

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

**UNIVERSITE DES FRERES MENTOURI-CONSTANTINE 1
FACULTE DES SCIENCES EXACTES
DEPARTEMENT DE CHIMIE**

N° d'ordre :03/D3C/2018

Série :01/ch/2018

THESE

**Présentée en vue de l'obtention du diplôme du
Doctorat 3^{ème} cycle (LMD)**

Spécialité: Chimie pharmaceutique

INTITULÉ:

**Etude phytochimique et évaluation des activités biologiques
des espèces algériennes *Athamanta sicula* L. et *Ferula
longipes* Coss. ex Bonnier et Maury (Apiaceae)**

Par

***M^{me}* Aicha BOURATOUA
Epouse LEBIED**

Devant le jury :

Pr. Zahia KABOUCHE	(U. des frères Mentouri-Constantine 1)	Présidente
Pr. Ahmed KABOUCHE	(U. des frères Mentouri-Constantine 1)	Rapporteur
Pr. Mohamed BOUHEROUM	(U. des frères Mentouri-Constantine 1)	Examineur
Pr. Abdelmalik BELKHIRI	(U. Salah Boubnider-Constantine 3)	Examineur
Pr. Brahim AIT KAKI	(U. Salah Boubnider-Constantine 3)	Examineur

Soutenu le: 10/01/2018

Dédicaces

Cette thèse est dédiée ...

A mes chers parents

Qui ont sacrifié leur vie pour notre réussite, qui m'ont encouragé à être ce que je suis, avec tant d'amour. Chaque ligne de cette thèse, chaque mot et chaque lettre vous exprime la reconnaissance, le respect, l'estime et le merci d'être mes parents.

A mon cher mari Amar

Qui par sa compréhension, sa tendresse et ses encouragements, a soutenu sans cesse mes efforts durant la réalisation de ce travail.

A mon ange Mohamed Djoud tu es toute ma vie

*A mon cher frère Abdou et mes très chères sœurs Amina, Oumaima et Ahlem
source de tendresse et de soutien*

A ma belle-mère et mon beau-père pour leur amour et leur affection

A mon beau frère Salah et mes belles-sœurs: Hayet, Hadjer, Karima et Wafa

A toute ma famille

A tous mes amis et collègues

Remerciements

En préambule, je souhaite rendre grâce à Dieu, le Clément et Miséricordieux de m'avoir donné la force, le courage et la patience de mener à bien ce modeste travail.

Ce travail de thèse a été réalisé au sein du Laboratoire d'Obtention de Substances Thérapeutiques, Faculté des Sciences Exactes de l'Université des frères Mentouri-Constantine 1, sous la direction du Professeur Zahia KABOUCHE.

Je tiens à lui exprimer mes sincères remerciements pour m'avoir accueillie au sein du son laboratoire, pour m'avoir fait confiance et m'avoir encouragé et d'avoir accepter de présider le jury.

Je tiens à témoigner ma profonde reconnaissance à Monsieur le Professeur Ahmed KABOUCHE qui m'a fait l'honneur d'accepter la direction de cette thèse, sa compétence, sa bienveillance, ses conseils, ses orientations... qui ont été pour moi un solide appui et un réconfort à tout moments. Cette thèse n'aurai certainement pas vu le jour sans son soutien et son aide.

Mes remerciements vont également à Monsieur le Professeur Mohamed Bouheroum de l'Université des frères Mentouri-Constantine 1, Monsieur le Professeur Abdelmalik BELKHIRI de l'Université Salah Boubnider-Constantine 3 et Monsieur le Professeur Brahim AITKAKI de l'université Salah Boubnider-Constantine 3 pour l'importance qu'ils ont accordé à mon travail en acceptant d'être membres de ce jury et pour le temps qu'ils ont consacré à l'examen de ce mémoire.

J'aimerais également citer ici les personnes dont la collaboration a été essentielle pour plusieurs aspects de ce travail. Je remercie Madame la Professeure

Laurence VOUTQUENNE-NAZABADIOKO (Laboratoire de Pharmacognosie, groupe Isolement et Structure, l'Université de Reims) pour son aide concernant les analyses des composés, Monsieur le docteur Chawki BENSOUICI (Centre de Recherche en Biotechnologie, Constantine, Algérie) pour son aide concernant la réalisation de l'activité antioxydante.

Mes remerciements vont également à Docteur Assia Khalfallah, pour son encouragement, son soutien moral et son aide.

Toute ma gratitude va à mes chers parents Abdelhamid et Leila, qui m'ont entouré de leur affection, pour leur dévouement, leur présence au cours de toutes ces années, en espérant que ce travail sera mérite de leurs espoirs et de leur confiance.

Je remercie également mes sœurs et mon frère pour leur soutien tout au long de mes études et durant cette thèse.

Mes remerciements les plus forts reviennent également à ma petite famille, spécialement à mon cher mari Amar qui m'a encouragés et soutenues pendant toutes ces années de thèse. Merci pour ton aide et ta patience. Sans oublié mes beaux parents.

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

Table des matières

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

PARTIE 1 : Revue bibliographique

Chapitre I : Aperçu bibliographique sur les Apiaceae

I. Généralités sur les Apiacées	3
I.1. Introduction	3
I.2. Répartition géographique	3
I.3. Caractères morphologiques et anatomiques	6
I.4. Intérêts	7
I.5. Principaux métabolites secondaires de plantes de la famille des Apiaceae	8
I.5.1. Les terpénoïdes	8
I.5.1.1. Les monoterpènes	9
I.5.1.2. Les sesquiterpènes	9
I.5.1.3. Les diterpènes	10
I.5.1.4. Les triterpènes	11
I.5.2. Les polyphénols.....	12
I.5.2.1. Les dérivés phénylpropaniques	12
I.5.2.2. Les coumarines	12
I.5.2.3. Les flavonoïdes	16
I.5.3. Les alcaloïdes et les dérivés azotés	19
I.5.4. Les composés polyacétyléniques	20

Chapitre II : Aperçu bibliographique sur les genres *Athamanta* et *Ferula*

I. Aperçu bibliographique sur le genre <i>Athamanta</i> (synonyme : <i>Tinguarra</i>)	23
I.1. Description botanique du genre	23
I.2. Répartition géographique	23
I.3. Utilisations en médecine traditionnelle	23
I.4. Travaux antérieurs sur le genre	23
II. <i>Athamanta sicula</i> L. (synonyme: <i>Tinguarra sicula</i>)	25

II.1. Description botanique	25
II.2. Répartition géographique	26
II.3. Place dans la systématique	26
II.4. Utilisations en médecine traditionnelle	26
II.5. Travaux antérieurs	26
III. Aperçu bibliographique sur le genre <i>Ferula</i>	26
III.1. Description botanique	26
III.2. Répartition géographique	27
III.3. Utilisations en médecine traditionnelle	27
III.4. Travaux antérieurs	28
III.4.1. Les métabolites secondaires	29
III.4.1.1. Les terpénoïdes	29
III.4.1.1.1. Les dérivés monoterpéniques	29
III.4.1.1.2. Les dérivés diterpéniques	30
III.4.1.1.3. Les dérivés sesquiterpéniques	30
III.4.1.2. Les polyphénols.....	46
III.4.1.2.1. Les dérivés coumariniques	46
III.4.1.2.2. Les flavonoïdes	65
III.4.1.2.3. Les dérivés phénylpropaniques	66
III.4.1.3. Les dérivés sulfuriques	66
III.4.1.4. Autres produits	70
IV. <i>Ferula longipes</i> Coss. ex Bonnier et Maury	71
IV.1. Description botanique	71
IV.2. Répartition géographique	71
IV.3. Place dans la systématique	72
IV.4. Utilisations en médecine traditionnelle	72
IV.5. Travaux antérieurs	72

Chapitre III : Généralités sur les activités biologiques

I. Activité antioxydante	73
--------------------------------	----

I.1. Les radicaux libres	73
I.2. Les antioxydants	73
I.2.1. Antioxydants d'origine naturelle	74
I.2.2. Antioxydants synthétiques	76
I.3. Méthodes de détermination de l'activité antioxydante	76
I.3.1. Test du DPPH	77
I.3.2. Test de balayage ABTS ^{•+}	77
I.3.3. Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC)	78
I.3.4. Chélation des ions métalliques	79
I.3.5. Test de blanchissement du β -carotène	80
II. Activité anticholinestérase	80
III. Activité cytotoxique	81
III.1. Le test de viabilité	82

PARTIE 2 : Matériel et méthodes

Chapitre I : Matériel végétal et méthodes d'extraction, de séparation et de purification

I. <i>Athamanta sicula</i> L.	83
I.1. Récolte et séchage de la plante	83
I.2. Extraction	83
I. 3. Séparation et purification des composés de la fraction dichlorométhane	85
I.3.1. Fractionnement des fractions F7, F10	86
I.3.2. Fractionnement de la fraction F15	86
I.3.3. Fractionnement de la fraction F20	86
I. 4. Séparation et purification des composés de la fraction acétate d'éthyle	87
I.4.1. Fractionnement de la fraction F3	89
I. 5. Séparation et purification des composés de la fraction <i>n</i> -butanol	90
II. <i>Ferula longipes</i> Coss. ex Bonnier et Maury	92
II.1. Récolte et séchage	92
II.2. Extraction	92
II.3. Séparation et purification des composés de la fraction <i>n</i> -butanol	94

II.3.1. Fractionnement de la fraction F3	96
II.3.2. Fractionnement de la fraction F5	97
II.4. Séparation et purification des composés de la fraction acétate d'éthyle	98
II.4.1. Fractionnement de la fraction F6	99
II.4.2. Fractionnement de la fraction F3	100

Chapitre II : Activités biologiques

I. Activité antioxydante	102
I.1. Test du 2,2-DiPhényl-1-Picryl-Hydrazyl (DPPH)	102
I.2. Essai de décoloration de radical cation ABTS ^{•+}	103
I.3. La réduction cuprique (CUPRAC)	104
II. Activité anticholinestérase	104
III. La cytotoxicité	105

PARTIE III : Résultats et discussion

Chapitre I : Identification des produits isolés d'*Athamanta sicula* L.

I. Elucidation structurale des composés isolés	107
I.1. Le produit A1	107
I.2. Le produit A2	111
I.3. Le produit A3	115
I.4. Le produit A4	118
I.5. Le produit A5	122
I.6. Le produit A6	126
I.7. Le produit A7	131
I.8. Le produit A8	136

Chapitre II : Identification des produits isolés de *Ferula longipes* Coss.

I. Détermination structurale des composés isolés de <i>Ferula longipes</i> Coss.	142
I.1. Le produit P1	142
I.2. Le produit P2	146
I.3. Le produit P3	150

I.4. Le produit P4	156
I.5. Le produit P5	166
I.6. Le produit P6	174
I.7. Le produit P7	183
I.8. Le produit P9	189
I.9. Le produit P10	193
I.10. Le produit P11	197

Chapitre III : Activités biologiques

I. Activité antioxydante de l'espèce <i>Ferula longipes</i> Coss.	204
I.1. Activité antioxydante des fractions acétate d'éthyle et <i>n</i> -butanol	204
I.2. Activité antioxydante des produits purs	205
I.2.1. Activité antiradicalaire DPPH	205
I.2.2. Essai de décoloration de radical cation ABTS ^{•+}	206
I.2.3. La réduction cuprique (CUPRAC)	208
II. Activité anticholinestérase	210
III. Activité cytotoxique des produits purs de l'espèce <i>Athamanta sicula</i> L.....	211
Conclusion générale	212
Références bibliographiques	214

Liste des figures

Figure 1 : Carte de répartition géographique des Apiaceae	4
Figure 2 : Quelques monoterpènes isolés de la famille des Apiaceae	9
Figure 3 : Quelques sesquiterpènes isolés de la famille des Apiaceae	10
Figure 4 : Quelques diterpènes isolés de la famille des Apiaceae	10
Figure 5 : Quelques dérivés phénylpropaniques isolés de la famille des Apiaceae	12
Figure 6 : Structure de base des flavonoïdes	16
Figure 7 : Différentes structures de flavonoïdes	17
Figure 8 : Structures de composés isolés du genre <i>Athamanta</i>	25
Figure 9 : Espèce <i>Athamanta sicula</i> L.	25
Figure 10 : Structures des monoterpènes isolés du genre <i>Ferula</i>	30
Figure 11 : Structures de diterpène isolé du genre <i>Ferula</i>	30
Figure 12 : Biogenèse des sesquiterpènes	31
Figure 13 : Structures de germacrènes isolé du genre <i>Ferula</i>	32
Figure 14 : Les humulènes isolés du genre <i>Ferula</i>	34
Figure 15 : Les dérivés de daucane isolés du genre <i>Ferula</i>	39
Figure 16 : Les lactones sesquiterpéniques isolés du genre <i>Ferula</i>	44
Figure 17 : Autres dérivés sesquiterpéniques isolés du genre <i>Ferula</i>	45
Figure 18 : Les coumarines substituées par des sesquiterpènes linéaires isolés du genre <i>Ferula</i>	48
Figure 19 : Les coumarines substituées par des sesquiterpènes monocycliques isolés du genre <i>Ferula</i>	50
Figure 20 : Les coumarines substituées par des sesquiterpènes bicycliques isolés du genre <i>Ferula</i>	60
Figure 21 : Les coumarines prénylées isolés du genre <i>Ferula</i>	63
Figure 22 : Les furanocoumarines isolés du genre <i>Ferula</i>	65
Figure 23 : Flavonoïde isolé du genre <i>Ferula</i>	66
Figure 24 : Quelques propiophénones isolés du genre <i>Ferula</i>	66
Figure 25 : Dérivés sulfuriques isolés du genre <i>Ferula</i>	69
Figure 26 : Autres composés isolés de quelques espèces du genre <i>Ferula</i>	70

Figure 27 : Espèce <i>Ferula longipes</i> Coss.	71
Figure 28 : Répartition géographique de l'espèce <i>Ferula longipes</i> Coss.	71
Figure 29 : Structures chimiques des antioxydants naturels	75
Figure 30 : Structures chimiques des antioxydants synthétiques	76
Figure 31 : L'effet d'un antioxydant (AH) sur le radical DPPH'	77
Figure 32 : Génération d'ABTS ^{•+} par l'oxydation d'ABTS avec K ₂ S ₂ O ₈	78
Figure 33 : Réduction du complexe chromogène de Cu ⁺² -Nc	79
Figure 34 : Réaction du test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)	80
Figure 35 : Mécanisme chimiques de la méthode d'Ellman	81
Figure 36 : Protocole d'extraction de la plante <i>Athamanta sicula</i> L.	84
Figure 37 : Schéma de séparation de la fraction dichlorométhane de la plante <i>Athamanta sicula</i> L.	87
Figure 38 : Schéma de séparation de la fraction acétate d'éthyle de la plante <i>Athamanta sicula</i> L.	90
Figure 39 : Les différentes étapes d'extraction du <i>Ferula longipes</i> Coss.	93
Figure 40 : Carte phénolique de la fraction <i>n</i> -butanol	94
Figure 41 : Fractionnement et isolement des métabolites secondaires de la fraction <i>n</i> -BuOH du <i>Ferula longipes</i> Coss.	98
Figure 42 : Profils CCM sur gel de silice normale de la fraction acétate d'éthyle	99
Figure 43 : Schéma de séparation de la fraction acétate d'éthyle de <i>Ferula longipes</i>	101
Figure 44 : Inhibition du DPPH par un phénol	102
Figure 45 : Spectre RMN ¹ H du composé A1 (CDCl ₃ , 500 MHz)	108
Figure 46 : Spectre RMN ¹ H étalé du composé A1 (CDCl ₃ , 500 MHz)	108
Figure 47 : Spectre RMN ¹³ C du composé A1 (CDCl ₃ , 125 MHz)	109
Figure 48 : Spectre HSQC du composé A1 (CDCl ₃ , 500 MHz)	109
Figure 49 : Spectre RMN ¹ H du composé A2 (CDCl ₃ , 500 MHz)	111
Figure 50 : Spectre RMN ¹ H étalé du composé A2 (CDCl ₃ , 500 MHz)	112
Figure 51 : Spectre RMN ¹³ C du composé A2 (CDCl ₃ , 125 MHz)	112
Figure 52 : Spectre HSQC du composé A2 (CDCl ₃ , 500 MHz)	113
Figure 53 : Spectre HMBC du composé A2 (CDCl ₃ , 500 MHz)	114
Figure 54 : Spectre RMN ¹ H du composé A3 (CDCl ₃ , 600 MHz)	115

Figure 55 : Spectre RMN ^1H étalé du composé A3 (CDCl_3 , 600 MHz)	116
Figure 56 : Spectre RMN ^{13}C du composé A3 (CDCl_3 , 150 MHz)	116
Figure 57 : Spectre HSQC du composé A3 (CDCl_3 , 600 MHz)	117
Figure 58 : Spectre HMBC du composé A3 (CDCl_3 , 600 MHz)	117
Figure 59 : Spectre RMN ^1H du composé A4 (CDCl_3 , 500 MHz)	119
Figure 60 : Spectre RMN ^1H étalé du composé A4 (CDCl_3 , 500 MHz)	119
Figure 61 : Spectre RMN ^{13}C du composé A4 (CDCl_3 , 125 MHz)	120
Figure 62 : Spectre HSQC du composé A4 (CDCl_3 , 500 MHz)	121
Figure 63 : Spectre HMBC du composé A4 (CDCl_3 , 500 MHz)	121
Figure 64 : Série spectrale UV du composé A5	124
Figure 65 : Spectre RMN ^1H du composé A5 (DMSO, 600 MHz)	125
Figure 66 : Spectre RMN ^{13}C du composé A5 (DMSO, 150 MHz)	125
Figure 67 : Série spectrale UV du composé A6	128
Figure 68 : Spectre RMN ^1H du composé A6 (Acétone, 600 MHz)	129
Figure 69 : Spectre RMN ^{13}C du composé A6 (Acétone, 150 MHz)	129
Figure 70 : Spectre COSY du composé A6	130
Figure 71 : Série spectrale UV du composé A7	132
Figure 72 : Spectre RMN ^1H du composé A7 (Acétone, 600 MHz)	133
Figure 73 : Spectre RMN ^{13}C du composé A7 (Acétone, 150 MHz)	134
Figure 74 : Spectre HSQC du composé A7 (Acétone, 600 MHz)	134
Figure 75 : Spectre HMBC de δ_{H} 3.9 à 7.7 ppm du composé A7 (Acétone, 600 MHz).....	135
Figure 76 : Spectre HMBC de δ_{H} 6.1 à 7.7 ppm du composé A7 (Acétone, 600 MHz).....	135
Figure 77 : Série spectrale UV du composé A8	138
Figure 78 : Spectre RMN ^1H du composé A8 (DMSO, 500 MHz)	139
Figure 79 : Spectre RMN ^{13}C du composé A8 (DMSO, 125 MHz)	139
Figure 80 : Spectre COSY du composé A8.....	140
Figure 81 : Spectre HMBC du composé A8.....	140
Figure 82 : Série spectrale UV du composé P1	143
Figure 83 : Structure partielle du produit P1.....	144
Figure 84 : Spectre RMN ^1H du composé P1 (CD_3COCD_3 , 250MHz)	145
Figure 85 : Spectre RMN ^1H étalé du composé P1 (CD_3COCD_3 , 250 MHz)	145

Figure 86 : Série Spectrale UV-visible du composé P2	148
Figure 87 : Spectre RMN ¹ H du composé P2 (CD ₃ COCD ₃ , 250MHz)	149
Figure 88 : Spectre RMN ¹ H étalé du composé P2 (CD ₃ COCD ₃ , 250 MHz)	149
Figure 89 : Série Spectrale UV-visible du produit P3	152
Figure 90 : Structure partielle du produit P3	152
Figure 91 : Spectre RMN ¹ H du produit P3 (CD ₃ OD, 600MHz)	153
Figure 92 : Spectre RMN ¹ H étalé du composé P3 (CD ₃ OD, 600 MHz)	154
Figure 93 : Spectre COSY étalé du composé P3 (CD ₃ OD, 600 MHz)	154
Figure 94 : Spectre HSQC étalé du composé P3 (CD ₃ OD, 600 MHz)	155
Figure 95 : Spectre de masse HR-ESI-MS du composé P4	156
Figure 96 : Spectre RMN ¹ H du composé P4 (CD ₃ OD, 600 MHz)	157
Figure 97 : Spectre RMN ¹ H étalé du composé P4 (CD ₃ OD, 600 MHz)	158
Figure 98 : Spectre RMN ¹³ C du composé P4 (CD ₃ OD, 150 MHz)	159
Figure 99 : Spectre HSQC de δ _H 3.35 à 5.1 ppm du produit P4 (CD ₃ OD, 600 MHz)	160
Figure 100 : Spectre HSQC de δ _H 5.1 à 7.6 ppm du produit P4 (CD ₃ OD, 600 MHz)	160
Figure 101 : Corrélations COSY du composé P4	161
Figure 102 : Spectre COSY de δ _H 1.0 à 6.0 ppm du produit P4 (CD ₃ OD, 600 MHz)	162
Figure 103 : Spectre COSY de δ _H 6.3 à 7.7 ppm du produit P4 (CD ₃ OD, 600 MHz)	162
Figure 104 : Corrélations HMBC du composé P4	163
Figure 105 : Spectre HMBC de δ _H 1.0 à 5.5 ppm du produit P4 (CD ₃ OD, 600 MHz)	164
Figure 106 : Spectre HMBC de δ _H 3.5 à 7.5 ppm du produit P4 (CD ₃ OD, 600 MHz)	164
Figure 107 : Spectre HMBC de δ _H 5.1 à 7.7 ppm du produit P4 (CD ₃ OD, 600 MHz)	165
Figure 108 : Série Spectrale UV-visible du produit P5	168
Figure 109 : Spectre RMN ¹ H étalé du composé P5 (CD ₃ OD, 600 MHz)	169
Figure 110 : Spectre RMN ¹³ C du composé P5 (CD ₃ OD, 150 MHz)	170
Figure 111 : Spectre HSQC de δ _H 3.30 à 4.3 ppm du produit P5 (CD ₃ OD, 600 MHz).....	170
Figure 112 : Spectre HSQC de δ _H 5.0 à 7.4 ppm du produit P5 (CD ₃ OD, 600 MHz)	171
Figure 113 : Spectre COSY, partie osidique du composé P5 (CD ₃ OD, 600 MHz)	171
Figure 114 : Spectre HMBC de δ _H 4.0 à 8.0 ppm du composé P5 (CD ₃ OD, 600 MHz).....	172
Figure 115 : Série Spectrale UV-visible du produit P6	175
Figure 116 : Spectre RMN ¹ H étalé du composé P6 (CD ₃ OD, 600 MHz)	176

Figure 117 : Spectre RMN ¹³ C du composé P6 (CD ₃ OD, 150 MHz)	177
Figure 118 : Spectre HSQC de δ _C 3.2 à 4.0 ppm du produit P6 (CD ₃ OD, 600 MHz).....	177
Figure 119 : Spectre HSQC de δ _H 5.0 à 8.0 ppm du produit P6 (CD ₃ OD, 600 MHz).....	178
Figure 120 : Spectre COSY de δ _H 3.2 à 5.5 ppm du produit P6 (CD ₃ OD, 600 MHz).....	178
Figure 121 : Spectre COSY de δ _H 6.0 à 8.2 ppm du produit P6 (CD ₃ OD, 600 MHz).....	179
Figure 122 : Corrélations HMBC du composé P6	180
Figure 123 : Spectre HMBC de δ _C 3.5 à 8.0 ppm du produit P6 (CD ₃ OD, 600 MHz).....	181
Figure 124 : Spectre HMBC de δ _H 6.0 à 8.5 ppm du produit P6 (CD ₃ OD, 600 MHz).....	181
Figure 125 : Spectre RMN ¹ H des composés P7 et P8 (CD ₃ OD, 600 MHz)	184
Figure 126 : Spectre RMN ¹³ C des composés P7 et P8 (CD ₃ OD, 150 MHz)	184
Figure 127 : Spectre COSY de δ _H 1.0 à 4.0 ppm des composés P7 et P8 (CD ₃ OD, 600 MHz)	185
Figure 128 : Spectre COSY de δ _H 6.4 à 8.0 ppm des composés P7 et P8 (CD ₃ OD, 600 MHz)	185
Figure 129 : Spectre HSQC de δ _H 3.3 à 4.3 ppm des composés P7 et P8 (CD ₃ OD, 600 MHz)	186
Figure 130 : Spectre HSQC de δ _H 5.1 à 7.8 ppm des composés P7 et P8 (CD ₃ OD, 600 MHz)	186
Figure 131 : Spectre HMBC de δ _C 130 à 180 ppm des composés P7 et P8 (CD ₃ OD, 600 MHz)	187
Figure 132 : Série spectrale UV du composé P9	191
Figure 133 : Spectre RMN ¹ H du composé P9 (CD ₃ OD, 600 MHz)	192
Figure 134 : Spectre RMN ¹³ C du composé P9 (CD ₃ OD, 150 MHz)	192
Figure 135 : Spectre RMN ¹ H du composé P10 (CD ₃ OD, 600 MHz)	194
Figure 136 : Spectre RMN ¹³ C du composé P10 (CD ₃ OD, 150 MHz)	195
Figure 137 : Spectre HSQC étalé du produit P10 (CD ₃ OD, 600 MHz)	195
Figure 138 : Spectre HMBC étalé du produit P10 (CD ₃ OD, 600 MHz)	196
Figure 139 : Spectre COSY étalé du produit P10 (CD ₃ OD, 600 MHz)	196
Figure 140 : Spectre RMN ¹ H du composé P11 (CD ₃ OD, 600 MHz)	198
Figure 141 : Spectre RMN ¹ H étalé du composé P11 (CD ₃ OD, 600 MHz)	199
Figure 142 : Spectre RMN ¹³ C du composé P11 (CD ₃ OD, 150 MHz)	199

Figure 143 : Spectre HSQC du composé P11 (CD ₃ OD, 600 MHz)	200
Figure 144 : Spectre HMBC de δ_C 15 à 30 ppm du composé P11 (CD ₃ OD, 600 MHz).....	201
Figure 145 : Spectre HMBC de δ_C 80 à 160 ppm du composé P11 (CD ₃ OD, 600 MHz)...	201
Figure 146 : Spectre HMBC de δ_C 95 à 165 ppm du composé P11 (CD ₃ OD, 600 MHz)..	202
Figure 147 : Spectre COSY du composé P11 (CD ₃ OD, 600 MHz)	202

Liste des tableaux

Tableau 1 : Utilisation en médecine traditionnelle de quelques espèces de la famille des Apiaceae.....	3
Tableau 2 : Répartition mondiale des genres d'Apiaceae	4
Tableau 3 : Genres d'Apiaceae rencontrés en Algérie	5
Tableau 4 : Les flavonoïdes sulfates dans les Apiaceae	19
Tableau 5 : Les composés isolés du genre <i>Athamanta</i>	24
Tableau 6 : Utilisations traditionnelles de <i>Ferula</i> spp.	28
Tableau 7 : Les monoterpènes isolés du genre <i>Ferula</i>	29
Tableau 8 : Les germacrènes isolés du genre <i>Ferula</i>	32
Tableau 9 : Les humulènes isolés du genre <i>Ferula</i>	33
Tableau 10 : Les dérivés de daucane isolés du genre <i>Ferula</i>	34
Tableau 11 : Les lactones sesquiterpéniques isolés du genre <i>Ferula</i>	40
Tableau 12 : Autres dérivés sesquiterpéniques isolés du genre <i>Ferula</i>	45
Tableau 13 : Les coumarines substituées par des sesquiterpènes linéaires isolés du genre <i>Ferula</i>	46
Tableau 14 : Les coumarines substituées par des sesquiterpènes monocycliques isolés du genre <i>Ferula</i>	49
Tableau 15 : Les coumarines substituées par des sesquiterpènes bicycliques isolés du genre <i>Ferula</i>	51
Tableau 16 : Les coumarines prénylées isolés du genre <i>Ferula</i>	61
Tableau 17 : Les furanocoumarines isolés du genre <i>Ferula</i>	63
Tableau 18 : Source de quelques propiophénones	66
Tableau 19 : Source de quelques dérivés sulfuriques	67
Tableau 20 : Autres composés isolés de quelques espèces du genre <i>Ferula</i>	70
Tableau 21 : Rendement des fractions de la plante <i>Athamanta sicula</i> L.	83
Tableau 22 : Résultats de séparation par chromatographie sur colonne de gel de silice normale	85
Tableau 23 : Résultats de la séparation de la colonne de gel de silice	88
Tableau 24 : Regroupement final des fractions de la colonne	89

Tableau 25 : Sous-fractionnement de la fraction F3 sur colonne de gel de silice	89
Tableau 26 : Résultats de séparation par chromatographie sur colonne de polyamide SC ₆ de la fraction <i>n</i> -butanol	91
Tableau 27 : Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de la fraction <i>n</i> -butanol	95
Tableau 28 : Résultats des fractions obtenues de la fraction <i>n</i> -butanol	95
Tableau 29 : Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de la fraction F3....	96
Tableau 30 : Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de la fraction F5 ...	97
Tableau 31 : VLC sur C18 de l'extrait acétate d'éthyle des parties aériennes de <i>Ferula longipes</i> Coss.....	99
Tableau 32 : Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de la fraction F6 ...	100
Tableau 33 : Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de la fraction F3....	100
Tableau 34 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (500 MHz) et RMN ¹³ C (125 MHz) du composé A1 dans CDCl ₃	110
Tableau 35 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (500 MHz) et RMN ¹³ C (125 MHz) du composé A2 dans CDCl ₃	114
Tableau 36 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C (150 MHz) du composé A3 dans CDCl ₃	118
Tableau 37 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (500 MHz) et RMN ¹³ C (125 MHz) du composé A4 dans CDCl ₃	122
Tableau 38 : Données spectrales UV du composé A5	123
Tableau 39 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C (150 MHz) du composé A5 dans DMSO.....	126
Tableau 40 : Données spectrales UV du composé A6	127
Tableau 41 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C (150 MHz) du composé A6 dans Acétone	130
Tableau 42 : Données spectrales UV du composé A7	132
Tableau 43 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C (150 MHz) du composé A7 dans Acétone	136
Tableau 44 : Données spectrales UV du composé A8.....	137
Tableau 45 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (500 MHz) et RMN ¹³ C (125 MHz) du composé A8 dans DMSO.....	141

Tableau 46 : Données spectrales UV du composé P1.....	143
Tableau 47 : Données spectrales de RMN ¹ H (CD ₃ COCD ₃ , 250 MHz) du composé P1.....	146
Tableau 48 : Résultats de la série spectrale UV-Visible du composé P2.....	147
Tableau 49 : Données spectrales de RMN ¹ H (CD ₃ OD, 250 MHz) du composé P2	150
Tableau 50 : Résultats de la série spectrale UV-Visible du composé P3.....	151
Tableau 51 : Données spectrales de RMN ¹ H (CD ₃ OD, 600 MHz) du composé P3	155
Tableau 52 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C (150 MHz) du composé P4 dans CD ₃ OD	165
Tableau 53 : Résultats de la série spectrale UV-Visible du composé P5.....	167
Tableau 54 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C (150 MHz) du composé P5 dans CD ₃ OD	173
Tableau 55 : Résultats de la série spectrale UV-Visible du composé P6.....	174
Tableau 56 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C (150 MHz) du composé P6 dans CD ₃ OD	182
Tableau 57 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C (150 MHz) des composés P7 et P8 dans CD ₃ OD.....	188
Tableau 58 : Données spectrales UV du composé P9.....	190
Tableau 59 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C (150 MHz) du composé P9 dans CD ₃ OD	193
Tableau 60 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C (150 MHz) du composé P10 dans CD ₃ OD	197
Tableau 61 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C (150 MHz) du composé P11 dans CD ₃ OD	203
Tableau 62 : Les pourcentages d'inhibition des extraits de <i>Ferula longipes</i> Coss.	204
Tableau 63 : Les valeurs de CI ₅₀ des extraits AcOEt et BuOH du DPPH en comparaison avec la Rutine	204
Tableau 64 : Pourcentages d'inhibition des produits purs de <i>Ferula longipes</i> Coss.....	205
Tableau 65 : Pouvoir d'inhibition CI ₅₀ des produits purs de <i>Ferula longipes</i> Coss. et des tandards.....	205
Tableau 66 : Activité antioxydante testée par la méthodes de l'ABTS ⁺ des produits purs de <i>Ferula longipes</i> Coss.	207

Tableau 67 : Pouvoir d'inhibition CI_{50} des produits purs de <i>Ferula longipes</i> Coss. et des standards	207
Tableau 68 : Résultats de l'activité antioxydante par la méthode CUPRAC des produits purs de <i>Ferula longipes</i> Coss.	208
Tableau 69 : Pouvoir d'inhibition $A_{0.50}$ des produits purs de <i>Ferula longipes</i> Coss. et des standards	209
Tableau 70 : Pouvoir d'inhibition CI_{50} des des fractions d'éther de pétrole et de <i>n</i> -butanol de l'espèce <i>Athamanta sicula</i> L.	210
Tableau 71 : L'activité cytotoxique des produits de l'espèce <i>Athamanta sicula</i> L. comparés avec le standard	211

Liste des abréviations

Solvants et réactifs

AcOEt	Acétate d'éthyle
AlCl ₃	Chlorure d'aluminium
BuOH	Butanol
CD ₃ OD	Méthanol deutéré
CD ₃ COCD ₃	Acétone deutéré
CHCl ₃	Chloroforme
CDCl ₃	Chloroforme deutéré
DMSO -d ₆	Diméthylsulfoxyde deutéré
H ₃ BO ₃	Acide borique
HCl	Acide chlorhydrique
H ₂ SO ₄	Acide sulfurique
MeOH	Méthanol
NaOAc	Acétate de sodium
NaOH	Hydroxide de sodium
RP18	Silice phase inverse
SiO ₂	Silice normal
TFA	Acide trifluoroacétique

Techniques chromatographiques

CCM	Chromatographie sur Couche Mince
CC	Chromatographie sur Colonne ouverte de silice
VLC	Chromatographie liquide sous vide

Détermination structurale

Glc	Glucopyranose
Rha	Rhamnopyranose
COSY	COrrrelated SpectroscopY
<i>d</i>	Doublet
<i>dd</i>	Doublet de doublets
<i>ddd</i>	Doublet de doublets de doublet
<i>m</i>	Multiplet
HMBC	Heteronuclear Multiple Bonding Connectivity
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Connectivity
<i>J</i> (Hz)	Constante de couplage exprimée en Hertz

ppm	Parties par million
RMN ¹³ C	Résonance Magnétique Nucléaire du carbone
RMN ¹ H	Résonance Magnétique Nucléaire du proton
<i>s</i>	Singulet
<i>t</i>	Triplet
<i>td</i>	Triplet de doublet
δ_C	Déplacement chimique du carbone en ppm
δ_H	Déplacement chimique du proton en ppm
ESI	ElectroSpray Ionization (ionisation par électrospray)
HR	Haute résolution
<i>m/z</i>	Masse/charge d'un ion
SM	Spectrométrie de Masse
UV	Ultra-Violet
λ_{max}	Longueur d'onde maximale
Bnz	benzoyle
<i>p</i> -OH-Bnz	<i>p</i> -hydroxybenzoyle
Van	Vanilloyle
Anis	Anisoyle (4 méthoxybenzoyle)
Ang	angéloyle

Activités biologiques

ABTS	2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique)
CUPRAC	Cupric reducing antioxidant capacity
DPPH	2,2-DiPhényl-1-Picryl-Hydrazyl
CI ₅₀	Concentration inhibitrice à 50%
AChE	Acétylcholinestérase
BChE	Butyrylcholinestérase
DO	Densité optique
HT1080	Cellules fibrosarcomas

Introduction générale

Depuis l'aube des temps, l'homme n'a cessé de chercher à subvenir de ses besoins en puisant dans la nature qui lui assure non seulement ses besoins nutritionnels et vestimentaires mais également médicamenteux.

Au cours du temps, les connaissances empiriques accumulées ont permis aux différentes civilisations de prendre les plantes comme source essentielle de médicaments. Ainsi, jusqu'au début du XX^{ème} siècle, presque tous les médicaments étaient d'origine végétale.

Ce n'est qu'à la fin du 18^{ème} siècle que les médicaments s'inscrivent dans une logique scientifique. Dans un premier temps, on a découvert que les plantes renfermaient plusieurs constituants, la première substance médicinale pure dérivée des plantes était la morphine, qui a été extraite du pavot au début du 19^{ème} siècle (Simmonds, 2003).

Avec l'isolement des premiers principes actifs avec les progrès de la chimie aux 18^{ème} et 19^{ème} siècles, l'histoire du rôle thérapeutique des plantes est aussi longue que l'histoire de l'humanité elle-même (Quentin-Leclerc, 2002). Actuellement, environ 25 % des médicaments modernes sont développés à partir de plantes (Liu et Wang, 2008; Newman et Cragg, 2007).

A l'heure actuelle, environ 25-30% de tous les médicaments, disponibles pour le traitement des maladies sont dérivés des produits naturels (des plantes, des animaux, des bactéries et des champignons).

Selon l'O.M.S (l'Organisation Mondiale de la Santé), près de 350000 espèces ont été répertoriées dans le monde des plantes, dont 2% seulement des molécules biologiquement actives de ce réservoir unique ont été analysés pour leurs propriétés médicales.

La flore algérienne est estimée à plus de 3000 espèces de plantes dont 15% sont endémiques et appartiennent à plusieurs familles botaniques (Gaussen et Leroy, 1982 ; Ozenda, 1977). Ce potentiel floristique, d'intérêt biomédical a poussé les chercheurs Algériens à explorer ces ressources sur le plan phytochimique ainsi que sur le plan pharmacologique.

Ce travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation des plantes algériennes par la recherche des substances naturelles d'origines végétales à activités biologiques lancé par notre laboratoire pour but de l'étude des plantes algériennes, La richesse de la famille des Apiacées en métabolites secondaires, nous a conduit à nous intéresser à l'investigation phytochimique de deux plantes de cette famille. La première du genre *Athamanta*, *Athamanta sicula* L., espèce

connaissant une distribution très diversifiée dans l'Afrique et dans le sud de l'Italie particulièrement en Sicile sur les rochers et dans tout le Tell algérien (Quezel et Santa, 1962) et la deuxième appartient au genre *Ferula*, *Ferula longipes* Coss. ex Bonnier et Maury., espèce aromatique endémique qui pousse seulement dans le sud-est du Maroc, l'Algérie et la Libye (Quezel et Santa, 1962), n'a pas été étudiée du point de vue phytochimique et biologique. En fixant comme principal objectif, l'extraction, la séparation et l'identification des métabolites secondaires ainsi que l'évaluation de leurs activités biologiques telles que : les activités antioxydante, anticholinestérase et cytotoxique.

Le présent manuscrit est réparti en trois parties :

- La première partie, comportant trois chapitres, dont :

Le premier chapitre est consacré à une recherche bibliographique, traitant les généralités sur la famille des Apiaceae.

Le deuxième chapitre comprend une revue bibliographique sur le genre *Athamanta* et le genre *Ferula*.

Elle se termine par des généralités sur les activités antioxydante, anticholinestérase et cytotoxique.

- Dans la deuxième partie, le matériel végétal et les méthodes utilisées sont décrits en détail.
- La troisième partie est consacrée aux résultats et discussion dont le premier chapitre concerne la détermination structurale des produits isolés de l'espèce *Athamanta sicula* L. et le deuxième chapitre concerne la détermination structurale des produits isolés de l'espèce *Ferula longipes* Coss. et le troisième chapitre est destiné à la discussion des résultats sur les activités antioxydante, anticholinestérase et cytotoxique.

PARTIE 1

Revue bibliographique

Chapitre I

Aperçu bibliographique sur les Apiaceae

I. Généralités sur les Apiacées

I.1. Introduction

La famille des Apiacées est caractérisée par les rayons de l'inflorescence disposés comme ceux d'une ombrelle. Cette famille comprend environ 300 – 455 genres et 3000 – 3750 espèces (Tabanca *et al.*, 2006). En Algérie, selon Quezel et Santa (1962), elle est représentée par 56 genres, 130 espèces (dont 24 endémiques) et 27 sous – espèces.

Les Apiaceae sont aussi largement utilisées en médecine traditionnelle pour certaines propriétés thérapeutiques (tableau 1).

Tableau 1. Utilisation en médecine traditionnelle de quelques espèces de la famille des Apiaceae

Espèce	Utilisation
<i>Ammi visnaga</i>	Diurétique, vermifuge, antiasthmatique
<i>Anethum graveolens</i> <i>Cuminum cyminum</i> (cumin)	Diurétique, carminatif, antispasmodique
<i>Pastinaca sativa</i>	Vasodilatateur coronaire
<i>Petroselinum crispum</i> <i>Petroselinum sativum</i>	Antispasmodique, diurétique

La diversité de leurs activités pharmacologiques, avec notamment une activité cytotoxique reconnue chez *Aethusa cynapium*, *Conium maculatum*, *Cicuta virosa* ou *Oenanthe crocata*, ont suscité des recherches phytochimiques intensives (Spichier *et al.*, 2004).

I.2. Répartition géographique

La famille des Apiaceae est répartie sur la majeure partie du globe, plus commune dans les régions montagneuses tempérées et relativement rare en zone tropicale (Heywood *et al.*, 1996) (figure 1).



Figure 1. Carte de répartition géographique des Apiaceae (Heywood et *al.*, 1996)

Les genres se répartissent entre les divers continents, avec une prédominance pour le continent asiatique (tableau 2).

Tableau 2. Répartition mondiale des genres d'Apiaceae (Pimenov et Leonov.,1993)

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

La famille des Apiaceae occupe une place importante dans la flore algérienne où elle est représentée par 55 genres (Quezel et Santa, 1963).

Le paragraphe suivant énumère les genres rencontrés en Algérie associés à leurs espèces respectives (tableau 3) (Quezel et Santa, 1963).

Tableau 3. Genres d'Apiaceae rencontrés en Algérie (Quezel et Santa, 1963)

N°	Genre	Nombre d'espèces	N°	Genre	Nombre d'espèces
1	<i>Ammi</i>	2	29	<i>Heracleum</i>	1
2	<i>Ammiopsis</i>	1	30	<i>Hippomarathrum</i>	1
3	<i>Ammodaucus</i>	1	31	<i>Hohenackeria</i>	2
4	<i>Ammoides</i>	2	32	<i>Hydrocotyle</i>	1
5	<i>Anethum</i>	1	33	<i>Kundmannia</i>	1
6	<i>Anthriscus</i>	2	34	<i>Magydaris</i>	2
7	<i>Apium</i>	1	35	<i>Malabaila</i>	1
8	<i>Balansaea</i>	1	36	<i>Margotia</i>	1
9	<i>Bifora</i>	1	37	<i>Oenanthe</i>	6
10	<i>Brachyapium</i>	2	38	<i>Orlaya</i>	3
11	<i>Bunium</i>	7	39	<i>Peucedanum</i>	3
12	<i>Bupleurum</i>	14	40	<i>Petroselinum</i>	1
13	<i>Capnophyllum</i>	1	41	<i>Physocaulos</i>	1
14	<i>Carum</i>	2	42	<i>Pimpinella</i>	2
15	<i>Caucalis</i>	4	43	<i>Pituranthos</i>	4
16	<i>Chaerophyllum</i>	1	44	<i>Reutera</i>	1
17	<i>Conium</i>	1	45	<i>Ridolfia</i>	1
18	<i>Conopodium</i>	1	46	<i>Sanicula</i>	1
19	<i>Coriandrum</i>	1	47	<i>Scandix</i>	3
20	<i>Crithmum</i>	1	48	<i>Seseli</i>	4
21	<i>Cuminum</i>	1	49	<i>Smyrnum</i>	2
22	<i>Daucus</i>	11	50	<i>Sison</i>	1
23	<i>Echinophora</i>	1	51	<i>Thapsia</i>	3
24	<i>Elaeoselinum</i>	2	52	<i>Tinguarra (Athamanta)</i>	1
25	<i>Eryngium</i>	7	53	<i>Tordylium</i>	1
26	<i>Ferula</i>	5	54	<i>Torilis</i>	2
27	<i>Foeniculum</i>	1	55	<i>Turgenia</i>	1
28	<i>Helosciadium</i>	3			

Un simple regard du contenu de cette liste permet de constater la diversité génétique algérienne de cette famille. Les genres *Bupleurum* et *Daucus* sont les plus riches au niveau spécifique avec respectivement 14 et 11 espèces. D'autres genres renferment moins d'espèces ; comme *Bunium* (7), *Eryngium* (7), *Oenanthe* (6) et *Ferula* (5), alors que la majorité des genres sont représentés par une seule espèce.

Certains genres renferment des espèces endémiques : *Ammoides* (1), *Brachyapium* (1), *Bunium* (4), *Bupleurum* (5), *Caucalis* (1), *Daucus* (1), *Ferula* (2), *Peucedanum* (1), *Pimpinella* (1), *Pituranthos* (4), *Oenanthe* (1). D'autres genres ne sont représentés que par des espèces endémiques telles que *Ammiopsis*, *Balansaea* et *Carum*.

I.3. Caractères morphologiques et anatomiques

Les Apiaceae sont l'une des familles les plus connues parmi les plantes à fleurs. Il s'agit d'une famille homogène sur le plan morpho-anatomique, en ce qui concerne notamment leurs inflorescences en ombelles (simples ou composées), leurs tiges fistuleuses et cannelées, leurs fruits (akènes), et leur composition chimique particulière (huiles essentielles conférant odeur, goût et même toxicité à beaucoup de ses membres).

- **Habitat** : la plupart des Apiaceae sont des plantes herbacées, annuelles, bisannuelles ou vivaces, aux entre-nœuds creux ; elles sont parfois rampantes (*Hydrocotyle*), stolonifères (*Schizeilema*), en forme de rosette (*Gingidia*) ou en forme de coussin (*Azorella*). Plusieurs espèces arbustives et même parfois des arbres se rencontrent également, par exemple au sein du genre *Eryngium* avec *E. bupleuroides* et *E. sarcophyllum*, et plusieurs espèces arbustives de *Bupleurum* (exemple *B. fruticosum*).
- **Feuilles** : elles sont alternes, sans stipules, et généralement découpées, parfois entières, notamment chez les genres *Hydrocotyle* et *Bupleurum*.
- **Fleurs** : le principal type d'inflorescence est une ombelle simple ou composée, parfois très modifiée et réduite à une fleur unique comme chez certaines espèces d'*Hydrocotyle* et d'*Azorella*. Les fleurs peuvent être également regroupées en capitules denses entourés de bractées épineuses. L'ombelle caractéristique est une inflorescence au sommet plat dans laquelle les pédicelles partent d'un même point sur les pédoncules et sont de différentes longueurs afin d'élever toutes les fleurs à la même hauteur. Une ombelle composée comporte des ombelles terminales qui sont elles-mêmes disposées en ombelles. Des bractées sont souvent présentes à la base des pédoncules d'une ombelle composée, formant un involucre.

La fleur des Apiaceae consiste en cinq pétales, cinq étamines libres, un calice très réduit, un ovaire infère avec deux carpelles et deux loges, et un stylopede soutenant les deux styles.

- **Fruit** : présente une grande diversité. Il s'agit à la base d'un fruit sec schizocarpique qui se fend à maturité le long d'un septum en deux méricarpes à une graine, restant généralement suspendus quelque temps au carpophore puis s'en détachant. La surface externe du méricarpe possède normalement cinq côtes primaires et entre celles-ci quatre côtes valléculaires secondaires. Dans les sillons entre les côtes primaires, dans les côtes elles-mêmes ou sur tout le fruit, se trouvent fréquemment des canaux résinifères.

I.4. Intérêts

L'importance économique des Apiaceae est considérable. Elles fournissent à l'alimentation, à la distillerie, à la parfumerie, à la médecine, des produits dont l'utilisation dépend surtout des essences élaborées dans les canaux sécréteurs. Les feuilles de cerfeuil (*Chaerophyllum cerefolium*) et du persil (*Petroselinum sativum*) sont des condiments ; des feuilles du persil, on extrait l'apiol, huile essentielle médicinale. Les feuilles du fenouil (*Foeniculum vulgare*) et la racine du céleri (*Apium graveolens*), espèces améliorées et diversifiées par la culture, sont des légumes aromatiques ; l'essence anisée extraite des akènes des fenouils est utilisée en distillerie.

Les akènes de *Carum carvi*, improprement appelés "cumin", sont un condiment et l'essence que l'on en retire fait partie de formules de liqueurs. Les akènes de coriandre (*Coriandrum sativum*) servent à des usages analogues. L'essence retirée des akènes de l'anis vert (*Pimpinella anisum*) entre dans la composition des liqueurs anisées différences existant entre la carotte (racine de *Daucus carota* ssp. *sativus*, riche en carotène) et les racines de carottes sauvages (sous-espèces de *D. carota*, spontanées dans l'Ancien Monde tempéré) montrent à quel point les techniques de l'amélioration des plantes peuvent, au cours de millénaires, transformer un objet de cueillette, à peine utilisable, en un produit agricole de qualité. Les racines de *Pastinaca sativa*, les panais, sont aussi consommées. Les espèces de *Lomentium*, le plus grand genre de la famille aux Etats-Unis, furent la nourriture de base de plusieurs groupes d'indiens, dans le nord-ouest du pays et dans l'ouest du Canada. Les tiges, les pétioles et les feuilles peuvent être consommées comme chez l'angélique (*Angelica*) et la livèche (*Levisticum officinale*).

Beaucoup espèces ont des propriétés médicinales et sont utilisées contre les douleurs gastro-intestinales, les maladies cardio-vasculaires et comme stimulants, sédatifs, antispasmodiques, etc. Elles fournissent aussi des gommés et des résines, comme l'assa-foetida provenant de *Ferula asafoetida* et d'autres espèces. Seules quelques espèces sont cultivées pour l'ornement des jardins, comme certains *Eryngium* ou *Bupleurum*. *Heracleum mantegazzianum*, la berce géante du Caucase, est une herbe géante dont la sève très irritante provoque de gros effets de photosensibilité.

Enfin, parmi les Apiaceae existent des espèces vénéneuses. La grande ciguë (*Conium maculatum*), celle qui fut fatale à Socrate, rudérale répandue en Eurasie tempérée et en Afrique du Nord, puis transportée en Amérique, contient, dans tous ses organes, un cortège d'alcaloïdes

(coniine, méthylconiine, etc.) très toxiques ; cette plante est dangereuse, car très commune et facile à confondre avec d'autres espèces. Une autre espèce vénéneuse est la ciguë vireuse (*Cicuta virosa*), herbe de marécages de l'Europe jusqu'au Japon, est beaucoup plus rare. Ses principes vénéneux sont une résine (cicutoxine) et des alcaloïdes (cicutine, etc.).

I.5. Principaux métabolites secondaires de plantes de la famille des Apiaceae

Une large variété de produits naturels caractérise les espèces de la famille Apiaceae les plus rencontrés sont les terpénoïdes, les phénylpropanoïdes, les coumarines, les flavonoides, les alcaloïdes et les composés polyacétyléniques. Voici quelques exemples de molécules des principales classes de métabolites secondaires dans la famille Apiaceae.

I.5.1. Les terpénoïdes

Le groupe des terpénoïdes comporte des polymères comme le caoutchouc, les huiles essentielles et les stéroïdes, ils ont attiré plus d'attention au cours de la moitié du siècle passé (Wagner et Elmadfa, 2003). Les terpénoïdes sont des hydrocarbures linéaires ou cycliques avec l'isoprène (C_5H_8) comme molécule de base. Leur classification est basée sur le nombre d'unités condensées « tête-à-queue » de cette molécule: hémiterpènes (C5), monoterpènes (C10), sesquiterpènes (C15), diterpènes (C20), sesterpènes (C25), triterpènes (C30), tetraterpènes (C40) et polyterpènes. Plus de 40.000 composés terpéniques ont été trouvés, existant largement dans les fruits et légumes (Thoppil et Bishayee, 2011).

Les terpènes ont été isolés chez les champignons, les insectes, les éponges, les algues maritimes, et une grande majorité spécifique du règne végétal. Chez les bactéries et les levures, les composés terpéniques sont des métabolites de base (Thoppil et Bishayee, 2011). La biosynthèse de ces composés se fait par deux voies métaboliques, la première découverte dans les années 1950 qui conduit également au cholestérol *via* la voie des mévalonates dans le cytoplasme, la deuxième voie est la voie du méthylérythritol phosphate (ou voie non mévalonate) dans les chloroplastes des végétaux, cette voie a été découverte à la fin des années 1980.

Les principales structures cellulaires produisant les terpènes sont soit des cellules à essence (Lauracées, Zingibéracées...), des poils sécréteurs stipités (*Pelargonium*) ou sessiles (Labiées), des poches sécrétrices schizogènes (Myrtacées) ou schizolysigènes (Rutacées, Burséracées), canaux sécréteurs (Térébinthacées, Umbellifères, Composées). Certains terpènes des plantes qui ont C10, C15 et C20 peuvent exercer des réactions communicatives et

défensives, servant attractifs pour les pollinisateurs, des toxines végétales ou des antibiotiques de plantes pour inhiber la propagation des agents pathogènes des plantes (McGarvey et Croteau, 1995; Wagner et Elmadfa, 2003). Le large éventail de structures et de fonctions terpénoïdes a suscité un intérêt accru dans leur utilisation commerciale.

Les terpénoïdes ont été utilisés dans la prévention et le traitement de plusieurs maladies comme le cancer, ils ont des propriétés antimicrobienne, antifongique, antiparasitaire, antivirale, anti-allergénique, antispasmodique, anti-hyperglycémique, antiinflammatoire et immunomodulatrice (Rabi et Bishayee, 2009; Wagner et Elmadfa, 2003; Sultana et Ata, 2008; Shah *et al.*, 2009). En outre, les terpènes ont d'autres applications comme substances insecticides et protectrices dans le stockage des produits agricoles (Theis et Lerda, 2003).

I.5.1.1. Les monoterpènes

Les constituants prédominants de la famille des Apiaceae sont principalement les monoterpènes et les sesquiterpènes (Mariaca et al., 1997). Beaucoup de ces composants ont été isolés pour la première fois des ombellifères et leurs noms sont dérivés de la plante d'origine, par exemple, le β -Phellandrène de *Phellandrium aquaticum* (*Oenanthe aquatica*), la carvone et le carvéol de *Carum carvi*, le fenchol et la fenchone de *Foeniculum vulgare*, et le férulol de *Ferula hispanica* (figure 2).

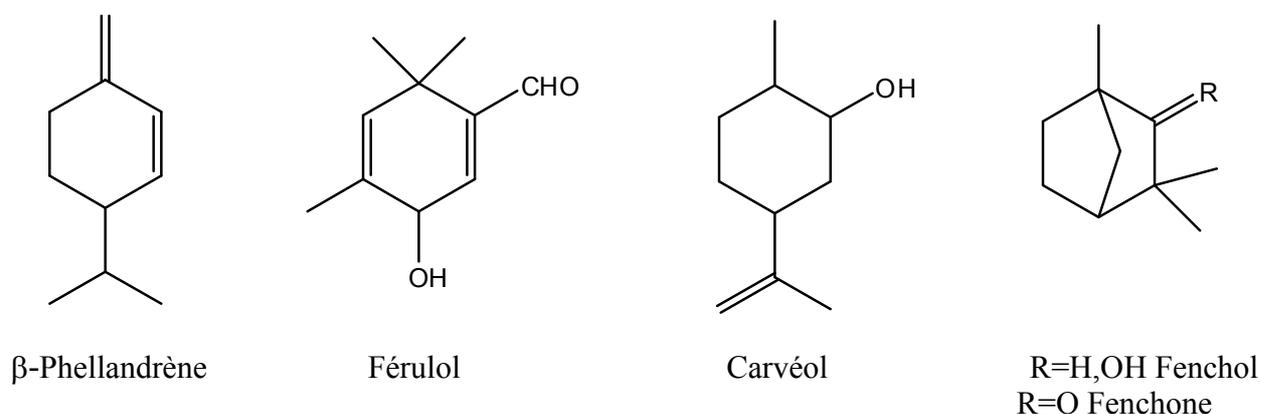


Figure 2. Quelques monoterpènes isolés de la famille des Apiaceae

I.5.1.2 Les sesquiterpènes

Les squelettes sesquiterpéniques (germacrane, eudesmane, guaiane), sont caractéristiques des Apiaceae. Le daucol a été isolé à partir de *Daucus carota*, l' α -ferulène de *Ferula communis* et le β -sélénène d'*Apium graveolens* (*Selinum graveolens*). On été également trouvés des

sesquiterpènes attachés aux coumarines comme la coladonine extraite de *Ferula communis* (figure 3).

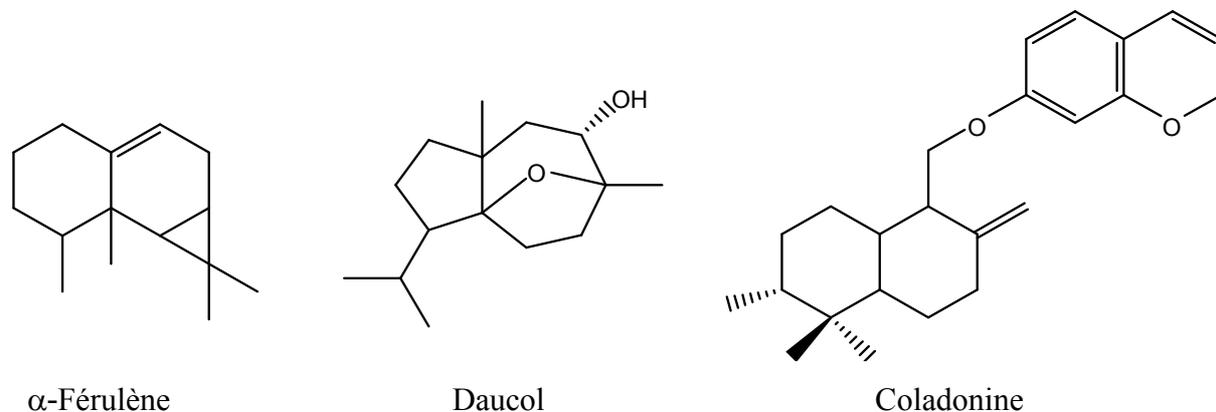


Figure 3. Quelques sesquiterpènes isolés de la famille des Apiaceae

I.5.1.3. Les diterpènes

Il y a peu d'études décrivant la présence de diterpènes dans les Apiaceae. Les travaux sur les racines de l'espèce *Hermas villosa* (Bohlmann *et al.*, 1974), ont conduit à l'isolement et l'identification de quatre acides diterpéniques à squelette labdane (cis et trans) et les isomères correspondant (figure 4).

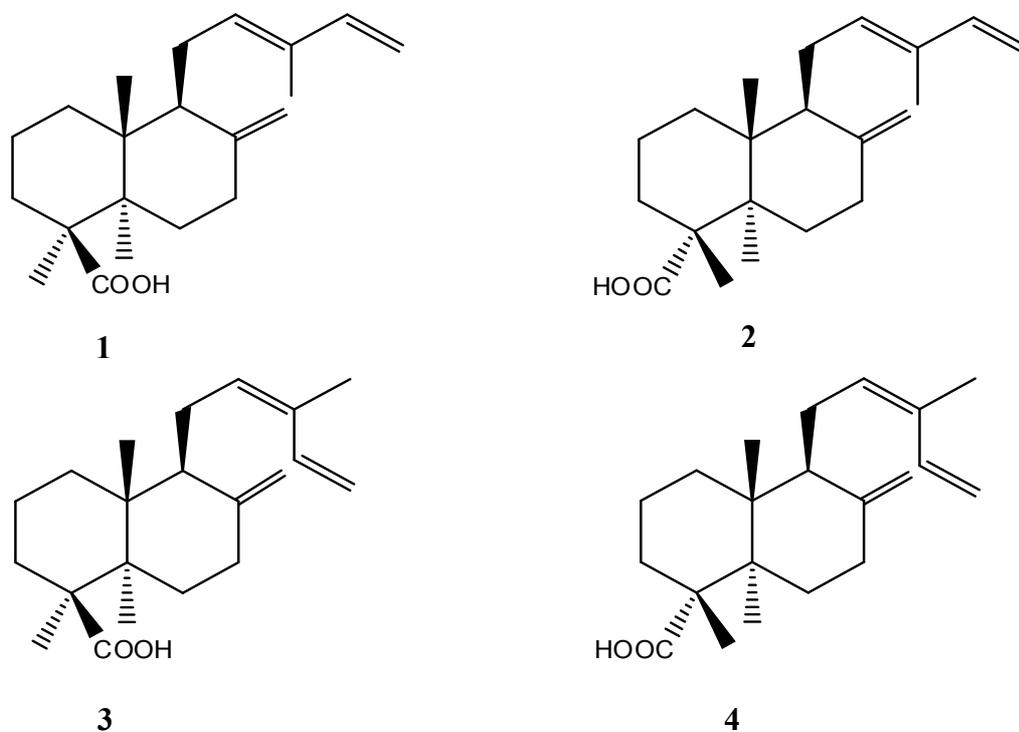
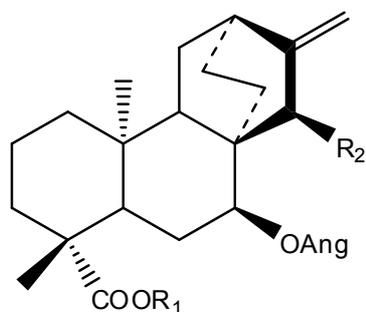


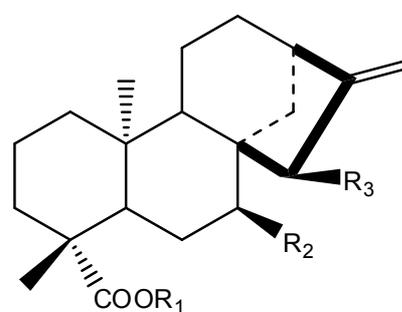
Figure 4. Quelques diterpènes isolés de la famille des Apiaceae

L'étude de l'espèce *Elaeoselinum gummiferum* (*Margotia gummifera*) a permis d'isoler les composés suivants: un acide gummiférolique (1), de la margotianine (2), de l'acide entKaur-16-en-19-oïque (3) et de l'acide isomargotianoïque (4). (Pascual *et al.*, 1984; Pinar *et al.*, 1987; Rodriguez *et al.*, 1974).



(1) R₁ = H, R₂ = H

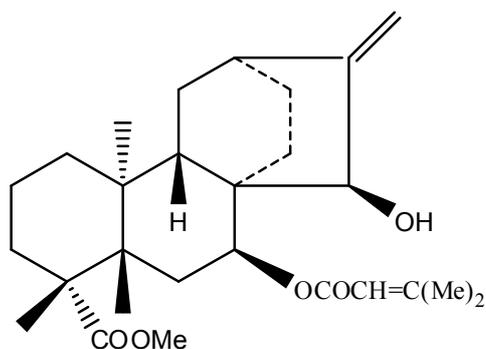
(2) R₁ = Me, R₂ = OAc



(3) R₁ = H, R₂ = H, R₃ = H

(4) R₁ = Me, R₂ = OAng, R₃ = OAc

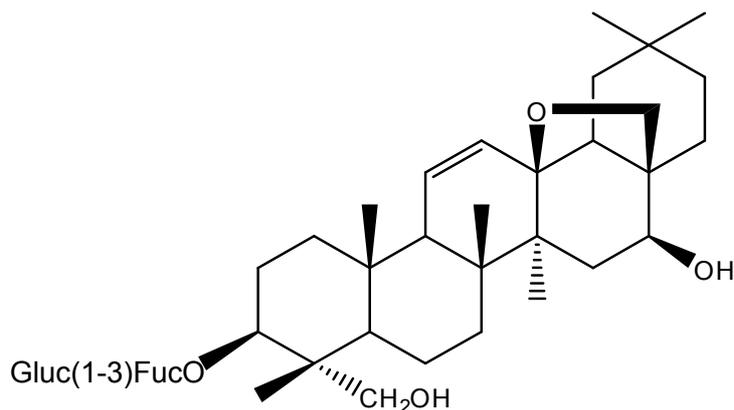
L'acide diterpénique isolé des racines de l'espèce *Elaeoselinum foetidum* n'est autre que l'acide ent-7β-sénécioxy-15β-hydroxy-atis-16-en-19-oïque (Pinar, 1984).



Acide ent-7β-sénécioxy-15β-hydroxy-atis-16-en-19-oïque

I.5.1.4. Les triterpènes

Les triterpènes sont également fréquents chez les Apiaceae, surtout les formes glucosylées comme la saikosaponine responsable de l'activité biologique des racines de *Bupleurum falcatum* (Hsu *et al.*, 2000).

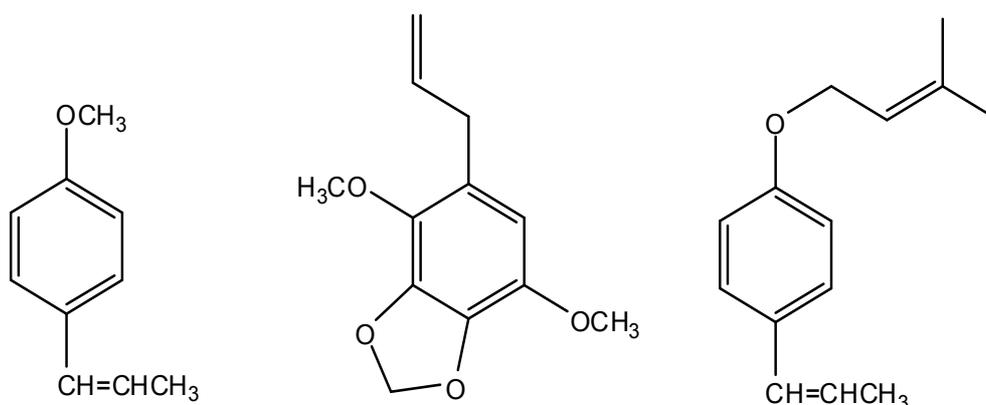


Saikosaponine A

I.5.2. Les polyphénols

I.5.2.1. Les dérivés phénylpropaniques

Ces substances sont très communes aux Apiaceae, elles composent en majorité les huiles essentielles. On peut citer l'anéthole (*Pimpinella anisum*), l'apiol (*Apium petroselinum*) et la foeniculine (*Foeniculum vulgare*) (figure 5).



(Z ou E) Anéthole

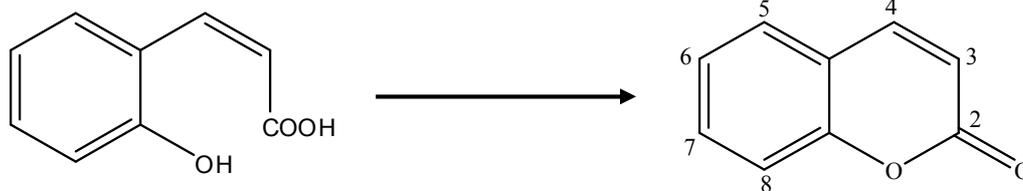
Apiol

Foeniculine

Figure 5. Quelques dérivés phénylpropaniques isolés de la famille des Apiaceae

I.5.2.2. Les coumarines

Les coumarines sont des substances aromatiques naturelles très largement distribuées dans le règne végétal, dont la structure est composée d'un noyau benzo-2 pyrone (coumarine) résultant de la lactonisation de l'acide ortho-hydroxy- cis cinnamique.

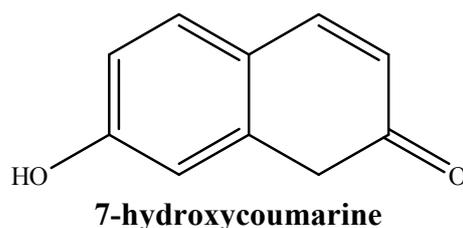


Acide ortho-hydroxy- cis cinnamique

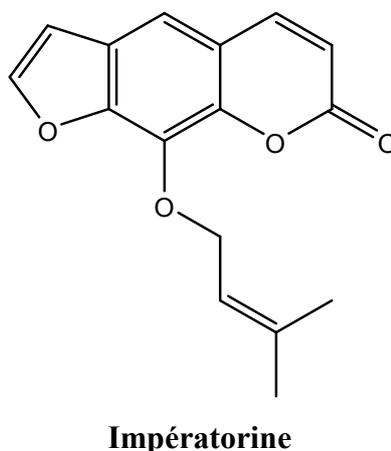
Coumarine

Les coumarines sont naturellement présentes dans les plantes et les micro-organismes, elles existent sous forme libre ou encore liée à des sucres. Environ 1000 dérivés de la coumarine ont été isolés à partir de plus de 800 espèces de plantes et de micro-organismes (Smyth *et al.*, 2009). La coumarine elle-même a été isolée de la fève tonka (*Coumarouna odorata*) par Vogel en 1820 (Erzengin *et al.*, 2012). D'après Smyth (Smyth *et al.*, 2009) les coumarines peuvent être grossièrement classées en cinq grands groupes :

- Coumarines simples: ont des substituant sur le noyau benzénique, ils peuvent être des dérivés hydroxylés, alkylés ou alcoxylés. ex. 7-hydroxy-coumarine.

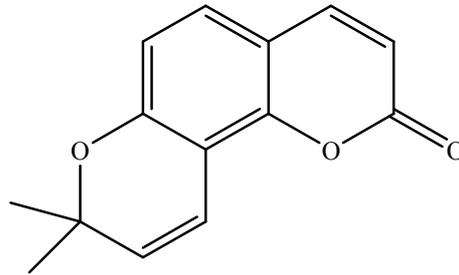


- Le deuxième groupe est celui des furocoumarines, qui contiennent un noyau furanne pentagonal attaché à la structure de la coumarine avec l'oxygène de furanne en position 7. ex. Impératorine.

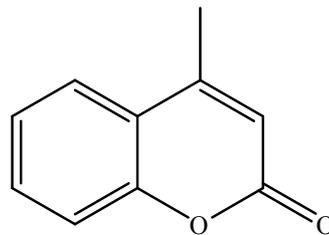


Les furocoumarines peuvent être linéaire ou angulaire, basée sur la position de fixation de le cycle furane à la structure de la coumarine (Keating *et al.*, 1997).

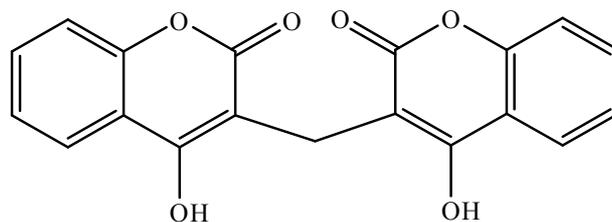
- Le grand groupe de coumarines sont les pyranocoumarines. Elles ont un noyau hétérocyclique à six chaînons contenant un atome d'oxygène, et peuvent exister sous formes linéaires ou angulaires. ex. Seseline.

**Seseline**

- Un autre groupe majeur des coumarines qui sont substitués dans le noyau pyrone soit en positions 3 ou 4, tels que 4-méthylcoumarine.

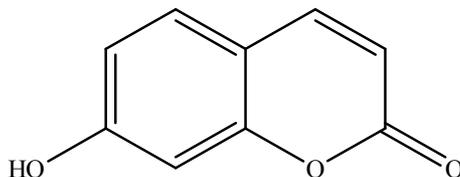
**4-méthylcoumarine**

- Le dernier groupe comporte les dimères de la coumarine, qui comportent généralement deux unités de la coumarine reliées entre elles. ex. Bishydroxycoumarine.

**Bishydroxycoumarine**

Ces substances sont très fréquentes chez les espèces appartenant à la famille des Apiaceae. Le contenu varie selon les espèces, il est intéressant de noter que les plantes appartenant aux genres *Peucedaneae*, *Amineae* et *Smyrneae*, sont ceux qui possèdent la variété et

l'abondance (Murray, 1978). Au lieu de cela le genre *Elaeoselinum*, présente une teneur faible en coumarine.

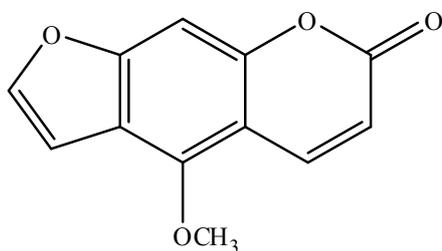


Umbelliférone

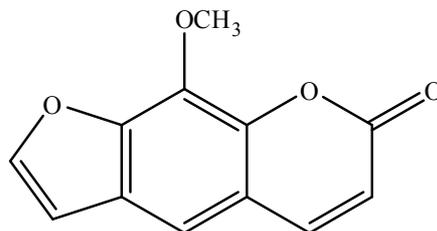
L'une des Apiaceae les plus riches en coumarines, est l'espèce *Cachrys sicula* L., également connue sous le nom d'*Hippomarathrum pterochlaenum* (DC) Boiss. (Rodriguez et Pinar, 1979), de laquelle une série de coumarines ont été isolées : (-)-prantschimagine, (-)-sprengélianine, (+)-marmesine, uloptérol, isoimpératorine, impératorine, bergaptène, xanthotoxine, l'isopimpinelline et la saxaline.

De nombreuses espèces contiennent des furocoumarines, ces dernières ayant une action de stimulation de la pigmentation de la peau, et à cette fin, les graines d'*Ammi visnaga* on déjà été utilisées en Egypte ancienne. Les coumarines responsables de ce type d'action sont dérivées du psoralène et de l'angélicine (Evans et Schmidt, 1980).

Les furanocoumarines comme le bergaptène (I) et la xanthotoxine (II) et leurs dérivés isoprénoïdes ont été isolés à partir des racines ou des fruits d'une trentaine d'Apiaceae (Dean, 1963). Les furanocoumarines se trouvent généralement sous forme de mélange complexe (plus de quinze de ces composés ont été isolés d'une seule espèce d'Apiaceae).



Bergaptène (I)



Xanthotoxine (II)

La présence des furanocoumarines dans les graines a été déterminée par l'apparition de taches fluorescentes mauve, bleu ou jaune sur les chromatogrammes sur couche mince avec des systèmes de solvant appropriés.

I.5.2.3. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires des plantes partageant tous une même structure de base (figure 6) à 15 atomes de carbones constitué de deux unités aromatiques A et B reliés par une chaîne de trois carbones souvent fermée en un hétérocycle oxygéné hexagonal ou pentagonal (Bruneton, 1999).

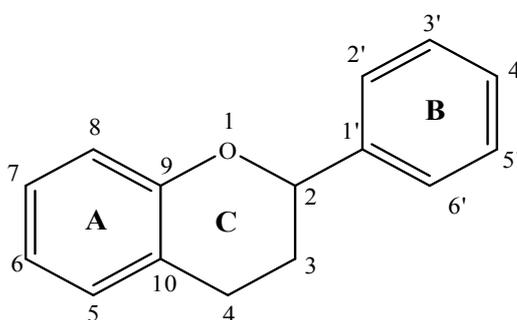


Figure 6. Structure de base des flavonoïdes

Ils ont été découverts par Albert Szent-Györgyi en 1936 qui a reçu le prix Nobel en 1937 (Grzybowski *et al.*, 2013), et dans les années 50, une étude des composés flavaniques de l'écorce de pin et des pépins de raisin et dépose des brevets sur la purification des procyanidines oligomères et leurs utilisations thérapeutiques.

Les flavonoïdes forment une sous-classe des polyphénols; ils représentent une source importante d'antioxydants dans notre alimentation. Il y en a plus de 9000 à avoir été décrits chez le règne végétal où ils sont présents le plus souvent sous la forme soluble d'hétérosides (Martens *et al.*, 2005), dont les plus importants sont les flavones, les isoflavones, les flavanones, les isoflavanones, les flavonols, les dihydroflavonols, les chalcones, les anthocyanes, les aurones et les cathéchines (figure 7). Ces divers composés sont reconnus par leurs nombreuses activités biologiques: antivirale, anti-inflammatoire, anticancéreuse etc...

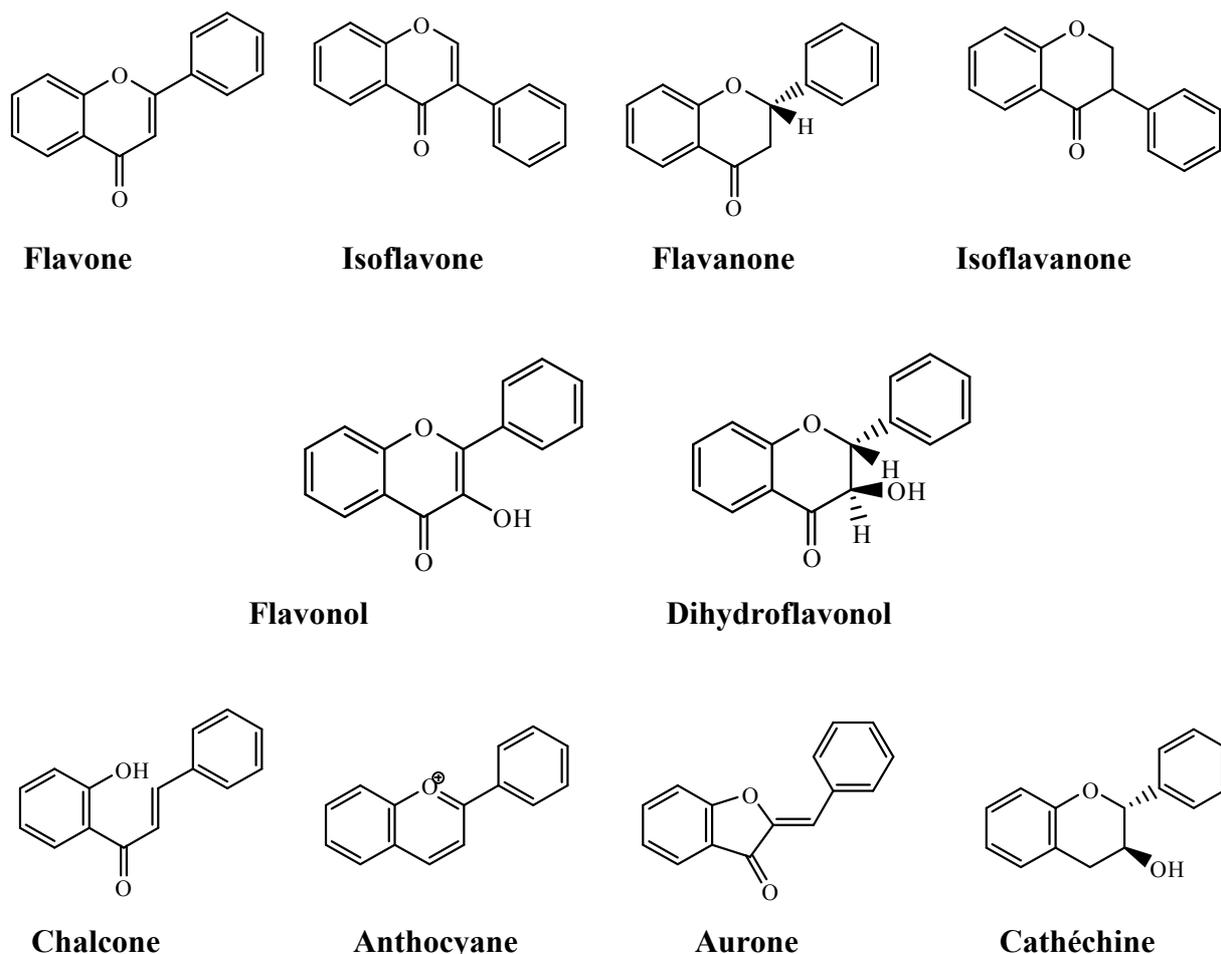
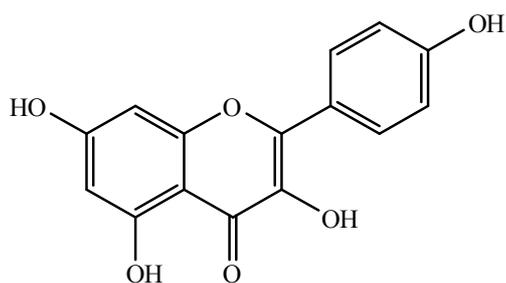
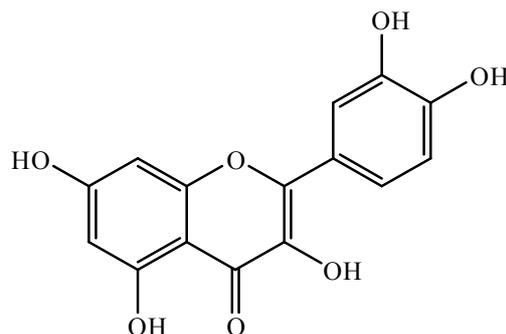


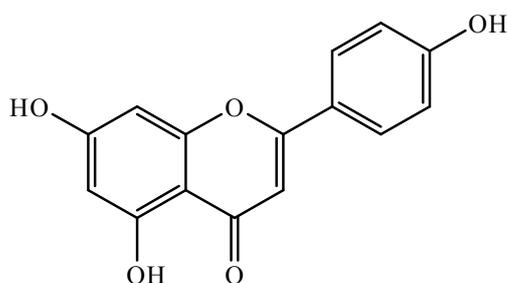
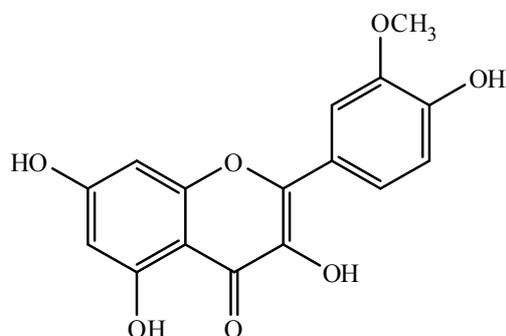
Figure 7. Différentes structures de flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments responsables des couleurs jaune, rouge, bleu, et brune des fleurs et des fruits, ils s'en servent pour attirer les insectes pollinisateurs (Harborne *et al.*, 1978a; Harborne *et al.*, 1978b), ils jouent aussi un rôle dans la protection de la plante contre les UV et de défense contre les pathogènes et les insectes ravageurs (Brehm *et al.*, 1975).

Crowden *et al.* ont passé en revue plus de 300 espèces d'Apiaceae, représentant 52 pour cent des genres de la famille, pour les composés phénoliques contenus dans les feuilles. Les flavonoïdes présents dans la plupart des Apiaceae sont le kaempférol et la quercétine. Les glycosides de ces deux composés ont déjà été signalés dans cinq espèces (Harborne, 1969). D'autres flavonols non identifiés sont parfois présents. L'un d'eux est probablement l'isorhamnétine, déjà identifié dans les fleurs d'*Oenanthe stolonifera*. La lutéoline a été la principale flavone détectée dans de nombreuses Apiaceae. L'apigénine, bien qu'isolée la première fois des graines de céleri (*Apium graveolens*) (Von Gerichten, 1901), sous forme d'apiine (7-apiosyl-glucoside) a été rarement retrouvée.

**Kaempférol****Quercétine**

L'investigation approfondie des fleurs des Apiaceae du point de vue richesse en flavonoïdes n'a pas été faite jusqu'à présent, mais l'analyse de quelques échantillons indique une similitude avec celle des feuilles.

**Apéginine****Isorhamnétine**

Quelque 250 taxons appartenant à plus de 75 genres d'Apiaceae ont été étudiés par (Harborne et *al.* 1976). Les extraits hydro-alcooliques des plantes fraîches et / ou séchées ont été soumis à une électrophorèse basse tension à pH 2,2 pendant deux heures et les électrophorégrammes séchés et examinés à la lumière UV pour les composants anioniques ont révélés la présence de flavonoïdes, et les composants anioniques ont été détectés dans seulement trois genres, *Ammi*, *Daucus* et *Oenanthe* (tableau 4).

Tableau 4. Les flavonoïdes sulfates dans les Apiaceae

Espèce	Sulfate présent
<i>Ammi visnaga</i> L. Lam	Quercétine-3-sulphate
<i>Daucus carota</i> L.	Lutéoline-7- et 4'-sulphates, Apigénine-7-sulphate
<i>Oenanthe crocata</i> L.	Isorhamnétine et Quercétine-3-sulphates
<i>O. fistulosa</i> L.	Lutéoline-7-sulphate
<i>O. pimpinelloides</i> L.	Isorhamnétine-3-sulphate
<i>O. lachenalii</i> C.C. Gmel.	Quercétine et/ou isorhamnétine 3-sulphates
<i>O. nodiflora</i>	Quercétine et/ou isorhamnétine 3-sulphates
<i>O. pteridifolia</i> Lowe	Quercétine et/ou isorhamnétine 3-sulphates
<i>O. virgata</i> Poiret	Quercétine et/ou isorhamnétine 3-sulphates

I.5.3. Les alcaloïdes et les dérivés azotés

Les alcaloïdes représentent un ensemble de molécules renfermant du carbone, de l'hydrogène et plus spécialement de l'azote. Leur dénomination – de l'arabe *al kali* (qui a donné « alcali » base) – fait référence à leur caractère « alcalin » ou « basique ». L'origine biosynthétique de la plupart des alcaloïdes sont les acides aminés.

Les noms usuels attribués aux alcaloïdes évoquent le plus souvent l'organisme d'origine comme l'atropine (de l'*Atropa belladonna*), parfois leur activité (émétine vomitive). Ils se terminent par le suffixe *-ine* comme presque tous les produits naturels.

Le premier « alcali végétal » isolé à l'état défini fut la morphine de l'opium, décrite en 1817 par F. W. Sertürner sous le nom primitif de « morphium » après avoir été entrevue en 1804 par A. Seguin. La même année apparurent la narcotine ou noscapine (opium), l'émétine (ipéca) et la strychnine (noix vomique), ce qui conduisit W. Meissner, en 1819, à forger le mot « alcaloïde » pour désigner ce nouveau type de produits.

Les alcaloïdes ont la propriété de former des sels et d'avoir un goût amer, ils se trouvent en tant que métabolites secondaires principalement chez les végétaux, les champignons et quelques groupes animaux peu nombreux.

On peut classer les alcaloïdes en trois classes (Foley, 2003):

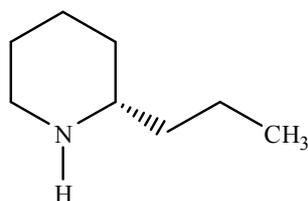
- Les proto-alcaloïdes: sont des amines simples, dont l'azote n'est pas inclu dans un hétérocycle. Ils dérivent aussi d'acides aminés.
- Les pseudo-alcaloïdes: ne sont pas dérivés d'acides aminés. Ils peuvent cependant être indirectement liés à la voie des acides aminés par l'intermédiaire d'un de leurs précurseurs, ou d'un de leurs dérivés. Ils peuvent aussi résulter d'amination, ou de réaction de transamination dans une voie connectée avec les précurseurs ou les postcurseurs d'acides aminés.
- Les alcaloïdes vrais: dérivent d'acides aminés et comportent un atome d'azote dans un système hétérocyclique. Ce sont des substances douées d'une grande activité biologique, même à faibles doses. Ils apparaissent dans les plantes, soit sous forme libre, soit sous forme d'un sel, soit comme N-oxide.

Les alcaloïdes sont rares chez les Apiaceae (Corsi et David, 1998). Le plus connue est la coniine, un alcaloïde dérivé de la pipéridine (poison neurotoxique), l'un des principaux composés actifs de la cigüe. La coniine existe en deux stéréoisomères : la (*S*)-coniine isomère naturel, présent dans la cigüe et la (*R*)-coniine.

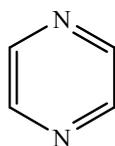
L'une des premières et plus célèbres victimes connues de la coniine est le philosophe Socrate, forcé de se suicider par ingestion d'une solution à base de grande cigüe.

La coniine a été synthétisée pour la première fois par le chimiste allemand Albert Ladenburg en 1886 (Henry, 1949), par la réaction de condensation de Knoevenagel. C'est le premier alcaloïde à avoir été ainsi synthétisé.

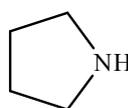
Ont été également isolés, la pyrazine, la pyrrolidine et l'isoquinoléine.



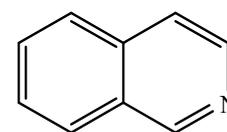
Coniine



Pyrazine



Pyrrolidine



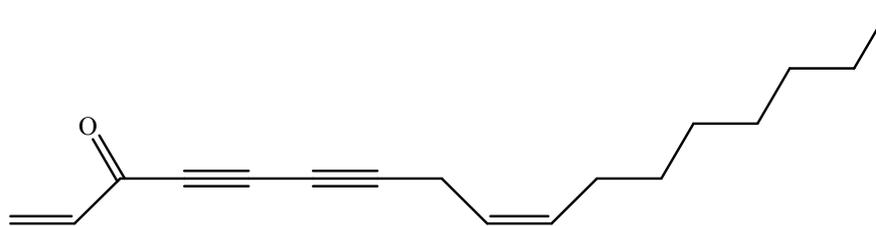
Isoquinoléine

I.5.4. Les composés polyacétyléniques

Ils sont caractéristiques des espèces appartenant aux familles des Araliaceae, des Asteraceae et des Apiaceae (Christensen et Brandt, 2006).

Les polyacétylènes ont d'abord été isolés dans la famille en tant que principes toxiques, dans les espèces : *Oenanthe crocata*, *Cicuta virosa* et *Aethusa cynapium* (Bohlmann et al., 1960).

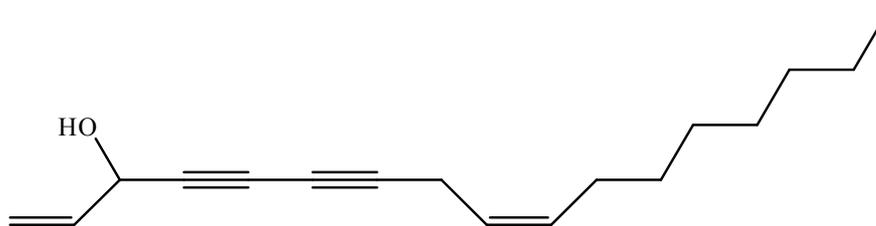
(Bohlmann et al., 1961) ont travaillé sur quarante et une espèces de trente-cinq genres et ont pu isoler et identifier la falcarinone dans quatorze espèces et des acétylènes non identifiés dans trois autres. Cependant, les espèces restantes, y compris la carotte domestique (*Daucus carota*), ont été signalées comme apparemment dépourvues de polyacétylènes. Par la suite, l'acétylène « carotatoxine » a été isolé de *D. carota* (Crosby et Aharonson, 1967) et a été identifié comme un produit identique au falcarinol (Bentley et Thaller, 1967; Bentley et Thaller, 1967).



Falcarinone ((Z)-heptadeca-1,9-diene-4,6-diyne-3-one)

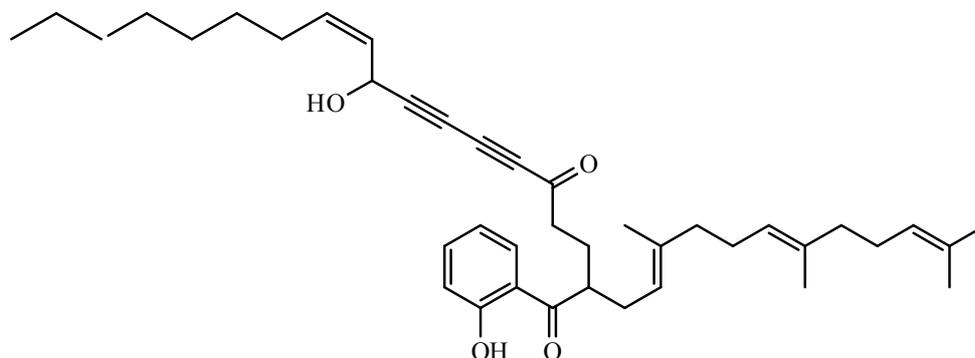
(Yoshioka et al., 1966) ont obtenu des résultats positifs pour les polyacétylènes dans treize espèces d'Apiaceae de dix genres.

Les extraits étherés des racines fraîches de trente-cinq espèces, de vingt-cinq genres, dont la plupart n'avaient pas été étudiés, ont été analysés pour leurs polyacétylènes par CCM et spectroscopie UV. Chaque plante a montré la présence de deux ou plusieurs polyacétylènes, dont l'un correspondait au polyacétylène majoritaire de la carotte et qui est probablement le falcarinol. Il ressort de ces résultats que les polyacétylènes sont très répandus, sinon universels, dans la famille.



Falcarinol ((Z)-heptadeca-1,9-ène-4,6-diyne-3-ol)

La férulinolone, métabolite isolé de *Ferula communis* (Pascual et *al.*, 1986) est un polyacétylène de biosynthèse d'une origine synthétique mixte (Mann, 1978) , formé par la liaison d'une coumarine (sikimate), d'un terpénoïde (mévalonate) et d'acétylène (acétate).



Férulinolone

Chapitre II

Aperçu bibliographique sur les genres Athamanta et Ferula

I. Aperçu bibliographique sur le genre *Athamanta* (synonyme: *Tinguarra*)

I.1. Description botanique du genre

Le genre *Athamanta* (du nom *Athamas*, montagne de Crète où se trouve la plante) est composé d'environ 9 espèces, qui sont distribuées principalement dans le Sud-Est de l'Europe. Ce sont des plantes vivaces appartenant à la famille des Apiacées, dont les fleurs sont principalement blanches à cinq pétales, velus en dehors, à peine échancrés, avec une pointe recourbée en dedans. Les ombelles et les ombellules sont munies d'une collerette à plusieurs folioles simples, étroites et membraneuses. Le fruit est velu, plus de deux fois plus long que large, chaque moitié du fruit porte 5 côtes égales arrondies, peu saillantes (Bonnier, 1990; Camarda *et al.*, 2008). Selon Quezel et Santa (1962), le genre *Athamanta* est constitué de plantes grisâtres tomenteuses des rochers verticaux, surtout calcaires. Les feuilles sont molles et pennatiséquées.

I.2. Répartition géographique

Le genre *Athamanta* est distribué principalement en Europe du Sud-Est et Afrique du Nord.

I.3. Utilisations en médecine traditionnelle

D'après Camarda *et al.* (2008) quelques espèces du genre *Athamanta* sont utilisées dans la médecine traditionnelle comme antiseptiques, diurétiques et dans la thérapie des scléroses. Les fruits d'*Athamanta cretensis* ont été très réputés autrefois comme diurétiques, stomachiques, nervins, emménagogues, on les utilisait également contre la flatulence, la gravelle, l'atonie vésicale, les coliques spasmodiques, la toux chronique, la plante entière est aussi aromatique, apéritive et digestive (Fournier, 1947).

I.4. Travaux antérieurs sur le genre

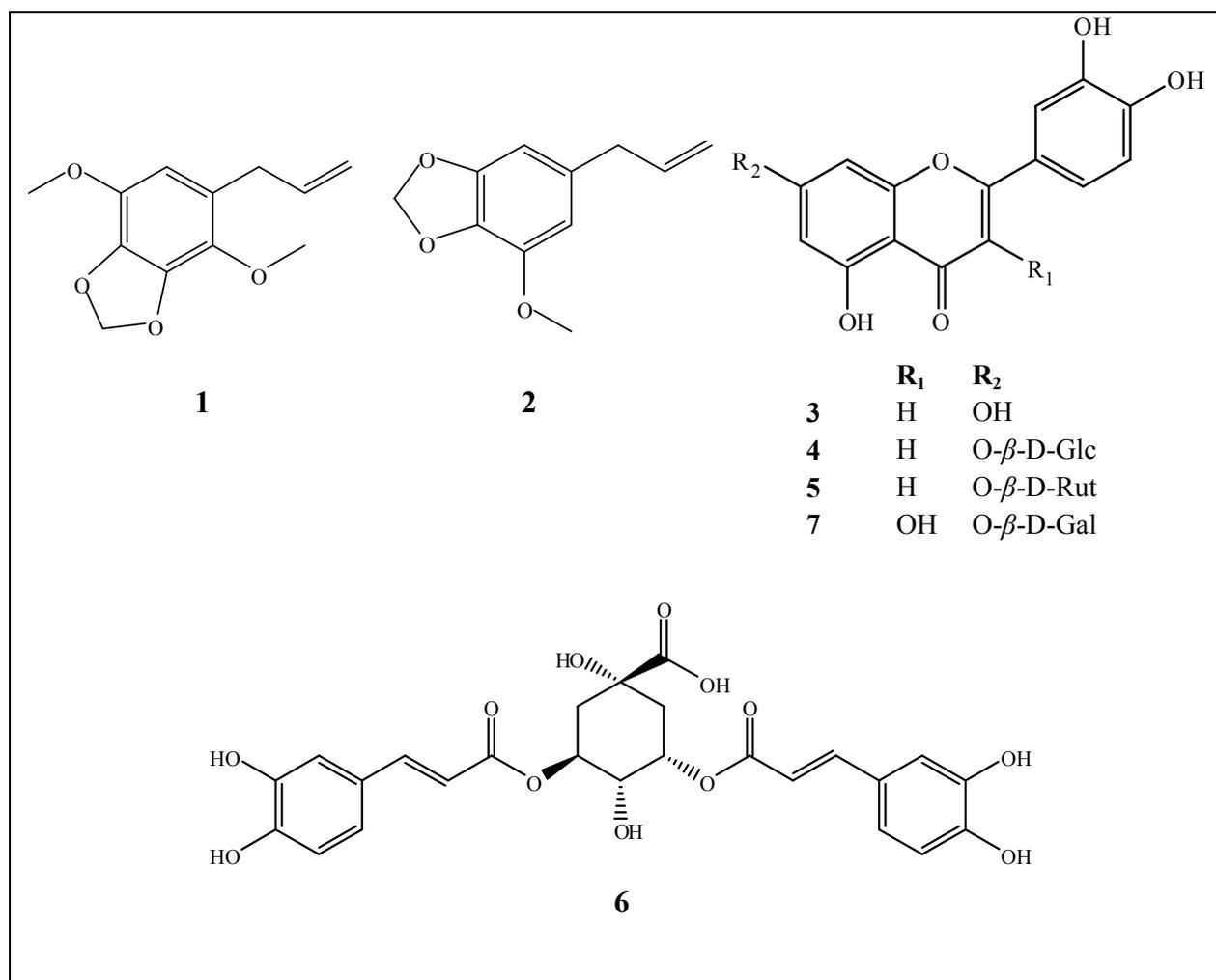
Les plantes nous offrent plus de composés nouveaux que tous les chimistes du monde ne pourraient jamais synthétiser pendant mille ans d'efforts. Les études phytochimiques entreprises jusqu'à maintenant sur le genre *Athamanta* rapportent la présence de flavonoïdes et d'acides gras (Tomic *et al.*, 2009; Di stefano *et al.*, 2011). Cependant les fruits d'*Athamanta oreoselinum*

renferment une essence et de l'athamantine, une poudre blanche, cristalline, insoluble dans l'eau, très soluble dans l'alcool et les huiles (Fournier, 1947).

Le tableau 5 rassemble des composés isolés à partir du genre *Athamanta*, les structures respectives sont données dans la figure 8.

Tableau 5. Les composés isolés du genre *Athamanta*

Nom du composé	Espèces	Réf
Apiole (1) Myristicine (2)	<i>A. sicula</i> L.	Di stefano <i>et al.</i> , 2011
Lutéoline (3) Lutéoline 7- <i>O</i> - β -D-glucoside (4) Lutéoline 7- <i>O</i> - β -D-rutinoside (5) 3,5-di- acide <i>O</i> -Caffeoylquinique (6)	<i>A. turbith</i>	Tomic <i>et al.</i> , 2009
Quercétine-7- <i>O</i> - β -D-galactopyranoside (7)	<i>A. macrophylla</i>	Kamilov et Nikonov, 1971
Athamantin (8)	<i>A. oreoselinum</i>	Spath et Schmid, 1940



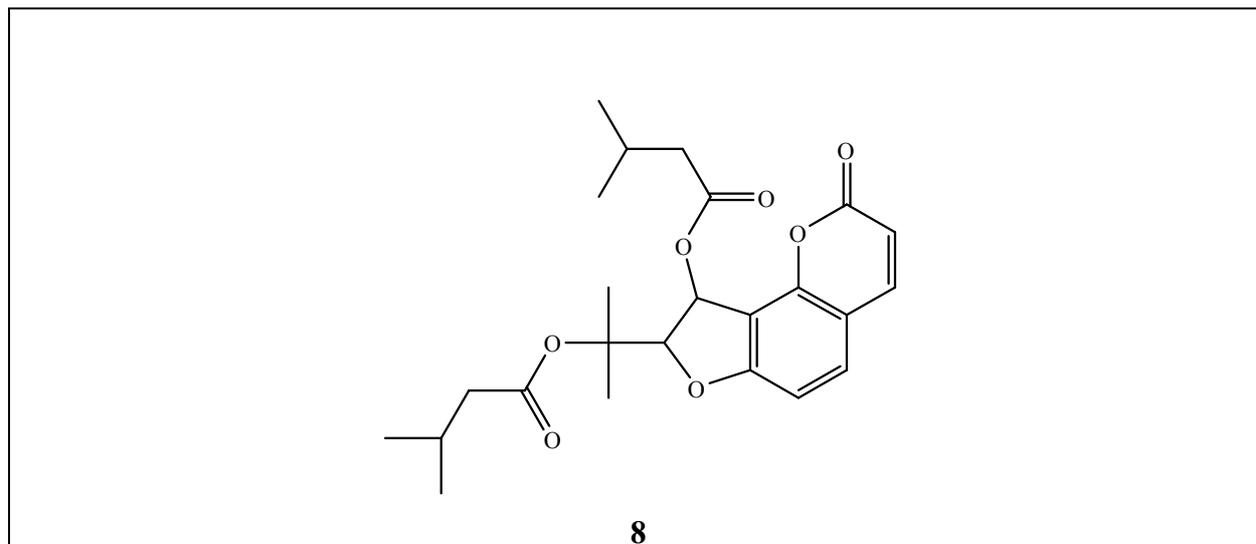


Figure 8. Structures de composés isolés du genre *Athamanta*

Quelques études ont été faites sur la composition chimique des huiles essentielles de différentes espèces du genre *Athamanta*, une étude a été réalisée en Algérie sur *Athamanta sicula* (Labeled et *al.*, 2012).

II. *Athamanta sicula* L. (synonyme: *Tinguarra sicula* L.)

II.1. Description botanique

C'est une plante annuelle vivace, sa taille varie entre 30 et 100 cm, entièrement grisâtre tomenteuse, tiges de 20-60 cm, ses feuilles sont luisantes en dessus tripennatiséquées, molles, à divisions très nombreuses ovales oblongues, fortement crénelées. Involucre et involucelle à 2-5 bractées. Ombelles à 10-20 rayons, les fleurs sont blanches, les semences oblongues, le fruit très hispide, 4-6 fois plus long que large. Elle croit dans les falaises calcaires et verticales dans une fourchette d'altitude variant de 100 mètres jusqu'à 1500 mètres.



Figure 9. Espèce *Athamanta sicula* L.

II.2. Répartition géographique

L'espèce *Athamanta sicula* L. est distribuée en Afrique et dans le sud de l'Italie particulièrement en Sicile sur les rochers et dans tout le Tell algérien (Quezel et Santa, 1962; Camarda et al., 2008).

II.3. Place dans la systématique

Le classement d'*Athamanta sicula* L. dans la systématique est comme suit :

Règne	Plante
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Apiales
Famille	Apiaceae
Genre	<i>Athamanta</i>
Espèce	<i>Athamanta sicula</i>

II.4. Utilisations en médecine traditionnelle

Dans la médecine populaire, *Athamanta sicula* L. est connue en Italie sous le nom de "spaccapietre" (fendeur des roches), l'infusion de ses racines fraîches est indiquée dans le traitement des maladies de l'appareil urinaire. Elle est conseillée spécifiquement pour faire dissoudre les calculs rénaux (Camarda et al., 2008).

II.5. Travaux antérieurs

Jusqu'à présent deux composés ont été isolés de l'espèce *Athamanta sicula* L. qui sont l'apiole et la myristicine (tableau 5).

III. Aperçu bibliographique sur le genre *Ferula***III.1. Description botanique**

La flore algérienne comprend 5 espèces de *Ferula* dont 2 sont endémiques (Quezel et Santa, 1962). Ce sont des plantes vivaces, à tige mesurant de 1-4 m, creuse, glabre, robuste, et à racines épaisses. Les feuilles sont toutes composées en lanières linéaires.

Les fleurs sont jaunes, en ombelles à 5-40 rayons, les latérales plus petites que la centrale et souvent stériles et à involucelle nulle ou à plusieurs folioles. Le calice a 5 dents ; les pétales sont ovales, acuminés, entiers, à pointe dressée ou courbée en dedans, les styles sont étalés ou réfléchis.

Le fruit est ovale ou oblong, comprimé par le dos, glabre, entouré d'un rebord plan ; les méricarpes sont à 5 côtes, les trois dorsales filiformes, égales, les deux marginales dilatées en aile aplatie; les vallécules sont à plusieurs bandelettes, le carpophore est libre, bifide et les graines sont à face commissurale plane (Coste *et al.*, 1998).

III.2. Répartition géographique

Les plantes du genre *Ferula* L. croissent souvent dans les régions arides. Ce genre comporte environ 150 espèces présentes du bassin méditerranéen jusqu'à l'Asie centrale (Pimenov *et al.*, 1993).

III.3. Utilisations en médecine traditionnelle

De nombreuses espèces de *Ferula* sont connues depuis l'antiquité en tant que sources de gommes-oléorésines (des sécrétions obtenues par entailles répétées de la partie supérieure des racines) surtout le galbanum et l'ase fétide. L'ase fétide est réputée carminative et spasmolytique (Bruneton, 2009). Elle est rarement toxique.

Les racines et les résines des espèces de *Ferula* sont souvent les parties utilisées en médecine traditionnelle (tableau 6).

Tableau 6. Utilisations traditionnelles de *Ferula* spp.

Noms d'espèces	Utilisation traditionnelle	Référence
<i>F. alliacea</i> (Boiss)	-Source d'ase fétide. -Traitement de l'épilepsie, de l'hystérie et de la piqûre de scorpion. Propriétés carminatives et antiseptiques intestinales.	(Heywood, 1971)
<i>F. elaeochytris</i> Korovin	-Les parties aériennes sont utilisées pour augmenter la fertilité chez les animaux. -Aphrodisiaque.	(Miski <i>et al.</i> , 1983)
<i>F. ferulago</i>	-Antispasmodique	(Abd El-Razek <i>et al.</i> , 2001)
<i>F. jeaschkeana</i> Vatke	-Traitement des maladies et problèmes de peau.	(Heywood, 1971)
<i>F. narthex</i>	-Source d'ase fétide.	(Heywood, 1971)
<i>F. persica</i> Willd.	Source de gommés-oléorésines. Antidiabétique, utilisée aussi contre les douleurs dorsales et les rhumatismes.	(Heywood, 1971)
<i>F. orientalis</i> L.	Source de gommés-oléorésines	(Miski <i>et al.</i> , 1987)
<i>F. kuhistanica</i> Eug. & Kor.	Traitement des maladies et problèmes de peau	(Tamemoto <i>et al.</i> , 2002)
<i>F. communis</i> L.	Autrefois utilisée pour traiter l'hystérie et la dysenterie	(Rubiolo <i>et al.</i> , 2006)
<i>F. assa-foetida</i> L.	Arômes alimentaires, propriétés expectorantes, carminatives, laxatives, stimulantes, antispasmodiques et anthelminthiques, traitement de la grippe et du cancer.	(Heywood, 1971; Lee <i>et al.</i> , 2009)

III.4. Travaux antérieurs

Les données phytochimiques du genre *Ferula* ont été rapidement développées pendant les 20 dernières années. Une centaine d'espèces de ce genre ont déjà fait l'objet d'études, et des centaines de composés ont été identifiées dont la majorité appartient aux terpenoïdes, plus précisément aux dérivés sesquiterpéniques et les coumarine- sesquiterpènes.

Plusieurs études ont été faites sur la composition chimique des huiles essentielles de différentes espèces du genre *Ferula*, à titre d'exemple on peut cité une étude comparative de la

composition chimique des huiles essentielles de quelques espèces du genre *Ferula* (Bouratoua et al., 2014).

III.4.1. Les métabolites secondaires

III.4.1.1. Les terpénoïdes

III.4.1.1.1. Les dérivés monoterpéniques

Dans les espèces de *Ferula*, ces composés sont représentés par des esters de bornéol (la chimigine, la chimganine et l'iso-chimganine) et de fenchol (stylosine) ou des monoterpénoides linéaires substitués par une coumarine (l'auraptène et la diversine). La chimigine et la chimganine sont répandues dans la section *Peucedanoides* (tableau 7).

Tableau 7. Les monoterpènes isolés du genre *Ferula*

N°	Nom	Source	Réf
1	Chimigine	<i>F. angreni</i> <i>F. calcarea</i> <i>F. dissecta</i> <i>F. karategina</i> <i>F. kyzylkumica</i> <i>F. lapidosa</i> <i>F. nuratavica</i> <i>F. prangifolia</i> <i>F. samarcandica</i> <i>F. tschimganica</i>	(Sagitdinova et al., 1978a) (Kerimov et al., 1987) (Bagirov et al., 1984) (Saidkhodzhaev et al., 1993a) (Saidkhodzhaev et al., 1993a) (Borisov et al., 1973) (Kobilov et al., 1995b) (Kamilov et al., 1972) (Eshbakova et al., 2003) (Kadyrov et al., 1972)
2	Chimganine	<i>F. tschimganica</i> <i>F. calcarea</i> <i>F. karategina</i> <i>F. lapidosa</i> <i>F. stylosa</i> <i>F. dissecta</i>	(Kadyrov et al., 1972) (Kerimov et al., 1987) (Saidkhodzhaev et al., 1993a) (Borisov et al., 1973) (Bagirov et al., 1980) (Wang et al., 2014)
3	Iso-chimganine	<i>F. dissecta</i>	(Wang et al., 2014)
4	Stylosine	<i>F. stylosa</i>	(Bagirov et al., 1980)

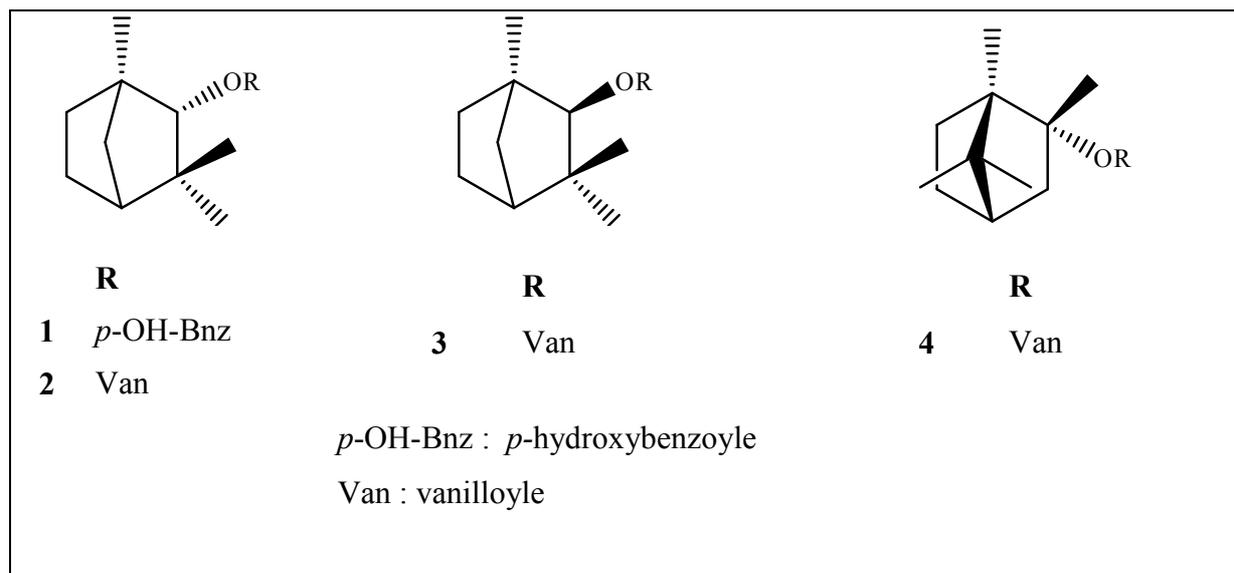


Figure 10. Structures des monoterpènes isolés du genre *Ferula*

III.4.1.1.2. Les dérivés diterpéniques

Un seul composé diterpénique **5** (15-hydroxy-6-en-dehydroabietic acid) de type abietane a été isolé de l'espèce *F. assa-foetida* (Lee et al., 2009).

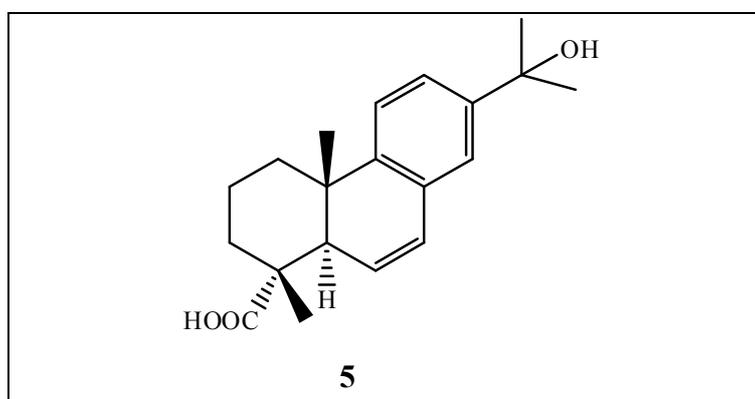


Figure 11. Structures de diterpène isolé du genre *Ferula*

III.4.1.1.3. Les dérivés sesquiterpéniques

Les sesquiterpènes sont des molécules dont le point commun est d'être formés de trois unités isoprènes. La cyclisation du précurseur, le farnésylpyrophosphate (FPP) donne une variété de squelette de 15 carbones qui peut être acyclique ou contenir 1 à 2 cycles.

Le genre *Ferula* est connu pour les dérivés de daucane, germacrane, eudesmane, humulane et guaiane (figure 12).

La cyclisation de FPP peut conduire à l'humulane et aussi au cation germacrandiényle, susceptible de donner naissance à de nombreux composés bicycliques (daucane, eudesmane, guaiane,...) (Drew *et al.*, 2009, Bruneton, 2009).

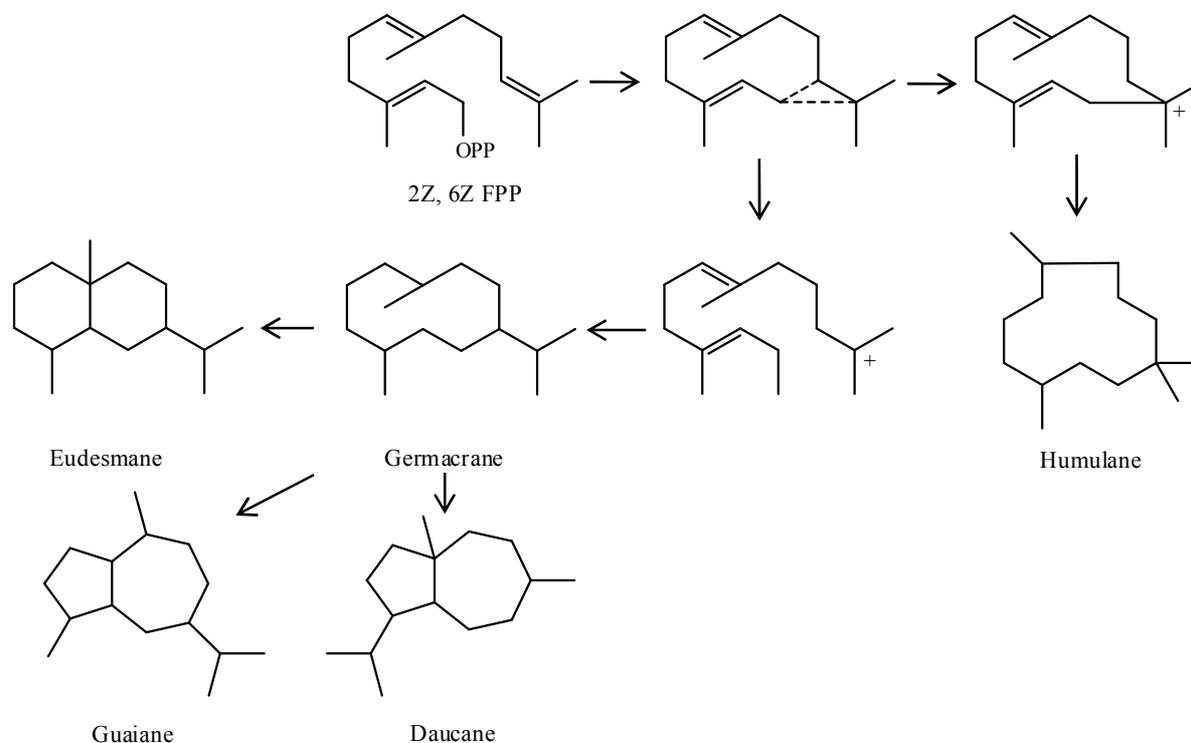


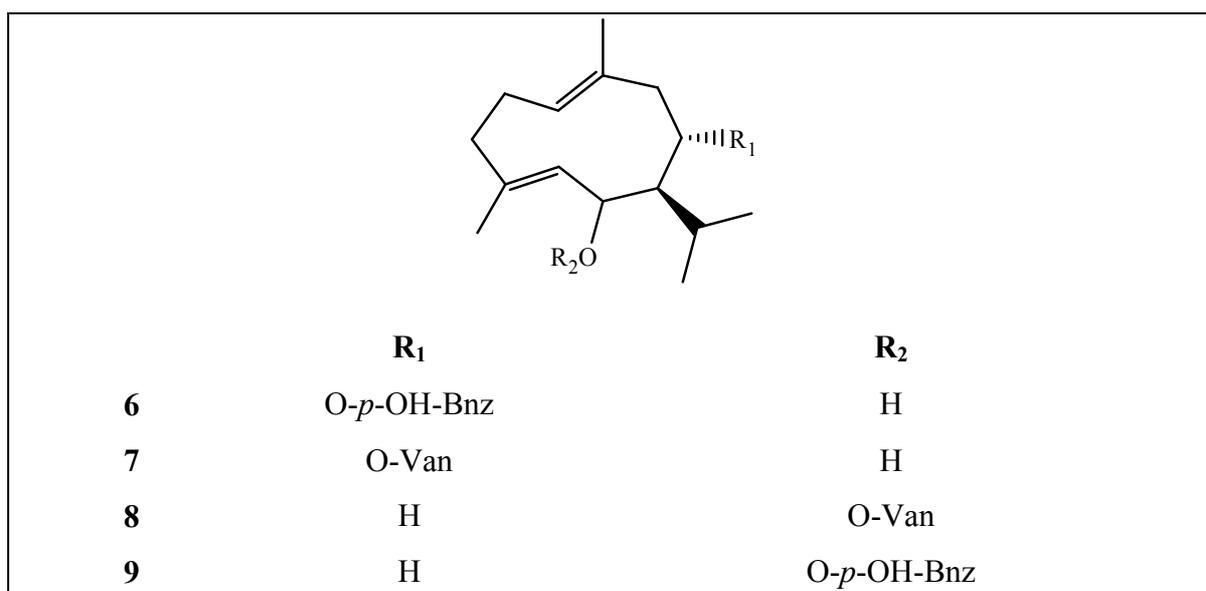
Figure 12. Biogenèse des sesquiterpènes

1. Les germacrènes

Les germacranolides sont les précurseurs de certains dérivés sesquiterpéniques (Bruneton, 2009). Bien que les esters de germacrène soient relativement rares dans le règne végétal, la féroline et la chimganidine sont répandues dans la section *Xeronarthex* (sous-genre *Peucedanoides*) du genre *Ferula*, les deux composés : 6- β -vanilloylgermacra-1(10),4-diène et 6- β -phydroxybenzoyl-germacra-1(10),4-diène ont été isolés des espèces *F. lycia* et *F. orientalis* (tableau 8).

Tableau 8. Les germacrènes isolés du genre *Ferula*

N°	Nom	Source	Réf
6	Chimganidine	<i>F. angrenii</i> <i>F. ferganensis</i> <i>F. karakalensis</i> <i>F. karategina</i> <i>F. kyzylkumica</i> <i>F. lapidosa</i> <i>F. pallida</i> <i>F. tenuisecta</i> <i>F. tschimganica</i>	(Sagitdinova <i>et al.</i> , 1978a) (Kadyrov <i>et al.</i> , 1977) (Saidkhodzhaev <i>et al.</i> , 1993b) (Saidkhodzhaev <i>et al.</i> , 1993a) (Saidkhodzhaev <i>et al.</i> , 1993a) (Borisov <i>et al.</i> , 1973) (Khasanov <i>et al.</i> , 1972) (Saidkhodzhaev <i>et al.</i> , 1985) (Kadyrov <i>et al.</i> , 1972)
7	Féroline	<i>F. angrenii</i> <i>F. calcarea</i> <i>F. fedtschenkoana</i> <i>F. ferganensis</i> <i>F. karakalensis</i> <i>F. karategina</i> <i>F. kyzylkumica</i> <i>F. lapidosa</i> <i>F. tenuisecta</i>	(Sagitdinova <i>et al.</i> , 1978a) (Kerimov <i>et al.</i> , 1987) (Kamilov <i>et al.</i> , 1974) (Kadyrov <i>et al.</i> , 1977) (Saidkhodzhaev <i>et al.</i> , 1993b) (Saidkhodzhaev <i>et al.</i> , 1993a) (Saidkhodzhaev <i>et al.</i> , 1993a) (Borisov <i>et al.</i> , 1973) (Saidkhodzhaev <i>et al.</i> , 1985)
8	6- β -vanilloylgermacra-1(10),4-diène	<i>F. lycia</i> <i>F. orientalis</i>	(Alkhatib <i>et al.</i> , 2010) (Miski <i>et al.</i> , 1987)
9	6- β - <i>p</i> -hydroxybenzoylgermacra-1(10),4-diène	<i>F. lycia</i> <i>F. orientalis</i>	(Alkhatib <i>et al.</i> , 2010) (Miski <i>et al.</i> , 1987)

**Figure 13.** Structures de germacrène isolé du genre *Ferula*

2. Les humulènes

La férocine et la férocinine sont les plus répandues dans le genre *Ferula*. Elles ont été isolées de 6 espèces de la section *Xeronarthex*. 8 esters de juniférol ont été isolés de l'espèce *F. lycia* (tableau 9).

Tableau 9. Les humulènes isolés du genre *Ferula*

N°	Nom	Source	Réf
10	Férocine	<i>F. ceratophylla</i> <i>F. helenae</i> <i>F. lapidosa</i> <i>F. tatarica</i> <i>F. tenuisecta</i>	(Golovina <i>et al.</i> , 1977) (Saidkhodzhaev <i>et al.</i> , 1985) (Saidkhodzhaev <i>et al.</i> , 1985) (Nazhimutdinova <i>et al.</i> , 1995) (Saidkhodzhaev <i>et al.</i> , 1985)
11	Férocinine	<i>F. ceratophylla</i> <i>F. helenae</i> <i>F. lapidosa</i> <i>F. tatarica</i> <i>F. tenuisecta</i> <i>F. tschatcalensis</i>	(Golovina <i>et al.</i> , 1977) (Saidkhodzhaev <i>et al.</i> , 1985) (Saidkhodzhaev <i>et al.</i> , 1985) (Nazhimutdinova <i>et al.</i> , 1995) (Saidkhodzhaev <i>et al.</i> , 1985) (Sagitdinova <i>et al.</i> , 1983)
12	Lyciférine A	<i>F. lycia</i>	(Alkhatib <i>et al.</i> , 2010)
13	Lyciférine B	<i>F. lycia</i>	(Alkhatib <i>et al.</i> , 2010)
14	Lyciférine C	<i>F. lycia</i>	(Alkhatib <i>et al.</i> , 2010)
15	Lyciférine D	<i>F. lycia</i>	(Alkhatib <i>et al.</i> , 2010)
16	Juniferdine	<i>F. lycia</i> <i>F. juniperina</i>	(Alkhatib <i>et al.</i> , 2010) (Sagitdinova <i>et al.</i> , 1978b)
17	Juniférinine	<i>F. lycia</i> <i>F. juniperina</i>	(Alkhatib <i>et al.</i> , 2010) (Sagitdinova <i>et al.</i> , 1978b)
18	Juniférine	<i>F. lycia</i> <i>F. juniperina</i>	(Alkhatib <i>et al.</i> , 2010) (Sagitdinova <i>et al.</i> , 1978b)
19	Lyciférine E	<i>F. lycia</i>	(Alkhatib <i>et al.</i> , 2010)

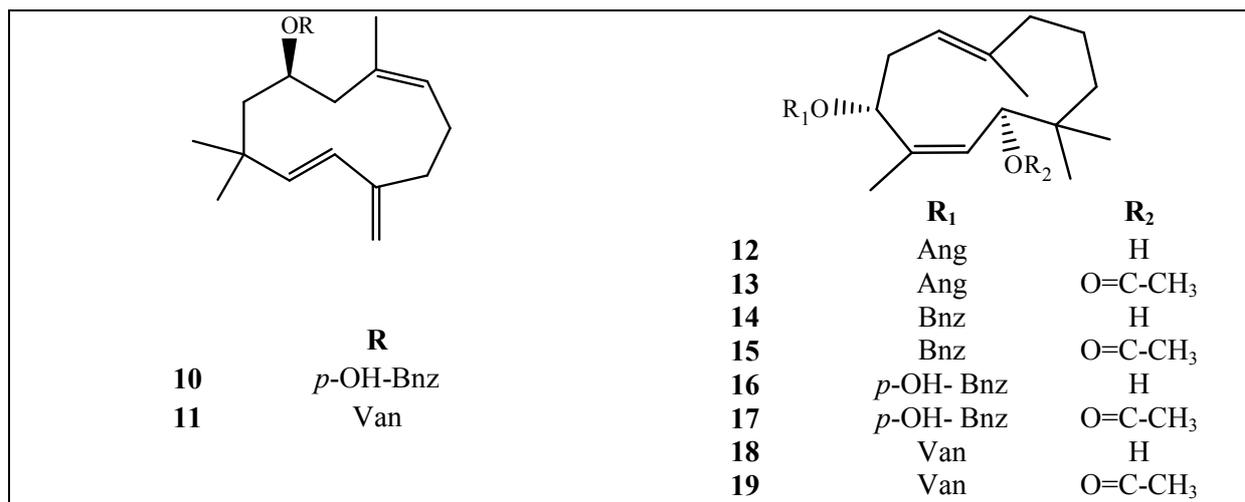


Figure 14. Les humulènes isolés du genre *Ferula*

3. Les esters de daucane

Plus de 150 dérivés de daucane ont été isolés du genre *Ferula*, surtout du sous-genre *Peucedanoides*. Les esters de jaeschkenadiol sont très courants dans ces espèces (tableau 10).

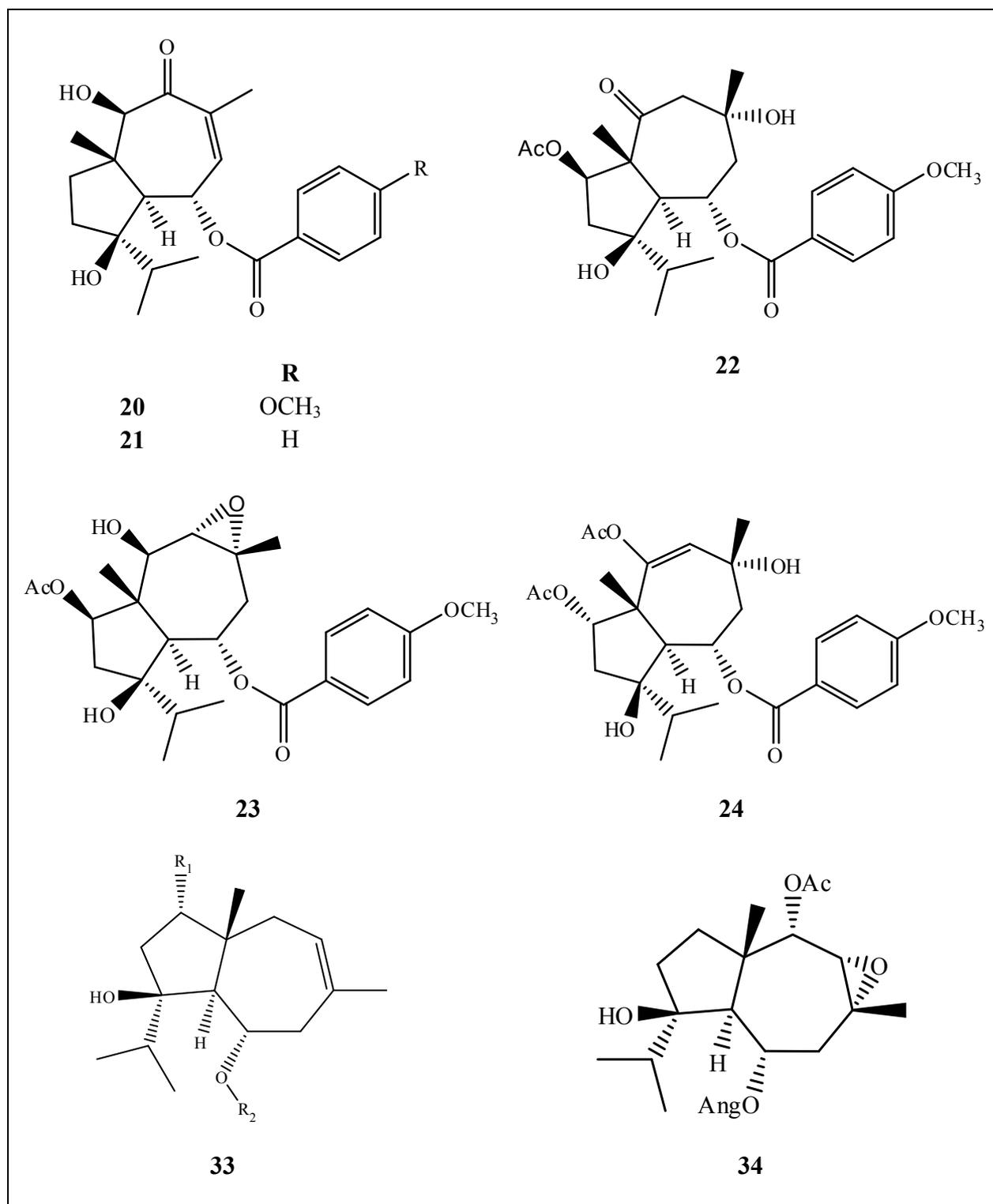
Tableau 10. Les dérivés de daucane isolés du genre *Ferula*

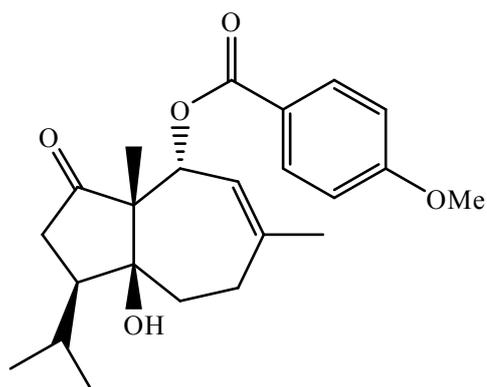
N°	Nom	Source	Réf
20	10-hydroxylancerodiol-6-anisate	<i>F. vesceritensis</i>	(Oughlissi-Dehak et al.,2008)
21	10-Hydroxylancerodiol 6-benzoate	<i>F. vesceritensis</i>	(Oughlissi-Dehak et al.,2008)
22	Vesceritenone	<i>F. vesceritensis</i>	(Oughlissi-Dehak et al.,2008)
23	Epoxyvesceritenol	<i>F. vesceritensis</i>	(Oughlissi-Dehak et al.,2008)
24	2,10-Diacetyl-8-hydroxyferutriol-6-anisate	<i>F. vesceritensis</i>	(Oughlissi-Dehak et al.,2008)
25	Jaeschkeanadiol	<i>F. jaeschkeana</i> , <i>F. sinaica</i> , <i>F. communis</i>	(Ghisalberti, 1994)

26	Férutinine	<i>F. hermonis</i> <i>F. akitschkensis</i> , <i>F. communis</i> , <i>F. elaeochytris</i> , <i>F. jaeschkeana</i> <i>F. kuhistanica</i> , <i>F. lancerottensis</i> , <i>F. linkii</i> , <i>F. orientalis</i> , <i>F. ovina</i> , <i>F. soongorica</i> <i>F. elaeochytris</i>	(Galal <i>et al.</i> , 2001) (Ghisalberti, 1994) (Alkhatib <i>et al.</i> , 2008 ; Miski <i>et al.</i> , 1983)
27	Férutidine	<i>F. arrigoni</i> <i>F. communis</i> , <i>F. elaeochytris</i> , <i>F. kuhistanica</i> , <i>F. rigidula</i> , <i>F. sinaica</i>	(Appendino <i>et al.</i> , 1997) (Ghisalberti, 1994)
28	2 α -Hydroxyférutidine	<i>F. arrigonii</i> <i>F. hermonis</i>	(Poli <i>et al.</i> , 2005) (Diab <i>et al.</i> , 2001 ; Geroushi <i>et al.</i> , 2011 ; Ibraheim <i>et al.</i> , 2012 ; Al-Ja'fari <i>et al.</i> , 2013) (Ghisalberti, 1994)
29	Téférine	<i>F. jaeschkeana</i> , <i>F. elaeochytris</i> , <i>F. kuhistanica</i> , <i>F. nuratavica</i> , <i>F. orientalis</i> , <i>F. rubroarenose</i> , <i>F. soongorica</i> , <i>F. tatarica</i> ,	
30	Eaeochytrine A	<i>F. elaeochytris</i>	(Alkhatib <i>et al.</i> , 2008)
31	Téféridine	<i>F. elaeochytris</i> <i>F. hermonis</i>	(Alkhatib <i>et al.</i> , 2008) (Miski <i>et al.</i> , 1983 ; Ibraheim <i>et al.</i> , 2012 ; Geroushi <i>et al.</i> , 2011)
32	6-angélyoljaeschkeanadiol	<i>F. elaeochytris</i>	(Alkhatib <i>et al.</i> , 2008 ; Miski <i>et al.</i> , 1983)
33	Lapiférine	<i>F. arrigonii</i> <i>F. lapidosa</i> , <i>F. latipinna</i> , <i>F. linkii</i>	(Appendino <i>et al.</i> , 1997) (Ghisalberti, 1994)
34	Anisate de siol	<i>F. arrigonii</i>	(Poli <i>et al.</i> , 2005)
35	4 β -hydroxy-5 α H-dauca-7-ène-6-one	<i>F. hermonis</i>	(Lhuillier <i>et al.</i> , 2005)

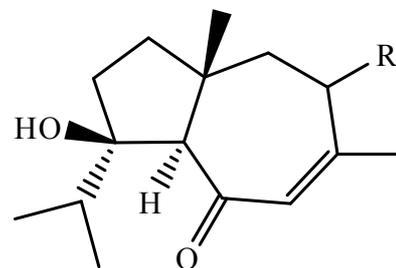
36	4 β -hydroxy-5 α H-dauca-7-ène-6,9-dione	<i>F. hermonis</i>	(Lhuillier <i>et al.</i> , 2005)
37	3 α -éthoxy-8 β -angéloyloxydauca-4-ène-9-one	<i>F. hermonis</i>	(Lhuillier <i>et al.</i> , 2005)
38	Tunetanine A	<i>F. tunetana</i>	(Jabran <i>et al.</i> , 2010)
39	Jaeschkenol	<i>F. jaeschkeana</i>	(Ghisalberti, 1994)
40	13-Vanilloxydaucol	<i>F. linkii</i>	(Fraga <i>et al.</i> , 1989)
41	Elaeochytrine B	<i>F. elaeochytris</i>	(Alkhatib <i>et al.</i> , 2008)
42	6- <i>p</i> -hydroxybenzoyllancerotriol	<i>F. elaeochytris</i> <i>F. lancerottensis</i>	(Alkhatib <i>et al.</i> , 2008) (Fraga <i>et al.</i> , 1989)
43	Ferushermonin B	<i>F. hermonis</i> Boiss	(Ibraheim <i>et al.</i> , 2012)
44	4 β ,8 β -dihydroxy-6 α - <i>p</i> -hydroxybenzoyl-dauc-9-ene	<i>F. hermonis</i> Boiss	(Ibraheim <i>et al.</i> , 2012)
45	4 β ,8 β -dihydroxy-6 α -(4 hydroxy-3methoxybenzoyl)-dauc-9-ene	<i>F. hermonis</i> Boiss	(Ibraheim <i>et al.</i> , 2012)
46	Ferushermonin D	<i>F. hermonis</i> Boiss	(Ibraheim <i>et al.</i> , 2012)
47	Ferushermonin A	<i>F. hermonis</i> Boiss	(Ibraheim <i>et al.</i> , 2012)
48	Lancerdiol <i>p</i> hydroxybenzoate	<i>F. hermonis</i> Boiss	(Ibraheim <i>et al.</i> , 2012)
49	Lancerdiol vanillate	<i>F. hermonis</i> Boiss	(Ibraheim <i>et al.</i> , 2012)
50	Lancerotriol benzoate	<i>F. hermonis</i> Boiss	(Ibraheim <i>et al.</i> , 2012)
51	Lancerotriol <i>p</i> -hydroxybenzoate	<i>F. hermonis</i> Boiss	(Ibraheim <i>et al.</i> , 2012)
52	Lancerotriol vanillate	<i>F. hermonis</i> Boiss	(Ibraheim <i>et al.</i> , 2012)
53	2,3-epoxy-jaeschkeanadiol benzoate	<i>F. hermonis</i> Boiss	(Ibraheim <i>et al.</i> , 2012)
54	Jaeschkeanin	<i>F. hermonis</i> Boiss	(Ibraheim <i>et al.</i> , 2012)
55	2,3-epoxy-jaeschkeanadiol vanillate	<i>F. hermonis</i> Boiss	(Ibraheim <i>et al.</i> , 2012)

56	Vaginatine	<i>F. hermonis</i> Boiss	(Ibraheim et al., 2012)
57	Feruhhermonin C	<i>F. hermonis</i> Boiss	(Auzi et al., 2008)

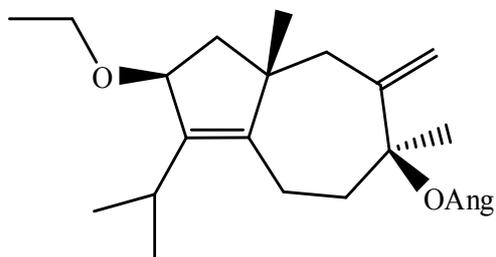




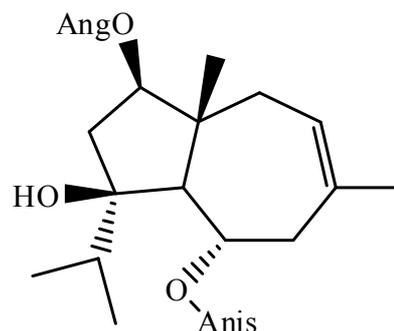
	R₁	R₂
25	H	H
26	H	<i>p</i> -OH-Bnz
27	H	Anis = anisoyl (4 méthoxybenzoyl)
28	OH	Anis
29	H	Van
30	H	Anthra
31	H	Bnz = benzoyl
32	H	Ang = angéloyl



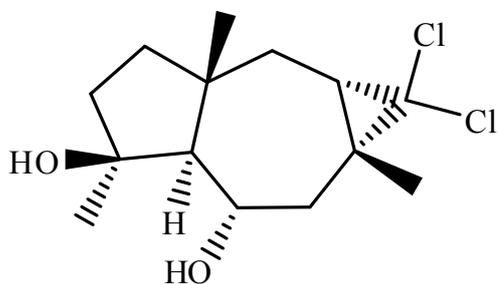
	R
35	H
36	O



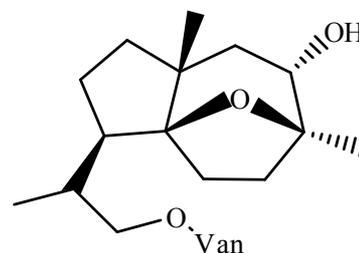
37



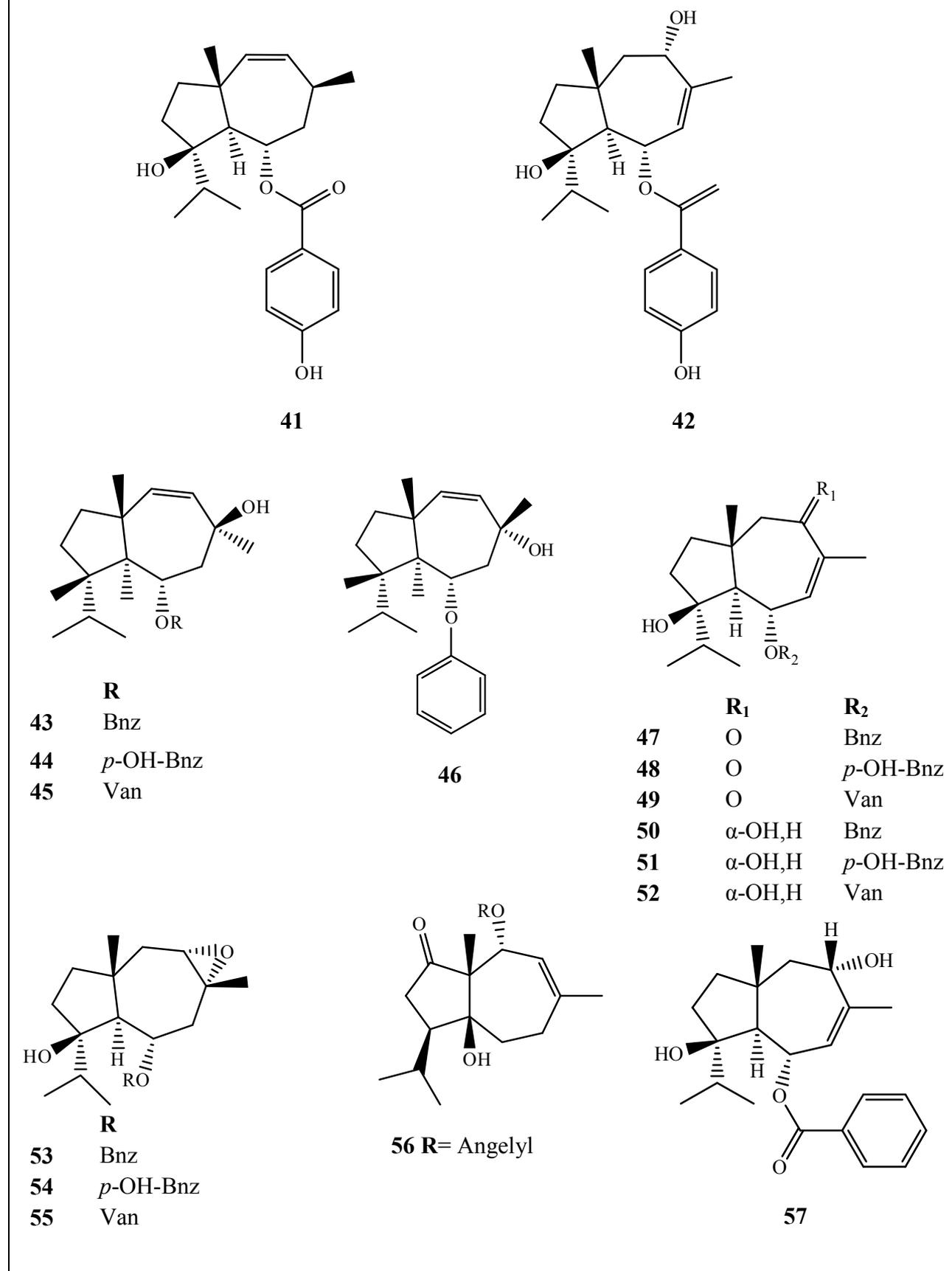
38



39



40

Figure 15. Les dérivés de daucane isolés du genre *Ferula*

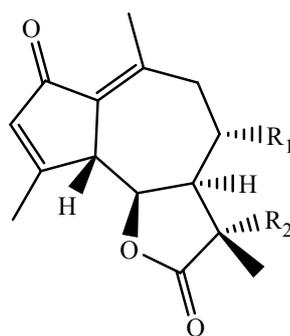
4. Les lactones sesquiterpéniques

On peut distinguer deux types de lactones sesquiterpéniques : les dérivés de guaiane et ceux d'eudesmane. La recherche bibliographique a permis de trouver 18 guaianolides et 6 eudesmanolides isolés du genre *Ferula* (tableau 11).

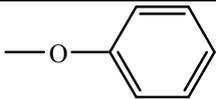
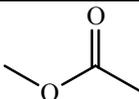
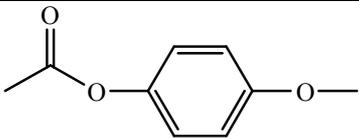
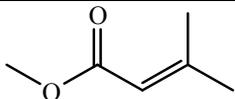
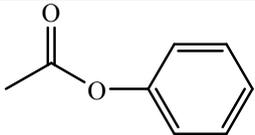
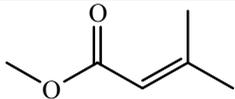
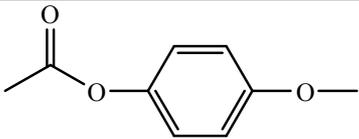
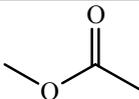
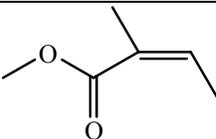
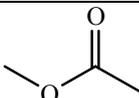
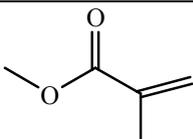
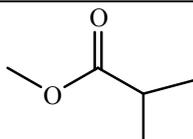
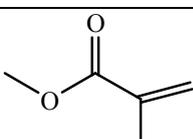
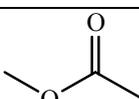
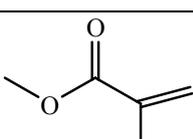
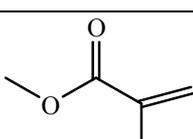
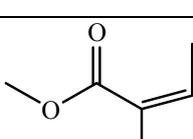
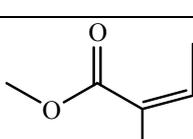
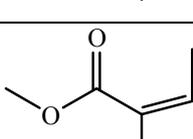
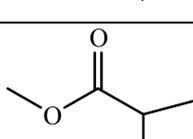
Tableau 11. Les lactones sesquiterpéniques isolés du genre *Ferula*

N°	Nom	Source	Réf
58	Diversolide A	<i>F. diversittata</i>	(Iranshahi <i>et al.</i> , 2008c)
59	Diversolide B	<i>F. diversittata</i>	(Iranshahi <i>et al.</i> , 2008c)
60	Diversolide C	<i>F. diversittata</i>	(Iranshahi <i>et al.</i> , 2008c)
61	Diversolide D	<i>F. diversittata</i>	(Iranshahi <i>et al.</i> , 2008c)
62	Diversolide E	<i>F. diversittata</i>	(Iranshahi <i>et al.</i> , 2008c)
63	Diversolide F	<i>F. diversittata</i>	(Iranshahi <i>et al.</i> , 2008c)
64	Diversolide G	<i>F. diversittata</i>	(Iranshahi <i>et al.</i> , 2008c)
65	Ferugolide	<i>F. gigantea</i>	(Holub <i>et al.</i> , 1986; Rychlewska <i>et al.</i> , 1985)
66	Giferolide	<i>F. gigantea</i> <i>F. clematidifolia</i> <i>F. diversittata</i>	(Holub <i>et al.</i> , 1986; Rychlewska <i>et al.</i> , 1985; Sagitdinova <i>et al.</i> , 1990; Iranshahi <i>et al.</i> , 2008c)
67	Gigantolide	<i>F. gigantea</i>	(Holub <i>et al.</i> , 1986; Rychlewska <i>et al.</i> , 1985)
68	Laferin	<i>F. olgae</i> , <i>F. varia</i>	(Holub <i>et al.</i> , 1986; Rychlewska <i>et al.</i> , 1985)
69	Oferin	<i>Ferula olgae</i>	(Holub <i>et al.</i> , 1986)
70	Olgin	<i>F. olgae</i>	(Holub <i>et al.</i> , 1986)
71	Olgoferin	<i>F. olgae</i>	(Holub <i>et al.</i> , 1986; Rychlewska <i>et al.</i> , 1985)
72	Talasin A	<i>F. gigantea</i> , <i>F. litwinoviana</i> , <i>F. malacophylla</i> , <i>F. olgae</i>	(Holub <i>et al.</i> , 1986; Rychlewska <i>et al.</i> , 1985)

73	Talasin B	<i>F. olgae</i>	(Holub et al., 1986; Rychlewska et al., 1985)
74	Grilactone	<i>F. oopoda</i> <i>F. grigoriewii</i> <i>F. penninervis</i> <i>F. kosopoljanskyi</i> <i>F. arrigonii</i>	(Holub et al., 1986; Muckensturm et al., 1995; Nurmukhamedova et al., 1982; Kabilov et al., 1994)
75	Ferupennin L	<i>F. varia</i>	(Suzuki et al., 2007)
76	8 α -angéloyloxy-10 β - hydroxyguai-3-ène-6,12- olide	<i>F. varia</i>	(Suzuki et al., 2007)
77	Feruhodin A	<i>F. oopoda</i>	(Kasaian et al., 2014)
78	Feruhodin B	<i>F. oopoda</i>	(Kasaian et al., 2014)
79	Dehydrooopodin	<i>F. oopoda</i> <i>F. varia</i>	(Kasaian et al., 2014 ; Serkerov, 1969) (Suzuki et al., 2007)
80	Oopodin	<i>F. oopoda</i> <i>F. varia</i>	(Serkerov, 1971 ; Kasaian et al., 2014) (Suzuki et al., 2007)
81	Féropodine	<i>F. oopoda</i>	(Serkerov, 1971)
82	Sémopodine	<i>F. oopoda</i>	(Serkerov, 1976)



	R_1	R_2
58		
59		
60		
61		
62		
63		

64			
65			
66			
67			
68			
69			
70			
71			
72			
73			

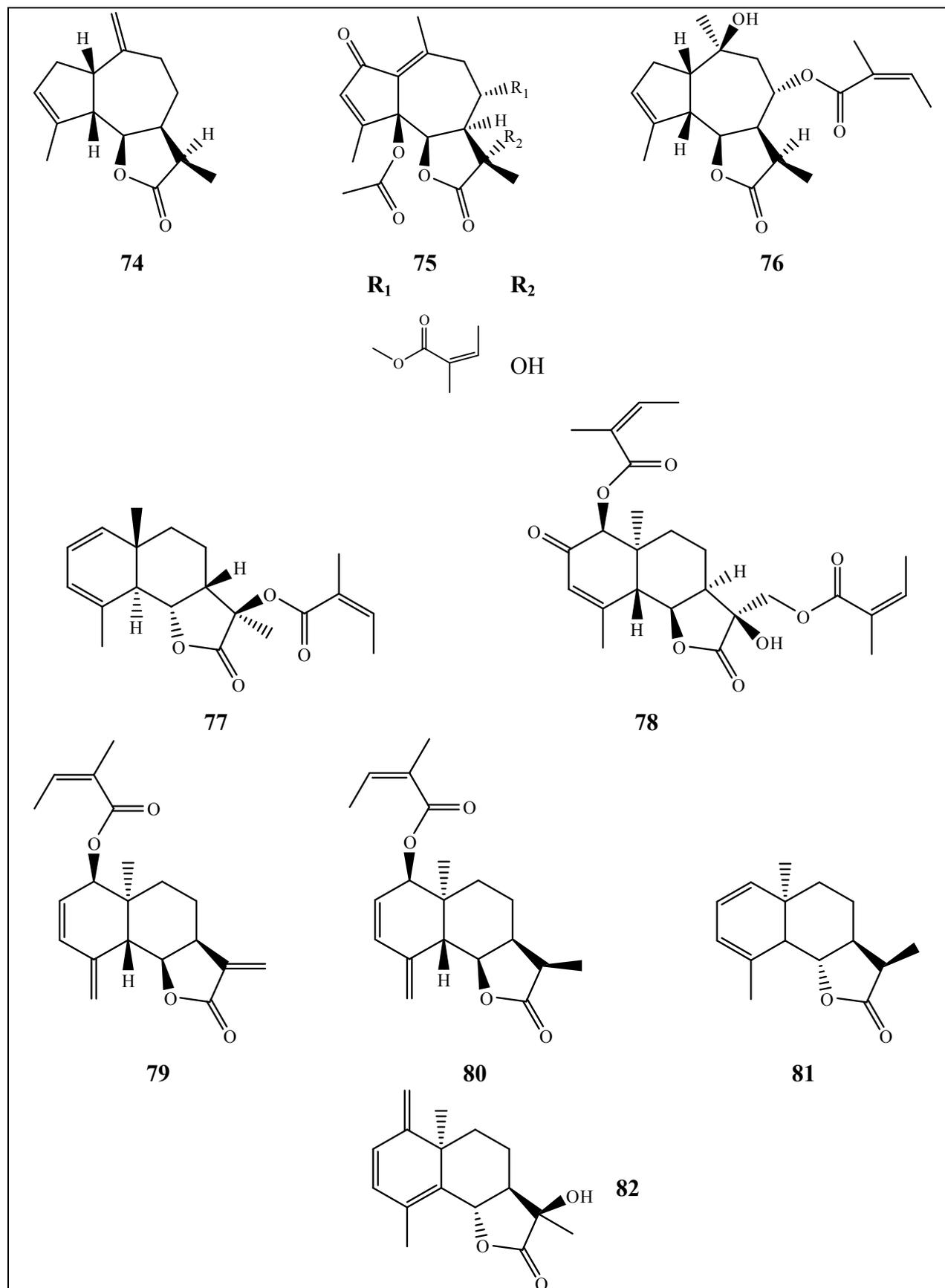


Figure 16. Les lactones sesquiterpéniques isolés du genre *Ferula*

5. Autres dérivés sesquitérpeniques

Quelques dérivés sesquitérpeniques moins communs ont aussi été isolés du genre *Ferula*, le 8,9-dihydroxydshamirone, 8,9-oxoisopropanyldshamirone, Ferulaeolactone A et Ferulaeolactone B ont été isolés de *F. ferulaeoides* (tableau 12).

Tableau 12. Autres dérivés sesquitérpeniques isolés du genre *Ferula*

N°	Nom	Source	Réf
83	8,9-dihydroxydshamirone	<i>F. ferulaeoides</i>	(Liu et al., 2013)
84	8,9-oxoisopropanyldshamirone	<i>F. ferulaeoides</i>	(Liu et al., 2013)
85	Ferulaeolactone A	<i>F. ferulaeoides</i>	(Liu et al., 2013)
86	Ferulaeolactone B	<i>F. ferulaeoides</i>	(Liu et al., 2013)

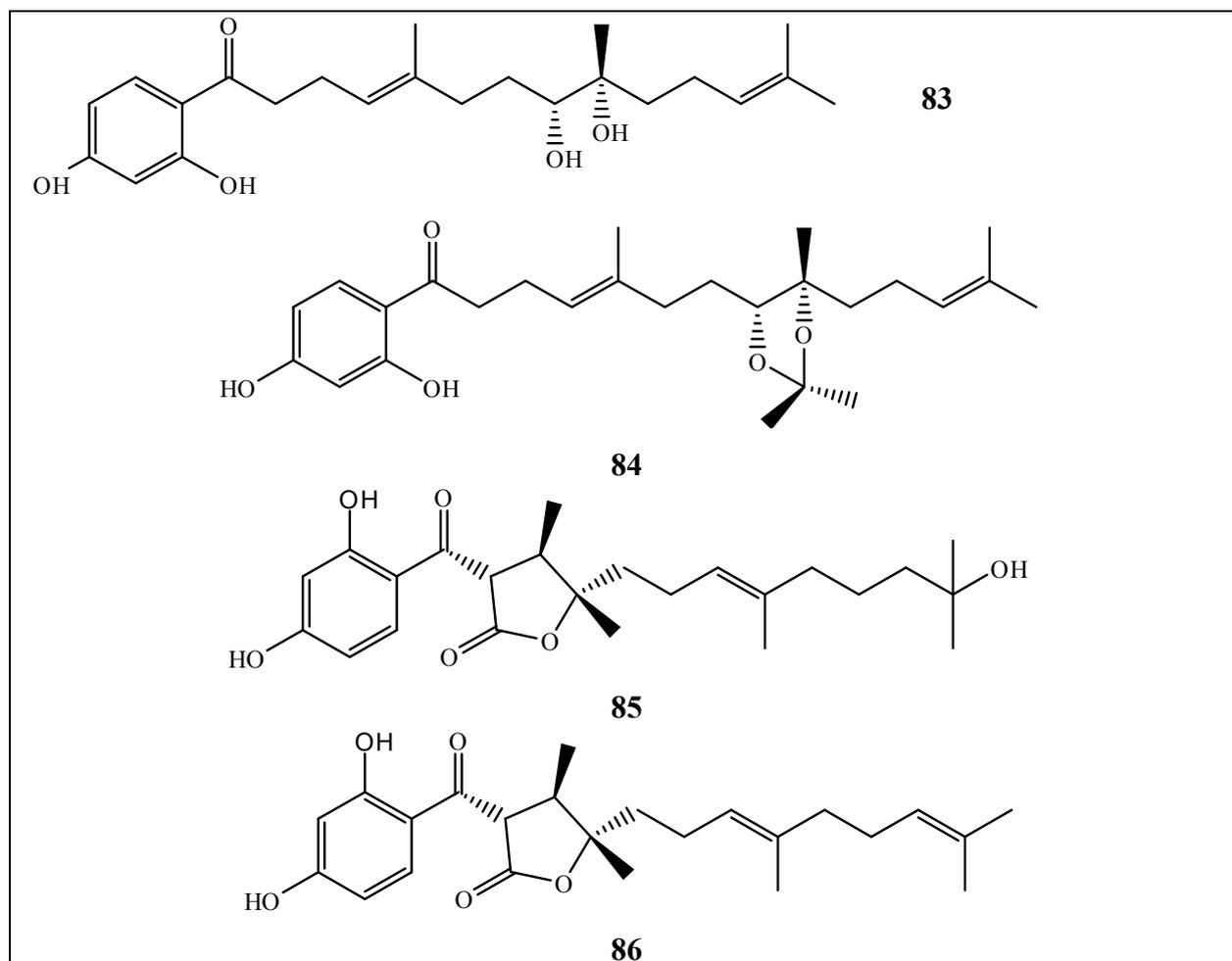


Figure 17. Autres dérivés sesquitérpeniques isolés du genre *Ferula*

III.4.1.2. Les polyphenols

III.4.1.2.1. Les dérivés coumariniques

Les dérivés coumariniques sont très répandus dans le genre *Ferula*, surtout les éthers de coumarine-sesquiterpènes. Des farnésyle coumarines cycliques et des coumarines simples sont aussi isolées des différentes espèces de *Ferula*.

1. Les éthers de coumarine-sesquiterpènes

Il s'agit souvent de coumarines substituées par des sesquiterpènes linéaires, monocycliques ou bicycliques.

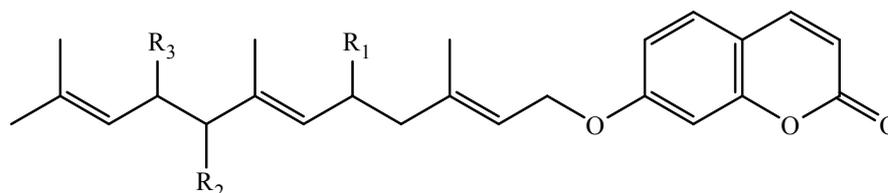
- **Les coumarines substituées par des sesquiterpènes linéaires**

L'umbelliprénine et ses dérivés sont très courants dans ce genre. Elle a été isolée de 12 espèces. Asacoumarine A a été isolé de deux espèces du genre *Ferula*. Deux dérivés glucosidiques ont été isolés de l'extrait méthanolique des racines de *F. persica*, les persicaoside C et D. Le karatavicinol et ses dérivés ont aussi été isolés du genre *Ferula* (tableau 13).

Tableau 13. Les coumarines substituées par des sesquiterpènes linéaires isolés du genre *Ferula*

N°	Nom	Source	Réf
87	Umbelliprénine	<i>F. aitchisonii</i> , <i>F. arrigonii</i> , <i>F. assa-foetida</i> , <i>F.</i> <i>conocaula</i> , <i>F. eugenii</i> , <i>F. iliensis</i> , <i>F. linkii-TF</i> , <i>F. violaceae</i> <i>F. flabelliloba</i> <i>F. sinkiangensis</i> <i>F. szowitsiana</i> <i>F. sinkiangensis</i>	(Abd El-Razek <i>et al.</i> , 2003) (Iranshahi <i>et al.</i> , 2010a) (Teng <i>et al.</i> , 2013) (Gholami <i>et al.</i> , 2013) (Xing <i>et al.</i> , 2017)
88	5'-hydroxyumbelliprénine	<i>F. assa-foetida</i>	(Lee <i>et al.</i> , 2009)
89	8'-hydroxyumbelliprénine	<i>F. assa-foetida</i>	(Lee <i>et al.</i> , 2009)
90	9'-hydroxyumbelliprénine	<i>F. assa-foetida</i>	(Lee <i>et al.</i> , 2009)
91	Asacoumarine A	<i>F. assa-foetida</i> <i>F. foetida</i>	(Kajimoto <i>et al.</i> , 1989) (Abd El-Razek <i>et al.</i> , 2007)

92	5'-acetoxy-8'-hydroxyumbelliprénine	<i>F. assa-foetida</i>	(Lee et al., 2009)
93	8'-acetoxy-5'-hydroxyumbelliprénine	<i>F. assa-foetida</i>	(Lee et al., 2009)
94	10' R-karatavicinol	<i>F. foetida</i> <i>F. arrigonii</i> <i>F. assa-foetida</i> <i>F. sinaica</i> <i>F. aitchinsonii</i>	(Abd El-Razek et al., 2007) (Appendino et al., 1997) (Lee et al., 2009) (Ahmed, 1999) (Veselovskaya et al., 1982)
95	10'-acetoxy-11'-hydroxyumbelliprénine	<i>F. assa-foetida</i>	(Lee et al., 2009)
96	6',7'-dihydroxykaratavicinol	<i>F. sinaica</i>	(Ahmed, 1999)
97	Karatavicinol A	<i>F. sinkiangensis</i>	(Teng et al., 2013)
98	Persicaoside C	<i>F. persica</i> <i>F. gummosa</i>	(Iranshahi et al., 2008a) (Iranshahi et al., 2010b)
99	Persicaoside D	<i>F. persica</i> <i>F. gummosa</i>	(Iranshahi et al., 2008a) (Iranshahi et al., 2010b)



	R₁	R₂	R₃
87	H	H	H
88	OH	H	H
89	H	OH	H
90	H	H	OH
91	OH	OH	H
92	OAc	OH	H
93	OH	OAc	H

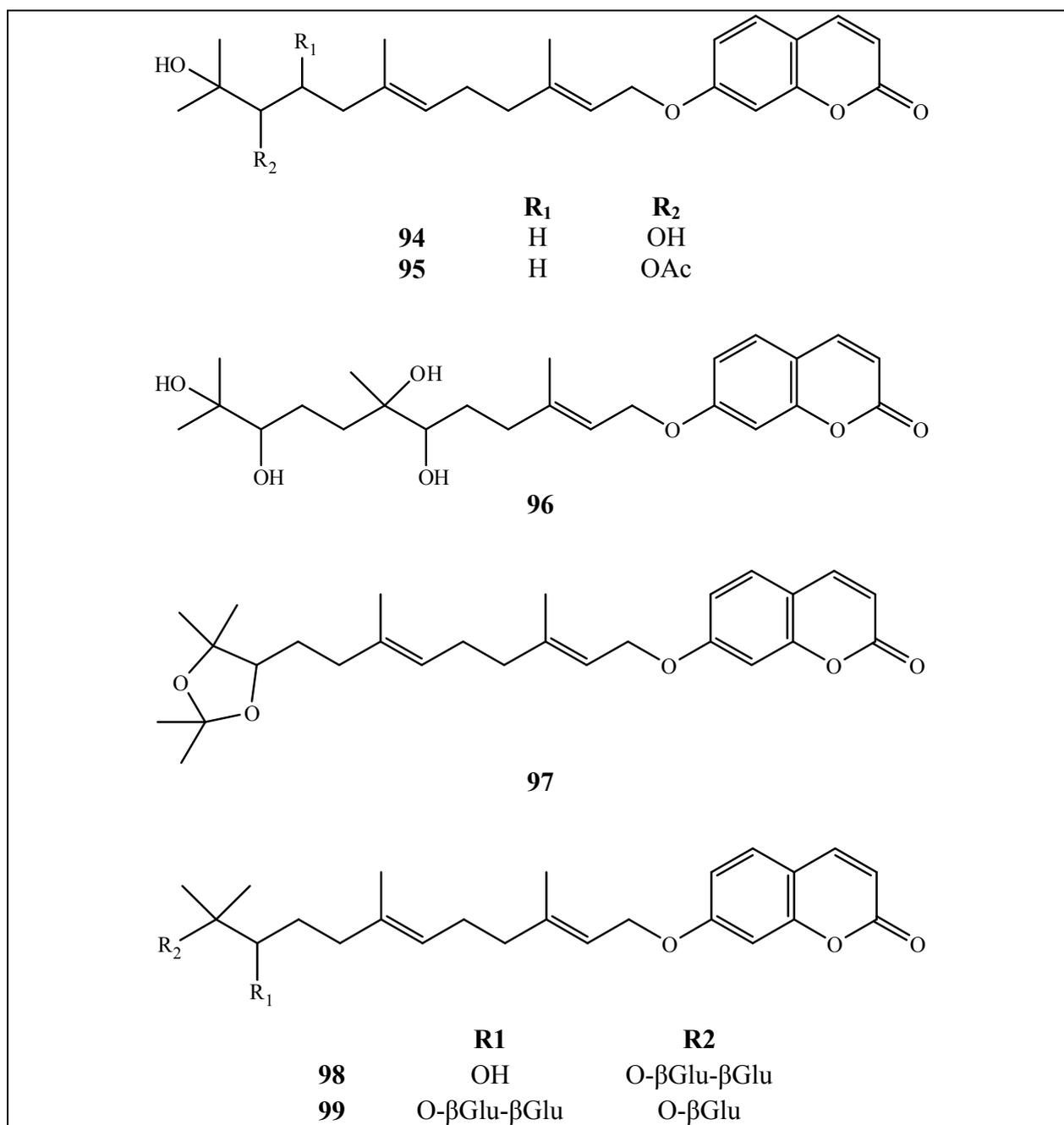


Figure 18. Les coumarines substituées par des sesquiterpènes linéaires isolés du genre *Ferula*

- **Les coumarines substituées par des sesquiterpènes monocycliques**

L'acide galbanique est le constituant majeur de la résine de l'ase fétide et du galbanum. Le Farnésiferol B et C sont très réponsus dans le genre *Ferula*, le Farnésiferol D a été isolé des deux espèces *F. kopetdaghensis* et *F. gummosa*, Lehmferin a été isolé des plantes *F. flabelliloba* et *F. assa-foetida*, Sinkianone et Sinkianol B ont été isolés de l'espèce *F. sinkiangensis* (tableau 14).

Tableau 14. Les coumarines substituées par des sesquiterpènes monocycliques isolés du genre *Ferula*

N°	Nom	Source	Réf
100	Farnésiferol B	<i>F. assa-foetida</i> , <i>F. kopetdagensis</i> , <i>F. szowitsiana</i> <i>F. persica</i> <i>F. flabelliloba</i> <i>F. pseudalliacea</i> <i>F. sinkiangensis</i> <i>F. sinkiangensis</i>	(Abd El-Razek <i>et al.</i> , 2003) (Iranshahi <i>et al.</i> , 2004) (Iranshahi <i>et al.</i> , 2010a) (Dastan <i>et al.</i> , 2012) (Teng <i>et al.</i> , 2013) (Xing <i>et al.</i> , 2017)
101	Farnésiferol C	<i>F. assa-foetida</i> , <i>F. kopetdagensis</i> , <i>F. szowitsiana</i> <i>F. persica</i> <i>F. sinkiangensis</i> <i>F. pseudalliacea</i> <i>F. asafoetida</i> <i>F. sinkiangensis</i>	(Abd El-Razek <i>et al.</i> , 2003) (Hanafi-Bojd <i>et al.</i> , 2011) (Teng <i>et al.</i> , 2013) (Dastan <i>et al.</i> 2014) (Davoud <i>et al.</i> , 2017) (Xing <i>et al.</i> , 2017)
102	Farnésiferol D	<i>F. kopetdagensis</i> <i>F. gummosa</i>	(Nabiev <i>et al.</i> , 1982a) (Saidkhozhaev <i>et al.</i> , 1991)
103	Lehmferin	<i>F. flabelliloba</i> <i>F. assa-foetida</i>	(Iranshahi <i>et al.</i> , 2010a) (Iranshahi <i>et al.</i> , 2011)
104	Acide galbanique	<i>F. assa-foetida</i> , <i>F. kokanica</i> , <i>F. kopetdagensis</i> , <i>F. szowitsiana</i> , <i>F. violaceae</i> <i>F. szowitsiana</i> <i>F. assafoetida</i> <i>F. assa-foetida</i> <i>F. sinkiangensis</i>	(Abd El-Razek <i>et al.</i> , 2003) (Hanafi-Bojd <i>et al.</i> , 2011) (Kim <i>et al.</i> , 2011) (Zhang <i>et al.</i> , 2012) (Xing <i>et al.</i> , 2017)
105	méthyl galbanate	<i>F. assa-foetida</i> <i>F. pseudalliacea</i> <i>F. sinkiangensis</i>	(Lee <i>et al.</i> , 2009) (Dastan <i>et al.</i> , 2012) (Xing <i>et al.</i> , 2017)
106	Ethyl galbanate	<i>F. pseudalliacea</i>	(Dastan <i>et al.</i> , 2012)
107	Sinkianone	<i>F. sinkiangensis</i> <i>F. lehmanii</i>	(Yang <i>et al.</i> , 2006b) (Li <i>et al.</i> , 2010)
108	Sinkianol B	<i>F. sinkiangensis</i>	(Xing <i>et al.</i> , 2017)

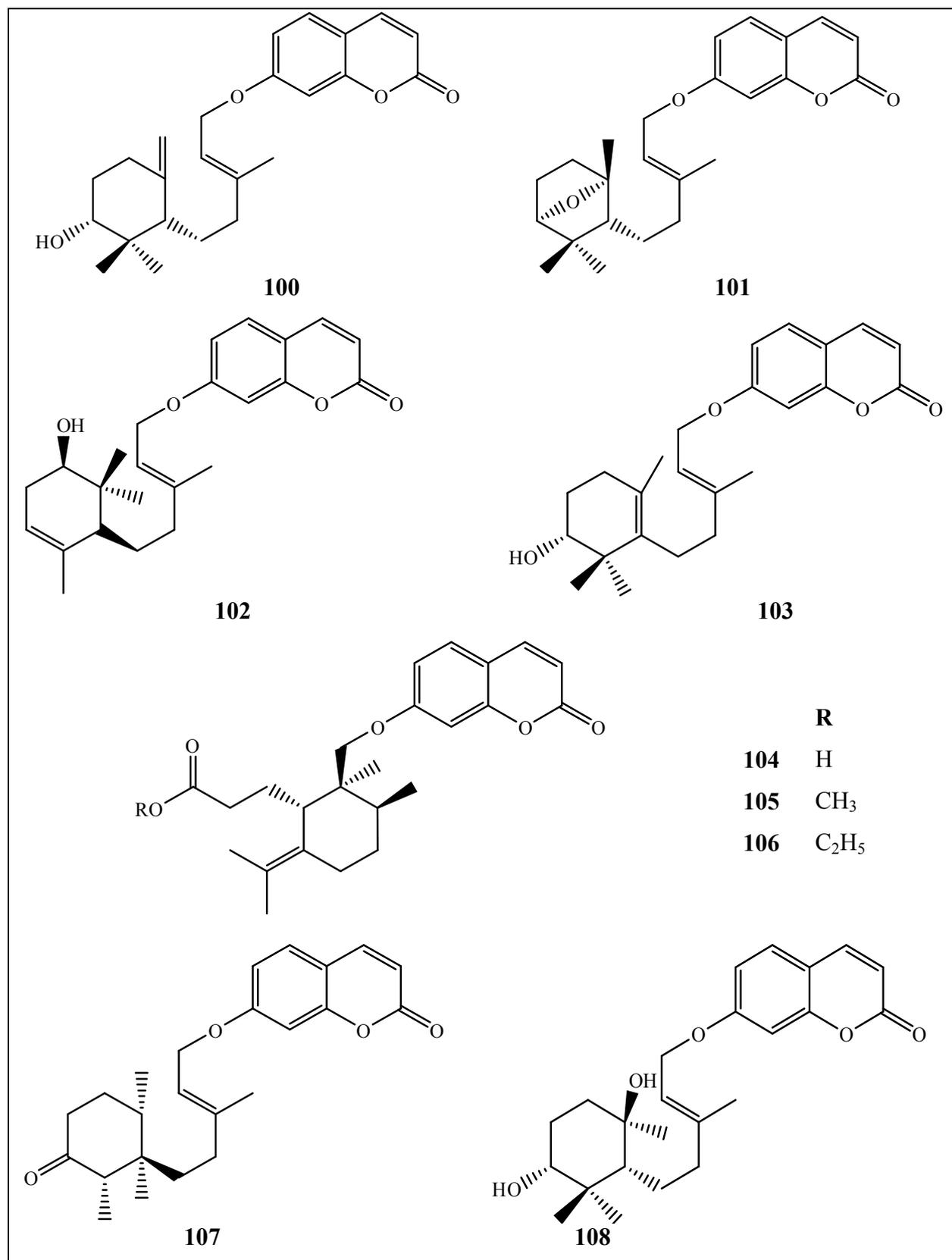


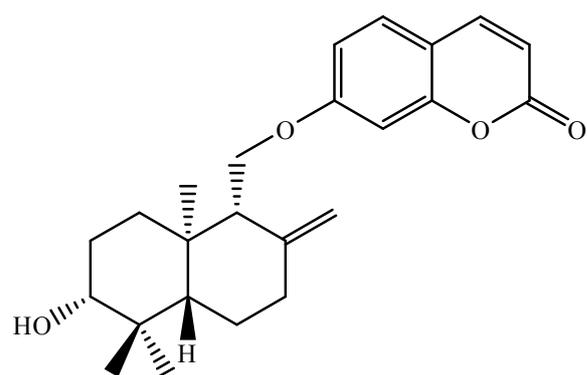
Figure 19. Les coumarines substituées par des sesquiterpènes monocycliques isolés du genre

Ferula

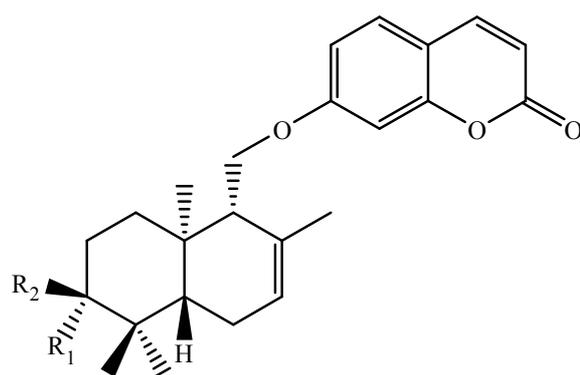
111	Mogotlachine	<i>F. mogoltavica</i>	(Abd El-Razek <i>et al.</i> , 2003)
112	13-hydroxyféséolol	<i>F. tunetana</i>	(Jabran <i>et al.</i> , 2010)
113	Microlobidene	<i>F. microloba</i> Boiss. <i>F. assa-foetida</i>	(Nabiev et Malikov, 1983a) (Rollinger <i>et al.</i> , 2008)
114	Microlobin	<i>F. microloba</i> Boiss. <i>F. assa-foetida</i>	(Nabiev et Malikov, 1983b) (Iranshahy et Iranshahi, 2011)
115	kellerine	<i>F. kelleri</i> Koso-Pol. <i>F. assa-foetida</i> <i>F. sinkiangensis</i>	(Andrianova <i>et al.</i> , 1973) (Rollinger <i>et al.</i> , 2008) (Xing <i>et al.</i> , 2017)
116	Deacetylkellerine	<i>F. kelleri</i> Koso-Pol. <i>F. kokanica</i> <i>F. sinkiangensis</i>	(Andrianova 1973) (Nabiev <i>et al.</i> , 1982b) (Xing <i>et al.</i> , 2017)
117	Szowistsiacoumarine A	<i>F. szowitsiana</i> <i>F. pseudalliacea</i>	(Iranshahi <i>et al.</i> , 2007) (Dastan <i>et al.</i> 2014)
118	Szowistsiacoumarine B	<i>F. szowitsiana</i>	(Iranshahi <i>et al.</i> , 2007)
119	Gummosin	<i>F. gummosa</i> <i>F. sinkiangensis</i>	(Iranshahi <i>et al.</i> , 2010b) (Xing <i>et al.</i> , 2017)
120	Polyanthinin	<i>F. sinkiangensis</i>	(Xing <i>et al.</i> , 2017)
121	Gummoside A	<i>F. gummosa</i>	(Iranshahi <i>et al.</i> , 2010b)
122	Cauféroside	<i>F. conocaula</i> <i>F. gummosa</i>	(Kuliev <i>et al.</i> , 1979) (Iranshahi <i>et al.</i> , 2010b)
123	Gummoside B	<i>F. gummosa</i>	(Iranshahi <i>et al.</i> , 2010b)
124	Persicaoside A	<i>F. persica</i>	(Iranshahi <i>et al.</i> , 2008a)
125	Persicaoside B	<i>F. persica</i>	(Iranshahi <i>et al.</i> , 2008a)
126	Tunétacoumarine A	<i>F. persica</i> <i>F. tunetana</i>	(Iranshahi <i>et al.</i> , 2008a) (Jabrane <i>et al.</i> , 2010)
127	Coladonine	<i>F. linczevskii</i> , <i>F. communis</i> , <i>F. tingitana</i> <i>F. sinaica</i> <i>F. tunetana</i> <i>F. sinkiangensis</i>	(Abd El-Razek <i>et al.</i> , 2003) (Ahmed <i>et al.</i> , 2007) (Jabrane <i>et al.</i> , 2010) (Wang <i>et al.</i> , 2011)

128	Coladine	<i>F. loscosii</i> <i>F. arrigonii</i> <i>F. communis</i> , <i>F. linczevskii</i> , <i>F. linkii</i> , <i>F. sinica</i> <i>F. sinaica</i> <i>F. tunetana</i>	(Pinar et al., 1977) (Appendino et al., 1997) (Abd El-Razek et al., 2003) (Ahmed et al., 2007) (Jabrane et al., 2010)
129	Conférol	<i>F. assa-foetida</i> , <i>F. conocaula</i> , <i>F. foetidissima</i> , <i>F. inciso-serrata</i> , <i>F. iliensis</i> , <i>F. korshinskyi</i> , <i>F. lipskyi</i> , <i>F. moschata</i> , <i>F. pallida</i> , <i>F. persica</i> , <i>F. sumbul</i> , <i>F. tuberifera</i> <i>F. assa-foetida</i> <i>F. gummosa</i> <i>F. narthex</i> Bioss	(Abd El-Razek et al., 2003) (Lee et al., 2009) (Iranshahi et al., 2010b) (Bashir et al., 2014)
130	Conférone	<i>F. conocaula</i> , <i>F. foetidissima</i> , <i>F. inciso-serrata</i> , <i>F. iliensis</i> , <i>F. persica</i> , <i>F. sumbul</i> , <i>F. teterrima</i> <i>F. badrakema</i> <i>F. flabelliloba</i> <i>F. narthex</i> Bioss	(Abd El-Razek et al., 2003) (Iranshahi et al., 2009a) (Iranshahi et al., 2010a) (Bashir et al., 2014)
131	Isoféterine	<i>F. teterrima</i>	(Yang et al., 2006a)
132	Lehmanolol	<i>F. sinkiangensis</i>	(Yang et al., 2006a)
133	Lehmanolone	<i>F. sinkiangensis</i> <i>F. lehmannii</i>	(Yang et al., 2006a) (Li et al., 2010)
134	Férusinol	<i>F. sinaica</i>	(Gohar et El-Bassuony, 2007)
135	Samarcandine	<i>F. persica</i> <i>F. samarcandica</i> <i>F. sinaica</i> <i>F. assafoetida</i>	(Bagirov et al., 1977) (Nasirov et al., 1985) (Ahmed, 1999) (Salar et al., 2016)
136	Isosmarcandine	<i>F. caucasica</i> , <i>F. gummosa</i> , <i>F. sinica</i>	(Abd El-Razek et al., 2003)

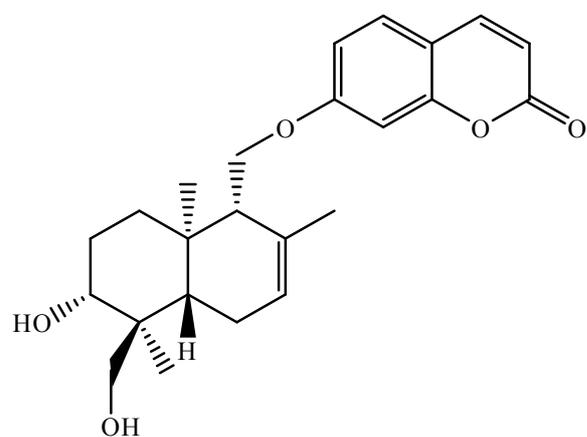
137	Badrakémine	<i>F. badrakema</i> <i>F. assa-foetida</i> <i>F. tenerina</i>	(Bukreeva et Pimenov, 1991) (Abd El-Razek <i>et al.</i> , 2001) (Yang <i>et al.</i> , 2006a)
138	Férocaulidine	<i>F. gummosa</i> <i>F. badrakema</i>	(Iranshahi <i>et al.</i> , 2010b) (Iranshahi <i>et al.</i> , 2009a)
139	Asafétidnol A	<i>F. assa-foetida</i>	(Abd El-Razek <i>et al.</i> , 2001)
140	Asafétidnol B	<i>F. assa-foetida</i>	(Abd El-Razek <i>et al.</i> , 2001)
141	Neveskone	<i>F. assa-foetida</i>	(Abd El-Razek <i>et al.</i> , 2001)
142	Fekrinol acétate	<i>F. pseudalliacea</i>	(Dastan <i>et al.</i> , 2012)
143	Sanadajine	<i>F. pseudalliacea</i>	(Dastan <i>et al.</i> , 2012)
144	Ligupersine A	<i>F. badrakema</i> <i>F. communis</i> <i>F. narthex</i> Boiss.	(Iranshahi <i>et al.</i> , 2009a) (Mamoci <i>et al.</i> , 2011) (Adnan <i>et al.</i> , 2016)
145	Kamololonol	<i>F. assafoetida</i> <i>F. pseudalliacea</i>	(Lee <i>et al.</i> , 2014) (Dastan <i>et al.</i> 2014)
146	4'-hydroxykamolonol acétate	<i>F. pseudalliacea</i>	(Dastan <i>et al.</i> 2014)
147	Sinkianol A	<i>F. sinkiangensis</i>	(Xing <i>et al.</i> , 2017)
148	Ferukrinone	<i>F. sinkiangensis</i>	(Xing <i>et al.</i> , 2017)
149	Ferukrin	<i>F. sinkiangensis</i>	(Xing <i>et al.</i> , 2017)
150	Farnesiferone A	<i>F. sinkiangensis</i>	(Xing <i>et al.</i> , 2017)



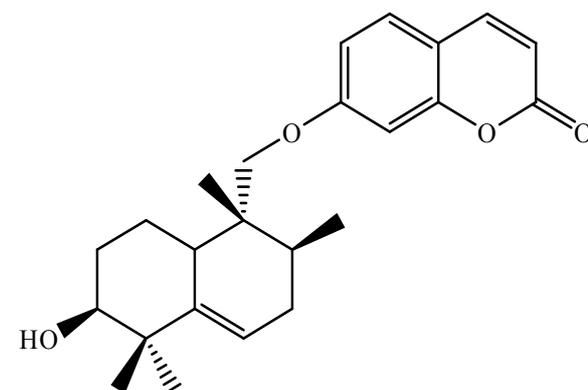
109



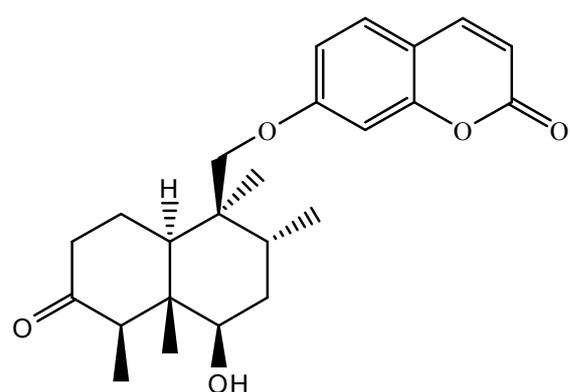
	R_1	R_2
110	OH	H
111	H	OH



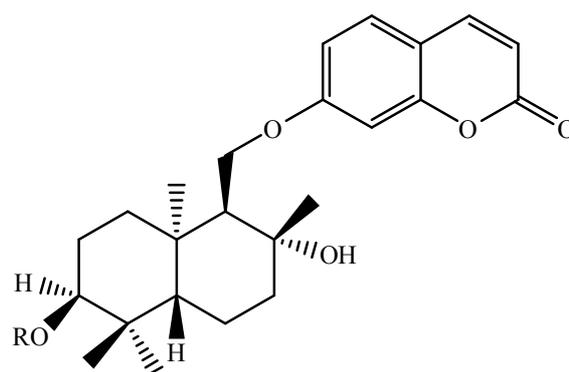
112



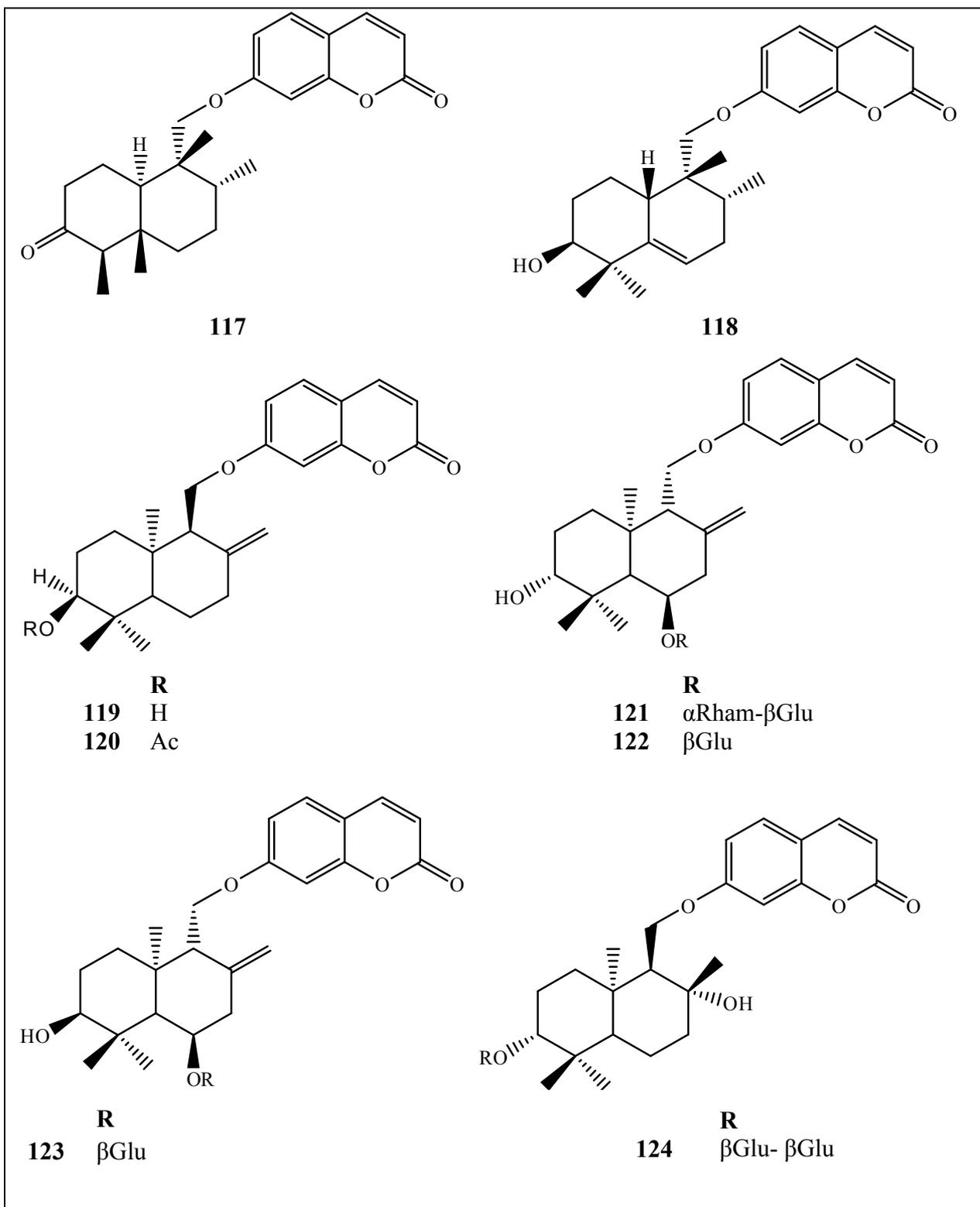
113

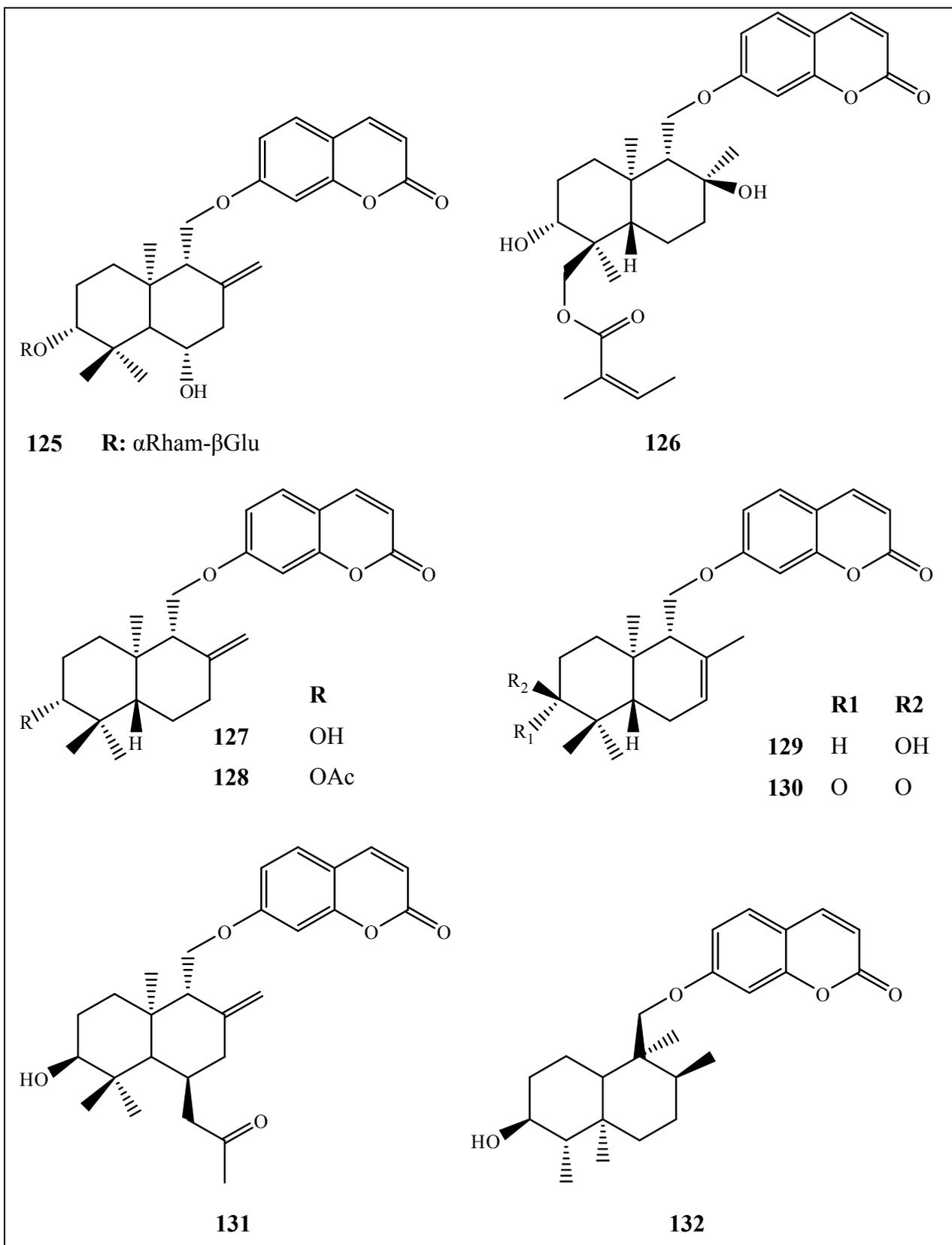


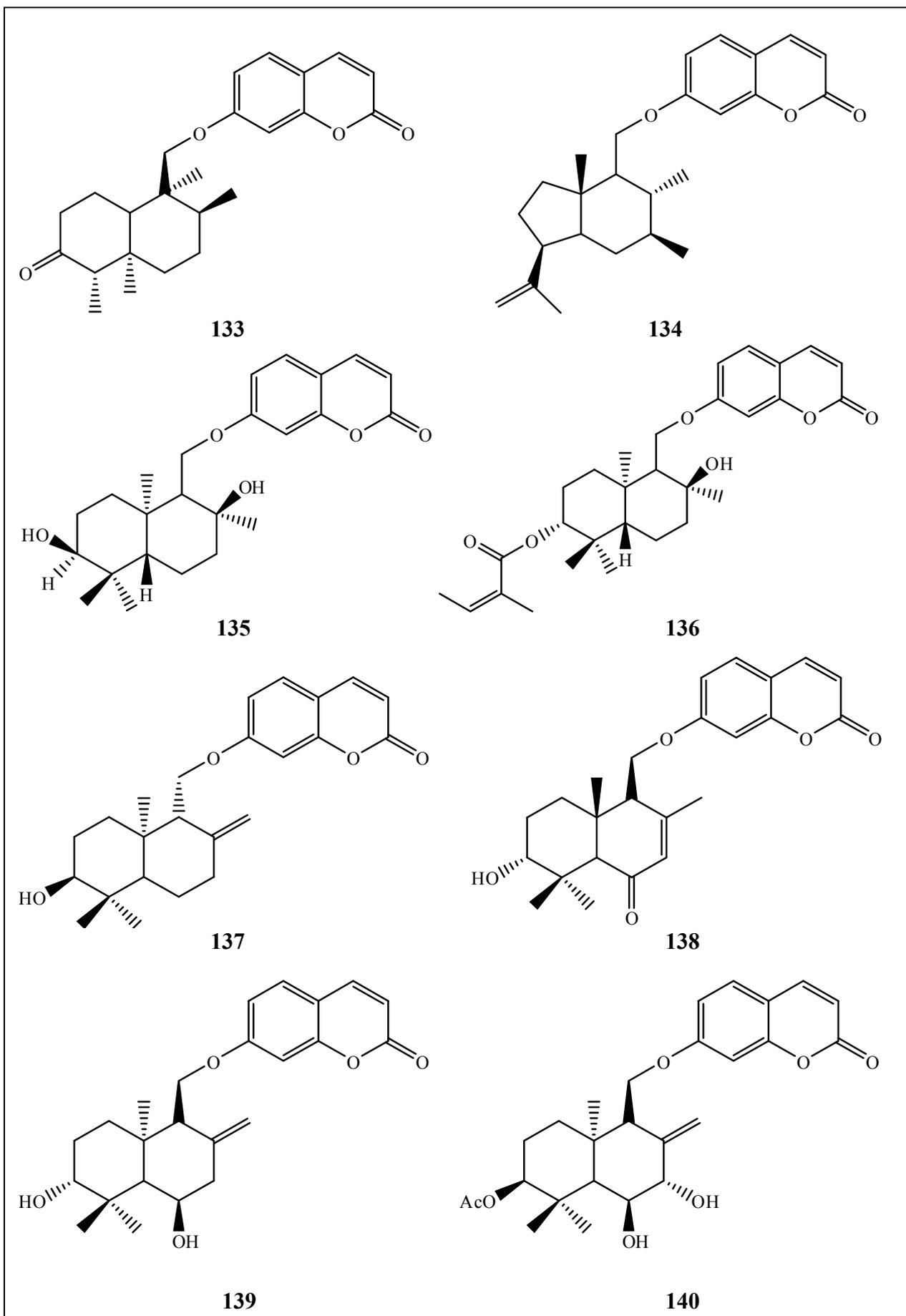
114

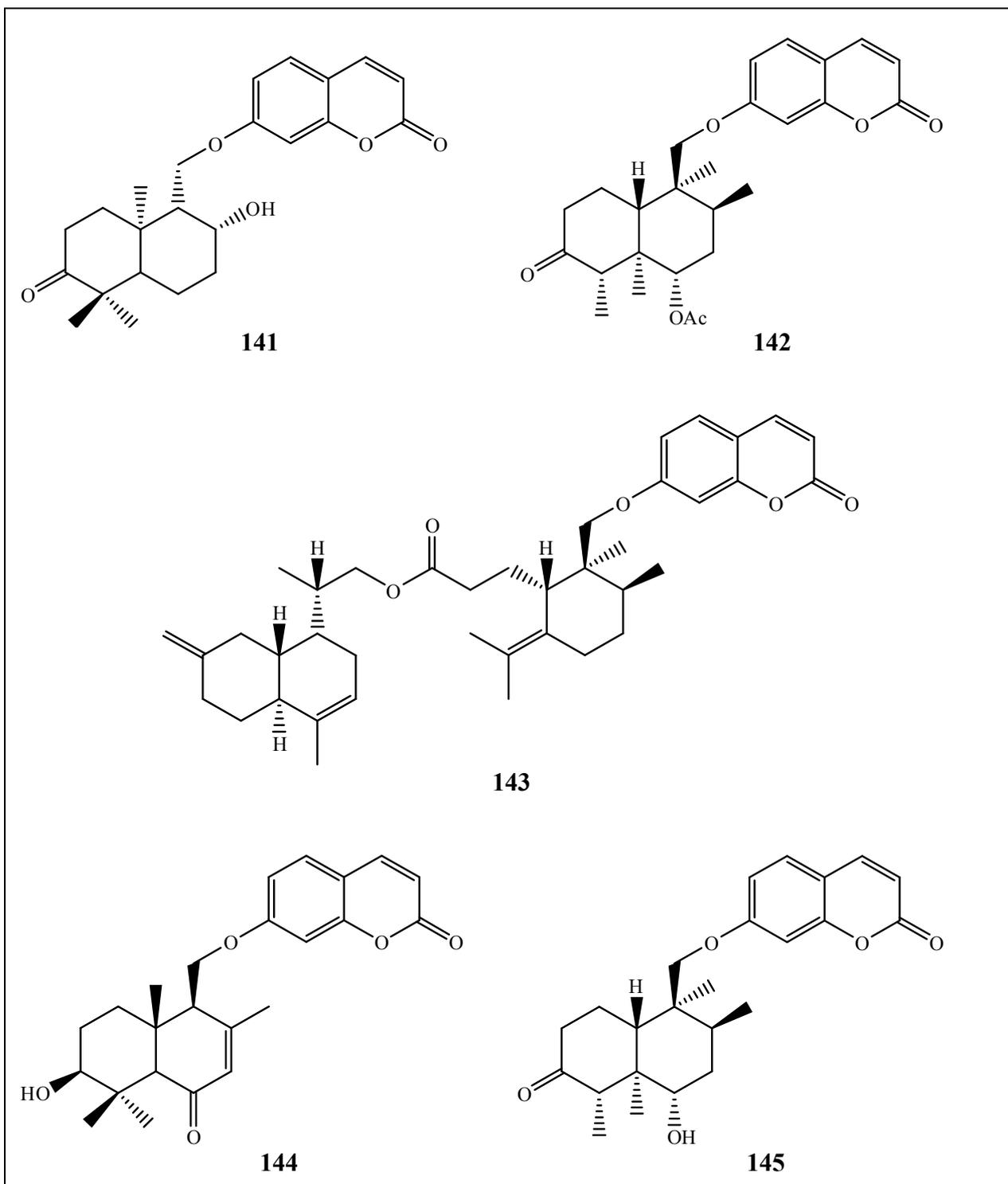


	R
115	Ac
116	H









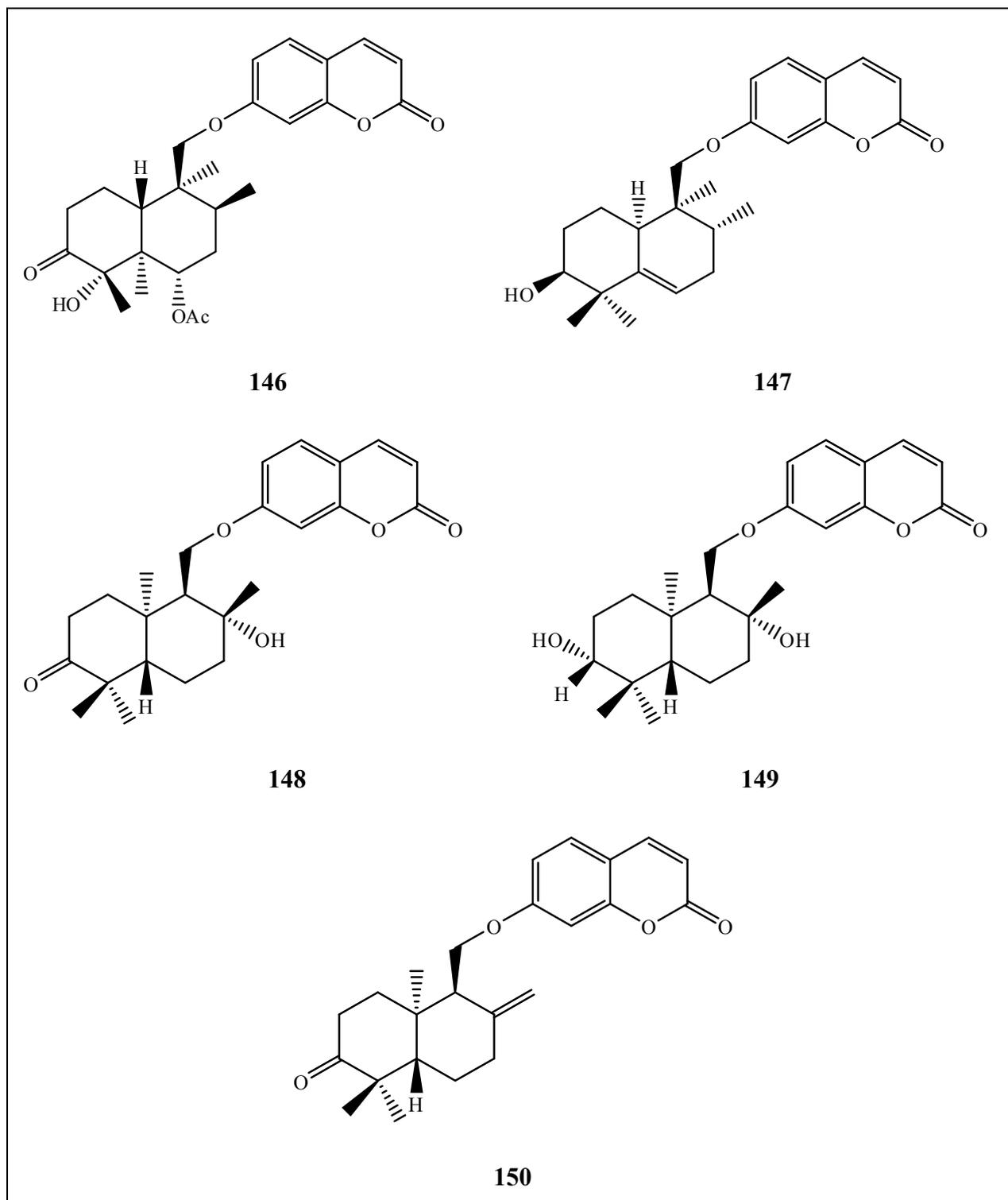


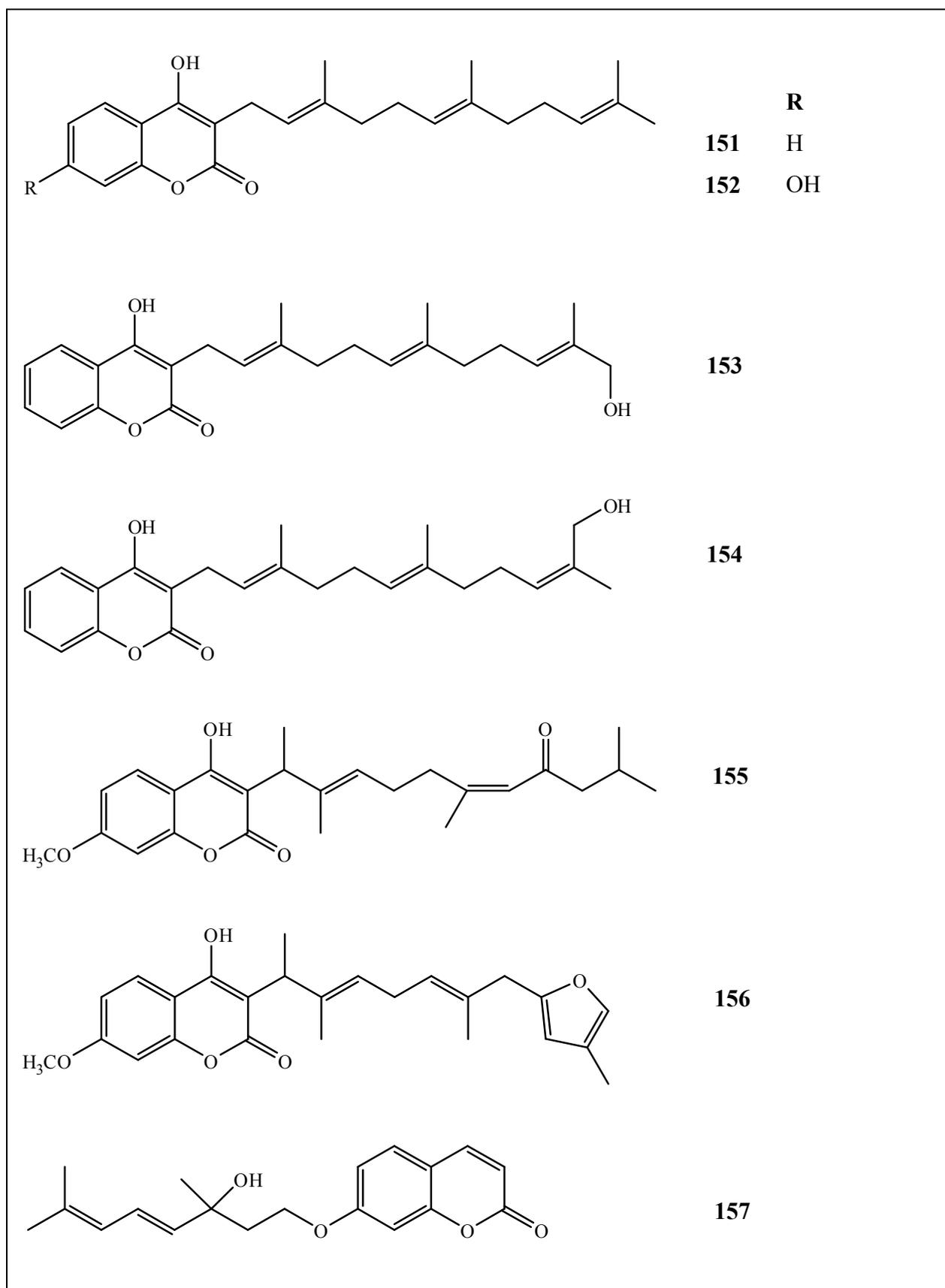
Figure 20. Les coumarines substituées par des sesquiterpènes bicycliques isolés du genre *Ferula*

2. Les coumarines prénylées

Le féruléol et ses dérivés sont responsables de la toxicité de l'espèce *F. communis* var. *breviedia* qui provoque une maladie hémorragique mortelle (ferulosis). Des exemples de coumarines prénylées sont résumés dans le tableau 16.

Tableau 16. Les coumarines prénylées isolés du genre *Ferula*

N°	Nom	Source	Réf
151	Féruléol	<i>F. communis</i> <i>F. vesceritensis</i> <i>F. communis</i>	(Lamnaouer <i>et al.</i> , 1987) (Lahouel <i>et al.</i> , 2007) (Abd El-Razek <i>et al.</i> , 2003, ;Mamoci <i>et al.</i> , 2011)
152	Amoresinol	<i>F. ferulaeoides</i>	(Meng <i>et al.</i> , 2013)
153	<i>E</i> - ω -hydroxyféruléol	<i>F. communis</i>	(Appendino <i>et al.</i> , 1988)
154	<i>Z</i> - ω -hydroxyféruléol	<i>F. communis</i>	(Appendino <i>et al.</i> , 1988)
155	Palidone A	<i>F. pallida</i>	(Su <i>et al.</i> , 2000)
156	Fukanemarine B	<i>F. fukanensis</i>	(Motai et Kitanaka., 2004)
157	Ferulagol A	<i>F. ferulago</i>	(Abd El-Razek <i>et al.</i> , 2001)
158	Ferulagol B	<i>F. ferulago</i>	(Abd El-Razek <i>et al.</i> , 2001)
159	Diversine	<i>F. ferulago</i> <i>F. diversivittata</i>	(Abd El-Razek <i>et al.</i> , 2001) (Iranshahi <i>et al.</i> , 2008c ; Zarei <i>et al.</i> , 2013)
160	Diversinine	<i>F. ferulago</i>	(Abd El-Razek <i>et al.</i> , 2001)
161	6-methoxy-7-geranyloxycoumarine	<i>F. ferulago</i>	(Abd El-Razek <i>et al.</i> , 2001)



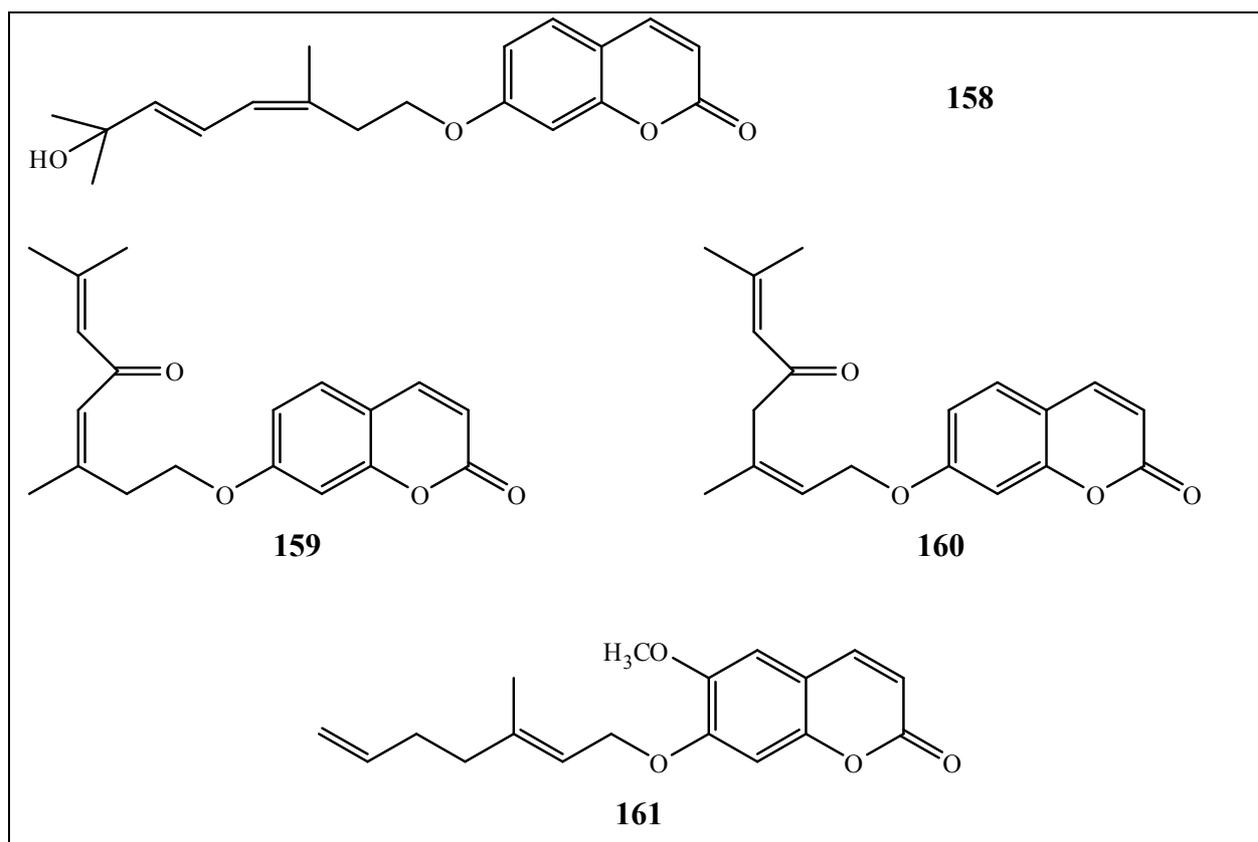


Figure 21. Les coumarines prénylées isolés du genre *Ferula*

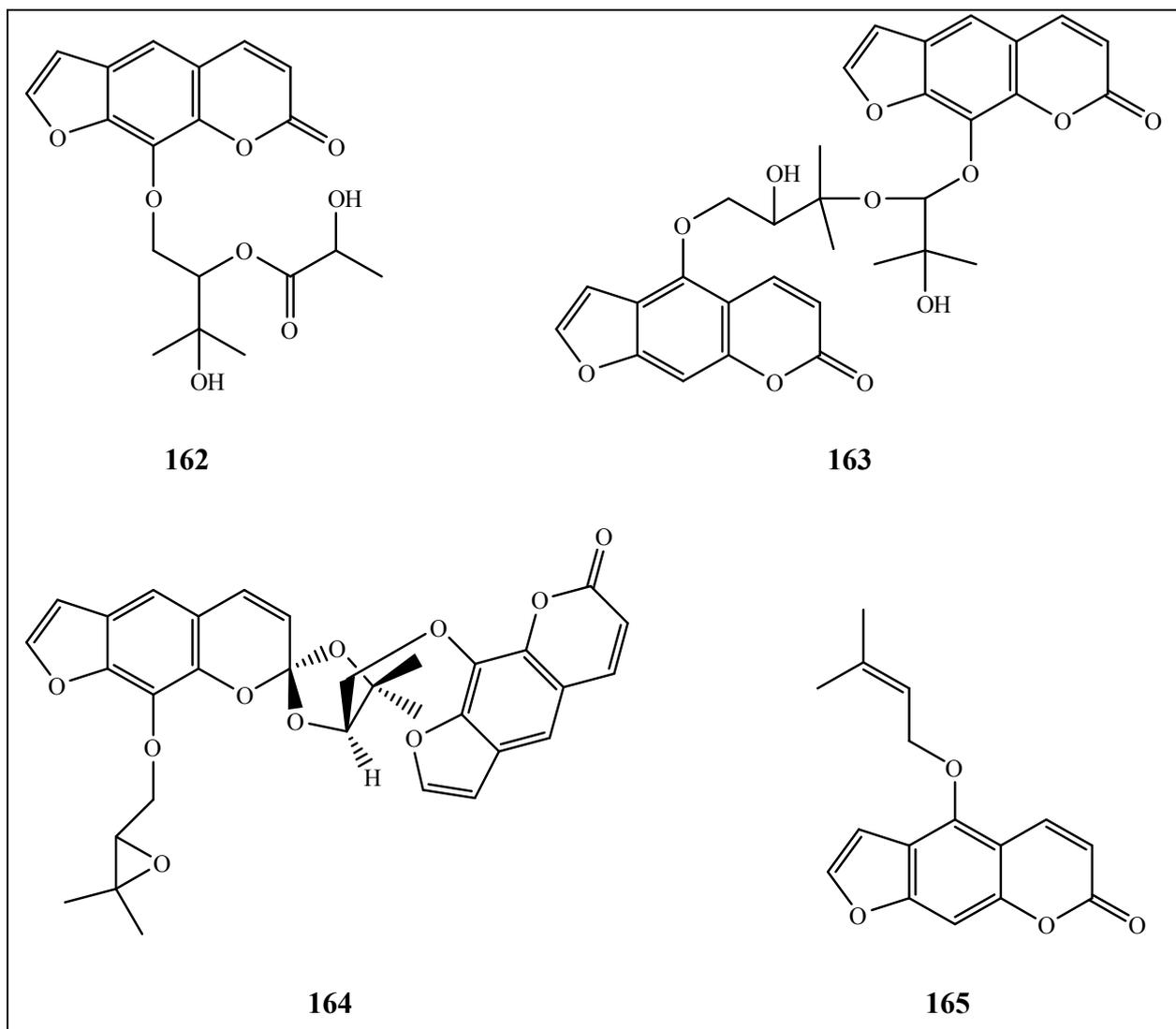
3. Les furanocoumarines

La présence de ces composés est limitée à quelques espèces de *Ferula*. Une étude phytochimique effectuée sur l'espèce *F. sumbul* a permis d'isoler trois furanocoumarines: Fésumtuorine B, Fésumtuorine C, Fésumtuorine E. les composés Isoimperatorin, Marmesin, prantschimgin, psoralen, xanthotoxin, (+)-Z-deltoin, (-)-E-deltoin, (-)-5-hydroxyprantschimgin et (-)-5-hydroxydeltoin ont été isolés de *F. lutea* (tableau 17).

Tableau 17. Les furanocoumarines isolés du genre *Ferula*

N°	Nom	Source	Réf
162	Fésumtuorine B	<i>F. sumbul</i>	(Zhou <i>et al.</i> , 2000)
163	Fésumtuorine C	<i>F. sumbul</i>	(Zhou <i>et al.</i> , 2000)
164	Fésumtuorine E	<i>F. sumbul</i>	(Zhou <i>et al.</i> , 2000)
165	Isoimperatorin	<i>F. lutea</i>	(Znati <i>et al.</i> , 2014)

166	Marmesin	<i>F. lutea</i>	(Znati et al., 2014)
167	prantschimgin	<i>F. lutea</i>	(Ben Salem et al., 2013)
168	psoralen	<i>F. lutea</i>	(Ben Salem et al., 2013)
169	xanthotoxin	<i>F. lutea</i>	(Ben Salem et al., 2013)
170	(+)- <i>Z</i> -deltoin	<i>F. lutea</i>	(Znati et al., 2014)
171	(-)- <i>E</i> -deltoin	<i>F. lutea</i>	(Znati et al., 2014)
172	(-)-5-hydroxyprantschimgin	<i>F. lutea</i>	(Ben Salem et al., 2013)
173	(-)-5-hydroxydeltoin	<i>F. lutea</i>	(Ben Salem et al., 2013)



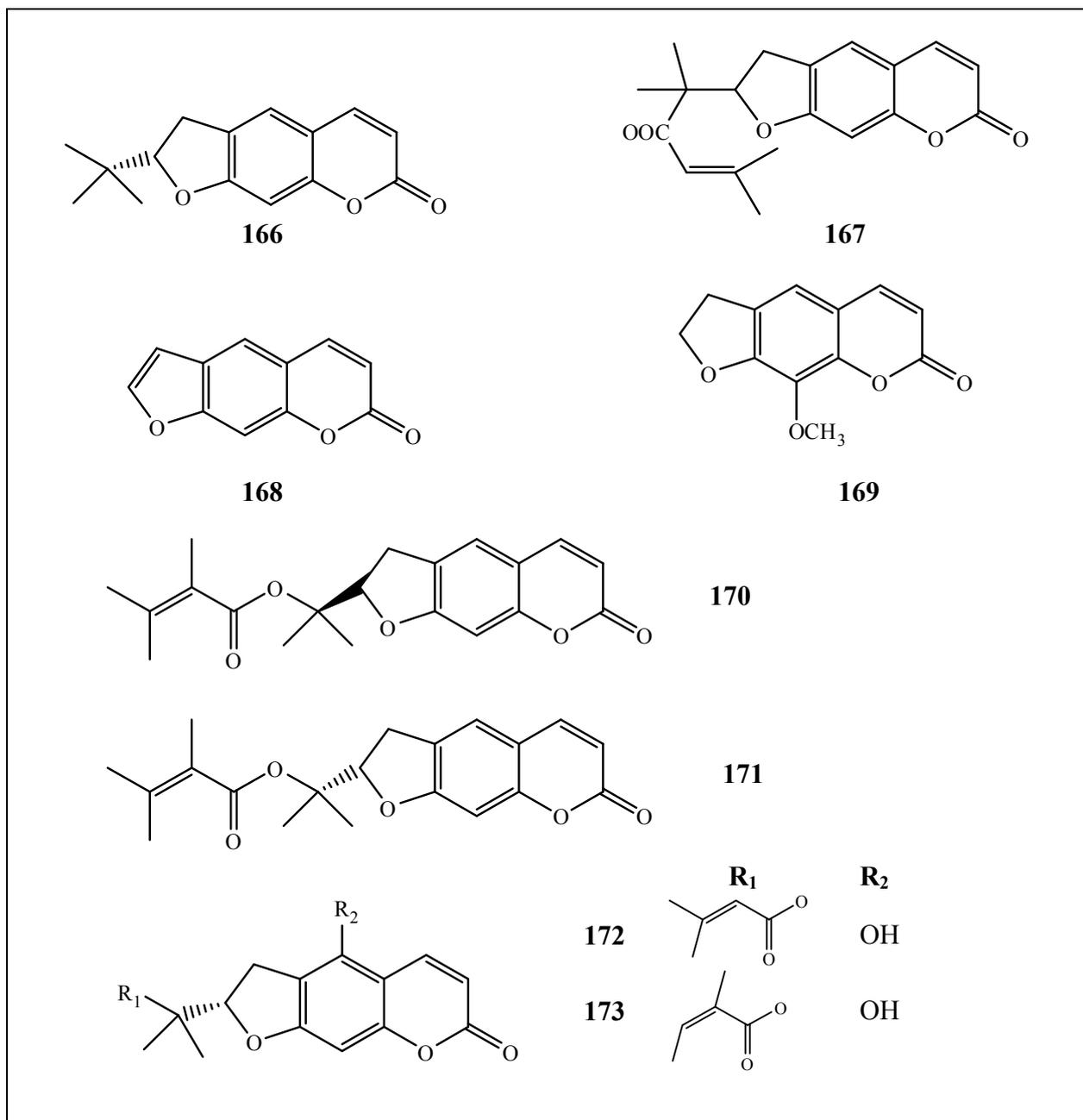
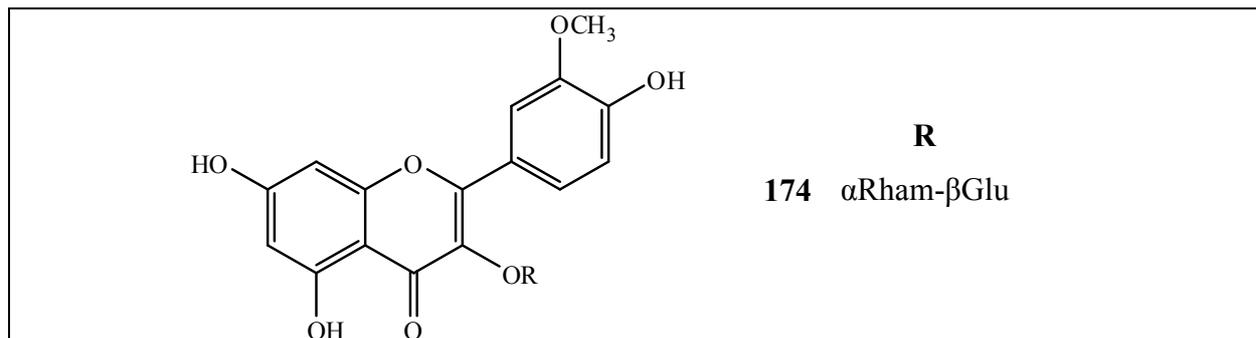


Figure 22. Les furanocoumarines isolés du genre *Ferula*

III.4.1.2.2. Les flavonoïdes

Un seul flavonoïde a été isolé de l'espèce *F. lutea* c'est le Isorhamnetin-3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 6)- β -Dglucopyranoside, narcissin (Znati et al., 2014).

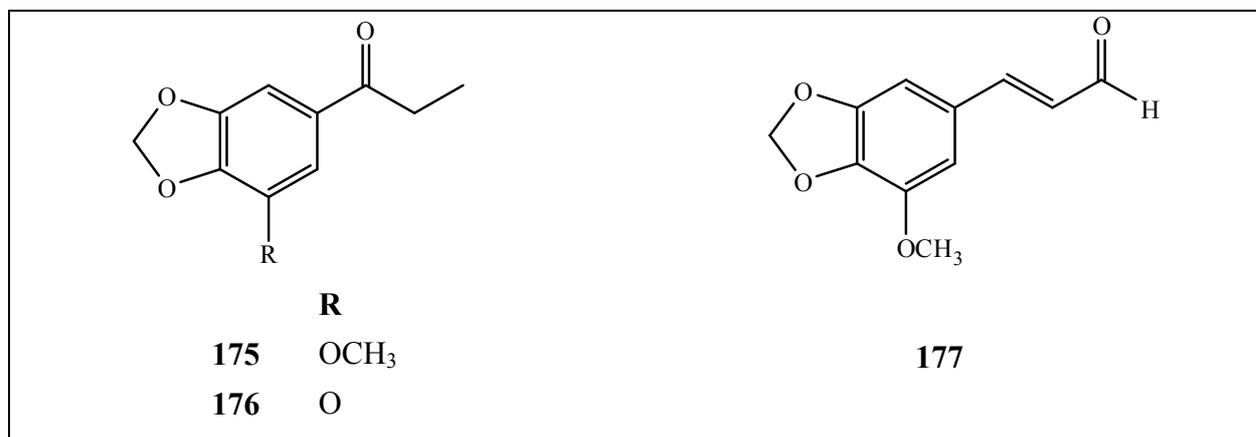
**Figure 23.** Flavonoïde isolé du genre *Ferula*

III.4.1.2.3. Les dérivés phenylpropaniques

Quelques propiophénones ont aussi été isolées du genre *Ferula* (tableau 18).

Tableau 18. Source de quelques propiophénones

N°	Nom	Source	Réf
175	Crocatoine (latifolone)	<i>F. arrigonii</i>	(Appendino <i>et al.</i> , 1997)
176	Elémicine	<i>F. elaeochytris</i>	(Miski <i>et al.</i> , 1983)
177	Equisétine	<i>F. equisetacea</i>	(Bagirov, 1978)

**Figure 24.** Quelques propiophénones isolés du genre *Ferula*

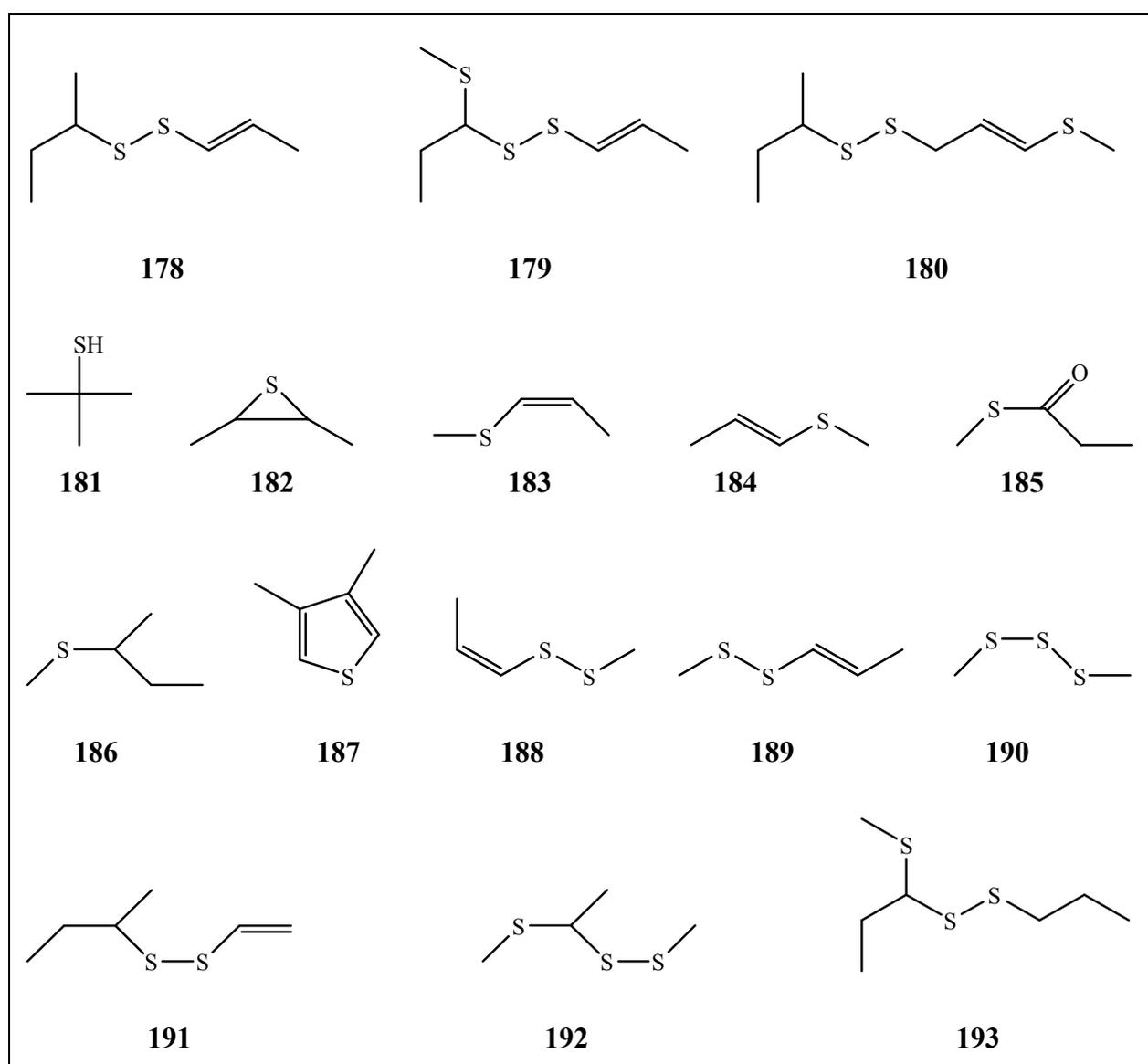
III.4.1.3. Les dérivés sulfuriques

Les espèces du sous-genre *Scorodosma* (*F. foetida* et *F. assa-foetida*) sont riches en dérivés sulfuriques. Quelques composés sont aussi isolées de *F. persica* et *F. szowitsiana* (tableau 19).

Tableau 19. Source de quelques dérivés sulfuriques

N°	Nom	Source	Réf
178	2-butyl 1-propenyl disulfide	<i>F. assa-foetida</i>	(Takeoka, 2001)
179	1-(methylthio)propyl 1-propenyl disulfide	<i>F. assa-foetida</i>	(Takeoka, 2001)
180	2-butyl 3-(methylthio)-2-propenyl disulfide	<i>F. assa-foetida</i>	(Takeoka, 2001)
181	2-methyl-2- propanethiol	<i>F. assa-foetida</i>	(Takeoka, 2001)
182	2,3-dimethylthiirane	<i>F. assa-foetida</i>	(Takeoka, 2001)
183	1-methylthio-(Z)- 1-propene	<i>F. assa-foetida</i>	(Takeoka, 2001)
184	1-methylthio-(E)-1-propene	<i>F. assa-foetida</i>	(Takeoka, 2001)
185	dimethyl disul- fide	<i>F. assa-foetida</i>	(Takeoka, 2001)
186	2-(methylthio) butane	<i>F. assa-foetida</i>	(Takeoka, 2001)
187	3,4-dimethylthiophene	<i>F. assa-foetida</i>	(Takeoka, 2001)
188	methyl (Z)-1-propenyl disulfide	<i>F. assa-foetida</i>	(Takeoka, 2001)
189	methyl (E)-1-propenyl disulfide	<i>F. assa-foetida</i>	(Takeoka, 2001)
190	dimethyl trisulfide	<i>F. assa-foetida</i>	(Takeoka, 2001)
191	2-butyl vinyl disulfide	<i>F. assa-foetida</i>	(Takeoka, 2001)
191	methyl 1-(methylthio)ethyl disulfide	<i>F. assa-foetida</i>	(Takeoka, 2001)
193	1-(methylthio)propyl propyl disulfide	<i>F. assa-foetida</i>	(Takeoka, 2001)
194	asadisulfide	<i>F. assa-foetida</i>	(Kajimoto <i>et al.</i> , 1989)
195	Foetisulfide A	<i>F. assa-foetida</i>	(Lee <i>et al.</i> , 2009)
196	foetisulfide C	<i>F. assa-foetida</i>	(Lee <i>et al.</i> , 2009)
197	Asadisulphide	<i>F. assa-foetida</i>	(Kajimoto <i>et al.</i> , 1989)
198	Foetisulfide A	<i>F. foetida</i>	(Duan <i>et al.</i> , 2002)
199	Foetisulfide B	<i>F. foetida</i>	(Duan <i>et al.</i> , 2002)
200	Foetithiophène A	<i>F. foetida</i>	(Duan <i>et al.</i> , 2002)

201	Foetithiophène B	<i>F. foetida</i>	(Duan <i>et al.</i> , 2002)
202	Persicasulfide A	<i>F. persica</i> <i>F. szowitsiana</i>	(Iranshahi <i>et al.</i> , 2009b) (Iranshahi <i>et al.</i> , 2007)
203	Persicasulfide C	<i>F. persica</i>	(Iranshahi <i>et al.</i> , 2009b)
204	Persicasulfide B	<i>F. persica</i>	(Iranshahi <i>et al.</i> , 2009b)



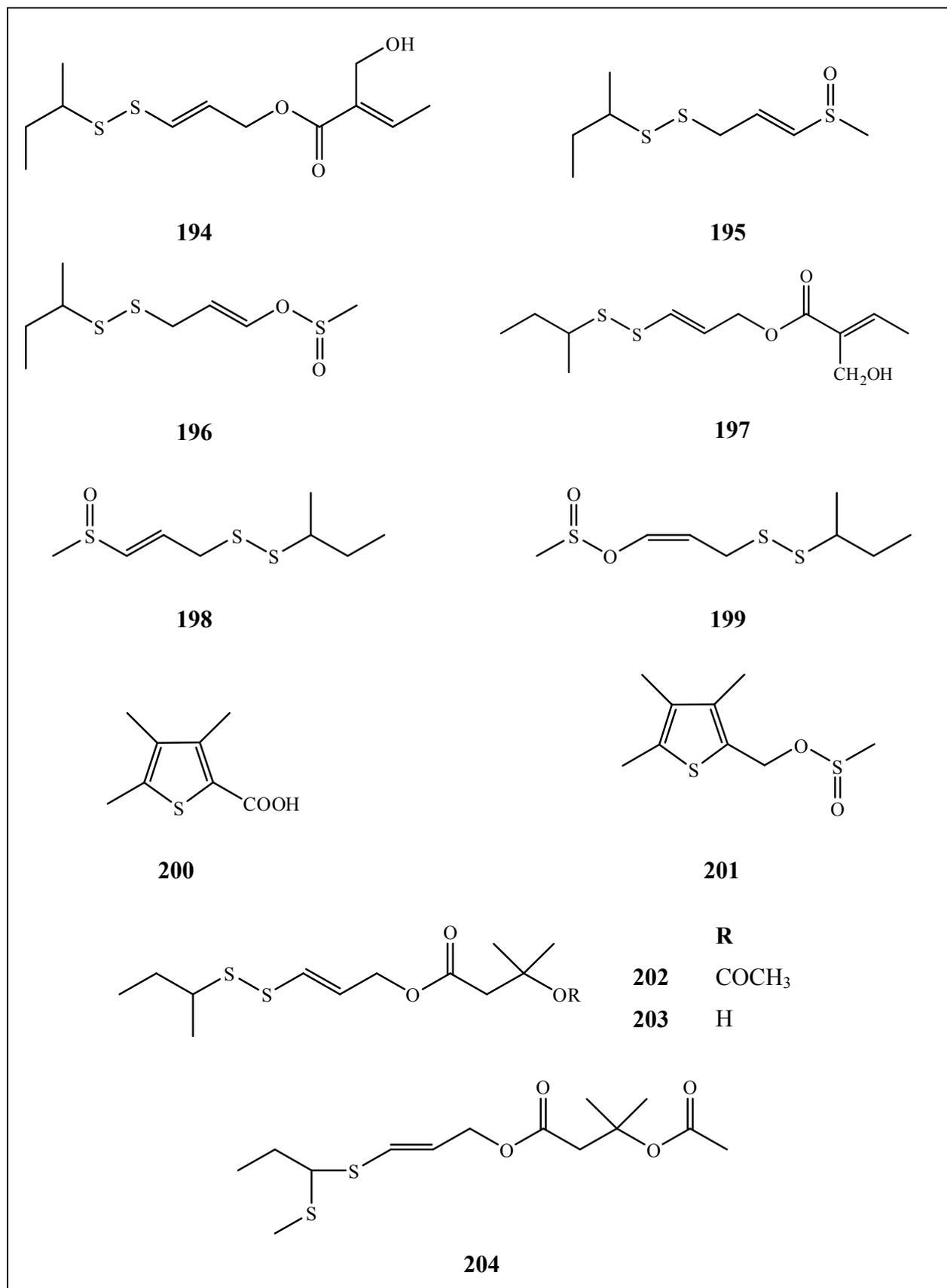


Figure 25. Dérivés sulfuriques isolés du genre *Ferula*

III.4.1.4. Autres produits

Le tableau 20 représente d'autres composés isolés de quelques espèces du genre *Ferula*.

Tableau 20. Autres composés isolés de quelques espèces du genre *Ferula*

N°	Nom	Source	Réf
205	L'acide chlorogénique	<i>F. elaeochytris</i> <i>F. lutea</i>	(Alkhatib et al., 2008) (Znati et al., 2014)
206	L'acide 3,5- <i>O</i> -dicafféoylquinique	<i>F. lutea</i>	(Znati et al., 2014)
207	Methyl 3,5- <i>O</i> -dicafféoylquininate	<i>F. lutea</i>	(Znati et al., 2014)
208	L'acide 1,5-dicafféoylquinique	<i>F. elaeochytris</i>	(Alkhatib et al., 2008)

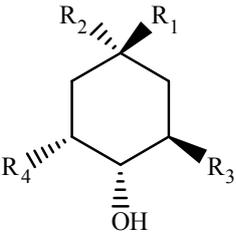
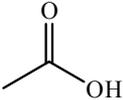
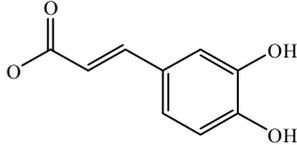
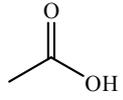
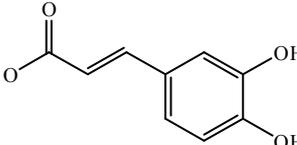
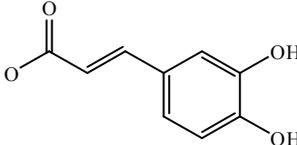
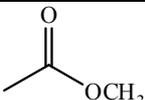
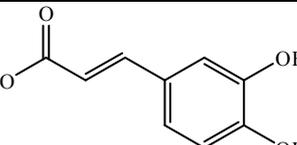
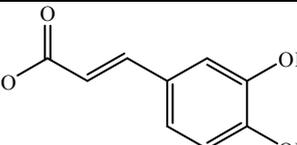
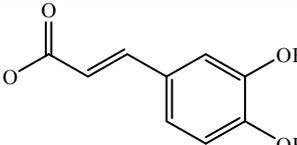
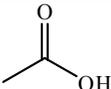
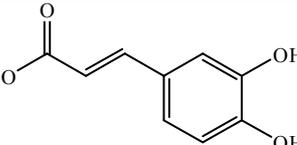
				
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
205		OH		OH
206		OH		
207		OH		
208				OH

Figure 26. Autres composés isolés de quelques espèces du genre *Ferula*

IV. *Ferula longipes* Coss. ex Bonnier et Maury (synonyme: *Ferula cossoniana* Batt. & Trab.)

IV.1. Description botanique

Ferula longipes Coss. ex Bonnier et Maury est une plante vivace lorsque les conditions climatiques le permettent à tiges élevées de 1-3 mètre de haut. Pédicelles des fruits mûrs égalant environ 2 fois leur longueur (2-3 cm). Feuilles d'un vert cendré, scabres, courtement hispides à divisions linéaires très courtes (Quezel et Santa, 1963) (figure 27).



Figure 27. Espèce *Ferula longipes* Coss.

IV.2. Répartition géographique

L'espèce *Ferula longipes* Coss. pousse seulement dans le sud-est du Maroc, l'Algérie et la Libye (figure 28).

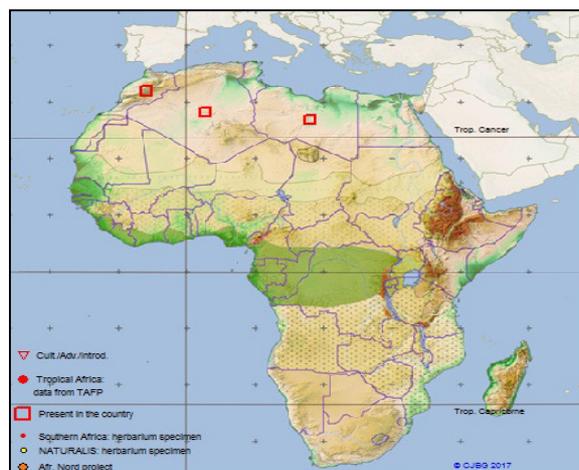


Figure 28. Répartition géographique de l'espèce *Ferula longipes* Coss. (www.theplantlist.org)

IV.3. Place dans la systématique

Le classement de *Ferula longipes* Coss. dans la systématique est comme suit :

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta(Angiospermes)
Classe	Magnoliopsida (Dicotylédones)
Clade	Campanulidées ou Euastéridées
Ordre	Apiales
Famille	Apiaceae
Genre	<i>Ferula</i>
Espèce	<i>Ferula longipes</i> Coss. ex Bonnier et Maury

IV.4. Utilisations en médecine traditionnelle

Les fruits de *F. longipes* sont utilisés en médecine traditionnelle pour traiter les crises d'épilepsie.

IV.5. Travaux antérieurs

D'après la recherche bibliographique, aucune étude phytochimique (séparation et identification) n'a été réalisée sur l'espèce *Ferula longipes* Coss.

Chapitre III

Généralités sur les activités biologiques

I. Activité antioxydante

Depuis le début du 20^{ème} siècle, les radicaux libres et les antioxydants sont les termes les plus utilisés dans le domaine de la recherche scientifique, caractérisés par leur capacité à s'oxyder en d'autres molécules. Leur impact sur la santé n'a été étudié par les biologistes qu'au début des années 60 grâce aux travaux effectués sur les vitamines et les flavonoïdes, suivis par les travaux sur l'acide ascorbique à la fin des années 70 (Cameron et Pauling, 1976).

I.1. Les radicaux libres

Un radical libre est une espèce indépendante contenant un ou plusieurs électrons célibataires (non appariés) (Halliwell et Gutteridge, 1995). Ils se forment généralement par division hémolytique de liaison covalente ou par transfert mono-électroniques.

La réactivité des radicaux libres dans le fait qu'ils ré appariant leur électron célibataire par la recherche d'un électron, ce qui entraîne la réaction d'un nouveau radical libre et donc l'extension et la prolifération du phénomène. Ce qui va engendrer des réactions en chaînes entraînant la destruction ou la mutation cellulaire (Garsès-Albert et *al.*, 2003).

On distingue les radicaux primaires, qui dérivent de l'oxygène par des réductions d'un électron, tels que : l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le radical hydroxyle ($\cdot OH$), le monoxyde d'azote (NO^{\cdot}), le radical alkoxy (RO^{\cdot}) et le radical peroxy (ROO^{\cdot}), et les radicaux libres secondaires qui résultent des réactions des radicaux primaires sur des composés biochimiques de la cellule, parmi eux on cite : l'oxygène singulet (1O_2), peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le nitroperoxyde ($ONOOH$) (Yoshikawa et *al.*, 2000 ; Favier, 2003).

I.2. Les antioxydants

Un antioxydant a été défini comme étant toute substance présente à faible concentration par rapport à celle d'un substrat oxydable retarde ou inhibe l'oxydation de ce substrat de façon significative (Halliwell et Gutteridge, 1989; Sies, 1993; Halliwell, 1995).

Les antioxydants peuvent neutraliser les radicaux libres et augmenter la durée de vie en retardant le processus de peroxydation lipidique, qu'elle est l'une des principales raisons de la détérioration des produits alimentaires et pharmaceutiques au cours de traitement et de stockage (Halliwell, 1997).

I.2.1. Antioxydants d'origine naturelle

Les antioxydants naturels les plus importants sont la vitamine E (tocophérol), les caroténoïdes (β -carotène), la vitamine C (l'acide ascorbique), les polyphénols en particulier les flavonoïdes (figure 29).

- **La vitamine E (α -tocophérol)**

La Vitamine E est un antioxydant important qui protège les cellules contre les dommages associés aux radicaux libres (Maydani, 2000), elle joue un rôle préventif dans le développement des cancers et sur le vieillissement. Elle limite les effets nocifs du cholestérol et donc préviendrait de l'artériosclérose (Rolland, 2004). On la retrouve dans les huiles végétales (arachides, soja, chardon, olive pressé à froid et tournesol,), les amandes, les graines, les oeufs, le lait, les légumes à feuilles vertes (Bossokpi, 2002).

- **La vitamine C**

L'acide ascorbique (vitamine C) est considéré comme l'un des antioxydants les plus puissants, moins toxiques et naturels (Bendich *et al.*, 1986; Weber *et al.*, 1996). C'est une vitamine soluble dans l'eau qui se trouve en concentrations élevées dans de nombreux aliments et plantes diététiques.

L'acide ascorbique peut mettre fin à la chaîne de réactions radicalaires par transfert d'électrons.

Les principales sources de l'acide ascorbique dans l'alimentation sont les fruits, en particulier les agrumes, les kiwis, les cerises, les melons et les légumes comme la tomate et le brocoli.

- **Les caroténoïdes**

Les caroténoïdes sont des pigments issus des microorganismes et des plantes, et sont regroupés en deux grandes familles : les carotènes et les xanthophylles (Valko *et al.*, 2004). Ils sont d'excellents piègeurs d'espèces radicalaires grâce à leur système conjugué de doubles liaisons (Packer *et al.*, 1981). Le β -carotène est un précurseur de la vitamine A qui est liposoluble, réagit directement avec le radical peroxy ($\text{ROO}\cdot$) (Burton et Ingold, 1984). On trouve le β -carotène dans les carottes, les légumes verts, la salade, l'abricot, les épinards, le melon, la papaye et autres fruits jaunes (Bossokpi, 2002).

- **Les polyphénols**

Les polyphénols sont des molécules organiques présentes d'une manière ubiquiste dans les végétaux, ils sont issus du métabolisme secondaire. Ils sont caractérisés par la présence de plusieurs groupements phénoliques, un ou plusieurs cycles aromatiques portant un ou plusieurs hydroxyles. Ils se divisent en plusieurs groupes : les coumarines, les chromones, les stilbènes, les lignanes, les tanins, les lignines et les flavonoïdes. Ces derniers constituent la plus importante catégorie de polyphénols, ils sont responsables de la coloration des fleurs et des fruits. Les flavonoïdes se comportent principalement comme des antioxydants primaires, en stabilisant les radicaux peroxydes (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006). Les flavonoïdes sont très abondants dans les légumes, les feuilles des légumes (salades, choux, épinards...), ainsi que dans les téguments externes des fruits. De nombreux travaux ont montré que certains fruits et légumes sont très riches en flavonoïdes (Justen *et al.*, 1998). Plusieurs études *in vitro* ont montré que la quercétine est un excellent antioxydant, de tous les flavonoïdes (Kampkötter *et al.*, 2008).

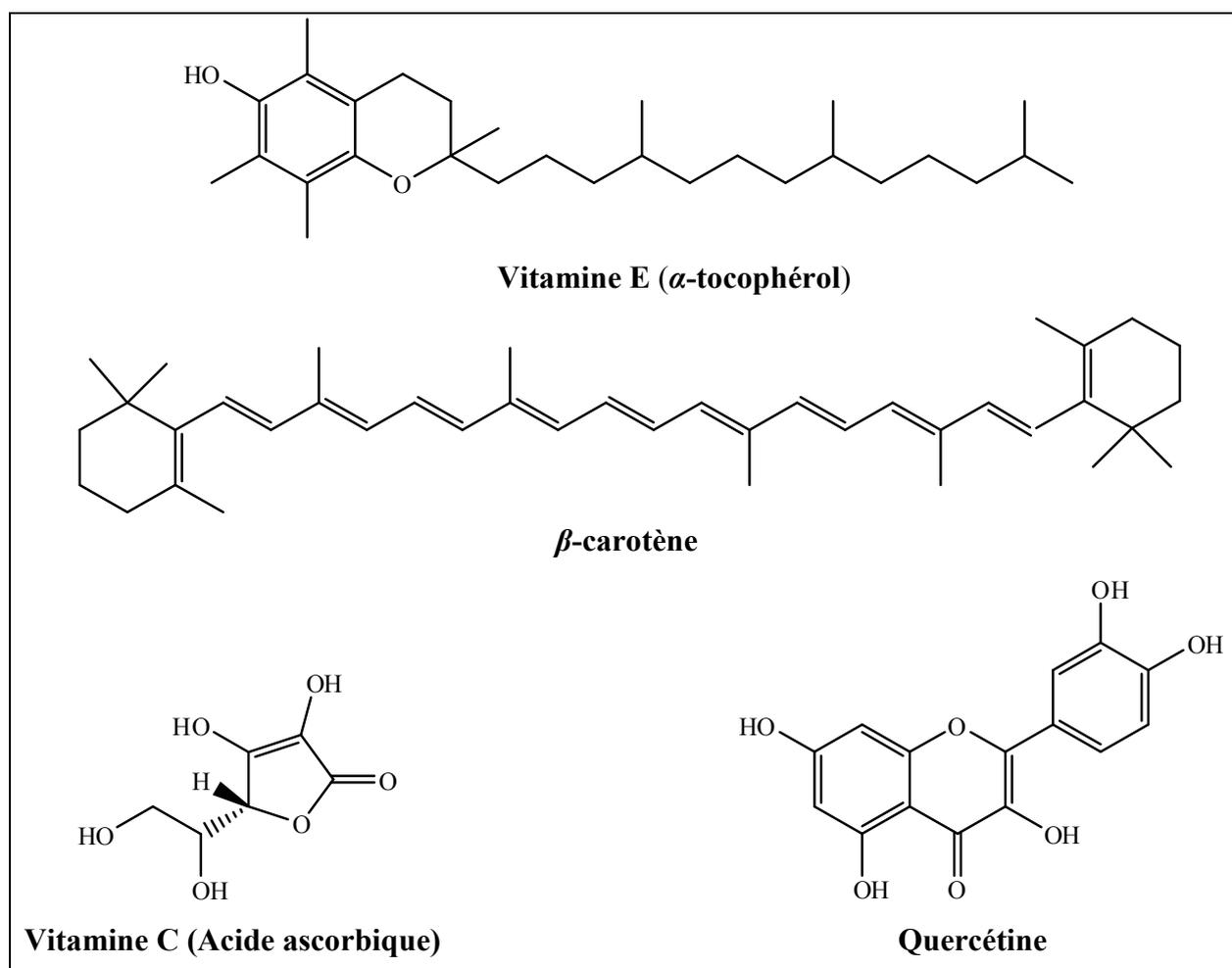


Figure 29. Structures chimiques des antioxydants naturels

I.2.2. Antioxydants synthétiques

Les antioxydants synthétiques les plus utilisés sont des composés phénoliques tels que le butylhydroxyanisole (BHA), le butylhydroxytoluène (BHT), la *tert*-butylhydroquinone (TBHQ) et le gallate de propyle (PG) (figure 30). Ces antioxydants synthétiques sont les plus couramment utilisés dans des applications alimentaires et pharmacologiques. Ils sont toujours substitués par des alkyles pour améliorer leur solubilité dans les graisses et les huiles (Hudson, 1990).

Toutefois, le BHA et le BHT ont été limités par des règles législatives en raison de doutes sur leurs effets toxiques et cancérogènes (Wichi, 1988 ; Sherwin, 1990). Par conséquent, il y a un intérêt croissant des antioxydants naturels dans les applications alimentaires, et une tendance croissante de préférences des consommateurs vers des antioxydants naturels, qui ont tous donné un nouvel élan aux efforts pour explorer les sources naturelles des antioxydants (Gülçin, 2006, 2007).

Le BHA et le BHT sont relativement stables à la chaleur, ils sont souvent utilisés pour la stabilisation de matières grasses dans des produits cuits au four. Les produits naturels apparaissent comme plus sains et plus sûrs que les antioxydants synthétiques (Valenzuela et Nieto, 1996).

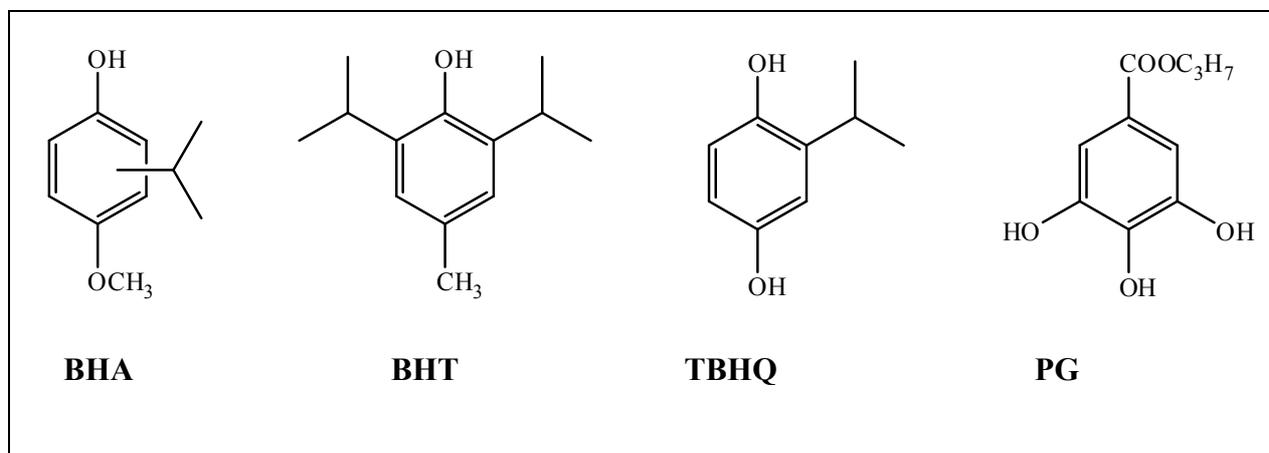


Figure 30. Structures chimiques des antioxydants synthétiques

I.3. Méthodes de détermination de l'activité antioxydante

Il existe plusieurs méthodes qui ont été mises au point pour l'estimation *in vitro* du pouvoir antioxydant d'un échantillon. Les tests les plus utilisés sont :

I.3.1. Test du DPPH

Le 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) (figure 31) est un radical libre stable, possède une coloration violette foncée, lorsqu'il est réduit, la coloration devient jaune pâle.

En sa forme radicalaire, le DPPH absorbe à 517 nm, mais lorsqu'il est réduit par un antioxydant ou une espèce radicale, son absorbance diminue. L'activité de piéger les radicaux libres a été déterminée par l'essai de DPPH (Blois, 1958) avec quelques modifications (Öztürk et *al.*, 2011). Cependant, ce test peut poser des difficultés d'interprétation lorsque les composés testés possèdent une bande d'absorption dans le visible vers 515 nm, interférant avec celle du DPPH[•] (Prior et *al.*, 2005). Le test avec l'ABTS^{•+} est alors recommandé car on peut interpréter les résultats sur la bande à 734 nm, n'interférant plus avec celle du composé testé.

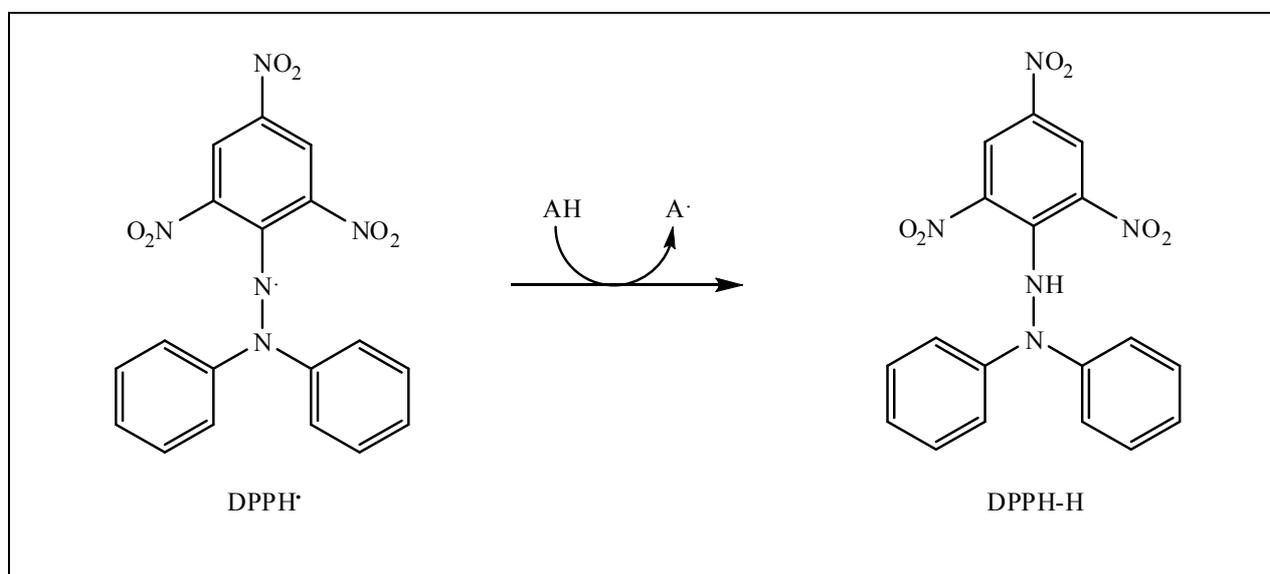


Figure 31. L'effet d'un antioxydant (AH) sur le radical DPPH[•]

I.3.2. Test de balayage ABTS

Dans ce dosage, l'ABTS est oxydé à son radical cation ABTS^{•+}, qui est intensément coloré, la réaction entre les composés d'essai et le radical ABTS peut réduire la couleur d'ABTS^{•+}, ce qui permet la mesure de l'activité anti-oxydante. Ce test est une technique de décoloration, dans lequel le radical est produit directement sous une forme stable avant la réaction avec les antioxydants.

ABTS^{•+} présente des maximum d'absorption dans des milieux aqueux de 414, 734 et 815 nm et dans un milieu éthanolique de 414, 730 et 873 nm. Le test d'ABTS^{•+} a été développé par

Miller *et al.*, (1993). Cependant, le radical cation $ABTS^{+\cdot}$ est généralement généré par $K_2S_2O_8$ (figure 6) (Gülçin *et al.*, 2006). En général, cette réaction chimique nécessite un long temps (jusqu'à 16 h), alors que la production enzymatique est plus rapide et les conditions de réaction sont plus douces. En ce qui concerne la longueur d'onde de détection, la détermination à 734 nm est préférable (Arnao 2000).

Généralement, $ABTS^{+\cdot}$ réagit avec les antioxydants dans 30 minutes. Il est soluble dans les solvants aqueux et organiques et n'est pas affecté par la force ionique. Ainsi, il peut être utilisé pour la détermination de l'activité antioxydante des extraits hydrophiles, ou lipophiles (Awika *et al.*, 2003).

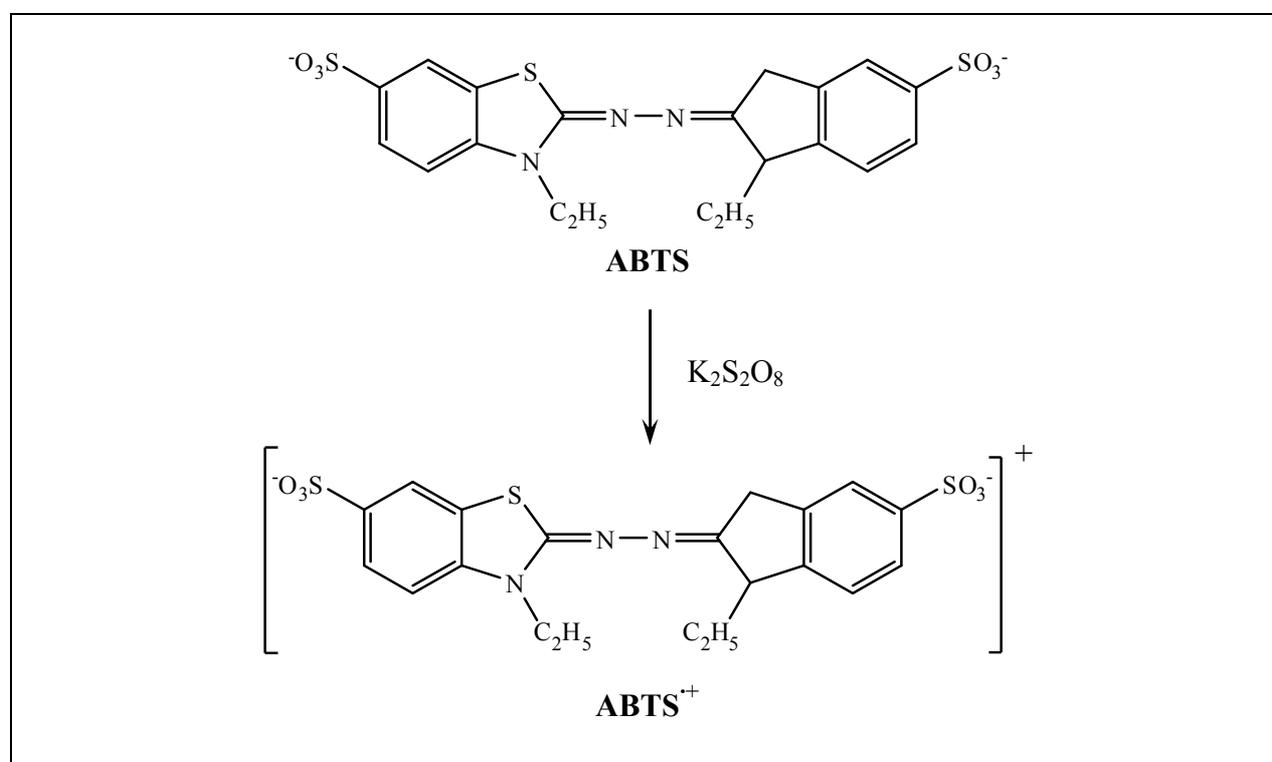


Figure 32. Génération d' $ABTS^{+\cdot}$ par l'oxydation d'ABTS avec $K_2S_2O_8$

I.3.3. Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC)

La méthode de CUPRAC a été développée par Apak *et al.*, (2006). Ce dosage est basé sur la réduction de Cu^{2+} en Cu^+ par l'action combinée de tous les antioxydants ou réducteurs dans un milieu aqueux-éthanolique (pH 7.0) en présence de Neocuproïne (2,9-diméthyl-1,10-phénanthroline), par les polyphénols, donnant un complexe Cu^+ avec un pic d'absorption

maximale à 450 nm (figure 33) (Gülçin, 2008; Lee *et al.*, 2011). Cette méthode peut être utilisée pour la détermination de la capacité antioxydante du constituant alimentaire par le complexe Cu^{2+} -Neocuproïne (Cu^{2+} -Nc) en tant que réactif oxydant chromogène.

Le neocuproïne est un composé organique hétérocyclique et est un agent chélatant. Le dosage de CUPRAC est économique, rapide, stable, sélectif et approprié pour une variété d'antioxydants.

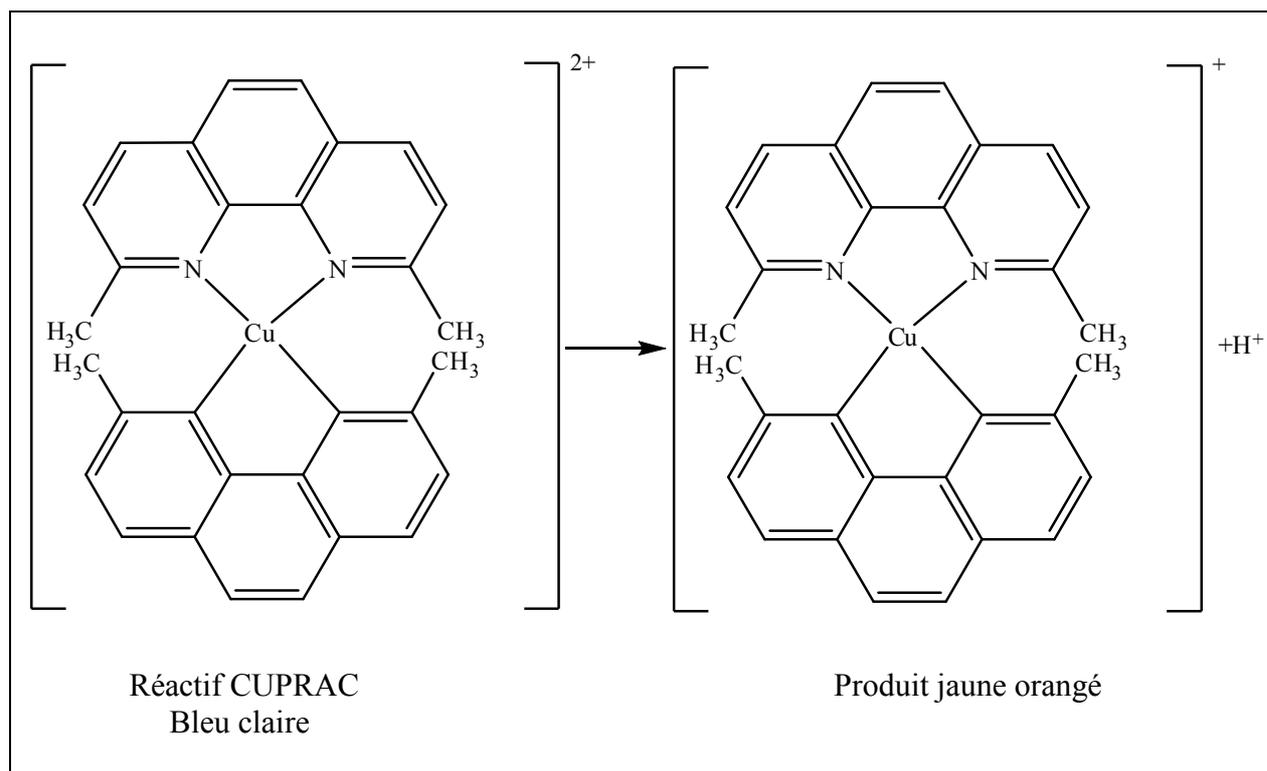


Figure 33. Réduction du complexe chromogène de Cu^{2+} -Nc

I.3.4. Chélation des ions métalliques

Le principe de ce test repose sur la réduction du fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}) par le composé testé. Dans un milieu acide à 37 °C, le complexe incolore 2, 4, 6-tripyridyltriazine ferrique (TPTZ-Fe^{3+}) est ajouté à l'échantillon. Les antioxydants présents réduisent le complexe en sa forme (TPTZ-Fe^{2+}) (figure 34) de couleur bleu et son absorbance est lue à 562 nm toutes les 15 s durant une période n'excédant pas 10 minutes qui forme un complexe avec le fer (Decker et Welch, 1990). Ce test est rapide et donne une productibilité pour des solutions biologiques ou pour des solutions pures d'antioxydants.

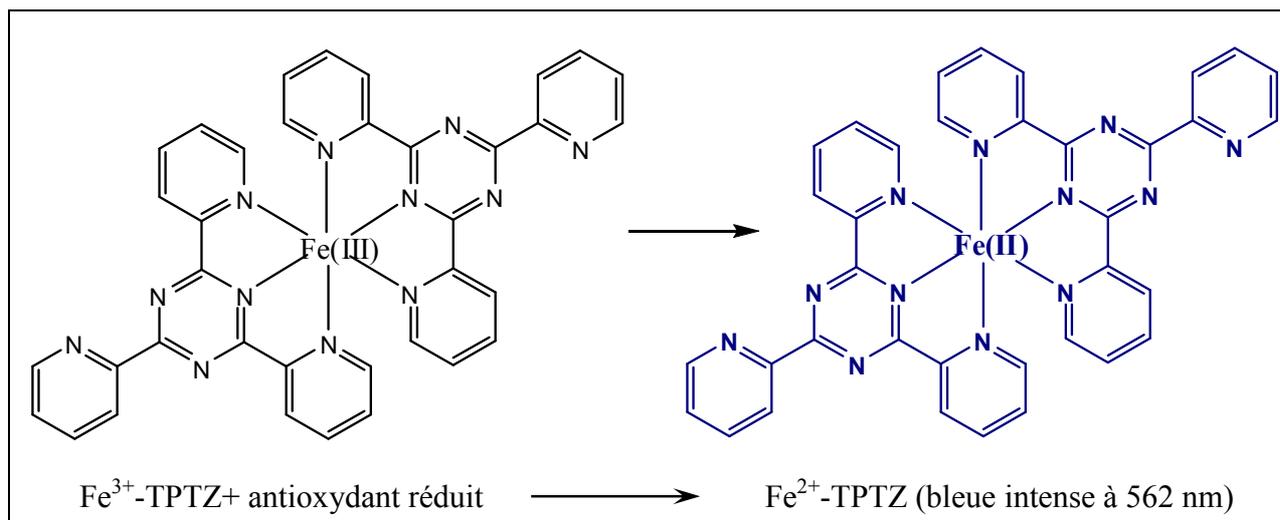


Figure 34. Réaction du test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

I.3.5. Test de blanchissement du β -carotène

Cette méthode est basée sur la perte de la couleur jaune du β -carotène et donc de la consommation de celui-ci, due à la réaction avec les radicaux qui sont formés par l'oxydation de l'acide linoléique en émulsion (Marco, 1968). Le blanchissement du β -carotène, ralenti en présence d'antioxydants, est mesuré par un suivi spectrophotométrique à 470 nm. L'absorbance est ainsi lue au temps 0 puis au bout de deux heures. Cette méthode est sensible, ceci étant dû à la forte absorption du β -carotène mais est plus lente que celle du DPPH. Récemment, la méthode a été améliorée grâce à l'utilisation de microplaques à 96 puits. Cette méthode est largement utilisée dans l'évaluation de l'activité anti-oxydante de différents types d'échantillons tels que les composés seuls, les extraits de plantes, de graines, de fruits, de légumes.

II. Activité anticholinestérase

L'acétylcholinestérase (AChE) est l'enzyme responsable de la métabolisation de l'acétylcholine, neurotransmetteur du système cholinergique qui est impliqué notamment dans les fonctions cognitives. L'inhibition de cette enzyme va engendrer une diminution du turnover de l'acétylcholine et donc augmenter les effets cholinergiques. Les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase sont utilisés pour diminuer les symptômes de la maladie d'Alzheimer.

Dans la Maladie d'Alzheimer (MA), les cellules nerveuses se détériorent progressivement, surtout celles produisant de l'acétylcholine, substance importante pour la mémoire. On a montré qu'il existe une baisse de la concentration d'acétylcholine dans le cerveau de patients atteints de MA. Les anticholinestérasiques diminuent l'activité de

l'acétylcholinestérase, enzyme détruisant l'acétylcholine. Leur action favorise donc l'élévation de la concentration d'acétylcholine dans le cerveau.

L'activité Acetylcholinestérase et butyrylcholinestérase est déterminée par la méthode d'Ellman (Ellman *et al.*, 1961).

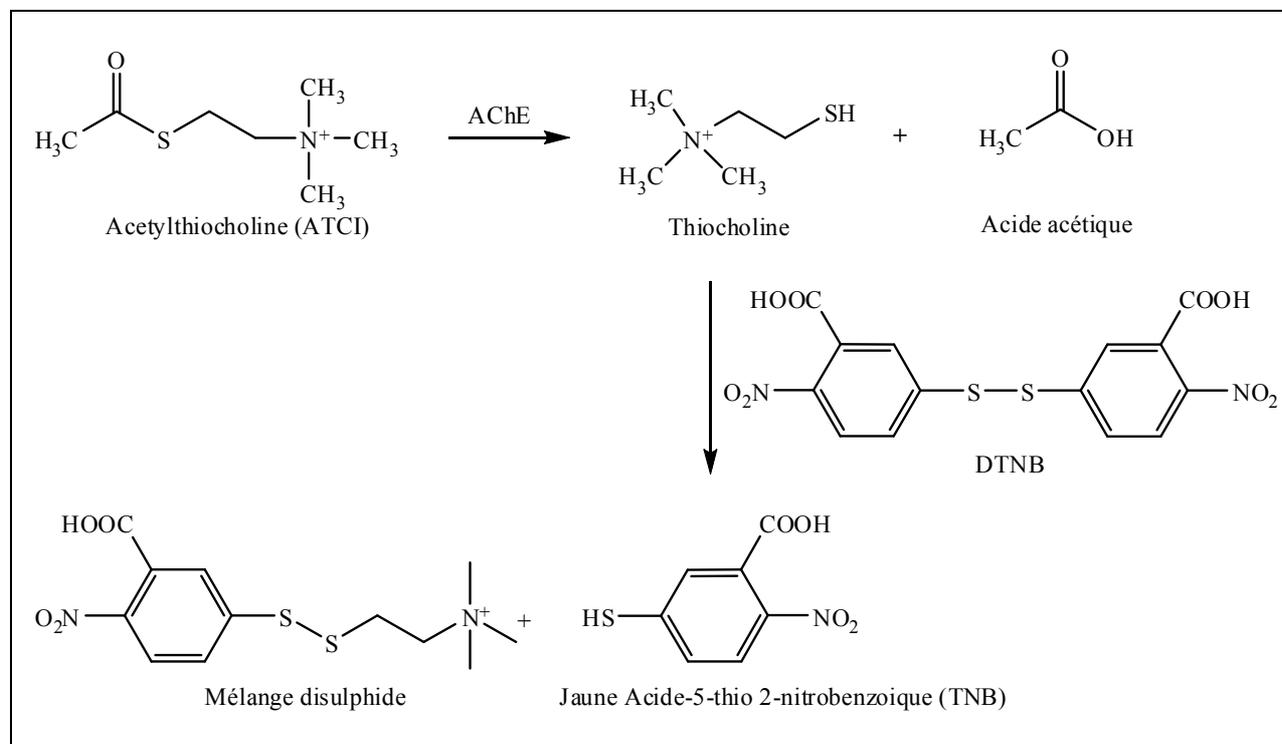


Figure 35. Mécanisme chimiques de la méthode d'Ellman

III. Activité cytotoxique

Le cancer est devenu un véritable problème de santé de par le monde : il représente la 2^{ème} cause de mortalité dans les pays développés et devient également un problème majeur de santé dans les pays en développement. Ces derniers ont dès lors recours à la médecine traditionnelle, qui utilise largement des recettes à base de plante. En s'appuyant sur les données ethno-phytothérapeutiques et/ou ethnopharmacologiques, les chercheurs ont pensé à isoler puis identifier diverses substances d'origine naturelle possédant des propriétés pharmacologiques intéressantes et ce dans bien des domaines. S'agissant du cancer, les produits naturels ont été à la base de bien des progrès dans les traitements appliqués.

III. 1. Le test de viabilité

Afin d'évaluer l'activité antiproliférative des produits d'*Athamanta sicula* L. un test de viabilité des cellules est réalisé. Le test MTT (3-[4,5-diméthylthiazol-2-yl] diphényltétrazolium bromure, Sigma) est un test colorimétrique basé sur la capacité des mitochondries fonctionnelles des cellules à réduire, via la succinate déshydrogénase [160], le produit MTT en cristaux de formazan détectables en spectrométrie visible après leur dissolution dans du DMSO (diméthylsulfoxyde). Il permet alors d'évaluer les effets des traitements étudiés sur la croissance globale d'une population cellulaire donnée, en déterminant le nombre de cellules vivantes restant au sein de la culture cellulaire analysée.

PARTIE 2

Matériel et méthodes

Chapitre I

Matériel végétal et méthodes d'extraction, de séparation et de purification

I. *Athamanta sicula* L.**I.1. Récolte et séchage de la plante**

Athamanta sicula L. a été récolté en Mars 2011 à Constantine par Mr. Kamel Kabouche, et identifié par le professeur Gérard De Belair (Université Annaba). Un échantillon specimen a été déposé au laboratoire d'obtention de substances thérapeutiques (LOST) sous le code voucher (LOSTAs 03/11). Après séchage dans un endroit sec et à l'abri des rayons solaires, les parties aériennes ont été pulvérisées et pesées (2500 g).

I.2. Extraction

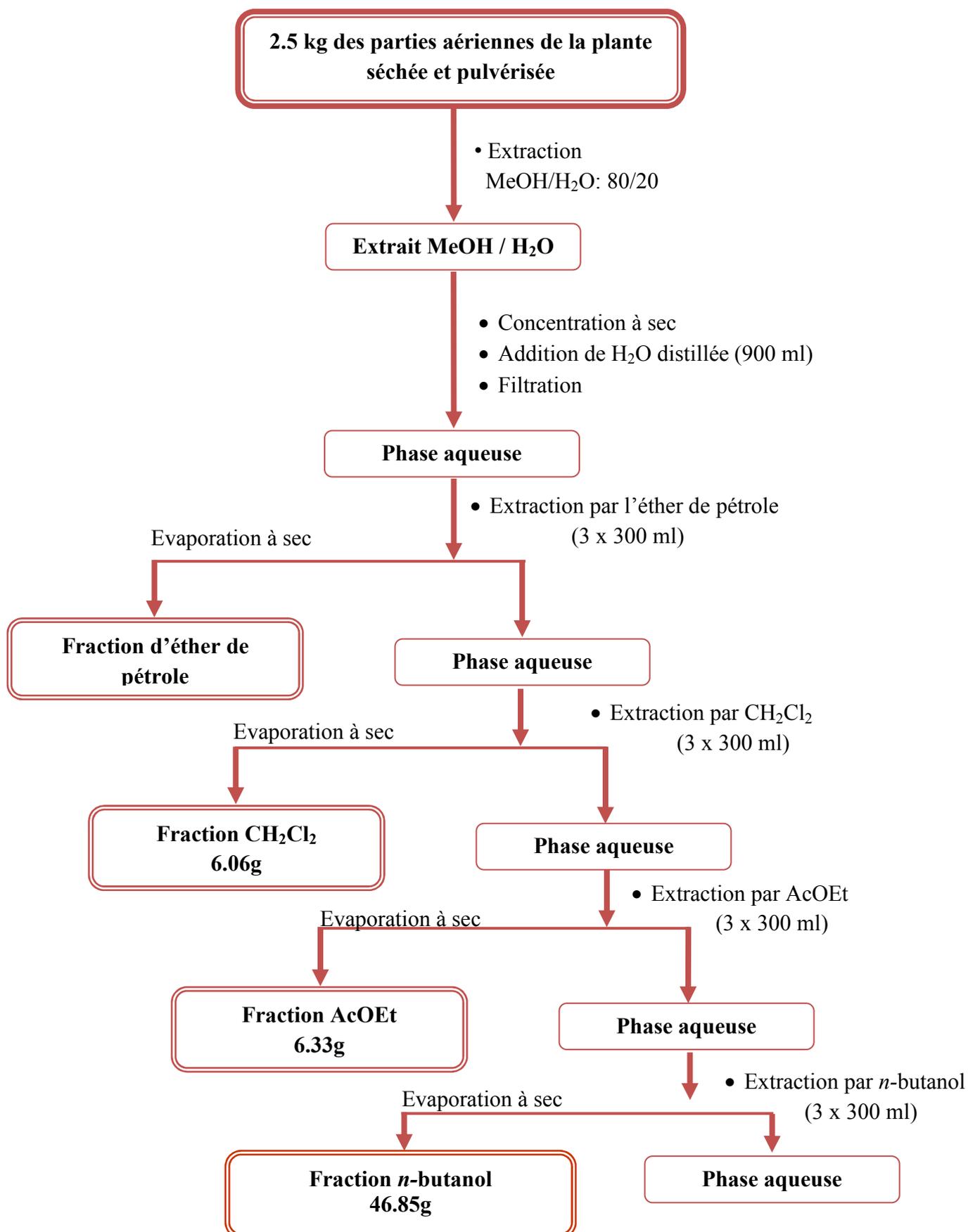
2.5 kg des parties aériennes de la plante pulvérisée sont mises à macérer à température ambiante dans un mélange hydroalcoolique (Éthanol/Eau, 80/20, V/V), en répétant cette opération 3 fois avec renouvellement du solvant (24 à 48 heures/3fois). L'extrait récupéré est concentré sous pression réduite à une température n'excédant pas 40°C, puis dilué avec de l'eau distillée à raison de 400 ml pour 1kg de matière sèche. Une décantation pendant une nuit permet le dépôt des composés hautement lipophiles (la chlorophylle, les cires, les résines, les boues terpéniques, le sable etc...). La solution ainsi dégraissée subit une filtration pour obtenir une solution aqueuse claire. Cette dernière a subi des extractions de type liquide- liquide en utilisant des solvants de polarité croissante en commençant par l'éther de pétrole, le dichlorométhane, puis l'acétate d'éthyle et en dernier le *n*-butanol (figure 36).

Les phases organiques récupérées sont concentrées sous pression réduite à sec et pesées. Les rendements d'extraction sont donnés dans le tableau 21.

Tableau 21. Rendement des fractions de la plante *Athamanta sicula* L.

Fraction	Masse (g)	Rendement (%)
Éther de pétrole	huile	-
Dichlorométhane	6.06	0.24
Acétate d'éthyle	6.33	0.25
<i>n</i> -butanol	46.85	1.87

Le processus de l'extraction est résumé dans la figure 36

Figure 36. Protocole d'extraction de la plante *Athamanta sicula* L.

I. 3. Séparation et purification des composés de la fraction dichlorométhane

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

Une masse de 6.06g de la fraction dichlorométhane est déposée sur une colonne chromatographique de gel de silice 60 préparée dans le n-hexane, avec un gradient d'éluion n-hexane/toluène puis toluène/AcOEt. Des fractions de 100 ml ont été recueillies et regroupées en fonction de leurs profils en CCM visualisés sous lampe UV (254 et 365nm). 28 fractions ont été ainsi obtenues (Tableau 22).

Tableau 22. Résultats de séparation par chromatographie sur colonne de gel de silice normale

Fractions	N° de la fraction	Système d'éluion	
		% n-hexane	% Toluène
1-61	F1	100-96-92	0-4-8
62-111	F2	88	12
112-130	F3	85	15
131-180	F4	80	20
181-200	F5	75	25
193-213	F6	70	30
214-231	F7	50	50
232-249	F8	30	70
250-266	F9	0	100
		Toluène %	AcOEt %
284-302	F10	98	2
303-360	F11	96-92-88	4-8-12
361-370	F12	85	15
371-393	F13	85	15
394-409	F14	80	20
410-418	F15	80	20
419-423	F16	75	25
424-438	F17	75	25
439-453	F18	70	30
454-468	F19	70	30
469-475	F20	60	40
476-480	F21	60	40
481-490	F22	60	40
491-500	F23	50	50
501-507	F24	50	50
508-518	F25	50	50
519-553	F26	30	70
554-570	F27	20	80
571-596	F28	0	100

I.3.1. Fractionnement des fractions F7, F10

Ses fractions se présentent sous forme d'une huile incolore. La chromatographie sur couche mince de ces composés montre une seule tache de coloration violette après révélation à la vanilline sulfurique donnant les produits **A1** (7mg) et **A2** (13 mg).

I.3.2. Fractionnement de la fraction F15

La fraction F15 a subi une séparation chromatographique sur colonne de gel de silice en utilisant le système d'élution cyclohexane / acétate d'éthyle (8.5/1.5). Des fractions de 25 ml ont été collectées. Un seul produit a été séparé, purifiée sur colonne de séphadex LH20. Enfin, 16 mg du composé **A3** ont été obtenus.

I.3.3. Fractionnement de la fraction F20

La formation d'un précipité blanc dans la fraction F20, le précipité est lavé avec du MeOH plusieurs fois pour obtenir 43 mg du composé **A4**. La chromatographie sur couche mince de ce composé montre une seule tache de coloration violette après révélation à la vanilline sulfurique.

Les produits issus de ce fractionnement figurent dans le schéma ci-dessous :

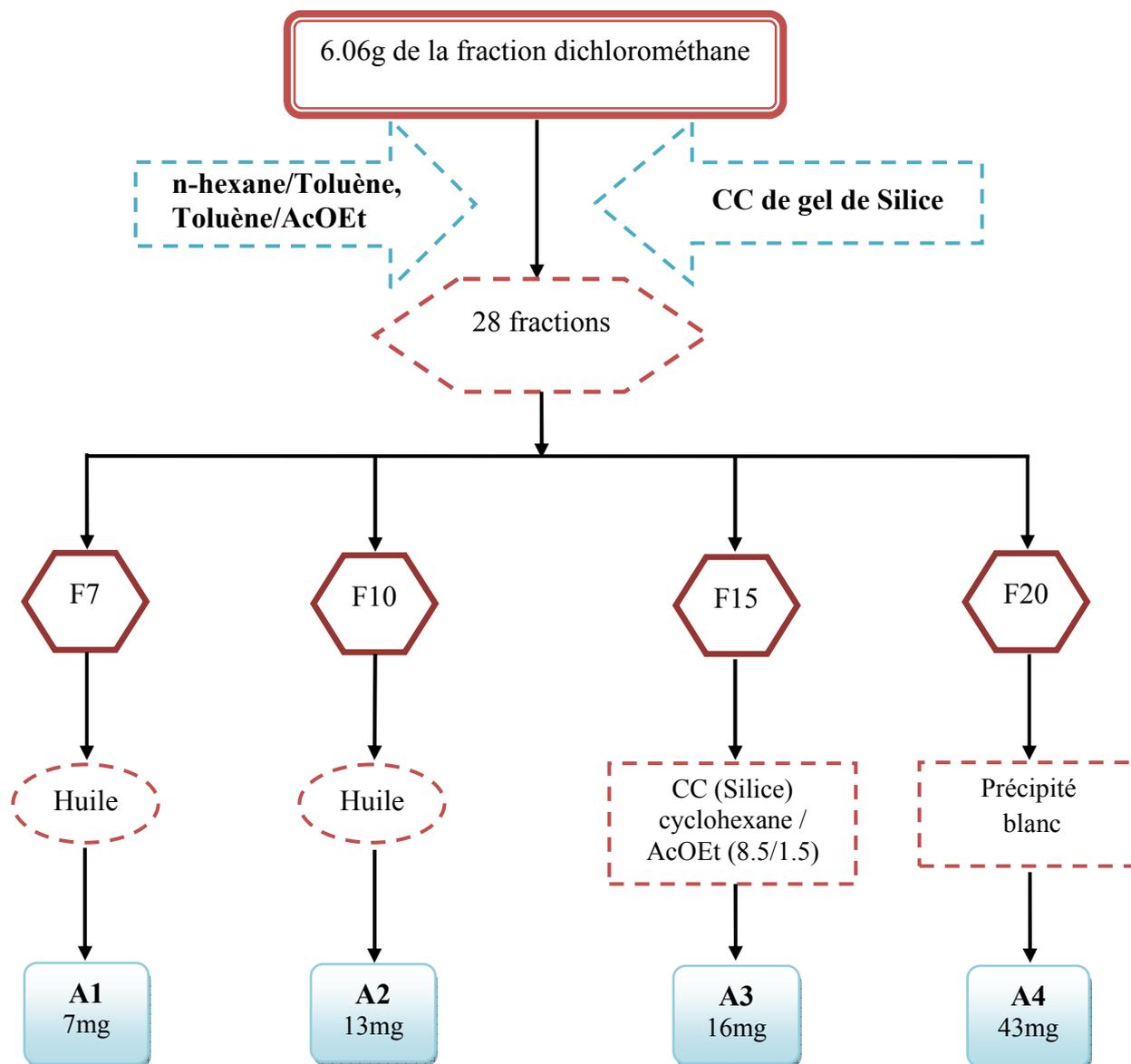


Figure 37. Schéma de séparation de la fraction dichlorométhane de la plante *Athamanta sicula* L.

I. 4. Séparation et purification des composés de la fraction acétate d'éthyle

Cette fraction a subi une chromatographie sur couche mince afin d'avoir une idée sur le nombre de produits à séparer. Pour cela et avant d'entamer les séparations chromatographiques de cette fraction, nous avons procédé à des tests chromatographiques analytiques sur couche mince de gel de silice et des tests chromatographiques bidimensionnels de gel de polyamide avec les systèmes suivants :

- Gel de silice : (*n*-hexane/Acétone)
- Gel de polyamide : (Toluene: MeOH: MEC) (4:3:3) v/v
(H₂O: MeOH: MEC: AcAc) (13: 3: 3: 1) v/v

6.33 g de la fraction acétate d'éthyle sont mélangés à une quantité de gel de silice 60 jusqu'à l'obtention d'une poudre homogène. Cette poudre est déposée en haut de la colonne de gel de silice préparée dans le *n*-hexane, l'élution est réalisée par le *n*-hexane enrichi progressivement par l'acétone.

Des fractions de 150 ml sont recueillies et analysées par chromatographie analytique sur plaque chromatographique.

La progression de la colonne de gel de silice est rassemblée dans le tableau 23.

Tableau 23. Résultats de la séparation de la colonne de gel de silice

Lot de fraction	<i>n</i> -hexane %	acétone%
01-05	100	0
06-17	95	5
18-29	90	10
30-35	88	12
36-49	85	15
50-60	80	20
61-120	70	30
121-134	60	40
135-143	50	50
144-149	30	70
150-155	0	100

Selon les résultats donnés par les plaques chromatographiques sur gel de silice, on a pu regrouper les fractions qui ont les mêmes compositions et le tableau 24 résume le regroupement des fractions de cette colonne.

Tableau 24. Regroupement final des fractions de la colonne

Fraction	N° de la fraction	Observation
1-30	F1	Mélange de produits en très faible quantité
31-62	F2	Trainée
63-74	F3	Mélange séparable
75-89	F4	Mélange inséparable
90-122	F5	Mélange complexe
123-125	F6	Mélange complexe
126-138	F7	Mélange de produits en très faible quantité

. Etude des fractions obtenues

Le poids important et la simplicité de la fraction et F3 nous a permis l'étudier jusqu'à la détermination structurale de principaux composés isolés.

I.4.1. Fractionnement de la fraction F3

La fraction F3 (1200 mg) a été chromatographiée sur une colonne de gel de silice en phase normale de granulométrie (63-200 μ m), éluée avec le système isocratique AcOEt:MeOH:H₂O (10:1:0,5). 4 Sous-fractions ont été regroupées selon leurs profils en CCM, en phase normale, réalisés dans le même système de la colonne (tableau 25).

Tableau 25. Sous-fractionnement de la fraction F3 sur colonne de gel de silice

N° de lot	N° de la sous fraction	Observations
1- 7	f1	1 seul produit
8 -15	f2	Trainée
16- 42	f3	Précipité
43 -48	f4	Mélange de produits

- La sous fraction f1 contient le composé **A5** (51mg) à l'état pur.
- La sous fraction f 3 contient un précipité jaune, c'est le composé **A6** (25mg), à l'état pur (après lavage avec le MeOH).

- La sous fraction f4 a subi une deuxième séparation sur colonne isocratique de gel de silice, en utilisant le système : AcOEt:MeOH:H₂O (8 :2 :1), on a pu séparer un produit qui est le composé A7 (25mg).

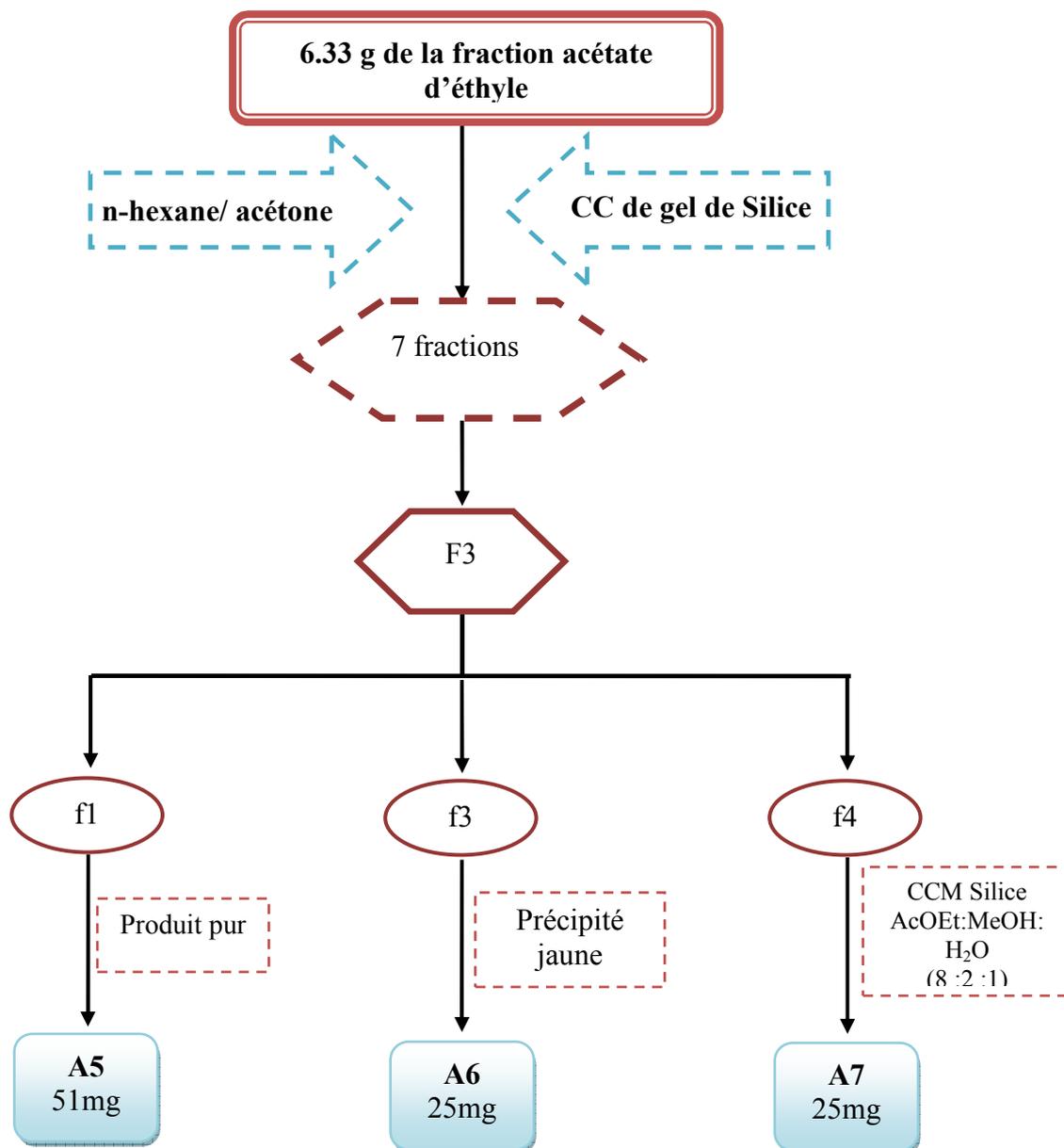


Figure 38. Schéma de séparation de la fraction acétate d'éthyle de la plante *Athamanta sicula* L.

I. 5. Séparation et purification des composés de la fraction *n*-butanol

15 g de la fraction *n*-butanol ont été fractionnés par chromatographie sur colonne de gel de polyamide SC₆ (le poids de la phase stationnaire est trente fois le poids de l'extrait). L'élution est réalisée par un gradient de polarité du système toluène / méthanol. Des fractions de 200 ml sont recueillies, leur suivi est effectué par chromatographie sur couche mince de gel de silice.

L'examen de plaques CCM est réalisé sous lumière UV à 254 nm et à 365 nm. Les fractions de compositions similaires sont rassemblées et évaporées. 20 fractions ont été ainsi obtenues (Tableau 26).

Tableau 26. Résultats de séparation par chromatographie sur colonne de polyamide SC₆ de la fraction *n*-butanol

Fractions	Nom de la fraction	Système d'élution		Observations
		% Toluène	% MeOH	
1-77	F1	100-98-96	0-2-4	Mélange de produits en très faible quantité
78-107	F2	92	8	
108-130	F3	88	12	
131-168	F4	85	15	
169-192	F5	80	20	Trainée
193-213	F6	75	25	Mélange complexe
214-231	F7	70	30	
232-249	F8	65	35	Mélange inséparable
250-266	F9	60	40	
267-283	F10	55	45	
284-292	F11	50	50	
293-298	F12	40	60	Mélange complexe
299-300	F13	40	60	Mélange séparable
301-308	F14	40	60	Mélange complexe
309-312	F15	30	70	
313-318	F16	30	70	Trainée
319-323	F17	30	70	Mélange complexe
324-338	F18	20	80	
339-353	F19	10	90	
354-368	F20	0	100	

- **Etude des fractions obtenues**

L'étude chromatographique analytique sur couche mince de fractions obtenues à partir de la fraction *n*-butanol de *Athamanta sicula* L. montre une présence d'un produit majoritaire qui masque l'observation d'autres produits c'est le produit **A8** (42mg).

Conclusion

L'étude chromatographique de la fraction *n*-butanol s'est avérée être compliquée suite à la présence d'un produit majoritaire **A8**.

Nous avons pu isoler six produits purs de la fraction dichlorométhane **A1**, **A2**, **A3** et **A4** et de la fraction acétate d'éthyle trois produits purs ont été obtenus qui sont **A5**, **A6** et **A7**.

II. *Ferula longipes* Coss. ex Bonnier et Maury

II.1. Récolte et séchage

La plante a été récoltée dans la région de Bejaia au mois de mai 2013 et identifiée par le professeur Gérard De Belair (Université Annaba). Un échantillon specimen a été déposé au laboratoire d'obtention de substances thérapeutiques (LOST) sous le code voucher (LOSTFI 05/13). Après séchage dans un endroit sec et à l'abri des rayons solaires, les parties aériennes ont été pulvérisées et pesées (900g).

II.2. Extraction

Les parties aériennes de *Ferula longipes* Coss. (900 g) sont coupées en petits morceaux et mises à macérer dans un mélange éthanol/eau (80/20) pendant 24 à 48 heures. Cette opération est répétée trois fois avec renouvellement du solvant.

Après concentration à une température n'excédant pas 40°C, nous avons obtenu un résidu sirupeux. Ce dernier est dilué avec 600 ml de l'eau distillée.

La solution obtenue est laissée au repos à froid pendant une nuit pour décantation. Cette décantation permet le dépôt de la chlorophylle, des cires, du sable,....etc.

Après filtration, la phase aqueuse obtenue est épuisée successivement par une extraction liquide-liquide dans une ampoule à décanter en utilisant des solvants non miscibles à l'eau et de polarité croissante en commençant par l'éther de pétrole, puis le chloroforme, ensuite l'acétate d'éthyle et en dernier le *n*-butanol.

Les quatre phases organiques récupérées sont, concentrées sous pression réduite à sec et pesées. On obtient 9 g (3%) de fraction pour la phase éther de pétrole 1.97g (0.65%) de fraction pour la phase chloroformique, 9.17g (3.05%) de fraction pour la phase acétate d'éthyle et 25.35g (8.33%) de fraction pour la phase *n*-butanol.

La figure 39 montre les différentes étapes d'extraction du *Ferula longipes* Coss.

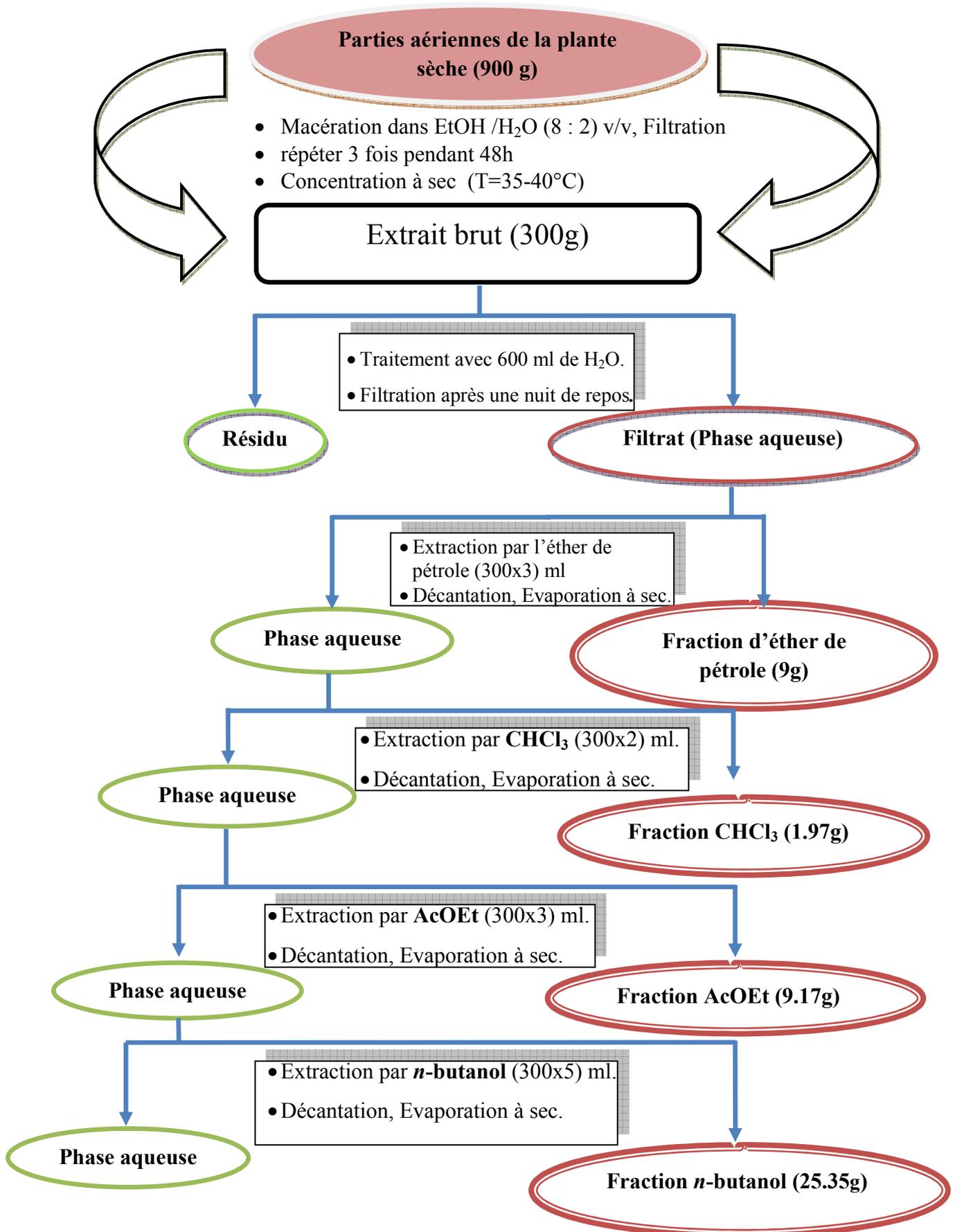


Figure 39. Les différentes étapes d'extraction du *Ferula longipes* Coss.

Pour l'ensemble des fractions, nous avons débuté le traitement par une chromatographie analytique sur couche mince de gel de silice, et des tests chromatographiques bidimensionnels de gel de polyamide pour les fractions AcOEt et *n*-BuOH (2D) avec les systèmes suivants :

1. **Système organique** : (Toluène: MeOH : MEC) (4:3:3) v/v
2. **Système aqueux** : (H₂O: MeOH: MEC :AcAc) (13: 3: 3: 1) v/v

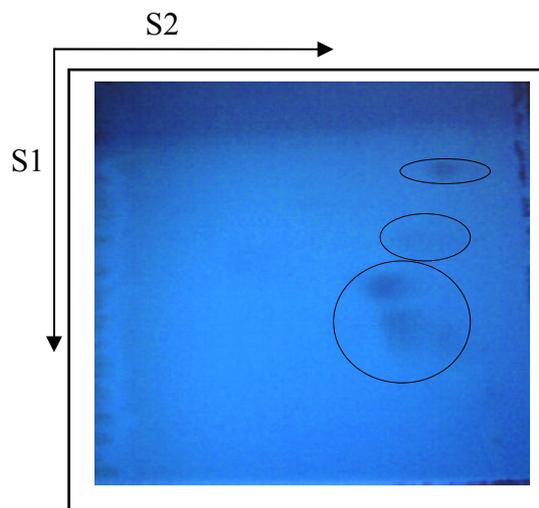


Figure 40. Carte phénolique de la fraction *n*-butanol

II.3. Séparation et purification des composés de la fraction *n*-butanol

17 g de la fraction *n*-butanol sont dissous dans le minimum de méthanol et mélangés à une petite quantité de gel de polyamide, l'ensemble est séché sous vide, puis pulvérisé jusqu'à l'obtention d'une poudre homogène. Cette dernière est déposée en haut de la colonne de polyamide préparée dans le toluène, l'élution est réalisée par le toluène enrichi progressivement par le méthanol.

Des fractions de 120 ml sont recueillies en bas de la colonne dans des erlens et analysées par chromatographie analytique sur plaque chromatographique de gel de silice avec différents systèmes :

S1: (CHCl₃: MeOH) (9.5:0.5) v/v

S2: (AcOEt: MeOH: H₂O) (10:1:0.5) (12:1:0.5) (8:2:1) v/v

L'examen des plaques CCM de gel de silice est réalisé sous lumière UV à 254 nm et 365 nm et après révélation par l'acide sulfurique et chauffées pendant 3mn à 100 °C.

Les fractions similaires ont été regroupées, évaporées et pesées. 9 fractions ont été ainsi obtenues (tableaux 27 et 28).

Tableau 27. Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de la fraction *n*-butanol

Lot de fraction	Toluene %	MeOH %
1-17	100	0
18-46	96	4
47-58	92	8
59-129	88	12
130-162	85	15
163-242	80	20
243-286	75	25
287-425	70	30
426-482	60	40
483-498	0	100

Tableau 28. Résultats des fractions obtenues de la fraction *n*-butanol

Lot	N° de la fraction	Masse (mg)	Observation
1-58	F1	98	Graisse et cires.
59-162	F2	120	Mélange complexe
163-187	F3	300	Mélange de produits flavoniques
188-218	F4	150	Mélange inséparable
219-250	F5	289	Mélange de produits
251-300	F6	61	Mélange inséparable
301-425	F7	180	Mélanges complexes
426-482	F8	90	Mélange de produits en très faible quantité
483-498	F9	103	Trainée

. Etude des fractions obtenues

Parmi les fractions obtenues, on a étudié celles qui sont simples et séparables et celles qui ont une quantité importante et on a éliminé les fractions de faibles quantités et qui sont des mélanges complexes.

Après l'examen des plaques CCM de gel de silice sous lumière UV à 254 nm et 365 nm, on a choisi l'étude de deux fractions : F3 et F5.

II.3.1. Fractionnement de la fraction F3

Nous nous sommes intéressées à la fraction F3 à cause de sa masse (300 mg) et sa simplicité, elle contient deux produits majoritaires, nous avons procédé directement à une deuxième séparation sur colonne isocratique de gel de silice normal, en utilisant le système : AcOEt/MeOH /H₂O (12 :1 :0.5) v/v. comme éluant.

Le suivi de la séparation et le rassemblement final des fractions sont présentés dans le tableau 29.

Tableau 29. Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de la fraction F3

Système d'éluant	Fractions	N° de la sous Fraction	Observations
AcOEt :MeOH :H ₂ O (12 :1 :0.5) v/v	1-5	F3-1	Mélange inséparable
	6-10	F3- 2	Trainée
	11-15	F3- 3	Produit P1, mono-tache, absorbe sous UV 356
	16-26	F3- 4	Produit P1+ produit P2
	27-30	F3- 5	produit P2
	30-35	F3- 6	produit P2+ des produits de très faibles quantités
	36-40	F3- 7	Trainée

. Etude de la sous fraction F3-3

La sous fractions F3-3, montre une mono-tâche sur la plaque CCM de coloration violette sous la lumière UV 356 nm.

. Etude de la sous fraction F3-5

Un précipité jaune pâle a été formé dans la fraction F3-5, que nous avons récupéré et lavé par l'acétone (P2).

Les travaux de séparation chromatographiques ont permis l'obtention à l'état pur et natif des deux produits **P1** (14mg) et **P2** (28mg). Les séparations effectuées sont illustrées dans la figure 41.

II.3.2. Fractionnement de la fraction F5

La fraction F5 (275 mg) a subi une deuxième séparation sur colonne isocratique de gel de silice, en utilisant le système : AcOEt/MeOH /H₂O (12 :1 :0.5) v/v. comme éluant.

5 sous fractions sont obtenues.

Le résultat de la progression de cette colonne est illustré sur le tableau 30.

Tableau 30. Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de la fraction F5

Système d'élution	Fractions	N° de la sous Fraction	Observations
AcOEt :MeOH :H ₂ O (12 :1:0.5) v/v	1-25	F5-1	Produit P3, mono-tache, absorbe sous UV 356
	26-65	F5-2	Mélange de produits en très faible quantité
	66-78	F5-3	Mélange séparable
	79-89	F5-4	Trainée
	89-98	F5-5	Mélanges des produits

- **Etude de la sous fraction F5-1**

La chromatographie sur couche mince de la sous fraction 5-1 montre un composé majoritaire sur des plaques préparatives de gel de silice éluées avec le système AcOEt/MeOH/H₂O (8/1/1) pour donner 11 mg du produit **P3** (11mg).

- **Etude de la sous fraction F5-3**

La sous fractions F5-3 a subi une séparation sur colonne de gel de silice, avec un système isocratique d'élution AcOEt/MeOH/H₂O (7/1.5/0.5). Deux fractions intéressantes ont été obtenues F5-3-5 et F5-3-6.

Par chromatographie sur colonne de gel de silice avec un système isocratique d'élution AcOEt/MeOH/H₂O (7/2/0.5), nous avons pu séparer deux produits purs **P4** (20 mg), **P5** (32 mg).

- **Etude de la sous fraction F5-5**

La sous fraction F5-5 a subi une séparation sur colonne de gel de silice, en utilisant le système isocratique : AcOEt/MeOH /H₂O (12 :1 :0.5) v/v. comme éluant pour obtenir 43 mg du composé **P6**.

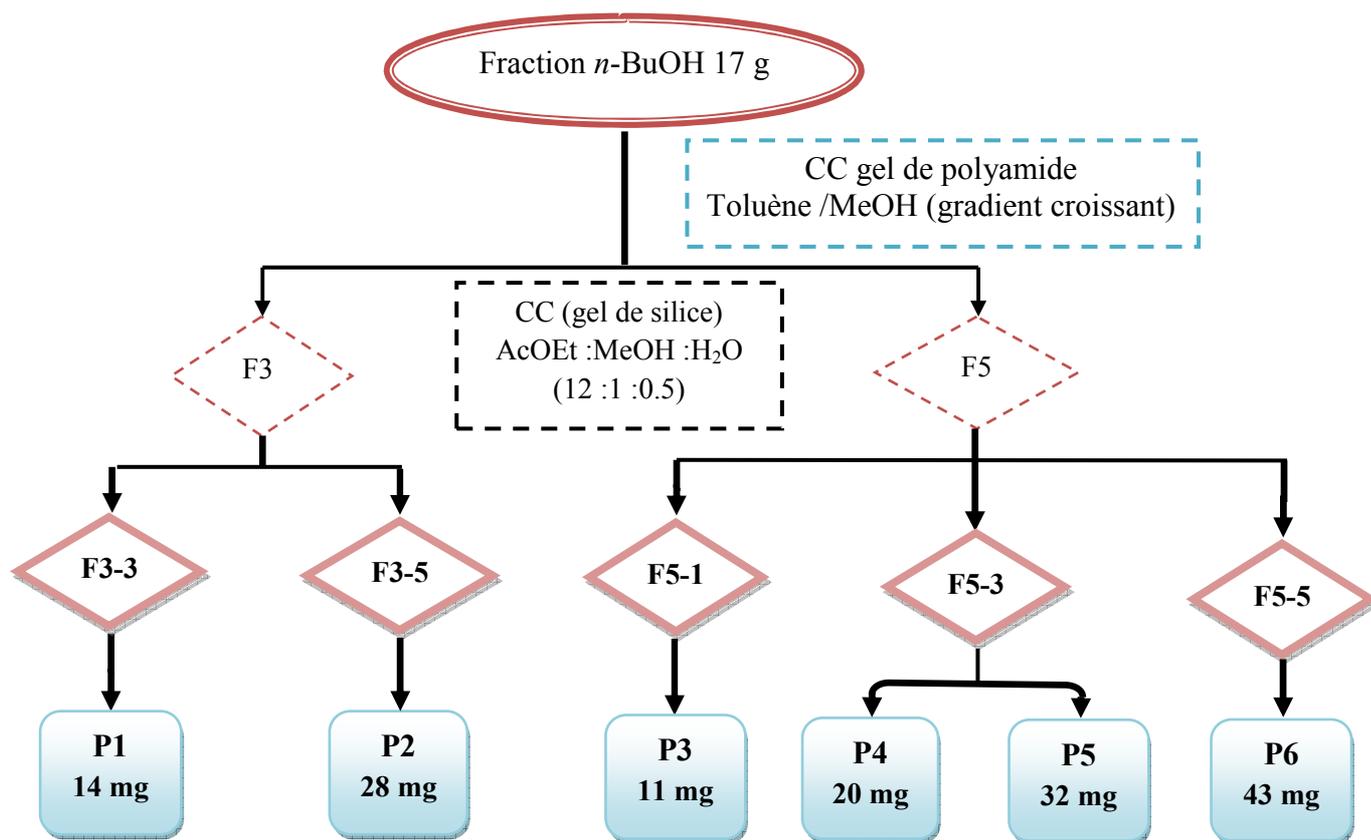


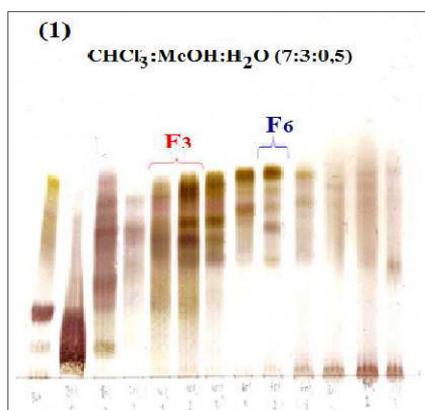
Figure 41. Fractionnement et isolement des métabolites secondaires de la fraction *n*-BuOH du *Ferula longipes* Coss.

II.4. Séparation et purification des composés de la fraction acétate d'éthyle

Une masse de 8g de la fraction acétate d'éthyle des parties aériennes de *Ferula longipes* Coss. est soumise à un fractionnement par une chromatographie liquide sous vide (VLC) en phase inverse C18 avec l'éluant H₂O/MeOH (60:40, 40:60, 30 :70, 20:80, 0:100). Des fractions de 250 ml (x3) sont réunies en fonction de leur profil en CCM en phase normale en utilisant le système CHCl₃ : MeOH : H₂O (7 :3 :0,5), examinées à la lumière UV et révélées à l'acide sulfurique à 50% puis chauffées à 100 °C. Cette étape s'est soldée par l'obtention de 8 fractions (tableau 31).

Tableau 31. VLC sur C18 de la fraction acétate d'éthyle des parties aériennes de *Ferula longipes* Coss.

Système d'élution		Les lots	Les fractions	La masse (mg)
H ₂ O %	MeOH %			
60	40	1	F1	338
		2	F2	302
		3		
40	60	1	F3	95
		2	F4	207
		3		
30	70	1	F5	650
		2	F6	280
		3		
20	80	1	F7	320
		2		
		3		
0	100	1	F8	30
		2		
		3		

**Figure 42.** Profils CCM sur gel de silice normale de la fraction acétate d'éthyle

. Etude des fractions obtenues

Le poids important et la simplicité des fractions F3 et F6 nous a permis d'étudier ces deux fractions jusqu'à la détermination structurale de principaux composés isolés.

II.4.1. Fractionnement de la fraction F6

La fraction F6 (280 mg) a été chromatographiée sur une colonne de gel de silice en phase normale, avec le système isocratique CHCl₃ :MeOH :H₂O (70 :30 :5). Des fractions de 25 ml ont été obtenues et regroupées selon leur profil en CCM en phase normale fournissant 13 sous fractions (tableau 32).

Tableau 32. Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de la fraction F6

Système d'élution	Les lots	Les fractions	La masse (mg)
CHCl ₃ : MeOH : H ₂ O (70 :30 :5)	1→21	f ₁	55.8
	22	f ₂	4
	23→28	f ₃	5
	29→32	f ₄	2.7
	33	f ₅	13
	34	f ₆	8
	35→ 36	f ₇	7.2
	37→ 40	f ₈	11
	41→ 45	f ₉	21.7
	46→ 49	f ₁₀	9
	50→ 54	f ₁₁	32
	55→ 58	f ₁₂	10
	59→ 63	f ₁₃	15

Les sous fractions f₁ et f₉ contiennent successivement les composés **P7** (21mg) et **P9** (10.2mg) à l'état pur.

11.4.2. Fractionnement de la fraction F3

La fraction F3 (320 mg) a été chromatographiée sur une colonne de gel de silice en phase normale, avec le système isocratique CHCl₃ :MeOH. (80 : 20). Des fractions de 25 ml ont été obtenues et regroupées selon leur profil en CCM en phase normale fournissant 8 sous fractions (tableau 33).

Tableau 33. Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de la fraction F3

Système d'élution	Les lots	Les fractions	La masse (mg)
CHCl ₃ : MeOH (80 : 20)	1→34	f ₁	20
	35→ 46	f ₂	41
	47→58	f ₃	25
	59→72	f ₄	22
	73	f ₅	13
	74	f ₆	18
	75→ 96	f ₇	7
	97→ 100	f ₈	21

Les sous fractions f3 et f6 ont été purifiées sur des plaques préparatives de gel de silice en phase normale éluées avec le système CHCl_3 : MeOH: H_2O (70:30:5) conduisant à l'obtention des composés **P10** (12mg) et **P11** (7mg) successivement à l'état pur.

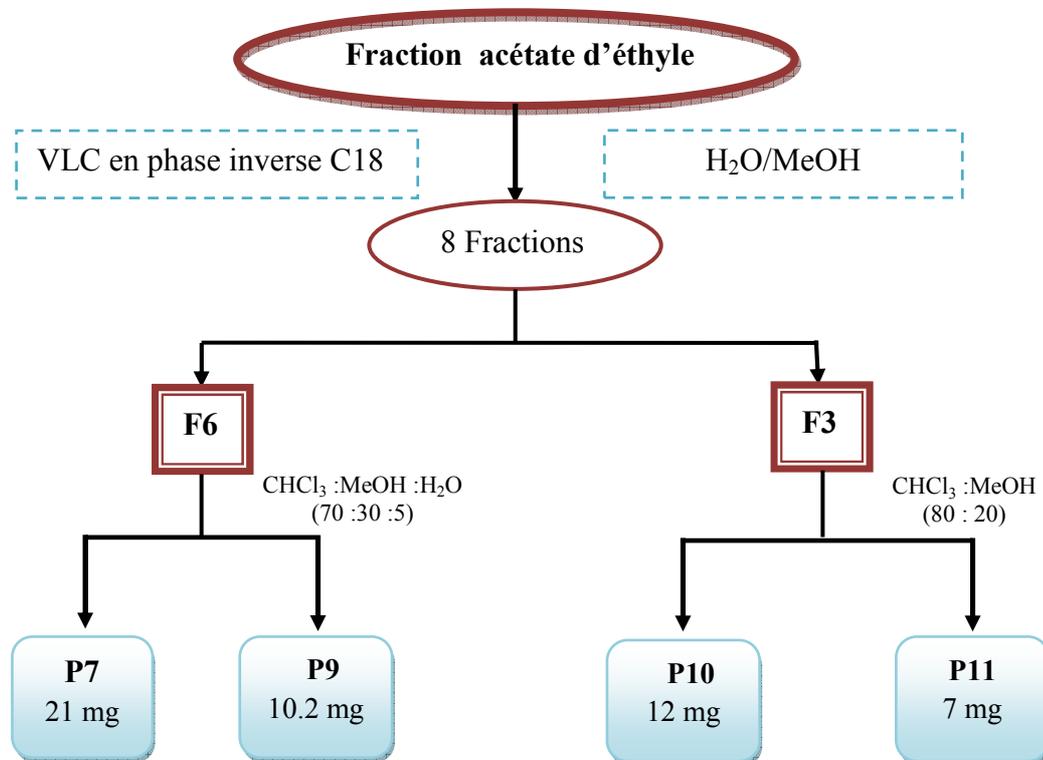


Figure 43. Schéma de séparation de la fraction acétate d'éthyle de *Ferula longipes* Coss.

Conclusion

Le fractionnement et l'isolement des métabolites secondaires des fractions *n*-butanol et acétate d'éthyle de l'espèce *Ferula longipes* Coss. nous a permis d'isoler 11 produits purs.

Chapitre II

Activités biologiques

I. Activité antioxydante

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

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

Comme il n'existe pas de mesure absolue de la capacité antioxydante d'un composé, les résultats sont souvent rapportés à un antioxydant de référence, comme l'acide ascorbique (vitamine C), α -tocophérol (vitamine E) et les antioxydants synthétiques BHT (butyl-hydroxy-toluène) et BHA (butylhydroxy anisole) (Molyneux, 2004).

L'indice relatif %RSA montre seulement la capacité de l'échantillon, à une concentration fixée, de réduire ou non les radicaux et dans beaucoup de cas, l'augmentation de la concentration de l'antioxydant amène l'augmentation de ces indices relatifs (Sanchez-Moreno et al., 1998).

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

L'activité antioxydante des extraits et des produits purs a été testée par la méthode : radical libre DPPH.

Le principe de cette méthode est de mesurer la capacité d'inhibition du radical stable 2,2-DiPhényl-1-Picryl-Hydrazyl ou DPPH (figure 44) selon la méthode de Blois (1958).

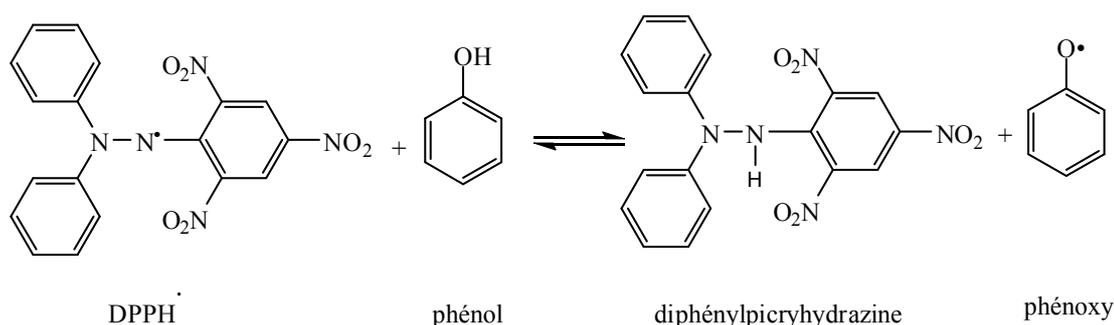


Figure 44. Inhibition du DPPH par un phénol

Le dosage spectrophotométrique a été effectué dans des microplaques de 96 puits. On utilise le radical stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) comme réactif, 40 μ l de différentes concentrations des extraits ont été ajoutés à 160 μ l de solution de 0.4 mM de DPPH

dans MeOH. Après une période d'incubation de 30 min à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance a été lue contre un blanc (MeOH) à 517 nm.

Les résultats ont été enregistrés en termes de pourcentage d'inhibition (I %) selon la réaction suivante :

$$I\% = (A_{\text{Blanc}} - A_{\text{Extrait}} / A_{\text{Blanc}}) \times 100$$

Où :

A_{Blanc} est l'absorbance de la solution contenant le DPPH seul.

A_{Extrait} est l'absorbance de la solution contenant l'extrait.

Les résultats sont la moyenne des analyses en *triplicata*, ils ont été enregistrés en moyenne \pm écart type. La concentration d'extrait (ou produit pur) fournissant 50% d'activité de piégeage des radicaux (IC_{50}) a été calculée à partir du graphique de DPPH.

Le BHA et BHT ont été utilisés comme des normes antioxydantes pour la comparaison de l'activité antioxydante de nos extraits et produits purs.

I.2. Essai de décoloration de radical cation ABTS^{•+}

L'analyse spectrophotométrique ABTS^{•+} a été déterminée selon la méthode de Re *et al.*, (1999). Le radical ABTS^{•+} a été produit par la réaction entre 7 mM d'ABTS dans H₂O et 2.45 mM de persulfate de potassium, le mélange a été stocké dans l'obscurité à température ambiante pendant 12h.

L'oxydation d'ABTS a commencé immédiatement mais l'absorbance n'était pas stable avant 6h de temps.

Avant l'utilisation du radical ABTS^{•+}, la solution a été diluée par l'éthanol jusqu'à l'obtention d'une absorbance de 0.708 ± 0.025 à 734 nm. Ensuite, 180 μ l de la solution d'ABTS^{•+} ont été ajoutés à 20 μ l de la solution de l'extrait dans l'éthanol à différentes concentrations.

Après 10 min, l'absorbance a été mesurée à 734 nm, en utilisant un lecteur de microplaques de 96 puits. Les pourcentages d'inhibition ont été calculés pour chaque concentration par rapport à l'absorbance du blanc (EtOH). La capacité de piégeage de l'ABTS^{•+} a été calculée et le calcul est similaire à celui effectué pour le DPPH.

Le BHA et le BHT ont été utilisés comme des normes antioxydantes pour la comparaison de l'activité de nos extraits et produits purs.

I.3. La réduction cuprique (CUPRAC)

L'activité antioxydante par réduction cuprique des extraits et des produits purs a été déterminée par la méthode CUPRAC (Apak et *al.*, 2004). Pour chaque unité d'une plaque de 96 unités des solutions ont été ajoutées: 50 µl de Cu(II) (10 mM), 50 µl de neocuproïne (7.5 mM), 60 µl de tampon NH₄Ac (1 M, pH = 7), et 40 µl de l'extrait à différentes concentrations.

Après une heure du temps et à l'aide d'un lecteur de microplaques, l'absorbance a été enregistrée contre un blanc à 450 nm.

Le BHA et le BHT ont été utilisés comme des références antioxydantes pour la comparaison de l'activité de nos extraits et produits purs.

II. Activité anticholinestérase

Les activités inhibitrices de l'acétylcholinestérase (AChE) et la butyrylcholinestérase (BChE) ont été mesurées selon la méthode spectrophotométrique d'Ellman et *al.* (1961).

Les enzymes AChE de l'anguille électrique et BChE de sérum de cheval ont été utilisés, tandis que l'iodure d'acétylthiocholine et le chlorure butyrylthiocholine ont été utilisés comme substrats de la réaction (AChE et BChE respectivement) avec l'acide 5,5'-dithio-bis 2-nitrobenzoïque (DTNB), pour la mesure de l'activité anticholinestérase.

Brièvement, pour mesurer l'activité inhibitrice AChE, un mélange de: 130 µl du tampon de phosphate de sodium (100 mM, pH = 8), 10 µl de l'extrait à différentes concentrations, et 20 µl de l'enzyme AChE (5.32×10^{-3} U), ont été incubés pendant 15 min à 25°C, puis 20 µl de DTNB (0.5 mM) ont été ajoutés. La réaction est ensuite initiée par l'addition de 20 µl d'iodure d'acétylthiocholine (0.71 mM).

L'analyse de l'activité inhibitrice BChE a été déterminée en suivant les mêmes étapes de celles de l'AChE, mais on utilise l'enzyme BChE (6.85×10^{-3} U) et le substrat chlorure butyrylthiocholine avec une concentration de 0.2 mM.

L'hydrolyse de ces substrats a été surveillée par spectrophotométrie de la coloration jaune de 5-thio-2-nitrobenzoate formé par la réaction de DTNB avec la thiocholine, libérée par l'hydrolyse enzymatique de l'iodure d'acétylthiocholine ou de chlorure de butyrylthiocholine.

L'absorbance a été mesurée à l'aide d'un lecteur de microplaque à une longueur d'onde de 412 nm.

Le pourcentage d'inhibition des enzymes AChE ou BChE a été déterminé par comparaison de la réaction de l'échantillon comportant l'extrait par rapport au contrôle négatif (blanc) (c-à-dire EtOH dans du tampon phosphate pH = 8) à l'aide de la formule suivante:

$$I (\%) = (E - S)/E \times 100$$

E : l'activité de l'enzyme sans extrait

S : l'activité de l'enzyme en présence de l'extrait

Les expériences ont été réalisées en *triplicata*, et la Tacrine a été utilisée comme composé de référence.

III. La cytotoxicité

Les lignées cellulaires cancéreuses utilisées pour évaluer l'activité antiproliférative sont des cellules cancéreuses adhérentes humaines : HT1080 (des cellules fibrosarcomas).

Les cellules fibrosarcomas (HT1080) sontensemencées dans une boîte de culture de 25 cm², et après 24 à 48 h d'incubation, les tapis cellulaires alors confluents sont soumis à l'action de la trypsine pour individualiser les cellules. Deux plaques de 96 puits, pour les deux temps d'incubation qui seront testés (24 h et 48 h), sontensemencées à 104 cellules/puits, chaque puits recevant 100 µl de suspension cellulaire. Les plaques sont ensuite remises à l'étuve pendant 24 heures afin de permettre aux cellules d'adhérer au fond des puits. Pour chaque plaque, une série de puits est remplie uniquement de milieu de culture afin de servir de négatif.

Une solution mère est préparée dans le DMSO puis diluée dans du milieu de culture pour obtenir différentes concentrations (20-140 µg/ml). Après 24 h de prolifération, le surnageant est retiré et les cellules en phase exponentielle de croissance sont traitées soit par 100 µl des concentrations croissantes de la fraction à tester ou par 100 µl du DMSO.

La solution de produits à tester ne représente pas plus de 1% du volume final du milieu dans chacun des puits, car le DMSO a une action cytotoxique trop importante sur les cellules à des concentrations supérieures. Chacune des plaques contient des puits dans lesquels le mélange milieu de culture/échantillon a été remplacé par un mélange milieu de culture/solvant afin de servir de témoin positif. Pour chaque temps étudié, 10 µl de la solution MTT (Sigma) (5 mg/ml, en tampon PBS) sont ajoutés dans chaque puits analysé. Après 4 h d'incubation à 37°C en atmosphère humide, 100 µl d'une solution de lyse (SDS : 10% ; HCl :

0,01 N) sont ajoutés par puits de la plaque d'analyse, afin de solubiliser les cristaux de colorant formé, de lyser les cellules et d'éliminer les interférences potentielles que pourraient occasionner la présence de ces cellules dans le milieu lors de la lecture des résultats. A l'issue de ces 4 h, les mesures spectrophotométriques sont effectuées sur un lecteur de plaques ELISA à la longueur d'onde de 540 nm.

PARTIE 3

Résultats et discussion

Chapitre I

*Identification des produits isolés d'*Athamanta sicula* L.*

I. Elucidation structurale des composés isolés

La détermination structurales des produits isolés a été basé sur l'analyse des spectres de résonance magnétique nucléaire (RMN) monodimensionnelle ^1H et ^{13}C , bidimensionnelle homonucléaire ^1H - ^1H COSY et hétéronucléaires ^1H - ^{13}C HSQC, ^1H - ^{13}C HMBC ainsi que sur la comparaison avec les données de la littérature, l'expérience de la spectrophotométrie d'absorption ultraviolette a été nécessaire.

I.1. Le produit A1

Ce produit a été isolé sous-forme de cristaux (aiguilles blanches).

- ✓ Rf : 0.6 dans le système éther de pétrole/Acétate d'éthyle (8 : 2).
- ✓ Composé invisible à l'UV et donne une Coloration violette après révélation avec l'anisaldéhyde + chauffage pendant 3 mn.

L'étude du spectre RMN ^1H dans CDCl_3 (figure 45) et son étalement (figure 46) montre la présence des signaux caractéristiques d'un squelette de type triterpénoïde (stéroïde):

- ✓ Deux singulets d'intégration 3H chacun à $\delta_{\text{H}} = 1.05$ et 1.28 ppm, attribuables aux protons des méthyles CH_3 -18 et CH_3 -19 respectivement.
- ✓ Trois doublets à $\delta_{\text{H}} = 0.95$ ppm ($J = 6.5$ Hz), $\delta_{\text{H}} = 0.82$ ppm ($J = 6.5$ Hz) et $\delta_{\text{H}} = 0.71$ ppm ($J = 6.5$ Hz) correspondent respectivement aux protons des méthyles CH_3 -21, CH_3 -27 et CH_3 -26.
- ✓ Un doublet large à $\delta_{\text{H}} = 5.38$ ppm ($J = 5.3$ Hz) correspond à un proton oléfinique le H-6.
- ✓ Un multiplet à $\delta_{\text{H}} = 3.55$ ppm attribuable à un proton d'un carbone oxygéné, c'est le H-3.
- ✓ On remarque la présence de deux protons vinylique sous-forme de doublet dédoublé, le premier à $\delta_{\text{H}} = 5.05$ ppm ($J = 15.2, 8.8$ Hz) et le deuxième à $\delta_{\text{H}} = 5.18$ ppm ($J = 15.1, 8.7$ Hz). Les constantes de couplage indiquent une configuration *trans* de la double liaison entre les carbones C-22 et C-23.
- ✓ Un triplet correspondant à CH_3 -29 à 0.85 ppm.

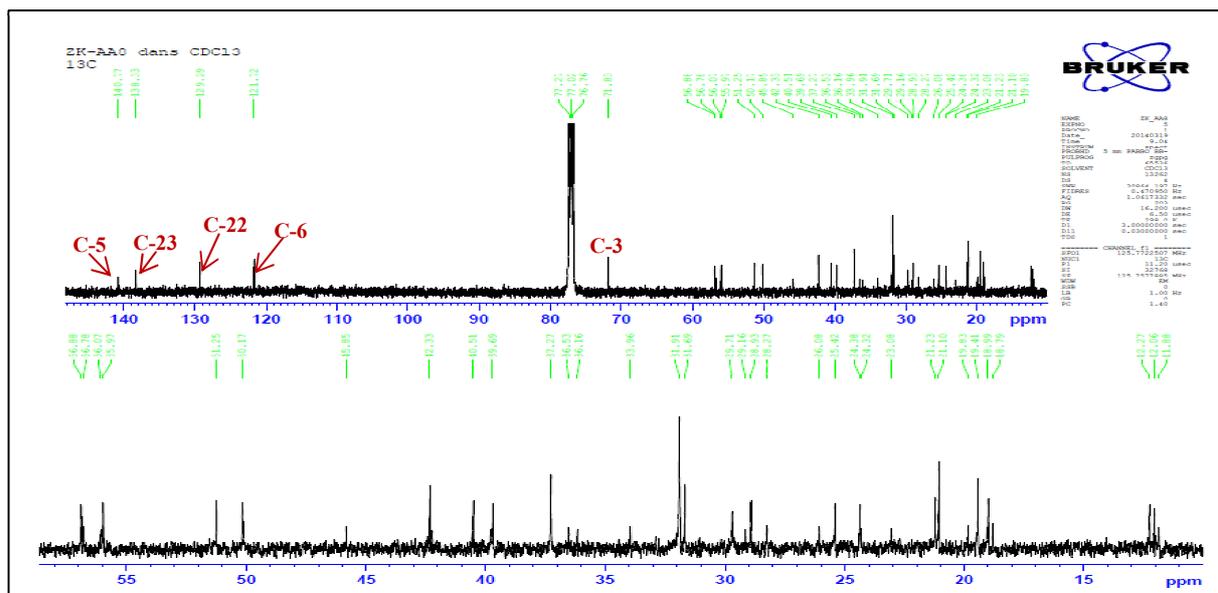


Figure 47. Spectre RMN ^{13}C du composé A1 (CDCl_3 , 125 MHz)

L'analyse du spectre relatif à l'expérience HSQC (figure 48) permet l'attribution des signaux des protons aux atomes de carbone correspondants.

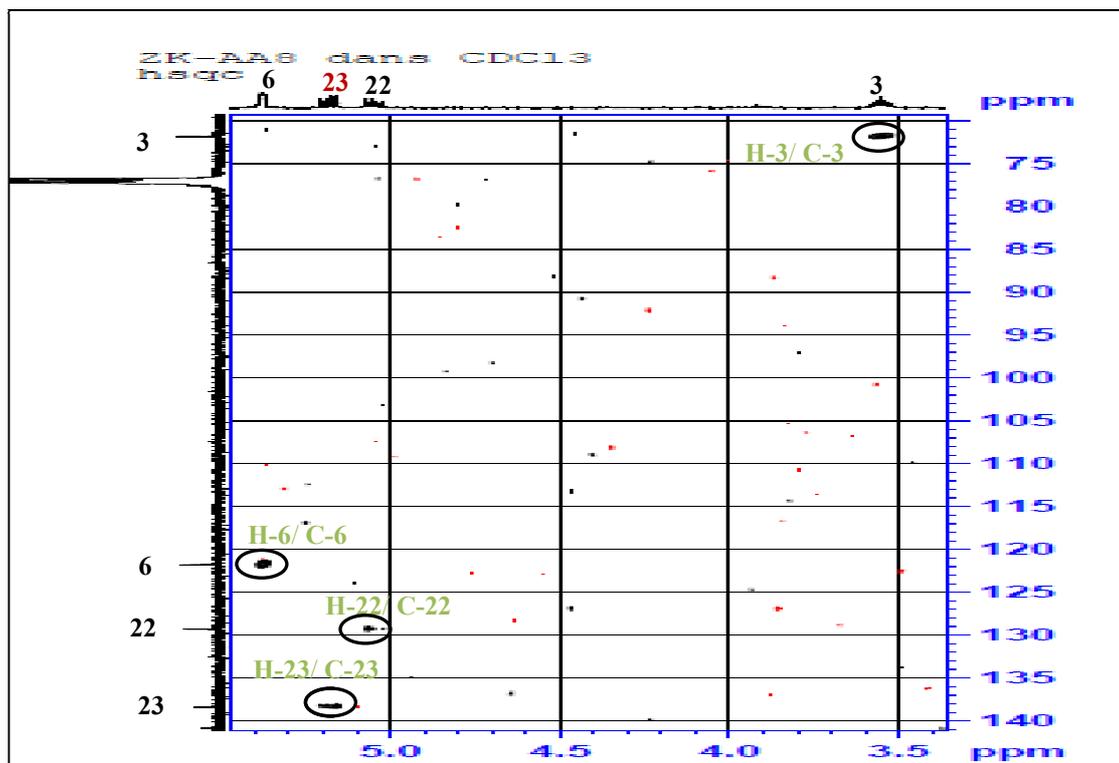


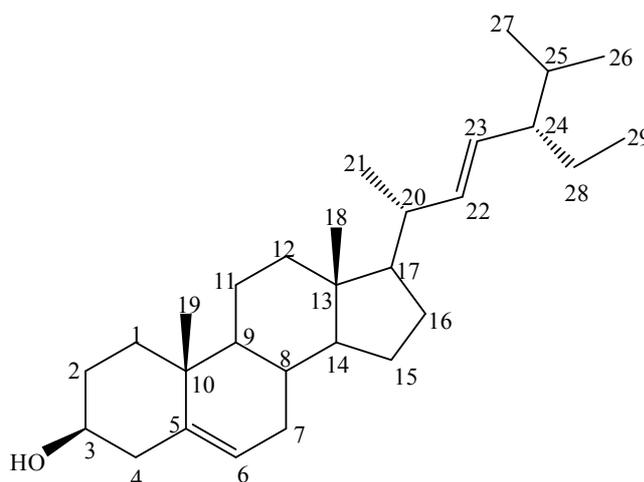
Figure 48. Spectre HSQC du composé A1 (CDCl_3 , 500 MHz)

Les déplacements chimiques des signaux observés en RMN du ^1H et du ^{13}C sont dressés dans le tableau 34.

Tableau 34. Déplacements chimiques en RMN ^1H (500 MHz) et RMN ^{13}C (125 MHz) du composé **A1** dans CDCl_3

N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)	N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)
1	31.9	-	16	19.0	-
2	34.0	-	17	51.2	-
3	71.8	3.55, m	18	19.8	1.05, s
4	40.5	-	19	21.1	1.28, s
5	140.8	-	20	36.2	-
6	121.7	5.38, d (5.3)	21	18.8	0.95, d (6.5)
7	31.7	-	22	129.3	5.05, dd (15.2, 8.8)
8	28.9	-	23	138.3	5.18, dd (15.1, 8.7)
9	42.3	-	24	50.2	-
10	37.3	-	25	28.3	-
11	19.4	-	26	11.9	0.71, d (6.5)
12	29.7	-	27	12.1	0.82, d (6.5)
13	39.7	-	28	25.4	-
14	45.8	-	29	12.3	0.85, s
15	21.2	-			

Ces données spectrales sont en accord avec celles rapportées dans la littérature pour le stigmastérol commun à toutes les plantes (Rowshanul *et al.*, 2007).



Stigmastérol (**A1**)

I.2. Le produit A2

Le composé **A2** se présente sous forme d'une huile incolore, soluble dans le chloroforme.

L'analyse du spectre RMN ^1H du composé **A2** (figure 49) et l'étalement du spectre (figure 50) montre des signaux correspondants à des protons éthyléniques, aromatiques et des protons de méthylènes oxygénés :

- ✓ Deux doublets d'intégration 1H chacun, le premier à $\delta_{\text{H}} = 6.57$ ppm ($J = 1.2$ Hz) et le second à $\delta_{\text{H}} = 6.65$ ppm ($J = 1.2$ Hz) respectivement indiquant un couplage *meta* de protons aromatiques attribués H-2 et H-6.
- ✓ Un doublet de multiplet d'intégration 1H à $\delta_{\text{H}} = 6.53$ ppm ($J = 15.7$ Hz) attribuable à H-7.
- ✓ Un doublet de triplet résonne à $\delta_{\text{H}} = 6.25$ ppm ($J = 15.7, 5.8$ Hz) attribuable à H-8.
- ✓ Un singulet d'intégration 2H à $\delta_{\text{H}} = 5.99$ ppm attribuable au groupement O-CH₂-O.
- ✓ Un doublet de doublet résonne à $\delta_{\text{H}} = 4.33$ ppm ($J = 5.8, 1.3$ Hz) attribuable à H-9.
- ✓ Un singulet d'intégration 3H à $\delta_{\text{H}} = 3.93$ ppm attribuable aux protons d'un groupement méthoxy.

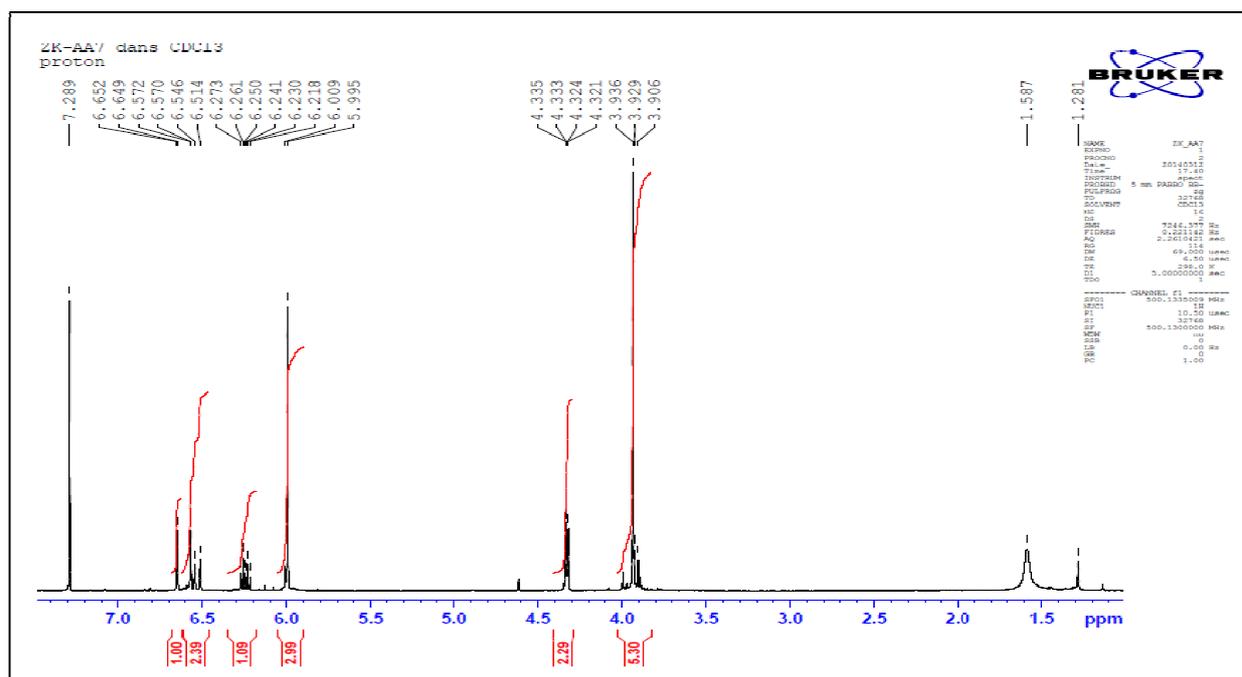


Figure 49. Spectre RMN ^1H du composé **A2** (CDCl_3 , 500 MHz)

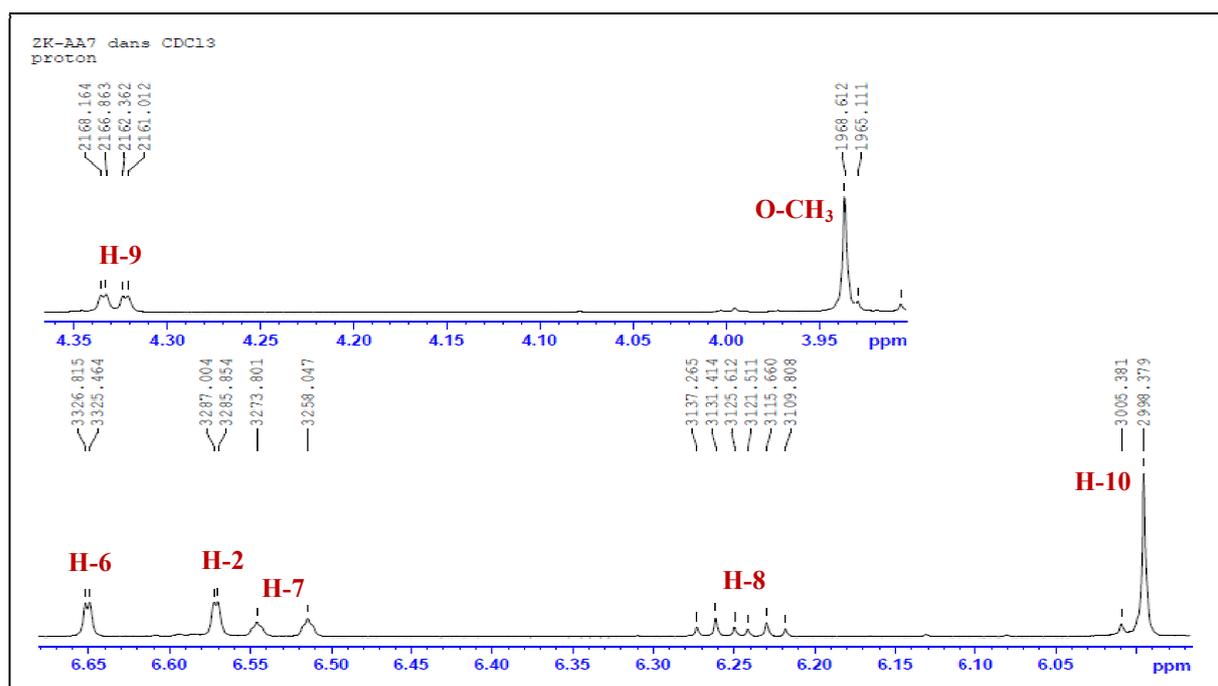


Figure 50. Spectre RMN ^1H étalé du composé **A2** (CDCl_3 , 500 MHz)

Le spectre RMN ^{13}C et les séquences DEPT (figure 51) permettent de recenser : un groupement CH_3 , quatre groupements CH , deux groupements CH_2 et quatre groupements C . Ce qui fait en tout 11 carbones. L'attribution des carbones du produit **A2** est effectuée à l'aide du spectre HSQC (figure 52).

L'analyse du spectre RMN ^{13}C montre la présence d'un carbone tertiaire à 56.6 ppm qui a été attribué au groupement méthyle porté par le carbone C-3.

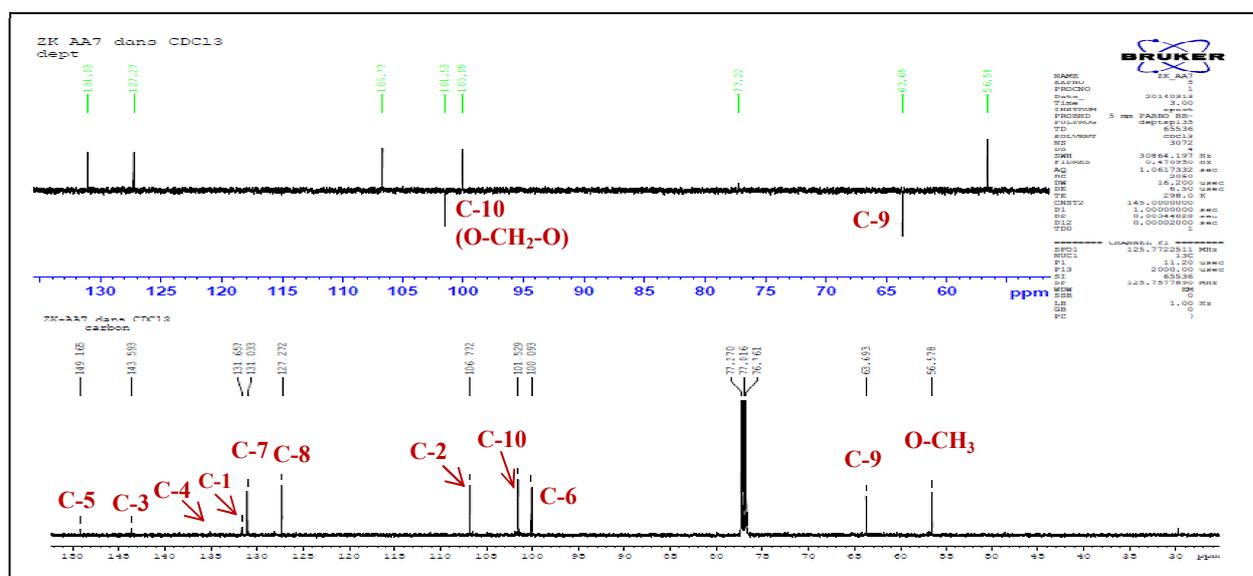


Figure 51. Spectres RMN ^{13}C DEPT du composé **A2** (CDCl_3 , 125 MHz)

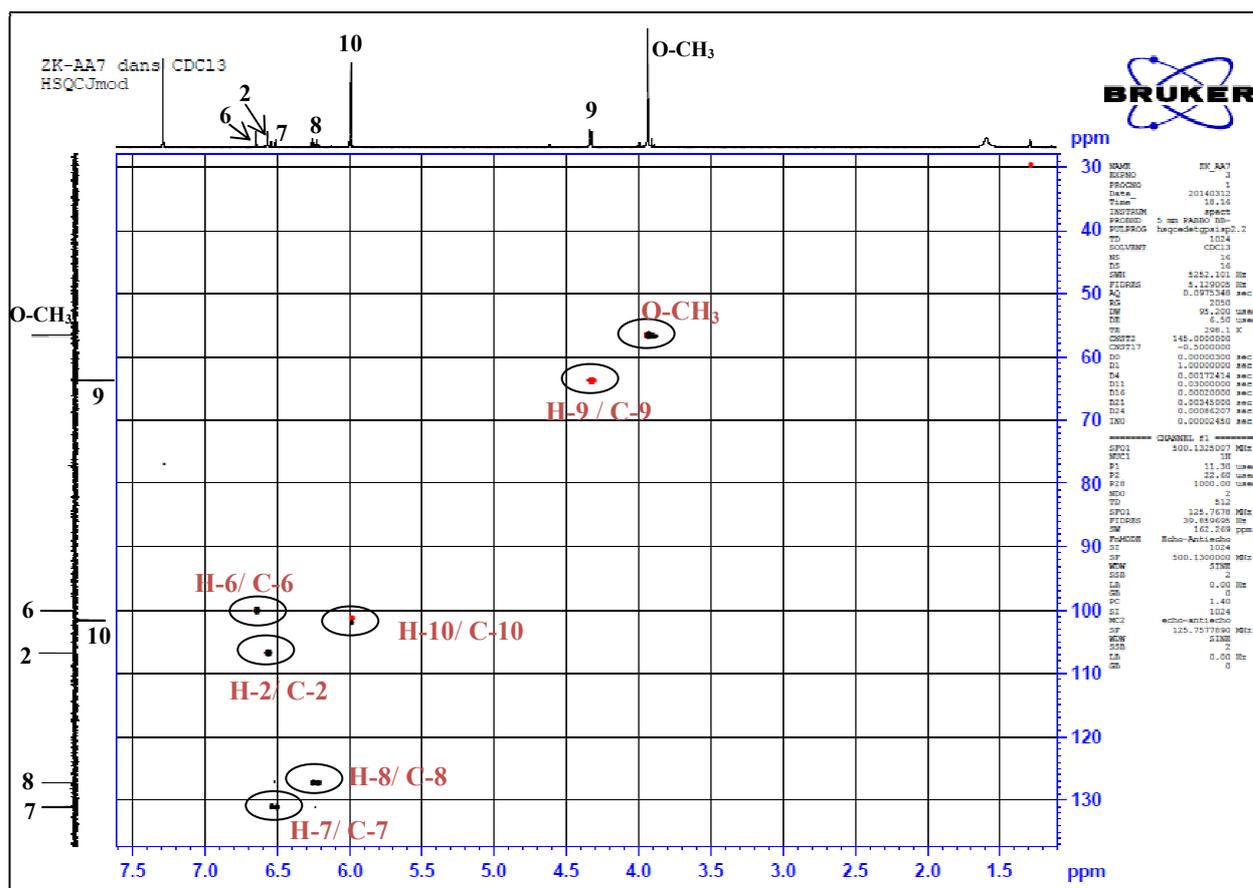


Figure 52. Spectre HSQC du composé A2 (CDCl₃, 500 MHz)

L'analyse du spectre HMBC (figure 53) du composé A2 montre :

- Une corrélation du proton H-9 avec les carbones C-7 et C-8.
- Une corrélation du méthoxy (O-CH₃) avec le carbone C-3 ce qui confirme sa position qui est porté par le carbone C-3.
- Le proton H-10 corrèle avec les deux carbones C-4 et C-5.
- Le proton H-8 corrèle avec les carbones C1- et C-9.
- Le proton H-7 corrèle avec les carbones C-9, C-6 et C-2.

Ces corrélations confirment les positions des substituants sur le noyau aromatique tetrasubstitué.

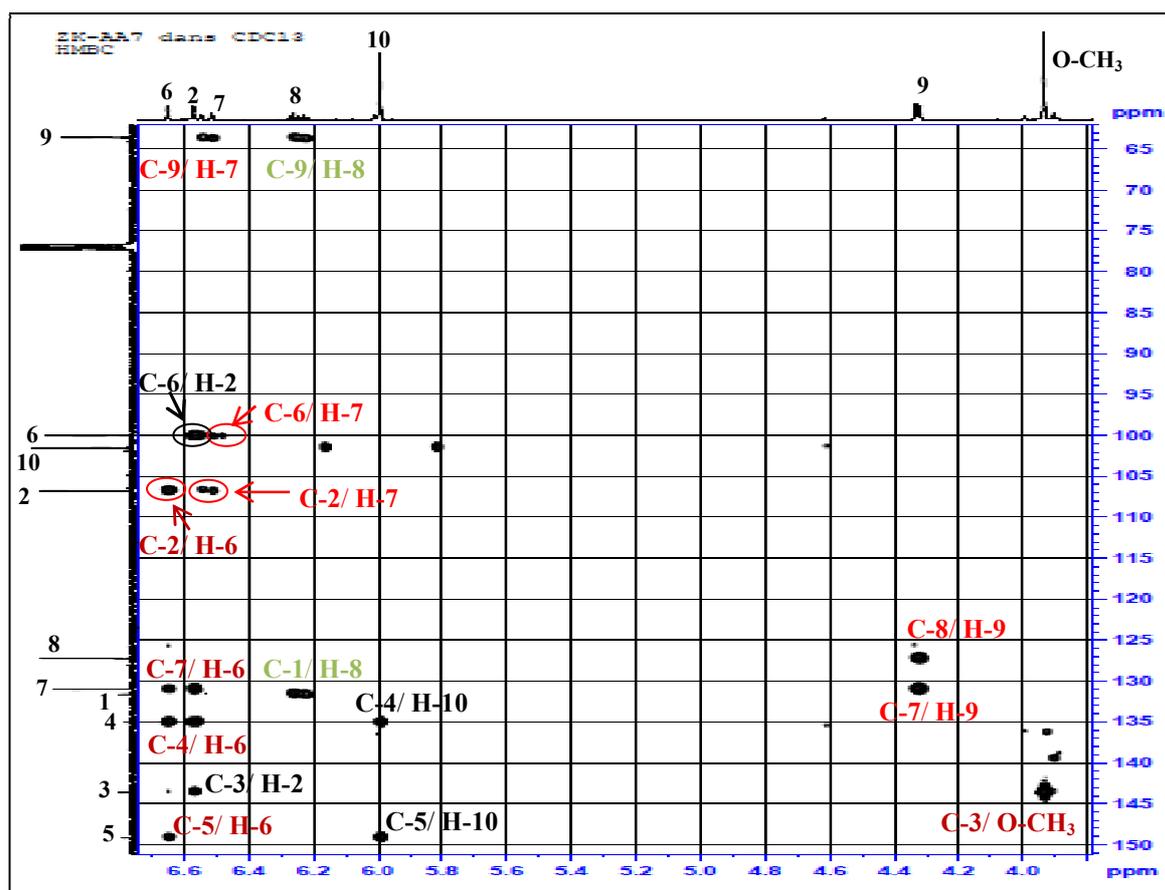


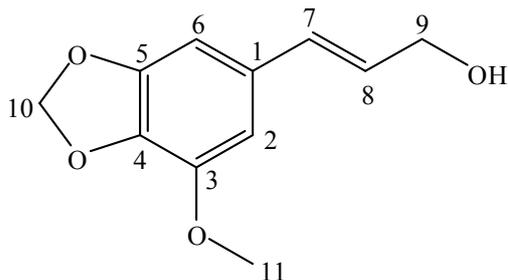
Figure 53. Spectre HMBC du composé A2 (CDCl₃, 500 MHz)

Les déplacements chimiques des signaux observés en RMN du ¹H et du ¹³C et leurs attributions aux protons et carbones correspondants sont dressés dans le tableau 35.

Tableau 35. Déplacements chimiques en RMN ¹H (500 MHz) et RMN ¹³C (125 MHz) du composé A2 dans CDCl₃

N ^o	δ _C	δ _H (m, J Hz)
1	131.6	-
2	106.8	6.57, d (1.2)
3	143.6	-
4	135.0	-
5	149.2	-
6	100.1	6.65, d (1.2)
7	131.0	6.53, d (15.7)
8	127.3	6.25, dt (15.7, 5.8)
9	63.7	4.33, dd (5.8, 1.3)
10	101.5	5.99, s
O-CH ₃	56.6	3.93, s

Toutes ces données concorde avec la structure de l'anthriscinol (Ryuji et al., 1998).

Anthriscinol (**A2**)

I.3. Le produit **A3**

Le composé **A3** se présente sous forme d'une huile incolore, soluble dans le chloroforme.

Les spectres RMN ¹H et ¹³C *J*-modulé de ce produit sont proches de ceux du composé **A2**.

On effet l'analyse du spectre RMN ¹H (figure 54) et son étalement (figure 55) montre :

- ✓ Deux doublets d'intégration 1H chacun, le premier à $\delta_H = 6.37$ ppm ($J = 1.2$ Hz) et le second à $\delta_H = 6.41$ ppm ($J = 1.2$ Hz) sont assignés aux protons H-2 et H-6.
- ✓ Un singulet d'intégration 2H à $\delta_H = 5.96$ ppm attribuable au groupement O-CH₂-O.
- ✓ Un doublet de doublet de triplet résonne à $\delta_H = 5.95$ ppm ($J = 17.2, 10.1, 6.8$ Hz) attribuable à H-8.
- ✓ Deux doublets de doublet, le premier résonne à $\delta_H = 5.11$ ppm ($J = 15.2, 1.6$ Hz) et le second à $\delta_H = 5.09$ ppm ($J = 8.2, 1.6$ Hz) attribuables à H-9b et H-9a.
- ✓ Un singulet d'intégration 3H à $\delta_H = 3.91$ ppm attribuable aux protons d'un groupement méthoxy.
- ✓ Un doublet large d'intégration 2H à $\delta_H = 3.32$ ppm ($J = 6.7$ Hz) attribuable à H-7.

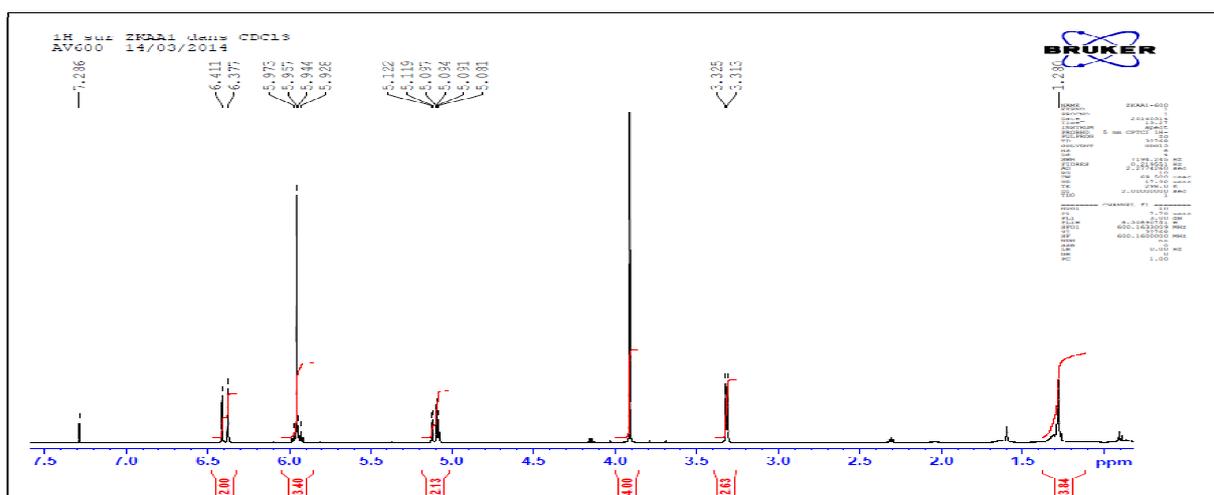


Figure 54. Spectre RMN ¹H du composé **A3** (CDCl₃, 600 MHz)

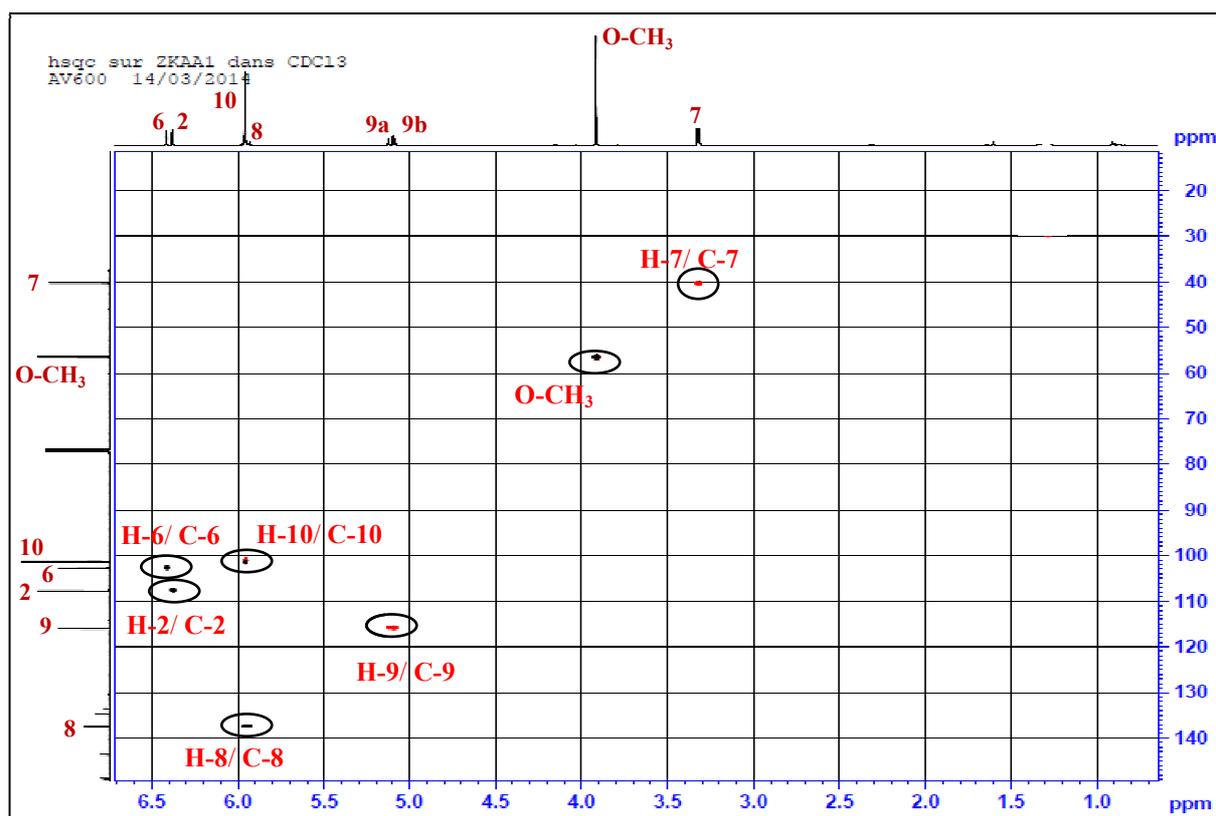


Figure 57. Spectre HSQC du composé A3 (CDCl₃, 600 MHz)

L'analyse du spectre HMBC (figure 58) confirme les informations précédentes.

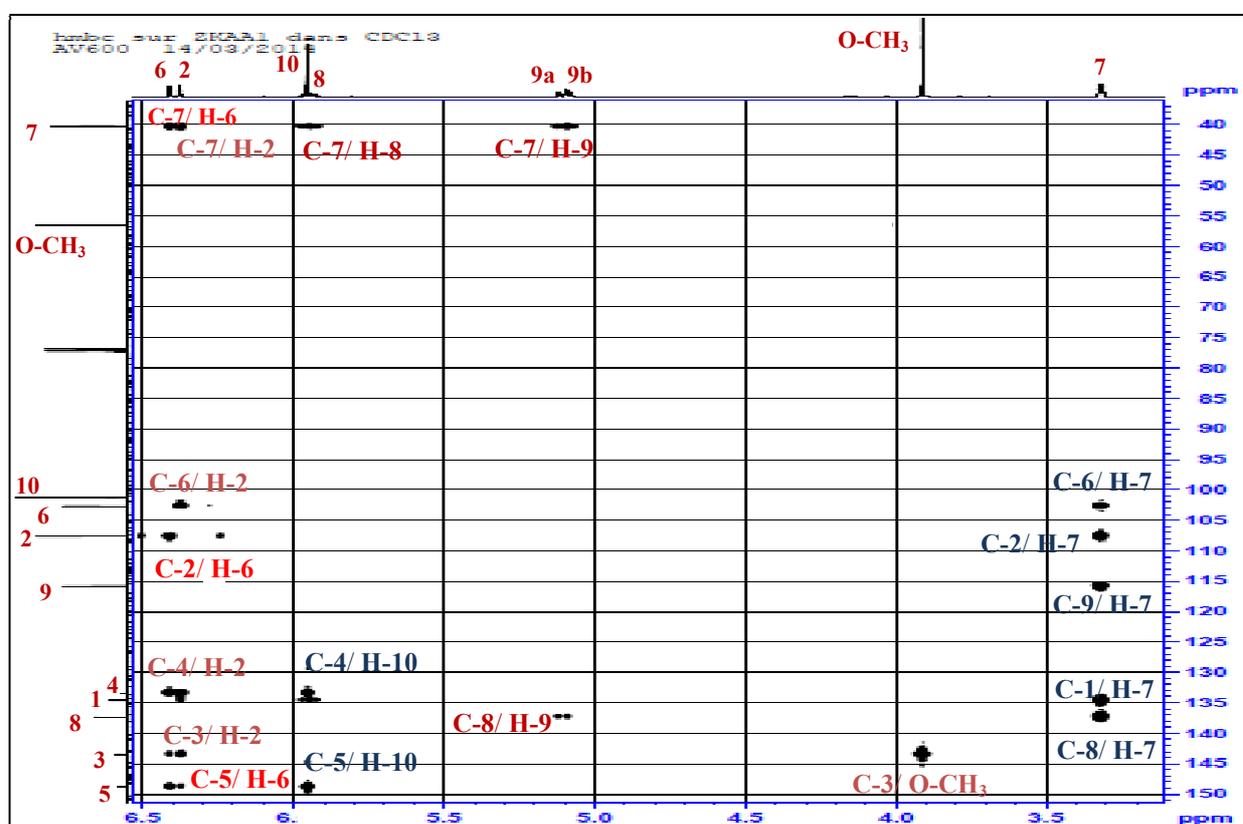


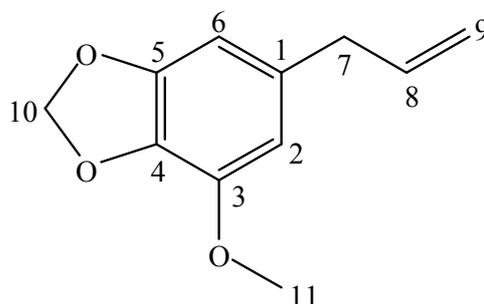
Figure 58. Spectre HMBC du composé A3 (CDCl₃, 600 MHz)

Les déplacements chimiques des signaux observés en RMN du ^1H et du ^{13}C sont rassemblés dans le tableau 36.

Tableau 36. Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé **A3** dans CDCl_3

N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)
1	134.6	-
2	107.6	6.37, d (1.2)
3	143.5	-
4	133.5	-
5	148.8	-
6	102.7	6.41, d (1.2)
7	40.2	3.32, d (6.7)
8	137.4	5.95, ddt (17.2, 10.1, 6.8)
9	115.9	9a : 5.09, dd (8.2, 1.6) 9b : 5.09, dd (15.2, 1.6)
O-CH ₂ -O	101.2	5.96, s
O-CH ₃	56.5	3.91, s

L'ensemble des données nous a permis d'établir la structure du composé **A3** comme étant : myristicine (Diaz et *al.*, 1984).

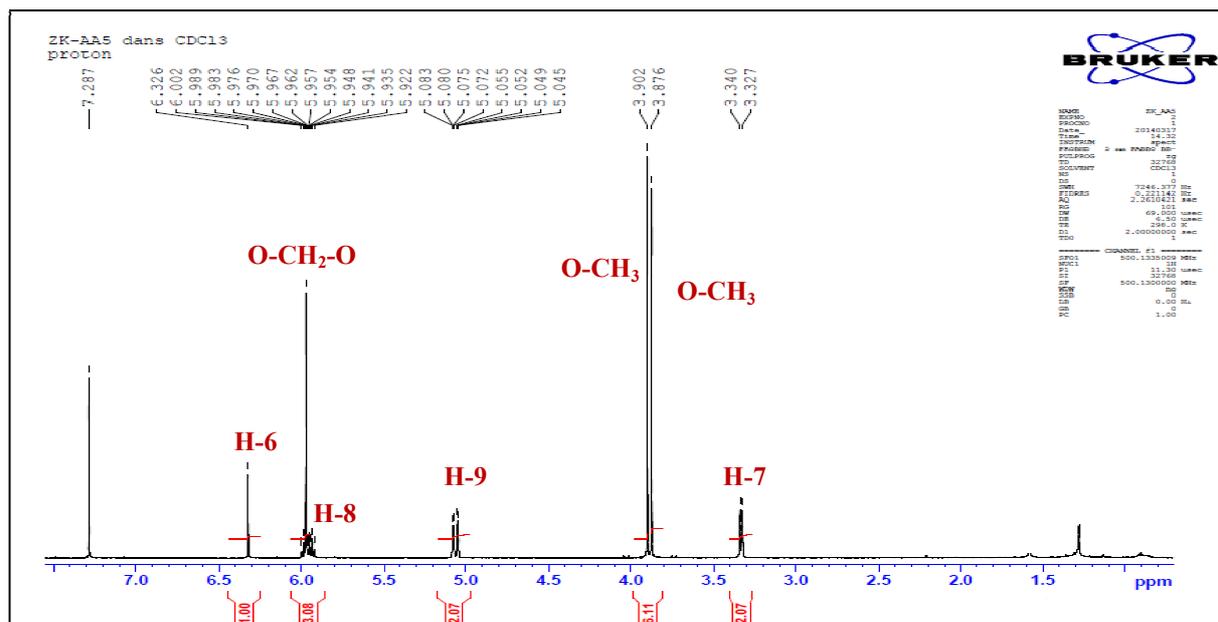
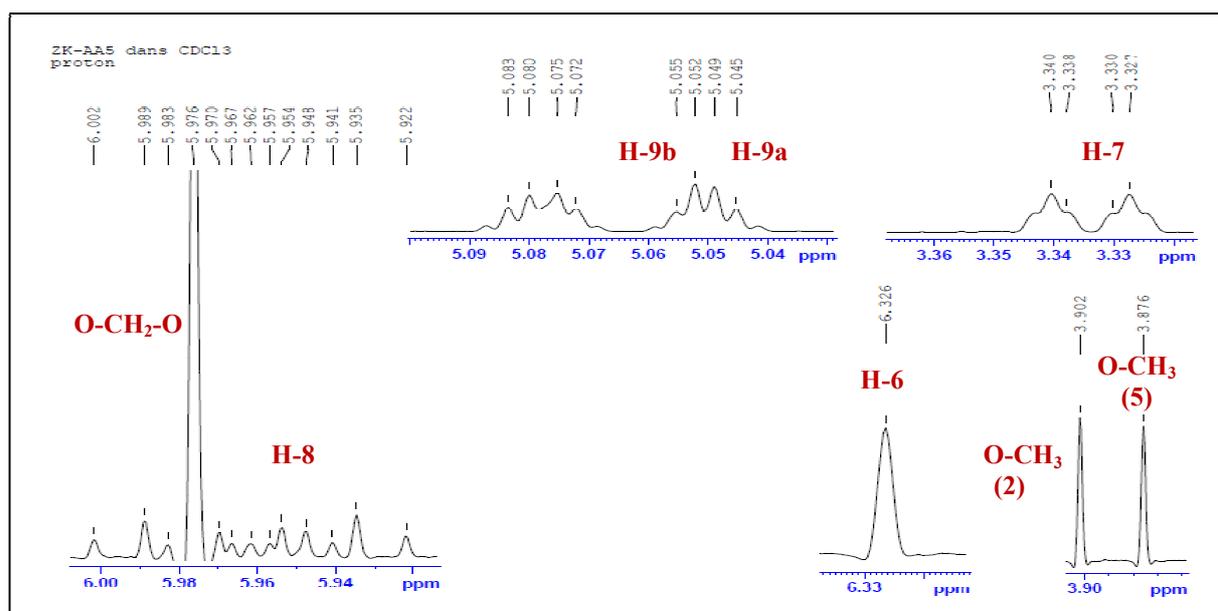


Myristicine (**A3**)

I.4. Le produit A4

Pour l'identification du composé **A4**, les spectres RMN ^1H (figure 59), son étalement (figure 60) et ^{13}C (figure 61) ont été comparés à ceux du produit **A3** qui sont très proches, ces spectres montrent les mêmes signaux caractéristiques du produit **A3** cependant l'apparition d'un pic d'intégration 3H à $\delta_{\text{H}} = 3.90$ ppm sous forme d'un singulet et un signal à $\delta_{\text{C}} = 60.2$ ppm sur le spectre ^{13}C avec l'absence du doublet du proton H-2 indique la présence d'un méthoxy porté par le carbone C-2.

Le méthoxy porté par le carbone C-2 est plus déblindé que le second méthoxy donc ce dernier qui apparaît à $\delta_{\text{H}} = 3.88$ ppm est porté par le carbone C-5.

Figure 59. Spectre RMN ¹H du composé A4 (CDCl₃, 500 MHz)Figure 60. Spectre RMN ¹H étalé du composé A4 (CDCl₃, 500 MHz)

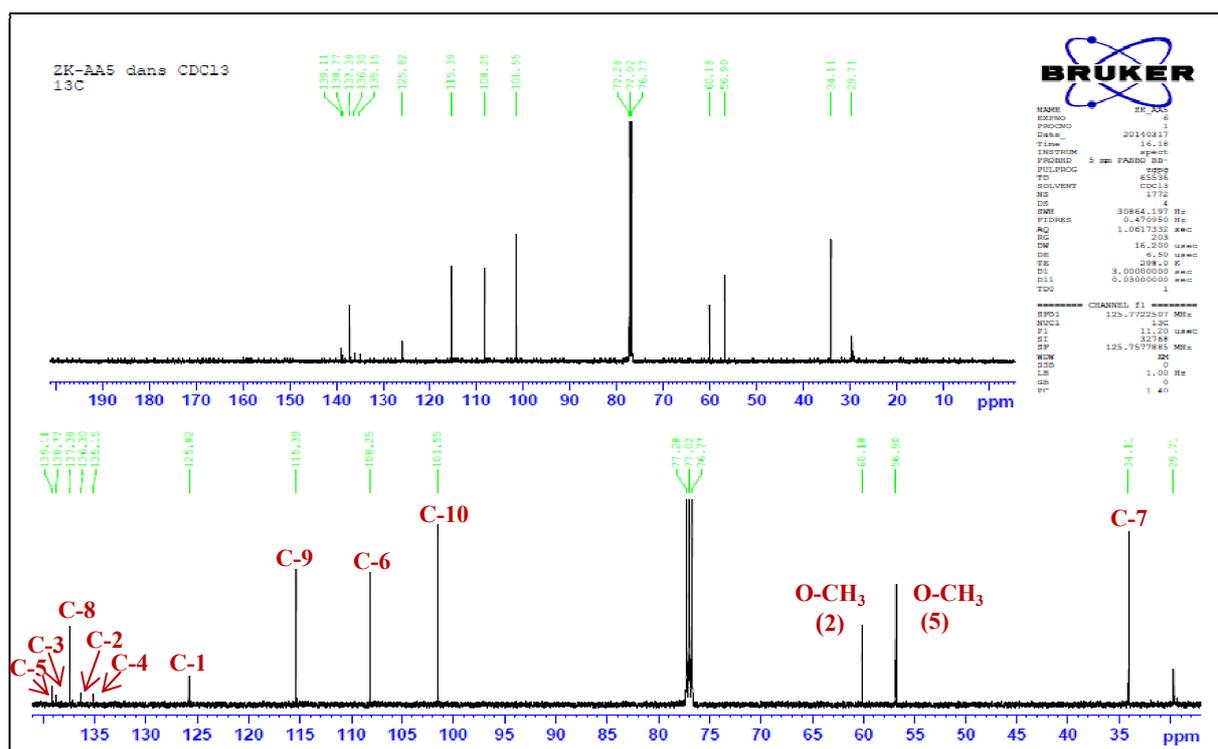


Figure 61. Spectre RMN ¹³C du composé A4 (CDCl₃, 125 MHz)

Le spectre HSQC (figure 62) a permis de corréler les protons aux carbones correspondants.

L'analyse du spectre HMBC (figure 63) montre que le méthoxy le plus déblindé apparaissant à $\delta_H = 3.91$ ppm corréle avec le carbone C-2 celui-ci corréle également avec les protons H-6 et H-7. Cependant le carbone C-5 est corréle au 2^{ème} méthoxy O-CH₃ à $\delta_H = 3.87$ ppm et au singulet à $\delta_H = 5.98$ ppm.

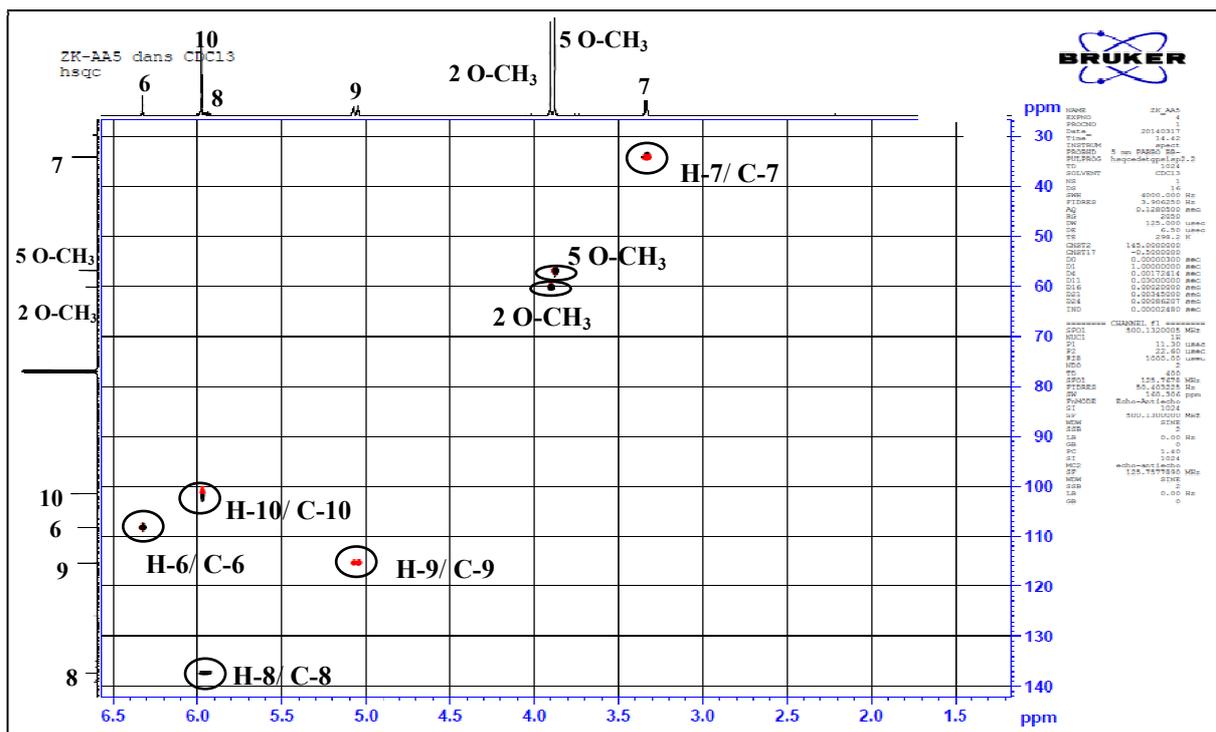


Figure 62. Spectre HSQC du composé A4 (CDCl₃, 500 MHz)

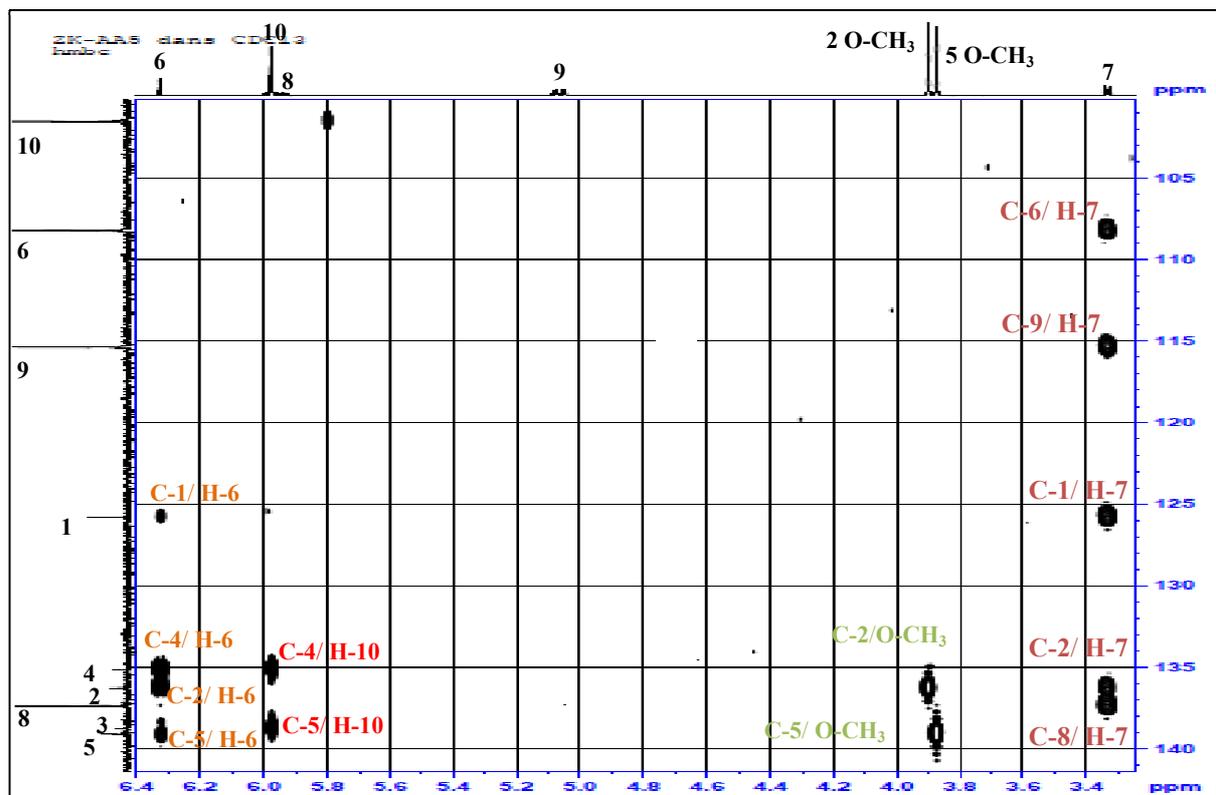


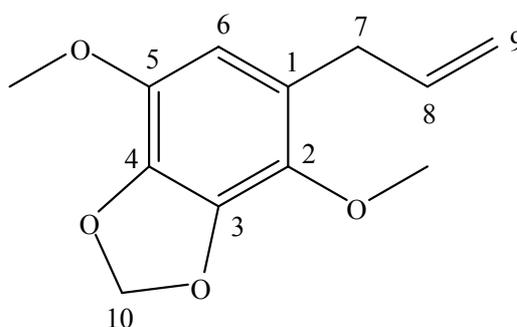
Figure 63. Spectre HMBC du composé A4 (CDCl₃, 500 MHz)

Les déplacements chimiques des signaux observés en RMN du ^1H et du ^{13}C sont rassemblés dans le tableau 37.

Tableau 37. Déplacements chimiques en RMN ^1H (500 MHz) et RMN ^{13}C (125 MHz) du composé **A4** dans CDCl_3

N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)
1	125.8	-
2	136.3	-
3	138.8	-
4	135.1	-
5	139.1	-
6	108.2	6.32, s
7	34.1	3.33, dt (6.6, 1.5)
8	137.4	5.96, ddt (17.5, 10.5, 6.5)
9	115.4	9a : 5.064, dd (17.5, 1.5) 9b : 5.06, 3dd (10.0, 1.5)
O-CH ₂ -O	101.5	5.98, s
O-CH ₃ (5)	56.9	3.87, s
O-CH ₃ (2)	60.2	3.90, s

Les données spectrales du composé **A4** nous a permis d'élucider la structure de l'apiol (Paulo et al., 1999).



Apiol (**A4**)

I.5. Le produit A5

La fluorescence noir-violette de ce produit sous la lumière de Wood (365nm) est caractéristique d'une flavone ou d'un flavonol substitué en position 3.

Le comportement chromatographique indiqué par les valeurs du R_f indique que le composé est un aglycone.

- $R_f = 0.55$ (Toluene/MEC/MeOH 4:3:3)
- $R_f = 0.03$ (H₂O/MeOH/MEC/Acetylacétone 13:3:3:1).

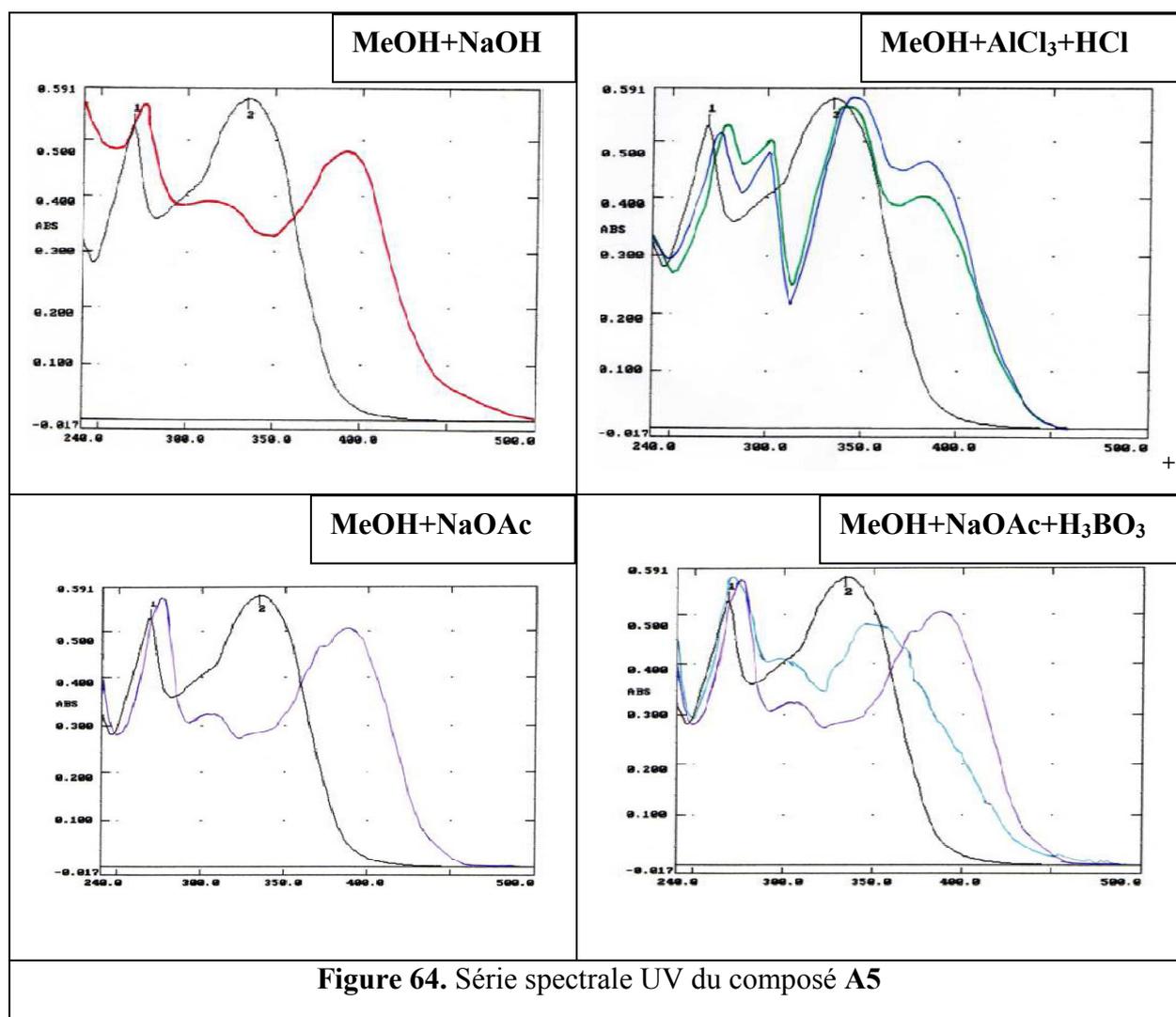
Le spectre UV du composé **A5** (figure 64) dans le MeOH présente deux bandes d'absorbance maximales: la bande I à 334 nm et la bande II à 269 nm en plus de la coloration violette sous la lampe UV, prévoyant une flavone.

- ✓ L'addition de NaOH provoque un déplacement bathochromique de $\Delta\lambda = 57$ nm pour la bande I, avec une augmentation de son intensité lumineuse indiquant la présence d'un OH libre en position 4'. L'apparition d'une bande supplémentaire dans le même spectre à environ 310 nm indique la présence d'un OH libre en position 7.
- ✓ L'addition de NaOAc provoque un déplacement bathochrome de la bande II de $\Delta\lambda = 6$ nm par rapport au spectre enregistré dans le MeOH, confirmant ainsi la présence d'un OH libre en 7.
- ✓ Le déplacement bathochrome de la bande I de 48 nm, observé après addition de AlCl₃+ HCl comparativement à celui enregistré dans le méthanol indique la présence d'un OH libre en 5.
- ✓ L'absence d'un effet hypsochrome après addition de HCl au système (MeOH + AlCl₃) suggère l'absence d'un système 3',4'-dihydroxy sur le cycle B. Ceci est confirmé par l'absence d'effet bathochrome de la bande I, après addition de H₃BO₃ au système (MeOH + NaOAc). Ces données sont en accord avec celles rapportées dans la littérature pour l'apigénine (Mabry et al., 1970).

Les données relatives à la série spectrale UV sont rassemblées dans le tableau 38.

Tableau 38. Données spectrales UV du composé **A5**

Réactifs	Bande I λ_{\max} (nm)	Bande II λ_{\max} (nm)	Autres Bandes λ_{\max} (nm)
MeOH	334	269	-
+NaOH	391	275	310
+NaOAc	384	275	-
+NaOAc+H3BO3	347	271	-
+ AlCl3	382	276	-
+ AlCl3+HCl	382	278	-
Le spectre de NaOH après 5 min est stable			



L'examen du spectre proton (figure 65) montre la présence de deux doublets ($J = 8.7$ Hz) d'intégration 2H chacun, caractéristiques d'un noyau B oxygéné en position 4'. Le premier à $\delta_H = 7.92$ ppm est attribué aux noyaux H-2' et H-6'; le second à $\delta_H = 6.94$ ppm est attribué aux noyaux H-3' et H-5'.

Ce spectre renferme également un signal sous forme de singulet à $\delta_H = 6.76$ ppm, attribuable au proton en position C-3 et deux autres doublets ($J = 2.1$ Hz) à $\delta_H = 6.49$ ppm et $\delta_H = 6.20$ ppm, attribuables à H-8 et H-6 respectivement.

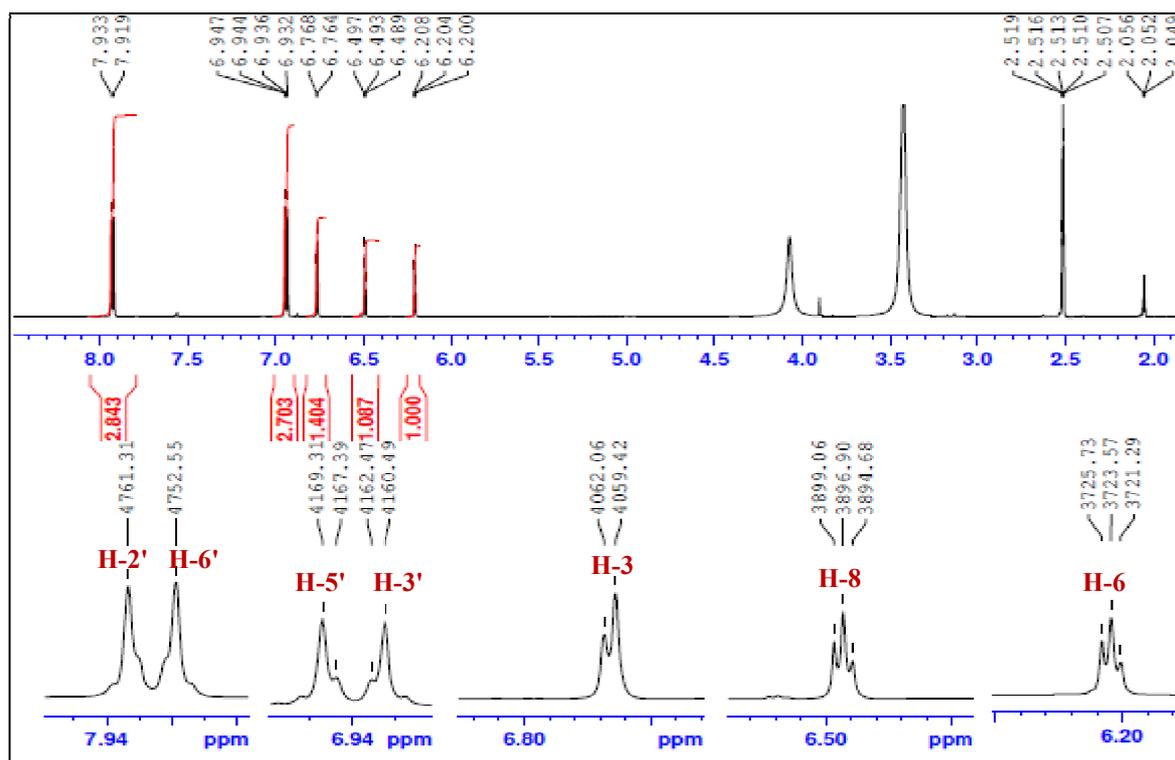


Figure 65. Spectre RMN ^1H du composé A5 (DMSO, 600 MHz)

La figure 66 représente le spectre RMN ^{13}C du composé A5:

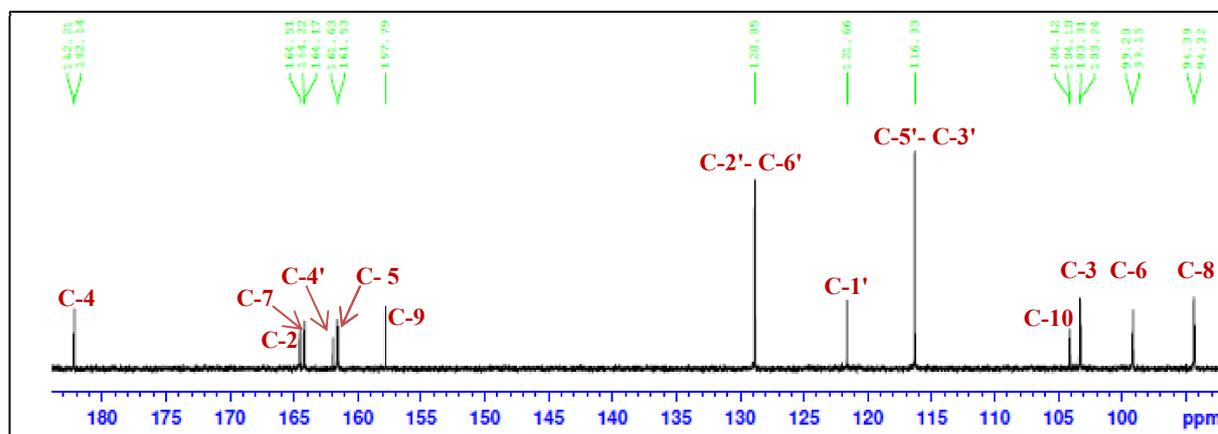
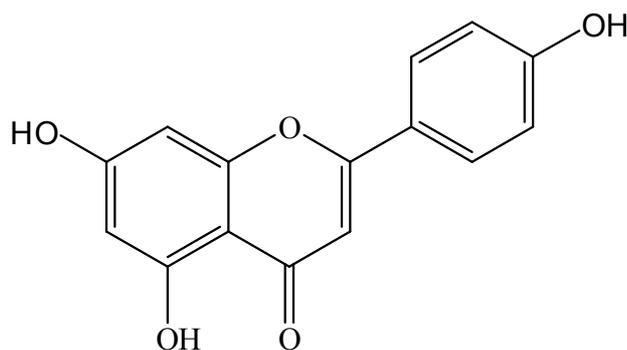


Figure 66. Spectre RMN ^{13}C du composé A5 (DMSO, 150 MHz)

Tableau 39. Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé **A5** dans DMSO

N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)	N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)
2	164.5	-	10	104.1	-
3	103.3	6.76, s	1'	121.7	-
4	182.2	-	2'	128.8	7.92, d (8.7)
5	161.5	-	3'	116.3	6.93, d (8.7)
6	99.1	6.20, d (2.1)	4'	161.6	-
7	164.2	-	5'	116.3	6.93, d (8.7)
8	94.4	6.49, d (2.1)	6'	128.8	7.92, d (8.7)
9	157.8	-			

Ces données confirment la structure de l'apigénine (Mabry et *al.*, 1970).



Apigénine (**A5**)

I.6. Le produit A6

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

Le comportement chromatographique indiqué par les valeurs du R_f indique que le composé est un aglycone:

- $R_f = 0.24$ (Toluene/MEC/MeOH 4:3:3)
- $R_f = 0.11$ ($\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}/\text{MEC}/\text{Acetylacétone}$ 13:3:3:1).

Le spectre UV (figure 67), enregistré dans le méthanol, donne deux bandes d'absorption, une bande I à 347 nm et l'autre bande II à 254 nm indiquant un squelette de type flavone ou flavonol substitué en C-3 pour le composé **A6**.

- ✓ Un effet bathochrome, observé après l'ajout de NaOH ($\Delta\lambda = 55$ nm) avec une augmentation d'intensité, indique la présence d'un OH libre en position 4'.
- ✓ L'apparition d'une nouvelle bande dans le même spectre à 329 nm suggère la présence d'un OH libre en position 7.
- ✓ L'addition de NaOAc à la solution méthanolique induit un effet bathochrome de la bande II de 16 nm confirmant ainsi la présence d'un OH libre en position 7.
- ✓ L'addition de H₃BO₃, à la solution MeOH+NaOAc provoque un effet bathochromique de la bande I ($\Delta\lambda = 23$ nm), indiquant la présence d'un système 3',4'-ortho di-OH sur le cycle B, cela est confirmé par le déplacement hypsochrome de la bande I ($\Delta\lambda = -33$ nm) induit après l'ajout de HCl à la solution MeOH+AlCl₃.
- ✓ L'effet bathochrome de la bande I ($\Delta\lambda = 73$ nm) observé sur le spectre enregistré dans MeOH+AlCl₃ par rapport au spectre enregistré dans MeOH indique la présence d'un groupement OH libre en position 5 (tableau 40).

Tableau 40. Données spectrales UV du composé **A6**

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

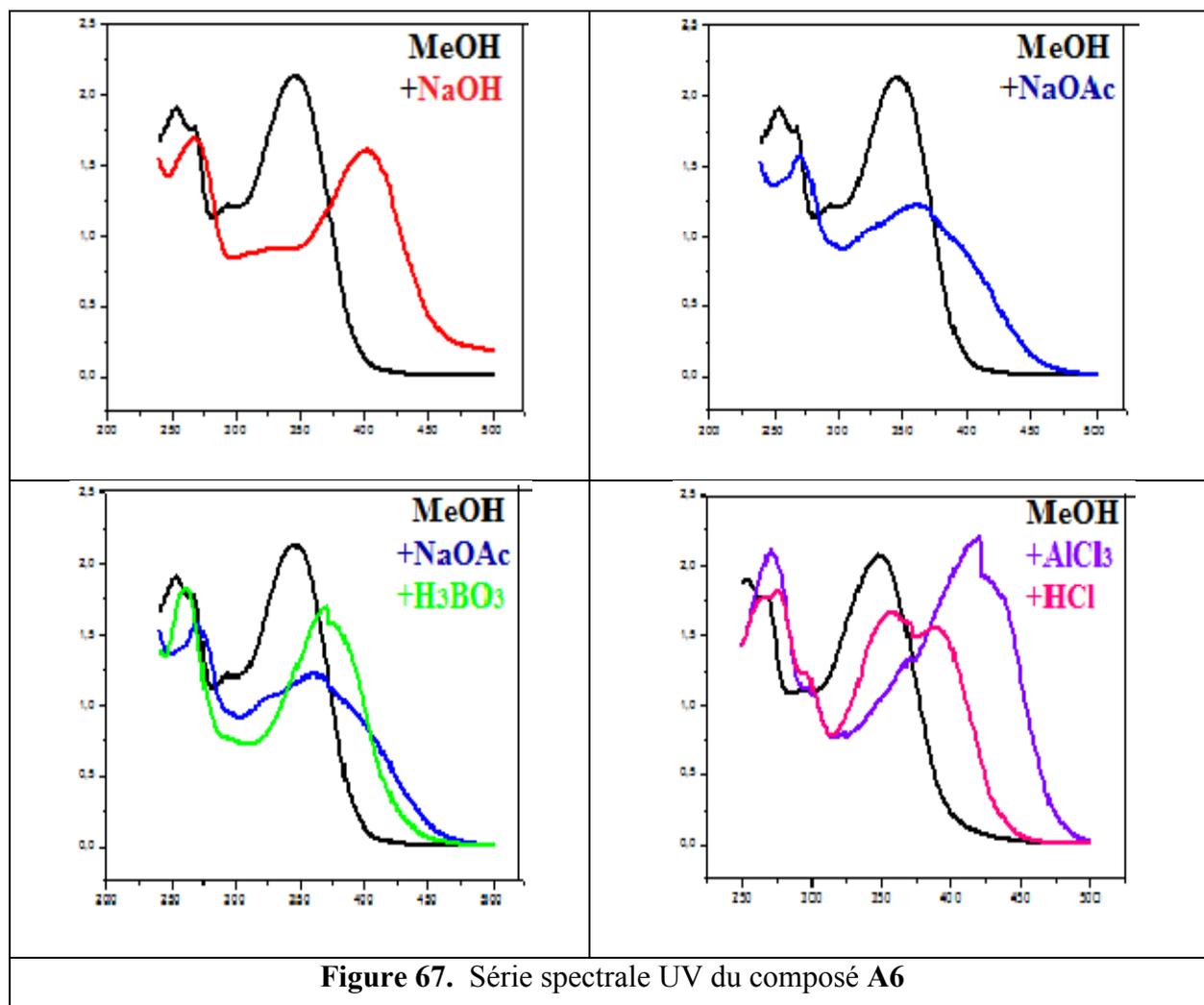


Figure 67. Série spectrale UV du composé A6

Ces données spectrales UV sont en accord avec celles rapportées dans la littérature pour la lutéoline (Jay et Gonnet, 1974).

L'examen du spectre RMN ^1H enregistré dans l'acétone (figure 68) montre la présence de :

- ✓ Un singulet d'intégration 1H à $\delta_{\text{H}} = 6.58$ ppm attribuable à H-3.
- ✓ Deux doublets d'intégration 1H chacun à $\delta_{\text{H}} = 6.25$ ppm et $\delta_{\text{H}} = 6.52$ ppm avec une constante de couplage ($J = 1.8$ Hz) attribuable à H-6 et H-8 respectivement, confirmant ainsi l'hydroxylation des positions 5 et 7 du noyau A.
- ✓ Deux signaux à $\delta_{\text{H}} = 7.47$ ppm et $\delta_{\text{H}} = 7.49$ ppm d'intégration 2H relatifs à deux protons, le premier apparaît sous forme de doublet de doublet ($J = 8.2, 1.8$ Hz) attribué à H-6' et le second sous forme d'un large singulet attribué à H-2', cela confirme l'hydroxylation des positions 3' et 4' du cycle B. par ailleurs, le signal sous forme de doublet qui apparaît à $\delta_{\text{H}} = 7.00$ ppm ($J = 8.2$ Hz) est attribuable à H-5'.

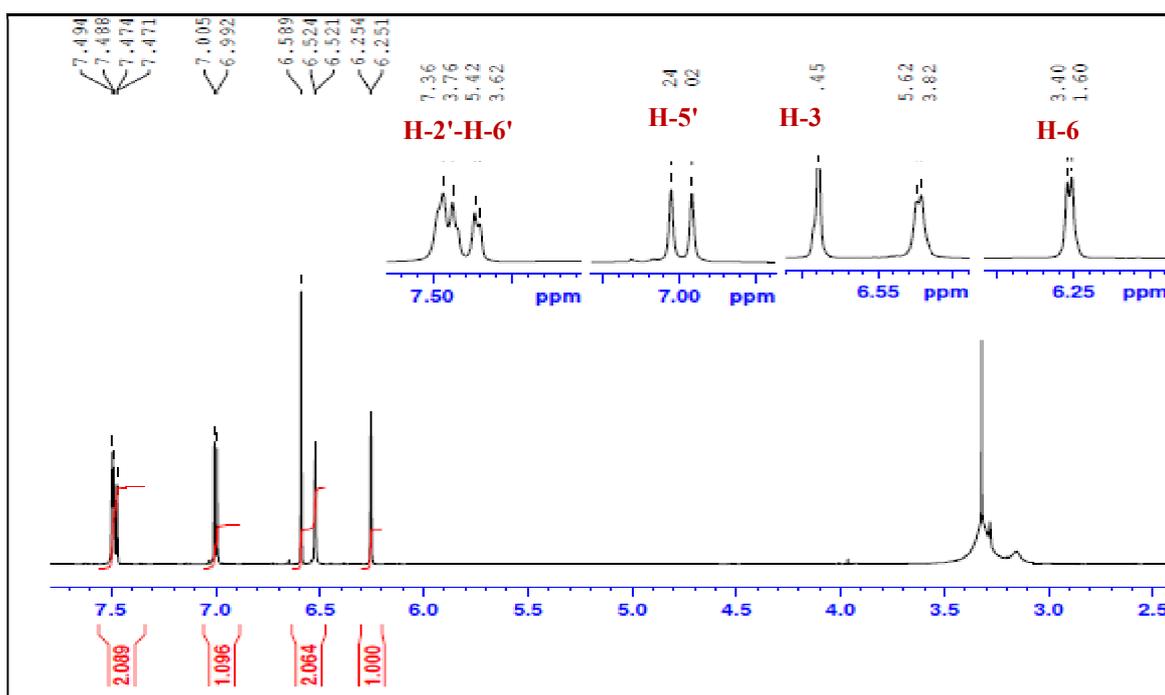


Figure 68. Spectre RMN ^1H du composé **A6** (Acétone, 600 MHz)

La figure 69 représente le spectre RMN ^{13}C du composé **A6** :

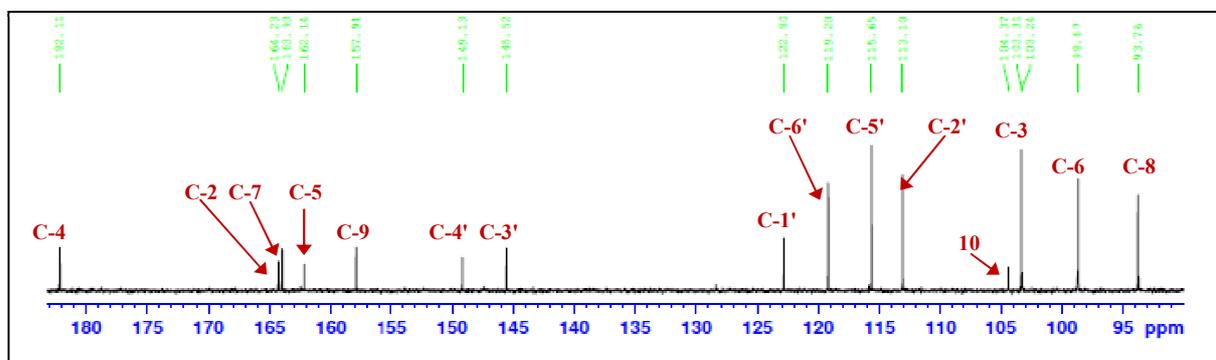


Figure 69. Spectre RMN ^{13}C du composé **A6** (Acétone, 150 MHz)

Le spectre COSY du composé **A6** montre les corrélations entre H-6 et H-8, ainsi que celles entre H-6' et -H-2', H-5' (figure 70).

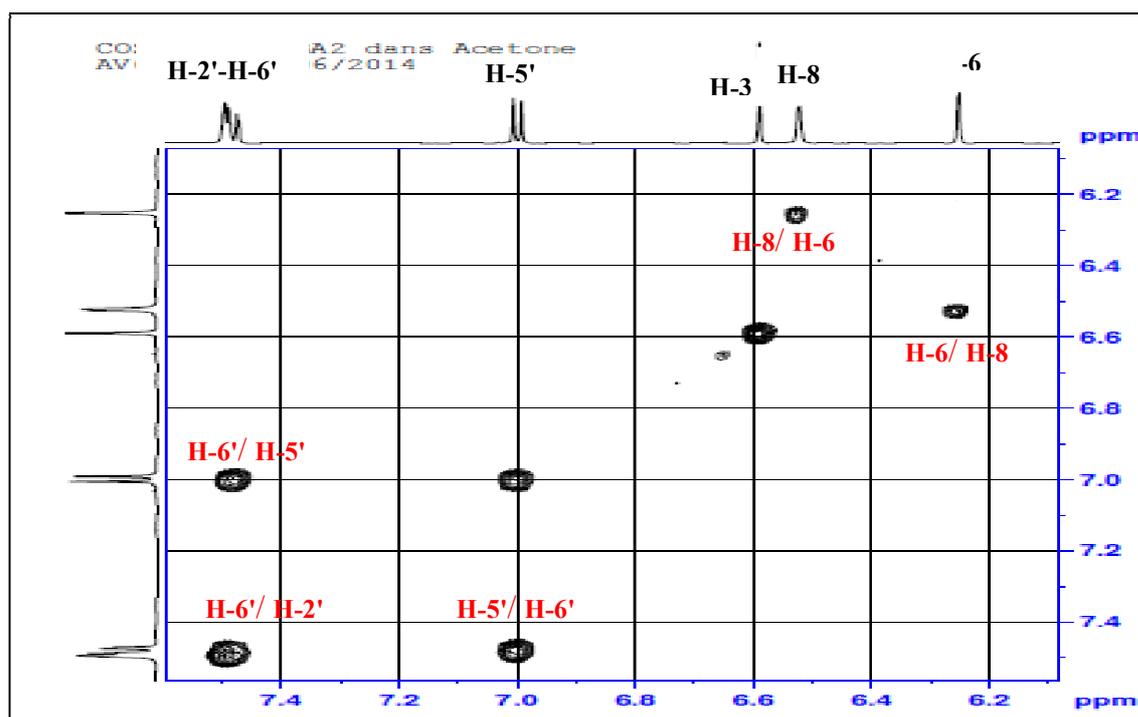


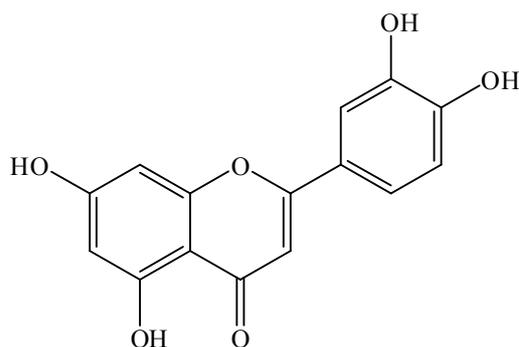
Figure 70. Spectre COSY du composé A6

Les déplacements chimiques des signaux observés en RMN du ^1H et du ^{13}C sont présentés dans le tableau 41.

Tableau 41. Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé A6 dans Acétone

N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)	N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)
2	164.0	-	10	104.4	-
3	103.3	6.58, s	1'	122.8	-
4	182.1	-	2'	113.1	7.49, sl
5	162.1	-	3'	145.5	-
6	98.7	6.25, d (1.8)	4'	149.1	-
7	164.2	-	5'	115.6	7.00, d (8.2)
8	93.8	6.52, d (1.8)	6'	119.2	7.47, dd (8.2, 1.8)
9	157.9	-			

Ces données confirment la structure précédente menant ainsi à la lutéoline (Jay et Gonnet, 1974).



Lutéoline (A6)

I.7. Le produit A7

La fluorescence noir-violette du produit A7 sous la lumière de Wood ainsi que le spectre d'absorption ultraviolette enregistré dans le méthanol donnant la valeur de la longueur d'onde d'absorption maximale de la bande I à 344 nm (figure 71), orientent vers la structure d'une flavone ou d'un flavonol substitué en 3.

- ✓ L'addition de NaOH conduit à un déplacement bathochrome de la bande I ($\Delta\lambda = +40$ nm) par rapport au spectre enregistré dans le MeOH, avec une diminution de l'intensité, ce qui révèle la présence d'un OR (OCH₃) en C-4'.
- ✓ L'ajout de AlCl₃ provoque un déplacement bathochrome ($\Delta\lambda = +41$ nm) de la bande I, par rapport au spectre enregistré dans le MeOH, révèle la présence d'un OH en position 5.
- ✓ L'addition du HCl sur AlCl₃, provoque un déplacement bathochrome la bande I ($\Delta\lambda = +48$ nm) par rapport au spectre enregistré dans le MeOH, confirme l'absence d'oxygénation en position 6 et la présence d'un OH en position 5.
- ✓ L'ajout de HCl+AlCl₃ donne un déplacement hypsochrome de la bande I ($\Delta\lambda = -7$ nm) très faible par rapport au spectre enregistré dans AlCl₃, confirment l'absence de système ortho dihydroxylé sur le noyau A ou B.
- ✓ L'ajout de NaOAc provoque un déplacement bathochrome faible de la bande II ($\Delta\lambda = +3$ nm) par rapport au spectre enregistré dans le MeOH, révèle la présence d'un OH libre en position 7.

- ✓ L'addition de H_3BO_3 à NaOAc donne un déplacement bathochrome de la bande I ($\Delta\lambda = +5$ nm) par rapport au spectre enregistré dans le MeOH, qui prouve l'absence de système ortho dihydroxylé sur les carbones C-7 et C-8.

Les résultats de la série spectrale UV-Visible du composé **A7** sont rassemblés dans le tableau 42.

Tableau 42. Données spectrales UV du composé **A7**

Réactifs	Bande I λ_{\max} (nm)	Bande II λ_{\max} (nm)	Autres Bandes λ_{\max} (nm)
MeOH	344	270	-
+NaOH	384	271	-
+NaOAc	352	273	-
+NaOAc+ H_3BO_3	349	270	-
+ $AlCl_3$	385	273	-
+ $AlCl_3$ +HCl	392	274	-

Le spectre de NaOH après 5 min est stable

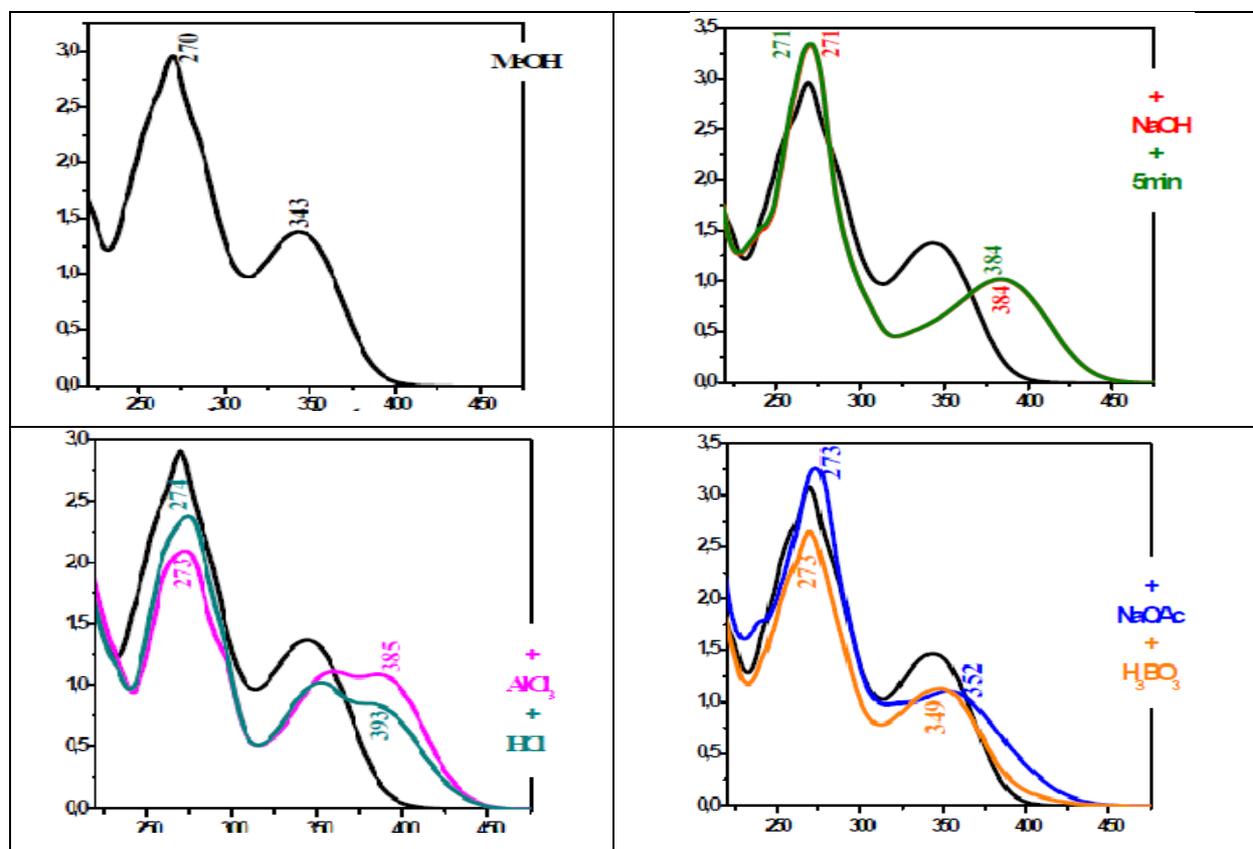


Figure 71. Série spectrale UV du composé **A7**

L'examen du spectre RMN ^1H du composé **A7** (figure 72) montre:

- ✓ Deux doublets, intégrant chacun pour un proton à 6.25 ppm (H-6) et 6.54 ppm (H-8) ($J = 2.1$ Hz) indiquant ainsi la substitution du cycle A en positions 5 et 7.
- ✓ Un doublet résonne à $\delta_{\text{H}} = 7.49$ ppm ($J = 2.2$ Hz) et un doublet de doublet à $\delta_{\text{H}} = 7.56$ ppm ($J = 2.2$ et 6.1 Hz) respectivement dues aux protons H-2' et H-6', un doublet due à H-5' apparaissant à $\delta_{\text{H}} = 7.14$ ppm ($J = 8.5$ Hz) indiquant ainsi une substitution du cycle B en position 4' et 3'.
- ✓ Un singulet d'intégration 3H à $\delta_{\text{H}} = 3.96$ ppm caractéristique d'un groupement méthoxyle.
- ✓ Un singulet d'intégration 1H à $\delta_{\text{H}} = 3.65$ ppm est du a la résonance de H-3.

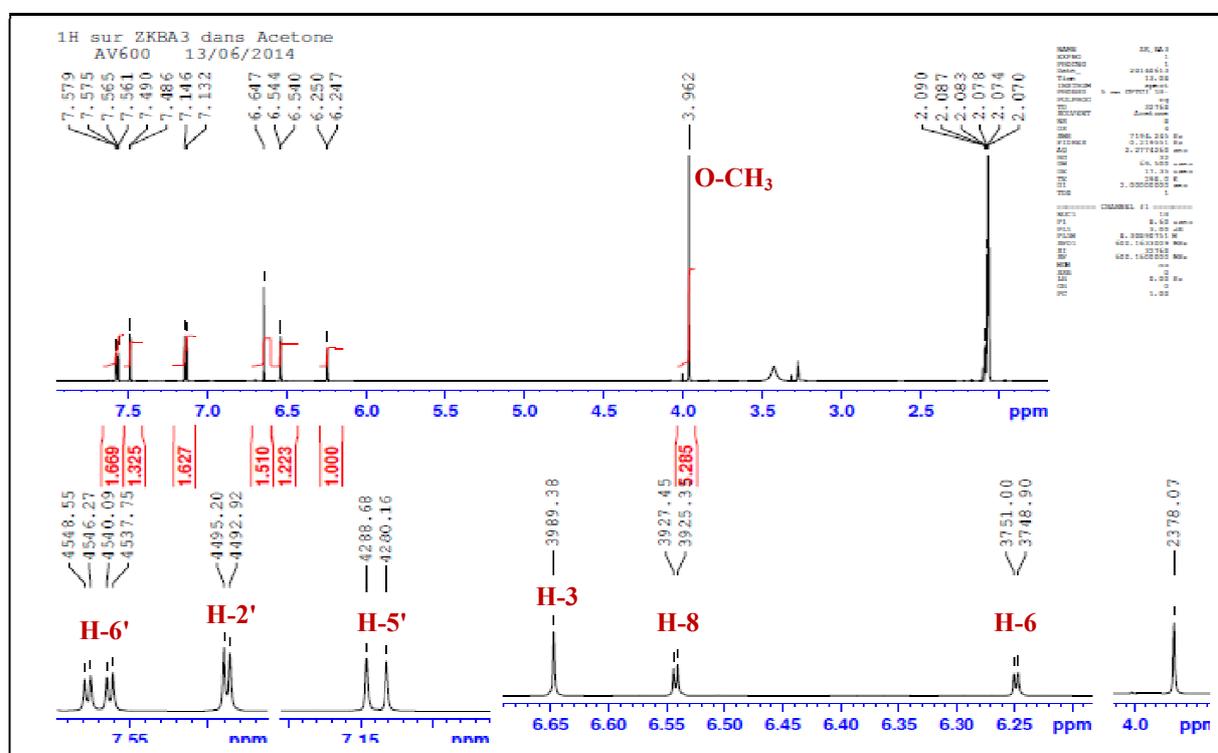


Figure 72. Spectre RMN ^1H du composé **A7** (Acétone, 600 MHz)

Le spectre HSQC (figure 74) permet d'assigner les signaux des carbones porteurs des protons déjà identifiés à partir du spectre RMN ^1H (figure 72). Le blindage du signal du carbone C-5' par rapport à celui du C-2' indique une méthylation de l'hydroxyle en C-4'.

La figure 73 représente le spectre RMN ^{13}C du composé **A7** :

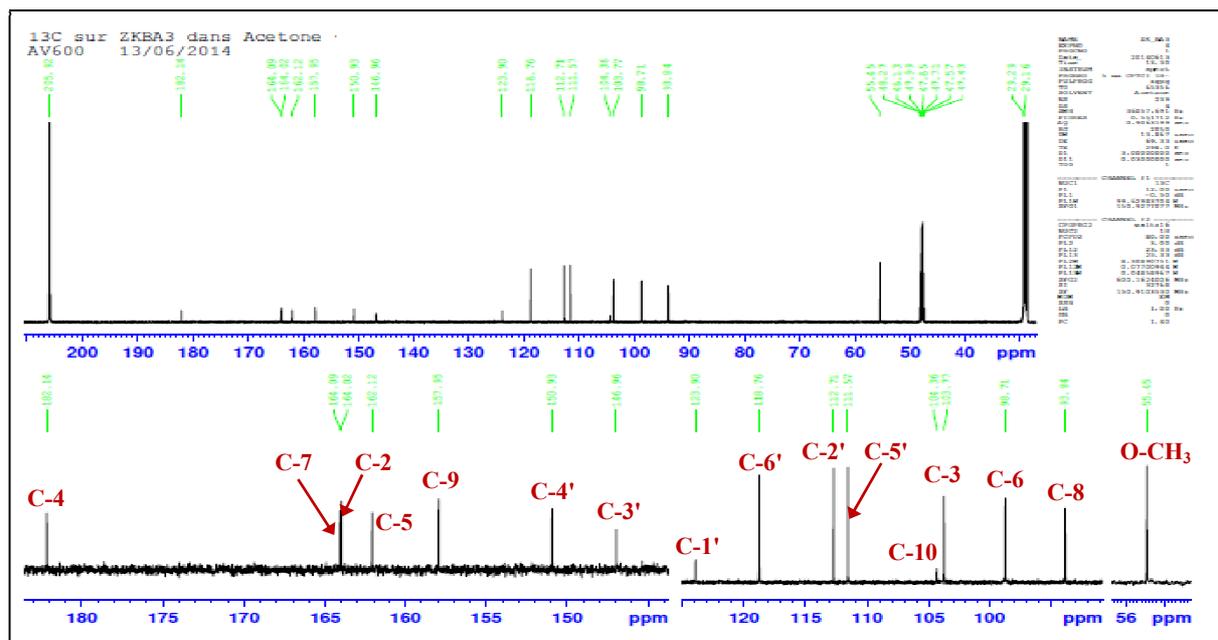


Figure 73. Spectre RMN ^{13}C du composé A7 (Acétone, 150 MHz)

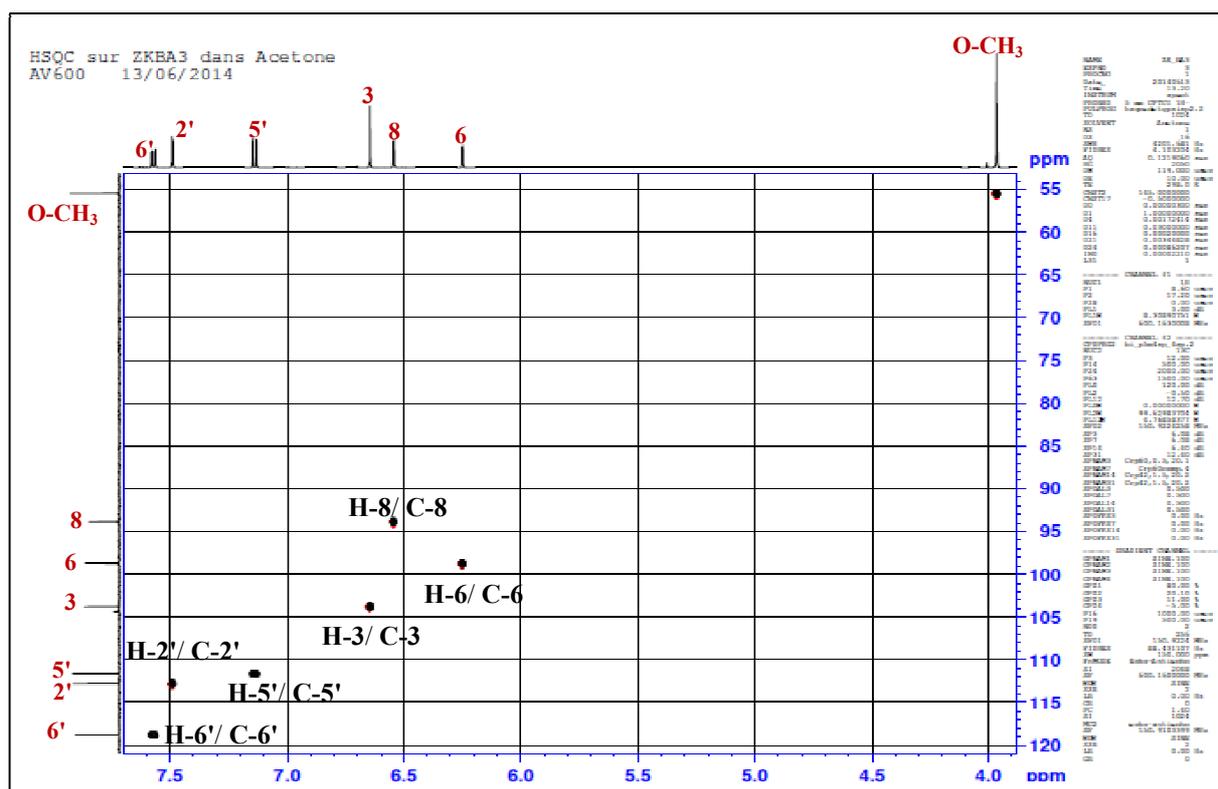


Figure 74. Spectre HSQC du composé A7 (Acétone, 600 MHz)

Le spectre HMBC permet de confirmer la localisation du méthoxyle sur le cycle B par la tache de corrélation entre le carbone C-4' ($\delta_{\text{C}} = 150.9$ ppm) et les protons du méthoxyle ($\delta_{\text{H}} = 3.96$ ppm) (figures 75 et 76).

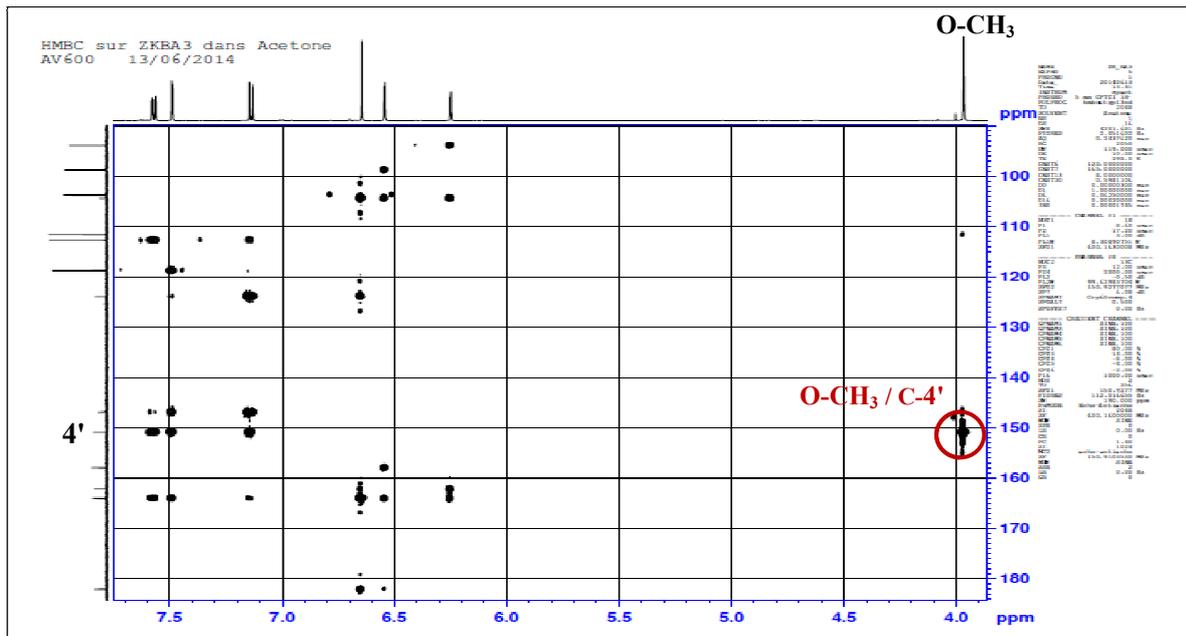


Figure 75. Spectre HMBC de δ_H 3.9 à 7.7 ppm du composé A7 (Acétone, 600 MHz)

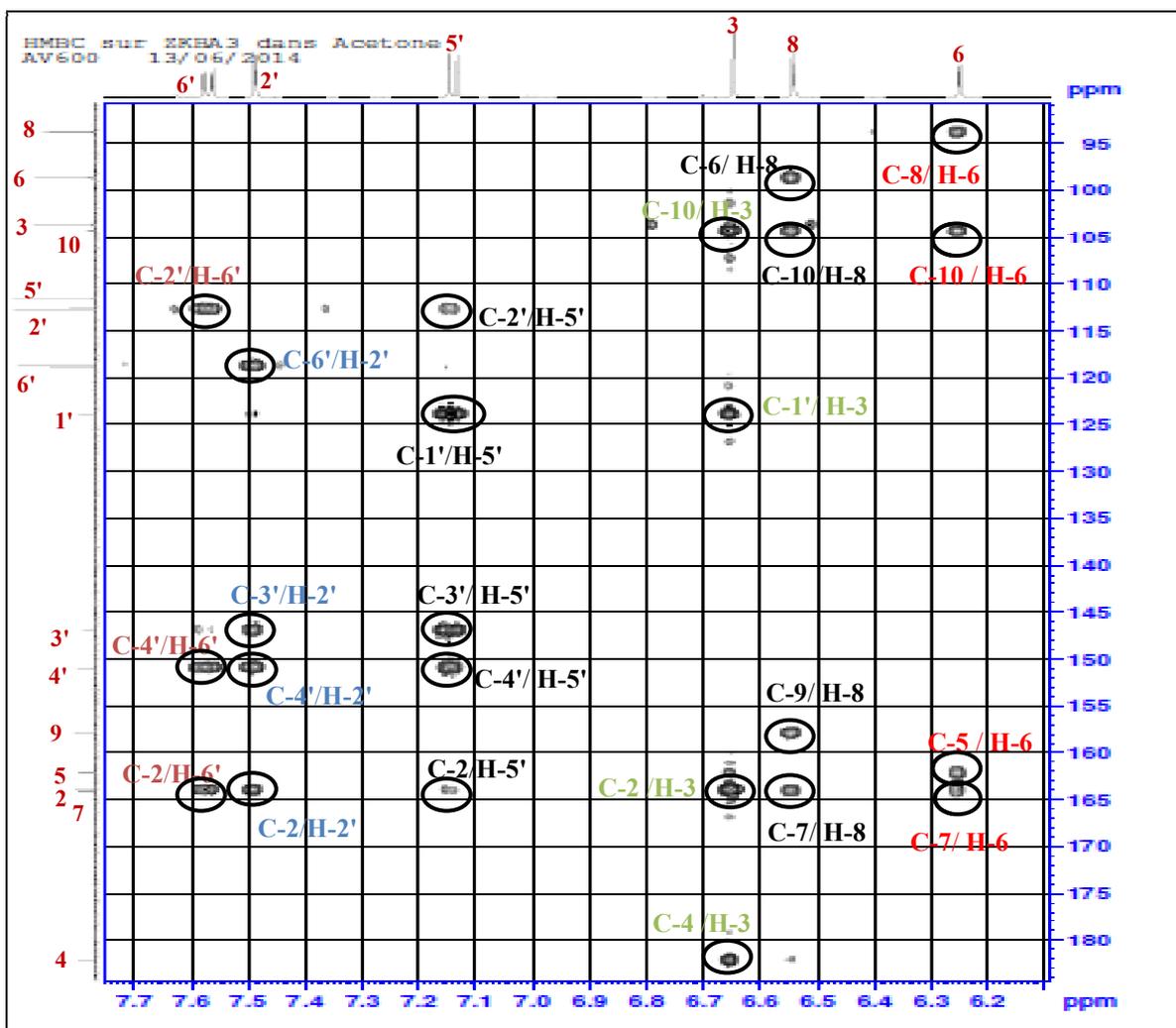
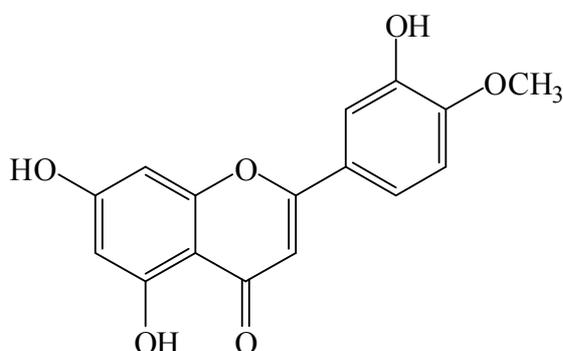


Figure 76. Spectre HMBC de δ_H 6.1 à 7.7 ppm du composé A7 (Acétone, 600 MHz)

Les déplacements chimiques des signaux observés en RMN du ^1H et du ^{13}C sont dressés dans le tableau 43.

Tableau 43. Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé **A7** dans Acétone

N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)	N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)
2	164.0	-	10	104.4	-
3	103.8	3.65, s	1'	123.9	-
4	182.1	-	2'	112.7	7.49, d (2.2)
5	162.1	-	3'	147.0	-
6	98.7	6.25, d (2.1)	4'	150.9	-
7	164.1	-	5'	111.6	7.14, d (8.5)
8	93.8	6.54, d (2.1)	6'	118.8	7.56, dd (2.2, 6.1)
9	157.9	-	O-CH ₃	55.4	3.96, s



3', 5, 7-dihydroxy-4'-methoxyisoflavone (diosmetine) (**A7**)

I.8. Le produit **A8**

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

Le comportement chromatographique indique par les valeurs du R_f suggère que le composé est un monoglycosyle.

- $R_f = 0.46$ (Toluène/MEC/MeOH 4:3:3)
- $R_f = 0.19$ (H₂O/MeOH/MEC/Acétylacétone 13:3:3:1).

Le spectre UV (figure 77) enregistré dans le méthanol donne deux bandes d'absorption, une bande I à 346 nm et l'autre bande II à 256 nm, indiquant un squelette de type flavone ou flavonol substitué en position 3 pour le composé **A8**.

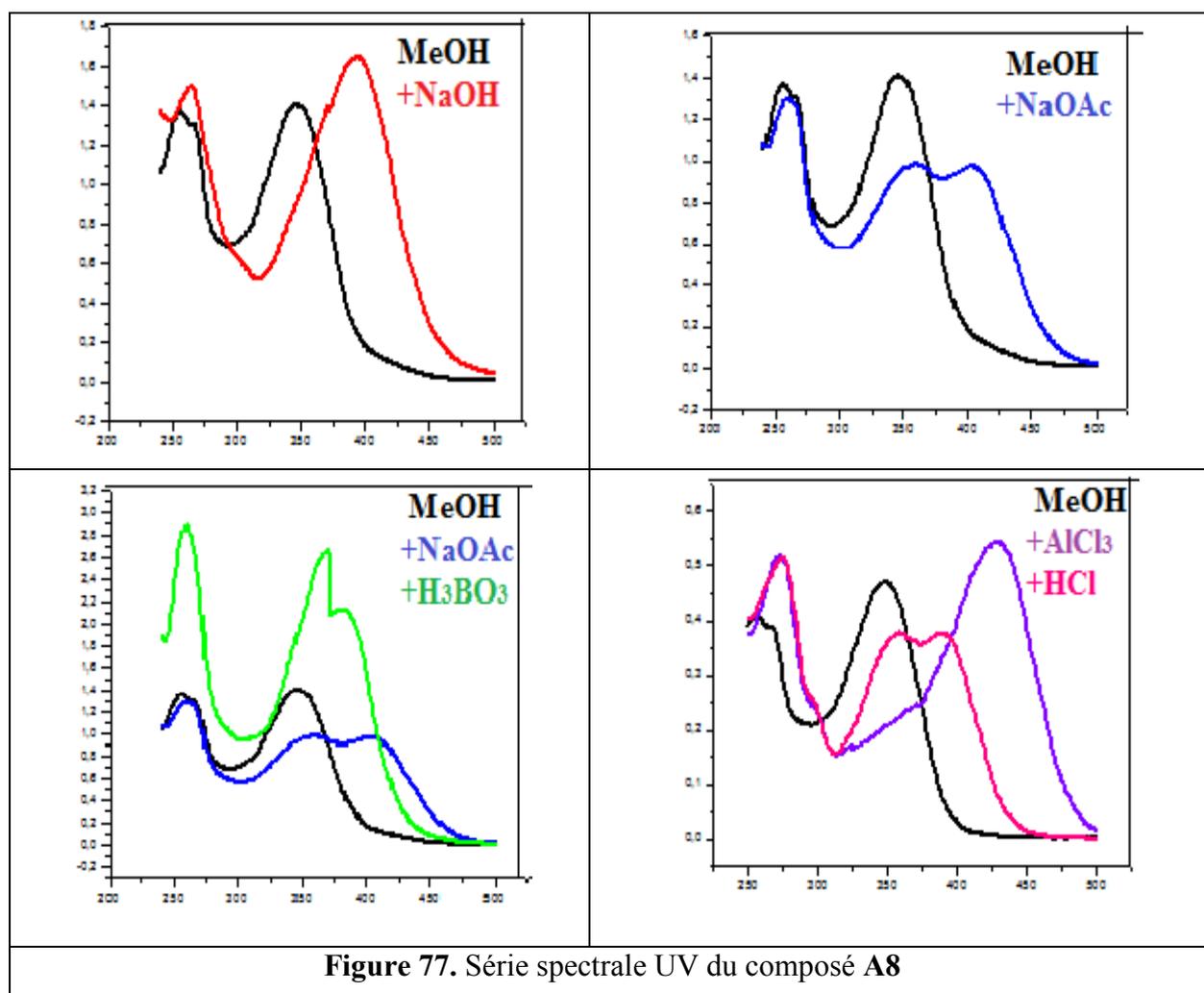
- ✓ L'effet bathochromique ($\Delta\lambda = +48$ nm) observé après l'addition de NaOH avec augmentation

de son intensité optique indique la présence d'un OH libre en position 4'.

- ✓ L'absence d'une nouvelle bande entre 320 et 335 nm suggère l'absence d'un OH libre en position 7.
- ✓ L'ajout de NaOAc n'induit pas à la solution méthanolique de déplacement bathochrome de la bande II, ce qui signifie que le groupement hydroxyle, en position 7, est substitué.
- ✓ L'addition de H₃BO₃ à la solution MeOH+NaOAc provoque un effet bathochrome de la bande I ($\Delta\lambda = +36$ nm) indiquant la présence d'un système 3',4'-dihydroxy sur le cycle B, cette hypothèse est confirmée par le déplacement hypsochrome de la bande I ($\Delta\lambda = -39$ nm), observé sur le spectre enregistré dans MeOH+AlCl₃+HCl, comparativement à celui enregistré dans la solution MeOH+AlCl₃.
- ✓ Après ajout d'AlCl₃ à la solution méthanolique, on observe un déplacement bathochromique de la bande I de $\Delta\lambda = +82$ nm, indiquant la présence d'un groupement OH libre en position 5 (tableau 44).

Tableau 44. Données spectrales UV du composé **A8**

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



Toutes ces données nous permettent de proposer une structure partielle menant à la lutéoline substitué au niveau du carbone C-7.

Le spectre RMN ^1H du composé **A8** (figure 78) montre les six signaux des six protons caractéristiques de la lutéoline :

- ✓ Deux doublets, intégrant chacun pour un proton à 6.45 ppm (H-6) et 6.81 ppm (H-8).
- ✓ Un doublet résonne à $\delta_{\text{H}} = 7.42$ ppm ($J = 2.1$ Hz) et un doublet de doublet à $\delta_{\text{H}} = 7.46$ ppm ($J = 2.1$ et 8.3 Hz) respectivement dues aux protons H-2' et H-6', un doublet due à H-5' apparaissant à $\delta_{\text{H}} = 6.92$ ppm ($J = 8.3$ Hz).
- ✓ Un singulet observé à $\delta_{\text{H}} = 6.75$ ppm est du a la résonance de H-3.
- ✓ L'apparition d'un doublet à $\delta_{\text{H}} = 5.07$ ppm ($J = 7.5$ Hz) caractéristique d'un proton anomérique et des signaux entre $\delta_{\text{H}} = 3.18$ ppm et $\delta_{\text{H}} = 3.72$ ppm indiquent la présence d'une unité osidique.

La constante de couplage ($J = 7.5$ Hz) observée pour le proton anomérique du composé **A8** suggère une liaison de configuration β entre le sucre et la lutéoline.

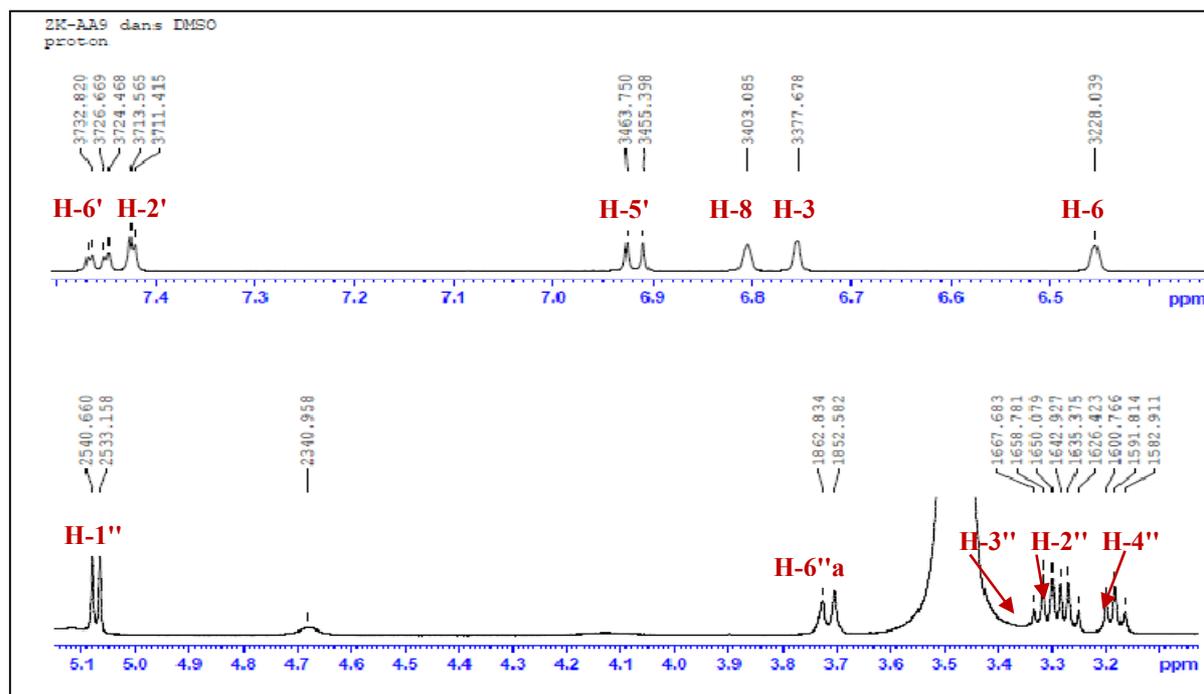


Figure 78. Spectre RMN ^1H du composé **A8** (DMSO, 500 MHz)

Dans le spectre RMN ^{13}C du composé **A8** (figure 79), on retrouve tous les signaux caractérisant la lutéoline de plus six autres signaux relatifs à un hexoside ($\delta_{\text{C}} = 60.9$ - 100.3 ppm), dont le carbone anomérique résonne à 100.3 ppm.

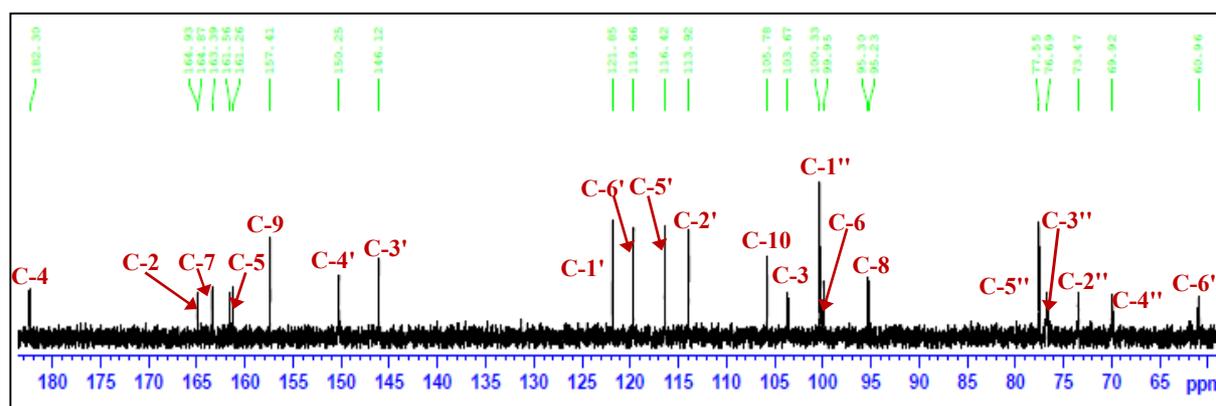


Figure 79. Spectre RMN ^{13}C du composé **A8** (DMSO, 125 MHz)

On observe dans le spectre COSY (figure 80) les sept protons du sucre qui couplent entre eux avec de grandes valeurs de constante de couplage (> 7 Hz). Leurs déplacements chimiques ainsi que les déplacements de leurs carbones sont caractéristiques d'un glucose (Agrawal, 1989).

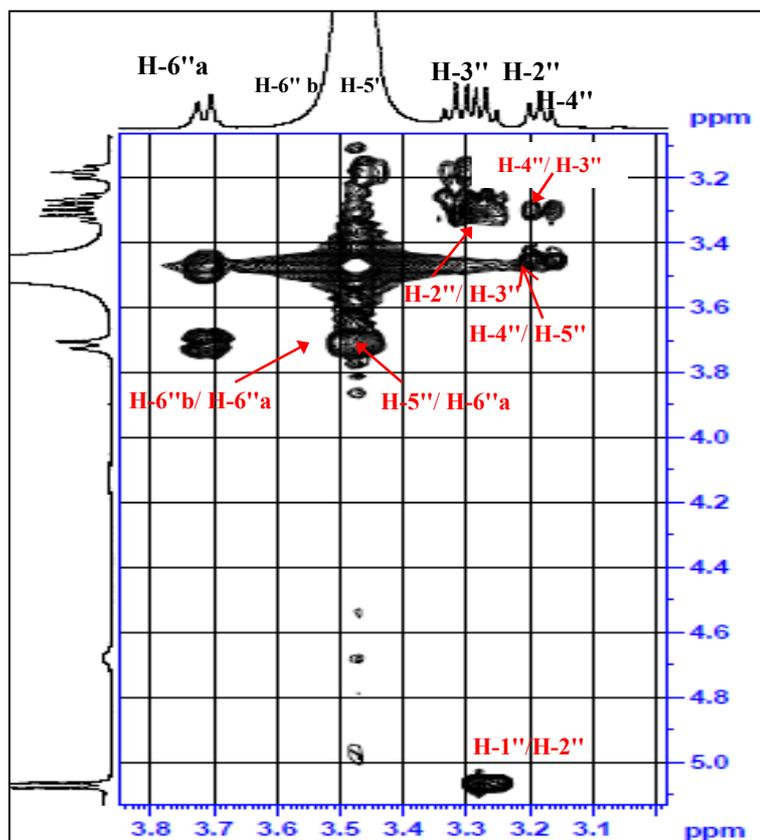


Figure 80. Spectre COSY du composé A8

La corrélation observée sur le spectre HMBC entre le proton anomérique H-1'' et le carbone C-7 confirme que le glucose est attaché à la génine en position 7 (figure 81).

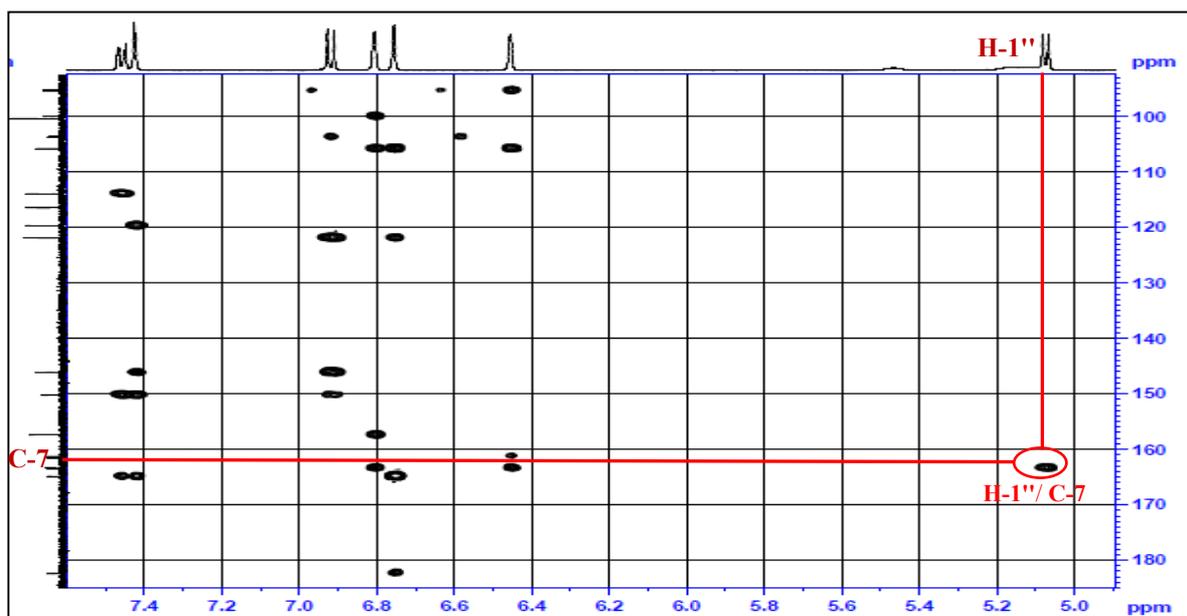


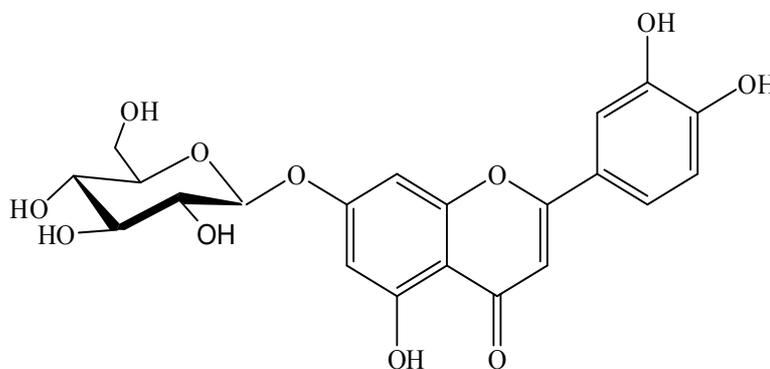
Figure 81. Spectre HMBC du composé A8

Les déplacements chimiques des signaux observés en RMN du ^1H et du ^{13}C sont dressés dans le tableau 45.

Tableau 45. Déplacements chimiques en RMN ^1H (500 MHz) et RMN ^{13}C (125 MHz) du composé **A8** dans DMSO

N°	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (m, J Hz)	N°	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (m, J Hz)
2	164.9	-	3'	146.1	-
3	103.7	6.75, s	4'	150.2	-
4	182.3	-	5'	116.4	6.92, d (8.3)
5	161.3	-	6'	119.7	7.46, dd (8.3, 2.1)
6	99.9	6.45, d	Glucose en 7		
7	163.4	-	1''	100.3	5.07, d (7.5)
8	95.3	6.81, d	2''	73.5	3.27, m
9	157.4		3''	76.7	3.30, m
10	105.8		4''	69.9	3.18, t (8.9)
1'	121.8		5''	77.5	3.34, m
2'	113.9	7.42 d (2.1)	6''	60.9	m

Ces données permettent d'attribuer sans ambiguïté au composé **A8** la structure connue de: lutéoline 7-*O*- β -D-glucoside (Sevin, 1943).



Lutéoline 7-*O*- β -D-glucoside (**A8**)

Chapitre II

*Identification des produits isolés de *Ferula longipes* Coss.*

I. Détermination structurale des composés isolés de *Ferula longipes* Coss.

Les structures des produits isolés ont été élucidées principalement par l'utilisation des techniques de résonance magnétique nucléaire (RMN) du proton ^1H et du carbone ^{13}C à une dimension, et à séquences multi-impulsionnelles à deux dimensions homonucléaires ^1H - ^1H COSY et hétéronucléaires ^1H - ^{13}C HSQC, ^1H - ^{13}C HMBC, aussi par spectrométrie de masse haute résolution HR-ESI, par la mesure du pouvoir rotatoire ainsi que sur la comparaison avec les données de la littérature.

L'étude phytochimique des parties aériennes de *Ferula longipes* Coss. a permis la séparation de 9 flavonoides dont un possède une nouvelle molécule (P4), 1 acide cafféoylquinique et 1 coumarine.

I.1. Le produit P1

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

Le comportement chromatographique indiqué par les valeurs du R_f suggère que le composé est un monoglycosyle.

- $R_f = 0.48$ (Toluene/MEC/MeOH 4:3:3).
- $R_f = 0.14$ (H_2O /MeOH/MEC/Acetylacetone 13:3:3:1).
- $R_f = 0.76$ (Acétate d'éthyle /MeOH / H_2O 12 :1:0.5).

Le spectre d'absorption du produit **P1** est enregistré dans le méthanol (figure 82), la fluorescence violette de ce composé sous la lumière de Wood et la valeur de la bande I (λ_{max}) à 336 nm correspondent à la présence de la forme flavonol (3-OR) ou flavone.

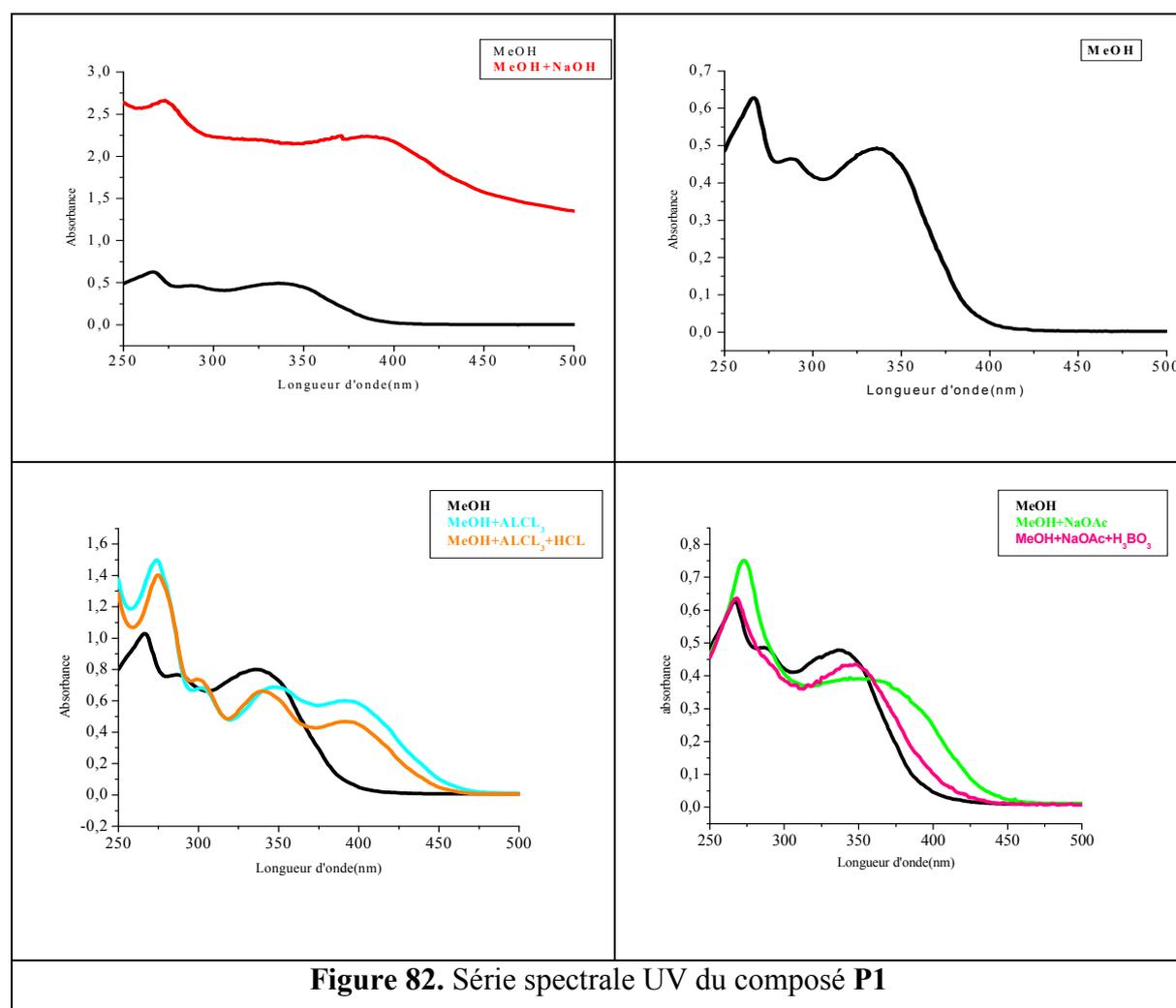
- L'addition de NaOH induit un effet bathochrome de la bande I ($\Delta\lambda = +50$ nm) avec augmentation de l'intensité lumineuse indiquant la présence d'un OH libre en position 4'.
- L'effet bathochrome de la bande II ($\Delta\lambda = +7$ nm) en comparant le spectre enregistré dans le MeOH et celui après l'ajout de la base faible NaOAc indique la présence d'un OH libre en position 7.
- L'addition d' $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ induit un déplacement bathochrome de la bande I ($\Delta\lambda = 57$ nm) par rapport au spectre enregistré dans MeOH, indiquant la présence d'un OH libre en position 5.

- L'effet hypsochrome faible ($\Delta\lambda_{\max} = -1$) de la bande I, en comparant les deux spectres enregistrés dans AlCl_3+HCl et dans AlCl_3 de la même bande exclue le système ortho dihydroxylé sur le cycle B. (tableau 46).

Tableau 46. Données spectrales UV du composé **P1**

Réactifs	Bande I $\lambda_{\max}(\text{nm})$	Autres bandes $\lambda_{\max}(\text{nm})$	Bande II $\lambda_{\max}(\text{nm})$
MeOH	336	-	266
+NaOH	386	-	272
+ AlCl_3	394	-	274
AlCl_3+HCl	393	-	275
NaOAc	360	-	273
NaOAc+ H_3BO_3	347	-	268

Le spectre est stable après 5min



Les observations ci-dessus permettent de proposer une structure partielle pour le produit **P1** (figure 83).

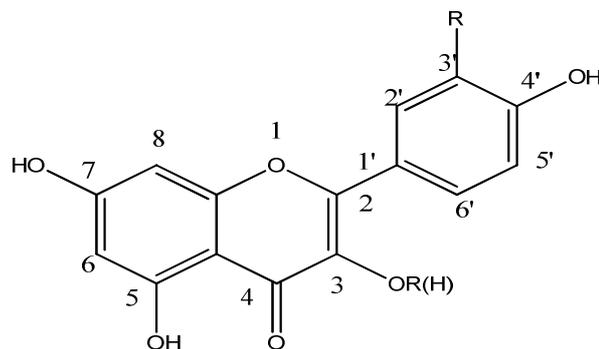


Figure 83. Structure partielle du produit **P1**

Le spectre RMN ^1H (figure 84) enregistré dans l'acétone à 250 MHz et son étalement (figure 85), oriente vers la structure d'un flavonol substitué en position 3, ce spectre montre :

- Deux signaux sous forme d'un doublet d'intégration 2H à $\delta_{\text{H}} = 7.88$ ppm et $\delta_{\text{H}} = 7.04$ ppm avec une constante de couplage $J = 8.8$ Hz (un couplage ortho) attribuables respectivement aux protons H-2', 6' et H-3', H-5'.
- Deux autres signaux sous forme d'un doublet d'intégration 1H à $\delta_{\text{H}} = 6.49$ ppm et $\delta_{\text{H}} = 6.29$ ppm avec une constante de couplage $J = 2.0$ Hz (un couplage méta) attribuables respectivement aux protons H-8 et H-6.
- Un autre signal sous forme d'un doublet d'intégration 1H à $\delta_{\text{H}} = 5.56$ ppm avec une constante de couplage $J = 1.3$ Hz attribuable au proton anomérique H-1'' d'un sucre rhamnose, dont la présence de son méthyle est signalé par la présence d'un doublet à $\delta_{\text{H}} = 1.61$ ppm ($J = 5.7$ Hz).
- Dans l'intervalle 2.93-4.24 ppm, se trouvent les autres protons de cette unité osidique.

Ces résultats (UV-Visible, RMN ^1H) nous permettent d'identifier la structure finale du composé **P1**.

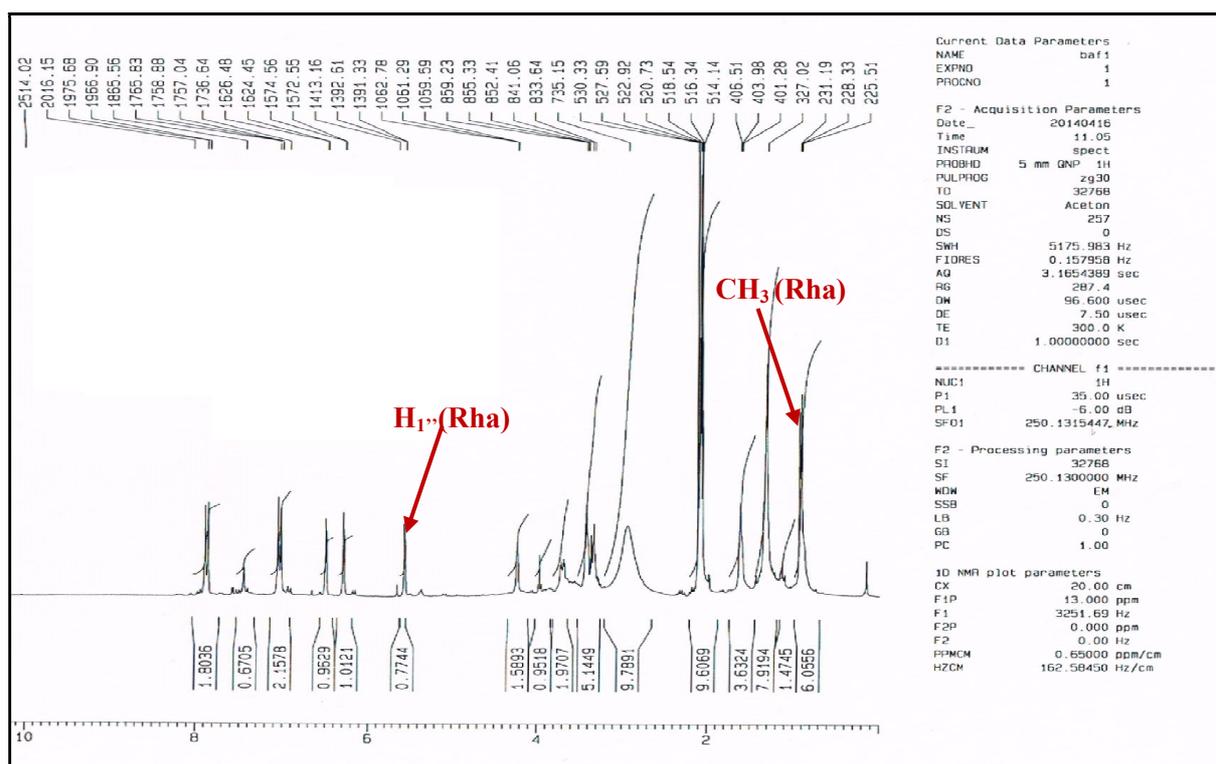
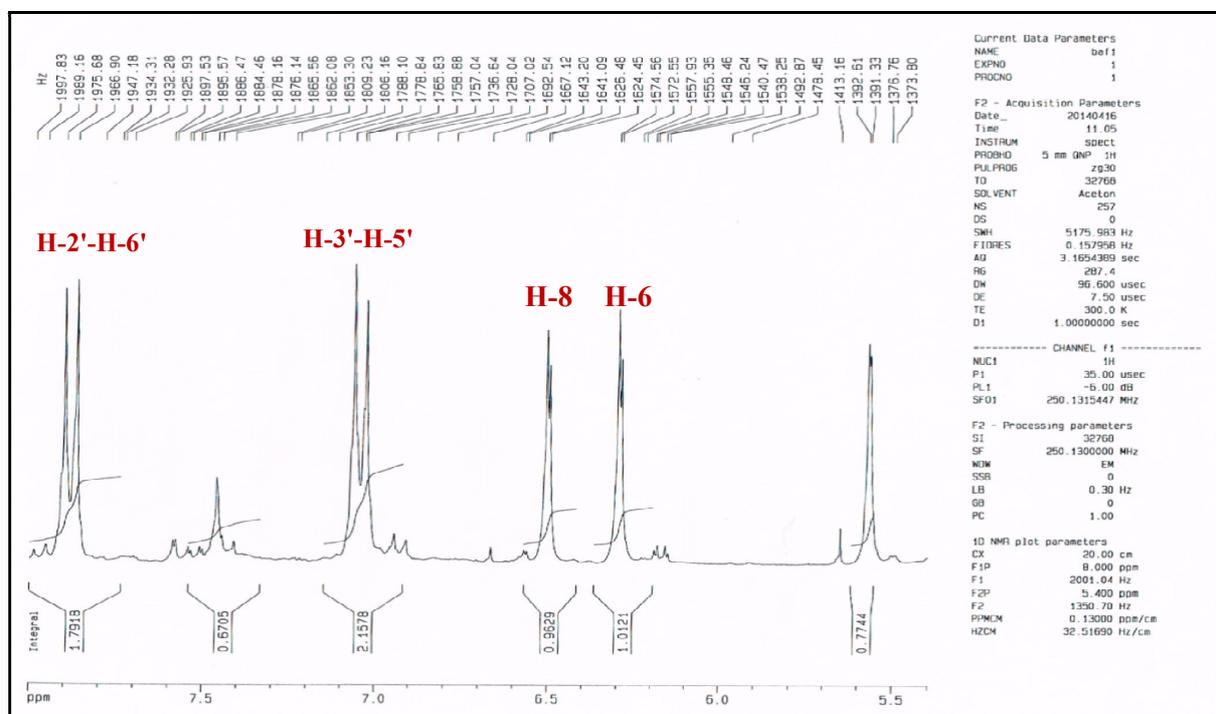
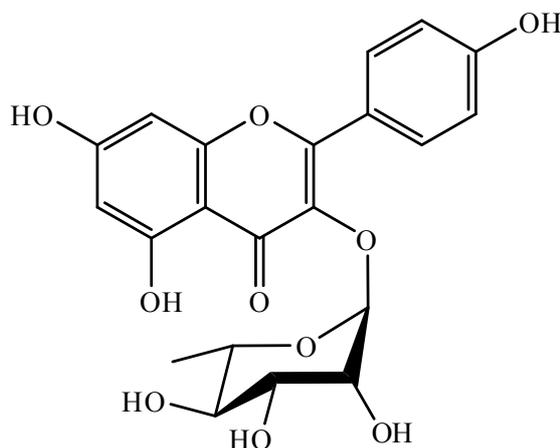
Identification des produits isolés de *Ferula longipes* Coss.Figure 84. Spectre RMN ^1H du composé P1 (CD_3COCD_3 , 250MHz)Figure 85. Spectre RMN ^1H étalé du composé P1 (CD_3COCD_3 , 250 MHz)

Tableau 47. Données spectrales de RMN ^1H (CD_3COCD_3 , 250 MHz) du composé **P1**

Déplacement chimique δ (ppm)	Intégration	Multiplicité	Constante de couplage J (Hz)	Interprétation
7.88	2H	d	8.8	H-2', H-6'
7.04	2H	d	8.8	H-3', H-5'
6.49	1H	d	2.0	H-8
6.29	1H	d	2.0	H-6
5.56	1H	d	1.3	H-1" (Rha)
1,61	3H	d	5.7	CH_3 (Rha)
2.93-4.24	—	—	—	Protons du sucre

Ces données permettent d'attribuer sans ambiguïté au composé **P1** la structure connue de : Kaempférol- 3-O- α -L-rhamnopyranoside (Berrehal et *al.*, 2010).

Kaempférol- 3-O- α -L-rhamnopyranoside (**P1**)

I.2. Le produit P2

Le comportement chromatographique dans les différents systèmes indique que le composé est un monoglycosyle.

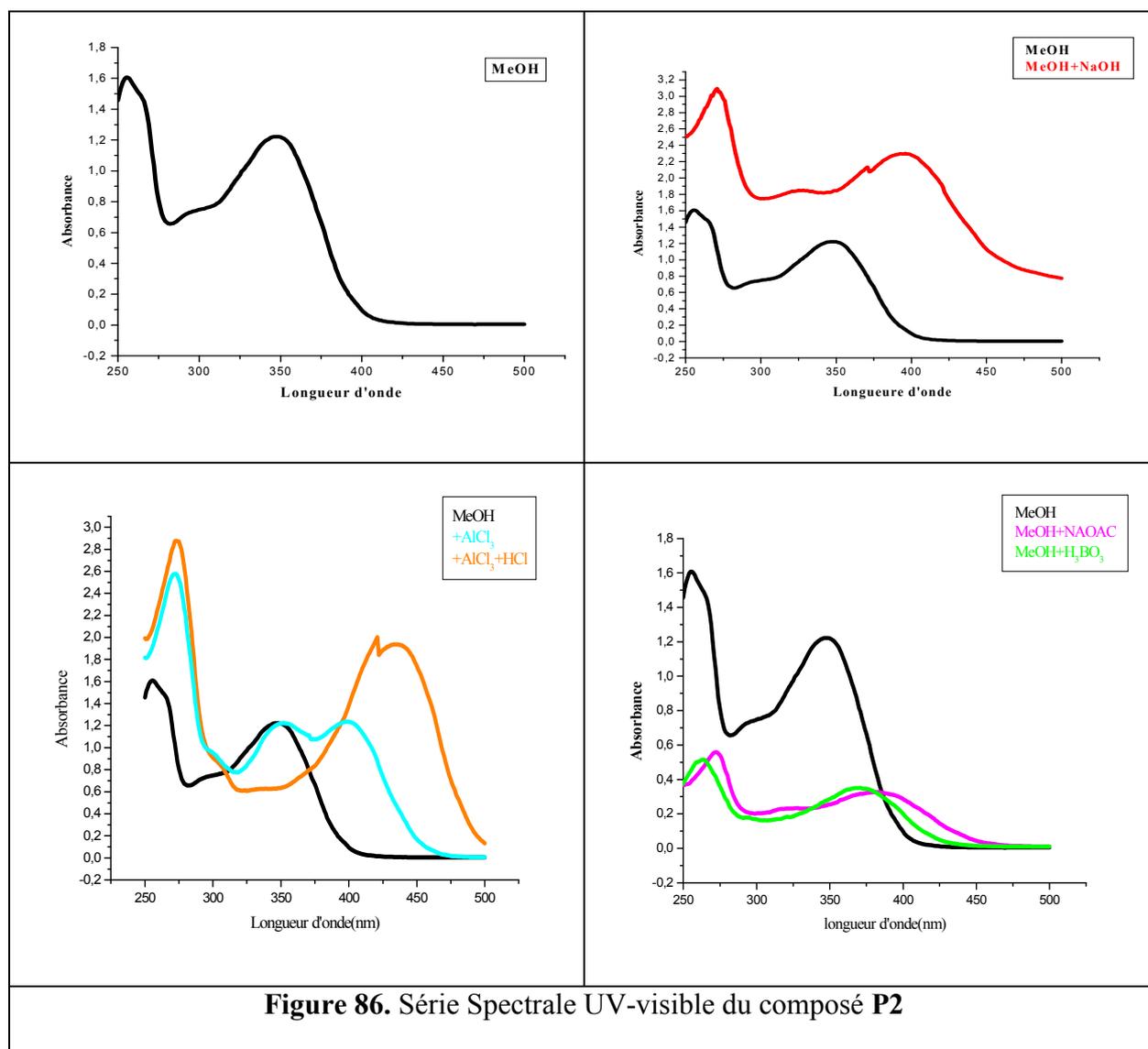
- $R_f = 0.38$ (Toluene/MEC/MeOH 4:3:3).
- $R_f = 0.17$ (H_2O /MeOH/MEC/Acetylacétone 13:3:3:1).
- $R_f = 0.72$ (Acétate d'éthyle /MeOH / H_2O 12 :1:0.5).

Le spectre d'absorption du produit est effectué dans le méthanol (figure 86). La fluorescence violette de ce composé sous la lumière de Wood et la valeur de la bande I (λ_{max}) à 348 nm indiquent la présence de la forme flavonol (3-OR) ou flavone.

- L'addition de NaOH provoquant un déplacement bathochrome de la bande I ($\Delta\lambda = + 47$ nm) par rapport au spectre enregistré dans MeOH avec l'augmentation de l'intensité lumineuse indique la présence d'un OH libre en position 4'.
- Le déplacement bathochrome de la bande II ($\Delta\lambda = 16$ nm) en comparant le spectre enregistré dans MeOH et le spectre enregistré après l'ajout de la base faible NaOAc montre la présence d'un groupe OH en 7.
- L'addition de NaOAc+H₃BO₃ induit un déplacement bathochrome de la bande I ($\Delta\lambda = 23$ nm) par rapport au spectre enregistré dans le MeOH, indiquant la présence d'un système ortho dihydroxylé sur le cycle B.
- Le déplacement bathochrome de la bande I enregistré dans le milieu AlCl₃+ HCl ($\Delta\lambda = +52$ nm) par rapport au spectre enregistré dans MeOH indique la présence d'un OH libre en position 5 (tableau 48).

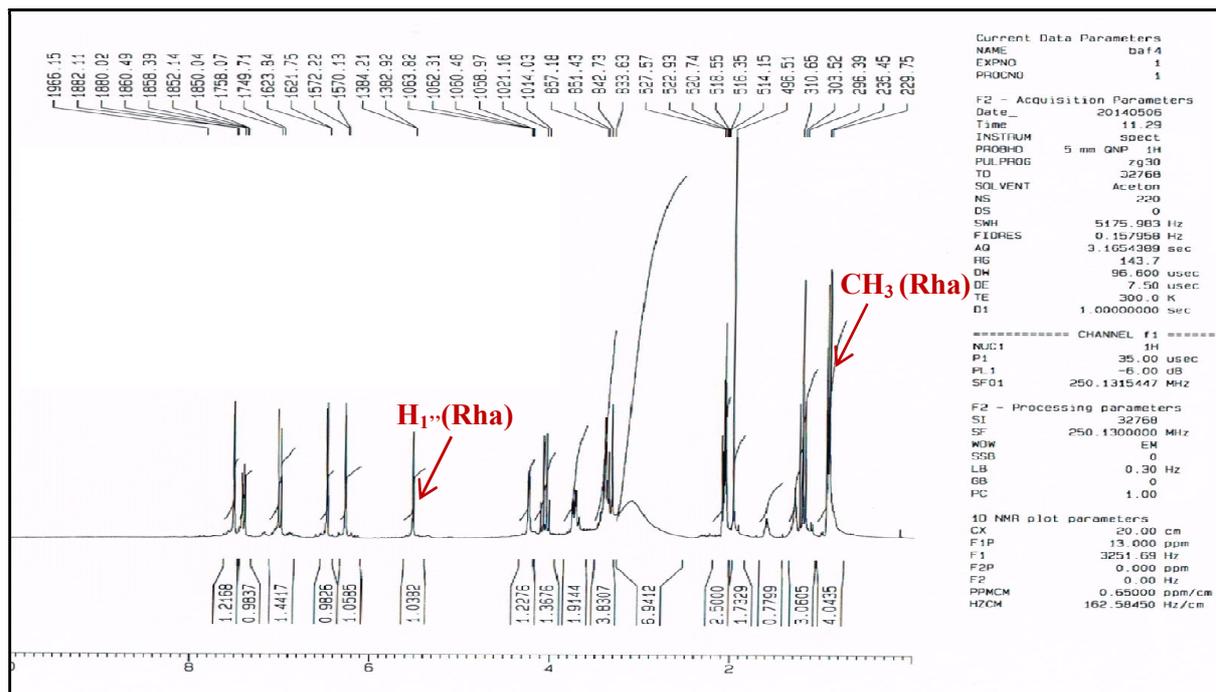
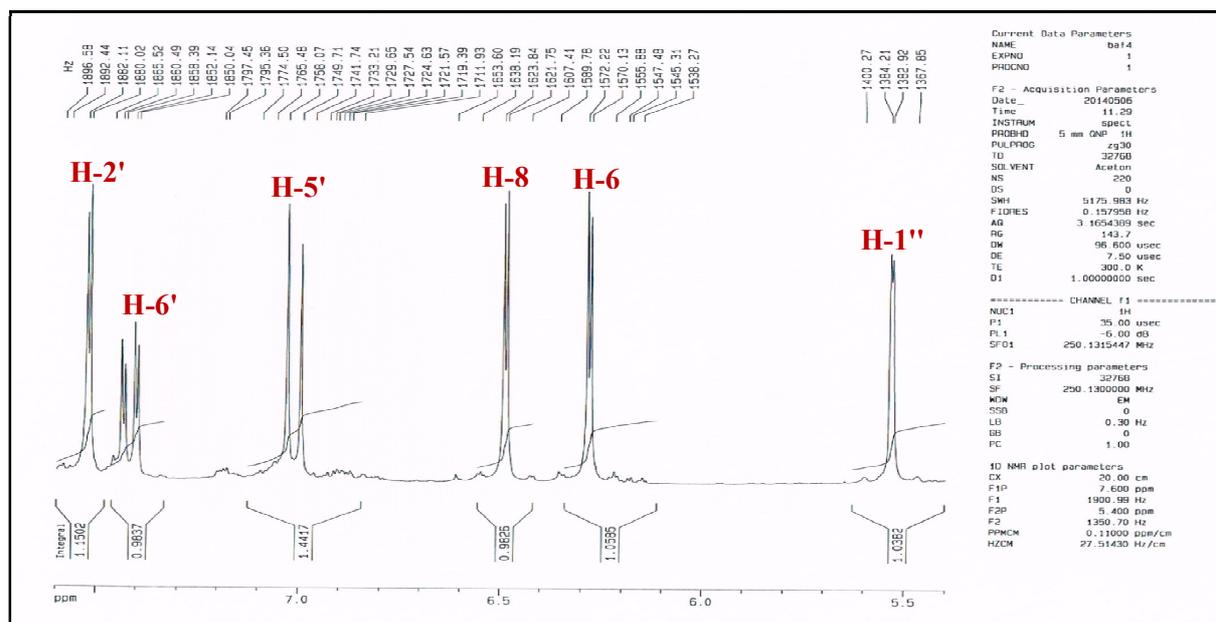
Tableau 48. Résultats de la série spectrale UV-Visible du composé **P2**

Réactifs	Bande I λ_{\max} (nm)	Autres Bandes λ_{\max} (nm)	Bande II λ_{\max} (nm)
MeOH	348	-	256
+NaOH	395	327	271
+AlCl ₃	433	-	274
AlCl ₃ +HCl	400	-	272
NaOAc	381	-	272
NaOAc+H ₃ BO ₃	371	-	263
Le spectre est stable après 5min			



L'examen du spectre RMN ^1H (figure 87), enregistré dans CD_3COCD_3 et son étalement (figure 88) montre:

- Dans la région des aromatiques, deux doublets apparaissent à $\delta_{\text{H}} = 7.54$ ppm ($J = 2.1$ Hz) et à $\delta_{\text{H}} = 7.00$ ppm ($J = 8.4$ Hz) d'intégration 1H, attribués respectivement à H-2' et H-5'.
- Un doublet de doublet résonant à $\delta_{\text{H}} = 7.41$ ppm ($J = 8.4$ et 2.1 Hz) attribué à H-6'.
- L'ensemble de ces trois signaux oriente vers une trisubstitution du noyau B.
- On constate deux doublets à $\delta_{\text{H}} = 6.48$ ppm (1H) et à $\delta_{\text{H}} = 6.28$ ppm (1H) avec une constante de couplage égale à 2.1 Hz, attribués respectivement à H-8 et H-6.
- L'apparition d'un doublet à $\delta_{\text{H}} = 5.53$ ppm ($J = 1.3$ Hz) caractéristique d'un proton anomérique d'un rhamnose, dont la présence de son méthyle est signalé par la présence d'un doublet à $\delta_{\text{H}} = 0.93$ ppm ($J = 5.7$ Hz).

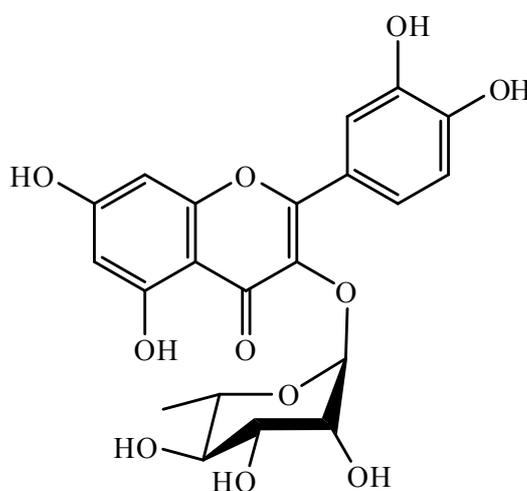
Figure 87. Spectre RMN ^1H du composé **P2** (CD_3COCD_3 , 250MHz)Figure 88. Spectre RMN ^1H étalé du composé **P2** (CD_3COCD_3 , 250 MHz)

Les déplacements chimiques des signaux observés en RMN du ^1H sont dressés dans le tableau 49.

Tableau 49. Données spectrales de RMN ^1H (CD_3OD , 250 MHz) du composé **P2**

Déplacement Chimique δ (ppm)	Intégration	Multiplicité	Constante de couplage $J(\text{Hz})$	Interprétation
7.54	1H	d	2.1	H-2'
7.41	1H	dd	8.4 ; 2.1	H-6'
7.00	1H	d	8.4	H-5'
6.48	1H	d	2.1	H-8
6.28	1H	d	2.1	H-6
5.53	1H	d	1.3	H-1" (rha)
0.93	3H	d	5.7	CH_3 (rha)
3.33-4.25	-	-	-	Protons du sucre

Ces résultats (UV-Visible, RMN ^1H) nous permettent d'identifier la structure finale du produit **P2** : Quercétine 3-O- α -L-rhamnopyranoside (Berrehal et *al.*, 2010).



Quercétine 3-O- α -L-rhamnopyranoside (**P2**)

I.3. Le produit P3

Le R_f du produit **P3** dans les deux systèmes (13/3/3/1) et (4/3/3) suggère une structure d'un monoglycosyle.

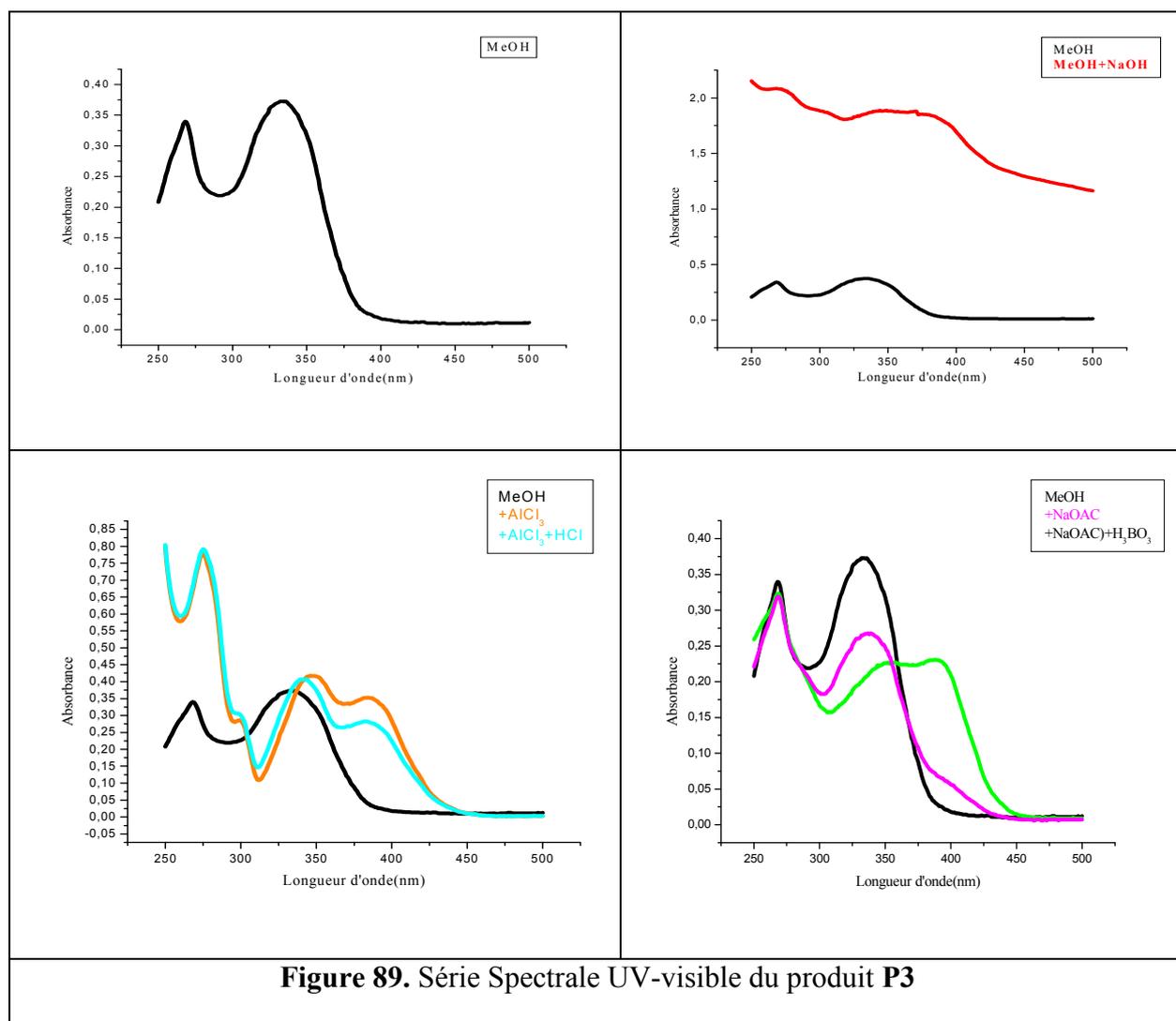
- $R_f = 0.36$ (Toluene/MEC/MeOH 4:3:3).
- $R_f = 0.16$ (H_2O /MeOH/MEC/Acetylacétone 13:3:3:1).
- $R_f = 0.59$ (Acétate d'éthyle /MeOH / H_2O 12 :1:0.5).

La fluorescence violette du composé **P3** sous lumière de Wood et la valeur de la bande I à 334 nm enregistrée dans le méthanol orientent vers une structure flavonique de type flavone (figure 89).

- L'ajout de NaOH provoque un déplacement bathochrome de la bande I ($\Delta\lambda_{\max} = 45\text{nm}$) avec augmentation de l'intensité et la stabilité après 5 min, suggérant la présence d'un groupement OH libre en position 4'.
- L'absence d'un groupement OH libre en position 7 est confirmée par l'absence de l'effet bathochrome de la bande II dans le spectre de NaOAc par rapport au spectre enregistré dans le méthanol.
- Le déplacement bathochrome $\Delta\lambda = 50\text{ nm}$ de la bande I dans le spectre AlCl_3+HCl par rapport au spectre enregistré dans MeOH indique la présence d'un groupe OH libre en 5.
- L'effet hypsochrome faible ($\Delta\lambda_{\max} = -1$) de la bande I, en comparant les deux spectres enregistrés dans le spectre de AlCl_3+HCl et dans le spectre de AlCl_3 de la même bande excluent le système ortho dihydroxylé sur le cycle B (tableau 50).

Tableau 50. Résultats de la série spectrale UV-Visible du composé **P3**

Réactifs	Bande I λ_{\max} (nm)	Autres Bandes λ_{\max} (nm)	Bande II λ_{\max} (nm)
MeOH	334	-	268
+NaOH	379	-	269
+ AlCl_3	385	-	275
AlCl_3+HCl	384	-	275
NaOAc	388	-	268
NaOAc+ H_3BO_3	339	-	268
Le spectre de NaOH après 5 min est stable			



Toutes ces données mènent à la structure partielle suivante (figure 90):

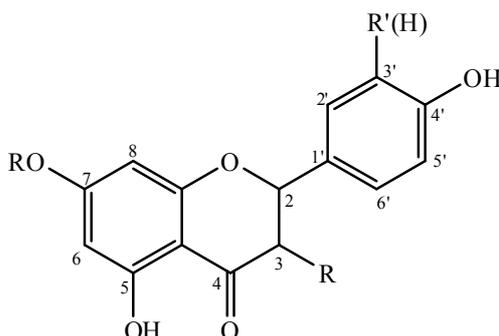


Figure 90. Structure partielle du produit **P3**

Les données spectroscopiques du spectre RMN ^1H et son étalement (figure 91 et 92) montrent :

- La présence d'un singulet à $\delta_{\text{H}} = 6.69$ ppm confirme que le produit **P3** est une flavone.

- Deux signaux sous forme d'un doublet d'intégration 2H à $\delta_H = 7.92$ ppm et $\delta_H = 6.96$ ppm avec une constante de couplage $J = 8.4$ Hz (un couplage ortho) attribuable respectivement aux protons H-2', H-6' et H-3' et H-5'.
- Un doublet ($J = 2.4$ Hz) d'intégration 1H à $\delta_H = 6.86$ ppm, attribuable à H-8.
- Un doublet ($J = 2.4$ Hz) d'intégration 1H à $\delta_H = 6.53$ ppm, attribuable à H-6.
- La présence d'une partie osidique est clairement notée, confirmée notamment avec le proton anomérique à $\delta_H = 5.10$ ppm ($J = 7.3$ Hz), plusieurs autres signaux sont observés entre 3 et 4 ppm correspondant sans doute aux protons de la partie osidique.

La constante de couplage ($J = 7.3$ Hz) observée pour le proton anomérique de **P3** suggère une liaison de configuration β entre le sucre et la génine.

Les données spectrales de RMN ^1H indiquent que le cycle B est paradisubstitué par conséquent le sucre ne pourrait être substitué qu'à l'hydroxyle du carbone 7.

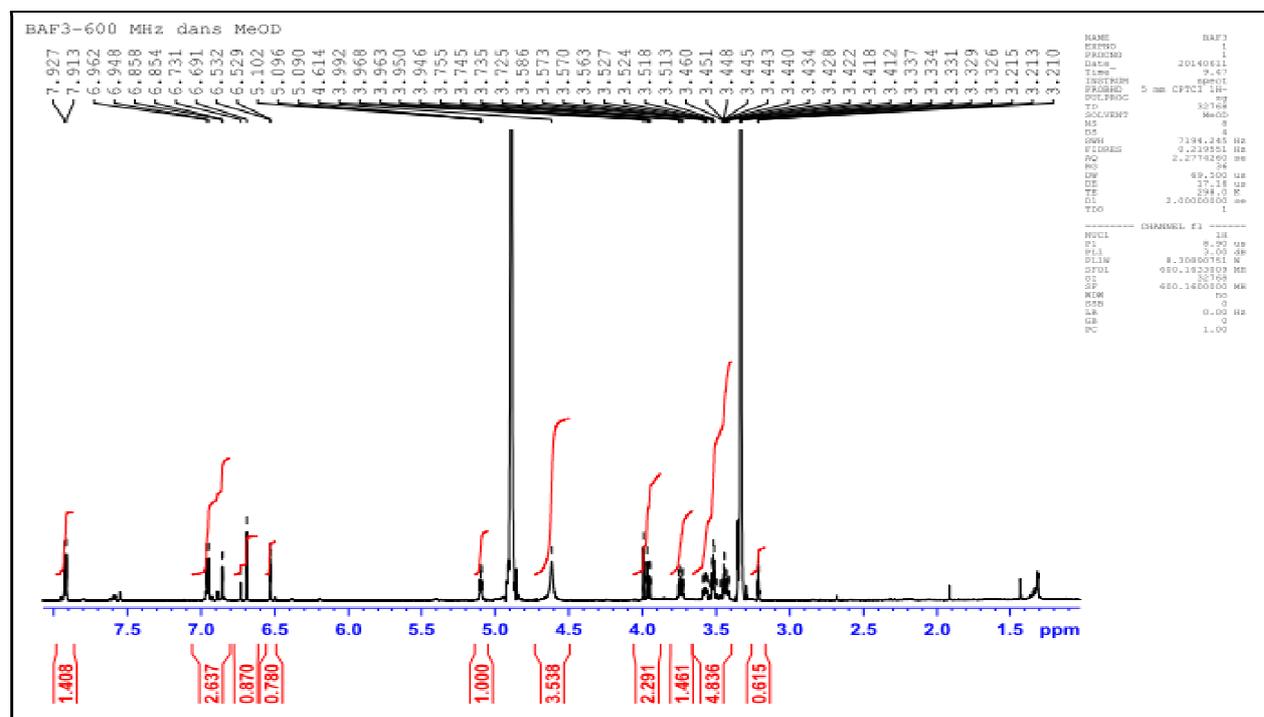


Figure 91. Spectre RMN ^1H du produit **P3** (CD_3OD , 600MHz)

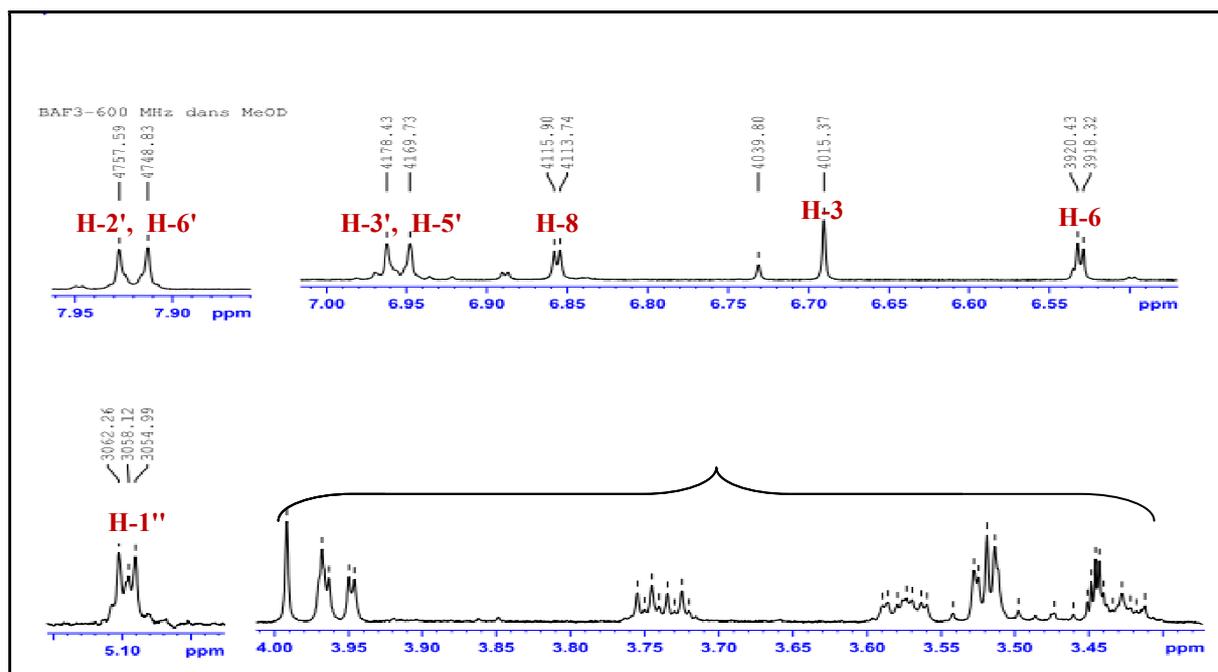


Figure 92. Spectre RMN ^1H étalé du composé **P3** (CD_3OD , 600 MHz)

On observe dans le spectre COSY (figure 93) les sept protons du sucre qui couplent entre eux avec de grandes valeurs de constante de couplage (> 7 Hz). Leurs déplacements chimiques ainsi que les déplacements de leurs carbones sont caractéristiques d'un glucose.

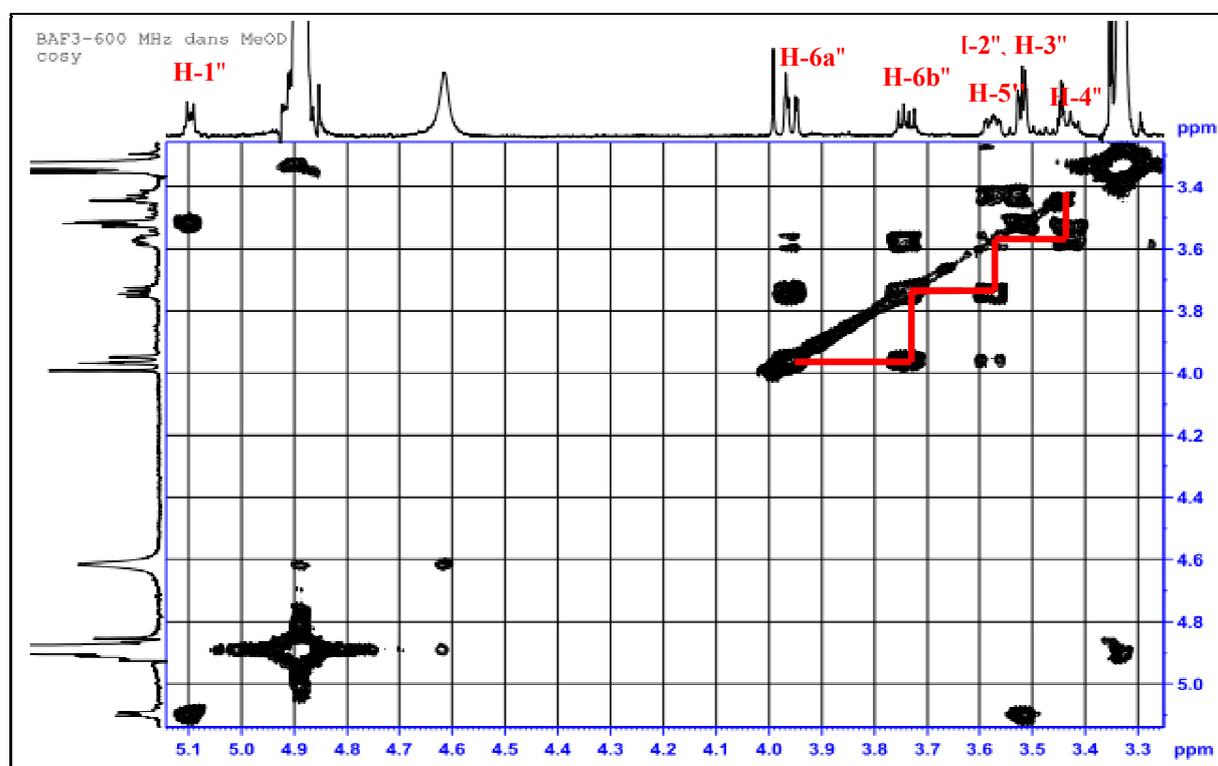


Figure 93. Spectre COSY étalé du composé **P3** (CD_3OD , 600 MHz)

Les carbones respectifs aux protons de glucose, sont attribués à l'aide du spectre HSQC (figure 94).

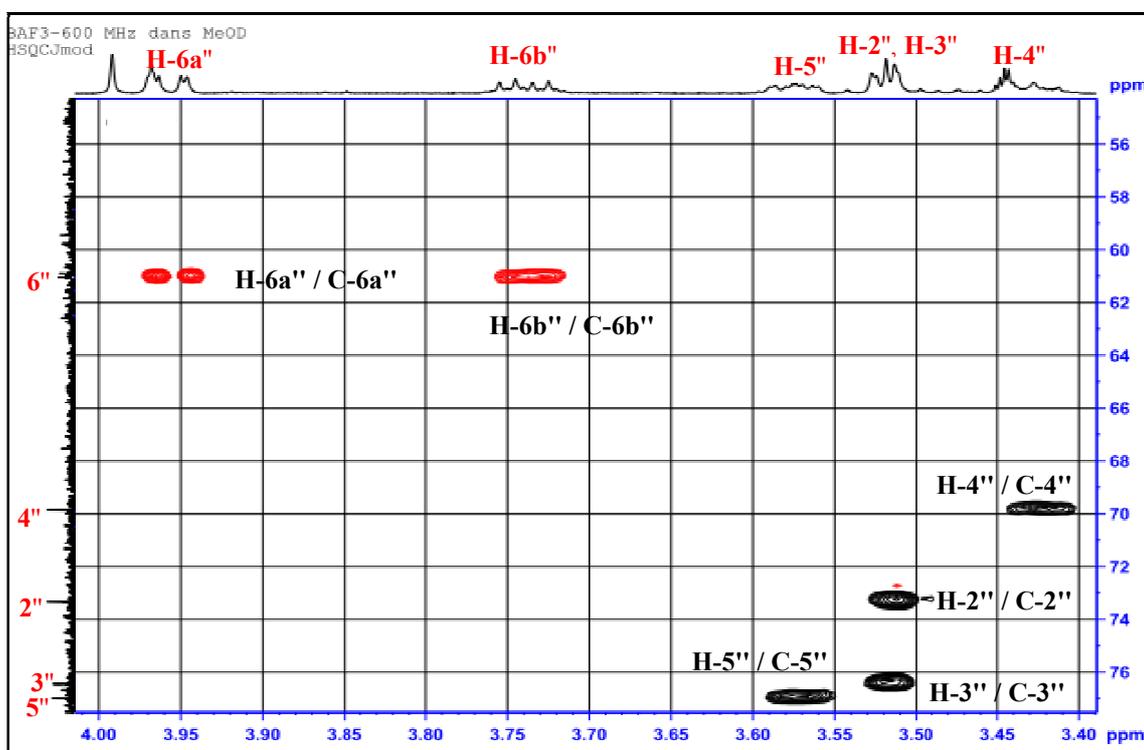


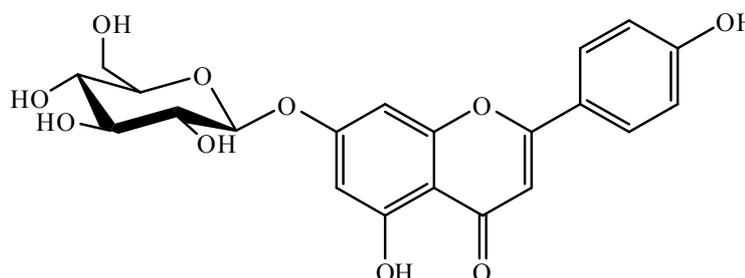
Figure 94. Spectre HSQC étalé du composé **P3** (CD₃OD, 600 MHz)

Les déplacements chimiques des signaux observés en RMN du ¹H sont dressés dans le tableau 51.

Tableau 51. Données spectrales de RMN ¹H (CD₃OD, 600 MHz) du composé **P3**

Déplacement chimique δ (ppm)	Intégration	Multiplicité	Constante de Couplage J (Hz)	Interprétation
7.92	2H	d	8.4	H-2', H-6'
6.96	2H	d	8.4	H-3', H-5'
6.86	1H	d	2.4	H-8
6.69	1H	s	-	H-3
6.53	1H	d	2.4	H-6
5.10	1H	d	7.3	H-1'' (sucre)
3.96	1H	dd	10.3 ; 2.2	H-6 a''
3.74	1H	dd	12.1 ; 5.9	H-6 b''
3.57	1H	m	-	H-5''
3.52	1H	m	-	H-2''
3.52	1H	m	-	H-3''
3.43	1H	t	7.2	H-4''

Ces résultats (UV-Visible, RMN) nous permettent d'identifier la structure finale du produit **P3** : Apigénine-7-*O*- β -D-glucoopyranoside (Markham et chari, 1982).



Apigénine-7-*O*- β -D-glucoopyranoside (**P3**)

I.4. Le produit P4

Le spectre de masse haute résolution obtenu en HR-ESI-MS mode positif (figure 95), montre un pic d'ion pseudo-moléculaire à m/z 795.1758 $[M+Na]^+$, soit une masse moléculaire égale à 772 correspondant à une formule brute en $C_{36}H_{36}O_{19}$.

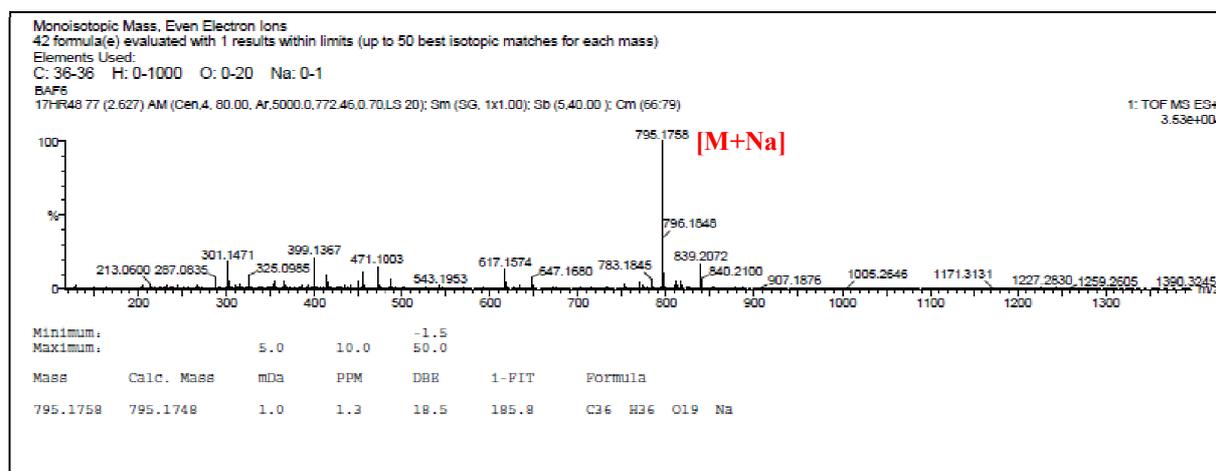


Figure 95. Spectre de masse HR-ESI-MS du composé P4

L'analyse du spectre 1H (Figure 96) et son étalement (Figure 97) du produit **P4** montre : Deux doublets à $\delta_H = 6.42$ ppm et à $\delta_H = 6.71$ ppm avec des constantes de couplage $J = 2.2$ Hz attribuable à H-6 et H-8 respectivement du A, confirmant la substitution de la position 7 (Iwashina et al., 1995, Han et al., 2001). En outre, le cycle B est présenté par des signaux d'un système ABX à $\delta_H = 6.92, 7.33$ et 7.37 ppm, caractéristiques respectivement des protons H-5' (d, $J = 8.3$ Hz), H-6' (dd, $J = 8.3 ; 2.0$ Hz) et H-2' (d, $J = 8.3$ Hz) (tableau 55).

Ces données nous orientent vers l'origine de la partie aglycone : la quercétine (Han et *al.*, 2001).

Cette proposition sera confirmée par la suite par l'analyse des spectres RMN 2D (COSY, HSQC, HMBC).

En dehors des signaux correspondants à la génine, l'analyse du spectre de RMN ^1H permet de repérer deux protons anomériques résonnant à $\delta_{\text{H}} = 5.39$ ppm (d, $J = 1.5\text{ Hz}$), et à $\delta_{\text{H}} = 5.37$ ppm (d, $J = 7.9$ Hz). Ces données suggèrent la présence de deux unités osidiques.

Un ensemble de protons résonnants entre 0.90- 5.40 ppm correspondant aux déplacements chimiques des deux sucres, les valeurs des constantes de couplage des signaux de chaque unité osidique établie par l'analyse du spectre COSY, montrent qu'il s'agit d'un β -D-glucopyranose et α -L-rhamnopyranose.

- Un doublet à $\delta_{\text{H}} = 6.78$ ppm d'intégration 1H ($J = 8.2$ Hz) attribuable à H-5''''.
- Un doublet de doublet à $\delta_{\text{H}} = 6.96$ ppm d'intégration 1H ($J = 8.2, 2.0$ Hz) attribuable à H-6''''.
- Un doublet à $\delta_{\text{H}} = 7.06$ ppm d'intégration 1H ($J = 2.0$ Hz) attribuable à H-2''''.
- On observe également deux doublets : à $\delta_{\text{H}} = 7.63$ ppm, H-7'''' (d, $J = 15.8$ Hz) et à $\delta_{\text{H}} = 6.33$ ppm, H-8'''' (d, $J = 15.8$ Hz) indiquant la présence de deux protons vicinaux d'une double liaison de configuration *trans*. Leurs déplacements chimiques déblindés pourraient être dus à une conjugaison de la double liaison avec un carbonyle.

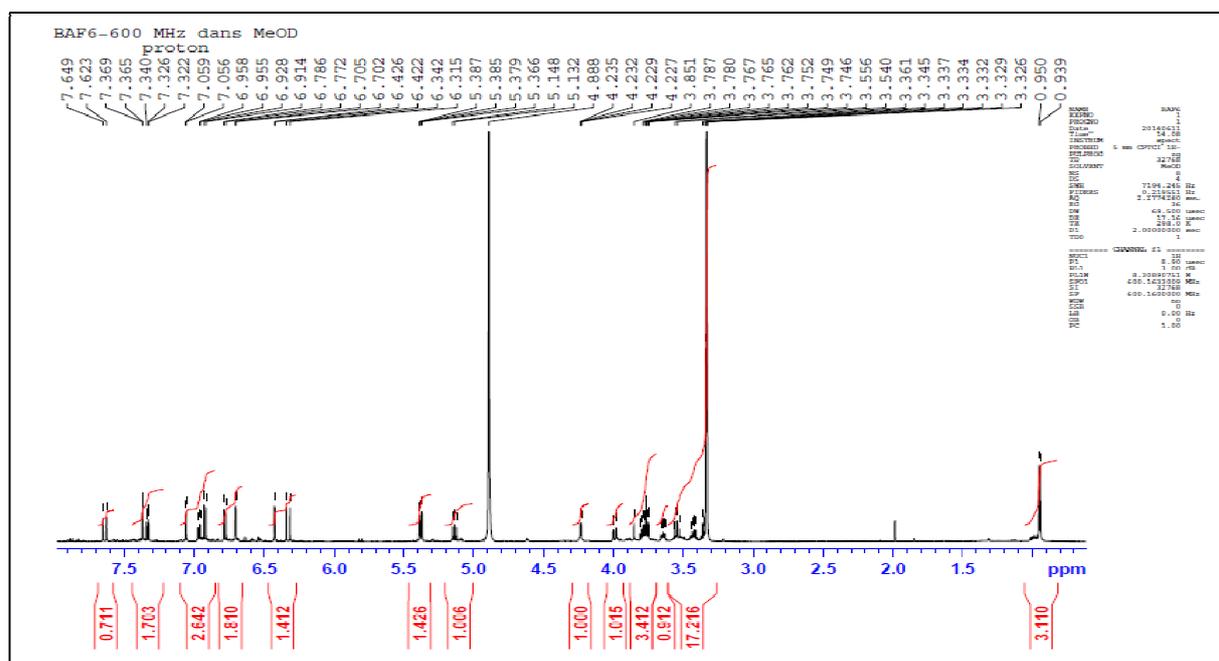


Figure 96. Spectre RMN ^1H du composé P4 (CD_3OD , 600 MHz)

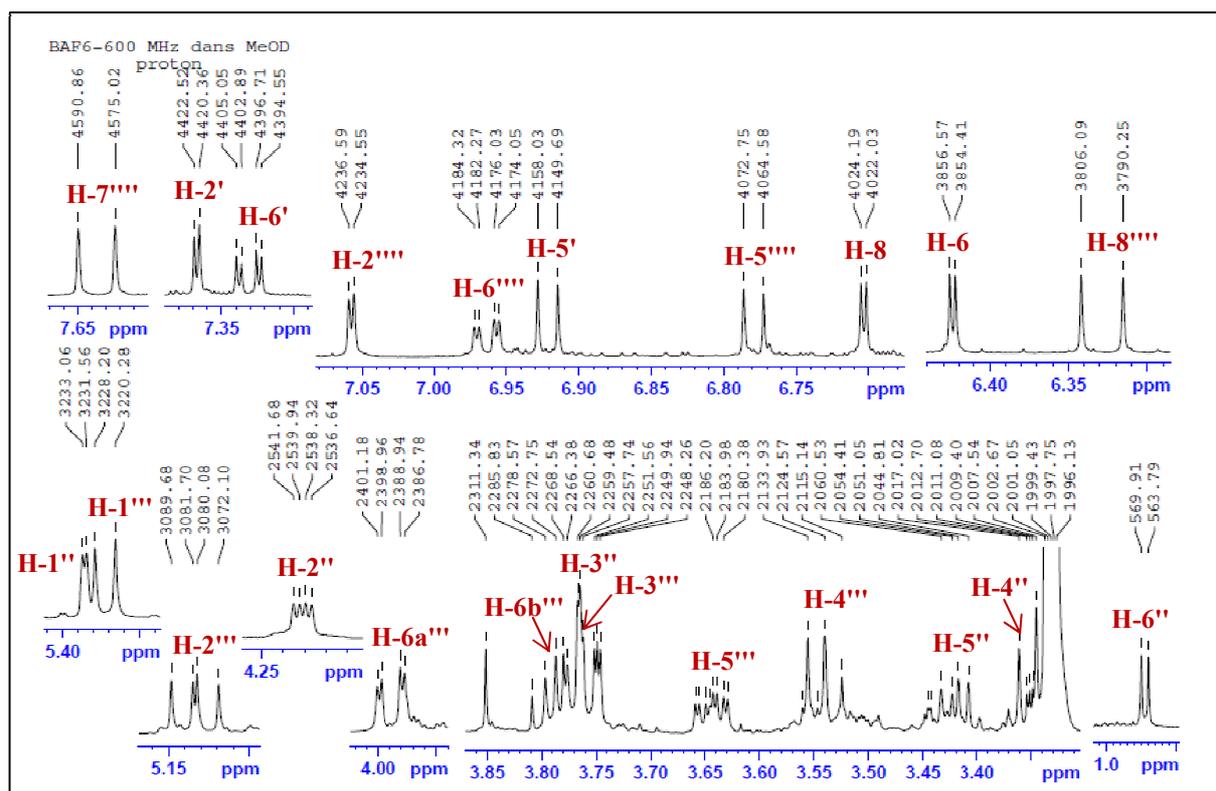


Figure 97. Spectre RMN ^1H étalé du composé **P4** (CD_3OD , 600 MHz)

Sur le spectre ^{13}C (figure 98), les signaux caractéristiques suivants sont observés :

- Un signal à $\delta_{\text{C}} = 178.4$ ppm caractéristique du carbonyle d'une flavone.
- Les carbones quaternaires C-5, C-3' et C-4' résonnant vers $\delta_{\text{C}} = 161.6$ ppm, 145.0 ppm et 148.6 ppm confirmant leur hydroxylation.
- Les pics à $\delta_{\text{C}} = 156.6$ ppm et $\delta_{\text{C}} = 158.5$ ppm attribuables aux C-2 et C-9. Et les pics à $\delta_{\text{C}} = 94.5$ ppm, $\delta_{\text{C}} = 99.2$ ppm et 106.4 ppm correspondent aux carbones C-8, C-6 et C-10 du noyau A.
- Les carbones aromatiques du noyau B à $\delta_{\text{C}} = 115.6$ ppm et $\delta_{\text{C}} = 115.0$ ppm attribuables aux carbones C-2' et C-5' respectivement et ceux à $\delta_{\text{C}} = 126.3$ ppm et $\delta_{\text{C}} = 121.6$ ppm attribuables aux carbones C-1' et C-6'.
- Deux carbones anomériques à $\delta_{\text{C}} = 102.1$ ppm et $\delta_{\text{C}} = 98.3$ ppm.
- Un massif de carbone entre $\delta_{\text{C}} = 16.2$ ppm et $\delta_{\text{C}} = 102.1$ ppm attribuables aux carbones des deux sucres.
- Un pic à $\delta_{\text{C}} = 166.8$ ppm indiquant la présence de carbonyle d'acide ou d'ester (C-9''').
- Deux carbones éthyléniques vers $\delta_{\text{C}} = 146.2$ ppm et $\delta_{\text{C}} = 113.3$ ppm attribuables aux C-7'''' et C-8'''' respectivement.

- Des C-H et des carbones quaternaires entre 113.7 et 121.6 ppm assignables au cycle aromatique.
- Deux carbones quaternaires hydroxylés C-3''' et C-4''' résonnant vers $\delta_C = 145.4$ ppm et 148.3 ppm.

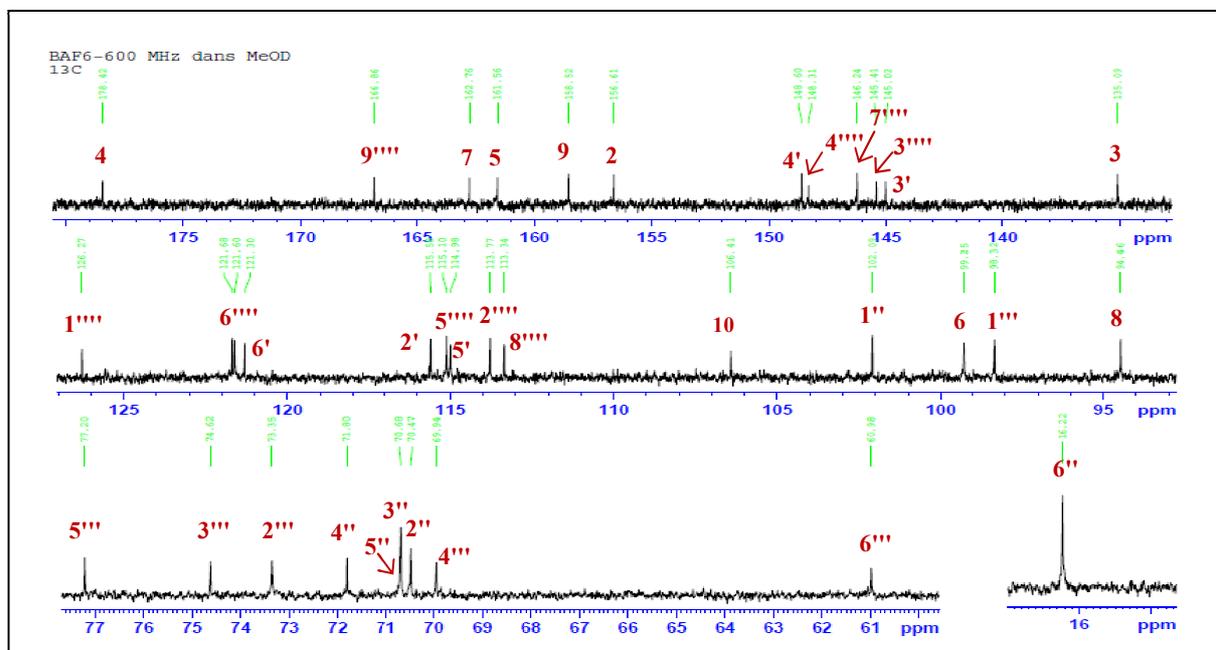


Figure 98. Spectre RMN ^{13}C du composé **P4** (CD_3OD , 150 MHz)

L'analyse RMN ^1H et ^{13}C est en faveur d'un squelette flavonoïde de type : quercétine avec deux sucres identifiés comme un β -glucose et α -rhamnose grâce aux déplacements chimiques de leurs carbones (Agrawal, 1992), en plus de la présence d'un groupement cafféoylé.

L'analyse des corrélations hétéronucléaires $^1J_{\text{H-C}}$ sur les spectres HSQC (figures 99-100) permet d'identifier et d'attribuer les déplacements chimiques aux carbones des sucres et de cafféoylé.

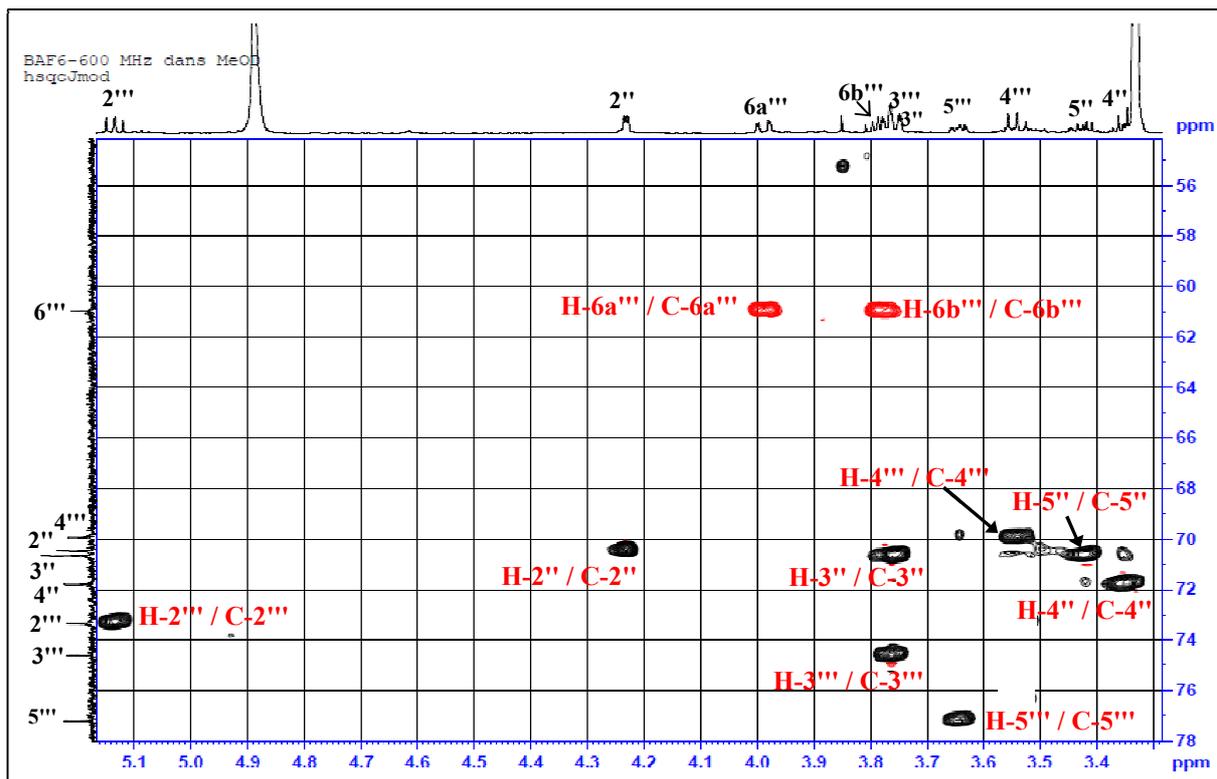


Figure 99. Spectre HSQC de δ_H 3.35 à 5.1 ppm du produit **P4** (CD_3OD , 600 MHz)

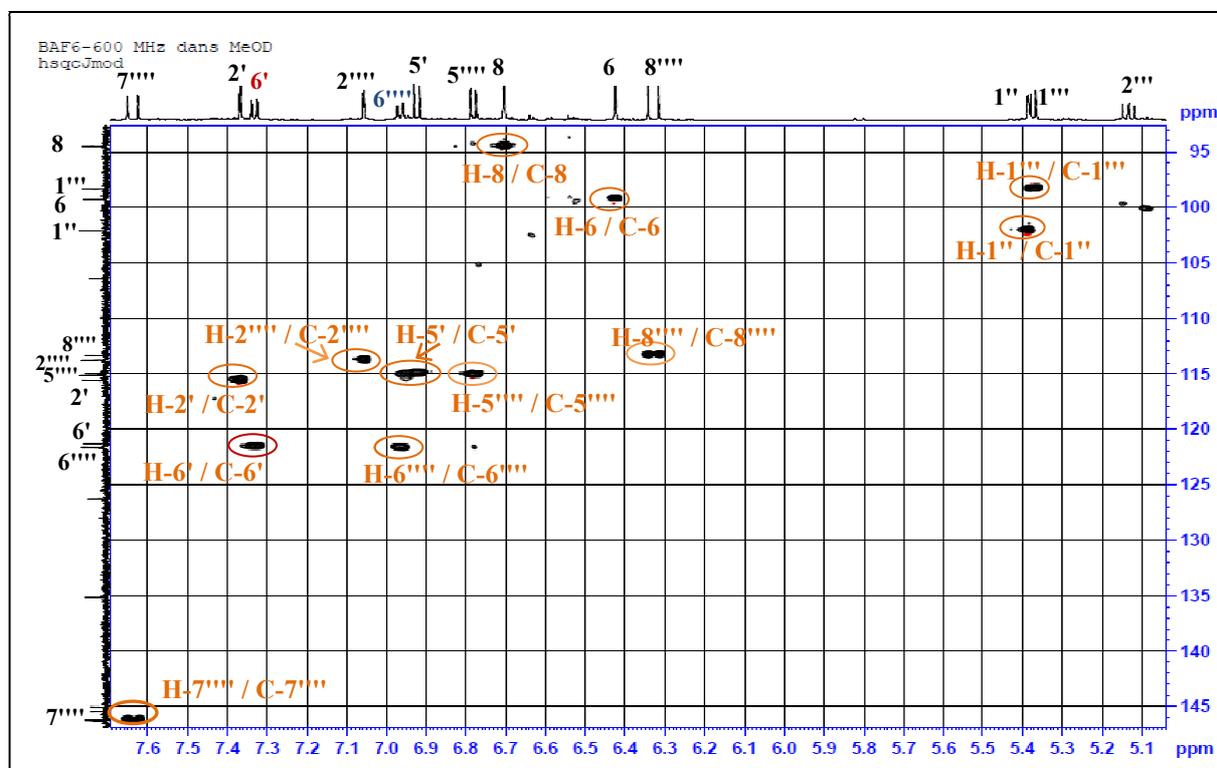


Figure 100. Spectre HSQC de δ_H 5.1 à 7.6 ppm du produit **P4** (CD_3OD , 600 MHz)

L'analyse du spectre COSY (figures 102-103) permet d'identifier les deux sucres comme étant α -L-rhamnopyranoside et β -D-glucopyranoside par :

- Des corrélations entre les protons du premier sucre : 1''/2'', 2''/3'', 3''/4'', 4''/5'' et 5''/6'' et le deuxième sucre : 1'''/2''', 2'''/3''', 3'''/4''', 4'''/5''' et 5'''/6'''.

Ce spectre montre les corrélations suivantes :

- Le proton H-6 corrèle avec le proton H-8 du noyau aromatique A.
- Des taches de corrélation du H-6' avec les protons H-2' et H-5' du noyau aromatique B.
- Des taches de corrélations des protons du cycle aromatique: 2'''/6''' et 5'''/6'''.
- Une tache de corrélation entre 7''' et 8'''.

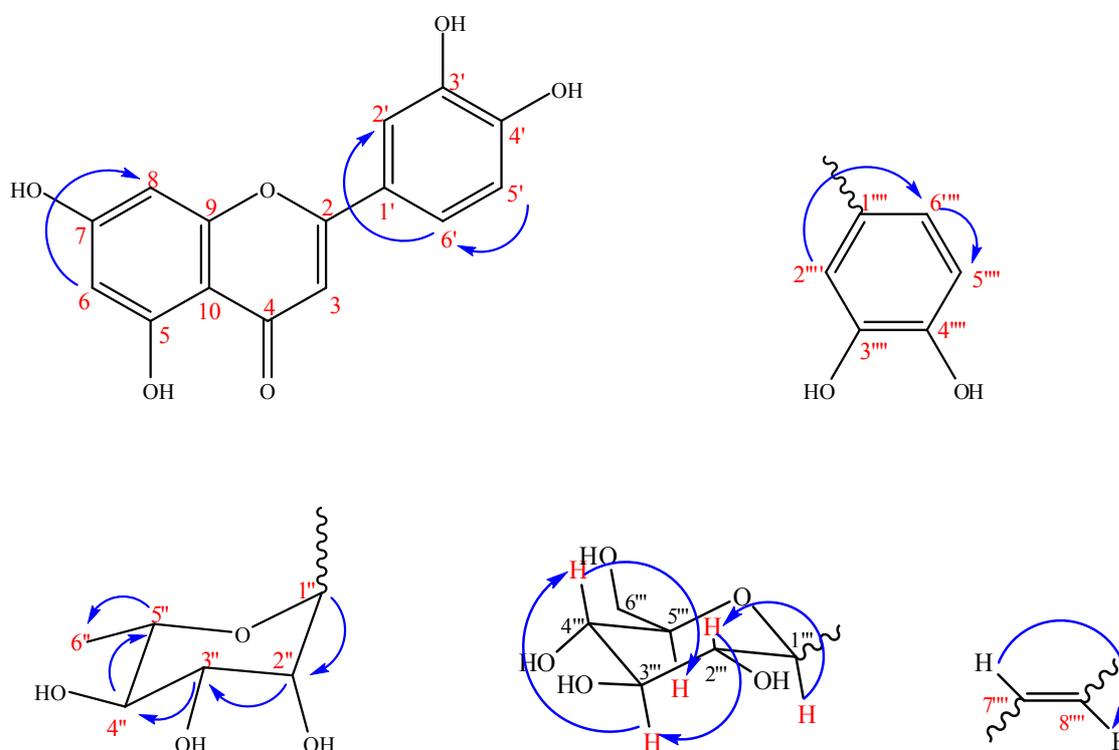


Figure 101. Corrélations COSY du composé P4

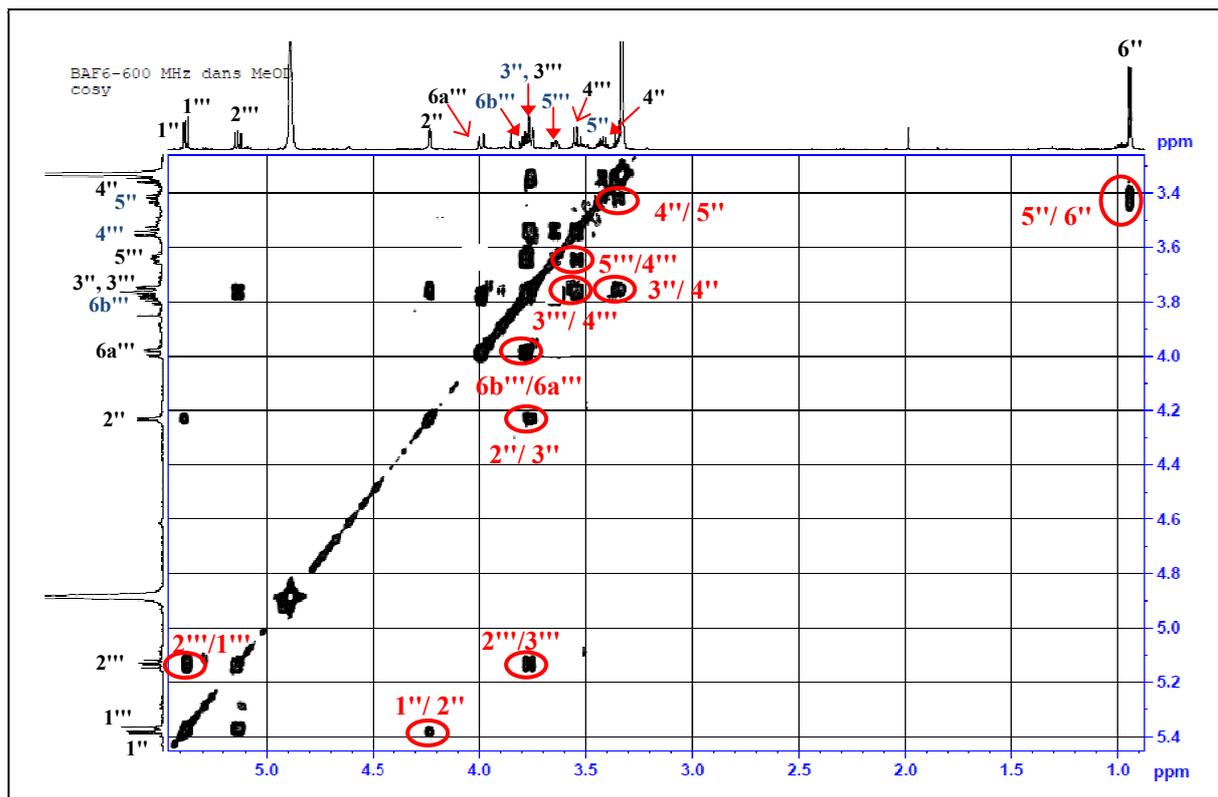


Figure 102. Spectre COSY de δ_H 1.0 à 6.0 ppm du produit P4 (CD₃OD, 600 MHz)

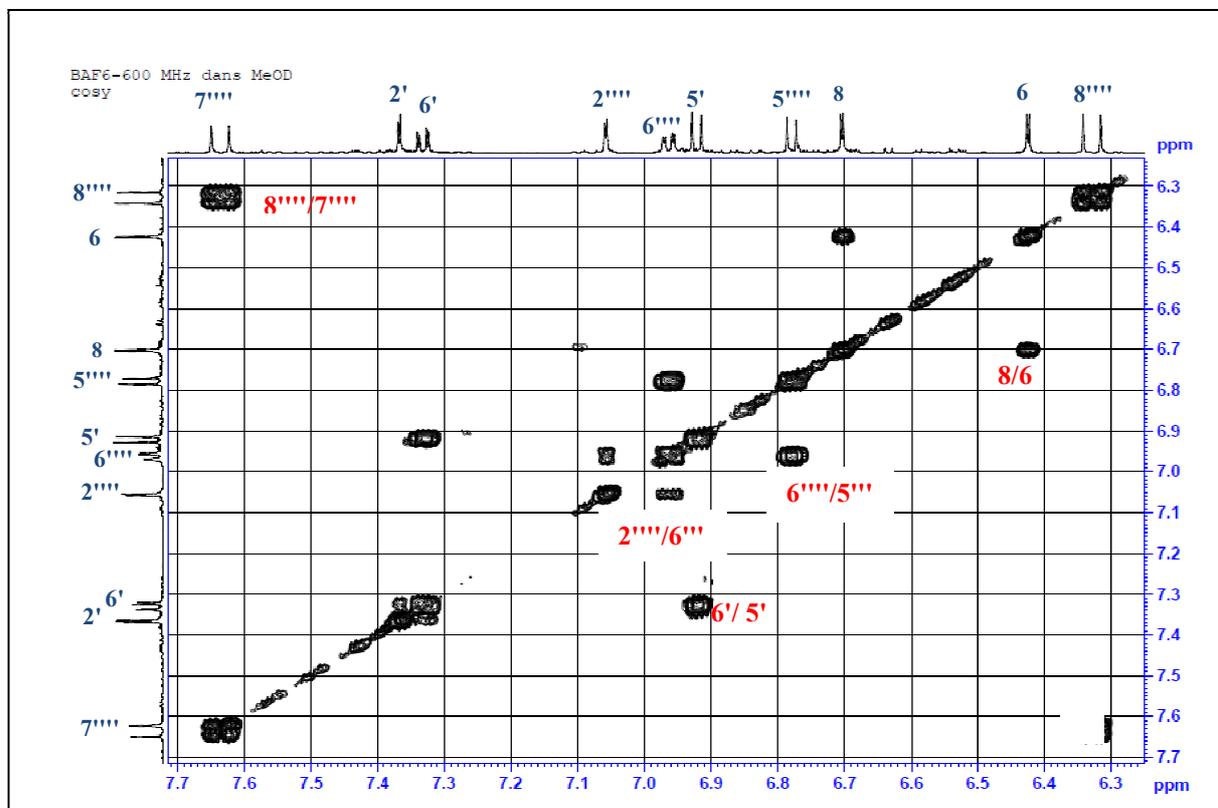


Figure 103. Spectre COSY de δ_H 6.3 à 7.7 ppm du produit P4 (CD₃OD, 600 MHz)

L'analyse des spectres HMBC (figures 105-107) nous permet la confirmation de la partie aglycone, l'identification de la partie carbonyle et la localisation de cette dernière ainsi que la liaison éthylénique et le cycle aromatique.

- Le spectre HMBC montre une corrélation H-C entre le proton anomérique H-1'' à $\delta_H = 5.39$ ppm et le carbone C-3 ($\delta_C = 135.1$ ppm) de la génine indiquant que le α -L-rhamnose est fixé sur la génine quercétine en position 3.
- Un autre pic entre le proton H-1''' à $\delta_H = 5.37$ et le carbone C-7 à $\delta_C = 162.7$ ppm ce qui indique que le β -D-glucose est porté par le carbone C-7.
- Une autre corrélation est observée entre le proton H-2''' ($\delta_H = 5.13$, 1H, dd, $J = 9.6, 7.9$ Hz) et le carbone C-9''' du cafféoyloyle à $\delta_C = 166.8$ ppm indiquant que cette substitution est réalisée au niveau du C-2''' de glucose.

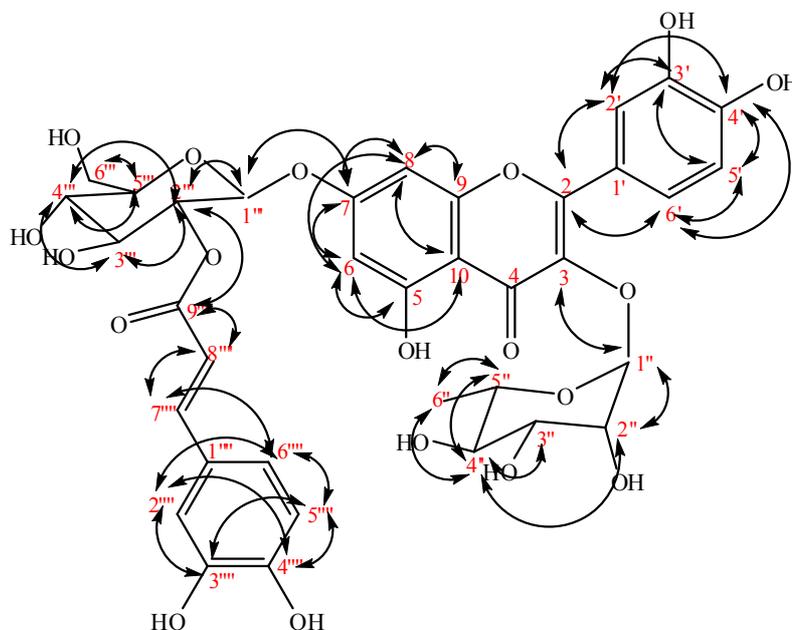


Figure 104. Corrélations HMBC du composé **P4**

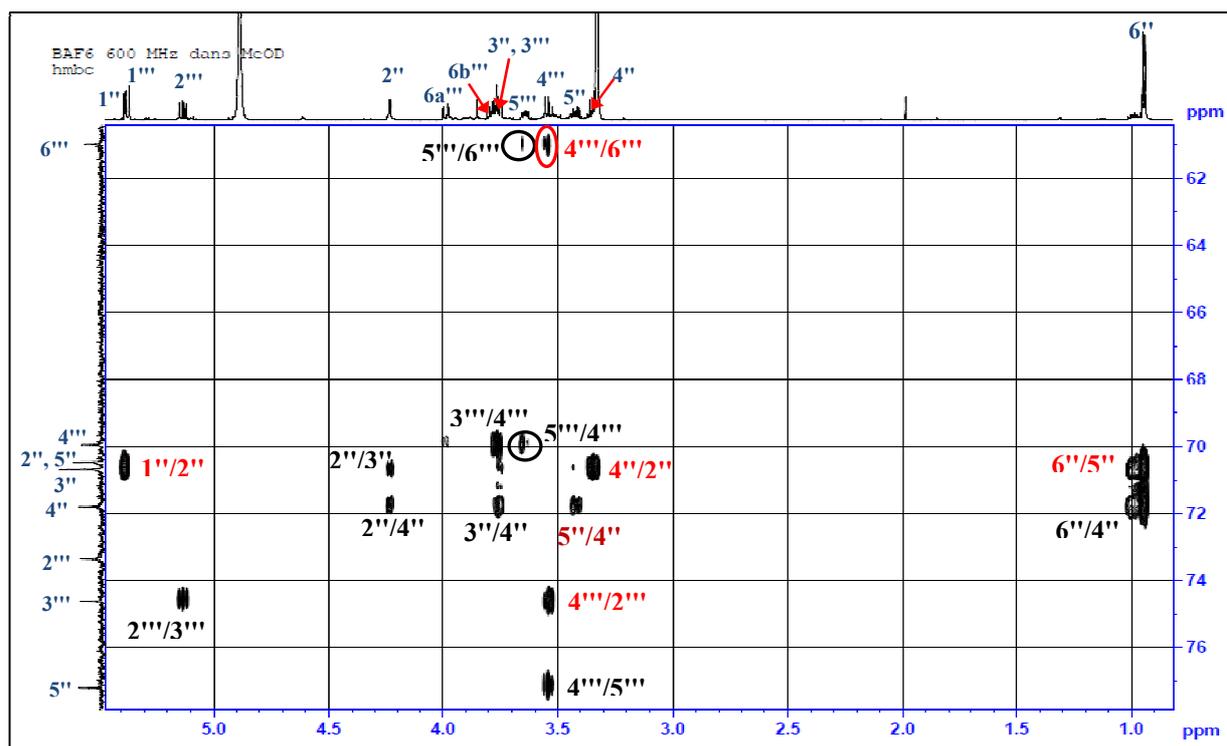


Figure 105. Spectre HMBC de δ_H 1.0 à 5.5 ppm du produit **P4** (CD_3OD , 600 MHz)

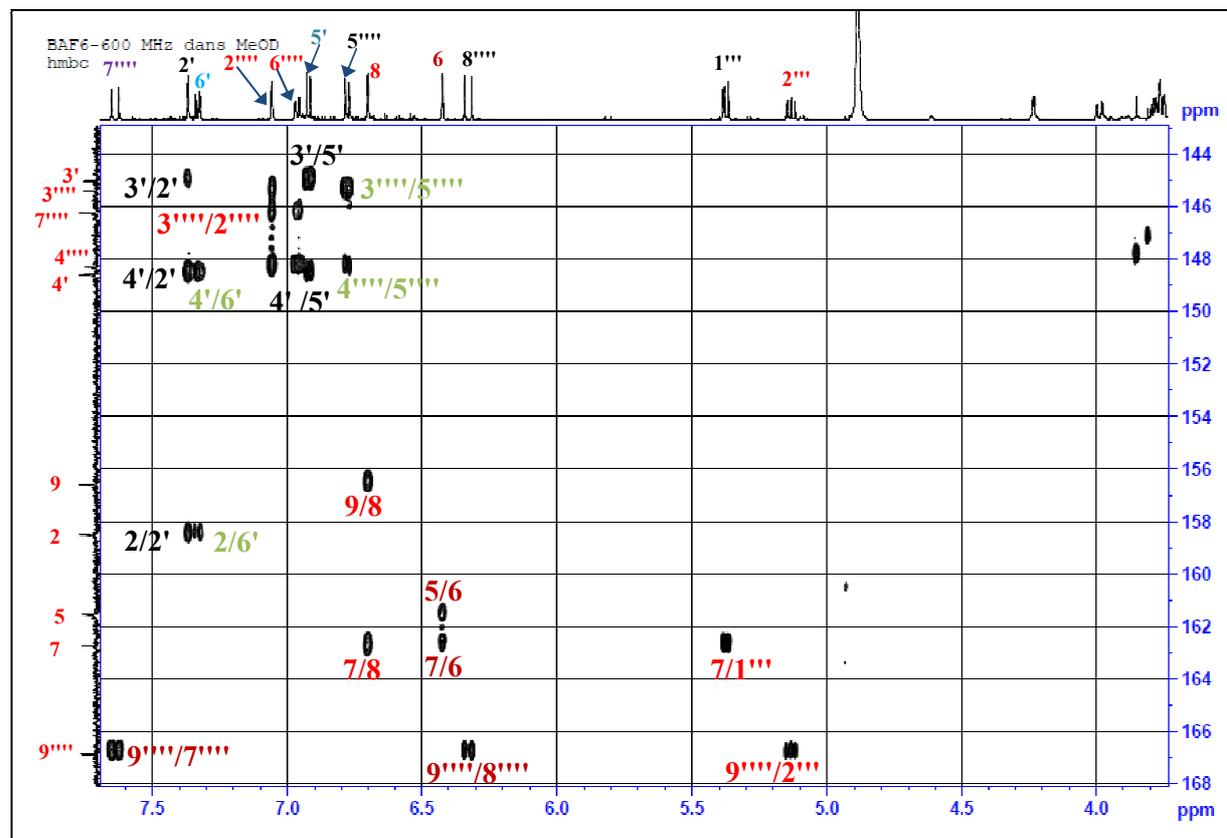


Figure 106. Spectre HMBC de δ_H 3.5 à 7.5 ppm du produit **P4** (CD_3OD , 600 MHz)

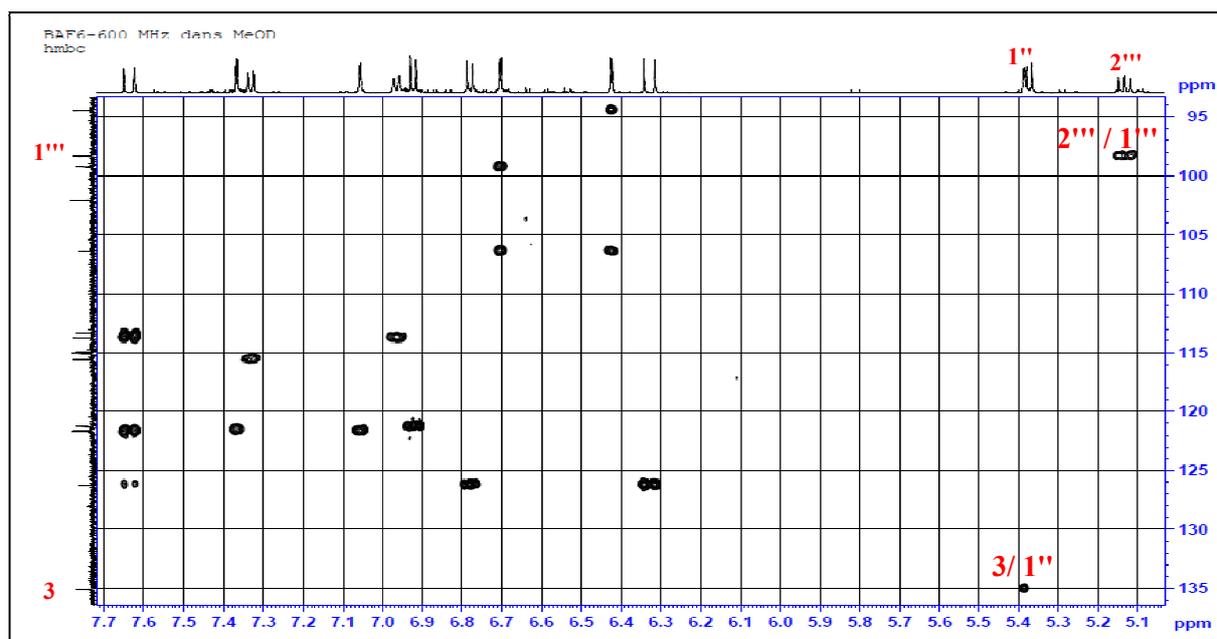


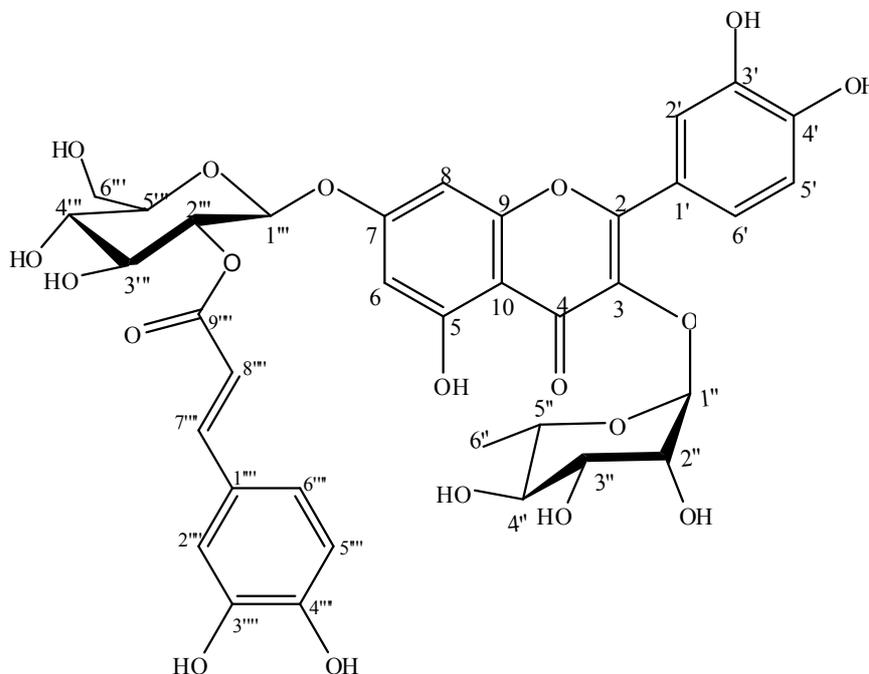
Figure 107. Spectre HMBC de δ_H 5.1 à 7.7 ppm du produit **P4** (CD_3OD , 600 MHz)

Les attributions des signaux du composé **P4** sont dressées dans le tableau 52.

Tableau 52. Déplacements chimiques en RMN 1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé **P4** dans CD_3OD

N°	δ_H (m, J Hz)	δ_C (ppm)	N°	δ_H (m, J Hz)	δ_C (ppm)
2	-	158.5	5''	3.42, m	70.8
3	-	135.1	6''	0.94, d (6.1)	16.2
4	-	178.4	Glucose		
5	-	161.6	1'''	5.37, d (7.9)	98.3
6	6.42, d (2.2)	99.2	2'''	5.13, dd (9.6, 7.9)	73.3
7	-	162.8	3'''	3.76, t (9.5)	74.6
8	6.71, d (2.2)	94.5	4'''	3.54, t (9.4)	69.9
9	-	156.6	5'''	3.65, m	77.2
10	-	106.4	6'''	3.99, dd (12.2, 2.2) 3.78, dd (12.2, 5.8)	60.9
1'	-	126.3	Cafféoyle		
2'	7.37, d (2.0)	115.6	1''''	-	126.3
3'	-	145.0	2''''	7.06, d (2.0)	113.7
4'	-	148.6	3''''	-	145.4
5'	6.92, d (8.3)	115.0	4''''	-	148.3
6'	7.33, dd (8.3, 2.0)	121.3	5''''	6.78, d (8.2)	115.1
Rhamnose			6''''	6.96, dd (8.2, 2.0)	121.7
1''	5.39, d (1.5)	102.1	7''''	7.63, d (15.8)	146.2
2''	4.23, dd (3.3, 1.7)	70.5	8''''	6.33, d (15.8)	113.3
3''	3.75, dd (9.5, 2.9)	70.8	9''''	-	166.8
4''	3.34, t (9.5)	71.8			

Les expériences HR-ESI-, ^1H RMN, ^{13}C , HSQC, J -module, COSY H-H et HMBC combinées permettent d'identifier la structure du composé **P4** comme étant une structure nouvelle : quercétine-3- O - α -L-rhamnopyranoside-7- O -[2- O -caffeoyle]- β -D-glucopyranoside.



Quercétine-3- O - α -L-rhamnopyranoside-7- O -[2- O -caffeoyle]- β -D-glucopyranoside
(**P4**)

I.5. Le produit P5

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

Le comportement chromatographique indiqué par les valeurs du R_f :

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

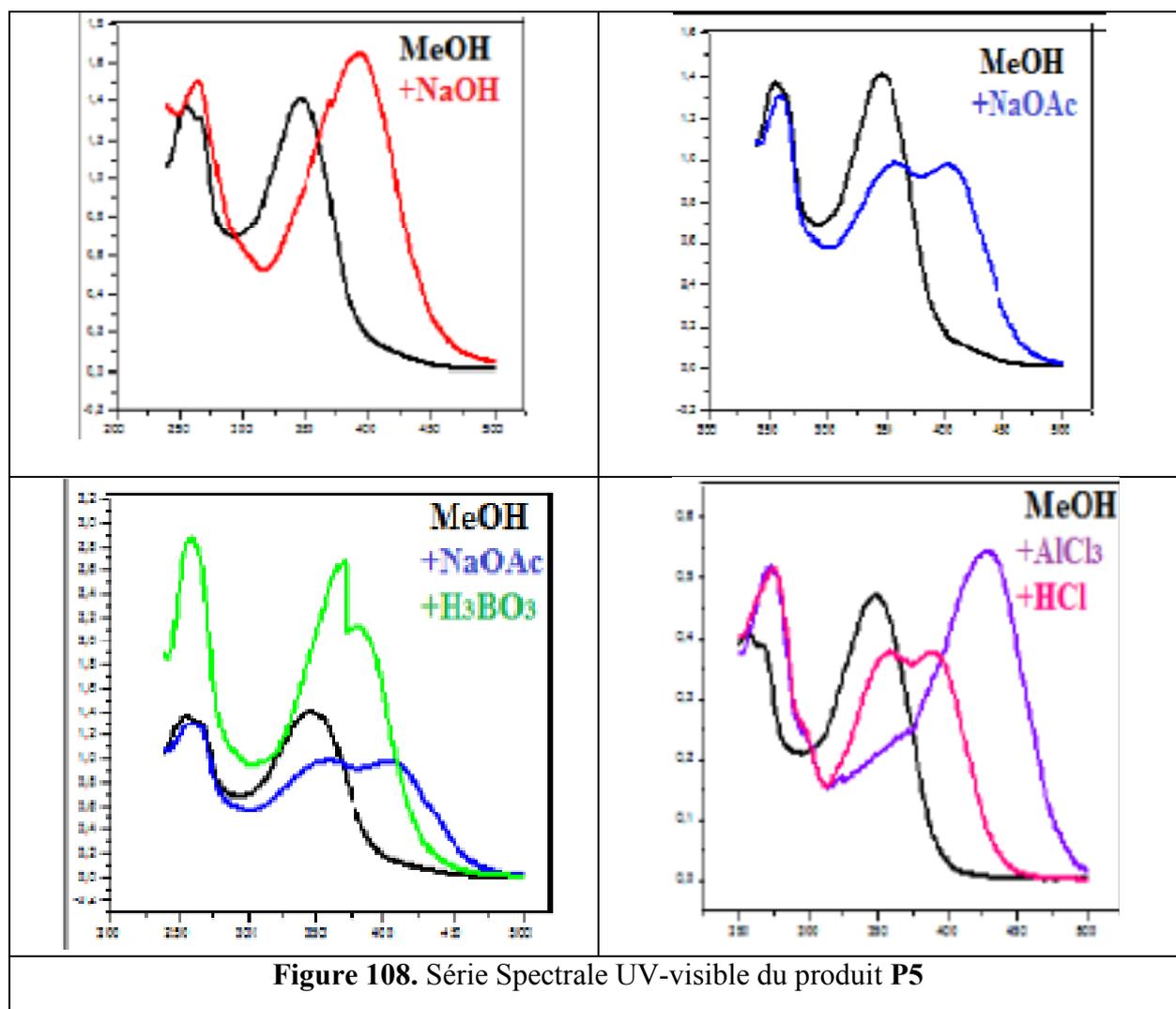
Le spectre UV (figure 108) enregistré dans le méthanol donne deux bandes d'absorption, une bande I à 346 nm et l'autre bande II à 256 nm, indiquant un squelette de type flavone ou flavonol substitué en position 3 pour le composé **P5**.

- L'effet bathochromique ($\Delta\lambda = +48$ nm) observé après l'addition de NaOH avec augmentation de son intensité optique indique la présence d'un OH libre en position 4'.
- L'absence d'une nouvelle bande entre 320 et 335 nm suggère l'absence d'un OH libre en position 7.

- L'ajout de NaOAc n'induit a la solution méthanolique pas de déplacement bathochrome de la bande II, ce qui signifie que le groupement hydroxyle, en position 7, est substitué.
- L'addition de H₃BO₃ à la solution MeOH+NaOAc provoque un effet bathochrome de la bande I ($\Delta\lambda = +36$ nm) indiquant la présence d'un système 3',4'-dihydroxy sur le cycle B, cette hypothèse est confirmée par le déplacement hypsochrome de la bande I ($\Delta\lambda = -39$ nm), observé sur le spectre enregistré dans MeOH+AlCl₃+HCl, comparativement a celui enregistré dans la solution MeOH+AlCl₃.
- Après ajout d'AlCl₃ à la solution méthanolique, on observe un déplacement bathochromique de la bande I de $\Delta\lambda = +82$ nm, indiquant la présence d'un groupement OH libre en position 5 (tableau 53).

Tableau 53. Résultats de la série spectrale UV-Visible du composé **P5**

Réactifs	Bande I λ_{\max} (nm)	Autres Bandes λ_{\max} (nm)	Bande II λ_{\max} (nm)
MeOH	346	-	257
+NaOH	394	-	266
+AlCl ₃	428	-	273
AlCl ₃ +HCl	289	-	274
NaOAc	404	-	252
NaOAc+H ₃ BO ₃	382	-	262
Le spectre de NaOH après 5 min est stable			



Une similitude est observée entre les spectres RMN ^1H (figure 109) et ^{13}C (figure 110) du composé **P5** et ceux du composé **P4**. La différence réside au niveau de la partie caféique et cela par l'absence des signaux de cafféoyle dans le composé **P5**.

Le spectre RMN ^1H montre :

- Deux doublets d'intégration 1H chacun, le premier à $\delta_{\text{H}} = 6.51$ ppm ($J = 2.1$ Hz), le second à $\delta_{\text{H}} = 6.76$ ppm ($J = 2.1$ Hz) attribuables à H-6 et H-8, respectivement, pour le cycle A. En outre, le cycle B est présenté par des signaux d'un système ABX à $\delta_{\text{H}} = 6.93$, 7.36 et 7.39 ppm, caractéristiques respectivement des protons H-5' (d , $J = 8.3$ Hz), H-6' (dd , $J = 8.3 - 2.1$ Hz) et H-2' (d , $J = 2.0$ Hz).
- En dehors des signaux correspondants à la génine, l'analyse du spectre de RMN ^1H permet de repérer deux protons anomériques résonnant à $\delta_{\text{H}} = 5.40$ ppm (d , $J = 1.4$ Hz) et 5.06 ppm (d , $J = 7.3$ Hz). Ces données suggèrent la présence de deux unités osidiques.

Leurs carbones respectifs, attribués à l'aide du spectre HSQC, résonant à 102.1 et 99.4 ppm.

L'analyse des spectres HSQC (figures 111-112) et COSY (figure 113) permet d'identifier les deux sucres comme étant :

- ✓ un α -L-rhamnopyranose à partir de l'anomère à 5.40 ppm, caractérisées par son méthyle doublet à $\delta_H = 0.70$ ppm ($d, J = 6.2$ Hz, H- 6'').
- ✓ A partir du proton anomérique à 5.06 ppm et l'analyse du spectre COSY, sont attribués sept protons d'un hexose. Les grandes valeurs des constantes de couplage (> 7 Hz) montrent qu'il s'agit d'un β -D-glucopyranose (tableau 54).

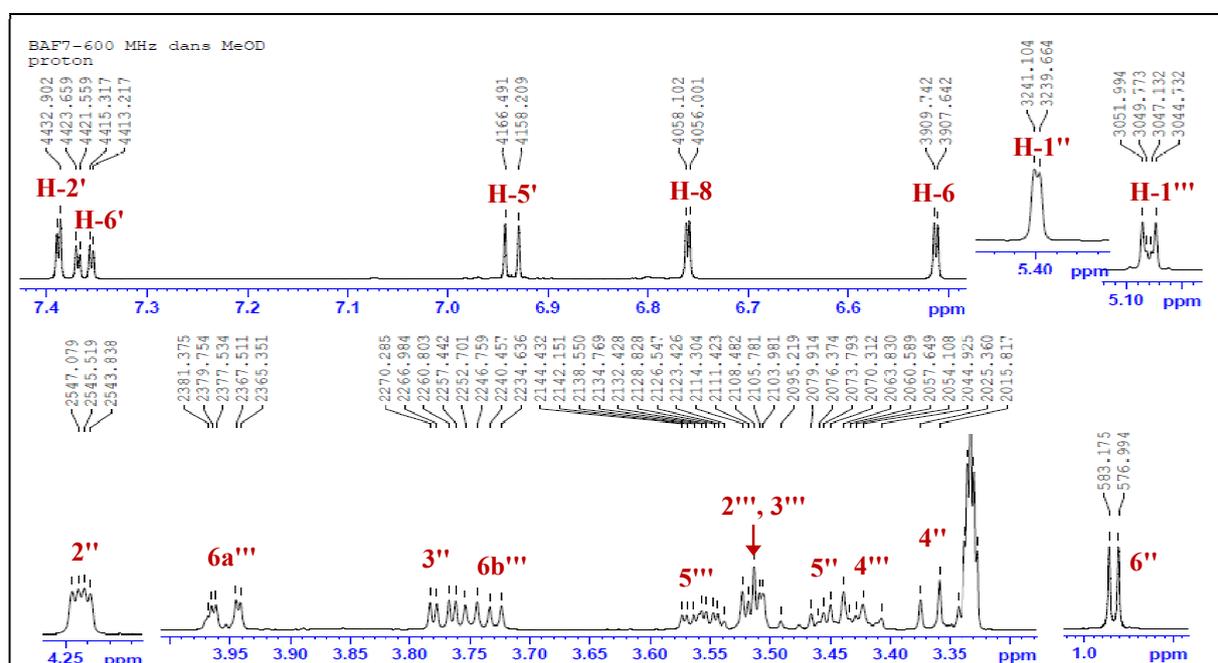


Figure 109. Spectre RMN ^1H étalé du composé P5 (CD_3OD , 600 MHz)

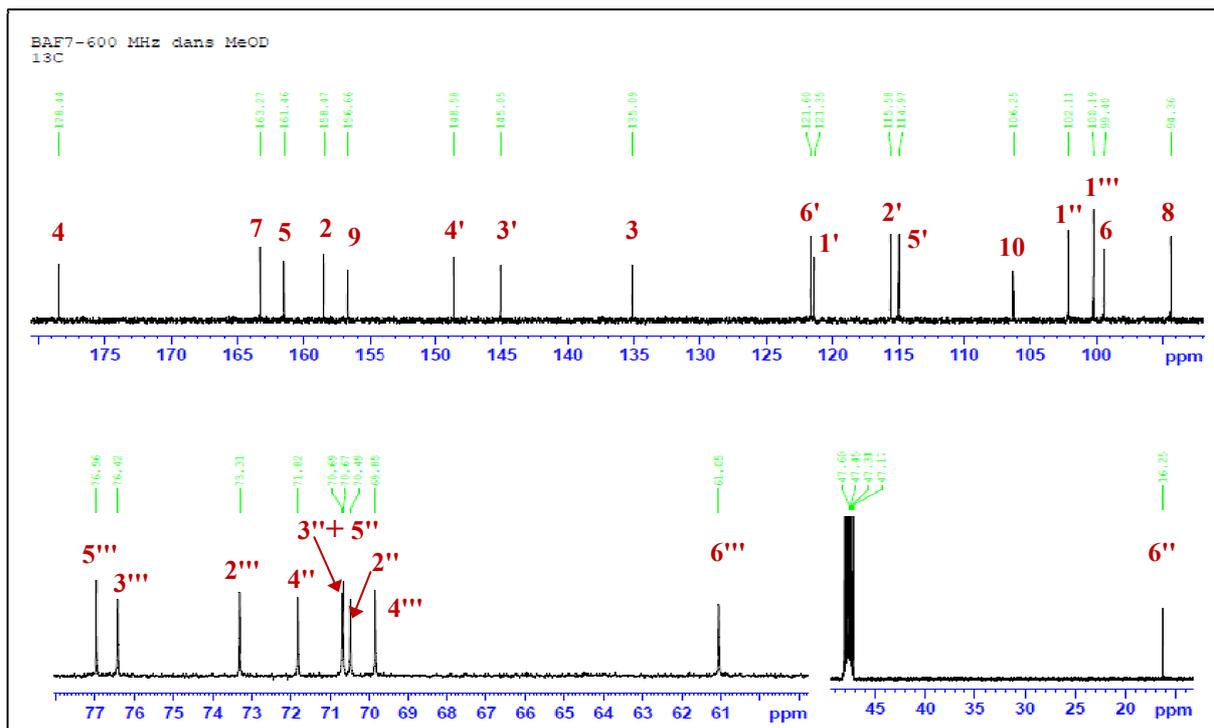


Figure 110. Spectre RMN ^{13}C du composé **P5** (CD_3OD , 150 MHz)

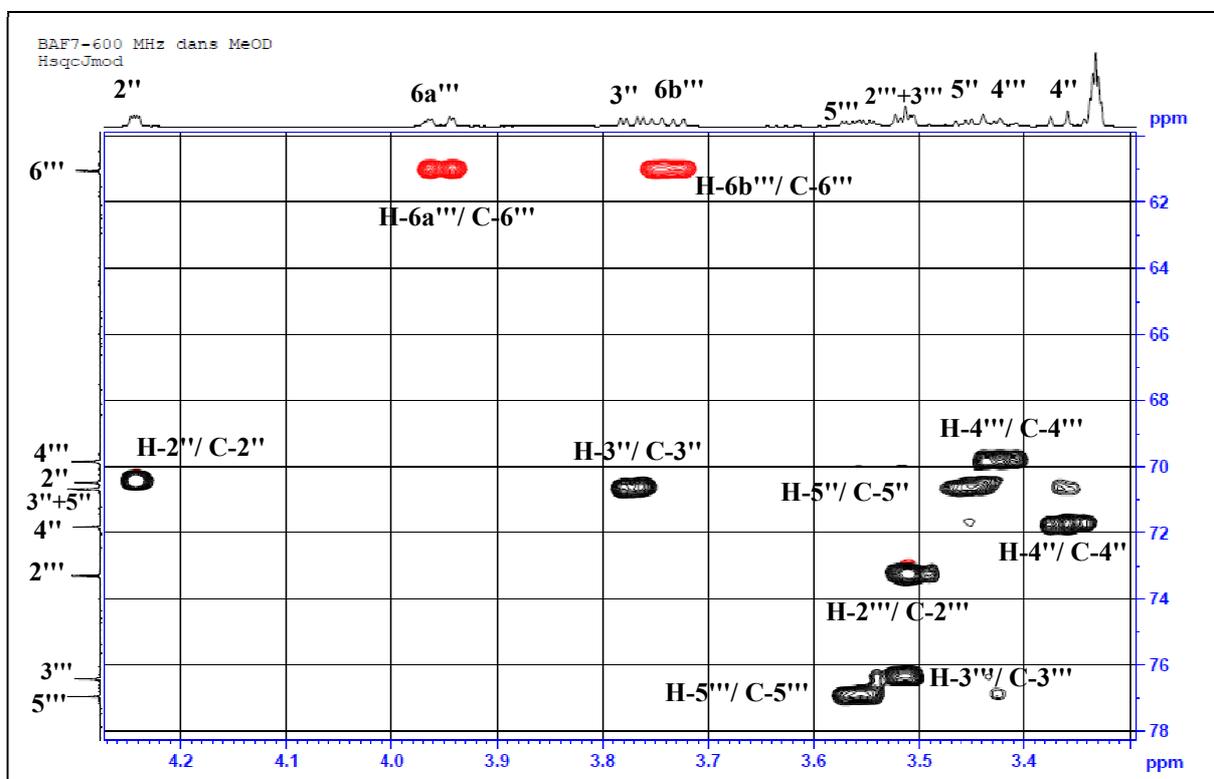


Figure 111. Spectre HSQC de δ_{H} 3.30 à 4.3 ppm du produit **P5** (CD_3OD , 600 MHz)

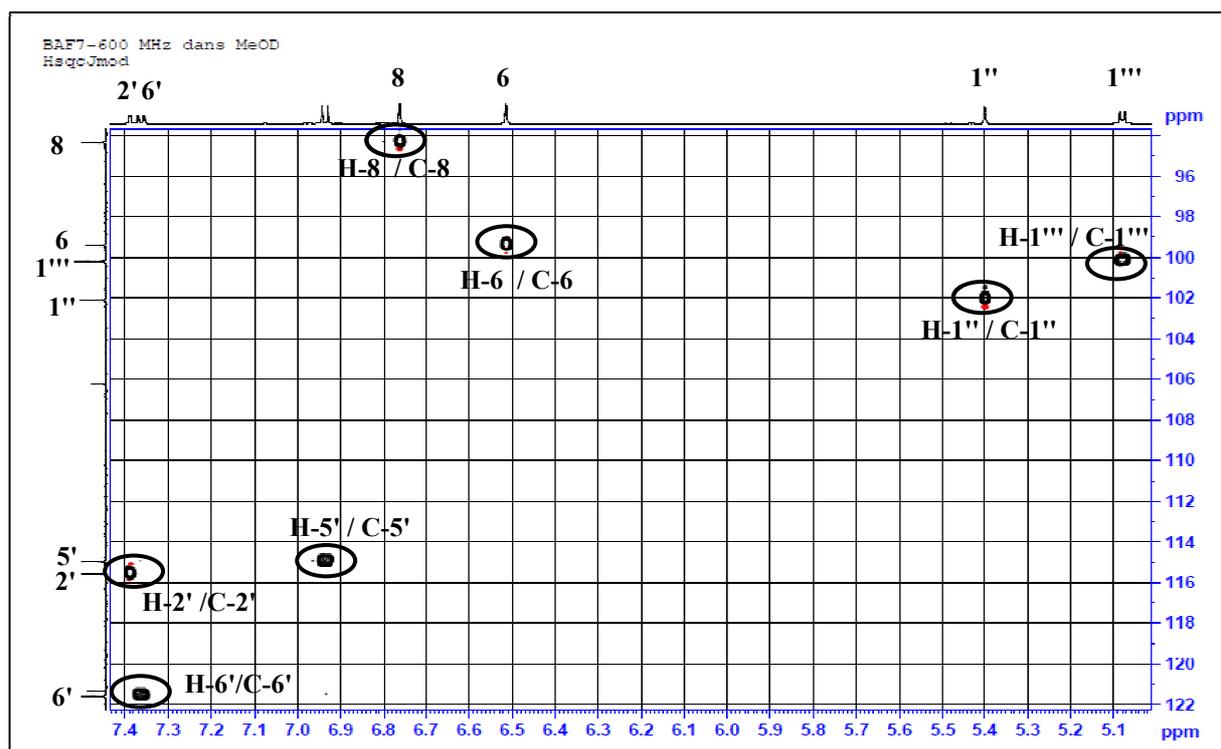


Figure 112. Spectre HSQC de δ_H 5.0 à 7.4 ppm du produit **P5** (CD_3OD , 600 MHz)

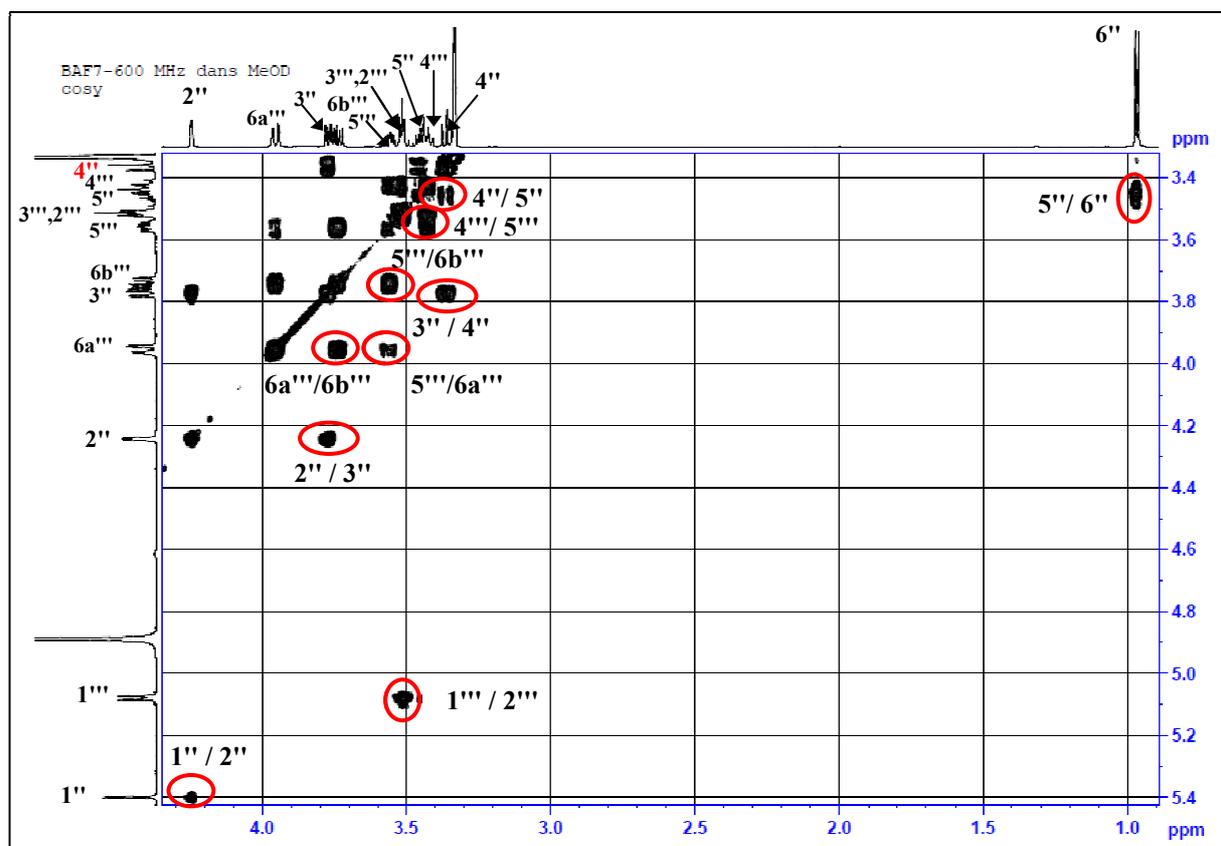


Figure 113 : Spectre COSY, partie osidique du composé **P5** (CD_3OD , 600 MHz)

La corrélation observée sur le spectre HMBC (figure 114) entre le proton anomérique H-1'' résonnant à 5.40 ppm et le carbone C-3 de la génine à 135.1 ppm montre que ce rhamnose est attaché à l'hydroxyle en position 3 de cette génine.

Une autre tache de corrélation entre le proton anomérique H-1''' résonnant à 5.06 ppm du glucose et le carbone C-7 de la génine, montre que ce sucre est attaché à l'hydroxyle en position 7.

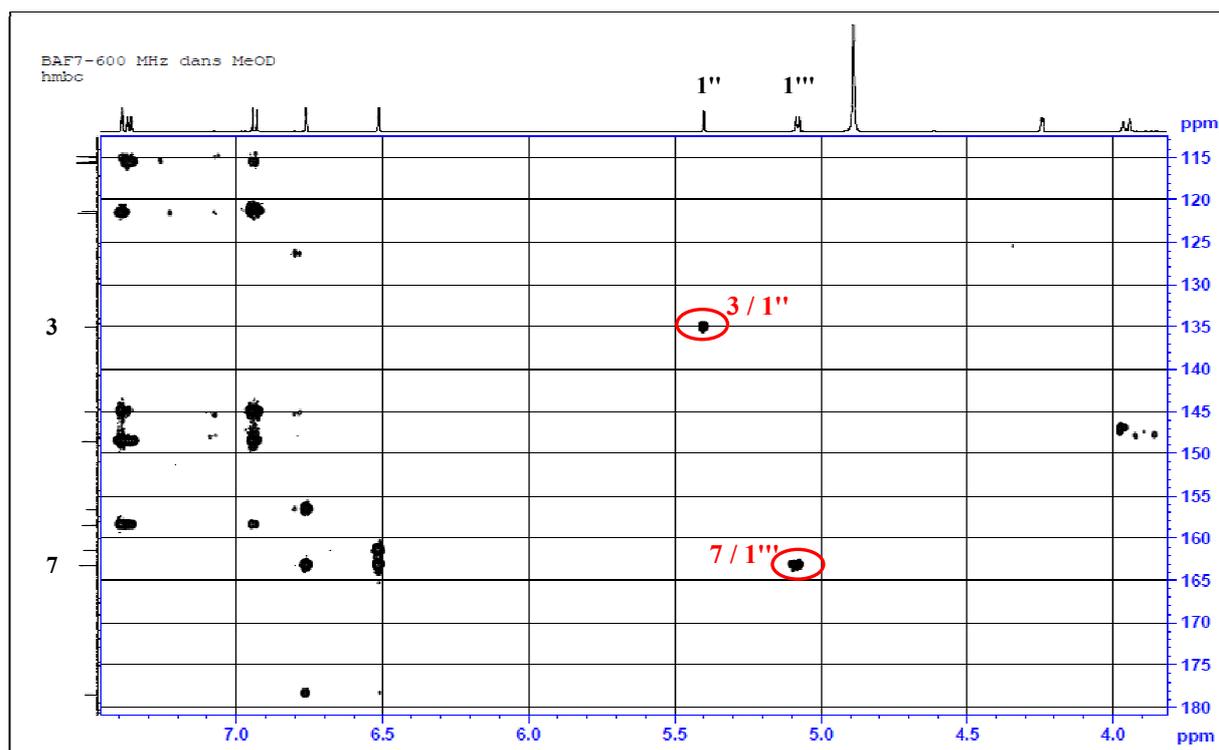


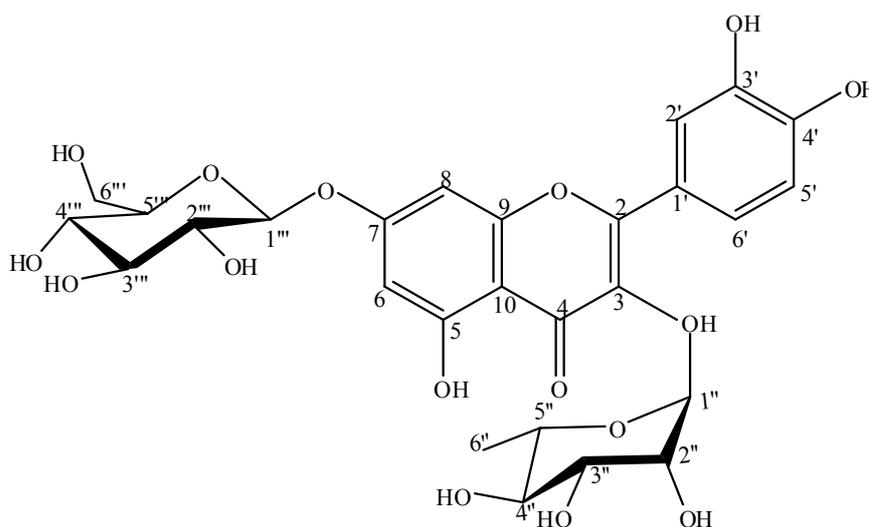
Figure 114. Spectre HMBC de δ_H 4.0 à 8.0 ppm du composé **P5** (CD_3OD , 600 MHz)

Les valeurs des déplacements chimiques des protons et des carbones sont dressées dans le tableau 54.

Tableau 54. Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé **P5** dans CD_3OD

N°	δ_{H} (m, J Hz)	δ_{C}	N°	δ_{H} (m, J Hz)	δ_{C}
2	-	158.5	Rhamnose		
3	-	135.1	1''	5.40, d (1.4)	102.1
4	-	178.4	2''	4.24, dd (3.2, 1.7)	70.5
5	-	161.5	3''	3.77, dd (9.5, 3.3)	70.7
6	6.51, d (2.1)	99.4	4''	3.35, t (9.5)	71.8
7	-	163.3	5''	3.46, m	70.7
8	6.76, d (2.1)	94.4	6''	0.70, d (6.2)	16.2
9	-	156.7	Glucose		
10	-	106.2	1'''	5.06, d (7.3)	99.4
1'	-	121.3	2'''	3.51, m	73.3
2'	7.39, d (2.0)	115.6	3'''	3.51, m	76.4
3'	-	145.0	4'''	3.42, t (9.2)	69.8
4'	-	148.6	5'''	3.56, m	77.0
5'	6.93, d (8.3)	115.0	6'''	3.95, dd (12.2, 2.2) 3.74, dd (12.1, 5.8)	61.0
6'	7.36, dd (8.3, 2.1)	121.6			

L'analyse de l'ensemble de ces données spectrales nous a permis de déduire la structure du composé **P5**, il s'agit de : Quercétine-3-*O*- α -L-rhamnopyranoside-7-*O*- β -D-glucopyranoside (Maji et Banerji, 2016).



Quercétine-3-*O*- α -L-rhamnopyranoside-7-*O*- β -D-glucopyranoside (**P5**)

I.6. Le produit P6

Le comportement chromatographique du composé **P6** indiqué par les valeurs du R_f :

- $R_f = 0.28$ (Toluene/MEC/MeOH 4:3:3).
- $R_f = 0.44$ (H₂O/MeOH/MEC/Acetylacétone 13:3:3:1).

La coloration violette noire sous la lampe UV du composé **P6** qui est sous forme de poudre jaune indique un squelette flavonol 3-OR.

L'examen de la série spectrale UV (Spectre 115) donne les indications suivantes :

- La longueur d'onde d'absorption maximale dans le méthanol de la bande I à 335 nm laisse supposer la structure de type flavone.
- L'ajout de NaOH provoque un déplacement bathochrome de la bande I ($\Delta\lambda = +57$ nm) avec augmentation de l'intensité révèle la présence d'un OH libre en position 4'.
- Un effet bathochrome de la bande I dans le spectre enregistré dans le milieu (AlCl₃+HCl), ($\Delta\lambda = +17$ nm) comparativement au spectre enregistré dans le MeOH indiquent la présence d'un OH libre en C-5.
- La comparaison de la valeur de la longueur d'onde de la bande I après ajout de HCl et celle en présence de AlCl₃ ne montre aucun effet hypsochrome indiquant l'inexistence de système ortho di OH sur le cycle A (pas de ortho di-OH en 6,7 ou 7,8).
- L'ajout de NaOAc, ne provoque aucun déplacement de la bande II révélant la présence d'une substitution de type OR sur C-7.

Les résultats de la série spectrale UV du composé **P6** sont rassemblés dans le tableau 55.

Tableau 55. Résultats de la série spectrale UV-Visible du composé **P6**

Réactifs	Bande I λ_{\max} (nm)	Autres Bandes λ_{\max} (nm)	Bande II λ_{\max} (nm)
MeOH	335	-	275
+NaOH	390	-	280
+AlCl ₃	350	-	275
AlCl ₃ +HCl	350	-	280
NaOAc	359	-	275
NaOAc+H ₃ BO ₃	340	-	275
Le spectre de NaOH après 5 min est stable			

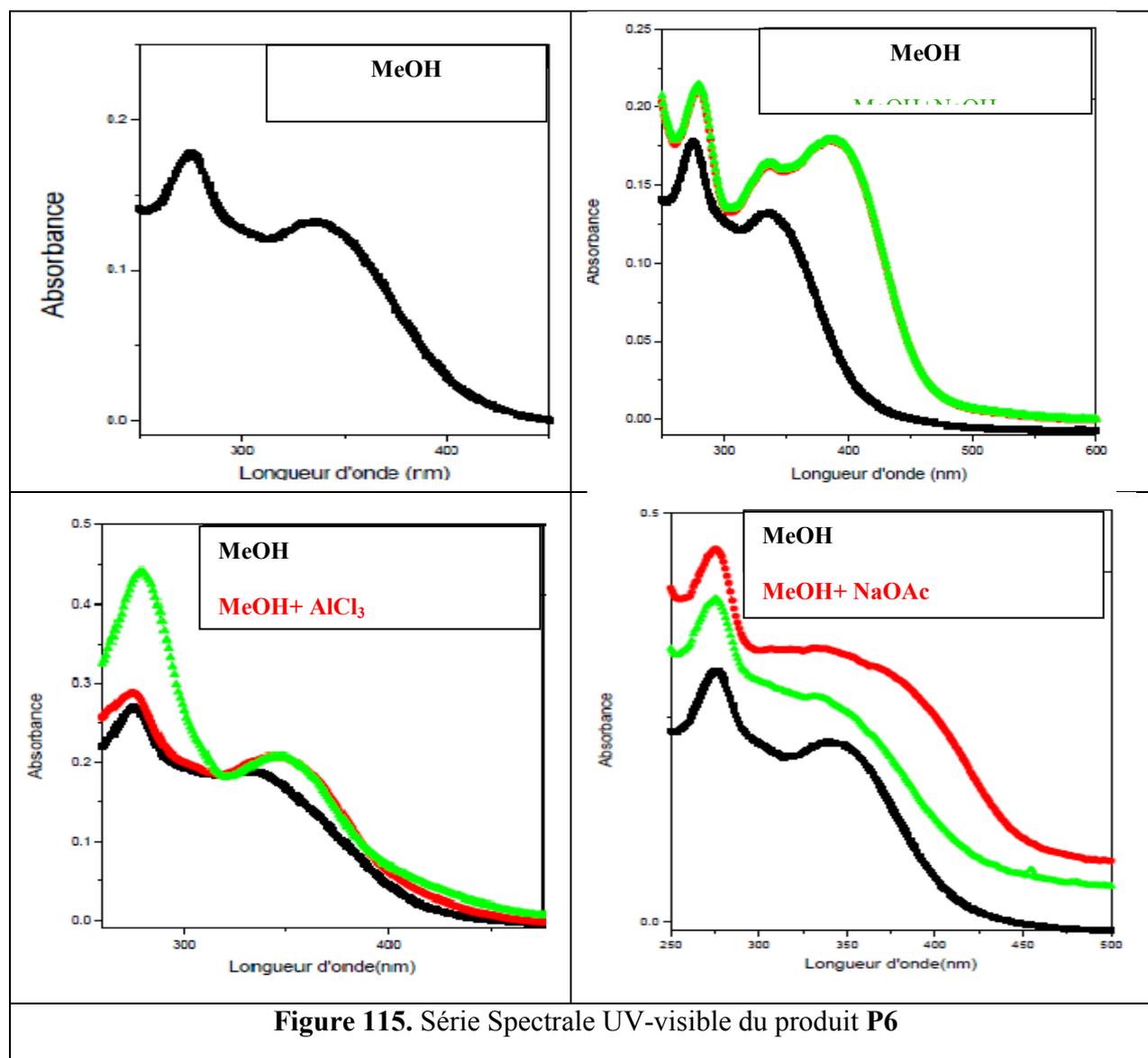


Figure 115. Série Spectrale UV-visible du produit P6

Le spectre RMN ^1H de ce composé (figure 116) montre la présence de deux noyaux aromatiques différents. Nous avons observés deux protons aromatiques couplant entre eux en montrant deux doublets respectivement à 6.52 ppm (H-6) et 6.81 ppm (H-8) avec une constante de couplage ($J = 2.1$ Hz), cette dernière est typique d'un couplage en méta sur un cycle aromatique. Ces signaux sont caractéristiques d'un cycle A d'un flavonoïde substitué en C-5 et C-7.

Concernant le cycle B, ses protons résonnent généralement entre 6.2 et 7.9 ppm. Sur le présent spectre nous observons des signaux d'un système ABX à $\delta_{\text{H}} = 6.39$ ppm, 7.65 ppm et 7.97 ppm caractéristiques respectivement des protons H-5' (d, $J = 8.4$ Hz), H-6' (dd, $J = 8.4, 2.0$ Hz) et H-2' (d, $J = 2.0$ Hz).

- Un singulet intégrant pour 3H à $\delta_H = 3.97$ ppm caractéristique d'un groupement méthoxyle.
- La présence de deux parties osidiques est clairement notée, confirmée notamment avec les protons anomériques à $\delta_H = 5.50$ ppm ($J = 7.3$ Hz) correspondant à H-1'' et à $\delta_H = 5.09$ ppm ($J = 7.2$ Hz) correspondant à H-1'''. D'après les valeurs des constantes de couplage des protons anomériques, cette entité pourrait être soit un glucosyle soit un galactosyle avec une configuration β du carbone anomérique.
- Plusieurs autres signaux sont observés entre 3 et 4 ppm correspondant sans doute aux protons de la partie osidique.

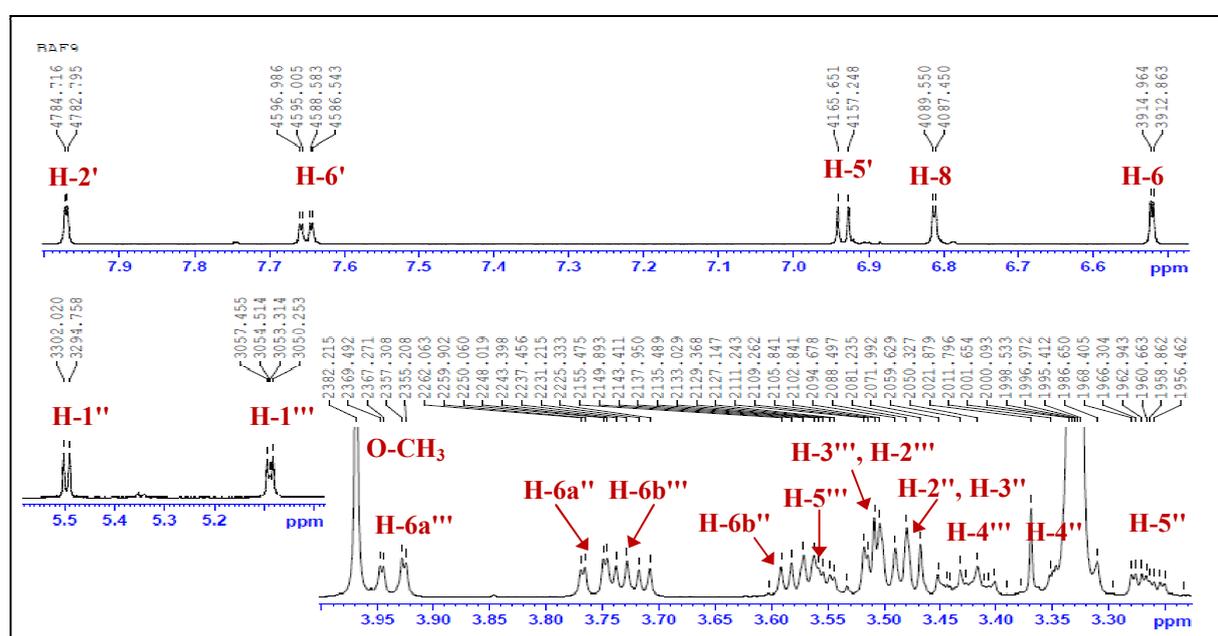


Figure 116. Spectre RMN ^1H étalé du composé **P6** (CD_3OD , 600 MHz)

Sur le spectre ^{13}C (figure 117), les signaux caractéristiques suivants sont observés :

- Un signal à $\delta_C = 179.6$ ppm indiquant la présence d'une flavone.
- Les carbones quaternaires C-5 et C-4' résonnant vers $\delta_C = 162.8$ ppm et 151.1 ppm confirmant leur hydroxylation.
- Trois autres carbones quaternaires C-3, C-7 et C-3' résonnant vers $\delta_C = 135.5$ ppm, $\delta_C = 164.8$ ppm et 148.4 ppm
- Les pics à $\delta_C = 159.3$ ppm et $\delta_C = 158.0$ ppm attribuables aux C-2 et C-9. Et les pics à $\delta_C = 95.8$ ppm, $\delta_C = 100.9$ ppm et 107.6 ppm correspondent aux carbones C-8, C-6 et C-10 du noyau A.

- Les carbones aromatiques du noyau B à $\delta_C = 114.4$ ppm et $\delta_C = 116.0$ ppm attribuables aux carbones C-2' et C-5' respectivement et ceux à $\delta_C = 122.9$ ppm et $\delta_C = 124.0$ ppm attribuables aux carbones C-1' et C-6'.
- Deux carbones anomériques à $\delta_C = 103.3$ ppm et $\delta_C = 101.6$ ppm.
- Un massif de carbone entre $\delta_C = 62.0$ ppm et $\delta_C = 79.0$ ppm attribuables aux carbones des deux sucres.

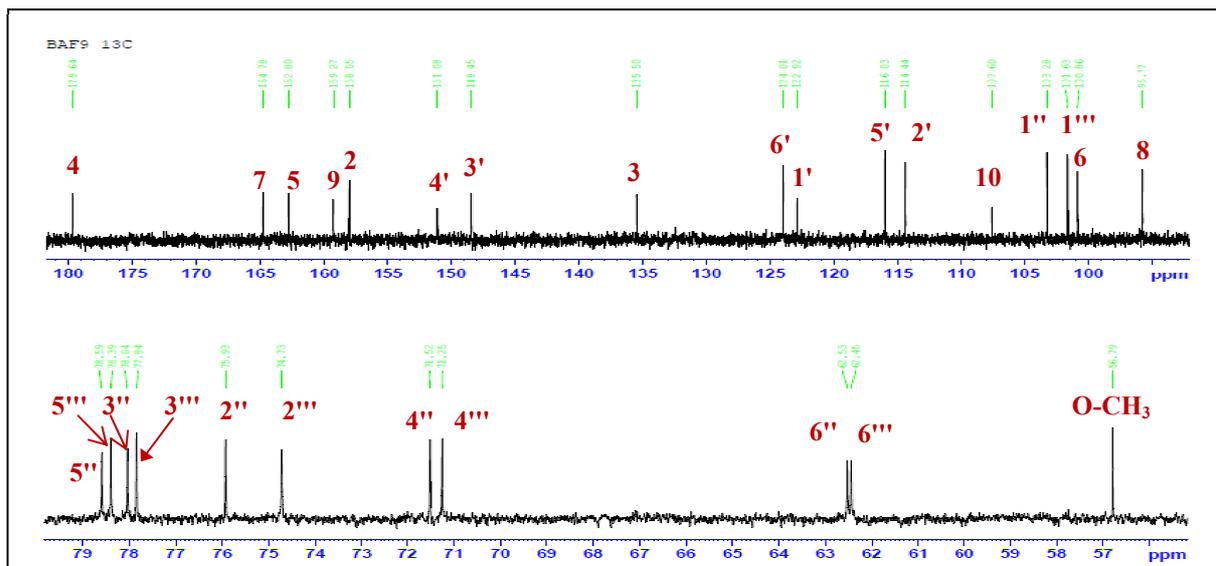


Figure 117. Spectre RMN ^{13}C du composé P6 (CD_3OD , 150 MHz)

L'analyse des spectres HSQC (figures 118-119) permet d'attribuer chaque proton au carbone qui le porte :

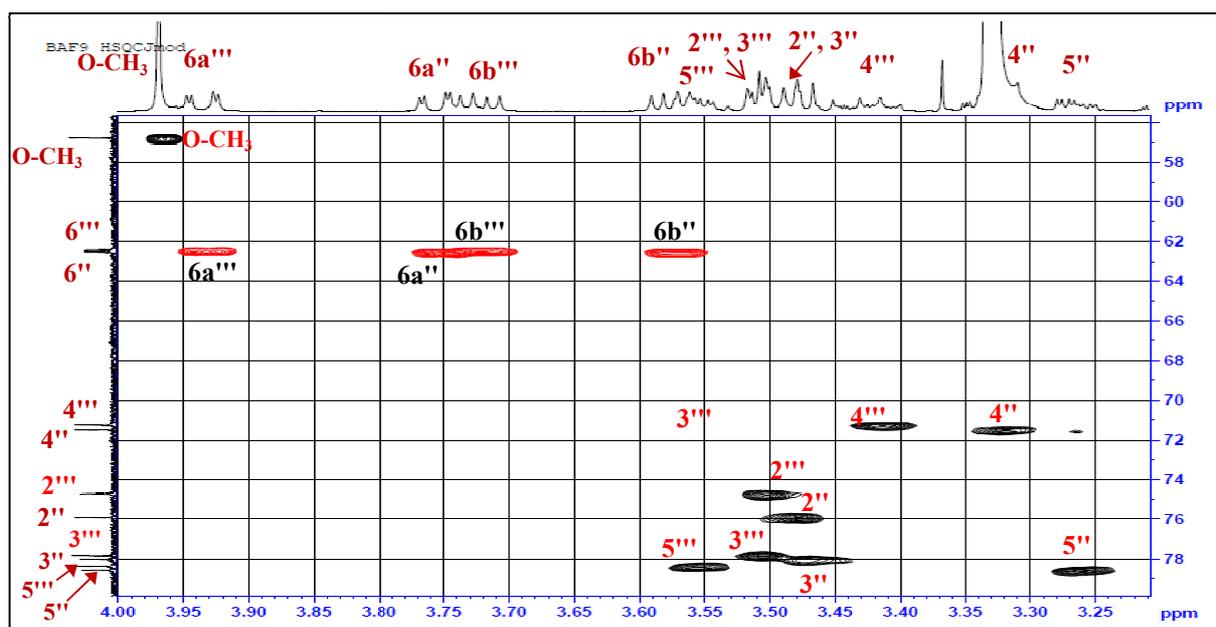


Figure 118. Spectre HSQC de δ_C 3.2 à 4.0 ppm du produit P6 (CD_3OD , 600 MHz)

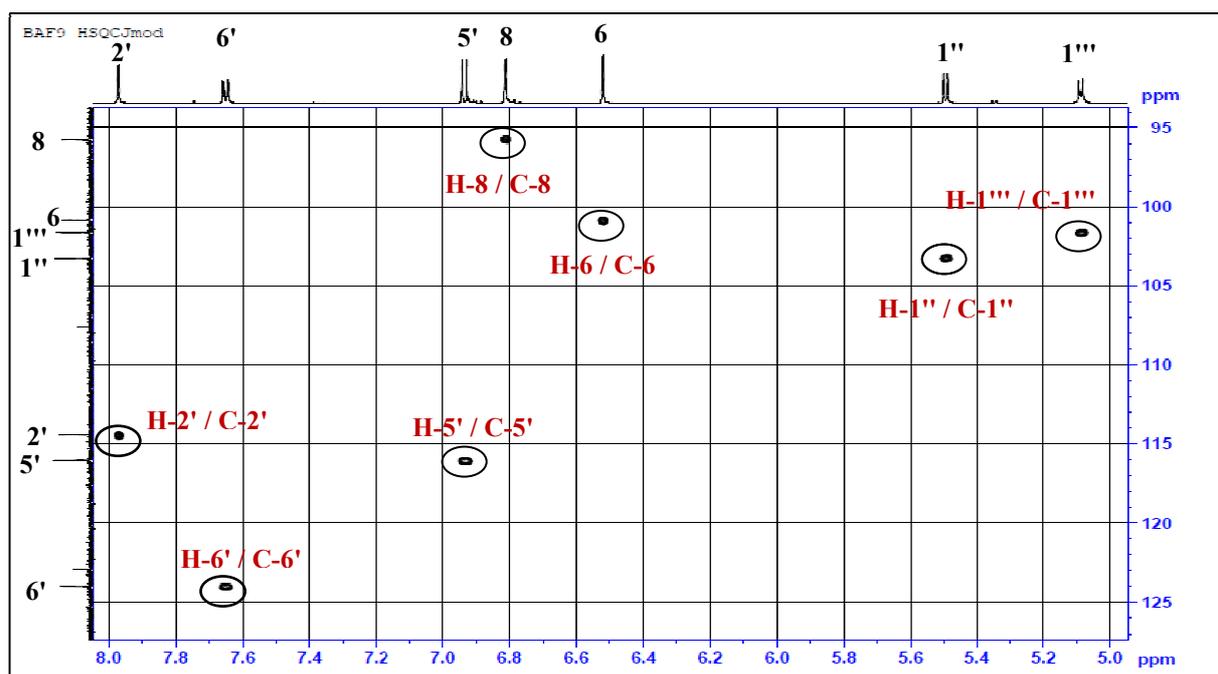


Figure 119. Spectre HSQC de δ_H 5.0 à 8.0 ppm du produit P6 (CD_3OD , 600 MHz)

L'analyse du spectre COSY (figure 120) permet d'identifier les deux sucres comme étant β -D-glucopyranoside par :

- Des corrélations entre les protons du premier sucre : 1''/2'', 2''/3'', 3''/4'', 4''/5'' et 5''/6'' et le deuxième sucre : 1'''/2''', 2'''/3''', 3'''/4''', 4'''/5''' et 5'''/6'''.

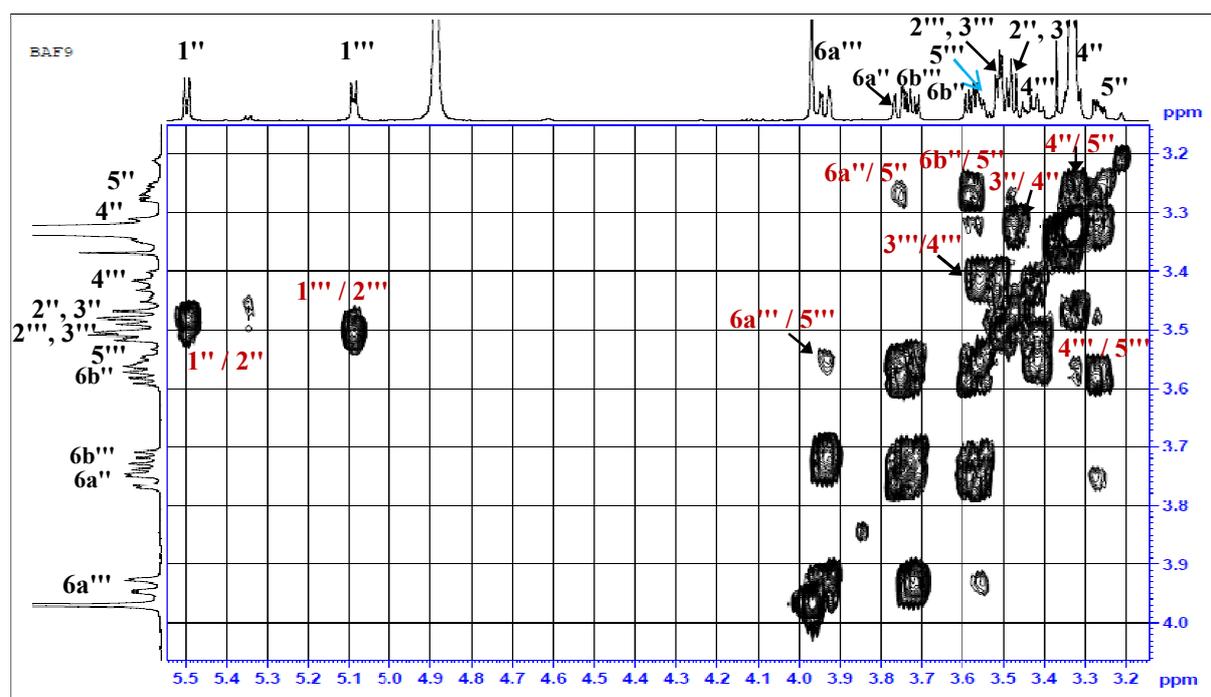


Figure 120. Spectre COSY de δ_H 3.2 à 5.5 ppm du produit P6 (CD_3OD , 600 MHz)

L'examen du spectre COSY (spectre 121) montre :

- Une tache de corrélation entre le doublet à $\delta = 7.97$ ppm et un doublet de doublet à $\delta = 7.65$ ppm confirmant le couplage méta et aussi les attributions de H-2', H-6'.
- Une tache de corrélation entre les noyaux de doublet de doublet à $\delta = 7.65$ ppm et $\delta = 6.39$ ppm confirmant le couplage ortho et aussi les attributions de H-5', H-6' donc une substitution du noyau B en position 3' et 4'.
- Une tache de corrélation entre H-8 et H-6.

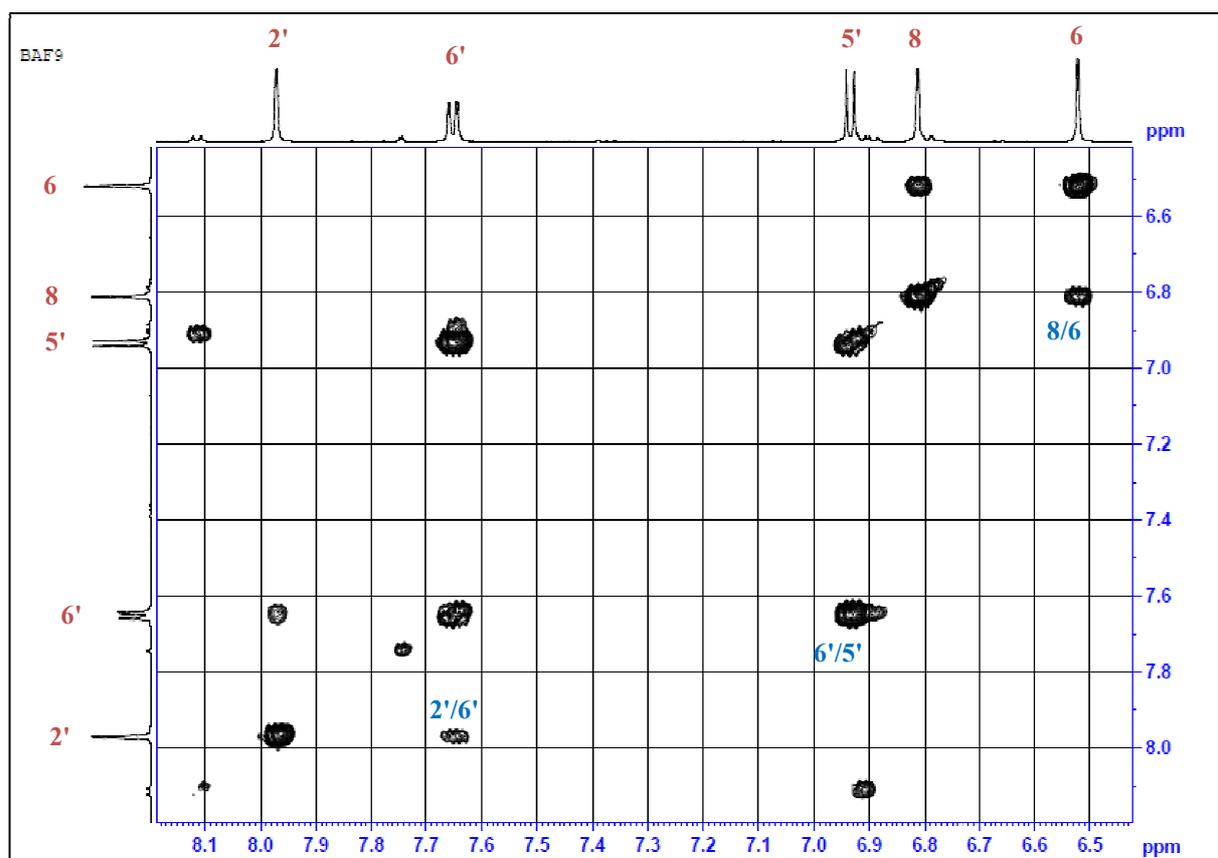


Figure 121. Spectre COSY de δ_H 6.0 à 8.2 ppm du produit **P6** (CD_3OD , 600 MHz)

Le spectre HMBC (figures 123-124) montre une corrélation H-C entre le groupement méthoxyle à $\delta_H = 3.97$ ppm et le carbone C-3' à $\delta_C = 148.4$ ppm ce qui indique que le méthoxyle est porté par le carbone C-3' donc le squelette flavonique est un isorhamnétine.

- Deux taches de corrélation entre le H-2', H-5' et le H-6' et deux atomes de carbones à $\delta_C = 151.0$ ppm et à $\delta_C = 148.4$ ppm qui ne peut être que le C-4' et C-3' respectivement.
- Une tache de corrélation entre le H-2' et le H-6' et un carbone oxygéné à $\delta_C = 158.0$ ppm qui est attribuable à C-2.

- Quatre taches de corrélation entre le H-6 et quatre atomes de carbone, le premier; à $\delta_C = 95.8$ ppm qui est le C-8, le deuxième à un déplacement chimique relativement faible $\delta_C = 107.6$ ppm attribuable à C-10, le troisième et le quatrième sont oxygénés et ont des déplacements chimiques plus élevés $\delta_C = 162.8$ ppm et $\delta_C = 164.8$ ppm et sont donc attribuables à C-5 et C-7 respectivement.
- Les protons H-6 et H-8 montrent des taches de corrélations avec le carbone quaternaire oxygéné à 164.8 ppm, c'est le C-7.
- Une tache de corrélation est observée entre le proton anomérique du sucre H-1'' à $\delta_H = 5.50$ ppm et le carbone C-3 ($\delta_C = 135.5$ ppm) de la génine indiquant que le premier glucose est fixé sur la génine isorhamnétine en position 3.
- Une autre tache de corrélation entre le proton anomérique du sucre H-1''' à $\delta_H = 5.09$ ppm et le carbone C-7 ($\delta_C = 164.8$ ppm) de la génine indiquant que le second glucose est fixé sur la génine isorhamnétine en position 7.

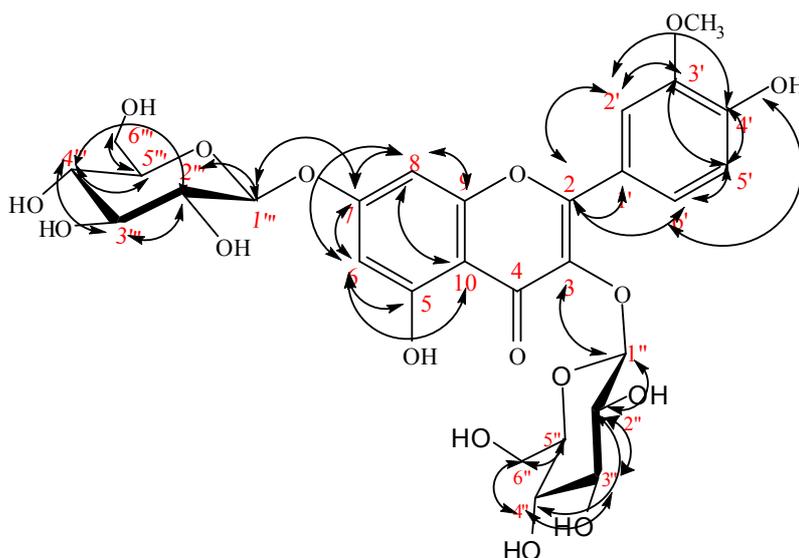


Figure 122. Corrélations HMBC du composé P6

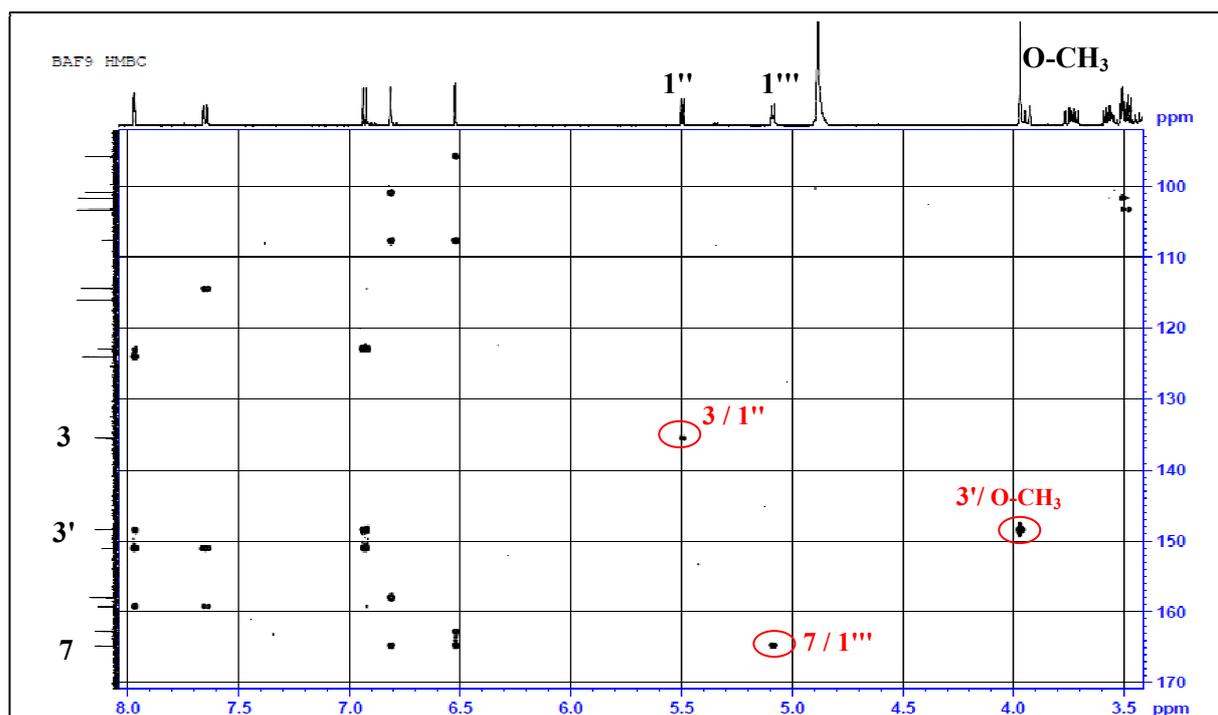


Figure 123. Spectre HMBC de δ_{C} 3.5 à 8.0 ppm du produit **P6** (CD_3OD , 600 MHz)

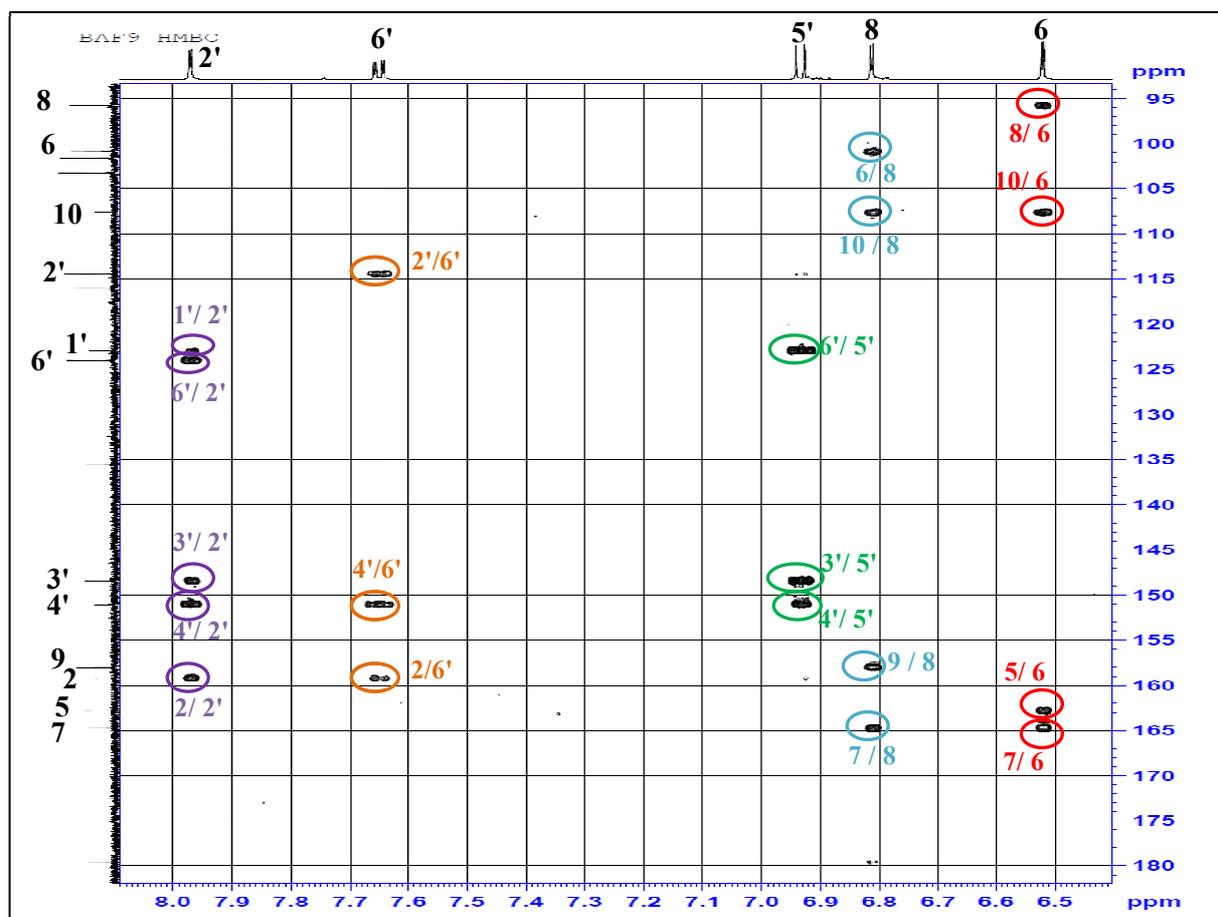


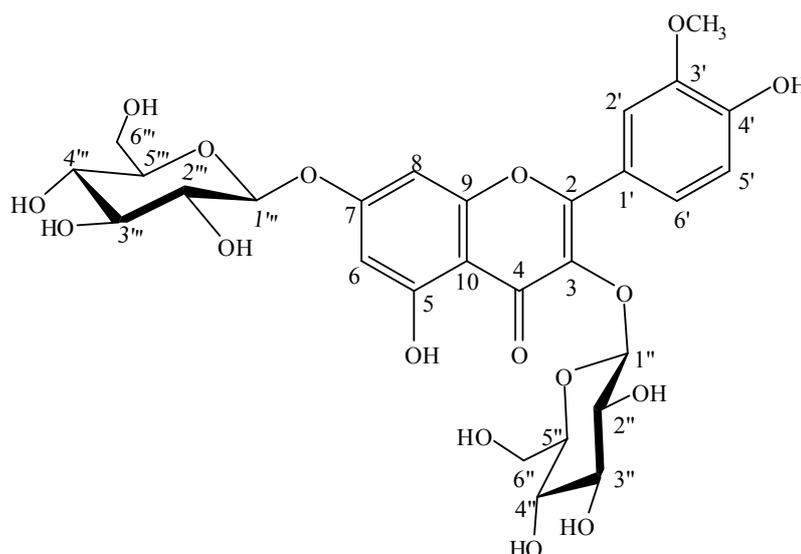
Figure 124. Spectre HMBC de δ_{H} 6.0 à 8.5 ppm du produit **P6** (CD_3OD , 600 MHz)

Les attributions des signaux du produit **P6** sont dressées dans le tableau 56.

Tableau 56. Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé **P6** dans CD_3OD

N°	δ_{H} (m, J Hz)	δ_{C}	N°	δ_{H} (m, J Hz)	δ_{C}
2	-	158.0	Glucose 1		
3	-	135.5	1''	5.50, d (7.3)	103.3
4	-	179.6	2''	3.48, t (7.3)	75.9
5	-	162.8	3''	3.48, t (7.3)	78.0
6	6.52, d (2.1)	100.9	4''	3.32, m	71.5
7	-	164.8	5''	3.28, m	78.6
8	6.81, d (2.1)	95.8	6''	3.76, dd (11.9, 2.0) 3.58, dd (12.4, 5.6)	62.5
9	-	159.3	Glucose 2		
10	-	107.6	1'''	5.09, d (7.2)	101.6
1'	-	122.9	2'''	3.51, dd (6.4, 3.0)	47.7
2'	7.97, d (1.9)	114.4	3'''	3.51, dd (6.4, 3.0)	77.8
3'	-	148.4	4'''	3.41, m	71.2
4'	-	151.1	5'''	3.55, m	78.4
5'	6.39, d (8.4)	116.0	6'''	3.94, dd (12.1, 2.1) 3.72, dd (12.1, 5.8)	62.6
6'	7.65, dd (8.4, 2.0)	124.0	O-CH ₃	3.97, s	56.8

Les expériences ^1H RMN, ^{13}C , HSQC, COSY H-H et HMBC combinées permettent d'identifier la structure du composé **P6** comme étant : isoramnétine-3,7-di-*O*- β -D-glucopyranoside (Yokozawa et al., 2002).



Isoramnétine-3,7-di-*O*- β -D-glucopyranoside (**P6**)

I.7. Le produit P7

L'analyse du spectre de RMN ^1H (figure 125) du composé **P7** montre la présence de quatre signaux pour six protons aromatiques caractéristiques de la génine kaémpférol:

- Un doublet à $\delta_{\text{H}} = 7.83$ ppm d'intégration 2H ($J = 8.8$ Hz) caractéristique des protons en couplage ortho H-2' et H-6'.
- Un doublet à $\delta_{\text{H}} = 6.96$ ppm d'intégration 2H ($J = 8.8$ Hz) caractéristique des protons en couplage ortho H-3' et H-5'.
- Deux doublets d'intégration 1H chacune à $\delta_{\text{H}} = 6.52$ ppm ($J = 2.2$ Hz) et à $\delta_{\text{H}} = 6.78$ ppm ($J = 2.1$ Hz), correspondent respectivement aux protons H-6 et H-8 du cycle A.

L'examen de spectre RMN ^1H de ce composé, montre que notre produit contient un autre minoritaire par la présence d'autres pics, qui sont identiques point par point à la partie génine isoramnétine du composé **P6** :

- Deux doublets le premier à $\delta_{\text{H}} = 6.52$ ppm (H-6) et 6.81 ppm (H-8) avec une constante de couplage ($J = 2.1$ Hz). Ces signaux sont caractéristiques d'un cycle A d'un flavonoïde substitué en C-5 et C-7.
- Des signaux d'un système ABX à $\delta_{\text{H}} = 6.98, 7.48$ et 7.50 ppm caractéristiques respectivement des protons H-5' (d, $J = 8.6$ Hz), H-6' (dd, $J = 8.3, 2.0$ Hz) et H-2' (d, $J = 1.9$ Hz).
- Un singulet intégrant pour 3H à $\delta_{\text{H}} = 3.97$ ppm caractéristique d'un groupement méthoxyle.

Le spectre RMN ^1H a montré une duplication de tous les signaux de la partie osidique, quatre protons anomériques sont repérés à 5.43 ppm (d, $J = 1.6$ Hz) et 5.08 ppm (d, $J = 7.1$ Hz) pour le kaémpférol et à 5.44 ppm (d, $J = 1.6$ Hz) et 5.08 ppm (d, $J = 7.1$ Hz) pour l'isoramnétine. Leurs carbones respectifs, attribués à l'aide du spectre HSQC, résonnent à 102.1 et 100.2 ppm pour le kaémpférol et à 101.9 et 100.2 pour l'isoramnétine.

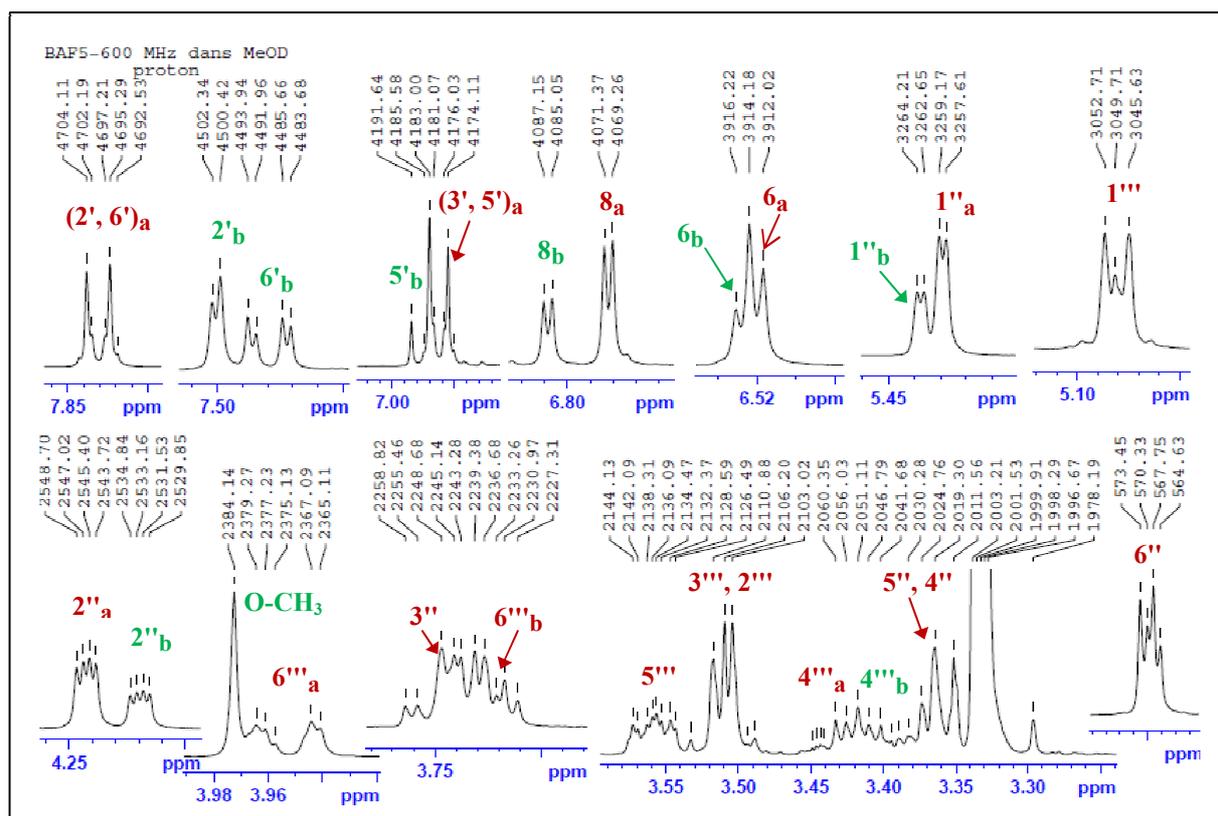


Figure 125. Spectre RMN ^1H des composés **P7** et **P8** (CD_3OD , 600 MHz)

La figure 126 représente le spectre RMN ^{13}C du composé **P7** :

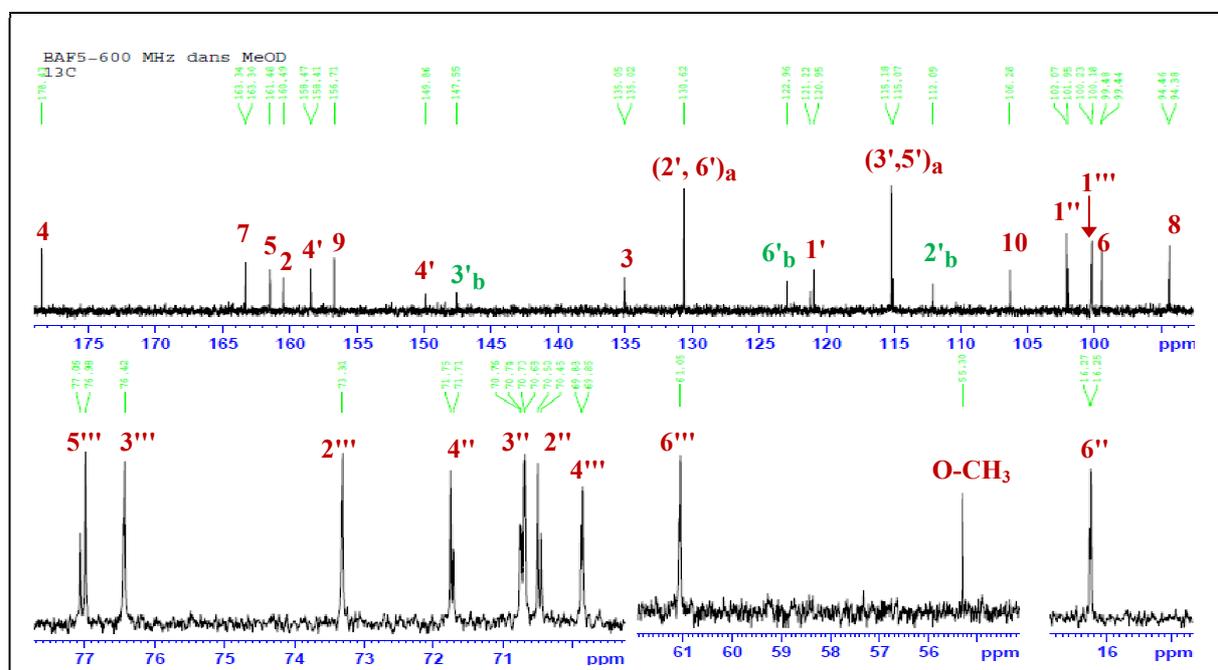


Figure 126. Spectre RMN ^{13}C des composés **P7** et **P8** (CD_3OD , 150 MHz)

L'analyse conjuguée des spectres COSY (figures 127-128), HSQC (figures 129-130) et HMBC (figure 131) a permis de déterminer sans ambiguïté la nature des deux génines et des

deux unités osidiques ainsi que leurs points de branchement. Les deux sucres se sont avérés similaires à ceux établis pour les composés **P4** et **P5**. Décrit précédemment à savoir :

- ✓ un α -L-rhamnopyranose à partir de l'anomère à 5.43 ppm.
- ✓ un β -D-glucuronopyranose à partir de l'anomère à 5.08 ppm.

Ces molécules, se différencient donc uniquement par les structures des génines.

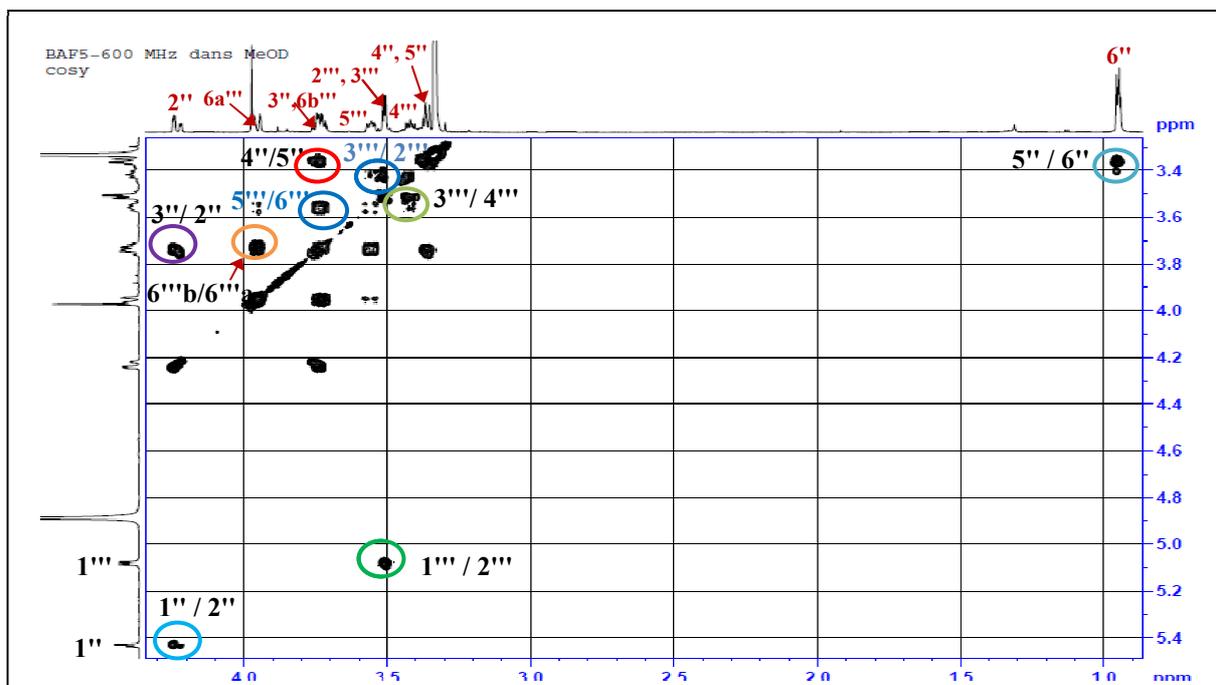


Figure 127. Spectre COSY de δ_H 1.0 à 4.0 ppm des composés **P7** et **P8** (CD_3OD , 600 MHz)

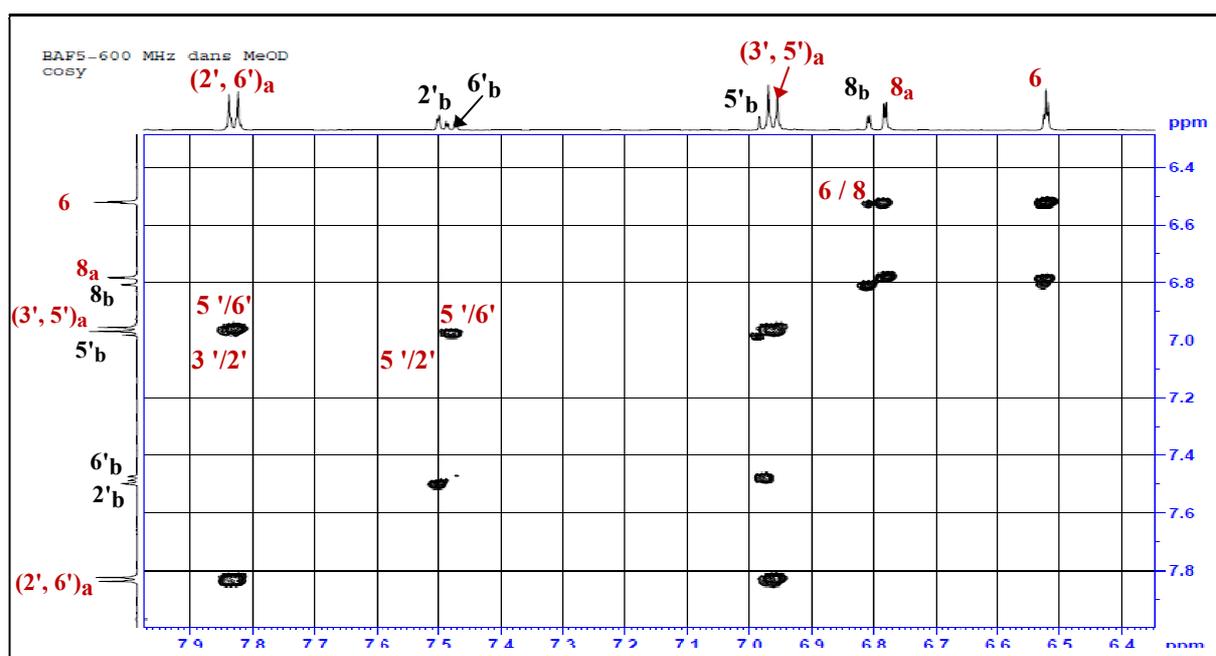


Figure 128. Spectre COSY de δ_H 6.4 à 8.0 ppm des composés **P7** et **P8** (CD_3OD , 600 MHz)

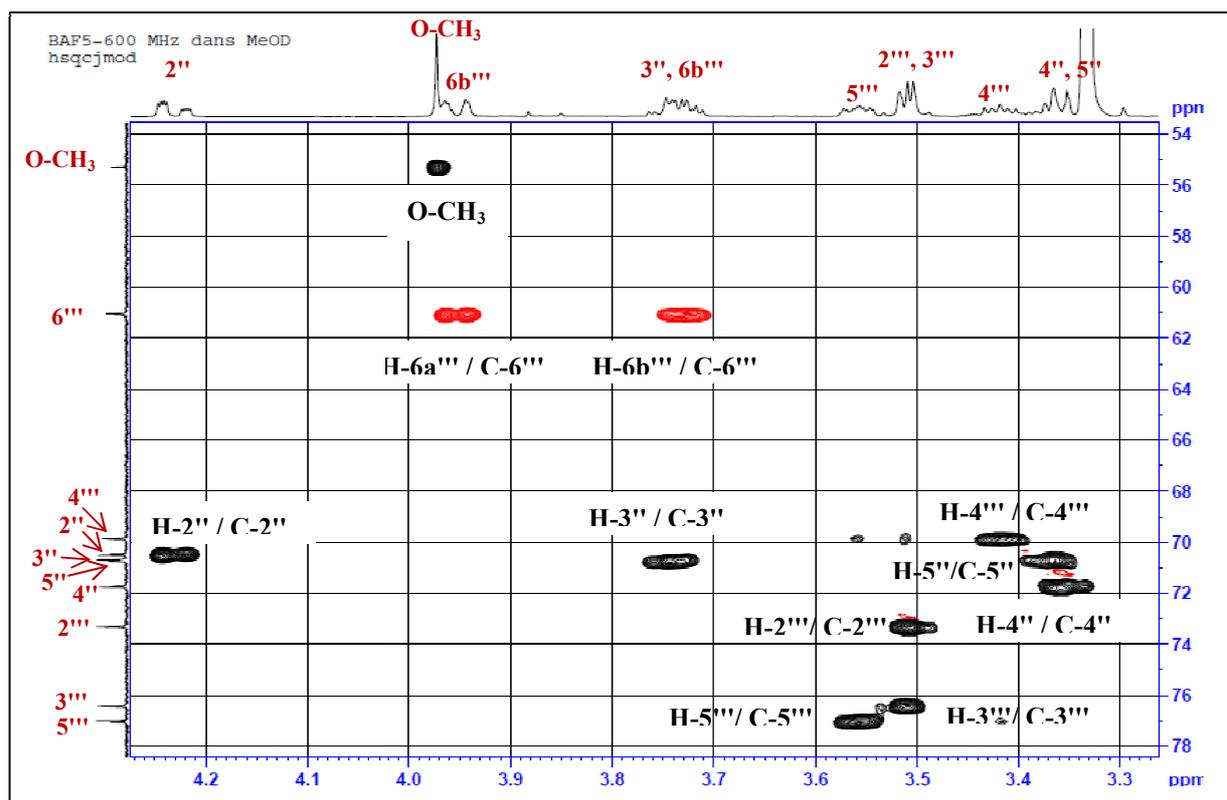


Figure 129. Spectre HSQC de δ_H 3.3 à 4.3 ppm des composés **P7** et **P8** (CD₃OD, 600 MHz)

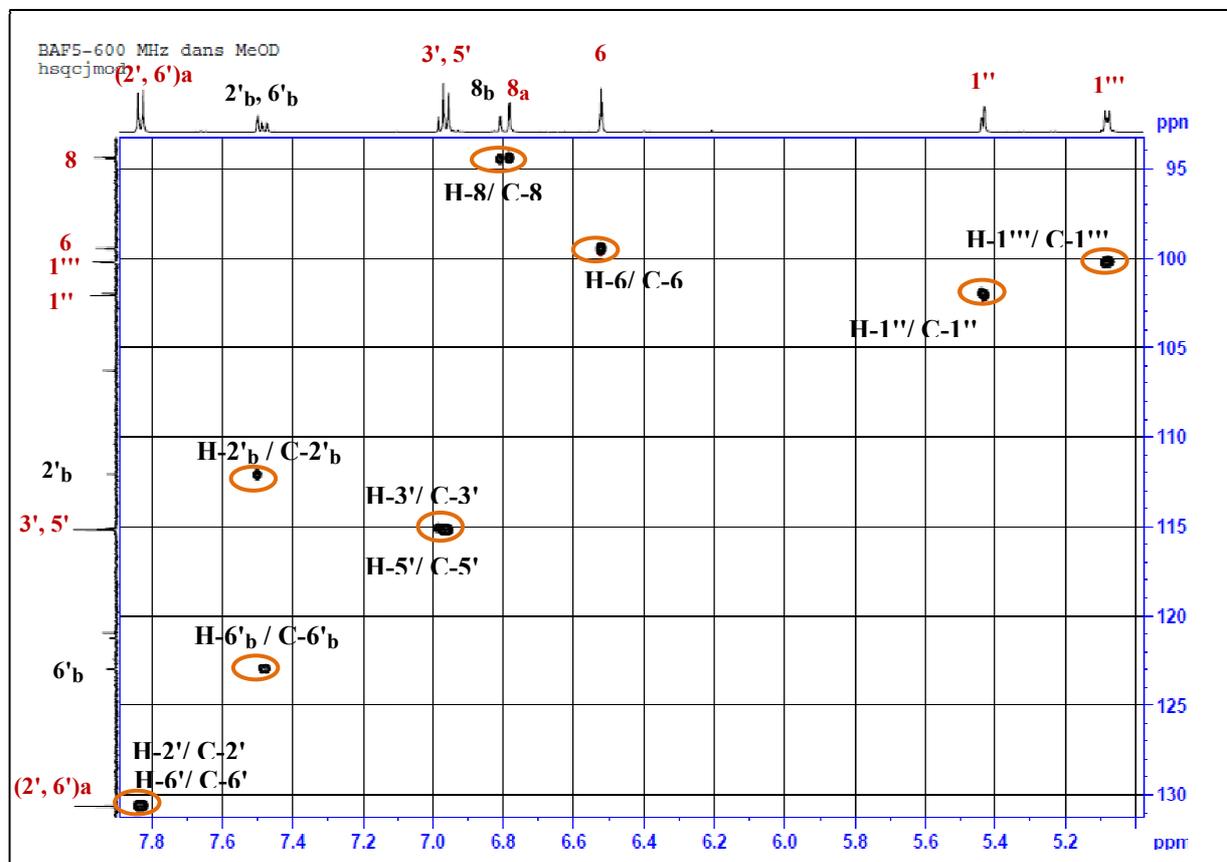


Figure 130. Spectre HSQC de δ_H 5.1 à 7.8 ppm des composés **P7** et **P8** (CD₃OD, 600 MHz)

L'enchaînement osidique est établi après l'analyse du spectre HMBC sur lequel sont visualisées les corrélations $^3J_{H-C}$ suivantes :

- ✓ Une corrélation entre le proton anomérique H-1'' résonnant à 5.43 ppm et le carbone C-3 de la génine montre que ce rhamnose est attaché à l'hydroxyle en position 3 de cette génine.
- ✓ Une autre tache de corrélation entre le proton anomérique H-1''' du glucose et le carbone C-7 de la génine, montre que ce sucre est attaché à l'hydroxyle en position 7.

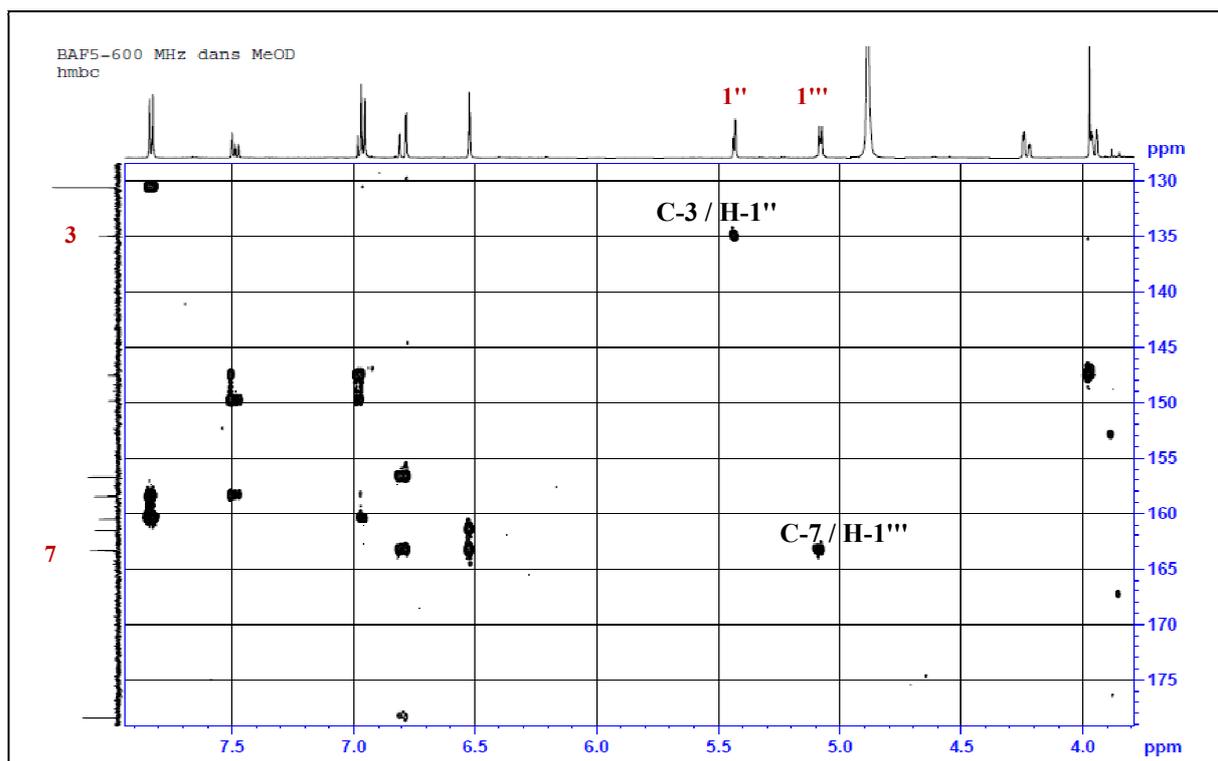


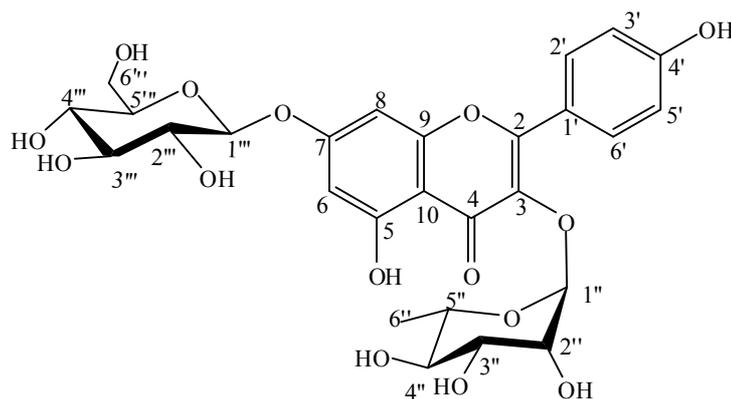
Figure 131. Spectre HMBC de δ_C 130 à 180 ppm des composés **P7** et **P8** (CD_3OD , 600 MHz)

Les attributions finales des signaux sont dressées dans le tableau 57.

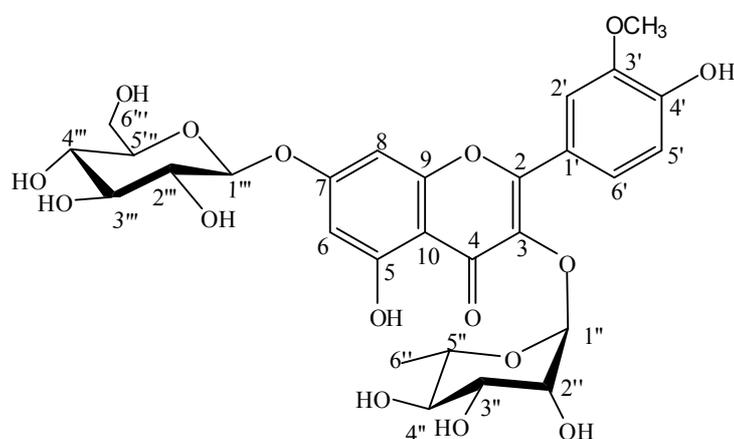
Tableau 57. Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) des composés **P7** et **P8** dans CD_3OD

P7 (a)			P8 (b)		
N°	δ_{H} (m, J Hz)	δ_{c}	N°	δ_{H} (m, J Hz)	δ_{c}
2	-	160.5	2	-	160.5
3	-	135.0	3	-	135.0
4	-	178.4	4	-	178.4
5	-	161.5	5	-	161.5
6	6.52, d (2.2)	99.4	6	6.52, d (2.1)	99.5
7	-	163.3	7	-	163.3
8	6.78, d (2.1)	94.4	8	6.81, d (2.1)	94.5
9	-	156.7	9	-	156.7
10	-	106.3	10	-	106.3
1'	-	120.9	1'	-	121.2
2'	7.83, d (8.8)	130.6	2'	7.50, d (1.9)	112.1
3'	6.96, d (8.9)	115.2	3'	-	147.5
4'	-	149.9	4'	-	149.9
5'	6.96, d (8.9)	115.2	5'	6.98, d (8.6)	115.1
6'	7.83, d (8.8)	130.6	6'	7.48, dd (8.3, 2.0)	123.0
Rhamnose					
1''	5.43, d (1.6)	102.1	1''	5.44, d (1.6)	101.9
2''	4.24, dd (3.3, 1.7)	70.5	2''	4.22, dd (3.3, 1.7)	70.4
3''	3.74, dd (10.0, 3.4)	70.7	3''	3.74, dd (10.0, 3.4)	70.7
4''	3.36, m	71.7	4''	3.36, m	71.7
5''	3.36, m	70.8	5''	3.36, m	70.7
6''	0.90, d (5.7)	16.3	6''	0.90, d (5.7)	16.2
Glucose					
1'''	5.08, d (7.1)	100.2	1'''	5.08, d (7.1)	100.2
2'''	3.51, t (7.7)	73.3	2'''	3.51, t (7.7)	73.3
3'''	3.51, t (7.7)	76.4	3'''	3.51, t (7.7)	76.4
4'''	3.43, t (9.2)	69.9	4'''	3.41, t (9.4)	69.9
5'''	3.55, dd (2.1, 5.9)	77.0	5'''	3.55, dd (2.1, 5.9)	77.1
6'''	a : 3.96, dd (12.1, 2.0) b : 3.74, dd (12.1, 5.9)	61.0	6'''	a : 3.96, dd (12.1, 2.0) b : 3.73, dd (12.1, 5.9)	61.0
			O-CH ₃	3.97 s	55.3

L'examen de ces données et la comparaison avec les produit **P4**, **P5** et **P6** les composés **P7** et **P8** sont identifiés : kaempférol-3-*O*- α -L-rhamnopyranoside -7-*O*- β -D-glucopyranoside (Berrehal et *al.*, 2010) et isoramnétine-3-*O*- α -L-rhamnopyranoside-7-*O*- β -D-glucopyranoside (Wolbiś, 1989).



kaempférol-3-*O*- α -L-rhamnopyranoside -7-*O*- β -D-glucopyranoside (**P7**)



isoramnétine-3-*O*- α -L-rhamnopyranoside-7-*O*- β -D-glucopyranoside (**P8**)

I.8. Le produit P9

La fluorescence noir-violette de ce produit sous la lumière ultra-violette (365nm) est caractéristique d'une flavone ou d'un flavonol substitué en position 3.

Le comportement chromatographique indiqué par les valeurs du R_f indique que le composé est un aglycone.

- $R_f = 0.58$ (Toluene/MEC/MeOH 4:3:3).
- $R_f = 0.04$ (H_2O /MeOH/MEC/Acetylacétone 13:3:3:1).

La fluorescence noir-violette et la valeur de la longueur d'onde d'absorption maximale de la bande I dans le méthanol ($\lambda = 338$ nm), sur le spectre UV du composé **P9** (figure 132) sont caractéristiques d'une flavone.

- L'effet bathochrome de la bande I de $\Delta\lambda = 55$ nm après addition de NaOH par rapport au spectre méthanolique avec une augmentation de l'intensité d'absorption, oriente vers la présence d'un OH libre en position 4'. L'apparition d'une nouvelle bande à 327 nm indique la présence d'un OH libre en position 7. Ceci est confirmé par l'effet bathochrome de la bande II $\Delta\lambda = +6$ nm par rapport au spectre pris dans le MeOH observé sur le spectre après addition de NaOAc.
- La comparaison du spectre enregistré en présence de HCl + AlCl₃ par rapport au spectre dans le MeOH montre un effet bathochrome de la bande I $\Delta\lambda = +38$ nm indiquant la présence d'un OH libre en position 5.
- Aucun effet bathochrome de la bande I n'est observé après addition de H₃BO₃ en présence de NaOAc par rapport au spectre dans le méthanol, ce qui indique l'absence de systèmes ortho di- OH sur le noyau A et le noyau B. Cette hypothèse est confirmée par l'étude du spectre en présence d'AlCl₃ dont les longueurs d'onde d'absorption maximale restent inchangées après addition de HCl.

Les données relatives à la série spectrale UV sont rassemblées dans le tableau 58.

Tableau 58. Données spectrales UV du composé **P9**

Réactifs	Bande I λ_{\max} (nm)	Bande II λ_{\max} (nm)	Autres Bandes λ_{\max} (nm)	
MeOH	338	269	-	
+NaOH	393	275	327	
+NaOAc	366	275	300	
+NaOAc+H ₃ BO ₃	341	270	-	
+ AlCl ₃	380	275	350	302
+ AlCl ₃ +HCl	376	277	342	300
Le spectre de NaOH après 5 min est stable				

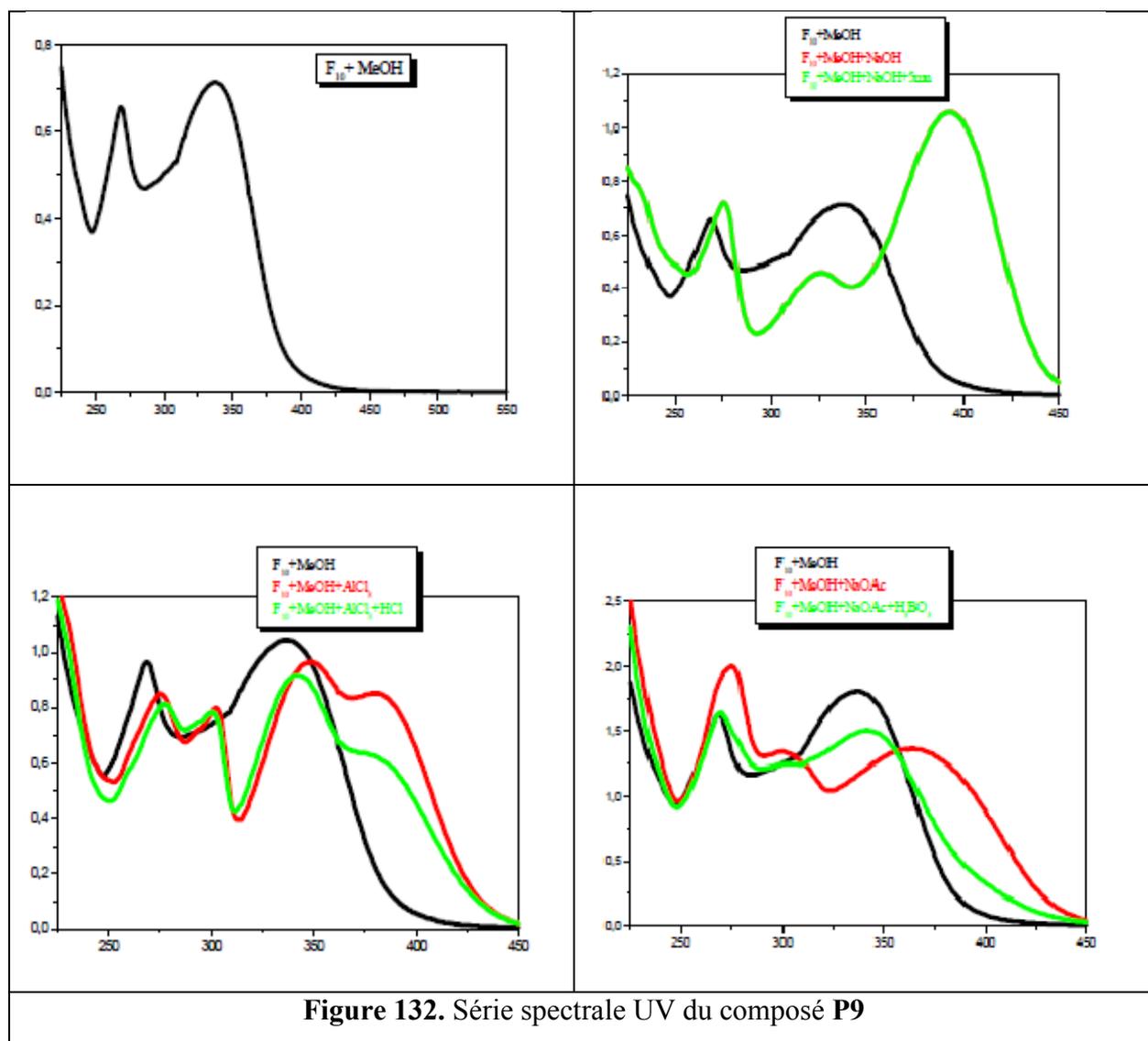


Figure 132. Série spectrale UV du composé P9

Toutes ces données nous permettent de proposer une structure partielle menant à l'apigénine.

L'examen du spectre proton (figure 133) montre la présence de deux doublets ($J = 8.8$ Hz) d'intégration 2H chacun, caractéristiques d'un noyau B oxygéné en position 4'. Le premier à $\delta_H = 7.88$ ppm est attribué aux noyaux H-2' et H6'; le second à $\delta_H = 6.95$ ppm est attribué aux noyaux H-3' et H-5'.

Ce spectre renferme également un signal sous forme de singulet à $\delta_H = 6.62$ ppm, attribuable au proton en position C-3 et deux autres doublets formant un système AM ($J = 2.1$ Hz) à $\delta_H = 6.47$ ppm et $\delta_H = 6.23$ ppm, attribuables à H-8 et H-6 respectivement.

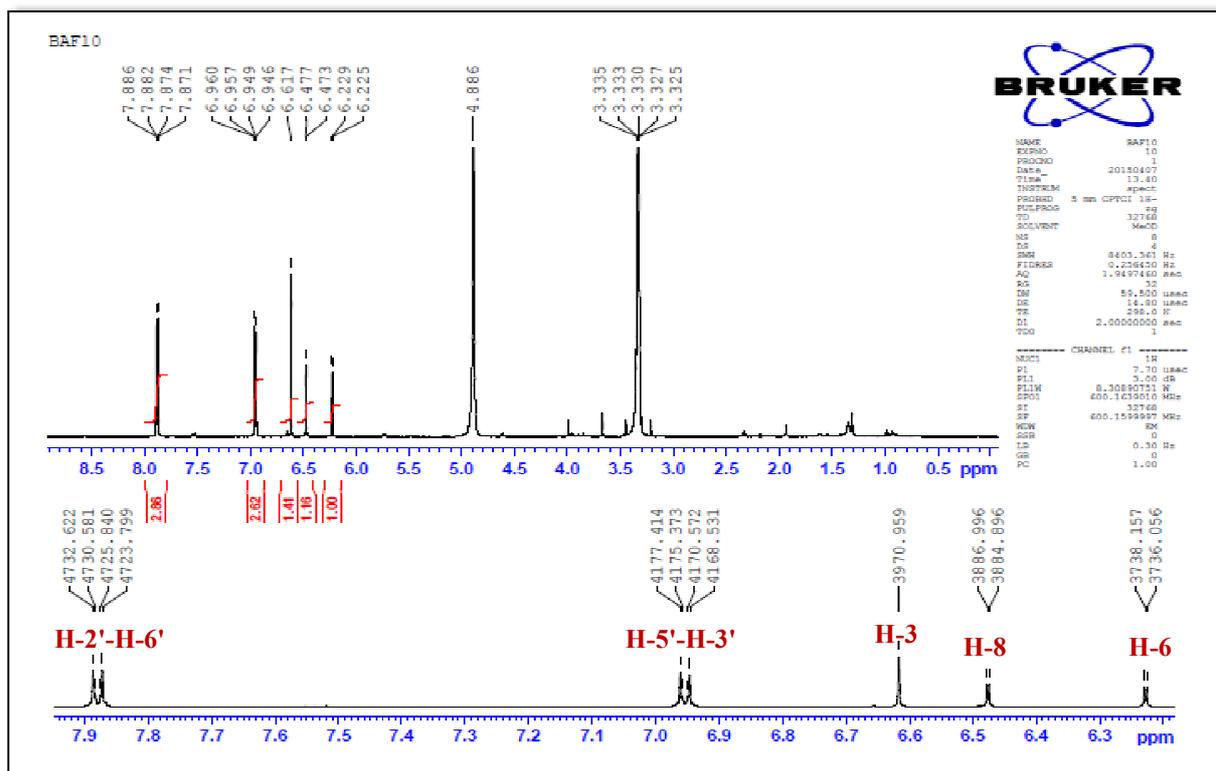


Figure 133. Spectre RMN ^1H du composé **P9** (CD_3OD , 600 MHz)

La figure 134 représente le spectre RMN ^{13}C du composé **P9** :

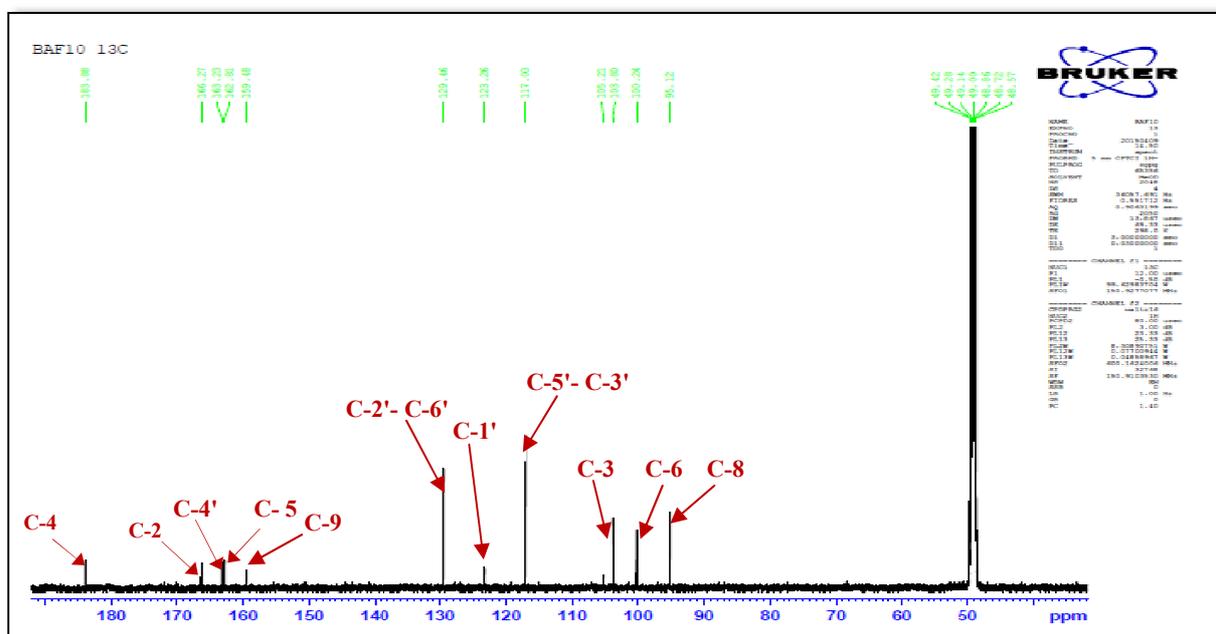


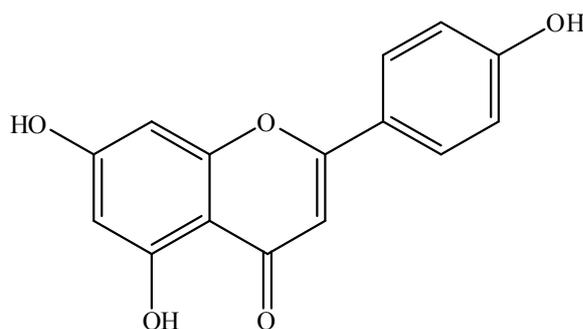
Figure 134. Spectre RMN ^{13}C du composé **P9** (CD_3OD , 150 MHz)

Les déplacements chimiques des signaux observés en RMN du ^1H et du ^{13}C sont dressés dans le tableau 59.

Tableau 59. Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé **P9** dans CD_3OD

N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)	N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)
2	166.3	6	10	105.1	-
3	103.8	6.62, s	1'	123.3	-
4	183.9	-	2'	129.5	7.88, d (8.8)
5	162.9	-	3'	117.0	6.95, d (8.8)
6	100.2	6.23, d (2.1)	4'	163.2	-
7	166.5	-	5'	117.0	6.95, d (8.8)
8	95.1	6.47, d (2.1)	6'	129.5	7.88, d (8.8)
9	159.5	-			

Ces données spectrales de la RMN (^1H et ^{13}C) confirment la structure de l'apigénine (Mabry et al., 1970).

Apigénine (**P9**)

I.9. Le produit P10

L'analyse du spectre de RMN ^1H (figure 135) du composé **P10** montre la présence de 17 protons, suggérant l'existence de deux noyaux aromatiques trisubstitués. Les protons aromatiques, attribués aux groupements cafféoyles apparaissent dédoublés entre $\delta_{\text{H}} = 6-8$ ppm. D'autre part, on a observé deux larges doublets à $\delta_{\text{H}} = 7.65$ ppm ($J = 15.8$ Hz) et $\delta_{\text{H}} = 7.58$ ppm ($J = 15.8$ Hz) correspondant respectivement aux protons H-7'' et H-7'. Ces derniers révèlent des couplages avec les protons H-8'' à $\delta_{\text{H}} = 6.39$ ppm et H-8' à $\delta_{\text{H}} = 6.31$ ppm des chaînes latérales des deux groupements cafféoyles indiquant des *trans*-conjugaisons (Pauli, 1998). Deux systèmes de type ABX lors de l'apparition d'un signal ($J = 2.0$ Hz) apparaît à $\delta_{\text{H}} = 7.06$ ppm attribuable à H-2' et à $\delta_{\text{H}} = 7.09$ ppm attribuable à H-2''.

- Un doublet dédoublé résonant à $\delta_H = 6.95$ ppm attribuable à H-6' et à $\delta_H = 6.98$ ppm (H-6'').
- Deux doublets ($J = 8.2$ Hz), le premier apparaît à $\delta_H = 6.80$ ppm est attribué à H-5' et le second à $\delta_H = 6.74$ ppm (H-5'').

Deuxièmement, sur le spectre RMN 1H , les signaux des protons H-5 ($\delta_H = 5.39$ ppm) et H-3 ($\delta_H = 5.36$ ppm) apparaissent déblindés par rapport à leurs positions dans l'acide quinique non substitué indiquant que les groupements cafféoyles sont rattachés aux hydroxyles des positions 5 et 3 (Clifford, 1986; Pauli, 1998). Par contre, le signal blindé du proton H-4 ($\delta_H = 3.74$ ppm) montre que l'hydroxyle lié au carbone correspondant est libre. D'autre part, le proton H-4 est observé ayant un couplage axiale-axiale ($J = 7.2$ Hz). Ceci nous a permis d'établir la conformation structurale du cycle quinique. En effet, le premier groupe *O*-cafféoyle est en position équatoriale et le second en position axiale dans les positions respectivement 5 et 3.

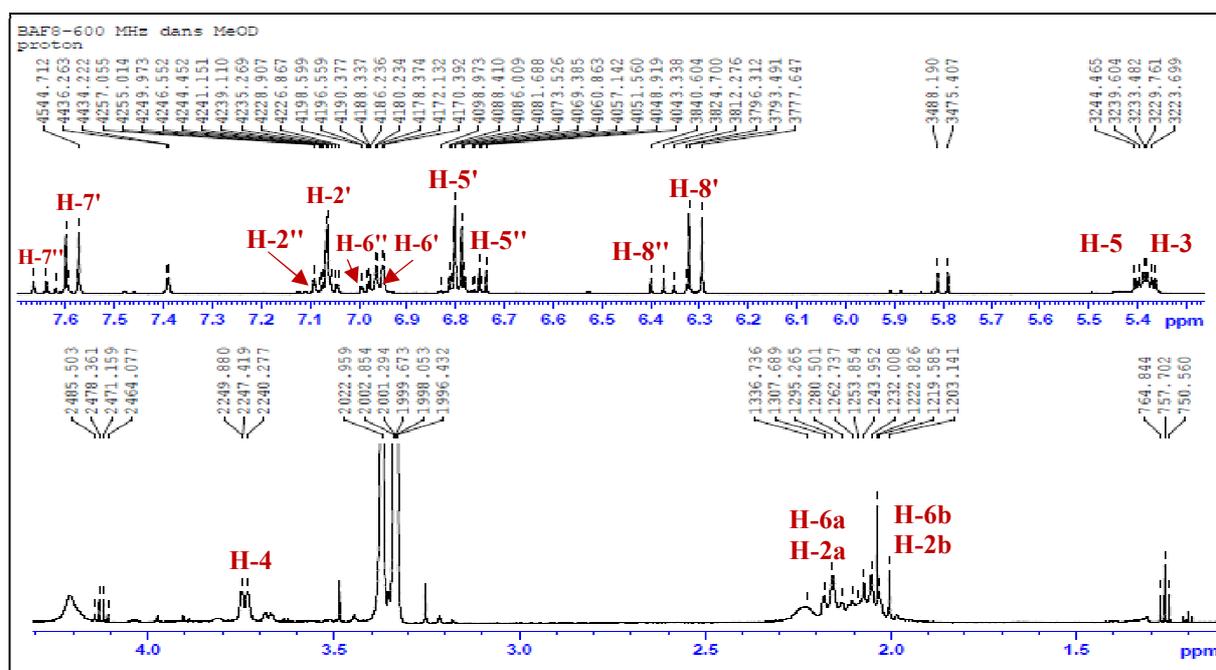


Figure 135. Spectre RMN 1H du composé **P10** (CD_3OD , 600 MHz)

L'étude du spectre ^{13}C a permis de mettre en évidence la présence de 25 atomes de carbone (figure 136). Tous les signaux aromatiques sont dédoublés ce qui confirme la présence de deux groupements cafféoyles. Les signaux $\delta_C = 166.7$ ppm (C-9'') et 167.6 ppm (C-9') sont attribués aux carbonyles des groupements cafféoyles alors que les signaux à $\delta_C = 148.1$, 148.1, 145.4 et 145.4 ppm correspondent respectivement aux carbones C-4'', C-4', C-3'' et C-3' portant les hydroxyles sur les cycles aromatiques.

Pour la partie quinique de la molécule, on distingue le signal du carbone carboxylique à $\delta_C = 178.5$ ppm (C-7). Ceux des groupements méthylène (CH_2) à 38.6 ppm (C-6) et 38.6 ppm (C-2), ceux des groupements méthine (CH) à $\delta_C = 70.9$ (C-3), 71.4 (C-4) et 70.9 (C-5), alors que le carbone quaternaire apparaît à $\delta_C = 73.1$ ppm (C-1). Cette dernière valeur située entre $\delta_C = 73$ -76 ppm indique que l'hydroxyle en C-1 est libre. Elle serait entre $\delta_C = 80$ -81 ppm s'il était substitué (Merfort, 1992).

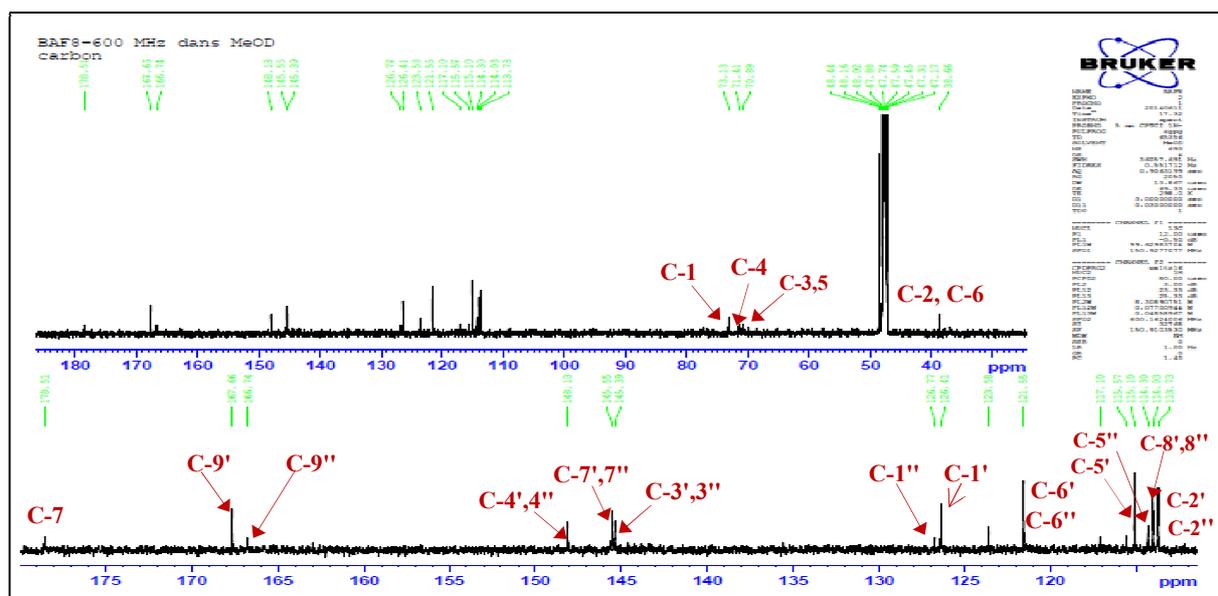


Figure 136. Spectre RMN ^{13}C du composé **P10** (CD_3OD , 150 MHz)

Le spectre HSQC (figure 137) nous a permis de relier les protons à leurs carbones.

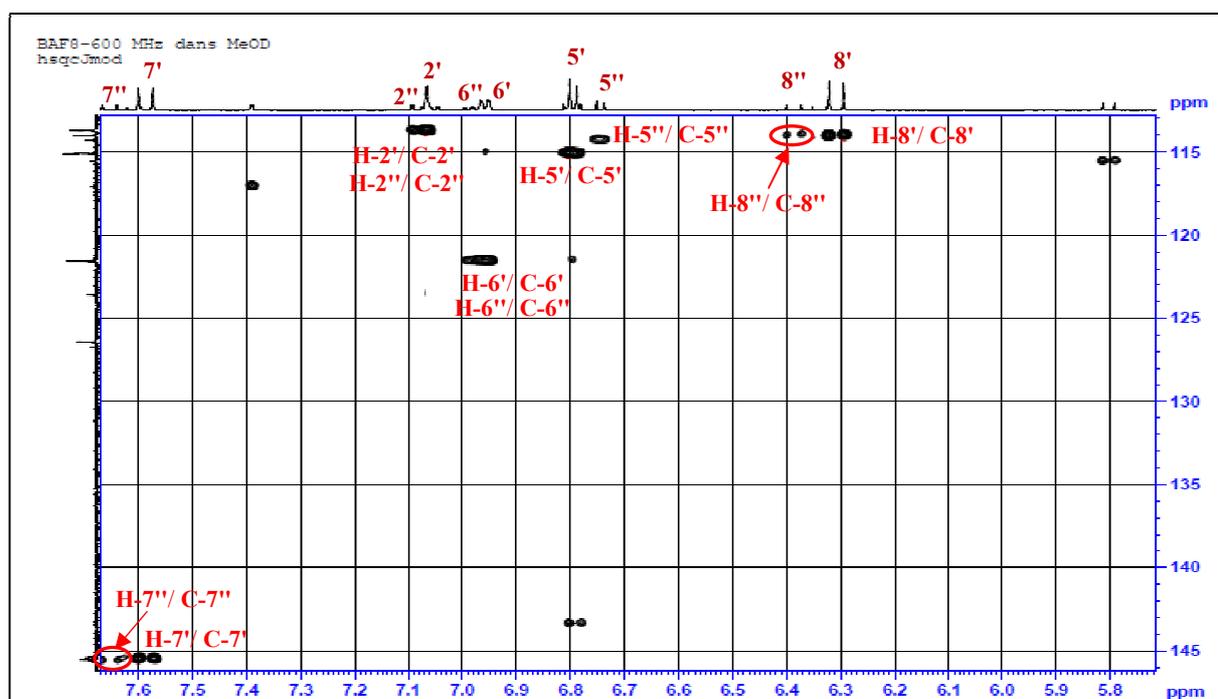


Figure 137. Spectre HSQC étalé du produit **P10** (CD_3OD , 600 MHz)

Le spectre HMBC (figure 138) montre des corrélations entre le proton H-8' et le carbonyle C-9' (167.6 ppm) et entre le proton H-8'' et le carbonyle C-9'' (166.7 ppm).

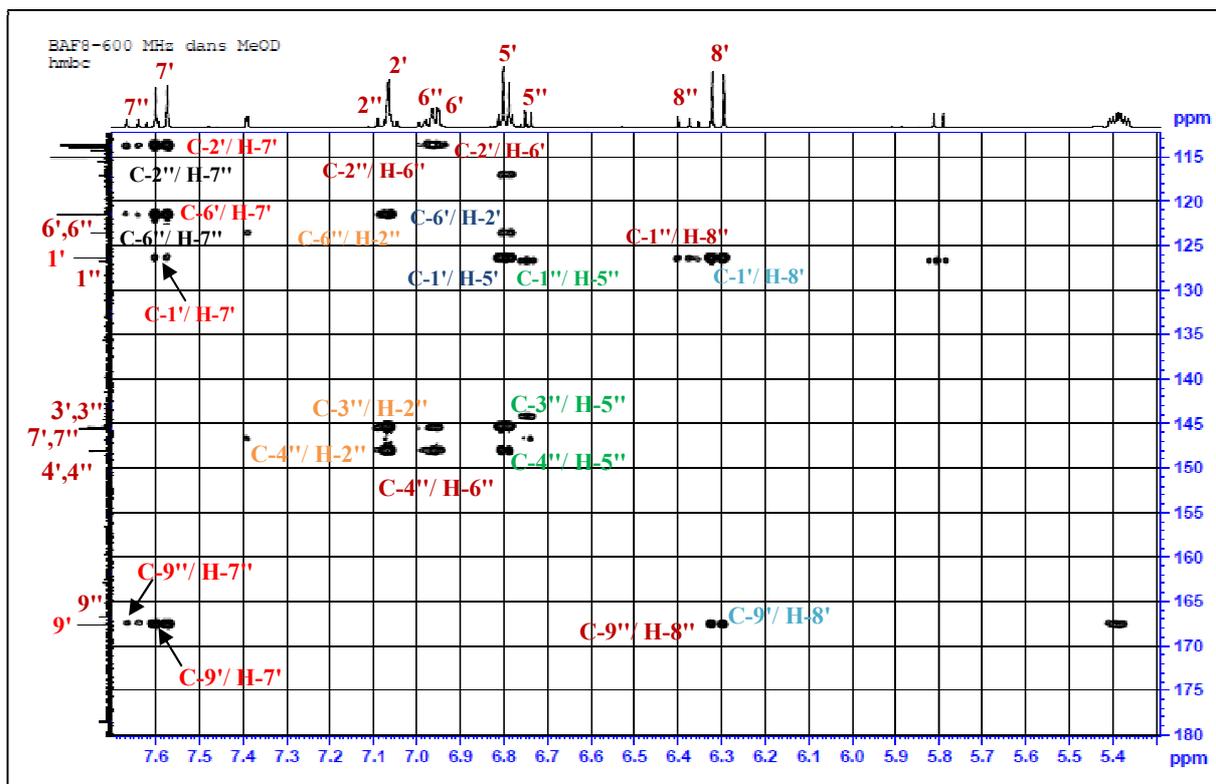


Figure 138. Spectre HMBC étalé du produit **P10** (CD₃OD, 600 MHz)

Selon le spectre COSY (figure 139), nous avons pu déterminer les protons H-2a, H-2b et H-6a, H-6b.

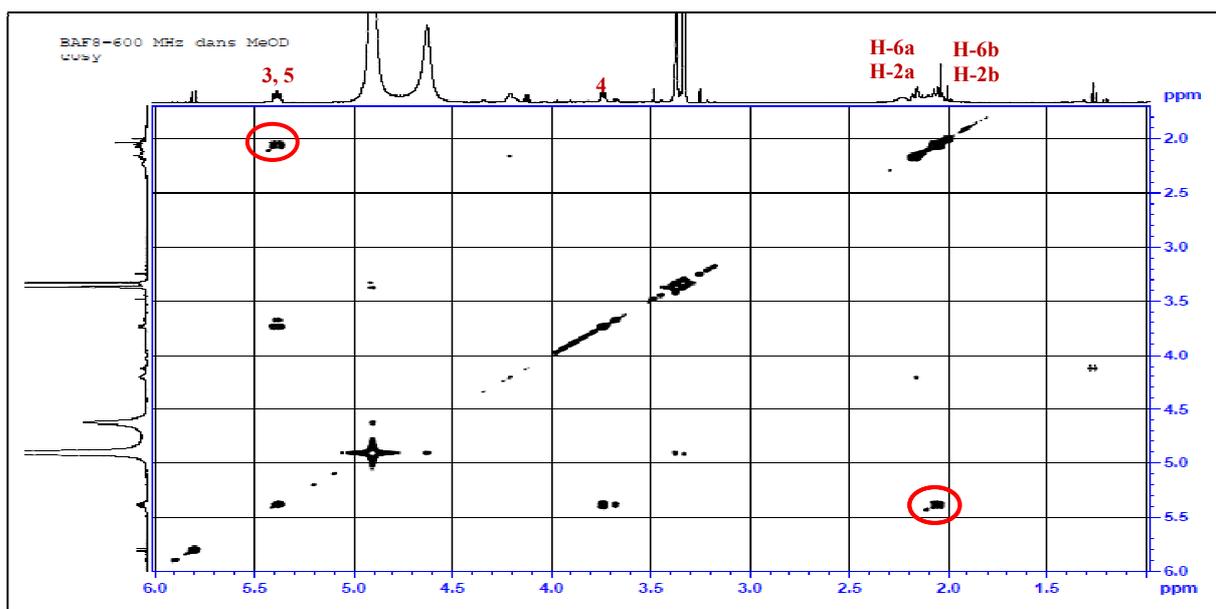
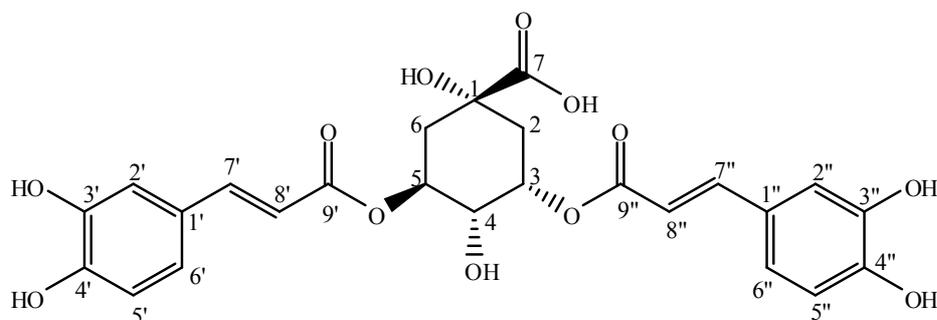


Figure 139. Spectre COSY étalé du produit **P10** (CD₃OD, 600 MHz)

Tableau 60. Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé **P10** dans CD_3OD

N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)	N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)
1	73.1	-	7'	145.5	7.58, d (15.8)
2	38.6	2a : 2.13, m 2b : 2.08, m	8'	114.3	6.31, d (15.8)
3	70.9	4.13, m	9'	167.6	-
4	71.4	3.74, dd (7.1, 2.4)	1''	126.7	-
5	70.9	5.38 m	2''	113.7	7.09, d (2.0)
6	38.6	6a : 2.13, m 6b : 2.08, m	3''	145.4	-
7	178.5	-	4''	148.1	-
1'	126.4	-	5''	115.6	6.74, d (8.2)
2'	113.7	7.06 d (2.04)	6''	121.5	6.98, dd (8.1, 1.7)
3'	145.4	-	7''	145.5	7.65, d (15.8)
4'	148.1	-	8''	114.3	6.39, d (15.8)
5'	115.1	6.8 d (8.2)	9''	166.7	-
6'	121.5	6.9 dd (8.1, 1.7)			

Ces données spectrales de la RMN (^1H et ^{13}C) confirment la structure du composé **P10** comme étant 3,5-di- acide *O*-cafeoylquinique (Shutz et al., 2004).

3,5-di- acide *O*-Caffeoylquinique (**P10**)

I.10. Le produit P11

Le composé **P11** a été isolé sous forme d'une huile jaune avec une fluorescence bleue sous la lumière ultra-violette (365nm).

L'analyse des spectres de RMN ^1H (figures 140-141) du composé **P11** montre :

- Deux signaux d'intégration 1H chacun, le premier apparait à $\delta_H = 6.22$ ppm ($J = 9.5$ Hz) est attribué à H-3 et le second à $\delta_H = 7.60$ ppm ($J = 9.5$ Hz) (H-4).
- Deux singulets d'intégration 1H chacun le premier à $\delta_H = 6.75$ ppm et le second à $\delta_H = 7.22$ ppm correspondant aux protons H-8 et H-5 respectivement.
- Un triplet d'intégration 1H à $\delta_H = 5.06$ ppm ($J = 9.3$ Hz) attribuable à H-2'.
- Un multiplet à $\delta_H = 3.27$ ppm est attribué à H-3' indiquant la présence de la fonction dihydrofuranique (Salem *et al.*, 2013, Razavi *et al.*, 2008).

Ces données sont en bonne concordance avec la structure de dihydrofuranocoumarine.

- Deux singulets d'intégration 3H, le premier à $\delta_H = 1.61$ ppm et le second à $\delta_H = 1.63$ ppm attribuables aux protons des méthyles H-5' et H-6' respectivement.
- Un autre signal à $\delta_H = 5.99$ ppm (qq, $J = 1.4, 7.3$ Hz) attribuable au proton éthylénique H-3''.
- Deux multiplets résonants à 1.68 ppm et 1.90 ppm correspondant aux protons méthyléniques H-4'' et H-5'' respectivement en accord avec les données spectrales du groupement angeloyle.

Cette proposition sera confirmée par la suite par l'analyse des spectres RMN 2D (HSQC, HMBC, COSY).

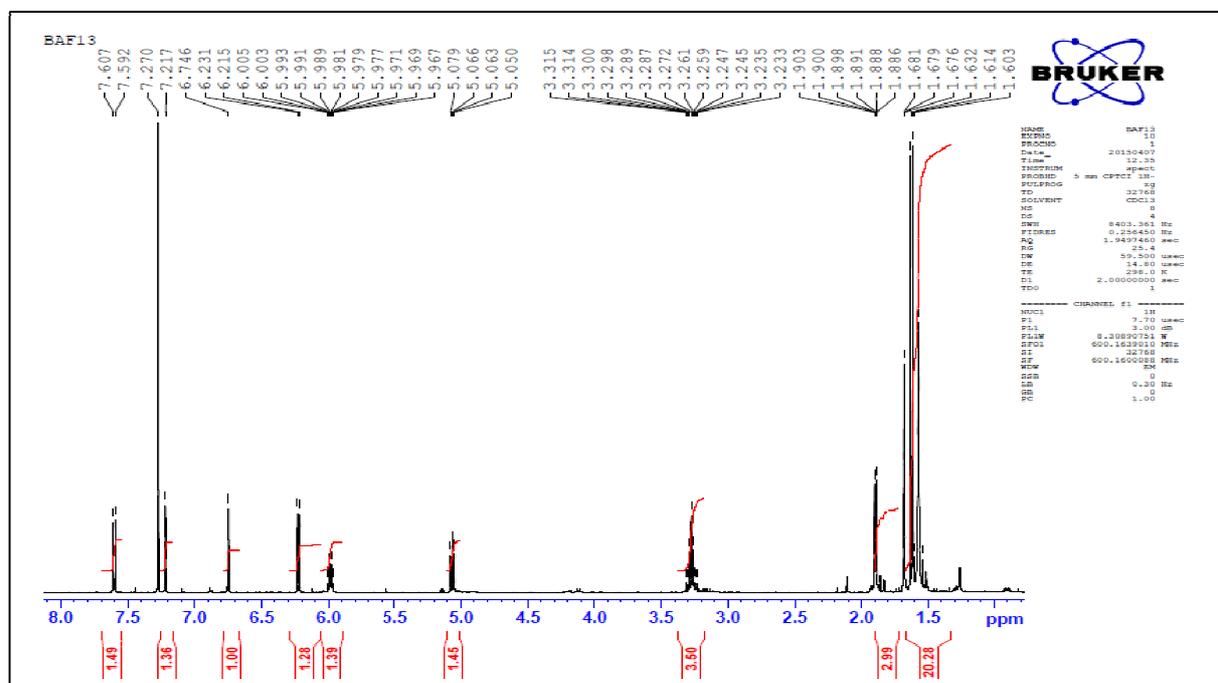


Figure 140. Spectre RMN ^1H du composé P11 (CD_3OD , 600 MHz)

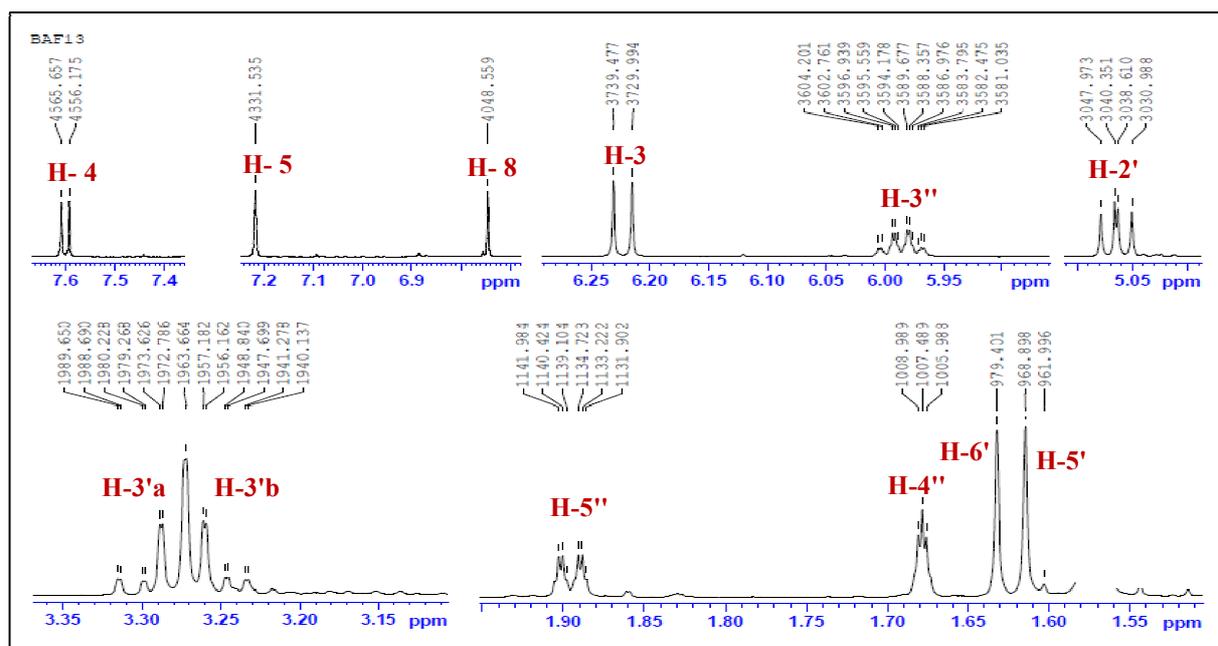


Figure 141. Spectre RMN ^1H étalé du composé P11 (CD_3OD , 600 MHz)

L'analyse du spectre ^{13}C (figure 142) montre la présence de 19 atomes de carbone : 8 carbones quaternaires, 4 (CH_3), 6 (CH) et 1 CH_2 .

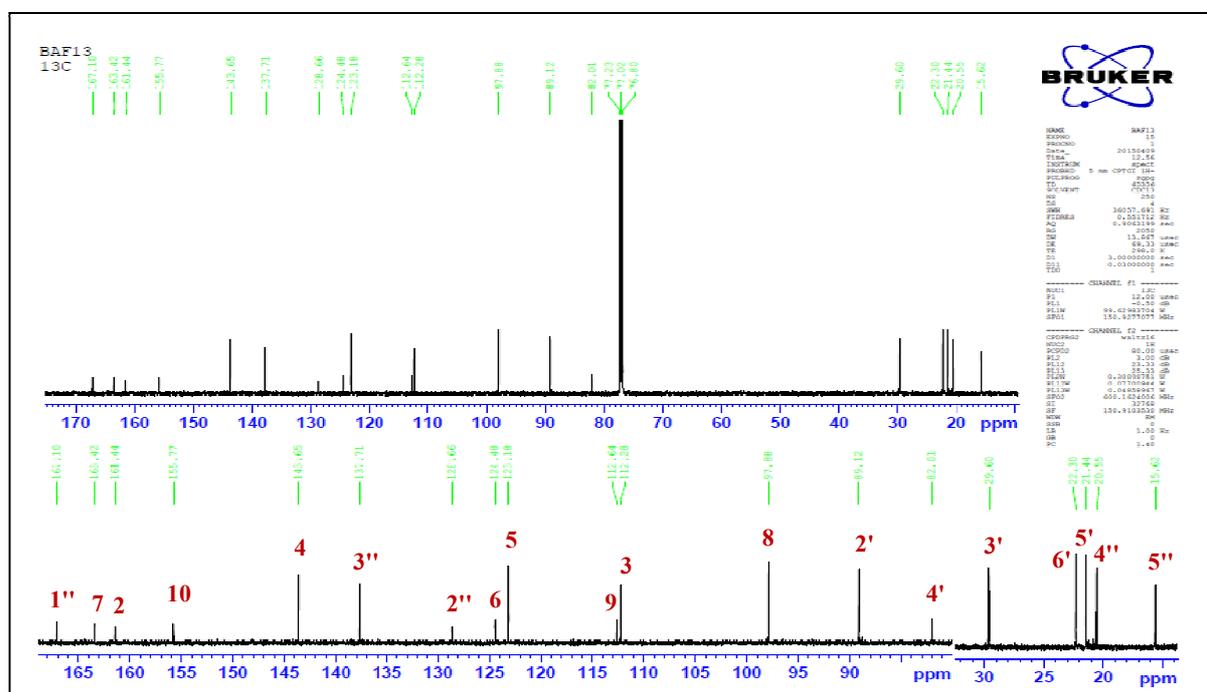


Figure 142. Spectre RMN ^{13}C du composé P11 (CD_3OD , 150 MHz)

L'analyse des corrélations hétéronucléaires $^1J_{H-C}$ sur les spectres HSQC (figure 143) permet d'identifier et d'attribuer les déplacements chimiques du dihydrofuranocoumarine et du groupement angéloyle.

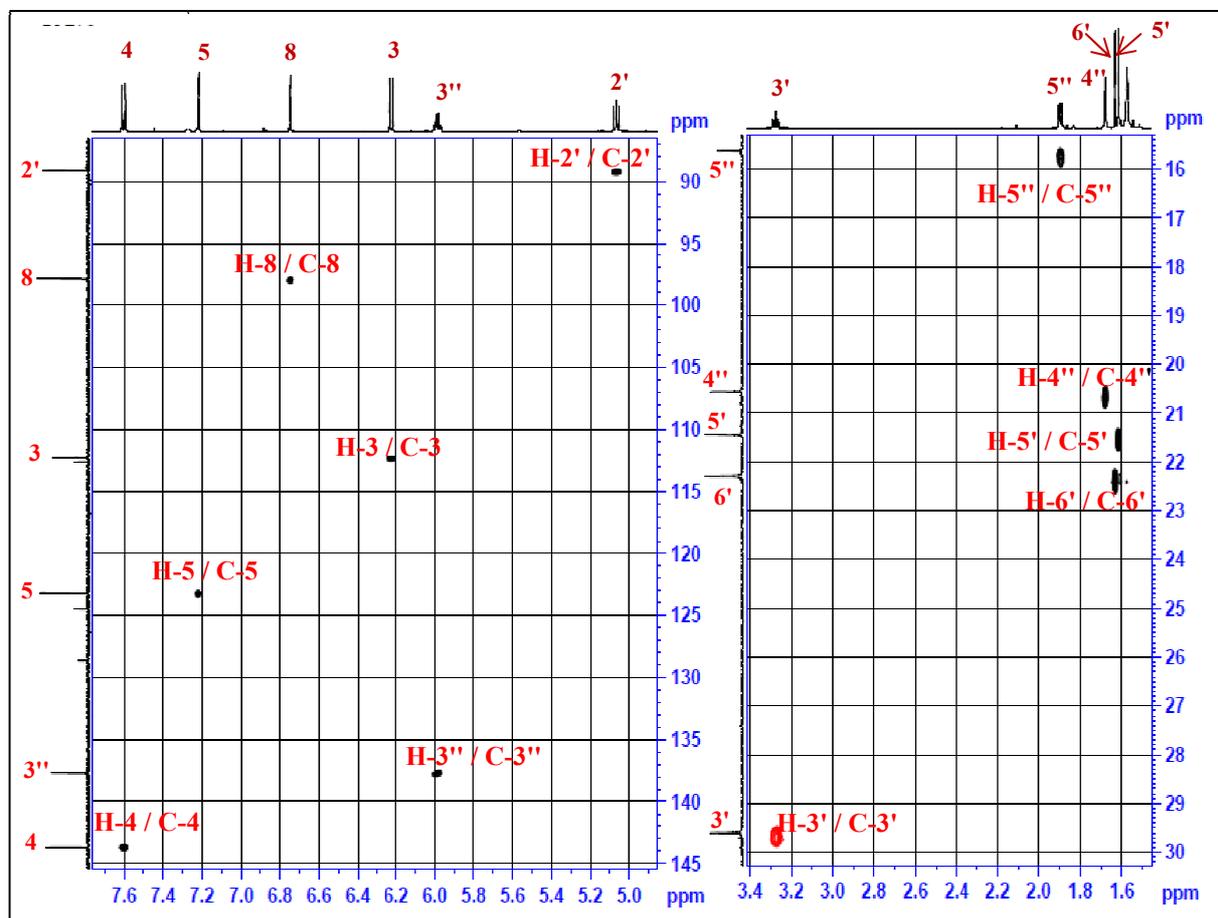


Figure 143. Spectre HSQC du composé **P11** (CD₃OD, 600 MHz)

L'analyse des spectres HMBC (figures 144-146) nous permet de la confirmation de la partie dihydrofuranocoumarine et l'identification du groupement angéloyle.

Le spectre HMBC montre une H-C corrélation entre les protons H-5' ($\delta_H = 1.61$ ppm) et H-6' ($\delta_H = 1.63$ ppm) et le carbone C-4' ($\delta_C = 82.0$ ppm) ce qui indique que les deux méthyles sont attachés au carbone quaternaire oxygéné C-4'.

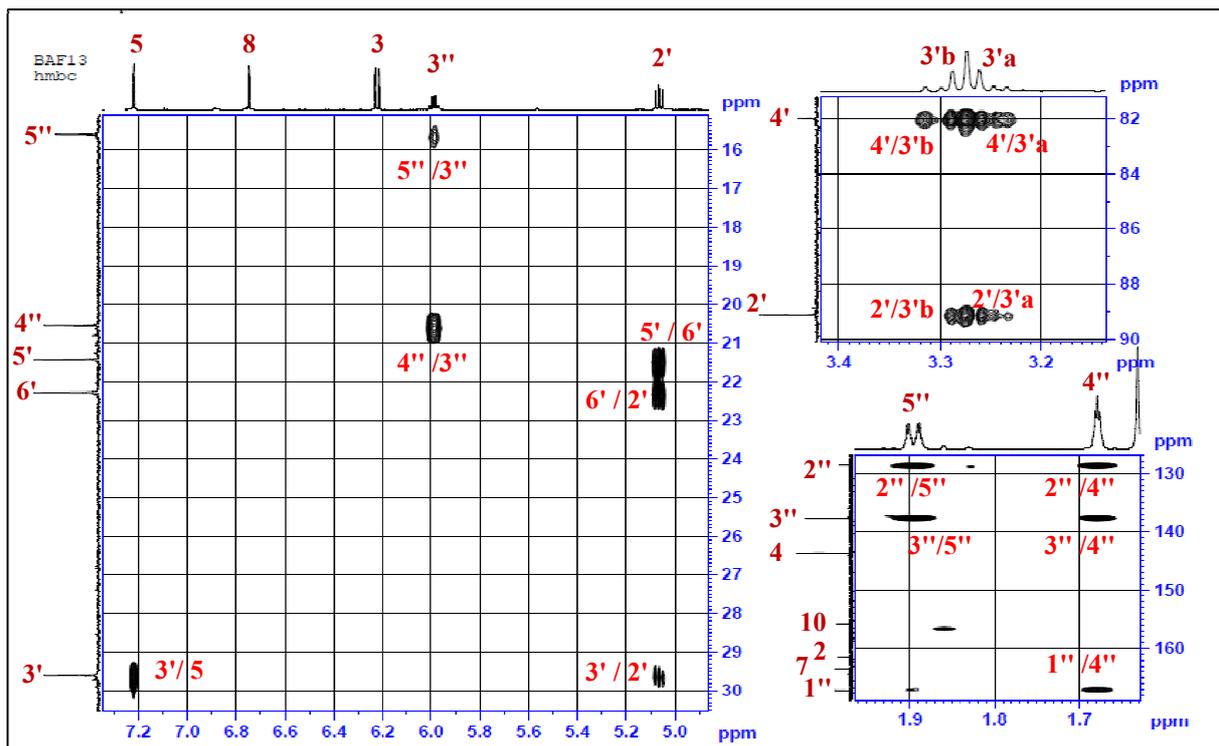


Figure 144. Spectre HMBC de δ_C 15 à 30 ppm du composé **P11** (CD_3OD , 600 MHz)

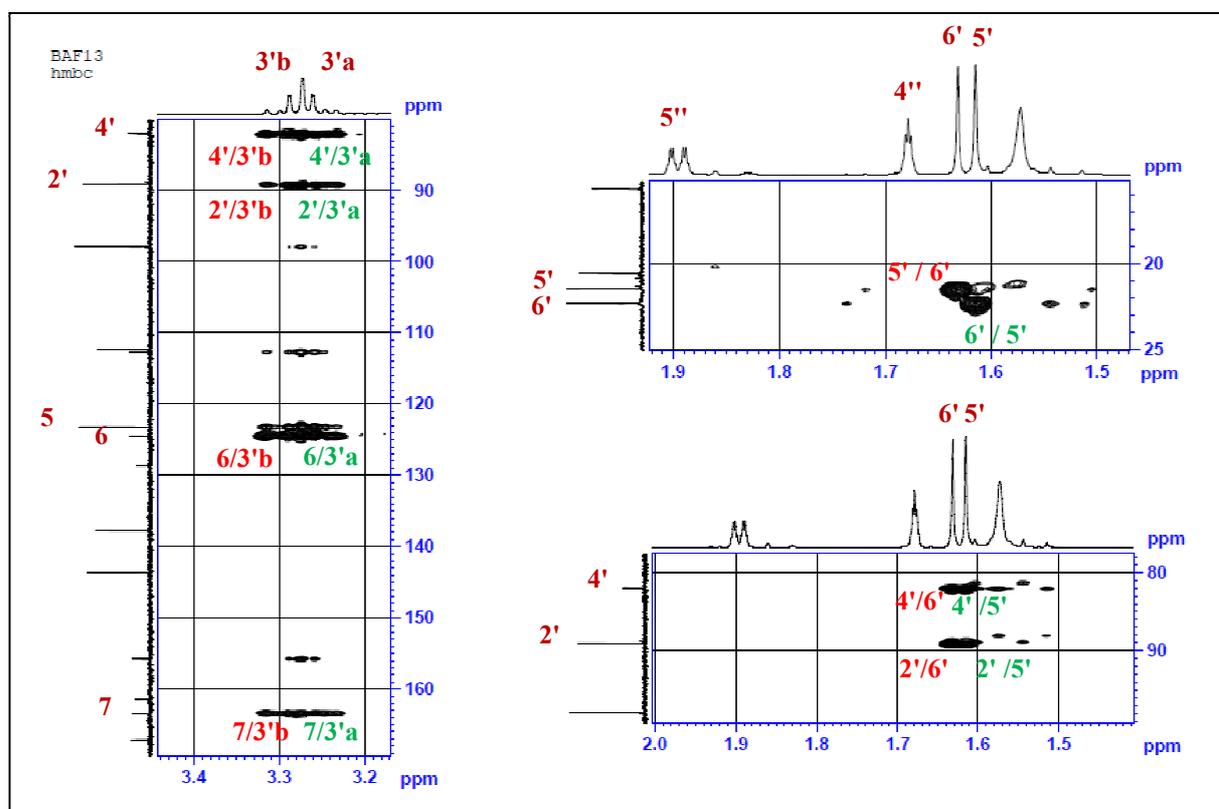


Figure 145. Spectre HMBC de δ_C 80 à 160 ppm du composé **P11** (CD_3OD , 600 MHz)

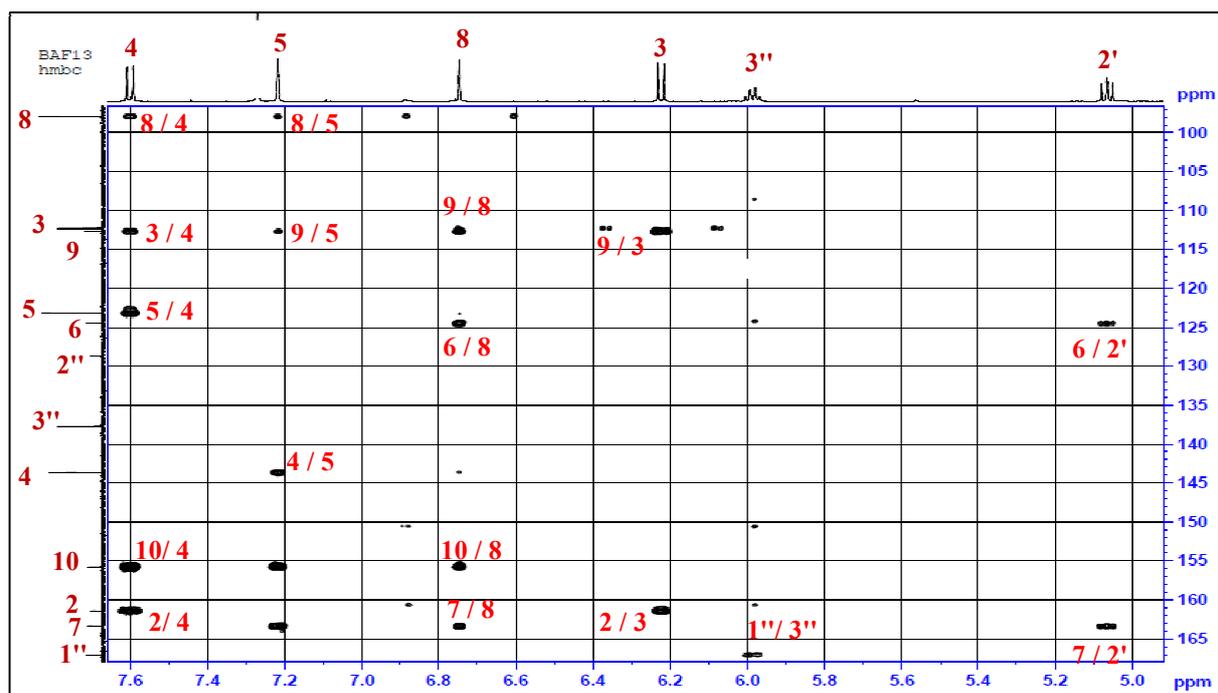


Figure 146. Spectre HMBC de δ_C 95 à 165 ppm du composé **P11** (CD_3OD , 600 MHz)

L'analyse du spectre COSY (figure 147) montre une corrélation entre le proton H-3'a et le proton H-5 et une autre corrélation entre le proton H-3'b et le proton H-2' permettant la localisation des protons H-3'a et H-3'b.

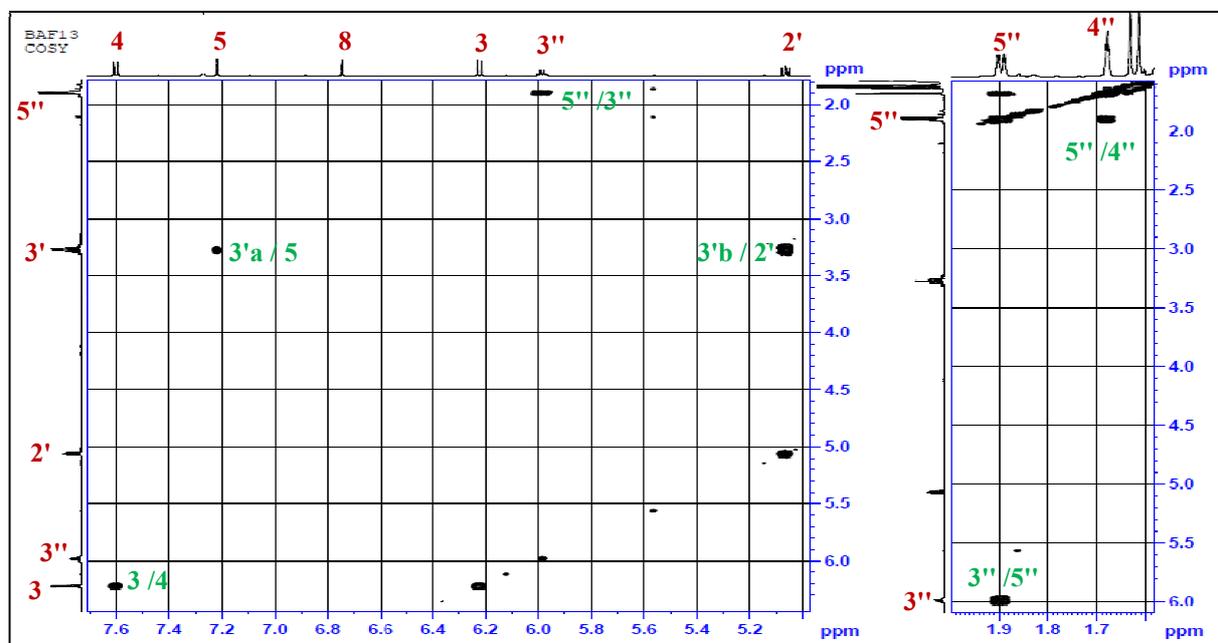


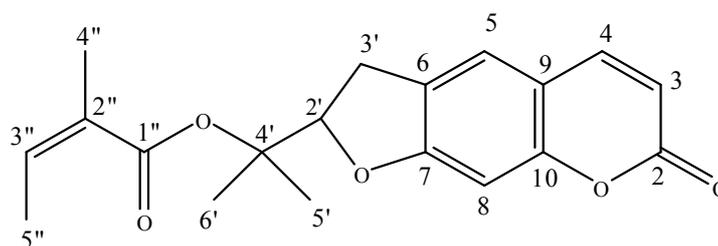
Figure 147. Spectre COSY du composé **P11** (CD_3OD , 600 MHz)

Les attributions finales des signaux sont dressées dans le tableau 61.

Tableau 61. Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé **P11** dans CD_3OD

N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)	N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)
2	161.4	-	3'	29.6	3'a : 3.29, ddd (9.4, 5.6, 1.0) 3'b : 3.26, ddd (9.5, 6.4, 1.1)
3	112.3	6.22, d (9.5)	4'	82.0	-
4	143.6	7.60, d (9.5)	5'	21.4	1.61, s
5	123.2	7.22, s	6'	22.3	1.63, s
6	124.5	-	1''	167.1	-
7	163.4	-	2''	128.7	-
8	97.9	6.75, s	3''	137.8	5.99, qq (7.3, 1.4)
9	112.8	-	4''	20.5	1.68, m
10	155.8	-	5''	15.61	1.90, dq (4.4, 1.3)
2'	89.1	5.06, dd (7.6, 1.7)			

L'analyse des spectres de RMN ^1H , ^{13}C , HSQC, HMBC et COSY, permet d'identifier le composé **P11** comme étant : deltoin (Razavi et al., 2008).

**Deltoin (P11)**

Chapitre III

Activités biologiques

I. Activité antioxydante de l'espèce *Ferula longipes* Coss.**I.1. Activité antioxydante des fractions acétate d'éthyle et *n*-butanol**

L'activité antioxydante des fractions acétate d'éthyle et *n*-butanol de l'espèce *Ferula longipes* Coss. a été testée par la méthode de DPPH.

Selon les mesures effectuées sur les deux fractions *n*-butanol et acétate d'éthyle de la plante *Ferula longipes* Coss., nous avons calculés le pourcentage d'inhibition de DPPH. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 62.

Tableau 62. Les pourcentages d'inhibition des fractions de *Ferula longipes* Coss.

Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	% Inhibition					
	1.00	2.00	3.00	4.00	5.00	10.00
EBFL ^a	19.34	29.14	25.99	30.71	46.12	79.72
EAFB ^b	2.90	22.61	37.72	50.42	84.09	92.91

^a : Fraction *n*-butanol ; ^b : Fraction acétate d'éthyle.

Les valeurs de CI_{50} ($\mu\text{g/ml}$) calculé à partir des courbes de pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration sont dressées dans le tableau 63.

Tableau 63. Les valeurs de CI_{50} des fractions AcOEt et BuOH du DPPH en comparaison avec la Rutine

	CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
EAFB	3.36 \pm 0.89
EBFL	6.02 \pm 0.70
Rutine	3.01 \pm 0.41

Une concentration de 3.36 $\mu\text{g/mL}$ de la fraction EAFB et 6.02 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ de la fraction EBFL inhibent 50% de DPPH, quant à celle de la rutine, elle est de 3.01 $\mu\text{g/mL}$, indiquant que ces fractions possèdent une bonne activité antioxydante dues à une richesse en flavonoides tels que les dérivés de la quercétine, kaempférol, isorhamnétine et apigénine.

I.2. Activité antioxydante des produits purs

L'activité antioxydante des produits P2, P4, P5, P6 et P7 isolés de l'espèce *Ferula longipes* Coss. a été testé par trois méthodes : radical libre DPPH, ABTS et CUPRAC.

I.2.1. Activité antiradicalaire DPPH

Le tableau 64 regroupe les résultats de l'activité antiradicalaire DPPH de différentes concentrations des produits purs de *Ferula longipes* Coss.

Tableau 64. Pourcentages d'inhibition des produits purs de *Ferula longipes* Coss.

Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	% Inhibition						
	1.562	3.125	6.25	12.5	25	50	100
P2	10.46 \pm 0.06	24.11 \pm 0.69	40.69 \pm 0.09	77.62 \pm 1.11	87.68 \pm 0.08	86.26 \pm 0.28	87.72 \pm 0.38
P4	27.63 \pm 0.58	36.91 \pm 0.84	61.44 \pm 0.29	85.38 \pm 0.27	87.10 \pm 0.69	87.23 \pm 0.33	87,32 \pm 0.00
P5	22.55 \pm 0.04	36.06 \pm 0.47	48.52 \pm 0.36	60.44 \pm 0.15	70.33 \pm 0.69	74.91 \pm 0.76	81.47 \pm 0.85
P6	10.46 \pm 0.06	18.53 \pm 1.07	35.64 \pm 0.36	70.73 \pm 0.29	86.79 \pm 0.08	86.52 \pm 0.33	87.06 \pm 0.91
P7	11.11 \pm 0.83	24.77 \pm 0.65	28.80 \pm 0.32	44.38 \pm 0.28	59.71 \pm 0,24	67.31 \pm 0,21	79.67 \pm 0.73

Les valeurs de CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$) calculées à partir des courbes de pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration sont représentées dans le tableau 65.

Tableau 65. Pouvoir d'inhibition CI_{50} des produits purs de *Ferula longipes* Coss. et des standards

Produits	CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	
	P2	7.37 \pm 0.31
P4	5.70 \pm 0.82	
P5	7.53 \pm 0.34	
P6	9.42 \pm 0.59	
P7	15.57 \pm 0.32	
Standards	BHA	7.96 \pm 1.01
	BHT	14.73 \pm 0.52

D'après le tableau 65, On remarque que le produit P4 a montré le pourcentage d'inhibition le plus élevé avec une valeur de $CI_{50} = 5.70 \pm 0.82 \mu\text{g} / \text{mL}$ suivi par le produit P2 ($CI_{50} = 7.37 \pm 0.31 \mu\text{g} / \text{mL}$), puis le produit P5 ($CI_{50} = 7.53 \pm 0.34 \mu\text{g} / \text{mL}$), ensuite le produit P6 ($CI_{50} = 9.42 \pm 0.59 \mu\text{g} / \text{mL}$) et en fin le produit P7 ($CI_{50} = 15.57 \pm 0.32$) avec le pourcentage d'inhibition le plus bas.

L'activité antioxydante des flavonoïdes dépend de (Rice-Evans et *al.*, 1996; Pokorny et *al.*, 2001):

- La présence de la double liaison C2-C3 en conjugaison avec la fonction 4-oxo.
- La présence du groupe 3-OH en combinaison avec la double liaison C2-C3.
- Du nombre et de la position des groupes hydroxylés.
- La présence d'un groupement catéchol sur le cycle B (ortho-dihydroxy).
- Glycosylation ou non des flavonoïdes.

L'activité antioxydante des produits P4, P2 et P5 est supérieure à celle des produits P6 et P7, cela est due à la présence d'un groupement ortho-dihydroxy sur le cycle B. Le produit P4 a une activité légèrement différente de celle du produit P5 cela est due à la présence du groupement cafféoylé attaché au glucose qui influe sur la qualité de l'activité antioxydante. On a effectué l'analyse de variance (ANOVA) avec le logiciel XLSTAT pour déterminer s'il existe une différence significative entre les produits, pour cela le test de Dunnett a été utilisé pour comparer chaque modalité avec la modalité de témoin (BHA). D'après ce test on peut remarquer qu'il n'y a pas de différence significative entre les produits P2, P5 et le BHA (Voir annexe). Par contre il y a une différence significative pour les produits P7, P6, P4 et le BHA. Donc on peut déduire que les deux produits P2 et P5 ont la même activité antioxydante ce qui signifie que la substitution en position C-7 par une unité osidique simple n'a pas d'influence sur l'activité antioxydante. Cependant, la substitution de ce sucre par un groupement cafféoylé tel que dans le produit P4 améliore l'activité.

Parmi les produits testés, le produit P7 est le moins antioxydant dû à l'absence de l'hydroxyle sur le carbone C-3 du noyau B du flavonoïde (tableau 65).

I.2.2. Essai de décoloration de radical cation ABTS⁺

Le tableau 66 montre les pourcentages d'inhibition (I %) des produits testés par la méthode de l'ABTS⁺ à différentes concentrations.

Tableau 66. Activité antioxydante testée par la méthode de l'ABTS^{•+} des produits purs de *Ferula longipes* Coss.

Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	% Inhibition						
	0.78125	1.5625	3.125	6.25	12.5	25	50
P2	25,66 \pm 0,73	33,55 \pm 0,63	42,21 \pm 0,04	58,99 \pm 0,61	92,88 \pm 0,39	93,18 \pm 0,00	93,18 \pm 0,15
P4	14.13 \pm 0.36	27.37 \pm 0.75	35.25 \pm 0.02	58.86 \pm 0.40	89.41 \pm 1.36	93.62 \pm 0.00	92.96 \pm 0.75
P5	10.83 \pm 0.97	30.76 \pm 0.71	32.48 \pm 5.43	60.36 \pm 0.51	86.51 \pm 0.59	90.81 \pm 0.59	88.14 \pm 0.12
P6	11.49 \pm 0.04	17.32 \pm 0.75	27.21 \pm 1.07	41.21 \pm 0.36	80.75 \pm 1.10	93.31 \pm 0.15	93.31 \pm 0.40
P7	8.76 \pm 0.56	10.88 \pm 0.51	17.61 \pm 0.55	29.22 \pm 0.54	54.35 \pm 0.40	65.55 \pm 1.83	79.69 \pm 0.83

Les valeurs de CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$) calculé à partir des courbes de pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration sont représentées dans le tableau 67.

Tableau 67. Pouvoir d'inhibition CI_{50} des produits purs de *Ferula longipes* Coss. et des standards

Produits	CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	
	P2	5.94 \pm 0.08
P4	5.00 \pm 0.65	
P5	6.07 \pm 0.37	
P6	8.13 \pm 0.72	
P7	11.54 \pm 0.09	
Standards	BHA	5.56 \pm 0.77
	BHT	8.52 \pm 0.67

Ce test confirme les résultats du test précédent, les produits P4, P2 et P5 ont montré une meilleure activité antioxydante par rapport aux produits P6 et P7 et le standard BHT, avec des CI_{50} de 5.00 \pm 0.65 $\mu\text{g/mL}$, 5.94 \pm 0.08 $\mu\text{g/mL}$ 6.07 \pm 0.37 $\mu\text{g/mL}$ respectivement. Cela est dû à la présence d'un groupement ortho-dihydroxy sur le cycle B. Cependant le standard BHA présente une CI_{50} proche de celles des produits P4, P2, P5 et P6.

On a effectué l'analyse de variance (ANOVA) avec le logiciel XLSTAT. D'après ce test on peut remarquer qu'il n'y a pas de différence significative entre les produits P2, P5 et le BHA (Voir annexe). Par contre il y a une différence significative pour les produits P7, P6, P4 et le BHA. Donc on peut déduire que les deux produits P2 et P5 ont la même activité antioxydante ce qui signifie que la substitution en position C-7 par une unité osidique simple n'a pas d'influence sur l'activité antioxydante. Cependant, la substitution de ce sucre par un groupement cafféoylé tel que dans le produit P4 améliore l'activité.

I.2.3. La réduction cuprique (CUPRAC)

La capacité antioxydante (CUPRAC) basée sur la mesure de l'absorbance à 450 nm par la formation d'un complexe stable entre la Neocuproïne et le cuivre (I), ce dernier est formé par la réduction du cuivre (II) en présence de Neocuproïne.

L'ensemble des valeurs d'absorbance obtenus est reporté dans le tableau 68.

Tableau 68. Résultats de l'activité antioxydante par la méthode CUPRAC des produits purs de *Ferula longipes* Coss.

Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbance						
	1.56	3.12	6.25	12.5	25	50	100
P2	0.16 \pm 0.01	0.23 \pm 0.02	0.23 \pm 0.04	0.73 \pm 0.05	1.35 \pm 0.09	2.22 \pm 0.09	2.24 \pm 0.60
P4	0.16 \pm 0.01	0.23 \pm 0.02	0.23 \pm 0.04	0.73 \pm 0.05	1.35 \pm 0.09	2.22 \pm 0.09	2.24 \pm 0.60
P5	0.13 \pm 0.00	0.19 \pm 0.03	0.34 \pm 0.03	0.72 \pm 0.04	1.42 \pm 0.11	2.60 \pm 0.29	3.51 \pm 0.11
P6	0.16 \pm 0.00	0.23 \pm 0.01	0.34 \pm 0.03	0.70 \pm 0.05	0.90 \pm 0.25	1.74 \pm 0.13	3.23 \pm 0.05
P7	0.16 \pm 0.00	0.23 \pm 0.01	0.34 \pm 0.03	0.48 \pm 0.05	0.90 \pm 0.25	1.74 \pm 0.13	3.23 \pm 0.05

Tableau 69. Pouvoir d'inhibition $A_{0.50}$ des produits purs de *Ferula longipes* Coss. et des standards

		$A_{0.50}$ ($\mu\text{g/mL}$)
Produits	P2	7.95±0.32
	P4	7.00 ±0.12
	P5	8.05±0.40
	P6	9.23±0.72
	P7	13.48±0.38
Standards	BHA	8.56±0.36
	BHT	8.75±0.11

Les résultats de ce test confirment les résultats des deux premiers tests. Les produits P4, P2, et P5 avec des valeurs de $A_{0.50}$: 7.00 ±0.12 $\mu\text{g/mL}$, 7.95±0.32 $\mu\text{g/mL}$ et 8.05±0.40 $\mu\text{g/mL}$ ont montré une meilleure activité par rapport aux standards BHA ($A_{0.50}$: 8.56±0.36 $\mu\text{g/mL}$) et BHT ($A_{0.50}$: 8.75±0.11 $\mu\text{g/mL}$).

On a effectué l'analyse de variance (ANOVA) avec le logiciel XLSTAT pour déterminer s'il existe une différence significative entre les produits, pour cela le test de Dunnett a été utilisé pour comparer chaque modalité avec la modalité de témoin (BHA). D'après ce test on peut remarquer qu'il n'y a pas de différence significative entre les produits P2, P5 et le BHA (Voir annexe). Par contre il y a une différence significative pour les produits P7, P6, P4 et le BHA.

Les composés P6 ($A_{0.50}$: 9.23±0.72 $\mu\text{g/mL}$) et P7 ($A_{0.50}$: 13.48±0.38 $\mu\text{g/mL}$) sont aussi actifs.

L'étude de l'activité antioxydante des produits de *Ferula longipes* montre que tous les composés sont aussi actifs que les standards utilisés excepté le produit P7 qui est moins actif. L'ordre d'efficacité des produits était le même dans trois méthodes (DPPH, ABTS⁺⁺ et CUPRAC).

Dans tous les essais antioxydants, les flavonoïdes (P4, P2 et P5) ont une activité antioxydante légèrement supérieure à celle des standards. La différence entre ces composés et les composés P7 et P6 est le remplacement de -OH en position C-3 par le groupement -OCH₃ ou -H dans le cycle B. Le composé P7 a un seul groupement -OH cependant P4, P2 et P5 ont un groupement diortho-OH qui augmentent l'activité antioxydante.

II. Activité anticholinestérase

L'activité anticholinestérase des fractions d'éther de pétrole EEAS et de *n*-butanol EBAS de l'espèce *Athamanta sicula* L. a été réalisé par l'utilisation de deux enzymes cholinestérase AChE et BChE.

Les résultats ont été regroupés dans le tableau 70.

Tableau 70. Pouvoir d'inhibition CI_{50} des fractions d'éther de pétrole et de *n*-butanol de l'espèce *Athamanta sicula* L.

Extrait	AChE	BChE
	CI_{50} ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	
EEAS	81±0.52	75±0.09
EBAS	67±0.26	0.249±0.18
Tacrine	29± 0.98	9.0± 0.45

Le tableau précédent montre l'activité inhibitrice d'AChE et BChE de fractions comparées à ceux de la tacrine utilisée comme un médicament pour le traitement de la maladie d'Alzheimer.

La fraction EBAS ($CI_{50}=0.249\pm 0.18\mu\text{g.mL}^{-1}$) a présenté une activité inhibitrice contre la BChE, plus élevée que celle du standard Tacrine ($CI_{50}=9.0\pm 0.45\mu\text{g.mL}^{-1}$). Par contre la fraction EEAS ($CI_{50}=75\pm 0.09\mu\text{g.mL}^{-1}$) a montré une activité modérée contre la BChE.

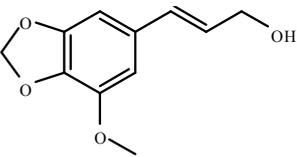
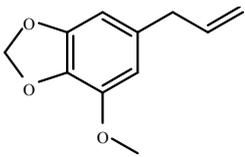
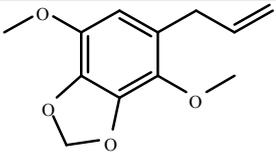
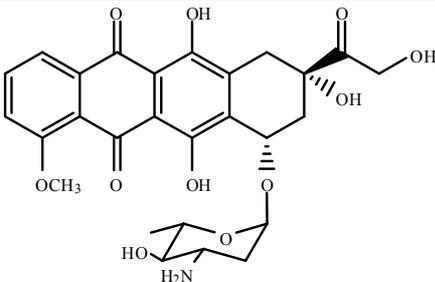
Les deux fractions ont montrés une activité modérée contre l'AChE (sont presque trois fois moins actifs que la tacrine).

Il est intéressant d'approfondir l'investigation de la fraction butanolique afin de déterminer le principe actif responsable d'une telle performance vis-à-vis de la butyrylcholinestérase.

III. Activité cytotoxique des produits purs de l'espèce *Athamanta sicula* L.

L'activité cytotoxique des produits purs (A1, A2, A4, A5 et A6) de l'espèce *Athamanta sicula* L. a été réalisée contre les cellules fibrosarcomas (HT1080). Les composés concernés par l'évaluation de leur activité cytotoxique sont reportés dans le tableau 71.

Tableau 71. L'activité cytotoxique des produits de l'espèce *Athamanta sicula* L. comparés avec le standard

Composé	Structure	CI ₅₀ / (μM)
		HT1080
A2		>50
A3		45±1.0
A4		>50
Doxorubicin		0.59

On constate, à partir de ce tableau, que le composé **A3** a montré une activité cytotoxique avec une valeur d'IC₅₀ de 45 μM. Les composés **A2** et **A4** se sont révélés être totalement inactifs.

Conclusion générale

Conclusion Générale

Dans le cadre de recherche de substances naturelles biologiquement actives, deux espèces de la famille des Apiaceae : *Athamanta sicula* L. et *Ferula longipes* Coss. ex Bonnier et Maury, ont fait l'objet de l'étude phytochimique et biologique (Activités antioxydante, anticholinestérase et cytotoxique).

L'étude phytochimique de l'espèce *Athamanta sicula* L. a permis d'isoler et d'identifier **8** produits. La détermination structurale a été réalisée par les méthodes spectroscopiques de RMN mono et bi-dimensionnelle (^1H , ^{13}C , COSY H-H, HSQC et HMBC) ainsi que par la comparaison avec les données de la littérature, l'expérience de la spectrophotométrie d'absorption ultraviolette a été nécessaire.

❖ Quatre composés ont été isolés de la fraction dichlorométhane :

- Stigmasterol (A1)
- Anthriscinol (A2)
- Myristicine (A3)
- Apiol (A4)

Les dérivés phenylpropaniques sont très caractéristiques de la famille Apiceae. Le stigmasterol et anthriscinol sont isolés pour la première fois du genre *Athamanta*.

❖ Trois flavonoïdes aglycones ont été isolés de la fraction acétate d'éthyle :

- Apigénine (A5)
- Lutéoline (A6)
- Diosmetine (A7)

Ces 3 flavones sont isolés pour la première fois de l'espèce *Athamanta sicula* L.

❖ Un flavonoïde glycosylé déjà identifié dans le genre *Athamanta* a été isolé de la fraction *n*-butanol : Lutéoline 7-*O*- β -D-glucoside (A8).

L'investigation phytochimique des parties aériennes de l'espèce *Ferula longipes* Coss. ex Bonnier et Maury a conduit à l'isolement de **11** composés. La détermination structurale a été réalisée par les méthodes spectroscopiques de RMN mono et bi-dimensionnelle (^1H , ^{13}C , COSY H-H, HSQC et HMBC), par la spectrométrie de masse (ESI-MS et HRESI-MS) ainsi que par la comparaison avec les données de la littérature.

❖ Six flavonoïdes ont été isolés de la fraction *n*-butanol :

- Kaempférol- 3-*O*- α -L-rhamnopyranoside (P1)
- Quercétine 3-*O*- α -L-rhamnoside (P2)

- Apigénine-7-*O*- β -D-glucopyranoside (P3)
- Quercétine-3-*O*- α -L-rhamnopyranoside-7-*O*-[2-*O*-cafféoyl]- β -D-glucopyranoside (P4), ce composé a été isolé pour la première fois dans le règne végétal.
- Quercétine-3-*O*- α -L-rhamnopyranoside-7-*O*- β -D-glucopyranoside (P5)
- Isoramnétine-3,7-di-*O*- β -D-glucopyranoside (P6)

Les composés P1, P2, P3, P5 et P6 sont isolés pour la première fois du genre *Ferula*.

- ❖ Cinq composés ont été isolés de la fraction acétate d'éthyle :
 - kaempférol-3-*O*- α -L-rhamnopyranoside -7-*O*- β -D-glucopyranoside (P7)
 - isoramnétine-3-*O*- α -L-rhamnopyranoside-7-*O*- β -D-glucopyranoside (P8)
 - Apigénine (P9)
 - 3,5-di- acide *O*-Cafféoylquinique (P10)
 - Deltoin (P11)

Les flavonoïdes P7, P8 et P9 sont isolés pour la première fois du genre *Ferula*. Les composés P10 et P11 sont isolés pour la première fois de l'espèce *Ferula longipes* Coss.

L'activité antioxydante des fractions acétate d'éthyle et butanolique de l'espèce *Ferula longipes* Coss. a été testée par la méthode de DPPH. Les deux fractions ont montrés une bonne activité antioxydante notamment, celle de l'acétate d'éthyle a été meilleure que celle de la fraction butanolique.

L'activité antioxydante des produits purs de l'espèce *Ferula longipes* Coss. a été réalisée par trois méthodes : radicale libre DPPH, ABTS^{•+} et CUPRAC. Les produits de *Ferula longipes* Coss. ont montrés une très bonne activité antioxydante par rapport aux standards utilisés. L'ordre d'efficacité des produits était le même dans les trois méthodes (DPPH, ABTS et CUPRAC).

L'activité anticholinestérase des deux fractions éther de pétrole et butanolique de l'espèce *Athamanta sicula* L. a été réalisé par l'utilisation de deux enzymes cholinestérase AChE et BChE. Les deux fractions ont montrés une activité modérée contre l'AChE (sont presque trois fois moins actifs que le standard).

L'activité cytotoxique des produits de l'espèce *Athamanta sicula* L. a été réalisé contre les cellules fibrosarcomas (HT1080). Le composé myristicine (**A3**) a montré une activité cytotoxique avec une valeur d'IC₅₀ de 45 μ M. Les composés anthriscinol (**A2**) et apiol (**A4**) se sont révélés être totalement inactifs.

Références bibliographiques

Abd El-Razek, M.H., Hirata, T., Ohta, S. (2003). Terpenoid coumarins of the genus *Ferula*. *Heterocycles* 60, 689.

Abd El-Razek, M.H., Ohta, S., Ahmed, A.A., Hirata, T. (2001). Sesquiterpene coumarins from the roots of *Ferula assa-foetida*. *Phytochemistry*. 58(8), 1289-1295.

Abd El-Razek, M.H., Wub, Y.C., Chang, F. (2007). Sesquiterpene coumarins from *Ferula Foetida*. *Journal of the Chinese Chemical Society*. 54(1), 235-238.

Adhami, H.R., Scherer, U., Kaehlig, H., Hettich, T., Schlotterbeck, G., Reich, E., Krenn, L. (2013). Combination of bioautography with HPTLC–MS/NMR: A fast identification of acetylcholinesterase inhibitors from galbanum. *Phytochemical Analysis*. 24(4), 395-400.

Agrawal, P.K. (1989). Carbon-13 NMR of flavonoids. *Central Institute of Medical and Aromatic Plants*, India. Edition Elsevier, New York.

Agrawal, P.K. (1992). NMR Spectroscopy in the structural elucidation of oligosaccharides and glycosides. *Phytochemistry*. 31(10), 3307-3330.

Ahmed, A.A. (1999). Sesquiterpene coumarins and sesquiterpenes from *Ferula sinaica*. *Phytochemistry*. 50(1), 109-112.

Ahmed, A.A., Hegazy, M.F., Zellagui, A., Rhouati, S., Mohamed, T.A., Sayed, A.A., Abdella, M.A., Ohta, S., Hirata, T. (2007). Ferulsinaic acid, a sesquiterpene coumarin with a rare carbon skeleton from *Ferula* species. *Phytochemistry*. 68(5), 680-686.

Al-Ja'fari, A.H., Vila, R., Freixa, B., Costa, J., Cañigüeral, S. (2013). Antifungal compounds from the rhizome and roots of *Ferula hermonis*. *Phytotherapy Research*. 27, 911-915.

Alkhatib, R., Hennebelle, T., Joha, S., Idziorek, T., Preudhomme, C., Quesnel, B., Sahpaz, S., Bailleul, F. (2008). Activity of elaeochytrin A from *Ferula elaeochytris* on leukemia cell lines. *Phytochemistry*. 69(17), 2979-2983.

Alkhatib, R., Hennebelle, T., Joha, S., Roumy, V., Guzel, Y., Biabiany, M., Idziorek, T., Preudhomme, C., Quesnel, B., Sahpaz, S. (2010). Humulane and germacrane sesquiterpenes from *Ferula lycia*. *Journal of Natural Products*. 73(4), 780-783.

Amin, A., Tuenter, E., Cos, P., Maes, L., Exarchou, V., Apers, S., Pieters, L. (2016). Antiprotozoal and antiglycation activities of sesquiterpene coumarins from *Ferula narthex* exudate. *Molecules*. 21(10), 1287.

Andrianova, V. B., Sklyar, Y.E., Perel'son, M.E., Pimenov, M.G. (1973). Kellerin-a new coumarin from the roots of *Ferula kelleri*. *Chemistry of Natural Compounds*. 9(6), 758-759.

Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S.E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E. using their cupricion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52, 7970-7981.

Apak, R., Guçlu, K., Ozyurek, M., Karademir, S.E., Erçag, E. (2006). The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 57, 292-304.

Appendino, G., Jakupovic, J., Alloatti, S., Ballero, M. (1997). Daucane esters from *Ferula arrigonii*. *Phytochemistry*. 45, 1639-1643.

Appendino, G., Tagliapietra, S., Gariboldi, P., Nano, G., Picci, V. (1988). ω -Oxygenated prenylated coumarins from *Ferula communis*. *Phytochemistry*. 27(11), 3619-3624.

Arnao, M.B. (2000). Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. *Trends in Food Science & Technology*. 11, 419-421.

Auzi, A.A., Gray, A.I., Salem, M.M., Badwan, A.A., Sarker, S.D. (2008). Feruhermonins A-C: three daucane esters from the seeds of *Ferula hermonis* (Apiaceae). *Journal of Asian Natural Products Research*. 10(7-8), 711-717.

Awika, J.M., Rooney, L.W., Wu, X., Prior, R.L., Cisneros-Zevallos, L. (2003). Screening methods to measure antioxidant activity of sorghum (*Sorghum bicolor*) and sorghum products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51, 6657-6662.

Bagirov, V.Y. (1978). An aromatic aldehyde from *Ferula equisetacea*. *Chemistry of Natural Compounds*. 14, 559.

Bagirov, V.Y., Gasanova, R.Y., Burma, O.I., Ban'kovskii, A.I. (1977). Coumarins of *Ferula szovitsiana* and *Ferula persica*. *Chemistry of Natural Compounds*. 13(2), 240-241.

Bagirov, V.Y., Serkerov, S.V., Mir-Babaev, N.F., Pimenov, M.G. (1984). Aromatic esters of the roots of *Ferula dissecta*. *Chemistry of Natural Compounds*. 20, 111-112.

Bagirov, V.Y., Sheichenko, V., Aliev, G., Pimenov, M. (1980). Esters from *Ferula stylosa*. *Chemistry of Natural Compounds*. 16, 562-563.

Bashir, S., Alam, M., Adhikari, A., Shrestha, R.L.S., Yousuf, S., Ahmad, B. (2014). New antileishmanial sesquiterpene coumarins from *Ferula narthex* Boiss. *Phytochemistry Letters*. 9, 46-50.

Bauer, A.W., Kirby, W.M., Sherris, J.C., Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*. 45, 493-496.

Bendich, A., Machlin, L.J., Scandurra, O., Burton, G.W., Wayner, D.D.M. (1986). The antioxidant role of vitamin C. *Free Radical Biology*. 2, 419-444.

Ben Salem, Saoussen., Jabrane, Aymen., Harzallah-Skhiri, Fethia., Ben Jannet, Hichem. (2013). New bioactive dihydrofuranocoumarins from the roots of the Tunisian *Ferula lutea* (Poir.) Maire. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 23(14), 4248-4252.

Bentley, R. K., Bhattacharjee, D., Jones, E.R.H., Thaller, V. (1969). Natural acetylenes. Part XXVIII. C17-polyacetylenic alcohols from the Umbellifer *Daucus carota* L. (carrot) : alkylation of benzene by acetylenyl (vinyl) carbinols in the presence of toluene-*p*-sulphonic acid. *Journal of the Chemical Society C: Organic*. 4, 685-688.

Bentley, R.K., Thaller, V. (1967). The structure of carotatoxin, a natural toxicant from carrot. *Chemical Communications*. 9, 439-440.

Berrehal, D., Khalfallah, A., Bencharif-Betina, S., Kabouche, Z., Kacem, N., Kabouche, A., Calliste, C.A., Duroux, J.L. (2010). Comparative antioxidant activity of two algerian *Reseda* species. *Chemistry of Natural Compounds*. 46, 385-387.

Blois, M.S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 81, 1199-1200.

Bohlmann, F., Arndt, C., Bornowski, H., Herbst, P. (1960). Polyacetylenverbindungen, XXVI. Die Polyine aus *Aethusa cynapium* L. *Chemische Berichte*. 93, 981-987.

Bohlmann, F., Arndt, C., Bornowski, H., Kleine, K.M. (1961). Polyacetylenverbindungen, XXXI. Über Polyine aus der Familie der Umbelliferen. *Chemische Berichte*. 94, 958-967.

Bohlmann, F., Zdero, C. (1974). Ozidsaure war bereits aus der leguminose *Daniella ogea* bekannt. *Chemische Berichte*. 107, 1416.

Bonnier, G. (1990). La grande flore en couleur .Ed. Belin. Paris.

Borisov, V., Ban'kovskii, A., Sheichenko, V., Pimenov, M. (1973). Chimgin from *Ferula lapidosa*. *Chemistry of Natural Compounds*. 9, 646.

Bossokpi, I.P.L. (2002). Etude des activités biologiques de *Fagara xanth-oxylodes* LAM (Rutaceae). Thèse de pharmacie. Bamako. 133.

Botineau, M. (2010). Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. (Tec & Doc, Paris). 1335.

Bouratoua, A., Ferhat, M., Kabouche, A., Laggoune, S., Touzani, R., Kabouche, Z. (2014). Comparative compositions of essential oils of *Ferula*. *Journal of Materials and Environmental Science*. 5(4), 1214-1217.

Brehm, B.G., Krell, D. (1975). Flavonoid localization in epidermal Papillae of flower petals, a specialized adaptaion for ultra-violet absorbtion. *Science*. 190, 1221-1223.

Bruneton. (2009). *Journal of Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales*. (3ème édition.). Paris : Editions médicales internationales. (Tec & Doc Lavoisier). 1120.

Bukreeva, T.V., Pimenov, M.G. (1991). Coumarins from the roots of *Ferula badrakema*. *Chemistry of Natural Compounds*. 27(5), 634.

Burton, G.W., Ingold, K.U. (1984). beta-Carotene: an unusual type of lipid antioxidant. *Science*. 224, 569-573.

Camarda, L., Di Stefano, V., Pitonzo, R. (2008). Chemical composition of essential oils from *Athamantha sicula*. *Chemistry of Natural Compounds*. 44(4), 532-533.

Cameron, E., Pauling, L. (1976). Supplemental ascorbate in the supportive treatment of cancer: Prolongation of survival times in terminal human cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 73, 3685-3689.

Celikel, N., Kavas, G. (2008). Antimicrobial properties of some essential oils against some pathogenic microorganisms. *Czech Journal of Food Sciences*. 26(3), 174-181.

Christensen, L.P., Brandt, K. (2006). Bioactive polyacetylenes in food plants of the Apiaceae family. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 41, 683-693.

Clifford, M.N. (1986). Coffee bean dicaffeoylquinic acids. *Phytochemistry*. 25(7), 1767-1769.

Corsi, G., David, B. (1998). Secretory Structures and Localization of Alkaloids in *Conium maculatum* L. (Apiaceae). *Annals of Botany*. 81, 157-162.

Crosby, D.G., Aharonson, N. (1967). The structure of carotatoxin, a natural toxicant from carrot. *Tetrahedron*. 23, 465-472.

Crowden, R.K., Harborne, J.B., Heywood, V.H. (1969). Chemosystematics of the umbelliferaea general survey. *Photochemistry*. 8, 1963-1984.

Dastan, D., Salehi, P., Reza Gohari, A.R., Ebrahimi, S. N., Aliahmadi, A., Hamburger, M. (2014). Bioactive sesquiterpene coumarins from *Ferula pseudalliacea*. *Planta Medica*. 80(13), 1118-1123.

Dastan, D., Salehi, P., Reza Gohari, A.R., Zimmermann, S., Kaiser, M., Hamburger, M., Khavasi, H.R., Ebrahimi, S.N. (2012). Disesquiterpene and sesquiterpene coumarins from *Ferula pseudalliacea*, and determination of their absolute configurations. *Phytochemistry*. 78, 170-178.

Dean, F.M. (1963). Naturally Occurring Oxygen Ring Compounds. Butterworth's, London.

Decker, E.A., Welch, B. (1990). Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 38, 674-677.

Diab, Y., Dolmazon, R., Bessière, J. (2001). Daucane aryl esters composition from the Lebanese *Ferula hermonis* Boiss. (zallooh root). *Flavour and Fragrance Journal*. 16, 120-122.

Diaz, D., Pedro, P., Maldonado, E., Ospina, E. (1984). *Revista Latinoamericana de Quimica*. 15, 136.

Diaz, J., Fraga, B.M., Gonzalez, A.G., Hernandez, M.G., Perales, A. (1986). Carotane sesquiterpenes from *Ferula linkii*. *Phytochemistry*. 25(5), 1161-1165.

Di Stefano, V., Pitonzo, R., Schillaci, D. (2011). Antimicrobial and antiproliferative activity of *Athamanta sicula* L. (Apiaceae). *Pharmacognosy Magazine*. 7(25), 31-34.

Drew, D., Krichau, N., Reichwald, K., Simonsen, H. (2009). Guaianolides in Apiaceae: perspectives on pharmacology and biosynthesis. *Phytochemistry Reviews*. 8, 581-599.

Duan, H., Takaishi, Y., Tori, M., Takaoka, S., Honda, G., Ito, M., Takeda, Y., Kodzhimatov, O. K., Kodzhimatov, K., Ashurmetov, O. (2002). Polysulfide derivatives from *Ferula foetida*. *Journal of Natural Products*. 65, 1667-1669.

Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V., Feather-Stone, R.M. (1961). A new and rapid determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*. 7, 88-95.

Erzengin, M., Basaran, I., Cakir, U., Aybey, A., Sinan, S. (2012). In Vitro Inhibition Effect of Some Dihydroxy Coumarin Compounds on Purified Human Serum Paraoxonase 1 (PON1). *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 168(6), 1540-1548.

Eshbakova, K.A., Saidkhodzhaev, A.I. (2003). Esters from *Ferula samarcandica*. *Chemistry of Natural Compounds*. 39(2), 221-222.

Evans, F.J., Schmidt, R.J. (1980). Plants and plant products that induce contact dermatitis. *Planta Medica*. 38, 289-316.

Favier, A. (2003). Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. 108-115.

Foley, P.B. (2003). Beans, roots, and leaves: a history of the chemical therapy of Parkinsonism. *Tectum Verlag*.

Fournier, P. (1947). Le livre des plantes médicinales et vénéneuses de France. Tome I, Ed. Lechevalier. Paris.

Fraga, B.M., Hernández, M., Diaz, J.G. (1989). Carotdiol esters from *Ferula linkii*. *Phytochemistry*. 28, 1649-1652.

Galal, A.M., Abourashed, E.A., Ross, S.A., El-Sohly, M.A., Al-Said, M.S., El-Feraly, F. S. (2001). Daucane sesquiterpenes from *Ferula hermonis*. *Journal of Natural Products*. 64, 399-400.

Garsès-Albert, M., Bonne font-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., Jore, D. (2003). Espèces réactives de l'oxygène, Comment l'oxygène peut-il devenir toxique. *L'actualité Chimique*. 91-95.

Gaussen, H., Leroy, H.F. (1982). *Precis de Botanique (vegetaux superieurs)*. 2^{ème} Edition. 426.

Geroushi, A., Auzi, A.A., Elhwuegi, A.S., Elzawam, F., Elsherif, A., Nahar, L., Sarker, S.D. (2011). Antiinflammatory sesquiterpenes from the root oil of *Ferula hermonis*. *Phytotherapy Research*. 25(5), 774-777.

Ghisalberti, E.L. (1994). The daucanes class of sesquiterpenes. *Phytochemistry*. 37, 597-623.

Gholami, O., Jeddi-Tehrani, M., Iranshahi, M., Zarnani, A.H. Ali Ziai, S. (2013). Umbelliprenin from *Ferula szowitsiana* activates both intrinsic and extrinsic pathways of apoptosis in Jurkat T-CLL cell line. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 12(3), 371-376.

Ghosha, A., Mandalb, S., Banerjia, J. (2009). A new sesquiterpenoid coumarin from *Ferula assafoetida*. *Natural Communications*. 4(8), 1023-1024.

Gohar, A.A., El-Bassuony, A.A. (2007). Two new sesquiterpene coumarins, ferusinol and samarcandin diastereomer from *Ferula sinaica*. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 15(1), 33-37.

Golovina, L., Nikonov, G. (1977). Esters of *Ferula ceratophylla*. *Chemistry of Natural Compounds*. 13, 591-592.

Grzybowski, A., Pietrzak, K. (2013). Albert Szent-Györgyi (1893-1986): The scientist who discovered vitamin C. *Clinical Dermatology*. 31(3), 327-331.

Guangzhi, L., Xiaojin, L., Cao, L., Liangang, S., Zhu, J., Zhang, J., Wang, J., Zhang, L., Jianyong, S. (2014). Steroidal esters from *Ferula sinkiangensis*. *Fitoterapia*. 97, 247-252.

Gulçin, I. (2006). Antioxidant activity of caffeic acid (3, 4-dihydroxycinnamic acid). *Toxicology*. 217, 213-220.

Gulçin, I. (2008). Comparison of in vitro antioxidant and antiradical activities of L-tyrosine and L-Dopa. *Amino Acids*. 32, 431-438.

Gulçin, I., Elias, R., Gepdiremen, A., Boyer, L. (2006). Antioxidant activity of lignans from fringe tree (*Chionanthus virginicus* L.). *European Food Research and Technology*. 223, 759-767.

Halliwell, B. (1995). Antioxidant characterization; methodology and mechanism. *Biochemical Pharmacology*. 49, 1341-1348.

Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. (1989). Free radicals in biology and medicine, 2nd edn. Clarendon Press. Oxford.

Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. (1995). The definition and measurement of antioxidants in biological systems. *Free Radical Biology and Medicine*. 18, 125-126.

Hanafi-Bojd, M.Y., Iranshahi, M., Mosaffa, F., Tehrani, S. O., Kalalinia, F., Behravan, J. (2011). Farnesiferol A from *Ferula persica* and galbanic acid from *Ferula szowitsiana* inhibit P-glycoprotein-mediated rhodamine efflux in breast cancer cell lines. *Planta Medica*. 77(14), 1590-1593.

Han, Y., Nishibe, S., Noguchi, Y., Jin, Z. (2001). Flavonol glycosides from the stems of *Trigonella foenum-graecum*. *Phytochemistry*. 58, 577-580.

Harborne, J.B. (1967). Comparative Biochemistry of the Flavonoids. Academic Press, London.

Harborne, J.B., King, L. (1976). Flavonoid Sulphates in the Umbelliferae. *Biochemical Systematics and Ecology*. 4, 111-115.

Harborne, J.B., Smith, D.M. (1978a). Anthochlor and other flavonoids as honey guides in the Compositae. *Biochemical Systematics and Ecology*. 6(4), 287-291.

Harborne, J.B., Smith, D.M. (1978b). Correlations between anthocyanin chemistry and pollination ecology in the Polemoniaceae. *Biochemical Systematics and Ecology*. 6(2), 127-130.

Henry, A.T. (1949). The plant Alkaloids, Fourth edition, The Blakiston Company. Toronto.

Heywood, V.H., Moore, D.M., Richardson, I.B.K., Stearn, W.T. (1996). Les plantes à fleurs 306 Familles de la flore mondiale. 218-219.

Holub, M., Budesinsky, M. (1986). Review article number 20. Sesquiterpene lactones of the umbelliferae. *Phytochemistry*. 25(9), 2015-2026.

Hsu, M.J., Cheng, J.S., Huang, H.C. (2000). Effect of saikosaponin, a triterpene saponin, on apoptosis in lymphocytes : association with c-myc, p53, and bcl-2 mRNA. *British Journal of Pharmacology*. 131, 1285-1293.

Hudson, J.F. (1990). Food antioxidants. Elsevier Applied Science, London.

Ibraheim, Z.Z., Abdel-Mageed, W.M., Dai, H., Guo, H., Zhang, L., Jaspars, M. (2012). Antimicrobial antioxidant daucane sesquiterpenes from *Ferula hermonis* Boiss. *Phytotherapy Research*. 26(4), 579-86.

Iranshahi, M., Amin, G., Shafiee, A. (2004). A new coumarin from *Ferula persica*. *Pharmaceutical Biology*. 42(6), 440-442.

Iranshahi, M., Arfa, P., Ramezani, M., Jaafari, M.R., Sadeghian, H., Bassarello, C., Piacente, S., Pizza, C. (2007). Sesquiterpene coumarins from *Ferula szowitsiana* and in vitro antileishmanial activity of 7-prenyloxycoumarins against promastigotes. *Phytochemistry*. 68, 554-561.

Iranshahi, M., Hosseini, S.T., Shahverdi, A.R., Molazade, K., Khan, S.S., Ahmad, V.U. (2008c). Diversolidés A-G, guaianolidés from the roots of *Ferula diversivittata*. *Phytochemistry* 69, 2753-2757.

Iranshahi, M., Kalategi, F., Sahebkar, A., Sardashti, A., Schneider, B. (2010a). New sesquiterpene coumarins from the roots of *Ferula flabelliloba*. *Pharmaceutical Biology*. 48(2), 217-220.

Iranshahi, M., Masullo, M., Asili, A., Hamedzadeh, A., Jahanbin, B., Festa, M., Capasso, A., Piacente, S. (2010b). Sesquiterpene coumarins from *Ferula gumosa*. *Journal of Natural Products*. 73, 1958-1962.

Iranshahi, M., Mojarab, M., Sadeghian, H., Hanafi-Bojd, M.Y., Schneider, B. (2008b). Cancer chemopreventive activity of terpenoid coumarins from *Ferula* species. *Planta Medica*. 74, 147-150.

Iranshahi, M., Mojarab, M., Sadeghian, H., Hanafi-Bojd, M.Y., Schneider, B. (2008a). Polar secondary metabolites of *Ferula persica* roots. *Phytochemistry*. 69, 473-478.

Iranshahi, M., Noroozi, S., Behravan, J., Karimi, G., Schneider, B., Persicasulphide, C. (2009b). A new sulphur-containing derivative from *Ferula persica*. *Natural Product Research*. 23, 1584-1588.

Iranshahi, M., Rezaee, R., Sahebkar, A., Bassarello, C., Piacente, S., Pizza, C. (2009a). Sesquiterpene coumarins from the fruits of *Ferula badrakema*. *Pharmaceutical Biology*. 47(4), 344-347.

Iranshahi, M., Iranshahi, M. (2011). Traditional uses, phytochemistry and pharmacology of asafoetida (*Ferula assa-foetida* oleo-gum-resin)-A review. *Journal of Ethnopharmacology*. 134, 1-10.

Iwashina, T., Matsumoto, S., Nishida'r, M., Nakaike, T. (1995). New and rare flavonol glycosides from *Asplenium trichomanes-ramosum* as stable chemotaxonomic markers. *Biochemical Systematics and Ecology*. 23, 283-290.

Jabrane, A., Ben Jannet, H., Mighri, Z., Mirjolet, J., Duchamp, O., Harzallah-Skhiri, F., Lacaille-Dubois, M. (2010). Two new sesquiterpene derivatives from the Tunisian endemic *Ferula tunetana* Pom. *Chemistry & biodiversity*. 7(2), 392-399.

Jay, M., Gonnet, J.F. (1974). Les flavonoides de deux Lentibulariacees: *Pinguicula vulgaris* et *Utricularia vulgaris*. *Biochemical Systematics and Ecology*. 2, 47-51.

Justen, U., Knuthsen, P., Leth, T. (1998). Quantitative analysis of flavonols, flavones and flavanones in fruits, vegetables and beverages by high-performance liquid chromatography with photo-diode array and mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography*. 799, 101.

Kadyrov, A., Khasanov, T., Saidkhodzhaev, A., Nikonov, G. (1972). New phenolic compounds of the roots of *Ferula tschimganica*. *Chemistry of Natural Compounds*. 8, 796-797.

Kadyrov, A., Saidkhodzhaev, A., Nikonov, G., Melibaev, S. (1977). Coumarins and esters of *Ferula foliosa* and *F. ferganensis*. *Chemistry of Natural Compounds*. 13, 587-588.

Kajimoto, T., Yahiro, K., Nohara, T. (1989). Sesquiterpenoid and disulphide derivatives from *Ferula assa-foetida*. *Phytochemistry*. 28(6), 1761-1763.

Kamilov, K., Nikonov, G. (1972). Phenols of *Ferula prangifolia*. *Chemistry of Natural Compounds*. 8, 702-703.

Kamilov, K.M., Nikonov, G.K. (1971). A chemical study of the fruit of *Athamanta macrophylla*. *Chemistry of Natural Compounds*. 7(5), 642.

Kamilov, K., Nikonov, G., Sharakhimov, N. (1974). Esters of the roots of *Ferula fedtschenkoana*. *Chemistry of Natural Compounds*. 10, 540.

Kampkötter, A., Timpel, C., Zurawski, R.F., Ruhl, S., Chovolou, Y., Proksch, P., Wätjen, W. (2008). Increase of stress resistance and lifespan of *Caenorhabditis elegans* by quercetin. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 149, 314-323.

Kasaian, J., Iranshahy, M., Masullo, M., Piacente, S., Ebrahimi, F., Iranshahi, M. (2014). Sesquiterpene lactones from *Ferula oopoda* and their cytotoxic properties. *Journal of Asian Natural Products Research*, 16(3), 248-253.

Keating, G.J., O'Kennedy, R. (1997). The chemistry and occurrence of coumarins. R. O'Kennedy, R.D. Thornes (Eds.), *Coumarins: biology, applications and mode of action*, Wiley Press, Chichester, UK. 23-66.

Kerimov, S., Saidkhodzhaev, A., Malikov, V. (1987). Esters of *Ferula calcarea*. *Chemistry of Natural Compounds*. 23, 641.

Khasanov, T., Saidkhodzhaev, A., Nikonov, G. (1972). Components of the roots of *Ferula pallida*. *Chemistry of Natural Compounds*. 8, 794-795.

Kim, K., Lee, H., Jeong, S., Lee, H., Lee, E., Kim, H., Zhang, Y., Ryu, S., Lee, M., Lu, J. (2011). Galbanic acid isolated from *Ferula assafoetida* exerts in vivo anti-tumor activity in

association with anti-angiogenesis and anti-proliferation. *Pharmaceutical Research*. 28(3), 597-609.

Kobilov, M.N., Saidkhodzhaev, A.I., Abdullaev, N.D. (1995). Esters of *Ferula nuratavica*. *Chemistry of Natural Compounds*. 31, 273.

Kohno, S., Murata, T., Sugiura, A., Ito, C., I ranshahi, M., Hikita, K., Kaneda, N. (2011). Methyl galbanate, a novel inhibitor of nitric oxide production in mouse macrophage RAW264.7 cells. *Journal of Natural Medicines*. 65(2), 353-359.

Kuliev, Z.A., Khasanov, T.K., Malikov, V.M. (1979). Terpenoid coumarin glycosides of *Ferula conocaula*. *Chemistry of Natural Compounds*. 15(4), 414-416.

Labed, I., Chibani, S., Semra, Z., Kabouche, A., Aburjai, T., Touzani, R., Kabouche, Z. (2012). Antibacterial Activity and Chemical Composition of Essential Oil of *Athamanta sicula* L. (Apiaceae) from Algeria. *Journal of Chemistry*. 9(2), 796-800.

Lahouel, M., Zini, R., Zellagui, A., Rhouati, S., Carrupt, P., Morin, D. (2007). Ferulenol specifically inhibits succinate ubiquinone reductase at the level of the ubiquinone cycle. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 355(1), 252-257.

Lamnaouer, D., Bodo, B., Martin, M., Molho, D. (1987). Ferulenol and ω hydroxyferulenol, toxic coumarins from *Ferula communis* var. *genuina*. *Phytochemistry*. 26(6), 1613-1615.

Lee, B.H., Oh, G.S., Lee, J.H., Seo, H. W., Yoo, S.Y. (2014). Kamolonol for the the prevention and treatment of cardiovascular diseases. *Republic ofKorean Kongkae Taeho Kongbo*.

Lee, C., Chiang, L., Cheng, L., Liaw, C., Abd El-Razek , M.H., Chang, F., Wu, Y. (2009). Influenza A (H₁N₁) Antiviral and Cytotoxic Agents from *Ferula assa-foetida*. *Journal of Natural Products*. 72(9), 1568-72.

Lhuillier, A., Fabre, N., Cheble, E., Oueida, F., Maurel, S., Valentin, A., Fourasté, I., Moulis, C. (2005). Daucane sesquiterpenes from *Ferula hermonis*. *Journal of Natural Products*. 68, 468-471.

Li, X., Li, G., Wang, H., Wang, Y., Wang, J. (2010). Chemical Constituents from *Ferula lehmannii* Boiss. *Journal of Nongken Medicine*. 12(8), 17-20.

Liu, T., Osman, K., Kaatz, G.W., Gibbons, S., Mu, Qing. (2013). Antibacterial sesquiterpenoid derivatives from *Ferula ferulaeoides*. *Planta Medica*. 79(8), 701-706.

Liu, Y., Wang, M.W. (2008). Botanical drugs: Challenges and opportunities - Contribution to Linnaeus memorial symposium 2007. *Life Sciences*. 82, 445-449.

Mabry, T.J., Markham, K.R., Thomas, M.B. (1970). The systematic identification of flavonoids. Springer- Verlag. Berlin.

Maji, A.K., Banerji, P. (2016). Phytochemistry and gastrointestinal benefits of the medicinal spice, *Capsicum annum* L. (Chilli). *Journal of Complementary & Integrative Medicine*. 13, 97-122.

Mamoci, E., Cavoski, I., Simeone, V., Mondelli, D., Al-Bitar, L., Caboni, P. (2011). Chemical composition and in vitro activity of plant extracts from *Ferula communis* and *Dittrichia viscosa* against postharvest fungi. *Molecules*. 16(3), 2609-2625.

Marco, J.G. (1968). A rapid method for evaluation of antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 45, 594-598.

Mariaca, R.G., Berger, T.H.F., Gauch, R., Imhof, M.I., Jeangros, B., Bosset. J.O. (1997). Occurrence of volatile mono- and sesquiterpenoids in highland and lowland plant species as possible precursors for flavour compounds in milk and dairy products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 45(11), 4423-4434.

Markham, K.R., Chari, V.M. (1982). Carbon-13 NMR spectroscopy of flavonoids. Chapman & Hall, London.

Martens, S., Mithöfer, A. (2005). Flavones and flavone synthases. *Phytochemistry*. 66(19), 2399-407.

Mathias, M.E., Constance, L. (1976). Flora of Ecuador, Umbelliferae (G. Harling and B. Sparre, eds). *Arracacia Bancr.* Lund, Denmark. 145(5), 42-47

- Maydani, M. (2000). Effect of functional food ingredients: Vitamin E modulation of cardiovascular diseases and immune status in the elderly. *American Journal of Clinical Nutrition*. 71(1), 1665-1668.
- McGarvey, D.J., Croteau, R. (1995). Terpenoid metabolism. *Plant Cell*. 7(7), 1015-1026.
- Meng, H., Li, G., Huang, J., Zhang, K., Wei, X., Ma, Y., Zhang, C., Wang, Jinhui. (2013). Sesquiterpenoid derivatives from *Ferula ferulaeoides* (Steud.) Korov. *Phytochemistry*. 86, 151-158.
- Merfort, I. (1992). Caffeoilquinic acids from flower of *Arnica montana* and *Arnica chamissonis*. *Phytochemistry*. 31, 2111-2113.
- Miller, N.J., Rice-Evans, C.A., Davies, M.J., Gopinathan, V., Milner, A. (1993). A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical Science*. 84, 407-412.
- Miski, M., Mabry, T.J. (1986). New daucane esters from *Ferula tingitana*. *Journal of Natural Products*. 49(4), 657-660.
- Miski, M., Mabry, T.J., Saya, Ö. (1987). New daucane and germacrane esters from *Ferula orientalis* var. *orientalis*. *Journal of Natural Products*. 50, 829-834.
- Miski, M., Ulubele, A. (1985). Sesquiterpene-coumarin ethers of *ferula tzungtana*. *Journal of Natural Products*. 48(2) 326-327.
- Miski, M., Ulubelen, A., Mabry, T.J. (1983). Six sesquiterpene alcohol esters from *Ferula elaeochytris*. *Phytochemistry*. 22, 2231-2233.
- Molyneux, P. (2004). The use of stable free radical diphenylpicrilhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*. 26, 211-219.
- Motai, T., Kitanaka, S. (2004). Sesquiterpene coumarins from *Ferula fukanensis* and Nitric Oxide Production Inhibitory Effects (2)1,2). *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 52(10), 1215-1218.

Muckensturm, B., Diyani, F., Reduron, J. (1995). Grilactone and other terpenoids from *Anthriscus nitida*. *Biochemical Systematics and Ecology*. 23(7/8), 875-876.

Murray, R.D. (1978). Naturally Occurring Plant Coumarins. *Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe*. 35, 199.

Nabiev, A.A., Khasanov, T.K., Malikov, V.M. (1982a). A new terpenoid coumarin from *Ferula kopetdaghensis*. *Chemistry of Natural Compounds*. 18(1), 44-46.

Nabiev, A.A., Khasanov, T.K., Malikov, V.M. (1982b). Terpenoid coumarins of *Ferula kokanica*. *Chemistry of Natural Compounds*. 18(5), 547-549.

Nabiev, A.A., Malikov, V.M. (1983a). Microlobidene - a terpenoid coumarin from *Ferula microloba* with a new type of terpenoid skeleton. *Chemistry of Natural Compounds*. 19(6) 743-744.

Nabiev, A.A., Malikov, V.M. (1983b). Microlobin - a new coumarin from *Ferula microloba*. *Chemistry of Natural Compounds*. 19(6), 664-667.

Nasirov, S.M., Saidkhodzhaev, A.I., Khasanov, T.K., Yagudaev, M.R., Malikov, V.M. (1985). Stereochemistry of terpenoid coumarins. Crystal and molecular structure of samarcandin. *Chemistry of Natural Compounds*. 21(2), 171-177.

Nazhimutdinova, N.N., Saidkhodzhaev, A.I., Malikov, V.M. (1995). Esters of *Ferula tatarica*. *Chemistry of Natural Compounds*. 31, 263.

Newman, D.J., Cragg, G.M. (2007). Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *Journal of Natural Products*. 70, 461-477.

Nurmukhamedova, M.R., Kasymov, S.Z., Melibaev, S. (1982). Grilactone from *Ferula Penninervis*. *Him Prir Soedin*. 2, 261.

Oughlissi, K., Lawton, P., Michalet, S., Bayet, C., Darbour, N., Hadj-Mahammed, M., Badjah-Hadj, A., Yacine, A., Dijoux-Franca, M., Guilet, D. (2008). Sesquiterpenes from aerial parts of *Ferula vesceritensis*. *Phytochemistry*. 69(9), 1933-1938.

Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*. 44, 307-315.

- Ozenda, P. (1977). Flore du Sahara. Edition CNRS, Paris. France. 250-259.
- Öztürk, M., Kolak, U., Topcu, G., Oksuz, S., Choudhary, M.I. (2011). Antioxidant and anticholinesterase active constituents from *Micromeria cilicica* by radicalscavenging activity-guided fractionation. *Food Chemistry*. 126, 31-38.
- Packer, J.E., Mahood, J.S., Mora-Arellano, V.O., Slater, T.F., Willson, R.L., Wolfenden, B.S. (1981). Free radicals and singlet oxygen scavengers: reaction of a peroxy-radical with beta-carotene, diphenyl furan and 1,4-diazobicyclo (2,2,2)-octane. *Biochemical Biophysical Research Communications*. 98, 901-906.
- Pascual, T.J., Grande, C., Moran, J.R., Grande, M. (1984). A revised structure for diterpenoid magydaridiendiol. *Chemistry Letters*. 13, 247-250.
- Pascual, T.J., Villaseo, M.A., Hernandez, J.M., Moran, J.R., Grande, M. (1986). Complex Acetylenes from the Roots of *Ferula communis*. *Planta Medica*. 52, 458-462.
- Pauli, G.F., Poetsch, F., Nahrstedt, A. (1998). Structure assignment of natural quinic acid derivatives using proton nuclear magnetic resonance techniques. *Phytochemical Analysis*. 9, 177-185.
- Paulo, J.C., Patricia, S., Massuo, J.K. (1999). Phenylpropanoids and neolignans from *Piper regnellii*. *Phytochemistry*. 52(2), 339-343.
- Pimenov, M.G., Leonov, M.V. (1993). The genera of the Umbelliferae Nomenclature. Royal Botanic Gardens, Kew.
- Pinar, M. (1984). A diterpenoid from *Elaeoselinum foetidum*. *Phytochemistry*. 23, 2075-2076.
- Pinar, M., Rodriguez, B., Alemany, A. (1978). Gummiferolic acid, a new ent-atis-16-ene diterpenoid from *Margotia gummifera*. *Phytochemistry*. 17, 1637-1640.
- Pokorny, J., Yanishlieva, N., Gordon, M.H. (2001). Antioxidants in food: practical applications. Cambridge: *Woodhead Publishing Limited*. New York. 108-109.
- Poli, F., Appendino, G., Sacchetti, G., Ballero, M., Maggiano, N., Ranelletti, F.O. (2005). Antiproliferative effects of daucane esters from *Ferula communis* and *F. arrigonii* on human colon cancer cell lines. *Phytotherapy Research*. 19, 152-157.

Prior, R.L., Wu, X., Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 53, 4290-4302.

Quentin-Leclerc, J. (2002). Le voyage insolite de la plante au médicament. *Journal De Pharmacie De Belgique*. 57, 11-20.

Quezel, P., Santa S. (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 1, Edition CNRS, Paris.

Quezel, P. Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 2, Edition CNRS, Paris, 676.

Rabi, T., Bishayee, A. (2009). Terpenoids and breast cancer chemoprevention. *Breast Cancer Research and Treatment*. 115, 223-239.

Razavi, S.M., Nazemiyeh, H., Hajiboland, R., Kumarasamy, Y., Delazar, A., Nahar, L., Sarker, S.D. (2008). Coumarins from the aerial parts of *Prangos uloptera* (Apiaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 18, 1-5.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*. 26, 1231-1237.

Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*. 20, 933-956.

Rodriguez, B., Pinar, M. (1979). Aus Wurzeln und Kraut Atisan- und Kaurande-rivate. *Anales de Química*. 75, 936.

Rodriguez, B., Pinar, M. (1974). Margotianin, a new diterpenoid from *Margotia gummifera*. *Phytochemistry*. 18, 891-893.

Rolland, Y. (2004). Actualités des lipides en cosmétique : Antioxydants naturels végétaux. *Oilseeds and fats Crops and Lipids*. 11, 419-424.

Rollinger, J.M., Steindl, T.M., Schuster, D., Kirchmair, J., Anrain, K., Ellmerer, E.P., Langer, T., Stuppner, H., Wutzler, P., Schmidtke, M. (2008). Structure-based virtual screening

for the discovery of natural Inhibitors for human rhinovirus coat protein. *Journal of Medicinal Chemistry*. 51, 842-851.

Rowshanul, M.H., Nikkon. F., Rahman, M., Haque, M. E., Karim, M. (2007). Isolation of stigmasterol and β -sitostérol from methanolic extract of root bark of *Calotropis gigantea* (Linn). *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 10(22), 4174-4176.

Rubiolo, P., Matteodo, M., Riccio, G., Ballero, M., Christen, P., Fleury-Souverain, S., Veuthey, J.L., Bicchi, C.J. (2006). Analytical discrimination of poisonous and non poisonous chemotypes of giant fennel (*Ferula communis* L.) through their biologically active and volatile fractions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54, 7556-7563.

Rychlewska, U., Hodgson, D.J., Holub, M., Budesinsky, M., Smitalova, Z. (1985). On terpenes 288 the Structure of 2-oxo-8-alpha-angeloyloxy-11-alpha-acetoxy-5-beta-H,6- alpha-H,7-alpha-H-guai-1(10),3-dien-6,12-olide, a sesquiterpene lactone from *Laserpitium prutenicum* L. Revision of the stereostructures of native 2-oxoguai-1(10),3-dien- 6,12-olides from the species of the Umbelliferae family. *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*. 50(11), 2607-2624.

Ryuji, I., Tsuneatsu, N., Hikaru, O., Yukitaka, N., Hisachi, M., Mitsuo, K., Masato, M. (1998). Antiproliferative constituents in Umbelliferae plants. III. Constituents in the root and the ground part of *Anthriscus sylvestris* Hoffm. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*. 46(5), 871-874.

Sagitdinova, G.V., Saidkhodzhaev, A.I., Malikov, V.M. (1983). Components of the roots of *Ferula tschatcalensis*. *Chemistry of Natural Compounds*. 19, 685-687.

Sagitdinova, G.V., Saidkhodzhaev, A.I., Malikov, V.M. (1978b). The structures of juferin and juniferidin. *Chemistry of Natural Compounds*. 14, 693-694.

Sagitdinova, G.V., Saidkhodzhaev, A.I., Malikov, V.M., Melibaev, S. (1978a). Esters of *Feruta angrenii*. *Chemistry of Natural Compounds*. 14, 692.

Sagitdinova, G.V., Saidkhodzhaev, A.I., Malikov, V.M., Pimenov, M.G., Melibeav, S. (1990). Sesquiterpene lactones of *Ferula clematidifolia* and *Ligularia alpigena*. *Chemistry of Natural Compounds*. 26(4), 471-472.

Saidkhodzhaev, A.I., Golovina, L.A., Malikov, V.M., Melibaev, S., Rakhmankulov, U. (1985). Esters of three species of *Ferula*. *Chemistry of Natural Compounds*. 21, 388-389.

Saidkhodzhaev, A.I., Malikov, V.M., Pimenov, M.G. (1993b). Esters of *Ferula karakalensis*. Structure and stereochemistry of karaferin and karaferinin. *Chemistry of Natural Compounds*. 29, 187-190.

Saidkhodzhaev, A.I., Malikov, V.M., Pimenov, M.G., Melibaev, S. (1993a). Esters from the roots of *Ferula kzylykumica* and *F. karategina*. *Chemistry of Natural Compounds*. 29, 253-254.

Salar, H.G., Vahideh, A., Esmaeil, B., Seyed, R.O., Michal, D., Vaclav, E., Alireza, S., Aliakbar, D.K. (2016). Isolation, spectroscopic characterization, X-ray, theoretical studies as well as in vitro cytotoxicity of Samarcandin. *Bioorganic Chemistry*. 66, 27-32.

Sanchez, M.C., Larrauri, J.A., Saura, C.F. (1998). A Procedure to Measure the Antiradical Efficiency of Polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 76, 270-276.

Santos, S.A., Carvalho, M.G. (1995). Unambiguous ^1H and ^{13}C NMR-assignments of isoflavones from *Virola caducifolia*. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 4, 349-352.

Sarni-Manchado, P., Cheynier, V. (2006). Les polyphénols en agroalimentaire, (Tec & Doc Lavoisier), 398.

Schutz, K., Kammerer, D., Carle, R., Schieber, A. (2004). Identification and quantification of caffeoylquinic acids and flavonoids from Artichoke (*Cynara scolymus* L.) heads, juice and pomace by HPLC-DADESI/ MSⁿ. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52(13), 4090-4096.

Serkerov, S. (1969). 11,13-Dehydro-ooopodin from the roots of *Ferula oopoda*. *Chemistry of Natural Compounds*. 5, 410-413.

Serkerov, S. (1971). A new sesquiterpene hydroxylactone from *Ferula oopoda*. *Chemistry of Natural Compounds*. 7, 817-818.

Serkerov, S. (1976). The structure of semopodin and a hydroxylactone from *Ferula oopoda*. *Chemistry of Natural Compounds*. 12, 343-344.

Sevin, A. (1943). Comparative activity of different polyhydroxy derivatives of flavones on the capillary resistance of the normal and scorbutic guinea pig. *Comptes Rendus*. 216, 505-507.

Shah, B.A., Qazi, G.N., Taneja, S.C. (2009). Boswellic acids: a group of medicinally important compounds. *Natural Product Reports*. 26, 72-89.

Simmonds, M.S.J. (2003). Novel drugs from botanical sources. *Drug Discovery Today*. 8, 721-722.

Sherwin, E.R., Branen, A.L., Davidson, P.M., Salminen, S. (1990). Food additives, Marvel Dekker Inc. 139-193. Sies, H. (1993). Strategies of antioxidant defence. *European Journal of Biochemistry*. 215, 213-219.

Smyth, T., Ramachandran, V.N., Smyth, W.F. (2009). A study of the antimicrobial activity of selected naturally occurring and synthetic coumarins. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 33(5), 421-426.

Spath, E., Schmid, H. (1940). Natural coumarins. LIII. Constitution of *athamantin*. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. 73, 1309-1317.

Spichier, R.E., Salvolainen, V.V., Figeat, M., Jeanmonod, D. (2004). Botanique systématique des plantes à fleurs Troisième édition revue et corrigée. 342.

Su, B., Takaishi, Y., Honda, G., Itoh, M., Takeda, Y., Kodzhimatov, O.K., Ashurmetov, O. (2000). Sesquiterpene coumarins and related derivatives from *Ferula pallida*. *Journal of Natural Products*. 63(4), 436-440.

Sultana, N., Ata, A. (2008). Oleanolic acid and related derivatives as medicinally important compounds. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 23, 739-756.

Suzuki, K., Okasaka, M., Kashiwada, Y., Takaishi, Y., Honda, G., Ito, M., Takeda, Y., Kodzhimatov, O. K., Ashurmetov, O., Sekiya, M., Ikeshiro, Y. (2007). Sesquiterpene lactones from the roots of *Ferula varia* and their cytotoxic activity. *Journal of Natural Products*. 70, 1915-1918.

Tabanca, N., Demirci, B., Ozek, T., Kirimer, N., Baser, K.H.C., Bedir, E., Khan, I.A., Wedge, D.E. (2006). Gas chromatographic–mass spectrometric analysis of essential oils from

Pimpinella species gathered from Central and Northern Turkey. *Journal of Chromatography*. 1117, 194-205.

Takeoka, G.R., Guntert, M., Engel, K.H. (2001). Volatile constituents of *Asafoetida*. Aroma active compounds in foods. *American Chemical Society*. 33-44.

Teng, L., Ma, G.Z., Li, L., Ma, L.Y., Xu, X.Q. (2013). Karatavicinol a, a new anti-ulcer sesquiterpene coumarin from *Ferula sinkiangensis*. *Chemistry of Natural Compounds*. 49(4), 606-609.

Theis, N., Lerdau, M. (2003). The evolution of function in plant secondary metabolites. *The International Journal of Plant Sciences*. 164, S93-S103.

Thoppil, R.J., Bishayee, A. (2011). Terpenoids as potential chemopreventive and therapeutic agents in liver cancer. *World Journal of Hepatology*. 3, 228-249.

Timmermann, B.N., Joseph, J.H., Shivanand, D., Jolad, K.H., Schram, R.E., Klenck, R.B. (1983). Constituents of *Chrysothamnus paniculatus* 3: 3,4,5-tricaffeoylquinic acid (a new shikimate prearomatic) and 3,4-, 3,5- and 4,5-dicaffeoylquinic acids. *Journal of Natural Products*. 46, 365-368.

Tomic, A., Petrovic, S., Pavlovic, M., Trajkovski, B., Milenkovic, M., Vucicevic, D., Niketic, M. (2009). Antimicrobial and antioxidant properties of methanol extracts of two *Athamanta turbith* subspecies. *Pharmaceutical Biology*. 47(4), 314-319.

Valenzuela, A.B., Nieto, S.K. (1996). Synthetic and natural antioxidants: food quality protectors. *Grasas y Aceites*. 47, 186-196.

Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C.J., Telser, J. (2004). Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 266, 37-56.

Veselovskaya, N.V., Sklyar, Y.E., Pimenov, M.G. (1982). Terpenoid coumarins of *Ferula aitchisonii*. *Chemistry of Natural Compounds*. 18(3), 368.

Vongerichten, E. (1901). Ueber Apiin und Apiose. *European Journal of Organic Chemistry*. 318(1), 121-136.

Wang, Y., Si, J., Li, X., Jiang, L., Zhu, J. (2011). Chemical constituents from the seeds of *Ferula sinkiangensis*. *Zhongguo Xiandai Zhongyao*. 13(1), 26 -28.

Wang, Z. Huang, C., Huang, J., Han, H., Li, G., Wang, J., Sun, T. (2014). The stereochemistry of two monoterpenoid diastereomers from *Ferula dissecta*. *RSC Advances*. 4(28), 14373-14377.

Weber, P., Bendich, A., Schalch, W. (1996). Vitamin C and human health a review of recent data relevant to human requirements. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*. 66, 19-30.

Wichi, H.P. (1988). Enhanced tumour development by butylated hydroxyanisole (BHA) from the perspective of effect on forestomach and oesophageal squamous epithelium. *Food and Chemical Toxicology*. 26, 717-723.

Wolbiś, M. (1989). Flavonol glycosides from *Sedum album*. *Phytochemistry*. 28(8), 2187-2189.

Xing, Y., Ning, L., Di, Z., Gang, C., Kun, J., Wenli, W., Yingying, S., Yue, H. (2017). Sesquiterpene coumarins from *Ferula sinkiangensis* act as neuroinflammation inhibitors. *Planta Medica*. 83(01/02), 135-142.

Yang, J., Li, G., Li, Z., Qin, H. (2006a). Studies on chemical constituents from *Ferula teterrima*. *Tianran Chanwu Yanjiu Yu Kaifa*. 18(2), 246-248.

Yang, J., Zheng, A.N., Zhi-Hong, L., Song, J., QIN, H. (2006b). Sesquiterpene coumarins from the roots of *Ferula sinkiangensis* and *Ferula teterrima*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 54(11), 1595-1598.

Yokozawa, T., Kim, H.Y., Cho, E.J., Choi, J.S., Chung, H.Y. (2002). Antioxidant effects of isorhamnetin 3, 7-di-O-beta-D-glucopyranoside isolated from mustard leaf (*Brassica juncea*) in rats with streptozotocin- induced diabetes. *Journal of Agricultural and Food*. 50, 5490-5495.

Yoshikawa, T., Toyokuni, S., Yamamoto, Y., Naito, Y. (2000). Free radicals in chemistry, biology and medicine. *OICA Internationnal*. London. 580.

Zarei, H., Rezaee, R., Behravan, E., Soltani, F., Mosaffa, F., Iranshahi, M., Behravan, J. (2013). Diversin, from *Ferula diversivittata* protects human lymphocytes against oxidative stress induced by H₂O₂. *Natural Product Research*. 27(11), 1016-1019.

Zellagui, A., Gherraf, N., Hegazy, M.E.F., Akkal, S., Rhouati, S., Dendougui, H., Ahmed, A.A. (2012). Phytochemical investigation and antimicrobial activity of crude extract of the roots of *Ferula vesceritensis*. *Chemistry of Natural Compounds*. 48(5), 891-892.

Zhang, Y., Kim, K-H., Zhang, W., Guo, Y., Kim, S., Lü, J. (2012). Galbanic acid decreases androgen receptor abundance and signaling and induces G₁ arrest in prostate cancer cells. *International Journal of Cancer*. 130(1), 200-212.

Zhou, P. et al. (2000). Coumarins and bicoumarin from *Ferula sumbul*: anti-HIV activity and inhibition of cytokine release. *Phytochemistry*. 53, 689-697.

Zhukov, G., prokopenko, A., kolesnikov, D. (1965). Chemical study of coumarins of *ferula caspica* m. B. *Meditinskaia Promyshlennost*. 73, 32-34.

Znati, M., Ben Jannet, H., Cazaux, S., Bouajila, J. (2014). Chemical composition, biological and cytotoxic activities of plant extracts and compounds isolated from *Ferula lutea*. *Molecules*. 19, 2733-2747.

Annexe

Tableau 1. Produits / Dunnett / Analyse des différences entre la modalité témoin BHA et les autres modalités (méthode de DPPH)

Modalité	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Différence critique	Pr > Diff	Significatif
BHA vs P7	-7.8433	-34.2154	2.9013	0.6651	0.0000	Oui
BHA vs P6	-1.7167	-7.4887	2.9013	0.6651	0.0000	Oui
BHA vs P4	2.0067	8.7538	2.9013	0.6651	0.0000	Oui
BHA vs P2	0.3133	1.3669	2.9013	0.6651	0.5392	Non
BHA vs P5	0.1867	0.8143	2.9013	0.6651	0.8778	Non

Tableau 2. Produits / Dunnett / Analyse des différences entre la modalité témoin BHA et les autres modalités (méthode d' ABTS)

Modalité	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Différence critique	Pr > Diff	Significatif
BHA vs P7	-5.9900	-13.4020	2.9013	1.2967	0.0000	Oui
BHA vs P6	-0.2533	-0.5668	2.9013	1.2967	0.0000	Oui
BHA vs P4	0.4533	1.0143	2.9013	1.2967	0.0000	Oui
BHA vs P2	-0.3900	-0.8726	2.9013	1.2967	0.8481	Non
BHA vs P5	-0.5167	-1.1560	2.9013	1.2967	0.6754	Non

Tableau 3. Produits / Dunnett / Analyse des différences entre la modalité témoin BHA et les autres modalités (méthode de CUPRAC)

Modalité	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Différence critique	Pr > Diff	Significatif
BHA vs P7	-4.9133	-21.4254	2.9013	0.6653	0.0000	Oui
BHA vs P6	-0.6233	-2.7181	2.9013	0.6653	0.0000	Oui
BHA vs P4	1.3500	5.8869	2.9013	0.6653	0.0000	Oui
BHA vs P2	0.7133	3.1106	2.9013	0.6653	0.0346	Non
BHA vs P5	0.0667	0.2907	2.9013	0.6653	0.9983	Non

Résumé

Ce travail concerne l'étude phytochimique et biologique des parties aériennes de deux espèces de la famille des Apiaceae : *Athamanta sicula* L. et *Ferula longipes* Coss.

L'extraction, séparation et purification par méthodes chromatographiques d'*Athamanta sicula* L. a permis d'isoler huit composés. Cependant celles de la fraction butanolique et acétate d'éthyle de l'espèce *Ferula longipes* Coss. ont permis d'obtenir onze composés dont un correspond à une nouvelle structure. Ces composés ont été identifiés par la combinaison des données spectroscopiques : la spectroscopie d'absorption UV-Visible, la spectrométrie de masse haute et la RMN 1D et 2D, ainsi que par la comparaison des résultats avec les données de la littérature.

Les produits purs et la fraction acétate d'éthyle de l'espèce *Ferula longipes* Coss. ont montrés une très bonne activité antioxydante par rapport aux standards utilisés. Les deux fractions éther de pétrole et *n*-butanol de l'espèce *Athamanta sicula* L. ont montrés une activité anticholinestérase modérée contre l'AChE. Les produits purs de l'espèce *Athamanta sicula* L. ont manifestés une activité cytotoxique modérée.

Mots clés : Apiaceae, *Athamanta sicula* L., *Ferula longipes* Coss., flavonoïdes, dérivés phenylpropaniques, activité antioxydante, activité cytotoxique.

Abstract

This work deals with phytochemistry and biological study of aerial parts of two species belonging to the Apiaceae family: *Athamanta sicula* L. and *Ferula longipes* Coss.

Extraction, separation and purification by chromatographical methods of *Athamanta sicula* L. led to the isolation of eight compounds. Similarly this procedure yielded to eleven compounds from *Ferula longipes* Coss., one of which has a new structure. These compounds were identified by the combination of spectroscopic methods including: UV-visible absorption spectroscopy, high resolution mass spectrometry, RMN 1D and 2D, as well as comparison with literature data.

The pure compounds and the ethyl acetate fraction of *F. longipes* Coss. showed an excellent antioxidant activity compared to the standards. The petroleum and butanolic fractions of the species *Athamanta sicula* L. showed a moderate anticholinesterase activity against AChE. The pure compounds of the species *Athamanta sicula* L. showed a moderate cytotoxic activity.

Keywords: Apiaceae, *Athamanta sicula* L., *Ferula longipes* Coss., flavonoids, phenylpropanic derivatives, Antioxidant activity, cytotoxic activity.

ملخص

هذا العمل يتضمن دراسة فيتوكيميائية و بيولوجية للأجزاء الهوائية لنوعين من عائلة *Athamanta sicula* L.: Apiacea و

Ferula longipes Coss. ex Bonnier et Maury

سمحت عمليات الاستخلاص، الفصل و التنقية بالطرق الكروماتوغرافية لمستخلص ثنائي كلوروميثان لنبته *Athamanta sicula*

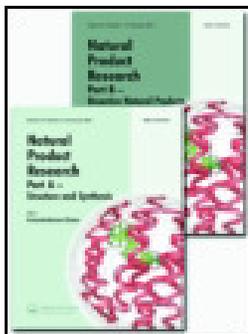
L. من عزل وتحديد 8 مركبات، بينما تم عزل 11 مركبا من مستخلصي البوتانولي و خلات الإيثيل لنبته *Ferula longipes* Coss. و يعد واحد منهم مركبا جديدا.

تم تحديد هذه المركبات من خلال الطرق الطيفية تشمل: مطيافية الأشعة فوق البنفسجية UV مطيافية الكتلة ESI-MS و NMR, HRESI- MS أحادية وثنائية البعد (^1H , ^{13}C , COSY H-H, HSQC, HMBC) و بالمقارنة مع المعطيات البيولوجية.

أظهرت المركبات ومستخلص الأسيئات الإيثيلي للنوع *Ferula longipes* Coss. فعالية جيدة ضد الأكسدة مقارنة بالمراجع المستعملة كما أظهر مستخلص الإيثيرو بترولي للنوع *Athamanta sicula* L. نشاطا معتدلا ضد الزهايمر. بينت المركبات المعزولة من النوع *Athamanta sicula* L. فعالية معتدلة لسمية الخلايا.

الكلمات المفتاحية: *Athamanta sicula* L., *Ferula longipes* Coss., الفلافونيدات, مضادة للأكسدة, مضادة للسمية.

Article



Natural Product Research

Formerly Natural Product Letters

ISSN: 1478-6419 (Print) 1478-6427 (Online) Journal homepage: <http://www.tandfonline.com/loi/gnpl20>

Chemical composition and antioxidant activity of aerial parts of *Ferula longipes* Coss. ex Bonnier and Maury

Aicha Bouratoua, Assia Khalfallah, Chawki Bensouici, Zahia Kabouche, Abdulmagid Alabdul Magid, Dominique Harakat, Laurence Voutquenne-Nazabadioko & Ahmed Kabouche

To cite this article: Aicha Bouratoua, Assia Khalfallah, Chawki Bensouici, Zahia Kabouche, Abdulmagid Alabdul Magid, Dominique Harakat, Laurence Voutquenne-Nazabadioko & Ahmed Kabouche (2017): Chemical composition and antioxidant activity of aerial parts of *Ferula longipes* Coss. ex Bonnier and Maury, *Natural Product Research*, DOI: [10.1080/14786419.2017.1353513](https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1353513)

To link to this article: <http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2017.1353513>

 View supplementary material 

 Published online: 16 Jul 2017.

 Submit your article to this journal 

 View related articles 

 View Crossmark data 



Chemical composition and antioxidant activity of aerial parts of *Ferula longipes* Coss. ex Bonnier and Maury

Aicha Bouratoua^a, Assia Khalfallah^a, Chawki Bensouici^b, Zahia Kabouche^a, Abdulmagid Alabdul Magid^c, Dominique Harakat^d, Laurence Voutquenne-Nazabadioko^c and Ahmed Kabouche^a

^aDépartement de chimie, Laboratoire d'Obtention des Substances Thérapeutiques (LOST), Université des frères Mentouri-Constantine, Constantine, Algeria; ^bCentre de Recherche en Biotechnologie, Ali Mendjli Nouvelle Ville UV 03, Constantine, Algeria; ^cICMR-UMR CNRS 7312, Groupe Isolement et Structure, Reims Cedex 2, France; ^dService Commun d'Analyses, Institut de Chimie Moléculaire de Reims (ICMR), CNRS UMR 7312, Reims, France

ABSTRACT

This is the first study on the phytochemistry and antioxidant activity of *Ferula longipes* Coss. ex Bonnier and Maury (Apiaceae). A new flavonoid quercetin-3-*O*- α -L-rhamnopyranoside-7-*O*- β -D-[2-*O*-caffeoyl]-glucopyranoside (**1**), along with 10 known compounds kaempferol-3-*O*- α -L-rhamnopyranoside (**2**), quercetin-3-*O*- α -L-rhamnopyranoside (**3**), kaempferol-3-*O*- β -D-glucopyranoside-7-*O*- α -L-rhamnopyranoside (**4**), isorhamnetin-3-*O*- α -L-rhamnopyranoside-7-*O*- β -D-glucopyranoside (**5**), quercetin-3-*O*- α -L-rhamnopyranoside-7-*O*- β -D-glucopyranoside (**6**), isorhamnetin-3,7-di-*O*- β -D-glucopyranoside (**7**), apigenin (**8**), apigenin-7-*O*- β -D-glucopyranoside (**9**), 3,5-dicaffeoylquinic acid (**10**), deltoin (**11**) were isolated from the aerial parts of *Ferula longipes* Coss. Structures elucidation was performed by comprehensive 1D and 2D NMR analyses, mass spectrometry and by comparison with literature data. The compounds **1**, **3**, **4**, **6**, **7** and **10** were evaluated for their antioxidant activity, compound **1** exhibited the best antiradical activity potential and showed IC₅₀ and A_{0.5} values 5.70, 7.25, 5.00, and 2.63 μ g/mL towards DPPH free radical-scavenging, ABTS, CUPRAC, and reducing power assays, respectively compared with BHA, BHT and ascorbic acid which were used as positive controls.

ARTICLE HISTORY

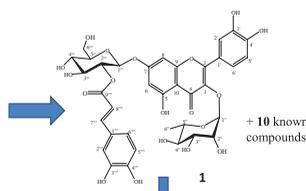
Received 10 May 2017
Accepted 26 June 2017

KEYWORDS

Ferula longipes Coss. ex Bonnier and Maury; Apiaceae; flavonoid; antioxidant activity; reducing power assays



Ferula longipes Coss.
Ex Bonnier & Maury



+ 10 known compounds

Antioxidant activity

Compound **1** exhibited the best antiradical activity potential and showed IC₅₀ and A_{0.5} values 5.70, 7.25, 5.00, and 2.63 μ g/mL towards DPPH free radical scavenging, ABTS, CUPRAC and reducing power assays, respectively.

CONTACT Ahmed Kabouche ✉ ahmedkabouche6@gmail.com

 Supplemental data for this article can be accessed at <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1353513>.

1. Introduction

The genus *Ferula* L. (Apiaceae) is represented by about 208 perennial herbaceous species occurring from Central Asia, westward throughout the Mediterranean region to Northern Africa and the Macaronesian Region (Mabberley 2008). Some species of this genus have been used throughout the history in traditional medicine, but also as spices and in human diet. Many *Ferula* species were used for upper respiratory conditions (asthma, bronchitis, etc.), for gastrointestinal disorders as spasmolytic, antifatulence, and antidiarrhoeal agent, as well as anthelmintic and aphrodisiac herbal drugs (Sadraei et al. 2001; Hadidi et al. 2003; Iranshahy & Iranshahi 2011). Previous chemical investigations of the genus *Ferula* have led to the identification of more than 200 compounds, including, sesquiterpene coumarins and coumarin esters (Ahmed 1999; Iranshahy & Iranshahi 2011; Meng et al. 2013; Razavi & Janani 2015; Asghari et al. 2016; Dastan et al. 2016; Razavi et al. 2016) and prenylated coumarins (Appendino et al. 1988; Arnoldi et al. 2004). Sesquiterpene coumarins, the most abundant class of secondary metabolites in *Ferula* species, are biologically active compounds and so far they have demonstrated promising chemopreventive, antitumour, anti-inflammatory and antileishmanial activities (Nazari and Iranshahi 2011). Plants of this genus also contain sesquiterpene chromone derivatives (Meng et al. 2013), daucane esters (Appendino et al. 1997), prenyl-benzoyl-furanone-type sesquiterpenoids (Kojima et al. 1999) and essential oils (Labeled-Zouad et al. 2015; Maggi et al. 2016). The present work describes the isolation and structural identification of a new flavonoid (**1**) and 10 known compounds (**2–11**) from the aerial parts of *Ferula longipes* Coss. In addition, the antioxidant activity of the compounds **1**, **3**, **4**, **6**, **7** and **10** was investigated.

2. Results and discussion

The *n*-BuOH and the ethyl acetate fractions of the aerial parts of *F. longipes* Coss. were fractionated and purified by combination of chromatographic methods to obtain a new flavonoid quercetin-3-*O*- α -L-rhamnopyranoside-7-*O*- β -D-[2-*O*-caffeoyl]-glucopyranoside (**1**) and ten known compounds (**2–11**). They were elucidated as kaempferol-3-*O*- α -L-rhamnopyranoside (**2**) (Berrehal et al. 2010), quercetin-3-*O*- α -L-rhamnopyranoside (**3**) (Berrehal et al. 2010), kaempferol-3-*O*- β -D-glucopyranoside-7-*O*- α -L-rhamnopyranoside (**4**) (Berrehal et al. 2010), isorhamnetin-3-*O*- α -L-rhamnopyranoside-7-*O*- β -D-glucopyranoside (**5**) (Wolbiś 1989), quercetin-3-*O*- α -L-rhamnopyranoside-7-*O*- β -D-glucopyranoside (**6**) (Maji and Banerji 2016), isohramnetin-3,7-di-*O*- β -D-glucopyranoside (**7**) (Yokozawa et al. 2002), apigenin (**8**) (Nacer et al. 2006), apigenin-7-*O*- β -D-glucopyranoside (**9**) (Markham and Chari 1982), 3,5-dicaffeoylquinic acid (**10**) (Timmermann et al. 1983), deltoin (**11**) (Bensalem et al. 2013) (Figure S1). Their structural assignments were made by ESI-MS, 1D-, and 2D-NMR analyses and by comparison with spectral data from the literature values.

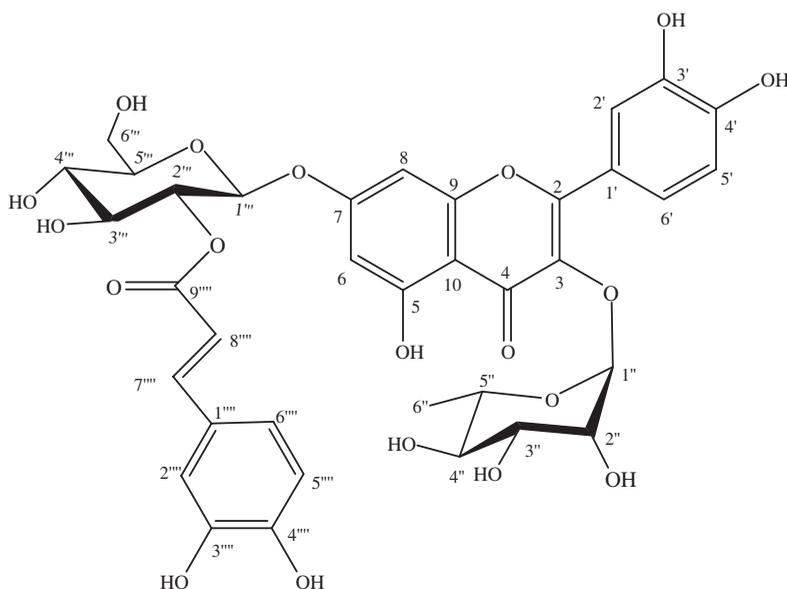
Compound **1** was isolated as a yellow amorphous powder. The positive ESI-MS spectrum (Figure S2) showed the pseudo-molecular ion $[M + Na]^+$ at m/z 795.1758, compatible with the molecular formula of $C_{36}H_{36}O_{19}$.

In the UV spectrum of compound **1** (Figure S3) recorded in MeOH and MeOH + NaOH, absorption bands were observed at 256, 346 nm and 266, 394 nm, respectively indicating a flavonol or a substituted flavonol at C3 with a free hydroxyl group at C-4' (Mabry et al. 1970; Markham and Chari 1982).

The $^1\text{H-NMR}$ spectrum of compound **1** (Figure S4) shows a typical pattern of quercetin aglycone. The two doublets at δ 6.42 and 6.71 ($J = 2.2$ Hz) assignable to H-6 and H-8, respectively were downfield indicating that there is a substitution at C7 (Berrehal et al. 2010). An ortho and meta coupled ABX-type protons were also observed at δ 6.92 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, 5'-H), 7.33 (1H, dd, $J = 8.3, 2.0$ Hz, 6'-H), and 7.37 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, 2'-H). In addition, $^1\text{H-NMR}$ spectrum of **1** exhibited two doublets at δ 5.39 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-1'') and at δ 5.37 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-1''') assignable to two anomeric protons. The sugars were identified as β -glucopyranosyl (glc) and α -rhamnopyranosyl (rham) on the basis of the $^1\text{H-}^1\text{H COSY}$ (Figure S11) and HSQC spectra (Figure S7). The J values of their anomeric protons indicated the anomeric configurations of β -glc and α -rham. On acid hydrolysis, compound **1** gave D-glucose and L-rhamnose which were identified by R_f values on TLC with authentic samples (Touafek et al. 2011). Another ABX spin system can be assigned as δ 6.78 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, 5''''-H), 6.96 (1H, dd, $J = 8.2, 2.0$ Hz, 6''''-H), 7.06 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, 2''''-H). Furthermore, two doublets with a splitting of $J_{7''''', 8'''''} = 15.8$ Hz clearly indicated *trans* caffeoyl group.

In the HMBC spectrum a cross peak was observed between C-7 at δ 162.7 and 1'''-H at δ 5.37 indicating the attachment of the β -D-glucose at C-7 of quercetin. Another HMBC correlation was observed between C-3 at δ 135.1 and H-1'' at δ 5.39 indicating the linkage position of the α -L-rham. Along range correlation was observed between H-2'''' (δ 5.13, 1H, dd, $J = 9.6, 7.9$ Hz) and the caffeoyl-carbonyl carbon δ 166.8 indicating that caffeoyl group was attached to C-2'''' of the glc. Consequently the structure of compound **1** was determined as quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside-7-O- β -D-[2-O-caffeoyl]-glucopyranoside (see Figure 1).

The antioxidant activity of compounds **1**, **3**, **4**, **6**, **7** and **10** was tested using DPPH free radical-scavenging, CUPRAC, ABTS and reducing power assays (Table S2). BHA, BHT and



1

Figure 1. Chemical structure of compound **1** isolated from *Ferula longipes* Coss. ex Bonnier and Maury.

ascorbic acid were used as positive standards. The tests were performed at different concentrations to calculate the IC_{50} and $A_{0.50}$ values. Results were statistically significant ($p < 0.05$) when compared with those of controls in each test.

In DPPH and ABTS assays (Table S2), all compounds have a high-scavenging activity, compound **1** showed the best antiradical activity (IC_{50} : 5.70 ± 0.82 and 5.00 ± 0.65 $\mu\text{g/mL}$, respectively) followed by compound **3** (IC_{50} : 7.37 ± 0.31 and 5.94 ± 0.08 $\mu\text{g/mL}$, respectively) and **6** (7.53 ± 0.34 and 6.07 ± 0.37 $\mu\text{g/mL}$, respectively) with a higher antiradical activity than the standards BHA (IC_{50} : 7.96 ± 1.01 and 5.56 ± 0.77 $\mu\text{g/mL}$, respectively) and BHT (IC_{50} : 14.73 ± 0.52 and 8.52 ± 0.67 $\mu\text{g/mL}$, respectively). Compounds **7** (IC_{50} : 9.42 ± 0.59 and 6.13 ± 0.72 $\mu\text{g/mL}$, respectively), **10** (IC_{50} : 12.87 ± 0.09 and 10.12 ± 1.01 $\mu\text{g/mL}$, respectively) and **4** (IC_{50} : 15.57 ± 0.32 and 11.54 ± 0.09 $\mu\text{g/mL}$, respectively) also showed a good activity compared with the standards.

In the same order, with the CUPRAC and reducing power assays, compounds **1** ($A_{0.50}$: 7.25 ± 0.12 and 2.63 ± 0.55 $\mu\text{g/mL}$, respectively), **3** ($A_{0.50}$: 7.85 ± 0.32 and 2.75 ± 0.24 $\mu\text{g/mL}$, respectively) and **6** ($A_{0.50}$: 8.50 ± 0.40 and 2.86 ± 0.14 $\mu\text{g/mL}$, respectively) exhibited a higher activity than the standards BHA ($A_{0.50}$: 8.56 ± 0.36 and 3.23 ± 0.27 $\mu\text{g/mL}$, respectively), BHT ($A_{0.50}$: 8.75 ± 0.11 and 3.83 ± 0.67 $\mu\text{g/mL}$, respectively) and ascorbic acid ($A_{0.50}$: 8.01 ± 1.46 $\mu\text{g/mL}$). Compounds **7** ($A_{0.50}$: 9.23 ± 0.72 and 3.02 ± 0.82 $\mu\text{g/mL}$, respectively), **10** ($A_{0.50}$: 11.56 ± 0.89 and 15.08 ± 0.77 , respectively) and **4** ($A_{0.50}$: 13.48 ± 0.38 and 23.01 ± 0.50 $\mu\text{g/mL}$, respectively) were also found to be active.

In all antioxidant assays, the flavonoids **1**, **3** and **6** showed a higher antioxidant activity than the standards. Compound **4** had only one $-\text{OH}$ group but **1**, **3** and **6** have two *ortho* $-\text{OH}$ groups which increases the antioxidant activity (Muhammad et al. 2016). The antioxidant activity of **7** is higher than that of **4** because the H at C-3' position has been replaced by OCH_3 group in the B ring.

3. Experimental

3.1. General experimental procedures

^1H and ^{13}C NMR spectra were recorded in CD_3OD on a Bruker AVANCE DRX 600 NMR spectrometer (Karlsruhe, Germany) (^1H at 600 MHz and ^{13}C at 150 MHz). 2D-NMR experiments were performed using standard Bruker sequences. ESI-MS experiments were performed using a Micromass Q-TOF instrument (Manchester, UK).

Polyamide SC6 was purchased from Fluka (Steinheim, Germany). Silica gel 60 F₂₅₄ pre-coated aluminium plates (0.2 mm, Merck) were used for VLC analysis. The VLC spots were visualised under UV light (254 and 366 nm) followed by spraying with 50% H_2SO_4 and heating. Column chromatography was carried out on Kieselgel 60 (63–200 mesh) Merck.

Butylated-hydroxyl anisole (BHA), butylatedhydroxytoluene (BHT), ascorbic acid, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azinobis (3-ethyl-benzothiazoline-6-sulphonic acid) diammonium salt (ABTS), neocuproine, tri-chloro acetic acid, ferric chloride, potassium ferricyanide, were obtained from Sigma Chemical Co. (Sigma-Aldrich GmbH, Steinheim, Germany). Electronic Single channel micropipette (Eppendorf AG, Hamburg, Germany). All other chemicals and solvents were of analytical grade.

3.2. Plant material

Aerial parts of *F. longipes* Coss. ex Bonnier and Maury were collected from Bejaia (North-east of Algeria) in May 2012 and authenticated by Prof. Gérard De Belair (University of Annaba, Algeria). The voucher specimen (LOST/FI/05/12) has been kept in the Herbarium of the Faculty of Sciences (University of Mentouri Constantine).

3.3. Extraction and isolation

Air-dried and powdered aerial parts (900 g) of *F. longipes* Coss. were macerated in a methanolic solution (70%). The residue was filtered, concentrated and successively extracted with petroleum ether, dichloromethane, ethyl acetate and *n*-butanol.

The *n*-butanol fraction (14 g) was concentrated under reduced pressure and subjected to a column chromatography on polyamide SC6 with a gradient of toluene–MeOH of increasing polarity to give three fractions [F₁: 300 mg, F₂: 550 mg, F₃: 900 mg]. Fraction F₁ was subjected to a column chromatography on silica gel eluted with the system AcOEt–MeOH–H₂O (10:1:0.5) affording four compounds, **1** (14 mg), **2** (28 mg), **3** (11 mg), and **8** (20 mg). Compound **4** (12 mg) precipitated in fraction F₂. Fraction F₃ was subjected to a silica gel CC using the isocratic system *n*-hexane / acetone (9/1), to obtain compounds **5** (39 mg) and **6** (26 mg).

The ethyl acetate fraction (6 g) was concentrated under reduced pressure and subjected to fractionation by liquid chromatography under *vacuum* (VLC) over C18 reverse phase, eluted with the system H₂O / MeOH (60:40, 40:60, 30:70, 20:80, 0:100) to obtain 7 fractions. Fraction F₃ (870 mg) was chromatographed on a silica gel CC with the isocratic system CHCl₃:MeOH:H₂O (10:1:0.5), to obtain compounds **7** (25 mg) and **10** (31 mg). Fraction F₅ (405 mg) was chromatographed on a silica gel column with the isocratic system AcOEt:MeOH:H₂O (8:2:1) leading to compounds **9** (25 mg) and **11** (16 mg).

3.3.1. Quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside-7-O-[2-O-caffeoyl]- β -D-glucopyranoside (1)

Yellow amorphous powder; $[\alpha]_D^{20} +41.2$ (c 0.20, MeOH), mp 329 °C, UV λ_{\max} (MeOH, nm): 256, 346 and (MeOH + NaOH, nm): 266, 394, ¹H NMR (600 MHz, CD₃OD) : δ_H 6.42 (d, *J* = 2.2 Hz, H-6), 6.71 (d, *J* = 2.2 Hz, H-8), 7.37 (d, *J* = 2.0 Hz, H-2'), 6.92 (d, *J* = 8.3 Hz, H-5'), 7.33 (dd, *J* = 8.3, 2.0 Hz, H-6'), 5.39 (d, *J* = 1.5 Hz, H-1''), 4.23 (dd, *J* = 3.3, 1.7 Hz, H-2''), 3.75 (dd, *J* = 9.5, 2.9 Hz, H-3''), 3.34 (t, *J* = 9.5 Hz, H-4''), 3.42 (m, H-5''), 0.94 (d, *J* = 6.1 Hz, H-6''), 5.37 (d, *J* = 7.9 Hz, H-1'''), 5.13 (dd, *J* = 9.6, 7.9 Hz, H-2'''), 3.76 (t, *J* = 9.5 Hz, H-3'''), 3.54 (t, *J* = 9.4 Hz, H-4'''), 3.65 (m, H-5'''), 3.99 (dd, *J* = 12.2, 2.2 Hz, H-6'''a), 3.78 (dd, *J* = 12.2, 5.8 Hz, H-6'''b), 7.06 (d, *J* = 2.0 Hz, H-2'''), 6.78 (d, *J* = 8.2 Hz, H-5'''), 6.96 (dd, *J* = 8.2, 2.0 Hz, H-6'''), 7.63 (d, *J* = 15.8 Hz, H-7'''), 6.33 (d, *J* = 15.8 Hz, H-8'''), ¹³C NMR (150 MHz, CD₃OD): δ_C 156.6 (C-2), 135.1 (C-3), 178.4 (C-4), 161.6 (C-5), 99.2 (C-6), 162.8 (C-7), 94.5 (C-8), 158.5 (C-9), 106.4 (C-10), 126.3 (C-1'), 115.6 (C-2'), 145.0 (C-3'), 148.6 (C-4'), 121.3 (C-5'), 121.6 (C-6'), 102.1 (C-1''), 70.5 (C-2''), 69.9 (C-3''), 71.8 (C-4''), 61.0 (C-5''), 16.2 (C-6''), 98.3 (C-1'''), 74.6 (C-2'''), 71.8 (C-3'''), 70.6 (C-4'''), 77.2 (C-5'''), 60.9 (C-6'''), 73.3 (C-1'''), 113.7 (C-2'''), 146.2 (C-3'''), 148.3 (C-4'''), 115.1 (C-5'''), 121.6 (C-6'''), 145.4 (C-7'''), 113.3 (C-8'''), 166.8 (C-9'''). HR-ESI-MS *m/z* 795.1758 [M + Na]⁺[calc for C₃₆H₃₆O₁₉Na, 795.1749].

3.3.2. Acid hydrolysis

The pure compound was treated with 2 M HCl at 100 °C for 1 h. The hydrolysate was extracted with EtOAc. The two sugars were identified as glucose and rhamnose in the aqueous residue by comparison with authentic samples on silica gel TLC impregnated with 0.2 M NaH₂PO₄ [solvent Me₂CO–H₂O (9:1)] and revealed with aniline malonate. The optical rotation of each purified sugar was measured and compared with authentic samples to afford D-glucose and L-rhamnose.

3.4. Antioxidant activity

Four methods were used to evaluate the antioxidant activity: DPPH free radical-scavenging, ABTS, CUPRAC and reducing power assay.

3.4.1. DPPH free radical-scavenging assay

The free radical-scavenging activity of compounds **1**, **3**, **4**, **6**, **7** and **10** isolated from *F. longipes* Coss. was determined by the DPPH assay (Blois 1958; Lakhali et al. 2011). In its radical form, DPPH absorbs at 517 nm, a 0.1 mM solution of DPPH in methanol was prepared and 160 µL of this solution was added to 40 µL of sample solutions in methanol at different concentrations. Thirty minutes later, the absorbance was measured at 517 nm. The following equation was used to calculate the scavenging of DPPH radical: % inhibition $[(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}}] \times 100$. DPPH solution in MeOH was used as a control. The curve of the % scavenging activity against the concentration of sample was prepared by the MS Excel-based programme to obtain the IC₅₀. All the tests were conducted in triplicate. The experimental data were expressed as mean ± standard deviation.

3.4.2. ABTS cation radical decolourisation assay

The ABTS scavenging activity was done by the method of Re et al. (1999) with slight modifications. The ABTS was produced by the reaction between 7 mM ABTS in H₂O and 2.45 mM potassium persulfate, stored in the dark at room temperature for 12 h. The oxidation of ABTS commenced immediately, but the absorbance was not maximal and stable until more than 6 h had elapsed. The radical cation was stable in this form for more than 2 days with storage in the dark at room temperature. Before usage, the ABTS solution was diluted to get an absorbance of 0.700 ± 0.020 at 734 nm with ethanol. Then, 180 µL of ABTS solution were added to 20 µL of sample solution in methanol at different concentrations. After 10 min, the percentage inhibition at 734 nm was calculated for each concentration relative to a blank absorbance (methanol). The scavenging capability of ABTS was calculated using the following equation: ABTS⁺ scavenging activity (%) = $\frac{A_{\text{Control}} - A_{\text{Sample}}}{A_{\text{Control}}} \times 100$.

3.4.3. Cupric reducing antioxidant capacity (CUPRAC) assay

CUPRAC was determined according to the method developed by Apak et al. (2004). The method comprises mixing of 40 µL of antioxidant solution with 50 µL of a copper(II) chloride solution, 50 µL of neocuproine alcoholic solution, and 60 µL of ammonium acetate aqueous buffer at pH 7. After 30 min the absorbance was read at 450 nm.

3.4.4. Reducing power assay

The reducing power of the tested compounds was determined according to the method of Oyaizu (1986). 10 µL of sample solutions at different amounts were mixed with 40 µL of 0.2 M

phosphate buffer (pH 6.6) and 50 μL of potassium ferricyanide (1%). The mixture was incubated at 50 $^{\circ}\text{C}$ for 20 min. After that 50 μL of TCA (10%) was added and mixed with distilled water (40 μL) and 10 μL of ferric chloride (0.1%), the absorbance was read at 700 nm. Higher absorbance of the reaction mixture indicates greater reducing power.

4. Conclusions

In summary, one new flavonoid, along with ten known compounds, were isolated from the aerial parts of *F. longipes* Coss. Compounds **1**, **3**, **4**, **6**, **7** and **10** exhibited a high antioxidant activity towards DPPH free radical scavenging, ABTS, CUPRAC and reducing power assays, respectively compared with BHA, BHT and ascorbic acid which were used as positive controls.

Supplementary material

Figure S1, Antioxidant activity data of compounds **1**, **3**, **4**, **6**, **7** and **10**, HR-ESI-MS, ^1H and ^{13}C NMR, HSQC, HMBC and COSY spectra of compound **1**.

Acknowledgements

The authors are grateful to Ministry of DGRSDT-MESRS (Algeria) and to and the Ministry of Higher Education and Research and to CRBt (Constantine-Algeria).

Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the authors.

References

- Ahmed AA. 1999. Sesquiterpene coumarins and sesquiterpenes from *Ferula sinaica*. *Phytochemistry*. 50:109–112.
- Apak R, Güçlü K, Özyürek M, Karademir SE. 2004. Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *J Agric Food Chem*. 52:7970–7981.
- Appendino G, Tagliapietra S, Nano GM, Picci V. 1988. Ferprenin, a prenylated coumarin from *Ferula communis*. *Phytochemistry*. 27:944–946.
- Appendino G, Jakupovic J, Alloatti S, Ballero M. 1997. Daucane esters from *Ferula arrigonii*. *Phytochemistry*. 45:1639–1643.
- Arnoldi L, Ballero M, Fuzzati N, Maxia A, Mercalli E, Pagni L. 2004. HPLC-DAD-MS identification of bioactive secondary metabolites from *Ferula communis* roots. *Fitoterapia*. 75:342–354.
- Ashgari J, Atabaki V, Baher E, Mazaheritehrani M. 2016. Identification of sesquiterpene coumarins of oleo-gum resin of *Ferula assa-foetida* L. from the Yasuj region. *Nat Prod Res*. 30:350–353.
- Bensalem S, Jabrane A, Harzallah-Skhiri F, Benjannet H. 2013. New bioactive dihydrofuranocoumarins from the roots of the Tunisian *Ferula lutea* (Poir.). *Bioorg Med Chem Lett*. 23:4248–4252.
- Berrehal D, Khalfallah A, Bencharif-Betina S, Kabouche Z, Kacem N, Kabouche A, Calliste CA, Duroux JL. 2010. Comparative antioxidant activity of two algerian *Reseda* species. *Chem Nat Compd*. 46:385–387.
- Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 81:1199–1200.
- Dastan D, Salehi P, Aliahmadi A, Gohari AR, Hossein Maroofi M, Afshan Ardalan A. 2016. New coumarin derivatives from *Ferula pseudalliacea* with antibacterial activity. *Nat Prod Res*. 30:2747–2753.

- Hadidi KA, Aburjai T, Battah AK. 2003. A comparative study of *Ferula hermonis* root extracts and sildenafil on copulatory behaviour of male rats. *Fitoterapia*. 74:242–246.
- Iranshahy M, Iranshahi MJ. 2011. Traditional uses, phytochemistry and pharmacology of asafoetida (*Ferula assa-foetida* oleo-gum-resin) – A review. *J Ethnopharmacol*. 134:1–10.
- Kojima K, Isaka K, Ondognii P, Zevgeegiin O, Davgiin K, Mizukami H, Ogihara Y. 1999. Sesquiterpenoid Derivatives from *Ferula feruloides*. *Chem Pharm Bull*. 47:1145–1147.
- Labed-Zouad I, Labed A, Laggoune S, Semra Z, Kabouche A, Kabouche Z. 2015. Chemical compositions and antibacterial activity of four essential oils from *Ferula vesceritensis* Coss. & Dur. against clinical isolated and food-borne pathogens. *Rec Nat Prod*. 9:518–525.
- Lakhal H, Boudiar T, Kabouche A, Laggoune S, Kabouche Z, Topçu G. 2011. Flavonoids and antioxidant activity of *Stachys ocymastrum*. *Chem Nat Compd*. 46:964–966.
- Mabberley DJ. 2008. *Mabberley's Plant Book: A Portable Dictionary of Plants*. 3rd ed. Cambridge University Press.
- Mabry TJ, Markham KR, Thomas MB. 1970. *The systematic identification of flavonoids*. New York, NY: Springer.
- Maggi F, Papa F, Dall'Acqua S, Nicoletti M. 2016. Chemical analysis of essential oils from different parts of *Ferula communis* L. growing in central Italy. *Nat Prod Res*. 30:806–813.
- Maji AK, Banerji P. 2016. Phytochemistry and gastrointestinal benefits of the medicinal spice, *Capsicum annum* L. (Chilli). *J Complement Integr Med*. 13:97–122.
- Meng H, Li G, Huang J, Zhang K, Wang H, Wang J. 2013. Sesquiterpene coumarin and sesquiterpene chromone derivatives from *Ferula ferulaeoides* (Steud.) Korov. *Fitoterapia*. 86:70–77.
- Muhammad A, Tel-Çayan G, Mehmet Öztürk M, Duru ME, Nadeem S, Anis A, Weng Ng S, Raza Shah M. 2016. Phytochemicals from *Dodonaea viscosa* and their antioxidant and anticholinesterase activities with structure–activity relationships. *Pharm Biol*. 54:1649–1655.
- Nacer A, Bernard A, Boustie J, Touzani R, Kabouche Z. 2006. Aglycone flavonoids of *Centaurea tougourensis* from algeria. *Chem Nat Compd*. 42:190–191.
- Nazari ZE, Iranshahi M. 2011. Biologically active sesquiterpene coumarins from *Ferula* species. *Phytother Res*. 25:315–323.
- Oyaizu M. 1986. Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine. *Jpn J Nutr*. 44:307–315.
- Razavi SM, Janani M. 2015. A new ester coumarin from *Ferula Persica* wild, indigenous to Iran. *Nat Prod Res*. 29:717–721.
- Razavi SM, Nahar L, Talischi H, Sarker SD. 2016. Ferulone A and ferulone B: two new coumarin esters from *Ferula orientalis* L. roots. *Nat Prod Res*. 30:2183–2189.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Bio Med*. 26:1231–1237.
- Sadraei H, Asghari GR, Hajhashemi V, Kolagar A, Ebrahimi M. 2001. Spasmolytic activity of essential oil and various extracts of *Ferula gummosa* Boiss. on ileum contractions. *Phytomedicine*. 8:370–376.
- Timmermann BN, Joseph JH, Shivanand D, Jolad KH, Schram RE, Klenck RB. 1983. Constituents of *Chrysothamnus paniculatus* 3: 3,4,5-Tricaffeoylquinic Acid (a new shikimate prearomatic) and 3,4-, 3,5- and 4,5-dicaffeoylquinic acids. *J Nat Prod*. 46:365–368.
- Touafek O, Kabouche Z, Brouard I, Barrera-Bermejo J. 2011. Flavonoids of *Campanula alata* and their antioxidant activity. *Chem Nat Compd*. 46:8259–8826.
- Wolbiś M. 1989. Flavonol glycosides from *Sedum album*. *Phytochemistry*. 28(8):2187–2189.
- Yokozawa T, Kim HY, Cho EJ, Choi JS, Chung HY. 2002. Antioxidant effects of isorhamnetin 3, 7-di-O-beta-D-glucopyranoside isolated from mustard leaf (*Brassica juncea*) in rats with streptozotocin- induced diabetes. *J Agric Food Chem*. 50:5490–5495.