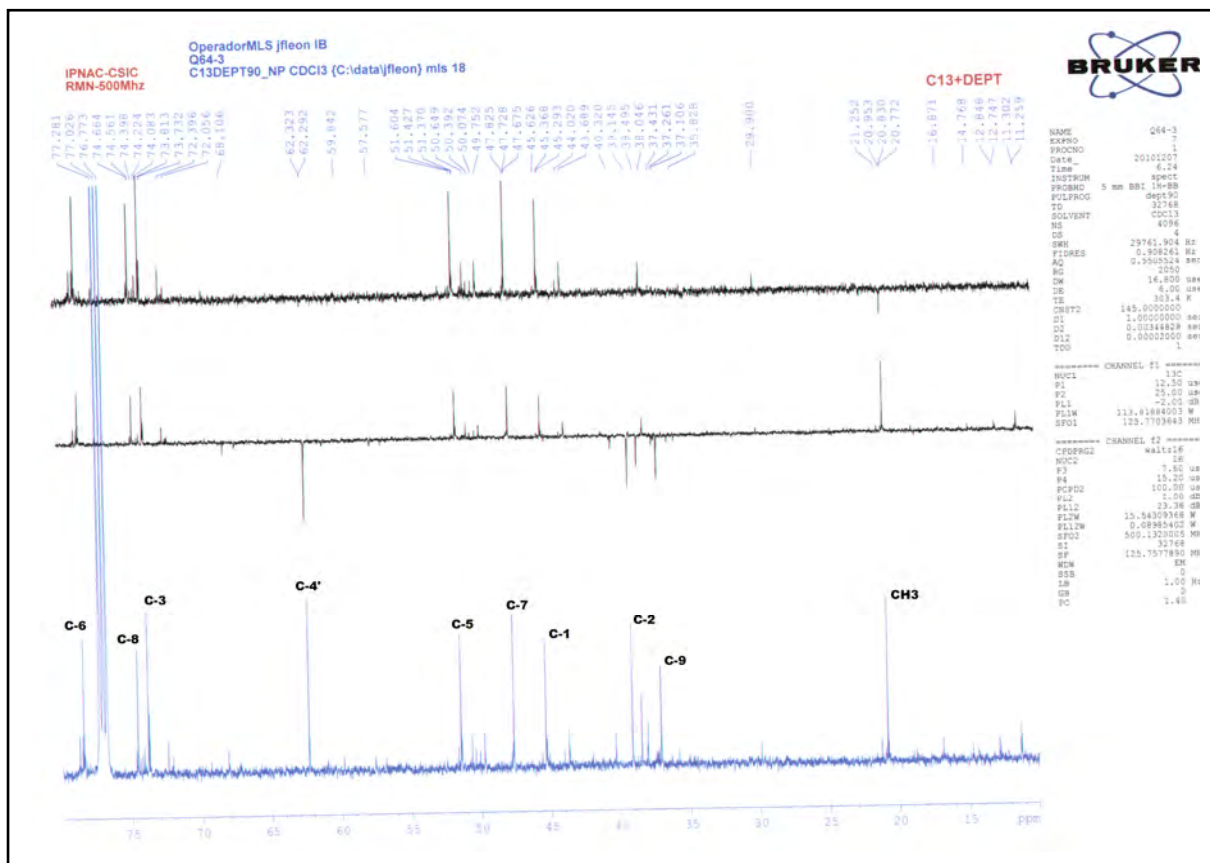
Spectre 1-3 : HSQC (CDCl₃ ; 500 MHz) du composé 1.

L'étude du spectre RMN ^{13}C et les séquences DEPT 90 et 135 (**Spectre-1-4**) montrent la présence des groupements suivants :

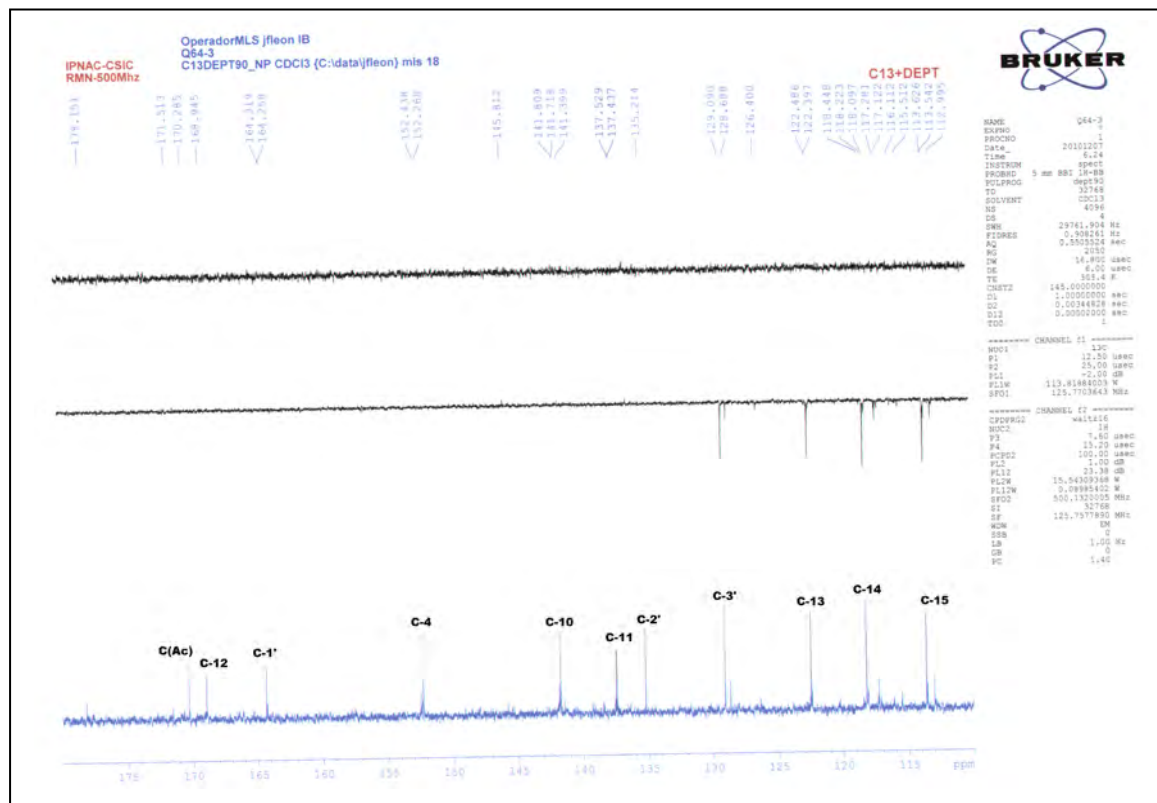
- sept carbones quaternaires dont:
 - Trois carbonyles à $\delta = 170,28$, $\delta = 168,94$ et $\delta = 164,32$ ppm.
 - quatre à $\delta = 152,27$ ppm ; $\delta = 141,72$ ppm ; $\delta = 137,44$ ppm et $\delta = 135,24$ ppm attribuables à des carbones éthyléniques.
- six CH dont:
 - un à $\delta = 78,45$ ppm (oxygéné) caractéristique d'un CH de fermeture d'une γ -lactone sesquiterpénique.
 - deux autres CH oxygénés à $\delta = 74,66$ ppm et $\delta = 73,81$ ppm
 - trois non oxygénés à $\delta = 51,42$; $\delta = 46,73$ et $\delta = 45,37$ ppm
- sept CH_2 dont :
 - quatre éthyléniques à $\delta = 129,1$; $\delta = 122,48$; $\delta = 118,22$ et $\delta = 113,62$ ppm
 - un oxygéné à $\delta = 62,32$ ppm
 - deux non oxygénés à $\delta = 39,14$ et $\delta = 37,10$ ppm.
- un CH_3 à $\delta = 20,83$ ppm.



Spectre 1-4 : RMN ^{13}C , DEPT 135 et 90 (CDCl_3 ; 500 MHz) du composé **1**.



Spectre 1-4-a : Etalement du Spectre 1-4

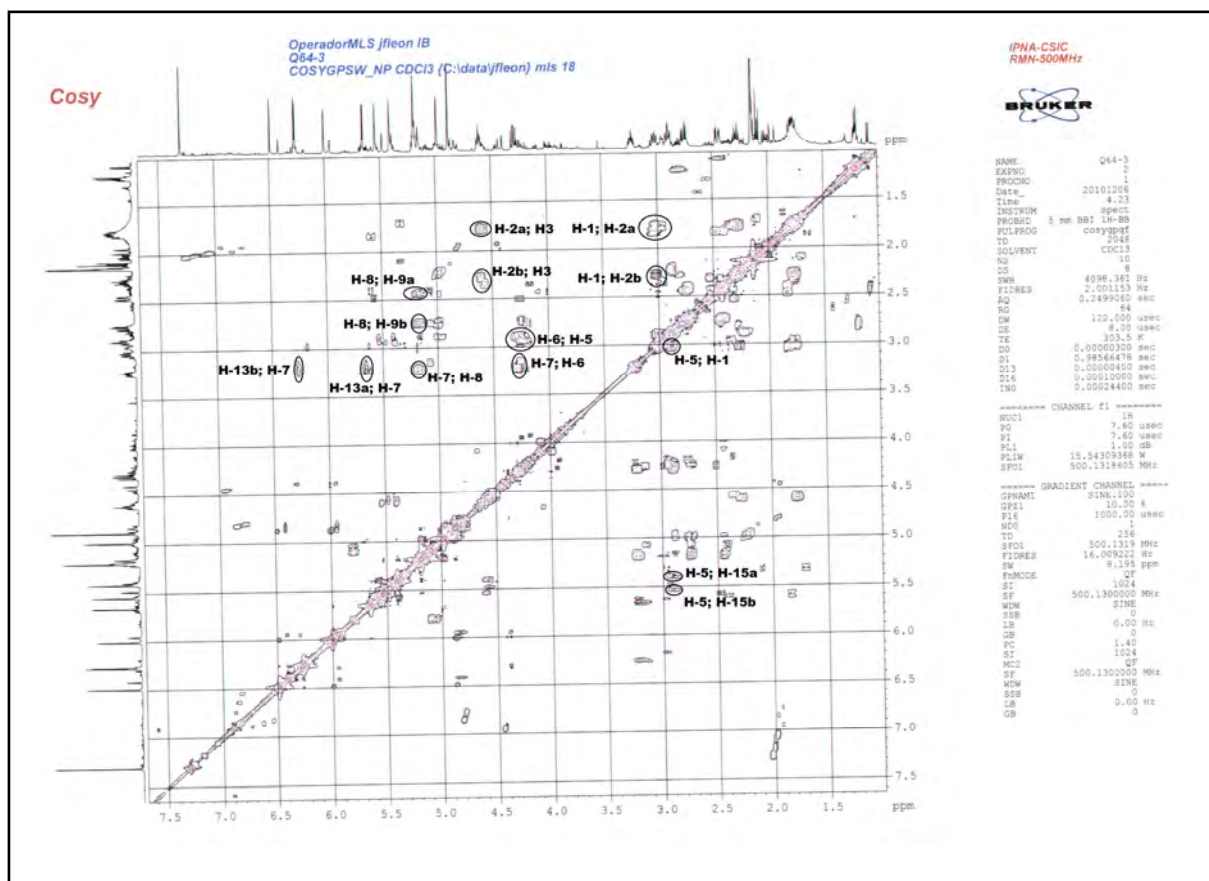


Spectre 1-4-b : Etalement du Spectre 1-4

Tous ces éléments convergent vers un squelette de type sesquiterpene lactone comportant trois doubles liaisons exocycliques et substitué par une chaîne constituée par un groupement ester, une double liaison, extra chaîne et un groupement acétate.

A ce stade de notre analyse nous pouvons déduire que les trois doubles liaisons exocycliques se situent dans les positions C-10 – C-14, C-4 – C-15 et C-11 – C-13. Si on y ajoute la double liaison éthylénique située sur la chaîne latérale substituant le squelette sesquiterpenique, on aboutit à six insaturations utilisées (trois doubles liaisons exocycliques sur le squelette sesquiterpene lactone, une double liaison sur une chaîne latérale, le carbonyle de la fonction lactone ainsi que le cycle lactonique). Comme signalé plus haut, nous avons également un carbonyle d'ester et un carbonyle du groupement acétate, ce qui porte à huit le nombre d'insaturations utilisées. Comme tous les autres carbones de la molécule sont hybridés sp^3 nous pouvons doré et déjà déduire que le squelette sesquiterpénique de cette molécule est bicyclique. Vu la présence des trois doubles liaisons exocycliques, ce squelette ne peut être que de type guaianolide.

Sur le spectre COSY (**Spectre 1-5**), les deux protons H-13a et H-13b montrent une tache de corrélation avec le proton apparaissant sous forme d'un multiplet qui ne peut être attribué qu'à H-7. Ce dernier montre des taches de corrélations avec les protons apparaissant à $\delta = 4,29$ ppm (*dd*, $J = 10,5 ; 9,0$ Hz) et $\delta = 5,19$ ppm (multiplet partiellement recouvert par un doublet d'intégration correspondante à un proton), ces deux protons ne peuvent être attribués qu'à H-6 et H-8. La multiplicité du signal à $\delta = 4,29$ ppm permet son attribution à H-6 car en effet, la position C-5 ne peut être occupée par plus d'un proton. A l'inverse, le proton résonnant à $\delta = 5,19$ ppm, montrant des taches de corrélations avec deux protons l'un à $\delta = 2,75$ ppm (*dd*, $J = 14,5 ; 5,0$ Hz) et l'autre à $\delta = 2,44$ ppm (*dd*, $J = 14,5 ; 3,5$ Hz) ne peut être attribué qu'à H-8. Les deux protons montrant des corrélations avec lui sont attribués à H-9 β et H-9 α . Sachant que les lactones sesquiterpéniques sont fermées soit en C-6 soit en C-8, nous avons examiné le spectre HSQC (**Spectre 1-3**) de ce composé. En effet, sur ce spectre, le carbone du groupement CH à $\delta = 78,4$ ppm, caractéristique par la valeur de son déplacement chimique d'un CH de fermeture d'une γ -lactone, montre une tache de corrélation avec H-6. Cette observation indique une fermeture en C-6. Par ailleurs, les déplacements chimiques de H-8 (5,19 ppm) et de son carbone (74,6 ppm) sont en faveur d'une estérification en C-8.



Spectre 1-5 : COSY (^1H - ^1H) (CDCl_3 ; 500 MHz) du composé 1.

Toujours sur le spectre COSY, H-6 permet la localisation de H-5 à $\delta = 2,89$ ppm sous forme d'un triplet de triplets ($J = 9,0 ; 1,5$ Hz). Ce dernier montre des taches de corrélation avec les deux protons de la double liaison exocyclique à $\delta = 5,53$ ppm (t , $J = 1,5$ Hz) et $\delta = 5,41$ ppm (t , $J = 1,5$ Hz) ($\delta_c = 113,6$ ppm). Ces deux protons ne peuvent être attribués qu'à H-15b et H-15a respectivement. Cette observation confirme bien la présence d'une double liaison exocyclique C-4 – C-15. Par ailleurs, H-5 montre une tache de corrélation avec le proton résonnant à $\delta = 3,02$ ppm sous forme d'un ddd ($J = 10,5 ; 9,0 ; 7,5$ Hz), ce proton ne peut être attribué qu'à H-1 vu que C-4 est quaternaire. Cette analyse confirme bien la nature guaianolide de ce squelette sesquiterpénique.

Toujours sur le spectre COSY la localisation de H-1 ($\delta_c = 45,4$ ppm) mène à celle de H-2b à $\delta = 2,22-2,27$ ppm (m) et à celle de H-2a à $\delta = 1,75$ ppm (ddd , $J = 14,5 ; 10,5 ; 7,0$ Hz).

Ces deux protons mènent à leur tour à la présence d'un seul proton en C-3 résonnant à $\delta = 4,60$ ppm sous forme d'un triplet de triplets ($J = 7,0 ; 1,5$ Hz). Les valeurs des déplacements chimiques de ce proton et de son carbone ($\delta = 73,80$) indiquent que cette position est oxygénée.

A ce stade de notre étude structurale, nous avons une lactone sesquiterpénique de type guaianolide oxygéné en C-3 et estérifiée en C-8. (**Figure 1-1**).

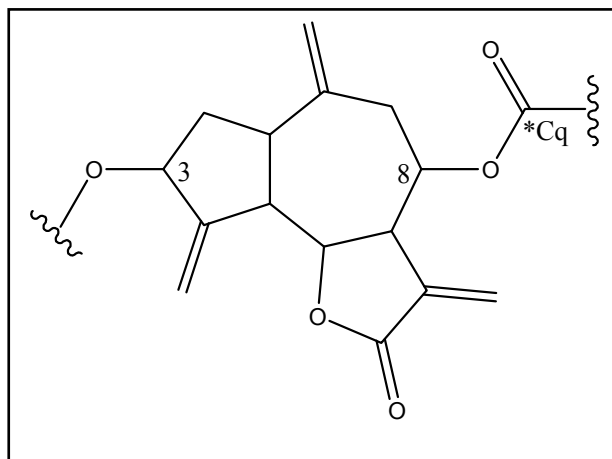


Figure 1-1 : Structure partielle du Composé 1.

D'après la formule brute qui est $C_{21}H_{24}O_7$ et le spectre ^{13}C , il nous reste un groupement acétate, un groupement CH_2 oxygéné, un carbone quaternaire éthylénique et un CH_2 éthylénique.

Toutes ces informations sont confirmées dans le spectre proton où l'on observe:

- Deux singulets d'intégration d'un proton pour chacun à $\delta = 6.0$ ppm et $\delta = 6.49$ ppm correspondant d'un groupement éthylénique.
- Un singulet d'intégration deux protons à $\delta = 4,88$ ppm attribuable à un groupement CH_2 hybridé SP^3 .
- un singulet à $\delta = 2,14$ ppm correspondant à un groupement méthyle.

L'ensemble de ces données mènent à la structure plane reportée dans **la figure 1-2**.

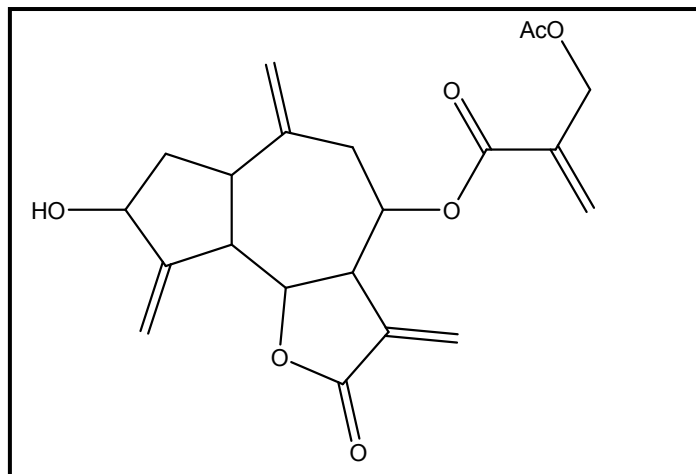


Figure 1-2 : Structure plane du composé **1**.

Les protons H-5, H-6 et H-7 montrent tous des interactions de couplage de type axial-axial (J H-1, H-5 = 9,0 Hz, J H-5, H-6 = 9,0 Hz). Cette observation confère une orientation α au proton H-5 vu que H-6 est en orientation β . L'orientation α de H-1 découle de la valeur de sa constante de couplage avec H-5, celle de H-3 est établie par analogie avec la cynaropicrine. L'ensemble de ces données mènent à la structure **4'-Acétyl cynaropicrine** reportée dans la **figure 1-3**.

Ce composé est reporté pour la première fois dans la littérature.

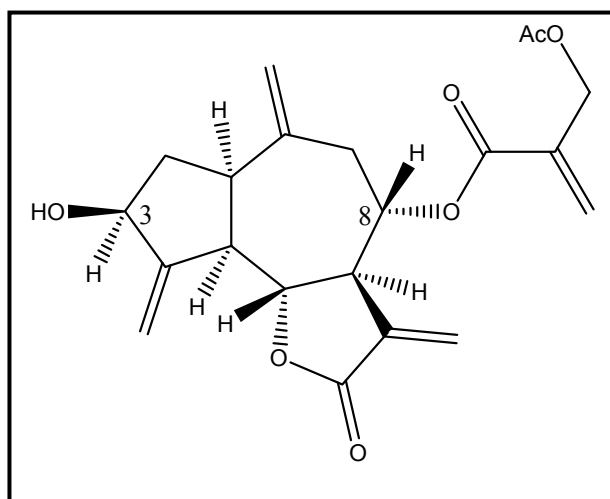


Figure 1-3 : Structure finale du composé **1**.

Tableau 1-1 : Données spectrales de RMN¹³C ; DEPT135 et DEPT90°(CDCl₃, 500MHz) du composé **1**.

C	δ (ppm)	DEPT et HSQC
1	45,4	CH
2	39,1	CH ₂
3	73,8	CH
4	152,3	Cq
5	51,4	CH
6	78,4	CH
7	47,7	CH
8	74,6	CH
9	37,1	CH ₂
10	141,7	Cq
11	137,4	Cq
12	168,9	Cq
13	122,5	CH ₂
14	118,2	CH ₂
15	113,6	CH ₂
1'	164,3	Cq
2'	135,2	Cq
3'	129,1	CH ₂
4'	62,3	CH ₂
OAc	20,8 170,3	CH ₃ ; Cq

Tableau 1-2 : Données spectrales de RMN¹H (CDCl₃, 500MHz) du composé **1**.

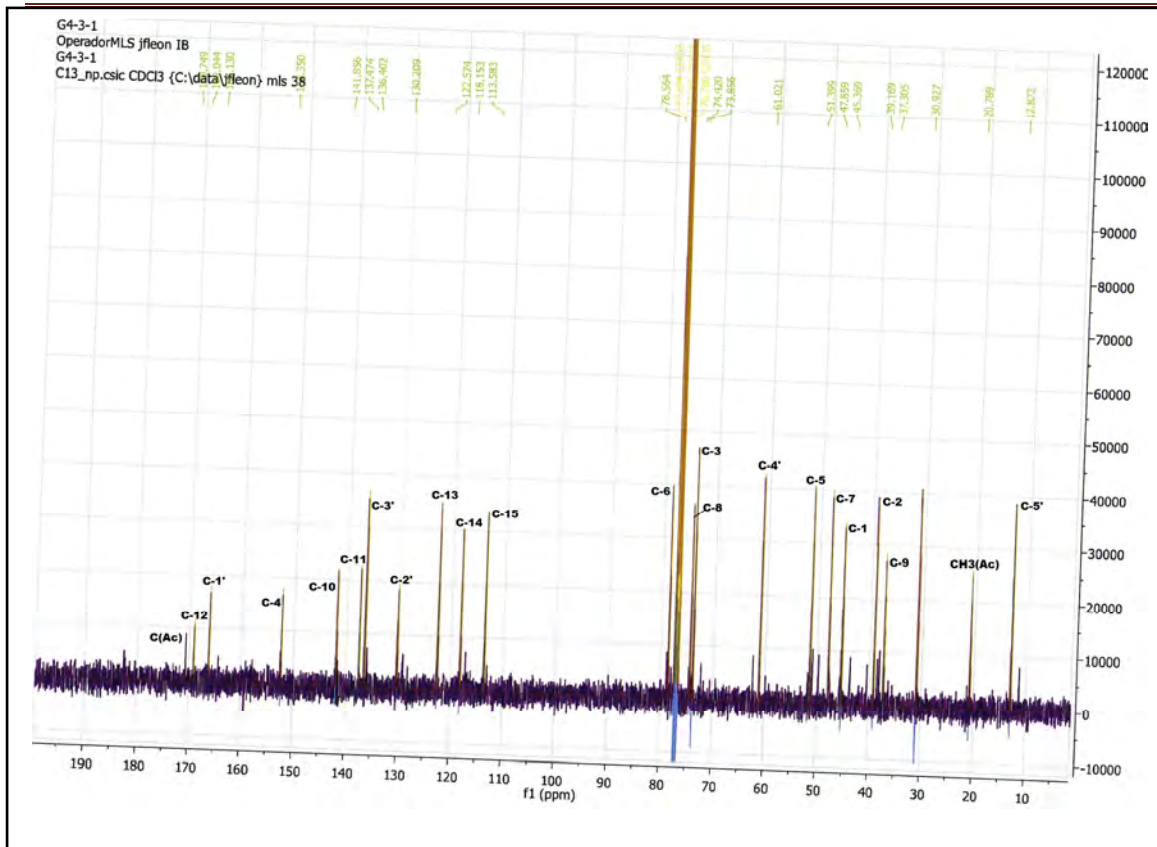
H	δ (ppm)	Multiplicité	J [Hz]
1	3,02	<i>ddd</i>	10,5 ; 9,0; 7,5
2a	1,75	<i>ddd</i>	14,5 ; 10,5 ; 7,0
2b	2,22-2,27	<i>m</i>	-
3	4,60	<i>tt</i>	7,0 ; 1,5
5	2,89	<i>tt</i>	9,0 ; 1,5
6	4,29	<i>dd</i>	10,5 ; 9,0
7	3,20-3,25	<i>m</i>	-
8	5,19	<i>m</i>	-
9a	2,44	<i>dd</i>	14,5 ; 3,5
9b	2,75	<i>dd</i>	14,5 ; 5,0
13a	5,65	<i>d</i>	3,1
13b	6,27	<i>d</i>	3,5
14a	4,98	<i>s</i>	-
14b	5,19	<i>s</i>	-
15a	5,41	<i>t</i>	1,5
15b	5,53	<i>t</i>	1,5
3'a	6,00	<i>s</i>	-
3'b	6,49	<i>s</i>	-
4'	4,88	<i>s</i>	-
OAc	2,14	<i>s</i>	-

IV.2. Elucidation structurale du composé 2 :

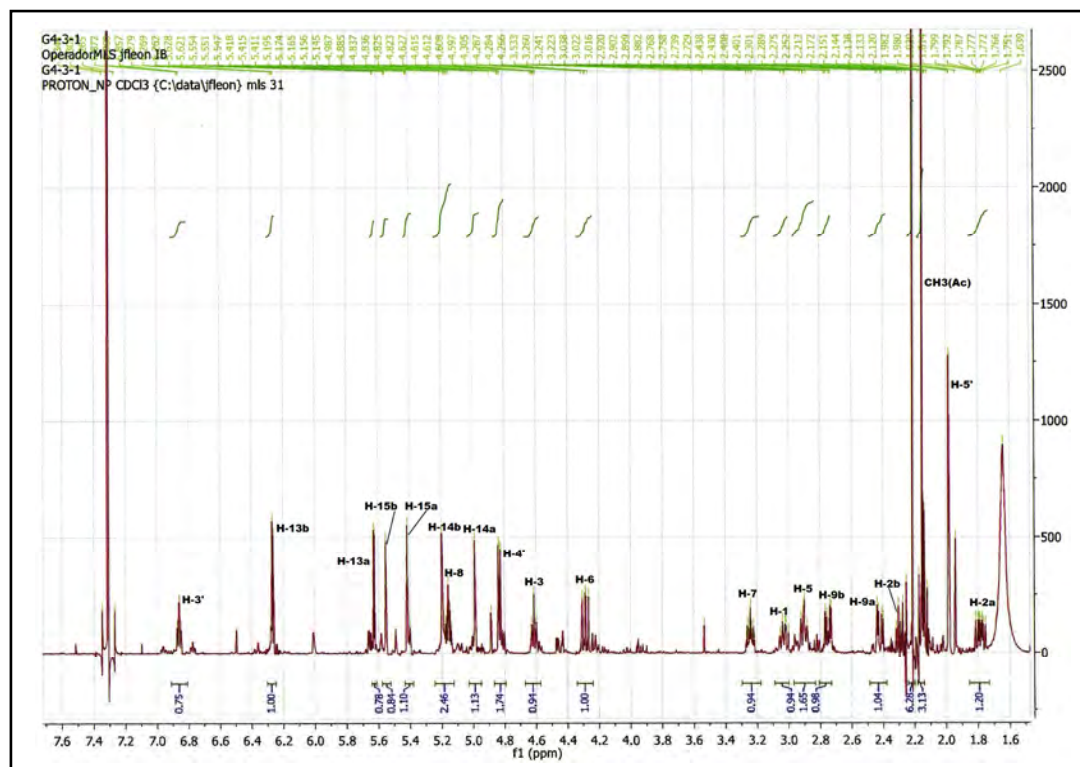
L'examen du spectre RMN ^{13}C (**Spectre-2-1**) de ce composé montre la présence de 22 atomes de carbones. De plus, la comparaison des données de ce spectre avec celui du composé **1** (**Tableau-2-1**) montre une grande similarité dans les valeurs des déplacements chimiques avec la présence du groupement acétate ($\delta_c = 20,8$; 170,7), cette observation est aussi confirmée dans le spectre de proton où on observe la présence du groupement CH_3 sous forme d'un singulet à $\delta = 2,15$ ppm. On note cependant la présence d'un méthyle additionnel déblindé dans ce spectre à $\delta = 1,98$ ppm. (**Spectre-2-2**). On note également comparativement au spectre proton du composé **1**, la disparition des signaux correspondants aux protons éthyléniques 3'a et 3'b à 6,00 ppm et 6,49 ppm respectivement et l'apparition d'un proton vinylique à $\delta = 6,85$ ppm.

Position	δ_c (Composé 1)	δ_c (Composé 2)
1	45,4	45,4
2	39,1	39,1
3	73,8	73,9
4	152,3	152,3
5	51,4	51,4
6	78,4	78,6
7	47,7	47,9
8	74,6	74,5
9	37,1	37,3
10	141,7	141,8
11	137,4	137,4
12	168,9	169,0
13	122,5	122,1
14	118,2	118,1
15	113,6	113,6
1'	164,3	166,1
2'	135,2	130,2
3'	129,1	136,4
4'	62,3	61,0
5'	-	12,9
OAc	20,8; 170,3	20,8 170,7

Tableau-2-1 : Déplacement chimique ^{13}C des composés **1** et **2**.



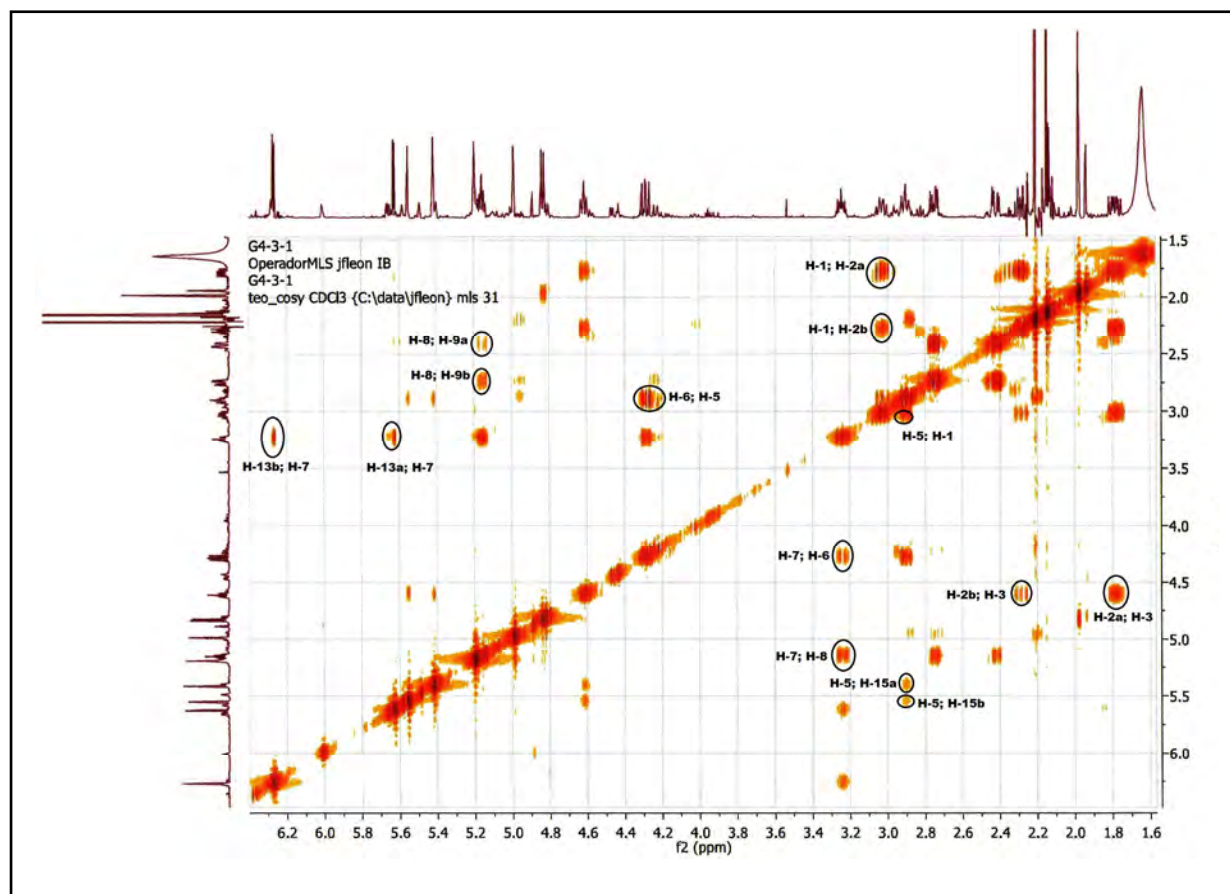
Spectre 2-1 : RMN ^{13}C (CDCl_3 ; 500 MHz) du composé 2.



Spectre 2-2 : RMN ^1H (CDCl_3 ; 500 MHz) du composé 2.

Le spectre de proton (**spectre 2-2**) montre les deux doublets à $\delta = 6,27$ ppm ($J = 3,5$ Hz) et $\delta = 5,62$ ppm ($J = 3,1$ Hz) attribués à H-13a et H-13b montrant un couplage allylique caractéristique correspondant aux interactions H-13a/H-7 et H-13b/H-7. Cette observation confirme la présence de double liaison exocyclique C-11 – C-13 ainsi que les deux doublets à $\delta = 4,98$ et $5,19$ ppm correspondants aux protons 14 a et 14b respectivement et les deux doublets à $5,41$ et $5,55$ ppm correspondants aux protons 15a et 15b respectivement.

On peut trouver également dans le spectre COSY (**Spectre 2-3**) toutes les taches de corrélations entre les protons H-13a et H-13b avec le proton H-7 apparaissant sous forme d'un multiplet entre $\delta = 3,21$ - $3,26$ ppm. Les corrélations entre ce proton et les protons H-6 et H-8 permettent de remonter successivement aux protons H-5 d'une part et aux protons H-9 β et H-9 α d'autres part comme cela a été fait dans le cas du composé 1.



Spectre 2-3 : COSY (^1H - ^1H) (CDCl_3 ; 500 MHz) du composé 2.

Le proton H-5 montre des taches de corrélation avec les deux protons de la double liaison exocyclique chacun sous forme d'un triplet à $\delta = 5,55$ ($J = 1,5$ Hz) ppm et $\delta = 5,41$ ppm ($J = 1,5$ Hz). Ces deux protons sont attribués à H-15b et H-15a respectivement. Cette observation confirme bien la présence de la double liaison exocyclique C-4 – C-15. Par ailleurs, H-5 montre une tache de corrélation avec le proton résonnant à $\delta = 3,03$ ppm (ddd , $J = 11,0$; $10,5$;

7,5 Hz), ce proton ne peut être attribué qu'à H-1 vu que C-4 est quaternaire, cette analyse confirme bien la nature guaianolide de ce squelette sesquiterpénique.

Toujours sur le spectre COSY la localisation de H-1 mène à celle de H-2b à $\delta = 2,28$ ppm (*dt*, $J = 13,0 ; 7,5$ Hz) et à celle de H-2a à $\delta = 1,77$ ppm (*ddd*, $J = 13,0 ; 10,5 ; 7,5$ Hz).

Ces deux protons mènent à leur tour à la présence d'un seul proton en C-3 résonnant à $\delta = 4,61$ ppm sous forme d'un triplet de triplets ($J = 7,5 ; 1,5$ Hz). La valeur de déplacement chimique de ce proton indique que cette position est oxygénée.

A ce stade de notre étude structurale nous avons confirmé la parfaite similitude pour ce qui est du squelette sesquiterpénique entre les produits **1** et **2**. La différence entre les deux se situe bien dans la chaîne substituant le proton H-8. (**Figure 2-1**).

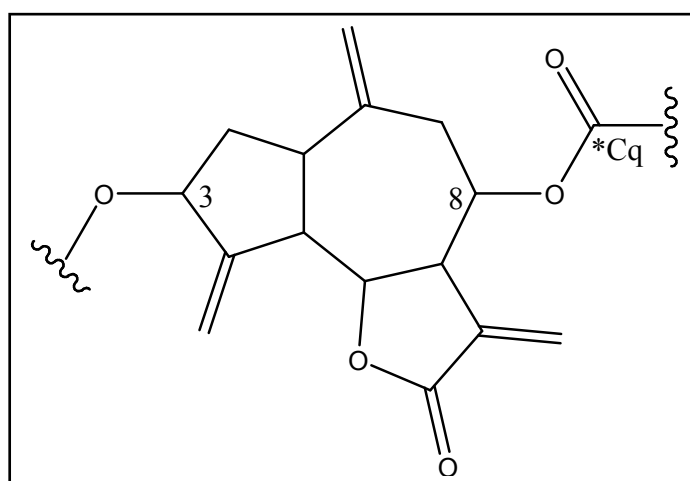


Figure 2-1 : Structure partielle du Composé **1**.

La disparition des protons éthyléniques H-3'a et H-3'b, l'apparition d'un proton vinylique (**Spectre 2-2**) de cette molécule montre la présence d'un signal d'intégration d'un proton sous forme d'un triplet de quadruplets à $\delta = 6,85$ ppm ($J = 6,1 ; 1,2$ Hz), de même l'apparition du singulet correspondant à un groupement méthyle à 1,98 ppm oriente vers la chaîne latérale représentée ci-dessous : (**Figure 2-2**).

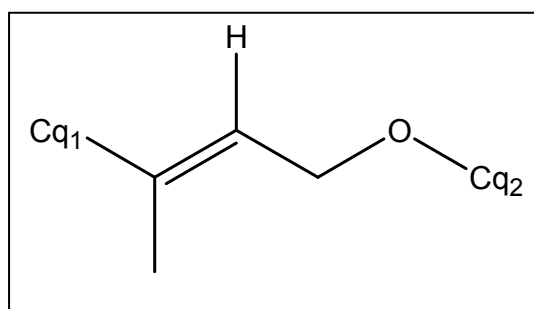


Figure 2-2 : entité présente dans le composé **2**.

Cette hypothèse est confirmée sur le même spectre où la présence d'une part un doublet d'intégration de deux protons à $\delta = 4,83$ ppm ($J = 6,1$ Hz) la valeur de son déplacement

chimique, leur multiplicité et leur équivalence magnétique indiquent qu'ils sont géminés, oxygénés et proches d'un carbone quaternaire.

Il nous reste le groupement acétate d'éthyle, qui est placée comme dans le cas du composé **1** en position terminal par rapport à la chaîne latérale.

L'ensemble de ces données conduit à la formule reportée dans la **figure 2-3**.

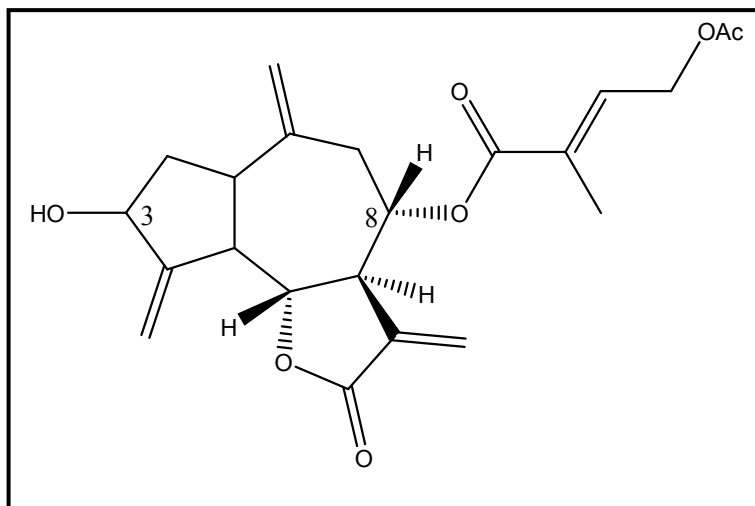


Figure 2-3 : Structure plane du composé **2**.

Les protons H-5, H-6 et H-7 montrent tous des interactions de couplage de type axial-axial ($J_{H-1, H-5} = 11,0$ Hz, $J_{H-5, H-6} = 11,0$ Hz). Cette observation confère une orientation α au proton H-5 vu qu'H-6 est en orientation β .

L'ensemble de ces données mènent à la structure de **4'-acetyl cebelline F** reportée dans la **figure 2-4**.

Ce composé est reporté pour la première fois dans la littérature.

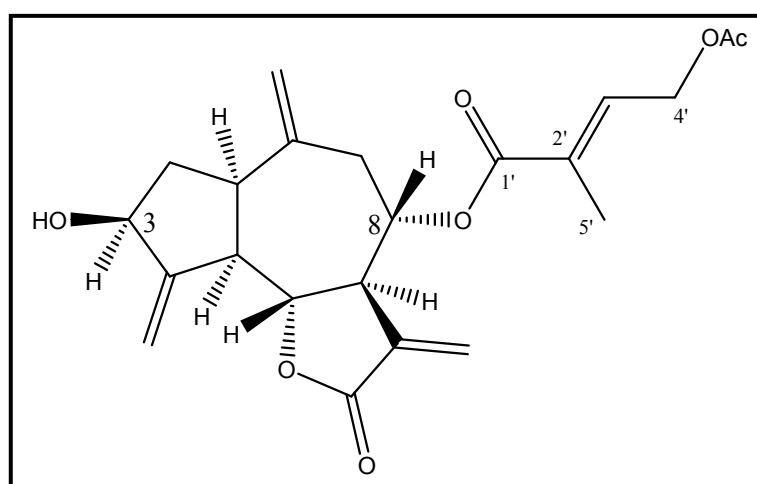


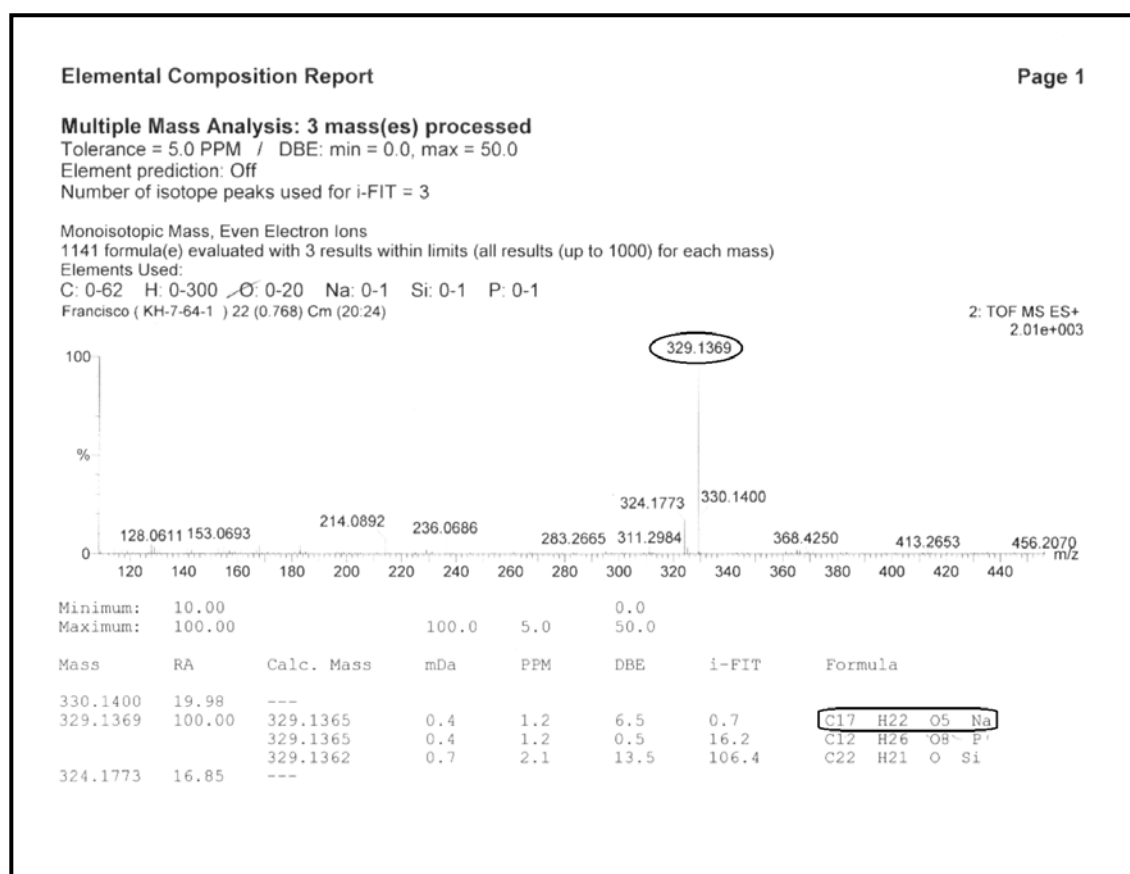
Figure 2-4 : Structure finale du composé **2**.

Tableau 2-2 : Données spectrales de RMN ^1H (CDCl_3 , 500MHz) du composé **2**.

H	δ (ppm)	<i>Multiplicité</i>	<i>J</i> [Hz]
1	3,03	<i>ddd</i>	11,0; 10,5; 7,5
2a	1,77	<i>ddd</i>	13,0; 10,5; 7,5
2b	2,28	<i>dt</i>	13,0; 7,5
3	4,61	<i>tt</i>	7,5; 1,5
5	2,89	<i>tt</i>	11,0; 1,5
6	4,28	<i>dd</i>	11,0; 9,0
7	3,21-3,26	<i>m</i>	-
8	5,16	<i>ddd</i>	9,3; 5,1; 4,0
9a	2,41	<i>dd</i>	14,6 ; 4,0
9b	2,74	<i>dd</i>	14,6 ; 5,1
13a	5,62	<i>d</i>	3,1
13b	6,27	<i>d</i>	3,5
14a	4,98	<i>s</i>	-
14b	5,19	<i>s</i>	-
15a	5,41	<i>t</i>	1,5
15b	5,55	<i>t</i>	1,5
3'	6,85	<i>tq</i>	6,1; 1,2
4'	4,83	<i>d</i>	6,1
5'	1,98	<i>d</i>	1,2
OAc	2,15	<i>s</i>	-

IV. 1. 3. Elucidation structurale du composé 3 :

L'examen du spectre de masse à haute résolution enregistré en mode électronébulisation positive (TOF-HRESI-MS positive) (**Spectre-3-1**) montre la présence d'un ion à $m/z = 329,1369$ correspondant à la formule $C_{17}H_{22}O_5Na$ (Cal : 329,1365), indiquant une formule brute $C_{17}H_{22}O_5$ pour cette molécule, cette donnée permet également de déduire sept insaturations dans cette molécule.

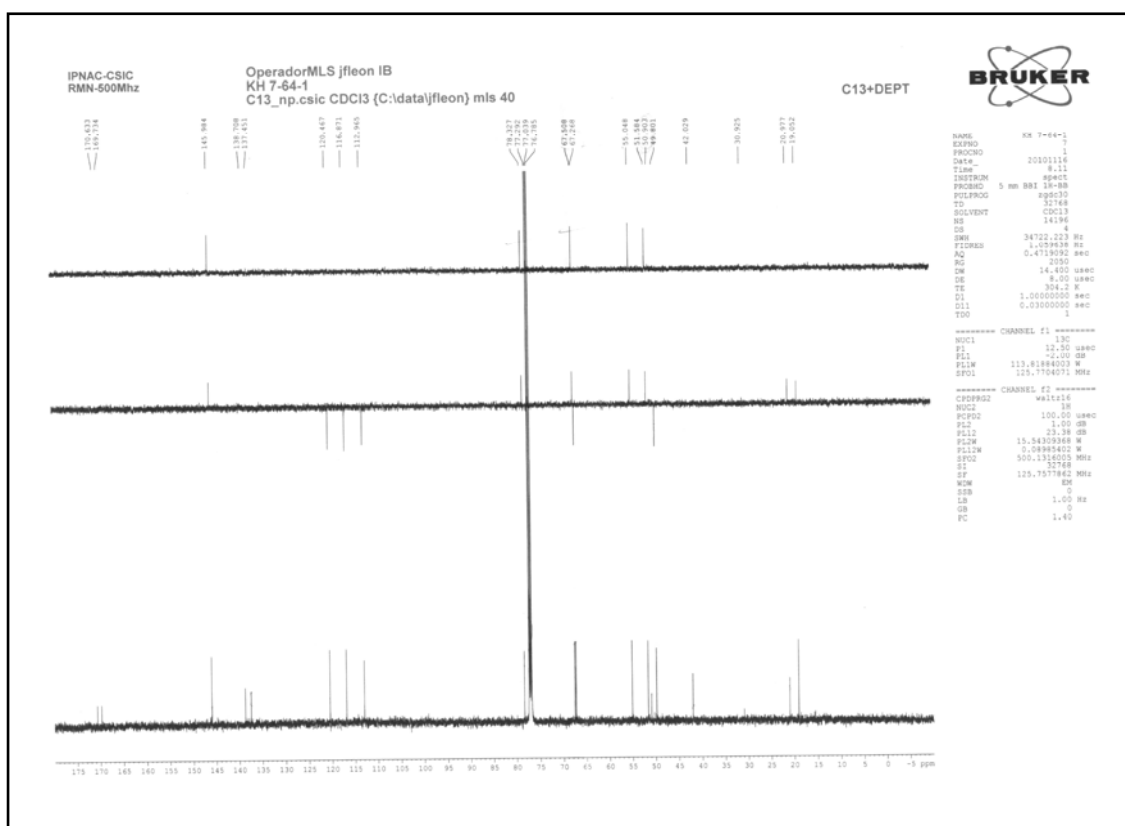


Spectre 3-1 : Spectre (TOF-HRESI-MS positive) du composé 3.

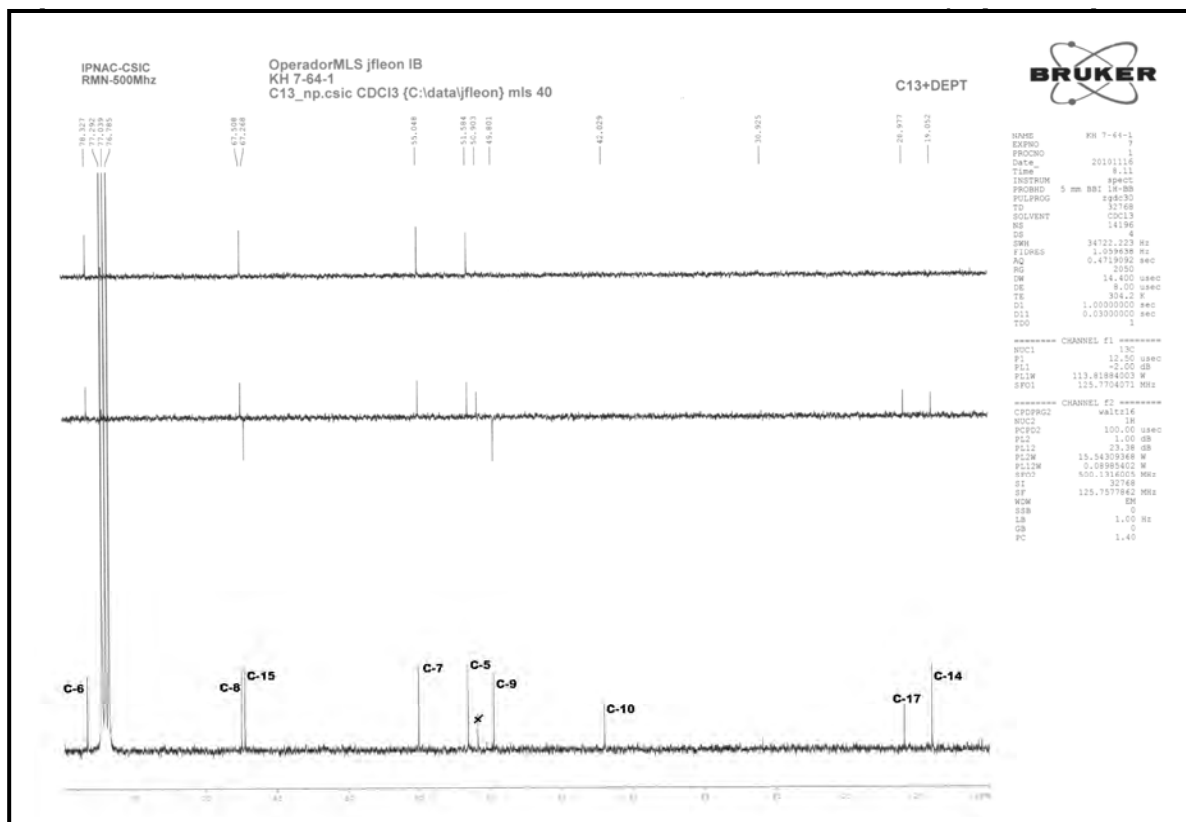
L'examen des spectres de RMN¹³C, DEPT 135 et 90° (**Spectre 3-2**) confirme la présence de 17 atomes de carbone que nous pouvons répartir comme suit :

- cinq carbones quaternaires dont :
 - 2 carbonyles, l'un à $\delta = 169,73$ ppm caractéristique d'un carbonyle d'une γ -lactone α , β -insaturée et l'autre à $\delta = 170,63$ ppm caractéristique d'un carbonyle d'un ester.
 - 2 Cq à $\delta = 138,71$ et $\delta = 137,45$ ppm attribuables à deux carbones éthyléniques.
 - 1 Cq à $\delta = 42,03$ ppm attribuable à un carbone hybridé sp³ et non oxygéné.

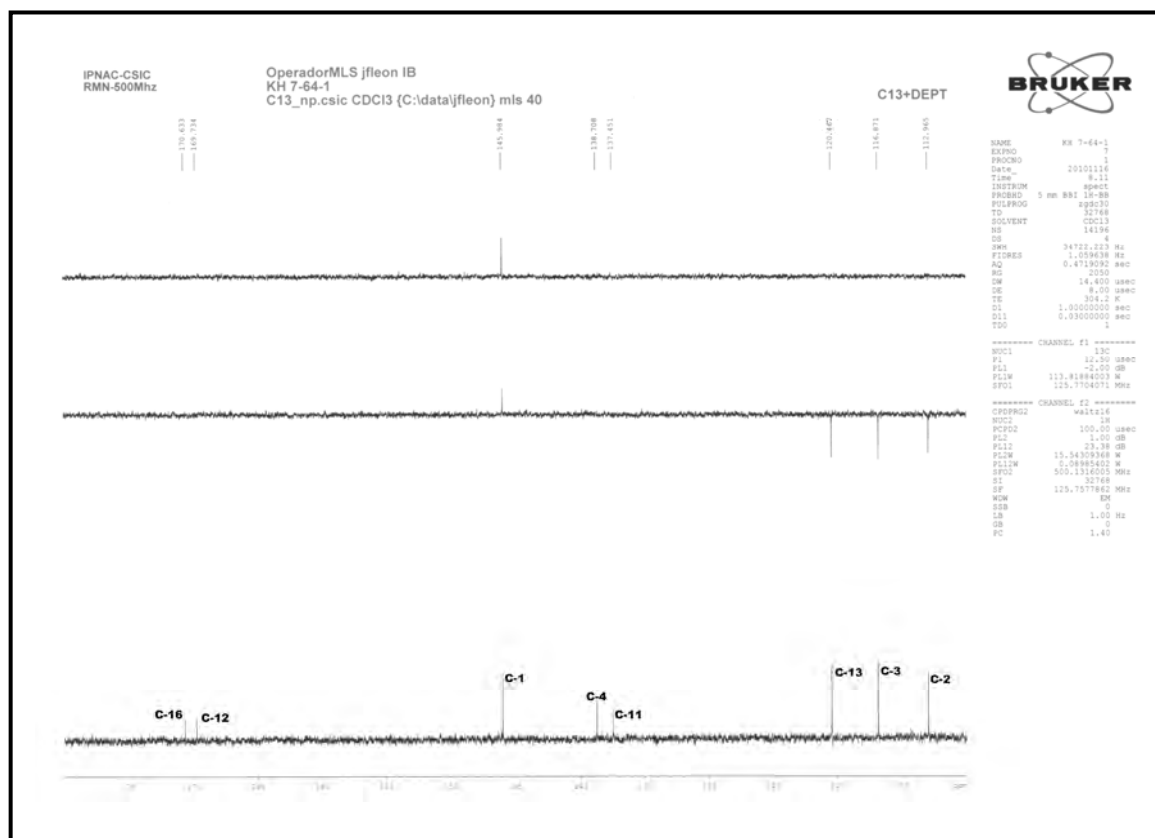
- cinq groupements CH dont :
 - 1 CH éthyléniques à $\delta = 145,98$ ppm.
 - 1 CH oxygéné à $\delta = 78,33$ ppm caractéristique d'un CH de fermeture d'une γ -lactone
 - 1 CH oxygéné à $\delta = 67,51$ ppm.
 - 2 CH hybridé sp^3 et non oxygénés à $\delta = 55,05$ et $\delta = 51,58$ ppm.
- cinq groupements CH_2 dont :
 - 3 CH_2 éthyléniques à $\delta = 120,47$; $\delta = 116,87$ et $\delta = 112,96$ ppm.
 - 1 CH_2 oxygénés à $\delta = 67,27$ ppm.
 - 1 CH_2 hybridé sp^3 et non oxygéné à $\delta = 49,80$ ppm.
 - deux groupements méthyles à $\delta = 20,98$ et $\delta = 19,05$ ppm.



Spectre 3-2 : Spectre de RMN ^{13}C , DEPT 135 et 90° ($CDCl_3$, 500 MHz) du composé 3



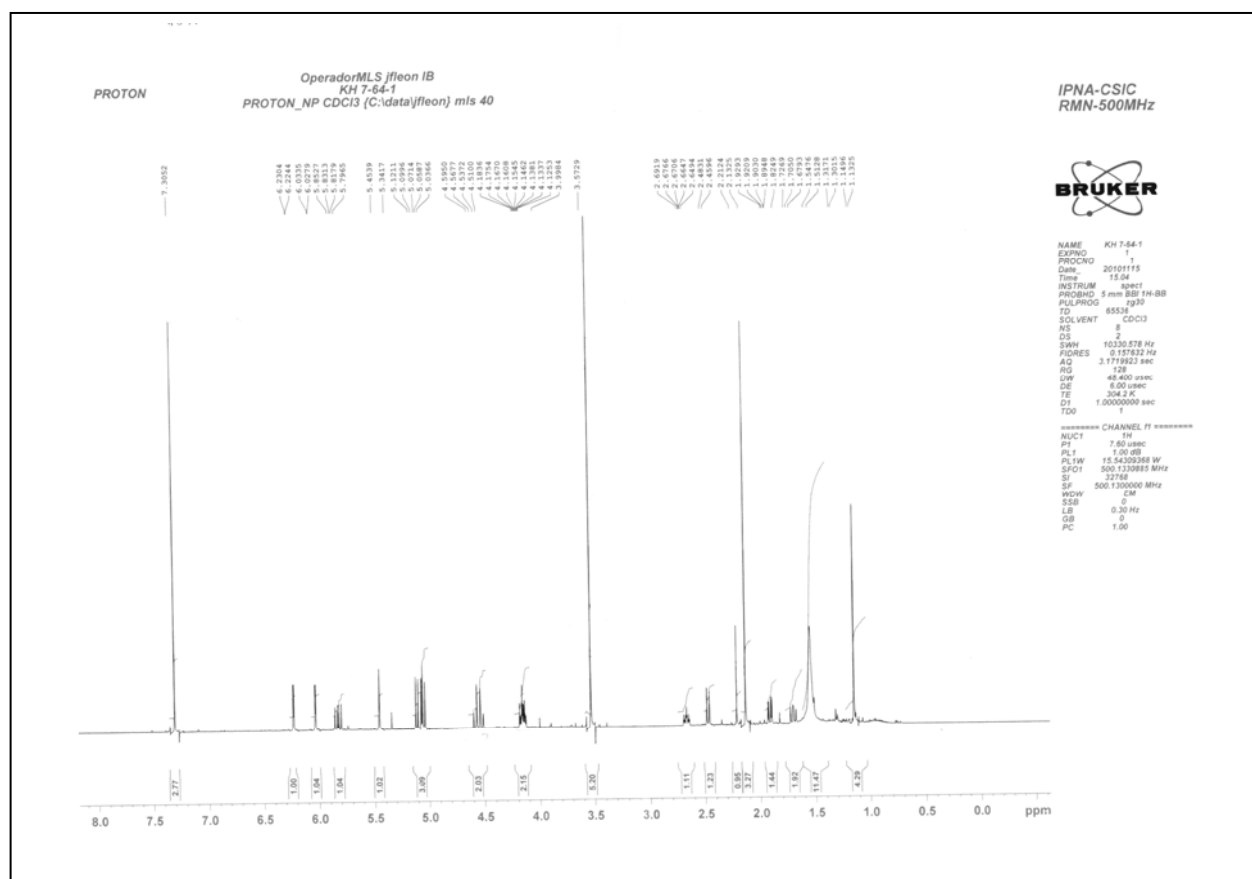
Spectre 3-2-a : étalement du spectre 3-2.



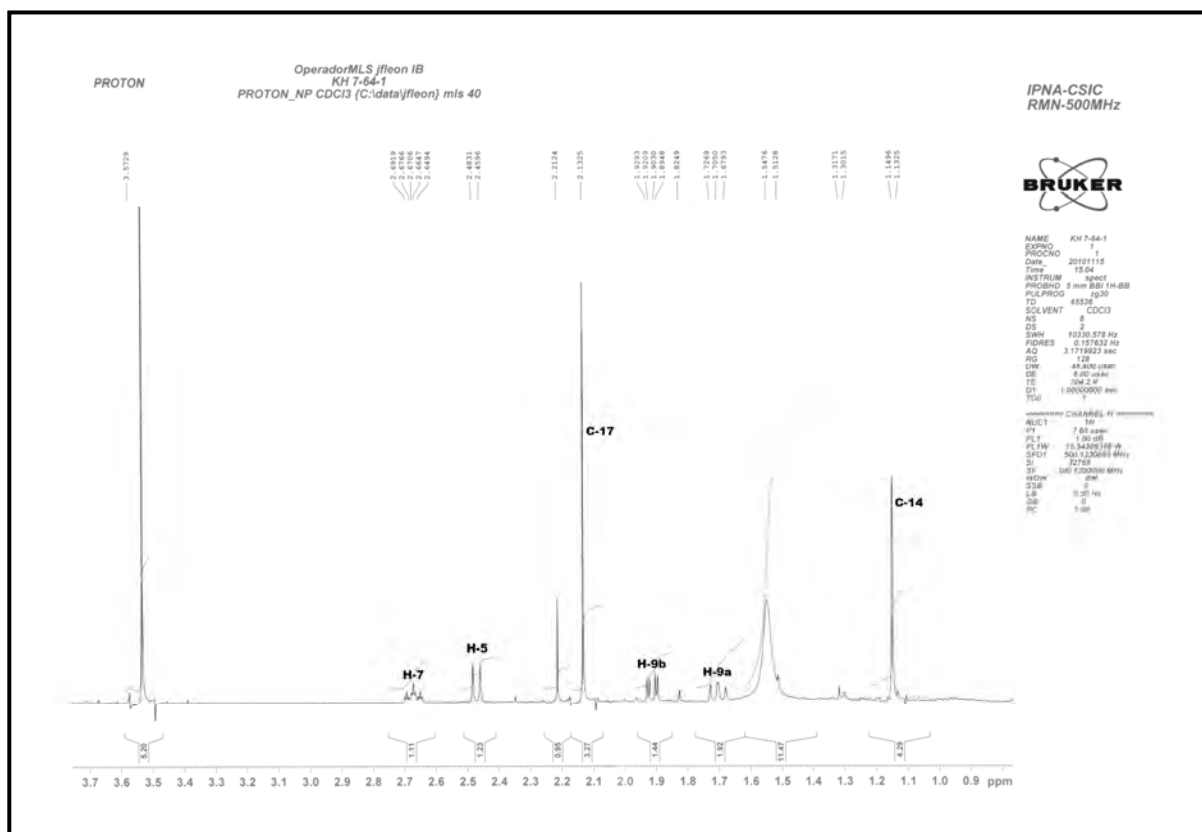
Spectre 3-2-b : étalement du spectre 3-2.

Ces données associées à celle de la spectroscopie IR montrant une bande à 3420 cm^{-1} correspondant à la présence d'un groupement hydroxyle, indiquent un squelette de type sesquiterpene lactone substitué par un groupement acétyl et un groupement hydroxyle. Les insaturations sont réparties comme suit : 3 insaturations correspondants au trois groupements CH_2 éthyléniques exocycliques, dont l'une est incluse dans le groupement lactone α,β insaturée pour lequel on comptabilise deux insaturations supplémentaires et une insaturation pour le groupement acétate totalisant ainsi un nombre de six insaturations. Le composé **3** est donc une lactone sesquiterpénique monocyclique qui ne peut être compte tenu des données disponibles que de type élémanolide.

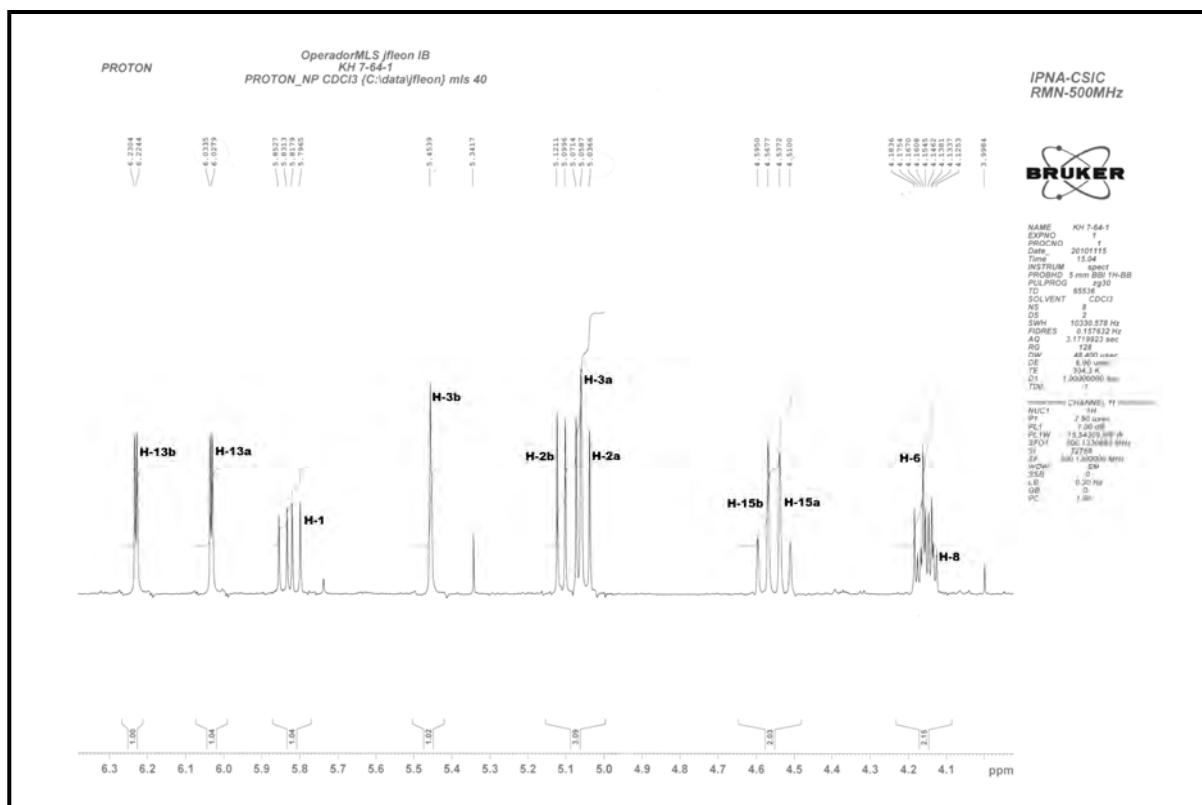
L'examen simultané des spectres RMN ^1H (**Spectre 3-3**) et HSQC (**Spectre 3-4**) montre une corrélation entre le groupement CH_2 éthylénique à $\delta_{\text{C}} = 112,96$ et les deux protons résonnant à $\delta = 6,23\text{ ppm}$ (d ; $J = 3,0\text{ Hz}$) et $\delta = 6,03\text{ ppm}$ (d ; $J = 2,8\text{ Hz}$) indiquant un couplage allylique caractéristique d'un groupement CH_2 conjugué avec le carbonyle d'une γ -lactone sesquiterpénique. Ces deux protons sont par conséquent attribuables respectivement à H-13b et H-13a de la double liaison exocyclique C-11 – C-13, le carbone du groupement CH_2 est attribué au C-13.



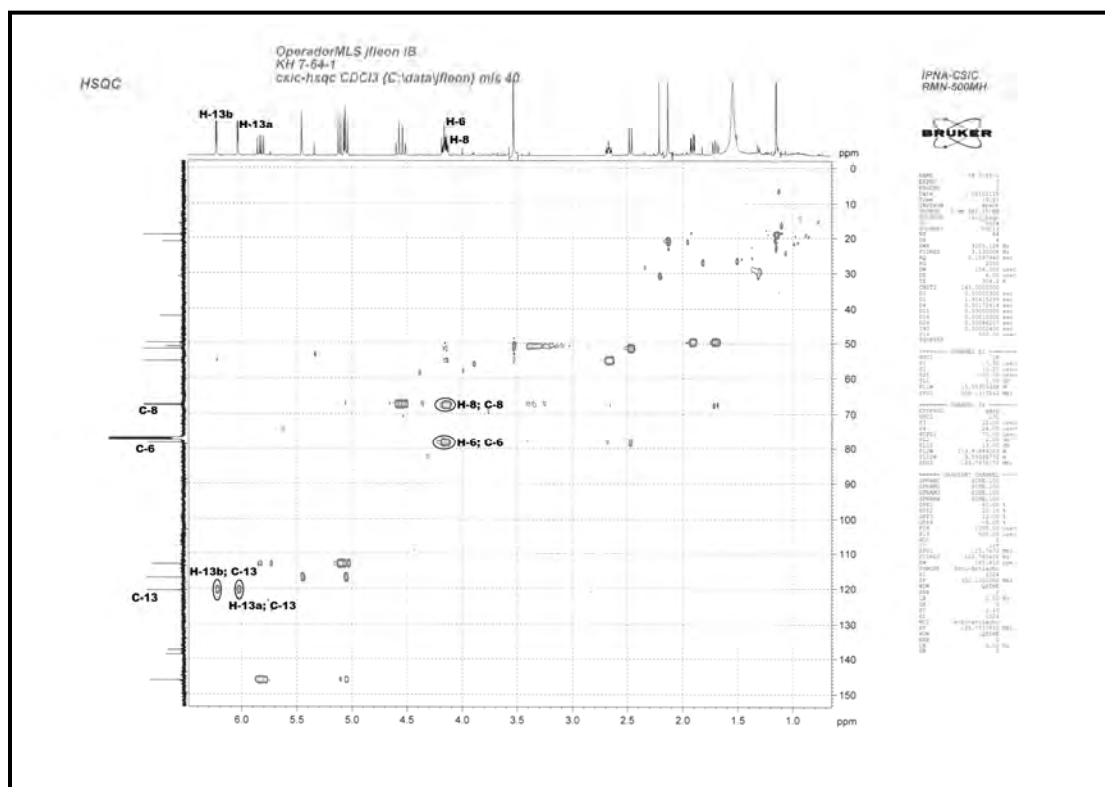
Spectre 3-3 : RMN ^1H (CDCl₃, 500 MHz) du composé 3.



Spectre 3-3-a : étalement du spectre 3-3.



Spectre 3-3-b : étalement du spectre 3-3.

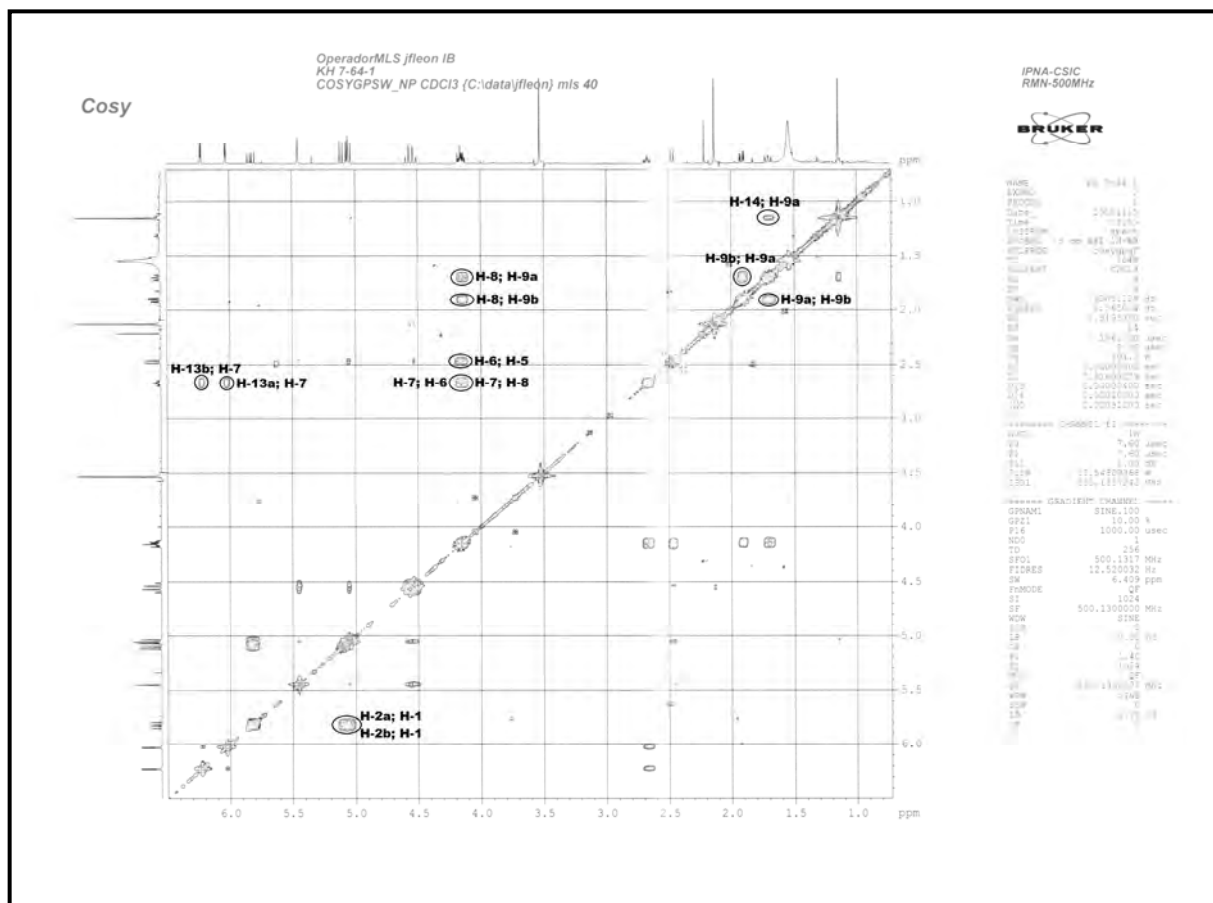


Spectre 3-4 : Spectre HSQC (CDCl₃, 500 MHz) du composé 3.

L'examen du spectre COSY (¹H-¹H) (**Spectre 3-5**) et la connaissance de H-13a et H-13b permettent la localisation de H-7 résonnant sous forme d'un tt ($J = 11,4 ; 3,0$ Hz) à $\delta = 2,67$ ppm. Ce dernier corrèle avec deux protons résonnant à $\delta = 4,15$ ppm (td ; $J = 11,4 ; 4,1$ Hz) et $\delta = 4,16$ ppm (t ; $J = 11,4$ Hz). Ces deux protons corrélant avec deux carbones différents ($\delta_c = 67,5$ et $\delta_c = 78,3$ ppm respectivement) sur le spectre HSQC (**Spectre 3-4**), portés par des carbones oxygénés d'après les valeurs de leurs déplacements chimiques, ayant des signaux de multiplicité triplet de doublets et triplet, sont attribuables à H-8 et H-6 respectivement. Ces attributions permettent de tirer deux informations. D'une part, la corrélation de H-6 sur le spectre HSQC avec le carbone du CH à $\delta_c = 78,3$ ppm, dont la valeur du déplacement chimique est caractéristique du point de fermeture d'une γ -lactone, indique que cette lactone sesquiterpénique est fermée en C-6.

D'autre part, la multiplicité du signal de H-8 permet de déduire l'absence de substituant en C-9. En effet, le spectre COSY (**Spectre 3-5**) permet aisément de localiser le proton H-9 β (équatorial) à $\delta = 1,91$ ppm (dd ; $J = 13,1 ; 4,1$ Hz) et le proton H-9 α (axial) à $\delta = 1,70$ ppm (dd ; $J = 13,1 ; 11,4$ Hz).

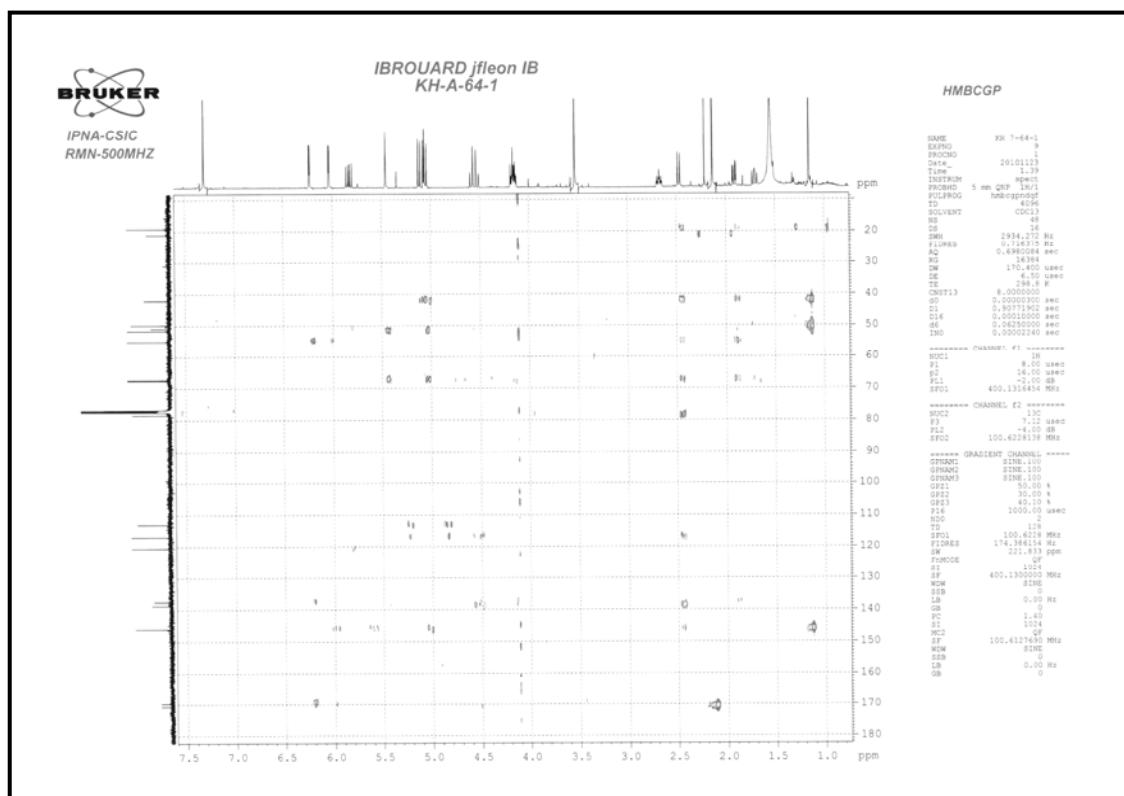
La multiplicité des signaux de ces deux protons confirment que le carbone C-10 est quaternaire.



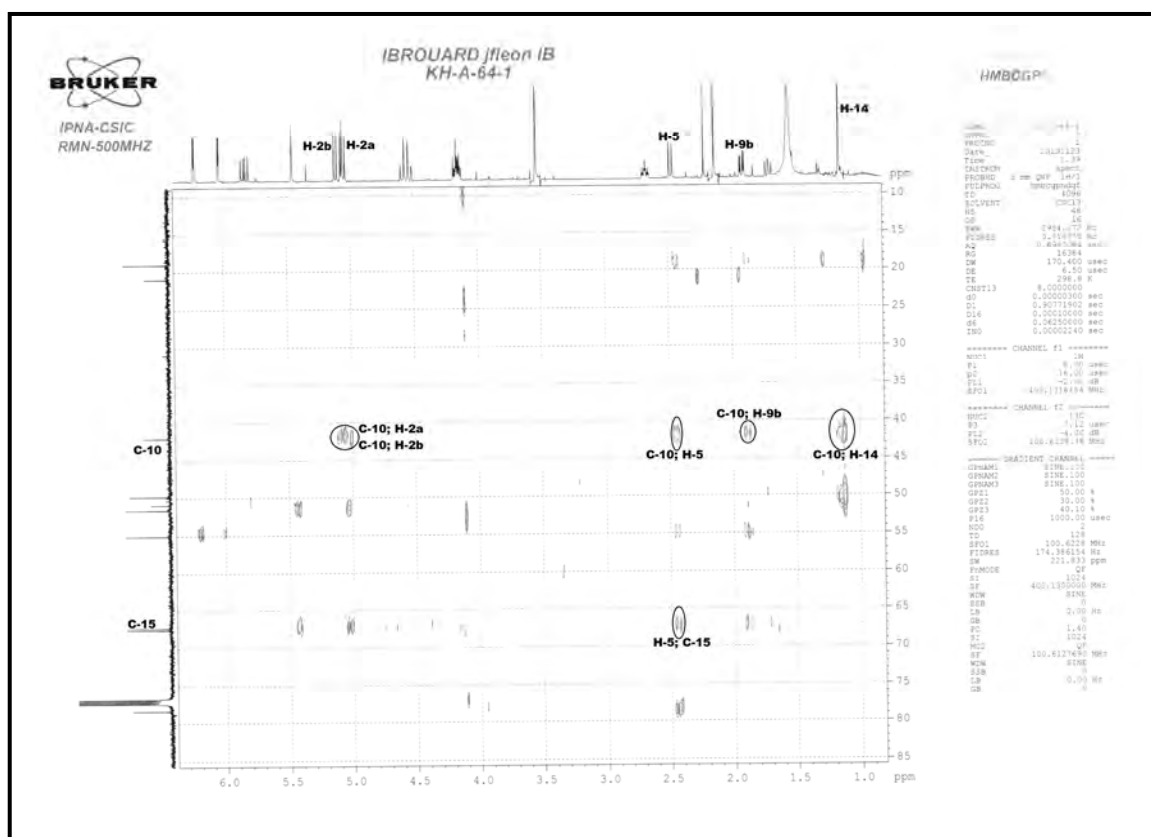
Spectre 3-5 : Spectre COSY (^1H - ^1H) (CDCl_3 , 500 MHz) du composé 3.

Grâce aux protons H-9 et à l'analyse du spectre HMBC (Spectre 3-6), le carbone C-10 est localisé $\delta_c = 42,0$ ppm. Toujours sur le spectre HMBC, le carbone C-10 montre des corrélations avec les protons suivants :

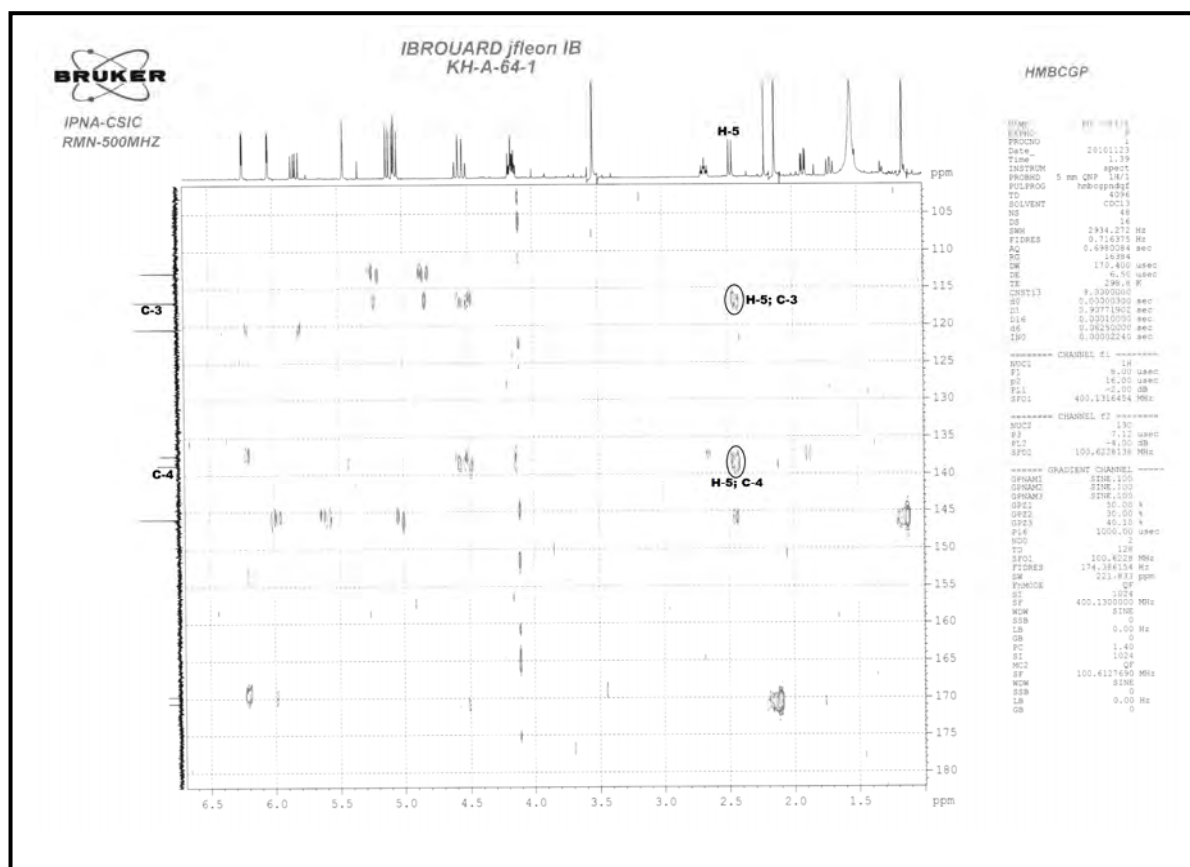
- Le proton résonnant à $\delta = 2,46$ ppm (d ; $J = 11,4$ Hz) attribuable à H-5 ($\delta_c = 51,5$ ppm). Cette attribution est justifiée par la corrélation de ce proton avec H-6 sur le spectre COSY.
- les protons du méthyle résonnant sous forme d'un singulet à $\delta = 1,14$ ppm ($\delta_c = 19,0$ ppm) permettant son attribution au C-14, cette attribution est appuyée par le couplage longue distance observé sur le spectre COSY entre les protons de ce méthyle et le proton H-9 α .
- les deux protons du CH_2 éthylénique résonnant sous forme d'un doublet chacun à $\delta = 5,05$ ($J = 10,7$ Hz) et $\delta = 5,11$ ($J = 17,4$ Hz) sont attribuables à H-2a et H-2b ($\delta_c = 113,0$ ppm). Cette attribution est confortée par les corrélations observées entre ces deux noyaux et le proton éthylénique H-1 sur le spectre COSY.



Spectre 3-6 : Spectre HMBC (CDCl₃, 500 MHz) du composé 3.



Spectre 3-6-a : Etalement du spectre 3-6.



Spectre 3-6-b : Etalement du spectre 3-6.

Ainsi à ce stade de la recherche de la structure du composé **3**, la localisation du C-10 a permis de mettre en évidence un squelette sesquiterpénique comportant une jonction C-10 – C-5, un groupement vinyle et un groupement méthyle en C-10. Toutes ces données confirment que le squelette est de type élémanolide.

Par ailleurs, toujours sur le spectre HMBC, le proton H-5 montre une corrélation avec :

- le carbone du groupement CH₂ éthylénique à $\delta_c = 116.9$ ppm attribuable au carbone C-3 ($\delta_H-3b = 5,45$ et $\delta_H-3a = 5,05$; un singulet chacun).
- le carbone éthylénique quaternaire à $\delta_c = 138,7$ ppm attribuable au C-4.
- le carbone du groupement CH₂ oxygéné à $\delta_c = 67,2$ ppm attribuable au carbone C-15 ($\delta_H-15b = 4,57$ et $\delta_H-15a = 4,52$ un doublet chacun, $J = 13,6$ Hz).

La synthèse de l'ensemble de ces données mène à ce stade de notre étude structurale à un élémanolide fermé en C-6 et comportant deux substituants oxygénés, un en C-15 et l'autre en C-8.

Comme signalé plus haut grâce à l'analyse du spectre de RMN ¹³C, ce composé comporte un ester. La valeur du déplacement chimique du groupement CH₂ (4,55 ppm) est en faveur de la présence de ce groupement en position C-15. L'ensemble de ces données mène à la structure partielle reportée dans la **figure 3-1**.

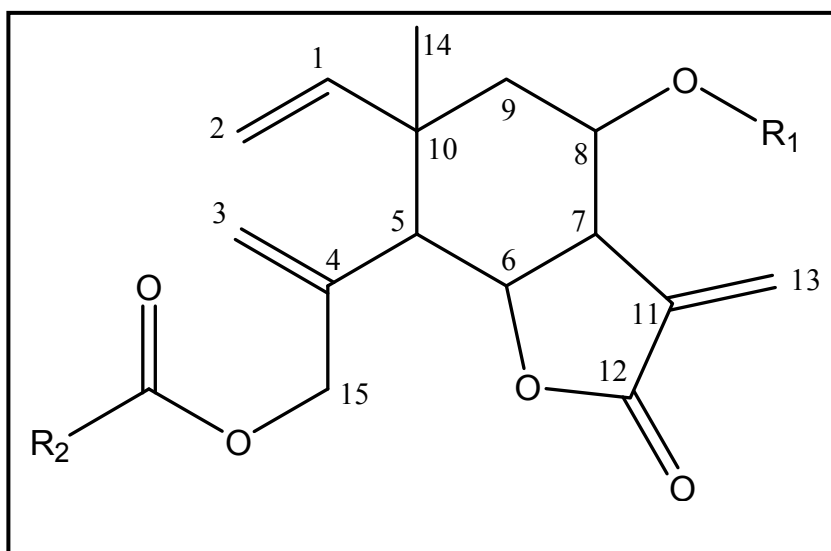


Figure 3-1 : Structure partielle du composé 3.

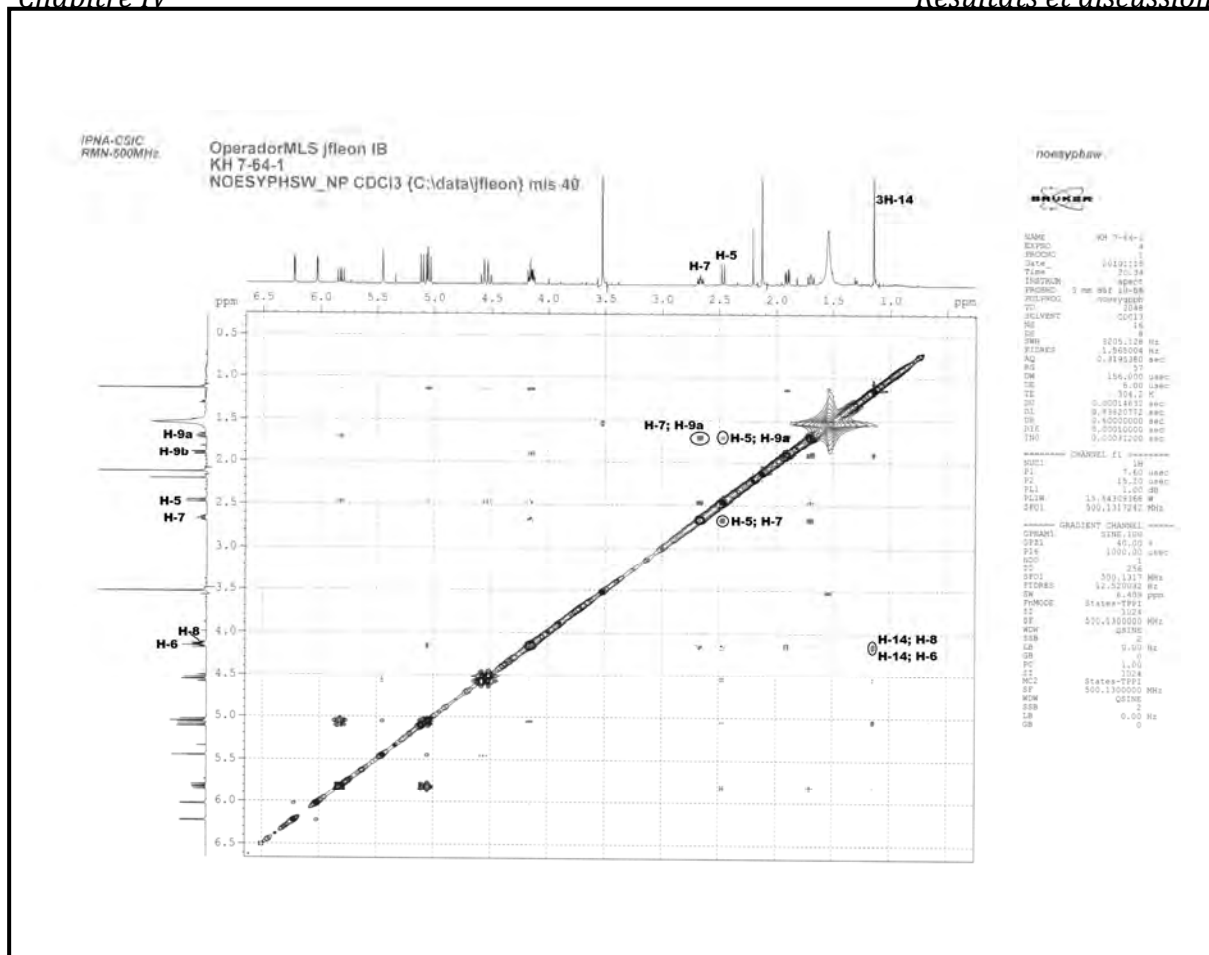
La détermination des substituants (R_1 et R_2):

Sur le spectre HMBC le carbonyle du groupement ester résonnant à $\delta_c = 170,6$ ppm montre une tache de corrélation avec les protons du groupement CH_3 résonnant sous forme d'un singulet à $\delta = 2,13$ ppm. Cette observation permet de placer ce groupement CH_3 à proximité du carbonyle de l'ester. Cette hypothèse est confirmée par la présence de la corrélation observée sur ce même spectre (HMBC) entre les protons du groupement CH_2 oxygéné en position C-15 et le carbonyle de l'ester.

D'après la formule brute de la molécule $C_{17}H_{22}O_5$ le substituant R_1 ne peut être qu'un hydrogène.

La stéréochimie des centres asymétriques du squelette sesquiterpénique est établie selon les constatations suivantes :

- le carbone C-10 : Pour les élémanolides, la biogénèse impose une orientation α à la liaison C-10 – C-1, les liaisons C-10 – C-9 et C-10 – C-5, faisant partie du cycle à six chaînons, le méthyle (C-14) aura une orientation β (axiale).
- Les protons H-5, H-6, H-7 et H-8 montrent tous des interactions de couplage de type axial-axial (J H-5, H-6 = J H-6, H-7 = J H-7, H-8 = 11,4 Hz). Cette observation confère une orientation α au proton H-5, β au proton H-6, α au proton H-7 et β au proton H-8. Ces stéréochimies sont toutes confirmées par le spectre NOESY (Spectre 3-7) qui montre en particulier : des taches de corrélation NOE entre H-5, H-7 et H-9 α et également entre les protons du méthyle-14, H-6 et H-8.



Spectre 3-7 : Spectre NOESY (CDCl₃, 500 MHz) du composé 3.

L'ensemble de ces données mènent à la structure **15-Acetyl dehydromelitensine** reportée dans la **figure 3-2**.

Ce composé est reporté pour la première fois dans la littérature.

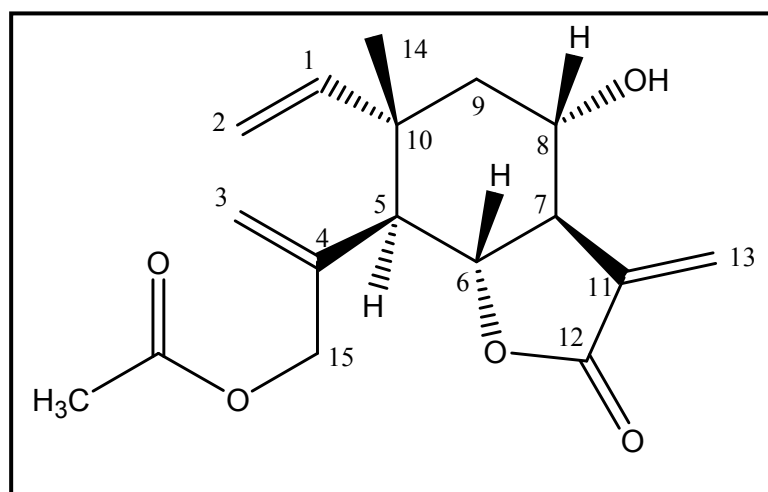


Figure 3-2 : Structure finale du composé 3.

Tableau 3-1 : Données spectrales de RMN¹³C ; DEPT135 et DEPT90°(CDCl₃, 500MHz) du composé **3**.

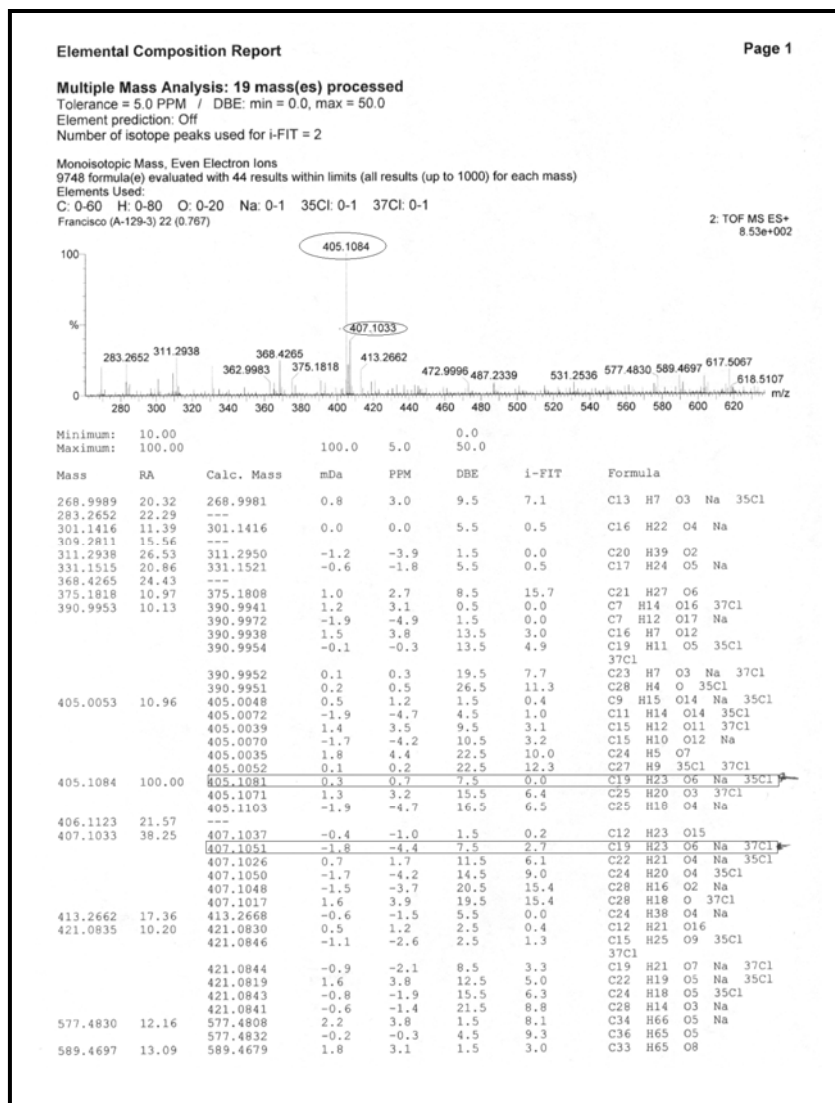
C	δ (ppm)	DEPT et HSQC
1	146,0	CH
2	113,0	CH ₂
3	116,9	CH ₂
4	138,7	Cq
5	51,5	CH
6	78,3	CH
7	55,1	CH
8	67,5	CH
9	49,8	CH ₂
10	42,0	Cq
11	137,4	Cq
12	169,7	Cq
13	120,5	CH ₂
14	19,0	CH ₃
15	67,2	CH ₂
16	170,6	Cq
17	21,0	CH ₃

Tableau 3-2 : Données spectrales de RMN¹H (CDCl₃, 500MHz) du composé **3**.

H	δ (ppm)	Multiplicité	J [Hz]
1	5,82	<i>dd</i>	17,4 ; 10,7
2a	5,05	<i>d</i>	10,7
2b	5,11	<i>d</i>	17,4
3a	5,05	<i>s</i>	/
3b	5,45	<i>s</i>	/
5	2,46	<i>d</i>	11,4
6	4,16	<i>t</i>	11,4
7	2,67	<i>tt</i>	11,4 ; 3,0
8	4,15	<i>td</i>	11,4 ; 4,1
9a	1,70	<i>dd</i>	13,1 ; 11,4
9b	1,91	<i>dd</i>	13,1 ; 4,1
13a	6,03	<i>d</i>	3,0
13b	6,22	<i>d</i>	3,0
14	1,14	<i>s</i>	/
15a	4,52	<i>d</i>	13,6
15b	4,57	<i>d</i>	13,6
17	2,13	<i>s</i>	/

IV. 1. 4. Elucidation structurale du composé 4 :

Le spectre de masse à haute résolution enregistré en mode électrobulbion positif (TOF-HRESI-MS positive) (**spectre 4-1**) montre un pic quasimoléculaire à $m/z = 405.1084$ (cal : 405,1081) et $m/z = 407,1033$ (cal : 407,1051) dans le rapport 3 : 1 correspondant à $[M+Na]^+$, cette donnée permet d'une part de déduire la présence d'un atome de chlore dans cette molécule et d'autre part de déduire une formule brute de $C_{19}H_{23}O_6Cl$ pour cette molécule. Cette donnée permet également de déduire huit insaturations dans cette molécule.

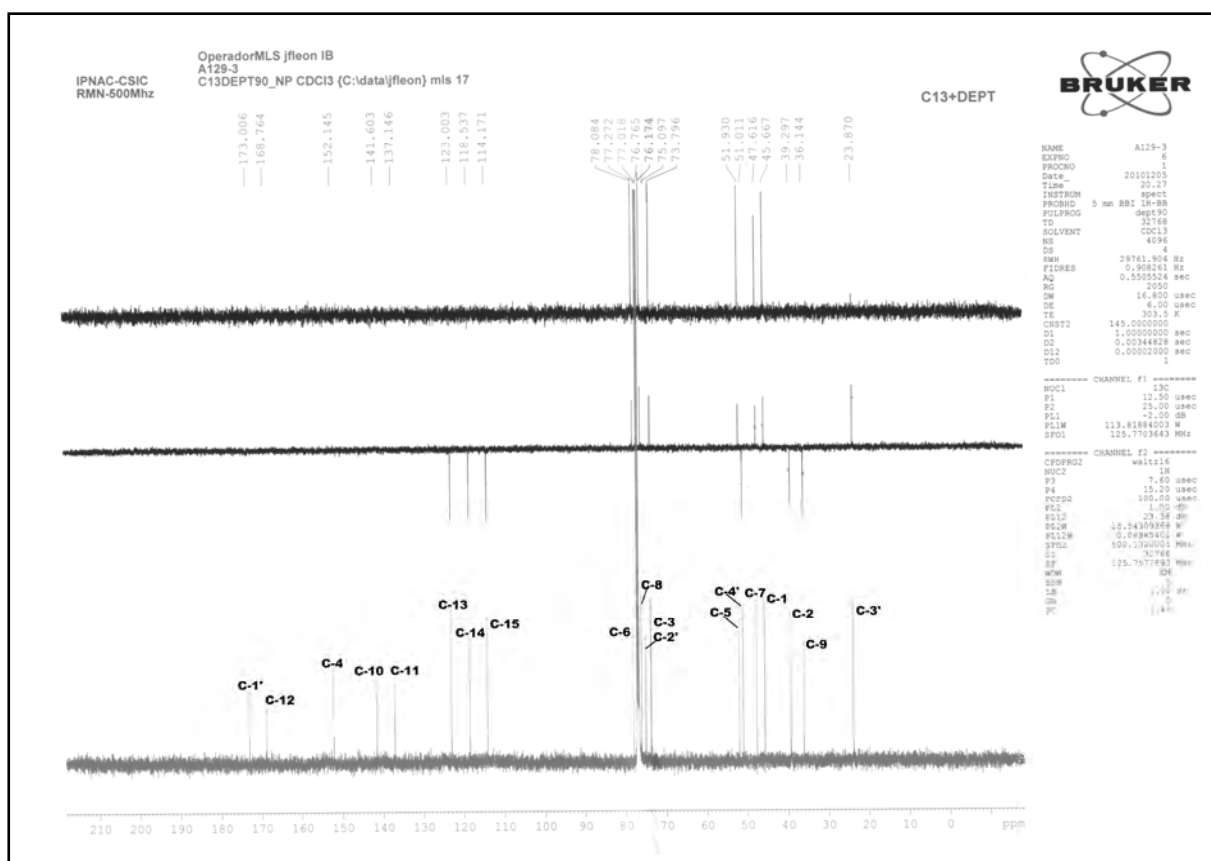


Spectre 4-1 : Spectre (TOF-HRESI-MS positive) du composé 4.

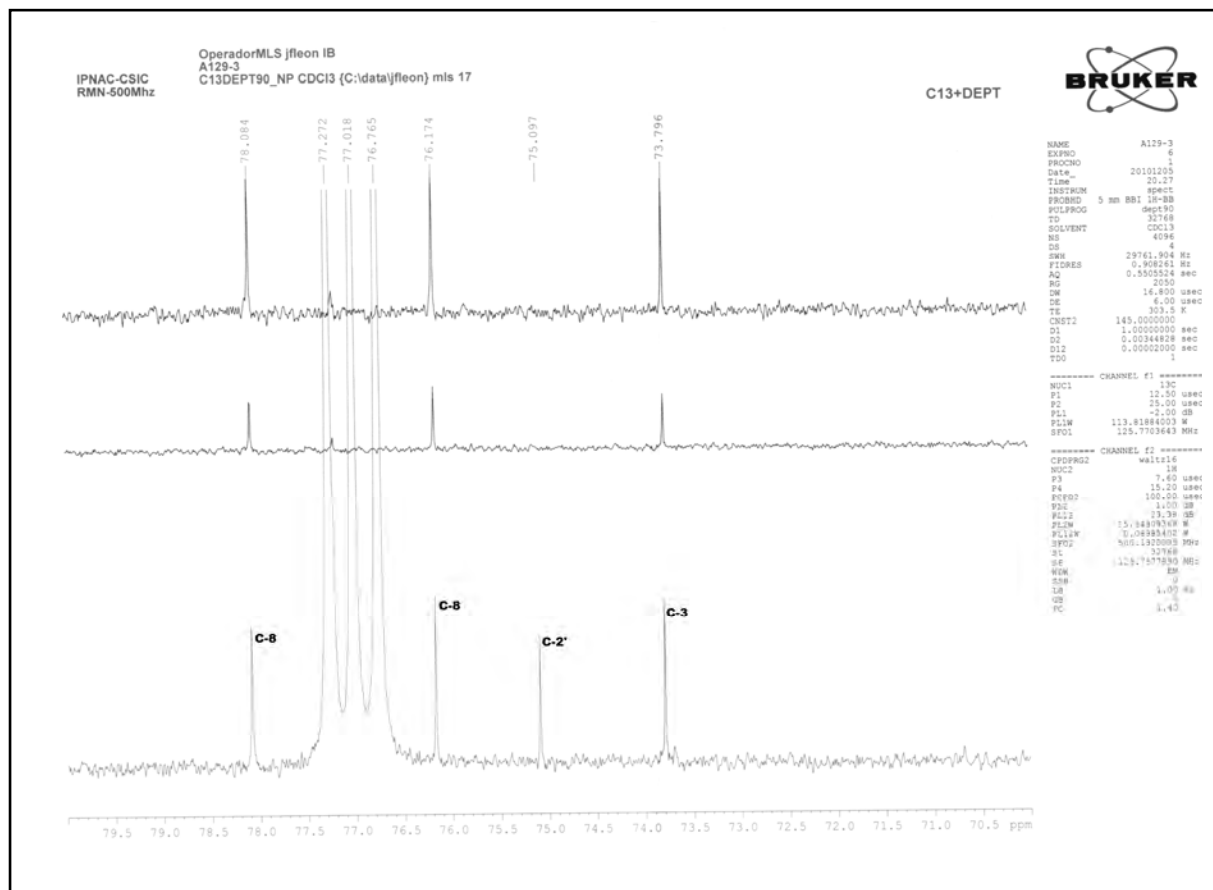
La combinaison des données des spectres de RMN ^{13}C , DEPT 135 et DEPT 90 (**spectre 4-2**) mène à la présence des groupements :

- un CH_3 à $\delta = 23,87$ ppm.

- six CH₂ dont trois hybridés sp³ à $\delta = 36,14$; $\delta = 39,30$ et $\delta = 51,01$ ppm et trois hybridés sp² caractéristiques de doubles liaisons exocycliques à $\delta = 114,17$; $\delta = 118,54$ et $\delta = 123,00$ ppm.
- six CH dont trois hybridés sp³ à $\delta = 45,67$; $\delta = 47,62$ et $\delta = 51,93$ et trois hybridés SP³ et oxygénés à $\delta = 73,80$; $\delta = 76,17$ et $\delta = 78,08$ ppm. Le déplacement chimique de ce dernier est caractéristique d'un CH de fermeture d'une lactone sesquiterpénique.
- six carbones quaternaires dont un hybridé sp³ et oxygéné à $\delta = 45,10$; trois éthyléniques à $\delta = 137,15$; $\delta = 141,6$ et $\delta = 152,15$ ppm. La présence de ces trois carbones éthyléniques quaternaires conforte l'hypothèse de la présence des trois doubles liaisons exocycliques précédemment signalées. Dans cette molécule les deux carbones quaternaires restant apparaissent à $\delta = 168,76$ et $\delta = 173,01$ ppm. Le déplacement chimique du premier est caractéristique d'un ester, celui du second est caractéristique d'une γ -lactone α , β - insaturé.



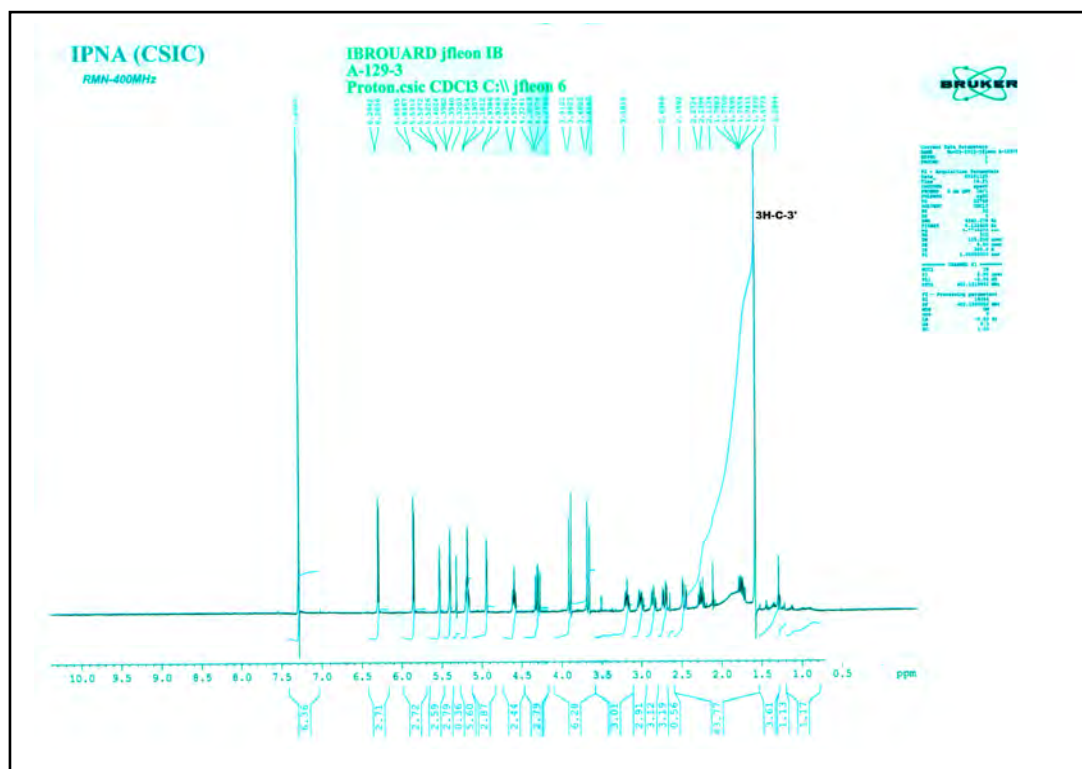
Spectre 4-2 : RMN ¹³C, DEPT 135 et 90 (CDCl₃ ; 500 MHz) du composé 4.



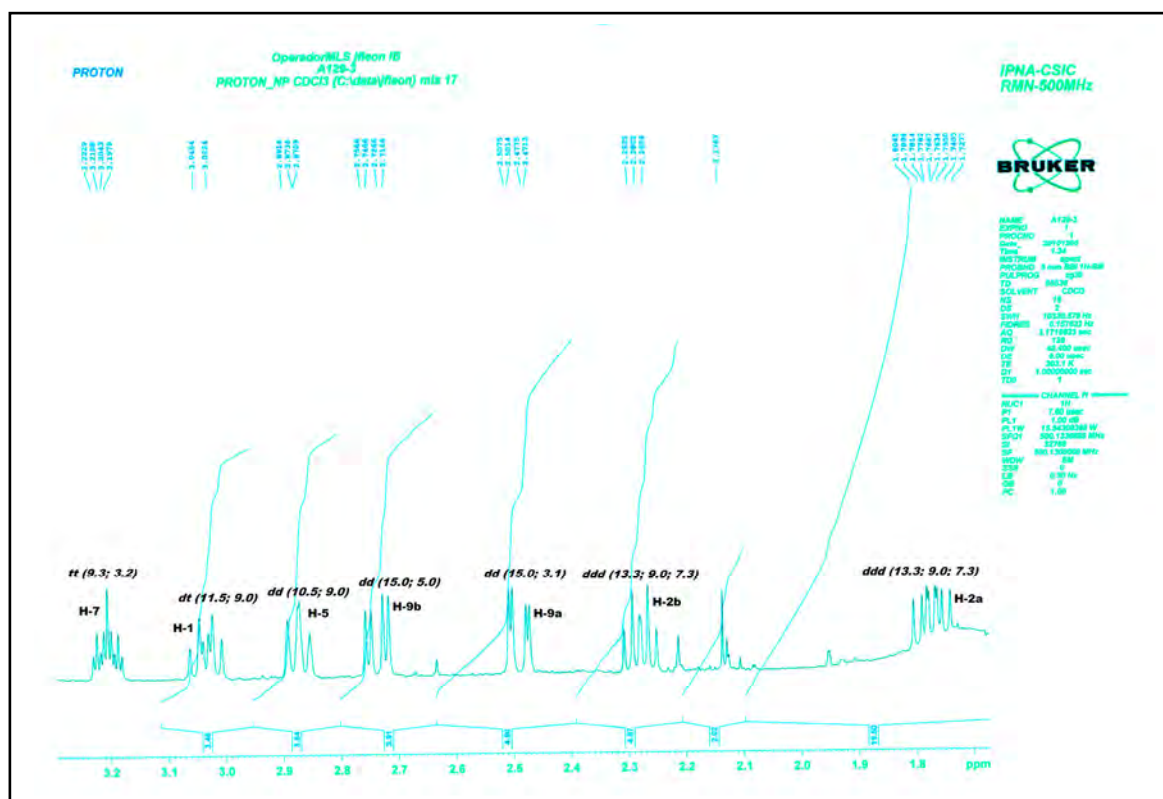
Spectre 4-2-a : Etalement d'une partie du Spectre 4-2

A ce stade de notre analyse, nous pouvons déduire que notre molécule est une lactone sesquiterpénique renfermant dans les positions C-10 – C-14, C-4 – C-15 et C-11 – C-13 des doubles liaisons exocycliques ce qui mène à cinq insaturations utilisées. Comme signalé plus haut, nous avons également un carbonyle d'ester, ce qui porte à six le nombre d'insaturation utilisées. Comme tous les autres carbones de la molécule sont hybridés sp^3 nous pouvons d'ores et déjà déduire que le squelette sesquiterpénique de cette molécule est bicyclique. Vu la présence des trois doubles liaisons exocycliques, ce squelette ne peut être que de type guaianolide.

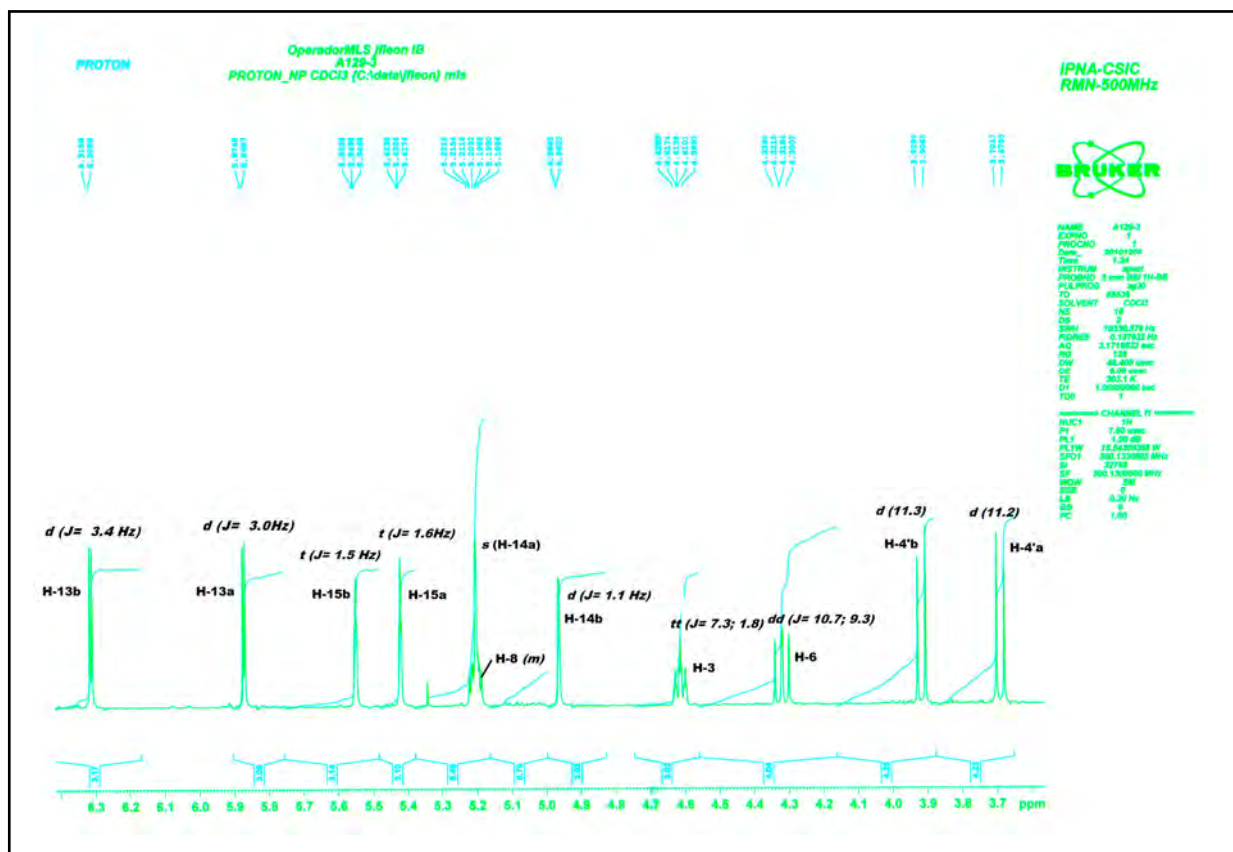
Le spectre proton (**spectre 4-3-b**) montre deux doublets à $\delta = 6,31$ ppm ($J = 3,4$ Hz) et $\delta = 5,87$ ppm ($J = 3,0$ Hz). Ces signaux montrant un couplage allylique sont caractéristiques d'une γ -lactone α, β -insaturé. Ce couplage est attribué aux interactions H-13b/H-7 et H-13a/H-7. Cette observation confirme la présence d'une double liaison exocyclique C-11 – C-13.



Spectre 4-3 : RMN ^1H (CDCl_3 ; 500 MHz) du composé 4.



Spectre 4-3-a : Etalement du spectre 4-3.

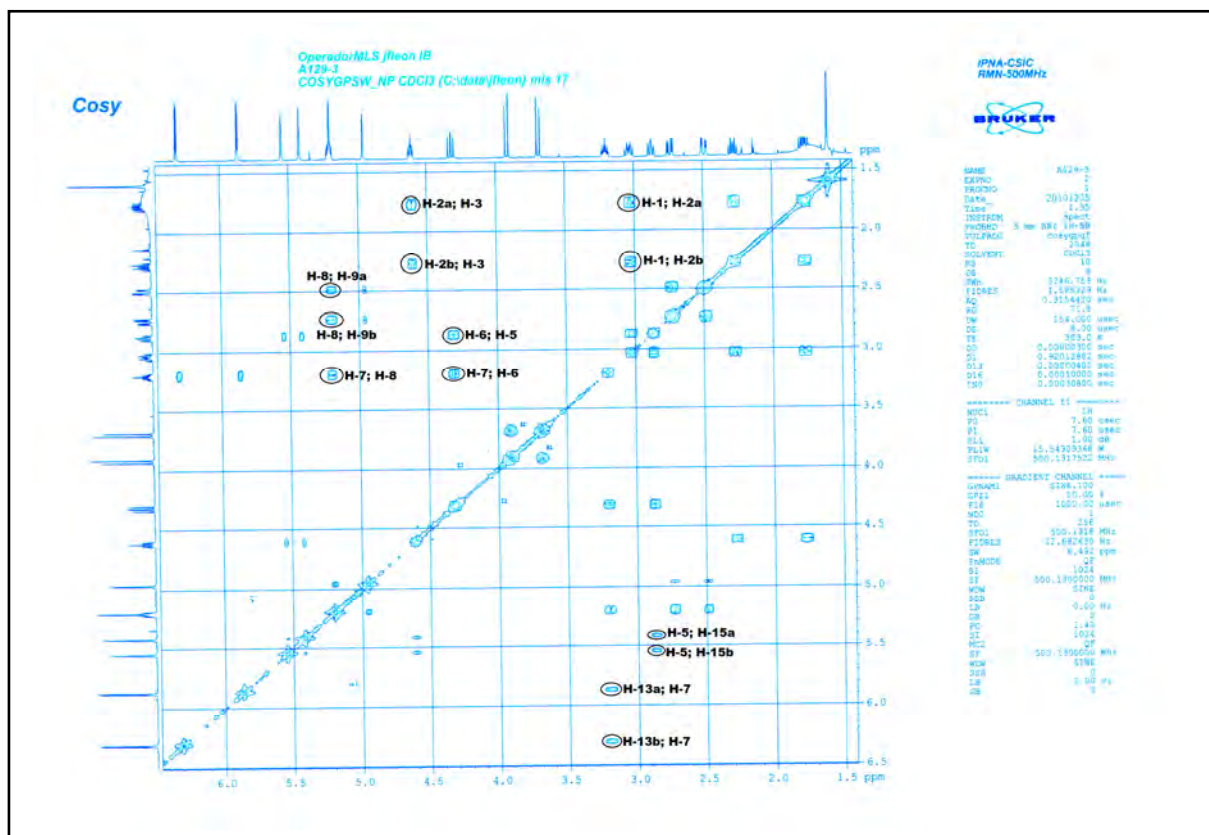


Spectre 4-3-b : Etalement du spectre 4-3.

Le spectre COSY (**Spectre 4-4**) des deux protons H-13a et H-13b montrent une tache de corrélation avec le proton apparaissant sous forme d'un triplet de triplets ($J = 9,3 ; 3,2 \text{ Hz}$) qui ne peut être attribué qu'à H-7. La valeur 3,2 Hz relevé dans ce signal correspond à la moyenne des constantes de couplages avec H₂-13 ; quant à la valeur 9,3 Hz elle correspond à des interactions *trans* diaxiales. Ces interactions ne peuvent se faire qu'entre H-7/H-6 et H-7/H-8. De plus H-7 ne peut avoir qu'une orientation α et H-6 et H-8 ne peuvent avoir qu'une orientation β . Bien entendu, la possibilité de la présence de deux protons en C-8 est exclue à cause de la valeur 9,3 Hz car les deux protons en C-8 ne coupleraient pas avec H-7 avec la même constante de couplage, il en est de même pour la position C-6.

Toujours sur le spectre COSY, H-7 montre des taches de corrélations avec les protons apparaissant à $\delta = 4,32 \text{ ppm}$ (*dd*, $J = 10,5 ; 9,3 \text{ Hz}$) et $\delta = 5,20 \text{ ppm}$ (multiplet partiellement recouvert par un doublet d'intégration d'1 proton), ces deux protons ne peuvent être attribué qu'à H-6 et H-8. La multiplicité du signal à $\delta = 4,32 \text{ ppm}$ permet son attribution à H-6 car en effet, la position C-5 ne peut être occupé par plus d'un proton. A l'inverse, le proton résonnant à $\delta = 5,20 \text{ ppm}$, montrant des taches de corrélations avec deux protons l'un à $\delta = 2,73 \text{ ppm}$ (*dd*, $J = 15,0 ; 5,0 \text{ Hz}$) et l'autre à $\delta = 2,49 \text{ ppm}$ (*dd*, $J = 15,0 ; 3,1 \text{ Hz}$) ne peut être attribué qu'à H-8. Les deux protons qui montrent des corrélations avec lui sont attribués à H-9 β et H-9 α . Sachant que les lactones sesquiterpéniques sont fermées soit en C-6 soit en C-8 nous avons examiné le spectre HSQC (**Spectre 4-5**) de ce composé. En effet, sur ce spectre, le carbone du groupement CH à $\delta = 78,08 \text{ ppm}$, caractéristique par la valeur de son déplacement chimique d'une CH de fermeture d'un γ - lactone, montre une tache de corrélation avec H-6.

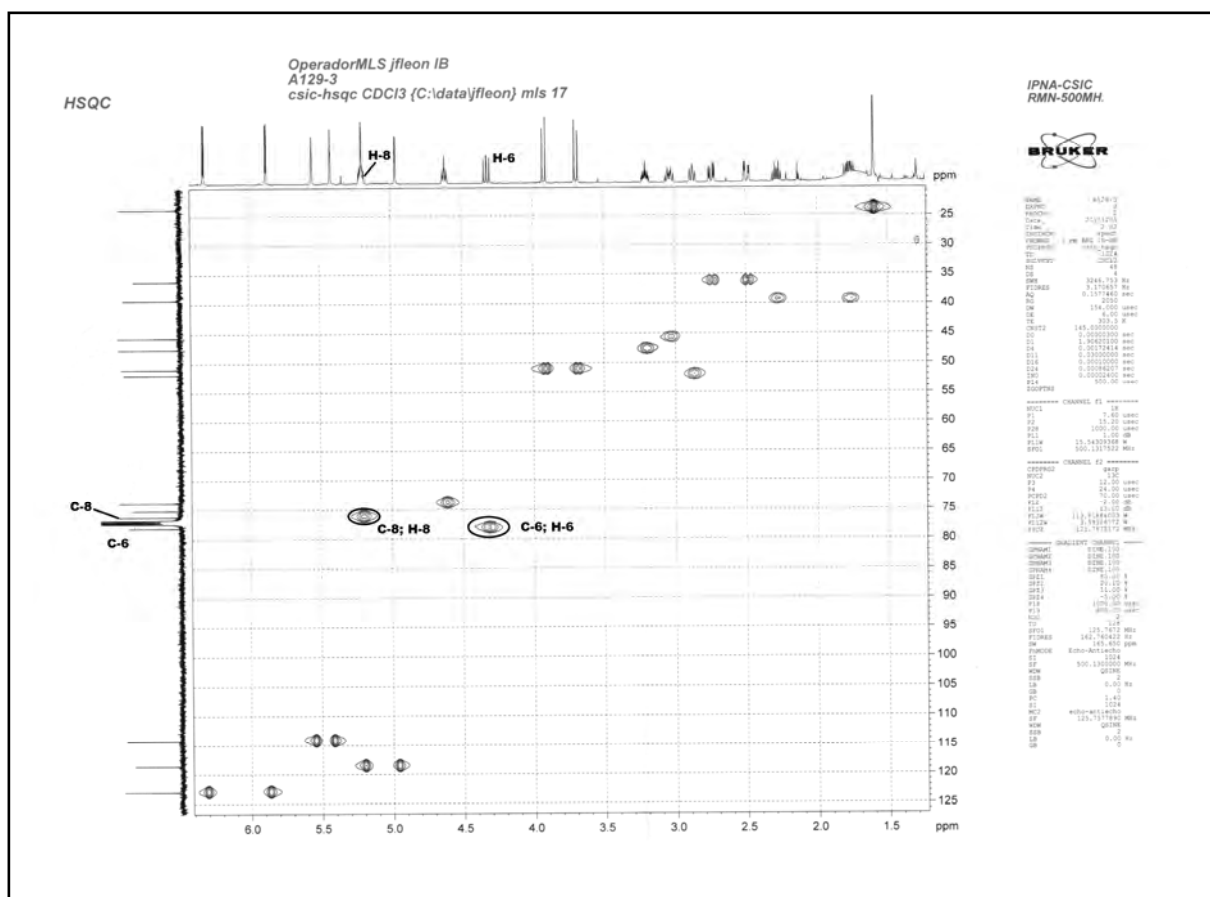
Cette observation indique une fermeture en C-6. Par ailleurs, le déplacement chimique de H-8 (5,2 ppm) et celui de son carbone (76,17 ppm) sont en faveur d'une oxygénation en C-8.



Spectre 4-4 : COSY (^1H - ^1H) (CDCl_3 ; 500 MHz) du composé 4.

Toujours sur le spectre COSY, H-6 permet la localisation de H-5 à $\delta = 2,87$ ppm sous forme d'un doublet de doublets ($J = 10,5$; $9,0$ Hz). Ce dernier montre des taches de corrélation avec les deux protons de la double liaison exocyclique à $\delta = 5,55$ ppm (t , $J = 1,5$ Hz) et $\delta = 5,42$ ppm (t , $J = 1,6$ Hz) ($\delta_c = 114,17$ ppm). Ces deux protons ne peuvent être attribués qu'à H-15b et H-15a respectivement. Cette observation confirme bien la présence de la double liaison exocyclique C-4 – C-15. Par ailleurs, H-5 montre une tache de corrélation avec le proton résonnant à $\delta = 3,03$ ppm sous forme d'un dt ($J = 11,5$; $9,0$ Hz), ce proton ne peut être attribué qu'à H-1 vu que C-4 est quaternaire. Cette analyse confirme bien la nature guaianolide de ce squelette sesquiterpénique.

Toujours sur le spectre COSY, la localisation de H-1 ($\delta_c = 45,67$ ppm) mène à celle de H-2b à $\delta = 2,28$ ppm (ddd , $J = 13,3$; $9,0$; $7,3$ Hz) et à celle de H-2a à $\delta = 1,77$ ppm (ddd , $J = 13,3$; $11,5$; $7,3$ Hz).



Spectre 4-5 : HSQC (CDCl₃ ; 500 MHz) du composé 4.

Ces deux protons mènent à leur tour à la présence d'un seul proton en C-3 résonnant à $\delta = 4.61$ ppm sous forme d'un triplet de triplets ($J = 7,3 ; 1,5$ Hz). Les valeurs des déplacements chimiques de ce proton et de son carbone ($\delta = 73,80$) indique que cette position est oxygénée.

A ce stade de notre étude structurale, nous avons une lactone sesquiterpénique de type guaianolide oxygénée en C-3 et en C-8 étant estérifiée (**Figure 4-1**).

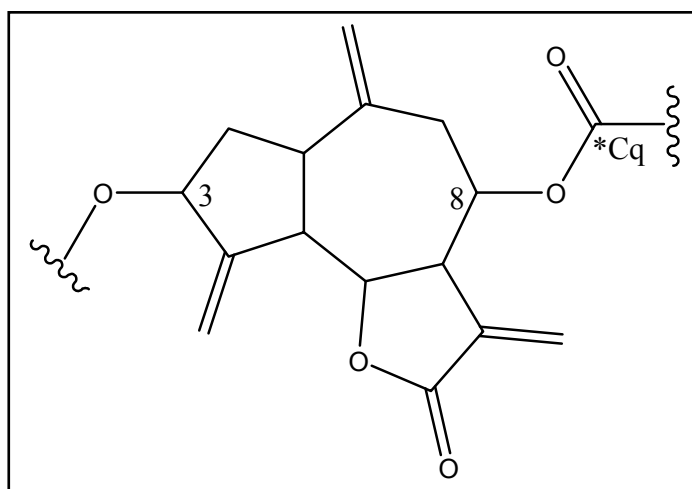


Figure 4-1 : Structure partielle du Composé 4.

Le spectre proton (**Spectre 4-3**) de cette molécule montre la présence d'un méthyle sous forme d'un singulet à $\delta = 1,60$ ppm, la valeur de son déplacement chimique indique qu'il est porté par un carbone quaternaire oxygéné d'où la présence de l'entité $\text{CH}_3\text{-Cq-O-}$.

Par ailleurs, ce spectre montre la présence d'un système AB à $\delta = 3,91$ et $\delta = 3,69$ ppm ($J = 11,3$ Hz). La valeur de la constante de couplage de ces deux noyaux indique qu'ils sont géminés. Leur inéquivalence magnétique et leur multiplicité indiquent qu'ils sont portés par un carbone asymétrique quaternaire. Quant à leur déplacement chimique, il est en faveur de leur jonction à l'atome de chlore, d'où la présence du groupement $\text{Cl-CH}_2\text{-*Cq}$ dans la molécule.

Un retour vers la formule brute de notre molécule impose que le Cq oxygéné portant le groupement CH_3 porte également le groupement CH_2Cl . Ainsi cette molécule comporte l'entité reportée dans la figure 4-1.

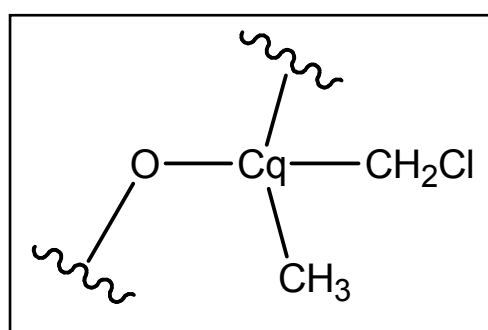


Figure 4-2 : Entité présente dans le composé 4 en plus du squelette sesquiterpénique.

Cette molécule doit comporter en position C-8 une chaîne latérale d'ester. Cela suppose que le carbonyle du groupement ester doit être lié à un carbone qui ne peut être que le carbone quaternaire de l'entité reportée dans la **figure 4-1**.

Cette jonction faite, il ne restera plus que deux protons de la formule brute à placer. Ainsi, il apparaît clairement que le carbone quaternaire de l'entité précédente doit être hydroxylé, il en est de même pour la position C-3 du squelette sesquiterpénique. Cette étude conduit à la formule reportée dans la **figure 4-3**.

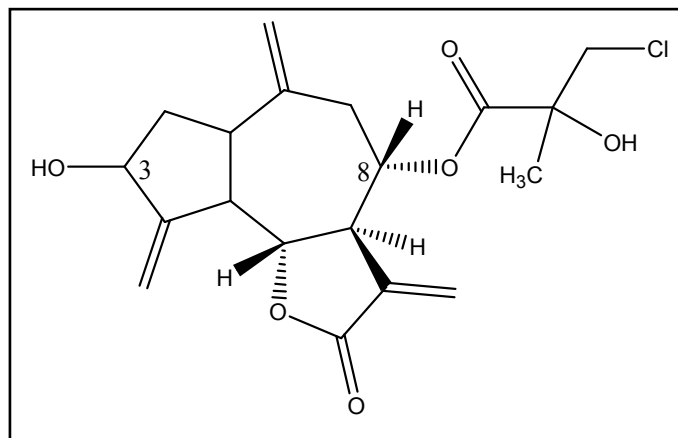


Figure 4-3 : Structure plane du composé 4.

Les protons H-1, H-5 et H-6 montrent tous des interactions de couplage de type axial-axial ($J_{H-1, H-5} = 9,0 \text{ Hz}$, $J_{H-5, H-6} = 10,5 \text{ Hz}$). Cette observation confère une orientation α au proton H-5 vu qu'H-6 est en orientation β .

L'ensemble de ces données mènent à la structure **Linichlorine B** [1] reportée dans la **figure 4-4**.

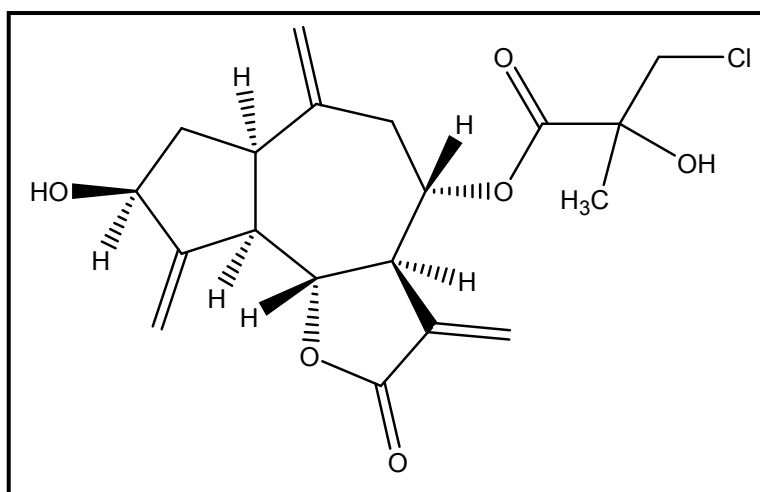


Figure 4-4 : Structure finale du composé 4.

Tableau 4-1 : Données spectrales de RMN¹³C ; DEPT135 et DEPT90°(CDCl₃, 500MHz) du composé 4.

C	δ (ppm)	DEPT et HSQC
1	45,67	CH
2	39,30	CH ₂
3	73,80	CH
4	152,14	Cq
5	51,93	CH
6	78,08	CH
7	47,62	CH
8	76,17	CH
9	36,14	CH ₂
10	141,60	Cq
11	137,15	Cq
12	168,76	Cq
13	123,00	CH ₂
14	118,54	CH ₂
15	114,17	CH ₂
1'	173,00	Cq
2'	75,10	Cq
3'	23,87	CH ₃
4'	51,01	CH ₂

Tableau 4-2 : Données spectrales de RMN¹H (CDCl₃, 500MHz) du composé 4.

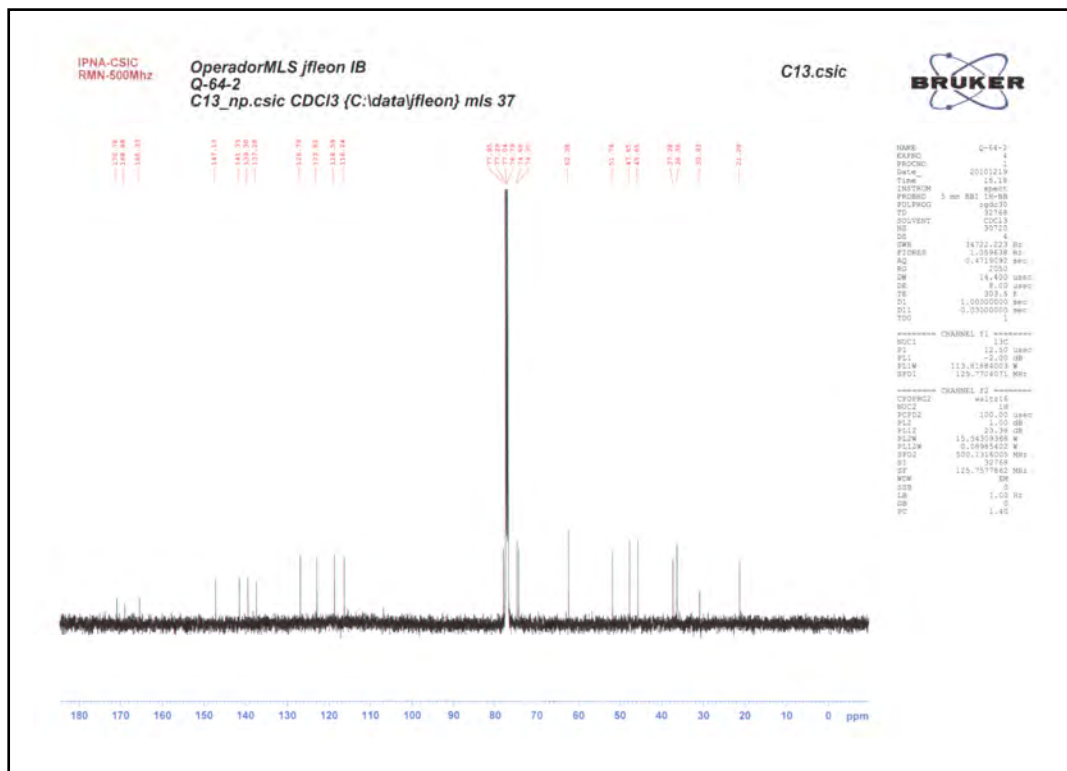
H	δ (ppm)	Multiplicité	J [Hz]
1	3,02	<i>dt</i>	11,5 ; 9,0
2a	1,77	<i>ddd</i>	13,2 ; 11,5 ; 7,2
2b	2,28	<i>dt</i>	13,2 ; 6,2
3	4,61	<i>tt</i>	7,2 ; 1,8
5	2,87	<i>dd</i>	10,3 ; 9,0
6	4,32	<i>dd</i>	10,5 ; 9,3
7	3,21	<i>tt</i>	9,3 ; 3,2
8	5,21	<i>m</i>	-
9a	2,49	<i>dd</i>	15,0 ; 3,2
9b	2,74	<i>dd</i>	15,0 ; 5,0
13a	5,87	<i>d</i>	3,0
13b	6,31	<i>d</i>	3,0
14a	4,96	<i>s</i>	-
14b	5,20	<i>s</i>	-
15a	5,42	<i>t</i>	1,5
15b	5,55	<i>t</i>	1,5
3'	1,58	<i>s</i>	-
4'a	3,70	<i>d</i>	11,2
4'b	3,92	<i>d</i>	11,2

IV. 1. 5. Elucidation structurale du composé 5 :

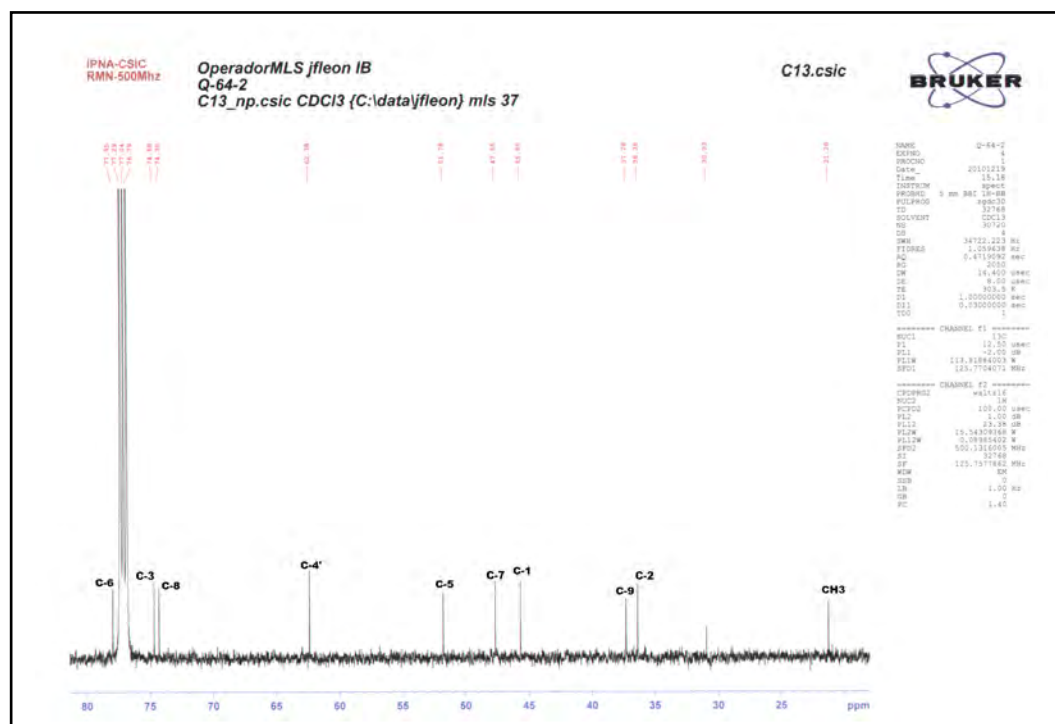
La comparaison des données du spectre RMN ^{13}C (**Spectre-5-1 ; Tableau-5-1**) de ce composé avec celui du composé **1** montre une grande similitude dans les valeurs des déplacements chimiques et le nombre de carbones existants. On peut donc déduire que ce composé est un isomère du composé **1**, cette donnée permet de déduire une formule brute $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_7$ pour cette molécule.

Position	δc (Composé 1)	δc (Composé 5)	DEPT et HSQC
1	45,4	45,7	CH
2	39,1	36,4	CH_2
3	73,8	74,7	CH
4	152,3	147,1	C_q
5	51,4	51,8	CH
6	78,4	78,0	CH
7	47,7	47,7	CH
8	74,6	74,3	CH
9	37,1	37,3	CH_2
10	141,7	141,3	C_q
11	137,4	137,3	C_q
12	168,9	168,9	C_q
13	122,5	122,9	CH_2
14	118,2	118,6	CH_2
15	113,6	116,2	CH_2
1'	164,3	165,3	C_q
2'	135,2	139,3	C_q
3'	129,1	126,8	CH_2
4'	62,3	62,4	CH_2
OAc	20,8 170,3	21,28 170,8	CH_3 ; C_q

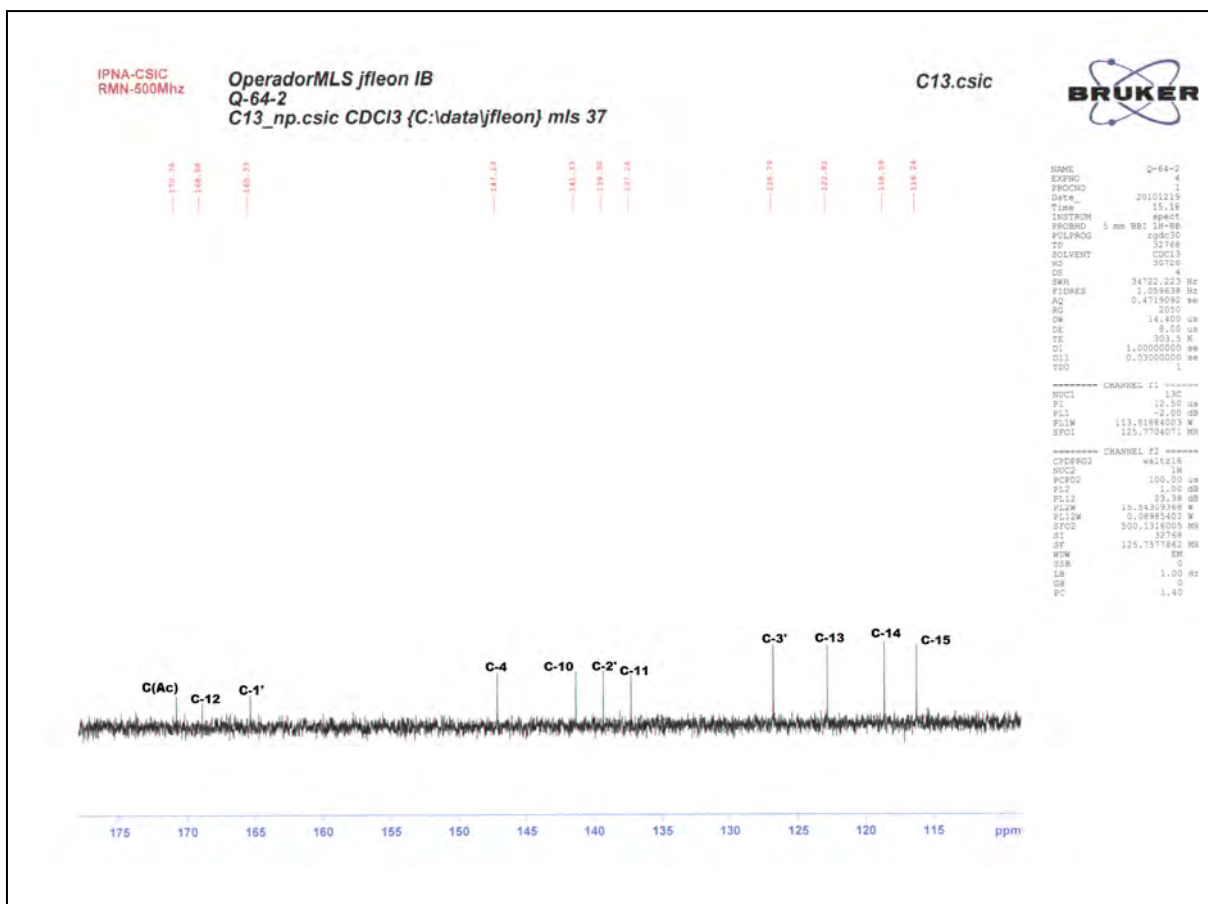
Tableau-5-1 : Déplacement chimique ^{13}C des composés **1** et **5**.



Spectre 5-1 : RMN ¹³C (CDCl₃ ; 500 MHz) du composé 5.

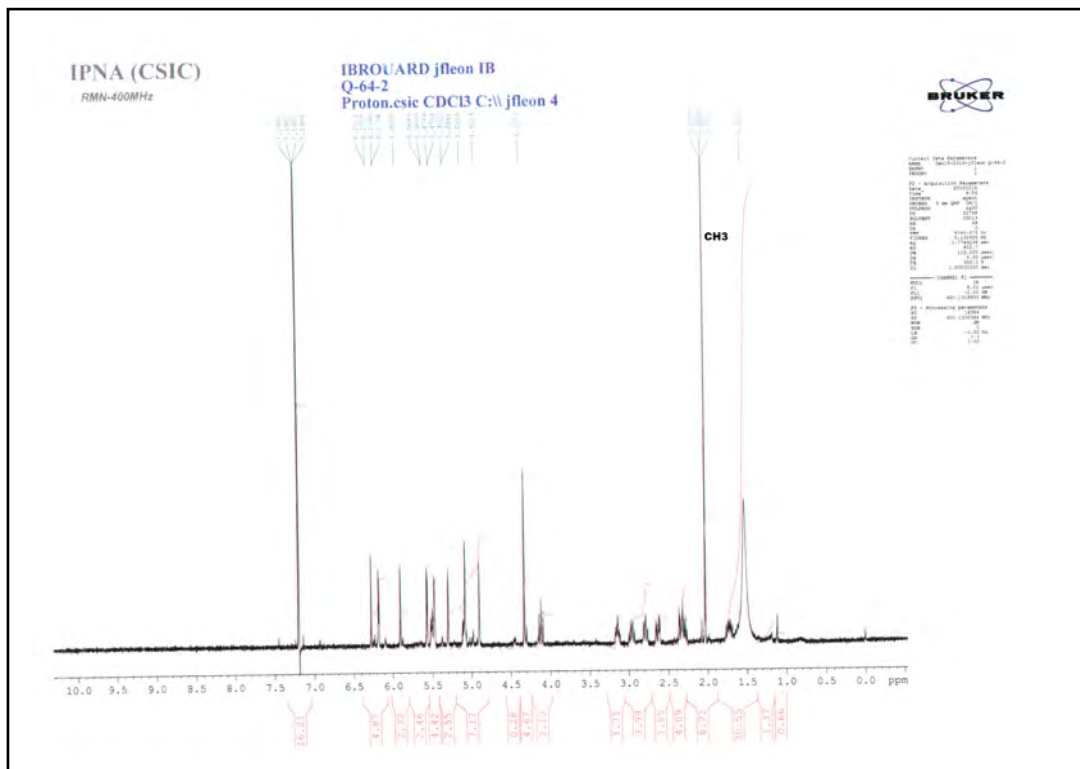


Spectre 5-1-a : Etallement du Spectre 5-1

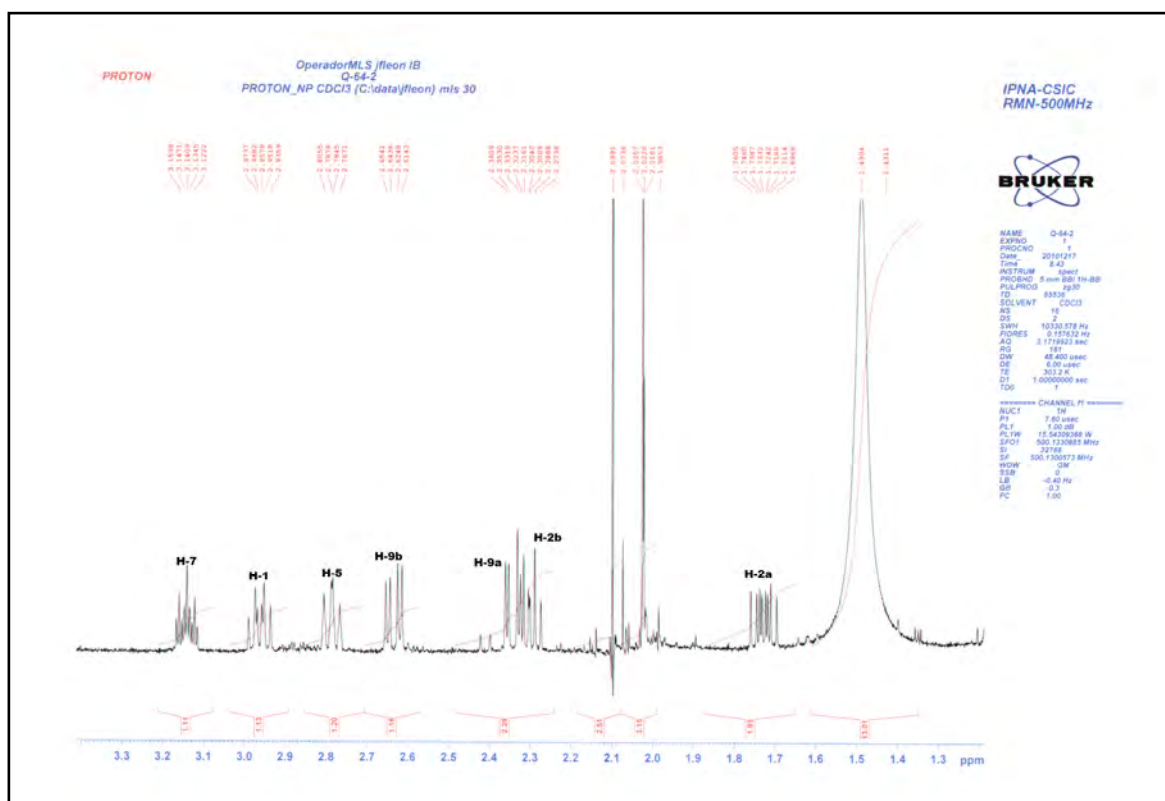


Spectre 5-1-b : Etalement du Spectre 5-1.

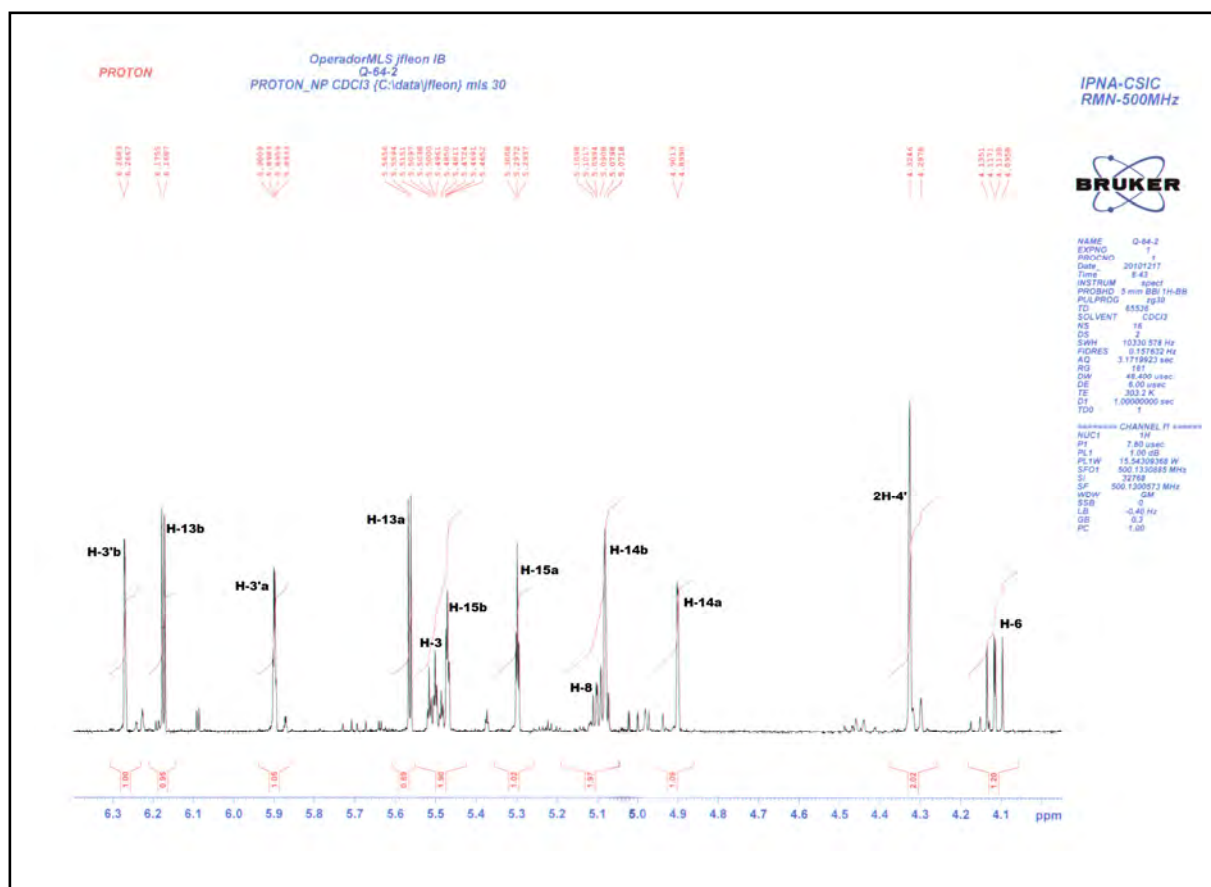
Le spectre de proton (**spectre 1-2-b**) montre deux doublets à $\delta = 6,17$ ppm ($J = 3,4$ Hz) et $\delta = 5,56$ ppm ($J = 3,1$ Hz). Ces signaux montrant un couplage allylique sont caractéristiques d'une γ -lactone α, β -insaturée. Ce couplage est attribué aux interactions H-13a/H-7 et H-13b/H-7. Cette observation confirme la présence d'une double liaison exocyclique C-11 – C-13.



Spectre 5-2 : RMN ¹H (CDCl₃ ; 500 MHz) du composé 5.



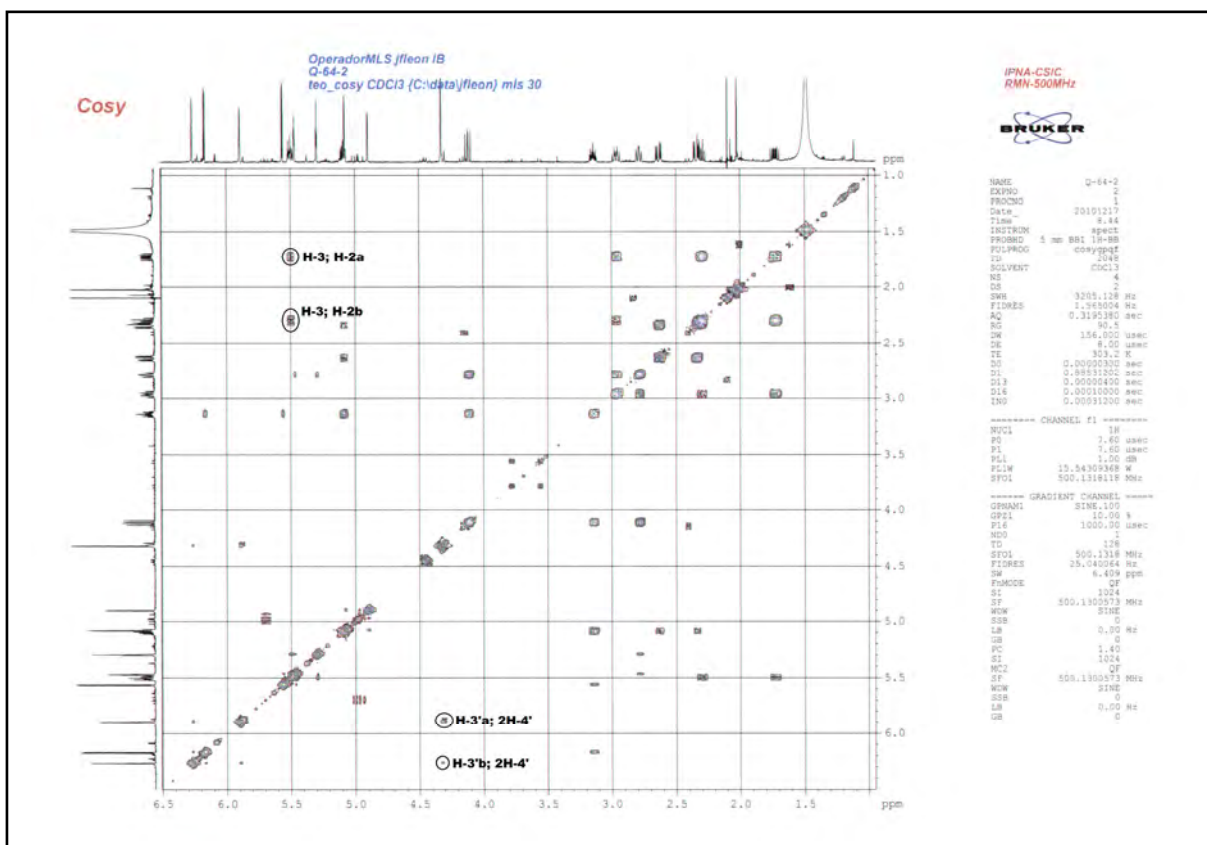
Spectre 5-2-a : Etalement du spectre 5-2.



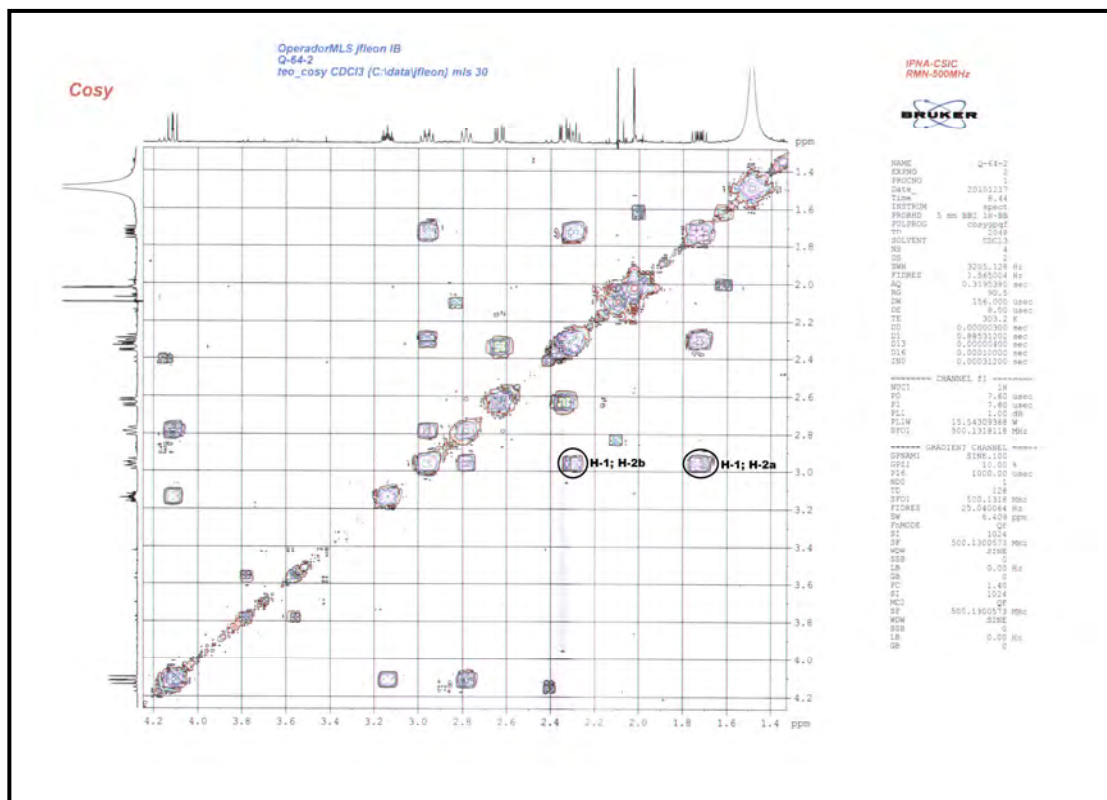
Spectre 5-2-b : Etalement du spectre 5-2.

Le spectre COSY montre les mêmes corrélations entre H-13a et H-13b avec H-7, puis les corrélations entre ce dernier et les protons H-6 et H-8 ainsi que toutes les autres corrélations menant à structure similaire à celle du composé **1** et la substitution du proton 8 par une chaîne latérale similaire à celle du composé **1**. La principale différence entre ces deux produits réside dans la valeur des déplacements chimiques des protons 3 d'une part et des protons 4'-CH₂.

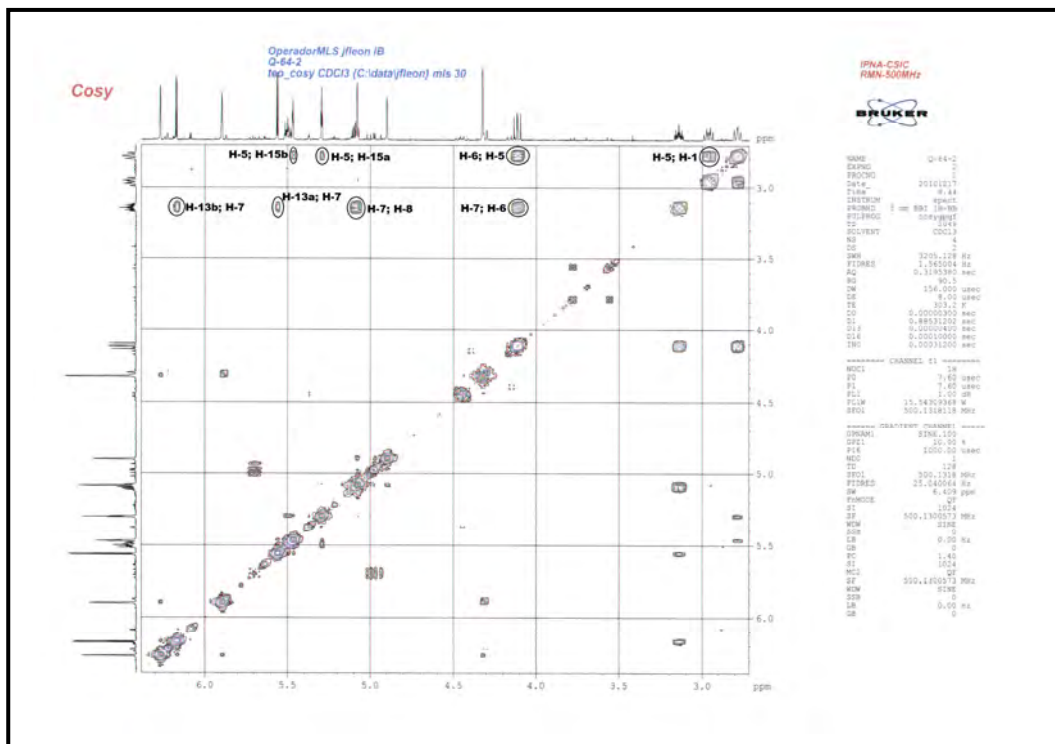
Pour le proton 3 cette valeur est de $\delta = 4,60$ ppm pour le composé **1** et de $\delta = 5,49$ ppm pour le composé **5**. Tandis que la valeur du déplacement chimique des protons 4'-CH₂ est de $\delta = 4,88$ ppm pour le composé **1** et de $\delta = 4,32$ pour le composé **5**. Par ailleurs le proton 3 corrèle dans le spectre HMBC avec le carbonyle du groupement acétate dans le composé **5** alors que dans le composé **1** c'est le carbone 4'-CH₂ qui corrèle avec ce carbonyle. Ces observations sont en accord avec une hydroxylation du carbone 4' dans le composé **5** et une acétylation du carbone 3 alors que c'est l'inverse dans le composé **1**.



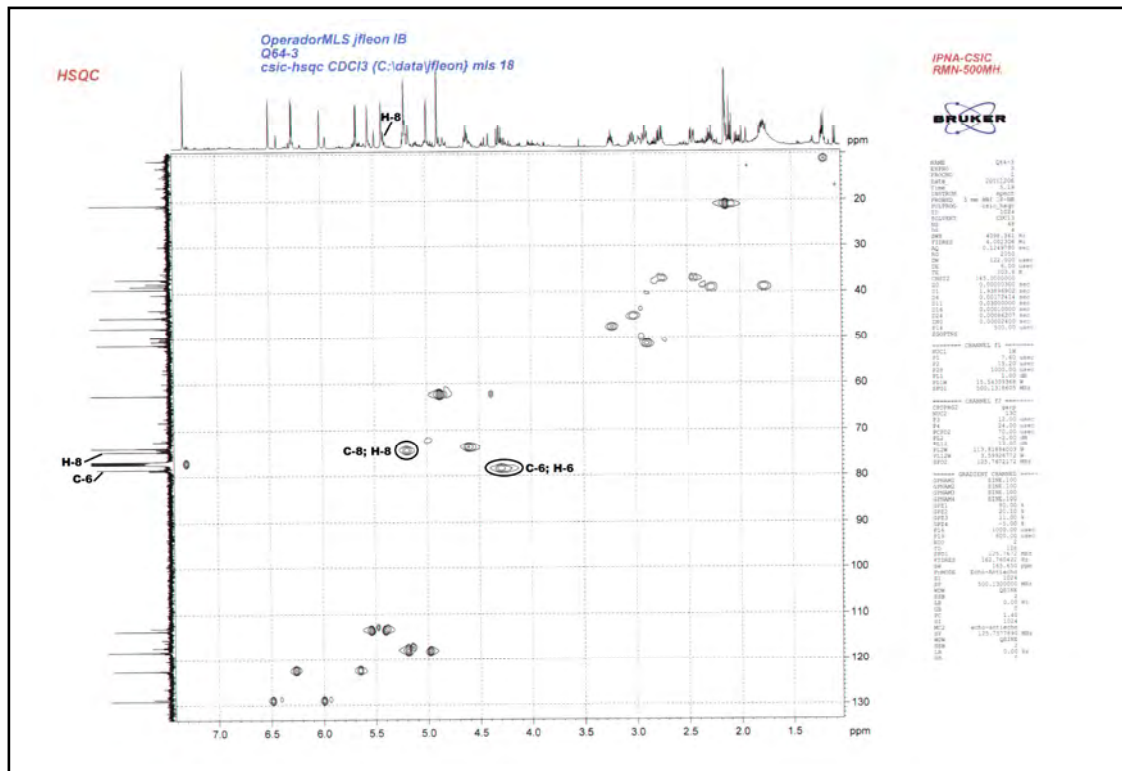
Spectre 5-3 : COSY (^1H - ^1H) (CDCl_3 ; 500 MHz) du composé 5.



Spectre 5-3-a : étalement du spectre 5-3.



Spectre 5-3-b : étalement du spectre 5-3.



Spectre 1-5 : HSQC (CDCl₃ ; 500 MHz) du composé 1.

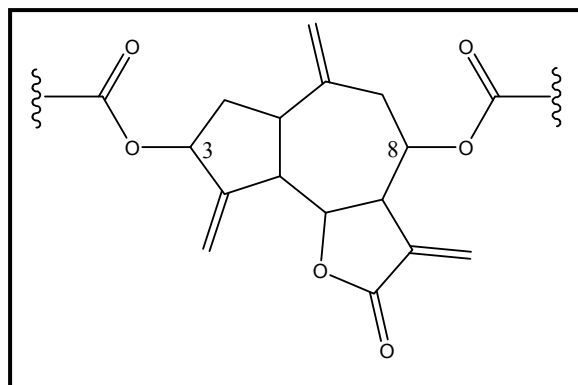


Figure 5-1 : Structure partielle du Composé 5.

La structure finale de ce composé est reportée dans la **figure 5-2** [2].

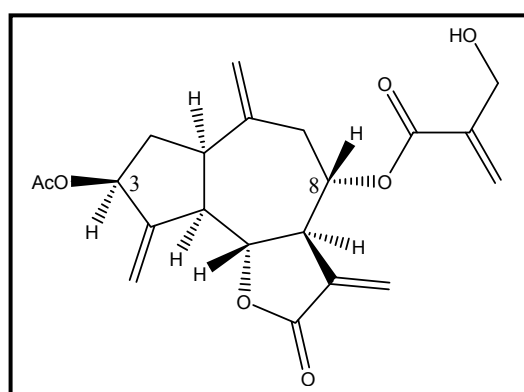


Figure 5-2 : 3-Acetyl cynaropicrine.

Tableau 5-1 : Données spectrales de RMN ^1H (CDCl_3 , 500MHz) du composé 5.

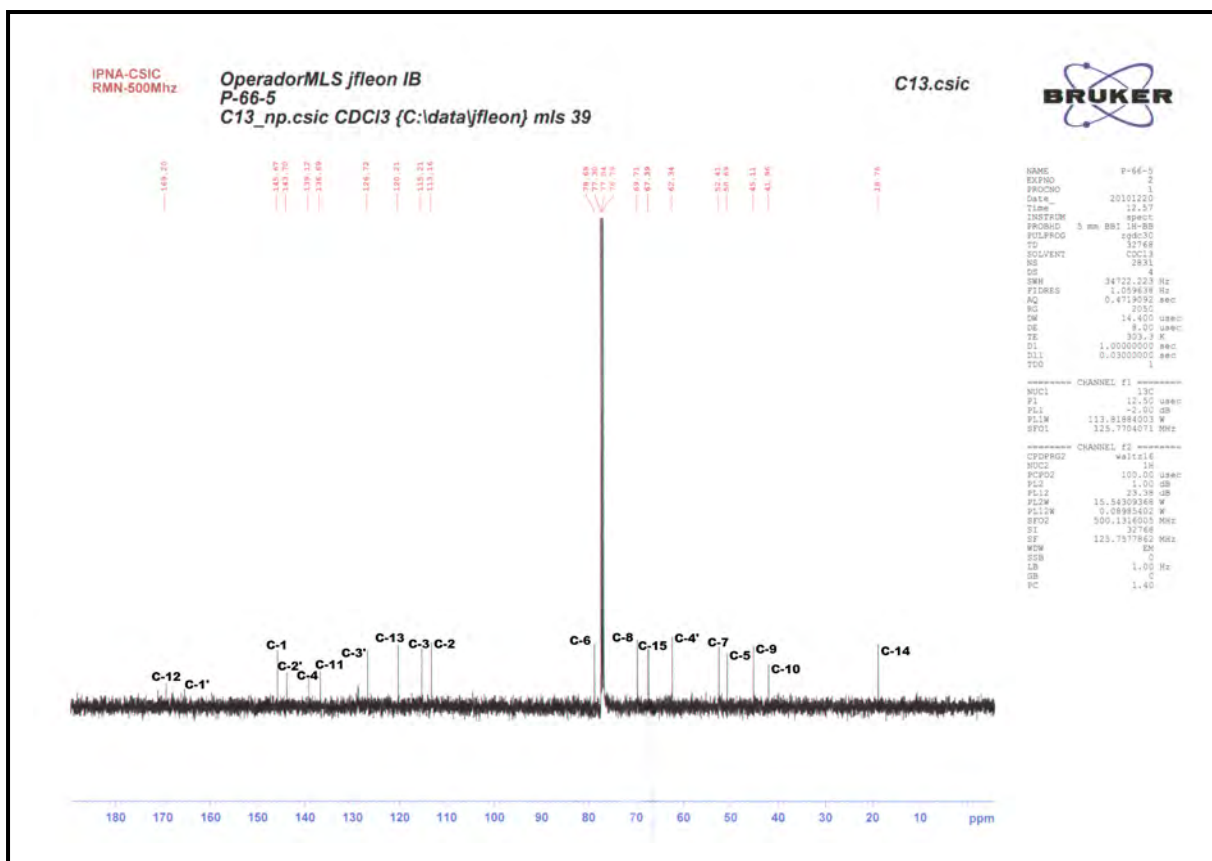
H	δ (ppm)	Multiplcité	J [Hz]
1	2,96	dt	10,9; 7,9
2a	1,73	ddd	13,6 ; 11,0 ; 7,2
2b	2,30	dt	13,6 ; 7,6
3	5,49	tt	7,5 ; 1,9
5	2,78	dd	10,5 ; 8,7
6	4,11	dd	10,6 ; 9,0
7	3,14	tt	9,3 ; 3,2
8	5,09	m	-
9a	2,34	dd	14,6 ; 3,9
9b	2,63	dd	14,6 ; 5,2
13a	5,56	d	3,1
13b	6,17	d	3,4
14a	4,90	d	1,1
14b	5,07	s	-
15a	5,29	t	1,7
15b	5,47	t	1,9
3'a	5,89	dd	1,3; 1,2
3'b	6,26	d	0,8
4'	4,32	s	-
OAc	2,09	s	-

IV. 1. 6. Elucidation structurale du composé 6 :

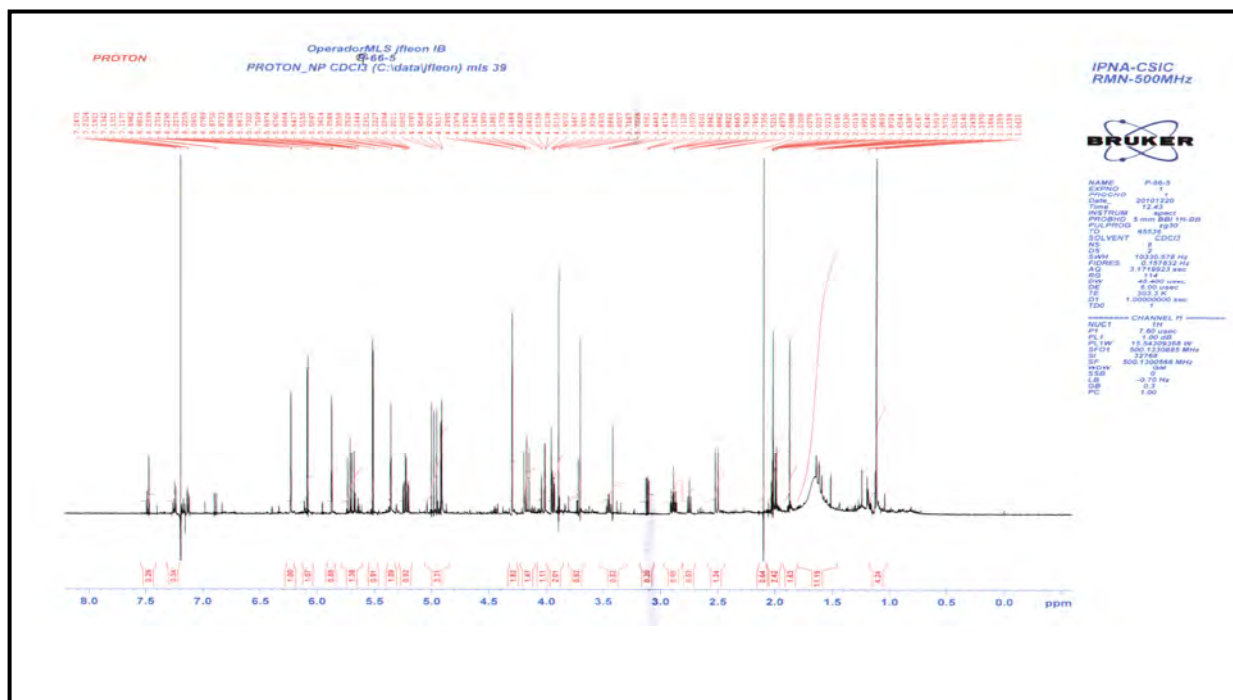
L'examen du spectre RMN ^{13}C (**Spectre-6-1**) de ce composé montre la présence de 19 atomes de carbones. La comparaison des données de ce spectre avec les données des spectres du composé **3** (**Tableau-6-1**) montrent une grande similitude dans les valeurs des déplacements chimiques dans les 15 premiers atomes. Cela indique que le squelette sesquiterpénique du composé **6** est identique avec celui du **3**. Par ailleurs on retrouve dans le spectre proton du composé **6** deux doublets de doublets supplémentaires à $\delta = 6,23$ ppm et $\delta = 5,87$ ppm, ainsi qu'un signal correspondant à un groupement CH_2 à $\delta = 4,29$ ppm. Ceci laisse supposer l'existence d'une chaîne latérale comportant quatre atomes de carbone et une double liaison éthylénique substituant le squelette sesquiterpénique. Par ailleurs le déplacement chimique du proton H-8 à $\delta = 5,23$ ppm indique que cette position est estérifiée. Ceci est confirmé par la présence d'un signal à $\delta = 169,2$ ppm correspondant à un groupement carbonyle d'un groupement ester. La chaîne latérale placée en C-8 comporte donc un groupement ester, une double liaison ainsi qu'un groupement CH_2 oxygéné, ces caractéristiques sont en faveur d'une chaîne latérale identique à celle observée pour les composés **5** et **8**.

Position	δc (5)	δc (8)	δc (3)	DEPT et HSQC	δc (6)
1	45,7	45,4	146,0	CH	145,67
2	36,4	39,2	113,0	CH_2	113,16
3	74,7	73,9	116,9	CH_2	115,21
4	147,1	152,3	138,7	Cq	139,12
5	51,8	51,5	51,5	CH	50,69
6	78,0	78,5	78,3	CH	78,69
7	47,7	47,7	55,1	CH	52,41
8	74,3	74,4	67,5	CH	69,71
9	37,3	37,2	49,8	CH_2	45,11
10	141,3	141,8	42,0	Cq	41,96
11	137,3	137,4	137,4	Cq	136,69
12	168,9	168,9	169,7	Cq	169,20
13	122,9	122,7	120,5	CH_2	120,21
14	118,6	118,2	19,0	CH_3	18,76
15	116,2	113,6	67,2	CH_2	67,39
1'	165,3	165,3	-	Cq	165,00
2'	139,3	139,4	-	Cq	143,70
3'	126,8	126,7	-	CH_2	126,72
4'	62,4	62,4	-	CH_2	62,34
OAc	21,28 170,8	-	21,0 170,6	CH_3 et Cq	-

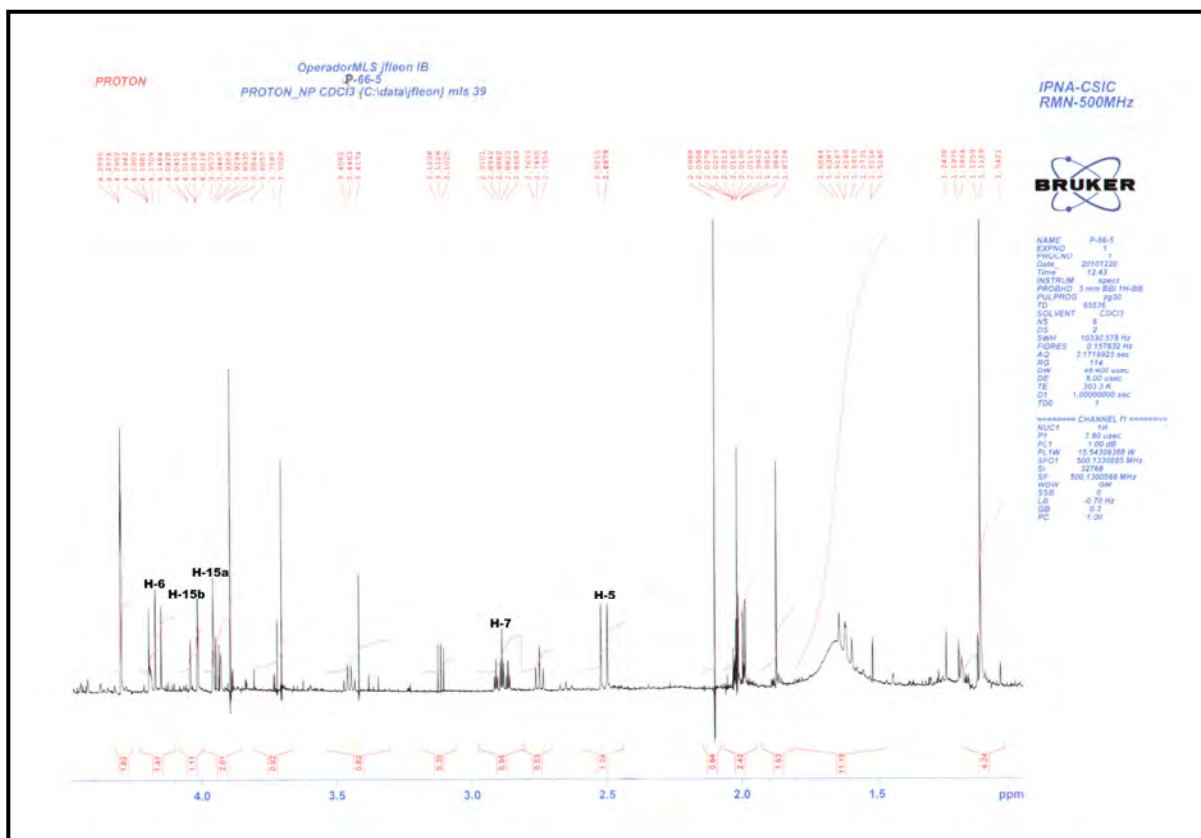
Tableau-6-1 : Déplacement chimique ^{13}C des composés **3**, **5**, **6** et **8**.



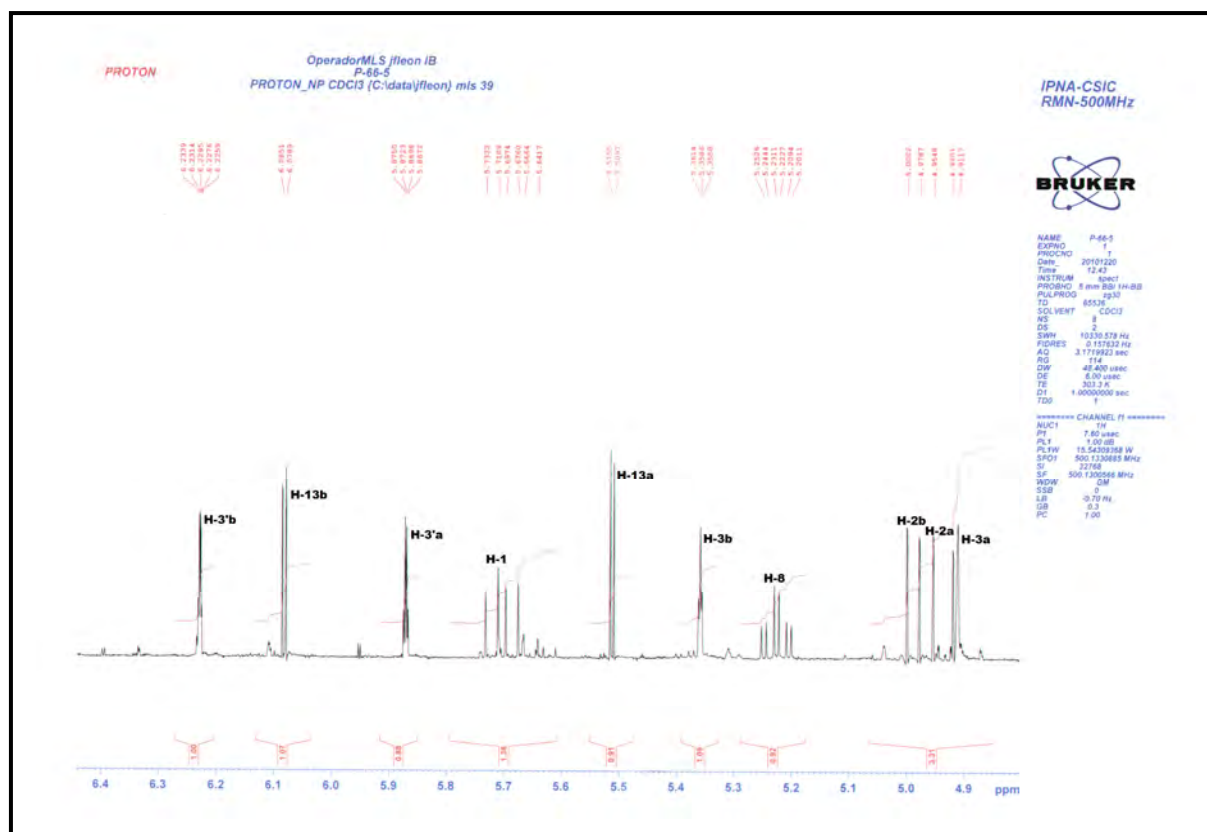
Spectre 6-1 : Spectre de RMN ¹³C (CDCl₃, 500 MHz) du composé 6



Spectre 6-2 : RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz) du composé 6.



Spectre 6-2-a : étalement du spectre 6-2.



Spectre 6-2-b : étalement du spectre 6-2.

L'ensemble de ces données mènent à la structure **8-(4-hydroxyméthacrylate)-dehydromelitensine** reportée dans la **figure 6-1**[3].

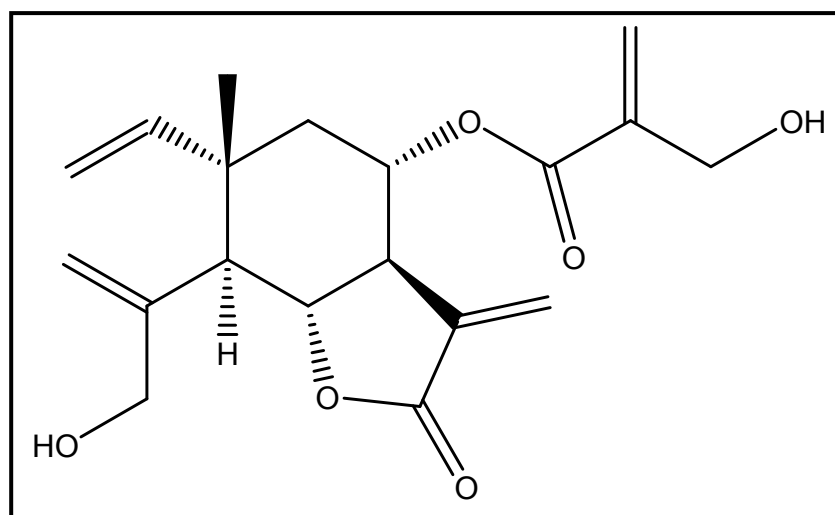


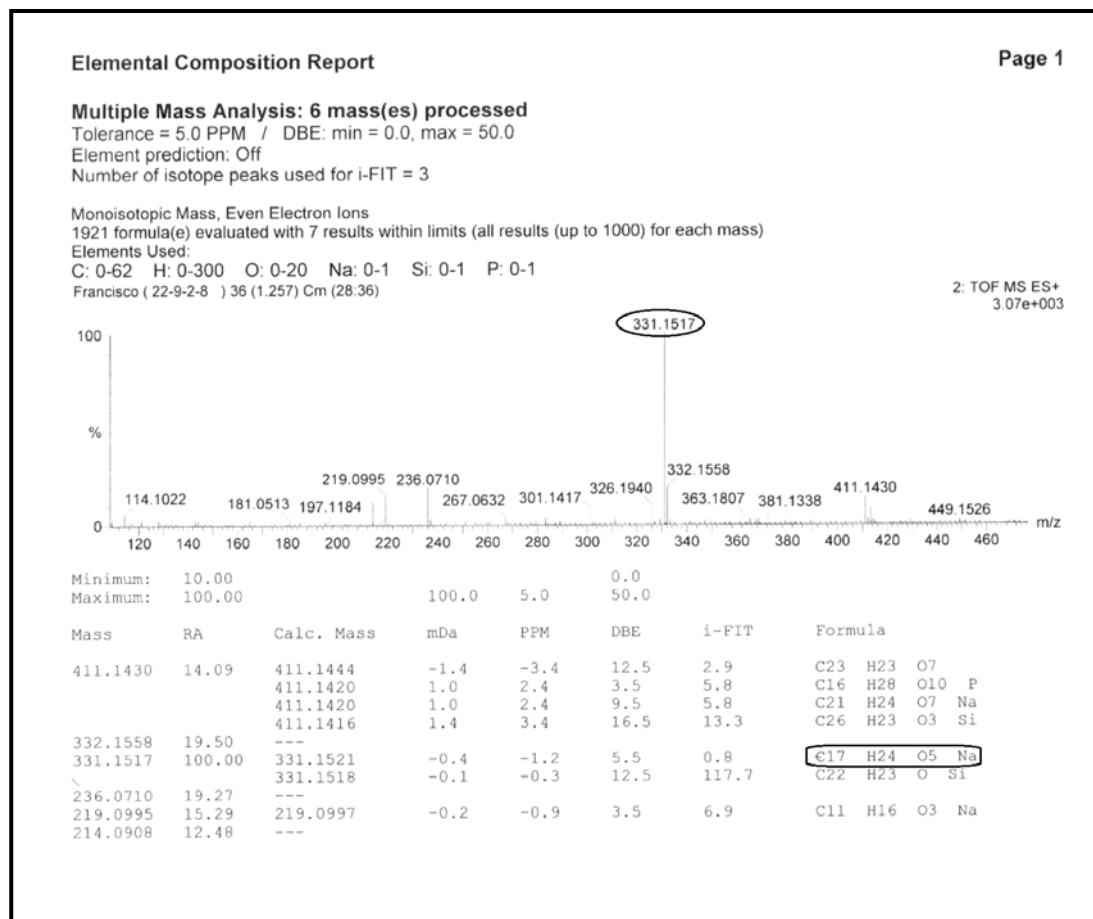
Figure 6-1 : Structure finale du composé 6.

Tableau 6-2 : Données spectrales de RMN ^1H (CDCl_3 , 500MHz) du composé **6**.

H	δ (ppm)	<i>Multiplicité</i>	<i>J</i> [Hz]
1	5,70	<i>dd</i>	17,4 ; 10,7
2a	4,94	<i>d</i>	17,4
2b	4,99	<i>d</i>	10,7
3a	4,91	<i>s</i>	-
3b	5,36	<i>s</i>	-
5	2,51	<i>d</i>	11,4
6	4,17	<i>t</i>	13,0
7	2,88	<i>tt</i>	7,95 ; 3,0
8	5,23	<i>td</i>	10,7 ; 3,6
9a	1,60	<i>dd</i>	13,1 ; 11,4
9b	2,00	<i>dd</i>	13,1 ; 4,1
13a	5,51	<i>d</i>	3,0
13b	6,08	<i>d</i>	3,0
14	1,11	<i>s</i>	-
15a	3,94	<i>d</i>	13,7
15b	4,02	<i>d</i>	13,7
3'a	5,87	<i>dd</i>	1,9; 3,0
3'b	6,22	<i>d</i>	1,0
4'	4,29	<i>s</i>	-
17	2,13	<i>s</i>	-

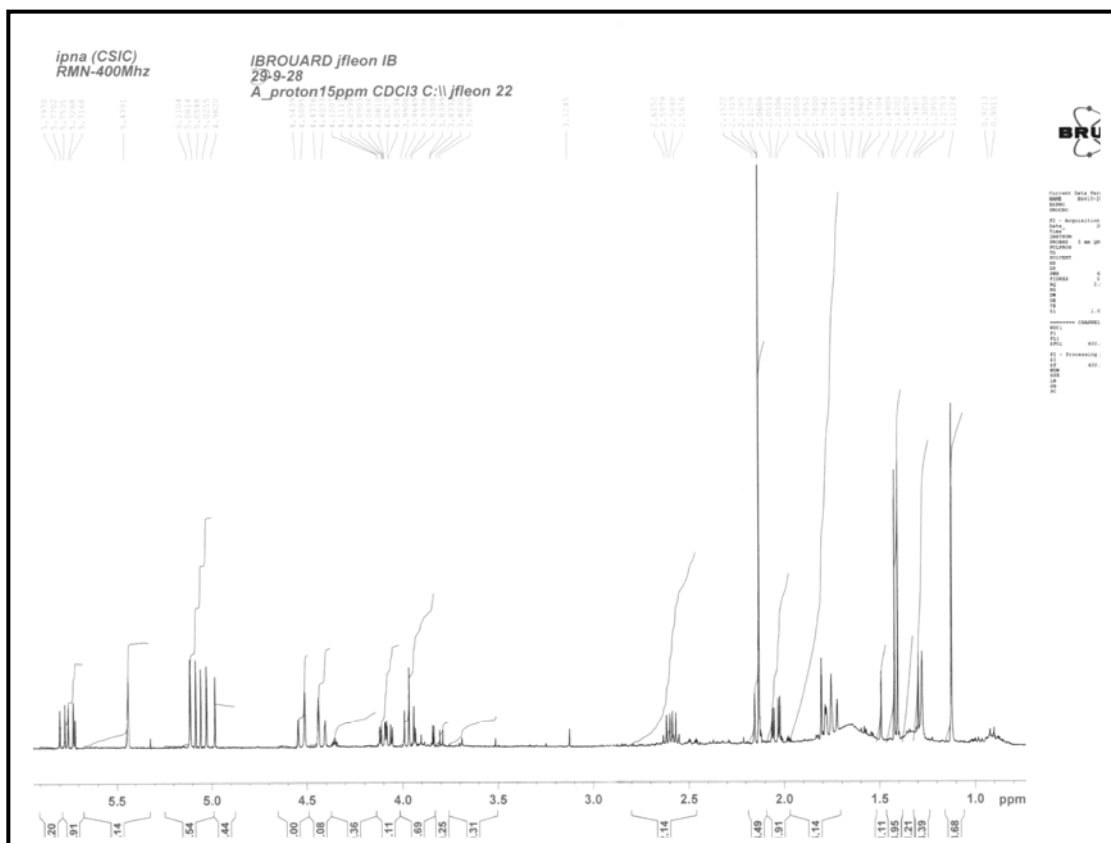
IV.1.7. Elucidation structurale du composé 7 :

L'examen du spectre de masse à haute résolution enregistré en mode électronébulisation positive (TOF-MS-ES positive) (**Spectre-7-1**) montre la présence d'un ion à $m/z = 331,1517$ correspondant à la formule $C_{17}H_{24}O_5Na$ (Cal : 331,1521), indiquant une formule brute $C_{17}H_{24}O_5$ pour cette molécule. Cette donnée permet également de déduire six insaturations dans cette molécule.

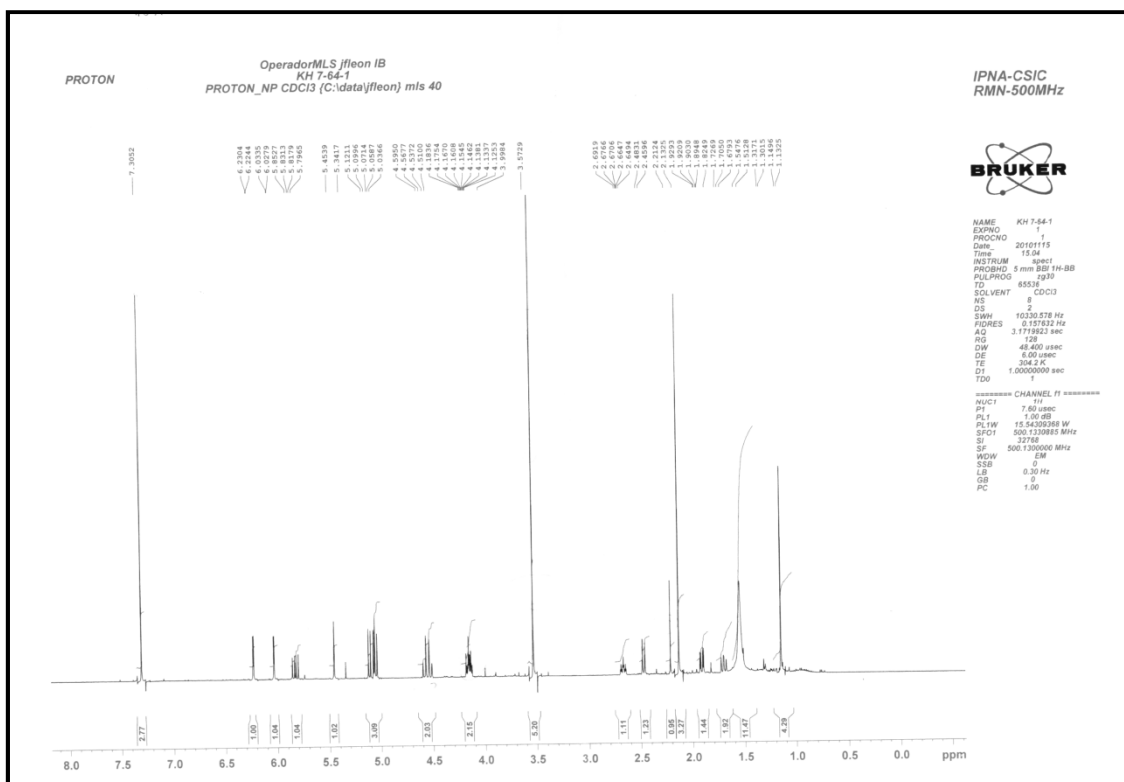


Spectre 7-1 : Spectre TOF-MS-ES positive du composé 7.

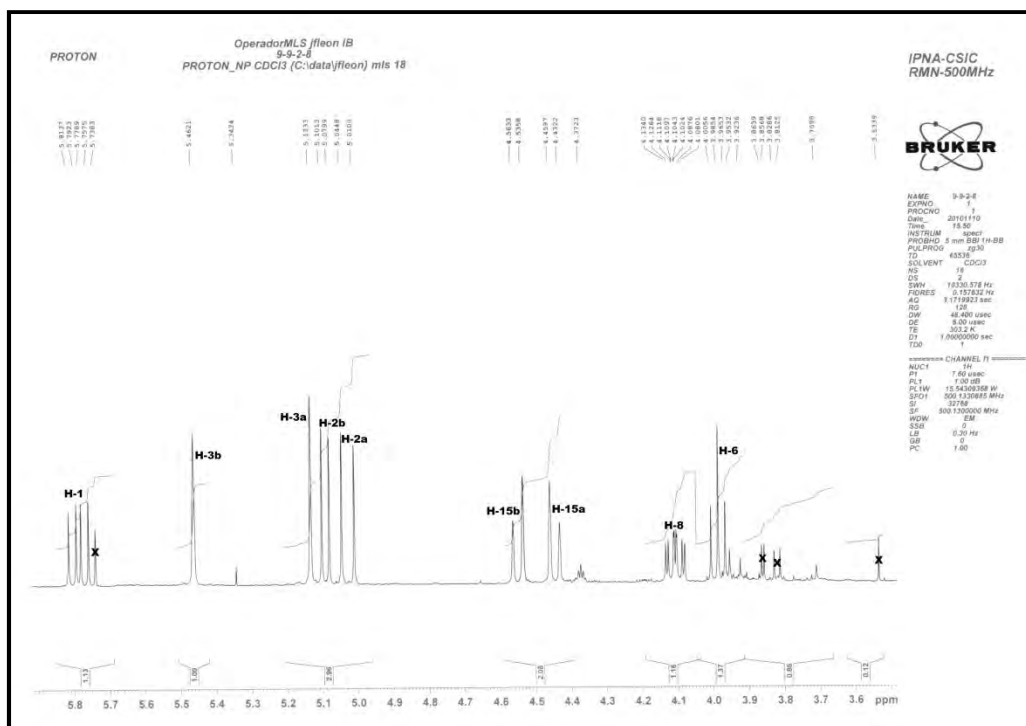
On note que ce composé a une formule brute qui ne diffère de celle du composé **3** que par la présence de deux hydrogènes supplémentaires. Les spectres protons de ces deux composés sont relativement similaires à la différence que le composé **7** ne comporte pas les signaux caractéristiques de la double liaison exocyclique de la lactone α,β insaturée H-13a et H13-b. Par contre, il comporte un doublet intégrant pour 3H à $\delta = 1.43$ ppm ($\delta_c = 14.29$ ppm) sous forme d'un doublet ($J = 6.95$ Hz) correspondant à un groupement CH_3 voisin d'un carbone qui porte un hydrogène.



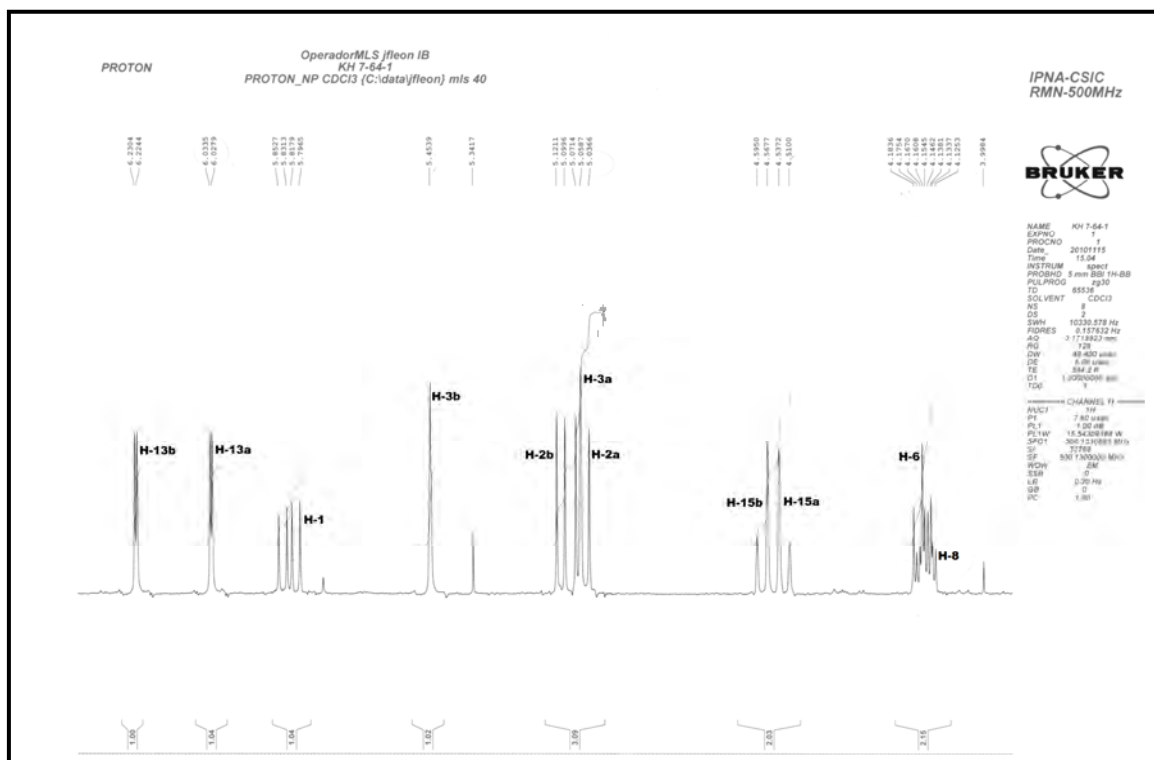
Spectre 7-2 : spectre proton du composé 7.



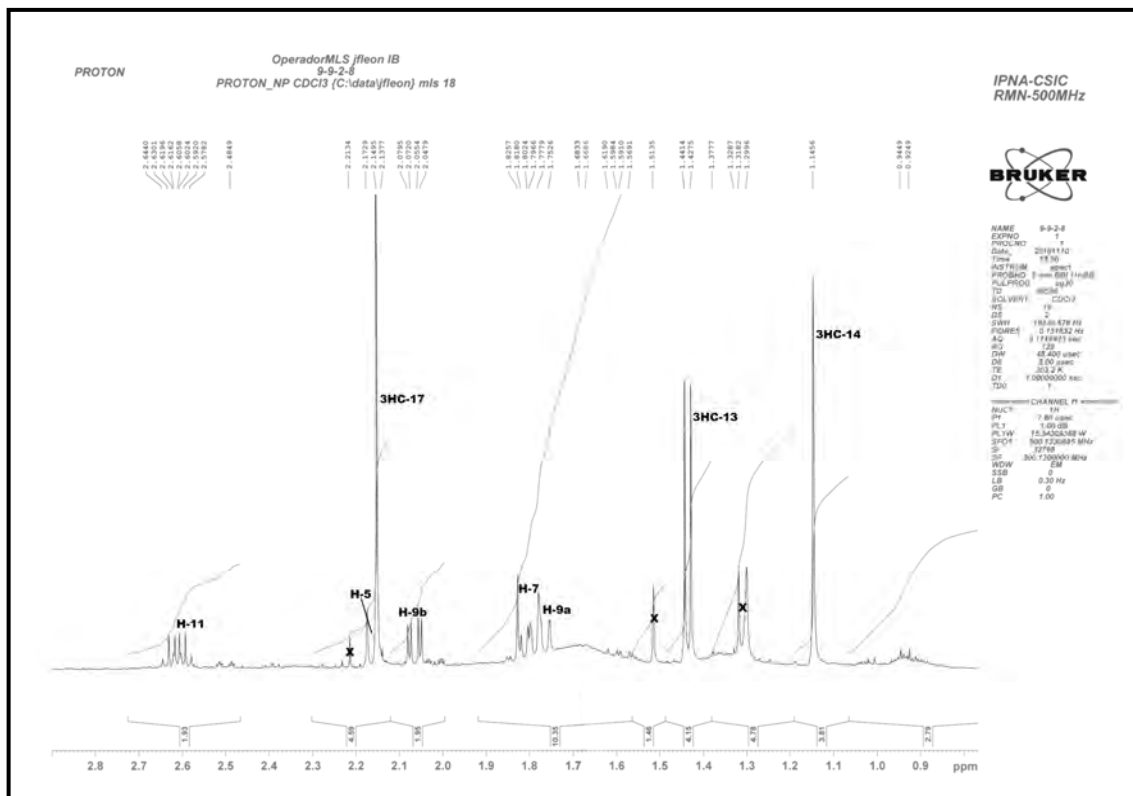
Spectre 7-3 : spectre proton du composé 3.



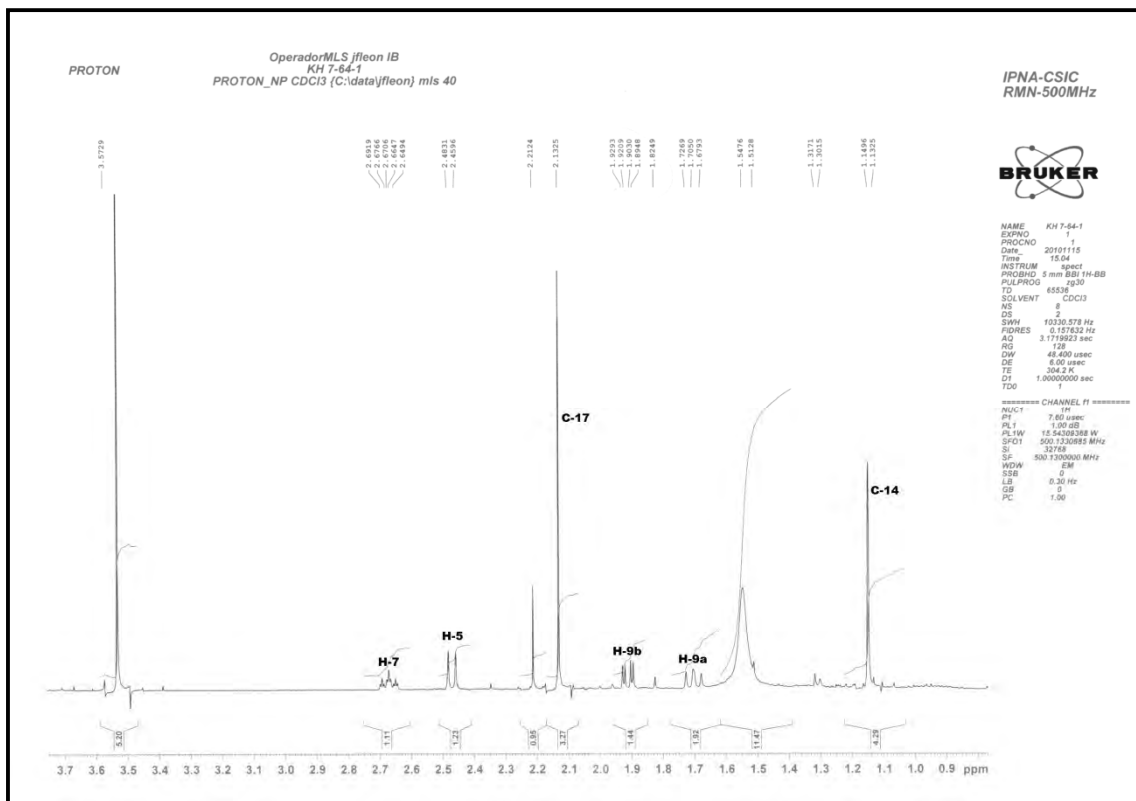
Spectre 7-2-a : spectre étalé entre 3,6 et 5,9 ppm du composé 7



Spectre 7-3-a : spectre étalé du composé 3.



Spectre 7-2-b : spectre étalé entre 1 et 2,8 ppm du composé 7.



Spectre 7-3-b : spectre étalé entre 1 et 2,8 ppm du composé 3.

Par ailleurs l'examen des données comparées de RMN¹³C, DEPT 135 et 90° des deux composés confirme sans ambiguïté que la seule différence structurale entre ces deux composés est la réduction de double liaison éthylénique C-11 - C-13 du composé **3**.

Tableau 7-1 : Données spectrales de RMN¹³C ; DEPT135 et DEPT90°(CDCl₃, 500MHz) des composés **3** et **7**.

C	3 δ (ppm)	7 δ (ppm)	DEPT et HSQC
1	146,0	146,26	CH
2	113,0	112,73	CH ₂
3	116,9	117,01	CH ₂
4	138,7	141,14	Cq
5	51,5	58,60	CH
6	78,3	71,06	CH
7	55,1	57,31	CH
8	67,5	76,23	CH
9	49,8	42,17	CH ₂
10	42,0	41,34	Cq
11	137,4	41,66	CH
12	169,7	170,98	Cq
13	120,5	14,29	CH ₃
14	19,0	19,96	CH ₃
15	67,2	67,92	CH ₂
16	170,6	178,99	Cq
17	21,0	20,97	CH ₃

L'ensemble de ces données mènent à la structure **15-Acetyl melitensine** reportée dans la **figure 7-1**[4].

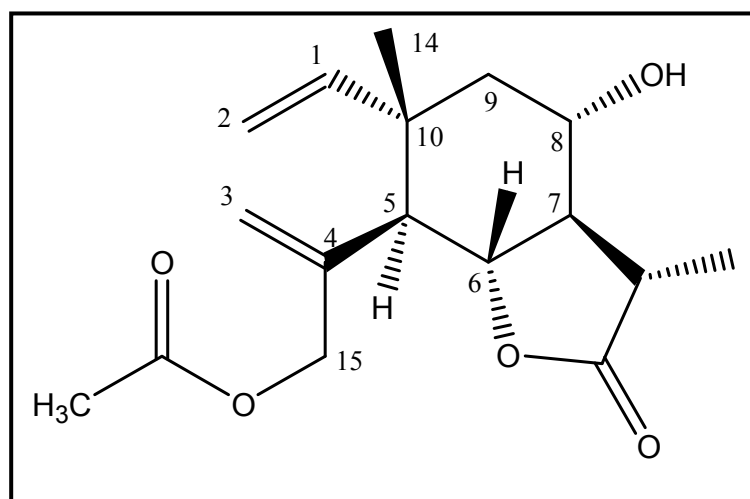
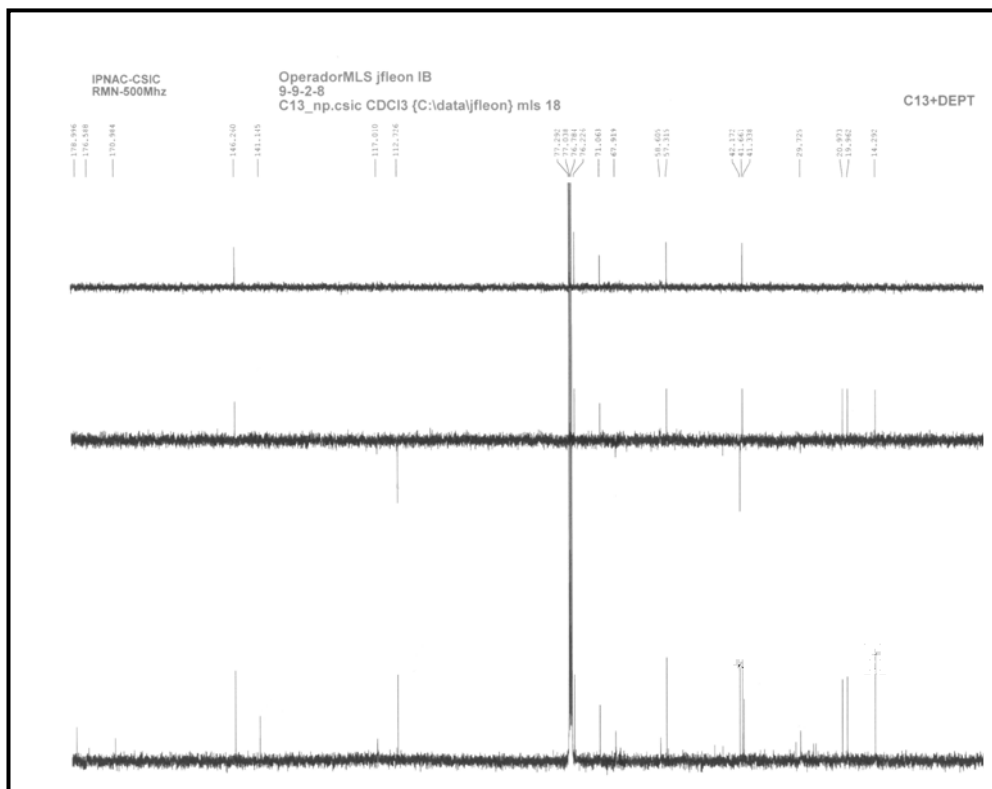
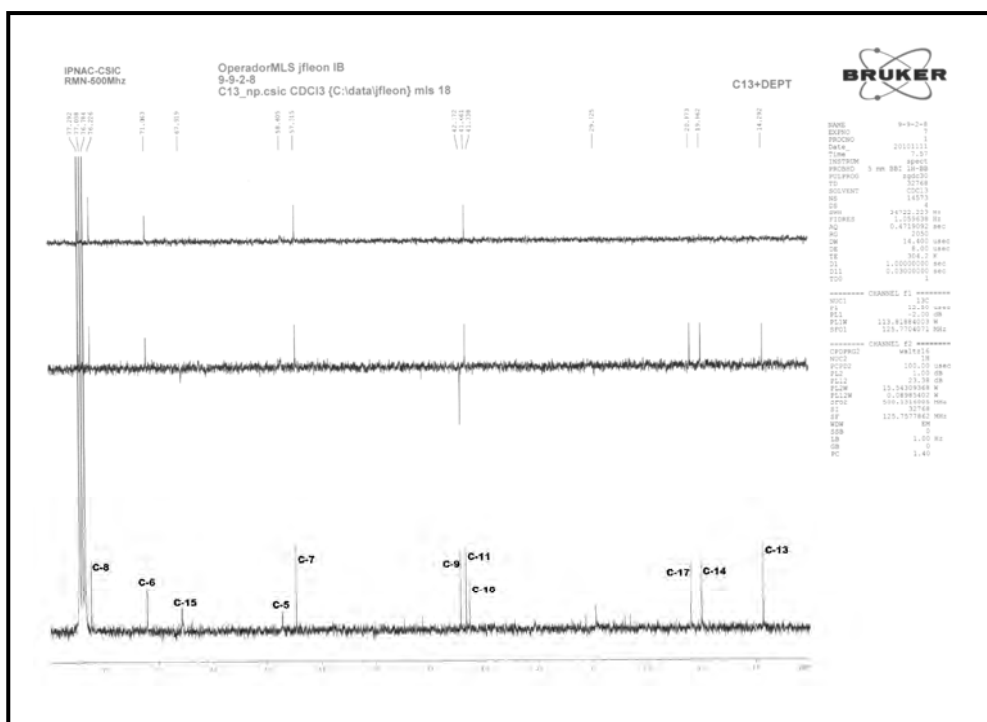


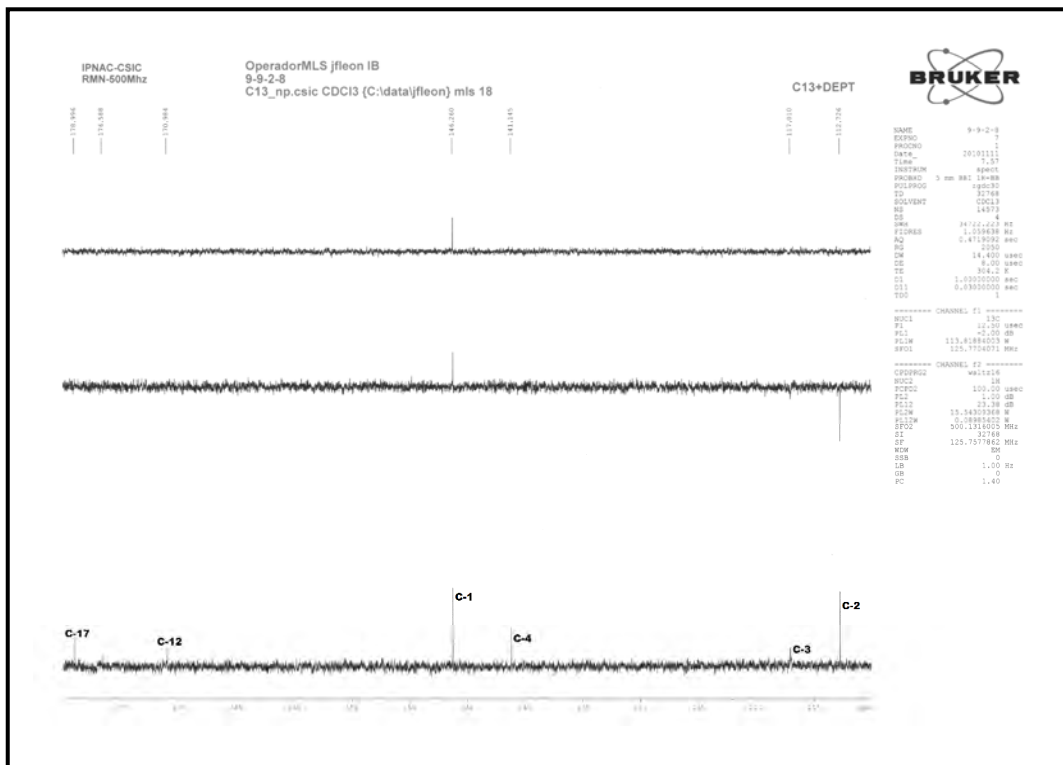
Figure 7-1 : Structure finale du composé **7**.



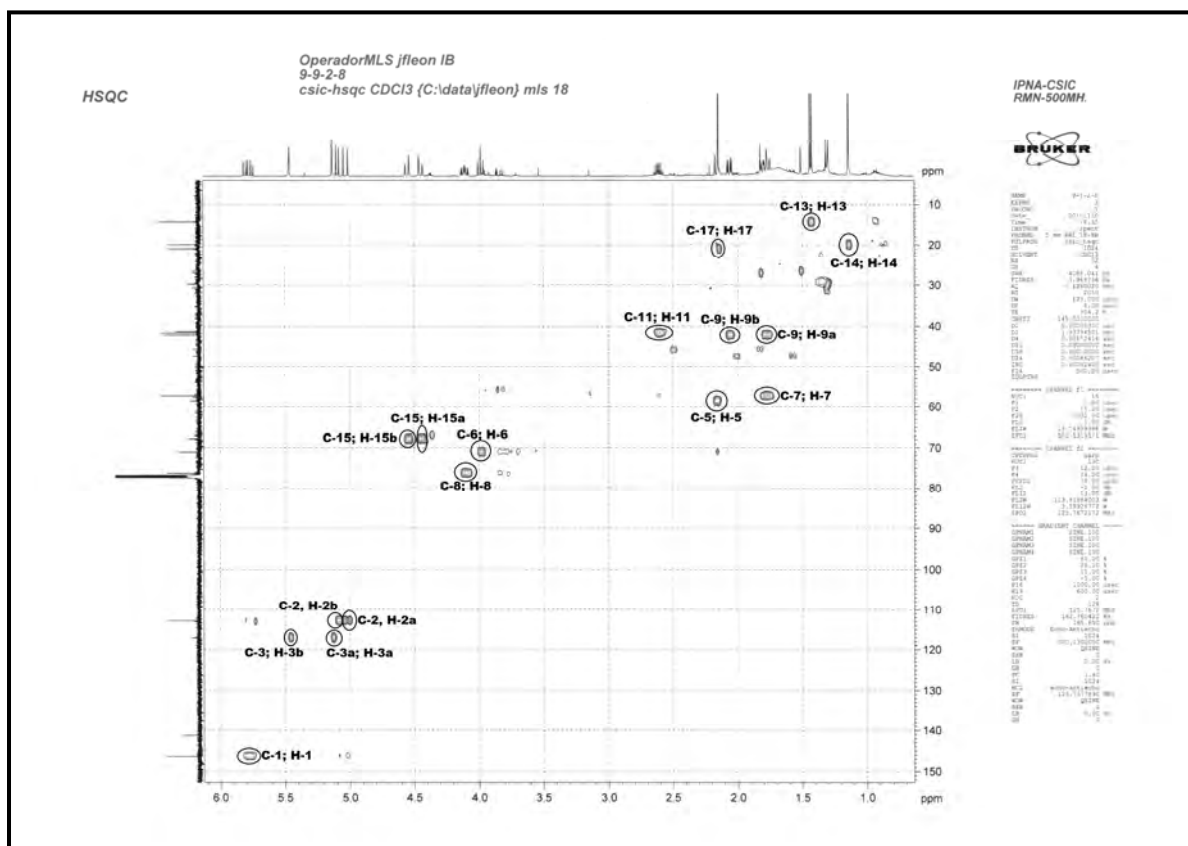
Spectre 7-4 : Spectres de RMN ^{13}C , DEPT 135 et 90° (CDCl_3 , 500 MHz) du composé 7.



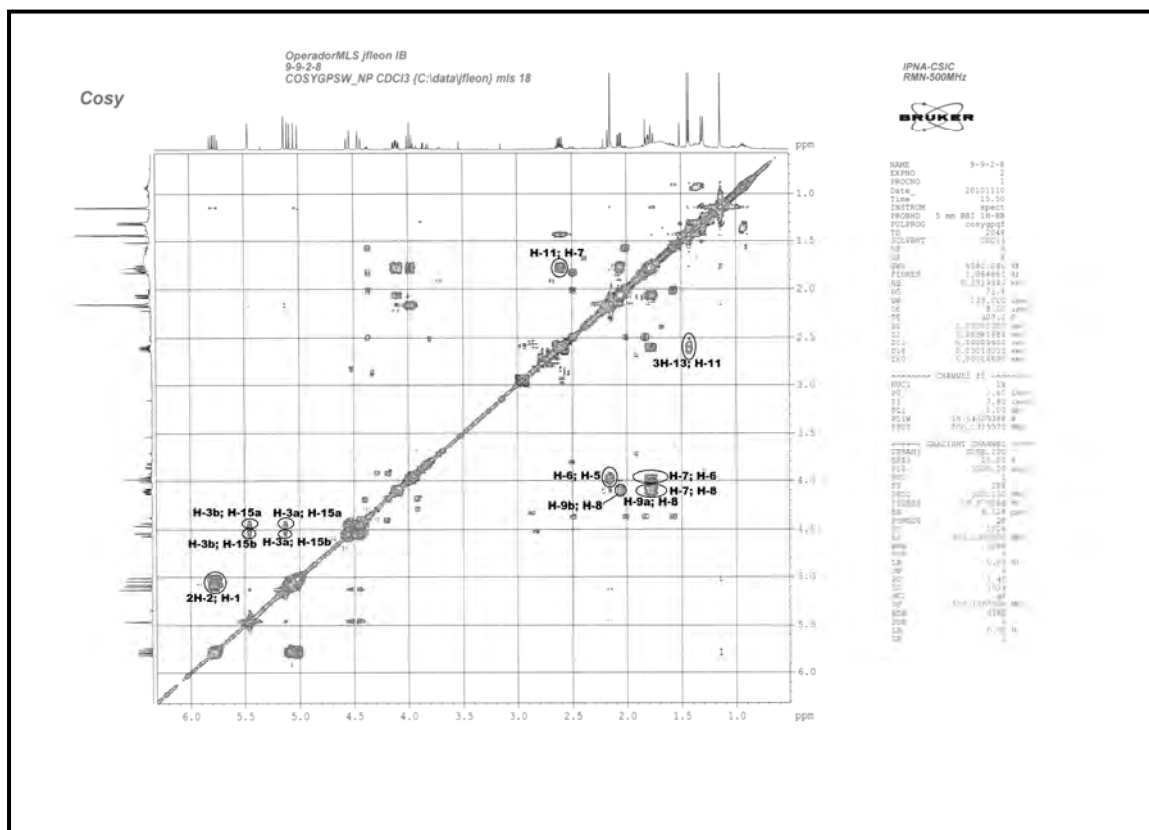
Spectre 7-4-a : étalement du spectre 7-2.



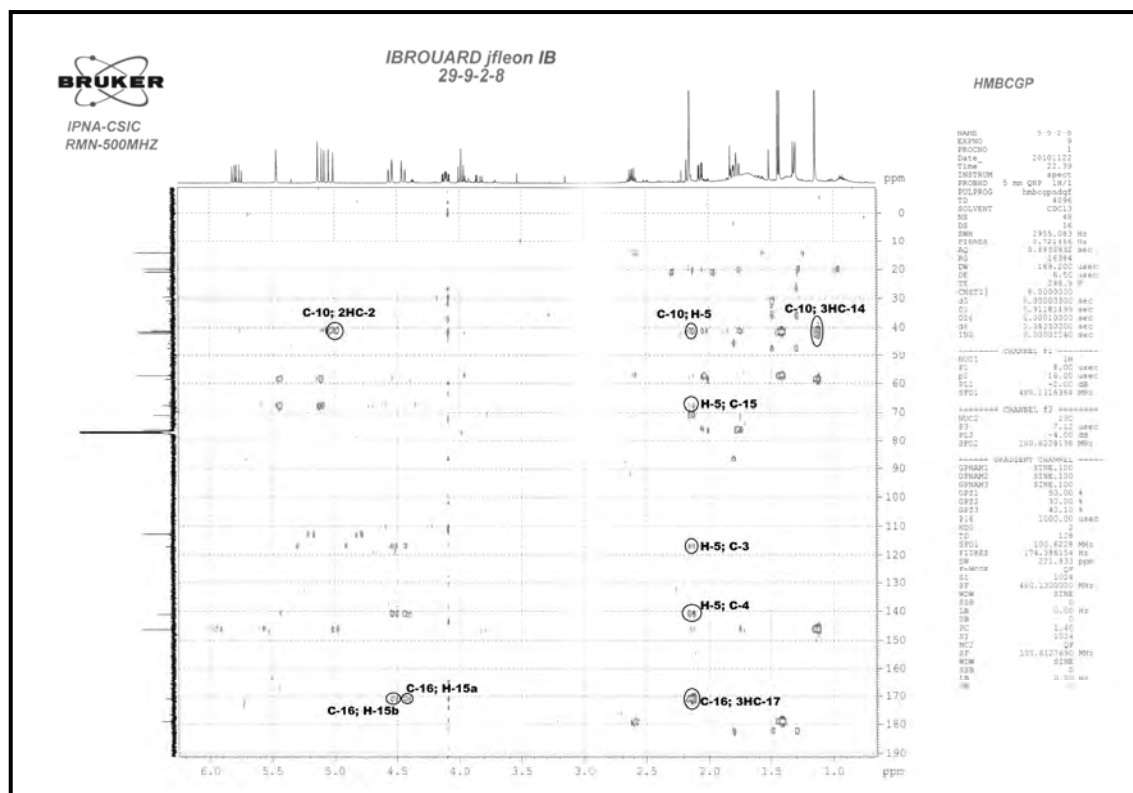
Spectre 7-4-b : étalement du spectre 7-2



Spectre 7-5 : Spectre HSQC (CDCl₃, 500 MHz) du composé 7.



Spectre 7-6 : Spectre COSY (^1H - ^1H) (CDCl_3 , 500 MHz) du composé 7.



Spectre 7-7 : Spectre HMBC (CDCl_3 , 500 MHz) du composé 7.

Tableau 7-2 : Données spectrales de RMN ^1H (CDCl_3 , 500MHz) du composé 7.

H	δ (ppm)	Multiplicité	J [Hz]
1	5,79	<i>dd</i>	17,4 ; 10,7
2a	5,06	<i>d</i>	17,4
2b	5,09	<i>d</i>	10,7
3a	5,13	<i>s</i>	-
3b	5,46	<i>s</i>	-
5	2,16	<i>d</i>	10,1
6	3,98	<i>t</i>	10,1
7	1,81	<i>m</i>	-
8	4,10	<i>ddd</i>	11,12 ; 11,10 ; 3,8
9a	1,77	<i>m</i>	-
9b	2,06	<i>dd</i>	12,0 ; 3,80
11	2,61	<i>qd</i>	12,1 ; 6,90
13	1,43	<i>d</i>	6,95
14	1,14	<i>s</i>	-
15a	4,45	<i>d</i>	13,75
15b	5,09	<i>d</i>	10,70
17	2,15	<i>s</i>	-

IV. 1. 8. Elucidation structurale du composé 8 :

L'examen du spectre RMN ^{13}C (**Spectre-8-1**) de ce composé montre la présence de 19 atomes de carbones. De plus, la comparaison des données de ce spectre avec celui du composé **1** et **5** (**Tableau-8-1**) montre une grande similitude dans les valeurs des déplacements chimiques et l'absence de deux carbones du groupement acétate, cette observation est confirmée dans le spectre de proton où l'on observe l'absence du groupement CH_3 sous forme d'un singulet à $\delta = 2,14$ ppm (**Spectre-8-2**).

Position	δc (Composé 1)	δc (Composé 5)	δc (Composé 8)
1	45,4	45,7	45,4
2	39,1	36,4	39,2
3	73,8	74,7	73,9
4	152,3	147,1	152,3
5	51,4	51,8	51,5
6	78,4	78,0	78,5
7	47,7	47,7	47,7
8	74,6	74,3	74,4
9	37,1	37,3	37,2
10	141,7	141,3	141,8
11	137,4	137,3	137,4
12	168,9	168,9	168,9
13	122,5	122,9	122,7
14	118,2	118,6	118,2
15	113,6	116,2	113,6
1'	164,3	165,3	165,3
2'	135,2	139,3	139,4
3'	129,1	126,8	126,7
4'	62,3	62,4	62,4
OAc	20,8 170,3	21,28 170,8	-

Tableau-8-1 : Déplacement chimique ^{13}C des composés **1**, **5** et **8**.

Sur cette base, on peut en déduire que la structure du composé **8** correspond à celle de la **cynaropicrine** [5].

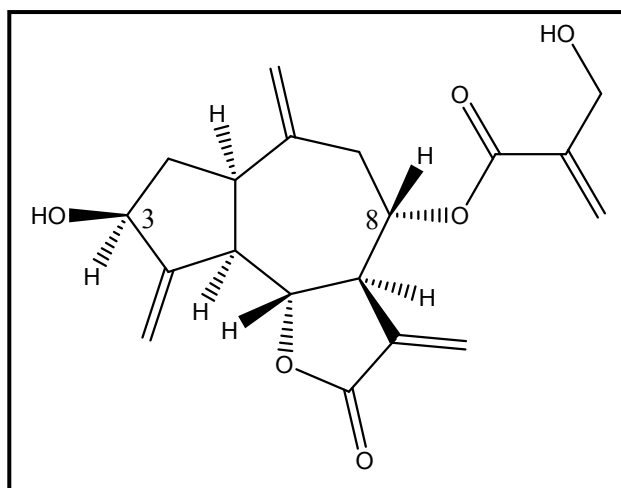
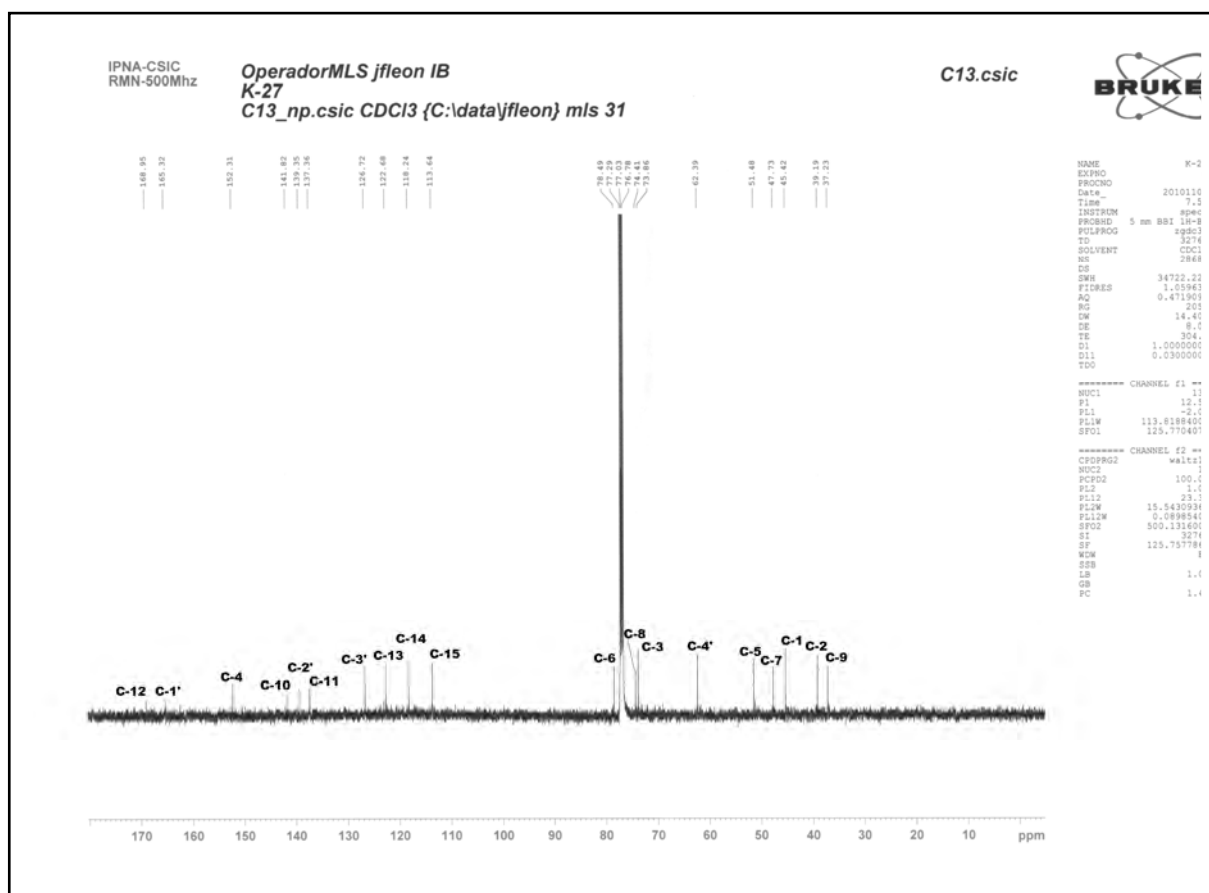
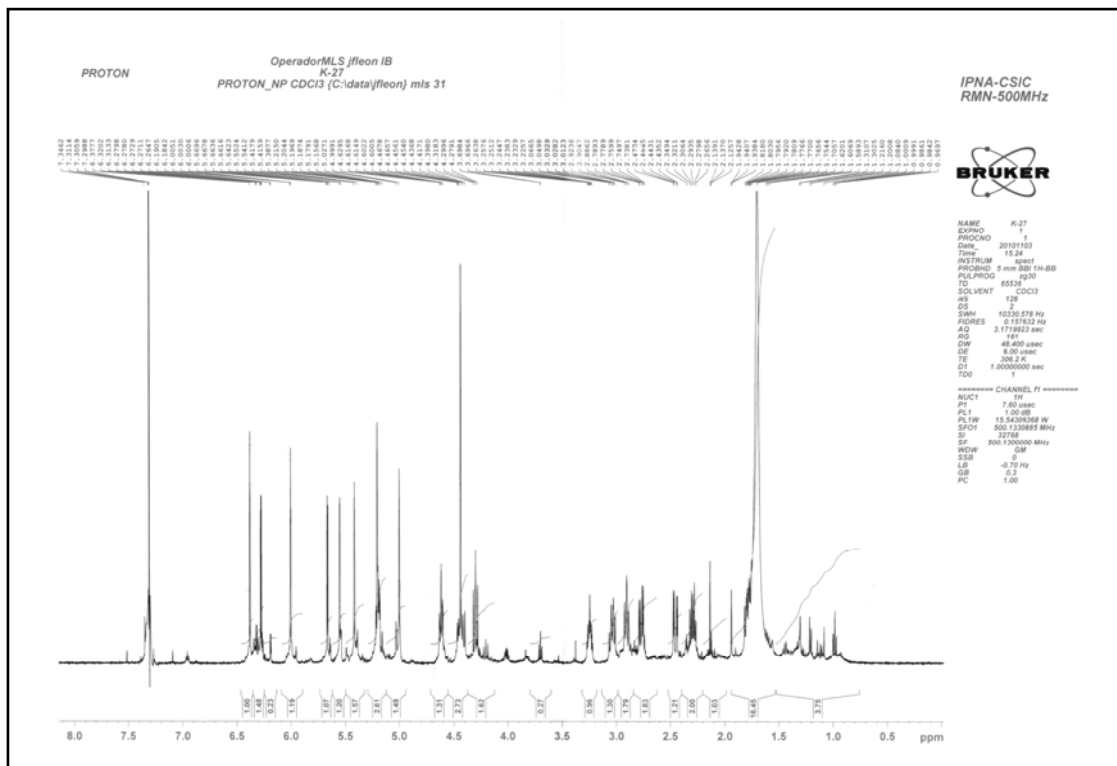


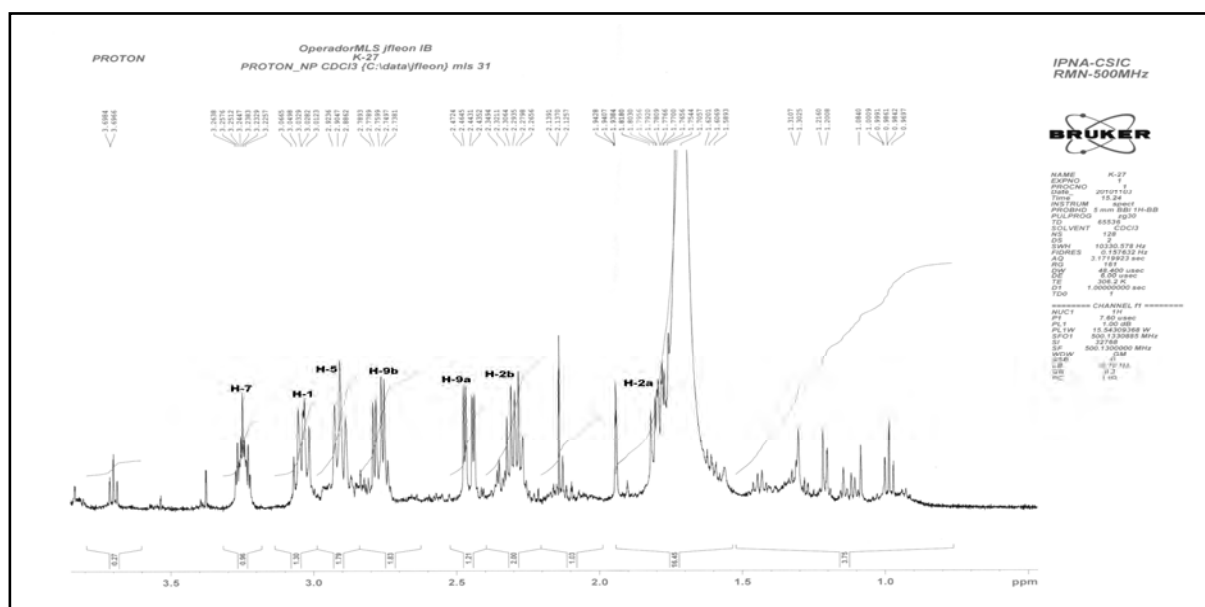
Figure 8-1 : Structure du composé 8.

Toutes les autres données spectroscopiques permettent de confirmer sans ambiguïté cette structure.

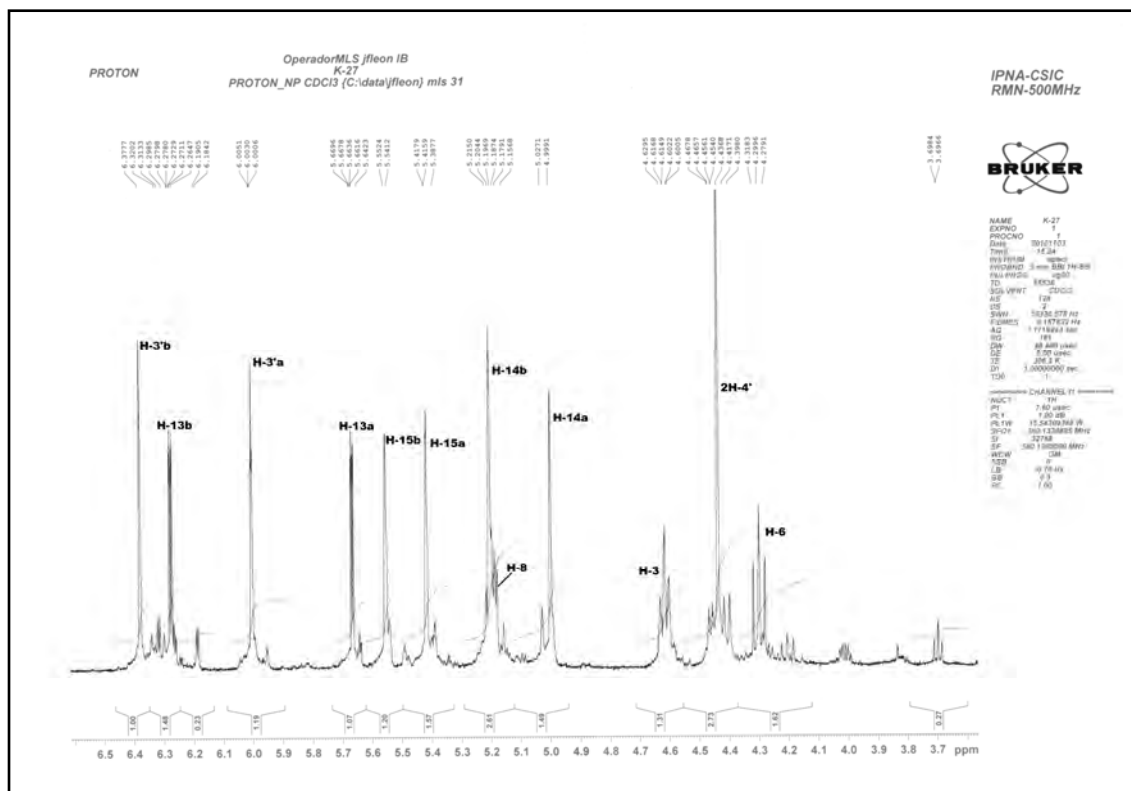
Spectre 8-1 : RMN ¹³C (CDCl₃ ; 500 MHz) du composé 8.



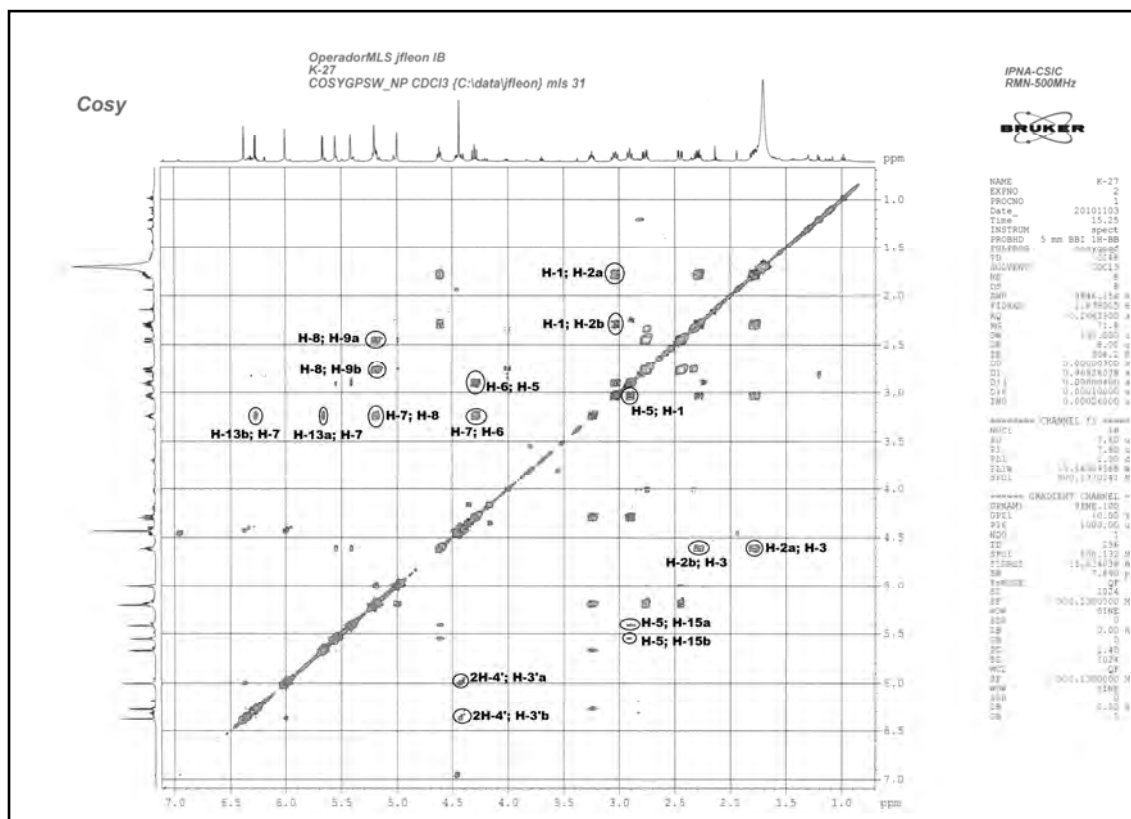
Spectre 8-2 : RMN ¹H (CDCl₃ ; 500 MHz) du composé 8.



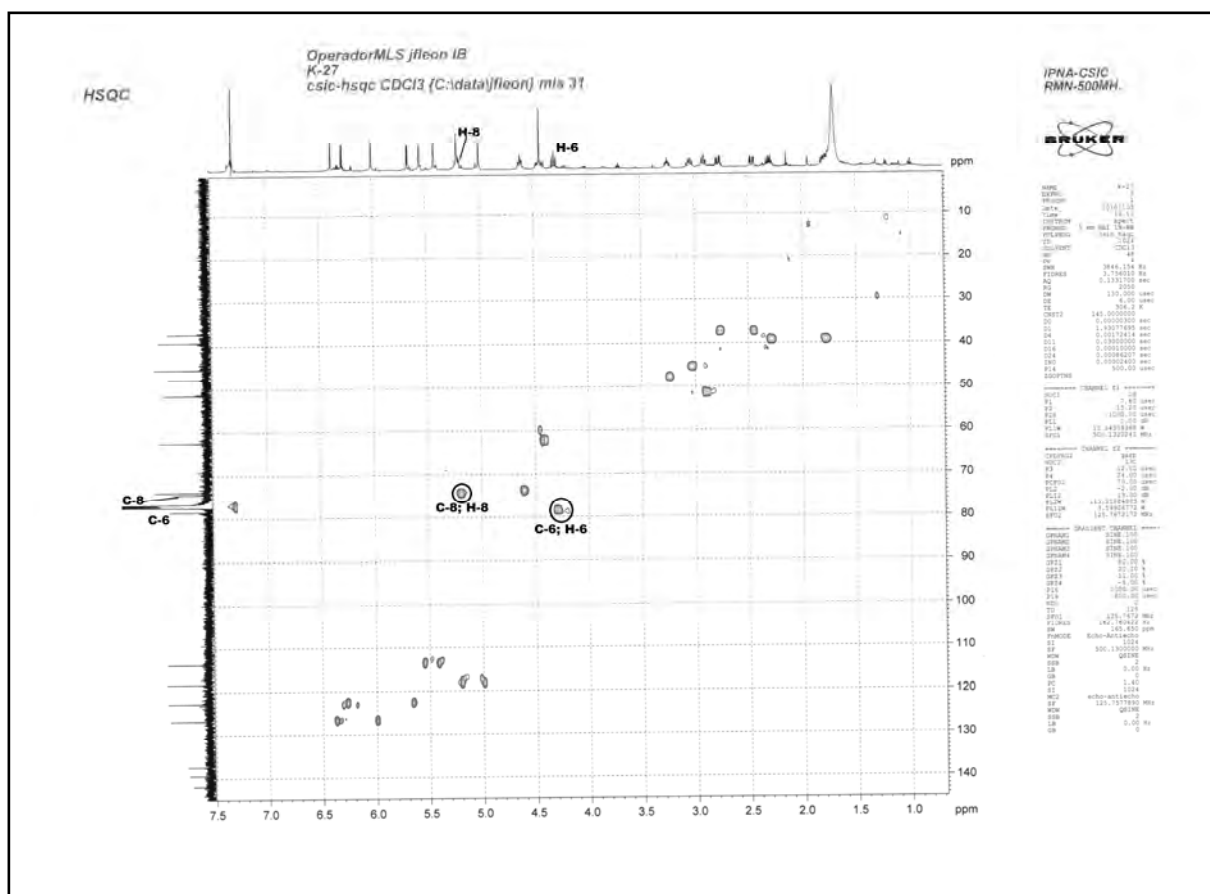
Spectre 8-2-a : Etallement du spectre 8-2.



Spectre 8-2-b : Etalement du spectre 8-2.



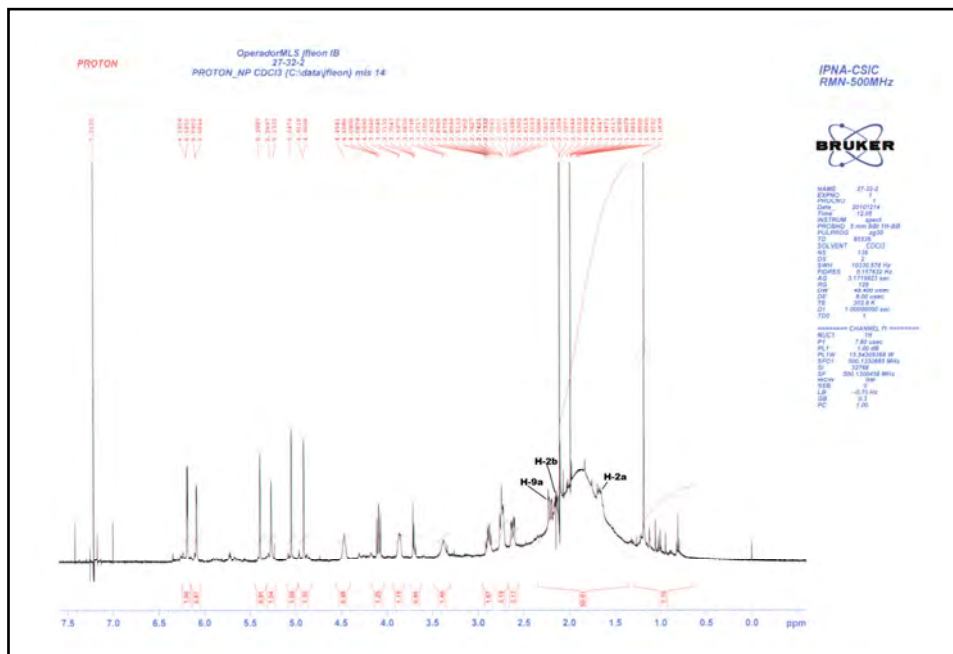
Spectre 8-3 : COSY (^1H - ^1H) (CDCl_3 ; 500 MHz) du composé 8.

Spectre 8-4 : HSQC (CDCl₃ ; 500 MHz) du composé 8.Tableau 8-2 : Données spectrales de RMN ¹H (CDCl₃, 500MHz) du composé 8.

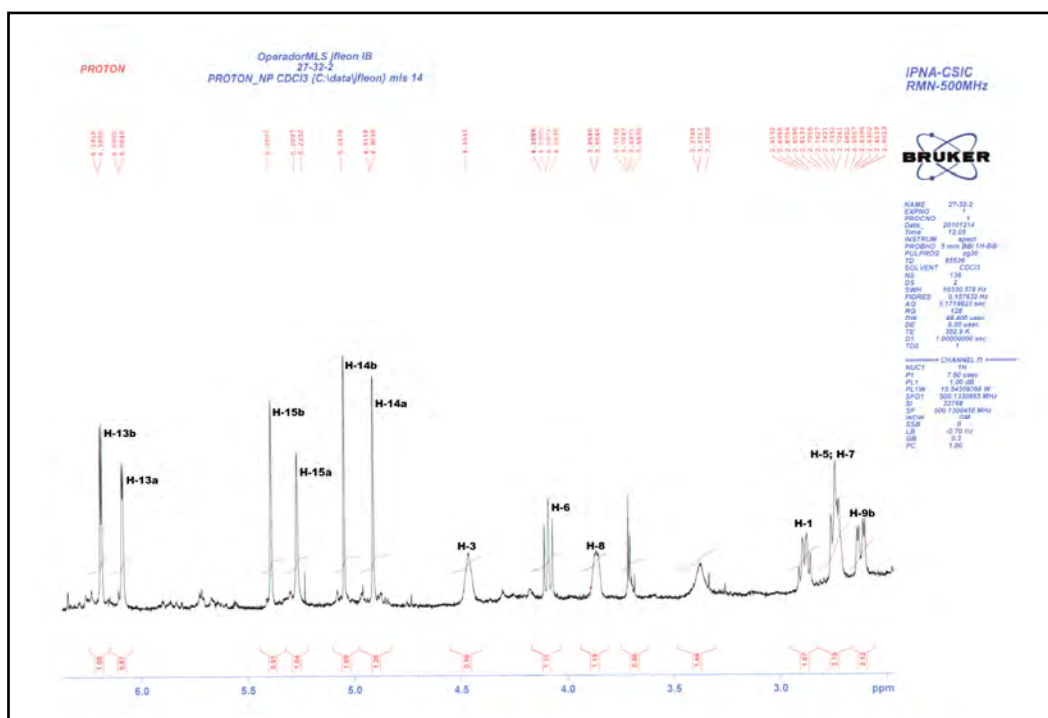
H	δ (ppm)	Multiplécité	J [Hz]
1	3,02	<i>m</i>	-
2a	1,75-1,79	<i>m</i>	-
2b	2,26-2,30	<i>m</i>	-
3	4,61	<i>tt</i>	7,2; 1,0
5	2,90	<i>t</i>	9,4
6	4,29	<i>t</i>	10,2
7	3,24	<i>tt</i>	9,5; 3,2
8	5,19	<i>m</i>	-
9a	2,45	<i>dd</i>	14,7 ; 3,9
9b	2,76	<i>dd</i>	14,7 ; 5,2
13a	5,66	<i>d</i>	3,1
13b	6,27	<i>d</i>	3,4
14a	4,99	<i>s</i>	-
14b	5,20	<i>s</i>	-
15a	5,41	<i>s</i>	-
15b	5,55	<i>s</i>	-
3'a	6,00	<i>t</i>	1,2
3'b	6,37	<i>s</i>	-
4'	4,43	<i>s</i>	-

IV. 1. 9. Elucidation structurale du composé 9 :

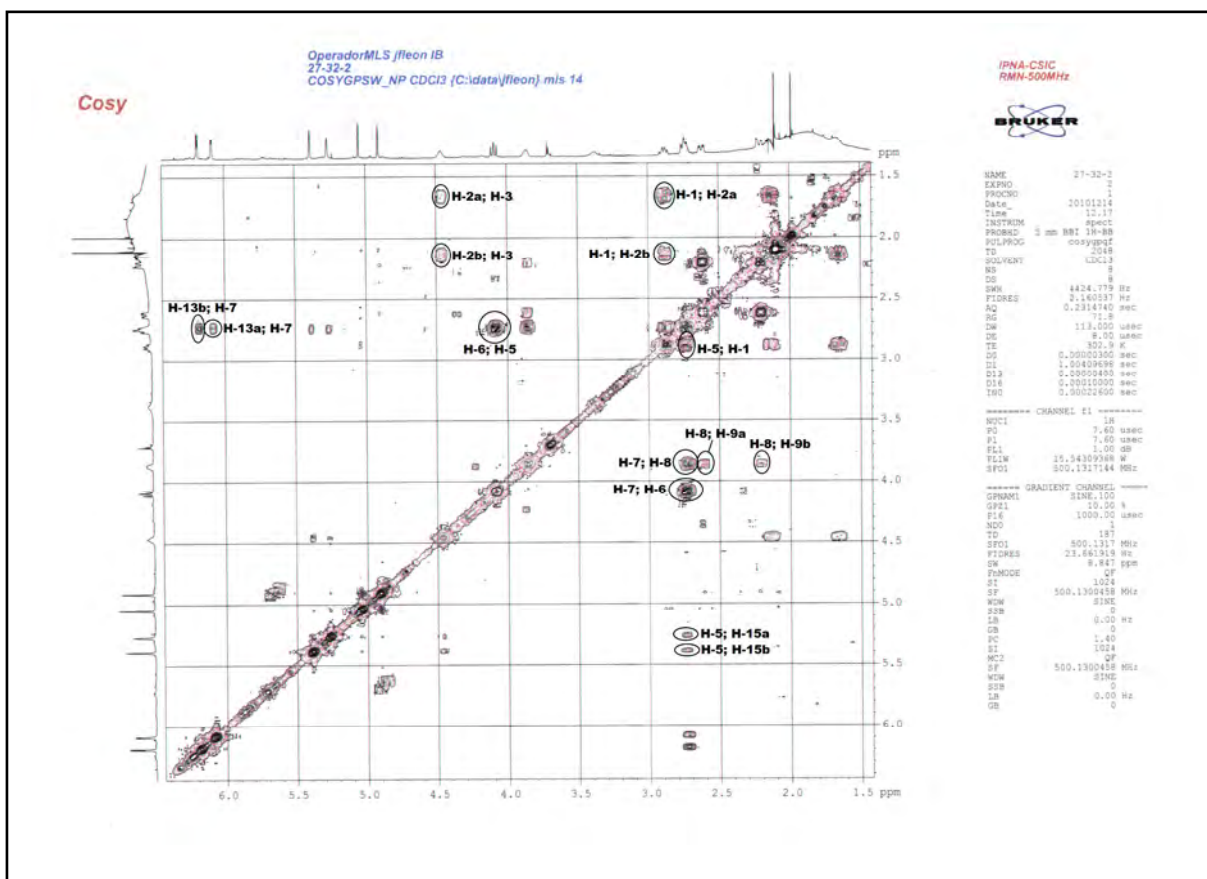
La comparaison des spectres protons de ce composé (**spectre 9-1a**) avec celui du composé 8 (**spectre 8-2b**) montre l'absence des signaux correspondants à la chaîne latérale de l'ester substituée en position 8 (2H-4', H-3'a et H-3'b), ces données permettent de déduire que la structure du composé 9 correspond à celle de la **desacyl cynaropicrine** reportée dans la **figure 9-1**[5].



Spectre 9-1 : RMN ¹H (CDCl₃ ; 500 MHz) du composé 9.



Spectre 9-1-a : Etalement du spectre 9-1.



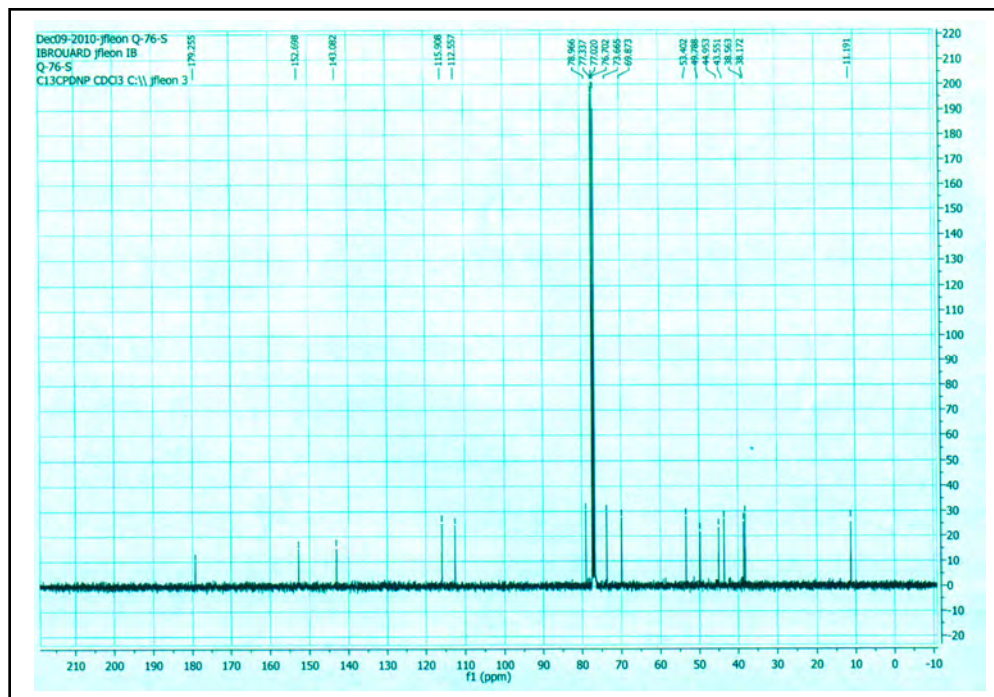
Spectre 9-2 : COSY (^1H - ^1H) (CDCl_3 ; 500 MHz) du composé **9**.

Tableau 9-1 : Données spectrales de RMN ^1H (CDCl_3 , 500MHz) du composé **9**.

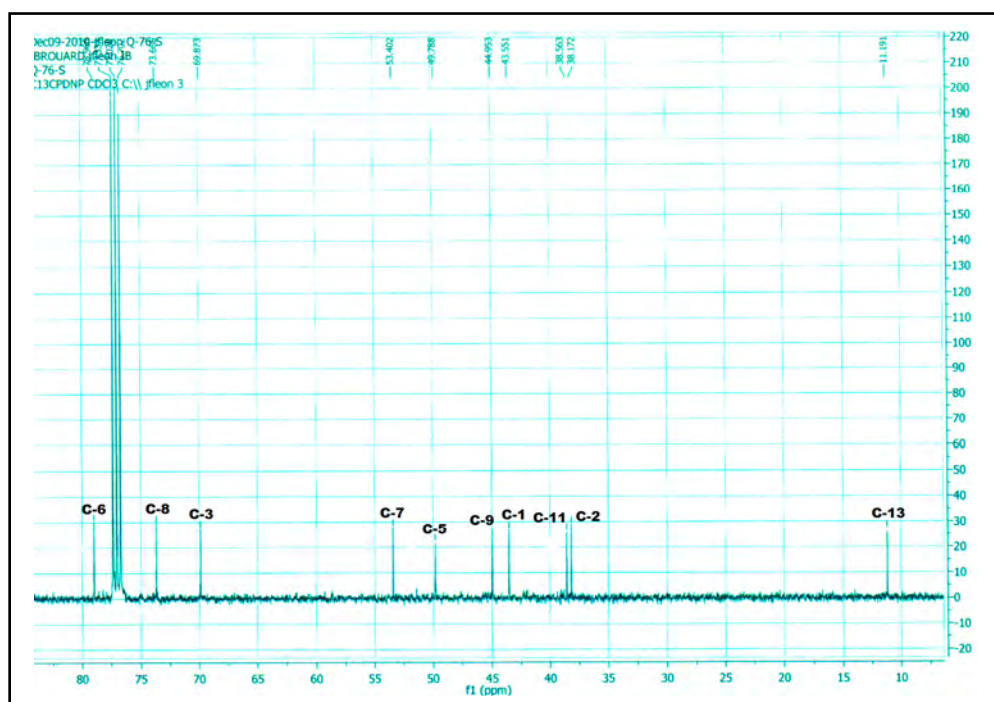
H	δ (ppm)	Multiplicité	J [Hz]
1	2,89	<i>dd</i>	18,8; 8,3
2a	1,82	<i>m</i>	-
2b	2,10	<i>m</i>	-
3	4,46	<i>large</i>	7,2; 1,0
5	2,74	<i>m</i>	-
6	4,09	<i>dd</i>	10,3; 9,3
7	2,74	<i>m</i>	-
8	3,86	<i>large</i>	-
9a	2,21	<i>dd</i>	-
9b	2,62	<i>dd</i>	8,8 ; 4,8
13a	6,09	<i>d</i>	2,8
13b	6,19	<i>d</i>	3,4
14a	4,91	<i>s</i>	-
14b	5,05	<i>s</i>	-
15a	5,27	<i>s</i>	-
15b	5,39	<i>s</i>	-

IV. 1. 10. Elucidation structurale du composé 10 :

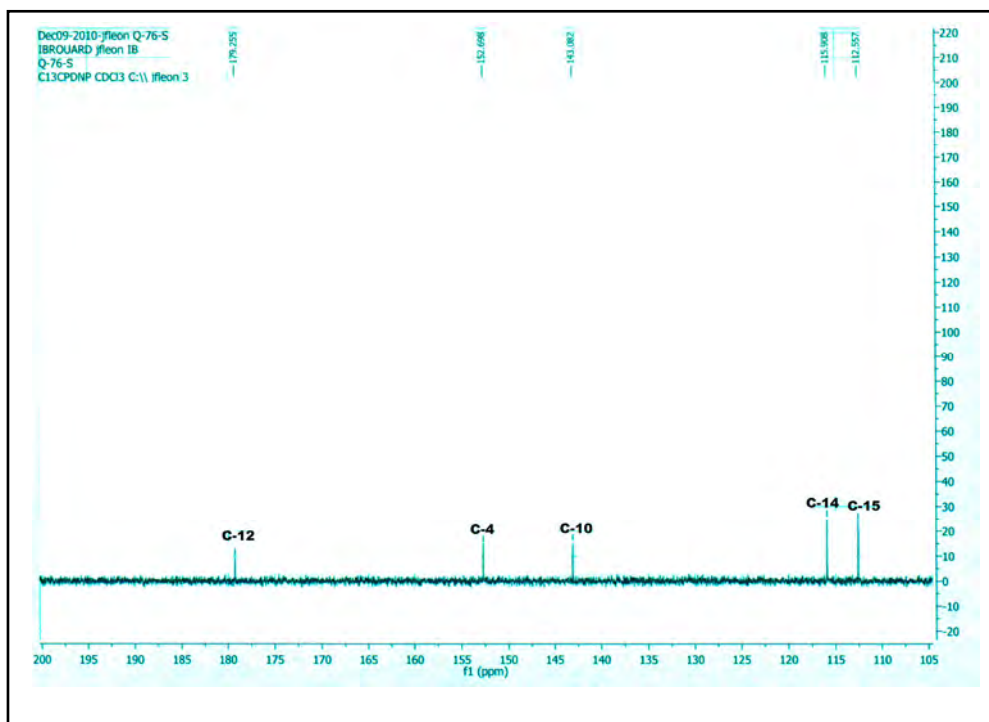
L'étude du spectre RMN ^{13}C (spectre 10-1) de ce composé montre la présence de 15 atomes de carbones, à partir de cette information on peut déduire que notre composé est un sesquiterpène.



Spectre 10-1: Spectre Du RMN ^{13}C (CDCl₃ ; 500MHz) du Composé 10



Spectre 10-1-a: étalement du Spectre 10-1



Spectre 10-1-b: étalement du Spectre 10-1

Le spectre de proton (**spectre 10-2-a**) de ce composé montre d'une part la présence d'un signal sous forme d'un doublet d'intégration de 3 protons à $\delta = 1,31$ ppm ($J = 9,5$ Hz) caractéristique d'un groupement méthyle et d'autre part l'absence des signaux qui caractérisent les deux protons de la double liaison exocyclique d'une γ -lactone α, β -insaturée. Cette donnée explique la réduction de cette double liaison en CH_3 . La constante de couplage signalée plus haut est attribuée à l'interaction des protons du groupement CH_3 avec l'hydrogène en position 11.

A partir de ces données et comparativement avec le spectre proton du composé **9** et selon la littérature on peut conclure que la structure de ce composé est **8-hydroxy-11,13-dihydrozaluzanine C** reportée dans la **figure 10-1**[5].

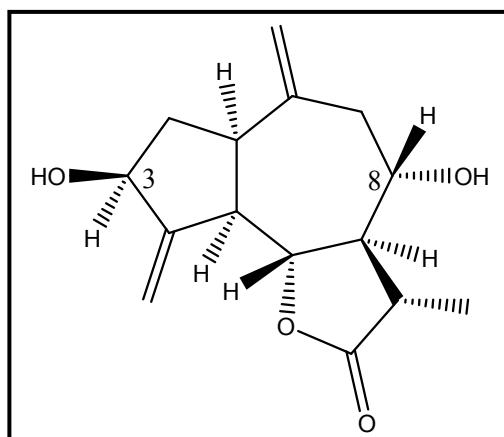
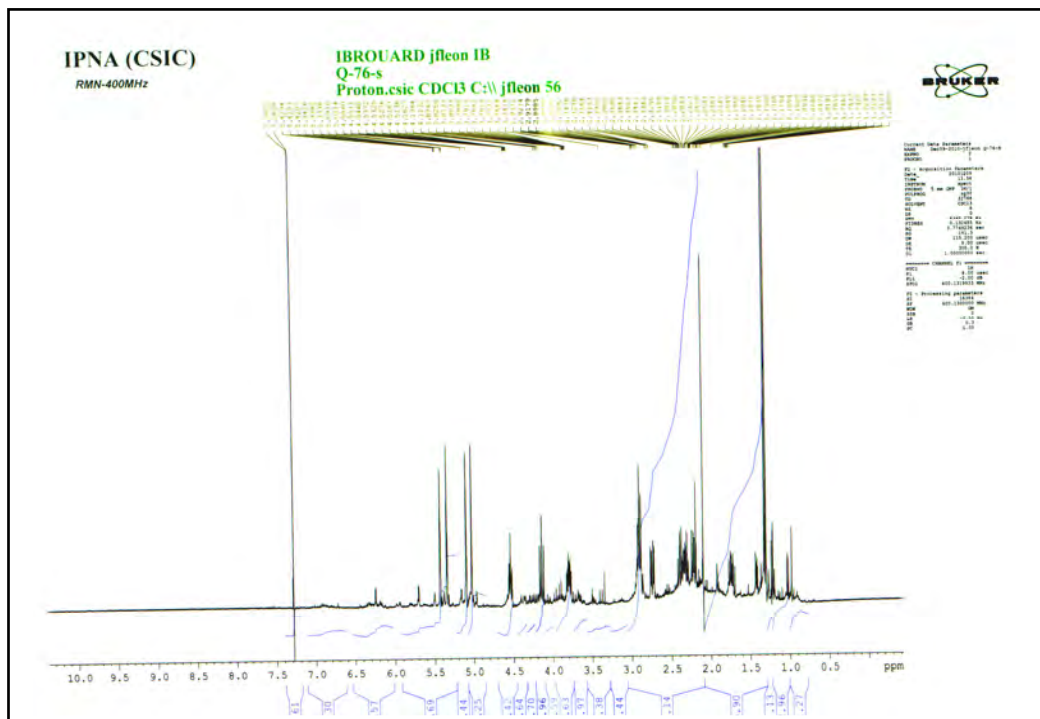
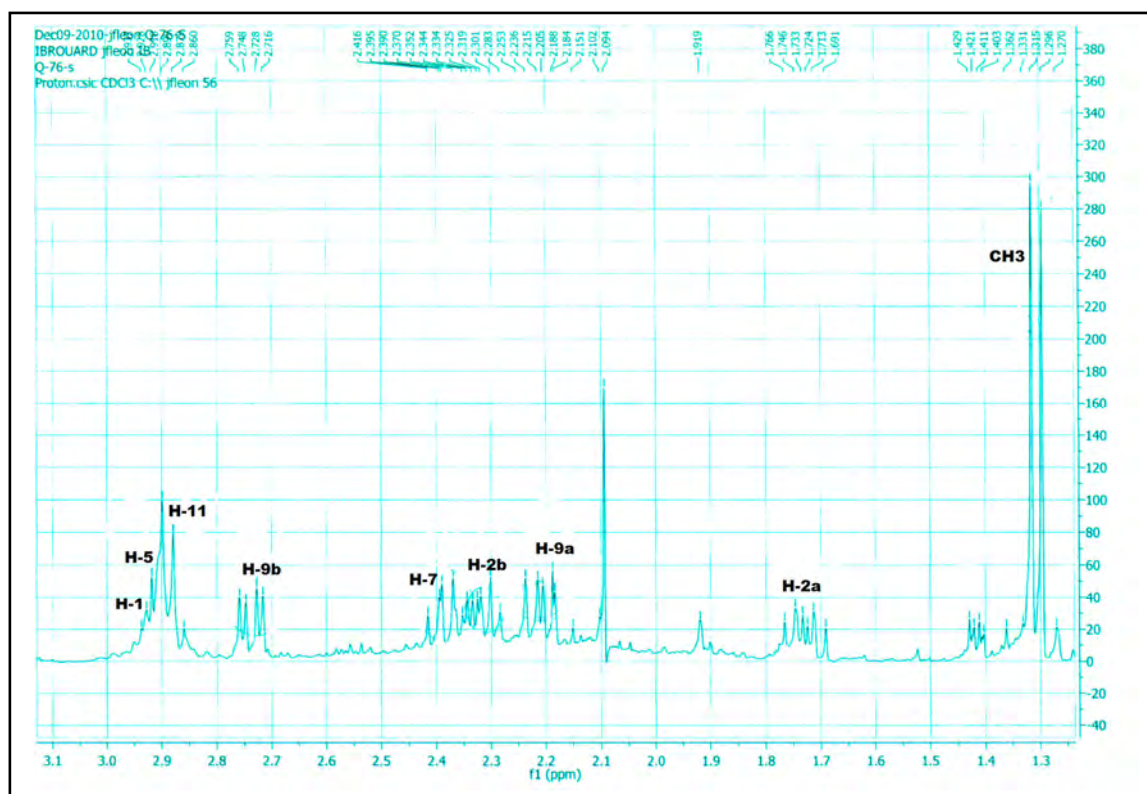


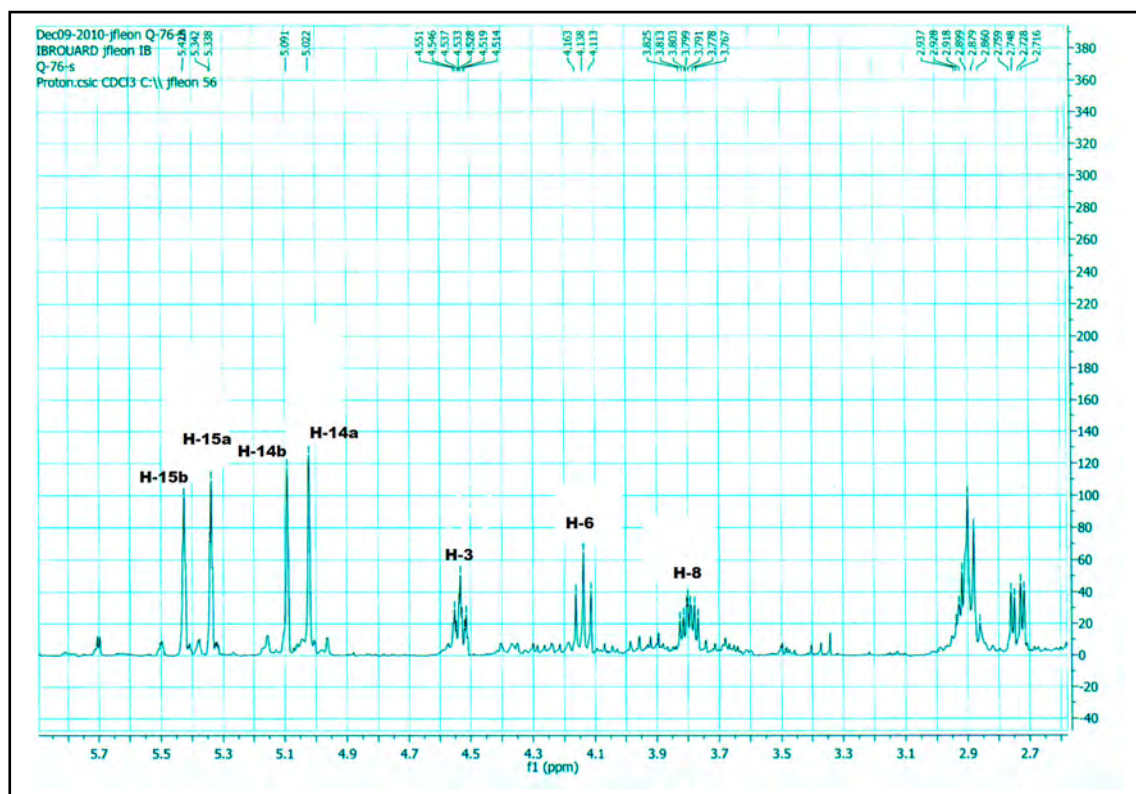
Figure 10-1 : Structure du composé 10.



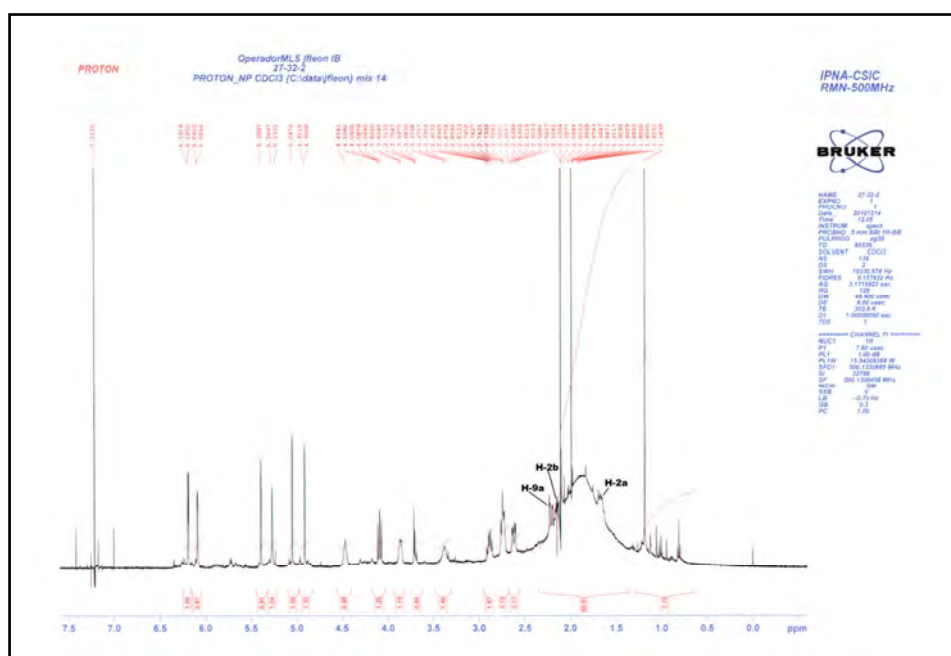
Spectre 10-2 : RMN ^1H (CDCl_3 ; 500 MHz) du composé 10.



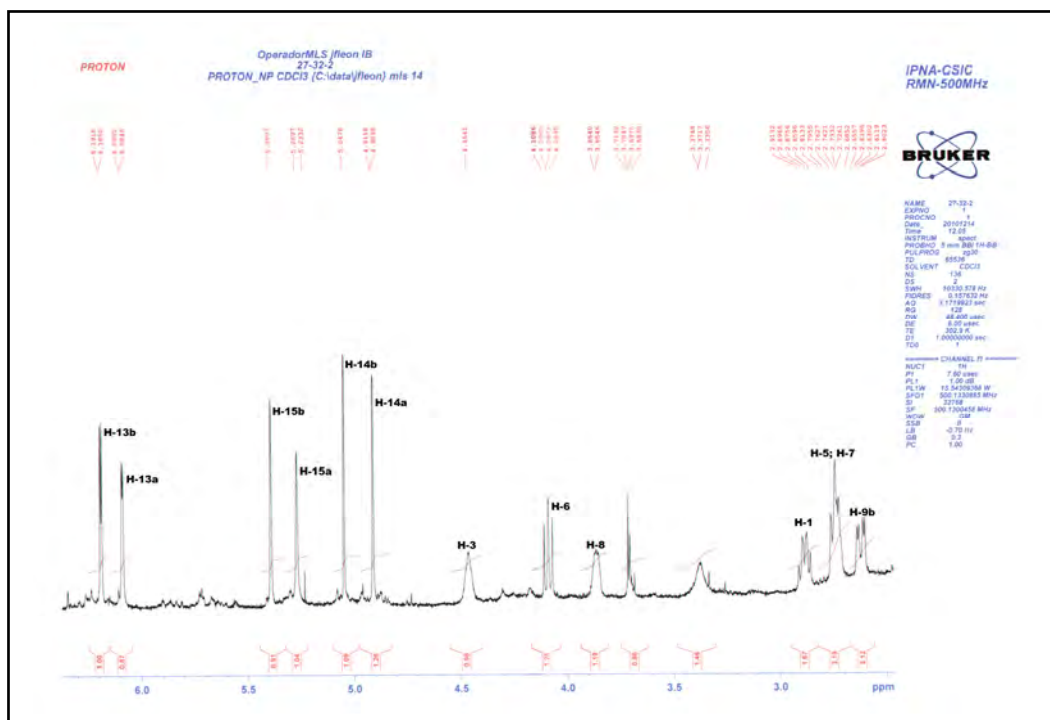
Spectre 10-2-a : Etalement du spectre 10-2.



Spectre 10-2-b : Etalement du spectre 10-2.

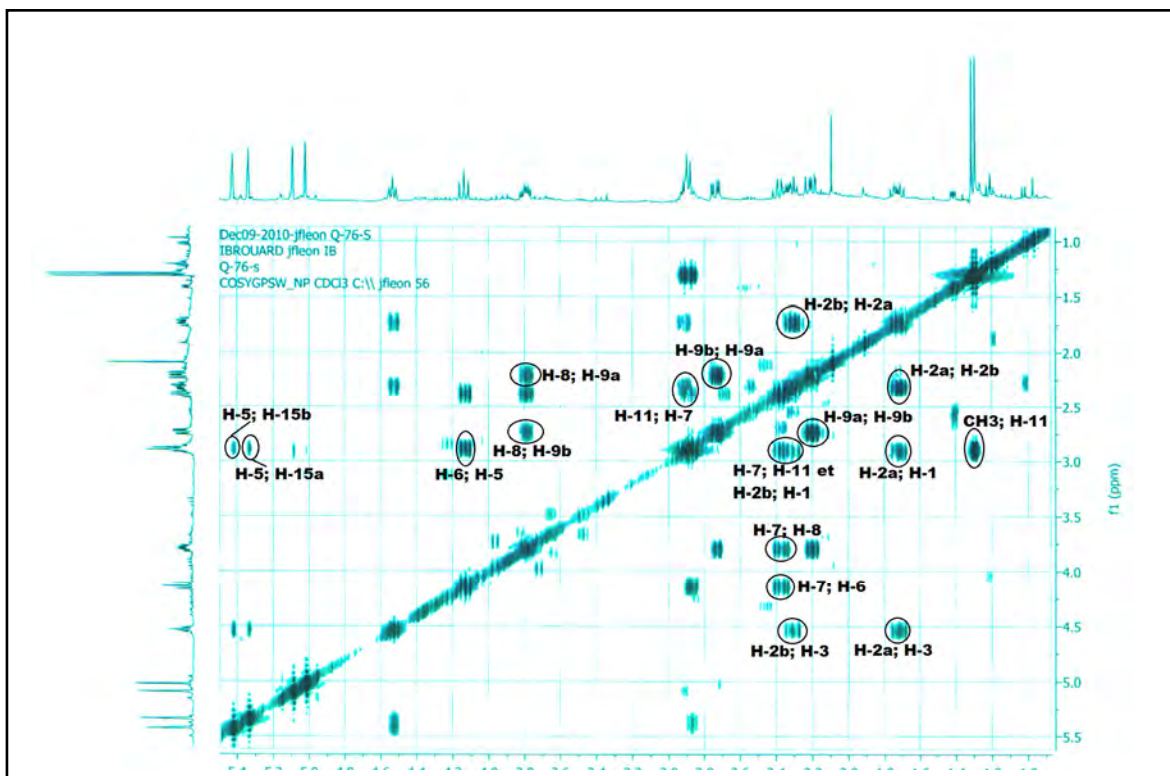


Spectre 9-1 : RMN ^1H (CDCl_3 ; 500 MHz) du composé 9.



Spectre 9-1-a : Etallement du spectre proton du composé 9.

Le spectre COSY (Spectre 10-3) montre toutes les corrélations menant à la structure.



Spectre 10-3 : COSY ($^1\text{H}-^1\text{H}$) (CDCl_3 ; 500 MHz) du composé 10.

Tableau 10-1 : Données spectrales de RMN¹³C ; DEPT135 et DEPT90°(CDCl₃, 500MHz) du composé **10**.

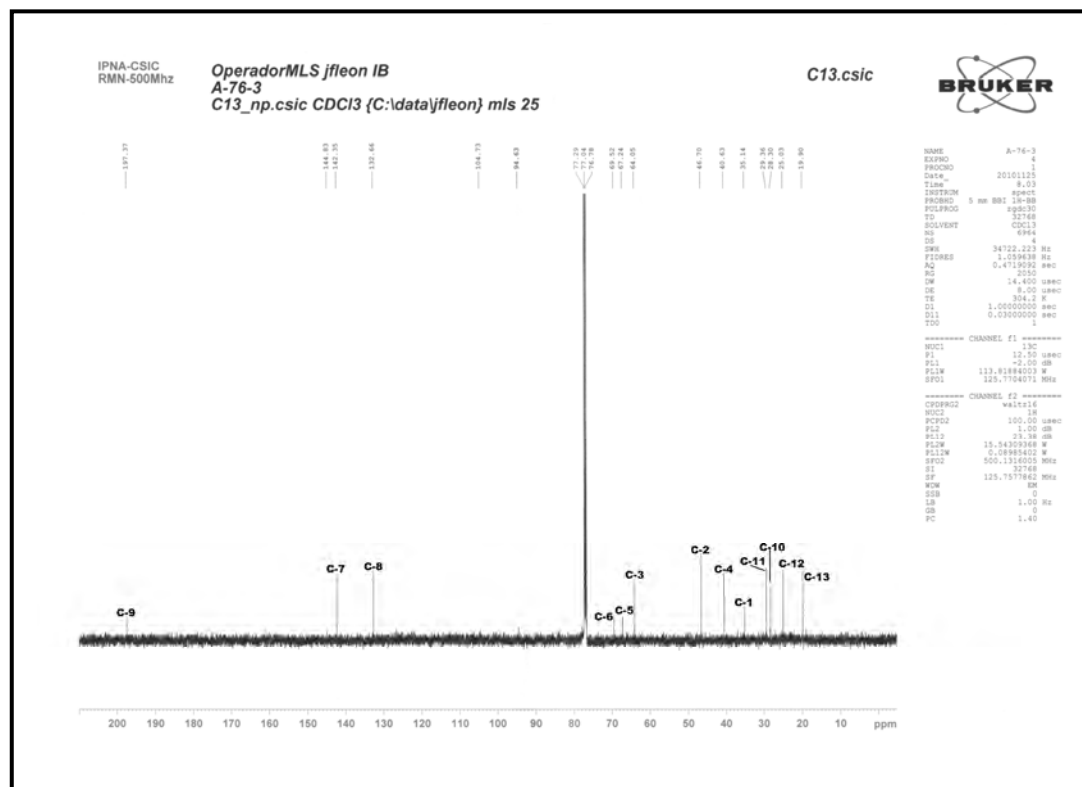
C	δ (ppm)	DEPT et HSQC
1	43,55	CH
2	38,17	CH ₂
3	69,87	CH
4	152,70	Cq
5	49,79	CH
6	78,96	CH
7	53,40	CH
8	73,66	CH
9	44,95	CH ₂
10	143,08	Cq
11	38,56	CH
12	179,25	Cq
13	11,19	CH ₃
14	115,91	CH ₂
15	112,56	CH ₂

Tableau 10-2 : Données spectrales de RMN¹H (CDCl₃, 500MHz) du composé **10**.

H	δ (ppm)	Multiplicité	J [Hz]
1	2,93	<i>recouvert</i>	-
2a	1,73	<i>m</i>	-
2b	2,30-2,35	<i>m</i>	-
3	4,53	<i>tt</i>	9,0; 2,5
5	2,89	<i>recouvert</i>	-
6	4,14	<i>t</i>	12,5
7	2,37-2,41	<i>m</i>	-
8	3,80	<i>m</i>	-
9a	2,09-2,23	<i>m</i>	-
9b	2,73	<i>dd</i>	15,5 ; 5,5
11	2,87	<i>recouvert</i>	-
13	1,30	<i>d</i>	9,5
14a	5,02	<i>s</i>	-
14b	5,09	<i>s</i>	-
15a	5,33	<i>t</i>	2,2
15b	5,42	<i>t</i>	2,1

IV. 1. 11. Elucidation structurale du composé 11 :

L'examen du spectre RMN ^{13}C (**Spectre-11-1**) de ce composé montre la présence de 13 atomes de carbones. Cette information montre que notre composé ne peut être qu'un monoterpène.



Spectre 11-1 : RMN ^{13}C (CDCl_3 ; 500 MHz) du composé 11.

Le spectre de proton (**spectre 11-2**) montre deux doublets à $\delta = 7,07$ ppm ($J = 15,6$ Hz) et $\delta = 6,33$ ppm ($J = 15,6$ Hz). Ces signaux montrent un couplage éthylénique de configuration *Trans* d'où la présence de l'entité reportée dans la **figure 11-1**.

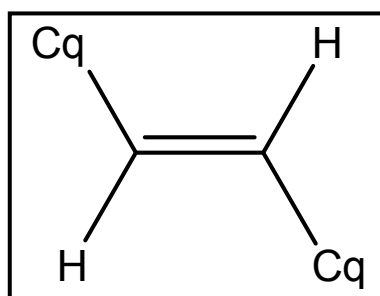


Figure 11-1 : entité présente dans la molécule.

Sur le même spectre, on constate la présence d'un signal d'intégration de trois protons à $\delta = 2,32$ ppm caractéristique d'un groupement méthyle proche d'un carbonyle vu leur déplacement chimique d'où la présence de l'entité reportée dans la **figure 11-2** dans la molécule.

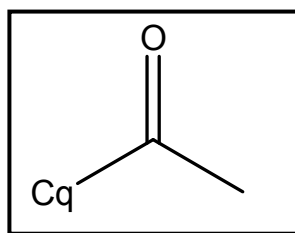


Figure 11-2 : entité présente dans la molécule.

Les données spectroscopiques de ce composé sont conformes d'après la littérature à la **3-Hydroxy-5 α , 6 α -epoxy- β -ionone** reportée dans la **figure 11-3** [6].

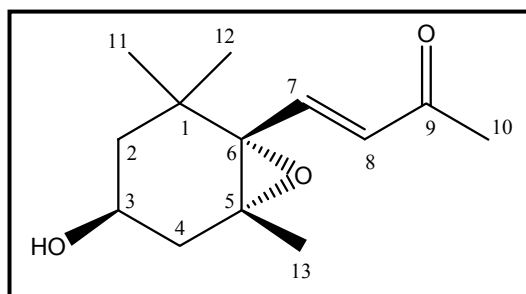
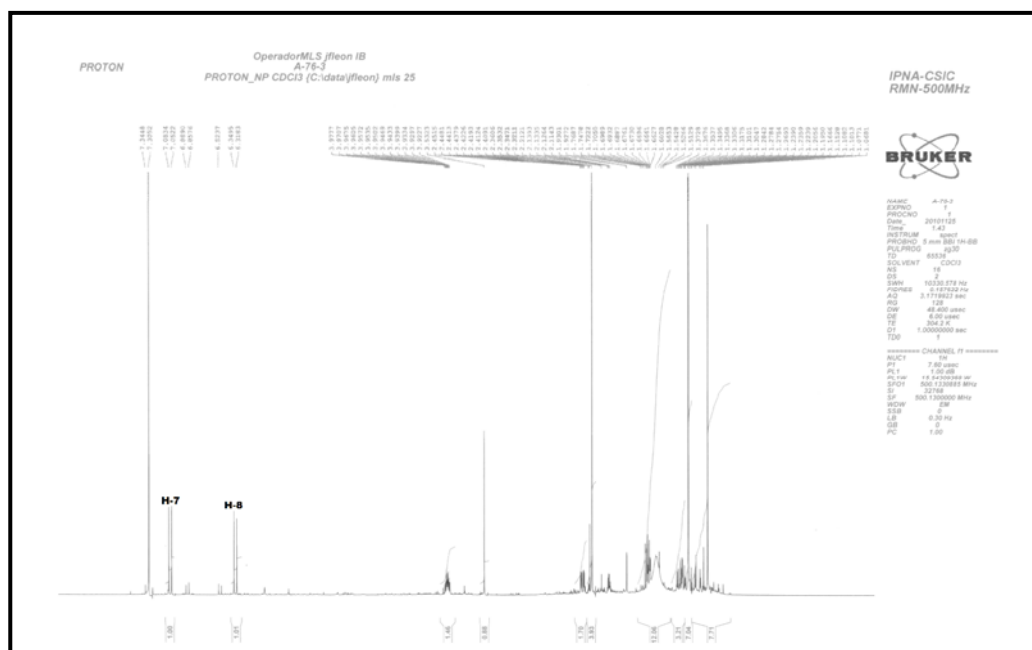


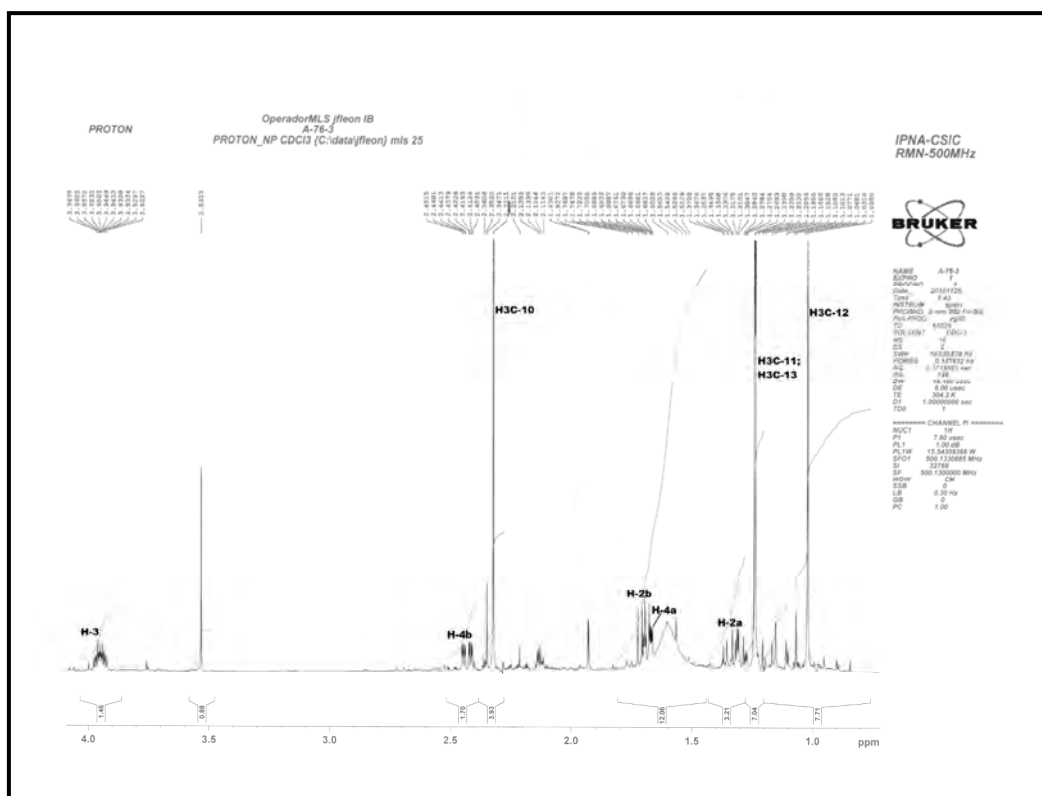
Figure 11-3 : Structure du composé 11.

Toutes ces informations sont confirmées dans le spectre de HSQC (**Spectre-11-3**) où l'on observe des taches de corrélations entre chaque proton et le carbone qui le porte. Surtout les deux protons H-2a et H-2b qui sont portés par le même carbone C-2 et H-4a, H-4b qui sont portés par C-4.

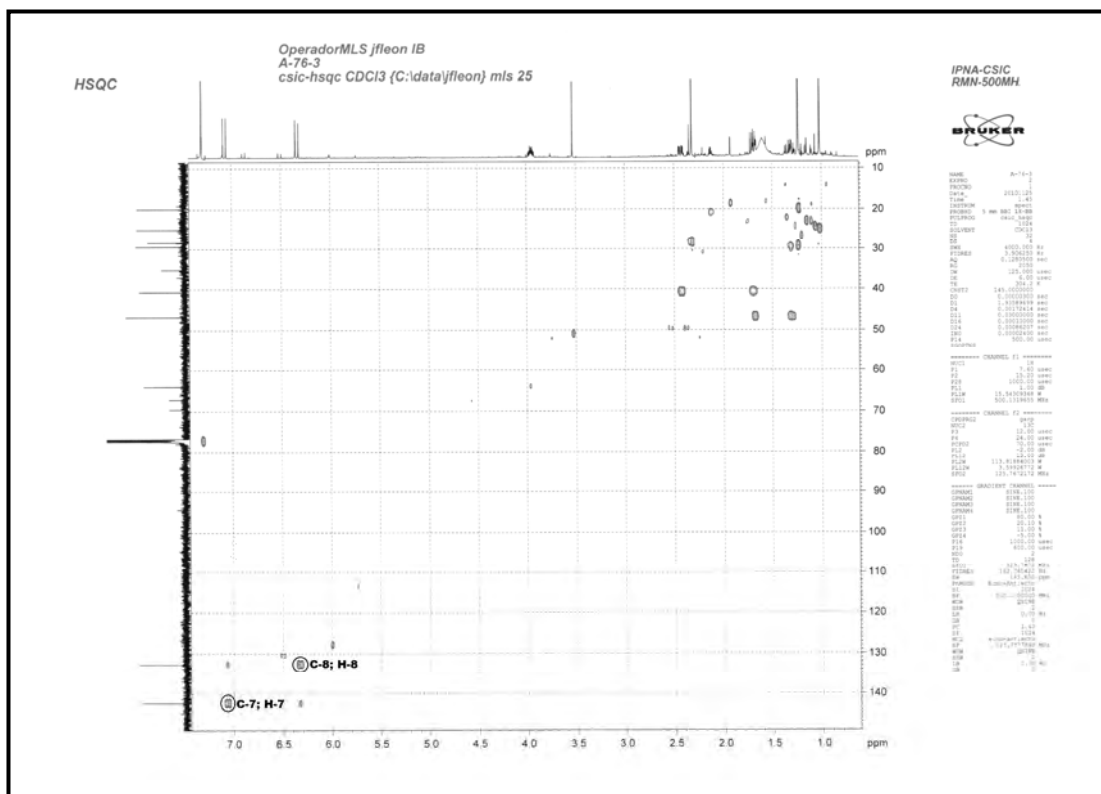
Alors que les carbones 1, 5, 6 et 9 ne présentent aucune tache de corrélation sur le même spectre ce qui explique que ces positions sont des carbones quaternaires.



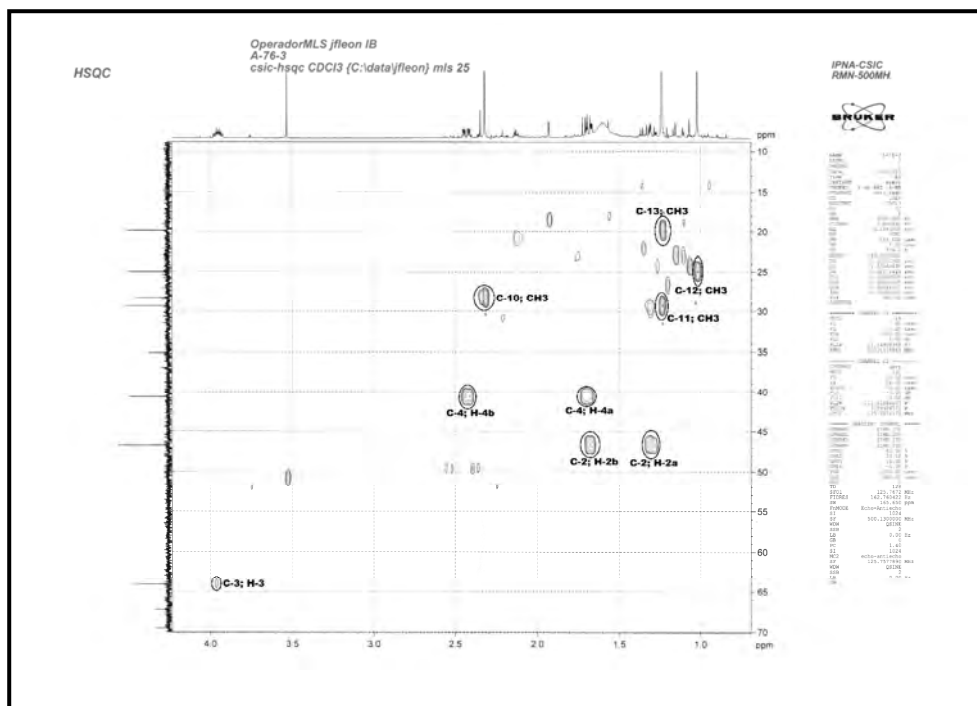
Spectre 11-2 : RMN ^1H (CDCl_3 ; 500 MHz) du composé 11.



Spectre 11-2-a : Etalement du spectre 11-2.



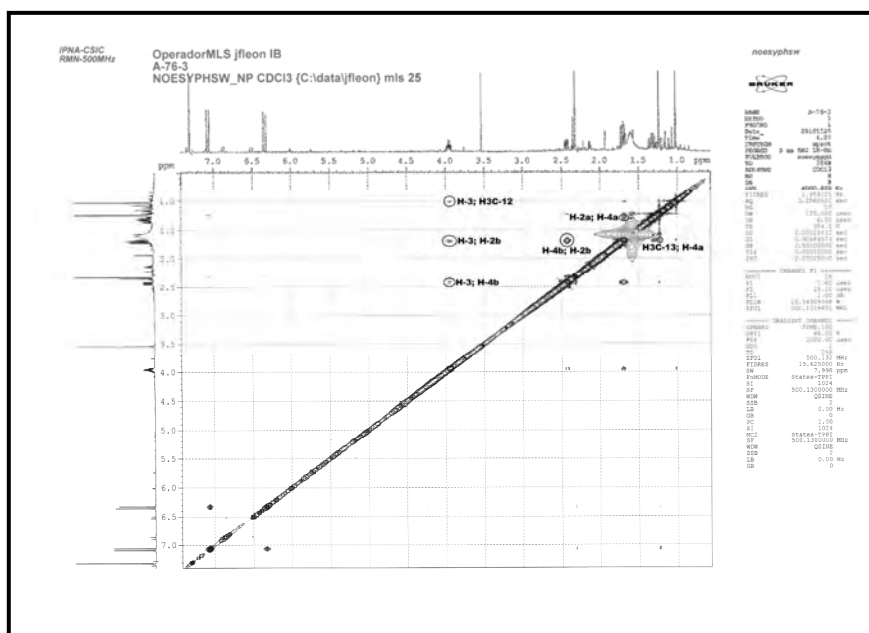
Spectre 11-3 : HSQC (CDCl₃ ; 500 MHz) du composé 11.



Spectre 11-3-a : Etallement du spectre 11-3.

La stéréochimie de cette molécule est confirmée sur le spectre de NOESY (**Spectre-11-4**) où l'on observe des taches de corrélation entre le proton H-3 et les protons H-4b, H-2b et les protons de méthyle en position 12 ce qui explique que ces protons soient en même configuration α avec le proton H-3. Cette information est confirmée par la présence une tache de corrélation entre H-4b et H-2b.

A l'inverse le proton H-4a montre une tache de corrélation avec le proton H-2a et les protons de méthyle en position 13 avec H-4a. Ce qui explique que ces protons sont en même configuration β .



Spectre 11-4 : NOESY (CDCl₃ ; 500 MHz) du composé 11.

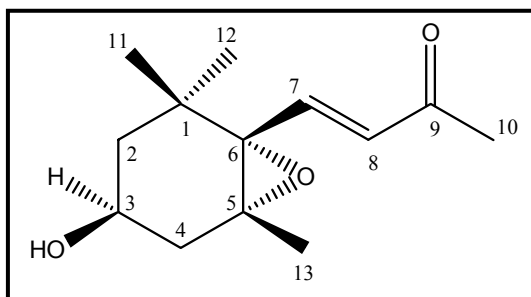


Figure 11-4 : Structure finale du composé 11.

Tableau 11-1 : Données spectrales de RMN¹³C (CDCl₃, 500MHz) du composé 11.

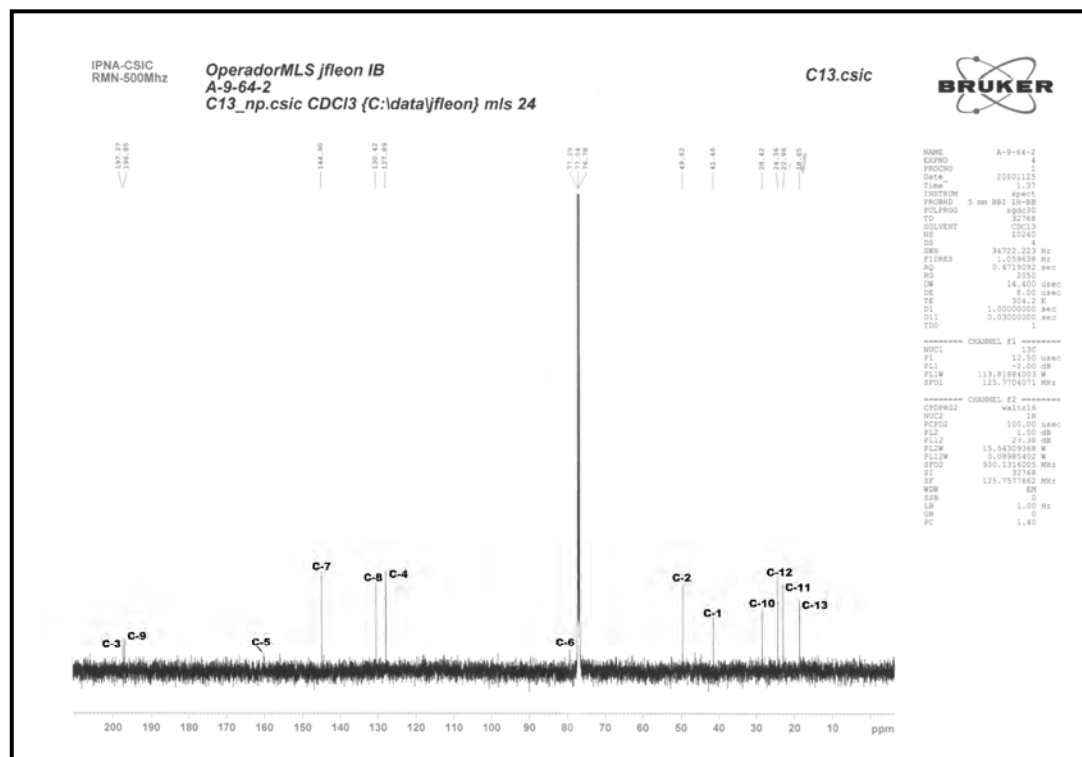
Position	δc (Composé 11)
1	35,14
2	46,7
3	64,05
4	40,63
5	67,24
6	69,52
7	142,35
8	132,66
9	197,37
10	28,30
11	29,36
12	25,03
13	19,90

Tableau 11-2 : Données spectrales de RMN ^1H (CDCl_3 , 500MHz) du composé **11**.

H	δ (ppm)	<i>Multiplicité</i>	<i>J</i> [Hz]
2a	1,31	<i>dd</i>	12,9; 10,2
2b	1,69	<i>dd</i>	14,4; 8,6
3	3,95	<i>m</i>	-
4a	1,7	<i>m</i>	-
4b	2,43	<i>ddd</i>	14,4; 5,1; 1,6
7	7,07	<i>d</i>	15,6
8	6,33	<i>d</i>	15,6
10	2,32	<i>s</i>	-
11	1,23	<i>s</i>	-
12	1,02	<i>s</i>	-
13	1,23	<i>s</i>	-

IV. 1. 12. Elucidation structurale du composé 12 :

L'examen du spectre RMN ^{13}C (**Spectre-12-1**) de ce composé montre la présence de 13 atomes de carbones. Cette information montre que notre composé peut être un monoterpène.



Spectre 12-1 : RMN ^{13}C (CDCl_3 ; 500 MHz) du composé 12.

Le spectre de proton (**spectre 12-2**) montre deux doublets à $\delta = 6,87$ ppm ($J = 15,7$ Hz) et $\delta = 6,51$ ppm ($J = 15,7$ Hz). Ces signaux montrent un couplage éthylénique de configuration *Trans* d'où la présence de l'entité reportée dans la **figure 12-1**.

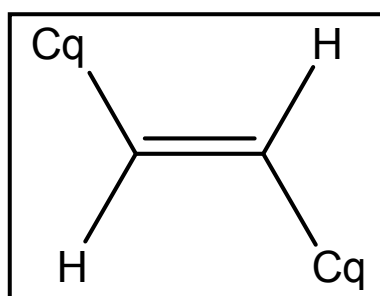


Figure 12-1 : entité présente dans la molécule.

En plus d'un signal sous forme d'un triplet à $\delta = 6,00$ ppm ($J = 1,1$ Hz) caractéristique d'un proton éthylénique.

Sur le même spectre, on constate la présence d'un signal d'intégration de trois protons à $\delta=2,34$ ppm caractéristique d'un groupement méthyle proche d'un carbonyle vu leur déplacement chimique d'où la présence de l'entité reportée dans la **figure 12-2** dans la molécule.

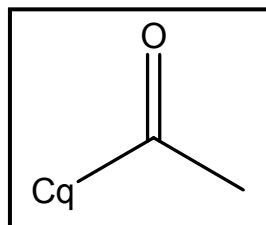


Figure 11-2 : entité présente dans la molécule.

Les données spectroscopiques de cette molécule sont conformes, d'après la littérature au **Dehydrovomifoliol** reportée dans la **figure 12-3** [6].

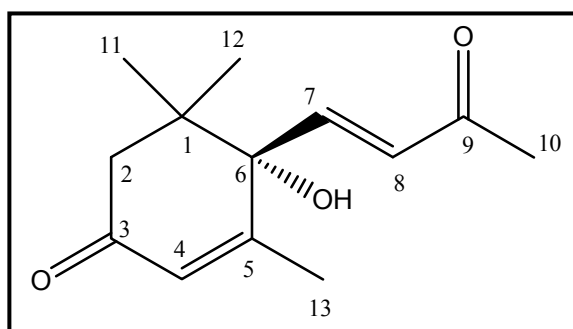
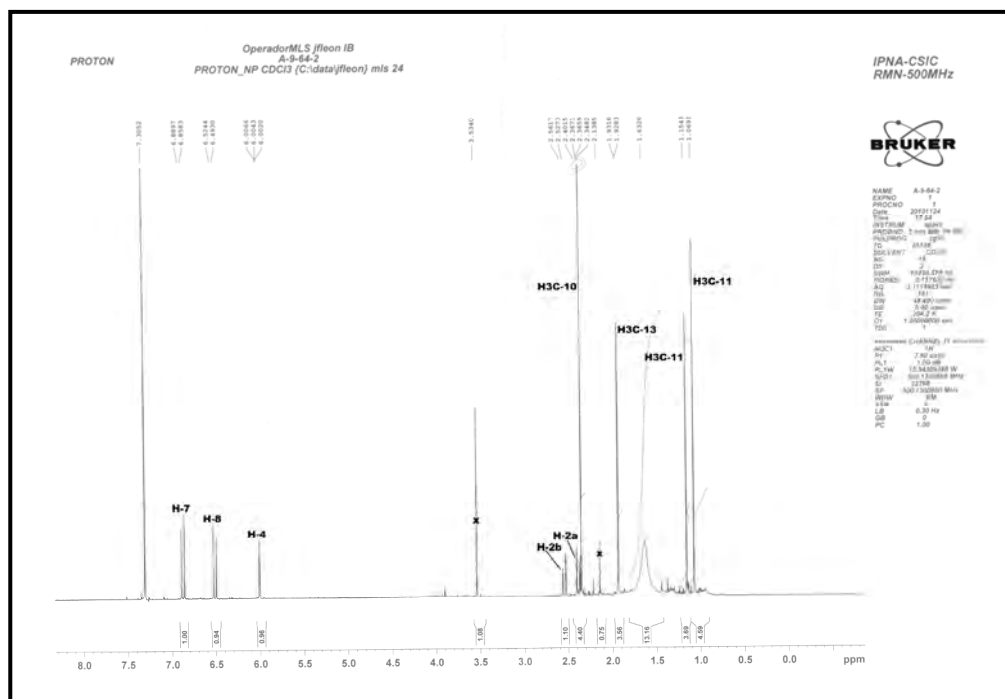


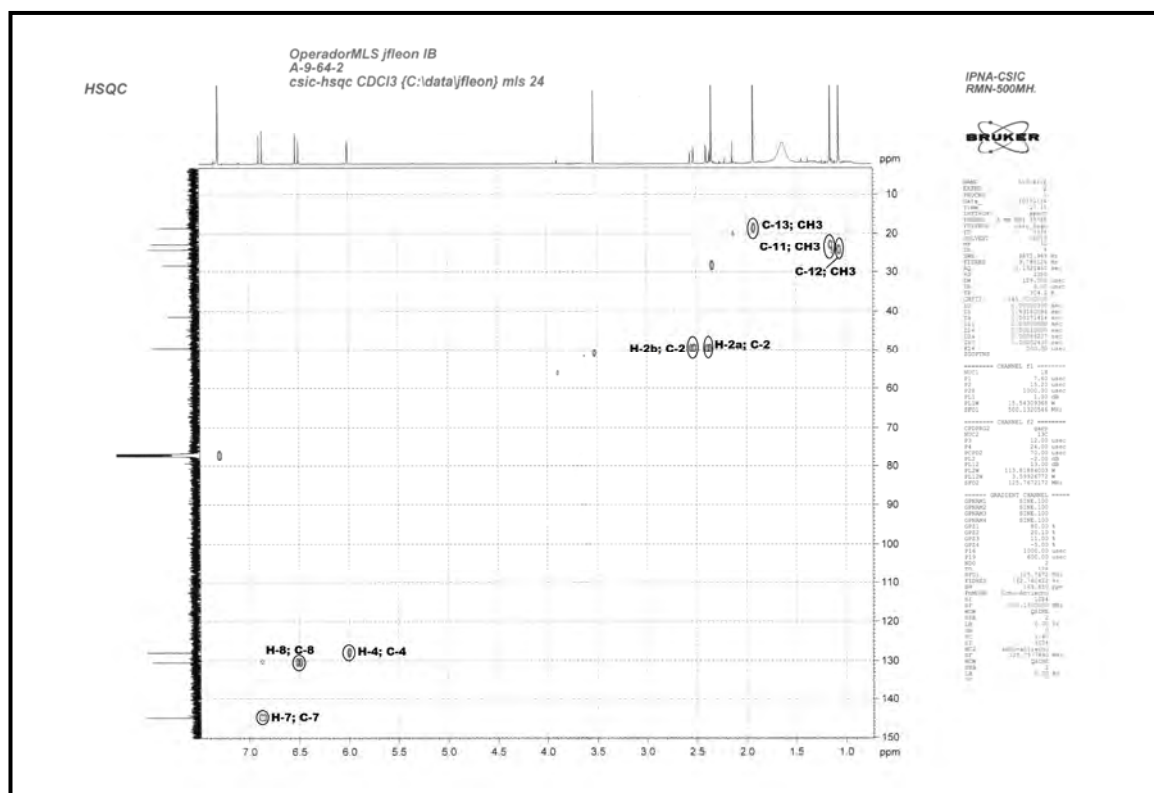
Figure 12-3 : Structure du composé **12**.

Toutes ces informations sont confirmées dans le spectre de HSQC (**Spectre-11-3**) où l'on observe des taches de corrélations entre chaque proton et le carbone qui le porte. Surtout les deux protons H-2a et H-2b qui sont portés par le même carbone C-2.

Alors que les carbones 1, 5, 6 et 9 ne présentent aucune tache de corrélation sur le même spectre ce qui explique que ces positions sont des carbones quaternaires.



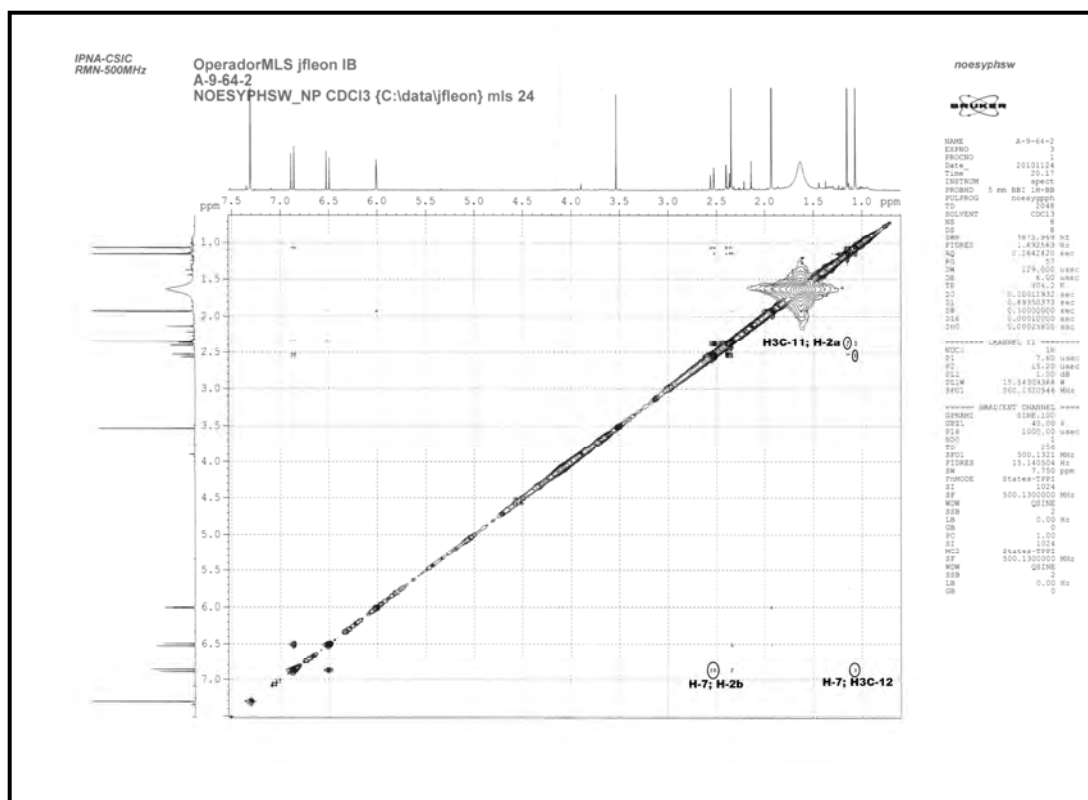
Spectre 12-2 : RMN ¹H (CDCl₃ ; 500 MHz) du composé 12.



Spectre 12-3 : HSQC (CDCl₃ ; 500 MHz) du composé 12.

La stéréochimie de cette molécule est confirmée sur le spectre NOESY (**Spectre-12-4**) où l'on observe des taches de corrélation entre le proton H-7 et les protons de méthyle en position 12 et le proton H-2b ce qui explique que ces protons sont en même configuration β avec le proton H-3. Cette information est confirmée par la présence d'une tache de corrélation entre les protons de méthyle en position 12 et H-2b.

A l'inverse, les protons de méthyle en position 13 montrent une tache de corrélation avec le proton H-2a. Ce qui explique que ces protons sont en même configuration α .



Spectre 12-4 : NOESY (CDCl_3 ; 500 MHz) du composé **12**.

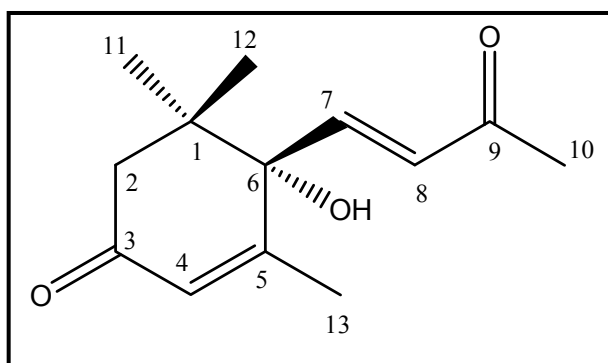


Figure 12-4 : Structure finale du composé **12**.

Tableau 12-1 : Données spectrales de RMN¹³C (CDCl₃, 500MHz) du composé **12**.

Position	δc (Composé 11)
1	41,46
2	49,62
3	197,27
4	127,89
5	159,00
6	79,00
7	144,90
8	130,42
9	196,85
10	28,42
11	22,96
12	24,36
13	18,65

Tableau 12-2 : Données spectrales de RMN¹H (CDCl₃, 500MHz) du composé **12**.

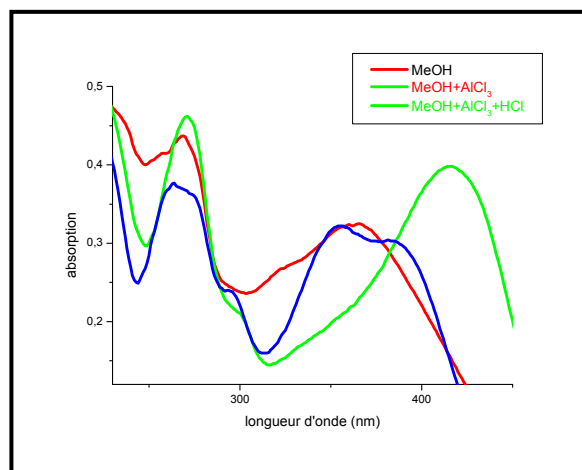
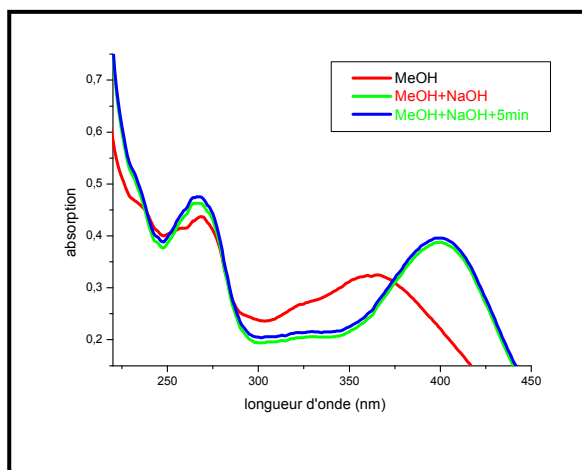
H	δ (ppm)	Multiplicité	J [Hz]
2a	2,39	<i>d</i>	17,2
2b	2,55	<i>d</i>	17,2
4	6,00	<i>t</i>	1,1
7	6,87	<i>d</i>	15,7
8	6,51	<i>d</i>	15,7
10	2,35	<i>s</i>	-
11	1,15	<i>s</i>	-
12	1,02	<i>s</i>	-
13	1,07	<i>s</i>	-

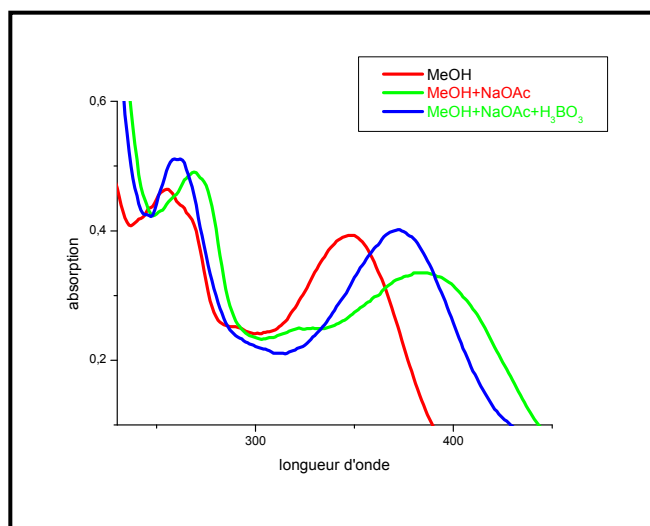
IV. 1. 13. Elucidation structurale du composé 13:

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

L'étude de la série spectrale UV (**spectre 13-1**) montre que :

- Le maximum d'absorption de la bande I à 340 nm dans le spectre enregistré dans le méthanol indique qu'il s'agit d'un flavonoïde de type flavone.
- L'addition de NaOH provoquant un déplacement bathochrome de la bande I ($\Delta\lambda = + 52$ nm) avec augmentation de l'intensité lumineuse. Cette observation indique la présence d'un OH libre en position 4'. Par ailleurs, l'apparition d'une nouvelle bande à 326 nm indique la présence d'un OH libre en position 7.
- L'addition de NaOAc provoquant un déplacement bathochrome de la bande II ($\Delta\lambda = + 7$ nm) par rapport au spectre MeOH confirme la présence d'un OH libre en 7.
- Le déplacement bathochrome de la bande I enregistré dans le milieu ($\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$) comparativement à celui enregistré dans le méthanol ($\Delta\lambda = + 40$ nm) indique la présence d'un OH libre en 5.
- L'absence de déplacement hypsochrome de la bande I en comparant les spectres $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ et AlCl_3 , laisse prévoir l'absence d'un système ortho dihydroxylé sur le cycle B.





Spectre 13-1 : Série spectrale UV du Composé 13.

L'ensemble des données de la série spectrale UV est reporté dans le **tableau 13-1**.

Réactifs	Bande I	Autres bandes		Bande II	Commentaire
MeOH	340	/		269	flavone
MeOH +NaOH	392	326		275	OH libre en 4' OH libre en 7
MeOH +NaOH+5mn	392	326		275	Spectre stable
MeOH +AlCl ₃	381	348	302	275	OH libre en 5
MeOH +AlCl ₃ /HCl	378	342	301	277	Pas de ortho di-OH Sur le cycle B
MeOH +NaOAc	375	301		275	OH libre en 7
MeOH +NaOAc/H ₃ BO ₃	342	/		269	/

Tableau 13-1 : Données de la série spectrale UV du composé 13.

Ces données mènent à la structure partielle reportée dans la **figure 13-1**.

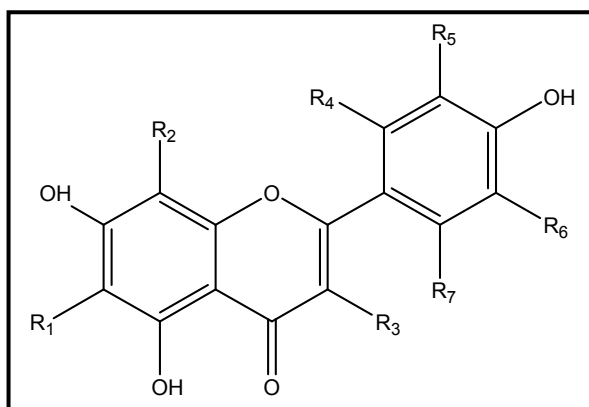
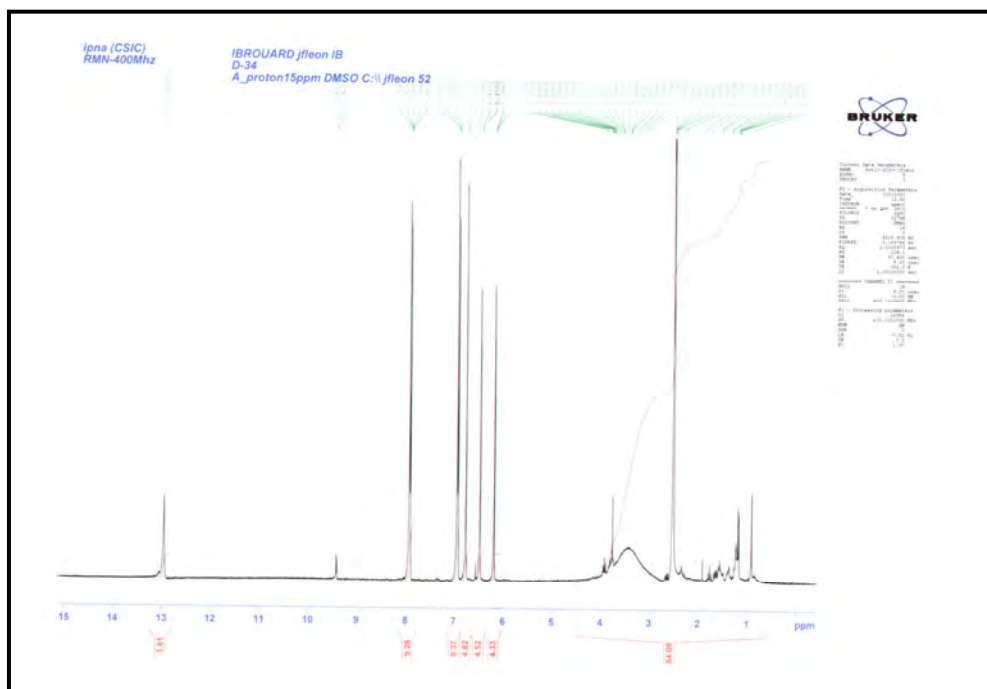
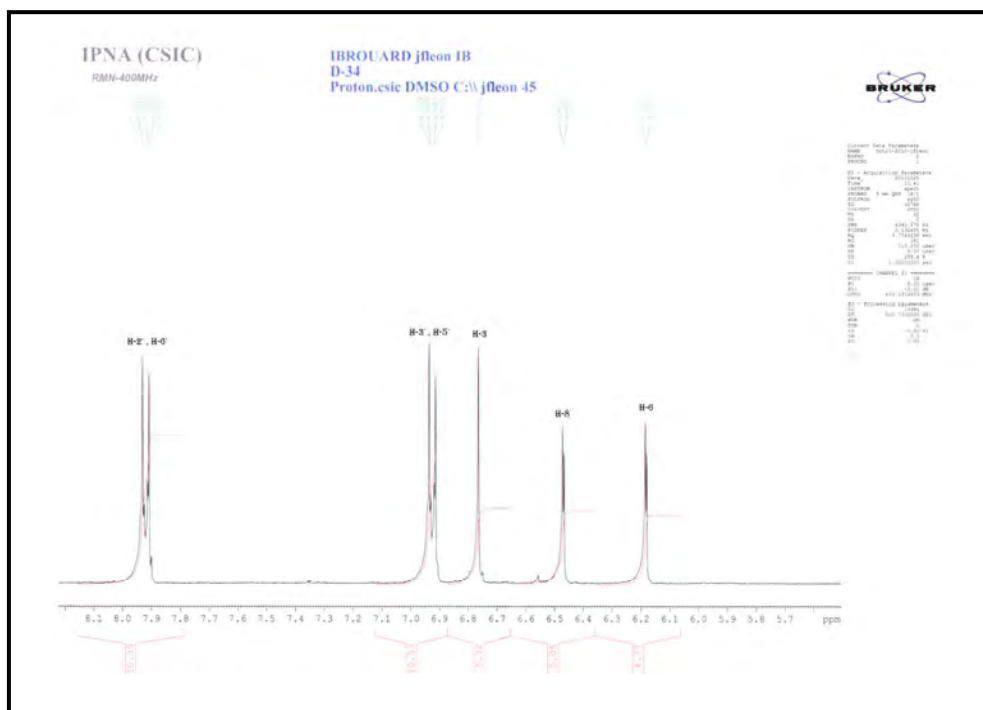


Figure 13-1 : Structure partielle du composé 13.

Avec R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆ et R₇ différents d'OH.



Spectre 13-2 : RMN de ¹H (DMSO ; 400 MHz) de composé 13.



Spectre 13-2-a : étalement du spectre 13-2.

L'examen du spectre RMN ^1H (**spectre 13-2**) montre :

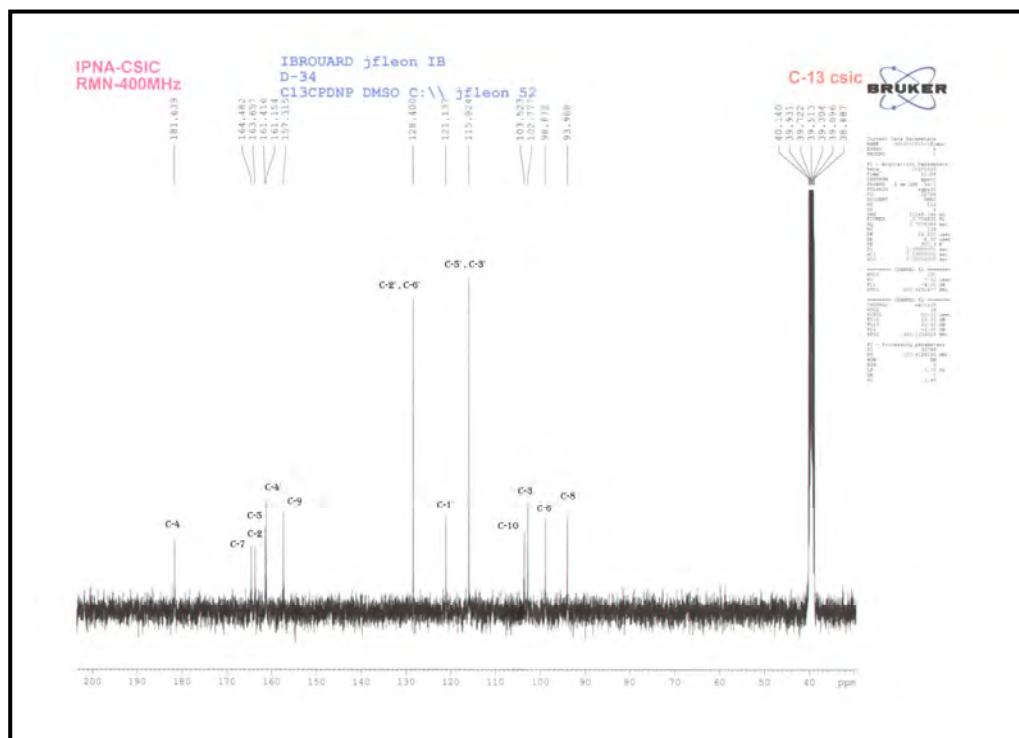
- Un singulet à $\delta = 6,76$ ppm attribuable à H-3, ce qui confirme la structure d'une flavone.
- Deux doublets d'intégration 1H pour chacun, le premier à $\delta = 6,47$ ppm ($J = 2,0$ Hz), le second à $\delta = 6,18$ ppm ($J = 2,0$ Hz) attribuables à H-8 et H-6 respectivement.
- Un doublet de doublets d'intégration 2H à $\delta = 6,92$ ppm ($J = 6,8 ; 2,0$ Hz) attribuables à H-3' et H-5'.
- Un doublet de doublets d'intégration 2H à $\delta = 7,92$ ppm ($J = 6,8 ; 2,0$ Hz) attribuables à H-2' et H-6'.

L'ensemble de ces données sont reportées dans le **tableau 13-2**.

Déplacement Chimique (ppm)	Intégration	Multiplicité J [Hz]	Attribution
7,92	2H	dd (6,8 ; 2,0)	H-2' ; H6'
6,92	2H	dd (6,84 ; 2,0)	H-3' ; H-5'
6,76	1H	s	H-3
6,47	1H	d (2,0)	H-8
6,18	1H	d (2,0)	H-6

Tableau 13-2 : Données de la série spectrale RMN ^1H du composé **13**.

Ces données sont confirmées sur le spectre RMN ^{13}C (**spectre 13-3**) où l'on observe la présence de quinze atomes de carbone.



Spectre 13-3 : RMN de ^{13}C (DMSO ; 400 MHz) de composé **13**.

Carbone C	Déplacement chimique δ (ppm)
C-2	163,65
C-3	102,77
C-4	181,63
C-5	161,41
C-6	98,87
C-7	164,48
C-8	93,96
C-9	157,31
C-10	103,52
C-1'	121,13
C-2', C-6'	128,40
C-3', C-5'	115,92
C-4'	161,15

Tableau 13-3 : Déplacement chimique ^{13}C de composé **13**.

L'ensemble de ces données mènent à la structure : **4', 5, 7-trihydroxyflavone** connue sous le nom **Apigénine** reportée dans la **figure 13-2** [7].

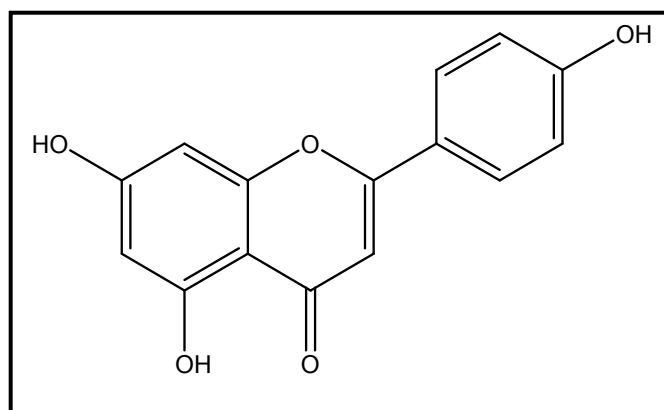


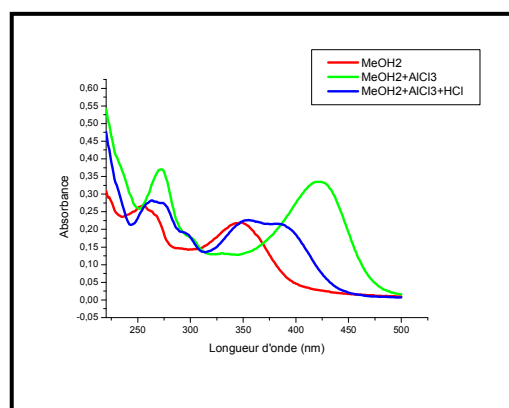
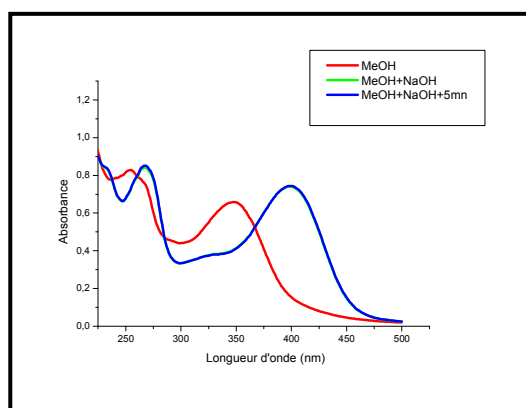
Figure 13-2 : Structure finale du composé **13**.

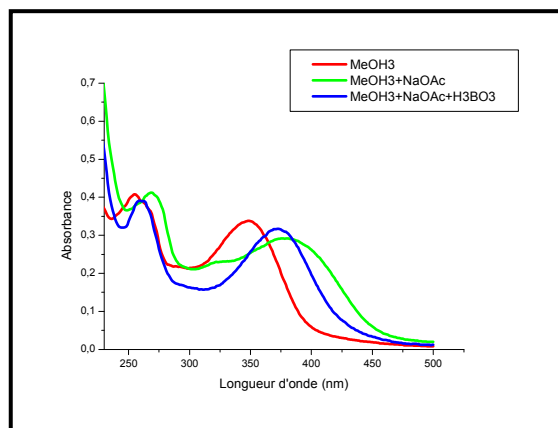
IV. 1. 14. Elucidation structurale du composé 14:

La fluorescence noire violette sous 365 nm de ce composé est caractéristique d'une flavone ou d'un flavonol 3-OR.

L'étude de la série spectrale UV (**spectre 14-1**) montre :

- Le maximum d'absorption de la bande I à 348 nm et la fluorescence violette sont en faveur d'une flavone ou d'un flavonol substitué en 3.
- L'addition de NaOH provoquant un déplacement bathochrome de la bande I ($\Delta\lambda = +51$ nm) avec augmentation de l'intensité lumineuse par rapport au spectre MeOH indique la présence d'un OH libre en 4'. L'apparition d'une nouvelle bande à 332 nm indique l'existence d'un OH libre en 7.
- L'addition de NaOAc provoquant un déplacement bathochrome de la bande II ($\Delta\lambda = +14$ nm) par rapport au spectre MeOH confirme le OH libre en 7.
- La comparaison du spectre en présence de MeOH et de ce même spectre après addition de H_3BO_3 montrent un déplacement bathochrome de la bande I ($\Delta\lambda = +25$ nm). Ce dernier est révélateur de la présence d'un système ortho di-OH sur le cycle B. Cette hypothèse est confirmée par l'effet hypsochrome de la bande I ($\Delta\lambda = -39$ nm) du spectre enregistré dans le milieu ($AlCl_3 / HCl$) comparativement à celui enregistré dans $AlCl_3$.
- L'effet bathochrome de la bande I en comparant les spectres $AlCl_3 + HCl / MeOH$ ($\Delta\lambda = +34$ nm), indique la présence d'un OH libre en 5.





Spectre 14-1 : Série spectrale UV du Composé 14.

Ces données mènent à la structure partielle reportée dans la **figure 14-1**.

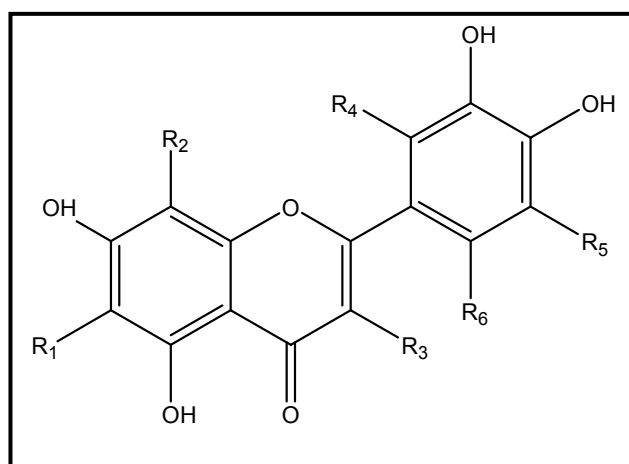


Figure 14-1 : Structure partielle du composé 14.

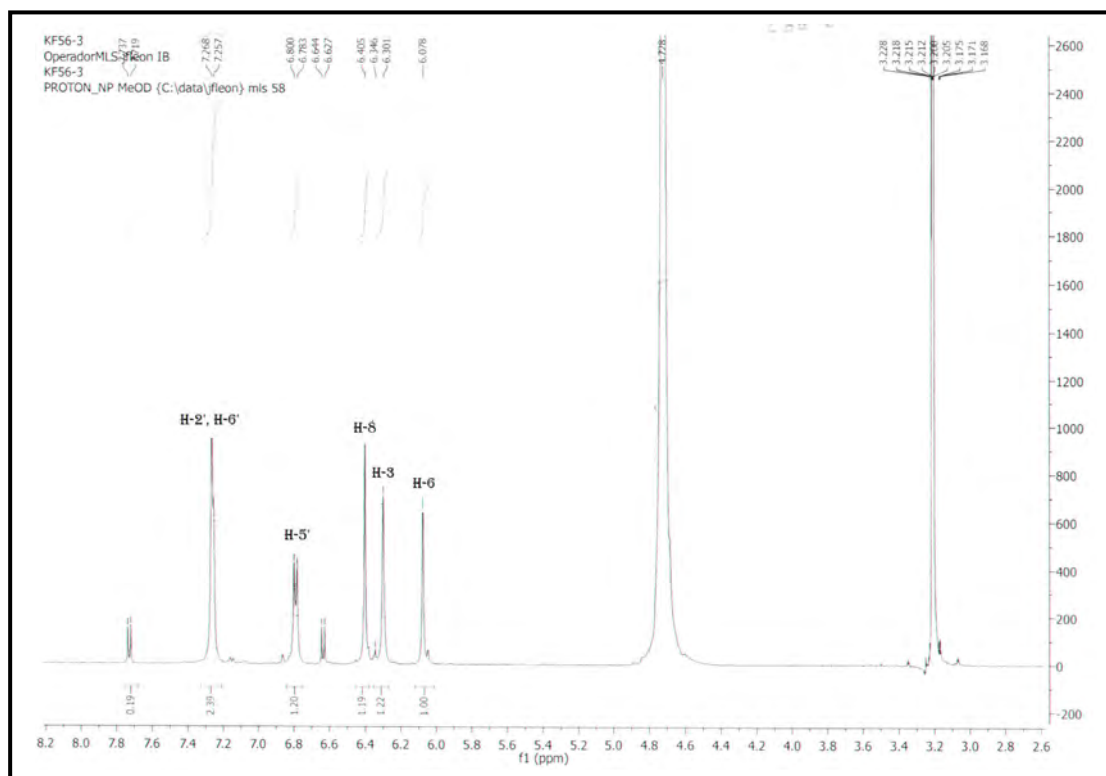
Avec R_1 , R_2 , R_4 , R_5 , R_6 différents d'OH et R_3 est un H ou un OR.

Réactifs	Bande I	Autre bande	Bande II	Commentaires
MeOH	348	-	255	flavone
MeOH +NaOH	399	332	268	OH libre en 4' OH libre en 7
MeOH +NaOH+5mn	399	332	268	Spectre stable
MeOH +AlCl ₃	421	-	272	/
MeOH +AlCl ₃ /HCl	382	355	264	OH libre en 5 Ortho di-OH sur le B
MeOH +NaOAc	380	-	269	OH libre en 7
MeOH +NaOAc/H ₃ BO ₃	373	-	259	Ortho di-OH sur B

Tableau 14-1 : Données de la série spectrale UV du composé 14.

L'examen du spectre RMN ^1H montre (**spectre 14-2**):

- Un singulet à $\delta = 6,30$ ppm d'intégration 1H attribuable à H-3, ce qui permet d'opter pour une structure de type flavone.
- Un singulet d'intégration 1H à $\delta = 7,26$ ppm attribuable à H-2' avec un autre signal sous forme d'un singulet d'intégration 1H à $\delta = 7,25$ ppm attribuable à H-6'.
- Un singulet à $\delta = 6,40$ ppm, d'intégration 1H attribuable à H-8.
- Un singulet à $\delta = 6,07$ ppm, d'intégration 1H attribuable à H-6.
- Un doublet à $\delta = 6,79$ ppm ($J = 6,8$ Hz), d'intégration 1H attribuable à H-5'.



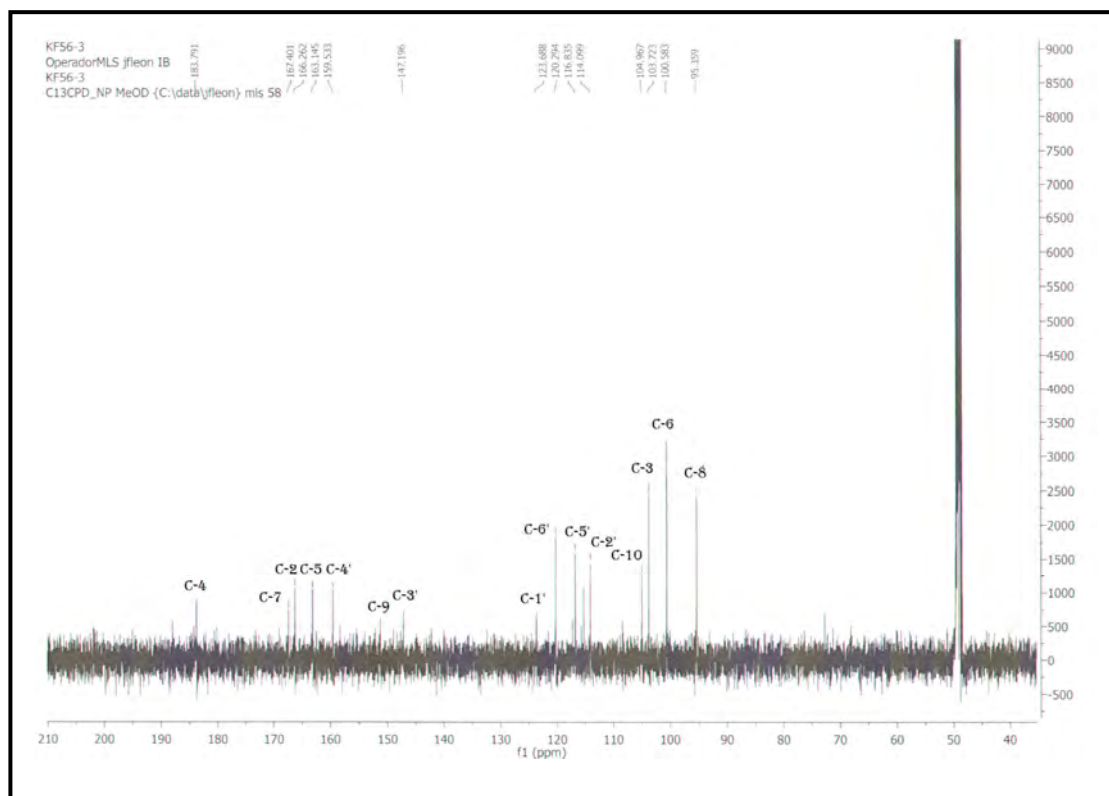
Spectre 14-2 : RMN de ^1H (MeOD ; 400 MHz) de composé 14.

L'ensemble de ces données sont reportées dans le **tableau 14-2**.

Déplacement Chimique (ppm)	Intégration	Multiplicité J [Hz]	Attribution
7,26 ; 7,25	2H	s	H-2' ; H-6'
6,79	1H	d (6,8)	H-5'
6,30	1H	s	H-3
6,40	1H	s	H-8
6,07	1H	s	H-6

Tableau 14-2 : Données de la série spectrale RMN ^1H du composé 14.

Ces données sont confirmées sur le spectre RMN ^{13}C (**spectre 14-3**) où l'on observe la présence de quinze atomes de carbone.



Spectre 14-3 : RMN de ^{13}C (MeOD ; 400 MHz) de composé **14**.

Carbone C	Déplacement chimique δ (ppm)
C-2	166,26
C-3	103,72
C-4	183,79
C-6	100,58
C-7	167,40
C-8	95,35
C-9	152,53
C-10	104,96
C-1'	123,68
C-2'	114,09
C-3'	147,19
C-4'	159,53
C-5'	116,83
C-6'	120,29

Tableau 14-3 : Déplacement chimique ^{13}C du composé **14**.

L'ensemble de ces données mènent à la structure : **3', 4', 5, 7-tetrahydroxyflavone** connue sous le nom **Lutéoline** reportée dans la **figure 14-2** [7].

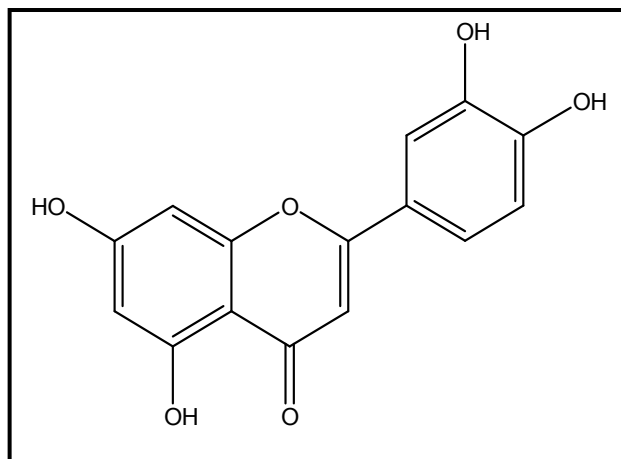
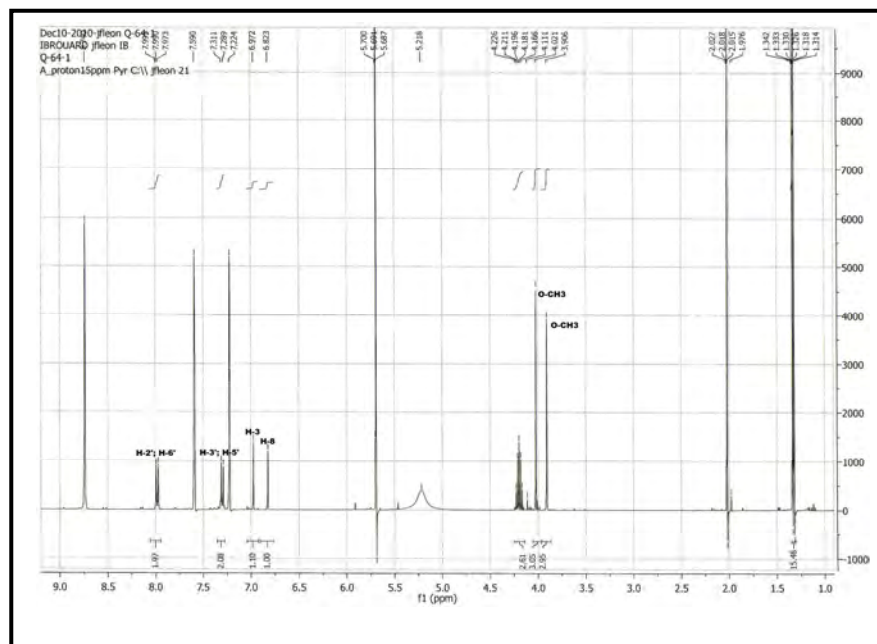


Figure 14-2 : Structure finale du composé **14**.

IV. 1. 15. Elucidation structurale du composé 15:

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

L'examen du spectre RMN ^1H (spectre 15-1) montre:



Spectre 15-1 : RMN de ^1H (Pyridine ; 400 MHz) de composé 15.

- Un singulet à $\delta = 6,97$ ppm attribuable à H-3, ce qui confirme la structure d'une flavone.
 - Un singulet à $\delta = 6,82$ ppm attribuable à H-8, vu la valeur de son déplacement chimique.
 - Un doublet d'intégration 2H à $\delta=7,30$ ppm ($J = 8,8$ Hz) attribuables à H-3' et H-5'.
 - Un doublet d'intégration 2H à $\delta=7,98$ ppm ($J = 8,8$ Hz) attribuables à H-2' et H-6'
- L'ensemble de ces données sont reportées dans le **tableau 15-1**.

Déplacement Chimique (ppm)	Intégration	Multiplicité J [Hz]	Attribution
7,98	2H	d (8,8)	H-2' ; H6'
7,30	2H	d (8,8)	H-3' ; H-5'
6,97	1H	s	H-3
6,82	1H	s	H-8
4,0	3H	s	O-CH ₃
3,9	3H	s	O-CH ₃

Tableau 15-1 : Données de la série spectrale RMN ^1H du composé 15.

La comparaison de ces données avec ceux de la littérature mènent à la structure : **4', 5-dihydroxy-6, 7-diméthoxyflavone** connue sous le nom **Circimaritine** reportée dans la **figure 15-1**[7].

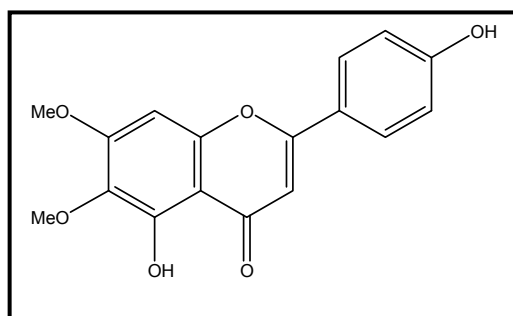
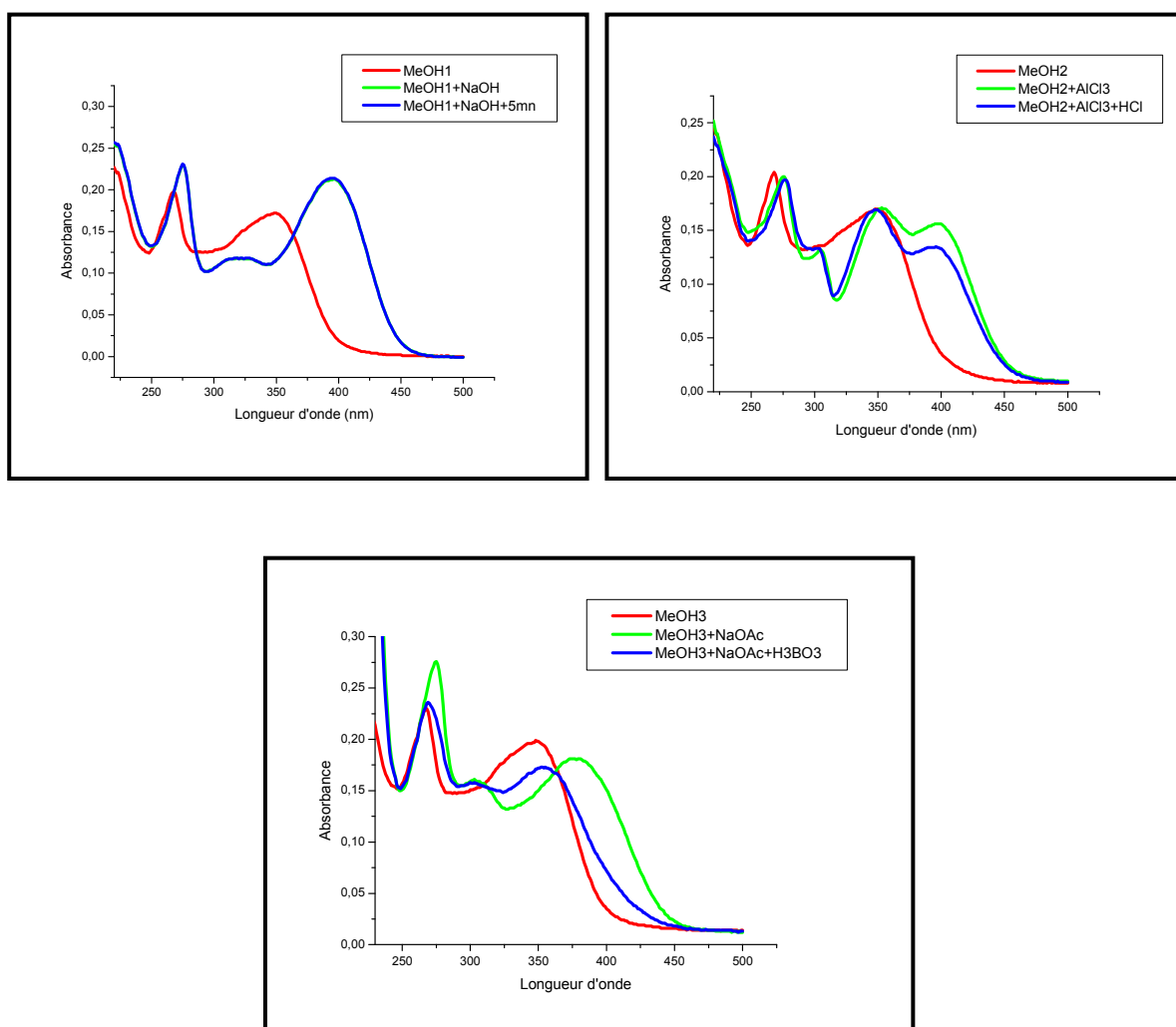


Figure 15-1 : Structure finale du composé **15**.

IV. 1. 16. Elucidation structurale du composé **16**:

La fluorescence jaune sous lumière de Wood est caractéristique d'un flavonol.
L'étude de la série spectrale UV (**spectre 16-1**) montre :

- Le maximum d'absorption de la bande I à 348 nm dans le spectre enregistré dans le méthanol indique qu'il s'agit d'un flavonoïde de type flavonol.
- L'addition de NaOH provoquant un déplacement bathochrome de la bande I ($\Delta\lambda = + 47$ nm) avec augmentation de l'intensité lumineuse, cette observation indique la présence d'un OH libre en position 4'.
Par ailleurs l'apparition d'une nouvelle bande à 327 nm indique la présence d'un OH libre en position 7.
- L'addition de NaOAc provoquant un déplacement bathochrome de la bande II ($\Delta\lambda = + 7$ nm) par rapport au spectre MeOH confirme la présence d'un OH libre en 7.
- Le déplacement bathochrome de la bande I enregistré dans le milieu ($\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$) comparativement à celui enregistré dans le méthanol ($\Delta\lambda = + 46$ nm) indique la présence d'un OH libre en 5.
- L'absence de déplacement hypsochrome de la bande I en comparant les spectres $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ et AlCl_3 , laisse prévoir l'absence d'un système ortho dihydroxylé sur le cycle B.



Spectre 16-1 : Série spectrale UV du Composé 16.

L'ensemble des données de la série spectrale UV est reporté dans le **tableau 16-1**.

Réactifs	Bande I	Autres bandes		Bande II	Commentaire
MeOH	348	/		268	flavonol
MeOH +NaOH	395	327		275	OH libre en 4' OH libre en 7
MeOH +NaOH+5mn	395	327		275	Spectre stable
MeOH +AlCl ₃	398	353	305	275	OH libre en 5
MeOH +AlCl ₃ /HCl	396	349	302	275	Pas de ortho di-OH Sur le cycle B
MeOH +NaOAc	375	303		275	OH libre en 7
MeOH +NaOAc/H ₃ BO ₃	353	303		269	/

Tableau 16-1 : Données de la série spectrale UV du composé 16.

Ces données mènent à la structure partielle reportée dans la **figure 16-1**.

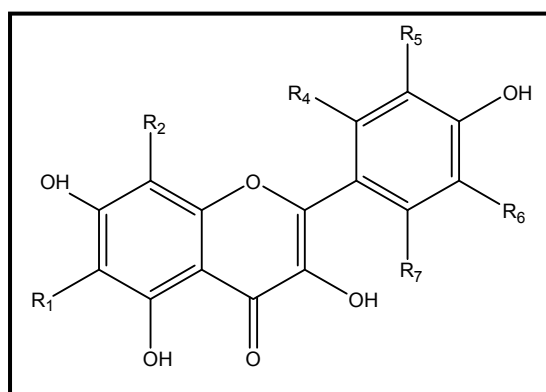
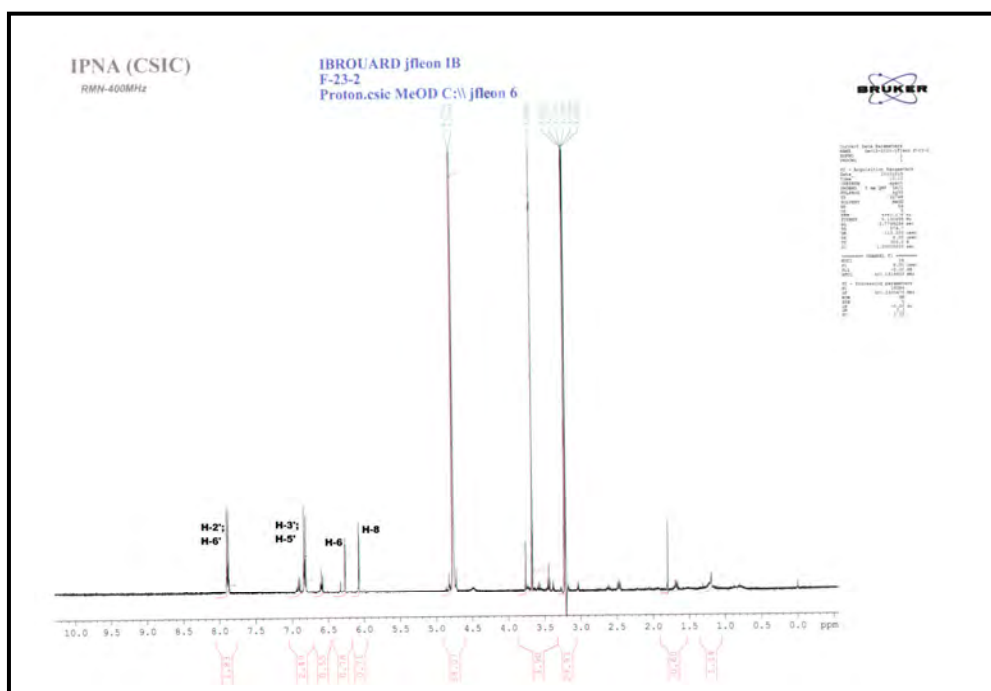


Figure 16-1 : Structure partielle du composé **16**.

Avec R_1 , R_2 , R_4 , R_5 , R_6 et R_7 différents d'OH

L'examen du spectre RMN ^1H (**spectre 16-2**) montre:



Spectre 16-2 : RMN de ^1H (MeOD; 400 MHz) de composé **16**.

- Deux doublets d'intégration 1H pour chacun, le premier à $\delta = 6,30$ ppm, le second à $\delta = 6,10$ ppm attribuables à H-8 et H-6 respectivement.
- Un doublet d'intégration 2H à $\delta=6,80$ ppm attribuables à H-3' et H-5'.
- Un doublet d'intégration 2H à $\delta=7,85$ ppm attribuables à H-2' et H-6'

L'ensemble de ces données sont reportées dans le **tableau 16-2**.

Déplacement Chimique (ppm)	Intégration	Multiplicité J [Hz]	Attribution
7,85	2H	d	H-2' ; H6'
6,80	2H	d	H-3' ; H-5'
6,30	1H	s	H-8
6,10	1H	s	H-6

Tableau 16-2 : Données de la série spectrale RMN ^1H du composé **16**.

L'ensemble de ces données mènent à la structure : **4',3, 5, 7-tetrahydroxyflavone** connue sous le nom **Kaempferol** reportée dans la **figure 16-2**.

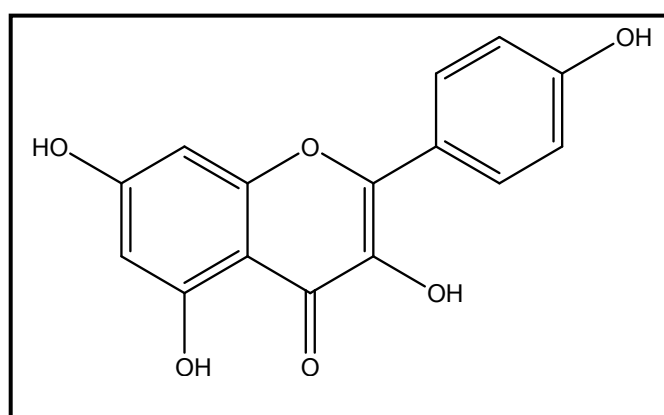


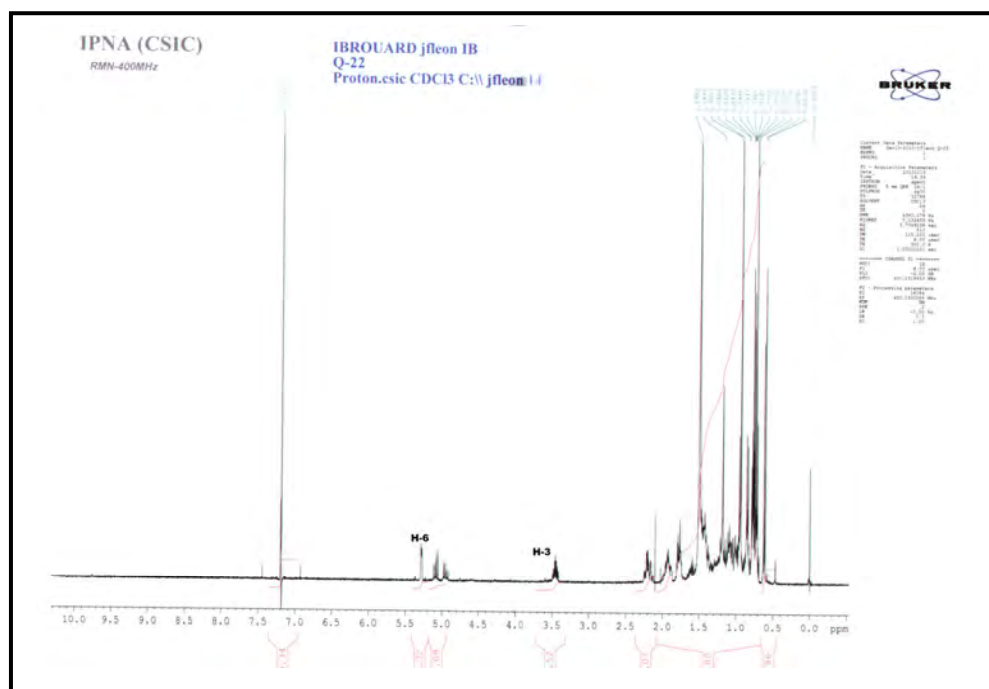
Figure 16-2 : Structure finale du composé **16**.

IV. 1. 17. Elucidation structurale du composé 17:

L'examen du spectre du proton de ce composé (**spectre 17-1**) montre la présence d'un signal sous forme d'un triplet de triplets à $\delta = 3,43$ ppm caractéristique du proton H-3 des stérols.

Sur le même spectre on constate un autre signal sous forme d'un doublet à $\delta = 5,28$ ppm, vu la valeur de son déplacement chimique ce proton ne peut être qu'à un proton éthylénique incluant dans le squelette stéroïdique.

La comparaison de données spectrales de ce spectre avec ceux trouvés dans la littérature montre que ce composé ne peut être que le **β -sitostérol**.



Spectre 17-1 : RMN ¹H (CDCl₃ ; 400MHz) du composé 17.

La structure finale de ce composé est reportée dans la **figure 17-1**.

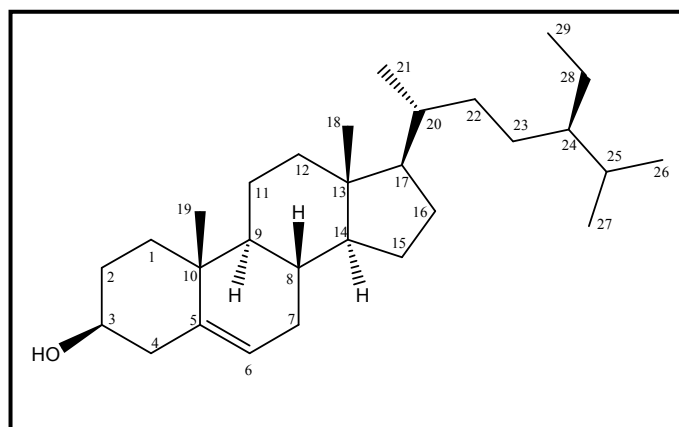


Figure 17-1 : Structure finale du composé 17.

Références bibliographiques:

- [1] González, A. G.; Bermejo, J.; Amaro, J. M.; Massanet, G. M.; Galindo, A.; Cabrera, I.; **1978**, *Can. J. Chem.*, 56,491.
- [2] Ha, T. J.; Yang, M. S.; Pak, Y.; Lee, J. R.; Lee, K. D.; Kim, H. M.; Park, K. H.; **2002**, *Heterocycles*, 57, 151.
- [3] García, B.; Skaltsa, H.; Navarro, F. I.; Pedro, J. R.; Lazari, D.; **1996**, *Phytochemistry*, 41, 1113.
- [4] González, A.G.; Bermejo, J.; Toledo, F.; Daza, L. R.; **1981**, *Phytochemistry*, 20, 1895.
- [5] Choi, S. Z.; Choi, S. U.; Lee, K. R.; **2005**, *Arch. Pharm. Res.*, 28, 1142.
- [6] Kim, I.; Chin, Y. W.; Lim, S. W.; Kim, Y. C.; Kim, J.; **2004**, *Arch. Pharm. Res.*, 27, 600.
- [7] Youssef, D.; Frahm, A. W.; **1995**, *Planta Med.*, 61, 570.
- [8] Derya. G; Özgen. A; Canan. K; Ahmet. U; Petek. B et Erdal. B, **2010**, *Carbohydrate Research*, 345, 2529–2533.
- [9] Je-Chiuan Ye, Wei-Chun Chang , Dennis Jine-Yuan Hsieh et Meen-Woon Hsiao, **2010**, *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 4(7), pp. 522-527.

Chapitre V :

Activité cytotoxique

V. Activité cytotoxique :

V. 1. Introduction :

Les lactones sesquiterpéniques ont attiré beaucoup d'attention au cours des trois dernières décennies, car ils présentent un large éventail d'activités biologiques et pharmacologiques comme antimicrobienne, anti-tumorale et anti-inflammatoires qui ont des effets sur le système nerveux central et cardiovasculaires [1]. Il était apparu que la présence des groupement tels que α -méthylène- γ -lactone, cyclopenténone- α,β -insaturé ou un ester conjugué pourraient être nécessaires pour les activités biologiques de ces composés, car ils réagissent avec des nucléophiles et, en particulier, avec les groupes sulfhydriles de la cystéine par une addition de type Michael [2, 3]. Ainsi, les lactones sesquiterpéniques sont censées exercer leurs nombreuses activités biologiques de l'inhibition des enzymes et d'autres protéines fonctionnelles et former des liaisons covalentes avec les résidus cystéines libres dans ces macromolécules ou par conjugaison avec le glutathion [4,5].

Par ailleurs, il a été clairement démontré que la réaction cinétique de la sesquiterpène lactone de type helenanolide avec le sulfhydryle réactif tel que la L-Cystéine et glutathion dépend du nombre et du type des sites de carbonyle, α , β -insaturés, du pH du milieu, de la concentration du thiol et du caractère des structures cibles sulfhydryle [2,4].

Une autre étude a montré que le Cnicine, un sesquiterpène lactone de type germacranolide, a une forte activité cytotoxique envers les cellules épithéliales de rein de porc (LLC-PK11), mélanome malin humain (SK-Mel) et carcinome canalaire humaine (BT-549) avec des valeurs de IC_{50} de 23,3, 14,0 et 18,3 nM respectivement[6].

Des études antérieures ont montré que les lactones sesquiterpéniques possèdent des propriétés cytotoxiques à l'égard des cellules tumorales [7] et que l'Aguirin B, un sesquiterpène de type guaianolide, a une activité Antiproliférative remarquable contre les lignées cellulaires cancéreuses humaines [8].

En revanche, une étude quantitative a été réalisée entre la structure et l'activité sur quatre squelettes différents de lactones sesquiterpéniques. Cette étude a montré que les guaianolides et les pseudoguaianolides sont les composés les plus actifs, et que la présence de certaines fonctions comme les doubles liaisons exocycliques en position 4 et 10 ainsi que le groupe hydroxyle en position 5 (dans le cas des guaianolides) et le groupe angeloyloxy en C-8 sont les facteurs les plus importants [9].

V. 2. Culture cellulaire et les essais cytotoxiques:

Les lignées leucémiques humaines utilisées pour l'évaluation de l'activité cytotoxique sont HL60 et U937 (DSMZ, Collection allemande de microorganismes et de cultures cellulaires, Braunschweig, Allemagne). Ces lignées ont été cultivées dans du RPMI 1640 contenant 2 mM de L-glutamine complété avec 10% (v / v) inactivé par la chaleur du sérum de veau fœtal [10].

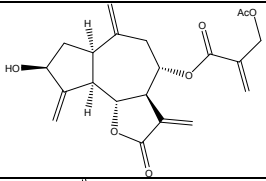
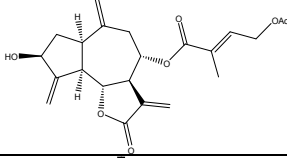
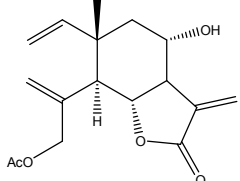
Les solutions mères de 25 mM des lactones sesquiterpéniques ont été préparées dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) et d'autres dilutions ont été faites dans des milieux de culture juste avant utilisation. Dans toutes les expériences, la concentration finale de DMSO ne dépassait pas 0,4% (v / v), une concentration non toxique pour les cellules. La cytotoxicité de lactones sesquiterpéniques sur des cellules tumorales humaines a été analysée à l'aide de la technique colorimétrique 3 - [4,5-diméthylthiazol-2-yl-] 2,5-diphényl tétrazolium (MTT) [11, 12]. Les concentrations induisant une inhibition de 50% de la croissance cellulaire (IC₅₀) ont été déterminées graphiquement à l'aide de l'algorithme d'ajustement de courbe de l'ordinateur.

Les cellules ont été cultivées pendant 72 h et les valeurs de IC₅₀ sont des moyennes ± SE de 3 à 5 expériences indépendantes avec trois déterminations dans chaque expérience.

L'étoposide, un agent anti tumoral, a été utilisé comme contrôle positif pour HL-60 (IC₅₀ = 0,4 ± 0,1 mM) et les cellules U937 (IC₅₀ = 1,4 ± 0,3 mM).

V. 3. Résultats et discussion :

Les composés sesquiterpéniques concernés par l'évaluation de leur activité cytotoxique sont reportés dans le tableau V-1.

Composé	Structure	IC ₅₀ / (μM)	
		HL-60	U937
1		5.1 ± 0.4	10.8 ± 4.1
2		7.0 ± 1.9	10.4 ± 1.9
3		25.8 ± 3.6	29.9 ± 4.4

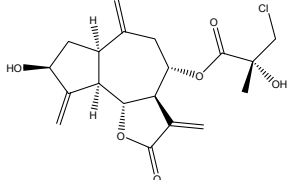
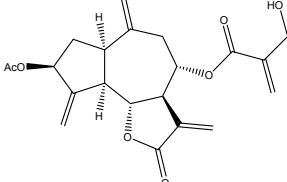
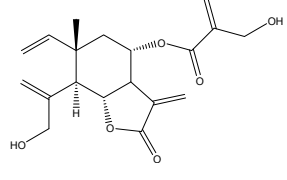
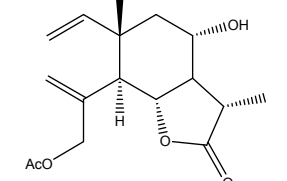
4		5.4 ± 1.3	6.8 ± 2.2
5		2.0 ± 0.9	3.1 ± 0.6
6		5.6 ± 2.1	11.7 ± 1.5
7		> 100	> 100

Tableau V-1 : Effets des composés **1-7** sur la croissance des lignées de cellules leucémiques humaines.

On constate, à partir de ce tableau, que les six premiers composés sesquiterpéniques ont montré des activités cytotoxiques avec des valeurs d' IC_{50} comprises entre 2.0 et 29.9 μM . Le composé **5** étant le plus actif avec des IC_{50} de 2.0 et 3.1 vis-à-vis des lignées cellulaires HL-60 et U937 respectivement. En revanche, le composé **7** s'est révélé être totalement inactif.

À la lumière de ces résultats, on peut conclure deux facteurs importants :

- En comparant les résultats du composé **3** avec ceux du composé **7**, on constate que la présence de la double liaison exocyclique conjuguée semble primordiale pour obtenir une bonne activité biologique et cela conformément aux résultats de la littérature, toutes modifications à ce niveau diminuent l'activité [13].

- En comparant les résultats du composé **6** avec ceux du composé **7**, on constate, d'une part, l'absence de la double liaison exocyclique conjuguée dans les deux composés et, d'autre part, la présence d'une chaîne latérale estérifiée en position 8 ce qui rend le composé **6** efficace avec des valeurs d' IC_{50} de 5.6 et 11.7 vis-à-vis des lignées cellulaires HL-60 et U937 respectivement.

Les autres composés **1**, **2**, **4** et **5** ont tous montré des activités cytotoxiques car ils renferment dans leurs structures des doubles liaisons exocycliques en plus une chaîne latérale en position 8.

Concernant les deux composés **1** et **5** ce sont des isomères mais l'un est plus actif que l'autre. Cette différence est due à l'emplacement du groupement acétate dans ces deux composés qui influe sur leur activité.

On peut conclure à partir de ces résultats que la présence de la double liaison exocyclique, est essentielle pour l'activité cytotoxique sur les cellules HL-60 et U937.

L'efficacité des lactones sesquiterpéniques peut s'expliquer par leur caractère lipophile. On peut signaler d'autres facteurs, comme la géométrie moléculaire et l'environnement chimique qui peuvent également influencer sur l'activité de ces composés.

V. 4. Conclusion :

La plante *Centaurea Omphalotricha* a été étudiée pour la première fois biologiquement et notamment d'un point de vue cytotoxique. Les trois nouvelles lactones sesquiterpéniques isolées ont été évaluées pour la première fois avec quatre autres composés connus. Les lactones sesquiterpéniques naturelles évaluées dans ce travail ont montré une forte activité cytotoxique contre des lignées leucémiques humaines HL-60 et U937 et les résultats obtenus peuvent conduire à la découverte de nouveaux agents anti tumoraux et hautement spécifiques contre les cellules leucémiques.

Références bibliographiques:

- [1] Picman, A. K, **1986**, *Biochem. Syst. Ecol.* 14, 255.
- [2] Schmidt, T. J, **1997**, *Bioorg. Med. Chem.* 5, 645.
- [3] Kupchan, S. M.; Fessler, D. C.; Eakin, M. A.; Giacobbe, T. J, **1970**, *Science*, 168, 376.
- [4] Schmidt, T. J.; Lyß, G.; Pahl, H. L.; Merfort, I, **1999**, *Biorg. Med. Chem.* 7, 2849.
- [5] Garcia-Pineros, A. J.; Lindenmeyer, M. T.; Merfort, I, **2004**, *Life Sci.* 75, 841.
- [6] Sura, B. E; Canan, K; Erdal, B; Hanspeter, K; Sabine, G; Shabana, K; Liselotte, K; **2011**, *Pharmaceutical Biology*; 49(8); 840-849.
- [7] Akram Ghantous, A.; Gali-Muhtasib, H.; Vuorela, H.; Saliba, N. A.; Darwiche, N, **2010**, *Drug Discovery Today*, 15, 668.
- [8] Andrea. C; Marianna. T; Barbara. A; Kuddisi. E; Guido. F et Paola. N, **2011**, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 46, 3066-3070.
- [9] Scotti, M. T.; Fernandez, M. B.; Ferreira, M. J. P.; Emerenciano, V. P, **2007**, *Bioorg. Med. Chem.* 15, 2927.
- [10] Torres, F.; Quintana, J.; Estévez, F, **2010**, *Mol. Carcinog.* 49, 464.
- [11] Negrín, G.; Eiroa, J. L.; Morales, M.; Triana, J.; Quintana, J.; Estévez, F, **2010**, *Mol. Carcinog.* 49, 488.
- [12] Gosland, M.P., Lum, B.L. & Sikic, B.I, **1989**, *Cancer Res.* 49, 6901-6905.
- [13] Rodriguez, E.; Towers, G. H. N.; Mitchell, J. C. **1976**, *Phytochemistry*, 15, 1573–1580.

Conclusion générale :

L'objectif principal de ce travail s'inscrit dans le cadre d'un vaste programme de valorisation et de développement de la recherche sur les plantes médicinales algérienne ainsi que leurs évaluations biologiques dont l'axe principal est basé sur la séparation, la purification, la détermination structurale et l'activité biologique des métabolites secondaires issues du genre *Centaurea*.

La valorisation des plantes médicinales passe généralement par trois étapes fondamentales commençant par le choix, la récolte et l'identification de la plante. Ensuite, le matériel végétal récolté est soumis aux différentes analyses chimiques et finalement les extraits obtenus ou les produits identifiés sont testés biologiquement.

Le choix de notre plante *Centaurea Omphalotricha* (famille des composés) est essentiellement basé sur deux critères principaux :

- le premier à l'endémisme de cette plante pour l'Algérie et la Tunisie et que très peu d'études ont été consacrées à cette espèce notamment la fraction sesquiterpènes lactones.
- Le second à la richesse de ce genre de plantes en substances naturelles notamment les flavonoïdes et les lactones sesquiterpéniques reconnues pour leurs activités biologiques diverses telles que les activités antioxydante et cytotoxique.

L'étude chimique des parties aériennes de l'espèce *Centaurea omphalotricha* a été débutée par une extraction solide-liquide utilisant une solution alcoolique 80 % (v/v) puis suivi par des affrontements successifs au chloroforme, acétate d'éthyle et n-butanol. Les extraits obtenus ont été traités par différentes méthodes de séparation et de purification telles que la chromatographie sur colonne et couche mince de gel de silice.

La fraction chloroformique de cette plante a permis d'isoler et d'identifier, grâce à la combinaison des données physicochimiques modernes notamment la spectroscopie ultraviolette UV, la spectroscopie de résonance magnétique RMN mono et bidimensionnelle (¹H, ¹³C, DEPT, COSY, HSQC, HMBC, NOESY et ROESY) et la spectrométrie de masse à haute résolution ESI(+). Ainsi par la comparaison avec les données de la littérature, quatorze composés : un stéroïde, deux monoterpènes, dix sesquiterpènes lactones parmi lesquels trois composés décrits pour la première fois dans la littérature, un flavonoïde, ces composés sont identifiés comme suit :

- 4'-acetyl cynaropicrine (1)
- 4'-acetyl cebelline F (2)
- 15-acetyl dehydromelitensine (3)
- linichlorine B (4)
- 3-acetyl cynaropicrine (5)
- 8-(4-hydroxymethacrylate)-dehydromelitensine (6)
- 15-acetyl melitensine (7)
- cynaropicrine (8)

- desacylcynaropicrine (**9**)
- 8-hydroxy-11,13-dihydrozaluzanine C (**10**)
- 3-hydroxy-5,6-epoxy-ionone (**11**).
- Dehydrovomifoliol (**12**).
- Circimaritin (**15**).
- β -Sitostérol (**17**).

Alors que l'extrait d'acétate d'éthyle a donné quatre composés dont trois sont des flavonoïdes et une lactone sesquiterpénique qui est déjà trouvé dans la phase chloroformique il s'agit de 8-hydroxy-11,13-dihydrozaluzanin C (**10**). Les composés isolés sont identifiés comme suit :

- 4', 5, 7-trihydroxyflavone (Apigénine) (**13**).
- 3', 4', 5, 7-tetrahydroxyflavone (lutéoline) (**14**).
- 3, 4', 5, 7-tetrahydroxyflavone (Kaempférol) (**16**).

Les résultats obtenus dans ce travail indiquent que les lactones sesquiterpéniques sont une classe de métabolites très répandue dans la famille des Centaurées et conformément aux données de la littérature pour laquelle ils constituent de bons marqueurs chimiotaxonomique.

En ce qui concerne la partie biologique de ce travail tous les composés qui ont été testés pour leurs activités cytotoxiques (**1-7**), vis-à-vis les lignées humaines leucémiques HL-60 et U937 à l'aide de la technique colorimétrique du MTT, ont montré des activités cytotoxiques intéressantes sauf le composé **7** qui s'est avéré inactif vis-à-vis de ces deux lignées cancéreuses.

L'ensemble de ces résultats montre que les produits d'origine naturelle peuvent être un réservoir potentiel de molécules originales susceptibles d'être proposées comme modèle pour des travaux de chimie médicinale.

L'étude de la composition chimique des autres fractions qui n'ont pas été étudiées et notamment la fraction butanolique ainsi que leurs évaluations biologiques restent comme des perspectives de recherche pour le futur.

Résumé

La recherche de nouveaux produits naturels avec des propriétés thérapeutiques intéressantes restent, en général comme l'un des objectifs principaux pour les chercheurs. Dans ce contexte, nous avons entamé l'étude phytochimique et biologique d'une plante médicinale algérienne appartenant à la famille des composées *Centaurea Omphalotricha*, c'est une plante endémique de l'Algérie et la Tunisie qui a fait l'objet de peu d'études phytochimiques et pharmacologiques.

Les extraits obtenus après macération sont soumis aux criblages phytochimiques utilisant les différentes méthodes chromatographiques de séparation et de purification.

La fraction chloroformique de cette plante a permis d'isoler et identifier quatorze composés dont un stéroïde, deux monoterpènes, dix sesquiterpènes lactones et un flavonoïde.

Tandis que l'extrait d'acétate d'éthyle a donné quatre composés dont trois sont des flavonoïdes, deux de type flavone et un flavonol, une autre lactone sesquiterpénique a été déjà séparé dans la phase chloroformique.

Tous ces composés sont isolés pour la première fois pour cette espèce. Parmi ceux-ci on trouve trois lactones sesquiterpéniques qui sont décrits pour la première fois dans la littérature.

L'élucidation structural de tous ces composés ont été déterminés grâce à des méthodes spectroscopiques modernes notamment la spectroscopie ultraviolette UV, la spectroscopie de résonance magnétique RMN mono et bidimensionnelle (^1H , ^{13}C , DEPT, COSY, HSQC, HMBC, NOESY et ROESY) et la spectrométrie de masse à haute résolution ESI(+) et par la comparaison avec les données de la littérature.

Certains composés sesquiterpéniques ont été testés pour leurs activités cytotoxiques vis-à-vis des lignées humaines leucémiques HL-60 et U937. Les résultats obtenus ont montrés que ces composés possèdent des activités cytotoxiques très intéressantes.

L'ensemble de ces résultats montrent que les lactones sesquiterpéniques sont des composés très abondants dans le genre *Centaurea* et doués d'activités anticancéreuses très élevées et constituent de bons marqueurs chimiotaxonomique.

Abstract

In general, The search for new natural products with therapeutic properties as one of the main objectives for researchers, in this context we have begun to study phytochemical and biological Algerian medicinal plant which belonging to the family of compositae, *Centaurea Omphalotricha* it is a plant endemic to Algeria and Tunisia, which has been little study phytochemical and pharmacological.

The extracts obtained after the step of maceration are subjected to phytochemical screening using different methods of chromatography for separation and purification.

The chloroform fraction of this plant was permitted to isolate and identify fourteen compounds among which a steroid, two monoterpenes, ten sesquiterpene lactones and one flavonoid.

While the ethyl acetate extract gave four compounds among which three flavonoids, two type flavone and one flavonol with another sesquiterpene lactone which has already been separated in the chloroform phase.

All these compounds were isolated for the first time of this species where you can find three compounds of sesquiterpene lactones are described for the first time in the literature.

The structural elucidation of these compounds were determined by modern spectroscopic methods including ultraviolet spectroscopy, the magnetic resonance spectroscopy NMR mono and bidimensional (^1H , ^{13}C , DEPT, COSY, HSQC, HMBC, NOESY and ROESY) and mass spectrometry high-resolution ESI (+) and, by comparison with the literature data.

Some sesquiterpene compounds were tested for their cytotoxic activities vis-à-vis human leukemic cell lines HL-60 and U937 and the results have shown that these compounds possess interesting cytotoxic activities.

All of their results, these results show that sesquiterpene lactones are compounds abundant in the genus *Centaurea* and endowed with anticancer activities are very high and for which good chemotaxonomic markers.

All of their results show that sesquiterpene lactones are compounds abundant in the genus *Centaurea* and endowed with interesting anticancer activity and Constitute for which a good markers chemotaxonomic.

ملخص

البحث عن المركبات الطبيعية الجديدة ذات الخصائص العلاجية لا تزال بشكل عام واحدة من الأهداف الرئيسية للباحثين، لهذا الغرض قمنا بالدراسة الفيتوكيميائية و البيولوجية لواحدة من النباتات الطبية الجزائرية المنتمية إلى العائلة المركبة ألا و هي *Centaurea Omphalotricha* ، نبات متوطن في الجزائر وتونس، أجريت عليها القليل من الدراسات في المجالين الكيميائي و البيولوجي.

المستخلصات المتحصل عليها بعد عملية الاستخلاص تم إخضاعها لعمليات الفصل و التنقية مستخدما في ذلك مختلف الطرق الكروماتوغرافية الخاصة بهذا الغرض.

سمح لنا الطور الكلوروفورمي لهذه النبتة من فصل و تحديد أربعة عشر مركبا من بينها أستر و يد، مركبين أحادي التربين، عشرة مركبات سيسكيتربينية و مركب فلافونيدي، بينما مستخلص أسيتات الإثيل فأعطي لنا أربعة مركبات فلافونيدية، اثنان منهم من نوع فلافون و الأخر عبارة عن فلافونول بالإضافة إلي مركب سيسكيتربيني وجد من قبل في الطور الكلوروفورمي.

جميع هذه المركبات تم عزلها للمرة الأولى من هذا الجنس ثلاثة منها جديدة و تم تحديد بنيتها إستعانة بمختلف الطرق الفيزيوكيميائية الحديثة خاصة منها مطيافية الرنين النووي المغناطيسي بنوعيه أحادي البعد و ثنائي البعد (RMN ^1H ، ^{13}C ، DEPT ، COSY ، HSQC ، HMBC ، NOESY ، ROESY) و مطيافية الكتلة عالية الدقة (ESI(+)) ، مطيافية الأشعة فوق البنفسجية UV كذلك بالمقارنة مع بنك المعطيات.

بعض المركبات السيسكيتربينية أجريت لها تجارب بيولوجية مضادة للسرطان تجاه خطوط الخلايا البشرية اللوكيميا HL-60 و U937 و النتائج المتحصل عليها أظهرت أن هذه المركبات لها فعالية هامة ضد السرطان.

جل هذه النتائج المتحصل عليها أظهرت لنا أن اللاكتونات السيسكيتربينية هي مركبات جد متوفرة في جنس *Centaurea* و تتميز بخصائص بيولوجية جد عالية من ناحية نشاطها المضاد للسرطان كما أن هذه المركبات تعتبر مؤشرات كيموتصنيفية جيدة بالنسبة لهذا الجنس.

Court rapport

Cytotoxic Sesquiterpene Lactones and other Constituents of *Centaurea omphalotricha*

El Hadj Kolli,^a Francisco León,^{*b} Fadila Benayache,^c Sara Estévez,^d José Quintana,^d
Francisco Estévez,^d Ignacio Brouard,^b Jaime Bermejo^b and Samir Benayache^{*a}

^aLaboratoire de Valorisation des Ressources Naturelles et Synthèse de Substances Bioactives, Equipe Associée à l'A.N.D.R.S. and ^cLaboratoire de Phytochimie et Analyses Physico-Chimiques et Biologiques, Université Mentouri, Route de Aïn El Bey, 25000 Constantine, Algeria

^bInstituto de Productos Naturales y Agrobiología, CSIC, Av. Astrofísico Fco. Sánchez, 3, 38206 La Laguna, Tenerife, Spain

^dDepartamento de Bioquímica, Unidad Asociada al CSIC, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, and Instituto Canario de Investigación del Cáncer, Av. S. Cristóbal, 35016 Las Palmas de Gran Canaria, Gran Canaria, Spain

A investigação fitoquímica das partes aéreas de *Centaurea omphalotricha* levou ao isolamento de três lactonas sesquiterpênicas novas, 4'-acetilcinaropícrina, 4'-acetilcebelina F e 15-acetil desidromelitensina, juntamente com doze compostos conhecidos, sendo sete lactonas sesquiterpênicas, dois isoprenóides e três flavonóides. As estruturas dos novos compostos foram elucidadas por meio de RMN 1D e 2D, e espectrometria de massas, e por comparação com os dados descritos na literatura. O efeito de lactonas sesquiterpênicas sobre a viabilidade das células tumorais humanas, linhagens HL-60 e U937, também foi investigado e 3-acetilcinaropícrina e 4'-acetilcinaropícrina foram os compostos mais citotóxicos contra células de leucemia humana com valores de IC₅₀ de 2,0 ± 0,9 e 5,1 ± 0,4 μmol L⁻¹, respectivamente.

Phytochemical research of the aerial parts of *Centaurea omphalotricha* led to the isolation of three new sesquiterpene lactones, 4'-acetyl cynaropicrin, 4'-acetyl cebellin F and 15-acetyl dehydromelitensin, together with twelve known compounds, seven sesquiterpene lactones, two isoprenoids and three flavonoids. The structures of the new compounds were elucidated by means of extensive 1D and 2D NMR, and MS, and by comparison with reported data in the literature. The effect of sesquiterpene lactones on the viability of the human tumor cell lines HL-60 and U937 was also investigated and 3-acetyl cynaropicrin, and 4'-acetyl cynaropicrin were found to be the most cytotoxic compounds against human leukemia cells with an IC₅₀ values of 2.0 ± 0.9 and 5.1 ± 0.4 μmol L⁻¹, respectively.

Keywords: *Centaurea*, Asteraceae, sesquiterpene lactones, cytotoxic activity, HL-60

Introduction

The genus *Centaurea* (Asteraceae: Centaureinae) comprises more than 500 species, most of which grow around the Mediterranean and in Western Asia.¹ *Centaurea* species have long been used for their biological properties, mainly as anti-inflammatory,² antipyretic,³ cytotoxic,⁴ antibacterial,⁵ and antiproliferative agents.⁶ Phytochemical investigations revealed that the compounds responsible for their pharmacological properties are flavonoids⁷ and sesquiterpene lactones predominantly germacranolides,

eudesmanolides, elemanolides, and guaianolides.⁸ As a part of our continuing search for novel, plant-derived anticancer chemotherapeutic agents and our systematic investigation of the composition of plants of this genus,^{4,9} we have investigated the chemical constituents of the aerial parts of *Centaurea omphalotricha* Coss. & Durieu ex Batt. et Trab., a species endemic to Algeria and Tunisia.^{10,11}

The present work describes the isolation and structural elucidation of the constituents of the ethanolic-aqueous extract of the aerial parts of *C. omphalotricha*. The constituents of this extract were purified by column chromatography and preparative TLC. Thus, fifteen compounds were isolated including 4'-acetyl cynaropicrin (**1**), 4'-acetyl cebellin F (**2**)

*e-mail: jfleon@ipna.csic.es, sbenayache@yahoo.com

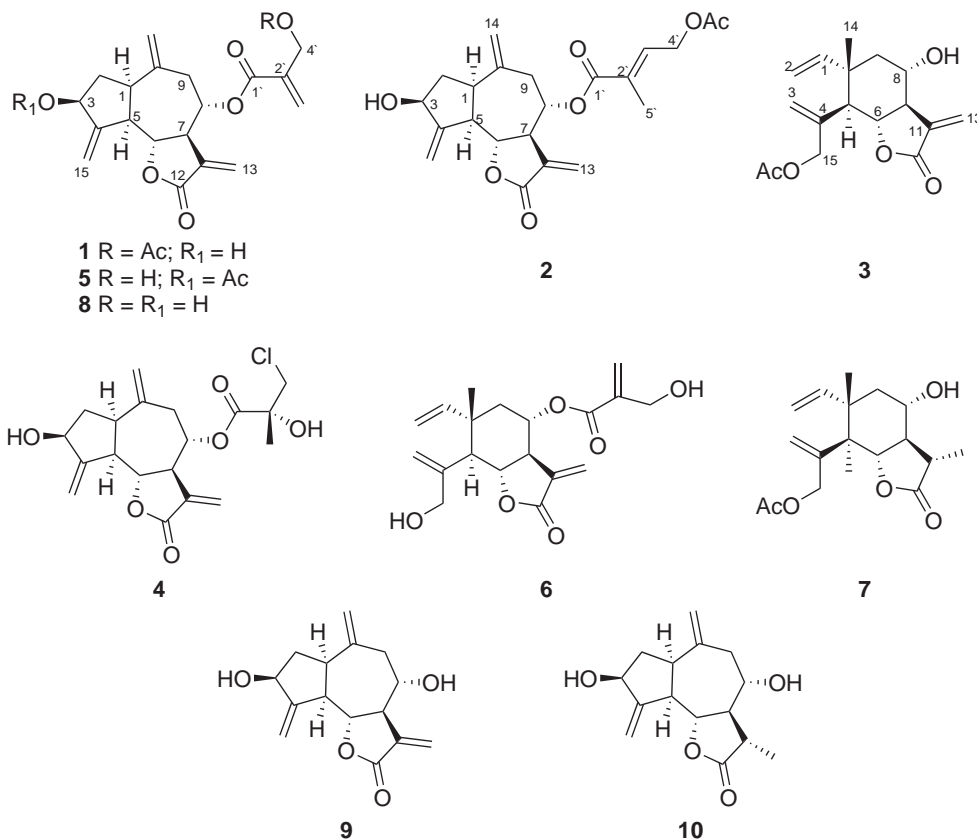


Figure 1. Structures of compounds **1-10**.

and 15-acetyl dehydromelitensin (**3**), which are new in the literature, together with the seven sesquiterpene lactones: linichlorin B (**4**),¹² 3-acetyl cynaropicrin (**5**),¹³ 8-(4-hydroxymethacrylate)-dehydromelitensin (**6**),¹⁴ 15-acetyl melitensin (**7**),¹⁵ cynaropicrin (**8**),¹⁶ desacylcynaropicrin (**9**)¹⁶ and 8-hydroxy-11,13-dihydrozaluzanin C (**10**);¹⁶ two isoprenoids: 3-hydroxy-5,6-epoxy-ionone,¹⁷ dehydrovomifoliol¹⁷ and three flavonoids: circimaritin, apigenin and luteolin.¹⁸ The structures of the known compounds were confirmed by comparison of their spectroscopic data (MS, ¹H and ¹³C NMR) with literature references. In this study we also demonstrate that the isolated sesquiterpene lactones **1-6** (Figure 1) induce cytotoxicity in human leukemia cell lines HL-60 and U937.

Experimental

General

Optical rotations were measured using a Perkin-Elmer model 343 polarimeter using CHCl₃ as solvent. UV spectra were recorded using a SHIMADZU model UV-1700 spectrophotometer. IR spectra were recorded as CHCl₃ films on NaCl plates, using a Bruker model IFS-55 and Perkin-Elmer model FTIR-8400S spectrophotometer.

¹H and ¹³C NMR spectra were obtained on a Bruker model Avance 400 and AMX-500 spectrometer with standard pulse sequences, operating at 400 and 500 MHz for ¹H and 100 and 125 MHz for ¹³C, respectively. CDCl₃ was used as solvent and TMS as internal standard. EIMS were taken on a Micromass model Autospec (70 eV) spectrometer. HRESIMS was performed with a LCT Premier XE Micromass Waters spectrometer in positive ionization mode (Waters Corporation). Column chromatography (CC) was carried out with Si gel Fluka (cat. 60737) (40-63 μm), and column fractions were monitored by TLC (Si gel 60 F₂₅₄, 0.2 mm, Macherey Nagel (cat. 818-333)) by detection with a spraying reagent (CH₃COOH/H₂O/H₂SO₄; 80:16:4) followed by heating at 100 °C. Preparative TLC was carried out on Si gel 60 PF_{254 + 366} (20 × 20 cm, 1 mm thickness, Analtech (cat. 02014)).

Plant material

Aerial parts of *Centaurea omphalotricha* (Coss. & Durieu ex Batt.) Willk. were collected from the Daya of Mogheul near Bechar in southwest Algeria (32.0192 N and 2.22 W) in April 2010 and identified by Professor M. Kabeche of University of Setif and M. Benabdelhakem from the National Agency of Preservation of Natural

Resources of Bechar. A voucher specimen (COB N. 175-2010) has been deposited in the Herbarium of Constantine University.

Extraction and isolation

Air-dried aerial parts (2604 g) of *C. omphalotricha* (Asteraceae) were powdered and macerated at room temperature with EtOH/H₂O (80:20 v/v) for 48 h, three times. After filtration, the filtrate was concentrated and suspended in H₂O (800 mL). The residue was extracted successively with CHCl₃, EtOAc and *n*-butanol. The organic phases were dried with Na₂SO₄, filtered using common filter paper and concentrated in vacuum at 25 °C to obtain the following extracts: CHCl₃ (10.0 g), EtOAc (9.8 g) and *n*-butanol (41.8 g). The CHCl₃ extract was fractionated by column chromatography (CC) (Si gel; petroleum ether/EtOAc with increasing polarity; 100 × 7 cm) to yield 25 fractions (1-25). Fraction 22 (petroleum ether/EtOAc, 65:35 and 45:55; 1.3 g) was subjected to Si gel CC (CH₂Cl₂/MeOH; 100 × 1.5 cm) with increasing polarity to give 8 subfractions. Subfraction 1 (CH₂Cl₂; 220 mg) was purified by preparative TLC (*n*-hexane/Et₂O, 2:4, three elutions) to give dehydrovomifoliol (2.2 mg); subfraction 4 (CH₂Cl₂/MeOH, 96:4; 413.6 mg) was rechromatographed on a Si gel column (CH₂Cl₂/acetone; 50 × 1.5 cm) with increasing polarity to give 22 subfractions (sub1-sub 22). Sub 6 (CH₂Cl₂/acetone, 98:2; 8.2 mg) was purified by preparative TLC (CH₂Cl₂/EtOAc/acetone; 50:10:4) to afford compound **7** (4.2 mg); sub 9 (CH₂Cl₂/acetone, 96:4; 14.5 mg) was submitted to preparative TLC (Et₂O/*n*-hexane, 4:1, three elutions) to give the new compound **3** (1.8 mg) and **5** (1.3 mg); sub 10 (CH₂Cl₂/acetone, 96:4; 16.9 mg) gave after purification by preparative TLC (*n*-hexane/Et₂O, 1:5, four elutions) 3-hydroxy-5,6-epoxy-ionone (3.8 mg); sub14 (CH₂Cl₂/acetone, 90:10; 16.3 mg) was rechromatographed by preparative TLC (*n*-hexane/Et₂O, 1:5, four elutions) to afford compound **4** (3 mg).

Fraction 23 (petroleum ether/EtOAc, 40:60; 720 mg) which was purified by Si gel TLC on preparative plates (CH₂Cl₂/MeOH/AcOH; 80:9:1, one elution) gave in order of increasing polarity compound **9** (15.1 mg) and a mixture which was purified by TLC (CH₂Cl₂/MeOH/H₂O, 10:1:0.1, one elution) yielding compound **8** (2.1 mg). Fraction 24 (petroleum ether/EtOAc 20:80; 1270 mg) was chromatographed on a Si gel CC (CH₂Cl₂/isopropanol; 100 × 1.5 cm) with increasing polarity to give 26 subfractions. Subfraction 8 (CH₂Cl₂/isopropanol, 96:4; 113.3 mg) was submitted to preparative TLC (*n*-hexane/Et₂O, 1:2 five elutions) to afford the new product **1** (1.3 mg) and a mixture of compounds which was purified

by preparative TLC (CH₂Cl₂/MeOH, 92:8, two elutions) to yield the new product **2** (4 mg) and circimaritin (3.4 mg). Subfraction 9 (CH₂Cl₂/isopropanol, 96:4; 87.7 mg) was submitted to preparative TLC (*n*-hexane/Et₂O, 1:2, three elutions) to yield **6** (4.6 mg). Subfraction 14 (CH₂Cl₂/isopropanol, 96:4; 14 mg) was a pure compound **10**.

A part of the EtOAc extract (5.8 g) was chromatographed on a Si gel CC (CHCl₃/acetone, 100 × 7 cm) with increasing polarity to give 8 fractions. Fraction 8 (CHCl₃/acetone, 50:50 to 100% acetone; 421.2 mg) was rechromatographed on a Si gel CC (CH₂Cl₂/EtOAc; 120 × 1.5 cm) with increasing polarity to give 13 subfractions. Subfraction 5 (CH₂Cl₂/EtOAc, 80:20; 11 mg) afforded pure apigenin (10.2 mg). Subfraction 7 (CH₂Cl₂/EtOAc, 75:25; 21.8 mg) was rechromatographed by TLC using CH₂Cl₂/MeOH/H₂O (100:10:0.1) as mobile phase to yield luteolin (11.3 mg).

4'-Acetyl cynaropicrin (**1**)

Amorphous solid; $[\alpha]_D^{25} = + 94$ (c 0.026, CHCl₃); IR (NaCl) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3478, 2939, 1755, 1740, 1729, 1642, 1450, 1373, 1267, 1152, 1048, 1031, 961; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) see Table 1; ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) see Table 2; HRESIMS positive ion *m/z* 411.1428 [M + Na]⁺ (Calc. for C₂₁H₂₄O₇Na, 411.1420).

4'-Acetyl cebellin F (**2**)

Amorphous solid; $[\alpha]_D^{25} = + 81$ (c 0.018, CHCl₃); IR (NaCl) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3481, 2937, 1751, 1729, 1653, 1374, 1231, 1135, 1030, 910; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) see Table 1; ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) see Table 2; HRESIMS positive ion *m/z* 425.1578 [M + Na]⁺ (Calc. for C₂₂H₂₆O₇Na, 425.1576).

15-Acetyl dehydromelitensin (**3**)

Amorphous solid; $[\alpha]_D^{25} = + 60$ (c 0.009, CHCl₃); IR (NaCl) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3420, 2935, 1751, 1734, 1727, 1651, 1384, 1239, 1137, 1051, 910; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) see Table 1; ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) see Table 2; HRESIMS positive ion *m/z* 329.1360 [M + Na]⁺, (Calc. for C₁₇H₂₂O₅Na, 329.1365).

Cell culture and cytotoxicity assays

The human leukemia HL-60 and U937 cells (DSMZ, German Collection of Microorganisms and Cell Cultures, Braunschweig, Germany) were grown in RPMI 1640 containing 2 mmol L⁻¹ L-glutamine supplemented with 10% (v/v) heat-inactivated fetal bovine serum as previously described.¹⁹

Stock solutions of 25 mmol L⁻¹ sesquiterpene lactones were made in dimethyl sulfoxide (DMSO) and further

dilutions were made in culture media just before use. In all experiments, the final concentration of DMSO did not exceed 0.4% (v/v), a concentration which is non toxic to the cells. The cytotoxicity of sesquiterpene lactones on human tumor cells was analyzed by colorimetric 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) assay as previously described.²⁰ Concentrations inducing a 50% inhibition of cell growth (IC_{50}) were determined graphically using the curve fitting algorithm of the computer software Prism 4.0 (GraphPad). Values are means \pm SE from at least three independent experiments, each performed in triplicate. The antitumor agent etoposide was used as a positive control in both HL-60 ($IC_{50} = 0.4 \pm 0.1 \mu\text{mol L}^{-1}$) and U937 cells ($IC_{50} = 1.4 \pm 0.3 \mu\text{mol L}^{-1}$).

Results and Discussion

Compound **1** was obtained as an amorphous solid. HRESIMS experiments indicated the molecular formula $C_{21}H_{24}O_7$ (calc. for $[M + Na]^+$ 411.1420; found 411.1428). The IR spectra exhibited absorption bands for OH groups (3478 cm^{-1}) and for carbonyl groups (1755 (α,β -unsaturated- γ -lactone), 1740 and 1729 (ester carbonyls) cm^{-1}). The presence of these groups was confirmed by the ^1H (Table 1)

and ^{13}C NMR spectra (Table 2). The ^1H NMR of **1** showed the presence of eight olefinic methylene protons at δ_{H} 5.65 (d, 1H, J 3.1 Hz, H-13a), 6.27 (d, 1H, J 3.5 Hz, H-13b), 4.98 (s, 1H, H-14a), 5.19 (s, 1H, H-14b), 5.41 (t, 1H, J 1.5 Hz, H-15a), 5.53 (t, 1H, J 1.5 Hz, H-15b), 6.00 (s, 1H, H-3'a) and 6.49 (s, 1H, H-3'b), one acetyl group at δ_{H} 2.14 (s, 3H, OAc), three oxygenated methines at δ_{H} 4.29 (dd, 1H, J 10.5, 9.0 Hz, H-6), 4.60 (tt, 1H, J 7.0, 1.5 Hz, H-3) and 5.19 (m, 1H, H-8) and one oxygenated methylene at δ_{H} 4.88 (s, 2H, H_2 -4'). The connectivities were established by analysis of its COSY spectrum. The ^{13}C NMR (Table 2) and DEPT data indicated the presence of one carbonyl group corresponding to a γ -lactone, two ester carbonyl groups, three aliphatic methylene, eight olefinic, one methyl (acetate), and six methine carbons. Both the ^1H and ^{13}C NMR spectral data of compound **1** were close to those of cynaropicrin,¹⁶ with the exception of an extra acetyl group in compound **1**, which was assigned by a HMBC experiment. Thus, the correlation observed between the signal at δ_{H} 4.88 (s, 2H, H_2 -4') and δ_{C} 170.3 (OAc), allowed us to confirm the position of the acetoxy group at the C-4' position. Therefore, the structure of **1** was elucidated as 4'-acetyl cynaropicrin.

Compound **2** was obtained as an amorphous solid. The ^1H NMR data (Table 1) of **2** were very similar to those

Table 1. ^1H NMR data of compounds **1-3** in CDCl_3 (δ in ppm and J in Hz)

Proton	1	2	3
	δ_{H}	δ_{H}	δ_{H}
1	3.02 (ddd, 10.5, 9.0, 7.5)	3.03 (ddd, 11.0, 10.5, 7.5)	5.82 (dd, 17.4, 10.7)
2a	1.75 (ddd, 14.5, 10.5, 7.0)	1.77 (ddd, 13.0, 10.5, 7.5)	5.05 (d, 10.7)
2b	2.22-2.27 (m)	2.28 (dt, 13.0, 7.5)	5.11 (d, 17.4)
3a			5.05 (s)
3b	4.60 (tt, 7.0, 1.5)	4.61 (tt, 7.5, 1.5)	5.45 (s)
5	2.89 (tt, 9.0, 1.5)	2.89 (tt, 11.0, 1.5)	2.46 (d, 11.4)
6	4.29 (dd, 10.5, 9.0)	4.28 (dd, 11.0, 9.0)	4.16 (t, 11.4)
7	3.20-3.25 (m)	3.21-3.26 (m)	2.67 (tt, 11.4, 3.0)
8	5.19 (m, overlapped)	5.16 (ddd, 9.3, 5.1, 4.0)	4.15 (td, 11.4, 4.1)
9a	2.44 (dd, 14.5, 3.5)	2.41 (dd, 14.6, 4.0)	1.70 (dd, 13.1, 11.4)
9b	2.75 (dd, 14.5, 5.0)	2.74 (dd, 14.6, 5.1)	1.91 (dd, 13.1, 4.1)
13a	5.65 (d, 3.1)	5.62 (d, 3.1)	6.03 (d, 3.0)
13b	6.27 (d, 3.5)	6.27 (d, 3.5)	6.22 (d, 3.0)
14a	4.98 (s)	4.98 (s)	
14b	5.19 (s)	5.19 (s)	1.14 (s)
15a	5.41 (t, 1.5)	5.41 (t, 1.5)	4.52 (d, 13.6)
15b	5.53 (t, 1.5)	5.55 (t, 1.5)	4.57 (d, 13.6)
3'a	6.00 (s)		
3'b	6.49 (s)	6.85 (tq, 6.1, 1.2)	—
4'	4.88 (s)	4.83 (d, 6.1)	—
5'	—	1.98 (d, 1.2)	—
OAc	2.14 (s)	2.15 (s)	2.13 (s)

of **1**, suggesting that both compounds are closely related in structure. The major variation is that compound **2** has a different acyl group. A detailed comparison of the ^1H (Table 1) and ^{13}C NMR (Table 2) signals of **2** and **1** revealed an extra carbon signal in ^{13}C NMR, besides the presence of a methyl group at δ_{H} 1.98 (d, 3H, J 1.2 Hz, $\text{H}_3\text{-5}'$) and a vinylic proton signal at δ_{H} 6.85 (tq, 1H, J 6.1, 1.2 Hz, $\text{H-3}'$) in ^1H NMR suggesting that the substituent group in **2** is the 4-acetoxy-2-methyl butenoyl. The relative stereochemistry of the double bond in the acyl group was determined as *E* based on the observed correlation between the signals at δ_{H} 4.83 and 1.98 in the ROESY spectrum. The combination of all the above data and the HRESIMS experiment led us to assign the structure of **2** as 4'-acetyl cebellin F.

Table 2. ^{13}C NMR data of compounds **1-3** in CDCl_3 (δ in ppm)

Position	1	2	3
	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}
1	45.4	45.4	146.0
2	39.1	39.1	113.0
3	73.8	73.9	116.9
4	152.3	152.3	138.7
5	51.4	51.4	51.5
6	78.4	78.6	78.3
7	46.7	47.9	55.1
8	74.6	74.5	67.5
9	37.1	37.3	49.8
10	141.7	141.8	42.0
11	137.4	137.4	137.4
12	168.9	169.0	169.7
13	122.5	122.1	120.5
14	118.2	118.1	19.0
15	113.6	113.6	67.2
1'	164.3	166.1	
2'	135.2	130.2	
3'	129.1	136.4	
4'	62.3	61.0	
5'		12.9	
OAc	20.8 170.3	20.8 170.7	21.0 170.6

The HREIMS and ^{13}C NMR data of **3** indicated the molecular formula $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{O}_5$. The IR spectrum of this compound showed the presence of hydroxyl groups (3420 cm^{-1}), and carbonyl groups (1751 , 1734 , 1727 cm^{-1}). The ^1H NMR (Table 1) spectrum of **3** exhibited the presence of one methyl group at δ_{H} 1.14 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-14}$), one acetyl methyl group at 2.13 (s, 3H, OAc), one vinylic proton at 5.82 (dd, 1H, J 17.4, 10.7 Hz, H-1), and six olefinic

methylene protons at 5.05 (d, 1H, J 10.7 Hz, H-2a), 5.11 (d, 1H, J 17.4 Hz, H-2b), 5.05 (s, 1H, H-3a), 5.45 (s, 1H, H-3b), 6.03 (d, 1H, J 3.0 Hz, H-13a), 6.22 (d, 1H, J 3.0 Hz, H-13b), typical of a 1,3,11(13)-elematrien-6,12-olide.^{21,22} The relationships between the proton signals in **3** were established from the $^1\text{H-}^1\text{H}$ COSY spectrum, which disclosed the following connectivities: H-1 with $\text{H}_2\text{-2}$, H-5 with H-6 , H-13 with H-7 , H-8 with $\text{H}_2\text{-9}$. The ^{13}C NMR (Table 2) and DEPT spectral data indicated the presence of two carbonyl groups, corresponding to a γ -lactone, and an acetoxy group, six olefinic carbons, two methyl groups, two aliphatic methylene carbons, one of them oxygenated, four methine carbons, two of them oxygenated and one quaternary carbon. These assignments were similar to those of the known elemanolide dehydromelitensin.²² However, a hydroxyl group was replaced by an acetoxy group, the location of this group in **3** being confirmed by the low shift position (+ 0.5 ppm) of the protons $\text{H}_2\text{-15}$ at δ_{H} 4.52 (d, 1H, J 13.6 Hz, H-15a) and 4.57 (d, 1H, J 13.6 Hz, H-15b) in comparison with the ^1H NMR dehydromelitensin data,²² characteristic of the presence of an acetyl group in a primary hydroxyl. The structure of compound **3** was assigned and confirmed using HMBC, HSQC and ROESY data as 15-acetyl dehydromelitensin.

Sesquiterpene lactones have attracted much attention during the last three decades, because they display a wide range of biological activities, including antitumor and anti-inflammatory properties.^{8,23} The structural requirement for the biological activities of these compounds is associated with α -methylene- γ -butyrolactone moiety, which acts as alkylating agent in a Michael-type reaction with nucleophiles.²⁴ Thus, sesquiterpene lactones are believed to exert their numerous biological activities through inhibition of enzymes and other functional proteins by forming covalent bonds with free cysteine residues in these macromolecules or by conjugation with glutathione.^{25,26}

Previous studies have shown that sesquiterpene lactones display cytotoxic properties in tumor cells⁸ and that the sesquiterpene lactone of the guaianolide type cynaropicrin induces cytotoxicity in U937 and Jurkat T cell lines.²⁷ A quantitative structure-activity relationships (QSAR) study including four different skeletons of sesquiterpene lactones revealed the most active among the guaianolides and pseudoguaianolides, and steric properties and electronic features as the most important descriptors.²³ However, antiproliferative studies of the naturally occurring sesquiterpene lactones described in this paper in human leukemia cells have not yet been assessed.

Sesquiterpene lactones **1-6** were found to inhibit the growth and cell viability of HL-60 and U937 cells in culture as determined by the 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]2,5-

diphenyl tetrazolium bromide (MTT) dye-reduction assay (Table 3). In contrast, the sesquiterpene lactone **7** is not an effective antiproliferative agent showing an IC_{50} value higher than $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ in leukemia cells, in accordance with the absence of the alkylating group, the exocyclic conjugated double bond.

Table 3. Effects of compounds **1-7** on the growth of the human leukemia cell lines

Compound	IC_{50} / ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	
	HL-60	U937
1	5.1 ± 0.4	10.8 ± 4.1
2	7.0 ± 1.9	10.4 ± 1.9
3	25.8 ± 3.6	29.9 ± 4.4
4	5.4 ± 1.3	6.8 ± 2.2
5	2.0 ± 0.9	3.1 ± 0.6
6	5.6 ± 2.1	11.7 ± 1.5
7	> 100	> 100

Cells were cultured for 72 h and the IC_{50} values were calculated as described in the Experimental section. The data shown represent the means \pm SEM of 3-5 independent experiments with three determinations in each.

Among the different sesquiterpene lactones, the presence of the exocyclic, conjugated double bond is essential for the cytotoxic activity against HL-60 and U937 cells. Compounds **1**, **2**, **4**, **5** and **6** displayed similar potency in both cell lines. The potency of these sesquiterpene lactones might be explained by their lipophilicity. However, other factors, such as molecular geometry and the chemical environment of the target sulfhydryl may also influence the activity of sesquiterpene lactones. All these guaianolides contain an ester functional group at C-8. The sesquiterpene lactone 8-(4-hydroxymethacrylate)-dehydromelitensin **6** also contains an ester near from the exocyclic methylene bond. The presence of this group appears to be important, since compound **3** (15-acetyl dehydromelitensin) - which does not contain this functional group - was less cytotoxic than **6**.

In conclusion, the Algerian plant *Centaurea omphalotricha* has been chemically studied for the first time, and three new sesquiterpene lactones have been identified along with twelve known compounds. The naturally occurring sesquiterpene lactones evaluated in the present study were strongly cytotoxic against human leukemia cell lines and the results of the present study may lead to the discovery of new and highly specific antitumor agents against leukemia cells.

Supplementary Information

Spectra of compounds **1-3** are available free of charge at <http://jbcs.sbg.org.br> as PDF file.

Acknowledgments

This work was supported in part by grants from the NATO Public Diplomacy Division (Science for Peace and Security Section) CBP.MD.CLG 983840, the Spanish Ministry of Science and Innovation and from the European Regional Development Fund (SAF2010-21380) and MAEC-Agencia Española de Cooperación y Desarrollo PCI (A1/035449/11). F. L. was supported by the JAE-DOC Program from the Spanish Ministry of Science and Innovation and the CSIC. S. E. thanks the Spanish Ministry of Education for a collaboration studentship. Thanks are also due to the Algerian Ministry of Higher Education and Scientific Research for financial support.

References

- Susanna, A.; Garcia-Jacas, N. In *Systematics, Evolution and Biogeography of Compositae*; Funk, V. A.; Susanna, A.; Stuessy, T. F.; Bayer, R. J, eds.; International Association for Plant Taxonomy: Vienna, Austria, 2009, pp. 293-313.
- Koca, U.; Suntar, I. P.; Keles, H.; Yesilada, E.; Akkol, E. K.; *J. Ethnopharmacol.* **2009**, *126*, 551.
- Akkol, E. K.; Arif, R.; Ergun, F.; Yesilada, E.; *J. Ethnopharmacol.* **2009**, *122*, 210.
- Seghiri, R.; Boumaza, O.; Mekkiou, R.; Benayache, S.; Mosset, P.; Quintana, J.; Estévez, F.; León, F.; Bermejo, J.; Benayache, F.; *Phytochem. Lett.* **2009**, *2*, 114.
- Buruk, K.; Sokmen, A.; Aydin, F.; Erturk, M.; *Fitoterapia* **2006**, *77*, 388.
- Chicca, A.; Tebano, M.; Adinolfi, B.; Ertugrul, K.; Flamini, G.; Nieri, P.; *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 3066.
- Flamini, G.; Antognoli, E.; Morelli, I.; *Phytochemistry* **2001**, *57*, 559.
- Akram Ghantous, A.; Gali-Muhtasib, H.; Vuorela, H.; Saliba, N. A.; Darwiche, N.; *Drug Discovery Today* **2010**, *15*, 668.
- Bentamene, A.; Benayache, S.; Creche, J.; Petit, G.; Bermejo-Barrera, J.; León, F.; Benayache, F.; *Biochem. Syst. Ecol.* **2005**, *33*, 1061.
- Kadi-Hanifi, H.; *Sécheresse* **2003**, *3*, 169.
- Ozenda, P. In *Flore et végétation du Sahara*; 3rd ed.; Centre National de la Recherche Scientifique: Paris, 2004.
- González, A. G.; Bermejo, J.; Amaro, J. M.; Massanet, G. M.; Galindo, A.; Cabrera, I.; *Can. J. Chem.* **1978**, *56*, 491.
- Ha, T. J.; Yang, M. S.; Pak, Y.; Lee, J. R.; Lee, K. D.; Kim, H. M.; Park, K. H.; *Heterocycles* **2002**, *57*, 151.
- García, B.; Skaltsa, H.; Navarro, F. I.; Pedro, J. R.; Lazari, D.; *Phytochemistry* **1996**, *41*, 1113.
- González, A.G.; Bermejo, J.; Toledo, F.; Daza, L. R.; *Phytochemistry* **1981**, *20*, 1895.

16. Choi, S. Z.; Choi, S. U.; Lee, K. R.; *Arch. Pharm. Res.* **2005**, *28*, 1142.
17. Kim, I.; Chin, Y. W.; Lim, S. W.; Kim, Y. C.; Kim, J.; *Arch. Pharm. Res.* **2004**, *27*, 600.
18. Youssef, D.; Frahm, A. W.; *Planta Med.* **1995**, *61*, 570.
19. Torres, F.; Quintana, J.; Estévez, F.; *Mol. Carcinog.* **2010**, *49*, 464.
20. Negrín, G.; Eiroa, J. L.; Morales, M.; Triana, J.; Quintana, J.; Estévez, F.; *Mol. Carcinog.* **2010**, *49*, 488.
21. Karamenderes, C.; Bedir, E.; Pawar, R.; Baykan, S.; Khan, I. A.; *Phytochemistry* **2007**, *68*, 609.
22. Cardona, M. L.; García, B.; Pedro, J. R.; Sinisterra, J. F.; *Phytochemistry* **1989**, *28*, 1264.
23. Rodriguez, E.; Towers, G. H. N.; Mitchell, J. C.; *Phytochemistry* **1976**, *15*, 1573; Scotti, M. T.; Fernandez, M. B.; Ferreira, M. J. P.; Emerenciano, V. P.; *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 2927.
24. Kupchan, S. M.; Fessler, D. C.; Eakin, M. A.; Giacobbe, T. J.; *Science* **1970**, *168*, 376.
25. Heilmann, J.; Wasescha, M. R.; Schmidt, T. J.; *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9*, 2189.
26. Garcia-Pineros, A. J.; Lindenmeyer, M. T.; Merfort, I.; *Life Sci.* **2004**, *75*, 841.
27. Zhang, S.; Wong, Y. K.; Ong, C. N.; Shen, H. M.; *Curr. Med. Chem. Anti Canc. Agents* **2005**, *5*, 239; Cho, J. Y.; Kim, A. R.; Jung, J. H.; Chun, T.; Rhee, M. H.; Yoo, E. S.; *Eur. J. Pharmacol.* **2004**, *492*, 85.

Submitted: November 15, 2011
Published online: April 19, 2012